

# 国家基因库野生大豆 (*Glycine soja*) 资源最近十年考察与研究

王克晶 李向华

(中国农业科学院作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良重大工程, 北京 100081)

**摘要:** 总结了国家种质库最近 10 年野生大豆搜集进展和研究概况。我国野生大豆资源在 1979 - 1982 年间搜集并保存在国家基因库的为 5939 份; 1996 - 2000 年搜集了 600 份; 2001 - 2010 最近 10 年补充搜集了全国 17 个省(市、区)、318 个县(市、旗)、930 个乡镇(农场)。其中新搜集县市 178 个, 共收集典型野生大豆资源 1979 份, 野生大豆收集样品新增资源 33.3%。

**关键词:** 考察; 野生大豆; 遗传多样性

## Exploration and Studies of Wild Soybean Germplasm Resources in the China Genebank during Recent Decade

WANG Ke-Jing, LI Xiang-Hua

(National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement /Institute of Crop Science,  
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** The present report summarized the progress on the collecting work of wild soybean genetic resources and on the general situations of studies in wild soybean resources during the recent decade (2001 - 2010) in China. There were 5939 wild soybean accessions collected during 1979 - 1982 and 600 accessions collected during 1979 - 1982 in the China Genebank. In recent ten years (2001 - 2010), a total of 1979 accessions were collected across 17 provinces, distributed in 318 counties and 930 towns. Of which 178 counties were newly-collected areas. Wild soybean accessions increased by 33.3 percent in the Chinese wild soybean collection.

**Key words:** Collecting; Wild soybean (*Glycine soja*); Genetic diversity

野生大豆 (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.,  $2n = 40$ , GG) 隶属于 *Glycine* Willd. 属, subgenus *Soja* (Moench) 亚属, 在中国的分布范围为  $23^{\circ}57'N \sim 53^{\circ}33'30''N$ ,  $96^{\circ}46'E \sim 135^{\circ}E$ <sup>[1]</sup>。我国野生大豆以种子大小划分为两种, 即百粒重 3g 及以下的典型野生大豆和 3g 以上的半野生大豆 (*Glycine gracilis* Skvorzov)。通常野生大豆是广义上的概念, 泛指这两种类型。第 1 次 (1979 - 1985 年) 野生大豆考察以来, 已发现我国野生大豆叶形态有阔叶型 (椭圆、长椭圆、卵圆)、窄叶型 (披针、线形、阔披针)<sup>[2-3]</sup>。种子可分为小粒 (百粒重 2.0g 及以下)、中粒 (2.01 ~ 2.5g)、大粒 (2.51 ~ 3.0g)、半野生型 (3.0g 以上)<sup>[4]</sup>。我国野生大豆存在白花、绿子叶、有色种皮及各种渐变色种皮<sup>[5]</sup>、长花序等稀有类型<sup>[6]</sup>。

中国野生大豆资源考察搜集工作可分为 3 个历史阶段。第 1 阶段 (1978 - 1982 年): “全国野生大豆考察专项”搜集并保存在国家长期种质库的资源为 5939 份 (百粒重 15g 以下)。在所考察的全国 1245 个县市中, 有野生大豆分布的为 823 个县市 (66.1%)<sup>[7]</sup>, 除新疆、青海、海南区域以外各地都有分布。第 2 阶段 (1996 - 2000 年): “九五”期间在重点地区和特殊地区补充搜集, 在内蒙古中部、山东、江苏、湖北、河南、河北补充搜集了野生大豆资源 600 份 (居群), 并保存在国家长期种质库 486 份、临时库 114 份。第 3 阶段 (2001 - 2010 年): 在国家公益项目支持下, 持续在全国各地补充和新搜集野生大豆资源。

第一次全国野生大豆搜集工作为我国野生大豆资源工作奠定了最重要的基础, 所搜集到的野生大豆

收稿日期: 2011-10-27 修回日期: 2012-02-28

基金项目: 农业部农作物种质资源保护与利用专项; 农业部农业野生植物保护项目; 国家农作物资源平台

作者简介: 王克晶 研究员, 长期从事野生大豆资源工作 E-mail: wangkj@caas.net.cn; 共同第一作者: 李向华 副研究员 E-mail: lixh@caas.net.cn

资源累计为全国 20 个教学和科研单位提供了研究和育种亲本材料 14000 余份(次)。经过全国 30 多年的研究,我国学者对野生大豆的研究在各领域均取得进展,如物种特性的细胞学<sup>[8-10]</sup>和胚发育<sup>[11]</sup>、生态学<sup>[12-16]</sup>、温光特性<sup>[17-21]</sup>、植物学与地理分布<sup>[22-23]</sup>、遗传多样性<sup>[24-30]</sup>、性状与进化<sup>[31-32]</sup>和物种系统演化的遗传结构<sup>[4]</sup>。野生大豆在大豆资源创新及育种利用上发挥了重要作用<sup>[33-36]</sup>。

国家种质库保存的野生大豆资源收集品的来源在全国范围内并不均衡,东北三省占据保存数量的一半。西部地区资源数量明显偏少,这与野生大豆在这些地区的分布密度低、地理条件复杂和搜集工作比较困难有关。野外搜集和种质库保存是植物遗传资源异位保护(*ex situ* conservation)的一种形式,相对而言自然条件下的原位保护(*in situ* conservation)能够不断地积累遗传变异,但是原位保护也时刻受到自然灾害的威胁,所以定期不断地资源搜集对野生大豆资源保护是重要的。李向华等<sup>[37]</sup>用 20 年前在 5 个县搜集的 38 份资源与 27 份新搜集的资源进行了 60 对 SSR 引物比较,发现 62 个新电泳带,约占总体的(570

带)的 10.9%。第 1 阶段和第 2 阶段全国考察后,还有许多地区或区域没有搜集,即使是曾经搜集过的县市再进行补充搜集时,采集点或居群也不会是完全相同的。所以,补充搜集野生大豆资源十分必要且有重要意义。2001-2010 年,中国农业科学院作物科学研究所一直单独或组织当地科研人员进行全国野生大豆资源补充搜集工作,考察了全国 19 个省市,国家种质库的野生大豆资源收集品数量逐年增加。本文报告了最近 10 年野生大豆考察情况。

## 1 考察与性状鉴定

### 1.1 考察范围

2002-2010 年,考察了我国 19 个省、市(自治区),其中在 17 个省搜集了种质(表 1)。这些考察地区包括我国南北野生大豆分布区,生态条件和土壤条件差异极大。最北部的搜集点在黑龙江省漠河县漠河乡北极村(53°29.578'N, 123°20.028'E),最南部搜集点在广东省连山县太保镇白沙村(24°42.392'N, 112°13.550'E)。2006 年 8 月 20 日在西藏察隅县(96°46.287'E, 28°43.787')进行了野生大豆考察。

表 1 各地搜集的县市数、乡镇数、资源数、资源取样居群面积

Table 1 Numbers of counties, sites, accessions collected, and population areas

省份 Province	年份 Year	县(市)数量 No. of counties or cities	新搜集县 (区)数量 No. of co- unties newly- collected	乡镇(街道) 农场数量 No. of towns	收集数量 No. of accessions collected	面积(m <sup>2</sup> ) Ranges of the areas of natural populations	居群数(百分率) No. of populations( Percent)			
							<100m <sup>2</sup>	100 ~ 500m <sup>2</sup>	>500m <sup>2</sup> ~ 1000m <sup>2</sup>	>1000 m <sup>2</sup>
黑龙江	2002、2005	43	5	85	203	10 ~ 30000	133(65.52)	40(19.70)	6(2.96)	24(11.82)
吉林	2002	26	5	106	150	2 ~ 70	150(100)			
辽宁	2002	26	1	69	111	2 ~ 15000	103(92.79)	7(6.31)	1(0.9)	
山西	2003	15	4	29	91	1 ~ 2000	91(100)			
安徽	2003	8	5	16	59	1 ~ 20	59(100)			
宁夏	2004	1	1	1	1					
湖北	2004	3	1	3	51	1 ~ 1500	51(100)			
广东	2004	6	1	6	16	1 ~ 100	16(100)			
江西	2004	45	20	129	202	2 ~ 4000	162(80.20)	24(11.88)	5(2.48)	11(5.45)
北京	2004、2005	13	11	50	109	1 ~ 2000	86(78.89)	11(10.09)	8(7.34)	3(2.75)
重庆	2004、2006、2007	9	8	19	47	2 ~ 1000	42(89.36)	1(2.13)	2(4.26)	2(4.26)
西藏	2006	1	0	3	0	200 ~ 500	2(50.00)	2(50.00)		
湖南	2006	36	30	92	114	1 ~ 6000	51(44.74)	46(40.35)	4(3.51)	13(11.40)
天津	2006	13	13	36	68	1 ~ 3000	59(86.75)	5(7.35)	3(4.44)	1(1.47)
云南	2007	12	12	未知	0					
东内蒙古	2007	7	6	22	67	1 ~ 6000	32(47.76)	25(37.31)	1(1.49)	9(13.43)
河北	2006、2007、2008	27	26	42	192	2 ~ 5000	160(83.33)	20(10.42)	5(2.60)	7(3.65)
山东	2008、2009	55	32	187	381	1 ~ 2000	312(83.20)	47(12.53)	9(2.40)	7(1.87)
上海	2010	10	10	36	115	5 ~ 5000	88(76.52)	14(12.17)	8(6.96)	5(4.35)
江苏	2010	1		2	2	20 ~ 100	1(50.00)	1(50.00)		
合计 平均		318	178	930	1979		1598(80.91)	243(12.30)	52(2.63)	82(4.15)

此表不包括半野生大豆。The accessions in this Table 1 did not include semi-wild soybean.

## 1.2 种质搜集

每年秋季种子成熟季节(9月底至11月初)进行考察,采集种子。以居群为单位(份)混合采集。在一个市(县)范围内每份资源空间距离大约为2~20km。在同一空间范围内,对于明显生长在不同生境下的居群如果采集时,按不同资源(份)搜集。在居群内随机采种,采种间隔至少10m(极小群体例外),尽量保证有30个单株以上。对于小居群根据实际情况确定适宜间隔。对于极小居群(如5m<sup>2</sup>以下),只采集植株部分种子,留下其余种子。对于半野生类型,单株采集。对每份资源同时采集GPS定位信息和环境照片,记载生境等有关信息。

## 1.3 性状鉴定

每份资源(居群)采集的种子在当地或在北京进行种植,进行形态鉴定。参考《农作物种质资源收集技术规程》和《农作物种质资源整理技术规程》进行<sup>[38-39]</sup>。形态鉴定每份资源混合种植,调查基本性状,如叶形、花色、株高、百粒重、种皮色、生育期、开花期。对于形态质量性状记载实际的性状类型(数目),数量性状的株高是观察到的最高值;百粒重是混合种子重,开花期是第1朵花开的时间。对相应的研究,采用单株种植、调查和考种。

## 1.4 数据处理与分析

使用SSR标记测定遗传变异。使用PowerMarker<sup>[40]</sup>、FSTAT 2.9.3<sup>[41]</sup>、STRUCTURE 2.1<sup>[42]</sup>、NTSYSep version 2.1<sup>[43]</sup>软件进行相应的遗传多样性参数估计和有关研究分析。遗传参数包括多态位点百分率( $A_p$ )、等位基因数( $N_a$ )、基因型(单元型, $Hap$ )、香农指数( $I$ )、实际观察杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )、等位基因丰富度( $R$ )。

# 2 结果与分析

## 2.1 资源分布和搜集数量概况

考察了19个省市(区),331个县市,在17个省市(区)的317个县的929个乡镇(农场)搜集到野生大豆资源。其中北京(原种质库保存仅3份)、天津、上海为新搜集地区,补充了国家基因库空白。在云南东部昭通、曲靖、文山、玉溪、昆明地区12个县没有发现野生大豆。考察时在西藏察隅县(96°46.287'E)野生大豆处于开花-荚鼓粒初期,种子没有成熟。全国新考察178个县市,占补充考察县市的56.15%。10年来搜集到典型野生大豆资源1971份、半野生大豆资源200份、接收赠送资源8份(宁夏1份、山东6份、北京1份)保存在种质库中(临时

库)。截止到2010年底国家种质库(长期库和临时库)已累计保存野生大豆资源收集品(collection)共计8518份(不包括新搜集的半野生大豆200份),比2000年以前增长了33.3%。

从考察点看,野生大豆居群面积在1~30000m<sup>2</sup>,80%的天然群体面积在100m<sup>2</sup>以下,只有4%左右群体超过1000m<sup>2</sup>,显示大部分的居群都是以1~100m<sup>2</sup>极小群体存在,片断化严重。我国北部地区的东内蒙古、黑龙江和南部的湖南省野生大豆分布面积超过1000m<sup>2</sup>的居群达到10%以上,比其他地区频率高(表1)。我国野生大豆分布的北界位于漠河县北极村邻近江岸一带(53°29.578'N),西界在西藏察隅县上察隅镇以西地带(96°46.287'E),分布范围向北和向西有所扩大。

## 2.2 新搜集野生大豆资源类型

近10年来搜集到的野生大豆资源类型与以往一样,属于野生型和半野生型。只在半野生型中发现白花、无泥膜、各种皮色类型(褐、绿、黄、黑、双色)。半野生类型见于东内蒙古(鄂伦春自治旗、兴安盟)、黑龙江、河北、北京、山东、重庆,发现了3种形态(图1):(1)阔披针叶(叶片尖端和基部几乎同宽,是披针叶的变形);(2)粗根系(见于湖南红土壤质土,粗主根部分达1cm、长50cm、渐细;叶片极小,分枝多,荚极小而多);(3)匍匐型(主茎分枝无区别,基部浓密分枝,匍匐地面生长,无或极弱缠绕性)。

耐旱和耐盐碱生理生态类型。某些野生大豆天然居群长期生长在特定的胁迫生境下,形成了适应特定环境的群体。在北京、天津搜集耐旱资源8份,在渤海湾(天津、唐海)干旱和盐碱地上搜集资源11份。肖鑫辉等<sup>[44]</sup>从盐碱地居群中用3%盐碱土盆栽直播,筛选出85份能够在高盐碱土壤下完成生活史的耐盐碱生态型资源(图2)。

## 2.3 开花期

开花期是野生大豆重要的生态遗传特性之一,与纬度、生态环境和遗传背景有着密切的关系。以往的光照研究<sup>[17-21]</sup>都是取1个或几个单株代表一个纬度的光照反应。每份野生大豆资源都是一个居群的代表样本,但是多年的考察和鉴定发现同一个自然光照条件下搜集的资源个体单株(居群内个体)开花时间不尽相同;居群往往会出现开花时期相差较大的个体(表2)。同一个居群内花期相差有的高达71d(1份北京资源),有的相差33d(1份重庆资源)。极小居群由于个体间亲缘程度较高或者是来源于相同家系而花期相同或相近,即使相同的地

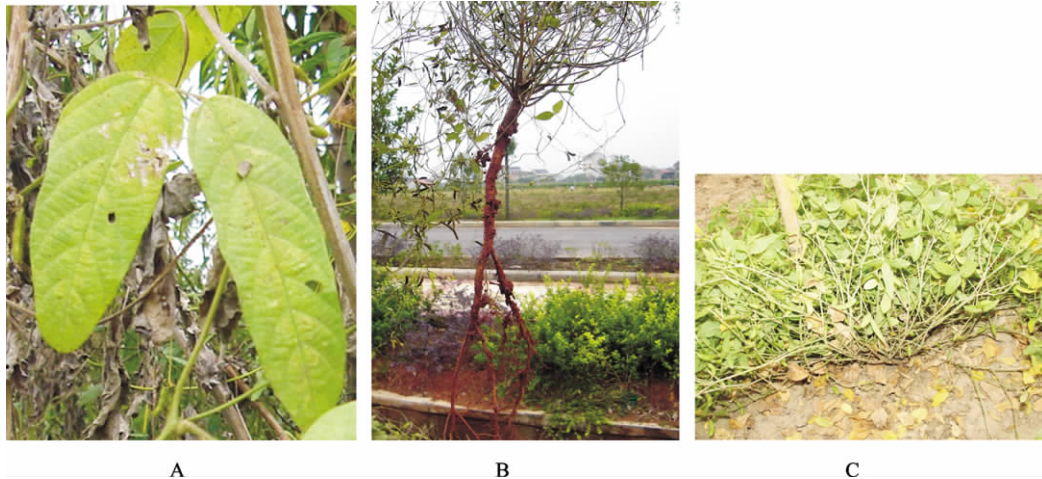


图1 新搜集的半野生大豆3种形态类型

Fig. 1 Newly-collected morphotypes

A: 阔披针叶; B: 粗根系; C: 匍匐型 A: broad-lanceolate; B: thick root; C: procumbent



图2 耐盐碱野生大豆

Fig. 2 Salt-resistant wild soybean

方不同的居群内花期的差异天数有时也相差较大(如北京石景山和门头沟居群)。在同一地方和同一居群花期会出现较大的差异,说明天然居群存在开花基因的异质性,即使居群长期是在相同或相近的开花光周期诱导下开花和进化<sup>[45-46]</sup>。

#### 2.4 群体(资源)内遗传多样性和亲缘性

国家基因库搜集的每份野生大豆资源遗传多样性程度有很大差异。通常在生态环境好而且是原始的居群具有高的遗传多样性(如湖北十堰居群),如果居群受到明显的环境胁迫、即便是奠基者居群都显示出低的遗传多样性(如北京和天津居群),极小居群有低的多样性(如小于 100m<sup>2</sup> 的福建明溪居群)。西藏察隅与内地有地理上的隔离,海拔在 1900~2000m,遗传多样性较低。

表2 几份野生大豆资源开花时期

Table 2 Difference in flowering time within and among accessions

(d)

资源编号 Accession No.	产地 Origin	种植地 Observation place	调查株数 Sample size	最小值 Min.	最大值 Max.	差值 Difference	平均 Mean
200704-41	内蒙扎兰屯	黑龙江克山	174	57	80	23	62.14 ± 3.50
200704-7	内蒙科右前旗	黑龙江克山	80	60	80	20	63.50 ± 4.60
200628-16	天津塘沽	北京	56	77	94	17	89.00 ± 4.23
200628-8	天津静海	北京	56	85	92	7	89.91 ± 1.37
200505-54	北京石景山	北京	35	54	125	71	104.26 ± 2.28
200505-60	北京门头沟	北京	38	102	113	11	105.10 ± 0.41
200606-3	河北唐海	北京	55	90	100	10	94.38 ± 3.85
200727-11	重庆巫溪	重庆永川	39	110	124	14	113.00 ± 3.00
200727-6	重庆云阳	重庆永川	52	99	132	33	109.00 ± 11.0
200417-1	湖北十堰	江西南昌	27	72	89	17	79.85 ± 4.59
200417-43	湖北襄樊	江西南昌	43	67	85	18	74.84 ± 5.39
200417-49	湖北宜昌	江西南昌	45	72	86	12	79.87 ± 4.65
200621-1	湖南衡南	江西南昌	30	69	91	22	88.20 ± 4.86
200621-76	湖南衡南	江西南昌	42	91	104	13	98.95 ± 3.50

播种时间: 克山 2010 年 5 月 15 日; 北京 2006 年 4 月 28 日; 天津: 2008 年 5 月 14 日; 重庆: 2008 年 4 月 7 日; 南昌: 2008 年 6 月 4 日

遗传多样性低的居群意味着群体内有较高频率的相同等位基因和存在少的基因型或单元型(*Hap*) (表 3) 这些相同的基因型个体和多数位点基因相同的个体多是在居群内有着密切的遗传背景。特别

表 3 几份野生大豆资源遗传多样性实例

Table 3 Genetic diversity in several accessions of wild soybean collected in China

资源编号 Accession No.	产地 Origin	个体数 No. of Individuals	生境 Habitat	遗传参数 Genetic parameter						
				<i>P</i>	<i>N<sub>a</sub></i>	<i>Hap</i>	<i>I</i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>R</i>
200501-25	黑龙江漠河	33	荒地	90	2.85	25	0.599	0.003	0.350	2.830
200501-13	黑龙江塔河	30	柳林	80	2.25	14	0.409	0.002	0.235	2.029
200728-09	天津静海	30	林下、盐碱地	5	1.05	2	0.020	0	0.012	1.002
200505-48	北京平谷	30	干旱路边	5	1.05	1	0.008	0	0.004	1.050
2005-5-7	北京延庆	29	水库	80	2.70	38	0.650	0.007	0.388	2.696
200417-1	湖北十堰	33	山谷	95	4.00	35	1.020	0.003	0.554	3.984
200416-1	重庆开县	35	山坡	25	1.25	6	0.067	0	0.036	1.247
CZ-1	西藏上察隅	30	山坡、田边	25	1.25	6	0.108	0	0.069	1.250
CZ-2	西藏下察隅	30	山坡、田边	55	1.55	8	0.342	0.007	0.242	1.550
FM-1	福建明溪	30	路边	50	1.50	5	0.096	0.007	0.050	1.270
200425-1	广东连州	26	路边	80	2.70	27	0.596	0.013	0.342	2.687

*P*: 多态位点百分数; *N<sub>a</sub>*: 平均位点等位基因数; *Hap*: 单倍型数; *I*: 香农指数; *H<sub>o</sub>*: 实际杂合度; *H<sub>e</sub>*: 预期杂合度; *R*: 等位基因丰富度。使用 20 对 SSR 引物。察隅和明溪居群取样叶片, 未采集种子。

*P*: Percentage of polymorphic loci; *N<sub>a</sub>*: Mean number of alleles per locus; *Hap*: Number of yplotypes; *I*: Shinnon's index; *H<sub>e</sub>*: Mean expected heterozygosity per locus; *R*: Allelic Richness. Twenty SSR markers were used for the test.

## 2.5 野生大豆居群中的大粒型个体的遗传差异

自然野生大豆居群中经常会出现大粒型(半野生大豆) 特别是靠近农田的居群, 尤其在我国东北地区(含东内蒙古) 主要大豆产区尤为常见, 甚至与大豆田混生。本研究搜集到野生和大粒型混合居群 22 个。在一个北京延庆居群里看到 8 株大粒植株(百粒重 3.38 ~ 4.47g), 对形态性状(百粒重、单株产量、单株地上干物质重、株高、叶长、叶宽) 进行主成分分析, 结果显示这 8 个大粒植株与同居群典型野生大豆个体植株有明显区别, 显示为两个不同组(图 3 所示 23-30 株号)。

这种大粒型是野生大豆和栽培大豆的天然杂交后代<sup>[47-48]</sup>, 如果是杂交早代甚至会出现性状分离。在北京平谷野生大豆居群, 距离农田 50m 处发现 1 株大粒型植株(百粒重 3.36g), 形态上明显区别于同居群典型野生大豆个体植株。然而次年种植这个半野生型植株, 没有看到主要形态性状出现分离, 无法确定其起源是自然进化还是天然杂交。为了确定这个大粒植株的来源, 用 20 对 SSR 引物检测了 28 个北京的地方品种、各时期育成品种及该居群的遗传变异, 并与该混合居群进行了遗传背景比较分析(图 4)。结果显示, 这个半野生植株与该居群其他野生型植株有遗传上的差异, 他不属于野生大豆

是小居群, 来源于相同祖先个体的比例非常高, 资源内有着更密切的亲缘性。在北京平谷搜集到的 1 份耐旱资源居群只有 1 个基因型, 可以说这个居群基本是由一个耐旱家系适应该生境的遗传单一居群。

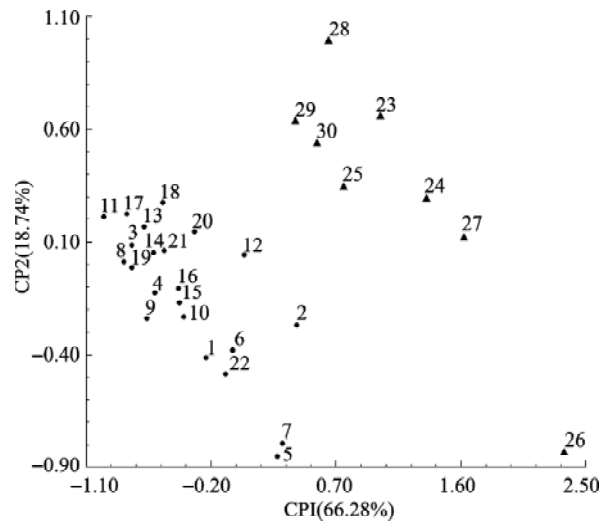


图 3 基于形态的 PCA 分析。大粒型(株号 23-30) 与野生型(株号 1-22) 有较大的形态差异, 两轴主成分解释 80% 的变异。

Fig. 3 Principal component analysis of morphology for a Beijing natural population of wild soybean using seed weight, plant dry matter, plant height, plant yield, leaf length, and leaf width. Eight big-seeded plants were distinguished from the other 22 typical wild soybean plants of this population. Two first CP explain 80% of variability.

- : 野生型( nos. 1 ~ 22); ▲: 大粒型( nos. 23 ~ 30)
- : typical wild soybean plants ( nos. 1-22);
- ▲: big seed type plants ( nos. 23-30).

组,似乎携带更多的栽培遗传背景。同时,还在此居群中检测到另外 3 株野生大豆植株也含有栽培基因。这个分析结果证实,该半野生植株是源于栽培大豆的花粉漂移到野生种群引起的天然杂交。

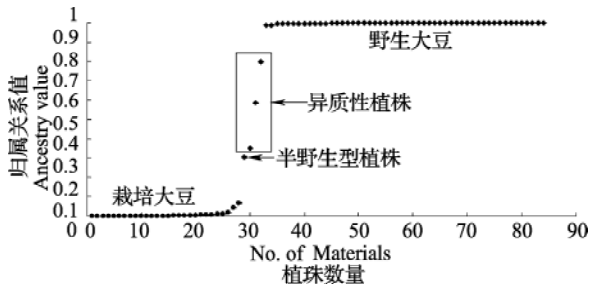


图 4 基于 20 对 SSR 标记的野生型、大粒型和栽培型大豆的遗传背景比较分析(95%置信区间估计)。结果这株半野生型植株(箭头所示)是源于栽培大豆的花粉漂移到野生种群引起的天然杂交,似乎携带更多的栽培遗传背景成分。

Fig. 4 Genetic background analysis among individuals in a Beijing wild soybean population against cultivated soybeans from Beijing based on 20 SSR markers, with confidence intervals at 95%. Result showed that this semi-wild type individual( arrowheads) was a descendant between wild and cultivated soybeans through natural crossing.

### 3 讨论

#### 3.1 我国野生大豆分布的现状和资源搜集应注意的问题

我国野生大豆资源生存空间在逐渐减少,种群碎片化严重,有的居群消失。同时由于野生大豆种子的扩散也出现新生种群,如在高速公路两侧、人工林地或其他生境出现新的野生大豆种群分布。这些新生种群具有明显的奠基者效应,往往是由少数种子定居而形成遗传多样性低的种群。我国野生大豆绝大部分居群(约 80%)是面积小于 100m<sup>2</sup>的小居群(表 1)。

野生大豆遗传资源考察搜集就是要通过样本采集最大程度地搜集到遗传多样性,这实质上涉及到考察成本和最大程度搜集遗传多样性的平衡问题。不考虑成本,若能搜集所有居群(资源)当然也就最大程度地保护了遗传多样性。问题是如何在有限的经费和人力的条件下,最大程度地通过有效的搜集方式来保护资源的遗传多样性。搜集需要根据群体遗传学和实际居群的状况在一定地理范围内采取最佳取样策略。对于野生大豆居群的取样,许多研究者提出了方法和建议<sup>[49-51]</sup>,认为取样株距不小于 10m<sup>2</sup>随机取 35 ~ 52 单株样本,能够代表居群的

90% 以上遗传多样性。李军等<sup>[52]</sup>建议在一个地区尽可能多的取单株,每株收几个荚。府宇雷等<sup>[53]</sup>提出在一个地区尽可能收集居群,在种群内适当搜集单株。胡志昂等<sup>[54]</sup>建议在十几到几十公里间隔设取样点,每点取 100 单株,每株取 1 个有效荚。

资源搜集应该考虑实际情况,依据空间大小、环境、时间和成本而异。在考虑经费、时间和人力的情况下,本研究建议应考虑增加河流下游居群或分布面积较大居群的样本数,因为遗传多样性可能较高;对环境一致并且有遗传关联的种群(可能容易发生基因相互渗透)如同一水系等,资源收集时可适当增加距离;对于遗传多样性可能单一的小居群,减少样本取样;极端条件下的居群因环境选择效应遗传多样性较低,应减少取样数;濒危状态的小居群应抢救性搜集;应注意特殊环境下稀有材料的保护搜集。由于野生大豆种群是小种群居多,遗传资源搜集应该尽量搜集各生态环境下的居群,SSR 多样性研究显示野生大豆各居群往往都有自己的特异等位基因<sup>[46]</sup>。

国家基因库保存的野生大豆搜集品的地理分布很不平衡。我国的西北、西南地区及其他个别省市野生大豆资源保存量与所在省市的野生大豆实际分布面积极不相称;即使在过去搜集过的省市,有的在其区域内的搜集分布也不平衡,有很大的资源搜集潜力。今后要注意各种逆境生理生态型资源的搜集。

#### 3.2 大粒型资源的来源

近 10 年来已经在黑龙江、东内蒙古、北京、河北、山东、江西、重庆等地发现半野生大豆,它们混生于野生大豆居群内,或生长于栽培大豆田边及田内,这样的混合居群约 22 个。关于半野生大豆的起源,Hymowitz<sup>[55]</sup>提出半野生种是栽培大豆和野生大豆天然杂交的产物。本研究结果也显示,从野外搜集到的半野生型基本都是天然杂交产生的类型(图 4),它们会发生形态性状分离<sup>[47-48]</sup>。可以说所搜集的半野生大豆形成的历史是比较短的。同时,调查发现半野生大豆生长处于衰退状态,其处于在栽培大豆生产区的自然生态系统中不断地消失和不断地产生的动态中。只有当天然杂交后代分离出形态上类似典型野生大豆个体能够完全适应自然环境时,栽培基因才能随着携带个体被保存于野生种群中。

Wang 等<sup>[4]</sup>研究表示,百粒重为 2 ~ 2.5g 的野生大豆资源一部分是野-栽杂交产物后代,百粒重 2.5g ~ 3g 的白花、灰毛、有色种皮的资源绝大部分是

野-杂交产物的后代。野生大豆种子大小的进化与自然选择压力维持一个平衡,这个平衡点在哪里,或者说自然生态系统中种子大小最大能够进化到多大,也许在某些生态环境下野生大豆种子百粒重能够进化到 2.5~3g 水平,这方面的疑问还需要研究。

本研究认为由野生到栽培的人工选择过程形成的“真”半野生大豆不存在于今天的野生种群,“真”半野生大豆在人类驯化大豆的过程中会逐渐消失。在今天,由于新品种的不断使用,旧品种不断地被优良的品种所取代而被抛弃,最原始的大豆品种或古老的地方品种在农业生产和农户中几乎是很难找到,老农家品种只能在基因库中找到。同样的道理,在漫长的周而复始的野生大豆驯化为栽培大豆的演变过程中,那些中间驯化类型也不断地被后来驯化的更优良的“品种”所取代,那些“旧品种”也被不断抛弃。栽培大豆物种形成后那些中间演化过渡类型“真”半野生大豆已经不存在了。也许栽培种内最原始的栽培类型,如今保留在基因库中的秣食豆、马料豆等也许是亲缘于“真”半野生类型的栽培种,也许是由于栽培选择的作用形成的不同的形态类型。

### 3.3 野生大豆物种安全

野生大豆作为大豆的遗传资源对大豆可持续育种具有重要意义,然而野生大豆在局部的农业生态系统中可能有时还被认为是有害杂草。如在一些芦苇生产湿地,为防止芦苇被野生大豆缠绕而压倒,常喷洒除草剂清除;在一些大豆生产地区有时也会看到野生大豆蔓延到大豆田里缠绕大豆植株,也要被除掉。总体而言,全国的野生大豆生境逐渐被人类活动和污染侵蚀,分布面积在缩小,居群数量在减少。尽管野生大豆也会被传播和迁移而产生新生种群,但是种群扩散速度赶不上因为人类活动而消失的速度。我国野外大多数野生大豆居群面积在 100m<sup>2</sup> 以下,从而使野生大豆天然基因库形态的和遗传的多样性水平在下降。另外即使由种子扩散而产生新生种群,因为新生种群奠基者效应而遗传多样性水平很低。

正如图 4 所显示,栽培大豆的基因也已经渗入到野生物种内。栽培基因会因种内天然杂交和个体扩散在种内流动,当携带个体的形态类似于典型野生大豆时因为具有野生环境适应性而保存在物种内<sup>[47]</sup>。这种天然杂交一方面会增加野生物种的基因,同时也会“污染”野生物种基因库。特别是如果转基因大豆种植隔离和保护措施不当,转基因大豆的“目的”基因就有可能因为天然杂交逃逸到野生

物种内。转基因大豆的“目的”基因对野生物种的危险性是因为“目的”基因的种类而不同,有的还需要一个长期的过程。2010 年进行了转基因大豆基因飘逸安全评价研究,结果显示,在距离栽培大豆 15m 的野生大豆试验行(行长 10m)的 6533 种子中检测出 2 粒杂交种子携带转基因大豆的“目的”基因。我国是野生大豆的主要分布区,转基因大豆种植一定会有风险,因此对野生大豆资源的保护不但是保护生境,也要有国家整体防止转基因渗透的有效战略和措施。

协助参加考察的主要人员有黑龙江省农业科学院林红、吉林省农业科学院杨光宇、辽宁省铁岭市农业科学院付连舜、江西省农业科学院王瑞珍、湖南省衡阳市农业科学研究所刘宏英、重庆市农业科学院张继君。

### 参考文献

- [1] 吴纪安,魏新民,王忠跃,等.大、小兴安岭野生大豆考察报告[J].大豆通报,2005(6):31
- [2] 王连铮,吴和礼,姚振纯,等.黑龙江省野生大豆的考察和研究[J].中国油料,1980(3):48-53
- [3] 付佩云,王佑安.辽宁省大豆属植物野生种的分类研究[J].植物研究,1986,6(2):117-123
- [4] Wang K J, Li X H. Fine-scale phylogenetic structure and major events in the history of the current wild soybean (*Glycine soja*) and taxonomic assignment of semi-wild type (*Glycine gracilis* Skvortz.) within the Chinese subgenus *soja* [J]. J Hered, 2012, 103: 13-27
- [5] 李福山.全国野生大豆目录[M].北京:农业出版社,1990
- [6] 赫冲.辽宁省东部山区野生大豆资源考察[J].中国油料作物学报,1981(3):20-23
- [7] 王连铮.现代中国大豆[M].北京:金盾出版社,2007:103-124
- [8] 郑惠玉,陈瑞阳.中国野生大豆根尖染色体细胞学观察初报[J].吉林农业科学,1983(4):34-36
- [9] 徐香玲,李集临,张邵杰.野生大豆(*G. soja*)、半野生大豆(*G. gracilis*)和栽培大豆(*G. max*)的核型分析[J].大豆科学,1990(9):292-301
- [10] 寿惠露,王志安,沈晓霞.野生大豆和栽培大豆的根尖细胞核型与进化[J].浙江农业大学学报,1997,23(4):447-450
- [11] 张淑玲,张艳馥,申家恒.野生大豆胚胎学研究[J].哈尔滨师范大学自然科学学报,1990,6(3):82-90
- [12] 李莹.野生大豆和生态环境关系的统计分析[J].中国油料作物学报,1981(7):55-58
- [13] 李莹,焦光青,王国勋,等.山西野生大豆生态分析[J].山西农业科学,1981(4):5-9
- [14] 李福山.中国野生大豆资源地理分布及生态分化的研究[J].中国农业科学,1993,26(3):47-55
- [15] 吴东丽,张金屯,王春乙,等.保护植物野生大豆群落不同物种间的生态关系分析[J].应用与环境生物学报,2009,15(5):638-644
- [16] 吴东丽,张金屯,王春乙,等.北京地区野生大豆种群及群落的分布格局[J].草业科学,2009,26(3):16-21
- [17] 邵启全,林章棋,周端敏.中国野生大豆光周期生态类型分析[J].作物学报,1980,6(1):45-50
- [18] 徐豹,路琴华.中国不同纬度野生大豆的温光生态分析[J].大豆科学,1983,2(3):155-168

- [19] 徐豹,路琴华.大豆生态研究 IV.野生大豆(*G. soja*)光控和自然条件下开花临界光周期的研究[J].大豆科学,1991,10(2):85-92
- [20] 庄炳昌,徐豹,路琴华.大豆生态研究 II.中国不同纬度不同进化类型大豆对昼夜温度反应的研究[J].大豆科学,1986,5(4):289-298
- [21] 李福山.中国野生大豆熟期类型及光周期区划[J].作物品种资源,1997(4):17-19
- [22] 徐豹,徐航,庄炳昌,等.中国野生大豆(*G. soja*)籽粒性状遗传多样性及其地理分布[J].作物学报,1995,21(6):733-739
- [23] 徐豹,徐航,庄炳昌,等.中国野生大豆(*Glycine soja*)茎叶性状的多态性及其地理分布[J].作物学报,1996,22(5):583-586
- [24] 许东河,高忠,田清震,等.中国一年生野生大豆群体的遗传多样性研究[J].应用与环境生物学报,1999,5(5):439-443
- [25] 董英山,庄炳昌,赵丽梅,等.中国野生大豆遗传多样性中心[J].作物学报,2000,26(5):521-527
- [26] 刘亚男,李向华,王克晶.国家基因库野生大豆微核心样本遗传变异性的 SSR 标记分析[J].植物遗传资源学报,2009,10(2):211-217
- [27] Li X H,Wang K J,Jia J Z. Genetic diversity and differentiation of Chinese wild soybean germplasm (*G. soja* Sieb. & Zucc.) in geographical scale revealed by SSR markers[J]. Plant Breed,2009,128:658-664
- [28] Wang K J,Li X H,Li F S. Phenotypic diversity of the big seed type subcollection of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) in China[J]. Genet Resour Crop Evol,2008,55:1335-1346
- [29] 丁艳来,赵团结,盖钧镒.中国野生大豆的遗传多样性和生态特异性分析[J].生物多样性,2008,16(2):133-142
- [30] Li Y H,Li W,Zhang C,et al. Genetic diversity in domesticated soybean (*Glycine max*) and its wild progenitor (*Glycine soja*) for simple sequence repeat and single-nucleotide polymorphism loci[J]. New Phytol,2010,188:242-253
- [31] 舒世珍,李福山,常汝镇.大豆主要性状演化的初步研究[J].作物学报,1986,12(4):257-259
- [32] 许东河,高忠,盖钧镒,等.中国野生大豆与栽培大豆等位酶、RFLP 和 RAPD 标记的遗传多样性与演化趋势分析[J].中国农业科学,1999,32(6):16-22
- [33] 孙寰,赵丽梅,黄梅.大豆质核互作不育系研究[J].科学通报,1993,38(16):1535-1536
- [34] 赵丽梅,孙寰,黄梅.大豆细胞质雄性不育系 ZA 的选育和初步研究[J].大豆科学,1998,17(3):268-270
- [35] 杨光宇,纪锋.中国野生大豆资源的研究与利用综述 I.地理分布、化学品质性状及在育种中的利用[J].吉林农业科学,1999,24(1):12-17
- [36] 王克晶,李福山.我国野生大豆种质资源及其种质创新利用.中国农业科技导报,2000,2(6):69-72
- [37] 李向华,田子罡,李福山.新考察收集野生大豆与已保存野生大豆的遗传多样性比较[J].植物遗传资源学报,2003,4(4):345-349
- [38] 郑殿生.农作物种质资源收集技术规程[M].北京:农业出版社,2007
- [39] 郑殿生.农作物种质资源整理技术规程[M].北京:农业出版社,2007
- [40] Liu K,Muse S V. PowerMarker. Integrated analysis environment for genetic marker data [J]. J Bioinformatics,2005,21:2128-2129
- [41] Goudet J,FSTAT. A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3) [M]. Switzerland: Lausanne University,2001
- [42] Pritchard J K,Stephens M,Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics,2000,155:945-959
- [43] Rohlf F J. NTSYS 2.1. Numerical Taxonomic and Multivariate Analysis System. Exeter Software[M]. New York: State University of New York,2000
- [44] 肖鑫辉,李向华,刘洋,等.野生大豆(*Glycine soja*)耐高盐碱土壤种质的鉴定与评价[J].植物遗传资源学报,2009,10(3):392-398
- [45] 王克晶,李福山,曹永生,等.河北省野生大豆种群若干数量性状结构特征[J].植物生态学报,2001,25(3):351-358
- [46] 严茂粉,李向华,王克晶,等.北京地区野生大豆天然种群表型结构分析[J].植物遗传资源学报,2008,9(3):315-321
- [47] Wang K J,Li X H,Zhang J J,et al. Natural introgression from cultivated soybean (*Glycine max*) into wild soybean (*Glycine soja*) with the implications for origin of populations of semi-wild type and for biosafety of wild species in China[J]. Genet Resour Crop Evol,2010,57:747-761
- [48] Wang K J,Li X H. Interspecific gene flow and the origin of semi-wild soybean revealed by capturing the natural occurrence of introgression between wild and cultivated soybean populations[J]. Plant Breed,2011,130:117-127
- [49] 金燕,卢宝荣.遗传多样性的取样策略[J].生物多样性,2003,11(2):155-161
- [50] 赵茹,程舟,陆伟峰,等.基于分子标记的野生大豆居群遗传多样性估算与取样策略[J].科学通报,2006,51(9):1042-1048
- [51] 朱维岳,周桃英,钟明,等.基于遗传多样性和空间遗传结构的野生大豆居群采样策略[J].复旦学报:自然科学版,2006,45(3):321-327
- [52] 李军,陶芸,郑师章,等.同工酶水平上野生大豆种群内分化的研究[J].植物学报,1995,37(9):669-676
- [53] 府宇雷,钱吉,马玉虹,等.郑师章不同尺度下野生大豆种群的遗传分化[J].生态学报,2002,22(2):176-184
- [54] 胡志昂,王洪新.北京地区野生大豆天然群体遗传结构[J].植物学报,1985,27(6):599-604
- [55] Hymowitz Y. On the domestication of the soybean [J]. Econ Bot,1970,24:408-421