

大豆分子标记遗传图谱的整合及其应用

周 斌¹,邢 邯¹,陈受宜²,盖钧铭¹

(¹南京农业大学大豆研究所 国家大豆改良中心 作物遗传与种质创新国家重点实验室,江苏 南京 210095;²中国科学院遗传与发育生物学研究所植物基因组学国家重点实验室,北京 100101)

摘 要:图谱整合是弥补单个作图群体因分子标记多态性的局限性而难以构建高密度图谱的有效方法。利用具明显农艺性状差异的大豆品种间杂交组合(科丰 1 号×南农 1138-2、南农 87-23×NG94-156、苏 88-M21×新沂小黑豆和皖 82-178×通山薄皮黄豆甲)所衍生的重组自交系群体分别构建了含有 560,223,195,133 个分子标记的遗传连锁图谱。以各图谱共有 SSR 标记作为锚定标记,使用 JoinMap3.0 进行图谱整合,得到一张包含 20 个连锁群,795 个分子标记,总遗传距离 2 772.9 cM,平均间距 3.49 cM 的整合图谱。各连锁群的标记个数在 24~69 之间,遗传距离在 77.1~224.7 cM 之间。与 Song 等的公共图谱比较,标记在连锁群上的分布和位置高度吻合,并增加了 5 个公共图谱上没有的 SSR 标记,另有 6 个 SSR 标记定位在不同的连锁群上。通过整合图谱可将关联分析所获基因/QTL 定位到连锁群区间;便于不同群体定位结果间的比较;并找寻与之连锁更紧密的邻近标记。鉴于本图谱所用作图群体的亲本与国内育种常用材料的遗传来源相近,将更便于国内育种性状的 QTL 定位研究。

关键词:大豆遗传连锁图谱;整合图谱;SSR

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2009)04-0557-09

An Integrated Genetic Linkage Map of Soybean and Its Application

ZHOU Bin¹,XING Han¹,CHEN Shou-yi²,GAI Jun-yi¹

(¹Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University, National Center for Soybean Improvement, State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, Jiangsu;²The State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Integration of genetic linkage maps into a joint one is an effective approach to overcome the limitation of number of markers due to the constraint of polymorphism in individual specific mapping populations. In the present study, four RIL populations, Kefeng 1 × Nannong 1138-2, Nannong 87-23 × NG94-156, Su 88-M21 × Xinyixiaohedou and Wan 82-178 × Tongshanbopihuanguangdoujia derived from the crosses between distinct elite cultivars of *Glycine max* (L.) Merr. were used at first to construct individual genetic linkage maps with 560, 223, 195 and 133 markers, respectively, by using the software JoinMap 3.0. Then based on the common SSR markers across the four maps, the individual maps were integrated into an integrated genetic linkage map by using the same software, which containing 795 markers spanning 2 772.9 cM of the soybean genome, distributed on 20 linkage groups with the length of linkage groups varied from 77.1 cM to 224.7 cM, the marker number from 24 to 69, and an average marker distance of 3.49 cM. Among the linkage groups, C2, C1, N and F are obviously highly enhanced. In comparison with Song et al.'s integrated map, the present map shows a good coincidence with it except with six SSR markers located on different linkage groups and five new SSR markers added to the present map. The integrated map can be used in locating genes/QTLs detected in marker analysis and association mapping, in comparing mapping results from different populations, and in searching for closer markers. The present integrated map performed a reasonable result in comparison with the individual maps. Therefore, the present map is potential in QTL mapping study, especially for domestic soybean breeding purposes since the parental materials of the four RIL populations are closely related to the breeding materials in Chinese breeding programs.

Key words: Soybean genetic linkage map; Integration; SSR

收稿日期:2009-05-31

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(2004CB7206,2006CB101708,2009CB118404);国家高新技术研究发展计划资助项目(2006AA100104);教育部高等学校创新引智计划资助项目(B08025);农业部公益性行业专项资助项目(200803060)。

作者简介:周斌(1969-),男,博士研究生,研究方向为大豆遗传与育种。

通讯作者:盖钧铭,教授,中国工程院院士。E-mail:sri@njau.edu.cn。

大豆作为重要的农作物之一,人们对其基因组的组成和结构仍缺乏足够了解,构建高密度遗传连锁图谱是解决这一问题的关键。由于遗传背景的限制,单一群体的多态性较低。为得到高饱和度的大豆遗传连锁图谱,图谱的整合是重要途径。Cregan等^[1]利用 606 个 SSR 标记对 MS (A81- 356022 × PI468916)、CH (Clark × Harosoy)、MN (Minsoy × Noir1)群体的三个遗传连锁图谱进行整合,得到世界上第一张包含 20 个与大豆染色体相对应连锁群的公共图谱。在此基础上,宋启建等^[2]增加了 420 对新 SSR 引物和 MA (Minsoy × Archer)和 AN (Archer × Noir1)两个群体的图谱,构建了包含 1 015 个 SSR 标记,总遗传距离 2 524. 6 cM 的整合图谱。SSR 标记其高多态性和高稳定性等优点成为图谱整合的锚定标记。Xia^[3]等利用 RFLP, SSR, AFLP 和 STS 标记对由 Misuzudaizu (*Glycine max*) 和 Moshidou Gong 503 (*Glycine gracilis*) 杂交后代 F₂ 群体构建的遗传连锁图谱^[4-5]进行加密,得到一张全长 3 080 cM,标记间距平均 2. 2 cM 的遗传图谱。1998 年至今,我国大豆作图群体主要有:栽培大豆“长农 4 号”和半野生大豆“新民 6 号”构建的重组自交系群体^[6];“科丰 1 号”和“南农 1138 - 2”构建的重组自交系群体 NJRIKY^[7-10];“晋豆 23”和“灰布支”构建的重组自交系群体 Jinf^[11]。所构建的遗传图谱都存在标记少,饱和度低的缺点,实际利用效果欠佳等问题。为得到更加饱和的大豆遗传图谱,巩鹏涛等利用 592 对 SSR 引物和两个 F₂ 群体对宛煜嵩构建的遗传图谱进行整合加密,得到一张包含 315 个 SSR 标记和 40 个 AFLP 标记,总图距 1 951. 7 cM,平均图距 5. 48 cM 的遗传图谱^[12]。但其标记密度仍然不足。为得到更加致密和实用的大豆遗传图谱,国家大豆改良中心和中科院遗传发育所构建了多个大豆重组自交系群体。其中 NJRIKY 群体基于不同应用目的已构建出 4 张遗传连锁图谱^[7-10]。通过检测各大豆重组自交系群体的多态性,挑选适宜群体进行遗传连锁图谱的构建与整合,以得到一张适合于我国大豆材料的基于重组自交系群体的高饱和大豆遗传连锁图谱。

1 材料与方法

1.1 试验地点

材料种植于中国科学院遗传与发育生物学研究所北京昌平试验农场;室内试验在中国科学院遗传

与发育生物学研究所进行。

1.2 材料

1.2.1 大豆重组自交系 南京农业大学国家大豆改良中心构建的 8 个大豆重组自交系群体 NJ (SP) NN、NJ (RS) XG、NJ (RS) WT、NJ (SP) BN、NJ (RN) P7、NJ (RN) R7、NJ (TF) SX、NJRIKY、NJ (RN) P7B 和 NJ (RN) R7B (表 1)。

1.2.2 SSR 引物 SSR 引物序列均来自美国农业部大豆数据库 Soybase ([http:// soybase. org/ resources/ ssr. php](http://soybase.org/resources/ssr.php)),由北京三博远志生物技术有限公司合成,共 967 对。

1.2.3 NJRIKY 农艺性状数据 由南京农业大学国家大豆改良中心提供^[7-8]。

1.3 方法

1.3.1 大豆基因组 DNA 提取及 PCR 扩增 家系内采集幼嫩叶片,液氮保存。采用 SDS 方法提取大豆基因组总 DNA^[9],PCR 扩增参照 Soybase 方法 ([http://soybase. org/ resources/ ssr. php](http://soybase.org/resources/ssr.php))。PCR 反应体系为:1. 5 mmol · L⁻¹ MgCl₂;0. 5 mmol · L⁻¹ dNTP (N = A、C、G、T),1 μL 10 × 扩增反应缓冲液 (100 mmol · L⁻¹ Tris - HCl, pH7. 9;500 mmol · L⁻¹ KCl;0. 1% gelatin);0. 75U Taq 酶;引物各 0. 3 mmol · L⁻¹;模板 DNA 15 ng;无菌超纯水加至 15 μL。PCR 扩增程序为:94℃ 5 min;94℃ 30 s,48℃ 30 s,68℃ 30 s,30 个循环;72℃ 10 min;4℃ 保存。扩增产物在 3% ~ 6% 琼脂糖胶 (含溴化乙锭)^[13-18]上分离,电泳缓冲液为 0. 5X TBE,80V 电泳 3 ~ 5 h。主要仪器有 GeneAmp PCR System 9700 型 PCR 仪 (美国应用生物系统公司,ABI);DYCP - 44 型电泳槽 (北京六一仪器厂);BIO - RAD Gel Doc 2000 凝胶成像系统 (美国伯乐公司);药品为分析纯以上规格。

1.3.2 统计分析、遗传作图和图谱整合 使用 Quantity One 4. 5 分析电泳结果,对特定引物对应的 SSR 位点,母本带型赋值为 1,父本带型赋值为 2,杂异带型 (杂合型、异常带型等) 及缺失赋值为 0。应用作图软件 Mapmaker/exp 3. 0b^[19-20]对各群体进行连锁分析。错误检测水平设为 1%,采用 Kosambi 函数将重组率转换成图距单位 (cM)。以 Song 等^[2]定位的 SSR 标记作为锚定标记确定相应连锁群,构建各重组自交系群体遗传连锁图谱。分析所构建的各大豆重组自交系遗传连锁图谱上的共有 SSR 标记,以公共 SSR 标记作为锚定标记,使用作图软件 JoinMap 3. 0^[21]进行各连锁群的整合。

表 1 8 个大豆重组自交系群体特征

Table 1 Characteristics of eight recombinant inbred line populations

群体名称 Population	组合 Cross	世代 Generation	群体大小 Size	主要农艺性状 Difference in majoragronomical trait	亲本间多态性 SSR 数 Polymorphic SSRs between parents
NJ(SP)NN	(♀)南农 87-23 × NG94-156(♂)	F _{2:7:9}	183	株型	255
	(♀)Nannong 87-23 × NG94-156(♂)			Plant type	
NJ(RS)XG	(♀)先进 2 号 × 赶泰 2-2(♂)	F _{2:8:10}	149	抗感食叶性害虫	215
	(♀)Xianjin 2 × Gantai 2-2(♂)			Resistance to leaf-feeding insects	
NJ(RS)WT	(♀)皖 82-178 × 通山薄皮黄豆甲(♂)	F _{2:8:10}	142	抗感食叶性害虫	239
	(♀)Wan 82-178 × Tongshanbopihuangdoujia(♂)			Resistance to leaf-feeding insects	
NJ(SP)BN	(♀)波高 × NG94-156(♂)	F _{2:7:12}	152	株型	225
	(♀)Bogao × NG94-156(♂)			Plant type	
NJ(RN)P7	(♀)Peking × 7605(♂)	F _{2:8:11}	217	抗感孢囊线虫	190
				Resistance to SCN	
NJ(RN)R7	(♀)RN-9 × 7605(♂)	F _{2:8:11}	203	抗感孢囊线虫	148
				Resistance to SCN	
NJ(TF)SX	(♀)苏 88-M21 × 新沂小黑豆(♂)	F _{2:7:9}	176	豆腐指标	297
	(♀)Su 88-M21 × Xinyixiaohaidou(♂)			Tofu output	
NJRIKY	(♀)科丰 1 号 × 南农 1138-2(♂)	F _{2:7:15}	184	抗感大豆花叶病毒	426
	(♀)Kefeng 1 × Nannong 1138-2(♂)			Resistance to SMV	

2 结果与分析

2.1 SSR 标记多态性

使用 967 对 SSR 引物对 8 个重组自交系群体亲本对进行多态性筛选。为叙述方便,表 1 中各重组自交系群体依次分别简称为 NN、XG、WT、BN、P7、

R7、SX 和 KY。SSR 引物在各群体亲本间的多态性见表 1。KY 群体亲本间 SSR 标记的多态率最高,达 44.1%。经比较,四群体组合 KY ∪ SX ∪ WT ∪ NN 最优,多态 SSR 标记数预测值为 687 个(表 2)。以此四个群体为材料进行分析。

表 2 群体组合的多态性 SSR 预测

Table 2 Prediction of polymorphic SSR in population groups

群体组合 Population group	KY ∪ SX ∪ NN	KY ∪ SX ∪ WT ∪ NN	KY ∪ SX ∪ WT ∪ XG ∪ NN	KY ∪ SX ∪ WT ∪ NN ∪ BN	总计 Total
多态性 SSR Polymorphic SSR	647	687	702	704	730

2.2 各重组自交系群体的遗传连锁图谱

2.2.1 NJRIKY 群体的图谱构建 结合张万科^[9] NJRIKY 图谱标记数据,使用 MapMaker/EXP 3.0b 软件作图。得到一张包含 25 个连锁群,560 个分子标记的遗传连锁图谱。其中 SSR 标记 316 个, RFLPs 标记 197 个,EST 标记 39 个,抗性基因位点 7 个,形态标记 1 个,图谱总遗传距离为 2 071.6 cM。各连锁群标记数在 6 ~ 47 个之间,连锁群长度在 29cM ~ 154.7cM 之间,平均密度为 3.70cM/标记。

2.2.2 NN、SX、WT 群体的图谱构建 各群体作图方法同 KY,但因标记数少,最大连锁距离放宽到

48cM。NN、SX、WT 群体内有效多态性 SSR 标记分别为 232、218 和 159 个,实际定位 223、195 和 133 个(表 3)。

2.3 图谱整合

2.3.1 公共 SSR 标记 分析上文构建的 4 张大豆重组自交系遗传连锁图谱,统计各连锁群上的共有的 SSR 标记,结果见表 4。

2.3.2 图谱整合 以共有 SSR 标记作为锚定标记,以 KY 图谱为框架,使用作图软件 JoinMap 3.0 进行整合(图 1),得到一张包含 20 个连锁群,795 个标记,其中 549 个 SSR 标记,总遗传距离 2 772.9cM 的整合图谱(表 5)。

表 3 4 个重组自交系群体遗传连锁图谱特征
Table 3 Characteristics of the four genetic linkage maps /cM

连锁群 LG	KY		NN		SX		WT	
	标记数	遗传距离	标记数	遗传距离	标记数	遗传距离	标记数	遗传距离
	Markers	Distance	Markers	Distance	Markers	Distance	Markers	Distance
A1	23	99	12	175.1	12	154.3	—	—
A2	32	154.7	13	221.8	16	187.1	10	187.1
B1	22	99.8	4	143.7	5	52.5	2(3)	15.8(60.2)
B2	18	56.6	8	69.7	4	90.9	—	—
C1	29	78.9	11	142.7	4	32.0	4	90.2
C2	38	131.1	8	109.4	12	122.8	6	71.7
D1a	25	109.4	14	106.0	8	150.0	3	61.7
D1b	47	113.3	21	181.2	10	147.7	7	141.9
D2	26	73	17	154.2	11	197.1	10	187.5
E	18(6)	63.2(48.7)	6	58.1	11	148.4	3	18.9
F	26(8)	56.1(43.5)	15	141.9	5	61.4	19	166.4
G	37	103.5	13	136.7	6(4)	46.2(37.7)	4	83.7
H	7(8)	29.0(53.4)	4	35.7	11	129.2	6	123.8
I	18(7)	98.7(32.1)	7	130.6	10	182.1	4(2)	86.5(17.8)
J	32	89.5	13	127.9	8	41.5	10	125.6
K	30	72.3	9	72.3	16	254.1	5	94.5
L	9(15)	40.6(83.1)	7	56.0	13	152.6	3	73
M	21	77.1	15	121.8	9	160.3	10	159.8
N	29	132.1	13	156.1	5	54.2	4	55.9
O	29	132.9	13	98.3	15	146.4	18	159.1
总计 Total	560	2071.6	223	2439.2	195	2548.8	133	1981.3

括弧内为该连锁群分成两段时另一段的标记数和遗传距离。
In parentheses are the number of makers and corresponding genetic distances when the linkage groups are separated into two parts.

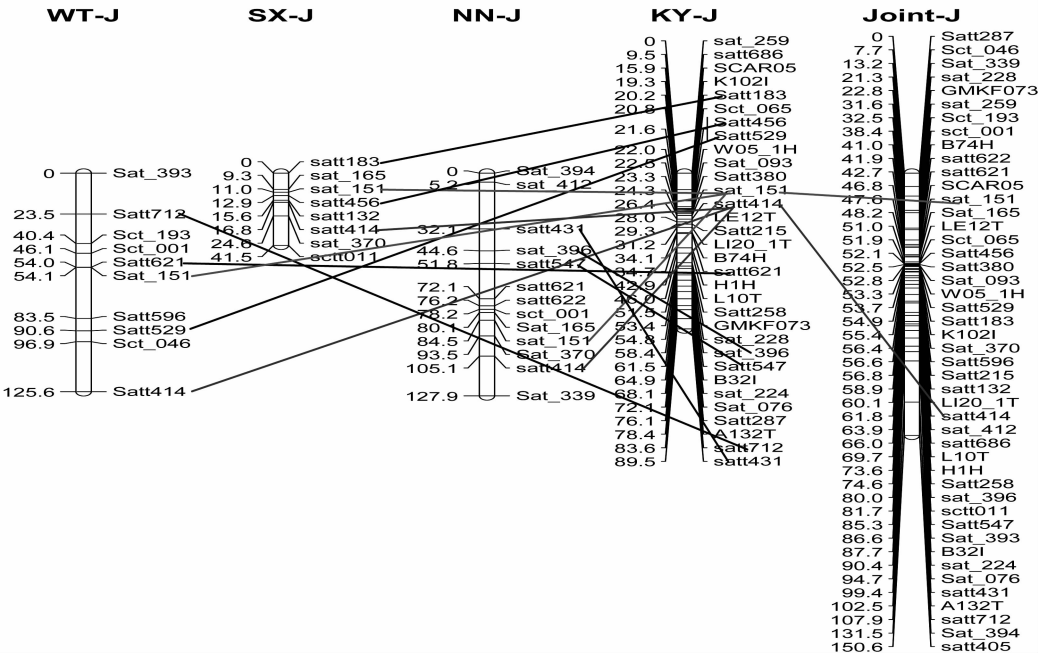


表4 NN、SX、WT 图谱与 KY 图谱间共有标记数
Table 4 The numbers of SSRs in common among NN,SX,WT and KY maps

连锁群 LG	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1a	D1b	D2	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	合计 Total
NN	2	2	0	3	6	3	5	7	4	3	4	3	3	3	6	1	3	4	6	5	73
SX	2	6	5	2	0	3	4	3	3	5	1	5	2	4	4	5	4	3	4	11	76
WT	0	2	3	0	5	4	1	1	4	4	5	2	1	1	5	5	3	4	0	8	58
合计 Total	4	9	7	5	9	7	8	9	8	10	9	9	5	7	10	10	7	9	9	14	165

表5 整合图谱中的标记位点
Table 5 Marker position in the integrated map

连锁群 LG	位点 Locus (cM)
A1	Sat_369(0) ,Satt449(37.3) ,Sat_217(43.7) ,Sat_407(56.5) ,GMKF148a(58.3) ,GMKF148b(62.5) ,Satt385(67.5) ,A170T(68.4) ,GMKF104a(69) ,A176T(70.9) ,K400I(77.9) ,Satt619(79.7) ,LD24V(83.1) ,Sat_171(83.5) ,Satt545(84.9) ,A725_1V(86.2) ,Satt236(87.9) ,K636I(88) ,Satt511(95.8) ,Sat_267(97.3) ,K418_2V(98.3) ,B30T(104.8) ,Satt599(107.4) ,Sat_356(110) ,Satt174(112.1) ,Satt300(119.6) ,Satt073(121.8) ,GMKF059b(124.1) ,Sat_265(124.2) ,Satt211(124.5) ,Satt591(125.7) ,L13V(132.8) ,Satt276(133.6) ,Sat_385(137.4) ,A407B(139) ,Satt382(156.3) ,Sat_271(183.5) ,Satt258(211.3)
	Satt187(0) ,Sat_409(16.5) ,Satt228(24.8) ,Satt409(37.7) ,AW132402(44.8) ,Satt455(45) ,STAS8_8T(48.9) ,Satt421(49.9) ,Sat_036b(52.6) ,STAS8_5T(56.2) ,STAS8_1T(57.9) ,Satt378(61.2) ,Sat_347(63.4) ,LE44D(63.8) ,Sct_194(64.7) ,Sat_131(67.7) ,Satt133(69.1) ,K2T(71.5) ,Satt158(72.5) ,Sat_232(74.9) ,Sat_250(75) ,Satt327b(76.9) ,Satt377(78.4) ,A690D(79.8) ,A96V(81.9) ,Sat_199(87) ,A117_1D(88.8) ,LA7_2T(91.9) ,Sat_392(94.2) ,Satt525(99.5) ,A117_2H(101) ,Satt119(102.1) ,Satt089(108.2) ,Satt233(115.1) ,A111H(115.8) ,Sat_377(116.3) ,Satt333(122.4) ,A724T(122.7) ,Satt424(126.4) ,Sat_157(135.2) ,Sat_138(135.9) ,Sat_162(139.1) ,Satt315(139.5) ,GMKF149a(144.6) ,K418_1V(150.6) ,B172T(152.9) ,GMENOD2B(153.9) ,Satt589(166.3) ,Satt177(168.1) ,A85I(170.3) ,Sat_181(170.6) ,Satt632(178.9) ,Sct_067(188.4) ,Satt493(192.7) ,Sat_319(209.6) ,Sat_406(224.8)
B1	GMKF104b(0) ,GMKF177(11.6) ,Satt509(16.9) ,GMKF080(20.6) ,Sat_261(25.6) ,GMKF082c(28.5) ,Satt426(30.5) ,Satt251(34.5) ,GMpti_D(38.2) ,Sat_247(40) ,GMpti_E(40.7) ,GMKF168b(45.4) ,GMKF003(47.9) ,Satt197(50.4) ,GMKF046(52) ,Sat_128(56.1) ,Satt359(62.4) ,GMKF164(62.8) ,A118T(66.2) ,A520T(71.9) ,GMKF086a(78) ,Satt597(78.8) ,Satt332(86.4) ,LC35I(98.2) ,Satt444(100.7) ,Satt415(118.1)
B2	Satt726(0) ,A953_2H(5) ,Satt560(7.8) ,A519T(9.7) ,Sat_424(12.3) ,A516_2H(12.6) ,AW620774(14.2) ,A516_1H(14.6) ,Satt063(17.1) ,A953_1H(23.2) ,Satt066(29) ,Sct_094(30.3) ,Satt556(33.5) ,Satt318(33.8) ,Sat_189(34.3) ,Satt272(34.6) ,Satt020(36.5) ,A148I(36.9) ,Satt474(41.7) ,Satt168(51.6) ,Sct_034(56.8) ,Sat_355(59) ,Sat_342(105.1) ,Sat_177(123.7)
C1	Sat_357(0) ,AI794821(3.8) ,Satt524(9.6) ,Sat_416(13.2) ,Satt338(18.5) ,Satt136(20.1) ,K300I(21.6) ,A130I(26.1) ,GMAC7L(27.2) ,Sct_186(29.9) ,Satt396(30.5) ,Satt646(31.9) ,Satt194(32.9) ,LC11T(35) ,Satt690(36.1) ,Satt565(38.1) ,A256I(38.2) ,Gpatr(42) ,Satt713(42.5) ,Sat_337(47.6) ,Satt164(47.8) ,Satt139(47.9) ,Satt161(50.1) ,Satt190(51.1) ,AW277661(51.1) ,Sat_311(51.7) ,Satt361(52.7) ,Satt399(52.8) ,Satt476(54.5) ,GMHZ(54.7) ,A946I(56.4) ,GMKF102(57.8) ,Satt607(62.3) ,Sat_042(65) ,Satt294(72.8) ,LE39T(77.5) ,A63_2T(79.3) ,Sat_207(81.1)
C2	STAS8_9T(0) ,STAS813T(2.9) ,Sat_213(3.2) ,STAS810T(5.2) ,STAS8_4T(6.2) ,STAS8_7T(6.9) ,STAS811T(9.8) ,STAS814T(12.2) ,Satt100(14.7) ,STAS817T(15) ,LI26T(15.3) ,Sat_076(15.5) ,STAS816T(16.4) ,Satt286(18.3) ,Sat_402(22.4) ,A63_1T(22.7) ,GMKF143(24.4) ,STAS818T(24.6) ,K11_3T(28.2) ,STAS819T(29.7) ,Satt277(30.4) ,STAS820T(30.9) ,Satt557(32.7) ,Satt319(33.5) ,GMKF059a(34.1) ,Staga001(35.6) ,STAS815T(35.8) ,Sat_312(36.2) ,STAS8_3T(37.7) ,B131V(38.8) ,STAS8_6T(39.6) ,Satt489(41.2) ,Sat_251(43.3) ,K455D(47.5) ,A397I(48.6) ,Satt079(48.8) ,LE31T(50) ,Sat_238(51) ,A676I(51.5) ,Satt371(56.3) ,Satt658(56.6) ,A748V(58.9) ,Satt307(60.6) ,Satt433(60.9) ,Satt316(69.4) ,Sat_246(77.1)
D1a	LE11T(0) ,Satt531(23.2) ,A941V(25.4) ,A947V(25.7) ,Satt482(33) ,Satt320(35.3) ,KNBS22I(38) ,Satt324(39.2) ,Satt321(41.7) ,A280_2D(45.9) ,Satt254(46.2) ,Satt295(46.7) ,Satt267(48) ,A280_1B(50.3) ,Sat_346(50.5) ,A20T(56.3) ,Satt468(65.6) ,Satt436(65.7) ,Sat_343(69) ,AW781285(71.1) ,Sat_345(72.9) ,Sat_036(79.8) ,LE21H(86.3) ,Satt198(86.7) ,AAPK(87.7) ,GMKF008b(97.9) ,Sat_160(104.5) ,GMKF008a(108.7) ,Satt408(113.8) ,Satt147(119.2)
D1b	Rsc-9(0) ,Rsa(30.8) ,Sat_203(31.5) ,Rsc-3(34.1) ,Rsc-7(35.2) ,Rsc-13(45.2) ,Satt296(47.9) ,Rn1(51.8) ,K477I(54.6) ,BE070293(55.7) ,BE021153(56.2) ,A691T(60.5) ,Satt157(61.5) ,LC5T(61.7) ,Sat_211(63.1) ,Rn3(65.9) ,Satt698(66.9) ,Satt634(70.3) ,BE475343(75.9) ,Satt558(77.6) ,A685H(78) ,A725_3V(81) ,Sat_351(81.2) ,A481V(84) ,GMKF168a(87.1) ,A725_2V(88.2) ,Sat_254(89.2) ,Sat_096(89.6) ,Satt216(96) ,Satt266(97.4) ,Sat_038(97.8) ,Satt542(98.2) ,Sat_139(99.2) ,K494_1I(101.4) ,Satt701(101.6) ,Satt126(103.4) ,B69I(104.7) ,GMKF149b(105.9) ,Satt282(106) ,Sat_227(108.1) ,Sat_264(109.9) ,A352I(113.6) ,Satt506(114.1) ,Satt290(115.5) ,B142_1I(116.8) ,K411_1I(123.1) ,Satt350(124.7) ,B142_4I(126.6) ,Satt005(127.8) ,Satt537(129.4) ,B142_2I(131.6) ,K411_2I(137) ,K494_2I(142) ,Sat_423(144) ,Sat_289(144.9) ,Satt459(149.4) ,Sat_202(153.1) ,GMKF168c(155.5) ,Sat_283(157.9) ,LE45T(160.8) ,Satt271(162.1) ,Sat_192(164.3) ,A516_3H(164.9) ,Satt703(171.7) ,Sat_183(172.7) ,A953_3H(174.8) ,Satt172(181.3) ,Sat_198(190) ,Satt600(204.1)

续表5

连锁群 LG	位点 Locus (cM)
D2	Satt226(0), Sat_362(1.9), LI10T(3.3), Sat_338(5.6), Satt311(9.9), Sat_365(10.1), Sat_194(13.6), Satt543(14.3), Satt514(15.6), Satt528(16.1), Satt574(16.6), Sat_209(16.9), Satt301(17.8), Satt488(21.5), Sctt008(25.5), Sat_001(27.4), K286V(28.6), GMHSP179(30.7), Sat_354(32.1), Sat_222(32.6), Satt154(36.9), Satt186(41.4), Satt669(42.4), Satt397(43.8), Sct_192(47.8), GMKF058(50.5), Sat_292(53.9), Satt002(56.3), Sat_022(59), Satt372(60.1), Sat_277(71.9), Satt458(74.3), Satt135(75.5), B146H(80.9), A611D(89.3), A64_2I(92.2), GMKF086b(96.3), A64_1I(99.5), W05_2H(103.6)
E	GMpti_A(0), GMpti_B(12.3), Sat_136(21.8), Sat_273(29.8), A86H(33.2), Satt573(33.9), A636D(39.6), Satt598(40), Satt606(42.6), Satt151(47.9), L28T(50.8), Sat_380(52.7), Satt268(56.6), Satt117(57), Satt355(57.8), Satt491(60.9), Satt263(62), Satt185(62.6), Satt706(64.4), Satt204(65.7), LE36I(67.9), GMKR4(74.3), LI37V(82.8), BE347343(86.6), Satt699(87.6), Satt685(94.1), Satt691(111.1), Satt369(115.5), Satt403(157.8)
F	Sat_074(0), Satt193(2), Satt395(3.2), Satt656(4.2), Sat_297(10), Satt423(20.7), Satt252(24.1), Satt348(25.3), Sat_313(28.3), BE806387(30.3), Satt522(30.6), Sat_240(34.5), W(34.9), Satt659(35.1), Satt160(35.6), AW186493(36.2), Satt554(37.5), Satt269(40.5), Sat_298(44.7), Satt145(46), B174_1I(46.2), Satt586(47.1), Sat_039(49.2), hSpl76(51.3), Satt343(52.4), B174_2T(53.6), Sat_229(54.8), Sat_317(58.2), Satt335(60), Sct_033(60.7), SOPN11V(62.3), Sat_262(63.1), K7T(63.5), GMRVBP(64.1), Sat_234(65.4), Satt334(67.3), K4_2V(67.7), K644_2I(69.1), K694_2I(69.8), B212T(70.8), Satt114(72.1), Satt510(73.8), A186H(74.4), Sat_036a(81.2), Satt030(83.5), GMKF167b(85.5), GMKF167a(90.7), Satt325(100.7), SoyHSP176(101), Sat_309(106), A199H(108.5), Sat_390(120.8), GMKF167c(125.5), Sat_120(136.3)
G	B53B(0), Satt275(4.7), Satt163(9.9), Satt038(11.5), Sat_168(15.2), Satt688(16.6), Satt309(18.3), GMKF012(19.6), Satt356(25), Satt570(31.2), K69T(32.1), Satt427(32.6), Satt130(33.8), Satt235(35.1), L36T(39.6), A427T(40.8), GMKF138(44), Satt115(47.8), Sat_308(48.3), Sat_358(49.7), A112V(55), Satt352(56), Satt340(56.2), Satt594(57.9), Sat_088(60.4), GMKF050b(60.6), Satt566(61.4), A426T(61.9), Sat_094(63), Satt303(64.8), Satt394(66.3), Sat_223(67.8), Satt503(69.4), Sat_185(70.8), Sat_164(71.2), Satt517(72.2), Satt199(73.7), A885H(75.2), A73H(77.6), Satt012(77.7), LD6T(82), Sat_143(82.5), Satt288(89.3), K11_2T(97.1), Satt564(117.6), AW734137(153.7)
H	Sat_180(0), Satt434(4.8), B148T(6.8), Satt317(12.5), A858V(16.5), B72V(17.5), Satt293(18.8), Satt302(28.4), Sat_206(31.6), Sat_122(39.2), Satt279(44.6), Satt222(48.5), Satt052(50.6), A703_2B(53.7), Satt469(53.8), Satt541(55.9), Sat_401(58), Sat_334(65.6), LI39T(71.1), GMKF129(98.3), GMKF124(102.3), Satt353(107.7), A381B(110.5), Sat_214(129)
I	Satt451(0), GMpti_C(4), A644V(18.3), Satt440(27.5), Satt148(35.9), Sat_155(40.6), Satt102(44.3), B39V(46.6), Sat_420(47.9), A7I(50.6), Sctt012(51.9), GMglps12(52.6), Satt162(57.3), Satt330(63), Satt292(64.5), Sat_421(65.1), K644_1I(73.7), K694_1I(74.2), L34_2I(82), Satt623(83.9), Sat_418(84.9), Sat_324(89.4), Sat_170(93.6), L37_1I(97.6), Satt496(110), Satt367(153.5), Satt571(165.9), Satt419(171.2)
J	Satt287(0), Sct_046(7.7), Sat_339(13.2), Sat_228(21.3), GMKF073(22.8), Sat_259(31.6), Sct_193(32.5), Sct_001(38.4), B74H(41), Satt622(41.9), Satt621(42.7), SCAR05(46.8), Sat_151(47.6), Sat_165(48.2), LE12T(51), Sct_065(51.9), Satt456(52.1), Satt380(52.5), Sat_093(52.8), W05_1H(53.3), Satt529(53.7), Satt183(54.9), K102I(55.4), Sat_370(56.4), Satt596(56.6), Satt215(56.8), Satt132(58.9), LI20_1T(60.1), Satt414(61.8), Sat_412(63.9), Satt686(66), LI0T(69.7), H1H(73.6), Satt258(74.6), Sat_396(80), Sctt011(81.7), Satt547(85.3), Sat_393(86.6), B32I(87.7), Sat_224(90.4), Sat_076(94.7), Satt431(99.4), A132T(102.6), Satt712(107.9), Sat_394(131.5), Satt405(150.6)
K	Sat_167(0), Satt499(5.3), LE34I(20.3), Satt260(23.3), Satt475(24.3), Sct_196(25.9), Sat_399(26.9), Satt588(29.6), Satt167(30.2), A668H(33.3), Satt375(33.4), K390H(35.6), Satt381(35.7), K387T(38.7), Satt544(39.9), K472T(40.2), Satt247(41.1), Satt417(42), Satt552(42.7), A661T(42.9), Satt555(44.3), Satt102(44.4), Sat_044(44.6), Satt441(46.1), Satt349(47.3), Satt055(48), A141D(49.5), Sat_116(51.6), Satt673(52.4), Sat_363(54.4), Satt727(54.5), Satt326(56.2), Sat_349(58.7), GMKF157(58.7), A64_3I(63.6), Satt559(64.9), A315I(69.6), Sat_352(71.4), Satt273(76.8), Sat_043(83.4), Satt242(85.2), Sct_190(85.7), Sat_119(96.2), A963H(110.6), A162I(117.7), K401H(128.7)
L	GMKF090(0), GMKF169(11.6), GMKF120(31.8), Sct_010(33.6), Sat_113(42.5), Satt156(47), Satt527(50.3), Sat_286(61.8), AW508247(62.8), Sat_340(64.6), A461T(65.7), Sat_009(68.5), Satt513(72.3), Sat_408(74.2), Sat_405(75.4), Satt495(76), Satt373(77.4), K385H(78.1), Satt229(78.8), GMKF125b(83.5), A23I(83.9), Satt652(88.6), GMKF125a(92.3), Satt313(92.5), Satt182(95.2), Satt523(98.1), Satt278(98.2), Satt694(99.3), Satt711(103.5), Sat_320(106.6), Sat_397(107), A71_2V(109.8), Sat_195(122.7), Satt481(132.8)
M	Satt636(0), Satt435(25.7), Sat_244(29.9), Satt463(34.4), Satt245(34.6), Satt220(39.4), Satt323(42.1), Satt626(43.4), Sat_256(44.7), Satt540(47.9), Sat_003(48), A60V(48.9), Sat_258(50.9), Sat_226(53.9), Satt536(55.2), Sat_121(60.2), Satt567(61.4), Satt702(65), Sat_148(65.9), Satt677(66.5), L22V(67.8), Satt680(71.8), Satt590(72), Satt201(74.8), B122T(77.2), B151_1T(79), Satt150(79.1), LD8T(79.8), Sat_422(80.7), Satt494(83.5), K24I(84.5), Satt175(88.9), Sat_330(89.6), Satt210(92.8), Satt551(94.6), Satt336(94.7), Sat_276(100.4), Sat_389(100.7), Sat_391(105.3), Satt308(108.8), Satt346(117.7)

续表 5

连锁群 LG	位点 Locus (cM)
N	LC4_4T(0) ,Satt080(5) ,LC4_2T(9.2) ,Sat_266(9.4) ,Satt033(12.1) ,Sat_280(13.8) ,Satt387(16.6) ,Sat_241(18.5) ,B162T(19.8) ,Sat_236(20.7) ,Sat_033(21.7) ,K418_3V(25.1) ,Satt125(27.2) ,Sat_275(29.3) ,Satt485(30.2) ,Sat_091(30.6) ,A71_1V(34.8) ,Satt521(38.9) ,Satt009(39.6) ,Satt549(40) ,Satt152c(42.8) ,Satt631(43.4) ,Satt255(44.1) ,A77V(44.2) ,Satt152a(44.8) ,Satt159(46) ,ABAB(48.6) ,Satt237(49.5) ,Satt683(49.8) ,Satt152(52.6) ,Satt660(52.9) ,Satt530(54.5) ,Sat_285(56) ,Satt152b(58.5) ,LBC(59.1) ,Satt312(63.5) ,Satt022(77) ,Sat_306(82.9) ,Satt257(83.2) ,Satt410(98.9)
	Sat_274(0) ,Satt592(16) ,Satt331(17.5) ,GMKF082b(22.2) ,LE23T(32.6) ,Sat_145(54.1) ,Sat_109(55) ,Satt585(59) ,LC4_1T(60) ,Satt420(60.4) ,Sat_196(61.4) ,B151_2T(61.6) ,LC4_3T(63.3) ,Satt345(64.8) ,Satt633(65.1) ,Satt262(66.9) ,Satt173(67) ,Sat_291(67.2) ,Satt473(67.4) ,Satt128(67.8) ,Satt188(68.3) ,Satt608(68.7) ,Satt550(69.1) ,Satt576(71) ,Satt479(72.9) ,Satt487(74.4) ,Satt094(76.1) ,Satt679(78.5) ,Sat_341(78.8) ,BE801128(84.4) ,A644I(88.1) ,Sat_321(92.3) ,Sat_282(92.6) ,A882I(97.6) ,Satt581(101.7) ,LE22H(107.6) ,Sat_303(110.3) ,Satt445(111.6) ,A81T(116.5) ,Satt358(125.6) ,Sat_132(133.3)

2.3.3 整合图谱的特征 四张遗传连锁图谱共计 872 个 SSR 标记。其中 NN、SX 和 WT 三张遗传连锁图谱共标定非重复 SSR 标记 448 个,与 KY 合并,共 602 个非重复 SSR 标记。整合图谱上 SSR 标记 549 个,SSR 标记互补率为 62.8% (定位 549 个 SSR 标记/四张图谱总计 872 个 SSR 标记),整合率为 91.2% (549/602),说明图谱整合效率较高,作图群体选择恰当。但仍有 54 个多态 SSR 标记未能整合到图谱。整合后的图谱增加了新的标记,填补了原 KY 图谱上 E1、E2、F1、F2、H1、H2、I1、I2 和 L1、L2 连锁群间的空隙,得到了与公共图谱^[2]相一致的 20 个完整的连锁群。

2.3.4 整合图谱与 NJRIKY 图谱的比较 与 KY 遗传连锁图谱比较,整合图谱新增加了 235 个标记,

其中 SSR 标记 233 个,其他标记 2 个,各连锁群新增标记 4~20 个,平均增加 11.75 个;图谱平均标记密度由 3.70cM/标记增加到 3.49cM/标记;总遗传距离增加了 701.3cM。连锁群遗传距离发生如下变化:1)增大:A1 连锁群增加了 15 个标记,遗传距离增加 112.3cM;A2 连锁群增加了 24 个标记,遗传距离增加 70cM。2)基本不变:O 连锁群增加了 12 个标记,遗传距离仅增加 0.4cM;C1 连锁群增加了 9 个标记,遗传距离增加 2.2cM。3)缩短:C2 连锁群增加 8 个标记,遗传距离由 131.1cM 缩短到 77.1cM,缩短了 54cM;N 连锁群增加 11 个标记,遗传距离由 132.1cM 缩短到 98.9cM,缩短了 33.2cM。图谱的平均密度由原来的 3.70cM/标记变为 3.49cM/标记,饱和度略有增加(表 6)。

表 6 整合图谱与 NJRIKY 图谱的比较

Table 6 Comparisons between the integrated and NJRIKY maps

连锁群 LG	标记数 Marker number		增量 Δ	长度 Length/cM		增量 Δ	密度 Density/cM per marker	
	NJRIKY	整合后 Joint		NJRIKY	整合后 Joint		NJRIKY	整合后 Joint
A1	23	38	15	99	211.3	112.3	4.3	5.6
A2	32	56	24	154.7	224.7	70	4.8	4.0
B1	22	26	4	99.8	118.1	18.3	4.5	4.5
B2	18	24	6	56.6	123.7	67.1	3.1	5.2
C1	29	38	9	78.9	81.1	2.2	2.7	2.1
C2	38	46	8	131.1	77.1	-54	3.5	1.7
D1a	25	30	5	109.4	119.2	9.8	4.4	4.0
D1b	49	69	20	113.3	204.1	90.8	2.4	2.8
D2	26	39	13	73	103.6	30.6	2.8	2.7
E	18+6	29	5	63.2+48.7	157.8	45.9	4.6	5.4
F	26+8	54	20	56.1+43.5	136.3	36.7	2.9	2.5
G	37	46	9	103.5	153.7	50.2	2.8	3.3
H	7+8	24	9	29+53.4	129	46.6	5.5	5.4
I	18+7	28	3	98.7+32.1	171.2	40.4	5.2	6.1
J	32	46	14	89.5	150.6	61.1	2.8	3.3
K	30	46	16	72.3	128.7	56.4	2.4	2.8
L	9+15	34	10	40.6+83.1	132.8	9.1	5.2	3.9
M	21	41	20	77.1	117.7	40.6	3.7	2.9
N	29	40	11	132.1	98.9	-33.2	4.6	2.5
O	29	41	12	132.9	133.3	0.4	4.6	3.3
总计 Total	560	795	235	2071.6	2772.9	701.3	3.70	3.49

有 2 个数字的表示该连锁群包含两段。 The linkage group with two figures means it has two segments.

2.3.5 整合图谱与公共图谱的比较 本整合图谱各连锁群与 Soybase 公共图谱^[2]比较,在 SSR 标记的分布与位置上具有高度的一致性。另外,图谱新

定位了 5 个 SSR 标记,分别位于 D1b,M 和 N 连锁群上。有 6 个 SSR 标记被定位在与公共图谱不同的连锁群上(表 7)。

表 7 与公共图谱不同的标记

Table 7 Different marker loci in contrast to the consensus map

新增标记 New markers			不同连锁群的标记 Markers on different linkage groups		
位点 Locus	连锁群 Linkage group	位置 Position/cM	位点 Locus	公共图谱 Consensus map	本图谱 This map
Sat_203	D1b	31.5	Sat_009	B2	L
Satt216	D1b	96.0	Sat_264	B2	D1b
Sat_226	M	53.9	Satt126	B2	D1b
Satt033	N	12.1	Sat_131	G	A2
Satt410	N	98.9	Satt324	G	D1a
			Sat_038	O	D1b

3 讨论

3.1 图谱整合的必要性和整合图谱的相似性与特异性

构建遗传图谱的目的在于进一步研究基因组的整体信息、用以进行性状的基因或 QTL 定位,乃至进行基因克隆。这一切有赖于分子标记的多态性。鉴于通常作图群体均由一对亲本的杂种后代衍生而成,在该两个亲本的单个群体中可定位的标记往往有限,但从覆盖全基因组信息的要求看,又需要尽可能多的标记数,多个遗传差异较大的组合联合作图便有可能满足这一要求。从研究的情况看,KY、SX、NN、和 WT 群体分别仅检测到 560、195、223 和 133 个多态性标记,将这四个图谱联合起来便有 795 个,体现了图谱整合的必要性。与 NJRIKY 图谱比较,整合后图谱增加了 235 个标记,各连锁群分别增加了 4~20 个,更好地覆盖了整个大豆基因组。

结果显示,整合图谱与 Song 等^[2]公共图谱的标记位置大体相同,仅有 6 个标记定位在不同的连锁群,另有 5 个 Song 等没有定位的标记,说明由图谱反映的不同材料的基因组绝大部分具有相似性,但也确存在材料间或图谱间的相对特异性,尤其是不同基因组区段存在着不同的基因重组历史。鉴于不同国家和地区均有其特定的育种材料,针对本地区育种材料建立适合本国、本地区的遗传图谱或整合图谱将可能更有利于获得基因组的相关信息,更便于性状的基因或 QTL 定位。

3.2 通过整合图谱进行不同群体定位结果的比较

整合图谱包含了来自不同群体的基因组信息,为不同群体性状的基因或 QTL 相互比较提供了可能性。如 NJRIKY 群体 O 连锁群上分布两个相近的

成熟期 QTL,相邻标记分别为 Sat_274~Satt592 和 GMKF082b~LE23T;吕祝章等^[22]在新民 6 号和合丰 25 衍生的重组自交系群体 O 连锁群上也检测到了 2 个相连的成熟期 QTL,相邻标记分别为 Satt477~Satt331 和 Satt331~Satt153。由于两个群体 QTL 附近区域上没有相同的标记,无法直接进行比较。但在整合图谱的 O 连锁群上,Satt592、Satt331 和 GMKF082b 依次排列,紧密连锁,表明在这两个群体的 O 连锁群上存在着相同的成熟期 QTL。又如 NJRIKY 图谱 C2 连锁群上 A397I~K11_3T 区间内一个控制成熟期和株高性状的主效 QTL 与整合图谱 C2 连锁群的 satt079 位置相近,而 Mansur 等报道的群体在 Song 等公共图谱该位点附近同样存在着控制成熟期和株高的 QTL^[23]。

单个群体定位结果与整合图谱相比,往往在后者的位点区间内包含有更多的分子标记。如王春娥等^[24]报道的 NJRIKY 群体 C2 连锁群上与豆腐得率相关的位点 SATS8_6T~A676I,经比较后发现整合图谱上此两标记间还存在 7 个标记。张红梅等^[25]在 SX 群体的 A2 连锁群上发现了与豆腐得率和豆乳得率相关的位点区间 satt424~sat_162,整合图谱的该区间内也含有另外 2 个标记。如果能有效地利用这些标记,可进一步将 QTL 的定位区间缩短,为精细定位打下基础。

3.3 通过整合图谱进行关联分析所获 QTL 的连锁群定位和比较

整合图谱可将与标记连锁的基因/QTL 定位到图谱上,尤其可用于关联分析找到连锁不平衡标记后将 QTL 落实到图谱上。文自翔等^[26]对中国栽培和野生大豆自然群体的农艺品质性状进行关联分析,检测到与农艺性状和品质性状相关联的 SSRs 各

91 个和 39 个,将特异位点与整合图谱相对照,分别定位到了相关连锁群上。如与成熟期相关的特异位点 Satt592,经与整合图谱相比较,定位到了 O 连锁群上,与利用家系连锁方法检测到的成熟期 QTL 位点相同。而另一特异位点 Satt244 被定位在 J 连锁群上,是家系连锁方法没有检测到的位点。又如张军等^[27]对中国大豆育成品种农艺性状进行关联分析,检测到 45 个位点与 11 个农艺性状 QTL 关联,并定位到相关连锁群上,其中有 22 个位点与家系连锁定位的 QTL 区间相重合。这样,关联分析或标记分析的结果可通过整合图谱进行相互间的比较。

4 结 论

利用具明显农艺性状差异的育成品种和地方品种杂交组合衍生的大豆重组自交系群体分别构建遗传连锁图谱,以图谱间共有 SSR 标记作为锚定标记,使用 JoinMap3.0 进行图谱整合,得到一张包含 20 个连锁群,795 个分子标记,总遗传距离 2772.9cM,平均图距 3.49cM 的高密度整合图谱。与 Song 等的公共图谱比较,本图谱定位了 5 个在公共图谱上没有的 SSR 标记,另有 6 个 SSR 标记定位在不同的连锁群上,其余标记在连锁群上的分布和位置与公共图谱高度吻合。整合图谱可用于将标记分析或关联分析所获基因/QTL 定位到连锁群区间,便于不同群体定位结果间的比较,并通过整合图谱找寻与之连锁更紧密的邻近标记。鉴于本图谱所用作图群体的亲本与国内育种常用材料的遗传来源相近,将更有利于国内育种性状 QTL 的相关研究。

参考文献

[1] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome[J]. Crop Science, 1999, 39(5): 1464-1490.

[2] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(1): 122-128.

[3] Xia Z, Tsubokura Y, Hoshi M, et al. An integrated high-density linkage map of soybean with RFLP, SSR, STS, and AFLP markers using a single F₂ population [J]. DNA Research, 2007, 14: 257-269.

[4] Yamanaka N, Nagamura Y, Tsubokura Y. Quantitative trait locus analysis of owering time in soybean using a RFLP linkage map[J]. Breeding Science, 2000, 50: 109-115.

[5] Yamanaka N, Ninomiya S, Hoshi M. An informative linkage map of soybean reveals QTLs for flowering time, leaflet morphology and re-

gions of segregation distortion[J]. DNA Research, 2001, 8: 61-72.

[6] 庄炳昌, 陈受宜. 大豆遗传图谱的构建和分析[J]. 遗传学报, 2000, 27(11): 1018-1026. (Zhuang B C, Chen S Y. Construction and analysis of soybean genetic map[J]. Acta Genetic Sinica, 2000, 27(11): 1018-1026.)

[7] 吴晓雷, 贺超英, 王永军, 等. 大豆遗传图谱的构建和分析[J]. 遗传学报, 2001, 28(11): 1051-1061. (Wu X L, He C Y, Wang Y J, et al. Construction and analysis of a genetic linkage map of soybean[J]. Acta Genetic Sinica, 2001, 28(11): 1051-1061.)

[8] 王永军, 吴晓雷, 贺超英, 等. 大豆作图群体检验与调整后构建的遗传图谱[J]. 中国农业科学, 2003, 36(11): 1254-1260. (Wang Y J, Wu X L, He C Y, et al. A soybean genetic linkage map constructed after the mapping population being tested and adjusted [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(11): 1254-1260.)

[9] Zhang W K, Wang Y J, Luo G Z, et al. QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic map and their association with EST markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108(6): 1131-1139.

[10] Fu S X, Zhan Y, Zhi H J, et al. Mapping of SMV resistance gene Rsc-7 by SSR markers in soybean[J]. Genetica, 2006, 128(1): 63-69.

[11] 宛煜嵩, 王珍, 肖英华, 等. 一张含有 227 个 SSR 标记的大豆遗传连锁图[J]. 分子植物育种, 2005, 3(1): 15-20. (Wan Y S, Wang Z, Xiao Y H, et al. A soybean genetic linkage map comprising of 227 SSR loci in a soybean RIL population [J]. Molecular Plant Breeding, 2005, 3(1): 15-20.)

[12] 巩鹏涛, 木金贵, 赵金荣, 等. 一张含有 315 个 SSR 和 40 个 AFLP 标记的大豆分子遗传图的整合[J]. 分子植物育种, 2006, 4(3): 309-316. (Gong P T, Mu J G, Zhao J R, et al. An integrated soybean genetic linkage map comprising 315 SSRs and 40 RFLPs [J]. Molecular Plant Breeding, 2006, 4(3): 309-316.)

[13] Morgante M, Olivieri A M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics[J]. The Plant Journal, 1993, 3(1): 175-182.

[14] Morgante M, Rafalski A, Biddle P, et al. Genetic mapping and variability of seven soybean simple sequence repeat loci[J]. Genome, 1994, 37(5): 763-769.

[15] Bell C J, Ecker J R. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of Arabidopsis[J]. Genomics, 1994, 19: 137-144.

[16] Senior M L, Murphy J P, Goodman M M, et al. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system[J]. Crop Science, 1998, 38: 1088-1098.

[17] Burnham K D, Francis D M, Dorrance A E, et al. Genetic diversity patterns among phytophthora resistant soybean plant introductions based on SSR markers[J]. Crop Science, 2002, 42: 338-343.

[18] Poland J A. Mapping of Aegilops tauschii derived leaf rust resistance genes in common wheat[J]. Journal of Natural Resources and Life Science Education, 2003, 32: 8-11.

[19] Lander E S, Green P, Abrahamson J, et al. Mapmaker: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations [J]. Genomics, 1987, 1(2): 174-181.

- [5] 张礼凤,李伟,徐冉,等. 山东省大豆种质资源农艺性状和品质分析[J]. 华北农学报,2006,21(增刊):133-136. (Zhang L F, Li W,Xu R,et al. Analysis of agronomic characters and quality of soybean germplasm resources in Shandong Province[J]. Acta agricultural Boreali-Sinica,2006,21(Supplement):133-136.)
- [6] 刘萌萌,翟亚萍,李鸣雷. 陕西省大豆种质资源蛋白质和油脂含量的研究[J]. 大豆科学,2007,26(4):533-537. (Liu M J, Zhai Y P,Li M L. A study on protein and fat contents of Shanxi soybean accessions [J]. Soybean Science, 2007, 26 (4): 533-537.)
- [7] 吕世霖,程舜华,程创基. 中国大豆种植区域划分的研究[J]. 山西农业大学学报,1981,1(1):9-17. (Lu S L,Cheng S H, Cheng C J. A Study on the classification of soybean cultivation region in China[J]. Journal of Shanxi Agricultural University,1981, 1(1):9-17.)
- [8] 盖钧镒,汪越胜. 中国大豆品种生态区域划分的研究[J]. 中国农业科学,2001,34(2):139-145. (Gai J Y, Wang Y S. A study on the varietal eco-regions of soybeans in China[J]. Agricultural Sciences in China,2001,34(2):139-145.)
- [9] 朱志华,李为喜,刘三才,等. 2002 年我国大豆(*Glycine max*)品种及种质资源的蛋白质和脂肪含量分析[J]. 植物遗传资源学报,2003,4(2):157-161. (Zhu Z H,Li W X,Liu S C,et al Investigation on quality characters of soybean (*Glycine max*) varieties and germplasm grown in 2002[J]. Journal of Plant Genetic Resource,2003,4(2):157-161.)
- [10] 李为喜,朱志华,刘三才,等. 中国大豆(*Glycine max*)品种及种质资源主要品质状况分析[J]. 植物遗传资源学报,2004,5(2):185-192. (Li W X,Zhu Z H,Liu S C,et al. Quality characters of Chinese soybean(*Glycine max*) varieties and germplasm resources[J]. Journal of Plant Genetic Resource, 2004, 5 (2): 185-192.)
- [11] 郑永战. 中国大豆种质资源油脂性状的变异、遗传和 QTL 定位研究[D]. 南京:南京农业大学,2006. (Zhang Y Z. Variability, inheritance, and QTL mapping of fatty traits in Chinese germplasm of soybean[D]. Nanjing:Nanjing Agricultural University,2006.)
- [12] 胡国华,陈庆山,张锡铭. 黑龙江省大豆品质区划的探讨[J]. 大豆科学,2006,25(2):118-122. (Hu G H,Chen Q S,Zhang X M. Discussing of soybean quality regionalization in Heilongjiang [J]. Soybean Science,2006,25(2):118-122.)
- [13] 宁海龙,张大勇,胡国华,等. 东北地区大豆(*G. Max* Merr.)大豆蛋白质和油脂含量区划[J]. 大豆科学. 2007,26(4):511-516. (Ning H L,Zhang D Y,Hu G H,et al. Regionization of protein and oil content in soybean (*G. Max* Merr.) in the Northeast of China[J]. Soybean Science,2007,26(4):511-516.)
- [14] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京:农业出版社. 2000:99-143. (Gai J Y. Methods of experimental statistics[M]. Beijing: Agricultural Press,2000:99-143.)
- [15] 盖钧镒. 植物种质群体遗传结构改变的测度[J]. 植物遗传资源学报,2005,6(1):1-8. (Gai J Y. Indicators related to genetic structure changes of plant germplasm population[J]. Journal of Plant Genetic Resources,2005,6(1):1-8.)
- ~~~~~
- (上接第 565 页)
- [20] Lincoln S E, Lander S L. Mapmaker/exp 3. 0b and Mapmaker/QTL 1. 1 [CP]. Whitehead Institute of Medical Research, Cambridge, Massachusetts, 1993.
- [21] Ooijen J W V, Voorrips R E. Joinmap: Software for the calculation of genetic linkage maps[CP]. Plant Research International, Wageningen, the Netherlands, 2001.
- [22] 吕祝章. 大豆遗传图谱构建、重要农艺性状 QTL 定位及优异基因发掘[D]. 泰安:山东农业大学,2006. (Lü Z Z. Construction of soybean genetic map, QTL mapping of agronomic traits, and identification on excellent gene[D]. Taian:Shandong Agricultural University,2006.)
- [23] Mansur L M, Orf J H, Chase K. Genetic mapping of agronomic traits using recombinant inbred lines of soybean[J]. Crop Science,1996,36:1327-1336.
- [24] 王春娥,盖钧镒,傅三雄,等. 大豆豆腐和豆乳得率的遗传分析与 QTL 定位[J]. 中国农业科学,2008,41(05):1274-1282. (Wang C E,Gai J Y,Fu S X,et al. Inheritance and QTL mapping of Tofu and soymilk output in soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica. 2008,41(5):1274-1282.)
- [25] 张红梅,周斌,赵团结,等. 大豆重组自交系群体 NJRISX 豆腐和豆乳得率的 QTL 分析[J]. 作物学报,2008,34(1):67-75. (Zhang H M,Zhou B,Zhao T J,et al. QTL mapping of Tofu and soymilk output in RIL population NJRISX of soybean[J]. Acta Agronomica Sinica,2008,34(1):67-75.)
- [26] 文自翔,赵团结,郑永战,等. 中国栽培和野生大豆农艺品质性状与 SSR 标记的关联分析[J]. 作物学报,2008,34(7):1169-1178. (Wen Z X,Zhao T J,Zheng Y Z,et al. Association analysis of agronomic and quality traits with SSR markers in *Glycine max* and *Glycine soja* in China: I . population structure and associated markers [J]. Acta Agromomica Sinica, 2008, 34 (7): 1169-1178.)
- [27] 张军,赵团结,盖钧镒. 大豆育成品种农艺性状 QTL 与 SSR 标记的关联分析[J]. 作物学报,2008,34(12):2059-2069. (Zhang J,Zhao T J,Gai J Y. Association analysis of agronomic trait QTLs with SSR markers in released soybean cultivars[J]. Acta Agromomica Sinica,2008,34(12):2059-2069.)