

菜用大豆出仁率的 QTL 定位

赵晋铭, 孟庆长, 张玉梅, 许鹤灵, 盖钧镒, 喻德跃, 邢 邯

(国家大豆改良中心/南京农业大学农学院/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095)

摘要 以 BOGAO × NG94-156 的 RIL 群体 158 个家系为材料, 于 2005 年和 2006 年测定该 RIL 群体的鲜荚出仁率并构建遗传图谱进行 QTL 定位。采用 WinQTL Cart V2.5 中的复合区间作图法进行 QTL 分析, 结果表明, 两年资料对出仁率 QTL 的定位结果基本一致, 其中位于 E 和 N 连锁群上的两个 QTLs 在两年中均被检测到, 可解释 7.59% ~ 10.04% 的表型变异。此外利用 QTL Mapper 1.6 对以上定位结果进行验证并估计与环境的互作效应, 结果表明, 两种方法定位结果基本一致, 其中一个加性 QTL (*qsp-11*) 与环境存在显著的互作效应。本研究首次对鲜荚出仁率进行 QTL 分析, 旨在为分子标记辅助选择育种提供理论基础。

关键词 菜用大豆; 出仁率; QTL 定位

中图分类号 S565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2007)05-0648-05

QTL MAPPING FOR SHELLING PERCENTAGE IN VEGETABLE SOYBEAN

ZHAO Jin-ming, MENG Qing-chang, ZHANG Yu-mei, XU He-ling, GAI Jun-yi, YU De-yue, XING Han

(National Center of Soybean Improvement/College of Agriculture, Nanjing Agricultural University/National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095)

Abstract The recombinant inbred lines (RIL), including 158 lines, from the cross BOGAO × NG94-156, were used as experimental materials in this study. Based on the linkage map constructed mainly with single sequence repeat (SSR) markers using this RIL population, the software WinQTL Cart V2.5 and the composite interval mapping were employed to identify quantitative traits loci (QTL) associated with shelling percentage of fresh pod in 2005 and 2006 years. It was found that the results of mapping QTL for shelling percentage were similar for these two years. Two QTLs mapped on linkage group E and N could be detected in two years, and they could be explained 7.59% - 10.04% of the total variation of the shelling percentage, respectively. In addition, the software QTL Mapper 1.6 was applied to detect QTLs and estimate additive environment interaction effects of QTLs. The result indicated that the results of mapping QTL for shelling percentage were similar for these two methods. There were one QTL with additive environment interaction effect. The QTL for shelling percentage of fresh pod mapped firstly in this study, which will serve as a solid platform for the molecular marker assisted selection.

Key words Vegetable Soybean; Shelling Percentage; QTL mapping

收稿日期: 2007-04-23

基金项目: 江苏省科学技术厅高技术项目 (BG2006308); 教育部长江学者和创新团队发展计划项目 (IRT0432)

作者简介: 赵晋铭 (1978-), 男, 在读博士, 主要从事分子数量遗传与作物遗传育种研究。E-mail: jzm3000@126.com

通讯作者: 邢邯, 教授。Tel: 025-84395219; E-mail: hanx@njau.edu.cn

菜用大豆(*Glycine max* (L.) Merr.) 口感好, 营养价值高, 作为南方各省夏秋两季的主要蔬菜, 深受消费者的青睐, 生产和贸易量呈现不断增长的趋势。出仁率不仅是菜用大豆鲜籽粒产量因子之一, 同时也是主要经济性状之一^[1]。目前对菜用大豆出仁率的研究仅限于品种的商品性评价, 对其遗传规律及基因定位研究未见报道^[1,2]。随着分子遗传学的发展和各种新型分子标记技术的完善, 尤其是高密度遗传连锁图谱和特殊作图群体的构建, 不但能对数量性状位点进行精确定位^[3~5], 而且能利用图位克隆法克隆目标数量性状基因^[6], 目前利用该方法成功克隆控制番茄果实形状、大小的 QTL^[7]。本研究利用种内杂交得到的重组自交系群体构建了分子遗传图谱, 为提高 QTL 定位的准确性, 分别于 2005 年和 2006 年对菜用大豆鲜荚出仁率首次进行了 QTL 分析和初定位, 为今后开展标记辅助选择及相关 QTL 的精细定位和图位克隆奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料是 NJ(SP)BN, 由国家大豆改良中心提供的重组自交系群体(RIL): BOGAO × NG94 - 156, 共 158 个家系, 通过单粒传法(SSD)培育而成。

1.2 试验设计

2005 年和 2006 年田间试验均在国家大豆改良中心江浦试验站进行。夏季播种, 采用随机区组试验设计, 每个家系 4 行, 行长 2 m, 行距 0.5 m, 株距 0.13 m, 3 次重复。在 R6 ~ R7 期每家系于中间两行随机收获 8 株, 测定出仁率^[8]。

1.3 遗传图谱构建

利用 715 对 SSR 引物和 3 个经典的遗传标记(花色, 茸毛色, 结荚习性)和 1 个 RAPD 标记(OP5-506₁₆₀₀)对亲本进行多态性分析。用有多态性的引物对群体进行了分析, 除去扩增条带异常的引物, 应用 MAPMAKER/EXP VER 3.0^[9] 程序分析标记间的距离, 采用 Kosambi 函数, 连锁标准为 LOD 值大于 3.0。错误检测概率水平定为 $P < 0.05$, 构建基于 SSR 的分子遗传图谱, 连锁群根据 Cregan 等^[10] 所构建的通用图谱命名。

1.4 数据统计和 QTL 分析

利用软件 WinQTL Cart V2.5^[11] 进行 QTL 定位。用复合区间作图法模型(CIM), 进行 QTL 分析。为精确确定显著的 QTL, 取 LOD 阈值为 2.5。置信区间根据 LOD 值的峰值两侧各下降 1 个 LOD 值而确定。此外应用 QTL Mapper 1.6 软件^[12] 进行 QTL 联合分析, 并估测与环境的互作效应。

2 结果与分析

2.1 菜用大豆群体鲜荚出仁率次数分布

群体鲜荚出仁率在两年的试验中均近似于正态分布, 属于数量性状, 其次数分布见图 1、2。两年出仁率的变幅相当, 家系间变异幅度大, 大部分家系的出仁率介于双亲之间并存在明显的超亲分离现象。

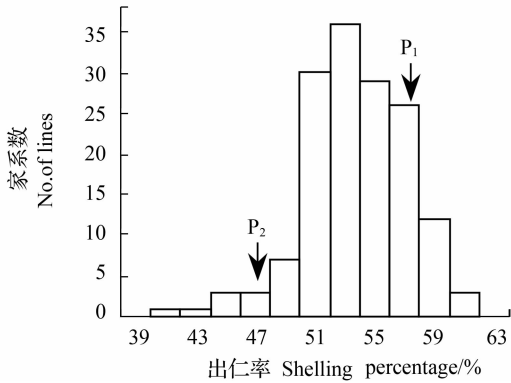


图 1 2005 年群体出仁率次数分布
Fig. 1 Frequency distribution of the RIL for shelling percentage in 2005 year

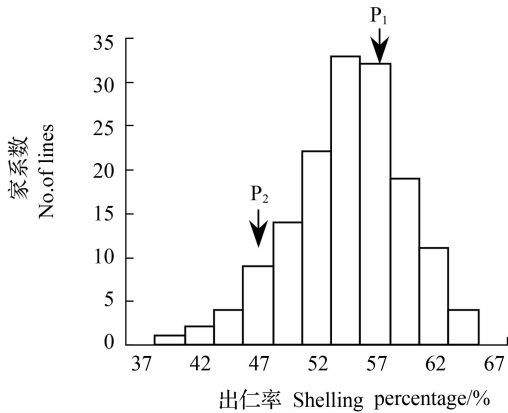


图 2 2006 年群体出仁率次数分布
Fig. 2 Frequency distribution of the RIL for shelling percentage in 2006 year

2.2 连锁图谱的构建

所用 715 对 SSR 引物中有 304 对在亲本间表现

出多态性,占总筛选引物数的42.5%。用有多态的引物对群体进行了分析,除去扩增条带异常的引物,并结合3个经典的遗传标记和一个RAPD标记,构建基于SSR的分子遗传图谱,覆盖大豆基因组长度的2854.9 cM,24个连锁群,该图谱共有268个标记位点,标记间平均距离为10.65 cM,单个连锁群上标记平均密度为11.17个,平均每个连锁群长119.0 cM。

2.3 对两年菜用大豆出仁率 QTL 分别进行定位

利用该遗传图谱及 WinQTLCart V2.5 对菜用大豆鲜荚出仁率进行 QTL 定位分析,结果表明,共

检测到7个QTLs(表1)。根据2005年的数据,共检测到4个控制鲜荚出仁率的QTL位点,分别位于D1a、E、N连锁群上,总共可能解释31.29%的表型变异,高出仁率位点均来自母本。根据2006年的数据,共检测到3个控制鲜荚出仁率的QTL位点,分别位于E、J、N连锁群上,总共可能解释25.23%的表型变异,其中位于J连锁群上的一个QTL(*qsp-6*)的加性位点来自父本NG94-156,其余两个高出仁率位点来自母本,这表明两个亲本都具有提高出仁率的QTL位点,具体相关参数值见表1。

表1 菜用大豆鲜荚出仁率的 QTL 定位结果
Table 1 QTL mapping of fresh pod shelling percentage in vegetable soybean

年份 Year	连锁群 Linkage group	QTLs	标记区间 Marker interval	置信区间/cM Confidence interval	LOD 值 LOD value	端位置/cM Location	加性效应 Additive	R ² /%
2005	D1a	<i>qsp-1</i>	Sat_160	117.0 ~ 126.3	3.37	123.11	0.3131	8.08
	E	<i>qsp-2</i>	Satt384 /Satt212	0.0 ~ 18.7	2.65	6.01	0.3382	7.73
	E	<i>qsp-3</i>	Satt263 /Satt045	61.6 ~ 80.5	2.69	76.41	0.3310	7.59
	N	<i>qsp-4</i>	Satt234 /Sat_239	63.2 ~ 92.7	2.76	82.31	0.3277	7.89
2006	E	<i>qsp-5</i>	Satt263 /Satt045	62.8 ~ 82.7	3.13	76.40	0.3209	8.54
	J	<i>qsp-6</i>	Sct_046 /Satt285	0.0 ~ 13.8	2.61	4.01	-0.3021	6.65
	N	<i>qsp-7</i>	Satt234	69.9 ~ 89.5	3.37	82.31	0.3090	10.04

置信区间指边界点与连锁群顶端距离(cM);端位置是指QTL位点与连锁群顶端距离(cM)。
Confidence interval is the distance from the top marker to the confidence interval extreme point;Location is the distance from the top marker to the QTL locus.

综合两年的定位结果(图2、3),在E、N连锁群上有4个QTLs(*qsp-3*、*qsp-5*和*qsp-4*、*qsp-7*)位点在

两年的试验中均被检测出且位置相近,因此它们可能分别为2个相同的QTLs。

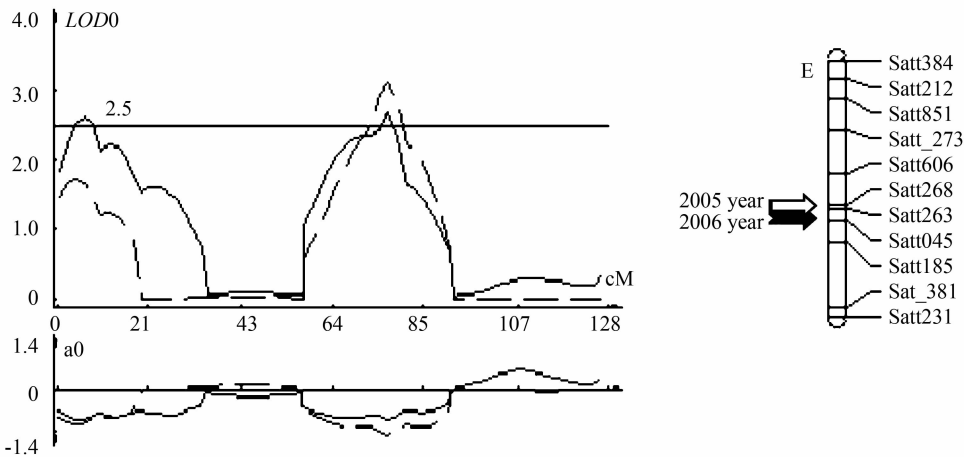


图3 2005年、2006年出仁率在E连锁群上的LOD值分布及QTLs定位
Fig.3 LOD values and QTLs mapping of shelling percentage on the E linkage group in two years

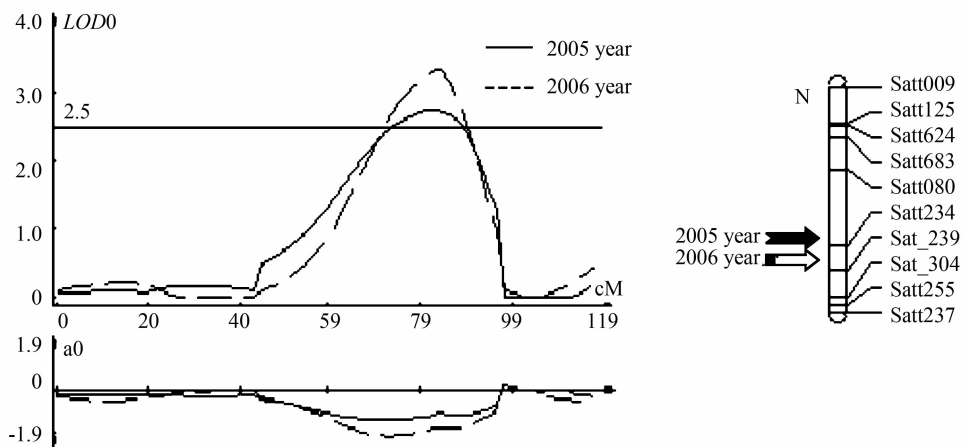


图4 2005 年、2006 年出仁率在 N 连锁群上的 LOD 值分布及 QTLs 定位

Fig.4 LOD values and QTLs mapping of shelling percentage on the N linkage group in two years

2.4 两年鲜荚出仁率 QTLs 的联合分析

利用 WinQTLCart V2.5 对 2005 年和 2006 年两个不同环境下的鲜荚出仁率分别定位,共找到 7 个 QTLs,其中 *qsp*-3、*qsp*-5 以及 *qsp*-4、*qsp*-7 在连锁群上的位置相近,可能为两个 QTLs。为了进一步验证这些 QTLs,同时检测出仁率 QTL 与环境的互作效应,利用该 RIL 群体构建的遗传图谱以及 QTL Mapper 1.6 软件对两年重复试验所得的数据进行联合分析。结果表明,4 个控制鲜荚出仁率的 QTL 分别位于 D1a、E、J、和 N 连锁群上(表 2),其中 1 个位于 J

连锁群的加性效应 QTL (*qsp*-10) 来自亲本 NG94-156 的等位基因,其贡献率为 11.56%,位于其余 3 个连锁群上的加性效应 QTLs 来自母本的等位基因,其贡献率为 4.81% ~ 12.59%。在 N 连锁群上还检测到一个 QTL(*qsp*-11)与环境存在显著互作效应($P < 0.05$),其贡献率为 0.29%,这说明环境对出仁率有一定的影响。位于 E 和 N 连锁群上的 *qsp*-9 和 *qsp*-11 与用 WinQTLCart V2.5 两年均检测到的两个 QTLs 位置相近,两种检测法进一步验证了该 QTLs 的可靠性。

表 2 出仁率 QTL 加性效应及其与环境的互作效应

Table 2 Additive and additive × environment interaction effects of QTLs for shelling percentage

连锁群 Linkage group	QTLs	标记区间 Marker interval	遗传距离/cM ¹ Distance	LOD 值 LOD value	加性效应 Additive	贡献率 H ² (A) %	互作效应 ² AEi	贡献率 H ² (AEi) %
D1a	<i>qsp</i> -8	Satt071 /Sat_160	8	3.36	0.942	4.81		
E	<i>qsp</i> -9	Satt263 /Satt045	0	3.89	0.913	4.52		
J	<i>qsp</i> -10	Sct_046 /Satt285	2	9.03	-1.461	11.56		
N	<i>qsp</i> -11	Satt234 /Sat_239	2	5.27	1.469	12.59	-0.076 *	0.29

1. 指距左侧标记的距离 2. AE₁ 互作是 2005 年的效应,2006 年的效应与其方向相反,大小一样。* 代表显著水平为 $P < 0.05$
1. The distance between the most likely position of the putative QTL and the left-hand side marker 2. AE₁ represented the effect of QTL × environment in 2005 year,AE₂ in 2006 year is the reverse of AE₁。* represented the significance level $P < 0.05$

3 讨论

利用两种生物信息学软件(WinQTLCart V2.5 和 QTL Mapper 1.6) 分别对出仁率进行 QTL 分析,结果基本一致。其中 WinQTLCart V2.5 需要分年度检测 QTL,然后对检测到的 QTL 进行年度间的重复比较,直接进行 QTL 验证;QTL Mapper 1.6 可直接检测两

年试验的 QTL,以及 QTL 与环境的互作关系,通过检测 QTL 与环境之间是否存在显著互作来间接鉴定 QTL 是否稳定,目前该方法在水稻、大豆等多种植物数量性状研究中得到广泛应用^[13~17],两种方法各有优点,因此本研究结合两种方法进行分析,旨在提高 QTL 定位的准确性。

在 4 个连锁群上检测到了影响鲜荚出仁率的 QTLs,揭示了该性状遗传基础的复杂性,并首次通过

两年的田间试验和两种不同的分析方法检测到两个比较稳定的鲜荚出仁率 QTLs。在两个环境中进行研究,检测到一个加性 QTL 与环境有显著互作效应,说明环境对该性状的表达有一定的影响。从 QTLs 定位的结果来看,在父母本中都发现了鲜荚出仁率性状的加性效应,在 RIL 群体中也发现了出仁率高于父母本的家系,这说明控制出仁率的 QTLs 被分散在两个亲本中,QTLs 的聚合能产生比双亲出仁率更高的家系,因此利用分子标记技术分析、定位控制鲜荚出仁率的微效多基因,进而通过分子标记辅助选择等方法,利用各性状 QTLs 的聚合、重组,再辅之以农艺性状的改良可以把控制鲜荚出仁率的基因聚合到菜用大豆品种中,就有可能选育出综合性状良好的菜用大豆新品种。

4 结论

利用重组自交系群体研究鲜荚出仁率。两年的结果表明,在 D1a、E、J、N 等 4 个连锁群上利用两种方法共检测到 11 个 QTL 与出仁率有关,从 QTLs 所处位置来看,共有 5 个可能的位点,其中 E、N 连锁群上发现两个用两种方法均能检测到,且在两年环境中均稳定表达的 QTL,这些稳定的 QTL 有助于精细定位和分子标记辅助育种。除在 J 连锁群上检测的 QTL 增效基因来自父本外,其余 QTLs 的增效基因均来自母本,表明两个亲本均存在提高鲜荚出仁率的 QTL 位点。

致谢:江苏沿江地区农科所崔世友博士在试验过程中提供了帮助,特此致谢!

参 考 文 献

[1] 张孝祺,林雄,阮成英,等. 广东菜用大豆周年连续播种试验研究[J]. 大豆科学,2003,22(4):287-291.

[2] 韩立德,盖钧镒,邱家驯. 菜用大豆荚粒品质发育过程及适宜采摘期分析[J]. 大豆科学,2003,22(3):202-207.

[3] 王贤智,张晓娟,周蓉,等. 大豆重组自交系群体荚粒性状的 QTL 分析[J]. 作物学报,2007,33(3):441-448.

[4] 王仁晓,李培金,陈红旗,等. 水稻顶节间长度控制基因(EUI)的精细定位[J]. 遗传学报,2005,32(9):955-959.

[5] 郑康乐. 水稻抽穗期基因的精细定位、克隆和生物学功能分析[J]. 中国水稻科学,2005,19(1):85-90.

[6] 丁效华. 作物数量性状基因图位克隆研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2005,6(4):464-468.

[7] Frary A, Nesbitt T C, Grandillo S. et al. Cloning and transgenic expression of fw 2.2; a quantitative traits locus key to the evolution of tomato fruits[J]. Science, 2000, 289:85-87.

[8] 王耀波,王秀美,门爱军. 进出口油料出仁率检验方法[S]. 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准,2000.

[9] Lincoln S E, Lander S L. Mapmaker/exp 3.0 and Mapmaker/QTLL. 1 Whitehead Institute of Medical Research[M]. Technical Report. Cambridge, MA, 1993.

[10] 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.

[11] Wang S C, Basten C J, Zeng Z B. Cartographer V. 2. 5. 2005, [Online] Available at <http://statgen.ncsu.edu/qlcart/WQTLCart.htm>.

[12] Wang D L, Zhu J, Li Z K, Paterson A H. QTL Mapper Version 1. 6 [M]. Copyright 2003 by Zhejiang University, Texas A&M University.

[13] 高用明,朱军,宋佑胜,等. 水稻永久 F₂ 群体抽穗期 QTL 的上位性及其与环境互作效应的分析[J]. 作物学报,2004,30(9):849-854.

[14] 曹立勇,朱军,任立飞,等. 水稻幼苗活力相关性状的 QTLs 定位和上位性分析[J]. 作物学报,2002,28(6):809-815.

[15] 曹立勇,朱军,颜启传,等. 水稻籼梗交 DH 群体幼苗中胚轴长度的 QTLs 定位和上位性分析[J]. 中国水稻科学,2002,16(3):221-224.

[16] 徐鹏,王慧,李群,等. 大豆油份含量 QTL 的定位[J]. 遗传,2007,29(1):92-96.

[17] 郭咏梅,刘家富,李自超,等. 水、旱栽培条件下稻谷粒型和粒重的相关分析及其 QTL 定位[J]. 作物学报,2007,33(1):50-56.