

大豆油分含量 QTL 分析

王囡囡

(黑龙江省农业科学院 佳木斯分院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:以美国半矮秆大豆品种 Charleston 与高蛋白品系东农 594 杂交得到的 154 株 RILs 群体作为试验材料, 利用在亲本之间表现多态的 SSR 引物对群体进行分析, 根据已有的遗传图谱, 利用浙江大学朱军的 QTL-mapper2.0 对各年各点的数据进行分析。结果表明:根据油分含量 LOD 值(≥ 2.50)的大小, 确定 6 个 QTL 位点位于 3 条连锁群上。*Qsoil 1*、*Qsoil 2*、*Qsoil 3* 分别位于遗传图谱 GM1-A1 连锁群 Satt449-*Qsoil 1*、*Qsoil 2*-Satt545, Satt571-*Qsoil 3*-Satt522 四个引物之间。*Qsoil 4*、*Qsoil 5* 位于遗传图谱 GM3-B1 连锁群 Satt229-*Qsoil 4*-Satt197 和 Sat_113-*Qsoil 5*-sat_099 四个引物之间。*Qsoil 6* 位于遗传图谱 GM2-A2 连锁群 Satt327 和 Satt468 两个引物之间。

关键词:大豆油分; 品质性状; QTL; SSR

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2011)04-0001-03

大豆是重要的油料作物, 其油分含量一直备受育种家的关注, 将传统的育种方法与现代生物技术有效结合, 通过对大豆油分的 QTL 分析, 找到与大豆油分含量相关的一个数量性状基因位点对加快高油大豆品种选育, 加速大豆新品种选育进程具有深远意义。这方面的研究有很多, 如 Qiu 等利用 Peking \times Essex 的 F_3 代 200 个株系找到了 1 个与油分相关的 QTL 位点, 位于 H 连锁群^[1]; 吴晓雷等利用科丰 1 号 \times 南农 1138-2 的 RIL 群体的 201 株系, 找到了 2 个与油分相关的 QTL 位点, 分别位于 B2、M 等连锁群上^[2]。但大多数的研究都基于单年单点的数据^[3-4], 没有很好地考虑环境对表型效应的影响, 往往会因环境对表型的影响而得到非稳定的 QTL 位点, 不利于分子辅助育种的应用。现充分考虑环境因素对 QTL 位点稳定性的影响, 以得出的稳定性更好的 QTL 位点, 进一步挖掘优良基因, 为作物品质改良和分子辅助育种奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

以美国半矮秆大豆品种 Charleston 与高蛋白品系东农 594 杂交得到的 154 株 RILs 群体作为试验材料, 以 161 个在亲本之间表现多态的

SSR 引物对群体进行特异性谱带分析, 利用 Per-ten8620 测得各株系的油分含量。

1.2 方法

1.2.1 油分含量的测定 将群体株行混合脱粒后, 取 50 g 样品利用 Per-ten8620 测得各株系的油分含量, 记录成表。用这两组数据生成各年各点的文本文件分别记为 2002.txt、2003(1).txt、2003(2).txt 和 2004.txt。

1.2.2 SSR 位点的谱带分析 利用 161 个在亲本之间表现多态的 SSR 引物对群体进行特异性谱带分析, 扩增带型与亲本 P1 带型一致的记为“1”与亲本 P2 带型一致的记为“2”, 无亲本带型的记为“.”。

1.2.3 连锁群及 markers 位置定位 根据已有的遗传图谱将 161 个在亲本之间表现多态的 SSR 引物定位在相应的连锁群上, 从而生成 map 文件。

1.2.4 计算 将 2002.txt、2003(1).txt、2003(2).txt 和 2004.txt 分别与 map 文件组合存入固定的文件夹, 利用 QTLMapper 2.0 软件进行计算, 分别得出相应的数据记为: 2002.qtl、2003(1).qtl、2003(2).qtl 和 2004.qtl, 对结论数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同年份大豆油分含量 QTL 分析

由 2002 年香坊农场大豆油分含量 QTL 分析(见表 1)可知, 从 QTL 位点 LOD 值来看, $Qsoil 3(4.92) > Qsoil 4(4.22) > Qsoil 2(3.14) > Qsoil 1(3.04) > Qsoil 5(2.83)$; 从加性效应绝

收稿日期: 2011-01-27

基金项目: 国家“863”计划资助项目(2006AA10Z1F4)

作者简介: 王囡囡(1982-), 女, 黑龙江省大兴安岭加格达奇区人, 硕士, 研究实习员, 从事生物技术研究。E-mail: wang-nannan_1787@163.com。

对值来看, $Q_{soil\ 4}(0.73) > Q_{soil\ 3}(0.67) > Q_{soil\ 2}(0.56) > Q_{soil\ 5}(0.55) > Q_{soil\ 1}(0.45)$ 。

由 2003 年东北农业大学油分含量 QTL 分析(见表 2)可知, 从 QTL 位点 LOD 值来看, $Q_{soil\ 6}(3.72) > Q_{soil\ 1}(3.36) > Q_{soil\ 5}(3.09) > Q_{soil\ 2}(2.87) > Q_{soil\ 4}(2.75) > Q_{soil\ 3}(2.60)$; 从加性效应绝对值来看, $Q_{soil\ 6}(0.41) > Q_{soil\ 2}(0.37) = Q_{soil\ 3}(0.37) > Q_{soil\ 1}(0.36) > Q_{soil\ 4}(0.34) > Q_{soil\ 5}(0.31)$ 。

由 2003 年香坊农场油分含量 QTL 分析(见

表 3)可知, 从 QTL 位点 LOD 值来看, $Q_{soil\ 4}(3.27) > Q_{soil\ 2}(2.76) > Q_{soil\ 3}(2.75) > Q_{soil\ 1}(2.53)$; 从加性效应绝对值来看, $Q_{soil\ 4}(0.40) > Q_{soil\ 1}(0.39) > Q_{soil\ 3}(0.32) > Q_{soil\ 2}(0.28)$ 。

由 2004 年香坊农场油分含量 QTL 分析(见表 4)可知, 从 QTL 位点 LOD 值来看, $Q_{soil\ 4}(3.68) > Q_{soil\ 1}(2.96) > Q_{soil\ 2}(2.76) > Q_{soil\ 3}(2.51)$; 从加性效应绝对值来看, $Q_{soil\ 2}(0.23) = Q_{soil\ 4}(0.23) > Q_{soil\ 1}(0.20) = Q_{soil\ 3}(0.20)$ 。

表 1 2002 年香坊农场大豆油分含量 QTL 分析

QTLs	连锁群	两侧引物(相距遗传距离 cM)	LR 值	对应 LOD 值	加性效应
Q_{soil1}	GM19-N	Sat_095(6.5)- Q_{soil1} -(0.0)GMABAB	14.02	3.04	0.45
Q_{soil2}	GM19-N	GMABAB(2.5)- Q_{soil2} -(5.0)Satt022	14.45	3.14	0.56
Q_{soil3}	GM3-B1	Satt229(2.0)- Q_{soil3} -(0.0)Satt251	22.68	4.92	-0.67
Q_{soil4}	GM3-B1	Satt251(2.0)- Q_{soil4} -(11.0)Satt197	19.43	4.22	-0.73
Q_{soil5}	GM1-A1	Satt164(4.5)- Q_{soil5} -(6)Satt200	13.04	2.83	0.55

表 2 2003 年东北农业大学大豆油分含量 QTL 分析

QTLs	连锁群	两侧引物(相距遗传距离 cM)	LR 值	对应 LOD 值	加性效应
Q_{soil1}	GM1-A	Satt449(18.5)- Q_{soil1} -(0.0)Satt042	15.5	3.36	0.36
Q_{soil2}	GM1-A	Satt042(2.0)- Q_{soil2} -(3.5)Satt164	13.23	2.87	0.37
Q_{soil3}	GM1-A	Satt164(2.5)- Q_{soil3} -(3.0)Satt200	11.97	2.60	0.37
Q_{soil4}	GM1-A	Satt200(7.5)- Q_{soil4} -(12.5)Sat_087	12.67	2.75	0.34
Q_{soil5}	GM1-A	Sat_087(0.0)- Q_{soil5} -(2.5)Satt545	14.45	3.09	0.31
Q_{soil6}	GM7-D1a	Satt205(0.5)- Q_{soil6} -(8.5)Satt402	17.14	3.72	-0.41

表 3 2003 年香坊农场大豆油分含量 QTL 分析

QTLs	连锁群	两侧引物(相距遗传距离 cM)	LR 值	对应 LOD 值	加性效应
Q_{soil1}	GM2-A2	Satt327(1.0)- Q_{soil1} -(1.0)Satt468	11.67	2.53	-0.39
Q_{soil2}	GM3-B1	Sat_113(0.0)- Q_{soil2} -(0.5)Sat_099	12.73	2.76	-0.28
Q_{soil3}	GM7-D1a	Satt203(0.0)- Q_{soil3} -(0.5)Satt515	12.69	2.75	-0.32
Q_{soil4}	GM11-F	Satt538(0.0)- Q_{soil4} -(2.0)Satt030	15.05	3.27	0.40

表 4 2004 年香坊农场大豆油分含量 QTL 分析

QTLs	连锁群	两侧引物(相距遗传距离 cM)	LR 值	对应 LOD 值	加性效应
Q_{soil1}	GM1-A1	Satt571(1.5)- Q_{soil1} -(0.0)Satt522	13.63	2.96	0.20
Q_{soil2}	GM2-A2	Satt327(1.0)- Q_{soil2} -(0.0)Satt468	12.73	2.76	-0.23
Q_{soil3}	GM4-B2	Satt020(2.0)- Q_{soil3} -(3.0)Satt168	11.58	2.51	0.20
Q_{soil4}	GM4-B2	Satt168(1.0)- Q_{soil4} -(2.5)Satt272	16.96	3.68	0.23

2.2 连锁群及引物分析

由表 5 可以看出, GM1-A1 在 3 年 2 点分别复现率很高, QTL 在该连锁群上的可能性很大, GM3-B1 和 GM2-A2 分别在 2 年 1 点出现, 复现率较高, QTL 在该连锁群上的可能性较大, GM7-D1a 在 1 年 2 点出现, 可能是由于该年度的环境或统计误差所引起的, 其结果有待于进一步验证, GM19-N, GM4-B2 和 GM11-F 分别只出现 1 次

无法确定相关的 QTL 是否存在于这些连锁群上, 需进一步验证。

由表 6 可以看出, GM1-A1 连锁群引物(Satt 164-Satt200), GM2-A2 连锁群引物(Satt 327-Satt468)都出现 2 次, 所以在这 2 个范围内出现 QTL 的可能性非常大。对于其它范围还有待于进一步验证。

表 5 油分相关的 QTL 出现的连锁群分析

年份和地点	连锁群	
2002 年香坊农场 GM1-A1	GM3-B1	GM19-N
2004 年香坊农场 GM1-A1	GM2-A2	GM4-B2
2003 年农大院内 GM1-A1	GM7-D1a	
2003 年香坊农场	GM3-B1	GM2-A2 GM7-D1a GM11-F

表 6 连锁群引物分析

连锁群名称	引物范围		
GM1-A1	Satt449-Satt545	Satt164-Satt200	Satt571-Satt522
GM2-A2	Satt327-Satt468	Satt327-Satt468	
GM3-B1	Satt229-Satt197	Sat_113-sat_099	

3 结论与讨论

目前在寻找与油分含量相关的 QTL 研究有很多^[6-7]。如 Mian 等利用 Young \times PI416937 的 F₄ 代 120 个株系对油分进行分析,得到了 3 个 QTL 位点,位于 A1 和 L 连锁群上^[5]。该研究根据油分含量 LOD 值(≥ 2.50)的大小,确定 6 个 QTL 位点位于 3 条连锁群上。*Qsoil* 1、*Qsoil* 2、*Qsoil* 3 分别位于遗传图谱 GM1-A1 连锁群 Satt449-*Qsoil* 1、*Qsoil* 2-Satt545, Satt571-*Qsoil* 3-Satt522 四个引物之间。*Qsoil* 1 的 LOD 值为 3.36,加性效应为 0.36。*Qsoil* 2 的 LOD 值为 3.09,加性效应为 0.31;*Qsoil* 3 的 LOD 值为 2.96,加性效应为 0.20。*Qsoil* 4、*Qsoil* 5 位于遗传图谱 GM3-B1 连锁群 Satt229-*Qsoil* 4-Satt197 和 Sat_113-*Qsoil* 5-sat_099 四个引物之间,*Qsoil* 4 的 LOD 值为 4.22,加性效应为-0.73。*Qsoil* 5

的 LOD 值为 2.76,加性效应为-0.28;*Qsoil* 6 位于遗传图谱 GM2-A2 连锁群 Satt327 和 Satt468 两个引物之间,LOD 值为 2.76,加性效应为-0.23。通过对品质性状的准确定位,有利于进一步挖掘优良基因,为作物品质改良和分子辅助育种奠定了基础。对于其它范围还有待于进一步验证,随着试验样本的扩大、实验数据的完善,再加上软件以及算法的更新相信不久的将来一定可以将有关性状的 QTL 准确地定位在相应的连锁群上,为育种工作提供宝贵的数据资源。

参考文献:

- [1] Qiu B X, Arelli P R, Sleper D A. RFLP markers associated with soybean cyst nematode resistance and seed composition in a "Peking" \times "Essex" population[J]. Theor. Appl. Genet, 1999, 98: 356-364.
- [2] 吴晓雷. 大豆高密度遗传图谱构建和重要农艺性状基因定位、大豆属进化关系的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2000.
- [3] Attwood T K. Genomics, the babel of bioinformatics[J]. Science, 2000, 290: 471-473.
- [4] Chen Y, Peng X Z, Piao Y J. Bioinformatics analysis of autophagy 5 gene structure[J]. Acta Genetica Sinica, 2001, 28(11): 77-84.
- [5] Mian M R, Shipe E R, Alvernaz J, et al. RFLP analysis of chlorimuron ethyl sensitivity in soybean[J]. Journal of Heredity, 1997, 88: 38-41.
- [6] 薛永国, 刘丽君, 杨喆, 等. 大豆油分含量 QTL 分析[J]. 东北农业大学学报, 2007, 38(6): 721-734.
- [7] 孙鸿雁, 刘丽君, 张小明, 等. 大豆油分蛋白质含量相关 QTL 的实用性验证[J]. 分子植物育种, 2008, 6(6): 1085-1090.

Analysis of Soybean on Oil Content with QTL Marker

WANG Nan-nan

(Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Taking 154 RILs which were obtained by crossbreeding between semi-dwarf cultivar Charleston from America and the high protein soybean stain Dongnong 594 as materials, using SSR primers which manifest polymorphism in parents to analyze the population, according to the genetic map, and using the QTLmap2.0 which was invented by Zhu Jun of Zhejiang University to analyze the date of points and years, the six QTLs of content of oil were confirmed located three linkage groups based on the value of LOD. The result showed that *Qsoil* 1, *Qsoil* 2, *Qsoil* 3 located GM1-A1 linkage group and among the four primers Satt449-*Qsoil* 1, *Qsoil* 2-Satt545, Satt571-*Qsoil* 3-Satt522. *Qsoil* 4, *Qsoil* 5 located GM3-B1 linkage group and among the four primers Satt229-*Qsoil* 4-Satt197 and Sat_113-*Qsoil* 5-sat_099. *Qsoil* 6 located GM2-A2 linkage group and among the two primers Satt327 and Satt468.

Key words: oil content of soybean; quality trait; QTL; SSR