

大豆株高 QTL 定位研究

万 昆<sup>1,3</sup>,姜成喜<sup>2</sup>,刘章雄<sup>3</sup>,付亚书<sup>2</sup>,朱友林<sup>1</sup>,陈维元<sup>2</sup>,邱丽娟<sup>3</sup>

(1. 南昌大学 生命科学学院,江西 南昌,330031;2. 黑龙江省农业科学院 绥化分院,黑龙江 绥化 152052;3. 中国农业科学院 作物科学研究所 国家农作物基因资源与遗传改良重大科学工程,农业部作物种质资源与生物技术重点开放实验室,北京 100081)

**摘 要:**株高是大豆产量的一个影响因子,该性状的基因定位对于大豆育种具有重要的理论和应用价值。以绥农 14 × 绥农 20 的 F<sub>2</sub> 代 154 个单株为材料,对各单株及亲本的株高性状进行调查和 SSR 分析。构建一张包含 65 个 SSR 标记的遗传图谱,用 QTL 软件分析,在 F<sub>2</sub> 代共检测出 2 个与株高相关的 QTL 位点,命名为 PIht-1 和 PIht-2 位点,均分布在 G 连锁群。  
**关键词:**大豆;株高;遗传图谱;QTL  
**中图分类号:**S565. 1      **文献标识码:**A      **文章编号:**1000-9841 (2009)05-0791-04

Mapping QTL Associated with Plant Height in Soybean (*Glycine max*)

WAN Kun<sup>1,3</sup>,JIANG Cheng-xi<sup>2</sup>,LIU Zhang-xiong<sup>3</sup>,FU Ya-shu<sup>2</sup>,ZHU You-lin<sup>1</sup>,CHEN Wei-yuan<sup>2</sup>,QIU Li-juan<sup>3</sup>

(1. Institute of Life Sciences of Nanchang University, Nanchang, 330031, Jiangxi;2. Suihua Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Suihua 152052, Heilongjiang;3. National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement (NFCRI), Key Laboratory of Germplasm & Biotechnology (MOA), Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:**The plant height is a impact factor of soybean yield,so mapping the plant height trait loci in the genetic map has important theoretical and applied values. One hundred and fifty-four individuals of F<sub>2</sub> population derived from a cross between Suinong 14 and Suinong 20 were used in this experiment. Both plant height and SSR data were investigated for mapping plant height QTLs. A genetic linkage map was constructed with 65 SSR loci screened with two parents and analyzed among 154 individuals of the population. Two plant height QTLs,named as PIht-1,PIht-2 in the G linkage group were identified.  
**Key words:**Soybean;Plant height;Genetic Map;QTL

大豆是我国主要农作物之一,但大豆单产远远落后于小麦、水稻、玉米等几个农作物。在第一次绿色革命中,正是由于矮秆基因的发明与利用,在小麦、水稻中育成了矮秆和半矮秆品种,增强抗倒伏性,从而使产量成倍增加。我国创造出最高产记录(5 955.0 kg·hm<sup>-2</sup>)的大豆新品种“新大豆 1 号”和“石大豆 1 号”通过喷洒 15% 多效唑,起到壮秆缩节,降低株高提高抗倒伏作用<sup>[1]</sup>。Wang 等<sup>[2]</sup>通过 QTL 分析,证实株高与产量相关。可见,株高的研究对于大豆产量的提高具有重要的理论和现实意义。

目前,已定位大豆株高 QTL 超过 73 个<sup>[3-14]</sup>,这些株高 QTL 在不同组合和环境的可重复性较差。

Lee 等<sup>[15]</sup>利用 PI416937 × Young 组合 F<sub>4</sub> 代材料,发现了 11 个与株高有关的 QTL,但可以在多环境下同时检测到的 QTL 只有两个(Blh043 and A063a)。Orf 等<sup>[16]</sup>比较株高 QTL 在 Minsoy × Noir 1, Minsoy × Archer 和 Noir 1 × Archer 这 3 个不同组合后代群体的通用性,发现株高 QTL 具有材料特异性。Baianu<sup>[17]</sup>等用 BSR101 × LG82-8379 的群体在连锁群 G 上定位得到稳定的株高 QTL,与 Satt191 相关联。

绥农 14 是黑龙江大面积推广的高油大豆品种<sup>[18]</sup>。绥农 20 也是黑龙江大面积推广的优良品种,并且在大豆育种中被广泛利用。利用绥农 14 × 绥农 20 组合的后代群体为材料,研究株高的遗传规

收稿日期:2009-03-29  
基金项目:国家高技术研究发展计划资助项目(2006AA100104,2006AA10A11D,2006AA10Z1F1,2006AA10Z1B3);国家科技支撑计划资助项目(2006BAD13B05)。  
作者简介:万昆(1985-),男,硕士研究生。研究方向为功能基因的定位与发掘。E-mail:kunwan1985@yahoo.com.cn。  
通讯作者:邱丽娟,博士生导师,研究员。E-mail:qiu\_lujuan@263.net。

律,定位与株高相关的 QTL,为大豆品种改良及分子育种提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以绥农 14 为母本,绥农 20 为父本杂交,构建 F<sub>2</sub> 代群体,并对该群体进行株高 QTLs 定位。F<sub>2</sub> 代在黑龙江省农业科学院绥化分院点播种植,小区行长 4 m,株距 8 cm,收获后按照《大豆种质资源描述规范和数据标准》中的标准考察农艺性状。

### 1.2 SSR 分析

分别采集 F<sub>2</sub> 代单株 0.05 g 新鲜幼嫩叶片,采用天根试剂盒法提取 DNA。参照大豆数据库(<http://soybase.ncgr.org/>),均匀选取分布于大豆整个基因组的 141 个 SSR 位点,从中筛选亲本间表现多态性的位点对单株进行基因型扫描。

PCR 扩增反应体系为 20 μL,包括 10 × PCR Buffer(含 15 mM Mg<sup>2+</sup>) 2.0 μL,dNTP(10 mM)1.5 μL,Tag 酶(2.5 U · μL<sup>-1</sup>)0.4 μL,SSR 引物 3 μL,ddH<sub>2</sub>O 8.1 μL,5 μL 模板 DNA(20 ng · μL<sup>-1</sup>)。反应在(MJ Research)PCR 扩增仪 PTC-225 上进行,PCR 反应程序为 94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s,47℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,运行 35 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min 后于 4℃ 保存。扩增产物经 6% 非变性聚丙烯酰胺胶电泳分离,银染照像。

### 1.3 遗传图谱构建

根据检测结果的图片,后代与母本相同的带型计为 A,与父本相同的带型计为 B,杂合带型计为 H。利用 CHITEST 函数,进行卡方检验,检测偏分离。利用 Mapmanager 作图软件,采用 Kosambi 作图函数,以非偏分离位点构建分子标记连锁图。

### 1.4 株高 QTLs 定位

利用 Windows QTL Cartographer V2.0 进行复合区间作图,以 LOD ≥ 2.0 作为 QTLs 存在的域值。QTL 命名参考 Soybase 网站命名规则。

## 2 结果与分析

### 2.1 株高遗传规律

绥农 14 和绥农 20 株高平均值分别为 92.4 cm 和 89.7 cm,方差分析差异不显著,但在后代中株高分离明显,且有超双亲个体。追踪系谱分析可以发现两个品种的祖先来源相距较大。F<sub>2</sub> 群体株高最大

值与最小值分别为 130 cm 和 53 cm,变异系数为 19.6%。表现出数量性状的遗传特点,其偏斜度和峰值均小于 1,适于进行 QTL 分析(图 1)。

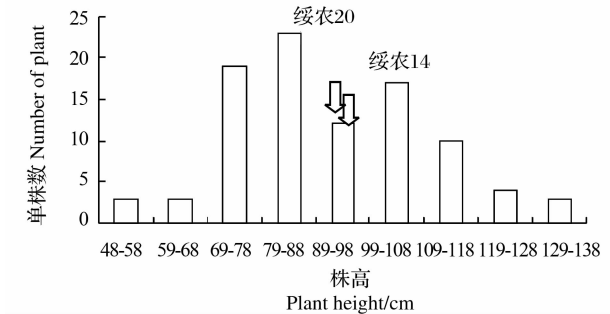


图 1 株高在群体中的分布

Fig. 1 Distribution of plant height in populations

### 2.2 遗传图谱的构建

根据大豆公共分子连锁图谱,选择均匀分布的 141 个 SSR 位点中,95 个位点在亲本间表现多态性,多态性位点的比例为 67.37%,表明两亲本间差异较大。这 95 个 SSR 位点在 F<sub>2</sub> 群体中,有 30 个 SSR 标记表现为偏分离,与其它标记不连锁。利用 Mapmanager 作图软件,构建了一张图谱,共包含 65 个 SSR 标记,覆盖基因组长度为 744cM,标记间平均长度为 11.45cM,每个连锁群标记数为 2 ~ 8 个,每个连锁群长度为 8.8cM ~ 97.3cM。该图谱与公共图谱比较结果表明,18 个连锁群均与公共图谱上的连锁群相对应(图 2,表 1)。

### 2.3 株高 QTL 分析

定位到 2 个与株高相关的 QTL 位点 PIht-1 和 PIht-2。其中,PIht-1 位于区间 Satt191-Sat\_372,贡献率为 55.43%;PIht-2 位于区间 Satt191-Satt472,贡献率为 19.8%,(图 2,表 2)。由于 PIht-1 和 PIht-2 的加性效应为正值,表明该位点的作用效应来自于绥农 14。

### 2.4 群体大小对作图结果的影响

由于 QTL 分析中群体大小直接影响着 QTL 定位的准确性与工作量的大小,因此,在 154 个群体中随机选择 94 个样本构成数量较小的群体,定位到 1 个与株高相关的 QTL 位点,为 PIht-3,位于区间 Satt191-Sat\_372,贡献率为 37.76%;由于 PIht-3 的加性效应为正值,表明该位点的作用来自于绥农 14。

其中,PIht-1 和 PIht-3 在 2 次定位中位置区间相同,为一个 QTL 位点,但定位的 LOD 不同,贡献率也不同,以 154 个单株群体比 94 个单株群体定位结果的 LOD 值更高,且贡献率更大,由 37.76% 提高到

55.43% ,表明该区间有株高主效 QTL 控制。

对比 2 次定位的结果发现,在原 154 个大的群体中得到的似然比值( LOD)和贡献率都要比小的

群体高,并且重复定位在同一区间都表现出定位的准确。

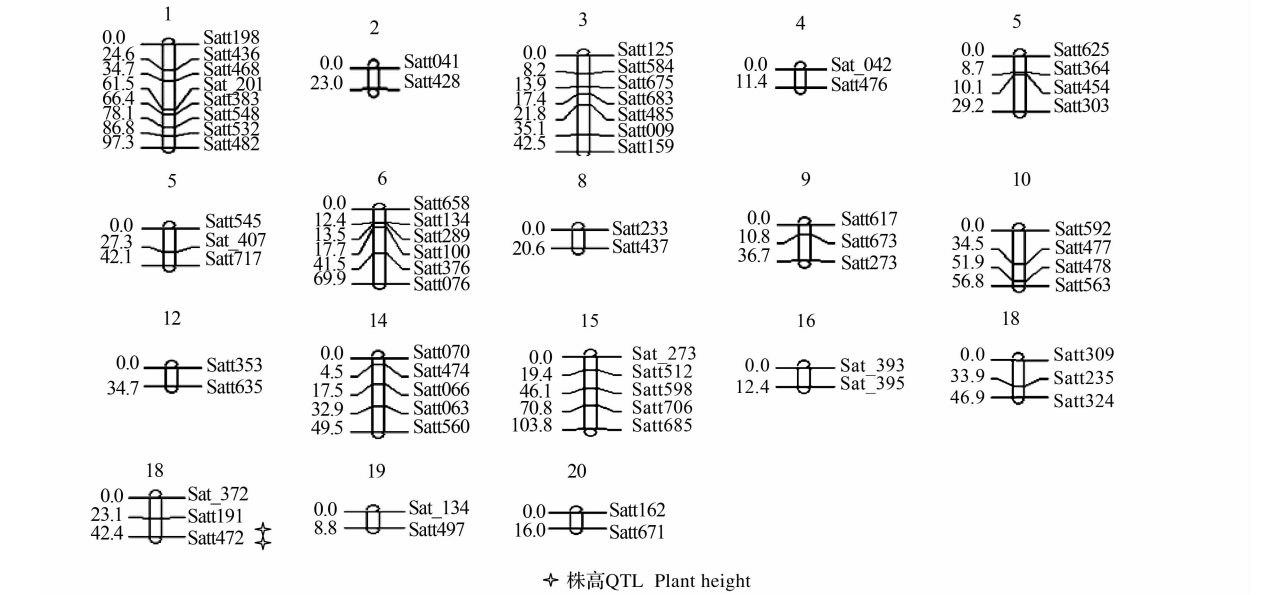


图 2 基于 SSR 标记的大豆分子遗传图谱

Fig. 2 Soybean molecular genetic linkage map based on SSR markers

表 1 SSR 标记在各连锁群的分布				
Table 1 Distribution of SSR markers on the linkage group				
连锁群	长度	标记数目	标记间平均长度	>20cM 的 标记数目
Linkage	Length	No. of	Average distance	No. of
group	/cM	markers	between markers/cM	intervals
>20cM				
LG 1	97.3	8	12.16	4
LG 2	23	2	11.5	2
LG 3	42.5	7	6.07	0
LG 4	11.4	2	5.7	0
LG 5	29.2	4	7.3	0
LG 5	42.1	3	14.03	2
LG 6	69.9	6	11.65	3
LG 8	20.6	2	10.3	2
LG 9	36.7	3	12.23	2
LG 10	56.8	4	14.2	2
LG 12	34.7	2	17.35	2
LG 14	49.5	5	9.9	0
LG 15	103.8	5	20.76	4
LG 16	12.4	2	6.2	0
LG 18	46.9	3	15.63	2
LG 18	42.4	3	14.13	2
LG 19	8.8	2	4.4	0
LG 20	16	2	8	0

表 2 不同群体大豆株高 QTL 的定位及遗传贡献					
Table 2 QTLs mapping and contribution associated with the plant height in two size of the population					
组成群体的 个体数目	名称	两侧引物 Flanked primers	似然比 LOD	贡献率 R <sup>2</sup> /%	加性效应 Additive
Numbers of population	QTL				
154	Plht-1	Satt191-Sat_372	11.35	55.43	21.95
	Plht-2	Satt191-Satt472	4.51	19.8	15.17
94	Plht-3	Satt191-Sat_372	6.72	37.76	15.14

3 讨论

3.1 株高的遗传

大豆株高是影响产量的一个重要农艺性状。其遗传规律相对简单,具有较高的遗传力<sup>[19]</sup>。遗传效

应主要以加性效应为主,株高的遗传力在 45% ~ 75% 之间<sup>[20]</sup>。

盖钧镒等<sup>[21]</sup>研究表明,在育种中,选用具有较宽广遗传基础而又不含相同祖先亲本的品种杂交,将有益于优异性状基因聚合而达到预期目标,研究中采用的 2 个亲本绥农 14,绥农 20 虽然都为栽培品种,但是追溯系谱分析发现其祖先来源不同,相差较大,可能含有不同的株高基因作用位点。

表 2 不同群体大豆株高 QTL 的定位及遗传贡献

Table 2 QTLs mapping and contribution associated with the plant height in two size of the population

3.2 群体大小定位结果的比较

利用 95 个 SSR 标记对 154 个单株构成的群体进行分析,构建了一张含有 65 个 SSR 标记,18 个连锁群的大豆遗传图谱,结合 F<sub>2</sub> 代株高调查数据,对大豆株高进行定位,共获得 2 个 QTL,Plht-1 和 Plht-2 位于 G 连锁群,贡献率分别为 55.43% 和 19.8%。

而从 154 个单株构成的群体中选择出 94 个单株构成群体进行定位,仅检测到 1 个与株高相关的 QTL 位点,为 PIht-3,位于区间 Sat\_372-Satt191,贡献率为 37.76%。

在 QTL 定位的研究中,需要考虑分子和表型这两种数据,群体规模大无疑会增加工作量,因此,采用的群体数量范围一般为 150 ~ 300 个单株(系)<sup>[22]</sup>。比较了 154 个单株群体与 94 个单株群体的的定位结果,发现较大的群体中分子标记的偏分离影响降低,也使表型数据的误差减小,从而增加 QTL 定位的准确性;而小群体虽然能揭示一定的遗传特性,但由于分子数据偏差的出现会影响试验结果。因此,像株高等易受环境因素影响的性状,应适当采取较大的群体来消除局部环境差异而导致的表型,同时降低分子数据偏分离的影响。利用本研究定位的株高 QTL 位点与大豆数据库(<http://soybase.ncgr.org/>)上已报道的 QTL 位点进行对比,与 Kabelka 等<sup>[17]</sup>报道一致,推测控制该性状的基因位点是主效 QTL,具有重演性并可稳定遗传。

参考文献

[1] 罗康彤,战勇,刘胜利,等. 新大豆 1 号和石大豆 1 号高产纪录的创造[J]. 大豆科学,2001,20(4):270-273. (Luo G Y,Zhan Y,Liu S L,et al. New record of high yield in Xindadou No. 1 and Shidadou No. 1[J]. Soybean Science,2001,20(4):270-273. )

[2] Wang D,Graef G L,Procopiuk A M,et al. Identification of putative QTL that underlie yield in interspecific soybean backcross populations[J]. Theoretical and Applied Genetics,2004,108:458-467.

[3] Ashley D A,Bailey M A,Boerma H R,et al. Molecular markers associated with soybean plant height, lodging and maturity across location[J]. Crop Science,1996,36(3):728-735.

[4] Mansur L M,Orf J H,Chase K,et al. Genetic mapping of agronomic traits using recombinant inbred lines of soybean[J]. Crop Science,1996,36(5):1327-1336.

[5] Mansur L M,Orf J H,Lark K G,et al. Determining the linkage of quantitative trait loci to RFLP Markers using extreme phenotypes of recombinant inbreds of soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,1993,86:914-918.

[6] Mansur L M,Lark K G,Kross H,et al. Interval mapping of quantitative trait loci for reproductive, morphological and seed traits of soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,1993,86:90-913.

[7] Lark M L,Chase K,Adler F,et al. Interactions between quantitative trait loci in soybean in which trait variation at one locus is conditional upon a specific allele at another[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,1995,92:4656-4660.

[8] Lee S H,Bailey M A,Mian M A R,et al. Molecular markers associ-

ated with soybean plant height ,lodging ,and maturity across locations[J]. Crop Science,1996,36(3):728-735.

[9] Lee S H,Bailey M A,Mian M A R,et al. Identification of quantitative trait loci for plant height, lodging, and maturing in a soybean population segregation for growth habit1 [J]. Theoretical and Applied Genetics,1996,92:516-523

[10] Mian M A R,Ashley D A,Vencill WK,et al. QTLs conditioning early growth in a soybean population segregation for growth habit [J]. Theoretical and Applied Genetics,1998,97(8):1210-1216.

[11] Orf J H,Chase K,Jarvik T,et al. Genetic of soybean agronomic traits: I comparison of three related recombinant inbred populations[J]. Crop Science,1999,39(6):1642-1651.

[12] Sebolt A M,Shoemaker R C ,Diers B W. Analysis of a quantitative trait locus allele from wild soybean that increases seed protein concentration in soybean[J]. Crop Science,2000,40(5):1438-1444.

[13] Specht J E ,Chase K,Macrander M,et al. Soybeanresponse to water; A QTL analysis of drought tolerance[J]. Crop Science,2001,41:493-509.

[14] Yuan J N. Quantitative trait loci in two soybean recombinant inbred line populations segregating for yield and disease resistance[J]. Crop Science,2002,42:271-277

[15] Lee S H,Bailey M A,Mian M A R,et al. Molecular markers associated with soybean plant height, lodging, and maturity across locations[J]. Crop Science,1996,36:728-735.

[16] Orf J H,Chase K,Jarvik T,et al. Genetics of soybean agronomic traits;I. Comparison of three related recombinant inbred populations[J]. Crop Science,1999,39:1642-1651.

[17] Kabelka E A ,Diers B W,Fehr W R,et al. Putative alleles for increased yield from soybean plant introduction [J]. Crop Science,2004,44:784-791.

[18] 秦君,姜成喜,刘章雄,等. 绥农 14 及其系谱亲本的遗传多样性及重组分析[J]. 遗传,28(11):1421-1427. (Qing J,Jiang C X,Liu Z X,et al. Genetic diversity and recombination of soybean cultivar Suinong 14 and its pedigree[J]. Hereditas,28(11):1421-1427. )

[19] 张淑珍,杨庆凯. 中美半矮秆大豆杂交早期世代农艺性状遗传变异研究[J]. 大豆科学,2000,19(4):320-325. (Zhang S Z,Yang Q K. Study on genetic variation in early generation of China-America semi-dwarf soybean crosses[J]. Soybean Science,2000,19(4):320-325. )

[20] 王连铮,王金陵. 大豆遗传育种学[M]. 北京:科学出版社,1990,60-65. (Wang L Z,Wang J L. Soybean Genetics and Breeding[M]. Beijing:Science Press,1990:60-65. )

[21] 盖钧镒,赵团结,崔章林,等. 我国 1923-1995 年育成的 651 个大豆品种的遗传基础[J]. 中国农业科学,1998,31(5):35-43. (Gai J Y,Zhao T J,Cui Z L,et al. Nuclear and cytoplasmic contributions of germplasm from distinct areas to soybean cultivars released during 1923-1995 in China[J]. Scientia Agricultura Sinica,1998,31(5):35-43. )

[22] 章元明. 作物 QTL 定位方法研究进展[J]. 科学通报,2006,51(9):2223-2231. (Zhang Y M. Research advance of QTL mapping [J]. Chinese Science Bulletin,2006,51(9):2223-2231. )