

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.00242

大豆叶绿素含量动态表达的 QTL 分析

李广军^{1,2} 李河南¹ 程利国¹ 章元明^{1,*}

¹ 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室 / 国家大豆改良中心, 江苏南京 210095; ² 临沂师范学院, 山东临沂 276005

摘要: 叶绿素是光合作用中最重要色素, 与大豆籽粒产量密切相关。本研究采用溧水中子黄豆×南农 493-1 后代衍生的 244 个 F₂ 单株及筛选的 150 个 SSR 分子标记构建的连锁遗传图谱, 在苗期至开花期测定 F₂ 衍生 F_{2:3} 和 F_{2:4} 家系生长正常单株的倒 3 复叶功能叶(非离体)的叶绿素含量 13 次, 通过 Windows QTL Cartographer v2.5 软件包的复合区间法, 动态定位了大豆叶绿素含量的 QTL。结果表明, 不同时间点共检测到 20 个 QTL, 其中, 不同发育阶段间、年份间和地点间共同的 QTL 较少, 不同时间点上的 QTL 差异较大, 重复出现在 N、D1a、F 和 K 连锁群的 QTL 有 3~4 次。这些结果为叶绿素含量的遗传剖析和标记辅助育种提供理论依据。

关键词: 大豆; 叶绿素含量; QTL; 动态表达

QTL Analysis for Dynamic Expression of Chlorophyll Content in Soybean (*Glycine max* L. Merri.)

LI Guang-Jun^{1,2}, LI He-Nan, CHENG Li-Guo, and ZHANG Yuan-Ming^{1,*}

¹ State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University / National Center for Soybean Improvement, Nanjing 210095, China; ² Linyi Normal University, Linyi 276005, China

Abstract: Chlorophyll is the most important photosynthetic pigment and closely related to soybean seed yield. However, there are still very few studies at different developmental stages under multiple environments. A genetic linkage map using 244 F₂ plants derived from a soybean cross between Lishuizhongzihuang and Nannong 493-1 was constructed. The F_{2:3} and F_{2:4} families were used to dissect the developmental behavior for chlorophyll content across different environments by quantitative trait locus (QTL) mapping approach. Chlorophyll contents for the function leaf (in vivo) in the 244 F_{2:3} and F_{2:4} families from seedling to blooming stages at Jiangpu and/or Linyi experimental stations in 2007 and/or 2008 were measured by SPAD-502 chlorophyll instrument. Composite interval mapping (CIM) of Windows QTL Cartographer v2.5 was used for the QTL analysis. A total of 20 QTLs were detected at various developmental stages under the two environments. However, there were few common QTLs identified across different developmental stages, years, and experimental stations, although there were 3 to 4 QTLs detected on each of the N, D1a, F, and K linkage groups. In the two years, one common QTL, *qchl-D1a-1*, located between markers sat_160 and satt147 on the linkage group D1a, was identified at Jiangpu experimental station. At the two experimental stations above, three common QTLs on the K, M, and N linkage groups were mapped. These results provide a theoretical basis for genetic analysis of chlorophyll traits and marker-assisted breeding.

Keywords: Soybean; Chlorophyll content; Quantitative trait locus; Dynamic expression

叶绿素是光合作用中最重要色素, 与光合性能^[1]和籽粒产量^[2-3]密切相关。关于作物叶绿素含量的遗传分析, 在水稻^[4]、小麦^[5]、大麦^[6]、棉花^[7]和高粱^[8-9]等作物中都有研究报道, 主要结果集中在不同发育时期叶绿素含量的 QTL 检测, 也有高叶绿素含量基因的发掘^[10]。但是, 有关大豆叶绿素含量遗传分析报道较少, 目前已检测了铁缺乏黄化的

QTL^[11]和叶绿素缺乏的两个基因座^[12], 有关不同生育时期叶绿素含量 QTL 检测也只有崔世友等^[13]的报道。更重要地, 有关多环境条件下不同生育时期叶绿素含量的遗传分析很少^[14]。为此, 本研究将开展不同环境条件下大豆不同生育时期叶绿素含量的遗传研究, 解析其遗传基础。

本研究利用已构建的溧水中子黄豆×南农 493-1

本研究由国家自然科学基金项目(30470998), 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NECT-05-0489), 高等学校博士点基金项目(20060307008), 江苏省自然科学基金项目(BK2008335)和教育部高等学校学科创新引智计划(111 计划)(B08025)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 章元明, E-mail: soyzhang@njau.edu.cn

Received(收稿日期): 2009-07-28; Accepted(接受日期): 2009-12-08.

组合 244 株 F_2 群体 150 个 SSR 分子标记, 利用 SPAD-502 叶绿素仪分别于 2007 年和 2008 年在南京农业大学江浦试验站和临沂市农业科学院试验站测定了叶绿素含量 13 次, 用复合区间作图法分析了叶绿素含量的动态表达, 检测到控制叶绿素含量的主效 QTL, 并探讨不同环境和不同生长时期下, 控制大豆叶绿素含量的 QTL 的规律性, 为大豆高产育种提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与 设计

2005 年夏, 在南京农业大学江浦试验站配制溧水中子黄豆(P_1) \times 南农 493-1(P_2)杂种 F_1 , 同年在海南南繁获得 F_2 种子。2006 年夏, 在南京农业大学江浦试验站种植 F_2 种子, 获得 244 株 F_2 群体。小区行长 3 m, 行距 50 cm, 株距 10 cm。采用系谱法衍生 $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 家系群体。2007 年夏, 在南京农业大学江浦试验站, 按每 $F_{2:3}$ 家系种植 3 行小区, 完全随机设计, 小区行长 2 m, 株距 10 cm, 成熟时中间一行单独收获考种。2008 年夏, 在南京农业大学江浦试验站和山东临沂农业科学院试验站, 按 2007 年种植 $F_{2:3}$ 家系方式种植 $F_{2:4}$ 家系群体。

1.2 SSR 遗传图谱的构建

参照 SSR 标记“大豆公共遗传图谱”^[15], 从大豆数据库 SoyBase (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中获得 SSR 引物序列 972 对, 由上海英骏生物技术有限公司合成。筛选出亲本和 F_2 群体间有多态性的 SSR 引物 150 对。

采用 Saghai-Marooif 等^[16]报道的 CTAB 方法提取 DNA。PCR 总体积为 15 μ L, 含模板 DNA (20 ng μ L⁻¹) 5 μ L, 10 \times PCR buffer [含 200 mmol L⁻¹ Tris-HCl (pH 8.4)、200 mmol L⁻¹ KCl、100 mmol L⁻¹ (NH₄)₂SO₄、15 mmol L⁻¹ Mg²⁺] 1.5 μ L, 10 mmol L⁻¹ dNTP 0.2 μ L, 5 U μ L⁻¹ Taq 酶 0.15 μ L, 10 pmol 引物 3 μ L, ddH₂O 5.15 μ L。PCR 程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30, 退火(不同引物退火温度介于 47~55 $^{\circ}$ C 之间) 45 $^{\circ}$ C, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。用 8% 非变性聚丙烯酰胺胶对扩增产物进行分离, 银染检测^[17]。

采用 Joinmap 3.0 软件包^[18]构建连锁图。用 Group 命令, 以 LOD 值大于 3.0 进行人工分组, 每一个 Group 可以采用不同的 LOD 值标准, 然后选择 Calculate map 命令, 用 Kosambi 作图函数进行重组

率与遗传距离间转换^[19], 参考大豆公共遗传图谱^[15]整合染色体上标记。

1.3 叶绿素含量的测定

在苗期第 7 片复叶展开时, 对亲本及其每个 F_2 衍生家系的中间行取生长正常单株的倒 3 复叶功能叶的中间叶片, 每家系固定观测 5 株, 用日本产 SPAD-502 型叶绿素计数仪测定每单株 1 片叶的上、中、下 3 点, 以平均值 SPAD 值度量该叶片的叶绿素含量^[20]。

2007 年在江浦试验站, 采用每周测量 1 次的方式(24/7、30/7、5/8、11/8、17/8、23/8、29/8 和 4/9, 日/月), 从苗期到盛花期共测量 8 次(数据集 I)。2008 年在江浦试验站, 只在初花期(8 月 8 日)测 1 次(数据集 II)。2008 年在临沂农业科学院试验站, 从苗期到初花期共测 4 次(14/7、20/7、26/7 和 1/8, 日/月)(数据集 III)。

1.4 QTL 定位方法

利用 Win QTL Cartographer v2.5 软件包^[21]的复合区间作图(composite interval mapping, CIM)分析数据集 I~III, 以向前逐步回归分析方法选择协变量标记控制遗传背景, 其他按标准设置。以 LOD 值大于 2.5 作为 QTL 存在的阈值。

用 MapChart 2.2 将 QTL 定位结果绘制成 QTL 图^[22]。按照 QTL+性状+连锁群+数字命名 QTL, 其中 QTL 以小写 q 开头, 性状以英文缩写表示, 数字表示同一性状在该连锁群上检测到的不同 QTL 个数。

2 结果与分析

2.1 不同时间叶绿素含量的表型变异特征

从表 1 可知, 溧水中子黄豆(P_1)不同时间点叶绿素含量及其平均含量与南农 493-1 都存在显著差异; $F_{2:3}$ 和 $F_{2:4}$ 家系间也存在遗传变异, 呈偏态与非正态分布, 说明存在主效 QTL 或 QTL 与环境互作。

2.2 叶绿素含量 QTL 的动态表达

用复合区间作图法分析数据集 I~III, 检测到叶绿素含量共有 20 个 QTL, 结果见表 2 和图 1。

2007 年江浦试验站的 8 次测量中共检测到 10 个 QTL, 分布在 6 个连锁群上。第 1~8 时间点分别检测到 3、0、2、2、1、1、1 和 0 个 QTL, 其中 1~4 时期共检测到 7 个 QTL, 说明叶绿素合成基因在叶绿素合成前期表达较为活跃, 每个时期都有 0~3 个 QTL 控制叶绿素的合成; 在 5~8 时期共检测到 3 个 QTL, 说明叶绿素的后期合成相对要少一些, 这是

表 1 大豆溧水中子黄豆与南农 493-1 杂交后代的 244 个 F_{2:3} 和 F_{2:4} 家系叶绿素含量的表型特征
 Table 1 Phenotypic variation of chlorophyll content in 244 F_{2:3} and F_{2:4} families from a cross of Lishuizhongzihuang (P₁) and Nan-nong 493-1 (P₂)

年份/地点 Year/site	检测次数 Test frequency	亲本 Parent		家系 Family	估计值 Estimate					
		P ₁	P ₂		最大值 Max.	最小值 Min.	平均数 Mean	标准差 SD	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
2007/JP	1	34.98±1.62	38.50±0.93	F _{2:3}	45.00	29.82	37.51	2.33	0.66	-0.23
	2	35.28±1.41	39.44±0.86		45.90	28.16	35.65	2.60	0.70	0.14
	3	40.22±0.33	42.84±1.69		46.94	29.84	40.83	7.87	1.24	-0.73
	4	35.76±1.97	36.86±1.74		45.60	36.50	41.13	1.55	0.48	0.04
	5	45.18±0.48	41.24±1.41		55.06	30.76	39.01	4.00	0.57	0.37
	6	45.56±3.09	42.70±1.31		57.30	39.26	44.51	2.09	8.16	1.50
	7	44.50±1.87	43.66±1.00		56.76	40.46	46.32	1.99	3.48	0.47
	8	46.52±1.15	41.98±1.10		50.32	39.50	45.97	2.86	0.62	-0.27
2008/LY	1	30.22±0.99	24.44±1.89	F _{2:4}	36.64	21.16	26.96	2.60	0.68	0.45
	2	26.08±0.99	32.14±1.13		35.14	23.04	29.52	2.45	-0.34	-0.16
	3	30.44±0.77	30.16±1.50		36.22	20.78	25.97	2.46	0.97	0.65
	4	33.32±0.58	30.60±1.35		37.94	23.76	31.23	2.17	-0.63	-0.37
2008/JP	1	34.44±1.13	33.72±0.96		39.26	25.22	31.92	2.54	-0.53	0.23

JP: 江苏江浦试验站; LY: 山东临沂试验站。

JP: Jiangpu experimental station; **: LY: Linyi experimental station.

表 2 大豆 F_{2:3} 和 F_{2:4} 家系群体叶绿素含量的 QTL 定位
 Table 2 Mapping QTL for chlorophyll content in soybean in F_{2:3} and F_{2:4} family populations

年份/地点 Year/site	基因座 QTL	检测次数 Test frequency	连锁群 Linkage group	位置 Position (cM)	标记区间 Marker interval	LOD	效应 Effect		R ²
							加性 Additive	显性 Dominant	
2007/JP	<i>qchl-F-1</i>	1	F	42.09	satt343-satt160	2.70	0.48	-1.28	0.02
	<i>qchl-G</i>	1	G	17.01	satt309-satt688	3.21	0.80	-1.37	0.05
	<i>qchl-N-1</i>	1	N	43.01	satt234-satt022	2.56	0.97	0.74	0.05
	<i>qchl-D1a-1</i>	3	D1a	0.01	sat_160-satt147	7.38	1.49	-2.18	0.17
	<i>qchl-D1b-1</i>	3	D1b	31.69	sat_254-satt282	3.92	-1.53	1.33	0.13
	<i>qchl-D1a-2</i>	4	D1a	30.01	satt580-satt077	3.68	-0.10	0.99	0.01
	<i>qchl-N-1</i>	4	N	34.01	satt234-satt022	2.56	0.71	-0.02	0.10
	<i>qchl-N-1</i>	5	N	6.01	satt234-satt022	3.25	5.61	-0.79	0.57
	<i>qchl-F-2</i>	6	F	34.01	satt649-satt348	5.18	1.56	-1.22	0.16
	<i>qchl-O-1</i>	7	O	42.42	satt633-satt345	3.22	-0.08	0.81	0.01
2008/LY	<i>qchl-C2-1</i>	1	C2	13.70	sat_402-satt277	3.00	-0.98	0.13	0.05
	<i>qchl-F-3</i>	1	F	61.88	BE387-satt659	2.58	0.52	-1.35	0.02
	<i>qchl-D2-2</i>	2	D2	32.79	sat_365-satt514	4.12	-1.61	1.38	0.14
	<i>qchl-K</i>	2	K	24.86	satt441-satt417	4.82	-1.48	0.86	0.13
	<i>qchl-M-3</i>	3	M	26.01	sat_391-satt150	2.50	0.41	0.53	0.01
	<i>qchl-N-2</i>	4	N	21.01	satt237-satt255	2.77	0.96	-0.25	0.09
2008/JP	<i>qchl-D1a-1</i>	1	D1a	11.01	sat_160-satt147	7.12	1.91	-3.05	0.30
	<i>qchl-I</i>	1	I	0.01	satt419-satt354	2.79	-0.98	0.13	0.06
	<i>qchl-K</i>	1	K	33.86	satt441-satt417	2.51	-1.05	1.14	0.07
	<i>qchl-M-1</i>	1	M	0.01	sat_258-satt463	3.35	0.59	-1.20	0.03

缩写同表 1。Abbreviations as in Table 1.

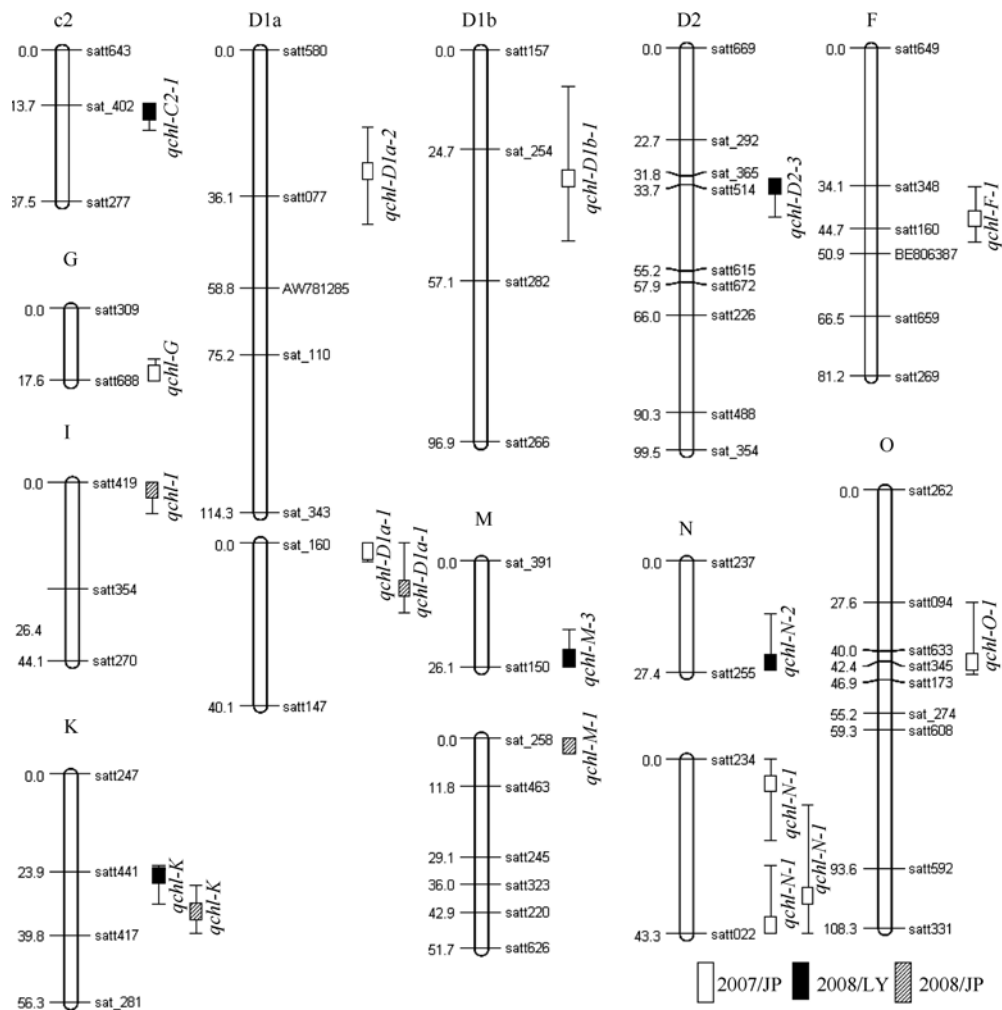


图 1 大豆叶绿素含量的 QTL 定位

Fig. 1 Mapping quantitative trait loci for chlorophyll content in soybean

因为这个时期已经是大豆的鼓粒期，叶绿素的合成已达顶峰，以后就逐渐分解。8 次检测中，N 连锁群上的 *satt234*~*satt022* 有 3 次被检测到，说明该区间可能存在控制叶绿素合成的基因；D1a 和 F 连锁群上在不同基因座上都检测到 2 次，说明控制叶绿素合成的位点分布在不同的连锁群上。从贡献率上看，大于 10% 的 QTL 有 5 个；*qchl-N-1* 在 8 次测量中共出现 3 次，有两次贡献率较高，分别达 57% 和 10%。

在 2008 年临沂试验站的 4 次测量中，共检测到 6 个 QTL，分布在 6 个不同的连锁群上。第 1~4 次分别检测到 2、2、1 和 1 个 QTL。各 QTL 的位置均不相同。从贡献率来看，大于 10% 的有 2 个；最大贡献率 14% 的 QTL 是 *qchl-D2-2*。

在 2008 年江浦试验站的 1 次测量中，共检测到 4 个 QTL，分布在 4 个连锁群上。虽然 M 连锁群 *satt463* 标记两侧都存在 QTL，但是这两个 QTL 效应

方向完全一样，很可能是一个 QTL，为此只列出 LOD 较大的 *qchl-M-1*。从贡献率来看，大于 10% 的是 *qchl-D1a-1*，为 30%。

在 3 个数据集的 QTL 检测中，QTL 在 N 连锁群上出现了 4 次，在 F、D1a 和 M 连锁群上出现了 3 次，在 K 连锁群上出现了 2 次，说明这几个连锁群可能是叶绿素合成基因的位置所在。同一地点（江浦）的不同年份间只检测到 1 个共同的 QTL，即位于 *sat_160*~*satt147* 间的 *qchl-D1a-1*。江浦和临沂两地点间共同检测到 1 个 QTL，位于 K 连锁群上的 *qchl-K*；相连锁的 QTL 有 2 个，分别位于 M 和 N 连锁群。

从上述结果看，不同时期检测到的叶绿素含量 QTL 多不相同，共同 QTL 比例较低，说明多数基因的表达是分阶段的、动态的。但也有的基因表达是几个时期都进行的，控制叶绿素含量的基因是多条染色体的多个 QTL，如 *qchl-N-1*。

3 讨论

本文的叶绿素含量 QTL 定位结果具有一定的可靠性,表现在三方面:(1)在同一地点(江浦)的不同年份(2007 和 2008 年)间、江浦和临沂不同地点间都检测到相同的 QTL,如 *qchl-D1a-1*; (2) 与他人的研究结果相对一致,例如,与崔世友等^[13]利用二年一地数据定位的叶绿素 QTL 相比较,与 D1a、G 和 M 连锁群上 *satt147*、*satt688* 和 *sat_391-satt150* 标记连锁的 QTL 是一致的,与 C2、M 和 F 连锁群上的 QTL 是相近的; Lin 等^[11]检测的铁缺乏黄化叶绿素含量 QTL 位于 N 连锁群上,这与本文在 2007 年江浦试验站的 8 次的检测结果中 N 连锁群上 *satt234-satt022* 的 QTL 出现 3 次的结果一致; (3) 叶绿素含量 QTL 与大豆光氧化 QTL^[23]比较,有约 70% 的 QTL 是连锁的,而粒形性状 QTL^[24]的比例少得多(表 3)。

Fanizza 等^[20]认为 SPAD 值能反映叶片实际叶绿素含量,类似的研究还有较多,如 Ma 等^[25]。说明本文用 SPAD 值反映植株功能叶片叶绿素含量是可行的。

目前,多数 QTL 定位的研究都只局限于植株数量性状某一时间点的表现,无法掌握不同发育时期各 QTL 的效应大小和基因作用方向。为此,需要从

动态角度探索作物复杂性状的遗传学基础^[26-27]。实际上,数量性状的遗传表达与发育阶段密切相关,存在基因表达的发育阶段性,不同发育阶段的性状变化是基因的选择性有序表达的结果^[28]。数量性状受特定的微效多基因系统控制,对数量性状在发育不同阶段的基因表达和效应进行研究,有助于揭示数量性状发育的分子遗传机理,其研究结果对分子标记辅助选择育种实践具有重要的指导意义。迄今为止,已在水稻^[27-29]、玉米^[30]、小麦^[31-32]和大豆^[33]等作物上,从动态角度剖析了株高和分蘖等复杂性状的遗传学基础。但是,针对叶绿素含量遗传机制的动态分析还比较少,特别是大豆叶绿素含量。从本文结果看,不同时间点检测到的叶绿素含量 QTL 差异较大,共同的 QTL 不多(N 连锁群除外)。这与曹树青等^[34]的结果相似。笔者认为,植物体内的叶绿素不断地进行新陈代谢,有合成也有降解,叶绿素的生物合成是比较复杂的,同时,光照、温度、营养元素、氧、水分等也影响叶绿素形成。所以,控制叶绿素含量的表达在时空上应该存在差异。这也说明叶绿素含量的遗传机制是十分复杂的,还需要进一步剖析。

表 3 大豆叶绿素含量 QTL 与大豆光氧化、粒形 QTL 的比较
Table 3 Comparison of QTLs for chlorophyll content with those for photooxidation and seed shape in soybean

连锁群 Linkage group	标记 Marker	基因座个数 QTL number			连锁群 Linkage group	标记 Marker	基因座个数 QTL number		
		叶绿素含量 Chlorophyll	光氧化 Photooxidation	粒形 Seed shape			叶绿素含量 Chlorophyll	光氧化 Photooxidation	粒形 Seed shape
A2	<i>sat_233</i>	3	2	2	F	<i>BE387</i>	1	1	
C2	<i>sat_402</i>	2	2		G	<i>satt688</i>	1	1	
	<i>satt277</i>	2	2		I	<i>satt419</i>	4	1	1
	<i>satt640</i>	1	8		J	<i>sat_224</i>	4	1	4
D1a	<i>AW285</i>	3	3		K	<i>satt441</i>	3	3	
	<i>sat_110</i>	2	3			<i>satt417</i>	3	5	
	<i>sat_160</i>	5	9		L	<i>satt166</i>	1	1	
D1b	<i>sat_254</i>	1	2			<i>satt527</i>	1	1	
	<i>satt282</i>	1	2		M	<i>sat_258</i>	2	3	3
D2	<i>satt669</i>	3	3			<i>satt463</i>	3	3	3
	<i>sat_365</i>	1	4	2		<i>satt245</i>	3	3	3
	<i>sat514</i>	1	4	2		<i>satt323</i>	3	2	3
	<i>satt413</i>	2	8			<i>sat_150</i>	1	8	
F	<i>satt265</i>	2	7		N	<i>satt234</i>	4	2	5
	<i>satt649</i>	1	1			<i>satt022</i>	4	4	
	<i>satt160</i>	1	1			<i>sat_266</i>	1	1	
	<i>satt659</i>	1	1		O	<i>satt262</i>	1	2	5
		总数 Total					72	104	33

4 结论

两环境 8 个发育时期共检测到 20 个与叶绿素含量相关的 QTL, 虽然不同发育时期间、年份和地点间共同的 QTL 较少, 但是在 N、D1a、F 和 K 连锁群上仍有重复出现 3~4 次的 QTL, 如 D1a 连锁群上分子标记 sat_160 和 satt147 间的 *qchl-D1a-1*。

References

- [1] Haberlandt G. *Physiological Plant Anatomy*. London: Macmillan, 1914
- [2] Buttery B R, Buzzell R I, Findlay W I. Relationship among photosynthetic rate, bean yield and other characters in field-grown cultivars of soybean. *Can J Plant Sci*, 1981, 61: 191-198
- [3] Ma B L, Morrison M J, Voldeng H D. Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Sci*, 1995, 35: 1411-1414
- [4] Wu P(吴平), Luo A-C(罗安程). Investigation on genetic background of leave chlorophyll content variation in rice under nitrogen stressed condition via molecular markers. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 1996, 23(6): 431-443 (in Chinese with English abstract)
- [5] Cao W-D(曹卫东), Jia J-Z(贾继增), Jin J-Y(金继运). Identification and interaction analysis of QTL for chlorophyll content in wheat seedlings. *Plant Nutr Fert Sci* (植物营养与肥料学报), 2004, 10(5): 473-478 (in Chinese with English abstract)
- [6] This D, Borries C, Souyris I, Teulat B. QTL study of chlorophyll content as a genetic parameter of drought tolerance in barley. *Barley Genet Newsl*, 2000, 30: 20-23
- [7] Qin H-D(秦鸿德), Zhang T-Z(张天真). QTL mapping of leaf chlorophyll content and photosynthetic rates in cotton. *Cotton Sci* (棉花学报), 2008, 20(5): 394-398 (in Chinese with English abstract)
- [8] Tuinstra M R, Grote E M, Goldsbrough P B, Ejeta G. Genetic analysis of post-flowering drought tolerance and components of grain development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Mol Breed*, 1997, 3: 439-448
- [9] Xu W W, Subudhi P K, Crasta O R, Rosenow D T, Mullet J E, Nguyen H T. Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Genome*, 2000, 43: 461-469
- [10] Li X-Y(李贤勇), Wang C-T(王楚桃), Li S-W(李顺武), He Y-X(何永歆), Chen S-Q(陈世全). The discovery of a high chlorophyll content gene in rice. *Southwest China J Agric Sci* (西南农业学报), 2002, 15(4): 122-123 (in Chinese with English abstract)
- [11] Lin S, Cianzio S, Shoemaker R. Mapping genetic loci for iron deficiency chlorosis in soybean. *Mol Breed*, 1997, 3: 219-229
- [12] Kato K K, Palmer R G. Duplicate chlorophyll-deficient loci in soybean. *Genome*, 2004, 47: 190-198
- [13] Cui S-Y(崔世友), Yu D-Y(喻德跃). QTL mapping of chlorophyll content at various growing stages and its relationship with yield in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(5): 744-750 (in Chinese with English abstract)
- [14] Shen B(沈波), Zhuang J-Y(庄杰云), Zhang K-Q(张克勤), Dai W-M(戴伟民), Lu Y(鲁焯), Fu L-Q(傅丽卿), Ding J-M(丁佳铭), Zheng K-L(郑康乐). Analysis of interaction between QTL and environment on chlorophyll contents in rice. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2005, 38(10): 1937-1943 (in Chinese with English abstract)
- [15] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, Lark K G, Concibido V C, Delannay X, Specht J E, Cregan P B. A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 122-128
- [16] Saghai-Marooif M A, Soliman K M, Jorgensen R A, Allard R W. Ribosomal DNA space-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 8014-8018
- [17] Santos F R, Pena S D J, Epplen J T. Genetic and population study of an Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. *Hum Genet*, 1993, 90: 655-656
- [18] Van Ooijen J W, Voorrips R E. JoinMap Version 3.0: Software for the calculation of genetic linkage maps. Wageningen: CPRO-DLO, 2001
- [19] Kosambi D D. The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugenics*, 1944, 12: 172-175
- [20] Fanizza G, Gatta C D, Bagnulo C. A non-destructive determination of leaf chlorophyll in *Vitis vinifera*. *Annu Appl Biol*, 1991, 119: 203-209
- [21] Wang S, Basten C J, Zeng Z B. Windows QTL Cartographer v2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, 2007, Raleigh, NC
- [22] Voorrips R E. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *J Hered*, 2002, 93: 77-78
- [23] Li H-N(李河南). Genetic analysis of yield related traits in soybean (*Glycine max* L. Merrill). MS Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2009
- [24] Li G-J(李广军). Detection of Quantitative Trait Loci of the Traits Related to Photooxidation, Dynamic Chlorophyll Content and Resistance to Soybean Pyralid (*Lamprosema indicata* Fabricius) in Soybean (*Glycine max* L. Merrill). PhD Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2009 (in Chinese with English abstract)
- [25] Ma L Q, Zhou E F, Huo N X, Zhou R H, Wang G Y, Jia J Z. Genetic analysis of salt tolerance in a recombinant inbred population of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 2007, 153: 109-117
- [26] Bradshaw H D Jr, Stettler R F. Molecular genetics of growth and development in Populus: IV. Mapping QTLs with large effects on growth, form, and phenology traits in a forest tree. *Genetics*, 1995, 139: 963-973
- [27] Wu W R, Li W M, Tang D Z, Lu H R, Worland A J. Time-related mapping of quantitative trait loci underlying tiller number in rice. *Genetics*, 1999, 151: 297-303
- [28] Ruan C-J(阮成江), He Z-X(何祯祥), Qin P(钦佩). Research advancements on crop QTL mapping in China. *Chin Bull Bot* (植物

- 学通报), 2003, 20(1): 10–22 (in Chinese with English abstract)
- [29] Yan J Q, Zhu J, He C X, Benmoussa M, Wu P. Quantitative trait loci analysis for development behavior of tiller number in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 267–274
- [30] Yan J-B(严建兵), Tang H(汤华), Huang Y-Q(黄益勤), Shi Y-G(石永刚), Li J-S(李建生), Zheng Y-L(郑用琏). QTL mapping for developmental behavior for plant height in maize. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 2003, 48(18): 1959–1964 (in Chinese with English abstract)
- [31] Li W-H(李卫华), You M-S(尤明山), Liu W(刘伟), Xu J(徐杰), Liu C-L(刘春雷), Li B-Y(李保云), Liu G-T(刘广田). QTL mapping for developmental behavior of GMP content in wheat. *Acta Agron Sin (作物学报)*, 2006, 32(7): 995–1000 (in Chinese with English abstract)
- [32] Liu L(刘丽), Li W-H(李卫华), Liu W(刘伟), Cao L-P(曹连莆), Li B-Y(李保云), Liu G-T(刘广田). Analysis of QTL for SIG at different developmental stages in wheat. *Sci Agric Sin (中国农业科学)*, 2008, 41(11): 3838–3844 (in Chinese with English abstract)
- [33] Sun D-S(孙德生), Li W-B(李文滨), Zhang Z-C(张忠臣), Chen Q-S(陈庆山), Yang Q-K(杨庆凯). Analysis of QTL for plant height at different developmental stages in soybean. *Acta Agron Sin (作物学报)*, 2006, 32(4): 509–514 (in Chinese with English abstract)
- [34] Cao S-Q(曹树青), Zhai H-Q(翟虎渠), Sheng S-L(盛胜兰), Gong H-B(龚红兵), Lin T-Z(林添资), Yang T-N(杨图南), Zhang R-X(张荣铎), Kuang T-Y(匡廷云). Photosynthetic carbon assimilating properties in high-yield hybrid rice II you 129. *Hybrid Rice (杂交水稻)*, 2001, 16(1): 46–50 (in Chinese with English abstract)