

文章编号: 1674-7054(2020)03-0314-10

30 份水稻材料的耐盐性鉴定与评价

顾 晓, 吴孚桂, 刘慧芳, 聂佳俊, 高 鸿, 马启林

(海南大学 热带农林学院, 海口 570228)

摘 要: 以 30 份耐盐性不同的水稻品种(系)为材料, 在苗期对其进行盐胁迫处理(NaCl 浓度分别为 0, 0.3%, 0.5%), 同时, 测定了耐盐相关指标, 并运用相关性分析、主成分分析和隶属函数等方法, 对水稻耐盐性进行了筛选及评价。结果表明: 在盐胁迫条件下, 水稻品种的地上部鲜质量(FW)、地上部干质量(DW)、叶片的净光合速率(Pn)、水分利用率(WUE)、叶绿素含量(TC)等与生长相关的指标均呈不同程度的下降。而丙二醛(MDA)含量、可溶性糖(SS)含量、可溶性蛋白(SP)含量、游离脯氨酸(Pro)含量、过氧化物酶(POD)活性等与生理代谢相关的指标都升高。在 0.5%NaCl 溶液处理下, 除 Pro 含量外, 其他指标的耐盐系数的变异系数都大于 0.3% 盐浓度处理下的变异系数, 显示 0.5%NaCl 处理能更好地展示不同品种(系)之间的耐盐性差异。对 0.5%NaCl 处理下的各指标, 运用相关性分析筛选出各指标间有显著性相关的耐盐指标及用隶属函数综合评价得出 D 值, 显示耐盐性较强的 5 个品系为 14-57, 14-6, 14-36, W01 和 14-58-2; 耐盐性较弱的 5 个品系是 16-8, 50188-2, 16-9, 15-18-2 和 14-58-1。逐步回归分析结果显示, 利用这 3 个指标对各水稻品种(系)的耐盐性的估计精度均可达到 90% 以上。同时发现, 叶片的净光合速率(Pn)、水分利用率(WUE)、地上部鲜质量(FW)等是评价水稻耐盐性的最重要的 3 个指标, 根据综合评价结果, 使用系统聚类可把 30 份供试水稻品种(系)分成 3 类, 分别为耐盐型、中间型和盐敏感型。

关键词: 水稻; 耐盐性; 评价指标; 隶属函数

中图分类号: S 503.4; S 511

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2020.03.009

据估计, 到 2050 年, 全球将会有超过一半的耕地盐碱化^[1]。我国是盐碱地大国之一, 盐碱化的耕地面积大约 9 913 万 hm^2 ^[2], 还有 234 万 hm^2 的沿海滩涂^[3]。越来越严重的土壤盐渍化现象是影响植物生长、造成作物减产的主要非生物胁迫因子之一^[4-6]。在盐胁迫条件下, 植物种子的发芽降低^[7], 植株形态结构发生变化、光合能力受阻、各个时期的生长受到不同程度的抑制^[7-8], 生物物质的合成及物质代谢受到影响^[4,9-11]。选育和种植耐盐碱水稻新品种, 已经成为保障盐碱稻区粮食生产的有效途径之一^[12-14]。水稻(*Oryza sativa* L.) 是一种对盐敏感的作物^[15], 不断加重的土壤盐渍化成为制约水稻安全生产的主要因素。耐盐水稻品种的获得首先是对现有水稻种质资源或品种进行耐盐性鉴定和筛选得到的^[16-20]。研究发现, 在水稻不同的生育期和发育阶段, 受盐胁迫的影响不同, 一般在初期生长阶段和生殖阶段表现出较强的敏感性^[21-22]。幼苗期是水稻耐盐能力强弱的关键阶段, 在某种程度上可以苗期作为全生育期耐盐性水平的参照^[23]。本研究以耐盐性不同的 30 份水稻品种(系)为材料, 利用人工盐池进行了水稻苗期的耐盐性鉴定试验, 并运用相关性分析、主成分分析和隶属函数法等方法, 对水稻耐盐性评价指标进行了筛选和耐盐性综合分析, 旨在为水稻耐盐性鉴定和耐盐品种培育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 本试验在海南大学试验基地人工盐池进行, 以海南大学热带作物学院水稻课题组自主选育

收稿日期: 2019-05-14

修回日期: 2019-06-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31160259, 31660381); 国家科技支撑计划项目(2015BAD01B02-1-1); 海南省科技重大专项“耕地改良关键技术研究示范”项目(HNGDgl201502)

第一作者: 顾晓(1995-), 男, 海南大学热带农林学院 2016 级硕士研究生. E-mail: 2374586320@qq.com

通信作者: 马启林(1969-), 男, 副教授. 研究方向: 作物品质改良. E-mail: hbhnlqm@163.com

的或引进的经田间耐盐性鉴定后选取的不同耐盐性的品种(系)为试验材料(表1)。

1.2 试验设计 供试材料于育苗盘中培育至两叶一心期,于2018-03-30分别移栽到3个试验池中。试验池规格为1.7 m×5.1 m,移栽前每池各施30 kg 羊粪肥和300 g 复合肥(N:P₂O₅:K₂O=15:15:15)。移栽1周后,用食盐(NaCl)分别调节2个处理池的盐分浓度为0.3% (T1)和0.5% (T2),以NaCl浓度为0的作为对照池(CK)。盐胁迫处理期间,每日早晚用盐度计(台湾衡欣 AZ8371)监测处理池盐分浓度的变化并适时添加NaCl或淡水维持处理池盐度。盐胁迫处理20 d后进行光合特性测定,并取样进行生理生化指标测定。

1.3 干物质测定 整株挖取样品植株,洗净泥土,带回实验室用毛巾吸干水分,选取10株水稻(其余材料用液氮速冻处理后放入-80℃保存备用)分离地上部分和地下部分,分别测量鲜质量后,于105℃烘箱中杀青30 min,然后80℃恒温下烘干至恒重,用千分之一电子天平称量干质量。

1.4 生理生化指标测定 叶绿素总含量(TC)参照王旭等^[24]的方法测定,过氧化物酶(POD)活性使用愈创木酚法(南京建成POD测定试剂盒)测定,丙二醛含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法(南京

建成MDA测定试剂盒)测定,可溶性糖含量使用蒽酮法(Solarbio公司的可溶性糖含量测定试剂盒)测定,可溶性蛋白含量使用西安赫特生物公司试剂盒提取后用BCA法测定,游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮法测定。

1.5 光合特性的测定 用便携式光合测定系统(Li-6400型,Li-cor公司)测定光合指标,测量时光量子密度为1 200 μmol·m⁻²·s⁻¹,使用前按说明书调试。水分利用率(WUE)为净光合速率(Pn)与蒸腾作用(Tr)的比值(Pn/Tr)。

1.6 数据分析 使用Excel 2016和SPSS 20.0进行数据统计分析,在Pearson相关性、聚类之前所有数据均已转换为耐盐性系数。耐盐系数定义为在给定盐度水平条件下目标性状的观测值除以对照条件下该性状的观测值^[25],使用因子分析进行主成分分析。所有指标的测量值均为3次重复的平均值。

$$\text{隶属函数值 } U(x_j) = (X_j - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad j = 1, 2, 3, \dots, n;$$

式中: x_j 表示第 j 个因子的得分值, X_{\min} 表示第 j 个因子得分的最小值, X_{\max} 表示第 j 个因子得分的最大值。

$$\text{权重 } W_j = P_j / \sum_{j=1}^n P_j \quad j = 1, 2, \dots, n;$$

式中: W_j 表示第 j 个综合指标在所有综合指标中的权重, P_j 表示经过主成分分析得到的水稻各品种(系)第 j 个综合指标的贡献率。

$$\text{综合评价值 } D = \sum_{i=1}^n [U_{x_j} W_j] \quad j = 1, 2, \dots, n。$$

表1 试验材料及来源

Tab. 1 Experimental materials and sources

编号	品种(系)	来源	编号	品种	来源
No.	Variety/line	Source	No.	Variety/line	Source
1	14-6	自主选育	16	50188-1	湖北
2	14-12	自主选育	17	50188-2	湖北
3	14-30	自主选育	18	41332	湖北
4	14-36	自主选育	19	15-18-1	湖南
5	14-39	自主选育	20	15-18-2	湖南
6	14-57	自主选育	21	16-1	广东
7	14-58-1	自主选育	22	16-2	广东
8	14-58-2	自主选育	23	16-4	广东
9	14-58-3	自主选育	24	16-7	广东
10	14-90	自主选育	25	16-8	江苏
11	14-776	自主选育	26	16-9	江苏
12	14-563	自主选育	27	16-10	江苏
13	F633	自主选育	28	16-11	广东
14	W01	自主选育	29	16-14	广东
15	W10	自主选育	30	9311	湖北

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对水稻生理指标的影响 从表2可知,对于Pn,在0.3%盐浓度下,耐盐系数最大的是14-36和14-57,均为0.90,最小的是16-4,为0.48;在0.5%盐浓度下,耐盐系数最大的是14-36,为0.84。对于WUE,在0.3%盐浓度下,耐盐系数最大的是16-11,为1.04,最小的是15-18-2,为0.71;在0.5%浓度

表2 盐胁迫下水稻生理指标的相对值
Tab. 2 Relative values of physiological indices of the rice under salt stress

品种 Name	Pn		WUE		FW		DW		TC		MDA		SS		SP		Pro		POD	
	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%	0.3%	0.5%
14-6	0.88	0.83	0.95	0.93	0.94	0.85	0.98	0.88	0.71	0.32	1.82	2.52	1.59	2.29	1.31	1.35	2.04	6.42	1.32	1.65
14-12	0.93	0.84	0.99	0.98	0.68	0.59	0.90	0.73	0.59	0.48	1.92	2.07	1.06	2.22	1.48	1.51	2.09	4.08	1.26	1.49
14-30	0.84	0.55	0.92	0.68	0.59	0.36	0.97	0.93	0.79	0.54	0.08	2.13	1.07	1.17	2.16	3.54	1.73	4.24	1.33	2.03
14-36	0.90	0.87	0.97	0.96	0.76	0.53	0.69	0.55	0.90	0.47	1.37	2.28	1.35	2.74	1.38	1.67	2.57	6.47	1.14	1.55
14-57	0.90	0.72	0.95	0.83	0.84	0.61	1.05	0.95	0.98	0.64	1.09	2.25	1.80	3.08	1.45	1.81	3.45	8.41	1.16	2.56
14-58-1	0.55	0.18	0.82	0.40	0.64	0.41	0.78	0.46	0.65	0.30	1.35	2.77	1.20	1.77	1.06	1.23	1.03	4.48	1.02	1.58
14-58-2	0.80	0.67	0.94	0.93	0.94	0.87	0.93	0.80	0.90	0.83	1.14	2.15	1.63	2.65	1.35	2.00	3.32	5.10	1.21	1.97
14-58-3	0.83	0.62	0.93	0.92	0.88	0.74	0.92	0.78	0.87	0.75	1.93	1.73	1.63	1.94	1.31	2.13	4.18	5.64	1.05	1.73
14-90	0.84	0.42	1.03	0.75	0.72	0.53	0.92	0.65	0.88	0.62	2.05	2.82	1.03	1.15	1.23	1.47	2.34	5.11	1.13	1.83
14-776	0.84	0.80	0.92	0.92	0.62	0.32	0.50	0.50	0.66	0.52	2.12	5.58	1.00	1.54	1.06	1.50	2.62	5.17	1.58	2.33
16-1	0.68	0.62	0.76	0.75	0.70	0.71	0.59	0.58	0.80	0.63	2.31	5.09	1.11	1.36	1.29	1.44	1.39	4.23	1.17	1.98
16-2	0.71	0.40	0.92	0.89	0.90	0.84	0.92	0.86	0.70	0.66	1.85	2.54	2.00	4.15	1.66	2.58	1.81	5.49	1.14	1.78
16-4	0.48	0.35	0.81	0.76	0.96	0.62	0.75	0.58	0.55	0.54	2.30	2.18	3.05	3.64	1.87	2.68	1.47	3.97	1.15	1.68
16-7	0.55	0.53	0.77	0.76	0.64	0.56	0.53	0.52	0.88	0.71	2.12	4.91	1.01	1.42	1.58	2.05	1.67	6.06	0.95	1.44
16-8	0.54	0.30	0.90	0.56	0.89	0.88	0.93	0.66	0.98	0.64	2.01	4.67	1.12	1.35	1.37	1.67	1.63	4.31	1.06	1.39
14-563	0.71	0.65	0.95	0.92	0.49	0.54	0.49	0.40	0.59	0.45	1.62	2.86	1.19	1.85	1.47	2.07	2.04	6.89	1.18	1.49
F633	0.83	0.64	0.97	0.78	0.87	0.70	0.87	0.82	0.88	0.72	2.07	3.21	1.06	1.13	1.72	2.30	1.62	4.43	1.22	1.88
W01	0.87	0.84	0.97	0.95	0.79	0.75	0.79	0.75	0.93	0.65	1.51	2.08	1.04	2.78	1.96	3.21	1.76	4.67	1.03	1.95
W10	0.63	0.58	0.79	0.87	0.70	0.51	0.90	0.57	0.79	0.65	1.40	2.23	1.73	1.91	1.43	1.62	1.51	5.18	1.06	1.90
50188-2	0.58	0.36	0.96	0.74	0.63	0.54	0.85	0.69	0.76	0.63	1.96	2.48	1.17	2.12	1.27	1.65	1.49	3.67	1.06	1.74
16-14	0.61	0.40	0.84	0.61	0.80	0.74	0.72	0.46	0.34	0.30	2.57	5.53	2.36	2.88	1.60	1.90	1.78	4.69	1.15	1.70
15-18-2	0.50	0.16	0.71	0.45	0.54	0.39	0.70	0.44	0.75	0.42	1.63	2.96	1.87	1.88	1.13	1.21	2.42	4.69	1.22	1.99
9311.00	0.54	0.45	0.80	0.71	0.73	0.61	0.91	0.55	0.63	0.60	1.85	2.31	0.99	2.05	1.45	1.93	2.12	5.17	1.04	1.46
16-10	0.61	0.49	0.91	0.90	0.88	0.51	0.95	0.44	0.72	0.30	1.66	4.74	1.05	1.58	2.80	3.88	2.21	4.52	1.16	1.70
50188-1	0.85	0.69	0.91	0.90	0.97	0.88	0.89	0.88	0.97	0.69	1.51	2.83	2.60	4.88	1.28	1.71	1.67	4.87	0.98	1.42
14-39	0.67	0.55	0.96	0.91	0.92	0.75	1.34	0.79	0.91	0.82	2.47	5.16	1.38	1.61	1.27	1.43	2.10	4.69	1.12	1.67
15-18-1	0.64	0.53	0.90	0.87	0.78	0.59	0.80	0.71	0.90	0.56	4.08	6.95	1.02	1.05	1.39	1.86	1.91	4.69	1.16	1.70
41332	0.56	0.46	0.95	0.92	0.94	0.74	0.92	0.90	0.97	0.64	1.13	3.37	1.21	1.75	2.76	3.18	1.76	4.06	1.09	1.60
16-11	0.82	0.65	1.04	0.93	0.92	0.64	0.98	0.65	0.78	0.69	1.58	4.89	1.04	2.04	1.32	2.67	2.22	4.91	1.20	1.83
16-9	0.50	0.18	0.81	0.40	0.89	0.31	0.70	0.39	0.67	0.33	3.63	6.52	1.01	1.10	1.26	1.32	2.10	4.71	1.20	1.67
Average	0.71	0.54	0.90	0.80	0.78	0.62	0.84	0.66	0.78	0.57	1.87	3.46	1.41	2.10	1.52	2.02	2.07	5.03	1.15	1.76
CV	0.21	0.37	0.09	0.21	0.17	0.27	0.21	0.26	0.20	0.27	0.39	0.43	0.37	0.44	0.28	0.35	0.32	0.20	0.11	0.15

注: Pn-净光合速率, WUE-水分利用效率, FW-地上鲜质量, DW-地上干质量, TC-叶绿素含量, MDA-丙二醛含量, Pro-脯氨酸含量, SS-可溶性糖含量, SP-可溶性蛋白含量, POD-过氧化物歧化酶, Average-平均数, CV-变异系数。

Note: Pn, net photosynthetic rate; WUE, water use efficiency; FW, shoot fresh weight; DW, shoot dry weight; TC, chlorophyll content; MDA, malondialdehyde content; Pro, proline content; SS, soluble sugar content; SP, soluble protein content; POD, peroxidase activity; Average, mean value; CV, coefficient of variation.

下,耐盐系数最大的是 14-12,为 0.98,最小的是 14-58-1 和 16-9,为 0.40。对于其他耐盐相关指标,如 FW, DW, TC, MDA, SS, SP, Pro 和 POD 等,在 0.3% 盐浓度下的耐盐系数值最大的分别是 50188-1, 14-39, 14-57, 15-18-1, 16-4, 16-10, 14-58T 和 14-776, 其值分别为 0.97, 1.34, 0.98, 4.08, 3.05, 2.80, 4.18 和 1.58;耐盐系数值最小的分别是 15-18-2, 14-563, 16-4, 14-30, 9311, 14-58-1, 14-58-1 和 16-7, 其值分别为 0.54, 0.49, 0.55, 1.06, 0.99, 1.06, 1.03 和 0.95。同样,对于 FW, DW, TC, MDA, SS, SP, Pro 和 POD 等耐盐相关指标,在 0.5% 盐浓度下,耐盐系数最大的分别是 16-8(50188-1 并列), 14-57, 14-58-2, 15-18-1, 50188-1, 14-30, 14-57 和 14-57, 其值分别为 0.88, 0.95, 0.83, 6.95, 4.88, 3.54, 8.41 和 2.56。由此可见,对于不同的耐盐指标,其对应的耐盐水稻品种(系)及盐敏感水稻品种(系)各不相同,不同品种(系)在苗期不同的盐浓度(0, 0.3%, 0.5%)处理下各个耐盐指标的表现不一致。在不同盐浓度处理下,30 份品种(系)的 Pn 值的耐盐系数都表现为 0.5% 处理的低于 0.3% 处理的,说明随着盐浓度的升高各供试材料的 Pn 下降;对于 WUE 的耐盐系数,除 14-90, 16-11, 14-776, W10 等少数品种系外,其他品种(系)也都随着盐浓度的升高其 WUE 降低;同样,除了少部分品种(系)外,其他品种(系)的 FW, DW, TC 等指标都随着盐浓度的升高而降低。但是,对于 MDA, SS, SP, Pro 等生理指标值,均随着盐浓度的升高而升高。此外,除 16-7 和 50188-1 外,POD 值均在升高,但是没有像其他耐盐指标一样会随着盐浓度的升高呈一致性变化。

从各指标耐盐系数的变异系数值来看(表 2),除了脯氨酸(Pro)外,其他耐盐系数的变异系数值均表现为 0.5% 盐处理大于 0.3% 盐处理。综上所述,对于 30 个水稻品种(系)来说,同一品种的不同耐盐指标变化不同,在不同浓度下每个耐盐指标的耐盐系数变化范围也不同,且各指标值的变化没有一致性。因此,仅根据单一指标、单一浓度难以有效判定水稻品种(系)的耐盐性大小。

2.2 各耐盐指标的相关性分析 在 0.3% 盐浓度下,对各耐盐指标之间的相关性进行了分析,从表 3 可知,只有 Pn 和 WUE, DW 与 WUE、FW 有显著相关性,其余指标间无显著相关性。从表 4 可知,在 0.5% 盐浓度下,Pn 与 WUE 呈极显著正相关,与 DW, Pro 呈显著正相关;WUE 与 FW, DW, TC 呈显著正相关;FW 与 DW, TC, SS 呈极显著正相关;DW 与 TC 呈极显著正相关,与 MDA 呈显著负相关;MDA 与 SS 呈显著负相关。其中,相关性最强的是 Pn 与 WUE,其相关系数达到 0.789,为极显著正相关,说明水稻植株在盐胁迫条件下进行光合作用合成有机物时,与各品种的水分利用效率是密切相关的,POD 和 SP 与其他耐盐相关指标之间均不存在相关关系。结合前面的分析结果可知,在 0.3% 盐浓度下的指标值

表 3 在 0.3% 盐浓度下各耐盐指标相对值的相关性

Tab. 3 Correlation of relative values of indicators of the rice under the 0.3% NaCl treatment

指标 Indices	Pn	WUE	FW	DW	TC	MDA	SS	SP	Pro	POD
Pn	1									
WUE	0.702**	1								
FW	0.083	0.278	1							
DW	0.203	0.431*	0.548**	1						
TC	0.276	0.301	0.280	0.355	1					
MDA	-0.352	-0.206	0.148	-0.208	-0.197	1				
SS	-0.097	-0.247	0.266	0.069	-0.227	-0.058	1			
SP	-0.111	0.122	0.236	0.158	0.056	-0.296	-0.035	1		
Pro	0.436*	0.288	0.163	0.180	0.225	-0.109	0.023	-0.157	1	
POD	0.355	0.193	-0.162	-0.145	-0.296	-0.004	-0.146	-0.079	0.218	1

注: *表示在0.05水平上显著相关, **表示在0.01水平上显著相关,下同。

Note: * indicates a significant correlation at the 0.05 level; ** indicates a significant correlation at the 0.01 level, similarly hereinafter.

表 4 在 0.5% 盐浓度下各耐盐指标相对值的相关性

Tab. 4 Correlation of relative values of indexes of the rice under the 0.5% NaCl treatment

指标 Indices	Pn	WUE	FW	DW	TC	MDA	SS	SP	Pro	POD
Pn	1									
WUE	0.827**	1								
FW	0.268	0.407*	1							
DW	0.395*	0.450*	0.557**	1						
TC	0.253	0.417*	0.474**	0.548**	1					
MDA	-0.233	-0.231	-0.164	-0.385*	-0.177	1				
SS	0.194	0.286	0.471**	0.296	0.103	-0.432*	1			
SP	0.106	0.316	0.086	0.24	0.084	-0.131	0.075	1		
Pro	0.405*	0.273	0.036	0.090	0.003	-0.193	0.204	-0.175	1	
POD	0.208	0.067	-0.250	0.221	0.138	-0.05	-0.043	0.057	0.256	1

有些接近对照的,耐盐指标的变异系数除了 Pro 外,其余的均为 0.3% 盐浓度小于 0.5% 的。在相关性分析中,30 个水稻品种(系)在 0.3% 盐浓度下各耐盐指标之间相关性不紧密,只有 Pn 和 WUE, DW 与 WUE, FW 有显著相关性,其余的无显著相关性,但 0.5% 盐浓度下各指标有着不同程度的相关性。因此,在下面的实验中,笔者选用 0.5% 的盐浓度进行耐盐性综合评价与分析。

根据苗期各耐盐指标的耐盐系数相关性分析结果可以看出,多数耐盐指标之间存在不同程度的相关性,即各指标耐盐系数的信息有不同程度的重叠。水稻苗期的耐盐能力是一个复杂的性状,根据单一指标无法进行精准的分析,所以需要对其进行综合分析。

2.3 各耐盐指标的主成分分析及其贡献率 在 0.5% 盐浓度下,由于多数耐盐相关指标之间存在明显的相关性,而 SP 和 POD 与其他指标之间不存在显著相关性,所以在后面的分析中剔除这 2 个指标,对其他存在相关性的 8 个指标进行了主成分分析(表 5)。结果显示,苗期前 4 个综合指标的贡献率分别为 41.36%, 16.48%, 14.36% 和 9.39%, 累计贡献率达到 81.59%, 说明这 4 个综合指标反映了绝大部分信息。第 1 主成分贡献率最大,达到 41.36%。与第 1 主成分关系密切的指标有 WUE, DW, Pn, FW 等,与第 2 主成分关系较密切的指标有 Pro, Pn 和 TC 等,与第 3 主成分关系较为密切的是 SS, MDA 等,与第 4 主成分关系较为密切的有 MDA。可见,前 4 个主成分包含了 8 个耐盐相关指标的所有信息,说明用其来评价水稻耐盐性的可靠性高。这样就把原来的 8 个耐盐相关指标转换成 4 个相互独立的综合指标,同时根据各综合指标的贡献率大小进行下一步分析。

表 5 水稻苗期各综合指标的系数及贡献率

Tab. 5 Coefficients and contribution rates of comprehensive indices of the rice at the seedling stage

综合指标 Comprehensive indices	Pn	WUE	FW	DW	TC	MDA	SS	Pro	累计贡献率/% Cumulative contribution rate
CI1	0.727	0.804	0.692	0.764	0.613	-0.511	0.554	0.356	41.363
CI2	0.481	0.263	-0.437	-0.328	-0.455	-0.063	-0.027	0.712	57.842
CI3	0.335	0.342	-0.049	0.035	0.333	0.594	-0.661	-0.126	72.201
CI4	0.004	0.074	0.430	-0.219	-0.221	0.562	0.380	0.055	81.586

2.4 隶属函数的分析、权重确定及其综合评价 在 0.5% 盐浓度下,利用材料和方法中的公式计算出权重分别为 50.70%, 20.20%, 17.60%, 11.50%, 及其各指标的隶属函数值和 D 值,根据 D 值对 30 份试验材料进行耐盐性综合指标排名(D 值越大,耐盐性越强)。从表 6 中可知,按耐盐性综合指标排名,耐盐性较

强的 5 个供试材料是 14-57, 14-6, 14-36, W01, 14-58-2; 耐盐性较弱的 5 个供试材料是 16-8, 50188-2, 16-9, 15-18-2, 14-58-1, 但在 0.3% 盐浓度下, 各品种 (系) 计算出的 D 值比 0.5% 盐浓度大, 且大部分品种

表 6 水稻材料苗期综合指标值、权重、贡献率、隶属函数值及综合评价价值

Tab. 6 Comprehensive index value, weight, contribution rate, membership function value and comprehensive evaluation value of the rice at the seedling stage

品种 Variety	CI1	CI2	CI3	CI4	UC11	UC22	UC33	UC44	D	耐盐性排名 Rank of salt tolerance
14-6	1.07	1.25	-0.43	0.72	0.87	0.77	0.34	0.64	0.728	2
14-12	0.60	0.45	0.16	-0.63	0.75	0.57	0.50	0.38	0.629	12
14-30	-0.28	-0.30	0.07	-2.60	0.54	0.38	0.48	0.00	0.436	23
14-36	0.60	2.16	-0.38	0.05	0.75	0.99	0.36	0.51	0.705	3
14-39	0.51	-1.09	1.60	0.36	0.73	0.18	0.89	0.57	0.631	11
14-57	1.37	1.65	-0.89	-0.45	0.94	0.87	0.22	0.41	0.736	1
14-58-1	-1.89	-0.08	-1.70	-0.67	0.16	0.43	0.00	0.37	0.211	30
14-58-2	1.39	-0.83	0.08	-0.14	0.94	0.25	0.48	0.47	0.666	5
14-58-3	1.00	-0.14	0.10	-0.97	0.85	0.42	0.49	0.31	0.638	9
14-90	-0.37	-0.11	0.22	-1.25	0.52	0.43	0.52	0.26	0.471	21
14-563	-0.09	2.18	-0.13	0.18	0.59	1.00	0.42	0.53	0.637	10
14-776	-0.50	1.58	1.61	0.17	0.49	0.85	0.89	0.53	0.639	8
16-1	-0.30	-0.58	1.22	0.65	0.54	0.31	0.79	0.63	0.546	19
16-2	1.14	-0.85	-1.54	1.00	0.88	0.24	0.04	0.69	0.585	14
16-4	-0.12	-0.78	-1.70	0.30	0.58	0.26	0.00	0.56	0.412	25
16-7	-0.33	0.47	0.98	0.17	0.53	0.57	0.72	0.53	0.574	15
16-8	-0.54	-1.81	0.26	0.75	0.48	0.00	0.53	0.65	0.411	26
16-9	-2.56	0.17	0.06	0.56	0.00	0.50	0.47	0.61	0.254	28
16-10	-0.96	0.87	0.41	0.89	0.38	0.67	0.57	0.67	0.507	20
16-11	0.29	-0.05	1.16	0.61	0.68	0.44	0.77	0.62	0.641	7
16-14	-0.99	-0.09	-0.85	2.60	0.37	0.43	0.23	1.00	0.433	24
F633	0.36	-0.87	0.99	-0.99	0.70	0.24	0.73	0.31	0.564	16
W01	1.15	-0.01	-0.02	-0.10	0.89	0.45	0.45	0.48	0.676	4
W10	0.09	0.45	0.03	-1.04	0.63	0.57	0.47	0.30	0.551	18
50188-1	1.63	-0.84	-1.33	1.55	1.00	0.24	0.10	0.80	0.665	6
50188-2	-0.32	-1.13	-0.43	-1.06	0.53	0.17	0.34	0.30	0.401	27
15-18-1	-0.48	-0.20	2.00	1.01	0.50	0.40	1.00	0.69	0.589	13
15-18-2	-1.72	-0.16	-1.44	-0.74	0.20	0.41	0.07	0.36	0.238	29
9311	-0.23	-0.05	-0.63	-0.55	0.56	0.44	0.29	0.39	0.467	22
41332	0.48	-1.26	0.54	-0.37	0.73	0.14	0.60	0.43	0.552	17
CR/%	41.36	16.48	14.36	9.39						
W_j /%					50.70	20.20	17.60	11.50		

注: CR-表示贡献率, W_j -表示权重, CI-表示综合指标值, UC-表示隶属函数值, D_j -表示综合评价价值。

Note: CR, contribution rate; W_j , weight; CI, comprehensive indices; UC, membership function value; D_j , comprehensive evaluation value.

(系)之间 D 值相差较小,因此,采用 0.5% 盐浓度评价更好。根据全生育期田间耐盐试验结果,该结果与各材料的耐盐性实际情况基本吻合。

2.5 水稻品种(系)系统聚类 在 0.3% 盐浓度下聚类结果没有 0.5% 盐浓度的分级明显,因此,在 0.5% 盐浓度下,根据 30 份水稻品(系)综合评价结果 (D 值)进行了聚类分析(图 1)。以欧式距离 10 为界限,把 30 个水稻品种聚类为 3 类,并结合耐盐性综合指标 D 值排名,将供试材料区分为以下 3 类:耐盐品种: W10, 41332, 16-1, 16-2, 15-18-1, 16-7, F633, 14-6, 14-57, 14-36, 14-12, 14-39, 14-58-3, 14-563, 14-776, 16-11, 14-58-2, 50188-1 和 W01; 中间品种: 14-30, 16-14, 16-4, 16-8, 50188-2, 50188-1, 14-90, 9311 和 16-10; 盐敏感品种: 15-18-2, 16-9 和 14-58-1。

2.6 水稻品种(系)苗期耐盐性指标的选择 由于苗期指标繁多,因此需要挑选有效的耐盐指标进行评价,运用逐步回归分析,以 D 为因变量,其耐盐系数为自变量,建立可用于水稻苗期耐盐性评价的数学模型,筛选苗期可靠的耐盐性指标。在 0.5% 盐浓度下进行逐步回归分析,得到的回归方程为:

$D = -0.028 + 0.333X_1 + 0.377X_2 + 0.157X_3$, 其中,回归方程的决定系数 $R^2 = 0.991$, $P = 0.0001$, X_1, X_2, X_3 分别代表 WUE, Pn, FW。

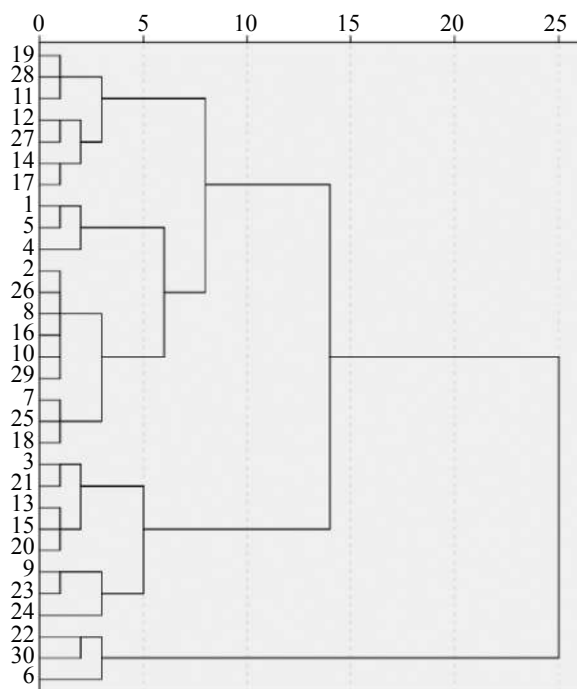


图 1 各品种的系统聚类结果

1~30 分别代表 14-6, 14-12, 14-30, 14-36, 14-57, 14-58-1, 14-58-2, 14-58-3, 14-90, 14-776, 16-1, 16-2, 16-4, 16-7, 16-8, 14-563, F633, W01, W10, 50188-2, 16-14, 15-18-2, 9311, 16-10, 50188-1, 14-39, 15-18-1, 41332, 16-11, 16-9。

Fig. 1 Systematic clustering of different rice varieties/lines

表 7 苗期水稻生理生化指标预测值

Tab. 7 Predicted values of physiological and biochemical indexes of the rice at the seedling stage

品种 Variety/line	苗期 Seedling stage			品种 Variety/line	苗期 Seedling stage		
	原始 Primary value	预测值 Predicted value	预测精度 Evaluation accuracy/%		原始 Primary value	预测值 Predicted value	预测精度 Prediction accuracy/%
14-6	0.73	0.73	99.97	14-563	0.64	0.61	95.47
14-12	0.63	0.65	96.97	F633	0.56	0.58	96.73
14-30	0.44	0.46	93.99	W01	0.68	0.72	93.03
14-36	0.70	0.70	99.73	W10	0.55	0.56	98.34
14-57	0.74	0.70	94.46	50188-2	0.40	0.44	90.39
14-58-1	0.21	0.23	92.13	16-14	0.43	0.44	97.78
14-58-2	0.67	0.67	99.34	15-18-2	0.24	0.24	97.88
14-58-3	0.64	0.63	98.54	9311	0.47	0.47	98.53
14-90	0.47	0.46	98.28	16-10	0.51	0.54	94.15
14-776	0.64	0.63	98.57	50188-1	0.67	0.67	99.31
16-1	0.55	0.57	96.24	14-39	0.63	0.60	95.19
16-2	0.58	0.55	94.25	15-18-1	0.59	0.55	94.09
16-4	0.41	0.43	94.53	41332	0.55	0.57	97.07
16-7	0.57	0.53	92.86	16-11	0.64	0.63	97.84
16-8	0.41	0.41	99.67	16-9	0.25	0.23	91.40

从表7中可以看出,在苗期,各水稻品种(系)的估计精度均达到90%以上,说明Pn, WUE, FW的耐盐系数对水稻品种(系)综合耐盐性有着显著影响,但在0.3%盐浓度下对Pn, WUE, FW进行分析发现,预测精度仅在3%到13%之间。所以,在0.5%盐浓度下,Pn, WUE, FW在苗期评价水稻耐盐性可靠性高。

3 讨 论

通过对水稻苗期进行盐胁迫处理,笔者研究了不同耐盐性水稻品种(系)的相关耐盐指标。对比0.3%盐浓度和0.5%盐浓度下水稻的耐盐性,结果显示,0.5%盐浓度下对水稻的耐盐性评价更好。在0.5%盐胁迫条件下,所有供试水稻材料叶片的Pn, WUE, TC均表现为显著性降低,并造成生物量(地上部鲜质量和质量)的降低,这与大多数研究结果一致^[26-28]。另一方面,一些与代谢生理相关的指标,如MDA, SS, SP, Pro, POD等在盐胁迫处理后都不同程度地增加。水稻植株受盐胁迫后,细胞膜受到过氧化伤害,导致丙二醛含量增高,丙二醛的积累常作为叶片细胞膜受损程度的指标^[29]。为了维持细胞膜的正常功能,植物会通过增加POD等氧化还原酶活性,增加Pro, SS, SP等渗透调节物质的含量以减轻盐胁迫造成的伤害^[30-31]。本试验结果表明,尽管游离脯氨酸含量与净光合作用速率之间存在显著性相关关系,但总体来看,水稻苗期与代谢生理相关的指标与生长相关指标之间相关性较差,POD和SP与其他耐盐相关指标之间均不存在相关关系。最后,笔者用逐步回归分析把D值与预测D值的精度达到90%以上的指标进行选择,选出了3个(Pn, WUE, FW)对评价水稻苗期耐盐性有重要参考意义的指标。

在水稻的不同生育期和发育阶段,受盐胁迫的影响不同^[21-22]。幼苗期是水稻耐盐能力强弱的关键阶段,水稻苗期的生理指标与水稻的耐盐性存在相关性^[27],某种程度上可以苗期作为全生育期耐盐性水平的参照^[23]。在水稻苗期耐盐性评价方面,已经有通过黄/死叶评价的目测法^[32]、相对耐盐力法^[33]、耐盐指数法^[34]、主成分分析法^[35]等评价方法。正如本研究结果中指出的,各指标的耐盐系数变化范围及各品种(系)的变化规律都表现出不一致,任何方法如果凭借单一的评价指标都难以准确地判断水稻品种的耐盐性。本研究在对30个耐盐性不同的水稻品种(系)进行单指标耐盐性评价的基础上,通过相关性分析筛选出相关性显著的耐盐指标,既避免了根据单一指标对水稻耐盐性评价的不确定性,也避免了由于评价指标过多,造成评价指标在某种程度上的重叠^[36]。笔者通过主成分分析和隶属函数法等方法,对30个水稻品种(系)在苗期的不同耐盐指标进行了分析和聚类,将参试水稻品种(系)分成了3类,分别为耐盐型、中间型和盐敏感型。

参考文献:

- [1] VINO CUR B, ALTMAN A. Recent advances in engineering plant tolerance to a biotic stress: achievements and limitations [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2005, 16: 123 - 132.
- [2] 王彩芬, 刘冬成, 马晓玲, 等. 水稻耐盐基因 *SKCI* 特异性 CAPS 标记的开发与验证 [J]. *分子植物育种*, 2015, 13(11): 2437 - 2440.
- [3] 王才林, 张亚东, 赵凌, 等. 耐盐碱水稻研究现状、问题与建议 [J]. *中国稻米*, 2019, 25(1): 1 - 6.
- [4] WANG X, CHANG L, WANG B, et al. Comparative proteomics of *Thellungiella halophila* leaves from plants subjected to salinity reveals the importance of chloroplastic starch and soluble sugars in halophyte salt tolerance [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2013, 12(8): 2174 - 2195.
- [5] ZAREI M, PAYMANEH Z. Effect of salinity and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and some physiological parameters of *Citrus jambhiri* [J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2014, 60(7): 12.
- [6] KOYRO H W, EISA S S. Effect of salinity on composition, viability and germination of seeds of *Chenopodium quinoa* Willd [J]. *Plant & Soil*, 2007, 302(1/2): 79 - 90.
- [7] 王仁雷, 华春, 刘友良. 盐胁迫对水稻光合特性的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 2002(4): 11 - 14.
- [8] 周根友, 翟彩娇, 邓先亮, 等. 盐逆境对水稻产量、光合特性及品质的影响 [J]. *中国水稻科学*, 2018, 32(2): 146 - 154.
- [9] HORIE T, KARAHARA I, KATSUHARA M. Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants [J]. *Rice*, 2012, 5(1): 11.
- [10] DEINLEIN U, STEPHAN A B, HORIE T, et al. Plant salt-tolerance mechanism [J]. *Trends in Plant Science*, 2014, 19(6): 371 - 379.
- [11] 王旭明, 赵夏夏, 黄露莎, 等. 盐胁迫下4个不同耐盐基因型水稻 Na^+ 、 K^+ 积累效应 [J]. *热带作物学报*, 2018, 39(11):

2140–2146.

- [12] 祁栋灵, 韩龙植, 张三元. 水稻耐盐/碱性鉴定评价方法[J]. *植物遗传资源学报*, 2005(2): 226–230+235.
- [13] 郑英杰. 盐胁迫对水稻的影响及水稻耐盐育种研究[J]. *北方水稻*, 2013, 43(5): 71–74+80.
- [14] 郑崇珂, 窦玉慧, 解丽霞, 等. 水稻耐盐相关基因的研究进展[J]. *分子植物育种*, 2017, 15(11): 4411–4422.
- [15] GRATTAN S R, ZENG L H, SHANNON M C, et al. Rice is more sensitive to salinity than previously thought [J]. *California Agriculture*, 2002, 56(6): 189–195.
- [16] 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(3): 295–298.
- [17] ZENG L, SHANNON M C. Salinity effects on seedling growth and yield components of rice [J]. *Crop Science*, 2000, 40(4): 996.
- [18] ZENG L, POSS J A, WILSON C, et al. Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by physiological characters [J]. *Euphytica*, 2003, 129(3): 281–292.
- [19] 王子平, 阳标仁, 何登骥, 等. 耐盐水稻种质资源的筛选、创造和利用[J]. *湖南农业科学*, 2014(15): 29–31+35.
- [20] TAKAGI H, TAMIRU M, ABE A, et al. MutMap accelerates breeding of a salt-tolerant rice cultivar [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33: 445–449.
- [21] LUTTS S, KINET J M, BOUHARMONT J. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1995, 46(12): 1843–1852.
- [22] ZHU G Y, KINET J M, LUTTS S. Characterization of rice (*Oryza sativa* L.) F3 populations selected for salt resistance. I. Physiological behaviour during vegetative growth [J]. *Euphytica*, 2001, 121(3): 251–263.
- [23] 吴家富, 杨博文, 向珣朝, 等. 不同水稻种质在不同生育期耐盐鉴定的差异[J]. *植物学报*, 2017, 52(1): 77–88.
- [24] 王旭, 刘仁杰, 孙红, 等. 冬小麦叶绿素含量空间分布成图方法与精度分析[J]. *农业机械学报*, 2017, 48(S1): 92–97.
- [25] ZENG L, SHANNON M C, GRIEVE C M. Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by multiple agronomic parameters [J]. *Euphytica*, 2002, 127: 235–245.
- [26] 张素红, 刘忠卓, 李珣, 等. 盐胁迫对水稻幼苗期的影响研究—盐胁迫对水稻干物质的影响[J]. *北方水稻*, 2010, 40(4): 25–29+34.
- [27] 徐晨, 凌风楼, 徐克章, 等. 盐胁迫对不同水稻品种光合特性和生理生化特性的影响[J]. *中国水稻科学*, 2013, 27(3): 280–286.
- [28] CHUNTHABUREE S, DONGSANSUK A, SANITCHON J, et al. Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage [J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2016, 23(4): 467–477.
- [29] 李倩, 刘景辉, 武俊英, 等. 盐胁迫对燕麦质膜透性及 Na⁺、K⁺吸收的影响[J]. *华北农学报*, 2009, 24(6): 88–92.
- [30] 周毅, 崔丰磊, 杨萍, 等. 水稻不同品种幼苗期耐盐性评价[J]. *江西农业大学学报*, 2015, 37(5): 781–787.
- [31] KIBRIA M G, HOSSAIN M, MURATA Y, et al. Antioxidant Defense Mechanisms of Salinity Tolerance in Rice Genotypes [J]. *Rice Science*, 2017, 24(3): 155–162.
- [32] 郭望模, 傅亚萍, 孙宗修. 水稻芽期和苗期耐盐指标的选择研究[J]. *浙江农业科学*, 2004(1): 32–35.
- [33] 杨福, 梁正伟, 王志春. 水稻耐盐碱鉴定标准评价及建议与展望[J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(4): 625–628+633.
- [34] 姚立生, 孙明法, 何冲霄, 等. 水稻品种耐盐性评价方法: 中国, 201410387480.1 [P]. 2016–11–03.
- [35] 邹德堂, 郭微, 孙健, 等. 水稻不同基因型耐盐相关性状主成分分析及综合评价[J]. *东北农业大学学报*, 2018, 49(8): 1–9.
- [36] 武兆云, 郭娜, 赵晋铭, 等. 大豆苗期耐低磷主成分及隶属函数分析[J]. *大豆科学*, 2012, 31(1): 42–46.

Identification and Evaluation of Salt Tolerance of 30 Rice Varieties/Lines

GU Xiao, WU Fugui, LIU Huifang, NIE Jiajun, GAO Hong, MA Qilin
(Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Thirty rice varieties/lines with different salt tolerance were treated with NaCl at concentrations of 0 (CK), 0.3% and 0.5% at the seedling stage, and their salt tolerance index was determined, based on which their

salt tolerance was analyzed and evaluated by using correlation analysis, principal component analysis and membership function. The results showed that the growth related indexes of the 30 varieties/lines above ground under salt stress, such as fresh weight (FW), dry weight (DW), net photosynthetic rate (Pn), water use efficiency (WUE) and chlorophyll content (TC), declined to some extents, while the indexes related to physiological metabolism, such as malondialdehyde (MDA) content, soluble sugar (SS) content, soluble protein (SP) content, free proline (Pro) content, peroxidase (POD) activity, etc, were elevated. These rice varieties/lines had higher variation in coefficients of salt tolerance of all the indexes, except Pro content, under the 0.5% NaCl treatment than under the 0.3% NaCl treatment, indicating that these varieties/lines under the 0.5% NaCl treatment displayed the highest difference in salt tolerance among all the treatments. All the indexes of the rice under the 0.5% NaCl treatment were used for correlation analysis to select the salt tolerance indexes of high significance from all the indexes for evaluation, based on which *D* value was calculated by using the membership function. The results showed that 5 lines, 14-57, 14-6, 14-36, W01, and 14-58-2, were highly tolerant of salt and that another 5 lines, 16-8, 50188-2, 16-9, 15-18-2, and 14-58-1, were low in salt tolerance. The stepwise regression analysis showed that the net photosynthetic rate (Pn), water use efficiency (WUE) and fresh weight (FW) of the leaves were the three most important indexes for evaluation of the salt tolerance of rice, based on which the estimation accuracy of salt tolerance of each rice variety/line were more than 90%. According to the comprehensive evaluation results, the 30 rice varieties/lines were divided into three categories, salt tolerant, moderately salt tolerant and salt sensitive, by using system clustering.

Keywords: Rice seedling; salt tolerance; evaluation indices; membership function

(责任编辑:潘学峰)

(上接第 300 页)

Chemical Composition of Lignans from the Flowers of *Camellia nitidissima*

ZHANG Pingping¹, WANG Zhennan², YANG Rui², SUN Bing², JIA Aiqun^{1,2}

(1. School of Life and Pharmaceutical Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. School of Environmental and Biological Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing, Jiangsu 210094, China.)

Abstract: Flowers of *Camellia nitidissima* Chi were extracted, and their chemical constituents were then isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20 gel, C18 reversed silica gel, and semi-preparative HPLC. The structures of their chemical constituents were determined by using ¹H-NMR, ¹³C-NMR and ESI-MS spectra. Eight lignans were identified from the extracts of the flowers, and their structures were elucidated from the spectra as: eudesmin (1), (+)-diasyringaresinol (2), (+)-isoeucommin A (3), Pinoresinol 4-O-glucoside (4), 7S, 8R, 8'R-(-)-lariciresinol-4'-O-D-glucopyranoside (5), (+)-Isolariciresinol 9-O-β-D-glucopyranoside (6), (+)-Isolariciresinol 9'-O-β-D-glucopyranoside (7), and 3', 4-O-dimethylcedrusin (8). All these chemical compounds were isolated from *C. nitidissima* Chi for the first time.

Keywords: *Camellia nitidissima* Chi; lignans; isolation; structural identification

(责任编辑:潘学峰)