

大豆种子蛋白质和油份性状的 QTL 定位

葛振宇^{1,2}, 刘晓冰², 刘宝辉², 阿部纯³, 马凤鸣¹, 孔凡江²

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 中国科学院 黑土区农业生态重点实验室, 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 黑龙江 哈尔滨 150081; 3. 日本北海道大学 农学部, 日本 札幌 060-8589)

摘要: 以栽培大豆 TK780 与野生大豆 Hidaka4 杂交后所得的 96 个重组自交系 (RILs) 群体为材料, 应用已构建好的连锁图谱, 采用 MapQTL5.0MQM 作图法 (Multiple-QTL Model) 以及 Excel 2007 软件对 F₁₀ 代群体的蛋白质含量和油份含量进行 QTL 定位以及相关分析。结果表明: 蛋白含量与油份含量存在负相关关系。同时在该群体中定位到 2 个与蛋白质含量有关的 QTL, 分布于 E、I 连锁群上, 分别可解释 15.6% 和 21.1% 的表型变异; 定位到 3 个与油份含量有关的 QTL, 分布于 E、H、I 连锁群上, 分别可解释 21.1%、17.2% 和 28.0% 的表型变异。其中在连锁群 E、I 上定位到的 2 个 QTL 同时控制蛋白和油份 2 个性状。

关键词: 大豆; 蛋白质; 油份; 相关性; QTL

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9841(2011)06-0901-05

QTL Mapping of Protein and Oil Content in Soybean

GE Zhen-yu^{1,2}, LIU Xiao-bing², LIU Bao-hui², ABE Jun³, MA Feng-ming¹, KONG Fan-jiang²

(1. Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China; 2. Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, Heilongjiang, China; 3. Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060-8589, Japan)

Abstract: A population consisted of 96 recombinant inbred lines of soybean was developed from an intraspecies cross between *Glycine max*, TK780 and *Glycine soja*, Hidaka4. A genetic linkage map of soybean genome had been constructed. MapQTL5.0 multiple-QTL model and Excel 2007 were used to identify quantitative loci (QTLs) associated with protein and oil content in the RIL population, and analyze the relationship between seed protein and oil content. The results indicated that there were a negative phenotypic correlation between protein and oil content, and two QTLs related to seed protein content were identified on E and I linkage groups, explaining 15.6% and 21.1% phenotypic variance, respectively; three QTLs related to seed oil content were identified on E, H and I linkage groups, explaining 21.1%, 17.2% and 28.0% phenotypic variance, respectively. In addition, two QTLs were identified which controlled seed protein and oil content simultaneously on E and I linkage groups.

Key words: Soybean; Protein; Oil; Correlation; QTL

大豆是重要的粮食作物,也是优质植物蛋白和油脂的重要来源。近年来关于大豆蛋白质及油份 QTL 的报道屡见不鲜。Sebolt 等^[1]在连锁群 E 和 I 上定位到了控制蛋白性状的 QTL。姚丹等^[2]在 M 连锁群上定位到了 3 个控制蛋白性状的 QTL。Lee 等^[3]定位到了控制蛋白和油份性状的 QTL, 分别位于 C1、N 连锁群和 E、J、L 连锁群上。单大鹏等^[4-5]利用了 5 a 的数据定位到了大量的 QTL, 其中控制油份性状的 QTL 分布于 B2、C2、D1a、E 和 N 连锁群上; 控制蛋白性状的 QTL 分布于 A1、A2、B1、C2、

D1a、D1b、F、H 和 O 连锁群上。此外,许多学者都对控制这 2 个性状的 QTL 定位进行过报道^[6-10]。通过以往的研究不难看出,控制蛋白和油份性状的 QTL 基本分散在 20 个连锁群上。这就说明蛋白质和油份含量的 QTL 数量较多,在遗传背景不同的群体中检测到的 QTL 数量有差异, QTL 所在的连锁群或连锁区域也存在差异^[11]。随着生活水平的提高,人们对植物蛋白和植物油的刚性需求在不断上升,只有培育高油高蛋白大豆品种才可以从根本上满足人们的需求。克隆控制大豆蛋白和油份性状的

收稿日期:2011-09-09

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31071445,30971813);黑龙江省自然科学基金重点项目(ZD201001);中国科学院“百人计划”项目(KZCX2-YW-BR-11);黑龙江省杰出青年基金项目(JC200919);国家转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08009-013B)。

第一作者简介:葛振宇(1986-),男,在读硕士,研究方向为大豆分子遗传。E-mail:526gezhenyu@163.com。

通讯作者:孔凡江(1972-),男,教授,博士,研究方向为大豆分子遗传。E-mail:kongfj@neigaehrb.ac.cn。

基因,理解其调控机理,是分子育种的重要基础,可以加快高油高蛋白大豆的育种进程。该研究利用栽培大豆(高油低蛋白)和野生大豆(高蛋白低油)杂交产生的重组自交系,定位了控制蛋白和油份的QTL位点,为进一步的精细定位和基因图位克隆奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以栽培大豆 TK780 与野生大豆 Hidaka4 (TK780 为母本,记为 P1;Hidaka4 为父本,记为 P2) 杂交后所得的重组自交系 (RILs) 群体,共 96 个家系和 2 个亲本为材料,所用母本和父本以及 96 个重组自交系群体由日本北海道大学提供。

1.2 试验设计

2010 年春季将 2 个亲本和 96 个 F_9 代的种子在哈尔滨进行播种。试验采用 4 次重复的随机区组设计,单行种植,行长 5 m,垄宽 65 cm,株距 20 cm,人工单粒点播,春季播种时施底肥,田间管理同一般大田。秋收时单行收获所得 F_{10} 代的种子作为试验材料进行蛋白性状和油份性状分析,所得蛋白和油份含量为 4 次重复的平均值。

1.3 测定项目与方法

大豆种子中的氮含量采用碳氮氢元素分析仪 (Vario ELementar Germany) 测定。具体步骤是将供试种子用 EYELANZ-1200 型机械搅拌器钻成粉末,用分析天平称取约 5 mg 粉末,再用锡纸包好后放入元素分析仪中进行氮含量的测定。蛋白质转换系数为 6.25,蛋白质含量 ($g \cdot kg^{-1}$) = $6.25 \times N(\%)$, $N(\%)$ 表示的是氮的百分含量,即 100 g 种子中的含氮量,将其转换成 $N(\%)$,即可得到 1 kg 种子中含氮量,故蛋白质含量的单位为 $g \cdot kg^{-1}$,所测定的蛋白质含量是粗蛋白质含量,材料中不包含种皮,使得数据更加准确。

大豆种子中油份含量是采用 FOSS 近红外谷物品质分析仪 (Infratec TM 1241) 测定。将供试种子按株系分好,每一个株系取约 500 g 的种子放入谷物分析仪中进行油份含量测定。

1.4 连锁图谱的构建与 QTL 分析

试验采用 TK780 与 Hidaka4 杂交后所得到的 RIL 群体的遗传连锁图谱由刘宝辉构建^[12],QTL 分析采用 MapQTL5.0 软件的多 QTL 模型 MQM (Multiple-QTL Model)。LOD(logarithm of the odds) 的阈值是在 0.05 显著水平上通过 1 000 个排列置换得出的^[12]。以 $LOD > 2.5$ 作为 QTL 存在的阈值。

2 结果与分析

2.1 F_{10} 代 RILs 籽粒蛋白质与油份含量分析

大豆蛋白质与油份性状在亲本间及群体中的分布(表 1)。在群体中:蛋白质含量变幅为 404 ~ 534 $g \cdot kg^{-1}$,平均为 463 $g \cdot kg^{-1}$,高于典型的大豆品种蛋白含量 400 $g \cdot kg^{-1}$ ^[13];油份含量变幅为 91 ~ 203 $g \cdot kg^{-1}$,平均为 142 $g \cdot kg^{-1}$ 。蛋白含量双亲间差异为 12.8%,群体中为 13.0%;油份含量双亲间差异为 10.1%,群体中为 11.2%,说明群体中有超亲分离现象,这些超亲材料为选育高油和高蛋白品种提供了遗传资源。

蛋白质与油份性状在该 RIL 群体中表现为连续分布(图 1),表明这 2 个性状是受多基因控制的数量性状。RIL 群体中油份含量的分布在双亲间表现出较好地正态分布,而蛋白含量的分布在双亲间则以 28 $g \cdot kg^{-1}$ 的标准差表现为偏正态分布。蛋白质含量的分布整体上略偏向于低蛋白亲本 TK780,但也有与高蛋白含量的亲本 Hidaka4 相近的株系。

表 1 籽粒中蛋白含量与油份含量统计分析

Table 1 Statistics of seed protein and oil content

性状 Trait	重组自交系群体				
	RILs			亲本 1	亲本 2
	群体范围 Range	平均值 Mean	标准差 S. D.	P1	P2
蛋白质含量 Protein content/ $g \cdot kg^{-1}$	404-534	463	28	371	499
油份含量 Oil content/ $g \cdot kg^{-1}$	91-203	142	22	168	67

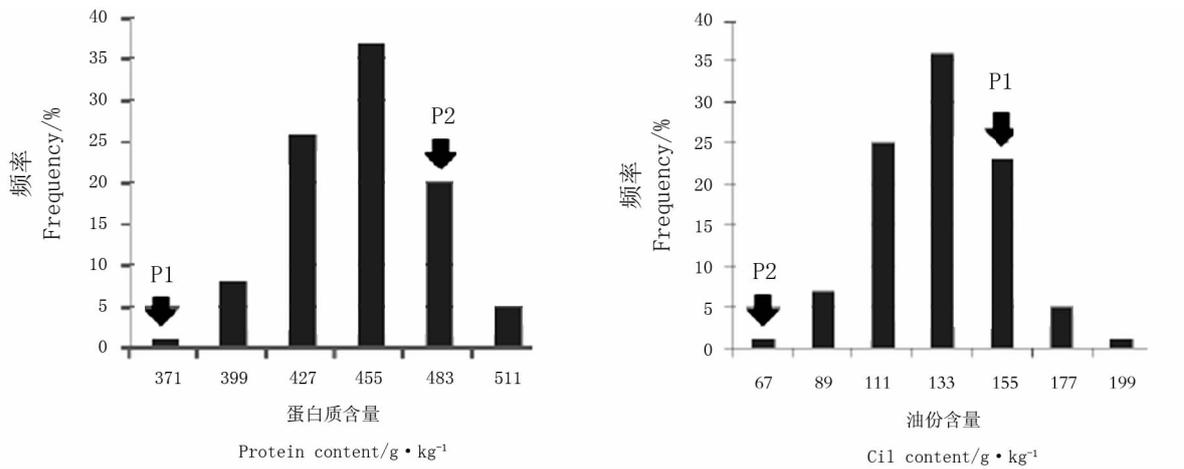


图1 大豆籽粒中蛋白质与油份含量的频率分布

Fig. 1 Frequency distribution of seed protein and oil content

2.2 蛋白质与油份含量的相关性分析

对 TK780 × Hidaka4 的 F_{10} 代 RIL 群体的蛋白质含量和油份含量进行了相关性分析(图 2)。油份含量随着蛋白质含量的增加而降低,相关系数 $r = -0.55$, 即该群体中蛋白含量与油份含量之间存在负相关关系。因此低蛋白的大豆资源将有利于高油份品种的选育,反之,也如此。

2.3 蛋白质与油份含量的 QTL 分析

使用 MapQTL5.0 软件的 MQM 作图模型,在 TK780 × Hidaka4 的 F_{10} 代 RIL 群体中有效地定位了 5 个 QTL。其中 2 个 QTL 控制蛋白性状,3 个控制油份性状(表 2)。控制蛋白性状的 2 个 QTL 分别定位在 E 连锁群的 Satt384 分子标记的上游与 I 连锁群的 Satt496 分子标记附近,贡献率分别为 15.6%

与 21.1%;控制油份性状的 3 个 QTL 分别定位在连锁群 E, H 和 I 上,贡献率分别为 21.1%, 17.2% 和 28.0%。其中,位于连锁群 E, I 上的 QTL 同时控制蛋白和油份性状(图 3)。

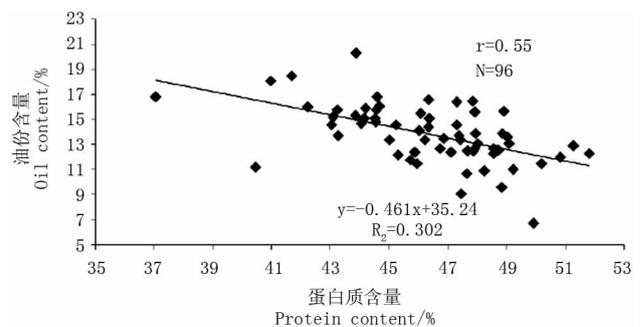


图2 蛋白质含量与油份含量的关系

Fig. 2 Relationship between seed protein and oil content

表 2 蛋白与油份性状的 QTLs

Table 2 QTLs for protein and oil trait

性状	连锁群	最近的分子标记	位置	LOD	加性效应	表型变异率
Trait	MLG	Nearest marker	Position/cM		Additive effect	PVE /%
蛋白质 Protein	E	Satt384	9.2	2.52	-1.24	15.6
	I	Satt496	15.3	4.89	-1.44	21.1
脂肪 Oil	E	Satt384	14.5	4.31	0.97	21.1
	H	Satt442	35.4	3.29	0.87	17.2
	I	Satt496	13.8	6.45	1.12	28.0

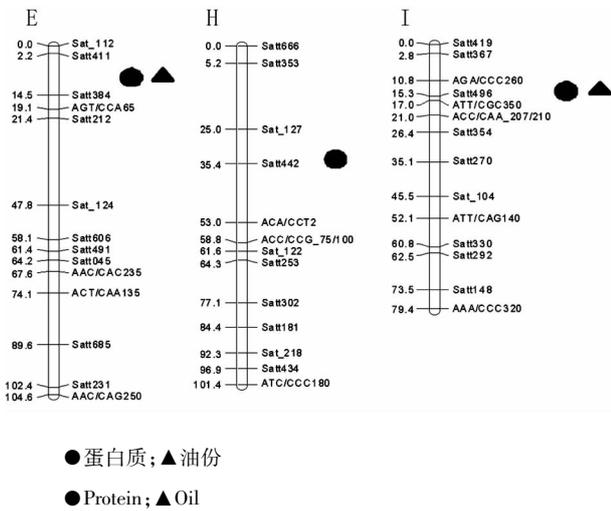


图3 控制蛋白性状和油份性状的 QTL 在大豆分子遗传图谱上的位置

Fig. 3 QTL position controlling protein and oil traits in soybean genetic map

3 讨论

Lee 等^[3]认为,在构建大豆遗传图谱时,选用栽培大豆(*G. max*)和野生大豆(*G. soja*)的种间杂交种的分离群体作为作图群体可以使群体中表型性状和分子标记具有更好的多态性,但远缘杂交的生殖障碍会使群体的表型性状和分子标记出现较严重的偏分离现象。该研究应用了性状差异比较明显的 2 个亲本品种 TK780 (*G. max*)与 Hidaka4 (*G. soja*)杂交得到的 F₁₀代重组自交系,虽然群体数量不大,但亲本间的多态性高,不但克服了种间杂交的弊端,同时也提高了 QTL 定位的准确性。该文中蛋白含量的分布出现了轻微的偏分离现象,表明 2 个亲本间的亲缘关系较远,这与该文的材料相符。从而也说明出现轻微的偏分离属于正常现象。

在 TK780 与 Hidaka4 的 RIL 群体中,该文发现了蛋白含量与油份含量之间存在着负相关的关系($r = -0.55$)。实际上,这种负相关的关系早就被研究者们发现,但在相关程度上却各不相同:Piper 等^[14]发现蛋白含量与油份含量之间存在较弱的负相关关系($r = -0.43$);Panthee 等^[13]也得出了相同的结论($r = -0.59$);而 Chung 等^[15]却发现蛋白含量与油份含量之间存在较强的负相关关系($r = -0.84$)。Yaklich 等^[16]认为出现这一情况的原因很可能是因为所用群体的成熟度各不相同。他们在研究中得出在高成熟度的群体内蛋白含量与油

份含量存在较强的相关性。TK780 × Hidaka4 杂交所得的 F₂代种子的油份含量的广义遗传力已经被测定并且已经证明油份性状是可以高度遗传的^[17],因为蛋白与油份性状的负相关关系,所以有理由认为蛋白性状也是可以遗传的。

该试验在 E 连锁群定位到了 1 个控制蛋白性状的 QTL 和 1 个控制油份性状的 QTL(图 3),因为二者的遗传距离只相差 5 cM 且用于标记的群体比较小,所以这 2 个 QTL 可能是同一位点同时控制蛋白和油份性状。张忠臣等^[7]与林延慧等^[18]定位到的与蛋白相关的 QTL 也位于 E 连锁群上,但不在同一位置;Panthee 等^[13]也在 H 连锁群上定位到了 1 个控制油份性状的 QTL,但与该文定位的 QTL 不在同一区域,这就说明 QTL 定位具有群体特异性。该文在 A1 连锁群上位于 Satt050 附近定位到的 1 个控制蛋白的 QTL,虽然 LOD 值($LOD = 2.4$) < 2.5,但却与姚丹等^[19]以及在 www. soybase. org 网站上公布的 QTL 位于同一区域内,这就说明 QTL 定位是集环境、群体性质以及遗传背景等多因素作用的结果。

该试验也在 I 连锁群上 Satt496 分子标记附近定位到了 1 个控制蛋白和油份双重性状的 QTL(图 3),该 QTL 可分别解释蛋白和油份 21.1% 和 28% 的表型变异,故认为该 QTL 是 1 个控制蛋白质和油份性状的主效的 QTL。Moncada 等^[20]认为由于存在基因型 × 基因型以及基因型 × 环境间的互动,所以对 QTL 研究最为困难的是在不同的遗传背景和不同的环境条件下找到最稳定的 QTL。吕祝章等^[10]定位的 1 个控制蛋白性状的 QTL 以及 Chung 等^[15]定位的 1 个控制蛋白和油份双性状的 QTL 也都位于 Satt496 的分子标记附近。据此推断,该试验在 I 连锁群 Satt496 附近定位的主效的 QTL 是 1 个稳定的 QTL,这在为定位克隆该性状基因提供较大可能性的同时,也为品种改良以及分子标记辅助育种打下了基础。

在该试验定位的 QTL 中,控制蛋白性状的 2 个 QTL 的加性效应值均为负值,这说明可能受父本 Hidaka4 影响相对较大。控制油份性状的 3 个 QTL 的加性效应值均为正值,这可能受母本 TK780 影响较大。这与蛋白含量与油份含量是负相关的结论

是一致的。此外,该试验定位到的控制油份性状的 3 个 QTL 与 Masayuki 等^[17] 利用相同的 RIL 群体所得结果相同。

由于试验所用的群体的数量较小,在一些连锁群上的分子标记之间的遗传距离较大,致使一些 QTL 没有被发现。此外,该文在 E 连锁群上定位的控制蛋白和油份双性状的 QTL 是否为稳定的 QTL,还需要进一步考证。

参考文献

- [1] Sebolt A M, Shoemaker R C, Diers B W, et al. Analysis of a quantitative trait locus allele from wild soybean that increases seed protein concentration in soybean [J]. *Crop Science*, 2000, 40: 1438-1444.
- [2] 姚丹, 王丕武, 闫伟, 等. 2 种作图法对大豆蛋白含量性状 QTL 定位的比较研究[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2010, 38(8): 47-54. (Yao D, Wang P W, Yang W, et al. Comparative research on QTL location for protein content by two kinds of mapping methods[J]. *Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition)*, 2010, 38(8): 47-54.)
- [3] Lee S H, Bailey M A, Mian M A R. RFLP loci associated with soybean seed protein and oil content across populations and locations [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 93: 649-657.
- [4] 单大鹏, 齐照明, 邱红梅, 等. 大豆油分含量相关的 QTL 间的上位效应和 QE 互作效应[J]. *作物学报*, 2008, 34(6): 952-957. (Shan D P, Qi Z M, Qiu H M, et al. Epistatic effects of QTLs and qe interaction effects on oil content in soybean[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(6): 952-957.)
- [5] 单大鹏, 朱荣胜, 陈立君, 等. 大豆蛋白质含量相关 QTL 间的上位效应和 QE 互作效应[J]. *作物学报*, 2009, 35(1): 41-47. (Shan D P, Zhu R S, Chen L J, et al. Epistatic effects and QE interaction effects of QTLs for protein content in soybean[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(1): 41-47.)
- [6] 吴晓雷, 王永军, 贺超英, 等. 大豆重要农艺性状的 QTL 分析[J]. *遗传学报*, 2001, 28(10): 947-955. (Wu X L, Wang Y J, He C Y, et al. QTLs mapping of some agronomic traits of soybean[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(10): 947-955.)
- [7] 张忠臣, 战秀玲, 陈庆山, 等. 大豆油分和蛋白性状的基因定位[J]. *大豆科学*, 2004, 23(2): 81-85. (Zhang Z C, Zhan X L, Chen Q S, et al. QTL mapping of seed oil and protein content of soybean[J]. *Soybean Science*, 2004, 23(2): 81-85.)
- [8] 梁昭全. 大豆种子蛋白质和脂肪含量 QTL 分析[D]. 南宁: 广西大学, 2005. (Liang Z Q. Analysis by QTL for protein and oil content of soybean seed[D]. Nanning: Guangxi University, 2005.)
- [9] 周蓉, 王贤智, 沙爱华, 等. 大豆数量性状定位的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(10): 30-35. (Zhou R, Wang X Z, Sha A H, et al. Advances in QTL of soybean mapping[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(10): 30-35.)
- [10] 吕祝章, 杨建华, 李玉环, 等. 大豆农艺性状的 QTL 分析[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(6): 2838-2841. (Lv Z Z, Yang J H, Li Y H, et al. QTL analysis of agronomic traits in soybean[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(6): 2838-2841.)
- [11] 刘顺湖, 周瑞宝, 喻德跃, 等. 大豆蛋白质有关性状的 QTL 定位[J]. *作物学报*, 2009, 35(12): 2139-2149. (Liu S H, Zhou R B, Yu D Y, et al. QTL mapping of protein related traits in soybean [*Glycine max*(L.) Merr.] [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(12): 2139-2149.)
- [12] Liu B H, Toshiro F, Yan Z H, et al. QTL mapping of domestication-related traits in soybean (*Glycine max*) [J]. *Annals of Botany*, 2007, 100: 1027-1038.
- [13] Panthee D R, Pantalone V R, West D R. Quantitative trait loci for seed protein and oil concentration and seed size in soybean [J]. *Crop Science*, 2005, 45: 2015-2022.
- [14] Piper E L, Boote K J. Temperature and cultivar effects on soybean seed oil and protein concentrations [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1999, 76: 1233-1241.
- [15] 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.
- [16] Yaklich, Vinyard R W B, Camp M, et al. Analysis of seed protein and oil from soybean northern and southern region uniform tests [J]. *Crop Science*, 2002, 42: 1504-1515.
- [17] Masayuki S, Kiyohiko T, Aya U, et al. Genetic relationship between lipid content and linolenic acid concentration in soybean seeds [J]. *Breeding Science*, 2008, 58: 361-366.
- [18] 林延慧, 张丽娟, 李伟, 等. 大豆蛋白质含量的 QTL 定位[J]. *大豆科学*, 2010, 29(2): 207-209. (Lin Y H, Zhang L J, Li W, et al. QTLs mapping related to protein content of soybeans [J]. *Soybean Science*, 2010, 29(2): 207-209.)
- [19] 姚丹, 王丕武, 闫伟, 等. 完备区间作图法定位大豆含油量 QTL 及标记辅助选择[J]. *中国油料作物学报*, 2010, 32(3): 369-373. (Yao D, Wang P W, Yang W, et al. Marker assistant selection and soybean oil content by QTL location using inclusive composite interval mapping[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2010, 32(3): 369-373.)
- [20] Moncada P, Martinez C P, Borrero J, et al. Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* × *Oryza rufipogon* BC2F2 population evaluated in an upland environment [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 102: 41-52.