

大豆生育期相关性状 QTL 定位

阚贵珍, 胡振宾, 童振峰, 张 丹, 郝德荣, 印志同, 喻德跃

(南京农业大学 大豆研究所, 国家大豆改良中心, 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要:以野生大豆江浦野生豆-5 为母本, 栽培大豆南农 06-17 为父本杂交所得的 316 个 F_2 单株及其衍生 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 家系为材料, 利用 JoinMap3.0 软件, 构建了一张包含 210 个标记(分子标记 207 个、形态标记 3 个), 共 24 个连锁群的大豆分子连锁图谱, 覆盖基因组长度 2 205.85 cM, 标记间平均距离为 11.09 cM。利用混合线性模型复合区间作图方法, 对 2007 年 F_2 单株、2008 年 $F_{2:3}$ 家系及 2009 年 $F_{2:4}$ 家系的全生育期、营养生长期、生殖生长期和生育期结构 4 个生育期相关性状进行联合世代 QTL 分析, 共检测到 15 个加性显性 QTL 和 9 对上位性 QTL; 存在 QTL 共位性(同一标记区间存在不同性状的 QTL)以及 QTL 互作网络(一个 QTL 可以与多个 QTL 互作)的现象; 贡献率最大的 3 个 QTL 为 $qVP-H-1$ 、 $qWGP-H-1$ 和 $qRV-H-1$, 加性效应解释的遗传变异分别为 21.31%、13.14% 和 9.37%, $qWGP-H-1$ 和 $qVP-H-1$ 的增效等位基因来源于江浦野生豆-5, $qRV-H-1$ 的增效等位基因来源于南农 06-17。研究结果为生育期性状的分子标记辅助选择、野生大豆优异基因的挖掘及栽培大豆遗传基础的拓宽提供了依据。

关键词:生育期相关性状; QTL 定位; 上位性 QTL

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)01-0001-08

Mapping QTLs for Growth Period Related Traits in Soybean

KAN Gui-zhen, HU Zhen-bin, TONG Zhen-feng, ZHANG Dan, HAO De-rong, YIN Zhi-tong, YU De-yue

(Soybean Research Institute, Nanjing Agricultural University, National Center for Soybean Improvement, National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

Abstract: One F_2 population (316 plants) derived from a cross between Jiangpu wild soybean-5 and cultivar soybean line Nan-nong 06-17 was used to construct a genetic linkage map by JoinMap 3.0. In total, 210 markers (207 molecular markers and 3 morphological markers) were mapped. The constructed linkage map covered 2 205.85 cM and consisted of 24 linkage groups (LGs), with an average distance between markers of 11.09 cM. Four growth period related traits including whole growth period (WGP), vegetative period (VP), reproductive period (RP) and growth period structure trait (RV) of 2007 F_2 , 2008 $F_{2:3}$ and 2009 $F_{2:4}$ were mapped by mixed-model-based composite interval mapping (MCIM). We detected 15 additive-dominant QTLs and 9 pairs of epistatic QTLs. QTL clusters (QTLs of different traits in the same marker) and QTLs interaction networks (the interaction among QTLs) were found. Three major QTLs were $qVP-H-1$, $qWGP-H-1$ and $qRV-H-1$. Additive effect of $qVP-H-1$, $qWGP-H-1$ and $qRV-H-1$ accounted for 21.31%, 13.14% and 9.37% genetic variation respectively. These results will provide a basis for molecular marker-assisted selection, elite genes-discovering and soybean genetic basis-broadening.

Key words: Growth period related traits; QTL mapping; Epistatic QTL

生育期是大豆最重要的生态性状^[1-2]。生育期性状不仅包括全生育期(出苗至完熟)、生育前期(营养生长期, 出苗至初花)、生育后期(生殖生长期, 初花至完熟), 还包括生育期结构(RV 比值, 生殖生长期与营养生长期之比)^[3-5]。高产是大豆育种的主要目标之一。生育期性状对大豆产量有重要的影响^[2-5]。全生育期、营养生长期和生殖生长期与大豆产量有一定的正相关性, 而生育期结构的调整有助于更好适应当地生态环境, 从而提高大豆

经济产量, 是产量的间接选择效应^[2,6]。生育期性状是主基因和多基因共同控制的复杂性状。生育期相关的多个 QTL 已被鉴定, 20 个连锁群中除 D2、E 连锁群外, 其余 18 个连锁群上均有分布, 以 C2、L、M 连锁群为主(<http://www.soybase.org>), 其中一些 QTL 已被精细定位和图位克隆^[7-9]。而生育期结构相关的 QTL 报道相对较少, 仅分布在 C2、D1a 和 H 连锁群上^[2]。

栽培大豆与大多数经济作物一样, 遗传基础狭

收稿日期: 2011-11-13

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(2010CB125906); 南京农业大学青年科技创新基金资助项目(KJ2011004)。

第一作者简介: 阚贵珍(1978-), 女, 讲师, 在读博士, 研究方向为大豆分子遗传育种。E-mail: kanguizhen@njau.edu.cn。

通讯作者: 喻德跃(1965-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为植物分子遗传与生物技术。E-mail: dyyu@njau.edu.cn。

窄^[10-11]。一年生野生大豆(*Glycine soja* Sieb. and Zucc.)是栽培大豆的近缘野生种,适应性广泛,蕴藏高产、耐逆等丰富的优良基因,与栽培大豆杂交亲和^[12],是拓宽大豆遗传基础的优异资源。栽培大豆和野生大豆遗传差异较大,有利于表型分离和多态性标记的筛选。该研究利用野生大豆和栽培大豆杂交所得的 F_2 群体构建遗传图谱,采用混合线性模型复合区间作图方法(MCIM)^[13]对生育期相关性状进行联合世代的QTL分析,以期获得稳定的生育期相关的QTL,为大豆生育期相关性状的分子标记辅助育种、野生大豆优异等位基因的发掘以及栽培大豆遗传基础的拓宽提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以野生大豆江浦野生豆-5为母本,栽培大豆南农06-17为父本杂交所得的316个 F_2 单株及其衍生 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 家系为试验材料。父母本均由国家大豆改良中心提供。

1.2 试验设计与性状调查

2007、2008和2009年,分别将 F_2 单株、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 家系穴播于南京农业大学国家大豆改良中心江浦试验站,株距40 cm,行距50 cm,亲本每年种植。 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 家系随机区组法种植,1行区,2次重复。大豆生长期间调查生育期^[3-4,14-15]。

1.3 遗传图谱的构建

苗期分别取 F_2 单株及亲本鲜嫩叶片,采用CTAB法提取基因组DNA^[16]。1%琼脂糖凝胶电泳检验DNA质量,紫外分光光度计检测DNA浓度,最后统一稀释到 $100\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, -20°C 保存备用。

选择1 339对标记,包括1 007对来源于Soybase网站(<http://www.soybase.org>)的SSR标记,300对EST-SSR标记(由中国科学院遗传与发育研究所和南京农业大学国家大豆改良中心共同开发,未发表),32对EST-SSR标记^[17],对亲本进行多态性筛选,并采用多态性标记对 F_2 群体进行多态性分析。PCR所用引物由英俊公司(上海)合成。PCR扩增采用 $10\text{ }\mu\text{L}$ 反应体系: $10\times\text{PCR Buffer}$ $1\text{ }\mu\text{L}$, Mg^{2+} ($25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) $0.8\text{ }\mu\text{L}$, dNTP ($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) $0.2\text{ }\mu\text{L}$, Taq酶($0.5\text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) $0.1\text{ }\mu\text{L}$, 引物 $3\text{ }\mu\text{L}$, 模

板DNA($20\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) $3\text{ }\mu\text{L}$, ddH₂O $1.9\text{ }\mu\text{L}$ 。PCR反应程序为: 95°C 预变性5 min; 94°C 变性30 s, $52\sim 56^\circ\text{C}$ 退火30 s, 72°C 延伸50 s,30个循环; 72°C 延伸7 min, 4°C 保存。用8%非变性聚丙烯酰胺胶对扩增产物进行分离,银染检测^[18]。

利用JoinMap3.0软件构建遗传连锁图谱^[19],用Group命令,以LOD值大于3.0对SSR标记进行人工分组,每1个Group可以采用不同的LOD值标准,然后选择Calculate map命令,用Kosambi作图函数进行重组率与遗传距离间转换,连锁群的命名参考公共遗传图谱^[20]。

1.4 QTL定位分析

2007年 F_2 、2008年 $F_{2:3}$ 和2009年 $F_{2:4}$ 群体的生育期QTL均利用Network2.1软件(<http://ibi.zju.edu.cn/software/qtlnetwork/>)即混合线性模型复合区间作图方法(MCIM)^[13]进行联合世代检测。在MCIM方法中,临界值通过1 000次排列确定,候选区域基因组扫描、单个QTL检测及QTL效应的显著水平设置均为0.05,通过MCMC(Monte Carlo Markov Chain)算法检测QTL的效应,迭代50 000次。

2 结果与分析

2.1 遗传图谱的构建

用1 339对SSR、EST-SSR引物对亲本进行多态性筛选,共得到多态性标记467个,占总筛选引物数的46.4%。根据PAGE胶检测结果,对多态性标记进一步筛选获得224个标记,其中SSR标记219个,EST-SSR标记5个。这些分子标记连同4个形态标记(花色W1、茸毛色T、生长习性Dt1、荚色L1),共228个标记,通过Joinmap3.0作图,经调整得到一张包含24个连锁群的分子遗传图谱(图1),标记数为210个(包括207个分子标记、3个形态标记),另有17标记未确定连锁群。遗传图谱覆盖基因组长2 205.85 cM,标记间平均距离11.09 cM;连锁群长的范围为24.39 cM(E-a)~183.08 cM(D1b);连锁群标记数2~19个,平均8.75个。24个连锁群大部分标记顺序都能与公共图谱^[20]相对应,但E、F、L和M连锁群分成2个连锁群,20个连锁群出现>20 cM的间隙,共计30个间隙,其中D1b连锁群出现间隙数目最多达4个,O连锁群上间隙(Satt492-Sat_221区间)最大达39.51 cM。

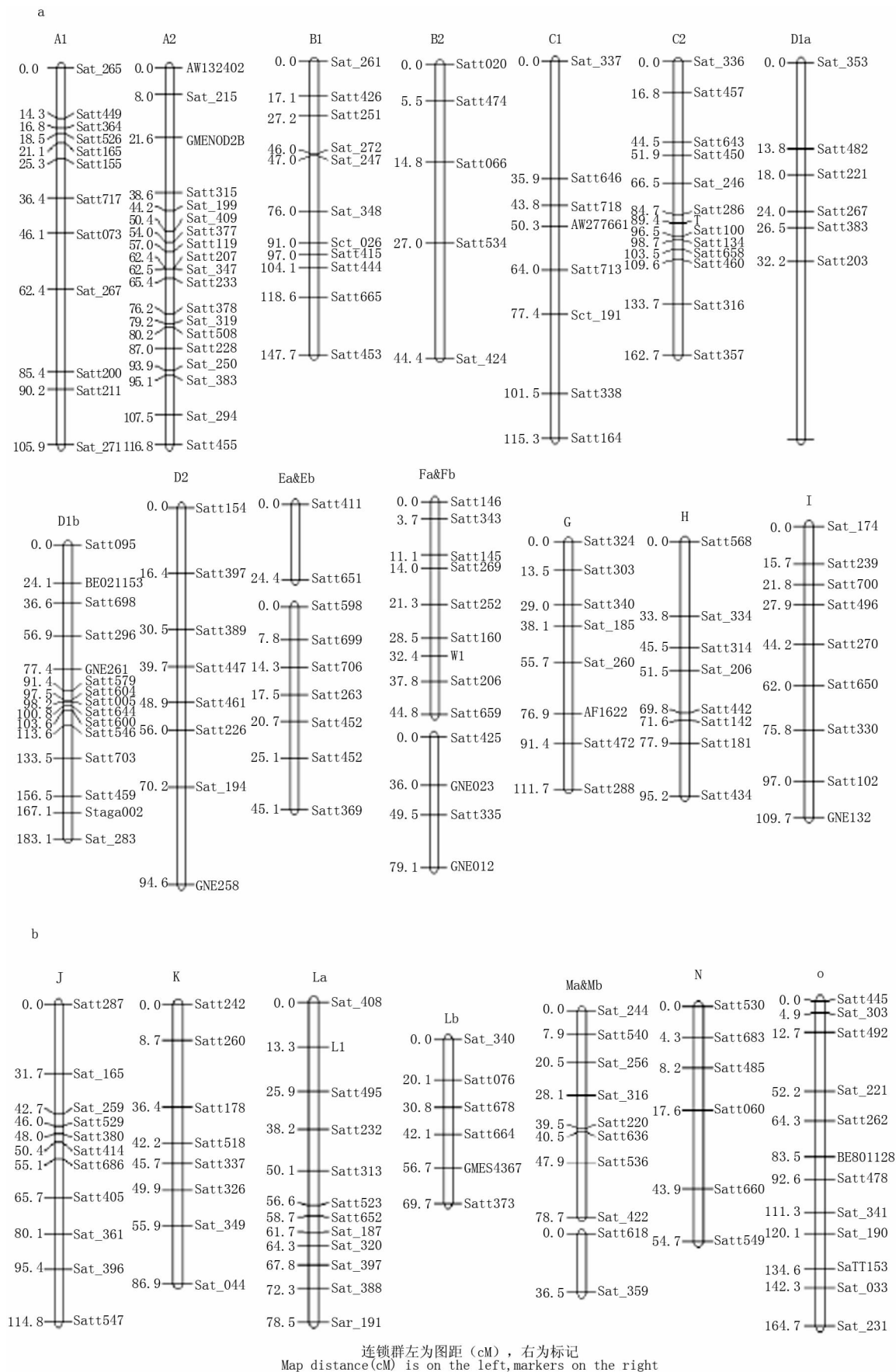


图 1 大豆分子遗传图谱(a 和 b)

Fig. 1 Molecular genetic map in soybean(a and b)

2.2 群体的表型分析

母本江浦野生豆-5 紫花、蔓生、多荚,父本南农 06-17 白花、直立,两亲本在遗传来源及生育期性状上均有显著差异(表 1),这为 QTL 分析提供了良好的遗传背景。从表 1 的生育期性状表型数据参数和频率分布图(图 2)中可以看出,不同世代各家系间的表型值均呈连续性分布,存在不同程度的变异,有明显的双向分离或超亲变异,且超亲分离随世代增加而减小。例如母本江浦野生豆-5、父本南农 06-17 的营养生长期平均值分别为 50.00 和 42.00 d, F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 3 个世代的营养生长期平均长度均超过高值亲本,营养生长期平均长度分别为 58.97、53.56 和 53.40 d, F_2 世代的营养生长期变异

范围为 49.00 ~ 75.00 d, $F_{2:3}$ 世代的营养生长期变异范围为 45.40 ~ 61.08 d, $F_{2:4}$ 世代的营养生长期变异范围为 44.70 ~ 60.00 d。母本江浦野生豆-5 的生殖生长期平均值为 55.00 d,父本南农 06-17 的生殖生长期平均值为 74.00 d,二者相差 19 d, F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 3 个世代的生殖生长期平均长度介于亲本之间,偏向低值亲本,分别为 61.63、56.70 和 56.30 d, F_2 世代的生殖生长期变异范围为 39.00 ~ 75.00 d, $F_{2:3}$ 世代的生殖生长期变异范围为 49.90 ~ 64.30 d, $F_{2:4}$ 世代的生殖生长期变异范围为 45.30 ~ 63.80 d。 F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 3 个世代生育期性状均属于多基因控制的数量性状(图 2),可以进行 QTL 分析。

表 1 亲本及群体生育期相关性状表型数据参数

Table 1 Parameters of growth period related traits in soybean parents, F_2 , $F_{2:3}$ and $F_{2:4}$ populations

世代	全生育期 WGP/d		营养生长期 VP/d		生殖生长期 RP/d		RV 比值 RV	
Generation	Mean \pm SE	Range	Mean \pm SE	Range	Mean \pm SE	Range	Mean \pm SE	Range
母本 Female	105.00 \pm 0.05	103.00-107.00	50.00 \pm 0.02	46.00-52.00	55.00 \pm 0.03	53.00-57.00	1.10 \pm 0.00	1.02-1.24
父本 Male	116.00 \pm 1.00	106.00-125.00	42.00 \pm 0.08	35.00-47.00	74.00 \pm 0.08	69.00-87.00	1.76 \pm 0.00	1.82-2.28
F_2	120.60 \pm 0.02	99.00-131.00	58.97 \pm 0.01	49.00-75.00	61.63 \pm 0.02	39.00-75.00	1.05 \pm 0.00	0.56-1.39
$F_{2:3}$	110.29 \pm 0.01	103.10-118.00	53.56 \pm 0.01	45.40-61.08	56.70 \pm 0.01	49.90-64.30	1.06 \pm 0.00	0.83-1.33
$F_{2:4}$	119.69 \pm 0.01	96.50-118.50	53.40 \pm 0.01	44.70-60.00	56.30 \pm 0.01	45.30-63.80	1.06 \pm 0.00	0.85-1.37

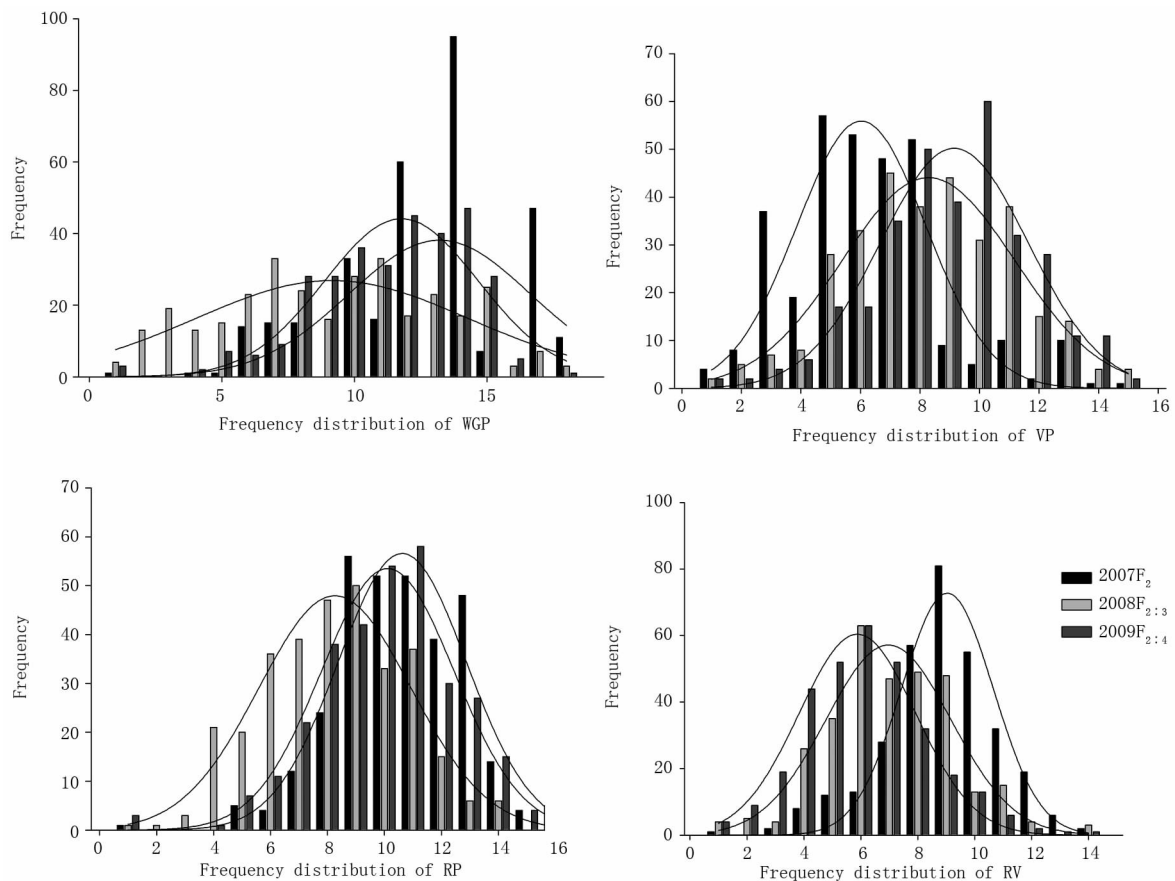


图 2 群体生育期相关性状频率分布图

Fig. 2 Frequency distribution of growth period related traits of soybean in F_2 , $F_{2:3}$ and $F_{2:4}$ populations

2.3 生育期相关性状的 QTL 分析

利用 MCIM 方法,对 3 a 3 个世代的 4 个生育期性状进行了 QTL 分析,共检测到位于 7 个连锁群上的 15 个 QTL(全生育期 8 个、营养阶段 2 个、生殖阶段 2 个、RV 比值 3 个)及位于 8 个连锁群上的 9 对上位性 QTL(全生育期 2 对、营养阶段 6 对和 RV 比值 1 对)(表 2 和表 3)。

8 个与全生育期相关的主效 QTL 中,*qWGP-B1-1*、*qWGP-B1-2* 和 *qWGP-H-1* 的增效等位基因均来自低值亲本江浦野生豆-5,加性效应解释的遗传变异分别为 4.50%、5.50% 和 13.14%,*qWGP-H-1* 受到环境世代影响,加性效应与环境世代的互作效应达到极显著和显著水平,贡献率分别为 1.78% 和 0.75%。*qWGP-B1-1* 和 *qWGP-B1-2* 的加性和显性效应与环境世代的互作效应不显著。*qWGP-A1-1*、*qWGP-A1-2*、*qWGP-I-1*、*qWGP-I-2* 和 *qWGP-Mb-1* 的增效等位基因来自高值亲本南农 06-17,加性效应解释的遗传变异范围是 0.19%~2.29%,其中 *qWGP-I-2* 和 *qWGP-Mb-1* 受到环境世代影响,*qWGP-I-2* 的加性效应与环境世代的互作效应达到显著和极显著水平,贡献率分别为 0.72% 和 0.75%,*qWGP-Mb-1* 的显性效应与环境世代的互作达极显著水平,解释的遗传变异 1.32%,大于加性效应所解释的遗传变异 0.33%,*qWGP-A1-1*、*qWGP-A1-2*、*qWGP-I-1* 的加性和显性效应与环境世代的互作效应不显著。*qWGP-B1-1* 和 *qWGP-Mb-1* 具有互作效应,其上位性效应与环境世代互作效应不显著,另外 1 对上位性 QTL(*qWGP-B1-3* 和 *qWGP-H-2*)仅具有上位性效应,表 3 中显示二者具有显著的 AD 和 DA 互作效应及极显著的 DD 互作效应,其显性-显性上位性效应与环境世代的互作效应达到显著水平。

营养阶段的 2 个主效 QTL 为 *qVP-B1-1* 和 *qVP-H-1*,其增效等位基因均来自高值亲本江浦野生豆-5,加性效应解释的遗传变异分别为 5.12% 和 21.31%,*qVP-H-1* 的加性和显性效应与环境世代的互作效应未达显著水平,*qVP-B1-1* 受到环境世代影响,*qVP-B1-1* 的显性效应与环境世代的互作效应达到极显著、显著水平,解释的遗传变异为 0.66% 和 0.47%,*qVP-B1-1* 和 *qVP-H-1* 均不具有上位性效应。营养阶段的 6 对上位性 QTL 为 *qVP-A2-1* 和 *qVP-N-1*、*qVP-A2-2* 和 *qVP-Eb-1*、*qVP-A2-2* 和 *qVP-Eb-2*、*qVP-B1-2* 和 *qVP-D1a-1*、*qVP-B1-3* 和 *qVP-C1-2* 及 *qVP-B1-3* 和 *qVP-C1-1*,解释的遗传变异具体见表 3,其中 *qVP-A2-2* 和 *qVP-Eb-2*、*qVP-B1-3* 和 *qVP-C1-2* 两对上位性 QTL 与环境世代的互作效应不显著,其

余 4 对(*qVP-A2-1* 和 *qVP-N-1*、*qVP-A2-2* 和 *qVP-Eb-1*、*qVP-B1-2* 和 *qVP-D1a-1* 及 *qVP-B1-3* 和 *qVP-C1-1*)上位性 QTL 与环境世代互作效应达显著或极显著水平。

生殖阶段的 2 个主效 QTL 为 *qRP-C1-1* 和 *qRP-Mb-1*,加性效应解释的遗传变异为 5.20% 和 0.39%,RV 比值的 3 个主效 QTL 为 *qRV-C1-1*、*qRV-H-1* 和 *qRV-J-1*,*qRV-H-1* 的加性效应的贡献率最高为 9.37%,以上 5 个 QTL 的增效等位基因均来自高值亲本南农 06-17,除 *qRP-Mb-1* 受到环境世代影响外,其余 4 个 QTL 与环境世代互作效应不显著。*qRP-Mb-1* 的显性效应与环境世代的互作效应达到极显著、显著水平,贡献率为 1.97% 和 0.92%,大于 *qRP-Mb-1* 的加性效应的贡献率 0.39%。*qRV-C1-1* 和 *qRV-H-1* 具有上位性效应,其上位性效应与环境世代的互作不显著。

3 讨 论

遗传图谱是数量性状定位、图位克隆、比较基因组研究和分子标记辅助育种等研究的基础和有力的工具^[21]。作图群体的选择对于绘制遗传图谱起到非常重要的作用^[22],而群体亲本的选择和群体的大小直接影响到遗传图谱构建的难易程度、图谱的准确性及应用范围。用于分子标记的作图群体有 F₂ 群体、BC 群体等暂时性分离群体和 DH (Doubled haploid) 群体和 RIL (Recombinant inbred lines) 等永久分离群体,这些作图群体各有优缺点。其中 F₂ 群体的构建比较容易、时间短,虽然 F₂ 群体是暂时性群体,但包含了丰富的父母本可能的重组信息。若 QTL 的遗传力 10%、标记间距 15 cM,则 F₂ 群体的样本容量 300 即可保证 QTL 的被发现率达 80% 以上^[23]。由于 F₂ 群体的每个基因型只有 1 株,易受环境、人为等因素的影响,无法得到准确的数量性状表型结果,可用 F₂ 衍生家系的表型结果进行补救^[24],该研究也是如此。就作图群体亲本的选择而言,多态性低的自交作物选择不同种间或亚种间品种作杂交亲本,所采用的群体大小一般在 150~300 个单株(系)^[25]。大豆是严格的自花授粉作物,DNA 序列变异程度低,DNA 多态性较差。该研究选择野生大豆江浦野生豆-5 为母本、栽培大豆南农 06-17 为父本作为作图亲本,根据多态性分析及田间农艺性状表现,父母本在表现型与基因型上有较大差异,它们杂交衍生的后代群体分离充分,遗传多态性高,可以构建更加致密的遗传图谱;同时,该研究采用的群体大小为 316 个单株(系),有利于减小表型数据造成的误差,有效减小了偏分离标记

表 2 生育期相关性状的加性-显性 QTL

Table 2 Additive-dominant QTLs of growth period related traits

性状 Traits	QTLs	标记区间 MI	位置 Position	置信区间 CI	加性效应 A	贡献率 $h_a^2/\%$	显性效应 A	贡献率 $h_d^2/\%$	AE1	贡献率 $H_{ae1}^2/\%$	AE3	贡献率 $H_{ae3}^2/\%$	DE1	贡献率 $h_{de1}^2/\%$	DE2	贡献率 $h_{de2}^2/\%$
全生育期	<i>qWGP-A1-1</i>	Satt526-Satt165	18.5	16.8-20.5	-0.57 **	0.99	-0.45	0.38	0.00	0.01	0.00	0.02	-0.54	0.66	0.33	0.27
WGP	<i>qWGP-A1-2</i>	Satt267-Satt200	68.4	55.1-75.4	-0.23	0.19	-1.02 * *	0.91	0.00	0.00	0.00	0.01	-0.23	0.23	0.21	0.21
	<i>qWGP-B1-1</i>	Satt251-Satt272	30.2	27.1-35.2	0.73 * *	4.50	-0.22	0.02	0.03	0.21	-0.01	0.02	-0.04	0.00	-0.04	0.07
	<i>qWGP-B1-2</i>	Satt247-Satt348	58.0	52.0-64.0	1.44 * *	5.50	0.07	0.08	0.00	0.08	0.00	0.03	0.00	0.28	0.00	0.09
	<i>qWGP-H-1</i>	Satt568-Satt334	9.0	4.0-13.0	3.04 * *	13.14	0.64	0.11	1.39 * *	1.78	-0.89 *	0.75	0.83	0.42	-0.45	0.13
	<i>qWGP-I-1</i>	Satt174-Satt239	8.0	4.0-13.0	-0.61 * *	1.33	0.10	0.62	0.00	0.02	0.00	0.02	0.63	0.28	-0.53	0.22
	<i>qWGP-I-2</i>	Satt330-Satt102	87.8	78.8-96.8	-0.80 * *	2.29	0.99 * *	0.00	-0.76 *	0.72	0.76 * *	0.75	0.00	0.00	0.00	0.01
	<i>qWGP-Mb-1</i>	Satt618-Satt359	5.0	0.0-14.0	-0.19	0.33	-1.23 * *	1.28	0.00	0.01	0.00	0.00	-1.31 * *	1.32	0.78	0.45
营养生长期	<i>qVP-B1-1</i>	Satt247-Satt348	63.0	58.0-68.0	1.48 * *	5.12	0.72 *	0.25	0.04	0.03	-0.06	0.12	1.34 * *	0.66	-1.10 *	0.47
VP	<i>qVP-H-1</i>	Satt568-Satt334	13.0	10.0-17.0	2.98 * *	21.31	-0.36	0.01	0.37	0.28	-0.27	0.15	0.00	0.04	0.00	0.03
生殖生长期	<i>qRP-C1-1</i>	AW277661-Satt713	57.3	49.8-68.0	-1.32 * *	5.20	-0.19	0.04	-0.23	0.30	0.04	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
RP	<i>qRP-Mb-1</i>	Satt618-Satt359	0.0	0.0-10.0	-0.23	0.39	-0.59 *	0.58	0.24	0.07	-0.12	0.04	-1.27 * *	1.97	0.89 *	0.92
RV 比值	<i>qRV-C1-1</i>	AW277661-Satt713	56.3	52.3-61.3	-0.04 * *	5.16	-0.01	0.10	0.00	0.11	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
RV	<i>qRV-H-1</i>	Satt568-Satt334	13.0	7.0-19.0	-0.06 * *	9.37	0.02 *	0.30	0.00	0.23	0.00	0.05	0.00	0.07	0.00	0.00
	<i>qRV-J-1</i>	Satt414-Satt686	51.4	48.0-55.1	-0.02 * *	1.94	0.01	0.14	0.00	0.04	0.00	0.06	0.00	0.03	0.00	0.00

AE,加性效应与环境世代的互作效应;DE,显性效应与环境世代的互作效应;*表示在0.01 水平显著,*表示在0.05 水平上显著;加性效应值为正值,表示 QTL 的增效等位基因来自江浦野生豆-5;加性效应值为负值,表示 QTL 的增效等位基因来自南农 06-17。

AE,the predicted additive by environment (generation) interaction effect; DE, the predicted dominance by environment (generation) interaction effect; * significant at 0.01 probability level, * significant at 0.05 probability level; Additive effect value is positive, positive alleles of QTL were from Jiangpu wild soybean-5; Additive effect value is negative, positive alleles of QTL were from Nannong 06-17.

表 3 生育期相关性状的上位性 QTL

Table 3 Epistatic QTLs of growth period related traits

性状 Traits	QTL_i QTL_j	位置 Position_i Position_j	AA $h_{aa}^2/\%$	AD $h_{ad}^2/\%$	DA $h_{da}^2/\%$	DD $h_{dd}^2/\%$	AAE1 $h_{aae1}^2/\%$	AAE3 $h_{aae3}^2/\%$	ADE1 $h_{ade1}^2/\%$	DAE1 $h_{dae1}^2/\%$	DDE1 $h_{dde1}^2/\%$	DDE3 $h_{dde3}^2/\%$
全生育期	<i>qWGP-B1-1</i>	30.2	-1.03 * *	0.47	-1.72 * *	1.47 *	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
WGP	<i>qWGP-Mb-1</i>	5.0	0.52	0.04	0.66	0.11	0.02	0.03	0.02	0.00	0.11	0.10
	<i>qWGP-B1-3</i>	83.0	-0.68 *	1.23 *	1.70 * *	-0.35	0.00	0.00	0.00	0.00	3.07 *	-1.92
	<i>qWGP-H-2</i>	57.5	0.33	0.36	0.57	0.02	0.09	0.06	0.04	0.12	0.57	0.23
营养生长期	<i>qVP-A2-1</i>	62.4	0.21	-0.68 * *	0.58 *	1.59 * *	0.00	0.00	-0.66	0.15	1.24 *	-0.88
VP	<i>qVP-N-1</i>	4.0	0.04	0.23	0.44	1.13	0.08	0.00	0.29	0.24	0.33	0.21
	<i>qVP-A2-2</i>	116.5	0.64 * *	0.37	0.09	1.01 *	0.00	0.00	0.19	1.53 * *	0.00	0.00
	<i>qVP-Eb-1</i>	3.0	0.10	0.96	0.02	0.67	0.41	0.20	0.38	0.92	0.14	0.00
	<i>qVP-A2-2</i>	116.5	-0.64 * *	1.00 * *	0.45	0.44	0.45	-0.20	0.00	0.00	0.52	-0.09
	<i>qVP-Eb-2</i>	20.7	0.01	1.84	0.03	0.42	0.68	0.14	0.29	0.24	0.35	0.02
	<i>qVP-B1-2</i>	32.2	-0.48 *	0.89 * *	-1.15 * *	-1.32 * *	0.00	0.00	0.00	-1.49 * *	-2.20 * *	1.43 *
	<i>qVP-D1a-1</i>	18.0	0.41	0.53	0.54	0.31	0.02	0.03	0.17	0.85	0.93	0.39
	<i>qVP-B1-3</i>	146.6	-0.76 * *	-0.79 * *	0.94 * *	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.87	-0.45
	<i>qVP-C1-2</i>	48.8	1.19	0.66	0.41	0.02	0.01	0.01	0.02	0.03	0.33	0.06
	<i>qVP-B1-3</i>	146.6	-0.34	-0.51	-0.30	2.35 * *	0.00	0.00	-1.31 *	0.00	0.76	-0.36
	<i>qVP-C1-1</i>	13.0	0.63	0.37	0.02	0.95	0.01	0.01	0.56	0.01	0.36	0.07
RV 比值	<i>qRV-C1-1</i>	56.3	0.00	-0.03	-0.02	-0.06 * *	0.00	0.00	-0.01	-0.01	0.00	0.00
RV	<i>qRV-H-1</i>	13.0	0.11	0.35	0.43	0.60	0.03	0.05	0.25	0.35	0.10	0.00

AA,加性效应与加性效应的互作效应;AD,加性效应与显性效应的互作效应;DA,显性效应与加性效应的互作效应;DD,显性效应与显性效应的互作效应;AAE,加性-显性上位性效应与环境世代的互作效应;ADE,加性-显性上位性效应与环境世代的互作效应;DAE,显性-加性上位性效应与环境世代的互作效应;DDE,显性-显性上位性效应与环境世代的互作效应;*表示在0.01 水平显著,*表示在0.05 水平上显著。

AA,the estimated additive by additive effect;AD,the estimated additive by dominance effect;DA,the estimated dominance by additive effect;DD,the estimated dominance by dominance effect;AAE,the predicted aa by environment interaction effect;ADE,the predicted ad by environment interaction effect;DAE,the predicted da by environment interaction effect;DDE,the predicted dd by environment interaction effect; * significant at 0.01 probability level, * significant at 0.05 probability level.

对结果分析的影响。利用此遗传图谱进行遗传剖析,可以挖掘野生大豆蕴含丰富的优良基因。

QTL 定位方法很多,MCIM 作图方法是目前常用的一种作图方法。MCIM 方法可以有效检测上位性和基因型 × 环境互作效应的 QTL,同时可以进行多环境下的 QTL 联合分析,提高作图效率^[13]。该研究对 F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4:3}$ 个世代联合分析,检测到 15 个加性-显性 QTL 和 9 对上位性 QTL,同时检测到与环境世代的互作效应。9 对上位性 QTL 存在“QTL 互作网络”现象,即上位性 QTL 并不仅仅是 2 个 QTL 之间的互作,一个 QTL 可以与多个 QTL 之间都有互作效应,如 $qVP-A2-2$ 除与 $qVP-Eb-1$ 有互作效应外,还与 $qVP-Eb-2$ 有互作效应, $qVP-B1-3$ 除与 $qVP-C1-1$ 有互作效应外,还与 $qVP-C2-2$ 有互作效应。前人研究表明上位性效应(非等位基因之间的互作效应)是不可忽略、普遍存在的遗传效应,在适应环境、进化及物种形成等生物进程中起着重要作用,是影响群体基因表达和遗传变异的重要因素^[26]。针对复杂数量性状包括产量性状,上位性效应(QTL 互作效应)是数量性状变异的重要组成部分,在其遗传结构剖析上发挥非常重要的作用^[26]。在 QTL 分析中,如果忽视上位性效应,则可能造成 QTL 位置或 QTL 效应的有偏估计^[27]。而 F_2 群体构建的遗传图谱包括丰富的遗传信息,其上位性效应的检测为以后更好分析和利用检测的 QTL 提供了平台^[21]。

该研究中检测到的 15 个生育期性状 QTL,仅有 3 个全生育期 QTL 的增效等位基因来自低值亲本,其余 12 个 QTL 的增效等位基因来自高值亲本,这表明来自高值亲本的增效基因所占的比例大,但低值亲本中同样包含增效基因,这与陈美霞等报道的结果一致^[24]。全生育期相关的 8 个加性-显性 QTL 中 $qWGP-A1-1$ 、 $qWGP-B1-2$ 及 $qWGP-I-1$ 分别与 Kabelka 等^[28]、Lee 等^[29] 及 Sebolt 等^[10] 所报道的全生育期 QTL 一致,其余 5 个 QTL 与前人结果不同,其中 $qWGP-H-1$ 是首次报道。营养生长期的 $qVP-B1-1$ 在公共图谱上的位置为 60.85 cM,与 Yamanaka 等^[30] 检测的营养生长期 QTL 位置(72.60 cM)不超过 20 cM,可以认为是相同 QTL^[31]。营养生长期的 $qVP-H-1$ 与苏成付等^[9] 在 H 连锁群上检测的 QTL *Flvdi5* 位点的位置基本一致,而且 LOD 值、表型解释变异率均增大。生殖生长期的 $qRP-C1-1$ 与 Orf 等^[14] 报道的生殖生长期 QTL 一致, $qRP-Mb-1$ 与前人报道的不一致。生育期结构的 3 个 QTL 分布在 C1、H 和 J 连锁群上,其中 H 连锁群上 QTL 的标记区间为 Satt568-Sat_334,与王英^[2] 报道 H 连锁群上的标记区间 Sat_175-Satt434 不一致,C1 和 J 连锁群

上的生育期结构 QTL 是首次报道。从生育期相关性状 15 个 QTL 所在连锁群上的分布可以看出,在 B1 连锁群的 Sat_247-Sat_348 标记区间内检测到全生育期相关的 $qWGP-B1-2$ 和营养生长期相关的 $qVP-B1-1$,C1 连锁群的 AW277661-Satt713 标记区间内检测到生殖生长期相关的 $qRP-C1-1$ 和生育期结构相关的 $qRV-C1-1$,H 连锁群的 Satt568-Sat_334 标记区间内检测到全生育期相关的 $qWGP-H-1$ 、营养生长期相关的 $qVP-H-1$ 及生育期结构相关的 $qRV-H-1$,Mb 连锁群的 Satt618-Sat_359 标记区间内检测到全生育期相关的 $qWGP-Mb-1$ 和营养生长期相关的 $qVP-Mb-1$ 。在同一标记区间存在不同性状的 QTL,即 QTL 的共位现象,不仅在大豆上有报道^[11],在玉米、水稻和红麻等作物上均有发现,这可能是作物发育过程中基因表达与调控的一个现象^[24]。这些共位性的标记区间也是以后值得关注的区段,尤其是 L 连锁群上 Satt568-Sat_334 标记区间,该区间内分布着该研究中遗传贡献最大的 3 个 QTL, $qRV-H-1$ 的加性效应解释的遗传变异为 9.37%, $qWGP-H-1$ 的加性效应贡献率为 13.14%, $qVP-H-1$ 的加性效应的贡献率最大为 21.31%, $qWGP-H-1$ 和 $qVP-H-1$ 的增效等位基因来自野生材料江浦野生豆-5。在以后的研究中对该区段利用 SSR 标记或高通量 SNP 标记加密并进行进一步精细定位和全基因组关联分析。大豆基因组序列已完成,通过生物信息学和比较基因组学确定候选基因,进行候选基因关联作图,并开发出相关性状的功能分子标记,将为栽培大豆遗传基础的拓宽以及大豆分子标记辅助育种提供理论依据和技术支持。

参考文献

- [1] 韩天富,盖钧镒,陈风云,等. 生育期结构不同的大豆品种的光周期反应和农艺性状[J]. 作物学报,1998,24(5):553-557. (Han T F, Gai J Y, Chen F Y, et al. Photoperiod response and agronomic characters of soybean varieties with different growth period structures[J]. Acta Agronomica Sinica, 1998, 24(5): 553-557.)
- [2] 王英. 大豆生育期结构性状的遗传分析及相关基因的分子标记[D]. 北京:中国农业科学院,2008:1-9. (Wang Y. Genetic analysis for growth period structure traits and QTL mapping of relative genes in soybean[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008: 1-9.)
- [3] 孙德生,李文滨,张忠臣,等. 大豆生育期相关的 QTL 分析[J]. 大豆科学,2009,28(6):976-980. (Sun D S, Li W B, Zhang Z C, et al. Analysis of QTL for growth period in soybean[J]. Soybean Science, 2009, 28(6): 976-980.)
- [4] 王海杰,杨存义,江炳志,等. 大豆生育期性状 QTL 定位[J]. 中国油料作物学报,2010,32(3):362-368. (Wang H J, Yang C Y, Jiang B Z, et al. QTL mapping of growth period traits in soybean[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(3): 362-368.)

- [5] 孙志强,田佩占,王继安. 东北大豆品种生育期结构的初步分析[J]. 大豆科学,1990,9(3):198-205. (Sun Z Q, Tian P Z, Wang J A. Preliminary study on the growth period structure of soybean varieties in the northeast of China[J]. Soybean Science, 1990,9(3):198-205.)
- [6] Kantolic A G, Slafer G A. Reproductive development and yield components in indeterminate soybean as affected by post-flowering photoperiod[J]. Field Crops Research,2005,93:212-222.
- [7] Yamanaka N, Watanabe S, Toda K, et al. Fine mapping of the FT1 locus for soybean flowering time using a residual heterozygous line derived from a recombinant inbred line[J]. Theoretical and Applied Genetics,2005,110:634-639.
- [8] Watanabe S, Hideshima R, Xia Z J, et al. Map-based cloning of the gene associated with the soybean maturity locus E3[J]. Genetics, 2009,182:1251-1262.
- [9] 苏成付,卢为国,赵团结,等. 利用目标区段剩余杂合系进行大豆开花期 QTL 的验证和精细定位[J]. 科学通报,2010,55(4-5):332-341. (Su C F, Lu W G, Zhao T J, et al. Verification and fine-mapping of QTLs conferring days to flowering in soybean using residual heterozygous lines[J]. Chinese Science Bulletin,2010,55(4-5):332-341.)
- [10] Sebolt A M, Shoemaker R C, Diers B W. Analysis of a quantitative trait locus allele from wild soybean that increases seed protein concentration in soybean[J]. Crop Science, 2000, 40(5):1438-1444.
- [11] Wang D, Graef G L, Procopiuk A M, et al. Identification of putative QTL that underlie yield in interspecific soybean backcross populations[J]. Theoretical and Applied Genetics,2004,108:458-467.
- [12] Andersson M S, Carmen de Vicente M. Gene flow between crops and their wild relatives[M]. Baltimore: Johns Hopkins University Press,2009:465-481.
- [13] Yang J, Zhu J, Williams R W. Mapping the genetic architecture of complex traits in experimental populations[J]. Bioinformatics, 2007,23:1527-1536.
- [14] 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,1999,39:1642-1651.
- [15] 邱丽娟,常汝镇. 大豆种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京:中国农业出版社,2006:13-24. (Qiu L J, Chang R Z. Description and data standard for soybean (*Glycine spp.*) [M]. Beijing: China Agriculture Press,2006:18-24.)
- [16] Keim P, Olson T C, Shoemaker R C. A rapid protocol for isolating soybean DNA[J]. Soybean Genetic Newsletter,1988,15:150-152.
- [17] Xia Z, Tsubokura Y, Hoshi M, et al. An integrated high-density linkage map of soybean with RFLP, SSR, STS and AFLP markers using a single F₂ population[J]. DNA Research,2007,14(6):257-269.
- [18] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning, a laboratory manual[M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press,1989.
- [19] Van Ooijen J W, Voorrips R E. JoinMap 3.0 software for the calculation of genetic linkage maps[M]. Wageningen: Plant Research International,2001.
- [20] 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.
- [21] Collard B C Y, Jahufer M Z Z, Brouwer J B, et al. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts[J]. Euphytica,2005,142:169-196.
- [22] 许占友,常汝镇,邱丽娟,等. 大豆遗传图谱研究进展及对应的几个问题[J]. 大豆科学,2001,20(2):133-137. (Xu Z Y, Chang R Z, Qiu L Y, et al. Progress on soybean genetic map and corresponding questions[J]. Soybean Science,2001,20(2):133-137.)
- [23] 何小红,徐辰武,蒯建敏,等. 数量性状基因作图精度的主要影响因素[J]. 作物学报,2001,27(4):469-475. (He X H, Xu C W, Kuai J M, et al. Principal factors affecting the power of detection and accuracy of QTL mapping[J]. Acta Agronomica Sinica,2001,27(4):469-475.)
- [24] 陈美霞,祁建民,方平平,等. 红麻6个重要产量性状的 QTL 定位[J]. 中国农业科学,2011,44(5):874-883. (Chen M X, Qi J M, Fang P P, et al. QTL mapping of six yield traits in Kenaf[J]. Scientia Agricultura Sinica,2011,44(5):874-883.)
- [25] 章元明. 作物 QTL 定位方法研究进展[J]. 科学通报,2006,51(19):2223-2231. (Zhang Y M. Progress on QTL mapping method of crop[J]. Chinese Science Bulletin,2006,51(19):2223-2231.)
- [26] Phillips P C. Epistasis-the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems[J]. Nature Reviews Genetics,2008,9:855-867.
- [27] Wang D L, Zhu J, Li Z K, et al. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL environment interactions by mixed linear model approaches[J]. Theoretical and Applied Genetics,1999,99:1255-1264.
- [28] Kabelka E A, Diers B W, Fehr W R, et al. Putative alleles for increased yield from soybean plant introduction[J]. Crop Science, 2004,44:784-791.
- [29] Lee S H, Bailey M A, Mian M A, et al. Molecular markers associated with soybean plant height, lodging and maturity across locations[J]. Crop Science,1996,36:728-735.
- [30] 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,2001,8:61-72.
- [31] Salvi S, Tuberosa R. To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges[J]. Trends in Plant Science,2005,10:297-304.