

大豆蛋白质含量的 QTL 定位

林延慧^{1,2}, 张丽娟¹, 李 伟², 张礼凤², 徐 冉²

(1. 青岛农业大学 农学与植物保护学院, 山东 青岛 266109; 2. 山东省农业科学院 作物研究所, 山东 济南 250100)

摘 要:以高蛋白的大豆品种齐黄 26 和低蛋白的滑皮豆为亲本, 杂交获得含 170 个单株的 F_2 代分离群体, 采用 SSR 分子标记技术, 构建了一张包括 18 个连锁群的分子连锁图谱, 覆盖大豆基因组长度 1 035.6 cM, 标记间平均距离为 16.44 cM。利用复合区间作图法, 对在济南和冠县衍生出的 $F_{2:3}$ 群体的蛋白质含量的进行 QTL 分析。结果表明: 济南试验点定位到 3 个与蛋白质含量有关的 QTL, 分布于 D2、E 和 K 连锁群上, 分别可解释 14%、11% 和 2% 的变异; 冠县试验点定位到 1 个与蛋白质含量有关的 QTL, 位于 E 连锁群上, 可解释 3% 的变异。通过遗传作图找到 3 个与所定位的 QTL 相连锁的 SSR 标记, 这些标记可为大豆分子标记辅助育种提供参考。

关键词:大豆; 蛋白质含量; QTL 定位

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2010)02-0207-03

QTLs Mapping Related to Protein Content of Soybeans

LIN Yan-hui^{1,2}, ZHANG Li-juan¹, LI Wei², ZHANG Li-feng², XU Ran²

(1. College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109; 2. Crops Institute of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, Shandong, China)

Abstract: Soybean is a versatile crop due to its multitude uses as a high protein meal and vegetable oil. Seed protein content is an important quantitative traits. To identify the quantitative traits loci (QTL) related to seed protein content, a cross was made with the high protein content variety Qihuang 26 and the low protein content germplasm Huapidou, and derived a F_2 population with 170 plants. Two $F_{2:3}$ populations were derived from the F_2 population in Jinan and Guanxian respectively. SSR marker data of F_2 population and phenotype data of $F_{2:3}$ population were analyzed with Mapmaker/EXP V3.0 and QTL Cartographer 2.5. One molecular genetic linkage map with 18 linkage groups (LGs) and covering 1 035.6 cM was mapped and 3 QTLs related to seed protein content were identified on D2, E and K linkage groups, explaining 14%, 11% and 2% phenotypic variance respectively in Jinan, and 1 QTL related to seed protein content was identified on E linkage group in Guanxian, explaining 3% phenotypic variance.

Key words: Soybean; Protein content; QTL Mapping

大豆是一种重要的粮食、油料作物, 为人类提供蛋白质和油脂。大豆不仅蛋白质含量高, 而且所含氨基酸比较全面, 已成为人们饮食的重要组成部分。蛋白质含量是大豆的主要品质性状, 改良大豆品种的蛋白质含量是国内外大豆育种研究的主要目标之一。

有关大豆蛋白质含量的遗传研究国内外均有报道。蛋白质含量是数量性状, 受微效多基因控制。国内外研究人员都在研究利用有效的方法定位有效的蛋白质含量 QTL。杨喆等^[1]在 D1a + Q 连锁群上定位到 1 个高蛋白 QTL; 吴晓雷等^[2]检测到 3 个蛋白质含量的 QTL, 分别位于 B1、B2 和 W 连锁群上, 可解释 6.2% ~ 12.0% 的变异。Orf^[3] 和

Bruner 等^[4]曾有关于 B1 和 B2 连锁群上蛋白质含量 QTL 的报道。Zhang 等^[5]在 B2 连锁群上检测到 1 个控制种子蛋白质含量的 QTL, 可解释 12.4% 的变异。现通过研究遗传作图找到与大豆蛋白质含量相关的 QTL 及与其连锁的 SSR 分子标记, 为大豆分子标记辅助育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 遗传分离群体 以高蛋白的育成大豆品种齐黄 26 和低蛋白的地方品种滑皮豆为亲本, 配制杂交组合, 构建 F_2 分离群体; 将 F_2 单株种植成株行获得 $F_{2:3}$ 家系, 同时种植亲本齐黄 26 和滑皮豆。

收稿日期: 2009-10-21

基金项目: 国家高技术研究发展计划资助项目(2006AA100104); 国家科技支撑计划资助项目(2006BAD01A04)。

第一作者简介: 林延慧(1984-), 女, 在读硕士, 研究方向为大豆分子育种。E-mail: lyh_1012@163.com。

通讯作者: 徐冉, 博士, 副研究员。E-mail: soybeanxu@yahoo.com.cn。

1.1.2 PCR 引物的合成 参照 Cregan 的“大豆公共图谱”^[6] 根据 soybase 大豆数据库^[7] 和已发表的文献, 选择随机覆盖大豆全基因组的 SSR 引物序列 600 对, 由上海生物工程公司合成。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 在田间 F₂ 单株上取等量嫩绿叶片, 按照 SDS 法, 提取亲本和 F₂ 群体的 DNA^[8]。

1.2.2 PCR 扩增 以 F₂ 群体的 DNA 作为模板, 进行扩增。PCR 反应在 T-Gradient 进行, 扩增条件为: 95℃ 变性 5 min; 进入循环; 94℃ 变性 30 s; 48℃ 退火 45 s; 72℃ 延伸 30 s; 循环 36 次后 72℃ 延伸 10 min, 于 4℃ 保存。

1.2.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳 将扩增好的产物点入点样口, 电压 160 V, 电流 200 mA 进行电泳, 银染^[9], 分析电泳条带并赋值。

1.2.4 大豆 F_{2:3} 群体蛋白质含量测定 大豆蛋白质含量通过 DA7200 近红外分析仪进行测定, 为 QTL 定位分析提供表型数据。

1.2.5 连锁图谱的构建和 QTL 定位分析 应用 MAPMAKER/EXP V3.0 软件^[10] 构建分子连锁图谱。利用“Group”命令进行标记间的连锁分析和分组 (LOD = 2.5), 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 try 命令^[11-12]。利用 QTL Cartographer 2.5 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^[13]。

2 结果与分析

2.1 遗传图谱连锁分析

利用 Mapmaker 3.0 做图软件, 构建了一张包括

18 个连锁群的分子连锁图谱, 覆盖大豆基因组长度 1 035.6 cM, 标记间平均距离为 16.44 cM。

2.2 大豆蛋白质含量的 QTL 定位分析

在已建立的图谱基础上, 定位与蛋白质含量有关的 QTL。利用复合区间作图法, 取 LOD 值大于 2.5, 对济南和冠县 2 个试验点的 F_{2:3} 群体的蛋白质含量进行 QTL 分析。

2.2.1 济南试验点蛋白质含量的 QTL 分析

对济南试验点 F_{2:3} 群体蛋白质含量数据作图分析, 共检测到 3 个与蛋白质含量有关的 QTLs, 分别位于 D2、E 和 K 连锁群上 (图 1), 与 sat_100、satt204、satt046 的遗传距离分别为 5.2、0.1 和 1.7 cM (表 1), 对表型性状的解释率分别为 14%、11% 和 2%。位于 K 连锁群上的 QTL 解释率较小, 有待进一步验证。

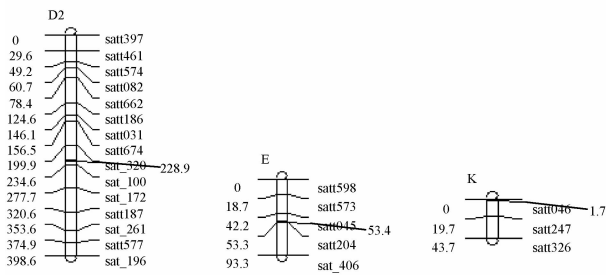


图 1 济南试验点蛋白质含量 QTL 在连锁群中的位置

Fig. 1 QTLs related to protein content in linkage groups in Jinan

2.2.2 冠县试验点蛋白质含量的 QTL 分析

对冠县试验点 F_{2:3} 群体蛋白质含量的数据作图分析, 检测到 1 个与蛋白质含量有关的 QTL, 位于 E 连锁群上 (图 2), 与 satt204 的遗传距离为 5.0 cM (表 1), 对表型性状的解释率为 3%。

表 1 济南和冠县试验点蛋白质含量的 QTL

Table 1 QTLs associated with seed protein content of soybean in Jinan and Guanxian

试验点 Location	QTLs	连锁群 Linkage Group	分子标记 Maker	遗传距离 Position/cM	LOD 值 LOD score	解释率 R ² /%
济南	qPC-d2-1	D2	sat_100	228.9	2.69	14
Jinan	qPC-e-1	E	satt204	53.4	3.70	11
	qPC-k-1	K	satt046	1.7	2.71	2
冠县	qPC-e-2	E	satt204	58.1	2.54	3
Guanxian						

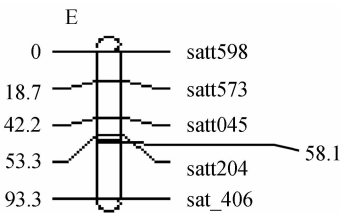


图 2 冠县试验点蛋白质含量 QTL 在连锁群 E 中的位置

Fig. 2 QTL related to protein content in linkage group E in Guanxian

3 讨论

3.1 遗传图谱的分析

所构建的遗传图谱与公共图谱^[14-16] 比较好的一致性, 所包含的 18 个连锁群与公共图谱中的相对应, 选择相同的命名方式^[17-18]。

用 600 对 SSR 引物对父母本进行多态性筛选, 其中 95 对引物存在多态性, 但是只有 64 对引物定位到连锁图谱上。通过卡方测验, 部分呈现偏分

离,表明亲本间亲缘关系较远。这与构建图谱所用的材料相符,属于正常现象。总体来看,定位到图谱上的标记较少,有待进一步加密。

3.2 蛋白质含量 QTL 分析

蛋白质含量是大豆重要的品质性状,目前在 soybase^[7]网站中关于蛋白质含量的 QTL 已经有 83 个。通过与公共图谱以及吴晓雷等^[2]、Orf^[3]和 Brunner 等^[4]构建的图谱比对,该研究定位到的与蛋白质含量有关的 QTL 与前人的结果不一致,这与所用的材料和环境因素等有关。定位的新的 QTL 丰富了大豆的分子遗传信息,可为分子标记辅助选择提供更多的依据。

利用高蛋白的大豆品种齐黄 26 和低蛋白的滑皮豆杂交获得 F₂ 分离群体以及由 F₂ 衍生的 F_{2:3} 群体为材料,对济南和冠县试验点进行分析,共定位到 4 个与蛋白质含量相关的 QTLs,分布于 D2、E 和 K 连锁群上,解释率分别为 14%、11%、2% 和 3%。由济南和冠县蛋白质含量的 QTL 分析结果来看,2 个点都定位到了与蛋白质含量有关的 QTL,济南 3 个,冠县 1 个,其中 E 连锁群上 2 个点各定位到 1 个 QTL,均位于 satt045 附近,是否为同一位点有待进一步研究。同时,2 个点检测到不同数量的 QTL,表明环境因素对与蛋白质含量有关的 QTL 效应的影响较大。

由于 SSR 标记数较少,标记间遗传距离较大,导致一些与蛋白含量有关的 QTL 检测不到,因此需要对该图谱进一步加密。

参考文献

- [1] 杨喆,刘丽君,高明杰,等. 大豆高蛋白基因分子标记及其在大豆育种中的应用[J]. 大豆科学,2008,27(2):186-189. (Ynag Z, Liu L J, Gao M J, et al. QTL tagging for high protein gene and using molecular maker assistant selection in soybean breeding[J]. Soybean Science, 2008, 27(2):186-189.)
- [2] 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, 2001, 28(10):947-955.)
- [3] Orf J H, Chase K, Jarvik T, et al. Genetics of soybean agronomic traits I comparisons of three related recombinant inbred populations[J]. Crop Science, 1999, 39:1642-1651.
- [4] 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.
- [5] Zhang W K, Wang Y J, Luo G Z, et al. QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean genetic map and their association with EST markers[J]. Theor etical Applied Genetics, 2004, 108:1131-1139.
- [6] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome[J]. Crop Science, 1999, 35(5):1464-1490.
- [7] Soybase a genome database for *Glycine*, 1995. <http://www.Soy-Base.org>. Verified 21 October 2003.
- [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, 22(1):73-74. (Guan R X, Chang R Z, Qiu L J. Rapid isolation of soybean DNA for SSR analysis[J]. Soybean Science, 2003, 22(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] Lander E S, Green P, Abrahamson J. Mapmaker: an interactive computer package for constructing genetic linkage maps of experimental and natural populations[J]. Genomics, 1987, 1:174-181.
- [11] 蒙忻,刘学义,方宜钧. 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.)
- [12] 刘峰,庄炳昌,张劲松等. 大豆遗传图谱的构建和分析[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.)
- [13] Mansur L M, 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.
- [14] Akkaya M S, Bhagwat A A, Cregan P B. Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean[J]. Genetics, 1992, 132:1131-1139.
- [15] 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.
- [16] Shoemaker R C, Specht J E. Integration of the soybean molecular and classical genetic linkage groups[J]. Crop Science, 1995, 35:436.
- [17] 张德水,董伟,惠东威,等. 用栽培大豆与野生大豆间的杂种 F₂ 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, Construction of a soybean linkage map using an F₂ hybrid population from a cultivated variety and a semi wild soybean[J]. Chinese Science Bulletin, 1997, 42(2):1326-1330.)
- [18] 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 seme problems[J]. Soybean Science, 2001, 20(2):133-137.)