



不同程度盐胁迫下大豆萌发期耐盐性鉴定

张兆宁¹, 李江辉¹, 赵怡宇¹, 范亚茹¹, 杜艳丽^{1,2}, 韩德志³, 张玉先^{1,4}, 杜吉到^{1,2,4}

(1. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江省盐碱地改良工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319; 3. 黑龙江省农业科学院 黑河分院, 黑龙江 黑河 164300; 4. 农业农村部大豆机械化生产重点实验室, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: 为了明确不同程度盐胁迫下大豆萌发期耐盐性鉴定的评价指标, 以 62 份大豆品种为试验材料, 在萌发期进行 75 mmol·L⁻¹ NaCl 中度盐胁迫(S)和 150 mmol·L⁻¹ NaCl 重度盐胁迫(SS)处理, 调查并分析胚根长、干鲜重、发芽率等 16 项指标, 以确定大豆萌发期耐盐性鉴定的适宜筛选浓度, 筛选耐盐性大豆品种。结果表明: 萌发期各指标耐盐系数之间存在显著或极显著正相关, 根长等 13 个指标与子叶干重、平均发芽时间和平均发芽速度等存在显著或极显著负相关。16 项指标的耐盐系数可简化得到 4 个主成分, 在 S 与 SS 处理中的累计贡献率分别为 88.243% 和 80.366%。62 份材料在两种程度的盐胁迫下均被分为 5 类, S 条件下筛选出龙垦 310、黑科 68、龙垦 330、龙垦 306、龙垦 333、黑科 69 和龙垦 3002 共 7 个耐盐品种, SS 条件下筛选出 1 个耐盐品种为黑科 57。通过建立大豆萌发期耐盐性评价的回归方程, 确定了在 S 条件下的一级评价指标 6 项, 二级评价指标 3 项; SS 条件下的一级评价指标 5 项, 二级评价指标 1 项。S 处理能有效区分出不同大豆品种的耐盐性, 也更为接近生产中可能遇到的盐害程度, 可作为大豆萌发期耐盐性鉴定的适宜筛选浓度。

关键词: 大豆; 萌发期; NaCl 胁迫; 主成分分析; 耐盐性鉴定

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Salt Tolerance Identification of Soybean at Germination Stage Under Different Salt Stress Degrees

ZHANG Zhao-ning¹, LI Jiang-hui¹, ZHAO Yi-yu¹, FAN Ya-ru¹, DU Yan-li^{1,2}, HAN De-zhi³, ZHANG Yu-xian^{1,4}, DU Ji-dao^{1,2,4}

(1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. Research Center of Saline and Alkali Land Improvement Engineering Technology in Heilongjiang Province, Daqing 163319, China; 3. Heihe Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heihe 164300, China; 4. Key Laboratory of Soybean Mechanized Production, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China, Daqing 163319, China)

Abstract: In order to clarify the evaluation indicators for salt tolerance identification of soybean during germination under different degrees of salt stress, 62 soybean varieties were used as experimental materials in this experiment. During germination, moderate salt stress (S) of 75 mmol·L⁻¹ NaCl and severe salt stress (SS) of 150 mmol·L⁻¹ NaCl were conducted. Sixteen indicators, such as radicle length, dry and fresh weight, and germination rate, were investigated and analyzed to determine the appropriate screening concentration for salt tolerance identification of soybean during germination and screening salt tolerant soybean varieties. The results showed that there was a significant or extremely significant positive correlation between the salt tolerance coefficients of each index at the germination stage, and thirteen indexes such as root length were significantly or extremely significant negatively correlated with cotyledon dry weight, average germination time and average germination speed. The salt tolerance coefficients of the sixteen indexes could be simplified to obtain four principal components, and the cumulative contribution rates in S and SS were 88.243% and 80.366%, respectively. The 62 materials were divided into five categories under two degrees of salt stress, and seven salt-tolerant varieties were screened out under S conditions, including Longken 310, Heike 68, Longken 330, Longken 306, Longken 333, Heike 69 and Longken 3002, and one salt-tolerant variety of Heike 57 were screened under SS conditions. By establishing the regression equation for the evaluation of salt tolerance in the germination period of soybean, six primary evaluation indexes and three secondary evaluation indexes were determined under S condition. There were five first-level evaluation indicators and one second-level evaluation index under SS condition. S treatment could effectively distinguish the salt tolerance of different soybean varieties, and was closer to the degree of salt damage that might be encountered in production, which could be used as a suitable screening concentration for the identification of salt tolerance in the germination stage of soybean.

Keywords: soybean; germination; NaCl stress; principal component analysis; salt tolerance screening

收稿日期: 2022-11-13

基金项目: 黑龙江省“揭榜挂帅”科技攻关项目(2021ZXJ05B02); 黑龙江八一农垦大学引进人才科研启动计划基金(XYB202006); 黑龙江八一农垦大学市校融合项目(SXRH2022-03); 黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目(YJSCX2022-Y01)。

第一作者: 张兆宁(1997—), 男, 硕士研究生, 主要从事大豆耐盐碱鉴定研究。E-mail: zhangzhaoning@yeah.net。

通讯作者: 杜吉到(1973—), 男, 博士, 教授, 主要从事作物种质资源耐逆鉴定研究。E-mail: djdynd@163.com。

大豆[*Glycine max* (L.) Merrill]是世界上重要的油料作物和经济作物^[1],我国近年来对大豆进口的依赖率已达到80%以上,提高大豆单产、扩大大豆种植面积、增加大豆总产是我国大豆生产面临的主要问题。土壤盐渍化是一个日益严重的全球性问题^[2],盐害是制约作物生长的非生物因素之一^[3]。盐胁迫引起的渗透胁迫和离子毒害会影响作物正常的生理代谢,使其减产^[4-5]。大豆是中等耐盐作物,但当盐度值达到5 ds·m⁻¹时,大豆的产量会表现明显降低趋势^[6-7]。作为我国主要大豆产区的黄淮和东北地区都存在土壤盐渍化问题^[8-10]。盐碱化土壤主要由Na₂SO₄和NaCl组成,多数研究认为盐害主要是由NaCl引起^[11]。研究者普遍采用NaCl进行盐害胁迫来鉴定作物的耐盐性^[3],不同研究者在进行作物耐盐性鉴定时多选用单一浓度,且NaCl的胁迫浓度不尽相同。袁雨豪等^[12]用1% NaCl溶液对糜子耐盐性进行评价,选出11份萌发期高度耐盐品种资源;金杭霞等^[13]在萌发期选用120 mmol·L⁻¹ NaCl溶液处理大豆,选出30份耐盐品种。

作物种子萌发期的耐盐能力是决定其能否在盐渍化土壤上种植的最基本因素,筛选出萌发期耐盐的作物品种是利用盐渍化土壤进行农业生产的重要环节^[14-15]。不同盐胁迫程度对大豆的影响程度不同,其耐盐性评价指标也需有所调整。本研究对62份大豆品种在萌发期进行不同程度盐胁迫,调查16个相关指标,利用隶属函数分析、主成分分析和聚类分析等方法,确定大豆萌发期不同程度盐胁迫下的评价指标,筛选耐盐大豆品种,明确适宜的筛选浓度,可为大豆耐盐品种的鉴定提供科学的方法,为盐碱地种植大豆提供品种支持。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种62个,由黑龙江八一农垦大学遗传研究室提供,具体品种信息详见附表1。

1.2 试验设计

试验于2021年4月在国家杂粮工程技术研究中心进行。以蒸馏水为对照,设置75 mmol·L⁻¹ NaCl溶液为中度盐胁迫(S),150 mmol·L⁻¹ NaCl溶液为重度盐胁迫(SS)。大豆种子用5%次氯酸钠溶液浸泡5 min后用蒸馏水冲洗3次,将冲洗后的种子摆放在铺有双层滤纸的培养皿(Φ=90 mm)中,每皿均匀摆放15粒,种子上面覆盖1层滤纸,每皿按处理要求加入10 mL液体,3次重复。培养皿放置在25℃恒温

培养箱中黑暗培养7 d。

1.3 调查指标及方法

每天调查发芽数至第7天。计算发芽势(Germination Energy, GE), $GE/\% = \text{第4天发芽种子个数} / \text{供试种子个数} \times 100$;发芽率(Germination Rate, GR), $GR/\% = \text{第7天发芽种子个数} / \text{供试种子个数} \times 100$;发芽指数(Germination Index, GI), $GI = \sum (Gt / Dt)$, (Gt 为第 t 天的发芽种子个数, Dt 为相应的发芽天数);种子萌发指数(Seed Germination Coefficient, SGC), $SGC = 1.00 \times nd_2 + 0.70 \times nd_4 + 0.30 \times nd_6$, (nd_2, nd_4, nd_6 分别指第2,4,6天的种子发芽率);平均发芽时间(Mean Germination Time, MGT), $MGT = \sum (Gt \times Tt) / \sum Gt$, (Gt 为在不同时间的发芽数, Tt 为发芽天数);平均发芽速度(Average Germination Speed, AGS), $AGS = \sum (D \times n) / \sum n$, (D 为从种子放置到培养皿开始计算的天数, n 为相应各天发芽种子数)。第7天选取有代表性的3个豆芽测量其总鲜重(Total Fresh Weight, TFW)、胚根鲜重(Radicle Fresh Weight, RFW)、子叶鲜重(Cotyledon Fresh Weight, CFW)、胚根长(Radicle Length, RL)。将样品置于80℃烘箱中烘至恒重,测定其总干重(Total Dry Weight, TDW)、胚根干重(Radicle Dry Weight, RDW)、子叶干重(Cotyledon Dry Weight, CDW)。计算相对含水量(Relative Water Content, RWC), $RWC/\% = (TFW - TDW) / TFW \times 100$,计算根冠比(Root/Shoot ratio, R/S), $R/S = RDW / CDW$,计算活力指数(Vigor Index, VI), $VI = GI \times RFW$ 。

用多元线性逐步回归方程对以上指标进行耐盐性评价。评价指标及公式如下:

耐盐系数(Salt tolerance Coefficient, SC) = 处理值/对照值。

隶属度 $\mu(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$, $i = 1, 2, \dots, n$,式中, X_i 为第 i 个综合指标, X_{\min} 为第 i 个综合指标的最小值, X_{\max} 为第 i 个综合指标的最大值。

综合指标权重(w_i) = $p_i / (\sum p_i)$, $i = 1, 2, \dots, n$,式中, w_i 为第 i 个综合指标在所有综合指标中的权重, p_i 为各品种第 i 个综合指标的贡献率。

综合评价(D值) = $\sum [\mu(X_i) \times w_i]$, $i = 1, 2, \dots, n$,式中, D 值为盐胁迫下使用综合指标计算所得的品种耐盐性综合评价。

1.4 数据分析

使用Excel 2016对数据进行整理和分析,使用SPSS 26.0软件进行主成分分析、聚类分析和相关性分析等。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对大豆发芽指标的影响

由表 1 可知,与对照相比,S 处理大豆的总干重、子叶鲜重、子叶干重、平均发芽时间和平均发芽速度均增加,其余 11 个性状均值均降低;与对照相比较,SS 处理总干重、子叶干重、平均发芽时间和平均发芽

速度均增加,其余 12 个性状均值均降低。
由表 2 可知,在两种程度的盐胁迫下,活力指数的耐盐系数最低,分别为 0.63 和 0.19,较对照分别下降了 37.45% 和 80.81%,表明活力指数是大豆萌发期对盐胁迫最敏感的性状。与对照相比较,S 和 SS 处理下的总干重、子叶干重、平均发芽时间、平均发芽速度均增加。

表 1 不同程度胁迫下大豆萌发期的各项指标
Table 1 Indicators of soybean germination period under different degrees of stress

性状 Trait	CK	S	SS
胚根长 RL/mm	131.24 ±48.38 a	98.37 ±32.57 b	33.86 ±7.99 c
总鲜重 TFW/g	0.83 ±0.16 a	0.81 ±0.12 b	0.58 ±0.06 c
总干重 TDW/g	0.16 ±0.02 c	0.17 ±0.02 b	0.18 ±0.03 a
胚根鲜重 RFW/g	0.34 ±0.14 a	0.26 ±0.09 b	0.10 ±0.02 c
胚根干重 RDW/g	0.03 ±0.01 a	0.02 ±0.01 b	0.01 ±0.00 c
子叶鲜重 CFW/g	0.49 ±0.09 b	0.55 ±0.09 a	0.48 ±0.06 c
子叶干重 CDW/g	0.13 ±0.03 c	0.15 ±0.02 b	0.17 ±0.03 a
相对含水量 RWC	0.80 ±0.05 a	0.79 ±0.04 b	0.69 ±0.04 c
根冠比 R/S	0.21 ±0.09 a	0.14 ±0.06 b	0.06 ±0.02 c
发芽率 GR	0.92 ±0.12 a	0.88 ±0.12 b	0.84 ±0.16 c
发芽势 GE	0.90 ±0.14 a	0.85 ±0.14 b	0.76 ±0.21 c
种子萌发指数 SGC	1.72 ±0.33 a	1.39 ±0.36 b	1.17 ±0.48 c
平均发芽时间 MGT	4.37 ±0.23 c	4.72 ±0.18 b	4.90 ±0.30 a
平均发芽速度 AGS	1.84 ±0.58 c	2.57 ±0.49 b	3.01 ±0.74 a
发芽指数 GI	25.26 ±7.39 a	17.28 ±4.71 b	15.03 ±5.80 c
活力指数 VI	8.45 ±3.46 a	4.72 ±2.39 b	1.48 ±0.77 c

注:经 Duncan 多重检验,不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著($n = 3$)。下同。
Note: Duncan multiple test, different lowercase indicate significant differences at $P < 0.05$ ($n = 3$). The same below.
RL: Radicle length; TFW:Total fresh weight; TDW:Total dry weight; RFW:Radicle fresh weight; RDW:Radicle dry weight; CFW:Cotyledon fresh weight; CDW:Cotyledon dry weight; RWC:Relative water content; R/S:Root/shoot ratio; GR:Germination rate; GE:Germination energy; SGC:Seed germination coefficient; MGT:Mean germination time; AGS:Average germination speed; GI:Germination index; VI:Vigor index; S:75 mmol·L⁻¹; SS:150 mmol·L⁻¹. The same below.

表 2 不同程度盐胁迫下各项指标耐盐系数的变化
Table 2 Changes in salt tolerance coefficients of various indexes under different degrees of salt stress

性状 Trait	S 耐盐系数 SC of S treatment	SS 耐盐系数 SC of SS treatment	性状 Trait	S 耐盐系数 SC of S treatment	SS 耐盐系数 SC of SS treatment
胚根长 RL	0.86 ±0.45 ef	0.29 ±0.12 l	根冠比 R/S	0.79 ±0.41 g	0.36 ±0.20 k
总鲜重 TFW	1.01 ±0.23 d	0.71 ±0.11 g	发芽率 GR	0.97 ±0.14 d	0.92 ±0.14 e
总干重 TDW	1.07 ±0.10 c	1.13 ±0.10 c	发芽势 GE	0.95 ±0.19 d	0.84 ±0.19 f
胚根鲜重 RFW	0.89 ±0.44 e	0.32 ±0.12 l	种子萌发指数 SGC	0.82 ±0.21 fg	0.67 ±0.21 h
胚根干重 RDW	0.85 ±0.34 efg	0.44 ±0.19 j	平均发芽时间 MGT	1.08 ±0.05 bc	1.12 ±0.05 c
子叶鲜重 CFW	1.13 ±0.18 b	0.98 ±0.11 d	平均发芽速度 AGS	1.49 ±0.39 a	1.70 ±0.37 a
子叶干重 CDW	1.14 ±0.16 b	1.29 ±0.15 b	发芽指数 GI	0.72 ±0.23 h	0.59 ±0.15 i
相对含水量 RWC	0.99 ±0.06 d	0.86 ±0.04 f	活力指数 VI	0.63 ±0.35 i	0.19 ±0.09 m

2.2 主成分分析

16 个指标耐盐系数的主成分分析结果如表 3 所示,在 S 处理中,以特征值大于 1 为阈值将原有的 16

个单项指标转换成 4 个新的独立综合指标(主成分),贡献率分别为 39.139%、28.196%、11.565% 和 9.342%,累计贡献率 88.243%,说明这 4 个主成分

可解释绝大部分变异。CI₁主要由胚根长、总鲜重、胚根鲜重、胚根干重、根冠比和活力指数决定,说明在S条件下,大豆根部性状可作为评价和鉴定中度耐盐性的重要指标;CI₂主要描述种子萌发指数和发芽指数,反映了中度盐胁迫下的综合萌发情况;CI₃主要由总干重、子叶鲜重和子叶干重决定,反映了地上部的生长情况;CI₄主要由发芽率、发芽势、平均发芽时间和平均发芽速度决定,反映了发芽情况。

在SS处理中,特征值大于1的4个主成分贡献

率分别为39.876%、20.110%、11.937%和8.443%,累计贡献率80.366%。CI₁主要由胚根长、总鲜重、胚根鲜重、胚根干重、根冠比和活力指数决定,说明在SS条件下,大豆根部性状可作为评价耐盐性的重要指标;CI₂主要描述发芽率、发芽势、种子萌发指数和发芽指数,反映了在重度盐胁迫下的综合萌发情况;CI₃主要描述总干重、子叶鲜重和子叶干重,反映了地上部的生长情况;CI₄描述了平均发芽速度,反映出发芽的快慢。两种浓度处理的情况基本一致。

表3 萌发期各主成分的因子得分及贡献率

Table 3 Factor score and contribution rate of each principal component in the germination period

项目 Item	性状 Trait	S				SS			
		CI ₁	CI ₂	CI ₃	CI ₄	CI ₁	CI ₂	CI ₃	CI ₄
特征向量 Eigenvector	胚根长 RL	0.327	0.096	-0.074	0.089	0.779	-0.316	0.172	0.027
	总鲜重 TFW	0.361	0.007	0.230	0.154	0.713	-0.320	0.408	0.006
	总干重 TDW	-0.181	0.106	0.576	0.043	-0.145	0.269	0.840	-0.217
	胚根鲜重 RFW	0.383	0.064	0.065	0.031	0.869	-0.377	0.162	0.025
	胚根干重 RDW	0.315	0.148	0.138	-0.195	0.777	-0.426	0.192	-0.014
	子叶鲜重 CFW	0.110	-0.065	0.595	0.145	-0.076	0.078	0.507	-0.474
	子叶干重 CDW	-0.295	0.032	0.443	0.051	-0.481	0.465	0.595	-0.215
	相对含水量 RWC	0.365	-0.055	0.101	0.079	0.543	-0.381	-0.040	-0.258
	根冠比 R/S	0.333	0.140	0.001	-0.228	0.771	-0.450	0.071	0.063
	发芽率 GR	-0.079	0.333	-0.087	0.450	0.419	0.611	0.153	0.458
	发芽势 GE	-0.074	0.385	-0.081	0.388	0.598	0.631	0.121	0.338
	种子萌发指数 SGC	-0.026	0.404	-0.065	0.229	0.562	0.656	0.057	0.218
	平均发芽时间 MGT	0.090	-0.339	-0.065	0.491	-0.569	-0.449	0.340	0.497
	平均发芽速度 AGS	0.100	-0.347	-0.064	0.445	-0.485	-0.382	0.386	0.581
	发芽指数 GI	-0.120	0.435	-0.020	-0.022	0.653	0.706	-0.149	-0.071
	活力指数 VI	0.309	0.280	0.001	-0.011	0.963	0.053	0.008	-0.022
特征根 Eigenvalue		2.502	2.124	1.360	1.223	2.526	1.794	1.382	1.162
贡献率 Contribution/%		39.139	28.196	11.565	9.342	39.876	20.110	11.937	8.443
累计贡献率 Cumulative contribution/%		39.139	67.335	78.901	88.243	39.876	59.985	71.923	80.366

2.3 隶属函数分析

根据主成分分析得出的4个主成分因子得分计算62份大豆萌发期各性状的隶属度[(X_n)]及综合评价(D值)(附表2)。在S条件下,D值最大为0.735(龙垦310),最小为0.233(华疆2号);在SS条件下,D值最大为0.718(黑科57),最小为0.176(黑河38)。综合指标权重计算结果表明,S处理的4个综合指标的权重分别为0.444,0.319,0.131和0.106;SS处理的权重分别为0.496,0.250,0.149和0.105。

2.4 聚类分析

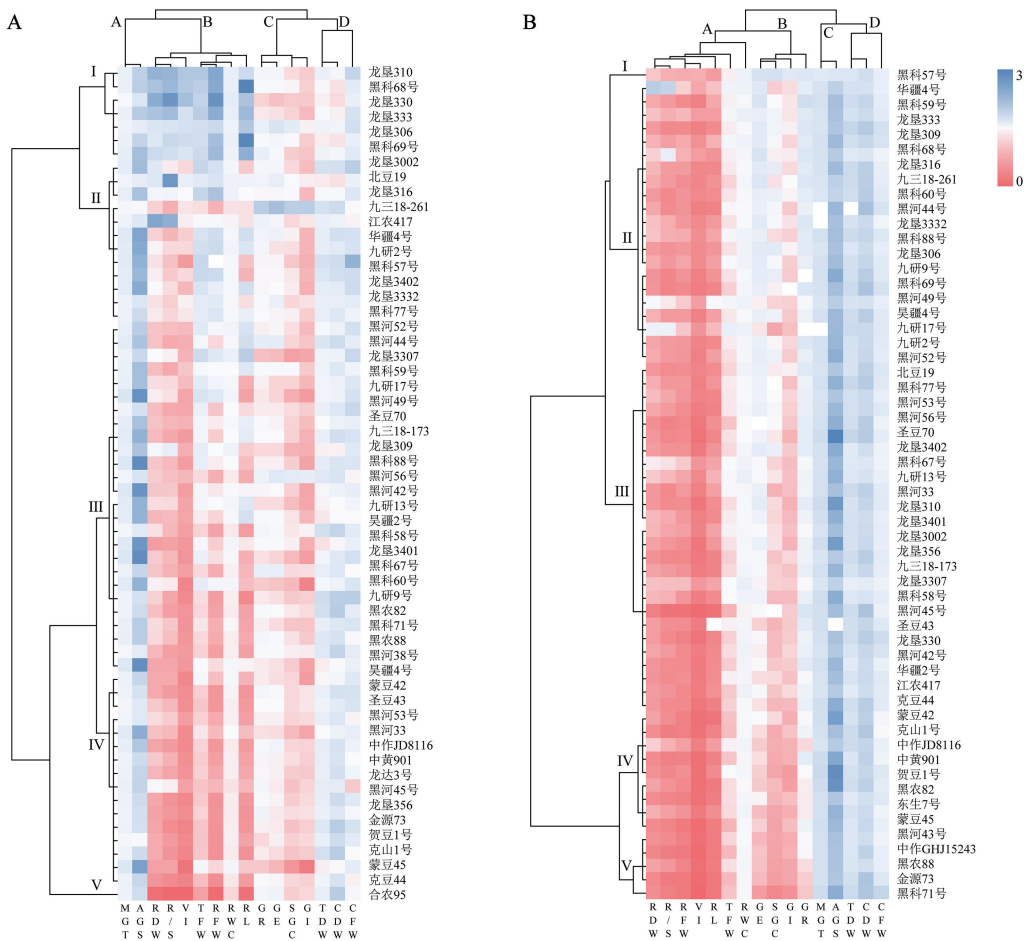
根据D值利用组间联接法进行聚类分析(附表2、图1),在平方欧氏距离4处,把62份材料分为5类。S处理条件下,7份材料为极耐盐种质(I),12份为耐盐种质(II),26份为中间型种质(III),16份为敏感型种质(IV),1份为极敏感型种质(V);SS处理

条件下,1份材料为极耐盐种质(I),21份为耐盐种质(II),26份为中间型种质(III),9份为敏感型种质(IV),5份为极敏感型种质(V);综合条件下,9份材料为极耐盐种质(I),14份为耐盐种质(II),15份为中间型种质(III),10份为敏感型种质(IV),14份为极敏感型种质(V)。

层次聚类分析热图如图1所示,在S和SS条件下的各项指标可聚为相同的4组,A/C组为平均发芽时间和根冠比,B/A组为胚根干重、根冠比、活力指数、总鲜重、胚根鲜重、相对含水量和胚根长,C/B组为发芽率、发芽势、种子萌发指数和发芽指数,D/D组为总干重、子叶干重和子叶鲜重。62个品种根据D值大小自上而下减小排列。S处理下,B组中的胚根干重、根冠比、活力指数、总鲜重、胚根鲜重和胚根长6个指标随D值大小呈明显下降趋势。与S处理比较,SS的品种间各指标耐盐指数差异变

小,表明大豆的各项萌发指标在重度盐胁迫下均受到了严重影响,导致指标间的差异性响应变小;SS的发芽势、种子萌发指数、发芽指数和发芽率 4 个指

标随 D 值变小呈明显下降趋势。活力指数和平均发芽速度相较于其他指标变化更明显,表明这两个指标对于大豆萌发期盐胁迫更加敏感。



注: A. S 条件下的层次聚类分析热图;B. SS 条件下的层次聚类分析热图。缩写同表 1。

Note: A. Hierarchical cluster analysis heat map under S condition; B. Hierarchical cluster analysis heat map under SS condition. Abbreviations are the same as those given in table 1.

图 1 62 个大豆品种的层次聚类分析热图

Fig. 1 Hierarchical cluster analysis heat map of 62 soybean varieties

2.5 多元线性逐步回归分析及综合评价

在 S 条件下的最优回归方程: $D'_{(S)} = 0.472 + 0.177 \times VI + 0.193 \times TFW - 0.530 \times RWC + 0.044 \times RL + 0.054 \times RDW + 0.018 \times AGS + 0.064 \times CFW + 0.060 \times GE - 0.054 \times GI$, $R^2 = 0.941$ ($P < 0.001$), 表明这个方程可以解释 S 条件下耐盐性综合指标值的 94.1% 的变异。依据各单项指标与 D 值的相关性分析(表 4、表 5),活力指数、总鲜重、相对含水量、胚根长、胚根干重和子叶鲜重可作为评价 S 条件下的大豆萌发期耐盐性的一级指标,平均发芽速

度、发芽势和发芽指数作为二级指标。在 SS 条件下的最优回归方程: $D'_{(SS)} = 0.288 + 0.134 \times GE + 0.308 \times RFW + 0.179 \times SGC + 0.201 \times TDW + 0.181 \times GR + 0.125 \times RL$, $R^2 = 0.814$ ($P < 0.001$), 表明这个方程可以解释 SS 条件下耐盐性综合指标值 81.4% 的变异。结合表 5 可得,发芽势、胚根鲜重、种子萌发指数、发芽率和胚根长可作为评价 SS 条件下大豆萌发期耐盐性的一级指标,总干重作为二级指标。S 处理的 R^2 大于 SS 处理,表明 S 比 SS 处理能更有效地区分 62 份大豆品种萌发期的耐盐性。

表 4 S 处理下大豆萌发期各性状耐盐系数的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of salt tolerance coefficient at soybean germination stage under S treatment

性状 Trait	胚根长 RL	总鲜重 TFW	总干重 TDW	胚根鲜重 RFW	胚根干重 RDW	子叶鲜重 CFW	子叶干重 CDW	相对含水量 RWC	根冠比 R/S	发芽率 GR	发芽势 GE	种子萌发 指数 SGC	平均发芽 时间 MGT	平均发芽 速度 AGS	发芽 指数 GI	活力 指数 VI	D 值 D value
胚根长 RL	1																
总鲜重 TFW	0.71**	1															
总干重 TDW	-0.37*	-0.17*	1														
胚根鲜重 RFW	0.81**	0.91**	-0.30**	1													
胚根干重 RDW	0.60**	0.69**	-0.06	0.81**	1												
子叶鲜重 CFW	0.11	0.54*	0.34*	0.26**	0.19*	1											
子叶干重 CDW	-0.58**	-0.49**	0.87**	-0.61**	-0.45**	0.19**	1										
相对含水量 RWC	0.71**	0.91**	-0.40*	0.86**	0.59**	0.47**	-0.62**	1									
根冠比 R/S	0.63**	0.67**	-0.28**	0.81**	0.93**	0.10	-0.61**	0.64**	1								
发芽率 GR	0.02	-0.13	0.22**	-0.09	-0.01	-0.18*	0.16*	-0.26**	-0.05	1							
发芽势 GE	0.06	-0.10	0.19**	-0.07	-0.02	-0.14	0.14	-0.23**	-0.03	0.86**	1						
种子萌发指数 SGC	0.15*	0.01	0.12	0.06	0.06	-0.11	0.05	-0.08	0.07	0.67**	0.84**	1					
平均发芽时间 MGT	0.09	0.26**	-0.25**	0.14	-0.13	0.14	-0.22**	0.28**	-0.13	-0.19**	-0.32**	-0.51**	1				
平均发芽速率 AGS	0.10	0.27**	-0.27**	0.17*	-0.11	0.13	-0.23**	0.31**	-0.11	-0.26**	-0.41**	-0.49**	0.94**	1			
发芽指数 GI	-0.08	-0.27*	0.30**	-0.18*	0.05	-0.20**	0.25**	-0.38**	0.03	0.69**	0.79**	0.81**	-0.75**	-0.75**	1		
活力指数 VI	0.75**	0.71**	-0.19**	0.85**	0.80**	0.09	-0.50**	0.61**	0.81**	0.26**	0.32**	0.44**	-0.25**	-0.24**	0.32**	1	
D 值 D value	0.79**	0.85**	-0.12	0.90**	0.81**	0.29**	-0.48**	0.70**	0.79**	0.16*	0.19*	0.26**	-0.01	0.00	0.08	0.91**	1

注:经 Duncan 多重检验, * 表示在 $P<0.05$ 水平差异显著($n=3$), ** 表示在 $P<0.01$ 水平差异显著($n=3$)。下同。
Note: Duncan multiple test, * indicates significant difference at the $P<0.05$ level($n=3$), ** indicates significant difference at the $P<0.01$ level ($n=3$). The same below.

表 5 SS 处理下大豆萌发期各性状耐盐系数的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of salt tolerance coefficient of soybean germination stage under SS treatment

性状 Trait	胚根长 RL	总鲜重 TFW	总干重 TDW	胚根鲜重 RFW	胚根干重 RDW	子叶鲜重 CFW	子叶干重 CDW	RWC	根冠比 R/S	发芽率 GR	发芽势 GE	种子萌发 指数 SCC	平均发芽 时间 MGT	平均发芽 速度 AGS	发芽 指数 GI	活力 指数 VI	D 值 D value
胚根长 RL	1																
总鲜重 TFW	0.69**	1															
总干重 TDW	-0.06	0.14	1														
胚根鲜重 RFW	0.82**	0.80**	-0.09	1													
胚根干重 RDW	0.72**	0.67**	-0.02	0.84**	1												
子叶鲜重 CFW	-0.06	0.14	0.32**	-0.07	-0.06	1											
子叶干重 CDW	-0.39**	-0.33**	0.79**	-0.47**	-0.40**	0.29**	1										
相对含水量 RWC	0.50**	0.49**	-0.24**	0.57**	0.44**	0.17*	-0.44**	1									
根冠比 R/S	0.67**	0.63**	-0.14	0.83**	0.94**	-0.14	-0.50**	0.44**	1								
发芽率 GR	0.15*	0.14	0.09	0.13	0.08	-0.01	0.05	0.01	0.10	1							
发芽势 GE	0.29**	0.27**	0.08	0.29**	0.20**	-0.02	-0.02	0.04	0.21**	0.77**	1						
种子萌发指数 SGC	0.25**	0.27**	0.06	0.28**	0.13	-0.02	-0.01	0.00	0.08	0.61**	0.83**	1					
平均发芽时间 MGT	-0.26**	-0.13	0.09	-0.28**	-0.21**	0.06	0.13	-0.20**	-0.18*	-0.15*	-0.38**	-0.55**	1				
平均发芽速率 AGS	-0.17*	-0.06	0.12	-0.19*	-0.20**	0.00	0.14	-0.19*	-0.20**	-0.15*	-0.30**	-0.28**	0.81**	1			
发芽指数 GI	0.24**	0.16*	-0.02	0.26**	0.18*	-0.02	-0.06	0.15*	0.19*	0.71**	0.77**	0.75**	-0.75**	-0.68**	1		
活力指数 VI	0.71**	0.65**	-0.11	0.85**	0.72**	-0.08	-0.40**	0.47**	0.72**	0.41**	0.58**	0.56**	-0.57**	-0.49**	0.67**	1	
D 值 D value	0.54**	0.53**	0.18*	0.57**	0.46**	0.01	-0.06	0.17*	0.42**	0.64**	0.78**	0.75**	-0.40**	-0.20**	0.65**	0.73**	1

3 讨论

作物生长发育的不同阶段对盐胁迫的响应机制不同^[16-17]。萌发期是播种之后作物生长的第一阶段。有研究者把发芽势和发芽率作为萌发期耐性研究的最基本指标^[18],也有研究者将发芽势、发芽率、胚芽鞘长、根长、芽长、根重和芽重作为种质资源耐受性的鉴定指标^[12]。综合前人的研究结果,调查了包括总鲜重、总干重、胚根鲜重、胚根干重、子叶鲜重、子叶干重、胚根长、相对含水量、根冠比、发芽率、发芽势、种子萌发指数、平均发芽时间、平均发芽速度、发芽指数及活力指数 16 个萌发期指标,研究结果表明,在盐胁迫程度由 S 变为 SS 条件下,胚根长、胚根鲜重和活力指数的下降幅度最大,分别为 65.579%、61.538% 和 68.644%,说明在芽期对盐胁迫敏感的部位是胚根;与对照相比较,总鲜重与子叶鲜重的耐盐系数(1.008,1.131)在 S 中的平均值有所增加,在 SS 中降低(0.708,0.984)。通过主成分分析法,16 个指标在 S 与 SS 处理下均可分为 4 个主成分,总贡献率分别为 88.243% 和 80.366%。本研究利用 D 值来表示不同大豆品种的综合耐盐性情况,通过聚类分析把 62 个大豆品种分为 5 类,S 条件下耐盐品种 7 个,较耐盐品种 12 个;SS 条件下耐盐品种 1 个,较耐盐品种 21 个。

目前,研究者采用的萌发期耐性的评价体系不尽相同。前人采用胁迫指数法来筛选大豆萌发期耐盐碱品种,在 80 mmol·L⁻¹混合盐碱下,运用 3 个指标的盐碱胁迫指数把 887 份大豆品种分为 5 个等级,并选出耐性以上的大豆资源 296 份^[19];在 1.2% NaCl 条件下进行 120 份大豆芽期耐盐鉴定,根据相对盐害率来判断耐盐性,以 20% 为 1 级,共设 5 个等级,选出耐盐品种 2 份^[20];在 0.7% NaCl 条件下进行花生芽期耐盐筛选试验,研究者根据整个体系的性状表现,根据露白率与发芽率耐盐标准进行双重认定来确定品种耐盐性^[21];另有研究者采用隶属函数法进行 30 份绿豆萌发期耐盐碱筛选,结合 12 个指标的综合表现,根据组间联接距离聚类法进行耐盐等级分类,选出 5 份萌发期耐盐碱绿豆^[22]。胁迫指数法通过比较胁迫条件和未胁迫条件下的生长情况对每个品种的绝对耐盐性进行评价。隶属函数法在限定的系统内区分每个品种的相对耐盐性,根据综合性状在特定群体中评估综合耐盐能力的差异,选出的品种可能是绝对耐盐性强、综合性状好的品种,但更可能是综合性状较好、绝对耐盐性不一定最强的品种,这类材料往往可作为育种上的优异亲本加以应用,也可能整个群体的耐盐性不

强,即使选出了其中相对耐盐的个体,但也没有实际应用价值。简言之,胁迫指数法根据设定好的标准,划分品种的耐性类型;隶属函数法相反,在本体系内,先利用聚类法进行分类,得出划分标准。两种方法各有优缺点,可根据鉴定条件或时期的不同而采取不同的鉴定方法。

本研究通过隶属函数法进行耐盐性筛选,根据多元线性逐步回归分析得出中、重度盐胁迫下的一级和二级评价指标,中度盐胁迫下一级评价指标有活力指数、总鲜重、相对含水量、胚根长、胚根干重和子叶鲜重共 6 项,二级评价指标有平均发芽速度、发芽势和发芽指数共 3 项;重度盐胁迫下一级评价指标有发芽势、胚根鲜重、种子萌发指数、发芽率和胚根长共 5 项,二级评价指标为总干重 1 项。在重度盐胁迫下,活力指数没有被作为耐盐性评价指标,原因是盐浓度过高,对大豆萌发造成的伤害普遍过大,导致品种间的差异不能很好地体现。综合来看,相比较于重度盐胁迫,中度盐胁迫更为接近实际生产中可能存在的胁迫条件,也更能有效地区分不同大豆品种间萌发期耐盐能力的差异,是进行大豆品种萌发期耐盐性筛选的适宜浓度。中度盐胁迫与重度盐胁迫评价指标的共有性状为发芽势和胚根长。综合前人的研究结果,可将活力指数、发芽势和胚根长作为在 NaCl 胁迫下的大豆萌发期耐盐性的主要评价指标。

4 结论

不同程度盐胁迫条件下,耐盐性鉴定的指标权重及筛选结果不同,75 mmol·L⁻¹NaCl 的盐胁迫能有效区分出不同大豆品种的耐盐性,更符合实际生产中可能遇到的盐害程度,是筛选萌发期耐盐大豆资源的适宜浓度。在 75 mmol·L⁻¹NaCl 下,活力指数、总鲜重、相对含水量、胚根长、胚根干重和子叶鲜重可作为鉴定的一级评价指标,62 份参试大豆品种划分为 5 类,鉴定出耐盐品种有龙垦 310、黑科 68、龙垦 330、龙垦 306、龙垦 333、黑科 69 和龙垦 3002 共 7 个,较耐盐品种有北豆 19、龙垦 316、九三 18-261、江农 417、华疆 4 号、九研 2 号、黑科 57、龙垦 3402、龙垦 3332、黑科 77、黑河 52 和黑河 44 共 12 个;在 150 mmol·L⁻¹NaCl 下,发芽势、胚根鲜重、种子萌发指数、发芽率和胚根长可作为鉴定的一级评价指标,62 份参试大豆品种划分为 5 类,其中耐盐品种只有黑科 57,较耐盐品种有华疆 4 号、黑科 59、龙垦 333、龙垦 309、黑科 68、龙垦 316、九三 18-261、黑科 60、黑河 44 号、龙垦 3332、黑科 88、龙垦 306、九研 9 号、黑科 69、黑河 49、昊疆 4 号、九研 17、

九研2号、黑河52、北豆19和黑科77共21个。并得出活力指数、发芽势和胚根长可作为大豆萌发期耐盐性筛选的主要评价指标。

参考文献

[1] YAN C J, SONG S H, WANG W B, et al. Screening diverse soybean genotypes for drought tolerance by membership function value based on multiple traits and drought-tolerant coefficient of yield[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 1-15.

[2] EVA V Z, YAN X Z, CHRISTA T. Salt tolerance mechanisms of plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2020, 71: 403-433.

[3] RAVELOMBOLA W, DONG L D, BARICKMAN T C, et al. Evaluation of salt tolerance in cowpea at seedling stage[J]. Euphytica, 2021, 217(6): 1-20.

[4] YANG Y Q, GUO Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses[J]. New Phytologist, 2018, 217(2): 523-539.

[5] YANG Y Q, GUO Y. Unraveling salt stress signaling in plants[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2018, 60(9): 58-66.

[6] ASHRAF M Y, WU L. Breeding for salinity tolerance in plants[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1994, 13(1): 17-42.

[7] 张威, 廖锡良, 喻德跃, 等. 大豆耐盐性研究进展[J]. 土壤与作物, 2018, 7(3): 284-292. (ZHANG W, LIAO X L, YU D Y, et al. A review of salt tolerance in soybean (*Glycine max* L. Merrill)[J]. Soils and Crops, 2018, 7(3): 284-292.)

[8] 弟文静. 大豆芽期耐盐碱性评价及相关等位变异的发掘[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2021. (DI W J. Evaluation of salt and alkaline tolerance in soybean germination stage and discovery of related allelic variation [D]. Harbin: Heilongjiang University, 2021: 1-2.)

[9] 郭天宝. 中国大豆生产困境与出路研究[M]. 北京: 中国社会科学出版社, 2017. (GUO T B. Study on dilemma and way out of China's soybean production [M]. Beijing: China Social Sciences Press, 2017.)

[10] 郭蓓, 邱丽娟, 邵桂花, 等. 大豆耐盐性种质的分子标记辅助鉴定及其利用研究[J]. 大豆科学, 2002, 21(1): 56-61. (GUO B, QIU L J, SHAO G H, et al. Markers-assisted identification of the salt tolerant accessions in soybean [J]. Soybean Science, 2002, 21(1): 56-61.)

[11] 张慧芳, 闫海冰, 冯帆, 等. 不同盐分处理对唐古特白刺超微结构及生长、生理指标的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2021, 35(6): 161-169. (ZHANG H F, YAN H B, FENG F, et al. Effects of salt stress on ultrastructure, growth and physiological indexes of *Nitraria tangutorum* [J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2021, 35(6): 161-169.)

[12] 袁雨豪, 杨清华, 党科, 等. 糜子资源耐盐性评价与盐胁迫生理响应[J]. 中国农业科学, 2019, 52(22): 4066-4090. (YUAN Y H, YANG Q H, DANG K, et al. Salt-tolerance evaluation and physiological response of salt stress of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(22): 4066-4090.)

[13] 金杭霞, 郭丹丹, 杨清华, 等. 利用模糊隶属函数法综合评价大豆萌发期耐盐性[J]. 分子植物育种, 2020, 19(24): 8265-

8271. (JIN H X, GUO D D, YANG Q H, et al. Comprehensive evaluation of salt tolerance in soybean germination period by fuzzy membership function method [J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 19(24): 8265-8271.)

[14] 陈二影, 王润丰, 秦岭, 等. 谷子芽期耐盐碱综合鉴定及评价[J]. 作物学报, 2020, 46(10): 1591-1604. (CHEN E Y, WANG R F, QIN L, et al. Comprehensive identification and evaluation of foxtail millet for saline-alkaline tolerance during germination [J]. Acta Agronomica Sinica, 2020, 46(10): 1591-1604.)

[15] 徐恒恒, 黎妮, 刘树君, 等. 种子萌发及其调控的研究进展[J]. 作物学报, 2014, 40(7): 1141-1156. (XU H H, LI N, LIU S J, et al. Research progress in seed germination and its control [J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(7): 1141-1156.)

[16] 李娜娜, 张煜, 王俊峰, 等. 栽培大豆种资源耐盐性的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(27): 6-11. (LI N N, ZHANG Y, WANG J F, et al. Advances in studies of salt tolerance in cultivated soybean [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(27): 6-11.)

[17] 张金霞, 董德坤, 胡兴旺, 等. 三个大豆品种萌发期和苗期的耐盐性比较[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(7): 1101-1107. (ZHANG J X, DONG D K, HU X W, et al. Research on salt tolerance of three soybean varieties at both germination and seedling stage [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2016, 28(7): 1101-1107.)

[18] 宝力格, 陆平, 史梦莎, 等. 中国高粱地方种质芽期苗期耐盐性筛选及鉴定[J]. 作物学报, 2020, 46(5): 734-753. (BAO L G, LU P, SHI M S, et al. Screening and identification of Chinese sorghum landraces for salt tolerance at germination and seedling stages [J]. Acta Agronomica Sinica, 2020, 46(5): 734-753.)

[19] 韩毅强, 高亚梅, 杜艳丽, 等. 大豆耐盐碱种质资源鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(6): 1016-1024. (HAN Y Q, GAO Y M, DU Y L, et al. Identification of saline-alkali tolerant germplasm resources of soybean during the whole growth stage [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2021, 43(6): 1016-1024.)

[20] 严勇亮, 张金波, 路子峰, 等. 大豆种质资源耐盐性鉴定与评价[J]. 新疆农业科学, 2021, 58(1): 65-71. (YAN Y L, ZHANG J B, LU Z F, et al. Salt tolerance evaluation of soybean germplasm [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2021, 58(1): 65-71.)

[21] 李晓婷, 胡畅丽, 李鑫, 等. 花生萌发期耐盐性鉴定及耐盐种质筛选[J]. 花生学报, 2022, 51(4): 35-43. (LI X T, HU C L, LI X, et al. Identification and screening of salt-tolerance peanut cultivars during germination stage [J]. Journal of Peanut Science, 2022, 51(4): 35-43.)

[22] 于崧, 郭潇潇, 梁海芸, 等. 不同基因型绿豆萌发期耐盐碱性分析及其鉴定指标的筛选[J]. 植物生理学报, 2017, 53(9): 1629-1639. (YU S, GUO X X, LIANG H Y, et al. Analysis of saline-alkaline tolerance and screening of identification indicators at the germination stage among different mung bean genotypes [J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(9): 1629-1639.)