

大豆品质及农艺性状的 QTL 分析

蒋春志 裴翠娟 荆慧贤 张孟臣 王 涛 邸 锐 刘兵强 闫 龙

(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 河北省作物遗传育种实验室 河北 石家庄 050031)

摘要: 以河北省粮油作物研究所选育的高蛋白大豆冀豆 12 号为母本,高油大豆冀黄 13 为父本所获得的 F_2 重组自交系的 148 个株系为试验材料,构建该群体的连锁图谱,并对品质性状(蛋白质含量、油分含量)、产量相关性状(株高、底荚高、分枝数、主茎节数、有效荚、无效荚、单株粒重、单株粒数)进行调查及 QTL 分析,结果表明,10 个性状共检出 15 个 QTL 位点,其中蛋白和油份含量定位在 A2 连锁群上,贡献率分别为 10%、16%,同时发现 C2 连锁群上聚集了与产量相关的位点。

关键词: 大豆; 基因定位; 蛋白质; 油分; QTL

中图分类号: S565.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)05-0127-04

QTL Analysis of Soybean Quality and Yield Related Characters

JIANG Chun-zhi, PEI Cui-juan, JING Hui-xian, ZHANG Meng-chen, WANG Tao,

DI Rui, LIU Bing-qiang, YAN Long

(1. Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang Branch Center of National Center for Soybean Improvement, Shijiazhuang 050031, China)

Abstract: Cross was made using high protein content variety Jidou 12 as female parent and high oil content variety Jihuang 13 as male parent, and get F_2 RIL population with 148 single plants. The linkage map of this population was made using F_2 family. The quantitative characters such as protein and oil content as well as yield related characters such as plant height, first pod height, branch number, nod number, effective pod, sterile pod, seed weight per plant, seeds per plant were recorded and mapped. 15 QTLs for 10 characters were detected. The QTLs of protein and oil content were located on A2 linkage group, and the contribution rate is 10% and 16% respectively. The result also showed that most QTLs of the characters correlated to yield were located on C2 linkage group.

Key words: Soybean; Gene mapping; Protein; Oil; Quantitative trait loci

大豆许多重要的性状如与产量相关的性状、品质性状、抗性等,都属于多基因控制的数量性状^[1-3]。对这些有重要价值的性状进行 QTL 定位,目的就是尽可能地发掘有利用价值的等位基因,将分子标记辅助选择用于育种实践,服务育种,同时为从众多的大豆种质资源中选择出有价值的材料提供依据。

国内外发表的大豆遗传连锁图谱所选用的作图群体的亲本均属于种属远缘,没有针对性的选择目标性状亲本品种,这对大豆性状定位会带来一定困难^[4-11]。为更好地揭示大豆品质和产量相关性状的遗传特性,丰富大豆遗传图谱,使所定位的基因位点更具有实用价值,本研究利用河北省粮油作物研

究所大豆室自己培育的高蛋白大豆品种冀豆 12 号与高油大豆品种冀黄 13 为亲本配制杂交组合得到 F_2 重组自交系群体,并利用 F_2 群体进行了品质性状及其他重要产量性状的 QTL 定位,锁定 QTL 分布的特定区间,为目标性状的精细定位、基因的图位克隆以及分子标记辅助育种提供理论依据。另外利用本试验定位的标记与另一群体的定位结果进行了比较,结果表明很多性状在两个群体中的定位结果是一致的。

1 材料和方法

1.1 试验材料及性状的调查

试验材料为河北省粮油作物研究所大豆室构建

收稿日期: 2011-08-11

基金项目: 河北省自然科学基金(C2008001192)

作者简介: 蒋春志(1964-),女,河北阜城人,研究员,硕士,主要从事大豆分子标记育种研究。

的 F_2 重组自交系群体 (RIL): 该群体的母本为高蛋白品种冀豆 12 号, 父本为高油品种冀黄 13, 2003 年通过人工杂交, 获得 F_0 杂交粒, 通过单粒传法获得 F_2 , 包括 148 个单株的重组自交系群体。本试验所使用的 150 对 SSR 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

品质性状的调查标准: 使用德国 Bruker 公司的 MATRIX-4 型傅立叶变换近红外光谱仪检测了各单株的蛋白质和油份含量; 株高: 自子叶节至植株主茎顶端的高度; 底荚高: 自子叶节至最底荚的高度; 主茎分枝数: 主茎上每枝结荚超过 2 个荚的分支总数; 主茎节数: 自子叶节至植株主茎顶端的节数; 有效荚: 每单株有籽粒的荚的总数; 无效荚: 没有籽粒的荚; 单株粒数: 每单株所有籽粒的总数; 单株粒重: 每单株籽粒的总重量。

1.2 DNA 提取

在田间各株系内随机选取等量的新鲜叶片, 按照 SDS 方法提取亲本及群体 DNA。

1.3 DNA 浓度检测

取少量 DNA 样品在 0.8% 琼脂糖胶上检测, 在紫外分光光度计 (美国 Agilent Agilent 8453E) 上测定质量和浓度, 根据检测和测定结果稀释至 20 ng/ μ L 备用。

1.4 SSR 分析

PCR 扩增: PCR 扩增反应采用 20 μ L 反应体系: 20 ng 总 DNA, 0.15 mmol/L each 引物, 150 μ mol/L each dNTP, 2.0 μ L 10 \times Buffer, 1 U *Taq* 酶,

用 ddH₂O 补足 20 μ L。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 进入循环: 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 47 $^{\circ}$ C 复性 30 s; 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s; 循环 35 次后在 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 置于 4 $^{\circ}$ C 下保存。

变性聚丙烯酰胺凝胶电泳方法: 取 10 μ L PCR 样品加入 5 μ L 3 \times Loading Buffer, 混匀后, 在 95 $^{\circ}$ C 变性 3 min, 立即放至冰上冷却。PCR 产物在 6% 的聚丙烯酰胺测序胶上分离。在 100 W 恒功率下电泳约 1.5 h, 染色方法采用银染。

1.5 统计分析

用 Map Manager QTXb20 构建分子标记连锁图谱^[12,13]。使用 WinQTL Cart2.5 对构建的大豆遗传连锁图进行扫描, 检测与大豆蛋白和脂肪两个品质性状及产量相关性状连锁的 QTL^[14,15]。

2 结果与分析

2.1 大豆遗传连锁图谱的构建

从文献中报道的位点和大豆连锁图谱中每 10 cM 选择一个引物, 筛选得到 150 对在亲本间有多态性的引物, 通过对这 150 个 SSR 标记进行连锁分析发现, 连锁的标记有 86 个, 分为 24 个连锁群。在这 24 个连锁群上, 有 11 个连锁群可以与 Cregan 等 (1999) 公布的大豆遗传图谱对应起来, 有 6 个连锁群与公布的大豆图谱不一致。图 1 为本试验所得到的遗传连锁图。连锁的 SSR 标记的总的遗传距离为 931.6 cM, 标记间的距离为 0.2 ~ 48.5 cM。

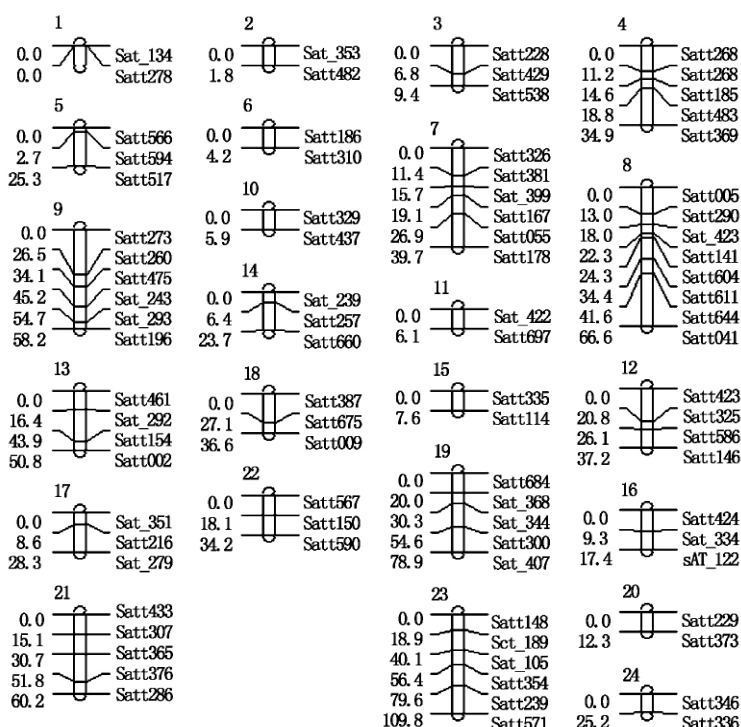


图 1 F_2 的遗传连锁图

Fig. 1 Linkage group of F_2

2.2 品质及产量相关性状的 QTL 定位

表 1 列出了利用 F₉ 重组自交系群体定位的品质和产量相关性状的 QTL 定位结果。本试验利用 WinQTLCart2.5 扩增条带的统计方法为: 母本标为“ A ”, 父本标为“ B ”, 杂合体标为“ H ”, 未扩增出的条代表为“ - ”, 取 LOD 值为 2.5 , F₉ 共定位了 10 个性状 15 个 QTL 位点 , 其中蛋白和油分含量定位

在 A2 连锁群上 , 贡献率分别为 10% , 16% , 蛋白质表现为正的加性效应 , 脂肪为负的加性效应 , 说明蛋白质含量随着世代的增加和基因的进一步纯合 , 其含量也在不断增加 , 而油分含量则相反 , 其随着时代的增加和基因的纯合其含量在降低 , 这就为后代的选择提供了参考 , 即蛋白含量应在早代选择 , 而油分含量可适当推迟选择时代。

表 1 大豆重要农艺性状的 QTL 定位结果
Tab.1 QTLs of agronomy characters of soybean

性状 character	连锁群 Linkage group	区间 reng	位置 location	LOD	贡献率 / % Contribute rate	加性效应 Additive effect	显性效应 Dominant effect
株高 Plant hight	L	Satt229-Satt373	13	5.33	27	13.98	-7.50
底荚高	C2	Satt365-Satt376	36.3	7.27	37	-18.00	28.58
First pod hight	K	Satt381-Sat399	14.4	2.80	14	2.26	-3.82
分枝数	C2	Satt307-Satt365	26.9	3.04	22	-2.62	1.08
Brench	C2	Satt365-Satt376	30.7	6.26	29	-1.10	1.67
节数 Nod number	L	Satt229-Satt373	0	4.64	26	2.63	-1.02
有效荚	C2	Satt307-Satt365	25.8	5.27	24	-2.59	5.15
Effective pod	C2	Satt365-Satt376	32.2	5.63	27	-2.99	5.86
	C2	Satt365-Satt376	30.7	5.03	26	-25.47	10.78
无效荚 Sterile pod	G	Satt594-Satt517	6.8	4.65	6	-1.05	12.29
单株粒重	A2	Sat334-Sat122	10.8	4.81	7	1.12	19.09
Seed weight per plant	C2	Satt307-Satt365	27.2	3.90	13	-7.64	28.18
单株粒数 Seed number per plant	C2	Satt365-Satt376	31.5	3.87	17	-32.04	98.26
蛋白质 Protein content	A2	Sat334-Sat122	10.8	2.19	10	0.59	-3.32
脂肪 Oil content	A2	Satt228-Satt429	0.4	2.60	16	-0.42	-0.07

株高定位了 2 个 QTL 位点 , 分别在 L 和 C2 连锁群上 , 贡献率分别为 27% 和 37% , 底荚高的 QTL 定位在 K 和 C2 连锁群上 , 贡献率为 14% 和 22% , 分枝数的 QTL 定位在 C2 连锁群上 , 贡献率为 29% , 主茎节数定位了 3 个 QTL 位点 , 分别在 L 和 C2 连锁群上 , 有效荚数、单株粒数和单株粒重等性状的 QTL 定位在 C2 连锁群上 , 贡献率在 13% ~ 26% 。图 2 ~ 5 列出各个性状的 LOD 曲线图。

从表 1 还可以看出 , 大部分与产量相关的性状均定位在了 C2 连锁群上 , 如株高、底荚高、分枝数、主茎节数、有效荚数、单株粒数和粒重等 , 这说明 C2 为控制产量性状基因聚集的连锁群 , 这为今后开展产量性状的研究如基因的定位和图位克隆提供了理论依据。

2.3 两个群体定位结果的比较

本试验的结果与另一个群体即冀豆 12 号 / 冀 nF98 的定位结果进行了比较 (图 6) 结果发现很多性状两个群体的定位结果是一致的 , 说明本试验的定位结果是准确的 , 可以用来进行后代的辅助选择。

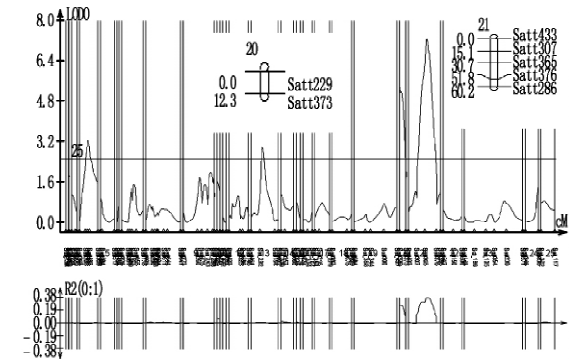


图 2 株高的 LOD 曲线图

Fig.2 LOD map of plant hight

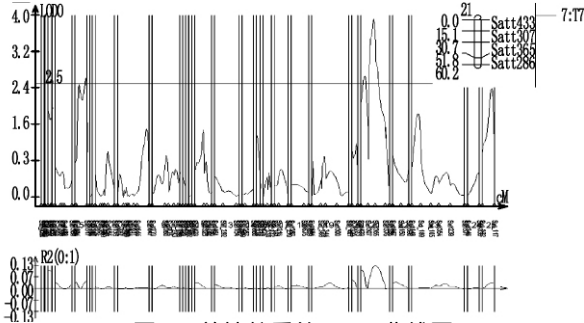


图 3 单株粒重的 LOD 曲线图

Fig.3 LOD map of seed weight per plant

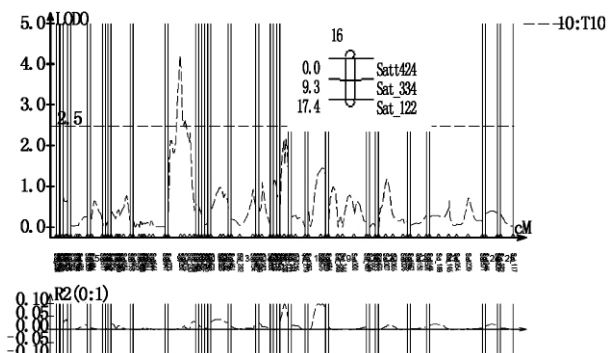


图4 蛋白质含量的 LOD 曲线图

Fig. 4 LOD map of protein content

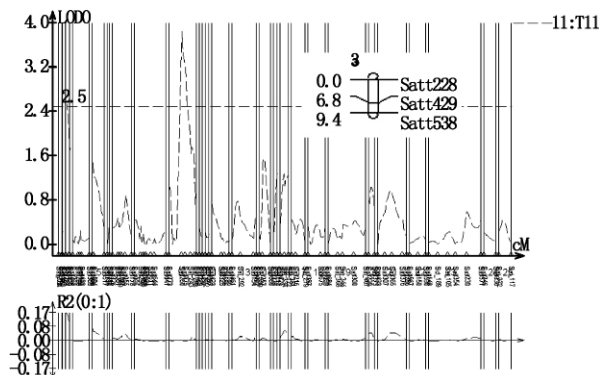
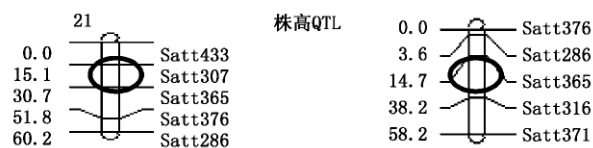


图5 脂肪含量的 LOD 曲线图

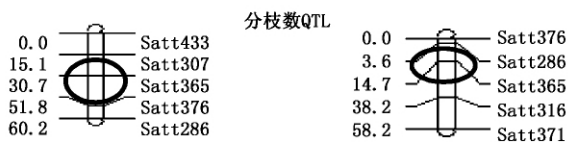
Fig. 5 LOD map of oil content



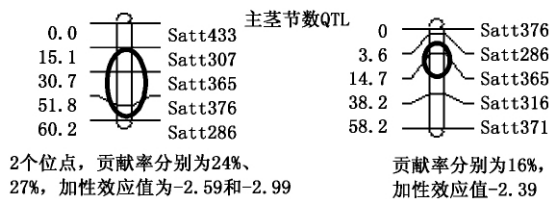
贡献率分别为: 22%和43%, 加性效应值为-2.62, -4.04



贡献率分别为29%和17%, 加性效应值-1.1, -1.09



贡献率分别为29%和17%, 加性效应值-1.1, -1.09



2个位点, 贡献率分别为24%、27%, 加性效应值为-2.59和-2.99

贡献率分别为16%、23%, 加性效应值-2.39

图6 两个组合 QTL 定位结果比较

Fig. 6 comparison of QTL of two crosses

3 讨论

本研究检测到的大部分与产量性状有关的 QTL

都定位在 C2 连锁群上,说明在 C2 连锁群上密集了控制产量性状基因,这就为大豆的产量改良提供了有力的理论依据。今后将进一步加密此区段连锁群的标记密度,使定位更精确。

由于存在基因型 × 基因型 和 基因型 × 环境 交互作用,相同性状在不同群体、不同环境条件下表型值不同,控制同一性状的 QTL 在不同群体、不同的杂交组合中存在不同的位点。因此对 QTL 研究最为困难的是在不同遗传背景和不同的环境条件下找到最稳定的 QTL。因此,有必要进一步用不同群体、不同杂交组合进行同一性状的 QTL 定位,以弄清控制同一性状的一整套 QTL。同时,找出在不同群体、组合中控制同一性状的共同 QTL 位点,以便育种中应用。本试验通过对两个群体的定位结果进行比较得到部分性状一致的 QTL,且贡献率也基本一致。

从性状定位的 QTL 位点的加性效应分析,蛋白质含量为正的加性效应,而油分含量为负的加性效应,这一结果为后代蛋白和油分含量性状的选择提供了有益的参考。

参考文献:

- [1] 马育华. 植物育种的量遗传学基础[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1982.
- [2] 徐云碧, 朱立煌. 分子数量遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [3] 陈恒鹤, 尹丽华, 王大秋, 等. 大豆蛋白质及脂肪含量的遗传和选择效果研究[J]. 大豆科学, 1991, 10(1): 1-9.
- [4] 吴晓雷. 大豆高密度遗传图谱构建和重要农艺性状基因定位、大豆属进化关系的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2000.
- [5] 宛煜嵩, 王珍, 肖英华, 等. 一张含有 227 个 SSR 标记的大豆遗传连锁图[J]. 分子植物育种, 2005, 3(1): 15-20.
- [6] 陈庆山, 张忠臣, 刘春燕, 等. 应用 Charleston × 东农 594 重组自交系群体构建 SSR 大豆遗传图谱[J]. 中国农业科学, 2005, 38(7): 1312-1316.
- [7] 刘峰, 庄炳昌, 张劲松, 等. 大豆遗传图谱的构建和分析[J]. 遗传学报, 2000, 28(11): 1018-1026.
- [8] 王永军. 大豆重组自交系群体的构建与调整及其在遗传作图、抗花叶病毒基因定位和农艺及品质性状 QTL 分析中的应用[D]. 南京: 南京农业大学, 2001.
- [9] Mammadov J A, Zwonitzer J C, Biyashev R M *et al.* Molecular mapping of Leaf Rust resistance gene *Rph5* in Barley[J]. Crop Science, 2003, 43: 388-393.
- [10] Mahuku G, Montoya C, Henriquez M A *et al.* Inheritance and characterization of Angular Leaf Spot resistance gene present in common Bean Accession G 10474 and identification of an AFLP marker linked to the resistance gene[J]. Crop Science, 2004, 44: 1817-1824.
- [11] Chung J, Babka H L, Graef G L *et al.* The seed protein, oil and yield QTL on soybean linkage group I[J]. Crop Science, 2003, 43: 1053-1067.
- [12] 吴晓雷, 贺超英, 王永军, 等. 大豆遗传图谱的构建和分析[J]. 遗传学报, 2001b, 28(11): 1051-1061.
- [13] 宛煜嵩. 大豆遗传图谱的构建及若干农艺性状的 QTL 定位分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2002.
- [14] Cregan P B, Kolipara K P, Xu R J *et al.* Primary trisomics and SSR makers as tools to associate chromosomes with linkage groups in soybean[J]. Crop Science, 2001, 41: 1262-1267.
- [15] Yu K, Park J, Poysa V *et al.* Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Journal of Heredity, 2000, 91: 429-434.