

利用野生大豆染色体片段代换系定位百粒重 QTL

陈庆山¹, 蒋洪蔚^{1,2}, 孙殿君², 刘春燕², 辛大伟¹, 曾庆力¹, 马占洲¹, 胡国华²

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农垦科研育种中心, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要: 利用野生大豆 ZYD00006(供体亲本)与黑龙江省主栽品种绥农 14(轮回亲本)所构建的高世代(BC₃)染色体片段代换系 130 个株行进行 QTL 定位。采用基于单标记的方差分析方法检测到 25 个百粒重相关的 SSR 位点, 为避免由于标记位点共分离而产生的假阳性结果, 对方差分析得到的相邻位点进行代换作图分析, 最终获得分布于大豆 10 条连锁群上的 19 个百粒重相关位点。其中有 7 个位点与已有研究结果完全一致; 2 个位点与已有研究结果位置相距 0.9 和 4.6 cM; 其余 10 个位点首次发现, 推测是本套材料的特有位点; 其中位点 *QSW-D1a-2* 加性效应 3.6, *QSW-H-2* 加性效应 -2.1, 片段长度均小于 10 cM, 可作为继续研究的首选位点。

关键词: 大豆; 染色体片段代换系; 百粒重; QTL 定位

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2014)02-0154-07

QTL Mapping for 100-seed Weight Using Wild Soybean Chromosome Segment Substitution Lines

CHEN Qing-shan¹, JIANG Hong-wei^{1,2}, SUN Dian-jun², LIU Chun-yan², XIN Da-wei¹, ZENG Qing-li¹, MA Zhan-zhou¹, HU Guo-hua^{1,2}

(1. Agronomy College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Land Reclamation Research and Breeding Centre of Heilongjiang, Harbin 150090, China)

Abstract: A chromosome segment substitution lines (BC₃) including 130 lines was constructed by the cross of wild soybean ZYD00006 (donor parent) and cultivar Suinong 14 (recurrent parent). The QTL underlying 100-seed weight was identified using ANOVA Method based on single marker with trait. Twenty-five SSR markers underlying 100-seed weight were detected with ANOVA method. To avoid the false positive of co-segregation markers, substitution mapping was used to verify the result of ANOVA method. Finally, Nineteen QTL underlying 100-seed weight were identified using two methods and those QTL distributed on 10 linkage groups. Seven QTL were in full accord with known results; two QTL were somewhat different with known results of 0.9 cM or 4.6 cM distance. Another 10 ones were first discovery of loci, which should be specific loci in the study. *QSW-D1a-2* and *QSW-H-2* with 3.6 and -2.1 of additive effects, fragments length were less than 10 cM could be used as the first choice loci for further study. In this study, substitution lines which had similar genetic background were used to QTL mapping. The result of QTL mapping is more credible because there is no interference of genetic background. Specific materials and important loci lay a foundation for further study on 100-seed weight QTL fine mapping and molecular assisted breeding.

Key words: Soybean; Chromosome segment substitution lines; 100-seed weight; QTL mapping

百粒重是影响大豆单产的重要农艺性状, 属于复杂的数量性状^[1-2]。针对大豆百粒重性状, 国内外许多学者利用不同的初级作图群体和基于不同标记图谱定位了大量 QTL。Maughan 等^[3]在大粒品种 *Glycine max* × 小粒品种 *G. soja* 的 F₂ 和 F_{2,3} 群体中分别检测到 3 个和 5 个与百粒重相关的标记; Li 等^[2]利用 *G. max* ‘7499’ × *G. soja* PI 245331 的 BIL 群体, 检测到 11 个 QTLs; Chen 等^[4]和孙亚男等^[5]利用 Charleston × 东农 594 重组自交系群体, 采用完备区间作图和混合线性模型等方法获得多个大豆百粒重 QTL; 汪霞等^[6]以溧水中子黄豆和南农493-1

的正反交 F_{2,4} 家系, 利用复合区间作图法也进行了该性状的研究。

但初级作图群体会使得 QTL 定位区间过大, 大量基因位点同时分离, 造成遗传背景效应或“遗传噪声”^[7], 增加了主效 QTL 精细定位的难度。利用次级作图群体, 如染色体片段代换系 (chromosome segment substitution lines, CSSLs) 的应用, 为解决这一难题找到了理想途径^[8]。理想状态下, 一个染色体片段代换系个体基因组带有供体亲本染色体的少量片段, 而基因组的其他部分则为轮回亲本的遗传背景^[9], 因此, 极大避免了遗传背景效应或“遗传

收稿日期: 2013-10-16

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划 (NECT-1207-01); 黑龙江省自然科学基金重点项目 (ZD201213); 现代农业产业体系 (CARS-04-02A); 黑龙江省博士后基金 (LBH-Z12035); 中国博士后基金 (2012M520030); 黑龙江省高校长江后备支持计划项目 (2014CJHB004)。

第一作者简介: 陈庆山 (1973-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事大豆生物技术研究。E-mail: qshchen@126.com。

通讯作者: 胡国华 (1951-), 男, 博士, 研究员, 主要从事大豆遗传育种与栽培研究。E-mail: hugh757@vip.163.com。

噪声”的干扰。近年来染色体片段代换系的利用已经成为作物重要农艺性状 QTL 精细定位和遗传改良的重要途径,在水稻^[10-11]、玉米^[12]、小麦^[13-14]及大豆^[15-16]等作物中得到广泛应用。但是,应用染色体片段代换系进行大豆百粒重相关研究^[17]还鲜见报道。

本研究以野生大豆 ZYD00006 和绥农 14 构建的 BC₃F₃代染色体片段代换系为材料,利用基于单标记扫描的方差分析方法定位大豆百粒重相关位点;结合染色体片段代换系的特点,利用代换作图法对方差分析的结果进行检验,并对验证后的位点估算其加性效应,以期为大豆百粒重分子辅助育种提供有用的标记信息和重要的育种材料。

1 材料与方法

1.1 材料

供体亲本为野生型大豆 ZYD00006,受体亲本(轮回亲本)为黑龙江省主栽品种绥农 14,以绥农 14 为母本与供体杂交获得杂种 F₁代,F₁与轮回亲本连续回交 3 代并自交 2 代获得 BC₃F₃代,共 130 个株系,群体构建于 2006~2012 年。

1.2 方法

1.2.1 材料种植及表型数据获得 2011 年 6 月,对 BC₃F₂代 195 株单株挂牌取叶片,于秋季收获、考种,获得百粒重性状分离较大且完全成熟的 130 个单株。2012 年将这 130 个单株的种子(BC₃F₃)按株行播种于黑龙江省农垦科研育种基地试验田(126°18' E,45°36' N),小区行长 2 m,行距 60 cm,株距 5 cm,管理同一般大田。

2012 年 9 月选取每行完全成熟的代换系单株 5 株挂牌收获,同时收获 10 株亲本绥农 14 与 ZYD00006,依据《大豆种质资源描述规范和数据标准》^[18]每株选取 100 个饱满且完整的种粒用百分之一天平称重,求平均值,获得材料百粒重数据。

1.2.2 基因型数据获得 2011 年 6 月,对 BC₃F₂代 195 株个体单株挂牌取叶片,采用 CTAB 法^[19]提取其基因组 DNA。利用黑龙江省农垦科研育种中心实验室合成的 1 000 对 SSR 引物(序列信息来自 Soymap2),经双亲间引物多态性筛选,从中选取在

大豆 20 条连锁群上均匀分布且多态性差异较大的 SSR 标记 121 对,对 BC₃F₂代完全成熟的 130 个单株进行 SSR 标记检测,获得基因型数据,与绥农 14(轮回亲本)相同的基因型记作 A,与野生型大豆 ZYD00006(供体亲本)相同的基因型记作 B,杂合基因型记作 AB。

1.3 数据分析

利用 CSSL Finder^[20]统计染色体片段代换系(CSSLs)群体中供体片段的导入情况;利用 SPSS 17.0 软件的方差分析功能对基因型及表型数据进行分析,以 $P \leq 0.05$ 作为 QTL 是否存在的阈值,QTL 的命名遵循 McCouch 等^[21]制定的原则。结合染色体片段代换系的特点,利用 *t* 检验检测 CSSLs 同轮回亲本绥农 14 的表型差异显著性;采用代换作图法对方差分析中相邻的位点进行检验,参照何风华等^[22]的方法,如果在相互重叠的两个或两个以上的 CSSLs 的置换片段上都鉴定有 QTL,则认为 QTL 位于这些置换片段的重叠区段上;如果在一个 CSSL 的置换片段上检测出,在与置换片段的某一区段相互重叠的另一个或多个 CSSLs 中未检测出,则认为 QTL 位于非重叠的区段上。

参照 Eshed 等^[23]的方法估算 QTL 的加性效应值及加性效应百分率。计算公式为:

加性效应值 = (代换系的表型值 - 绥农 14 的表型值)/2;

加性效应百分率(%) = (加性效应值/绥农 14 的表型值) × 100。

2 结果与分析

2.1 亲本和 CSSLs 后代的百粒重表现及供体片段导入情况

对染色体片段代换系的两亲本绥农 14、ZYD00006 和 BC₃F₃代的 130 个株系进行百粒重考种,绥农 14 百粒重 17.98 g, ZYD00006 百粒重 2.86 g; BC₃F₃代 130 个株系百粒重范围是 13.81 ~ 25.10 g,两亲本百粒重相差极大,且后代的百粒重分离较大(表 1)。染色体片段代换系后代株系百粒重呈近似正态分布(图 1)。

表 1 亲本及 CSSLs 后代的百粒重表现

Table 1 100-seed weight of parent and CSSLs

材料 Materials	平均值 Average/g	最小值 Min./g	最大值 Max./g	标准差 Standard deviation	变异系数 Variation coefficient/%
绥农 14 Suinong14	17.98	17.38	18.57	0.48	2.67
ZYD00006	2.86	2.40	3.14	0.27	9.44
后代群体 CSSLs	17.48	13.81	25.10	1.84	10.53

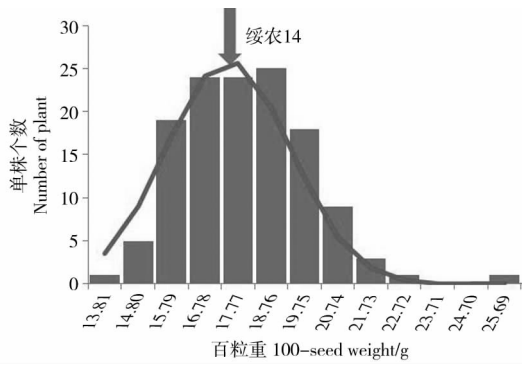


图1 染色体片段代换系群体百粒重频率分布

Fig.1 Frequency distribution of 100-seed weight in CSSLs

利用 CSSL Finder 的统计功能,对染色体片段代换系的片段导入情况进行统计分析。130 个株系中共有 587 个野生大豆导入片段,平均每个株系含有 4.59 个纯合导入片段,遗传背景的恢复率为 91.21%,达到了遗传背景的相对一致。

2.2 百粒重性状的方差分析

如表 2 所示,经方差分析检测到影响百粒重性状的标记位点 25 个,分布于 B1, C1, D1a, D1b, D2, F, G, H, I 和 M 共 10 个连锁群上。其中 M 连锁群的位点最少,为 1 个;F 连锁群的位点最多,为 5 个。

2.3 百粒重 QTL 代换作图

由于 CSSLs 中个别株系的导入片段较大,一个导入片段包含多个标记位点(连锁累赘),在方差分析的检测过程中会出现相邻标记均被检测到的情况,因此,会增加检测结果的假阳性。为避免假阳性结果的存在,对一个导入片段包含多个标记位点的代换系分别与轮回亲本百粒重进行 *t* 测验(表 3),以保证株系特异材料(百粒重与轮回亲本差异显著的材料)选择的准确性,再对这些材料的导入片段,采用代换作图对方差分析中相邻的位点进行检验。

表 2 百粒重相关标记位点

Table 2 Related markers of 100-seed weight

连锁群 Linkage group	位点 Loci	F 值 F value	连锁群 Linkage group	位点 Loci	F 值 F value	连锁群 Linkage group	位点 Loci	F 值 F value
B1	Sat_261	6.70 *	D2	Sat_001	7.06 ***	G	Satt594	6.00 **
	Sat_149	6.31 *		Satt672	3.56 **		Satt504	6.61 **
C1	Satt565	3.42 *	F	Sat_220	8.89 ***	H	Satt505	6.06 **
	Satt194	3.29 *		Satt425	5.44 **		Satt469	3.47 *
D1a	Satt468	4.80 **	I	Satt663	4.31 *	M	Sat_180	3.13 *
	Satt147	10.28 ***		Sat_317	10.20 ***		Satt419	13.79 ***
D1b	Sat_279	5.74 **	M	Satt554	5.60 *	Satt671	3.87 *	
	Sat_227	8.54 ***		AW756935	9.94 ***	Satt636	7.84 ***	
	Satg001	5.46 **						

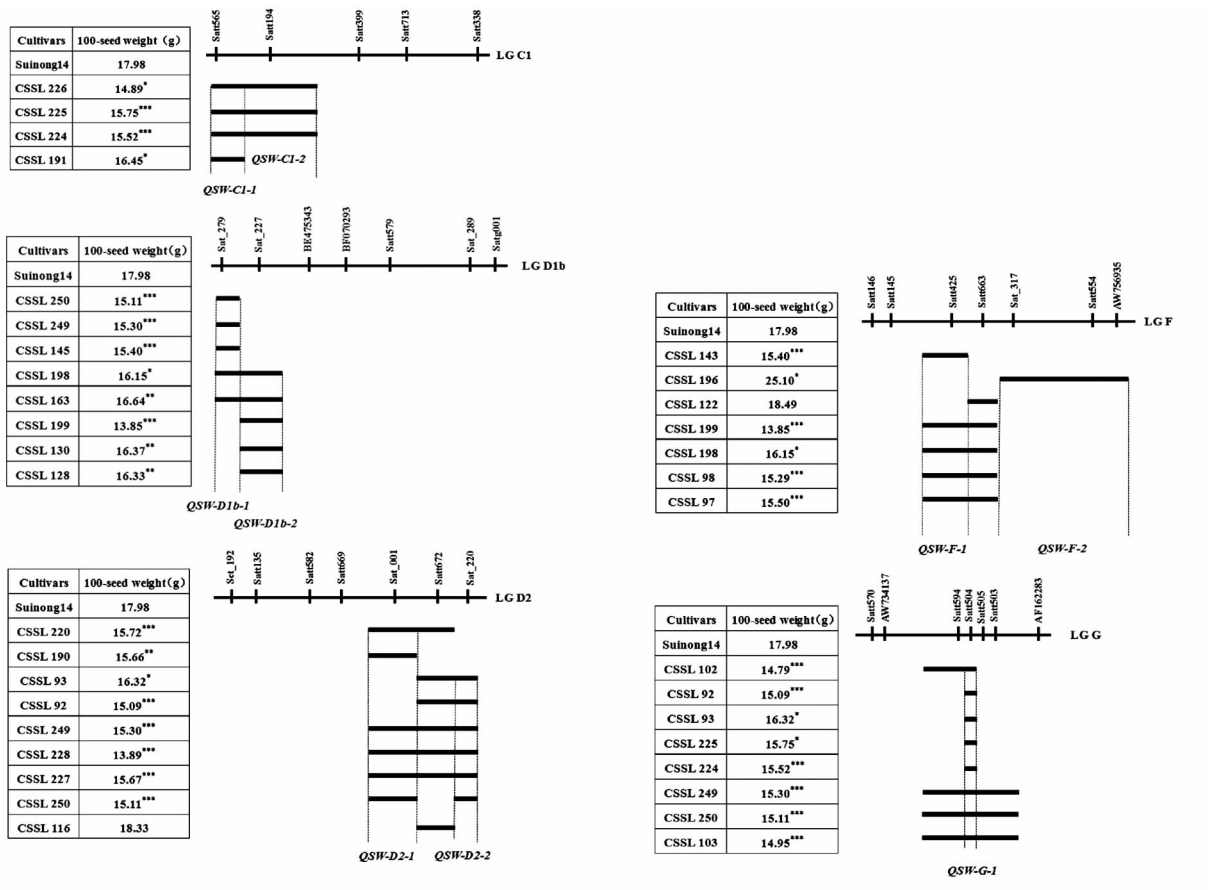
* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.

表 3 CSSLs 与轮回亲本百粒重的 *t* 测验

Table 3 T-test of 100-seed weight between CSSLs and recurrent parent

材料 Materials	百粒重 100-seed weight	差异显著性 Significance	材料 Materials	百粒重 100-seed weight	差异显著性 Significance	材料 Materials	百粒重 100-seed weight	差异显著性 Significance
绥农 14 Suinong14	17.98 ± 0.48		CSSL128	16.33 ± 1.57	**	CSSL199	13.85 ± 1.51	***
CSSL92	15.09 ± 2.90	***	CSSL130	16.37 ± 1.34	**	CSSL220	15.72 ± 0.70	***
CSSL93	16.32 ± 3.02	*	CSSL143	15.40 ± 0.92	***	CSSL224	15.52 ± 1.72	***
CSSL97	15.50 ± 1.46	***	CSSL145	15.40 ± 0.79	***	CSSL225	15.75 ± 1.75	*
CSSL98	15.29 ± 0.76	***	CSSL163	16.64 ± 0.77	**	CSSL226	14.89 ± 2.89	*
CSSL102	14.79 ± 1.72	***	CSSL190	15.66 ± 1.98	**	CSSL227	15.67 ± 0.97	***
CSSL103	14.95 ± 1.25	***	CSSL191	16.45 ± 2.29	*	CSSL228	13.89 ± 1.05	***
CSSL116	18.33 ± 1.20		CSSL196	25.1 ± 2.35	*	CSSL249	15.30 ± 1.24	***
CSSL122	18.48 ± 1.78		CSSL198	16.15 ± 1.07	*	CSSL250	15.11 ± 0.71	***

* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.



粗黑线段为供体的代换片段, CSSLs 名称位于左边表中, QTL 位于两条竖虚线之间。

The chromosome segments introgressed into Suinong 14 are represented by horizontal dark bars with the name of the CSSLs that carry them in the left table. The regions to which the substituted segments best map QTL are shown by two vertical dotted lines

图 2 大豆百粒重 QTL 代换作图

Fig. 2 Substitution mapping of QTLs for 100-seed weight of soybean

通过重叠片段的分析,存在连锁累赘导入位点主要有 6 个,分别位于 C1, D1b, D2, F 和 G 这 5 个连锁群上。如图 2 所示, C1 连锁群上的 2 个位点 Satt565 和 Satt194 存在于 4 个 CSSLs 中, Satt565 位于重叠区段,表明其为影响百粒重的位点。D1b 连锁群上的 Sat_279 和 Sat_227 都位于重叠区段,且都分别存在于 5 个 CSSLs 中,均为影响百粒重的位点。D2 连锁群上的位点 Sat_001 和 Sat_220 分别位于重叠区段,表明这 2 个位点均为影响百粒重的位点; Satt672 在 5 个 CSSLs 中为重叠区段,表型性状与亲本差异显著,但这 5 个重叠片段同时也包含 Sat_220,因此无法确定 Satt672 对百粒重的影响,但在 CSSL 250 中不存在 Satt672 却仍然表现表型与亲本的显著差异,而 CSSL 116 中仅存在 Satt672,但表型与亲本差异不显著,综上,可得出 Satt672 不是影响大豆百粒重的位点。F 连锁群上位点 Satt425 为 5 个 CSSLs 中的重叠区段,可确定为影响百粒重的位点; Satt663 也存在于 5 个 CSSLs 中的重叠区段,其中同时存在 Satt425 的 4 个 CSSLs 表型与亲本差异显著,而只存在 Satt663 的 CSSL 122 表型与亲本差

异不显著,可断定 Satt663 不是百粒重相关位点。Sat_317, Satt554 和 AW756935 同时存在于 CSSL 196 中,为其特有片段,无法确定具体哪一个位点对百粒重的增加起作用。G 连锁群上位点 Satt504 为 8 个 CSSLs 的重叠区段,可断定其为影响百粒重的位点。通过代换作图法进一步剔除了方差分析中由于连锁累赘而检测到的假阳性位点。

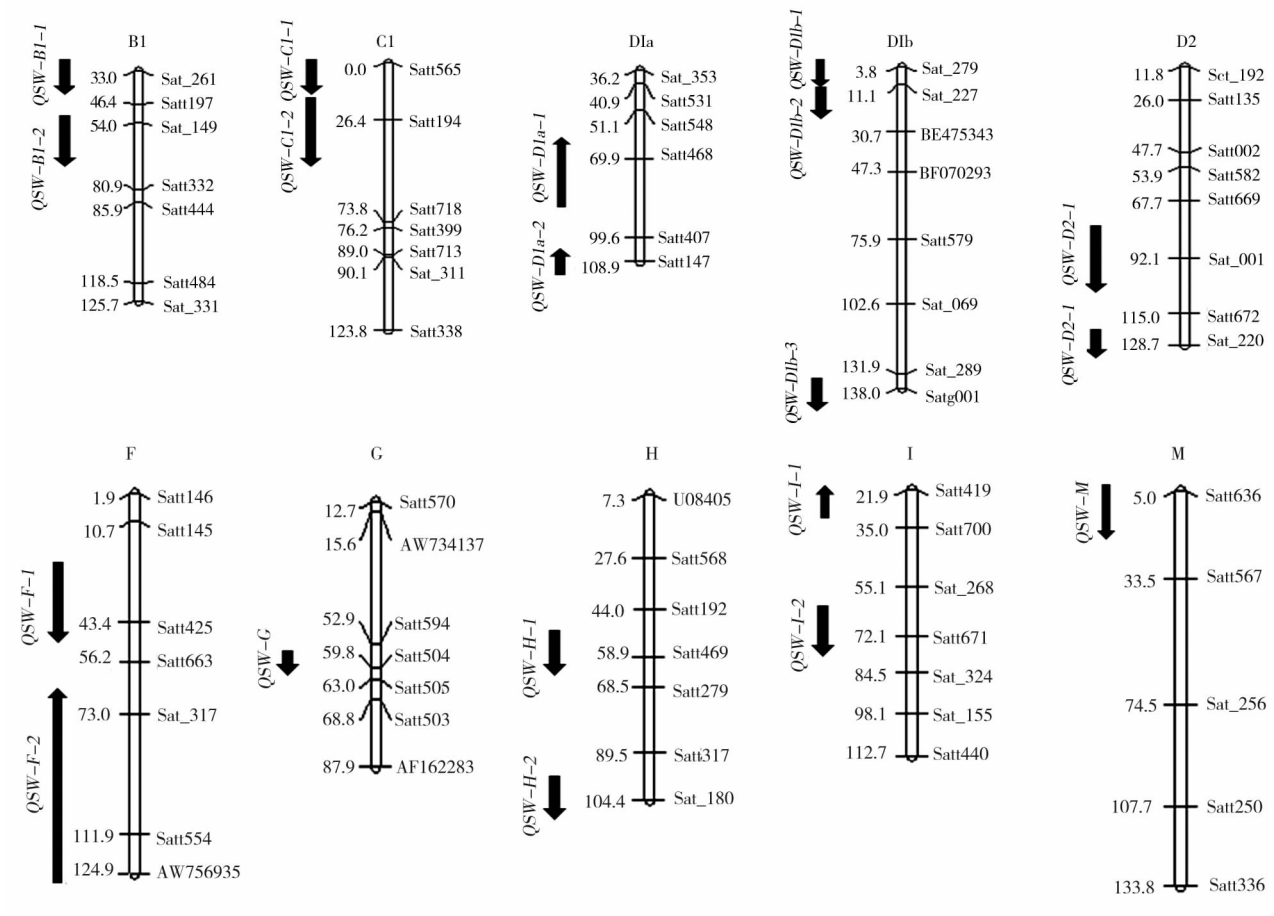
2.4 百粒重 QTL 在连锁群上的分布

经代换作图法检验,共得到百粒重相关位点 19 个,分布在 B1, C1, D1a, D1b, D2, F, G, H, I 和 M 共 10 个连锁群上(表 4, 图 3),加性效应为负的有 15 个,表示这 15 个位点上 ZYD00006 导入片段携带的等位基因对百粒重起到减小的作用;加性效应为正的位点有 4 个,表示这 4 个位点上 ZYD00006 导入片段携带的等位基因对百粒重起到增大的作用。19 个位点的加性效应范围分别为 $-0.7 \sim -2.1$ 和 $0.5 \sim 3.6$,加性效应百分率为 $-3.9\% \sim -11.5\%$ 和 $2.7\% \sim 19.8\%$ 。所检测到的导入片段长度 $3.0 \sim 60.3$ cM,平均长度 17.4 cM,其中 6 个导入片段长度小于 10 cM,包括: QSW-D1a-2, QSW-D1b-1, QSW-

表4 百粒重 QTL 分布及效应

Table 4 Effect and distribution of 100-seed weight QTL

连锁群 Linkage group	位点 Loci	代换片段 Substituted segment	长度 Length/cM	加性效应值 Additive effect	加性效应百分率 Additive effect contribution/%
B1	Sat_261	QSW-B1-1	23.2	-1.1	-6.1
	Sat_149	QSW-B1-2	17.3	-1.4	-7.6
C1	Satt565	QSW-C1-1	13.2	-1.0	-5.3
	Satt194	QSW-C1-2	38.1	-1.3	-7.2
D1a	Satt468	QSW-D1a-1	24.3	0.5	2.7
	Satt147	QSW-D1a-2*	4.7	3.6	19.8
D1b	Sat_279	QSW-D1b-1*	5.6	-0.7	-4.1
	Sat_227	QSW-D1b-2	13.7	-0.7	-3.9
	Satg001	QSW-D1b-3*	3.0	-0.8	-4.2
D2	Sat_001	QSW-D2-1	23.6	-1.3	-7.2
	Sat_220	QSW-D2-2*	6.9	-1.1	-6.2
F	Satt425	QSW-F-1	22.8	-1.2	-6.8
	Sat_317-AW756935	QSW-F-2*	60.3	3.6	19.8
G	Satt504	QSW-G*	5.0	-1.1	-5.9
H	Satt469	QSW-H-1	12.2	-0.7	-3.9
	Sat_180	QSW-H-2*	7.4	-2.1	-11.5
I	Satt419	QSW-I-1*	17.5	1.6	9.0
	Satt671	QSW-I-2	14.7	-1.5	-8.2
M	Satt636	QSW-M	16.7	-1.3	-7.0



染色体右侧为分子标记,左侧为遗传图距(cM);箭头区段为QTL所在的区段,↓表示加性效应为负,↑表示加性效应为正。

SSR markers are indicated on the right of the chromosome, and genetic distances(cM) are indicated on the left of the chromosome. The arrow sections refer to the intervals with the QTL identified. ↓ Positive additive effect, ↑ Negative additive effect.

图3 百粒重 QTL 在连锁群上的分布

Fig. 3 Distribution of 100-seed weight QTL on linkage groups

D1b-3, *QSW-D2-2*, *QSW-G* 和 *QSW-H-2*。其中 2 个位点加性效应较大, *QSW-D1a-2* 加性效应 3.6, 起到提高百粒重的作用; *QSW-H-2* 加性效应 -2.1, 起到降低百粒重的作用, 这 2 个位点导入片段小且加性效应大, 可作为精细定位的重要候选位点。另外, *QSW-F-2* 的效应为 3.6, 但片段长度为 60.3 cM, 挖掘百粒重位点还存在一定困难; *QSW-I-1* 的加性效应为 1.6, 片段长度为 17.5, 通过标记辅助回交等手段可以加以利用。

3 讨 论

3.1 利用野生大豆染色体片段代换系的优势

利用亲本之间的远缘性, 是创造基因定位材料和育种材料的有效途径。Lippman 等^[24]和 Krieger 等^[25]在 Zamir 构建的野生番茄与栽培番茄的全基因组染色体片段代换系的基础上, 成功预测了大量重要的数量性状位点。本研究选择在百粒重性状上差异显著的野生型大豆与栽培大豆构建回交群体, 既拓宽了大豆的遗传基础又创建了目标性状上具有较大变异的材料, 这对大豆百粒重性状定位研究和遗传育种都具有重要意义。

染色体单片段代换系的遗传背景高度一致, 无疑是进行 QTL 定位的理想材料, 但大豆杂交困难, 构建单片段代换系工作量巨大。本研究的高世代回交材料平均每个个体含有 4.59 个纯合导入片段, 遗传背景的恢复率达到 91.21%, 相对于传统初级群体, 极大地降低了遗传背景对表型鉴定的干扰, 提高表型鉴定的准确性^[26]。理论上讲, 染色体片段代换系的性状值可与轮回亲本的性状值比较, 两个株系之间性状值的任何显著差异都因为导入株系的渗入片段存在着差异 QTL 而造成的。因此, 利用这一同源的染色体片段代换系进行 QTL 分析同样可以提高定位的精确度。

3.2 QTL 定位方法的选择

本研究应用的材料是高世代回交群体, 不同于一般的初级定位群体, 无法直接利用区间作图、复合区间作图或是多重区间作图等方法。因此, 选用了基于单标记的方差分析方法。但由于部分材料的导入片段较大, 一个导入片段包含多个标记位点(连锁累赘), 在方差分析的检测过程中会出现相邻标记均被检测到的情况, 这就造成了检测结果的假阳性。为避免这一问题, 借鉴了单片段代换系中广泛应用的染色体片段代换作图法^[22], 以代换片段为检测单元对方差分析中相邻的位点进行检验, 成功剔除了 D2 连锁群上的 Satt672、F 连锁群上的 Satt663 及 G 连锁群上的 Satt594 和 Satt505。但由于

F 连锁群上 *QSW-F-2* 的特异性, 导致仍然无法判断 Sat_317, Satt554 和 AW756935 这 3 个位点是否具有假阳性, 还需继续观察其后代分离情况再作判断。

3.3 与前人研究结果的比较

本研究共定位到 19 个 QTL, 其中有 7 个 QTL 与前人定位结果完全一致^[17,27-29], 分别为: *QSW-B1-1*, *QSW-C1-1*, *QSW-D1a-2*, *QSW-D1b-2*, *QSW-F-1*, *QSW-H-1* 和 *QSW-M*, 其中 *QSW-D1a-2* 加性效应 3.6, 起到提高百粒重的作用, 可作为精细定位的重要候选位点; *QSW-D1a-1* 等^[30]和 *QSW-I-1* 等^[31]与前人的定位区间相近, 分别相距 4.6 和 0.9 cM, *QSW-I-1* 的加性效应为 1.6, 也可作为精细定位的候选位点。与前人定位结果一致性反应了本研究结果的可靠性。另外的 10 个 QTL 为新发现位点, 可能为本材料特有的位点, 需要进一步研究。

为更好地利用这套材料实现 QTL 精细定位及分子辅助育种, 需要解决部分材料导入片段过长、重要区间内存在多个位点等问题。可根据本研究的定位结果, 对检测到的具有重要目标片段的代换系有目的地进行标记辅助回交, 构建次级分离群体, 如单片段代换系或是目标片段的 RHL 群体^[32]。将这些重要位点分散在不同的个体中, 在高度一致的遗传背景下逐一评价每个候选位点的效应, 是应用这套材料精细定位和分子辅助育种及基因功能研究的有效手段。

参考文献

- [1] Mian M A R, Bailey M A, Tamulonis J P, et al. Molecular markers associated with seed weight in two soybean populations [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93: 1011-1016.
- [2] Li D, Pfeiffer T W, Cornelius P L. Soybean QTL for yield and yield components associated with alleles [J]. Crop Science, 2008, 48: 571-581.
- [3] Maughan P J, Maroof M A S, Buss G R. Molecular-marker analysis of seed-weight: genomic locations, gene action, and evidence for orthologous evolution among three legume species [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93: 574-579.
- [4] Chen Q S, Zhang Z C, Liu C Y, et al. QTL analysis of major agronomic traits in soybean [J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6: 399-405.
- [5] Sun Y, Pan J, Shi X, et al. Multi-environment mapping and meta-analysis of 100-seed weight in soybean [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39: 9435-9443.
- [6] 汪霞, 徐宇, 李广军, 等. 大豆百粒重 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2010, 36(10): 1674-1682. (Wang X, Xu Y, Li G J, et al. Mapping quantitative trait loci for 100-seed weight in soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(10): 1674-1682.)
- [7] 王立秋, 赵永锋, 薛亚东, 等. 玉米衔接式单片段导入系群体的

- 构建和评价[J]. 作物学报, 2007, 33(4): 663-668. (Wang L Q, Zhao Y F, Xue Y D, et al. Development and evaluation to two link-up single segment introgression lines (SSILs) of maize (*Zea mays* L.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(4): 663-668.)
- [8] Gur A, Zamir D. Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding[J]. PLoS Biology, 2004, 2: e245.
- [9] Zamir D. Improving plant breeding with exotic genetic libraries [J]. Nature Reviews Genetics, 2001, 2: 983-989.
- [10] Li M, Sun P, Zhou H, et al. Identification of quantitative trait loci associated with germination using chromosome segment substitution lines of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123: 411-420.
- [11] Koide Y, Fujita D, Tagle A G, et al. QTL for spikelet number from a high-yielding rice variety, Hoshiaoba, detected in an introgression line with the genetic background of an indica rice variety, IR64 [J]. Euphytica, 2013, 192: 97-106.
- [12] Qi H, Huang J, Zheng Q, et al. Identification of combining ability loci for five yield-related traits in maize using a set of testcrosses with introgression lines [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126: 369-377.
- [13] Davoyan E R, Davoyan R O, Bebyakina I V, et al. Identification of a leaf-rust resistance gene in species of *Aegilops* L., synthetic forms, and introgression lines of common wheat [J]. Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2012, 2: 325-329.
- [14] Lei M P, Li G R, Zhou L, et al. Identification of wheat-*Secale africanum* chromosome 2Raf introgression lines with novel disease resistance and agronomic characteristics [J]. Euphytica, 2013, 194: 197-205.
- [15] Zhang W B, Qiu P C, Jiang H W, et al. Dissection of genetic overlap of drought and low-temperature tolerance QTLs at the germination stage using backcross introgression lines in soybean [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39: 6087-6094.
- [16] Wang W, He Q, Yang H, et al. Development of a chromosome segment substitution line population with wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) as donor parent [J]. Euphytica, 2013, 189: 293-307.
- [17] 曾庆力, 蒋洪蔚, 刘春燕, 等. 利用高世代回交群体对大豆小粒性状的基因型分析及 QTL 定位 [J]. 中国油料作物学报, 2012, 34(5): 473-477. (Zeng Q L, Jiang H W, Liu C Y, et al. Genotype analysis and QTL mapping small seed size soybean with advanced back [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2012, 34(5): 473-477.)
- [18] 邱丽娟. 大豆种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006. (Qiu L J. Descriptors and data standard for soybean (*Glycine max* L. Merr.) [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2006.)
- [19] Doyle J J. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus, 1990, 12: 13-15.
- [20] Foncéca D, Hodo-Abalo T, Rivallan R, et al. Genetic mapping of wild introgressions into cultivated peanut: a way toward enlarging the genetic basis of a recent allotetraploid [J]. BMC Plant Biology, 2009, 9: 103.
- [21] McCough S R, Doerge R W. QTL mapping in rice [J]. Trends in Genetics, 1995, 11: 482-487.
- [22] 何风华, 席章营, 曾瑞珍, 等. 利用单片段代换系定位水稻抽穗期 QTL [J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1505-1513. (He F H, Xi Z Y, Zeng R Z, et al. Mapping of heading date QTLs in rice (*Oryza sativa* L.) using single segment substitution lines [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(8): 1505-1513.)
- [23] Eshed Y, Zamir D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL [J]. Genetics, 1995, 141: 1147.
- [24] Lippman Z B, Semel Y, Zamir D. An integrated view of quantitative trait variation using tomato interspecific introgression lines [J]. Current Opinion in Genetics & Development, 2007, 17: 545-552.
- [25] Krieger U, Lippman Z B, Zamir D. The flowering gene SINGLE FLOWER TRUSS drives heterosis for yield in tomato [J]. Nature Genetics, 2010, 42: 459-463.
- [26] Ebitani T, Takeuchi Y, Nonoue Y, et al. Construction and evaluation of chromosome segment substitution lines carrying overlapping chromosome segments of indica rice cultivar 'Kasalath' in a genetic background of *japonica* elite cultivar 'Koshihikari' [J]. Breeding Science, 2005, 55: 65-73.
- [27] Qi Z M, Sun Y N, Wang J L, et al. Meta-analysis of 100-seed weight QTLs in soybean [J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10: 327-334.
- [28] Hoeck J A, Fehr W R, Shoemaker R C, et al. Molecular marker analysis of seed size in soybean [J]. Crop Science, 2003, 43: 68-74.
- [29] Panthee D R, Pantalone V R, West D R, et al. Quantitative trait loci for seed protein and oil concentration, and seed size in soybean [J]. Crop Science, 2005, 45: 2015-2022.
- [30] Orf J H, Chase K, Jarvik T, et al. Genetics of soybean agronomic traits: I. Comparison of three related recombinant inbred populations [J]. Crop Science, 1999, 39: 1642-1651.
- [31] Csanadi G Y, Vollmann J, Stift G, et al. Seed quality QTLs identified in a molecular map of early maturing soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103: 912-919.
- [32] Gong J Y, Wu J R, Wang K, et al. Fine mapping of qHUS6.1, a quantitative trait locus for silicon content in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Chinese Science Bulletin, 2010, 55: 3283-3287.