

水稻芽期耐盐性综合评价与筛选

林泉祥, 宋远辉, 花 芹, 欧阳晨林, 孙家猛, 张海涛*

(安徽农业大学农学院, 合肥 230036)

摘 要: 为评价水稻资源耐盐能力, 筛选耐盐品种, 对来自中国农业科学研究院种质资源库的 60 个水稻品种(系)进行芽期耐盐试验。用盐浓度分别为 0、0.3%、0.5%和 0.7%的 NaCl 进行胁迫后, 通过测定其发芽率、根长、芽长、芽鲜重、干重以及侧根数目, 并采用主成分、隶属函数和聚类分析等方法综合评价各品系的耐盐水平。获得的耐盐品种主要有 Bate Aus、Bhat Mukhu 和水原 295, 盐敏感的品种有 IRAT109、TAE GU NA、农林 108 和水原 303。结果可为后续盐胁迫相关基因定位和品种选育奠定基础。

关键词: 水稻; 芽期; 耐盐; 品种筛选; 隶属函数法

中图分类号: S511

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2022)03-0381-07

Comprehensive evaluation and selection of salt-tolerant varieties at rice germination stage

LIN Quanxiang, SONG Yuanhui, HUA Qin, OUYANG Chenlin, SUN Jiameng, ZHANG Haitao

(School of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: To evaluate rice salt tolerance and select tolerant germplasms, 60 rice lines from the germplasm bank of the Chinese Academy of Agricultural Sciences were tested for salt tolerance at the germination stage. After stressing with different NaCl concentrations, i.e. 0, 0.3%, 0.5% and 0.7%, the germination rate, root length, shoot length, fresh weight and dry weight, and root number of the rice lines were measured, and main components, membership functions and cluster analysis were exploited to examine salt-tolerant performance. The obtained tolerant rice germplasms included Bate Aus, Bhat Mukhu and Shuiyuan 295, and sensitive varieties were IRAT109, TAE GU NA, Nonglin 108 and Shuiyuan 303. These results will be used for the study of tolerant gene and breed selection.

Key words: rice; germination stage; salt tolerance; variety selection; subordinate function value method

水稻(*Oryza sativa* L.)是世界上主要的粮食作物之一, 是超 50%人口日常饮食中最重要和最广泛的碳水化合物来源(约占卡路里摄入量的 50%~80%)^[1]。受全球人口的增长和温室效应加剧、耕作灌溉方式不完善等问题的制约, 土壤盐渍化作为环境因子进程呈持续上升趋势, 通常在作物的生长和生产能力表现出渗透胁迫、离子毒性和营养缺乏等不利影响^[2]。尤其过度使用化肥和土壤改良剂、排水不当、海水侵蚀等都加剧了土壤中 NaCl、CaSO₄、MgSO₄、Mg(HCO₃)₂ 和 Ca(HCO₃)₂ 等的积累。目前, 全球超过 20%的耕地(约 8×10⁶ km²)受到土壤盐渍化的影响, 直接威胁粮食安全^[3]。盐胁迫导致 Na⁺与 K⁺

竞争, 使 K⁺从细胞膜中渗漏, 造成离子稳态失衡, 从而阻碍光合作用并产生过量的 ROS, 最终导致生长减缓与细胞死亡^[4]。对水稻耐盐性基因 *SKC1* 的研究表明, 该基因编码一个定位在细胞膜上的 Na⁺转运蛋白, 当水稻茎秆中有过多的 Na⁺时, Na⁺转运蛋白开始工作, 能够将细胞内多余的 Na⁺运往地下部, 减轻毒害^[5]。Zhang 等^[6]报道的一个拟南芥 *CPK12* 基因, 与野生型相比, *CPK12-RNAi* 突变体在幼苗期对盐胁迫更敏感, H₂O₂ 含量显著增加, 表明 *CPK12* 参与到植物对盐胁迫调控中。Kim 等^[7]报道了一个盐胁迫基因 *OsDHSRPI*, 在盐胁迫条件下, 使 OsGLYI-11.2 和 OsACP1 蛋白泛素化, 并通

收稿日期: 2021-08-22

基金项目: 国家自然科学基金(31871603, 31201205), 国家留学基金委项目(201708340008), 安徽省科技厅项目(KJ2017A143, gxfxZD2016022)和安徽省科技重大专项(1803071176)共同资助。

作者简介: 林泉祥, 硕士研究生。E-mail: 1245760713@qq.com

* 通信作者: 张海涛, 博士, 副教授。E-mail: 43647174@qq.com

过 UB/26S 蛋白酶体系降解, 从而导致细胞内甲基乙二醛增加和降低 MDA 酶含量, 影响种子萌发。Raina 等^[8]报道一个能有效增强作物光合效率, 清除体内 ROS, 降低对细胞膜系统的损伤基因 *StCaM2*, 该基因有效提高了作物的耐盐性。水稻的耐盐性受到数量性状位点(quantitative trait locus, QTL) 调控, 借助相关的 QTL 位点进行分子标记的辅助选择, 可以加快耐盐品种的选育^[9]。Noushin^[10]通过构建 93-11 与 Pei-ai64s 的重组自交系, 对 132 个自交系进行盐胁迫相关的 QTL 分析, 检测到一个控制芽生长相关的 QTL 位点 *qSL7*, 该位点内包含一个编码 K⁺ 离子转运的转录因子, 在水稻盐胁迫下对茎长调控发挥重要作用。

水稻作为中度盐敏感作物, 在萌发期、分蘖期和成熟期具有较强的耐盐性, 而在幼苗期和生殖期高度敏感^[11]。土壤盐渍化对水稻发芽的影响主要表现为对发芽势、整齐度及生长造成负面效应。因此, 幼苗期耐盐性是盐渍土条件下保证水稻稳产的重要因素, 直接影响营养生长和生殖生长阶段^[12-14]。相比于成熟期, 对水稻幼苗期进行耐盐性考察, 成本低, 操作简单易行^[15]。Chen 等^[16]研究表明, 盐胁迫下的水稻种子活力跟对照出现明显差异, 表现为发芽率明显降低, 幼苗芽和根的长度都明显缩短。因此, 要削弱土壤盐渍化对水稻产量的影响, 大力“改土消盐”的同时, 筛选耐盐性强的种质资源、培育出耐盐和高产的新品种尤为重要。在过去的几十年里, 对水稻耐种质资源的耐盐性评价多是采用统计学方面、聚类分析^[17]、隶属函数^[18]等简单分析, 对水稻种质资源进行耐盐性分级往往不具有全面性。作者来自中国农业科学院种质资源库 60 份水稻品种(系)作为试验对象, 采用 0.3%、0.5% 和 0.7% NaCl 盐浓度模拟大田盐环境, 通过测定发芽势、发芽率、根长、苗鲜重、苗干重、根鲜重、根干重、MDA 和耐盐等级指标来评价水稻品种(系)的耐盐性, 建立基于发芽指数法、加权隶属函数法等多元统计方法的水稻耐盐鉴定体系, 为育种家选育耐盐水稻品种提供优质的种质资源和理论支持。

1 材料与试验方法

1.1 供试材料

本研究所用的 60 个水稻品种(系)均由中国农业科学院种质资源库保存。

1.2 试验设计

本试验于 2017—2021 年在安徽农业大学农学院水稻分子育种实验室进行。利用 9311 和日本晴作为初期筛选种子萌发期和幼苗期耐盐性适宜浓度,

进行盐胁迫预备试验 NaCl 溶液浓度为 0~10% (梯度为 1%), 测量发芽势、发芽率和干鲜重。当 NaCl 浓度为 0.3%、0.5% 和 0.7% (pH 6.98), 水稻的生长指标差异最为明显, 因此将这 3 个处理浓度作为后续研究。选取 60 份水稻品种(系)发育饱满、整齐、健康种子置于 45 °C 恒温箱处理 48 h 破除休眠, 1% 次氯酸钠溶液消毒 20 min, 用 ddH₂O 反复冲洗干净。设置 1 个空白对照与 0.3%、0.5% 和 0.7% (pH 6.98) 的 3 个 NaCl 浓度梯度, 每个处理 3 次重复(每个重复 50 粒)。种子均匀放置在铺有无菌滤纸的 9 cm 规格的玻璃培养皿, 置于智能人工气候箱 (RXZ-50CD 型, 浙江宁波江南仪器厂), 在 28 °C 条件下暗培养 3 d 后, 在培养条件为 30 °C/12 h、4 000 lx; 25 °C/12 h、黑暗条件下培养 4 d。相同时间段内对种子进行观察统计, 每 1 d 更换 1 次培养液(参照国际水稻所的标准营养液), 保证各处理间的盐浓度与 pH 稳定。

1.3 指标测定及计算方法

参照农作物检验规程 GB/T3543.1—3543.7 (1995 版), 当种子胚根长度达到种子长度, 胚芽达到种子长度一半作为发芽标准。胁迫处理第 4 天调查各水稻品种的发芽势; 第 7 天调查各水稻品种的发芽率; 第 7 天在处理中抽取 10 粒长势一致种子, 测量各种子的胚芽长、胚根长以及根数。测定对照与高盐浓度下的鲜重与干重, 超纯水冲洗根部, 用吸水纸吸去多余水分后测量鲜重; 幼苗高温 (105 °C) 20 min 杀青, 75 °C 烘至恒重后测量干重; 丙二醛 (MDA) 含量用硫代巴比妥酸法测定。候选种质资源的耐盐性分析, 以发芽势、发芽率、相对芽长、相对根长、根数、相对发芽势、相对发芽率以及相对盐害率作为水稻耐盐性的综合评价指标。各指标计算方式如下:

发芽势/% = (4 天内发芽种子数/测试种子数) × 100

发芽率/% = (7 天内发芽种子数/测试种子数) × 100

相对发芽势/% = 处理发芽势值/对照发芽势值 × 100

相对发芽率/% = 处理发芽率值/对照发芽率值 × 100

相对芽长/% = 处理芽长值/对照芽长值 × 100

相对根长/% = 处理根长值/对照根长值 × 100

相对根数/% = 处理根数值/对照根数值 × 100% 相对盐害率 = [(对照发芽率 - 处理发芽率) / 对照发芽率] × 100^[19-20]

MDA/($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$) = 6.45 × (OD₅₃₂ - OD₆₀₀) - 0.56 × OD₄₅₀

水稻品种的耐盐性强弱区分, 采用模糊函数法获得 60 份水稻种质资源的隶属度, 根据隶属度大小把水稻品种分为 6 个等级。计算隶属度的公式如下:

$$X(u) = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (1)$$

$$X(u) = 1 - (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (2)$$

其中, 公式内 X 表示某一生长指标处理测定值的相对值, 分别用 X_{\max} 、 X_{\min} 来表示测定值的最大值与最小值。计算各生长指标的隶属值时, 根据生长指标与抗性的相关性采取不同的计算公式, 呈正相关采用(1)式, 呈负相关采用(2)式。计算所得 $X(u)$ 即作为该生长指标的抗逆隶属值, 品种所有生长指标的抗逆隶属值的平均值作为该品种的抗逆隶属度, 并用于水稻种质资源耐盐性的分级。

1.4 数据处理

数据统计应用 Excel 2016 分析软件, 方差分析、相关分析及聚类分析利用 SPSS20.0 分析软件。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对水稻萌发的影响

为保证耐盐种质筛选的可靠性, 根据 60 份种质资源在 0.3%、0.5% 和 0.7% NaCl 浓度的初筛结果, 选取发芽率分别为 88.16% 和 88.75% 的 9311 和水原 295 作为耐盐品种; 发芽率分别为 15.09% 和 18.75% 的日本晴和大空作为盐敏感品种。利用不同浓度的

NaCl 溶液对两个耐盐品种和两个盐敏感品种进行处理, 结果表明, 随着 NaCl 浓度的逐步提高 (表 1), 耐盐种质的相对发芽率在 0.3% 和 0.5% 水平下胁迫 4 d 和 7 d 均不具有差异性, 在 0.7% 浓度下具有极显著差异, 相对发芽率降低 20.65%; 而盐敏感种质的相对发芽率在 0.3%、0.5% 和 0.7% 盐胁迫下均具有显著性差异, 在 0.7% 浓度下种子萌发率只为正常的 17.94%。相对盐害率 4 d 时, 耐盐和盐敏感均具有极显著差异, 当盐浓度大于 0.5% 时, 相对盐害率均超过了 60%, 然而耐盐和盐敏感种质的相对盐害率在胁迫处理 7 d 后并无显著差异, 因此盐胁迫对水稻发芽的影响主要表现在发芽速度, 而并不减弱种子的生活力。耐盐种质的相对芽长在 0.3%、0.5% 和 0.7% 3 个浓度下具有显著差异, 而盐敏感种质在 0.5% 浓度后具有极显著影响, 相对芽长均小于 40%。耐盐种质和盐敏感种质的根长在盐胁迫条件下均受到了显著影响, 相对根长均小于 60%; 耐盐种质的相对侧根数在盐胁迫条件下并无显著影响, 然而盐敏感种质的相对侧根数在盐浓度大于 0.5% 时, 抑制率达到了极显著, 相对侧根数仅为正常的 27%。

表 1 不同浓度 NaCl 胁迫条件下耐盐和盐敏感品种在芽期各评价指标表现

Table 1 Phenotypic values of salt-tolerant and sensitive rice varieties under different NaCl concentrations at seedling germination stage

| NaCl 浓度/% | 幼苗耐盐性 | 相对发芽率/% | | 相对盐害率/% | | 相对芽长/% | 相对根长/% | 相对根数/% |
|-----------|-------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | | 4 d | 7 d | 4 d | 7 d | | | |
| 0.3 | 耐盐 | 95.44±3.55 ^B | 98.76±2.74 ^B | 25.45±9.20 ^A | 1.24±1.68 ^A | 78.00±3.19 ^C | 56.30±6.16 ^B | 94.16±2.33 ^B |
| | 盐敏感 | 58.46±4.46 ^C | 74.55±2.52 ^C | 41.55±15.11 ^A | 4.56±3.66 ^A | 70.62±3.94 ^B | 55.12±10.96 ^B | 72.39±2.23 ^B |
| 0.5 | 耐盐 | 88.50±2.98 ^{AB} | 94.46±3.43 ^{AB} | 64.02±3.42 ^B | 5.54±3.43 ^{AB} | 56.77±6.29 ^B | 45.17±17.37 ^B | 74.98±28.31 ^{AB} |
| | 盐敏感 | 31.57±6.04 ^B | 35.98±3.42 ^B | 68.43±6.04 ^B | 11.50±2.98 ^{AB} | 36.25±5.12 ^A | 26.70±11.84 ^A | 27.61±9.88 ^A |
| 0.7 | 耐盐 | 79.35±5.78 ^A | 89.39±2.17 ^A | 74.56±2.52 ^C | 10.59±2.94 ^B | 40.97±3.77 ^A | 24.75±9.10 ^A | 68.48±26.80 ^A |
| | 盐敏感 | 17.94±1.50 ^A | 25.45±2.52 ^A | 82.06±1.50 ^C | 20.65±5.78 ^B | 28.29±5.06 ^A | 14.52±6.20 ^A | 26.27±9.29 ^A |

注: 同一列中同一材料的不同大写字母表示处理间差异达到极显著水平 ($P < 0.01$, LSD)。

表 2 水稻品种在对照处理与胁迫处理下的生长状况

Table 2 Growth status of rice varieties under control and stress treatments

| 指标 | 对照 | | | | | 盐胁迫 | | | | |
|-------|-------|-------|-------|------|--------|-------|-------|-------|------|--------|
| | 最大值 | 最小值 | 平均值 | 标准差 | 变异系数 | 最大值 | 最小值 | 平均值 | 标准差 | 变异系数 |
| 芽长/mm | 34.43 | 9.35 | 21.61 | 6.34 | 29.33% | 31.46 | 8.21 | 18.23 | 6.38 | 35.00% |
| 根长/mm | 24.91 | 5.07 | 12.82 | 4.64 | 36.19% | 20.20 | 2.67 | 10.87 | 4.22 | 38.82% |
| 鲜重/g | 1.24 | 0.14 | 0.63 | 0.30 | 47.62% | 0.86 | 0.10 | 0.32 | 0.19 | 59.38% |
| 干重/g | 0.20 | 0.02 | 0.10 | 0.04 | 40.00% | 0.21 | 0.02 | 0.06 | 0.04 | 66.67% |
| 干鲜比/% | 25.02 | 12.54 | 16.39 | 2.19 | 13.36% | 40.16 | 14.96 | 21.02 | 4.25 | 20.22% |

2.2 盐胁迫对水稻苗期生长的影响

在 0.7% NaCl 处理的盐胁迫下, 与对照相比, 60 份水稻种质的根长、芽长、总鲜重、总干重均有下降 (表 2)。胁迫抑制程度从大到小依次为鲜重

(49.21%)、干重 (40.00%)、芽长 (20.76%) 和根长 (15.21%)。0.7% NaCl 处理的盐胁迫下鲜重和干重的变异系数值分别为 59.38% 和 66.67%, 显著大于对照处理下鲜重和干重变异系数 47.62% 和 40.00%。

此外,不同种质间差异显著,耐盐品种农垦 58 的根长与芽长的变化幅度为 - 1.75%与 4.39%,极显著小于盐敏感品种日本晴的 26.34%与 29.73%,表明耐盐品种能够有效抵御盐胁迫带来的危害。然而,对

照处理的平均干鲜比为 16.39%,显著低于 0.7% NaCl 处理的 21.02%,表明干物质的积累有助于植物响应盐胁迫,但具体代谢路径还需进一步探究。

表 3 盐胁迫下水稻幼苗期各生长指标的相关系数分析

Table 3 Pearson correlation coefficients among evaluated traits in rice under salt treatment

| 性状 | NaCl 浓度 | 相对发芽率 (4 d) | 相对发芽率 (7 d) | 相对盐害率 (4 d) | 相对盐害率 (7 d) | 相对芽长 | 相对根长 |
|-------------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|---------|
| 相对发芽率 (4 d) | - 0.390** | | | | | | |
| 相对发芽率 (7 d) | - 0.388** | 0.808** | | | | | |
| 相对盐害率(4 d) | 0.390** | - 1.000** | - 0.808** | | | | |
| 相对盐害率(7 d) | 0.384** | - 0.235* | - 0.338** | 0.235* | | | |
| 相对芽长 | - 0.477** | 0.636** | 0.684** | - 0.636** | - 0.274* | | |
| 相对根长 | - 0.691** | 0.549** | 0.514** | - 0.549** | - 0.219* | 0.682** | |
| 相对根数 | - 0.679** | 0.181 | 0.190 | - 0.181 | - 0.146 | 0.194 | 0.397** |

注: *表示在 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$ 。

表 4 盐碱胁迫下水稻耐盐性和耐级别分类

Table 4 Varieties classified with respect to membership degree (MD) under NaCl treatments

| 品种名 | 隶属度 | 等级 | 品种名 | 隶属度 | 等级 |
|------------------|---------|----|----------------|---------|----|
| L201 | 0.885 4 | HT | IAC 150/76 | 0.625 3 | T |
| 9311 | 0.900 8 | HT | Aen petu | 0.632 4 | T |
| 水原 295 | 0.917 9 | HT | DAMAGUM | 0.633 0 | T |
| Bate Aus | 0.938 8 | HT | Teng-132 | 0.644 8 | T |
| Bhat Mukhu | 0.925 1 | HT | Mars | 0.651 1 | T |
| IR 50 | 0.957 5 | HT | ZIOK DO | 0.651 5 | T |
| A GA BYEO | 0.701 9 | MT | IR 40 | 0.657 9 | T |
| Rialto | 0.702 1 | MT | IR25924-51-2-3 | 0.660 1 | T |
| IR 11248-23-3-2 | 0.717 1 | MT | ARC6565 | 0.677 3 | T |
| IR 24 | 0.745 7 | MT | BG90-2 | 0.683 5 | T |
| YONG CHUN | 0.748 5 | MT | IR 8608-189 | 0.696 6 | T |
| IR 15685-2-2-2-3 | 0.754 9 | MT | R 67 | 0.433 0 | S |
| 万太郎米 | 0.761 8 | MT | Baru | 0.460 8 | S |
| 77-061 | 0.771 0 | MT | IRAT 10 | 0.473 4 | S |
| IR 9115-40-1-3 | 0.782 6 | MT | KH.Komedanv | 0.476 4 | S |
| IR 28 | 0.788 6 | MT | Khao Khane | 0.493 1 | S |
| IR 3941-25-1 | 0.796 6 | MT | BAEK CHOL BYEO | 0.512 2 | S |
| 农垦 58 | 0.806 3 | MT | Khao Dou | 0.514 5 | S |
| IR 64 | 0.825 6 | MT | A GU DO | 0.515 8 | S |
| Sunbonnet | 0.835 6 | MT | Newrex | 0.516 1 | S |
| 农林 217 | 0.842 7 | MT | 农林糯 184 | 0.531 2 | S |
| BJ1 | 0.848 3 | MT | Baladewa | 0.542 0 | S |
| Lepsang | 0.555 9 | T | 农林 108 | 0.544 6 | S |
| 水原 287 | 0.573 9 | T | IRAT 104 | 0.545 5 | S |
| IR 10154-20-3-3 | 0.578 9 | T | 日本晴 | 0.377 5 | MS |
| Radi Pagalou | 0.585 0 | T | CR 584-11-1-6 | 0.391 6 | MS |
| Khamu | 0.611 4 | T | 大空 | 0.398 6 | MS |
| 农林 72 | 0.613 7 | T | ITA235 | 0.398 9 | MS |
| Sesia | 0.614 9 | T | IRAT109 | 0.265 2 | HS |
| Kn-lh-361-1-8-6 | 0.621 9 | T | TAE GU NA | 0.290 2 | HS |

表 5 不同等级水稻品种在 NaCl 处理下 MDA 含量
Table 5 MDA contents in rice varieties treated with different NaCl grades

| 耐盐性分级 | 丙二醛浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) |
|-------|---|
| HT | 0.008 2 \pm 0.000 6 |
| MT | 0.026 3 \pm 0.006 1 |
| T | 0.065 0 \pm 0.014 8 |
| S | 0.100 4 \pm 0.008 3 |
| MS | 0.135 3 \pm 0.010 4 |
| HS | 0.324 0 \pm 0.067 9 |

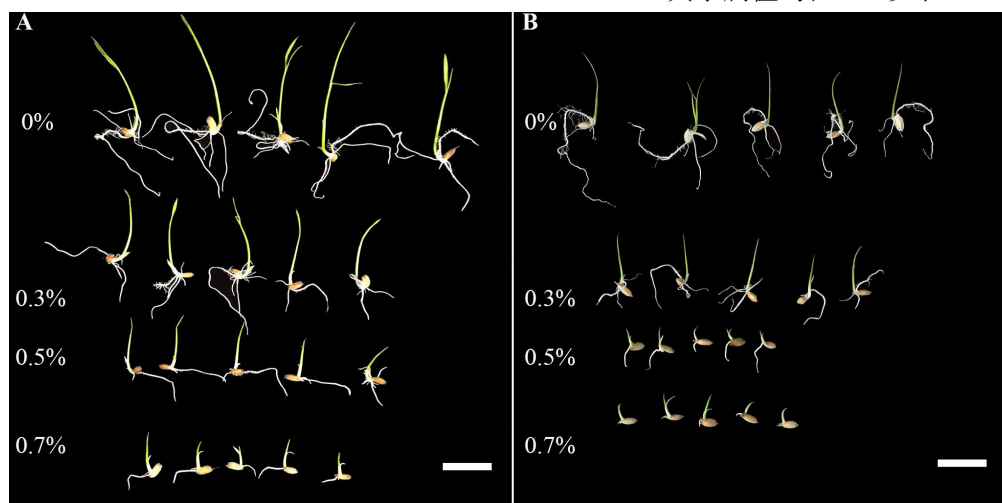
2.3 盐胁迫处理下各单项指标与苗期耐盐级别的相关系数矩阵

相关性分析结果表明, 相对发芽率、相对芽长、相对根长和相对根数均与 NaCl 浓度呈显著负相关, 相关系数均在 - 0.38 以上, 其中盐胁迫后相对根长与 NaCl 浓度的相关系数最大, 为 - 0.691; 相对盐害率与 NaCl 浓度呈极显著正相关, 相对盐害率 (4 d) 的相关系数比相对盐害率 (7 d) 的大 (表 3), 表明了盐溶液对种子萌发早期的抑制效应更强。除相对根数外, 相对盐害率与相对根长、相对芽长、相对根数、相对发芽率均呈负相关, 但相对根数与相对盐害率未达到显著水平; 其中相对盐害率 (4 d) 与相对发芽率 (4 d) 达到极显著水平, 其相关系数最大, 为 - 1.000。在发芽试验中, 除发芽率外, 芽长与根长是种子活力的最直观表现。相对芽长与相对根长在各项生理指标的相关性除相对根数上出现差异, 其余均有显著关系。相对芽长与其他指标间

除相对根数外均达到极显著水平, 且与相对发芽率 (7 d) 相关系数最高, 达到 0.684。此外, 盐浓度与相对芽长和相对根长的相关系数分别为 - 0.477 与 - 0.691, 盐浓度与相对根长的相关系数最大, 表明在不同盐浓度下种质的根较芽生长, 盐胁迫抑制效果更明显。

2.4 盐碱胁迫下不同水稻品种萌发期的耐盐级别分类

根据盐胁迫下水稻苗期耐盐性状相关分析结果可以看出, 很多性状间存在着不同程度的相关性, 即各耐盐性状系数信息有着不同程度的重叠, 而无法根据一两个指标确定该性状。因此, 需要对该性状进行综合分析。综合各种质萌发期的各项指标, 运用隶属函数法计算隶属度后进行聚类分析, 所得隶属值大小客观反应各品种 (系) 芽期耐盐能力的大小, 数值越大说明耐盐能力越强。本研究根据各生长指标的平均抗逆隶属值做为品种间的隶属度用于 60 份种质耐盐性的分级标准。借助隶属度大小将水稻种质分为 6 个等级, 分别是隶属度在 0.85 以上的高抗 (HT)、隶属度在 0.7 以上的中抗 (MT)、隶属度在 0.55 以上的低抗 (T)、隶属度在 0.4 以上的敏感 (S)、隶属度在 0.3 以上的中度敏感 (MS) 与隶属度在 0.3 以下的高度敏感 (HS)。60 份种质分级见表 4, 其中表现耐盐的品种主要有 IR50、Bate Aus、Bhat Mukhu、水原 295、9311 和 L201, 其隶属值均在 0.85 以上; 敏感的品种有 IRAT109 和 TAE GU NA, 其隶属值均在 0.3 以下。



A: 耐盐品种水原 295 在不同处理下的表现型, 比例尺为 1 cm; B: 盐敏感品种大空在不同处理下的表现型, 比例尺为 1 cm。

图 1 NaCl 胁迫条件下 7 d 典型和盐敏感水稻种质资源的表现型比较

Figure 1 Comparison of the phenotypes of salt-tolerant and salt-sensitive rice germplasm accessions under different treatments for seven days in germination and seedling stages

当作物处于高盐浓度环境下, 体内积累的超氧自由基会导致细胞过氧化造成作物生物膜破损。为

反映作物体内的细胞过氧化程度, 通常借用细胞过氧化产物丙二醛 (MDA) 的含量表示^[21]。在 6 个等

级的水稻种质随机抽取一个品种进行 MDA 测定 (表 5), 发现随着耐盐能力的下降, 盐敏感品种的 MDA 含量显著高于耐盐品种含量 (相对含量升高 97.46%)。结果表明, 在盐胁迫下, 耐盐品种对于自身生物膜的保护能力即清除超氧自由基能力强于盐敏感品种, 保证自身正常生长。

3 讨论

3.1 盐胁迫对不同耐盐性水稻种质萌发的影响

种子的萌发和早期幼苗的生长是植物生长关键阶段, 是决定种子在盐碱地上出苗量和出苗整齐度的关键^[22]。本研究在对 60 份水稻种质的发芽试验中发现, 盐胁迫处理下的各种质种子萌动时间与对照处理相比延迟了 12~48 h; 空白对照下的各种质发芽时间为 72~96 h, 盐胁迫处理下的发芽时间出现了 36 h 的延迟。萌动与发芽时间的延迟伴随着盐处理浓度的上升而延迟, 在盐敏感种质中的表现最为明显。如 TAE GU NA 在盐胁迫 7 d 时相对发芽率仅为 52.83%, 表明种子早期萌发在盐胁迫处理下受到严重抑制。水稻的萌发需要保证光照、温度、水分以及土壤离子浓度均在水稻生长适宜的范围内。土壤中的盐含量是水稻生长受限制的因素之一, 高浓度盐含量抑制水稻正常生长, 严重时导致水稻的死亡。盐胁迫处理造成水稻的发芽率、根长、芽长、鲜重、干重等低于对照处理^[23]。水稻吸收水分和营养元素的主要途径是根, 根系的发育决定水稻的生长。盐胁迫处理时, 水稻的根系生长首先受到抑制, 随后影响水稻的地上部生长。水稻种质在萌发过程中根系受盐毒害的变化最大 (表 3), 相对根长与相对盐害率 (4 d) 的相关系数为 -0.549, 表明盐胁迫下水稻种质的根发育受到胁迫影响, 主要表现在对主根的伸长和侧根形成的抑制效果^[24]。典型耐盐种质的相对根长和相对侧根数极显著大于盐敏感种质 (图 1), 特别是大空稻在 0.7% 浓度下, 根的伸长几乎完全被抑制, 说明盐胁迫通过抑制根的伸长及发生来影响水稻幼苗对水分的吸收; 而胁迫 7 d 不同种质的相对芽长在不同浓度下虽影响显著, 但在同盐浓度下无显著影响, 表明水稻种子萌发时根的伸长对盐胁迫最为敏感, 芽次之, 这与前人的研究结果一致^[25]。

3.2 耐盐性鉴定的统计分析

对大麦、小麦、水稻、玉米等种质资源进行耐盐性筛选时, 国内外学者常常借用发芽势、发芽率、芽长和根长等常见的生长指标作为评价种质资源的耐盐性标准^[26], 但国内外对耐盐性评价的标准生理

指标未进行统一, 造成种质资源的耐盐性分级不一致。种质资源的耐盐性是作物的一个复杂性状, 受到来自外界环境与自身基因型的影响, 在此基础上借助简单的指标对种质资源的耐盐性分级, 难以正确表现种质资源本身的耐盐能力^[27]。为客观反映各种质资源的耐盐性能力强弱, 本研究对常见的耐盐性评价指标进行相关性分析和多元统计分析, 同时结合隶属函数等方法, 获得综合评价隶属度, 借助隶属度大小将 60 份水稻种质资源根据耐盐性强弱划分成 6 个等级, 包括高抗品种、中抗品种、低抗品种、敏感品种、中度敏感品种和高度敏感品种。利用该评价体系, 在相同的胁迫条件下, 预测目标种质耐盐性的强弱, 为水稻耐盐育种及资源筛选提供参考。

4 结论

环境变化在水稻的日常生长过程中起着十分关键的作用, 水稻产量的最终制约因素就是土壤中的盐分含量。在人工气候箱内, 我们通过 3 个梯度的 NaCl 溶液对供试的种质资源进行耐盐性鉴定, 并利用综合评价隶属度对供试材料进行分级。本研究共获得 6 份高度耐盐的水稻品种、16 份中度耐盐的水稻品种、19 份低度耐盐水稻品种、13 份盐敏感水稻品种、4 份中度盐敏感水稻品种和 2 份高度盐敏感水稻品种。研究结果可为日后的水稻耐盐种质资源的筛选和鉴定、为后续盐胁迫相关基因定位和品种选育研究奠定基础, 以及对日益严重的土壤盐碱问题提供新的解决思路和基础材料。

致谢: 感谢中国农业科学院作物科学研究所国家水稻种质资源中期库为本研究提供水稻种质资源, 感谢《安徽农业大学学报》编辑部老师在论文修改中给予的帮助。

参考文献:

- [1] PENG C, WANG Y, LIU F, et al. *FLOURY ENDOSPERM6* encodes a CBM48 domain-containing protein involved in compound granule formation and starch synthesis in rice endosperm[J]. *Plant J*, 2014, 77(6): 917-930.
- [2] YANG Y, GUO Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses[J]. *New Phytol*, 2018, 217(2): 523-539.
- [3] LI Q, YANG A, ZHANG W H. Comparative studies on tolerance of rice genotypes differing in their tolerance to moderate salt stress[J]. *BMC Plant Biol*, 2017, 17(1): 141.
- [4] FARHAT S, JAIN N, SINGH N, et al. CRISPR-Cas9 directed genome engineering for enhancing salt stress tolerance in rice[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 96: 91-99.
- [5] REN Z H, GAO J P, LI L G, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter[J].

- Nat Genet, 2005, 37(10): 1141-1146.
- [6] ZHANG H L, ZHANG Y N, DENG C, et al. The *Arabidopsis* Ca²⁺-dependent protein kinase CPK12 is involved in plant response to salt stress[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): E4062.
- [7] KIM J H, LIM S D, JANG C S. *Oryza sativa* drought-, heat-, and salt-induced RING finger protein 1 (OsDHSRP1) negatively regulates abiotic stress-responsive gene expression[J]. Plant Mol Biol, 2020, 103(3): 235-252.
- [8] RAINA M, KUMAR A, YADAV N, et al. StCaM2, a calcium binding protein, alleviates negative effects of salinity and drought stress in tobacco[J]. Plant Mol Biol, 2021, 106(1/2): 85-108.
- [9] SAHI C, SINGH A, KUMAR K, et al. Salt stress response in rice: genetics, molecular biology, and comparative genomics[J]. Funct Integr Genomics, 2006, 6(4): 263-284.
- [10] NOUSHIN J. 水稻耐盐性 QTL 分析和盐胁迫下芽长候选基因 qSL7 的精细定位[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- [11] AKBAR M, YABUNO T, NAKAO S. Breeding for saline-resistant varieties of rice: i. variability for salt tolerance among some rice varieties[J]. Jpn J Breed, 1972, 22(5): 277-284.
- [12] WANG Z F, WANG J F, BAO Y M, et al. Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress[J]. Euphytica, 2011, 178(3): 297-307.
- [13] 朱家骧, 范国灿. 不同生育期盐胁迫对水稻产量性状的影响[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(7): 1299-1300, 1303.
- [14] 肖文斐, 马华升, 陈文岳, 等. 籼稻耐盐性与稻米品质性状的关联分析[J]. 核农学报, 2013, 27(12): 1938-1947.
- [15] 韩冉, 解树斌, 李欣, 等. 耐盐小麦种质筛选、鉴定与评价[J]. 山东农业科学, 2020, 52(9): 12-18.
- [16] CHEN D, LI Y, FANG T, et al. Specific roles of tocopherols and tocotrienols in seed longevity and germination tolerance to abiotic stress in transgenic rice[J]. Plant Sci, 2016, 244: 31-39.
- [17] 唐守正. 多元统计分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986: 61-73.
- [18] 何雪银, 文仁来, 吴翠荣, 等. 模糊隶属函数法对玉米苗期抗旱性的分析[J]. 西南农业学报, 2008, 21(1): 52-56.
- [19] 朱丽伟, 曹栋栋, 付玉营, 等. 可溶性寡糖和小分子的热激蛋白与杂交水稻种子成熟过程中发芽能力及种子活力相关[J]. 作物学报, 2016, 42(5): 714-724.
- [20] 鱼小军, 肖红, 徐长林, 等. 扁蓿豆和苜蓿种子萌发期抗旱性和耐盐性比较[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(2): 405-410.
- [21] 胡学俭, 孙明高, 夏阳, 等. NaCl 胁迫对无花果与海棠膜脂过氧化作用及保护酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2005, 25(5): 937-943.
- [22] LI H Q, YUE H W, LI L, et al. Seed biostimulant *Bacillus* sp. MGW9 improves the salt tolerance of maize during seed germination[J]. AMB Express, 2021, 11(1): 74.
- [23] 吕铭. 不同品种水稻幼苗对短期盐胁迫的生理响应[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- [24] WANG Z F, WANG J F, BAO Y M, et al. Inheritance of rice seed germination ability under salt stress[J]. Rice Sci, 2010, 17(2): 105-110.
- [25] 魏征, 邹燕, 陈澎军, 等. 不同类型水稻芽期的耐盐性差异[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(3): 254-261, 316.
- [26] 李培英, 孙宗玖. 33 份偃麦草种质芽期耐盐性评价[J]. 草业科学, 2015, 32(4): 593-600.
- [27] 戴海芳, 武辉, 阿曼古丽·买买提阿力, 等. 不同基因型棉花苗期耐盐性分析及其鉴定指标筛选[J]. 中国农业科学, 2014, 47(7): 1290-1300.