

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.00228

## 黑龙江省大豆种质遗传结构及遗传多样性分析

秦 君<sup>2,3</sup> 李英慧<sup>1</sup> 刘章雄<sup>1</sup> 栾维江<sup>1</sup> 闫 哲<sup>1</sup> 关荣霞<sup>1</sup> 张孟臣<sup>3</sup>  
常汝镇<sup>1</sup> 李广敏<sup>2,3,\*</sup> 马峙英<sup>2</sup> 邱丽娟<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> 中国农业科学院作物科学研究所 / 国家农作物基因资源与遗传改良重大科学工程开放实验室/农业部作物种质资源与生物技术重点开放实验室, 北京 100081; <sup>2</sup> 河北农业大学, 河北保定 071001; <sup>3</sup> 河北省农林科学院, 河北石家庄 050031

**摘 要:** 利用 22 个表型性状和 60 个微卫星(simple sequence repeat, SSR)位点对黑龙江省 140 份代表性种质(78 份地方品种和 62 份育成品种)进行分析, 根据 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean)和 Model-base 对 SSR 数据进行遗传结构划分。结果表明, 参试品种可分为 2 大类群, 第 II 类群的各项多样性指标均高于第 I 类群, 2 个类群遗传距离为 0.2427; PCO 结果显示这 2 个类群在不同区域, 这与地理来源和育成年代密切相关。依据品种类型分为育成品种和地方品种两组, 后者的各项多样性指标均高于前者, 两组间的遗传距离为 0.1131。依据表型数据的 PCO 分析表明, 分布区域与品种类型有关, 与 SSR 结构分类的结果吻合度低, 两组品种主要在 3 个主成分的 6 个表型性状上有所不同。它们不是 2 个相对独立的遗传群体, 根据分子标记和表型分类各有特点; 建议在种质遗传多样性研究中将分子数据和表型数据结合起来。

**关键词:** 黑龙江省; 大豆; 微卫星标记; 遗传结构; 遗传多样性

## Genetic Structure and Diversity of Soybean Germplasm in Heilongjiang, China

QIN Jun<sup>2,3</sup>, LI Ying-Hui<sup>1</sup>, LIU Zhang-Xiong<sup>1</sup>, LUAN Wei-Jiang<sup>1</sup>, YAN Zhe<sup>1</sup>, GUAN Rong-Xia<sup>1</sup>, ZHANG Meng-Chen<sup>3</sup>, CHANG Ru-Zhen<sup>1</sup>, LI Guang-Min<sup>2,3,\*</sup>, MA Zhi-Ying<sup>2</sup>, and QIU Li-Juan<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Key Laboratory of Germplasm & Biotechnology, Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; <sup>2</sup> Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China; <sup>3</sup> Hebei Academy of Agricultural and Forestry Science, Shijiazhuang 050031, China

**Abstract:** Heilongjiang province is the main production area for soybean (*Glycine max*) in China, having the high genetic diversity of cultivated soybean. It is useful for breeding and production in the region to develop new germplasm. The aim of this study was to reveal genetic structure and genetic diversity of spring sowing soybean germplasm from Heilongjiang, and provide a reliable strategy in soybean breeding program. A total of 140 accessions of soybean cultivars including 78 landraces and 62 developed cultivars were investigated using 60 microsatellite(simple sequence repeat, SSR) markers and 22 phenotypic traits. All accessions were grouped into two clusters based on SSR with UPGMA and Model-base. The results showed that genetic diversity of cluster II was higher than that of cluster I, Nei's genetic distance was 0.2427 between two clusters. PCO (principal co-ordinate) analysis revealed that two clusters distributed in different regions, which was closely related to the geographic origin and breeding years. All accessions were also divided into two groups (developed cultivars and landraces) based on variety types, genetic diversity of the landraces was higher than that of developed cultivars. Nei's genetic distance was 0.1131 between two groups. The PCO figure based on the phenotypic genetic similarity index matrix clustered 140 cultivars into developed cultivars group and landrace group. The first principal component reflected main seed coat color; the second one mainly depended on growth period and maturity data. There were obvious differences on the three principal components, which were composed of six phenotypic characters, between developed group and landraces group, which were not independent genetic clusters. The results indicated that there was abundant genetic diversity in Heilongjiang spring sowing soybeans. Thus the optimal strategy combined SSR data and agronomic

本研究由国家高技术研究发展计划(863计划)(2006AA100104), 国家自然科学基金项目(30490250), 国家科技支撑计划项目(2006BAD13B05)资助。

\* 通讯作者(Corresponding authors): 邱丽娟, E-mail: qiu\_lujuan@262.net; Tel: 010-62135623; Fax: 010-68976244; 李广敏, E-mail: nkylgm@yahoo.com.cn; Tel: 0311-87652002; Fax: 0311-87652002

第一作者联系方式: E-mail: hbnkydd@163.com; Tel: 0311-87670626; Fax: 0311-87670653

Received(收稿日期): 2008-02-29; Accepted(接受日期): 2008-09-10.

traits is necessary for genetic diversity analysis of soybean germplasm.

**Keywords:** Heilongjiang province; Soybean cultivars; SSR; Genetic structure; Genetic diversity

黑龙江省大豆栽培历史悠久,在复杂多样的生态条件影响下,大豆种质资源经历了长期的自然演化和人工选择,形成了多种多样的生态类型品种和突出的抗逆、抗病虫性等。丰富多彩的大豆种质资源,为省内外育种家和遗传研究者们所关注<sup>[1-3]</sup>。黑龙江省是我国大豆生产第一大省,大豆产量与面积均占全国 1/3 左右。育种研究处于国内领先水平,育成的东农号、合丰号、绥农号、黑农号等系列大豆优良品种,对我国大豆生产起着重要的推动作用。分析该省大豆的遗传结构和遗传多样性,既可发掘和创造有特殊利用价值的新种质,拓展东北地区大豆品种的遗传基础,也可有效地指导东北地区大豆的生产和育种。

中国栽培大豆初选核心种质的构建<sup>[4-5]</sup>,为利用 DNA 分子标记研究遗传多样性提供了一个代表性样本量适中的群体,同时多态性、重演性和稳定性高的 60 对 SSR 核心引物标记鉴别体系的确定也为大豆资源研究奠定了基础<sup>[6]</sup>。谢华等<sup>[7]</sup>利用 SSR 标记,分析来自我国栽培大豆初选核心种质中的 158 份夏大豆,将黄淮夏大豆和南方夏大豆基本分成 2 类,表明黄淮夏大豆和南方夏大豆可划为 2 个不同的基因池。崔艳华等<sup>[8]</sup>利用 49 对 SSR 引物和 14 个农艺性状对 96 份黄淮夏大豆进行遗传多样性分析,参试材料的农艺性状和分子数据聚类结果均呈现一定的地理分布规律。李英慧等<sup>[9]</sup>对“十五”大豆创新种质和 1963—1995 年间育成品种的 SSR 遗传结构及遗传多样性分析表明,利用国外种质和野生大豆创造的新种质丰富了东北地区育成品种的遗传多样性。但该研究主要阐述了大豆创新种质和育成品种的遗传结构,地方品种和育成品种的遗传结构还未见报道。中国虽然拥有世界上最丰富的大豆种质资源,但对这些资源的利用率仅为 1% 左右。遗传多样性研究是大豆有利基因发掘和新品种选育的基础。黑龙江省大豆种质资源的多样性研究工作相对滞后,限制了大豆资源的有效利用。本研究选用均匀分布于大豆 20 个连锁群上的 60 对 SSR 标记<sup>[6]</sup>,分析黑龙江省 140 份代表性大豆种质,旨在研究黑龙江省大豆种质资源的遗传结构和遗传多样性,阐明黑龙江育成品种遗传变异特点及分布规律,为有利基因的发掘和大豆新品种的选育提供基础资料和理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

中国栽培大豆初级核心种质包括黑龙江省栽培大豆 140 份,来源于黑龙江省 39 个市县(图 1),其中育成品种 62 份,地方品种 78 份(表 1),由中国栽培大豆种质资源库经表型性状筛选、聚类而成<sup>[10]</sup>,有较强的代表性。

### 1.2 试验方法

农艺性状数据引自《中国大豆种质资源目录》(含续编一、续编二)<sup>[11]</sup>,包括种皮色、子叶色、茸毛色、花色、株高、叶形、粒形、粒大小、百粒重、生育日数、生长习性、结荚习性、粗蛋白、粗脂肪、芽期抗盐性、苗期抗盐性、芽期抗旱性、熟期抗旱性、芽期抗冷性、孢囊抗性等 22 个。对质量性状及数量性状先进行赋值,将数量性状以平均数加减标准差划分为 10 个等级,计算品种之间的表型相似系数,利用 NTSYS-pc ver.2.1 软件对表型相似系数进行聚类<sup>[12]</sup>。

通过 80 个秋大豆筛选出实验所用的 60 个 SSR 标记引物<sup>[6]</sup>,其有效性经来源广泛的 190 个大豆品种验证<sup>[13]</sup>。这些标记分布于大豆 20 个整合遗传连锁群,覆盖大豆基因组 1 570.39 cM,标记间的平均遗传距离为 26.62 cM。SSR 引物序列来自美国农业部大豆基因组数据库(<http://129.186.26.94/SSR.html>),由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

采用稍有改动 SDS 法提取基因组 DNA<sup>[14]</sup>,采用酚-氯仿法纯化。20  $\mu\text{L}$  PCR 体系中含 30 ng 大豆基因组 DNA, 2  $\mu\text{L}$  1 $\times$ PCR buffer, 2  $\mu\text{L}$  1.5 mmol L<sup>-1</sup> Mg<sup>2+</sup>, 终浓度为 0.15 mmol L<sup>-1</sup> 的 dNTP, 1 U *Taq* DNA 聚合酶, 0.15  $\mu\text{mol}$  L<sup>-1</sup> 引物。PCR 反应程序为 95 $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min 后; 94 $^{\circ}\text{C}$  30 s, 47 $^{\circ}\text{C}$  30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  30 s; 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。反应在 PE9600 上进行。PCR 产物经聚丙烯酰胺凝胶电泳,定影,室温干燥后统计谱带或照相。

### 1.3 统计分析

以二进制记录凝胶电泳结果,在指定迁移位置有带记为 1,无带记为 0,构建所有引物扩增结果数据库。采用 Structure 软件的混合模型和等位变异发生频率相关模型对大豆种质的遗传结构进行分析<sup>[15]</sup>,设置分析群体数  $K$  (the true number of clusters)为



图 1 黑龙江省大豆代表性种质的取样分布图

Fig. 1 Map for locations of the 140 sampled soybean populations in Heilongjiang

红色圆点标出的地市为样品来源地区。Red dots mean the cultivar origin.

表 1 供试材料的全国统一编号和品种名称

Table 1 Name and national codes of experimental materials

统编号	品种名称	类型	统编号	品种名称	类型
National code	Material	Type	National code	Material	Type
ZDD00001	新四粒黄 Xinsilihuang	育成品种 DC	ZDD00296	宝青绿大豆 Baqingludadou	地方品种 L
ZDD00002	黑农 1 号 Heinong 1	育成品种 DC	ZDD00303	绿瓢黑豆 Lurangheidou	地方品种 L
ZDD00003	黑农 2 号 Heinong 2	育成品种 DC	ZDD00307	黑青豆-8 Heiqingdou 8	地方品种 L
ZDD00011	黑农 10 号 Heinong 10	育成品种 DC	ZDD00308	黑皮青瓢 Heipiqingrang	地方品种 L
ZDD00013	黑农 16 Heinong 16	育成品种 DC	ZDD00310	庆安黑豆 Qinganheidou	地方品种 L
ZDD00016	黑农 19 Heinong 19	育成品种 DC	ZDD00315	兔子眼 Tuziyan	地方品种 L
ZDD00017	黑农 21 Heinong 21	育成品种 DC	ZDD00318	公 474 Gong 474	地方品种 L
ZDD00018	黑农 23 Heinong 23	育成品种 DC	ZDD00321	公 476 Gong 476	地方品种 L
ZDD00021	黑农 26 Heinong 26	育成品种 DC	ZDD00324	青秣食豆 Qingmoshidou	地方品种 L
ZDD00022	东农 2 号 Dongnong 2	育成品种 DC	ZDD00325	白秣食豆 Baimoshidou	地方品种 L
ZDD00024	东农 16 Dongnong 16	育成品种 DC	ZDD00326	方正秣食豆 Fangzhengmoshidou	地方品种 L
ZDD00028	丰收 4 号 Fengshou 4	育成品种 DC	ZDD00330	佳秣食豆 Jiamoshidou	地方品种 L
ZDD00032	丰收 8 号 Fengshou 8	育成品种 DC	ZDD00332	漠河秣食豆 Mohemoshidou	地方品种 L
ZDD00033	丰收 9 号 Fengshou 9	育成品种 DC	ZDD06816	黑鉴 1 号 Heijian 1	育成品种 DC
ZDD00034	丰收 10 号 Fengshou 10	育成品种 DC	ZDD06817	嫩丰 4 号 Nenfeng 4	育成品种 DC
ZDD00037	丰收 13 Fengshou 13	育成品种 DC	ZDD06819	嫩丰 11 Nenfeng 11	育成品种 DC
ZDD00041	黑河 1 号 Heihe 1	育成品种 DC	ZDD06822	合丰 24 Hefeng 24	育成品种 DC

(续表 1)

统编号 National code	品种名称 Material	类型 Type	统编号 National code	品种名称 Material	类型 Type
ZDD00042	黑河 3 号 Heihe 3	育成品种 DC	ZDD06832	红丰 2 号 Hongfeng 2	育成品种 DC
ZDD00043	黑河 51 Heihe 51	育成品种 DC	ZDD06838	牡师 1 号 Mushi 1	育成品种 DC
ZDD00046	克北 1 号 Kebei 1	育成品种 DC	ZDD06841	黑农 27 Heinong 27	育成品种 DC
ZDD00047	合丰 1 号 Hefeng 1	育成品种 DC	ZDD06847	安丰 1 号 Anfeng 1	育成品种 DC
ZDD00048	合丰 5 号 Hefeng 5	育成品种 DC	ZDD06849	东农 33 Dongnong 33	育成品种 DC
ZDD00049	合丰 6 号 Hefeng 6	育成品种 DC	ZDD06851	东农 36 Dongnong 36	育成品种 DC
ZDD00053	合交 13 Hejiao 13	育成品种 DC	ZDD06856	黑河小黄豆 Heihexiaohuangdou	地方品种 L
ZDD00055	合丰 15 Hefeng 15	育成品种 DC	ZDD06858	二大秧 Erdayang	地方品种 L
ZDD00056	合丰 16 Hefeng 16	育成品种 DC	ZDD06882	大粒黄 Dalihuang	地方品种 L
ZDD00058	合丰 22 Hefeng 22	育成品种 DC	ZDD06892	褐脐 Heqi	地方品种 L
ZDD00059	牡丰 1 号 Mufeng 1	育成品种 DC	ZDD06936	四粒黄(农 16-1) Silihuang (Nong16-1)	地方品种 L
ZDD00061	牡丰 3 号 Mufeng 3	育成品种 DC	ZDD06982	阿城大豆 Achengdadou	地方品种 L
ZDD00063	牡丰 5 号 Mufeng 5	育成品种 DC	ZDD06985	嘟噜豆 Duludou	地方品种 L
ZDD00066	嫩丰 3 号 Nenfeng 3	育成品种 DC	ZDD06988	四粒黄 54 Silihuang54	地方品种 L
ZDD00069	嫩良 1 号 Nenliang 1	育成品种 DC	ZDD07000	小猪腰 Xiaozhuyao	地方品种 L
ZDD00074	嫩良 6 号 Nenliang 6	育成品种 DC	ZDD07010	涝洲白脐大豆 Laozhoubaiqidadou	地方品种 L
ZDD00076	绥农 1 号 Suinong 1	育成品种 DC	ZDD07013	青岗大粒 Qinggangdali	地方品种 L
ZDD00079	元宝金 Yuanbaojin	育成品种 DC	ZDD07024	永丰豆 Yongfengdou	育成品种 DC
ZDD00080	东农 1 号 Dongnong 1	育成品种 DC	ZDD07028	100 天还家 100tianhuanjia	地方品种 L
ZDD00083	东农 64-286 Dongnong 64-286	育成品种 DC	ZDD07036	小红脐 Xiaohongqi	地方品种 L
ZDD00088	西比瓦 Sibiwa	育成品种 DC	ZDD07040	秃英子 Tujiazi	地方品种 L
ZDD00090	早铁荚青 Zao tiejiaqing	育成品种 DC	ZDD07041	白眉 Baimei	地方品种 L
ZDD00094	霍龙门早熟豆 Huolongmenzaoshudou	地方品种 L	ZDD07042	虎林 1 号 Hulin 1	地方品种 L
ZDD00095	讷河早半月 Nahezaobanyue	地方品种 L	ZDD07045	大粒黄 Dalihuang	地方品种 L
ZDD00100	孙吴大白眉 Sunwudabaimei	地方品种 L	ZDD07054	大金黄 Dajinhunag	地方品种 L
ZDD00120	北满 27 Beiman 27	地方品种 L	ZDD07059	铁荚青 Tiejiaqing	地方品种 L
ZDD00124	曙光 1 号 Shuguang 1	地方品种 L	ZDD07064	金元 1 号 Jinyuan 1	地方品种 L
ZDD00127	毛豆 Maodou	地方品种 L	ZDD07072	公丰 1 Gongfeng 1	地方品种 L
ZDD00135	六十天还家 Liushitianhuanjia	地方品种 L	ZDD07088	龙泉大豆 Longquandadou	地方品种 L
ZDD00136	四粒金 Silijin	地方品种 L	ZDD07118	口前豆 Kouqiandou	地方品种 L
ZDD00143	四粒黄 Silihuang	地方品种 L	ZDD07135	串鸡 Chuanji	地方品种 L
ZDD00145	哈 2 号 Ha 2	育成品种 DC	ZDD07152	绿大豆 Lvdadou	地方品种 L
ZDD00146	哈 3 号 Ha 3	育成品种 DC	ZDD07161	黑金元 Heijinyuan	地方品种 L
ZDD00163	采种圃 Caizhongpu	地方品种 L	ZDD07171	呼玛黑豆 Humaheidou	地方品种 L
ZDD00183	双城 4 号 Shuangcheng 4	地方品种 L	ZDD07180	宝清黑豆 Baoqingheidou	地方品种 L
ZDD00185	金元 2 号 Jinyuan 2	地方品种 L	ZDD07181	佳木斯小黑豆 Jiamusixiaoheidou	地方品种 L
ZDD00202	尖叶豆 Jianyedou	地方品种 L	ZDD07186	宾县黑豆 Binxianheidou	地方品种 L
ZDD00203	巴彦平顶香 Bayanpingdingxiang	地方品种 L	ZDD07191	佳黑秣食豆 Jiaheimoshidou	地方品种 L
ZDD00219	压破车 Yapoché	地方品种 L	ZDD07192	枣豆 Zadou	地方品种 L
ZDD00227	在来种 Zailaizhong	地方品种 L	ZDD07207	鞍挂豆 Anguadou	地方品种 L
ZDD00237	白脐小金黄 Baijixiaojinhuang	地方品种 L	ZDD17675	九丰 3 号 Jiufeng 3	育成品种 DC
ZDD00246	共和猴顶盔 Gonghehoudingkui	地方品种 L	ZDD17680	垦丰 1 号 Kenfeng 1	育成品种 DC
ZDD00250	白毛霜 Baimaoshuang	地方品种 L	ZDD17695	黑农 30 Heinong 30	育成品种 DC
ZDD00252	六十天还家 Liushitianhuanjia	地方品种 L	ZDD17699	黑农 34 Heinong 34	育成品种 DC
ZDD00253	黄粒 Huangli	地方品种 L	ZDD17739	哈 53 Ha 53	育成品种 DC
ZDD00258	逊克八月忙 Xunkabayuemang	地方品种 L	ZDD17761	极早黄 Jizaohuang	地方品种 L
ZDD00261	海伦嘟噜豆 Hailunduludou	地方品种 L	ZDD17765	哈 82-5779 Ha 82-5779	育成品种 DC
ZDD00262	庆安小金黄 Qinganxiaojinhuang	地方品种 L	ZDD17767	小粒秣食豆 Xiaolimoshidou	地方品种 L
ZDD00267	小白豆 Xiaobaidou	地方品种 L	ZDD22643	东农 42 Dongnong 42	育成品种 DC
ZDD00269	桦南小金豆 Huananxiaojindou	地方品种 L	ZDD22657	合丰 35 Hefeng 35	育成品种 DC
ZDD00276	四粒黄 Silihuang	地方品种 L	ZDD22659	合丰 37 Hefeng 37	育成品种 DC
ZDD00294	青豆 Qingdou	地方品种 L	ZDD22682	克 4430-20 Ke 4430-20	育成品种 DC
ZDD00295	青皮豆 16 Qingpidou 16	地方品种 L	ZDD22729	黑豆 Heidou	育成品种 DC

DC: developed cultivar; L: landraces.

1~20, 每个参数运行 20 次。每次运行的 burn-in time 和重复次数都设为 10 000。根据相似最大的运行结果划分组, 可能性大于或等于 0.6 的种质被划分到相应的组中, 而小于 0.6 的品种被划分到混合组中。

根据分子数据计算成对品种相似系数(pair similarity coefficient), 以非加权配对算数平均法(UPGMA)进行的聚类, 对遗传距离数据进行 PCO (主坐标轴, principal coordinate)分析均由 NTSYS-pc ver.2.1 软件完成<sup>[12]</sup>。

#### 1.4 遗传参数分析

利用 PopGene 1.32 软件对谱带进行遗传参数分析<sup>[16]</sup>, 分别计算: (1) 群体总等位变异 (Number of alleles); (2) 有效等位基因数(effective number of alleles); (3) 基因多样性指数 (Simpson index), 采用 Simpson 指数计算某一 SSR 位点  $i$  的多态性信息含量(polymorphism information content, PIC), 按 Narvel 等<sup>[17]</sup>计算公式统计,  $PIC_i = (n/n - 1) (1 - \sum P_{ij}^2)$ ,  $n$  为资源份数,  $P_{ij}$  为第  $i$  个位点第  $j$  个等位变异的频率, 平均多态性信息含量,  $PIC = \sum PIC_i / r$ ,  $r$  为调查位点数; (4) Shannon-Weaver 指数(Shannon's information index), Shannon-Weaver 指数

$$I = - \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n q_{ij} \ln q_{ij}}{n},$$

$q_{ij}$  是第  $i$  个位点第  $j$  类分子标记基因型的频率,  $n_i$  是第  $i$  个位点分子标记基因型的总数,  $n$  是分析的分子标记位点数; (5) 群体间的遗传距离(Nei's genetic distance):

$$D = -\ln I, \quad J = \sqrt{J_x J_y} / \sqrt{J_{xy}}, \quad J_x = \sum_i \sum_j x_{ij}^2,$$

$$J_y = \sum_i \sum_j y_{ij}^2, \quad J_{xy} = \sum_i \sum_j x_{ij} y_{ij},$$

其中  $x_{ij}$  为  $x$  群体第  $i$  个位点第  $j$  个等位变异频率,  $y_{ij}$  为  $y$  群体第  $i$  个位点第  $j$  个等位变异的频率,  $I$  为两种质之间的遗传相似系数。

## 2 结果与分析

### 2.1 参试品种的遗传结构与遗传多样性分析

140 份参试材料在 60 个 SSR 位点共检测出等位变异 1 580 个(图 2), 平均每个位点 11.00 个, 变异范围为 3~29 个, 扩增的片段为 101~393 bp, Shannon-Weaver 为 1.7061, Simpson-index 为 0.7345。Satt462 的等位变异最丰富, 为 29 个。Satt387 的等位变异丰富度最低, 为 3 个(表 2)。

利用 SSR 标记和 Structure 2.0 软件对参试材料进行遗传结构分析, 当  $K=2$  时,  $\ln P(D)$  值最大且有比较稳定的  $\alpha$  值, 即参试材料的遗传结构可分为 2 个类群, 第 I 类群包括 85 个品种, 由 40 个育成品种和 45 个地方品种组成; 共检测到等位变异 663 个, 每个位点平均等位变异数为 7.80, Shannon-Weaver 指数为 1.4533, Simpson 指数为 1.6906; 第 II 类群由 53 个种质组成, 包括 22 个育成品种和 31 个地方品种, 等位变异总数为 471 个, 每个位点平均等位变异数为 8.88 个, Shannon-Weaver 指数为 1.6906, Simpson 指数为 0.7476; 此外, 六十天还家和双城 4 号不包括在这两个类群内而单独形成混合类群, 说明这两个品种具有遗传特异性。第 II 类群的各项多样性指标均高于第 I 类群, 两个类群的遗传距离为 0.2427(表 3); 第 I 类群可进一步划分为两个亚组, 第 1 亚组由 36 个地方品种和 8 个育成品种组成, 等位变异总数为 310 个, 每个位点平均等位变异为 7.05 个, Shannon-Weaver 指数为 1.5076, Simpson 指数为 0.7149; 第 2 亚组由 28 个育成品种和 4 个地方品种组成, 等位变异总数为 149 个, 每个位点平均等位变异数为 4.65 个, Shannon-Weaver 指数为 1.0284, Simpson 指数为 0.5302; 另外, 有 9 个品种未能归为上述 2 个亚组。第 1 亚组的各项多样性指标均高于第 2 亚组, 两个亚组的遗传距离为 0.2817。

基于 UPGMA 对品种的分析, 在遗传相似系数 0.31 处, 可将两大类群分开。第 I 类群在相似系数为 0.53 处, 又可分为育成品种组(I-1)和地方品种组(I-2)。这些结果与基于 Model-base 的遗传结构划分结果相吻合(图 3)。两种方法的不同处在于 UPGMA 对品种分类时, 15 个第 I 类群的品种包含在第 II 类群中, 这些品种为地方品种且多为青豆或黑豆。为了鉴别聚类图中的主要聚类群体, 根据 SSR 数据进行 PCO 分析, 结果表明, 黑龙江省大豆的两个类群分别分布在不同的区域, 与 Model-base 和 UPGMA 的遗传结构划分区域相吻合(图 4-A)。

将两个类群进行对比, 发现第 I 类群品种主要为黑龙江中后期(20 世纪 70 年代以后)选育而成, 分布在黑龙江省偏南地区, 其中北纬 47°以南的品种 71 个, 北纬 47°以北 14 个, 属相对晚熟品种类型; 第 II 类群主要黑龙江早期(20 世纪 60 年代以前)系选品种和地方品种, 其中北纬 47°以南的品种 34 个, 北纬 47°以北的 18 个。

表 2 参试品种在 60 个 SSR 位点的等位变异数和遗传多样性指数  
Table 2 Number of alleles and genetic diversity indices of 140 soybean accessions at different SSR loci

引物 Primer	连锁群 LG	等位变异数 Number of alleles	有效等位 变异 Effective number of alleles	多样性指数		引物 Primer	连锁群 LG	等位变异数 Number of alleles	有效等位 变异 Effective number of alleles	多样性指数	
				$H'$	$D$					$H'$	$D$
Sat099	L	15	6.8	0.8557	2.1464	Satt308	C2	16	5.6	0.8241	2.0815
Sat112	E	13	5.5	0.8195	2.0090	Satt309	G	4	2.2	0.5545	0.9309
Satt002	D2	8	2.5	0.5965	1.2278	Satt334	F	9	3.9	0.7471	1.5734
Satt005	D1b	14	6.1	0.8404	2.1351	Satt339	N	11	3.9	0.7485	1.6331
Satt012	G	14	1.8	0.4350	1.1612	Satt345	O	15	6.5	0.8498	2.1576
Satt022	N	9	3.5	0.7141	1.5833	Satt346	M	7	1.8	0.4332	0.9235
Satt130	G	10	2.6	0.6202	1.3083	Satt352	G	9	2.5	0.5942	1.2739
Satt146	F	10	3.2	0.6897	1.5101	Satt373	L	12	5.6	0.8243	1.9603
satt157	D1b	17	7.0	0.8601	2.2899	Satt386	D2	5	2.8	0.6430	1.2203
Satt168	B2	9	6.6	0.8510	1.9988	Satt387	N	3	1.5	0.3493	0.5792
Satt173	O	14	4.2	0.7670	1.8878	Satt390	A2	6	5.4	0.8197	1.7392
Satt180	C1	11	5.3	0.8140	1.8938	Satt414	J	12	5.4	0.8174	1.9364
Satt184	D1a	9	2.8	0.6447	1.4772	Satt429	A2	12	5.7	0.8262	1.9459
Satt187	A2	9	4.1	0.7563	1.6680	Satt431	J	12	5.2	0.8108	1.9394
Satt194	C	7	3.0	0.6663	1.2846	Satt434	H	16	9.6	0.8990	2.4761
Satt197	B1	10	6.3	0.8439	2.0072	Satt442	H	15	9.5	0.8979	2.394
Satt216	D1b	13	2.6	0.6124	1.4192	Satt453	B1	12	4.0	0.7501	1.7347
Satt226	D2	14	5.5	0.8227	2.0210	Satt462	L	29	9.6	0.8992	2.7705
Satt230	E	6	1.6	0.3848	0.7033	Satt487	O	8	3.8	0.7448	1.6443
Satt236	A1	9	4.4	0.7768	1.6432	Satt530	O	12	6.5	0.8491	2.0906
Satt239	I	11	6.8	0.8560	2.0892	Satt556	B2	13	2.4	0.5815	1.3634
Satt242	K	14	5.7	0.8261	2.0337	Satt565	C1	10	4.8	0.7947	1.859
Satt243	O	9	5.9	0.8331	1.8974	satt571	I	10	4.1	0.7589	1.8093
Satt267	D1a	7	2.2	0.5564	1.1079	Satt577	B2	6	3.8	0.7411	1.4855
Satt268	E	11	4.3	0.7686	1.7112	Satt586	F	10	3.8	0.7402	1.637
Satt279	H	8	2.7	0.6358	1.3759	Satt588	K	12	4.6	0.7834	1.808
Satt281	C2	15	4.3	0.7729	1.9925	Satt590	M	19	6.6	0.8513	2.23
Satt286	C2	11	3.8	0.7418	1.6867	Satt596	J	12	6.5	0.8493	2.0099
Satt300	A1	13	3.8	0.7386	1.7829	Sct-188	F	2	1.9	0.4768	0.6681
Satt307	C2	11	3.0	0.6665	1.4723	Sct-189	I	10	6.2	0.8422	1.967
Mean								11	4.6	0.7345	1.7061

D: Shannon-Weaver index;  $H'$ : Simpson index; LG: linkage group.

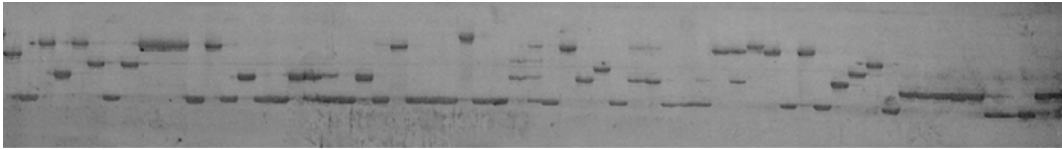


图 2 黑龙江省大豆部分代表种质在 Satt586 位点的等位变异  
Fig. 2 Specific alleles of part of sampled soybean populations from Heilongjiang on site Satt487

2.2 遗传结构关系与其传统的品种类型分类的比较

黑龙江大豆种质资源按品种类型可分为地方类群和育成类群。地方类群由 78 个品种组成, 育成类群由 62 个品种组成, 用 SSR 标记从地方类群检测到等位变异 151 个, 每个位点平均等位变异为 9.5, Shannon-Weaver 为 1.70, Simpson-index 为 0.74; 从育成类群检测到等位变异 120 个, 每个位点平均等位变异为 8.67, Shannon-Weaver 为 1.54, Simpson-index 为 0.69;

地方类群的各项多样性指标均高于育成类群, 遗传距离为 0.11(表 2); PCO 结果显示两个类群间没有明显的界限(图4-B)。将 SSR 揭示的遗传结构关系与传统的品种类型分类进行比较, 发现基于 SSR 遗传结构划分的两个类群间的遗传距离(0.2427)大于按品种类型划分的类群间遗传距离(0.1131)。将第 I 类群内的品种再次依据 SSR 遗传结构和品种类型进行分类, 得到同样的结论, 因此在分子水平上根据遗传结构进行分类分析比根据品种类型进行分类更合理。





表 3 根据不同分类标准划分类群的遗传多样性分析  
Table 3 Genetic diversity analysis in different clusters

分类群 Cluster	种质数 Number of accessions	总等位变异 Number of alleles	平均等位变异 Average number of alleles per locus	遗传多样性指数 Genetic diversity index		遗传距离 Genetic distance
				Shannon-Weaver	Simpson-index	
第 I 类群 Cluster I	85	663	7.8	1.4533	0.6823	—
第 II 类群 Cluster II	53	471	8.9	1.6906	0.7476	0.2427
地方类群 landraces	78	741	9.5	1.7005	0.7468	—
育成类群 Developed varieties	62	538	8.7	1.5448	0.6893	0.1131
第 1 亚组 Sub1-cluster 1	44	310	7.1	1.5076	0.7149	—
第 2 亚组 Sub2-cluster 1	32	149	4.7	1.0284	0.5302	0.2817
地方组 Landraces	45	308	6.8	1.4806	0.7078	—
育成组 Developed cultivars	40	228	5.7	1.2084	0.6008	0.1682

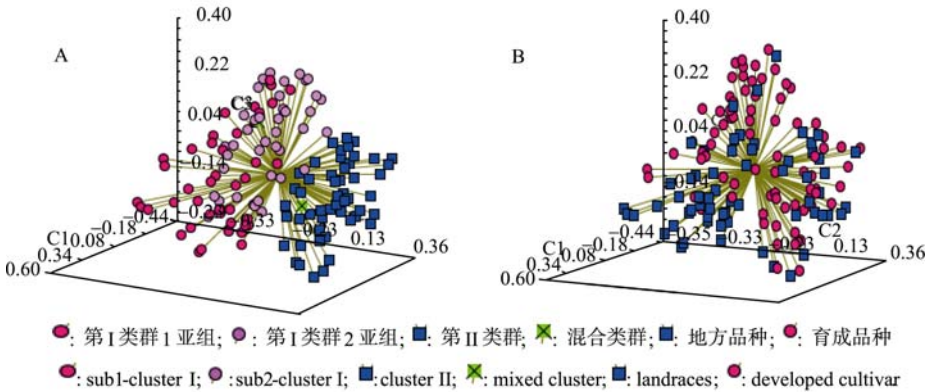


图 4 黑龙江省代表性种质基于 SSR 遗传距离的 PCO 分析  
Fig. 4 PCO graph of 140 soybean accessions based on genetic distance of 60 SSR markers

2.3 基于农艺性状的品种遗传多样性分析

根据分级方法对 140 份参试品种 22 个表型性状进行分析, 共检测出等位变异 114 个, 平均每个性状 5.18 个, 变异范围为 2~10 个, Shannon-Weaver 为 1.1264, Simpson-index 为 0.5658。百粒重和株高的变异最高, 茸毛色和花色的变异最小(未列出)。基于农艺性状遗传距离对参试品种进行 PCO 分析, 发现育

成品种和地方品种的分布区域有所不同(图 5-A), 遗传结构不同的两个类群间无明显界限(图 5-B)。对 22 个农艺性状进行主成分分析, 发现 11 个主成分的累积贡献率达到 79.86%以上, 第 1 主成分的贡献率为 17.36%, 主要由粒色和粗脂肪含量组成, 第 2 主成分的贡献率为 11.09%, 由生育期和株高决定。第 3 主成分的贡献率为 10.21%, 由生长习性和芽期耐盐

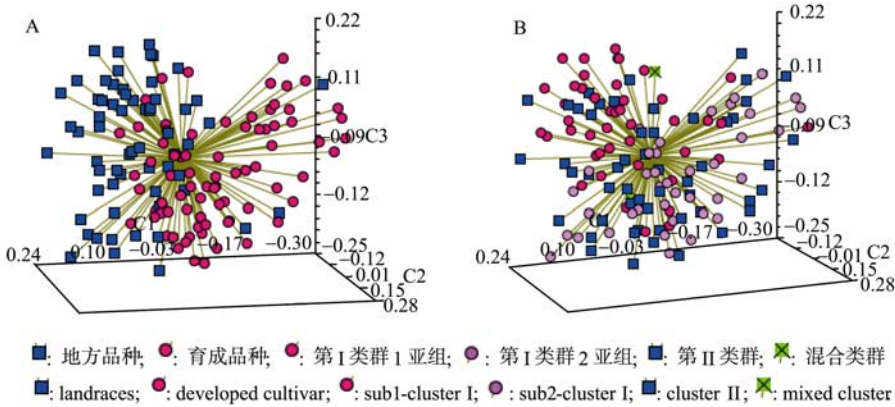


图 5 基于农艺性状遗传距离的黑龙江省代表性种质 PCO 分析图  
Fig. 5 PCO graph of 140 soybean accessions based on genetic distance of 22 agronomic traits



性决定。结合 PCO 分析可知, 两类品种主要在 3 个主成分的 6 个表型性状上有所不同, 地方品种在粒色上较育成品种丰富, 粗脂肪含量变异幅度较大, 且地方品种的株高和生育日期要长于育成品种。主成分分析表明, 粒色、生育期和生长习性是解释黑龙江大豆种质多样性的重要性状, 也是大豆品种分类的主要参考指标, 与前人研究结果相同。

### 3 讨论

#### 3.1 拓宽黑龙江育成品种的遗传基础

栾维江等<sup>[18]</sup>从 3 226 份东北春大豆总体中选择 283 份种质进行表型性状和 SSR 检测结果表明, 吉林省和辽宁省种质的遗传多样性表现较为一致, 均高于黑龙江省种质的遗传多样性。孙志强等<sup>[19]</sup>对我国东北地区杂交育成品种系谱的分析表明, 黑龙江省 84 个杂交育成品种来自 45 个祖先亲本, 其中 10 个祖先亲本对黑龙江省大豆遗传贡献率达 72.196%。在品种选育中, 由于少数具优良性状品种的多次利用和当地适应品种(品系)的重复利用, 使东北春大豆品种遗传多样性有所降低, 遗传基础变窄。追踪黑龙江育成品种的血缘, 发现大多数品种有共同的祖先白眉、黄宝珠和金元<sup>[20-22]</sup>。在作物育种过程中优良亲本的重复使用导致大豆品种遗传基础狭窄, 品种的改良水平难以大幅度提高。

本研究基于 SSR 与表型多样性分析, 发现黑龙江地方品种的平均等位变异数、遗传多样性指数均高于选育品种。表明地方品种的特异等位变异也高于育成品种, 表明地方品种中潜在的重要基因还有待开发利用。这与初选核心种质中地方品种与选育品种比较结果一致<sup>[10]</sup>。在现代育种的选择压作用下, 强化目标性状的选择, 忽视育成品种的遗传多样性; 育种中限于利用少数种质资源作亲本, 从而导致育成品种遗传基础的狭窄。

在分子水平上, 基于模型和基于遗传距离的遗传结构分析表明黑龙江育成品种和地方品种之间没有明显的界限, 说明黑龙江大豆地方品种和育成品种不是两个相对独立的遗传群体, 而且品种之间没有完全一样的, 说明不同品种之间还存在差异, 可以挖掘其在拓宽品种遗传基础方面的潜力。育种实践也表明黑龙江省一些地方品种在品种选育中曾作为主要亲本发挥了重要作用。

#### 3.2 大豆种质资源的遗传结构

关于大豆种质资源, 有基于表型的遗传多样性

分析<sup>[22]</sup>, 有根据地理起源的遗传多样性研究<sup>[23]</sup>, 也有将表型和分子结合进行的遗传多样性研究<sup>[24-26]</sup>, 但在遗传结构方面的研究较少<sup>[9]</sup>。张冬玲等<sup>[27]</sup>通过 36 个微卫星位点和 32 个表型对贵州栽培稻的遗传结构研究表明, 利用分子标记基于模型和基于遗传距离的遗传结构表现一致, 但与前人通过表型判别的结果有一定的差异。何天明等<sup>[28]</sup>利用 11 对 SSR 引物对喀什、和田和库车 3 个新疆栽培杏(*Prunus armeniaca* L.) 品种亚群进行分子系统学研究发现, 根据果实形态和地理起源对新疆杏进行传统分类并不能完全反映出新疆杏品种间的亲缘关系。本研究发现在分子水平上基于模型的结构划分和基于遗传距离的遗传结构划分结果相吻合, PCO 结果显示结构分类结果比品种类型分类更合理。但对农艺性状分析发现, 基于品种类型分类的方法比基于模型的结构划分更能反映品种的遗传结构。

### 4 结论

利用 60 对 SSR 标记, 结合 UPGMA 和 Model-base 将黑龙江核心种质分为 2 个遗传独立类群, 第 I 类群主要为黑龙江近期选育品种, 分布在黑龙江偏南地区, 属相对晚熟品种类型; 第 II 类群以黑龙江早期系选品种和地方品种为主。这种遗传结构分类方法在标记水平上优于基于品种类型的分类方法。地方品种在分子水平上遗传变异度要高于育成品种。

基于品种类型的分类方法优于基于 UPGMA 和 Model-base 的分类方法。地方品种在表型上遗传变异度要高于育成品种。粒色、生育期和生长习性是解释黑龙江大豆种质多样性的重要性状。

黑龙江大豆地方品种和与育成品种不是两个相对独立的遗传群体, 将表型信息和分子信息相结合才能正确地评估种质资源的遗传多样性。地方品种中蕴含着潜在的优良基因, 是拓宽育成品种遗传基础的重要来源, 同时应在分子水平上尽量在不同遗传类群间选择亲本进行组配。

### References

- [1] Lin H(林红), Lai Y-C(来永才), Qi N(齐宁), Li H(李辉), Zhang X-B(张晓波), Yang X-F(杨雪峰). Screening of germplasm with high content of isoflavones in wild and cultivated soybean in Heilongjiang. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2005, 6(1): 53-55 (in Chinese with English abstract)
- [2] Wang Z-Y(王子迎), Wang Y-C(王源超), Zhang Z-G(张正光),

- Zheng X-B(郑小波). Genetic relationships among Chinese and American isolates of *Phytophthora sojae* by ISSR markers. *Biodivers Sci*(生物多样性), 2007, 15(3): 215–223 (in Chinese with English abstract)
- [3] Xue E-Y(薛恩玉), Li W-H(李文华), Jiang Y(姜妍). Evolution tendency of agronomic characters of soybean cultivars released in Heilongjiang province. *Soybean Sci* (大豆科学), 2006, 25(4): 445–449 (in Chinese with English abstract)
- [4] 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(许占有), 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(12): 1442–1449 (in Chinese with English abstract)
- [5] 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, Yan 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
- [6] Xue H(谢华), Chang R-Z(常汝镇), Cao Y-S(曹永生), Zhang M-H(张明辉), 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(4): 360–366(in Chinese with English abstract)
- [7] Xie H(谢华), Guan R-X(关荣霞), Chang R-Z(常汝镇), Qiu L-J(邱丽娟). Genetic diversity of Chinese summer soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] germplasm revealed by SSR markers. *Chin Sci Bull* (科学通报), 2005, 52(5): 343–351 (in Chinese)
- [8] 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)
- [9] Li Y-H(李英慧), Liu Y(刘燕), Guan R-X(关荣霞), Wei S-H(魏淑红), Yang G-Y(杨光宇), Zhou X-A(周新安), Zhang M-C(张孟臣), Yang C-Y(杨春燕), Zhu B-G(朱保葛), Li W-D(李卫东), Liu X-Y(刘学义), Xu R(徐冉), Sun J-M(孙君明), Zhu S-L(朱申龙), Zhao T-J(赵团结), Liu Z-X(刘章雄), Chang R-Z(常汝镇), Qiu L-J(邱丽娟). Genetic structure and diversity of both enhanced germplasms developed during 10th five-year plan and modern cultivars released during 1963–1995 in China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(10): 1630–1636(in Chinese with English abstract)
- [10] Wang L-X(王丽侠). Genetic diversity analysis and establishment of core collection of *Glycine max* in China (中国栽培大豆遗传多样性分析与核心种质构建). PhD Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2005. pp 61–73(in Chinese with English abstract)
- [11] Institute of Crop Germplasm Resource, Chinese Academy of Agricultural Sciences (中国农科院作物品种资源所), Catalog of Chinese Soybean Germplasm Resources(Continued 1, 2)[中国大豆品种资源目录(续编一、二)]. Beijing: Agriculture Press, 1990, 1996
- [12] Rohlf F J. NTSYS: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.1, New York: State University of New York, 2000
- [13] Wang B(王彪), Chang R-Z(常汝镇), Tiao L(陶莉), Guan R-X(关荣霞), Yan L(阎丽), 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)
- [14] Guan R-X(关荣霞), Chang R-Z(常汝镇), Qiu L-J(邱丽娟). Rapid isolation of soybean DNA for SSR analysis. *Soybean Sci* (大豆科学), 2003, 22(1): 73–74(in Chinese with English abstract)
- [15] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study. *Mol Ecol*, 2005, 14: 2611–2620
- [16] Yeh F C, Yang R C. POPGENE Version 1.31, available at <http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene.pdf>, 1999
- [17] Narvel J M, Fehr W R, Chu W C, Grant D, Shoemaker R C. Simple sequence repeat diversity among soybean plant introductions and elite genotypes. *Crop Sci*, 2000, 40: 1452–1458
- [18] 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). Representativeness of northeast China spring soybeans and their genetic diversity at SSR loci. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2005, 16(8): 1469–1476 (in Chinese with English abstract)
- [19] Sun Z-Q(孙志强), Tian P-Z(田佩占), Wang J-A(王继安). Analysis of the parentage compositions among soybean cultivars developed in the northeast of China. *Soybean Sci* (大豆科学), 1990, 9(2): 112–120(in Chinese with English abstract)
- [20] Gai J-Y(盖钧镒), Wang Y-S(汪越胜). A study on the varietal ecoregions of soybeans in China. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2001, 34(2): 139–145(in Chinese with English abstract)
- [21] Chen W-Y(陈维元), Lü D-C(吕德昌), Jiang C-X(姜成喜), Fu Y-S(付亚书), Jing Y-L(景玉良), Fu C-X(付春旭). Pedigree analysis of soybean cultivars named by Suinong. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 2004, (4): 9–12 (in Chinese with English abstract)
- [22] Hu X-P(胡喜平). Analysis of family tree of Hefeng series of soybean varieties. *Soybean Sci* (大豆科学), 2002, 21(2): 131–137(in Chinese with English abstract)
- [23] Cui Y-H(崔艳华), Qiu L-J(邱丽娟), Chang R-Z(常汝镇), Lü W-H(吕文河). Advances in the core collection of plant germplasm resources. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2003, 4(3): 279–284 (in Chinese with an English abstract)
- [24] Dong Y-S(董英山), Lü J-L(吕景良), Jiang X-Z(江相智). Analysis center of origin of soybean (*Glycine max*) in China. *Crops* (作物杂志), 1998, (1): 18–19(in Chinese)

- [25] Diwan N, Cregan P B. Automated sizing of fluorescent-labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 723–733
- [26] Ma Y S, Wang W H, Wang L X, Ma F M, Wang P W, Chang R Z, Qiu L J. Genetic diversity of soybean and establishment of core collection focused on resistance to soybean cyst nematode. *J Integr Plant Biol*, 2006, 48: 722–731
- [27] Zhang D-L(张冬玲), Zhang H-L(张洪亮), Wei X-H(魏兴华), Qi Y-W(齐永文), Wang M-X(王美兴), Sun J-L(孙俊立), Ding L(丁立), Tang S-X(汤圣祥), Qiu Z-E(裘宗恩), Cao Y-S(曹永生), Wang X-K(王象坤), Li Z-C(李自超). Genetic structure and diversity of *Oryza sativa* L. in Guizhou, China. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 2006, 51(23): 343–351(in Chinese)
- [28] He T-M(何天明), Chen X-S(陈学森), Gao J-S(高疆生), Zhang D-H(张大海), Xu L(徐麟), Wu Y(吴燕). Using SSR markers to study population genetic structure of cultivated apricots native to Xinjiang. *Acta Hort Sin (园艺学报)*, 2006, 33(4): 809–812(in Chinese with English abstract)