

安徽省大豆根瘤菌表型多样性研究

吴萍, 何庆元, 李正鹏, 史均, 祝嫦巍, 盛伟

(安徽科技学院 生命科学学院, 安徽 凤阳 233100)

摘要:从安徽不同地区采集大豆根瘤,经分离纯化共获得32个未知菌株,对它们的营养利用、抗生素敏感性和耐逆性等112个生理生化指标进行了表型鉴定。结果表明:不同地理来源甚至同一地理来源的菌株在碳和氮源利用、抗生素抗性和耐逆性等方面存在着较大的差异。在所有的表型性状中有57项性状在不同菌株间存在差异。其中93.8%的菌株能在含3.0% NaCl的培养基上生长,78.1%的菌株能在含7.0% NaCl的培养基上生长。所有菌株在pH3的酸性条件下均不生长,在pH12碱性条件下除AH09、AH24外均能生长;在4℃处理下24h均能生长,在60℃处理下24h均不能生长;均能在含300 mg·L⁻¹赤霉素或磷霉素的培养基中生长,但对链霉素耐受性差。聚类分析表明,从表型分类上将安徽省大豆根瘤菌分为两大类群,其中有29个菌株属于一个大类群,具有较高的相似性。

关键词:大豆;根瘤菌;表型多样性

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2011)02-0219-05

Phenotypic Diversity of Soybean Rhizobia in Anhui Province

WU Ping, HE Qing-yuan, LI Zheng-peng, SHI Jun, ZHU Chang-wei, SHENG Wei

(College of Life Science, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, Anhui, China)

Abstract: Thirty-two unknown strains were obtained after isolation and purification from soybean nodules which collected in different areas of Anhui province. One hundred and twelve physiological and biochemical indexes of their nutrient utilization, antibiotic sensitivity, stress tolerance and other traits were tested. The results showed that there were much differences in carbon utilization, antibiotic resistance and stress tolerance among the strains from different areas and even the same area. Fifty-seven traits of all tested characteristics had differences among strains. 93.8% strains could grow in the medium containing 3.0% NaCl and 78.1% strains grow in the 7.0% NaCl medium. None of the strains could grow under the condition of initial pH3, but all except AH09 and AH24 could grow at initial pH12. All the strains could survive after treated at 4℃ for 24 h, but all died at 60℃ for 24 h. All strains could grow in the medium containing 300 mg·L⁻¹ gibberellin or fosfomycin, but sensitive to streptomycin. Cluster analysis showed that soybean rhizobia of Anhui province were divided into two groups, 29 strains belonged to one group, and had high similarity.

Key words: Soybean; Rhizobia; Phenotypic diversity

近年来氮肥的施用量越来越大,但氮肥的利用率却在不断下降,大部分进入地下水,使江河湖泊富营养化,致癌物质增加;不但提高了农业成本,还致使土壤板结,降低了土壤的蓄水保墒能力,加速了土地荒漠化,从而使农业生态系统的功能衰退,生态环境恶化^[1-3]。并且工业氮肥是在高温高压下生产的,消耗大量石油、煤炭等不可再生能源,同时造成对环境的污染。生物固氮是固氮微生物在常温常压下利用可再生能源(太阳光)固定空气中的氮素,使之能被生物吸收利用的过程。能增加农作物产量,在无污染的同时能改善土壤环境,降解土壤中的毒素,增加土壤的抗逆性。并且生物固

氮量是工业固氮的3倍^[4-5]。根瘤菌和豆科植物共生固氮是生物固氮中最有效的方式^[6-8]。

因此,研究大豆根瘤菌分布上的表型多样性及菌株抗逆性对于提高大豆产量,增加土壤肥力,减小环境污染等方面都有重要的理论和实际意义。我国是大豆和大豆根瘤菌的起源和分布中心,大豆根瘤菌的资源十分丰富。安徽省种植大豆历史悠久,是大豆主产区之一。由于安徽地形复杂,气候多样,自然形成了淮北、沿江和江南3个不同的大豆生态区,各地大豆品种资源丰富^[9],其复杂多样的地理与生态环境决定了与大豆根瘤菌丰富的表型多样性。该研究采用数值分类方法,初步考察安

收稿日期:2011-02-05

基金项目:安徽科技学院生物学重点建设学科资助项目(AKXK2010 2-1);安徽省教育厅自然科学基金资助项目(KJ2011Z066)。

第一作者简介:吴萍(1958-),女,副教授,主要从事生物肥料方面研究。E-mail:wupinggu@126.com。

徽地区大豆根瘤菌的分类地位及其多样性,为发掘和利用性状优良的根瘤菌种质资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

从安徽不同地区采回的新鲜根瘤,按 Vicent 的方法^[10]进行划线分离、纯化得到根瘤菌的纯培养,供试菌株来源见表 1。

表 1 未知供试菌株一览表
Table 1 List of tested unknown strains

菌株	采样地点	菌株	采样地点
Strains	Sampling site	Strains	Sampling site
AH01	凤阳县三后街村	AH17	宿州市符离集
AH02	凤阳县柳庄	AH18	天长市
AH03	凤阳县新庄	AH19	安庆市太湖县金星村
AH04	凤阳县城府镇宗楼村	AH20	六安霍邱县
AH05	凤阳县城府镇桥南村	AH21	宿州市泗县
AH06	凤阳县城府镇金董村	AH22	亳州市涡阳县
AH07	凤阳县城府镇张老庄城西村	AH23	六安市寿县
AH08	凤阳县城府镇卫前村	AH24	安庆市潜山县
AH09	凤阳县临淮镇十里铺村袁家坝生产队	AH25	安庆市太湖县白石村
AH10	凤阳县临淮镇十里铺村周圩子	AH26	蚌埠市怀远县
AH11	淮南市潘集	AH27	滁州市全椒县
AH12	淮南市宋集	AH28	滁州市凤阳县
AH13	阜阳市临泉	AH29	六安市裕安区
AH14	宿州市埇桥区	AH30	淮北市濉溪
AH15	天长市	AH31	桐城市
AH16	池州市	AH32	宿州市埇桥区

1.2 测定项目与方法

共测定表型性状 112 项,每个指标 3 次重复。

1.2.1 唯一碳源利用 分别对 21 种碳源进行了唯一碳源利用测定,包括蔗糖、乙酸钠、D-木糖、D-果糖、D-山梨醇、甘露醇、柠檬酸钠、酒石酸钠、DL-苹果酸、L-阿拉伯糖、葡萄糖、 α -乳糖、麦芽糖、L-(+)-鼠李糖、海藻糖、D-半乳糖、赤藓醇、密二糖、菊糖、棉子糖、卫矛醇(甜醇),每种碳源均以 0.1% 的质量浓度与 White 培养基混合后倒平板。将供试菌株在 YMA 液体培养基中培养 4 d 后,离心收集菌体并用生理盐水洗 3 次,配制成菌悬液,用接种环点种在各种碳源平板上,同时设 YMA 和不加碳源的对照,28℃ 倒置培养,每天记录 1 次结果。

1.2.2 唯一氮源利用 分别对 13 种氮源进行了唯一氮源利用测定,包括甘氨酸、L-精氨酸、L-谷氨酸、

L-缬氨酸、L-组氨酸、DL-丝氨酸、L-脯氨酸、L-苯丙氨酸、L-谷氨酰胺、L- α -丙氨酸、L-赖氨酸、L-异白氨酸、L-苏氨酸,将 White 培养基 A 组分中的 NaNO_3 换作所测定的氮源,使氮源质量浓度均为 0.1%,外加 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甘露醇作为碳源,将供试菌株接种在各种氮源平板上,同时设 YMA 和不加氮源的对照,28℃ 倒置培养,每天记录 1 次结果。

1.2.3 抗生素抗性测定 抗生素抗性测定 24 项,分别为青霉素、庆大霉素、赤霉素、红霉素、磷霉素、链霉素,将其溶解后,用过滤灭菌,然后分别加入冷却至 50℃ 的 YMA 培养基中混匀,制成质量终浓度为 5、50、100 和 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的平板。将供试菌株接种在抗性平板上,以未加抗生素的 YMA 平板为对照,28℃ 倒置培养,每天记录 1 次结果。

1.2.4 染料及化学试剂抗性测定 对染料的抗性和化学药物的耐受性共测定 22 项,包括 NaNO_2 、孟加拉红、亚甲基蓝、孔雀石绿、刚果红、甲基绿、甲基红、溴酚蓝、百里香酚兰、中性红、溴百里香酚兰(BTB),配制含有以上成分质量浓度分别为 0.1% 和 0.2% 的 YMA 培养基,倒平板。将供试菌株接种在抗性平板上,以未加染料和化学药物的 YMA 平板为对照,28℃ 倒置培养,每天记录 1 次结果。

1.2.5 耐酸与耐碱性测定 用 HCl 和 NaOH 分别将 YMA 培养基的 pH 值分别调至 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 和 12.0,倒平板。将供试菌株接种在不同 pH 的平板上,28℃ 倒置培养,每天记录 1 次结果。

1.2.6 耐盐性测定 用 NaCl 配制质量浓度分别为 0.1%、0.5%、0.75%、1.0%、1.25%、1.5%、1.75%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5%、4.0%、5.0%、6.0%、7.0%、8.0%、9.0% 和 10.0% 的 YMA 培养基,倒平板,然后将供试菌株接种至不同盐浓度平板上,以未加 NaCl 的 YMA 平板为对照,28℃ 倒置培养,每天记录 1 次结果。

1.2.7 生长温度范围测定 将供试菌株接种于 YMA 平板上,分别置 4、10、40、60℃ 温度下处理 24 h 后置于 28℃ 培养,以 28℃ 培养为对照,每天记录 1 次结果。

1.3 聚类分析

将供试性状转换为数字性状,如根据供试菌株的生长情况,可将能生长或在平板上形成典型菌落者记为“1”,否则记为“0”。用 NTSYS pc2.10e 软件,采用平均连锁法(UPGMA),聚类结果以树状图谱的方式表示。

2 结果与分析

2.1 生理生化性状

2.1.1 唯一碳源利用 21种唯一碳源利用的测定结果表明,所有未知菌株都能利用蔗糖、乙酸钠、D-木糖、D-果糖、D-山梨醇、甘露糖、柠檬酸钠、酒石酸钠、葡萄糖、 α -乳糖、麦芽糖、L-(+)-鼠李糖、D-半乳糖、密二糖,但对DL-苹果酸、赤藓醇、菊糖和卫矛醇(甜醇)的利用率较低,分别为21.9%、59.4%、53.1%和46.9%。除AH29菌株外其它未知菌株都能利用棉子糖,除AH24菌株外其它菌株都能利用海藻糖和L-阿拉伯糖,除AH26外其它菌株都能利用D-木糖,菌株AH21和AH23能利用全部碳源。可以看出大部分未知菌株对碳水化合物利用能力比较广泛,还有少数未知菌株对碳源利用能力较差,表明不同地理来源的菌株在碳源利用方面存在差异。

2.1.2 唯一氮源利用 13种唯一氮源利用的测定结果表明,所有未知菌株都能利用甘氨酸、L-精氨酸、L-组氨酸、DL-丝氨酸、L-脯氨酸、L-苯丙氨酸、L-谷氨酰胺、L-赖氨酸、L-异白氨酸、L-苏氨酸;96.9%的菌株能利用L- α -丙氨酸、L-谷氨酸和L-缬氨酸,因此,供试菌株对氮源利用范围比较广泛。

2.1.3 抗生素抗性测定结果 供试的6种抗生素的抗性测定结果表明,所有菌株均不能耐受5~300 mg·L⁻¹的链霉素,仅有68.8%未知菌株可以在5 mg·L⁻¹庆大霉素上生长,其它浓度均不能生长,说明了链霉素和庆大霉素对未知菌株有较强的抑制作用;AH01、AH07、AH09、AH11、AH16、AH18、AH28和AH29均能在300 mg·L⁻¹青霉素上生长,说明这些菌株对青霉素具有较强的抗性;另外, AH07、AH10、AH11、AH15、AH18、AH20、AH23、AH24、AH25、AH27、AH30、AH31和AH32在300 mg·L⁻¹的红霉素不能生长,其它浓度均能生长;所有未知菌株均可耐受5~300 mg·L⁻¹赤霉素或磷霉素。表明这些菌株对赤霉素和磷霉素具有很强的抗性。

2.1.4 染料及化学试剂抗性测定结果 供试的11种染料及化学试剂的耐受性测定结果表明,所有未知菌株对质量浓度为0.1%和0.2%百里香酚兰、溴酚蓝、刚果红和亚甲基蓝均有耐受性;96.9%的菌株对质量浓度为0.2% BTB、93.8%的菌株对质量浓度为0.2%中性红、84.4%的菌株对质量浓度为0.2%甲基红和50%的菌株对质量浓度为0.2% NaNO₂都具有较强的抗性;65.6%的菌株不能在质

量浓度为0.2%孟加拉红中生长,93.8%的菌株不能在质量浓度为0.1%和0.2%孔雀石绿生长,说明孟加拉红和孔雀石绿这2种染料对菌株具有较强的抑制作用;所有菌株均不能耐受质量浓度为0.1%和0.2%甲基绿,说明甲基绿这种染料对这些菌株具有很强的抑制作用。

2.1.5 耐酸与耐碱性测定结果 酸碱性测试表明,所有供试菌均不能耐受pH 3的生长环境,所有菌株都能在pH 10的条件下生长,除AH09菌株外都能在pH 11下的条件生长,93.8%的菌株能在pH 12环境下生长。这一结果表明,供试菌株普遍具有较强的耐碱能力,而耐酸能力较差。

2.1.6 耐盐性测定结果 对未知菌株耐盐性测试结果表明,在8.0%、9.0%和10.0%的NaCl处理下,所有未知菌株皆不能生长;但78.1%的未知菌株可耐受7.0% NaCl和6.0% NaCl,87.5%的未知菌株可耐受5.0% NaCl,90.6%的未知菌株可耐受4.0% NaCl,93.8%的未知菌株能可耐受3.0% NaCl。由此说明未知菌株具有较强的耐盐性。

2.1.7 生长温度范围测定结果 通过对菌株在温度4、10、40、60℃处理24 h后置于28℃培养的生长结果表明,在4℃时和10℃处理24 h后,所有未知菌株从第2天开始都能生长,40℃处理24 h再转入28℃培养时,除AH13、AH25不能正常生长外,其它均能生长,在60℃处理24 h再转入28℃培养时所有菌株均无生长迹象。

2.2 聚类分析结果

将测定的所有生理生化表型性状数据进行转化,以UPGMA法进行聚类分析,其结果见图1。从图1看出,菌株在89%相似水平上聚成两大群:群I,群II。群I由AH01、AH03、AH28、AH11、AH02、AH04、AH05、AH08、AH06、AH26、AH12、AH22、AH19、AH21、AH23、AH32、AH09、AH07、AH18、AH16、AH27、AH14、AH17、AH29、AH10、AH30、AH15、AH25、AH13共29种菌株组成,群II由AH20、AH24、AH31共3种菌株组成。滁州市的12株、宿州市的4株根瘤菌都聚在群I,这说明滁州市、宿州市的根瘤菌地域差异不大;而安庆市、六安市的3株根瘤菌有2株聚在群I、1株聚在群II,这说明安庆市、六安市的根瘤菌地域差异较大;而AH12和AH22的相似度为100%,可以看成是同一菌株,在做进一步试验时可以选择其中之一。这些结果与现行的分类结果相一致,说明试验在生理生化性状测定及数值分析方面的可靠性。

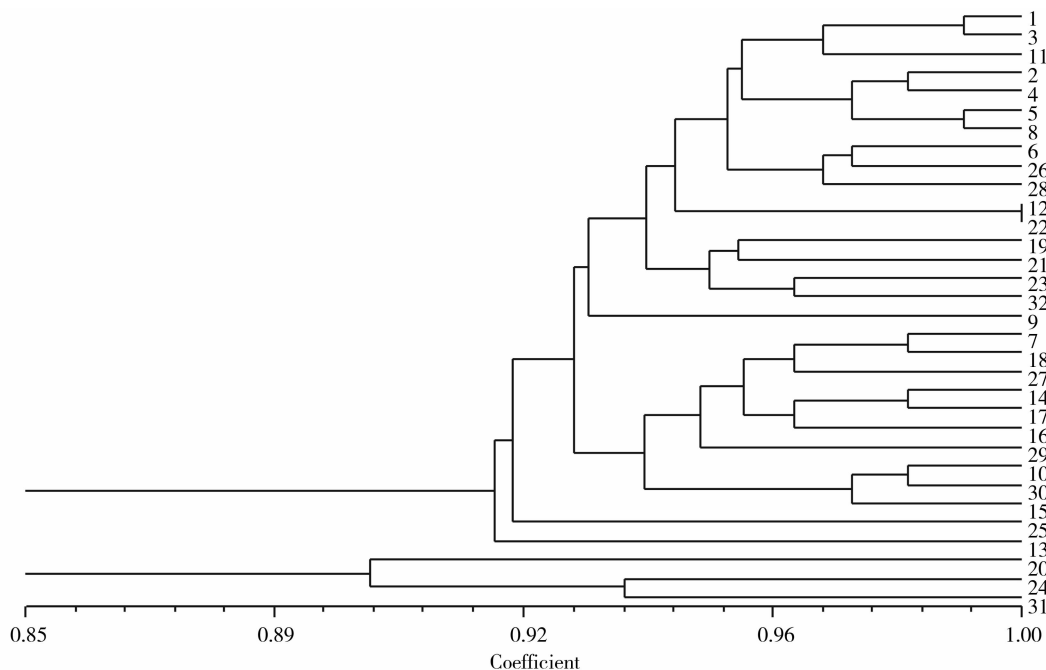


图1 供试根瘤菌数值分类树状图

Fig.1 Dendrogram of the rhizobial strains by numerical analysis

3 结论与讨论

通过对32株未知菌株112项表型性状的测定,结果显示多数菌株有较广泛的碳氮源,耐盐碱能力较强,有78.1%的菌株能耐受7.0%的NaCl,93.8%的未知菌株均能耐受3.0% NaCl。93.8%的菌株能在pH12的环境下生长。还具有较强的耐高温能力,93.8%的菌株能在40℃条件下生长。说明这些菌株具有很强的抗逆性。为充分利用这些菌株特性来对盐碱化土壤进行土壤修复,将是可持续农业发展的重要手段,但目前这方面的研究较少,有待进一步的研究。

根据112项表型性状的测定结果进行聚类分析,结果表明,32株供试菌株除了3个单独聚为一类外,其它的菌株都聚为一类,并且从表型鉴定结果来看,具有较高的相似性,特别是AH12和AH22具有完全相同的表型特征,有可能是同一菌株,但还需用分子生物学手段(如16S rDNA)做进一步的鉴定。

试验对分离到32菌株,进行了112项生理生化表型性状研究。结果表明,不同地理来源、甚至同一地理来源在碳氮源利用、抗生素抗性、耐逆性等方面存在着较大的表型多样性。来自同一地区的不同菌株在表型特征上也会有较大差异,其分类地位与地区来源没有必然的联系。如来自于六安市的AH23、AH29属群I,而AH20属群II;采集于安庆

市的AH19、AH25属群I,而AH24属群II。

根瘤菌的分布和多样性是环境因素和自身遗传特性相互作用共进化的结果,其中地域因素是主要影响因素之一^[9]。区域环境条件的改变,既影响着宿主植物的生长,也改变了根瘤菌的生长条件,造成根瘤菌种群变化和数量的增减,因而在同一环境中出现了根瘤菌表型和遗传型的多样性^[11]。在该试验中,从安徽省不同地区分离的大豆根瘤菌在表型分析上还没有按照地理来源进行聚群,如同一类群的菌株可以来源于不同的采集点,而同一个采集点分离到的菌株也可以聚在不同类群中。上述现象再次表明,根瘤菌与豆科植物之间的共生结瘤关系比较复杂,受多种因素影响。根瘤菌与豆科植物的共生关系涉及细菌、植物及环境三方面的相互作用。这一结果与陈文新等的观点相吻合^[12],与何庆元等对安徽大豆根瘤菌研究的结果一致^[9]。

通过对分离自安徽省不同地区大豆根瘤菌的表型性状的研究,获得了生长在地形复杂、气候多样的安徽大豆根瘤菌的表型特征。该研究为进一步揭示安徽大豆根瘤菌的遗传多样性和系统发育提供了前期研究数据,并为菌株的区分和保存提供了依据和菌株资源。

参考文献

- [1] 石凤翎,王明玖,王建光. 豆科牧草栽培[M]. 北京:中国林业出版社,2003:3. (Shi F L, Wang M J, Wang J G. Legumes culti-

- vation[M]. Beijing:China Forestry Press,2003:3.)
- [2] 马中雨,李俊,张永芳,等. 大豆根瘤菌与大豆品种共生匹配性研究[J]. 大豆科学, 2008, 27(2):221-227. (Ma Z Y, Li J, Zhang Y F, et al. Symbiotic matching between soybean rhizobium and soybean cultivars[J]. Soybean Science, 2008, 27(2):221-227.)
- [3] 李伟. 中国部分地区大豆根瘤菌的遗传多样性和系统发育研究[D]. 雅安:四川农业大学,2009:1-23. (Li W. Genetic diversity and phylogeny of rhizobia isolated from root nodules of soybean in parts of China[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2009:1-23.)
- [4] 刘保平,周俊初. 根瘤菌菌剂研究[J]. 湖北农业科学, 2006, 45(1):57-65. (Liu B P, Zhou J C. Study on rhizobium inoculant [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2006, 45(1):57-65.)
- [5] Feng Q W, En T W, Yong F Z, et al. Characterization of rhizobia isolated from *Albizia* spp. in comparison with microsymbionts of *Acacia* spp. and *Leucaena leucocephala* grown in China[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2006, 29(1):502-517.
- [6] 朱剑光,尉亚辉,吴艺舟. 花生慢生根瘤菌的分离与鉴定[J]. 生物技术, 2006, 16(2):40-48. (Zhu J G, Wei Y H, Wu Y Z. Isolation and identify of brady rhizobium bacterium from peanut[J]. Biotechnology, 2006,16(2):40-48.)
- [7] 徐传瑞,章建国,周俊初. 大豆根瘤菌的分离与筛选[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(6):635-638. (Xu C R, Zhang J G, Zhou J C. Screening of two high efficient rhizobia strains[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2004, 23(6):635-638.)
- [8] 赵宇枢,段玉玺,王媛媛,等. 辽宁省大豆根瘤菌资源抗逆性及生防潜力研究[J]. 大豆科学, 2009, 28(1):113-117. (Zhao Y S, Duan Y X, Wang Y Y, et al. Stress resistance and bio-control potential of soybean rhizobia resources isolated from Liaoning province[J]. Soybean Science, 2009, 28(1):113-117.)
- [9] 何庆元,王永雄,吴萍,等. 安徽地区大豆根瘤菌遗传多样性研究[J]. 激光生物学报, 2008, 17(4):514-519. (He Q Y, Yu Y X, Wu P, et al. A study on genetic diversity of soybean rhizobia isolated from Anhui Areas[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2008,17(4):514-519.)
- [10] Vincent J M. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. IBP Handbook[M]. London: Blackwell Scientific,1970.
- [11] 路敏琦,李俊,姜昕,等. 我国蚕豆根瘤菌的多样性和系统发育研究[J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(1):73-77. (Lu M Q, Li J, Jiang X, et al. Diversity and phylogeny of rhizobia isolated from the nodules of broad bean in China[J]. China Journal of Applied Environmental Biology,2007,13(1):73-77.)
- [12] 陈文新,汪恩涛,陈文峰. 根瘤菌-豆科植物共生多样性与地理环境的关系[J]. 中国农业科学, 2004, 37(1):81-86. (Chen W X, Wang E T, Chen W F. The relationship between the symbiotic promiscuity of rhizobia and legumes and their geographical environments[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37(1):81-86.)
- (上接第218页)
- [8] 高春霞,马永华,单宏,等. 1999~2005年黑龙江通过审定的大豆品种的品质及特征特性分析[J]. 黑龙江农业科学,2006(5):78-79. (Tian Z G, Fan J Y, Kang L N, et al. Quality and character analysis of soybean varieties approved from 1999 to 2005 in Heilongjiang [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2006(5):78-79.)
- [9] 于凤瑶,辛秀君,张代军,等. 大豆籽粒干物质、脂肪和蛋白质的动态积累规律研究[J]. 农业现代化研究,2009,30(5):637-640. (Yu F Y, Xin X J, Zhang D J, et al. Dynamic accumulation of dry matter, oil and protein in soybean seed[J]. Research of Agricultural Modernization, 2009,30(5):637-640.)
- [10] 张恒善,梁振实,杨玉环,等. 大豆种子脂肪和蛋白质形成及积累规律的初步研究[J]. 大豆科学,1990,9(3):191-197. (Zhang H S, Liang Z F, Yang Y H, et al. A preliminary study on the law of formation and accumulation of oil and protein of soybean seed[J]. Soybean Science, 1990,9(3):191-197.)
- [11] 朱志华,李为喜,刘三才,等. 2002年我国大豆(*Glycine max*)品种及种质资源的蛋白质和脂肪含量分析[J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(2):157-161. (Zhu Z H, Li W X, Liu S C, et al. Investigation on quality characters of soybean(*Glycine max*) varieties and germplasm grown in 2002 [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2003, 4(2):157-161.)
- [12] Qiu L J, Xie H, Chang R Z, et al. Utilization of genetic diversity on establishing Chinese soybean (*G. max*) core collection [C]. Proceedings, China & International Soybean Conference & Exhibition, 2002:21-22.
- [13] 彭宝,赵丽梅,王曙明,等. 吉林省育成大豆品种脂肪和蛋白质含量的分析[J]. 吉林农业科学, 2006, 31(5):8-10. (Peng B, Zhao L M, Wang S M, et al. Analysis on the contents of oil and protein of soybean varieties developed by crossbreeding in Jinlin province[J]. Journal of Jinlin Agricultural Sciences, 2006, 31(5):8-10.)
- [14] 王秀荣,廖红,严小龙. 应用近红外光谱分析法测定大豆种子蛋白质和脂肪含量的研究[J]. 大豆科学,2005,24(3):199-201. (Wang X R, Liao H, Yan X L. Study on analyzing soybean protein and oil contents by near-infrared spectroscopy[J]. Soybean Science, 2005,24(3):199-201.)
- [15] 梁慧珍,王树峰,余永亮,等. 大豆异黄酮与脂肪、蛋白质含量基因定位分析[J]. 中国农业科学,2009,42(8):2652-2660. (Liang H Z, Wang S F, Yu Y L, et al. QTL mapping of isoflavone, oil and protein content in soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009,42(8):2652-2660.)