

普通菜豆根系相关性状的关联分析

吴磊 王兰芬 武晶 王述民

(中国农业科学院作物科学研究所, 100081, 北京)

摘要 幼苗期根系发育对作物的生长发育具有重要作用。利用生长袋纸培系统对 324 份普通菜豆种质的主根长、根干重、根体积、根表面积等 9 个根系相关性状进行表型鉴定, 并结合覆盖全基因组、有多态性的 116 对 SSR 标记, 利用 MLM (Q+K) 模型进行表型和标记的关联分析。表型分析表明, 324 份材料的 9 个根系相关性状表型变异丰富, 平均变异系数的变动范围是 10.09%~37.03%; 基因型分析表明, 116 个多态性 SSR 标记共检测到 919 个等位变异位点, 每个标记的平均基因多样性指数为 0.59, 多态性信息含量 (PIC) 平均值为 0.54, 显示这些标记具有较高的基因多样性; 群体结构分析表明, 供试材料分为两个亚群, 与普通菜豆起源于两个基因库对应; 关联分析结果显示, 以 $P < 0.01$ 作为显著条件, 共检测到 48 个显著标记位点, 其中有 10 个位点同时与 2 个以上性状相关联, 有 5 个位点与前人研究结果一致。研究结果为进一步理解普通菜豆根系的遗传机理提供了理论参考, 也为分子标记辅助选择改良普通菜豆根系奠定了基础。

关键词 普通菜豆; 根系性状; SSR 标记; 关联分析

根系是植物生存所必需的重要器官之一, 植物依靠根系吸收水分和营养物质^[1]。同时, 根系对抗逆、固定植物、吸收土壤营养均具有重要作用^[2]。大量研究表明, 除了地上部性状如株高、株型等以外, 作物的产量、抗倒伏、耐旱性、耐盐性以及水分和营养物质 (例如氮和磷) 的获取也与地下部根系性状如根长、根角度等密切相关^[3-8]。根系性状是典型的数量性状, 且遗传力较高^[9-11]。良好的根系构型对提高根系吸收水分和营养物质的效率、增强作物的抗逆性、增加作物产量具有重要作用。

我国普通菜豆主产区主要分布在黑龙江、内蒙古、吉林、云南、四川、贵州、山西、陕西、甘肃等土地相对贫瘠的干旱半干旱地区, 因此改良普通菜豆根系对提高水分、养分等的利用率具有重要意义。有关普通菜豆根系性状的研究较多, 但主要集中在根系生理特性及养分吸收等方面^[12-16], 根系性状的遗传研究相对较少。以往的研究在不同逆境下均检测到与根长、根干重、根角度等相关的 QTL^[9-11], 但大多是生育后期的相关性状, 缺少对幼苗期根系性状的研究。有研究认为, 生育早期良好

的根系发育可以促进根系对营养元素的吸收^[2], 对增产有积极作用, 幼苗期根系发达、生长速率快是作物抗逆的主要根系特征^[17]。因此, 对普通菜豆幼苗期根系进行遗传研究, 发掘与其紧密连锁的分子标记, 对普通菜豆的高产育种和抗逆改良均具有重要意义。本研究以 324 份普通菜豆种质为材料, 结合 116 对多态性 SSR 标记, 对幼苗期根系性状进行关联分析, 发掘与普通菜豆幼苗期根系紧密关联的分子标记, 为普通菜豆根系的分子标记辅助育种改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料由中国农业科学院作物科学研究所提供, 来源为我国普通菜豆主产区黑龙江、山西、陕西、内蒙古等省区的地方品种, 以及来自美国、哥伦比亚、巴西等国家和国际热带农业研究中心的引进品种 (表 1)。

1.2 试验方法

试验于 2017–2018 年进行。参考 Liao 等^[18]的方法。幼苗的培养采用生长袋纸培系统, 生长袋 (30cm × 25cm) 购买于北京启维益成科技有限公司。首先利用发芽盒作为苗床进行种子萌发, 培养 3d 左右, 选取胚根长度为 (2 ± 0.10) cm 的发芽种子转移至生长袋, 向生长袋中加入 100mL 的蒸馏水, 置于培养箱中培养, 条件设置为: 光照 12h, 25℃; 黑

作者简介: 吴磊, 硕士研究生, 研究方向为种质资源学

王述民为通信作者, 研究员, 研究方向为作物种质资源学

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-08); 中国农业科学院科技创新工程项目; 国家农作物种质资源共享服务平台 (NICGR2017-006); 农作物种质资源保护与利用专项 (NWB036-07)

收稿日期: 2018-10-23; 修回日期: 2018-12-26

表1 供试普通菜豆材料
Table 1 Origins of common bean germplasm resources

统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin	统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin
F0002119	白小豆	中国甘肃	—	刀豆	中国山东
F0002120	白小豆	中国甘肃	F0000045	洋菜豆	中国山西
F0002275	浅红菜豆	中国甘肃	F0000049	架连豆	中国山西
F0002276	红菜豆	中国甘肃	F0000054	坚豆	中国山西
F0002277	红黑花豆	中国甘肃	F0000058	粘豆	中国山西
F0003342	白菜豆	中国甘肃	F0000089	花菜豆	中国山西
F0004027	褐菜豆	中国甘肃	F0000103	花灰灰豆	中国山西
F0005253	红腰豆	中国甘肃	F0001292	洋菜豆	中国山西
F0005263	四季豆	中国甘肃	F0001295	白眉豆	中国山西
F0005295	文昌四季豆	中国甘肃	F0001318	白菜豆	中国山西
F0001802	白桩桩豆	中国贵州	F0001339	白菜豆	中国山西
F0001809	玉滑豆	中国贵州	F0001342	白粒菜豆	中国山西
F0001823	大红金豆	中国贵州	F0001346	粉红紫皮连豆	中国山西
F0001850	木梳豆	中国贵州	F0001361	红梅豆	中国山西
F0001914	灰褐子	中国贵州	F0001380	小红豆	中国山西
F0002870	白云豆	中国贵州	F0001394	紫红豆	中国山西
F0002972	黑籽鳝豆	中国贵州	F0001416	红菜豆	中国山西
F0002974	黑金豆	中国贵州	F0001428	紫连豆	中国山西
F0003010	笔划豆	中国贵州	F0001434	黄红豆	中国山西
F0003067	白洋豆	中国贵州	F0001445	黄红豆	中国山西
F0003082	硬壳鸡腰豆	中国贵州	F0001459	无丝豆角	中国山西
F0003096	红芸豆	中国贵州	F0001463	到底青	中国山西
F0003274	五花大铁蚕豆	中国贵州	F0001474	小灰豆	中国山西
F0003711	白金豆	中国贵州	F0001497	小灰豆	中国山西
F0003740	四季豆	中国贵州	F0001515	洋菜豆	中国山西
F0003757	大红豆	中国贵州	F0001523	灰菜豆	中国山西
F0003758	四季豆	中国贵州	F0001542	黑红豆	中国山西
F0003817	棒豆	中国贵州	F0001567	黑粘菜豆	中国山西
F0003843	四季豆	中国贵州	F0001600	白脸豆	中国山西
F0003970	黑花豆	中国贵州	F0001619	粉花梅豆	中国山西
F0003990	大蚕豆	中国贵州	F0001652	花色豆	中国山西
F0003992	红花豆	中国贵州	F0001663	花刀豆	中国山西
F0003405	秋白芸豆	中国河北	F0001670	梅豆	中国山西
F0003407	红芸豆	中国河北	F0001675	麻雀蛋	中国山西
F0003453	黑芸豆	中国河北	F0001691	花皮连豆	中国山西
F0005300	小黑芸豆	中国河北	F0001704	花金豆	中国山西
F0005620	泰科六号	中国河北	F0002223	洋菜豆	中国山西
F0000195	小白芸豆	中国黑龙江	F0002229	桔黄梅豆	中国山西
F0000199	精米豆	中国黑龙江	F0002240	小杂豆	中国山西
F0000203	精米豆	中国黑龙江	F0002262	秋红豆	中国山西
F0000211	红芸豆	中国黑龙江	F0001089	洋菜豆	中国陕西
F0000217	饭豆	中国黑龙江	F0001090	白芸豆	中国陕西
F0000272	龙 70-8014	中国黑龙江	F0001102	洋蔓菜豆	中国陕西
F0000278	干枝密	中国黑龙江	F0001200	花红豆	中国陕西
F0000281	白腰豆	中国黑龙江	F0001244	没茎豆	中国陕西
F0000344	饭豆	中国黑龙江	F0001924	洋小豆	中国陕西
F0000385	花饭豆	中国黑龙江	F0001932	六十日早	中国陕西
F0000398	大马长	中国黑龙江	F0001942	红豆	中国陕西
F0000404	兔子腿	中国黑龙江	F0001972	五月黄	中国陕西
F0000415	花腰豆	中国黑龙江	F0002032	四茬四季豆	中国陕西
F0000528	紫花豆	中国黑龙江	F0002060	雀儿蛋	中国陕西

续表 1 Table 1 (continued)

统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin	统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin
F0001749	灰小豆	中国黑龙江	F0002069	架四季豆	中国陕西
F0001757	毛毛豆	中国黑龙江	F0002073	画眉豆	中国陕西
F0001760	兔脚	中国黑龙江	F0002080	雀儿蛋	中国陕西
F0002503	白芸豆	中国黑龙江	F0005090	大豆	中国陕西
F0002509	白芸豆	中国黑龙江	F0005096	白豆	中国陕西
F0002521	黑芸豆	中国黑龙江	F0005219	红芸豆	中国陕西
F0002523	黑芸豆	中国黑龙江	F0002584	白四季豆	中国四川
F0002528	花芸豆	中国黑龙江	F0002608	鸡腰子豆	中国四川
F0002535	大马掌	中国黑龙江	F0002612	小猪腰豆	中国四川
F0002537	菜豆	中国黑龙江	F0002620	红腰子豆	中国四川
F0003346	龙饭豆一号	中国黑龙江	F0002623	红田季豆	中国四川
F0004837	黑芸豆	中国黑龙江	F0002624	紫红豆	中国四川
F0004845	黑芸豆	中国黑龙江	F0002628	腰子豆	中国四川
F0004851	黑芸豆	中国黑龙江	F0002673	乌褐豆	中国四川
F0004867	奶花芸豆	中国黑龙江	F0002683	硬壳豆	中国四川
F0004868	奶花芸豆	中国黑龙江	F0002755	小黑四季豆	中国四川
F0004869	奶花芸豆	中国黑龙江	F0002810	黑纹花豆	中国四川
F0004882	奶花芸豆	中国黑龙江	F0002838	四十豆	中国四川
F0004883	奶花芸豆	中国黑龙江	F0002863	奶花	中国四川
F0004886	奶花芸豆	中国黑龙江	F0003673	花四季豆	中国四川
F0004890	奶花芸豆	中国黑龙江	-	圆奶花芸豆 X	中国新疆
F0004895	奶花芸豆	中国黑龙江	F0000666	小杂豆	中国云南
F0004899	奶花芸豆	中国黑龙江	F0000698	鸡腰子豆	中国云南
F0004910	奶花芸豆	中国黑龙江	F0000867	菜豆	中国云南
F0004911	奶花芸豆	中国黑龙江	F0000907	荷苞豆	中国云南
F0004923	奶花芸豆	中国黑龙江	F0001006	雀蛋豆	中国云南
F0004926	奶花芸豆	中国黑龙江	F0005027	NV	中国云南
F0005030	龙 22-0579	中国黑龙江	F0005031	云丰 2 号	中国云南
F0005033	品芸 2 号	中国黑龙江	F0005035	260205	中国云南
F0005034	龙芸豆 3 号	中国黑龙江	F0005039	260219	中国云南
F0005237	龙芸豆 4 号	中国黑龙江	F0005361	浪台白菜豆	中国云南
F0005244	龙 270267	中国黑龙江	F0005363	哈施菜豆	中国云南
F0005245	龙 270270	中国黑龙江	F0005684	四季豆	中国云南
F0005246	龙 270280	中国黑龙江	F0005857	02A4	阿根廷
F0005248	龙 270705	中国黑龙江	F0005514	GURGUTUBA	巴西
F0005861	龙芸豆 7 号	中国黑龙江	F0005524	60 dias	巴西
-	圆奶花芸豆 H	中国黑龙江	F0005526	Cubano	巴西
F0003554	白刀豆	中国湖北	F0005529	Paraná 1	巴西
F0003567	黄眉豆	中国湖北	F0005534	Paraná	巴西
F0003569	早菜豆	中国湖北	F0005536	BR IPA 10	巴西
F0003575	丛生四季豆	中国湖北	F0005550	Jalo Precoce	巴西
F0003578	灰米米	中国湖北	F0005555	Novo Jalo	巴西
F0003591	乌四季豆	中国湖北	F0005568	EMGOPA 201-Ouro	巴西
F0003624	四月娥	中国湖北	F0005574	Carioca MG	巴西
F0003626	小黑子	中国湖北	F0005575	Tambó	巴西
F0003635	黑豆	中国湖北	F0005715	不详	巴西
F0003645	四季豆	中国湖北	F0005716	不详	巴西
F0004523	花四季豆	中国湖北	F0005717	不详	巴西
F0004529	白四季豆	中国湖北	F0005718	不详	巴西
F0004538	草白豆	中国湖北	F0005719	不详	巴西
F0004558	花饭豆	中国湖北	F0005721	不详	巴西
F0004562	紫莲豆	中国湖北	F0005875	不详	巴西

续表1 Table 1 (continued)

统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin	统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin
F0004564	面豆角	中国湖北	—	Manaus No5	巴西
F0004566	圆奶花芸豆	中国湖北	—	Manaus No4	巴西
F0004568	紫钻鞭坡豆	中国湖北	—	Manaus No2	巴西
F0002305	豆	中国湖南	—	Manaus No3	巴西
F0000440	精米豆	中国吉林	F0002177	不详	法国
F0000442	白乌鸦菜豆	中国吉林	F0003363	不详	法国
F0000444	白乌鸦菜豆	中国吉林	F0003382	法引 11 号	法国
F0000445	白太	中国吉林	F0003386	歌 47	法国
F0000446	白太	中国吉林	F0002125	A48	哥伦比亚
F0000448	白芸豆	中国吉林	F0002127	W126	哥伦比亚
F0000452	饭豆	中国吉林	F0002157	BAT896	哥伦比亚
F0000460	白饭豆	中国吉林	F0002166	BAT331	哥伦比亚
F0000470	白饭豆	中国吉林	F0002167	BAT85	哥伦比亚
F0000473	红芸豆	中国吉林	F0002169	BAT336	哥伦比亚
F0000474	菜豆	中国吉林	F0002170	M101	哥伦比亚
F0000475	菜豆	中国吉林	F0002171	A51	哥伦比亚
F0000490	饭豆	中国吉林	F0005767	SER4	哥伦比亚
F0000492	罗唐豆	中国吉林	F0005769	SER6	哥伦比亚
F0000493	乌鸦菜豆	中国吉林	F0005771	SER8	哥伦比亚
F0000494	乌鸦菜豆	中国吉林	F0005798	SER35	哥伦比亚
F0000495	乌鸦菜豆	中国吉林	F0005813	SEN13	哥伦比亚
F0000501	饭大豆	中国吉林	F0005830	SEN32	哥伦比亚
F0000502	饭豆	中国吉林	F0005833	SEC1	哥伦比亚
F0000503	无季豆	中国吉林	F0005841	SEC10	哥伦比亚
F0002477	小白豆	中国吉林	F0005843	SEC14	哥伦比亚
F0002481	扁白豆	中国吉林	F0005849	引红 4	哥伦比亚
F0002486	白豆	中国吉林	F0005879	不详	哥伦比亚
F0002489	白饭豆	中国吉林	F0005910	不详	哥伦比亚
F0002492	红芸豆	中国吉林	F0003370	不详	美国
F0002493	红芸豆	中国吉林	—	BAT-93	美国
F0002502	奶花芸豆	中国吉林	—	PI 633451	美国
—	小红芸豆	中国吉林	F0005919	不详	秘鲁
F0000117	天鹅豆	中国内蒙古	F0005722	不详	墨西哥
F0000120	黄芸豆	中国内蒙古	F0005924	不详	墨西哥
F0000126	挑花枚白连豆	中国内蒙古	F0005093	芸豆	中国内蒙古
F0000143	饭豆	中国内蒙古	F0005877	不详	委内瑞拉
F0000153	小菜豆	中国内蒙古	F0004313	英国红芸豆	英国
F0000154	跃进豆	中国内蒙古	F0004321	ANT49	CIAT
F0001723	紫芸豆	中国内蒙古	F0004322	BRB-130	CIAT
F0001731	粉老来少	中国内蒙古	F0004333	UNS-27342-51	CIAT
F0001744	粉老来少	中国内蒙古	F0004334	LRK32	CIAT
F0002380	羊眼圈	中国内蒙古	F0004339	SEQ1006	CIAT
F0002399	红芸豆	中国内蒙古	F0004341	9249-3	CIAT
F0002400	面豆荚	中国内蒙古	F0004348	FOI10	CIAT
F0002441	大红菜豆	中国内蒙古	F0004349	FOI11	CIAT
F0002462	花菜豆	中国内蒙古	F0004350	MCD2409	CIAT
F0002471	家雀蛋	中国内蒙古	F0004357	DOR483	CIAT
F0003497	架菜豆	中国内蒙古	F0004374	DRK139	CIAT
F0003503	白连豆	中国内蒙古	F0004378	FOT32	CIAT
F0004188	江米豆	中国内蒙古	F0004395	ISB-82-865	CIAT
F0004216	架菜豆	中国内蒙古	F0004396	DRK134	CIAT
F0004227	芸豆	中国内蒙古	F0004398	FOT25	CIAT

续表 1 Table 1 (continued)

统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin	统一编号 Number	种质 Germplasm	来源 Origin
F0004268	小芸豆	中国内蒙古	F0004403	DOR476	CIAT
F0004273	矮生红	中国内蒙古	F0004404	DOR482	CIAT
F0004587	紫钻鞭坡豆	中国内蒙古	F0004410	VIVA	CIAT
F0004592	奶花芸豆	中国内蒙古	F0004413	BAT58	CIAT
F0004594	金豆角	中国内蒙古	F0002152	R-5550	不详
F0005624	改良绿丰	中国山东	F0002153	R5350	不详
F0005629	四季架豆王	中国山东	-	圆奶花芸豆 D	不详

注：“统一编号”为国家种质库存种编号。“CIAT”为国际热带农业研究中心
Note: Number is Seed Preservation Number of National Gene Bank. CIAT is International Centre for Tropical Agriculture

暗 12h, 22℃。6d 后将根系完整取出, 利用 CI-600 (CID Inc, 美国) 根系扫描系统将根系扫描成图像, 采用 WinRHIZO Tron MF 图像分析软件 (Regent Instruments Inc, 加拿大)^[19] 和直接测量方法获取根系表型数据。

1.3 测量指标及测量方法

参照 Asfaw 等^[9] 的方法测定各指标。每个品种取 6 株幼苗进行表型调查, 其中总根长、根表面积、平均根直径、根体积通过图像分析系统获取。主根长、根干重、侧根数通过直接测量获取。主根长即下胚轴节到主根根尖的长度; 从下胚轴节剪下根系, 105℃杀青 30min, 60℃烘箱中烘烤 48h, 称量根干重。侧根总长 = 总根长 - 主根长, 比根长 = 根干重/总根长。

1.4 基因组 DNA 的提取及基因型鉴定

取幼嫩叶片, 采用 CTAB 法提取基因组 DNA^[20]。利用均匀分布在 11 条染色体上的 116 对多态性 SSR 标记, 对 324 份普通菜豆品种进行基因分型。扩增程序为 94℃ 5min; 94℃ 45s, 50℃~60℃ 45s, 72℃ 45s, 35 个循环; 72℃ 7min。利用 6% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行 PCR 产物分离, 银染后进行显影^[21]。带型的读取参考 Kami 等^[22] 的方法, 根据同一标记扩增产物电泳带型的有无进行

记载。无条带记为 0; 有带型, 按照分子量从小到大依次记为 1、2、3……。

1.5 数据分析

采用 Excel 2007 对所有数据进行整理, 采用 SPSS 19.0 进行表型数据分析。利用 PowerMarker V3.25 软件^[23] 对基因型遗传多样性进行分析。采用 Structure 2.3.4 软件^[24] 分析群体结构, 并获得最佳 K 值对应的 Q 矩阵, 相关参数设置如下: K=1~10, 重复 15 次, 模拟参数迭代 (length of burn-in period) 设置为 10000, 蒙特卡罗迭代 (markov chain monte carlo, MCMC) 设置为 100000, 结果根据 Evanno 等^[24] 的方法通过 ΔK 判断群体结构的 K 值。采用 SPAGeDi 软件对基因型数据处理获得 K 矩阵^[25]。采用 Tassel 2.1 软件的混合线性模型 (mixed linear model, MLM) 进行性状和标记之间的关联分析^[26]。以 P<0.01 作为筛选显著位点的阈值。

2 结果与分析

2.1 表型数据分析

由表 2 可见, 各根系性状均表现出较大范围的变异。各性状的平均变异系数在 10.09%~37.03%, 其中根干重的变异系数最大 (37.03%), 平均根直径的变异系数最小 (10.09%) (表 2)。对 324 份普

表 2 普通菜豆幼苗期根系性状表型的统计分析
Table 2 Statistical analysis of root-trait of common bean at seedling stage

性状 Trait	平均值 Mean	最小值 Min.	最大值 Max.	标准差 Standard deviation	变异系数 Coefficient of variation (%)
主根长 Taproot length (cm)	20.49	12.80	28.45	2.85	13.92
根干重 Root dry weight (mg)	29.56	10.00	75.00	10.94	37.03
侧根数 Lateral root number	12.05	5.40	22.80	3.18	26.38
总根长 Total root length (cm)	204.93	68.93	476.26	67.36	32.87
根表面积 Root surface area (cm ²)	35.69	11.44	74.49	11.31	31.69
平均根直径 Average root diameter (mm)	0.56	0.26	0.77	0.06	10.09
根体积 Root volume (cm ³)	0.50	0.15	1.04	0.16	33.08
侧根总长 Lateral root length (cm)	184.44	55.29	452.41	65.48	35.50
比根长 Special root length (mg/cm)	14.71	0.07	0.45	0.04	28.96

通菜豆幼苗期根系各性状的表型进行考察分析，并绘制频数分布直方图（图 1）。从频数分布图来看，各性状均显示单峰，呈现连续分布，符合正态分布，是典型的数量性状的遗传特征，这为后续的关联分

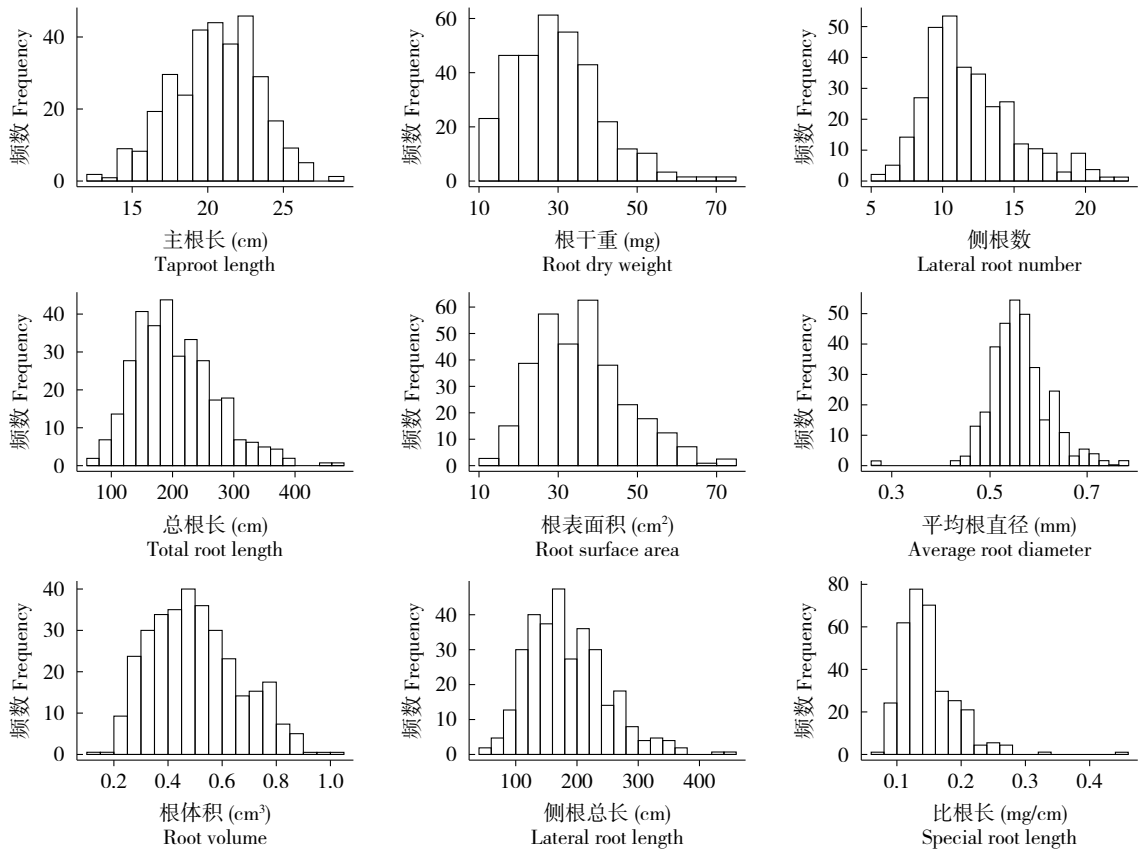


图 1 普通菜豆幼苗期根系性状的频数分布
Fig.1 Frequency distribution of root-trait of common bean at seedling stage

析奠定了基础。

2.2 表型相关性分析

对普通菜豆各根系性状表型数据进行相关性分析（表 3）。其中平均根直径和比根长分别与主根长、侧根数、根表面积的相关性不显著，其余各性状两两之间的相关性均达到了极显著水平。其中侧根总长与总根长的相关系数（1.00）最大；比根长与根体积的相关系数（0.16）最小。平均根直径与总根长和侧根总长呈极显著负相关，相关系数分别为 -0.22 和 -0.22，比根长与总根长和侧根总长呈极显著负相关，相关系数分别为 -0.21 和 -0.21。

2.3 基因型数据分析

利用均匀分布在 11 条染色体上的 116 个多态性 SSR 标记对 324 份材料进行基因分型分析，共检测到 919 个等位变异位点，等位变异位点的范围为 2~27，平均每个标记检测到 7.92 个；利用 PowerMarker 软件对基因型数据进行分析，结

果表明 116 个标记的基因多样性指数变动幅度介于 0.0051~0.9098，每个标记的平均基因多样性指数为 0.59，其中基因多样性指数大于平均数的标记有 66 个，占标记数的 56.90%；多态性信息含量（polymorphism information content, PIC）的变动幅度介于 0.0051~0.9033，平均值为 0.54，其中 PIC 值大于平均数的标记有 60 个，占标记数的 51.72%。结果表明这些 SSR 标记具有较高的基因多样性。

2.4 群体结构分析

通过 STRUCTURE2.3.4 软件对供试材料进行群体结构分析（图 2），当 $K=2$ 时， ΔK 出现峰值，将供试材料分为两个亚群。这一结果与普通菜豆起源于两个基因库——安第斯基因库和中美基因库相符。将 Q 值大于 0.70 作为划分亚群的原则，将材料分为中美基因库群体和安第斯基因库群体，分别包含 186 和 123 份材料，分别占总材料数的 57.41% 和 37.96%。剩余 15 份材料的两个 Q 值均小于 0.70，

表 3 根系性状的相关性
Table 3 Correlation of root traits

性状 Trait	主根长 Taproot length	根干重 Root dry weight	侧根数 Lateral root number	总根长 Total root length	根表面积 Root surface area	平均根直径 Average root diameter	根体积 Root volume	侧根总长 Lateral root length	比根长 Special root length
主根长 Taproot length	1								
根干重 Root dry weight	0.50**	1							
侧根数 Lateral root number	0.49**	0.60**	1						
总根长 Total root length	0.67**	0.68**	0.75**	1					
根表面积 Root surface area	0.66**	0.79**	0.76**	0.96**	1				
平均根直径 Average root diameter	-0.08	0.27**	-0.06	-0.22**	0.05	1			
根体积 Root volume	0.60**	0.83**	0.70**	0.83**	0.96**	0.32**	1		
侧根总长 Lateral root length	0.65**	0.68**	0.75**	1.00**	0.96**	-0.22**	0.83**	1	
比根长 Special root length	-0.07	0.54**	-0.05	-0.21**	-0.03	0.62**	0.16**	-0.21**	1

注：“**”表示在 0.01 水平显著相关
Note: “**” indicates significant correlation at 0.01 level

将其单独划为一个混合群，占总材料数的 4.63%。
将各材料对应的 *Q* 值作为协变量用于 SSR 标记和表型性状的关联分析。

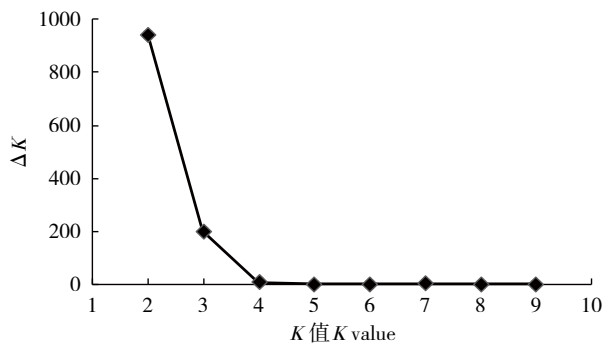


图 2 324 份材料基于 SSR 标记的群体结构分析的 *K* 和 ΔK 的变化图

Fig.2 *K* and ΔK of population structure analysis based on SSR marker for 324 common bean accessions

2.5 根系性状关联分析

结合 116 个 SSR 标记和 9 个根系表型数据，利用 Tassel 2.1 软件中的 MLM (*Q*+*K*) 模型进行关联分析，以 *P*<0.01 为阈值筛选显著位点（表 4），共检测到 48 个显著位点，表型贡献率范围为 1.44%~16.09%，平均为 5.18%。除主根长外，其余 8 个性状均检测到显著位点，其中平均根直径检测到的位点最多，为 19 个，表型贡献率为 2.43%~9.55%；检测到与侧根数相关的位点仅有 1

个，表型贡献率为 3.85%；检测到 10 个与根干重相关的位点，表型贡献率为 1.44%~6.69%；检测到与总根长、根表面积、根体积、侧根总长和比根长关联的位点个数分别是 3、3、4、3 和 5 个，表型贡献率分别是 4.63%~6.38%、2.17%~6.14%、2.28%~5.20%、4.77%~6.56% 和 4.81%~16.09%。

表 4 基于混合模型的关联分析结果
Table 4 Association analysis results based on MLM model

性状 Trait	标记位点 Locus	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	表型贡献率 <i>R</i> ² (%)
根干重 Root dry weight	CBS206	6.30 × 10 ⁻⁶	6.96
	CBS419	2.20 × 10 ⁻⁴	3.36
	CBS110	5.67 × 10 ⁻⁴	3.83
	P7S53	9.70 × 10 ⁻⁴	1.97
	P7S191	0.0012	2.93
	CBS139	0.0013	2.85
	CBS261	0.0014	1.86
	CBS208	0.0050	2.24
	CBS345	0.0050	2.36
侧根数 Lateral root number	CBS28	0.0034	3.85
总根长 Total root length	CBS408	8.50 × 10 ⁻⁵	6.38
	CBS22	0.0033	4.63
	CBS250	0.0037	5.31
根表面积 Root surface area	CBS408	5.70 × 10 ⁻⁶	6.14
	P7S53	0.0055	2.17
	CBS162	0.0090	4.46

续表 4 Table 4 (continued)

性状 Trait	标记位点 Locus	P 值 P-value	表型贡献率 R ² (%)
平均根直径 Average root diameter	CBS261	9.35×10^{-7}	6.24
	CBS179	1.59×10^{-6}	6.37
	CBS43	2.18×10^{-6}	6.33
	CBS296	6.58×10^{-6}	7.54
	CBS51	7.00×10^{-6}	8.07
	CBS216	1.74×10^{-5}	6.15
	P11S130	6.62×10^{-5}	7.38
	CBS56	1.13×10^{-4}	5.97
	CBS28	2.37×10^{-4}	5.18
	CBS343	3.55×10^{-4}	5.86
	CBS82	5.18×10^{-4}	9.55
	CBS126	8.54×10^{-4}	3.86
	CBS211	0.0026	3.73
	CBS229	0.0028	3.58
	CBS349	0.0030	4.27
	CBS381	0.0032	6.46
	CBS286	0.0050	4.11
	P11S186	0.0062	2.43
	CBS248	0.0078	3.73
根体积 Root volume	CBS408	9.74×10^{-6}	5.17
	CBS381	4.25×10^{-4}	5.20
	P7S53	0.0020	2.28
侧根总长 Lateral root length	CBS162	0.0054	4.24
	CBS408	6.39×10^{-5}	6.56
	CBS22	0.0028	4.77
比根长 Special root length	CBS250	0.0043	5.30
	CBS206	1.13×10^{-10}	16.09
	CBS419	2.23×10^{-7}	7.35
	CBS162	1.04×10^{-6}	9.20
	CBS149	1.37×10^{-4}	6.07
	CBS323	0.0019	4.81

通过与前人研究比较,发现有 5 个位点与已报道过的根系 QTL 一致^[11,27](表 5)。其中,平均根直径关联的标记位点 CBS56、CBS286 与前人研究中比根长相关的 QTL 一致;根干重关联的位点 CBS208 和平均根直径关联的位点 CBS211 与同一个

表 5 与已报道的根系相关 QTL 的比较结果
Table 5 Comparison of the results of associated SSR loci with reported QTLs

标记位点 SSR marker	本研究性状 Traits of this study	关联性状及 QTL Correlation traits and linked QTL
CBS56	平均根直径	比根长 (LPSRL_AdvF.1) ^[27]
CBS208	根干重	比根长 (HPSRL_AdvGH1.1) ^[27]
CBS211	平均根直径	比根长 (HPSRL_AdvGH1.1) ^[27]
CBS286	平均根直径	比根长 (LPSRL_AdvGH.2) ^[27]
P11S186	平均根直径	根干重 (Rdw11.2) ^[11] 、 总根长 (HPAdv_LF.3) ^[27]

比根长相关的 QTL 一致。另外,平均根直径相关位点 P11S186 分别与根干重和根长度 QTL 一致。

3 讨论

根系是植物的三大营养器官之一,具有吸收养分和水分、物质同化和转化、固定作物等功能^[28]。相对于地上部性状,根系性状的测量费时费力,故能够准确获取作物根系表型的手段和方法一直是作物根系研究的热点。根系性状的鉴定主要有室内测量和田间测量两类。室内测量的主要方法有水培法、凝胶室法和生长袋纸培法等^[18,29-31],即将幼苗分别置于营养液、琼脂、湿纸的表面生长,在室内进行根系测量,可以严格控制根系生长环境,无伤获取根系,但只适用于幼苗期的根系。在普通菜豆中,苗期根系的研究多用生长袋纸培法^[18,32]。廖红等^[32]采用营养袋纸培法研究普通菜豆根系的生长,发现移苗 6d 后的根系各性状与砂培系统中 28d 的根系各性状显著相关,说明营养袋纸培法是一种简便可行的研究根系方法。本研究利用生长袋纸培法对不同菜豆种质进行鉴定,发现根干重、侧根数、总根长、根表面积等性状均呈现较大的变异,不同的根性状之间存在不同程度的相关性。

关联分析是检测数量性状相关位点或基因的重要手段,而群体结构是影响关联分析的主要因素。群体结构会造成关联分析结果的假阳性,即检测的显著位点不是由于表型性状和功能位点的关联而造成的,而是由群体结构所导致的^[33]。有研究表明,相较只考虑群体结构(Q 矩阵)或亲缘关系(K 矩阵)的 GLM (Q) 和 MLM (K) 模型,将 Q 矩阵和 K 矩阵作为协变量的 MLM (Q+K) 模型能够更好消除伪关联^[34]。因此,本研究利用 STRCTURE 软件进行群体结构分析,并获取 Q 矩阵作为协变量进行 MLM 模型的关联分析。当供试材料等位变异平均频率特征类型数 $K=2$ 时, ΔK 达到峰值,即将供试群体分成 2 个亚群,这与前人通过形态标记、同工酶、胍蛋白、分子标记等证实普通菜豆起源于中美基因库和安第斯基因库的结果一致^[35-36]。

本研究对 324 份普通菜豆材料的 9 个根系性状进行了关联分析,为有效减少由群体结构与亲缘关系引起的假阳性,将阈值设置为 $P<0.01$,共检测到 48 个显著位点。其中,10 个一因多效位点中,7 个位点分别与两个性状相关联;2 个位点分别与 3

个性状相关联。位点 P7S53 与根干重、根表面积和根体积相关联, 位点 CBS162 与根表面积、根体积和比根长相关联; 位点 CBS408 与总根长、根表面积、根体积和侧根总长相关联, 说明这些标记有助于对多个性状进行改良。前人对普通菜豆的根系研究表明, 根系与耐旱性^[9]、磷获取^[10,27,37]、耐铝性^[11]等性状有关。本研究中发现有 5 个位点与前人检测到的根系 QTL 位置相符。例如, Ochoa 等^[27]在不同磷环境下对普通菜豆的根系进行遗传研究, 检测到 20 个根系相关的 QTL, 其中 4 个与比根长相关的 QTL 分别与本研究中的显著位点 CBS56、CBS208、CBS211、CBS286 相符。Lopez-Marín 等^[11]在铝环境下对普通菜豆根系进行研究, 检测到 5 个与根干重相关的 QTL, 其中 1 个 QTL 与研究中的显著位点 P11S186 相符。虽然对应的性状不同, 但这些性状在本研究中都呈显著正相关。其余的 43 个位点可能是新检测到的与根系关联的标记, 这些标记为进一步理解普通菜豆根系性状的遗传机理提供理论参考, 也为分子标记辅助选择改良普通菜豆根系奠定了基础。

参考文献

- [1] Rao I M, Miles J W, Beebe S E, et al. Root adaptations to soils with low fertility and aluminium toxicity. *Annals of Botany*, 2016, 118(4): 593–605.
- [2] Rogers E D, Benfey P N. Regulation of plant root system architecture: implications for crop advancement. *Current Opinion in Biotechnology*, 2015, 32: 93–98.
- [3] Christopher J, Christopher M, Jennings R, et al. QTL for root angle and number in a population developed from bread wheats (*Triticum aestivum*) with contrasting adaptation to water-limited environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(6): 1563–1574.
- [4] Hu B, Zhu C, Li F, et al. LEAF TIP NECROSIS1 plays a pivotal role in the regulation of multiple phosphate starvation responses in rice. *Plant Physiology*, 2011, 156(3): 1101–1115.
- [5] Ku L X, Sun Z H, Wang C L, et al. QTL mapping and epistasis analysis of brace root traits in maize. *Molecular Breeding*, 2011, 30(2): 697–708.
- [6] Li R, Han Y, Lv P, et al. Molecular mapping of the brace root traits in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Breeding Science*, 2014, 64(2): 193–198.
- [7] Mace E S, Singh V, Van Oosterom E J, et al. QTL for nodal root angle in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) co-locate with QTL for traits associated with drought adaptation. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124(1): 97–109.
- [8] Zheng X, Chen B, Lu G, et al. Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 379(4): 985–989.
- [9] Asfaw A, Blair M W. Quantitative trait loci for rooting pattern traits of common beans grown under drought stress versus non-stress conditions. *Molecular Breeding*, 2011, 30(2): 681–695.
- [10] Beebe S E, Rojas-Pierce M, Yan X, et al. Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean. *Crop Science*, 2006, 46(1): 413–423.
- [11] Lopez-Marín H D, Rao I M, Blair M W. Quantitative trait loci for root morphology traits under aluminum stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, 119(3): 449–458.
- [12] Abenavoli M R, Leone M, Sunseri F, et al. Root phenotyping for drought tolerance in bean landraces from Calabria (Italy). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2016, 202(1): 1–12.
- [13] Polania J, Poschenrieder C, Rao I, et al. Root traits and their potential links to plant ideotypes to improve drought resistance in common bean. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 2017, 29(3): 143–154.
- [14] Roman-Aviles B, Snapp S S, Kelly J D. Assessing root traits associated with root rot resistance in common bean. *Field Crop Research*, 2004, 86(2/3): 147–156.
- [15] Sofi P A, Saba I. Natural variation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for root traits and biomass partitioning under drought. *Indian Journal of Agricultural Research*, 2016, 50(6): 604–608.
- [16] Tsuji W, Inanaga S, Araki H, et al. Development and distribution of root system in two grain sorghum cultivars originated from Sudan under drought stress. *Plant Production Science*, 2005, 8(5): 553–562.
- [17] 孙广玉, 何庸, 张荣华. 大豆根系生长和活性特点的研究. *大豆科学*, 1996, 15(4): 317–321.
- [18] Liao H, Rubio G, Yan X L, et al. Effect of phosphorus availability on basal root shallowness in common bean. *Plant Soil*, 2001, 232(1/2): 69–79.
- [19] Armengaud P, Zambaux K, Hills A, et al. EZ-Rhizo: integrated software for the fast and accurate measurement of root system architecture. *Plant Journal*, 2009, 57(5): 945–956.
- [20] Li X M, Yuan D J, Wang H T, et al. Increasing cotton genome coverage with polymorphic SSRs as revealed by SSCP. *Genome*, 2012, 55(6): 459–470.
- [21] Chen M L, Wu J, Wang L F, et al. Development of mapped simple sequence repeat markers from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on genome sequences of a Chinese landrace and diversity evaluation. *Molecular Breeding*, 2014, 33(2): 489–496.
- [22] Kami J, Velásquez V B, Debouck D G, et al. Identification of presumed ancestral dna sequences of phaseolin in *Phaseolus vulgaris*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(4): 1101–1104.
- [23] Liu K J, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 2128–2129.
- [24] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 2005, 14(8): 2611–2620.
- [25] Hardy O J, Vekemans X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, 2002, 2(4): 618–620.
- [26] Bradbury P J, Zhang Z, Kroon D E, et al. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 2007, 23(19): 2633–2635.
- [27] Ochoa I E, Blair M W, Lynch J P. QTL Analysis of adventitious root formation in common bean under contrasting phosphorus availability. *Crop Science*, 2006, 46(4): 1609–1621.
- [28] 周蓉, 陈海峰, 王贤智, 等. 大豆幼苗根系性状的QTL分析. *作物学*

- 报, 2011, 37(7):1151–1158.
- [29] Fang S Q, Yan X L, Liao H. 3D reconstruction and dynamic modeling of root architecture in situ and its application to crop phosphorus research. *Plant Journal*, 2009, 60(6): 1096–1108.
- [30] Hund A, Trachsel S, Stamp P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a phenotyping platform. *Plant Soil*, 2009, 325(1/2): 335–349.
- [31] Iyer-Pascuzzi A S, Symonova O, Mileiko Y, et al. Imaging and analysis platform for automatic phenotyping and trait ranking of plant root systems. *Plant Physiology*, 2010, 152(3): 1148–1157.
- [32] 廖红, 严小龙. 菜豆根构型对低磷胁迫的适应性变化及基因型差异. *植物学报*, 2000, 42(2): 158–163.
- [33] Pritchard J K, Stephens M, Rosenberg N A, et al. Association mapping in structured populations. *American Journal Human Genetics*, 2000, 67(1): 170–181.
- [34] Zhao K Y, Aranzana M J, Kim S, et al. An *Arabidopsis* example of association mapping in structured samples. *PLoS Genetics*, 2007, 3(1): e4.
- [35] Gepts P. Biochemical evidence bearing on the domestication of Phaseolus (Fabaceae) beans. *Economic Botany*, 1990, 44(S3): 28–38.
- [36] Zamani Z, Bahar M, Jacques M A, et al. Genetic diversity of the common bacterial blight pathogen of bean, *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli, in Iran revealed by rep-PCR and PCR-RFLP analyses. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 2011, 27(10): 2371–2378.
- [37] Yan X L, Liao H, Beebe S E, et al. QTL mapping of root hair and acid exudation traits and their relationship to phosphorus uptake in common bean. *Plant Soil*, 2004, 265(1/2): 17–29.

Association Analysis of Root-Related Traits in Common Bean

Wu Lei, Wang Lanfen, Wu Jing, Wang Shumin

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract The root development at seeding stage plays an important role in crop growth and development. In this study, nine root-related traits such as taproot length, root dry weight, root volume and root surface area of 324 common bean accessions were examined by phenotyping using the growth bag paper culture system, and 116 polymorphic SSR (simple sequence repeats) markers covering the whole genome were performed by association analysis. Molecular markers and 9 root traits were analyzed by the program of MLM (mixed linear model) in Tassel 2.1 based on population structure and kinship. The results showed that the 324 common bean accessions were rich in phenotypic variation, and the average coefficient of variation (CV) ranged from 10.09% to 37.03%. Genotype analysis showed that 116 polymorphic SSR markers generated 919 allele loci. The range of genetic diversity index was from 0.0051 to 0.9098 with an average of 0.59. The average PIC (polymorphism information content) was 0.54 with range from 0.0051 to 0.9033. The results indicated that these markers had larger genetic diversity among the alleles in common bean accessions. The population structure analysis indicated that 324 common bean varieties were divided into two subgroups, which were consistent with the theory of common beans originated from two gene banks. Association analysis showed that 48 significant marker loci were detected with $P < 0.01$ as a significant condition. Among these loci, ten marker loci were associated with more than two root traits simultaneously, five marker loci were coincident with previous studies, 43 marker loci were verified as new associated loci. The results provide a theoretical basis for further understandings of the genetic mechanism of roots and provide a basis for improvement of root system by molecular-assisted breeding selection in common bean.

Key words Common bean; Root trait; SSR marker; Association analysis