

菜用大豆百粒鲜重 QTL 定位

赵晋铭, 孟庆长, 张玉梅, 张祎囡, 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 百粒鲜重是衡量菜用大豆品质的重要指标之一, 以 NJ(SP)BN(BOGAO × NG94-156) 的 RIL 群体 158 个家系为研究材料, 于 2005 年和 2006 年测定该 RIL 群体的百粒鲜重并构建遗传图谱进行 QTL 定位。采用 Win QTL Cart V2.5 中的复合区间作图法进行 QTL 分析, 结果表明, 两年资料对百粒鲜重 QTL 的定位结果基本一致, 其中位于 G 连锁群上的一个 QTL 在两年中均被检测到, 可解释 7.64% ~ 12.74% 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, 定位到一个加性 QTL (*qss-5*) 与环境存在显著的互作效应, 效应值为 1.18%。本研究筛选到的与百粒鲜重紧密连锁的 SSR 标记, 为菜用大豆分子标记辅助选择育种提供了理论基础。

关键词 菜用大豆; 百粒鲜重; QTL 定位

中图分类号 S565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2007)06-0853-04

QTL MAPPING FOR 100-SEED FRESH WEIGHT IN VEGETABLE SOYBEAN

ZHAO Jin-ming, MENG Qing-chang, ZHANG Yu-mei, ZHANG Yi-nan, 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, Nan jing 210095)

Abstract 100-seed fresh weight is an important quality trait of vegetable soybean. The objective of the present study was to map QTL for 100-seed fresh weight of vegetable soybean. 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 100-seed fresh weight in 2005 and 2006 years. It was found that the results of mapping QTL for 100-seed fresh weight were similar for these two years. Two QTLs mapped on linkage group G could be detected in two years, and they could be explained 7.64% ~ 12.74% of the total variation of the 100-seed fresh weight, 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 100-seed fresh weight were similar for these two methods. There was one QTL with additive environment interaction effect, and the value is 1.18%. The SSR marker acquired by QTL mapping for 100-seed fresh weight in this study, was served as

收稿日期: 2007-04-23

基金项目: 江苏省科学技术厅高技术项目 (G2006308); 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, 博士研究生, 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。E-mail: hanx@njau.edu.cn

a solid platform for the molecular marker assisted selection.

Key words Vegetable soybean; 100-seed fresh weight; QTL Mapping

菜用大豆 [*Glycine max* (L.) Merrill] 也称毛豆或鲜食大豆,其营养丰富、口味独特,深受消费者的青睐,市场需求量逐年增加。如今日本已发展成为世界上毛豆消费量最大的国家,每年的消费量在 14 万吨以上,2000 年其速冻毛豆进口量占世界速冻毛豆贸易量的 87.7%,进口来源地主要是中国^[1]。百粒鲜重不仅是菜用大豆鲜籽粒产量因子之一,同时也是主要商品性状之一。国内外对菜用大豆干籽粒百粒重的研究有较多的报道^[2-4],对菜用大豆相关基础研究较少。随着分子标记技术的发展及遗传连锁图谱的构建,可以对数量性状位点进行精确定位^[5-7],而且能利用图位克隆法克隆目标数量性状基因^[8],目前利用该方法成功克隆控制番茄果实形状、大小的 QTL^[9]。为促进菜用大豆生产发展,进一步提高商品性、增加产量,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 年对菜用大豆百粒鲜重进行了 QTL 分析和初定位,为今后开展标记辅助选择及菜用大豆新品种选育奠定基础。

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,测定百粒鲜重。

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)和一个 RADP 标记(OP5-506₁₆₀₀)对亲本进行多态性分析。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,应用

MAPMAKER/EXP VER 3.0^[10]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^[11]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^[12]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^[14]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 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 RADP 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。

2.2 对两年菜用大豆百粒鲜重 QTL 分别进行定位

利用该遗传图谱及 WinQTL Cart V2.5 对菜用大豆百粒鲜重进行 QTL 定位分析,结果表明,共检测到 4 个 QTLs(表 1)。根据 2005 年的数据,共检测到 2 个控制百粒鲜重的 QTL 位点,分别位于 G、J 连锁群上,总共可解释 14.61% 的表型变异,其中位于 J 连锁群上的一个 QTL(*qss-2*)的加性位点来自母本,另一个高百粒鲜重位点来自父本,这表明两个亲本都具有提高百粒鲜重的 QTL 位点。根据 2006 年的数据,共检测到 2 个控制百粒鲜重的 QTL 位点,分别位于 C1-1、G 连锁群上,总共可解释 28.31% 的表型变异,每个位点的贡献率均在 10% 以上,高百粒鲜重点均来自父本,具体相关参数值见表 1。

表 1 菜用大豆百粒鲜重的 QTL 定位结果

Table 1 QTL mapping of 100-seed fresh weight 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	端位置/cM Location	加性效应 Additive	R ² /%
2005	G	<i>qss-1</i>	Satt138	130.2 ~ 144.6	3.2	136.9	-1.51	7.64
	J	<i>qss-2</i>	Satt285	2.4 ~ 14.1	2.9	5.5	1.49	6.97
2006	C1-1	<i>qss-3</i>	Satt690 /Sat_367	0 ~ 19.8	3.86	10.0	-2.33	15.57
	G	<i>qss-4</i>	Satt138	132.3 ~ 146.1	5.01	136.9	-2.13	12.74

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1),2005年检测到的 *qss-1* 和 2006年检测到的 *qss-4* 均位于 G 连锁群同一位置,可能为相同的 QTL。值得注意的是在 J 连

锁群上检测到一个 QTL(*qss-2*),它与 2005 年该群体成熟后百粒重 QTL 位点(*qssJ_1*)重合^[15],见图 2。

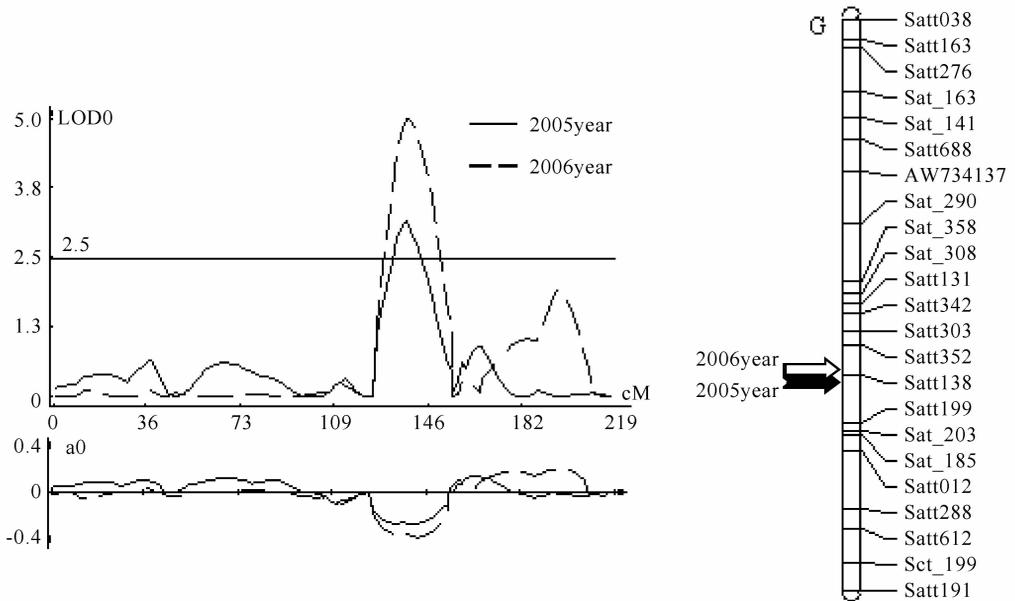


图1 2005年、2006年百粒鲜重在 G 连锁群上的 LOD 值分布及 QTLs 定位

Fig.1 LOD value and QTLs mapping of 100-seed weight on the G linkage group in two years

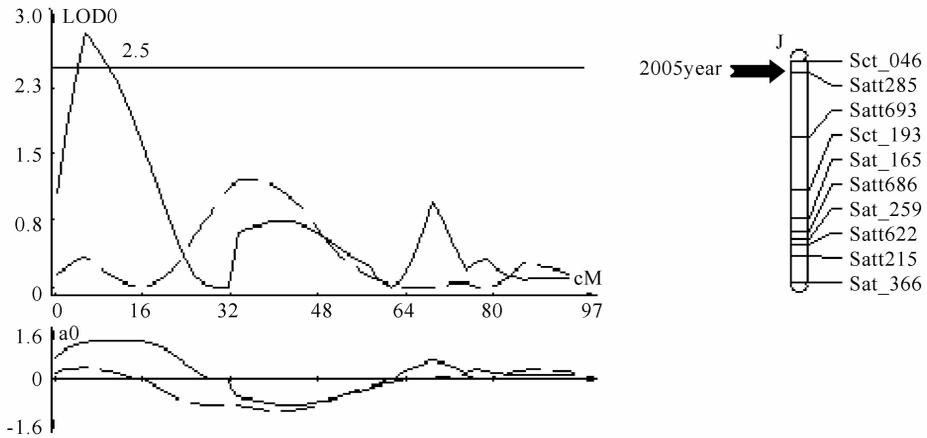


图2 2005年百粒鲜重在 J 连锁群上的 LOD 值分布及 QTL 定位

Fig.2 LOD values and QTL mapping of 100-seed fresh weight on the J linkage group in 2005

2.3 两年百粒鲜重 QTLs 的联合分析

利用 WinQTL Cart V2.5 对 2005 年和 2006 年两

个不同环境下的百粒鲜重分别定位,共找到 4 个 QTLs,其中 *qsp-1* 及 *qsp-4* 在连锁群上的位置重合,可能为同一个 QTL。为了进一步验证这些 QTLs,同时检测百粒鲜重 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,检测到一个控制百粒鲜重的 QTL 分别位于 G 连

锁群上(表 2),其加性效应来自亲本 NG94-156 的等位基因,其贡献率为 9.29%,与环境存在显著互作效应($P < 0.05$),其贡献率为 1.18%,说明环境对百粒鲜重有一定的影响。该 QTL 位点与用 WinQTL Cart V2.5 两年均检测到一个 QTLs 位置相近,两种检测法进一步验证了该 QTLs 的可靠性。

表 2 百粒鲜重 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 100-seed fresh weight

连锁群 Linkage group	QTLs	标记区间 Marker interval	遗传距离(cM) ¹ Distance	LOD 值 LOD	加性效应 Additive	贡献率 H ² (A) %	互作效应 ² AE _i	贡献率 H ² (AE _i) %
G	<i>qsp-5</i>	Satt138 /Satt199	0	9.37	-1.71	9.29	0.351 *	1.18

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(WinQTL Cart V2.5 和 QTL Mapper 1.6)分别对百粒鲜重进行 QTL 分析,其中 WinQTL Cart V2.5 可以直接对两年 QTL 相互验证;QTL Mapper 1.6 可直接检测 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^[16-19],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。

本研究在 3 个连锁群上检测到了影响百粒鲜重的 QTLs,揭示了该性状遗传基础的复杂性,并通过两年的田间试验和两种不同的分析方法检测到一个比较稳定的百粒鲜重 QTL,这个稳定的 QTL 有助于精细定位和分子标记辅助育种。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。值得注意的是,本研究在 R6 ~ R7 发现的一个 QTL 位点(*qss-2*),与利用该群体在 R8 完熟期定位出的百粒重 QTL 位点(*qssJ_1*)重合,同时还检测到分别在两个生育时期表达的不同的 QTLs,这说明在基因的表达具有时空性,不是所有 QTL 都能在各个生育阶段表达,这与发育遗传学理论是一致的,最终时期的百粒重表型值是全生育期控制该性状基因效应的累加,这从另一个角度说明,粒用大豆仅依据最后时期

表型值进行百粒重 QTL 定位,可能检测不到这些基因或者低估其效应值。这也暗示对数量性状进行分子标记辅助时,除了要考虑 QTL 与环境的互作之外,还必须同时对不同发育时期表达的 QTL 进行选择才可能达到理想的效果。

从本试验 QTLs 定位的结果来看,在父母本中都存在百粒鲜重 QTLs 的增效基因,在 RIL 群体中也发现了百粒鲜重高于父母本的家系,这说明控制该性状的 QTLs 被分散在两个亲本中,QTLs 的聚合能产生比双亲百粒鲜重更高的家系,因此利用分子标记技术分析、定位控制百粒鲜重的微效多基因,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百粒鲜重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。

参 考 文 献

- [1] Lin C C. Frozen edamame; Global market conditions[C]. Ibid, 2001, 93-96.
- [2] 陈庆山,张忠臣,刘春燕,等. 大豆主要农艺性状的 QTL 分析[J]. 中国农业科学,2007,40(1):41-47.
- [3] Chapman A, Pantalone V R, Ustun A, et al. Quantitative trait loci for agronomic and seed quality traits in an F₂ and F_{4,6} soybean population[J]. Euphytica, 2003, 129:387-393.
- [4] 郑天琪,连成才,王成,等. 春大豆百粒重与气象条件间关系的初步研究[J]. 大豆科学,1998,17(2):141-146.

(下转 878 页)

华南农业大学学报,2001,22(3):1-3.

- [4] 严小龙,廖红,戈振扬,等. 植物根构型特性与磷吸收效率[J]. 植物学通报,1999,17(6):511-519.
- [5] 曹爱琴,严小龙. 不同供磷条件下大豆根构型的适应性变化[J]. 华南农业大学学报,2000,22(1):21-26.
- [6] 王应祥,廖红,严小龙. 大豆适应低磷胁迫的机理初探[J]. 大豆科学,2003,22(3):208-212.
- [7] 钟鹏,朱占林,李志刚,等. PEG处理对大豆幼苗活力及膜系统修复的影响[J]. 中国农学通报,2004,20(3):126-129.
- [8] 钟鹏,朱占林,李志刚,等. 低磷和干旱胁迫对大豆叶保护酶活性的影响[J]. 中国农学通报,2005,21(2):153-155.
- [9] 张宪政. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社. 1990,25-196.
- [10] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社. 1990,83-86.
- [11] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社. 2000,11-173.
- [12] 张士功,刘国栋. 渗透胁迫和缺磷对小麦幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯,2001,37(2):12-16.
- [13] 汪邓民,王军. 磷钙锌对烟草生长、抗逆性保护酶及渗透物的影响[J]. 土壤,2000,32(1):34-37.
- [14] 李虹,张锡梅. 不同基因型小麦苗期对低磷和水分胁迫的反应[J]. 干旱地区农业研究,2001,19(1):72-78.
- [15] 张士功,刘国栋. 低磷和干旱胁迫对小麦生长发育影响的研究初探[J]. 西北植物学报,2002,22(3):574-578.

(上接 856 页)

- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Fray A, Nesbitt T C, Grandillo S, et al. Cloning and transgenic expression of fw2.2: a quantitative traits locus key to the evolution of tomato fruits[J]. Science,2000,289:85-87.
- [10] Lincoln S E, Lander S L. Mapmaker/exp 3.0 and Mapmaker/QTL1.1[M]. Whitehead Institute of Medical Research. Technical Report. Cambridge, MA, 1993.
- [11] 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.
- [12] Wang S C, Basten C J, Zeng Z B. Cartographer V. 2. 5. 2005, [Online] Available at <http://statgen.ncsu.edu/qlcart/WQTL-Cart.htm>.
- [13] Churchill A G, Doerge R W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping[J]. Genetics, 1994,138(3):963-971.
- [14] Wang D L, Zhu J, Li Z K, et al. QTL Mapper Version 1.6[M]. Copyright 2003 by Zhejiang University, Texas A&M University.
- [15] 孟庆长. 大豆 GmNAC 和 GmLFY 转录因子编码基因的克隆、鉴定和种子性状的 QTL 定位研究[D]. 南京农业大学博士学位论文,2006.
- [16] 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.
- [16] 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.
- [17] 曹立勇,朱军,颜启传,等. 水稻籼粳交 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.
- [18] 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.
- [19] 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.