



韩德志,孙浩峰,冯丽艳,等.大豆耐盐碱鉴定池 pH 调节的初步研究[J].黑龙江农业科学,2023(6):1-5.

大豆耐盐碱鉴定池 pH 调节的初步研究

韩德志¹,孙浩峰²,冯丽艳¹,张雷¹,贾鸿昌¹,闫晓飞¹,鹿文成¹

(1.黑龙江省农业科学院 黑河分院,黑龙江 黑河 164300; 2.沈阳农业大学 农学院,辽宁 沈阳 110000)

摘要:大豆是我国重要的粮油经济作物,盐碱作为大豆主要非生物胁迫之一,对大豆的生长发育形成负面调控,严重危害大豆的产量。为解析盐碱对大豆非生物胁迫遗传调控机制,帮助研究人员完成耐盐碱表型的精准鉴定,2022 年黑龙江省农业科学院黑河分院在黑龙江省北部大豆主产区建立了首个大豆耐盐碱表型精准鉴定平台。利用大庆地区原位盐碱土,规划设计 3 个耐盐碱鉴定梯度池,设计高、中、低耐盐碱池的 pH 为 10.2、9.2 和 8.2。在实验室混土比例试验的基础上,确定了高、中、低耐盐碱池的混土比例,且混土后高、中、低耐盐碱池的 pH 变化幅度分别为 10.14 ± 0.07 , 9.22 ± 0.19 , 8.13 ± 0.07 ,测量值与预期理论观测值基本一致。上述结果表明通过科学混土建立的大豆耐盐碱表型鉴定池是科学可行的,可用于大豆耐盐碱种质筛选评价及耐盐碱品种的选育。

关键词:大豆;耐盐碱;非生物胁迫;表型精准鉴定

土壤盐碱化是全球环境恶化的主要因素之一,未来全球土壤盐碱化将表现为持续加剧和区域性凸显的特征^[1-2]。在全球农业生产中,盐碱胁迫是影响作物生长和产量的主要非生物胁迫之一。盐渍地是我国重要的后备耕地,提升作物耐盐碱性,不仅是应对耕地盐碱化导致作物减产的有效途径,也是未来开拓农业耕种面积及保障粮食生产安全的基本条件之一^[3]。

大豆是重要的油料作物,是人类优质蛋白和食用油的主要来源之一,在我国种植区域广泛^[4]。相同种植条件下,大豆每年产量的差异往往是由于非生物胁迫造成的。在全球范围内,非生物因素的危害比疾病或虫害更加严重^[5],导致全球大豆产量损失超过 50%^[6],其中盐胁迫是主要的非生物胁迫之一,盐碱胁迫会对大豆的产量和质量造成难以预计的损失。全球大约有 20% 的灌溉农田受到盐分的不利影响^[7]。风暴、海水侵蚀、过度施肥和高盐灌溉用水都会导致土地盐渍化。当作物遭受盐碱胁迫时,会激活不同的生理、细胞、代谢防御机制来维持正常生长。因此,建立大豆

耐盐碱鉴定平台,筛选耐盐碱大豆抗性种质资源至关重要。

栽培大豆是中度耐盐作物,土壤中的盐度阈值是 $5.0 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$,盐碱胁迫会显著抑制大豆生长,降低大豆产量^[8-10]。大豆在 pH 为 6.6~7.8 的土壤上能正常生长,在土壤 $\text{pH} > 8.0$ 的情况下,大豆叶片的电导率明显高于其他处理,破坏质膜使电解质外渗,即电导率升高,这说明土壤 $\text{pH} > 8.0$ 是大豆耐盐碱鉴定的最低值^[11-13]。为开展大豆耐盐碱相关研究,借鉴大豆耐盐碱相关单位经验,在黑龙江省高纬寒地大豆主产区黑河分院试验基地建立首个大豆耐盐碱鉴定池,采用大庆盐碱区域不同梯度 pH 的原位盐碱土,通过不同配比混土设计,成功完成耐盐碱鉴定池 pH 设计,其中低盐碱池 pH 约 8.2、中盐碱池 pH 约 9.2、高盐碱池 pH 约 10.2。本研究将耐盐碱鉴定池的设计思路及 pH 梯度混土设计试验过程进行总结,以期今后大豆耐盐碱池建设提供设计思路及理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

盐碱池用土采用大庆盐碱地区原位盐碱土,包括高盐碱土(盐碱土 1)、中盐碱地(盐碱土 2)、普通土。

1.2 方法

1.2.1 鉴定池设计 大豆耐盐碱池设在黑龙江省农业科学院黑河分院试验地($47^{\circ}42'N \sim 51^{\circ}03'N$,

收稿日期:2023-01-02

基金项目:黑龙江省“揭榜挂帅”科技攻关(2021ZXJ05B011);黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZKYF2021-2-C019);国家大豆产业技术体系资金资助项目(CARS-04-05B)。

第一作者:韩德志(1984—),男,博士研究生,副研究员,从事早熟大豆遗传育种及高产栽培研究。E-mail:handezhi2008@163.com。

通信作者:鹿文成(1970—),男,硕士,研究员,从事早熟大豆遗传育种与高产栽培研究。E-mail:13845674288@163.com。

124°45′E~129°18′E)。盐碱池建设为 3 个独立鉴定池,每个池采用 5 m×5 m 钢筋混凝土构造,池底及池壁防水处理,池壁四周 15 cm 苯板缓冲处理,防止冬天池壁冻胀,采用防雨设计,配套安装滴灌管、喷灌设施。

1.2.2 盐碱池 pH 梯度设计 设计 3 个梯度盐碱鉴定池,利用不同混土比例设计成高、中、低 pH,pH 预期设计值见表 1。

表 1 鉴定盐碱池 pH 梯度设计

编号	梯度	pH
1	高盐碱池	10.2
2	中盐碱池	9.2
3	低盐碱池	8.2

1.2.3 pH 的测定 采用国标 NY/T 1377—2007 测定土壤 pH^[14],具体操作:称取 10.0 g 土样,置于 50 mL 的高型烧杯,并加入 25 mL 水,将容器密封后,用振荡机或搅拌器,剧烈振荡或搅拌 5 min,然后静置 1~3 h 后使用 DL339001 电子 pH 测定仪进行测定,每个待测样测 3 次。

1.2.4 数据分析 利用 Excel 2019、SPSS 23.0 对盐碱池测量 pH 进行统计分析。

表 2 混土前不同土样 pH 均匀度检测

土壤类型	检测量	均值	标准差	95%置信区间		偏度	峰度	变异系数	最小值	最大值
				下限	上限					
盐碱土 1	27	10.78	0.09	10.74	10.81	-0.58	-0.08	0.01	10.6	10.9
盐碱土 2	27	8.9	0.34	8.76	9.03	-0.43	-0.87	0.04	8.2	9.4
普通土	27	6.6	0.46	6.42	6.78	-1.38	0.18	0.07	5.6	6.9

2.2 原位盐碱土 pH 差异分析

进一步对各类型土壤的观测值进行比较,通过两两差异显著性分析,Sig. 值均为 1(表 3),表明各类型土壤的 pH 在 0.05 水平下显著不同。

表 3 混土前不同土样 pH 差异比较

组别	均值差分	标准误差	df	t 值	概率> t	Sig.	95%置信区间	
							下限	上限
盐碱土 1 & 盐碱土 2	1.88	0.09	52.00	28.32	0.00	1.00	1.65	2.11
盐碱土 1 & 普通土	4.18	0.09	52.00	62.87	0.00	1.00	3.95	4.40
盐碱土 2 & 普通土	2.30	0.09	52.00	34.56	0.00	1.00	2.07	2.52

注:Sig. =1,表明在 0.05 水平下,均值显著不同。

2.3 耐盐碱鉴定池混土比例制定

根据前期 3 类土壤的 pH 测定值,按照 3 种类型土壤不同比例进行设计,具体见表 4。室内

2 结果与分析

2.1 原位盐碱土 pH 均匀度检测

为降低混土后盐碱池 pH 不均匀问题,混土前首先将不同类型的土壤进行机械粉碎,人工进行 3 遍以上的混土作业,必须保证混土前各类型土样的 pH 均匀一致,为下一步试验数据的准确性奠定基础。原位各类型土样进行人工混土后采用 3 点取样,每点 3 次重复,共 9 个待测土样,每个土壤测定 3 次,共 27 个观测值。对各类型土壤的观测值进行基本描述性统计(表 2),参试土壤的 pH 均值变化范围在 6.6~10.78,大庆原位盐碱土 pH 的变化范围包含盐碱池设计的 pH,符合下一步混土要求。且各类型土样的 pH 变异系数分别为:普通土(0.07)>盐碱土 2(0.04)>盐碱土 1(0.01),说明各类型土壤人工混土后的均匀度程度:盐碱土 1>盐碱土 2>普通土。通过以上分析,为下一步室内混土试验的准确性奠定基础。根据土样的均匀度检测,进一步重新进行人工混土,普通土混匀最差增加混土作业 2 次,其他土样各增加混土作业 1 次,目的是为了增加各类型土壤室内混土试验前 pH 的一致性。

通过单因素方差分析(图 1),确定 3 种类型土壤的 pH 均显著不同,进一步说明大庆地区 3 类原位土 pH 具有显著差异,可为构建盐碱鉴定池提供理想鉴定介质。

严格按照比例进行精量混合,混合后按照 pH 的测产方法进行 3 次重复测定。通过表 5 方差分析,区组重复间 $P=0.316>0.05$,3 次重复测定

值差异不显著,说明试验误差控制精度较高,达到预期试验精度要求。各处理间 $P=0.000<0.05$,不同混土比例间的 pH 差异达到极显著水平,进一步说明,通过混土比例可以达到设定预期的 pH。最终根据盐碱池的鉴定预期设计要求,初步确定高盐碱池混土方案为盐碱土 1:盐碱土 2=3:1;中盐碱池混土方案为盐碱土 2:盐碱土 1=3:1;低盐碱池混土方案为盐碱土 2:普通土=3:1。

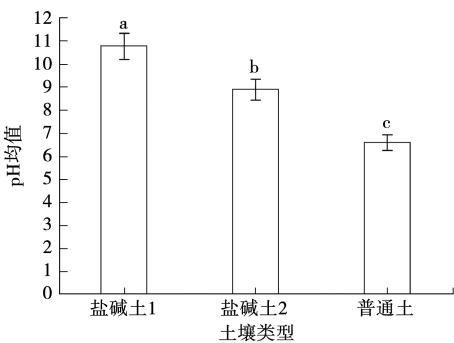


图 1 不同土样 pH 单因素方差检测及比较

注:不同小写字母表示土样间在 $P<0.05$ 水平差异显著。

表 4 不同混土比例 pH 测定及各类盐碱地比例确定

序号	土壤类型	混土比例	pH				理想混土比例的确定
			1	2	3	均值	
1	盐碱土 1:盐碱土 2	3:1	10.2	10.1	10.4	10.23	高盐碱池
2	盐碱土 1:盐碱土 2	3:2	10.0	9.9	9.8	9.90	-
3	盐碱土 1:盐碱土 2	1:1	9.7	9.8	9.9	9.80	-
4	盐碱土 2:盐碱土 1	3:1	9.3	9.2	9.2	9.23	中盐碱池
5	盐碱土 2:盐碱土 1	3:2	9.6	9.6	9.5	9.57	-
6	盐碱土 2:盐碱土 1	1:1	9.7	9.6	9.7	9.67	-
7	盐碱土 1:普通土	3:1	10.1	9.9	10.0	10.00	-
8	盐碱土 1:普通土	3:2	9.4	9.4	9.3	9.37	-
9	盐碱土 1:普通土	1:1	9.2	9.0	8.9	9.03	-
10	盐碱土 2:普通土	3:1	8.2	8.3	8.4	8.30	低盐碱池
11	盐碱土 2:普通土	3:2	8.1	8.0	8.0	8.03	-
12	盐碱土 2:普通土	1:1	7.7	7.7	7.7	7.70	-

表 5 不同混土比例 pH 方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F	P
区组间	0.021	2	0.010	1.215	0.316
处理间	22.116	11	2.011	237.669	0.000 *
误差	0.186	22	0.009		
总变异	22.323	35			

注:* 表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。

2.4 盐碱池混土后 pH 验证

根据实验室混土比例方案,利用人工及机械进行反复均匀混土,严格按照实验室预先设计的比例进行混土。为达到后期盐碱鉴定池混土一致,pH 均匀,各盐碱鉴定池进行 3 点取样验证

pH 均匀度。由表 6 可知,通过检测各鉴定池 pH 的变异系数均相对较小,说明各盐碱池 pH 具有较好的稳定性,混土效果良好。实际观测值与设计观测值差值相对较小,进一步说明通过混土建立的盐碱鉴定池是科学可行的。

表 6 各盐碱池混土后取样验证 pH

梯度	取样 1 pH			取样 2 pH			取样 3 pH			变异系数	pH 均值±标准差	pH 设计值	设计差值
	1	2	3	1	2	3	1	2	3				
低盐碱池	8.2	8.0	8.2	8.1	8.2	8.1	8.1	8.1	8.2	0.01	8.13 ±0.07	8.2	0.07
中盐碱池	9.5	9.5	9.4	9.1	9.2	9.1	9.1	9.1	9.0	0.02	9.22 ±0.19	9.2	-0.02
高盐碱池	10.0	10.1	10.1	10.1	10.2	10.2	10.2	10.2	10.2	0.01	10.14 ±0.07	10.2	0.06

3 讨论

本研究通过利用大庆地区原位盐碱地的土壤,利用不同混土比例,建立大豆耐盐碱的梯度鉴定池,通过反复验证结果是科学可行的。大庆地区盐碱土中盐和碱量差异较大,因此选择 pH 作为设计指标,能够较好地保障鉴定池 pH 的一致性。保原等^[15]利用大庆地区苏打盐渍土典型地段土样,对地表植被种类、覆盖度及植被生长状况进行了调查,在土壤剖面 0~20 cm 范围内取样,测定土壤 pH、水溶性总盐量及有机质含量。据此,对大庆盐渍土壤的碱度、盐化程度及养分等级进行划分,进一步对大庆盐渍土进行分类和评价,发现大庆地区盐碱地类型丰富,差距较大;张子峰等^[16]选取大庆市盐碱地的退化草场为研究对象,选取不同植被样地,测其表层土壤 pH,绘制各样地土壤 pH 空间分布图,pH 具有一致性。因此排除复杂盐和碱的干扰,应用 pH 作为盐碱鉴定池的梯度指标具有一定的合理性。

大庆盐碱土对于农作物耐盐碱相关研究也同样具有重要作用。大豆是相对较耐盐碱作物,鉴定方法的准确性与可重复性是筛选耐盐大豆种质资源的关键。大豆在盐碱胁迫下农艺性状与生理生化指标将受到影响。在评价大豆耐盐碱性时,耐盐碱鉴定方法选用单一指标还是复合指标是鉴定方法所决定的。经多年研究,目前主要有室内与田间两大类评价方法。现阶段室内耐盐碱鉴定方法有多种,通过鉴定介质可划分为沙培法^[17]、培养皿萌发期鉴定法^[18]、营养液筛选法^[19]、培养基法^[20]等。通过鉴定指标可分为盐害指数指标法、耐盐系数法^[21]、综合指标鉴定法^[22]等。室内鉴定耐盐碱的优点是时间短、批量大、可重复性强,且受环境影响相对较小被广泛认可,但有一定的局限性。受室内鉴定条件的限制,室内多鉴定芽期或者苗期,生育后期产量性状无法跟踪监测。室内耐盐碱鉴定可作为大豆耐盐碱强弱的初级鉴定指标,筛选出的耐盐品种在生产中还需田间鉴定法验证,因田间鉴定试验基本接近实际大田生产,其鉴定结果更具有实际应用价值。邵桂花^[23]利用地下盐碱水,进行大豆田间耐盐碱筛选,建立了一套大豆种质资源耐盐性田间鉴定方法,确定了鉴定时期、处理浓度、调查标准以及评价耐盐等级的方法。但田间鉴定受到气候因素影响相对较大,田间鉴定和室内鉴定有机结合鉴定结果更加准确可靠。因此,大豆耐盐碱鉴定池将两者相结合,目前很多研究机构建立了大豆耐盐碱梯度鉴

定池,通过人为控制鉴定池的浓度、控制降水的影响可有效解决环境因素对实验误差的影响,盐碱鉴定池的应用为大豆种质耐盐碱表型精准鉴定及耐盐新品种选育奠定基础。

4 结论

本研究利用大庆地区原位盐碱土,科学规划耐盐碱鉴定池设计方案与结构,严格按照设计建设 3 个耐盐碱梯度池。设计高、中、低耐盐碱池 pH 分别为 10.2,9.2 和 8.2,通过实验室混土实验完成高、中、低耐盐碱混土比例,混土后高、中、低盐碱池 pH 变幅分别在 10.14 ± 0.07 、 9.22 ± 0.19 、 8.13 ± 0.07 ,混土结果符合预期设计要求。黑龙江北部大豆耐盐碱池的建立,能够为我国早熟大豆生态区筛选耐盐碱抗性优异种质资源提供必要鉴定条件,为我国培育耐盐碱大豆新品种提供优异基因源。

5 展望

大豆耐盐是多基因控制的数量性状,现阶段大豆耐盐碱机制已取得重要进展。通过高密度分子图谱、连锁标记分析以及全基因组关联分析(GWAS)已成为大豆耐盐碱 QTL 定位、挖掘耐盐碱基因的常用手段^[24]。常规定位方法受耐盐碱定位群体及鉴定表型的影响,限制了耐盐碱分子标记辅助育种的效率。而自然种质群体在长期进化积累大量重组突变信息,丰富的遗传多样性,使 GWAS 分析能够轻松实现 QTL 的精细定位^[25]。目前大豆耐盐碱研究的关键在于如何获取耐盐碱精准的表型数据,现阶段主要集中在苗期阶段,大豆各生育阶段耐盐机制并不相同^[26],大豆芽期耐盐是决定在生产上能否全苗、壮苗关键。因此,大豆芽期耐盐抗逆相关机理的研究依然是大豆耐盐碱相关研究的一个重要方向。另一方面,基于大豆参考基因组测序的完成及其他作物耐盐机制的解析,将有效加速大豆耐盐相关候选基因克隆及功能研究。大豆转化效率的提高将进一步加速耐盐碱基因功能验证研究,揭示大豆耐盐的全生育期分子机制。未来随着现代生物技术的发展,将直接或间接利用耐盐相关优异等位基因,创制更多的耐盐碱优良的转基因大豆新品种,对保障我国大豆供给安全具有重要意义。

参考文献:

- [1] 杨劲松,姚荣江.我国盐碱地的治理与农业高效利用[J].中国科学院院刊,2015,30:162-170.
- [2] 彭新华,王云强,贾小旭,等.新时代中国土壤物理学主要领域进展与展望[J].土壤学报,2020,57(5):1071-1087.
- [3] 温利强.我国盐渍土的成因及分布特征[D].合肥:合肥工业大学,2010.

[4] 中国大豆优势区域布局规划(2008-2015 年)[J]. 农业工程技术,2009(8):4-5.

[5] CARTER T E J, D SOUZA P I, PURCELL L C. Recent advances in breeding for drought and aluminum resistance in soybean[C]//Proceedings at the World Soybean Research Conference VI Chicago, IL, 1999:106-125.

[6] BOYER J S. Plant productivity and environment[J]. Science, 1982,218:443-448.

[7] CUSHMAN J C, Bohnert H J. Genomic approaches to plant stress tolerance[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2000, 3(2):117-124.

[8] MUNNS R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59(1):651-681.

[9] PAPIERNIK S K, LINDSTROM M J, SCHUMACHER J A, et al. Variation in soil properties and crop yield across an eroded prairie landscape[J]. Lobb Journal of Soil and Water Conservation November, 2005, 60(6):388-395.

[10] ASHRAF M Y, WU L. Breeding for salinity tolerance in plants[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1994, 13(1): 17-42.

[11] BHATTI A U, KHAN Q, GURMANI A H, et al. Effect of organic manure and chemical amendments on soil properties and crop yield on a salt affected Entisol[J]. Pedosphere, 2005, 15(1):46-51.

[12] WALKER D J, BERNAL M P. The effects of olive mill waste compost and poultry manure on the availability and plant uptake of nutrients in a highly saline soil[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(2):396-403.

[13] 赵兰坡, 王宇, 马晶, 等. 吉林省西部苏打盐碱土改良研究 [J]. 土壤通报, 2001, 32(Z1):91-96.

[14] 吴淑娟, 任运涛, 吴彩霞, 等. 草地土壤 pH 值测定方法比较研究[J]. 土壤通报, 2018, 49(2):343-348.

[15] 潘保原, 宫伟光, 张子峰, 等. 大庆苏打盐渍土壤的分类与评价[J]. 东北林业大学学报, 2006(2):57-59.

[16] 张子峰, 宫伟光. 大庆盐渍土壤 pH 值的空间异质性[J]. 东北林业大学学报, 2007(3):71-72, 81.

[17] 卫秀英, 汤菊香, 鲁玉贞. 盐胁迫对不同野生大豆种子发芽的影响[J]. 种子, 2008, 27(1):68-70.

[18] 邵桂花, 万超文, 李舒凡. 大豆萌发期耐盐生理初步研究 [J]. 作物杂志, 1994(6):25-27.

[19] 王敏, 朱怀梅, 苏琳婧, 等. 野生大豆耐盐性材料初步筛选 [J]. 河南农业科学, 2005(7):31-34.

[20] 乔亚科, 李桂兰, 高书国, 等. 冀东地区野生大豆愈伤组织诱导及其耐盐性[J]. 大豆科学, 2002, 21(3):208-213.

[21] 马淑时, 王伟. 大豆品种资源的抗盐碱性研究[J]. 吉林农业科学, 1994(4):69-71.

[22] HU Z A, WANG H X. Salt tolerance of wild soybean(*Glycine soja*) in natural populations evaluated by a new method[J]. Soybean Genetics Newsletter, 1997, 24(79-80):79-80.

[23] 邵桂花. 大豆种质资源耐盐性田间鉴定方法[J]. 作物杂志, 1986, 20(3):36-37.

[24] 张威, 廖锡良, 喻德跃, 等. 大豆耐盐性研究进展[J]. 土壤与作物, 2018, 7(3):284-292.

[25] ELHAN S E, JIANMING Y, EDWARD S B. Applications of linkage disequilibrium and association mapping in crop plants[M]//VARSHNEY R K, TUBEROSA R. Genomics Assisted Crop Improvement, Springer, 2007.

[26] PHANG T H, SHAO G H, LAM H M. Salt tolerance in soybean[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50 (10):1196-1212.

Preliminary Study on pH Adjustment of Soybean Salt and Alkali Tolerance Identification Pool

HAN Dezhi¹, SUN Haofeng², FENG Liyan¹, ZHANG Lei¹, JIA Hongchang¹, YAN Xiaofei¹, LU Wencheng¹

(1. Heihe Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heihe 164300, China; 2. College of Agriculture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110000, China)

Abstract: Soybean is an important grain and oil cash crop in China. As one of the main abiotic stress of soybean, saline alkali has negative regulation on the growth and development of soybean, which seriously harms the yield of soybean. In order to analyze the genetic regulation mechanism of salt and alkali on abiotic stress of soybean and help researchers complete the accurate identification of salt and alkali tolerance phenotype, Heihe Branch of Heilongjiang Academy Agricultural Science established the first accurate identification platform of salt and alkali tolerance phenotype of soybean in the main soybean production area in northern Heilongjiang Province in 2022. Using the in-situ saline alkali soil in Daqing Area, three salt alkali resistant gradient tanks, with pH of 10.2, 9.2, and 8.2 for high, medium, and low salt alkali resistant tanks were planed and designed. On the basis of laboratory soil mixing ratio experiments, the soil mixing ratios of high, medium, and low salt alkali tolerant ponds were determined, and the pH changes of high, medium, and low salt alkali tolerant ponds after soil mixing were 10.14 ± 0.07 , 9.22 ± 0.19 and 8.13 ± 0.07 , respectively. The measured values were basically consistent with the expected theoretical observation values. These results indicated that the pool for the identification of soybean saline-alkali tolerance phenotype established by scientific soil mixing was scientific and feasible, and could be used for the screening and evaluation of soybean saline-alkali tolerance germplasm and breeding of saline-alkali tolerance varieties.

Keywords: soybean; salt and alkali resistance; abiotic stress; accurate phenotypic identification