

PAWEŁ KRAJEWSKI <sup>1</sup>  
JAN BOCIANOWSKI <sup>2</sup>  
MAGDALENA GAWŁOWSKA <sup>1</sup>  
ZYGMUNT KACZMAREK <sup>1</sup>  
TOMASZ PNIEWSKI <sup>1</sup>  
WOJCIECH ŚWIĘCICKI <sup>1</sup>  
BOGDAN WOLKO <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

<sup>2</sup> Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

## Identyfikacja i charakterystyka ekspresji genów determinujących cechy związane z plonowaniem w kombinacjach krzyżówkowych grochu\*

### Identification and characterization of expression of genes determining traits connected with yield in cross combinations of pea

W pracy przedstawione są wstępne wyniki badań prowadzonych na podstawie linii uzyskanych z kombinacji krzyżówkowych Wt11238 × Wt3557 i Wt10245 × Wt11238 grochu *Pisum sativum* L., zmierzających do opisu działania loci determinujących cechy związane z plonowaniem. Podane są rezultaty doświadczenia jednorocznego prowadzonego w dwu środowiskach. Opisana jest zastosowana metoda statystyczna mapowania loci cech ilościowych, która uwzględnia sposób otrzymania linii i pozwala na ocenę efektów addytywnego działania genów oraz dominacji.

**Słowa kluczowe:** addytywne działanie genów, dominacja, groch, loci cech ilościowych

The paper contains preliminary results of the research carried out on the basis of lines obtained from cross combinations Wt11238 × Wt3557 and Wt10245 × Wt11238 of pea, *Pisum sativum* L., with the aim to describe the actions of loci that determine traits affecting pea yield. The results of a one-year experiment conducted at two locations are presented. The mapping method is described, which takes into account the way in which the lines have been derived, and makes possible to estimate the effects of the additive gene action as well as of the dominance.

**Key words:** additive gene action, dominance, quantitative trait loci, pea

---

\* Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji, projekt badawczy 3 P06A 043 24

## WSTĘP

Identyfikacja genów odpowiedzialnych za cechy ilościowe (QTL) jest metodą genetyczno-statystyczną polegającą na znalezieniu związku pomiędzy obserwacjami fenotypu roślin a obserwacjami genotypu dokonanymi z wykorzystaniem markerów morfologicznych, izoenzymatycznych lub molekularnych. Metoda ta jest stosowana od około 15 lat, jakkolwiek potencjalne możliwości „mapowania” cech ilościowych zostały zauważone już w latach sześćdziesiątych. Podstawowym problemem, na jaki napotykają hodowcy pragnący wykorzystać wyniki eksperymentalne w praktyce, jest brak powtarzalności wyników, zarówno w doświadczeniach prowadzonych w różnych środowiskach lub latach, jak i wśród różnych populacji stosowanych w badaniach. Tym niemniej do rutynowej praktyki hodowlanej weszło już testowanie materiałów za pomocą markerów związanych np. z odpornością na choroby, która jest szczególnym przypadkiem „prostej” cechy ilościowej. Wyniki wykorzystania markerów do selekcji w odniesieniu do typowych cech ilościowych w jęczmieniu przedstawili już m.in. Ullrich i wsp. (2004) oraz Barr i wsp. (2004).

Jedną z przyczyn trudności z wykorzystaniem znalezionych loci cech ilościowych może być stosowanie w badaniach uproszczonego modelu genetycznego, zakładającego jedynie addytywne i dominujące działanie genów, a także uproszczonego modelu statystycznego nieoddającego należycie faktycznej sytuacji doświadczalnej. Celem podjętego przez autorów tej pracy projektu jest zbadanie możliwości pokonania pierwszego z tych problemów przy wykorzystaniu propozycji podanych przez Charcosseta i wsp. (1994) oraz Janninka i Jansena (2001) rozważających schemat krzyżowania, w którym wykonuje się trzy krzyżowania  $A \times B$ ,  $A \times C$  i  $B \times C$  pomiędzy trzema homozygotycznymi liniami rodzicielskimi A, B i C. Podejście to umożliwia ocenę działania genów na „tle” różnych genomów. W niniejszej pracy zajmujemy się jednak problemem drugim: przedstawiamy wyniki zastosowania modelu statystycznego, który lepiej niż istniejące w literaturze opisuje dane uzyskane w przeprowadzonych doświadczeniach.

W opisywanych badaniach używamy dwie populacje linii uzyskane z dwu kombinacji krzyżówkowych grochu, wykorzystane uprzednio przez Irzykowską i wsp. (2002), Wolko i wsp. (2002), Irzykowską i Wolko (2004) oraz Gawłowską (2004). Ze względu na sposób prowadzenia linii, należy dopuścić możliwość istnienia w pewnych liniach tych populacji roślin heterozygotycznych, przy czym ich częstość może być większa niż typowe pozostałości heterozygotyczności obserwowane w pokoleniach linii wsobnych. W pracy zaprezentowano ideę metody mapowania wynikającej z wyprowadzenia modelu probabilistycznego linii oraz zastosowanie tej metody do wyników doświadczenia jednorocznego prowadzonego w dwu środowiskach.

## MATERIAŁ I METODY

**Materiał roślinny**

Materiał do badań stanowiły linie pokolenia  $F_6$  grochu uzyskane z roślin  $F_2$  dwu kombinacji krzyżówkowych: Wt11238  $\times$  Wt3557 (Q1, 110 linii) i Wt10245  $\times$  Wt11238 (Q2, 101). Linie rodzicielskie Wt3557 i Wt10245 są formami uprawnymi; linia Wt11238 jest formą testową posiadającą charakterystyczne geny markerowe. Linie potomne zostały uzyskane poprzez pobieranie prób nasion i wysiewanie kolejnych pokoleń w kolejnym roku. Linie i formy rodzicielskie badano w roku 2003 w doświadczeniu założonym w układzie bloków kompletnych, w trzech powtórzeniach, 5 roślin na poletko, w dwu środowiskach: Poznań, Wiatrowo. W doświadczeniach obserwowano następujące cechy: liczbę strąków na roślinie (LSR), plon nasion (g) (PLN), liczbę strąków na osadce (LSO), liczbę nasion w strąku (LNS), masę 1000 nasion (g) (MTN). Obserwacji markerowych dokonano w pokoleniu  $F_2$ , przy czym w liniach populacji Q1 obserwowano polimorfizm 86 segregujących markerów, w liniach Q2 — 182 markerów. Wśród wykorzystanych markerów były markery morfologiczne, izoenzymatyczne oraz markery DNA generowane za pomocą PCR (AFLP, RAPD, STS). Mapy sprzężeń markerów dla obu populacji wykonano za pomocą programu JoinMap 3.0.

**Mapowanie loci cech ilościowych**

Ze względu na sposób uzyskania linii grochu należy założyć, iż w badanym pokoleniu wśród roślin należących do linii pochodzących od heterozygotycznych osobników pokolenia  $F_2$  mogą występować heterozygoty. Znane modele statystyczne stosowane do mapowania genów na podstawie linii homozygotycznych nie opisują dobrze takiej sytuacji eksperymentalnej. Aby określić lokalizację QTL, posłużono się metodą regresji wielokrotnej (Haley i Knott, 1992; Sari-Gorla i in., 1997; Caliński i in., 2000). Założono, że szukane loci są w pełni sprzężone z dostępnymi markerami, co implikuje zastosowanie regresji cechy ilościowej względem obserwacji markerowych bez wykorzystania mapowania przedziałowego. Znalaziono dokładny model probabilistyczny opisujący proporcje roślin homo- i heterozygotycznych w poszczególnych liniach, w zależności od genotypu wyjściowych roślin  $F_2$  i w zależności od badanego pokolenia (Krajewski i in., 2004). Model uwzględnia dwa typy markerów: kodominacyjne i dominacyjne. Wyliczone proporcje pozwalają modelować wartość oczekiwaną średniej arytmetycznej cechy ilościowej dla linii jako funkcję liniową obserwacji markerowych, przy czym współczynniki tej funkcji (współczynniki regresji) odpowiadają efektom działania addytywnego i efektom dominacji poszczególnych QTL (ze względu na pewne zależności liniowe występujące w modelu regresyjnym, efekty dominacji oceniać można tylko dla loci sprzężonych z markerami kodominacyjnymi). Estymację efektów wykonano metodą najmniejszych kwadratów, stosując selekcję krokową w przód dla znalezienia efektów istotnych statystycznie. Przed wykonaniem obliczeń dokonano oszacowania brakujących obserwacji markerowych metodą analogiczną do opisanej i stosowanej uprzednio dla linii homozygotycznych (Martinez i Curnow, 1994; Sari Gorla i in., 1997). Idea tej metody polega na tym, że do szacowania brakujących obserwacji markerowych wykorzystuje się dostępne obserwacje markerów flankujących, przy założeniu braku podwójnego crossing-

over, oraz odpowiednio wyliczone prawdopodobieństwa warunkowe. Opracowaną metodę mapowania loci cech ilościowych zastosowano niezależnie do danych uzyskanych dla każdej z dwu populacji linii i dla każdego z dwu środowisk.

Obliczenia statystyczne wykonano programem Genstat (wersja 8).

## WYNIKI

Tabela 1 przedstawia wartości średnie dla linii pochodzących z kombinacji krzyżówkowych Q1 i Q2, badanych w dwu środowiskach. Należy zauważyć, że obserwowane plony są niskie, przy czym zanotowano duże różnice w poziomie ekspresji cech w obu środowiskach, z wyjątkiem masy tysiąca nasion.

Tabela 1

**Wartości średnie dla cech determinujących plon linii grochu pochodzących z kombinacji krzyżówkowych Q1 i Q2 w poszczególnych miejscowościach (w nawiasach podano odchylenie standardowe)**

**The means for the traits determining yield in pea lines obtained from cross combinations Q1 and Q2, observed at two locations (standard deviations given in brackets)**

| Cecha<br>Trait                                      | Q1                |                   | Q2                |                   |
|-----------------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                                                     | Poznań            | Wiatrowo          | Poznań            | Wiatrowo          |
| Liczba strąków<br>Pod number                        | 7,71<br>(2,35)    | 14,54<br>(4,34)   | 7,80<br>(2,84)    | 18,46<br>(5,13)   |
| Plon nasion w g<br>Grain yield in g                 | 4,50<br>(1,61)    | 9,98<br>(3,50)    | 4,17<br>(2,19)    | 14,01<br>(5,51)   |
| Liczba strąków na osadce<br>Pod number per peduncle | 1,36<br>(0,15)    | 1,59<br>(0,14)    | 1,28<br>(0,15)    | 1,63<br>(0,12)    |
| Liczba nasion w strąku<br>Seed number per pod       | 3,44<br>(0,63)    | 4,14<br>(0,52)    | 2,78<br>(0,63)    | 3,85<br>(0,59)    |
| Masa 1000 nasion w g<br>1000 grains weight in g     | 179,25<br>(29,44) | 166,74<br>(31,55) | 192,93<br>(32,90) | 193,39<br>(36,45) |

Tabela 2

**Wartości średnie dla linii rodzicielskich  
Mean values for parental lines**

| Cecha<br>Trait                                      | Linia rodzicielska<br>Parental line | Q1     |          | Q2     |          |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------|--------|----------|--------|----------|
|                                                     |                                     | Poznań | Wiatrowo | Poznań | Wiatrowo |
| Liczba strąków<br>Pod number                        | Wt11238                             | 6,36   | 13,65    | 5,78   | 9,93     |
|                                                     | Wt3557                              | 6,27   | 21,11    |        |          |
|                                                     | Wt10245                             |        |          | 19,39  | 31,87    |
| Plon nasion w g<br>Grain yield in g                 | Wt11238                             | 2,38   | 6,03     | 2,11   | 4,44     |
|                                                     | Wt3557                              | 5,71   | 21,86    |        |          |
|                                                     | Wt10245                             |        |          | 14,68  | 35,20    |
| Liczba strąków na osadce<br>Pod number per peduncle | Wt11238                             | 1,31   | 1,54     | 1,16   | 1,73     |
|                                                     | Wt3557                              | 1,42   | 1,58     |        |          |
|                                                     | Wt10245                             |        |          | 1,45   | 1,68     |
| Liczba nasion w strąku<br>Seed number per pod       | Wt11238                             | 3,33   | 3,92     | 3,26   | 3,92     |
|                                                     | Wt3557                              | 4,40   | 5,06     |        |          |
|                                                     | Wt10245                             |        |          | 2,52   | 3,20     |
| Masa 1000 nasion w g<br>1000 grains weight in g     | Wt11238                             | 122,72 | 112,22   | 123,09 | 111,46   |
|                                                     | Wt3557                              | 203,89 | 210,01   |        |          |
|                                                     | Wt10245                             |        |          | 333,78 | 330,97   |

Tabela 2 podaje odpowiednie wartości dla form rodzicielskich. Dla Q1, charakterystyczna jest przewaga linii Wt3557 nad linią Wt11238 pod względem plonu, liczby nasion w strąku i masy 1000 nasion obserwowana w obu doświadczeniach. Dla Q2, linia Wt10245 wyraźnie dominuje nad linią Wt11238 pod względem liczby strąków, plonu i masy 1000 nasion; sytuacja jest odwrotna pod względem liczby nasion w strąku.

W tabeli 3 podano wyniki analizy wariancji zastosowanej do stwierdzenia istotności interakcji linii ze środowiskami. Znaczącą interakcję stwierdzono pod względem cech PLN, LNS i MTN dla linii populacji Q1 i pod względem wszystkich cech dla linii populacji Q2. Obliczając współczynniki korelacji liniowej pomiędzy wartościami średnimi dla linii obserwowanych w dwu środowiskach stwierdzono, iż interakcja dla cechy MTN ma charakter ilościowy, to znaczy nie powoduje znacznych zmian jeżeli chodzi o uporządkowanie linii pod względem wartości średniej w dwu środowiskach. Przeciwną sytuację stwierdzono dla populacji Q2, cech LSR, PLN i LSO, gdzie wyliczone korelacje były bardzo niskie.

Tabela 3

**Wyniki analizy wariancji — średnie kwadraty dla interakcji linie × miejscowości i błędu**  
**Results of analysis of variance — mean squares for lines × locations interaction and for error**

| Cecha<br>Trait                                      | Q1                        |               | Q2                        |               |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|---------------|---------------------------|---------------|
|                                                     | interakcja<br>interaction | błąd<br>error | interakcja<br>interaction | błąd<br>error |
| Liczba strąków<br>Pod number                        | 22,70                     | 18,53         | 40,84**                   | 26,71         |
| Plon nasion (g)<br>Grain yield (g)                  | 14,73*                    | 10,92         | 42,71**                   | 18,82         |
| Liczba strąków na osadce<br>Pod number per peduncle | 0,029                     | 0,035         | 0,046*                    | 0,034         |
| Liczba nasion w strąku<br>Seed number per pod       | 0,46**                    | 0,30          | 0,61**                    | 0,41          |
| Masa 1000 nasion (g)<br>1000 grains weight (g)      | 838,7**                   | 563,9         | 1414,0**                  | 982,7         |

\*, \*\* Oznacza istotność na poziomie 0,05 i 0,1

\*, \*\* Denotes significance at the level of 0.05 and 0.01

W tabeli 4 przedstawiono wyniki mapowania loci związanych z cechami ilościowymi obserwowanymi w doświadczeniu, w aspekcie efektów działania addytywnego. W poszczególnych doświadczeniach liczba znalezionych QTL o istotnych efektach addytywnych wahała się od 2 do 7. W tabeli podano nazwy markerów, których istotność powtarzała się w obu doświadczeniach.

Nie stwierdzono dominacyjnego działania QTL w populacji Q1. W populacji linii Q2 stwierdzono sześć istotnych efektów dominacji (dwa dla PLN, jeden dla LSO, trzy dla LNS). Efekty dominacji dla liczby nasion w strąku przejawiały się w obu środowiskach i przedstawione są w tabeli 5. Należy zaznaczyć, że we wszystkich przypadkach ocena efektu dominacji była (co do wartości bezwzględnej) znacznie większa niż oceny efektów addytywnych.

Tabela 4

**Liczba markerów wykazujących sprzężenie z QTL o istotnych efektach addytywnych dla poszczególnych cech w doświadczeniach z liniami Q1 i Q2 oraz markery wspólne dla obu miejscowości**  
**The number of markers linked to QTL with additive effects, for all measured traits and for two populations of lines Q1 and Q2, and markers declared as significant in both locations**

| Kombinacja krzyżówkowa<br>Cross combination | Cecha<br>Trait | Miejscowość<br>Location |          | Markery wspólne dla obu miejscowości <sup>a</sup><br>Markers common for both locations <sup>a</sup> |
|---------------------------------------------|----------------|-------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                             |                | Poznań                  | Wiatrowo |                                                                                                     |
| Q1                                          | LSR            | 3                       | 4        | [Lip2, d] (I, Wt3557), [GP, TE] (V, Wt3557)                                                         |
|                                             | PLN            | 3                       | 5        |                                                                                                     |
|                                             | LSO            | 3                       | 2        |                                                                                                     |
|                                             | LNS            | 4                       | 3        | C10a (III, Wt3557), GP (V, Wt3557)                                                                  |
|                                             | MTN            | 3                       | 8        |                                                                                                     |
| Q2                                          | LSR            | 4                       | 6        | R (V, Wt10245)                                                                                      |
|                                             | PLN            | 4                       | 6        |                                                                                                     |
|                                             | LSO            | 6                       | 2        | [C1532, afp4c] (III, Wt11238)                                                                       |
|                                             | LNS            | 3                       | 7        | Afp15h (II, Wt11238), Lap2 (III, Wt11238)                                                           |
|                                             | MTN            | 6                       | 6        | Lap2 (III, Wt10245), TL (V, Wt10245)                                                                |

<sup>a</sup> Podanie w nawiasie kwadratowym dwu markerów oznacza, że w różnych doświadczeniach stwierdzono istotność markerów różnych, lecz bezpośrednio sąsiadujących na mapie sprzężeń; w nawiasach podano numer grupy sprzężeń, do której marker należy oraz nazwę linii rodzicielskiej wnoszącej pozytywne allele.

<sup>a</sup> Two marker names given in square brackets mean that in two locations the significant markers were different, but they were neighbors in the linkage map; in round brackets there is a number of the linkage group, to which the markers belong, and a name of the parental line providing positive alleles.

LSR — Liczba strąków na roślinie; PLN — Plon nasion; LSO — Liczba strąków na osadce; LNS — Liczba nasion w strąku; MTN — Masa 1000 nasion

Tabela 5

**Zestawienie istotnych efektów dominacyjnych stwierdzonych w populacji linii kombinacji krzyżówkowej Q2**

**Dominance effects discovered in the population of lines from cross combinations Q2**

| Cecha<br>Trait                                      | Marker<br>Marker       | Grupa sprzężeniowa<br>Linkage group | Allel dominujący<br>Dominant allele | Środowisko<br>Location         |
|-----------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| Plon nasion (g)<br>Grain yield (g)                  | L109<br>Est2           | VII<br>VII                          | Wt11238<br>Wt10245                  | Poznań<br>Poznań               |
| Liczba strąków na osadce<br>Pod number per peduncle | Pgd-p                  | VII                                 | Wt11238                             | Poznań                         |
| Liczba nasion w strąku<br>Seed number per pod       | Aat-p<br>Est2<br>Pgd-p | II<br>VII<br>VII                    | Wt10245<br>Wt10245<br>Wt11238       | Wiatrowo<br>Poznań<br>Wiatrowo |

Dla przykładu, oceny wymienionych w tabeli 5 efektów dominacji dla plonu, markerów Est2 i L109, wynosiły odpowiednio -17,1 i 19,7, przy ocenach efektów addytywnych (innych loci) od -0,74 do 0,94 i wartości średniej dla tej cechy wynoszącej 4,50 (tab. 1).

## DYSKUSJA

Przedstawione w pracy wyniki dotyczące oceny linii rodzicielskich, linii potomnych, a także oceny parametrów genetycznych opisujących działanie loci związanych z cechami ilościowymi traktujemy jako wstępne; konieczna jest ich weryfikacja w doświadczeniach prowadzonych w kolejnych latach. Obecnie możemy powiedzieć, że relacje stwierdzone pomiędzy poziomem ekspresji cech u form rodzicielskich potwierdzają znane własności tych linii.

Opracowana metoda lokalizacji i estymacji parametrów jest prawdopodobnie właściwa w zakresie parametrów addytywnego działania genów. Uwzględnione w modelu efekty dominacji są przeszacowane, co może wynikać z liczniejszej niż przewiduje model probabilistyczny obecności roślin heterozygotycznych. Uzyskane oceny nie muszą więc świadczyć o wystąpieniu zjawiska naddominacji. Należy przy tym zauważyć, że tylko efekty bardzo znaczące mogą być znalezione opisywaną tu metodą.

Doświadczenia prowadzone w kolejnych latach pozwolą na znalezienie loci o efektach przejawiających się w różnych warunkach środowiskowych. Ponadto dołączenie do doświadczeń potomstwa trzeciej kombinacji krzyżówkowej, Wt3557 × Wt10245, wniesie możliwość dokładniejszego wnioskowania o sposobie działania interesujących genów. Odpowiednie wyniki zostaną opublikowane w następnych pracach.

## LITERATURA

- Barr A. R., Eglinton J. K., Collins H. M., Vassos E., Roumeliotis S. 2004. QTL for malting quality — a 25 piece puzzle. Ninth International Barley Genetics Symposium, Brno, Czech Republic, 20–26 June 2004, Oral Presentations: 58 — 71.
- Caliński T., Kaczmarek Z., Krajewski P., Frova C., Sari-Gorla M. 2000. A multivariate approach to the problem of QTL localization. *Heredity* 84: 303 — 310.
- Charcosset A. M., Causse L., Moreau L., Gallais A. 1994. Investigation into the effect of genetic background on QTL expression using three connected maize recombinant inbred lines (RIL) populations. In: *Biometrics in plant breeding: applications of molecular markers*. J. W. van Ooijen and J. Jansen (eds.), CPRO-DLO, Wageningen: 75 — 84.
- Gawłowska M. 2004. Charakterystyka i mapowanie loci cech ilościowych związanych z plonowaniem grochu (*Pisum Sativum* L.). Praca doktorska, Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu.
- Haley C. S., Knott S. 1992. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69: 315 — 324.
- Irzykowska L., Wolko B. 2004. Interval mapping of QTLs controlling yield-related traits and seed protein content in *Pisum sativum*. *J. Appl. Genet.* 45: 297 — 306.
- Irzykowska L., Wolko B., Święcicki W. K. 2002. Interval mapping of QTLs controlling some morphological characters in pea. *Cell Mol. Biol. Lett.* 7 (2A): 417 — 422.
- Jannink J. L., Jansen R. 2001. Mapping epistatic quantitative trait loci with one-dimensional genome searches. *Genetics* 157: 445 — 454.
- Krajewski P., Bocianowski J., Gawłowska M., Kaczmarek Z., Pniewski T., Święcicki W., Wolko B. 2004. On using F<sub>n</sub> lines of pea (*Pisum sativum* L.) to locate and characterize QTL for seed protein content and yield-related traits. International Workshop “Plant genome mapping and search for markers linked to agricultural traits”, PAGEN — IPG PAS, Poznań, 18 October 2004: 15.
- Martinez O., Curnov R. N. 1994. Missing markers when estimating quantitative trait loci using regression mapping. *Heredity* 73: 198 — 206.

- Sari-Gorla M., Caliński T., Kaczmarek Z., Krajewski P. 1997. Detection of QTL  $\times$  environment interaction in maize by a least squares interval mapping method. *Heredity* 78: 146 — 157.
- Ullrich S. E., Kleinhofs A., Romagosa I., Han F., Gao W., Schmierer D. 2004. Experiences with marker assisted selection for quantitative traits in barley. Ninth International Barley Genetics Symposium, Brno, Czech Republic, 20–26 June 2004, Oral Presentations: 72 — 78.
- Wolko B., Irzykowska L., Święcicki, W. K. 2002. Interval mapping of QTLs concerning pod number, seed weight and seed protein content in pea. Abstract Book of 1<sup>st</sup> International Conference on Legume Genomics and Genetics: Translation to Crop Improvement. Minneapolis June 2–6, 2002: 134.