



# 197 份大豆种质资源共生固氮特性鉴定与评价

余应栋<sup>1,2</sup>, 徐瑞新<sup>2,3</sup>, 刘思蕊<sup>2,4</sup>, 张尊勉<sup>3</sup>, 王 俊<sup>1\*</sup>, 阎 哲<sup>3\*</sup>, 邱红梅<sup>5\*</sup>

(1. 长江大学 农学院, 湖北 荆州 434025; 2. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 吉林 长春 130012; 3. 中国农业科学院 作物科学研究所, 北京 100081; 4. 聊城大学 农学与农业工程学院, 山东 聊城 252000; 5. 吉林省农业科学院 大豆研究所, 吉林 长春 130033)

**摘 要:**为深入了解大豆种质资源固氮特性的差异性,筛选出固氮能力优异的大豆资源,以 197 份国内外大豆种质资源为试验材料,通过对接根瘤菌 USDA110 后大豆的叶绿素含量(Ve、V1、V2 和 V3 期)、结瘤数、地上地下鲜重、地上地下干重、上下胚轴长度和全氮含量进行分析,评价不同大豆资源的共生固氮特性,筛选出固氮能力突出的大豆资源。结果表明:不同大豆种质资源的各指标存在显著差异,其中结瘤数和地下干重差异较为明显;相关性分析和主成分分析显示,结瘤数、全氮含量、地上部鲜重、地下部鲜重、地上部干重与地下部干重 6 个指标相互呈极显著正相关关系,且在 12 个指标中占据主要地位,因此将这 6 个指标作为评价固氮特性的指标,以这 6 个指标的主成分值计算各大豆资源的综合得分;基于主成分分析的综合得分将 197 份大豆资源进行聚类分析,以 Williams 82 为中心分为 3 类,分别为 I 类(score ≥ 0.5)、II 类(-0.5 < score < 0.5)、III 类(score ≤ -0.5),其中 I 类固氮特性优异,包含 58 份种质资源,这些材料将为选育高固氮能力的大豆品种提供资源基础。

**关键词:**大豆;种质资源;共生固氮;主成分分析

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Identification and Evaluation of Symbiotic Nitrogen Fixation Characteristics of 197 Soybean Germplasm Resources

YU Yingdong<sup>1,2</sup>, XU Ruixin<sup>2,3</sup>, LIU Sirui<sup>2,4</sup>, ZHANG Zunmian<sup>3</sup>, WANG Jun<sup>1\*</sup>, YAN Zhe<sup>3\*</sup>, QIU Hongmei<sup>5\*</sup>

(1. College of Agriculture, Changjiang University, Jingzhou 434025, China; 2. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130012, China; 3. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 4. College of Agronomy and Agricultural Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252000, China; 5. Soybean Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

**Abstract:** In order to deeply understand the differences of nitrogen fixation characteristics of soybean germplasm resources, soybean resources with excellent nitrogen fixation ability were selected, this experiment used 197 domestic and foreign soybean varieties as experimental materials. Through the analysis of soybean chlorophyll content (VE, V1, V2 and V3), nodule number, shoot and root fresh weight, shoot and root dry weight, epicotyl and hypocotyl length, and total nitrogen content after inoculation with Rhizobium USDA110, the symbiotic nitrogen fixation characteristics of different soybean resources were evaluated, and the soybean resources with outstanding nitrogen fixation ability were selected. The results showed that there were significant differences in the indexes of different soybean resources, especially the nodule number and underground dry weight. Correlation analysis and principal component analysis showed that nodule number, total nitrogen content, fresh shoot weight, fresh root weight, dry shoot weight and dry root weight were significantly positively correlated with each other, and occupied a major position in the 12 indicators. Therefore, these six indicators were used as indicators to evaluate nitrogen fixation characteristics, and the comprehensive scores of each soybean resource were calculated by the principal component values of these six indicators. Based on the comprehensive score of principal component analysis, 197 soybean varieties were clustered and divided into three types with Williams 82 as the center, namely, type I (score ≥ 0.5), type II (-0.5 < score < 0.5), and type III (score ≤ -0.5). Type I has excellent nitrogen fixation characteristics, including 58 seed quality resources. These materials will lay the foundation for breeding soybean varieties with high nitrogen fixation ability.

**Keywords:** soybeans; germplasm resources; symbiotic nitrogen fixation; principal component analysis

生物固氮是固氮微生物将大气中的氮气还原成氨的过程。这一过程中,豆科植物与根瘤菌所建立的共生体系占据重要地位,且固氮量远超过其他

类型的生物固氮<sup>[1,2]</sup>。这种高效固氮形式不仅有助于豆科植物如大豆的生长和发育,还提高了土壤的肥力和保水能力<sup>[3]</sup>。由于遗传背景的差异,不同的

收稿日期:2024-09-26

基金项目:国家自然科学基金(32272101)。

第一作者:余应栋,硕士研究生,主要从事作物遗传育种研究。E-mail:ml5686347574@163.com。

通讯作者:阎哲,博士,研究员,主要从事大豆共生固氮机制研究。E-mail:yanzhe@caas.cn;

邱红梅,硕士,副研究员,主要从事大豆种质资源研究。E-mail:qhm2001-2005@163.com;

王俊,博士,教授,主要从事作物遗传育种研究。E-mail:wangjiagri@yangtzeu.edu.cn。

大豆品种对根瘤菌的响应也存在差异<sup>[4]</sup>。一些大豆品种可与根瘤菌构建高效的共生固氮体系,而一些品种则可能无法与根瘤菌有效互作,导致固氮效率低下<sup>[5,6]</sup>。Zhang 等<sup>[7]</sup>对来自世界各地的 496 份大豆材料分别接种慢生型根瘤菌 USDA110,鉴定根瘤数目、单株鲜重和固氮酶活性等表型,通过 GWAS 分析定位到了调控结瘤数的基因 *GmNNL1*,该基因功能缺失的大豆材料结瘤能力突出,且地上部分的生物量增加显著。此外,不同地区的根瘤菌菌株特性也存在差异,对大豆品种的共生固氮能力也有很大影响<sup>[8-10]</sup>。伍惠等<sup>[11]</sup>通过对 8 株根瘤菌与 27 个不同地区的栽培大豆进行匹配试验,分析了根瘤数、株高等性状,鉴定出了中豆 39-GR3(长江流域)的匹配关系。因此,大豆种质资源的固氮能力评价显得尤为重要,高效固氮种质对提高大豆的产量和品质、减少氮肥的使用具有重要意义。

目前,已有不少研究者对大豆种质资源的共生固氮能力进行了鉴定,筛选出了一些固氮能力强的大豆品种。史佳瑶等<sup>[12]</sup>对黄淮海地区大豆资源的固氮能力进行了评估,以单株根瘤数、单株根瘤干重为主要评估标准,并研究分析了大豆籽粒蛋白、油分水平与结瘤功能之间的相关性,筛选出安豆 1311、灌云大四粒、沿大粒等 7 份结瘤能力较强的大豆品种。徐巧珍等<sup>[13]</sup>综合农艺学、物候学、结瘤固氮性状,评价出大粒早(春)、宝应粉皮青(夏)、秋 71(秋)等一些固氮能力突出的大豆种质。王宏光等<sup>[14]</sup>对东北 218 份大豆种质资源,接种寒地大豆根瘤菌 HD001,鉴定出绥农 10 号、N66、东农 44 等 10 份高效结瘤大豆资源。徐玲玫等<sup>[15]</sup>调查了吉林和辽宁的 18 个大豆品种的固氮能力,苗期鉴定结瘤数,并在成熟期测定植株全氮和产量等,发现不同种质大豆的固氮能力表现出很大差异,其中吉林 23、辽 86-5435 为结瘤能力最好的材料。这些研究筛选了一些结瘤能力强的大豆品种资源,其结果为培育高效固氮的大豆新品种提供材料基础。

前人研究已揭示不同大豆品种的固氮能力存在差异,且筛选出固氮能力优秀的大豆品种,但这些试验材料地理覆盖范围单一,为全面深入了解大豆种质资源的固氮特性,本研究扩大了试验材料的地理覆盖范围,选取了分布国内各地的 164 份材料以及来自国外的 33 份材料。对这 197 份大豆种质资源的共生固氮特性进行鉴定,分析各个品种的结瘤情况和相关性状,旨在筛选出固氮能力突出的大豆品种,更加精准地了解大豆资源间的固氮差异,

从而为育种家提供有价值的参考信息,有助于对品种固氮效率进行遗传改良,推动大豆产业的持续发展。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为 197 份大豆种质资源,其中国内资源 164 份,国外资源 33 份(详见附表 1),均由中国农业科学院国家种质库提供。

试验菌株为慢生型根瘤菌 USDA 110,由中国科学院作物科学研究所阎哲研究员课题组提供。

1.2 试验设计

试验采用盆栽方法,挑选出籽粒饱满、大小相近且无病斑的种子,通风橱中用氯气对种子消毒 12 ~ 16 h,将种子直接播种于营养土中(蛭石:珍珠岩 = 2:1),营养土使用之前需高压灭菌<sup>[16]</sup>。种植在装满营养土的小盒中(规格为 6.8 cm × 6.8 cm × 8.0 cm,容量约为 400 mL),每盒保苗 1 株,每 18 盒放置在 1 个育苗盘里,加入适量水,于室外露天环境中培养至出苗。用 YMB 培养基(配置组成详见附表 2)将菌株(慢生根瘤菌 USDA110)培养至 OD<sub>600</sub> 值在 0.8 ~ 1.0 之间,离心(7 500 r·min<sup>-1</sup>, 5 min)后弃去培养基,用无氮营养液(配置组成见附表 3)稀释到 OD<sub>600</sub> 在 0.08 ~ 0.10 范围内,播种后 7 d 进行接菌,菌液直接浇注植株根部,每株需接种菌液 10 mL<sup>[17]</sup>。以品种 Williams 82 为对照,随机区组排列,3 次重复试验,每次重复每个参试材料定苗 3 株。接菌后于室外露天环境中培养,后续只浇水,21 d 取样调查,分析结瘤、固氮等性状。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 叶绿素含量 使用 SPAD-502 型便携式叶绿素测定仪获取数据,测定真叶、第二复叶、第三复叶及第四复叶完全展开时期叶绿素含量,分别表示为 Ve\_Ch1、V1\_Ch1、V2\_Ch1 和 V3\_Ch1,每个叶片测量 3 个点,取平均值<sup>[18]</sup>。

1.3.2 生物量 植株第 1 片真叶完全展开时,用直尺测量上胚轴长度(Epicotyl, Epi),即子叶着生点到第一片真叶之间的距离;测量下胚轴长度(Hypocotyl, Hyp),即子叶与根之间的距离,统一测量子叶到营养土面的距离。接菌 21 d 后,测量其他指标,将植株根部的营养土用清水洗去,准确计量结瘤数(Nodule Number, NN);并在子叶痕处剪断为地上部和地下部,电子天平测量地上部鲜重(Fresh Shoot Weight, FSW)和地下部鲜重(Fresh Root Weight, FRW),写上标签,分别装入纱网袋。然后将

材料转移至烘箱中烘干水分,室内使用万分之一电子天平精确称量地上部干重 (Dry Shoot Weight, DSW) 和地下部分干重 (Dry Root Weight, DRW)。

1.3.3 全氮含量 将称量干重后的样品整株研磨成粉末,并过 60 目筛,后按照《NYT 2017-2011 植物中氮、磷、钾的测定》中的方法处理为待测液,使用连续流动化学分析仪 (SA1100) 测定待测液的全氮含量 (Total Nitrogen, TN)<sup>[19]</sup>。

1.4 数据分析

计算各个数据的变异系数,进行差异性分析,公式如下:

$$CV = \frac{SD}{MN} \times 100\%$$
 (1)

式中, CV 为变异系数, SD 为标准偏差, MN 为平均值<sup>[20]</sup>。

通过主成分分析获得各个变量的权重,挑选出具有代表性的维数来概括不同大豆资源的共生固氮特征,根据公式计算得分:

$$y = x_1y_1 + x_2y_2 + x_3y_3 + \cdots + x_ny_n$$
 (2)

其中,  $x_1, x_2, \dots, x_n$  为主成分的贡献比例,  $y_1, y_2, \dots, y_n$  为主成分的权重<sup>[21,22]</sup>。

采用 WPS Office 12.1 和 GraphPad Prism 9.5 软件整理分析实验数据,使用 R 语言软件进行差异性、相关性、主成分以及聚类分析,以及相关结果的绘图。

2 结果与分析

2.1 不同大豆种质资源结瘤相关性状的差异分析

对 197 份大豆种质资源进行盆栽试验表明,参试大豆种质资源结瘤相关性状表现出明显差异,如表 1 所示,在接种根瘤菌后各指标均发生一定程度变异。除 V1 期叶绿素含量 (V1\_Ch1)、V2 期叶绿素含量 (V2\_Ch1) 外,其余 10 个指标的变异系数均大于 10.00%,其中结瘤数 (NN) 和地上干重 (DSW) 的变异系数大于 60.00%,说明不同的种质资源对根瘤菌的响应存在差异,其中结瘤数 (NN) 表现出最大的差异。结瘤数 (NN) 最多的品种为泥豆,结瘤数为 140 个,而结瘤数最少的品种为 Suwon123 和 Peking,结瘤数仅为 4 个,由此可见不同品种间的结瘤情况差异较大;而地上干重 (DSW) 指标,最高的前 5 个品种为 Embrapa 58、榆选 13 号、小米豆、黑豆和丰城早乌豆。因此,依据结瘤数 (NN) 不能全面、有效地评价不同大豆材料的共生固氮特性,而需要综合考察这些指标。通过对变异系数大于 20% 的指标综合分析来进行评价发现,都昌乌豆、绥农 14、茶豆、泰兴矮脚红和大青仁等大豆品种的各指标在

总体数据中占据靠前位置,说明这些大豆品种的共生固氮特性可能较好,但还需要进行深入分析。

表 1 不同大豆品种资源各个指标变异分析  
Table 1 Analysis of variation of each index of different soybean variety resources

性状 Traits	标准差 SD	平均值 Mean	变异系数 CV/%
Ve 叶绿素含量 Ve_Ch1	4.66	33.58	13.88
V1 叶绿素含量 V1_Ch1	3.32	39.20	8.47
V2 叶绿素含量 V2_Ch1	3.06	35.56	8.61
V3 叶绿素含量 V3_Ch1	3.75	29.23	12.83
地上鲜重 FSW/kg	1.09	3.52	30.97
地下鲜重 FRW/kg	1.14	4.43	25.73
上胚轴长度 Epi/cm	0.81	3.55	22.82
下胚轴长度 Hyp/cm	0.91	3.88	23.45
结瘤数 NN	16.46	23.92	68.81
地上干重 DSW/kg	0.46	0.76	60.53
地下干重 DRW/kg	0.12	0.38	31.58
全氮含量 TN/g	2.32	19.19	12.09

注: NN. 结瘤数; TN. 全氮含量; FSW. 地上鲜重; FRW. 地下鲜重; Epi. 上胚轴长度; Hyp. 下胚轴长度; DSW. 地上干重; DRW. 地下干重; Ve. Ch1-Ve 期叶绿素含量; V1. Ch1-V1 期叶绿素含量; V2. Ch1-V2 期叶绿素含量; V3. Ch1-V3 期叶绿素含量。下同。

Note: NN. Number of nodules; TN. Total nitrogen content; FSW. Aboveground fresh weight; FRW. Underground fresh weight; Epi. Length of hypocotyl; Hyp. Length of hypocotyl; DSW. Aboveground dry weight; DRW. Underground dry weight; Ve. Ch1-Ve Chlorophyll content; V1. Ch1-V1 chlorophyll content; V2. Ch1-V2 chlorophyll content; V3. Ch1-V3 chlorophyll content. The same below.

2.2 相关性分析

对所测定的 12 个指标进行相关性分析表明:结瘤数 (NN) 与全氮含量 (TN)、地上鲜重 (FSW)、地下鲜重 (FRW)、地上干重 (DSW)、地下干重 (DRW) 呈极显著正相关,与 Ve 期叶绿素含量 (Ve\_Ch1) 和 V3 期叶绿素含量 (V3\_Ch1) 呈极显著负相关;全氮含量 (TN) 与地上鲜重 (FSW)、地下鲜重 (FRW)、地上干重 (DSW)、地下干重 (DRW) 呈极显著正相关,与 Ve 期叶绿素含量 (Ve\_Ch1) 和 V3 期叶绿素含量 (V3\_Ch1) 呈极显著负相关;地下干重 (DRW) 与地上鲜重 (FSW)、地下鲜重 (FRW)、地上干重 (DSW)、上胚轴长度 (Epi)、下胚轴长度 (Hyp) 呈显著或极显著正相关,与 Ve 期叶绿素含量 (Ve\_Ch1) 呈显著负相关;地下鲜重 (FRW) 和地上鲜重 (FSW)、地上干重 (DSW)、V1 期叶绿素含量 (V1\_Ch1) 呈极显著正相关;地上鲜重 (FSW) 与地上干重 (DSW)、上胚轴长度 (Epi)、V1 期叶绿素含量 (V1\_



Chl)呈极显著正相关关系,与Ve期叶绿素含量(Ve\_Ch1)呈极显著负相关;地上干重(DSW)与上胚轴长度(Epi)、下胚轴长度(Hyp)、V1期叶绿素含量(V1\_Ch1)、V2期叶绿素含量(V2\_Ch1)呈显著或极显著正相关,与Ve期叶绿素含量(Ve\_Ch1)呈极显著负相关;Ve期叶绿素含量(Ve\_Ch1)和V2期叶绿素含量(V2\_Ch1)呈极显著正相关;上胚轴长度(Epi)与下胚轴长度(Hyp)、V1期叶绿素含量(V1\_Ch1)、V2期叶绿素含量(V2\_Ch1)呈极显著正相关;

下胚轴长度(Hyp)与V2期叶绿素含量(V2\_Ch1)呈极显著正相关(图1)。

综上,本研究结果表明大豆的结瘤数(NN)越多,其固氮能力就越强,对植株地上部和地下部的生长发育越有利,植株的全氮含量(TN)就越高。因此,结瘤数(NN)、全氮含量(TN)、地上鲜重(FSW)、地下鲜重(FRW)、地上干重(DSW)和地下干重(DRW)6个指标可以作为评价大豆品种的共生固氮特性的参考指标。

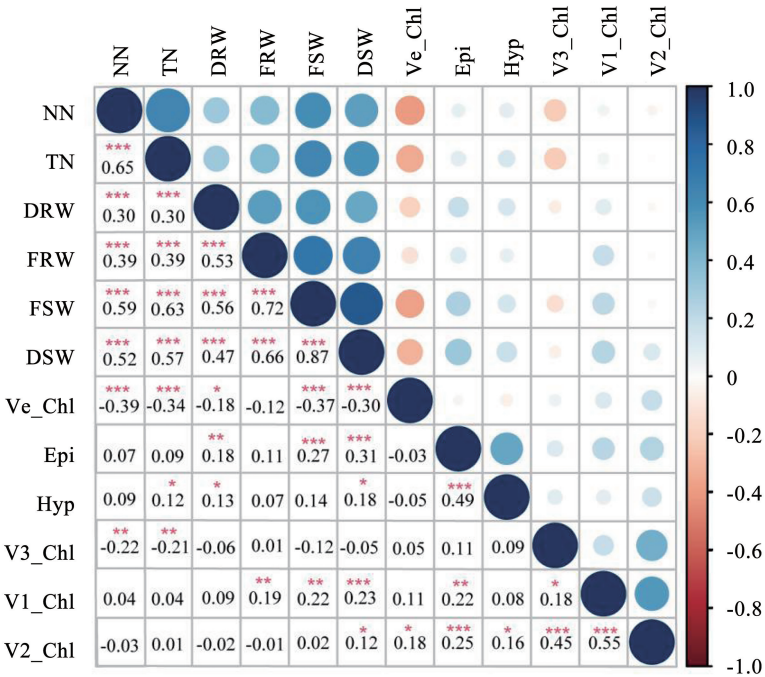


图1 不同大豆种质资源各指标的相关性分析

Fig.1 Correlation analysis of various indicators of different soybean germplasm resources

2.3 主成分分析

为了进一步确定评价大豆共生固氮特性的性状指标,对197份种质材料的12个指标进行主成分分析,结果如图2所示。各指标在二维平面上有明显的分布特点,结瘤数(NN)、全氮含量(TN)、地上鲜重(FSW)、地下鲜重(FRW)、地上干重(DSW)和地下干重(DRW)6个指标在Dim1中的贡献值大, Ve期叶绿素含量(Ve\_Ch1)、V1期叶绿素含量(V1\_Ch1)、V2期叶绿素含量(V2\_Ch1)、V3期叶绿素含量(V3\_Ch1)、上胚轴长度(Epi)和下胚轴长度(Hyp)6个指标在Dim2中的贡献值大,而且Dim1的贡献率是Dim2的两倍,说明结瘤数(NN)、全氮含量(TN)、地上鲜重(FSW)、地下鲜重(FRW)、地上干重(DSW)和地下干重(DRW)6个指标占据主要地位。

为了减少降维造成的数据损失,将结瘤数

(NN)、全氮含量(TN)、地上鲜重(FSW)、地下鲜重(FRW)、地上干重(DSW)和地下干重(DRW)6个指标作为评价各种质材料固氮特性的核心指标,并重新进行主成分分析,评价不同大豆品种的共生固氮特性,结果如表2所示。前3个主成分的累积贡献率达91.09%,表明降维造成的数据信息损失很小,能够反映6个核心指标的大部分信息,可用于计算各大豆资源的综合得分,评价共生固氮特性。

第1主成分的特征值为3.85,贡献比例为64.14%,6个指标的载荷值均为正,分别为0.92, 0.77,0.87,0.64,0.78和0.80,相差基本不大;第2主成分的特征值为1.07,贡献率为17.76%,其中结瘤数(NN)和全氮含量(TN)载荷值为正;第3主成分的特征值为0.55,贡献率为9.19%,地上鲜重(FSW)、地下鲜重(FRW)和地上干重(DSW)指标的载荷值为正。

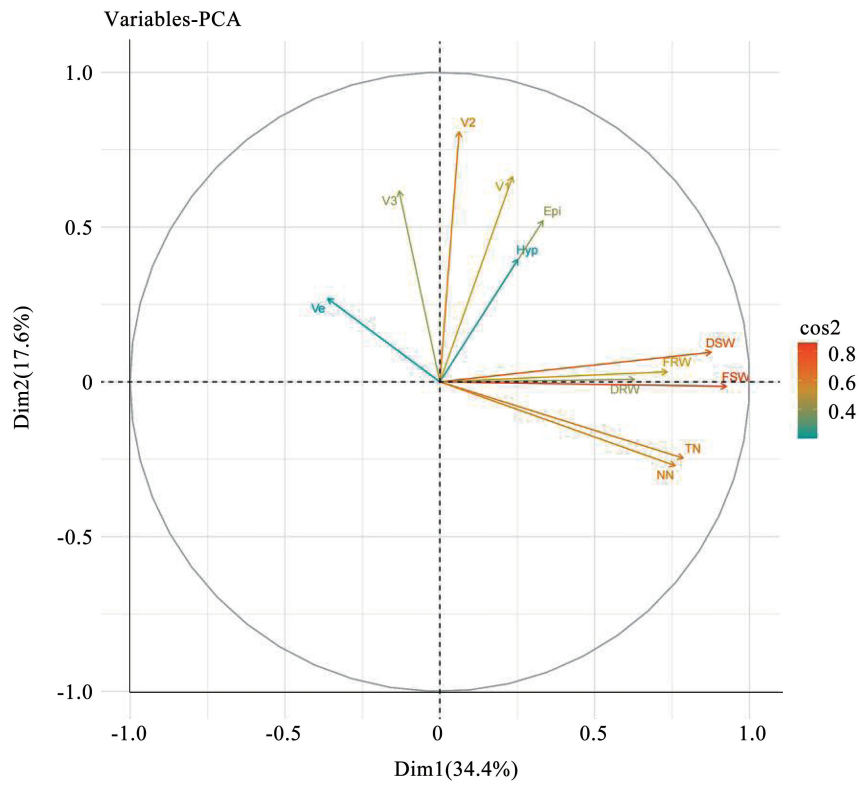


图 2 12 个指标的主成分图

Fig.2 Principal component diagram of 12 indicators

表 2 6 个核心指标的主成分值

Table 2 Main component values of 6 core indicators

性状 Traits	主成分 Principal component					
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
地上鲜重 FSW	0.92	-0.15	0.17	-0.16	0.27	-0.02
地下鲜重 FRW	0.77	-0.40	0.19	0.46	-0.04	-0.01
地上干重 DSW	0.87	-0.16	0.31	-0.30	-0.19	0.04
地下干重 DRW	0.64	-0.48	-0.60	-0.08	-0.03	0.00
结瘤数 NN	0.78	0.57	-0.15	0.10	0.02	0.19
全氮含量 TN	0.80	0.55	-0.09	0.03	-0.06	-0.19
特征值 Eigenvalue	3.85	1.07	0.55	0.34	0.12	0.08
贡献比例 Contribution ratio/%	64.14	17.76	9.19	5.71	1.95	1.25
累计贡献比例 Accumulated contribution ratio/%	64.14	81.90	91.09	96.80	98.75	100.00

主成分分析表明,主成分 1 中的各个指标的特征向量均为正,且大于 0.5,结瘤数、全氮含量、地上鲜重、地下鲜重、地上干重和地下干重 6 个指标是评价大豆资源共生固氮特性的核心指标。根据公式(2)计算各个大豆资源的综合主成分得分,并进行排序,y 值越大则表明品种的共生固氮特性越好,综合得分前十名的分别为泥豆、都昌乌豆、丰城早乌豆、什邡螺丝豆、N17、绥农 14、茶豆、黄豆、黑豆和邳县红毛油,其中泥豆的 y 值高达 4.06,且结瘤数、全

氮含量、地上鲜重、地下鲜重、地上干重和地下干重 6 个指标均高于对照品种 Williams 82;另外平顶黑、白秋 1 号、74-424、邳县四粒糙、Foster、Soja 77180、Sargent、严田青皮豆、郑 8516 和化眉豆 10 个品种的综合得分较低,分别为 -1.73, -1.16, -1.12, -1.11, -1.02, -1.02, -1.01, -1.00, -1.00 和 -0.98,且各个指标在整体数据中都处于中下地位(表 3)。因此认为这些大豆资源的共生固氮能力较差。

表 3 排名前十位大豆种质资源的综合得分  
Table 3 Comprehensive scores of the top ten soybean germplasm resources

编号 No.	材料 Accessions	主成分得分 Principal component score			综合得分 Comprehensive score	排名 Rank
		y <sub>1</sub>	y <sub>2</sub>	y <sub>3</sub>		
117	泥豆	5.98	-2.32	3.03	4.06	1
130	都昌乌豆	2.90	-1.58	1.56	1.89	2
125	丰城早乌豆	2.54	0.34	0.02	1.86	3
115	什邡螺丝豆	2.48	-1.29	1.34	1.63	4
41	N17	2.65	-2.13	1.69	1.62	5
178	绥农 14	2.43	-1.89	2.12	1.56	6
103	茶豆	2.05	-0.10	1.03	1.53	7
90	黄豆	1.64	0.56	0.54	1.32	8
110	黑豆	1.46	1.27	0.32	1.31	9
170	邳县红毛油	1.93	-0.54	0.57	1.31	10

2.4 聚类分析

根据 3 个主成分的得分值绘制三维散点图,发现它们呈阶梯状分布,并大致分为 3 个区域(图 3),对 3 个区域内材料的聚类分析结果表明,以对照品种 Williams 82 的综合得分为中心,分为 3 类(I、II和III,图 4),得分值范围分别为大于 0.50、-0.50~0.50、小于 -0.50,与图 4 初步确定的区域大致相同。

I 类包括泥豆、都昌乌豆(130)、丰城早乌豆(125)等 58 份大豆品种资源,各个指标排位靠前,是共生固氮特性优秀的大豆品种(系);II 类包括四粒圆(191)、龙油太(164)、黑壳乌豆(88)等 98 份资源,是共生固氮特性一般的大豆品种(系);III 类包括小粒秣食豆(13)、Bedford(57)和奉贤穗稻黄(69)等 41 份资源,是共生固氮特性较差的品种(系)。

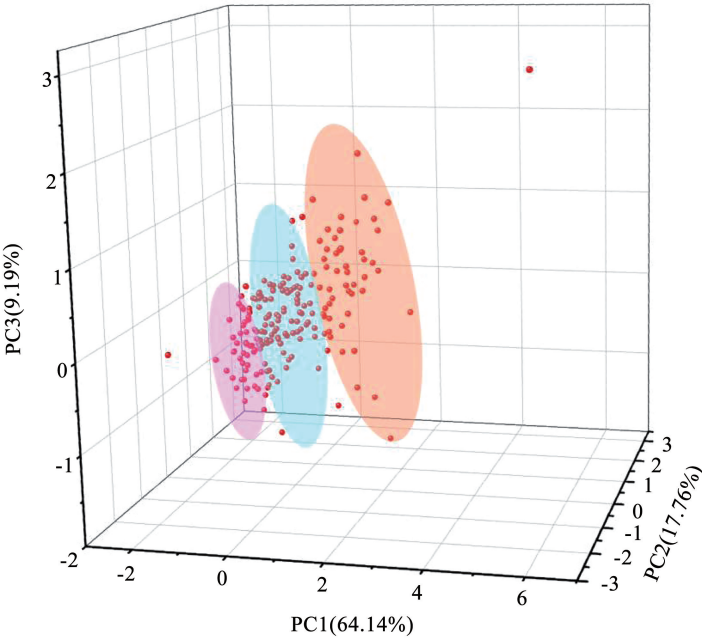
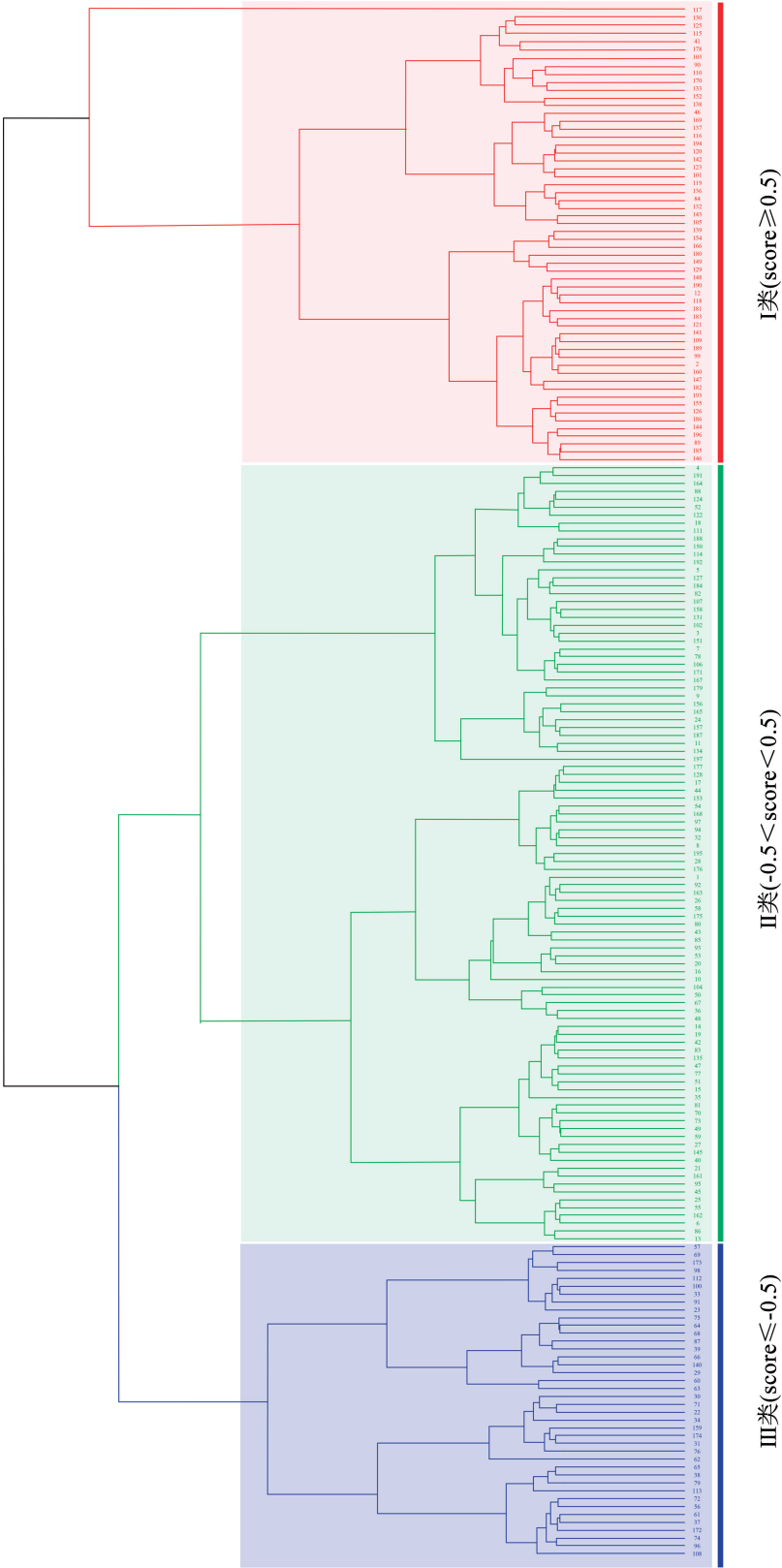


图 3 大豆品种资源核心指标得分的三维散点分布  
Fig.3 Three dimensional scatter distribution of core index scores for soybean variety resources

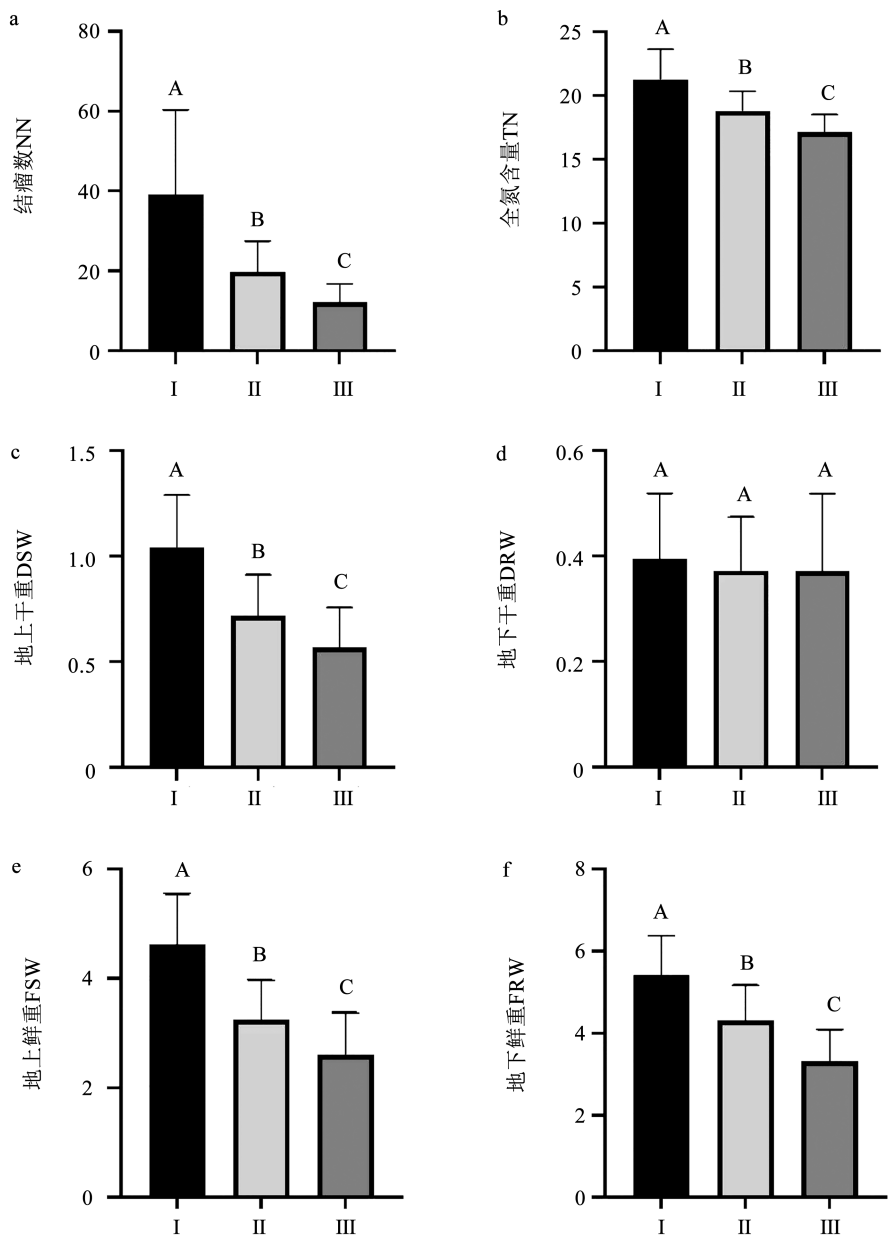
对三类大豆各个指标进行比较分析,除去地下干重(DRW)外其余 5 个指标都存在显著差异(图 5)。对三类大豆资源的地理位置进行分析发现,国内 164 份大豆资源中 I、II、III 类所占比例分别为

33.54%、47.56%和 18.90%,表明各类大豆的产地并无明显的分界和规律;国外 33 份大豆资源中 I、II 和 III 类所占比例分别为 9.09%、60.61%和 30.30%,其中 I 类大豆资源比例远远低于国内。



注:编号为附表 1 中资源编号。  
Note:The number correspond to the resource number in the supplementary table 1.

图 4 197 份大豆种质资源的聚类分析图  
Fig.4 Cluster diagram of 197 soybean germplasm resources



注:a. 结瘤数; b. 全氮含量;c. 地上干重; d. 地下干重; e. 地上鲜重; f. 地下鲜重。不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著。

Note: a. NN; b. TN; c. DSW; d. DRW; e. FSW; f. FRW. Different capitals indicate significant differences at the 0.01 level.

图5 三类大豆种质资源核心指标间的方差分析

Fig. 5 Variance analysis of key indicators among three types of soybean germplasm resources

3 讨论

在本研究通过相关性分析和主成分分析从 12 个指标中选出结瘤数、全氮含量、地上鲜重、地上干重、地下鲜重和地下干重作为主要评价指标。其中,结瘤数是衡量大豆与根瘤菌共生关系好坏的直接指标,结瘤数越多,说明大豆与根瘤菌的共生关系越好,固氮能力相对较强<sup>[23,24]</sup>。全氮含量则直接反映了植株体内氮元素的含量,在一定程度上体现

了固氮能力的强弱。地上和地下的鲜重及干重则综合反映了植株的生长状况和固氮对植株生长的影响效果<sup>[25]</sup>。通过聚类分析发现不同固氮能力类群的大豆资源在产地来源上并无明显的分界和规律,说明在大豆的演化和人工栽培过程中,固氮能力可能并没有作为一个主要的选育目标受到定向选择。在农业育种中,育种专家可能更注重产量、抗性等性状,而这些性状往往更直观、更易于量化和选择。相比之下,固氮能力是一个相对复杂且难



以直接量化的性状,它受到多种生物和非生物因素的共同影响,因此在育种过程中可能不被关注。

此外,在综合排名前十的资源材料中,地方品种占多数,选育品种只有两个(绥农 14 和 N17)。这可能是由于地方品种在长期的自然选择和人工栽培过程中,逐渐形成了适应当地生态环境的优良性状和遗传特性,能够快速响应根瘤菌,更好地利用土壤中的氮素资源<sup>[26]</sup>。而选育品种是通过人工选择和遗传改良培育出来的,在产量、抗性等某一方面的能力突出,并且由于氮肥的大量投入导致在结瘤固氮方面表现不明显<sup>[27,28]</sup>。另外,我们注意到第二类资源中的国外资源占多数。这些国外资源可能具有一些独特的遗传背景和性状特点<sup>[29]</sup>,比如更强的抗逆性,而对照品种是国外引进品种,可能存在一定关系。这些特点使得它们聚类成了相对独立的群体。然而,由于我们的研究样本量有限,且国外资源的具体来源和背景信息不够详尽,因此难以进一步深入分析这些国外资源的具体特征。

综上,我们通过对大豆共生固氮特性相关指标的鉴定和分析,获得了一批固氮能力优异的大豆资源,这些资源将为大豆育种和栽培提供宝贵的遗传材料和参考依据。通过进一步深入研究这些资源的遗传背景和固氮机制,挖掘其中的优良基因和性状,为大豆的遗传改良提供新的方向和思路,以培育出具有更高固氮能力、更强抗逆性和更高产量的大豆新品种。此外,探索这些资源在不同生态环境下的适应性表现,也能为大豆的种植和推广提供科学指导。

## 4 结论

本研究鉴定了 197 份国内外大豆种质资源的共生固氮特性,通过差异性、相关性、主成分和聚类分析等进行综合评价。鉴定出固氮特性优秀的种质资源 58 份,其中泥豆、都昌乌豆和丰城早乌豆为前三名,为提高土壤肥力和减少氮肥使用提供了种质资源方面的参考信息,也为结瘤机制的研究和相关基因的挖掘提供了材料基础。

## 参考文献

[1] 张武, 杨琳, 王紫娟. 生物固氮的研究进展及发展趋势[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2015, 30(5): 810-821.  
ZHANG W, YANG L, WANG Z J. Advance and development

trend of biological nitrogen fixation research [J]. Journal of Yunnan Agricultural University ( Natural Science ), 2015, 30 (5): 810-821.

[2] HERRIDGE D F, PEOPLES M B, BODDEY R M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems[J]. Plant and Soil, 2008, 311(1): 1-18.

[3] MUS F, CROOK M B, GARCIA K, et al. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82 ( 13 ): 3698-3710.

[4] 黄芳, 许修宏. 不同类型土壤中大豆与根瘤菌的匹配性研究 [J]. 东北农业大学学报, 2007, 38(2): 211-214.  
HUANG F, XU X H. Study on the matching of soybean and rhizobium in different types soil [ J ]. Journal of Northeast Agricultural University, 2007, 38(2): 211-214.

[5] WANG Z, HAN Q, JI H. GmRj2/Rfg1 control of soybean-rhizobium-soil compatibility [J]. Trends in Plant Science, 2024, 29 (1): 7-9.

[6] 张欣. 大豆根瘤菌及生物固氮的研究与应用[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011.  
ZHANG X. Research and application of soybean rhizobia and biological nitrogen fixation [ D ]. Harbin: Northeast Forestry University, 2011.

[7] ZHANG B, WANG M, SUN Y, et al. *Glycine max* NNL1 restricts symbiotic compatibility with widely distributed bradyrhizobia via root hair infection[J]. Nature Plants, 2021, 7(1): 73-86.

[8] ZHANG X X, GUO H J, JIAO J, et al. Pyrosequencing of *rpoB* uncovers a significant biogeographical pattern of rhizobial species in soybean rhizosphere [J]. Journal of Biogeography, 2017, 44 (7): 1491-1499.

[9] 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.

[10] 魏启舜, 郭东森, 王琳, 等. 不同施肥条件下接种根瘤菌对鲜食大豆结瘤和产量的影响 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49 (23 ): 77-82.  
WEI Q S, GUO D S, WANG L, et al. The effect of inoculating rhizobia under different fertilization conditions on nodulation and yield of fresh soybean [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2021, 49 (23): 77-82.

[11] 伍惠, 钟喆栋, 樊伟, 等. 8 株优良大豆根瘤菌与不同地区 27 个大豆主栽品种的匹配性研究 [J]. 大豆科学, 2017, 36(3): 405-418.  
WU H, ZHONG Z D, FAN W, et al. Symbiotic compatibility among eight elite soybean rhizobia strains and twenty-seven soybean cultivars from different planting regions [ J ]. Soybean Science, 2017, 36(3): 405-418.

[12] 史佳瑶, 刘智, 冯燕, 等. 1970—2020 年间黄淮海夏大豆部分育成品种(系)结瘤能力鉴定[J]. 大豆科学, 2023, 42(6): 692-700.  
SHI J Y, LIU Z, FENG Y, et al. Identification of nodulation ability in partially bred soybean cultivars (lines) in the Huang-Huai-Hai region during 1970-2020[J]. Soybean Science, 2023, 42(6): 692-700.

[13] 徐巧珍, 张学江, 李志玉, 等. 大豆种质资源共生固氮特性评价及遗传初步研究[J]. 中国油料作物学报, 2000(1): 20-24.  
XU Q Z, ZHANG X J, LI Z Y, et al. Evaluation and preliminary genetic study on symbiotic nitrogen fixation characteristics of soybean germplasm resources[J]. Chinese Journal of Oil Crops, 2000(1): 20-24.

[14] 王宏光, 孙殿君, 马忠强, 等. 大豆根瘤菌 HD001 的分离鉴定及结瘤能力检测[J]. 大豆科学, 2014, 33(3): 379-384.  
WANG H G, SUN D J, MA Z Q, et al. Isolation and identification of soybean rhizobia HD001 and detection of its nodulation ability[J]. Soybean Science, 2014, 33(3): 379-384.

[15] 徐玲玫, 樊蕙, 崔阵, 等. 吉林辽宁两省不同大豆品种自然固氮能力调查[J]. 大豆科学, 1994, 13(1): 38-47.  
XU L M, FAN H, CUI Z, et al. Investigation of natural nitrogen fixation ability of different soybean varieties in Jilin and Liaoning provinces[J]. Soybean Science, 1994, 13(1): 38-47.

[16] 陈荣, 刘颖, 冯立新, 等. 不同消毒方法对西南桦种子萌发效果的影响[J]. 广东农业科学, 2011, 38(12): 51-52.  
CHEN R, LIU Y, FENG L X, et al. Effects of different disinfection methods on seed germination of *Betula alnoides*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2011, 38(12): 51-52.

[17] 张尊勉. *GmHKL* 在大豆结瘤过程中的功能研究[D]. 聊城: 聊城大学, 2023.  
ZHANG Z M. Functional study of *GmHKL* in soybean nodulation process [D]. Liaocheng: Liaocheng University, 2023.

[18] 刘志萍, 巴图, 吕二锁, 等. 利用 SPAD-502 叶绿素计筛选大麦高光效新种质[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2017, 32(6): 510-515.  
LIU Z P, BA T, LÜ E S, et al. Screening high photosynthetic efficiency new germplasm of barley using SPAD-502 chlorophyll [J]. Journal of Inner Mongolia Minzu University (Natural Sciences), 2017, 32(6): 510-515.

[19] 方金豹. NYT 2017-2011 植物中氮、磷、钾的测定[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.  
FANG J B. NYT 2017-2011 determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plants [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2011.

[20] 蔡晖, 石洪福. 多层油藏层间压力变异系数评价方法研究与应用[J]. 天然气与石油, 2022, 40(3): 75-79.  
CAI H, SHI H F. Research and application of evaluation method for interlayer pressure variation coefficient in multi-layer oil reservoirs[J]. Natural Gas and Petroleum, 2022, 40(3): 75-79.

[21] 刘芯欣, 侯云龙, 杜楠琳, 等. 大豆耐低氮资源的苗期鉴定与筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2023, 24(2): 408-418.  
LIU X X, HOU Y L, DU N L, et al. Identification and screening of soybean resources tolerant to low nitrogen by seedling assay[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2023, 24(2): 408-418.

[22] 孙浩楠, 曹霞, 朱贵爽, 等. 耐低氮大豆资源的苗期筛选与评价[J]. 大豆科学, 2023, 42(5): 545-553.  
SUN H N, CAO X, ZHU G S, et al. Screening and evaluation of low nitrogen tolerant soybean resources at seedling stage [J]. Soybean Science, 2023, 42(5): 545-553.

[23] 陈慧, 邸伟, 姚玉波, 等. 不同大豆品种根瘤固氮酶活性与固氮量差异研究[J]. 核农学报, 2013, 27(3): 379-383.  
CHEN H, DI W, YAO Y B, et al. Study on the difference of nodule nitrogenase activity and amount of nitrogen fixation of different soybean varieties [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(3): 379-383.

[24] 王金生, 丁宁, 吴俊江, 等. 大豆根瘤菌接种效应及竞争结瘤能力分析[J]. 大豆科学, 2017, 36(5): 761-767.  
WANG J S, DING N, WU J J, et al. Analysis of the inoculation effect of soybean rhizobia and the competitive nodulation ability [J]. Soybean Science, 2017, 36(5): 761-767.

[25] 郭丽琢, 张虎天, 何亚慧, 等. 根瘤菌接种对豌豆/玉米间作系统作物生长及氮素营养的影响[J]. 草业学报, 2012, 21(1): 43-49.  
GUO L Z, ZHANG H T, HE Y H, et al. Effect of *Rhizobium* inoculation on crop growth and nitrogen nutrition of a pea/maize intercropping system [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2012, 21(1): 43-49.

[26] 蒲艳艳, 宫永超, 李娜娜, 等. 中国大豆种质资源遗传多样性研究进展[J]. 大豆科学, 2018, 37(2): 315-321.  
PU Y Y, GONG Y C, LI N N, et al. The progress in genetic diversity of the soybean germplasm in China [J]. Soybean Science, 2018, 37(2): 315-321.

[27] 冷建田, 陈应志, 王英, 等. 中国不同地区大豆育成品种的特点分析及品种选育方向的探讨[J]. 大豆科学, 2007, 26(3): 293-299, 304.  
LENG J T, CHEN Y Z, WANG Y, et al. Character analysis of newly-developed soybean varieties and breeding objectives in different regions of China[J]. Soybean Science, 2007, 26(3): 293-299, 304.

[28] 董守坤, 龚振平, 祖伟. 氮素营养水平对大豆氮素积累及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1): 65-70.  
DONG S K, GONG Z P, ZU W. Effects of nitrogen nutrition levels on N-accumulation and yields of soybean [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2010, 16(1): 65-70.

[29] ANDRIJANIĆ Z, NAZZICARI N, ŠARČEVIĆ H, et al. Genetic diversity and population structure of European soybean germplasm revealed by single nucleotide polymorphism[J]. Plants, 2023, 12(9): 1837.