

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.54053

研究简报

基于饭豆基因资源的小豆远缘杂交群体抗豆象 QTL 定位

刘长友¹ 王 坤¹ 时会影¹ 沈颖超¹ 孙 蕾² 王 彦¹ 张志肖¹
苏秋竹¹ 田 静^{1,*} 范保杰^{1,*}

¹ 河北省农林科学院粮油作物研究所 / 河北省作物遗传育种重点实验室, 河北石家庄 050035; ² 吉林省农业科学院, 吉林长春 130033

摘 要: 豆象是危害小豆(*Vigna angularis*)等食用豆类的主要仓储害虫, 而栽培小豆缺乏抗豆象种质资源。近缘栽培种饭豆(*Vigna umbellata*)大多表现出抗豆象。本研究通过构建饭豆与小豆的远缘杂交群体, 挖掘抗豆象基因资源, 为小豆抗豆象育种提供理论支撑。以抗豆象饭豆 F021 和感豆象小豆白红 2 号为亲本, 通过幼胚拯救获得 F₁ 植株, 采用单粒传法构建包含 178 个株系的 F₈ 代重组自交系群体(RIL)。利用 3095 个 SSR 标记筛选亲本间多态性位点, 构建遗传连锁图谱。结合 2 年人工接种绿豆象表型鉴定(以种子被害率为指标), 采用区间作图法(IM)定位抗豆象 QTL 位点并分析其遗传效应。结果表明, 亲本白红 2 号种子被害率均为 100% (感豆象), 饭豆 F021 种子被害率分别为 19.2%和 23.4% (抗豆象); RIL 群体种子被害率呈连续分布, 符合数量性状遗传特征。筛选获得 503 个多态性 SSR 标记(小豆来源标记多态性最高, 达 33.7%), 构建的遗传连锁图谱包含 262 个标记, 分布于 11 个连锁群, 总长 634.90 cM, 标记间平均遗传距离 3.43 cM, 比较基因组分析显示与小豆基因组共线性良好。联合 2 年表型数据分析共检测到 9 个抗豆象 QTL, 其中 3 个为稳定 QTL (*QUmbr2.1/2.2*, *QUmbr4.1/4.2*, *QUmbr11.1/11.2*), LOD 值介于 2.93~6.56, 表型贡献率为 8.3%~17.0%; 所有 QTL 加性效应均为负值, 表明饭豆等位基因显著降低种子被害率。本研究通过远缘杂交群体定位饭豆抗豆象 QTL, 证实饭豆可作为小豆抗豆象育种的优异基因供体, 并为分子标记辅助选择提供了关键标记资源。

关键词: 饭豆; 小豆; 远缘杂交; 抗豆象; QTL 定位

QTL mapping for bruchid resistance in an adzuki bean distant hybridization population using rice bean genetic resources

Liu Chang-You¹, Wang Shen¹, Shi Hui-Ying¹, Shen Ying-Chao¹, Sun Lei², Wang Yan¹, Zhang Zhi-Xiao¹, Su Qiu-Zhu¹, Tian Jing^{1,*}, and Fan Bao-Jie^{1,*}

¹ Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences / Hebei Key Laboratory of Crop Genetics and Breeding, Shijiazhuang 050035, Hebei, China; ² Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, Jilin, China

Abstract: Bruchid beetles (*Callosobruchus* spp.) are major storage pests of adzuki bean (*Vigna angularis*) and other food legumes. While cultivated adzuki bean lacks bruchid-resistant germplasm, its close relative, rice bean (*Vigna umbellata*), exhibits strong resistance. This study aimed to explore bruchid resistance genes from rice bean by developing a distant hybridization population with adzuki bean, thereby providing a theoretical basis for molecular breeding of bruchid-resistant adzuki bean varieties. An interspecific hybrid population was generated using the bruchid-resistant rice bean accession F021 as the maternal parent and the bruchid-susceptible adzuki bean cultivar Baihong 2 as the paternal parent. F₁ hybrids were obtained through embryo rescue, and a recombinant inbred line (RIL) population of 178 F₈ lines was established via single-seed descent. A genetic linkage map was con-

本研究由河北省农林科学院科技创新专项(2022KJCXZX-LYS-17), 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-08-G03), 河北省现代产业技术体系杂粮杂豆创新团队项目(HBCT2018070203), 河北省青年拔尖人才(2018)项目和河北省杂粮杂豆种业科技创新团队项目(21326305D)资助。

This study was supported by the Special Project on Scientific and Technological Innovation of Hebei Provincial Academy of Agriculture and Forestry Sciences (2022KJCXZX-LYS-17), the China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-08-G03), the Hebei Agriculture Research System-Innovation Team of Coarse Cereals and Food Legume (HBCT2018070203), the Young Elite Talents Program of Hebei Province (2018), and the Key Research and Development Program of Hebei Province (21326305D).

* 通信作者(Corresponding authors): 田静, E-mail: nkytianjing@163.com; 范保杰, E-mail: fanbaojie1972@163.com

第一作者联系方式: E-mail: 35931915@qq.com

Received (收稿日期): 2025-04-27; Accepted (接受日期): 2025-11-19; Published online (网络出版日期): 2025-11-26.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20251126.1108.002>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

structed using 3095 SSR markers to identify polymorphic loci between the parents. Bruchid resistance was evaluated over two consecutive years through artificial infestation with *Callosobruchus chinensis* (adzuki bean weevil), using seed damage rate (%) as the phenotypic indicator. Quantitative trait loci (QTLs) for bruchid resistance were identified by interval mapping, and their genetic effects were analyzed. The seed damage rate of Baihong 2 was consistently 100% across both years, confirming its susceptibility, while F021 displayed resistance with seed damage rates of 19.2% and 23.4%, respectively. The RIL population exhibited a continuous distribution of seed damage rates, consistent with the inheritance pattern of a quantitative trait. A total of 503 polymorphic SSR markers were identified, with the highest polymorphism rate (33.7%) observed among adzuki bean-derived markers. The final genetic linkage map included 262 markers distributed across 11 linkage groups, spanning a total length of 634.90 cM with an average inter-marker distance of 3.43 cM. Comparative genomic analysis showed good collinearity with the adzuki bean reference genome. Joint analysis of phenotypic data from both years identified nine QTLs associated with resistance to *C. chinensis*, including three stable QTLs (*QUmbr2.1/2.2*, *QUmbr4.1/4.2*, and *QUmbr11.1/11.2*), with LOD scores ranging from 2.93 to 6.56 and phenotypic variance explained ranging from 8.3% to 17.0%. All QTLs exhibited negative additive effects, indicating that alleles from rice bean significantly reduced seed damage rates. This study successfully mapped QTLs for adzuki bean weevil resistance using a distant hybridization population and confirmed rice bean as a valuable gene donor for improving bruchid resistance in adzuki bean, providing essential marker resources for molecular marker-assisted selection in breeding programs.

Keywords: rice bean; adzuki bean; distant hybridization; bruchid resistance; QTL mapping

豆象是危害小豆、绿豆、豇豆等食用豆类作物的主要仓储害虫。在亚洲危害小豆的豆象主要是绿豆象 (*Callosobruchus chinensis*)、四纹豆象 (*Callosobruchus maculatus*) 和鹰嘴豆象 (*Callosobruchus analis* F.)^[1]。其中以绿豆象为主,在河北、安徽、陕西、河南、湖北等小豆产区绿豆象危害率可达 68%^[2]。四纹豆象和鹰嘴豆象为我国植物检疫性有害生物,主要随寄主的调运远距离传播^[3]。在小豆种植区,豆象的初侵染一般发生在田间,成虫在嫩豆荚上产卵,幼虫孵出后蛀入种子内部进行取食,并随着收获后的种子在仓内继续进行为害^[4],发生严重时可造成整仓小豆全部受损。受豆象为害后,豆粒表面出现孔洞,营养品质和商品质量严重下降。田间防治豆象为害主要是在开花期进行化学药剂防治^[5],豆粒储运过程中则主要使用磷化铝等熏蒸剂熏蒸。这不仅增加了小豆生产的成本,而且磷化铝属于人畜高毒农药,如果使用不当,容易造成环境污染、导致人畜中毒。因此,防治豆象为害最为经济且环保的方法是培育抗豆象小豆品种。

多个国内外研究机构对收集的栽培及野生小豆种质资源进行抗豆象评价,均未能鉴定出小豆抗豆象种质材料^[6-7],小豆抗豆象育种一直未实现突破。在小豆的几个近缘野生种中发现了能够抗豆象的材料。Somta 等^[8]研究发现,小豆近缘野生种 *Vigna nepalensis* 种子中的某些抗性物质可以抑制绿豆象和四纹豆象的生长发育,能够延迟豆象的孵化,可能是一种有用的抗豆象基因来源。但是经数量性状

定位(quantitative trait locus, QTL)分析发现, *Vigna nepalensis* 中的抗性比较复杂,几个与豆象抗性相关的 QTL 与控制种子大小的 QTL 连锁,随着抗性的增加种子则变小。研究表明,大部分饭豆资源对豆象有抗性,且作为栽培种,其籽粒较大,在育种应用中可以较少地引入不利性状^[6,9]。Kaga 等^[10]利用 RFLP 和 RAPD 标记构建了第一张小豆与饭豆间的遗传连锁图谱,但未利用该图谱进行 QTL 定位等方面的研究。利用饭豆与近缘野生种 *Vigna nakashimae* 远缘杂交, Somta 等^[11]构建了种间连锁图谱,并在连锁群 1 和连锁群 7 定位到与绿豆象抗性相关的位点。本研究前期利用幼胚拯救的手段实现了小豆与饭豆间的远缘杂交^[12],并通过单粒传法获得一套重组自交系群体(recombinant inbred lines, RIL),进一步利用多态性 SSR 标记构建遗传连锁图谱,定位饭豆抗豆象基因,旨在为今后小豆和饭豆抗豆象分子标记辅助育种及抗豆象基因精细定位奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

抗豆象亲本饭豆 F021 为收集自河北保定的饭豆农家种,感豆象亲本白红 2 号为吉林省白城市农业科学院育成的小豆品种。按照刘长友等^[12]描述的方法利用饭豆 F021 作母本与白红 2 号杂交,在 14 d 取幼胚进行幼胚拯救,获得二者之间的远缘杂交 F₁ 植株并单株收获。将 F₂~F₈ 代在河北省农林科学院粮油作物研究所堤上试验站(37.95°N, 114.73°E)和海南三亚试验站(18.30°N, 109.49°E)进行加代繁殖,

经单粒传法, 最终获得一套 F_8 代重组自交系群体 (178 个株系), 用于抗豆象表型鉴定和遗传连锁图谱构建。抗豆象鉴定使用的绿豆象取自河北省石家庄市, 由河北省农林科学院粮油作物研究所食用豆研究室繁殖保存。

1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

从亲本和每个 RIL 株系取幼嫩的三出复叶, 立即投入到液氮中, -80°C 保存, 以备提取 DNA。利用植物基因组提取试剂盒 (TIANGAN, 中国) 进行 DNA 提取。使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。利用超微量核酸蛋白检测仪 (Nanodrop ND-2000, 美国) 测定 DNA 浓度, 并稀释到 $10\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$, 备用。参照 Liu 等^[13] 的 PCR 反应体系及程序进行扩增。

1.3 抗豆象鉴定

每个 RIL 株系随机选取 60 粒健康种子, 分成 3 个重复, 每个重复 20 粒, 分别放入直径 5.0 cm、高 1.8 cm 的圆形小塑料盒中。同时, 分别放入抗豆象亲本饭豆 F021 和感豆象亲本白红 2 号作为对照。将小塑料盒并排放入大塑料箱内 ($66\text{ cm} \times 40\text{ cm} \times 15\text{ cm}$), 每个大塑料箱中放入刚羽化 1~3 d 的成虫作为虫源 (平均每份被鉴定材料 3~8 对), 至每粒种子着卵量为 3~5 粒时, 除去成虫; 养虫室温度控制在 $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, 湿度控制在 55%~65%。待感虫亲本完全被蛀食, 不再有成虫孵出后 (约 40~60 d), 调查每份材料的受害粒数。3 个重复取平均值, 用于后续数据分析。利用 SPSS 19.0 统计分析软件计算 RIL 群体种子被害率的频率分布。

1.4 SSR 标记分析

用于本研究的 SSR 标记总计 3095 个。小豆 SSR 标记 1290 个, 其中 1100 个小豆 SSR 标记为课题组根据已发表的小豆基因组序列信息^[14] 开发而来, 前缀为“Achr”, 190 个来自小豆遗传连锁图谱构建相关研究文献^[15], 标记“CEDG”和“AB”前缀; 绿豆 SSR 标记共有 1574 个, 其中 1418 个从绿豆转录组数据库设计开发^[13], 该部分 SSR 标记“HAAS_VR”前缀, 其他 156 个来自绿豆 SSR 标记开发相关文献^[16-20], 标记“MB-SSR”、“DMB-SSR”和“VR”前缀; 豇豆 SSR 标记 68 个, 来自豇豆 SSR 引物开发文献^[21], 分别标记“VM”和“cp”前缀; 菜豆 SSR 标记 39 个, 来自菜豆 SSR 标记开发文献^[22-23], 分别标记“BM”和“PVBR”前缀; 大豆 SSR 标记 124 个, 来自大豆 EST-SSR^[24], 标记“GMES”前缀。利用两亲本筛选多态性 SSR 标记, 将多态性 SSR 标记用于 RIL 群体基因型分析。

1.5 连锁图谱构建及 QTL 分析

采用 JoinMap 4.0 软件^[25] 构建遗传连锁图谱。通过卡方检验计算标记分离比; 基于最大似然算法完成标记的分组与排序; 以 LOD 值 ≥ 5.0 为阈值确定连锁群; 利用 Kosambi 函数将重组率转换为遗传距离。

采用 MapQTL 6.0 软件 (参照 Van^[26] 所述方法) 进行数量性状位点 (QTL) 定位分析。具体而言, 通过区间作图法 (interval mapping, IM) 对种子被害率相关 QTL 进行全连锁群扫描。选择回归算法计算最大似然值, 设定作图步长为 1.0 cM。各 QTL 区间的显著性通过 LOD 值进行评估, QTL 的显著性 LOD 阈值在 $P = 0.05$ 时, 作 10,000 次置换试验 (permutation test) 确定, 通过计算分离群体内遗传方差占表型总方差的百分比估算 QTL 对表型变异的解释率 (phenotypic variance explained, PVE)。

2 结果与分析

2.1 亲本及 RIL 群体的豆象抗性鉴定

在 2019 年和 2021 年 2 年鉴定中, 亲本白红 2 号的种子被害率均为 100%, 表现为完全感豆象, 饭豆 F021 的种子被害率分别为 19.2% 和 23.4%, 表现为抗豆象, 但并非完全抗性 (图 1)。RIL 群体种子被害率的变异范围分别为 2.5%~100.0% 和 11.6%~100.0% (表 1), 表现为典型数量性状连续分布特征 (图 2), 其偏度均为负值, 呈左偏态。

2.2 SSR 标记多态性分析

将来源于小豆、绿豆、豇豆、菜豆、大豆 5 种豆类的 3095 个 SSR 及 EST-SSR 标记在亲本饭豆 F021 和小豆白红 2 号间进行多态性标记筛选, 其中 2601 个标记可以在饭豆和小豆中有效扩增, 共获得 503 个多态性标记。其中来源于小豆的 SSR 标记的有效扩增率 (93.5%) 及多态性比率 (33.7%) 最高,

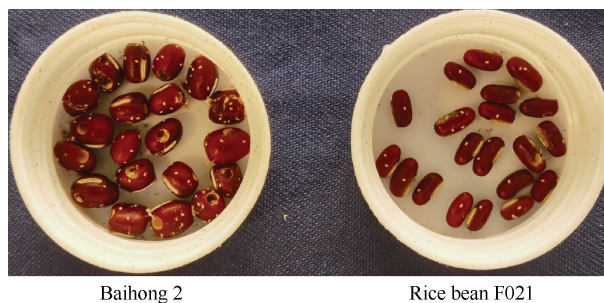


图 1 小豆和饭豆亲本抗豆象鉴定

Fig. 1 Identification of bruchid resistance in adzuki bean and rice bean parental lines

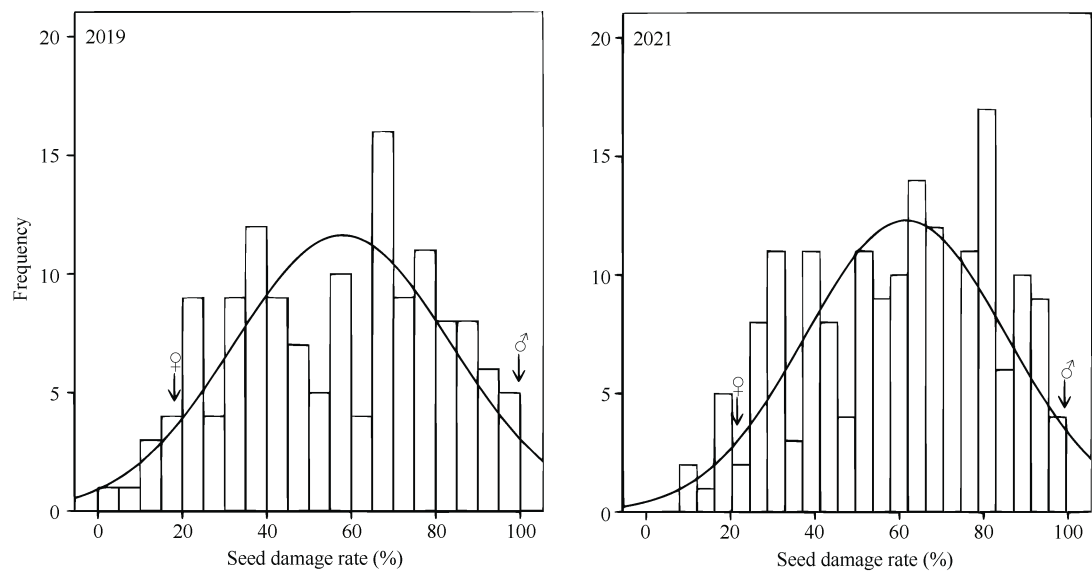


图 2 RIL 株系种子被害率频次分布
Fig. 2 Frequency distribution of seed damage rate in the RIL population
♀: 饭豆 F021; ♂: 白红 2 号。♀: Rice bean F021; ♂: Baihong 2.

表 1 亲本及 RIL 群体的种子被害率分析
Table 1 Analysis for seed damage rate in parental lines and the RIL population

性状 Trait	年份 Year	白红 2 号 Baihong 2	饭豆 F021 Rice bean F021	RIL 平均值 RIL average	RIL 群体 RIL population		
					范围 Range	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
SDR (%)	2019	100.0±0.0	19.2±4.1	57.92±2.92	2.5–100.0	−0.102	−1.027
	2021	100.0±0.0	23.4±5.3	61.59±15.08	11.6–100.0	−0.157	−0.971

SDR: 种子被害率。表中白红 2 号、饭豆 F021 和 RIL 群体的种子被害率均以平均值±标准差表示。
SDR: seed damage rate. Values for Baihong 2, rice bean F021, and the RIL population are presented as mean ± standard deviation.

来源于菜豆的 SSR 标记的有效扩增率(71.8%)和多态性比率(2.6%)最低(表 2)。

2.3 遗传连锁图谱构建

为了使从小豆基因组中设计的 SSR 标记在连锁群上尽可能平均分布, 本研究按照它们在染色体上的位置挑选了 172 个分布相对分散的多态性标记进行后续 RIL 株系基因型鉴定分析, 而所有来源于文献报道的小豆及其近缘物种的多态性 SSR 标记则全

部纳入分析范围。最终, 总计 287 个 SSR 标记用于遗传连锁图谱构建。

利用 LOD 值作为标记分组的依据。在 $LOD \geq 5$ 时, 287 个 SSR 标记中有 262 个标记被成功定位在 11 个连锁群上, 连锁群数目恰好与饭豆和小豆的单倍体染色体数($n = 11$)相吻合, 其他 25 个标记未能构建到连锁群中。最终构建的饭豆与小豆种间遗传连锁图谱总长为 634.9 cM, 标记间平均遗传距离为

表 2 多态性 SSR 标记分析
Table 2 Analysis of polymorphic SSR markers used in this study

来源物种 Species	标记数 No. of markers	有效扩增数(比率) Amplified (ratio, %)	多态性标记数(比率) Polymorphic (ratio, %)	上图标记数 No. of mapped loci
小豆 Adzuki bean	1290	1207 (93.5)	435 (33.7)	209
绿豆 Mung bean	1574	1210 (76.9)	54 (3.4)	43
豇豆 Cowpea	68	51 (75.0)	5 (7.4)	3
菜豆 Common bean	39	28 (71.8)	1 (2.6)	1
大豆 Soybean	124	105 (84.7)	8 (6.5)	6
总计 Total	3095	2601 (84.0)	503 (16.3)	262

表 3 连锁群基本特征描述
Table 3 Basic characteristics of the linkage groups

连锁群 Linkage group	标记数 No. of markers	长度 Length (cM)	标记间平均遗传距离 Average distance between adjacent markers (cM)
1	59	83.9	1.45
2	31	62.8	2.09
3	20	46.2	2.43
4	30	57.6	1.99
5	13	47.7	3.98
6	16	56.5	3.77
7	14	59.5	4.58
8	22	69.2	3.30
9	12	44.3	4.03
10	40	74.2	1.90
11	5	33.0	8.25
总计 Total	262	634.9	3.43

3.43 cM。各连锁群长度范围在 33.0~83.9 cM 之间, 其中连锁群 11 最短, 连锁群 1 最长。每个连锁群上的标记数目为 5~59 个。连锁群 1 上的标记数目明显多于其他连锁群(图 3 和表 3)。被定位在连锁图中的 262 个标记均表现出不同程度的偏分离, 且基因型均偏向于饭豆亲本。

2.4 比较基因组作图

基于与 Han 等^[27]构建的小豆遗传连锁图谱的 37 个共有 SSR 标记, 利用 Mapchart 2.3 软件^[28]作共线性图谱(图 4)。11 个连锁群中, 除连锁群 6 (LG6)和连锁群 9 (LG9)外, 其他 9 个连锁群均与小豆连锁群存在 1~9 个共有标记。除个别位点外, 标记顺序与小豆连锁图谱高度相似。如本研究构建的连锁群 1 (LG1)中标记 CEDG032 和 CEDG090 是分开的, 而在 Han 等^[27]的小豆连锁群 1 (JP-LG1)中, CEDG032 和 CEDG090 共分离; 本研究连锁群 10 (LG10)与小豆连锁群 2 (JP-LG2)相对应, 但标记 CEDG029 及 CEDG108 在连锁群上的位置存在差异。

2.5 抗豆象 QTL 定位

利用RIL群体2个年度的种子被害率表型数据进行QTL定位分析, 2个环境下总共检测到9个与绿豆象抗性相关的QTL位点(表4), LOD值范围为2.93~6.56, 分布在5个连锁群(图3), 分别可以解释9.3%~17.0% (2019)和8.3%~15.8% (2021)的表型变异。2019年检测到4个QTL位点, 分别位于第2、4、8、11连锁群; 2021年检测到5个QTL位点, 分别位于第

2、3、4、11连锁群, 其中在第2连锁群检测到2个QTL位点。*QUmbr2.1*和*QUmbr2.2*均位于连锁群2上, 它们的位置相同, 标记区间大部分重叠, 极有可能为同一抗性位点, 因此合并为*QUmbr2.1/2.2*。同样, 位于第4连锁群的*QUmbr4.1*和*QUmbr4.2*在连锁群上的位置虽然略有差异, 但标记区间也大部分重叠, 因此也很可能为同一QTL位点, 合并为*QUmbr4.1/4.2*。*QUmbr11.1*和*QUmbr11.2*位于连锁群11上相同的位置, 标记区间完全相同(HAAS_VR_230~CEDG201), 因此它们为同一抗性位点, 合并为*QUmbr11.1/11.2*。所有9个QTL位点的加性效应均为负值, 来自于饭豆亲本的等位基因具有降低种子被害率的效应。

3 讨论

饭豆与小豆的亲缘关系最近(约 1.75 百万年前分化)^[29], 是小豆抗豆象育种的重要抗性基因来源^[9]。本研究通过构建饭豆与小豆的远缘杂交重组自交系(RIL)群体, 成功定位了控制豆象抗性的数量性状位点(QTL)。亲本鉴定和 RIL 群体表型分析再次证实, 栽培饭豆是豆象抗性的重要来源, 其抗性显著优于普遍感豆象的栽培小豆, 这一结果与 Venkataramana 等^[30]对饭豆资源的抗性鉴定结果类似。RIL 群体种子被害率呈典型的连续分布特征, 表明饭豆对绿豆象的抗性受多基因控制, 符合数量性状遗传模式, 这为后续 QTL 定位提供了遗传基础。

Map distances (in centimorgans, cM) and SSR marker names are shown on the left and right sides of each linkage group, respectively. Black bars and white bars indicate QTLs detected in 2019 and 2021, respectively.

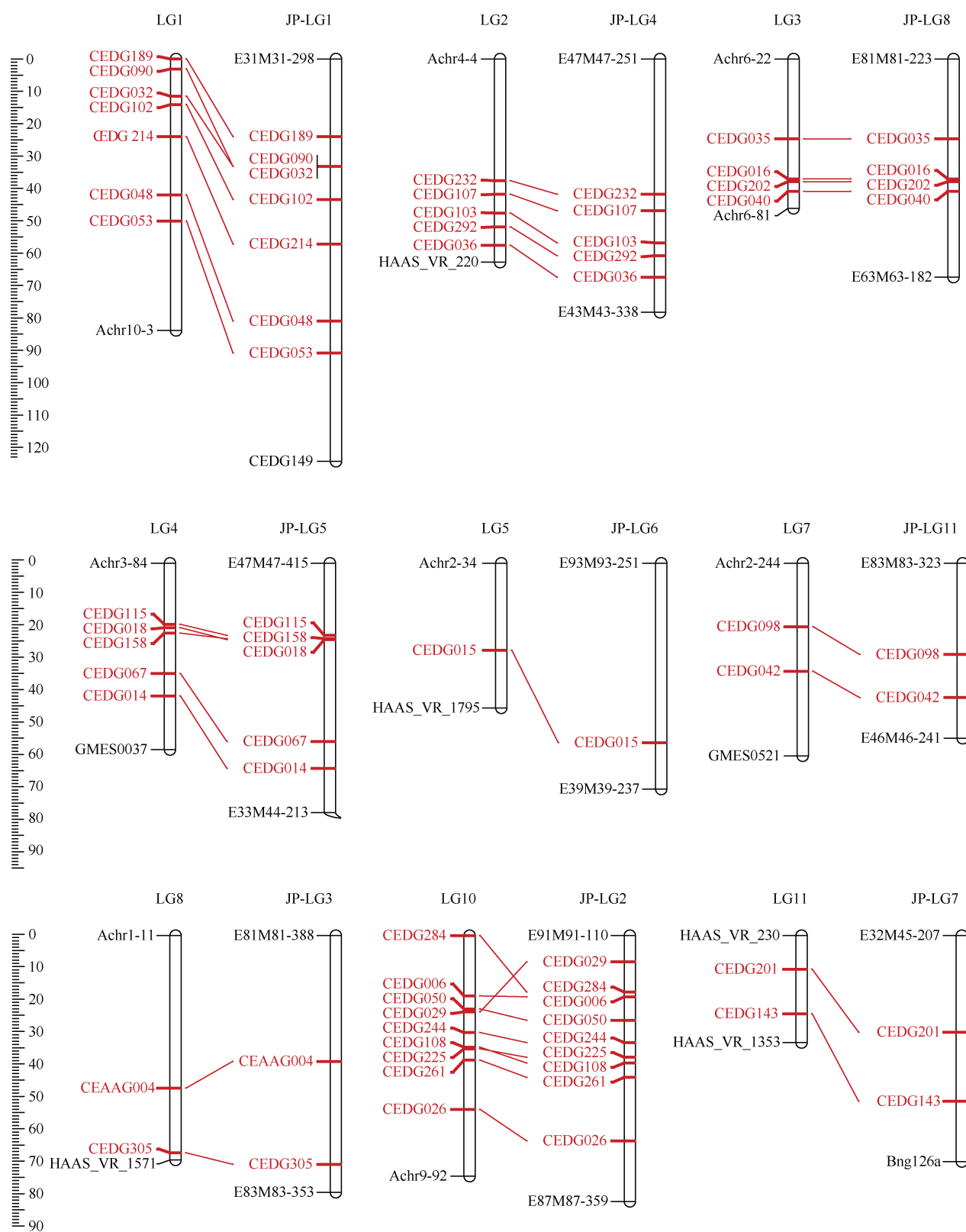


图 4 饭豆-小豆遗传连锁图谱与小豆遗传连锁图谱的共线性比较

Fig. 4 Collinearity comparison between the interspecific linkage map (*V. umbellata* × *V. angularis*) and the adzuki bean (*V. angularis*) reference linkage map based on common SSR markers

左侧标尺表示连锁群长度, 单位为 cM。“LG”为本研究构建的连锁图谱, “JP-LG”为 Han 等^[27]构建的连锁图谱。

The scale bars on the left indicate the lengths of the linkage group in cM. “LG” refers to the linkage groups constructed in this study, while “JP-LG” refers to those reported by Han, et al^[27].

表 4 2 个年度检测到的种子被害率 QTL 位点

Table 4 QTLs for seed damage rate detected over two years

QTL	连锁群 Linkage group	年份 Year	位置 Position (cM)	标记区间 Marker interval	LOD 值 LOD value	解释表型 变异率 PVE (%)	加性 效应 Add	LOD 阈值 LOD threshold
<i>QUmbr2.1</i>	2	2019	9.1	Achr4-4–Achr4-37	6.12	17.0	–19.72	2.9
<i>QUmbr4.1</i>	4	2019	52.9	Achr3-25–GMES30037	2.93	9.3	–16.87	2.9
<i>QUmbr8.1</i>	8	2019	18.5	DMB-SSR105–Achr1-48	4.24	12.1	–19.52	2.9
<i>QUmbr11.1</i>	11	2019	4.0	HAAS_VR_230–CEDG201	3.40	9.9	–19.28	2.9
<i>QUmbr2.2</i>	2	2021	9.1	Achr4-4–Achr4-55	6.56	15.8	–17.75	3.0
<i>QUmbr2.3</i>	2	2021	36.7	Achr1-3–Achr4-29	4.67	12.4	–17.61	3.0
<i>QUmbr3.1</i>	3	2021	36.6	GMES1756–Achr6-58	3.32	8.3	–13.05	3.0
<i>QUmbr4.2</i>	4	2021	50.2	CEDG014–GMES0037	6.41	15.3	–17.31	3.0
<i>QUmbr11.2</i>	11	2021	4.0	HAAS_VR_230–CEDG201	4.31	10.7	–19.01	3.0

PVE: 解释表型变异率; Add: 母本的加性效应; LOD 阈值基于 10,000 次“Permutation test”而得出。

PVE: phenotypic variance explained; Add: additive effect contributed by the female parent; LOD thresholds were determined based on 10,000 “Permutation tests”.

为了精准定位抗性基因,本研究利用来源于近缘物种(尤其是小豆)的 SSR 标记,成功构建了覆盖饭豆和小豆 11 条染色体的遗传连锁图谱。该图谱总长 634.9 cM, 标记间平均遗传距离 3.43 cM, 在标记密度和连锁群完整性上优于前人构建的饭豆相关图谱^[10-11,30]。值得注意的是,小豆来源的 SSR 标记在本研究中表现出最高的有效扩增率和多态性比率,这有力证明了小豆与饭豆之间密切的亲缘关系。比较基因组分析进一步显示,本图谱与小豆连锁图谱具有高度的共线性,标记顺序基本保守,验证了图谱的可靠性,并为基于小豆基因组信息进行候选基因挖掘和跨物种比较提供了便利。

基于此图谱并结合 2 年表型数据,本研究共检测到 9 个抗豆象 QTL。其中,位于连锁群 2 (*QUmbr2.1/2.2*)、连锁群 4 (*QUmbr4.1/4.2*)和连锁群 11 (*QUmbr11.1/11.2*)的 3 个 QTL 在 2 年均被稳定检测到,是控制饭豆抗豆象的关键稳定位点。所有检测到的 QTL 其加性效应均为负值,明确表明这些位点上来源于饭豆亲本 F021 的等位基因能够显著降低种子被害率,具有正向的抗性贡献,这与 Somta 等^[11]的研究结果一致。虽然单个 QTL 的表型贡献率(8.3%~17.0%)表明其效应中等,但通过分子标记辅助选择聚合多个 QTL 特别是上述 3 个稳定 QTL 有望显著提高小豆对绿豆象的抗性水平。

通过共有标记的共线性分析,本研究的连锁群 2 (LG2)和连锁群 11 (LG11)分别对应于小豆连锁群 4 (JP-LG4)和连锁群 7 (JP-LG7),也与 Somta 等^[11]利用饭豆 *V. nakashimae* 群体定位的抗豆象位点(*Brm3.1*

和 *Brc3.1*)的连锁群相对应。*QUmbr2.3* (位于 LG2)和 *QUmbr11.1/11.2* (位于 LG11)的位置分别与 *Brm3.1* 和 *Brc3.1* 相邻或位于相同连锁群。这种在不同遗传背景和不同抗性来源中定位到相近区域抗性位点的现象,强烈提示这些染色体区域(LG2 和 LG11)在饭豆豆象抗性中扮演着重要的角色。

本研究在饭豆与小豆的种间杂交群体中定位到稳定的抗豆象 QTL,从分子遗传学角度直接证实了饭豆作为小豆抗豆象育种优异基因供体的巨大潜力。构建的遗传连锁图谱和鉴定的关键 SSR 标记(如 Achr4-4、Achr4-37、Achr4-55、GMES30037、CEDG014、HAAS_VR_230、CEDG201 等)为小豆抗豆象分子标记辅助选择育种提供了宝贵的工具资源。未来研究将着重于在更大群体或近等基因系中验证并精细定位这些稳定 QTL,探索其互作效应及与其他农艺性状的连锁关系,并基于小豆和饭豆基因组注释信息挖掘候选基因,以深入解析抗性分子机制。

References

- [1] 刘长友, 田静, 范保杰, 等. 豇豆属 3 种主要食用豆类的抗豆象育种研究进展. 中国农业科学, 2010, 43: 2410–2417.
Liu C Y, Tian J, Fan B J, et al. Advances in breeding research on bruchid-resistant cultivars of three main *Vigna* food legumes. Sci Agric Sin, 2010, 43: 2410–2417 (in Chinese with English abstract).
- [2] 杨晓明, 程须珍, 朱振东, 等. 食用豆抗豆象种质创新与遗传改良研究进展. 作物学报, 2023, 49: 1153–1169.
Yang X M, Cheng X Z, Zhu Z D, et al. Advances in germplasm innovation and genetic improvement of food legumes resistant to

- bruchid. *Acta Agron Sin*, 2023, 49: 1153–1169 (in Chinese with English abstract).
- [3] 陈新, 魏春艳, 任炳忠, 等. 豆象属昆虫检疫重要性概述. *植物检疫*, 2013, 27(1): 63–67.
Chen X, Wei C Y, Ren B Z, et al. Review of phytosanitary significance of *Bruchus* spp. *Plant Quar*, 2013, 27(1): 63–67 (in Chinese with English abstract).
- [4] 金文林, 谭瑞娟, 王进忠, 等. 田间小豆绿豆象卵空间分布型初探. *植物保护*, 2004, 30(6): 34–36.
Jin W L, Tan R J, Wang J Z, et al. Preliminary analysis on spatial distribution patterns of *Callosobruchus chinensis* eggs in adzuki bean fields. *Plant Prot*, 2004, 30(6): 34–36 (in Chinese with English abstract).
- [5] 邢宝龙, 冯高, 郭新文, 等. 绿豆田间豆象防治药剂筛选. *园艺与种苗*, 2012, 32(6): 6–8.
Xing B L, Feng G, Guo X W, et al. Screening of pesticides with prevention and control *Acanthoscelides obtectus* (say) of mung bean in the field. *Hortic Seed*, 2012, 32(6): 6–8 (in Chinese with English abstract).
- [6] Tomooka N, Kashiwaka K, Vaughan D A, et al. The effectiveness of evaluating wild species: searching for sources of resistance to bruchid beetles in the genus *Vigna* subgenus *Ceratotropis*. *Euphytica*, 2000, 115: 27–41.
- [7] 段灿星, 朱振东, 孙素丽, 等. 中国食用豆抗性育种研究进展. *中国农业科学*, 2013, 46: 4633–4645.
Duan C X, Zhu Z D, Sun S L, et al. Advances in study on food legumes resistance breeding in China. *Sci Agric Sin*, 2013, 46: 4633–4645 (in Chinese with English abstract).
- [8] Somta P, Kaga A, Tomooka N, et al. Mapping of quantitative trait loci for a new source of resistance to bruchids in the wild species *Vigna nepalensis* Tateishi & Maxted (*Vigna* subgenus *Ceratotropis*). *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 621–628.
- [9] Kashiwaba K, Tomooka N, Kaga A, et al. Characterization of resistance to three bruchid species (*Callosobruchus* Spp., Coleoptera, Bruchidae) in cultivated rice bean (*Vigna umbellata*). *J Econ Entomol*, 2003, 96: 207–213.
- [10] Kaga A, Ishii T, Tsukimoto K, et al. Comparative molecular mapping in *Ceratotropis* species using an interspecific cross between azuki bean (*Vigna angularis*) and rice bean (*V. umbellata*). *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 207–213.
- [11] Somta P, Kaga A, Tomooka N, et al. Development of an interspecific *Vigna* linkage map between *Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & Ohashi and *V. nakashimae* (Ohwi) Ohwi & Ohashi and its use in analysis of bruchid resistance and comparative genomics. *Plant Breed*, 2006, 125: 77–84.
- [12] 刘长友, 范保杰, 曹志敏, 等. 豇豆属食用豆类间的远缘杂交. *中国农业科学*, 2015, 48: 426–435.
Liu C Y, Fan B J, Cao Z M, et al. Interspecific hybridization hybridization among *Vigna* species. *Sci Agric Sin*, 2015, 48: 426–435 (in Chinese with English abstract).
- [13] Liu C Y, Fan B J, Cao Z M, et al. A deep sequencing analysis of transcriptomes and the development of EST-SSR markers in mung bean (*Vigna radiata*). *J Genet*, 2016, 95: 527–535.
- [14] Kang Y J, Satyawat D, Shim S, et al. Draft genome sequence of adzuki bean, *Vigna angularis*. *Sci Rep*, 2015, 5: 8069.
- [15] Wang X W, Kaga A, Tomooka N, et al. The development of SSR markers by a new method in plants and their application to gene flow studies in azuki bean [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi]. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 352–360.
- [16] Kumar S V, Tan S G, Quah S C, et al. Isolation of microsatellite markers in mung bean, *Vigna radiata*. *Mol Ecol Notes*, 2002, 2: 96–98.
- [17] Kumar S V, Tan S G, Quah S C, et al. Isolation and characterization of seven tetranucleotide microsatellite loci in mung bean, *Vigna radiata*. *Mol Ecol Notes*, 2002, 2: 293–295.
- [18] Somta P, Seehalak W, Srinives P. Development, characterization and cross-species amplification of mung bean (*Vigna radiata*) genic microsatellite markers. *Conserv Genet*, 2009, 10: 1939–1943.
- [19] Tangphatsornruang S, Somta P, Uthaisanwong P, et al. Characterization of microsatellites and gene contents from genome shotgun sequences of mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *BMC Plant Biol*, 2009, 9: 137.
- [20] Isemura T, Kaga A, Tabata S, et al. Construction of a genetic linkage map and genetic analysis of domestication related traits in mung bean (*Vigna radiata*). *PLoS One*, 2012, 7: e41304.
- [21] Li C D, Fatokun C A, Ubi B, et al. Determining genetic similarities and relationships among cowpea breeding lines and cultivars by microsatellite markers. *Crop Sci*, 2001, 41: 189–197.
- [22] Gaitán-Solis E, Duque M C, Edwards K J, et al. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris*): isolation, characterization, and cross-species amplification in *Phaseolus* ssp. *Crop Sci*, 2002, 42: 2128–2136.
- [23] Grisi M C M, Blair M W, Gepts P, et al. Genetic mapping of a new set of microsatellite markers in a reference common bean (*Phaseolus vulgaris*) population BAT93 × Jalo EEP558. *Genet Mol Res*, 2007, 6: 691–706.
- [24] Hisano H, Sato S, Isobe S, et al. Characterization of the soybean genome using EST-derived microsatellite markers. *DNA Res*, 2007, 14: 271–281.
- [25] Stam P. Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package: JoinMap. *Plant J*, 1993, 3: 739–744.
- [26] Van Ooijen J W. Multipoint maximum likelihood mapping in a full-sib family of an outbreeding species. *Genet Res*, 2011, 93: 343–349.
- [27] Han O K, Kaga A, Isemura T, et al. A genetic linkage map for azuki bean [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 1278–1287.
- [28] Voorrips R E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *J Hered*, 2002, 93: 77–78.
- [29] Guan J T, Zhang J T, Gong D, et al. Genomic analyses of rice bean landraces reveal adaptation and yield related loci to accelerate breeding. *Nat Commun*, 2022, 13: 5707.
- [30] Venkataramana P B, Gowda R, Somta P, et al. Mapping QTL for bruchid resistance in rice bean (*Vigna umbellata*). *Euphytica*, 2016, 207: 135–147.