

# 基于 SSR 标记初步定位小豆驯化相关性状 QTL

贾 龙<sup>1,2</sup>, 罗高玲<sup>3</sup>, 陈燕华<sup>3</sup>, 王素华<sup>2</sup>, 陈红霖<sup>2</sup>, 刘长友<sup>4</sup>, 杜吉到<sup>1</sup>, 王丽侠<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>黑龙江八一农垦大学农学院, 大庆 163319; <sup>2</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>3</sup>广西农业科学院水稻研究所, 南宁 530007; <sup>4</sup>河北省农林科学院粮油作物研究所, 石家庄 050035)

**摘要:** 炸荚和籽粒硬实性是野生小豆的主要特性, 严重制约着野生小豆资源的利用, 解析这些性状的遗传机理, 对培育优良小豆新品种具有重要意义。本研究基于中红 5 号和野生小豆 (*Vigna angularis* var. *nipponensis*) 杂交衍生的重组自交系, 开展炸荚和籽粒硬实等驯化相关性状鉴定及 SSR 标记分析。表型分析显示荚皮卷曲数、炸荚率及籽粒硬实率均不符合典型正态分布。构建了包含 111 个 SSR 标记、11 个连锁群的小豆遗传连锁图谱, 总长 3813.5 cM, 标记间平均距离为 34.35 cM。连锁分析共发掘到与 2021 年炸荚率和荚皮卷曲数相关 QTL 19 个, 与 2022 年炸荚率及荚皮卷曲数相关 QTL 13 个, 其中不同年份重复检测到的荚皮卷曲数相关 QTL 2 个, 重复检测到的炸荚率相关 QTL 3 个。籽粒硬实相关 QTL 4 个, 其中位于 LG11 的 QTL 分别与炸荚率及 2022 年荚皮卷曲数相关 QTL 重叠。本研究结果为进一步开展小豆驯化相关基因的精细定位及机理解析奠定了基础。

**关键词:** 小豆; SSR 标记; 遗传图谱; 驯化性状; QTL

## Mapping of QTL for Domestication-related Traits Using SSR Markers in Adzuki Bean

JIA Long<sup>1,2</sup>, LUO Gaoling<sup>3</sup>, CHEN Yanhua<sup>3</sup>, WANG Suhua<sup>2</sup>, CHEN Hongling<sup>2</sup>,  
LIU Changyou<sup>4</sup>, DU Jidao<sup>1</sup>, WANG Lixia<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319; <sup>2</sup>Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; <sup>3</sup>Institute of Rice Research, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007; <sup>4</sup>Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050035)

**Abstract:** Wild adzuki bean are important gene resources for genetic improvement of cultivars, however, pod shattering and hard seededness are classical characters of wild genotypes, and are disadvantage traits in breeding. In the present study, we used a recombination inbred line (RIL) population, developed from a cross between a cultivar and a wild genotype (*Vigna angularis* var. *nipponensis*), to identify QTL loci related with pod shattering and hard seededness using SSR markers. The results showed that the ratio of pod shattering (PS), the number of pod curling (NPC) and the ratio of hard seededness (HSN) were not fitful for normal distribution, but had continuous variation. Eleven linkage groups were constructed using 111 SSR markers with a total length of 3813.5 cM and 34.35 cM for intervals. A total of 19 QTLs were detected for PS and NPC in 2021 and 13 were detected in 2022. Two QTLs were repeatedly detected to be related with the NPC and 3 were with PS. There were 4 QTLs that related with the hard seededness and the one on LG11 were also repeatedly detected with PS in 2021 and 2022, and NPC in 2022. The present results provided insights for fine mapping of these domestication-related

收稿日期: 2023-02-24 修回日期: 2023-03-07 网络出版日期: 2023-04-04

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230224005>

第一作者研究方向为食用豆种质资源评价与鉴定, E-mail: jll15331912301@163.com

通信作者: 王丽侠, 研究方向为食用豆类种质资源收集与评价利用, E-mail: wanglixia03@caas.cn

杜吉到, 研究方向为寒地作物种质资源创新与品种选育研究, E-mail: djdbynd@163.com

基金项目: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-08)

Foundation project: China Agriculture Research System of MOF and MARA-Food Legumes (CARS-08)

traits and investigating the functional mechanisms.

**Key words:** adzuki bean; SSR markers, genetic map; domestication trait; QTL

小豆(*Vigna angularis*)属于豆科(Leguminosae)蝶形花亚科(Papilionaceae)菜豆族(Phaseoleae)豇豆属(*Vigna*),富含蛋白质、淀粉及功能因子等,是典型的医食两用作物,随着人们对健康饮食意识的提升,其需求量逐步增加。小豆还具有生育期较短、抗旱耐逆、根系能固氮等特性,在填荒救灾、种植业结构调整等方面也有重要作用。然而,炸荚及籽粒硬实严重影响小豆的高产稳产和加工品质。随着现代农业发展,机械化收获是小豆产业提质增效的必然趋势,这就要求品种具备较强的抗炸荚特性,以减少收获时的产量损失。此外,小豆籽粒硬实性比较突出,可高达30%,平均在8%左右,且随着储藏时间硬实率逐渐提高<sup>[1]</sup>。籽粒硬实不仅影响其种子发芽率,还显著降低其加工利用及日常食用品质。

豆类的炸荚与禾谷类的落粒功能相似,益于物种的野外自行繁衍。对作物生产来说,炸荚或落粒则严重影响其产量稳定性。截至目前,炸荚性的报道以大豆居多。大豆炸荚为遗传和环境共同调控的数量性状,即主效+微效多基因,其中抗炸荚为隐性<sup>[2]</sup>,且陆续发掘出大豆抗炸荚相关QTL<sup>[3-4]</sup>。近期研究发现大豆与拟南芥中抗炸荚相关基因高度同源<sup>[5]</sup>,但炸荚效应不完全对等<sup>[6]</sup>。其他豆类炸荚研究相对滞后,其中豇豆炸荚性相关基因位于第7染色体<sup>[7-8]</sup>,且可能与小豆炸荚基因属同一个位点<sup>[9]</sup>。而菜豆炸荚至少涉及两个基因,且与大豆炸荚相关基因不同源,说明不同豆种炸荚的遗传调控机制并非完全一致<sup>[10]</sup>。小豆炸荚及硬实率的基因发掘研究较少,仅Kaga等<sup>[11]</sup>依据荚皮卷曲数将小豆炸荚相关基因定位在第7连锁群,但无后续报道。

籽粒硬实有助于植物抵御野外各种不良气候条件,延缓种子劣变,是野生资源繁衍生息的典型属性,与种子休眠紧密相关。然而农业生产中,种子硬实严重影响播种质量,降低田间出苗率和整齐度。在豆类食品加工利用过程中,硬实不利于种子的研磨、烘焙、发酵等处理,降低产品质量。目前,有关种子硬实性研究也多集中在大豆。据报道,大豆籽粒硬实为多基因控制的复杂性状,受遗传和环境共同调控<sup>[12-13]</sup>,且野生大豆籽粒硬实由编码钙调跨膜蛋白与种皮钙含量有关基因发生点突变导致<sup>[14]</sup>。也有研究认为编码内切-1,4-β-葡聚糖酶基

因能导致种子硬实<sup>[15]</sup>。Humphry等<sup>[16]</sup>在绿豆中也检测到4个与硬实率相关的QTL。小豆遗传研究相对落后,先后有农艺性状如初花期<sup>[17]</sup>、籽粒大小<sup>[18]</sup>等相关基因定位的研究报道。

我国是小豆原产国,也是主要生产国,种质资源丰富<sup>[19-20]</sup>,尤其野生资源具有丰富的变异类型<sup>[21]</sup>,是小豆抗性育种的重要基因来源。通过现代分子学手段,利用表型性状鉴定和SSR分子标记解析种子硬实性状调控机理对有效利用野生资源种质在小豆品种改良具有重要指导意义。因此,本研究基于栽培小豆与野生小豆衍生的重组自交系,利用荚皮卷曲数及炸荚率代表炸荚特性,利用籽粒硬实率代表籽粒硬实特性,使用SSR标记分别对上述性状开展了初步定位研究,以期对相关基因的精确定位及基因克隆奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 群体构建

2016年用抗炸荚、籽粒硬实率低的栽培种中红5号与炸荚、籽粒硬实率高的野生小豆(*Vigna angularis* var. *nipponensis*)杂交,陆续在北京、三亚通过单粒传法进行繁殖,构建了包含308个家系的稳定遗传研究群体F<sub>8</sub>,该群体的F<sub>2</sub>世代曾用于籽粒大小的定位<sup>[18]</sup>。

### 1.2 材料种植

该RIL群体及双亲于2021年和2022年7月种植于广西农业科学院里建基地(108°27' E, 23°17' N)。该基地土壤有机质含量为2%~3%,土层深厚,透水性好。种植方式为起垄播种,垄宽85 cm,行长1.5 m,双粒点播,每家系2行,出苗后间苗定苗,重复两次,均按当地大田模式管理。

### 1.3 炸荚及籽粒硬实率性状调查

**1.3.1 炸荚性状采集** 在2021年和2022年成熟期,分别收获双亲及RIL群体相同成熟度的豆荚。每个家系收3个单株,每个单株收10个豆荚,所有的豆荚收获后置于网袋中,自然干燥10 d。调查每个袋中完全炸开的豆荚数量和荚皮卷曲圈数,计算豆荚炸荚率(PS, ratio of pod shattering)及荚皮卷曲数(NPC, number of pod curling)。炸荚的数量占总豆荚数量的百分数为炸荚率。

**1.3.2 硬实种子的表型分析** 随机从双亲及2022

年收获的 RIL 群体各家系中选取 30 粒表面光滑饱满无病斑种子,置于 5 cm 培养皿中并加入 5 mL 蒸馏水,3 次重复,室温下浸泡处理 108 h,每 12 h 统计硬实种子数(经过浸泡,种子体积无变化或种皮无皱缩,即视为硬实种子),计算硬实率(HSN, ratio of hard seededness),即硬实种子数与占全部种子数的百分数。

#### 1.4 DNA 提取与 SSR 分析

取双亲及 RIL 群体各家系幼嫩无病虫害的叶片,用改良 CTAB 法提取基因组 DNA<sup>[22]</sup>。分光光度计检测 DNA 的纯度和浓度后,将全部 DNA 浓度均调至 50 ng/ $\mu$ L,保存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱备用。选用公开发表及自主开发的 552 对 SSR 引物<sup>[11,23]</sup>,由北京赛百盛基因技术有限公司合成。PCR 扩增体系共 10  $\mu$ L,包含模板 DNA(50 ng/L)1  $\mu$ L、上下游引物(10  $\mu$ mol/L)各 0.5  $\mu$ L、2 $\times$ Taq Mix 5  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 3  $\mu$ L。PCR 反应程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,55 $^{\circ}$ C 复性 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 继续延伸 5 min;最后 12 $^{\circ}$ C 降温保存 10 min。PCR 产物用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,银染法显色<sup>[24]</sup>。

#### 1.5 图谱构建及 QTL 分析

用 IciMapping4.2 软件的 MAP 功能<sup>[25]</sup>,母本基

因型用 0,父本基因型用 2,缺失用 -1 表示。选择 RIL 分析模型,利用 Threshold Value 标记构建遗传图谱(LOD 设为 3.0),并采用完备区间作图法对炸荚和籽粒硬实进行作图,步长为 0.1 cM, PIN 为 0.001, LOD 阈值为 3.0,并计算出每个 QTL 的表型贡献率,采用“Q+性状名称缩写+年份缩写+序号”对 QTL 进行命名。

## 2 结果与分析

### 2.1 小豆炸荚及种子硬实性状表型数据分析

结果表明,RIL 群体各家系炸荚率和荚皮卷曲数变异较丰富(表 1)。其中 2021 年和 2022 年炸荚率变异范围均为 0~100%,变异系数为 92.28%~127.91%,荚皮卷曲数变异范围均为 0~4.75,变异系数为 105.34%~109.97%。其中,2021 年平均炸荚率(41.13%)高于 2022 年(29.88%),平均荚皮卷曲数(1.40)略大于 2022 年(1.17)。不同年份 RIL 群体各家系炸荚率及荚皮卷曲数的分布均不符合正态分布,但数据具有连续性,可用于 QTL 定位研究(图 1,图 2)。

表 1 RIL 群体荚皮卷曲数及炸荚率表型分析

Table 1 The statistics of number of pod curling and shattering within RIL population of adzuki bean

年份 Year	性状 Traits	平均值 Mean	最大值 Max.	最小值 Min.	标准差 SD	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness	变异系数(%) CV
2021	荚皮卷曲数	1.40	4.75	0	1.48	-1.38	0.40	105.34
	炸荚率(%)	41.13	100	0	37.95	-1.5	0.21	92.28
2022	荚皮卷曲数	1.17	4.75	0	1.28	-1.11	0.53	109.97
	炸荚率(%)	29.88	100	0	38.22	-0.7	0.92	127.91

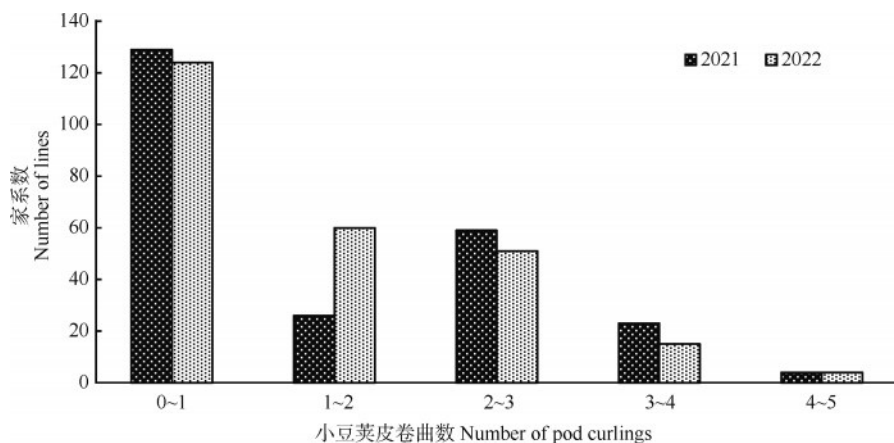


图 1 小豆 RIL 群体荚皮卷曲数分布直方图

Fig. 1 Distribution of number of pod curling within RIL population of adzuki bean

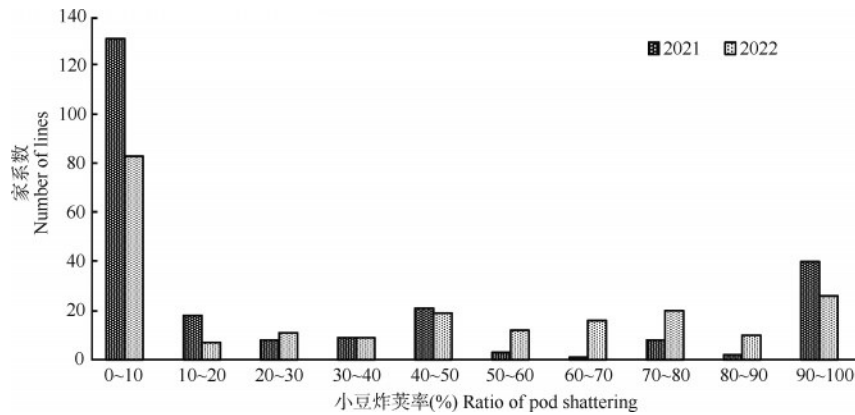


图2 小豆 RIL 群体炸荚率分布

Fig. 2 Distribution of ratio of pod shattering within RIL population of adzuki bean

浸种 12 h 时,中红 5 号种子硬实率为 0;野生小豆硬实率在 12 h 仅有少数完全吸涨种子,硬实率为 86.67%,在 24~108 h,硬实率基本保持不变(图 3)。RIL 群体各家系硬实率平均值随着时间逐渐降低,浸泡 12~24 h 时,种子硬实率平均值变化最快,24~60 h,籽粒硬实率平均值变化减缓,60 h 之后籽粒硬

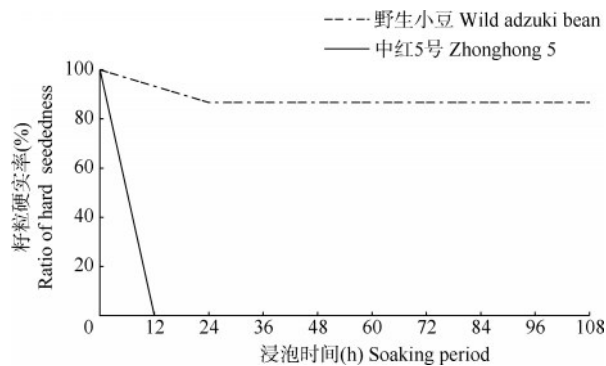


图3 不同浸泡时间中红5号和野生小豆籽粒硬实率的变化

Fig. 3 The changes of hard seededness percentage for Zhonghong 5 and wild adzuki bean in different soaking time

## 2.2 遗传图谱构建

从 552 对 SSR 引物中共筛选出亲本间多态性引物 112 个(详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230224005>,附表 1),多态率为 20.1%。连锁分析共将其中 111 个 SSR 标记定位到 11 条小豆连锁群(LG, linkage group),全长 3813.5 cM,不同连锁群长度为 126.3~629.0 cM,平均 346.7 cM;每条连锁群标记数为 4~16 个,平均间距 34.35 cM(表 2,图 5)。

## 2.3 小豆炸荚及硬实率 QTL 定位

**2.3.1 炸荚性 QTL 定位** 2021 年共检测到与荚皮卷曲数相关 QTL 9 个,与炸荚率相关 QTL 10 个,表型贡献率分别在 1.56%~2.41% 及 1.73%~1.79% 之间

率平均值变化趋近 0。因此,确定 60 h 为鉴定 RIL 群体籽粒硬实率的时间,并将该数据用于后续籽粒硬实率的 QTL 定位。分析发现,RIL 群体各家系在 60 h 的硬实率为连续分布(图 4),是典型的数量性状,可用于 QTL 定位研究。

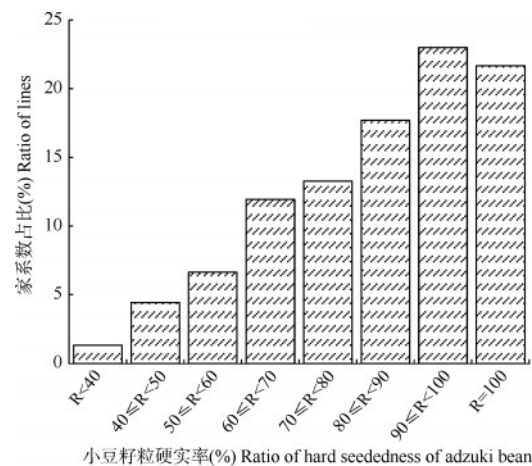


图4 小豆 RIL 群体各家系的硬实率分布图

Fig. 4 The distribution of ratio of hard seededness of lines from RIL population of adzuki bean

(表 3)。与荚皮卷曲数相关 QTL 分别分布在 LG1、4、6、7、8、9,与炸荚率相关 QTL 分别分布在 LG1、3、5、7、11。19 个 QTL 中,有 4 个为炸荚率和荚皮卷曲数重复检测的区间,分别位于 LG1(mb56~mb43)和 LG7(mb26~mb90,mb87~mb92,mb94~mb35)。

2022 年检测到与荚皮卷曲数相关 QTL 9 个,与炸荚率相关 QTL 5 个,贡献率分别在 3.42%~3.44% 及 4.68%~5.45% 之间(表 3)。与荚皮卷曲数相关 QTL 分别分布在 LG1、2、7、9、10、11,与炸荚率相关 QTL 分别分布在 LG1、2、7、9、11。14 个 QTL 中,有 3 个为炸荚率与荚皮卷曲数重复检测的区间,分别位于 LG1(mb56~mb43)、LG9(mb32~mb29)和 LG11(mb34~mb46)。

表 2 小豆 SSR 遗传连锁图谱信息

Table 2 Information of linkage groups of adzuki bean based on SSR markers

连锁群 Linkage groups	标记个数 Number of markers	长度(cM) Length	标记平均距离(cM) Interal between maker
LG1	16	629.0	39.3
LG2	11	497.4	45.2
LG3	7	126.3	18.0
LG4	9	358.8	39.9
LG5	12	374.3	31.2
LG6	8	263.0	32.9
LG7	10	403.6	40.4
LG8	10	240.0	24.0
LG9	16	591.1	36.9
LG10	8	160.0	20.0
LG11	4	170.0	42.5

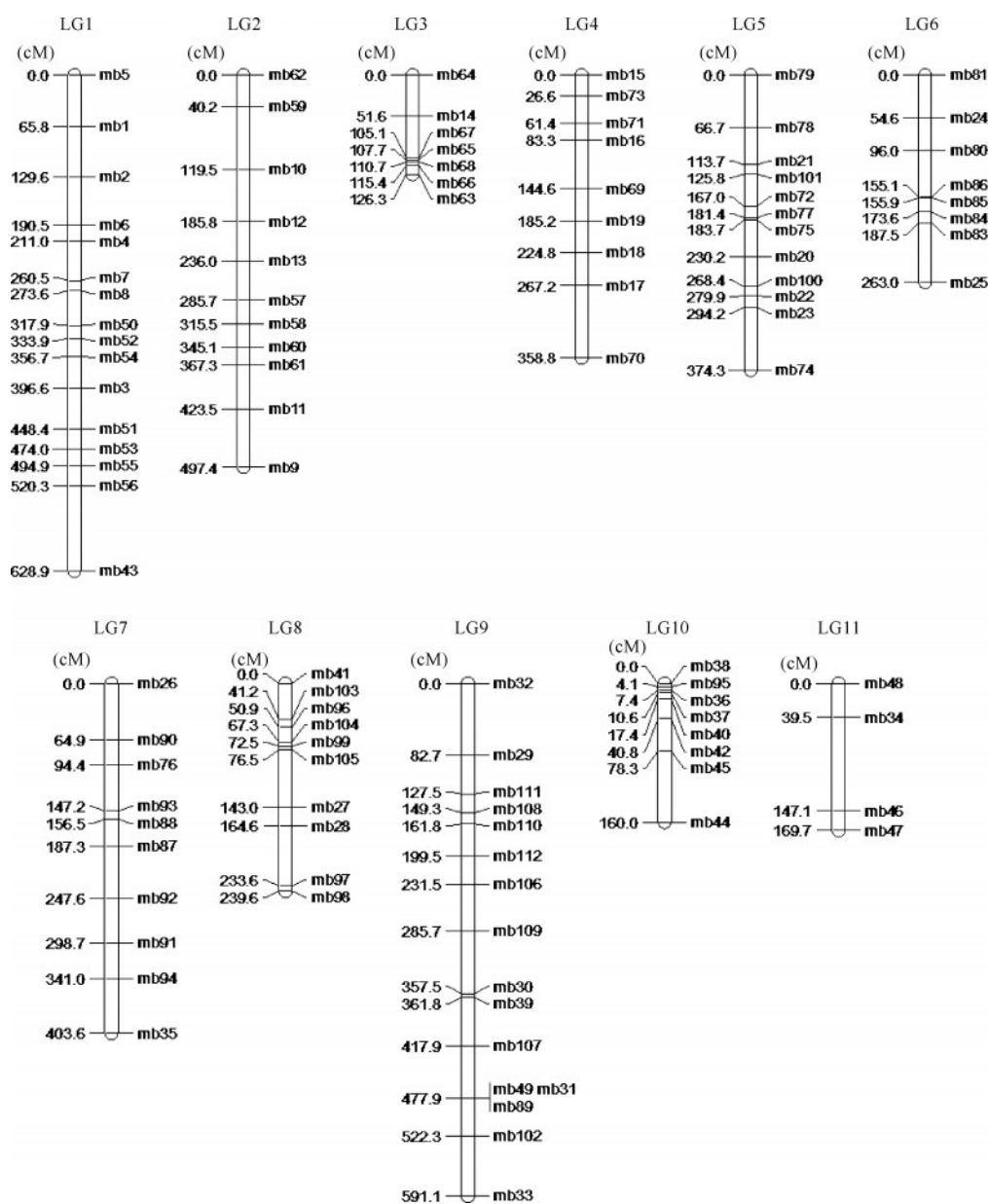


图 5 小豆 SSR 遗传连锁图

Fig.5 Linkage groups of adzuki bean based on SSR markers

表 3 不同年份检测到的与小豆炸荚率及荚皮卷曲数相关 QTLs

Table 3 QTLs related with pod shattering in adzuki bean under different environments

年份 Year	性状 Traits	QTL 名称 QTL name	连锁群 Linkage group	区间 Interval	位置(cM) Positon	LOD 值 LOD value	表型贡献率 (%) Phenotypic variation explained
2021	炸荚率	Qvrps-1.1	1	mb5~mb1	34	7.18	1.79
		Qvrps-1.2	1	mb3~mb51*	429	5.44	1.75
		Qvrps-1.3	1	mb56~mb43*	577	7.63	1.79
		Qvrps-1.4	3	mb64~mb14	28	5.51	1.78
		Qvrps-1.5	5	mb23~mb74	335	6.50	1.78
		Qvrps-1.6	7	mb26~mb90*	28	4.37	1.73
		Qvrps-1.7	7	mb76~mb93	122	6.45	1.77
		Qvrps-1.8	7	mb87~mb92*	212	7.67	1.74
		Qvrps-1.9	7	mb94~mb35*	367	5.62	1.76
	Qvrps-1.10	11	mb34~mb46*	106	7.05	1.78	
	荚皮卷曲数	Qvnp-1.1	1	mb56~mb43*	576	7.03	1.56
		Qvnp-1.2	4	mb16~mb69	116	20.92	2.40
		Qvnp-1.3	4	mb17~mb70	325	26.55	2.41
		Qvnp-1.4	6	mb83~mb25	225	22.12	2.40
		Qvnp-1.5	7	mb26~mb90*	31	21.91	2.40
		Qvnp-1.6	7	mb87~mb92*	215	21.34	2.40
		Qvnp-1.7	7	mb94~mb35*	372	21.89	2.40
		Qvnp-1.8	8	mb28~mb97	201	23.52	2.40
		Qvnp-1.9	9	mb39~mb49	394	21.02	2.40
2022		炸荚率	Qvrps-2.1	1	mb56~mb43*	567	6.68
	Qvrps-2.2		2	mb13~mb57	262	7.69	4.69
	Qvrps-2.3		7	mb94~mb35*	366	14.07	5.45
	Qvrps-2.4		9	mb32~mb29	46	7.26	4.71
	Qvrps-2.5		11	mb34~mb46*	91	8.31	4.68
	荚皮卷曲数	Qvnp-2.1	1	mb1~mb2	98	11.15	3.43
		Qvnp-2.2	1	mb3~mb51*	427	14.26	3.42
		Qvnp-2.3	1	mb56~mb43*	576	13.13	3.43
		Qvnp-2.4	2	mb59~mb10	85	11.35	3.43
		Qvnp-2.5	7	mb87~mb92*	215	16.40	3.44
		Qvnp-2.6	9	mb32~mb29*	48	13.55	3.43
		Qvnp-2.7	9	mb102~mb33	562	12.89	3.43
		Qvnp-2.8	10	mb45~mb44	114	13.00	3.44
		Qvnp-2.9	11	mb34~mb46*	83	14.87	3.44

\*为不同年份炸荚率及豆荚卷曲数重复检测到的区间。vrps 即小豆炸荚率, vnpc 即小豆荚卷曲圈数; 下同

\* means the interval has been repeatedly detected for vrps and vnpc between years. vrps means ratio of pod shattering in *Vigna angularis*, vnpc means number of pod curling in *V. angularis*; The same as below

不同年份重复检测到的荚皮卷曲数相关QTL一共有2个,分别分布在LG1(mb56~mb43)和LG7(mb87~mb92)。重复检测到的炸荚率相关QTL有3个,分别分布在LG1(mb56~mb43)、LG7(mb94~mb35)和LG11(mb34~mb46)。结果表明,LG1的mb56~mb43为不同环境下重复检测到的炸荚性状有关的QTL。

表4 小豆籽粒硬实相关QTL信息

Table 4 information of QTLs related with hard seededness of adzuki bean

连锁群 Linkage group	QTL名称 QTL name	位置(cM) Position	标记区间 Interval	LOD值 LOD value	表型贡献率(%) Phenotypic variation explained
5	Qvrhs-1	342	mb23~mb74	8.13	2.84
8	Qvrhs-2	203	mb28~mb97	5.15	2.78
9	Qvrhs-3	326	mb109~mb30	5.52	2.78
11	Qvrhs-4	98	mb34~mb46	5.08	2.80

vrhs 即小豆籽粒硬实率;下同

vrhs means ratio of hard seededness in *Vigna angularis*; The same as below

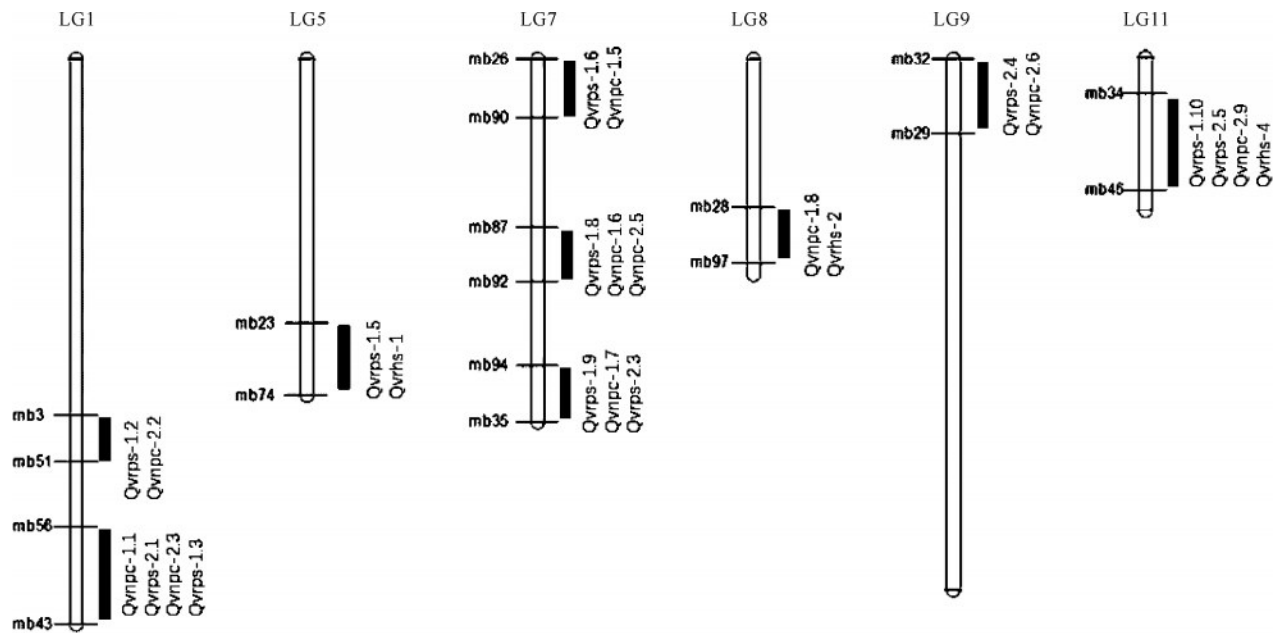


图6 小豆籽粒硬实率、荚皮卷曲数、炸荚率等不同性状间重合的QTL区间

Fig. 6 QTLs repeatedly detected within hard seededness, ratio of pod shattering and number of curl of pod in adzuki bean

### 3 讨论

作为豆科作物的普遍现象,炸荚是受环境和遗传共同调控的复杂性状,其评价方法也不完全一致。其中,大豆一般用炸荚率作为炸荚特性的评价指标<sup>[26]</sup>,本研究中分别利用炸荚率、荚皮卷曲数来评估炸荚特性,结果显示,不同年份间炸荚率的变异远低于荚皮卷曲数,推测其原因为荚皮卷曲数比炸荚率更易受环境影响,尤其是荚的成熟度直接影

响荚皮的卷曲程度。不同年份RIL群体各家系的炸荚率及荚皮卷曲数均不符合正态分布,说明了小豆炸荚的遗传背景相对复杂,受多基因控制。炸荚的分子遗传学研究也以大豆研究比较多,包括炸荚的标记开发<sup>[27]</sup>及基因发掘<sup>[28]</sup>等。小豆炸荚的研究相对罕见,仅Kaga等<sup>[11]</sup>利用荚皮卷曲数指标鉴定出炸荚性状在第7连锁群。本研究QTL分析结果显示同一年份内炸荚率和荚皮卷曲数的定位区间重合度非常高,说明这两种方法均可以用于炸

荚性状的评估,而不同年份的炸荚率和荚皮卷曲数的定位区间有部分重合,说明这些重叠区间 QTL 具有一定环境稳定性。由于炸荚性与含水量及成熟度等多种因素有关<sup>[29-30]</sup>,属于多基因控制的复杂性状,本研究检测到的 QTL 贡献值均较小。

种子硬实也是遗传和环境共同决定的复杂性状。张太平等<sup>[31]</sup>研究认为大豆硬实性状受 2 个主基因控制,基因间有累加效应,硬实为显性。种间杂交后代的分离分析也表明大豆籽粒硬实受少数基因调控<sup>[32]</sup>。小豆籽粒硬实研究相对较少,曹志敏等<sup>[1]</sup>发现小豆品种间硬实率有明显差异,不同年份的小豆硬实受降水、日照、气温等影响。本研究 RIL 家系的硬实率均显著低于野生小豆,说明在野生资源的育种利用中,后代硬实率并不是关键影响因素。而硬实率相关 QTL 均较低的表型贡献率印证了该性状为多因素调控。4 个硬实率相关 QTL 中有 3 个分别与小豆炸荚性状 QTL 区间重合,说明这些驯化相关性状可能在基因组上紧密连锁或簇状分布,非常有利于在野生资源育种利用过程中的分子标记辅助选择或大片段回交导入。由于本研究中用于图谱构建的 SSR 标记数量有限,定位区间相对粗略,下一步将开发更多的基于 PCR 技术的标记,加密图谱开展精细定位,以提高分子标记辅助选择效率,促进小豆驯化相关性状的基因克隆及功能解析。

#### 参考文献

- [1] 曹志敏,刘长友,范保杰,张志肖,苏秋竹,王彦,田静. 小豆硬实及其相关性研究. 河北农业大学学报, 2013, 36(6): 22-25  
Cao Z M, Liu C Y, Fan B J, Zhang Z X, Su Q Z, Wang Y, Tian J. Correlation study of adzuki bean hard seeds. Journal of Hebei Agricultural University, 2013, 36(6): 22-25
- [2] Funatsuki H, Ishimoto M, Tsuji H. Simple sequence repeat markers linked to a major QTL controlling pod shattering in soybean. Plant Breeding, 2006, 125(2): 195-197
- [3] Bailey M, Mian M, Carter J, Ashley D, Boerma H. Pod dehiscence of soybean: Identification of quantitative trait loci. Journal of Heredity, 1997, 88(2): 152-154
- [4] Suzuki M, Fujino K, Funatsuki H. A major soybean QTL, qPDH1, controls pod dehiscence without marked morphological change. Plant Production Science, 2009, 12(2): 217-223
- [5] Seo J, Kang B, Dhungana S, Oh J, Choi M, Park J, Shin S, Kim K, Jun C, Kim K, Jun T. QTL mapping and candidate gene analysis for pod shattering tolerance in soybean (*Glycine max*). Plants, 2020, 9(9): 1163
- [6] Parker T, Lo S, Gepts P. Pod shattering in grain legumes: Emerging genetic and environment-related patterns. The Plant Cell, 2021, 33(2): 179-199
- [7] Watcharatpong P, Kaga A, Chen X, Smota P. Narrowing down a major QTL region conferring pod fiber contents in yardlong bean (*Vigna unguiculata*), a vegetable cowpea. Genes, 2020, 11(4): 363
- [8] Kongjaimun A, Somta P, Tomooka N, Kaga A, Vaughan D A, Srinives P. QTL mapping of pod tenderness and total soluble solid in yardlong bean [*Vigna unguiculata* (L.) Walp. subsp. *unguiculata* cv. -gr. *sesquipedalis*]. Euphytica, 2012, 189(2): 217-223
- [9] Takahashi Y, Kongjaimun A, Muto C, Kobayashi Y, Kumagai M, Sakai H, Naito K. Same locus for non-shattering seed pod in two independently domesticated legumes, *Vigna angularis* and *Vigna unguiculata*. Frontiers in Genetics, 2020, 11: 748
- [10] Rau D, Murgia M, Rodriguez M, Bitocchi E, Bellucci E, Fois D, Papa R. Genomic dissection of pod shattering in common bean: Mutations at nonorthologous loci at the basis of convergent phenotypic evolution under domestication of leguminous species. The Plant Journal, 2019, 97(4): 693-714
- [11] Kaga A, Isemura T, Tomooka N, Vaughan D. The genetics of domestication of the azuki bean (*Vigna angularis*). Genetics, 2008, 178: 1013-1036
- [12] Sakamoto S, Abe J, Kanazawa A, Shimamoto Y. Marker-assisted analysis for soybean hard seededness with isozyme and simple sequence repeat loci. Breeding Science, 2004, 54(2): 133-139
- [13] Liu B, Fujita T, Yan Z H, Sakamoto S, Xu D, Abe J. QTL mapping of domestication-related traits in soybean (*Glycine max*). Annals of Botany, 2007, 100(5): 1027-1038
- [14] Sun L, Miao Z, Cai C, Zhang D, Zhao M, Wu Y, Zhang X, Stephen A S, Zhou L, Zhang Z, Randall L N, Ma J. *GmHs1-1*, encoding a calcineurin-like protein, controls hard-seededness in soybean. Nature Genetics, 2015, 47(8): 939-943
- [15] Jang S, Sato M, Sato K, Jitsuyama Y, Fujino K, Mori H, Takahashi R, Eduardo R, Liu B, Yamada T, Abe J. A single-nucleotide polymorphism in an endo-1, 4- $\beta$ -glucanase gene controls seed coat permeability in soybean. PLoS ONE, 2015, 10(6): e0128527
- [16] Humphry M, Lambrides C, Chapman S, Aitken E, Imrie B, Lawn R, McIntyre C, Liu. Relationships between hard-seededness and seed weight in mungbean (*Vigna radiata*) assessed by QTL analysis. Plant Breeding, 2005, 124(3): 292-298
- [17] Liu C, Fan B, Cao Z, Su Q, Wang Y, Zhang Z, Tian J. Development of a high-density genetic linkage map and identification of flowering time QTLs in adzuki bean (*Vigna angularis*). Scientific Reports, 2016, 6(1): 39523
- [18] Wang L, Jie W, Luo G L, Yuan, X X, Gong D, Hu L L, Wang S H, Chen H L, Chen X, Cheng X Z. Construction of a high-density adzuki bean genetic map and evaluation of its utility based on a QTL analysis of seed size. Journal of



- Integrative Agriculture, 2021, 20(7): 1753-1761
- [19] 王丽侠,程须珍,王素华,罗高玲,刘振兴,蔡庆生.我国小豆应用核心种质的生态适应性及评价利用.植物遗传资源学报,2013,14(5):794-799  
Wang L X, Cheng X Z, Wang S H, Luo G L, Liu Z X, Cai Q S. Adaptability and variation of an applied core collection of adzuki bean (*Vigna angularis*) in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(5): 794-799
- [20] 王丽侠,程须珍,王素华.小豆种质资源研究与利用概述.植物遗传资源学报,2013,14(3):440-447  
Wang L X, Cheng X Z, Wang S H. Review on genetic study and application of adzuki bean (*Vigna angularis*) germplasm. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(3): 440-447
- [21] 陶宛鑫,濮绍京,金文林,赵波,万平.野生小豆种质资源植株形态性状多样性分析.植物遗传资源学报,2007,8(2): 174-178  
Tao W X, Pu S J, Jin W L, Zhao B, Wan P. The morphological diversity analysis of wild adzuki bean germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2007, 8(2): 174-178
- [22] Porebski S, Bailey L G, Baum B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant Molecular Biology Reporter, 1997, 15: 8-15
- [23] Chen H, Liu L, Wang L, Wang S, Somta P, Cheng X. Development and validation of EST-SSR markers from the transcriptome of adzuki bean (*Vigna angularis*). PLoS ONE, 2015, 10(7): e0131939
- [24] 公丹,王素华,程须珍,王丽侠.普通豇豆应用核心种质的SSR指纹图谱构建及多样性分析.作物杂志,2020,197(4): 79-83  
Gong D, Wang S H, Cheng X Z, Wang L X. Construction of SSR fingerprints and diversity analysis of a cowpea applied core collection. Crops, 2020, 197(4): 79-83
- [25] Meng L, Li H, Zhang L, Wang J. QTL IciMapping: Integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. The Crop Journal, 2015, 3(3): 269-283
- [26] Seo J, Dhungana S, Kang B, Baek I, Sung J, Ko J, Jung C, Kim K, Jun T. Development and validation of SNP and InDel Markers for pod-shattering tolerance in soybean. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(4): 2382
- [27] Zhang Z, Wang J, Kuang H, Hou Z, Gong P, Bai M, Zhou S, Yao X, Song S, Yan L, Guan Y. Elimination of an unfavorable allele conferring pod shattering in an elite soybean cultivar by CRISPR/Cas9. aBIOTECH, 2022, 3(2): 110-114
- [28] Seo J H, Kang B K, Dhungana S K, Oh J H, Choi M S, Park J H, Shin S O, Kim H S, Baek I Y, Sung J S, Jung C S, Kim K S, Jun T H. QTL mapping and candidate gene analysis for pod shattering tolerance in soybean (*Glycine max*). Plants (Basel), 2020, 9(9): 1163
- [29] 杨德旭,刘德军,高连兴.完熟期大豆炸荚力学特性试验.沈阳农业大学学报,2012,43(5):576-580  
Yang D X, Liu D J, Gao L X. Experiments of pod-split mechanical performance in period of soybean full ripe. Journal of Shenyang Agricultural University, 2012, 43(5): 576-580
- [30] 马赛斐,南翠梅,张凤彩,魏艳萍.黄淮流域主栽大豆品种炸荚性研究初报.大豆通报,2006(2): 21-23, 27  
Ma S F, Nan C M, Zhang F C, Wei Y P. Preliminary investigation on pod-shattering of main soybean cultivars in Huanghuai area. Soybean Science & Technology, 2006(2): 21-23, 27
- [31] 张太平, Boquet D, Moore S. 大豆硬粒种的遗传及其与其它性状的关系.大豆科学,1992(1):88-92  
Zhang T P, Boquet D, Moore S. Inheritance of hard seed and its relationship with other traits in soybean. Soybean Science, 1992(1): 88-92
- [32] Chandra S, Taak Y, Rathod D, Yadav R, Poonia S, Sreenivasa V, Talukdar A. Genetics and mapping of seed coat impermeability in soybean using inter-specific populations. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2020, 26: 2291-2299

附表 1 112 对 SSR 引物基本信息表

Attached list1 Basic Information for 112 SSR primer pairs

引物名称	上游引物序列(5' -3' )		下游引物序列(5' -3' )
SSR maker	Forward primer	sequence	Reverse primer
	(5' -3' )		sequence(5' -3' )
mb1	CATCTTCCTCACCTGCATTC		TTTGGTGAAGATGACAGCCC
mb2	GATTGCTTTTAGCAGAGGGC		GAAGAAACCCATCTCGATCC
mb3	GTGAGGTAGCTATGTAGCAC		ACTGGACCGACAAGAGTAAG
mb4	ACTATGCAGAAAGACGCTCC		GGCTCTCTTTTCTCCATTC
mb5	TATAGAGAGGCGAGAAAGGG		AGGGAAACTCAGAACACGTG
mb6	TAGTCAACCGTTACTATGCC		CGAGAAAAATGAATCTCCCC
mb7	AGCGAGTGGTGTAGGGAAG		CGCCAAATCTGCACCAGTTG
mb8	GGGTGATCTTCCCCAAAATCG		GACAAATTCTCTGATGCCATTCC
mb9	GCAGCAACGCACAGTTTCATGG		GCAAACTTTTCACCGGTACGACC
mb10	TCAGCAATCACTCATGTGGG		TGGGACAAACCTCATGGTTG
mb11	GATTGCTTTTAGCAGAGGGC		GAAGAAACCCATCTCGATCC
mb12	GGCAGAATCGTACAAGTG		GTCAGATTCTCGCTTGCATG
mb13	GGTGCTAACGTTGGAACTGAG		CACTCCATTCTGAGGATCAATCC
mb14	ATCAACTGAGGAGCATCATCGA		CAACATTTCAACCTTGGGACAG
mb15	GCAGCTTCACATGCATAGTAC		GAACTTAACTTGGGTTGTCTGC
mb16	CCCAACCAAAGCGTTTTG		CTTCTAGACTCTGAGCACTG
mb17	CAGGTATTGTGCAGAGAGAC		TGCACCCAAAAGCTGTAAGC

---

mb18	CACCGCTGTCCATTGAAGTATTA	TCTTAGAGTGCCTGTGAGATTG
mb19	CCTCAAGTGGGGTTACC	GGTCAACCTCATTCTCCC
mb20	GCTCTCCATGAATGGAGTTG	TCATTCATTCACCCCTCC
mb21	GGCTCATTGTACCACTGGATAT	ATGCCTCCTTTCAGGTGATTGT
mb22	GGGTGTAATCCGTCAGAGGC	CTTCCCCCTCTCCGTTCTC
mb23	CTTGAGAACCAACTCGAACTTC	GGGAAATCGAAGAGGGACAG
mb24	CTTTCAAATAATGTTGAGGCATA	CAATACATAAATAACCTTTTCTGC
mb25	CAATAAGCAATCTGTGGAGAG	CTGCAGGAACTTGAATTGC
mb26	CCTTTTTCTTCTACCCTCTACC	CACCACCTAGCTGTTGCTAG
mb27	TGAGGGAATGGGAGAGAGGC	TCCGCAGATAGAGGCTCACG
mb28	CTGTTACGGCACCTGGAAAG	GCAGAGACACACCTTAACCTTG
mb29	AGGAATGTGAGATTTG	AATCGCTTCAAGGTCAAGCC
mb30	CATCTTCCTCACCTGCATTC	TTTGGTGAAGATGACAGCCC
mb31	CACGTTGGAGGAAGTGACGC	CATCGGCCACCACAGAACCA
mb32	GATGAGCCGAATTCGGTGTC	CTGCTTCACCTCGTGACC
mb33	GAAGGGAATGAAAATGAAACCC	GTTCAATCCATTGAGTCTCC
mb34	CACAGTGGTTTGGGCAACAG	TCAGAGGTTCCCATTTCCTCG
mb35	GAAGAAGAACCCTACCACAG	CACCAAAAACGTTCCCTCAG
mb36	GAGTTCAGGAAGCTATTGTCA	CAAGGAAAAGTTGACTGCTT
mb37	CAAGGAAAAGTTGACTGCTT	GTACGGCGTCAATATCTTTT
mb38	TAAGTGACGTCTTCGGGTT	CGGAAAAGATGAAGAGATG
mb39	CATCTTCCTCACCTGCATTC	TTTGGTGAAGATGACAGCCC

---

---

mb40	TAAGTGACGTCTTCGGGTT	CGGAAAAAGATGAAGAGATG
mb41	GCAGAATTTTAGCCACCGAG	AAAGGATGCGAGAGTGTAGC
mb42	GATCGAATTCAACACCATCT	GTGCACCACTTTTCAACATA
mb43	AATTGCTCTCGAACCAGCTC	GGTGTACAAGTGTGTGCAAG
mb44	CTTTCTTTGTCATGGTCGAT	TCAGGAGAACCCAAACATAC
mb45	CCCTTTACTTGTTGTGGTGT	TTATTATGGAATGGACCAGG
mb46	CATAAAAATGGAGTGGAGGA	ATAGCGGGAAGTAGAAAAGA
mb47	CTATGCTGACCAGAAAGAGG	TTCTGGGTTGTTATGGTTTC
mb48	GTTCTCTCTCATAGCTTCTT	ATGTCGGTTCTATTTGGATG
mb49	AAAGAGATTGGAACAGCTCA	GGTACTTTGCTAACCCTTT
mb50	CGTGTGTACCCTCACTTACA	TGAGGACAAGGTCACTCTTT
mb51	CATATCATCAAATCCACCC	GGGAGAAGAACATTCTCATA
mb52	ACTTTTCGAAGCACATCCTA	AAAGAAGTTCCTTACGCCT
mb53	ATAGAATCCTCCCGAAACAT	GTTATACATCGAGTCATAGAGC
mb54	GGGTGGTCTTCATAACAGA	AGTTCCTGATTTTCCAGTT
mb55	TTAATGACGAGGTAGAGGGA	TTTCTAGAAGCATGAAAGGC
mb56	TCGACCATCCGAGTATTTTA	ATAGTTACGGACGGTCTTGA
mb57	TTTAGCTCGTGAATCCAAC	TATGGTCTTAACCGAAAACG
mb58	TGTCAGTGTCAAATCACGTT	TAAGACGGTGAGTCACAACA
mb59	CAGGTCAGGTGATTATTTCA	GGGATAGGAGACAACTATTTCA
mb60	CTACCCTTTTGAGAAAGCAA	GGGTTGAGTGATGTTTTGAT

---

---

mb61	ATGCCCTTGATTGAAAC	CTATGTCCATGAAAATGAGC
mb62	GCTCAACTTTCTCAAACAC	ATAGGATTCTCTGGTGGGAT
mb63	AGACAATGTTTATGCTGGAC	CAAATCCCCTTCTGACATT
mb64	AGTCATCGATTAAGCAGCAT	CGTACGTAATTTCCCTGAAC
mb65	ATGTTTTCCCCTTTCTCT	CCACATCATCTTACTAATGCAC
mb66	AACTTCAACAACGAGGAAGA	TGGTTAGCTTTTCTTGGGTA
mb67	AATAGAATGGCCCTAACACA	CCGCATGTGAACACATATAA
mb68	TTCGTACCTTTATCGGTCAT	ACGAACCATGAGTGGTGTAT
mb69	ACTGGCTAACCTACAAACCA	CAAATCTCAAAGTCCCACAT
mb70	CGTTAGTCTAAAATGGAGTGG	GATGGAAATGTTAGACCTCG
mb71	CAGCACCAACACACTCTAAA	CTACACGCCTCAGGAAATAC
mb72	ATGGTGTGAGCATTTTAACC	CACCCAATTGAGGTATTGTT
mb73	GCAGCTTCACATGCATAGTAC	GAACTTAACTTGGGTTGTCTGC
mb74	GGATGACTCAAGCGGTAGTA	GTGTTGGGCTCAATTGTTT
mb75	CTGACACTACGCAATAGATCA	ACCTTGATCAAACAAAGCC
mb76	CAGCAACAAGACATGGAGTG	GGTGACCACTTAGACAGAC
mb77	GAGGTGAGCAAGAGTTTCTG	ACCTACATGGCGTAAGAAAG
mb78	CATGTTTCATGTTTGCGTAAG	GTGACCTGACCTCCTAATGA
mb79	CAGAACACAAAAGGGTTCTCG	GTGGATTCACTCGCTTCC
mb80	GGAGAGTGC GTGTAATTTTC	TCTGTGGAGATGCATAATGA
mb81	CAAATGACAGACCAACCTTT	AAGGGTGCATGGAATCTTA
mb82	GTCGTTTCCGGAAACTGTTC	GATCCGAACCTCTTTCTGC

---

---

mb83	CACAGTGTGAAGAGTTTGTTC	CATGACGTATCAATCAACTG
mb84	CCCGTAGTTACATATCTTCTTG	CTTGTATCCCATGCAACTTT
mb85	ACACAGCCACATACAAAACA	GTCGTCATGCATAACAAGTG
mb86	TCTTCACTTTCTCGCTTCTC	TACTCCAGAAAGTTGTTGGG
mb87	TCTGACACCAAATATGGCTA	CCATGTGAAAAACTGATTGG
mb88	CCCTAAAATAAGCTGTCCCT	GGGGGAAACAAGAAACATA
mb89	CTTGAGAACCAACTCGAACTTC	GGGAAATCGAAGAGGGACAG
mb90	ATCTTCCCAAATATGACCT	TTCGCATGAGAGGTGTAAct
mb91	AAGAACGGAGTTGAGAAACA	CTGTTGCTGTGGCTATGG
mb92	TTGACAGGAAAATAACCTGC	TGCGGATCTTTTCTATATGC
mb93	GAAGGGAATGAAAATGAAACCC	GTTCAATCCATTCAGTCTCC
mb94	TTTCCAGAGTCGGTTATCTC	TAGAAGGAAAAACTCGAGCA
mb95	GGCTGAAGGTGATGACAGAAG	GGCACTGGTTTTCTAAGGTTGTTG
mb96	CTTAATGGGAAGAATTGGTG	TTTGATCTGTCTAGTTGCCA
mb97	CACTGGGATTAAACATTTCC	CTCGGATGTATCCTACTTCG
mb98	TACAATTGAAAGGAGCTGGT	GCGGGTTTTTGTATAGTGT
mb99	AGAAGCAGCAAACAATATCC	GTTTGTCTCTGCTCAAGTCC
mb100	GGGTGTAATCCGTCAGAGGC	CTTCCCCCTCTCCGTTCTC
mb101	GGCTCATTGTACCACTGGATAT	ATGCCTCCTTCAGGTGATTGT
mb102	AGCCAAAGAGGTCTAAGGATA	GGATTCAGCTTCCGTAGAAT
mb103	TGACTCACATTTCCATCCTT	CGTGGAAAATGTTGACCATA
mb104	TCTCTCTTTCTCTCCAGCAG	AGGACTCGGAGACTGTGTAA

---

---

mb105	GACCTTTATTCCCACACAAA	GCCAATTCTCTACGTTTAGG
mb106	TTATTAGATTGGGTGAAGGC	CCCAAAGTTCATCCAAAGAT
mb107	CCGAATGCTAAGAAAACCTA	GATTTCAACTCCAAAACCTGC
mb108	TGTTGGTATAAAAGGGTGCT	ATATACGCGAAGAAGGTTCA
mb109	AAGCTGGTTTTGTGAGATTG	TCATAGGATTACCATTGGCT
mb110	AGGTTTATGGACTCATTCGT	GTTTTGTGTTCTGACAGGGT
mb111	CAAAATCCTGCTTTTCTCAC	CATGTGAAACCACAAGAGAA
mb112	TTGTCTCACTTCAGTTTGGA	AGGCTGATCACAAAAAGACA

---