西北农业学报 2021,30(6):848-859
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica

网络出版日期:2021-06-15 doi: 10.7606/j.issn.1004-1389.2021.06.007
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.s.20210615.1359.030.html

146 份甘蓝型油菜种质芽期耐盐性筛选及评价

李 萍,燕佳琦,张 鹤,张 燕,陶顺仙,张 琪,Aldiyar,徐爱遐,黄 镇
(西北农林科技大学 农学院,陕西杨凌 712100)

摘 要 利用 6 份甘蓝型油菜种质筛选出油菜芽期耐盐性鉴定的适宜浓度为 230 mmol·L^{-1}。以该浓度对 146 份甘蓝型油菜品系进行芽期耐盐性鉴定,测定发芽势、发芽率、根长、芽长等指标,通过相关性、主成分、隶属函数以及聚类分析对油菜种质资源进行耐盐性综合评价。结果表明:盐胁迫下,油菜的发芽势、发芽率、根长、芽长、相对芽长、相对根长相互之间成极显著正相关,而与相对盐害率呈极显著负相关;主成分分析将 7 个耐盐相关指标分为 2 个主成分,累计贡献率达 91.6%;结合隶属函数分析和耐盐性综合评价,将 146 份甘蓝型油菜耐盐性分为 4 个等级,其中耐盐材料 6 份、中度耐盐材料 11 份、低耐盐材料 64 份和敏盐材料 65 份。这些材料将为甘蓝型油菜种质耐盐性评价和筛选提供参考。

关键词 甘蓝型油菜;耐盐性;主成分分析;隶属函数;聚类分析;综合评价

中图分类号 S565.4 **文献标志码** A **文章编号** 1004-1389(2021)06-0848-12

盐害是危害国家农业生产的主要因素之一,据统计,全球约 20%的耕地受到盐渍影响,导致作物产量下降,农作物产品质量受到影响[1-2]。植物在盐害条件下生存和完成整个生命周期的能力取决于其耐盐性,耐盐性随物种和生长期的不同而变化[3-4]。因此,利用盐碱土的最有效方法是筛选和种植耐盐作物[5]。油菜作为重要的油料作物,不仅它本身具有多种用途,并且种植油菜后的土壤有机质增加,能有效改良盐碱地土壤,具有极大的种植潜力[6]。因此,对现有的油菜种质资源开展耐盐性鉴定,筛选出一批耐盐性强的种质,并在生产上加以利用,对实现盐碱地的农业高效利用,提升中国耕地的农业生产能力具有重要意义[7]。

研究表明,盐分主要通过渗透胁迫和离子毒害等方式改变植物的细胞膜透性,造成氧化胁迫和代谢紊乱等现象,从而影响植物种子萌发、生长发育、光合作用和呼吸作用等[8-9]。植物耐盐性体现于不同生育阶段,芽期是植物形态建成的最早时期,是对盐胁迫最敏感的时期之一[10]。因此,在大规模筛选耐盐的优良种质时,可以选择芽期作为快速评价种子耐盐能力的重要时期。但是,对于不同物种来说,其萌发期的耐盐性评价指标和方法各不相同,目前已经对小麦[11]、水稻[12]、花生[13]和大豆[14]等多种作物开展了耐盐性筛选鉴定。田蕾等[15]发现水稻芽期对盐胁迫较为敏感,同时利用逐步回归和主成分分析获得 3 个重要指标(发芽指数、相对根长和相对盐害率),并构建了水稻芽期耐盐性评价模型,可以作为预测和鉴定粳稻发芽期的耐盐性的有效方法。孙璐等[16]利用 42 个高粱品种确定根长、鲜质量和发芽率可以作为大批量鉴定高粱品种耐盐性的指标,并在此基础上获得 5 份高度耐盐高粱品种。Adjel 等[17]以 12 份大麦品种为材料进行芽期和幼苗期耐盐鉴定,发现在发芽阶段,根长和发芽率最能区分敏盐和耐盐品种之间的差异,而在幼苗生长阶段,芽鲜质量的 K^+,Na^+ 和 K^+/Na^+ 比率是区别不同品种耐盐能力的指标。尽管国内外已开展了关于作物耐盐性的鉴定与研究,但对于油菜发芽期耐盐性鉴定和品种筛选研究较少。龙卫华等[18]采用梯度浓度中性盐胁迫 15 个不同遗传背景的甘蓝型油菜自交系,提出 214 mmol·L^{-1} 盐为鉴定油菜品系耐盐性的最适浓度,根长和茎长可以作为评价油菜耐盐性的早期评价指标,并得到了 2 份最耐盐品系和 1 份盐敏感品系。虎满

收稿日期:2020-09-17 **修回日期**:2020-10-28
基金项目:十三五国家重点研发计划(2016YFD0100200)。
第一作者:李 萍,女,硕士研究生,研究方向为油菜遗传改良与种质创新。E-mail:1790978018@qq.com
通信作者:黄 镇,男,博士,教授,研究方向为油菜遗传育种及分子生物学。E-mail:huang_zhen.8@163.com

林等[19]在油菜种子萌发期鉴定了 15 份春油菜种质的耐盐性,提出春油菜耐盐种质筛选及评价研究的最佳盐质量浓度(10 g/L),但没有提出有效的筛选指标,且研究的种质资源较少,具有一定的局限性。综合来看,从大量的油菜种质资源中快速有效地筛选出可利用的耐盐材料,目前还没有可靠有效的评价体系和筛选方法。

本研究以 146 份甘蓝型油菜品系为研究材料,在油菜发芽期进行盐胁迫处理,调查相关的形态指标,运用主成分、隶属函数法、聚类分析等不同评价方法,对油菜种质发芽期耐盐特性进行综合评价,以期筛选出油菜发芽期耐盐性强的材料,为盐碱地区油菜的耐盐优异资源发掘和新品种培育提供理论支撑及材料来源。

1　材料与方法

1.1　试验材料

146 份油菜种质资源均为甘蓝型油菜,它们来源或系谱明确,亲缘关系较远,遗传变异丰富,种子均由西北农林科技大学油菜课题组提供(表 1)。

表 1　盐胁迫下 146 份油菜材料的 ASF 值和 CEI 值排名

Table 1　ASF value and CEI value sequence of 146 rapeseed germplasms under salt stress

材料 Material	ASF 值 ASF value	排名 Ranking	CEI 值 CEI value	排名 Ranking	材料 Material	ASF 值 ASF value	排名 Ranking	CEI 值 CEI value	排名 Ranking
826	2.22	30	−0.01	70	1253	2.16	31	1.43	23
830	0.27	135	−1.93	132	1255	3.38	11	2.41	13
835	0.56	115	−1.42	116	1263	2.74	19	0.43	50
853	2.23	29	0.47	49	1267	1.98	40	0.18	63
855	2.41	25	1.57	20	1271	1.07	94	−0.80	98
861	4.10	6	2.39	14	1273	1.09	93	−1.42	115
862	4.25	4	2.70	9	1283	1.20	90	0.07	66
877	1.45	66	−0.09	74	1296	1.44	68	0.32	56
878	1.37	78	0.18	61	1298	1.00	98	−0.50	90
881	1.61	60	0.56	43	1300	1.38	76	−0.29	84
883	1.98	39	1.02	32	1301	2.56	21	1.31	26
886	1.03	97	−0.64	96	1307	1.21	86	−0.42	88
890	3.07	14	1.61	18	1320	1.65	57	−0.10	75
904	0.89	105	−0.88	101	1325	2.48	24	0.99	34
905	0.55	117	−1.52	118	1326	0.83	107	−1.29	108
910	0.29	134	−1.85	129	1327	2.02	37	−0.15	78
919	1.53	63	0.62	40	1330	1.10	92	−1.02	103
924	2.09	36	−0.18	79	1334	0.18	140	−2.34	142
925	1.48	65	0.13	65	1343	0.34	129	−1.72	122
928	4.75	3	4.76	1	1346	0.74	109	−1.16	105
932	1.93	42	0.15	64	1350	0.36	126	−1.84	127
937	2.26	28	0.18	62	1352	0	145	−2.51	145
938	0.42	123	−1.69	121	1356	2.48	23	1.07	30
940	0.11	142	−2.34	143	1365	1.73	48	0.27	58
950	1.99	38	1.33	25	1367	0.81	108	−0.84	99
961	0.31	133	−1.94	133	1376	1.73	49	0.82	37
962	0	145	−2.51	145	1385	2.11	34	1.02	33
965	1.38	77	0.35	54	1393	0.98	102	−0.49	89
972	0.99	99	−0.54	95	1395	3.39	10	2.94	7
979	0.71	110	−0.97	102	1404	2.55	22	1.90	16
981	1.14	91	−0.19	80	1410	0.91	104	−0.76	97
998	1.63	59	0.57	42	1413	0.27	136	−2.07	137
1002	3.00	16	1.56	21	1415	1.66	55	−0.54	94
1006	0.22	139	−2.12	138	1420	0.31	132	−1.96	134

（续表 1 Continued table 1）

材料 Material	ASF 值 ASF value	排名 Ranking	CEI 值 CEI value	排名 Ranking	材料 Material	ASF 值 ASF value	排名 Ranking	CEI 值 CEI value	排名 Ranking
1008	0.57	114	−1.49	117	1422	0.36	128	−1.78	124
1012	1.27	82	−0.28	83	1428	0.99	101	−0.87	100
1020	0.53	118	−1.88	131	1430	0.41	124	−1.81	125
1022	1.40	75	0.34	55	1434	0.55	116	−1.36	111
1028	4.21	5	3.90	3	1438	0.44	121	−1.73	123
1030	3.69	8	3.38	6	1441	1.22	84	−0.34	86
1032	0.03	144	−2.44	144	1447	0.95	103	−1.05	104
1047	0.15	141	−2.18	139	1448	1.66	56	0.42	51
1050	0.36	127	−1.84	128	1452	3.19	13	2.23	15
1056	0.46	120	−1.65	119	1454	2.84	17	1.30	27
1065	2.26	27	1.60	19	1462	4.82	2	3.53	5
1069	1.24	83	0.04	68	1463	2.39	26	1.84	17
1075	1.50	64	0.50	47	1470	0.32	131	−2.02	135
1076	2.14	32	1.39	24	1484	0.24	138	−2.06	136
1079	0.10	143	−2.27	140	1485	1.82	44	0.21	60
1088	0.53	119	−1.42	114	1497	0.25	137	−2.27	141
1090	1.21	85	−0.32	85	1504	0.99	100	−1.36	110
1093	1.44	70	−0.26	82	1520	0.88	106	−1.37	112
1098	1.55	62	0.53	44	1531	1.33	80	0.05	67
1111	1.68	51	0.64	39	1536	1.43	73	−0.02	72
1117	1.20	87	0	69	1539	1.44	71	0.31	57
1134	1.68	52	−0.38	87	1548	2.83	18	1.18	29
1144	1.04	95	−0.53	92	1550	1.68	53	0.69	38
1146	0.33	130	−1.81	126	1571	1.40	74	0.21	59
1147	0.43	122	−1.66	120	1573	1.69	50	0.35	53
1161	1.20	88	−0.21	81	1583	1.29	81	−0.14	77
1164	5.33	1	4.52	2	1589	1.75	47	0.85	36
1168	2.10	35	1.04	31	1592	1.20	89	−0.14	76
1185	3.47	9	2.69	10	1594	1.77	45	0.96	35
1190	3.30	12	2.58	12	1605	2.71	20	2.60	11
1200	1.43	72	−0.01	71	1613	3.04	15	2.89	8
1208	1.44	69	0.36	52	1624	3.92	7	3.58	4
1210	1.67	54	0.49	48	1626	1.34	79	−1.29	109
1217	0.70	111	−1.28	107	1637	0.67	112	−1.39	113
1220	0.64	113	−1.20	106	1639	0.39	125	−1.85	130
1229	1.64	58	−0.07	73	1642	1.04	96	−0.53	93
1230	1.44	67	−0.51	91	1644	1.93	43	1.19	28
1240	1.97	41	0.60	41	1649	1.60	61	0.52	45
1244	2.13	33	1.48	22	1650	1.76	46	0.52	46

1.2 确定适宜的盐胁迫浓度

以遗传背景不同的 6 份油菜种质为材料（827、1006、1106、1164、1296、1583），挑选大小均匀的油菜种子，设置 6 个盐浓度，分别为 0、100、150、200、250、300 mmol · L^{-1}，每个处理设置 3 个重复，每个重复用种 50 粒。种子消毒处理并用蒸馏水清洗后放入直径 90 mm 玻璃培养皿中，加入 7.5 mL 的盐溶液，并将其置于相对湿度为 54%，温度为 25 ℃（16 h 光照/8 h 黑暗）的油菜生长室。第 3 天记录发芽种子数，第 7 天调查发芽率，第 8 天从每重复中随机选取 10 株幼苗，测量胚根长和胚芽长，发芽的标准为胚根长度≥种子长度的一半。

1.3　油菜芽期耐盐种质的筛选

试验组加入 230 mmol · L^{-1}盐溶液，对照组加入等量蒸馏水，设置 3 个重复，每个重复用种 50 粒，重复“1.2”的方法调查相关指标。

发芽势＝3 d 发芽的种子数/供试种子数×100%；

发芽率＝7 d 正常苗数/供试种子数×100%；

发芽相对盐害率＝(对照发芽率－处理发芽率)/对照发芽率×100%；

相对根长＝处理根长/对照根长×100%；

相对芽长＝处理芽长/对照芽长×100%

1.4　数据处理

采用 Microsoft Excel 2013 和 IBM. SPSS Statistics 20.0 进行数据处理和统计分析。参照张会丽等[20]的方法，利用公式(1)(2)(3)计算各份材料单项指标的隶属函数值和平均隶属函数值；参照刘丙花等[21]的方法，利用公式(4)(5)计算各个综合指标的权重(W_j)和油菜耐盐综合评价值(CEI_j)。利用系统聚类法，将各个发芽指标以欧式距离作为油菜种质间距离进行聚类分析，建立种质资源聚类树状图。

正项指标隶属函数值 $U(X_{ij})=(X_{ij}-X_{j\min})/(X_{j\max}-X_{j\min})$，$i=1,2,3,\cdots,m$；$j=1,2,3,\cdots,n$　(1)

负项指标隶属函数值 $U(X_{ij})=(X_{\max}-X_{ij})/(X_{\max}-X_{\min})$，$i=1,2,3,\cdots,m$；$j=1,2,3,\cdots,n$　(2)

平均隶属函数值 $ASF=1/m,\sum_{j=1}^{m}U_j$，$j=1,2,3,\cdots,n$　(3)

综合指标的权重 $W_j=P_j/\sum_{j=1}^{k}$，P_j，$j=1,2,3,\cdots,k$　(4)

各个材料综合指标对盐害耐性综合评价值 $CEI_j=\sum_{j=1}^{m},[Z_j\times W_j]$，$j=1,2,3,\cdots,k$　(5)

式(1)(2)中，X_{ij} 表示第 i 份材料第 j 个指标的实测值，$X_{j\max}$ 为第 j 个指标的最大值，$X_{j\min}$ 为第 j 个指标的最小值。当耐盐指标与种质耐盐能力呈正相关，用公式(1)；而对于相对盐害指数来说，该指标与耐盐能力呈负相关，则用公式(2)。公式(3)中，U_j 表示每份材料的第 j 个指标的隶属函数值。式(4)中，W_j 表示第 j 个综合指标在所有综合指标中的权重；P_j 表示经主成分分析所得到各材料第 j 个综合指标的方差贡献率，k 为选取的主成分个数。式(5)中，Z_j 表示各个主成分的得分值。

2　结果与分析

2.1　筛选油菜耐盐种质的适宜盐浓度

为了确定芽期耐盐筛选的适宜盐浓度，挑选 6 份遗传背景不同的材料在不同的盐浓度下进行处理。由表 2、表 3 可知，低浓度(100 mmol · L^{-1})下，6 份材料发芽势和发芽率较对照差异均未达到显著，高浓度(300 mmol · L^{-1})时，仅有个别种子发芽，说明高浓度盐胁迫显著降低种子的发芽速度。盐浓度为 200 mmol · L^{-1} 时，材料 1164、1583 的种子发芽率较对照比差异不显著，材料 1296、827、1106 和 1006 与对照差异显著，盐浓度为 250 mmol · L^{-1} 时，6 份材料与对照相比，种子发芽势和发芽率差异均达到显著水平，说明盐浓度为 200～250 mmol · L^{-1} 可以有效区分各品系的耐盐能力。随后对该浓度区间进行细化(0、

表 2　不同盐浓度胁迫下 6 份材料的发芽势($\bar{x}\pm s$)

Table 2　Germination vigor of six materials under stress of different concentrations of salt　%

材料 Material	盐浓度/(mmol · L^{-1}) NaCl concentration					
	0	100	150	200	250	300
1164	100.00±0.00 a	98.00±2.00 a	90.00±4.00 b	88.67±1.15 bc	82.00±8.00 c	64.00±5.29 d
1296	99.33±1.15 a	97.33±1.15 a	98.00±2.00 a	92.00±2.00 ab	71.33±17.01 b	0.00±0.00 c
827	99.33±1.15 a	94.00±4.00 a	79.33±3.06 b	76.67±1.15 b	74.00±2.00 b	6.67±2.31 c
1106	100.00±0.00 a	99.33±1.15 a	96.67±1.15 a	86.00±3.46 b	75.33±4.16 c	0.67±1.15 d
1583	98.00±2.00 a	100.00±0.00 a	98.00±2.00 a	92.67±1.15 b	88.67±6.43 b	6.67±1.15 c
1006	99.33±1.15 a	82.67±3.06 ab	30.00±5.29 b	4.67±1.15 c	2.67±1.15 c	0.00±0.00 c
平均值 Mean	99.33	95.22	82.00	73.44	65.67	13.00

注：不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)，下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$) between treatments, the same below.

表 3 不同盐浓度胁迫下 6 份材料的发芽率($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Germination rate of six materials under stress of different concentrations of salt %

材料 Material	盐浓度/(mmol·L^{-1}) NaCl concentration					
	0	100	150	200	250	300
1164	100.00±0.00 a	98.67±1.15 a	92.00±3.46 a	91.33±2.31 ab	91.33±6.43 b	70.67±8.08 c
1296	99.33±1.15 a	98.00±0.00 a	98.67±1.15 a	93.33±1.15 b	80.67±7.02 c	0.67±1.15 d
827	99.33±1.15 a	95.33±3.06 ab	92.00±7.21 b	81.33±1.15 c	75.33±3.06 c	8.00±2.00 d
1106	98.00±3.46 a	99.33±1.15 a	99.33±1.15 a	90.67±2.31 b	87.33±1.15 b	2.67±1.15 c
1583	98.67±2.31 a	100.00±0.00 a	99.33±1.15 a	93.33±1.15 ab	91.33±4.16 b	8.67±1.15 c
1006	98.67±1.15 a	94.00±2.00 a	66.67±6.43 b	14.00±2.00 c	8.00±5.29 c	0.00±0.00 d
平均值 Mean	99.00	97.56	91.33	77.33	72.33	15.11

200、210、220、230、240 和 250 mmol·L^{-1}),由图 1 看出,在 230 mmol·L^{-1} 盐浓度下,各份材料的萌发差异较大,可有效区分各份材料间的耐盐差异,因此,本研究选用 230 mmol·L^{-1}作为筛选油菜耐盐种质的适宜处理浓度。

2.2 油菜芽期耐盐指标的变异分析

在 230 mmol·L^{-1}盐胁迫下,146 份油菜种质的发芽势、发芽率、相对盐害率、根长与芽长差异性较大,变异系数分别为 136%、107%、20%、48%、77%、75% 和 81%(表 4)。这表明参试油菜材料耐盐相关性状变异丰富,性状指标存在较大差异,可以指示品种的耐盐性,用于油菜种质的耐盐性鉴定。其中有 4 份种质未发芽,相对盐害率达到 100%。有 4 份种质发芽率达 70% 以上,

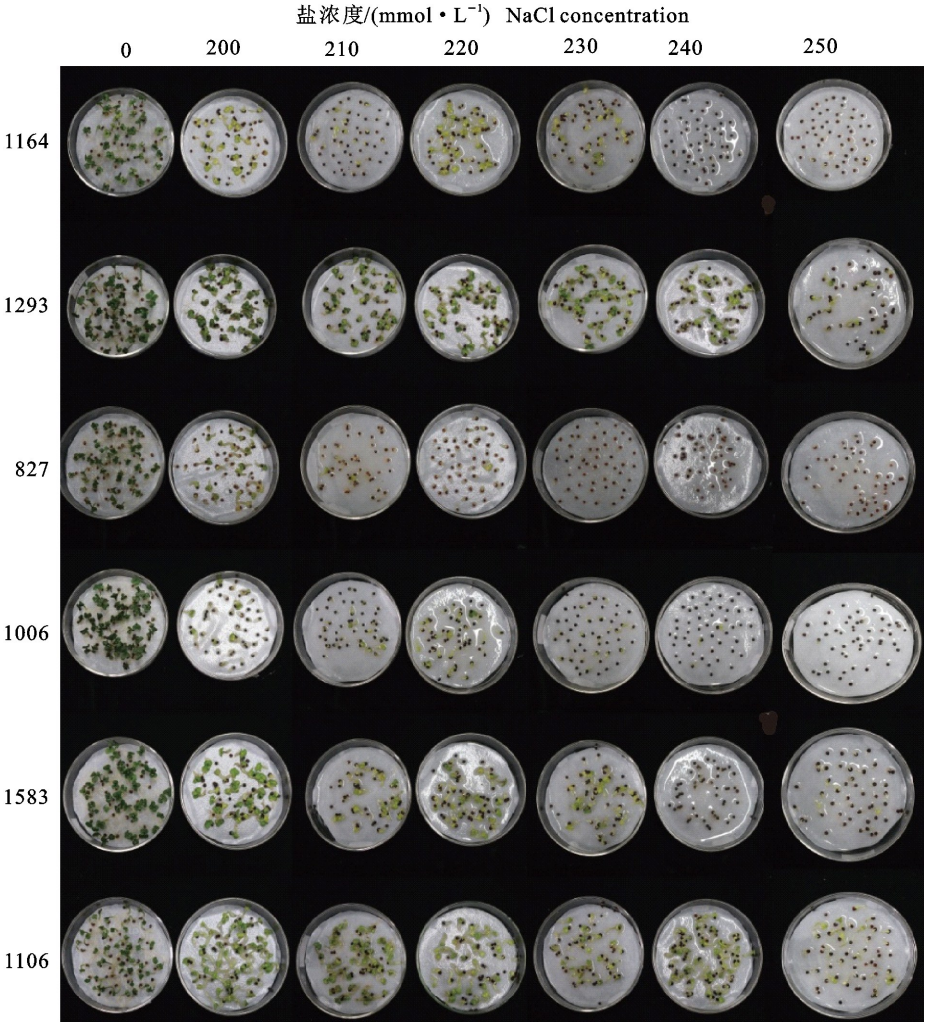

图 1 不同盐浓度处理下油菜种子的萌发表现

Fig. 1 Germination performance of six materials under stress of different concentrations of salt

对盐胁迫的抗性能力较强。综合来看,种子发芽势和发芽率集中在 20% 以下,芽期相对盐害率主要分布在 80% 以上,芽长和根长小于 0.2 cm 的种质分别占 21.2% 和 37.0%(图 2),说明盐胁迫严重抑制根和芽的生长和发育。

表 4　230 mmol · L^{-1} 盐胁迫下油菜各发芽指标的变异分析

Table 4　Variation analysis of all germination indexes of rapeseed under 230 mmol · L^{-1} NaCl

指标 Index	最小值 Min	最大值 Max	平均数 Mean	标准差 SD	变异系数 CV%
发芽势/% Germination vigor	0.00	75.33	11.32	15.35	136
发芽率/% Germination rate	0.00	78.67	15.92	17.10	107
相对盐害指数/% Relative salt damage index	21.33	100.00	84.08	17.10	20
根长/cm Root length	0.00	0.75	0.34	0.16	48
芽长/cm Sprout length	0.00	0.99	0.32	0.25	77
相对根长/% Relative root length	0.00	37.18	7.67	5.75	75
相对芽长/% Relative sprout length	0.00	41.01	12.24	9.89	81

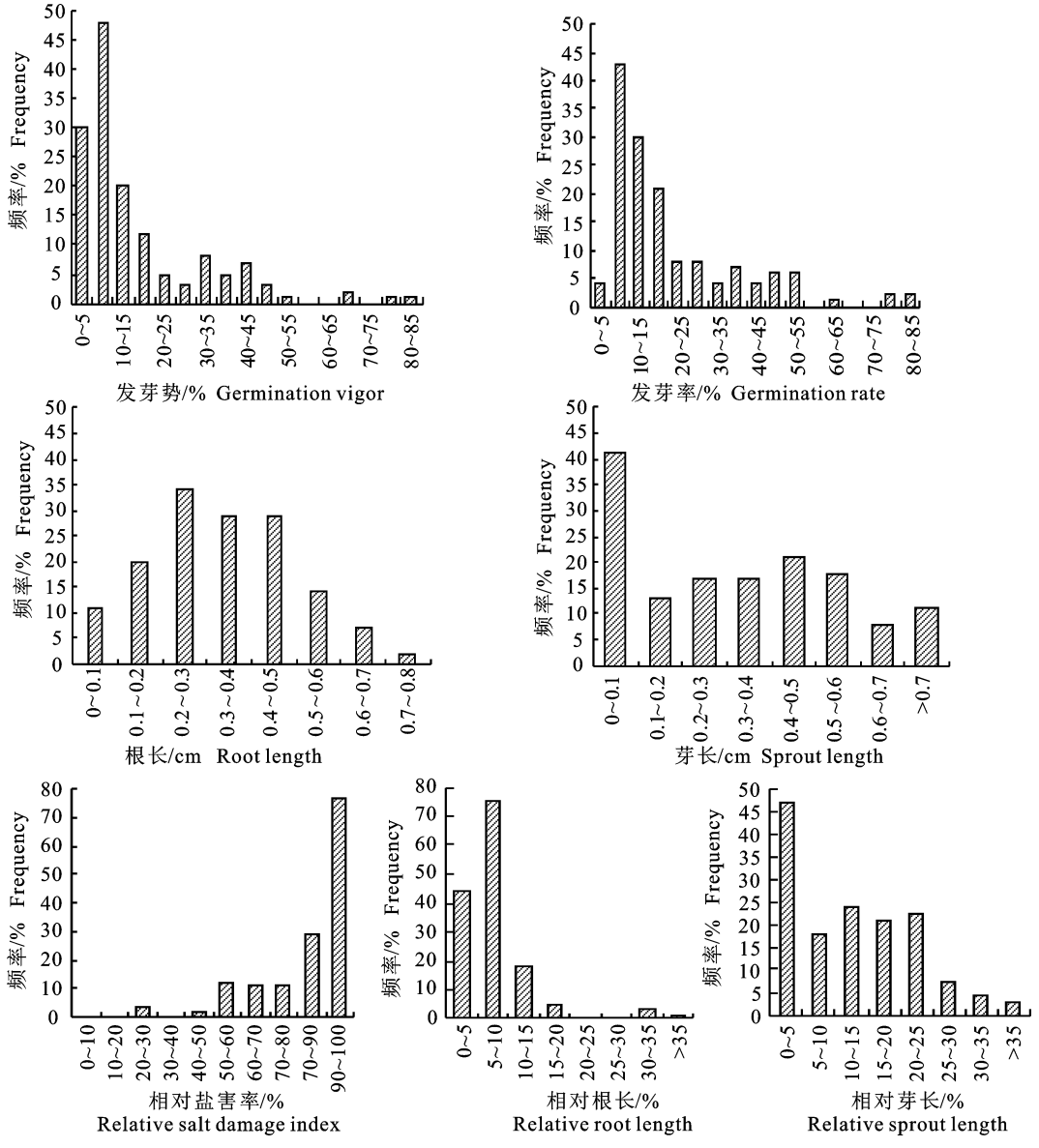

图 2　甘蓝型油菜不同发芽指标频次分布

Fig. 2　Frequency distribution of different germination indexes in rapeseed

2.3 盐胁迫下油菜各指标的相关性分析

发芽势、发芽率、根长、芽长、相对根长和相对芽长中，任意两个指标之间均呈极显著正相关，其中发芽势与发芽率的相关系数最大为 0.967，而发芽率与相对芽长的相关系数最小为 0.358；发芽相对盐害率与发芽势、发芽率、根长、芽长、相对根长和相对芽长呈极显著负相关，其中与发芽势、发芽率的相关系数较大，分别为 −0.967 和 −1.00(表 5)。因此，盐胁迫下油菜各指标之间存在不同程度的相关性。

2.4 主成分分析

为确定筛选油菜芽期耐盐性的主要指标，对 146 份自然群体的 7 个性状进行主成分分析(表 6)。通过主成分分析，根据各主成分的特征值和贡献率进行主成分提取。特征值大于 1 的主成分有 2 个，第一主成分的特征值为 4.617，方差贡献率达 65.964%；第二主成分的特征值为 1.795，方差贡献率是 25.644%，这两个主成分累计方差贡献率达 91.6%(表 6)，可代替 7 个萌发指标的绝大部分信息，综合反映盐胁迫下油菜芽期的萌发特性，可以作为油菜耐盐种质评价的综合指标。

由表 6 和表 7 可知，对第一主成分产生正向影响的指标有发芽率、发芽势、根长、芽长、相对根长、相对芽长，载荷数都比较高，都在 0.76 以上。载荷较高但对第一主成分产生负向影响的指标是相对盐害指数，其数值为−0.802。对第二主成分产生负向影响的指标有发芽势和发芽率，载荷数为−0.584 和−0.593，相对盐害指数和相对芽长为较高的正载荷指标，载荷值为 0.5 以上。

表 5 230 mmol · L^{-1} 盐胁迫下油菜各指标的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of all germination indexes of rapeseed under salt stress of 230 mmol · L^{-1}

指标 Index	发芽势 Germination vigor	发芽率 Germination rate	相对盐害指数 Relative salt damage index	根长 Root length	芽长 Sprout length	相对根长 Relative root length	相对芽长 Relative sprout length
发芽势 Germination vigor	1						
发芽率 Germination rate	0.967**	1					
相对盐害指数 Relative salt damage index	−0.967**	−1.000**	1				
根长 Root length	0.452**	0.469**	−0.469**	1			
芽长 Sprout length	0.401**	0.385**	−0.385**	0.893**	1		
相对根长 Relative root length	0.369**	0.406**	−0.406**	0.725**	0.700**	1	
相对芽长 Relative sprout length	0.374**	0.358**	−0.358**	0.858**	0.952**	0.749**	1

注：** 在 0.01 水平上极显著相关。

Note: ** values with different superscripts indicate significant difference at 0.01 level.

表 6 甘蓝型油菜各指标的主成分的方差贡献率

Table 6 Variance contribution rate of principal components of each index in rapeseed

主成分 Principal components	初始特征值 Initialeigenvalue			提取平方和载入 Extract Square sum load		
	特征值 Eigenvalue	方差贡献率/% Variance contribution rate	累积方差贡献率/% Cumulative variance contribution rate	特征值 Eigen value	方差贡献率/% Variance contribution rate	累积方差贡献率/% Cumulative variance contribution rate
1	4.617	65.964	65.964	4.617	65.964	65.964
2	1.795	25.644	91.608	1.795	25.644	91.608
3	0.363	5.18	96.788			
4	0.149	2.124	98.913			
5	0.039	0.562	99.475			
6	0.037	0.525	100			
7	2.29E−16	3.271E−15	100			

2.5 基于平均隶属函数值、综合评价指数值的油菜耐盐综合评价

平均隶属函数值(ASF 值)和综合评价指数(CEI)，作为评价耐盐性强弱标准的度量值，ASF 值和 CEI 值越大，耐盐性越强。利用公式(3)计算油菜种质的平均隶属函数值(ASF 值)，并对 146 份油菜种质进行排序(表 1)。平均隶属函数值为0.00～5.33，综合排名前十的种质从大到小

表 7　甘蓝型油菜耐盐指标的主成分载荷矩阵

Table 7　Loading matrix of two principal components

指标 Index	主成分 Principal components	
	1	2
发芽势 Germination vigor	0.792	−0.584
发芽率 Germination rate	0.802	−0.593
相对盐害指数 Relative salt damage index	−0.802	0.593
根长 Root length	0.862	0.375
芽长 Sprout length	0.835	0.475
相对根长 Relative root length	0.766	0.360
相对芽长 Relative sprout length	0.824	0.505

依次为 1164、1462、928、862、1028、861、1624、1030、1185 和 1395,综合排名后十的种质从小到大依次为 962、1352、1032、1079、940、1047、1334、1006、1484 和 1497。将发芽指标原始数据标准化后,利用公式(5)计算综合评价指数($CEI = 0.72Z_1 + 0.28Z_2$)。综合评价指数为 −2.51～4.76,146 份油菜种质耐盐性强的种质综合排名前十的是 928、1164、1028、1624、1462、1030、1395、1613、862 和 1185。敏盐材料依次为 1352、962、1032、940、1334、1497、1079、1047、1006 和 1413。本试验用这 2 种综合评价体系来评价 146 份油菜种质的耐盐情况,结果表明,146 份材料在不同评价体系中排名略有不同,但排名顺序差异不大,耐盐材料和敏盐材料的筛选结果基本一致。

2.6　聚类分析

基于耐盐综合评价指数(CEI),通过最远距离法进行系统聚类,在欧氏距离为 5 处将 146 份油菜种质分为四大类(图 3)。第Ⅰ类为高度耐盐材料,包括 928、1164、1624、1462、1030 和 1028;第Ⅱ类为中度耐盐材料,包括 1395、1613、862 和 861 等 11 份;第Ⅲ类为低耐盐材料,包括 853、1210、1075、1098、1649 和 1650 等 64 份;第Ⅳ类为敏盐材料,包括 1006、1032、1047 和 1352 等 65 份。

3　讨论

目前,中国土壤盐渍化十分严重,而通过种植耐盐作物对盐渍土进行生物改良是目前最为经济、最有效的途径[22],这对油菜的耐盐性提出了更高的要求。中国作为白菜型油菜和芥菜型油菜的起源中心,种质资源丰富,遗传变异较为广泛,这为开展油菜优良种质资源研究与创新提供了重要的材料基础[23]。因此,加强现有油菜种质资源耐盐性的系统评价和利用,对选育耐盐油菜新品种具有极大的现实意义。本试验探究 6 个不同盐浓度对 6 份遗传背景不同材料的影响,结果发现 200～250 mmol·L^{-1} 盐浓度可以鉴定不同材料耐盐的差异性,为了快速筛选出高度耐盐材料,试验最终选择 230 mmol·L^{-1} 作为本试验的筛选浓度,与龙卫华等[18]认为 214 mmol·L^{-1} 的盐浓度最适于鉴定耐盐性的研究结果接近。以该浓度对 146 份种质材料进行芽期耐盐性综合评价,研究发现,230 mmol·L^{-1} 浓度的盐胁迫下,发芽势、发芽率和芽长的变异系数分别为 136%、107%和 81%,进一步表明油菜种质资源的耐盐性存在广泛变异。

盐胁迫下,油菜种子的发芽势、发芽率、根长、苗长及根数等形态指标呈现不同程度的下降[24]。目前,油菜耐盐性筛选指标并没有统一的标准。但有研究表明,发芽势和发芽率在油菜各个品种之间差异很大,可以作为指示油菜盐逆境反应的指标[25];刘自刚等[26]认为盐敏感品系的胚根长/胚芽长比值显著高于耐盐品系,耐盐品系胚根伸长对盐胁迫更加敏感,也可以将胚根长作为筛选耐盐材料的指标;Irandokht 等[27]对 300 份油菜种质进行早期耐盐筛选,结果发现盐胁迫下种子的发芽率降幅最大,而发芽率、出苗率、地上部和根的长度及质量是油菜耐盐性筛选的重要指标;Wu 等[28]通过芽鲜质量这一指标建立数学评价模型,能预测甘蓝型油菜萌发期的耐盐能力,可以作为大规模筛选油菜耐盐性的可靠指标。本研究通过相关性分析,发现发芽势、发芽率、根长、芽长、相对根长和相对芽长之间相互呈极显著正相关,而与发芽相对盐害率呈极显著负相关,部分相关系数达 0.9 以上,各个指标相关性极为明显。这些指标对耐盐综合评价指标的贡献率不同,因此,

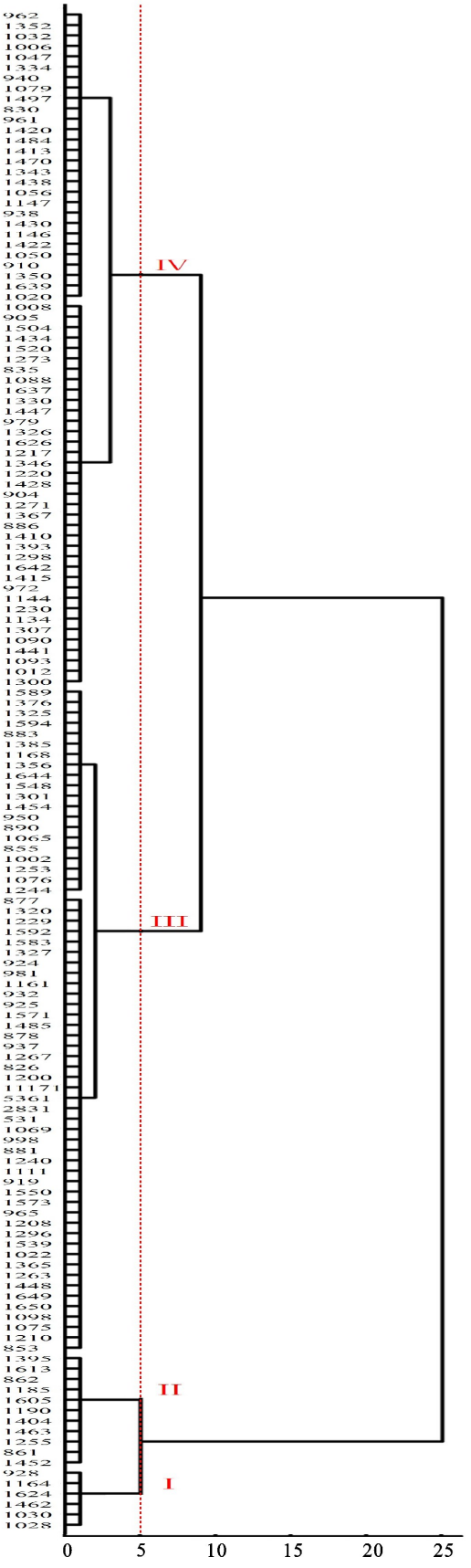

图 3　146 份油菜种质耐盐性聚类分析图

Fig. 3　Clustering analysis of salt tolerances of 146 rapeseed germplasms

如果想要准确反映某一油菜材料的耐盐性，应当尽可能调查多个指标进行综合分析，才能全方位反映油菜种子的耐盐性。

近年来，随着作物抗逆性研究的发展，利用主成分分析、平均隶属函数值法和聚类分析等对大豆[29]、花生[30]、油菜[31]、高粱[32]和马铃薯[33]等作物进行抗逆性筛选鉴定，已经成为综合评价作物抗逆性的有效且可靠的方法。本研究通过测定油菜发芽期相关指标，分析各个耐盐指标的相关性，并采用主成分分析法综合分析各个指标在耐盐性分析中所占的权重，基于平均隶属函数值、综合评价指数值对所有供试材料的耐盐性进行综合评价并排序。最后通过聚类分析，将 146 份油菜种质耐盐性分为四大类。通过不同的评价体系，综合筛选出 6 份高度耐盐的材料，包括：1164、928、1624、1462、1030 和 1028。其中 1164 品系的平均隶属函数值（ASF 值）为 5.33，排名第 1，综合评价指数（CEI）为 4.52，排名第 2，在 2 种评价体系中综合表现最好，耐盐性最强。但由于作物在不同生长发育阶段所表现的耐盐性可能存在一定差异，在发芽期筛选出的耐盐性较好的油菜种质是否在苗期或者成株期表现出相同的特性还有待于进一步验证。

4　结 论

本研究通过盐浓度梯度试验筛选出甘蓝型油菜芽期耐盐处理的适宜浓度为 230 mmol · L^{-1}，在该盐浓度处理下测定了 146 份甘蓝型油菜芽期耐盐相关形态指标，利用相关性分析、主成分分析、隶属函数法和聚类分析等分析方法对 146 份甘蓝型油菜的耐盐性进行综合评价，筛选出 6 份强耐盐的甘蓝型油菜种质。本研究为甘蓝型油菜耐盐性评价以及耐盐性育种提供了参考。

参考文献　Reference:

[1]　YAMAGUCHI T, BLUMWALD E. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities [J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10(12): 615-620.

[2]　GUPTA B, HUANG B R. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, molecular characterization [J]. *International Journal of Genomics*, 2014, 2014: 701596.

[3]　ZENG L, SHANNON M C, GRIEVE C M. Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by multiple agronomic parameters [J]. *Euphytica*, 2002, 127(2): 235-245.

[4]　AKBARI G, SANAVY S A, YOUSEFZADEH S. Effect of

auxin and salt stress(NaCl) on seed germination of wheat cultivars(*Triticum aestivum* L.) [J]. *Science Alert*, 2007, 10(15): 2557-2561.

[5] ASHRAF M Y, AWAN A R, MAHMOOD K. Rehabilitation of saline ecosystems through cultivation of salt tolerant plants [J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2012, 44(44): 69-75.

[6] 殷　艳,陈兆波,余　健,等. 我国油菜生产潜力分析[J]. 中国农业科技导报,2010,12(3):16-21.
YIN Y, CHEN ZH B, YU J, *et al*. Analysis of potential for rapeseed production in China [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2010, 12(3): 16-21.

[7] 王佳丽,黄贤金,钟太洋,等. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. 地理学报,2011,66(5):673-684.
WANG J L, HUANG X J, ZHONG T Y, *et al*. Review on sustainable utilization of salt-affected land [J]. *Acta Geographica Sinica*, 2011, 66(5): 673-684.

[8] 李　彦,张英鹏,孙　明,等. 盐分胁迫对植物的影响及植物耐盐机理研究进展[J]. 中国农学通报,2008,24(1):258-265.
LI Y, ZHANG Y P, SUN M, *et al*. Research advance in the effects of salt stress on plant and the mechanism of plant resistance [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(1): 258-265.

[9] 孟繁昊,王　聪,徐寿军. 盐胁迫对植物的影响及植物耐盐机理研究进展[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2014,29(3):315-318.
MENG F H, WANG C, XU SH J. Advances in research on effects of salt stress on plant and the mechanism of plant salt tolerance [J]. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities (Natural Sciences)*, 2014, 29(3): 315-318.

[10] ASHRAF M, MCNEILLY T. Salinity tolerance in brassica oil seeds [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2004, 23(2): 157-174.

[11] 吴纪中,刘妍妍,王　冲,等. 人工海水胁迫下小麦种质资源的耐盐性筛选与鉴定[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(5):948-953.
WU J ZH, LIU Y Y, WANG CH, *et al*. Screening and identification of wheat germplasm for salt tolerance using artificial sea water [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(5): 948-953.

[12] 方先文,汤陵华,王艳平. 耐盐水稻种质资源的筛选[J]. 植物遗传资源学报,2004,5(3):295-298.
FANG X W, TANG L H, WANG Y P. Selection on rice germplasm tolerant to salt stress[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2004, 5(3): 295-298.

[13] 沈　一,刘永惠,陈志德,等. 花生幼苗期耐盐品种的筛选与评价[J]. 花生学报,2012,41(1):10-15.
SHEN Y, LIU Y H, CHEN ZH D, *et al*. Selection and evaluation of peanut varieties based on seedling salt tolerance[J]. *Journal of Peanut Science*, 2012, 41(1): 10-15.

[14] 刘谢香,常汝镇,关荣霞,等. 大豆出苗期耐盐性鉴定方法建立及耐盐种质筛选[J]. 作物学报,2020,46(1):1-8.
LIU X X, CHANG R ZH, GUAN R X, *et al*. Establishment of screening method for salt tolerant soybean at emergence stage and screening of tolerant germplasm[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, 46(1): 1-8.

[15] 田　蕾,陈亚萍,刘　俊,等. 粳稻种质资源芽期耐盐性综合评价与筛选[J]. 中国水稻科学,2017,31(6):631-642.
TIAN L, CHEN Y P, LIU J, *et al*. Comprehensive evaluation and selection of rice(*Oryza sativa japonica*) germplasm for saline tolerance at germination stage [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2017, 31(6): 631-642.

[16] 孙　璐,周宇飞,汪　澈,等. 高粱品种萌发期耐盐性筛选与鉴定[J]. 中国农业科学,2012,45(9):1714-1722.
SUN L, ZHOU Y F, WANG CH, *et al*. Screening and identification of sorghum cultivars for salinity tolerance during germination[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(9): 1714-1722.

[17] ADJEL F, BOUZERZOUR H, BENMAHAMMED A. Salt stress effects on seed germination and seedling growth of barley(*Hordeum vulgare* L.) genotypes [J]. *Journal of Agriculture and Sustainability*, 2013, 3(2): 223-237.

[18] 龙卫华,浦惠明,张洁夫,等. 甘蓝型油菜发芽期的耐盐性筛选[J]. 中国油料作物学报,2013,35(3):271-275.
LONG W H, PU H M, ZHANG J F, *et al*. Screening of *Brassica napus* for salinity tolerance at germination stage [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2013, 35(3): 271-275.

[19] 虎满林,余青兰,徐　亮,等. 萌发期抗(耐)盐春油菜种质资源筛选与评价[J]. 青海大学学报,2016,34(5):1-8.
HU M L, YU Q L, XU L, *et al*. Screening and evaluation for germplasm resources with salt resistance(tolerance) in spring oilseed rape at germination stage[J]. *Journal of Qinghai University*, 2016, 34(5): 1-8.

[20] 张会丽,袁　闯,朱　林,等. 利用隶属函数值法对玉米成熟期耐盐性的综合评价[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2018,46(2):47-55.
ZHANG H L, YUAN CH, ZHU L, *et al*. Comprehensive evaluation of salt-tolerance of maize at mature period using subordinate function value analysis[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2018, 46(2): 47-55.

[21] 刘丙花,王开芳,王小芳,等. 基于主成分分析的蓝莓果实质地品质评价[J]. 核农学报,2019,33(5):927-935.
LIU B H, WANG K F, WANG X F, *et al*. Evaluation of fruit texture quality of blueberry based on principal component analysis[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(5): 927-935.

[22] 徐鹏程,冷翔鹏,刘更森,等. 盐碱土改良利用研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):293-298.
XU P CH, LENG X P, LIU G S, *et al*. Research progress in improvement and utilization of saline alkali soil [J].

Jiangsu Agricultural Sciences,2014,42(5):293-298.

[23] 范成明,田建华,胡赞民,等.油菜育种行业创新动态与发展趋势[J].植物遗传资源学报,2018,19(3):447-454.
FAN CH M,TIAN J H,HU Z M,*et al*. Advances of oilseed rape breeding[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*,2018,19(3):447-454.

[24] 李春龙.盐胁迫对油菜种子萌发的影响[J].安徽农业科学,2008,36(26):11198-11199.
LI CH L. Effect of salt stress on germination of rapes seed [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(26):11198-11199.

[25] 陈新军,胡茂龙,戚存扣,等.不同甘蓝型油菜品种种子萌发耐盐能力研究[J].江苏农业科学,2007(4):26-28.
CHEN X J,HU M L,QI C K,*et al*. Study on the ability of seed germination and salt tolerance of different *Brassica napus* varieties [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2007 (4):26-28.

[26] 刘自刚,王志江,方 圆,等.NaCl 胁迫对白菜型冬油菜种子萌发和幼苗生理的影响[J].中国油料作物学报,2017,39(3):351-359.
LIU Z G, WANG ZH J, FANG Y, *et al*. Effect of salt stress on seed germination and seedling physiology of winter rapeseed(*Brassica napus* L.) [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*,2017,39(3):351-359.

[27] IRANDOKHT M, HAMID N Z, NADALI B J, *et al*. Screening of canola(*Brassica napus* L.) genotypes for salt tolerance based on early growth stage [J]. *Biological Forum—an International Journal*,2017,9(2):208-216.

[28] WU H, GUO J R, WANG CH F, *et al*. An effective screening method and a reliable screening trait for salt tolerance of *Brassica napus* at the germination stage [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 530[2019-04-26]. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00530.

[29] 张新草,薛项潇,姜 深,等.大豆种质发芽期耐盐碱性鉴定及指标筛选[J].西北农业学报,2020,29(3):374-381.
ZHANG X C,XUE X X,JIANG SH,*et al*. Identification of mixed saline-alkali tolerance and screening of indicators in soybean at germination stage [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,2020,29(3):374-381.

[30] 孙东雷,卞能飞,陈志德,等.花生种质资源表型性状的综合评价及指标筛选[J].植物遗传资源学报,2018,19(5):865-874.
SUN D L,BIAN N F,CHEN ZH D,*et al*. Comprehensive evaluation and index screening of phenotypic traits in peanut germplasm resources[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*,2018,19(5):865-874.

[31] 张 霞,谢小玉.PEG 胁迫下甘蓝型油菜种子萌发期抗旱鉴定指标的研究[J].西北农业学报,2012,21(2):72-77.
ZHANG X,XIE X Y. Studies on identification indexes of drought resistance by PEG during seed germination of rapeseed(*Brassica napus* L.)[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,2012,21(2):72-77.

[32] 汪 灿,周棱波,张国兵,等.酒用糯高粱资源成株期抗旱性鉴定及抗旱指标筛选[J].中国农业科学,2017,50(8):1388-1402.
WANG C,ZHOU L B,ZHANG G B,*et al*. Drought resistance identification and drought resistance indices screening of liquor-making waxy sorghum resources at adult plant stage[J]. *Scientia Agricultura Sinica*,2017,50(8):1388-1402.

[33] 刘 芳,孔海明,陈广侠,等.马铃薯种质资源组培苗耐盐性评价与耐盐种质筛选[J].山东农业科学,2019,51(4):24-29.
LIU F,KONG H M,CHEN G X,*et al*. Comprehensive evaluation of salt tolerance and screening for salt tolerant accessions of potato germplasm in vitro[J]. *Shandong Agricultural Sciences*,2019,51(4):24-29.

Screening and Evaluation of Salt Tolerance for 146 *Brassica napus* Germplasms at Germination Stage

LI Ping, YAN Jiaqi, ZHANG He, ZHANG Yan, TAO Shunxian, ZHANG Qi, Aldiyar, XU Aixia and HUANG Zhen

(College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract In this study, six *Brassica napus* germplasms were used to identify the suitable concentration of salt stress at germination stage and 230 mmol · L^{-1} NaCl was determined as the optimum concentration. The germination vigor, germination rate, root length and bud length of 146 *B. napus* accessions were measured at germination stage. The comprehensive evaluation of salt tolerance was carried out by correlation coefficient, principal component, subordinate function and clustering analysis. It was found that the germination vigor, germination rate, root length, bud length, relative bud length and relative root length were all positively correlated with each other under salt stress, but it was negatively correlated with the relative salt damage index; seven indexes related to salt tolerance were divided into two principal components by principal component analysis, with a total of 91.6% contribution rate; Combined with membership function analysis and the comprehensive evaluation of salt tolerance, 146 *B. napus* accessions were clustered into four grades, including six salt tolerant, nine moderate tolerant, sixty four low tolerant and sixty five sensitive accessions. These results provide an important reference for salt tolerance evaluation in *B. napus* L..

Key words *Brassica napus* L.; Salt tolerance; Principal component analysis; Membership function; Cluster analysis; Comprehensive evaluation

Received 2020-09-17　　**Returned** 2020-10-28

Foundation item National Key R&D Program (No. 2016YFD0100200).

First author LI Ping, female, master student. Research area: rapeseed genetic improvement and germplasm innovation. E-mail: 1790978018@qq.com

Corresponding author HUANG Zhen, male, Ph. D, professor. Research area: rapeseed genetic breeding and molecular biology. E-mail: 171832611@qq.com

(责任编辑:顾玉兰　**Responsible editor: GU Yulan**)