



大豆苗期耐铝毒特性综合评价及种质筛选

周会汶¹, 黄朝平², 汪子怡², 吴兰花², 宋英培¹, 王瑞凯², 吴 杨¹, 王春娥¹

(1. 九江学院 江西油茶研究中心, 江西 九江 332005; 2. 九江学院 药学与生命科学学院, 江西 九江 332005)

摘 要: 铝毒是酸性土壤中一种主要的非生物胁迫, 严重影响大豆的生长与产量形成, 筛选耐铝毒大豆种质对耐铝毒研究具有重要意义。为筛选苗期铝毒处理适宜浓度, 采用 6 种铝离子浓度 (0, 50, 100, 150, 200 和 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理 7 种大豆种质; 使用已筛选适宜铝毒浓度处理 256 份遗传变异广泛的大豆种质, 以主根相对伸长率、相对总根长、相对总根表面积、相对平均根直径、相对总根尖数为评价指标, 采用相关性分析、主成分分析、隶属函数值和聚类分析方法综合评价各种质苗期耐铝毒性。结果表明: 在 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下, 主根伸长量、总根长分别较对照 (0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 下降 19.10% 和 32.00%, 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抑制程度过大, 选择适宜铝毒处理浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。铝毒胁迫对不同大豆种质各单项耐铝毒指数存在不同程度影响, 与对照相比, 主根伸长量、总根长、总根表面积和总根尖数平均值分别下降了 33.24%、43.75%、37.52% 和 42.06%, 平均根直径增加了 6.05%。基于综合评价值聚类分析, 将 256 份大豆种质分为 5 个耐受等级, 分别为耐铝毒性强种质 (23 份)、耐铝毒中等种质 (53 份)、耐铝毒一般种质 (128 份)、铝毒敏感种质 (41 份)、铝毒强敏感种质 (11 份)。本研究筛选出的耐铝毒性强与铝毒强敏感大豆种质, 可为大豆耐铝毒性育种和耐性机制研究提供种质资源。

关键词: 大豆; 耐铝毒; 种质评价; 根长; 聚类分析

Comprehensive Evaluation of Aluminum Toxicity Tolerance and Screening of Germplasms During Seedling Stage in Soybean

ZHOU Hui-wen¹, HUANG Chao-ping², WANG Zi-yi², WU Lan-hua², SONG Ying-pei¹, WANG Rui-kai², WU Yang¹, WANG Chun-e¹

(1. Institute of Jiangxi Oil-tea Camellia, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China; 2. College of Pharmacy and Life Science, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China)

Abstract: Aluminum (Al) toxicity is a major abiotic stress in acidic soils, which seriously affects the growth and yield formation of soybean. It is great significance for the research of Al toxicity tolerance by screening of Al-tolerant soybean germplasms. In this study, to screen the optimum Al^{3+} concentration during seedling stage, seven soybean germplasms were treated with six different concentration (0, 50, 100, 150, 200 and 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Then, 256 soybean germplasms with extensive genetic variation were treated with the optimum concentration. The relative main root elongation, relative total root length, relative total root surface area, relative average root diameter, and relative total root tip number were used as evaluation indicators for comprehensive evaluation of Al toxicity tolerance during seedling stage by correlation analysis, principal component analysis, principal component analysis and cluster analysis. The results showed that the main root elongation and total root length were respectively decreased by 19.10% and 32.00% under 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ compared with the control (0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), and 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ inhibited too great, so 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ was the optimum concentration for germplasms treatment. Al toxicity stress had different degrees of influence on the individual Al tolerance index of different soybean germplasms at seedling stage. Compared with the control, the main root elongation, total root length, total root surface area, total root tip number decreased by 33.24%, 43.75%, 37.52% and 42.06%, and the average root diameter increased by 6.05%. Based on the cluster analysis of comprehensive evaluation values, 256 soybean germplasms were divided into five tolerance grades, which were the strong Al toxicity tolerance germplasms (23 accessions), the medium Al toxicity tolerance germplasms (53 accessions), the normal Al toxicity tolerance germplasms (128 accessions), the Al toxicity sensitive accessions (41 accessions), and the highly Al toxicity sensitive accessions (11 accessions). In this study, the soybean germplasms with strong aluminum toxicity resistance and strong aluminum toxicity sensitivity was screened, which can provide germplasm resources for the breeding and resistance mechanism study of aluminum toxicity of soybean.

Keywords: soybean; tolerance to aluminum toxicity; germplasm evaluation; root length; cluster analysis

土壤酸化是世界范围内影响农业生产的重要限制因素之一。全世界 30% ~ 40% 耕地和 70% 潜在耕地为酸性土壤^[1]。近年来, 随着大气酸沉降不断加剧和肥料过量施用, 土壤酸化进程显著加

收稿日期: 2022-06-16

基金项目: 国家自然科学基金 (32260484, 31760392, 31360339); 江西省豆类产业技术体系建设项目 (JXARS-24-01); 江西省教育厅科学技术项目 (GJJ190924)。

第一作者: 周会汶 (1990—), 男, 博士, 讲师, 主要从事大豆遗传育种及抗逆性分子机理相关研究。E-mail: zhouhuiwen0320@126.com。

通讯作者: 王春娥 (1966—), 女, 博士, 教授, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: soybeanw@126.com。

快^[2]。当土壤 pH 值低于 5.5 时, Al^{3+} 、 $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ 和 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 等可交换性铝将从硅酸盐或氧化物中以指数递增的方式释放出来,对作物根系产生毒害作用,从而影响作物的生长与产量^[2-5]。

大豆作为重要的豆类作物,是世界上产量最高的油料作物和重要的植物蛋白质来源,为人类和动物提供了大量的食用油和高蛋白质饲料,在我国国民经济中起着重要的作用。适宜大豆生长的酸性土壤 pH 值在 6.5 以上,土壤中交换性铝小于 $0.13 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、铝饱和度小于 15%^[6]。我国约 17% 大豆种植于南方红壤酸土区,而南方地区土壤的平均 pH 值已由 20 世纪 80 年代的 5.37 下降至 5.14(粮食作物种植土壤)和 5.07(经济作物种植土壤),已然形成了铝毒胁迫^[7-8]。研究表明大豆对铝毒胁迫的耐受能力存在显著的基因型差异^[9-10],利用我国丰富的大豆种质资源,选育耐铝毒的大豆品种是实现高产、提高品种稳定性的关键。

对大豆种质资源进行耐铝毒评价是资源利用的前提和基础。刘莹等^[9]在苗期以株高、叶龄、根干重和茎干重作为考察性状,筛选出了 7 份耐铝毒、3 份强敏感性大豆种质。齐波等^[10]采用苗期营养沙培的方法,以株高、叶龄、地上部干重和地下部干重为评价指标,遴选出 15 份强耐铝毒、5 份强敏感大豆种质。刘德兴等^[11]采用简单钙培养法通过考察主根相对伸长率筛选得到了 12 份耐铝种质,后经全营养液法、土培法进一步确定了 1 份耐铝性较强的大豆种质。近几年有关大豆耐高温^[12-13]、耐干旱^[14-15]、耐盐^[16]、耐低磷^[17]等种质筛选均有报道,而关于耐铝毒大豆种质筛选鲜有报道。且随着土壤酸化的加剧,亟需筛选耐铝毒大豆为种质创新提供种质资源。

在苗期耐铝毒评价中,李德华等^[18]认为根相对伸长率是一种快速简便、准确可靠的耐铝毒性鉴定指标。在耐铝毒相关转录组等研究中,诸多研究以主根相对伸长率作为耐铝毒评价指标^[19-20],且在铝毒胁迫下根系为积累铝离子的主要组织^[4]。因此,可通过根部变化进行耐铝毒评价。结合前人研究结果,本研究以水培法对 256 份广泛收集的大豆种质进行苗期耐铝毒评价,考察主根长、总根长、总根表面积、平均根直径和总根尖数等 5 个根系性状,通过相关性分析、主成分分析、隶属函数值和聚类分析等方法,对大豆种质苗期耐铝毒性进行综合评价,以期筛选出苗期耐铝毒大豆种质,为酸性土壤地区大豆耐铝毒品种的选择和种植、耐铝毒品种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以具有不同遗传背景、地理来源的 256 份大豆种质为材料,其中安徽 7 份、北京 22 份、福建 10 份、广东 7 份、广西 25 份、河北 44 份、河南 5 份、湖北 24 份、湖南 18 份、吉林 5 份、江苏 34 份、江西 2 份、辽宁 3 份、山东 14 份、山西 2 份、上海 3 份、四川 19 份、云南 5 份、浙江 4 份、重庆 3 份,所有种质来自于九江学院大豆研究中心,编号为 S001-S256。

1.2 方法

1.2.1 适宜 AlCl_3 胁迫处理浓度筛选 从 256 份种质中随机挑选 7 份(南农 39、南农 413、南农 46、南农 513、南农 99-6、中豆 43、中豆 55)作为供试材料。选择籽粒饱满、大小均匀的种子,均匀播种于 $25 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$ 正方形花盆中,第 5 天将长势基本一致的幼苗转移至 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液 ($\text{pH} 4.3 \pm 0.01$) 中过渡,24 h 后转移至不同浓度的 AlCl_3 溶液 ($\text{pH} 4.3 \pm 0.01$) 中进行处理,设置 6 种 AlCl_3 浓度梯度,0 (CK),50,100,150,200 和 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,各处理溶液中含 1/16 Hoagland 营养液和 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液。每个处理 4 个单株,3 次重复。置于光照培养室中培养 7 d,温度为 $26^\circ\text{C}/22^\circ\text{C}$ (昼/夜)、相对湿度 75%、14 h (光)/10 h (暗)。在铝毒处理前、结束后分别测量各植株主根长,经 WinRHIZO™ LA2400 根系扫描系统获得各单株总根长,根据 CK (0) 与各浓度处理下主根伸长量、总根长的差异及平均值变化率筛选适宜浓度。

1.2.2 铝毒胁迫及大豆根性状测量 用筛选的适宜 AlCl_3 浓度 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 于苗期分别处理 256 份大豆种质,以不加 AlCl_3 处理为对照,按照上述处理方式。分别于铝毒处理前、处理后测量各植株的主根长,同时使用根系扫描仪分析各种质单株的总根长、总根表面积、平均根直径、总根尖数。

1.2.3 耐铝毒指数计算 参照武海燕等^[17]和熊洁等^[21]方法,以各大豆种质 5 个性状为基础数据,计算各种质的相对主根长伸长率、相对总根长、相对总根表面积、相对平均根直径、相对总根尖数等 5 个耐铝毒指数 (Aluminum toxicity tolerance Indicators, AI)。

计算公式分别为:主根相对长伸长率 = (铝毒处理后主根长 - 铝毒处理前主根长) / (对照处理后主根长 - 对照处理前主根长);相对总根长 = 处理总根长 / 对照总根长;相对总根表面积 = 处理总根表面积 / 对照总根表面积;相对平均根直径 = 处理

平均根直径/对照平均根直径;相对总根尖数 = 处理总根尖数/对照总根尖数。

1.2.4 耐铝毒性综合评价 基于各 AI 指数计算种质各单项耐铝毒指数隶属函数值并进行主成分分析,单个指标隶属函数值 $R(AI_{ij}) = (AI_{ij} - AI_{j\min}) / (AI_{j\max} - AI_{j\min})$ 。式中, AI_{ij} 表示第 j 个种质第 i 个指标的单项耐铝毒指数, $AI_{j\max}$ 和 $AI_{j\min}$ 分别表示所有种质中单个指标的耐铝毒指数的最大值和最小值。分别计算各综合指标的权重和铝毒耐性综合评价值(Aluminum toxicity tolerance value, A), 综合指标的权重 $\omega_i = P_i / \sum_1^k P_i, i = 1, 2, 3, \dots, k$, 各种质综合指标对铝毒耐性综合评价值 $A_i = \sum_{i=1}^n [R(X_i) \times \omega_i], i = 1, 2, 3, \dots, k$ 。式中, ω_i 表示第 i 个主成分在所有主成分中的贡献率; P_i 表示经主成分分析得到各主成分贡献率, k 表示选取的主成分个数。基于各种质的综合评价值(A 值), 采用最大距离法进行聚类分析。

1.3 数据分析

采用 Excel 2013 统计处理原始数据, 使用 SPSS 19.0 对处理后的数据进行方差分析、相关性分析、主成分分析与聚类分析。

表 1 不同铝浓度下各种质主根伸长量与总根长的变化

Table 1 Changes of the main root elongation and total root length of various under different Al concentrations										
AlCl ₃ 浓度										平均变化率 Change rate of mean/%
AlCl ₃	南农 39	南农 413	南农 46	南农 513	南农 99-6	中豆 43	中豆 55	均值		
concentration/ (μmol·L ⁻¹)	Nannong 39	Nannong 413	Nannong 46	Nannong 513	Nannong 99-6	Zhongdou 43	Zhongdou 55	Mean		
主根伸长量 Main root elongation/cm	0	18.32 ± 2.07 a	16.96 ± 0.58 a	15.50 ± 0.73 a	11.31 ± 0.19 a	13.91 ± 0.63 a	15.15 ± 0.43 a	12.66 ± 0.25 a	14.83	0
	50	19.36 ± 0.97 a	14.77 ± 0.86 b	17.54 ± 0.90 b	15.35 ± 0.45 b	17.90 ± 0.43 b	14.77 ± 0.77 a	17.48 ± 0.02 b	16.74	12.89
	100	13.98 ± 1.03 b	12.78 ± 0.26 c	11.19 ± 0.81 c	12.18 ± 0.40c	12.56 ± 0.43 c	9.52 ± 0.48 b	11.77 ± 0.45 c	12.00	-19.10
	150	13.55 ± 0.37 b	10.31 ± 0.64 d	11.62 ± 0.47 c	9.75 ± 0.35 d	11.90 ± 0.28 c	8.51 ± 0.86 b	9.30 ± 0.09 d	10.71	-27.80
	200	11.50 ± 3.55 c	6.61 ± 1.02 e	8.19 ± 1.20 d	5.85 ± 0.12 e	8.82 ± 0.62 d	7.05 ± 0.89 c	6.21 ± 0.08 e	7.75	-47.76
	300	2.54 ± 0.17 d	2.30 ± 0.12 f	2.06 ± 0.10 e	1.61 ± 0.06 f	3.25 ± 0.23 e	2.96 ± 0.04 d	2.47 ± 0.16 f	2.46	-83.44
总根长 Total root length/cm	0	362.30 ± 23.38 a	330.26 ± 30.68 a	282.50 ± 17.55 a	238.30 ± 12.43 a	336.92 ± 2.73 a	261.73 ± 5.31 a	306.68 ± 28.18 a	302.67	0
	50	307.92 ± 28.21 b	292.05 ± 6.71 a	285.00 ± 1.90 a	314.56 ± 1.87 b	398.33 ± 23.64 b	238.35 ± 18.80 b	272.24 ± 6.14 b	301.21	-0.48
	100	279.96 ± 10.27 b	166.43 ± 7.62 b	243.90 ± 15.55 b	228.76 ± 3.06 a	243.08 ± 6.45 c	129.65 ± 8.31 c	148.96 ± 4.29 c	205.82	-32.00
	150	155.07 ± 19.04 c	91.52 ± 6.16 c	179.62 ± 4.29 b	130.64 ± 9.65 c	137.82 ± 55.70 c	95.50 ± 12.49 d	148.36 ± 1.94 c	134.08	-55.70
	200	117.73 ± 6.10 d	92.54 ± 3.43 c	91.08 ± 4.10 c	94.31 ± 10.83 d	123.57 ± 3.39 c	59.53 ± 1.31 d	87.03 ± 5.44 d	95.11	-68.58
	300	51.19 ± 3.61 e	58.71 ± 1.74 d	60.14 ± 6.55 d	55.66 ± 3.26 e	54.55 ± 1.91 d	47.90 ± 0.40 d	58.91 ± 2.97 e	55.29	-81.73

注:平均值变化率 = (处理组平均数 - 对照组平均数)/对照组平均数。同列中标有不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。下同。
Note: Change rate of mean = (the mean in treatment-the mean in control)/the mean in control. Different lowercase in the same column mean significant difference between groups ($P < 0.05$). The same below.

2.2 苗期铝毒胁迫对大豆种质根部性状的影响

如表 2 所示,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl₃ 在苗期对 256 份大豆种质进行铝毒胁迫处理后,对照组、处理组中各性状变异系数范围分别为 13.19% ~ 47.03% 和 11.77% ~ 44.04%, 变异系数由大到小依次为根

2 结果与分析

2.1 苗期适宜铝毒胁迫浓度的筛选

如表 1 所示,在不同铝浓度胁迫处理下,7 个大豆种质的主根伸长量和总根长均受到不同程度影响,不同种质间存在差异。

对于主根伸长量,50 与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl₃ 处理相比,4 个种质主根伸长量显著增加,1 个种质主根伸长量显著降低;100 与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl₃ 处理相比,7 个种质的主根伸长量均显著降低。

对于总根长,50 与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl₃ 处理相比,3 个种质总根长显著降低,2 个显著提高,2 个无显著变化;100 与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl₃ 处理相比,6 个种质的总根长显著降低;150 与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl₃ 处理相比,7 个种质的总根长显著降低。

与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 相比,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下平均主根伸长量和总根长分别下降 19.10% 和 32.00%, 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理分别下降 27.80% 和 55.70%, 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上浓度抑制程度过大。综合考虑各处理主根伸长量和总根长的差异显著性和平均值变化率,适宜供试铝毒处理浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

尖数、主根伸长量、总根长、总根表面积、平均根直径。与对照相比,铝毒胁迫下主根伸长量均值、总根长均值、总根表面积均值、根尖数均值分别下降了 33.24%、43.75%、37.52% 和 42.06%, 平均根直径均值增加 6.05%。

表 2 铝毒胁迫下大豆种质各根性状的变化

Table 2 Changes of each root trait of soybean germplasms under Al toxicity stress

项目 Item		主根伸长量 Main root elongation/cm	总根长 Total root length/cm	总根表面积 Total root surface area/cm ²	平均根直径 Average root diameter/mm	根尖数 Total root tip number
对照 Control	最大值 Max.	22.95	709.17	84.70	0.71	2266.67
	最小值 Min.	3.51	92.03	17.05	0.32	246.67
	均值 Mean	10.68	292.25	44.47	0.53	596.21
	标准差 SD	3.34	84.82	10.65	0.07	280.38
	变异系数 CV/%	31.23	29.02	23.95	13.19	47.03
处理 Treatment	最大值 Max.	18.76	371.48	62.85	0.72	1178.00
	最小值 Min.	2.70	50.08	7.70	0.38	100.33
	均值 Mean	7.13	164.40	27.78	0.56	345.45
	标准差 SD	2.56	53.51	8.53	0.07	152.14
	变异系数 CV/%	35.97	32.55	30.71	11.77	44.04
平均值变化率 Change rate of mean/%		-33.24	-43.75	-37.52	6.05	-42.06

由表 3 可知,主根相对伸长率、相对总根长、相对总根表面积、相对总根尖数 4 个耐铝毒指数的平均值均小于 1,相对平均根直径大于 1。5 个耐铝毒指数在大豆种质间差异较大,表明这些性状在铝毒胁迫下不同种质间变化不同。5 个耐铝毒指数的变异系数为 11.55% ~ 46.80%,从大到小依次为相对总根尖数、相对总根长、相对总根表面积、主根相对伸长率和相对平均根直径。

表 3 铝毒胁迫下各根性状的耐铝毒指数 (AI)

Table 3 The AI toxicity tolerance indicators (AI) of each root trait under Al toxicity stress

项目 Item	主根相对伸长率 Relative main root elongation	相对总根长 Relative total root length	相对总根表面积 Relative total root surface area	相对平均根直径 Relative average root diameter	相对总根尖数 Relative total root tip number
最大值 Max.	1.2347	1.1844	1.1683	1.5169	1.6328
最小值 Min.	0.2954	0.1683	0.2634	0.8135	0.1240
均值 Mean	0.6846	0.5914	0.6411	1.0696	0.6399
标准差 SD	0.1896	0.2086	0.1876	0.1235	0.2994
变异系数 CV/%	27.70	35.27	29.27	11.55	46.80

2.3 苗期铝毒胁迫下各耐铝毒指数的相关性分析

如表 4 所示,各性状的耐铝毒指数之间存在一定相关性,其中,主根相对伸长率、相对总根长、相对总根表面积、相对总根尖数 4 个耐性系数之间呈极显著正相关,4 个性状均与相对平均根直径呈负相关性。

表 4 各性状耐铝毒指数的相关系数

Table 4 Correlation coefficients of AI among each trait

指标 Index	主根相对伸长率 Relative main root elongation	相对总根长 Relative total root length	相对总根表面积 Relative total root surface area	相对平均根直径 Relative average root diameter	相对总根尖数 Relative total root tip number
主根相对伸长率 Relative main root elongation	1				
相对总根长 Relative total root length	0.545 a	1			
相对总根表面积 Relative total root surface area	0.461 b	0.906 a	1		
相对平均根直径 Relative average root diameter	-0.442 c	-0.683 b	-0.465 a	1	
相对总根尖数 Relative total root tip number	0.408 d	0.541 c	0.482 b	-0.503 a	1

续表 6

排序	种质	A 值	排序	种质	A 值	排序	种质	A 值	排序	种质	A 值
Order	Germplasm	A value	Order	Germplasm	A value	Order	Germplasm	A value	Order	Germplasm	A value
31	中豆 57	1.270	95	JZ2018DD010	0.859	159	桂春 8 号	0.617	223	桂春 15 号	0.238
32	中豆 39	1.259	96	中豆 43	0.858	160	白花冬黄豆(夏)	0.616	224	郑 7051	0.182
33	贡豆 12	1.246	97	YN-03	0.857	161	南农 413	0.615	225	油 6019	0.175
34	铁丰 3 号	1.234	98	沧豆 11 号	0.854	162	石豆 5 号	0.613	226	科丰 4 号	0.171
35	冀豆 13	1.219	99	徐豆 13	0.852	163	油春 1013	0.611	227	安豆 203	0.162
36	吉育 213	1.215	100	2015453374	0.852	164	南农 1606	0.609	228	淮豆 11	0.152
37	冀豆 12	1.213	101	皖豆 39	0.846	165	贡豆 13	0.606	229	邯豆 24 号	0.148
38	中黄 66	1.207	102	P450521004	0.837	166	邯豆 9 号	0.600	230	诱变 30	0.136
39	科丰 7 号	1.204	103	粤春 2018-1	0.833	167	华春 12 号	0.583	231	邯豆 12 号	0.124
40	JZ2018DD006	1.188	104	P45252605	0.832	168	林农 17	0.568	232	野竹黑豆(夏)	0.118
41	石豆 2 号	1.171	105	灌豆 1 号	0.831	169	沧豆 10 号	0.564	233	华春 2 号	0.116
42	石大豆 2 号	1.166	106	盐豆 1501	0.827	170	N58	0.562	235	贡豆 15	0.114
43	贡选 1 号	1.165	107	2016453172	0.825	171	2015453236	0.553	234	2018453301	0.114
44	绥宁八月黄(甲)(夏)	1.162	108	菜豆 5 号	0.821	172	岳阳八月爆(夏)	0.551	236	淮豆 4 号	0.108
45	南豆 25	1.152	109	宁黑 1 号	0.812	173	邯豆 23 号	0.549	237	福豆 11	0.084
46	大荚绿宝石	1.141	110	皖豆 1073	0.807	174	冀豆 20	0.547	238	贡豆 6 号	0.061
47	湘春豆 26	1.133	111	JZ2018DD005	0.805	175	平江大鹏豆 2(夏)	0.546	239	2018453248	0.047
48	邯豆 19 号	1.126	112	邯豆 10 号	0.804	176	中黄 41	0.545	240	冀豆 21	0.047
49	齐黄 1 号	1.122	113	齐黄 27	0.803	177	桂春豆 111	0.541	241	潜 4150	0.041
50	吉林 35	1.105	114	邯豆 22 号	0.800	178	沧豆 6 号	0.536	242	鲁 97013-1	0.038
51	JZ2018DD011	1.100	115	淮豆 13	0.791	179	潍豆 8 号	0.531	243	平江大鹏豆 1(甲)(夏)	0.027
52	皖豆 0847	1.092	117	贡豆 11	0.787	180	淪豆 3 号	0.522	244	南农 1405	0.017
53	泉豆 20	1.071	116	马勃幼黑豆(夏)	0.787	181	中黄 28	0.520	245	山宁 17	0.014
54	2015453241	1.066	118	黑耶黑壳豆(夏)	0.784	182	中黄 74	0.509	246	油春 18-37	-0.030
55	南农 1138-2	1.062	119	南春豆 37	0.783	183	南农 88-31	0.488	247	广大 26	-0.036
56	YN-01	1.057	120	邯豆 16 号	0.781	184	冀豆 15	0.476	248	徐豆 18	-0.068
58	鲁豆 10 号	1.055	121	邯豆 17 号	0.771	185	沙市八月黄(夏)	0.471	249	中豆 32	-0.075
57	中豆 55	1.055	123	邯豆 3 号	0.770	186	南豆 11	0.460	250	贡秋豆 9 号	-0.081
59	南豆 5 号	1.047	122	中豆 40	0.770	187	YN-05	0.456	251	182j338	-0.083
60	鲁 99-1	1.045	124	皖豆 8039	0.766	188	中黄 26	0.450	252	鲁 96019-7	-0.103
61	凤凰青皮豆(乙)(夏)	1.041	125	油春 1851	0.763	189	邯豆 5 号	0.445	253	淮豆 12	-0.113
62	P451025012	1.039	126	中黄 339	0.761	190	九农 26	0.444	254	福豆 16	-0.137
63	南豆 8 号	1.038	127	2015452244	0.760	191	南农 99-10	0.442	255	齐黄 26	-0.212
64	中豆 28	1.035	128	潜 4204	0.758	192	科丰 1 号	0.439	256	菏豆 16	-0.332

2.5 聚类分析

如图 1 所示,可将 256 份大豆种质分为 5 大类。

第Ⅰ类为耐铝毒性强的种质,A 值范围为 1.450~2.146,包括盐豆 1502(S037)、平江八月黄(夏)(S048)和冀豆 16(S180)等 23 份,占 8.98%。其中,安徽 1 份、北京 3 份、福建 1 份、河北 2 份、湖北 2 份、湖南 1 份、江苏 7 份、江西 1 份、山东 1 份、山西1 份、四川 1 份、浙江 2 份。

第Ⅱ类为耐铝毒性中等的种质,A 值范围为 0.986~1.436,包括商豆 161(S197)、圣豆 9 号(S198)、郑 89013(S203)等 53 份,占 20.70%。其中,安徽 3 份、北京 3 份、福建 1 份、广东 1 份、广西 4 份、河北 10 份、河南 2 份、湖北 8 份、湖南 2 份、吉林 2 份、江苏 4 份、辽宁 1 份、山东 4 份、山西 1 份、四川 6 份、云南 1 份。

第Ⅲ类为耐铝毒一般的种质,A 值范围为

0.383~0.971,共 128 种种质,占 50%。其中,安徽 3 份、北京 13 份、福建 4 份、广东 4 份、广西 16 份、河北 25 份、河南 1 份、湖北 8 份、湖南 11 份、吉林 3 份、江苏 15 份、江西 1 份、辽宁 1 份、山东 3 份、上海 2 份、四川 9 份、云南 4 份、浙江 2 份、重庆 3 份。

第Ⅳ类为铝毒敏感的种质,A 值范围为 0.014~0.380,包括华春 8 号(S064)、交大 29(S067)、辽鲜豆 25(S103)等 41 份,占 16.12%。其中,北京 3 份、福建 2 份、广东 2 份、广西 4 份、河北 7 份、河南 2 份、湖北 4 份、湖南 4 份、江苏 6 份、辽宁 1 份、山东 3 份、上海 1 份、四川 2 份。

第Ⅴ类为铝毒强敏感种质,A 值范围为 -0.332~-0.030,包括油春 18-37(S230)、广大 26(S057)、中豆 32(S107)等 11 份,占 4.30%。其中,福建 2 份、广西 1 份、湖北 2 份、江苏 2 份、山东 3 份、四川 1 份。

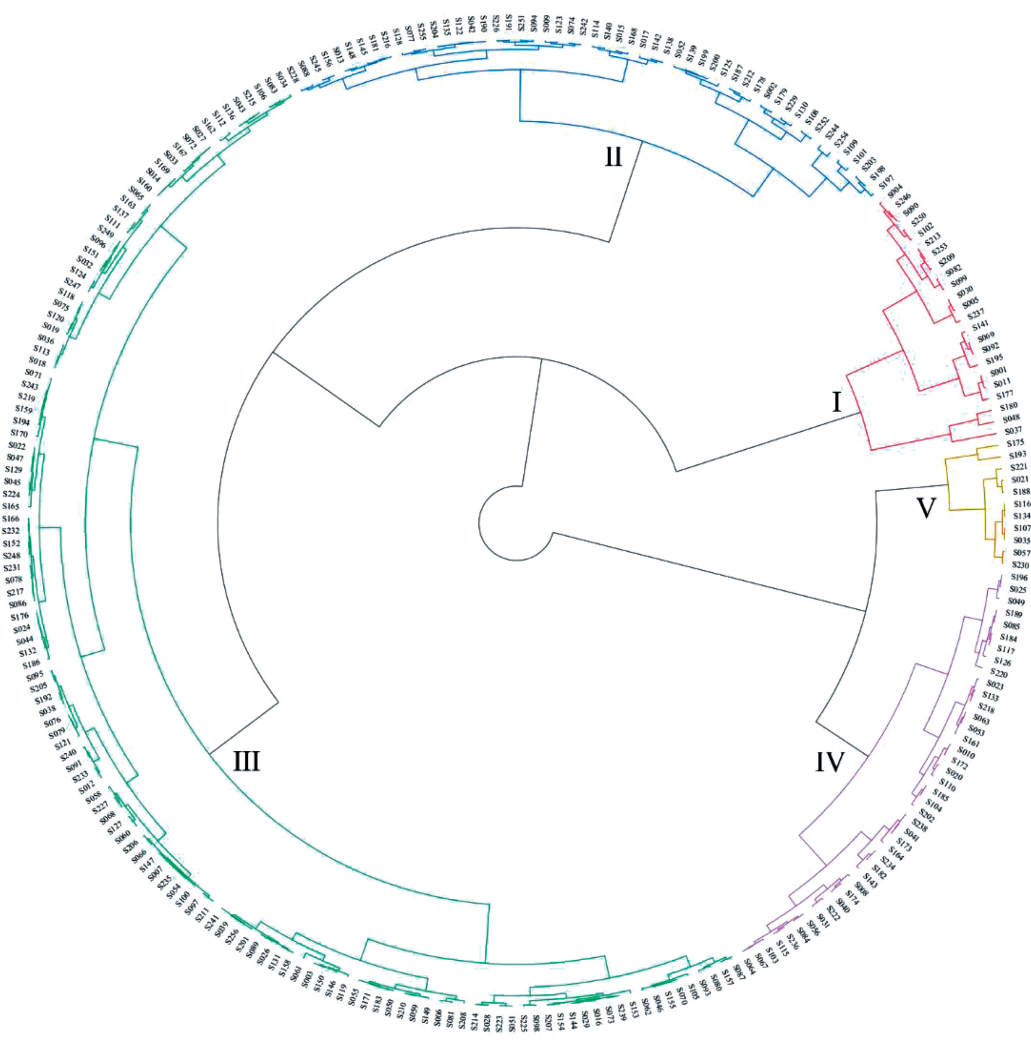


图1 256份大豆种质的耐铝毒性聚类分析

Fig.1 Cluster of aluminum toxicity tolerance of 256 soybean germplasm

3 讨论

铝毒是酸性土壤上限制大豆生长的重要因素之一。在苗期进行铝毒胁迫处理,能够快速、有效地鉴定耐铝毒种质,减少田间筛选工作量与成本^[21]。前人在大豆苗期进行铝毒胁迫处理,已筛选出一些耐铝毒大豆种质^[9-11]。在筛选过程中由于种质群体、处理或者培育方式等不同,铝毒处理过程中所用铝离子浓度有所不同,如 15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[11]、25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[22]、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[11]、28 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[10]、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[23]等浓度。本研究采用了6种不同铝离子浓度对7份大豆种质进行苗期铝毒处理,结果表明在100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下,7份种质主根伸长量与总根长的平均值均受到显著抑制,较对照条件下分别下降了19.10%和32.00%。在150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下总根长抑制程度过大,较对照下降了55.70%。在150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下,4个种质(南农39、南农46、南农99-6、中豆43)的主根伸长量,3个种质(南农46、南农99-6、中豆55)的总根长与100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

处理相比无显著性差异。因此,综合主根伸长量和总根长的变化,以100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对256份大豆种质进行铝毒胁迫处理。该浓度与刘德兴等^[11]所用浓度相同,但是与其溶液pH值和营养液浓度不同,这可能是由于所用群体不同所致。

植物根系是铝离子积累的主要组织,也是最先受铝毒害的部位,铝毒抑制植物根系伸长、导致根系变粗^[3-4]。刘莹等^[24]研究表明,低浓度下促进大豆主根、侧根的伸长,随着浓度升高后抑制主根及侧根的伸长,降低了主根及总根伸长量。在豆瓣菜中同样发现低浓度下可促进植物生长发育和根系形态,随着铝离子浓度的增加显著抑制植株生长^[25]。本研究也发现在低浓度(50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)下促进了主根伸长量,平均主根伸长量较对照增加了12.89%。但是随着浓度的增加主根伸长量逐渐降低。对群体的单个耐铝毒指标分析发现,各指标对铝毒胁迫响应程度不同,总根长对铝毒敏感性最强,较对照下降了43.75%,铝毒胁迫显著降低了主根伸长量、总根表面积、总根尖数,而增加了平均

根直径,研究结果与前人报道的结果一致^[26-28]。

作物耐铝毒性是一个复杂的数量性状遗传,铝毒对不同性状的影响程度不同,采用单一的评价指标不能完成反映作物的耐铝毒性^[18-19, 29]。随着对作物抗逆性种质筛选相关研究的发展,主成分分析、隶属函数值法、聚类分析等方法已在大豆^[16-17]、豌豆^[26]、油菜^[21, 30]、花生^[31]等作物抗逆性进行筛选。因此,综合应用多种分析方法对大豆耐铝毒性进行评价较为可靠。本研究考察了 256 份大豆种质在对照与铝毒处理下的 5 种性状,分别计算单个性状的耐性指标及其隶属函数值,随后经主成分分析将上述 5 个耐性指标转换成 3 个相互独立的主成分,进而基于隶属函数值计算各种质的综合评价值。为进一步评价大豆种质耐铝毒性,基于综合评价进行聚类分析,将 256 份种质分为耐铝毒性强、耐铝毒性中等、耐铝毒一般、铝毒敏感、铝毒强敏感等 5 种类型。其中耐铝毒性强的种质包括盐豆 1502 (S037)、平江八月黄(夏)(S048)、冀豆 16 (S180)、冀豆 7 号 (S177)、8101 (S011)、JX-01 (S001)、齐黄 34(S195)等 23 份。刘德兴等^[11]采用营养液法鉴定出凤凰青皮豆(乙)为耐铝毒种质。在本研究中将凤凰青皮豆(乙)评价为苗期耐铝毒中等种质,可能是由于群体、评价方式不同所致。

另外,本研究采用水培的方法筛选苗期耐铝毒种质,但是未进行全生育期耐铝毒种质评价。后期可通过土培法进一步对 76 份苗期耐铝毒强与中等的种质进行全生育期耐铝毒评价,为大豆耐铝毒新品种选育提供候选材料。同时可基于 5 个耐铝毒指标结果进行全基因组分析挖掘大豆耐铝毒相关位点与候选基因,克隆并验证基因的功能,为大豆耐铝毒分子机制研究提供理论支持。

4 结论

根据 256 份大豆种质在对照与铝毒处理下 5 个性状的考察结果,基于主成分分析、隶属函数值、聚类分析,将 256 份大豆种质分为 5 大类,其中苗期耐铝毒强的种质有 23 份(8.98%),分别为盐豆 1502 (S037)、平江八月黄(夏)(S048)、冀豆 16 (S180)、冀豆 7 号 (S177)、8101 (S011)、JX-01 (S001)、齐黄 34(S195)、浙春豆 2012 (S092)、毛豆 3 号 (S069)、苏奎 2 号 (S141)、中作 X089 (S237)、南农 921 (S005)、南农 99-6 (S030)、晋科 2 号 (S099)、贡 1309-3 (S082)、中黄 38 (S209)、南农 513 (S253)、中黄 70 (S213)、衢鲜 3 号 (S102)、中豆 49 (S250)、油春 17-127 (S090)、豌豆 37 (S246) 和南农 34 (S004);苗期耐铝毒中等种质有 53 份(20.70%);苗期耐铝毒一般种质有 128 份(50%);苗期铝毒敏

感种质有 41 份(16.12%);苗期铝毒强敏感种质有 11 份(4.30%),分别为油春 18-37 (S230)、广大 26 (S057)、徐豆 18 (S035)、中豆 32 (S107)、贡秋豆 9 号 (S134)、182j338 (S116)、鲁 96019-7 (S188)、淮豆 12 (S021)、福豆 16 (S221)、齐黄 26 (S193)、荷豆 16 (S175)。本研究筛选出的耐铝毒性强与铝毒强敏感的种质为耐铝毒大豆品种选育和耐性机制研究提供种质资源。

参考文献

[1] KOCHIAN L V, PIÑEROS M A, LIU J, et al. Plant adaptation to acid soils: The molecular basis for crop aluminum resistance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2015, 66(1): 571-598.

[2] 徐仁扣, 李九玉, 周世伟, 等. 我国农田土壤酸化调控的科学问题与技术措施[J]. 中国科学院院刊, 2018, 33(2): 160-167. (XU R K, LI J Y, ZHOU S W, et al. Scientific issues and controlling strategies of soil acidification of croplands in China[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2018, 33(2): 160-167.)

[3] ALMEIDA G H G D, SIQUEIRA-SOARES R D C, MOTA T R, et al. Aluminum oxide nanoparticles affect the cell wall structure and lignin composition slightly altering the soybean growth[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 159: 335-346.

[4] SILVA C O, BRITO D S, DA SILVA A A, et al. Differential accumulation of aluminum in root tips of soybean seedlings[J]. Brazilian Journal of Botany, 2020, 43(1): 99-107.

[5] YANG J L, FAN W, ZHENG S J. Mechanisms and regulation of aluminum-induced secretion of organic acid anions from plant roots[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2019, 20(6): 513-527.

[6] 孟赐福, 傅庆林, 水建国, 等. 土壤酸度对大豆、油菜生长和产量的影响[J]. 中国农业科学, 1994, 27(3): 63-70. (MENG C F, FU Q L, SHUI J G, et al. Growth and yield of soybeans and rapeseed to soil acidity[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1994, 27(3): 63-70.)

[7] GUO J H, LIU X J, ZHANG Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. Science, 2010, 327(5968): 1008-1010.

[8] 杨丹, 朱满德. 我国大豆生产格局与区域比较优势演变探析[J]. 国土与自然资源研究, 2020(1): 58-64. (YANG D, ZHU M D. Analysis on the evolution of soybean production patterns and regional comparative advantages in China[J]. Territory & Natural Resources Study, 2020(1): 58-64.)

[9] 刘莹, 盖钧镒, 吕慧能. 大豆根区逆境耐性的种质鉴定及其与根系性状的关系[J]. 作物学报, 2005, 31(9): 1132-1137. (LIU Y, GAI J Y, LYU H N. Identification of rhizosphere abiotic stress tolerance and related root traits in soybean [Glycine max (L.) Merr.] [J]. Acta Agronomica Sinica, 2005, 31(9): 1132-1137.

[10] 齐波, 赵团结, 盖钧镒. 中国大豆种质资源耐铝毒性的变异特点及优选[J]. 大豆科学, 2007, 26(6): 813-819. (QI B, ZHAO T J, GAI J Y. Characterization of variation and identification of elite accessions of aluminum toxin tolerance

soybean germplasm in China [J]. Soybean Science, 2007, 26 (6): 813-819.)

[11] 刘德兴, 年海, 杨存义, 等. 耐酸铝大豆品种资源的筛选与鉴定[J]. 大豆科学, 2013, 32(1): 46-49. (LIU D X, NIAN H, YANG C Y. Screening and identifying soybean germplasm tolerant to acid aluminum[J]. Soybean Science, 2013, 32(1): 46-49.)

[12] 汪明华, 李佳佳, 陆少奇, 等. 大豆品种耐高温特性的评价方法及耐高温种质筛选与鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 891-902. (WANG M H, LI J J, LU S Q, et al. construction of evaluation standard for tolerance to high-temperature and screening of heat-tolerant germplasm resources in soybean[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(4): 891-902.)

[13] 靳路真, 王洋, 张伟, 等. 大豆品种(系)耐热性鉴定及分级评价[J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(1): 77-87. (JIN L Z, WANG Y, ZHANG W, et al. Grading evaluation on heat-tolerance in soybean and identification of heat-tolerant cultivars[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2016, 38(1): 77-87.)

[14] 张海平, 张俊峰, 陈妍, 等. 大豆种质资源萌发期耐旱性评价[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(1): 130-138. (ZHANG H P, ZHANG J F, CHEN Y, et al. Identification and evaluation of soybean germplasm resources for drought tolerance during germination stage[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22(1): 130-138.)

[15] 王鹏, 侯思宇, 温宏伟, 等. 干旱胁迫对滞绿大豆种子萌发的影响及芽期抗旱性评价[J]. 大豆科学, 2021, 40(1): 68-74. (WANG P, HOU S Y, WEN H W, et al. Effects of drought stress on seed germination and evaluation of drought resistance in bud stage of stay-green soybean[J]. Soybean Science, 2021, 40(1): 68-74.)

[16] 石广成, 杨万明, 杜维俊, 等. 大豆耐盐种质的筛选及其耐盐生理特性分析[J]. 生物技术通报, 2021, 38(4): 174-183. (SHI G C, YANG W M, DU W J, et al. Screening of salt-tolerant soybean germplasm and analysis of physiological characteristics of its salt tolerance[J]. Biotechnology Bulletin, 2021, 38(4): 174-183.)

[17] 武海燕, 李喜焕, 李文龙, 等. 大豆耐低磷性状鉴定及优异种质筛选[J]. 河南农业科学, 2020, 49(1): 61-67. (WU H Y, LI X H, LI W L, et al. Identification of low phosphorus tolerant traits and selection of elite genotypes in soybean[J]. Journal of He'nan Agricultural Sciences, 2020, 49(1): 61-67.)

[18] 李德华, 贺立源, 刘武定. 玉米自交系耐铝性评价及根系形态解剖特征[J]. 作物学报, 2004, 30(9): 947-952. (LI D H, HE L Y, LIU W D. The Al-tolerance evaluation and anatomical characteristics of roots in inbred lines of maize [J]. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(9): 947-952.)

[19] LIU J, WANG X, WANG N, et al. Comparative analyses reveal peroxidases play important roles in soybean tolerance to aluminum toxicity[J]. Agronomy, 2021, 11: 670.

[20] ZHAO L, CUI J, CAI Y, et al. Comparative transcriptome analysis of two contrasting soybean varieties in response to aluminum toxicity [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(12): 4316.

[21] 熊洁, 丁戈, 陈伦林, 等. 不同基因型油菜耐铝性及其根系形态对铝胁迫的响应[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(4): 673-682. (XIONG J, DING G, CHEN L L, et al. Aluminum tolerance and root morphology response from different rapeseed cultivars under aluminum stress[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2021, 43(4): 673-682.)

[22] LI Y, YE H, SONG L, et al. Identification and characterization of novel QTL conferring internal detoxification of aluminium in soybean[J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(13): 4993-5009.

[23] 应小芳, 刘鹏, 徐根娣, 等. 大豆耐铝毒基因型筛选及筛选指标的研究[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(1): 46-51. (YING X F, LIU P, XU G D, et al. Screening of soybean genotypes with tolerance to aluminum toxicity and study of the screening indices [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2005, 27(1): 46-51.)

[24] 刘莹, 盖钧镒. 大豆耐铝毒的鉴定和相关根系性状的遗传分析[J]. 大豆科学, 2004, 23(3): 164-168. (LIU Y, GAI J Y. Identification of tolerance to aluminum toxin and inheritance of related root traits in soybeans [Glycine max (L.) Merr.] [J]. Soybean Science, 2004, 23(3): 164-168.)

[25] 郑阳霞, 赵善梅, 向前, 等. 铝胁迫对豆瓣菜生理特性及营养元素吸收的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2019, 54(4): 83-91. (ZHENG Y X, ZHAO S M, XIANG Q, et al. Effects of aluminum stress on physiological and biochemical characteristics and nutrient element absorption of watercress [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2019, 54(4): 83-91.)

[26] 崔翠, 程闯, 赵偷风, 等. 52 份豌豆种质萌发期耐铝毒性的综合评价与筛选[J]. 作物学报, 2019, 45(5): 798-805. (CUI C, CHENG C, ZHAO Y F, et al. Screening and comprehensive evaluation of aluminum-toxicity tolerance during germination stage in 52 varieties (lines) of pea germplasm[J]. Acta Agronomica Sinica, 2019, 45(5): 798-805.)

[27] 田聪, 张烁, 栗畅, 等. 铝胁迫下大豆根系有机酸积累的特性[J]. 大豆科学, 2017, 36(2): 256-261. (TIAN C, ZHANG S, SU C, et al. Effects of aluminum (Al) on organic acid accumulation in soybean roots[J]. Soybean Science, 2017, 36(2): 256-261.)

[28] 刘鹏, YANG Y S, 徐根娣, 等. 铝胁迫对大豆幼苗根系形态和生理特性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2004, 26(4): 51-56. (LIU P, YANG Y S, XU G D, et al. The effect of aluminum stress on morphological and physiological characteristics of soybean root of seedling [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004, 26(4): 51-56.)

[29] ZHOU H W, XIAO X J, ASJAD A, et al. Integration of GWAS and transcriptome analyses to identify SNPs and candidate genes for aluminum tolerance in rapeseed (Brassica napus L.) [J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1): 130.

[30] 郜欢欢, 叶桑, 王倩, 等. 甘蓝型油菜种子萌发期耐铝毒特性综合评价及其种质筛选[J]. 作物学报, 2019, 45(9): 1416-1430. (GAO H H, YE S, WANG Q, et al. Screening and comprehensive evaluation of aluminum-toxicity tolerance during seed germination in Brassica napus[J]. Acta Agronomica Sinica, 2019, 45(9): 1416-1430.)

[31] 慈敦伟, 丁红, 张智猛, 等. 花生耐盐性评价方法的比较与应用[J]. 花生学报, 2013, 42(2): 28-35. (CI D W, DING H, ZHANG Z M, et al. Comparison and application of different evaluation methods on peanut salt tolerance[J]. Journal of Peanut Science, 2013, 42(2): 28-35.)