

# 黄淮海地区新育成大豆品系 SSR 标记多样性分析

金尚昆,朱玉萍,缪依琳,孔可可,孔杰杰,赵团结

(南京农业大学 大豆研究所/国家大豆改良中心/农业部大豆生物学与遗传育种重点实验室(综合)/作物遗传与种质创新国家重点实验室,江苏 南京 210095)

**摘要:**分子标记基因型分析是作物品种多样性评估、优异种质发掘与有效利用的重要手段。本研究利用覆盖大豆全基因组的 60 个微卫星(SSR)分子标记对以黄淮海地区新近育成品系为主的 284 份大豆材料进行基因型分析,以揭示我国黄淮海地区近期大豆育成品系的遗传多样性特点。结果表明:在供试群体中,60 个标记共检测出 363 个等位变异,每个位点平均有 6.05 个;PIC 指数变异范围为 0.297~0.849,平均为 0.614。黄淮海地区大豆新品系平均每个位点等位变异为 5.75,PIC 指数平均为 0.604,表现出较高的多样性水平;不同省区中,北京、河北材料多样性最高。基于 SSR 数据的聚类分析,可将供试材料分为 5 大类,聚类结果与品系的地理来源相关。进一步选出 8 对 SSR 引物能够区分供试材料,可用于构建指纹图谱。

**关键词:**大豆;新品系;微卫星标记;遗传多样性;指纹图谱

**中图分类号:**S565.1      **文献标识码:**A      **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2018.02.0173

## SSR Marker Diversity of Newly Developed Soybean Breeding Lines from Huang-Huai-Hai Region

JIN Shang-kun, ZHU Yu-ping, MIAO Yi-lin, KONG Ke-ke, KONG Jie-jie, ZHAO Tuan-jie

(Soybean Research Institute/National Center for Soybean Improvement/Key Laboratory for Biology and Genetic Improvement of Soybean (General)/ Ministry of Agriculture/National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Genotyping analysis of molecular markers is an important way to evaluate the diversity of crop varieties, discover and effectively utilize elite germplasm. The objective of this study is to reveal the genetic basis of newly developed soybean lines/cultivars in Huang-Huai-Hai area. Total 60 microsatellite (SSR) molecular markers distributing evenly through soybean genome were used to genotype 284 lines. A total of 363 alleles were detected for the 60 SSR markers, with an average allele variation of 6.05 for each locus. The PIC index ranged from 0.297 to 0.849 with an average of 0.614. The average allele variation of soybean lines in Huang-Huai-Hai area was 5.75, and the PIC index was 0.604, showing a high diversity. In different provinces, Beijing and Hebei showed the highest diversity. Based on SSR data clustering analysis, the test materials could be divided into five clusters, the clustering result was related to the geographical origin. Eight pairs of SSR primers were selected to build the fingerprints of all 284 lines, these marker allele combinations could distinguish all those materials.

**Keywords:** Soybean; New breeding lines; Microsatellite marker; Genetic diversity; Fingerprint

黄淮海地区是我国大豆主产区之一,以夏播大豆为主。研究表明该地区品种类型丰富,农艺、产量等性状具有较高的多样性<sup>[1-3]</sup>;基于系谱的研究发现品种血缘主要来自齐黄 1 号、莒选 23、58-161、徐豆 1 号等骨干亲本,但不同省区品种基于系谱的遗传基础又各有特点<sup>[1,4]</sup>。另一方面,简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)作为一种便捷标记已广泛用于研究大豆种质资源间的遗传关系、揭示优异种质的遗传基础<sup>[5-8]</sup>。王彩洁等<sup>[9]</sup>根据我国东北和黄淮海地区不同年代大面积种植的 89 个品种 125 个 SSR 标记数据,发现来自 2 个主产区的材料基本可分开,黄淮海地区品种进一步分成 3 个亚类,并与系谱分析的结果一致;还发现同一区域内大面

积种植品种的同质化现象相当明显。通过分子标记分析揭示现今大豆品种系的遗传基础对拓宽大豆遗传基础、筛选优异亲本具有重要指导意义。

育成品种和品系已成为最重要的大豆亲本类型<sup>[4]</sup>。国家大豆良种重大科研协作攻关项目黄淮海地区联合鉴定试验汇集了该地区主要育种单位新近出圃的一批优良品种(系),其具有较好的地理和材料代表性,利用潜力大。本研究拟对这些材料进行 SSR 标记分析,并结合与北方春大豆和南方品种(系)的比较,研究其遗传多样性特点,并筛选标记构建指纹图谱,以期揭示黄淮海地区近期大豆品种遗传基础,也为这些材料的育种利用提供分子标记信息。

收稿日期:2017-09-11

**基金项目:**国家大豆良种重大科研协作攻关项目;国家大学生创新性实验计划项目(201610307015);江苏省现代作物生产协同创新中心项目(JCIC-MCP)。

**第一作者简介:**金尚昆(1996-),男,学士,主要从事大豆分子育种研究。E-mail: 32214318@njau.edu.cn。

**通信作者:**赵团结(1969-),男,博士,教授,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: tjzhao@njau.edu.cn。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料

研究选用 284 份大豆育成品种(系)(表 1),其中 2014–2015 年参加国家良种攻关项目黄淮海地区联合鉴定的新品系共 221 份,来自安徽、北京、河北、河南、江苏、山东、山西、陕西、甘肃等省市;还包括 26 份北方春大豆品种(系),来自黑龙江、吉林、内蒙古、美国;37 份南方春夏播大豆品种(系),来自广东、广西、湖北、江苏、上海、浙江。

## 1.2 基因组 DNA 提取及 SSR 扩增

选用 4~5 叶期的大豆幼嫩叶片,按照 CTAB<sup>[10]</sup>法提取各供试材料的基因组 DNA。利用平均分布在 20 条大豆染色体上的 60 对 SSR 引物,对供试材料的

基因组 DNA 进行 PCR 扩增。PCR 总体系为 10 μL,包括:3.0 μL 10 ng·μL<sup>-1</sup> DNA 模板、1.5 μL 10×Buffer、0.8 μL 25 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>、0.2 μL 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP、0.1 μL 5 U·μL<sup>-1</sup> Taq DNA polymerase、1.4 μL ddH<sub>2</sub>O、3.0 μL 2×10<sup>-3</sup> mmol·L<sup>-1</sup> primer。PCR 反应条件为:95℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,55℃退火 40 s,72℃延伸 40 s,共 33 次循环,72℃延伸 10 min,4℃保存。PCR 产物经 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,在 220 V 恒定电压下电泳 45~60 min,银染后观察。

用 Bio-Rad 的 Quantity One 软件,根据晶美生物工程公司生产的 pBR322DNA/BsuRI (Hae III) Marker 测定扩增条带的分子量大小,而后进行凝胶成像扫描保存图像。

表 1 供试的 284 份中国大豆育成品种(系)

Table 1 The tested 284 soybean cultivars( lines) released in China

来源地 Origin	材料 Material
北方春 NSP	北豆( Beidou)40,42,48;东农( Dongnong)4211,59,60,6097,61,62;垦豆( Kendou)45,58,59;垦丰( Kenfeng)16,牡豆( Mudou)406,407,9号,牡试( Mushi)410;吉育( Jiyu)406,701,702;登科( Dengke)5号,呼交( Hujiao)11-322,1465,蒙豆( Mengdou)36, Williams 82, Jack
南方 SC	绿领( Lyuling)1号;苏豆( Sudou)5号,6号,7号;南农( Nannong)493-1,86-4,88-31,94-156,26,32,33,34,38,39;菜豆( Caidou)6号;苏鲜豆( Suxiandou)19,20,21;通豆( Tongdou)2006,6号,7号,8号;通酥( Tongsu)1号;沪宁( Huning)96-10;浙鲜豆( Zhexiandou)3,4号,5号;天隆( Tianlong)1号;油( You)1511;中豆( Zhongdou)14-3,14-6;桂春豆( Guichundou)104,105,106;华南( Huanan)13004,14002,14006
北京 BJ	北农( Beinong)106;科豆( Kedou)1号,6号,7号,10号,11,13;中黄( Zhonghuang)12,306,309,317,37,46,60,61,63,64,65,68,72,908;中品( Zhongpin)14P001-06,14P031-36,14P055-60,663;中作( Zhongzuo)09-02,11-0,11-11,11-497,11-517,11-65,11-69,11-817,J13059,J13062,J13065,J13100,J13122,J13162,J13264,X025,X08110,X96058
河北 HB	HN0901,HN1029;沧( Cang)0605,0734,0826,09Y2;沧豆( Cangdou)10号;邯( Han)11-114,11-7,12-204,12-298,13-106,13-185,13-425,13-99;冀( Ji)09B5,12-A7,13-A8,14-10,14-11,14-3,14-8;冀豆( Jidou)12,17,22;石( Shi)1064,11098,1179,121073,12540,12917,12937,12952,135,13S081,273,620,868;石豆( Shidou)523
山西 SX	汾豆( Fendou)101,102,103,104,96,97,98,99;晋科( Jinke)3号;晋遗( Jinyi)53,55;陇黄( Longhuang)2号;11LD-61;陕垦豆( Shankendou)3号
山东 SD	荷( He)13-89,09-82;荷豆( Hedou)14,23号,30号;济( Ji)087129,098098,J13160,J14099,J14168;键达( Jianda)1号;鲁( Lu)0126;南圣( Nansheng)005,109,9403;品( Pin)8,10;齐黄( Qihuang)35;山宁( Shanning)11号;圣豆( Shengdou)1004,15,16,17,19,20,21,727,7号,8号;潍豆( Weidou)10501,20047,21143
河南 HN	安豆( Andou)1498,5393,6268,w002;泛( Fan)10C8,11A8,12A4,13A1,13B14;立地( Lidi)055;洛( Luo)1301,1419;洛豆( Luodou)1号;漯( Luo)4902,5901;濮豆( Pudou)1251,561,6122,793,G017;商豆( Shangdou)1201,1310,14,150,152,157,161;豫豆( Yudou)22;豫黑( Yuhei)7号;郑( Zheng)1307,1311,1427,1440,1498,15339,7051,9805;周( Zhou)08006-5-4-9,10074-10-1,11005-10-4-6,11019-2-1,11078-3-6;周豆( Zhoudou)22;驻豆( Zhudou)03-9
江苏 JS	东辛( Dongxin)3号;灌豆( Guandou)2号;淮豆( Huaidou)7号,8号,9号,10号,11;淮阴( Huaiyin)75;瑞豆( Ruidou)1号;泗豆( Sidou)13,520;徐( Xu)0117-21,021211,0212-28,0305-20,0315-2,9302-A,9601-2B;徐豆( Xudou)15,16,17,18
安徽 AH	HF230031, HF92010, HF92051;SK43,SK46;阜( Fu)07197,07268,0966,1610,1612;郅( Yun)10174;蒙( Meng)02-903,08105,1102,1158-1;皖豆( Wandou)21020,21551,21590,22265,22467,24,35,903,904,905;皖宿( Wansu)1329,1377

( )内为材料名称英文,下同。

The contents in brackets indicate the English name of the material, the same as below.

NSP: North spring-planting soybean; SC: Southern China; BJ: Beijing; HB: Hebei; SX: Shanxi; SD: Shandong; HN: Henan; JS: Jiangsu; AH: Anhui.

## 1.3 数据分析

1.3.1 丰富度 等位变异总数可用于表示群体内遗传多样性的指标,即丰富度。

1.3.2 多态性信息量 (polymorphism information content, PIC) 计算公式如下:

$$PIC_1 = 1 - \sum_{u=1}^k \tilde{p}_{lu}^2 - \sum_{u=1}^{k-1} \sum_{v=u+1}^k 2\tilde{p}_{lu}^2 \tilde{p}_{lv}^2$$

其中, $PIC_l$ 为第  $l$  位点  $PIC$  的平均值, $l = 1, 2, \cdots, 64, k$  为该位点等位变异总数, $p_{lu}$ 为第  $l$  位点等位变异  $u$  在群体的频率, $p_{lv}$ 为第  $l$  位点等位变异  $v$  在群体的频率, $u = 1, 2, \cdots, k - 1, v = u + 1, \cdots, k$ 。

1.3.3 聚类分析 根据 Nei 等<sup>[11]</sup>的遗传距离计算公式(如下),通过 Neighbor-Joining 算法进行无根树状遗传关系聚类。

$$D_A = 1 - \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{a_j} \sqrt{p_{ij}q_{ij}}$$

其中  $p_{ij}$ 、 $q_{ij}$  分别是两个群体在  $j$  位点第  $i$  个等位变异的频率, $a_j$  是在  $j$  位点等位变异数, $m$  是检测的等位变异总数。

以上结果均在在软件 PowerMarker V 3. 25<sup>[12]</sup> 上完成。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记多态性分析

利用 60 对 SSR 引物对 284 份大豆育成品种(系)进行 PCR 扩增,共检测出 363 个等位变异。不同位点等位变异数目不等,变化范围是 2 ~ 14 个,平均每个位点等位变异 6. 05 个。PIC 指数变异范围 0. 297 ~ 0. 849,平均为 0. 614。其中,Satt046 标记位点等位变异数最多,达 14 个;Sat\_172、Satt635、Satt285、Sat\_366 标记位点等位变异数最少,为 2 个(表 2)。

表 2 60 对 SSR 标记所在连锁群及其多样性

Table 2 60 SSR markers where the linkage group and its diversity

连锁群	标记	等位	多态	连锁群	标记	等位	多态	连锁群	标记	等位	多态
LG	Marker	变异数	信息量	LG	Marker	变异数	信息量	LG	Marker	变异数	信息量
	name	AN	PIC		name	AN	PIC		name	AN	PIC
A1	Satt382	6	0. 690	D1b	<b>Satt216</b>	10	0. 753	I	Satt239	6	0. 682
	Sat_385	4	0. 304		BE475343	10	0. 785		<b>Sat_420</b>	9	0. 792
	Sat_384	4	0. 532		Satt634	6	0. 704		Satt285	2	0. 309
A2	AW132402	5	0. 685	D2	Satt311	5	0. 531	J	Satt215	4	0. 558
	Sat_378	6	0. 695		<b>Satt186</b>	8	0. 717		Sat_366	2	0. 336
B1	<b>Satt426</b>	11	0. 785	E	Satt464	8	0. 747	K	Satt102	3	0. 476
	Satt597	8	0. 741		Satt651	4	0. 608		<b>Satt046</b>	14	0. 846
	Satt665	7	0. 581		Sat_172	2	0. 360		Sat_293	5	0. 576
B2	Satt474	7	0. 765	F	Satt706	8	0. 725	L	Satt182	3	0. 321
	Satt687	5	0. 622		Satt348	5	0. 624		Satt652	7	0. 578
	Satt168	4	0. 504		Satt659	7	0. 700		<b>Satt373</b>	10	0. 825
C1	Soygpatr	6	0. 625	G	Satt510	6	0. 566	M	Satt150	8	0. 695
	Satt194	5	0. 662		Satt309	5	0. 681		Satt245	4	0. 505
	Sat_311	7	0. 685		Satt324	5	0. 390		Satt323	5	0. 604
C2	Satt227	3	0. 406	H	Satt115	4	0. 481	N	Satt641	8	0. 591
	Satt322	3	0. 297		AF162283	4	0. 591		Satt675	6	0. 720
	Sat_312	5	0. 691		Satt635	2	0. 332		Sat_304	8	0. 761
D1a	<b>Sat_332</b>	9	0. 759	I	<b>Satt302</b>	10	0. 746	O	Sat_145	5	0. 495
	Satt436	6	0. 737		Satt434	5	0. 629		Satt345	11	0. 847
	Satt147	8	0. 710		Sat_174	5	0. 500		Satt592	5	0. 677

斜体加粗的为筛选出用于指纹图谱的 8 个标记。  
The names with italic and bold characters are 8 markers for fingerprint identification of the sample materials. LG;Linkage group; AN;Allele number; PIC;Polymorphism information content.

2.2 黄淮海大豆 SSR 标记多样性

黄淮海大豆新品系亚群体具有最高的 PIC 指数(0. 604),之后依次为北方春和南方(表 3),平均等位变异数也表现相同趋势。分省亚群中,北京亚群平均等位变异数和 PIC 指数最大,之后是河北和安徽(表 3),表明这个时期这些省份大豆育成新品系的亲本来源更广泛。山西、江苏新品系 SSR 遗传多样性相对较低。

2.3 基于 SSR 数据的聚类分析

使用“Neighbor-Joining tree”方法对供试材料进行遗传关系无根树状聚类,将供试材料分为 I ~ V 共 5 个群体,并进行地理亚群和聚类亚群的相关性

分析(表 4)。卡方测验结果表明 SSR 标记聚类亚群与地理分布位置有着极显著相关,说明地理亚群有其相对应的遗传基础。每一聚类亚群都以某些分省亚群为主,I 类亚群所包含品系数最少,有安徽和山东计 7 份材料;II 类亚群主要以河南、山东、河北为主;III 类亚群包含北方、北京、河北、山西、山东、河南、江苏各省少数材料;IV 类亚群包含品系以北方、南方和江苏为主;V 类包含品系数最多,主要以北京、河北、山东、河南、安徽等省市。这说明不同聚类亚群包含的分省亚群材料有所不同,但是差异不明显,主要是分布频率上的差异。

表 3 供试大豆育成品系 3 个地理生态亚群及主要分省亚群的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of geographic ecotype subpopulations and province subpopulations of the tested lines

指标 Indicator	统计量 Statistic	总样本 WS	三大生态区群体 Three major ecological areas			分省亚群 Province-based sub-population						
			北方春 NSP	黄淮海 HC	南方 SC	北京 BJ	河北 HB	山西 SX	山东 SD	河南 HN	江苏 JS	安徽 AH
	样本量 n	282	26	221	37	43	39	14	32	44	26	27
等位变异数	平均 Mean	6.05	3.88	5.75	3.63	5.33	4.82	3.60	4.22	4.5	3.82	4.27
Allele number	最小值 Min	3	2	2	2	2	2	1	3	2	2	2
	最大值 Max	14	9	14	8	12	10	7	9	7	7	9
多态性信息量	平均 Mean	0.614	0.530	0.604	0.463	0.606	0.581	0.517	0.540	0.519	0.498	0.536
PIC value	最小值 Min	0.297	0.071	0.284	0.120	0.319	0.206	0.000	0.131	0.055	0.136	0.136
	最大值 Max	0.894	0.830	0.854	0.828	0.825	0.835	0.820	0.834	0.795	0.784	0.830

WS: Whole sample; NSP: North spring-planting soybean; SC: Southern China; HC: Huanghuaihai China; BJ: Beijing; HB: Hebei; SX: Shanxi; SD: Shandong; HN: Henan; JS: Jiangsu; AH: Anhui. The same as below.

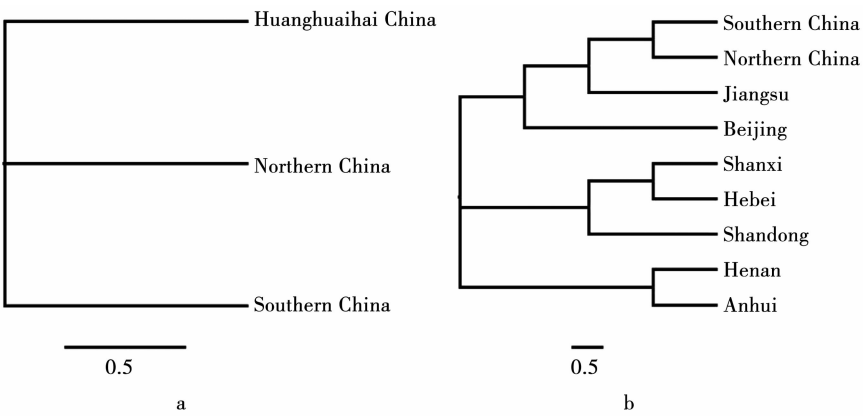
表 4 供试大豆育成品系主要分省亚群与 SSR 聚类亚群间关联分析

Table 4 Association between province-based subpopulations and SSR-clusters of the tested lines

分省亚群 Province-based sub-population	聚类亚群 Clustered subpopulation						$\chi^2$ 测验
	I	II	III	IV	V	合计 Total	$\chi^2$ test
北方春 NSP			2	24		26	$\chi^2 = 186.301$ $P < 0.005$
北京 BJ		6	9	9	19	43	
河北 HB		11	6	4	18	39	
山西 SX		1	3		10	14	$(\chi^2_{0.005} = 50)$
山东 SD	2	12	2		16	32	
河南 HN		21	4	4	15	44	
江苏 JS		3	1	15	3	26	
安徽 AH	5	7		2	13	27	
南方 SC		1		34	2	33	
合计 Total	7	62	27	92	96	284	

中国 3 个生态区,7 个黄淮海地区主要分省亚群分别进行聚类。中国三大生态区中北方、黄淮、南方群体间遗传关系彼此都保持一定距离,没有出现 2 个群体间较近而与第三个群体较远的情况(图 1-a)。7 个黄淮海地区主要分省亚群聚类(以北方

和南方品系作参照)结果表明:北方、南方、江苏省大豆亚群遗传关系较近,这与Ⅲ类亚群的聚类结果一致。安徽、河南与其他亚群遗传关系较远(图 1-b)。



Huanghuaihai China: 中国黄淮海; Northern China: 中国北方; Southern China: 中国南方; Jiangsu: 江苏; Beijing: 北京; Shanxi: 山西; Hebei: 河北; Shandong: 山东; Henan: 河南; Anhui: 安徽。

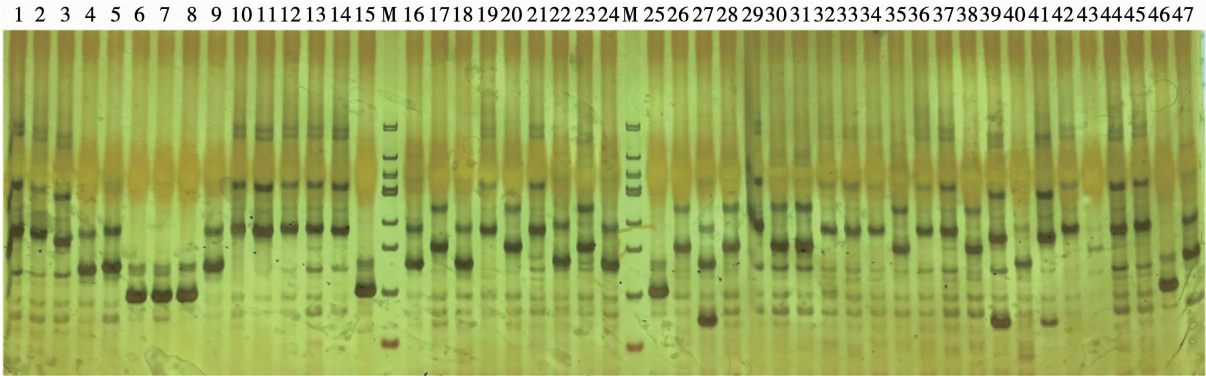
图 1 供试大豆育成品系 3 大地理生态亚群、分省亚群的 SSR 聚类关系

Fig. 1 SSR clustering relationships of three major geographical populations, province-based sub-populations of the tested lines

2.4 SSR 核心引物筛选和指纹图谱构建

本研究从 60 对引物中筛选出了多态性好,带型清楚的 8 对引物 Satt426、Sat\_332、Satt216、Satt186、Satt302、Sat\_420、Satt046、Satt373。以引物 Satt216 为例(图 2),其在 47 个大豆材料中的共有 6 个等位变异(63,69,99,126,147,180 bp 主带),条带分布差异明显,易于区分。这 8 个标记位于 8 条染色体上,对供试群体检测到的等位基因数和 PIC 值变幅为 8-

14,0.717-0.846(表 2)。按照刘峰等<sup>[13]</sup>方法对这 8 对引物进行有效性的理论验证: $N = G_1 \times G_2 \times G_3 \times \cdots \times G_n$ ( $N$  为区分最大品种数, $G_1$ 、 $G_2$ 、 $G_3 \cdots G_n$  为每对引物的等位变异数)。计算结果表明能够区分最大品种数目为 99 792 000,因此这 8 对引物构建的指纹图谱是能够完全区分供试材料。已建立了 284 份新品种(系)基于这 8 个标记的指纹数据库,可为进一步鉴定这些材料提供依据。



M;DNA 标记;自下到上的条带分别代表 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 bp 大小。  
1:蒙 02-903;2:安豆 5393;3:阜 07268;4:潍豆 20047;5:圣豆 727;6:南圣 9403;7:中作 11-65;8:中作 11-69;9:邯 12-204;10:中作 11-517;11:周 10074-10-1;12:皖宿 1377;13:皖宿 1329;14:中豆 14-3;15:中豆 14-6;16:泛 11A8;17:石 11098;18:科豆 10 号;19:驻豆 03-9;20:冀 14-8;21:郑 1307;22:徐 0117-21;23:中作 J13122;24:中作 J13065;25:陇黄 2 号;26:邯 11-7;27:汾豆 96;28:汾豆 97;29:石 121073;30:晋遗 53;31:晋科 3 号;32:HF230031;33:蒙 1102;34:HF-92010;35:HF92051;36:徐 0305-20;37:圣豆 16;38:石 12540;39:冀 12-A7;40:徐 021211;41:中品 663;42:SK46;43:荷 13-89;44:石 12952;45:圣豆 19;46:圣豆 21;47:石 135。  
M;Marker. The bands from bottom to upper indicate 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 bp size。  
1: Meng 02-903;2: Andou 5393;3: Fu 07268;4: Weidou 20047;5: Shengdou 727;6: Nansheng 9403;7: Zhongzuo 11-65;8: Zhongzuo 11-69;9: Han 12-204;10: Zhongzuo 11-517;11: Zhou 10074-10-1;12: Wansu 1377;13: Wansu 1329;14: Zhongdou 14-3;15: Zhongdou 14-6;16: Fan 11A8;17: Shi 11098;18: Kedou 10;19: Zhu 03-9;20: Ji 14-8;21: Zheng 1307;22: Xu 0117-21;23: Zhongzuo J13122;24: Zhongzuo J13065;25: Longhuang 2;26: Han 11-7;27: Fendou 96;28: Fendou 97;29: Shi 121073;30: Jinyi 53;31: Jinke 3;32: HF230031;33: Meng 1102;34: HF-92010;35: HF92051;36: Xu 0305-20;37: Shengdou 16;38: Shi 12540;39: Ji 12-A7;40: Xu 021211;41: Zhongpin 663;42: SK46;43: He 13-89;44: Shi 12952;45: Shengdou 19;46: Shengdou 21;47: Shi 135。

图 2 核心引物 Satt216 在 47 份供试材料中的电泳条带分布

Fig. 2 The electrophoretic bands of Satt216 marker for the 47 breeding lines

3 讨论

丰富的遗传资源是作物品种改良的物质基础。研究表明,我国大豆育成品种存在遗传基础狭窄的问题<sup>[14]</sup>。综合性状好的新品种(系),已成为育种中最主要的亲本类型,是种质拓宽工作中的一类优异基因资源。本研究所用材料主要是黄淮海地区主要育种单位新近出圃的优良品系,许多已进入区域试验环节,通过审定的品种将在生产上利用,同时也会作为亲本在下一轮杂交育种中发挥作用。通过 SSR 分子标记分析其多样性特点有助于深入了解这些新品系的遗传特点,促进其进一步被转化利用。总体来看,地理亚群与 SSR 标记聚类亚群呈极显著相关,与前人<sup>[15]</sup>结果一致。根据各地材料间亲缘关系的远近,可为今后亲本选配提供参考。另一方面,供试样本平均每个 SSR 位点等位变异 6.05 个,平均 PIC 指数 0.614,低于前人对中国育成品种

群体所获得的数据(平均等位变异为 8.94、PIC 指数平均为 0.752<sup>[15]</sup>)。其可能原因在于所用 SSR 标记不尽相同,研究所用材料地理来源相对较窄,研究也发现同一单位内一些大豆新品系亲缘关系较近,同一省区的大豆材料遗传关系也相对较近。  
随着育成品种数量的增加,市场上存在着一些同种异名或同名异种的现象,这为育种家带来了许多不便。随着 DNA 分子标记的出现和发展,已经成为大豆品种准确鉴定的技术手段。其中 SSR 标记具有操作简单,共显性遗传,多态性高,重复性好等优点,因此利用 SSR 标记构建育成品种指纹图谱是比较简单迅速的保护品种专利的一种方法,已在棉花,水稻,玉米等作物上广泛应用<sup>[13,16-18]</sup>,在大豆品种鉴定中也有较多报道<sup>[19-20]</sup>。本研究采用 SSR 标记技术对黄淮海生态区的近期育成品系进行了 DNA 指纹图谱鉴定分析,筛选出了 8 对核心引物,能将 284 份大豆品种(系)全部区分开来,这些标记

可用于进一步的品种鉴定和新品种保护工作。

4 结 论

黄淮海地区来源为主的 284 份大豆新品种(系)平均每个 SSR 位点的等位变异数为 6.05 个, PIC 指数平均为 0.614,均低于老品种。黄淮海地区新品种(系)的遗传多样性高于北方春和南方材料;不同省区中以北京育成品系多样性最高。供试材料被分成 5 大类,并且所分类群与材料地理来源相关。筛选出 Satt426、Sat\_332、Satt216、Satt186、Satt302、Sat420、Satt046、Satt373 共 8 个 SSR 标记构建了供试材料的指纹图谱。

参考文献

[1] 张孟臣,张磊,刘学义. 黄淮海大豆改良种质[M]. 北京: 中国农业出版社, 2014. (Zhang M C, Zhang L, Liu X Y. Improvement of germplasm of soybean in Huang-Huai-Hai[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2014. )

[2] 汪宝卿,张礼凤,戴海英,等. 黄淮海地区夏大豆农艺性状的遗传变异、相关及主成分分析[J]. 大豆科学, 2012, 31(2): 208-212. (Wang B Q, Zhang L F, Dai H Y, et al. Genetic variation, correlation and principal component analysis on agronomic traits of summer sowing soybean (*Glycine max* Merr.) in Huang-huai region[J]. Soybean Science, 2012, 31(2): 208-212. )

[3] 秦君,杨春燕,谷峰,等. 黄淮海地区大豆产量及其稳定性评价[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 451-462. (Qin J, Yang C Y, Gu F, et al. Evaluation of productivity and stability of soybean cultivars in China's Huang-Huai-Hai region[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(03): 451-462. )

[4] 盖钧镒,熊冬金,赵团结. 中国大豆育成品种系谱与种质基础(1923-2005)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015. (Gai J Y, Xiong D J, Zhao T J. Chinese soybean breeding lineage and germplasm base (1923-2005)[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2015. )

[5] 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 Phytologist, 2010, 188(1): 242-253.

[6] 魏苗,李建东,燕雪飞,等. 中国东北野生大豆 SSR 遗传多样性及亲缘关系分析[J]. 大豆科学, 2011, 30(3): 390-396. (Wei M, Li J D, Yan X F, et al. Analysis of genetic diversity and relationship of *Glycine soja* in Northeast China[J]. Soybean Science, 2011, 30(3): 390-396. )

[7] 关荣霞,方宏亮,何艳琴,等. 国家大豆区域试验品种(系) SSR 位点纯度分析[J]. 作物学报, 2012, 38(10): 1760-1765. (Guan R X, Fang H L, He Y Q, et al. Molecular homozygosity of soybean varieties (lines) in regional test of China by using SSR markers[J]. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(10): 1760-1765. )

[8] 吴慧,高晓玲,陈琪,等. 基于 EST-SSR 标记的黄淮海和南方大豆育成品种遗传多样性研究[J]. 大豆科学, 2017, 36(3): 327-334. (Wu H, Gao X L, Chen Q, et al. Genetic diversity of soybean cultivars released based on EST-SSR marker[J]. Soybean Science, 2017, 36(3): 327-334. )

[9] 王彩洁,孙石,金素娟,等. 中国大豆主产区不同年代大面积

种植品种的遗传多样性分析[J]. 作物学报, 2013, 39(11): 1917-1926. (Wang C J, Sun S, Jin S J, et al. Genetic diversity analysis of widely-planted soybean varieties from different decades and major production regions in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(11): 1917-1926. )

[10] Aljanabi S M, Forget L, Dookun A. An improved and rapid protocol for the isolation of polysaccharide- and polyphenol- free sugarcane DNA[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1999, 17: 1-8.

[11] Nei M, Tajima F, Tatenno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data[J]. Journal of Molecular Evolution, 1983, 19(2): 153-170.

[12] Liu K, Muse S V. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis[J]. Bioinformatics, 2005, 21: 2128-2129.

[13] 刘峰,冯雪梅,钟文,等. 适合棉花品种鉴定的 SSR 核心引物的筛选[J]. 分子植物育种, 2009, 7(6): 1160-1168. (Liu F, Feng X M, Zhong W, et al. Screening of SSR core primer pairs for identifying cotton cultivar[J]. Molecular Plant Breeding, 2009, 7(6): 1160-1168. )

[14] 盖钧镒,赵团结,崔章林,等. 中国 1923-1995 年育成的 651 个大豆品种的遗传基础[J]. 中国农业科技导报, 1999(1): 26-30. (Gai J Y, Zhao T J, Cui Z L, et al. The genetic base for 651 soybean cultivars released during 1923-1995 in China[J]. Review of China Agricultural Science and Technology, 1999(1): 26-30. )

[15] 张军,赵团结,盖钧镒. 中国大豆育成品种群体遗传结构分化和亚群特异性分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(6): 1901-1910. (Zhang J, Zhao T J, Gai J Y. Analysis of genetic structure differentiation of released soybean cultivar population and specificity of subpopulations in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(6): 1901-1910. )

[16] 陆徐忠,倪金龙,李莉,等. 利用 SSR 分子指纹和商品信息构建水稻品种身份证[J]. 作物学报, 2014, 40(5): 823-829. (Lu X Z, Ni J L, Li L, et al. Construction of rice variety identity using SSR fingerprint and commodity information[J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(5): 823-829. )

[17] 赵久然,王风格,郭景伦,等. 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究 II 适于玉米自交系和杂交种指纹图谱绘制的 SSR 核心引物的确定[J]. 玉米科学, 2003, 11(2): 3-5. (Zhao J R, Wang F G, Guo J L, et al. Series of research on establishing DNA fingerprinting pool of Chinese new maize cultivars II. Confirmation of a set of SSR core primer pairs[J]. Journal of Maize Science, 2003, 11(2): 3-5. )

[18] Sundaram R M, Naveenkumar B, Biradar S K, et al. Identification of informative SSR markers capable of distinguishing hybrid rice parental lines and their utilization in seed purity assessment [J]. Euphytica, 2008, 163(2): 215-224.

[19] 徐海风,程保山,杨加银,等. 黄淮海地区夏大豆品种(系)指纹图谱的构建及其遗传多样性分析[J]. 西南农业学报, 2014, 27(5): 1814-1819. (Xu H F, Cheng B S, Yang J Y, et al. Establishment of SSR fingerprint map and analysis of genetic diversity among soybean variety in Huang-Huai-Hai region[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2014, 27(5): 1814-1819. )

[20] 陈亮,郑宇宏,范旭红,等. 吉林省新育成大豆品种 SSR 指纹图谱身份证的构建[J]. 大豆科学, 2016, 35(6): 896-901. (Chen L, Zheng Y H, Fan X H, et al. Establishment of SSR fingerprint ID for new soybean varieties in Jilin[J]. Soybean Science, 2016, 35(6): 896-901. )