

# 绿豆种子休眠性和百粒重的 QTLs 和互作分析

梅丽<sup>1</sup>, 程须珍<sup>1</sup>, 刘春吉<sup>2</sup>, 王素华<sup>1</sup>, 王丽侠<sup>1</sup>, 刘长友<sup>1</sup>, 孙蕾<sup>1</sup>, 徐宁<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>2</sup>澳大利亚联邦科学与工业研究组织植物研究所, 澳大利亚昆士兰州 4068)

**摘要:** 利用绿豆 Beken/ACC41 重组自交系在北京种植得到的 121 个 F<sub>10</sub> 家系和 79 个 RFLP 分子标记, 采用改进复合区间作图法对绿豆种子休眠性和百粒重进行数量性状基因定位及上位性互作分析。检测到与发芽势有关的 QTL 3 个与发芽率有关的 QTL 4 个, 分别位于第 1、11 连锁群, 解释表型变异的 8.17% ~ 12.14% 和 4.34% ~ 12.69%。检测到与百粒重有关的 QTL 5 个, 分别位于第 2、8、9、11 连锁群, 解释表型变异的 4.58% ~ 10.36%。增加发芽率和百粒重的基因效应均来自母本 Beken, 分别检测到发芽势、发芽率和百粒重的加性 × 加性上位性互作 8、9、9 对, 对这 3 个性状的总表型贡献率分别达到 66.58%、47.91%、39.90%。本文初步分析了休眠性和百粒重的关系, 并与前人的研究结果作了比较, 旨在通过分子标记辅助选择, 培育适度休眠的优良绿豆品种, 进而解决绿豆收获前的荚上子粒发芽问题。

**关键词:** 绿豆; RILs 群体; 休眠性; QTL 定位; 上位性互作

## QTL Mapping and Interaction Analysis for Seed Dormancy and Seed Weight of Mungbean

MEILI<sup>1</sup>, CHENG Xu-zhen<sup>1</sup>, LIU Chun-ji<sup>2</sup>, WANG Su-hua<sup>1</sup>,  
WANG Li-xia<sup>1</sup>, LIU Chang-you<sup>1</sup>, SUN Lei<sup>1</sup>, XU Ning<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences Beijing 100081;

<sup>2</sup> Division of Plant Industry, CSIRO, Indooroopilly Queensland 4068, Australia)

**Abstract** Seed dormancy and seed weight were analyzed by using a Recombinant inbred-lines (RILs) population from the cross between a non-dominant parent Beken and a highly dominant wild parent ACC41. The RILs populations were planted in Beijing and evaluated for their germinating energy, germinating percentage and 100-seed weight in the laboratory of CAAS. Software ICMapping V1.3 was applied to detect the additive and epistatic QTLs. As a result, three QTLs on group 1 and 11 for germinating energy, four QTLs on group 1 and 11 for germinating percentage, five QTLs for 100-seed weight on group 2, 8, 9, 11 were detected, explained 8.17%-12.14%, 4.34%-12.69% and 4.58%-10.36% of the phenotypic variations respectively. 26 pairs of interaction were detected, contributed 66.58%, 47.91%, 39.90% of the phenotypic variations respectively. In order to breed weather-tolerant mungbean varieties with large seeds, the relationship between seed dormancy and seed weight was analyzed and compared with previous research.

**Key words** Mungbean; Recombinant inbred-lines (RILs) population; Seed dormancy; Quantitative trait loci (QTL); Interaction analysis

绿豆 (*Vigna radiata* L.) 是一种重要的填闲作物, 其富含蛋白质、维生素, 可医食两用, 又具有生物固氮, 耐旱耐脊等优势, 在食物构成和农业结构中具有重要意义<sup>[1]</sup>。种子休眠性是植物在长期系

收稿日期: 2010-04-15 修回日期: 2010-09-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30170635); 农业部作物种质资源保护项目 (NB04-22-12); 国家科技基础条件平台项目 (2004DKA30380-08); “十一五”国家科技支撑计划项目 (2006BAD02B08)

作者简介: 梅丽, 硕士研究生。E-mail: taxuxunmei@163.com

通讯作者: 程须珍, 研究员, 主要从事食用豆制品种质资源研究。E-mail: Chengxu@caas.net.cn

统进化中形成的一种对不良环境条件的适应性,是植物生命中的一个重要的生理阶段<sup>[2]</sup>。休眠性过强会导致田间出苗率低,出苗参差不齐;休眠性过弱,田间易发生穗发芽<sup>[3]</sup>,降低作物品质和种子质量。只有对种子休眠性的生理基础和遗传特性进行深入、透彻的研究,才能根据客观需要来调节种子休眠的强度和期限,培育具有不同休眠程度的品种<sup>[4]</sup>。

在农业生产中,小麦和水稻的穗发芽很严重,众多学者对小麦和水稻的穗发芽原因、影响因素、抗性机理、鉴定方法、遗传和抗性品种选育方面进行了广泛和深入的研究<sup>[5]</sup>。虽然许多学者共同认可水稻休眠对不休眠为显性<sup>[6-8]</sup>,但由于所用群体不同,对控制该性状的基因数目存在不同看法,有的认为水稻种子休眠性由一个或几个主效基因控制<sup>[6,9]</sup>,有的则认为该性状受多个基因控制<sup>[10]</sup>。有关水稻休眠性 QTL 的检测数目也不同,由 3 个到 10 个不等<sup>[11-15]</sup>。在对小麦穗发芽的研究中,有关学者认为小麦穗发芽与子粒发芽有着极为密切的关系,子粒发芽是穗发芽的前提,但两者并不完全相同,小麦抗穗发芽的显隐性常因组合不同而不同,小麦穗发芽的 QTL 位点也由 2 个到 13 个不等<sup>[16-19]</sup>。

目前,对豆科作物种子休眠性的研究多数还只停留在种子休眠破除的物理和化学方法上。从普通遗传学方面的研究来看,Lebedeff<sup>[20]</sup>早在 1947 年就指出只有几个基因参与豆类种子休眠性的选择分化;Donnelly<sup>[21]</sup>提出野豌豆的休眠性由 2 个基因控制;Williams<sup>[22]</sup>和 Malik<sup>[23]</sup>研究表明绿豆的休眠性受单显性基因控制。Williams 研究表明所有强休眠的绿豆均存在于野生种中。Hamphry 等<sup>[24]</sup>通过分子标记和遗传连锁作图检测了控制绿豆休眠性的基因数目,结果获得 4 个影响绿豆休眠的 QTL。前人对绿豆<sup>[25-27]</sup>、大豆<sup>[28-29]</sup>、扁豆<sup>[30]</sup>以及菜豆<sup>[31]</sup>的研究结果则表明子粒大小是受微效多基因控制的数量性状。

尽管选育休眠性适中的大粒绿豆品种一直没有成功,但也没有休眠性强,百粒重则一定小的定论。Hamphry 等<sup>[24]</sup>所用的 F<sub>8</sub> RIL 群体是由强而稳定休眠的绿豆野生种 ACC41 与澳大利亚栽培种 Berken 通过单粒传法得到。由于绿豆的休眠性也和气候及其他控制因子有关<sup>[33]</sup>,因此 Hamphry 等的结果还需要多年多点试验的验证。本试验中将该群体在北京种植,检测休眠性位点,并同时关注百粒重 QTL,旨在通过分子标记辅助选择,培育出百粒重高而适度

休眠的绿豆品种,解决绿豆收获前的荚上子粒发芽问题。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

母本 Beiken (*Vigna radiata* ssp. *radiata*) 由美国俄克拉何马州立大学 James Kirby 博士培育,发芽率为 100% (室温 25℃ 培养皿中浸泡 7d)<sup>[34]</sup>; 父本 ACC41 (*Vigna radiata* ssp. *sublobata*) 是澳大利亚 Law n 博士在昆士兰州的萨默塞特奥马镇 (152°33'E, 27°7'S) 发现的野生绿豆,为多年蔓生类型,茎秆纤细,农艺性状与栽培绿豆有很大差异,发芽率为 0 (室温 25℃ 培养皿中浸泡 7d)<sup>[35-36]</sup>。

从 Beiken/ACC41 亚种内杂交 F<sub>2</sub> 开始,利用单粒传得到包含 227 个 F<sub>8</sub> 家系的 RIL 群体<sup>[37]</sup>。2006 年选取澳大利亚大田收获的 1 个重复中的 208 个 F<sub>9</sub> RIL 在北京种植收获 F<sub>10</sub> RIL 群体。由于受天气和土壤因素的影响,有些家系出苗不齐,还有些家系对光温反应敏感,未能正常开花结实,共有 121 个家系获得了完整的试验数据。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 田间试验** 用刀片将 208 个 F<sub>9</sub> RIL 种子切去部分子叶,于 2006 年 6 月 15 日种植在北京市朝阳区楼梓庄试验场内。完全随机区组设计,不设重复,每个家系种植 2 行,行长 1.5m,行距 0.5m,每行 20 粒种子。成熟时每小区按家系分别收获 10 个单株的种子,剩余单株按家系混收。

**1.2.2 百粒重的称量** 将收获的 121 个家系,每个家系取 3 个单株,每个单株收获的材料分别选取 50 粒健康种子称量百粒重。

**1.2.3 标准发芽试验** 以萌发种子的胚根和胚芽均大于 1mm 为发芽,作为判断种子发芽的标准。所有萌发试验的具体方法为:每个家系选取 3 个单株,每个单株选取 50 粒称好重量的种子,分别置于铺有湿润滤纸的培养皿中(每个培养皿底放一层厚度为 2mm 的浸透水的海绵,将 1 张干滤纸置于海绵之上,50 粒种子均匀的平铺在滤纸之上,再在种子上盖一层厚度为 1mm 的干海绵),再放入中国科学院国家种子库发芽室的 20℃ 恒温发芽箱内。第 3 天测定发芽势,以 3 个单株发芽势的平均数作为该家系的发芽势;第 7 天测定发芽率,以 3 个单株发芽率的平均数作为家系的发芽率。公式为:

$$GE = \frac{\sum N_1}{N} \times 100 \quad GP = \frac{\sum N_2}{N} \times 100$$

式中 GE——发芽势 (%)

GP——发芽率 (%)

$N_1$ ——第 3 天发芽的种子数

$N_2$ ——第 7 天发芽的种子数

N——做发芽试验的种子总数

### 1.3 数据分析

遗传连锁图谱由澳大利亚联邦科学与工业研究院 (CSIRO) 提供。图谱中的 79 个 RFLP 分子标记均匀地分布于 13 个连锁群上, 总图距 684.7 cM, 标记间平均距离为 10.4 cM。其中, ACC41 基因占整个群体基因组成的 43.70%, Beiken 基因占 56.30%,  $\chi^2$  测验显示群体组成符合 1:1 的分离比例 ( $\chi^2 = 0.67 < \chi^2_{0.05, 1} = 3.84$ ), 表明该群体适合进行 QTL 定位<sup>[24]</sup>。

采用 ICM app ingV 1.3 软件<sup>[38]</sup>的改进复合区间作图法, 对发芽率、发芽势和百粒重进行加性和上位性互作分析, 其中选用 Haldane 函数, 标记距离表示方法为区间, 作图方法选择 ICM-ADD 和 ICM-EPI 将 LOD 值 3.0 作为出现 QTL 的检测标准, 用这样的阈值在绿豆基因组中检测 1 个错误 QTL 的几率大约只有 0.05。利用 SAS PROC GLM 软件计算基本统

计量, 并对休眠性和百粒重进行相关分析、方差分析。遗传力的计算方法为性状基因型方差占表型方差的比例。

## 2 结果与分析

### 2.1 RIL 群体发芽势、发芽率及百粒重评价

对 RIL 群体的 121 个家系的发芽势、发芽率及百粒重 3 个性状进行分析, 结果见表 1。由 3 个性状的分布频率图 1 可以看出: 3 个性状均呈连续变异, 表明 3 个性状均为多基因控制的数量性状。百粒重的分布频率为正态分布, 为典型的多基因控制的数量性状; 发芽势和发芽率的分布不是正态分布, 分布规律趋向于极值。百粒重的变异系数稍小, 为 21.54, 变异范围为 1.64~4.55g, 发芽势和发芽率的变异系数分别为 80.08 和 73.75, 变异范围分别在 0~97.33% 与 0~98.67% 之间, 说明该 RIL 群体中存在丰富的休眠性变异。3 个性状的遗传力都很高, 均大于 0.85, 表明 3 个性状受遗传效应的影响较大。

表 1 重组近交系群体 3 个性状的表现与分布

Table 1 Performance and distribution of the three agronomic traits in the RILs

性状 Trait	家系数 Na	平均值 ± 标准差 (%) Mean ± SD	偏度 Skew	峰度 Kurtosis	变异系数 (%) CV	最大值 Max	最小值 Min	遗传力 $h^2$
发芽势 GE	121	35.27 ± 28.24	0.52	-0.97	80.08	97.33	0	0.90
发芽率 GP	121	39.49 ± 29.12	0.33	-1.16	73.75	98.67	0	0.87
百粒重 CSW	121	2.71 ± 0.58	0.52	0.01	21.54	4.55	1.64	0.94

GE: germinating energy; GP: germinating percentage; CSW: 100-seed weight. The same as below

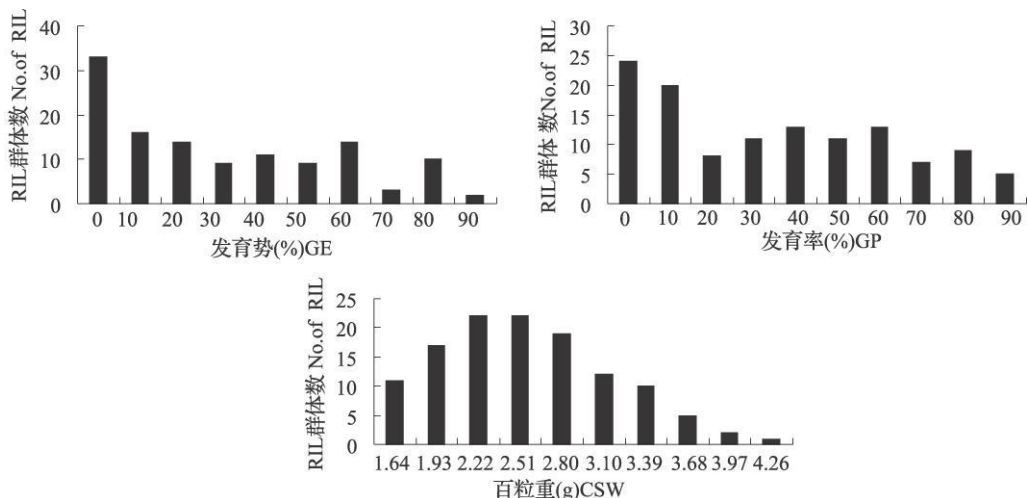


图 1 3 个性状在 RILs 群体中的分布

Fig 1 Frequency distribution of the three agronomic traits in the RILs population

## 2.2 RIL群体发芽势、发芽率及百粒重的相关分析

由表 2 可见发芽势、发芽率及百粒重 3 个性状之间存在极显著相关。其中发芽势和发芽率二者高度相关, 相关系数达到 0.999 ( $P < 0.01$ ); 发芽势、发芽率分别与百粒重低度相关, 相关系数分别为 0.364 和 0.371 ( $P < 0.01$ )。

## 2.3 RIL 群体发芽势、发芽率及百粒重的 QTL 定位

检测到 3 个影响发芽势的 QTL, 分别位于第 1 和 11 连锁群, 总变异解释率为 28.97%, 3 个 QTL

的加性效应均为正, 表明提高发芽势的等位基因来自母本 Berken。检测到 4 个影响发芽率的 QTL, 分别位于第 1、11 连锁群, 其贡献率为 4.34% ~ 12.69%, 4 个 QTL 的增效基因均来自母本 Berken。与百粒重有关的 QTL 有 5 个, 分别位于第 2、8、9、11 连锁群, 共解释 39.26% 的表型变异, 其总加性效应能使百粒重增加 0.38g。除第 2 连锁群的 SWB<sub>4</sub> 的加性效应为 -0.11, 其余 6 个百粒重 QTL 的增效基因均来自母本 Berken (表 2)。

表 2 3 个性状的 QTL 定位及其遗传参数估算

Table 3 Putative QTLs affecting the three agronomic traits in the RILs and their genetic parameter

性状 Trait	位点 QTL	标记区间 Flanking marker	连锁群 Group	位置 (M) Position	LOD 值 LOD value	加性效应 Additive	贡献率 (%) R <sup>2</sup>
发芽势 GE	GEA <sub>1</sub>	VrCS364 ~ VrCS49-1	1	53	5.98	7.17	12.14
	GEK <sub>1</sub>	VrCS65 ~ VrCS73	11	22	4.84	6.05	8.66
	GEK <sub>2</sub>	VrCS73 ~ VrCS170	11	27	4.68	5.87	8.17
发芽率 GP	GPA <sub>1</sub>	cg0103 ~ VrCS364	1	38	2.64	4.44	4.34
	GPA <sub>2</sub>	VrCS364 ~ VrCS49-1	1	53	6.13	7.57	12.69
	GPK <sub>1</sub>	VrCS65 ~ VrCS73	11	22	4.48	6.05	8.11
	GPK <sub>2</sub>	VrCS73 ~ VrCS170	11	26	4.30	5.67	7.12
百粒重 CSW	SWB <sub>3</sub>	VrCS282-2 ~ VrCS23-2	2	24	5.80	0.13	8.95
	SWB <sub>4</sub>	VrCS369 ~ LpCS304	2	76	4.73	-0.11	6.77
	SWH	VrCS228 ~ mgQ062-1	8	21	6.04	0.13	8.40
	SWI	mgM213 ~ VrCS161	9	45	3.56	0.09	4.58
	SWK	LpCS82 ~ VrCS65	11	3	6.63	0.14	10.36

## 2.4 RIL 群体发芽势、发芽率及百粒重的上位性互作分析

分别检测到发芽势、发芽率和百粒重的加性 × 加性上位性互作 8、9、9 对 (表 3), 这些互作位点分布于除第 13 连锁群外的其他 12 条连锁群上。第 2 连锁群标记区间 mgM241 ~ Lob 和 VrCS215-1 ~ pM241 位点的互作对发芽势的贡献率达到 31.80%, 其余互作对性状的单个贡献率虽都小于 10%, 介于 2.99% ~ 6.54% 之间。这些互作对发芽势、发芽率、百粒重 3 个性状的总表型贡献率分别达到 66.58%、47.91%、39.90%, 可见, 休眠性和百粒重受非等位基因间互作的影响也很大。

其中 1 对互作发生在 2 个主效 QTL SWB<sub>3</sub> 与 SWK 之间; 8 对互作发生在主效 QTL GEA<sub>1</sub>、GEK<sub>1</sub>、GEK<sub>2</sub>、GPA<sub>1</sub>、GPK<sub>1</sub>、GPK<sub>2</sub>、SWI 与非连锁标记位点之

间, 其余 17 对均发生在非连锁标记位点之间。有些标记区间同时与 2 个不同的标记区间存在互作效应, 如位于第 1 连锁群 VrCS364 ~ VrCS49-1 区间中的位点分别与位于第 9 连锁群上的 mgM213 ~ VrCS161 和第 7 连锁群上的 VrCS363 ~ VrCS371 存在上位性互作效应, 第 9 连锁群 VrCS161 ~ VrCS205 区间的位点分别与第 11 连锁群上的 VrCS65 ~ VrCS73 和 VrCS73 ~ VrCS170 区间上的 2 个位点存在互作效应, 表明 1 个遗传位点对 1 个数量性状的效应可能同时受多个遗传因子的影响。第 11 连锁群的 VrCS73 ~ VrCS170 分别为发芽势和发芽率的主效 QTL 区间, 但也参与百粒重的互作, 第 9 连锁群区间 mgM213 ~ VrCS161 是百粒重的主效 QTL, 但也参与发芽势的互作, 这说明这些 QTL 具有多效性, 同时也说明发芽率、发芽势和百粒重 3 个性状具有较高的相关性。

表 3 3个性状的上位性互作及遗传参数

Table 3 Digenic epistatic loci affecting the three traits and their genetic parameter

性状 Trait	连锁群 Group	区间 (i) Int i	连锁群 Group	区间 (j) Int j	LOD 值 LOD value	加性效应 A i	加性效应 A j	互作效应 AA ij	贡献率 (%) R <sup>2</sup>	
发芽势 GE	9	mgM 213~ VrCS161	1	<u>VrCS364~ VrCS49-1</u>	3.05	-0.28	6.98	4.19	4.16	
	7	VrCS363~ VrCS371	1	<u>VrCS364~ VrCS49-1</u>	4.36	-0.72	6.70	4.96	5.82	
	2	mgM 241~ Lob	2	VrCS215-1~ mgM241	3.29	-5.41	4.61	-11.60	31.80	
	9	VrCS205~ mgM 151	4	VrCS60~ VrCS215-2	3.46	0.04	1.12	4.21	4.18	
	6	LpCS250~ LpCS205	4	LpCS291~ VrCS215-4	4.74	0.49	3.18	5.05	6.03	
	12	mc017-1~ VrCS198	6	VrCS85~ LpCS250	3.64	0.03	-0.42	4.64	5.08	
	11	<u>VrCS65~ VrCS73</u>	9	VrCS161~ VrCS205	4.44	6.16	0.31	4.52	4.82	
	11	<u>VrCS73~ VrCS170</u>	9	VrCS161~ VrCS205	3.94	6.09	0.24	4.46	4.69	
	发芽率 GP	6	LpCS205~ mc003	1	VrCS356-1~ VrCS307	3.70	-0.10	1.38	-4.11	3.75
		6	LpCS250~ LpCS205	1	VrCS51~ cg0103	6.35	-0.43	1.63	5.42	6.52
		7	VrCS363~ VrCS371	1	<u>VrCS364~ VrCS49-1</u>	4.13	-0.10	6.70	4.56	4.61
9		VrCS161~ VrCS205	4	VrCS60~ VrCS215-2	4.49	0.09	0.84	4.46	4.42	
6		LpCS250~ LpCS205	4	mgQ117~ LpCS291	5.73	0.04	2.73	5.08	5.73	
12		VrCS198~ VrCS66	6	VrCS85~ LpCS250	5.42	-0.54	-0.65	4.98	5.50	
10		VrCS323-1~ LpCS185	7	VrCS159~ VrCS346	3.58	-0.58	0.39	4.51	4.50	
11		<u>VrCS65~ VrCS73</u>	9	VrCS161~ VrCS205	6.61	5.64	0.04	5.43	6.54	
11		<u>VrCS73~ VrCS170</u>	9	VrCS161~ VrCS205	6.00	5.50	-0.02	5.35	6.34	
百粒重 CSW		10	VrCS323-1~ LpCS185	1	VrCS51~ cg0103	3.10	0.00	0.00	0.07	3.00
		12	Mc017-1~ VrCS198	1	VrCS51~ cg0103	4.27	-0.02	0.00	0.08	4.00
	11	<u>LpCS82~ VrCS65</u>	2	<u>VrCS282-2~ VrCS23-2</u>	4.04	0.12	0.12	0.08	3.92	
	12	LpCS265~ mc017-1	2	VrCS23-2~ VrCS215-1	3.10	-0.02	0.03	-0.07	2.99	
	11	VrCS73~ VrCS170	2	LpCS304~ VrCS225	5.40	0.01	0.10	0.09	4.53	
	9	mgM 213~ VrCS161	3	VrCS49-2~ mgM78	4.66	0.08	0.01	0.10	5.29	
	11	VrCS73~ VrCS170	4	VrCS60~ VrCS215-2	4.71	0.01	0.05	-0.09	4.10	
	9	<u>mgM 213~ VrCS161</u>	5	VrCS84-1~ mc017-3	5.36	0.09	0.03	0.11	6.16	
	8	VrCS116~ mgM 273	6	LpCS250~ LpCS205	5.74	-0.08	0.02	0.10	5.91	

Int i和 Int j分别代表上位性互作的不同标记区间; A i A j和 AA ij分别代表加性效应和上位性效应, 带有下划线的 Int i代表主效 QTL 间的互作  
Int i and Int j represent different marker intervals for epistatic loci; A i A j and AA ij indicate additive main effect and epistatic main effect respectively. Int i with underline means the major QTL

### 3 讨论

Lawn等<sup>[25, 35]</sup>研究表明: Sublobata亚种内的绿豆休眠性强而稳定, 如 1964年在实验室常温条件下保存的 1份绿豆材料, 20年后检测到发芽率只有 0.1%。因此, 利用 Berken/ACC41 RIL群体对绿豆的休眠性进行深入的分子剖析和 QTL定位, 将对绿豆育种产生更深远的意义。

Humphry<sup>[24]</sup>用澳大利亚昆士兰温室和大田种植收获的 2组各含 228个家系的 Berken/Acc41 F<sub>9</sub>

RIL群体做发芽势和百粒重 QTL分析。Humphry在大田 RIL群体检测到 4个发芽势 QTL, 温室 RIL群体中检测到 1个发芽势 QTL。本试验检测到 3个控制发芽势的 QTL和 4个控制发芽率的 QTL, 这与 Humphry<sup>[24]</sup>以及先前根据表型数据的研究结果<sup>[25, 39-40]</sup>一致, 即表明绿豆的休眠性受少数几个主效基因控制, 且增加发芽势和发芽率的等位基因均来自母本 Berken。Humphry<sup>[24]</sup>研究表明, 昆士兰大田和温室 RIL群体的发芽势低度相关, Inrie等<sup>[39]</sup>的研究也表明大田和温室材料的发芽势相关性不显

著,这些都说明了休眠性容易受环境影响,也解释了不同环境下检测到数目不同 QTL的主要原因。本试验在第 1 连锁群 *cg0103~Vrcs364* 间检测到控制发芽率的 QTL, *Humphry*<sup>[24]</sup> 和 *Lambtiles*<sup>[40]</sup> 也曾得到同样的试验结果,说明了该分子标记区间存在控制休眠性 QTL 的可能性。本试验在第 11 连锁群标记 *Vrcs73* 所在的 2 个相邻区间分别检测到 2 个控制发芽势和发芽率的 QTL, 与 *Vrcs73* 相距 1.4~2.6M, 对发芽势和发芽率的贡献率分别为 16.83% 和 15.23%, *Humphry*<sup>[24]</sup> 也在大田 RIL 群体中检测到 1 个贡献率为 10.0% 的影响发芽势的 QTL, 位于 *Vrcs65~Vrcs73* 区间, 距 *Vrcs73* 标记 7.9cM, 该 QTL 在澳大利亚和北京大田都检测到, 可见 *Vrcs73* 也是检测绿豆种子休眠性的 1 个重要的分子标记。

本试验检测到 5 个控制百粒重的 QTL, *Mei* 等<sup>[41]</sup> 对该 RIL 群体在其他 4 个环境下种植收获的家系进行百粒重 QTL 分析, 分别检测到 3~9 个 QTL, 进一步说明子粒大小是受微效多基因控制的数量性状。从目前该群体检测出的百粒重 QTL 来看, 有 8 个 QTL 是 3 或 5 个环境下均能检测到的, 其中在 5 个环境下均能检测到的是第 10 连锁群的 *swK* (贡献率 7.8%~10.36%); 在 3 个环境下检测到的有第 1 连锁群的 *swA* (贡献率 5.8%~6.8%)、第 2 连锁群的 *swB<sub>1</sub>* (贡献率 3.3%~6.8%) 和 *swB<sub>2</sub>* (贡献率 2.6%~4.0%)、第 4 连锁群的 *swD* (贡献率 2.8%~3.9%)、第 5 连锁群的 *swE<sub>2</sub>* (贡献率 6.5%~11.4%)、第 8 连锁群的 *swI* (贡献率 4.58%~15.1%)、第 9 连锁群的 *swJ* (贡献率 3.5%~11%)。这些多环境检测的 QTL 对提高绿豆百粒重具有十分重要的意义。

*Imrie* 等<sup>[39,42]</sup> 和 *Williams*<sup>[22]</sup> 研究表明许多小粒种子的休眠性强而大粒种子的休眠性都很弱, 容易引发莢上发芽, 而培育大粒又适度休眠的绿豆品种一直很困难。Humphry<sup>[24]</sup> 检测到 2 个影响休眠性的 QTL *hB* 和 *hK* 分别与控制百粒重的 QTL *swB<sub>1</sub>* 和 *swK* 位于相同标记区间内, 尽管通过协方差分析了百粒重对休眠性位点的影响效果, 但百粒重与休眠性的关系并不明晰, 温室与大田得到的结果也不尽相同, 作者只能通过有限的试验结果推测出培育百粒重而适度休眠的绿豆品种的可能性。本试验相关分析表明, 百粒重与发芽势及发芽率呈极显著正相关, 预示着选择百粒重高的绿豆必然休眠性差, 但 QTL 检测结果显示, 并没有休眠性与百粒重 QTL 位于相同染色体区段, 这可能是试验群体较小所致, 也

可能是环境的不同对 QTL 的检测起到很大影响。上位性互作表明休眠性与百粒重存在一定关系, 但控制相关性状的这些 QTL 的遗传效应是源于“一因多效”还是基因的紧密连锁并不十分清楚。因此, 目前还不能对百粒重高的绿豆必然休眠性差下一定结论。要准确区分“一因多效”和“紧密连锁”这两种遗传效应, 必须把这些 QTL 通过回交转育成单个 QTL 近等基因系, 将复合 QTL 剖析为单个孟德尔遗传基因, 对其进行精细定位。同时, 利用与这些 QTL 紧密连锁的分子标记进行辅助选择, 对百粒重和休眠性进行遗传改良, 最终实现预期的育种目标。

#### 参考文献

- [1] 龙静宜, 林黎奋, 候修身, 等. 食用豆类作物 [M]. 北京: 科学出版社, 1989: 1-10
- [2] Foley M E, Fennimore S A. Genetic basis for seed dormancy [J]. Seed Sci Res 1998, 8: 173-182
- [3] 唐九友, 江玲, 王春明, 等. 水稻种子休眠性 QTL 定位及其对干热处理的响应 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 1791-1796
- [4] 肖世和, 张秀英. 白粒小麦抗穗发芽遗传育种的研究 [J]. 作物杂志, 1999(2): 5-6
- [5] 赵明. 水稻收获时休眠性(穗发芽抗性)的鉴定、遗传与育种应用 [D]. 南京: 南京农业大学, 2004
- [6] Seshu D V, Sorrells M E. Genetic studies on seed dormancy in rice [C]// Rice Genetics. IRRRI Los Banos Philippines 1986: 369-382
- [7] Tamir J B. Genetics of grain dormancy in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Genet Ag 1984, 38: 443-446
- [8] Tripathi R S, Tao M J. Inheritance of grain dormancy in rice [J]. Oryza 1982, 19: 17-19
- [9] Takakashi N. Physicogenetical studies on germination of rice seeds with special reference to its genetics factors [J]. Nogaku kenkyusho Hokoku (Tohoku Daigaku), 1962, 14: 1-87 (In Japanese with English summary)
- [10] Chang T T, Tagunpay O. Inheritance of grain dormancy in relation to growth duration in 10 rice cross [J]. Society for Advancement of Breeding Rice in Asia and Oceania Newsletter 1973, 5: 87-94
- [11] Wan J, Nakazaki T, Kawaura K, et al. Identification of marker loci for seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Crop Sci 1997, 37: 1759-1763
- [12] Lin S Y, Sasaki T, Yanom M. Mapping quantitative trait loci controlling seed dormancy and heading date in rice (*Oryza sativa* L.) using backcross inbred lines [J]. Theor Appl Genet 1998, 96: 997-1003
- [13] Cai H W, Morishima H. Genomic regions affecting seed shattering and seed dormancy in rice [J]. Theor Appl Genet 2000, 100: 840-846
- [14] Gale M D, Flintam J E, Devos K M. Cereal comparative genetic and preharvest sprouting [J]. Euphytica 2002, 126: 21-25
- [15] 曹雅君. 水稻种子休眠性的遗传分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2002
- [16] James A A. RFLP analysis genetics of genetics region associated with resistance to preharvest sprouting in wheat [J]. Crop Sci 1993, 33: 453-459
- [17] Keller M, Keller B, Messner M, et al. Genetic analysis of preharvest sprouting resistance in wheat X spelt cross [J]. Crop Sci 2000, 40: 1406-1417
- [18] Roy J K, Prasad M, Varshney R K, et al. Identification of a marker

- satellite on chromosomes 6B and a STS on 7D of bread wheat showing an association with pre-harvest sprouting tolerance [J]. *Theor Appl Genet* 1999, 99 (1-2): 336-340
- [19] Groos C, Gay G, Perretat M R, et al Study of the relationship between pre-harvest sprouting and grain color by quantitative trait loci analysis in a white X red grain bread wheat cross [J]. *Theor Appl Genet* 2002, 104 (1): 39-47
- [20] Lebedeff G A. Studies on the inheritance of hard seeds in beans [J]. *J Agric Res* 1947, 74: 205-215
- [21] Donnelly E D, Watson J E, McGuire J A. Inheritance of hard seed in *Vicia* [J]. *JH heredity*, 1972, 63: 361-365
- [22] Williams R W. A study of the causes of and selection for resistance to weather damage in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek *V. mungo* (L.) Hepper]. [D] Brisbane University of Queensland, Australia, 1989
- [23] Malik B A, Singh V P. Genetics of some metric traits in green gram [J]. *Indian J Agric Sci* 1983, 53: 1002-1005
- [24] Humphry M E, Lambrides C J, Liu C J, et al Relationships between hard seediness and seed weight in mungbean (*Vigna radiata*) assessed by QTL analysis [J]. *Plant Breed*, 2005, 124: 292-298
- [25] James A T, Lawn R J, Lambrides C J, et al Cross fertility of Australian accessions of wild mungbean (*Vigna radiata* ssp. *subbata*) with green gram (*V. radiata* ssp. *radiata*) and black gram (*V. mungo*) [J]. *Aust J Bot* 1999, 47: 601-610
- [26] Fery R L. Genetics of *Vigna* [C] // Janick J. *Horticultural Reviews* AVI Publishing Westport 1980: 311-394
- [27] Fatokun C A, Young N D, Menancio-Hautau D I, et al Evidence for orthologous seed weight genes in cowpea and mung bean based on RFLP mapping [J]. *Genetics* 1992, 132: 841-846
- [28] Orf J H, Chase K, Jarvik T, et al Genetics of soybean agronomic traits I. Comparison of three related recombinant inbred populations [J]. *Crop Sci* 1999, 39: 1642-1651
- [29] Casadi G J, Volhann J, Stiff G, et al Seed quality QTLs identified in a molecular map of early maturing soybean [J]. *Theor Appl Genet* 2001, 103: 912-919
- [30] Patil M C V, Torres A M, Koblikova A, et al Development of a genetic composite map of *Vicia faba* using  $F_2$  populations derived from trisomic plants [J]. *Theor Appl Genet* 1999, 98: 736-743
- [31] Park S O, Coyne D P, Jung G, et al Mapping of QTL for seed size and shape traits in common bean [J]. *J Am Soc Hort Sci* 2000, 125: 466-475
- [32] Lambrides C J, Godwin ID, Lawn R J, et al Segregation distortion for seed testa color in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) [J]. *J Hered* 2004, 95 (6): 532-541
- [33] Hazarka R, Banua P K. Effect of fertilization and lining on hard seediness in green gram (*Vigna radiata* L. Wilczek) [J]. *Eurphytica* 2002, 86: 167-181
- [34] Kingston R W. Berker a new mungbean variety [J]. *Qld Agric J* 1975, 101: 659-661
- [35] Lawn R J, Cottrell A W. Wild mungbean and its relatives in Australia [J]. *Biologist* 1988, 35: 267-273
- [36] Rebetzke G J. Attributes of potential adaptive and agronomic significance in the wild mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek ssp. *subbata* (Roxb.) Verdc.] [D]. Brisbane Australia University of Queensland, 1994
- [37] Lawn R J, Lambrides C J. Tow genetic linkage maps of mungbean using RFLP and RAPD markers Australian [J]. *J Agric Res* 2000, 51: 415-425
- [38] Li H, Ye G, Wang J. A modified algorithm for the improvement of composite interval mapping [J]. *Genetics* 2007, 175: 361-374
- [39] Inrie B C, Williams R W, Lawn R J. Breeding for resistance to weather damage in mungbean [C] // Proceedings of the Second International Symposium on Mungbean AVRDC, Taiwan, 1988: 130-135
- [40] Lambrides C J. Breeding for improved seed quality traits in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) using DNA markers [D]. Brisbane University of Queensland, Australia, 1996
- [41] Mei L, Cheng X Z, Liu C J, et al Relationship between bruchid resistance and seed mass in mungbean based on QTL analysis [J]. *Genome* 2009, 52: 589-596
- [42] Inrie B C, Lawn R J, Yeates S J. Mungbean breeding and cultivar development in Australia [C] // Mungbean the Australian Experience Proceedings of the First Australian Mungbean Workshop 1991: 14-20

(上接第 95页)

## 参考文献

- [1] Bohnert H J, Nelson D E, Jensen R G. Adaptations to environmental stresses [J]. *Plant Cell* 1995, 7(7): 1099-1111
- [2] Hith H. Multiple roles of MAP kinases in plant signal transduction [J]. *Trends Plant Sci* 1997, 2(1): 11-15
- [3] Kult D. Phylogenetic and functional classification of mitogen and stress-activated protein kinases [J]. *J Mol Evol* 1998, 46(5): 479-489
- [4] Obata T, Brown G E, Yaffe M B. MAP kinase pathways activated by stress The p38 MAPK pathway [J]. *Critical care medicine* 2000, 28(4): N67-77
- [5] Neary J T. MAPK cascades in cell growth and death [J]. *Physiology*, 1997, 12(2): 286-293
- [6] Fama O, Wilfried R, David L, et al A MAPK pathway mediates ethylene signaling in plants [J]. *EMBO J* 2003, 22(6): 1282-1288
- [7] Seo S, Okamoto M, Seo H, et al Tobacco MAP kinase: a possible mediator in wound signal transduction pathways [J]. *Science* 1995, 270: 1988-1992
- [8] Suzuki K, Shinshi H. Transient activation and tyrosine phosphorylation of a protein kinase in tobacco cells treated with a fungal elicitor [J]. *Plant Cell* 1995, 7(5): 639-647
- [9] Tena C, Asai T, Chiu W L, et al Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades [J]. *Curr Opin Plant Biol* 2001, 4(5): 392-400
- [10] Seger R, Krebs E G. The MAPK signaling cascade [J]. *FASEB* 1995, 9(8): 726-735
- [11] Tibbles L A, Woodgett J R. The stress-activated protein kinase pathways [J]. *CMLS*, 1999, 55(10): 1230-1254
- [12] Wilmann C, Gibson S, Jape M B. Mitogen-activated protein kinase Conservation of a three-kinase module from yeast to human [J]. *Physiological* 1999, 79(1): 143-180
- [13] Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades [J]. *Nature*, 2001, 410(1): 37-40
- [14] Johnson G L, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK and p38 protein kinases [J]. *Science* 2002, 298(5600): 1911-1912
- [15] Davis R J. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases [J]. *Cell* 2000, 103(2): 239-252
- [16] Xiong L, Yang Y. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase [J]. *Plant Cell* 2003, 15(3): 745-759
- [17] James F, Song C, Shin D, et al MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling [J]. *PNAS*, 2009, 106(48): 20520-20525