

刘 丽,王 培,王传之,等. 基于 SSR 标记黄淮海地区夏大豆区域试验参试品系遗传多样性及粒形性状关联位点分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(5): 785-795.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.05.003

## 基于 SSR 标记黄淮海地区夏大豆区域试验参试品系遗传多样性及粒形性状关联位点分析

刘 丽<sup>1</sup>, 王 培<sup>1,2</sup>, 王传之<sup>3</sup>, 陈先连<sup>1</sup>, 宁可君<sup>1</sup>, 杨 雪<sup>1</sup>, 舒英杰<sup>1</sup>, 惠 雪<sup>1</sup>, 何庆元<sup>1</sup>  
(1.安徽科技学院农学院,安徽 滁州 239000; 2.宿州市农业科学院,安徽 宿州 234000; 3.宿州学院生物与食品工程学院,安徽 宿州 234000)

**摘要:** 为指导黄淮海地区夏大豆亲本选配和品种选育,通过在 20 条染色体上分布基本均匀的 135 对 SSR 标记对 192 份黄淮海地区参试夏大豆品系进行基因分型,分析品系的遗传分化和遗传多样性,测量品系的粒长、粒宽、粒长粒宽比,并进行粒形性状位点关联分析。结果表明,135 对标记共检测出 365 个等位基因,平均每个标记检测到 2.703 7 个等位基因,变化范围为 1~5 个,多态信息含量为 0~0.676 7,平均值为 0.368 6。供试的 192 份大豆品系遗传多样性(多态性百分率 = 97.78%,等位基因数 = 2.703 7,有效等位基因数 = 1.956 1,Shannon's 信息指数 = 0.709 0)丰富,根据供试大豆品系来自区域分为 5 个自然居群,自然居群间遗传相似度( $GI \geq 0.925$ )较高,遗传距离( $GD \leq 0.077$ )小,表明黄淮海地区品种间交流频繁,遗传资源丰富。群体结构分析和连锁不平衡分析结果表明,192 份参试夏大豆品系被划分为 5 个遗传亚群,且每个遗传亚群内存在不同程度的连锁不平衡。主坐标分析结果表明,第一主成分、第二主成分、第三主成分分别解释了总变异的 7.69%、6.23%、5.57%。关联分析结果表明, $P < 0.05$  的显著水平下,共检测到 88 个与粒形性状关联的位点,其中有 4 个与粒形性状关联的位点在 2 种环境下被同时检测到,分别位于 5 号、16 号、19 号染色体上,其中位于 19 号染色体中的 *Sat\_071* 位点表型贡献率最高。

**关键词:** 大豆; 遗传多样性; 粒形; 关联位点

**中图分类号:** S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)05-0785-11

## Analysis of genetic diversity and associated loci of grain shape traits in summer soybean regional test lines in Huang-Huai-Hai region based on SSR markers

LIU Li<sup>1</sup>, WANG Pei<sup>1,2</sup>, WANG Chuanzhi<sup>3</sup>, CHEN Xianlian<sup>1</sup>, NING Kejun<sup>1</sup>, YANG Xue<sup>1</sup>, SHU Yingjie<sup>1</sup>, HUI Xue<sup>1</sup>, HE Qingyuan<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture, Anhui Science and Technology University, Chuzhou 239000, China; 2. Suzhou Academy of Agricultural Sciences, Suzhou 234000, China; 3. School of Biological and Food Engineering, Suzhou University, Suzhou 234000, China)

收稿日期: 2023-10-17

**基金项目:** 安徽省教育厅重大项目(2023AH040279); 安徽省重点研发项目(202104a06020029); 国家自然科学基金项目(32101704); 四川省科技计划项目(2022SZYF08); 四川省科技计划重点研发项目(2021YFYZ0018); 四川豆类杂粮创新团队春大豆技术研究岗位项目(SCCXTD-2020-20); 安徽省大学生创新课题(202210879102、S202210879310)

**作者简介:** 刘 丽(1998-), 女, 江苏扬州人, 硕士研究生, 研究方向为大豆遗传育种。(E-mail) 2675727557@qq.com。王培为共同第一作者。

**通讯作者:** 何庆元, (E-mail) heqingyuan1@163.com

**Abstract:** To guide the parent selection and variety breeding of summer soybean in Huang-Huai-Hai region, the genotyping test of 192 summer soybean lines in Huang-Huai-Hai region was carried out by 135 pairs of SSR markers distributed evenly on 20 chromosomes. The genetic differentiation and genetic diversity of the lines were analyzed, the grain length, grain width and grain length-width ratio of the lines were measured, and the association anal-

ysis of grain shape trait loci was carried out. The results showed that 365 alleles were detected by 135 pairs of markers, and an average of 2.703 7 alleles were detected by one marker, ranging from one to five. The polymorphic information content was 0–0.676 7, with an average of 0.368 6. The genetic diversity of 192 soybean lines (percentage of polymorphism = 97.78%, number of alleles = 2.703 7, effective number of alleles = 1.956 1, Shannon's information index = 0.709 0) was rich. According to the region of the tested soybean lines, they were divided into five natural populations. The genetic similarity ( $GI \geq 0.925$ ) among natural populations was higher, and the genetic distance ( $GD \leq 0.077$ ) was smaller, indicating that there were frequent exchanges among varieties and abundant genetic resources in Huang-Huai-Hai region. The results of population structure analysis and linkage disequilibrium analysis showed that 192 summer soybean lines were divided into five genetic subgroups, and there were different degrees of linkage disequilibrium in each genetic subgroup. The results of principal coordinate analysis showed that the first principal component, the second principal component and the third principal component explained 7.69%, 6.23% and 5.57% of the total variation, respectively. The results of association analysis showed that 88 loci associated with grain shape traits were detected at the significant level of  $P < 0.05$ . Four loci associated with grain shape traits were detected in two environments at the same time, which were located on chromosomes 5, 16 and 19, respectively. Among them, the *Sat\_071* locus on chromosome 19 had the highest phenotypic contribution rate.

**Key words:** soybean; genetic diversity; grain shape; associated loci

大豆 (*Glycine max*) 是最重要的粮油饲兼作物,但目前中国产量严重不足,严重依赖于国外进口,2022 年进口  $9.1 \times 10^7$  t, 占总需求的 85% 以上。黄淮海地区是中国第二大大豆产区,占全国大豆种植面积的三分之一,在中国大豆生产中占重要战略地位<sup>[1]</sup>。种质资源是育种的基础,所掌握遗传资源的丰富程度和剖析的深入程度决定育种水平的高低,遗传和群体演化剖析可为种质资源创新和育种实践提供理论依据<sup>[2]</sup>。

先前通过表型、系谱分析和分子标记对黄淮海大豆育成品种进行了大量的研究,并且也利用该地区的大豆种质资源进行了相关的农艺、品质和抗逆性的遗传定位研究。如徐泽俊等<sup>[3]</sup>对黄淮海地区大豆种质资源的农艺性状和品质性状进行了综合评价,李琼等<sup>[4-5]</sup>通过简单串联重复序列 (SSR) 标记和表型分析对 120 份大豆进行遗传多样性分析,赵晶云等<sup>[6]</sup>以 102 份黄淮海大豆新品系为材料,对 14 个与产量相关的农艺性状进行遗传多样性分析,Liu 等<sup>[7]</sup>对 181 个品种进行基因组重测序,依据育种年限将其分为 5 个自然亚群,经主成分分析 (PCA) 与种群结构分析,不同自然群体间并无明显分群趋势。这些研究结果都表明黄淮海地区育成品种具有丰富的遗传多样性,蕴含大量的优异等位变异基因。何鑫等<sup>[8]</sup>的分析结果表明单株粒重是黄淮海地区大豆产量提高的关键因素。

种子大小是决定单株粒重最重要的因素之

一,通常认为大豆种子大小的构成因素可剖分为种子的长、宽等构成因子。迄今为止,在 Soybase (<http://www.soybase.org/>) 网站上与大豆粒形相关的数量性状位点 (QTL) 包括利用人工作图群体定位到的种子长度相关位点 29 个,宽度相关位点 25 个,粒长粒宽比相关位点 18 个<sup>[9-11]</sup>,除此之外,国内外还有多个利用人工作图群体定位到多个大豆粒形基因的报道<sup>[12-16]</sup>。这些报道表明大豆粒形是一个复杂的数量性状,受遗传和环境共同控制,不同遗传背景下,所定位得到的位点不尽相同。但这些研究多集中在利用人工作图群体进行大豆粒形研究,而利用遗传变异更为丰富的自然群体进行关联定位,寻找与粒形相关的优异等位变异和材料并应用于育种实践具有更为重要的意义,但迄今为止相关报道较少。

本研究拟选取 2018 年黄淮海地区区域试验材料,通过分析不同来源地区选育品系的遗传关系和品系间遗传多样性,并通过全基因组关联分析定位粒形的遗传位点,解析黄淮海地区大豆选育品系的遗传关系,为该地区大豆育种提供理论依据,加速黄淮海地区大豆新品种的选育。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

本研究的试验材料为 2018 年参加黄淮海地区区域试验的 192 份大豆品系,它们来自安徽省、北京

市、江苏省、河南省等 7 个参试省市的科研育种单位,均为无直接亲缘关系的自然群体,按选育单位的来源地将其分为 5 个自然居群(表 1)。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 田间种植与测量** 本研究供试材料于 2020–2021 年种植于宿州市农业科学研究院试验农场(处理记作 20SZ、21SZ)(33°18′N 和 116°09′),2022 年种植于凤阳(32°47′N 和 117°19′)(处理记作 22FY)。采用随机区组试验设计,行长 2.0 m,行距 0.4 m,每行播种约 20 粒大豆种子,重复 3 次,正常田间管理,收获后充分晾干后,测量 10 粒种子的长、宽,取粒长(*SL*)、粒宽(*SW*)平均值,并计算粒长粒宽比(*SLW*)。

表 1 不同自然居群供试材料数量

Table 1 Number of materials for testing in different ecological zones

| 自然居群    | 供试材料数量(份) |
|---------|-----------|
| 黄淮海北部地区 | 16        |
| 黄淮海中部地区 | 44        |
| 黄淮海西部地区 | 10        |
| 黄淮海南部地区 | 85        |
| 长江中下游地区 | 37        |

**1.2.2 DNA 的提取与基因分型** 称量 1 g 大豆植株的幼嫩叶片,利用改良的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)<sup>[17]</sup>法提取大豆 DNA,随后经 1% 琼脂糖凝胶电泳进行 DNA 质量检测,若条带清晰,则将 DNA 置于 -20 ℃ 冰箱保存备用。从 Soymap2 公共图谱<sup>[18]</sup>上选择在 20 条染色体上分布基本均匀的 135 对 SSR 引物进行基因分型,引物由上海通用生物公司合成。

## 1.3 数据处理与分析

**1.3.1 粒形性状统计与分析** 利用 Microsoft Excel 2019、SPSS Statistics 26.0(IBM SPSS Statistics 26)软件对粒形数据(粒长、粒宽、粒长粒宽比)进行统计分析。

**1.3.2 自然居群的遗传多样性与变异分析** 利用 Popgene32<sup>[19]</sup>软件分析所选群体的多态性位点(*NPB*)、多态性百分率(*PPB*)、等位基因数(*Na*)、有效等位基因数(*Ne*)、Shannon's 多态性信息指数(*I*)、遗传距离(*GD*)、遗传一致度(*GI*)。

**1.3.3 品系遗传结构分析** 使用 Powermarker-

V3.25<sup>[20]</sup>软件对 192 份大豆材料进行品系间遗传相似性分析,计算基因多样性系数(Gene Diversity)与多态性信息含量(*PIC*),再经非加权平均配对法(UPGMA)对各品系聚类,然后用 MEGA7.0<sup>[21]</sup>生成系统进化树。之后利用“R”语言对 192 份大豆材料品系间的遗传相似性和聚类关系进行 PCA 主成分分析。

**1.3.4 群体结构分析** 选取分布于每条染色体上遗传距离较远的 2 个标记,使用 Structure 2.2<sup>[22]</sup>进行群体结构分析,计算最优分群数目(*K*值)下的亲缘关系系数(*Q*值),利用 SPAGeDi<sup>[23]</sup>软件归一化 *Q* 值。

**1.3.5 连锁不平衡分析** 利用 Tassel 2.1<sup>[24]</sup>软件对亚群中 135 个 SSR 标记位点间的连锁不平衡进行计算,用来评价连锁不平衡程度,并绘制出连锁不平衡图。

**1.3.6 全基因组关联分析** 使用 Tassel 2.1 软件,基于混合线性模型(Mixed linear models, MLM)对简单串联重复序列(SSR)分子标记和粒形性状进行关联分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 粒形的表型变异

黄淮海地区大豆群体粒形性状变化较大(表 2),粒长、粒宽和粒长粒宽比在 3 种环境(20SZ、21SZ、22FY)的变异范围分别为 5.90~9.70、5.20~8.20 和 1.03~1.45。峰度范围为 -0.15~0.73、偏度范围为 -0.14~0.52,其绝对值均小于 1,峰度较小。从频次分布图(图 1)可以看出种子粒形大小呈连续分布,且近似正态分布。3 个粒形性状均值在 22FY 环境下最高,21SZ 环境下粒长的变异系数(*CV*)最大,22FY 粒长粒宽比的变异系数最低。粒形性状指标变异系数为 4.96%~7.73%,广义遗传率(*h*<sup>2</sup>)为 66.00%~93.33%,粒长的广义遗传率最高(88.80%~93.33%),粒长粒宽比的广义遗传率最低(66.00%~91.41%),并且在 20SZ 环境下 3 个性状的广义遗传率都高于其他 2 个环境。方差分析结果(表 3)表明,大豆粒形的 3 个性状都受到环境、品系、环境与品系间相互作用的极显著影响(*P*<0.000 1)。总体看该群体在粒形上具有一定的遗传变异,并且有较高的遗传率,同时受到基因型和环境的影响,说明该群体适用于大豆粒长、粒宽和粒长粒宽性状的遗传解析和基因定位研究。

## 2.2 遗传多样性

2.2.1 SSR 标记多态性分析 利用 135 对引物对 192 份黄淮海地区参试夏大豆品系进行同源位点扩增,均表现出较高多态性。共得到 365 个等位基因

数,平均每个标记检测到 2.703 7 个等位基因数,等位基因数变化范围为 1~5 个。多态信息含量(PIC)为 0~0.676 7,平均值为 0.368 6。

表 2 3 种环境下大豆粒形性状表型分析

Table 2 Phenotypic analysis of soybean grain shape in three environments

| 性状    | 环境   | 均值±标准差    | 变异范围      | 变异系数(%) | 广义遗传率(%) | 偏度    | 峰度    |
|-------|------|-----------|-----------|---------|----------|-------|-------|
| 粒长    | 20SZ | 7.59±0.55 | 5.90~9.25 | 7.25    | 93.33    | -0.07 | 0.07  |
|       | 21SZ | 8.02±0.62 | 6.10~9.70 | 7.73    | 88.80    | 0.14  | -0.15 |
|       | 22FY | 8.20±0.53 | 6.30~9.60 | 6.46    | 89.40    | -0.14 | -0.12 |
| 粒宽    | 20SZ | 6.32±0.38 | 5.20~7.55 | 6.01    | 91.67    | 0.02  | 0.31  |
|       | 21SZ | 6.70±0.38 | 5.70~8.20 | 5.67    | 75.31    | 0.33  | 0.22  |
|       | 22FY | 6.80±0.39 | 5.50~7.90 | 5.74    | 86.67    | -0.02 | 0.08  |
| 粒长粒宽比 | 20SZ | 1.20±0.06 | 1.03~1.41 | 5.00    | 91.41    | 0.32  | 0.73  |
|       | 21SZ | 1.19±0.07 | 1.04~1.40 | 5.88    | 66.00    | 0.50  | 0.10  |
|       | 22FY | 1.21±0.06 | 1.10~1.45 | 4.96    | 85.25    | 0.52  | 0.18  |

20SZ;2020 年宿州;21SZ;2021 年宿州;22FY;2022 年凤阳。

2.2.2 自然居群内遗传多样性分析 5 个自然居群内的遗传多样性分析结果(表 4)表明,整个群体的位点多态性百分率,平均等位基因数,有效等位基因数,Shannon's 信息指数,整体表现出较高的遗传多样性。在 5 个居群间,黄淮海南部地区自然居群多态性百分率(96.30%)、等位基因数(2.644 4)、Shannon's 信息指数(0.693 2)最高;黄淮海中西部地区自然居群多态性百分率(83.70%)、等位基因数(2.111 1)、Shannon's 信息指数(0.546 5)最低。不同自然居群内的 Shannon's 信息指数都比较高,说明不同地区参试的大豆品系来源都比较多样。

2.2.3 自然居群间遗传结构分析 聚类分型结果(图 2)显示,5 个自然居群被分为 2 大类,其中黄淮海中西部地区自然居群被单独聚为第Ⅱ大类,第Ⅰ大类则又分为 2 个亚群,黄淮海北部地区自然居群属于Ⅰ-1 亚群,其余 3 个自然居群属于另外 1 个亚群。不同自然居群间遗传相似性(GI)较高,均超过了 0.920 0,说明不同地区育种单位之间育种材料交换比较频繁,其中黄淮海南部地区自然居群与长江中下游地区自然居群遗传相似度最高(0.978 9)、遗传距离最小(0.021 3),黄淮海中西部地区自然居群与长江中下游地区自然居群遗传相似度最小(0.925 2)、遗传距离最大(0.077 8)(表 5)。黄淮海中西部地区的育种单位和其他育种单位之间育种材料交换相对较少,遗传相似性最小。基因流分析结果表明,分化系数( $F_{st}$  = 0.054)较低,基因流( $N_m$  = 9.722)较高,说明不同自然

居群之间的遗传交换较多。

2.2.4 SSR 聚类分析及主坐标分析 利用 135 对引物扩增出来的 365 个等位基因,运用 PowerMarker version 2.5 基于 Nei's 1983 基因距离绘制 192 份大豆品系的亲缘关系聚类图,从图中可以看出,192 份大豆品系被分为 5 大遗传类群(图 3A);主坐标分析(图 3B)结果表明,第一主成分、第二主成分、第三主成分分别解释了总变异的 7.69%、6.23%、5.57%,由图 3 可知,5 个自然居群分散在不同的遗传类群之中,较为分散,集中度较低,表明育种材料之间的遗传交换较多,并且不同材料之间的遗传相似性高。

## 2.3 黄淮海地区夏大豆区域试验参试品系粒形性状位点分析

2.3.1 群体结构分析 从 20 条染色体中各选取 2 个基本不连锁的标记,经 Structure 2.2 软件分析,当  $K=5$  时,  $\Delta K$  最大(图 4A),进而将群体划分为 5 个亚群(图 4B),分别含有 37 份、41 份、44 份、28 份和 42 份材料。使用 Tassel 2.1 软件绘制出 135 个标记位点间的连锁不平衡图(图 4C),图中,各连锁群均有连锁不平衡位点存在,当连锁强度( $D'$ ) > 0.50 时,位点分布较集中,存在不平衡位点,颜色越红表明连锁不平衡现象越突出,此外,同一连锁群或不同连锁群均有一定程度连锁不平衡存在(图 4C 斜线下方),评价位点间存在显著连锁不平衡的标准为  $P \leq 0.01$ ,由图 4C 可见连锁不平衡位点较多。



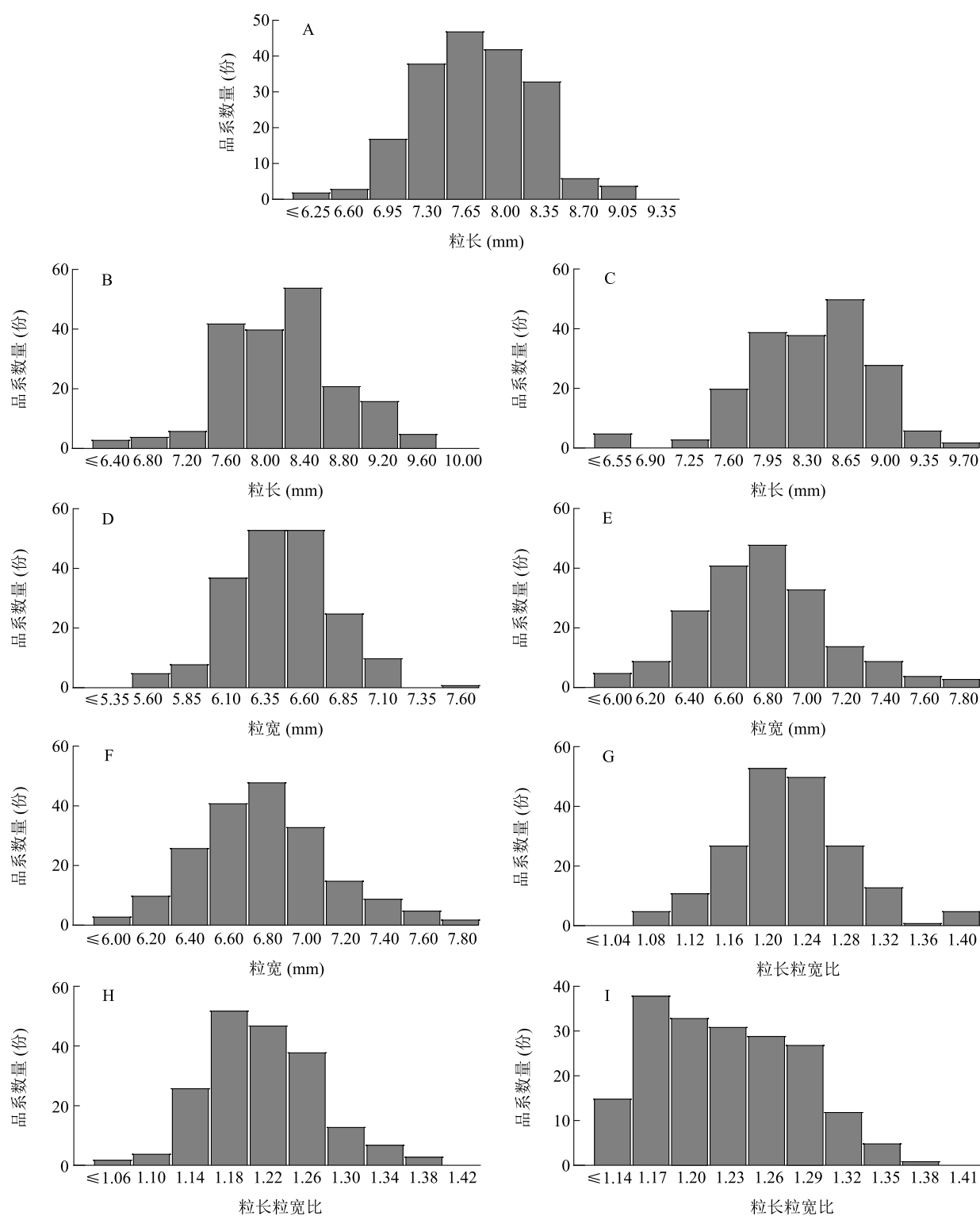


图1 粒长、粒宽、粒长粒宽比在3种环境下的频数分布图  
A为2020年种植于宿州(20SZ)的大豆粒长;B为2021年种植于宿州(21SZ)的大豆粒长;C为2022年种植于凤阳(22FY)的大豆粒长;D为2020年种植于宿州(20SZ)的大豆粒宽;E为2021年种植于宿州(21SZ)的大豆粒宽;F为2022年种植于凤阳(22FY)的大豆粒宽;G为2020年种植于宿州(20SZ)的大豆粒长粒宽比;H为2021年种植于宿州(21SZ)的大豆粒长粒宽比;I为2022年种植于凤阳(22FY)的大豆粒长粒宽比。

图1 粒长、粒宽、粒长粒宽比在3种环境下的频数分布图

Fig.1 Frequency distribution of grain length, grain width and the ratio of grain length to grain width in three environments

表 3 粒形各性状多环境下的方差分析结果

Table 3 Variance analysis of grain shape traits in multiple environments

| 性状    | 因素    | Ⅲ类平方和  | 自由度 | 均方     | <i>F</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|-------|-------|--------|-----|--------|------------|------------|
| 粒长    | 品系    | 358.88 | 191 | 1.880  | 56.310     | <0.000 1   |
|       | 环境    | 87.54  | 2   | 43.770 | 1 311.709  | <0.000 1   |
|       | 品系×环境 | 88.93  | 382 | 0.230  | 6.976      | <0.000 1   |
| 粒宽    | 品系    | 128.92 | 191 | 0.680  | 27.280     | <0.000 1   |
|       | 环境    | 49.59  | 2   | 24.790 | 1 002.390  | <0.000 1   |
|       | 品系×环境 | 67.26  | 382 | 0.180  | 7.120      | <0.000 1   |
| 粒长粒宽比 | 品系    | 3.67   | 191 | 0.020  | 21.100     | <0.000 1   |
|       | 环境    | 0.08   | 2   | 0.040  | 45.470     | <0.000 1   |
|       | 品系×环境 | 1.20   | 382 | 0.003  | 3.450      | <0.000 1   |

表 4 自然居群内遗传多样性分析

Table 4 Analysis of genetic diversity within natural populations

| 自然居群     | 样本数 | 多态性位点 | 多态性百分率 (%) | 等位基因数   | 有效等位基因数 | Shannon's 信息指数 |
|----------|-----|-------|------------|---------|---------|----------------|
| 黄淮海北部地区  | 16  | 128   | 94.81      | 2.429 6 | 1.859 5 | 0.655 5        |
| 黄淮海中东部地区 | 44  | 126   | 93.33      | 2.525 9 | 1.950 8 | 0.690 2        |
| 黄淮海中西部地区 | 10  | 113   | 83.70      | 2.111 1 | 1.687 8 | 0.546 5        |
| 黄淮海南部地区  | 85  | 130   | 96.30      | 2.644 4 | 1.923 0 | 0.693 2        |
| 长江中下游地区  | 37  | 127   | 94.07      | 2.563 0 | 1.927 2 | 0.685 1        |
| 总体       | 192 | 132   | 97.78      | 2.703 7 | 1.956 1 | 0.709 0        |

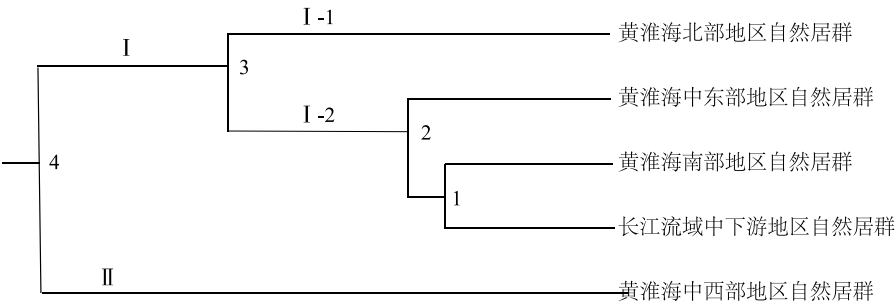


图 2 基于 Nei's 遗传距离的黄淮海地区夏大豆区域试验参试品系的聚类图

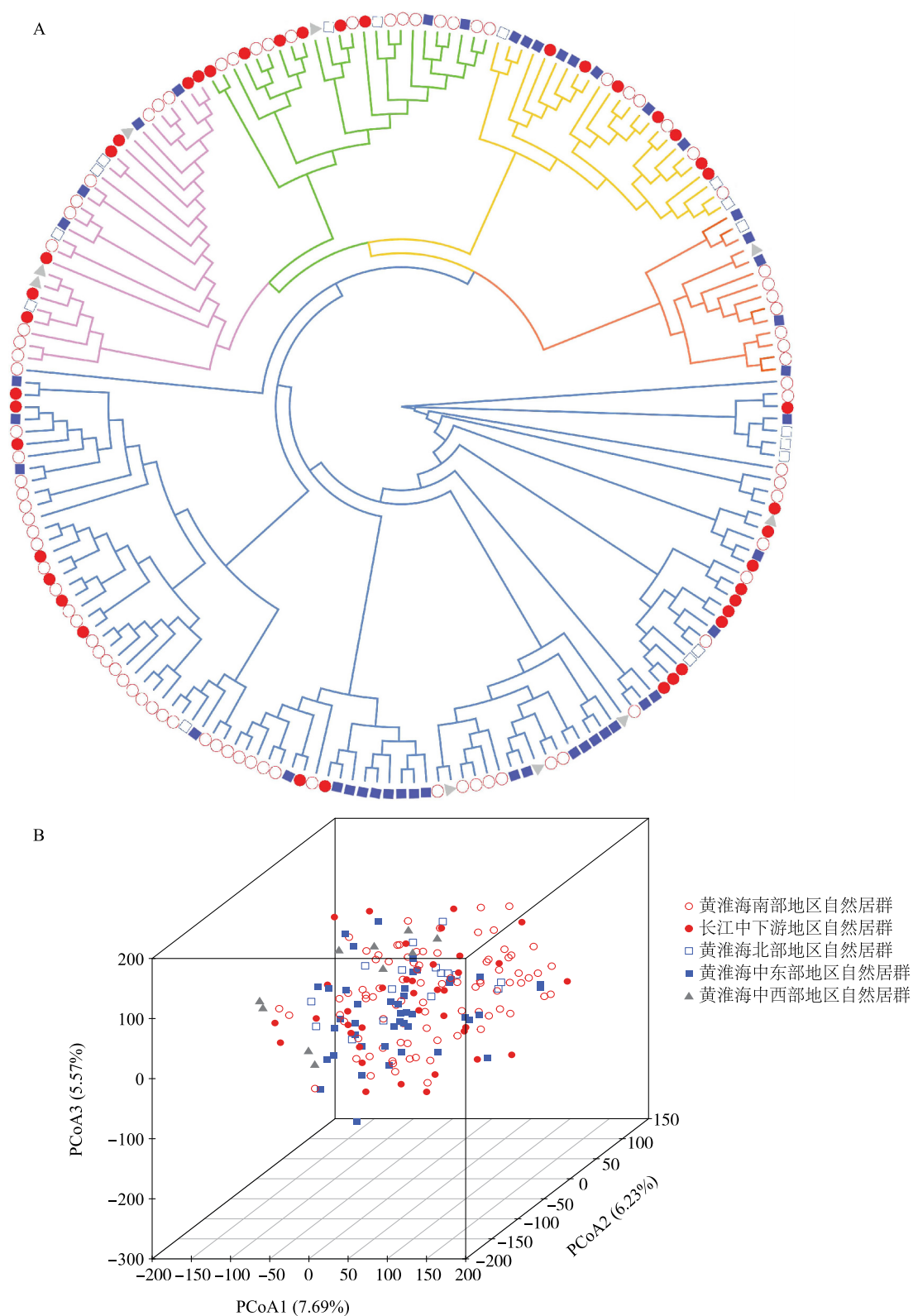
Fig.2 Clustering map of summer soybean regional test lines in Huang-Huai-Hai region based on Nei's genetic distance

表 5 自然居群间遗传相似度 (*GI*) 与遗传距离 (*GD*)

Table 5 Genetic similarity (*GI*) and genetic distance (*GD*) between natural populations

| 自然居群    | 黄淮海北部地区 | 黄淮中东部地区 | 黄淮中西部地区 | 黄淮海南部地区 | 长江中下游地区 |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 黄淮海北部地区 |         | 0.953 6 | 0.931 0 | 0.954 1 | 0.952 9 |
| 黄淮中东部地区 | 0.047 6 |         | 0.934 0 | 0.978 2 | 0.970 7 |
| 黄淮中西部地区 | 0.071 5 | 0.068 3 |         | 0.940 4 | 0.925 2 |
| 黄淮海南部地区 | 0.047 0 | 0.022 1 | 0.061 5 |         | 0.978 9 |
| 长江中下游地区 | 0.048 2 | 0.029 8 | 0.077 8 | 0.021 3 |         |

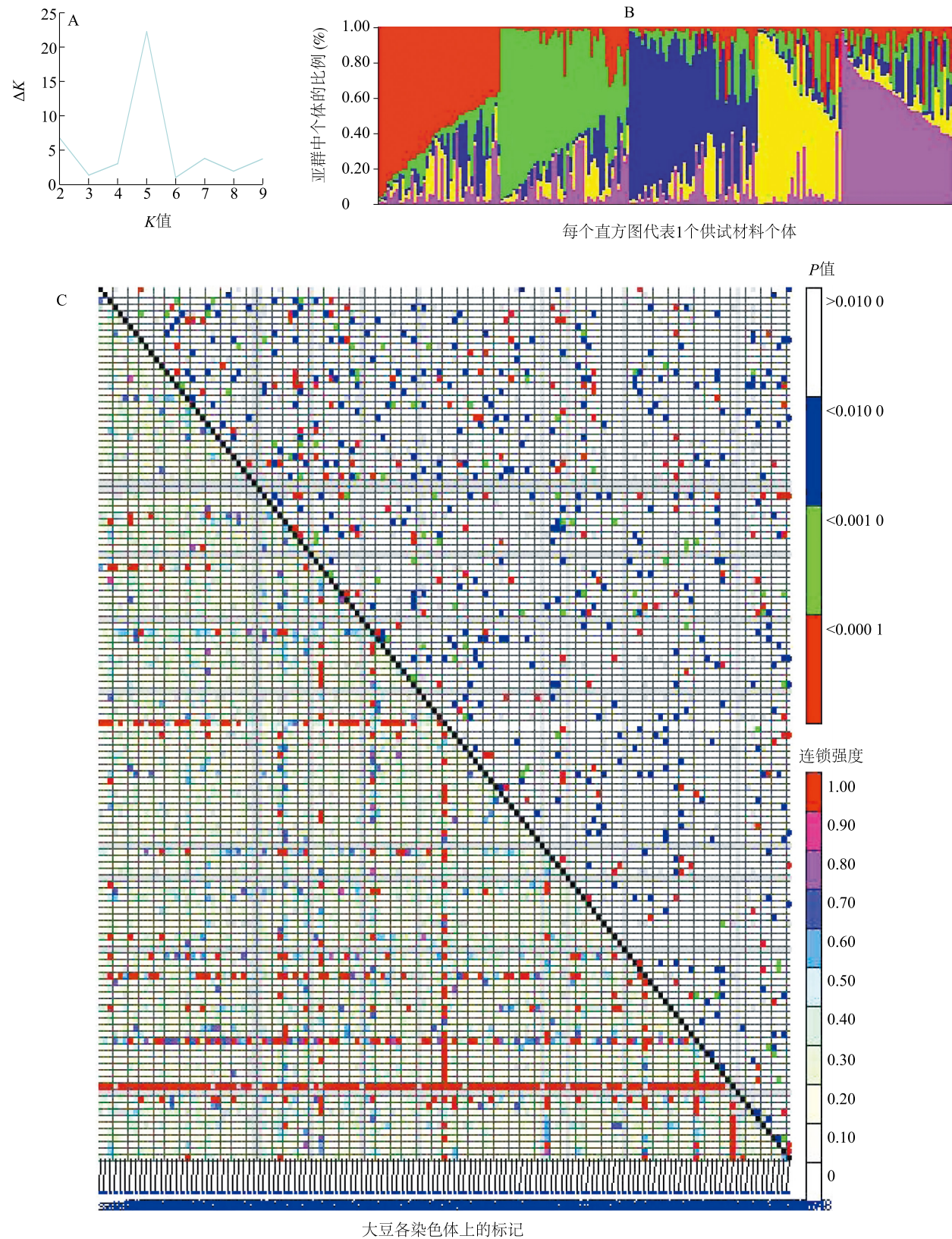
表中上三角数据为遗传相似度;下三角数据为遗传距离。



A: 192 份黄淮海地区夏大豆区域试验参试资源聚类图; B: 居群主坐标分析。

图 3 192 份黄淮海地区夏大豆区域试验参试品系非加权平均配对法聚类图

Fig.3 The cluster diagram of 192 summer soybean regional test lines in Huang-Huai-Hai region by non-weighted average matching method



A:  $\Delta K$  随亚群数 ( $K$ ) 的变化折线图; B: 192 份大豆材料群体遗传结构图; C: 大豆 20 个连锁群 SSR 位点间的连锁不平衡分布。

图 4 群体结构分析图  
Fig.4 Analysis diagram of population structure



2.3.2 粒形性状关联位点 利用 Tassel 2.1 软件将归一化后的  $Q$  值作为协变量,利用混合线性模型对 3 种环境下的粒形性状进行关联定位,在 3 种环境下共检测出 88 个与粒形相关的位点。其中与粒长关联的位点 34 个,与粒宽关联的位点 30 个,与粒长粒宽比关联的位点 24 个。进一步的分析结果表明,共检测到 4 个位点在 2 种环境下存在关联,即 *Satt249*、*Sat071*、*Satt620*、*Satt619*(表 6),分别位于 16 号、19 号、5 号染色体中,并未检测出 3 种环境下共有的位点。表型贡献率为 2.70%~10.34%。与粒长

相关的位点 *Satt249* 在 20SZ、22FY 2 种环境中被同时检测出,其中在 20SZ 环境下表现为极显著关联 ( $P<0.001\ 0$ ),表明该位点可能是调控粒长表型的主效位点。在粒长粒宽比性状中,*Satt619* 可在 20SZ、21SZ 2 种环境中被同时检测出。此外,在 21SZ、22FY 2 种环境中,分别位于 16 号、19 号染色体上的 *Satt620*、*Sat\_071* 2 个位点可被同时检测出与粒长、粒宽、粒长粒宽比 3 性状相关,说明这 2 个位点属于多效位点。

表 6 在 2 种环境中与粒形性状显著相关的位点

Table 6 The loci significantly associated with grain shape traits in two environments

| 性状    | 位点             | 染色体 | 基因位置<br>(cM) | $P$ 值           | $R^2$<br>(%) | 环境        |
|-------|----------------|-----|--------------|-----------------|--------------|-----------|
| 粒长    | <i>Satt249</i> | 16  | 11.740       | 0.001 0,0.047 7 | 6.65,3.23    | 20SZ、22FY |
|       | <i>Sat_071</i> | 19  | 20.779       | 0.016 4,0.005 1 | 8.09,9.94    | 21SZ、22FY |
|       | <i>Satt620</i> | 16  | 53.705       | 0.021 6,0.014 7 | 2.70,3.14    | 21SZ、22FY |
| 粒宽    | <i>Sat_071</i> | 19  | 20.779       | 0.011 5,0.005 9 | 8.50,9.72    | 21SZ、22FY |
|       | <i>Satt249</i> | 16  | 11.740       | 0.001 0,0.047 7 | 6.65,3.23    | 20SZ、22FY |
|       | <i>Satt620</i> | 16  | 53.705       | 0.008 4,0.020 2 | 3.51,2.85    | 21SZ、22FY |
| 粒长粒宽比 | <i>Satt619</i> | 5   | 69.206       | 0.013 3,0.006 2 | 5.45,6.34    | 20SZ、21SZ |
|       | <i>Sat_071</i> | 19  | 20.779       | 0.011 4,0.003 7 | 8.68,10.34   | 21SZ、22FY |
|       | <i>Satt620</i> | 16  | 53.705       | 0.009 1,0.011 2 | 3.51,3.39    | 21SZ、22FY |

20SZ、21SZ、22FY 见表 2 注。 $P$  值中 2 个数值分别为 2 种环境下该位点显著性检验值、 $R^2$  中 2 个数值分别为 2 种环境下该位点的表型贡献率。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 黄淮海地区夏大豆区域试验参试品系遗传多样性分析

遗传多样性指数是评价不同种质间性状变异的一个综合指标<sup>[25-27]</sup>,其值越高说明性状越丰富,越均匀<sup>[28]</sup>。本研究所选引物对 192 份育成品系均具有多态性,等位基因数( $N_a$ )为 2.703 7,平均多态性信息含量( $PIC$ )为 0.368 6,表现为中度多态性信息引物<sup>[29]</sup>。5 个自然居群的遗传多样性分析结果表明,整个群体表现出较高的遗传多样性( $PPB=97.78\%$ ,  $N_a=2.703\ 7$ ,  $N_e=1.956\ 1$ ,  $I=0.709\ 0$ )。本研究依据育种区域将所选材料分为 5 个自然居群,对各自然居群间的遗传相似度( $GI$ )与遗传距离( $GD$ )进行分析,结果显示,自然居群间遗传相似度(0.925 2~0.978 9)较高,遗传距离  $GD$  (0.021 3~0.077 8)较小,陈琪<sup>[30]</sup>将选自黄淮海及南方地区共

185 份大豆育成品种依据年份划分为 5 个亚群,分别为 1923–1970、1971–1980、1981–1990、1991–2000、2001–2010,在 1991–2000、2001–2010 两亚群间,遗传相似度( $GI=0.980\ 7$ )最高,遗传距离( $GD=0.019\ 5$ )最小,其中遗传相似度( $GI$ )略高于本研究的结果( $GI=0.978\ 9$ ),表明近年来黄淮海地区育种材料交流频繁且较为稳定,遗传资源丰富。虽然遗传距离小,但我们仍可明显发现,长江中下游地区与黄淮海南部两自然居群遗传相似度( $GI=0.978\ 9$ )最高,遗传距离( $GD=0.021\ 3$ )最小,长江中下游地区与黄淮海中西部地区两自然居群遗传相似度( $GI=0.925\ 2$ )最低,遗传距离( $GD=0.077\ 8$ )最大,可能是由于长江中下游地区育种单位与黄淮海南部地区育种单位种质资源交换比较频繁,因此基因型相似性更高;而长江中下游地区育种单位与黄淮海中西部地区育种单位之间种质资源交换相对较少,因此遗传差异较大。

### 3.2 黄淮海地区夏大豆区域试验参试品系粒形性状关联位点

种子大小对产量起着至关重要的作用,解析其遗传机制,对提高中国大豆单产有着重要意义。而大豆粒形是受环境影响的微效多基因控制的数量性状,李河南等<sup>[31]</sup>调查溧水中子黄豆( $P_1$ ) $\times$ 南农493-1( $P_2$ )正反交的  $P_1$ 、 $P_2$ 、 $F_1$ 、 $F_2$ 、 $F_3$  四世代粒长、粒宽数据,结果表明粒长性状受主基因+多基因共同控制,粒宽性状受多基因控制。本研究以黄淮海地区 192 份夏大豆品系为试验材料,对 3 年 2 点环境下的  $SL$ 、 $SW$ 、 $SLW$  进行关联分析,结果表明,共有 4 个位点在两环境下被同时检测出,分别位于 5 号、16 号和 19 号染色体,其中 19 号染色体上的  $Sat\_071$  位点表型贡献率为 8.09%~10.34%,为主效遗传位点。5 号、16 号染色体上的相关位点,表型贡献率为 2.70%~6.65%,为微效遗传位点,没有在 3 种环境下被同时检测出的位点,表明粒形受环境影响较大,国内外研究结果表明,粒形性状位点主要集中于 6 号、10 号、13 号、18 号染色体中<sup>[32-34]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 金尚昆,朱玉萍,缪依琳,等. 黄淮海地区新育成大豆品系 SSR 标记多样性分析[J]. 大豆科学,2018,37(2):173-178.
- [2] 魏 峡,寇 坤,唐晓飞,等. 中国与引进国外大豆种质资源遗传多样性分析[J]. 大豆科学,2011,30(2):184-189,193.
- [3] 徐泽俊,齐玉军,邢兴华,等. 黄淮海大豆种质农艺与品质性状分析及综合评价[J]. 植物遗传资源学报,2022,23(2):468-480.
- [4] 李 琼,常世豪,武婷婷,等. 120 份大豆种质资源遗传多样性和亲缘关系分析[J]. 作物杂志,2021,203(4):51-58.
- [5] 李 琼,耿 臻,杨青春,等. 黄淮海 50 份大豆种质资源 SSR 遗传多样性分析[J]. 种子,2021,40(8):39-44,50.
- [6] 赵晶云,任小俊,任海红,等. 黄淮海大豆新品系主要农艺性状的遗传多样性分析[J]. 大豆科学,2022,41(3):266-273.
- [7] LIU J L, XIE H M, LIN T, et al. Putative variants, genetic diversity and population structure among soybean cultivars bred at different ages in Huang-Huai-Hai region[J]. Scientific Reports, 2022,12(1):2372.
- [8] 何 鑫,马文姬,付汝洪,等. 2006-2017 年国家黄淮海夏大豆品种区域试验参试品种(系)分析[J]. 中国油料作物学报,2019,41(4):537-549.
- [9] SALAS P, OYARZO-LLAIPEN J C, WANG D, et al. Genetic mapping of seed shape in three populations of recombinant inbred lines of soybean (*Glycine max* L. Merr.)[J]. Theoretical and Applied Genetics,2006,113:1459-1466.
- [10] MOONGKANNA J, NAKASATHIEN S, NOVITZKY W, et al. SSR markers linking to seed traits and total oil content in soybean[J]. Thai Journal of Agricultural Science,2011,44(4):233-241.
- [11] HU Z B, ZHANG H R, KAN G Z, et al. Determination of the genetic architecture of seed size and shape via linkage and association analysis in soybean (*Glycine max* L. Merr.)[J]. Genetica,2013,141:247-254.
- [12] 梁慧珍,王树峰,余永亮,等. 6 种大豆粒形性状的 QTL 定位[J]. 河南农业科学,2008,37(9):45-51.
- [13] 陈 强,闫 龙,邓莹莹,等. 大豆籽粒大小与形状性状的 QTL 定位[J]. 作物学报,2016,42(9):1309-1318.
- [14] 谷 月,徐明月,张清秀,等. 大豆粒长、粒宽性状多年的遗传分析与互作位点定位[J]. 分子植物育种,2016,14(9):2425-2434.
- [15] GIRIRAJ K, DONGHE X. A major and stable quantitative trait locus  $qSS2$  for seed size and shape traits in a soybean RIL population[J]. Frontiers in Genetics,2021,12(1):646102.
- [16] HINA A, CAO Y C, SONG S Y, et al. High-resolution mapping in two RIL populations refines major 'QTL Hotspot' regions for seed size and shape in soybean (*Glycine max* L.)[J]. International Journal Molecular Science,2020,21(3). <https://doi.org/10.3390/ijms21031040>.
- [17] DOYLE J J. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. Focus, 1990,12:13-15.
- [18] SONG Q J, MAREK L F, SHOEMAKER R C, et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics,2004,109:122-128.
- [19] YEH F, YANG R, BOYLE T, et al. POPGENE, the user friendly shareware for population genetic analysis[J]. Molecular Biology and Biotechnology Centre,1997,10(1):34-55.
- [20] LIU K, MUSE S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis[J]. Bioinformatics,2005,21:2128-2129.
- [21] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution,2016,33:1870-1874.
- [22] PRITCHARD J, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. Genetics, 2000,155:945-959.
- [23] XAVIER V J O H. Spagedi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels[J]. Molecular Ecology Notes,2002,2(4):618-620.
- [24] BRADBURY P J, ZHANG Z, KROON D E, et al. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples[J]. Bioinformatics (Oxford, England),2007,23(19):2633-2635.
- [25] 杨 春,郭 灿,乔大河,等. 三都野生茶树表型性状和生化组分多样性分析[J]. 江苏农业科学,2023,51(8):111-119.
- [26] 吴河饶,任青艳,黄大玉,等. 榕江茶种质资源表型性状多样性及相关分析[J]. 南方农业学报,2023,54(1):56-67.
- [27] 苏秀丽,梁惠凌,刘宝玉,等. 基于 ISSR 分子标记的黄花倒水

- 莲遗传多样性分析[J]. 江苏农业学报,2022,38(3):605-610.
- [28] 李艳伟,施俊生,汪宝根,等. 浙江地方瓠瓜种质资源的表型鉴定与遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2020,21(5):1135-1147.
- [29] 朱振东,王化波,王晓鸣,等. 黑龙江省主要栽培大豆品种(系)对大豆疫霉根腐病的多抗性评价[J]. 植物遗传资源学报,2004,5(1):22-25.
- [30] 陈 琪. 基于 TRAP 分子标记的中国黄淮海和南方大豆育成品种遗传多样性分析[D]. 南昌:南昌大学,2018.
- [31] 李河南,汪 霞,李广军,等. 大豆粒形的主基因+多基因混合遗传[J]. 大豆科学,2009,28(1):16-20.
- [32] XU Y, LI H N, LI G J, et al. Mapping quantitative trait loci for seed size traits in soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,2011,122(3):581-594.
- [33] 牛 远,谢芳腾,布素红,等. 大豆粒形性状 QTL 的精细定位[J].作物学报,2013,39(4):609-616.
- [34] CHEN J Y, DING J J, LIU C Y, et al. Quantative trait loci of seed traits for soybean in multiple environments[J]. Genetics and molecular research: GMR,2014,13(2):4000-4012.

(责任编辑:陈海霞)