

大豆耐低氮资源的苗期鉴定与筛选

刘芯欣¹, 侯云龙², 杜楠琳³, 李健琳³, 陈亮², 崔正果², 姬文秀¹, 邱红梅², 王跃强²

(¹延边大学农学院, 吉林延吉 133002; ²吉林省农业科学院大豆研究所/国家大豆工程中心, 长春 130033;

³东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 本研究拟利用丰富的大豆种质资源, 探索大豆苗期耐低氮种质资源的鉴定方法和指标, 筛选出强耐低氮的种质资源。以 260 份大豆资源材料为试材, 正常氮水平和低氮水平两种处理下进行苗期盆栽试验, 在大豆第 4 片复叶展开期测定 SPAD、株高、地上部鲜重等 9 个指标。通过对低氮胁迫下大豆品种的表型差异进行分析, 利用耐低氮系数进行相关性分析、主成分分析、聚类分析以及回归分析, 鉴定和筛选具有耐低氮特性的大豆品种。结果表明, 不同氮水平下, 大豆苗期各指标均存在显著性差异, 但指标间和品种间的差异情况有所不同。主成分分析将上述 9 个单项指标转化为 3 个综合指标, 经隶属函数值和品种耐低氮综合评价, 结合聚类分析将供试 260 份大豆品种资源分为强耐低氮、耐低氮、中间型、不耐低氮和极不耐低氮 5 种类型, 其中强耐低氮资源 17 份、极不耐低氮资源 7 份, 同时通过逐步回归分析得出总干重、地下部干重、地上部鲜重、第 2 片复叶 SPAD (SPAD2) 以及第 1 片复叶 SPAD (SPAD1) 的耐低氮系数可作为鉴定大豆苗期耐低氮能力的主要指标。

关键词: 大豆; 苗期; 耐低氮; 指标

Identification and Screening of Soybean Resources Tolerant to Low Nitrogen by Seedling Assay

LIU Xin-xin¹, HOU Yun-long², DU Nan-lin³, LI Jian-lin³, CHEN Liang², CUI Zheng-guo², JI Wen-xiu¹,
QIU Hong-mei², WANG Yue-qiang²

(¹Agricultural College of Yanbian University, Jilin Yanji 133002; ²Soybean Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences/National Soybean Engineering Center, Changchun 130033; ³Agricultural College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract: This research examined the identification method and genetic traits of low nitrogen resistant soybean at the seedling stage. 260 soybean varieties were used and subjected for pot experiments under normal and low nitrogen treatments, followed by examination of nine traits (such as SPAD, plant high, and shoot fresh weight) at the stage of the fourth compound leaf unfolding. By analyzing the phenotypic difference of soybean varieties under low nitrogen stress condition, as well as the low nitrogen tolerance coefficient, correlation analysis, principal component analysis, affiliation function, and regression analysis, the soybean varieties showing low nitrogen tolerance were identified. The significant differences at all the traits were observed under two different nitrogen-supplying levels, showing levels of variation among the traits and the varieties. The indexes of nine traits were refined using three indexes by principal component analysis. Based the value of the affiliation function and the comprehensive evaluation of low nitrogen tolerance in conjugation with cluster analysis, five categories (strong resistant, resistant, middle resistant, sensitive and most sensitive) were

收稿日期: 2022-09-14 修回日期: 2022-10-31 网络出版日期: 2022-11-17

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220914004>

第一作者研究方向为大豆种质资源研究, E-mail: liuxinxin960516@163.com

通信作者: 王跃强, 研究方向为大豆种质资源研究, E-mail: 825164942@qq.com

邱红梅, 研究方向为大豆种质资源研究, E-mail: qhm2001-2005@163.com

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1201603); 吉林省农业科技创新工程人才基金-研究生基金(CXGC2021RCY042)

Foundation projects: The National Key Research and Development Program of China (2021YFD1201603); Talent Fund (Graduate Fund) of Agricultural Science and Technology Innovation Project of Jilin Province (CXGC2021RCY042)

suggested. Seventeen soybean varieties were strong resistant categories, while seven were most sensitive categories. Through stepwise regression analysis, total dry weight, root dry weight, shoot fresh weight, SPAD of the second compound leaf, and SPAD of the first compound leaf, might be deployed as the principal indicators for evaluating low nitrogen tolerance in soybean.

Key words: soybean; seedling stage; low nitrogen tolerance coefficient; index

氮是植物生长和发育的必要元素,它是氨基酸、核酸和许多次生代谢产物的基本组成部分,也是形成叶绿素的骨架^[1-2]。植物不能直接利用大气中的氮,而从土壤或生物中可利用的氮都十分有限,缺氮影响了作物产量的提高和品质改良。我国一直努力增加粮食产量以确保充足粮食供应,农业生产中严重依赖于氮肥,但为追求高产常常出现过度施氮的现象,导致氮肥利用率下降、农业生产成本增加、环境污染等问题日益严重^[3]。

大豆是一种高需氮作物,氮素缺乏易致使大豆发育缓慢和产量降低,也可导致大豆的籽粒蛋白质含量下降、品质降低^[4]。大豆根部共生的根瘤菌具有固氮作用,将大气中的氮转化为植株能够利用的形式。共生固氮可提供大豆总需氮量的70%左右,但过量的氮肥施用也会影响根瘤形成,降低共生固氮效率。此外,大豆苗期根瘤数量少,共生固氮系统发育不完全,产生的氮素无法充分满足苗期需求,大豆需从土壤和氮肥中获取氮素^[5]。康筱湖等^[6]研究表明,根瘤形成初期的固氮作用并不显著,直至开花期后才有所增加。姚玉波等^[7]研究表明,虽然不同生育期大豆品种有关不同氮素来源的积累和分配有所不同,但绝大部分的大豆品种叶、茎和柄中积累的氮来源于土壤,根瘤所固定的氮素主要被分配至籽粒中。土壤氮是大豆生育前期的重要氮源,但我国耕地土壤全氮含量普遍低于0.2%,大豆苗期常出现氮素营养不足现象。肖能遑等^[8]研究表明,大豆苗期出现的氮素饥饿往往贯穿大豆一生,整个生育期的氮素营养都会呈现较低水平,营养生长势弱。丁洪等^[9]研究表明,大豆氮素累积量与荚数、粒数以及产量显著相关。因此,就目前生产条件,提高大豆氮肥利用效率,针对作物自身氮素利用的遗传差异性,评价和筛选大豆耐低氮种质资源,是保障我国大豆产业可持续绿色发展的重要途径。

已有研究表明,水稻^[10]、玉米^[11]、谷子^[12-13]、大麦^[14]、烟草^[15]、棉花^[16]和糜子^[17]等作物已进行了耐低氮性研究,已初步建立耐低氮评价指标体系。李强罗等^[11]利用玉米在两种氮处理下的相对值归一

化的变异系数进行指标划分,利用主成分分析以及隶属函数分析法对玉米进行综合评价。连盈等^[13]提出综合耐低氮系数法和隶属函数法两种综合评价谷子耐低氮能力的方法。范文静等^[18]用主成分分析法和回归分析筛选耐低氮能力评价指标,鉴定出甘薯耐低氮型品种7个,不耐低氮型107个和中间型12个。郝青南等^[5]通过观察大豆苗期在低氮胁迫下叶片黄化程度以及对低氮胁迫指数分析,最终筛选出氮高效品种坡黄和氮敏感品种84-70。远月丽等^[19]利用78份大豆种质资源进行苗期耐低氮分析,最终认为总干重、整株氮含量等6个指标可作为筛选指标,通过变异分析、相关分析、主成分分析最终筛选出氮高效材料2011-X-618和低氮敏感型材料2011-X-531。大豆具有共生固氮功能,其耐低氮性较水稻、小麦等禾本科作物复杂,国内外有关大豆耐低氮种质资源的筛选鉴定报道较少,其分级评鉴体系仍有待完善。本研究以260份大豆材料进行盆栽试验,研究低氮下大豆资源间的苗期性状差异,以性状的耐低氮系数为基础进行多元统计分析,鉴定和筛选大豆耐低氮资源,为耐低氮大豆的生理特性和遗传机制研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取260份大豆种质资源作为供试材料(表1),均由吉林省农业科学院提供,品种编号依次为1~260,其中来自吉林省94份(编号1~94)、黑龙江省106份(编号95~200)、辽宁省35份(编号201~235)以及其他地区25份(编号236~260)。

1.2 试验设计

试验于2021年6月在吉林省农科院公主岭院区试验基地内进行。按照裂区设计,设低氮和正常施氮(对照)处理,重复3次。采用盆栽,精选饱满均匀且无病斑的种子进行播种,用次氯酸钠与盐酸反应产生的氯气进行种子消毒,然后进行播种。将种子直播于由蛭石和珍珠岩按2:1的比例组成的培养基质中,混合均匀后经40 min高压灭菌,定量统一标准装入盆中。每个处理每份材料6盆,每盆播种

1穴,1穴3粒,待第一片真叶完全展开后定苗1株。播种初期在育苗盘里加入2L水,出苗后分别加入2L低氮和正常氮营养液,以后每隔7d分别浇2L低氮和正常氮营养液。

正常氮营养液组分为354.2 mg/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 180 mg/L KNO_3 , 150 mg/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 120 mg/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 27.8 mg/L Fe, 37.2 mg/L EDTA, 2.86 mg/L H_3BO_3 , 0.22 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2.03 mg/L $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1.26 mg/L $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 。低氮营养液组分为34.5 mg/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 18 mg/L KNO_3 (参照远月丽等^[19]),其他成分不变,缺少的 Ca^{2+} 使用225 mg/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 进行补充。同时,在试验过程中为了防止由于大豆根瘤造成的试验误差,在施用营养液中按照1:0.1分别混入氨基苄青霉素、卡那霉素溶液进一步进行灭菌处理(预实验表明此浓度抗生素的混合液不影响大豆植株生长发育,且能抑制根瘤产生)。待大豆植株至第4片复叶展开期,测量大豆植株 SPAD (Soil and plant analyzer development) 值,清洗大豆根部,最后测量株高、生物量等相关指标。

1.3 指标测定

利用 SPAD-502 型便携式叶绿素仪测定植株第1、第2、第3片复叶的叶绿素含量 (SPAD 值),每个复叶测量3个点取平均值。

株高测定:测量从子叶节点至生长点的长度,重复3次。

地上部鲜重测定:将植株在子叶痕处剪断分为地上部和根部,用万分之一天平称量地上部鲜重,重复3次。

地上部干重测定:将地上部装入纱网袋,烘箱110℃杀青10min,然后60℃烘干至恒重,用万分之一天平称量地上部干重,重复3次。

表1 参试大豆种质资源信息

Table 1 Information on participating soybean germplasm resources

编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties
1	吉育67	9	白城市场秣食豆	17	前郭紫花兰脐	25	蓑衣领	33	和龙早熟豆
2	公野04L-141	10	黑秣食豆	18	褐大金黄	26	白脐	34	汪清鸡冠
3	九农21	11	农安平顶四	19	桦甸紫花苕条豆	27	铁荚子	35	吉育76
4	吉育66	12	群选1号	20	舒兰满仓金	28	小白豆	36	吉育87
5	怀德白花大粒	13	双辽茶豆	21	黄豆	29	九台猪眼豆	37	吉育88
6	吉林茶里花	14	舒兰水里站	22	紫花蛴子	30	榆树长茶豆	38	吉育92
7	吉林30	15	通化平顶黄	23	灰铁荚	31	吉林铁荚豆	39	吉育93
8	吉育71	16	东丰油豆	24	黄脐豆	32	国育100-4	40	吉育99

地下部干重测定:将地下部装入纱网袋,烘箱110℃杀青10min,然后60℃烘干至恒重,用万分之一天平称量地下部干重,重复3次。

总干重:用地上部干重+地下部干重计算出总干重。

根冠比:用地上部干重/地下部干重计算出根冠比。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Office Excel (2013) 和 IBM SPSS Statistics 21.0 软件整理分析数据,应用 DPS 数据处理系统进行显著性分析,R语言绘制聚类图。采用基于隶属函数的综合评价法对供试材料的耐低氮能力进行评价,参考相关文献,计算公式如下:

$$\text{各指标耐低氮系数}(X) = \frac{\text{指标的低氮处理值}}{\text{指标的正常氮处理值}} \quad (1)$$

$$\text{各综合指标隶属函数值}\mu(X_j) = \frac{X_j - X_{j\min}}{X_{j\max} - X_{j\min}} \quad (2)$$

$j = 1, 2, 3 \dots n$

$\mu(X_j)$ 为第j个综合指标隶属函数值, X_j 为第j个指标的耐低氮系数, $X_{j\min}$ 为第j个指标耐低氮系数的最小值, $X_{j\max}$ 为第j个指标耐低氮系数的最大值。

$$\text{各综合指标权重}W_j = \frac{P_j}{\sum_{j=1}^m P_j} \quad j = 1, 2, 3 \dots n \quad (3)$$

W_j 表示第j个综合指标在所有综合指标中的重要程度即权重, P_j 为各品种第j个综合指标的贡献率。

大豆的耐低氮能力综合评价值

$$D = \sum_{j=1}^n [\mu(X_j) \times W_j] \quad j = 1, 2, 3 \dots n \quad (4)$$

D表示在低氮胁迫条件下各品种耐低氮能力的综合评价值。

表 1 (续)

编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties	编号 No.	品种 Varieties
41	吉育 97	85	吉密豆 2 号	129	黑农 24	173	克豆 31	217	锦育 5 号
42	吉育 105	86	军农 68	130	张宝大豆	174	黑河 101	218	牛毛黄
43	吉育 203	87	吉育 109	131	大金黄	175	合农 92	219	大白脐
44	吉育 302	88	公 P06-4-1	132	昭农 1 号	176	垦丰 20	220	抚豆 18
45	吉育 403	89	吉林 18	133	嫩江平顶香	177	合丰 41	221	抚豆 20
46	吉育 406	90	吉育 204	134	关石锁	178	合农 76	222	辽豆 24
47	吉育 501	91	公 P04-1-28	135	勃利白花燧	179	黑农 75	223	辽豆 30
48	吉育 505	92	吉农 81	136	单枝豆	180	绥农 71	224	沈农 11
49	长农 25	93	吉育 48	137	肇源紫花燧子	181	东农 46	225	沈农 12
50	吉农 20	94	吉育 259	138	红丰 3 号	182	合农 114	226	奎丰 1 号
51	吉农 24	95	黑河 25	139	猫眼	183	绥无腥 3 号	227	铁豆 42
52	吉农 26	96	黑河 29	140	干枝密	184	绥农 48	228	铁豆 43
53	欧科豆 25	97	黑河 27	141	双色豆	185	垦农 18	229	铁豆 44
54	平安豆 49	98	北丰 11	142	铁荚青	186	绥无腥 1 号	230	铁豆 46
55	吉丰 4 号	99	克北 1 号	143	牡丰 1 号	187	黑河 44	231	铁豆 47
56	吉大豆 1 号	100	方正秣食豆	144	龙品 03-311	188	龙豆 3 号	232	铁豆 48
57	延农 12	101	合丰 35	145	木兰上等豆	189	垦农 36	233	猫眼豆
58	金园 20	102	庆安黑豆	146	哈尔滨本地种	190	垦鉴豆 43	234	青皮
59	吉育 57	103	绥农 10 号	147	大粒黄	191	合丰 34	235	辽黑豆 4 号
60	吉育 94	104	合丰 52	148	黑河 38	192	绥农 53	236	蒙豆 9 号
61	辽源金元	105	丰收 6 号	149	黑农 37	193	绥农 43	237	蒙豆 14
62	吉青 3 号	106	紫花 4 号	150	黑农 69	194	垦丰 13	238	大白眉
63	中吉 602	107	黄宝珠	151	抗线虫 6 号	195	黑农 93	239	蒙豆 26
64	吉育 401	108	嫩丰 11	152	抗线虫 11	196	垦丰 22	240	赤 382
65	吉育 299	109	东农 47	153	绥农 6 号	197	红丰 11	241	蒙豆 12
66	吉育 303	110	垦丰 16	154	克 4430-20	198	东农 55	242	蒙豆 18
67	长农 14	111	东大 2 号	155	东农 4 号	199	合农 74	243	蒙豆 640
68	吉林小粒 8 号	112	哈尔滨中粒黑	156	东农 60	200	绥农 14	244	蒙豆 1137
69	九农 36	113	泰来四粒黄	157	黑河 48	201	六十天还仓	245	蒙豆 33
70	华力 1 号	114	宝清黑豆	158	黑农 52	202	锦州 4-1	246	石大豆 1 号
71	吉农 16	115	千斤黄	159	绥农 52	203	铁丰 8 号	247	昌吉黄豆
72	吉育 69	116	小豆	160	黑农 84	204	凤交 66-22	248	新大豆 1 号
73	吉育 508	117	青冈大粒	161	垦农 38	205	黄脐	249	Tokachi nagaha
74	吉育 47	118	五常豆	162	合丰 29	206	锦豆 33	250	MONETA
75	吉育 72	119	桦南小金黄	163	黑生 101	207	铁 5621	251	G.maxN136
76	吉林 36	120	嫁接大豆	164	华疆 12	208	铁丰 29	252	Proto
77	吉林 3 号	121	小灰脐	165	黑河 4 号	209	小油豆	253	Glacier
78	吉育 101	122	黄中戈	166	黑河 18	210	白皮豆	254	G.max-46
79	公 95196-14	123	小黄脐	167	克豆 29	211	油葫芦	255	Brownas II-2-153
80	公 96171-8	124	六十天还家	168	华疆 2 号	212	洋黄豆	256	SWHN II-2-186
81	吉黑 6 号	125	穆棱 60 天还家	169	绥小粒豆 2 号	213	黄金元	257	C-5
82	中吉 601	126	宁丰豆	170	黑河 26	214	满仓金	258	Conrad
83	吉育 257	127	张德恒大豆	171	合丰 24	215	四粒黄	259	Jim
84	吉育 39	128	黑金元	172	克豆 44	216	黑铁荚	260	Newton

2 结果与分析

2.1 苗期低氮胁迫下大豆资源间的性状差异

对260份大豆品种进行盆栽试验,结果表明第1复叶的叶绿素含量、第2复叶的叶绿素含量、第3复叶的叶绿素含量、株高、地上部鲜重、地上部干重、地下部干重、总干重、根冠比9个指标均呈现显著变

化(表2)。低氮处理的大豆种质苗期性状主要表现为SPAD值降低,株高减小,生物量减小,根冠比变大。通过耐低氮系数可初步评价各大豆品种的耐低氮能力,SPAD值、株高、地上部鲜重、地上部干重、地下部干重以及总干重8个指标的耐低氮系数平均值均小于1,表明低氮处理影响大豆的生长发育。

表2 两种氮处理下大豆的苗期性状差异

Table 2 Differences in seedling traits of soybean under the two nitrogen treatments

性状 Traits	正常氮 Normal nitrogen		低氮 Low nitrogen		耐低氮系数 Low nitrogen tolerance coefficient	
	平均值 Mean	变异系数(%) CV	平均值 Mean	变异系数(%) CV	平均值 Mean	变异系数(%) CV
	第1复叶的叶绿素含量 SPAD1	33.91a	15.25	26.28b	18.95	0.78
第2复叶的叶绿素含量 SPAD2	36.43a	11.43	28.16b	13.23	0.78	12.12
第3复叶的叶绿素含量 SPAD3	37.39a	12.66	29.67b	11.69	0.80	10.39
株高(cm)PH	38.36a	28.85	32.94b	30.29	0.87	13.03
地上部鲜重(g)SFW	7.79a	28.04	6.24b	23.15	0.82	14.82
地上部干重(g)SDW	1.82a	23.14	1.40b	20.36	0.78	13.91
地下部干重(g)RDW	0.51a	23.47	0.46b	22.41	0.92	17.27
总干重(g)TDW	2.32a	21.90	1.86b	18.74	0.81	13.02
根冠比 RSR	0.29b	19.25	0.34a	22.37	1.19	16.48

同行中不同小写字母表示差异达 $P<0.05$ 显著水平

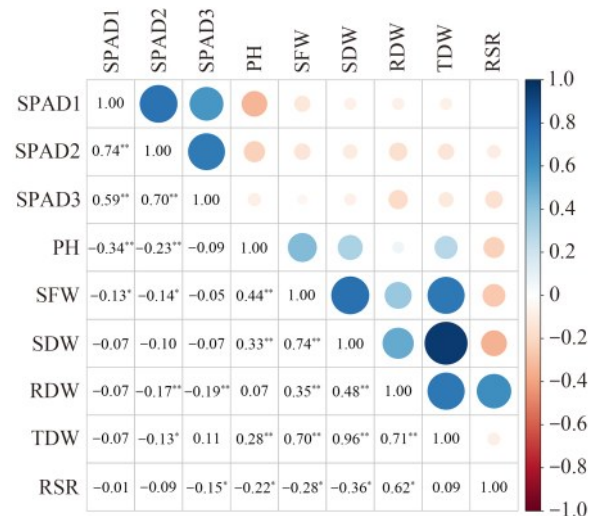
Different lowercase letters in same line indicate significant difference at $P<0.05$ level. SPAD1: SPAD value of the first compound leaf; SPAD2: SPAD value of the second compound leaf; SPAD3: SPAD value of the third compound leaf; PH: Plant height; SFW: Shoot fresh weight; SDW: Shoot dry weight; RDW: Root dry weight; TDW: Total dry weight; RSR: Root shoot ratio; The same as below

在正常氮和低氮处理条件下大豆各项筛选指标都表现出一定的变异,并且各筛选指标的变异程度差距较大。9个指标在两种氮处理下的变异系数以及耐低氮系数的变异系数均大于10%,表明不同基因型的大豆耐低氮性存在较大差异。同时,由于耐低氮系数的大小不仅能够反映指标在两种氮处理的差异,还能消除种间误差及生物学差异,利用耐低氮系数进行后续分析更加真实可靠。

2.2 苗期耐低氮测量指标统计分析

2.2.1 相关性分析 对所测定的9个指标的耐低氮系数进行相关性分析(图1),总体来讲叶绿素含量(SPAD)的耐低氮系数与株高(PH)、地上部鲜重(SFW)、地上部干重(SDW)、地下部干重(RDW)的耐低氮系数负相关。表明低氮处理下叶绿素含量的耐低氮系数越小,干物质重的耐低氮系数越大;即低氮处理下叶绿素含量变化越大,干物质相对变化越小。以上表明这9个指标可作为筛选大豆耐低氮品种的指标,但多指标间相关性存在显著或极显

著水平,所提供的耐低氮信息具有重叠性。



*表示在0.05水平上显著相关;**表示在0.01水平上显著相关
* and ** represent significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively

图1 大豆苗期耐低氮系数的相关性分析

Fig.1 Correlation analysis of low nitrogen tolerance coefficient in soybean seedling stage

2.2.2 主成分分析 大豆的耐低氮能力受到多重因素影响,且各指标的耐低氮系数存在不同程度的相关性,单一指标的耐低氮系数不能准确评价大豆耐低氮能力,因此需要对耐低氮系数进行综合评

价。对 260 个种质材料 9 个指标的耐低氮系数进行主成分分析(表 3),根据特征值大于 1 的原则,将原来 9 个单项指标转化为 3 个相互独立的综合指标。

表 3 大豆耐低氮系数的主成分分析

Table 3 Principal component analysis of the low nitrogen resistance coefficient in soybean

指标 Index	主成分 1 Component 1	主成分 2 Component 2	主成分 3 Component 3
第 1 复叶的叶绿素含量 SPAD1	-0.433	0.734	0.273
第 2 复叶的叶绿素含量 SPAD2	-0.472	0.774	0.132
第 3 复叶的叶绿素含量 SPAD3	-0.393	0.754	-0.001
株高 PH	0.517	-0.016	-0.431
地上部鲜重 SFW	0.786	0.338	-0.162
地上部干重 SDW	0.86	0.423	-0.056
地下部干重 RDW	0.625	0.018	0.765
总干重 TDW	0.887	0.354	0.204
根冠比 RSR	-0.092	-0.362	0.871
特征值 Eigenvectors	3.376	2.255	1.691
贡献率(%) Contribution ratio	37.509	25.057	18.793
累计贡献率(%) Cumulative contribution ratio	37.509	62.566	81.359

主成分分析结果表明,3 个主成分的贡献率分别是 37.509%、25.057% 和 18.793%,累计贡献率达 81.359%,代表了参试大豆品种耐低氮指标的绝大部分信息^[18]。其中,第 1 主成分中特征向量较大的为地上部鲜重、地上部干重、地下部干重及总干重,将其归为生物量因子。第 2 主成分中,特征向量较大的为 SPAD1、SPAD2 以及 SPAD3,将其归为叶绿素含量因子。第 3 主成分中,特征向量较大的为根冠比,将其归为根冠因子。

2.3 低氮高效及敏感大豆种质筛选

根据各品种的综合指标值和贡献率,利用模糊隶属函数法计算每个综合指标的隶属函数值,得出

各性状指标的权重,并计算了大豆品种耐低氮综合评价 D。供试材料 D 值的范围为 0.213~0.803,平均值和标准差分别为 0.569 和 0.102,变异系数为 17.96%。将 D 值根据大小进行排名,靠前的品种耐低氮综合评价 D 较高,说明该大豆品种对低氮环境的耐受性强,如黑生 101、克豆 44、辽黑豆 4 号、绥无腥 3 号和黑河 27, D 值分别为 0.803、0.799、0.782、0.768 和 0.761。相反,排名靠后的品种耐低氮综合评价 D 较小,说明该大豆品种对低氮环境的耐受性弱,如吉林小粒 8 号、吉育 508、华力 1 号、吉育 401 和大粒黄, D 值分别为 0.213、0.232、0.250、0.268 和 0.276(表 4、图 2)。

表 4 低氮高效及敏感大豆品种各指标耐低氮胁迫指数及综合评价 D 分析

Table 4 Analysis of tolerance coefficient of different response soybean varieties under low nitrogen stress

编号 No.	品种 Varieties	耐低氮系数 Low nitrogen tolerance coefficient									综合 评价 D
		第 1 复叶的 叶绿素含量 SPAD1	第 2 复叶的 叶绿素含量 SPAD2	第 3 复叶的 叶绿素含量 SPAD3	株高 PH	地上部 鲜重 SFW	地上部 干重 SDW	地下部 干重 RDW	总干重 TDW	根冠比 RSR	
163	黑生 101	0.83	0.83	0.90	0.98	0.98	0.96	1.27	1.01	1.33	0.803
172	克豆 44	0.77	0.72	0.72	0.95	1.04	0.91	1.36	1.00	1.49	0.799
235	辽黑豆 4 号	0.85	0.76	0.69	0.96	0.85	0.79	1.59	0.94	2.02	0.782
183	绥无腥 3 号	0.70	0.71	0.74	1.01	0.98	0.95	1.25	1.00	1.31	0.768
97	黑河 27	0.93	0.84	0.88	0.99	0.95	0.96	1.11	0.99	1.16	0.761
68	吉林小粒 8 号	0.48	0.71	0.75	0.96	0.42	0.38	0.6	0.43	1.6	0.213
73	吉育 508	0.86	0.83	0.88	0.78	0.4	0.39	0.4	0.39	1.08	0.232
70	华力 1 号	0.79	0.87	0.78	1.01	0.43	0.44	0.37	0.42	0.85	0.250
64	吉育 401	0.91	0.95	0.89	0.51	0.58	0.5	0.49	0.5	0.98	0.268
147	大粒黄	0.97	0.91	0.87	0.8	0.58	0.52	0.46	0.5	0.88	0.276



a 图为强耐低氮资源辽黑豆 4 号(235), b 图为极不耐氮资源

吉林小粒 8 号(68); NN: 正常氮处理; LN: 低氮处理

a figure shows the strong resistant resource Liaohaidou 4(235), b figure shows the extremely intolerant resource Jilinxiaoli 8 (68); NN: Normal nitrogen treatment; LN: Low nitrogen treatment

图 2 不同氮浓度下强耐低氮和极不耐低氮大豆材料植株表型

Fig.2 Plant phenotypes of strong resistant and most sensitive tolerant soybean materials at different nitrogen concentrations

为更加客观的描述本研究结果,按照欧式距离平均联接方法,利用耐低氮综合评价值 D 对 260 份大豆品种进行聚类分析。结果将其分为强耐低氮型(I)、耐低氮型(II)、中间型(III)、不耐低氮型

(IV)、极不耐低氮型(V)5个类群,D值均值分别为0.742、0.651、0.559、0.438、0.265,标准差分别为0.032、0.024、0.037、0.031、0.034,类群间D值存在显著差异(表5、图3)。

第 I 类包括 163(黑生 101)、172(克豆 44)、235(辽黑豆 4 号)等 17 份资源,属于强耐低氮型大豆品种(系),这类资源在低氮处理下生物量几乎不减少,平均减少 4%(表 5、表 6)。第 II 类包括 1(吉育 67)、15(通化平顶黄)、20(舒兰满仓金)等 76 份资源,属耐低氮型大豆品种(系),这类资源在低氮处理下生物量减少幅度较低,生物量平均减少 10%。第 III 类包括 3(九农 21)、4(吉育 66)、5(怀德白花大粒)、6(吉林茶里花)等 116 份资源,属于中间型大豆品种(系),这类资源在低氮处理下生物量减少程度增加,生物量平均减少 20%。第 IV 类包括 2(公野 04L-141)、8(吉育 71)、9(白城市场秣食豆)等 44 份资源,属于不耐低氮型大豆品种(系),这类资源在低氮处理下生物量平均减少 32%。第 V 类包括 68(吉林小粒 8 号)、70(华力 1 号)、73(吉育 508)等 7 份资源,属于极不耐低氮型大豆品种(系),这类资源在低氮处理下生物量平均减少 53%,表明低氮严重抑制这些资源生长。

表 5 不同类群耐低氮系数及综合评价值

Table 5 Low nitrogen tolerance coefficients and comprehensive evaluation values of different taxa

类群 Group	耐低氮系数 Low nitrogen tolerance coefficient									耐低氮综合评价值 D
	第 1 复叶的 叶绿素含量 SPAD1	第 2 复叶的 叶绿素含量 SPAD2	第 3 复叶的 叶绿素含量 SPAD3	株高 PH	地上部 鲜重 SFW	地上部 干重 SDW	地下部 干重 RDW	总干重 TDW	根冠比 RSR	
	I	0.78a	0.77a	0.79a	0.97A	0.96A	0.91A	1.20A	0.96A	
II	0.78a	0.77a	0.79a	0.89B	0.90A	0.87B	1.01B	0.90B	1.17a	0.651B
III	0.79a	0.78a	0.81a	0.86BC	0.81B	0.77C	0.90C	0.80C	1.18a	0.559C
IV	0.76a	0.76a	0.79a	0.83C	0.70C	0.65D	0.78D	0.68D	1.21a	0.438D
V	0.80a	0.85a	0.83a	0.76C	0.51D	0.47E	0.51E	0.47E	1.12a	0.265E

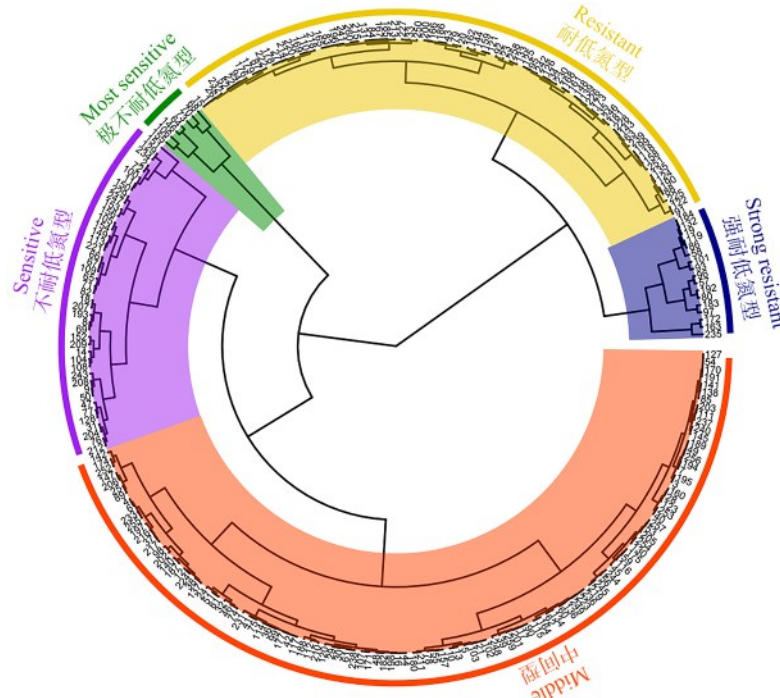
同列不同大写字母表示在 $P < 0.01$ 水平显著,不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平显著

Different capital letters in the same column indicate significant at $P < 0.01$ level, different lowercase letters indicate significant at $P < 0.05$ level

2.4 回归分析及耐低氮指标鉴定筛选

根据耐低氮综合评价值(D)对各指标耐低氮系数(X)进行逐步回归分析,建立预测耐低氮数字模型,有选择性地测定与综合评价值密切相关的指标,简化鉴定耐低氮能力品种的工作量。以耐低氮综合评价值 D 为因变量、各指标的耐低氮系数 X 为自变量,建立苗期大豆耐低氮能力鉴定的回归方程: $D = -0.370 + 0.587X_{TDW} + 0.179X_{RDW} +$

$0.215X_{SFW} + 0.094X_{SPAD2} + 0.064X_{SPAD1}$ 。得到的回归方程的决定系数 $R^2 = 0.996$, F 检验达极显著水平,其解释能力强,预测精度高。根据 D 值的回归方程可知,总干重(TDW)、地下部干重(RDW)、地上部鲜重(SFW)、第 2 片复叶 SPAD(SPAD2)以及第 1 片复叶 SPAD(SPAD1)的耐低氮系数可作为鉴定大豆苗期耐低氮能力的主要指标。



图中数字为表1中的品种编号

The numbers in the figure are the variety numbers of table 1

图3 大豆苗期耐低氮系数聚类图

Fig.3 Clustering diagram of low nitrogen resistance coefficient in soybean seedling stage

表6 17个强耐低氮品种耐低氮系数及综合评价指标

Table 6 Low nitrogen tolerance coefficients and comprehensive evaluation indexes of 17 strong resistant varieties

编号 No.	品种 Varieties	耐低氮系数 Low nitrogen tolerance coefficient								综合评价 D	
		第1复叶的 叶绿素含 量 SPAD1	第2复叶的 叶绿素含 量 SPAD2	第3复叶的 叶绿素含 量 SPAD3	株高 PH	地上部 鲜重 SFW	地上部 干重 SDW	地下部 干重 RDW	总干重 TDW		根冠比 RSR
163	黑生101	0.83	0.83	0.90	0.98	0.98	0.96	1.27	1.01	1.33	0.803
172	克豆44	0.77	0.72	0.72	0.95	1.04	0.91	1.36	1.00	1.49	0.799
235	辽黑豆4号	0.85	0.76	0.69	0.96	0.85	0.79	1.59	0.94	2.02	0.782
183	绥无腥3号	0.70	0.71	0.74	1.01	0.98	0.95	1.25	1.00	1.31	0.768
97	黑河27	0.93	0.84	0.88	0.99	0.95	0.96	1.11	0.99	1.16	0.761
96	黑河29	0.97	0.90	0.86	0.85	0.95	0.89	1.22	0.94	1.38	0.755
57	延农12	0.66	0.75	0.74	0.87	0.99	0.93	1.21	1.00	1.32	0.751
192	绥农53	0.59	0.70	0.80	1.02	1.02	0.94	1.17	0.98	1.21	0.743
80	公96171-8	0.61	0.66	0.67	0.97	0.92	0.91	1.32	0.97	1.47	0.740
101	合丰35	0.89	0.94	0.99	1.02	0.87	0.92	1.09	0.96	1.13	0.731
93	吉育48	0.71	0.80	0.80	1.02	0.95	0.93	1.11	0.97	1.18	0.725
58	金园20	0.79	0.77	0.74	0.90	0.89	0.95	1.08	0.99	1.13	0.713
132	昭农1号	0.79	0.77	0.72	0.86	0.97	0.87	1.16	0.93	1.36	0.709
184	绥农48	0.77	0.72	0.84	1.04	0.96	0.88	1.12	0.93	1.27	0.709
19	桦甸紫花苕条豆	0.80	0.85	0.99	1.02	0.93	0.83	1.15	0.89	1.46	0.708
86	军农68	0.79	0.65	0.73	0.99	1.00	0.89	1.10	0.94	1.23	0.706
119	桦南小金黄	0.78	0.80	0.70	1.03	1.01	0.93	1.00	0.95	1.08	0.705

3 讨论

耐低氮资源的筛选和鉴定需要注意时期、方法和指标的选择。苗期鉴定的优势在于复制性强、时

限短和环境影响小等^[20],同时大豆苗期的氮素缺乏也会导致大豆叶片发黄甚至早衰,影响生物累积量和产量。本研究拟建立大豆苗期氮高效评价指标体系,采用以蛭石和珍珠岩为基质的盆栽试验方

法,精确营养基质、贴近自然环境、减少筛选时间以及相关工作难度,所测的叶绿素含量、干物质等更接近自然环境下直观值。

植物氮素营养差异相关研究开始于20世纪30年代,评价作物的耐低氮能力体系已在一些作物中逐渐成熟^[21]。参考评价作物耐低氮能力的鉴定指标目前较多,其中多表现为SPAD值^[22]、植株生物量^[23]和含氮量^[24]等,目前还未统一标准。大豆具有共生固氮功能,氮素营养的吸收利用生理机制更为复杂,到目前为止相关研究报道较少。在低氮胁迫环境下,叶片的光合特性将直接受到抑制。相关研究表明,SPAD可以用于准确预测多种作物叶片的叶绿素含量和氮浓度,且在水稻、玉米等作物耐低氮评价中有所应用^[25-26],利用SPAD值建立大豆苗期耐低氮能力筛选体系更简单和快捷。李小红等^[27]通过水培方法研究大豆苗期不同部位叶片SPAD值对不同氮素浓度培养液的响应来进行筛选大豆耐低氮种质,发现以真叶、第2复叶、顶1叶和顶2叶的SPAD值作为大豆苗期耐低氮种质筛选指标较好。株高是影响大豆单株产量的重要性状,大豆株高在一定程度上随着氮素含量的减少而降低^[28]。王业建^[29]以耐低氮胁迫大豆品种116和低氮胁迫敏感84-70为材料研究不同耐性品种在低氮胁迫环境下的形态和生理差异,认为不同耐性品种在根系和光合作用特性影响大。结合大豆自身特点以及综合参考其他作物评价耐低氮能力指标,选取了SPAD、株高、地上部鲜重等9个指标进行测定,同时采用耐低氮系数进行分析,不仅能反映该指标受低氮胁迫的影响,同时减少环境因素以及养分和病虫害造成的影响。利用相关分析、基于主成分的隶属函数分析以及回归分析进行指标筛选,利用聚类分析分级评鉴大豆耐低氮能力。同时,由于参试大豆品种较多,连盈等^[13]、李俊杰等^[30]的五类分级划分的标准更利于评价大豆耐低氮能力,本研究将供试260份大豆品种资源分为强耐低氮、耐低氮、中间型、不耐低氮和极不耐低氮5种类型。其中强耐低氮资源17份,这些品种资源可在土壤缺氮地区应用,提高氮素利用效率^[21]。

4 结论

在低氮和正常氮两种水平下,总干重、地下部干重、地上部鲜重、第2片复叶SPAD(SPAD2),以及第1片复叶SPAD(SPAD1)的耐低氮系数,可作为鉴定大豆苗期的耐低氮能力的主要指标。根据9个指

标的耐低氮系数进行基于隶属函数值的主成分法筛选出黑生101、克豆44、辽黑豆4号、绥无腥3号、黑河27等强耐低氮大豆种质资源;吉林小粒8号、华力1号、吉育508等极不耐低氮大豆种质资源。

参考文献

- [1] Mokhele B, Zhan X J, Yang G Z, Zhang X L. Review: Nitrogen assimilation in crop plants and its affecting factors. *Canadian Journal of Plant Science*, 2012, 92(3): 399-405
- [2] Kusano M, Fukushima A, Redestig H, Saito K. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(4): 1439-1453
- [3] Zhang W F, Dou Z X, He P, Ju X T, Powelson D, Chadwick D, Norse D, Lu Y L, Zhang Y, Wu L, Chen X P. New technologies reduce greenhouse gas emissions from nitrogenous fertilizer in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(21): 8375-8380
- [4] 王雪依, 禹祥, 侯绪明, 刘剑利, 宁海龙, 李文滨, 崔荣彬, 王建立, 刘峰. 氮肥施用量对不同大豆品种产量及品质的影响. *大豆科技*, 2010(4): 9-11
Wang X Y, Yu X, Hou X M, Liu J L, Ning H L, Li W B, Cui R B, Wang J L, Liu F. Yield and quality effects of different soybean varieties by using nitrogen fertilizer. *Soybean Science & Technology*, 2010(4): 9-11
- [5] 郝青南, 王程, 陈水莲, 沙爱华, 单志慧, 陈海峰, 周蓉, 周新安. 大豆苗期氮高效和氮敏感资源的筛选研究. *大豆科学*, 2011, 30(6): 910-915, 920
Hao Q N, Wang C, Chen S L, Sha A H, Shan Z H, Chen H F, Zhou R, Zhou X A. Screening of soybean varieties with different nitrogen efficiency at seedling stage. *Soybean Science*, 2011, 30(6): 910-915, 920
- [6] 康筱湖, 韩天富. 大豆栽培与病虫害草害防治. 北京: 金盾出版社, 2008: 14-17
Kang X H, Han T F. Cultivation of soybean and control of diseases, pests and weeds. Beijing: Golden Shield Press, 2008: 14-17
- [7] 姚玉波, 张树权, 柴永山, 马春梅, 龚振平. 不同生育期大豆品种氮素积累特性研究. *中国土壤与肥料*, 2021(5): 169-175
Yao Y B, Zhang S Q, Chai Y S, Ma C M, Gong Z P. Study on nitrogen accumulation characteristics of soybean varieties in different growth periods. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2021(5): 169-175
- [8] 肖能遑, 李志玉. 苗期施氮对大豆生长发育及产量的影响. *中国油料*, 1982(4): 42-46
Xiao N H, Li Z Y. Effect of nitrogen application at the seedling stage on growth and yield of soybean. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1982(4): 42-46
- [9] 丁洪, 郭庆元. 氮肥对不同品种大豆氮积累和产量品质的影响. *土壤通报*, 1995(1): 18-21
Ding H, Guo Q Y. Effects of nitrogen fertilizer on nitrogen

- accumulation, yield and quality of different soybean varieties. Chinese Journal of Soil Science, 1995(1): 18-21
- [10] 李敏, 张洪程, 杨雄, 葛梦婕, 马群, 魏海燕, 戴其根, 霍中洋, 许轲, 曹利强, 吴浩. 水稻高产氮高效型品种的根系形态生理特征. 作物学报, 2012, 38(4): 648-656
Li M, Zhang H C, Yang X, Ge M J, Ma Q, Wei H Y, Dai Q G, Huo Z Y, Xu K, Cao L Q, Wu H. Root morphological and physiological characteristics of rice cultivars with high yield and high nitrogen use efficiency. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(4): 648-656
- [11] 李强罗, 延宏, 谭杰, 孔凡磊, 杨世民, 袁继超. 玉米杂交种苗期耐低氮指标的筛选与综合评价. 中国生态农业学报, 2014, 22(10): 1190-1199
Li Q L, Yan H, Tan J, Kong F L, Yang S M, Yuan J C. Indexes screening and comprehensive evaluation of low nitrogen tolerance of hybrid maize cultivars at seedling stage. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2014, 2(10): 1190-119
- [12] Liu C J, Gong X W, Wang H L, Dang K, Deng X P, Feng B L. Low-nitrogen tolerance comprehensive evaluation and physiological response to nitrogen stress in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) seedling. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 151: 233-242
- [13] 连盈, 卢娟, 胡成梅, 牛胤全, 史雨刚, 杨进文, 王曙光, 张文俊, 孙黛珍. 低氮胁迫对谷子苗期性状的影响和耐低氮品种的筛选. 中国生态农业学报, 2020, 28(4): 523-534
Lian Y, Lu J, Hu C M, Niu Y Q, Shi Y G, Yang J W, Wang S G, Zhang W J, Sun D Z. Effects of low nitrogen stress on foxtail millet seedling characteristics and screening of low nitrogen tolerant varieties. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020, 28(4): 523-534
- [14] 姜琪, 陈志伟, 刘成洪, 何婷, 郭桂梅, 高润红, 徐红卫, 李颖波, 陆瑞菊, 黄剑华. 大麦地方品种苗期耐低氮筛选和鉴定指标的研究. 华北农学报, 2019, 34(1): 148-155
Jiang Q, Chen Z W, Liu C H, He T, Guo G M, Gao R H, Xu H W, Li Y B, Lu R J, Huang J H. Screening and identification indices of low-nitrogen tolerance for barley landraces at seedling stage. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2019, 34(1): 148-155
- [15] 钟思荣, 陈仁霄, 陶瑶, 龚丝雨, 何宽信, 张启明, 张世川, 刘齐元. 耐低氮烟草基因型的筛选及其氮效率类型. 作物学报, 2017, 43(7): 993-1002
Zhong S R, Chen R X, Tao Y, Gong S Y, He K X, Zhang Q M, Zhang S C, Liu Q Y. Screening of tobacco genotypes tolerant to low-nitrogen and their nitrogen efficiency types. Acta Agronomica Sinica, 2017, 43(7): 993-1002
- [16] 王准, 张恒恒, 董强, 贵会平, 王香茹, 庞念厂, 李永年, 牛静, 靳丁沙, 汪苏洁, 张西岭, 宋美珍. 棉花耐低氮和氮敏感种质筛选及验证. 棉花学报, 2020, 32(6): 538-551
Wang Z, Zhang H H, Dong Q, Gui H P, Wang X R, Pang N C, Li Y N, Niu J, Jin D S, Wang S J, Zhang X L, Song M Z. Screening and verification of low nitrogen tolerant and nitrogen sensitive cotton germplasm. Cotton Science, 2020, 32(6): 538-551
- [17] 陈凌, 王君杰, 王海岗, 曹晓宁, 刘思辰, 田翔, 秦慧彬, 乔治军. 耐低氮糜子品种的筛选及农艺性状的综合评价. 中国农业科学, 2020, 53(16): 3214-3225
Chen L, Wang J J, Wang H G, Cao X N, Liu S C, Tian X, Qin H B, Qiao Z J. Screening of broomcorn millet varieties tolerant to low nitrogen stress and the comprehensive evaluation of their agronomic traits. Scientia Agricultura Sinica, 2020, 53(16): 3214-3225
- [18] 范文静, 刘明, 赵鹏, 张强强, 吴德祥, 郭鹏宇, 朱晓亚, 靳容, 张爱君, 唐忠厚. 甘薯苗期耐低氮基因型筛选及不同氮效率类型综合评价. 中国农业科学, 2022, 55(10): 1891-1902
Fan W J, Liu M, Zhao P, Zhang Q Q, Wu D X, Guo P Y, Zhu X Y, Jin R, Zhang A J, Tang Z H. Screening of sweetpotato varieties tolerant to low nitrogen at seedling stage and evaluation of different nitrogen efficiencies. Scientia Agricultura Sinica, 2022, 55(10): 1891-1902
- [19] 远月丽, 易媛媛, 战勇, 陈李森, 袁松丽, 黄毅, 肖之源, 张婵娟, 周新安. 大豆氮高效种质苗期筛选与鉴定. 中国油料作物学报, 2022, 44(3): 539-547
Yuan Y L, Yi Y Y, Zhan Y, Chen L M, Yuan S L, Huang Y, Xiao Z Y, Zhang C J, Zhou X A. Distinguishing and evaluating high nitrogen-use-efficient soybean germplasm at seedling stage. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2022, 44(3): 539-547
- [20] 王英, 李喜焕, 张彩英. 河北大豆地方品种耐低磷种质筛选. 大豆科学, 2009, 28(4): 588-594
Wang Y, Li X H, Zhang C Y. Screening of low-p tolerant soybean landraces from Hebei growing-areas. Soybean Science, 2009, 28(4): 588-594
- [21] 钟思荣, 龚丝雨, 张世川, 陈仁霄, 刘齐元, 翟小清. 作物不同基因型耐低氮性和氮效率研究进展. 核农学报, 2018, 32(8): 1656-1663
Zhong S R, Gong S Y, Zhang S C, Chen R X, Liu Q Y, Zhai X Q. Research progress on low nitrogen tolerance and nitrogen efficiency in crop plants. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(8): 1656-1663
- [22] 陈范骏, 米国华, 春亮, 刘建安, 王艳, 张福锁. 玉米氮效率的杂种优势分析. 作物学报, 2004, 29(10): 1014-1018
Chen F J, Mi G H, Chun L, Liu J A, Wang Y, Zhang F S. Analysis of heterosis for nitrogen use efficiency in maize. Acta Agronomica Sinica, 2004, 29(10): 1014-1018
- [23] 秦璐, 韩配配, 常海滨, 顾焯明, 黄威, 李银水, 廖祥生, 谢立华, 廖星. 甘蓝型油菜耐低氮种质筛选及绿肥应用潜力评价. 作物学报, 2022, 48(6): 1488-1501
Qin L, Han P P, Chang H B, Gu C M, Huang W, Li Y S, Liao X S, Xie L H, Liao X. Screening of rapeseed germplasms with low nitrogen tolerance and the evaluation of its potential application as green manure. Acta Agronomica Sinica, 2022, 48(6): 1488-1501
- [24] Muchow R C, Davis R. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid

- tropical environment II. Radiation interception and biomass accumulation. *Field Crops Research*, 1988, 18(1): 17-30
- [25] Wen B, Li C, Fu X, Li D M, Li L, Chen X D, Wu H Y, Cui X W, Zhang X H, Shen H Y, Zhang W Q, Xiao W, Gao D S. Effects of nitrate deficiency on nitrate assimilation and chlorophyll synthesis of detached apple leave. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 142: 363-371
- [26] 王磊, 卢艳丽, 自由路. 主要粮食作物基于 SPAD 的氮素营养诊断方法研究进展. *植物营养与肥料学报*, 2022, 28(3): 546-554
- Wang L, Lu Y L, Bai Y L. Research progress on nitrogen nutrition diagnosis method based on SPAD for main grain crops. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, 28(3): 546-554
- [27] 李小红, 谢运河, 阳小凤, 王业建, 马淑梅. 不同氮素浓度下大豆叶片 SPAD 值的动态变化研究. *湖南农业科学*, 2013(19): 39-42
- Li X H, Xie Y H, Yang X F, Wang Y J, Ma S M. Dynamic changes of SPAD value of soybean leaves under different nitrogen concentrations. *Hunan Agricultural Sciences*, 2013(19): 39-42
- [28] 张久坤, 齐阳阳, 李立竹, 宁晓霜, 刘志华, 姜振峰, 李文滨. 利用 BSA 法定位大豆全基因组株高 QTL 及候选基因分析. *华北农学报*, 2020, 35(S1): 1-10
- Zhang J K, Qi Y Y, Li L Z, Ning X S, Liu Z H, Jiang Z F, Li W B. Genome-wide mapping of QTLs and candidate genes underlying plant height in soybean using BSA method. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2020, 35(S1): 1-10
- [29] 王业建. 大豆对低氮胁迫的形态和生理学响应及介导低氮胁迫 miRNA 的鉴定. 长沙: 中南大学, 2013
- Wang Y J. Morphological and biological responses of different soybean varieties to low nitrogen and identification of low nitrogen regulated miRNA. Changsha: Central South University, 2013
- [30] 李俊杰, 杜蒲芳, 石婷瑞, 侯沛佳, 柴新宇, 赵瑞, 汪好, 李红霞. 不同基因型小麦苗期耐低氮性评价及筛选. *中国农业科技导报*, 2021, 23(7): 21-32
- Li J J, Du P F, Shi T R, Hou P J, Chai X Y, Zhao R, Wang Y, Li H X. Screening and evaluation of low nitrogen tolerance from different genotypes wheat at seedling stage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2021, 23(7): 21-32