



利用 ISSR 标记评价黑龙江和吉林小粒大豆品种遗传多样性

郑淑波¹, 于盛竹², 赵洪锟¹, 袁翠平¹, 刘晓冬¹, 齐广勋¹, 董英山¹, 王玉民¹

(1. 吉林省农业科学院, 吉林 长春 130033; 2. 东北农业大学 资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:为评价黑龙江省和吉林省小粒大豆品种的遗传多样性,从 100 个 ISSR 引物中筛选出多态性好的引物 10 个,对来自吉林省与黑龙江省的 24 份小粒大豆品种进行遗传多样性分析。结果表明:10 个 ISSR 引物多态性信息含量为 0.211 2~0.310 3,平均为 0.249 6。ISSR 标记指数为 1.093 8~4.954 9,平均为 2.890 3。24 份小粒大豆的 DICE 相似系数为 0.666 7~0.926 2,整体平均相似系数为 0.794 3。吉林省小粒大豆品种之间的遗传相似系数范围(0.690 7~0.926 0)大于黑龙江小粒大豆品种之间的遗传相似系数范围(0.744 2~0.925 0)。聚类分析将供试材料分为 4 个类群,类群 I 和类群 II 均为吉林省小粒大豆品种,类群 III 可以分为 2 个亚群。主坐标分析与聚类分析的结果基本一致。本研究结果可为小粒大豆遗传改良提供参考。

关键词:小粒大豆;遗传多样性;ISSR 标记

Genetic Diversity of Small Seeded Soybean Varieties from Heilongjiang and Jilin Assessed by ISSR Markers

ZHENG Shu-bo¹, YU Sheng-zhu², ZHAO Hong-kun¹, YUAN Cui-ping¹, LIU Xiao-dong¹, QI Guang-xun¹, DONG Ying-shan¹, WANG Yu-min¹

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China; 2. College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: 24 different small seeded soybean varieties from Jilin and Heilongjiang provinces were analyzed by 10 ISSR markers which were selected from 100 UBC ISSR primers. The result showed that the polymorphic information content of 10 ISSR primers ranged from 0.211 2 to 0.310 3 with an average of 0.249 6. The ISSR marker indexes ranged from 1.093 8 to 4.954 9, with an average of 2.890 3. The genetic similarity coefficient between 24 small seeded soybean varieties varied from 0.666 7 to 0.926 2 with an average of 0.794 3. The genetic similarity coefficient range (0.690 7–0.926 2) of small seeded soybean varieties from Jilin province was greater than that (0.744 2–0.925 0) of small seeded soybean varieties from Heilongjiang. The average similarity coefficient of small seeded soybean varieties (0.798 2) from Jilin was slightly lower than that of small seeded soybean varieties (0.798 9) from Heilongjiang. This result indicated that the genetic variation of small seeded soybean varieties from Jilin province was more abundant. 4 clustering groups were suggested by clustering analysis. The small seeded soybean varieties in Group I and Group II were all from Jilin province, Group III could be divided into 2 subgroups. The result of principle coordinate analysis was consistent with that of cluster analysis. The results in this study could provide reference for genetic improvement of small seeded soybean.

Keywords: Small seeded soybean; Genetic diversity; ISSR marker

小粒大豆是生产纳豆和豆芽的重要原料。纳豆是日本等东南亚国家的保健食品,富含纳豆激酶、大豆异黄酮等多种功能因子,具有降低胆固醇、溶血栓、降血压、抗氧化、调节肠道、延缓衰老、预防骨质疏松及抗癌等功效^[1]。大豆豆芽则是东南亚地区传统的大众蔬菜品种,具有营养丰富、口感鲜美等特点^[2],而小粒大豆的芽用特性更佳,在营养、产量及经济等各方面都更适宜作为食用芽菜的品

种^[3]。随着人们对纳豆和豆芽消费需求的增加,小粒大豆品种选育工作也日益受到重视。

国外较早开展小粒大豆育种研究,育成了适合豆芽生产的小粒大豆品种及纳豆和豆芽兼用品种^[4]。我国小粒大豆品种选育工作起步较晚,我国的小粒大豆大部分是由栽培大豆(*G. max*)品种和野生大豆(*G. soja*)杂交选育而成,具有适应性广、耐瘠薄、抗逆性强等优点,是其它农作物不能取代的,在

收稿日期:2017-08-15

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0100201);吉林省农业科技创新工程重大项目(CXGC2017ZD014)。

第一作者简介:郑淑波(1988–),女,硕士,助理研究员,主要从事作物分子育种研究。E-mail: zhengshubo2010@126.com。

通讯作者:董英山(1963–),男,博士,研究员,主要从事大豆种质资源和大豆遗传转化研究。E-mail: ysdong@263.net;

王玉民(1968–),男,博士,研究员,主要从事大豆种质资源研究。E-mail: wangym@cjas.com。

种植结构调整中具有一定优势^[5]。吉林省农业科学院首先通过栽培大豆和野生大豆杂交育成了吉林小粒1号^[6],取代了小粒大豆地方品种白山1号。之后又育成了吉林小粒2~8号、吉育101~109等小粒大豆新品种;吉林省延边农业科学研究院育成了延农小粒1号;通化市农业科学研究院育成了通农14等小粒大豆品种。黑龙江省农业科学院作物育种研究所育成了龙小粒豆1~2号;绥化分院育成了绥小粒豆1~2号;佳木斯分院育成了合丰54和合农58。东北农业大学育成了东农50和东农60。黑龙江八一农垦大学育成了垦农小粒豆1号。辽宁省农业科学院作物研究所育成了辽小粒豆1号^[5]。这些小粒大豆品种的育成和推广对东北地区小粒大豆产业发展起到了积极的推进作用。尤其是东

农60(东农690)的育成,极大促进了东北地区专用小粒芽豆的发展,从豆芽产率和成芽率等方面来看,该品种是目前生产豆芽的最好品种^[3,7-8]。本研究在前期研究收集的黑龙江省和吉林省小粒大豆品种资源的基础上,采用ISSR分子标记技术对其遗传多样性进行评价,明确这些品种之间的亲缘关系,以期对小粒大豆遗传改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验收集了吉林省和黑龙江省审定及部分未审定但生产中有一定面积的小粒大豆品种24个(表1),对其进行遗传多样性分析。

表1 本试验所用的小粒大豆品种
Table 1 Small-seeded soybean varieties used in this study

编号	品种	育成单位	审定编号	系谱
Code	Variety	Released institution	Registered number	Pedigree
C01	吉林小粒1号	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆1990005	平顶四×GD50477
C02	吉林小粒2号	吉林省农业科学院大豆研究所	未审定	不详
C03	吉林小粒3号	吉林省农业科学院大豆研究所	未审定,有面积	公野交8537F ₂ ×公野交8527F ₂
C04	吉林小粒4号	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2003008	吉林18×(通农9号×GD50444-1)
C05	吉林小粒5号	吉林省农业科学院大豆研究所	未审定	不详
C06	吉林小粒6号	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2002021	公野9140-5×公野8648
C07	吉林小粒7号	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2004001	公野9140×黑龙江小粒豆
C08	吉林小粒8号	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2005018	公野8748×北海道小粒豆
C09	吉育101	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2007019	(野生血缘高蛋白品系×吉林28)F ₂ ×吉林小粒4号
C10	吉育102	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2007020	公野9362×青青1号
C11	吉育103	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2010007	公野9526×青青1号
C12	吉育104	吉林省农业科学院大豆研究所	吉审豆2010008	公野9317-15×吉林小粒3号
C13	吉林小粒青豆1号	吉林省农业科学院大豆研究所	未审定	不详
C14	延农小粒1号	吉林省延边农业科学研究院	吉审豆2006008	延交8302(延交75-14×50546)F ₃ ×延交75-14
C15	通农14	吉林省通化市农业科学研究院	吉审豆2001013	通农11×通化野生大豆T12
C16	垦农小粒豆1号	黑龙江八一农垦大学	不详	不详
C17	绥农小粒1号	黑龙江省农业科学院绥化分院	黑审豆2002013	绥87-5976×吉林小粒豆1号
C18	绥农小粒2号	黑龙江省农业科学院绥化分院	黑审豆2007023	绥小粒豆1号×绥99-4889
C19	龙小粒豆1号	黑龙江省农业科学院作物研究所	黑审豆2003019	黑农26×龙79-3434
C20	龙小粒豆2号	黑龙江省农业科学院作物研究所	黑审豆2008019	龙8601×ZYY5310
C21	合丰54	黑龙江省农业科学院佳木斯分院	黑审豆2008020	龙小粒豆1号(龙9777)×日本小粒豆
C22	合农58	黑龙江省农业科学院佳木斯分院	黑审豆2010020	龙小粒豆1号(龙9777)×日本小粒豆
C23	东农50	东北农业大学大豆研究所	黑审豆2007022	加拿大引进Electron小粒豆品种
C24	东农60(东农690)	东北农业大学大豆研究所	黑审豆2013023	日本小粒豆×东农小粒豆845

1.2 方法

1.2.1 大豆总 DNA 的提取及检测 采用改良的 CTAB 法^[9]提取基因组总 DNA,用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的完整性,取溶解后的 DNA 溶液 1 μL,用 TE 溶液为对照在 Thermo Scientific NanoDrop2000C 上测定 DNA 的浓度。

1.2.2 ISSR-PCR 扩增反应及电泳 采用加拿大 University of British Columbia 设计的 100 条 ISSR 引物,从供试的 24 份小粒大豆的 DNA 样品中选出 6 份用于 ISSR 引物筛选,然后采用筛选出的多态性高、条带清晰、扩增稳定的引物,对 24 份小粒大豆品种的基因组总 DNA 进行扩增。

反应总体积为 25 μL, Premix Ex Taq 12.5 μL,模板 DNA 量为 2 μL(40 ng)、引物浓度为 1.2 μmol·L⁻¹, 8.5 μL 无菌双蒸水。反应程序为:94℃ 预变性 4 min;94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 50 s, 35 个循环;72℃ 延伸 10 min;4℃ 保存。扩增产物采用 2% (W/V) 的琼脂糖凝胶(含 EB 0.5 ng·mL⁻¹)进行检测,用 2 000 bp DNA Ladder 作分子量标准,在 1×TAE 缓冲液中进行电泳分离(5 V·cm⁻¹),电泳 2 h,采用 Bio-Rad DOC2000 凝胶成像系统拍照记录电泳结果。

1.2.3 ISSR 扩增结果统计 ISSR 扩增电泳图谱中 1 个谱带可看作 1 个位点,仅记录清晰稳定重复出现的条带。根据各条带的迁移率及其有无统计得到所有位点的二元数据,有带记为“1”,无带记为“0”。输入 Excel 电子表格,由“1”和“0”组成的原始矩阵。

1.2.4 引物多态性信息含量 参照 Smith 等^[10]的方法,每个位点多态性信息含量(polymorphism information content, PIC)从 0,1 数据矩阵计算。PIC = 1 - (p_i² + q_i²),其中 p_i 为显性位点的频率(有“i”位

点的品种数/品种总数),q_i = (1 - p_i),为隐性位点的频率。每一引物的多态性信息含量为该引物所有位点的多态性信息含量的平均值,范围为 0 ~ 0.5。每个引物所有位点的 PIC 值进一步用来计算 ISSR 引物指数(SPI),为同一引物扩增所有位点的 PIC 值累加之和。

1.2.5 聚类分析和主坐标分析 采用 NTSYS2.11a 软件^[11]计算材料间的 DICE 遗传相似系数矩阵,按类平均法(unweighted pair group method using arithmetic averages, UPGMA)进行聚类分析和绘图。基于 Dice 遗传相似性系数矩阵,还进行了主坐标分析(PCoA, principal coordinates analysis),通过 Dcenter 模块进行数据转化,通过 Eigen 模块求其特征值和提取特征向量,然后生成主坐标二维图。PCoA 分析可以直观地观察各品种间的相关程度。

2 结果与分析

2.1 ISSR 扩增结果分析

通过筛选,从 ISSR 引物中筛选出 10 个扩增较稳定,条带较清晰、多态性好的引物。采用这 10 个 ISSR 引物对 24 份小粒大豆材料进行分析,引物 UBC857 扩增结果如图 1 所示。10 个 ISSR 引物共扩增出 115 条条带,其中具有多态性的条带为 88 条,多态性比率为 76.52%。10 个 ISSR 引物扩增谱带在 5 条(UBC829)到 17 条(UBC900)之间,平均为 11.5 条;多态性谱带在 3 条(UBC829)到 17 条(UBC900)之间,平均为 8.8 条;10 个 ISSR 引物扩增谱带多态性比率为 60% ~ 100%,平均为 74.60%;10 个 ISSR 引物多态性信息含量为 0.211 2(UBC816)~0.310 3(UBC864),平均为 0.249 6。10 个引物的 SPI 值为 1.093 8(UBC829)~4.954 9(UBC900),累计为 28.902 8,平均为 2.890 3(表 2)。

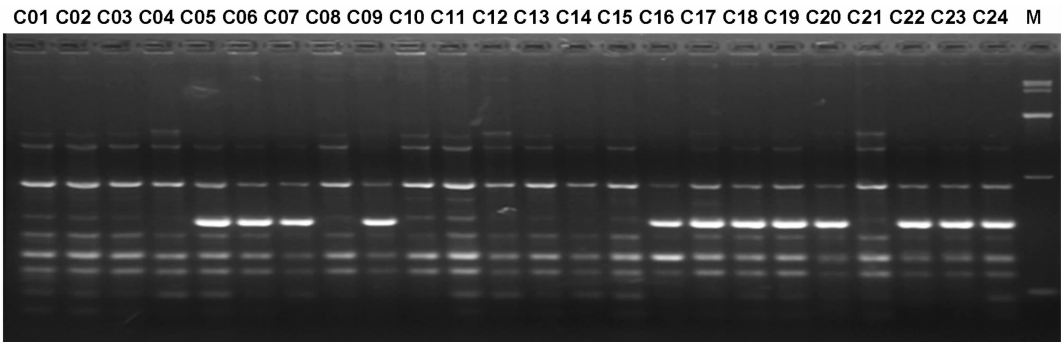


图1 引物 UBC857 对 24 份小粒大豆品种的扩增结果

Fig. 1 PCR amplification results of 24 small seeded soybean varieties detected by ISSR primer UBC857

表 2 10 个 ISSR 引物对 24 份小粒大豆扩增结果统计
Table 2 Summary of amplification results of 10 ISSR primers

引物编号	序列	统计条带数	多态性条带数	多态性比例	多态性信息含量	ISSR 引物指数
Code	Primer sequence	No. of bands scored	No. of polymorphic bands	Proportion of polymorphic bands/%	PIC	SPI
UBC809	(AG) ₈ G	13	8	61.54	0.2142	2.7847
UBC816	(CA) ₈ T	13	10	76.92	0.2112	2.7465
UBC829	(TG) ₈ C	5	3	60.00	0.2187	1.0938
UBC835	(AG) ₈ YC	13	11	84.62	0.2491	3.2396
UBC846	(CA) ₈ RT	12	9	75.00	0.3049	3.6597
UBC855	(AC) ₈ YT	12	10	83.33	0.2722	3.2674
UBC857	(AC) ₈ YG	9	5	55.56	0.2098	1.8889
UBC864	(ATG) ₆	8	7	87.50	0.3103	2.4826
UBC890	VHV(GT) ₇	13	8	61.54	0.2142	2.7847
UBC900	ACTT(CC) ₂ ACAG	17	17	100.00	0.2914	4.9549
	GTAA(CA) ₂					
合计 Total		115	88	76.52	—	28.9028
平均 Average		11.5	8.8	74.60	0.2496	2.8903

R = A, G; Y = C, T; H = A, C, T; V = A, C, G.

2.2 24 份小粒大豆品种亲缘关系分析

24 份小粒大豆材料之间的 Dice 遗传相似性系数变化范围为0.666 7 ~ 0.926 2, 整体平均相似系数为0.794 3。其中, C04 和 C23 之间的遗传相似性系数最低(0.666 7), 分别为吉林省农业科学院育成的吉林小粒 4 号和黑龙江八一农垦大学育成的垦农小粒豆 1 号; C12 和 C15 之间的遗传相似性系数最高(0.926 2), 分别为来自吉林省农业科学院育成的吉育 104 和吉林省通化市农业科学研究院育成的通农 14。吉林省小粒大豆品种之间的遗传相似系数范围(0.690 7 ~ 0.926 2) 大于黑龙江小粒大豆品种之间的遗传相似系数范围(0.744 2 ~ 0.925 0), 吉林省小粒大豆品种之间平均相似性系数(0.798 2) 略低于黑龙江省小粒大豆品种之间平均相似性系数(0.798 9), 说明吉林省小粒大豆品种的遗传变异相对比较丰富(表 3)。

表 3 黑龙江省和吉林省小粒大豆的遗传相似性系数

Table 3 Genetic similarities among varieties from Heilongjiang and Jilin

来源	平均相似性系数	相似性系数范围	品种数
Source	Average similarity	Range of similarity	No. of varieties
黑龙江省 Heilongjiang	0.7989	0.7442 ~ 0.9250	9
吉林省 Jilin	0.7982	0.6907 ~ 0.9262	15
总计 Total	0.7943	0.6667 ~ 0.9262	24

2.3 不同小粒大豆品种聚类分析

根据对 24 份小粒大豆品种 ISSR 数据进行聚类

分析的结果, 可以将供试材料分为 4 个类群(图 2)。类群 I 包括 3 份材料, 即吉林小粒 1 号(C01)、吉林小粒 2 号(C02)和吉林小粒 3 号(C03)。类群 II 包括 7 份材料, 其中有吉林省农业科学院大豆研究所育成的吉林小粒 4 号(C04)、吉育 102(C10)、吉育 103(C11)、吉育 104(C12)、吉育 105(C13), 吉林省延边农业科学研究院育成的延农小粒 1 号(C14), 吉林省通化市农业科学研究院育成的通农 14(C15)。类群 I 和类群 II 均为吉林省小粒大豆品种。类群 III 包括 10 份材料, 3 份为吉林省品种, 7 份为黑龙江省品种, 包括吉林省农业科学院大豆研究所育成的吉林小粒 7 号(C07)、吉林小粒 8 号(C08)和吉育 101(C09), 黑龙江省农业科学院作物研究所育成的龙小粒豆 1 号(C19)和龙小粒豆 2 号(C20), 黑龙江省农业科学院绥化分院育成的绥农小粒 1 号(C17)和绥农小粒 2 号(C18), 黑龙江省农业科学院佳木斯分院育成的合丰 54(C21)和合农 58(C22), 黑龙江八一农垦大学育成的垦农小粒豆 1 号(C16)。在类群 III 中, 可以分为 2 个亚群, 亚群 IIIa 包括 5 份材料, 其中, 绥农小粒 1 号和绥农小粒 2 号均含有吉林小粒 1 号血缘, 但并没能和吉林小粒 1 号聚在一个类群, 可能由于这两个品种更多地继承了黑龙江材料的遗传基础, 吉林小粒 7 号父本为黑龙江小粒豆, 经过选择后更多地继承了黑龙江小粒豆的遗传物质, 所以和黑龙江的小粒大豆品种同在类群 IIIa; 另外, 类群 IIIa 还包括吉林小粒 8 号和吉育 101。亚群 IIIb 也包括 5 份材料, 其中龙小粒

豆 1 号和龙小粒豆 2 号首先聚在一起,然后和垦农小粒豆 1 号聚在一起,然后和合丰 54 和合农 58 共同构成亚群Ⅲb,合丰 54 和合农 58 父母本相同,均为龙小粒豆 1 号和日本小粒豆杂交选育而成。类群Ⅳ包括 4 份材料,2 份为黑龙江省品种,2 份为吉林

省品种,其中有吉林省农业科学院大豆研究所育成的吉林小粒 5 号(C05)和吉林小粒 6 号(C06),东北农业大学大豆研究所育成的东农 50(C23)和东农 690(C24)。

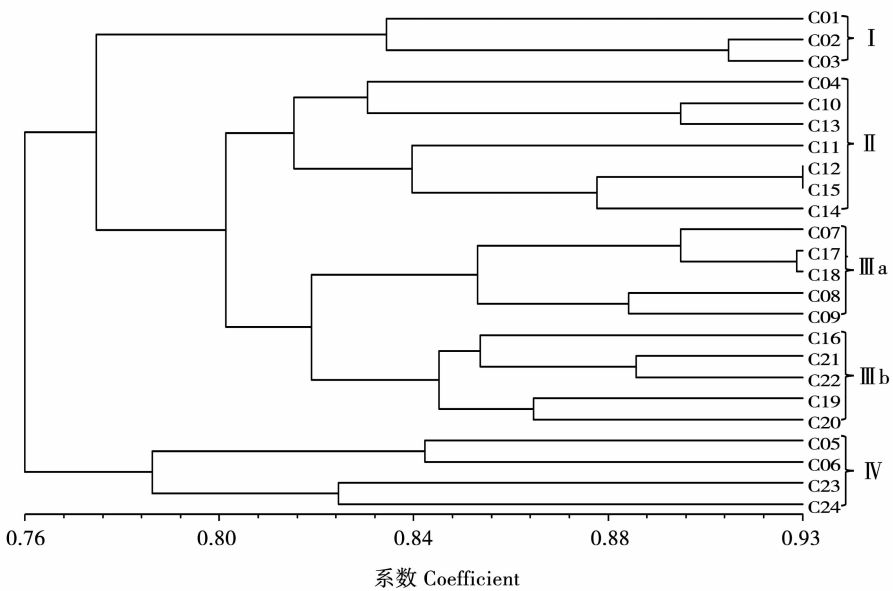


图 2 24 份小粒大豆品种聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of 24 small seeded soybean varieties based on ISSR data

基于 24 份小粒大豆品种间 DICE 遗传相似性系数矩阵的主坐标分析(PCoA)结果表明,第 1 和第 2 主向量分别可以解释 15.84% 和 12.61% 的遗传变异。根据 24 份小粒大豆材料间的空间关系(图 3),可以将 24 份小粒大豆划分成 4 个组,这与 UPG-MA 聚类结果基本一致。

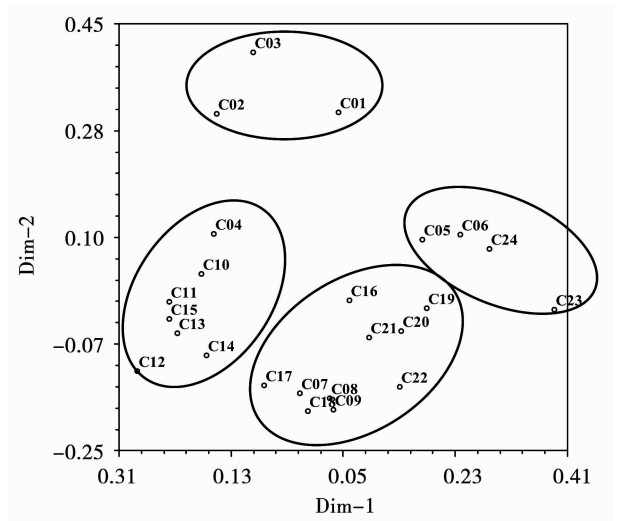


图 3 基于 ISSR 数据描述 24 份小粒大豆遗传关系的主坐标分析

Fig. 3 Two-dimensional principal coordinate analysis depicting genetic relationships among 24 small seeded soybean varieties based on ISSR data

3 讨论

大豆遗传多样性是其遗传改良的基础,同时对大豆种质资源的保存、利用和创新具有重要意义。如何在育种过程中提高小粒的遗传多样性,是小粒大豆育种工作者面前的一个重要问题。近年来对栽培大豆和野生大豆进行重测序研究,表明野生大豆遗传变异更为丰富^[12-13]。吕祝章等^[14]对 10 个含有野生大豆血缘的品种及其 17 个亲本材料进行分子标记分析的结果表明利用野生大豆与栽培大豆杂交可以拓宽大豆遗传基础、丰富大豆遗传多样性。野生大豆与栽培大豆杂交可育,不存在生殖隔离,且野生大豆百粒重小,与栽培大豆杂交更容易获得小粒后代材料;缺点是野生大豆具有蔓生、炸荚、硬石豆等不良性状。杨光宇等^[15]研究出一套不同于大豆品种间杂交的野生大豆利用技术,包括亲本选配、F₂代选择和回交改良 3 项关键技术,值得我们在野生大豆资源利用中借鉴。

我国收集国内栽培大豆资源 25 000 余份,数量居世界第一位。其中百粒重 15 g 以下的材料 12 000 余份,10 g 以下的材料 3 500 余份,这些资源经过鉴定评价后,可以直接应用到小粒大豆育种中。目前,资源库中的小粒大豆资源研究利用很少,有待加强。

另外,收集国外最新育成的小粒大豆品种,尤其是与国内材料遗传差异大的材料,更适合作为小粒大豆育种亲本,从而提高育成品种的遗传多样性。郭泰等^[16]利用小粒大豆品种龙小粒豆1号(龙品9777)与日本小粒豆进行杂交,育成了小粒大豆品种合丰54和合农58。韩国、美国和加拿大也育成了系列纳豆和芽豆品种,我国应积极引进,应用到小粒大豆育种中,培育出适合市场需求的纳豆和芽豆专用品种。

4 结 论

目前,小粒大豆仅限于制作纳豆和生产豆芽,小粒大豆种质资源作为大豆种质资源的一部分,还没有引起广泛重视。本研究结果表明,24份小粒大豆的遗传相似性系数为0.666 7~0.926 2,整体平均相似系数为0.794 3。聚类分析可以将24份材料划分为4个类群。说明来源于吉林省和黑龙江省的小粒大豆品种之间存在一定的多样性,育种中可以选择不同类群的小粒大豆品种进行杂交,由于遗传基础、地理位置以及生态条件的不同可以使后代产生更丰富的遗传变异,从而产生更多的优良的性状,便于育种选择。

致谢:感谢黑龙江省农业科学院作物育种研究所、绥化分院、佳木斯分院,东北农业大学大豆研究所,黑龙江八一农垦大学,吉林省延边农业科学研究院,吉林省通化市农业科学研究院为本研究提供小粒大豆品种。

参考文献

[1] 史延茂,田智斌,张聪莎,等. 传统发酵大豆制品功能成分的研究进展[J]. 中国调味品,2012,37(12):13-20. (Shi Y M, Tian Z B, Zhang C S, et al. The development of traditional fermented soybean products functional components[J]. China Condiment, 2012,12(2):13-20.)

[2] 肖伶俐,康玉凡,陶礼明. 不同大豆品种芽用特性比较[J]. 大豆科学,2008,27(6):955-959. (Xiao L L, Kang Y F, Tao L M, et al. Comparison analysis on characteristics of soybean growing sprouts for different soybean varieties[J]. Soybean Science, 2008, 27(6):955-959.)

[3] 王慧,马春梅,龚振平. 大豆品种与豆芽营养品质及产量的关系研究[J]. 大豆科学,2014,6(3):374-378. (Wang H, Ma C M, Gong Z P. Study of relationship between soybean varieties and bean sprouts nutritional quality and yield [J]. Soybean Science, 2014,6(3):374-378.)

[4] 花登峰,赵团结,张黎萍. 小粒专用大豆品种遗传改良研究进展[J]. 杂粮作物,2005(5):311-313. (Hua D F, Zhao T J, Zhang L P. Progress in genetic improvement of small seeded spe-

cial soybean varieties[J]. Rain Fed Crops, 2005(5):311-313.)

[5] 王昌陵,王文斌,董丽杰,等. 高产、优质小粒豆新品种辽小粒豆1号选育及配套栽培技术[J]. 辽宁农业科学,2014(2):76-77. (Wang C L, Wang W B, Dong L J, et al. Breeding of a new small seeded soybean variety of high yield and quality ‘Liao xiaolidou No. 1’ and its cultivation techniques[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2014(2):76-77.)

[6] 郑惠玉,杨光宇,韩春风,等. 利用野生大豆(*G. soja*)种质育成小粒大豆新品种“吉林小粒1号”的选育报告[J]. 吉林农业科学,1991(3):9-11. (Zheng H Y, Yang G Y, Han C F, et al. The breeding report of small seeded soybean variety ‘Jilin XiaoLi 1’ by using wild soybean germplasm[J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 1991(3):9-11.)

[7] 郑淑波,赵洪锬,刘晓冬,等. 不同小粒大豆品种豆芽特性比较[J]. 吉林农业科学,2013,38(5):81-85. (Zheng S B, Zhao H K, Liu X D, et al. Comparison on the sprout characteristics of different small seed soybean varieties[J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2013,38(5):81-85.)

[8] 郑淑波. 小粒大豆豆芽生产性能比较及遗传多样性分析[D]. 长春:吉林农业大学,2013:10-33. (Zheng S B. Comparison of small soybean sprouts production performance and analysis of genetic diversity of the small soybean varieties [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013: 10-33.)

[9] Tel-Zur N, Abbo S, Myslabodski D, et al. Modified CTAB procedure for DNA isolation from epiphytic cacti of the genera *hylocereus* and *selenicereus* (Cactaceae) [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1999, 17(3):249-254.

[10] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, et al. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): Comparisons with data from RFLPs and pedigree[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997, 95(1-2):163-173.

[11] Rohlf F J. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. NTSYS version 2.11a [M]. New York: Applied Biostatistics Inc,2002.

[12] Lam H M, Xu X, Liu X, et al. Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection [J]. Nature Genetics, 2010, 42(12):1053-1059.

[13] Zhou Z K, Jiang Y, Wang Z, et al. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean [J]. Nature Biotechnology, 2015, 33(4):408-414.

[14] 吕祝章,王文哲,梁青,等. 野生大豆育成品种与其亲本间的SSR聚类分析[J]. 湖北农业科学,2017,56(12):2215-2218. (Lyu Z Z, Wang W Z, Liang Q, et al. SSR cluster analysis between cultivars and their parents in wild soybean[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017,56(12):2215-2218.)

[15] 杨光宇,王洋,马晓萍,等. 野生大豆利用技术研究与应 [J]. 世界农业,2010(3):47-48. (Yang G Y, Wang Y, Ma X P, et al. Research and application of wild soybean utilization techniques[J]. World Agriculture, 2010(3):47-48.)

[16] 郭泰,王志新,吴秀红,等. 国外大豆资源利用与小粒大豆品种创新[J]. 中国农学通报,2009,25(22):306-310. (Guo T, Wang Z X, Wu X H, et al. The utilization of foreign soybean varieties resource and the innovation of small soybean varieties[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(22):306-310.)