

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.00571



大豆核心种质和微核心种质的构建、验证与研究进展

邱丽娟 李英慧 关荣霞 刘章雄 王丽侠 常汝镇

国家农作物基因资源与遗传改良重大科学工程 / 农业部作物种质资源利用重点开放实验室 / 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081

摘要: 我国作物种质资源长期库中保存大豆资源 2.3 万余份, 数量居世界之首。然而, 大豆资源在新品种培育中的利用率仅为 1% 左右, 导致大豆育成品种的遗传基础趋于狭窄。主要原因是缺少对其重要经济性状的鉴定, 尤其是缺少多年多点的评价, 难以定向选择有重要价值的育种亲本。为了加速大豆资源的评价并促进其利用, 在国家基础研究项目(973)的连续资助下, 开展了“大豆核心种质构建(1998—2003)”和“大豆微核心种质基因多样性(2004—2009)”研究, 目的是浓缩大豆资源的遗传多样性, 强化其表型和基因型鉴定, 为发掘和利用大豆资源中的优异基因提供指导。本文在研究构建不同比例(占总体 2%~5%)大豆核心种质和大豆微核心种质(占总体 1%)的同时, 介绍了核心种质补充和完善的研究进展。为了验证核心种质的代表性, 从 SSR 位点、样本组成、取样比例、低频率等位变异 4 个方面对代表性进行了分析, 并用随机抽样方法对核心种质代表性进行了检测和验证。文中还介绍了利用核心种质和微核心种质在新基因发掘、种质创新和育种利用方面的研究进展, 尤其介绍了与育种单位密切合作, 建立基于核心种质的种质创新与利用体系的研究成效。围绕遗传多样性、核心种质利用方式进行了讨论, 指出大豆核心种质为性状鉴定、新基因发掘、新种质创造和新品种培育等理论研究和实际应用提供材料基础, 具有潜在的应用前景。实践证明, 大豆种质资源的系统研究与利用, 将促进我国大豆种质资源由数量保存型向研究应用型转变。

关键词: 大豆; 核心种质; 检验; 遗传多样性; SSR; 等位变异; 利用

Establishment, Representative Testing and Research Progress of Soybean Core Collection and Mini Core Collection

QIU Li-Juan, LI Ying-Hui, GUAN Rong-Xia, LIU Zhang-Xiong, WANG Li-Xia, and CHANG Ru-Zhen

National Key Facility for Gene Resources and Genetic Improvement / Key Laboratory of Crop Germplasm Utilization, Ministry of Agriculture, Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 10008, China

Abstract: China has the most soybean germplasm in the world, but only about 1% of them have been used in soybean breeding program, which results in narrow genetic base for developing varieties. This exiguous use of germplasm is due to lack of reliable information on traits with economic importance, which requires replicated multilocal evaluations to identify useful parents. In order to accelerate evaluation and utilization of germplasm, the projects of “Establishment of soybean core collection” (1998–2003) and “Gene diversity of mini core collection in soybean” (2004–2008) were carried out by the continuous supporting from National Basic Research Program (973 project) so that large germplasm collections has been evaluated properly on the basis of the guideline from core collections. In this paper, the development of core (2–5% of entire collection) and mini-core (10% of core or 1% of entire collection) is introduced. Meanwhile, the complement of the core or mini-core collections is carried out in order to broaden their representative from national wide into international soybean accessions. For testing the representatives of the core collection, four parameters including SSR loci, sample components, sampling ratio and low frequency allele are analyzed, and then confirmed by the random sampling test. The core and mini-core collections have been used in identifying elite traits and developing new lines, in which the approaches have been introduced that based on core and mini-core collections. The further utilization of core and mini-core collections related to genetic diversity and utilization method of collections is discussed, it is pointed that core collections are basic materials for new trait identification, novel gene mining, germplasm enhancement and new variety development. It has been proved that systematic study and use of soybean germplasm will improve the research of the

本研究由国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(G1998010203 和 2004CB117213), 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA100104), 国家科技支撑计划项目(2006BAD13B05), 引进国际先进农业科学计划(948 计划)项目(2006-G1), 国际科技合作计划项目(2008DFA330550)资助。

第一作者联系方式: E-mail: qiu_ljuan@263.net; Fax: 010-82105840; Tel: 010-82105843

Received(收稿日期): 2008-07-25; Accepted(接受日期): 2008-12-23.

soybean germplasm from conservation into wider use.

Keywords: Soybean; Core collection; Test; Genetic diversity; SSR; Allele variation; Utilization

大豆起源于中国, 据记载已有 5 000 多年的栽培历史, 到目前为止, 在全世界五大洲的 60 多个国家都有种植。中国是全世界大豆资源收集保存数量最多的国家, 仅原产中国的栽培大豆和一年生野生大豆就有 30 000 余份。美国保存的大豆资源数量(18 000 余份)位居世界第二, 其中, 约 36.1% 的资源引自中国。因此, 中国大豆资源的研究对中国乃至全世界大豆的研究与应用都具有重要意义。

我国虽然具有丰富的大豆资源, 但如何高效发掘其优异基因并进行利用是急需解决的科学问题。核心种质(core collection)^[1-2]的提出为解决这一问题提供了新的思路并已在很多植物资源中广泛应用。在大豆资源研究方面, 美国有育成品种的核心祖先亲本^[3], 28 个“里程碑”品种及其衍生的 64 个品种^[4], 大豆种子过敏性蛋白的“核心种质”^[5], 我国构建了中国大豆育成品种祖先亲本核心种质^[6]。然而, 关于大豆育成品种的核心种质选材^[3-6]集中在贡献大的祖先亲本或大面积推广品种, 涉及品种的数量少, 无法代表丰富的大豆品种资源总体。大豆种子过敏性蛋白是用“核心种质构建”进行筛选的^[5], 但没有对其核心种质的代表性进行检测。我国大豆品种资源的核心种质构建及研究始于 1998 年, 先后 2 次得到国家重点基础研究项目(973 计划)资助。经过近 10 年的努力, 利用系统方法构建了大豆核心种质并对其代表性进行了检测, 实现了大豆核心种质从构建理论向应用研究、从表型多样性评价向基因多样性鉴定的转变^[7-19]。

本文系统总结了基于表型和 SSR 标记的“大豆核心种质构建(1998—2003)”及将大豆核心种质的遗传多样性进一步浓缩为微核心种质的理论与方法, 介绍了目前“大豆微核心种质基因多样性(2004—2009)”的研究进展, 旨在探索大豆核心种质深入研究和利用的方向, 促进大豆资源研究理论和实践的共同发展, 也为其他植物资源研究与利用提供参考。

1 大豆核心种质及微核心种质的构建及其补充完善

1.1 大豆核心种质及微核心种质的构建

中国收集保存的 23 587 份栽培大豆品种资源^[20-23]是构建大豆核心种质及微核心种质样本的总体, 表

型具有丰富的多样性, 而且呈规律性的变化^[24-25]。这种表型多样性与地理来源、栽培区划存在密切的关系, 亦称为生态性状, 不仅使大豆品种分类^[26]成为可能, 也为大豆核心种质构建按品种分类法进行分层取样奠定了理论基础^[27]。大豆核心种质构建所用的数据包括来源地、品种类型、种植类型等基础信息(passport data), 也有农艺性状^[8-10]以及特性评价^[23]等表型数据。根据这些数据用 20 种不同方法各取 1 个样本, 比较样本的综合评价指标, 结果表明, 品种分类法是核心种质分层取样的最佳方法, 适宜的取样比例为 9.2%, 由此构建的核心种质样本数为 2 170 份^[27]。在此基础上增加不同生态区具有极端农艺性状种质 130 份^[28], 抗病、抗逆等特性种质 494 份, 共计 2 794 份种质组成了初选核心种质, 占总体 11.8%。用经过筛选^[29]和验证的^[30] 60 个 SSR 核心引物分析初选核心种质, 将 SSR 数据与农艺性状数据相结合, 通过对 8 种方法比较, 发现在品种分类分组的基础上, 以每组样本量的平方根比例取样是构建具有代表性大豆核心种质的适宜方法。实际上, 在构建初选核心种质时, 平方根比例法与比例法差异并不显著, 很难取舍, 这可能与初选核心种质样本量较大有关。

用 5% 的样本代表总体 70% 的遗传多样性, 是基于不少于 1 000 份样本总体而提出的核心种质样本量^[1-2]。本研究构建的大豆核心种质样本比例在 2% 时, 472 个样本的 SSR 等位变异对总体代表性仍能达到 70%; 如果将样本数量降到占总体的 1%, 亦称为微核心种质时, 236 个样本的 SSR 等位变异对初选核心种质的代表性为 70% 以上, 而对模拟总体的代表性仍能达到 63.5%^[31], 这可能与构建大豆核心种质的样本量超过上万份有关(表 1)。

1.2 大豆核心种质及微核心种质的补充完善

国家作物种质资源库中不仅保存原产于我国的 23 000 余份栽培大豆, 还包括从国外引进的 2 000 余份大豆资源。大豆核心种质构建的目的是提高大豆种质资源的利用效率, 为了从整体上反映库存大豆资源的遗传多样性, 将国外大豆核心种质纳入大豆核心种质是非常必要的。研究证明, 国外大豆资源与我国资源存在一定的差异。邱丽娟等^[32]用 RAPD 标记分析中美大豆祖先亲本的遗传多样性发现, 尽

表 1 大豆不同类型种质的样本比例及代表性
Table 1 Sample ratio and representative of different core collection in soybean

| 样本名称 Sample name | 样品数量 Number of sample | 样品比例 Sample ratio (%) | 代表性 Representative | | |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|--|---|---|
| | | | 占总体表型 Ratio of Phenotype to the total collection(%) | SSR(%) | |
| | | | | 占初选核心种质(1282) To primary core collection | 占模拟总体比例(1530) To predicted total accession |
| 总体 Total collection | 23587 | 100.0 | 100.0 | — | 100.0 |
| 初选核心种质 Primary core collection | 2794 | 11.8 | 100.0 | 100.0 | 83.8 |
| 核心种质 Core collection | 1179 | 5.0 | 95.5 | 93.3 | — |
| | 943 | 4.0 | 98.9 | 91.2 | 76.4 |
| | 708 | 3.0 | 98.9 | 88.8 | 74.4 |
| | 472 | 2.0 | 98.9 | 84.3 | 70.6 |
| 微核心种质 Mini core collection | 236 | 1.0 | 94.5 | 75.8 | 63.5 |
| | 118 | 0.5 | 93.5 | 65.2 | 54.6 |

管美国的大豆祖先亲本多数引自中国，但两国的大豆品种分别聚在不同的类别，表明两国大豆祖先亲本具有不同的基因源，同样的现象也发生在中日种质之间^[33]。根据国外种质的来源及特点，选择 22 份有代表性的国外种质补充到核心种质，同时，还补充了我国近年来新育成的品种，扩大了核心种质的遗传变异程度^[34]。

2 大豆核心种质和微核心种质的验证

2.1 构建方法的检测

2.1.1 SSR 位点的代表性检测 大豆核心种质构建的重要依据之一是 60 个 SSR 位点的检测结果。这 60 个核心 SSR 位点是用变异相对较小的 80 份秋大豆筛

选^[29]并得到了来源广泛的 190 份全国各地大豆种质的验证^[30]。为进一步检测 60 个标记的代表性，利用与上述材料完全不同、亲缘关系比较密切的绥农 14 及其系谱祖先亲本进行 250 个 SSR 标记检测，分析不同数目 SSR 位点的品种相似系数矩阵与 250 个 SSR 位点矩阵的关系，获得了相同的研究结果。从图 1 可以看出，除按连锁群选择位点外，其他 3 种方法最少取 45 个位点，其相似系数矩阵与所有位点的相似系数矩阵相关性都达到 0.805，但任何一种方式取位点达到 60 个，相似系数矩阵与所有位点的相似系数矩阵相关性均达到显著水平(超过 0.75)。这表明 SSR 核心位点不仅在检测遗传多样性较高的核心种质能反映材料之间的相互关系外，同样也能反映亲缘关系较近种质之间的关系(图 1)。

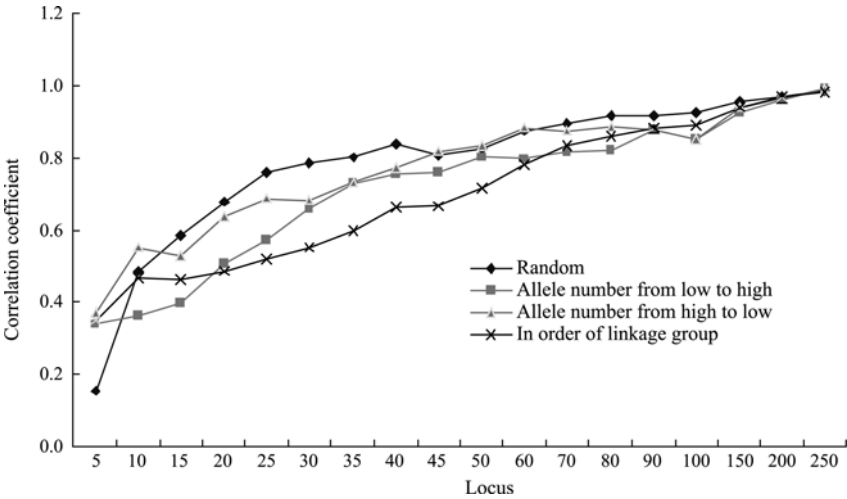


图 1 绥农 14 及其系谱亲本 14 个品种不同位点的品种相似性矩阵相关系数
Fig. 1 Correlation coefficient of similarity matrix of Suinong 14 and its parent for different loci number

2.1.2 样本组成的代表性检测 大豆核心种质的 取样采用的是基于品种分类的分层取样方法。品种

分类以栽培区划与种植类型为基础,与人类生产活动密不可分。由于栽培大豆源自于春发芽、秋结实的一年生野生大豆,人为划分春、夏、秋是否适宜,相关的研究报导较少。Li 等^[35]对初选核心种质中的 1 863 份大豆资源进行了遗传多样性分析,将模型分组与品种分类分组进行对比看出,各模型分组占优势的品种都来自某个品种分类,其优势品种比例的变化范围为 43.6%~100%。以北方的 NSpM 和 NESpM 两个组的优势品种最为明显,均占组内品种总数的 98.5%和 100%,南方的 SSuSM 和 SSuM 两个组次之,分别占 84.4%和 78.4%,而来自黄淮的

HSuM 最低,且有黄淮夏大豆和北方春大豆两种来源的品种占主体,分别占总体的 43.6%和 42.9%,与其相似的是 SSpSM 组,也由长江春大豆南方春大豆两种来源的品种占主体,均占该组品种总数的 49.1%。NSpM 的组成最简单,全部来自北方春大豆;由 NESpM、SSpSM 和 SSuSM 这 3 种类型组成;SSpM 由 5 种类型大豆组成;以 HSuM 和 SSuM 的组成最复杂,都包括 6 种来源的大豆。值得注意的是,以春大豆为主的模型组如 NESpM、NSpM 和 SSpSM,除 SSpSM 仅有 1.8%为夏大豆外,其余品种都为春大豆(表 2),说明各品种类别确实具有其内在的特点。

表 2 模型分组中品种的不同分类来源及占模型分组内的比例
Table 2 Cultivar origin and ratio of each group based on model classification

| 品种分类分组 Origin of cultivar | 模型分组 Model based classification | | | | | | | |
|------------------------------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | NESpM | NSpM | HSuM | SSpM | SSuM | SSpSM | SSuSM | Mixed |
| 东北春大豆 NESp | 98.5 | — | 9.1 | 12.2 | — | — | 2.5 | 25.3 |
| 北方春大豆 NSp | 1.0 | 100.0 | 42.9 | 2.4 | — | — | — | 11.4 |
| 黄淮春大豆 HSp | — | — | 2.9 | 15.9 | 1.4 | — | — | 5.3 |
| 黄淮夏大豆 HSu | — | — | 43.6 | — | 9.6 | — | — | 19.2 |
| 长江春大豆 CSp | — | — | — | 48.8 | 0.5 | 49.1 | — | 6.7 |
| 南方春大豆 SSp | 0.5 | — | 0.7 | 20.7 | 1.6 | 49.1 | 13.1 | 10.9 |
| 南方秋大豆 SAu | — | — | — | — | 8.5 | — | — | 1.9 |
| 南方夏大豆 SSu | — | — | 0.7 | — | 78.4 | 1.8 | 84.4 | 19.2 |
| 总计 Total | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

NESp:North-East Spring; NSp: North Spring; HSp: Huanghuai Spring; HSu: Huanghuai Summer; CSp: Changjiang Spring; SSp: South Spring; SAu: South Autumn; SSu: South Summer; NESpM:North-East Spring Modeled; NSpM: North Spring Modeled; HSuM: Huanghuai Summer Modeled; SSpM: South Spring Modeled; SSpSM: South Spring Southwest Modeled; SSuM: South Summer Modeled; SSuSM: South Summer Southwest Modeled.

表 3 不同品种分类来源的品种在各模型分组中所占的比例
Table 3 Distribution of each type of cultivar in various groups based on model-based classification

| 品种分类分组 Type of cultivar | 模型分组 Model based classification | | | | | | | | 总计 Total |
|----------------------------|---------------------------------|------|------|------|-------|------|-------|-------|-------------|
| | NESpM | NSpM | HSuM | SSpM | SSpSM | SSuM | SSuSM | Mixed | |
| 东北春大豆 NESp | 60.5 | — | 7.6 | 3.0 | — | — | 1.2 | 27.7 | 100.0 |
| 北方春大豆 NSp | 0.4 | 65.1 | 25.3 | 0.4 | — | — | — | 8.8 | 100.0 |
| 黄淮春大豆 HSp | — | — | 17.8 | 28.9 | — | 11.1 | — | 42.2 | 100.0 |
| 黄淮夏大豆 HSu | — | — | 52.4 | — | — | 15.1 | — | 32.5 | 100.0 |
| 长江春大豆 CSp | — | — | — | 32.5 | 46.4 | 1.6 | — | 19.5 | 100.0 |
| 南方春大豆 SSp | 0.7 | — | 1.4 | 11.9 | 39.9 | 4.2 | 14.7 | 27.3 | 100.0 |
| 南方秋大豆 SAu | — | — | — | — | — | 81.6 | — | 18.4 | 100.0 |
| 南方夏大豆 SSu | — | — | 0.3 | — | 0.4 | 58.7 | 27.7 | 12.9 | 100.0 |

Abbreviations as in Table 2.

从品种分类的角度分析,8 种品种类型的品种在模型分组中的分布差别很大,南方秋大豆除分到混合组品种外,其他品种都分到 SSuM 组中;其次是黄淮夏大豆,分到 HSuM 和 SSuM 两个组中;长江春大豆和黄淮春分别到分到 3 个模型组中,北方春大

豆和东北春大豆分别分至 4 个模型组中,而以南方春大豆分的模型组最多,除 NSpM 外的 6 个模型组中都有分布。值得注意的是,夏大豆除 SSpSM 组有极低比例(0.4%)外,全部都分布在以夏大豆为主的 HSuM、SSuM 或 SSuSM 组;而春大豆一般分布比较

广(表 3)。推测夏大豆可能是从春大豆衍生来的。

在表型分析方面,崔艳华等^[15]对黄淮夏大豆遗传多样性进行分析发现,利用农艺性状聚类时,材料可根据种皮色划分为两大类群。种皮色、生育期、粒大小相同的材料聚在一起。这表明,大豆分类中的各生态类型,将种皮色、生育期、粒大小作为分群的要素进行分组的原则是有效的,能够反映大豆的遗传特点以及区域特性。

上述结果表明,各品种类型内的绝大多数品种具有其共性,但有些品种也极具个性,为基于品种分类的(微)核心种质构建及品种利用提供了依据。

2.1.3 取样比例的代表性检测 核心种质的代

表性实质上就是等位变异的代表性。在构建核心种质的过程中,获得了不同类型、不同样本数量大豆种质资源的遗传多样性参数(表 4),如果将表 4 中各研究样本的数量和等位变异的数量都转换为比例,从图 2 可以看出,在一定样本的数量范围内,随着样本数量的增加,等位变异数量也呈增加的趋势,但当样本数量超过 586 份(序号 8)时,等位变异数量的增加比例远远小于样本数量增加的比例,虽然其样本量来自同一生态区,但其数值仍介于表 1 中取样比例 2%~3%的样本数之间,由此推测,如果代表总体 70%的遗传变异时,所用的样本数量可能相对比较小。

表 4 不同类型大豆的 SSR 标记的遗传多样性
Table 4 Genetic diversity among various soybean types

| 序号 Serial No. | 种质来源 Source of germplasm | 样本数 (份) No. of sample | 位点数 (个) No. of SSR loci | 每个位点等位变异 数(个) Alleles per locus | | 每个位点的遗传多样性指数 Simpson(Shannon-weaver) genetic diversity coefficient | | 平均相似 系数 Mean coefficient of similarity | 参考文献 Reference |
|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-------------|--|------------------|--|-----------------------------|
| | | | | 范围 Range | 平均数 Mean | 变化范围 Range | 平均数 Mean | | |
| | | | | | | | | | |
| 1 | 东北春大豆 NESp | 283 | 61 | 2–16 | 8.8 | 0.406–0.886 | 0.704 | – | Luan et al. ^[11] |
| 2 | 东北春大豆 NESp | 478 | 60 | 2–27 | 13.8 | 0.480–0.959 | 0.758 | – | Wang et al. ^[12] |
| 3 | 北方春大豆 NSp | 26 | 45 | 2–13 | 5.9 | – | 0.695 | – | Lin et al. ^[13] |
| 4 | 北方春大豆 NSp | 545 | 60 | 2–31 | 14.8 | 0.426–0.978 | 0.788 | – | Wang et al. ^[12] |
| 5 | 黄淮夏大豆 HSu | 80 | 67 | 2–13 | 6.2 | 0.387–0.886 | 0.708 | – | Xie et al. ^[14] |
| 6 | 黄淮夏大豆 HSu | 96 | 49 | 3–20 | 10.6 | 0.531–0.920 (1.070–2.731) | 0.815 (1.968) | 0.166 | Cui et al. ^[15] |
| 7 | 黄淮夏大豆 HSu | 142 | 60 | 2–35 | 12.1 | 0.340–0.910 | 0.760 | 0.234 | Li et al. ^[16] |
| 8 | 黄淮夏大豆 HSu | 586 | 60 | 2–36 | 16.3 | 0.500–0.930 | 0.777 | – | Wang et al. ^[17] |
| 9 | 南方大豆 Southern soybean | 206 | 60 | – | 12.3 | – | (1.754) | 0.270 | Guan et al. ^[18] |
| 10 | 南方大豆 Southern soybean | 70 | 60 | – | 10.6 | – | (1.792) | 0.250 | Guan et al. ^[18] |
| 11 | 南方大豆 Southern soybean | 191 | 60 | 2–25 | 11.1 | (0.288–2.638) | (1.664) | 0.290 | Piao et al. ^[19] |
| 12 | 南方夏大豆 SSu | 146 | 60 | 2–32 | 12.2 | 0.150–0.930 | 0.730 | 0.268 | Li et al. ^[16] |
| 13 | 南方夏大豆 SSu | 78 | 67 | 2–15 | 6.3 | 0.189–0.884 | 0.687 | – | Xie et al. ^[14] |
| 14 | 长江春大豆 CSp | 184 | 60 | 2–16 | 12.5 | 0.310–0.930 | 0.770 | 0.227 | Wang et al. ^[17] |
| 15 | 南方春大豆 SSp | 360 | 60 | 2–29 | 14.5 | 0.357–0.916 | 0.782 | – | Wang et al. ^[12] |
| 16 | 全国春大豆 Spring soybean | 1383 | 60 | 2–38 | 18.5 | 0.456–0.928 | 0.815 | – | Wang et al. ^[12] |
| 17 | 全国 Soybeans from national wide | 129 | 60 | 4–29 | 12.2 | 0.500–0.920 | 0.780 | 0.770 | Wang et al. ^[28] |
| 18 | 全国 Soybeans from national wide | 190 | 60 | 6–17 | 10.0 | 0.550–0.990 | 0.830 | – | Wang et al. ^[30] |
| 19 | 全国 Soybeans from national wide | 1863 | 59 | 2–41 | 19.7 | – | – | – | Li et al. ^[35] |

NESp:North-East Spring; NSp: North Spring; HSp: Huanghuai Spring; HSu: Huanghuai Summer; CSp: Changjiang Spring; SSp: South Spring; SAu: South Autumn; SSu: South Summer.

2.1.4 低频率等位变异的代表性检测 本研究构建的大豆核心种质,能用占总体 2%的样本代表其预测总体 70%的等位变异,这与国外提出的占总体 10%的样本代表总体 70%等位变异相比,取样比例上有了很大的降低。这是否表明现存的大豆资源冗余较高呢?通过对大豆同名种质的分析^[36]可以看出,

我国大豆种质资源之间均存在差异,可重复性很小。这说明将核心种质的样本数量压缩到 2%,并非是由于我国大豆资源的重复保存所致,可能与保存资源的数量多有关。根据 SSR 数据对低频率等位变异进行分析发现,随取样比例的降低,特异等位变异在样本中的比例呈增加的趋势;小于 5%等位变异和

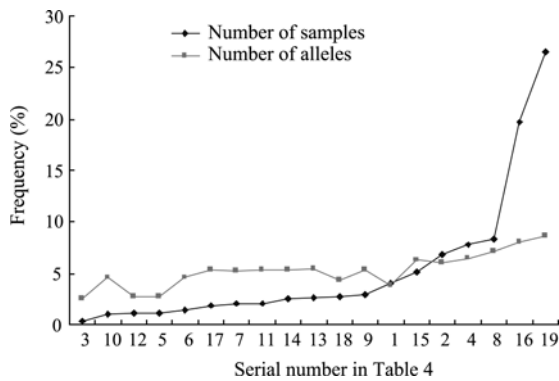


图 2 SSR 等位变异数(%)随样本量(%)增加的变化趋势
Fig. 2 Changes of SSR alleles(%) with the increase(%) of sample size

小于 1% 等位变异这两种低频率等位变异随着取样比例的降低而降低,但在取样比例为 1% 时,小于 5% 等位变异和小于 1% 等位变异的比率仍保留 70% 以上(图 3)。由于样本的压缩,特异等位变异的比率在不断增高,尤其是取样比例小于 1% 时,升高的比率也在明显提高。上述结果表明,取样比例越低,不同等位变异的均衡性越高,微核心种质中低频率等位变异对总体也具有代表性。

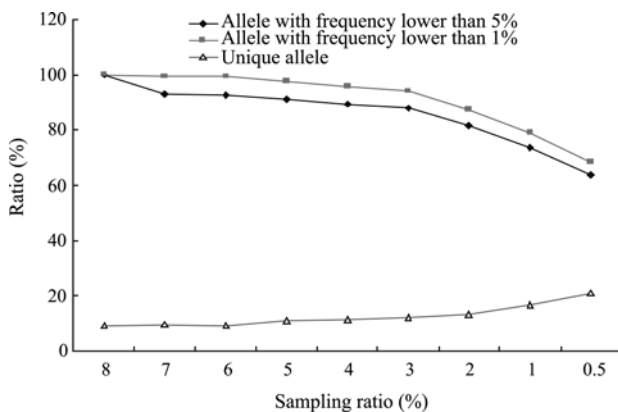


图 3 低频率等位变异在不同样本中所占的比例
Fig. 3 Frequency changes of alleles with ratio lower than 1% or 5% or unique allele in different samples

2.2 利用随机抽样检测核心种质的代表性

在核心种质和微核心种质的构建过程中,通过随机抽样方式,对不同数量的种质进行了代表性检测。在初选核心种质水平,对黄淮夏大豆进行了分析^[15],4 923 份黄淮夏大豆种质与从中选出的 428 份黄淮夏大豆初选核心种质进行 9 个质量性状和 5 个数量性状的变异参数比较,二者基本一致,14 个性状的遗传多样性指数差异不显著,结果表明初选核心种质能够代表资源总体的遗传多样性。在核心种质水平上,张跃强等^[37]利用大豆核心种质部分样本

鉴定 28K 和 30K 过敏蛋白缺失材料,发现栽培大豆核心种质 28K 过敏蛋白缺失比率的变化趋势与栽培大豆保留种质(非核心种质)规律基本相同,在 3 个生态区的 28K 过敏蛋白缺失比率差异均不显著,说明核心种质在 28K 过敏蛋白缺失这个性状上具有代表性。利用 59 对 SSR 引物分析,与 56 份保留种质相比,80 份核心种质样本间的相似系数变异范围大,且种质间的相似系数较小的种质比例高,表明缺失 28K 过敏蛋白种质的遗传差异较大,遗传基础较为广泛,而且核心种质的遗传基础较保留种质广泛。优异资源的发掘也从性状鉴定角度证明了核心种质的代表性。

3 大豆核心种质和微核心种质的利用研究

3.1 优异性状鉴定及新基因发掘

核心种质因其规模小,剪表性强,有利于开展种质资源的鉴定和评价,具有较大的实用价值。近年来,国外利用微核心种质对鹰嘴豆避旱性^[38]、木豆的抗旱性^[39]、鹰嘴豆对 4 种病害的抗性^[40]、花生的优质(高油酸/亚油酸比)^[41]和小麦高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)^[42]等优良性状进行鉴定,已有成功的报道。Bhandari 等^[43]用苜蓿核心种质中高产群体进行相互杂交,能产生高比例的高产杂交种。在构建大豆核心种质的同时,我们开展了优异性状鉴定研究,从中发掘出缺失 28K 过敏蛋白^[37]、 β 蛋白亚基低含量^[44]、A3 蛋白亚基低含量^[44]等具有优异特性的种质,并用于基因定位等研究。

3.2 种质创新及新品种培育

基于核心种质的回交是育种、种质创新和基因发掘的有效方法。通过表型和 SSR 标记的系统研究,建立了主要由未被利用的地方品种组成的大豆微核心种质。为了充分发挥这些种质在大豆新品种选育中的作用,大豆育种单位利用当地的大豆优良品种为受体,与大豆微核心种质进行杂交和回交,培育大豆微核心种质的渗入系或导入系,近几年研究表明,微核心种质中的地方品种用优良品种回交 2 次,其不利性状如倒伏性、抗病性等可有效地得到改良。郭娟娟等^[45]分析 2005 年以前利用十胜长叶育成的 195 个大豆品种的基本特征,并在系谱分析的基础上计算了十胜长叶对每个育成品种的遗传贡献率,发现遗传贡献率为 12.50%、6.25%和 25.00%的衍生品种数最多,占衍生品种总数的 77.30%,说明十胜长叶的利用以至少三交效果比较好,通过复交可有

利于聚合国内外品种的优良特性。这表明培育大豆新品种,其外来血缘不宜占过高的比例,为微核心种质的回交育种策略制定提供了间接证据。目前,已用于回交导入系培育的受体品种包括曾获国家科技进步二等奖的绥农14、目前居全国推广面积第一的中黄13、获河北省科技进步二等奖的冀豆12等优良品种。部分单位利用微核心种质进行回交转育而培育的优良品系已在增产潜力方面初显成效。可见,基于微核心种质的品种培育策略对保持优良品种的持续利用具有重要意义,这项工作将成为今后大豆品种改良的重要育种方法之一。

4 讨论与展望

4.1 大豆遗传多样性分布特点

通过大豆初选核心种质的SSR标记鉴定发现,我国栽培大豆的遗传多样性分布是以陕西南部为主要中心,呈辐射状向四周扩散,随着与遗传多样性中心实际距离的加大,遗传多样性呈降低趋势。在湖南北部、河北北部和吉林北部,分别形成3个遗传多样性次生中心,但次生中心的遗传多样性显著低于主要中心及其邻近地区。遗传多样性中心的确定不仅为我国栽培大豆优异种质资源的筛选与利用提供了指导,也为我国栽培大豆起源地与演化关系的研究提供了分子依据^[17]。尽管多数地理来源相同的种质往往聚在一起,但来源相同的种质也有分别聚在不同类别的情况,尤其是存在明显的遗传结构^[35],说明大豆品种资源的遗传多样性广泛存在。因此,在相同生态区种植类型的品种之间存在的遗传多样性是我国拓宽大豆品种遗传基础最常用的一种方式,但是,还应充分重视不同生态区品种之间的遗传多样性在育种中的利用。需要特别注意的是,在利用不同生态区品种时,应选择遗传结构有差异的品种,从而起到拓宽大豆品种遗传基础的作用。

4.2 大豆核心种质利用方式

不同比例大豆核心种质为根据不同需要及研究能力提供了多种选择的适宜样本量。上述大豆核心种质由于包含尽可能多的不同性状的样本,导致具有同一性状的种质数量剧减。因此,对抗菌核病、光周期不敏感等优异性状进行研究时,如果以核心种质为样本进行鉴定,有助于了解该性状在资源中的分布特点,在此基础上可根据其规律,从大豆资源总体中有目的选择更多的种质开展鉴定,进而提高鉴定效率。从这个意义上讲,核心种质是其从总

体选择适宜样本进行研究的指南针。除上述浓缩遗传多样性的核心种质^[31,46]外,为了满足育种对优异性状深入研究的需求,到目前为止,还构建了应用核心种质,包括抗大豆胞囊线虫核心种质^[47]、抗大豆花叶病毒病核心种质^[48]、大豆磷效率核心种质^[49],并初步构建了耐盐核心种质、高油核心种质、高蛋白核心种质、大粒核心种质等,为大豆资源的新基因发掘与利用奠定了材料基础。与野生大豆相比,栽培大豆的利用相对比较便利,尤其是相同来源的种质在适应性方面具有更容易被利用的特点。

4.3 大豆基因多样性鉴定与新基因发掘

大豆核心种质的表型及分子标记鉴定,尤其是基因多样性分析,为新基因发掘创造了条件。最新研究表明,利用分布各连锁群的SSR标记对大豆微核心种质进行连锁不平衡和关联分析,可筛选出与株高、成熟期、百粒重、蛋白质含量、油含量相关的标记,其中有些标记具有一因多效的作用。利用我国最新整合的最密集遗传作图和美国新公布的基因组序列比对发现,大豆全基因组遗传距离长度约为2 000 cM。为了提高基因发掘的效率,目前正在开展大豆微核心种质的分子标记鉴定研究,计划增加鉴定标记数目后使标记间的平均距离达到5 cM,结合对表型进行多年多点重复鉴定数据进行关联分析,期望实现重要性状新基因的大规模发掘。

References

- [1] Brown A H D. Core collections: A practical approach to genetic resources management. *Genome*, 1989, 31: 818-824
- [2] Frankel O H, Brown A H D. Current Plant Genetic Resources—a Critical Appraisal. In: *Genetics: New Frontiers* (Vol. IV). New Delhi, India: Oxford and IBH Publishing, 1984
- [3] Gizlcel Z. Genetic base for North American public soybean cultivars released between 1947-1988. *Crop Sci*, 1994, 34: 1143-1147
- [4] Lorenzen L L, Boutin S, Young N, Specht J E, Shoemaker R C. Soybean pedigree analysis using map-based molecular markers: I. Tracking RFLP markers in cultivars. *Crop Sci*, 1995, 35: 1326-1336
- [5] Yaklich R W, Helme R M, Cockrell G, Herman E M. Analysis of the distribution of the major soybean seed allergens in a core collection of glycine max accessions. *Crop Sci*, 1999, 39: 1444-1447
- [6] Gai J Y. Origin, description and pedigree of Chinese soybean cultivar release from 1923 to 1995. United States Department of Agriculture, Technical Bulletin 1871, 1999
- [7] Chang R-Z(常汝镇). Study on genetic resources of soybean in

- China: I. Growth period of genetic resources of soybean in different cultural area. *J Plant Genet Resour* (作物品种资源), 1989, 28(2): 4–6 (in Chinese)
- [8] Chang R-Z(常汝镇). Study on genetic resources of soybean in China: II. Traits of seed for soybean cultivars in different cultural area. *J Plant Genet Resour* (作物品种资源), 1989, 30(4): 11–14(in Chinese)
- [9] Chang R-Z(常汝镇). Study on genetic resources of soybean in China: III. Feature of distribution for growth habit and pods habit of soybean. *J Plant Genet Resour* (作物品种资源), 1990, 32(2): 1–2(in Chinese)
- [10] Chang R-Z(常汝镇). Study on genetic resources of soybean in China: IV. Trait of plant for genetic resources of soybean in different area. *J Plant Gene Resour* (作物品种资源), 1990, 32(2): 10–11(in Chinese)
- [11] Luan W-J(栾维江), Liu Z-X(刘章雄), Guan R-X(关荣霞), Chang R-Z(常汝镇), He B-R(何蓓如), Qiu L-J(邱丽娟). Representative and genetic diversity at SSR loci for northeast spring sowing soybeans. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2005, 16(8): 1469–1476(in Chinese with English abstract)
- [12] Wang L X, Lin F Y, Luan W J, Li W, Guan R X, Li Y H, Ma Y S, Liu Z X, Chang R Z, Qiu L J. Genetic diversity of Chinese spring soybean germplasm revealed by SSR markers. *Plant Breed*, 2008, 127: 56–61
- [13] Lin F-Y(林凡云), Qiu L-J(邱丽娟), Chang R-Z(常汝镇), He B-R(何蓓如). Genetic diversity of landrace and bred varieties of soybean in Shaanxi Chinese. *J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 2003, 25(3): 24–29 (in Chinese with English abstract)
- [14] Xie H, Guan R X, Chang R Z, Qiu L J. Genetic diversity of the summer soybean germplasm in China revealed by SSR markers. *Chin Sci Bull*, 2005, 50: 526–536
- [15] Cui Y-H(崔艳华), Qiu L-J(邱丽娟), Chang R-Z(常汝镇), Lü W-H(吕文河). A study of genetic diversity of Huanghuai summer sowing soybean in China. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2004, 37(1): 15–22 (in Chinese with English abstract)
- [16] Li L-H(李林海), Qiu L-J(邱丽娟), Chang R-Z(常汝镇), He X-L(贺学礼). Differentiation and genetic diversity of SSR molecular markers for huanghuai and southern summer sowing soybean in China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31: 777–783(in Chinese with English abstract)
- [17] Wang L-X(王丽侠). Establishment of Core Collection and Analyses of Genetic Diversity in Soybean. PhD Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2003 (in Chinese with English abstract)
- [18] Guan Y(关媛), E W-D(鄂文弟), Wang L-X(王丽侠), Guan R-X(关荣霞), Liu Z-X(刘章雄), Chang R-Z(常汝镇), Qu Y-Y(曲延英), Qiu L-J(邱丽娟). Analysis of factors influencing the genetic diversity evaluation using two soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] collections from Hunan and Hubei. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(3): 461–468 (in Chinese with English abstract)
- [19] Piao R-H(朴日花), Liu Z-X(刘章雄), Guan R-X(关荣霞), Chang R-Z(常汝镇), Hao Z-B(郝再彬), Qiu L-J(邱丽娟). Genetic diversity of southern summer soybean in Chinese coastal revealed by SSR markers. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), 2005, 13(4): 435–440(in Chinese with English abstract)
- [20] Institute of Oil Crop in Chinese Academy of Agricultural Sciences (中国农业科学院油料作物研究所主编). Catalog of Chinese Soybean Germplasm Resources (中国大豆品种资源目录). Beijing: Agriculture Press, 1980. pp 1–124(in Chinese)
- [21] Institute of Crop Germplasm Resources in Chinese Academy of Agricultural Sciences (中国农业科学院作物品种资源研究所主编). Catalog of Chinese Soybean Germplasm Resources(continued 1)[中国大豆品种资源目录(续编一)]. Beijing: Agriculture Press, 1991. pp 1–60(in Chinese)
- [22] Institute of Crop Germplasm Resources in Chinese Academy of Agricultural Sciences (中国农业科学院作物品种资源研究所主编). Catalog of Chinese Soybean Germplasm Resources(continued 2) [中国大豆品种资源目录(续编二)]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 1996. pp 1–38(in Chinese)
- [23] Qiu L-J(邱丽娟), Chang R-Z(常汝镇), Chen K-M(陈可明), Xie H(谢华), Li X-H(李向华), Guan R-X(关荣霞), Sun J-Y(孙建英). Analysis of conservation and regeneration statues for Chinese soybean germplasm. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2002, 3(2): 34–39(in Chinese with English abstract)
- [24] Pu M-H(卜慕华), Pan T-F(潘铁夫). Discussion of Chinese soybean cultivation region. *Soybean Sci* (大豆科学), 1982, 1(2): 105–121(in Chinese)
- [25] Wang J-L(王金陵), Wu Y-X(武镛祥), Wu H-L(吴和礼), Sun S-C(孙善澄). Analysis on photoperiod ecotypes of cultivated soybean in various latitudes in China. *Acta Agric Sin* (农业学报), 1956, 7(2): 169–180(in Chinese)
- [26] Wang G-X(王国勋). Principle, system, character basis and criteria of Chinese cultivated soybean classification. In: Zhang Z-J(张子金) ed. Chinese Soybean Breeding and Cultivation (中国大豆育种与栽培). Beijing: Agriculture Press, 1987. pp 180–214(in Chinese)
- [27] Qiu L-J(邱丽娟), Cao Y-S(曹永生), Chang R-Z(常汝镇), Zhou X-A(周新安), Wang G-X(王国勋), Sun J-Y(孙建英), Xie H(谢华), Zhang B(张博), Li X-H(李向华), Xu Z-Y(许占友), Liu L-H(刘立宏). Establishment of Chinese soybean (*Glycine max*) core collection: I. Sampling strategy. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36: 1442–1449(in Chinese with English abstract)
- [28] Wang L X, Guan R X, Liu Z X, Chang R Z, Qiu L J. Genetic diversity of Chinese cultivated soybean revealed by SSR markers. *Crop Sci*, 2006, 46: 1032–1038
- [29] Xie H(谢华), Chang R-Z(常汝镇), Cao Y-S(曹永生), Zhang M-H(张明恢), Feng Z-F(冯忠孚), Qiu L-J(邱丽娟). Selection of core SSR loci by using Chinese autumn soybean. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36: 360–366(in Chinese with English abstract)
- [30] Wang B(王彪), Chang R-Z(常汝镇), Tao L(陶莉), Guan R-X(关荣霞), Yan L(闫丽), Zhang M-H(张明恢), Feng Z-F(冯忠孚),

- Qiu L-J(邱丽娟), Identification of SSR primer numbers for analyzing genetic diversity of Chinese cultivated soybean. *Mol Plant Breed* (分子植物育种), 2003, 1(1): 82–88(in Chinese with English abstract)
- [31] Wang L X, Guan Y, Guan R X, Li Y H, Ma Y S, Dong Z M, Liu X, Zhang H Y, Zhang Y Q, Liu Z X, Chang R Z, Xu H M, Li L H, Lin F Y, Luan W J, Ya N Z, Ning X C, Zhu L, Cui Y H, Piao R H, Liu Y, Chen P Y, Qiu L J. Establishment of Chinese soybean (*Glycine max*) core collections with agronomic traits and SSR markers. *Euphytica*, 2006, 151: 215–223
- [32] Qiu L-J(邱丽娟), Nelson R L, Vodkin L O. Evaluation of soybean germplasm of random amplification of polymorphic (RAPD) markers. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1997, 23(4): 408–4169 (in Chinese with English abstract)
- [33] Guan R-X(关荣霞). QTL Mapping of Soybean Agronomic Characters and Genetic Diversity Analysis of Soybean Cultivars From China and Japan. Postdoctor Research Report, 2004 (in Chinese with English abstract)
- [34] Song X-E(宋喜娥). Genetic Diversity of Mini Core Collection of *Glycine max* and *Glycine soja* in China. PhD Dissertation of Shanxi Agricultural University, 2008 (in Chinese with English abstract)
- [35] Li Y H, Guan R X, Ma Y S, Wang L X, Li L H, Lin F Y, Luan W J, Chen P Y, Yan Z, Guan Y, Zhu L, Ning X C, Smulders M J M, Li W, Piao R H, Cui Y H, Yu Z M, Guan M, Chang R Z, Liu Z X, Hou A F, Shi A N, Zhang B, Zhu S L, Qiu L J. Genetic structure and diversity of cultivated soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] landraces in China. *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 857–871
- [36] Yan Z(严哲), Chang R-Z(常汝镇), Liu Z-X(刘章雄), Qiu L-J(邱丽娟). Analysis of similarity and difference of various collections of soybean variety Mancangjin by using agronomic traits and SSR markers. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2003, 4: 128–133(in Chinese with English abstract)
- [37] Zhang Y-Q(张跃强), Guan R-X(关荣霞), Liu Z-X(刘章雄), Chang R-Z(常汝镇), Yao Y-S(姚源松), Qiu L-J(邱丽娟). Identification of Gly m Bd 28K and Gly m Bd 30K lacking soybean by using random sampling of core collection in soybean. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2006, 32(3): 324–329(in Chinese with English abstract)
- [38] Kashiwagi J, Krishnamurthy L, Upadhyaya H D, Krishna H, Chandra S, Vadez V, Serraj R. Genetic variability of drought-avoidance root traits in the mini-core germplasm collection of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica*, 2005, 146: 213–222
- [39] Upadhyaya H D, Reddy K N, Gowda C L L, Singh S. Phenotypic diversity in the pigeonpea (*Cajanus cajan*) core collection. *Genet Resour Crop Evol*, 2006, 54: 1167–1184
- [40] Pande S, Kishore G K, Upadhyaya H D, Rao J R. Identification of sources of multiple disease resistance in mini-core collection of chickpea. *Plant Dis*, 2006, 90: 1214–1218
- [41] Chua Y, Ramosa L, Holbrook C C, Ozias-Akins P. Frequency of a Loss-of-function mutation in oleoyl-PC desaturase (ah-FAD2A) in the mini-core of the U.S. peanut germplasm collection. *Crop Sci*, 2007, 47: 2372–2378
- [42] Zhang X Y, Pang B S, You G X, Wang L F, Jia J Z, Dong Y C. Allelic variation and genetic diversity at *Glu-1* loci in Chinese wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasms. *Agric Sci China*, 2002, 1: 1074–1082
- [43] Bhandari H S, Pierce C A, Murray L W, Ray I M. Combining abilities and heterosis for forage yield among high-yielding accessions of the alfalfa core collection. *Crop Sci*, 2007, 47: 665–671
- [44] Wang L-L(王林林), Guan R-X(关荣霞), Qi Z(齐峰), Qiu L-J(邱丽娟), Luo S-P(罗淑萍). Analysis of 11S/7S ratio between soybean mini core collection and cultivars. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2008, 9(1): 68–72(in Chinese with English abstract)
- [45] Guo J-J(郭娟娟), Chang R-Z(常汝镇), Zhang J-X(章建新), Zhang J-S(张巨松), Guan R-X(关荣霞), Qiu L-J(邱丽娟). Contribution analysis of Japanese soybean germplasm Tokachi-Nagaha to Chinese soybean cultivars. *Soybean Sci* (大豆科学), 2007, 26(6): 807–819(in Chinese)
- [46] Wang L-X(王丽侠), Li Y-H(李英慧), Li W(李伟), Zhu L(朱莉), Guan Y(关媛), Ning X-C(宁学成), Liu Z-X(刘章雄), Guan R-X(关荣霞), Chang R-Z(常汝镇), Qiu L-J(邱丽娟). Establishment of a core collection of Changjiang spring sowing soybean. *Biodiversity* (生物多样性), 2004, 12: 578–585 (in Chinese with English abstract)
- [47] Ma Y S, Wang W H, Wang L X, Qiu L J. Genetic diversity of soybean and establishment of a core collection focused on resistance to soybean Cyst Nematode. *J Integr Plant Biol*, 2006, 48: 722–731
- [48] Mi S-J(密士军), Qiu L-J(邱丽娟), Chang R-Z(常汝镇), Hao Z-B(郝再斌), Guan R-X(关荣霞). Genetic diversity analysis of varieties of *Glycine max* (L.) Merr. resistant to soybean mosaic virus by SSR fingerprints. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 2004, 34(3): 244–253(in Chinese with English abstract)
- [49] Zhao J, Fu J B, Liao H, He Y, Nian H, Hu Y M, Qiu L J, Dong Y S, Yan X L. Characterization of root architecture in an applied core collection for phosphorus efficiency of soybean germplasm. *Chin Sci Bull*, 2004, 49: 1611–1620