DOI: 10.3724/SP.J.1006.2020.94076

净作和套作下大豆贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量的 QTL 分析

刘代铃 谢俊锋 何乾瑞 陈四维 胡跃 周佳 余跃辉
刘卫国 杨文钰* 武晓玲*

四川农业大学农学院 / 四川省作物带状复合种植工程技术研究中心, 四川成都 611130

摘要: 大豆贮藏蛋白的 7S 组分和 11S 组分占蛋白质总量的 70%左右, 其含量直接与大豆种子的加工品质、营养品质及功能特性密切相关。目前, 在玉米-大豆带状套作模式下 11S 和 7S 组分的相对含量会如何变化尚不明确。本研究以南豆 12 和九月黄为亲本所构建的重组自交系(RILs)群体为材料, 结合已构建的 SNP 高密度遗传图谱, 在不同环境(E1: 2017 年仁寿; E2: 2017 年雅安; E3: 2016 年仁寿)的净作及套作下, 对控制贮藏蛋白组分含量的相关性状进行 QTL 分析。结果表明, 在不同的环境和种植方式下, 亲本和 RIL 群体的大部分贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量差异显著或极显著; 检测到 10 个相关 QTL, 分布于 9 条染色体, 表型贡献率为 5.63%~9.68%。通过注释信息, 在定位到的 QTL 区段中初步筛选出 65 个与贮藏蛋白质含量相关的候选基因。上述结果为大豆品质育种提供了理论参考。

关键词: 大豆; 贮藏蛋白; 荫蔽; QTL 定位

QTL analysis for relative contents of glycinin and β -conglycinin fractions from storage protein in soybean seeds under monoculture and relay intercropping

LIU Dai-Ling, XIE Jun-Feng, HE Qian-Rui, CHEN Si-Wei, HU Yue, ZHOU Jia, SHE Yue-Hui, LIU Wei-Guo, YANG Wen-Yu*, and WU Xiao-Ling*

College of Agronomy, Sichuan Agricultural University / Sichuan Engineering Research Center for Crop Strip Intercropping System, Chengdu 611130, Sichuan, China

Abstract: The relative contents of glycinin and β -conglycinin from storage protein are closely related to the quality and function of soybean seeds. However, it is not clear whether or how glycinin and β -conglycinin contents change in maize-soybean strip intercropping system. The glycinin and β -conglycinin relative contents of the recombinant inbred lines (RILs) derived from the cross of ‘Nandou 12’ and ‘Jiuyuehuang’ were measured under different environments (E1: 2017, Renshou; E2: 2017, Ya’an; E3: 2016, Renshou) and planting patterns (M: monoculture; RI: relay intercropping), among which the differences were significant or extremely significant in parents and RILs. Based on a genetic linkage map with 6366 SNP markers, we detected ten QTLs for glycinin and β -conglycinin relative contents which were distributed in nine linkage groups with the phenotypic variation of 5.63%–9.68%. According to the soybean genomic information, 65 candidate genes were screened in the region of above-mentioned QTLs. These results lay a theoretical foundation for soybean quality breeding.

Keywords: Soybean (*Glycine max* L.); storage protein; shade; QTL mapping

大豆(*Glycine max* L.)是重要的粮、油、饲兼用作物^[1]。在我国大豆供给严重不足的局面下^[2], 保障和提高我国食用大豆品质已成为当务之急。大豆籽粒中含有约 40%~50%的蛋白质, 其中 7S 组分和

11S 组分占大豆蛋白质总量的 70%左右, 二者的相对含量与大豆种子的加工品质^[3]、营养品质^[4]及功能特性^[5]密切相关。

大豆贮藏蛋白质含量是数量性状, 借助分子标

本研究由国家重点研发计划项目(2017YFD0101500)和四川省科技厅育种攻关项目(2016NYZ0031)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YFD0101500) and the Crops Breeding Project in Sichuan Province (2016NYZ0031).

* 通信作者(Corresponding authors): 武晓玲, E-mail: wulx@sicau.edu.cn; 杨文钰, E-mail: mssiyangwy@sicau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: icyfish00@163.com

Received (收稿日期): 2019-05-20; Accepted (接受日期): 2019-09-26; Published online (网络出版日期): 2019-10-09.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20191008.1718.004.html>

记技术进行 QTL 定位分析是研究数量性状的常用方法。根据大豆数据库(www.soybase.org), 目前已报道 29 个与贮藏蛋白 7S、11S 组分含量相关的 QTL^[6-7]。除此之外, 刘顺湖等^[8]以科丰 1 号×南农 1138-2 构建重组自交系群体为材料, 用复合区间作图法、多区间作图法和完备区间作图法定位到 28 个与 11S、7S 组分含量相关的 QTL。简爽等^[9]运用线性回归的方法进行表型和标记的关联分析, 2 年均检测到的且与蛋白 11S、7S 组分相关联的 SSR 位点有 14 个。

根据罗庆明^[10]、蒋涛等^[11]、蔡凌等^[12]对玉米-大豆带状套作中大豆蛋白质含量的研究结果, 套作大豆贮藏蛋白的 11S、7S 组分相对含量会受到气象因子不同程度的影响, 不同品质类型的大豆品种在净作和套作下受到的影响不同。因此, 可根据大豆在不同环境下的蛋白质含量的表现, 选择适合用于套作的大豆品种。

为了明确大豆贮藏蛋白组分含量对带状套作的响应及其遗传机制, 本研究利用南豆 12 和九月黄所构建的重组自交系群体(RILs), 对净作和套作下控制贮藏蛋白 11S、7S 组分的相对含量的 QTL 进行定位, 并筛选出相关候选基因, 为进一步探究大豆蛋白质遗传机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

由栽培大豆品种南豆 12 为母本、地方品种九月黄为父本杂交衍生而来的含有 200 个家系的 RIL 群体(F₉₋₁₀)为材料。带状套作所用玉米品种为半紧凑型

1.2 试验设计

采用随机区组设计, 分别于 E1 (2017 年仁寿)、E2 (2017 年雅安)和 E3 (2016 年仁寿) 3 个环境中进行净作和套作种植。玉米在每年的 4 月 6 日播种、8 月上旬收获, 大豆在每年的 6 月 17 日播种。净作大豆行长 2.5 m, 行距 0.5 m, 穴距 0.1 m, 每穴留单株。带状套作采用 2:2 宽窄行模式, 玉米行间距 0.4 m, 玉米行与大豆行间距 0.55 m, 套作大豆的行长、行距、穴距与净作大豆相同, 玉米密度为 60,000 株 hm⁻²。重复 2 次, 管理同一般大田。

1.3 试验方法

大豆贮藏蛋白的提取及电泳参照王显生等^[13]的方法。利用 Bradford 法^[14]测定样品蛋白质浓度。SDS-PAGE 选用 5%的浓缩胶和 12%的分离胶, 蛋白

质上样量为 30 μg。胶片在电泳结束后用考马斯亮蓝 R-250 染色, 乙醇和冰乙酸脱色, 利用 EPSON LA2400 扫描仪扫描成像。

利用 Quantity One v4.6.2 软件, 根据亚基条带光密度占该泳道总光密度的百分率^[14], 分别计算 11S 组分和 7S 组分及其各亚基的相对含量、11S 组分与 7S 组分相对含量之和以及 11S 组分与 7S 组分相对含量之比(11S/7S)。在 11S 组分中, Acid 亚基相对含量等于 A_{1a}、A_{1b}、A₂ 和 A₄ 亚基含量之和, Basic 亚基相对含量等于 B_{1a}、B_{1b}、B₂、B₃ 和 B₄ 亚基含量之和, A₃、A₅ 亚基含量单独计算。结果取 3 次重复的平均值。

1.4 QTL 定位与候选基因筛选

利用 SLAF-seq 技术, 采用 HighMap 软件绘制了 1 张大豆遗传连锁图谱, 包括 6366 个分布于 20 个连锁群的 SNP 标记, 图谱总长度为 2818.67 cM, 两标记之间的平均遗传图距为 0.44 cM。结合该遗传连锁图谱^[15], 利用 QTL IciMapping v4.1 软件的完备区间作图法(ICIM), 以 1000 次随机排列计算出 LOD=3.2 为阈值, 进行 QTL 定位。QTL 的命名参照 McCouch^[16]的方法, 略有改动。例如, *qAcid-6-131*, *q* 指 QTL, *Acid* 是性状英文简写, 6 即该 QTL 所在的染色体, 131 即该 QTL 所在染色体上的位置。

根据简化基因组测序结果, 将 QTL 两端 SNP 标记的物理位置与大豆基因组数据库的全部基因物理位置进行比对, 结合各种功能数据库(NR、Swiss-Prot、GO、KOG、KEGG), 对 QTL 区段中的编码基因进行功能注释。

1.5 数据处理

使用 Microsoft Excel 2010 统计数据。利用 IBM SPSS Statistics 22 对贮藏蛋白质含量相关性状进行正态性检验和方差分析。

2 结果与分析

2.1 亲本的表型分析及方差分析

对亲本的贮藏蛋白 11S、7S 组分及其各亚基的相对含量分析的结果如表 1、图 1、图 2 所示。南豆 12 在 E1、E2、E3 中分别有 5 个、2 个、2 个贮藏蛋白 11S、7S 组分含量相关性状的表型在不同种植方式中的差异显著或极显著; 九月黄在 E1、E2、E3 中均分别有 3 个贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量相关性状的表型在不同种植方式中差异显著或极显著。在 E1 净作下, 南豆 12 和九月黄之间的 10 个贮

藏蛋白 11S、7S 组分相对含量相关性状的表型差异显著或极显著; 在套作下, 两亲本间的 A_5 亚基相对含量差异显著。在 E2 净作下, 两亲本间 11S/7S 比值差异极显著; 在套作下, 两亲本间 11S 组分含量、11S 与 7S 含量之和、 A_3 亚基含量差异显著。在 E3 中, 两亲本间净作下的 11S 组分含量、11S/7S 比值、 α' 亚基含量以及套作下的 11S/7S 比值、 β 亚基含量、Acid 亚基含量差异显著或极显著。

2.2 RIL 群体的表型分析、方差分析及相关性分析

如表 2、图 1、图 2 所示, 各性状的极差总体在 E3 条件下较高, E1 条件次之。RIL 群体的贮藏蛋白质含量的偏度、峰度绝对值多数小于 1 且服从正态分布。表明贮藏蛋白 11S、7S 组分含量相关性状分离符合数量性状遗传特点, 该群体可用于 QTL 定位。

表 1 不同环境及种植方式下亲本的贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量

Table 1 Glycinin and β -conglycinin relative content of 'Nandou 12' (ND12) and 'Jiuyuehuang' (JYH) under different environments and planting patterns

性状 Trait	种植方式 Planting pattern	E1			E2			E3		
		南豆 12 ND12	九月黄 JYH	Sig.	南豆 12 ND12	九月黄 JYH	Sig.	南豆 12 ND12	九月黄 JYH	Sig.
7S (%)	M	20.18±0.22 b	24.47±0.30 a	**	21.77±1.28 a	21.55±0.63 a	NS	22.84±0.20 a	22.96±0.47 a	NS
	RI	23.42±1.40 a	25.25±2.05 a	NS	23.36±1.64 a	21.25±1.16 a	NS	22.43±2.21 a	22.21±1.45 a	NS
11S (%)	M	33.74±0.29 a	42.47±0.31 A	**	36.80±2.06 a	38.05±0.97 a	NS	37.99±0.69 a	36.08±0.76 a	*
	RI	35.57±1.64 a	36.63±0.30 B	NS	38.09±1.37 a	35.35±1.02 b	*	33.30±3.60 a	38.12±2.03 a	NS
11S+7S (%)	M	53.92±0.51 b	66.94±0.27 a	**	58.58±3.33 a	59.60±1.59 a	NS	60.84±0.88 a	59.04±1.18 a	NS
	RI	58.99±3.04 a	61.88±2.16 b	NS	61.45±1.01 a	56.60±2.15 a	*	55.73±5.80 a	60.33±3.48 a	NS
11S/7S	M	1.67±0.00 a	1.74±0.03 A	*	1.69±0.01 a	1.77±0.01 a	**	1.66±0.02 A	1.57±0.02 B	**
	RI	1.52±0.02 b	1.46±0.11 B	NS	1.64±0.16 a	1.67±0.05 b	NS	1.48±0.02 B	1.72±0.02 A	**
α' (%)	M	6.67±0.03 B	8.35±0.06 a	**	7.06±0.22 a	7.12±0.17 a	NS	7.08±0.54 a	8.01±0.16 A	*
	RI	7.66±0.26 A	8.84±0.96 a	NS	7.29±0.83 a	6.74±0.83 a	NS	7.68±0.94 a	6.90±0.36 B	NS
A (%)	M	6.84±0.18 a	9.49±0.28 a	**	7.92±0.75 a	7.63±0.69 a	NS	8.38±0.50 a	8.14±0.81 a	NS
	RI	8.29±0.93 a	9.89±0.89 a	NS	8.50±0.92 a	7.25±0.15 a	NS	8.45±0.92 a	7.72±0.72 a	NS
B (%)	M	6.67±0.20 B	6.63±0.42 a	NS	6.80±0.38 b	6.81±0.12 b	NS	7.39±0.91 a	6.81±0.30 b	NS
	RI	7.47±0.23 A	6.52±0.66 a	NS	7.57±0.27 a	7.26±0.19 a	NS	6.30±0.60 a	7.59±0.37 a	*
A_3 (%)	M	5.27±0.15 a	7.43±0.76 a	**	5.04±0.71 a	4.79±0.11 a	NS	5.61±0.23 a	5.28±1.24 a	NS
	RI	4.71±0.61 a	6.52±1.07 a	NS	5.47±0.21 a	4.65±0.31 a	*	5.37±0.15 a	6.00±0.46 a	NS
Acid (%)	M	13.01±0.88 a	17.17±0.78 a	**	15.79±2.58 a	14.68±1.07 a	NS	17.46±1.65 a	15.77±1.65 a	NS
	RI	14.14±0.65 a	16.35±2.29 a	NS	16.98±1.68 a	14.56±1.20 a	NS	13.72±1.33 b	17.39±0.44 a	**
Basic (%)	M	8.65±0.44 a	12.48±1.28 a	**	8.93±0.08 B	9.82±0.57 a	NS	8.27±0.47 a	8.66±0.11 a	NS
	RI	9.36±1.42 a	9.45±2.24 a	NS	9.90±0.15 A	9.24±0.96 a	NS	8.95±0.71 a	9.13±0.45 a	NS
A_5 (%)	M	6.81±0.34 a	5.39±0.66 a	*	7.04±0.91 a	8.75±1.31 a	NS	6.71±2.71 a	6.37±1.59 a	NS
	RI	7.36±0.92 a	4.42±1.10 a	*	5.74±0.58 a	6.9±0.94 a	NS	5.27±2.86 a	5.60±1.65 a	NS

M: 净作; RI: 套作。用不同的大小写字母分别表示同一亲本的籽粒贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量在不同种植方式下的差异达到 0.01 和 0.05 的显著水平。在相同环境的同一行中, 用**、*和 NS 分别表示亲本之间差异极显著($P < 0.01$)、显著($P < 0.05$)和不显著。E1、E2 和 E3 分别代表 2017 年仁寿、2017 年雅安和 2016 年仁寿 3 种环境条件。

M: monoculture; RI: relay intercropping. Values followed by different capital letters and small letters are significantly different at $P < 0.01$ and 0.05 respectively between treatments. In certain environment, **, *, and NS denote significance at $P < 0.01$, $P < 0.05$, and no significance in the same row, respectively. E1, E2, and E3 respectively represent at Renshou in 2017, Ya'an in 2017, and Renshou in 2016.

图 1 大豆贮藏蛋白亚基的 SDS-PAGE 图谱

Fig. 1 SDS-PAGE results of storage protein subunits in soybean seeds

1: 南豆 12; 2: 九月黄; 3: 158 号家系材料; 4: 104 号家系材料。缩写同表 1。

1: Nandou 12; 2: Jiuyuehuang; 3: RIL158; 4: RIL104. Abbreviations are the same as those given in Table 1.

(图 2)

(图 2)

图 2 RIL 群体贮藏蛋白亚基含量频数分布图

Fig. 2 Frequency distribution profiles of glycinin and β -conglycinin from seed storage protein in RILs population

缩写同表 1。Abbreviations are the same as those given in Table 1.

表 3 显示, 除 11S 组分与 7S 组分相对含量之和在不同种植方式下差异不显著外, 其余性状在三因素及三因素交互作用下的差异均显著或极显著。

在 E1、E2、E3 中, 各性状在净作和套作下的相关性基本一致(表 4)。11S 及其各亚基相对含量、11S/7S 比值和 7S 及其各亚基相对含量之间基本呈显著或极显著负相关; 7S 与 11S 相对含量之和、11S/7S 比值和 11S 及其各亚基相对含量之间基本呈显著或极显著正相关。

2.3 QTL 分析

共检测到 10 个控制大豆贮藏蛋白 11S、7S 组分含量相关的 QTL (表 5), 在净作和套作下各检测到 5 个, 分布于 9 条染色体, 解释了 5.63%~9.68% 的表型变异。在 E1 定位到 5 个 QTL, 分布于 6 号、10 号、14 号、18 号、19 号染色体, 除 *qAcid-6-131* 和

qGpC-18-85 外, 其余 QTL 加性效应均为负, 增效等位基因来自亲本南豆 12; 在 E2 定位到 3 个 QTL, 分布于 1 号、8 号染色体, 除 *qAlpha-8-27* 外, 其余 QTL 加性效应为负; 在 E3 定位到 2 个 QTL, 分布于 4 号、20 号染色体。

2.4 候选基因的筛选

在控制贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量的 QTL 区段内总共注释到 229 个基因, 在净作中有 138 个, 在套作中有 91 个。如表 6 所示, 与贮藏蛋白 11S、7S 组分含量相关的候选基因共有 65 个, 按 GO 注释结果将其分为 5 组, 在净作中有 34 个, 在套作中有 31 个。第一组有 30 个基因, 与植物激素(生长素、脱落酸、乙烯)调节相关, 影响贮藏蛋白的合成与运输。第二组是 19 个与氨基酸合成相关的基因。第三组是 14 个与蛋白质磷酸化相关基因, 蛋白质磷酸化

表 2 RIL 群体贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量基本统计量分析

Table 2 Statistic analysis of the glycinin and β -conglycinin relative content of seed storage protein in RILs population

性状 Trait	环境 E	种植方式 Planting pattern	平均数 $\pm$ 标准差 Mean $\pm$ SD	最大值 Max.	最小值 Min.	极差 Range	变异系数 CV (%)	偏度 Skew.	峰度 Kurt.	P (S-W)
7S (%)	E1	M	22.34 $\pm$ 1.81	30.03	19.73	10.30	8.11	1.73	4.07	0.00
		RI	24.30 $\pm$ 2.67	29.35	19.17	10.18	10.99	-0.10	-1.30	0.00
	E2	M	21.74 $\pm$ 1.63	26.88	17.49	9.39	7.52	0.49	0.33	0.01
		RI	22.44 $\pm$ 1.45	26.24	18.16	8.08	6.45	0.03	0.06	0.74
	E3	M	24.67 $\pm$ 1.92	29.92	19.60	10.32	7.78	0.23	-0.37	0.21
		RI	25.22 $\pm$ 1.92	30.18	19.89	10.29	7.60	0.14	-0.04	0.35
11S (%)	E1	M	36.16 $\pm$ 2.68	42.62	30.03	12.59	7.42	0.14	-0.79	0.01
		RI	35.65 $\pm$ 2.27	41.83	29.24	12.59	6.37	0.15	-0.17	0.75
	E2	M	37.73 $\pm$ 2.05	42.69	32.39	10.30	5.43	0.26	-0.35	0.05
		RI	36.57 $\pm$ 2.30	44.09	29.91	14.18	6.28	0.25	0.52	0.20
	E3	M	37.47 $\pm$ 2.62	46.31	30.46	15.85	6.99	0.14	0.01	0.34
		RI	36.22 $\pm$ 2.74	44.36	30.87	13.49	7.56	0.81	0.48	0.00
11S+7S (%)	E1	M	58.50 $\pm$ 2.81	65.08	52.05	13.03	4.80	-0.03	-0.79	0.00
		RI	59.95 $\pm$ 2.85	67.16	53.25	13.91	4.76	-0.01	-0.30	0.59
	E2	M	59.46 $\pm$ 2.23	65.27	54.60	10.67	3.75	0.05	-0.74	0.04
		RI	59.01 $\pm$ 2.59	65.31	51.99	13.32	4.39	-0.04	0.01	0.30
	E3	M	62.15 $\pm$ 2.65	72.35	55.68	16.67	4.27	0.21	0.28	0.10
		RI	61.45 $\pm$ 2.76	69.69	55.35	14.34	4.49	0.66	0.08	0.00
11S/7S	E1	M	1.63 $\pm$ 0.19	2.10	1.10	1.00	11.67	-0.17	0.01	0.11
		RI	1.49 $\pm$ 0.22	2.03	1.06	0.97	14.67	0.29	-0.99	0.00
	E2	M	1.75 $\pm$ 0.18	2.37	1.32	1.05	10.36	0.26	0.35	0.06
		RI	1.64 $\pm$ 0.16	2.08	1.26	0.82	9.46	0.31	-0.13	0.22
	E3	M	1.53 $\pm$ 0.18	2.17	1.10	1.07	12.07	0.22	0.19	0.47
		RI	1.45 $\pm$ 0.18	1.93	1.09	0.84	12.32	0.30	-0.42	0.03
α' (%)	E1	M	7.45 $\pm$ 0.79	9.99	6.10	3.89	10.59	1.19	1.71	0.00
		RI	8.35 $\pm$ 1.22	11.12	6.02	5.10	14.61	-0.07	-1.06	0.00
	E2	M	7.10 $\pm$ 0.65	10.01	5.61	4.40	9.09	0.57	1.79	0.00
		RI	7.43 $\pm$ 0.61	9.87	5.81	4.06	8.18	0.24	1.72	0.00
	E3	M	8.39 $\pm$ 0.77	10.46	6.66	3.80	9.21	0.42	-0.32	0.00
		RI	8.53 $\pm$ 0.85	11.05	5.98	5.07	9.95	0.01	0.41	0.14
α (%)	E1	M	8.12 $\pm$ 0.73	11.71	6.81	4.90	9.00	1.91	5.37	0.00
		RI	9.03 $\pm$ 1.17	11.33	6.73	4.60	12.94	-0.17	-1.10	0.00
	E2	M	7.92 $\pm$ 0.72	10.24	6.20	4.04	9.09	0.60	0.36	0.00
		RI	8.04 $\pm$ 0.63	9.81	6.32	3.49	7.87	-0.03	-0.02	0.61
	E3	M	9.28 $\pm$ 0.89	11.93	6.81	5.12	9.59	0.22	-0.27	0.13
		RI	9.43 $\pm$ 0.94	12.60	6.97	5.63	9.98	0.29	0.47	0.14
β (%)	E1	M	6.77 $\pm$ 0.58	9.48	5.31	4.17	8.54	1.72	5.30	0.00
		RI	6.92 $\pm$ 0.61	8.33	4.97	3.36	8.78	0.07	0.08	0.02
	E2	M	6.72 $\pm$ 0.61	8.73	5.46	3.27	9.13	0.30	0.02	0.11
		RI	6.97 $\pm$ 0.60	8.95	5.49	3.46	8.63	0.46	0.80	0.01
	E3	M	7.01 $\pm$ 0.76	9.37	5.23	4.14	10.85	0.11	-0.05	0.75
		RI	7.26 $\pm$ 0.59	8.71	5.54	3.17	8.15	0.03	0.09	0.64
A_3 (%)	E1	M	5.50 $\pm$ 0.38	6.48	4.25	2.23	6.92	-0.28	0.39	0.21
		RI	5.06 $\pm$ 0.55	6.25	3.71	2.54	10.89	-0.41	-0.24	0.00
	E2	M	5.64 $\pm$ 0.61	8.20	4.30	3.90	10.86	0.77	1.84	0.00
		RI	5.35 $\pm$ 0.54	7.02	3.16	3.86	10.11	-0.37	1.65	0.00
	E3	M	5.42 $\pm$ 0.62	7.15	3.45	3.70	11.35	-0.36	0.34	0.04
		RI	5.60 $\pm$ 0.72	7.56	3.94	3.62	12.85	0.33	-0.14	0.10

(续表 2)

性状 Trait	环境 E	种植方式 Planting pattern	平均数±标准差 Mean±SD	最大值 Max	最小值 Min	极差 Range	变异系数 CV (%)	偏度 Skew.	峰度 Kurt.	P (S-W)
Acid (%)	E1	M	15.64±1.54	20.78	12.51	8.27	9.83	0.69	0.11	0.00
		RI	14.38±1.52	17.99	8.70	9.29	10.57	-0.60	0.90	0.00
	E2	M	15.86±1.92	21.60	11.33	10.27	12.10	0.50	0.26	0.01
		RI	15.16±1.68	19.19	9.57	9.62	11.08	-0.07	0.07	0.43
	E3	M	15.38±1.25	18.93	10.92	8.01	8.15	-0.29	0.98	0.04
		RI	14.90±1.38	19.04	11.33	7.71	9.26	-0.19	-0.19	0.22
Basic (%)	E1	M	10.36±1.95	16.15	6.46	9.69	18.79	0.56	-0.26	0.00
		RI	10.18±2.83	20.32	5.35	14.97	27.78	0.84	1.50	0.00
	E2	M	10.77±2.21	16.66	6.33	10.33	20.52	0.16	-0.62	0.03
		RI	9.89±2.25	20.84	5.37	15.47	22.75	1.78	4.17	0.00
	E3	M	8.82±2.31	23.59	4.81	18.78	26.24	1.90	7.63	0.00
		RI	8.09±1.79	15.48	4.50	10.98	22.09	0.96	2.47	0.00
A ₅ (%)	E1	M	4.66±1.53	11.43	2.88	8.55	32.86	1.95	4.15	0.00
		RI	6.02±2.32	15.45	0.88	14.57	38.44	1.21	1.57	0.00
	E2	M	5.45±1.63	11.61	3.01	8.60	29.84	1.22	1.56	0.00
		RI	6.17±1.76	11.42	2.83	8.59	28.56	0.30	-0.21	0.00
	E3	M	7.85±3.36	17.74	1.09	16.65	42.85	0.65	-0.13	0.00
		RI	7.64±3.94	18.83	1.75	17.08	51.52	1.03	0.31	0.00

缩写同表 1。Abbreviations are the same as those given in Table 1.

表 3 大豆贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量的方差分析

Table 3 Analysis of variance of glycinin and β -conglycinin from seed storage protein in soybean

性状 Trait	变异来源 Variability source						
	E	P	G	E×P	E×G	P×G	E×P×G
7S (%)	2719.17**	1130.16**	16.35**	198.05**	12.31**	15.24**	9.05**
11S (%)	232.79**	390.23**	9.34**	22.11**	9.01**	8.57**	6.90**
11S+7S (%)	577.47**	1.81	5.13**	90.72**	4.71**	4.39**	4.42**
11S/7S	3509.46**	3081.43**	34.63**	68.89**	29.83**	35.37**	20.09**
α' (%)	1534.95**	670.80**	10.08**	169.27**	6.65**	8.86**	6.62**
α (%)	1726.56**	423.291**	8.68**	181.27**	6.97**	7.90**	5.07**
β (%)	131.30**	162.88**	6.03**	4.20*	4.76**	4.04**	3.80**
A ₃ (%)	60.23**	91.30**	3.89**	93.41**	3.23**	2.47**	2.70**
Acid (%)	43.73**	324.46**	5.05**	26.16**	3.87**	3.09**	4.02**
Basic (%)	490.46**	116.33**	7.57**	14.65**	5.40**	5.82**	4.28**
A ₅ (%)	541.06**	97.84**	5.93**	52.02**	6.24**	5.73**	4.71**

E: 环境; P: 种植方式; G: 基因型。E×P、E×G 和 P×G 分别表示环境和种植方式之间的交互、环境和基因型之间的交互以及种植方式和基因型之间的交互, E×P×G 表示环境、种植方式和基因型间的交互。**表示差异达到极显著水平 ($P < 0.01$), *表示差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

E: environment; P: planting pattern; G: genotype. E×P, E×G, and P×G represented the interaction between the environment and planting pattern, the interaction between the environment and genotype, and the interaction between the planting pattern and genotype, respectively. E×P×G represented the interaction among environment, planting pattern, and genotype. ** denotes significance at $P < 0.01$ and * denotes significance at $P < 0.05$.

表 4 3 个环境的不同种植方式下贮藏蛋白 11S、7S 组分亚基相对含量的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of the relative contents of glycinin and β -conglycinin from seed storage protein under different planting patterns in E1, E2, and E3

7S (%)	环境 Environ.	7S (%)	11S (%)	7S+11S (%)	11S7S	α' (%)	α (%)	β (%)	A ₃ (%)	Acid (%)	Basic (%)	A ₅ (%)
	E1	1	-0.34**	0.66**	-0.91**	0.96**	0.95**	0.64**	-0.11	-0.17*	-0.40*	0.29**
	E2	1	-0.10	0.47**	-0.75**	0.81**	0.78**	0.76**	0.08	0.54**	-0.37**	-0.20**
	E3	1	-0.34**	0.36**	-0.82**	0.87**	0.92**	0.53**	-0.07	0.09	-0.44**	-0.06
11S (%)	E1	-0.27**	1	0.48**	0.69**	-0.32**	-0.27**	-0.35**	-0.00	0.23**	0.56**	0.14*
	E2	-0.28**	1	0.83**	0.73**	-0.21**	0.03	-0.07	0.16*	0.40**	0.57**	0.16*
	E3	0.35**	1	0.76**	0.81**	-0.26**	-0.20**	-0.41**	-0.36**	-0.05	-0.13	0.84**
7S+11S (%)	E1	0.39**	0.78**	1	-0.31**	0.65**	0.67**	0.32**	-0.11	0.03	0.07	0.39**
	E2	0.47**	0.71**	1	0.23**	0.27**	0.47**	0.37**	0.19**	0.66**	0.29**	0.03
	E3	0.38**	0.74**	1	0.24**	0.35**	0.44**	-0.04	-0.40**	0.02	-0.43**	0.79**
11S7S	E1	-0.77**	0.81**	0.28**	1	-0.87**	-0.85**	-0.62**	0.11	0.25**	0.54**	-0.17*
	E2	-0.85**	0.73**	0.05	1	-0.69**	-0.51**	-0.56**	0.06	-0.09	0.63**	0.22**
	E3	-0.84**	0.80**	0.18**	1	-0.69**	-0.68**	-0.57**	-0.17*	-0.07	0.19**	0.54**
α' (%)	E1	0.93**	-0.29**	0.32**	-0.75**	1	0.90**	0.49**	-0.12	-0.14	-0.39**	0.29**
	E2	0.83**	-0.24**	0.39**	-0.71**	1	0.47**	0.45**	0.04	0.36**	-0.35**	-0.18*
	E3	0.81**	-0.30**	0.29**	-0.69**	1	0.76**	0.17*	-0.02	0.05	-0.37**	-0.03
α (%)	E1	0.91**	-0.13	0.47**	-0.62**	0.83**	1	0.43**	-0.23**	-0.28**	-0.23**	0.26**
	E2	0.88**	-0.17*	0.48**	-0.71**	0.64**	1	0.36**	0.13	0.45**	-0.25**	-0.11
	E3	0.89**	-0.17*	0.47**	-0.66**	0.70**	1	0.29**	-0.24**	0.05	-0.43**	0.09
β (%)	E1	0.72**	-0.28**	0.19**	-0.61**	0.49**	0.46**	1	0.18*	0.07	-0.51**	0.19**
	E2	0.76**	-0.30**	0.27**	-0.69**	0.42**	0.48**	1	0.02	0.47**	-0.29**	-0.18*
	E3	0.66**	-0.37**	0.11	-0.64**	0.22**	0.37**	1	0.18**	0.15*	-0.21**	-0.28**
A ₃ (%)	E1	-0.13	0.20**	0.11	0.19**	-0.22**	-0.09	0.01	1	0.57**	-0.35**	-0.19**
	E2	0.33**	-0.03	0.21**	-0.24**	0.25**	0.33**	0.21**	1	0.41**	-0.18*	-0.26**
	E3	0.11	-0.27**	-0.19**	-0.23**	-0.03	-0.08	0.40**	1	0.26**	0.13	-0.58**
Acid (%)	E1	-0.04	0.47**	0.42**	0.30**	-0.06	0.08	-0.13	0.34**	1	-0.17*	-0.36**
	E2	0.56**	0.26**	0.65**	-0.26**	0.46**	0.54**	0.36**	0.48**	1	-0.18*	-0.34**
	E3	0.34**	-0.07	0.18*	-0.27**	0.21**	0.18*	0.45**	0.48**	1	-0.30**	-0.30**
Basic (%)	E1	-0.29**	0.48**	0.27**	0.53**	-0.35**	-0.26**	-0.11	-0.01	-0.38**	1	-0.48**
	E2	-0.58**	0.56**	0.09	0.70**	-0.47**	-0.43**	-0.54**	-0.31**	-0.44**	1	-0.31**
	E3	-0.22**	0.26**	0.10	0.30**	0.01	-0.14	-0.40**	-0.22**	-0.20**	1	0.46**
A ₅ (%)	E1	-0.03	0.62**	0.58**	0.40**	0.06	0.05	-0.22**	-0.22**	0.21**	-0.05	1
	E2	-0.35**	0.21**	-0.06	0.37**	-0.30**	-0.39**	-0.15*	-0.55**	-0.43**	-0.02	1
	E3	-0.27**	0.68**	0.47**	0.56**	-0.31**	-0.09	-0.25**	-0.42**	-0.38**	-0.37**	1

相关系数小数点前的“0”已省略。对角线以下为净作, 对角线以上为套作。**表示相关性达到极显著水平($P < 0.01$), *表示相关性达到显著水平($P < 0.05$)。

The “0” in front of the decimal point of the correlation coefficient is omitted. The correlation coefficient below the diagonal line is for monoculture, above the diagonal line for relay intercropping.

** denotes the significant correlation at $P < 0.01$ and * denotes the significant correlation at $P < 0.05$.

表 5 贮藏蛋白 11S、7S 组分相对含量相关 QTL

Table 5 QTLs for glycinin and β -conglycinin from storage protein in soybean seeds

环境 Environ.	种植方式 Planting pattern	QTL	标记区间 Marker interval	LOD	贡献率 PVE(%)	加性效应 Add. effect	置信区间 Confidence interval
E1	M	<i>qAcid-6-131</i>	Marker359561–Marker361355	5.63	8.06	0.53	130.5–131.5
		<i>qAcid-10-80</i>	Marker584033–Marker584037	4.03	5.63	–0.46	79.5–80.5
		<i>qAcid-14-155</i>	Marker713356–Marker710168	4.06	5.81	–0.47	153.5–158.0
	RI	<i>qGpC-18-85</i>	Marker1158309–Marker1157431	5.61	6.62	1.06	84.5–85.5
		<i>qBeta-19-5</i>	Marker1175558–Marker1175562	4.03	9.01	–0.18	4.5–5.5
E2	M	<i>qBeta-1-135</i>	Marker69562–Marker69768	3.21	7.49	–0.18	134.5–135.5
	RI	<i>qAlpha-8-27</i>	Marker460291–Marker460320	4.40	9.68	0.20	26.5–27.5
		<i>qBeta-1-13</i>	Marker2130–Marker2656	3.22	7.14	–0.17	11.5–15.5
E3	M	<i>qAcid-4-67</i>	Marker270606–Marker271196	3.68	8.20	–0.40	66.5–70.5
	RI	<i>qGpC-20-110</i>	Marker1242459–Marker1242433	3.65	8.60	0.82	109.5–110.5

GpC 表示 11S 与 7S 组分相对含量之和; *Alpha* 和 *Beta* 分别表示 α 和 β 亚基的相对含量; *Acid* 表示 11S 组分酸性亚基的相对含量。缩写同表 1。

GpC represents the sum of the relative content of glycinin and β -conglycinin; *Alpha* and *Beta* represents the relative content of α subunit and β subunit, respectively; *Acid* represents the relative content of acid subunits from 11S fraction. Abbreviations are the same as those given in Table 1.

表 6 贮藏蛋白含量相关的候选基因分类

Table 6 Candidate gene classification related to glycinin and β -conglycinin relative content from storage protein

分组 Group	生物过程 Biological process	基因 ID (净作/套作) Gene ID (Monoculture/Relay intercropping)	注释信息 Annotation description
I	激素调节 Regulation of hormone	<i>Glyma.01G179900</i> ; <i>Glyma.14G193800</i> , 060300, 195200, 195300, 196000, 196600, 197100, 197200, 197500, 197600, 198000, 198100, 198300, 198600, 199200, 200200, 202000, 202600, 202700, 203000 / <i>Glyma.01G025300</i> , 025400, 025500, 025600, 027400; <i>Glyma.18G251800</i> , 252200, 252300, 252400	脱落酸激活的信号通路、激素介导的信号通路、乙烯激活的信号通路、生长素反应、脱落酸反应 Abscisic acid-activated signaling pathway, hormone-mediated signaling pathway, ethylene-activated signaling pathway, response to auxin, response to abscisic acid
II	氨基酸合成 Amino acid synthesis	<i>Glyma.01G180100</i> ; <i>Glyma.04G211400</i> ; <i>Glyma.06G243800</i> ; <i>Glyma.14G195300</i> , 196600, 197100, 198700, 202000, 202700, 203000, 203700 / <i>Glyma.01G025600</i> , 027100, 027400, 028100, 028700; <i>Glyma.08G210500</i> ; <i>Glyma.18G250600</i> , 251800	蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、丝氨酸家族氨基酸代谢过程 Protein serine/threonine kinase activity, serine family amino acid metabolic process
III	蛋白质磷酸化 Protein phosphorylation	<i>Glyma.06G243800</i> ; <i>Glyma.14G195200</i> , 196600, 202700, 203000 / <i>Glyma.01G027100</i> , 028000, 028700; <i>Glyma.18G249400</i> , 249700, 249900, 250500, 250600, 251800	蛋白质磷酸化、蛋白质丝氨酸/苏氨酸磷酸酶活性、蛋白质脱磷酸 Protein phosphorylation, protein serine/threonine phosphatase activity, protein dephosphorylation
IV	细胞器生物过程 Organelle biological process	<i>Glyma.04G212200</i> , 212400; <i>Glyma.14G194300</i> , 194500, 196600, 197600, 198000, 198100, 198600, 199000, 202000, 202400, 203000 / <i>Glyma.01G025200</i> , 026000, 026200, 026700, 028100; <i>Glyma.18G248400</i> , 251300, 251800, 253200	内质网、液泡、内质网膜 Endoplasmic reticulum, vacuole, endoplasmic reticulum membrane
V	种子发育 Seed development	<i>Glyma.01G179800</i> ; <i>Glyma.14G197100</i> , 197500, 199000, 202100 / <i>Glyma.01G025200</i> , 025300, 025400, 026200, 027400; <i>Glyma.18G249400</i> , 249700, 249800, 250000, 250100, 250600, 250700, 251200, 251800	子叶发育、以种子休眠结束的胚胎发育 Cotyledon development, embryo development ending in seed dormancy

会影响蛋白质功能特性。第四组包含 22 个基因, 这些基因控制与蛋白质合成和加工相关的细胞器(液泡、内质网)所涉及的生物过程。第五组含有 19 个与种子发育相关的基因。

3 讨论

11S 的含硫氨基酸含量较 7S 高, 所以 11S/7S 比值是衡量大豆营养品质的一个重要指标, 但环境因素对贮藏蛋白 11S/7S 比值影响的研究少见报道。RIL 群体的 11S/7S 比值呈 E2>E1>E3 的趋势, 且均在净作下显

著高于套作。结合气象资料分析(表 7), 大豆苗期(6 月中旬至 6 月下旬)和成熟期(10 月上旬至 10 月中旬)的日均温差呈 E3>E2>E1 的趋势, 结合卢为国等^[17]研究可知苗期和成熟期较低的日均温差有利于 11S/7S 比值提高, 因此本研究的 11S/7S 比值与前人结论一致; 而在苗期的日均温度为 E3>E2>E1, 由于苗期较高的日均温度利于 11S/7S 比值提高^[17], 本研究的 11S/7S 比值与前人结论相反; 据此推测, RIL 群体在净作下的 11S/7S 比值较高的原因可能是苗期套作大豆行间温度较净作低, 不利于套作下 11S/7S 比值的提高。

表 7 3 个环境 6 月至 10 月气象资料
Table 7 Meteorological data for E1, E2, and E3 from June to October (°C)

月 Month	旬 Ten-day periods	日平均温度 Daily mean temperature			日最高温度 Daily maximum temperature			日最低温度 Daily minimum temperature		
		E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
6 月 June	上旬 The first ten days	25.40	23.13	25.80	30.47	28.02	31.86	21.59	19.87	20.99
	中旬 The middle ten days	23.94	22.68	27.40	28.07	26.92	32.54	21.12	19.82	22.43
	下旬 The last ten days	25.77	24.24	25.90	30.39	29.45	30.41	22.08	20.61	22.53
7 月 July	上旬 The first ten days	27.83	26.09	27.20	33.93	31.38	31.26	23.67	22.73	23.57
	中旬 The middle ten days	29.23	27.78	27.80	35.00	34.31	32.80	24.45	23.50	23.20
	下旬 The last ten days	30.41	28.08	27.90	36.13	35.23	32.84	25.88	24.15	24.23
8 月 August	上旬 The first ten days	29.41	28.11	27.00	35.17	34.20	31.98	25.55	24.43	23.79
	中旬 The middle ten days	27.71	26.10	30.40	32.25	31.20	35.66	24.23	23.24	26.33
	下旬 The last ten days	26.16	24.36	28.20	29.99	28.63	33.05	23.40	21.88	24.72
9 月 September	上旬 The first ten days	23.95	22.54	23.10	27.66	27.38	27.12	21.31	19.81	20.43
	中旬 The middle ten days	23.68	22.29	22.00	27.40	26.03	25.40	21.22	20.30	19.82
	下旬 The last ten days	23.04	21.55	22.30	26.43	25.89	25.95	20.94	19.24	19.88
10 月 October	上旬 The first ten days	19.97	18.77	22.00	23.73	23.03	25.59	17.70	16.85	19.47
	中旬 The middle ten days	17.07	15.75	18.30	19.41	18.36	20.94	15.65	14.28	16.55
	下旬 The last ten days	16.02	14.97	17.70	18.60	17.70	20.75	14.33	13.58	15.76

该数据来源于中国气象数据网(<http://data.cma.cn/>)。缩写同表 1。
The data are from National Meteorological Information Center (<http://data.cma.cn/>). Abbreviations are the same as those given in Table 1.

通过对不同环境、不同种植方式下贮藏蛋白亚基相关性状间相关性分析(表 4), 表明 7S 相对含量与 11S 相对含量之间呈现“此消彼长”的关系, 这与人研究结果中 7S 组分和 11S 组分之间存在含量补偿机制相符^[18-20]。因此, 通过调节 11S/7S 比值可降低 7S 相对含量, 进而达到改善大豆蛋白制品的加工和营养品质的目的^[21]。

在大豆数据库(www.soybase.org)中, 与贮藏蛋白 11S、7S 组分含量相关的 QTL 主要分布于 1 号、4 号、6 号、10 号、17 号染色体; 刘顺湖等^[8]利用 ICIM 法定位到控制 11S、7S 组分含量的 QTL 主要分布于 1 号、2 号、15 号染色体; 本研究定位到的

QTL 主要分布于 1 号染色体, 且共有 5 个 QTL 分布于 1 号、4 号、6 号、10 号染色体。与人结果比较, 发现在 1 号染色体上的 *qβ-1-135* 的物理区段(51,558,983~51,642,998 bp)与 Ma 等^[7]定位到的 QTL 物理区段(49,734,098~54,121,486 bp)重合。本研究在 E1、E2、E3 的不同种植方式下没有检测到稳定的 QTL, 可能是因为蛋白质含量相关性状容易受环境因素的影响, 如 E3 和 E2 在苗期(6 月中旬至 6 月下旬)及成熟期(10 月上旬至 10 月中旬)的日平均温度均有差异, 从而造成各环境下蛋白质合成与积累的不同。

根据基因注释以及拟南芥数据库 (www.arabidopsis.org) 信息, 在与贮藏蛋白 11S、7S 组分含量相关性状的 65 个候选基因中筛选出 2 个可能相关的候选基因。Glyma.06G243800 在拟南芥中的同源基因 AT1G29720 的产物为富半胱氨酸受体激酶, 是酪氨酸激酶的一种; 酪氨酸激酶在拟南芥种子中参与脱落酸的转导^[22], 高浓度的 (3.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) 脱落酸会减少土豆所有器官中硝酸盐还原酶的活性^[23], 在转基因小麦中过表达烟草硝酸盐还原酶基因会使小麦籽粒蛋白质含量增加^[24]。Glyma.01G026700 在拟南芥中的同源基因 AT1G70580 编码的谷氨酰胺转氨酶 (GGT2), 是目前唯一一种能在谷胱甘肽中裂解谷氨酸和半胱氨酸之间肽键的酶^[25], 而谷胱甘肽会影响大豆种子贮藏蛋白质亚基的积累^[26]。

4 结论

在不同的环境和种植方式下, 亲本与 RIL 群体的贮藏蛋白组分含量及比值差异显著或极显著。与贮藏蛋白 11S、7S 组分含量相关的 10 个 QTL 贡献率为 5.63%~9.68%, 主要分布于 1 号染色体, 增效等位基因多来自于南豆 12。在 QTL 区段中筛选出 65 个与贮藏蛋白质含量相关的候选基因。

References

- [1] Li C, He X, Zhu S, Zhou H, Wang Y, Li Y, Yang J, Fan J, Yang J, Wang G, Long Y, Xu J, Tang Y, Zhao G, Yang J, Liu L, Sun Y, Xie Y, Wang H, Zhu Y. Crop diversity for yield increase. *PLoS One*, 2009, 4: e8049.
- [2] 鲍韵, 吴昌南. 我国大豆产业安全预警系统构建. 江西社会科学, 2013, (4): 48–53.
Bao Y, Wu C N. Construction of soybean industry safety early warning system in China. *Jiangxi Social Sci*, 2013, (4): 48–53 (in Chinese).
- [3] 刘丽君, 赵贵兴, 高明杰, 吴俊江, 陈霞. 大豆加工品质的资源筛选和遗传改良的研究: II. 豆腐、酱油、毛豆、大豆加工原料的筛选. 大豆科学, 2004, 23: 184–187.
Liu L J, Zhao G X, Gao M J, Wu J J, Chen X. Study on resource screen and inheritance improvement for processing quality of soybean: II. Screening of soybean varieties for Tofu, sauce processing and fresh soybean. *Soybean Sci*, 2004, 23: 184–187 (in Chinese with English abstract).
- [4] 李冬冬. 大豆营养与人体健康分析. 中国卫生标准管理, 2015, 6(5): 5–6.
Li D D. The analysis of soybean nutrition and physical health. *China Health Standard Manage*, 2015, 6(5): 5–6 (in Chinese with English abstract).
- [5] Fukushima D. Structures of plant storage proteins and their functions. *Food Rev Int*, 1991, 3: 353–379.
- [6] Panthee D R, Kwanyuen P, Sams C E, West D R, Saxton A, Pantalone V R. Quantitative trait loci for β -conglycinin (7S) and glycinin (11S) fractions of soybean storage protein. *J Am Oil Chem Soc*, 2004, 81: 1005–1012.
- [7] Ma Y, Kan G, Zhang X, Wang Y, Zhang W, Du H, Yu D. Quantitative trait loci (QTL) mapping for glycinin and β -conglycinin contents in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *J Agric Food Chem*, 2016, 64: 3473–3483.
- [8] 刘顺湖, 周瑞宝, 喻德跃, 陈受宜, 盖钧铭. 大豆蛋白质有关性状的 QTL 定位. 作物学报, 2009, 35: 2139–2149.
Liu S H, Zhou R B, Yu D Y, Chen S Y, Gai J Y. QTL mapping of protein related traits in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Acta Agron Sin*, 2009, 35: 2139–2149 (in Chinese with English abstract).
- [9] 简爽, 文自翔, 李海朝, 袁道华, 李金英, 张辉, 叶永忠, 卢为国. 运用关联分析定位栽培大豆蛋白 11S、7S 组分的相关基因位点. 作物学报, 2012, 38: 820–828.
Jian S, Wen Z X, Li H C, Yuan D H, Li J Y, Zhang H, Ye Y Z, Lu W G. Identification of QTLs for glycinin (11S) and β -conglycinin (7S) fractions of seed storage protein in soybean by association mapping. *Acta Agron Sin*, 2012, 38: 820–828 (in Chinese with English abstract).
- [10] 罗庆明. 不同生态区域套作大豆生长势、产量和品质的比较研究. 四川农业大学硕士学位论文, 四川成都, 2010.
Luo Q M. The Comparative Study on Growth Potential, Yield and Quality of Relay Cropping Soybean in Different Ecological Regions. MS Thesis of Sichuan Agricultural University, Chengdu, China, 2010 (in Chinese with English abstract).
- [11] 蒋涛, 杨文钰, 刘卫国, 王凤. 套作大豆贮藏蛋白、氨基酸组成分析及营养评价. 食品科学, 2012, 33(21): 275–279.
Jiang T, Yang W Y, Liu W G, Wang F. Storage protein and amino acid composition analysis and nutrition evaluation of relay-cropped soybean. *Food Sci*, 2012, 33(21): 275–279 (in Chinese with English abstract).
- [12] 蔡凌, 刘卫国, 李奇, 吴雨珊, 方萍, 刘春燕, 杨文钰. 玉米-大豆带状套作对大豆蛋白特性的影响. 中国油料作物学报, 2016, 38: 328–335.
Cai L, Liu W G, Li Q, Wu Y S, Fang P, Liu C Y, Yang W Y. Effect of maize-soybean relay strip intercropping on protein characteristics of soybean. *Chin J Oil Crop Sci*, 2016, 38: 328–335 (in Chinese with English abstract).
- [13] 王显生, 麻浩, 向世鹏, 张国正, 崔国贤. 不同 SDS-PAGE 分离胶浓度条件下大豆贮藏蛋白亚基的分辨效果. 中国油料作物学报, 2004, 26: 75–80.
Wang X S, Ma H, Xiang S P, Zhang G Z, Cui G X. The resolving effect of soybean storage protein subunits under different separation gel concentrations of SDS-PAGE. *Chin J Oil Crop Sci*, 2004, 26: 75–80 (in Chinese with English abstract).
- [14] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248–254.
- [15] Liu D L, Chen S W, Liu X C, Yang F, Liu W G, She Y H, Du J B, Liu C Y, Yang W Y, Wu X L. Genetic map construction and QTL analysis of leaf-related traits in soybean under monoculture and relay intercropping. *Sci Rep*, 2019, 9: 2716.
- [16] McCouch S R, Cho Y G, Yano P E, Blinstrub M, Morishima H,

- Kinoshita T. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11–13.
- [17] 卢为国, 王树峰, 李卫东, 梁慧珍, 耿臻, 范彦英, 刘亚非, 王庭峰, 张辉, 李金英. 大豆籽粒贮藏蛋白 11S/7S 比值与生态因子相关关系的研究. *中国农业科学*, 2005, 38: 1059–1064.
- Lu W G, Wang S F, Li W D, Liang H Z, Geng Z, Fan Y Y, Liu Y F, Wang T F, Zhang H, Li J Y. Effects of eco-physiological factors on storage protein 11S/7S ratio in soybean seeds. *Sci Agric Sin*, 2005, 38: 1059–1064 (in Chinese with English abstract).
- [18] 刘香英, 康立宁, 田志刚, 张井勇, 杨春明, 王景会, 姜媛媛, 张莉. 东北大豆品种贮藏蛋白 7S 和 11S 组分及其亚基相对含量分析. *大豆科学*, 2009, 28: 985–989.
- Liu X Y, Kang L N, Tian Z G, Zhang J Y, Yang C M, Wang J H, Jiang Y Y, Zhang L. Analysis of 7S and 11S globulin and subunit content of soybean in northeast China. *Soybean Sci*, 2009, 28: 985–989 (in Chinese with English abstract).
- [19] Ogawa T, Tayama E, Kitamura K, Kaizuma N. Genetic improvement of seed storage proteins using three variant alleles of 7S globulin subunits in soybean (*Glycine max* L.). *Jpn J Breed*, 1989, 39: 137–147.
- [20] Krishnan H B. Engineering soybean for enhanced sulfur amino acid content. *Crop Sci*, 2005, 45: 454–461.
- [21] Salleh M R B, Maruyama N, Takahashi K, Yagasaki K, Higasa T, Matsumura Y, Utsumi S. Gelling properties of soybean beta-conglycinin having different subunits compositions. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68: 1091–1096.
- [22] Thanos G, Gerard B, Gilles C, Yvette H, Emile M, Bruno S, Emmanuelle J. Protein tyrosine kinases and protein tyrosine phosphatases are involved in abscisic acid-dependent processes in *Arabidopsis* seeds and suspension cells1. *Plant Physiol*, 2008, 148: 1668–1680.
- [23] Palmer C E. The effect of abscisic acid on amino nitrogen and protein content of potato plants in relation to the inhibition of nitrate reductase activity. *Plant Cell Physiol*, 1985, 26: 1083–1091.
- [24] Zhao X Q, Nie X L, Xiao X G. Over-expression of a tobacco nitrate reductase gene in wheat (*Triticum aestivum* L.) increases seed protein content and weight without augmenting nitrogen supplying. *PLoS One*, 2013, 8: e74678.
- [25] Ohkama-Ohtsu N, Radwan S, Peterson A G, Zhao P, Badr A F, Xiang C B, Oliver D J. Characterization of the extracellular γ -glutamyl transpeptidases, GGT1 and GGT2, in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2007, 49: 865–877.
- [26] Awazuhara M, Kim H, Hayashi H, Chino M, Kim S G, Fujiwara T. Composition of seed storage proteins changed by glutathione treatment of soybeans. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66: 1751–1754.