

大豆四向重组自交系群体生育进程稳定 QTL 定位

宁海龙¹, 庄 煦¹, 杨 畅¹, 方艳龙¹, 王 萍^{1,2}, 李文滨¹, 薛 红¹, 李文霞¹

(1. 东北农业大学 农学院/大豆生物学教育部重点实验室/农业部东北大豆生物学与遗传育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院信息中心, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:以垦丰 14、垦丰 15、垦丰 19 和黑农 48 为亲本, 构建了含 160 个株系的四向重组自交系群体(four-way recombinant inbred lines, FW-RIL)为试验材料, 通过构建分子遗传连锁图谱, 对大豆四向重组自交系群体生育期各阶段进行 QTL 定位, 旨在为大豆生育期性状的分子辅助育种提供理论基础和技术支撑, 在分子水平探索与大豆生育期相关基因的遗传机理。通过区间作图法等分析方法, 应用 275 个 SSR 分子标记对 2013、2014 与 2015 年在克山和哈尔滨 3 年 3 个环境下的生育期各阶段进行 QTL 定位, 结果表明:大豆四向杂交群体的各生育期阶段易受到环境条件的影响, 生育期相关性状在 Fw-RIL 群体中存在真实的遗传变异。76 个与生育期各阶段相关的 QTL 分布在 18 个连锁群上, 分别是 A1、A2、B1、B2、C1、C2、D1a、D1b、D2、F、G、H、J、K、L、M、N 和 O 连锁群;17 个与生育期各阶段相关的 QTL 能够在 2 个以上环境中被重复定位到, 分别为 qST-B2-1、qST-C1-1、qST-C2-1、qST-C2-2、qST-D1b-1、qST-D1b-2、qST-G-1、qST-H-1、qST-K-1、qST-K-2、qST-L-1、qST-L-2、qST-M-1、qST-M-2、qST-M-3、qST-N-1、qST-O-1。其中, 新发现 10 个与生育期相关的 QTLs, qST-C2-2、qST-D1b-1、qST-k1、qST-M2 和 qST-N1 是高效 QTL。

关键词:大豆; 生育进程; 四向重组自交系群体; QTL
中图分类号:S565. 1 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2017. 05. 0692

Mapping Stable QTLs for Growth Period Procedure Based on Four-way Recombination Inbred Line Population

NING Hai-long¹, ZHUANG Xu¹, YANG Chang¹, FANG Yan-long¹, WANG Ping^{1,2}, LI Wen-bin¹, XUE Hong¹, LI Wen-xia¹

(1. Agronomy Colledge, Northeast Agricultural University/Key Laboratory of Soybean Biology, Ministry of Education/Key Laboratory of Soybean Biology and Breeding(Genetics), Ministry of Agriculture, Harbin 150030, China; 2. Information Center of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In this study, four-way recombinant inbred lines were constructed with Kenfeng 14, Kenfeng 15, Kenfeng 19 and Heinong 48 as the parents. The aim was to provide a theoretical basis and technical support for the molecular-assisted breeding of soybean growth stages, and to explore the genetic mechanism of genes related to growth period. QTL mapping was carried out at different stages of growth period in 2013, 2014 and 2015 under the three environments of Keshan and Harbin by 275 SSR molecular markers. The results showed that the growth stages of soybean four-way recombinant inbred lines were susceptible to environmental conditions, and the growth traits of the four-way RIL population had significant genetic variation. The QTLs associated with each stage of the growth period were distributed on 18 linkage groups, respectively, A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1a, D1b, D2, F, G, H, J, K, L, M, N and O linkage groups;17 QTLs associated with each stage of the growth period were repeatedly mapped, respectively, qST-B2-1, qST-C1-1, qST-C2-1, qST-C2-2, qST-D1b-1, qST-D1b-2, qST-G-1, qST-H-1, qST-K-1, qST-K-2, qST-L-1, qST-L-2, qST-M-1, qST-M-2, qST-M-3, qST-N-1 and qST-O-1. Among them, 10 QTLs loci were newly found, qST-C2-2, qST-D1b-1, qST-K-1, qST-M-2 and qST-N-1 were localized in three or more environment or stages of growth period.

Keywords: Soybean; Growth process; Four-way recombination inbred line population; QTL

大豆的生育期性状是决定生产的重要性状之一,对产量、品质至关重要。育种实践也表明,改变大豆生育期结构,能够增加产量。一般来说,生育期较长的大豆品种,产量较高,所以,研究大豆生育期的遗传规律有助于更加清楚地了解产量形成的机制。大豆生育期也是确定大豆生态适应性的重要性状,了解其遗传规律可以指导品种的合理选择和不同积温区的生态布局。为加快育种进程,分子标记技术被广泛应用于大豆生育期 QTL 定位育种研究^[1-2],利用分子标记构建的遗传连锁图谱对

收稿日期:2017-04-06
基金项目:黑龙江省自然科学基金面上项目(C2015007);黑龙江省留学归国人员科学基金项目(LC2016010);黑龙江省教育厅科学技术研究重点项目(12541x001);黑龙江省博士后科研启动基金(LBH-Q12152);黑龙江省博士后科研启动基金(LBH-Q09165)。
第一作者简介:宁海龙(1975 -),男,教授,博导,主要从事作物遗传育种与数量遗传研究。E-mail: ninghailongneau@126. com。
通讯作者:李文霞(1974 -),女,副教授,硕导,主要从事作物遗传育种研究。E-mail: liwenxianeau@126. com。

大豆生育期相关性状进行 QTL 分析,可以在分子水平上阐述控制大豆生长发育相关基因系统的表达规律,大大促进了数量性状的遗传研究。近年来,国内外关于大豆生育期 QTL 定位的报道已有很多。截至 2015 年,共定位 255 个生育期相关的 QTL(soybase.org),其中始花期位点 66 个,始荚期位点 6 个,始粒期位点 5 个,鼓粒期位点 5 个,始熟期位点 5 个,完熟期位点 138 个,生殖生长期位点 29 个。但是以往研究有 3 方面的不足。一是国内外定位生育期相关的 QTL 数量虽多,但多是运用单一环境进行研究。由于大豆生育期性状遗传为数量遗传,受多基因控制,很容易受到光照长度和温度等环境的影响,因此应通过多环境联合分析,可定位到多环境共表达的稳定 QTL 和某一环境特意表达的 QTL。二是将整个生育期分为生育前期和生育后期两个阶段,却很少从发育进程的小阶段进行分析。三是这些研究是基于两亲本衍生的群体开展的,两个亲本的杂交后代在进行连锁分析时一个位点涉及两个等位基因,所以检测效率低。与双亲本衍生的自交系群体相比,四向群体多态性的标记数量增加,遗传图谱的标记密度增加,分子标记的多态性更为丰富,同时还可以在一个基因位点分析 4 个复等位基因效应,提高 QTL 检测效率。为满足自花授粉作物的研究,四向重组自交系群体被提出并应用于遗传分析^[3-4]。

本研究应用前期构建的四向重组自交系群体(FW-RIL),利用 SSR 分子标记构建遗传图谱,应用 3 个年份 3 个环境的生育其结构数据进行 QTL 定位分析,检测多环境表达的稳定 QTL,提高主效 QTL 的真实性,并应用四向重组自交系群体多等位基因的优势,探寻有利于生育期性状改良的优异等位基因,为大豆生育期性状分子设计育种提供理论依据与技术支持,进而提高大豆产量。

1 材料与方法

1.1 试验设计

应用生育期性状存在差异的 4 个大豆亲本,垦丰 14(生育期 120 d)、垦丰 15(生育期 116 d)、黑农 48(生育期 118 d)和垦丰 19(生育期 112 d)于 2008 年配制双交组合(垦丰 14 × 垦丰 15) × (黑农 48 × 垦丰 19),获得 FW-F₁世代,将 FW-F₁在哈尔滨和海南省三亚市崖州区连续自交 6 代,采用单粒传法获得 FW-F_{2:8}四向重组自交系群体,包含 160 个株系,

连同其 4 个亲本组成本试验材料。

2013 年 5 月 10 日在黑龙江省克山县播种(E1),2014 年 5 月 10 日在哈尔滨香坊农场播种(E2),2015 年 5 月 10 日在哈尔滨东北农业大学农学院播种(E3)。每个环境下田间试验采用随机区组设计,3 行区。小区行长 5 m,垄距 65 cm,株距 6 cm,每行 84 株,3 次重复,田间管理同一般大田栽培。田间记录生育期按 Fehr 和 Carviness 的大豆生育时期划分标准^[4]记载,调查各株系及亲本的出苗~始花(ST1)、盛花~始荚(ST2)、始荚~盛荚(ST3)、盛荚~始粒(ST4)、始粒~鼓粒(ST5)、鼓粒~始熟(ST6)、始熟~完熟(ST7)、出苗~完熟(ST8)8 个性状。出苗后及时记录子叶期时间,之后进入始花期,始花期后每 2~3 d 到田间观察大豆群体发育动态,并及时记录生育期表型数据直到群体达到完全成熟阶段,数据记录完成。根据数据及生育期图谱进行 QTL 定位。

1.2 SSR 标记分析

DNA 提取、SSR 引物合成、PCR 扩增及电泳检测试验操作同宁海龙等^[3]。

1.3 数据分析

1.3.1 表型变异分析 对各阶段数据进行表型分析,对每个环境下各处理的平均数进行包含环境和基因型效应的方差分析,并估计了方差分量,通过以下公式估计了遗传率。

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2/e + \sigma^2/(ge)}$$

其中, h^2 为遗传率, σ_g^2 为遗传方差, $\sigma_g^2 = \frac{MS_g - MS_e}{e}$, σ_e^2 为环境方差, $\sigma_e^2 = \frac{MS_e - MS_g}{g}$, σ^2 为误差方差, $\sigma^2 = MS_e$, g 是家系个数, e 是环境数。

1.3.2 QTL 分析 基于已经构建的遗传图谱^[3],应用 GAPL 软件(<http://www.isbreeding.net/software/>)定位。应用完备复合区间法(ICIM-ADD)进行定位,LOD 值为 2.5。

2 结果与分析

2.1 表型数据分析

对 3 个环境下生育期各阶段的描述性分析(表 1)可以看出,四向重组自交系群体的各个生育期阶段存在较大的变异,并且不同环境下各阶段存在极显著差异。因此,可用该群体进行多年多环境的 QTL 分析定位以定位不同的 QTL。

表 1 不同环境下 FW-RIL 生育期各阶段的描述性分析

Table 1 Descriptive analysis of different growth stages for FW-RIL under different environments

生育阶段 Growth stage	环境 Environment	平均 Mean	标准差 Stand deviation	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	最小值 Minumum	最大值 Maximum
ST1	E1	40. 48	0. 377	1. 056	0. 836	32	58
	E2	33. 28	0. 125	26. 285	0. 095	22	43
	E3	27. 58	0. 289	1. 473	0. 474	22	40
ST2	E1	11. 47	0. 191	0. 827	0. 034	4	20
	E2	18. 12	0. 311	0. 612	-0. 418	7	28
	E3	11. 41	0. 300	0. 641	0. 393	2	24
ST3	E1	4. 69	0. 132	3. 004	1. 231	1	12
	E2	6. 41	0. 178	17. 145	2. 538	2	23
	E3	6. 2	0. 161	1. 786	1. 137	3	14
ST4	E1	8. 57	0. 228	0. 537	0. 464	1	19
	E2	8. 34	0. 170	0. 210	-0. 212	3	14
	E3	38. 29	0. 347	0. 223	-0. 211	26	50
ST5	E1	16. 84	0. 296	12. 082	2. 162	10	42
	E2	10. 24	0. 220	-0. 343	0. 221	5	18
	E3	8. 13	0. 166	1. 279	0. 994	4	15
ST6	E1	23. 54	0. 326	3. 837	0. 986	2	33
	E2	20. 05	0. 545	-0. 825	-0. 144	6	35
	E3	7. 38	0. 138	0. 275	0. 268	2	13
ST7	E1	4. 28	0. 103	1. 151	0. 829	2	9
	E2	10. 46	0. 364	1. 831	1. 375	3	26
	E3	6. 53	0. 110	-0. 461	0. 077	4	10
ST8	E1	119. 98	0. 499	0. 100	0. 596	103	131
	E2	116. 55	0. 634	-0. 464	-0. 122	101	138
	E3	121. 61	0. 448	0. 719	-1. 222	105	129

2.2 QTL 定位分析

本研究通过 3 年 3 个环境定位到了大豆生育期各阶段相关的 QTL 76 个,其中 17 个在不同不同阶段被重复定位(表 2)。这 17 个 QTL 位点分布在 B2、C1、C2、D1b、G、H、K、L、M、N 和 O 等 11 个连锁群上。

B2 连锁群上定位到 qST-B2-1,可控制 ST6 和 ST8,表型贡献率分别为13. 453 9% 和68. 203 5%。垦丰 19(第四个亲本)携带的等位基因可缩短 ST6,黑农 48(第三个亲本)携带的等位基因可缩短 ST8,其它亲本的该位点的等位基因可延长这两个生育阶段。

C1 连锁群上定位到 qST-C1-1,控制 ST2 和 ST6,表型贡献率分别为9. 810 5% 和13. 975 0%。黑农 48 携带的等位基因能够延长 ST2,其它 3 个亲本 8 携带的等位基因的加性效应为缩短 ST2。黑农 48

和垦丰 19 携带的等位基因可延长 ST6,而垦丰 14 和垦丰 15 携带的等位基因可缩短 ST6。

C2 连锁群上定位到 qST-C2-1 和 qST-C2-2。qST-C2-1 可控制 ST3 和 ST7,表型贡献率分别为 10. 876 6% 和11. 793 7%。垦丰 15 和垦丰 19 携带的等位基因能延长 ST3,其它两个亲本的等位基因的加性效应为缩短 ST3。垦丰 14 和黑农 48 携带的等位基因能延长 ST7,垦丰 15 和垦丰 19 携带的等位基因能缩短 ST7。qST-C2-2 控制 ST1、ST2 和 ST8,表型贡献率分别为 13. 535 2%、14. 433 8% 和 15. 302 4% ~ 22. 468 5%。垦丰 15 和垦丰 19 携带的该位点的等位基因能延长 ST1,垦丰 14 和黑农 48 携带的该位点的等位基因可缩短 ST1。黑农 48 的等位基因可缩短 ST2 和 ST8,其它 3 个亲本可增加 ST2 和 ST8。

表 2 3 年 3 个环境 FW-RIL 生育期各阶段 QTL 定位结果

Table 2 QTL location of different stages of growth period from FW-RIL under three environments in three years

QTL	连锁群 LG	区间 Interval	性状 Trait	环境 Environment	LOD	表型贡 献率 PVE/%	第一加 性效应 Add1	第二加 性效应 Add2	第三加 性效应 Add3	第四加 性效应 Add4	参考文献 References
qST-B2-1	B2	Satt168 ~ Satt416	ST6	E1	3. 2714	13. 4539	1. 8045	1. 0217	0. 1932	- 3. 0195	
			ST8	E3	4. 6843	68. 2035	1. 9800	3. 7692	-9. 3926	3. 6434	
qST-C1-1	C1	Satt194 ~ Sat_367	ST2	E1	3. 1809	9. 8105	-0. 4233	-0. 3624	1. 3440	-0. 5582	
			ST6	E2	4. 3452	13. 9750	-3. 6510	-0. 8256	1. 5526	2. 9240	
qST-C2-1	C2	Satt291 ~ Satt281	ST3	E3	3. 6348	10. 8766	-0. 4796	1. 2463	-0. 5275	-0. 2392	[3-5]
			ST7	E1	3. 0451	11. 7937	0. 6089	-0. 5201	0. 2418	-0. 3306	
qST-C2-2	C2	Satt643 ~ Satt363	ST1	E1	3. 2679	13. 5352	-0. 1009	1. 5110	-3. 0265	1. 6164	
			ST2	E2	3. 8393	14. 4338	1. 2345	1. 2348	-2. 5857	0. 1163	
			ST8	E1	4. 1313	15. 3024	0. 7966	1. 6900	-4. 5379	2. 0512	
			ST8	E2	5. 5879	22. 4685	3. 5071	1. 5136	-6. 8389	1. 8183	
qST-D1b-1	D1b	Sat_289 ~ Satt271	ST1	E1	5. 8632	33. 3852	-2. 1368	-0. 1508	4. 5895	-2. 3019	
			ST3	E3	3. 9250	30. 7211	-0. 5092	-0. 2797	-1. 1898	1. 9787	
			ST8	E1	3. 5553	17. 3773	-2. 7773	0. 3525	3. 9989	-1. 5742	
qST-D1b-2	D1b	Sat_183 ~ Sat_096	ST4	E1	3. 1041	21. 1134	-0. 0705	-1. 1022	-1. 1523	2. 3249	
			ST4	E3	3. 1192	8. 8385	0. 4081	-2. 1049	1. 1198	0. 5770	
qST-G-1	G	Satt288 ~ Sct_199	ST4	E1	3. 2723	17. 1743	1. 2033	1. 0687	-1. 6630	-0. 6089	[6-9]
qST-H-1	H	BARCSOYSSR_12_0187 ~ Satt293	ST6	E1	4. 1516	23. 1176	-1. 2036	-2. 7318	2. 4715	1. 4639	
			ST7	E2	5. 7627	64. 1975	-2. 5802	-2. 2936	-2. 7782	7. 6520	
			ST8	E3	13. 3877	74. 9072	3. 0251	4. 0701	3. 1339	-10. 2291	
qST-K-1	K	Satt055 ~ BARCSOYSSR _ 09_0183	ST1	E2	8. 2613	39. 9790	-1. 4063	-1. 2210	4. 3353	-1. 7080	
			ST3	E1	7. 2881	39. 5552	-1. 4787	-0. 8806	3. 4105	-1. 0512	
			ST5	E1	6. 2435	28. 9337	-6. 5898	-6. 3818	18. 9529	-5. 9813	
qST-K-2	K	Satt727 ~ Satt055	ST1	E1	3. 2235	9. 9178	-1. 6525	2. 1680	-0. 3923	-0. 1232	[10-13]
			ST8	E1	3. 1749	9. 0116	-1. 8629	2. 8321	-1. 3890	0. 4198	
qST-L-1	L	Satt313 ~ Sat_187	ST2	E1	3. 2896	16. 8099	-0. 1119	-0. 8050	-0. 8494	1. 7663	[14]
			ST8	E3	10. 6935	74. 3592	3. 4617	-9. 7893	3. 4599	2. 8677	
qST-L-2	L	Satt664 ~ Satt229	ST8	E1	3. 3687	9. 6625	2. 2059	0. 9426	-3. 4272	0. 2787	
			ST8	E2	4. 1857	14. 1553	4. 6506	-0. 2153	-1. 9953	-2. 4401	
qST-M-1	M	Satt308 ~ Satt336	ST1	E2	3. 3810	9. 2139	0. 6639	0. 2281	-0. 2835	-0. 6085	
			ST5	E3	3. 1086	10. 1538	-0. 0301	-1. 0549	0. 4314	0. 6535	
qST-M-2	M	Satt245 ~ Satt677	ST1	E2	7. 1925	45. 9089	-1. 6005	4. 0251	-1. 1909	-1. 2337	[24-33]
			ST3	E3	4. 6129	46. 7568	-0. 8368	3. 5351	-1. 7768	-0. 9214	
			ST5	E1	5. 7722	29. 4683	-6. 8813	18. 9123	-5. 6551	-6. 3758	
			ST7	E2	4. 6739	54. 5654	-2. 6019	8. 0024	-2. 1910	-3. 2094	
			ST8	E3	14. 1661	74. 3440	3. 5709	-10. 0169	2. 8546	3. 5914	
qST-M-3	M	Satt435 ~ Sat_244	ST1	E3	3. 5018	21. 2737	-0. 9554	-1. 0315	-0. 8257	2. 8126	[17-23]
			ST6	E2	4. 0599	15. 2974	1. 3335	-3. 9765	-0. 6080	3. 2510	
qST-N-1	N	Satt641 ~ Sat_266	ST1	E3	4. 6430	15. 8873	-1. 2851	-1. 5063	0. 6627	2. 1287	[15-16]
			ST3	E3	5. 3522	49. 0807	-0. 5196	3. 0527	-1. 1263	-1. 4069	
			ST8	E3	8. 3246	74. 1766	2. 7273	-9. 7174	3. 2638	3. 7262	
qST-O-1	O	BARCSOYSSR_10_1172 ~ BARCSOYSSR_10_0581	ST1	E1	3. 1641	20. 6531	-0. 8197	3. 7532	-1. 1528	-1. 7808	
			ST7	E2	4. 3047	56. 1666	-3. 2683	-1. 9602	8. 1649	-2. 9365	

D1b 连锁群上定位到 qST-D1b-1 和 qST-D1b-2。qST-D1b-1 可控制 ST1、ST3 和 ST8,表型贡献率分别为 33.385 2%、30.721 1% 和 17.377 3%。黑农 48 能够延长 ST1,其它 3 个亲本均为缩短 ST1。垦丰 19 延长 ST3,其它亲本缩短 ST3。垦丰 15 和黑农 48 能够延长 ST8,其它两个亲本缩短 ST8。qST-D1b-2 控制 ST4,在 E1 和 E3 两个环境中 PVE 值分别为 21.113 4% 和 8.838 5%。垦丰 19 延长 ST4,其它 3 个亲本的等位基因的加性效应为缩短 ST4。垦丰 15 缩短 ST4,其它 3 个亲本延长 ST4。

G 连锁群上定位到 qST-G-1,控制 ST4 和 ST6, PVE 值分别为 17.174 3% 和 23.117 6%。黑农 48 和垦丰 19 能够缩短 ST4,垦丰 14 和垦丰 15 延长 ST4。黑农 48 和垦丰 19 能够延长 ST6,垦丰 14 和垦丰 15 缩短 ST6。

H 连锁群上定位到 qST-H-1,控制 ST7 和 ST8, PVE 值分别为 64.197 5% 和 74.907 2%。垦丰 19 能够延长 ST7,其它 3 个亲本的等位基因的加性效应为缩短 ST7。垦丰 19 缩短 ST8,其它 3 个亲本延长 ST8。

K 连锁群上定位到 qST-K-1 和 qST-K-2。qST-K-1 控制 ST1、ST3 和 ST5, PVE 值分别为 39.979 0%、39.555 2% 和 28.933 7%。黑农 48 延长 ST1、ST3 和 ST5,其它 3 个亲本缩短 ST1、ST3 和 ST5。qST-K-2 控制 ST1 和 ST8, PVE 值分别为 9.917 8% 和 9.011 6%。垦丰 15 延长 ST1,其它 3 个亲本的等位基因的加性效应缩短 ST1。垦丰 15 和垦丰 19 延长 ST8,垦丰 14 和黑农 48 缩短 ST8。

在 L 连锁群定位到 qST-L-1 和 qST-L-2。qST-L-1 控制 ST2 和 ST8, PVE 值分别为 16.809 9% 和 74.359 2%。垦丰 19 延长 ST2,其它 3 个亲本缩短 ST2。垦丰 15 缩短 ST8,其它 3 个亲本延长 ST8。qST-L-2 控制 ST8, PVE 值为 9.662 5% ~ 14.155 3%。在 E1 中,黑农 48 缩短 ST8,其它 3 个亲本延长 ST8。在 E2 中,垦丰 14 延长 ST8,其它 3 个亲本缩短 ST8。

M 连锁群上定位到 qST-M-1、qST-M-2 和 qST-M-3。qST-M-1 控制 ST1 和 ST5, PVE 值分别为 9.213 9% 和 10.153 8%。黑农 48 和垦丰 19 缩短 ST1,垦丰 14 和垦丰 15 延长 ST1。垦丰 14 和垦丰 15 缩短 ST5,黑农 48 和垦丰 19 延长 ST5。qST-M-2 控制 ST1、ST3、ST5、ST7 和 ST8, PVE 值分别为 45.908 9%、46.756 8%、29.468 3%、54.565 4%、74.344 0%。垦丰 15 延长 ST1 和 ST7,其它 3 个亲本缩短 ST1 和 ST7。垦丰 15 延长 ST3 和 ST5,其它 3 个亲本缩短 ST3 和 ST5。垦丰 15 缩短 ST8,其它 3

个亲本延长 ST8。qST-M-3 控制 ST1 和 ST6, PVE 值分别为 21.273 7% 和 15.297 4%。垦丰 19 延长 ST1,其它 3 个亲本缩短 ST1。垦丰 14 和垦丰 19 延长 ST6,垦丰 15 和黑农 48 缩短 ST6。

N 连锁群上定位到 qST-N-1,控制 ST1、ST3 和 ST8, PVE 值分别为 15.887 3%、49.080 7% 和 74.176 6%。黑农 48 和垦丰 19 延长 ST1 和 ST8,垦丰 14 和垦丰 15 缩短 ST1,垦丰 15 延长 ST3,其它 3 个亲本缩短 ST3。垦丰 14 携带的等位基因延长 ST8,垦丰 15 携带的等位基因缩短 ST8。

O 连锁群上定位到 qST-O-1,控制 ST1 和 ST7, PVE 值分别为 20.653 1% 和 56.166 6%。垦丰 15 携带的等位基因延长 ST1,其它 3 个亲本携带的等位基因缩短 ST1。黑农 48 携带的等位基因延长 ST7,其它 3 个亲本携带的等位基因缩短 ST7。

3 讨 论

QTL 定位结果具有环境及群体的特异性,定位结果会有一定的偶然性。在 QTL 定位研究中,最值得关注的是在不同学者、不同群体以及不同环境条件下定位在同一位置上的主效 QTL 位点,这些 QTL 的准确定位不仅可以把分子标记育种推向实用化,而且也将基于图谱的基因或 QTL 克隆工作付诸实施。

以往研究中各性状主要按 Fehr 提出的生育期结构划分,而本研究在此基础上把整个生育期分成不同阶段,各阶段均是生育期结构的组成部分,这样能更准确地对生育期结构进行遗传分析,更细致地分析生育期结构以及进行 QTL 的定位,缩小各种变异的影响,使分析更准确稳定。本文应用多年多点的数据联合分析,能增大 QTL 的检测强度,准确估计 QTL 的位置和效应,更有利于搜索稳定的 QTL。通过 IM 作图法对生育期各阶段进行 QTL 定位,17 个与生育期各阶段相关的 QTL 被重复定位到,其中 14 个在多环境下被重复定位,3 个在同一环境下不同阶段被重复定位,不同环境下检测到相同的位点说明此位点更稳定,表明同时分析多个环境下的数据能增大 QTL 的检测强度,准确估计 QTL 的位置和效应。

本研究通过区间作图法定位出 3 年 3 个环境生育期各阶段 QTL 位点并与前人研究的数据进行对比。比较结果发现,在 E3ST3 和 E1ST7 定位到的同一个 QTL qST-C2-1 在公共图谱的基因组位置为 45.75 (Satt291) ~ 40.29 cM (Satt281),所在基因组区域与已经定位的 3 个始熟阶段相关的 QTL^[5-7]重叠;在 E1ST4 和 E1ST6 同时检测到的 QTL 位点 qST-

G-1 在公共图谱的基因组位置为 76.76 (Satt288) ~ 94.4 (Sct_199) cM, 所在基因组区域包含在已经定位到的 1 个生殖生长相关的 QTL^[5] 中并与已经定位到的完熟阶段相关的 3 个 QTL 重叠^[6-8]; 在 E1ST1 和 E1ST8 同时定位到的位点 qST-K-2 在公共图谱的基因组位置为 46.79 (Satt727) ~ 32.95 (Satt055) cM, 所在基因组区域与已经定位到的 2 个始花和完熟阶段的 QTL^[9-10], 重叠并包含已经检测到的 2 个始花和完熟阶段的 QTL^[11-12]; 在 E1ST2 和 E3ST8 同时定位到的位点 qST-L-1 在公共图谱的基因组位置为 34.54 (Satt313) ~ 30.88 (Sat_187) cM, 在此区域内已经检测到 1 个完熟相关的 QTL^[13]; 在 E3ST1、E3ST3 和 E3ST8 同时定位到的 QTL qST-N-1 在公共图谱的基因组位置为 29.28 (Satt641) ~ 47.27 cM (Sat_266) cM, 在此区域内已经检测到 2 个完熟阶段的 QTL^[14-15]; 在 E3ST1 和 E2ST6 同时定位到的 QTL qST-M-3 在公共图谱的基因组位置为 38.93 (Satt435) ~ 48.86 (Sat_244) cM, 所在基因组区域与已经定位到的 2 个始花、2 个完熟和 2 个生殖生长相关的 QTL^[16-21] 重叠并包含 1 个已经检测到的完熟阶段的 QTL^[22]; 在 E2ST1、E3ST3、E1ST5、E2ST7 和 E3ST8 定位到的同一个 QTL qST-M-2 在公共图谱的基因组位置为 53.54 (Satt641) ~ 75.57 (Sat_266) cM, 所在基因组区域与已经定位到的 1 个始花、2 个鼓粒和 2 个完熟相关的 QTL^[23-27] 重叠并在此区域内已经检测到 3 个始花、1 个完熟和 1 个生殖生长相关的 QTL^[28-32]。在本研究中的以上位点与前人研究一致, 说明这些位点的遗传具有稳定性, 能稳定控制生育期各阶段的性状。

本研究中 17 个重复定位到的 QTL 位点中, 有 7 个位点与前人研究一致, 分别为 qST-C2-1、qST-G-1、qST-K-2、qST-L-1、qST-N-1、qST-M-3 和 qST-M-2, 其它 10 个被重复定位的 QTL 位点与前人的结果相比并未得到一致性, 说明本试验定位出的 10 个生育期 QTL 位点为新发现位点, 分别为 qST-B2-1、qST-C1-1、qST-C2-2、qST-D1b-1、qST-D1b-2、qST-H-1、qST-K-1、qST-L-2、qST-M-1 和 qST-O-1。这些位点在不同环境下被重复定位, 在不同的生育期阶段发挥作用, 说明这些位点的遗传具有稳定性, 可以连续表达, 它们的作用具有连续性, 有些位点在全生育期阶段没有被检测到, 这可能是后期不同位点之间的相互作用或基因效应的消减作用等掩盖了该位点的表达效应。其中 QTL 位点 qST-C2-2、qST-D1b-1、qST-K-1、qST-M-2 和 qST-N-1 在 3 个以上环境和生育期各阶段及全生育期中被定位到, 且这些位点的 LOD 值、PVE 值和加性效应值绝对值都较大, 说明

这些 QTL 位点作用较大, 是与生育期相关的主效 QTL 位点。本研究中新位点的发现, 丰富了生育期图谱标记密度, 为大豆品种改良和分子辅助育种奠定理论基础。

4 结 论

本研究重复定位到 17 个与生育期各阶段相关的 QTL, 其中 14 个在多环境下被重复定位, 3 个在同一环境下不同阶段被重复定位。14 个在多环境下被重复定位的位点中 7 个位点与前人研究一致, 7 个生育阶段 QTL 位点为新发现位点。

参考文献

[1] 宁海龙, 白雪莲, 李文滨, 等. 大豆四向重组自交系群体蛋白质含量与油分含量 QTL 定位[J]. 作物学报, 2016, 42(11): 1620-1628. (Ning H L, Bai X L, Li W B, et al. Mapping QTL protein and oil contents using population from four-way recombinant inbred lines for soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(11): 1620-1628.)

[2] Lee S H, Bailey M A, Mian M A R, et al. Molecular markers associated with soybean plant height, lodging, and maturity across locations[J]. Crop Science, 1996, 36(3): 728-735.

[3] 宁海龙, 李琦, 李文滨, 等. 大豆四向重组自交系群体遗传图谱的构建[J]. 大豆科学, 2015, 34(5): 776-781. (Ning H L, Li Q, Li W B, et al. Construction of population genetic map of soybean four-way recombinant inbred lines[J]. Soybean Science, 2015, 34(5): 776-781.)

[4] Fehr W R, Caviness C E. Stages of soybean development. Special report 80, cooperative extension service, agriculture and home economics experiment station [J]. Iowa: Iowa State University, 1977, 80: 11.

[5] Palomeque L, Liu L J, Li W, et al. QTL in mega-environments: I. universal and specific seed yield QTL detected in a population derived from a cross of high-yielding adapted × high-yielding exotic soybean lines [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2009, 119(3): 417-427.

[6] Oyoo M E, Githiri S M, Benitez E R, et al. QTL analysis of net-like cracking in soybean seed coats [J]. Wetlands Ecology & Management, 2010, 18(6): 651-663.

[7] Orf J H, Chase K, Jarvik T, et al. Genetics of soybean agronomic traits: I. comparison of three related recombinant inbred populations [J]. Crop Science, 1999, 39(6): 1642-1651.

[8] Funatsuki H, Kawaguchi K, Matsuba S, et al. Mapping of qtl associated with chilling tolerance during reproductive growth in soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(5): 851-861.

[9] Githiri S M, Yang D, Khan N A, et al. QTL analysis of low temperature induced browning in soybean seed coats [J]. Journal of Heredity, 2007, 98(4): 360-366.

[10] Wang D, Graef G L, Procopiuk A M, et al. Identification of putative qtl that underlie yield in interspecific soybean backcross populations [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2004, 108(3):

458-467.

[11] Zhang W W Y, Luo G, Zhang J, et al. QTL mapping of ten agroeconomic traits on the soybean (*Glycine max* L. Merr.) genetic map and their association with EST markers[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2004, 108(6): 1131-1139.

[12] Yamanaka N, Ninomiya S, Hoshi M, et al. An informative linkage map of soybean reveals QTLs for flowering time, leaflet morphology and regions of segregation distortion[J]. DNA Research, 2001, 8(2): 61-72.

[13] Sun S, Kim M Y, Van K, et al. QTLs for resistance to phomopsis seed decay are associated with days to maturity in soybean (*Glycine max*) [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2013, 126(8): 2029-2038.

[14] Yamanaka N, Nagamura Y, Tsubokura Y, et al. Quantitative trait locus analysis of flowering time in soybean using a RFLP linkage map[J]. Breeding Science, 2000, 50(2): 109-115.

[15] Mansur L M, Orf J H, Chase K, et al. Genetic mapping of agroeconomic traits using recombinant inbred lines of soybean[J]. Crop Science, 1996, 36(5): 1327-1336.

[16] Mansur L M, Orf J, Lark K G. Determining the linkage of quantitative trait loci to RFLP markers using extreme phenotypes of recombinant inbreds of soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Theoretical & Applied Genetics, 1993, 86(8): 914-918.

[17] Mansur L M, Lark K G, Kross H, et al. Interval mapping of quantitative trait loci for reproductive, morphological, and seed traits of soybean (*Glycine max* L.) [J]. Theoretical & Applied Genetics, 1993, 86(8): 907-913.

[18] Pooprompan P, Wasee S, Toojinda T, et al. Molecular marker analysis of days to flowering in vegetable soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] [J]. Kasetsart Journal-Natural Science, 2006, 40(3): 2487-2489.

[19] Rossi M E, Orf J H, Liu L J, et al. Genetic basis of soybean adaptation to north american vs asian mega-environments in two independent populations from canadian × chinese crosses[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2013, 126(7): 1809-1823.

[20] Komatsu K, Okuda S, Takahashi M, et al. Quantitative trait loci mapping of pubescence density and flowering time of insect-resistant soybean (*Glycine Max* L. Merr.) [J]. Genetics & Molecular Biology, 2007, 30(3): 635-639.

[21] Reinprecht Y, Poysa V W, Yu K, et al. Seed and agronomic qtl in low linolenic acid, lipoxygenase-free soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasm [J]. Genome, 2006, 49(12): 1510-1527.

[22] Guzman P S, Diers B W, Neece D J, et al. QTL associated with yield in three backcross-derived populations of soybean[J]. Crop Science, 2007, 47(1): 111-122.

[23] Khan N A, Githiri S M, Benitez E R, et al. QTL analysis of climatologist in soybean[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2008, 117(4): 479-487.

[24] Kim K S, Diers B W, Hyten D L, et al. Identification of positive yield QTL alleles from exotic soybean germplasm in two backcross populations[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2012, 125(6): 1353-1369.

[25] Bachlava E, Dewey R E, Burton J W, et al. Mapping and comparison of quantitative trait loci for oleic acid seed content in two segregating soybean populations [J]. Crop Science, 2009, 49(2): 433-442.

[26] Li D, Pfeiffer T W, Cornelius P L. Soybean QTL for yield and yield components associated with glycine soja alleles [J]. Crop Science, 2008, 48(2): 571-581.

[27] Cheng L, Wang Y, Zhang C, et al. Genetic analysis and qtl detection of reproductive period and post-flowering photoperiod responses in soybean[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2011, 123(3): 421-429.

[28] Eskandari M, Cober E R, Rajcan I. Genetic control of soybean seed oil; II. QTL and genes that increase oil concentration without decreasing protein or with increased seed yield[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2013, 126(6): 1677-1687.

[29] Komatsu K, Hwang T Y, Takahashi M, et al. Identification of QTL controlling post-flowering period in soybean [J]. Breeding Science, 2012, 61(5): 646-652.

[30] Lee S H, Bailey M A, Mian M A R, et al. Identification of quantitative trait loci for plant height, lodging, and maturity in a soybean population segregating for growth habit [J]. Theoretical & Applied Genetics, 1996, 92(5): 516-523.

[31] Kabelka E A, Diers B W, Fehr W R, et al. Putative alleles for increased yield from soybean plant introductions[J]. Crop Science, 2004, 44(3): 784-791.