

大豆重组自交系群体荚粒性状的 QTL 分析

王贤智^{1,2} 张晓娟² 周蓉² 沙爱华² 吴学军² 蔡淑平² 邱德珍²
周新安^{2,*}

(¹中国农业科学院研究生院,北京 100081; ²中国农业科学院油料作物研究所,湖北武汉 430062)

摘要: 利用大豆重组自交系 soy01 群体中的 255 个家系进行 2 年田间试验,采用两种作图方法,寻找一粒荚、四粒荚、每荚粒数等 5 个荚粒性状稳定的 QTL。结果表明,利用区间作图法,2 年共找到 24 个荚粒性状 QTL,解释的遗传变异为 5%~80%;利用复合区间作图法,2 年共找到 27 个荚粒性状 QTL,解释的遗传变异为 4%~73%。利用复合区间作图法,2 年找到 2 个重复出现、稳定的四粒荚 QTL 和 2 个每荚粒数 QTL,为大豆荚粒性状 QTL 的精细定位和分子标记辅助育种提供了基础和依据。

关键词: 大豆;荚粒性状;四粒荚;每荚粒数;QTL 定位

QTL Analysis of Seed and Pod Traits in Soybean RIL Population

WANG Xian-Zhi^{1,2}, ZHANG Xiao-Juan², ZHOU Rong², SHA Ai-Hua², WU Xue-Jun², CAI Shu-Ping², QIU De-Zhen², and ZHOU Xin-An^{2,*}

(¹ Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ² Oil Crops Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, Hubei, China)

Abstract: Seed and pod traits are important factors affecting soybean yield, which are controlled by polygenes. The previous studies have identified many QTLs associated with yield and its component. The previous genetic analysis also pointed out that improving the seed and pod traits was an efficient way to increase soybean yield, but there was little QTL analysis on seed and pod traits. In order to find out steady and repeatable QTLs of these traits, 255 recombinant inbred lines (RILs) derived from the cross between Zhongdou 29 and Zhongdou 32 were used to map QTLs of seed and pod traits in two years. ANOVA analysis showed that the characters of one-seed pod, four-seed pod, and number of seeds per pod had significant year-line interaction in two years, while number of pods and number of seeds had not. A genetic linkage map of soybean genome was constructed, which consisted of 23 linkage groups with 98 SSR markers. The Interval Mapping method (IM) and Composite Interval Mapping method (CIM) were used to identify QTLs associated with one-seed pod, four-seed pod, number of pod, number of seeds, and number of seeds per pod. A total of 51 QTLs for these traits were identified in two years using different statistic methods. Among them, 24 QTLs explained the phenotypic variance ranging from 5% to 80% by using interval mapping method, and 27 QTLs accounted for 4% to 73% of the variance for the 5 traits using CIM. Two QTLs of four-seed pod and two QTLs of number of seeds per pod were found in two years with different methods. These results can be used for the further fine mapping and marker assisted selection of these traits.

Keywords: Soybean; Seed and pod traits; Four-seed pod; Number of seeds per pod; QTL analysis

高产始终是大豆育种的主要目标,但产量性状是遗传复杂、易受环境影响的数量性状,表型选择效率不高而限制了产量性状的遗传改良。分子标记技术的发展为在分子水平上对大豆产量性状进行改良提供了条件,但前提是要发现与产量性状紧密相关

的 QTL 位点。关于大豆产量及产量相关性状的 QTL 定位研究,国内外已经有一些报道^[1-5]。吴晓雷等^[6]利用科丰 1 号 × 南农 1138-2 的 RIL 群体进行 QTL 分析,发现 4 个产量的 QTL 和 6 个百粒重 QTL 分布在不同的连锁群;Zhang 等^[7]利用同一组合的 RIL 群体

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671313); 国家“十五”科技攻关计划项目(2004BA525B06); 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2001AA241062)

作者简介: 王贤智(1979-),男,湖北阳新人,在读博士。E-mail: xianzhiwang@sohu.com

* 通讯作者(Corresponding author): 周新安,博士,研究员,博士生导师。E-mail: xazhou@public.wh.hb.cn

Received(收稿日期): 2006-05-25; Accepted(接受日期): 2006-08-28.

发现7个小区产量QTL,4个百粒重QTL和6个每节荚数QTL; Yuan等^[8]检测到3个产量相关QTL分别位于C1、I、K连锁群,各解释了10%的遗传变异; Concibido等^[9]对HS-1×PI407305的回交自交系群体进行产量QTL分析,发现一个来自野生豆PI407305的产量QTL位于B2连锁群,可以增产8.0%~9.4%。

大豆四粒荚、单株荚数、每荚粒数等荚粒性状是重要的产量构成因子。崔章林等^[10]对我国各大豆产区不同年代育成的大豆品种进行统计分析发现,东北和黄淮海区育成品种每荚粒数逐步增多,但南方区未见有明显变化,南方大豆品种产量构成因素中每荚粒数偏低是一明显弱点。东北和黄淮各地大豆品种遗传改进的趋势为单株生产力(荚数、粒数、粒重)提高,每节荚数、每荚粒数增多,粒重增大,茎秆增粗,株高降低,抗倒伏性显著增强,其高产育种策略是提高单株荚数(如增加主茎有效节数和每节荚数)及每荚粒数、百粒重等产量构成因子^[11]。彭玉华等^[12]对64份遗传稳定材料和81份F₂材料的分析发现,四粒荚数与每荚粒数存在着正相关关系,四粒荚多的类型对产量因素的改良、最终提高产量都有重要作用。周新安等^[13]研究发现在大豆重组自交系群体中,产量高的家系每荚粒数均比高产亲本增加,说明在一定范围内增加每荚粒数,是提高大豆单产的一条有效途径。尽管很多研究指出了荚粒性状对大豆产量的重要影响作用,但目前其QTL定位研究较少。本研究利用四粒荚多的大豆重组自交系群体,对大豆一粒荚、四粒荚、每荚粒数等5个荚粒性状进行QTL定位分析,以期为进一步的精细定位奠定基础,也为大豆品种改良和分子标记辅助育种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 大豆重组自交系群体构建及荚粒性状的考查

选用性状差异大且互补的亲本中豆29和中豆32杂交,通过连续自交,至2004年已经获得了一个由406个F₂株系组成的大豆重组自交系群体,定名为soy01群体。在本试验中,随机抽取了soy01群体中的255个株系组成大豆重组自交系群体,连同其亲本组成本试验材料。

试验采用随机区组设计,设2个重复,于2004年和2005年在中国农业科学院油料作物研究所试验田进行。田间管理与一般大田生产相同,收获时

每小区取5株进行室内考种,调查一粒荚数、四粒荚数、总荚数、单株粒数、每荚粒数,取2重复的平均数作为各荚粒性状值。

1.2 大豆重组自交系群体荚粒性状的遗传分析

利用SAS程序对试验数据进行方差分析,采用二因素随机区组试验线性模型的随机模型进行F测验^[14],按照马育华介绍的方法对大豆荚粒性状进行遗传方差、遗传变异系数、遗传力等遗传参数的估算^[15]。

1.3 总DNA提取

在各株系内随机选取等量的新鲜叶片,按照SDS方法提取亲本及群体株系的总DNA。

1.4 SSR标记分析

参照2004年Song等^[16]发表的最新公共图谱,在20个连锁群上每8~10cM均匀挑取SSR引物,共计322对。按照Soybase上提供的SSR序列合成引物,PCR反应体系和扩增条件按照Soybase网站上提供的方法。

1.5 连锁作图和QTL分析

采用软件MAPMAKER/EXP V3.0构建遗传图谱,先用Group命令对所有标记进行分组,LOD值设为5.0。对标记数少于8个的连锁群使用Compare命令进行排序,标记数多于8个的连锁群重复使用Ripple命令进行排序,用Kosambi函数将重组率转化为遗传图距(cM)。采用MapDraw(Microsoft Excel宏)软件绘制连锁图谱^[17]。利用Windows QTL Cartographer Version 2.5软件对数据进行分析,采用区间作图法(interval mapping, IM)和复合区间作图法(composite interval mapping, CIM)对全基因组进行QTL扫描。用排列测验法(Permutation Test)来估算各个性状的LOD显著性阈值,重复抽样1000次^[18]。采用McCouch等^[19]的方法对定位的QTL命名。

2 结果与分析

2.1 大豆重组自交系群体荚粒性状的遗传分析

对大豆重组自交系群体荚粒性状的2年数据进行联合方差分析,结果表明,四粒荚、单株荚数和每荚粒数区组间差异不显著,但一粒荚、每荚粒数区组间差异达显著水平;5个荚粒性状在家系间和年份间的差异均达极显著水平,说明荚粒性状在群体中存在广泛的遗传变异;同时,一粒荚、四粒荚和每荚粒数年份和家系间的互作均达极显著水平,说明这些性状存在较强的遗传与环境互作效应,均易受到环境的影响(表1)。

表 1 大豆重组自交系群体荚粒性状 2 年数据的联合方差分析
Table 1 Variance analysis of seed and pod traits in soybean RIL population

	一粒荚		四粒荚			单株荚数		单株粒数		每荚粒数	
	One-seed pod		Four-seed pod			Number of pods		Number of seeds		Number of seeds per pod	
	df	MS	F value	MS	F value	MS	F value	MS	F value	MS	F value
区组间 Block	1	5.139	6.10*	0.623	0.06	51.009	0.82	164.081	0.28	0.170	8.90**
年份间 Year	1	233.092	156.54**	4316.121	212.06**	162.881	17.09**	76594.268	123.68**	22.084	883.36**
品种间 Line	254	2.581	1.73**	169.442	8.33**	162.125	2.38**	1420.848	2.29**	0.384	15.36**
年份×品种	254	1.489	1.77**	20.353	1.94**	68.040	1.10	619.287	1.05	0.025	1.32**
Year×line											
误差 Error	509	0.843		10.490		61.832		591.170		0.019	

* 和 ** 分别表示 5% 和 1% 显著水平。* and ** mean significance at 5% and 1% probability levels, respectively.

大豆荚粒性状在重组自交系群体中的分离及遗传参数的估算见表 2。不同荚粒性状的遗传变异系数和遗传力不同,存在较大的差异,其中四粒荚和每

荚粒数的遗传力较高。四粒荚和每荚粒数在群体中的分布趋向于高亲值亲本中豆 29,说明通过遗传重组,提高了群体的平均每荚粒数。

表 2 大豆荚粒性状在重组自交系群体中的分离及遗传参数的估算
Table 2 Distribution and estimates of genetic parameters of seed and pod traits of soybean RIL population

性状 Trait	年份 Year	中豆 29 Zhongdou 29	中豆 32 Zhongdou 32	中亲值 Mid-parent	平均值 Mean	最小值 Min	最大值 Max	遗传参数 Estimate of genetic parameters		
								σ_p^2	CCV (%)	H^2 (%)
一粒荚(个)	2004	0.45	3.90	2.18	0.64	0.00	5.40	0.273	46.59	14.42
One-seed pod	2005	0.40	1.80	1.10	1.60	0.00	8.10			
四粒荚(个)	2004	10.45	3.95	7.20	10.02	0.20	46.20	37.272	76.65	60.98
Four-seed pod	2005	11.40	2.60	7.00	5.91	0.00	20.70			
单株荚数(个)	2004	22.25	74.40	48.33	39.32	22.60	76.70	23.521	12.69	25.96
Number of pods	2005	29.00	70.20	49.60	37.15	15.00	64.70			
单株粒数(粒)	2004	73.75	198.40	136.08	120.77	65.50	252.10	200.390	12.64	20.99
Number of seeds	2005	94.60	183.80	139.20	103.26	34.60	175.60			
每荚粒数(粒)	2004	3.31	2.67	2.99	3.01	2.36	3.57	0.091	10.54	58.31
Number of seeds per pod	2005	3.26	2.43	2.85	2.72	1.88	3.39			

2.2 连锁图谱的构建

在合成的 322 对 SSR 引物中,有 109 对在亲本中扩增出清晰的多态性条带。利用这 109 个 SSR 标记构建连锁图谱,得到一张包含 23 个连锁群,共计 98 个 SSR 标记的连锁图谱(图 1),其中有 11 个标记没有连锁上。这 23 个连锁群与公共图谱有较好的可比性,SSR 标记在连锁群上的排列顺序和公共图

谱一致,但是没有连锁群和公共图谱中的 A1 和 D2 连锁群相对应。

2.3 大豆荚粒性状的 QTL 定位

2.3.1 区间作图法的检测 通过区间作图法对大豆的荚粒性状进行 QTL 定位,在 2004 年和 2005 年共计检测到 24 个 QTL,位于 9 个连锁群中(表 3)。

表 3 区间作图法(IM)检测到的大豆荚粒性状 QTLs
Table 3 Putative QTLs of soybean seed and pod traits detected by IM method

性状 Trait	连锁群 Linkage group	位点 QTL	区间标记 Marker flanking	距端距 Distance from the up end(cM)	LOD 值 LOD score	加性效应 AE	贡献率 R ² (%)	
2004	一粒荚 OP	3(C2)	<i>qOP-3-1</i>	Sat...270-Satt079	2.0	17.9	-1.80	41
		23(O)	<i>qOP-23-1</i>	Sat...291-Satt576	55.9	3.8	-0.19	7
	四粒荚 FP	2(A2)	<i>qFP-2-1*</i>	Satt228-Satt429	43.1	3.0	2.11	7
		17(I)	<i>qFP-17-1</i>	Sat...268-Satt671	6.9	37.5	6.00	72
		3(C2)	<i>qNP-3-1</i>	Sat...270-Satt079	2.0	4.9	-11.14	19
单株荚数 NP	3(C2)	<i>qNS-3-1</i>	Sat...270-Satt079	2.0	4.8	-30.36	18	
		2(A2)	<i>qNSP-2-1</i>	Sat...097-Sat...294	11.0	4.2	0.10	12
	2(A2)	<i>qNSP-2-2</i>	Satt409-Satt228	25.9	4.3	0.09	9	
	2(A2)	<i>qNSP-2-3</i>	Satt228-Satt429	41.2	3.6	0.09	9	
	11(D1b)	<i>qNSP-11-1</i>	Satt095-Sat...373	32.9	3.2	0.08	7	
	17(I)	<i>qNSP-17-1*</i>	Sat...268-Satt671	6.1	37.6	0.26	72	
	2005	一粒荚 OP	10(N)	<i>qOP-10-1</i>	Satt080-Sat379	52.6	4.2	-0.35
17(I)			<i>qOP-17-1</i>	Sat...268-Satt671	2.0	16.7	-0.69	30
四粒荚 FP		17(I)	<i>qFP-17-2*</i>	Sat...268-Satt671	6.1	52.5	4.94	80
		1(A2)	<i>qNP-1-1</i>	Scot...067-Satt589	25.6	2.9	-2.06	7
单株荚数 NP		7(C1)	<i>qNP-7-1</i>	Satt578-Satt621	5.0	3.1	1.95	6
		10(N)	<i>qNP-10-1</i>	Satt152-Satt080	47.2	3.7	-2.39	9
		14(F)	<i>qNP-14-1</i>	Sat...357-Satt554	6.1	3.7	-2.53	11
		17(I)	<i>qNP-17-1</i>	Sat...268-Satt671	0.2	3.8	-2.04	7
		7(C1)	<i>qNS-7-1</i>	Satt667-Satt294	11.0	3.1	5.35	6
		14(F)	<i>qNS-14-1</i>	Sat...357-Satt554	8.7	4.7	-8.11	14
		14(F)	<i>qNS-14-2</i>	Satt554-AW756935	26.0	2.8	-5.24	5

续表

性状 Trait	连锁群 Linkage group	位点 QTL	区间标记 Marker flanking	距端距 Distance from the up_end(cM)	LOD 值 LOD score	加性效应 AE	贡献率 R ² (%)
每荚粒数 NSP	14(F)	<i>qNS-14-3</i>	AW756935-Satt656	35.0	3.0	-5.56	7
	17(I)	<i>qNSP-17-1*</i>	Sat_268-Satt671	6.1	55.0	0.30	77

* : 表示 2 年稳定检测到的 QTL。

OP: one-seed pod; FP: four-seed pod, NP: number of pods, NS: number of seeds, NSP: number of seeds per pod. *: indicates the steady QTLs detected by different methods in two years.

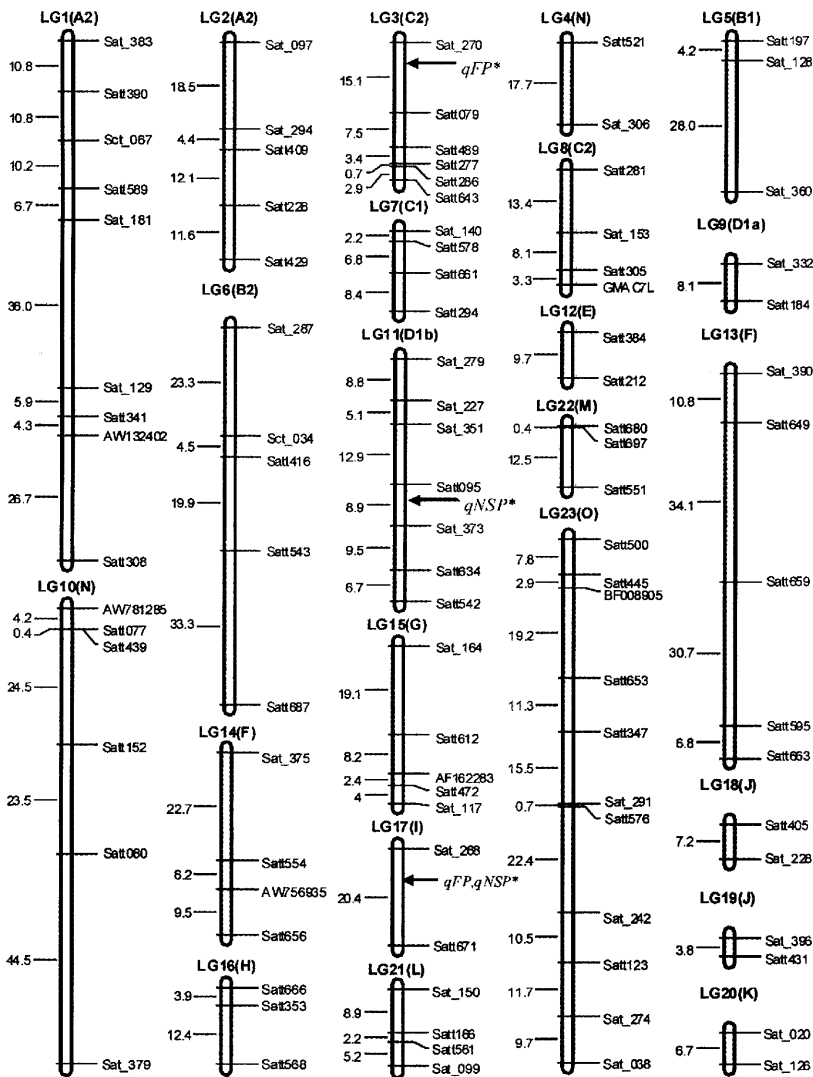


图 1 大豆 SSR 分子标记框架图谱 (括号内为对应的公共图谱连锁群编号)

Fig. 1 A linkage map of soybean constructed by SSR markers

* 箭头所示位置为 2 年重复检测到的稳定 QTL。* The arrows denote the linkage location of steady putative QTLs.

与一粒荚相关的 QTL 两年共计检测到 4 个,其中 2004 年检测到的 2 个 QTL 位于 C2 和 O 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 32,分别解释 41% 和 7% 的遗传变异;2005 年检测到的 2 个 QTL 位于 N 和 I 连锁群,增效基因也来源于亲本中豆 32,分别解释 8% 和 30% 的遗传变异,但 2 年没有检测到相同的 QTL。

与四粒荚相关的 QTL 两年共计检测到 3 个,其中 2004 年检测到的 2 个,位于 A2 和 I 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 29,分别解释 7% 和 72% 的遗传变异;2005 年检测到 1 个,和 2004 年检测到的位于 I 连锁群的 QTL 位置相同,增效基因来源于亲本中豆 29,解释了 80% 的遗传变异。

与单株荚数相关的 QTL 两年共计检测到 6 个,其中 2004 年检测到 1 个,位于 C2 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 32,解释 19% 的遗传变异;2005 年检测到 5 个,位于 A2、C1、N、F 和 I 连锁群,除位于 C1 连锁群的 QTL 增效基因来源于亲本中豆 29 外,其他 QTL 的增效基因都来源于亲本中豆 32,这 5 个 QTL 分别解释 7%、6%、9%、11% 和 7% 的遗传变异,2 年中没有检测到相同的 QTL。

与单株粒数相关的 QTL 两年共计检测到 5 个,其中 2004 年检测到 1 个,位于 C2 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 32,解释 18% 的遗传变异;2005 年检测到 4 个,其中 1 个位于 C1 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 29,解释 6% 的遗传变异,3 个位于 F 连锁群,增效基因都来源于亲本中豆 32,分别解释 14%、5%、7% 的遗传变异,2 年中没有检测到相同的单株粒数 QTL。

与每荚粒数相关的 QTL 两年共计检测到 5 个,其中 2004 年检测到 5 个,分别位于 A2、D1b、I 连锁群。其中位于 D1b 连锁群的增效基因来源于亲本中豆 32,解释 7% 的遗传变异。其他 4 个增效基因都来源于亲本中豆 29,分别解释 12%、9%、9% 和 72% 的遗传变异;2005 年检测到 1 个 QTL,位于 I 连锁群,它和 2004 年检测到的位于 I 连锁群的 QTL 处于相同位置,增效基因来源于亲本中豆 29,解释 77% 的遗传变异。

2.3.2 复合区间作图法的检测 通过复合区间作图法对大豆的荚粒性状进行 QTL 定位,在 2004 和 2005 年共计检测到 27 个 QTL,位于 8 个连锁群中(表 4)。

表 4 复合区间作图法(CIM)检测到的大豆荚粒性状 QTLs
Table 4 Putative QTLs of soybean seed and pod traits detected by CIM method

性状 Trait	连锁群 Linkage group	位点 QTL	区间标记 Marker flanking	距端距离 Distance from the up end(cM)	LOD 值 LOD score	加性效应 AE	贡献率 R ² (%)
2004							
一粒荚 OP	3(C2)	<i>qOP-3-2</i>	Sat_270-Satt079	2.0	17.5	-1.81	33
四粒荚 FP	3(C2)	<i>qFP-3-1*</i>	Sat_270-Satt079	2.0	6.9	-7.41	15
	17(I)	<i>qFP-17-2*</i>	Sat_268-Satt671	6.1	37.2	6.70	67
单株荚数 NP	3(C2)	<i>qNP-3-2</i>	Sat_270-Satt079	2.0	5.4	-11.04	17
单株粒数 NS	3(C2)	<i>qNS-3-1</i>	Sat_270-Satt079	2.0	5.3	-32.33	17
每荚粒数 NSP	2(A2)	<i>qNSP-2-4</i>	Sat_097-Sat_294	14.0	3.8	0.07	5
	2(A2)	<i>qNSP-2-5</i>	Sat_294-Satt409	20.5	3.7	0.06	4
	3(C2)	<i>qNSP-3-1</i>	Sat_270-Satt079	4.0	2.8	-0.20	11
	11(D1b)	<i>qNSP-11-2*</i>	Satt095-Sat_373	30.8	4.1	-0.07	5
	17(I)	<i>qNSP-17-1*</i>	Sat_268-Satt671	6.1	37.3	0.24	63
2005							
一粒荚 OP	17(I)	<i>qOP-17-2</i>	Sat_268-Satt671	2.0	16.5	-0.64	25
	23(O)	<i>qOP-23-2</i>	Sat_274-Sat_038	102.2	3.4	-0.27	4
四粒荚 FP	3(C2)	<i>qFP-3-2*</i>	Sat_270-Satt079	4.0	5.6	-4.85	18
	17(I)	<i>qFP-17-2*</i>	Sat_268-Satt671	6.1	51.9	4.75	73
单株荚数 NP	1(A2)	<i>qNP-1-2</i>	Set_067-Satt589	22.0	4.2	-1.98	6
	7(C1)	<i>qNP-7-2</i>	Satt578-Satt661	6.2	4.7	2.14	7
	7(C1)	<i>qNP-7-3</i>	Satt661-Satt294	15.0	5.1	2.22	8
	14(F)	<i>qNP-14-2</i>	Sat_357-Satt554	6.1	4.7	-2.57	10
	17(I)	<i>qNP-17-1</i>	Sat_268-Satt671	0.2	4.9	-2.11	7
单株粒数 NS	1(A2)	<i>qNS-1-1</i>	Set_067-Satt589	21.7	4.1	-5.74	7
	7(C1)	<i>qNS-7-2</i>	Satt661-Satt294	13.1	6.0	6.92	10
	14(F)	<i>qNS-14-4</i>	Sat_357-Satt554	10.0	8.1	9.71	20
	17(I)	<i>qNS-17-1</i>	Sat_268-Satt671	16.0	2.9	5.51	6
每荚粒数 NSP	11(D1b)	<i>qNSP-11-3</i>	Satt095-Sat_373	32.9	4.2	-0.07	4
	11(D1b)	<i>qNSP-11-4*</i>	Sat_373-634	37.8	4.2	-0.07	4
	17(I)	<i>qNSP-17-1*</i>	Sat_268-Satt671	6.1	52.8	0.29	69
	23(O)	<i>qNSP-23-1</i>	Satt477-Sat_274	94.5	4.5	0.07	5

* 表示 2 年稳定检测到的 QTL。

OP: One-seed pod, FP: Four-seed pod, NP: Number of pods, NS: Number of seeds, NSP: Number of seeds per pod. *: the steady QTLs detected by different methods in two years.

与一粒荚相关的 QTL 两年共计检测到 3 个,其中 2004 年检测到 1 个,位于 C2 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 32,解释 33% 的遗传变异;2005 年检测到 2 个,位于 I 和 O 连锁群,增效基因也来源于亲本中豆 32,分别解释 25% 和 4% 的遗传变异,2 年没有检测到相同的 QTL。

与四粒荚相关的 QTL 两年共计检测到 4 个,其中 2004 年检测到 2 个,位于 C2 和 I 连锁群,增效基因分别来源于亲本中豆 32 和中豆 29,分别解释 15% 和 67% 的遗传变异;2005 年检测到 2 个,和 2004 年检测到的 2 个位置相同,只是解释的遗传变异稍有差别,分别解释 18% 和 73% 的遗传变异。

与单株荚数相关的 QTL 两年共计检测到 6 个,其中 2004 年检测到 1 个,位于 C2 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 32,解释 17% 的遗传变异;2005 年检测到 5 个,位于第 A2、C1、C1、F 和 I 连锁群,除位于 C1 连锁群的 2 个增效基因来源于亲本中豆 29 外,其他的增效基因都来源于亲本中豆 32,这 5 个 QTL 分别解释 6%、7%、8%、10% 和 7% 的遗传变异,2 年没有检测到相同的 QTL。

与单株粒数相关的 QTL 两年共计检测到 5 个,其中 2004 年检测到 1 个,位于 C2 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 32,解释 17% 的遗传变异;2005 年检测到 4 个,其中 1 个位于 A2 连锁群,增效基因来源于亲本中豆 32,解释 7% 的遗传变异,另 3 个分别位于 C1、F 和 I 连锁群,增效基因都来源于亲本中豆 29,分别解释 10%、20%、6% 的遗传变异,2 年也没有检测到相同的单株粒数 QTL。

与每荚粒数相关的 QTL 两年共计检测到 9 个,其中 2004 年检测到 5 个,分别位于 A2、C2、D1b、I 连锁群。其中位于 C2、D1b 连锁群的 QTL 增效基因来源于亲本中豆 32,分别解释 11% 和 5% 的遗传变异。另 3 个 QTL 位于 A2 和 I 连锁群,增效基因都来源于亲本中豆 29,分别解释 5%、4%、63% 的遗传变异;2005 年检测到 4 个 QTL,位于 D1b 连锁群的 2 个增效基因来源于中豆 32,都解释 4% 的遗传变异。另 2 个分别位于 I 和 O 连锁群,增效基因来源于中豆 29,分别解释 69% 和 5% 的遗传变异,其中位于 I 连锁群的 QTL 和 2004 年检测到的位于 I 连锁群的 QTL 处于相同位置,应该是同一个 QTL。

2.3.3 两年两种作图方法检测到的稳定的 QTL

由于存在基因型与环境的交互,对 QTL 定位分析的难点就在于能在不同的遗传背景和不同的环境中

找到稳定的 QTL。在本研究中,通过对 2 年两种作图方法的比较,找到了四粒荚和每荚粒数稳定的 QTL,分布在 C2、D1b 和 I 连锁群中(表 3、表 4“*”所示)。其中位于 I 连锁群的控制四粒荚和每荚粒数的 QTL 在 2 年和 2 种作图方法中都被检测到,而且其贡献率都比较高,都在 70% 左右,这些 QTL 可以用于品种改良和分子标记辅助育种。采用 CIM 法,在 C2 号连锁群上检测到 1 个控制四粒荚的 QTL 在 2004 和 2005 年重复出现,位置相同,贡献率相差不大(15% 和 18%)。在 D1b 连锁群上检测到的一个控制每荚粒数 QTL 也在 2004 和 2005 年重复出现,位置相同,但贡献率都较小,为 5% 和 4%。一些遗传贡献率高的 QTL 在采用 IM 法和 CIM 法时都被检测到,但是是一些遗传贡献率低的 QTL 采用 CIM 法在 2 年中重复检测到,采用 IM 法却没有检测到,说明采用 IM 法检测有可能漏掉一些微效 QTL。

利用 IM 法和 CIM 法,2004 年检测到 1 个一粒荚 QTL 位于 C2 连锁群,遗传贡献率都超过 30% (33% 和 41%);但是在 2005 年却没有在相同位置检测到一粒荚 QTL,而是在 I 连锁群检测到 1 个一粒荚 QTL,遗传贡献率都超过了 20% (25% 和 30%)。可能是因为该性状与环境存在极显著的交互,因此 QTL 对环境表现比较敏感。

2.3.4 两种作图方法的比较 2 年的定位结果表明,区间作图法和复合区间作图法的检测结果基本上相同,只是检测到的 QTL 在遗传贡献率上稍有差别,但是作用方向是一致的。同时,复合区间作图法的检测效率较区间作图法稍高,前者共检测到 27 个 QTL,而后者检测到 24 个。结合区间作图法和复合区间作图法,两种方法中都检测到的 QTL 应该是可靠的 QTL。

2.4 四粒荚和每荚粒数的相关关系

彭玉华等^[12]发现四粒荚数与每荚粒数存在着正相关关系,我们之前的遗传分析也表明,四粒荚数与每荚粒数存在着正相关,相关系数为 0.932^[13]。在本试验中,通过分析四粒荚和每荚粒数的 LOD 值分布曲线可知,两条曲线的变化趋势基本上相同(图 2)。定位到的四粒荚和每荚粒数的 QTL 位置、对应的最大 LOD 值以及贡献率也基本相等。据此可以推断,四粒荚数和每荚粒数受相同的主效 QTL 调控。其中位于标记 Sat_268 ~ Satt671 之间的主效 QTL,增效基因都来源于中豆 29,解释了较大的遗传变异(都超过了 60%)。

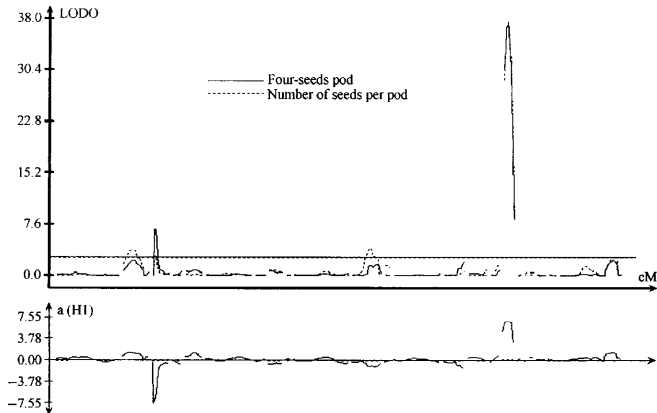


图2 四粒荚和每荚粒数 LOD 值分布曲线比较
Fig.2 Distribution of LOD values of four-seeds pod and number of seeds per pod

3 讨论

由于存在基因型 × 环境互作, 相同性状在不同环境条件下表型值不同, 因此 QTL 定位结果可能不尽相同。兰进好等^[20]在北京和新疆 2 个差异较大的生态环境条件下比较分析影响玉米产量性状的 QTL, 共定位到 47 个 QTL, 绝大部分只在单一环境检测到。韩龙植等^[21]采用 5 种不同的生长环境对水稻秆长、穗长、穗粒重等水稻主要农艺性状进行 QTL 定位分析, 结果表明, 在不同生长环境中检测到的与秆长、穗长、穗粒数和穗抽出色度相关的 QTL 数目有较大差异, 同时多数 QTL 均在单一环境中检测到。Fulton 等^[22]认为, 在多种环境中检测到的 QTL 可能比那些表现出更高效应值但是只能在一种环境中检测到的 QTL 更实用, 这样的 QTL 在转移到新的遗传背景或在不同的环境条件下评价时更稳定。本文方差分析结果表明, 一粒荚等 5 个荚粒性状年份间差异都达到了极显著的水平。荚粒性状在重组自交系群体中的分布显示, 2005 年的荚粒性状表现都较 2004 年的差, 可能是因为 2005 年武汉地区出现了长时间的高温干旱天气, 导致该年度大豆提前成熟所致(成熟期较正常年份提前了 10 余天)。此外, 一粒荚、四粒荚和每荚粒数存在极显著的遗传与环境互作。虽然用 2 年数据分别定位了 21 和 30 个 QTL 位点, 但稳定重复出现的只有 3 个性状的 4 个位点, 说明在进行数量性状 QTL 定位时, 进行多年多点有重复的田间试验是必要的。

作物相关性状 QTL 的集中分布是一种普遍现

象。吴晓雷等^[6]发现与产量密切相关的重要农艺性状的一些 QTL 位点集中分布在 C2 和 N 等连锁群的特定区域; 兰进好等^[20]也发现玉米产量性状 QTL 集中分布的现象; 郭龙彪等^[23]在水稻中检测到抽穗期、有效穗、穗长、株高、结实率的 5 个 QTL 位于同一区域; Butruille 等^[24]在油菜中也发现了类似的 QTL 集中分布现象。本研究中心定位的荚粒性状 QTL 主要分布在 A2、C2、F 和 I 等连锁群, 其中 C2 连锁群 2.1 cM 的区域分布了一粒荚、四粒荚等 5 个荚粒性状的 QTL。这种相关性状 QTL 位点聚集分布的现象, Mansur 等^[25]认为与性状间的高度遗传力和遗传相关一致, 可能是一个上位基因作用的结果, 也可能是控制这些性状的基因紧密排列所致。

大豆遗传图谱是进行大豆重要性状 QTL 分析的基础, 遗传图谱的密度和准确性决定了 QTL 定位的精度和准确度。本试验构建的基于 SSR 标记的大豆遗传图谱包含 98 个 SSR 标记, 虽然采用了较大的定位群体, 但由于图谱中标记数相对较少, 所以目前的 QTL 仍是初步定位的结果。由于 I 连锁群上四粒荚目标 QTL 区域现有标记较少, 还需通过共线性和微共线性的方法在其他模式植物中寻找新的分子标记。目前, 本实验室正在对该图谱进行加密和完善, 以求得到更加准确的定位结果。

虽然荚粒性状年份间存在极显著的差异, 一粒荚、四粒荚和每荚粒数与环境也存在极显著的互作, 但是, 我们仍然采用两种方法定位到 2 年重复再现的 QTL: *qFP* 和 *qNSP*。这些 2 年重复稳定再现的荚粒性状 QTL 对提高大豆产量具有十分重要的意义。今后,

我们将在实现对 QTL 初定位区域进行分子标记加密的同时,通过分子标记辅助选择选育目标 QTL 区域的近等基因系群体,实现对目标 QTL 的精细定位。同时寻找与荚粒性状 QTL 更加紧密连锁的分子标记,通过回交和分子标记辅助选择的方法,聚合有利的产量构成因子 QTL,达到培育新的优良大豆品种的目的。

4 结论

大豆重组自交系群体 soy01 的荚粒性状在家系间的差异达到极显著水平,遗传变异大,该群体适合作有关性状的 QTL 定位分析。

构建了一张基于大豆重组自交系群体 soy01、包含 23 个连锁群,共 98 个 SSR 标记的大豆框架图谱。

采用 IM 法和 CIM 法,两年分别找到与荚粒性状相关的 24 个 QTL 和 27 个 QTL,其中 CIM 法找到 2 个四粒荚 QTL 和 2 个每荚粒数 QTL 能在两年中稳定出现,这些稳定 QTL 可用于精细定位和分子标记辅助育种。

致谢:长江大学农学院董超同学和王娜同学在试验过程中提供了帮助,特此致谢!

References

[1] Mansur L M, Orf J H, Chase K, Jarvik T, Cregan P B, Lark K G. Genetic mapping of agronomic traits using recombinant inbreds of soybean. *Crop Sci*, 1996, 36(5): 1327-1336

[2] Hoeck J A, Fehr W R, Shoemaker R C, Welke G A, Johnson S L, Gianzio S R. Molecular marker analysis of seed size in soybean. *Crop Sci*, 2003, 43: 68-74

[3] Lee S H, Bailey M A, Mian M A R, Carter Jr T E, Ashley D A, Hussey R S, Parrott W A, Boerma H R. Molecular markers associated with soybean plant height, lodging, and maturity across locations. *Crop Sci*, 1996, 36: 728-735

[4] Mian M A R, Bailey M A, Tamulonis J P, Shipe E R, Carter Jr T E, Parrott W A, Ashley D A, Hussey R S, Boerma H R. Molecular markers associated with seed weight in two soybean populations. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 1011-1016

[5] Reyna V, Sneller C H. Evaluation of marker-assisted introgression of yield QTL alleles into adapted soybean. *Crop Sci*, 2001, 41: 1317-1321

[6] Wu X-L(吴晓雷), Wang Y-J(王永军), He C-Y(贺超英), Chen S-Y(陈爱宜), Gai J-Y(盖钧镛), Wang X-C(王学臣). QTLs mapping of some agronomic traits of soybean. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2001, 28(10): 947-955 (in Chinese with English abstract)

[7] Zhang W K, Wang Y J, Luo G Z, Zhang J S, He C Y, Wu X L, Gai J Y, Chen S Y. QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine max* L. Merr.) genetic map and their association with EST markers. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 1131-1139

[8] Yuan J, Njiti V N, Meksem K, Iqbal M J, Trivitayakorn K, Kassem My A, Davis G T, Schmidt M E, Lightfoot D A. Quantitative trait loci in two soybean recombinant inbred line populations segregating for yield and disease resistance. *Crop Sci*, 2002, 42: 271-277

[9] Conceicao V C, Vallee B L, McIaird P, Pineda N, Meyer J, Hummel L, Yang J, Wu K, Delannay X. Introgression of a quantitative trait locus

for yield from *Glycine soja* into commercial soybean cultivars. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 575-582

[10] Cui Z-L(崔章林), Gai J-Y(盖钧镛), Carter T E Jr, Qiu J-X(邱家驹), Zhao T-J(赵团结). The Released Chinese Soybean Cultivars and Their Pedigree Analysis (1923-1995) (中国大豆育成品种及其系谱分析). Beijing: China Agriculture Press, 1998 (in Chinese)

[11] Zhao T-J(赵团结), Gai J-Y(盖钧镛), Li H-W(李海旺), Xing H(邢邯), Qiu J-X(邱家驹). Advances in breeding for super high-yielding soybean cultivars. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2006, 39(1): 29-37 (in Chinese with English abstract)

[12] Peng Y-H(彭玉华), Zhu J-C(朱健超), Yang G-B(杨国保), Yuan J-Z(袁建中). Relation of soybean leaf shape distribution to 4-seeded pods. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1994, 20(4): 501-503 (in Chinese with English abstract)

[13] Zhou X-A(周新安), Wang X-Z(王贤智), Wu X-J(吴学军), Cai S-P(蔡淑平), Sha A-H(沙爱华), Qiu D-Z(邱德珍), Zhang X-J(张晓娟). Relation of three-seed and four-seed pods with yield of RIL in soybeans. *China J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 2005, 27(4): 22-25 (in Chinese with English abstract)

[14] Gai J-Y(盖钧镛). Experimentation Methods (试验统计方法), 3rd edn. Beijing: China Agriculture Press, 2000. pp 248-252 (in Chinese)

[15] Ma Y-H(马育华). Foundation of Statistical Genetics and Plant Breeding(植物育种的数量遗传学基础). Jiangsu: Jiangsu Sci & Tech Press, 1984. pp 442-445(in Chinese)

[16] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, Lark K G, Conceicao V C, Delannay X, Specht J E, Cregan P B. A new integrated genetic linkage map of soybean. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 122-128

[17] Liu R-H(刘仁虎), Meng J-L(孟金波). MapDraw: a Microsoft Excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data. *Hereditas* (遗传), 2003, 25(3): 317-321 (in Chinese with English abstract)

[18] Wang S C, Basten C J, Zeng Z B. Windows QTL Cartographer 2.5 User Manual, Department of Statistics, N. C. State University, Raleigh, N. C. 2005

[19] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, Kinoshita T. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11-13

[20] Lan J-H(兰进好), Li X-H(李新海), Gao S-R(高树仁), Zhang B-S(张宝石), Zhang S-H(张世煌). QTL analysis of yield components in maize under different environments. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31(10): 1253-1259 (in Chinese with English abstract)

[21] Han L-Z(韩龙柱), Qiao Y-L(乔永利), Zhang S-Y(张三元), Cui G-L(曹桂兰), Ye C-R(叶昌荣), Xu F-R(徐福荣), Dai L-Y(戴陆阳), Ye J-D, Koh H-J. QTL analysis of some agronomic traits in rice under different growing environments. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2005, 38(6): 1080-1087(in Chinese with English abstract)

[22] Fulton T M, Beck Bunn T, Emmaty D, Eshed Y, Lopez J, Petiard V, Uhlrig J, Zamir D, Tanksley S D. QTL analysis of an advanced backcross of *Lycopersicon peruvianum* to the cultivated tomato and comparisons with QTLs found in other wild species. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 881-894

[23] Guo L-B(郭龙彪), Luo L-J(罗利军), Xing Y-Z(邢永志), Xu C-G(徐才国), Wang Y-P(王一平), Mei H-W(梅捍卫), Zhong D-B(钟代彬), Ying C-S(应存山), Shi C-H(石春海). QTL mapping and interaction analysis for the important agronomic traits of Shanyou 63 recombinant inbred lines in rice. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), 2002, 10(4): 327-333 (in Chinese with English abstract)

[24] Butruille D V, Guries R P, Osborn T C. Linkage analysis of molecular markers and quantitative trait loci in population of inbred backcross lines of *Brassica napus* L. *Genetics*, 1999, 153: 949-964

[25] Mansur L M, Orf J, Lark K G. Determining the linkage of quantitative trait loci to RFLP marker using extreme phenotype of recombinant inbred of soybean, *Glycine max* (L.) Merr. *Theor Appl Genet*, 1993, 86: 914-918