

大豆抗旱种质资源遗传多样性的 RAPD 分析

王振东¹, 贾利¹, 孙仓¹, 田秀艳², 王惠¹

(¹沈阳农业大学生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110161; ²沈阳市农业检测中心, 辽宁 沈阳 110034)

摘要:采用 RAPD 技术对 45 个不同抗旱程度的大豆种质进行遗传多样性分析。从 115 条随机引物筛选出 10 条重复性好、扩增条带清晰的引物, 然后对 45 个品种基因组 DNA 进行扩增, 结果共扩增出 86 条片段, 其中同源片段 17 条, 占带总数的 19.8%, 多态性片段 69 条, 占片段总数的 80.2%, 平均每条引物扩增出多态性片段 6.9 条, 大部分片段介于 200 ~ 2000 bp 之间。利用 NTSYS-Pc 软件计算品种间遗传相似系数(GS)和遗传距离(GD), 45 个品种之间的遗传相似系数介于 0.3818 ~ 0.9038 之间。在 GD = 0.38 处, 将 45 份抗旱性不同的大豆品种分成 3 大类, 第一类有 40 个品种, 占品种总数的 90%, 第二类包含 2 个品种, 分别是低抗旱的 6178 和不抗旱的大白眉, 第三类有 3 个品种, 分别是不抗旱的 Fayette、牛毛黄和 90-1105。在 GD = 0.29 处, 第一大类群又按照抗旱性的高低分别聚成高抗旱、中抗旱、低抗旱、不抗旱等 10 个亚类群。聚类结果反映出品种间关系与地理起源、表型形态等具有一定的相关性。

关键词:大豆; 遗传多样性; RAPD; 聚类分析

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2009)01-0026-05

RAPD Analysis of Genetic Diversity of Soybean Germplasm in Drought Resistance

WANG Zhen-dong¹, JIA Li¹, SUN Cang¹, TIAN Xiu-yan², WANG Hui¹

(¹Science and Technology Department of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning; ²Shenyang Agricultural Examination Center, Shenyang 110034, Liaoning, China)

Abstract: The genetic diversity of 45 soybean germplasms including different degrees of drought resistance were analyzed by RAPD method. Among 115 RAPD primers, 10 repetitive RAPD primers were selected to amplify the genome DNA of 45 materials. A total of 86 fragments were amplified by RAPD. There were 17 homologous fragments among all the clear and stable amplified fragments, account for 19.8 % of the total amplified fragments. In average, the amplified fragment polymorphism was 6.9 and most of the amplified fragments ranged from 200bp to 2 000 bp. The genetic similarity coefficient and genetic distance among forty-five species were calculated by using NTSYS-Pc and the coefficient ranged from 0.3818 to 0.9038. When the genetic distance was at 0.38, forty-five species were divided into three groups, there were forty species in the first group, accounting for 90%. There were two species which were 6 178 and Dabaimai in the second group, whereas the third group consisted of three species, which were Fayette, Niumaohuang and 90-1105. When the genetic distance was at 0.29, the first group could be divided into ten sub-groups. The cluster results exhibited their relationship related with the geographic origin and appearance.

Key words: Soybean; Genetic diversity; RAPD; Cluster analysis

大豆是我国重要的粮食和油料作物, 推广大豆优质高产品种是增加大豆产量的最直接方式, 然而在自然条件下, 由于环境胁迫而严重影响了作物生长发育, 很多高产品种遗传潜力难以发挥, 其中干旱

对作物的影响尤其严重, 不仅影响了作物的产量, 而且限制了作物的广泛分布^[1-2], 提高品种的抗旱能力已经成为现代大豆育种研究工作中急需解决的关键问题之一。许多学者从抗旱作物的形态结

收稿日期: 2008-09-22

基金项目: 辽宁省博士启动基金资助项目(20071060); 沈阳农业大学青年教师科研基金资助项目(2005006)。

作者简介: 王振东(1956-), 男, 教授, 博士生导师, 从事生物技术教学与研究。E-mail: zhendongwang1212@yahoo.com.cn。

通讯作者: 王惠, 博士。E-mail: wanghuisynd@yahoo.com.cn。

构^[3-5]、抗旱节水的生理生化机制^[6-7]、抗旱相关性状的分子标记和抗旱的分子生物学基础^[8-9]等方面对大豆抗旱种质进行了大量而深入的研究,为培育大豆的抗旱高产新品种提供了有益指导。以分子标记技术为基础的大豆种质资源遗传多样性研究^[10-12],也一直在培育大豆高产优质新品种研究中发挥积极意义,但迄今为止,利用分子标记技术对大豆抗旱种质资源的遗传多样性分析,却鲜见报道。

以 45 份不同程度抗旱性的大豆为材料,利用 RAPD 分子标记技术对这些材料进行分析,进而明确它们之间的遗传多样性水平,为育种工作者有针对性地选择亲本和抗旱遗传育种改良提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

45 份供试材料由沈阳农业大学植保学院及中国农科院作物所提供(表 1)。

表 1 试材料序号和名称
Table 1 Name and number of materials

| 序号 Number | 材料名 Name | 抗旱性 Drought resistance | 产地 Producing area | 序号 Number | 材料名 Name | 抗旱性 Drought resistance | 产地 Producing area |
|--------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------|--------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------|
| 1 | 开育 10 Kaiyu 10 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | 24 | 铁丰 31 Tiefeng 31 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning |
| 2 | 吉 883 Ji 883 | 不抗 Sensitive | 吉林 Jilin | 25 | 黑农 48 Heinong 48 | 不抗 Sensitive | 黑龙江 Heilongjiang |
| 3 | 蒙 81104 Meng 81104 | 高抗 High resistant | 安徽 Anhui | 26 | 晋 31 Jin 31 | 低抗 Low resistant | 山西 Shanxi |
| 4 | 晋 21 Jin 21 | 不抗 Sensitive | 陕西 Shannxi | 27 | 辽 17 Liao 17 | 低抗 Low resistant | 辽宁 Liaoning |
| 5 | 合丰 40 Hefeng 40 | 不抗 Sensitive | 黑龙江 Heilongjiang | 28 | 苏科 3 Suke 3 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning |
| 6 | 辽 13 Liao 13 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | 29 | 大白眉 Dabaimei | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning |
| 7 | 赤不流黑豆 Chibuliuheidou | 高抗 High resistant | 山西 Shanxi | 30 | 密云黑豆 Miyunheidou | 中抗 Mid resistant | 黑龙江 Heilongjiang |
| 8 | 新辽 13 Xinliao 13 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | 31 | 小黑豆 Xiaoheidou | 中抗 Mid resistant | 河北 Hebei |
| 9 | 开育 8217 Kaiyu 8217 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | 32 | 抗线 2 号 Kangxian 2 | 不抗 Sensitive | 黑龙江 Heilongjiang |
| 10 | Fayette | 不抗 Sensitive | 美国 America | 33 | 90-1105 | 不抗 Sensitive | 黑龙江 Heilongjiang |
| 11 | 6178 | 低抗 Low resistant | 辽宁 Liaoning | 34 | 比松 Bisong | 不抗 Sensitive | 美国 America |
| 12 | 嫩丰 18 Nenfeng 18 | 低抗 Low resistant | 黑龙江 Heilongjiang | 35 | 老鼠皮 Laoshupi | 中抗 Mid resistant | 陕西 Shannxi |
| 13 | 灰皮支 Huipizhi | 中抗 Mid resistant | 山西 Shanxi | 36 | 牛毛黄 Niumaohuang | 不抗 Sensitive | 吉林 Jilin |
| 14 | 辽 10 Liao 10 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | 37 | 东山 69 号 Dongshan 69 | 不抗 Sensitive | 山东 Shandong |
| 15 | 辽 15 Liao 15 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | 38 | 许庙黑豆 Xumiaoheidou | 高抗 High resistant | 河北 Hebei |
| 16 | 嫩丰 15 Nenfeng 15 | 不抗 Sensitive | 黑龙江 Heilongjiang | 39 | 山东 40A-2-8 Shandong 40A-2-8 | 不抗 Sensitive | 山东 Shandong |
| 17 | 辽 11 Liao 11 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | 40 | 花黑虎 Huaheihu | 高抗 High resistant | 河北 Hebei |
| 18 | 汾豆 62 Fendou 62 | 低抗 Low resistant | 山西 Shanxi | 41 | 丹东 4 号 Dandong 4 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning |
| 19 | 嫩丰 17 Nenfeng 17 | 低抗 Low resistant | 黑龙江 Heilongjiang | 42 | 静乐黑滚豆 Jingleheigundou | 高抗 High resistant | 山西 Shanxi |
| 20 | 沈农 8 Shennong 8 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaonign | 43 | 铁角豆 Tieheijiao | 低抗 Low resistant | 安徽 Anhui |
| 21 | Custer | 不抗 Sensitive | 美国 America | 44 | 大屯小黑豆 Datunxiaohaidou | 高抗 High resistant | 河北 Hebei |
| 22 | 商丘滚龙珠 Shangqiugunlongzhu | 不抗 Sensitive | 河南 Henan | 45 | 茶豆 Chadou | 低抗 Low resistant | 河北 Hebei |
| 23 | 开育 8157 Kaiyu 8157 | 不抗 Sensitive | 辽宁 Liaoning | | | | |

1.2 基因组的提取与纯化

以大豆干种子为材料,采用 SDS 法^[13]提取基因组 DNA。

1.3 PCR 扩增反应

1.3.1 扩增反应 反应体系为 20 μL,其中 10 × PCR Buffer 2.0 μL,dNTPs(2.5 mmol · L⁻¹)1.6 μL,Taq DNA Polymerase(5 U · μL⁻¹)0.2 μL,Primer(10 μmol · L⁻¹)0.8 μL,DNA Template 2.0 μL,

ddH₂O13.4 μL。

1.3.2 PCR 反应程序 94℃预变性 5 min,94℃变性 1 min,36℃退火 1 min,72℃延伸 1 min,35 个循环,最后 72℃延伸 5 min。

1.3.3 PCR 反应产物的检测 用 1.5% 琼脂糖凝胶(含 0.5 μg · mL⁻¹的 EB)进行电泳分离检测,电泳缓冲液采用 0.5 × TBE,点样 8 μL,电泳电压 90 V,1 h 左右,在 UVP 公司的 GDS8000 凝胶成像系统

上观察并拍照记录。

1.3.4 数据统计分析 电泳图谱中的每一个 RAPD 谱带可看作一个遗传位点,根据各分子标记的迁移率及其有无统计,有带记为“1”,无带记为“0”,仅记录清晰并重复性好的扩增条带。参照 Nei&Li 的相似性公式计算遗传相似系数 $S_{xy} = 2N_{xy}/(N_x + N_y)$, N_x 代表在材料 x 中某一引物扩增的条带数, N_y 代表在材料 y 中同一引物扩增出的条带数, N_{xy} 代表在 x 和 y 中扩增出片段长度相同的条带数。而材料间的遗传距离 $GD(\text{genetic distance}) = 1 - S_{xy}$ 。

采用 NTSYS-Pc 软件计算遗传距离及绘制亲缘关系树状图,聚类方法为类平均法(UPGMA)。

2 结果与分析

2.1 不同随机引物扩增产物的多态性分析

以灰皮支和辽 10 的 DNA 为模板对 115 个 10bp 引物进行初步筛选,筛选出 30 个多态性较好的引物,然后再用晋 31 的 DNA 为模板进行复筛,最终选出 10 个扩增条带清晰、稳定的引物(表 2),对 45 份供试材料进行正式扩增。

10 条引物共扩增出 86 条条带,其中同源片段

表 3 10 条随机引物的 RAPD 扩增结果

| Table 3 Ten random primers and their RAPD amplification results | | | | | | | |
|---|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------|
| 引物 Primer | 扩增谱带 Amplification band | 多态性谱带 Polymorphism band | 多态位点比例 Proportion of polymorphic site | 引物 Primer | 扩增谱带 Amplification band | 多态性谱带 Polymorphism band | 多态位点比例 Proportion of polymorphic site |
| W45540 | 10 | 8 | 80.0% | W45572 | 5 | 3 | 60.0% |
| S183 | 13 | 11 | 84.6% | W45534 | 7 | 5 | 71.4% |
| W45576 | 10 | 9 | 90.0% | W45537 | 9 | 7 | 77.8% |
| S1262 | 10 | 8 | 80.0% | W45577 | 8 | 7 | 87.5% |
| W45592 | 7 | 6 | 85.7% | W45549 | 7 | 5 | 71.4% |

2.2 RAPD 扩增多态性的聚类分析

从聚类图可以看出,在 $GD = 0.38$ 处可以将 45 个品种分成 3 大类,大部分品种被归为第一类,有 40 个品种,占总品种数的 90%,第二类包含两个品种,分别是低抗旱的 6178 和不抗旱的大白眉。第三类有 3 个品种,都是不抗旱品种,分别是 Fayette、牛毛黄和 90-1105。在第一类品种中,开育 10 和辽 13、嫩丰 18 和嫩丰 17,它们的相似系数分别是 0.9038 和 0.9032,说明它们之间有高度的相似性。在 $GD = 0.29$ 处,第一大类群又可分为 10 个亚类群:第一亚类群的品种有 15 个,都是不抗旱品种,分别是:开育 10、辽 13、晋 21、合丰 40、辽 10、吉 883、开育 8217、苏

表 2 RAPD 分析所用引物

Table 2 The primer used in RAPD analysis

| 随机引物 Random primer | 核苷酸序列 Sequences (5'→3') | 随机引物 Random primer | 核苷酸序列 Sequences (5'→3') |
|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| W45540 | GCGGTTTTC | S32 | TCGGCGATAG |
| S183 | GCGACTGAGG | W45534 | TAAACGAAAT |
| S117 | CACTCTCCTC | W45537 | AAAAAAGTGT |
| S1262 | GACGCCACAC | S118 | GAATCGGCCA |
| S112 | ACGCGCATGT | W45549 | TTTCCACAAC |

有 17 条,多态性条带 69 条,多态性比例为 80.2%,平均每条引物扩增出 8.6 条条带,谱带大小多数为 200~2 000 bp,也有极少数超过 2 000 bp 的。其中扩增条带数最多的引物是 S183,为 13 条条带。扩增条带数最少的引物是 W45572,为 5 条条带。谱带统计结果表明,不同引物所扩增出的条带数不同,同一引物在不同材料之间扩增出的条带数也不尽相同,这反映了各个材料之间的多态性。用 RAPD 标记确定的遗传相似系数为 0.3818~0.9038,平均相似系数为 0.6537,说明所选的材料基因型具有一定的差异。表 3 是 10 条随机引物的 RAPD 扩增结果。图 1 是选用的其中一个引物 S1262 扩增的基因组 DNA 指纹图谱。

科 3、辽 15、沈农 8、商丘滚龙珠、晋 31、嫩丰 18、嫩丰 17;第二亚类群的品种有 6 个:赤不流黑豆、大屯小黑豆、许庙黑豆、花黑虎、静乐黑滚豆、蒙 81104,该亚类群的 6 个品种全部是高抗旱的品种,彼此之间的亲缘关系非常近,从种皮颜色来看,它们都是黑色的,与形态分类有一定的相关性;第三亚类群的品种有 2 个(中抗旱),分别是小黑豆和密云黑豆;第四亚类群的品种有 2 个(中抗旱),分别是灰皮支和老鼠皮;第五亚类群的品种有 1 个是 Custer(不抗旱);第六亚类群有 1 个,是茶豆(低抗旱);第七亚类群有 6 个品种,也都是不抗旱品种,分别是:丹东 4 号、新辽 13、铁丰 31、黑农 48、嫩丰 15 和比松。第八亚类群有 4

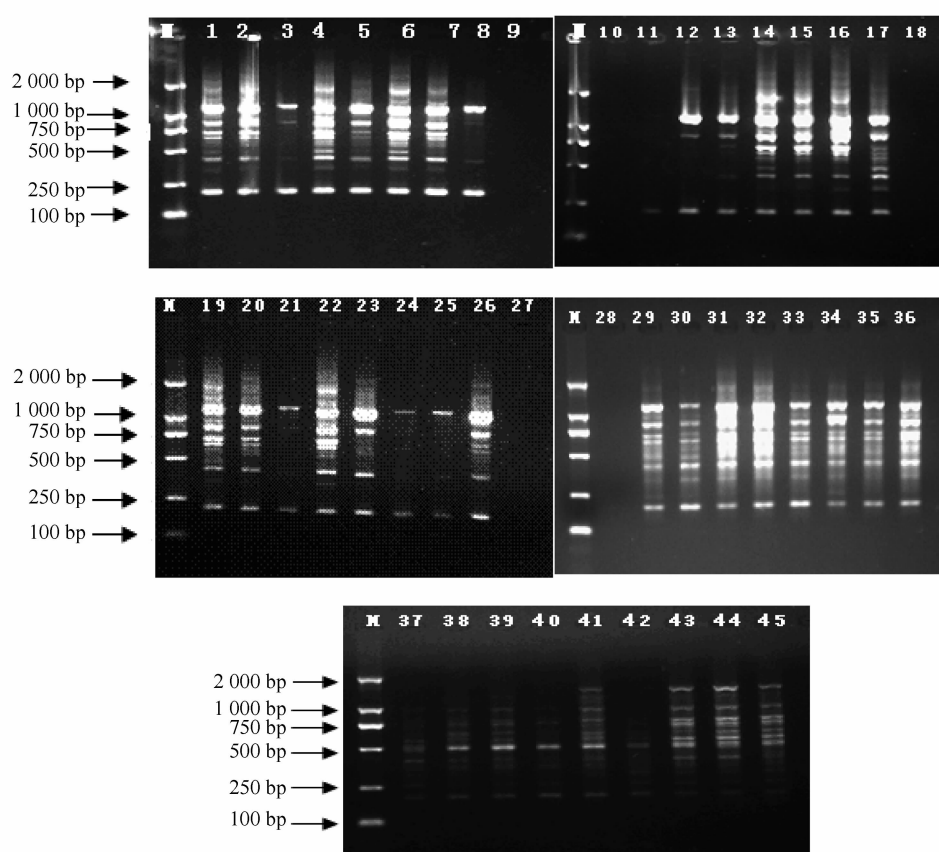


图1 用引物 S1262 扩增得到的基因组 DNA 指纹图谱

Fig. 1 Genomic DNA fingerprints amplified with the primer S1262

个品种,即辽 11、汾豆 62、辽 17、山东 A40-2-8,其中汾豆 62 和辽 17 是低抗旱的,辽 11 和山东 A40-2-8 是不抗旱的;第九亚类群有 1 个品种是开育 8157 (不抗旱);第十亚类群有 2 个品种:东山 69 (不抗旱)和铁角豆 (低抗旱)。从 RAPD 数据分析、聚类结果来看,所选用的 10 个随机引物将抗旱性不同的 45 份大豆完全可以区分开来,把高抗旱的几个品种很好的聚在一起,中抗旱的分成了 2 个亚类,但彼此之间的遗传相似系数很高,大部分种类是不抗旱的,都被化分为不同的类别,只有个别低抗旱的种类 (晋 31、铁角豆) 和不抗旱的聚在一起。也有单独自成一类的 (茶豆、6178)。

3 讨论

3.1 不同抗旱大豆的遗传多样性分析

研究发现,10 条随机引物共扩增出 86 条清晰条带,多态性条带为 69 条,多态性比例为 80.2%。45 份不同抗旱程度的大豆在许多引物扩增时均存在相同或相近的谱带,从而在分子水平上证实这些

来自不同生态地区的品种之间具有相似的遗传组成,但同时也发现有些品种间有较大的差异,在同一引物扩增出的条带中,有的品种扩增条带数多达 13 条,而有的品种仅有 2 条,充分说明品种间有很大的差异。从大豆种皮颜色看,主要有两种颜色,黑色和黄色。聚类分析结果把黑色的大豆基本上分为几个相近的小类,彼此之间的差异不大,只有商丘滚龙珠和黄色的大豆分成了一类,黑色的大豆大多都是抗旱品种,黄色大豆仅有嫩丰 17、嫩丰 18、汾豆 62、晋 31、辽 17、铁角豆、茶豆、6178,这几个品种都是低抗旱的,嫩丰 17 和嫩丰 18、晋 31 聚为一类,汾豆 62 和辽 17 聚为一类,铁角豆和不抗旱的东山 69 号归为一类,低抗旱的 6178 和不抗旱的大白眉归为一类。

3.2 不同抗旱性大豆遗传相似系数及遗传距离分析

通过对不同地区不同抗旱程度的 45 份大豆之间的遗传相似系数及遗传距离分析发现,这些品种之间亲缘关系的远近与地理分布有一定的相关性,

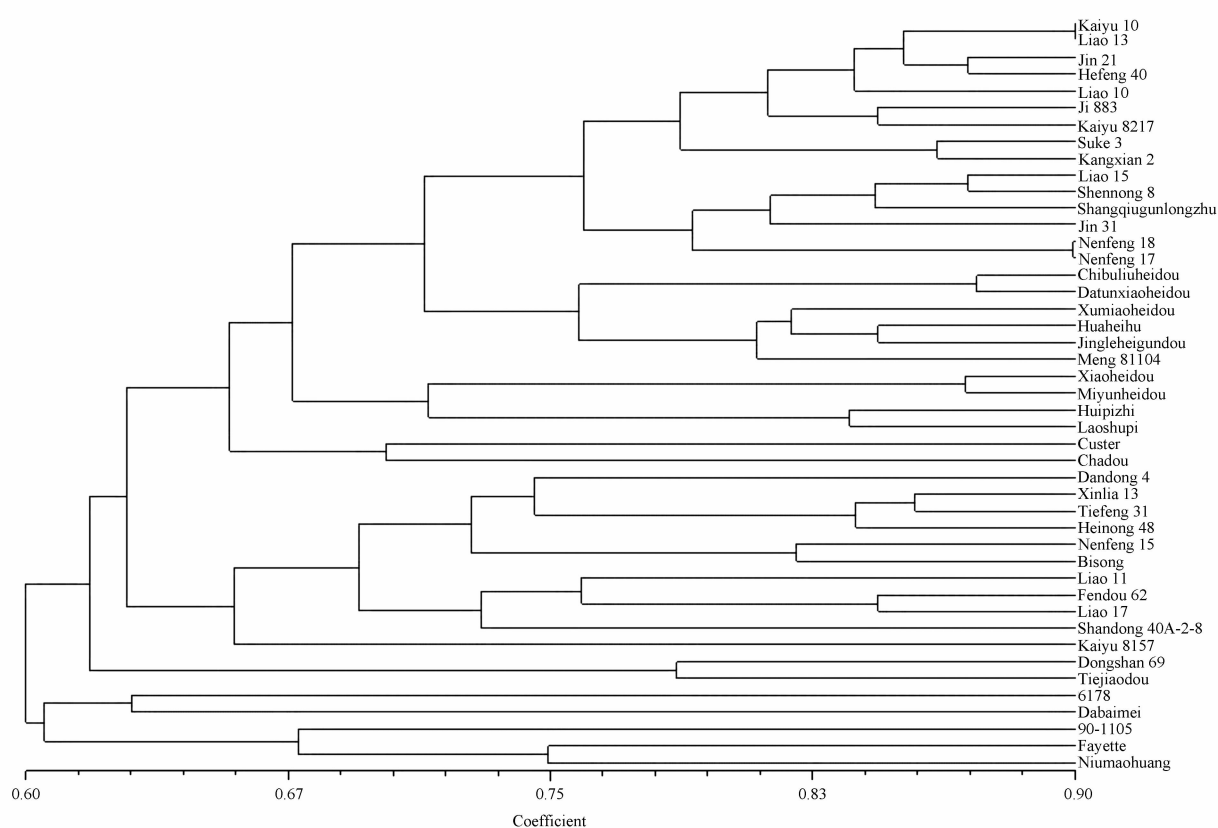


图2 45 个大豆品种 RAPD 聚类树状图

Fig. 2 Dendrogram of 45 soybean cultivars by RAPD

如开育 10 和辽 13,它们之间的遗传相似系数最大,为 0.9038,即它们之间的遗传距离最小,结果表明它们之间有高度的相似性,即亲缘关系非常近,都为不抗旱品种。又如,嫩丰 18 和嫩丰 17,两者的亲缘关系也是非常之近,遗传相似系数为 0.9032,都是低抗旱品种。许庙黑豆和黑农 48 的遗传相似系数最小,为 0.3818,即遗传距离最大,说明两者之间的亲缘关系相对较远,许庙黑豆为抗旱品种,黑农 48 是不抗旱的,可见这两个品种为新品种的培育提供了一定的空间。但也有一些超越地域限制而彼此归为一类的,如辽 17 和汾豆 62,因此,亲缘关系的远近和地理分布有一定的相关性,但并不是绝对的。至于 45 份大豆之间遗传差异与地理来源差异有无必然的联系,还可通过 ISSR、SSR 等其他分子标记加以验证。

采用 RAPD 分子标记技术对大豆的基因组 DNA 进行了多态性扩增,得到较稳定的遗传指纹图谱,检测出较高的多态性,对抗旱大豆育种组合亲本的选择和重要大豆抗旱种质资源的利用、保护具有指导意义。

参考文献

- [1] 张福锁. 环境胁迫与植物育种 [M]. 北京: 农业出版社, 1993: 120-123. (Zhang F S. Environmental stress and plant breeding [M]. Beijing: Agricultural Press, 1993: 120-123.)
- [2] 山仑, 陈国良. 黄土高原旱地农业的理论与实践 [M]. 北京: 科学出版社, 1993: 125-129. (Shan L, Chen G L. Theory and practice of dryland agriculture in the loess plateau [M]. Beijing: Science Press, 1993: 125-129.)
- [3] 刘学义, 任冬莲, 李晋明, 等. 大豆成苗期根毛与抗旱性的关系研究 [J]. 山西农业科学, 1996, 24(1): 27-30. (Liu X Y, Ren D L, Li J M, et al. Study on the relation between drought-resistance and root hair of soybean in seedling stage [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 1996, 24(1): 27-30.)
- [4] 刘莹, 王锁贵. 大豆耐旱种质鉴定及其与根系的相关研究 [J]. 河南农业科学, 2006, (9): 48-51. (Lu Y, Wan S G. Identification of drought tolerant germplasm and the correlation with root traits in soybean [glycine max (L) Merr.] [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2006, (9): 48-51)
- [5] 张家榕, 李贵全. 大豆农艺性状与抗旱性研究 [J]. 山西农业大学学报, 2006, 26(2): 143-145. (Zhang J R, Li G Q. Studies on agricultural property and drought-resistance of soybean [J]. Journal of Shanxi Agricultural University, 2006, 26(2): 143-145.)

(下转第 35 页)

- (Wang J L. The ecological types of soybean [M]. Beijing: Agricultural Press, 1991: 98-99.
- [4] 费家骅, 仲崇儒. 中国夏大豆栽培与综合利用[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1986: 52-58. (Fei J X, Zhong C R. Cultivation and utilization of Chinese summer soybean [M]. Jinan: Shandong Science and Technology Press, 1986: 52-58.)
- [5] 李卫东, 卢为国, 梁慧珍, 等. 大豆蛋白质含量与生态因子关系的研究[J]. 作物学报, 2004, 30(10): 1065-1068. (Li W D, Lu W G, Liang H Z, et al. Effects of eco-physiological factors on soybean protein content[J]. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(10): 1065-1068.)
- [6] Kitamura K, Igita K, Kikuchi A. Low isoflavone content in some early maturing cultivars, so-called "Summer type soybean" (*Glycine max* (L) Merrill) [J]. Japanese Journal of Breeding, 1991, 41: 651-654.
- [7] Tsukamoto C, Igita K. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 43: 1184-1192.
- [8] 邓聚龙. 灰色系统与农业[J]. 山西农业科学, 1985, (5): 29-33. (Deng J L. Grey system and agriculture [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 1985, (5): 29-33.)
- [9] 黄峰, 郑天存, 殷贵鸿, 等. 冬小麦杂优组合主要农艺性状的灰色关联度分析[J]. 种子, 2004, 23(7): 65-66. (Huang F, Zheng T C, Yin G H, et al. Grey correlative degree analysis of main agronomic traits in winter wheat heterosis combination [J]. Seed Science, 2004, 23(7): 65-66.)
- [10] 孙海潮, 王金红, 郭安斌. 灰色关联度分析在玉米组合鉴定试验中的应用[J]. 玉米科学, 2006, 14(2): 47-49. (Sun H C, Wan J H, Guo A B. The application of the grey related degree analysis to the maize combination and appraises test [J]. Maize Science, 2006, 14(2): 47-49.)
- [11] 吴建明, 谢正荣, 沈小妹. 灰色关联度分析法应用于水稻品种综合评判的探索[J]. 种子, 1990, (3): 33-35. (Wu J M, Xie Z R, Shen X M. The exploration of grey system analysis on rice variety estimation [J]. Seed Science, 1990, (3): 33-35.)
- [12] 李卫东, 张孟臣. 黄淮海夏大豆及品种参数[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2006: 32-41. (Li W D, Zhang M C. The summer soybean and variety parameter [M]. Beijing: Agricultural Science and Technology Press, 2006: 32-41.)
- [13] 郭瑞林. 作物灰色育种学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 72-86. (Guo R L. Crop grey breeding science [M]. Beijing: Agricultural Science and Technology press, 1995: 72-86.)
- [14] 许波, 许海涛, 王友华. 河南省大豆品种状况分析与研发对策[J]. 河南农业科学, 2007, (5): 47-49. (Xu B, Xu H T, Wang Y H. Conditions of soybean varieties and its exploitation tactics in Henan province [J]. Henan Agricultural Sciences, 2007, (5): 47-49.)
- [15] 郝瑞莲. 夏大豆主要农艺性状的灰色关联度分析[J]. 大豆通报, 2002(2): 11-12. (Hao R L. Grey correlation degree analysis of main agronomic character of soybean varieties [J]. Soybean Bulletin, 2002(2): 11-12.)
- [16] 张海泉. 大豆不同品种(系)性状与产量关系的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(3): 162-165. (Zhang H Q. Relationship between characters of different soybean varieties and yields [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2000, 31(3): 162-165.)
- [17] 张富厚, 郑跃进, 王黎明. 河南省夏大豆主要农艺性状的灰色关联度分析[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(19): 4842-4843. (Zhang F H, Zheng Y J, Wang L M. Grey Correlation degree analysis of main agronomic character of soybean varieties at Henan province [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2006, 34(19): 4842-4843.)
- [18] 李玉发, 何中国, 李淑芳, 等. 东北地区春小麦主要性状与产量间的灰色关联分析[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(1): 139-141. (Li Y F, He Z G, Li S F, et al. Grey relevant analysis between main characters and grain yield on spring wheat in north-east area [J]. Journal of Triticeae Crops, 2005, 25(1): 139-141.)

(上接第 30 页)

- [6] 高中超, 周宝库, 张喜林. 大豆对干旱胁迫生理生化的响应[J]. 大豆通报, 2007, (5): 27-30. (Gao Z C, Zhou B K, Zhan X L. The physiology and biochemistry reaction of soybean to drought stress [J]. Soybean Bulletin, 2007, (5): 27-30.)
- [7] 莫红, 翟兴礼. 干旱胁迫对大豆苗期生理生化特性的影响[J]. 湖北农业科学, 2007, 46(1): 45-48. (Mo H, Zhai X L. Effects of drought stress on protective enzymes activities and membrane lipid peroxidation in leaves of soybean seedlings [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2007, 46(1): 45-48.)
- [8] Mian M A R, Bailey M A, Ashley D A, et al. Molecular markers associated with water use efficiency and leaf ash in soybean [J]. Crop Science Society of America, 1996, 36: 1252-1257.
- [9] Schneider K A, Brothers M E, Kelly J D. Marker-assisted selection to improve drought resistance in common bean [J]. Crop Science Society of America, 1997, 37: 51-60.
- [10] 苏乔, 刘文哲, 吴军, 等. 东北地区大豆种质资源的 RAPD 聚类分析[J]. 植物研究, 1998, 18(2): 184-188. (Su Q, Liu W Z, Wu J, et al. RAPD analysis of northeast China soybean genotypes [J]. Bulletin of Botanical Research, 1998, 18(2): 184-188.)
- [11] 赵洪锬, 王玉民, 李启云, 等. 中国不同纬度野生大豆和栽培大豆 SSR 分析[J]. 大豆科学, 2001, 20(3): 172-176. (Zhao H K, Wang Y M, Li Q Y, et al. SSR analysis of wild soybean (*G. soja*) and cultivated soybean from different latitude in China [J]. Soybean Science, 2001, 20(3): 172-176.)
- [12] 林国强, 朱海生, 黄科. 福建栽培大豆品种 RAPD 标记多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(2): 130-134. (Lin G Q, Zhu H S, Huang K. Genetic diversity analysis of soybean cultivars in Fujian province by RAPD [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(2): 130-134.)
- [13] 王振东, 孙仓, 王惠. 不同方法从大豆不同材料中提取基因组 DNA 效果的比较[J]. 大豆科学, 2008, 27(1): 15-19. (Wang Z D, Sun C, Wang H. Comparison of the extraction effect of the soybean genomic DNA from the different materials and different methods [J]. Soybean Science, 2008, 27(1): 15-19.)