

宋静静, 张 林, 倪红梅, 等. 桑树核心种质的关联分析[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(12): 279–284.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.090

桑树核心种质的关联分析

宋静静¹, 张 林^{1,2}, 倪红梅¹, 赵卫国^{1,2}, 刘 利^{1,2}, 潘 刚^{1,2}, 方荣俊^{1,2}

(1. 江苏科技大学生物技术学院, 江苏镇江 212018; 2. 中国农业科学院蚕业研究所, 江苏镇江 212018)

摘要:以 90 份桑树核心种质为研究材料, 鉴定桑树叶长、节间长等 21 个农艺性状, 利用 10 个 ISSR 引物检测多态性, 在分析群体结构和亲缘关系的基础上进行关联分析。共扩增出 90 条清晰条带, 其中多态性条带 78 条, 多态性条带占比为 86.67%; 利用 UPGMA 法聚类分析和 Structure 群体结构分析均将 90 份桑树核心种质分成 2 个亚群, 群体结构分析和聚类分析在一定程度上具有一致性。关联分析表明, 在 $P < 0.01$ 的情况下, 共有 14 个位点与 10 个农艺性状相关联, 表型变异解释率为 4.15% ~ 11.39%。在这 14 个位点中, 有 2 个位点同时与 2 个农艺性状相关联, 其中 IS70 位点同时与节间长、叶梗叶呈极显著相关, 对其表型变异的解释率分别达到了 11.39%、7.07%; IS60 位点同时与梢梗叶、条梗叶相关联, 与梢梗叶呈极显著相关, 对其表型变异解释率达到 10.45%。

关键词:桑树; 核心种质; 农艺性状; 关联分析

中图分类号: S888.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)12-0279-06

桑树是多年生的重要经济作物, 是家蚕的唯一饲料。蚕丝业是我国出口创汇及改善人民生活的传统优势产业, 我国蚕茧、生丝的生产及贸易量约占全世界的 70%。桑树品种、桑叶产量及叶质是养蚕的决定性因素, 它们都是比较复杂的性状, 这些性状的提高通常要结合若干相关性状的综合作用才得以体现, 并被不同的性状所影响和限制。不断提高桑树品种的产量、品质和适应性是现代桑树育种工作的主要目的, 同时也能够满足日益增长的人口以及不断提高的物质文化生活水平的需求。改良桑树品种取决于对桑树遗传资源的掌握和对其农艺性状遗传基础的理解。因此, 对桑树核心种质资源重要农艺性状进行关联分析, 对开发利用桑树重要的农艺性状基因和桑树遗传育种具有重要意义。

作物中大部分农艺性状属于数量性状, 目前研究农作物数量性状遗传学基础的主要方法有 2 种, 分别是使用分子标记覆盖整个基因组的连锁分析以及在家系分离种群的基础上进行连锁分析^[1-3]。关联分析 (association analysis) 是建立在连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 的基础上, 能够识别群体内目标性状与候选基因或遗传标记之间的关系, 具有很多优势: (1) 作图定位的分辨率更高, 可实现单个基因水平的表达^[4], 而常规的 QTL 作图则受重组发生率的影响, 分辨率

一般比较低, 一般只能将基因定位到 10 ~ 30 cM^[5-6]; (2) 广大, 能同时检测同一基因座的多个等位基因; (3) 研究周期很短。2001 年, Thornsberry 等第一次将关联分析在农作物上进行成功运用, 并且在作物数量性状遗传学基础的研究上取得了实质性的进展, 被广泛应用于水稻^[7-9]、玉米^[10-12]、油菜^[13]和其他作物中。

本研究以 90 份桑树核心种质为研究材料, 调查分析了 21 个农艺性状间的相关性, 利用 10 个 ISSR 标记的多态性进行遗传多样性和群体结构分析, 并进一步对标记与农艺性状进行关联分析, 获得影响农艺性状的标记位点。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 90 份桑树核心种质, 其中包括 11 份鲁桑核心种质、41 份湖桑品种初选核心种质、15 份格鲁桑品种核心种质和 23 份广东桑核心种质。均取自中国农业科学院蚕业研究所国家种质江苏镇江桑树圃 (表 1)。

1.2 桑树核心种质农艺性状鉴定

选择国家种质江苏镇江桑树圃进行桑树核心种质农艺性状的田间调查, 根据 2 ~ 3 年的观测值, 计算每份核心种质性状的平均值、变异系数和标准差, 判断试验结果的稳定性和可靠性。取校验值的平均值作为该种质的性状值, 然后取各个性状的平均值用于统计分析。按《桑树种质资源描述规范和数据标准》^[14]确定取样方法、调查标准。调查的性状包括叶长、叶幅、节间长、发芽率、生长芽率、春米条叶、秋米条叶、春公斤叶片数、秋公斤叶片数、叶梗叶、梢梗叶、条梗叶、椹梗叶、株产叶量、667 m²产叶量、春万头茧量、春万茧层量、春担桑

收稿日期: 2015-04-28

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划 (编号: 2013BAD01B03-17)。

作者简介: 宋静静 (1989—), 女, 硕士, 主要从事桑树遗传育种研究。
E-mail: jingsong8927@163.com。

通信作者: 张林, 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事植物种质资源与遗传育种方面的研究。E-mail: zhanglinsi@126.com。

[17] 何桂芳, 史秀霞, 马凤琴, 等. 不同浓度钙对甘草生长和光合特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2010(6): 384–385.

[18] 姚振领. 苹果树的钙素营养失调及防止缺钙的措施[J]. 落叶果树, 2013, 45(4): 23–24.

[19] 何忠俊, 曾 波, 梁社往. 锌对滇重楼生长、养分含量和总皂甙含量的影响[J]. 西南农业学报, 2012, 25(2): 665–669.

[20] 付春霞, 张元珍, 王衍安, 等. 缺锌胁迫对苹果叶片光合速率及叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(18): 3826–3833.

表 1 桑树核心种质材料的来源

编号	品种	来源	编号	品种	来源
1	小黄桑	山东省新泰县	46	木舟青 1 号	浙江省杭州市
2	昌维黑桑	山东省临朐县	47	早春桑	浙江省新昌县
3	益都大白条	山东省青州县	48	九龙桑	浙江省湖州市
4	黑鲁接桑	山东省临朐县	49	火桑 136 号	江苏省镇江市
5	梓楞桑	河北省宽城县	50	之江 2 号	浙江省
6	大碗桑	河北省深县	51	长红皮	江苏省镇江市
7	邹平黄鲁	山东省邹平县	52	甩桑	浙江省新昌县
8	铁叶黄鲁桑	山东省临朐县	53	白格鲁 1 号	山西省阳城县
9	滕州 872	山东省滕州县	54	晋牛耳桑	山西省阳城县
10	选 792	山东省临朐县	55	瑞马 1 号	山西省阳城县
11	黄芯采桑	山东省临朐县	56	黑绿桑	山西省晋城县
12	梅村 5 号	江苏省无锡市	57	阳桑 2 号	山西省阳城县
13	双头桑	浙江省新昌县	58	黄克桑	山西省晋城县
14	璜桑 4 号	浙江省诸暨市	59	献义 5 号	山西省阳城县
15	湖桑 79 号	浙江省海宁市	60	河口 2 号	山西省沁水县
16	湖桑 32 号	江苏省无锡市	61	中阳 5 号	山西省中阳县
17	睦州青	浙江省湖州市	62	柳林 2 号	山西省柳林县
18	周镇荷叶白 5 号	浙江省海宁市	63	晋城黄鲁头 1 号	山西省晋城县
19	大墨斗	浙江省诸暨市	64	晋城白皮桑	山西省晋城县
20	周镇荷叶白 2 号	浙江省海宁市	65	晋黑格鲁	山西省阳城县
21	女荆 5 号	浙江省诸暨市	66	横河红格鲁	山西省阳城县
22	锡湖 10 号	江苏省无锡市	67	南河 26 号	山西省沁水县
23	湖桑 2 号	江苏省无锡市	68	伦敦 40 号	广东省顺德县
24	湖桑 8 号	江苏省镇江市	69	伦敦 109 号	广东省顺德县
25	湖桑 11 号	江苏省无锡市	70	试 1 号	广东省广州市
26	湖桑 23 号	江苏省无锡市	71	试 7 号	广东省广州市
27	湖桑 56 号	江苏省镇江市	72	枫梢桑	广东省广州市
28	湖桑 104 号	浙江省杭州市	73	伦敦 518 号	广东省顺德县
29	荷叶白	浙江省海宁市	74	广东 7370	广东省广州市
30	木舟青 2 号	浙江省杭州市	75	塘 10	广东省广州市
31	璜桑 1 号	浙江省诸暨市	76	广东桑 2 号	广东省广州市
32	青干桑	浙江省新昌县	77	红茎牛	广西灵山县
33	荷叶大种	浙江省湖州市	78	长滩 8 号	广西钦州市
34	富阳桑 2 号	江苏省苏州市	79	钦二	广西钦州市
35	弁南大种	浙江省湖州市	80	沙油 3 号	广东省顺德县
36	湖桑 110 号	浙江省杭州市	81	邕新 4 号	广东省邕宁县
37	湖桑 112 号	江苏省镇江市	82	濶盛 2 号	广东省北海市
38	湖桑 122 号	浙江省杭州市	83	龙州桑	广东省龙州县
39	湖桑 123 号	浙江省杭州市	84	滇緬 3-1	云南省勐海县
40	湖桑 135 号	江苏省镇江市	85	科考 1 号	海南省三亚市
41	湖桑 180 号	浙江省杭州市	86	琼 45 号	海南省琼中县
42	湖桑 189 号	浙江省杭州市	87	琼 35 号	海南省安定县
43	望天青	浙江省杭州市	88	越四	越南
44	四面青	浙江省杭州市	89	K54	印度
45	墨斗青	浙江省杭州市	90	广东 7858	广东省(蚕业研究所)

茧量、秋万头茧量、秋万茧层量和秋担桑茧量。

1.3 ISSR 引物的选取与扩增

试验所采用的引物参照加拿大哥伦比亚大学方法设计，并参考赵卫国博士论文中部分引物，初步选定 22 个引物用于 ISSR 分子标记，引物委托生工生物工程(上海)股份有限公司完成。采用 CTAB 法提取桑树基因组 DNA，PCR 程序为：94 ℃ 7 min;94 ℃ 40 s,退火 45 s(温度根据每个引物的 T_m 值而定),72 ℃ 90 s,36 个循环;72 ℃ 7 min;4 ℃ 保存。ISSR -

PCR 电泳并照相记录后,进行人工读带。同一引物的扩增产物中,分子量大小及强度相近的条带被认为具同源性,属于同一位点的产物。扩增阳性标记为“1”,扩增阴性标记为“0”,记录下电泳带谱。读带时,排除模糊不清的条带,只记录清晰且易于辨认的条带。

1.4 群体结构分析

群体结构估测利用 Structure 2.3.4 软件,对供试材料进行聚类(基于贝叶斯的聚类)分析,计算材料相应的遗传成分

系数(Q),将群体中各材料划分至对应的亚群并绘制群体结构图。分析的基本原理是,首先假定样本存在 K 个等位变异频率特征类型数(即服从 Hardy – Weinberg 平衡的亚群,这里 K 可以是未知的),每一亚群 ISSR 位点由 1 套等位变异频率表征,将样本中各材料归到第 K 个亚群,使得该亚群群内位点频率都遵循同一个 Hardy – Weinberg 平衡。具体分析过程是首先设定亚群数 K 值范围为 2 ~ 10,进行 5 次迭代运算,先将 MCMC 开始时的不作数迭代设为 500 000,再将不作数迭代后的 MCMC 设为 500 000 次,每次运行的“burn in time”和 MCMC 重复数均设为 500 000,模型设定中将亲缘关系设为混合,等位基因频率设为相关。依据该运行结果得到的 $\text{Ln}P(D)$ 值选择适当的亚群数 K 值。各个材料在占各亚群的 Q 值构成该套群体的遗传结构矩阵。当某材料在某个类群中的 Q 值 ≥ 0.5 时,该品种将被划分到相应的类群中,认为该品种的血缘相对比较单一;若某材料在任何类群中的 Q 值均小于 0.5 时,则认为该品种拥有混合来源。

1.5 亲缘关系系数 Kinship 分析

Kinship 是一种衡量品种间亲缘相似性的参数,本研究采用 SPAGeDi 软件计算 90 份桑树核心种质个体间的亲缘关系,得到亲缘关系系数矩阵(K 矩阵)。当 Kinship 值小于 0 时,表明某 2 个品种间的亲缘关系低于群体中任意 2 个品种

的亲缘关系,令此值为 0,所有系数加倍。

1.6 标记和农艺性状的关联分析

采用 TASSEL 2.1 软件中的 MLM(mixed linear model),进行性状和标记间的关联分析,并计算标记位点对表型变异的解释率。将 90 份桑树核心种质各农艺性状的调查数据和 DNA 分子标记多态性位点数据录入,并以群体结构的 Q 值作为协变量,分别进行 21 个农艺性状表型变异与标记变异的回归分析,计算农艺性状与多态性位点间的关联度。软件运行结果中当标记的 P 值小于 0.01 时,则认为该标记与相应性状之间存在显著关联。

2 结果与分析

2.1 桑树核心种质的主要农艺性状

由表 2 可知,21 个性状的变异幅度差异较大,其中生长芽率、春米条叶、秋米条叶、春公斤叶片数、秋公斤叶片数、梢梗叶、椴梗叶和株产叶量变异系数都在 30% 以上,春米条叶、梢梗叶和椴梗叶的变异系数达到了 50% 以上;秋万头茧量的变异系数最低,为 8.13%。这说明供试桑树品种间各性状差异较大,具有比较丰富的多样性,可以为桑树育种提供丰富的亲本材料。

表 2 90 份供试材料 21 个农艺性状的基本描述性统计

性状	最大值	最小值	平均值	极差	标准差	变异系数(%)
叶长 LL (cm)	23.50	11.00	18.99	12.50	2.93	15.43
叶幅 LW (cm)	22.30	9.00	15.71	13.30	2.89	18.40
节间长 ID (cm)	5.70	2.50	3.92	3.20	0.59	15.51
发芽率 GR (%)	92.00	44.00	70.34	48.00	10.13	14.40
生长芽率 P (%)	43.00	4.00	18.77	39.00	7.14	38.04
春米条叶 LBS (g/m)	520.00	55.00	130.95	465.00	65.88	50.31
秋米条叶 LBA (g/m)	220.00	36.00	94.20	184.00	32.37	34.36
春公斤叶片数 NS (张/kg)	2 024.00	152.00	705.47	1 872.00	306.17	43.40
秋公斤叶片数 NA (张/kg)	644.00	72.00	288.74	572.00	106.59	36.92
叶梗叶 LSR (%)	61.00	17.50	44.54	43.50	9.24	20.75
梢梗叶 SSR (%)	40.50	2.80	9.83	37.70	5.40	54.93
条梗叶 WSR (%)	54.50	4.50	35.75	50.00	9.27	25.93
椴梗叶 FSR (%)	53.20	0.10	6.23	53.10	11.14	178.81
株产叶量 LYP (kg)	8.08	1.60	2.85	6.48	0.95	33.33
667 m ² 产叶量 MLV (kg)	2 240.00	114.50	1 312.31	2 125.50	378.93	28.88
春万头茧量 SCY (g)	24.56	4.64	20.48	19.92	3.19	15.58
春万茧层量 SCW (g)	6.09	1.04	4.83	5.05	0.83	17.18
春担桑茧量 SWM (kg)	7.35	0.91	5.76	6.44	0.85	14.76
秋万头茧量 ACY (g)	21.09	14.08	18.33	7.01	1.49	8.13
秋万茧层量 ACW (g)	4.77	2.91	3.96	1.86	0.37	9.34
秋担桑茧量 AWM (kg)	7.08	3.63	6.23	3.45	0.72	11.56

2.2 遗传多样性分析与聚类分析

从 22 个引物中筛选出了 10 个多态性强、扩增条带清晰的引物用于 ISSR 分子标记多态性分析。结果表明,10 个 ISSR 引物共扩增出 90 条清晰条带,其中多态性条带 78 条,多态性条带占比为 86.67%,平均每个引物扩增的条带数为 9 条,平均每个引物扩增的多态性条带数为 7.8 条,不同引物扩增的条带数为 6 ~ 9 条。ISSR 标记的位点的多态性信息含量(PIC)值为 0.24 ~ 0.333,平均为 0.281。平均每个位点观测

等位基因数为 1.866 7,有效等位基因数为 1.546 8,Nei’s 遗传多样性指数为 0.312 9,Shannon’s 信息指数为 0.463 8。这表明供试材料之间的 ISSR 变异大,多态性高。

2.3 品种聚类分析

利用 78 个多态性位点数据,90 个品种被聚为 2 类(图 1),包括 I 类 41 个,II 类 49 个。I 类全部为湖桑核心种质,II 类包括 11 份鲁桑核心种质、15 份格鲁桑核心种质和 23 份广东桑核心种质。这说明鲁桑鲁桑、格鲁桑与广东桑品种具

有相似的亲缘关系,与湖桑品种亲缘关系较远。

2.4 群体结构分析

采用基于贝叶斯的聚类分析方法,通过 Structure 2.3.4 软件分析桑树核心种质的遗传结构,确定供试材料的群体数目。当 $K=2$ 时,似然值 ΔK 最大,出现明显峰值(图 2),因此选定 $K=2$ 为供试材料最终的群体数目,群体结构分析如图 3 所示,依据各供试材料在不同亚群的 Q 值将其归于相对应的

亚群中。当 $Q<0.5$ 时,亚群 1 含有 41 份品种,全部为湖桑核心种质,亚群 2 含有 49 份品种,分别为 11 份鲁桑核心种质、15 份格鲁桑核心种质和 23 份广东桑核心种质,这与 UPGMA 聚类分析的结果相一致。利用群体结构分析的结果进行关联分析,能够消除供试桑树材料群体结构引起的伪关联,保证关联分析结果的准确性。各品种被分配到相应亚群中的 Q 值见表 3。

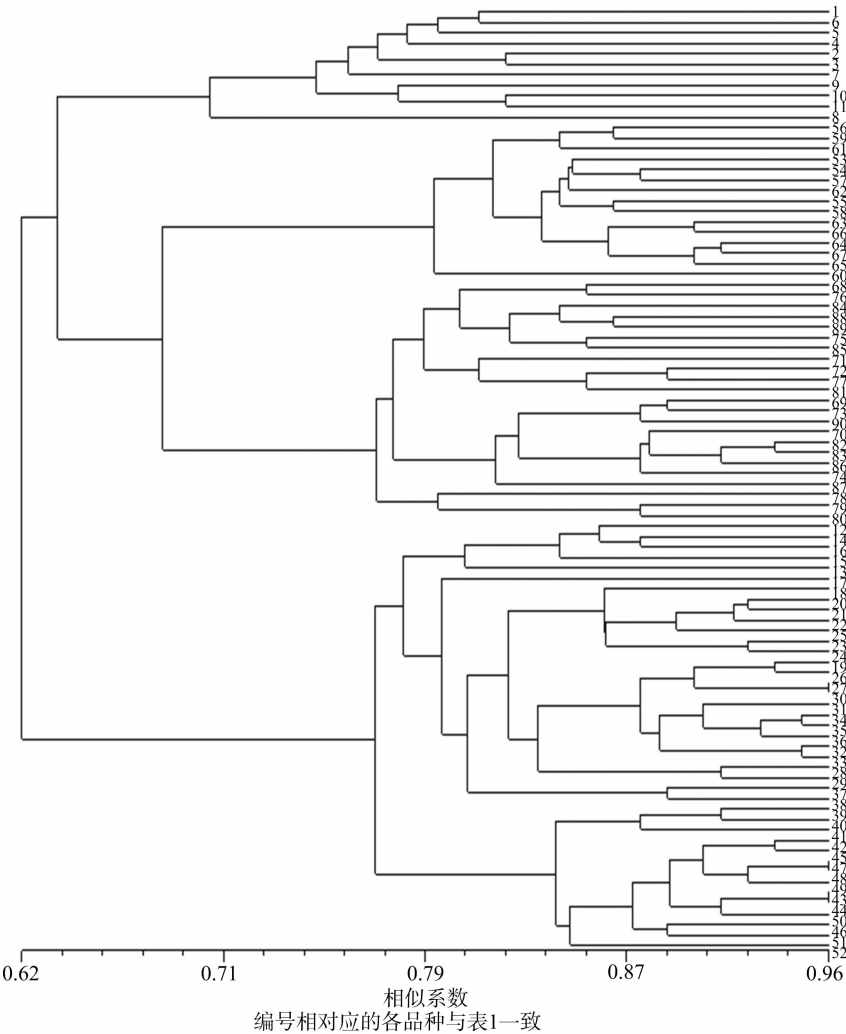


图1 基于 ISSR 标记的 90 份桑树材料的 UPGMA 聚类

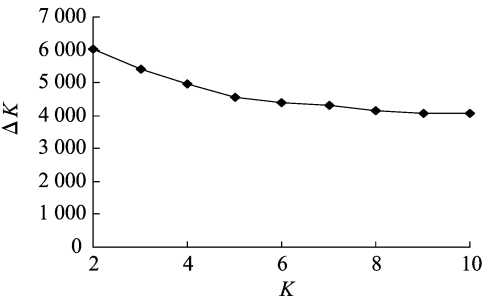


图2 似然值对数的变化率(ΔK)



图3 桑树核心种质群体结构分析

2.5 群体亲缘关系 Kinship 分析

根据 ISSR 标记数据,对 90 份桑树核心种质进行亲缘关系

分析,品种间亲缘关系系数的范围在 0~1 之间,平均 Kinship 值为 0.112 7,其中 Kinship 值为 0 的情况约占总数的 56.9%,

表 3 90 份桑树材料在 2 个亚群中的 Q 值

编号	Q 值		编号	Q 值	
	I 组	II 组		I 组	II 组
1	0.339	0.661	46	0.996	0.004
2	0.431	0.569	47	0.996	0.004
3	0.470	0.53	48	0.996	0.004
4	0.146	0.854	49	0.992	0.008
5	0.438	0.562	50	0.990	0.010
6	0.430	0.57	51	0.954	0.046
7	0.364	0.636	52	0.962	0.038
8	0.242	0.758	53	0.034	0.966
9	0.237	0.763	54	0.169	0.831
10	0.048	0.952	55	0.206	0.794
11	0.136	0.864	56	0.198	0.802
12	0.995	0.005	57	0.189	0.811
13	0.708	0.292	58	0.236	0.764
14	0.972	0.028	59	0.218	0.782
15	0.948	0.052	60	0.264	0.736
16	0.948	0.052	61	0.046	0.954
17	0.943	0.057	62	0.213	0.787
18	0.931	0.069	63	0.136	0.864
19	0.997	0.003	64	0.169	0.831
20	0.995	0.005	65	0.263	0.737
21	0.996	0.004	66	0.289	0.711
22	0.993	0.007	67	0.187	0.813
23	0.996	0.004	68	0.097	0.903
24	0.996	0.004	69	0.038	0.962
25	0.997	0.003	70	0.016	0.984
26	0.997	0.003	71	0.009	0.991
27	0.996	0.004	72	0.066	0.934
28	0.994	0.006	73	0.023	0.977
29	0.985	0.015	74	0.008	0.992
30	0.996	0.004	75	0.007	0.993
31	0.921	0.079	76	0.005	0.995
32	0.995	0.005	77	0.003	0.997
33	0.996	0.004	78	0.004	0.996
34	0.994	0.006	79	0.005	0.995
35	0.984	0.016	80	0.004	0.996
36	0.968	0.032	81	0.003	0.997
37	0.995	0.005	82	0.003	0.997
38	0.995	0.005	83	0.004	0.996
39	0.995	0.005	84	0.015	0.985
40	0.978	0.022	85	0.007	0.993
41	0.987	0.013	86	0.003	0.997
42	0.996	0.004	87	0.024	0.976
43	0.997	0.003	88	0.003	0.997
44	0.983	0.017	89	0.004	0.996
45	0.996	0.004	90	0.004	0.996

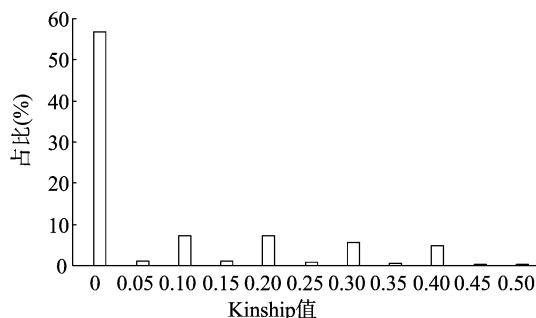


图 4 桑树核心种质 Kinship 值分布

据(Q 值)、多态性标记数据和供试材料的表型数据一起代入 TASSEL 软件的混合线性模型中,进行标记和性状的关联分析。经过 MLM 模型检测的 90 个 ISSR 位点中,在 $P < 0.01$ 的情况下,共有 14 个位点与 10 个农艺性状(节间长、生长芽率、春米条叶、秋公斤叶片数、叶梗叶、梢梗叶、条梗叶、椹梗叶、春担桑茧量、秋万头蚕量)相关联(表 4),表型变异解释率 4.15% ~ 11.39%。未检出与叶长、叶幅、发芽率、秋米条叶、春公斤叶片数、株产叶量、667 m² 产叶量、春万头茧量、春万茧层量、秋万茧层量和秋担桑茧量相关联的 ISSR 位点。其中与节间长、条梗叶相关联的位点各有 2 个,表型变异解释率最大的分别是 IS70(解释率为 11.39%)和 IS60(解释率为 8.10%);与生长芽率、春米条叶、秋公斤叶片数、叶梗叶、春担桑茧量、秋万头蚕量相关联的位点各有 1 个,分别是 IS80(解释率为 7.65%)、IS64(解释率为 6.52%)、IS56(解释率为 7.01%)、IS70(解释率为 7.07%)、IS35(解释率为 8.14%)、IS47(解释率为 7.55%);与梢梗叶、椹梗叶相关联的位点各有 3 个,表型变异解释率最大的分别为 IS60(解释率为 10.45%)、IS62(解释率为 5.72%)。在这 14 个位点中,有 2 个位点同时与 2 个农艺性状相关联,其中 IS70 位点同时与节间长、叶梗叶极显著相关,对其表型变异的解释率分别达到了 11.39%、7.07%;IS60 位点同时与梢梗叶和条梗叶相关联,与梢梗叶极显著相关,对其表型变异解释率达到 10.45%。

3 结论与讨论

3.1 遗传多样性和群体结构分析

本研究利用 10 个 ISSR 分子标记对 90 份桑树核心种质进行遗传多样性和群体结构分析。结果表明供试材料的遗传多样性比较丰富,可用于关联分析。进行的遗传多样性分析在一定程度上反映了 90 份桑树核心种质之间的亲缘关系,同时,聚类结果也表明供试材料的遗传多样性比较丰富。尽管如此,在桑树育种过程中,应继续拓宽种质资源遗传基础,为桑树品种选育提供更丰富的亲本材料。

对供试群体遗传结构进行评估,是关联分析的先决条件。对于任何性状,在进行关联分析前,必须对群体结构的效应进行解析。将群体结构分析结果所得到各个体的 Q 值作为协变量归入回归分析,以消除供试材料群体结构引起的伪关联,保证关联分析结果的准确性。本研究基于 ISSR 分子标记和贝叶斯的聚类方法,利用 Structure 2.3.4 软件的群体遗传结构分析将 90 份桑树核心种质分为 2 个亚群,与 UPGMA 聚类分析结果一致,更能反映出群体内部结构。

0 到 0.5 之间的情况占总数的 37.1%,其余 1.2% 在 0.5 ~ 1 之间(图 4)。说明 90 份桑树核心种质中有约一半的品种相互之间存在着一定的亲缘关系,极少数品种有较近的亲缘关系,表明品种之间存在着丰富的遗传变异和广泛的代表性。

2.6 标记与性状的关联分析

利用 TASSEL 软件将 10 个 SSR 标记在 90 份供试材料中检测出的多态性转化成系谱关系矩阵 K ,然后同群体结构数

表 4 与农艺性状显著关联($P<0.01$) 的标记位点及其对表型变异的解释率

标记位点	农艺性状解释率(%)										
	ID	BP	LBS	NA	LSR	SSR	WSR	FSR	MLV	SWM	ACY
IS15								4.15			
IS35										8.14	
IS41											
IS47											7.55
IS52						6.89					
IS55								4.22			
IS56				7.01							
IS59						6.14					
IS60						10.45	8.10				
IS62								5.72			
IS64			6.52								
IS66							7.44				
IS70	11.39				7.07						
IS80		7.65									
IS82	7.00										

3.2 表型性状与分子标记的关联分析

近年来,关联分析已经成功运用到作物研究中,为了防止产生关联分析的假阳性,采用混合模型 MLM,将个体间亲缘关系与群体结构结合,该模型能准确检测多态性位点与性状间的关联,这使得关联分析结果更精确,从而减少了错误率并增强了统计的说服力。本研究采用 MLM,将 10 个 SSR 标记在 90 份供试材料中检测出的多态性转化成系谱关系矩阵 K,然后同群体结构数据(Q 值)、多态性标记数据和供试材料的表型数据一起代入 TASSEL 软件的混合线性模型中,进行标记和性状的关联分析。经过 MLM 模型检测,在 $P<0.01$ 的情况下,共有 14 个位点与 10 个农艺性状(节间长、生长芽率、春米条叶、秋公斤叶片数、叶梗叶、梢梗叶、条梗叶、榫梗叶、春担桑茧量、秋万头蚕量)相关联,表型变异解释率为 4.15%~11.39%;未检出与叶长、叶幅、发芽率、秋米条叶、春公斤叶片数、株产叶量、单位面积产叶量、春万头茧量、春万茧层量、秋万茧层量和秋担桑茧量相关联的 ISSR 位点。研究结果对桑树种质资源的保护、重要农艺性状基因的发掘和利用,以及遗传育种都具有重要意义。

3.3 影响关联分析的因素

本研究采用混合线性模型 MLM 的方法,能有效地控制由群体结构所产生的假阳性,使得伪关联性大大降低。要保证关联分析结果的准确性,必须保证数据的准确性和统计分析方法的合理性。关联分析需要对表型数据进行准确鉴定,在试验中,所鉴定的农艺性状多数都会被环境因素所影响,由于每一年的数据没有设置重复,而且部分试验地的数据有缺失,所以会造成一定的误差。关联分析的关键就是能够选择合适的群体,尽管本研究存在以上需要改进的因素,但其结果仍具有较高的可靠性,研究所检测到的对农艺性状有贡献的标记也可作为分子标记辅助选择和进一步定位的基础。

参考文献:

[1] Frary A, Nesbitt T C, Grandillo S, et al. A quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size[J]. Science, 2000, 289: 85-88.
[2] Salvi S, Sponza G, Morgante M, et al. Conserved noncoding genomic sequences associated with a flowering-time quantitative trait locus in

maize[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(27): 11376-11381.
[3] Briggs W H, McMullen M D, Gaut B S, et al. Linkage mapping of domestication loci in a large maize teosinte backcross resource[J]. Genetics, 2007, 177(3): 1915-1928.
[4] Yu J M, Buckler E S. Genetic association mapping and genome organization of maize[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2006, 17(2): 155-160.
[5] 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.
[6] Flint-Garcia S A, Thuillet A C, Yu J M, et al. Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection[J]. Plant Journal, 2005, 44(6): 1054-1064.
[7] Agrama H A, Eizenga G C, Yan W. Association mapping of yield and its components in rice cultivars[J]. Mol Breed, 2007, 19: 341-356.
[8] Iwata H, Ebana K, Uga Y, et al. Genome-wide association study of grain shape variation among *Oryza sativa* L. germplasms based on elliptic Fourier analysis[J]. Molecular Breeding, 2010, 25(2): 203-215.
[9] Wen W W, Mei H W, Feng F J, et al. Population structure and association mapping on chromosome 7 using a diverse panel of Chinese germplasm of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 119(3): 459-470.
[10] Wilson L M, Whitt S R, Ibáñez A M, et al. Dissection of maize kernel composition and starch production by candidate gene association[J]. Plant Cell, 2004, 16(10): 2719-2733.
[11] Harjes C E, Rocheford T R, Bai L, et al. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification[J]. Science, 2008, 319(5861): 330-333.
[12] Yan J B, Shah T, Warburton M L, et al. Genetic characterization and linkage disequilibrium estimation of a global maize collection using SNP markers[J]. PLoS One, 2009, 4(12): e8451.
[13] Jestin C, Lodé M, Vallée P, et al. Association mapping of quantitative resistance for *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape (*Brassica napus* L.)[J]. Molecular Breeding, 2011, 27(3): 271-287.
[14] 潘一乐, 张林. 桑树种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 26-41.