



大豆抗胞囊线虫病潜在基因 Meta-QTL 和 Overview 分析

王 俊, 姜海鹏, 赵 雪, 韩英鹏

(东北农业大学 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:为整合分析在不同遗传群体中研究发现的数百个大豆胞囊线虫病抗性 QTL,进一步挖掘大豆抗胞囊线虫病潜在基因,采用 BioMercator 4.2 软件将遗传背景和来源不同的 QTL 整合到大豆公共遗传图谱上,通过元分析法获取一致性 QTL,并进行 Overview 分析。通过 QTL 元分析得到 12 个抗性候选 QTL 区段,主要分布在 8、15、16、18 和 20 号染色体上;通过 Overview 分析方法获得 19 个 QTL,分别位于 3、6、8、11、12、15、16、18 和 20 号染色体上。2 种方法挖掘到 5 个重叠 QTL,共包含 13 个 SCN 抗性候选基因,6 个 LRR 类型、2 个 LRR-TM 类型和 5 个 TIR-NBS-LRR 类型抗性基因。QTL 元分析和 Overview 分析方法可为抗大豆胞囊线虫病基因精细定位提供更确切的位点信息,进而为抗胞囊线虫病大豆分子辅助育种提供可靠的基因资源。

关键词:大豆胞囊线虫; 元分析; Overview; 抗性位点; 候选基因

Meta-QTL and Overview Analysis of Potential Genes Resistant to Cyst Nematode in Soybean

WANG Jun, JIANG Hai-peng, ZHAO Xue, HAN Ying-peng

(Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In order to integrate and analyze hundreds of QTLs resistant to soybean cyst nematode (SCN) diseases found in different soybean genetic populations, to further explore the potential genes of soybean cyst nematode, we used BioMercator 4.2 software to integrate QTLs with different genetic backgrounds and project these QTL into soybean public genetic maps, and then, obtained consistent resistance QTLs through meta-analysis. In the same time we carried on Overview analysis. Finally, 12 resistance candidate QTLs were distributed on Chr 8, 15, 16, 18 and 20 through meta-analysis, 19 QTLs were located on Chr 3, 6, 8, 11, 12, 15, 16, 18 and 20 through Overview analysis. A total of 13 resistance genes were found in 5 overlapping QTLs through overlapping interval of the two methods, which covered 6 LRR type, 2 LRR-TM type, and 5 TIR-NBS-LRR type resistances disease genes. The QTL meta-analysis and Overview analysis method could provide more accurate genomic information for fine mapping, providing reliable gene resources for molecular assisted breeding of soybean resistant to cyst nematode.

Keywords: Soybean cyst nematode; Meta-analysis; Overview; Resistance site; Candidate gene

大豆是中国最重要的油料和粮食作物之一,也是世界植食性蛋白和油脂的重要来源^[1]。大豆胞囊线虫病 (soybean cyst nematode, SCN) 是一种世界性大豆病害,分布十分广泛,主要分布在中国、美国、巴西、日本等国,可造成大豆产量和品质的严重损失^[2]。大豆胞囊线虫病害分布于中国三大大豆主产区,每年可造成 20% ~ 30% 产量损失,病害严重时可减产高达 80%,甚至绝产,严重危害中国的大豆生产,带来了不可忽视的经济损失^[3-5]。

大豆胞囊线虫的生理小种分化十分明显, Riggs

等^[6]根据大豆 4 个鉴别寄主和 1 个对照感病寄主对胞囊线虫的反应,将其划分为 16 个生理小种, Niblack 等^[7]又根据 7 个鉴别寄主划分为 HG 类型。目前,在中国大豆主产区发现 1 ~ 7、9、11、13 和 14 号等 11 个 SCN 生理小种,其中 3 号生理小种是中国大豆主产区的优势小种,主要分布在东北地区 and 内蒙古地区;4 号生理小种则具有更强的侵染能力,主要分布在黄淮海大豆产区;6 号生理小种主要在黑龙江省发现^[8-9]。

目前,国内外已报道了大量 SCN 抗性 QTL。

收稿日期:2020-03-04

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31671717, 31971967);黑龙江省杰出青年基金(JC2018007);国家科技重大专项和重点研发项目(课题)省级资助项目(GX17B002);黑龙江省博士后项目(LBH-Q17015);国家重点研发计划(2016YFD0100304)。

第一作者简介:王俊(1993-),男,硕士,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:15636087137@163.com。

通讯作者:韩英鹏(1978-),男,博士,教授,主要从事大豆遗传育种研究和生物技术研究。E-mail:hyp234286@aliyun.com。

1992 年, Weismann 等^[10] 在标记 pBLT24 与 pBLT56 区间内首次发现 SCN 抗性基因 *Rhg4*。Concibido 等^[11] 定位了多个 SCN 抗性的 QTL, 并且整合了 1994 – 2004 年发表的 SCN 抗性的 60 个 QTL, 这些 QTL 分布在除 2、9 和 10 号染色体外的 17 条染色体上。Goffinet 等^[12] 开发了一种可以整合不同遗传背景和不同材料一致性 QTL 的元分析方法, 其基于最大邻接法可实现不同 QTL 的整合。Kyujung 等^[13] 通过元分析法, 使用 BioMercator 4.2, 将 175 个与蛋白质含量相关的 QTL、205 个与油份含量相关的 QTL、156 个与氨基酸含量相关的 QTL 和 113 个与脂肪酸含量相关的 QTL 进行了 meta-QTL 分析, 得到了置信区间更精确的 QTL。刘硕等^[14] 通过 Overview 分析方法对大豆抗倒伏基因优化和筛选, 获得 1 个稳定性较好的标记 Satt277。高利芳等^[15] 通过 Overview 分析方法筛选出 17 个与株高相关的候选基因。然而由于这些遗传抗性材料和接种方法不尽相同, 而且不同的环境和遗传背景对 QTL 定位的结果有着极大的影响, 进而导致了 QTL 基因组区域与实际所在的基因组区域并非完全一致。

因此本研究采用元分析和 Overview 2 种分析方法优化和筛选 2001 – 2018 年国内外 10 项研究中^[16-25] 的胞囊线虫抗性 QTL。利用图谱整合软件 BioMercator 4.2 将不同来源 QTL 整合到公共遗传图谱上并通过元分析方法缩小 QTL 置信区间, 进一步提高 QTL 准确性并获得一致性 QTL; 通过 Overview 分析方法构建曲线图并筛选真实 QTL。选取 2 种分析方法的重叠 QTL, 并挖掘重叠 QTL 内的抗性候选基因, 然后对候选基因进行生物信息分析, 进一步筛选抗病候选基因, 为分子辅助育种提供基因资源。

1 材料与方法

1.1 材料

收集整理 2001 – 2018 年国内外公开报道^[16-25] 的抗性 QTL 信息, 包括 QTL 位置、置信区间、LOD 值和遗传贡献率及作图群体类型、群体大小、作图方法和临近标记等信息。为减少假阳性对元分析结果的影响仅保留 LOD \geq 3.0 的 QTL。

1.2 方法

1.2.1 物理图谱的构建 在 Soybase 数据库中下载大豆 20 条染色体上的分子标记(包括 SSR、RFLP 和 SNP 等标记), 按照其位置顺序排列, 通过 Bio Mercator V 4.2 软件的 Maps-compilations 映射功能,

利用齐序函数计算共有标记的距离, 将所有标记整合成 GmComposite 2003 图谱。为了提高映射精确度, 舍弃不能映射或映射位置超出参考图谱范围的标记。

1.2.2 大豆抗胞囊线虫 QTL 的映射和元分析 根据 Darvasi 等^[16] 的方法计算置信区间, 通过 Bio Mercator V 4.2 软件的 Maps-compilations 映射功能, 利用齐序函数计算共有标记的距离, 将不同作图群体的初始 QTL 最大可能位置及置信区间按比例整合到 GmComposite 2003 参考图谱^[26] 中。

利用 Bio Mercator V 4.2 的 QTL Maps-analysis 程序进行元分析, 利用 N 个不同来源且成簇分布于同一座位附近的 QTL 推断出一致性 QTL 位置。通过 5 个模型分别按照最大似然函数比法分析 Meta-QTL, 利用高斯定理推导 QTL 在染色体上最大可能性的位置及置信区间, 根据最小 AIC 值原则给出的 QTL 就是 Meta-QTL (mQTL)。mQTL 选取最低标准为原始 QTL 不少于 2 个, 并且至少来自 2 个不同的作图群体, 如果彼此间没有共同区域或者相距超过 20 cM 就被分成不同簇的不同位点。mQTL 命名规则如下: Q + 染色体号 + mQTL 数目。

1.2.3 大豆抗胞囊线虫 QTL 的 Overview 分析 Overview 分析方法是一种统计学方法, 需要的原始数据有染色体的名称、染色体的长度、染色体上 QTL 的数目、试验数目、在公共图谱上的遗传图距、在公共图谱上的左右区间的遗传图距。采用 Excel 2007 软件, 以标记在大豆公共图谱的物理位置为横坐标; 以染色体上每个 QTL 从 x 到 $x + 0.5$ cM 区域上存在真实 QTL 的可能性为纵坐标绘制 Overview 分析曲线图。利用 Excel 2007 软件中的 NORMDIST 函数来模拟运算染色体上每 0.5 cM 内的正态函数值, 公式如下:

$$P(x, x + 0.5) = \frac{\sum_{i=1}^{nbqtl} \int_x^{x+0.5} N(P_i, Si^2) d(x)}{nbE},$$
其中:

P_i 为 QTL 最可能的位置, S_i 为方差, $Si^2 = (C. I. / 2 / 1.96)^2$, $nbqtl$ 为某一条染色体上的 QTL 数量, nbE 为某一条染色体上的所有试验数目。

1.2.4 大豆抗胞囊线虫候选基因挖掘 查找已克隆的与大豆胞囊线虫病抗性相关的基因^[27], 下载其表达序列, 分析其结构域特征。将本研究所获得的置信区间内基因作为候选基因, 根据其包含的不同功能结构域将抗性基因分类, 并且在 NCBI 数据库 (www. ncbi. nlm. nih. gov) 中查找基因的 GO 注释, 对候选基因进行 GO 富集分类^[28]。

2 结果与分析

2.1 大豆胞囊线虫病抗性 QTL 收集与整理

本研究整理的 2001 – 2018 年报道的大豆胞囊线虫病抗性 QTL 共计 117 个,映射结果表明,仅有

2 个 QTL 未被映射到参考基因组上,其余 115 个 SCN 抗性 QTL 分别映射到除 2、7、10 和 13 号染色体外的 16 条染色体上,且大部分 QTL 成簇分布,其中大部分 QTL 主要分布在 8、15、16、18 和 20 号染色体上,仅极少数 QTL 单独存在且贡献率较低(表 1)。

表 1 2001 – 2018 年大豆胞囊线虫病抗性 QTL 相关信息

Table 1 Information on QTLs of soybean cyst nematode resistance published from 2001 to 2018

抗性资源	染色体编号	生理小种	群体类型	参考文献
Resistance source	No. of chromosome	Race	Population type	Reference
PI89772	1、11、15、17、18	1、2、3、5	F _{2:3}	[16]
Bell	12、16、18	1、3、5、6、7、14	F ₄	[17]
PI90763	8、11、15、16、18、19	2、3、5	F _{2:3}	[18]
Toyomusume	11、18	3	F ₇	[19]
PI404198A	3、8、11、18、	1、2、5	F _{2:3}	[20]
PI438489B	4、8、18	5	F _{2:3}	[21]
L-10	10、15、16、17、18	3、14	F ₅ RIL	[22]
Hartwig	8、14、18	1、2、3、5	F _{5:11}	[23]
Hartwig	6、8、18	3、14	F _{6:7} RIL	[24]
PI90763	4、5、15、16、18、20	1、5、6、7	F _{6:7} RIL	[25]

2.2 大豆胞囊线虫病抗性 QTL 元分析

对整合到的 115 个 QTL 进行元分析,每次运算后以 AIC 值得最小值为原则,根据 QTL 模型,计算出每条染色体的 mQTL 数。总共获得了 12 个 mQTL,其中置信区间指数(CI)为 95%。与原始

QTL 的平均值相比,在所有 mQTL 的置信区间被缩小后,把每个 mQTL 的 CI 均值从原始 8.55 cM 降低至 3.36 cM(表 2)。这些 mQTL 可为分子标记辅助育种、QTL 精细定位、挖掘抗性候选提供重要的位置信息。

表 2 候选 QTL 位点

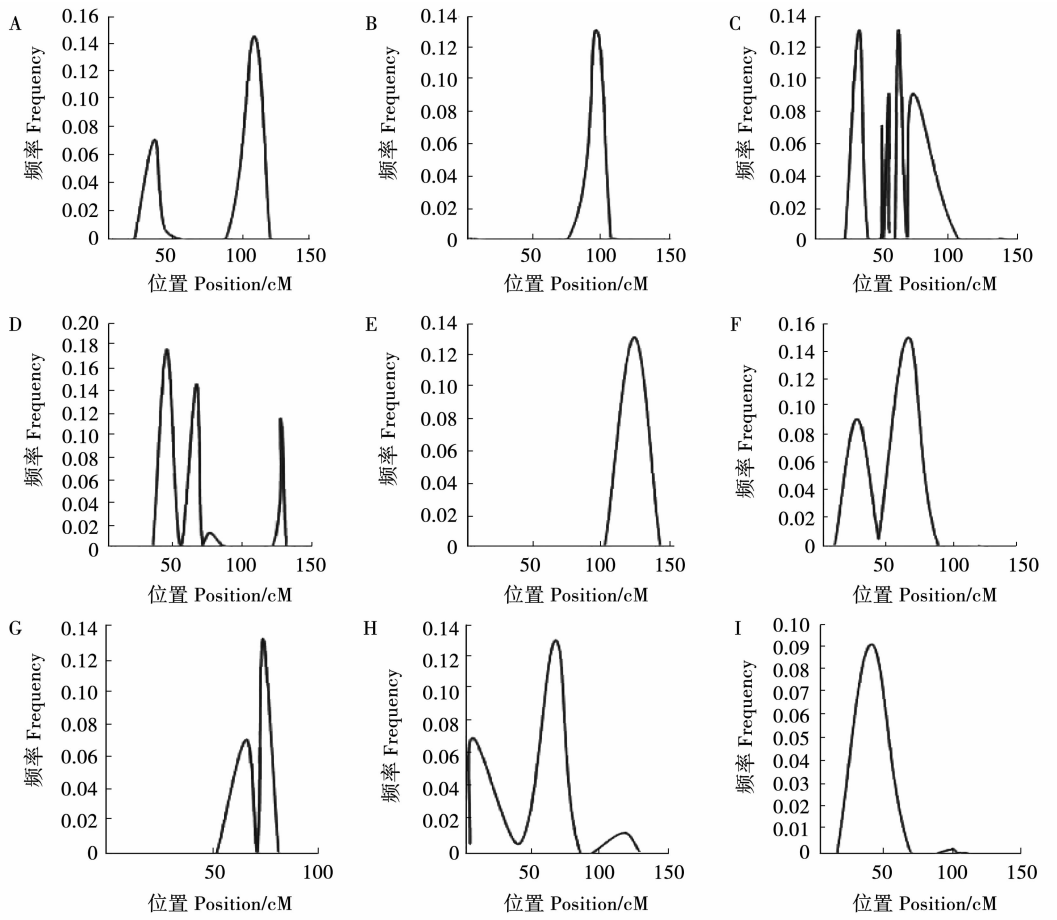
Table 2 Candidate QTLs loci

mQTL	染色体 Chromosome	位置 Position/cM	置信区间 Interval/cM	标记区间 Marker interval
QA8-1	8	49.24	48.61 ~ 49.88	BARC-027618 ~ 06622-Satt187
QA8-2	8	56.49	52.62 ~ 60.35	BARC-029007-06050 ~ BARC-014665-01618
QA8-3	8	104.18	102.33 ~ 106.03	BARC-049853-09177 ~ BARC-039787-07582
Q15-1	15	41.15	39.92 ~ 42.38	BARC-027480-06591 ~ BARC-017717-03118
Q16-1	16	48.46	46.63 ~ 50.29	BARC-059201-15674 ~ BARC-023719-03461
Q16-2	16	60.39	59.21 ~ 61.58	BARC-018761-03242 ~ BARC-042193-08207
Q16-3	16	66.42	65.42 ~ 67.42	BARC-012111-00333 ~ BARC-043111-08534
Q18-1	18	3.42	2.21 ~ 4.63	BARC-060195-16470 ~ BARC-018479-02918
Q18-2	18	6.61	5.79 ~ 7.43	BARC-018479-02918 ~ BARC-016837-02349
Q18-3	18	13.50	10.34 ~ 16.67	BARC-003180-00257 ~ BARC-005806-00273
Q20-1	20	66.88	64.44 ~ 69.33	BARC-039753-07565 ~ BARC-013583-01166
Q20-2	20	97.33	96.37 ~ 98.29	BARC-029301-06148 ~ BARC-040505-07757

2.3 大豆胞囊线虫病抗性 QTL Overview 分析

根据整理到的 117 个 QTL 绘制各染色体的胞囊线虫抗性 QTL 的 Overview 曲线(图 1),并通过曲

线峰值确定真实 QTL 位置,共获得 19 个真实 QTL,分别分布在 3、6、8、11、12、15、16、18 和 20 号染色体上(表 3)。



A ~ I: 3、6、8、11、12、15、16、18 和 20 号染色体。
A-I: Chromosome 3, 6, 8, 11, 12, 15, 16, 18 and 20.

图 1 Overview 分析曲线图
Fig. 1 The graph of Overview analysis

表 3 Overview 分析得到 QTL 位置
Table 3 The QTL position of Overview analysis

染色体	QTL 数量	QTL 位置
Chromosome	No. of QTL	Position of QTL
Chr03	2	35.0、109.0
Chr06	1	95.5
Chr08	5	32.5、48.5、53.5、60.5、71.5
Chr11	3	43.0、65.5、126.0
Chr12	1	121.0
Chr15	2	17.0、42.0
Chr16	2	66.5、74.0
Chr18	2	6.0、64.5
Chr20	1	38.0
合计 Sum	19	—

2.4 基于 2 种分析方法的重叠 QTL 挖掘和候选基因筛选

通过元分析和 Overview 分析方法,共获得 QA8-1、QA8-2、QA15-1、QA16-3 和 QA18-2 5 个重叠 QTL,分别分布在 8、15、16 和 18 号染色体上,结合基因组测序的注释信息,共发现 13 个大豆胞囊线虫抗性候选基因,根据功能结构域的不同将其分成 LRR、TIR-NBS-LRR 和 LRR-TM 3 类,分别包含 6、2 和 5 个抗性基因。在 8 和 16 号染色体上分别存在 LRR 型基因簇和 TIR-NBS-LRR 型基因簇。Kanazin 等^[29] 在 16 号染色体上发现 1 个 TIR-NBS-LRR 类型抗病基因,并证明其与抗胞囊线虫相关,并且上述 3 种结构域基因编码蛋白均属于抗病型蛋白,从而认定这 13 个候选基因均为抗性候选基因(表 4)。

表 4 抗病基因类型统计
Table 4 Types statistics of resistance genes

染色体	基因序列号	拟南芥同源基因	类型
Chromosome	Gene ID	Homologous gene in <i>Arabidopsis</i>	Type
Chr08	<i>Glyma. 08G100800</i>	<i>AT1G67720. 1</i>	LRR
Chr08	<i>Glyma. 08G107700</i>	<i>AT3G23750. 1</i>	LRR
Chr15	<i>Glyma. 15G168900</i>	<i>AT2G34930. 1</i>	LRR
Chr15	<i>Glyma. 15G179300</i>	<i>AT3G42880. 1</i>	LRR
Chr16	<i>Glyma. 16G171700</i>	<i>AT3G47570. 1</i>	LRR
Chr18	<i>Glyma. 18G025100</i>	<i>AT4G18640. 1</i>	LRR
Chr15	<i>Glyma. 15G169000</i>	<i>AT1G56140. 1</i>	LRR-TM
Chr16	<i>Glyma. 16G174400</i>	<i>AT4G28650. 1</i>	LRR-TM
Chr16	<i>Glyma. 16G159100</i>	<i>AT5G36930. 2</i>	TIR-NBS-LRR
Chr16	<i>Glyma. 16G159200</i>	<i>AT5G36930. 1</i>	TIR-NBS-LRR
Chr16	<i>Glyma. 16G159300</i>	<i>AT5G36930. 2</i>	TIR-NBS-LRR
Chr16	<i>Glyma. 16G159400</i>	<i>AT5G36930. 2</i>	TIR-NBS-LRR
Chr16	<i>Glyma. 16G159500</i>	<i>AT5G17680. 1</i>	TIR-NBS-LRR

2.5 GO 富集分析

GO 富集分析将 13 个候选基因分成 3 类,包括 3 个蛋白翻译后修饰激酶受体,5 个信号受体激酶(亮氨酸重复蛋白)和 5 个生物应激受体(表 5)。

表 5 GO 富集分析
Table 5 GO analysis

基因序列号 Gene ID	GO
<i>Glyma. 08G100800</i>	蛋白翻译后修饰激酶受体
<i>Glyma. 08G107700</i>	蛋白翻译后修饰激酶受体
<i>Glyma. 15G168900</i>	蛋白翻译后修饰激酶受体
<i>Glyma. 15G179300</i>	信号受体激酶(亮氨酸重复蛋白)
<i>Glyma. 16G171700</i>	信号受体激酶(亮氨酸重复蛋白)
<i>Glyma. 18G025100</i>	信号受体激酶(亮氨酸重复蛋白)
<i>Glyma. 15G169000</i>	信号受体激酶(亮氨酸重复蛋白)
<i>Glyma. 16G174400</i>	信号受体激酶(亮氨酸重复蛋白)
<i>Glyma. 16G159100</i>	生物应激受体
<i>Glyma. 16G159200</i>	生物应激受体
<i>Glyma. 16G159300</i>	生物应激受体
<i>Glyma. 16G159400</i>	生物应激受体
<i>Glyma. 16G159500</i>	生物应激受体

3 讨 论

大豆胞囊线虫病是一种由多基因和环境因素共同调控的数量性状。在大豆胞囊线虫病抗性 QTL 中,采用的遗传群体通常不同且群体后代数量、作图方法以及群体类型也大都不同,所定位出来的 QTL 置信区间也存在较大的差异^[30],所以需要进一步攻克 QTL 精确性的问题,才能筛选出更加准确的与大豆胞囊线虫相关的候选基因。应用元分析的方法可以获得较小的置信区间,经映射到物理图谱上,再进行目标基因的挖掘。最后利用 EST 注释信息对所得到的基因进一步确认,该方法省时省力且花费极低。常玮等^[27]运用元分析方法,根据大豆基因组的序列数据,结合 SCN 抗性位点的定位结果,获得 27 个一致性位点。通过结构域注释的方法,挖掘到 77 个与 SCN 抗性有关的抗性基因。通过半定量分析表明所挖掘到的候选基因可能与大豆胞囊线虫抗性有一定的关系。本研究通过元分析的方法,整合国内外 2001 – 2018 年报道的 115 个胞囊线虫抗性位点,通过元分析的方法共获得 12 个一致性 QTL,通过 Overview 分析方法共发现 19 个真实 QTL,将目标基因锁定在较小的置信区间内。进一步证明了利用元分析的方法挖掘 SCN 抗性基因是有效的分析方法,可极大地推进 QTL 的精细定位和

分子标记辅助育种。

LRR 类抗病蛋白家族基因,在植物响应非生物胁迫中发挥重要作用。该类基因在植物基因组中呈多拷贝、且往往成簇存在^[31],这或许也是植物产生应对不同病原物或同种病原物的不同小种特异抗性的遗传基础。NBS-LRR 类家族基因一般通过超表达启动受侵染部位的程序性死亡,阻止病原菌的扩展^[32]。有研究指出,水稻中的抗病基因以 NBS-LRR 类型为主,拟南芥中也包含大量这种类型的抗病基因^[33]。NBS-LRR 编码蛋白可进一步分为 2 个亚类:包含 TIR 的 TIR-NBS-LRR 和不包含 TIR 的 non-TIR-NBS-LRR。李海霞等^[34]研究表明,将从毛白杨中克隆得到的 TIR-NBS-LRR 导入烟草中,转基因烟草株系发病程度明显低于非转基因烟草。Kanazin 等^[29]在 16 号染色体上定位到 1 个 LRR-TM 结构域的基因,并且证实其与大豆胞囊线虫抗性相关联。本研究通过元分析和 Overview 两种分析方法,获得 5 个重叠 QTL,结合基因组测序的注释信息,预测得到 13 个胞囊线虫病抗性候选基因,包括 6 个 LRR 类型、2 个 LRR-TM 类型和 5 个 TIR-NBS-LRR 类型抗性基因,为下一步筛选胞囊线虫抗性基因提供基因资源。

4 结 论

本研究整理国内外 2001 – 2018 年的研究结果,分析到 115 个胞囊线虫抗性 QTL,收集并整合大豆染色体上的标记,构建一致性图谱,并进行 Meta 分析,得到 12 个置信区间更小的 mQTL,分别位于 8、15、16、18 和 20 号染色体上;通过 Overview 分析方法获得 19 个真实 QTL,分别位于 3、6、8、11、12、15、16、18 和 20 号染色体上。通过结构域和基因注释的方法,预测得到 13 个胞囊线虫病抗性候选基因,包括 6 个 LRR 类型、2 个 LRR-TM 类型和 5 个 TIR-NBS-LRR 类型抗性基因。本研究所提供的更精确的遗传位点信息可为抗胞囊线虫病精细定位等研究提供基因资源,对大豆抗逆育种具有极大的推进作用。

参考文献

[1] Wrather J A, Koenning S R. Estimates of disease effects on soybean yields in the United States 2003 to 2005[J]. Journal of Nematology, 2006, 38(2): 173-180.

[2] 段玉玺. 植物线虫学[M]. 北京: 科学出版社, 2011. (Duan Y C. Plant nematology[M]. Beijing: Science Press, 2011.)

[3] 孙漫红, 刘杏忠, 缪作清. 大豆胞囊线虫病生物防治研究进展[J]. 中国生物防治, 2000(3): 136-141. (Sun M H, Liu X

Z, Liao Z Q. Biological control of soybean cyst nematode[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2000(3): 136-141.)

[4] Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing countries in 1998[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2001, 23(2): 115-121.

[5] Matsye P D, Lawrence G W, Youssef R M, et al. The expression of a naturally occurring, truncated allele of an α -SNAP gene suppresses plant parasitic nematode infection[J]. Plant Molecular Biology, 2012, 80(2): 131-155.

[6] Riggs R D, Schmitt D P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 1988, 20(3): 392-395.

[7] Niblack T L, Arelli P R, Noel G R, et al. A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines* [J]. Journal of Nematology, 2003, 34(4): 279-288.

[8] 董丽民, 许艳丽, 李春杰. 黑龙江省大豆胞囊线虫胞囊密度和生理小种鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2008(1): 108-111. (Dong L M, Xu Y L, Li C J. Cyst density and subspecies identification of soybean cyst nematode in Heilongjiang province [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2008(1): 108-111.)

[9] 孔祥超, 李红梅, 耿甜. 大豆种质资源对大豆胞囊线虫 3 号和 4 号生理小种的抗性鉴定[J]. 植物保护, 2012, 38(1): 146-150. (Kong X C, Li H M, Geng T. Resistance evaluation of soybean varieties and germplasms to the races No. 3 and No. 4 of soybean cyst nematode *Heterodera glycines* [J]. Plant Protection, 2012, 38(1): 146-150.

[10] Weisemann J M, Matthews B F, Devine T E. Molecular markers located proximal to the soybean cyst nematode resistance gene, Rhg4[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1992, 85(2): 136-138.

[11] Concibido V C, Diers B W, Arelli P R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean [J]. Crop Science, 2004, 44(4): 1121-1131.

[12] Goffinet B. Quantitative trait loci: A meta-analysis[J]. Genetics, 2000, 155(1): 463-473.

[13] Kyujung V, Leah M H. Meta-Analyses of QTLs associated with protein and oil contents and compositions in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seed [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(6): 1180.

[14] 刘硕, 郭勇, 罗玲, 等. 大豆倒伏性相关 QTL 的整合及 Overview 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 137-143. (Liu S, Guo Y, Luo L, et al. Integration and Overview analysis of QTLs related to lodging in soybean (*Glycine max*) [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(1): 137-143.)

[15] 高利芳, 郭勇, 郝再彬, 等. 大豆株高 QTL 的“整合”及 Overview 分析[J]. 遗传, 2013, 35(2): 215-224. (Gao L F, Guo Y, Hao Z B, et al. Integration and ‘Overview’ analysis of QTLs related to plant height in soybean [J]. Hereditas, 2013, 35(2): 215-224.)

[16] Darvasi A, Soller M. A simple method to calculate resolving power and confidence interval of QTL map location [J]. Behavior Genetics, 1997, 27(2): 125-132.

[17] Yue P, Sleper D A, Arelli R R. Mapping resistance to multiple

races of in soybean PI 89772[J]. Crop Science, 2001, 41(5): 1589-1595.

[18] Glover K D, Wang D, Arelli P R, et al. Near isogenic lines confirm a soybean cyst nematode resistance gene rom PI 88788 on linkage group J [J]. Crop Science, 2004, 12(3): 936-941.

[19] Guo B, Sleper D A, Arelli P R, et al. Identification of QTLs associated with resistance to soybean cyst nematode races 2, 3 and 5 in soybean PI 90763 [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(5): 965-971.

[20] Liu Y, Chen S, Zhong Y T, et al. Mapping QTL associated with resistance to soybean cyst nematode Race 3 in cultivar Kangxian 2 [J]. Soybean Science, 2010, 29(2): 215-217.

[21] Guo B, Sleper D A, Nguyen H T, et al. Quantitative trait loci underlying resistance to three soybean cyst nematode populations in soybean PI 404198A[J]. Crop Science, 2006, 46(1): 224-233.

[22] Winter S M J, Shelp B J, Anderson T R, et al. QTL associated with horizontal resistance to soybean cyst nematode in *Glycine soja* PI464925B[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114(3): 461-472.

[23] Vuong T D, Sleper D A, Shannon J G, et al. Confirmation of quantitative trait loci for resistance to multiple-HG types of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) [J]. Euphytica, 2011, 181(1): 101-113.

[24] Kazi S, Shultz J, Afzal J, et al. Iso-lines and inbred-lines confirmed loci that underlie resistance from cultivar ‘Hartwig’ to three soybean cyst nematode populations [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 120(3): 633-644.

[25] Arriagada O, Mora F, Dellarossa J C, et al. Bayesian mapping of quantitative trait loci (QTL) controlling soybean cyst nematode resistant[J]. Euphytica, 2012, 186(3): 907-917.

[26] 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(1): 122-128.

[27] 常玮, 韩英鹏, 胡海波. 基于元分析与结构域注释的大豆胞囊线虫抗性基因挖掘[J]. 中国农业科学, 2010, 43(23): 4787-4795. (Chang W, Han Y P, Hu H B. Mining candidate genes for resistance to soybean cyst nematode based on Meta-analysis and domains annotations[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(23): 4787-4795.)

[28] 秦力. 芦笋雌雄花发育转录组分析及性别决定相关 miRNA 靶基因的鉴定[D]. 杭州:浙江大学, 2016. (Qin L. Comparative transcriptome analysis of male female flowers and identification of gender-related miRNA targets in *Asparagus officinalis* L. [D]. Hangzhou:Zhejiang University, 2016.)

[29] Kanazin V, Marek L F, Shoemaker R C. Resistance gene analogs are conserved and clustered in soybean[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1996, 93(21): 11746-11750.

[30] Goffinet B. Quantitative trait loci: A meta-analysis[J]. Genetics, 2000, 155(1): 463-473.

[31] Meyers B C, Morgante M, Michelmore R W. TIR-X and TIR-NBS proteins: Two new families related to disease resistance TIR-NBS-LRR proteins encoded in *Arabidopsis* and other plant genomes[J]. The Plant Journal, 2002, 32(1): 77-92.

[32] 李任建, 申哲源, 李旭凯. 谷子 NBS-LRR 类基因家族全基因组鉴定及表达分析[J]. 河南农业科学, 2020, 49(2): 34-43. (Li R J, Shen Z Y, Li X K. Genome-Wide identification and expression analysis of NBS-LRR gene family in *Setaria italica*[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2020, 49(2): 34-43.)

[33] Rossi M, Araujo P G, Paulet F, et al. Genomic distribution and characterization of EST-derived resistance gene analogs (RGAs) in sugarcane[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 269(3): 406-419.

[34] 李海霞, 张志毅, 张谦. 毛白杨 TIR-NBS-LRR 基因转化烟草的研究[J]. 北京林业大学学报, 2009, 31(1): 73-78. (Li H X, Zhang Z Y, Zhang Q. Transformation of tobaccos with a TIR-NBS-LRR gene isolated from *Populus tomentosa* Carr. [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2009, 31(1): 73-78.)