



黑龙江省大豆骨干亲本及其后代衍生品种遗传构成解析

王伟威¹, 魏 峡¹, 赵贵兴¹, 毕伟伟¹, 于志远¹, 盖钧镒², 刘丽君¹

(1. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江农业科学院 院士工作站, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:为挖掘和解析骨干亲本的分子遗传特征,采用田间表型调查、病虫害接种鉴定和 SLAF-seg 技术相结合的方法,对黑龙江省不同积温区大豆骨干亲本满仓金、绥农 4、合丰 25、黑农 37 及其后代衍生品种的遗传性状和基因组遗传特征进行解析。结果表明:满仓金衍生品种在表型性状上有较大改进,如生育期提早,对根腐病抗性增强,品种间叶片的净光合速率有所改进。满仓金与衍生品种间遗传保守位点 6 804 个,占进化标记位点的 8.5%。合交 8 号继承了满仓金适应性强的特点,改良了满仓金多分枝、高大的特性,使后代品种丰产性增强,特别是秆强、喜肥耐湿的特点明显优于满仓金,合交 8 号与满仓金的遗传距离为 0.562。绥农 4 号衍生品种的表型性状有所改善,黑河 30 在结荚习性、生育日数、蛋白质含量、产量性状方面得到明显改进。绥农 4 号与衍生品种间遗传保守位点 3 561 个,占标记进化位点的 3.44%。合丰 55 具有绥农 4 号秆强、耐密、适应性好的特点,SNP 位点分析表明 73.4% 位点是相同的,26.6% 位点被新基因替代,这些位点涉及生育日数、产量、油分和净光合速率的变化。合丰 25 衍生品种蛋白质含量和抗病性明显增强,净光合速率和抗胞囊线虫病指数有变化。合丰 25 与其衍生品种间遗传保守位点 4 834 个,占进化位点 4.27%。绥农 14 拥有合丰 25 的丰富遗传信息,SNP 标记位点分析表明 72.3% 位点是相同的,27.74% 位点被遗传改良,这些位点涉及到花色、产量、油份和抗病级别性状的变化;黑农 37 衍生品种叶型、品质和叶片光合特性有所变化。黑农 37 与衍生品种间遗传保守位点 7 328 个,占标记进化位点 7.64%。黑农 44 与黑农 37 的 SNP 位点分析表明 74.95% 位点是相同的,25.1% 位点被遗传改良,这些位点涉及到株高、叶型、生育日数、产量、油份和蛋白质含量、胞囊线虫指数和根腐病抗性。骨干亲本与其衍生品种在 18 号染色体上具有相同的基因组区段,含有一些特殊的重要农艺性状调控位点,如光周期钝感、光合特性、根腐病抗性、产量、抗倒性和节间长度相关的基因组位点,并成为骨干亲本的遗传基础。

关键词:大豆; 骨干亲本; 等位变异; 遗传贡献

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Genetic Structure Analysis of Soybean Bone Parents and Offspring Derivative Variety in Heilongjiang Province

WANG Wei-wei¹, WEI Lai¹, ZHAO Gui-xing¹, BI Wei-wei¹, YU Zhi-yuan¹, GAI Jun-yi², LIU Li-jun¹

(1. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. Academician Station, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to search for and analyze the molecular genetic characteristics of the bone parents, the genetic traits and genomic characteristics of soybean bone parents and offspring derivative from different accumulated temperature regions in Heilongjiang province. Field experiment, inoculation identification and SLAF-seg technique was used to analyse. The results showed that the phenotypic traits of Mancangjin-derived varieties have been greatly improved, such as earlier growth period, increased resistance to root rot, and net photosynthetic rate of leaves between varieties. There were 6 804 genetically conserved sites between Mancangjin and its derivative varieties, accounting for 8.5% of the evolutionary marker sites. Hejiao 8 inherited the characteristics of strong adaptability of Mancangjin, improved the characteristics of Mancangjin's multiple branches and tallness, and enhanced the yield of offspring, especially the characteristics of strong rods, fertilizer-loving and moisture-resistant characteristics. The genetic distance of Hejiao 8 to Mancangjin was 0.562. In terms of the phenotypic traits of Suinong 4 derivative, Heihe 30 had been significantly improved in pod setting habit, growing days, protein content, and yield traits. There were 3 561 genetically conserved sites between Suinong 4 and its derived varieties, accounting for 3.44% of the marker evolution sites. Hefeng 55 had the characteristics of strong Suinong 4 rods, density tolerance, and good adaptability. It could be seen from the SNP sites that 73.4% of the sites were the same, and 26.6% of the sites were replaced by new genes. These sites were related to the number of reproductive days, in yield, oil content, and net photosynthetic rate. In terms of phenotypic traits, Hefeng 25 derivative varieties had significantly enhanced protein content and disease resistance, and

收稿日期:2020-04-18

基金项目:大豆产业技术体系建设专项(CARS-04-PS05);国家十三五重大专项(2016ZX08004002);农业科技创新跨越工程(HNK2019CX01)。

第一作者简介:王伟威(1981-),男,硕士,副研究员,主要从事作物遗传育种研究。E-mail: davidwww@126.com。

通讯作者:刘丽君(1958-),女,博士,研究员,主要从事作物遗传育种研究。E-mail: nkyssbd@126.com。

changes in net photosynthetic rate and resistance to cyst nematode disease. There were 4 834 genetically conserved sites between Hefeng 25 and its derived varieties, accounting for 4.27% of the evolutionary sites. Suinong 14 had rich genetic information of Hefeng 25. From the SNP markers, it could be seen that 72.3% of the sites were the same, and 27.74% of the sites had been genetically improved. These sites were related to flower color, yield, oil, and resistance, changes in disease grade traits. In terms of phenotypic traits, the derivative of Heinong 37 showed changes in leaf shape, quality, and leaf photosynthetic characteristics. There were 7 328 genetic conserved sites between Heinong 37 and its derivative varieties, accounting for 7.64% of the marker evolution sites. Heinong 44 and Heinong 37, from the SNP loci, it could be seen that 74.95% of the loci were same, and 25.1% of the loci have been genetically improved. These loci were related to plant height, leaf type, growth days, yield, oil content and protein content, cyst nematode index, and root rot resistance. The backbone parent and its derived varieties had the same genome segment and contain some special important agronomic traits, such as photoperiod insensitivity, photosynthetic characteristics, root rot resistance, yield, lodging resistance, and internode length related genomic loci, and have become the genetic basis of the backbone parents.

Keywords: Soybean; Bone parents; Allelic variation; Genetic contribution

亲本是遗传育种的基础,骨干亲本是在杂交育种中起骨干作用且对生产贡献较大的育种材料,其一般配合力高、综合性状优良、适应性广、衍生推广品种数目较多。深入研究骨干亲本的表型和基因型特征有助于揭示其骨干亲本的作用和优良基因及其等位变异遗传与作用机理,创立骨干亲本的早期预测、人工创制或改良途径的新理论和新方法对指导现实育种具有重要作用^[1]。黑龙江省大豆育种中骨干亲本主要有满仓金、绥农4号、合丰25、黑农37等,能代表黑龙江省不同生态区的特点,稳产、适应性强、抗性好,其品种推广面积分别达到 9.00×10^5 , 1.43×10^6 , 1.20×10^7 和 1.61×10^6 hm²。满仓金是20世纪40年代在黑龙江省主推的大豆品种,以遗传基础丰富、高油、稳产、适应性广而受到种植者的青睐,是早期的骨干亲本;绥农4号是20世纪80年代推广面积大、持续时间长的大豆品种,以抗倒伏、光合能力强、适应性好而著称,是黑龙江省第二积温区的主栽品种和骨干亲本材料;合丰25是20世纪80年代以来推广面积较大的大豆品种,以抗逆性强、早熟、高产、品质优良成为黑龙江省第三、四积温区的主推品种和骨干亲本;黑农37是20世纪90年代以来推广面积大的品种,以耐旱、抗病、稳产的特点而受到半干旱地区种植户的喜爱,是黑龙江省第一积温区骨干亲本。这些品种是大豆育种的骨干亲本,以其为亲本分别育成的大豆新品种分别达到39,22,18和22个。这些大面积推广品种使黑龙江省大豆主产区的新品种更替4次,为保证中国大豆增产增收发挥了重要作用,是中国春大豆品种改良的基础亲本。而骨干亲本基因组构成对后代衍生品种遗传组成的贡献是一个非常值得探索的问题。

分子标记技术是从全基因组层面分析骨干亲本对衍生品种贡献的重要工具^[2-4];全基因组重测序技术是大豆品种遗传差异和多样性研究的有效方法,广泛应用于作物遗传多样性、基因作图和重要基因性状定位等方面的研究^[5];近几年许多学者

都利用SSR、STS-PCR等标记检测小麦^[6-9]、水稻^[10-11]等衍生骨干亲本在后代中的传递、遗传物质的遗传基础等。目前,大豆全基因差异分析研究较少,而在基因组水平揭示骨干亲本的遗传差异对全面认识骨干亲本的遗传本质具有重要意义。特异长度扩增片段测序技术(SLAF-seq)是反映整个基因组序列信息的测序技术,其对基因组特定的酶切片段进行高通量测序,在降低物种基因组复杂程度的基础上对基因组的特异性序列进行测序,该技术已广泛应用于大豆种皮色相关位点的发掘研究^[12]。该技术的优势在于:深度测序,保证基因分型的准确性;简化策略,降低测序成本;保证标记数量最优;采用的双条形码技术适用于大群体研究;试验周期短。该技术成功应用高密度遗传图谱的构建、重要经济性状的QTL定位和辅助全基因组Denovo测序等研究领域。本研究利用SLAF-seq技术对黑龙江省第1~4积温区4个大豆骨干亲本及其衍生后代大豆品种进行全基因组分子标记分析,明确骨干亲本来源的基因组区段在后代衍生品种中的传递规律,通过品种全基因组水平的基因信息分析揭示骨干亲本在衍生后代中的遗传差异,全面揭示骨干亲本的遗传本质和优良性状的遗传规律。

1 材料与方法

1.1 材料

供试品种为满仓金及其衍生品种东农4号、合交8号、合交13、黑农6号和嫩丰11;绥农4号及其衍生品种登科8号、东农51、东农53、合丰45、合丰55、黑河30、黑农39、垦丰8号、垦丰9号、垦丰14、垦丰22、绥农11和绥农29;合丰25及其衍生品种东农59、合1667、黑农30、黑农52、黑农59、抗线5号、嫩丰18-1(农科院齐齐哈尔分院)、嫩丰18-2(农科院大豆研究所)、嫩丰20、绥农14和绥农29;黑农37及其衍生品种黑农44、黑农46、黑农51、黑农56、黑农60、黑农64、黑农66、抗线9号和龙豆2号。品种来源于哈尔滨国家大豆改良分中心。4个品种与其

繁育后代的关系图见附图 1~4。

1.2 试验设计

于 2012–2014 年将各供试大豆品种分别种植于田间,每个品种 3 行,3 次重复。调查各品种的农艺性状、产量性状和光合特性。调查的农艺性状包括出苗期、叶型、花色、茸毛色、节数、分枝数、株高、种皮色、脐色、结荚习性和生育期;调查的产量性状包括百粒重、单株粒重、小区产量和单株荚数。鉴定各品种胞囊线虫、根腐病抗、灰斑病和病毒病抗性。采用 SLAF-seg 技术对 42 份大豆取样材料进行测序并进行遗传分析。

1.3 方法

1.3.1 光合特性测定 采用便携式光合系统测定仪 L1-6400XT(L1-cor LIUCOLN USA)测定大豆 R5 期光合作用的主要参数:叶面积、净光合速率、叶片胞间 CO₂ 浓度、瞬时水分利用率和蒸腾速率。每次测定时间为 9:00–11:00,每个品种随机选取 8 株进行测定^[13]。

1.3.2 病害鉴定 采用国家和省级品种审定的标准鉴定方法测定胞囊线虫^[14]、根腐病^[15-16]、灰斑病和病毒病^[17]。

1.3.3 SLAF-seg 测序 利用优化的 CTAB 法提取 42 份大豆材料的 DNA^[18],对 DNA 进行酶切打断试验,将酶切产物进行 5′末端修复,并对 5′末端进行磷酸化修饰,3′末端加 A,使之与 Solexa 接头 5′端 T 互补,并进一步连接 Solexa 测序接头,将连接产物锚

定在 flowcell 上进行桥式扩增,用琼脂糖凝胶电泳筛选片段,由北京百迈客生物科技有限公司完成^[19],通过 PCR 扩增方法增大文库量,建好的文库用 Illumina Hiseg™ 2500 进行测序。将每份种质资源平均获得的 2 230 890 条原始 Reads 与参考基因组 soap 比对^[20-22],获得 312 398 条 SLAF,测序深度 4.12,根据 SLAF 检测 SNP,共获得 432 222 个 SNP 位点,SLAF 多态性为 56.5%,依据品种的 SNP 进行遗传组分和主成分分析^[23-26]。利用 Mega 5.0 软件,采用邻位连接法(Neighbor-joining, N5)和 Maximum Composite Cikelihood 模型^[13,17] 分析获得遗传距离,采用 perl 语言编程计算得出相等等位变异。

2 结果与分析

2.1 满仓金对其衍生品种的遗传贡献分析

2.1.1 满仓金及其衍生品种的聚类分析和表型性状改进分析 由图 1 可知,满仓金与黑农 6 号的遗传距离最近。对满仓金及其衍生品种序列进化趋势进行分析,获得 80 059 个进化位点,满仓金与黑农 6 号的遗传距离为 0.373,表明在 5 个品种中它们的亲缘关系最近,满仓金与嫩丰 11 的遗传距离较远,为 1.575,表明其它基因型在改良中置换的满仓金基因组中的碱基较多,而使衍生品种的进化较大。满仓金衍生品种在表型性状上有了较大改进,如生育期提早、对根腐病抗性增强、品种间叶片的净光合速率有所改进等(附表 1)。



图 1 满仓金与其衍生品种的聚类图

Fig. 1 Cluster diagram of Mancangjin and its offspring

2.1.2 满仓金遗传信息在其衍生品种不同染色体上的分布 对满仓金及其衍生品种的进化趋势分析表明,品种间遗传保守的 SNP 位点为 6 804 个,占进化位点的 8.5%。等位变异在不同品种及不同染色体间存在较大差异,如在 4 号染色体上,合交 13 与满仓金的相等等位位点比例达 60.9%;黑农 6 号与满仓金的相等等位位点比例达 95.34%;而合交 8 号、东农 4 号和嫩丰 11 的相等等位变异比例分别为

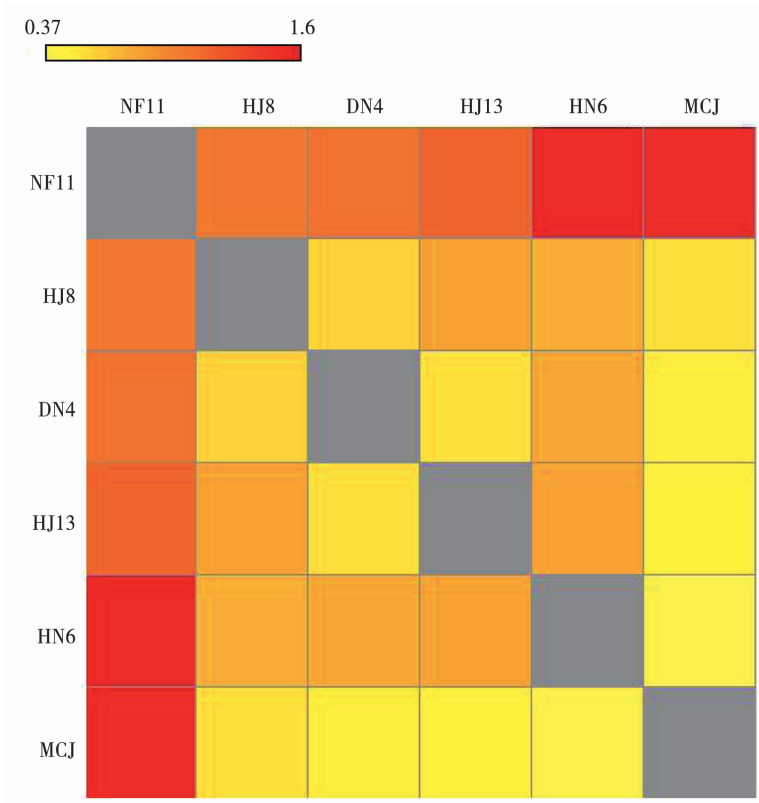
56.18%、65.48% 和 58.77%;不同染色体上满仓金与其衍生品种的相等等位比例为 54.22%~97.99%(表 1)。

2.1.3 满仓金及其衍生品种的遗传物质交换分析 由图 2 可知,满仓金经过多次改良后,新品种的遗传基础更加丰富,黑农 6 号与满仓金的遗传基础相近,满仓金与嫩丰 11 的遗传基础相差较大。

表 1 不同染色体上满仓金与其衍生品种间的相同等位变异比例

Table 1 The same allelic variation ratio between Mancangjin and its offspring on different chromosomes (%)

染色体编号 Chromosome No.	东农 4 号 Dongnong 4	合交 8 号 Hejiao 8	合交 13 Hejiao 13	黑农 6 号 Heinong 6	嫩丰 11 Nenfeng 11
1	81.47	69.89	95.63	85.32	59.40
2	65.89	73.06	83.84	96.08	77.97
3	94.21	89.93	71.86	70.30	62.13
4	65.48	56.18	60.92	95.34	58.77
5	95.93	91.54	86.87	93.79	78.29
6	90.72	89.55	90.85	95.33	64.44
7	75.50	88.51	96.31	90.20	68.24
8	76.92	95.24	78.84	63.08	82.92
9	69.84	72.34	82.24	72.73	58.46
10	92.22	60.24	92.73	69.32	62.97
11	84.34	92.93	83.92	91.65	79.87
12	85.88	81.78	84.61	97.12	84.40
13	89.26	85.59	86.61	74.04	84.24
14	92.87	87.10	64.11	97.17	79.09
15	79.31	93.56	82.22	97.93	55.23
16	56.64	60.35	86.91	54.78	61.13
17	96.96	70.10	95.39	97.67	54.22
18	89.92	87.25	81.04	88.72	78.42
19	92.53	89.51	70.20	94.87	69.52
20	91.52	94.12	92.05	92.17	79.65



NF11:嫩丰 11; HJ8:合交 8 号; DN4:东农 4 号; HJ13:合交 13; HN6:黑农 6 号; MCJ:满仓金。
NF11:Nenfeng 11; HJ8:Hejiao 8; DN4:Dongnong 4; HJ13:Hejiao 13; HN6:Heinong 6; MCJ:Mancangjin.

图 2 满仓金及其衍生品种间遗传信息交换示意图
Fig. 2 Diagram of genetic information exchange between Mancangjin and its offspring

2.1.4 满仓金对合交 8 号的遗传贡献分析 遗传信息在不同染色体上均有交换,以合交 8 号为例,合交 8 号是以满仓金为父本育成大豆品种,在 20 世纪 70 年代推广面积达 26.67 万 hm^2 ,合交 8 号继承了满仓金适应性强的特点,改良了满仓金多分枝、高大的特性,使后代品种丰产性增强,特别是秆强,喜肥耐湿的特点明显优于满仓金。合交 8 号与满仓金的相同等位变异比例在 5、8、11、15 和 20 号染色体上比例超过了 90%,在 3、6、7、12、13、14、18 和 19 号染色体上超过 80%,在 2、9 和 17 号染色体上超过 70%,而在 4、10 和 16 号染色体上相同等位变异的 比例较低,分别为 56.2%、60.2% 和 60.35% (图 2)。表明这些染色体上被替换的基因较多,从遗传物质交换示意图可以看到,2 个品种的遗传物质差异较大。

2.2 绥农 4 号对其衍生品种的遗传贡献

2.2.1 绥农 4 号衍生品种的聚类分析和表型性状改进分析 利用绥农 4 号已直接育成 18 个大豆新

品种,其中演替的核心亲本有绥农 8 号和绥农 10,它在集合绥农 4 号特点的基础上,通过新基因渗入,产量、适应性、抗性表现得到提高,从而衍生了一批适应大豆生产发展的新品种。对绥农 4 号及其衍生品种的聚类分析(图 3)证实:绥农 4 与东农 53 的遗传距离最近,为 0.035,东农 53 是利用绥农 10(绥农 4 号 \times 铁 7518) \times 东农 L200087 杂交选育而成,保留了绥农 4 号中较多遗传基础;绥农 4 号与合丰 55 的遗传距离为 0.194,表明合丰 55 与绥农 4 号的亲缘关系较近;绥农 4 号与黑河 30 的遗传距离为 0.676,亲缘关系较远。从品种表型方面分析,黑河 30 在结荚习性、生育日数、蛋白质含量、产量性状方面得到明显的改进(附表 2)。垦丰 22 和垦丰 8 号是利用绥农 4 号育成的品种,绥农 4 号与这 2 个品种间的遗传距离分别为 0.368 和 0.375,而垦丰 22 与垦丰 8 号间的遗传距离只有 0.088,表明这 2 个品种的遗传基础极其相近。

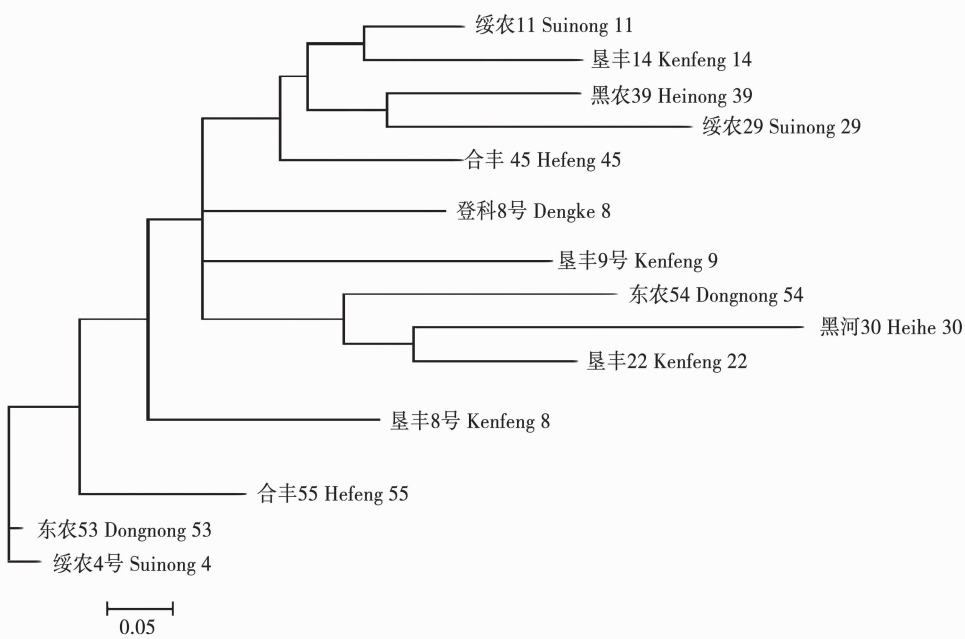


图 3 绥农 4 号与其衍生品种的聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of Suinong 4 and its offspring

2.2.2 绥农 4 号遗传信息在其衍生品种不同染色体上的分布 绥农 4 号及其衍生品种间遗传保守 SNP 位点有 3 561 个,占进化标记位点的 3.44%。等位变异在不同品种及不同染色体间存在差异,如在 2 号染色体上,合丰 55、垦丰 9 号、东农 53 与绥农 4 号比较,相同等位变异比例为 90% 以上,垦丰 8 号与绥农 4 号相比相同等位变异比例为 80% 以上,东农 51、登科 8 号、垦丰 14、垦丰 9 号、绥农 11、绥农 29、合丰 45 与绥农 4 号相比相同等位变异比例在

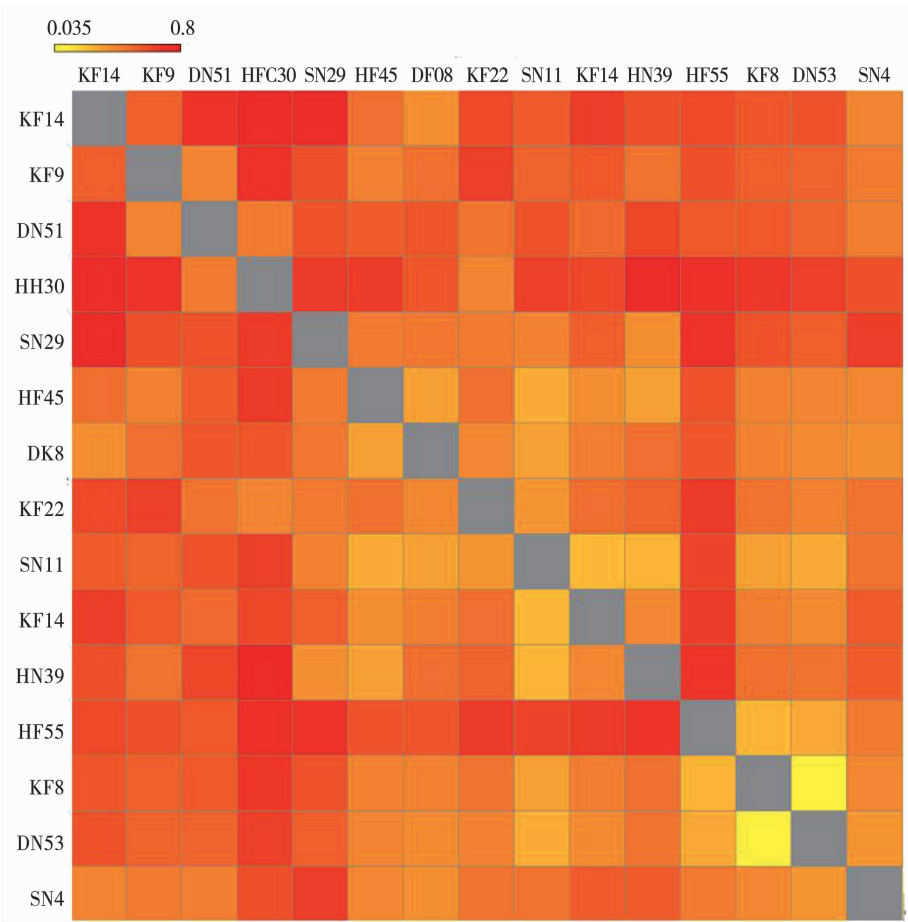
70% 以上,垦丰 22、垦丰 14、黑河 30 与绥农 4 号相比相同等位变异比例为 59% 以上,可见绥农 4 号在衍生品种中遗传信息的传递是有差别的(表 2)。

2.2.3 绥农 4 号及其衍生品种的遗传物质交换分析 绥农 4 号及其衍生品种的遗传信息交换的示意图显示:新品种的遗传信息比绥农 4 号更加丰富,东农 53、合丰 55 与绥农 4 号的遗传基础相近度高,垦丰 14 与绥农 4 号的遗传基础较远(图 4)。

表 2 绥农 4 与其衍生品种间不同染色体的相同等位变异比例

Table 2 The same allelic variation ratio between different chromosomes of Suinong 4 and its offspring (%)

染色体编号 Chromosome	登科 8 号	东农 51	东农 53	合丰 45	合丰 55	黑河 30	黑农 39	垦丰 8 号	垦丰 9 号	垦丰 14	垦丰 22	绥农 11	绥农 29
No.	Dengke 8	Dongnong 51	Dongnong 53	Hefeng 45	Hefeng 55	Heihe 30	Heinong 39	Kenfeng 8	Kenfeng 9	Kenfeng 14	Kenfeng 22	Suinong 11	Suinong 29
1	74.80	76.50	92.49	74.60	93.30	59.10	79.90	83.20	74.50	63.50	65.30	78.31	78.78
2	81.00	82.70	94.26	84.80	91.00	68.20	75.10	84.70	90.60	85.40	78.10	81.06	71.61
3	70.40	68.00	92.69	82.30	66.60	66.20	92.50	67.20	92.70	68.20	62.80	65.97	68.99
4	88.90	75.90	92.80	88.80	82.00	77.60	96.10	78.60	81.60	92.10	79.00	94.00	80.19
5	90.00	82.00	95.83	88.90	85.30	79.60	85.90	89.00	79.80	65.50	86.80	89.40	84.89
6	88.60	79.10	97.86	91.10	89.30	66.40	97.20	91.80	88.10	85.30	73.30	92.26	91.54
7	89.90	65.10	92.93	81.30	66.70	72.70	60.40	80.50	82.60	87.40	79.20	94.15	73.06
8	81.10	77.50	92.36	89.30	96.90	75.50	76.40	86.30	74.30	82.60	82.80	81.92	76.33
9	93.10	71.00	96.26	90.90	90.20	73.70	80.10	91.20	93.60	93.30	93.10	88.77	89.27
10	82.20	86.00	87.20	92.20	80.80	81.30	94.20	84.30	86.10	80.50	74.30	92.72	59.78
11	82.50	83.70	95.01	84.50	96.70	79.50	96.50	80.50	80.50	91.00	80.10	94.99	79.91
12	84.90	80.60	92.52	88.70	86.60	76.70	83.50	83.90	62.30	85.30	84.70	87.46	74.91
13	94.30	74.10	95.31	89.40	86.90	80.70	66.90	74.70	75.80	82.10	0.844	74.81	78.48
14	88.30	76.70	94.66	63.80	96.10	81.00	66.10	87.20	66.30	75.00	84.40	89.81	62.20
15	63.10	86.00	89.84	71.40	96.80	68.60	68.80	67.60	91.10	81.50	71.50	70.86	56.66
16	82.40	74.10	93.25	91.50	80.10	69.10	76.30	79.70	93.20	88.40	72.70	70.23	0.77
17	81.90	68.40	84.68	90.60	93.90	74.30	85.10	72.30	74.40	81.10	72.30	72.77	85.39
18	89.10	85.60	93.44	93.50	98.00	85.70	88.40	89.50	91.20	68.70	96.50	93.88	89.30
19	67.40	62.50	95.97	87.70	92.60	61.00	90.90	92.80	81.00	89.00	61.30	91.29	52.38
20	91.60	84.30	95.26	86.20	94.10	82.30	78.20	79.90	83.90	87.20	83.30	76.32	78.53



KF14: 垦丰 14; KF9: 垦丰 9 号; DN51:东农 51; HH30:黑河 30; SN29: 绥农 29; HF45: 合丰 45; DK 8: 登科 8 号; KF22: 垦丰 22; SN11: 绥农 11; KF14: 垦丰 14; HN39: 黑农 39; HF55: 合丰 55; KF8: 垦丰 8 号; DN53: 东农 53; SN4: 绥农 4 号。
KF14: Kenfeng 14; KF9: Kenfeng 9; DN51:Dongnong 51; HH30:Heihe 30; SN29: Suinong 29; HF45: Hefeng 45; DK 8: Dengke 8; KF22: Kenfeng 22; SN11: Suinong 11; KF14: Kenfeng 14; HN39: Heinong 39; HF55: Hefeng 55; KF8: Kenfeng 8 ; DN53: Dongnong 53; SN4: Suinong 4.

图 4 绥农 4 号及其衍生品种间遗传信息交换图示
Fig. 4 Diagram of genetic information exchange between Suinong 4 and its offspring

2.2.4 绥农4号对合丰55的遗传贡献分析 合丰55是目前生产上的主推品种,累计推广面积已达200万hm²,它具有绥农4号秆强,耐密,适应性好的特点。SNP位点分析显示,73.4%位点是相同的,26.6%的位点被新基因替代,这些位点涉及生育日数、产量、油分和净光合速率的变化(附表2)。合丰55与绥农4号的不同染色体上的相同等位变异比例较高,在1、2、8、9、11、14、15、17、18和20号染色体上相同等位变异比例达90%以上,在18号染色体上达到98.1%,而在4、5、6、10、12和16号染色体上达66.7%以上,表明绥农4的遗传信息在传递给合丰55的过程中占较大的比重(表2)。

2.3 合丰25对其衍生品种的遗传贡献

2.3.1 合丰25及其衍生品种的聚类分析和表型性状改进分析 利用合丰25直接育成品种22个,对

合丰25及其衍生品种中序列进化趋势分析,获得113171个进化SNP位点,合丰25与嫩丰20、绥农14、黑农30的遗传距离最近(图5),分别为0.265、0.280和0.299。表明合丰25与这3个品种的遗传距离较小,合丰25遗传物质的直接贡献较大;合丰25与黑农59、抗线5号的遗传距离分别为0.425和0.501,表明合丰25演替的核心种质与其它品种进行杂交改良过程中所传递合丰25的基因信息有所改变,如蛋白质含量和抗病性明显增强,净光合速率和抗胞囊线虫病指数有变化(附表3),也表明合丰25的基因型已经过二次改良,使遗传距离变大。合丰25与东农59、黑农52、绥农29、嫩丰18和合1667的遗传距离分别为0.689,0.835,0.776,0.702和0.767。表明这些品种所含有的合丰25传递而来的基因正逐步被新基因代替。

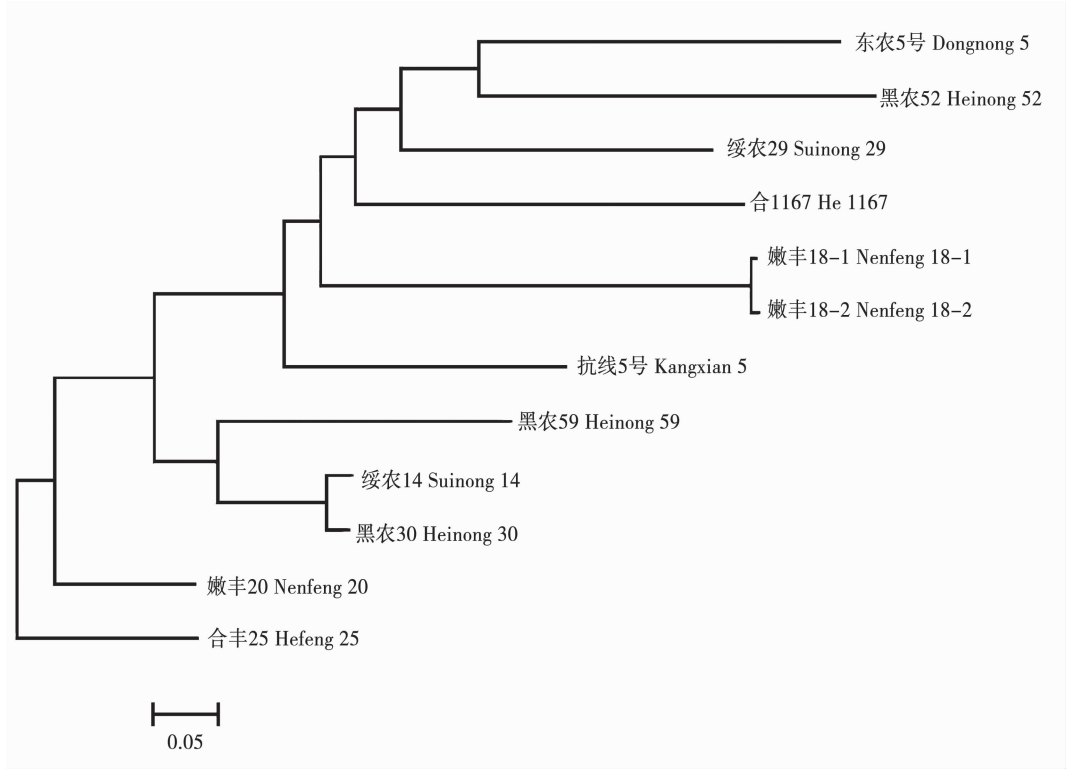


图5 合丰25及其衍生品种的聚类图

Fig.5 Cluster diagram of Hefeng 25 and its offspring

2.3.2 合丰25遗传信息在其衍生品种不同染色体上的分布 对合丰25及其衍生品种间遗传保守SNP位点为4834个,占进化位点4.27%。等位变异在不同品种及不同染色体间存在较大的差异,不同染色体上合丰25与其衍生品种的相同等位变异比例为97.01%~54.3%。如在1号染色体上嫩丰20与合丰25、黑农59、抗线5号、绥农14、嫩丰18、

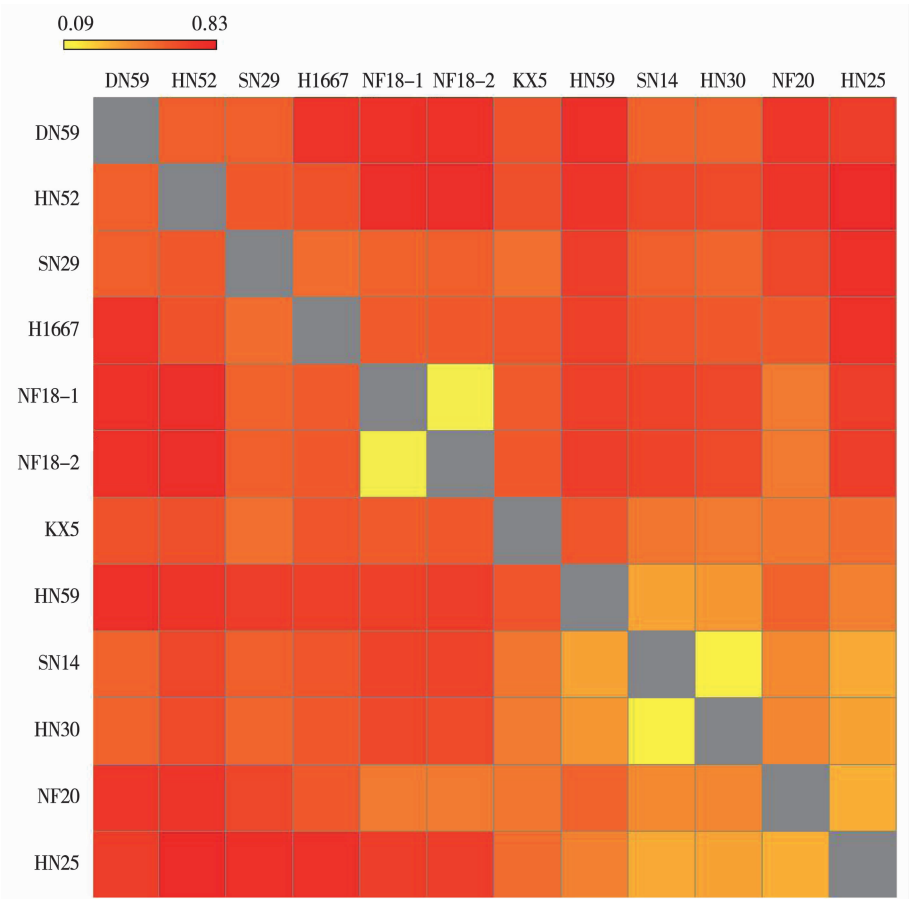
黑农52和抗线5号的相同等位变异位点比例分别达91.34%、82.99%、87.73%、68.6%、63.99%、67.5%和87.73%,可见遗传信息的改良较大(表3)。

2.3.3 合丰25及其衍生品种的遗传物质交换分析 由图6可知,合丰25经过多次改良后,新品种的遗传基础更加丰富,嫩丰20与合丰25的遗传基础相近,东农59与合丰25的遗传基础相差较大。

表 3 不同染色体合丰 25 上与其它品种间的相同等位变异比例

Table 3 The same allelic variation ratio between different chromosomes in Hefeng 25 and other varieties (%)

染色体编号 Chromosome	东农 59	合 1667	黑农 30	黑农 52	黑农 59	抗线 5 号	嫩丰 18-1	嫩丰 18-2	嫩丰 20	绥农 14	绥农 29
No.	Dongnong 59	He 1667	Heinong 30	Heinong 52	Heinong 59	Kangxian 5	Nenfeng 18-1	Nenfeng 18-2	Nenfeng 20	Suinong 14	Suinong 29
1	76.00	67.20	69.30	67.50	83.00	87.70	64.00	65.20	91.30	68.60	61.70
2	83.20	72.60	92.70	65.80	91.10	74.00	69.60	69.40	79.90	95.20	71.80
3	62.10	70.10	84.50	72.20	82.00	70.90	68.70	68.70	66.30	85.20	77.30
4	88.10	67.80	83.20	84.60	81.70	89.30	86.20	86.30	97.00	84.40	87.30
5	74.40	65.00	85.20	65.70	78.20	75.40	64.10	63.80	77.10	85.60	76.80
6	85.70	68.50	85.60	76.40	59.00	66.90	56.90	56.50	93.00	86.10	64.00
7	67.50	73.70	82.40	80.60	82.60	73.00	68.10	68.50	69.50	86.50	73.10
8	84.20	63.60	90.20	75.70	85.00	88.10	80.20	79.50	90.60	91.10	75.80
9	67.90	70.80	65.90	68.60	67.10	78.90	82.70	82.70	95.60	64.50	70.00
10	62.50	69.70	80.70	76.10	79.00	70.50	57.50	57.80	78.70	81.80	58.80
11	79.60	74.60	79.40	79.00	80.10	77.50	77.00	77.70	85.30	81.40	76.70
12	87.90	77.60	89.80	64.80	67.80	89.30	77.50	76.50	95.60	91.80	81.50
13	60.50	60.20	72.50	61.20	76.20	77.80	56.90	57.50	93.80	73.20	65.10
14	54.30	78.00	86.80	60.30	68.00	78.30	78.30	78.00	90.30	86.70	73.80
15	60.90	65.80	71.90	60.00	70.50	57.10	69.30	69.90	70.10	71.90	55.70
16	57.80	59.30	74.30	57.40	87.70	60.60	63.30	63.70	89.40	79.50	57.70
17	78.80	70.60	85.20	71.50	81.50	83.60	65.80	66.30	82.80	87.10	71.60
18	60.40	82.00	92.50	59.70	83.90	87.10	82.50	82.40	92.90	94.70	84.30
19	77.50	60.90	90.40	62.80	79.90	75.30	65.50	66.60	68.80	94.20	47.10
20	82.00	79.30	90.70	69.20	82.70	83.70	89.30	89.00	86.30	91.60	73.10



HN59:黑农 59; HN52:黑农 52; SN29:绥农 29; H1667:合 1667; NF18-1:嫩丰 18-1; NF18-2:嫩丰 18-2; KX5:抗线 5 号;称 DN59:东农 59; SN14:绥农 14; HN30:黑农 30; NF20:嫩丰 20; HF25:合丰 25。

HN59: Heinong 59; HN52: Heinong 52; SN29: Suinong 29; H1667: He1667; NF18-1: Nenfeng 18-1; NF18-2: Nenfeng 18-2; KX5: Kangxian 5; DN59: Dongnong 59; SN14: Suinong 14; HN30: Heinong 30; HF20: Nenfeng 20; HF25: Hefeng 25.

图 6 合丰 25 及其衍生品种遗传信息交换示意图

Fig. 6 Diagram of genetic information exchange between Hefeng 25 and its offspring

2.3.4 合丰 25 对绥农 14 的遗传贡献 绥农 14 是继合丰 25 之后一个推广面积较大的品种,累计推广面积 404.69 万 hm²。绥农 14 拥有合丰 25 丰富的遗传信息,合丰 25 与绥农 14 的遗传物质交换不大,对 SNP 标记位点的分析显示,72.3% 位点是相同的,27.74% 位点被遗传改良(图 6),这些位点涉及到花色、产量、油份、抗病级别性状的变化(附表 3)。绥农 14 与合丰 25 在不同染色体上的相同等位变异比例较高,在 2、8、12、18、19 和 20 号染色体上超过 90%,且 18 号染色体上达到 94.7%,在 3、4、5、6、7、10、11、14 和 17 号染色体上相同等位变异比例超过 80% 以上,在 13、15 和 16 号染色体上超过 70%,在 1、9 号染色体上达到 68.6% 和 64.5%,合丰 25 的遗传信息在后代染色体上传递都超过 64%(表 3)。

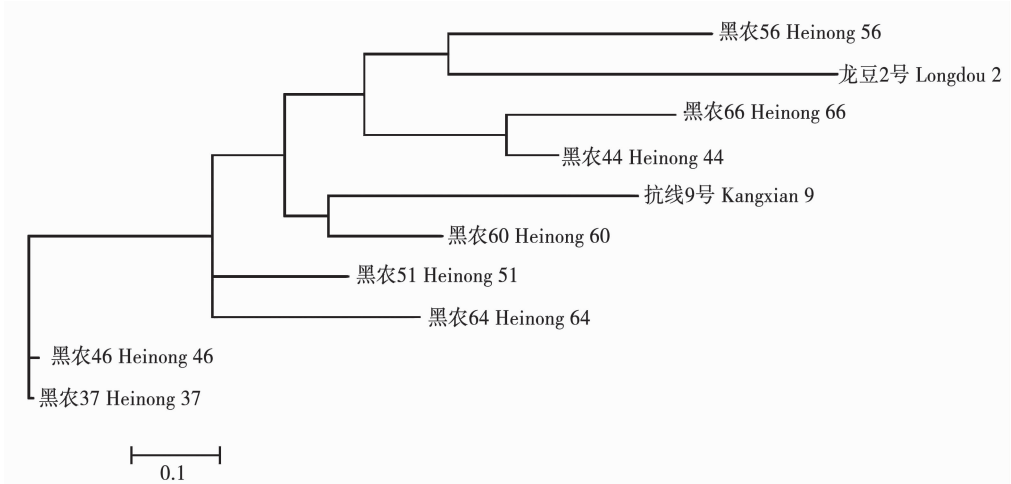


图 7 黑农 37 及其衍生品种聚类分析图示

Fig. 7 Cluster analysis of Heinong 37 and its offspring

2.4.2 黑农 37 遗传信息在其衍生品种不同染色体上的分布 对黑农 37 及其衍生品种间遗传保守 SNP 位点为 7 328 个,占进化位点 7.64%。等位变异在不同品种及不同染色体间存在差异,相同等位变异比例为 53.2% ~ 98.2%,在 6 号染色体上黑农 46 与黑农 37 的相同等位变异比例达 95.99%,而黑农 64、龙豆 2 号与黑农 37 的相同等位变异比例为 57.5% 和 54.37%,其中抗线 9、黑农 51、黑农 66、黑

2.4 黑农 37 对其衍生品种的遗传贡献

2.4.1 黑农 37 与其衍生品种的聚类分析和表型性状改进分析 黑农 37 及其衍生品种的聚类分析显示:黑农 37 与黑农 46 的遗传距离最小,为 0.016;黑农 37 与龙豆 2 号、黑农 56 的遗传距离较大,分别为 1.135 和 0.842(图 7),表明这 2 个品种中保留黑农 37 的基因序列被其它品种替代的较多,品种表型对比分析表明龙豆 2 号、黑农 56 都是紫花,生育日数提早,平均产量比黑农 37 有了大幅度的提高(附表 4)。进化分析表明黑农 37 与黑农 46、黑农 60 血缘关系很近,而与龙豆 2 号最远,黑农 37 经过改良后,其它品种进化在叶型、品质、叶片光合特性有所变化,育成品种间的遗传距离为 0.31 ~ 1.146。

农 56 与黑农 37 的相同等位变异比例达分别为 73.9%、64.5%、61.72% 和 68.26%,表明黑农 37 遗传信息物质的传递在品种间存在差异(表 4)。

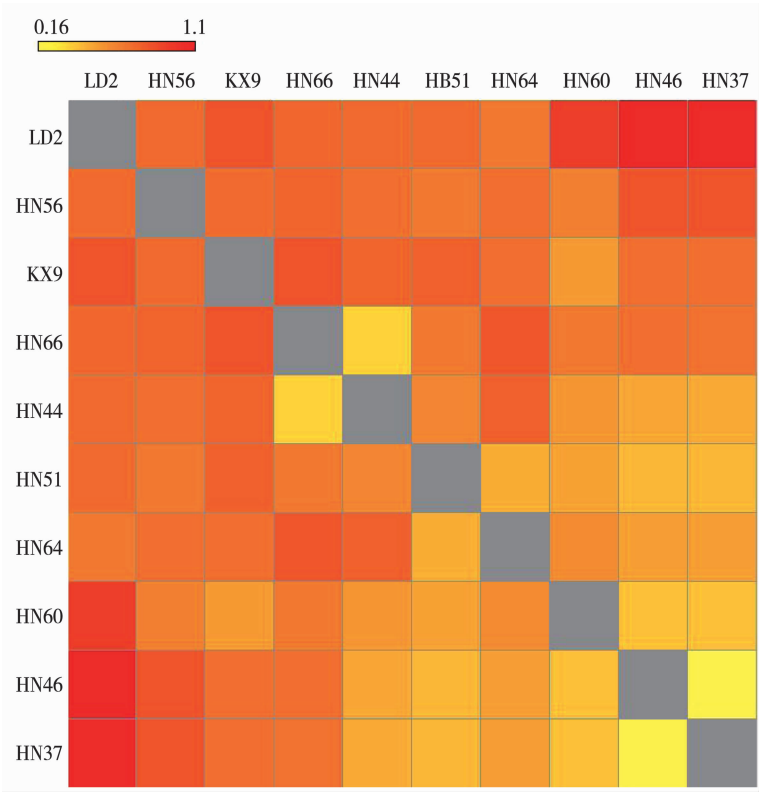
2.4.3 黑农 37 及其衍生品种的遗传物质交换分析 由图 8 可知,黑农 37 经过多次改良后,新品种的遗传基础更加丰富,黑农 46、黑农 60 与黑农 37 的遗传基础相近,龙豆 2 号与黑农 37 的遗传基础相差较大。

表 4 不同染色体黑农 37 上与其衍生品种间的相同等位变异比例

Table 4 The same allelic variation ratio between different chromosomes of Heinong 37 and and its offspring (%)									
染色体编号 Chromosome No.	黑农 44 Heinong 44	黑农 46 Heinong 46	黑农 51 Heinong 51	黑农 56 Heinong 56	黑农 60 Heinong 60	黑农 64 Heinong 64	黑农 66 Heinong 66	抗线 9 Kangxian 9 号	龙豆 2 号 Longdou 2
1	77.65	97.09	90.88	83.75	89.74	63.89	77.31	65.76	71.67
2	93.20	97.75	93.82	83.86	92.85	94.54	88.43	81.19	72.18
3	85.55	97.99	95.13	73.94	88.85	97.70	85.84	89.49	75.64
4	89.02	98.15	78.69	68.69	83.90	75.41	87.98	69.76	70.50
5	81.82	96.77	82.42	80.22	91.40	85.88	83.00	73.54	76.08
6	92.54	95.99	64.52	68.27	75.02	57.50	61.72	73.93	54.37

续表 4

染色体编号	黑农 44	黑农 46	黑农 51	黑农 56	黑农 60	黑农 64	黑农 66	抗线 9 号	龙豆 2 号
Chromosome No.	Heinong 44	Heinong 46	Heinong 51	Heinong 56	Heinong 60	Heinong 64	Heinong 66	Kangxian 9	Longdou 2
7	77.02	97.39	80.86	81.04	92.46	82.94	72.23	75.17	74.90
8	92.91	97.79	90.72	79.40	87.93	83.14	85.23	82.74	79.68
9	80.01	97.25	95.55	72.69	76.18	73.74	79.19	66.19	72.13
10	90.72	96.75	61.56	53.24	87.91	63.88	75.25	86.12	58.71
11	88.82	96.00	87.06	75.25	90.87	96.38	82.36	73.38	83.07
12	70.18	96.87	91.92	65.25	92.44	86.47	72.66	65.26	67.07
13	94.67	97.86	95.92	79.52	82.06	77.28	86.80	71.37	69.48
14	97.23	97.20	91.16	79.75	86.69	88.32	95.18	73.15	60.06
15	65.11	94.70	80.62	60.86	61.75	95.96	61.47	60.08	67.54
16	73.63	98.10	88.42	86.33	91.18	85.21	61.75	89.96	56.63
17	53.87	98.24	93.59	53.54	94.90	78.89	56.50	65.69	54.76
18	96.98	97.48	86.58	76.05	95.99	85.95	74.25	78.16	78.35
19	62.60	97.02	58.64	56.97	60.76	63.04	62.39	75.75	58.58
20	87.20	97.36	86.32	82.78	95.38	0.94580	82.86	87.69	75.55



LD 2: 龙豆 2 号; HN56: 黑农 56; KX9: 抗线 9 号; HN66: 黑农 66; HN44: 黑农 44; HN51: 黑农 51; HN64: 黑农 64; HN60: 黑农 60; HN46: 黑农 46; HN37: 黑农 37。

LD 2: Longdou 2; HN56: Heinong 56; KX9: Kangxian 9; HN66: Heinong 66; HN44: Heinong 44; HN51: Heinong 51; HN64: Heinong 64; HN60: Heinong 60; HN46: Heinong 46; HN37: Heinong 37.

图 8 黑农 37 及其衍生品种遗传信息交换示意图

Fig. 8 Diagram of genetic information exchange between Heinong 37 and its offspring

2.4.4 黑农 37 对黑农 44 的遗传贡献 黑农 44 是以黑农 37 为母本, 吉林 20 为父本育成的适宜第二积温区(2 350 ~ 2 490 ℃)的主栽品种, 推广面积已达 120 万 hm², 它具有黑农 37 的主要特点, 适应性

好、耐旱、耐瘠薄、稳产, 也是当前品种改良的骨干亲本; 由遗传信息交换示意图可看出用黑农 37 改良后的衍生品种大量遗传信息被改变。而黑农 44 与黑农 37 图示颜色较相近, 说明二者遗传距离近, 具

有更多相同的基因(图 8),从 SNP 位点可以看到 74.95% 位点是相同的,25.1% 位点被遗传改良,这些位点涉及株高、叶型、生育日数、产量、油份和蛋白质含量,胞囊线虫指数和根腐病抗性上(附表 4)。黑农 44 与黑农 37 在不同染色体上相同等位变异比例也较高,在 2、6、8、10、13、14 和 18 号达 90% 以上,且 18 号染色体上达到 96.98%,在 3、4、5、9、11 和 20 号染色体上达 80% 以上,在 1、7、12 和 16 号染色体上达 70% 以上,在 15、17 和 19 号染色体上达 65.1%、53.87% 和 62.6%,黑农 37 的遗传信息在后代各染色体传递中都超过 53% 以上(表 4)。

3 讨 论

从其品种特征分析喜肥水品种满仓金和绥农 4 号都具有较高的净光合速率,分别为 29.28% 和 31.58%,高于品种平均值的 3.1% 和 11.2%;瞬时水分利用率高,分别高于品种平均值的 42.3% 和 55.35%,特别是绥农 4 号在干旱、渍水的条件下都有较高的光合速率,叶片胞间 CO₂ 浓度为 199.69 μmol·mol⁻¹,低于品种平均值 277.36 μmol·mol⁻¹,瞬时水分利用率高,叶片净光合速率高,所以用绥农 4 号作亲本易获得喜肥水的品种;而绥农 4 号的衍生品种,由于人工选择和育种选择的作用,使其高光合速率基因在后代群体中的多样性明显下降。骨干亲本满仓金、绥农 4 号、合丰 25、黑农 37 对大豆根腐病、灰斑病都表现中抗以上,且基秆强、有弹性(附表 1~4)。表明骨干亲本不仅具备优异的表现型,而且在不同生态条件下它们在根部和叶部都有较强的抵御当地病虫害和自然灾害的能力,适宜逆境条件的能力较强。

祖先亲本的优良功能性状在人工和生态选择育种过程中被遗传、选择并保留给子代,在不同染色体上控制重要农艺性状的基因组区段有较强的传递能力和被育种家优先选择的靶位点。合丰 55、绥农 14、黑农 44 是目前生产上推广面积较大的优质高产品种,也是当前的优良亲本,对不同染色体上的遗传信息解析表明,这 3 个品种与其骨干亲本相比,在 2、8、18 号染色体上的相同等位变异比例均超过 90%,特别是在 18 号染色体上相同等位变异的比例均为 95% 以上,表明有该品种与其骨干亲本间共同的性状被遗传下来,其 18 号染色体上遗传组成更接近于骨干亲本,而不是双亲性状的平均值;对大豆 18 号染色体的遗传信息的分析表明,该染色体与表型的优势性状密切相关的分子功能主要有 10 类:蛋白结合(12.59%)、DNA 结合(10.07%)、序列特异性 DNA 结合转录因子的活性

(8.24%)、核苷酸结合(8.09%)、转移酶活性/含磷基因的转移(7.44%)、激酶活性(7.03%)、核酸结合(4.00%)、转运活性(3.03%)、催化活性(7.08%)、RNA 结合(2.78%)。这些性状是在人工选择和生态选择下育种的重要指标,目前发现 18 号染色体上性状标记有粒重、猝死综合症、胞囊线虫、亚油酸、蛋白、始花期、主根宽、熟期、节间长度、疫霉菌、叶绿素、N 循环、色氨酸、脯氨酸、亮氨酸、半胱氨酸、亚麻酸、分枝性、种子长度、棕榈酸、叶面积、异黄酮、花数、光周期纯感、荚粒数、株高、蛋氨酸、油份、大豆黄素、产量、VE、生育期、铁利用率、硬脂酸、叶形、倒伏性、发芽率、叶长、耐淹性等,因此推断大豆的 18 号染色体上有控制产量、光合特性、光周期纯感、根腐病抗性、倒伏性、株高、节间长度等优良遗传性状的区段^[27]。

4 结 论

用 SLAF-seq 全基因组测序方法对黑龙江省第 1~4 积温区的骨干优势亲本及其衍生品种进行遗传标记分析证实:骨干亲本与其衍生品种具有一些相同的基因组区段,这些相同的位点是衍生后代保持优良性状的依据。衍生后代表观性状的变化来自于骨干亲本基因的改变。4 个重要的骨干亲本与衍生后代基因分析表明,在 2、8 和 18 号染色体上的相同等位变异比例较高,特别是在 18 号染色体上相同等位变异的比例更高;对大豆 18 号染色体的遗传信息的分析表明,该染色体与表型的优势性状密切相关的分子功能主要有 10 类,本研究推测骨干亲本在 18 号染色体上含有一些特殊的重要农艺性状,如光周期纯感、光合特性、根腐病抗性、产量、抗倒性、节间长度等相关基因位点,将会成为骨干亲本的遗传基础,为以后大豆分子育种提供重要的参考价值。

参考文献

[1] 李永祥,王天宇,黎裕. 主要农作物骨干亲本形成与研究利用[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(5): 1093-1102. (Li Y X, Wang T Y, Li Y. Formation, research and utilization of founder parents in major crops [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(5):1093-1102.)

[2] 盖钧益,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]. 中国油料作物学报, 1998, 1(20):17-23. (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]. Chinese Journal of Oil Crop, 1998, 1(20): 17-23.)

[3] 熊冬金,赵团结,盖钧益. 中国大豆育成品种亲本分析[J]. 中国农业科学, 2008, 41(9): 2589-2598. (Xiong D J, Zhao T J, Gai J Y. Parental analysis of soybean cultivars released in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(9):

2589-2598.)

[4] 熊冬金,赵团结,盖钧铭. 1923-2005 年中国大豆育成品种种质的地理来源及其遗传贡献[J]. 作物学报, 2008, 34(2): 175-183. (Xiong D J, Zhao T J, Gai J Y. Geographical sources of germplasm and their nuclear and cytoplasmic contribution to soybean cultivars released during 1923 to 2005 in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(2):175-183.)

[5] 王彩洁,孙石,吴宝美,等. 20 世纪 40 年代以来中国大面积种植大豆品种的系谱分析[J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(3): 246-252. (Wang C J, Sun S, Wu B M, et al. Pedigree analysis of the most planted soybean cultivars in China since 1940s [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2013, 35(3): 246-252.)

[6] 姜朋,陈小霖,张平平,等. 宁麦 9 号对其衍生品种的遗传贡献[J]. 作物学报, 2014, 40(5): 830-837. (Jiang P, Chen X L, Z P P, et al. Genetic contribution of wheat variety Ningmai to its derivatives [J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(5): 830-837.)

[7] 赵春华,崔法,李君,等. 冬小麦种质“矮孟牛”姊妹系遗传差异[J]. 作物学报, 2011, 37(8): 1333-1341. (Zhao C H, Cui F, Li J, et al. Genetic difference of sibs derived from winter wheat germplasm ‘Aimengniu’ [J]. Acta Agronomica Sinica, 2011, 37(8): 1333-1341.)

[8] 盖红梅,李玉刚,王瑞英,等. 鲁麦 14 对山东新选育小麦品种的遗传贡献[J]. 作物学报, 2012, 38(6): 954-961. (Gai H M, Li Y G, Wang R Y, et al. Genetic contribution of Lumai 14 to novel wheat varieties developed in Shandong province[J]. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(6): 954-961.)

[9] 李伟瑜,张文武,张嘉楠,等. 利用关联分析发掘小麦自然群体叶绿素含量的优异等位变异[J]. 作物学报, 2012, 38: 962-970. (Li W Y, Zhang W W, Zhang J N, et al. Exploring elite alleles for chlorophyll content of flag leaf in natural population of wheat by association analysis[J]. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38: 962-970.)

[10] 汤圣祥,王秀东,刘旭. 中国常规水稻品种的更替趋势和核心骨干亲本研究[J]. 中国农业科学, 2012, 45(8): 1455-1464. (Tang S X, Wang X D, Liu X, et al. Study on the renewed tendency and key backbone-parents of inbred rice varieties (*O. Sativa*) in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(8):1455-1464.)

[11] Sun Z X, E Z G, Wang L, et al. Exploring assessment method of Chinese rice backbone parents [J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(6): 973-983.

[12] 郁晓敏,金航霞,杨清华,等. 利用 SLAF-seq 结合 BSA 方法发掘大豆种皮色相关基因[J]. 分子植物育种, 2019, 12(12): 1148-1158. (Yu X M, Jin H X, Yang Q H, et al. Mapping of soybean genes related to seed-coat color using SLAF-seq and BSA methods[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 12(12): 1148-1158.

[13] 林洁,刘丽君,吴俊江,等. 不同栽培模式对大豆同化物积累和光合生理特性与产量形成的影响[J]. 大豆科学, 2009, 28(3): 456-460. (Lin J, Liu L J, Wu J J, et al. Effects of different cultivation patterns on assimilate accumulation, photosynthetic characteristics and yield formation in soybean[J]. Soybean Science, 2009, 28(3): 456-460.)

[14] 袁翠平,常汝镇,邱丽娟. 大豆孢囊线虫抗性基因定位与克隆

研究进展[J]. 植物学通报, 2006, 23(1): 14-22. (Yuan C P, Chang R Z, Qiu L J. Progress on genetic mapping and gene cloning of cyst nematode resistance in soybean [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(1): 14-22.)

[15] Wei L, Allen G, Elroy R, et al. Pathogenicity of pythium species causing seed rot and damping-off in soybean under controlled conditions[J]. Phytoprotection, 2011, 91: 3-10.

[16] 韩英鹏,李文滨, Terry R, 等. 耐大豆疫霉根腐病 QTL 定位研究[J]. 大豆科学, 2006, 25(1): 23-27. (Han Y P, Li W B, Terry R, et al. Study on QTL location of phytophthora root rot [J]. Soybean Science, 2006, 25(1): 23-27.)

[17] 丁俊杰,文景芝,胡国华,等. 黑龙江省大豆灰斑病生理小种监测及主栽品种抗性分析[J]. 大豆科学, 2009, 28(1): 178-180. (Ding J J, Wen J Z, Hua G H, et al. Monitoring of physiological race of soybean frogeye spot and analysis of variety resistance in Heilongjiang province[J]. Soybean Science, 2009, 28(1): 178-180.)

[18] Saghai-Marof M A, Soliman K M, Allard R W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1984, 81(24): 8014-8018.

[19] 涂玉琴,张洋,辛佳佳,等. 基于 SLAF-seq 技术鉴定甘蓝型油菜叶绿缘裂性状候选基因[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(2): 426-435. (Tu Y Q, Zhang Y, Xin J J, et al. Identification of candidate genes for lobed-leaf trait in *Brassica napus* L. by SLAF-seq method [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(2): 426-435.)

[20] Tamara K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(30): 11030-11035.

[21] Schmut J, Canon S B, Schlueter J, et al. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean [J]. Nature, 2010, 463(7278): 178-183.

[22] Li R Q, Yu C, Li Y R, et al. SOAP2: An improved ultrafast tool for short read alignment [J]. Bioinformatics, 2009, 25(15): 1966-1967.

[23] Tamara K, Peterson D, Peterson N, et al. Megs: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.

[24] Saiton N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4(4): 406-425.

[25] Read T, Vance D. Robust clustering: A comparison of Sun™ Cluster 3.0 Versus Sun Cluster 2.2 software tool[M]. USA: Sun Blueprints, 2001.

[26] Price A L, Patterson N J, Plenge R M, et al. Principal components analysis connects for stratification in genome-wide association studies[J]. Nature Genetics, 2006, 38: 904-909.

[27] Teh Soon L, Rostandy B, Awale M, et al. Genetic analysis of stilbenoid profiles in grapevine stems reveals a major mQTL hotspot on chromosome 18 associated with disease-resistance motifs[J]. Horticulture Research, 2019:6.