

文章编号:1001-7380(2016)06-0015-05

灌木柳种质资源的耐盐性变异

王伟伟¹, 乔志攀^{1,2}, 何旭东¹, 王保松^{1*}

(1. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153; 2. 南京林业大学, 江苏 南京 210037)

摘要:采用盐溶液培养,对受害症状进行分级评价的方法,研究了灌木柳14个种,31个原种无性系和310个杂种无性系的耐盐性,以期耐盐灌木柳选育中杂交亲本的选配提供依据,并筛选出耐盐和敏盐的亲本和杂种无性系。结果表明:(1)灌木柳14个种间的耐盐性存在显著性差异($P<0.05$),盐害指数为22.22%—98.61%。其中二色柳盐害指数最低,为22.22%;细柱柳、黄花柳和钻石柳指数最高,为97.22%—98.61%;杞柳和欧洲红皮柳种内无性系间盐害指数存在显著性差异($P<0.05$)。(2)以P295和P665为母本的子代有超亲优势,其中P295为母本的半同胞子代超亲优势达37.97%。以P102等4个无性系为父本的半同胞子代耐盐性均有超亲优势,其中P585的半同胞子代超亲优势达35.85%。P294×P671等4个杂交组合的全同胞 F_1 代耐盐性均表现出中亲优势,其中P295×P681的 F_1 代中亲优势达43.36%。(3)341个原种和杂种无性系中,3个灌木柳原种无性系和10个杂种无性系盐害指数为0—25%,较耐盐;4个灌木柳原种无性系和11个杂种无性系盐害指数为100%,较敏盐。

关键词:灌木柳;耐盐性评价;盐害指数;超亲优势;种质资源

中图分类号:S792.12 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2016.06.004

灌木柳为杨柳科(Salicaceae)柳属(*Salix*)中灌木型柳树的统称,具有生物量大、适应性强、繁殖容易、根系发达等优点,广泛应用于生物质能源生产、受污染土壤修复、水土保持、防风固沙等^[1-3]具有较高的生态经济价值。灌木柳抗风性强,有一定的耐盐性,是沿海滩涂重要的造林树种。大量研究结果表明,筛选利用耐盐植物新品种是改良盐碱地最经济有效的方法之一^[4-6]。植物种质资源收集、保存和评价是遗传育种工作的基础。姜奇彦等对793份大豆种质资源进行芽期耐盐性鉴定^[7],慈敦伟等对200个花生品种(系)萌发至幼苗期通过出苗速度、植株形态和生物量等指标进行耐盐性系统评价^[8],尚未见对柳树种质资源耐盐性评价的报道。江苏省林业科学研究院收集保存了柳属55个种,2961个无性系,对这些种质资源的耐盐性进行测定评价,无疑对柳树耐盐品种的选育有重要意义。本文报道了灌木柳14个种,31个原种无性系,310个杂种无性系耐盐性评价的结果,对筛选灌木柳耐盐和敏盐种质,耐盐杂交育种的亲本选配有一定参考

价值。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验所用灌木柳包括14个种、31个原种无性系(见表1)和310个杂种无性系(包括105个杂交组合)均采自江苏省林业科学研究院柳树种质资源圃。选取1年生直径1 cm左右,生长健壮,无病虫害的柳树枝条,截成长12 cm的插穗,用于后续试验。

1.2 研究方法

试验设在四周通风而且透光性良好温室中,室温控制在20—30℃。用在1/2 Hoagland's营养液中添加NaCl的方式进行盐胁迫试验,以质量分数为0.5% NaCl进行盐胁迫处理(T),不加NaCl为对照(CK)。试验采用随机区组方式,设置3株小区,4次重复,每3 d更换1次营养液,共处理20 d。盐胁迫过程中,自有盐害症状开始,每天观测盐害等级,根据叶片颜色变化和脱落情况将盐害症状分为7级^[9-12](见表2),用第20 d的观测值进行计算。

收稿日期:2016-07-12;修回日期:2016-11-21

基金项目:国家林业局948项目“高生物量灌木柳遗传资源及培育技术引进”(2012-4-38);江苏省科技支撑(农业)计划“耐盐高生物量灌木柳新品种选育”(BE2013449);江苏省科技支撑(农业)计划“沿海滩涂高效生态经济造林与生态优化保护关键技术研发”(BE2013357)

作者简介:王伟伟(1986-),女,河南新乡人,硕士。主要从事植物生理生化的研究,E-mail:wanwewe1234@126.com。

***通信作者:**王保松(1965-),男,江苏江都人,研究员。主要从事林木遗传育种。E-mail:baosong66@sohu.com。

表 1 参试灌木柳种及原种无性系

序号	种名	无性系编号	无性系数/个
1	杞柳(<i>Salix integra</i>)	P1024(山东莒南县)、P1025(山东莒南县)、P646(英国)、P296(宁夏固原)、P63(哈尔滨)、P336(日爱知县设郡)	6
2	欧洲红皮柳(<i>S. purpurea</i>)	P658(英国)、P661(英国)、P662(英国)、P665(英国)、P671(英国)、P677(英国)、P708(纽约州立大学)	7
3	钻石柳(<i>S. eriocephala</i>)	P715(纽约州立大学)、P716(纽约州立大学)、P717(纽约州立大学)、P718(纽约州立大学)	4
4	黄花柳(<i>S. caprea</i>)	P585(英国)、P589(英国)	2
5	蒿柳(<i>S. viminalis</i>)	P681(英国)、P683(英国)	2
6	簸箕柳(<i>S. suchowensis</i>)	P295(山东临沭)、P61(江苏如皋)	2
7	银柳(<i>S. leucopi thecia</i>)	P102(上海)	1
8	三蕊柳(<i>S.triandra</i>)	P105(南京江宁新洲)	1
9	毛枝柳(<i>S. dasyclados</i>)	P126(中国林科院)	1
10	卷边柳(<i>S. siuzevii</i>)	P286(黑龙江东京城)	1
11	二色柳(<i>S. alberti</i>)	P294(山东临沭)	1
12	沙柳(<i>S. cheilophila</i>)	P485(甘肃临夏)	1
13	细柱柳(<i>S. gracilistyla</i>)	P642(英国)	1
14	灰柳(<i>S. cinerea</i>)	P936(英国)	1

1.3 统计分析

全部统计分析均在 EXCEL 和 SPSS 19.0 软件的相关程序下完成,采用第 20 d 的观测数据计算盐害指数,用盐害指数平方根的反正弦值进行数据分析。

盐害指数 $SI = \sum_{i=1}^7 (n_i \cdot K_i) / (6 \cdot \sum_{i=1}^7 n_i)$

其中, n_i 为达到第 i 个等级的植株数量; K_i 为第 i 个等级的分值, i 取 1,2,⋯,7。

半同胞子代超亲优势(%) = $(F_1 - P_n) / P_n \times 100$

全同胞子代中亲优势(%) = $(F_1 - MP) / MP \times 100, MP = (P_1 + P_2) / 2$

其中, F_1 :杂种子代盐害指数平均值; P_n :母本或父本盐害指数; P_1 :母本盐害指数; P_2 :父本盐害指数; MP :亲本盐害指数平均值。

表 2 盐处理后的盐害分级标准

序号	级别	分级标准	分值
1	1 级	叶片颜色、植株生长正常	0
2	2 级	叶片颜色正常,叶片轻微萎蔫下垂	1
3	3 级	叶片萎蔫下垂,少量叶尖、叶缘变黄	2
4	4 级	部分叶片变黄,萎蔫,有少量叶片脱落	3
5	5 级	大部分叶片变黄,萎蔫干枯,有明显落叶	4
6	6 级	叶片脱落十分严重或者死亡率超过 50%	5
7	7 级	植株完全死亡	6

2 结果与分析

2.1 灌木柳原种的耐盐性

2.1.1 灌木柳种间耐盐性的差异 用各灌木柳种

内不同原种无性系盐害指数平均值进行种间差异性分析(见表 3),盐处理后 14 个种间盐害指数差异显著($P<0.05$),盐害指数的平均值为 68.11%,最小值为 22.22%,最大值为 98.61%。二色柳盐害最轻盐害指数为 22.22%,为最耐盐原种;细柱柳、黄花柳和钻石柳盐害指数之间没有显著性差异,分别为 97.22%,98.61%和 98.61%,盐害症状最为严重,为最敏盐原种。

表 3 灌木柳种间盐害指数差异分析

序号	种名	盐害指数/%	序号	种名	盐害指数/%
1	二色柳	22.22±4 i	9	欧洲红皮柳	84.07±6.71 cd
2	三蕊柳	35.42±7.98 hi	10	灰柳	86.11±5.56 bc
3	毛枝柳	37.5±8.33 ghi	11	卷边柳	93.75±7.98 ab
4	沙柳	45.83±8.33 fgh	12	细柱柳	97.22±5.56 a
5	杞柳	47.59±7.33 fgh	13	黄花柳	98.61±1.60 a
6	蒿柳	59.03±2.66 efg	14	钻石柳	98.61±2.78 a
7	簸箕柳	72.92±7.56 cde		平均值	68.11
8	银柳	74.65±6.74 cde		变异系数	38.89

数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上存在显著性差异

2.1.2 灌木柳种内无性系间耐盐性的差异 对种内原种无性系较多的杞柳、欧洲红皮柳和钻石柳 3 个种内无性系间耐盐性的差异进行分析(见表 4),结果表明这 3 种柳树种内无性系间盐害指数均有显著性差异($P<0.05$)。杞柳 6 个无性系盐害指数为

25.00%—88.19%, 平均为 54.36%, 变异系数为 56.78%; P1025, P1024 和 P63 盐害指数均低于 30%, 而 P646, P296 和 P336 盐害指数均高于 75%, 与 3 个耐盐无性系差异显著 ($P<0.05$)。欧洲红皮柳 7 个无性系盐害指数为 65.28%—100%, 平均为 81.35%, 变异系数为 15.05%; 其中 P677 受害最重, 盐害指数达 100%, 与 P671, P658 和 P708 差异显著 ($P<0.05$)。钻石柳 4 个无性系盐害指数为 77.78%—100%, 平均为 93.4%, 变异系数为 11.35%; 其中 P716 和 P717 受害最重, 盐害指数达 100%; P718 受害最轻, 与 P715, P716 和 P717 差异显著 ($P<0.05$)。

表 4 杞柳、欧洲红皮柳和钻石柳种内原种无性系间盐害指数的差异分析

杞柳	盐害指数/%	欧洲红皮柳	盐害指数/%	钻石柳	盐害指数/%
P1024	25.00±6.80 b	P671	68.06±20.97 b	P715	95.83±8.33 a
P1025	25.00±6.80 b	P708	65.28±14.43 b	P716	100.00±0.00 a
P63	29.17±12.32 b	P658	79.17±12.32 b	P717	100.00±0.00 a
P296	77.78±31.43 a	P662	81.94±23.73 ab	P718	77.78±15.71 b
P646	81.02±12.59 a	P661	83.33±16.36 ab		
P336	88.19±4.17 a	P665	91.67±4.94 ab		
		P677	100.00±0.00 a		
平均值	54.36	平均值	81.35	平均值	93.4
变异系数	56.78	变异系数	15.05	变异系数	11.35

数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上存在显著性差异

2.2 灌木柳杂交子代的耐盐性

2.2.1 母系半同胞子代的耐盐性分析 表 5 为 4 个母系半同胞子代的盐害指数及超亲优势值。在盐处理下, 不同母本的半同胞子代间盐害指数平均值为 61.00%, 无显著性差异。P61 为母本的子代无性系平均盐害指数最小, 为 50.5%。P295 和 P665 为母本的子代无性系平均盐害指数均低于母本, 表现出比母本较强的耐盐性, 超亲优势值均大于 20%, 其中 P295 半同胞子代超亲优势最大, 达 37.97%。而 P294 为母本的半同胞子代盐害指数平均值高于母本, 超亲优势值为-188.88%。

表 5 母系半同胞子代盐害指数及超亲优势

亲本(♀)	子代无性系数/个	盐害指数(P_1)	盐害指数平均值(F_1)	超亲优势/%
P61	24	50.00±9.89	50.5±16.5 a	-1.00
P295	30	95.83±8.33	59.44±18.85 a	37.97
P294	78	22.22±4.00	64.19±18.45 a	-188.88
P665	16	91.67±4.94	69.88±16.35 a	23.77

数据后相同小写字母表示在 0.05 水平上不存在显著性差异

2.2.2 父系半同胞子代耐盐性分析 表 6 为 5 个父系半同胞子代的盐害指数及超亲优势值。(在盐处理下, 不同父本的半同胞子代间盐害指数平均值为 62.24%, 无显著性差异。P681 的半同胞子代的平

均盐害指数最小, 为 54.56%。P63 的半同胞子代的平均盐害指数最大, 为 66.47%。以 P102, P585, P681 和 P716 为父本的半同胞子代都表现出比超亲优势, 超亲优势值为 17.52%—35.85%, 其中 P585 的半同胞子代超亲优势最高, 达 35.85%。而 P63 的半同胞子代盐害指数高于父本, 超亲优势值为-127.87%。

表 6 父系半同胞子代盐害指数及超亲优势

父本(♂)	子代无性系数/个	盐害指数(P_2)	盐害指数平均值(F_1)	超亲优势/%
P681	21	75.00±10.64	54.56±20.19 a	27.25
P102	36	74.65±6.74	61.57±17.5 a	17.52
P585	21	97.22±3.21	62.37±15.27 a	35.85
P716	10	100±0.00	66.25±19.98 a	33.75
P63	21	29.17±12.32	66.47±18.86 a	-127.87

数据后相同小写字母表示在 0.05 水平上不存在显著性差异

2.2.3 全同胞子代的耐盐性 表 7 为 8 个全同胞家系子代的盐害指数及中亲优势值。在盐分处理下, 不同杂交组合全同胞子代间盐害指数平均值有显著差异 ($P<0.05$)。杂交组合 P294×P102, P294×P671, P295×P681, P61×P681 和 P61×P63 和的子代盐害指数平均值显著小于 P294×P716 和 P336×P681 的全同胞子代。杂交组合 P294×P671, P61×

P681, P295×P681 和 P336×P681 的全同胞子代都表现出中亲优势, 中亲优势值为 0.22%—43.36%, 其中 P295×P681 的全同胞子代的中亲优势最大, 达

43.36%。而 P294 为母本和 P63 为父本的全同胞子代盐害指数平均值高于或接近中亲值, 无中亲优势。

表 7 全同胞子代盐害指数及中亲优势

杂交组合	无性系数/个	盐害指数 (P_1)	盐害指数 (P_2)	盐害指数平均值 (F_1)	中亲优势/%
P294×P102	7	22.22±4.00	74.65±6.74	52.98±8.65 b	-9.38
P294×P671	7	22.22±4.00	68.06±20.97	45.04±5.30 b	0.22
P294×P716	5	22.22±4.00	100.00±0.00	65.83±5.69 a	-7.72
P295×P681	6	95.83±8.33	75.00±10.64	48.38±3.50 b	43.36
P336×P681	6	88.19±4.17	75.00±10.64	64.12±3.04 a	21.42
P61×P681	9	50.00±9.89	75.00±10.64	49.54±7.33 b	20.74
P61×P63	4	50.00±9.89	29.17±12.32	52.78±5.38 b	-33.33
P715×P63	3	95.83±8.33	29.17±12.32	70.14±8.60 a	-12.22

数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上存在显著性差异

2.3 灌木柳无性系的耐盐性

对 310 个灌木柳杂种无性系的测定结果表明, 盐害指数平均值为 62.45%, 分布范围为 16.67%—100%, 变异系数为 30.47%, 无性系盐害指数符合正态分布。其中有 10 个无性系盐害指数小于 25%

(见表 8), 占总数的 3.23%; 有 77 个无性系的盐害指数为 26%—50%, 占 24.84%; 有 150 个无性系盐害指数为 51%—75%, 占 48.39%; 有 73 个无性系盐害指数为 76%—100%, 占 23.55%; 盐害指数为 100% 的杂种无性系有 11 个, 占 3.55%。

表 8 耐盐和敏盐无性系

序号	耐盐无性系	杂交组合	序号	敏盐无性系	杂交组合
1	888	吐兰柳×银柳	1	1054	细柱柳×J56-2
2	23-2	簸箕柳×(青刚柳×北沙柳)	2	2385	欧洲红皮柳×银柳
3	2389	二色柳×欧洲红皮柳	3	2538	欧洲红皮柳×白皮柳
4	2404	杞柳×蒿柳	4	2539	二色柳×黄花柳
5	2530	簸箕柳×钻石柳	5	2544	黄花柳×银柳
6	52-1	簸箕柳×银柳	6	2590	二色柳×黄花柳
7	8-31	簸箕柳×杞柳	7	2626	黄花柳×杞柳
8	8-39	簸箕柳×杞柳	8	2650	钻石柳×杞柳
9	Δ3	杞柳×青冈柳	9	2655	簸箕柳×黄花柳
10	3636	沙柳×沙柳	10	2689	二色柳×耳柳
			11	2818	(二色柳×杞柳)×银柳

3 结论和讨论

3.1 灌木柳原种的耐盐性

钻石柳等 14 个灌木柳种间的耐盐性是对每个种内所有原种无性系的平均值进行比较, 均存在显著差异($P<0.05$), 其中二色柳较耐盐, 而细柱柳、黄花柳和钻石柳则表现为敏盐。31 原种无性系间存在显著性差异($P<0.05$), 平均盐害指数为 71.71%, 最小值为 22.22%, 最大值为 100%, 变异系数

36.57%。其中二色柳 P294、杞柳 P1024 和 P1025 等 3 个无性系盐害指数小于 25%, 为耐盐原种无性系; 黄花柳 P589、欧洲红皮柳 P677、钻石柳 P716 和 P717 等 4 个无性系的盐害指数为 100%, 为敏盐原种无性系。

对杞柳等种内原种无性系较多的 3 个灌木柳种的盐害指数进行分析, 均存在显著差异($P<0.05$)。3 个灌木柳种内无性系间盐害指数的变异系数为 11.35%—56.78%, 其中杞柳变异系数最大, 超过 14

个灌木柳种间盐害指数的变异幅度。杞柳各原种无性系分别来自山东、哈尔滨、宁夏和英国等地,采集地域较广;而欧洲红皮柳和钻石柳分别采自英国和美国,采集地集中。杞柳的变异系数(61.16%)远高于欧洲红皮柳(12.33%)和钻石柳(11.35%)的原因可能与此有关。

3.2 灌木柳杂交子代的耐盐性

盐害指数大于50%的亲本,其半同胞子代均表现出超亲优势,通过杂交的方法提高灌木柳的耐盐性是可以实现的。对全同胞无性系中亲优势分析结果表明:母本或父本一方的盐害指数低,另一方盐害指数大于50%,子代的盐害指数平均值接近或高于中亲值,无中亲优势。母本和父本盐害指数均大于50%,子代盐害指数平均值均低于亲本,有中亲优势。本研究中全同胞杂交组合只有8个,其中以P294为母本的3个,P681为父本的3个,P63为父本的2个,各组合内无性系数数量较少(4—9个),得出灌木柳全同胞子代耐盐性的一般结论还需要进行交配设计,并增加杂交子代的数量,进一步的测定分析。

3.3 灌木柳耐盐种质的筛选

目前植物的耐盐性主要通过植株形态、生长状况^[13-15]及生理生化^[16-20]等指标的变化来鉴定。而形态指标鉴定耐盐性具有直观、方便和快速等优点,被广泛应用,如水稻、苹果砧木、八棱海棠等种质的耐盐评价^[21-22]。本研究主要观察盐处理后灌木柳植株叶片外部形态的变化,划分7个受害等级,通过计算盐害指数评价其耐盐性。形态指标的观测对大批量的筛选是一种高效的方法,虽然有人为因素的干扰,但并不影响评价结果,可以用于大批量种质的初步筛选评价,尤其是对最耐盐和最敏盐的无性系筛选工作较为可靠。

江苏省林业科学研究院保存较多的310个灌木柳无性系间耐盐性存在显著性差异($P<0.05$)。盐害指数为0—25%的耐盐无性系有10个,分别为J888,J23-2,J2389,J2404,J2530,J52-1,J8-31,J8-39,J△3和J3636;其中母本为簸箕柳的有5个,杞柳有2个,吐兰柳、二色柳、沙柳各1个。盐害指数为100%的敏盐无性系有11个,分别为J1054,J2385,J2538,J2539,J2544,J2590,J2626,J2650,J2655,J2689和J2818;其中母本为二色柳的有3个,欧洲红皮柳2个,黄花柳2个,细柱柳、绵毛柳、簸箕柳、二色柳×杞柳各1个。

参考文献:

- [1] 张文辉,何景峰,周赛运.能源柳研究现状与国内引种栽培[J].生物质化学工程,2006,40(B12):38-45.
- [2] 施士争,潘明建,王保松,等.培育灌木柳生物质能源林的前景[J].江苏林业科技,2006,33(3):1-5.
- [3] 涂忠虞编著.柳树育种与栽培[M].南京:江苏科学技术出版社,1982.
- [4] 余蓓珍编译.植物的耐盐性及其改良[M].北京:农业出版社,1989.
- [5] 时津霞,乔永利,杨庆文,等.以色列野生二粒小麦(*Triticum dicoccoides*)耐盐性鉴定[J].植物遗传资源学报,2004,5(4):369-373.
- [6] STAPIES R, TOENNIENSEN G H. Salinity tolerance in plants, strategies for crop improvement [M]. New York: Wiley inter-science, 1984.
- [7] 姜奇彦,胡正,张辉,等.大豆种质资源耐盐性鉴定与研究[J].植物遗传资源学报,2012,13(5):726-732.
- [8] 慈敦伟,张智猛,丁红,等.花生苗期耐盐性评价及耐盐指标筛选[J].生态学报,2015,35(3):805-814.
- [9] 闫艳霞,王玉魁,张东.不同枣品种对NaCl胁迫的适应性研究[J].河南农业大学学报,2008,42(4):398-341.
- [10] 翟衡,程述汉.苹果砧木耐盐性鉴定及其指标判定[J].果树学报,2002,19(1):4-7.
- [11] BHOWMIK S K, TITOV S, ISLAM M M, et al. Phenotypic and genotypic screening of rice genotypes at seedling stage for salt tolerance. African Journal of Biotechnology Vol. 8(23), pp. 6490-6494, 1 December, 2009.
- [12] LI J M, LIU L, BAI Y L, et al. Seedling salt tolerance in tomato. Euphytica(2011)178:403-414.
- [13] 苗海霞,孙明高,夏阳,等.盐胁迫对苦楝根系活力的影响[J].山东农业大学学报,2005,36(1):9-12.
- [14] 董志刚,程智慧.番茄品种资源芽期和幼苗期的耐盐性及耐盐指标评价[J].生态学报,2009,9(3):1348-1355.
- [15] 王秀玲,程序,李桂英.甜高粱耐盐材料的筛选及芽苗期耐盐性相关分析[J].中国生态农业学报,2010,18(6):1239-1244.
- [16] DUNN G M, NEALES T F. Are the effects of salinity on growth and leaf gas exchange related [J]. Photosynthetica, 1993(29):33-42.
- [17] 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,2002,25(4):11-14.
- [18] PUSHPAM R, RANGASAMY S. Variations in chlorophyll contents of rice in relation to salinity [J]. Crop Research, 2000, 20(2):197-200.
- [19] 李晓燕,宋占午,董志贤,等.植物的盐胁迫生理[J].西北师范大学学报,2004,40(3):106-111.
- [20] 武香,倪建伟,张华新,等.盐胁迫下不同盐生植物渗透调节的生理响应[J].东北林业大学学报,2012,40(8):29-33.
- [21] 杜中军,翟衡,罗新书,等.苹果砧木耐盐性鉴定及其指标判定[J].果树学报,2002,19(1):4-7.
- [22] 宗鹏鹏,曲艳华,柴朋,等.八棱海棠耐盐碱性评价[J].中国农业大学学报,2013,18(3):96-100.