

大豆公共遗传图谱 C1 连锁群 SSR 标记空白区段的填补

雷雅坤^{1,2}, 闫龙¹, 杨春燕¹, 宋晓昆¹, 张孟臣¹, 黄占景²

(1. 河北省农林科学院 粮油作物研究所, 国家大豆改良中心石家庄分中心,
河北省遗传育种重点实验室, 河北 石家庄 050031; 2. 河北师范大学 生命科学学院, 河北 石家庄 050016)

摘要: 为进一步饱和大豆公共图谱 SSR 标记, 以大豆育成品种冀豆 12 × 地方品种 ZDD03651 组合的 211 个 F₆ 株系为作图群体, 以 Kosambi 作图函数构建 SSR 标记遗传连锁图谱。结果表明, 栽培大豆冀豆 12 与大豆地方品种 ZDD03651 间 SSR 标记多态率为 44.6%, 遗传图谱包含 21 个连锁群, 117 个 SSR 标记, 遗传距离总长度 1 501 cM, 标记间平均距离 15.6 cM, 其中包含 8 个偏分离标记。与公共遗传图谱相比, 位点间排列顺序、遗传距离和偏分离位点比例基本相同。将 SSR 新标记 Barcsoyssr_4_1181、Barcsoyssr_4_1201、Barcsoyssr_4_1235 和 Barcsoyssr_5_1266 整合到 C1 连锁群上, 填补了国际大豆公共遗传图谱中 C1 连锁群 94.62 ~ 120.12 cM 之间的 SSR 标记空白区段。

关键词: 地方品种; 遗传图谱; 偏分离; SSR

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)06-0005-06

Complete the Blank Section with SSR Markers on Linkage Group C1 of Public Genetic Map in Soybean

LEI Ya-kun^{1,2}, YAN Long¹, YANG Chun-yan¹, SONG Xiao-kun¹,
ZHANG Meng-chen¹, HUANG Zhan-jing²

(1. Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang Branch Center of National Center for Soybean Improvement, North China Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Soybean, Hebei Genetic Breeding Laboratory, Shijiazhuang 050031, China;
2. College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China)

Abstract: Cross was made using bred varieties Jidou 12 × landrace soybean ZDD03651, get F₆ RIL population with 211 single plants as the mapping population, construction of a SSR genetic linkage map with Kosambi mapping function. In order to saturate with SSR markers on public genetic map in the further. The polymorphic ratio was 44.6% of SSR markers between Jidou 12 and ZDD03651. A total of 117 pairs of SSR markers on genetic linkage map, including 8 pairs distorted SSR markers. The resulting genetic linkage map covered 1 501 cM, with an average inter-marker distance of 15.6 cM, including 21 linkage groups. Compared with public genetic map, the order between points, genetic distance and the proportion of distorted markers basically the same. And eventually the development of new molecular markers Barcsoyssr_4_1181, Barcsoyssr_4_1201, Barcsoyssr_4_1235, Barcsoyssr_5_1266 linked to the C1 linkage map, in order to complete the blank section on linkage group C1 between 94.62 cM and 120.12 cM in the international.

Key words: Landrace; Genetic mapping; Segregation distortion; SSR

大豆是重要的食品, 营养丰富, 其具有很高的蛋白含量和脂肪含量。既是粮食作物又是油料作物, 同时也为家畜和工业提供了原料^[1]。地方品种是经过长期自然和人工选择的结果, 有其独特的适应

收稿日期: 2012-09-30

基金项目: 国家“863”计划(2006AA10Z1B3; 2012AA101106); 国家自然科学基金(31000719); 国家转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08009-088B); 国家现代农业产业技术体系(CARS-004-PS06)

作者简介: 雷雅坤(1985-), 女, 河北唐山人, 硕士, 主要从事植物生物化学与分子生物学研究。

通讯作者: 张孟臣(1956-), 男, 河北衡水人, 研究员, 硕士, 主要从事大豆遗传育种研究。

黄占景(1957-), 男, 河北深县人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物分子生物学研究。

性 在表型性状和遗传特性方面都具有广泛的多样性 是研究和利用大豆优异基因的宝贵资源^[2]。近年来 关于大豆基因组结构、功能和数量性状定位的研究越来越多 基于 DNA 标记的大豆遗传连锁图谱为此提供了重要的研究工具。

SSR(简单重复序列 Simple sequence repeat) 也称微卫星 DNA 属于特异引物 PCR 标记。基因组的基本单位由 1~6 个核苷酸组成 重复多次而构成的 DNA 片段 在基因组的不同位置均有分布 长度一般在 200 bp 以下^[3]。根据微卫星序列两端的互补序列设计引物 经 PCR 反应扩增出微卫星片段 由于核心序列串联的重复数不相同 因而能用 PCR 方法扩增出长度不同的产物 将扩增的产物经聚丙烯酰胺凝胶电泳后 根据分离片段大小判断基因型。20 世纪 80 年代以后 DNA 分子标记技术的快速发展 大大加速了连锁图谱的构建工作 使得构建密度高、覆盖面广的连锁图谱成为可能。从 Apuya 等^[4]用大豆的栽培品种 Minsoy 和 Noir1 的 F₂ 群体 构建世界上第一张大豆遗传图谱开始 各国的许多学者都利用不同群体构建了很多遗传连锁图谱 Cregan 等^[5]利用分离群体 A812356022 × PI468916、近等基因系 Clark × Harosoy 和重组自交系 Minsoy × Noir1 这 3 个群体分别构建的 3 个遗传连锁图谱 应用 606 个 SSR 标记进行整合 构建了一张包含 1 423 个标记的大豆遗传连锁图谱 得到世界上第一张与大豆 20 条染色体对应的 20 个连锁群的公共图谱。Song 等^[6]在此基础上 利用 Minsoy × Archer 和 Archer × Noir1 这 2 个群体 新增加 409 个 SSR 标记 对遗传图谱进行加密 标记总数达到 1 849 个 标记间平均距离缩短 2.5 cM。国内学者张德水等^[7]应用栽培大豆长农 4 号 × 半野生大豆新民 6 号组合构建的遗传图谱 由 20 个连锁群组成 包括 71 个标记 其中 RFLP 标记 63 个 RAPD 标记 8 个 标记间的平均距离为 20.4 cM 全长为 1 446.82 cM 是我国构建的首张大豆分子连锁图谱。吴晓雷等^[8]用科丰 1 号和南农 1138-2 的 RIL F₉ 群体构建了迄今为止我国标记密度最高的一张大豆遗传连锁图谱 总长度为 2 320.7 cM 包含 24 个连锁群中的 792 个标记。其中 196 个 RFLP 标记 87 个 SSR 标

记 486 个 AFLP 标记 18 个 RAPD 标记 1 个 SCAR 标记和 4 个质量性状标记。在构建遗传连锁图谱选择 SSR 引物多态性时 为构建覆盖率较高的图谱 除按照公共图谱选取外 还可以参照吴晓雷等^[8]、Song 等^[6]及 Zhang 等^[9]学者构建的图谱进行标记的选取。目前 结合各国不同学者构建的大豆连锁图谱 发现公共图谱 C1 连锁群 Sat_235 - Satt524 之间约 25.5 cM 的区段仍是 SSR 标记的空白区。

中国是大豆起源地 是世界上保存大豆种质资源数量最多的国家 其中地方品种占栽培大豆遗传资源数量的 93%^[10] 但在大豆育种中对这些资源的利用率却很低。利用种间杂交后代构建遗传连锁图谱 深入研究具有丰富变异的大豆地方品种 对于发掘新基因、明确大豆的基因功能及遗传多样性等均具有重要的价值和实际意义。由于本试验父本 ZDD03651 是野生大豆和栽培大豆的过渡类型^[11] 其杂交后代受匍匐、蔓生、缠绕和炸荚等不利性状影响 构建栽培大豆 × ZDD03651 遗传连锁图谱是一项艰巨的工作。本研究目的是利用来自中国陕西地区的品种 ZDD03651 与集高产、优质、适应性广为一体的优良大豆品种冀豆 12 号杂交 培育作图群体 构建大豆遗传图谱并填补 C1 连锁群公共图谱中空白区间的 SSR 标记 为定位重要性状和发掘利用大豆地方品种优异基因奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验群体为重组自交系 以冀豆 12 为母本 ZDD03651 为父本 冀豆 12 在河北省农林科学院粮油作物研究所由油 83-14 × 晋大 7826 组合杂交选育而成。其突出特点是大粒、矮秆、株型结构好、高蛋白、高产、稳产、抗病和抗倒。ZDD03651 为陕西地方品种 属于野生大豆和栽培大豆的过渡类型。群体由 2006 年夏在堤上实验站做杂交得到杂交粒 2007 年将杂交粒 F₁ 种植于堤上实验站 选择 F₁ 中的一株 收获种子 406 粒。2008 年将 406 粒种子单粒种植 F₂ 通过株行混收到 F₆ 对株行进行单株挂牌并在实验室对挂牌单株提取了 211 个家系及亲本的 DNA。栽培亲本和地方品种亲本表型差异明显(表 1)。

表 1 作图群体亲本的表型差异

Tab. 1 Comparison between the parents of population

性状 Trait	开花期/d FT	成熟期/d MT	株高/cm PH	结荚习性 GH	百粒质量/g 100-GW	粒色 GC
冀豆 12	42	108	44	有限	19.53	黄色
ZDD03651	68	129	103	无限	5.81	黑色

1.2 引物合成

本试验所用的 SSR 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。参照 Cregan 等^[5] 公布的大豆遗传图谱,对 20 条连锁群逐一挑选备筛选的引物,为使构建的连锁图谱覆盖率高,大约每隔 10 cM 处挑选 2~3 对引物,共筛选引物 495 对。

1.3 DNA 提取及浓度检测

DNA 采用 SDS 提取法。分别提取 F_6 各家系幼嫩叶片的 DNA,作为 PCR 扩增的模板。每个样品取少量 DNA 原液在 0.8% 琼脂糖凝胶电泳上检测,用紫外分光光度计(美国 Agilent 8453E)测定 DNA 的质量和浓度,根据检测结果将 DNA 稀释至 40~50 ng/ μ L 备用。

PCR 反应采用德国 BIOMETRO PCR 仪进行,PCR 反应体系为 20 μ L,包括 5 μ L DNA(约 200~300 ng),2.0 μ L 10 \times PCR Buffer(含 1.5 mmol/L Mg^{2+}),2.5 mmol/L dNTP,1.5 μ mol/L 引物(3'和 5'),1 U *Taq* 酶,加 ddH₂O 补足至 20 μ L。反应程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,47 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min,4 $^{\circ}$ C 保存。取出后在扩增产物中加 3 μ L Loading Buffer,94 $^{\circ}$ C 变性 2 min,用于电泳。

1.4 SSR 分子标记分析

在 PCR 扩增产物中加入 5 μ L Loading Buffer 混匀后,95 $^{\circ}$ C 变性 3 min,立即放至 4 $^{\circ}$ C 冰箱待点样。预电泳后点样,在 90 W 恒功率下电泳约 50 min,PCR 扩增产物在 6% 的聚丙烯酰胺凝胶上分离,采用硝酸银染色法进行染色并显影,干燥后用相机拍照并记录试验结果。

1.5 数据分析

利用 Map Manager QTXb 20($P=0.0001$,函数 Kosambi)和 Windows QTL Cartographer 2.5(Walk speed = 1.5 cM,模型 6)软件对冀豆 12 \times ZDD03651 群体进行遗传连锁图谱的构建和分析。以公共图谱为参照,分别比较 2 个图谱全基因组覆盖率、位点间相对位置和邻近位点间遗传距离变化。偏分离通过卡方测验分析位点偏分离程度,将偏分离位点删除后重新构建冀豆 12 \times ZDD03651 遗传连锁图谱,比较新建图谱与原图谱位点间相对位置和相邻位点间遗传距离变化。

2 结果与分析

2.1 C1 连锁群新标记的补充

为了补充公共图谱 C1 连锁群 Sat_235 Satt524 之间约 25.5 cM 的空白区段,完善 C1 连锁

群中的 SSR 分子标记,参照 Song 等^[12] 报道的大豆连锁图谱上的 33 065 个 SSR 标记,在 SSR 空白区段内均匀挑选 30 对引物进行合成(表 2),根据扩增效果筛选,有 24 对能出现清晰的条带,其中有多态的为 8 对,多态率为 26.7%,多态率明显低于公共图谱上的引物。为了将新合成的引物连到公共图谱的引物中,从遗传距离为 75.52 cM 的标记 Satt361 到遗传距离为 127.77 cM 的标记 Satt180 之间,共筛选了 42 对引物,其中包括公共图谱中的 12 对 SSR 引物,按遗传距离从有多态的引物中均匀挑选 8 对进行群体分子数据检测(图 1)。

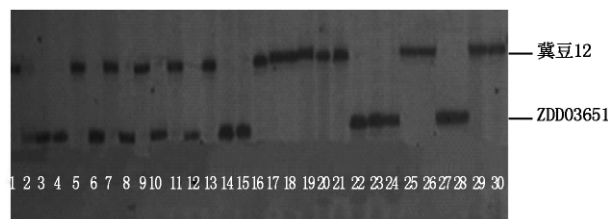


图 1 引物 Barcsoyssr_4_1201 在 F_6 群体中部分单株多态性表现

Fig. 1 Result of primer Barcsoyssr_4_1201 in part of F_6 population

应用软件 Map Manager QTXb 20 和 WinQTL Cart 2.5 进行遗传连锁图谱的绘制,将新标记 Barcsoyssr_4_1181、Barcsoyssr_4_1201、Barcsoyssr_4_1235、Barcsoyssr_5_1266 连到 C1 连锁群(chr 1)图谱的 SSR 标记中(图 2),以补充 C1 连锁群 94.62~120.12 cM 之间的空白区段。

C1 连锁群与图 2 中的 chr 1 染色体对应,共有 8 个标记,总长度为 76.5 cM,标记间的平均距离为 10.93 cM。与公共图谱相比,SSR 标记的顺序与公共图谱完全一致,Satt607-Satt361、Satt361-Satt713 和 Satt713-Satt524 之间的遗传距离分别比公共图谱增加了 4.41、2.47、16.53 cM。新标记与相邻公共图谱上的标记及新标记之间的遗传距离依次为 8.7、1.5、8.5、13.2、15.8 cM(表 3)。新标记补充了 C1 连锁群 94.62~120.12 cM 之间的空白区段,为大豆各个性状在 C1 连锁群基因的准确定位奠定了基础。

2.2 遗传图谱的构建及与公共图谱的比较

对冀豆 12 \times ZDD03651 群体进行引物的筛选,有多态的引物为 221 对,多态率为 44.6%。从具有多态的引物中选取在公共图谱上分布尽量均匀(2 对引物间隔约 10 cM)的 130 对引物,利用冀豆 12 \times ZDD03651 的 211 个后代群体构建遗传连锁图谱,能得到清晰条带的为 118 对,群体没有差异的为 2 对。

表 2 连锁群 C1 上新合成引物序列表

Tab. 2 Sequence table of new primer on linkage group C1

引物名称 Primer ID	扩增质量 Amplification quality	多态性 Poly- morphism	上游引物序列(5'-3') Upper primer sequence	下游引物序列(5'-3') Lower primer sequence
Barsoyssr_4_1142	+	有	AATCCACTCCCTCCTCTGT	TTTCCAAACGCGTTCTTCTT
Barsoyssr_4_1172	+	无	TCCCATTTTTGGGTGGTAAA	CATTTTCCATGGACGAAAACCTT
Barsoyssr_4_1181	+	有	TTCGTCATAGATGCTTCACACA	CGGGTAAATATTCAACCCTAAA
Barsoyssr_4_1201	+	有	CACATTGCAAGTGAACCTTATCA	AAATGAGTGAGGCGGTGTGTC
Barsoyssr_4_1214	+	无	CGGACCTTGGCTTTTCATCAT	GGTGAAAATGTCTCCTGACCA
Barsoyssr_4_1224	+	无	CTCGTCCCAGGGAGGTTACT	TGGTCACTCGTCTTTTCAACC
Barsoyssr_4_1235	+	有	TGAACGGAAGAAAATAACTTTTGA	TGAAAATTAAAGGATTAGATTGAACCTT
Barsoyssr_4_1249	+	无	TCCATAAAATTTGAACCCAAAA	GCCCCTCCTCTTTTCAAACCT
Barsoyssr_5_1258	-	-	CAAAAAAGAAAAGACTCGCCG	CGTCCCAAAAGCTTCTCATTC
Barsoyssr_5_1259	+	有	TGTGAAACGGAAGCCTCTT	TGGTCAGGGTCAGACAGACA
Barsoyssr_5_1260	+	无	TTCCAAAGTCTGCTGCATGA	TCCATCTTCTGCTTCTCAATTTT
Barsoyssr_5_1261	+	无	AAGGGAATTGGACCCATACA	GTGCTTTGCCTCCTTCATGT
Barsoyssr_5_1262	+	无	GATGAAGAACCAAGCCCAA	CTGCTTCACACACCATCAGG
Barsoyssr_5_1263	+	无	GGGTGCAGGAACCTCTGACAT	TAGCTCGCTGCAATTTAGGG
Barsoyssr_5_1264	+	无	TTTTGCAAAAGAAAGAGAGAAAAA	TTGTGGACTTGGGGGATTT
Barsoyssr_5_1265	-	-	CATGTTTCATTGGCAATTTTGA	TCACAACAATTACTGCCACACA
Barsoyssr_5_1266	+	有	TCAAGGATTTCATAACATTAGGCTC	TGGCAAAAAGTGTAAGCAAAA
Barsoyssr_5_1267	+	无	GGCTCCTTTTCTCCGTTAG	AAGGAAATTAATCACATGTAAACGG
Barsoyssr_4_1283	+	无	CCATCAATTAGAGAAAGACATAAAAA	GGAGAGAGAATCACTGGAAGTGA
Barsoyssr_4_1297	-	-	TGGACGAATCATGTTTGTITG	TTGTTGCTAGCTGGATAAATGC
Barsoyssr_5_1298	+	无	TGACTTCCTTCTTTTGCTCC	TGTCCAAGCCAAAAACAGTG
Barsoyssr_5_1299	+	有	ACAAAACAAAAATTGATGTTACTCAT	TGGGATCAATCATTTTTCATATAAGC
Barsoyssr_5_1300	+	无	CACAAAAGCATAGCCTTCCA	CCTGATTAGGGAAAGAAATGTGA
Barsoyssr_5_1301	-	-	TTCAACTCAACGTATAACTCTTCAAA	TGAAATCCAATTTAATACCAACCA
Barsoyssr_5_1302	-	-	CGCCGCTAACCTAAAAACAAC	CACAAGCTTGCCATAGCTCA
Barsoyssr_5_1303	+	无	TCACCGAAAATAAATCAAATTAATAA	CCCTACCTTTACCCGACGAT
Barsoyssr_5_1304	+	有	TGAATATTTTCCATTTCTCTGGA	TTTTCTAAGCGGCTCGACAT
Barsoyssr_5_1305	+	无	GGATTCAAGCGTTCCACAAG	TGGTGTAGTTTGTTAAGCACTCA
Barsoyssr_5_1306	+	无	CAATTTTFAATTGATTTTGAATCCT	CGGTTGATATTATGACAAGGAGA
Barsoyssr_5_1307	-	-	TCTTTTACCAATGGCGATCC	CCATAGGATAGCGTGTITGGA

表 3 C1 连锁群图谱的比较

Tab. 3 Comparison of genetic map on LG-C1

标记 Marker	物理位置/bp Physical location	公共图谱遗传位置/cM Genetic position in public genetic map	本群体图谱遗传位置/cM Genetic position in the group mapping
Satt713	42.98	88.9	28.8
Barsoyssr_4_1181	43.78		37.5
Barsoyssr_4_1201	44.04		39.0
Barsoyssr_4_1235	44.80		47.5
Barsoyssr_5_1266	45.54		60.7
Satt524	47.09	120.1	76.5

冀豆 12 × ZDD03651 群体构建的大豆遗传连锁图谱共包括 21 条染色体,分别命名为 chr 1 ~ chr 21 (图 2)。与大豆公共图谱相比较,连锁群与公共图谱标记顺序完全一致。公共图谱上的 C1 和 N 这 2 条连锁群分成了 2 段,chr 1 和 chr 13 连锁群与公共图谱中的 C1 连锁群相对应,chr 15 和 chr 19 连锁群

和公共图谱的 N 连锁群相对应。遗传连锁图谱的标记为 117 个 SSR 标记,连锁群上标记范围为 2 ~ 8 个,每个连锁群上平均包括 6 个标记,图谱总长度为 1 501 cM,标记间的平均距离为 15.6 cM。标记间的距离与公共图谱相比,54 对标记间的距离增大了,增大范围为 0.23 ~ 21.19 cM 之间,变化幅度大于

10% 的为 40 对; 37 对标记间的距离缩小了, 缩小范围为 0.12 ~ 0.48 cM 之间, 变化幅度大于 10% 的为 27 对。本群体所构建的遗传连锁图谱对大豆公共

图谱覆盖的遗传距离的总长度为 1 336.06 cM, 总体的覆盖率为 57.85%, 其中 A1、A2、B2、F、G、I 这 6 个连锁群的覆盖率达到了 70% 以上。

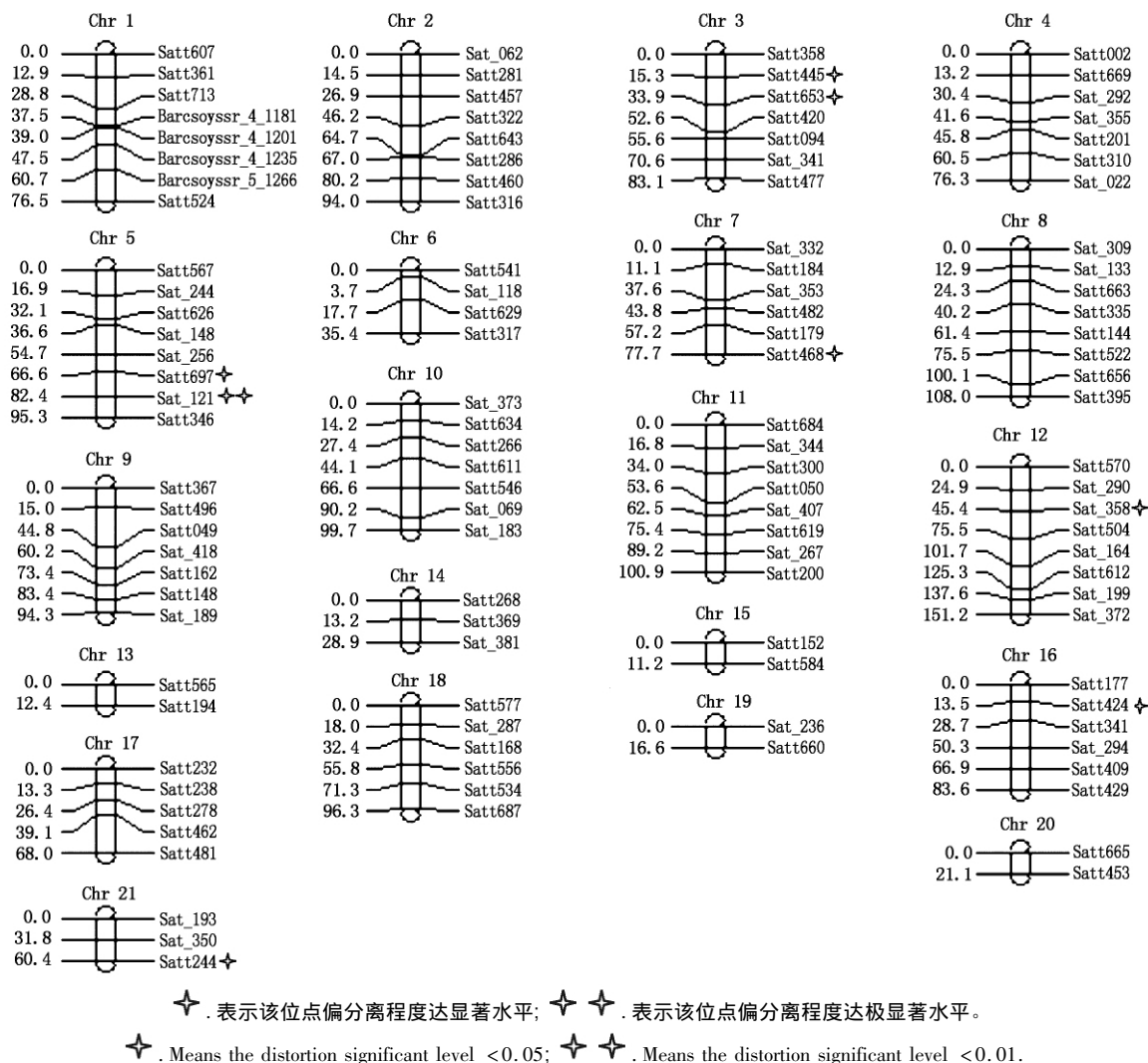


图2 冀豆 12 × ZDD03651 构建的大豆遗传连锁图谱

Fig. 2 Soybean genetic map constructed by Jidou 12 × ZDD03651

冀豆 12 × ZDD03651 图谱中, 含有 8 个偏分离位点(图 2)。7 个位点偏分离程度达显著水平($P < 0.05$), 1 个位点达极显著水平($P < 0.01$)。此图谱中, chr 3 染色体 2 个紧密连锁标记 Satt445 和 Satt653 偏分离, Satt445 位点 A: B = 113: 75, Sat653 位点 A: B = 122: 77, 表现为母本等位变异比例升高; chr 5 染色体 2 个紧密连锁标记 Satt697 和 Sat_121 偏分离, Satt697 位点 A: B = 67: 126, Sat_121 位点 A: B = 53: 117, 均表现为父本等位变异比例升高。其中 sat_121 偏分离达极显著水平。偏分离位点对遗传作图影响较小, 偏分离位点去除前后作图比较, 冀豆 12 × ZDD03651 组合中, chr 16 染色体 (LG-A2) 上 Satt177 和 Satt341 遗传距离由 28.7 cM 缩短至 27.5 cM, 其他位点相对位置和遗传距离都未发生改变。

3 结论与讨论

随着大豆公共遗传连锁图谱的不断完善, 越来越多的分子标记可用来进行遗传图谱的构建, 构建一个新群体的遗传连锁图谱, 首先要进行的就是多态性引物的筛选, 然后再选出在公共图谱上均匀分布的多态性引物来检测群体的分子数据。异花授粉的植物会比自花授粉的多态率高, 本研究由于冀豆 12 为栽培大豆, ZDD03651 为野生大豆和栽培大豆的过渡类型, 属于地方品种, 两亲本的亲缘关系较远, 所以多态率较高。张德水等^[7]选用的亲本栽培大豆长农 4 号与半野生大豆新民 6 号的多态率为 52.8%, 汪霞等^[13]选用的亲本溧水中子黄豆与南农 493-1 的多态率为 15.4%。想要构建高密度的图谱, 除了选取多态率高的亲本外, 还可以参照多个大

豆图谱,使用不同的标记,以构建较高密度的大豆遗传连锁图谱。Song 等报道的大豆遗传连锁图谱上的 33 065 个 SSR 标记,也为我们构建和加密遗传图谱提供了重要的信息,有利于我们在公共图谱上标记间距离较大或多态率低的区域筛选标记。

偏分离现象在生物界普遍存在,是生物进化的一个影响因素,是一种强有力的进化动力^[14]。随着作图群体两亲本间亲缘关系变远,偏分离情况也变得越来越严重,因此,通过远缘杂交向栽培种渗入野生种目的基因时,常会出现杂种致死和基因非正常分离现象,而给远缘杂交带来困难。在大豆中,这种现象并不严重,Shawn 等^[15]在栽培大豆与野生大豆组合中检测到 23.7% 的偏分离位点;Yamanaka 等^[16]栽培大豆组合 Misuzudaizu × Moshidou Gong 503 中检测到偏分离位点比例 6.4%,分布于 18 个连锁,本研究中偏分离位点比例为 6.9%。偏分离可能通过影响连锁群上位点间相对位置,从而影响遗传作图准确性。本研究冀豆 12 × ZDD03651 的 F_2 群体中,8 个偏分离位点删除前后作图结果除 Satt177 和 Satt341 遗传距离由 28.7 cM 缩短至 27.5 cM 外,其他位点无变化。本研究中共有 8 个偏分离位点,他们的偏分离程度均不是特别严重,可满足基因定位时的统计量要求。所以,本研究中偏分离位点对基因定位影响不大。

在不同群体中由于亲本间多态性和筛选标记的不同,所构建的遗传连锁图谱在公共图谱上覆盖的区域也不同,会直接影响到数量性状定位的结果。除此之外,用于构建遗传连锁图谱群体的类型、群体大小、构建图谱中所包含的标记多少和作图方法对图谱构建有重要的作用。在试验操作中,由于 PCR 扩增和电泳的分子数据检测中误差的出现,经常有标记缺失的现象,李慧慧等^[17]报道,群体中缺失的数据越多,作图的准确率就会越低。尤其对于群体较小,标记的缺失对作图的结果影响更大。SSR 标记所需的 DNA 量少,微卫星是共显性遗传,可以鉴别杂合子与纯合子,被广泛用于遗传连锁图谱的构建。近年来,随着以 DNA 芯片作为基础的新型分子标记的出现,分子标记技术也有了快速的发展,试验中不再以 PCR 和电泳技术为方法^[18]。虽然 DNA 芯片的试验成本高,但新型分子标记技术的研究上升到了单个核苷酸的水平,对于分子标记的研究具有很重要的意义。具备分析速度更快、成本更低、信息量更大、结果更准确的分子标记技术必将应用于高密度图谱的构建及其他方面的研究。

参考文献:

- [1] 李晓伟,黄红英.大豆利用价值及高产栽培技术[J].安徽农学通报,2011,17(16):209-210.
- [2] 邱丽娟,常汝镇,孙建英,等.中国大豆品种资源的评价与利用前景[J].中国农业科技导报,2000(5):58-61.
- [3] 卢圣栋.现代分子生物学实验技术[M].第2版.北京:中国协和医科大学出版社,1999.
- [4] APuya N R, Frazier B L, Keim P, et al. Restriction fragment length Polymer-Phisms as genetic markers in soybean, *Glycinemax* (L.) Merr ill [J]. Theor APPI Genet, 1988, 75: 889-901.
- [5] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome [J]. Crop Science, 1999, 39(5): 1464-1490.
- [6] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(1): 122-128.
- [7] 张德水,董伟.用栽培大豆与半野生大豆间的杂种 F_2 群体构建基因组分子标记连锁框架图[J].科学通报,1997,42(21):1326-1330.
- [8] 吴晓雷,何超英,张志永,等.大豆遗传图谱的构建与分析[J].遗传学报,2001,28(11):1051-1061.
- [9] Zhang W K, Wang Y J, Luo G Z, et al. QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine max* L. Merr) genetic map and their association with EST markers [J]. Theor Appl Genet, 2004(108): 1131-1139.
- [10] 常汝镇,孙建英,邱丽娟,等.中国大豆品种资源收集潜力的分析[J].作物品种资源,1993(1):1-3.
- [11] 姚利坡.野生大豆与栽培大豆遗传关系研究[D].石家庄:河北师范大学,2009.
- [12] Song Q, Jia G, Zhu Y, et al. Abundance of SSR Motifs and Development of Candidate Polymorphic SSR Markers in Soybean [J]. Crop Science, 2010, 11(50): 1950-1960.
- [13] 汪霞,徐宇,李广军,等.大豆株高 QTL 定位及 Meta 分析[J].南京农业大学学报,2011,34(3):13-19.
- [14] 宋宪亮,孙学振,张天真.偏分离及对植物遗传作图的影响[J].农业生物技术学报,2006,14(2):286-292.
- [15] Shawn M J, Winter-Barry J, Shelp-Terry R, et al. QTL associated with horizontal resistance to soybean cyst nematode in *Glycine soja* PI464925B [J]. Theor Appl Genet, 2007, 114: 461-472.
- [16] Yamanaka N, Ninomiya S, Hoshi M, et al. An informative linkage map of soybean reveals QTLs for flowering time, leaflet morphology and regions of segregation distortion [J]. DNA Res, 2001, 8(2): 61-72.
- [17] 李慧慧,张鲁燕,王建康.数量性状基因定位研究中若干常见问题的分析与解答[J].作物学报,2010,36(6):918-931.
- [18] 聂书萍,代林远.分子标记的发展及应用[J].河南职工医学院学报,2006,18(6):526-528.