

# 大豆高油相关 QTL 分子标记辅助选择研究

杨 喆,刘丽君,高明杰,蒲国锋,张 雷

(黑龙江省农业科学院大豆研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘 要:**选用高产大豆品系哈交 5448-4 和高油大豆品种黑农 45 为亲本杂交获得 F<sub>2</sub>分离群体,进行大豆高油基因 SSR 分子标记。共筛选覆盖大豆全基因组的 325 对 SSR 引物,利用筛选出的 63 对在亲本间具有多态性的 SSR 引物对 F<sub>2</sub>分离群体的 120 个单株进行 SSR 扩增,经电泳检测后,所得数据用于作图和定位分析。定位到高油 QTL 1 个,与 satt160 连锁,遗传距离为 26.0cM,贡献率为 23.20%,位于大豆公共遗传图谱的 F 连锁群。利用该引物在 24 份大豆材料中进行高油材料检测和筛选,在 15 份高油材料中筛选到 11 份,检出率达到 73.33%。结果说明 satt160 具有一定的检测通用性,可以利用它对高油大豆材料进行分子标记辅助选择。

**关键词:**大豆; SSR;高油 QTL;分子标记辅助选择

**中图分类号:**S565.1      **文献标识码:**A      **文章编号:**1000-9841(2008)06-0921-04

## Molecular Marker Assistant Selection for High Oil QTL in Soybean

YANG Zhe,LIU Li-jun,GAO Ming-jie,PU Guo-feng,ZHANG Lei

(Soybean Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Soybean seeds contain high level of oil which is useful for human consumption. Increasing emphasis in breeding programs to produce soybean with specific oil content for specialty markets demands that more efficient manipulation of these traits have be achieved. Heinong 45 and Hajiao5448-4 were crossed to obtain the F<sub>2</sub> separate population in this research, and the 120 F<sub>2:3</sub> individuals were used to tag SSR molecular marker for high oil gene. Three hundred and twenty-five pair of SSR primers covering the whole soybean genome were screened, and 63 pair of primers have the polymorphism. Composite Interval Mapping method (CIM) were used and one high oil QTL linking with satt160 was located on LG F, the genetic distance was 26.0 cM and the variance ratio was 23.20%. Satt160 was used to exam and screen the high oil content soybean materials, eleven share were screened from 15 high oil content soybean materials, the ratio of the examination was 73.33%. Result suggests that satt160 can be used to screen the high oil content soybean materials for marker assistant selection.

**Key words:** Soybean; SSR; High oil QTL ; Marker assistant selection

大豆是一种重要的经济作物,油分含量是衡量大豆营养组成的重要因素。作为油料作物,豆油占食用油总量的 1/3。所以,提高大豆的油分含量成为育种家们追求的目标。传统方法已成功地选育出一些高油大豆品种,但由于油分是数量性状易受环境等多种因素影响,使得选育也比较困难,分子标记的出现大大方便了育种工作,可以通过标记辅助育种来选育与目标性状相关的品种,特别是高密度大豆遗传图谱的构建,将极大地推动育种事业的发展,有利于多种重要农艺性状 QTL 的分析研究<sup>[1]</sup>。

油分是大豆重要的品质性状,是由微效多基因

控制的数量性状,利用分子标记技术寻找与高油基因连锁的分子标记一直是大豆数量性状定位研究中的重点。Mansur 等<sup>[2]</sup>在连锁群 A1、H、L 定位了与高油基因连锁的标记;吴晓雷等<sup>[3]</sup>分别在连锁群 B1 和 M 找到了与高油基因连锁的标记。这些试验只是找到了标记,并没有将这些标记实际应用到高油大豆材料的选择中,也就没有达到分子标记辅助选择的目的。

选择适合黑龙江省种植的大豆品种黑农 45 和品系哈交 5448-4 杂交获得 F<sub>2</sub>代分离群体,使用 SSR 分子标记技术,标记定位大豆高油 QTL,利用所

收稿日期:2008-09-02

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(ZTN04-0401);引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)资助项目(2006-G5);国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2006AA10Z1F9)。

作者简介:杨喆(1978-),男,助理研究员,硕士,主要从事大豆分子标记及大豆遗传育种研究。E-mail:yz78100@163.com。

定位的 SSR 标记在不同的大豆材料中进行选择,检测高油材料的筛选频率,并对影响定位和筛选结果的原因进行分析,为应用分子标记辅助选择选育高油大豆品种奠定基础。

# 1 材料和方法

## 1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 分子标记分离群体:选取高油大豆品种黑农 45 为父本,高产大豆品系哈交 5448-4 为母本,配制杂交组合获得 F<sub>2</sub>种子,种植 F<sub>2</sub>代种子

表 1 用于分子标记筛选检测的大豆材料

Table 1 Soybean materials for molecular marker examination and screening

编号 Code	种质名称 Germplasm name	油分含量 Oil content/%	编号 Code	种质名称 Germplasm name	油分含量 Oil content/%
1	黑农 41 Heinong 41	22.73	13	辽豆 14 Liaodou 14	22.04
2	黑农 43 Heinong 43	18.59	14	蒙豆 9 Mengdou 9	23.09
3	黑农 44 Heinong 44	23.01	15	蒙豆 12 Mengdou 12	22.88
4	黑农 46 Heinong 46	22.63	16	蒙豆 14 Mengdou 14	22.24
5	黑农 47 Heinong 47	20.01	17	呼交 251 Hujiao 251	22.39
6	黑农 48 Heinong 48	19.05	18	呼交 03-286 Hujiao 03-286	19.98
7	Hobbit	24.78	19	嫩丰 17 Nenfeng 17	22.94
8	合丰 25 Hefeng 25	20.29	20	K97-126	19.76
9	合丰 42 Hefeng 42	23.04	21	中 32 Zhong 32	22.89
10	合丰 43 Hefeng 43	20.52	22	哈交 7628 Hajiao 7628	20.63
11	垦农 4 Kennong 4	22.03	23	哈交 5186 Hajiao 5186	22.47
12	垦农 18 Kennong 18	23.98	24	哈交 7622 Hajiao 7622	20.12

1,3,4,7,9,11,12,13,14,15,16,17,19,21,23 为高油大豆材料。  
1,3,4,7,9,11,12,13,14,15,16,17,19,21,23 are high oil content soybean materials.

## 1.2 试验方法

1.2.1 总 DNA 提取方法 在田间各单株上取等量嫩绿叶片,按照 SDS 法提取亲本和 F<sub>2</sub>分离群体的总 DNA<sup>[8]</sup>。

1.2.2 PCR 扩增及产物电泳检测 PCR 扩增及产物电泳检测参照标准 SSR 引物扩增和银染检测程序<sup>[9]</sup>。

1.2.3 连锁图谱的绘制和 QTL 定位分析 对 SSR 引物的扩增产物进行统计时,与父本相同的带型记为“A”,与母本相同的带型记为“B”,杂合带型记为“H”。应用软件 Mapmaker Exp3.0 进行图谱的构建<sup>[10]</sup>。利用“Group”命令进行标记间的连锁分析和分组,连锁标记数小于 8 个的使用“Compare”命令进行排序,标记数大于等于 8 个的要重复使用 Ripple 命令进行排序<sup>[11-12]</sup>。利用 Mapmaker QTL1.1 软件进行复合区间作图,LOD 值 2.5 为阈值对 QTL 进行定位和效应估算<sup>[2]</sup>。

获得含 120 个单株的 F<sub>2,3</sub>家系,作为试验分子标记的分离群体。

分子标记验证材料:共 24 份大豆材料,其中高油材料 15 份(表 1)。

1.1.2 SSR 引物 根据对大豆公共遗传连锁图谱的分析<sup>[4-7]</sup>,选择基本覆盖大豆的全基因组的 325 对 SSR 引物,用于在亲本间进行引物多态性筛选。SSR 引物的序列在大豆数据库 SoyBase (<http://129.186.26.94>) 中获得,由上海生物工程公司合成。

# 2 结果与分析

## 2.1 高油 QTL 定位分析

对所选 325 对 SSR 引物进行 PCR 扩增和电泳检测,其中有 63 对引物在亲本 DNA 间具有多态性。将所得 63 对引物对 F<sub>2</sub>分离群体进行扩增,经电泳检测并统计谱带信息获得数据,利用 Mapmaker Exp3.0 软件对所得数据进行处理,构建一个连锁群 F,并选择与公共图谱相同的命名方式<sup>[6,13-14]</sup>,该连锁群包含了 7 对 SSR 引物(图 1)。利用 Mapmaker QTL1.1 进行 QTL 定位,在连锁群 F 上定位了一个高油 QTL,此 QTL 位于 satt160- satt193 区间内,与 satt160 距离 26.0cM,与 satt193 的遗传距离是 12.5 cM,贡献率 23.2%。

## 2.2 分子标记检测验证

将 satt160 在 24 份大豆材料 DNA 中进行扩增,得到扩增产物电泳后,经银染检测,统计条带类型,

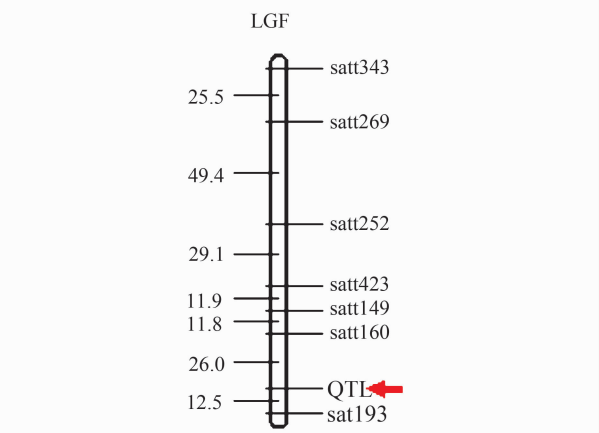


图1 QTL 位点在连锁群 F 中的位置

Fig. 1 QTL position in Linkage Group F

记录数据。在 15 个高油大豆材料中,检测出 12 份材料(1、3、4、7、10、11、12、13、16、19、21、23)与高油

亲本黑农 45 具有相同的带型,其中 10 为高蛋白材料,所以共检测出 11 份高油材料,检测符合度为 73.33% (图 2)。

### 3 讨论

油分含量是大豆重要的品质性状,通过 QTL 分析,检测到影响油分含量的 QTL 主要分布 A1、C2、E、F、H、L 等连锁群上<sup>[15]</sup>。在 F 连锁群上检测到了一个高油 QTL,具有较高的贡献率。但是试验只在一个连锁群上定位了高油 QTL,究其原因可能是标记种类和数量少、其他各连锁群上的标记区间过大,导致检测不到其他高油 QTL。而且,不同环境条件下 QTL 的稳定性也是不同的<sup>[15-16]</sup>,某些稳定 QTL 在不同环境中都能检测到,而有些 QTL 随环境条件的改变检出率很低甚至检测不到。

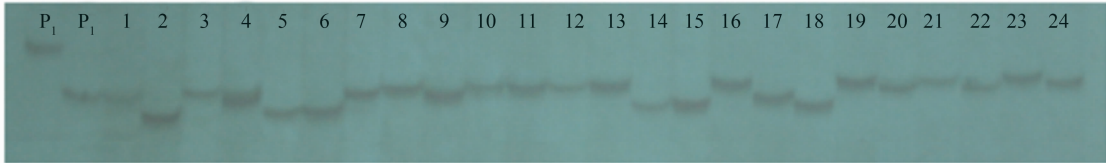


图2 satt160 对 24 份大豆材料的分子标记辅助检测筛选(P<sub>1</sub>:哈交 99-5448-4,P<sub>2</sub>:黑农 45)

Fig. 2 Examination and screening in 24 soybean germplasm by using satt160(P<sub>1</sub>:Hajiao 99-5448-4,P<sub>2</sub>:Heinong 45)

Lande 等<sup>[17]</sup>研究了分子标记辅助选择在数量性状改良中的实用性,结果表明分子标记辅助选择可以大大提高选择的效率。Schneider 等<sup>[10]</sup>用 5 个 RAPD 标记对一个大豆品种进行了抗旱性改良的分子标记辅助选择,结果在干旱条件下产量增加了 11%,而传统的基于表型的选择没有获得产量的提高。Li 等<sup>[18]</sup>在以 PI96354 和 Bossier 为亲本的 F<sub>2:3</sub> 群体中进行标记辅助选择,筛选抗根结线虫(Mi)的表型,找到 satt358 和 satt012 两个标记与 Mi 抗性 QTL 相连锁,并利用这两个标记通过基因型的选择从 PI96354 × Bossier 组合中筛选出 96 个 F<sub>2:3</sub> 抗性品系。

研究定位了一个高油 QTL,位于 satt160- satt193 区间内,由于 satt193 位于连锁群 F 最后位置,进一步对其进行加密时无法预测下一个引物对其影响,所以选择 satt160 作为连锁标记,同时也是 MapmakerQTL1. 1 定位的结果。利用定位的 SSR 标记 satt160 对高蛋白和高油大豆材料进行筛选检测,与高油亲本黑农 45 带型相同的高油材料的带型符合度已经达到了 73.33%,说明 satt160 的检出率非常

高,但是仍没有到达 100% 的带型检出率,其原因在于油分含量是数量性状,是由微效多基因控制的,还有其他控制高油含量的基因存在,所以进一步发掘与控制高油含量的基因连锁的标记仍是试验下一步需要进行的任务。大豆籽粒油分含量是多基因控制的 数量性状,研究所检测的与控制油分 QTL 相关的 SSR 标记,所解释的遗传变异较大。利用复合区间作图法进行 QTL 定位,消除了检测区间外的其它 OTL 的影响,因此,QTL 定位位置比较准确。传统的高油大豆育种主要是通过个体表型进行选择,育种效率低,周期长。分子标记辅助选择为高油大豆育种提供了一种有效的新方法,利用它能够检测到控制品质目标性状遗传变异的 QTL,也可以在育种过程中对目标 QTLs 进行选择。迄今为止,对复杂数量性状进行分子标记辅助选择的效率还不高,主要原因有以下几个方面:对于染色体上的基因位置估计不是很准确,背景选择(目标基因的选择)比已知基因要困难得多,主要是因为真正 QTL 位置的不确定性,这就要求采用数目更多、位置更准确的标记;基因渗入后,新的遗传背景下 QTL 效应不一定与原

来估计的相同;对于多基因控制的复杂性状,一个QTL不能解释所有的遗传变异,必须同时进行多个QTLs的渗入,这就需要更大的前景选择群体并尽可能减少背景选择,理论上在足够大的群体中最多只能转入3至4个QTLs。另外,下位性效应也可能会影响选择的效果,而且,不同数量性状间还可能存在遗传相关<sup>[1]</sup>。

参考文献

[1] 方宣均,吴为人,唐纪良.作物DNA标记辅助育种[M].北京:科学出版社,2001. ( Fang X J, Wu W R, Tang J L. Crops DNA marker assistant breeding[M]. Beijing: Science Press, 2001. )

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

[3] 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. )

[4] Akkaya M S, Bhagwat A A, Cregan P B. Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean[J]. Genetics, 1992, 132: 1131-1139.

[5] Akkaya M S, Shoemaker R C, Specht J E, et al. Integration of simple sequence repeat DNA markers into a soybean linkage map[J]. Crop Science, 1995, 35: 1439-1445.

[6] Cregan P B, Jarvik T. An integrated genetic linkage map of the soybean genome[J]. Crop Science, 1999, 35(5): 1464-1490.

[7] Shoemaker R C, Specht J E. Integration of the soybean molecular and classical genetic linkage groups[J]. Crop Science, 1995, 35: 436-446.

[8] 关荣霞,常汝镇,邱丽娟.用于SSR分析的大豆DNA的快速提取[J].大豆科学,2003,21(1): 73-74. ( Guan R X, Chang R Z, Qiu L J. Rapid isolation of soybean DNA for SSR analysis[J]. Soybean Science, 2003, 21(1): 73-74. )

[9] 宛煜嵩.大豆遗传图谱的构建及若干农艺性状的QTL定位分析[D].北京:中国农业科学院,2002. ( Wan Y S. Construction of soybean genetic map and QTL analysis of some agronomic traits

[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2002. )

[10] Schneider K A, Brothers M E, Kelly J D. Marker assisted selection to improve drought resistance in common bean[J]. Crop Science, 1997, 37: 51-60.

[11] 刘峰,庄炳昌,张劲松,等.大豆遗传图谱得构建和分析[J].遗传学报,2000,27(11): 1018-1026. ( Liu F, Zhuang B C, Zhang J S, et al. Construction and analysis of soybean genetic map[J]. Acta Genetica Sinica, 2000, 27(11): 1018-1026. )

[12] 蒙忻,刘学义,方宣钧.利用大豆分子连锁图定位大豆孢囊线虫4号生理小种抗性QTL[J].分子植物育种,2003,1(1): 6-21. ( Meng X, Liu X Y, Fang X J. QTL Mapping genes conferring resistance to race 4 of soybean cyst nematode in soybean ZDD2315 (*Glycine max*(L) Merr. ) based on public molecular genetic linkage map[J]. Molecular Plant Breeding, 2003, 1(1): 6-21. )

[13] 许占友,常汝镇,邱丽娟,等.大豆遗传图谱研究进展及对应的几个问题[J].大豆科学,2001,20(2): 133-137. ( Xu Z Y, Chang R Z, Qiu L J, et al. The research evolvement for soybean genetic map and its some problems[J]. Soybean Science, 2001, 20(2): 133-137. )

[14] 张德水,董伟,惠东威,等.用栽培大豆与野生大豆间的杂种F<sub>2</sub>群体构建基因组分子标记连锁图谱框架图[J].科学通报,1997,42(2): 1326-1330. ( Zhang D S, Dong W, Hui D W, et al. Construction of a soybean linkage map using an F<sub>2</sub> hybrid population from a cultivated variety and a semi wild soybean[J]. Chinese Science Bulletin, 1997, 42(2): 1326-1330. )

[15] Brummer E C, Graef G L, Orf J, et al. Mapping QTL for seed protein and oil content in eight soybean populations[J]. Crop Science, 1997, 37: 370-378.

[16] Csanádi G, Vollmann J, Stift G, Lelley T. Seed quality QTLs identified in a molecular map of early maturing soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103: 912-919.

[17] Lander E S, Green P, Abrahamson J, et al. Mapmaker: an interactive computer package for constructing genetic linkage maps of experimental and natural populations [J]. Genomics, 1987, 1: 174-181.

[18] Li Z, Jakkula L, Hussey R S, et al. SSR mapping and confirmation of the QTL from PI96354 conditioning soybean resistance to southern root-knot nematode [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103: 1167-1173.

启 事

《大豆科学》编辑部现有少量2006年和2007年过刊及精装合订本,其中过刊每册10.00元,2006年合订本(4期)每册65.00元,2007年合订本(6期)每册85.00元。邮费10.00元。数量有限,欲购从速。

汇款请寄: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

E-mail: dadoukx@ sina. com, ddkexue@ 126. com