

耐酸铝大豆品种资源的筛选与鉴定

刘德兴, 年海, 杨存义, 舒云康, 窦洪, 马启彬

(华南农业大学 农学院 国家大豆改良中心广东分中心, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:对引进的139份主要来自湖南省的大豆种质资源, 苗期采用简单钙溶液法和全营养液法, 以主根相对伸长率作为评价指标, 分析大豆对铝毒的耐性表现。结果表明, 大豆对铝毒的耐性存在基因型差异。首先通过简单钙培养法筛选得到耐酸铝材料12份, 之后通过全营养法进行验证获得耐酸铝大豆种质资源8份, 即沅陵矮子早<甲>、长沙夏黄豆、常德中和青豆、凤凰青皮豆<乙>、十月青豆、人潮溪黄豆1、中作04563、中作05675。进一步以垦丰15、桂春8号为对照品种, 采用土培法对获得的8份大豆耐性材料进行盆栽鉴定, 以单株粒重、百粒重、叶绿素含量和株高作为耐铝毒性的评价指标, 分析大豆对铝毒耐性的综合表现。遴选出1份耐性较强的材料, 即人潮溪黄豆1, 可供大豆耐铝毒性遗传育种研究利用。

关键词:大豆; 铝毒; 水培法; 盆栽

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2013)01-0046-04

Screening and Identifying Soybean Germplasm Tolerant to Acid Aluminum

LIU De-xing, NIAN Hai, YANG Cun-yi, SHU Yun-kang, DOU Hong, MA Qi-bin

(Guangdong Subcenter of National Center for Soybean Improvement, State Key Laboratory of Agricultural and Biological Resources Protection and Utilization in Subtropics, College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China)

Abstract: A total of 139 soybean germplasm mainly originated from Hunan province were tested with the hydroponics methods of simple calcium solution culture and complete nutrient solution culture in seedling stage to screen out tolerant germplasm to aluminum toxicity taking main roots as tolerance indicator. The results showed that tolerance to aluminum toxicity varied with genotypes. Twelve soybean germplasm showed tolerance to aluminum toxicity after simple calcium solution culture. When further tested by complete nutrient solution culture, eight soybean germplasm including Yuanling' aizizao (a), Changshaxiahuangdou, Changdezhongheqingdou, Fenghuangqingpidou (b), Shiyueqingdou, Renchaoxi Huangdou 1, Zhongzuo 04563 and Zhongzuo 05675 showed tolerance to aluminum toxicity. Then, the eight soybean germplasm were pot cultured to compare their seed weight per plant, 100-seed weight, chlorophyll content and plant height with Kenfeng 15 and Guichun 8 as control. Renchaoxi Huangdou 1 showed stronger tolerance to Al toxicity than other materials and could be used in breeding soybean varieties tolerant to Al toxicity.

Key words: Soybean; Aluminum toxicity; Hydroponics method; Potted culture method

铝毒害是酸性土壤中普遍存在的限制农业生产的重要因子^[1]。我国酸性土壤遍及南方15个省(区), 总面积为2 030万hm², 约占全国土地面积的21%^[2], 选育耐铝酸大豆品种对我国大豆生产有重要意义。研究发现, 对作物产生毒害的铝形态一般为Al³⁺, Al(OH)²⁺及Al(OH)²⁺的总称^[2]。不同形态的铝经水解、聚合、配合、沉淀或结晶等反应可以相互转化。在pH值小于5.0的酸性条件下, 铝毒害明显, 而Al³⁺可能是主要的毒害离子种类^[3]。大量研究表明, 大豆受铝毒害的主要部位是根系, 铝毒危害作物的根部进而影响水分和其它营养元素的利用和吸收, 使作物更易受干旱的影响并表现出缺素症状, 最终造成产量降低^[4-5]。相关学者从根系形态学、生理生化和根系分泌物等方面的变化研究了铝毒对

大豆的影响, 并发现大豆对铝毒的耐性存在基因型差异^[1,6-10]。国内外学者采用不同的评价方法筛选到耐酸铝大豆种质资源, 水培法和沙培法是苗期鉴定耐性材料常用的方法^[10-13]。

本研究以简单钙溶液法和全营养液法对139份大豆种质进行耐酸铝筛选, 初步评价大豆种质资源的耐酸铝特性, 以此为基础进一步通过土培法对筛选出的8份耐性较强的材料进行耐酸铝评价, 以期获得具有育种应用价值的耐酸铝大豆种质资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

参试大豆种质139份, 均来自于国家种质资源

收稿日期: 2012-08-24

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903002); 广东省科技计划项目(2011A020102010); 广东省教育部产学研结合计划项目(2011B090400328); 农业部公益性行业科研专项(nyhyzx07-004-11); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-04-PS09); 华南农业大学校长基金(4100-k09130)。

第一作者简介: 刘德兴(1989-), 男, 学士, 研究方向为大豆栽培生理。E-mail: 996391185@qq.com。

通讯作者: 马启彬(1968-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为大豆抗病、抗逆分子育种。E-mail: maqibin@scau.edu.cn。

库,其中产地为湖南种质 131 份,广东 2 份,贵州 3 份,四川 3 份。对照品种为垦丰 15 和桂春 8 号。

1.2 试验方法

1.2.1 种子萌发 将洗净的石英砂装入面包箱中(66 cm × 41 cm × 14 cm),选取大小一致、饱满的大豆种子在沙床上黑暗萌发,浇水保湿,温度控制在 20 ~ 28℃。发芽 3 ~ 4 d 后,取出幼苗,用清水洗掉沙子待用,注意不要伤到根尖。

1.2.2 简单钙溶液培养法 简单钙溶液中 CaCl_2 浓度为 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, AlCl_3 浓度为 $15 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH4.5; 对照溶液中 CaCl_2 浓度为 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, AlCl_3 浓度为 $0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH4.5。取根长一致的大豆幼苗,用海绵夹住幼茎固定在带孔的泡沫板上,漂浮在盛有 8 L 溶液的培养箱中,每箱为一个处理,每个处理 9 株苗,3 次重复。置于人工气候箱中培养 24 h,温度为 28℃(光)/23℃(暗),光周期为 14 h(光)/8 h(暗)。

1.2.3 全营养液法 选取简单钙溶液培养筛选出的耐铝毒较强的 12 份大豆材料进行全营养液法筛选鉴定。全营养液成分: $750 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$, $250 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $325 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$, $8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}_3\text{BO}_3$, $20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}(\text{III})\text{-EDTA}$, $0.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $0.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $0.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $0.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 。

设 0 (CK) 和 $100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 2 个 AlCl_3 浓度, pH4.5, 其他条件同 1.2.2。

1.2.4 土壤培养法 土壤成分为有机质土壤:石英砂为 5:1, 混匀后盛装在花盆里, 每个花盆盛土 7.5 kg。在播种前一天晚上浇水使土壤充分湿润。设 0 (CK) 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Al}$ 2 个处理, 铝处理在土中添加 $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 晶体并拌匀, 以耐酸铝品种垦丰 15 (CK1) 和桂春 8 号 (CK2) 为对照。选取全营养液培养筛选出的耐铝性较强的大豆品种, 播种时选取大小一致、籽粒饱满的大豆种子, 每盆为一个处理、保苗 4 株, 3 次重复。2011 年 8 月 7 日播种, 8 ~ 9 月隔天浇水, 10 月之后间隔 2 d 浇 1 次水, 11 月 15 日全部收获完毕。

1.2.5 主根相对伸长率测定 分别在处理 0 和 24 h 后用直尺测量大豆幼苗根基部到根尖的长度, 计算主根的相对伸长率, 公式^[14]为:

主根相对伸长率 (%) = (铝处理后根长 - 铝处理前根长) / (对照处理后根长 - 对照处理前根长) × 100

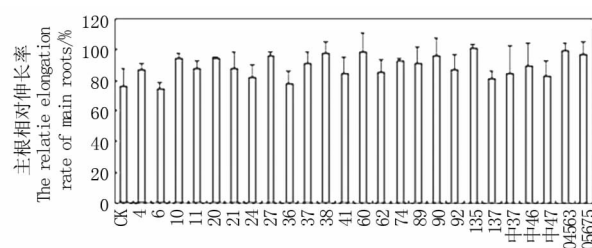
1.2.6 性状观察及考种 在苗期、开花期、鼓粒期对盆栽大豆生长发育情况进行观测记录。在鼓粒期每个处理随机选取 6 株使用叶绿素测定仪 (SPAD-502PLUS, 日本) 测定顶端完全展开的三出复叶的叶

绿素含量, 取其均值。成熟期收获后, 测定株高、单株荚数、单株粒重、单株粒数、百粒重等性状。

2 结果与分析

2.1 铝毒对大豆主根相对伸长率的影响

2.1.1 简单钙溶液培养 采用简单钙溶液培养法对 139 份大豆种质进行了初步筛选, 共获得大豆耐酸铝种质资源 25 份。如图 1 所示, 在 $15 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AlCl}_3$ 处理条件下, 大多数品种都表现出不同程度的耐性, 但品种间差异比较显著, 其中有 12 份材料的相对伸长率大于 90%, 分别为广东早豆、沅陵矮子早 < 甲 >、蓑衣豆 < 乙 >、长沙夏黄豆、凤凰青皮豆 < 乙 >、十月青豆、人潮溪黄豆 1、圳上黄豆、常德中和青豆、宁远八月黄、中作 04563 和中作 05675。人潮溪黄豆 1 的相对伸长率大于 1, 广东早豆、蓑衣豆 < 乙 >、长沙夏黄豆、常德中和青豆、中作 04563 和中作 05675 等的相对伸长率接近 1。



CK: 垦丰 15; 4: 安化褐豆; 6: 白猫儿灰; 10: 广东早豆; 11: 乌壳黄; 20: 沅陵矮子早 < 甲 >; 21: 沅陵矮子早 < 乙 >; 24: 吉首黄豆; 27: 蓑衣豆 < 乙 >; 36: 十月小黄豆; 37: 圳上黄豆; 38: 长沙夏黄豆; 41: 秀山八月黄; 60: 常德中和青豆; 62: 保靖青皮豆; 74: 凤凰青皮豆 < 乙 >; 89: 宁远八月黄; 90: 十月青豆; 92: 岳阳黑豆; 135: 人潮溪黄豆 1; 137: 凤凰青皮豆 < 乙 >; 中 37: 中黄 37; 中 46: 中黄 46; 中 47: 中黄 47; 04563: 中作 04563; 05675: 中作 05675; 下同。

CK: Kenfeng 15; 4: Anhuhedou; 6: Baimiaoerhui; 10: Guangdongongzaodou; 11: Wukehuang; 20: Yuanling 'aizizao (a); 21: Yuanling 'aizizao (b); 24: Jishouhuangdou; 27: Suoyidou (b); 36: Shiyuexiaohuangdou; 37: Zhenshanghuangdou; 38: Changshaxiahuangdou; 41: Xiushanbayuehuang; 60: Changdezhongheqingdou; 62: Baojingqingpidou; 74: Fenghuangqingpidou (b); 89: Ningyuanbayuehuang; 90: Shiyueqingdou; 92: Yueyangheidou; 135: Renchaoxi Huangdou 1; 137: Fenghuangqipidou (b); 中 37: Zhonghuang 37; 中 46: Zhonghuang 46; 中 47: Zhonghuang 47; 04563: Line Zhongzuo 04563; 05675: Line Zhongzuo 05675; the same below.

图 1 简单钙溶液培养条件下铝毒对大豆主根相对伸长率的影响

Fig. 1 The effects of aluminum toxicity on the relative elongation of main roots of different soybean varieties in simple calcium solution

2.1.2 全溶液培养 如图 2 所示, $100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AlCl}_3$ 处理的条件下, 中作 05675 的耐铝性最好, 主根相对伸长率达到 49.52%, 与简单钙溶液培养条

件下的表现类似;人潮溪黄豆 1 也表现出较高耐性,主根相对伸长率达 42.15%;沅陵矮子早 <甲>、长沙夏黄豆、常德中和青豆、凤凰青皮豆 <乙>、十月青豆和中作 05675 的主根相对伸长率均高于 40%,表现出较高的耐酸铝特性。与对照相比,有 8 份材料的主根相对伸长率大于 40%,表现出对酸铝土壤较强的耐性。这些资源是沅陵矮子早 <甲>、长沙夏黄豆、常德中和青豆、凤凰青皮豆 <乙>、十月青豆、人潮溪黄豆 1、中作 04563 和中作 05675。

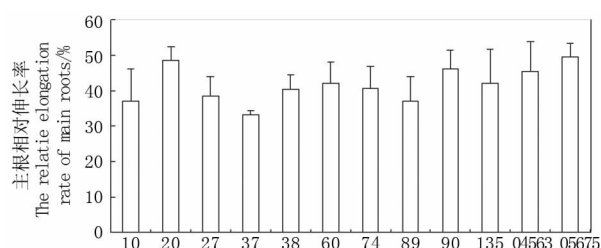


图 2 全营养液培养条件下铝毒
对大豆主根相对伸长率的影响

Fig.2 The effects of aluminum toxicity on the relative elongation of main roots of different soybean varieties under the condition of complete nutrient solution

2.2 铝毒对大豆产量性状、叶绿素和株高的影响

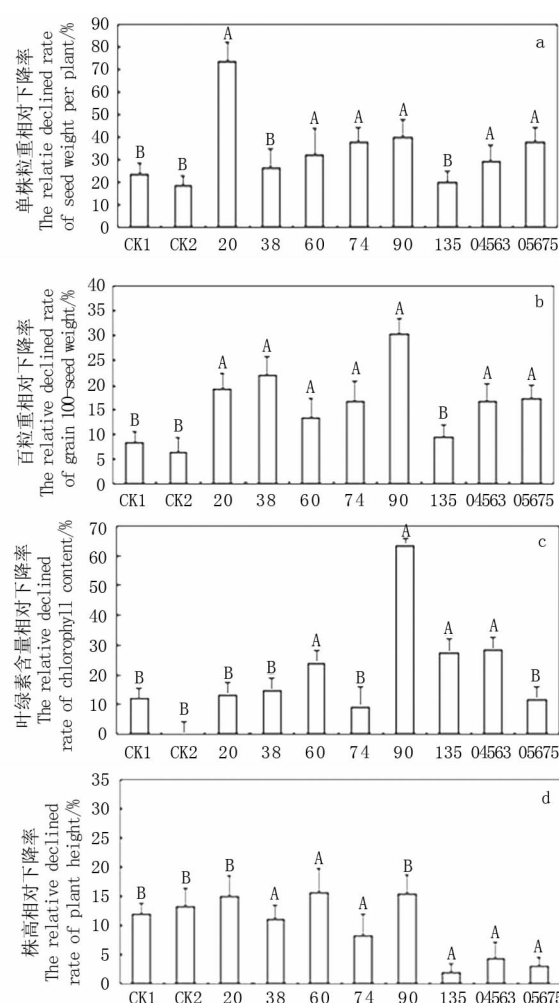
如图 3a 所示,在酸铝土壤栽培的条件下,大豆的单株产量显著下降。统计结果表明,沅陵矮子早 <甲>、常德中和青豆、凤凰青皮豆 <乙>、十月青豆、中作 04563 及中作 05675 的单株粒重相对下降率与对照相比差异达到极显著水平。而长沙夏黄豆和人潮溪黄豆 1 的单株产量下降较少,表现出对酸铝土壤较强的耐性。由图 3b 可知,与对照相比,沅陵矮子早 <甲>、常德中和青豆、长沙夏黄豆、凤凰青皮豆 <乙>、十月青豆、中作 04563 和中作 05675 百粒重相对下降率与对照差异达极显著水平,而人潮溪黄豆 1 的百粒重下降幅度相对较小。

如图 3c 所示,与耐性对照相比,鼓粒期十月青豆叶绿素含量下降幅度最大,差异极显著。沅陵矮子早 <甲>、长沙夏黄豆、凤凰青皮豆 <乙> 及中作 05675 叶绿素含量下降的幅度与对照品种差异不显著。

在铝毒土壤条件下,大豆生长发育受到抑制,表现为株高下降、生长缓慢。成熟期株高测定结果表明,与对照相比,人潮溪黄豆 1、中作 04563、中作 05675 的株高下降幅度较小,表现出较强的耐性(图 3d)。人潮溪黄豆 1 的株高几乎没有下降,说明该品种耐酸铝的能力较强。

3 结论与讨论

耐酸铝品种的筛选,一般采取营养液或土培筛



不同大写字母表示极显著水平差异($P < 0.01$)。

Different capital letters represent the significant difference at $P < 0.01$.

图 3 铝毒对大豆单株粒重、百粒重、叶绿素含量和株高的影响
Fig.3 The effects of aluminum toxicity on seed weight per plant, 100-seed weight, chlorophyll content and plant height of soybean

选法。大豆根系对铝毒的反应快速明显,在简单钙溶液和全营养液培养的条件下,根系的相对伸长在 24 h 内即受到明显的抑制^[4,7]。因此,可采用短期的营养液法快速筛选大豆种质资源,而根长测定法是一种简便、准确、通用的大豆耐铝毒鉴定方法^[2,8,13,15]。测定根部相关性状是评价大豆耐酸性的依据^[16-17],其中主根的伸长变化成为评价大豆受铝毒危害的重要指标^[9,15,18]。由于土培法及田间试验的综合表现与大田生产的土壤条件比较接近,较易筛选出有应用价值的大豆资源,而且产量性状通常作为作物改良的最终目标之一,因此,田间试验成为重要的筛选方法。前人研究表明,在水稻、向日葵、大麦以及冬麦的耐铝性筛选方面,营养液筛选法和土培法(田间或温室)取得了一致的结果^[7]。因此,对耐酸铝大豆品种资源的鉴定在室内可采用简单钙溶液法和全营养液法进行初步筛选,在室外

可以采用土培法模拟大田的土壤环境,对大豆种质资源的耐铝性进行综合性状评价。

本研究采用简单钙溶液法对主要产自湖南省的 139 份大豆种质资源进行初步的筛选,获得 25 份耐酸铝大豆资源。在此基础上,进一步通过全营养液法对 12 份大豆种质资源进行耐酸铝性评价,获得 8 份耐性较强的大豆材料,即人潮溪黄豆 1、长沙夏黄豆、常德中和青豆、凤凰青皮豆 <乙>、十月青豆、沅陵矮子早 <甲>、中作 04563、中作 05675。以垦丰 15 和桂春 8 号为对照品种,采用土培法对获得的 8 份大豆耐性材料进行盆栽鉴定,获得 1 份耐性材料,即人潮溪黄豆 1。该材料在单株产量、百粒重、株高等性状指标上与对照品种垦丰 15 的水平相当,属于耐酸铝大豆种质。

参考文献

- [1] Foy C D, Chaney R L, White M C. The physiology of metal toxicity in plants [J]. Annual Review of Plant Physiology, 1978, 29: 511-566.
- [2] 沈金雄, 徐巧珍. 大豆耐酸铝毒害研究概况[J]. 中国油料作物学报, 1998, 20(2): 91-96. (Shen J X, Xu Q Z. Research overview of soybean resistance to acid and aluminum toxicity [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 1998, 20(2): 91-96.)
- [3] 何龙飞, 沈振国, 刘友良, 等. 植物铝毒害机理的研究[J]. 广西农业生物科学, 2002, 21(3): 188-194. (He L F, Shen Z G, Liu Y L, et al. Studies on the mechanisms of aluminum toxicity in higher plant [J]. Journal of Guangxi Agricultural and Biological Science, 2002, 21(3): 188-194.)
- [4] 朱丹华, 李百权, 吴列红, 等. 不同春大豆品种在红壤和冲积土上的适应性研究—营养生长[J]. 浙江农业学报, 2002, 14(5): 255-259. (Zhu D H, Li B Q, Wu L H, et al. Study on adaptability of early soybean varieties in red soil: vegetative growth [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2002, 14(5): 255-259.)
- [5] 年海, 黄鹤, 严小龙, 等. 大豆对酸铝土壤的适应性研究. I 大豆耐酸铝毒性材料的鉴定研究[J]. 大豆科学, 1999, 18(3): 191-197. (Nian H, Huang H, Yan X L, et al. Studies on adaptability of soybean to acid and aluminum toxicity. I. Identification of soybean materials tolerant to acid and aluminum toxicity [J]. Soybean Science, 1999, 18(3): 191-197.)
- [6] 彭嘉桂, 陈成榕, 卢和顶, 等. 铝胁迫对大豆遗传基因型形态和生理特性的影响[J]. 福建省农科院学报, 1994, 9(2): 34-39. (Peng J G, Chen C R, Lu H D, et al. Effect of Al stress on morphological and physiological characters of soybean genotypes [J]. Journal of Fujian Academy of Agricultural Sciences, 1994, 9(2): 34-39.)
- [7] 年海, 黄鹤, 严小龙, 等. 大豆对酸铝土壤的适应性研究. II. 大豆耐酸铝毒的机理初探[J]. 大豆科学, 1999, 18(4): 322-326. (Nian H, Huang H, Yan X L, et al. Studies on adaptability of soybean to acid and aluminum toxicity. II. Preliminary study on nature of soybeans tolerant to acid and aluminum toxicity [J]. Soybean Science, 1999, 18(4): 322-326.)
- [8] 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.)
- [9] 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): 49-54. (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): 49-54.)
- [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] Villagarcia M R, Carter T E, Rufty T W, et al. Genotypic rankings for aluminum tolerance of soybean roots grown in hydroponics and sand culture [J]. Crop Science, 2001, 41: 1499-1507.
- [12] 刘拥海, 俞乐. 大豆耐铝性品种差异及其与有机酸的关系[J]. 广西植物, 2004, 24(6): 554-557. (Liu Y H, Yu L. Relationship on the differences of soybean cultivars in Al tolerance and organic acids [J]. Guihaia, 2004, 24(6): 554-557.)
- [13] 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.)
- [14] 张林. 作物育种学实验技术[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2003: 94-96. (Zhang L. Experimental techniques of crop breeding [M]. Beijing: Publishing House of China Agricultural Science and Technology, 2003: 94-96.)
- [15] 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, Lv 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.)
- [16] 胡蕾, 应小芳, 刘鹏, 等. 铝毒对大豆农艺性状的影响[J]. 浙江农业科学, 2004(3): 148-149. (Hu L, Ying X F, Liu P, et al. Effects of aluminum toxicity to soybean agronomic traits [J]. Zhejiang Agricultural Sciences, 2004(3): 148-149.)
- [17] 胡蕾, 应小芳, 刘鹏, 等. 铝胁迫对大豆生理特性的影响[J]. 土壤肥料, 2004(2): 9-11. (Hu L, Ying X F, Liu P, et al. The research of the effects of aluminum stress on physiological characteristics of soybean [J]. Soil and Fertilizer, 2004(2): 9-11.)
- [18] Meng X Y, Abdullahi B A, Bao D P, et al. The growth response of seven soybean cultivar seedlings under aluminum stress [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2005, 29(2): 19-23.