

基于野生大豆导入系的大豆粒长和粒宽的 QTL 分析

胡振帮¹, 刘 航¹, 辛大伟¹, 蒋洪蔚^{1,2}, 朱荣胜¹, 陈庆山¹, 齐照明¹, 刘春燕²

(1. 东北农业大学 大豆研究所/大豆生物学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农垦科研育种中心, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:以野生大豆 ZYD00006(父本)和绥农 14(母本)为亲本构建的导入系为定位群体,群体含有 102 个株系,遗传图谱使用了 329 个 SSR 标记位点,针对粒长和粒宽 2 个籽粒性状进行定位分析。结果表明:有 18 个位点存在不同性状间被同时检测到的情况,其中与 QTL 连锁的位点 Sat_227、Satt338 和 Satt568 被 2 个性状同时检测到。通过比较分析也发现 3 个位点也同时影响着百粒重的大小,进一步通过加性效应分析表明,定位区段对粒长的影响为 -10% ~ 15.4%,定位区段对粒宽的影响为 -26.72% ~ 2.76%。明确导入位点对粒长和粒宽的影响,可以作为进一步大豆粒长和粒宽相关基因挖掘。

关键词:大豆;粒长;粒宽;QTL

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.06.0945

QTL Analysis of Seed Length and Seed Width by the Wild Soybean Genome Introgression Lines

HU Zhen-bang¹, LIU Hang¹, XIN Da-wei¹, JIANG Hong-wei^{1,2}, ZHU Rong-sheng¹, CHEN Qing-shan¹, QI Zhao-ming¹, LIU Chun-yan²

(1. Soybean Institute of Northeast Agricultural University/Key Laboratory of Soybean Biology of Chinese Education Ministry /Key Laboratory of Biology and Genetics & Breeding for Soybean in Northeast China, Ministry of Agriculture, Harbin 150030, China; 2. The Crop Research and Breeding Center of Land-Reclamation of Heilongjiang Province, Harbin 150030, China)

Abstract: Using the chromosome fragment introgression lines of soybean derived from the cross between ZYD00006 (*Glycine soja*) as male parent and Suinong 14 (*Glycine max*) as female parent, to study location of seed length and seed width. This population has 102 lines and 329 SSR markers were used to construct the genetic map. In the results, 18 different traits were found underlying those two seed traits. And the QTL sites of Sat_227, Satt388 and Satt568 were found underlying those two traits at the same time. By the comparison, these 3 sites were found in different genetic population for seed traits. The additive effect of location interval underlying seed length was range from -10% to 15.4%, and the additive effect of location interval underlying seed width was range from -26.72% to 2.76%. So these markers was useful to molecular assistant breeding and gene mining.

Keywords: Soybean; Seed length; Seed width; QTL

大豆原产于中国,是重要的粮食与油料作物。近些年大豆的经济效益较低,国内的种植面积大幅度减少,中国已经由大豆出口国变为最大进口国,究其根本还在于大豆的产量难以提高。对于大豆产量的提高,从遗传育种角度,提升大豆的单产水平是最为直接的手段。大豆的籽粒相关性状,如百粒重、粒长、粒宽是与大豆单产直接相关的性状。相关的研究开展较多,但这些性状属于复杂的数量性状,受多基因控制,且基因间存在复杂的互作关系,常规育种选择的准确率不高,如何在育种过程中提高籽粒相关性状选择的准确率,成为突破大豆单产的一个亟待解决的问题。

大豆的粒形性状,如粒长、粒宽性状相对大豆的百粒重研究还较少,目前 SoyBase 数据库公布的数据已经定位了粒长 QTL 18 个,粒宽 QTL 16 个(<http://www.soybase.org/>)。Salas^[1]利用 Minsoy × Noir1 构建的 192 株 RIL 群体定位到粒长 QTL 16 个,粒宽 QTL 13 个;Moongkanna^[2]利用 PakChong 2 × Laos 7122 构建的 113 株 RIL 群体,经复合区间作图分析获得粒长 QTL 2 个,粒宽 QTL 3 个。我国学

收稿日期:2015-01-24

基金项目:教育部新世纪优秀人才支持计划(NECT-1207-01);国家自然科学基金面上项目(31271747,31471516);国家自然科学基金青年基金(31400074,31401465);黑龙江省自然科学基金重点项目(ZD201213);黑龙江省博士后基金(LBH-Z12035);中国博士后基金(2012M520030);黑龙江省高校长江后备支持计划项目(2014CJHB004)。

第一作者简介:胡振帮(1978-),男,硕士,实验师,主要从事大豆表型网络及导入系构建研究。E-mail: hzb_net@126.com。

通讯作者:刘春燕(1981-),女,博士,副研究员,主要从事大豆生物技术研究。E-mail: cyliu.cn@126.com。

者,Xu 等^[3]利用 Lishuizhongzihuang × Nannong 493-1 构建的 F_{2:3},F_{2:4} 和 F_{2:5} 对粒长、粒宽、粒厚及性状间的比值在多环境下进行 QTL 定位,获得多个稳定 QTL。Niu 等^[4]对国内 6 个生态区的 257 个大豆品种的粒长、粒宽、粒厚及性状间的比值性状进行分析,获得 59 个主效 QTL,其中包括 31 个与环境互作的位点。

本研究采用以野生大豆 ZYD00006 为父本,绥农 14 为母本背景的全基因组导入系,经杂交、回交构建了一套覆盖野生大豆全基因组的导入系,理论上背景恢复率 90% 以上对大豆粒长和粒宽 2 个性状进行了定位,结合以往定位结果为更加准确的找到影响大豆籽粒大小和重量的基因奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 导入系群体构建

供体亲本 ZYD00006 为野生型大豆,受体(轮回亲本)绥农 14 为黑龙江省大豆主栽品种,以绥农 14 为母本与供体杂交获得杂种 F₁,F₁ 与轮回亲本连续回交 2~5 个世代及自交,获得 BC₃F₂,BC₄F₁,BC₅F₁,BC₄F₂ 和 BC₅F₂。利用黑龙江省农垦科研育种中心实验室合成的 1 000 对 SSR 引物(序列信息来自 Soymap 2),经双亲间引物多态性筛选,从中选取亲本间有差异的引物 329 对构建全基因组导入系,利用亲本间有差异的 SSR 标记对 BC_nF_n 进行检测,从中选出供体导入片段尽量少,基因型尽量纯合的植株,构建全基因组导入系。群体构建见图 1。



图 1 群体构建

Fig. 1 The construction of population

1.2 性状分析

粒长和粒宽测量标准依据《大豆种质资源描述规范和数据标准》^[5],粒长及粒宽性状,每株选取 10 个饱满且完整的种粒用直尺进行测量,求平均值,获得材料粒长和粒宽数据。

1.3 基因型获得

2011 年 6 月,在大豆植株个体幼苗长出 4~5

片三出复叶时,对 BC₄F₁ 代 102 株个体单株挂牌取叶片,CTAB 方法^[6]提取其基因组 DNA。利用黑龙江省农垦科研育种中心实验室合成的 1 000 对 SSR 引物(序列信息来自 Soymap 2),经双亲间引物多态性筛选,从中选取亲本间有差异的引物 329 对,从中选取在大豆 20 条连锁群上均匀分布且多态性差异较大的 SSR 标记 121,对 BC₃F₂ 代完全成熟的 102 个单株进行 SSR 标记检测,获得基因型数据,与绥农 14(轮回亲本)相同的基因型记作 A,与野生型大豆 ZYD00006(供体亲本)相同的基因型记作 B,杂合基因型记作 AB。

2011~2013 年对构建全基因组导入系的材料,利用 329 对在亲本间有差异的 SSR 标记对 BC₃F₂,BC₄F₁,BC₅F₁,BC₄F₂ 和 BC₅F₂ 进行检测,从中选出含有目标片段外背景导入片段尽量少,基因型尽量纯合的植株,构建全基因组导入系。

1.4 QTL 定位和命名方法

利用中国农业科学院作物所王健康博士编制的 IciMapping 分析软件逐步回归和极大似然估计相结合的方法(Likelihood ration test with stepwise regression,RSTEP-LRT)进行 QTL 定位,以数据 1 000 次迭代获得的 LOD 值为阈值判断性状相关 QTL 的存在(软件下载于王健康博士课题组网站: <http://www.isbreeding.net/software/?type=detail&id=14>)。QTL 命名方法:按照 QTL 的命名遵循 McCouch 等^[7]制定的原则,QTL + 性状 + 染色体 + QTLs 个数,其中 QTL 以小写“q”开始,性状以英文缩写表示,如一粒荚数 QTL 以 qNOP 表示,如果同一染色体上存在多个不同位点的 QTL 则在染色体后加数字“1”、“2”、“3”等加以区别。

2 结果与分析

2.1 性状的频率分布分析

对导入系的两亲本绥农 14、ZYD00006 和 BC₃F₂、BC₄F₂ 代的 102 个单株(株系,2011 年)进行粒长和粒宽考种。绥农 14 粒长分别为 6.67(2011 年)和 6.87 mm(2012 年);ZYD00006 粒长分别为 4.66(2011 年)和 4.92 mm(2012 年);BC₃F₂ 代 102 个株系粒长范围为 5.50~8.20 mm 和 6.39~9.10 mm,两亲本粒长相差极大,且后代的粒长分离较大。染色体片段导入系后代株系粒长呈现近似正态分布(图 2)。BC₄F₂ BC₄F₂ 代 102 个株系粒宽范围为 4.50~7.70 mm 和 5.29~6.90 mm,两亲本粒宽相差极大,且后代的粒宽分离较大,同样呈现正态分布(图 2)。

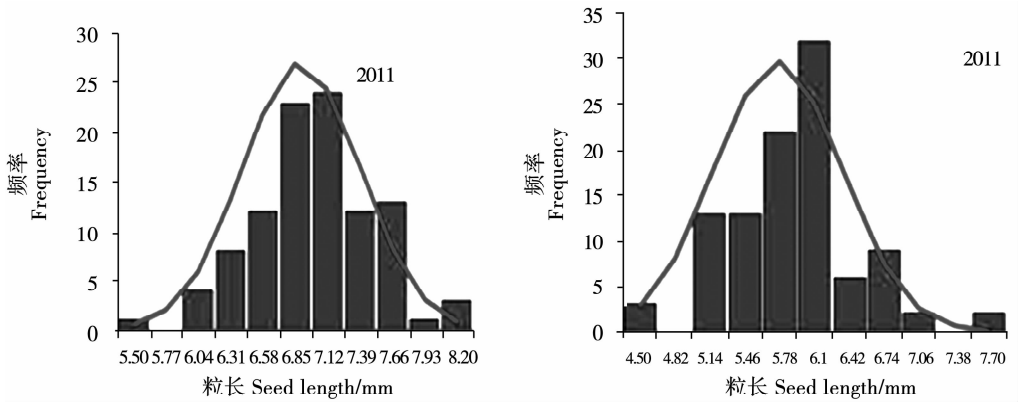


图 2 粒长粒宽在群体中的频率分布情况

Fig. 2 The frequency distribution of seed length and seed width in the population

2.2 粒长的 QTL 定位结果

2.2.1 粒长性状的方差分析 对表型和基因型数据分别进行方差分析,如表 1 所示,经方差分析检测到 2011 年影响粒长性状的标记位点 10 个,分布于 D1b、D2、F 和 N 共 4 个连锁群上。

2.2.2 粒长 QTL 定位 利用方差分析及代换作图 2 种方法,在 2011 年定位影响大豆粒长性状的 QTL 8 个,分布在 D1b、D2、F、H、I、L、M 和 N 这 8 个连锁群上(表 2)。

由于本研究主要以方差分析为主要算法,QTL 的区间以导入片段的长度来估算,QTL 定位区间最大的为 M 连锁群的 *qSL-L*,区间长度 28.10 cM,定位区间最小的为 I 连锁群的 *qSL-I*,区间长度 6.6 cM,

平均长度 19.21 cM。

表 1 粒长相关标记位点

Table 1 Markers related to seed length

连锁群 Linkage group	位点 Loci	<i>F</i> 值 <i>F</i> value 2011	连锁群 Linkage group	位点 Loci	<i>F</i> 值 <i>F</i> value 2011
D1b	Sat_227	4.89 **	H	U08405	4.37 *
D2	Satt582	4.50 *		Satt568	7.27 **
F	Sat_317	3.51 *	I	Satt419	5.62 *
	Satt554	5.62 *	L	Satt388	4.95 **
N	Satt521	3.64 *	M	Satt636	6.04 **

表 2 粒长 QTL 定位及加性效应分析

Table 2 QTL mapping and additive effect analysis of seed length

连锁群 Linkage group	位点 Loci	QTL	代换片段长度 Substituted segment length/cM	加性效应值 Additive effect	加性效应百分率(贡献率) Additive effect contribution /% (PVE)
D1b	Sat_227	<i>qSL-D1b</i>	13.5	0.10	1.5
D2	Satt582	<i>qSL-D2</i>	20.8	-0.18	-2.5
F	Satt554	<i>qSL-F</i>	25.9	1.04	15.4
H	Satt568	<i>qSL-H</i>	18.4	-0.78	-12.0
I	Satt419	<i>qSL-I</i>	6.6	1.04	15.4
L	Satt388	<i>qSL-L</i>	28.1	0.72	10.6
M	Satt636	<i>qSL-M</i>	14.2	-0.20	-2.8
N	Satt521	<i>qSL-N</i>	26.2	-0.68	-10.0

2.3 粒宽的 QTL 定位结果

2.3.1 粒宽性状的方差分析 对表型和基因型数据分别进行方差分析,如表 3 所示,经方差分析检测到 2011 年影响粒宽性状的标记位点 8 个,分布于 A2、B1、C1、D1b、H、L 和 N 共 7 个连锁群上,其中 B1 连锁群上检测到的标记最多,为 2 个。

2.3.2 粒宽性状的 QTL 分析 利用方差分析及代换作图 2 种方法,在 2011 年定位影响大豆粒宽性状的 QTL8 个(表 4),分布在 A、B1、C1、D1b、H、L 和 N 这 7 个连锁群上。

QTL 的区间以导入片段的长度来估算,QTL 定位区间最大的为 B1 连锁群的 *qSWid-B1-2*,区间长度 32.30 cM,定位区间最小的为 N 连锁群的 *qSWid-*

N,区间长度 10.1 cM,区间平均长度 17.93 cM。

表 3 粒宽相关标记位点

Table 3 Markers related to seed width

连锁群 Linkage group	位点 Loci	F 值 F value	连锁群 Linkage group	位点 Loci	F 值 F value
A2	Sat_232	3.98 *	H	Satt568	6.09 **
B1	Satt197	3.39 *	L	Satt388	3.70 *
	Satt332	3.39 *	N	Sct_195	3.22 *
C1	Satt565	5.04 **	D1b	Sat_227	3.80 *

* 代表显著水平达到 0.05; ** 代表显著水平达到 0.01。

* represent the significance reach 0.05 level; ** represent the significance reach the 0.01 level.

表 4 粒宽 QTL 定位及加性效应分析

Table 4 QTL mapping and additive effect analysis of seed width

连锁群 Linkage group	位点 Loci	QTL	代换片段长度 Substituted segment length/cM	加性效应值 Additive effect	加性效应百分率(贡献率) Additive effect contribution /% (PVE)
A2	Sat_232	qSWid-A2	17.3	-0.76	-12.38
B1	Satt197	qSWid-B1-1	10.5	-0.76	-12.38
	Satt332	qSWid-B1-2	32.3	-1.64	-26.72
C1	Satt565	qSWid-C1	13.2	-0.96	-15.64
D1b	Sat_227	qSWid-D1b	13.5	-0.64	-10.26
H	Satt568	qSWid-H	18.4	-1.48	-23.94
L	Satt388	qSWid-L	28.1	0.16	2.76
N	Sct_195	qSWid-N	10.1	0.14	2.28

3 结论与讨论

通过对粒长和粒宽的位点定位和加性效应分析,两个性状分别定位出了 8 个位点,结合单标记的显著性分析,可以初步确定对性状影响重大的位点,这些位点控制粒长和粒宽性状的基因精细定位和克隆奠定基础。

自 Eshed 和 Zamir^[8]首次成功利用番茄重叠导入系对 QTL 进行精细定位研究以来,国内外的科学家已经认识到导入系材料的重要性,并开展了大量有针对性的研究,目前,在玉米、水稻、小麦及大豆中都等到了广泛的应用,并取得了良好的效果^[9-15]。

导入系的优势就在于:遗传背景的高度一致。这无疑是进行 QTL 定位及互作研究的理想材料,理论上讲,当导入片段足够少,导入系的性状值是可与轮回亲本的性状值比较的,两个株系之间性状值的任何显著差异都因为导入株系的导入片段存在着差异 QTL 而造成的。因此,利用这一同源的染色体片段导入系材料进行 QTL 分析可以提高定位的精确度。

粒长和粒宽性状目前相关的研究还较少,同时控制两个性状的标记位点 Satt388 同时也被发现与百粒重、油分、子叶和下胚轴的发育有关^[16-17]。Satt568 也被证明是直接影响大豆产量的重要位点,而且在中国遗传背景的大豆品种中该位点附近含有一个比较保守的影响大豆产量的遗传片段^[18-20]。而 Sat_227 在本群体的籽粒性状分析过程中,被发现在多个个体中和多个年份中都与百粒重大小直接相关,所定位的片段位置也比较小^[21-23]。因为这 3 个位点在多个不同遗传背景的群体中都被定位出与籽粒性状和产量直接相关,同时在代换片段的比较过程中也发现,其与产量直接相关,所以在大豆产量基因的研究和分子辅助育种中这 3 个位点可以作为重要的参考位点。

参考文献

[1] Salas P, Oyarzo-Llaipen J C, Wang D, et al. Genetic mapping of seed shape in three populations of recombinant inbred lines of soybean (*Glycine max* L. Merr.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 113(8): 1459-1466.

- [2] Moongkanna J, Nakasathien S, Novitzky W P, et al. SSR markers linking to seed traits and total oil content in soybean[J]. The Journal of Agricultural Science, 2011, 44(4): 233-241.
- [3] Xu Y, Li H N, Li G J, et al. Mapping quantitative trait loci for seed size traits in soybean (*Glycine max* L. Merr.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122(3): 581-594.
- [4] Niu Y, Xu Y, Liu X F, et al. Association mapping for seed size and shape traits in soybean cultivars[J]. Molecular Breeding, 2013, 31(4): 785-794.
- [5] 邱丽娟,常汝镇. 大豆种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京:中国农业出版社,2006. (Qiu L J, Chang R Z. Rule and standardion of soybean germplasm[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2006.)
- [6] Doyle J J. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus, 1990, 12: 13-15.
- [7] McCough S R, Doerge R W. QTL mapping in rice [J]. Trends in Genetics, 1995, 11(12): 482-487.
- [8] Eshed Y, Zamir D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL[J]. Genetics, 1995, 141: 1147-1162.
- [9] Li M, Sun P, Zhou H, et al. Identification of quantitative trait loci associated with germination using chromosome segment substitution lines of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(3): 411-420.
- [10] Koide Y, Fujita D, Tagle A G, et al. QTL for spikelet number from a high-yielding rice variety, Hoshiaoba, detected in an introgression line with the genetic background of an indica rice variety, IR64[J]. Euphytica, 2013, 192(1): 97-106.
- [11] Qi H, Huang J, Zheng Q, et al. Identification of combining ability loci for five yield-related traits in maize using a set of testcrosses with introgression lines[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(2): 369-377.
- [12] Davoyan E R, Davoyan R O, Bebyakina I V, et al. Identification of a leaf-rust resistance gene in species of *Aegilops* L., synthetic forms, and introgression lines of common wheat [J]. Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2012, 2(4): 325-329.
- [13] Lei M P, Li G R, Zhou L, et al. Identification of wheat-secale africanum chromosome 2Rafr introgression lines with novel disease resistance and agronomic characteristics [J]. Euphytica, 2013, 194(2): 197-205.
- [14] Zhang W B, Qiu P C, Jiang H W, et al. Dissection of genetic overlap of drought and low-temperature tolerance QTLs at the germination stage using backcross introgression lines in soybean[J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(5): 6087-6094.
- [15] Wang W, He Q, Yang H, et al. Development of a chromosome segment substitution line population with wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) as donor parent[J]. Euphytica, 2013, 189(2): 293-307.
- [16] Liu W X, Kim M Y, van K Y, et al. QTL identification of yield-related traits and their association with flowering and maturity in soybean[J]. Journal of Crop Science and Biotechnology, 2011, 14(1): 65-70.
- [17] Liang H, Yu Y L, Yang H Q, et al. Inheritance and QTL mapping of related root traits in soybean at the seedling stage[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2014, 127(10): 2127-2137.
- [18] Smalley M D, Fehr W R, Cianzio S R, et al. Quantitative trait loci for soybean seed yield in elite and plant introduction germplasm [J]. Crop Science, 2004, 44: 436-442.
- [19] Zhang Y H, He J B, Wang Y F, et al. Establishment of a 100-seed weight quantitative trait locus-allele matrix of the germplasm population for optimal recombination design in soybean breeding programmes[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, doi: 10.1093/jxb/erv342.
- [20] Du W J, Yu D Y, Fu S X. Detection of quantitative trait loci for yield and drought tolerance traits in soybean using a recombinant inbred line[J]. Population Journal of Integrative Plant Biology, 2009, 51(9): 868-878.
- [21] Hao D, Cheng H, Yin Z, et al. Identification of single nucleotide polymorphisms and haplotypes associated with yield and yield components in soybean (*Glycine max*) landraces across multiple environments[J]. Theoretical and Applied Genetics. 2012; 124:447-458.
- [22] Foxac M C, Carya R T, Nelson L R, et al. Confirmation of a seed yield QTL in soybean [J]. Crop Science, 2014, 55(3): 992-998.
- [23] Kato S, Fujii K, Yumoto S, et al. Seed yield and its components of indeterminate and determinate lines in recombinant inbred lines of soybean[J]. Breeding Science, 2015, 65(2): 154-160.

欢迎订阅 2016 年《大豆科学》

《大豆科学》是由黑龙江省农业科学院主管主办的大豆专业领域学术性期刊,也是被国内外多家重要数据库和文摘收录源收录的重点核心期刊。主要刊登有关大豆遗传育种、品种资源、生理生态、耕作栽培、植物保护、营养肥料、生物技术、食品加工、药用功能及工业用途等方面的学术论文、科研报告、研究简报、国内外研究述评、学术活动简讯和新品种介绍等。

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作者,大专院校师生、各级农业技术推广部门的技术人员及科技种田的农民。

《大豆科学》为双月刊,16 开本,国内外公开发行,国内每期定价:20.00 元,全年 120.00 元,邮发代号:14-95。国外每期定价:10.00 美元(含邮资),全年 60.00 美元,国外代号:Q5587。全国各地邮局均可订阅,也可向编辑部直接订购。

热忱欢迎广大科研及有关企事业单位刊登广告,广告经营许可证号:2301030000004。

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《大豆科学》编辑部(邮编:150086)

电话:0451-86668735 网址:www.haasep.cn E-mail:ddkxjbj@126.com