

两种施氮条件下大豆农艺性状QTL分析

苏代群¹, 庄振涛¹, 景琦², 刘春青², 孙中华¹, 张时轶¹

¹黑龙江省种业技术服务中心, 黑龙江 哈尔滨

²全国农业技术推广服务中心, 北京

Email: sudaiqun@163.com

收稿日期: 2021年8月25日; 录用日期: 2021年9月20日; 发布日期: 2021年9月27日

摘要

大豆是全球范围内食用蛋白和食用油脂的主要来源。大豆的产量及形态等性状多属于数量性状, 不但受微效多基因控制, 还受环境影响。本研究利用杂交组合“东农L13 × 黑河36”、“东农L13 × 合农60”衍生的两个重组自交系群体RIL3613和RIL6013为材料, 在哈尔滨、阿城和双城3个地点进行正常施用氮肥和不施用氮肥两种条件种植, 对大豆形态、产量等性状进行加性和上位性QTL定位, 并对各性状进行氮肥响应QTL定位和候选基因预测, 旨在剖析不同氮肥水平下大豆农艺性状的遗传基础, 发掘相关基因位点, 在RIL3613和RIL6013群体中共检出9个株高加性QTL、6个主茎节数加性QTL、3个单株荚数加性QTL、5个单株粒数加性QTL、3个百粒重加性QTL、4个单株粒重加性QTL, 单个加性QTL可解释2.04%~8.64%、1.13%~8.25%、5.97%~12.72%、0.02%~11.72%、1.34%~10.78%、5.51%~8.99%的表型变异。利用SoyBase在线程序获得的标记信息, 在4个一致QTL区间中, 利用GO和KEGG数据库对1215个候选基因进行了筛选和注释。KEGG通路中, Ko04075参与植物激素信号转导途径, 包括赤霉素、生长素、脱落酸等激素, 在调节茎生长、植物生长和种子发育方面起着重要作用。

关键词

大豆, 农艺性状, QTL分析

QTL Analysis of Agronomic Traits in Soybean under Two Nitrogen Application Conditions

Daiqun Su¹, Zhentao Zhuang¹, Qi Jing², Chunqing Liu², Zhonghua Sun¹, Shiyi Zhang¹

¹Heilongjiang Seed Technology Service Center, Harbin Heilongjiang

²National Agro-Tech Extension and Service Center, Beijing

Email: sudaiqun@163.com

Received: Aug. 25th, 2021; accepted: Sep. 20th, 2021; published: Sep. 27th, 2021

文章引用: 苏代群, 庄振涛, 景琦, 刘春青, 孙中华, 张时轶. 两种施氮条件下大豆农艺性状 QTL 分析[J]. 农业科学, 2021, 11(9): 864-876. DOI: 10.12677/hjas.2021.119116

Abstract

Soybean is the main source of edible protein and edible oil worldwide. The yield and morphological traits of soybean are mostly quantitative traits, which are not only controlled by micro-effect genes, but also affected by environment. In this study, two recombinant inbred lines (RIL3613 and RIL6013) derived from hybrid combinations “Dongnong L13 × Heihe 36” and “Dongnong L13 × Henong 60” were used, with two treatments of normal application of nitrogen fertilizer and no application of nitrogen fertilizer at three locations in Harbin, Acheng and Shuangcheng. Additive and epistatic QTLs were mapped for soybean morphological and yield traits, and QTLs for nitrogen response of each trait were mapped and candidate genes were predicted, aiming to analyze the genetic basis of agronomic traits of soybean under different nitrogen fertilizer levels and discover related gene loci. A total of 9 QTLs for plant height, 6 QTLs for main stem node number, 3 QTLs for pod number per plant, 5 QTLs for grain number per plant, 3 QTLs for 100 grain weight and 4 QTLs for grain weight per plant were detected in RIL3613 and RIL6013 populations. A single additive QTL could explain 2.04%~8.64%, 1.13%~8.25%, 5.97%~12.72%, 0.02%~11.72%, 1.34%~10.78%, and 5.51%~8.99% of phenotypic variation. Using the tagged information obtained by SoyBase online program, 1215 candidate genes were screened and annotated in four consistent QTL intervals using GO and KEGG databases. In the KEGG pathway, Ko04075 is involved in plant hormone signal transduction pathways, including gibberellins, auxin, abiotic acid and other hormones, and plays an important role in regulating stem growth, plant growth and seed development.

Keywords

Soybean, Agronomic Traits, QTL Analysis

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

大豆中控制表型性状的基因数量较多但遗传贡献率较小,而且极易受到外界环境的影响,不容易稳定遗传和表现,为此许多育种和栽培科研工作者进行了大量的研究,努力改善大豆农艺相关性状。大豆的产量由多个产量构成因子共同决定的,是一个复杂的综合性状,各产量相关性状共同决定了大豆产量,不同性状间既相互制约,又相互促进,共同决定了大豆产量形成。大豆产量相关性状包括株高、主茎节数、单株荚数、单株粒数、每荚粒数、百粒重等因子,关于这些性状的 QTL 分析研究逐年增多。

大豆株高是重要的农艺性状,与大豆品种倒伏密切相关,对大豆产量具有一定的影响。近年来,学者对大豆株高性状进行了大量的 QTL 分析及研究报道,目前已经获得的 QTL 180 个以上,主要分布于大豆 17 条染色体上,可在网站(<https://www.soybase.org/>)查询。

在主茎节数 QTL 定位研究方面相对较少。到目前为止的研究报道,共定位到 25 个主茎节数 QTL (<https://www.soybase.org/>),主要分布在 B1、B2、C2、F、A1、D1a、D1b、D2 等连锁群上。

关于大豆荚粒数性状 QTL 定位的研究报道逐年增加,归因于近年来分子标记及分子辅助选择育种技术的快速发展。2009 年黄中文等获得了 1 个单株荚数、3 个主茎荚数和 5 个分枝荚数 QTL,利用群体为 RIL 群体,亲本“科丰 1 号 × 南农 1138-2 RIL”,共含有 184 个个体,位点分散在 B1、G、O、A2、A2、L 和

O 染色体上[1]。2013 年, Yang 等[2]构建的 RILs 群体含有 147 个个体为 $F_{2:14-19}$, 亲本为“Charleston”以及“Dong Nong 594”, 获得了控制大豆荚粒数性状的 QTL 11 个, 其中一粒豆荚数 QTL 1 个, 二粒豆荚数 QTL 1 个, 三粒豆荚数 QTL 2 个, 四粒豆荚数 QTL 6 个, 控制单株豆荚数 QTL 1 个。2014 年, Hu 等[3]针对 5 个产量相关性状对 113 个野生大豆品种进行表型分析, 并利用 85 个简单序列重复(SSR)标记进行基因分型以及 GWAS 关联分析, 定位到 6 个控制大豆单株荚数性状的 QTL。2017 年, Fang 等[4]利用 809 个大豆种质资源, 在 3 个地点环境下, 对 84 个大豆农艺性状进行了 2 年的表型分析, 基于全基因组关联分析方法, 共检测确定了与重要农艺性状有关的 245 个 QTL, 其中检测到 12 个与荚数性状相关的 QTL。

随着基因组测序技术的不断发展, 基于全基因组关联分析(GWAS)进行 QTL 分析及基因定位的研究报道逐渐增多。其中利用 GWAS 关联分析对大豆百粒重进行 QTL 分析方面也陆续取得一些进展[5] [6] [7]。2016 年, Zhang 等[8]利用 309 份大豆种质资源, 采用 GWAS 分析方法, 检测到 22 个大豆百粒重 QTL, 其中含有 2 个热点区域。在 Chr04 和 Chr19 连锁群上的 4 个候选基因分别参与了植物发育激素、细胞分裂素和籽粒发育的信号传导途径。2017 年, Yan 等[9]使用 SoySNP50KBeadChip 对超过 42000 个 SNP 标记进行基因型分型, 采用 MLM 的分析方法进行 GWAS 分析, 结果有 8 个 SNP 与 HSW 显著相关, 分别位于 Chr4 和 Chr17 染色体上, 显著标记可以解释的变异(R²)范围为 6.9%~13.2%。

本研究以前期创建的大豆重组自交系群体(RILs)为试验材料, 在不同氮肥水平下, 对大豆形态、产量等农艺性状进行了 QTL 定位及候选基因挖掘研究, 为进一步开展不同氮肥水平下大豆产量形成的分子网络调控机制以及分子标记辅助选择奠定了理论基础和技术支撑。

2. 材料与方法

2.1. 遗传群体

2005 年利用主要农艺性状差异较大的 3 个品种东农 L13、黑河 36 和合农 60 (见表 1), 这 3 个品种在株高、主茎节数、单株根重、倒伏级别等农艺性状方面差异较大, 利用东农 L13、黑河 36 和合农 60 配置 2 个杂交组合, 分别为“东农 L13 × 黑河 36”和“东农 L13 × 合农 60”, F_2 至 F_6 在哈尔滨(E128°, N45°)与海南崖城交叉种植, 每个世代采用单粒传方法处理, 在 $F_{2:6}$ 将单株种成株行, 在 $F_{2:7}$ 剔除混杂株行, 形成两个重组自交系群体, 各包含 134 个和 156 个株系, 分别简称 RIL3613 和 RIL6013。

Table 1. Agronomic traits of three parents in RIL3613 and RIL6013

表 1. RIL3613 和 RIL6013 三个亲本的农艺性状

亲本	株高(PH)	主茎节数(NN)	单株荚数(PNPP)	单株粒数(SNPP)	百粒重(HSW)	单株粒重(SWPP)
东农 L13	122.89	19.00	39.89	102.22	21.32	21.77
黑河 36	111.44	15.56	43.11	116.89	21.32	21.43
合农 60	63.89	12.00	34.89	82.67	18.21	15.05

2.2. 田间试验设计

田间试验于 2016 年在阿城(E1)、双城(E2)和哈尔滨(E3)三个地点同时进行, 将东农 L13、黑河 36 和合农 60 等 3 个亲本和 2 个 RIL (RIL3613 和 RIL6013)群体在田间种植。田间试验采取裂区设计, 主处理施氮肥处理, 副处理为 RIL 群体。氮肥施用包含两个水平, 一个为正常施氮肥(N_+ , 75 Kg N/ha、150 Kg P_2O_5 /ha、75 Kg K_2O /ha), 一个为不施氮肥(N_- , 150 Kg P_2O_5 /ha、75 Kg K_2O /ha)。种植规格为三行区, 3 m 行长, 0.7 m 行距, 0.07 m 株间距, 两次重复。田间管理同一般大田栽培。

2.3. 性状调查

每个株行随机选取除边株之外的 5 株,收获后调查每株的株高(PH)、主茎节数(NN)、单株荚数(PNPP)、单株粒数(SNPP)、百粒重(HSW)和单株粒重(SWPP),取 5 株平均值作为各性状的表型数据。

2.4. 遗传图谱的构建

从 2005 年的大豆公共图谱上初步挑选了 838 对 SSR 引物,大豆公共图谱可在网站上查询(<http://www.soybase.org>),利用筛选得到的 838 对 SSR 引物在 RIL3613 和 RIL6013 两个群体各自的亲本间进行多态性筛选,最终在 RIL3613 群体中筛选出 156 对表现好的多态性引物,在 RIL6013 群体中筛选出 137 对表现好的多态性引物。应用大豆 SSR 序列合成引物,这些 SSR 序列是由 Soybase 网站提供的,然后利用筛选出来的 293 对表现良好的多态性引物对亲本及 RIL3613 和 RIL6013 的 290 个后代株系进行 PCR 扩增。

应用 IciMapping 4.0 软件(<http://www.isbreeding.net/software/>)构建大豆的遗传连锁图谱,首先进行 PCR 产物电泳(使用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶),其次记录 SSR 带型(亲本和后代株系的 SSR 带型),再次录入带型数据,最后根据两个群体 SSR 标记的基因型构建出大豆的遗传连锁图谱。构建的 RIL3613 群体的遗传图谱含有 156 对 SSR 引物,包含 20 个连锁群,该图谱覆盖基因组的遗传距离为 2848.56 cM,单个连锁群的遗传距离范围为 1.15~283.42 cM,标记间的平均遗传距离为 18.99 cM,标记数的范围为 2~13 个;RIL6013 群体的遗传图谱也包含 20 个连锁群且含有 137 对 SSR 引物,该图谱覆盖基因组遗传距离为 1886.8 cM,单个连锁群遗传距离范围为 19.68~163.67 cM,标记间平均遗传距离为 13.77 cM,标记个数范围为 4~11 个[10]。

2.5. 数据统计分析

2.5.1. 表型数据的变异分析

应用 Excel2010 软件对每个环境下各氮肥处理不同性状的平均数进行描述性分析,分析平均数、标准差、偏度、峰度、最小值和最大值。

对每个环境下各性状平均数进行方差分析,包括氮肥间、基因型效应和基因型 × 氮肥间互作效应的方差分析,同时估计了方差分量,并通过下面这个公式进一步估计了遗传率。

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_{GN}^2/n + \sigma^2/(m)}$$

其中 h^2 为遗传率, σ_g^2 为遗传方差, σ_{GN}^2 为基因型 × 氮肥间互作方差, σ^2 为误差方差, g 是家系数, d 是氮肥水平数。

在每个环境下分析各氮肥各性状间相关系数。

方差分析及 σ_g^2 、 σ_{GN}^2 、 σ^2 的估计通过 SAS V9.2 软件的 PROC Mixed 过程实现。

2.5.2. 氮肥响应

为探索大豆各性状对氮肥变化的响应,针对三个地点的不同氮肥试验数据进行氮肥响应 QTL 分析。氮肥响应(Response to Nitrogen, RN)应用 Zhu 等[11]的条件变量方法分析,即是施氮肥的性状表型扣除不施氮肥遗传背景后获得的条件变量。具体计算方法如下:

$$RN = T_2 - C_{(1,2)} \cdot (T_1 - \bar{T}_1) / V_1$$

其中 T_2 为施氮肥的性状, $C_{(1,2)}$ 为两种氮肥水平下的性状协方差, T_1 为不施氮肥下的性状, \bar{T}_1 为不施氮肥的性状平均值, V_1 为不施氮肥的性状方差。除去基因型遗传背景后的密度效应就是氮肥响应。

2.5.3. QTL 作图分析

应用 IciMapping 4.0 软件的完备区间作图法(ICIM-ADD)对各施氮肥水平下的表型数据进行加性 QTL 定位, LOD 阈值设置为 2.5; 应用完备区间作图法(ICIM-EPI)进行上位性 QTL 定位, LOD 阈值设置为 5。对于达到显著水平的上位效应 QTL 和氮肥响应 QTL, 要求能够解释表型变异 2% 以上, 才认为是有效的 QTL。

按照 q + “性状” + “染色体名称” + “顺序号”的方法命名 QTL。用 q 代表 QTL, PH 代表株高, NN 代表主茎节数, PNPP 代表单株荚数, SNPP 代表单株粒数, HSW 代表百粒重, SWPP 代表单株粒重。

对于各性状的加性效应 QTL, 直接用数字编号。对于上位性 QTL, 应用“e + 数字”编号。对于氮肥响应 QTL, 应用“r + 数字”编号, 在同一染色体上按照数字编号, 在同一标记区间按照同一个顺序号编号。对于 RIL3613 和 RIL6013 两个群体进行统一编号。

3. 结果与分析

3.1. 表型变异分析

3.1.1. 方差与遗传率

从表 2, 表 3 可以看出, 两个重组自交系群体的株高、主茎节数、单株荚数、单株粒数、百粒重、单株粒重等 6 个性状, 在两个地点下氮肥施用量、基因型 × 氮肥互作效应、基因型效应都达到显著水平, 说明这 6 个性状在基因型之间存在极显著差异, 应用这两个群体进行遗传分析是可行的。基因型与氮肥施用量之间互作效应显著, 说明各农艺性状对于氮肥变化的响应在基因型之间存在显著差异。对于遗传率而言, 在单个环境条件下, 两个群体间同一性状在不同密度下, 其遗传率差异非常大, 说明两个群体各性状对于施肥量响应的遗传基础是不同的, 因此通过两个群体育种性状的氮肥响应遗传分析, 可以增加基因检测能力。各性状在不同地点之间, 其遗传率也有较大差异, 说明地点间基因型效应大小是不同的, 基因型与氮肥的互作效应也是变化的。

Table 2. Analysis of variance and heritability of agronomic traits among different nitrogen fertilizers under different environmental conditions

表 2. 不同环境条件下不同氮肥间农艺性状的方差分析及遗传力

性状 Traits ^A	环境 Location ^B	RIL3613						RIL6013							
		F value ^C						F value ^C							
		N		GN		G		N		GN		G		h^2 ^D	
PH	E1	134.76	**	13.12	**	28.18	**	0.62	0.89	12.09	**	95.73	**		0.91
	E2	240.45	**	7.05	**	29.08	**	0.82	829.90	**	19.41	**	83.78	**	0.83
	E3	26.43	**	11.38	**	33.66	**	0.75	8.87	*	9.63	**	84.04	**	0.92
NN	E1	0.01		21.59	**	19.77	**	0.00	1.67	12.28	**	28.32	**	0.38	
	E2	6.88	*	7.65	**	11.42	**	0.39	85.78	**	11.66	**	20.03	**	0.52
	E3	4.93	*	13.14	**	19.28	**	0.43	0.01	14.28	**	34.27	**	0.43	
PNPP	E1	158.75	**	12.85	**	10.95	**	0.00	36.98	**	12.58	**	18.78	**	0.44
	E2	481.71	**	16.51	**	17.32	**	0.07	16.01	**	11.7	**	13.02	**	0.11
	E3	13.55	*	11.54	**	13.87	**	0.26	35.99	**	10.89	**	16.5	**	0.45
SNPP	E1	146.79	**	14.43	**	11.21	**	0.00	81.94	**	11.37	**	20.85	**	0.56
	E2	513.05	**	18.09	**	21.81	**	0.24	29.10	**	10.27	**	14.8	**	0.39
	E3	1.72		7.63	**	12.17	**	0.48	86.32	**	11.61	**	19.71	**	0.51

Continued

HSW	E1	96.04	**	9.03	**	29.12	**	0.77	266	**	16.92	**	33.9	**	0.61
	E2	311.62	**	10.64	**	25.45	**	0.67	36.71	**	8.5	**	24.38	**	0.74
	E3	6.75	*	10.55	**	23.3	**	0.64	238.10	*	15.6	**	31.3	**	0.61
SWPP	E1	236.85	**	12.4	**	9.88	**	0.00	3.02		15.2	**	18.4	**	0.31
	E2	273.67	**	18.11	**	18.44	**	0.08	16.12	**	12.56	**	14.37	**	0.15

A) PH: 株高 plant height; NN: 主茎节数 number of nods; PNPP: 单株荚数 pod number per plant; SNPP: 单株粒数 seed number per plant; HSW: 百粒重 hundred seed weight; SWPP: 单株粒重 seed weight per plant;

B) E1: 阿城; E2: 双城; E3: 哈尔滨;

C) N = 氮肥利用效应(Nitrogen utilization effects); G = 基因型效应(Genotype effects); GN = 氮肥 × 基因互作效应(Nitrogen × Genotype interaction effect);

D) 广义遗传率 Broad-sense heritability.

Table 3. Joint analysis of variance of Nitrogen, Genotype and Nitrogen × Genotype interaction effects for eight agronomic traits in two RILs

表 3. 两个群体 6 个农艺性状的氮肥、基因型和基因型 × 氮肥互作效应的 3 个环境联合方差分析

Source ^A	株高 PH		主茎节数 NN		单株荚数 PNPP		单株粒数 SNPP		百粒重 HSW		单株粒重 SWPP	
	F	Pr > F	F	Pr > F	F	Pr > F	F	Pr > F	F	Pr > F	F	Pr > F
RIL3613												
地点 L	401.3	<0.0001	78.96	<0.0001	40.53	<0.0001	18.87	<0.0001	286.52	<0.0001	40.39	<0.0001
氮肥 N	106.82	<0.0001	0.02	0.8923	138.43	<0.0001	122.03	<0.0001	8.22	0.0042	83.04	<0.0001
基因型 G	19.56	<0.0001	6.10	<0.0001	3.99	<0.0001	5.16	<0.0001	14.95	<0.0001	3.53	<0.0001
G × N	2.9	<0.0001	2.92	<0.0001	3.13	<0.0001	2.65	<0.0001	2.53	<0.0001	2.68	<0.0001
RIL6013												
地点 L	76.01	<0.0001	360.31	<0.0001	531.96	<0.0001	522.36	<0.0001	158.68	<0.0001	245.02	<0.0001
氮肥 N	112.66	<0.0001	13.29	0.0003	28.77	<0.0001	58.35	<0.0001	54.31	<0.0001	0.39	0.5321
基因型 G	67.18	<0.0001	20.48	<0.0001	11.19	<0.0001	12.31	<0.0001	22.03	<0.0001	10.2	<0.0001
G × N	5.37	<0.0001	7.41	<0.0001	6.41	<0.0001	5.13	<0.0001	7.43	<0.0001	6.88	<0.0001

A) 地点 L = Location effects; 氮肥 N = Nitrogen utilization effects; 基因型 G = Genotype effects; 基因型 × 氮肥 G × N = Nitrogen × Genotype interaction effect;

B) PH: 株高 plant height; NN: 主茎节数 number of nods; PNPP: 单株荚数 pod number per plant; SNPP: 单株粒数 seed number per plant; HSW: 百粒重 hundred seed weight; SWPP: 单株粒重 seed weight per plant.

3.1.2. 表型分离与次数分布

RIL3613 和 RIL6013 两个群体的株高、主茎节数、单株荚数、单株粒数、百粒重、单株粒重等 6 个性状，在阿城、双城、哈尔滨等三个环境下的描述性分析列于表 4~7。由表中变异范围可以得出，各亲本的表型性状值均落在后代群体的变异范围之内，说明各性状均存在超亲遗传。在氮肥施用和不施用情况下，各性状的平均数和标准差均有明显差异，说明氮肥影响每个群体各性状的表现。在 6 个性状中，单株荚数的标准差最大，其次是株高的标准差，排在第 3 位的是主茎节数标准差，说明这 3 个性状变异程度高于其他 5 个性状。

对于 RIL6013 群体，株高在双城施氮肥环境下表现为正态分布，在其他环境下均表现为偏差分布，并且偏向于高秆亲本。主茎节数除在双城施氮肥环境下表现为单峰分布外，在其他环境下均表现为单峰正态分布。单株荚数在各环境下均表现为正态分布。单株粒数除在双城施氮肥环境下表现为偏态分布外，在其他环境下表现为正态分布。百粒重在各环境下表现为近似正态分布。单株粒重除在哈尔滨施氮肥环境下表现为偏态分布外，在其他环境下均表现为近似正态分布，并且偏向于高值亲本。

Table 4. Description analysis of plant height, number of nods, pod number per plant and seed number per plant of RIL3613 population under three environmental conditions**表 4.** RIL3613 群体在三个环境条件下的株高、主茎节数、单株荚数、单株粒数的描述分析

性状 Traits ^A	环境 Location ^B	亲本 Parents ^C				RIL3613 群体							
		正常施氮 N ₊		不施氮 N ₋		正常施氮 N ₊				不施氮 N ₋			
		东农 L13	黑河 36	东农 L13	合农 60	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum
PH	AC	122	115	126	110.5	114.01	16.1	63.8	196.27	109.33	16.08	48.5	150.37
	SC	124.67	104.33	142.00	118.00	127.95	16.62	81.05	195.42	121.22	12.77	73.28	160
	HRB	122	115	126	110.5	125.98	15.06	88.18	164.24	124.3	16.62	43.5	164.92
NN	AC	17.00	16.00	20.50	13.50	14.38	2.49	7.45	23.22	14.39	2.74	8.33	25.08
	SC	13.33	14.67	13.00	14.00	14.57	1.93	6.37	19.55	14.41	1.78	8.7	19.69
	HRB	17.00	16.00	20.50	13.50	15.48	2.24	6.8	21.74	15.66	2.48	9.73	23.57
PNPP	AC	38.50	44.50	75.50	37.00	38.05	10.76	8.7	73.93	43.01	12.76	5.44	89.38
	SC	42.67	40.33	37.67	36.00	38.15	10.31	7.67	66.00	46.85	16.27	17.14	106
	HRB	38.50	44.50	75.50	37.00	44.8	10.32	11.24	95.09	46.2	13.21	10.8	97.11
SNPP	AC	99.50	117.50	211.50	96.00	104.19	33.95	23.44	222.47	118.44	39.29	36.94	278.08
	SC	107.67	115.67	88.67	101.00	95.81	32.77	1.08	207.21	123.96	57.41	25.75	386.15
	HRB	99.50	117.50	211.50	96.00	118.85	29.48	35.37	253.32	120.71	38.85	20.48	260.5

A) PH: 株高 plant height; NN: 主茎节数 number of nods; PNPP: 单株荚数 pod number per plant; SNPP: 单株粒数 seed number per plant; HSW: 百粒重 hundred seed weight; SWPP: 单株粒重 seed weight per plant;

B) AC: 阿城 Acheng; SC: 双城 Shuangcheng; HRB: 哈尔滨 Harbin;

C) DNL13 东农 L13; HH36 黑河 36 Heihe36; HN60 合农 60 Henong60。

Table 5. Description analysis of hundred seed weight, seed weight per plant, protein content and oil content of RIL3613 population under three environmental conditions**表 5.** RIL3613 群体在三个环境条件下的百粒重、单株粒重的描述分析

性状 Traits ^A	环境 Location ^B	亲本 Parents ^C				RIL3613 群体							
		正常施氮 N ₊		不施氮 N ₋		正常施氮 N ₊				不施氮 N ₋			
		东农 L13	黑河 36	东农 L13	合农 60	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum
HSW	AC	21.80	21.80	17.96	17.32	17.33	2.64	10.68	23.94	18.22	2.75	10.76	25.02
	SC	20.36	20.36			20.71	2.51	13.6	28.37	19.52	2.4	12.5	26.06
	HRB	21.80	21.80	17.96	17.32	19.11	2.52	8.44	26.61	18.89	2.36	12.52	25.16
SWPP	AC	21.69	21.70	37.99	16.63	17.44	5.74	0.44	41.51	21.29	7.67	3.72	58.06
	SC	21.92	20.90			19.69	6.32	4.23	37.74	24.24	10.76	4.28	78.14
	HRB	21.69	21.70	37.99	16.63	22.55	6.08	6.99	41.54	22.61	8.22	2.92	57.97

A) PH: 株高 plant height; NN: 主茎节数 number of nods; PNPP: 单株荚数 pod number per plant; SNPP: 单株粒数 seed number per plant; HSW: 百粒重 hundred seed weight; SWPP: 单株粒重 seed weight per plant;

B) AC: 阿城 Acheng; SC: 双城 Shuangcheng; HRB: 哈尔滨 Harbin;

C) DNL13 东农 L13; HH36 黑河 36 Heihe36; HN60 合农 60 Henong60。

Table 6. Description analysis of plant height, number of nodes, pod number per plant and grain number per plant of RIL6013 population under three environmental conditions**表 6.** RIL6013 群体在三个环境条件下的株高、主茎节数、单株荚数、单株粒数的描述分析

性状 Traits ^A	环境 Location ^B	亲本 Parents ^C				RIL6013 群体							
		正常施氮 N ₊		不施氮 N ₋		正常施氮 N ₊				不施氮 N ₋			
		东农 L13	黑河 36	东农 L13	合农 60	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum
PH	AC	101.00	128.50	97.00	137.50	122.8	19.36	59.1	164.7	121.35	20.61	38.3	155.7
	SC	117.50	144.67	105.67	139.67	130.4	18.61	54.1	171.6	121.92	19.95	12.23	158.3
	HRB	101.00	128.50	97.00	137.50	123	18.89	60.9	153.8	120.88	20.7	40.5	156.1
NN	AC	14.50	11.50	12.50	13.00	15.51	2.26	8.5	21.95	15.43	2.19	4.18	21.35
	SC	10.50	13.00	11.67	15.00	14.21	2.00	6.76	19.43	13.74	1.93	6.34	19.05
	HRB	14.50	11.50	12.50	13.00	15.5	2.40	6.62	22.49	15.49	2.19	5.39	20.79
PNPP	AC	54.50	32.50	40.50	41.50	48.2	10.57	17.6	93.14	46.63	9.93	15.46	83.01
	SC	23.50	39.67	42.00	47.67	37.88	10.22	8.48	85.5	36.94	8.5	12.36	65.6
	HRB	54.50	32.50	40.50	41.50	48.02	10.99	21	92.11	46.31	9.87	13.44	74.57
SNPP	AC	132.50	78.00	99.00	95.50	117.9	28.67	52.2	230.2	111.92	25.7	47.34	206.8
	SC	56.00	92.00	111.00	117.00	91.44	27.08	6.43	231.5	87.66	21.98	21.82	171
	HRB	132.50	78.00	99.00	95.50	118.6	28.85	55.8	254.1	112.29	27.18	50.33	228.8

A) PH: 株高 plant height; NN: 主茎节数 number of nodes; PNPP: 单株荚数 pod number per plant; SNPP: 单株粒数 seed number per plant; HSW: 百粒重 hundred seed weight; SWPP: 单株粒重 seed weight per plant;

B) AC: 阿城 Acheng; SC: 双城 Shuangcheng; HRB: 哈尔滨 Harbin;

C) DNL13 东农 L13; HH36 黑河 36 Heihe36; HN60 合农 60 Henong60。

Table 7. Description analysis of hundred seed weight, seed weight per plant, protein content and oil content of RIL3613 population under three environmental conditions**表 7.** RIL3613 群体在三个环境条件下的百粒重、单株粒重的描述分析

性状 Traits ^A	环境 Location ^B	亲本 Parents ^C				RIL6013 群体							
		正常施氮 N ₊		不施氮 N ₋		正常施氮 N ₊				不施氮 N ₋			
		东农 L13	黑河 36	东农 L13	合农 60	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	最小值 Minimum	最大值 Maximum
HSW	AC	17.06	18.29	17.03	21.37	20.39	3.04	10.6	29.11	21.43	2.82	12.68	29.68
	SC	22.54	18.06	21.18	24.08	22.49	2.58	12.4	28.52	22.13	2.73	12.21	30.47
	HRB	17.06	18.29	17.03	21.37	20.39	3.01	12	29.24	21.42	2.88	13.68	31.43
SWPP	AC	22.60	14.27	16.86	20.41	23.94	6.42	7.5	46.81	24.11	6.43	7.23	54.75
	SC	12.62	16.62	23.51	28.17	20.2	5.83	2.4	49.66	19.58	5.01	4.92	35.27
	HRB	22.60	14.27	16.86	20.41	23.76	6.82	5.98	57.6	24.29	6.34	7.6	53.29

A) PH: 株高 plant height; NN: 主茎节数 number of nodes; PNPP: 单株荚数 pod number per plant; SNPP: 单株粒数 seed number per plant; HSW: 百粒重 hundred seed weight; SWPP: 单株粒重 seed weight per plant;

B) AC: 阿城 Acheng; SC: 双城 Shuangcheng; HRB: 哈尔滨 Harbin;

C) DNL13 东农 L13; HH36 黑河 36 Heihe36; HN60 合农 60 Henong60。

3.1.3. 性状间的相关性

两个重组自交系群体 RIL3613 和 RIL6013, 在阿城、双城、哈尔滨等三个环境不同氮肥施用量下的

性状间相关系数分析, 在同一环境下不同氮肥施用量间各性状之间的相关性存在较大差异。

对于 RIL3613 群体, 在阿城种植环境下, 株高与单株荚数、株高与单株粒数、百粒重与单株粒数间的相关性在不同氮肥施用量间存在差异; 在哈尔滨种植环境下, 百粒重与单株荚数之间的相关性在不同氮肥施用量间存在差异。

对于 RIL6013 群体, 在阿城种植环境下, 各农艺性状在不同氮肥施用量间存在差异; 在双城种植环境下, 株高与单株荚数、株高与单株粒重、株高与百粒重、百粒重与单株荚数、百粒重与单株粒重间的相关性在不同氮肥施用量间存在差异; 在哈尔滨种植环境下, 株高与单株荚数、株荚数与单株粒重间的相关性在不同氮肥施用量间存在显著差异。

3.2. 候选基因预测

使用 QTL 进行候选基因注释确定了 26 个只与产量性状相关的 QTL 区间。基于使用 SoyBase 在线程序获得的标记信息, 在 4 个一致 QTL 区间中, 利用 GO 注释和 KEGG 数据库对 1215 个候选基因进行了筛选和注释, 其中 344、218、52、205 个基因分别位于一致性 QTL 区域 GM01、GM11、GM12、GM16 内(见表 8)。以下丰富在 GO 类别: GO:0006807(氮化合物代谢过程), GO:0034641(细胞氮化合物代谢过程), GO:0006886(细胞内蛋白质运输)。在富集 KEGG 通路中, Ko04075 参与植物激素信号转导途径[12], 包括赤霉素、生长素、脱落酸等激素。植物激素在调节茎生长、植物生长和种子发育方面起着重要作用。其他丰富的 KEGG 通路包括 K14484、K14493、K14496、K14486、K14488、K14498、K13946, 参与植物激素信号转导(途径 ID ko04075)。

Table 8. Consensus QTLs intervals and candidate genes distribution of related traits on four linkage groups

表 8. 4 个相关性状的一致性 QTL 区间的连锁群和候选基因分布

序号 Code	连锁群 Linkage group	QTL 置信区间 Consensus QTL interval (Mbp)	左侧标记 Left maker	右侧标记 Right maker	QTL 数 QTLs number	LOD 值范围 LOD range	加性效应范围 ADDrange	平均贡献 率 Mean PVE (%)	候选基因数 Candidate genes num- ber
1	GM01	0.35~53.24	Sat_413	Sat_160	8	2.66 to 16.81	-4.28 to 17.94	2.57	344
2	GM11	8.90~32.19	Sat_123	satt197	9	2.66 to 20.86	-2.84 to 23.84	1.88	218
3	GM12	0.27~1.69	Sat_200	Satt353	9	2.77 to 5.16	3.85 to 8.49	5.16	52
4	GM16	3.05~30.4	sat_228	Sat_366	6	3.13 to 7.92	-6.86 to 2.65	0.51	205

基于 Pathway 分析和功能注释, 我们最终鉴定出 15 个候选基因(见表 9)。在候选基因中, 有 3 个被标注为 saur 样生长素应答蛋白家族基因, SAUR 蛋白参与细胞分裂和生长素生物合成[13]。Glyma0.01g004500、Glyma0.01g183500 被标注为蔗糖非发酵相关蛋白激酶(SnRK)基因, 这些基因与糖信号、生物和非生物应激反应、种子萌发、幼苗生长等方面密切相关[14] [15]。

此外, SnRK2 和 SnRK3 与脱落酸信号转导直接相关[16]。Glyma0.01g019400 被标注为吲哚-3-乙酸诱导基因, 吲哚-3-乙酸是植物中普遍存在的内源生长素, 如拟南芥[17]所示。Glyma11g180900 被标注为编码 nitrilase 4, 该酶可将吲哚-3-乙腈转化为生长素[18]。08g203100 被标注为编码一种与开花[19]相关的植物色素蛋白。将 Glyma.01G103500 标注为编码生长素响应因子, ARF9 在果实发育早期表达, 生长素[20]有应答。6 个候选基因被标注为编码 Adaptin 家族蛋白或具有 gamma 亚基的 Adaptin 家族蛋白, 这些基因参与了细胞内运输囊泡的形成, 并参与了将货物纳入囊泡[21]的选择。01g179300 被标注为网格蛋白重链, 其作用是将高尔基体运输到液泡[22]。g11g215500 被标注为谷氨酰胺合成酶, 是氮

代谢[23]核心的高调控酶。16g082400 被标注为 Sec23/Sec24 蛋白转运家族蛋白, Sec23 亚基是连接 COPII 囊泡形成与顺行运输事件[24]的关键。最后, 将 Glyma.12G018500 注释为 s-1A, 这是植物[25]中多种发育途径所必需的。

Table 9. Candidate genes annotated from consensus QTLs

表 9. 一致性 QTL 注释的候选基因

基因 ID Gene ID	连锁群 Linkage group	KEGG 注释	GO 注释	功能注释 Functional annotation
Glyma.01G153200	GM 01	K12400	GO:0030117, GO:0016192, GO:0006886	Adaptin family protein
Glyma.12G021600	GM 12	K12392	GO:0030131, GO:0016192, GO:0006886, GO:0030117	Adaptin family protein
Glyma.16G076500	GM 16	K12400	GO:0030117, GO:0016192, GO:0006886	Adaptin family protein
Glyma.16G109200	GM 16	K12400	GO:0030117, GO:0016192, GO:0006886	Adaptin family protein
Glyma.01G032100	GM 01	K12391	GO:0030131, GO:0016192, GO:0006886, GO:0030117	Adaptor protein complex AP-1, gamma subunit
Glyma.01G103500	GM 01	K14486	GO:0006355, GO:0005634, GO:0003677, GO:0009725	auxin response factor 9
Glyma.01G179300	GM 01	K04646	GO:0030132, GO:0030130, GO:0016192, GO:0006886, GO:0005198	Clathrin, heavy chain
Glyma.11G118600	GM 11	K17267	GO:0030126, GO:0016192, GO:0006886, GO:0005198, GO:0030117	coatamer gamma-2 subunit, putative/gamma-2 coat protein, putative/gamma-2 COP, putative
Glyma.12G018500	GM 12	K14290	GO:0008536, GO:0006886	exportin 1A
Glyma.11G215500	GM 11	K01915	GO:0006807, GO:0006542, GO:0004356	glutamine synthase clone R1
Glyma.01G019400	GM 01	K14484	GO:0006355, GO:0005634	indole-3-acetic acid inducible 9
Glyma.11G180900	GM 11	K13035	GO:0016810, GO:0006807	nitrilase 4
Glyma.01G078200	GM 01	K14488	GO:0009733	SAUR-like auxin-responsive protein family
Glyma.01G137500	GM 01	K14488	GO:0009733	SAUR-like auxin-responsive protein family
Glyma.01G167000	GM 01	K14488	GO:0009733	SAUR-like auxin-responsive protein family

4. 讨论

重组自交系群体(RIL)个体基因型纯合, 是永久性群体, 可进行多年多点的重复性试验, 不易受环境的影响, 因此, 非常适合用于 QTL 作图、基因型与环境互作等分析[26]。本文所采用的三亲本联合分析群体为关联重组自交系群体(Associated Recombinant Inbred Line, A-RIL), 运用黑河 36 及合农 60 两个自交系群体分别与东农 L13 杂交所产生的重组自交系群体合并后所形成的, 在构建过程中由于两个重组自交系均含有共同亲本东农 L13, 能够突破由于亲本单一所造成的限制, 对于后代的多态性及变异率的增加有很多益处[27], 同时对于图谱丰富度的拓展、QTL 定位误差降低及作图精度的提高均有益处。此外还可以更好地寻找表现稳定且效应值较大的主效 QTL, 更有针对性地为改良以及培育优质大豆新品种提

供了重要依据与技术支持,为分子设计育种奠定了相应的理论基础。

大豆需要吸收足够的氮来满足形态建成、产量等农艺性状的形成。提高作物干物质的产量、改善叶面积和根部的形态可以通过调整氮肥施用量来实现,通过调整氮肥施用量也可以促进大豆产量。从苗期至鼓粒期增施氮肥可以提高叶鲜重的积累速度,降低叶片的老化和脱落速度。在鼓粒期前增施氮肥可以促进叶干重的增加,苗期、花期和鼓粒期增施氮肥可以增加茎鲜重,全生育期增施氮肥可以促进茎干重的提高、降低根干重的增速。从花芽分化期至结荚期增施氮肥可以提高根鲜重增加的速度,从鼓粒期至完熟期增施氮肥可以降低根老化的速度。增施氮肥可以提高鲜荚皮重量,减少荚皮干重的积累量。籽粒鲜重和干重随着施氮量的增加,积累速度逐步加快[28]。

本研究应用两个重组自交系群体 RIL3613 和 RIL6013 的 290 份材料,分别在磷肥和钾肥正常施用条件下,设置不施用氮肥(N_-)和施用氮肥下(N_+)处理,发现在施用氮肥下(N_+)的株高、单株荚数、单株粒数、百粒重、单株粒重等性状高于不施用氮肥(N_-),主茎节数变化不大,说明施用氮肥下,可提高节间长度,增加植株高度,增加产量因子,提高籽粒产量。

从群体各性状的表型变异可以得出,两个重组自交系群体 RIL3613 和 RIL6013 的株高、主茎节数、单株荚数、单株粒数、百粒重、单株粒重等 6 个性状在各地点环境下,基因型 \times 氮肥互作效应达到显著水平,并且从不同氮肥处理下的分布和变异幅度可以得出,这 8 个性状对于氮肥变化的响应在基因型之间存在显著差异,氮肥对各育种性状影响的遗传基础是不同的。

关于不同氮肥条件下的形态、产量等农艺性状的遗传基础,在其他物种中已经进行了研究。在玉米中,Agrama 等[29]发现在低氮和高氮水平下既有共同的 QTL,也有特异表达的 QTL; Bertin 和 Gallais [30]研究表明,在高氮水平下所检测到的 QTL 和在低氮水平下检测到的 QTL 存在较大的差别;刘宗华等[31]在低氮肥处理下检测到 3 个与营养成分含量相关的 QTL,比高氮肥条件下检测到的少。

本研究在正常使用氮肥(N_+)和不施氮肥(N_-)条件下进行 8 个性状的 QTL 定位,在正常使用氮肥条件下定位到 45 个 QTL,在氮胁迫条件下定位到 52 个 QTL,在两个环境下同时定位的 QTL 有 8 个,包括 qPH-D1b-e1、qPH-B1-1、qSN-N-e1、qPH-F-1、qPC-J-1、qPH-D1a-e1、qPH-D1a-1、qPH-F-e2。综合本研究和以往研究结果可以得出,在不同氮肥下的特异性 QTL 数量多于多环境通用 QTL 的数量,因此选育适合多种施肥水平的大豆品种比较困难,选育适合某一氮肥水平的大豆品种相对容易,在不施氮肥条件下定位的 QTL 更适用于低氮胁迫的品种改良。

Bateson [32]在 1909 年提出上位性(Epistasis)概念,并将上位效应分为两种形式。Fisher [33]认为上位互作效应可以解释位点间的非加性效应,即将遗传效应分为加性效应、显性效应和上位效应。作为复杂数量性状,其表型变异不仅由单个基因控制,也受多个基因位点间的相互作用影响,因此上位性效应在解释复杂性状的变异中有着重要作用[34]。

近年来,上位性在多种作物中应用广泛[35],对大豆数量性状相关 QTL 上位性效应和环境互作效应的研究逐渐深入。应用 Charleston \times 东农 594 杂交组合构建 147 个 $F_{2:14}\sim F_{2:18}$ RIL 群体,孙亚男等[36]定位了 16 个与大豆百粒重性状相关的 QTL,其中有 5 个 QTL 与环境发生互作,互作贡献率为 0.11~0.52%,定位了 8 对上位性互作位点,贡献率为 1.15~2.59%;Teng 等[37]以 Dongnong46 和 L-100 杂交组合衍生包含 129 个家系的 RILs 群体为研究材料,检测到 7 个与油分含量相关加性 QTL,5 对上位性 QTL。上位性互作多发生在主效 QTL 间或主效 QTL 与非主效 QTL 间,证实了关于大豆籽粒硬实性状的上位性互作效应是非常重要的遗传基础;Cao 等[38]以拥有一个共同亲本(M8206)的两个 RIL 群体(MT 和 ZM),检测到 11 个与株高相关的 QTL,在两个群体中均表现出显著的加性效应,其中只有 6 个加性 QTL 与环境互作,定位了 6 对加性 \times 加性上位性 QTL。综合以上研究可以得出,大豆育种性状受到单个位点加性效

应和多个位点之间上位性效应的控制。

本研究通过 ICIM 法应用 LOD = 5 和 PVE > 2.0% 准则, 定位到了 17 对株高上位性 QTL、3 对主茎节数上位性 QTL、3 对单株荚数上位性 QTL、10 对单株粒数上位性 QTL 和 3 对百粒重上位性 QTL, 可解释表型贡献率范围为 2.15~18.32%。

参考文献

- [1] 黄中文, 赵团结, 喻德跃, 陈受宜, 盖钧镒. 大豆产量有关性状 QTL 的检测[J]. 中国农业科学, 2009, 42(12): 4155-4165.
- [2] Yang, Z., Xin, D., Liu, C., *et al.* (2013) Erratum to: Identification of QTL for Seed and Pod Traits in Soybean and Analysis for Additive Effects and Epistatic Effects of QTL among Multiple Environments. *Molecular Genetics and Genomics*, **288**, 651. <https://doi.org/10.1007/s00438-013-0779-z>
- [3] Hu, *et al.* (2014) Association Mapping of Yield-Related Traits and SSR Markers in Wild Soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). *Breed Science*, **63**, 441-449. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.63.441>
- [4] Fang, *et al.* (2017) Genome-Wide Association Studies Dissect the Genetic Networks Underlying Agronomical Traits in Soybean. *Genome Biology*, **18**, 161.
- [5] 刘晓芬. 大豆栽培品种群体粒形性状及百粒重的关联分析[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [6] 范虎, 文自翔, 王春娥, 等. 中国野生大豆群体农艺加工性状与 SSR 关联分析和特异材料的遗传构成[J]. 作物学报, 2013, 39(5): 775-788.
- [7] 文自翔, 赵团结, 郑永战, 等. 中国栽培和野生大豆农艺及品质性状与 SSR 标记的关联分析 II. 优异等位变异的发掘[J]. 作物学报, 2008, 34(8): 1339-1349.
- [8] Zhang, J., Song, Q., Cregan, P.B., *et al.* (2015) Genome-Wide Association Study, Genomic Prediction and Marker-Assisted Selection for Seed Weight in Soybean (*Glycine max*). *Theoretical & Applied Genetics*, **129**, 117-130. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2614-x>
- [9] Yan, L., Hofmann, N., Li, S.X., *et al.* (2017) Identification of QTL with Large Effect on Seed Weight in a Selective Population of Soybean with Genome-Wide Association and Fixation Index Analyses. *BMC Genomics*, **18**, 529-540. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3922-0>
- [10] Ning, H.L., Yuan, J.Q., Dong, Q.Z., *et al.* (2018) Identification of QTLs Related to the Vertical Distribution and Seed-Set of Pod Number in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr]. *PLoS ONE*, **13**, e0195830. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195830>
- [11] Zhu, J. (1995) Analysis of Conditional Genetic Effects and Variance Components in Developmental Genetics. *Genetics*, **141**, 1633-1639. <https://doi.org/10.1093/genetics/141.4.1633>
- [12] Jiang, H., Li, Y., Qin, H., *et al.* (2018) Identification of Major QTLs Associated with First Pod Height and Candidate Gene Mining in Soybean. *Frontiers in Plant Science*, **9**, Article No. 1280. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01280>
- [13] Belles-Boix, E., Babiychuk, E., Montagu, M.V., *et al.* (2000) CEF, a sec24 Homologue of *Arabidopsis thaliana*, Enhances the Survival of Yeast under Oxidative Stress Conditions. *Journal of Experimental Botany*, **51**, 1761-1762. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.351.1761>
- [14] Chevalier, D. and Walker, J.C. (2005) Functional Genomics of Protein Kinases in Plants. *Briefings in Functional Genomics*, **3**, 362-371. <https://doi.org/10.1093/bfpg/3.4.362>
- [15] Dong, X.-F., *et al.* (2012) The SnRK Protein Kinase Family and the Function of SnRK1 Protein Kinase. *International Journal of Agriculture and Biology*, **14**, 575-579.
- [16] Shukla, V. and Mattoo, A.K. (2008) Sucrose Non-Fermenting 1-Related Protein Kinase 2 (SnRK2): A Family of Protein Kinases Involved in Hyperosmotic Stress Signaling. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **14**, 91. <https://doi.org/10.1007/s12298-008-0008-0>
- [17] Li, D., Pfeiffer, W.T., Cornelius, P.L., *et al.* (2008) Soybean QTL for Yield and Yield Components Associated with *Glycine soja* Alleles. *Crop Science*, **48**, 571-581. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.06.0361>
- [18] Schmidt, R.C., Muller, A., Hain, R., *et al.* (1996) Transgenic Tobacco Plants Expressing the *Arabidopsis thaliana* Nitrilase II Enzyme. *The Plant Journal*, **9**, 683-691. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1996.9050683.x>
- [19] Lark, K.G., Chase, K., Adler, F., *et al.* (1995) Interactions between Quantitative Trait Loci in Soybean in Which Trait Variation at One Locus Is Conditional upon a Specific Allele at Another. *PNAS USA*, **92**, 4656-4660. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.10.4656>

- [20] Sebolt, A.M., Shoemaker, R.C., Diers, B.W., *et al.* (2000) Analysis of a Quantitative Trait Locus Allele from Wild Soybean That Increases Seed Protein Concentration in Soybean. *Crop Science*, **40**, 1438-1444. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4051438x>
- [21] Kabelka, E.A., Diers, B.W., Fehr, W.R., *et al.* (2004) Putative Alleles for Increased Yield from Soybean Plant Introductions. *Crop Science*, **44**, 784-791. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.7840>
- [22] Sun, D., Li, W., Zhang, Z., *et al.* (2006) Quantitative Trait Loci Analysis for the Developmental Behavior of Soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Theoretical and Applied Genetics*, **112**, 665-673. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0169-y>
- [23] Guzman, P.S., Diers, B.W., Neece, D.J., *et al.* (2007) QTL Associated with Yield in Three Backcross-Derived Populations of Soybean. *Crop Science*, **47**, 111-122. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.01.0003>
- [24] Chen, Q.S., Zhang, Z.C., Liu, C.Y., *et al.* (2007) QTL Analysis of Major Agronomic Traits in Soybean. *Agricultural Sciences in China*, **6**, 399-405. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(07\)60062-5](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(07)60062-5)
- [25] Gai, J., Wang, Y., Wu, X., *et al.* (2016) A Comparative Study on Segregation Analysis and QTL Mapping of Quantitative Traits in Plants—With a Case in Soybean. *Frontiers of Agriculture in China*, **1**, 1-7. <https://doi.org/10.1007/s11703-007-0001-3>
- [26] 白玉哲, 马钰聪, 孟一泽, 等. 大豆籽粒蛋白与脂肪含量上位性 QTLs 分析[J]. 中国农业科技导报, 2019, 21(6): 36-42.
- [27] Daniel-Vedele, F., Filleur, S. and Caboche, M. (1998) Nitrate Transport: A Key Step in Nitrate Assimilation. *Current Opinion in Plant Biology*, **1**, 235-239. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(98\)80110-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(98)80110-6)
- [28] 姜璐, 宁海龙, 李文霞, 等. 氮肥施用量对超早熟大豆源库关系、产量和品质的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(30): 105-111.
- [29] Agrama, H.A.S., Zakaria, A.G., Said, F.B. and Thinstr, M. (1999) Identification of Quantitative Trait Loci for Nitrogen Use Efficiency in Maize. *Molecular Breeding*, **5**, 187-195. <https://doi.org/10.1023/A:1009669507144>
- [30] Bertin, P. and Gallais, A. (2001) Genetic Variation for Nitrogen Use Efficiency in a Set of Recombinant Inbred Lines. 2: QTL Detection and Coincidences. *Maydica*, **46**, 53-68.
- [31] 刘宗华. 氮胁迫条件下玉米氮利用效率及相关性状的 QTL 分析[D]: [博士学位论文]. 郑州: 河南农业大学, 2007.
- [32] Bateson, W. (1909) Mendel's Principles of Heredity. Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.1057>
- [33] Fisher, R. (1918) The Correlations between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, **52**, 399-433. <https://doi.org/10.1017/S0080456800012163>
- [34] Karikari, B., Li, S., Bhat, J., *et al.* (2019) Genome-Wide Detection of Major and Epistatic Effect QTLs for Seed Protein and Oil Content in Soybean under Multiple Environments Using High-Density Bin Map. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, 979. <https://doi.org/10.3390/ijms20040979>
- [35] 艾丽娟, 陈强, 杨春燕, 等. 大豆籽粒硬实加性和上位性 QTL 定位[J]. 作物学报, 2018, 44(6): 852-858.
- [36] 孙亚男, 仕相林, 蒋洪蔚, 等. 大豆百粒重 QTL 的上位效应和基因型×环境互作效应[J]. 中国油料作物学报, 2012, 34(6): 598-603.
- [37] Teng, W., Zhang, B., Zhang, Q., *et al.* (2017) Identification of Quantitative Trait Loci Underlying Seed Oil Content of Soybean Including Main, Epistatic and QTL × Environment Effects in Different Regions of Northeast China. *Crop and Pasture Science*, **68**, 625-631. <https://doi.org/10.1071/CP17169>
- [38] Cao, Y., Li, S., Chen, G., *et al.* (2019) Deciphering the Genetic Architecture of Plant Height in Soybean Using Two RIL Populations Sharing a Common M8206 Parent. *Plants*, **8**, 373. <https://doi.org/10.3390/plants8100373>