

不同世代间大豆蛋白质和脂肪含量相关 QTL 的稳定性分析

李文¹, 孙明明², 赵丹³, 张继雨¹, 曹广禄¹, 韩英鹏¹, 李文滨¹, 滕卫丽¹

(1. 东北农业大学 大豆研究所/大豆生物学教育部重点实验室/农业部东北大豆生物学与遗传育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院 信息中心, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 哈尔滨商业大学 食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:以高油大豆东农46为母本, 高蛋白大豆L-100为父本, 建立 F_2 、 $F_{2:3}$ 、 $F_{2:4}$ 、 $F_{2:5}$ 代群体。应用SSR标记技术, 对不同世代在不同地点条件下遗传群体的蛋白质、脂肪含量进行QTL分析。结果表明: 不同世代群体的蛋白质含量、脂肪含量均接近于正态分布, 其中群体脂肪含量偏向于东农46, 蛋白质含量偏向于L-100。在 $F_{2:4}$ 代检测到2个与蛋白质含量相关的QTL, 分别位于D2和K连锁群, 能够解释的表型变异率为1.92%~2.03%, 其中位于Satt226附近的QTL在 F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:5}$ 代能够稳定地被检测到。在 $F_{2:4}$ 代检测到2个与脂肪含量相关的QTL, 分别位于F和B2连锁群, 能够解释的表型变异率为2.56%~6.98%, 其中位于Satt577附近的QTL在 $F_{2:3}$ 、 $F_{2:5}$ 代能够稳定地被检测到。因此, 本研究获得1个与蛋白质含量相关的稳定QTL和1个与脂肪含量相关的稳定QTL。

关键词:大豆; 遗传群体; 蛋白质含量; 脂肪含量; QTL; 稳定遗传

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2015.01.0042

Stability Analysis of QTL Associated with Soybean Protein and Oil Content across Different Generations

LI Wen¹, SUN Ming-ming², ZHAO Dan³, ZHANG Ji-yu¹, CAO Guang-lu¹, HAN Ying-peng¹, LI Wen-bin¹, TENG Wei-li¹

(1. Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University/Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education/Key Laboratory of Soybean Biology and Breeding/Genetics of Chinese Agriculture Ministry, Harbin 150030, China; 2. Information Center, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 3. School of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: In this study, F_2 , $F_{2:3}$, $F_{2:4}$ and $F_{2:5}$ generation families were formed from a cross between high oil content cultivar Dongnong 46 and the high protein content line L-100. QTL analysis of protein, oil contents for genetic populations were carried *via* using SSR markers under different generations in different locations. Distribution of the protein and oil content in different generations nearly fitted normal distribution. The expression of the oil content trait in the populations trended to that of the parent Dongnong 46, and the expression of the protein content trait trended to that of the parent L-100. In $F_{2:4}$ generation, 2 QTLs of protein content were detected, located in MLG D2, K, and explained the phenotypic variation from 1.92% to 2.03%; especially the QTL in the vicinity of Satt226 in F_2 , $F_{2:3}$ and $F_{2:5}$ generations under different environmental conditions could be stably detected. In $F_{2:4}$ generation, 2 QTLs of oil content were detected, located in MLG F, B2, and explained the phenotypic variation from 2.56% to 6.98%; especially the QTL in the vicinity of Satt577 in $F_{2:3}$ and $F_{2:5}$ generations under different environmental conditions could be stably detected. This study obtained a stable QTL associated with protein content and oil content, separately.

Keywords: Soybean; Genetic population; Protein content; Oil content; QTL; Genetic stability

大豆是世界上重要油料作物之一, 其籽粒蛋白质含量约为40%, 脂肪含量约为20%, 是人类植物蛋白和脂肪的主要来源^[1]。改良大豆品质对改善人类膳食结构具有重要的意义。大豆蛋白质和脂肪含量属于数量性状, 受多基因控制, 其性状表现是基因型与环境共同作用的结果。Chapman等^[2]利用Essex和Williams形成的重组自交系群体将有关蛋白质和脂肪含量QTL定位在M、L、A1、D2等连锁群上, 陈庆山等^[3]利用Charleston和东农594的 $F_{2:10}$ 代重组自交系

将有关蛋白质和脂肪含量QTL定位在B2、D1a、N、E等连锁群上。因此前人定位的蛋白质含量和脂肪含量QTL几乎分散在大部分连锁群上^[4], 表明关于蛋白质和脂肪含量QTL的数量很多, 但在不同遗传背景的群体中检测到的QTL数量有差异, 所在的连锁群或连锁区域也多有不同^[5]。因此分析在不同世代间QTL的稳定性有助于提高大豆蛋白质和脂肪含量的选择效率, 加速育种进程^[6]。

本研究通过构建不同世代的遗传群体, 采用完

收稿日期: 2014-04-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31471517); 国家“十二五”科技支撑计划(2011BAD35B06, 2013BAD20B04); 现代农业产业技术体系(CARS-04-PS04); 黑龙江省教育厅科技项目(10531010, 12541202, 12541210); 黑龙江省自然科学基金(C201123)。

第一作者简介: 李文(1987-), 男, 硕士, 主要从事大豆品质性状的分子标记研究。E-mail: liwenlevi@163.com。

通讯作者: 滕卫丽(1972-), 女, 博士, 研究员, 硕导, 主要从事大豆遗传育种与生物技术研究。E-mail: twlneau@163.com。

备区间作图法(ICIM)对蛋白质和脂肪含量进行 QTL 分析,以期明确不同世代间 QTL 的遗传稳定性,从而为大豆蛋白质和脂肪含量的分子辅助育种提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

高油品种东农 46(东北农业大学大豆研究所选育)和高蛋白大豆种质 L-100(由日本引进)及其杂交衍生的 F_1 代单株($n=30$)和 F_2 、 $F_{2:3}$ 、 $F_{2:4}$ 、 $F_{2:5}$ 代群体($n=131$)。

参照 Cregan 等的“大豆公共图谱”选择 600 对 SSR 引物,用于本研究中大豆遗传图谱的构建,引物序列均在 Soybase 网站上获得,并由哈尔滨博仕生物技术有限公司合成。

1.2 试验设计

2011 和 2012 年春季分别将供试材料 F_1 代单株、 $F_{2:3}$ 代家系种植于东北农业大学香坊农场试验基地,秋季收获 F_2 代单株、 $F_{2:4}$ 代家系的籽粒。在 2011 和 2012 年冬季分别将供试材料 F_2 代单株、 $F_{2:4}$ 代家系种植于海南,分别在第二年春季收获 $F_{2:3}$ 、 $F_{2:5}$ 代家系的籽粒。在 V5 时期取亲本和各分离群体的嫩叶,置于 -80°C 冰箱中备用。

1.3 试验方法

1.3.1 蛋白质和脂肪含量的测定 取适量大豆籽粒,用 FOSS-1241 谷物分析仪测定蛋白质和脂肪含量。蛋白质含量:以蛋白质占大豆种子干物质重量的百分率为标准;脂肪含量:以脂肪占大豆种子干物质重量的百分率为标准,用百分数(%)表示^[7]。

1.3.2 总 DNA 的提取 取大豆嫩叶大约 1 g 左

右,按照 CTAB 法提取亲本和各分离群体的总 DNA,参照楼巧君等^[8]的方法。

1.3.3 QTL 定位分析 利用 Mapmaker/EXP3.0b 和 Mapchart2.1 构建遗传图谱^[9],利用 QTL IciMapping V3.2 的完备区间作图法(ICIM),LOD 值等于 2.5 作为 QTL 存在的阈值,进行 QTL 定位和效应估算^[4]。利用获得的与蛋白质含量、脂肪含量 QTL 相关的分子标记,在 F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:5}$ 代不同世代分离群体中进行检测,检验 QTL 在不同世代中的稳定性。

2 结果与分析

2.1 大豆各世代群体蛋白质和脂肪含量表现型的分布

试验结果表明:蛋白质和脂肪含量在亲本之间存在明显差异,在不同世代间也存在着差异,蛋白质含量的变化幅度为 38.3% ~ 51.2%,标准差在 1.24 ~ 2.34,脂肪含量的变化幅度为 17.30% ~ 23.10%,标准差在 0.60 ~ 0.96。各世代群体的蛋白质、脂肪含量分布均接近于正态分布,其中蛋白质含量偏向于 L-100,脂肪含量偏向于东农 46(表 1 和图 1)。

2.2 遗传连锁图谱构建

利用 600 对 SSR 引物对亲本东农 46 和 L-100 进行筛选,共获得 150 对具有多态性的引物,多态性引物频率为 25.0%。选择亲本间多态性良好的 95 对 SSR 引物对 $F_{2:4}$ 代重组自交系群体进行检测,并构建遗传连锁图谱。遗传连锁图谱上总标记数 83 个,分布在 18 个连锁群上,全长 2 858.0 cM。标记间平均距离 34.44 cM,最小间距为 7.1 cM,其中 D2、H 和 K 连锁群上标记数较多。

表 1 亲本和群体的蛋白质和脂肪含量统计分析

Table 1 Statistical analysis for protein and oil content of parents and different populations

性状 Traits	世代 Generation	群体 Populations					亲本 Parents	
		均数 Mean	幅度 Range	标准差 SD	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness	东农 46 Dongnong 46	L-100
蛋白质 Protein	F_2	44.95	42.00 ~ 51.20	1.44	2.01	0.96	42.00	44.00
	$F_{2:3}$	44.54	40.70 ~ 48.40	1.24	0.62	-0.36	40.35	43.23
	$F_{2:4}$	43.11	38.30 ~ 46.70	1.39	1.06	0.57	42.00	46.70
	$F_{2:5}$	45.58	40.50 ~ 50.90	2.34	-0.81	0.04	39.60	43.50
脂肪 Oil	F_2	19.85	17.60 ~ 22.50	0.96	-0.34	0.11	21.40	18.56
	$F_{2:3}$	20.20	17.30 ~ 22.10	0.96	2.05	-0.35	22.20	19.70
	$F_{2:4}$	20.90	18.70 ~ 23.10	0.61	0.39	-0.92	21.80	19.80
	$F_{2:5}$	20.50	17.80 ~ 21.40	0.60	2.67	-1.29	22.20	19.60

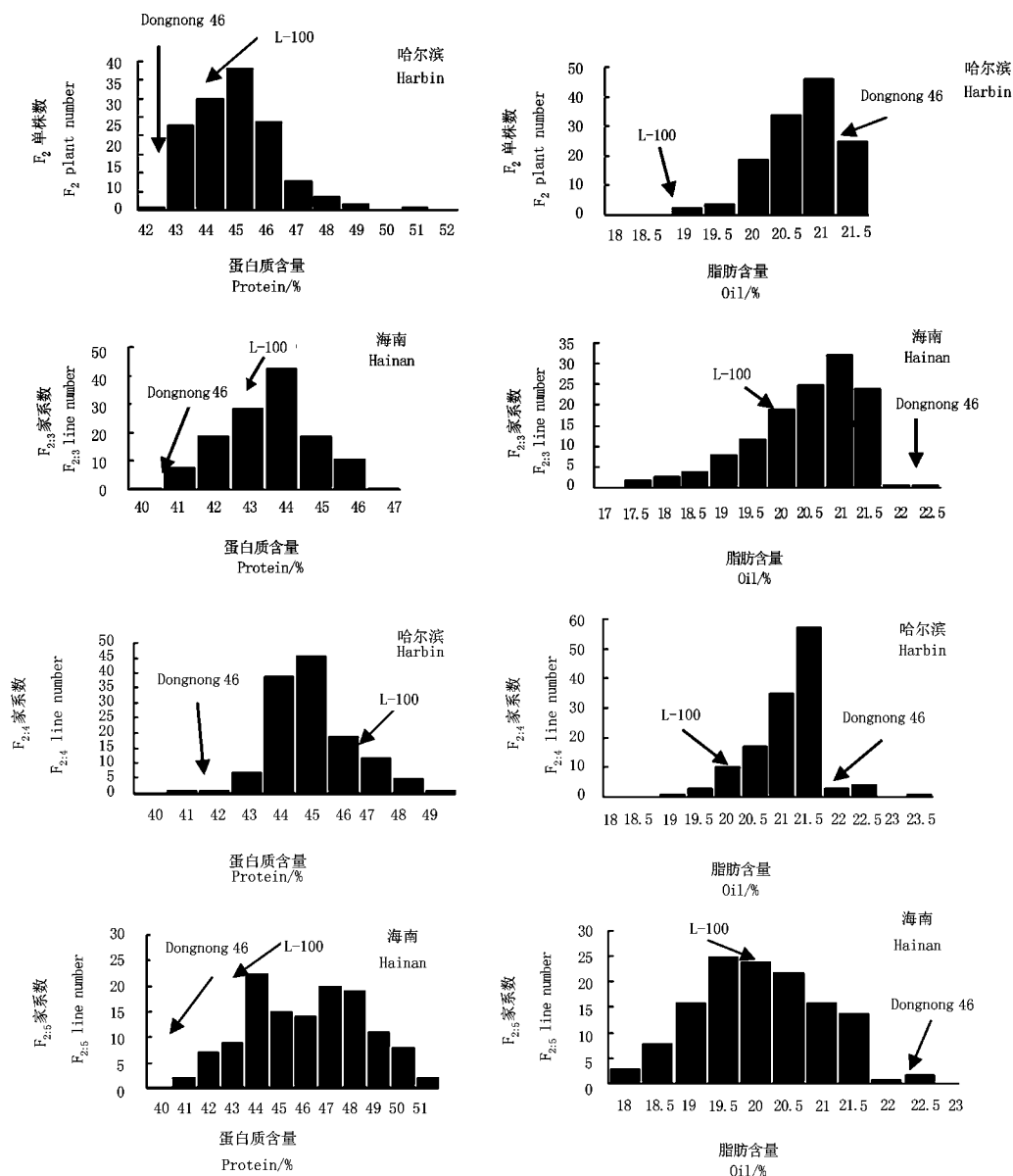


图 1 大豆各世代群体蛋白质和脂肪含量频率分布图

Fig. 1 Frequency distribution of soybean protein and oil content in different generations

2.3 $F_{2:4}$ 代分离群体中大豆蛋白质和脂肪含量 QTL 定位

在以 $F_{2:4}$ 代大豆分离群体的 SSR 标记作为变异分析的基础上,应用完备区间作图法(ICIM),LOD 取 2.5 作为阈值,进行 QTL 定位和效应估算^[10]。在 $F_{2:4}$ 代大豆分离群体中,检测到 2 个与蛋白质含量相关的 QTL,

分别位于 D2 和 K 连锁群上,分别在标记区间 Satt226 ~ Satt386 和 Satt381 ~ Sat_116,其中以 K 连锁群上的 QTL 贡献率较大,为 2.03%;检测到 2 个与脂肪含量相关的 QTL,分别位于 F 和 B2 连锁群上,分别在标记区间 Satt114 ~ Satt490 和 Satt577 ~ Satt556,其中以 F 连锁群上的 QTL 贡献率较大,为 6.98% (表 2)。

表 2 $F_{2:4}$ 代检测到的蛋白质和脂肪含量 QTL

Table 2 QTLs of soybean protein and oil content in $F_{2:4}$ population

性状 Trait	连锁群 LG	标记区间 Maker interval	QTL 位置 Position of QTL/cM	似然比 LR	加性效应 a	贡献率 R ² /%
蛋白质含量 Protein content	D2	Satt226 ~ Satt386	22	5.0225	0.2953	1.92
	K	Satt381 ~ Sat_116	50	10.8698	0.1982	2.03
脂肪含量 Oil content	F	Satt114 ~ Satt490	22	2.5215	0.2076	6.98
	B2	Satt577 ~ Satt556	11	2.8807	0.2114	2.56

2.4 不同分离世代群体中大豆蛋白质和脂肪含量稳定 QTL 检测

利用 $F_{2,4}$ 代分离群体中获得大豆蛋白质和脂肪含量 QTL 相关标记,对 F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:5}$ 代分离群体进行检测。结果表明:在 F_2 、 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:5}$ 代均稳定检测

到 1 个与蛋白质含量相关的 QTL,位于 D2 连锁群上,在标记区间 Satt226 ~ Satt386,其中以 $F_{2:5}$ 代的贡献率较高;在 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:5}$ 代均稳定检测到 1 个与脂肪含量相关的 QTL,位于 B2 连锁群上,在标记区间 Satt226 ~ Satt386(表 3)。

表 3 大豆不同世代检测到的与蛋白质和脂肪含量相关的稳定 QTL

Table 3 QTLs of protein and oil content in different soybean generations

性状 Trait	世代 Generation	连锁群 LG	标记区间 Marker interval	QTL 位置 Position of QTL/cM	似然比 LR	加性效应 a	贡献率 R ² /%
蛋白质含量 Protein content	F_2	D2	Satt226 ~ Satt386	17	11.1227	0.3127	1.62
	$F_{2:3}$	D2	Satt226 ~ Satt386	19	6.2337	0.2448	4.43
	$F_{2:5}$	D2	Satt226 ~ Satt386	16	6.2341	0.2428	5.07
脂肪含量 Oil content	$F_{2:3}$	B2	Satt577 ~ Satt556	16	2.6171	0.2119	2.69
	$F_{2:5}$	B2	Satt577 ~ Satt556	12	2.9309	0.2131	2.43

3 结论与讨论

本研究在 F_2 、 $F_{2:3}$ 、 $F_{2:4}$ 和 $F_{2:5}$ 代获得了 1 个关于蛋白质含量稳定遗传的 QTL,位于 D2 连锁群的 Satt226 ~ Satt386 区间内,其在不同世代的遗传贡献率为 1.62% ~ 5.07%,说明各世代群体具有遗传稳定性,与刘顺湖等^[4]检测到的 QTL 定位在同一连锁群上(D2),对于大豆高蛋白质育种具有重要意义。

在 $F_{2:3}$ 、 $F_{2:4}$ 、 $F_{2:5}$ 代检测到 1 个与脂肪含量 QTL,其位于 B2 连锁群 Satt577 ~ Satt556 区间,其遗传贡献率为 2.43% ~ 6.98%,这与 Liu 等^[11]报道的位点相一致。 F_2 代未检测到稳定的 QTL 位点,可能是由于低世代分离群体不稳定造成的^[12];另一个可能是由于 F_2 代群体的单株种子量较少,试验数据存在一定的误差^[13],从而影响后续的 QTL 定位;另外环境条件也是影响 QTL 不稳定的一个主要因素^[14]。

检测到 1 个与蛋白质含量相关的 QTL GM - D2 (Satt226 ~ Satt386) 和 1 个与脂肪含量相关的 QTL GM - B2 (Satt577 ~ Satt556) 在不同世代间稳定出现,这两个 QTL 在大豆分子标记辅助育种工作中将具有一定的应用价值。

参考文献

- [1] Hyten D L, Pantalone V R, Sams C E, et al. Seed quality QTL in a prominent soybean population[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109 (3): 552 - 561.
- [2] Chapman A, Pantalone V R, Ustun A, et al. Quantitative trait loci for agronomic and seed quality traits in an F_2 and $F_{4:6}$ soybean population[J]. Euphytica, 2003, 129 (3): 387 - 393.
- [3] 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. (Chen Q S, Zhang Z C, Liu C Y, et al. QTL analysis of major agronomic traits in soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(1): 41 - 47.)
- [4] 刘顺湖, 周瑞宝, 喻德跃, 等. 大豆蛋白质有关性状的 QTL 定位[J]. 作物学报, 2009, 35 (12): 2139 - 2149. (Liu S H, Zhou R B, Yu D Y, et al. QTL mapping of protein related traits in soybean[J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35 (12): 2139 - 2149.)
- [5] 魏峡, 孙鸿雁, 唐晓飞, 等. 大豆遗传群体选择与品质 QTL 的获得[J]. 分子植物育种, 2009, 7 (4): 727 - 735. (Wei L, Sun H Y, Tang X F, et al. Soybean genetic group selection and quality of QTL obtained[J]. Molecular Plant Breeding, 2009, 7 (4): 727 - 735.)
- [6] 沈新莲, 袁有禄, 郭旺珍, 等. 棉花高强纤维主效 QTL 的遗传稳定性及它的分子标记辅助选择效果[J]. 高技术通讯, 2001, 11 (10): 13 - 16. (Shen X L, Yuan Y L, Guo W Z, et al. Major QTL for fiber strength genetic stability and its marker-assisted selection effect[J]. High Technology Letters, 2001, 11 (10): 13 - 16.)
- [7] 薛雅琳, 王雪莲, 赵会义, 等. 利用近红外分析技术测定大豆水分含量方法的研究[J]. 中国油脂, 2009, 34 (7): 69 - 71. (Xue Y L, Wang X L, Zhao H Y, et al. Measurement of moisture content in soybean by near - infrared spectroscopy technique[J]. China Oils and Fats, 2009, 34 (7): 69 - 71.)
- [8] 楼巧君, 陈亮, 罗利军. 三种水稻基因组 DNA 快速提取方法的比较[J]. 分子植物育种, 2005, 3 (5): 749 - 752. (Lou Q J, Chen L, Luo L J. Three kinds of rice genomic DNA rapid extraction methods[J]. Molecular Plant Breeding, 2005, 3 (5): 749 - 752.)
- [9] Cheng L, Wang Y, Zhang C, et al. Genetic analysis and QTL detection of reproductive period and post - flowering photoperiod responses in soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123 (3): 421 - 429.
- [10] Gondo T, Sato S, Okumura K, et al. Quantitative trait locus analysis of multiple agronomic traits in the model legume lotus japonicus[J]. Genome, 2007, 50 (7): 627 - 637.
- [11] Liu B, Abe J. QTL mapping for photoperiod insensitivity of a Japanese soybean landrace sakamotowase[J]. Journal of Heredity, 2010, 101 (2): 251 - 256.
- [12] Wang D, Graef G L, Procopiuk A M, et al. Identification of putative QTL that underlie yield in interspecific soybean backcross populations[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108 (3): 458 - 467.
- [13] 姚丹, 王丕武, 张君, 等. 大豆脂肪含量遗传分析及 QTL 定位研究[J]. 华南农业大学学报, 2012, 33 (4): 438 - 443. (Yao D, Wang P W, Zhang J, et al. Inheritance analysis and mapping QTL on fat content trait in soybean [J]. Journal of South China Agricultural University, 2012, 33 (4): 438 - 443.)
- [14] Sun Y N, Pan J B, Shi X L, et al. Multi - environment mapping and meta - analysis of 100 - seed weight in soybean[J]. Molecular Biology Report, 2012, 39 (10): 9435 - 9443.