

赵泽宏, 杨钢, 郭徐鹏, 等. 甘蓝型油菜耐盐种质的筛选及评价[J]. 山西农业科学, 2025, 53(1):22-34.

ZHAO Z H, YANG G, GUO X P, et al. Screening and identification of salt-tolerant germplasm of *Brassica napus*[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(1):22-34.

doi:10.3969/j.issn.1002-2481.2025.01.03

甘蓝型油菜耐盐种质的筛选及评价

赵泽宏¹, 杨 钢¹, 郭徐鹏², 陈宇红², 胡赞民², 范成明², 张新永¹

(1. 云南农业大学 农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 中国科学院 遗传与发育生物学研究所, 北京 100101)

摘 要:为实现“以种适地”的盐碱综合利用的目标,获得适合盐碱地种植的油菜种质,采用1.5% NaCl通过纸床快速筛选法从523份甘蓝型油菜种质材料中,筛选出不同萌发率的6份油菜种质材料(Westar、G101、G112、bgr5、ZS11、G135),对其在琼脂盐胁迫和盆栽盐胁迫下的萌发率、下胚轴长、根长、鲜质量及生理指标(SOD、CAT、脯氨酸等)进行测定。结果表明,在1/2 MS培养基盐胁迫下,G135的萌发率、下胚轴长、根长以及鲜质量都优于其他5份材料,采用隶属函数综合评价得出,6份种质的耐盐能力大小为G135>Westar>bgr5>G112>ZS11>G101;在盆栽试验中,从6份种质对不同盐浓度胁迫的响应看,G135的萌发率、下胚轴长、根长以及鲜质量在高盐浓度下均优于其他5份材料,采用隶属函数综合评价得出,6份种质耐盐能力大小为G135>G112>Westar>ZS11>G101>bgr5;在盆栽幼苗期对6份种质进行0.8% NaCl胁迫,G135的抗氧化酶活性和脯氨酸含量高于其他处理,采用隶属函数综合评价得出,6份种质耐盐能力大小为G135>G112>Westar>bgr5>ZS11>G101。综上,G135作为耐盐种质,表现出稳定的高耐盐能力,可用于油菜的耐盐性育种及耐盐分子机理研究。

关键词:甘蓝型油菜;纸床发芽;耐盐种质;隶属函数

中图分类号:S565.4

文献标识码:A

文章编号:1002-2481(2025)01-0022-13

Screening and Identification of Salt-Tolerant Germplasm of *Brassica napus*

ZHAO Zehong¹, YANG Gang¹, GUO Xupeng², CHEN Yuhong²,
HU Zanmin², FAN Chengming², ZHANG Xinyong¹

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: In order to gain rapeseed (*Brassica napus*) germplasm suitable for planting in saline alkali land and achieve comprehensive utilization of the saline soil, in this study, 6 rapeseed germplasm materials including Westar, G101, G112, bgr5, ZS11, and G135 were selected from 523 rapeseed germplasms tested by paper bed with 1.5% of NaCl. Systematic evaluation encompassed germination rates and various growth parameters of the materials under agar salt stress and potted salt stress, including hypocotyl and root lengths, as well as fresh weight and physiological indices (SOD, CAT, proline, etc.). The results showed that G135 exhibited superior performance under saline stress conditions on 1/2 MS medium, displaying enhanced germination rates, elongation of hypocotyls and roots, and superior fresh weight compared to other 5 germplasms. The order of the salt-tolerance ability of the 6 germplasms was G135 > Westar > bgr5 > G112 > ZS11 > G101 after comprehensive evaluation by membership function. In the pot trials, the growth parameters of G135 were also superior to those of other 5 germplasms under the salt stress, and membership function analysis reiterated G135's preeminence in salt tolerance, surpassing G112, Westar, ZS11, G101, and bgr5. Six germplasms were subjected to 0.8% of NaCl stress at the seedling stage in the pot trial, and the antioxidant enzyme activity and proline content of G135 were higher than those of other treatments. After comprehensive evaluation by membership function, the order of the salt tolerance of 6 germplasms was G135 > G112 > Westar > bgr5 > ZS11 > G101. In conclusion, G135, as a salt-tolerant germplasm, showed stable and highly salt-tolerant ability, and

收稿日期:2024-04-24

基金项目:农业生物育种重大项目(2022ZD0401002-4)

作者简介:赵泽宏,在读硕士,研究方向:作物种质资源评价与利用,E-mail:1872820486@qq.com

通信作者:张新永,副教授,博士,主要从事作物栽培生理研究,E-mail:469743707@qq.com

could be used for salt-tolerant breeding for rapeseed and study on molecular mechanism of salt-tolerance.

Keywords: *Brassica napus*; paper bed germination; salt-tolerant germplasm; membership function

土壤盐碱化是指盐分不断向土壤表层聚积形成盐渍土的自然地质过程^[1],它能够反映土壤耕作层中水溶性盐对作物生产、环境健康和经济发展的危害程度^[2]。在全球范围内,盐碱地总面积为9.543 8亿 hm^2 ,其中我国盐碱地大约占世界总面积的1/10,尚有1 750万 hm^2 土壤受到潜在盐渍化威胁^[3]。油菜作为我国重要的油料作物,是国产油料中产量最大的品种^[4],由于盐碱地的不断扩张,对油菜的危害也愈加严重。在盐胁迫下,由于渗透效应和离子毒害作用^[5-6],会对油菜种子的萌发、光合作用以及产量和品质的形成产生影响。前人研究结果显示,油菜种子发芽势和萌发率会随着盐浓度的升高呈现下降趋势,甚至在中高浓度盐胁迫下,萌发率会降为0^[7-8]。有研究表明,对油菜进行不同浓度NaCl处理后,其叶绿素含量呈现先增加后减少的趋势,叶片气孔关闭,这说明盐胁迫不同程度地破坏了油菜的光合机构,导致光合速率下降^[9];在长期的盐胁迫环境中,油菜的生育期将会延长,其产量相关性状也会较正常条件下显著降低,从而导致油菜产量下降^[10-11],因此,为缓解盐碱环境对油菜的危害,筛选耐盐油菜种质对于提高油菜的产量及提高盐碱地的开发利用有重要意义。

植物能否在盐胁迫下生存首先取决于种子萌发和幼苗期的生长情况^[12-14],盐胁迫下分析种子的萌发能力以及苗期的生长情况可以有效评价植株的抗盐性。随着盐浓度升高,油菜种子的萌发率、根长、芽长、鲜质量都呈明显下降趋势^[15]。在苗期,植物在逆境下会通过体内各种代谢物、酶以及叶绿素等含量的变化来维持生命的正常运行,因此,萌发率、根长、下胚轴长、鲜质量以及其他各项生理指标可以作为评定植物抗逆性的指标。

目前,已有大量文献报道盐胁迫下种子萌发期或幼苗期的抗盐能力。杨广环等^[16]通过纸床发芽法测定4个品种油菜的发芽相关指标及生理指标初步评价得出,大地95耐盐能力较强;有研究表明,通过琼脂培养基鉴定拟南芥耐盐性操作简便、稳定性好^[17]。吴鹏博等^[18]通过盆栽试验,对8个油菜品种耐盐性进行初步评价,得出华油杂62耐盐性最好。不同的盐胁迫试验设计和方法由于培养介质的不同而存在较大差异。为此,在盐胁迫条件下,

笔者使用了培养皿纸床、MS培养基、盆栽等多种策略系统评价油菜在萌发期与幼苗期的抗盐能力,进而获得更加可靠的评价结果。

本试验首先采用纸床快速筛选法对523份油菜种质材料的耐盐能力进行划分,选取6份不同萌发率的油菜进行琼脂盐胁迫培养和盆栽盐胁迫培养,并观测相关的表型和生理指标,进而实现种质耐盐能力的综合评价。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验以523份油菜为材料,其中,Westar为油菜野生型;中双11号(ZS11)为中国农业科学院油料作物研究所选育的品种;其他材料均由中国科学院遗传与发育生物学研究所胡赞民组通过小孢子培养而得到的DH系,种子均由中国科学院遗传与发育生物学研究所胡赞民组提供。

1.2 试验试剂

1/2 MS干粉(Sigma,货号:M5519)。MES(Lablead,货号:E169-100g-1)。NaCl(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 培养皿纸床盐筛选试验 在90 mm×25 mm的圆形培养皿中放入4层纸巾(13.5 cm×10.5 cm),加入10 mL的1.5% NaCl溶液^[19],每份种质挑选籽粒饱满、大小均匀的20粒油菜种子点播在纸巾上,523份油菜种质均进行试验。观察记录7 d时的萌发率。

1.2.2 1/2 MS固体培养基上种子萌发的盐浓度试验 在培养皿纸床试验的基础上,选出不同萌发率的油菜种质进行试验。配制5个盐浓度的1/2 MS固体培养基,分别为0% NaCl(2.17 g/L 1/2 MS干粉+0.5 g/L MES+8 g/L琼脂);0.5% NaCl(2.17 g/L 1/2 MS干粉+0.5 g/L MES+8 g/L琼脂+5 g/L NaCl);0.8% NaCl(2.17 g/L 1/2 MS干粉+0.5 g/L MES+8 g/L琼脂+8 g/L NaCl);1.0% NaCl(2.17 g/L 1/2 MS干粉+0.5 g/L MES+8 g/L琼脂+10 g/L NaCl);1.25% NaCl(2.17 g/L 1/2 MS干粉+0.5 g/L MES+8 g/L琼脂+12.5 g/L NaCl)。

将 pH 值调至 5.8~6.0, 121 °C 灭菌 15 min, 在超净工作台中将培养基倒入 10 cm×10 cm 的方形培养皿中, 每个板约 50 mL。配制完成后, 挑选籽粒饱满、大小均匀的油菜种子, 用 70% 酒精对其消毒 5 min, 无菌水冲洗 3 次后, 在超净工作台将其风干后, 播种在培养皿中(20 粒/皿, 3 次重复), 播种后放入培养室中避光培养 7 d, 统计种子萌发率、下胚轴长、根长及鲜质量。

1.2.3 盆栽条件下种子萌发的盐浓度试验 在 8 cm×8 cm 的育苗盆中装土(蛭石: 营养土=1:1 体积比)100 g。选择籽粒饱满、大小均匀的油菜种子进行点播, 深约 2 cm, 30 粒/盆, 每个材料 3 次重复。每个育苗盆里浇 100 mL 不同盐浓度(0.25%、0.5%、0.75%、1.0%、1.25% 和 1.5%)的 NaCl 溶液, 且无水漏出。7 d 后, 记录萌发率、下胚轴长、根长及鲜质量。

1.2.4 盆栽条件下幼苗生长的盐浓度试验 盆栽种植参照 1.2.3, 每个盆里有 15 株幼苗, 每个材料 3 次重复。待幼苗长至 2~3 叶期时, 每盆浇 100 mL 0.8% NaCl 溶液进行盐胁迫, 每 5 d 浇一次, 胁迫 20 d 后取叶片测定各项生理指标。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 萌发率 正常 7 d 发芽的种子数占供试种子数的百分率即为萌发率。

1.3.2 生理指标 采用紫外分光光度法测定过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢(H₂O₂)活性, 用 TBA 法测定丙二醛(MDA)含量、NBT 法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性、酸性茚三酮法测定脯氨酸(Pro)含量、色素提取法测定叶绿素含量。

1.3.3 电解质渗透率(Electrolytic leakage, EL) 取 0.1 g 叶片组织, 用去离子水冲洗 3 次, 放到装有 10 mL 去离子水的试管中, 封闭, 室温下在黑暗中放置 24 h 后使用电导仪测定 EC1, 然后将样品试管 100 °C 沸水浴 20 min, 待冷却到室温, 测定最终电导率 EC2。EC0 是去离子水的电解质含量。

$$EL = (EC1 - EC0) / (EC2 - EC0) \times 100\% \quad (1)$$

1.3.4 株鲜质量 使用分析天平称量每株的鲜质量。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2019 软件进行处理, 用 SPSS 27.0 软件进行单因素方差分析与邓肯新复极差法多重比较($P < 0.05$), 利用 Origin 软件进行绘图。利用 SPSS 27.0 软件进行主成分分析及隶

属函数分析。参照朱宗河等^[20]、苏艺等^[21]的方法, 计算各材料综合指标的隶属函数值。

$$U(x_{ij}) = (x_{ij} - x_{ij\min}) / (x_{ij\max} - x_{ij\min}) \quad (j=1, 2, 3, \dots, n) \quad (1)$$

$$U(x_{ij}) = 1 - (x_{ij} - x_{ij\min}) / (x_{ij\max} - x_{ij\min}) \quad (j=1, 2, 3, \dots, n) \quad (2)$$

$$W_i = P_i / \sum_i P_i \quad (3)$$

$$D = \sum_i (U(x_{ij}) \cdot w_i) \quad (4)$$

式中, x_{ij} 表示第 j 个油菜材料经主成分分析所得第 i 个综合指标在盐胁迫得分值; $x_{ij\max}$ 和 $x_{ij\min}$ 分别表示所有参试油菜材料某综合指标测定值的最大值和最小值; $U(x_{ij})$ 代表第 j 个油菜材料第 i 个综合指标的隶属函数值; W_i 表示第 i 个综合指标在所有综合指标中的重要程度, 即权重; P_i 代表经主成分分析所得油菜材料第 i 个综合指标的贡献率。D 值为在盐胁迫条件下第 j 个油菜材料的综合评价价值。

2 结果与分析

2.1 523 份材料的耐盐性评价

通过培养皿纸床盐筛选, 根据萌发率将 523 份油菜种质材料分为 4 类, 其中 122 份材料萌发率为 0~5%, 345 份材料萌发率为 10%~75%, 48 份材料萌发率为 80%~95%, 8 份材料(G135、G199、G94、G736、C36、C37、C77、C152)的萌发率为 100%。因此, 在 1.5% 的 NaCl 浓度下 7 d 萌发率为 100% 的油菜种质为高耐盐种质。

2.2 6 份材料的盐胁迫评价

本研究选择了 6 份在 1.5% NaCl 浓度下萌发率存在差异的材料: Westar、G101、G112、bgr5、ZS11、G135, 其萌发率分别为 35%、75%、25%、5%、50%、100%(图 1), 对其进行耐盐能力的评价。

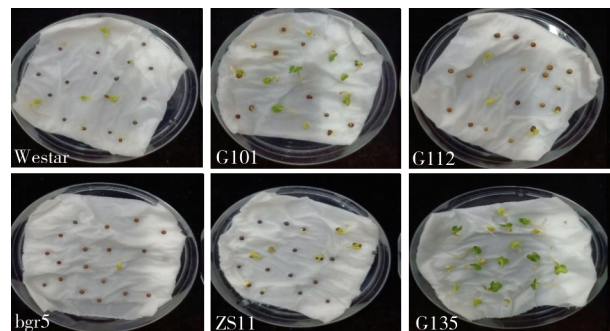
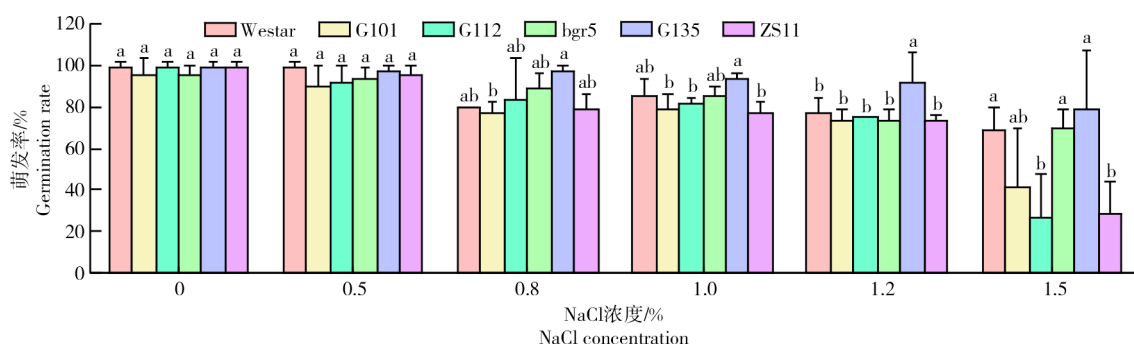


图 1 6 份种质盐胁迫 7 d 的萌发情况

Fig.1 Germination of 6 germplasm at 7 days after salt stress

2.2.1 1/2 MS 琼脂培养基盐胁迫评价 由于在高浓度 NaCl(1.5%) 的胁迫下种子萌发数少且生长状况过差,后续试验未统计其下胚轴长、根长和鲜质量。由图 2、3 可知,随着 NaCl 浓度不断增加,油菜萌发率逐渐降低,6 份材料在 0、0.5% NaCl 条件下萌发率无显著差异,而在 0.8% NaCl 条件下开始出现差异,随着浓度的增加,差异也更加显著。在 1.0% NaCl 条件下,Westar、bgr5 和 G135 萌发率差异不显著,而 G135 萌发率显著高于 G101、

G112 和 ZS11($P<0.05$),比 G101、G112 和 ZS11 分别高 19.15%、14.29% 和 21.74%;在 1.2% NaCl 条件下,G135 萌发率显著高于其他材料($P<0.05$),最大高 25.00%;在 1.5% NaCl 条件下,Westar、G101、bgr5 和 G135 萌发率差异不显著,G135、bgr5 和 Westar 发芽率显著高于 G112 和 ZS11($P<0.05$)。在 0.8%~1.5% NaCl 条件下,G135 的萌发率表现均优于其他材料。



不同小写字母表示同一 NaCl 浓度下 6 份种质的萌发率差异显著($P<0.05$)。图 4、5、6、8 同

Different lowercase letters indicated significant differences in germination rates among the six germplasms at the same NaCl concentration($P<0.05$). The same as Tab.4, 5, 6, 8

图 2 培养基盐胁迫对油菜种子萌发率的影响

Fig.2 Effects of salt stress in the medium on the germination rate

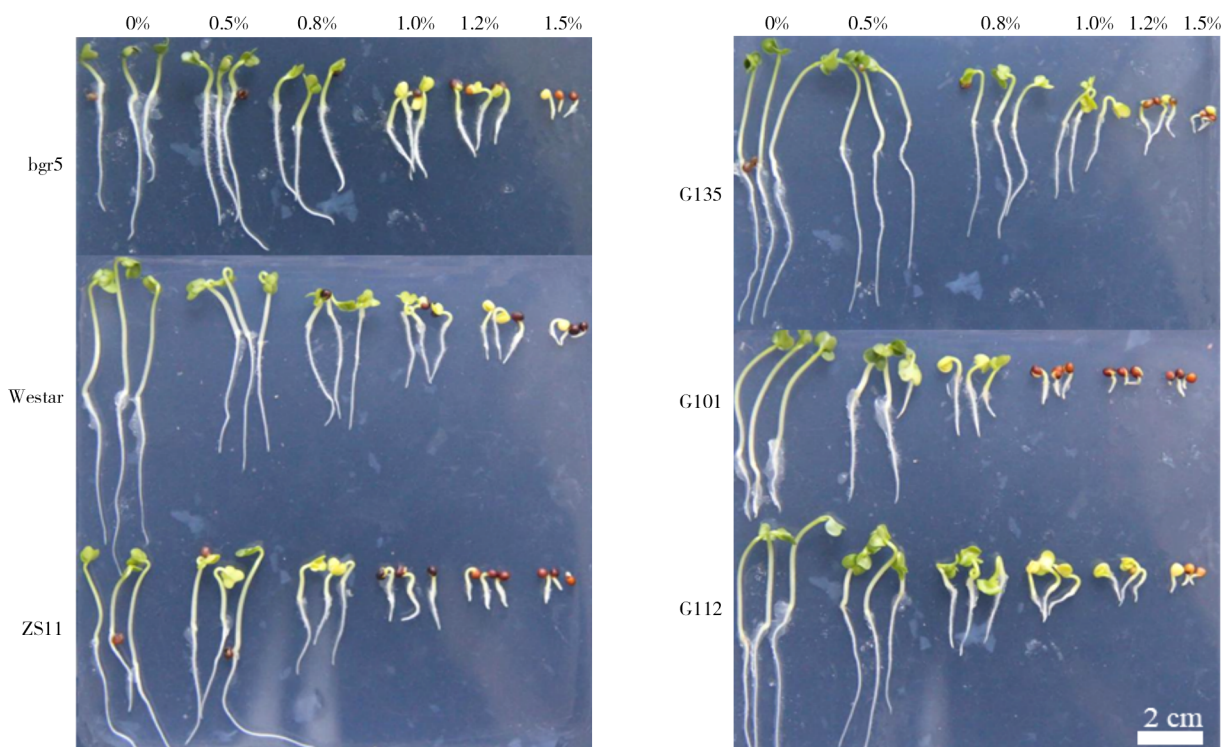


图 3 培养基盐胁迫下 6 份油菜种质的生长情况

Fig.3 Growth of 6 germplasms under salt stress in the medium

从图4可以看出,油菜下胚轴长随着NaCl浓度增加而呈现减小趋势,在各NaCl浓度下,G135的下胚轴长均最长。在无NaCl条件下,Westar、G101、G112、G135和ZS11下胚轴长度显著长于bgr5($P<0.05$);在0.5% NaCl浓度下,G135、Westar、G112和ZS11下胚轴长差异不显著,G135下胚轴长显著长于G101、bgr5($P<0.05$);在0.8% NaCl条件下,G135与G112下胚轴长差异不显著,

G135的下胚轴长度显著长于Westar、G101、bgr5和ZS11($P<0.05$),比Westar、G101、bgr5和ZS11分别长61.56%~71.46%;在1.0% NaCl和1.2% NaCl条件下G101萌发率最低,bgr5和G135下胚轴长差异不显著,而G135下胚轴长度显著长于Westar、G101、G112和ZS11($P<0.05$),在1.0%和1.2% NaCl条件下分别比其他材料最大长168.75%和142.21%。

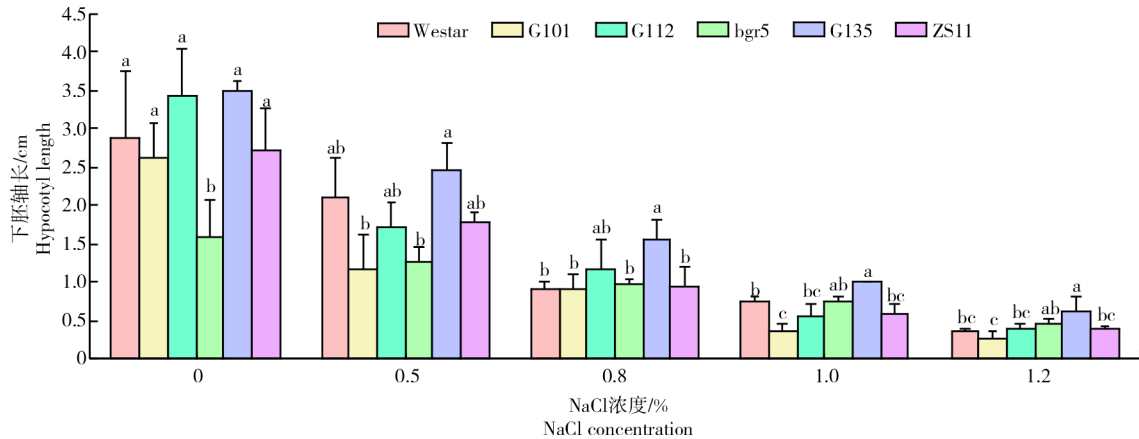


图4 培养基盐胁迫对下胚轴生长的影响

Fig.4 Effects of salt stress in the medium on the hypocotyl growth

从图5可以看出,随着NaCl浓度增加,各油菜种质的根长均呈现减小趋势,在0.8% NaCl条件下,各油菜种质根长的减小趋势最明显。在无NaCl条件下,G135、Westar、G101、G112和ZS11根长差异不显著;在0.5% NaCl条件下,G135、Westar、bgr5和ZS11根长差异不显著,G135根长显著长于G112和G101($P<0.05$);在0.8% NaCl条件下,G135和Westar根长差异不显著,G135根长显著长

于G101、G112、bgr5和ZS11($P<0.05$),比G101、G112、bgr5和ZS11长47.75%~113.42%;在1.0% NaCl条件下,G135、Westar、ZS11、G112和bgr5根长差异不显著,G135根长显著长于G101($P<0.05$),比G101长313.08%;在1.2% NaCl条件下,G135和Westar根长没有显著差异,但G135根长显著长于bgr5、G101、G112和ZS11($P<0.05$)。

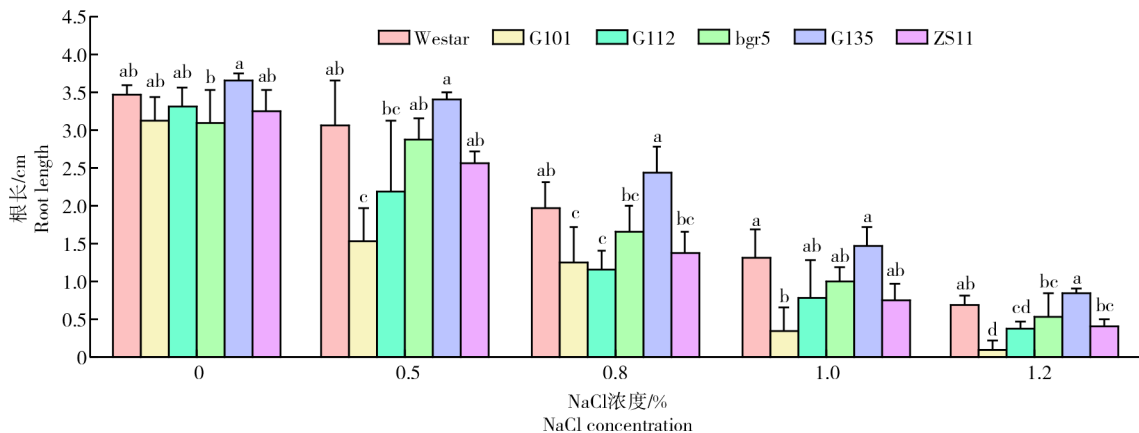


图5 培养基盐胁迫对根生长的影响

Fig.5 Effects of salt stress in the medium on the root growth

从图6可以看出,随着NaCl浓度增加,各油菜种质的鲜质量呈现下降趋势,在NaCl浓度为0.8%时,6份种质的鲜质量开始呈现显著差异($P<0.05$)。在低NaCl浓度下($<0.8\%$),6份材料的鲜质量差异不显著;在0.8% NaCl条件下,G135和

Westar鲜质量差异不显著,G135鲜质量显著高于G101、G112、bgr5和ZS11($P<0.05$),最大高57.22%;在1.0%和1.2% NaCl条件下,G101鲜质量最小,G135显著高于其他材料($P<0.05$),比其他材料高223.26%~326.17%。

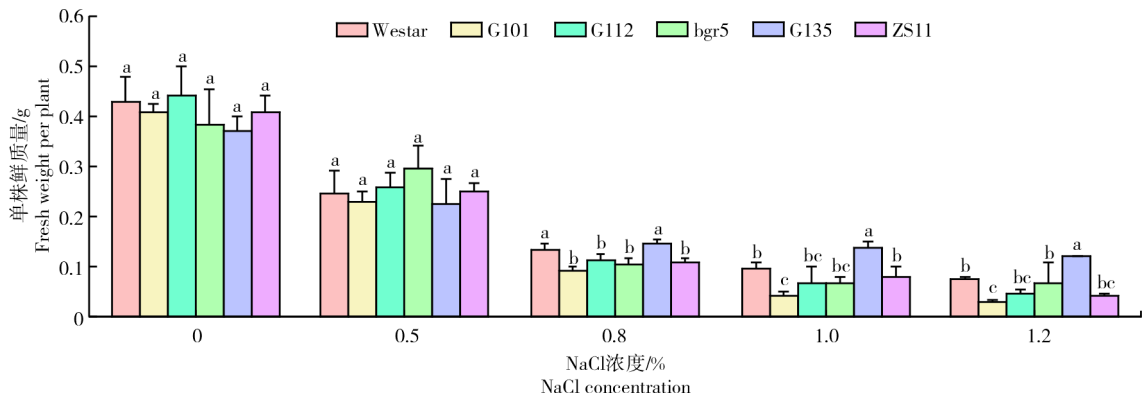


图6 培养基盐胁迫对单株鲜质量的影响
Fig.6 Effects of salt stress in the medium on the fresh weight

综上所述,以高盐浓度胁迫下萌发率高、下胚轴与根长长、鲜质量大的为耐盐材料,采用隶属函数进行综合评价,结果如表1、2所示。由于上述试验中,6份材料均在0.8% NaCl浓度下各指标出现显著变化,因此,选用 $\geq 0.8\%$ 的NaCl浓度进行后续评价。通过主成分分析,根据各主成分的特征值和方差贡献率进行主成分的提取,当主成分

的累计贡献率 $>85\%$ 时,可代替全部指标的绝大部分信息,可以作为油菜耐盐种质评价的综合指标。利用隶属函数公式,计算出各材料的耐盐综合评价D值,最终推测6份候选材料在1/2 MS琼脂培养基中的耐盐性为G135>Westar>bgr5>G112>ZS11>G101。

表1 培养基盐胁迫下不同NaCl浓度各主成分的特征值以及贡献率

Tab.1 Eigenvalues and contribution rates of each principal component at different NaCl concentrations under salt stress in the medium

NaCl 浓度/% NaCl concen- tration	主成分 Principal component	初始特征值 Initial eigenvalue			提取平方和载入 Extract square sum load		
		特征值 Eigenvalue	方差贡献率/% Variance contri- bution rate	累计贡献率/% Cumulative variance contribution rate	特征值 Eigenvalue	方差贡献率/% Variance contri- bution rate	累计贡献率/% Cumulative variance contribution rate
0.80	1	3.219	80.476	80.476	3.219	80.476	80.476
	2	0.528	13.189	93.665	0.528	13.189	93.665
	3	0.206	5.145	98.810			
	4	0.048	1.190	100.000			
1.00	1	3.676	91.888	91.888	3.676	91.888	91.888
	2	0.189	4.724	96.612			
	3	0.101	2.523	99.135			
	4	0.035	0.865	100.000			
1.20	1	3.575	89.379	89.379	3.575	89.379	89.379
	2	0.262	6.561	95.940			
	3	0.143	3.585	99.525			
	4	0.019	0.475	100.000			

表2 培养基盐胁迫下油菜种质的综合指标值、权重、 $U(X)$ 值、D值

Tab.2 Comprehensive index values, weights, $U(X)$ values and D values of rapeseed germplasms under salt stress in the medium

NaCl浓度/% NaCl concentration	种质名称 Germplasm name	$U(X_{1j})$	$U(X_{2j})$	D	位次 Ranking
0.80	Westar	0.382	0.000	0.328	4
	G101	0.000	0.733	0.103	6
	G112	0.244	1.000	0.351	3
	bgr5	0.308	0.805	0.378	2
	G135	1.000	0.754	0.965	1
	ZS11	0.135	0.530	0.191	5
	W_i	0.860	0.140		
1.00	Westar	0.615		0.615	2
	G101	0.000		0.000	6
	G112	0.296		0.296	5
	bgr5	0.477		0.477	3
	G135	1.000		1.000	1
	ZS11	0.260		0.260	4
	W_i	1			
1.20	Westar	0.454		0.454	2
	G101	0.000		0.000	6
	G112	0.279		0.279	4
	bgr5	0.412		0.412	3
	G135	1.000		1.000	1
	ZS11	0.245		0.245	5
	W_i	1			

2.2.2 盆栽萌发期盐胁迫评价 从图7可以看出,盆栽条件下,6份材料在1.5% NaCl胁迫下种子几乎不萌发,因此,对萌发率、下胚轴和根长、鲜质量

未进行数据分析。在1.25% NaCl下未对下胚轴、根长和鲜质量进行数据分析。

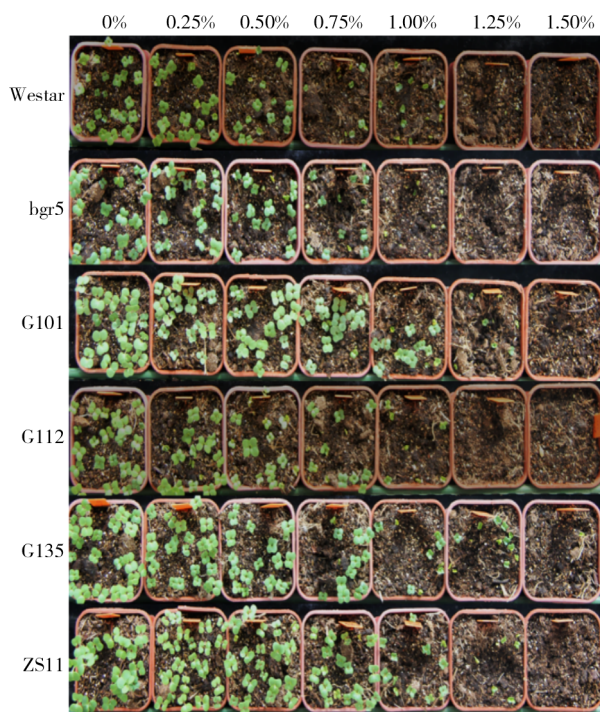


图7 盆栽盐胁迫6份种质生长情况

Fig. 7 Growth of 6 germplasms under potted salt stress

由图8可知,随着NaCl浓度不断增加,油菜萌发率逐渐降低,6份材料在0%、0.25%和0.50% NaCl浓度下萌发率无显著差异,而在0.75% NaCl条件下开始出现显著差异,G135萌发率最高,比其他材料最大高46.81%。在0.75%、1.00%和1.25% NaCl条件下,G135萌发率显著高于其他油菜材料($P<0.05$),表现出较好的耐盐性。

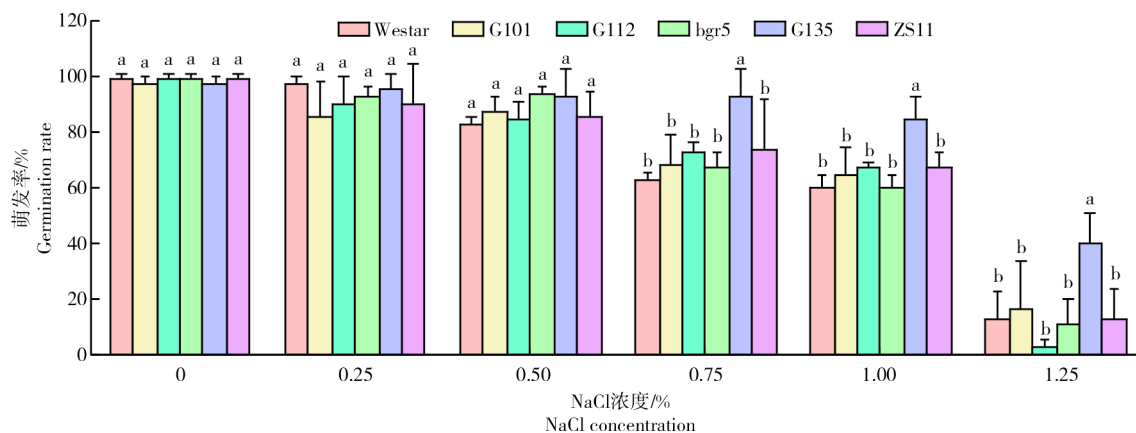


图8 盆栽盐胁迫对萌发率的影响

Fig.8 Effects of potted salt stress on the germination rate

从图9可以看出,随着NaCl浓度不断增加,油菜下胚轴长呈现减小趋势。在0%、0.25%和0.5% NaCl条件下,G135下胚轴长与其他材料的差异不显著;在0.75% NaCl条件下,G135和G112下胚轴长差异不显著,二者都显著长于其他油菜材料($P<0.05$),G135和G112下胚轴长分别比其他材

料长 31.91%~40.91% 和 27.66%~36.36%;在1.0% NaCl条件下,G135下胚轴最长,显著长于其他材料($P<0.05$),最大长 61.29%,其次为G112,比 Westar、G101、bgr5 和 ZS11 显著长 13.16%~38.71%($P<0.05$)。

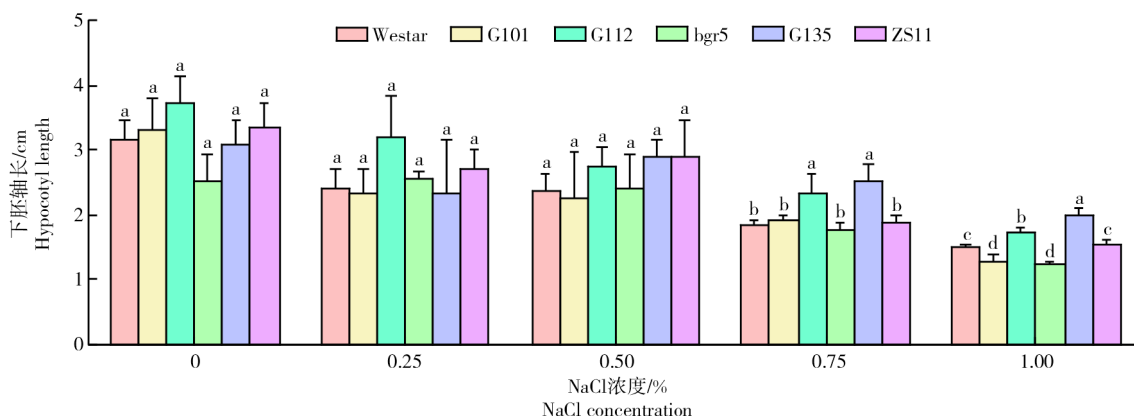


图9 盆栽盐胁迫对下胚轴生长的影响

Fig.9 Effects of potted salt stress on the hypocotyl growth

从图10可以看出,随着NaCl浓度增加,各油菜种质的根长逐渐减小,在NaCl浓度为0.75%时,各种质根长开始呈现出显著差异。在0%和0.25% NaCl条件下,6份材料根长差异不显著;在0.5% NaCl条件下,G135根长显著长于G101($P<0.05$);在0.75% NaCl条件下,G135根长显著长于其他材料($P<0.05$),最大长 72.08%,Westar 显著

长于 G101、G112、bgr5 和 ZS11 ($P<0.05$);在1.0% NaCl条件下,G135和G112根长差异不显著,且显著长于其他材料($P<0.05$),G135和G112根长分别比其他油菜材料长 24.18%~31.03%和 14.38%~20.69%。在0.5%、0.75%和1.0% NaCl条件下,G135均表现出较好的根长优势。

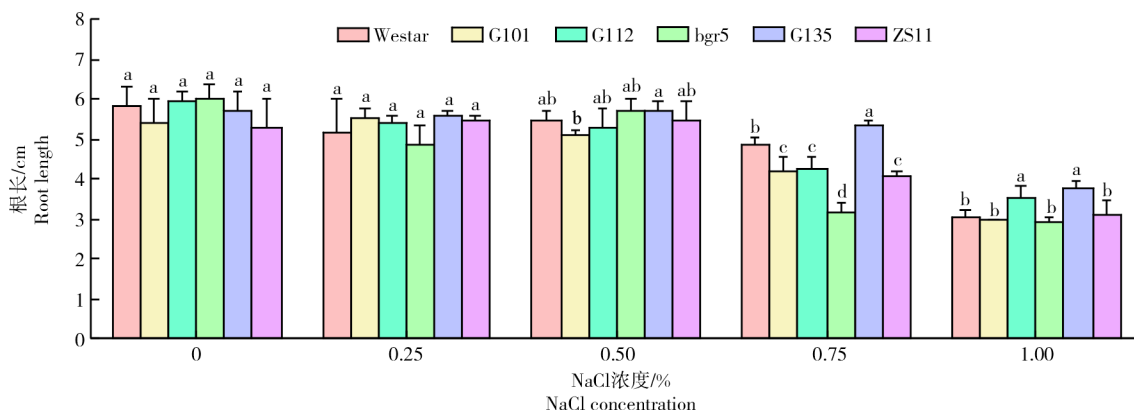


图10 盆栽盐胁迫对根生长的影响

Fig.10 Effects of potted salt stress on the root growth

从图11可以看出,随着NaCl浓度增加,各油菜种质的单株鲜质量逐渐减小,在0、0.25%和0.5% NaCl条件下,6份材料的单株鲜质量差异不显著;在0.75%和1.0% NaCl条件下,G135的单株

鲜质量显著高于其他种质($P<0.05$),分别高 59.34%~95.32% 和 36.91%~60.01%,说明 G135 受盐胁迫危害程度最低,耐盐性高于其他油菜种质。

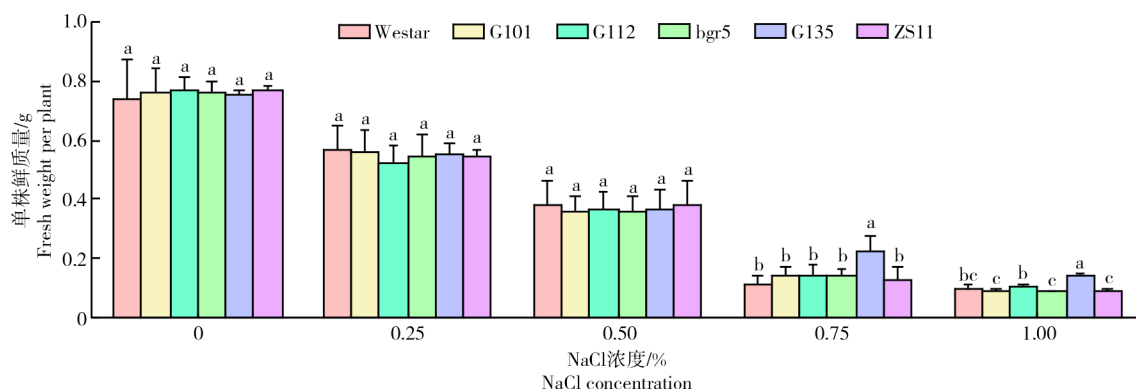


图 11 盆栽盐胁迫对单株鲜质量的影响

Fig.11 Effects of potted salt stress on the fresh weight

综上所述,根据高盐浓度胁迫下萌发率高、下胚轴与根长长、鲜质量大的为耐盐材料,采用隶属函数进行综合评价,结果如表 3、4 所示。由于上述试验中,6 份材料均在 0.75% NaCl 条件下各指标

出现显著变化,因此,选用 $\geq 0.75\%$ 的 NaCl 浓度进行后续评价。最终推测盆栽条件下 6 份候选材料耐盐性为:G135>G112>Westar>ZS11>G101>bgr5。

表 3 盆栽萌发期不同 NaCl 浓度各主成分的特征值以及贡献率

Tab.3 Eigenvalue and contribution rates of each principal components at different NaCl concentrations at the germination stage in potted culture

NaCl 浓度/% NaCl concentration	主成分 Principal component	初始特征值 Initial eigenvalue			提取平方和载入 Extract square sum load		
		特征值 Eigenvalue	方差贡献率/% Variance contribution rate	累计贡献率/% Cumulative variance contribution rate	特征值 Eigenvalue	方差贡献率/% Variance contribution rate	累计贡献率/% Cumulative variance contribution rate
0.75	1	3.114	77.857	77.857	3.114	77.857	77.857
	2	0.518	12.940	90.797	0.518	12.940	90.797
	3	0.298	7.451	98.247			
	4	0.070	1.753	100.000			
1.00	1	3.710	92.754	92.754	3.710	92.754	92.754
	2	0.190	4.742	97.496			
	3	0.061	1.535	99.031			
	4	0.039	0.969	100.000			

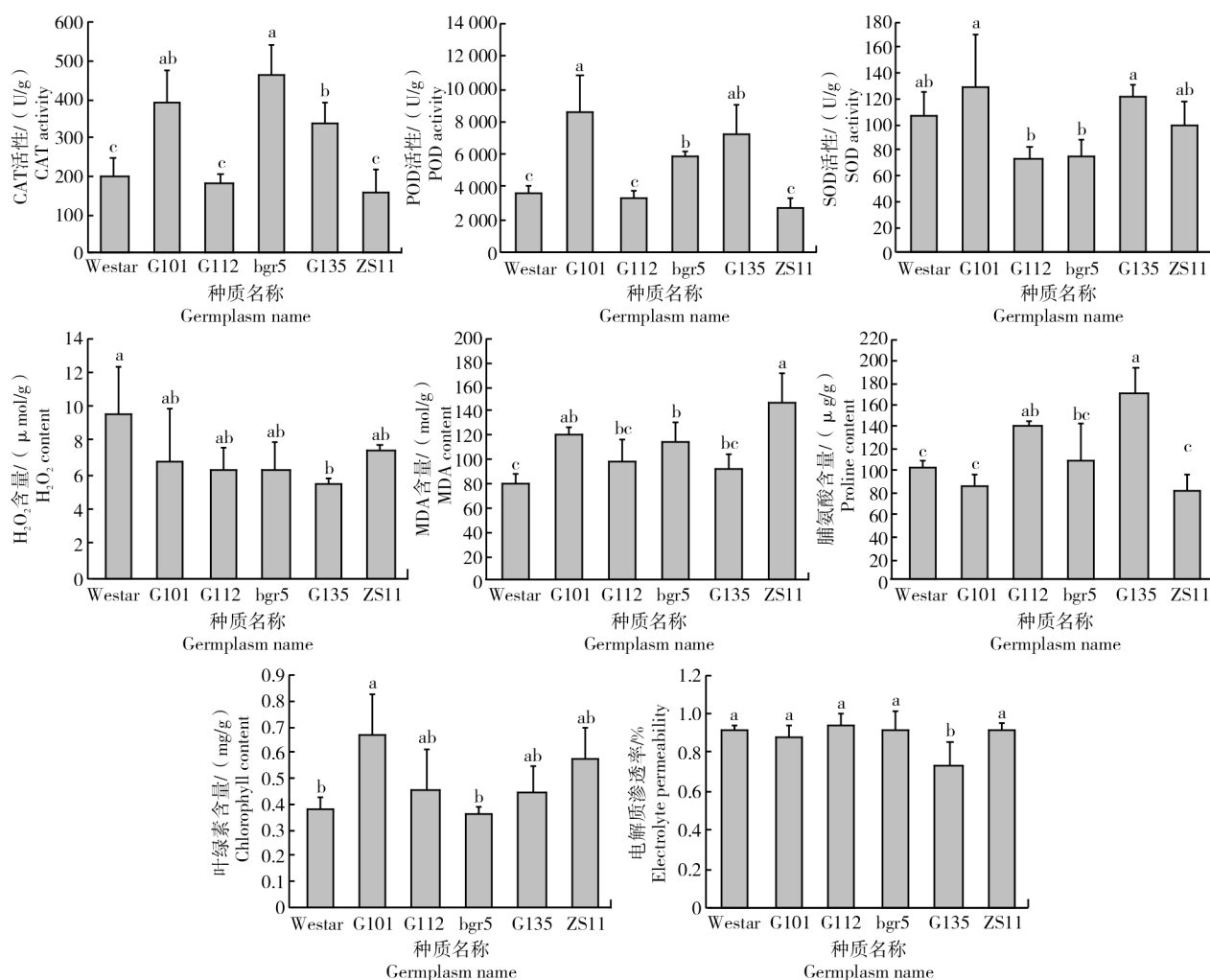
表 4 盆栽萌发期油菜种质的综合指标值、权重、U(X) 值、D 值

Tab.4 Comprehensive index values, weights, U(X) values and D values of rapeseed germplasms at the germination stage in potted culture

NaCl 浓度/% NaCl concen- tration	种质名称 Germplasm name	U(X _{1j})	U(X _{2j})	D	位次 Ranking	NaCl 浓度/% NaCl concen- tration	种质名称 Germplasm name	U(X _{1j})	U(X _{2j})	D	位次 Ranking
0.75	Westar	0.239	1.000	0.348	3	1.00	Westar	0.175		0.175	4
	G101	0.176	0.464	0.217	5		G101	0.067		0.067	5
	G112	0.402	0.093	0.358	2		G112	0.459		0.459	2
	bgr5	0.000	0.000	0.000	6		bgr5	0.000		0.000	6
	G135	1.000	0.317	0.902	1		G135	1.000		1.000	1
	ZS11	0.205	0.332	0.224	4		ZS11	0.204		0.204	3
	W _i	0.857	0.143				W _i	1.000			

2.2.3 盆栽幼苗期盐胁迫评价 为进一步评价不同材料在生理水平上对盐浓度的响应,本研究测定了6份油菜材料幼苗在0.8% NaCl溶液连续胁迫20 d时的诸多生理指标差异,如CAT活性、POD活性、SOD活性、MDA含量、脯氨酸含量、叶绿素含量及电解质渗透率。结果表明(图12),G135的CAT活性和G101差异不显著,显著高于Westar、G112和ZS11($P<0.05$),G135的CAT活性比Westar、G112和ZS11高68.69%~109.52%;G135和G101的POD活性差异不显著,而显著高于Westar、G112和ZS11($P<0.05$),最大高175.51%;Westar、ZS11、G101和G135的SOD活性差异不显著,G135的SOD活性显著高于G112和bgr5($P<0.05$),比G112和bgr5分别高68.10%

和63.89%;G135的 H_2O_2 含量最低,且显著低于Westar($P<0.05$),比Westar低43.47%;ZS11的MDA含量最高,ZS11和G101的MDA含量差异不显著,ZS11的MDA含量显著高于Westar、bgr5、G112和G135($P<0.05$),G135的MDA含量比其他种质最大低36.85%;G135和G112的脯氨酸含量差异不显著,G135的脯氨酸含量显著高于Westar、bgr5、G101和ZS11($P<0.05$),最大高112.28%;G135的EL显著低于Westar、bgr5、G101、G112和ZS11($P<0.05$),比其他油菜种质低15.89%~22.14%;G101叶绿素含量最高,与G112、G135和ZS11差异不显著,G135的叶绿素含量比Westar和bgr5分别高19.38%和23.83%。



不同小写字母表示6份种质间差异显著($P<0.05$)

Different lowercase letters indicated significant differences among 6 germplasm types($P<0.05$)

图12 盆栽幼苗期0.8% NaCl对6份种质生理参数的影响

Fig.12 Effects of 0.8% of NaCl on physiological parameters of 6 germplasms at the seedling stage in potted culture

综上所述,根据高盐浓度胁迫下 CAT、POD 和 SOD 活性高, H_2O_2 和 MDA 含量低、脯氨酸和叶绿素含量高、电解质渗透率低的为耐盐材料,

采用隶属函数进行综合评价,结果如表 5、6 所示,推测 6 份候选材料在盆栽幼苗期的耐盐性为: $G135>G112>Westar>bgr5>ZS11>G101$ 。

表 5 盆栽幼苗期主成分的特征值以及贡献率

Tab.5 Eigenvalues and contribution rates of the principal components at the seedling stage in in potted culture

主成分 Principal component	初始特征值 Initial eigenvalue			提取平方和载入 Extract square sum load		
	特征值 Eigenvalue	方差贡献率/% Variance contribution rate	累计贡献率/% Cumulative variance contribution rate	特征值 Eigenvalue	方差贡献率/% Variance contribution rate	累计贡献率/% Cumulative variance contribution rate
1	3.126	39.081	39.081	3.126	39.081	39.081
2	2.312	28.901	67.982	2.312	28.901	67.982
3	1.317	16.460	84.442	1.317	16.460	84.442
4	0.965	12.065	96.507	0.965	12.065	96.507
5	0.279	3.493	100.000			
6	0.000	0.000	100.000			
7	0.000	0.000	100.000			
8	0.000	0.000	100.000			

表 6 盆栽幼苗期油菜种质的综合指标值、权重、 $U(X)$ 值、D 值Tab.6 Comprehensive index values, weights, $U(X)$ values and D values of rapeseed germplasms at the seedling stage in potted culture

种质名称 Germplasm name	$U(X_{1j})$	$U(X_{2j})$	$U(X_{3j})$	$U(X_{4j})$	D	位次 Ranking
Westar	0.028	0.909	1.000	0.070	0.453	3
G101	0.693	0.000	0.580	0.247	0.158	6
G112	0.125	1.000	0.330	0.916	0.475	2
bgr5	0.401	0.820	0.000	0.000	0.262	4
G135	1.000	0.974	0.677	0.877	0.557	1
ZS11	0.000	0.177	0.480	1.000	0.260	5
W_i	0.405	0.299	0.171	0.125		

3 结论与讨论

盐胁迫是制约作物生长发育的关键因素之一。我国盐碱地分布广泛,严重影响了农业可持续发展,培育耐盐的新作物品种是解决土地盐碱化增加以及耕地面积减少的一条有效途径。在盐渍土壤中,油菜种子能正常萌发出苗是其进行后续生长的第一步。因此,研究萌发期油菜的抗盐能力具有重要意义^[22]。种子在盐溶液环境中由于渗透作用和离子毒害作用会抑制它的萌发,而耐盐种质可能有较高的离子浓度调节能力,能够获取其萌发需要的水分,因此,在盐胁迫下具有较高

的萌发率。本研究中,6 份材料在 MS 培养基和盆栽试验中萌发率、下胚轴长、根长都随着 NaCl 浓度的增加而降低,随着盐浓度的升高,植物受到的盐害也增加,不同种质间的萌发率、下胚轴长、根长、单株鲜质量差异性也越大,且不同盐胁迫方式下都在约 0.8% NaCl 浓度下出现显著差异,因此,0.8% NaCl 浓度可视为本研究的油菜耐盐临界值,这与前人研究所确定的 NaCl 使用的最佳浓度范围保持一致^[23]。在本研究中,低盐浓度下,下胚轴长、根长也存在些许的数据波动,这可能是由于尽管在试验时已经挑取籽粒饱满、大小均匀的种子,但只从外观上判断它们差异,并不能确保种子活力完全一致,因此,种子本身的差异可能导致这样的数据波动,但 6 份材料在无盐胁迫时下胚轴长、根长总体差异不显著,试验结果仍具有可靠性。萌发试验中,不论在 MS 培养基还是盆栽中模拟盐渍土环境,G135 都显示出较强的生长能力,说明 G135 能够突破盐环境对其萌发生长的限制,在盐胁迫下具有较强的萌发生长能力。

盐胁迫主要引起油菜的离子胁迫、渗透胁迫和活性氧胁迫。在离子胁迫和渗透胁迫下,植物细胞内会产生大量的活性氧,如过氧化氢,因此,植物会通过提高酶的抗氧化能力而维持细胞稳态。植物体内的抗氧化酶包括超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶等^[24]。在盐渍土环境下,具有高耐盐性的油菜能产生足够的抗氧化酶清除

细胞内的活性氧,缓解盐胁迫对油菜的损伤^[25-27]。脯氨酸是重要的渗透调节物质,当受到生物或非生物胁迫时,植物体会通过它的产生来维持细胞内外渗透平衡,减轻渗透胁迫的不利影响^[28];盐胁迫会对细胞膜造成伤害,使膜脂组分发生改变,产生大量丙二醛,故丙二醛含量高低能够反映细胞膜损伤的程度,进而可衡量植物在离子胁迫和渗透胁迫中受损害程度^[29-30]。同时,高盐使细胞膜的破坏会导致膜透性增大,从而使电解质渗透率增大。有研究表明,盐胁迫下,植物的光合系统会受到损伤,叶片叶绿素的合成也会受到影响^[31-32],而耐盐性强的植物叶绿素的合成抑制就会减弱。本研究中,对6份材料盐胁迫20 d后,总体上G135的抗氧化酶活性要强,说明它能够及时清除体内的活性氧,维持机体的正常生命运行,G135体内MDA含量以及电解质渗透率相比其他材料都较低,说明其细胞膜受损伤程度较小,并且G135的脯氨酸含量比其他材料要高,说明G135在盐胁迫下具有较好的自我调节能力,能够减少盐胁迫对自身的危害。

传统培养皿纸床法可以快速评价大量种质的耐盐性;MS培养基法能精准地控制营养成分及盐浓度、pH等环境;盆栽试验模拟盐渍土环境更能反映实际的作物生长环境。在本研究中,不同培养介质对油菜耐盐能力有一定影响,总体看来,G135在3种盐筛选试验中均持有较好的耐盐性,耐盐能力高且稳定;G101和ZS11虽然在高盐浓度下萌发率较高,但是幼苗期的生长状况差,受盐胁迫影响严重;bgr5在MS培养基试验中的耐盐能力高于在盆栽试验中的耐盐能力,可能是由于bgr5对土壤空间异质性导致的不均匀盐胁迫较敏感,而G112在异质盐胁迫环境中有较高耐盐性;Westar的最大耐NaCl浓度约为0.8%~1.0%。根据不同油菜种质的不同耐盐特性,可以有针对性地选定后续油菜耐盐育种和基因筛选方向,对扩大油菜种植面积,保障国家油料供给安全具有重要意义。

本研究在快速评价523份甘蓝型油菜种质耐盐能力的基础上,通过对6份油菜种质进行MS培养基盐胁迫以及盆栽萌发期、幼苗期盐胁迫,表明G135的萌发率、植株生长指标及生理指标都优于其他5份材料,表现出较强的耐盐能力,可用于油菜未来的耐盐性育种,也可以进一步深入研究其耐盐分子机理,为揭示耐盐机制提供参考。

参考文献:

- [1] 王娜,罗玉虎. 盐碱地可持续利用及改良技术研究进展[J]. 环境保护前沿, 2021, 11(3): 589-594.
WANG N, LUO Y H. Research progress on sustainable utilization and improvement technology of saline alkali land[J]. Advances in Environmental Protection, 2021, 11(3): 589-594.
- [2] RENGASAMY P. World salinization with emphasis on *Australia*[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(5): 1017-1023.
- [3] 范王涛. 土壤盐碱化危害及改良方法研究[J]. 农业与技术, 2020, 40(23): 114-116.
FAN W T. Study on the harm of soil salinization and its improvement methods[J]. Agriculture and Technology, 2020, 40(23): 114-116.
- [4] 李红叶,吴进明,符明联,等. 云南油菜籽价格波动对产业发展的影响分析[J]. 云南农业大学学报(社会科学), 2017, 11(2): 24-27.
LI H Y, WU J M, FU M L, et al. An analysis of the impacts of rapeseed price fluctuations on the industry development in Yunnan province[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Social Science), 2017, 11(2): 24-27.
- [5] 胡宗英,张红香,孙泽威. 盐碱胁迫对农牧作物种子萌发的影响研究进展[J]. 中国种业, 2014(5): 21-23.
HU Z Y, ZHANG H X, SUN Z W. Research progress on the effect of saline-alkali stress on seed germination of agricultural and pastoral crops[J]. China Seed Industry, 2014(5): 21-23.
- [6] 赵远征,黄再婧,王鑫,等. 盐碱胁迫下液态有机肥对燕麦种子萌发及植株生长的影响[J]. 山西农业科学, 2023, 51(10): 1189-1195.
ZHAO Y Z, HUANG Z X, WANG X, et al. Effect of liquid organic fertilizer on seed germination and plant growth of oats under saline-alkali stress[J]. Shanxi Agricultural Science, 2023, 51(10): 1189-1195.
- [7] 李班,吕莹,杨明焯,等. 盐碱胁迫对甘蓝型油菜生理及分子机制的影响[J]. 华北农学报, 2022, 37(3): 86-93.
LI B, LÜ Y, YANG M X, et al. Effects of saline-alkali stress on physiology and molecular mechanism of *Brassica napus* L.[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2022, 37(3): 86-93.
- [8] 许耀照,曾秀存,王振朝,等. NaCl胁迫对冬油菜种子萌发和生理特性的影响[J]. 浙江农业学报, 2023, 35(3): 499-508.
XU Y Z, ZENG X C, WANG Z C, et al. Effects of NaCl stress on seed germination and physiological characteristics of winter oilseed rape[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2023, 35(3): 499-508.
- [9] HUANG L Y, LI Z Z, PAN S B, et al. Ameliorating effects of exogenous calcium on the photosynthetic physiology of honey-suckle (*Lonicera japonica*) under salt stress[J]. Functional Plant Biology, 2019, 46(12): 1103-1113.
- [10] BYBORDI A. Effects of salinity on yield and component characters in canola (*Brassica napus* L.) cultivars[J]. Notulae Scientia Biologicae, 2010, 2(1): 81-83.
- [11] CHAKRABORTY K, SAIRAM R K, BHADURI D. Effects of different levels of soil salinity on yield attributes, accumulation of nitrogen, and micronutrients in *Brassica* spp.[J]. Journal of Plant Nutrition, 2016, 39(7): 1026-1037.

- [12] BANAEI-ASL F, BANDEHAGH A, ULIAEI E D, et al. Proteomic analysis of canola root inoculated with bacteria under salt stress[J]. Journal of Proteomics, 2015, 124: 88-111.
- [13] BU Y Y, KOU J, SUN B, et al. Adverse effect of urease on salt stress during seed germination in *Arabidopsis thaliana*[J]. FEBS Letters, 2015, 589(12): 1308-1313.
- [14] HUSSAIN S, MORILLON R, ANJUM M A, et al. Genetic diversity revealed by physiological behavior of *Citrus* genotypes subjected to salt stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 37(1): 1740.
- [15] LONG W H, ZOU X L, ZHANG X K. Transcriptome analysis of canola (*Brassica napus*) under salt stress at the germination stage[J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0116217.
- [16] 杨广环, 唐琳, 李施蒙, 等. 西藏 4 个品种油菜种子萌发及耐盐性差异研究[J]. 种子, 2024, 43(2): 104-110.
- YANG G H, TANG L, LI S M, et al. Study on the difference of seed germination and salt tolerance of four *Brassica napus* varieties in Xizang[J]. Seed, 2024, 43(2): 104-110.
- [17] YU B, ZHENG W N, PERSSON S, et al. Protocol for analyzing root halotropism using split-agar system in *Arabidopsis thaliana*[J]. STAR Protocols, 2023, 4(2): 102157.
- [18] 吴鹏博, 李立军, 张艳丽. 油菜苗期耐盐碱性综合评价与根际土壤有机酸含量比较[J]. 作物杂志, 2022(1): 110-115.
- WU P B, LI L J, ZHANG Y L. Comprehensive evaluation of saline-alkali tolerance and comparison of rhizosphere soil organic acid content at rapeseed seedling stage[J]. Crops, 2022(1): 110-115.
- [19] WU H, GUO J R, WANG C F, et al. An effective screening method and a reliable screening trait for salt tolerance of *Brassica napus* at the germination stage[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 530.
- [20] 朱宗河, 郑文寅, 张学昆. 甘蓝型油菜耐旱相关性状的主成分分析及综合评价[J]. 中国农业科学, 2011, 44(9): 1775-1787.
- ZHU Z H, ZHENG W Y, ZHANG X K. Principal component analysis and comprehensive evaluation on morphological and agronomic traits of drought tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(9): 1775-1787.
- [21] 苏艺, 冯国军, 刘大军, 等. 菜豆品种资源幼苗期耐碱性鉴定指标筛选及综合评价[J]. 中国蔬菜, 2022(6): 16-24.
- SU Y, FENG G J, LIU D J, et al. Identification index screening and comprehensive evaluation for alkali tolerance of common bean variety resources in seedling stage[J]. China Vegetables, 2022(6): 16-24.
- [22] 范惠玲, 白生文, 朱雪峰, 等. 油菜及其近缘种种子萌发期耐盐碱性差异[J]. 作物杂志, 2019(3): 178-184.
- FAN H L, BAI S W, ZHU X F, et al. Difference of salt-alkaline tolerance of three rape and its two relatives at germination stage[J]. Crops, 2019(3): 178-184.
- [23] 龙卫华, 浦惠明, 陈松, 等. 油菜 3 个栽培种发芽期耐盐性评价[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 32-37, 47.
- LONG W H, PU H M, CHEN S, et al. Evaluation for salt tolerance of three cultivated species of rapeseeds at germination stage[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(1): 32-37, 47.
- [24] 万何平, 戴希刚, 陈敬东, 等. 甘蓝型油菜对盐胁迫的响应及耐盐相关性状 QTL 研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(4): 536-544.
- WAN H P, DAI X G, CHEN J D, et al. Research progress on salt stress effect on *Brassica napus* and QTL reaserch of salt tolerance related traits[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2020, 42(4): 536-544.
- [25] ZENG C L, LIU L, WANG B R, et al. Physiological effects of exogenous nitric oxide on *Brassica juncea* seedlings under NaCl stress[J]. Biologia Plantarum, 2011, 55(2): 345-348.
- [26] RANGANI J, PARIDA A K, PANDA A, et al. Coordinated changes in antioxidative enzymes protect the photosynthetic machinery from salinity induced oxidative damage and confer salt tolerance in an extreme halophyte *Salvadora persica* L.[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 50.
- [27] ZHANG M, HARBERD N P, et al. The regulatory roles of ethylene and reactive oxygen species (ROS) in plant salt stress responses[J]. Plant Molecular Biology, 2016, 91(6): 651-659.
- [28] 张林, 陈翔, 吴宇, 等. 脯氨酸在植物抗逆中的研究进展[J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2023, 51(1): 42-51.
- ZHANG L, CHEN X, WU Y, et al. Research progress of proline in plant stress resistance[J]. Journal of Jiangnan University (Natural Science Edition), 2023, 51(1): 42-51.
- [29] ZHANG Y H, FANG J P, WU X B, et al. Na^+/K^+ balance and transport regulatory mechanisms in weedy and cultivated rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 375.
- [30] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12): 909-930.
- [31] 王凯鑫, 杜利霞. Na_2CO_3 胁迫对赖草叶片光合、叶绿素荧光、超微结构的影响[J]. 山西农业科学, 2024, 52(1): 86-93.
- WANG K X, DU L X. Effect of Na_2CO_3 stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and ultrastructure of *Leymus secalinus* leaves[J]. Shanxi Agricultural Science, 2024, 52(1): 86-93.
- [32] 方宇辉, 华夏, 韩留鹏, 等. 非生物胁迫因素对小麦光合作用的影响研究进展[J]. 河南农业科学, 2023, 52(10): 1-13.
- FANG Y H, HUA X, HAN L P, et al. Research progress on the affects of abiotic stress factors on wheat photosynthesis[J]. Henan Agricultural Science, 2023, 52(10): 1-13.