

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2022.12.003

甘蓝型油菜种质资源苗期耐湿性 综合评价与筛选

唐章林^{1,2}, 王霖^{1,2}, 张娅茹^{1,2}, 朱丽^{1,2},
唐钟林^{1,2}, 荆蓉蓉¹, 李阳阳^{1,2}

1. 西南大学 农学与生物科技学院, 重庆 400715; 2. 西南大学 农业科学研究院, 重庆 400715

摘要: 近年来, 我国长江流域冬油菜主产区湿害频发, 甘蓝型油菜种质资源的耐湿性综合评价研究较少. 该研究利用 200 份甘蓝型油菜种质资源, 采用盆栽方式进行苗期湿害胁迫和正常灌溉, 测定了绿叶数、地上部鲜质量、地上部干质量、可溶性糖质量分数、可溶性蛋白质质量分数、丙二醛质量分数、过氧化物酶活性和超氧化物歧化酶活性, 基于耐湿系数, 通过聚类分析、主成分分析、隶属函数分析和灰色关联度分析方法进行了耐湿性综合评价. 结果表明: 湿害胁迫显著降低了甘蓝型油菜苗期绿叶数、地上部鲜质量、地上部干质量、可溶性蛋白质质量分数和超氧化物歧化酶活性, 显著升高了丙二醛质量分数、可溶性糖质量分数和过氧化物酶活性; 200 份种质资源被划分为 8 个类群, 各类群间的耐湿相关性状存在显著差异; 筛选出湿害敏感材料 07191, 9F087, 97096, 1472, CY13PXW-17 和 07094, 耐湿材料阳光 198, 01111 和 CY19PXW-65, 为油菜耐湿性新品种培育和耐湿机理研究提供了基础材料.

关键词: 甘蓝型油菜; 苗期; 耐湿性; 综合评价; 筛选

中图分类号: S634.3 **文献标志码:** A

文章编号: 1673-9868(2022)12-0019-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Comprehensive Evaluation and Screening of Waterlogging Resistance at Seedling Stage of *Brassica napus*

TANG Zhanglin^{1,2}, WANG Lin^{1,2}, ZHANG Yaru^{1,2},
ZHU Li^{1,2}, TANG Zhonglin^{1,2}, JING Rongrong¹, LI Yangyang^{1,2}

1. College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Academy of Agricultural Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: In recent years, the waterlogging stress frequently occurs at the seedling stage of winter rapeseed in the Yangtze River Basin in China. There are few studies on the comprehensive evaluation of waterlogging resistance in *Brassica napus* germplasm resources. In our study, 200 *B. napus* accessions were subjected to two water treatments (waterlogging and well watering) at the seedling stage. The waterlogging

收稿日期: 2021-12-31

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项重点项目(cstc2021jscx-cylhX0003); 重庆市现代山地特色高效农业产业技术体系油菜创新团队项目(创新团队 2021C2)号; 国家重点研发计划项目(2018YFD0100500).

作者简介: 唐章林, 博士, 研究员, 主要从事油菜遗传育种和栽培技术研究.

通信作者: 李阳阳, 博士.

related traits were measured including the number of green leaves, shoot fresh weight, shoot dry weight, soluble sugar content, soluble protein content, malonaldehyde content, peroxidase activity and superoxide dismutase activity. The classification and comprehensive evaluation were carried out by clustering analysis, principal component analysis, subordinative function analysis and gray correlation analysis based on the waterlogging resistance index. The results showed that the number of green leaves, shoot fresh weight, shoot dry weight, soluble protein content and superoxide dismutase activity were decreased, and malonaldehyde content, soluble sugar content and peroxidase activity were increased under waterlogging stress at *B. napus* seedling stage. All the accessions were divided into 8 class groups, and there were significant differences in waterlogging related traits among different groups. 07191, 9F087, 97096, 1472, CY13PXW-17 and 07094 were identified as waterlogging sensitive accessions, and Yangguang198, 01111 and CY19PXW-65 were waterlogging tolerance. These results provide germplasm resources for breeding waterlogging resistant varieties and research on waterlogging resistant mechanism in *B. napus*.

Key words: *Brassica napus*; seedling stage; waterlogging resistance; comprehensive evaluation; screening

水分是植物正常生长的基础条件,但水分过多会打破植物体内的水平衡,影响正常生长,甚至导致死亡^[1]。我国长江流域冬油菜主产区秋季多阴雨,且实行稻油轮作,在油菜苗期土壤湿度大,易遭受湿害胁迫。

湿害是指土壤水分长期处于饱和状态而使植物受到危害。湿害胁迫下,土壤含氧量不足,植物根系处于低氧或缺氧状态^[2],活力下降^[3],表面积、体积和平均直径增长受抑制^[4];植株新叶形成受阻,叶片数量减少,蒸腾速率降低,叶绿素质量分数下降,光合作用的电子传递过程也受抑制,导致净光合速率降低^[5-8]。植物对湿害胁迫的响应主要表现在形态结构、生理生化和分子机制等方面。其中,形态结构响应包括通气组织和不定根的形成、皮孔增生和叶柄偏上生长等^[9-10];生理生化响应主要体现在糖酵解途径增强、活性氧自由基过多产生与清除以及低氧条件引发的能量危机^[9,11];分子机制响应应包括基因表达调控和转录后修饰等方面,如好氧蛋白的合成受阻和厌氧蛋白的新合成等^[12]。

植物耐湿性是由多性状组成的复杂综合性状,不同基因型和生长发育的不同时期均有不同。历年来,前人对油菜资源和品种进行了许多耐湿性鉴定。尹继春等^[13]采用定期灌水控制土壤湿度法鉴定了湿害对油菜不同生育时期的影响以及不同品种的耐湿性。卢长明等^[14]采用冷开水浸泡干燥的种子,测定发芽系数鉴定耐湿性,认为在缺氧条件下筛选发芽势强的基因型可能对改善耐湿性具有明显效果。范其新^[15]将露白种子淹水处理 24 h 后在滤纸上继续发芽,调查相对成苗率、活力指数、电导率和苗长等性状,根据活力指数对 100 份甘蓝型油菜种质的耐湿性进行了分类。陈洁^[16]将露白种子进行密闭淹水 12 h 后在沙床上继续发芽,6 d 后测定相关性状,计算活力指数,鉴定了不同油菜种质的耐湿水平。李真等^[17]对甘蓝型油菜 DH(Double Haploid)群体进行湿害处理(土壤表面保持 2 cm 水层),比较各性状的表现并计算耐湿系数,筛选出极端材料。薛远超^[18]采用萌发种子露白后淹水处理 12 h 再正常培养 6 d,然后在苗期保持高于土面约 3 cm 水层的方法对 EMS(Ethylmethanesulfonate)诱变的甘蓝型油菜种质进行了萌发期和苗期耐湿性鉴定。陈娟妮等^[19]在四叶一心时期进行人工淹水处理,鉴定了 32 个甘蓝型油菜品种的耐湿性。张雪花等^[20]将发芽种子密闭水淹处理 14 h 后继续培养 6 d,进行油菜资源的耐湿性鉴定和筛选。涂玉琴等^[21]保持 1~2 cm 浅水层的湿害处理方式,对 15 份源自甘蓝型油菜与蔊菜杂交获得的创新种质进行了耐湿性鉴定和综合评价。

与其他作物相比,甘蓝型油菜种质资源的耐湿性综合评价较少,前人的研究多采用萌发期或苗期淹水法进行耐湿性鉴定,所用试验材料在数量上和来源上均具有一定的局限性。本研究利用国内外广泛收集的 200 份甘蓝型油菜种质资源,采用盆栽方式进行苗期湿害胁迫(保持土壤最大持水量且表面无积水)和正常灌溉,测定形态生长和生理生化性状,并通过主成分分析、隶属函数分析和灰色关联度分析方法进行耐湿性综合评价,为耐湿性油菜新品种培育和油菜湿害机理研究提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与种植

将国内外多家油菜研究单位广泛收集的 200 份甘蓝型油菜资源材料,以盆栽方式种植于重庆市油菜工

程技术研究中心歇马基地的早棚内. 盆钵直径约 25 cm, 高约 30 cm. 当油菜幼苗长至四叶一心时, 选择长势均匀一致的盆钵进行湿害胁迫(Waterlogging, WL)和正常灌溉(Well watering, WW)处理. 采用浙江托普仪器有限公司 TZS-1K 土壤水分测定仪定期测定土壤含水量, 使 WL 组保持土壤最大持水量且表面无积水(土壤含水量约为 30%), WW 组土壤含水量保持在 20%~23% 的范围内.

1.2 性状测定

处理 4 周后, 进行性状调查. 幼苗心叶展平视为 1 片叶, 绿色面积超过叶片总面积 1/2 视为绿叶. 调查 WL 组和 WW 组每个材料随机 3 株幼苗的绿叶数(Number of Green Leaves, NGL). WL 组和 WW 组每个材料随机选取 3 株, 称量地上部鲜质量(Shoot Fresh Weight, SFW), 110 °C 杀青、75 °C 烘干至恒质量后称量地上部干质量(Shoot Dry Weight, SDW). WL 组和 WW 组每个材料随机选择 3 株, 取倒数第 2 叶、第 3 叶混合样品, 采用硫代巴比妥酸法和硫酸-萘酚比色法分别测定叶片丙二醛质量分数(Malonaldehyde Content, MDA)和可溶性糖质量分数(Soluble Sugar Content, SSC)^[22], 采用考马斯亮蓝-G250 法测定叶片可溶性蛋白质量分数(Soluble Protein Content, SPC)^[23], 采用南京建成生物工程研究所研发的试剂盒 A084-3 和 A001-1 分别测定叶片过氧化物酶活性(Peroxidase Activity, POD)和超氧化物歧化酶活性(Superoxide Dismutase Activity, SOD).

1.3 数据分析

描述统计和方差分析分别采用 Microsoft Office Excel 2016 和 DPS V15.10^[24] 完成.

采用公式(1)计算 NGL, SFW, SDW, SSC, SPC, POD 和 SOD 的耐湿系数, 公式(2)计算 MDA 的耐湿系数^[25]. 采用公式(3)和公式(4)对各性状耐湿系数进行标准化, 用欧式距离+类平均法进行系统聚类, 用主成分分析法计算各主成分因子特征值、贡献率和累计贡献率, 选取累计贡献率达 80% 以上的主成分因子数, 按照公式(5)计算各主成分因子特征值, 公式(6)计算主成分的综合值^[24-25]. 利用公式(7)和公式(8)分别计算各性状隶属函数值和各材料的平均隶属函数值^[25-26]. 根据李阳阳等^[25]的方法选择各性状耐湿系数的最大值, 构成理想型耐湿材料的耐湿系数, 利用公式(9)和公式(10)分别计算各材料与理想型耐湿材料的关联系数和综合关联度.

$$\alpha_{ij} = \frac{t_{ij}}{T_{ij}} \times 100\% \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (1)$$

$$\alpha_{ij} = \frac{T_{ij}}{t_{ij}} \times 100\% \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (2)$$

$$S_j = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\alpha_{ij} - \bar{\alpha}_j)^2} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (3)$$

$$\alpha'_{ij} = \frac{\alpha_{ij} - \bar{\alpha}_j}{S_j} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (4)$$

$$P_{ik} = \lambda_{kj} \alpha_{ij} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m; k = 1, 2, 3, \dots, p \quad (5)$$

$$P_i = \frac{1}{p} \sum_{k=1}^p P_{ik} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; k = 1, 2, 3, \dots, p \quad (6)$$

$$F_{ij} = \frac{\alpha_{ij} - \alpha_{\min j}}{\alpha_{\max j} - \alpha_{\min j}} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (7)$$

$$F_i = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^m F_{ij} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (8)$$

$$\epsilon_{ij} = \frac{\min_j \min_j |I_j - \alpha_{ij}| + \rho \max_i \max_j |I_j - \alpha_{ij}|}{|I_j - \alpha_{ij}| + \rho \max_i \max_j |I_j - \alpha_{ij}|} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (9)$$

$$C_i = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \epsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3, \dots, n; j = 1, 2, 3, \dots, m \quad (10)$$

上述公式中, n 为试验材料数, m 为测定性状数, p 为所选取的主成分因子数; α_{ij} 为第 i 个材料第 j 个性状的耐湿系数, t_{ij} 为第 i 个材料第 j 个性状在 WL 组的性状测定值, T_{ij} 为第 i 个材料第 j 个性状在 WW 组的性状测定值; S_j 为第 j 个性状耐湿系数的标准差, $\bar{\alpha}_j$ 为第 j 个性状耐湿系数的平均数, α'_{ij} 为第 i 个材料第 j 个性状的耐湿系数标准化值; P_{ik} 为第 i 个材料第 k 个主成分因子值, λ_{kj} 为第 j 个性状第 k 个主成分因子

的特征向量值, P_i 为第 i 个材料的主成分因子综合值; F_{ij} 为第 i 个材料第 j 个性状耐湿系数的隶属函数值, $\alpha_{\min j}$ 为第 j 个性状的最小耐湿系数值, $\alpha_{\max j}$ 为第 j 个性状的最大耐湿系数值, F_i 为第 i 个材料的平均隶属函数值; ε_{ij} 为第 i 个材料第 j 个性状与理想型耐湿材料的关联系数, I_j 为理想型耐湿材料第 j 个性状的耐湿系数值, $\min_i |I_j - \alpha_{ij}|$ 为二级最小差, $\max_j |I_j - \alpha_{ij}|$ 为二级最大差, ρ 为分辨系数(在此取值 0.5), C_i 为第 i 个材料的综合关联度.

2 结果与分析

2.1 描述统计和方差分析

由表 1 和表 2 可知, 与正常灌溉相比, 湿害胁迫使甘蓝型油菜 NGL, SFW, SDW, SPC 和 SOD 极显著降低, MDA, SSC 和 POD 极显著升高($p < 1\%$).

表 1 200 份甘蓝型油菜种质资源 WL 组和 WW 组各性状的描述统计量

性状	处理	平均数	最小值	最大值	标准差
NGL/片	WL	4.850 0	2.666 7	9.666 7	1.000 7
	WW	8.186 7	5.666 7	13.000 0	1.257 8
SFW/g	WL	15.299 7	5.535 0	40.450 0	6.345 8
	WW	45.265 0	19.055 0	84.580 0	12.431 1
SDW/g	WL	1.557 1	0.585 0	3.680 0	0.546 8
	WW	3.039 5	1.249 3	6.412 2	0.834 4
MDA/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	WL	0.035 3	0.013 2	0.103 2	0.012 9
	WW	0.023 2	0.009 7	0.043 3	0.007 0
SPC/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	WL	2 420.921 7	565.019 4	5 822.692 2	994.178 1
	WW	8 817.798 0	3 448.423 4	22 991.336 1	3 070.760 8
SSC/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	WL	28 542.485 0	15 111.147 5	42 638.794 7	5 256.439 6
	WW	14 854.769 4	6 822.144 2	37 029.977 9	4 550.274 2
SOD/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	WL	7.602 6	0.400 0	15.354 8	2.476 7
	WW	10.042 6	2.658 6	19.842 1	2.656 4
POD/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	WL	7.029 5	4.257 6	11.663 9	1.259 4
	WW	5.937 7	3.681 3	9.723 0	1.012 8

表 2 200 份甘蓝型油菜种质资源各性状的方差分析

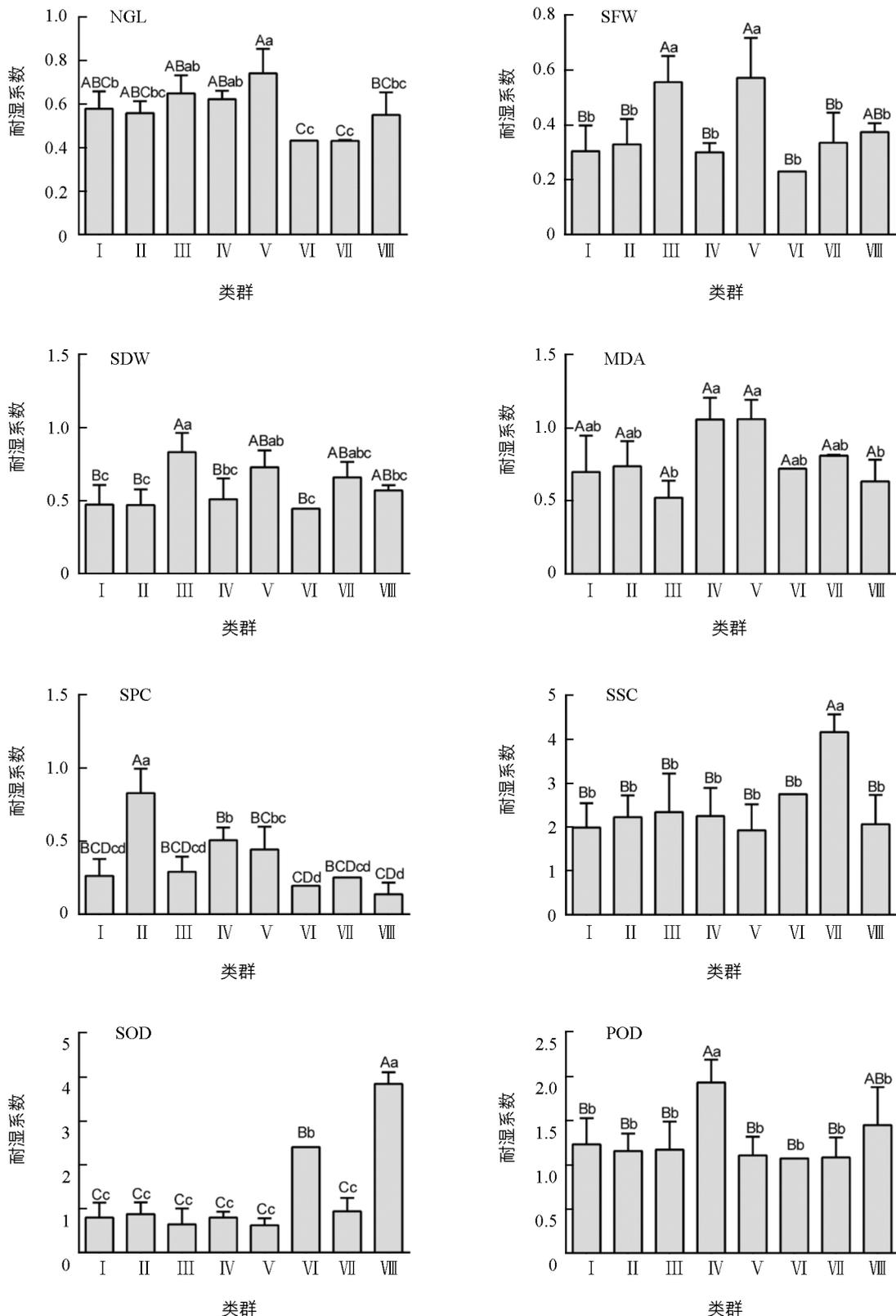
变异来源	自由度	F 值							
		NGL	SFW	SDW	MDA	SPC	SSC	SOD	POD
水分间	1	4 301.7**	28 809.0**	742.8**	7 495.3**	14 056.3**	134 927.0**	20 415.9**	1 027.5**
材料间	199	8.0**	41.8**	2.4**	68.6**	19.7**	228.8**	219.1**	11.4**
水分×材料	199	2.0**	20.7**	7.7**	40.4**	16.1**	119.3**	239.1**	11.2**
误差	800								

注: ** 表示 $p < 1\%$ 水平差异具有统计学意义.

2.2 聚类分析

通过聚类分析, 将 200 份材料分为 8 个类群, 各类群材料的耐湿系数及差异如图 1 所示, 所有性状在各类群间的差异均具有统计学意义($p < 1\%$, 表 3). NGL 中, V 类群最优; SFW 中, III 类群和 V 类群最

优; SDW 中, III 类群最优; MDA 中, IV 类群和 V 类群最优; SPC 中, II 类群最优; SSC 中, VII 类群最优; SOD 中, VIII 类群最优; POD 中, IV 类群最优。



I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII 为 8 个类群的代号, 对于同一性状, 不同大、小写字母分别表示类群间在 $p < 1\%$ 和 $p < 5\%$ 水平差异具有统计学意义。

图 1 各类群材料的耐湿系数及差异

表 3 类群间各性状耐湿系数差异的 F 值

性状	2 个类群	3 个类群	4 个类群	5 个类群	6 个类群	7 个类群	8 个类群
NGL	0.41	4.89**	20.19**	15.23**	12.12**	12.25**	10.61**
SFW	0.08	0.22	62.79**	47.12**	37.80**	31.40**	26.78**
SDW	0.12	0.25	51.19**	38.20**	31.04**	27.26**	23.30**
MDA	0.20	0.20**	0.49	0.40	0.33	7.35**	7.55**
SPC	1.97	1.27	1.89	45.29**	36.10**	33.88**	32.54**
SSC	0.00	11.35**	8.18**	6.46**	6.00**	5.72**	4.98**
SOD	151.23**	84.75**	60.18**	45.14**	41.07**	34.06**	29.04**
POD	1.12	0.89	1.51	1.31	1.05	0.93	3.29**

注: ** 表示 $p < 1\%$ 水平差异具有统计学意义。

2.3 主成分分析

基于各性状标准化耐湿系数进行主成分分析, 各主成分因子特征值、贡献率和累计贡献率如表 4 所示。当选取前 6 个因子时, 累计贡献率为 90.24%, 可基本代表所有性状的全部信息, 6 个因子对应的特征向量值如表 5 所示。在 Factor 1 中, SDW, SFW 和 NGL 所占的比例较大; 在 Factor 2 中, SSC 和 POD 所占的比例较大; 在 Factor 3 中, MDA 和 SPC 所占的比例较大; 在 Factor 4 中, SOD 所占的比例最大; 在 Factor 5 中, POD 所占的比例最大, 在 Factor 6 中, MDA 和 SSC 所占的比例较大。

表 4 主成分因子特征值、贡献率和累计贡献率

主成分因子	特征值	贡献率/%	累计贡献率/%
Factor 1	2.24	28.00	28.00
Factor 2	1.21	15.10	43.10
Factor 3	1.09	13.67	56.77
Factor 4	0.99	12.42	69.20
Factor 5	0.86	10.77	79.96
Factor 6	0.82	10.27	90.24
Factor 7	0.58	7.24	97.48
Factor 8	0.20	2.52	100.00

表 5 主成分因子特征向量值

性状	主成分因子					
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6
NGL	0.463 6	0.315 5	-0.039 5	-0.008 5	-0.029 0	0.088 1
SFW	0.607 0	-0.010 1	-0.102 7	0.017 9	0.113 3	-0.043 8
SDW	0.576 4	-0.085 5	-0.218 7	0.064 9	0.162 6	0.043 8
MDA	0.149 9	0.288 2	0.677 1	0.033 3	-0.294 8	0.540 1
SPC	0.121 0	-0.260 5	0.683 3	0.113 2	0.455 7	-0.458 7
SSC	-0.011 2	-0.695 7	-0.039 6	0.169 0	0.201 2	0.624 7
SOD	-0.058 8	0.140 6	-0.077 9	0.976 0	-0.104 9	-0.080 1
POD	-0.209 2	0.488 2	-0.084 1	0.017 6	0.783 5	0.299 4

计算各材料的主成分因子综合值, CY13PXW-17、97096、皓油 11 号、07191、9F087、甲 972、07094、11-P74-8 父本、1472 和 杨油 6 号为 0.553~0.646, 位于后 10 位; 沪油 15、浙双 6 号、01111、阳光 198、CY16PXW-35、皖油 15 号、宁油 16、史力佳、11-育 7-103 和 CY19PXW-65 为 1.005~1.233, 位于前 10 位(表 6)。

表 6 甘蓝型油菜试验材料信息和主成分因子综合值、平均隶属函数值、综合关联度及所属类群

材料	主成分分析		平均隶属函数分析		灰色关联度		类群
	主成分因子综合值	排名	平均隶属函数值	排名	综合关联度	排名	
SWU43	0.886	51	0.525	5	0.741	15	V
川油 18	0.671	182	0.258	186	0.666	191	I
CY13PXW-17	0.553	200	0.243	194	0.660	196	I
CY16PXW-35	1.068	5	0.402	58	0.717	42	I
CY17PXW-58	1.003	11	0.515	7	0.742	12	III
CY19PXW-65	1.005	10	0.535	4	0.743	10	V
CY20PXW-66	1.000	12	0.540	3	0.747	8	V
1472	0.645	192	0.217	198	0.660	197	I
湘油 15 号	0.926	34	0.502	10	0.740	16	III
1321	0.747	151	0.246	193	0.669	188	I
07022	0.667	185	0.231	195	0.666	192	I
07094	0.635	194	0.219	197	0.661	195	I
9F087	0.617	196	0.204	199	0.655	199	I
97096	0.579	199	0.220	196	0.658	198	I
07191	0.601	197	0.199	200	0.654	200	I
01111	1.155	3	0.524	6	0.759	4	IV
阳光 198	1.075	4	0.581	1	0.764	3	V
宁油 1 号	0.924	35	0.506	8	0.757	5	III
11-9-700	0.906	43	0.504	9	0.745	9	V
09-P64-1	0.750	144	0.246	192	0.671	182	I
11-育 7-103	1.009	9	0.417	44	0.722	32	I
11-P74-8 父本	0.644	193	0.246	191	0.667	190	I
甲预 25 棚	0.930	32	0.465	20	0.768	2	VII
甲 972	0.620	195	0.256	188	0.664	194	I
沪油 15	1.233	1	0.441	29	0.755	6	VIII
宁油 16	1.020	7	0.493	13	0.742	11	IV
史力佳	1.016	8	0.406	56	0.719	37	I
杨油 6 号	0.646	191	0.344	118	0.687	145	I
沪油 14	0.926	33	0.550	2	0.749	7	V
浙双 6 号	1.233	2	0.449	26	0.771	1	VIII
皖油 15 号	1.056	6	0.434	37	0.735	20	IV
浩油 11 号	0.600	198	0.297	164	0.675	172	I
A148	0.668	184	0.260	185	0.666	193	I

2.4 隶属函数分析

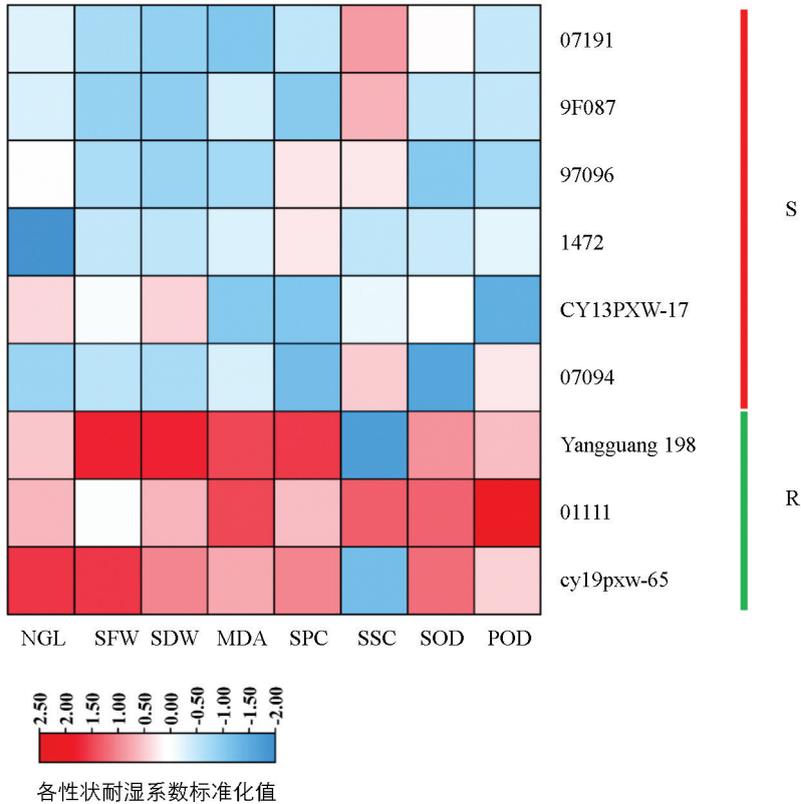
计算各材料耐湿系数的平均隶属函数值, 07191、9F087、1472、07094、97096、07022、CY13PXW-17、1321、09-P64-1 和 11-P74-8 父本为 0.199~0.246, 位于后 10 位; 阳光 198、沪油 14、CY20PXW-66、CY19PXW-65、SWU43、01111、CY17PXW-58、宁油 1 号、11-9-700 和湘油 15 号为 0.502~0.581, 位于前 10 位(表 6)。

2.5 灰色关联度分析

计算各材料耐湿系数的综合关联度, 07191、9F087、97096、1472、CY13PXW-17、07094、甲 972、A148、07022 和川油 18 为 0.654~0.666, 位于后 10 位; 浙双 6 号、甲预 25 棚、阳光 198、01111、宁油 1 号、沪油 15、沪油 14、CY20PXW-66、11-9-700 和 CY19PXW-65 为 0.743~0.771, 位于前 10 位(表 6)。

2.6 综合评价

在主成分分析、隶属函数分析和灰色关联度分析中, 07191、9F087、97096、1472、CY13PXW-17 和 07094 的主成分因子综合值、平均隶属函数值和综合关联度均位于后 10 位, 这些为湿害敏感材料; 而阳光 198、01111 和 CY19PXW-65 的主成分因子综合值、平均隶属函数值和综合关联度均位于前 10 位, 为耐湿材料。湿害敏感材料均位于 I 类群, 耐湿材料位于 IV 类群和 V 类群(表 6、图 2)。



S: 湿害敏感材料; R: 耐湿材料。

图 2 耐湿材料和湿害敏感材料各性状耐湿系数热图

3 讨论

3.1 湿害对油菜苗期的影响

湿害胁迫下, 植物会发生一系列变化, 叶绿体死亡加快, 单株绿叶面积减少, 鲜质量和干质量降低^[27-28]; 细胞膜发生过氧化, 丙二醛等有害物质过量积累, 超氧化物歧化酶和过氧化物酶等协同作用参与过氧化防御反应^[29-30]; 大分子碳水化合物和蛋白质分解加强而合成受阻, 可溶性糖和可溶性蛋白质量分数发生变化^[31-32]。本研究发现, 湿害胁迫导致油菜幼苗绿叶数减少, 地上部鲜质量和干质量降低, 丙二醛质量分数和可溶性糖质量分数升高, 过氧化物酶活性增强, 可溶性蛋白质量分数和超氧化物歧化酶活性降低, 这与前人研究结果基本一致^[17,19,21,33-35]。

3.2 耐湿性综合评价性状和方法选择

植物对环境胁迫产生的响应是多方面的, 涉及生长发育、生理生化、分子机制等, 单一性状难以准确地反映不同材料的胁迫耐受性。在油菜苗期耐湿性评价性状选择方面, 大多数研究者选取简单易测的生长发育形态性状, 如李真等^[17]和涂玉琴等^[21]测定了根长、地上部干质量、根干质量和植株总干质量等; 尹继春等^[13]测定了绿叶数、叶面积、株干质量、根茎粗、伤流量和地上植株碳/氮等, 也有部分学者增加了部分

生理生化性状评价, 如陈娟妮等^[19]测定了根干质量、总干质量、根系活力、叶绿素质量分数、脯氨酸质量分数和蛋白质质量分数等; 薛远超^[18]测定了地上部鲜质量、地上部干质量、根长、根部干质量、叶绿素质量分数、可溶性糖质量分数、可溶性蛋白质量分数、丙二醛质量分数、脯氨酸质量分数和根系活力、叶片保水力、质膜透性等, 对油菜耐湿性进行了评价。

在油菜耐湿性鉴定评价中, 前人多采用简易、单一的方法进行, 有的直接进行性状比较, 有的使用诸如活力指数^[15-16]、耐湿指数^[13]、综合耐湿指数^[19]等, 研究结果的准确性和可靠性较差; 也有的使用主成分分析和二维排序分析法^[20]、主成分分析结合隶属函数分析^[21]进行综合评价, 但这种研究目前还较少。聚类分析、隶属函数分析、主成分分析和灰色关联度分析等方法可将多个单一性状转化为综合指标, 目前已被广泛应用于环境胁迫抗性复杂性状的综合评价中。张春宵等^[36]通过相关性分析、聚类分析和主成分分析研究了土培条件下玉米萌发期的耐旱鉴定技术体系。霍宏亮等^[37]利用主成分分析、热图和聚类分析对杜梨的耐盐碱性进行了评价, 筛选出了高抗盐碱型和盐碱敏感型资源。王薇薇等^[38]利用主成分分析和隶属函数对大蒜萌发期的耐盐性进行了综合评价。祝令晓等^[39]采用主成分分析、模糊隶属函数、聚类分析、相关性分析评价了棉花各品种苗期耐低氮能力。

本研究测定了油菜幼苗绿叶数、地上部鲜质量和干质量、叶片丙二醛质量分数、超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性、可溶性糖质量分数和可溶性蛋白质量分数等反映湿害胁迫对植株生长、渗透调节和过氧化防御影响的 8 个性状, 基于各性状的耐湿系数, 将系统聚类、主成分分析、隶属函数分析和灰色关联度分析 4 种综合评价方法相结合, 对甘蓝型油菜耐湿性进行分类和综合评价, 并将所有材料划分成具有显著差异的 8 个不同类群, 进一步筛选出在各方法中均位于后 10 位的 6 份湿害敏感材料和均位于前 10 位的 3 份耐湿材料。与已有的研究相比, 本研究选取的评价性状更为合理, 获得的评价结果更为可靠, 且耐湿材料可在油菜耐湿性新品种培育中加以利用, 亦可作为极端材料在油菜耐湿性机理研究中被采用。

3.3 湿害极端材料的地域特性和遗传关系

本研究的 200 份甘蓝型油菜材料来源于国内外多家油菜研究单位, 筛选出的湿害极端材料包含 1 份常规品种和 8 份品系。6 份湿害敏感材料来源于湖北(4 份)、四川(1 份)和湖南(1 份), 3 份耐湿材料来源于湖北(2 份)和四川(1 份), 这是否暗示着不同湿害极端材料具有不同的地域特征, 还需进行深入分析。本研究结果还表明, 6 份湿害敏感材料均属于 I 类群, 地上部鲜质量和干质量、叶片可溶性蛋白质量分数、可溶性糖质量分数、过氧化物酶活性和超氧化物歧化酶活性的耐湿性较差; 耐湿材料阳光 198 和 CY19PXW-65 属于 V 类群, 绿叶数、地上部鲜质量和干质量、叶片丙二醛质量分数的耐湿性较好, 01111 属于 IV 类群, 绿叶数、叶片丙二醛质量分数和超氧化物歧化酶活性表现较好。由于研究材料的遗传背景和系谱来源不清楚, 对湿害极端材料之间的遗传关系分析是今后相关研究应重点关注的内容之一。

4 结论

本研究比较了 200 份甘蓝型油菜种质资源苗期湿害胁迫和正常灌溉条件下生长性状和生理生化性状的差异, 发现湿害胁迫使幼苗绿叶数、地上部鲜质量、地上部干质量、叶片可溶性蛋白质量分数和超氧化物歧化酶活性显著降低, 叶片丙二醛质量分数、可溶性糖质量分数和过氧化物酶活性显著升高。聚类分析将 200 份种质资源分为 8 个类群, 各类群种质资源在 8 个性状中表现出不同的耐湿性。基于主成分分析、隶属函数和灰色关联度方法筛选出 6 份湿害敏感材料和 3 份耐湿材料, 为油菜耐湿新品种培育和耐湿机理研究提供了基础材料。

参考文献:

- [1] 刘周斌, 周宇健, 杨博智, 等. 植物抗涝性研究进展 [J]. 湖北农业科学, 2015, 54(18): 4385-4389, 4393.
- [2] AHMED F, RAFII M Y, ISMAIL M R, et al. Waterlogging Tolerance of Crops: Breeding, Mechanism of Tolerance, Molecular Approaches, and Future Prospects [J]. Biomed Research International, 2013, 2013(pt. 1): 963525.
- [3] 白丹凤. 猕猴桃耐涝种质资源筛选及生理机制研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- [4] 欧泉. 湿害对桔梗生长发育的影响及胁迫机理的初步研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [5] AYDOGAN C, TURHAN E. Changes in Morphological and Physiological Traits and Stress-Related Enzyme Activities of Green Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes in Response to Waterlogging Stress and Recovery Treatment [J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2015, 56: 391-401.

- [6] GHOBADI M E, GHOBADI M, ZEBARJADI A. Effect of Waterlogging at Different Growth Stages on Some Morphological Traits of Wheat Varieties [J]. International Journal of Biometeorology, 2017, 61(4): 635-645.
- [7] 吴玲. 青冈栎幼苗生理特性研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2017.
- [8] 张虎, 曹福亮, 范俊俊, 等. 淹水胁迫对湖北海棠生长及叶绿素荧光动力学的影响 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2018, 42(1): 35-40.
- [9] 荆蓉蓉. 甘蓝型油菜苗期耐湿相关性状的全基因组关联分析 [D]. 重庆: 西南大学, 2017.
- [10] 李云. 甘蓝型油菜苗期耐淹性鉴定和不同耐淹性材料的光合参数差异 [D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [11] 张鹏. 樱桃砧木根系应对短期水涝胁迫的生理及分子响应研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
- [12] SACHS M M, FREELING M, OKIMOTO R. The Anaerobic Proteins of Maize [J]. Cell, 1980, 20(3): 761-767.
- [13] 尹继春, 张燕, 万子良. 油菜耐湿性鉴定初报 [J]. 上海农业科技, 1980(6): 5-7.
- [14] 卢长明, 龚学明. 缺氧条件下种子发芽特性的遗传参数研究 [J]. 江西农业大学学报, 1989, 11(4): 23-26.
- [15] 范其新. 甘蓝型油菜耐湿品种资源筛选及耐湿机理研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2005.
- [16] 陈洁. 甘蓝型油菜对湿害胁迫的适应机理研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- [17] 李真, 蒲圆圆, 高长斌, 等. 甘蓝型油菜 DH 群体苗期耐湿性的评价 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(2): 286-292.
- [18] 薛远超. 甘蓝型油菜 EMS 诱变材料的耐湿性鉴定与筛选 [D]. 重庆: 西南大学, 2011.
- [19] 陈娟妮, 梁颖. 长江流域主要甘蓝型油菜品种苗期耐湿性鉴定 [J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(3): 626-630.
- [20] 张雪花, 李浩杰, 张锦芳, 等. 甘蓝型油菜耐湿性初步评价和主成分分析 [J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(2): 98-103.
- [21] 涂玉琴, 汤洁, 涂伟凤, 等. 甘蓝型油菜与蔊菜属间杂种后代的苗期耐湿性综合评价 [J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(4): 895-902.
- [22] 王丹丹. 甘蓝型油菜遗传图谱构建及苗期耐旱相关性状的 QTL 定位 [D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- [23] 邹琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [24] 唐启义. DPS 数据处理系统: 实验设计、统计分析及数据挖掘 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [25] 李阳阳, 李驰, 任俊洋, 等. 甘蓝型油菜苗期耐旱性综合评价与耐旱性鉴定指标筛选 [J]. 中国生态农业学报(中英文), 2021, 29(8): 1327-1338.
- [26] 郭雪松. 油菜种质资源耐旱性的鉴定 [D]. 重庆: 西南大学, 2009.
- [27] 王三根. 植物抗性生理与分子生物学 [M]. 北京: 现代教育出版社, 2009.
- [28] LIU M M, TAN X F, SUN X H, et al. Properties of Root Water Transport in Canola (*Brassica napus*) Subjected to Waterlogging at the Seedling, Flowering and Podding Growth Stages [J]. Plant and Soil, 2020, 454: 431-445.
- [29] YAO Q L. Crucial Waterlogging-Responsive Genes and Pathways Revealed by Comparative Physiology and Transcriptome in Tropical and Temperate Maize (*Zea mays* L.) inbred Lines [J]. Journal of Plant Biology, 2021, 64: 313-325.
- [30] REN B Z, HU J, LIU P, et al. Responses of Nitrogen Efficiency and Antioxidant System of Summer Maize to Waterlogging Stress Under Different Tillage [J]. PeerJ, 2021, 9: e11834.
- [31] ZENG R, CHEN T T, WANG X Y, et al. Physiological and Expressional Regulation on Photosynthesis, Starch and Sucrose Metabolism Response to Waterlogging Stress in Peanut [J]. Frontiers in Plant Science, 2021(7): 601771.
- [32] ZHANG Y J, LIU G Y, DONG H Z, et al. Waterlogging Stress in Cotton: Damage, Adaptability, Alleviation Strategies, and Mechanisms [J]. The Crop Journal, 2021, 9(2): 257-270.
- [33] YAN B, DAI Q, LIU X, et al. Flooding-Induced Membrane Damage, Lipid Oxidation and Activated Oxygen Generation in Corn Leaves [J]. Plant Soil, 1996, 179: 261-268.
- [34] PUYANG X H, AN M Y, XU L X, et al. Antioxidant Responses to Waterlogging Stress and Subsequent Recovery in Two Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) Cultivars [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2015, 37: 197.
- [35] 李浩杰, 张雪花, 蒲晓斌, 等. 甘蓝型油菜对田间模拟湿害胁迫的生理响应 [J]. 西南农业学报, 2013, 26(1): 84-88.
- [36] 张春宵, 李淑芳, 刘旭洋, 等. 土培条件下玉米萌发期耐旱鉴定技术体系研究 [J]. 中国农业科学, 2020, 53(19): 3867-3877.
- [37] 霍宏亮, 王超, 杨祥, 等. 杜梨对盐碱胁迫的生理响应及耐盐碱性评价 [J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(2): 480-492.
- [38] 王薇薇, 吴永成, 梅焱, 等. 大蒜萌发期耐盐性综合评价 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49(21): 143-146.
- [39] 祝令晓, 宋世佳, 李浩然, 等. 基于耐低氮综合指数的棉花苗期耐低氮品种筛选 [J]. 作物学报, 2022, 48(7): 1800-1812.