

白浪河流域新收集野生大豆居群特征及其遗传多样性分析

李学红,程贯召,阚世红,高明刚,王 萍,高亚文

(潍坊学院 生物与农业工程学院,山东 潍坊 261041)

摘 要:山东省位于中国野生大豆遗传多样性分布区中心地带,但是有关山东省野生大豆资源分布状况及遗传多样性的研究相对较少。本文采用生物统计法和 RAPD 指纹图谱多态性分析法,对白浪河沿岸的 9 份野生大豆居群进行了质量性状、数量性状及遗传多样性分析。结果表明:供试野生大豆之间已发生明显的遗传分化,在亲缘关系上已经聚集成 3 个不同类别,而且明显分化为下游盐碱地居群和中上游非盐碱地居群两大类。研究结果显示,白浪河流域野生大豆的变异类型丰富,具有较高的遗传多样性,是良好的大豆改良备用遗传资源,值得引起广泛重视。

关键词:性状;RAPD;遗传多样性;野生大豆;白浪河

中图分类号:S565

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2014.06.0795

Phenotypic Features and Genetic Diversity of Wild Soybean (*Glycine soja*) Germplasm Newly Collected in Bailang River Region

LI Xue-hong, CHENG Guan-zhao, KAN Shi-hong, GAO Ming-gang, WANG Ping, GAO Ya-wen

(Biology and Agricultural Institute of Weifang College, Weifang 261061, China)

Abstract: Shandong province located in the central region of main wild soybean distribution area of China, but few papers have been reported about the distribution and the polymorphism of wild soybeans in Shandong province. In this paper, genetic diversity of 9 wild soybean populations collected from Bailang River region in Weifang city of Shandong province was evaluated by the qualitative and quantitative traits, and by random amplified polymorphic DNA (RAPD) molecular finger-prints. Biological statistical methods for the traits and unweighted pairing group method of arithmetic means (UPGMA) for the RAPD molecular finger-prints were applied. Distinct genetic differentiations were found in the 9 samples, which could be divided into 3 groups in the clustering analysis dendrogram and belong to two clones of downriver saline-alkali one or upriver non-saline-alkali one. Wild soybean populations from Bailang River region have distinct genetic diversity, and are important for the germplasm improvement of cultivated soybean (*G. max*).

Key words: Character; Random amplified polymorphic DNA RAPD; Genetic diversity; *Glycine soja*; Bailang river

一年生野生大豆 (*Glycine soja*) 广泛分布于东亚 (包括朝鲜、日本、前苏联的远东和我国的中东部), 是栽培大豆的近缘野生种^[1-5], 也是大豆品种改良的重要资源植物^[1,5]。我国的野生大豆资源分布广泛、类型繁多, 目前在国家种质库及临时种质库中保存的野生大豆资源已达 8 000 余份^[6-7]。国内学者一般将野生大豆群体内百粒重在 3 g 以下的称作野生大豆, 大粒型 (百粒重 3 ~ 8 g) 称作半野生大豆 (*Glycine gracilis*)^[6-9]。已有研究发现, 我国的野生大豆具有极其丰富的遗传多样性^[10-13], 明显存在以野生大豆籽粒性状为主要特征的变异中心^[10]以及分布多样性中心^[11-12]。随着分子标记技术在大豆及野生大豆资源遗传多样性研究中的广泛应用^[14-19], 对野生大豆的性状与进化^[13,17-18]、物种系统演化与遗传结构^[18-20]等有了更深入的认识, 在利用野生大豆进行大豆资源创新及育种开发方面也有了长足发展^[6,20-21]。山东省大豆资源丰富^[22], 一

些特别的类型如叶片尖端和基部几乎同宽的阔披针叶 (披针叶的变形)、主茎分枝无区别的匍匐型 (基部浓密分枝, 匍匐地面生长, 无或极弱缠绕性)、半野生大豆等^[7,22] 先后在山东境内发现, 陆静梅等^[23] 利用收集自山东省垦利县的材料首次发现野生大豆盐腺的存在。这些研究结果都提示山东省是野生大豆资源的重要生境地和保存地。白浪河是一条流经潍坊市并最终汇入渤海莱州湾的区域性河流, 其流域下游以盐化潮土和盐土为主, 是盐生植物的重要分布区域, 该区域生存的一些野生大豆资源已经获得了良好的耐盐耐干旱特性, 是十分重要的大豆品质改良备用遗传资源。因此, 对白浪河流域乃至潍坊地区内野生大豆资源进行系统的种质收集和遗传多样性研究, 不仅是出于野生大豆基因资源保护的需要, 更是为了发现更多可应用于栽培大豆品质改良的优异抗性基因, 具有重要研究意义。本研究通过分析白浪河流域相对较小区

收稿日期: 2014-02-18

基金项目: 山东省科技发展计划 (2009GG10009004); 潍坊学院科技计划 (2011Z01)。

第一作者简介: 李学红 (1965-), 女, 教授, 主要从事植物发育及植物分子生物学研究。E-mail: elxhong@126.com。

域内野生大豆资源的表型性状和遗传多样性特征,试图阐明山东省白浪河流域野生大豆资源的分布状况以及遗传多样性状态,旨在为今后进一步研究和开发利用山东省野生大豆资源提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以分别采集自白浪河中上游的潮土区域和下游盐碱地区域的9份供试野生大豆种子为材料。采集自白浪河中上游的居群编号分别是W-01、W-02、W-03、W-04、W-05,采自下游的居群分别标记为D-01、D-02、D-03、D-04。

1.2 田间种植和表型鉴定

所采集的野生大豆居群的种子在潍坊学院试验田进行种植。植株生长期内的性状观察参照有关文献^[14,22,24]进行。进行各居群性状观察及形态鉴定时,每份居群资源混合种植,调查其叶形、花色、主茎、开花期、生育期、茸毛色、荚色、泥膜、粒色、脐色、种皮色、子叶色、百粒重等基本性状。采用单株种植所收获的种子,用于DNA提取、PCR检测及居群遗传多样性分析。

1.3 野生大豆基因组DNA的提取及RAPD指纹图谱的构建

1.3.1 种子萌发 野生大豆种子参照彭友林等^[25]

表1 用于白浪河野生大豆居群RAPD分析的引物序列

Table 1 Primers used for the RAPD analysis of nine wild soybean populations collected from Bailang river

引物号 No. of primers	序列(5'-3') Primer sequence	引物号 No. of primers	序列(5'-3') Primer sequence
S1	GTTTCGCTCC	S112	ACGCGCATGT
S2	AATCGGGCTG	S120	GGGAGACATC
S80	ACTTCGCCAC	S124	GGTGATCAGG
S85	CTGAGACGGA	S453	GTCAGAGTCC
S87	GAACCTGCGG	S467	GTCCATGCCA
S88	TCACGTCCAC	S1056	GATGGCAGTC
S105	AGTCGTCCCC	S1139	ACCACGCCTT
S107	AGTCGTCCCC	S2160	CACCGACATC

1.3.4 PCR产物检测 扩增产物在含有溴化乙锭的1%琼脂糖凝胶中电泳1 h,电压为100 V。然后在JS380B全自动数码凝胶分析仪上观察、照相。根据DL2000 DNA Marker计算出每个条带的分子量大小。

1.4 RAPD指纹图谱的数据处理及遗传相似性分析

以1和0分别代表RAPD扩增产物中DNA条带的有和无,将RAPD指纹图谱信息转换为由1和0组成的数字阵列,通过统计分析软件NTSYSPC

的方法进行处理。种子在浓硫酸中浸泡15~20 min,自来水洗涤3~5次,置温箱中(23±2)℃萌发。

1.3.2 基因组DNA的提取 取萌发3~5 d幼苗的下胚轴0.1~0.2 g,置2 mL离心管中,于基因破碎机上研磨。基因组DNA的提取参照Murray等^[26]的CTAB法,略有修改。

1.3.3 RAPD引物的筛选及PCR扩增 参考尹小燕等^[27]及周晓馥等^[28]有关研究中用于RAPD多态性分析的有效引物数据,特别是考察各随机引物是否能稳定扩增出多态性条带、引物与抗旱抗病性之间的关联性等因素,筛选出16个随机引物用于对供试材料的RAPD分析。随机引物编号及序列见表1。每个引物均重复扩增2次。RAPD随机引物由上海生工生物工程有限公司生产。PCR反应体系25 μL,其中包括:10×buffer(不含Mg²⁺)2.5 μL,Mg²⁺(25 mmol·L⁻¹)2.5 μL,dNTP(10 mmol·L⁻¹)0.25 μL,引物模版1.0 μL,Taq DNA聚合酶0.12 μL,模板DNA(20 ng·μL⁻¹)1.0 μL,无菌蒸馏水17.63 μL。

PCR反应循环参数如下:94℃预变性5 min;以94℃变性30 s、37℃退火30 s、70℃延伸30 s为参数循环34次;72℃延伸10 min。之后置于4℃保存。

2.1.0.0采用非加权类平均法(Unweighted pairing group method of arithmetic means,UPGMA)进行聚类分析,绘制树状图,并计算9份野生大豆资源之间的遗传距离。

2 结果与分析

2.1 白浪河流域野生大豆居群的表型性状特征分析

从表2中可以看出,9个野生大豆居群在花色、

粒色、脐色、主茎形态和泥膜类型等主要质量性状方面,均为紫花、黑色粒、黑脐、主茎不明显和有泥膜类型,表现出主要原始性状特征的相对一致,但茸毛色、叶形、子叶色等性状表现呈较明显分化,其中茸毛色呈现多样化,叶形态兼有阔叶型(椭圆、长椭圆、卵圆)和窄叶型(披针、阔披针),子叶颜色有黄绿、浅黄绿和黄白色3种。在生育日数、百粒重这两个典型数量性状上,9个居群之间也表现出较大

差异,其中生育期类型既有极早熟居群(生育期≤118 d),也有早熟居群(生育期120~140 d)和中早熟类型(生育期140~160 d),各居群的性状特征之间存在着明显差别,故可划分为不同居群类型。从表2中还可以看出,9个大豆居群平均百粒重在1.23~1.55 g,而平均百粒重低于2.0g被认为是典型野生大豆的特征表现^[1,3,9],也就是,9个居群均属于典型的野生大豆资源。

表2 供试野生大豆性状特征
Table 2 Phenotype character of nine tested wild soybeans

居群 编号 No. of population	花色 Flower color	叶型 Phylli- form	茸毛色/茸毛					主茎 形态 Stem mophylo- gy	叶柄 长短 Petio- le lenth	花序 长短 Inflorescence length	荚色 Pod color	生育 日数 Days of growth duration/d	百粒 重 100-seed weight/g
			长度/密度/		粒色 Seed color	脐色 Hilum color	子叶色 Coty- ledon color						
			倾斜度										
			Hair color/hair	lenth/density									
			of hair/hair inclination										
W-01	紫色	长椭圆形小叶	褐/中/稀疏/倾斜	黑	白	黄绿	有	不明显	中	中	黑	125	1.41
W-02	紫色	椭圆形叶	灰/中/稀疏/倾斜	黑	白	黄绿	有	不明显	中	中	黑	115	1.55
W-03	紫色	长椭圆形叶	褐/中/稀疏/倾斜	黑	白	黄绿	有	不明显	长	短	棕	133	1.23
W-04	紫色	椭圆形小叶	棕/中/较浓密/倾斜	黑	白	浅黄色	有	不明显	长	长	棕	142	1.43
W-05	紫色	宽椭圆大叶	棕/中/浓密/倾斜	黑	白	黄绿	有	不明显	长	短	棕	130	1.39
D-01	紫色	宽椭圆大叶	棕/长/浓密/倾斜	黑	白	黄绿	有	不明显	长	短	棕	139	1.46
D-02	紫色	长椭圆形大叶	棕/长//浓密/倾斜	黑	白	黄绿	有	不明显	长	长	褐	151	1.44
D-03	紫色	披针叶	褐/长/浓密/倾斜	黑	白	黄白	有	不明显	中	短	褐	144	1.35
D-04	紫色	狭长披针大叶	棕/中/浓密/倾斜	黑	白	黄白	有	不明显	长	长	褐	128	1.31

2.2 白浪河流域野生大豆居群的 RAPD 指纹图谱
多态性及居群间亲缘关系

RAPD 检测结果显示,所选用的16个随机引物在9个样本基因组DNA中均可扩增出多态性条带,共获得68条带(极弱带不计算在内),条带大小从180~1300 bp不等,平均每个引物扩增出清晰可读条带数为4.53条。这68条带中的17条是所有样品共有的非特异性条带,占扩增条带总数的25%;51条为多态性条带(1个带至少为2个样品共有,

但不是所有样品共有),占总条带数的75%,其中有3条带是高度特异性的,仅在个别样品中出现,占扩增条带总数的4.41%。其中S80、S85、S88、S124、S1056、S2160这6个引物尤其适合于供试野生大豆材料的特征分析,其RAPD指纹图在9份野生大豆居群之间的存在明显差别(图1),从一个侧面说明白浪河流域野生大豆资源之间存在遗传背景的多样性和DNA的多态性。

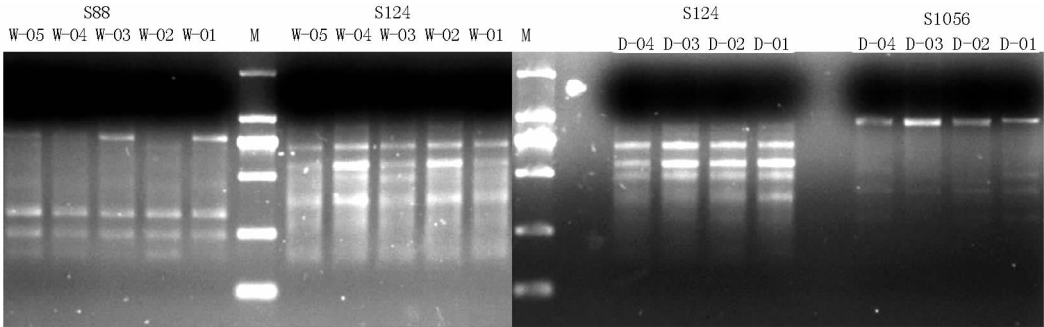


图1 供试野生大豆 RAPD 指纹图
Fig.1 Genomic fingerprints of nine wild soybean populations from primer s124, primer s88 and primer s1056

利用软件 NTSYSPC 2.1.0.0 进行 RAPD 指纹图谱数据矩阵分析和亲缘关系比较,结果表明,9 个样本被聚类成 3 个大类(图 2),第 1 类包括采集自白浪河下游盐碱地区域内的 4 个野生大豆居群,而来自白浪河中上游的 5 个野生大豆居群分别聚类到第 2 和第 3 两个不同的类群中,说明供试野生大豆居群已经明显分化为下游盐碱地生存类型(即 D 系列耐盐居群类)和中上游非盐碱地生存类型(即 W 系列非耐盐居群类)两类。在第 1 大类 D 系列居群中,虽然 D-01 和 D-02 在叶型、荚色、生育期等多个形状特征上均表现出较明显的区别,二者在居群聚类图上(图 2)和遗传距离的计算结果中(表 3)却没有表现出明显的遗传距离差别,提示这两个居群之

间可能存在特别密切的亲缘关系,本研究所选用的引物还不足以显示出二者之间的区别。来自白浪河中上游的 5 个居群之间发生了明显分化,在聚类图上被划分到了 2 个不同类别(图 2)。遗传距离计算的结果显示(表 3),W 系列的各居群之间存在明显的遗传距离,而 D 系列个居群之间的遗传距离相对较小,说明 D 系列内居群之间的分化程度低于 W 系列。

结合居群间表型性状特征统计结果,可以得出如下结论:本试验条件下的 RAPD 指纹分析结果在一定程度上可以证明白浪河流域野生大豆资源存在明显的遗传多样性。

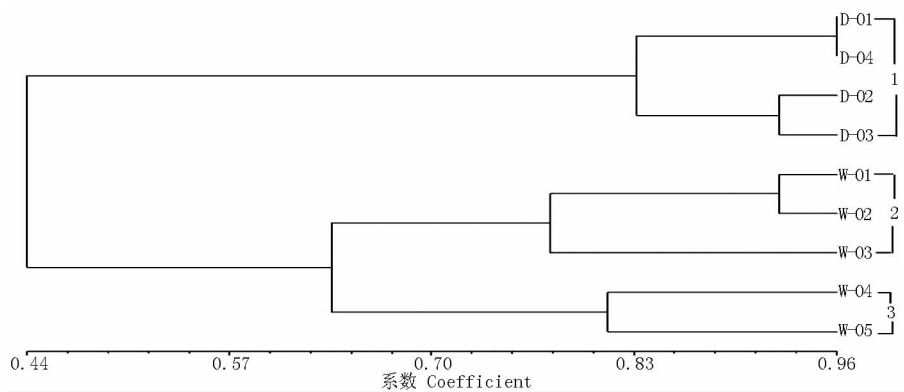


图 2 基于 RAPD 标记的 9 份野生大豆居群的聚类图

Fig.2 The dendrogram of nine wild soybeans populations based on RAPD markers

表 3 供试材料间基于 RAPD 标记的遗传距离

Table 3 The genetic distances between tested materials(*Glycine soja*) on the basis of RAPD markers

材料 Materials	D-01	D-02	D-03	D-04	W-01	W-02	W-03	W-04	W-05
D-01	0.0000								
D-02	0.0872	0.0000							
D-03	0.1372	0.0500	0.0000						
D-04	0.0204	0.0668	0.1168	0.0000					
W-01	0.3244	0.4784	0.6290	0.3781	0.0000				
W-02	0.3985	0.5737	0.7468	0.4581	0.0690	0.0000			
W-03	0.6813	0.7276	0.8318	0.6609	0.3081	0.2027	0.0000		
W-04	0.6286	0.5414	0.6249	0.6082	0.8432	0.6609	0.4581	0.0000	
W-05	0.4540	0.3668	0.4121	0.4336	0.3993	0.5170	0.3143	0.2616	0.0000

3 讨 论

3.1 白浪河流域野生大豆的分类问题及其遗传多样性

百粒重是天然野生大豆种群的重要形态特征,是一个与很多性状密切相关、与进化相关程度较高、变异丰富的重要特征^[3,5,9-10],也是目前野生大豆分类的重要参考标准。按照百粒重多少,目前常见

的野生大豆分类划分方法有两类。一类是将野生大豆种内划分为 4 种类型^[5,7]:典型野生型(2.0 g 以下)、中等种子类型(2.01 ~ 2.5 g)、大粒型(2.51 ~ 3.0 g)、半野生型(3.01 g 以上)。另一类划分方法^[11]是根据百粒重将野生大豆分为野生型(百粒重≤2.5 g)、半野生 I 型(百粒重 2.51 ~ 5 g)和半野生 II 型(百粒重 > 5 g)。本研究所用 9 个样本的平均百粒重均在 2.0 g 以下,不管是采用哪一

类分类方法,都应将其归类为典型野生大豆,即本研究所采集使用的 9 个样本均为天然野生大豆。

白浪河沿岸的土壤类型囊括了非盐碱潮土(壤土)、轻度盐碱土、中重度盐碱土等多种土质类型,流域内生存的野生大豆已经在长期的环境适应过程中发生了明显的改变,这一点在本研究中各供试材料的分析结果中得到了明显体现。来自中上游的 W 系列各居群之间存在明显的遗传距离,居群之间的分化明显,而 D 系列个居群之间的遗传距离相对较小,分化程度较低,这种分化程度上的差别究竟与其环境因素相关,还是上下游区域的各居群之间在进化速度上出现了差别化倾向,还需要通过进一步的研究来阐明。

3.2 山东省野生大豆资源的分布区位及研究现状

山东省是野生大豆资源的重要分布区,仅在 20 世纪 80 年代初的野生大豆考察中就收集到近 300 份资源^[22],近年来一些有较高经济利用价值的野生大豆资源也相继在山东地区被发现^[5,7,17,23],提示着山东省野生大豆资源的丰富性和重要性。本研究中所采用野生大豆资源来自于山东潍坊地区内跨度约 127 km² 的区域,是采集自局部区域范围内的一个小样本群体,但研究结果显示该群体样本之间仍然表现出了明显的遗传多样性特征,这从另一个侧面印证了山东地区野生大豆资源的丰富多样性。徐豹等^[29-30]、庄炳昌等^[11,18]及钱吉等^[31]研究发现,在 30°N~47°N 的区间内野生大豆类型较为丰富,尤其以 35°N~40°N 地区区间内的类型最丰富,并认为在 30°N~47°N 地区,特别是 35°N~40°N 地区范围可能是栽培大豆的重要起源地。山东地区在 34°N~41°N,而潍坊的区域跨度在 35°N~37°N,因此山东地区,尤其是潍坊地区,理论上处于野生大豆资源分布最丰富区域之内,该区域内野生大豆资源数量、多样性分布状况及其遗传演化关系等将直接影响对中国野生大豆资源多样性分布及遗传演化问题的总体评价。但是到目前为止,在国内外野生大豆遗传多样性方面的研究中,还没有系统的关于山东地区野生大豆资源遗传多样性的研究,在针对山东地区的野生大豆资源的收集利用相关研究中,也只有为数很少的、以局域性或地区性的野生大豆资源为研究对象进行的研究^[32-34]。因此,对山东地区的野生大豆资源进行广泛而深入的研究极具必要性和重要性。

鉴于本研究结果及山东地区野生大豆资源的调查研究现状,有必要尽快开展针对山东地区(特别是潍坊地区)一年生野生大豆天然生存群体的系统性的考察与资源收集工作,并在此基础上开展针对山东境内野生大豆天然群体的遗传多样性研究、

遗传演化关系评价、重要经济性状相关基因的分子生物学研究及育种应用价值评估研究等工作,从实体遗传资源和技术方法资源两个方面为我国大豆改良育种及其品质提升研究提供坚实的基础。

参考文献

- [1] 王金陵. 大豆[M]. 哈尔滨:黑龙江省科学技术出版社,1982. (Wang J L. Soybean [M]. Harbin: Heilongjiang Scientific and Technological Press, 1982.)
- [2] 王连铮,吴和礼,姚振纯,等. 黑龙江省野生大豆的考察和研究[J]. 植物研究,1983,3(3):116-130. (Wang L Z, Wu H L, Yao Z C, et al. Investigation and research of the wild soybean in Heilongjiang province [J]. Bulletin of Botanical Research, 1983, 3(3):116-130.)
- [3] 全国野生大豆考察组. 中国野生大豆资源考察报告[J]. 中国农业科学,1983,16(6):69-75. (National Wild Soybean Surveying Team. Report on the survey of wild soybean resources in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1983, 16(6):69-75.)
- [4] 李福山. 中国野生大豆资源目录[M]. 北京:农业出版社,1990. (Li F S. Wild soybean resources in China [M]. Beijing: Agricultural Press, 1990.)
- [5] 李向华,王克晶,李福山,等. 野生大豆(*Glycine soja*)研究现状与建议[J]. 大豆科学,2005,24(4):305-309. (Li X H, Wang K J, Li F S, et al. Research progress of wild soybean (*Glycine soja*) and suggestions for improving its effective utilization and protection [J]. Soybean Science, 2005, 24(4):305-309.)
- [6] 王克晶,李福山. 我国野生大豆(*G. soja*)种质资源及其种质创新利用[J]. 中国农业科技导报,2000,2(6):69-72. (Wang K J, Li F S. General situation of wild soybean (*G. soja*) germplasm resources and its utilization of introgression into cultivated soybean in China [J]. Review of China Agriculture Science and Technology, 2000, 2(6):69-72.)
- [7] 王克晶,李向华. 国家基因库野生大豆(*Glycine soja*)资源最近十年考察与研究[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(4):507-514. (Wang K J, Li X H. Exploration and studies of wild soybean germplasm resources in the China GeneBank during recent decade [J]. Journal of Plant Genetic Resources. 2012, 13(4):507-514.)
- [8] 姚振纯. *Soja* 亚属内的半野生大豆及其资源价值[J]. 作物品种资源,1997(3):13-15. (Yao Z C. Resource of semi-wild soybean and its value in subgenus *Soja* [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 1997(3):13-15.)
- [9] 付沛云,陈佐安. 辽宁省大豆属植物野生种的分类研究[J]. 植物研究,1986(6):117-123. (Fu P Y, Chen Z A. Study on the classification of wild species of genus *Glycine* from Liaoning province [J]. Bulletin of Botanical Research, 1986(6):117-123.)
- [10] 徐豹,徐航,庄炳昌,等. 中国野生大豆(*G. soja*)籽粒性状的遗传多样性及地理分布[J]. 作物学报,1995,21(6):733-739. (Xu B, Xu H, Zhuang B C, et al. Polymorphism and geographical distribution of seed characters of wild soybean (*G. soja*) in China [J]. Acta Agronomica Sinica, 1995, 21(6):733-739.)
- [11] 庄炳昌,徐航,王玉民,等. 中国野生大豆(*G. soja*)茎叶性状的多态性及其地理分布[J]. 作物学报,1996,22(5):583-586. (Zhuang B C, Xu H, Wang Y M, et al. Polymorphism and geographical distribution of the stem and leaf characters of wild soy-

- bean(*Glycine soja*) in China[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1996, 22(5):583-586.)
- [12] 董英山, 庄炳昌, 赵丽梅, 等. 中国野生大豆遗传多样性中心[J]. *作物学报*, 2000, 26(5):521-527. (Dong Y S, Zhuang B C, Zhao L M, et al. The genetic diversity centers of annual wild soybean in China [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2000, 26(5):521-527.)
- [13] Dong Y S, Zhuang B C. The genetic diversity of annual wild soybean grown in China[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103:98-103.
- [14] Maughan P J, Saghai-Marooof M A, Buss G R. Microsatellite and amplified fragment length polymorphisms in cultivated and wild soybean[J]. *Genome*, 1995, 38:715-723.
- [15] Morgante M, Olivieri A M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics[J]. *The Plant Journal*, 1993, 3:175-182.
- [16] Tautz D. Hypervariability of simple sequence as a general source for polymorphic DNA markers[J]. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17:6463.
- [17] 许东河, 高忠, 盖钧镒, 等. 中国野生大豆与栽培大豆等位酶、RFLP 和 RAPD 标记的遗传多样性与演化趋势分析[J]. *中国农业科学*, 1999, 32(6):16-22. (Xu D H, Gao Z, Gai J Y, et al. Genetic diversity and evolutionary tendency detected by isozyme, RFLP and RAPD markers in wild and cultivated soybeans in China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1999, 32(6):16-22.)
- [18] 赵洪锬, 庄炳昌, 王玉民, 等. 中国不同纬度野生大豆和栽培大豆 AFLP 分析[J]. *高技术通讯*, 2000(7):32-35. (Zhao H K, Zhuang B C, Wang Y M, et al. AFLP analysis of wild(*G. soja*) and cultivated soybean(*G. max*) in China[J]. *Chinese High Technology Letters*, 2000(7):32-35.)
- [19] 李向华, 田子罡, 李福山. 新考察收集野生大豆与已保存野生大豆的遗传多样性比较[J]. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(4):345-349. (Li X H, Tian Z G, Li F S. Genetic analysis of newly collected wild soybean materials and conserved germplasm from the same place[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2003, 4(4):345-349.)
- [20] Wang K J, Li X H. Fine-scale phylogenetic structure and major events in the history of the current wild soybean(*Glycine soja*) and taxonomic assignment of semi-wild type(*Glycine gracilis* Skvortz.) within the Chinese subgenus *soja* [J]. *Journal of Heredity*, 2012, 103:13-27.
- [21] 王果, 胡正, 张保缺, 等. 山西省野生大豆资源遗传多样性分析[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(7):2182-2190. (Wang G, Hu Z, Zhang B Q, et al. Genetic diversity analysis of Shanxi's wild soybean(*Glycine soja*) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(7):2182-2190.)
- [22] 王文跃, 战明奎. 山东省野生大豆的考察与研究[J]. *作物品种资源*, 1988(2):5-7. (Wang W Y, Zhan M K. Study of wild soybean germplasm in Shandong province [J]. *Crop Germplasm Resources(or China Seeds)*, 1988(2):5-7.)
- [23] 陆静梅, 刘友良, 胡波, 等. 中国野生大豆盐腺的发现[J]. *科学通报*, 1998, 43(19):2074-2078. (The new discovery of salt gland of *Glycine soja* [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1998, 43(19):2074-2078.)
- [24] 惠东威, 庄炳昌, 陈受宜. RAPD 重建的大豆属植物的亲缘关系[J]. *遗传学报*, 1996, 23(6):460-468. (Hui D W, Zhuang B C, Chen S Y. Phylogeny of genus *glycine* reconstructed by RAPD fingerprinting [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1996, 23(6):460-468.)
- [25] 彭友林, 周强, 王云, 等. 野生大豆引种栽培初报[J]. *华北农学报*, 2004, 19(4):88-91. (Peng Y L, Zhou Q, Wang Y, et al. Study on introducing the wild soybean to plant preliminarily [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2004, 19(4):88-91.)
- [26] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. *Nucleic Acid Research*, 1980, 8:4321-4325.
- [27] 尹小燕. 玉米大斑病抗性基因 *Ht2* 的精细定位和 BAC 文库的筛选[D]. 济南: 山东大学, 2003. (Yin X Y. Fine mapping of the *Ht2*(*Helminthosphaeria turcicum* resistance 2) gene and screening of the BAC library of maize [D]. Jinan: Shandong University, 2003.)
- [28] 周晓馥, 庄炳昌, 王玉民, 等. 利用 RAPD 与 SSR 技术进行野生大豆种群内分化的研究[J]. *中国生态农业学报*, 2002, 10(4):6-9. (Zhou X F, Zhuang B C, Wang Y M, et al. Population differentiation of wild soybean based on the RAPD and SSR analysis [J]. *Chinese Journal of Ecoagriculture*, 2002, 10(4):6-9.)
- [29] 徐豹, 路琴华. 大豆生态研究 I: 中国不同纬度野生大豆的温光生态分析[J]. *大豆科学*, 1983, 2(3):155-168. (Xu B, Lu Q H. Soybean ecology study I: effect of photoperiod and day/night temperature on development of wild soybean in china [J]. *Soybean Science*, 1983, 2(3):155-168.)
- [30] 徐豹, 路琴华. 大豆生态研究 IV: 野生大豆(*G. soja*) 光控和自然条件下开花临界光周期的研究[J]. *大豆科学*, 1991, 10(2):85-92. (Xu B, Lu Q H. Soybean ecology study IV: Study on the critical photoperiod of wild soybean(*G. soja*) [J]. *Soybean Science*, 1991, 10(2):85-92.)
- [31] 钱吉, 陈庠, 郑师章, 等. 不同纬度野生大豆种群间的遗传变异[J]. *复旦学报(自然科学版)*, 1998, 37(2):208-212. (Qian J, Chen X, Zheng S Z, et al. Genetic variations among populations of wild soybeans from different latitude [J]. *Journal of Fudan University(Natural Science Edition)*, 1998, 37(2):208-212.)
- [32] 裴颜龙, 王岚, 葛颂, 等. 野生大豆遗传多样性研究 I: 4 个天然居群等位酶水平的分析[J]. *大豆科学*, 1996, 15(2):302-308. (Pei Y L, Wang L, Ge S, et al. Studies on genetic diversity of *Glycine soja*-isozyme variation in four populations [J]. *Soybean Science*, 1996, 15(2):302-308.)
- [33] 朱维岳, 周桃英, 钟明, 等. 基于遗传多样性和空间遗传结构的野生大豆居群采样策略[J]. *复旦大学学报(自然科学版)*, 2006, 45(3):321-327. (Zhu W Y, Zhou T Y, Zhong M, et al. Sampling strategy for wild soybean(*Glycine soja*) populations based on their genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure [J]. *Journal of Fudan University(Natural Science Edition)*, 2006, 45(3):321-327.)
- [34] 王燕红. 东营野大豆居群的遗传分化研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2013. (Wang Y H. The genetic differentiation research on wild soybean populations of Dongying region [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2013.)