

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00215

大豆株高 QTL 的“整合”及 Overview 分析

高利芳^{1,2}, 郭勇², 郝再彬¹, 邱丽娟²

1. 桂林理工大学, 桂林 541000;
2. 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, 北京 100081

摘要: 株高是作物株型的重要组成因子, 与作物种植密度、抗倒伏性及产量等密切相关。文章利用 Soybase 数据库和文献报道的 201 个与大豆株高相关的 QTL 信息, 在物理整合的基础上, 采用软件 BioMercator2.1 进行元分析, 得到 15 个株高的“通用”QTL, 分别位于大豆的 6 号、7 号、11 号、13 号和 18 号染色体。同时, 利用基于统计学原理的 Overview 方法进行优化, 将这些 QTL 位点的置信区间最小缩至 0.1 cM, 从而明确了 QTL 位点在染色体上的遗传位置。对重演性较好的 QTL 位点所对应的区段内的基因进行分析, 初步筛选出可能与株高相关的候选基因 17 个。文章为大豆株高相关 QTL 位点的精细定位及分子标记辅助育种奠定了基础。

关键词: 大豆; 株高; 元分析; Overview 分析

Integration and “Overview” analysis of QTLs related to plant height in soybean

GAO Li-Fang^{1,2}, GUO Yong², HAO Zai-Bin¹, QIU Li-Juan²

1. Guilin University of Technology, Guilin 541000, China;
2. The National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement (NFCRI)/Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: Plant height, one of the most important factors for plant architectures, is closely related with some important traits such as plant density, lodging resistance and yields. In the present study, 201 QTLs related to plant height of soybean from database and references were analyzed. The results revealed that 15 consensus QTLs located on chromosomes 6, 7, 11, 13, and 18 were identified after physical integrations and Meta analysis using the software BioMercator 2.1. Moreover, “Overview” method was used to optimize these QTLs based on statistic analysis. Some of the valid QTL regions were narrowed down to the 0.1 cM and mapped on certain chromosomes. Furthermore, the functions of all genes located in these confidence regions were predicted and 17 candidate genes that might be related to plant height were identified. These results would lay a foundation for fine mapping of QTLs related to plant height and marker-assisted breeding in soybean.

Keywords: soybean; plant height; Meta analysis; Overview analysis

收稿日期: 2012-08-16; 修回日期: 2012-09-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31271753)资助

作者简介: 高利芳, 硕士研究生, 专业方向: 化学与生物工程。E-mail: cwhgaolifang@163.com

通讯作者: 邱丽娟, 研究员, 研究方向: 大豆基因发掘与利用。E-mail: qiu_lujuan@263.net

网络出版时间: 2012-10-10 14:48:40

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20121010.1448.004.html>

我国是大豆(*Glycine max*)的起源国,已有 5 000 多年的栽培历史。大豆在 18 世纪以后才陆续传入欧洲和美洲,是目前世界上重要的经济作物之一。株高是大豆株型的主要性状之一,是影响大豆产量的重要因素。Wilcox和Tuneo^[1]的研究表明,株高增加 10 cm,每公顷产量增加 112~350 kg,Wang等^[2]通过 QTL 分析,表明产量与结荚习性和株高等性状密切相关,证明株高对产量有重要的影响。曾创造出我国大豆高产记录的品种“新大豆 1 号”、“石大豆 1 号”通过喷洒多效唑壮秆缩节、降低株高来提高抗倒伏性而取得高产^[3]。我国已创造大豆超高产记录的 7 个品种中,有 3 个品种即中黄 13、MN413、JN96-2343 表现为半矮秆(一般株高 70~80 cm),而辽 21051、诱处 4 号、南农 88-31 则植株高大繁茂(株高>100 cm),株型紧凑、秆强抗倒^[4]。可见,株高的研究对于大豆产量的提高具有重要的理论和现实意义。

自 1988 年第一张大豆 RFLP 图谱问世以来^[5],已利用不同的群体(F_2 、BC 群体、RIL)和不同类型的标记(RFLP、AFLP、SSR)构建出数张大豆遗传图谱,其中 Song 等^[6]构建了整合的大豆公共图谱(Soymap 2),其标记最多,共计 1 849 个标记,平均遗传距离只有 2.5 cM。随着遗传图谱的构建,大豆株高 QTL 的定位成为可能。孙德生等^[7]和李灿东等^[8]用条件 QTL 分析方法对大豆株高进行了 QTL 动态分析,汪霞等^[9]采用多 QTL 联合分析方法定位了大豆株高 QTL。随着 QTL 定位数目的增加,通过整合,筛选出遗传效应高、置信区间小的 QTL,发掘与株高相关的基因就显得尤为重要。Concibido 等^[10]对 16 篇胞囊线虫抗性 QTL 相关的文献进行检索,将大豆对胞囊线虫病的抗性 QTL 进行物理整合,发现 18 号染色体上有最多的抗性 QTL 区域(9 个),而 6 号、11 号和 17 号染色体上分别有 3 个。除物理整合之外,元分析(Meta analysis)方法也被用于 QTL 整合的研究。元分析由心理学家 Glass^[11]提出,最早应用于医学、社会学和行为科学的研究。元分析方法在大豆抗胞囊线虫病^[12]、生育期相关性状^[13]、脂肪酸组分^[14]、百粒重^[15]、叶片性状^[16]、大豆磷效率^[17]以及昆虫抗性^[18]等主要性状分析中得到应用。孙亚男等^[9]和汪霞等^[9]也利用元分析的方法整合了大豆株高相关 QTL 的位点。但是,元分析所需的数据量较大,通过整合后获得的候选区间也比较大,而利用 Overview 方法分析

QTL 位点对数据要求简单,最后获得的区间也比较小。该方法最早由 Chardon^[20]在玉米中使用,通过对 313 个玉米开花期的原始 QTL 的优化获得 62 个真实的 QTL。王毅等^[21]和史利玉等^[22]分别将 127 个玉米株高 QTL 和 57 个玉米灰斑病 QTL 优化为 40 个和 7 个真实的 QTL 位点。刘硕等^[23]也利用此方法对大豆蛋白含量相关的 QTL 进行了分析。目前尚未有应用 Overview 方法对大豆株高相关 QTL 进行整合分析的报道。

本研究利用文献发表的与大豆株高相关的 201 个 QTL 位点,通过物理整合,选用了元分析方法对重复性较好的区间进行验证,并通过 Overview 分析对这些区间进行优化,筛选到可能与株高相关的候选基因 17 个,旨在为大豆基因的精细定位和分子标记辅助育种提供了参考。

1 材料和方法

1.1 大豆株高 QTL 信息的收集

本研究所用的大豆株高相关的 QTL 信息来自于 Soybase 网站(<http://www.soybase.org>)以及已发表的 27 篇文献,包括用 CIM 和 MIM 作图得到 95 个 QTL 位点和用其他方法得到的 106 个 QTL 位点,总计 201 个位点(表 1)。同时,通过分析查找出原始图谱和公共图谱上相邻标记间距及 QTL 的位置用于软件映射分析和元分析;查找出这些 QTL 所在染色体的名称、染色体的长度、染色体上统计的 QTL 数目、QTL 的实验数目、QTL 的名称、QTL 在公共图谱上的遗传位置、QTL 在公共图谱上左区间的遗传位置、右区间的遗传位置等信息用于 Overview 分析。

1.2 物理整合

根据定位 QTL 区间相邻标记的名称,统计其在公共图谱上的遗传位置;参照 Concibido 等^[10]的方法选取 QTL 发生重演的区间 20 cM 作为区间大小来进行物理整合。

1.3 元分析

利用 Biomercator 2.0 软件的映射功能将所有 QTL 区间的标记映射到公共图谱(Soymap 2)上,计算各个 QTL 的 AIC 值(Akaike's information criterion),选择 AIC 值最小的 QTL 模型为最优模型。

表 1 数据来源的原始 QTL 信息

亲本组合	QTL 个数	群体类型	群体大小	构建图谱标记	分析方法	文献来源
Charleston×东农 594	40	RIL	143		CIM、条件 QTL	孙德生等 ^[71]
红丰 1 号×Clark	8	BC ₁ F ₄	72	67	单向方差分析	李灿东等 ^[81]
黄豆×南农 493-1	23	F _{2:4}	504	113	多 QTL 联合、分析	汪霞等 ^[91]
Charleston×东农 594	4	RIL	/	/	CIM	孙亚男等 ^[191]
Charleston×东农 594	11	RIL	/	/	IM	孙亚男等 ^[191]
Minsoy×Noir1	1	F _{2:5}	/	132	IM	Mansur等 ^[241]
Essex×Williams	3	F ₂	208	/	CIM	Champan等 ^[251]
IA2008×PI468916	6	/	468	302	CIM	Wang等 ^[21]
PILG96-6607×Beeson 80	3	BC ₂ F ₅	68	/	单向方差分析	Guzman等 ^[261]
PILG96-6607×Kenwood	1	BC ₁ F ₅	74	/	单向方差分析	Guzman等 ^[261]
PILG96-6607×Lawrence	1	BC ₃ F ₂	94	/	单向方差分析	Guzman等 ^[261]
BSR×LG82-8379	11	F ₅	167	145	CIM	Kabelka等 ^[271]
Tokei780×Hidaka4	2	F ₂	96	204	CIM	Liu等 ^[281]
KefengNO.1×Nannong1138-2	8	F ₂	184	552	CIM	Zhang等 ^[291]
Conrad×Sloan	2	F _{4:6}	186		单向方差分析	Wang等 ^[301]
Jinpumkong2×SS2-2	1	RIL	/	/	单向方差分析	Liu等 ^[311]
Ksannamulkong×SS2-2	3	RIL	/	/	单向方差分析	Liu等 ^[311]
郑 92116×商 951099	5	F ₂	125	176	IM	关荣霞等 ^[321]
晋豆 23×灰布支	8	/	/	257	CIM	王珍 ^[331]
科丰 1 号×南农 1138-3	4	F ₉	201	302	IM	吴晓雷等 ^[341]
新科 3 号×中黄 20	2	F ₂	192	122	CIM	杨喆等 ^[351]
绥农 14×绥农 20	3	F ₂	94	172	CIM	朱晓丽 ^[361]
科新 3 号×中黄 20	2	F ₃ 、F ₄	94	219	CIM	朱晓丽 ^[361]
中豆 29×中豆 32	6	F ₁₀	165	332	CIM	周蓉等 ^[371]
中豆 29×中豆 32	19	F ₈	255	277	CIM	王智贤 ^[38, 391]
中豆 29×中豆 32	13	F ₁₀	165	113	CIM、条件 QTL	周蓉等 ^[40, 411]
沈农 6 号×OhioFG1	3	F ₇	92	170	CIM	宋亚军等 ^[421]
Charleston×东农 594	8	F _{2:10}	154	/	CIM	Chen等 ^[43, 441]

1.4 Overview 分析

利用Excel软件中的函数NORMDIST(P_i , QTL Position, S_i , false=0)来模拟运算染色体上每 0.5 cM 单位内的正态函数值, 其中 P_i 是第 i 个QTL的最可能位置, 方差 S_i 根据QTL的置信区间运算的公式 $S_i^2=(C. I. i / 2 / 1.96)^2$, QTL Position是QTL的遗传位置, 而把false设为 0 就实现正态函数到概率密度函数的回归; QTL的密度函数 $p(x)$ 是第 x 个位置上 i 个QTL的正态分布函数的和, 公式如下:

$$P(x, x+0.5) = \frac{\sum_{i=1}^{nbqtl} \int_x^{x+0.5} N(p_i, S_i^2) d(x)}{nbE}$$

$P(x)$ 的标尺统一可能性函数 $u(x)$, 它是估测单次试

验中染色体的单位长度内出现 QTL 的统一可能性来实现的, $u(x)$ 的 5 倍函数为 $H(x)$, $p(x)$ 曲线上位于 $u(x)$ 和 $H(x)$ 直线之上的峰值即认定为真实 QTL 和热点 QTL 的位置。

1.5 基因预测

选择重演性较好的 QTL 位点, 根据其置信区间在 Soybase 网站上查找该置信区间侧翼标记的引物序列, 通过 Blast 程序在大豆基因组序列数据库中进行比对, 得到两侧引物在染色体上的物理位置和物理距离, 通过区间内基因的注释信息并检索其同源基因预测其可能的功能, 寻找与株高相关的候选基因。

2 结果与分析

2.1 大豆株高相关 QTL 的物理整合

本研究用于物理整合的原始 QTL 数目为 201 个, 其中有 28 个 QTL 的定位区间跨度较大(介于相邻的两段 20 cM 的区间内)而被计入 2 个 20 cM 区间内。物理整合的结果表明, 与大豆株高相关的 QTL 在 6 号染色体上 100~120 cM 区间内重复次数最多, 为 10 次, 来自 7 篇文献, 其中贡献率最大的为 20%; 在 11 号染色体上 40~60 cM 区间内 QTL 重复次数为 8 次, 来自 4 篇文献, 其中贡献率最大为 13.30%; 在 18 号染色体上 60~80 cM 区间内 QTL 重复次数为 7 次, 来自 4 篇文献; 在 11 号染色体上 20~40 cM 区间、13 号染色体上 120~140 cM 区间、18 号染色体上 80~100 cM 区间、16 号染色体上 60~80 cM 区间内均出现 5 次 QTL 重复。通过整合, 最终将大豆株高相关的 QTL 区间整合为 77 个 20 cM 的区间。

2.2 大豆株高相关 QTL 的元分析

物理整合后, 利用 BioMercator2.1 软件, 将信息完全的 QTL 位点映射到大豆公共图谱 Soymap2 上, 在 6 号、7 号、11 号、13 号和 18 号染色体上共鉴定出 15 个“通用”QTL 位点, 根据物理整合中重演性较好的大豆株高 QTL 所处连锁群的 AIC 值, 并选择最优模型, 确定了这些 QTL 的侧翼标记(表 2)。通过元

分析确定出位于 11 号、6 号、7 号和 18 号染色体上的 QTL 置信区间, 最小可达 0.42cM(图 1)。

2.3 大豆株高相关 QTL 的 Overview 分析

利用 62 个原始 QTL 进行 Overview 分析, 这些 QTL 分布在除 10 号和 16 号染色体外的 18 个染色体, 其中 11 号染色体 QTL 最多, 有 7 个; 5 号染色体最少, 只有 1 个; 其他染色体上 QTL 位点变化范围为 1~7 个。Overview 分析将 QTL 位点数从 62 个减少到 42 个, 这些减少的位点分布在 10 个染色体, 包括 2、4、6、7、8、9、11、13、17、18 号染色体(表 3)。

2.4 3 种方法的比较分析

3 种方法的分析结果比较相近, 通过物理整合分析筛选出的 QTL 重复性次数较多的 5 个染色体(6 号、7 号、11 号、13 号、18 号), 利用元分析方法也鉴定出通用 QTL 位点(表 4), 在其中的 4 个染色体(6 号、11 号、13 号、18 号)上, 利用 Overview 整合分析也鉴定出相近的置信区间(图 2)。例如, 6 号染色体上株高相关的 QTL 位点通过元分析方法定位在 113.2 cM, Overview 整合定位在 112.5 cM, 均位于重复次数最多(10 次)的 100~120 cM 区间。11 号染色体上元分析和 Overview 方法定位 2 个 QTL(35.8 cM 和 40 cM, 57.48 cM 和 57.5 cM), 均位于重复次数较多(8 次)的 40~60 cM 区间。

表 2 元分析整合的 QTL 及置信区间

染色体	AIC 值	位置(cM)	置信区间(cM)	左侧标记	右侧标记
Chr. 11	23.08	29	28.33~32.51	Satt426	Satt509
Chr. 11	23.08	35.8	35.46~36.14	Sat_156	Satt251
Chr. 11	23.08	57.48	55.32~59.64	Satt519	Satt298
Chr. 6	16.19	105.05	102.33~107.78	Sat_402	Satt277
Chr. 6	16.19	113.25	112.85~113.66	Sat_312	Satt100
Chr. 6	16.19	90.6	89.31~91.81	Satt450	Sat_246
Chr. 6	16.19	38.24	38.04~40.30	Satt432	Satt281
Chr. 7	23.65	33.5	32.79~34.21	Sat_316	Satt540
Chr. 7	23.65	42.8	41.05~44.55	Satt435	Sat_244
Chr. 7	23.65	54.8	53.54~56.29	Satt220	Satt245
Chr. 18	21.53	61.58	61.42~61.64	Sat_260	Sat_223
Chr. 18	21.53	95.8	94.84~96.57	Satt472	Satt191
Chr. 18	21.53	74.52	73.42~76.77	Sat_143	Satt288
Chr. 13	27.28	126.8	124.87~130.64	AW756935	Sat_090
Chr. 13	27.28	111.34	105.70~116.98	Sat_197	Satt218

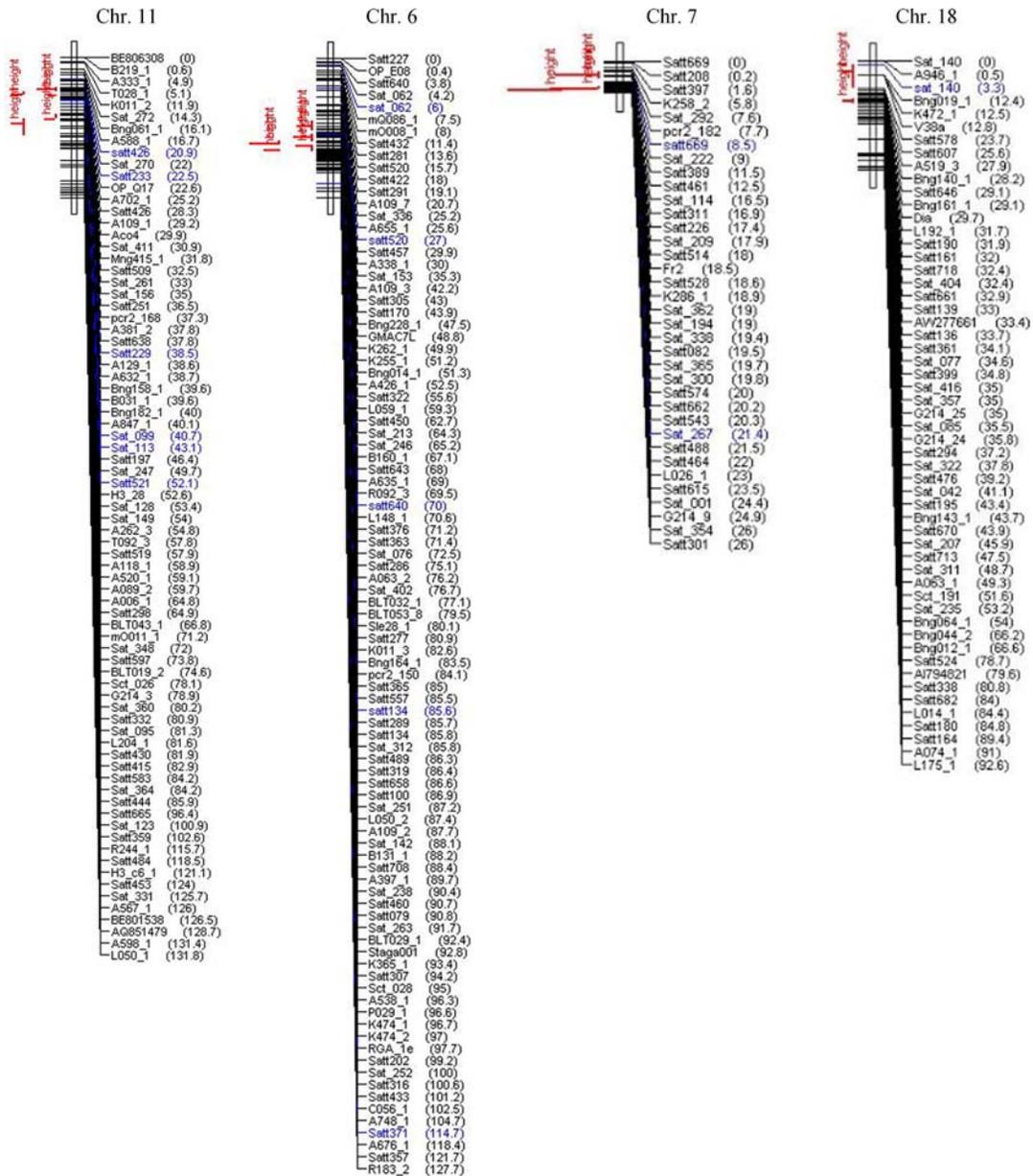


图 1 重演性较好 4 个染色体上定位的株高 QTL 的元分析

通过对 3 种方法定位的株高 QTL 置信区间的比较发现, 元分析鉴定通用 QTL 和 Overview 分析优化后得到的 QTL 置信区间均小于原始 QTL(表 4), 特别是在 11 号染色体和 13 号染色体 QTL 的置信区间比原始 QTL 区间大幅度的减少, 例如在 QTL 重复次数为 8 次的 11 号染色体 40 ~ 60 cM 区间有 4 个主效 QTL, 它们的遗传位置分别为 32.52 ~ 46.39 cM、36.48 ~ 46.39 cM、32.51 ~ 43.69 cM、36.48 ~ 43.69 cM, 原始 QTL 的置信区间的距离为 13.88 cM、9.91 cM、11.18 cM 和 7.21 cM, 而元分析整合的 QTL 置

信区间为 0.68 cM(35.46 ~ 36.14), Overview 方法整合 QTL 后, 按照 Soymap2 上的相邻标记估算得到的置信区间为 0.10 cM(39.96 ~ 40.08), 整合及优化后的置信区间比原始 QTL 的置信区间要小的多, 而且分布在 6 号、7 号、13 号、18 号染色体的主效 QTL 置信区间也呈现类似的现象。同时, 除了 6 号染色体 80 ~ 100 cM 区段的主效 QTL 经过 Overview 方法优化后得到置信区间(3.38 cM)略大于元分析整合得到的 QTL 置信区间(2.50 cM)及 18 号染色体上重复 7 次的 80 ~ 100 cM 区间的主效 QTL 经过 Overview 方

表 3 Overview 分析整合后得到 QTL 位置

染色体	整合前 QTL 数目	整合后 QTL 数目	整合后 QTL 位置(cM)
Chr. 1	2	2	48.5; 106.5
Chr. 2	2	1	40
Chr. 3	2	2	16.5; 39.5
Chr. 4	3	2	53; 76.5
Chr. 5	1	1	21.62
Chr. 6	6	4	35; 86.5; 102.5; 112.5
Chr. 7	5	3	35.5; 44; 55
Chr. 8	5	3	10; 28.5; 91
Chr. 9	3	2	42; 105.5
Chr. 11	7	3	29; 40; 57.5
Chr. 12	2	2	39.5; 54
Chr. 13	6	2	115; 127.5
Chr. 14	2	2	12.5; 82
Chr. 15	2	2	45.5; 64
Chr. 17	4	3	26; 71.5; 87
Chr. 18	6	4	5; 60; 74.5; 95.5
Chr. 19	2	2	71.5; 96.5
Chr. 20	2	2	73.5; 92
合计	62	42	-

法优化后得到置信区间(3.35 cM)与元分析整合得到的 QTL 置信区间相同外, 其余染色体的 QTL 经过 Overview 方法优化后的置信区间均小于元分析整合的置信区间。

表 4 3 种方法均定位到的 QTL 置信区间

染色体	贡献率	物理整合 QTL (置信区间)(cM)	元分析 QTL (置信区间)(cM)	Overview QTL (置信区间)(cM)
Chr. 11	17.82%	28.33~32.51/4.18	29(28.33~32.51)/4.18	29(28.33~30.87)/2.54
Chr. 11	11.17%	32.51~46.39/13.88	35.8(35.46~36.14)/0.68	40(39.96~40.08)/0.12
Chr. 11	10.77%	53.41~57.9/4.49	57.48(55.32~59.64)/4.32	57.5(54.76~57.83)/3.07
Chr. 6	20.00%	107.59	105.05(102.33~107.78)/5.45	102.5(101.75~102.90)/1.15
Chr. 6	13.01%	112.19~113.96/1.77	113.25(112.85~113.66)/0.81	112.5(112.35~112.45)/0.10
Chr. 6	13.46%	82.23~90.93/8.7	90.6(89.31~91.81)/2.50	86.5(85.93~89.31)/3.38
Chr. 18	13.80%	56.18~62.16/5.98	61.58(61.42~61.64)/0.42	60(60.04~60.37)/0.33
Chr. 18	13%	63~76.77/13.77	74.52(73.42~76.77)/3.35	74.5(73.42~76.77)/3.35
Chr. 18	5.60%	87.94~94.84/6.9	95.80(94.84~96.57)/2.73	88.5(87.94~89.97)/2.03
Chr. 13	31.90%	124.88~135.12/10.24	126.8(124.87~130.64)/5.77	127.5(126.45~130.64)/4.19
Chr. 13	35.40%	111.89~124.80/12.99	111.34(105.70~116.98)/11.28	115(114.10~116.91)/2.81
Chr. 7	9.95%	33.47~35.85/2.38	33.5(32.79~34.21)/1.42	33.5(33.47~35.85)/2.38
Chr. 7	10.51%	35.85~50.70/14.85	42.80(41.05~46.55)/5.5	44(41.84~47.12)/5.28
Chr. 7	-	60.47~50.10/9.37	54.80(53.54~56.29)/2.75	55(55.49~56.29)/0.80

2.5 大豆株高 QTL 候选基因分析

利用 Overview 分析鉴定出与大豆株高相关的 QTL 的最小置信区间, 本研究选取定位区间小于 4 cM 且物理整合重复次数超过 5 次的 6 个区间进行基因预测, 分别位于 11 号染色体 28.33 ~ 30.87 cM、39.96 ~ 40.08 cM、54.76 ~ 57.83 cM, 6 号染色体 112.35 ~ 112.45 cM, 18 号染色体 60.04 ~ 60.37 cM、73.42 ~ 76.77 cM, 这些区间分别重复了 5 次、8 次、8 次、10 次、7 次、5 次。利用这些区间的左右侧标记分别在大豆基因组网站上查找这些区间的物理位置, 预测的基因数分别为 20 个、30 个、180 个、15 个、43 个和 52 个(表 5)。

已有的研究表明, 赤霉素(Gibberellins, GAs)和生长素(Auxin)合成与响应的蛋白^[45-48]、促进细胞延伸的因子^[49]与植物的株高密切相关; 同时, 细胞色素 P450 类蛋白和 RNA 合成相关蛋白可以影响赤霉素的合成进而影响植物的株高^[50-53]。通过对大豆株高相关的 QTL 区间内预测基因的功能进行分析, 结合其他植物中相关基因的同源性分析, 鉴定出可能与大豆株高相关的候选基因 17 个(表 6), 这些基因编码的蛋白与其他植物中相关基因的相似性较高, 而且候选基因又位于大豆株高相关 QTL 区间内, 推测这些候选基因可能与大豆株高相关。

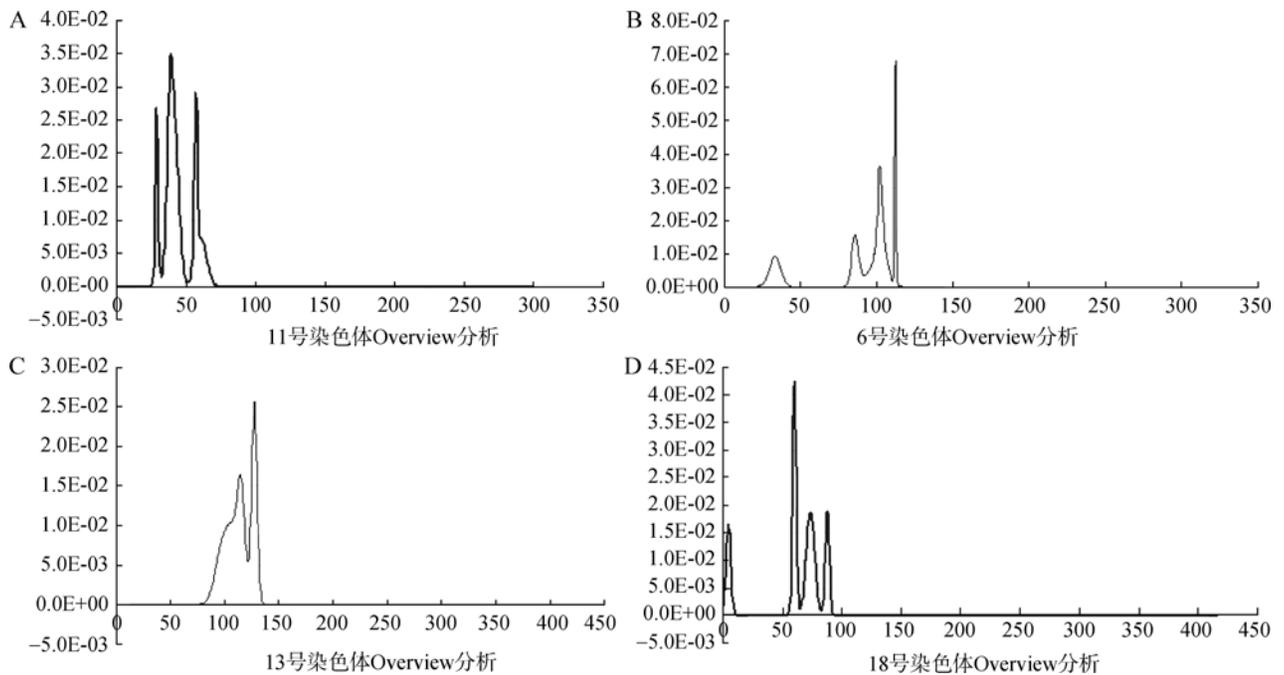


图 2 重演性较好染色体上 QTL 的 Overview 分析

横坐标表示 Overview 优化后的 QTL 的遗传位置, 纵坐标表示染色体上每 1 个 QTL 从 X 到 $X+0.5$ 每 0.5 cM 区域上 QTL 真实位置的可能性。A: 11 号染色体; B: 6 号染色体; C: 13 号染色体; D: 18 号染色体。

表 5 QTL 定位重复性较高区间的物理距离及其候选基因

染色体	置信区间标记	物理距离	基因个数
Chr. 11	Satt426-Sat_411	5673033-5852608/180 kb	20
Chr. 11	Sat_156-Satt251	6623134-6896497/273 kb	30
Chr. 11	Sat_149-Satt519	9972755-13984436/4,012 kb	180
Chr. 6	Satt286-Sat_402	16171954-16367649/196 kb	15
Chr. 18	Sat_260-Sat_233	50722797-51916936/1,194 kb	43
Chr. 18	Sat_143-Satt288	54787008-55407226/620 kb	52

3 讨论

3.1 大豆株高相关 QTL 的 Overview 分析

本研究经物理整合, 发现在 6 号、7 号、11 号、13 号、18 号染色体上的 QTL 重复性次数较多, 并得到元分析方法验证, 鉴定出的“通用”QTL 位点与孙亚男等^[19]、汪霞等^[9]定位到的“通用”QTL 位点接近。需要特别指出的是, 本研究利用 Overview 整合分析在相近位置鉴定出 QTL 位点, 并且置信区间更小。本研究根据 Overview 分析方法整合的 QTL 遗传位置在公共图谱上查找侧翼标记, 除 6 号染色体 80~100 cM 区间的 QTL 侧翼标记的距离稍大于

元分析整合得到的 QTL 置信区间长度外, 其他染色体上的 QTL 侧翼标记区间长度均小于元分析确定的置信区间长度, 因此, Overview 分析比元分析具有缩小置信区间的优点。

3.2 大豆株高相关 QTL 位点的利用与辅助育种

分子标记辅助育种既可应用在质量性状也可应用在数量性状, 它是利用与目的基因紧密连锁分子标记, 对目的性状进行高效的选择。但是必须具备以下几个条件: (1) 绘制高密度的遗传图谱, 标记间的遗传距离不超过 10 cM; (2) 要具备与目标基因紧密连锁的分子标记; (3) 具有高效的标记检测技术。传

表 6 候选基因的名称、功能注释以及选择依据

基因名称	功能注释	参考文献
<i>Glyma11g08070</i>	生长素响应蛋白 Auxin responsive protein	王月华等 ^[45]
<i>Glyma11g14750</i>	GRAS 类转录因子 GRAS family transcription factor	李保珠等 ^[46]
<i>Glyma11g17490</i>	GRAS 类转录因子 GRAS family transcription factor	李保珠等 ^[46]
<i>Glyma18g45220</i>	GRAS 类转录因子 GRAS family transcription factor	李保珠等 ^[46] , 姜树坤等 ^[47]
<i>Glyma11g19820</i>	氧化还原酶类 Aldehyde dehydrogenase family	李保珠等 ^[46]
<i>Glyma11g19840</i>	调控转录因子活性 DP family winged-helix DNA-binding domain	姜树坤等 ^[47]
<i>Glyma11g19990</i>	叶酸衍生物的合成基因 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase family	魏灵珠等 ^[48]
<i>Glyma11g16460</i>	促进细胞延伸的因子 Elongation factor Tu GTP binding domain	吴建明等 ^[49]
<i>Glyma11g15330</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	陶园等 ^[50] , 谈心等 ^[51]
<i>Glyma11g17520</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	谈心等 ^[51]
<i>Glyma11g17530</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	谈心等 ^[51]
<i>Glyma18g45060</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	谈心等 ^[51] , 王伟等 ^[52]
<i>Glyma18g45070</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	谈心等 ^[51] , 王伟等 ^[52]
<i>Glyma18g45490</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	谈心等 ^[51] , 王伟等 ^[52]
<i>Glyma18g45530</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	谈心等 ^[51] , 王伟等 ^[52]
<i>Glyma18g42350</i>	RNA 合成相关 mRNA capping enzyme	黄先忠 ^[53]
<i>Glyma18g44980</i>	RNA 合成相关 RNA-binding protein related	黄先忠 ^[53]

统遗传分析表明, 大豆株高是多基因控制的数量性状, 已定位的大豆株高QTL在不同组合和环境的可重复性较差^[54-56]。Lee等^[54]在PI416937×Young组合F₂群体, 发现了 11 个与大豆株高有关的QTL, 但在多环境下同时检测到的QTL只有两个(Blt043 和 A063a)。Orf等^[56]比较株高QTL在Minsoy×Noir1、Minsoy×Archer和Noir1×Archer这 3 个不同组合后代群体的通用性, 发现株高QTL具有材料特异性。Kabelka等^[27]用BSR101×LG8228379 的群体在 18 号染色体定位到稳定的株高QTL, 与Satt191 相关联。本研究通过整合与分析, 不仅鉴定出了大豆“通用”QTL位点, 且将置信区间缩小到 0.1 cM, 为QTL位点的精细定位以及分子标记辅助选择提供了理论依据。尽管如此, 由于本研究所整合和分析获得的“通用”QTL位点来自于不同的遗传背景, 这些集成的QTL区段并非在所有的背景中都起作用, 还需依据不同遗传背景而定。

3.3 大豆株高相关候选基因的发掘

根据元分析鉴定出 15 个与株高相关的“通用”QTL, 分别位于 6 号、7 号、11 号、13 号和 18 号染色体, 利用基于统计学原理 Overview 方法进行优化、整合和分析得出“通用”QTL 位点, 选取 QTL 图距小于 4 cM 并且物理整合重复次数超过 5 次以上

的区间, 结合大豆基因组信息, 共预测了 340 个候选基因。在其他作物如玉米中, 通过对 81 个抗甘蔗花叶病毒基因/QTL信息的比较, 确定了 3 个“一致性”抗病毒QTL并从中筛选出 4 个抗病候选基因^[57]。通过对玉米大斑病抗性基因*Ht1* 紧密连锁的分子标记umc22 和umc122 定位区域内候选序列分析, 发现其中一个候选序列*gpm565a*可能是*Ht1* 功能域的一部分^[58]。可见利用同源序列分析在定位区间内筛选候选基因的方法是可行的。研究表明, 植物赤霉素是一种高效能的广谱植物生长调节剂, 能够促进植物的生长发育, 与植株株高密切相关^[45-48]。在甘蔗伸长初期, 用赤霉素对其处理, 用cDNA-SCoT发现伸长基因的表达有差异, 可见细胞延伸的因子促进节间的伸长, 从而明显的提高植株高度^[49]。拟南芥*ICE1*基因通过调节控制赤霉素合成来控制植株的生长、从而降低株高^[50]。而细胞色素P450类蛋白对植物和真菌的赤霉素代谢有重要的作用^[51]。通过对其生物合成途径和信号转导过程的研究也发现, 生长素合成与响应蛋白与植物的株高密切相关^[52, 53]。通过对“通用”QTL位点内基因功能注释, 发现有 17 个基因编码赤霉素和生长素合成与响应的蛋白、促进细胞延伸的因子、细胞色素P450类蛋白、RNA合成相关蛋白等, 可能与株高相关。这些候选基因对

大豆株高相关 QTL 的精细定位以及大豆高产、稳产和分子育种研究具有重要意义。

参考文献(References):

- [1] Wilcox JR, Sedyama T. Interrelationships among height, lodging and yield in determinate and indeterminate soybeans. *Euphytica*, 1981, 30(2): 323–326. [DOI](#)
- [2] Wang D, Graef GL, Procopiuk AM, Diers BW. Identification of putative QTL that underlie yield in interspecific soybean backcross populations. *Theor Appl Genet*, 2004, 108(3): 458–467. [DOI](#)
- [3] 络赓彤, 战勇, 刘胜利, 孔新, 王曙明, 孙大敏, 盖钧溢. 新大豆 1 号和石大豆 1 号高产纪录的创造. *大豆科学*, 2001, 20(4): 270–273. [DOI](#)
- [4] 赵团结, 盖钧溢, 李海旺. 超高产大豆育种研究的进展和讨论. *中国农业科学*, 2006, 39(1): 29–37. [DOI](#)
- [5] Apuya NR, Frazier BL, Keim P, Roth EJ, Lark KG. Restriction fragment length polymorphism as genetic marker in soybean. *Theor Appl Genet*, 1988, 75(6): 889–901. [DOI](#)
- [6] Song QJ, Marek LF, Shoemaker RC, Lark KG, Concibido VC, Delannay X, Specht JE, Cregan PB. A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theor Appl Genet*, 2004, 109(1): 122–128. [DOI](#)
- [7] 孙德生, 李文滨, 张忠臣, 陈庆山, 杨庆凯. 大豆株高QTL发育动态分析. *作物学报*, 2006, 32(4): 509–514. [DOI](#)
- [8] 李灿东, 蒋洪蔚, 郭泰, 王志新, 吴秀红, 郑伟, 陈庆山, 胡国华. 大豆耐旱选择群体基因型分析与株高QTL定位. *大豆科学*, 2011, 30(4): 15–19. [DOI](#)
- [9] 汪霞, 徐雨, 李广军, 李河南, 章元明. 大豆株高QTL定位及Mate分析. *南京农业大学学报*, 2011, 34(3): 13–19. [DOI](#)
- [10] Concibido VC, Diers BW, Arelli PR. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. *Crop Sci*, 2004, 44(4): 1121–1131. [DOI](#)
- [11] Glass GV. Primary secondary and meta-analysis of research. *Educ Res*, 1976, 5(10): 3–8. [DOI](#)
- [12] Guo B, Slepner DA, Lu P, Shannon JG, Nguyen HT, Arelli PR. QTLs associated with resistance to soybean cyst nematode in soybean: meta-analysis of QTL locations. *Crop Sci*, 2006, 46(2): 595–602. [DOI](#)
- [13] 吴琼, 齐照明, 刘春燕, 胡国华, 陈庆山. 基于元分析的大豆生育期QTL的整合. *作物学报*, 2009, 35(8): 1418–1424. [DOI](#)
- [14] 宋万坤, 王晶, 朱命喜, 齐照明, 刘春燕, 陈庆山, 胡国华. 大豆脂肪酸组分相关QTL元分析. *大豆科学*, 2009, 28(5): 774–780. [DOI](#)
- [15] 齐照明, 孙亚男, 陈立君, 郭强, 刘春燕, 胡国华, 陈庆山. 基于Meta分析的大豆百粒重的QTLs定位. *中国农业科学*, 2009, 42(11): 3795–3803. [DOI](#)
- [16] 仕相林, 孙亚男, 王家麟, 刘春燕, 陈庆山, 胡国华. 大豆叶片性状QTL的定位及Meta分析. *作物学报*, 2012, 38(2): 256–263. [DOI](#)
- [17] 黄兰兰, 钟开珍, 马启彬, 年海, 杨存义. 基于Meta分析的大豆磷效率相关QTL的整合. *中国油料作物学报*, 2011, 33(1): 25–32. [DOI](#)
- [18] 王晶, 宋万坤, 张闻博, 刘春燕, 胡国华, 陈庆山. 大豆昆虫抗性相关QTLs的元分析. *遗传*, 2009, 31(9): 953–961. [DOI](#)
- [19] 孙亚男, 齐照明, 单大鹏, 刘春燕, 胡国华, 陈庆山. 大豆株高QTL的定位与整合分析. *分子植物育种*, 2010, 8(4): 687–693. [DOI](#)
- [20] Chardon F, Virlon B, Moreau L, Falque M, Joets J, Decousset L, Murigneux A, Charcosset A. Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from quantitative trait loci meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. *Genetics*, 2004, 168(4): 2169–2185. [DOI](#)
- [21] 王毅. 玉米本地化生物信息库的构建和QTL的整合、比较和元分析. 武汉: 华中农业大学, 2006. [DOI](#)
- [22] 史利玉. 玉米抗粗缩病及灰斑病基因的初步定位. 成都: 四川农业大学, 2007. [DOI](#)
- [23] 刘硕, 罗玲, 刘章雄, 关荣霞, 邱丽娟. 大豆蛋白质含量QTL的整合及Qverview分析. *大豆科学*, 2011, 30(1): 1–8. [DOI](#)
- [24] Mansur LM, Lark KG, Kross H, Oliveira A. An Interval mapping of quantitative trait loci for reproductive, morphological, and seed traits of soybean (*Glycine max* L.). *Theor Appl Genet*, 1993, 86(8): 907–913. [DOI](#)
- [25] Chapman A, Pantalone VR, Ustun A, Allen FL, Landau-Ellis D, Trigiano RN, Gresshoff PM. Quantitative trait loci for agronomic and seed quality traits in an F₂ and F_{4:6} soybean population. *Euphytica*, 2003, 129(3): 387–393. [DOI](#)
- [26] Guzman PS, Diers BW, Neece DJ, Martin SKS, Leroy AR, Grau CR, Hughes TJ, Nelson RL. QTL associated with yield in three backcross-derived populations of soybean. *Crop Sci*, 2007, 47(1): 111–122. [DOI](#)
- [27] Kabelka EA, Diers BW, Fehr WR, LeRoy AR, Baianu IC, You T, Neece DJ, Nelson RL. Putative alleles for increased yield from soybean plant introductions. *Crop Sci*, 2004, 44(3): 784–791. [DOI](#)
- [28] Liu BH, Fujita T, Yan ZH, Sakamoto S, Xu DH, Abe J. QTL mapping of domestication-related traits in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Ann Bot*, 2007, 100(5): 1027–1038. [DOI](#)
- [29] Zhang WK, Wang YJ, Luo GZ, Zhang JS, He CY, Wu XL, Gai JY, Chen SY. QTL mapping of ten agronomic traits

- on the soybean (*Glycine max* (L). Merr.) genetic map and their association with EST markers. *Theor Appl Genet*, 2004, 108(6): 1131–1139. [DOI](#)
- [30] Wang HH, Martin SK St, Dorrance AE. Comparison of phenotypic methods and yield contributions of Quantitative Trait Loci for partial resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. *Crop Sci*, 2012, 52(2): 609–622. [DOI](#)
- [31] Liu WX, Kim MY, Van K, Lee YH, Li HL, Liu XH, Lee SH. QTL identification of yield-related traits and their association with flowering and maturity in soybean. *Crop Sci*, 2011, 14(1): 65–70. [DOI](#)
- [32] 关荣霞. 大豆重要农艺性状的QTL定位及中国大豆与日本大豆的遗传多样性分析. 北京: 中国农业科学院, 2004. [DOI](#)
- [33] 王珍. 大豆SSR遗传图谱构建及重要农艺性状QTL分析. 南宁: 广西大学, 2004. [DOI](#)
- [34] 吴晓雷, 王永军, 贺超英. 大豆重要农艺性状的QTL分析. *遗传学报*, 2001, 28(10): 947–955. [DOI](#)
- [35] 杨喆, 关荣霞, 王跃强, 刘章雄, 常汝镇, 王曙明, 邱丽娟. 大豆遗传图谱的构建和若干农艺性状的QTL定位分析. *植物遗传资源学报*, 2004, 5(4): 309–314. [DOI](#)
- [36] 朱晓丽. 大豆遗传图谱构建及在两个群体重要农艺性状的QTL定位. 哈尔滨: 东北农业大学, 2006. [DOI](#)
- [37] 周蓉, 陈海峰, 王贤智, 张晓娟, 单志慧, 吴学军, 蔡淑平, 邱德珍, 周新安, 吴江生. 大豆产量和产量构成因子及倒伏性的QTL分析. *作物学报*, 2009, 35(5): 821–830. [DOI](#)
- [38] 王贤智. 大豆产量相关性状的遗传与稳定分析及QTL定位研究. 北京: 中国农业科学院, 2008. [DOI](#)
- [39] 王贤智, 张晓娟, 周蓉, 沙爱华, 吴学军, 蔡淑平, 邱德珍, 周新安. 大豆重组自交系群体荚粒性状的QTL分析. *作物学报*, 2007, 33(3): 441–448. [DOI](#)
- [40] 周蓉. 大豆抗倒伏性评价体系的建立及主要农艺性状QTL定位. 武汉: 华中农业大学, 2009. [DOI](#)
- [41] 周蓉, 王贤智, 陈海峰, 张晓娟, 单志慧, 吴学军, 蔡淑平, 邱德珍, 周新安, 吴江生. 大豆倒伏性及其相关性状的QTL分析. *作物学报*, 2009, 35(1): 57–65. [DOI](#)
- [42] 宋显军. 基于SSR标记的大豆遗传图谱构建与重要农艺性状QTL定位. 沈阳: 沈阳农业大学, 2007. [DOI](#)
- [43] Chen QS, Zhang ZC, Liu CY, Xin DW, Qiu HM, Shan DP, Shan CY, Hu GH. QTL analysis of major agronomic traits in soybean. *Agric Sci China*, 2007, 6(4): 399–405. [DOI](#)
- [44] 陈庆山, 张忠臣, 刘春燕, 王伟权, 李文滨. 应用Charleston×东农 594 重组自交系群体构建SSR大豆遗传图谱. *中国农业科学*, 2005, 38(7): 1312–1316. [DOI](#)
- [45] 王月华, 韩烈保, 曾会明, 尹淑霞, 秦利军. 植物赤霉素矮化突变体研究进展. *中国生物工程杂志*, 2006, 26(8): 22–27. [DOI](#)
- [46] 李保珠, 赵翔, 安国勇. 赤霉素的研究进展. *中国农学通报*, 2011, 27(1): 1–5. [DOI](#)
- [47] 姜树坤, 黄成, 徐正进, 陈温福. 粳稻株高QTL与赤霉素和油菜素内酯合成及信号转导基因相关分析. *中国农业科学*, 2010, 43(14): 2829–2838. [DOI](#)
- [48] 魏灵珠, 程建微, 李琳, 吴江. 赤霉素生物合成与信号传递对植物株高的调控. *生物工程学报*, 2012, 28(2): 144–153. [DOI](#)
- [49] 吴建明, 李杨瑞, 王爱勤, 杨柳, 杨丽涛. 赤霉素诱导甘蔗节间伸长基因的cDNA-SCoT差异表达分析. *作物学报*, 2010, 36(11): 1883–1890. [DOI](#)
- [50] 陶园. 拟南芥*ICE1*通过调节赤霉素合成调控植物生长发育. 山东: 山东农业大学, 2009. [DOI](#)
- [51] 谈心, 马欣荣. 赤霉素生物合成途径及其相关研究进展. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(4): 571–577. [DOI](#)
- [52] 王伟, 朱平, 程克棣. 植物赤霉素生物合成和信号传导的分子生物学. *植物学通报*, 2002, 19(2): 137–149, 155. [DOI](#)
- [53] 黄先忠, 蒋才富, 廖立力, 傅向东. 赤霉素作用机理的分子基础与调控模式研究进展. *植物学通报*, 2006, 23(5): 499–510. [DOI](#)
- [54] Lee SH, Bailey MA, Mian MAR, Carter TE, Shipe ER, Ashley DA, Parrott WA, Hussey RS, Boerma HR. RFLP loci associated with soybean seed protein and oil content across populations and locations. *Theor Appl Genet*, 1996, 93(5-6): 649–657. [DOI](#)
- [55] Mian MAR, Bailey MA, Tamulonis JP, Shipe ER, Carter TE, Parrott WA, Ashley DA, Hussey RS, Boerma HR. Molecular markers associated with seed weight in two soybean populations. *Theor Appl Genet*, 1996, 93(7): 1011–1016. [DOI](#)
- [56] Orf JH, Chase K, Jarvik T, Mansur LM, Cregan PB, Adler FR, Lark KG. Genetics of soybean agronomic traits: I. Comparison of three related recombinant inbred populations. *Crop Sci*, 1999, 39(6): 1642–1651. [DOI](#)
- [57] 吕香玲, 李新海, 谢传晓, 郝转芳, 吉海莲, 史利玉, 张世煌. 玉米抗甘蔗花叶病毒基因的比较定位. *遗传*, 2008, 30(1): 101–108. [DOI](#)
- [58] 鄂洋, 林凤, 张春宇, 崔娜, 许玉凤. 玉米大斑病抗性基因*Ht1* 定位区域内候选序列的生物信息学分析. *遗传*, 2009, 31(6): 638–644. [DOI](#)