

2 种作图法对大豆蛋白含量性状 QTL 定位的比较研究

姚 丹^a, 王丕武^b, 闫 伟^a, 张 君^b, 张 扬^a, 曲 静^a

(吉林农业大学 a 生命科学学院, b 农学院, 吉林 长春 130118)

【摘 要】 **【目的】**比较复合区间作图法(CIM)和完备区间作图法(ICIM)对大豆高蛋白含量性状 QTL 的定位效果,总结 2 种方法进行 QTL 作图的优缺点,为 QTL 作图方法的选择及分子标记辅助选择培育高蛋白含量大豆品种研究提供参考。**【方法】**以高油大豆品种吉农 18 和高蛋白大豆品种吉育 47 杂交后获得的 F_2 分离群体为材料,结合 2 年的分子数据和表型数据,采用 CIM 和 ICIM 法对大豆蛋白含量性状进行 QTL 定位。**【结果】**利用 CIM 和 ICIM-ADD,在连锁群 12($B_2 + C_1$)和 17(M)上共检测到了 5 个高蛋白 QTL,其中 ICIM-ADD 检测到的 QTL 略多于 CIM;由 CIM 在 $F_{2,3}$ 家系和 ICIM-ADD 在 F_2 代、 $F_{2,3}$ 家系的检测结果可以看出,2 种作图法在 satt285~satt636 标记区间内均检测到显著 LOD,且 QTL 距第一个标记(satt285)的遗传距离 ≤ 5.0 cM,可认为此 3 个 QTL 为同一 QTL,其贡献率分别为 10.87%,17.09%和 17.34%,说明该 QTL 的稳定性较好,可在进一步的高蛋白分子辅助育种中加以利用。**【结论】**2 种作图法各有其优缺点,在实际应用中应根据分析对象综合运用、合理选择作图方法,以最大限度地提高 QTL 作图的精度和效率。对研究中所定位的 SSR 标记,特别是稳定标记可以在今后的大豆高蛋白分子标记辅助选择育种中加以利用。

【关键词】 大豆;QTL 定位;蛋白含量;复合区间作图法;完备区间作图法

【中图分类号】 S565.103.53

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)08-0047-08

Comparative research on QTL location for protein content by two kinds of mapping methods

YAO Dan^a, WANG Pi-wu^b, YAN Wei^a, ZHANG Jun^b, ZHANG Yang^a, QU Jing^a

(a College of Life Science, b College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: **【Objective】** This paper summed up the advantages and disadvantages of Composite Interval Mapping and Inclusive Composite Interval Mapping by comparing and analysing the results of locating soybean protein content QTL, providing not only a reliable basis for QTL mapping methods for the future, but also a theoretical basis for cultivating high protein soybean varieties. **【Method】** Win-QTL Cart 2.5 Composite Interval Mapping and QTL IciMapping v 2.2 Inclusive Composite Interval Mapping were used to locate high protein QTL by using F_2 segregating population of high oil Jinong18 and high protein Jiyu 47 as material with two years of molecular data and phenotypic data. **【Result】** The research detected five high-protein QTLs in the linkage group 12($B_2 + C_1$) and linkage group 17(M) by using CIM and ICIM-ADD, of which ICIM-ADD detected QTL slightly more than CIM. The location results of CIM in the $F_{2,3}$ generation and ICIM-ADD in the F_2 and $F_{2,3}$ generations showed that there was a significant LOD within satt285 —

* [收稿日期] 2010-01-12

[基金项目] 吉林省科技厅重大项目(20060202);吉林农业大学青年启动基金项目(2009-2011)“大豆蛋白和油分含量 SSR 标记及 QTL 定位分析”;吉林农业大学博士启动基金项目(2007-2009)“水稻矮化基因 LZ1 的克隆及功能分析”

[作者简介] 姚 丹(1977—),女,吉林长春人,讲师,在读博士,主要从事大豆遗传转化及分子育种研究。

E-mail: dongdong-yd@tom.com

[通信作者] 王丕武(1958—),男,吉林长春人,教授,博士生导师,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: peiwuw@yahoo.com.cn

satt636. Because the three QTL positions did not exceed 5cM, so the three QTLs were the same QTL with good stability QTL. Their contribution rates were 10.87%, 17.09% and 17.34%. **【Conclusion】** The two mapping methods have their own advantages and disadvantages. Therefore, the user should choose the mapping method base on an analysis of the practical application of the integrated use of the object. It is possible to maximize the accuracy and efficiency of QTL mapping. In addition, studies have targeted SSR markers, especially stability markers could be applied in the future of soybean protein molecular marker-assisted breeding.

Key words: soybean; QTL location; protein content; composite interval mapping; inclusive composite interval mapping

大豆(*Glycine max* (L.) Merrill.) 原产中国, 其种子富含蛋白质和脂肪, 两者分别占种子干物质的 40% 和 20%, 是世界上食用油和种子蛋白的主要来源之一^[1]。大豆蛋白是一种资源丰富、品质优良的植物性蛋白质, 在膳食中可以代替部分动物性蛋白质。大豆蛋白质含量性状的遗传是以加性效应为主的数量性状遗传, 其表现既具有遗传效应, 也受环境的影响^[2]。对大豆高蛋白基因进行 QTL 定位, 其目的是尽可能地发掘有价值的分子标记, 并利用分子标记在性状选择与鉴定方面的高效性和准确性, 辅助选择出高蛋白含量的大豆材料。

复合区间作图法 (Composite Interval Mapping, CIM) 是将简单区间作图和多元线性回归结合起来的方法, 该法克服了区间作图法的缺陷, 能利用多个遗传标记的信息改善 QTL 作图的精度和效率, 是目前普遍认为更有效、更精确的同时标定多个 QTL 的方法^[3]。但由于 QTL 在算法上存在着一些缺陷, 致使 QTL 的效应可能会被标记区间之外的标记变量吸收, 同时不同的背景标记选择方法对作图结果的影响很大, 并且难以推广到上位型互作 QTL 的定位^[4-6]。针对以上问题, 中国农业科学院作物科学研究所王建康教授提出了完备区间作图法 (Inclusive Composite Interval Mapping, ICIM), 该法首先利用所有标记的信息, 通过逐步回归选择重要的标记变量, 并估计其效应, 然后利用逐步回归得到的线性模型校正表型数据, 通过一维扫描定位加(显)性效应 QTL, 通过二维扫描定位上位型互作 QTL^[7]。这种作图策略简化了复合区间作图中控制背景遗传变异的过程, 提高了对 QTL 的检测功效^[8]。

为比较 2 种 QTL 作图法的定位效果, 本研究选择具有优良农艺性状的大豆品种吉农 18 和吉育 47 杂交后获得的 F₂ 代分离群体为材料, 采用 Win-QTL Cart 2.5 复合区间作图法和 QTL IciMapping

v 2.2 完备区间作图法, 并结合 2 年的分子数据和表型数据, 对大豆蛋白含量性状进行 QTL 定位, 并对结果进行分析比较, 以期 QTL 作图方法的选择提供可靠依据, 也为分子标记辅助选择培育高蛋白大豆品种奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 材 料 选取高油大豆品种吉农 18 为父本, 高蛋白大豆品种吉育 47 为母本, 于 2005 年夏季在吉林农业大学生物中心实验田中进行杂交, 获得 F₀ 种子。种植 F₀, 收获 1 株种子产量 450 粒的 F₁ 单株, 2007-05 将 F₁ 收获的种子种成 450 个 F₂ 单株, 2008-05 收获 F₂ 的 236 个单株, 形成 F₃ 株系, 作为分子标记的分离群体。

1.1.2 SSR 引物 本研究参照大豆“公共图谱”^[9] 挑选引物, 初步确定了 320 对 SSR 引物。挑选引物的标准为座位分布均匀、基因多样性程度高, 且从大豆数据库 SoyBase (<http://soybase.agron.iastate.edu>) 中可查询到, 引物由北京三博远志生物技术有限公司合成。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆总 DNA 的提取 2007 年在田间 F₂ 单株上取等量大豆新鲜叶片, 采用 SDS 法提取大豆基因组 DNA; 2008 年以 F_{2:3} 家系为材料, 在每个株系中随机选择 15 株材料, 取等量大豆新鲜叶片, 混合后提取大豆基因组 DNA, 同时提取其亲本基因组 DNA。

1.2.2 PCR 扩增及产物的电泳检测 PCR 反应体系为: 10 × PCR buffer 2.5 μL, 模板 DNA (2.0 ng/μL) 1 μL, SSR 引物 (25 pmol/L) 1 μL, dNTPs (10 mmol/L) 1 μL, Taq 酶 (4 U/μL) 0.25 μL, Mg²⁺ (10 mmol/L) 2.5 μL, 加 ddH₂O 至终体积 25.0 μL。反应程序为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变

性 30 s,47 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 30 s,共 37 个循环;72 ℃延伸 8 min,4 ℃保存。扩增产物进行 80 g/L 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,65 W 恒功率电泳 90~120 min,用改进的 Sanguinetti 银染方法进行染色。

1.2.3 大豆蛋白含量的测定 2007—2008 年利用近红外谷物品质分析仪,对吉农 18、吉育 47 和 F₂ 单株及 F₂:₃ 家系各材料大豆蛋白含量进行测定。

1.2.4 连锁图谱的绘制和 QTL 分析 利用 75 对在亲本间表现多态性的 SSR 引物,对 F₂ 分离群体进行 PCR 扩增,对扩增产物进行统计:与父本相同的带型记为“1”,与母本相同的带型记为“2”,杂合带型记为“3”,缺失带型记为“—”。应用软件 Mapmaker Exp 3.0 构建标记连锁图谱^[10-11]。利用“Group”命令进行标记间的连锁分析和分组,连锁标记数<8 的使用“Compare”命令进行排序;连锁标记数≥8 的要使用 Ripple 命令进行排序^[12],错误检测水平设为 1%,利用 Rosambi 函数将重组率转化为遗传图距(cM)。

表 1 大豆蛋白含量在亲本和 F₂ 群体中的分布

Table 1 Distribution of soybean protein content in parents and F₂ separate population

性状 Traits	亲本 Parents			F ₂ 分离群体 F ₂ Separate population				
	吉农 18 ♂ Jinong 18	吉育 47 ♀ Jiyu 47	平均值 Average value	标准差 Standard variance	最大值 Max	最小值 Min	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
蛋白含量/% Protein content	37.08	42.29	41.41	1.28	44.5	37.29	-0.29	0.11

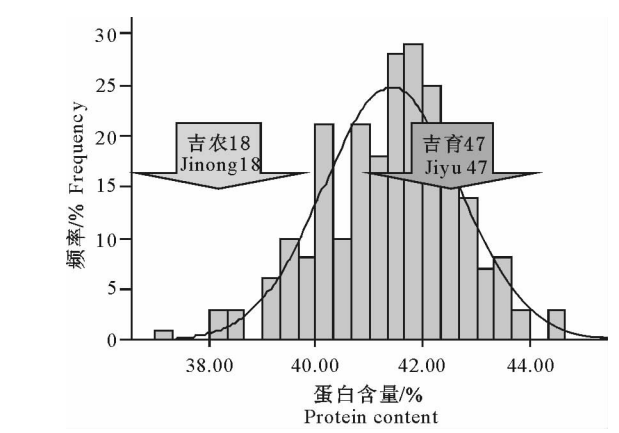


图 1 大豆蛋白含量在 F₂ 分离群体中的频率分布图
Fig. 1 Frequency distribution of soybean protein content in F₂ Separate population

2.2 高蛋白 QTL 的定位分析

先将所选 320 对 SSR 引物在父母本间进行多态性筛选,其中有 75 对引物在亲本 DNA 间表现出较好的多态性,多态率为 23.4%。再用所得 75 对引物对 F₂ 分离群体的 236 个单株上进行 PCR 扩增,经 80 g/L 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测后统计谱带信息。利用 Mapmaker Exp 3.0 软件对所得数

应用 WinQTLCart 2.5 软件,联合分子数据和表型数据对 F₂ 分离群体的大豆蛋白含量进行复合区间作图(CIM),取 LOD=2.0 为 QTL 的阈值,Walk speed=0.5 cM,进行 QTL 定位和分析。

同时,应用 QTL IciMapping v 2.2 完备区间作图法(ICIM),在 Step=1.0 cM、PIN=0.05、POU=0.1、LOD=2.0 为 QTL 阈值的条件下,对 QTL 进行定位和效应估算。

2 结果与分析

2.1 大豆蛋白含量在 F₂ 分离群体中的表现

对 F₂ 分离群体进行蛋白含量的测定和分析,所获数据均呈连续的正态分布,且具有广泛的分布频率(表 1 和图 1),说明该性状为多基因控制的数量性状。从图 1 可以看出,大豆蛋白含量在两亲本间存在差异,变异幅度为 37.29%~44.5%,在 F₂ 分离群体中表现为中亲分离,偏向母本。

据进行处理分析,结果表明,有 4 个 SSR 标记没有被整合到连锁群体上,最终构建一张包含 71 个 SSR 标记的连锁图谱(目前还未公开报道)。结合 2 年的分子数据和表型数据,利用 WinQTLcart 2.5 复合区间作图法和 QTL IciMapping v 2.2 完备区间作图法对大豆蛋白含量进行 QTL 定位,结果在连锁群 12(B₂+C)和 17(M)上共检测到 5 个高蛋白 OTL。

结合 F₂ 代单株的表型数据和分子数据分析,利用 CIM 对大豆蛋白含量性状进行 QTL 定位时,取 LOD=2.0 为阈值,在连锁群 17(M)上仅定位了 2 个高蛋白 QTL(图 2 和表 2),其中 1 个 QTL 位于 satt636~satt308 区间内,距 satt636 的遗传距离为 16.0 cM,与 satt308 的遗传距离是 6.3 cM,LR 值为 17.98,可解释的遗传变异(即贡献率)为 9.86%;另 1 个 QTL 位于 sat_121~satt691 标记区间内,距第 1 个标记 sat_121 的遗传距离仅为 0.1 cM。利用 ICIM,采用变量进、出回归方程的显著水平分别为 0.05 和 0.1,LOD 临界值取 2.0,一维扫描(ICIM-ADD)时在连锁群 17(M)上检测到 3 个与蛋白含量性状相关的 QTL(图 3 和表 2),其中 qPC17-1 位于

satt469~satt285 标记区间内,LR 值为 20.29,可解释15.04%的遗传变异;*qPC17-2* 位于 satt285~satt636 区间内,LR 值为 14.87,可解释 17.09%的遗传变异;*qPC17-3* 位于 satt636~satt308 标记区间内,LR 值为 22.38,可解释的遗传变异为 11.11%。在进行二维扫描时(图 4),ICIM 给出了 2 个 LOD 值,即 LODA 和 LODAA,其中 LODA 度量所有的遗传变异,LODAA 仅度量上位性引起的变异。由图 4-b(LODAA)可知,在已扣除加性 QTL 的影响下,具有明显加性效应的 3 个 QTL 在其坐标轴所对应的位置上存在显著的 LOD 值,说明 3 个 QTL 间存在显著互作,*qPC17-2* 与 *qPC17-1* 位点互作的 LOD 值为 2.1,*qPC17-3* 与 *qPC17-1* 位点互作的 LOD 值为 2.8。

以 $F_{2,3}$ 家系为分析材料、LOD=2.0 为阈值,CIM 和 ICIM-ADD 分别在连锁群 12($B_2 + C_1$)和 17(M)上各定位到 1 个高蛋白性状 QTL,且 2 种方法所定位到的 QTL 的标记区间相同,在 12($B_2 + C$)

连锁群定位的 QTL 均位于 satt594~sct_199 标记区间内,而在 17(M)连锁群定位的 QTL 均位于 satt285~satt636 标记区间内;CIM 和 ICIM-ADD 在连锁群 12($B_2 + C_1$)上定位到与蛋白含量性状相关的 QTL 距 sct_199 的遗传距离分别为 0.6 和 2.6 cM,LR 值分别为 11.53 和 9.76,可解释的遗传变异分别为 7.85%和 6.18%;2 种方法在连锁群 17(M)上定位到的高蛋白含量性状 QTL 与以 F_2 单株为材料时检测到的 *qPC17-2*(ICIM-ADD)标记区间相同,且 QTL 距第一个标记(satt285)的遗传距离 ≤ 5.0 cM,因此可认为这 2 个 QTL 为同一 QTL,可分别解释 10.87%和 17.34%的遗传变异。利用 ICIM 进行二维扫描(图 4),由 LODAA(图 4-d)可以看出,一维扫描时具有显著加性效应的 2 个 QTL,即 *qPC17-1* 与 *qPC12-1* 间存在显著互作,其互作的 LOD 值为 2.9,另外 ICIM 通过二维扫描还能检测到没有或加性效应值较低的 QTL 间的互作,如图 4-d 中的互作 1 和互作 2。

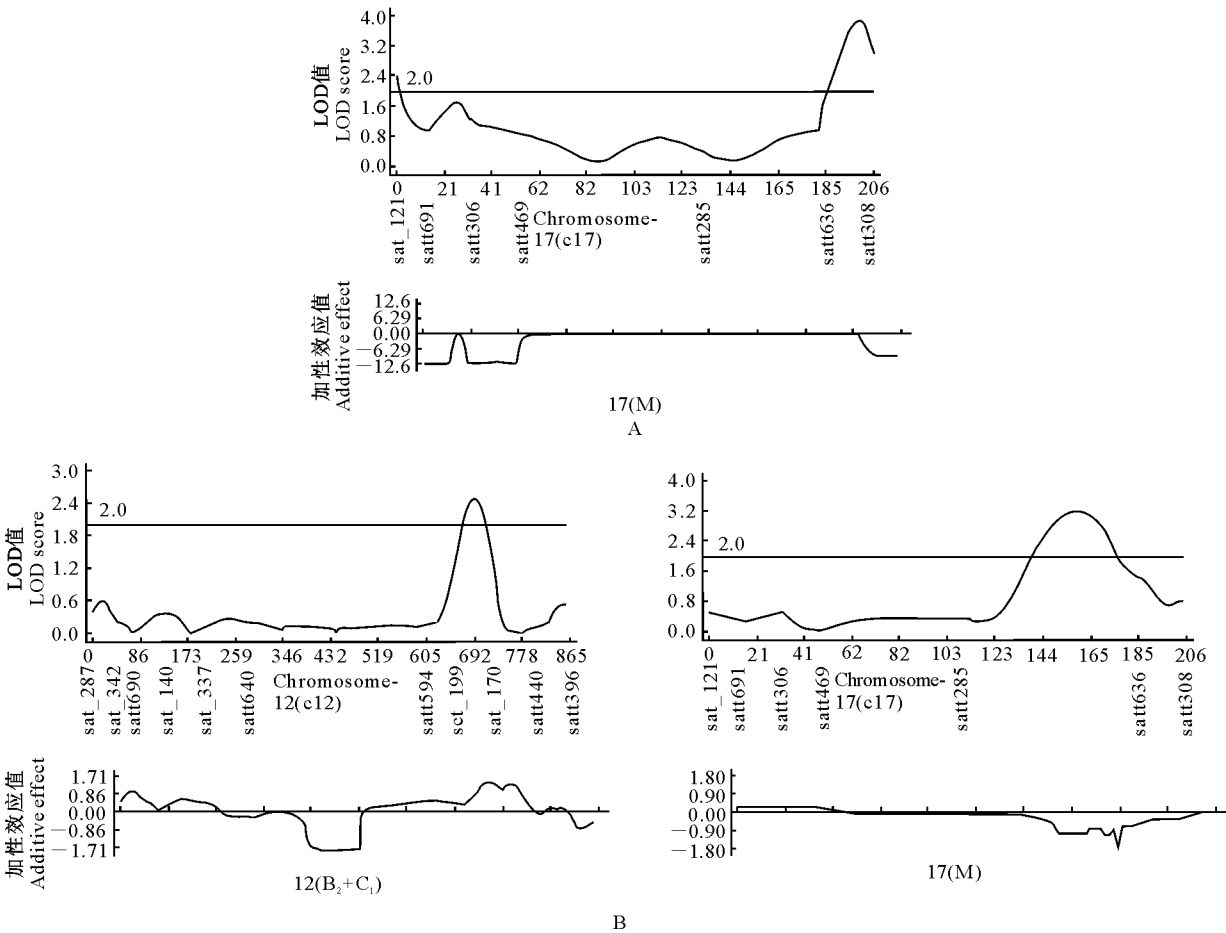


图 2 复合区间作图法对 F_2 分离群体 2 年大豆蛋白含量 QTL 定位的似然比图谱

A. F_2 代;B. $F_{2,3}$ 家系;图中横坐标为连锁群的遗传距离(cM)及标记位点

Fig. 2 Likelihood ratio maps of QTL tagging for two years protein content using CIM in F_2

A. F_2 generation;B. $F_{2,3}$ Families; The horizontal distance for the genetic linkage groups and marker loci

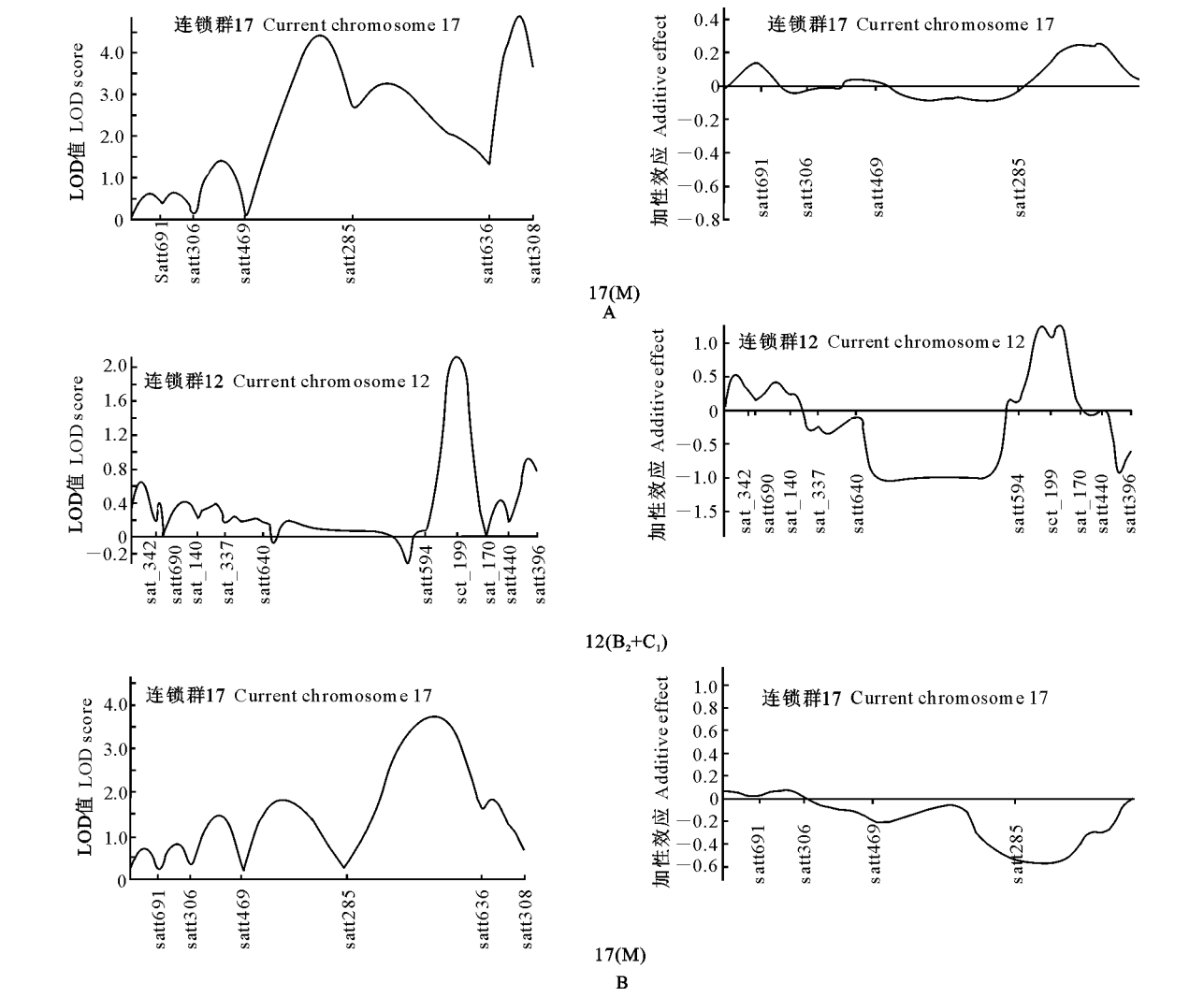


图 3 完备区间作图法对 F₂ 分离群体 2 年大豆蛋白含量一维扫描(ICIM-ADD)的 LOD 曲线

A. F₂ 代;B. F₂:₃ 家系

Fig. 3 LOD curve of one dimensional ICIM (ICIM-ADD) for two years protein content in F₂ segregating population

A. F₂ generation;B. F₂:₃ Families

表 2 2 种作图法检测到的大豆蛋白含量 QTL

Table 2 QTLs of soybean protein content detected by two kinds of mapping methods								
群体 Population	作图法 Methods	连锁群 Linkage group	基因座 QTL	标记区间 Marker flanking	QTL 位置 (前/后)/cM QTL position	似然比 LR	贡献率/% R ²	加性 效应 AE
F ₂ 代 F ₂ generation	CIM	17(M)	<i>qPC17-1</i>	satt636~satt308	16/6.3	17.98	9.86	-12.28
			<i>qPC17-2</i>	sat_121~satt691	0.1/15.4	10.88	8.15	-12.59
	ICIM- ADD	17(M)	<i>qPC17-1</i>	satt469~satt285	37.1/17.7	20.29	15.04	-0.08
			<i>qPC17-2</i>	satt285~satt636	48.4/21.3	14.87	17.09	-0.09
			<i>qPC17-3</i>	satt636~satt308	14.6/7.7	22.38	11.11	-0.10
F ₂ : ₃ 家系 F ₂ : ₃ families	CIM	12(B ₂ +C ₁)	<i>qPC12-1</i>	satt594~sct_199	67.6/0.6	11.53	7.85	1.04
	ICIM- ADD	17(M)	<i>qPC17-1</i>	satt285~satt636	46/23.7	14.75	10.87	-1.66
		12(B ₂ +C ₁)	<i>qPC12-1</i>	satt594~sct_199	65.6/2.6	9.76	6.18	1.08
		17(M)	<i>qPC17-1</i>	satt285~satt636	44.3/25.4	17.23	17.34	-0.58

注:连锁群括号中的大写字母表示公共遗传图谱中的连锁群编号;QTL 位置(前/后)中,“前”表示距标记区间中第 1 个标记的距离,“后”表示距标记区间中第 2 个标记的距离。

Note:The linkage group () in capital letters means that the public genetic map of the linkage group number;QTL position (front/rear): “front” means the first marker distance away from the marker interval,“rear” means the second marker distance away from the marker interval.

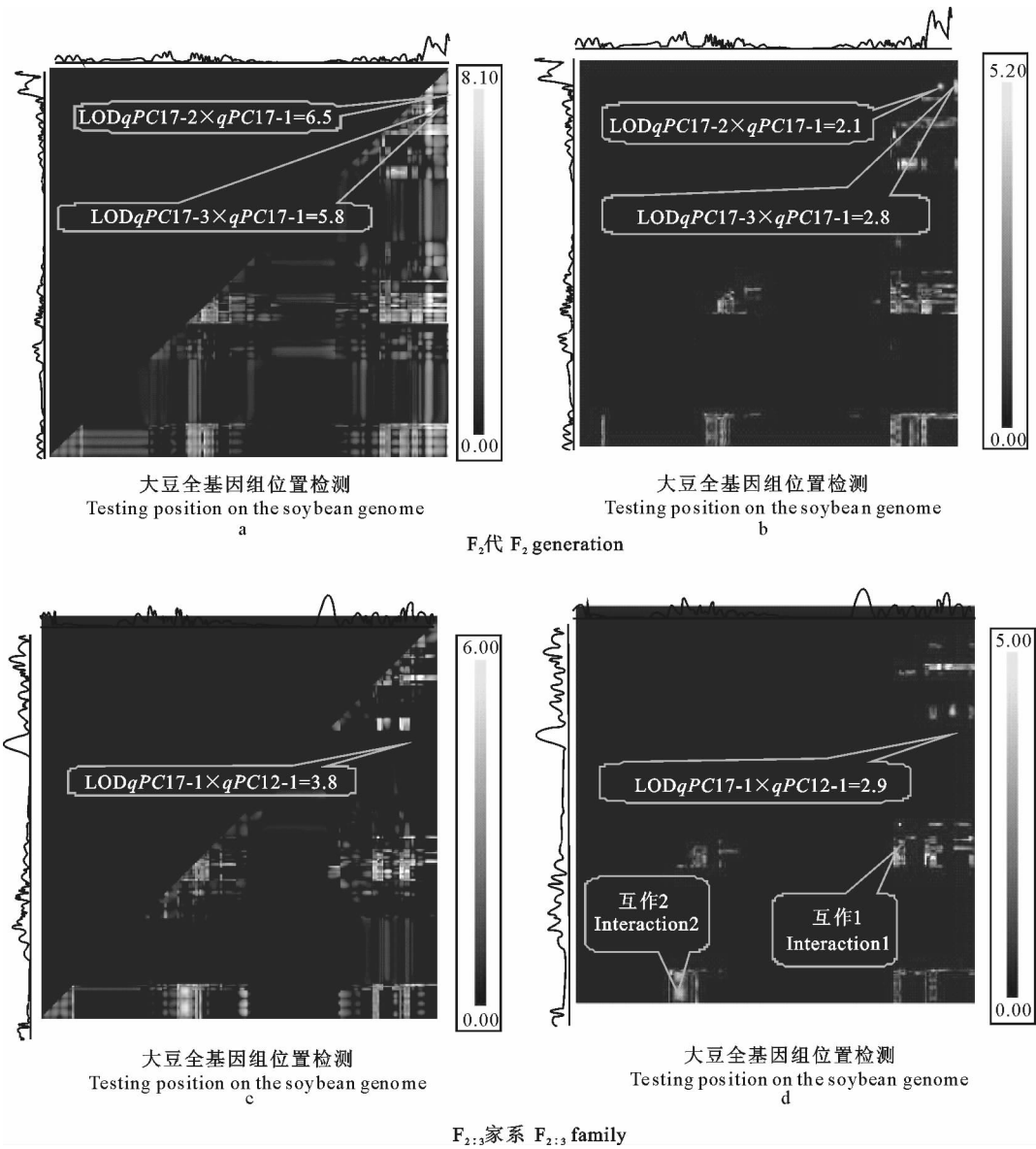


图 4 完备区间作图法在大豆 F_2 代、 $F_{2:3}$ 家系中同时检验蛋白含量的加性-上位型效应(a,c)和只检验上位型效应(b,d)的二维扫描(ICIM-EPI)LOD 曲面图

a,c. LODA 度量所有的遗传变异;b,d. LODAA 仅度量上位性引起的变异;图形上方和左侧为一维扫描的 LOD 曲线。

Fig. 4 Two-dimensional scanning(ICIM-EPI) from ICIM testing the significance of the additive and epistasis (a,c), and epistasis only (b,d) affecting protein content in soybean of F_2 and F_3 population
a,c. LODA determines the significance of all genetic variations;b,d. LODAA determines the significance of epistatic variation;LOD profile from one-dimensional scanning is shown at the top and left

3 讨论

蛋白质含量是大豆重要的品质性状,其相关的 QTL 报道也较多。目前,大豆蛋白含量性状除在 D1b 连锁群上没有检测到外,在其他连锁群均有分布,但主要集中在 A1、E、G、H、I 和 L 连锁遗传群上^[9]。本研究结合 2 年的分子数据和表型数据,利用 CIM 和 ICIM-ADD 在连锁群 12 ($B_2 + C_1$) 和

17(M)上共检测到 5 个高蛋白 QTL,其中 ICIM-ADD 检测到的 QTL 略多于 CIM;由 CIM 在 $F_{2:3}$ 家系和 ICIM-ADD 在 F_2 、 $F_{2:3}$ 家系的检测结果可知,2 种作图法在 satt285~satt636 标记区间内均检测到显著 LOD,且 QTL 距第一个标记的遗传距离 ≤ 5.0 cM,因此可认为 $qPC17-2$ (ICIM-ADD, F_2)、 $qPC17-1$ (CIM, $F_{2:3}$) 和 $qPC17-1$ (ICIM-ADD, $F_{2:3}$) 3 个 QTL 为同一 QTL,说明该 QTL 的稳定性较好,可

在进一步的高蛋白分子辅助育种中加以利用。但是在其他连锁群上未检测到高蛋白 QTL,其原因可能是由于研究所使用的标记数量少、其他各连锁群上的标记区间过大,导致未检测到其他高蛋白 QTL。另外,不同环境条件下 QTL 的稳定性也不同^[9],某些稳定 QTL 在不同环境中都能检出,而有些 QTL 随环境条件的改变检出率降低甚至检测不到。

CIM 是近 10 多年来广泛应用的 QTL/基因定位方法^[13],该法通过引入其他标记作为协变量来消除区间以外 QTL 对作图区间的影响,从而消除“幻影”QTL 现象,适用于同一染色体上有多个 QTL 的情形。CIM 主要优点是:①假如不存在上位性和 QTL 与环境互作,QTL 的位置和效应的估算是渐进无偏的;②充分利用了整个基因组的标记信息,在较大程度上控制了背景遗传效应,提高了作图的精度和效率。CIM 存在的主要问题是:①不能分析上位性及 QTL 与环境互作等复杂情况下的遗传效应;②需要为检测的区间开辟一个窗口,但不宜确定适合的窗口大小,窗口过小则检测的效率降低,窗口过大则与检测区间连锁的 QTL 又会使被检 QTL 的位置和效应估计产生偏差^[14]。与 CIM 相比较,ICIM 模型中标记的系数是由左、右 2 个区间上的 QTL 唯一决定的,而与其他标记区间上的 QTL 无关,这样区间标记的系数包含了该区间上 QTL 位置和效应的所有信息,排除了当前区间之外的所有 QTL 对区间作图的影响,有效地控制了背景遗传变异对当前位置 QTL 检测的影响,定位比较准确^[7];同时 ICIM 还具有较低的抽样误差和较高的作图效率,也易推广到上位性作图中^[15],且在上位性作图时,不仅可以检测到有显著加性效应 QTL 间的互作,而且也可以检测到没有明显加性效应的 QTL 互作,是一种行之有效的 QTL 定位方法。与 CIM 相比较,ICIM 不能绘制遗传连锁图谱,同时还缺少图像的自动保存和输出功能,对于通过一维和二维扫描所绘制出的 LOD 曲线及曲面图必需人工保存,这给该软件的使用和分析带来了不便。综上所述,2 种作图法各有优缺点,在实际应用中应根据分析对象的不同,综合运用、合理选择作图方法,这样才可以最大限度地提高作图的精度和效率。

蛋白质含量的遗传变异主要受主效应控制,且表现较为稳定。因此,采用遗传育种手段改良蛋白质含量的潜力仍较大。进一步利用本研究中所定位的 SSR 标记,在大豆高蛋白分子标记辅助育种中加

以应用,将会加快高蛋白大豆种质的选择速度,缩短大豆育种进程,丰富大豆目标性状选择的手段,为培育高蛋白大豆新品种提供理论基础。

[参考文献]

- [1] 梁昭全. 大豆种子蛋白质和脂肪含量 QTL 定位分析 [D]. 广西:广西大学,2005.
Liang Z Q. Analysis by QTL for protein and oil content of soybean seed [D]. Guangxi: Guangxi University, 2005. (in Chinese)
- [2] 宁海龙,杨庆凯,李文霞,等. 农艺措施对大豆籽粒蛋白质和脂肪含量的影响 [J]. 东北农业大学学报,2001,32(4):313-319.
Ning H L, Yang Q K, Li W X, et al. Effect of different agricultural measures on the protein and fatty content of soybean seed [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2001, 32(4):313-319. (in Chinese)
- [3] Qi X, Stam P, Lindhout P. Use of locus specific AFLP markers to construct a high density molecular map in barley [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96:376-384.
- [4] Li H H, Ye G Y, Wang J K. A modified algorithm for the improvement of composite interval mapping [J]. Genetics, 2007, 175:361-374.
- [5] Li H, Ribaut J M, Li Z, et al. Inclusive composite interval mapping (ICIM) for digenic epistasis of quantitative traits in biparental populations [J]. Theor Appl Genet, 2008, 116:243-260.
- [6] Zhang L, Li H, Li Z, et al. Interactions between markers can be caused by the dominance effect of QTL [J]. Genetics, 2008, 180:1177-1190.
- [7] 王建康. 数量性状基因的完备区间作图法 [J]. 作物学报, 2009, 35(2):1-7.
Wang J K. Inclusive composite interval mapping of quantitative trait genes [J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35(2):1-7. (in Chinese)
- [8] Wan X, Weng J, Zhai H, et al. QTL analysis for rice grain width and fine mapping of an identified QTL allele gw-5 in a recombination hotspot region on chromosome 5 [J]. Genetics, 2008, 179:2239-2252.
- [9] 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]. 山东泰安:山东农业大学,2006.
Lu Z Z. Construction of soybean genetic map, QTL mapping of agronomic traits, and identification on excellent gene [D]. Tai'an, Shandong: Shandong Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [10] Schneider K A, Brothers M E, Kelly J D. Marker assisted selection to improve drought resistance in common bean [J]. Crop Science, 1997, 37:51-60.
- [11] 刘 峰, 庄炳昌, 张劲松, 等. 大豆遗传图谱的构建和分析 [J]. 遗传学报, 2000, 27(11):1018-1026.
Liu F, Zhuang B C, Zhang J S, et al. Construction and analysis of soybean genetic map [J]. Acta Genetica Sinica, 2000, 27(11):1018-1026. (in Chinese)

[12] 蒙 忻,刘学义,方宣钧. 利用大豆分子连锁图定位大豆孢囊线虫 4 号生理小种抗性 QTL [J]. 分子植物育种,2003,1(1): 6-21.
Meng X,Liu X Y,Fang X J. QTL mapping genes conferring resistance to race 4 of soybean cyst nematode in soybean ZDD2315(Glycine max(L) Merr.) based on public molecular genetic linkage map [J]. Molecular Plant Breeding, 2003, 1 (1):6-21. (in Chinese)

[13] Brummer E C,Graef G L,Orf J,et al. Mapping QTL for seed protein and oil content in eight soybean populations [J]. Crop Science,1997,37:370-378.

[14] 朱 军. 遗传学 [M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2002.
Zhu J. Genetics [M]. 3rd Ed. Beijing, China Agricultural Press,2002. (in Chinese)

[15] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci [J]. Genetics,1994,136:1457-1468.

(上接第 46 页)

[9] 韩 玲,李培英. 鸡球虫病免疫学研究进展 [J]. 动物医学进展,2005,26(8):26-30.
Han L,Li P Y. Progress on the immunology of avian coccidiosis [J]. Progress in Veterinary Medicine,2005,26(8):26-30. (in Chinese)

[10] Profous-Juckelka H,Liberator P,Turner M. Identification and characterization of cDNA clones encoding antigens *Eimeria tenella* [J]. Mol Biochem Parasitol,1988,30(3):233-241.

[11] Ellis J,Tomley F. Development of a genetically engineered vaccine against poultry coccidiosis [J]. Parasitol Today,1991,7(12):344-346.

[12] Scribner A,Dennis R,Lee S,et al. Synthesis and biological activity of imidazopyridine anticoccidial agents;Part II [J]. European Journal of Medicinal Chemistry,2008,43(6):1123-1151.

[13] Grimwood J C,Smith J E. Toxoplasma gondii: The role of a 30-ku surface protein in host cell invasion [J]. Exp Parasitol,1992,74(1):106-111.

[14] 李建华,张西臣,朱连勤,等. 柔嫩艾美球虫 HB 株 SO7 基因的克隆和序列分析 [J]. 莱阳农学院学报,2004,21(1):10-13.
Li J H,Zhang X C,Zhu L Q,et al. Cloning and sequencing of SO7 gene of *Eimeria tenella* HB strain [J]. Journal of Laiyang Agricultural College,2004,21(1):10-13. (in Chinese)

[15] Chapman H D,Cherry T E,Danforth H D,et al. Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines [J]. Int J Parasitol,2002,32(5):617-629.