

## 应用关联分析挖掘大豆对灰斑病 12 号生理小种的抗性位点

董亚楠<sup>1,2</sup> 魏 嵘<sup>1</sup> 丁俊杰<sup>1</sup> 王伟威<sup>1</sup> 于志远<sup>1</sup> 张 丽<sup>1</sup> 杨晓杰<sup>2</sup> 刘丽君<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院 黑龙江 齐齐哈尔 161000)

**摘要:** 利用 126 份 SSR 标记对 320 份对大豆灰斑病 12 号生理小种具有不同抗性的大豆材料进行基因组扫描、群体结构和连锁不平衡分析,并用 STRUCTURE 软件、TASSEL 软件中的 GLM 分析方法对大豆抗性进行关联分析。结果表明:320 份大豆品种中有 23 个表现高抗,53 个表现抗病,178 个表现中抗,56 个感病,10 个高感。找到与大豆抗灰斑病 12 号生理小种的相关位点共 7 个: H 连锁群上的 Satt052、F 连锁群上的 Satt335、C2 连锁群上的 Satt557、A1 连锁群上的 Sat\_368、D1a 连锁群上的 Sat\_346、O 连锁群上的 Satt243、J 连锁群上的 Sat\_151。

**关键词:** 大豆灰斑病菌; 抗性位点; 关联分析

**中图分类号:** S565.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.03.0402

## Excavation the Resistance Locus to *Cercospora sojae* Hara Race 12 in Soybean by Association Analysis

DONG Ya-nan<sup>1,2</sup>, WEI Lai<sup>1</sup>, DING Jun-jie<sup>1</sup>, WANG Wei-wei<sup>1</sup>, YU Zhi-yuan<sup>1</sup>, ZHANG Li<sup>1</sup>, YANG Xiao-jie<sup>2</sup>, LIU Li-jun<sup>1</sup>

(1. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. College of Life Sciences and Agricultural and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161000, China)

**Abstract:** Genomic scanning, population structure and linkage disequilibrium analysis were carried out on 320 physiological races of soybean with different resistance to gray leaf spot disease 12 by using 126 SSR markers. Soybean resistance association analysis to *Cercospora sojae* Hara race 12 were run with software STRUCTURE and GLM procedure from software TASSEL. Research results showed that there were 23 soybean varieties showed high resistance, 53 showed resistance to disease, 178 were resistant, 56 were susceptible, and 10 were high susceptible. Seven resistance locus to *Cercospora sojae* Hara race 12 were found including Satt052 on H linkage group, Satt335 on F linkage group, Satt557 on C2 linkage group, Sat\_368 on A1 linkage group, Sat\_346 on D1a linkage group, Satt243 on O linkage group, Sat\_151 on J linkage group.

**Keywords:** *Cercospora sojae*; Resistance locus; Association analysis

大豆灰斑病(frogeye leaf spot of soybean, FLS),是由大豆灰斑病菌 *Cercospora sojae* Hara 侵染引起的真菌性病害。该病危害大豆的叶、茎、荚和籽粒<sup>[1-2]</sup>,严重影响大豆的产量和品质<sup>[3-4]</sup>。该病害发生非常普遍,且病原分化能力也很强<sup>[5]</sup>。

Ross 和 Phillips 等认为美国至少有 12 个生理小种<sup>[6-7]</sup>;巴西鉴别出 20 多个生理小种<sup>[8]</sup>;张俊华等<sup>[9]</sup>发现 16 个生理小种,其中包括新发现的 5 号、12~16 号生理小种。12 号生理小种主要存在于齐齐哈尔、佳木斯、伊春和大兴安岭地区。

2009 年在黑龙江省并未检测到,2010 年出现频率为 1.75%,2011 年的出现频率增长为 3.39%,可见 12 号生理小种有着明显的增长趋势。丁俊杰等<sup>[10]</sup>利用 11 个 SSR 引物对黑龙江省 24 个灰斑病菌菌株进行聚类分析,结果表明,12 号生理小种与 3 号生理小种亲缘关系较近,并且在鉴别寄主上的反映型也很相近,在多年对灰斑病菌生理小种进行检测的过程中,3 号生理小种的发现早于 12 号生理小

种,因此推测 12 号小种是 3 号小种演化来的。

关联分析已应用于水稻、小麦、大豆、玉米等作物性状的 QTL 定位。张斐斐等<sup>[11]</sup>用关联分析的防御与传统基于连锁分析的 QTL 作图进行比较分析,对水稻营养品质、形态与农艺性状、抗逆性和抗病虫性等进行研究。闫雪等<sup>[12]</sup>对 30 份小麦进行小麦穗部性状与产量分析,并对性状之间进行关联分析。潘磊等<sup>[13]</sup>利用 156 对多态性豇豆 SSR 引物检测 83 份豇豆种质群体遗传结构,以及用全基因组关联分析方法对 14 个豇豆产量性状与 SSR 标记位点进行分析。关联分析是发现、定位基因/QTL,及其进行功能分析的重要工具。张军等<sup>[14]</sup>利用 85 个 SSR 标记对大豆育成品种群体(190 份代表性材料)的基因组进行扫描,对 11 个农艺性状 QTL 进行关联分析,发掘出农艺性状优异等位变异和载体。本研究采用 SSR 分子标记技术统计出基因型数据,并用关联分析的方法将表型数据以及基因型数据进行分析,旨在找到与灰斑病 12 号生理小种抗病基因

收稿日期:2015-11-03

基金项目:黑龙江省农业科技创新工程(2014ZD011);哈尔滨市应用技术与开发项目(2013RFQYJ016);国家现代农业产业技术体系(CARS-04-PS05)。

第一作者简介:董亚楠(1990-),女,硕士,主要从事植物遗传研究。E-mail:252342684@qq.com。

通讯作者:杨晓杰(1962-),女,教授,硕导,主要从事植物遗传以及多糖方面的研究;

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

紧密连锁的分子标记位点,为抗大豆灰斑病分子标记辅助育种奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

选用东北地区育种常用材料 320 份,由黑龙江省农业科学院大豆研究所提供。

大豆灰斑病菌 12 号生理小种由黑龙江省农业科学院佳木斯分院提供。

### 1.2 方 法

1.2.1 灰斑病鉴定方法及抗性评价 采用丁俊杰等<sup>[15]</sup>方法对大豆抗灰斑病进行鉴定,并记载茎、荚、籽实的发病情况。

按照叶斑面积进行抗性分析,0 级:免疫,叶部无病斑;1 级:高抗,病斑面积小于 1%,病情指数在 20% 以下;2 级:抗病,病斑面积 1%~5%,病情指数 21%~40%;3 级:中抗,病斑面积 6%~20%,病情指数 41%~60%;4 级:感病,病斑面积 21%~50%,病情指数 61%~80%;5 级:高感,病斑面积大于 51%,病情指数在 80% 以上<sup>[15]</sup>。

1.2.2 DNA 提取和 SSR 分析 采用 AXYGEN 公司试剂盒提取 DNA。根据大豆公共遗传连锁图谱<sup>[16]</sup>选取 20 个连锁群的 126 个 SSR 标记,以提取的 DNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应体系总体积 20  $\mu\text{L}$ ,其中包括大豆基因组 DNA (20  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 3  $\mu\text{L}$ ;  $\text{MgCl}_2$  1.5  $\mu\text{L}$ ; dNTPs (2.0  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 0.3  $\mu\text{L}$ ; *Taq* 酶 0.2  $\mu\text{L}$ ; 10  $\times$  Buffer 2.0  $\mu\text{L}$ ; ddH<sub>2</sub>O 10  $\mu\text{L}$ <sup>[17]</sup>。PCR 反应程序为预变性 94 $^{\circ}\text{C}$  5 min;变性 94 $^{\circ}\text{C}$  30 s;退火 47 $^{\circ}\text{C}$  30 s;延伸 72 $^{\circ}\text{C}$  30 s 35 个循环;最后延伸 72 $^{\circ}\text{C}$  10 min 后于 4 $^{\circ}\text{C}$  保存。在扩增产物中加入 7  $\mu\text{L}$  Loading Buffer 94 $^{\circ}\text{C}$  变性 5 min<sup>[17]</sup>。PCR 产物经聚丙烯酰胺凝胶电泳,干燥后统计分数谱带<sup>[18]</sup>。

### 1.3 数 据 分 析

应用 STRUCTURE 2.3.4<sup>[19]</sup> 软件估测实验材料进行群体结构分析,利用 TASSEL 3.0 软件,计算标记位点间的连锁不平衡程度。以等位变异数目和多样性指数 PIC 测定等位基因多样性,  $\text{PIC} = 1 - \sum P_i^2$ ,  $P_i$  为某位点第  $i$  个等位变异出现的频率<sup>[18,20]</sup>。根据 Bressegello 提出的计算方法  $a_i = \sum x_{ij} / n_i - \sum N_k / n_k$  对优异位点及优异等位变异进行分析确定<sup>[21]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗性鉴定结果

参试材料中未发现免疫材料,如图 1 所示:320 个材料中有 24 个表现高抗,53 个表现抗病,177 个

表现中抗,56 个表现感病,10 个表现高感,符合正态分布。其中具有抗性的材料数占总材料的 79.4%。

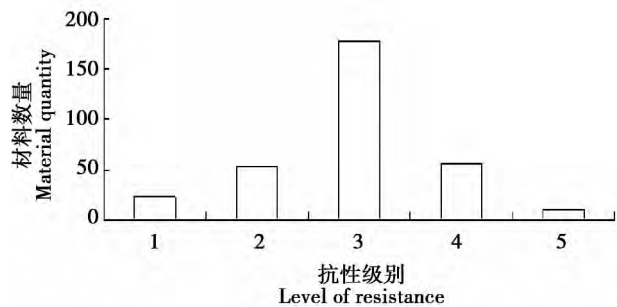


图 1 抗性分布图

Fig. 1 Resistance distribution of tested materials

### 2.2 多态性信息含量

多态性信息含量(PIC)是在连锁分析中可提供信息量的度量,其值取决于检测的等位基因的数目和它们的频率分布。PIC 值反映群体中位点等位变异丰富程度以及均匀程度。在 320 份大豆材料的 126 个 SSR 标记位点共检测到等位变异 505 个,单个位点平均 4 个等位变异,变幅为 2~9 个。用 PIC CALC 软件对 126 个位点进行多态性信息含量计算(表 1),其中 A2 染色体的平均 PIC 值最高,达到 0.608, H 染色体上最低,为 0.41。PIC 值的变化幅度为 0.124~0.804,平均为 0.510,说明这些标记位点具有足够的多态性。

表 1 320 个大豆品种中 126 个 SSR 位点的等位变异和多态性信息含量(PIC)

Table 1 Allelic variation and PIC of 126 SSR loci in 320 soybean cultivars

染色体 Chromo- some	标记数目 Number of markers	平均等位变异数目 Average number of alleles	平均 PIC Average PIC	PIC 范围 Range of PIC
A1	6	4	0.534	0.357~0.683
A2	6	4	0.608	0.457~0.755
B1	6	4	0.451	0.124~0.665
B2	6	5	0.555	0.398~0.753
C1	9	4	0.519	0.326~0.766
C2	6	4	0.532	0.366~0.729
D1a	6	4	0.493	0.212~0.684
D2	6	4	0.479	0.246~0.647
E	6	4	0.500	0.155~0.674
F	6	4	0.470	0.282~0.620
G	6	4	0.477	0.365~0.632
H	6	3	0.410	0.132~0.552
I	6	4	0.428	0.267~0.628
J	9	4	0.597	0.258~0.746
K	6	4	0.552	0.362~0.688
L	6	4	0.546	0.343~0.804
M	6	4	0.566	0.398~0.670
N	6	4	0.530	0.318~0.724
O	6	4	0.489	0.355~0.655
平均值 Mean	6	4	0.510	

### 2.3 群体结构分析

采用自然群体作为试验材料,研究选用 126 个 SSR 引物,对 320 份材料进行基于分子标记群体结构分析。由于出现随着假定 K 值增大,似然值增大

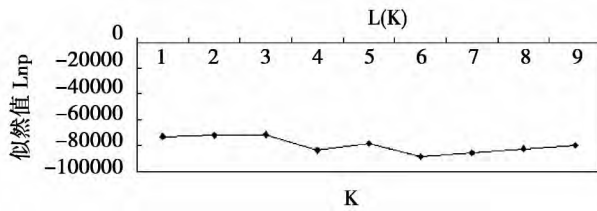


图2 K 值变化图

Fig. 2 K value change chart

(图 2),为准确估计群体 K 值选用  $\Delta K$  来计算,当  $K=3$   $\Delta K$  值最大(图 3),所以可分为 3 个亚群(图 4),各亚群材料分别有 131 52 70 份。

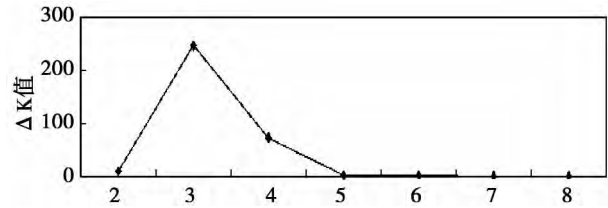


图3  $\Delta K$  值随着 K 变化图

Fig. 3 Variation of  $\Delta K$  values

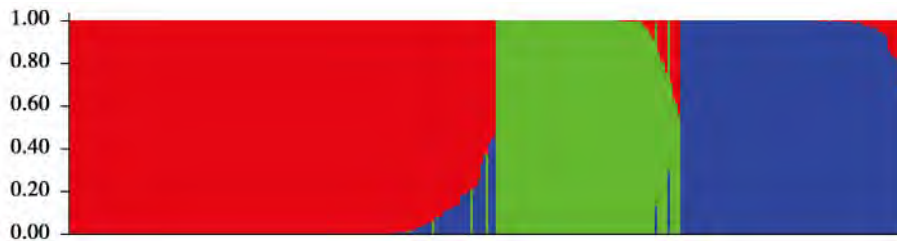


图4 320 份大豆群体结构

Fig. 4 The map of population structure

### 2.4 关联分析

利用 Tassel 3.0 软件中一般线性模型,群体结构分析 Q 值作为协变量,大豆灰斑病抗性表型数据与 126 个 SSR 分子标记进行关联回归分析,找到对表型解释率高的位点,以文自翔等<sup>[22]</sup>提出的位点极显著性标准  $P < 0.01$  且贡献率大于 1% 的关联位点进行分析,定位与大豆抗灰斑病 12 号生理小种相关联的 SSR 分子标记位点。

从 126 个 SSR 中检测到与灰斑病 12 号生理小种抗性达到显著的关联分析共 38 个(表 2),其中达到极显著的位点有 7 个,分别是 Satt052、Satt335、Satt557、Sat\_368、Sat\_346、Satt243、Sat\_151。位于 H 连锁群的 Satt052 的贡献率最高,达到 3.677%。

表 2 灰斑病 12 号生理小种抗性显著位点分析

Table 2 Analysis of resistance to *Cercospora sojina* Hara Race 12

名称 Marker	连锁群 LG	解释率 Explanation $R^2$ / %	显著性 $P$
Satt577	B2	1.216	0.049711253*
Satt260	K	1.224	0.048998154*
Satt235	G	1.228	0.048609905*
Sat_132	O	1.257	0.046021486*
Sat_062	C2	1.269	0.044954285*
Sat_132	O	1.319	0.040941714*
Sat_402	C2	1.328	0.040226635*
Sat_150	L	1.341	0.039273576*
Satt463	M	1.343	0.039154801*
Satt364	A1	1.347	0.038821491*
Sat_263	C2	1.368	0.037328158*
Satt703	D1b	1.373	0.036982621*

续表 2

名称 Marker	连锁群 LG	解释率 Explanation $R^2$ / %	显著性 $P$
Satt038	G	1.400	0.035133682*
satt444	B1	1.433	0.03303851*
satt222	H	1.529	0.027676981*
Sat_150	L	1.547	0.02673468*
Sat_268	I	1.548	0.026722839*
Sat_042	C1	1.569	0.025704099*
Satt596	J	1.686	0.020716822*
Satt502	D1a	1.689	0.020599007*
Satt335	F	1.705	0.019979381*
Satt580	D1a	1.835	0.015754445*
Satt514	D2	1.837	0.015695175*
Satt529	J	1.855	0.015201453*
Satt580	D1a	1.859	0.015076454*
Sat_224	J	1.868	0.014833136*
Satt177	A2	1.870	0.014780047*
Satt431	J	1.903	0.013924333*
Satt300	A1	1.909	0.013766844*
Sat_164	G	1.986	0.011983809*
Sat_123	B1	2.073	0.010244906*
Sat_151	J	2.109	0.009592739**
Satt243	O	2.247	0.007480426**
Sat_346	D1a	2.329	0.006463089**
Sat_368	A1	2.443	0.005271247**
Satt557	C2	2.464	0.005074671**
Satt335	F	2.797	0.002807402**
Satt052	H	3.677	0.000595000**

\* 与 \*\* 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。

\* and \*\* indicate significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively.

## 2.5 表型效应值

根据 Breseghello 提出的计算方法对已找到的 7 个位点进行分析,发现同一位点等位变异间表型效应有差异。表 3 为各关联位点增效(减效)的等位变异效应值。表 4 列出增效(减效)等位变异平均效应(AAE)的结果。

表 3 与 12 号生理小种抗性极显著关联的位点及其表型效应

Table 3 Phenotypic effect of some marker alleles at loci significantly associated with race 12

位点 - 等位变异 Locus-allele	表型效应 a <sub>i</sub>	位点 - 等位变异 Locus-allele	表型效应 a <sub>i</sub>	位点 - 等位变异 Locus-allele	表型效应 a <sub>i</sub>
Sat_151-1	-8.59	Sat_346-3	-7.87	Satt557-3	-19.26
Sat_151-2	+0.35	Sat_346-4	+7.60	Satt335-1	-6.20
Sat_151-3	+3.83	Sat_368-1	-3.05	Satt335-2	+6.55
Sat_151-4	+3.07	Sat_368-2	+1.20	Satt335-3	-3.00
Satt243-1	-7.89	Sat_368-3	+2.16	Satt052-1	-5.60
Satt243-2	+1.02	Sat_368-4	-33.77	Satt052-2	+6.72
Satt243-3	+2.56	Satt557-1	+2.64	Satt052-3	+2.36
Sat_346-1	+3.82	Satt557-2	-2.60	Satt052-4	-0.89
Sat_346-2	-0.66				

表 4 与灰斑病 12 号生理小种抗性相关联的 SSR 位点增效(减效)等位变异的平均效应

Table 4 Average positive(negative) allele effect of SSR locus associated with Race 12 resistance

位点 Locus	等位变异平均效应 AAE	
	增效 Positive/%	减效 Negative/%
Sat_368	+1.68( +3.51)	-18.41( -38.41)
Satt557	+3.91( +8.23)	-11.37( -23.89)
Sat_346	+5.71( +11.87)	-4.26( -8.86)
Satt335	+5.79( +12.37)	-2.75( -5.87)
Satt052	+2.91( +6.15)	-3.84( -8.10)
Sat_151	+3.73( +7.75)	-4.36( -9.07)
Satt243	+2.71( +5.65)	-4.13( -8.62)

等位变异平均效应栏中括号内数字为 AAE 的增效、减效比例。

In parentheses in the column of 'AAE' indicates the proportion of average positive (negative) allele effect of locus over all positive (negative) alleles in comparison with the effect of null allele.

## 3 讨论

目前关于大豆灰斑病 12 号生理小种抗性位点以及相关基因的研究仍处于初步阶段,本研究找到的与灰斑病 12 号生理小种抗性关联的位点中 Sat\_151 与前人研究<sup>[23-24]</sup>相同; Satt557 在 Wu 等<sup>[25]</sup>的研究中表明其对大豆抗疫霉根腐病有关。

本研究分析了大豆对灰斑病菌 12 号生理小种抗性关联位点的等位变异表型效应值,在性状的表现型与基因型间建立了联系,从而发掘了优异关联

灰斑病 12 号生理小种抗性关联位点的等位变异中,测出 Sat\_346-4 与 Sat\_368-4 分别以增效(+7.60)与减效表型效应(-33.77)最大,关联位点中 Satt335 增效等位变异平均效应最高(+5.79)、Sat\_368 减效等位变异平均效应最高(-18.41)。

位点及优异等位变异。其中发现 Sat\_346-4、Satt052-3 以及 Satt335-2 是对灰斑病 12 号生理小种抗性增效潜力明显的等位变异。这些优异的等位变异可应用于优异亲本组合的选配中,因为本试验材料表型的优异与基因组关联位点的等位变异存在着联系,在亲本组合选配过程中,可兼顾表型与基因型。

## 4 结论

320 份大豆品种的大豆灰斑病 12 号生理小种抗性鉴定结果为:23 个高抗,53 个抗病,178 个中抗,56 个感病,10 个高感。找到与大豆抗灰斑病 12 号生理小种的相关位点共 7 个: H 连锁群上的 Satt052、F 连锁群上的 Satt335、C2 连锁群上的 Satt557、A1 连锁群上的 Sat\_368、D1a 连锁群上的 Sat\_346、O 连锁群上的 Satt243、J 连锁群上的 Sat\_151。

## 参考文献

- [1] 张文慧,杜吉到,陈庆山,等. 抗大豆灰斑病育种研究进展[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2006,18(1): 22-26. (Zhang W H, Du J D, Chen Q S, et al. Advances on breeding for frogeye leaf spot resistance of soybean[J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2006, 18(1): 22-26.)
- [2] 刘忠堂. 大豆灰斑病的危害与抗病育种工作回顾[J]. 大豆科学,1991,10(2): 157-161. (Liu Z T. The damage of soybean gray leaf spot disease and the review of breeding work[J]. Soybean Science, 1991, 10(2): 157-161.)

- [3] Mian A R , Boerma H R , Phillips D V , et al. Performance of frog-eye leaf spot-resistant and susceptible near-isolines of soybean [J]. *Plant Disease* ,1998 ,82(9) : 1017-1021.
- [4] 韩新华,徐艳丽,李春杰,等. 大豆灰斑病的发生与综合防治[J]. *大豆通报* 2007 88(3) :14-16. ( Han X H ,Xu Y L ,Li C J , et al. Occurrence and comprehensive control of soybean gray leaf spot disease [J]. *Soybean Bulletin* 2007 88(3) :14-16. )
- [5] Yorinori J T ,Homechin M. Races of *Cercospora sojina* in parame Brazil [C]. *International Congress of Plant Pathology* ,1978 3:16-23.
- [6] Ross J P. Additional physiological races of *Cercospora sojina* on soybean in North Carolina [J]. *Phytopathology* ,1968 ,68:708-709.
- [7] Phillips D V. *Cercospora sojina* races a threat to soybeans in the south-east United States [J]. *Phytopathology* ,1981 71:334-336.
- [8] Yorinori J T ,Homechin M. Races of *Cercospora sojina* in Parame Brazil [C]. 3<sup>rd</sup> International Congress of Plant Pathology ,1978:16-23.
- [9] 张俊华,刘洋大川,韩英鹏,等. 黑龙江省大豆灰斑病菌生理小种鉴定[J]. *中国油料作物学报* ,2009 ,31(4) :537-539. ( Zhang J H ,LiuYang D C ,Han Y P ,et al. Physiologic race identification of *Cercospora sojina* in Heilongjiang province [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences* 2009 31(4) :537-539. )
- [10] 丁俊杰,顾鑫,杨晓贺,等. 黑龙江省大豆灰斑病菌生理小种及遗传关系分析[J]. *中国农业科学* ,2012 ,45(21) :4377-4387. ( Ding J J ,Gu X ,Yang X H ,et al. Analysis of race and genetic relationship of *Cercospora sojina* in Heilongjiang province [J]. *Scientia Agricultura Sinica* 2012 45(21) :4377-4387. )
- [11] 张斐斐,杨雅云,董超,等. 关联分析及其在水稻遗传研究中的应用[J]. *云南农业大学学报* 2014 29(5) :752-758. ( Zhang F F ,Yang Y Y ,Dong C ,et al. Association mapping and its application in rice genetic research [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University* 2014 29(5) :752-758. )
- [12] 闫雪,史雨刚,王曙光,等. 小麦穗部性状与产量的相关性分析[J]. *山西农业科学* 2015 43(9) :1073-1075. ( Yan X ,Shi Y G ,Wang S G , et al. Correlation analysis between panicle traits and yield in wheat [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences* ,2015 43(9) :1073-1075. )
- [13] 潘磊,李依,余晓璐,等. 豇豆产量性状与 SSR 分子标记的关联分析[J]. *湖北农业科学* 2015 54(16) :3952-3962. ( Pan L ,Li Y ,Yu X L , et al. Association analysis between yield trait in Cowpea and SSR molecular markers [J]. *Hubei Agricultural Sciences* ,2015 54(16) :3952-3962. )
- [14] 张军,赵团结,盖钧镒. 大豆育成品种农艺性状 QTL 与 SSR 标记的关联分析 [J]. *作物学报* ,2008 ,34(12) :2059-2069. ( Zhang J ,Zhao T J ,Gai J Y. Association analysis of agronomic trait QTLs with SSR markers in released soybean cultivars [J]. *Acta Agronomica Sinica* ,2008 34(12) :2059-2069. )
- [15] 丁俊杰,顾鑫,杨晓贺,等. 黑龙江省大豆新品系抗灰斑病鉴定初报 [J]. *大豆科学* 2007 26(5) :120-123 ( Ding J J ,Gu X ,Yang X H , et al. Identification of resistance to frog-eye leaf spot on new soybean lines in Heilongjiang province [J]. *Soybean Science* ,2007 26(5) :120-123. )
- [16] Song Q J ,Marek L F ,Shoemaker R C. A new integrated genetic linkage map of the soybean [J]. *Theoretical and Applied Genetics* ,2004 ,109:122-128.
- [17] 于志远,王伟威,魏峰,等. 利用关联分析方法挖掘自然群体中大豆油分和蛋白质含量相关 SSR 标记 [J]. *大豆科学* ,2015 34(6) :977-981. ( Yu Z Y ,Wang W W ,Wei L , et al. SSR marker of soybean oil and protein content in natural populations with correlation analysis method [J]. *Soybean Science* ,2015 34(6) :977-981. )
- [18] 邓莹莹,赵双进,闫龙,等. 定向选择对大豆 msl 轮回群体遗传基础的影响 [J]. *大豆科学* 2015 34(4) :548-554. ( Deng Y Y ,Zhao S J ,Yan L , et al. Effect of orthoselection on agronomic traits and genetic base of a male sterile soybean recurrent population [J]. *Soybean Science* 2015 34(4) :548-554. )
- [19] Pritchard J K ,Stephens M ,Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. *Genetics* 2000 ,155:945-959.
- [20] 盖钧镒. 植物种植群体遗传结构改变的测度 [J]. *植物遗传资源学报* 2005 6(1) :1-8. ( Gai J Y. Indicators related to genetic structure changes of plant germplasm population [J]. *Journal of Plant Genetic* 2005 6(1) :1-8. )
- [21] Breseghello F ,Sorells M E. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars [J]. *Genetics* 2006 ,172:1165-1177.
- [22] 文自翔,赵团结,郑永战,等. 中国栽培和野生大豆农艺品质性状与 SSR 标记的关联分析: I. 群体结构及关联标记 [J]. *作物学报* ,2008 ,34(7) :1169-1178. ( Wen Z X ,Zhao T J ,Zheng Y Z , et al. Association analysis of agronomic and quality traits with SSR markers in *Glycine max* and *Glycine soja* in China: I. Population structure and associated markers [J]. *Acta Agronomica Sinica* 2008 34(7) :1169-1178. )
- [23] 丁俊杰,姜翠兰,顾鑫,等. 利用与大豆灰斑病抗性基因连锁的 SSR 标记构建大豆品种(系)的分子身份证 [J]. *作物学报* ,2012 38(12) :2206-2216. ( Ding J J ,Jiang C L ,Gu X , et al. Establishment of molecular ID of soybean varieties ( lines ) using SSR markers linked to resistance genes against *Cercospora sojina* [J]. *Acta Agronomica Sinica* ,2012 38(12) :2206-2216. )
- [24] 姜翠兰,丁俊杰,文景芝,等. 大豆对灰斑病菌 15 号小种的抗病基因定位及标记检测 [J]. *植物保护学报* 2011 38(2) :116-120. ( Jiang C L ,Ding J J ,Wen J Z , et al. Identification and mapping of the *Cercospora sojina* race 15 resistance gene in soybean [J]. *Acta Phytophylacica Sinica* 2011 38(2) :116-120. )
- [25] Wu X ,Zhou B ,Zhao J , et al. Identification of quantitative trait loci for partial resistance to *Phytophthora sojae* in soybean [J]. *Plant Breeding* 2010 ,130:144-149.