

大豆定向选择群体耐旱性位点基因型分析及 QTL 定位

李灿东^{1,2}, 蒋洪蔚^{1,2}, 刘春燕^{1,2}, 邱鹏程^{1,2}, 张闻博^{1,2},
李文福^{1,2}, 高运来^{1,2}, 陈庆山^{1*}, 胡国华^{2,3*}

(1. 东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农垦科研育种中心, 哈尔滨 150090;
3. 国家大豆工程技术研究中心, 哈尔滨 150050)

摘要: 利用 Clark 导入到红丰 11 为背景的回交导入系进行萌芽期和苗期的连续性耐旱鉴定, 经萌芽期鉴定, 获得 36 个耐旱定向选择导入系。对耐旱选择导入系进行全基因组 SSR 标记扫描, 并以随机群体作为对照, 计算供体基因型的导入频率, 利用卡方测验检测显著偏分离的 SSR 标记位点, 并结合 GGT 图示基因型软件对各染色体连锁群进行分析。其中在 L 连锁群的 Satt398 和 Satt156 两个位点有显著的供体片段“超导入”现象, 供体基因型导入频率为 0.916 7 和 0.958 3, 卡方值高达 182 和 201.5。另外, 在 F 连锁群的 Satt423, K 连锁群的 Satt167 以及 N 连锁群的 Sat_084 等位点也出现供体导入片段的偏分离现象。同时, 对萌芽期耐旱鉴定中相对发芽率表现超亲的 35 个株系采用性状 - 标记间的单向方差分析 ($P < 0.01$) 和 QTL 定位, 共检测到 14 个控制相对发芽率的 QTL, 分布在 4 个连锁群上, 其中与卡方测验检测的结果相比较, 在 Satt156, Satt423, Satt167 等位点具有一致性, 说明这些位点是与大豆耐旱性紧密相关的 QTL 位点。以上结果为进一步开展大豆耐旱性有利基因的精细定位、克隆和分子设计育种奠定了基础。

关键词: 大豆; 导入系; 耐旱性; 基因型分析; QTL 定位

中图分类号: S565.103 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007 - 9084(2009)03 - 0285 - 08

Genotype and QTL analysis of drought tolerance loci for directional population in soybean

LI Can - dong^{1,2}, JIANG Hong - wei^{1,2}, LIU Chun - yan^{1,2}, QIU Peng - cheng^{1,2},
ZHANG Wen - bo^{1,2}, LI Wen - fu^{1,2}, GAO Yun - lai^{1,2}, CHEN Qing - shan^{1*}, HU Guo - hua^{2,3*}

(1. College of Agriculture Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. Land Reclamation Research and Breeding Center of Heilongjiang Province, Harbin 150090, China;

3. The National Research Center of Soybean Engineering and Technology, Harbin 150050, China)

Abstract: Soybean is grown worldwide where many areas are under drought stress. The drought tolerance (DT) becomes a very important trait. Previous studies have identified many QTLs associated with DT and its related traits, but there was little research on the genotype analysis. In order to obtain more useful DT material and find out related steady and repeatable QTLs, a primary backcross introgression lines (ILs) were constructed with Hongfeng 11 as recurrent parent and Clark as donor parent. 35 drought tolerance introgression populations were screened from 72 BC₁F₃ populations using germination screening. Then 36 individuals from 11 super introgression populations were obtained after seedling screening. Comparing with the random population, which were selected from the same generation of ILs, the whole genome SSR markers and calculation for the frequency of donor genes segments had been analyzed with the 36 DT directional populations. In addition, X^2 test and GGT analysis for the genotypes had also been computed. There were excessive introgression of Satt398 and Satt156 in L linkage group, with the frequency of donor genes were 0.916 7 and 0.958 3, respectively, and the values of X^2 were 182 and 201.5, respec-

收稿日期: 2008-09-10

基金项目: 引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)项目(2006G01); 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA10Z1F4); 黑龙江省博士后科研启动基金(LHK - 04014)

作者简介: 李灿东(1984 -), 男, 黑龙江省, 硕士研究生, 大豆导入系构建及相关农艺性状 QTL 精细定位, E - mail: licandong_2008@126.com

* 通讯作者: 陈庆山, 教授, 大豆遗传育种及生物技术, 0451 - 55191945, E - mail: qshchen@126.com; 胡国华, 研究员, 大豆遗传育种, 0451 - 55199475, E - mail: Hugh757@vip.163.com

ctively. The same were Satt423 in F linkage group, Satt167 in K Linkage group, and Sat_084 in N Linkage group. The QTL identification of the relative germination index was conducted by one – way ANOVA (for single marker analysis, $P < 0.01$) with the 35 DT introgression populations. 14 QTLs in 4 linkage groups for relative germination rate were investigated. Comparing with the results of X^2 test, there were many consistent QTLs including Satt156, Satt423, Satt167. It was proved that these loci were associated with DT of soybean. The results above would be a good foundation in fine mapping, cloning and molecular breeding of favorable genes related to DT in soybean.

Key words: Soybean; Introgression lines; Drought tolerance; Genotype analysis; QTL identification

地球上的水资源有限,而且分布不均,干旱、半干旱地区约占土地面积的 36%, 占总耕地面积的 42.9%, 其它地区也受到周期性或难以预测的不定期干旱影响。近年来由于气候的不断恶化,干旱对农业生产的威胁日益严重,已成为世界上干旱半干旱地区生产的主要问题^[1]。干旱对作物产量的影响在诸多逆境中占首位,其危害相当于其它自然灾害之和^[2]。解决干旱胁迫问题的途径,除了改善农田水分环境,提高水的利用率,另一方面就是改良作物,选育耐旱性强的品种,使之适应干旱环境条件。耐旱性品种的推广,不仅可以大幅度提高干旱半干旱地区的粮食产量,还可以节约日益短缺的水资源,降低成本,因而具有显著的经济和社会效应。

大豆耐旱性贯穿于植株整个生长发育过程,属于多基因控制的数量性状,其生理和遗传机制比较复杂。利用传统的遗传学分析方法很难准确跟踪定位有利基因在杂交后代中流向,在基因连锁的不利影响下,实现基因定位更为困难。随着现代分子标记技术的不断发展,统计方法的不断完善,逐渐形成了数量遗传学这一学科,为复杂数量性状定位(QTL)的研究奠定了基础。近年来,许多关于大豆耐旱相关性状的 QTL 被定位^[3-7]。目前,在国内外有关大豆耐旱性 QTL 的报道还很少,其中与大豆耐旱性相关的水分利用率已经有 5 个 QTL 标记^[8,9];刘莹等^[10]利用科丰 1 号 × 南农 11382 - 2(1 级 × 4 级)衍生的 RIL 群体为材料,对耐旱相关根系性状进行遗传分析并进行 QTL 定位,检测到 5 个控制比根重、3 个比根总长和 5 个比根体积的 QTL,分别位于 N6 - C2、N8 - D1b + W、N11 - E、N18 - K 连锁群上;中国科学院遗传所大豆课题组近几年构建了多个有利用价值的耐旱性差异显著的大豆遗传群体(F_2 - F_6 - F_9 代),从同一杂交群体组合中已经鉴定出一批耐旱性强和旱敏感的株系及单株,并通过组建“耐旱基因池”和“旱敏感基因池”进行分子标记和图谱定位研究。Specht 等^[11]利用“Minsoy × Noir1”组合构建了 236 个株系的 RIL 群体,在两年间分别进行 6 种不同程度水分胁迫条件的实验,定

位了干旱相关的产量性状及碳同位素缺失性状;Main 等^[12,13]先后用 2 个大豆作图群体分析与水分利用效率相关,分别发现 4 和 6 个独立的 RFLP 标记与水分利用效率相关 QTL,能解释各自性状表型变异的 38.0 % 和 53.0 %。

从前人的研究中发现,耐旱性相关性状的 QTL 定位主要围绕具体的形态及相关生理性状进行研究,关于对耐旱性基因型鉴定方面,以及针对耐旱选择性群体的基因型分析方面的研究则未见报道。大豆的耐旱性是较为复杂的数量性状,对耐旱选择群体进行更加细致的基因型分析是十分必要的。本研究利用回交导入系群体进行株系间萌芽期和苗期的连续性鉴定,获得更加可信的耐旱性定向选择群体,并分析耐旱选择群体的基因型结构,定位耐旱性基因位点。结合对萌芽期超亲株系相对发芽率的单向方差分析,获得更加稳定可信的 QTL 位点,为大豆品种改良及分子标记辅助育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供体亲本 Clark 为来自美国的外源品种,受体(轮回亲本)红丰 11 为黑龙江省主栽品种,以红丰 11 为母本与供体杂交获得杂种 F_1 , F_1 再与轮回亲本回交获得 BC_1F_1 ,连续自交两代得到 BC_1F_3 共 72 个株系。本实验的群体构建于 2004 - 2007 年。

1.2 耐旱性鉴定

对 BC_1F_3 的 72 个株系进行室内耐旱性鉴定。参照杨剑平等人的方法^[14-16],从每个株系中随机挑选整齐一致的种子,取 20 粒放到灭菌的 9cm 培养皿中,上下各铺一层灭菌滤纸,加入 25mL 浓度为 35% (w/v) 的 PEG - 6000 溶液,以轮回亲本红丰 11 作为对照,设三次重复。当红丰 11 的芽长达到种脐一半时(芽长超过种脐一半视为发芽),计算每个株系的相对发芽率(relative germination rate, RGR),公式为:相对发芽率(%) = 株系发芽种子粒数/株系种子总粒数 × 100%。选取相对发芽率高的株系,将超亲单株移栽至盆栽中,同时播种红丰 11 作为对

照,待幼苗长到两叶一心期,人工控制盆栽土壤含水量在 7% ~ 11% 之间,造成干旱胁迫环境,以红丰 11 死亡作为标准,将最后存活的 36 个单株留种并提取 DNA。

1.3 基因型分析

本研究结合 BC₁F₂ 世代构建的大豆遗传图谱,从中选出双亲间存在多态性 SSR 引物共计 143 对,经对 36 个耐旱选择群体进行 SSR 检测发现,只有 67 对具有群体多态性。从 BC₁F₃ 的 72 个株系中各随机选取 55 粒种子组成随机对照群体,同样对 67 个 SSR 引物进行标记分析。结合耐旱选择群体和随机对照群体的 SSR 数据,利用 GGT 图示基因型软件^[17]分析 SSR 标记位点供体等位基因片段的导入情况。利用获得的基因型数据对供体等位基因导入频率与 BC₁ 代预期值(0.25)的偏离情况进行计算,以卡方测验作近似的显著性检测,显著水平为 0.005,以尽量减少 I 类错误的发生概率;同时为了减少第 II 类错误的发生,对来自 2 个以上独立 0.05 水平的证据(P=0.05×0.05)支持的位点也予以保留^[19]。

1.4 QTL 检测

经萌芽期和苗期耐旱性筛选,将相对发芽率具有较高超亲值作为耐旱性指标,结合对应株系的基

因型数据进行方差分析,采用 SAS PROC GLM^[18] 软件中的单向方差分析检测 QTL,以 P<0.005 显著水平作为取舍主效 QTL 的临界值。当一个 QTL 与两个或两个以上标记连锁时,以 F 值最高的标记作为与 QTL 连锁的标记列出^[19]。

2 结果与分析

2.1 供体等位基因导入频率

经过对 BC₁F₃ 的 72 个株系进行室内耐旱鉴定,获得具有超亲表现的 35 个株系。从中选取相对发芽率高的 11 个株系盆栽。两叶一心期人工干旱胁迫处理,最终得到 36 个耐旱超亲个体代表耐旱选择群体。利用 SSR 标记分别对随机对照群体及耐旱选择群体供体等位基因导入频率做进一步分析。由于耐旱性定向选择的作用,导致与耐旱相关的 SSR 标记位点具有一致性,而定向选择群体之所以具有超亲(相对于轮回亲本红丰 11)表现,则是供体等位基因片段导入所致,因此供体等位基因导入频率普遍偏大,最大值为 1.000 0,最小值达 0.819 4,达到极显著水平,峰度值较高,达到 6.415 4,呈现明显的偏分离。相对于耐旱性定向选择群体,随机对照群体的供体导入频率较低,略高出理论值(0.25),标准差和峰度都低于选择群体,呈正偏向(表 1)。

表 1 耐旱导入系的供体等位基因导入频率及数据参数

Table 1 Donor allele's frequency and its parameters of introgression lines from directional drought selection								
群体 Population		个体数 NO.	最大值 Max	最小值 Min	平均值 Mean	标准差 SD	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
随机群体 Random population	Freq	55	0.564 8	0.218 1	0.318 9	0.116 7	2.669 7	1.630 7
	X ²		31.9	0.1	3.48	14.19	6.014 2	2.657 8
选择群体 Directional population	Freq	36	1.000 0	0.819 4	0.905 0	0.169 2	6.415 4	-1.924 9
	X ²		220	147.1	178.8	25.13	-1.303 2	0.278 6

2.2 卡方检测

根据对供体等位基因导入频率相应位点在多个定向选择群体中的总体表现以及模拟随机抽样的结果^[20],利用卡方测验作近似检测,设置检测的域值为 P<0.005。共检测到分布于 15 条染色体连锁群的 26 个区域的供体等位基因导入频率呈现显著变化(表 2)。由于同时受选择群体结构(回交一代)以及基因型定向选择的共同影响,所检测到的大多数位点均表现为供体亲本的超导入(Excessive Introgression)位点^[21]。BC₁ 代回交群体供体等位基因的导入频率预期值为 0.25,随机对照群体总体表现出略高于预期值的导入频率,但并没有达到显著水平。相对于随机对照群体,耐旱性定向选择群体则表现出较高的供体等位基因导入频率,其中 Sat_084,

Satt167 和 GMSC514 的导入频率达到 1.000 0,卡方值高达 220;Satt556,Satt423 和 Satt385 的导入频率达到 0.972 2,卡方值高达 207。这些位点可能与耐旱性密切相关。

2.3 图示基因型分析

结合卡方检测的结果,对所筛选的 36 个耐旱超亲导入系进行图示基因型分析,基于对 BC₁F₂ 世代构建的大豆遗传图谱所有多态性 SSR 标记的扫描,结果显示导入系背景恢复率为 87.0% ~ 98.8%,平均背景恢复率为 92.9%,各导入系同红丰 11 的遗传背景基本一致,多数导入系含有较少的外源导入片段。

以 L 和 K 连锁群为例,做重点分析发现(图 1),在 L 连锁群的 Satt398 和 Satt156 标记位点出现了供

体片段的“超导入”现象,供体导入基因频率分别为 0.916 7 和 0.958 3,而随机对照群体在这两个位点的导入频率为 0.345 4 和 0.287 0,可见出现严重偏分离,经卡方检测这两个位点 X^2 值高达 182 和 201.5。在 K 连锁群的 Satt167 和 SOYPRP1 位点也出现了供体片段的“超导入”,尤其是 Satt167 位点,供体导入基因频率为 1,卡方值高达 220。类似这样的位点还有 M 连锁群的 GMSC514 以及 N 连锁群

表 2 耐旱选择群体及随机对照群体 SSR 位点供体等位基因导入频率和卡方测验
Table 2 Probability and X^2 test for donor parent in SSR markers between random population and directional population

QTLs		随机对照群体 (n = 55) Random population for CK					耐旱选择群体 (n = 36) Directional population for drought				
标记 Marker	染色体 Chrom.	A	H	B	频率 Prob.	X^2	A	H	B	频率 Prob.	X^2
Satt385	A1	42	4	9	0.218 1	0.10	0	2	34	0.972 2	207
Satt589	A2	18	11	25	0.564 8	31.9	2	0	34	0.944 4	194.2
Satt583	B1	36	6	13	0.290 9	0.49	5	2	29	0.833 3	147.83
Satt556	B2	35	9	11	0.281 8	0.30	1	0	35	0.972 2	207
Satt126	B2	39	9	7	0.218 1	0.10	3	0	33	0.916 7	182
Satt371	C2	29	9	17	0.390 9	5.82	4	2	30	0.861 1	158.8
Sat_112	E	31	17	6	0.268 5	0.25	6	0	30	0.861 1	158.8
Satt269	F	26	11	18	0.427 2	15.21	6	1	29	0.819 4	147.1
Satt586	F	29	14	12	0.345 4	2.67	5	0	31	0.888 8	170.1
GMRUBP	F	31	8	16	0.363 6	3.79	2	0	34	0.944 4	194.2
Satt343	F	15	8	32	0.254 5	0.20	4	3	29	0.847 2	153.2
Satt423	F	33	12	10	0.290 9	0.49	1	0	35	0.972 2	207
Satt394	G	32	11	12	0.318 1	1.36	6	1	29	0.819 4	147.1
Satt472	G	31	10	14	0.345 4	2.67	4	0	32	0.888 8	170.3
Satt288	G	29	16	10	0.327 2	1.75	2	1	33	0.930 6	192.4
Satt440	I	29	16	10	0.327 2	1.75	2	5	29	0.857 1	157.8
Satt287	J	30	13	11	0.324 0	1.61	3	3	30	0.914 3	181.8
Satt167	K	35	12	8	0.254 5	0.20	0	0	36	<u>1.000 0</u>	220
SOYPRP1	K	40	6	9	0.218 1	0.10	5	2	29	0.842 9	152.5
Satt694	L	15	7	33	0.263 6	0.23	6	1	29	0.819 4	147.1
Satt156	L	36	5	13	0.287 0	0.40	0	3	33	0.958 3	201.5
Satt398	L	30	12	13	0.345 4	2.67	3	0	33	0.916 7	182
GMSC514	M	30	8	15	0.358 4	3.45	0	0	36	<u>1.000 0</u>	220
Satt237	N	30	11	14	0.354 5	3.20	3	2	31	0.888 9	170.3
Sat_084	N	32	8	15	0.345 4	2.67	0	0	36	<u>1.000 0</u>	220
Satt581	O	32	12	11	0.309 0	1.02	1	1	34	0.861 1	158.8

2.4 方差分析

通过萌芽期耐旱性筛选,对 36 个株系进行相对发芽率的调查,共检测到 11 个株系表现为相对发芽率有较高超亲值(表 3),平均发芽率在 23.3% ~ 38.3%。亲本 Clark 的耐旱表现比红丰 11 稍强一些,但总体还是弱于耐旱选择株系。

结合对应株系(萌芽期耐旱鉴定中相对发芽率超亲的 35 个株系)的基因型数据进行 SAS PROC GLM 单向方差分析,在 $P < 0.01$ 的显著水平下共检测到 14 个控制相对发芽率位点(表 4),分布于 F、K、L 和 N 四个连锁群上(图 2)。其中位于 K 染色

Sat_084(表 2)。由于耐旱选择导入系大部分基因同受体亲本红丰 11 的背景相一致,导入系同受体亲本的任何表型上的差异理论上应该与外源供体导入片段的功能有关,且所有的耐旱选择群体在基因组中应该具有同一或相同几个位置的“超导入”位点,这种共性可能就是该群体之所以具有超亲的耐旱性的原因。

体的 Satt167 的贡献率高达 13.12%,加性效应为 -2.37,显性效应为 -3.29;位于 N 染色体的 Satt237 贡献率为 12.1%,加性效应为 1.10,显性效应为 5.21;位于 L 染色体的 Satt398 贡献率为 10.06%,加性效应为 -1.35,显性效应为 2.48。这三个位点是主效 QTL。

其余 11 个位点均表现为供体片段的正效应,说明这些 QTL 位点的等位基因均来自亲本 Clark 基因组并具有增效作用。其中 Satt423, Sat_229, Satt167, SOYPRP1 和 Sat_099 位点表现为负的显性效应,显性度介于 -0.57 ~ -3.52,表现出负向部分显性或

图 1 耐旱选择群体在染色体连锁群(L,K)中的图示基因型分析
Fig.1 Analysis of graphical genotypes for drought tolerance directional population in linkage group L and K

图2 相对发芽率 QTLs 及供体等位基因导入偏分离位点在四个染色体连锁群上的分布
Fig.2 Relative germination index loci and SSR markers of donor allele in four linkage group

表3 萌芽期耐旱超亲株系及亲本的相对发芽率
Table 3 Relative germination rate of super strains and their parents tolerance to drought

亲本及株系 Parents and strains	重复Ⅰ Repeat I			重复Ⅱ Repeat II			重复Ⅲ Repeat III			平均发芽率 Mean germination rate /%
	已发芽 Germinated seeds NO.	总粒数 Total seeds NO.	发芽率 Germination rate	已发芽 Germinated seeds NO.	总粒数 Total seeds NO.	发芽率 Germination rate	已发芽 Germinated seed NO.	总粒数 Total seeds NO.	发芽率 Germination rate	
	/个	/个	/%	/个	/个	/%	/个	/个	/%	
红丰 11 Hongfeng11	3	20	15	2	20	10	1	20	5	10
Clark	2	20	10	3	20	15	2	20	10	11.7
NH01	7	20	35	5	20	25	7	20	35	31.7
NH10	10	20	50	8	20	40	5	20	25	38.3
NH11	7	20	35	7	20	35	9	20	45	38.3
NH12	4	20	20	5	20	25	5	20	25	23.3
NH20	5	20	25	7	20	35	8	20	40	33.3
NH48	8	20	40	7	20	35	8	20	40	38.3
NH49	5	20	25	6	20	30	6	20	30	28.3
NH54	7	20	35	7	20	35	8	20	40	36.7
NH55	8	19	42	6	20	30	6	20	30	34.0
NH59	9	20	45	6	20	30	5	19	26	33.8
NH66	4	20	20	5	20	25	7	20	35	26.7

负向超显性,其余位点表现为正的显性效应,显性度介于 0.03 ~ 16.00,表现出正向部分显性或负向超显性(表 4)。

3 结论与讨论

本研究对 72 份 BC₁F₃ 初级回交导入系进行萌芽期及苗期的耐旱性鉴定,对筛选出的 36 个耐旱定向选择性群体作供体等位基因导入频率统计,并结

合随机对照群体进行卡方检测,共检测到 26 个 SSR 偏分离位点,经过 GGT 图示基因型分析,定位在 15 个连锁群上。对从萌芽期筛选出的 11 个超亲株系进行相对发芽率的 QTL 定位,共定位了 14 个控制相对发芽率的 QTL 位点,其中 9 个位点在卡方测验中同时被检测到,可能是控制大豆耐旱性的重要位点。

最早 QTL 定位采用的群体通常是 F₂ 或 BC₁ 等分离群体^[22,23],由于分离群体的遗传组成是随机

的,因此,用于 QTL 定位时很难排除遗传背景 QTL 效应的干扰,导致定位结果可能产生一定的偏差。控制遗传背景噪音的方法之一是培育近等基因系。这类群体除少数供体导入片段外,绝大部分遗传背景与轮回亲本一致^[24,25],从而最大程度地消除遗传背景对检测 QTL 尤其是对微效 QTL 的干扰,而且采

用图示基因型重叠定位时可以使用相对较小的群体。Paterson 等^[26]、Eshed 和 Zamir^[27] 利用回交导入系定位了一系列与番茄产量和加工品质有关的 QTL。但迄今为止还未见有利用覆盖全基因组的近等基因系定位大豆 QTL 的报道。

表 4 耐旱选择群体及随机对照群体 SSR 位点供体等位基因导入频率和卡方测验
Table 4 Probability and X² test for donor parent in SSR markers between random population and drought directional population

QTL	标记 Marker	染色体 Chrom.	位置 Distance	F - 值 F - value	概率 Prob.	加性效应 Add.	显性效应 Dom.	显性度 D/ A	贡献率/% Contribution
1	GMRUBP	F	0.00	10.82	0.001 2	-1.55	2.94	1.90	1.25
2	Satt586	F	3.63	11.20	0.004 8	0.81	1.43	1.77	2.36
3	Satt423	F	20.56	14.77	0.000 4	-3.96	-6.69	-1.69	7.45
4	Sat_229	F	62.79	6.81	0.003 6	-2.56	-1.45	-0.57	0.58
5	Satt167	K	45.74	12.34	0.000 7	-2.37	-3.29	-1.39	13.12
6	Satt518	K	46.63	5.84	0.003 4	-0.94	2.12	2.26	2.61
7	SOYPRP1	K	46.94	9.75	0.002 6	-1.17	-4.12	-3.52	0.64
8	Satt398	L	30.58	10.50	0.005 9	-1.35	2.48	1.84	10.06
9	Satt694	L	30.80	6.50	0.009 2	0.48	7.68	16.00	8.80
10	Satt156	L	56.14	15.07	0.000 3	-0.35	0.01	0.03	9.56
11	Sat_099	L	78.23	5.08	0.007 1	-1.90	-1.35	-0.71	0.58
12	Satt009	N	28.52	5.74	0.004 3	-0.54	1.25	2.31	2.14
13	Sat_236	N	57.59	5.28	0.005 9	-2.63	2.37	0.90	2.16
14	Satt237	N	74.99	9.10	0.003 4	1.10	5.21	4.74	12.10

本研究以红丰 11 为轮回亲本,Clark 为供体亲本构建导入系群体,在 BC₁F₂ 世代所构建的遗传图谱分析耐旱选择导入系的图示基因型。理论上,由相同亲本杂交产生的回交群体构建的图谱应保持一致,可是受作图群体大小等因素的影响,标记间的遗传距离常有差异,但这种差异对鉴定选择导入系的导入片段无实质性的影响,因为标记与其鉴定出的导入片段之间的对应关系是固定的。因此,没有必要重新对每个回交世代进行作图^[28]。采用导入系定位 QTL 的前提是要鉴定出尽可能多的影响目标性状的供体导入片段。因此,为防止小的供体导入片段被漏检,有必要采用更饱和的分子标记,以鉴定出尽可能多的供体导入片段,并在目标 QTL 区域采用更多的分子标记鉴定 QTL 与相邻标记位点的重组体,以实现 QTL 的精细定位^[29]。

在实验材料上,以回交一代并连续自交三代所获得的 BC₁F₃ 世代导入系为材料,分别对 72 个株系进行萌芽期及苗期连续性耐旱筛选,目的是为了获得更加真实、稳定的耐旱材料。经过严格的耐旱性筛选,获得了来自于 11 个株系的 36 个耐旱超亲导入系,入选的导入系较多地保留了与耐旱性有关的有利基因。由于对耐旱性定向选择的结果,与耐旱性有关的基因表现出一定的共性,从而导致供体等位基因频率偏离严重,但理论上那些与耐旱性无

关的基因位点不会受耐旱选择的影响,在分离群体中仍符合孟德尔分离规律,因此,基于遗传搭车(genetic hitch - hiking)原理定位目标性状 QTL 成为可能。随着大豆公共图谱的不断更新与完善,借助该图谱及相对位置明了 SSR 分子标记,对所鉴定的耐旱导入系供体等位基因导入情况进行分析。利用基于遗传搭车(genetic hitch - hiking)原理的卡方检测与方差分析(ANOVA)相结合,对耐旱性选择群体相关位点进行检测。

在所有检测到的显著性“超导入”位点中,大多数是属于供体导入类型,耐旱性定向选择群体之所以具有明显的耐旱性,是由于供体亲本与耐旱性有关的等位基因导入到轮回亲本之中所致,在萌芽期以及苗期的耐旱性鉴定中,设轮回亲本红丰 11 作为对照,所筛选的耐旱导入系都是在相对发芽率以及产量等耐旱相关性状表现出超亲的个体。这样,耐旱性定向选择群体理论上应在耐旱相关标记为点具有一致性表现,为利用卡方检测分析 QTL 位点提供了可能。

参考文献:

[1] 李原园,李英能,苏人琼. 中国农业水危机及其对策 [M]. 北京:中国国家科学技术委员会农村科技司, 1997. 52 - 54.

- [2] 山 仑,陈国良. 黄土高原旱地农业的理论与实践[M]. 北京科学出版社,1993. 125 – 129.
- [3] 刘学义. 大豆抗旱性评定方法探讨[J]. 中国油料作物学报,1986 (4):23 – 26.
- [4] Sloane R J, Patterson R P, Carter T E. Field drought tolerance of soybean plant introduction[J]. Crop Sci, 1990, 30:118 – 123.
- [5] Liu F L, Andersen M N, Jacobsen S E. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycin max* L. Merr.) during progressive soil drying[J]. Environmental and Experimental Botany, 2004, 54:1 – 8.
- [6] Hudak C M, Patterson R P. Vegetative growth analysis of a drought resistant soybean plant introduction[J]. Crop Sci, 1995, 35:464 – 471.
- [7] Garcia A, Gonzalez M C. Morphological markers for the early selection of drought tolerant rice varieties[J]. Cultivate Tropical, 1997, 18 (2):47 – 50.
- [8] Translate by Huang P – T. Molecular Cloning three[M]. Science Press, 2002. 363 – 365.
- [9] Translate by He C Y. Construction of soybean genetic map by SSR and its application in cloning of disease – resistance genes[D]. PhD Dissertations of Institute of Genetics and Developmental Biology, 2001: 35 – 38 (in Chinese with English abstract)
- [10] 刘 莹,盖钧镒,吕慧能,等. 大豆苗期耐旱种质鉴定和相关根系性状 QTL 定位[J]. 遗传学报, 2005, 32 (8):855 – 863.
- [11] Specht J E, Chase K, Macrander M, et al. Soybean response to water: a QTL analysis of drought tolerance[J]. Crop Sci, 2001, 41(2):493 – 509.
- [12] Mian M A R, Ashley D A, Boerma H R. An additional QTL for water use efficiency in soybean[J]. Crop Sci, 1998, 38:390 – 393.
- [13] Mian M A R, Bailey M A, Ashley D A. Molecular markers associated with water use efficiency and leaf ash in soybean[J]. Crop Sci, 1996, 36:1 252 – 1 257.
- [14] 杨剑平,陈学珍,王文平,等. 大豆实验室 PEG6000 模拟干旱体系的建立[J]. 中国农学通报, 2003, 19(3): 65 – 68.
- [15] 李 甜,朱延姝,张晓萍. 不同抗旱类型大豆品种生理特征的探讨[J]. 东北师大学报(自然科学版). 1999, 2:123 – 124.
- [16] 李贵全,杜维俊,孔照胜,等. 不同大豆品种抗旱性生理生态的研究[J]. 山西农业大学学报, 2000, 20(3): 197 – 200.
- [17] 李灿东,蒋洪蔚,张闻博,等. 大豆荚粒相关性状的 QTL 分析[J]. 分子植物育种, 2008, 6(6):1 – 10.
- [18] Van Berloo R. GGT: Software for the display of graphical genotypes[J]. Journal of Heredity, 1999, 90:328 – 329.
- [19] SAS Institute Inc. SAS/STAT Software: Changes and Enhancements though Release 6. 12. Cary, North Carolina; SAS Institute Inc. 1997.
- [20] Xu J L, Lafitte H R, Gao Y M, et al. QTLs for drought escape and tolerance identified in a set of random introgression lines of rice. Theor Appl Genet, 2005, 111: 1 642 – 1 650.
- [21] Li Z K, Fu B Y, Gao Y M, et al. Genome – wide introgression lines and their use in genetic and molecular dissection of complex phenotypes in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Mol Biol, 2005, 59:33 – 52.
- [22] 郑天清,徐建龙,傅彬英,等. 遗传搭车与方差分析在水稻定向选择群体的抗旱性位点分析中的初步应用[J]. 作物学报, 2007, 33 (5):799 – 804.
- [23] Edwards M D, Stuber C W, Wendel J F. Molecular – marker – facilitated investigations of quantitative – trait loci in maize: I. numbers, genomic distribution and types of gene action[J]. Genetics, 1987, 116:113 – 125.
- [24] Paterson A H, Lander E S, Hewitt J D. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors, using a complete linkage map of resistance fragment length polymorphisms[J]. Nature, 1988, 335:721 – 726.
- [25] Eshed Y, Zamir D. Introgressions from *Lycopersicon pennellii* can improve the soluble-solids yield of tomato hybrids[J]. Theor Appl Genet, 1994, 88:891 – 897.
- [26] Eshed Y, Zamir D. A genomic library of *Lycopersicon pennellii* in *Lesculentum*: A tool for fine mapping of genes[J]. Euphytica, 1994, 79:175 – 179.
- [27] Paterson A H, Deverna J W, Lanini B. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes, in a interspecific cross of tomato[J]. Genetics, 1990, 124:735 – 742.
- [28] Eshed Y, Zamir D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield – associated QTL[J]. Genetics, 1995, 141:1 147 – 1 162.
- [29] 徐建龙,薛庆中,罗利军,等. 近等基因导入系定位水稻抗稻曲病数量性状位点的研究初报[J]. 浙江农业学报, 2002, 14(1):14 – 19.