

杜梨对盐碱胁迫的生理响应及耐盐碱性评价

霍宏亮^{1,2}, 王超¹, 杨祥¹, 曹玉芬¹, 田路明¹, 董星光¹,
张莹¹, 齐丹¹, 徐家玉¹, 刘超¹

(¹ 中国农业科学院果树研究所, 辽宁兴城 125100; ² 西南大学园艺园林学院, 重庆 400716)

摘要: 为探究不同杜梨资源对盐碱胁迫的生理响应及筛选耐盐碱资源, 以甘肃、山西、辽宁等地收集的 17 份杜梨资源 3000 余株幼苗为试验材料, 采用中性盐和碱性盐混合胁迫处理, 测定盐碱抗性相关的生理指标, 基于主成分分析法、热图及聚类分析法和抗逆系数法进行抗性评价。研究发现, 抗性强的资源抗氧化酶活性和脯氨酸含量在受到胁迫后显著上升, 300 mmol/L 盐碱胁迫下超氧化物歧化酶活性显著上升的资源为河底杜梨 3 和平陆杜梨 1, 分别上升了 75.04%、70.04%; 过氧化物酶活性上升显著的资源为甘肃杜梨 1 和河底杜梨 1, 分别上升了 1136.11%、742.86%; 过氧化氢酶活性显著上升的资源为甘肃杜梨 15、甘肃杜梨 4, 分别上升了 344.58%、343.42%, 脯氨酸含量显著上升的资源为平陆杜梨 2、河底杜梨 1、河底杜梨 3, 丙二醛含量上升较多的资源为甘肃杜梨 16、甘肃杜梨 13、甘肃杜梨 1。除甘肃杜梨 13 在低浓度 (100 mmol/L) 盐碱胁迫即出现明显盐害现象外, 其他杜梨资源均在 300 mmol/L 浓度处理下才开始出现不同程度的盐害; 利用不同方法进行耐盐碱性分析结果存在一定的差异, 其中基于主成分分析法发现河底杜梨 1、河底杜梨 3、平陆杜梨 1、甘肃杜梨 15、山西杜梨 1 耐盐碱性较强; 基于热图和聚类分析发现甘肃杜梨 4、甘肃杜梨 15、平陆杜梨 1、河底杜梨 1 和河底杜梨 3 具有较强的耐盐碱性; 而利用抗逆系数法分析耐盐碱性较强的资源为甘肃杜梨 1、河底杜梨 1、甘肃杜梨 16、甘肃杜梨 4、甘肃杜梨 15。综合 3 种方法的分析结果, 河底杜梨 1 和甘肃杜梨 15 属于高抗盐碱类型, 而甘肃杜梨 13 则为盐碱敏感型资源。

关键词: 杜梨; 盐碱胁迫; 生理响应; 综合评价

Physiological Response and Saline-alkali Tolerance Evaluation of *Pyrus betulifolia* Resources under Saline-alkali Stress

HUO Hong-liang^{1,2}, WANG Chao¹, YANG Xiang¹, CAO Yu-fen¹, TIAN Lu-ming¹,
DONG Xing-guang¹, ZHANG Ying¹, QI Dan¹, XU Jia-yu¹, LIU Chao¹

(¹ Research Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Liaoning Xingcheng 125100;

² College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716)

Abstract: To unlock the physiological responses of *P. betulifolia* Bunge germplasm resources and identify the elite resources under saline-alkali stress conditions, >3000 seedling plants from 17 *betulaefolia* Bunge accessions in Gansu, Shanxi and Liaoning provinces were analyzed. The physiological indexes under the mixed stress treatments of neutral salt and alkaline salt were measured, followed by statistical analysis (principal component analysis, heat map, cluster analysis and stress coefficient). In *P. betulifolia* Bunge plants showing strong tolerance, the antioxidant enzyme activity and proline content increased significantly after treatments. Under 300 mmol/L salt-alkali stress, the SOD activity in *P. betulifolia*-Hedi 3 and *P. betulifolia*-Pinglu 1 was observed with increase up to 75.04% and 70.04%, respectively. The increase on the POD activity in *P.*

收稿日期: 2021-09-18 修回日期: 2021-10-04 网络出版日期: 2021-11-25

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210918001>

第一作者研究方向为果树种质资源, E-mail: huohongliang@caas.cn; 王超为共同第一作者

通信作者: 曹玉芬, 研究方向为果树种质资源, E-mail: yfcaas@263.net

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程 (CAAS-ASTIP); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-28-1)

Foundation projects: The Agricultural Science and Technology Innovation Program (CAAS-ASTIP), China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-28-1)

betulaefolia-Gansu 1 and *P. betulaefolia*-Hedi 1 was detected up to 1136.11% and 742.86%, respectively. In *P. betulaefolia*-Gansu 15 and *P. betulaefolia*-Gansu 4 a significant increase (344.58% and 343.42%, respectively) on the CAT activity was detected. Moreover, the significant increase on proline content were observed in *P. betulaefolia*-Pinglu 2, *P. betulaefolia*-Hedi 1 and *P. betulaefolia*-Hedi 3 and MDA content were observed in *P. betulaefolia*-Gansu 16, *P. betulaefolia*-Gansu 13 and *P. betulaefolia*-Gansu 1. Except for *P. betulaefolia*-Gansu 13 that showed salt damage at low concentration (100 mmol/L) under saline-alkali stress, other *P. betulaefolia* Bunge resources showed degrees of salt damage under 300 mmol/L. By deployment of the principal component analysis, *P. betulaefolia*-Hedi 1, *P. betulaefolia*-Hedi 3, *P. betulaefolia*-Pinglu 1, *P. betulaefolia*-Gansu 15 and *P. betulaefolia*-Shanxi 1 showed strong salt-alkali resistance. Based on heat map and cluster analysis, it was found that *P. betulaefolia*-Gansu 4, *P. betulaefolia*-Gansu 15, *P. betulaefolia*-Pinglu 1, *P. betulaefolia*-Hedi 1 and *P. betulaefolia*-Hedi 3 had strong salinity tolerance. The coefficient analysis suggested that *P. betulaefolia*-Gansu 1, *P. betulaefolia*-Hedi 1, *P. betulaefolia*-Gansu 16, *P. betulaefolia*-Gansu 4, *P. betulaefolia*-Gansu 15 showed strong salt and alkali tolerance. Taken together, *P. betulaefolia* Bunge, *P. betulaefolia*-Hedi 1 and *P. betulaefolia*-Gansu 15 are qualified with high saline-alkali resistance, whereas *P. betulaefolia*-Gansu 13 is saline-alkali sensitive.

Key words: *P. betulaefolia* Bunge; salt-alkali stress; physiological response; comprehensive evaluation

杜梨 (*Pyrus betulaefolia* Bunge) 主要分布于河北、山西、甘肃、新疆等省(自治区), 是我国华北及西北地区的主要砧木, 由于其抗逆性强, 资源和种内变异极其丰富, 因此在我国梨产业中具有举足轻重的作用^[1]。世界上越来越多的灌溉土壤受到盐碱的影响, 且影响逐年增大^[2-4]。土壤渐渐被盐碱侵蚀, 预测最多到 2050 年, 超过一半的耕地会被盐碱侵蚀, 大大降低了土地利用效率^[5]。据统计, 已经应用于种植的盐碱地不足其总面积的 20%^[1]。土壤盐碱化等环境因素将成为制约全球水果质量和产量的主要因素之一^[6]。我国盐碱地分布于 17 个省(直辖市、自治区), 可主要分为 5 个部分, 即青海和新疆、西北内陆、东北平原、东部沿海和黄淮海平原, 盐碱成分复杂, 多为盐碱混合, 包含碳酸盐、氯化盐、硫酸盐、碳酸氢盐等, 同时盐碱地的盐碱程度差异很大^[7]。果树耐盐碱性的综合评价和抗性资源的筛选在栽培、育种及盐碱地利用等方面起着重要作用。梨主要采用嫁接繁育, 选择耐盐碱性强的砧木是提高果树耐盐碱性的关键。杜梨是培育耐盐碱、抗旱、抗病等优良砧木材料的基因资源库, 具有重要的开发利用价值^[8]。杜梨的抗盐碱性研究有利于提高盐碱地土地利用效率, 同时对盐碱地区梨产业的发展和提升抗性砧木的选育效率具有重要意义。

盐碱胁迫会严重影响植物生长发育, 降低生长介质的渗透势和水势, 阻碍水分吸收, 甚至会造成植株死亡。土壤中过高的钠离子含量, 也可以通过扰乱土壤的理化性质和植物的生物功能而影响养

分的吸收。钠离子还能够通过结构性表达的离子通道和转运蛋白进入植物根系, 最终通过维管系统传播到整个植物^[9-10]。钠离子积累到一定程度, 会引起细胞毒性效应或导致组织、细胞和亚细胞间的渗透失衡。而植物在盐碱胁迫条件下, 通过产生抗逆蛋白、渗透调节物质、有机酸、可溶性糖类以及抗逆相关激素等, 响应逆境胁迫^[11]。盐胁迫条件下, 杜梨和沙枣体内脯氨酸的含量会随着盐浓度的升高而升高, 杜梨抗氧化酶活性会对盐碱胁迫产生响应^[12-13]。贴梗海棠叶片叶绿素含量在盐胁迫处理第 14 天时, 盐浓度为 50 mmol/L 时的降幅最大^[14]。山定子和八棱海棠在盐胁迫处理第 12 天时, 山定子超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性在盐浓度为 0.3% 时达最大, 八棱海棠超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性分别在盐浓度为 0.2%、0.5%、0.3% 时达最大值^[15]。

主成分分析、聚类分析和抗逆系数为植物耐盐碱性评价的常用方法, 并在基于电解质渗出率、脯氨酸、丙二醛和抗氧化酶活性等生理指标下平欧杂种榛、葡萄等果树的耐盐碱性评价中应用^[16-17]。为探究不同杜梨资源对盐碱胁迫的生理响应, 优化杜梨耐盐碱性评价体系及挖掘优异耐盐碱性杜梨资源, 本研究选取 17 份采自山西、甘肃、辽宁的杜梨资源, 在幼苗期进行多浓度盐碱胁迫处理, 开展抗性评价, 明确了所选资源的耐盐碱性强弱, 筛选出优异的抗性资源, 为后续抗性的分子机制研究提供材料基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验采用一年生杜梨实生幼苗作为材料。2019年9-10月分别于山西省运城市、甘肃省天水

市、庆阳市、张掖市、兰州市以及辽宁省兴城市等地收集杜梨资源共计17份(表1)。对收集到杜梨资源的种子进行层积,层积结束后采用基质块育苗;将健壮生长3个月的3060株幼苗(每份资源180株)转移至沙土中培养,并准备进行盐碱胁迫处理。

表1 试验材料名称、来源及地理坐标

Table1 Name, origin and geographic coordinates of test materials

材料名称 Material name	采集地点 Locality	经度(E) Longitude	纬度(N) latitude
甘肃杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu1	甘肃省天水市	104.800°	34.760°
甘肃杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu2	甘肃省天水市	104.800°	34.760°
甘肃杜梨 4 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu4	甘肃省天水市	104.800°	34.761°
甘肃杜梨 7 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu7	甘肃省庆阳市	108.282°	35.265°
甘肃杜梨 13 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu13	甘肃省兰州市	104.056°	37.126°
甘肃杜梨 14 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu14	甘肃省兰州市	104.056°	37.126°
甘肃杜梨 15 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu15	甘肃省张掖市	100.224°	38.503°
甘肃杜梨 16 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu16	甘肃省张掖市	100.216°	38.504°
甘肃杜梨 17 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu17	甘肃省张掖市	100.224°	38.503°
平陆杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu1	山西省运城市	111.072°	34.575°
平陆杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu2	山西省运城市	111.063°	34.572°
平陆杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu3	山西省运城市	111.054°	34.570°
山西杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi1	辽宁省兴城市	120.440°	40.370°
山西杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi3	辽宁省兴城市	120.440°	41.370°
河底杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi1	辽宁省兴城市	120.440°	41.370°
河底杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi3	辽宁省兴城市	120.440°	41.370°
太林乡杜梨 <i>P. betulaefolia</i> -Tailinxiang	辽宁省兴城市	120.440°	41.370°

山西杜梨 1 和山西杜梨 3 于 2007 年由山西沁源引入辽宁

P. betulaefolia-Shanxi1 and *P. betulaefolia*-Shanxi3 was introduced into Liaoning from Qinyuan, Shanxi in 2007

1.2 试验设计

通过预试验,模拟与天然盐碱地相似的盐碱条件,选用中性氯化钠和硫酸钠、碱性盐碳酸钠和碳酸氢钠进行盐碱胁迫处理。根据盐碱地 pH 及杜梨耐盐碱情况,确定盐溶液配比为氯化钠、硫酸钠、碳酸氢钠、碳酸钠 4 种盐比例 1:9:9:1。设置盐碱胁迫浓度为 0 mmol/L、100 mmol/L、300 mmol/L 共 3 个梯度。每个处理 3 个重复,每组重复不少于 45 株。幼苗胁迫处理前充分灌溉。24 h 后,设置 2 个试验组和 1 个对照组;试验组每 24 h 施加一次盐碱溶液,为避免盐激反应,盐碱溶液以 50 mmol/L 的浓

度递增。试验组 1 胁迫浓度增至 100 mmol/L,试验组 2 浓度增至 300 mmol/L,对照组每次以等量水处理;处理达到最终浓度后每 2 d 补充 1 次盐碱溶液,每 3 d 浇 1 次营养液;当试验组某一资源超过半数发生盐害现象或达到最终处理浓度后 7 d 时,停止处理,取样并检测各个抗逆指标。

1.3 测定方法

1.3.1 叶片盐害指数调查 观察叶片受害情况,对叶片受害情况进行分级,计算盐害指数,盐害指数 = $\sum(\text{盐碱胁迫危害级数} \times \text{相应级数株数}) / \text{总株数}$,并拍照记录。根据叶片遭受盐碱胁迫危害程度分为

以下 5 级: 0 级: 无盐碱胁迫危害症状; 1 级: 有少部分叶尖、叶缘和叶脉变色; 2 级: 约有 1/2 的叶尖、叶缘变色; 3 级: 大部分叶片有叶尖、叶缘焦枯, 落叶现象; 4 级: 叶落直至死亡。

1.3.2 叶片抗氧化酶活性测定 将叶片去中脉称取 0.5 g, 剪碎后置于研钵中冰浴研磨, 先加入 2 mL (pH=7.8, 50 mmol/L) 磷酸缓冲液在冰浴中研磨成匀浆, 将其移入离心管中, 然后用 3 mL 缓冲液冲洗研钵并移至离心管, 低温 (0~4 °C) 12000 r/min 离心 20 min, 上清液即为酶提取液, 取出置于 4 °C 冰箱保存备用。

超氧化物歧化酶 (SOD, superoxide dismutase) 活性测定参照王学奎等^[18]的氮蓝四唑光化还原法进行测定, 取 20 μL 提取液加入 3 mL 的反应液 (由 50 mmol/L 磷酸缓冲液、75 μmol/L 氮蓝四唑、13 mmol/L 甲硫氨酸、0.1 mmol/L EDTA 和 2 μmol/L 核黄素组成), 在 560 nm 波长下测定光密度, 以氮蓝四唑抑制率达到 50% 时所需的酶量定义为一个酶活力单位。

过氧化物酶 (POD, peroxidase) 活性采用李合生^[19]的愈创木酚比色法进行测定, 取 20 μL 提取液加入 3 mL 反应液 (50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0)、20 mmol/L 愈创木酚), 加入 40 μL 0.25% H₂O₂ 迅速混匀启动反应, 470 nm 扫描 120 s, 每隔 20 s 测定 1 次, 以每分钟吸光值的变化表示酶活性大小。

过氧化氢酶 (CAT, catalase) 活性采用李小方等^[20]的比色法进行测定, 取 100 μL 提取液加入 3 mL 反应液 (50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0))。每次测定均设有一支对照管, 对照管中的提取液在沸水浴中煮沸 2 min 后冷却。将所有试管于 25 °C 条件下预热 5 min, 分别加入 0.3 mL 0.1 mmol/L 的 H₂O₂, 加完后迅速混匀计时, 并倒入石英比色杯中于 240 nm 下测定吸光值, 每隔 1 min 读数一次, 共读取 4 min 的吸光值, 根据吸光值的变化速率计算 CAT 的活性。

1.3.3 丙二醛和脯氨酸含量的测定 丙二醛 (MDA, malonaldehyde) 含量测定选取硫代巴比妥酸法^[19], 称取叶片冻样 0.5 g, 加少量交联聚维酮和液氮, 研磨至粉末状, 加入 5 mL 磷酸缓冲液 (pH 7.8, 0.05 mol/L) 摇匀, 4 °C 下 12000 r/min 离心 20 min。取上清液 1 mL, 加入 0.5% 硫代巴比妥酸 5 mL, 沸水浴 10 min, 迅速冷却, 12000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 以 0.5% 硫代巴比妥酸为空白, 在 532 nm、600 nm 和 450 nm 下分别测定吸光值。按如下公式计算丙二

醛含量, $MDA = [6.452 \times (D_{532} - D_{600}) - 0.559 \times D_{450}] \times V_t / V_s \times W$, 式中 V_t 为提取液总体积, V_s 为测定时取样体积, W 为样品鲜重, D_{532} 、 D_{600} 、 D_{450} 分别代表在 532 nm、600 nm 和 450 nm 下的吸光值。

脯氨酸 (Pro, proline) 含量测定采取酸性茚三酮法^[19], 0.5 g 冻样加入 5 mL 3% 的磺基水杨酸溶液, 封口沸水浴 10 min, 冷却过滤。以蒸馏水为对照, 取滤液 2 mL, 加入 2 mL 冰乙酸和 2 mL 酸性茚三酮, 沸水浴 30 min, 冷却后加入 5 mL 甲苯, 充分振荡, 取上层甲苯液于 520 nm 下比色。按如下公式计算 Pro 含量。Pro = $C \times V_t / W \times V_s$, 式中 C 为由标准曲线计算得脯氨酸质量, V_t 为提取液总体积, V_s 为测定时取样体积, W 为样品鲜重。

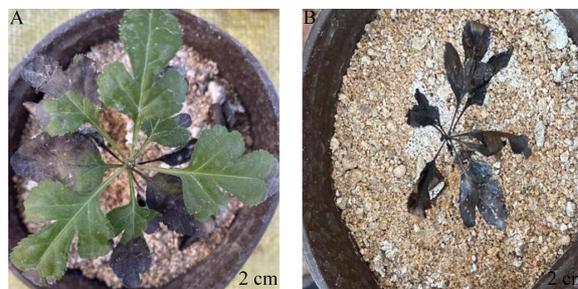
1.4 数据处理

用 Excel 2013 软件统计数据、分析数据并进行表格和柱状图的绘制。使用 SPSS 26.0 软件计算各个样品指标的平均值和标准误。将高浓度 (300 mmol/L) 盐碱胁迫下各指标的原始数据进行归一化处理, 使用 Origin 2019b 进行主成分分析、热图分析、聚类分析 (层次聚类组平均法), 根据热图分析的色值和聚类分析的类比结果评价资源的抗性。计算 300 mmol/L 的盐碱浓度下各单项指标的抗逆系数, 根据抗逆系数均值的大小判定杜梨资源的抗性, 其中抗逆系数 = 胁迫指标性状值 / 对照指标性状值。

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫对杜梨实生苗幼苗生长的影响

盐碱胁迫会抑制幼苗的生长, 使叶片枯萎、扭曲等, 严重时, 导致植株死亡。杜梨资源盐害之初, 表现为叶片边缘逐渐失绿枯萎 (图 1A); 随着盐害的加深, 杜梨叶片完全变黑, 植株枯萎死亡 (图 1B)。



A: 100 mol/L, B: 300 mol/L

图 1 不同浓度盐碱胁迫下杜梨实生苗的生长情况
Fig.1 Growth of *P.betulaefolia* Bunge seedlings under different concentrations of salt-alkali stress

在盐碱溶液为 100 mmol/L 时,甘肃杜梨 13 最先出现盐害现象,小部分叶片开始褪绿、枯萎,此时其盐害指数为 2.11,其余杜梨仅受到轻微的盐害。当盐碱浓度为 300 mmol/L 时,各杜梨盐害指数上升,叶片均出现卷曲边缘褪绿情况,部分植株开始死

亡。不同杜梨资源耐盐碱性差异显著,耐盐碱性强的杜梨资源仍有部分植株健康生长。盐碱浓度为 300 mmol/L 时,山西杜梨 1、甘肃杜梨 15 和河底杜梨 1 的盐害指数较低,分别为 2.47、2.45 和 2.25,幼苗生长状况强于其他资源(表 2)。

表 2 不同浓度盐碱胁迫下杜梨叶片盐害指数

Table 2 Leaf salt damage index of *P.betulaefolia* under different concentrations of saline-alkali stress

材料名称 Material name	盐碱浓度 (mmol/L) Salt damage concentration	
	100	300
甘肃杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu1	1.13 ± 0.02 fg	2.89 ± 0.10 gh
甘肃杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu2	0.93 ± 0.02 bcd	2.81 ± 0.19 fg
甘肃杜梨 4 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu4	1.25 ± 0.04 h	2.49 ± 0.04 bc
甘肃杜梨 7 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu7	0.95 ± 0.06 cde	2.79 ± 0.13 fg
甘肃杜梨 13 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu13	2.11 ± 0.02 k	3.00 ± 0.03 h
甘肃杜梨 14 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu14	1.11 ± 0.07 fg	2.57 ± 0.10 bcd
甘肃杜梨 15 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu15	1.07 ± 0.06 egh	2.45 ± 0.13 b
甘肃杜梨 16 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu16	1.76 ± 0.10 j	2.69 ± 0.02 def
甘肃杜梨 17 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu17	1.01 ± 0.08 def	2.71 ± 0.11 def
平陆杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu1	0.93 ± 0.05 bcd	2.59 ± 0.02 bcde
平陆杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu2	0.88 ± 0.12 abc	2.74 ± 0.09 efg
平陆杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu3	1.37 ± 0.02 i	2.77 ± 0.01 fg
山西杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi1	0.78 ± 0.12 a	2.47 ± 0.04 b
山西杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi3	1.05 ± 0.04 def	2.64 ± 0.07 cdef
河底杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi1	0.82 ± 0.05 ab	2.25 ± 0.06 a
河底杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi3	0.93 ± 0.11 bcd	2.55 ± 0.06 bcd
太林乡杜梨 <i>P. betulaefolia</i> -Tailinxiang	1.19 ± 0.03 gh	2.88 ± 0.11 gh
F 值 F value	75.250	13.286
显著性 Significance	0	0

± 前后数据分别代表平均值和标准差。不同字母表示样本间差异达到显著水平 ($P < 0.05$), 下同

Data before and after ± represent mean value and standard deviation respectively. The letters mean significant difference among samples at 0.05 level, the same as below

2.2 盐碱胁迫对杜梨实生苗叶片丙二醛含量的影响

由图 2 可知,杜梨实生苗在 100 mmol/L 盐碱胁迫下,其 MDA 含量较对照上升较多的资源为平陆杜梨 2、平陆杜梨 1,分别上升了 177.31%、144.23%; MDA 含量下降最多的是甘肃杜梨 17,下降了 60.39%,其次为甘肃杜梨 2 和甘肃杜梨 13,分别下降了 57.20% 和 54.00%。300 mmol/L 盐碱胁迫下,MDA 含量较对照上升较多的资源为甘肃杜梨 16、甘肃杜梨 13、甘肃杜梨 1,分别上升了 758.15%、

383.72%、224.17%; MDA 含量下降最多的是甘肃杜梨 17,下降了 64.51%,其次为山西杜梨 3 和河底杜梨 1,分别下降了 39.43% 和 35.42%。可见,当盐碱浓度上升时,MDA 含量上升幅度显著增大,不同处理下杜梨资源的 MDA 含量变化率差异显著。

当盐碱浓度增加时,甘肃杜梨 1、甘肃杜梨 4、甘肃杜梨 7、甘肃杜梨 14、甘肃杜梨 15、甘肃杜梨 16、甘肃杜梨 17、平陆杜梨 1、山西杜梨 3、太林乡杜梨的 MDA 含量呈现单峰变化,其中甘肃杜

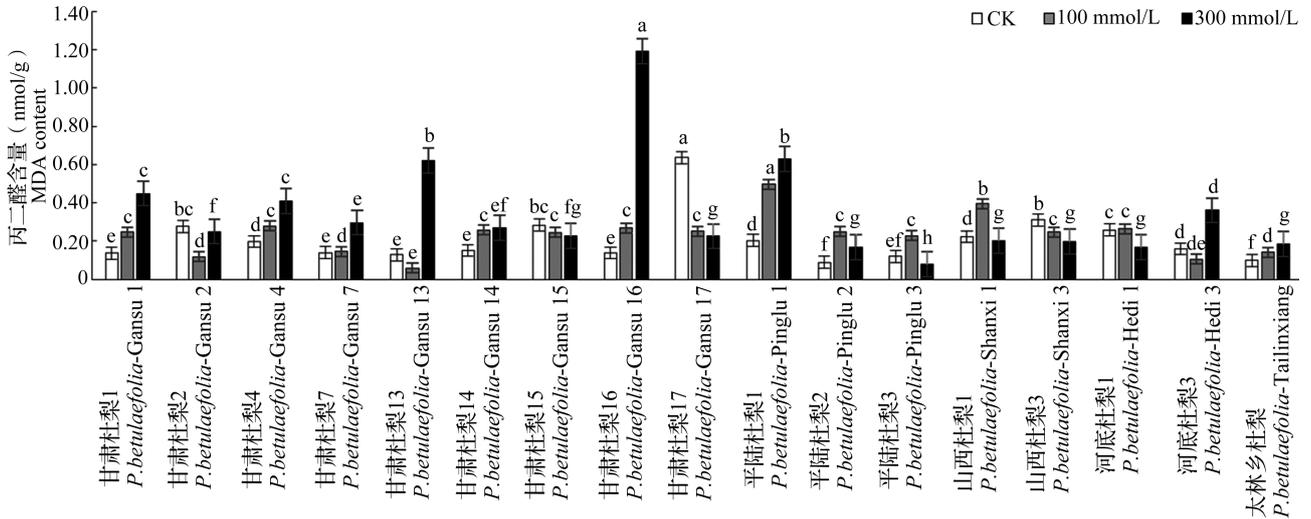


图 2 盐碱胁迫下杜梨资源叶片丙二醛含量变化情况

Fig.2 Changes of MDA content of *P.betulaefolia* Bunge accessions under salt-alkali stress

梨 15、甘肃杜梨 17 和山西杜梨 3 的 MDA 含量随盐碱浓度的升高呈现下降趋势,即上述杜梨处于盐碱胁迫时产生的 MDA 被及时清除,保证了细胞膜的选择透过性,而其他杜梨资源遭遇胁迫时,MDA 含量上升,细胞膜透性遭到破坏,影响细胞正常的生理活动;甘肃杜梨 2、甘肃杜梨 13 和河底杜梨 3 的 MDA 含量随着盐碱浓度的升高呈现出先下降后上升的趋势,表明在低盐碱胁迫时,细胞膜结构和功能保持良好,而高盐碱胁迫下细胞膜遭到破坏。

2.3 盐碱胁迫对杜梨实生苗叶片抗氧化酶活性的影响

2.3.1 盐碱胁迫对超氧化物歧化酶活性的影响 如图 3 所示,100 mmol/L 盐碱胁迫下,SOD 活性较

对照上升较多的资源为平陆杜梨 1、甘肃杜梨 7,分别上升了 58.30%、41.89%;下降最多的为甘肃杜梨 14,下降了 38.97%,其次为甘肃杜梨 16 和甘肃杜梨 2,分别下降了 27.90% 和 30.52%。300 mmol/L 盐碱胁迫下,SOD 活性较对照上升较多的资源为河底杜梨 3 和平陆杜梨 1,分别上升了 75.04% 和 70.04%;下降最多的是甘肃杜梨 13,下降了 33.99%,其次为甘肃杜梨 14 和太林乡杜梨,分别下降了 31.40% 和 28.15%。在不同盐碱胁迫浓度处理下,平陆杜梨 1 的 SOD 活性均上升较多,而甘肃杜梨 14 在不同处理下 SOD 活性均大幅下降。

由图 3 可知,随着盐碱浓度的增加,17 份杜梨资源的 SOD 活性变化情况存在明显不同,其中甘肃杜梨 1、甘肃杜梨 4、平陆杜梨 1、平陆杜梨 2、山西

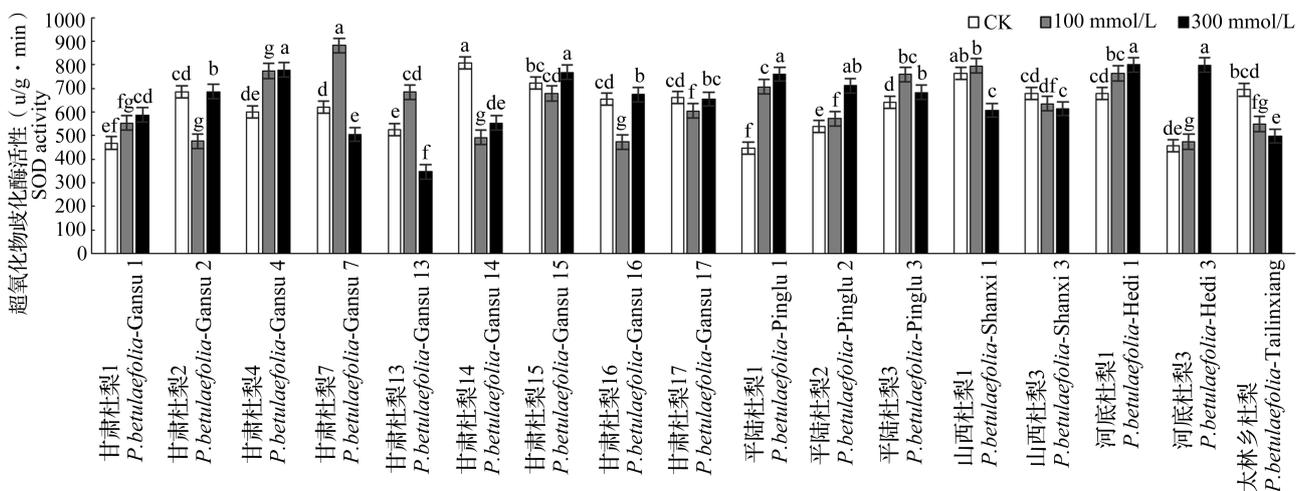


图 3 盐碱胁迫下杜梨资源叶片超氧化物歧化酶活性变化情况

Fig.3 Changes of SOD activity of *P.betulaefolia* Bunge accessions under salt-alkali stress

杜梨3、河底杜梨1、河底杜梨3、太林乡杜梨的SOD活性表现为单峰变化,仅有山西杜梨3和太林乡杜梨的SOD活性呈现出下降趋势;其他杜梨资源的SOD活性在高浓度盐碱胁迫时呈上升趋势,以应对高盐碱胁迫产生的活性氧伤害。甘肃杜梨7、甘肃杜梨13、平陆杜梨3、山西杜梨1的SOD活性表现为低浓度盐碱胁迫时上升而受到高浓度盐碱胁迫后下降,即在高浓度盐碱胁迫时,以上资源SOD清除活性氧的能力较弱。

2.3.2 盐碱胁迫对过氧化物酶活性的影响 由图4可知,100 mmol/L盐碱胁迫下POD活性较

对照上升较多的资源为甘肃杜梨17、平陆杜梨2和甘肃杜梨4,分别上升了138.64%、131.84%、131.58%;POD活性下降最多的是甘肃杜梨2,下降了65.99%,其次为甘肃杜梨16和太林乡杜梨,分别下降了61.25%和52.45%。300 mmol/L盐碱胁迫下POD活性较对照上升较多的资源为甘肃杜梨1、河底杜梨1,分别上升了1136.11%、742.86%;POD活性下降最多的是甘肃杜梨7,下降了68.28%,其次为平陆杜梨3和山西杜梨3,分别下降了55.01%和39.95%。由上可知,在不同处理下POD活性较对照的变化率的极值出现在不同资源。

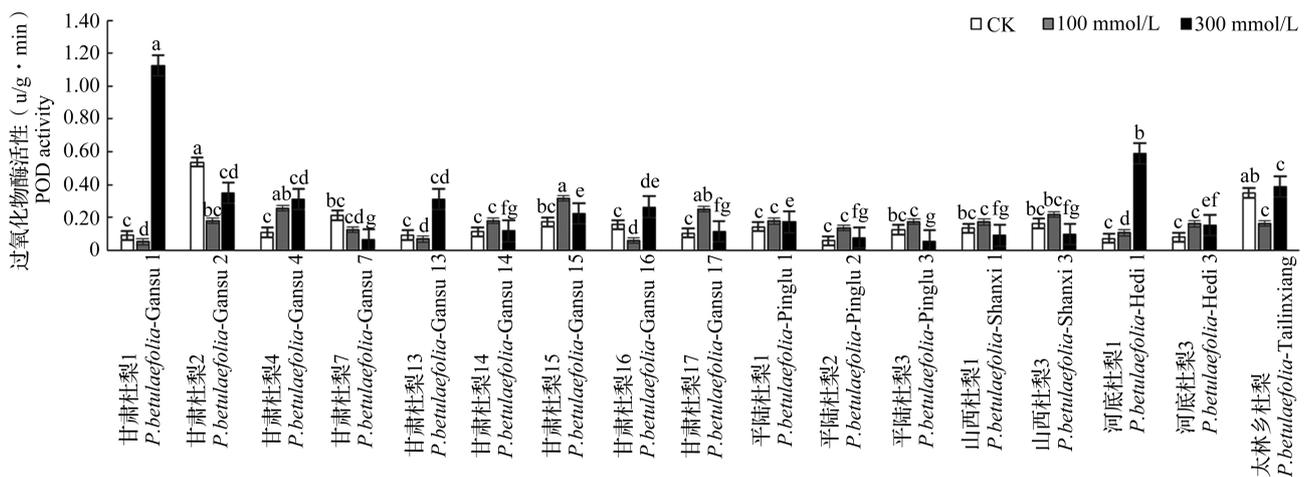


图4 盐碱胁迫下杜梨资源叶片过氧化物酶活性变化情况

Fig.4 Changes of POD activity of *P. betulaefolia* Bunge accessions under salt-alkali stress

随着盐碱浓度的升高,甘肃杜梨4和河底杜梨1的POD活性也相应上升,表现出较强的抗氧化能力;甘肃杜梨1、甘肃杜梨2、甘肃杜梨13、甘肃杜梨16、太林乡杜梨的POD活性在低盐碱浓度胁迫时较对照降低而在高浓度胁迫时上升,表明以上资源在高浓度的盐碱胁迫时才诱导POD的活性增强,抵御逆境胁迫。甘肃杜梨14、甘肃杜梨15、甘肃杜梨17、平陆杜梨1、平陆杜梨2、平陆杜梨3、山西杜梨1、山西杜梨3、河底杜梨3的POD活性表现为低盐碱胁迫时最高,表明这些杜梨资源在低盐碱胁迫时诱导POD活性增强抵御胁迫,但是抵御高浓度盐碱胁迫时POD活性较弱。

2.3.3 盐碱胁迫对过氧化氢酶活性的影响 由图5可知,100 mmol/L盐碱胁迫下,CAT活性较对照上升较多的资源为甘肃杜梨4、甘肃杜梨15,分别上升了833.80%、390.76%;CAT活性下降最多的是甘肃杜梨7,下降了91.29%,其次为平陆杜梨2和甘肃杜梨17,分别下降了73.10%和55.13%。300 mmol/L

盐碱胁迫下,CAT活性较对照上升较多的资源为甘肃杜梨15、甘肃杜梨4、河底杜梨3,分别上升了344.58%、343.42%、180.60%;下降最多的是甘肃杜梨7,下降了65.64%,其次为甘肃杜梨16和太林乡杜梨,分别下降了39.75%和30.19%。综上,甘肃杜梨15与对照相比,在两种盐碱浓度下CAT活性均显著上升,且100 mmol/L盐碱胁迫下上升幅度更大;而甘肃杜梨7较对照均大幅下降。

甘肃杜梨13、甘肃杜梨14、河底杜梨1、河底杜梨3的CAT活性表现为单峰变化,随着盐碱浓度的升高而增强,在抵御胁迫时表现出较强的活性;甘肃杜梨7、甘肃杜梨17、平陆杜梨1、平陆杜梨2、平陆杜梨3、山西杜梨1、山西杜梨3在低浓度盐碱胁迫时CAT的活性低于对照,随着盐碱浓度的升高CAT活性增强;甘肃杜梨1、甘肃杜梨2、甘肃杜梨4、甘肃杜梨15、甘肃杜梨16、太林乡杜梨在低浓度盐碱胁迫时CAT活性上升,而在高浓度盐碱胁迫时下降,抗氧化作用减弱。

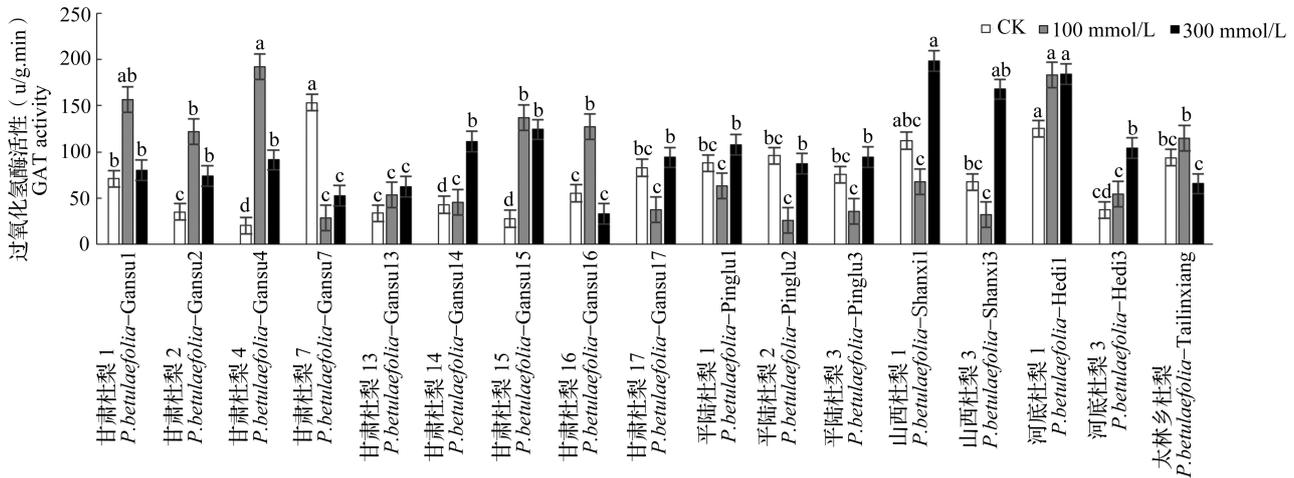


图5 盐碱胁迫下杜梨资源叶片过氧化氢酶活性变化情况

Fig.5 Changes of CAT activity of *P.betulaefolia* Bunge accessions under salt-alkali stress

2.4 盐碱胁迫对杜梨实生苗叶片脯氨酸含量的影响

由图6可知, 100 mmol/L 盐碱胁迫下 Pro 含量较对照上升较多的资源为甘肃杜梨 13、甘肃杜梨 4, 分别上升了 237.22%、182.53%; 下降最多的是甘肃杜梨 17, 下降了 82.16%, 其次为甘肃杜梨 7 和山西杜梨 3, 分别下降了 77.56% 和 72.33%。300 mmol/L 盐碱胁迫下, Pro 含量较对照上升较多

的资源为平陆杜梨 2、河底杜梨 1 和河底杜梨 3, 分别上升了 467.98%、449.05% 和 434.79%; Pro 含量下降最多的是甘肃杜梨 13, 下降了 37.22%, 其次为太林乡杜梨和甘肃杜梨 2, 分别下降了 36.55% 和 34.12%。因此, 杜梨资源在不同盐碱浓度下的 Pro 含量的变化差异较大。

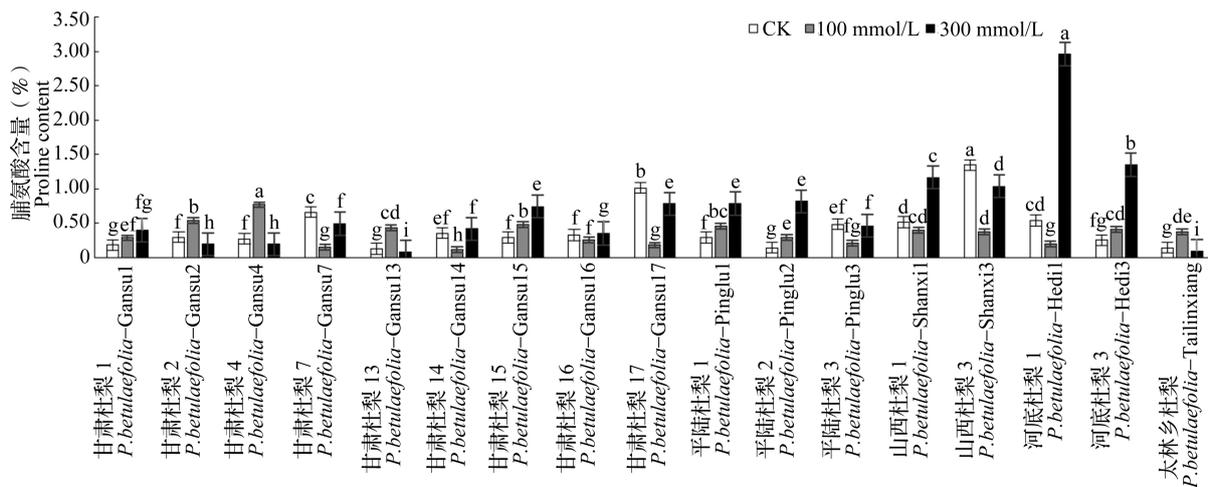


图6 盐碱胁迫下杜梨资源叶片脯氨酸含量变化情况

Fig.6 Changes of proline content of *P.betulaefolia* Bunge accessions under salt-alkali stress

甘肃杜梨 1、甘肃杜梨 15、平陆杜梨 1、平陆杜梨 2、河底杜梨 3 的 Pro 含量随着盐碱浓度的增加而升高, 增强了细胞内渗透压的稳定性; 甘肃杜梨 7、甘肃杜梨 14、甘肃杜梨 16、甘肃杜梨 17、平陆杜梨 3、山西杜梨 1、山西杜梨 3、河底杜梨 1 的 Pro 含量仅在高盐碱浓度的胁迫下升高, 推测以上资源耐盐碱胁迫能力相对较强。甘肃杜梨 2、甘肃杜梨 4、甘肃杜梨 13、太林乡杜梨的 Pro 含量表现为低盐碱

胁迫时高于对照而高盐碱胁迫时低于对照, 即上述资源在低盐碱胁迫时具有一定的抗性, 但是耐高盐碱胁迫能力较弱。

2.5 杜梨资源耐盐碱性评价

2.5.1 不同杜梨资源耐盐碱性的主成分分析 基于主成分分析对 17 份杜梨资源的耐盐碱性进行了评价。由表 3 可知, 当盐碱浓度为 300 mmol/L 时, 17 份杜梨资源耐盐碱性前 3 个主成分的累积贡献

率达到 85.4%,因此用前 3 个主成分代替 5 个指标评价杜梨耐盐碱性。第 1 主成分(PC1, principal component 1)贡献率为 45.4%,其中以 CAT 和 Pro 特征值较大;第 2 主成分(PC2, principal component 2)贡献率达到 22.1%,其中 POD 特征值较大,因此第 2 主成分主要反应了 POD 活性;第 3 主成分(PC3, principal component 3)贡献率达到 17.9%,其中以 SOD、MDA 特征值较大。

表 3 杜梨资源盐碱胁迫下的主成分分析

Table 3 Principal component analysis of salt and alkaline tolerance of *Pbetulaefolia* Bunge resources

材料名称 Material name	第 1 主成分 PC1	第 2 主成分 PC2	第 3 主成分 PC3	得分 Score	排序 Rank
甘肃杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu1	-0.75	2.30	-2.11	-1.04	13
甘肃杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu2	-0.37	0.00	-0.10	-0.94	12
甘肃杜梨 4 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu4	-0.18	0.38	0.71	0.66	7
甘肃杜梨 7 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu7	-0.79	-1.00	-0.16	-3.04	15
甘肃杜梨 13 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu13	-1.63	-0.35	-0.98	-4.95	17
甘肃杜梨 14 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu14	-0.20	-0.91	-0.34	-1.75	14
甘肃杜梨 15 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu15	0.58	-0.06	0.40	1.62	4
甘肃杜梨 16 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu16	-1.56	1.48	2.07	-0.05	9
甘肃杜梨 17 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu17	0.12	-0.56	0.18	-0.19	10
平陆杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu1	0.07	0.52	1.33	1.94	3
平陆杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu2	0.27	-0.61	0.48	0.38	8
平陆杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu3	0.16	-1.03	0.17	-0.62	11
山西杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi1	1.17	-0.84	-0.48	1.29	5
山西杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi3	0.84	-0.79	-0.34	0.72	6
河底杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi1	2.40	1.64	-0.64	6.69	1
河底杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi3	0.70	0.33	1.05	2.91	2
太林乡杜梨 <i>P. betulaefolia</i> -Tailinxiang	-0.85	-0.51	-1.26	-3.63	16
贡献率(%) Contribution rate	45.4	22.1	17.9		

以每个主成分贡献率占所提取主成分累积贡献率的比例作为权重计算因子得分,其公式为: $F=2.27PC1+1.11PC2+0.90PC3$ 。计算得到 17 份杜梨耐盐碱性主成分综合得分见表 3,河底杜梨 1、河底杜梨 3 的耐盐碱性较强,其中河底杜梨 1 的得分最高,为 6.69,其次为河底杜梨 3,得分为 2.91,都以 CAT 和 Pro 载荷较大的第 1 主成分贡献率最大,表明 CAT 和 Pro 两个指标在杜梨耐盐碱胁迫中发挥着重要的作用。

2.5.2 不同杜梨资源耐盐碱性的聚类分析 为直观地分析 17 份杜梨资源 5 个指标在盐碱胁迫下的变化情况,利用热图对盐碱胁迫下各指标进行可视化处理,通过聚类反映不同杜梨资源在盐碱胁迫下的变化情况(图 7)。如图 7A 所示,甘肃杜梨 7、甘肃杜梨 13、甘肃杜梨 14、太林乡杜梨整体区域颜色偏向于蓝色,说明盐碱胁迫对这 4 种杜梨生长影响较大,SOD 活性区域都偏向于红色,说明盐碱胁迫下 SOD 活性较高,而 POD 区域、Pro 区域更接近于蓝色,说明盐碱胁迫下 POD 活性、Pro 含量较低。同时发现

河底杜梨 1 拥有最多的红色区域。基于不同杜梨资源盐碱胁迫下各指标的邻近度进行聚类分析,结果如图 7B 所示,在欧氏距离 100 处将 17 份资源分为 5 大类,甘肃杜梨 4、甘肃杜梨 15、平陆杜梨 1、河底杜梨 1、河底杜梨 3 聚为一类,属于高抗种类;山西杜梨 1、山西杜梨 3 聚为一类,属于中抗种类;甘肃杜梨 2、甘肃杜梨 16、甘肃杜梨 17、平陆杜梨 2、平陆杜梨 3 聚为一类,属于低抗种类;甘肃杜梨 1、甘肃杜梨 7、甘肃杜梨 14、太林乡杜梨聚为一类,属于易受盐碱胁迫类;甘肃杜梨 13 为一类,属于盐碱敏感类。

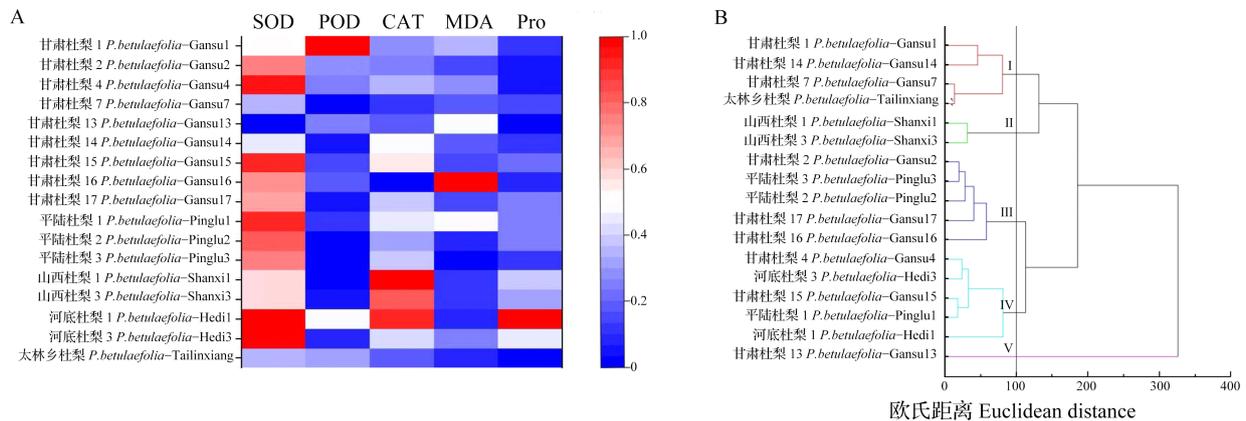


图7 杜梨资源耐盐碱性热图(A)及聚类(B)分析

Fig.7 Salinity and alkali tolerance heat map (A) and clustering (B) analysis of *P.betulaefolia* Bunge resources

2.5.3 杜梨资源抗逆评价 本研究发现,在盐碱浓度为 300 mmol/L 时,杜梨资源的耐盐碱性差异较大,因此以该浓度下不同资源的抗逆系数评价 17 份杜梨资源耐盐碱性,结果表明(表 4),甘肃杜梨 1、河底杜梨 1、甘肃杜梨 16 的抗逆系数较大,表明其在高盐碱浓度下具有较强的抗性。甘肃杜梨 13 的抗逆系数最低,与热图分析和聚类分析的结果一致,为盐碱胁迫敏感型资源。

表 4 杜梨资源耐盐碱性抗逆系数分析

Table 4 Analysis on the salt-alkaline resistance coefficient of *P.betulaefolia* Bunge resources

材料名称 Material name	抗逆系数 Adversity resistance coefficient
甘肃杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu1	3.96
河底杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi1	2.70
甘肃杜梨 16 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu16	2.45
甘肃杜梨 4 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu4	2.42
甘肃杜梨 15 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu15	2.04
河底杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Hedi3	2.02
平陆杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu1	1.81
山西杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi3	1.56
甘肃杜梨 14 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu14	1.54
平陆杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu2	1.15
甘肃杜梨 2 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu2	1.12
甘肃杜梨 17 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu17	1.09
太林乡杜梨 <i>P. betulaefolia</i> -Tailinxiang	1.08
山西杜梨 1 <i>P. betulaefolia</i> -Shanxi1	1.05
甘肃杜梨 7 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu7	0.89
平陆杜梨 3 <i>P. betulaefolia</i> -Pinglu3	0.80
甘肃杜梨 13 <i>P. betulaefolia</i> -Gansu13	0.75

3 讨论

3.1 杜梨资源对盐碱胁迫的生理响应

盐碱胁迫会导致植物生长势较差,叶片较小、变黄^[21]。张华新等^[22]研究发现,盐碱胁迫下,植株生长缓慢,生物量减少。本试验中,随着盐碱浓度的上升,叶片逐渐褪绿、卷曲,直至死亡,与前人研究结果一致。甘肃杜梨 13 最先发生胁迫症状并死亡,其耐盐碱性最差。

植物逆境胁迫下会产生大量的膜脂过氧化产物 MDA,细胞受伤害程度可由其含量高低直接反映^[23]。本研究中,大部分资源的 MDA 含量与盐碱胁迫处理浓度正相关,与张腾国等^[24]研究结果相似,高盐碱浓度下,MDA 含量上升幅度显著增大。而甘肃杜梨 2、甘肃杜梨 15、甘肃杜梨 17、山西杜梨 3 盐碱胁迫处理后,MDA 含量较对照反而下降,这可能由以下原因所致,一方面在逆境下,这 4 份资源的自我调控能力较强,其体内保护酶产生了防御反应,及时清除了活性氧和自由基,MDA 含量下降^[25];另一方面,低浓度的盐胁迫有助于降低一些植物内膜脂过氧化作用,降低过氧化产物 MDA 含量^[26]。

在清除活性氧过程中最先起作用的抗氧化酶是 SOD, O²- 会被 SOD 迅速歧化为过氧化氢和分子氧^[27]。尽管过氧化氢仍对机体有害,但体内的 CAT 和 POD 会发挥作用,将其分解为完全无害的水, SOD、POD、CAT 形成一个抗氧化系统^[28-29]。本试验中,盐碱胁迫条件下,抗性强的资源 SOD 活性持续上升明显, SOD 活性强的资源具有更强的抗性,而抗性较差资源,其 SOD 活性显著下降,与前人在海棠^[15]和水稻^[30]等植物的研究结果一致。当植物处于轻度逆境中, POD 的活性上升,清除活性氧能力变强,有研究发现 POD 活性

越高的高粱品种其盐胁迫耐受性越强^[31-32]。但是当受到重度的胁迫时,POD的活性则会大幅下降,导致抗氧化酶系统无法正常运行,影响植物正常生理活动^[29],此结论与本试验情况相似,高浓度盐碱处理时,甘肃杜梨7、甘肃杜梨14、甘肃杜梨15等资源均存在POD活性下降现象。本试验中高浓度盐碱胁迫下,杜梨CAT活性明显上升,推测其耐盐碱性强与CAT活性也存在很大关系。

体内游离Pro可保持渗透平衡,增强细胞保水和吸水能力。本研究中,抗性强的资源Pro含量显著高于抗性弱的资源,在盐碱胁迫处理下,河底杜梨3的Pro含量是甘肃杜梨13的16.9倍。同时,耐盐碱性较强的资源在盐碱胁迫下,其Pro含量上升幅度更大。

3.2 杜梨资源耐盐碱性综合评价

不同的耐盐碱指标检测或者选取不同方法检测,得出的结果可能有差异^[33-34]。主成分分析法可消除评价指标之间的相关影响,减少指标选择的工作量,并对评级指标降维。在综合评价函数中,各主成分的权数为其贡献率,它反映了该主成分包含原始数据的信息量占全部信息量的比重,这样确定权数客观合理,克服了某些评价方法中人为(或主观)确定权数的缺陷。对被提取的主成分需给出符合实际背景和意义的解释。本试验中,第1主成分表示了CAT活性及Pro含量,CAT为抗氧化酶,用于清除活性氧,Pro具有多重功能,如可保持渗透平衡,增强细胞保水和吸水能力,因此可认为第1主成分与清除活性氧相关;第2主成分代表了POD活性;而第3主成分SOD活性、MDA含量的特征值较大,SOD清除过氧化产物,而MDA为过氧化产物,因此第3主成分也与清除过氧化产物能力相关。故各主成分具有实际意义的解释,适合用于评价17份杜梨资源的耐盐碱性。

热图及聚类分析法是根据客观事物间的特征、亲疏程度、相似性,通过建立模糊相似关系对客观事物进行分析的方法^[35-36]。聚类分析模型的优点是直观且结论形式简明,并可以体现性状的群体遗传背景和遗传信息。缺点是对于单个样本和指标信息展示不足,缺少排序性。本试验中部分资源分布区域和原生环境相似,在聚类结果中有较好的体现。

抗逆系数法是根据抗逆系数的大小判定杜梨资源的抗性,主要体现不同资源以及不同生理指标对逆境的敏感程度。抗逆系数越大,表明逆境胁迫对

该性状的影响越小。抗逆系数法操作简单,但当样本量大时,工作量较大,同时缺乏准确度。

4 结论

评价耐盐指标的重要性并筛选优异资源,主成分分析法更为适合;而对资源进行分类,探究遗传背景的相似性,聚类及热图分析法更为适合;当样本较少,研究不同指标对环境的敏感度,仅对抗性粗略估计时,可采用抗逆系数法。经抗逆系数分析,在盐碱浓度为300 mmol/L下,甘肃杜梨1、河底杜梨1、甘肃杜梨16、甘肃杜梨4、甘肃杜梨15抗逆系数较大;主成分分析显示,耐盐碱性较强的杜梨资源为河底杜梨1、河底杜梨3、平陆杜梨1、甘肃杜梨15、山西杜梨1;据热图及聚类分析,甘肃杜梨4、甘肃杜梨15、平陆杜梨1、河底杜梨1和河底杜梨3属于高抗资源;甘肃杜梨13在3种评价方法中都排序最低。综上所述,河底杜梨1、甘肃杜梨15在不同种方法分析下均表现出优异的耐盐碱性,而甘肃杜梨13则为盐碱敏感型资源。

参考文献

- [1] 曹玉芬,张绍铃. 中国梨遗传资源. 北京: 中国农业出版社, 2021: 82
Cao Y F, Zhang S L. Pear genetic resource in China. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 82
- [2] 王伶珍,刘倩,高娅妮,柳旭. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展. 生态学报, 2017, 37(16): 5565-5577
Wang Q Z, Liu Q, Gao Y N, Liu X. Review on the mechanisms of the response to salinity-alkalinity stress in plants. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(16): 5565-5577
- [3] Zhang X X, Shi Z Q, Tian Y J, Zhou Q, Cai J, Dai T B, Cao W X, Pu H C, Jiang D. Salt stress increases content and size of glutenin macropolymers in wheat grain. Food Chemistry, 2016, 197: 516-521
- [4] Zhao X Y, Bian X Y, Li Z X, Wang X W, Yang C J, Liu G F, Jiang J, Kentbayev Y, Kentbayeva B, Yang C P. Genetic stability analysis of introduced *Betula pendula*, *Betula kirghisorum*, and *Betula pubescens* families in saline-alkali soil of northeastern China. Scandinavian Journal of Forest Research, 2014, 29(7): 639-649
- [5] Wang W X, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 2003, 218(1): 1-14
- [6] Basia V, Arie A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: Achievements and limitation. Current Opinion in Biotechnology, 2005, 16(2): 123-132
- [7] 毛庆莲,王胜. 国内盐碱地治理趋势探究浅析. 湖北农业科学, 2020, 59(S1): 302-306
Mao Q L, Wang S. Brief analysis on the trend of improve saline alkali soil in China. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(S1): 302-306

- [8] 马春晖,李鼎立,王秀娟,王然. 山东长岛梨属植物资源分布及演化分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 193-200
Ma C H, Li D L, Wang X J, Wang R. The analysis of distribution and evolution of genus *Pyrus* in Changdao Islands, Shandong. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(2): 193-200
- [9] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 651-681
- [10] Liang J P, Li Y, Si B C, Wang Y Z, Chen X G, Wang X F, Chen H R, Wang H R, Zhang F C, Bai Y G, Biswas A. Optimizing biochar application to improve soil physical and hydraulic properties in saline-alkali soils. *Science of The Total Environment*, 2021, 771: 144802
- [11] Abid M, Zhang Y J, Li Z, Bai D F, Fang J B. Effect of salt stress on growth, physiological and biochemical characters of four kiwifruit genotypes. *Scientia Horticulturae*, 2020, 271: 109473
- [12] 杨升,张华新,刘涛. 盐胁迫对 16 种幼苗渗透调节物质的影响. 林业科学研究, 2012, 25(3): 269-277
Yang S, Zhang H X, Liu T. Effect of salt stress on osmotic adjustment substances in 16 seedlings. *Forest Research*, 2012, 25(3): 269-277
- [13] 李正诗. 杜梨对碱胁迫的响应. 太谷: 山西农业大学, 2015
Li Z S. Response of *Pyrus betulaefolia* Bunge under alkali stress. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2015
- [14] 李景,刘群录,唐东芹,张婷婷. 盐胁迫和洗盐处理对贴梗海棠生理特性的影响. 北京林业大学学报, 2011, 33(6): 40-46
Li J, Liu Q L, Tang D Q, Zhang T T. Effects of salt stress and salt leaching on the physiological characteristics of *Chaenomeles speciosa*. *Journal of Beijing Forestry University*, 2011, 33(6): 40-46
- [15] 鲁晓燕,吕新民,金朋,茹思博,虎海防,张东亚. NaCl 胁迫对八棱海棠和山定子电导率和抗氧化酶活性的影响. 新疆农业科学, 2014, 51(2): 311-317
Lu X Y, Lv X M, Jin P, Ru S B, Hu H F, Zhang D Y. Effects of NaCl stress on electrical conductivity and antioxidant enzyme system in *Malus robusta* and *Malus baccata*. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2014, 51(2): 311-317
- [16] 张丽. 平欧杂种榛抗盐碱生理机制研究及其耐盐性评价. 北京: 中国林业科学研究院, 2015
Zhang L. Physiological mechanisms of salt-alkaline tolerance and evaluation on salt tolerance of Ping'ou hybrid hazelnut (*Corylus heterophylla* Fisch. × *Corylus avellana* L.). Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2015
- [17] 谭伟,李晓梅,董志刚,唐晓萍. 21 个酿酒葡萄品种(系)耐盐性比较分析. 山西农业科学, 2017, 45(3): 354-357, 490
Tan W, Li X M, Dong Z G, Tang X P. Comparative study on salt resistance of 21 wine grape varieties (lines). *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2017, 45(3): 354-357, 490
- [18] 王学奎,黄见良. 植物生理生化实验原理与技术. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2015: 216-217
Wang X K, Huang J L. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry. 3rd Edition. Beijing: Higher Education Press, 2015: 216-217
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-169
Li H S. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2000: 164-169
- [20] 李小方,张志良. 植物生理学实验指导. 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2015: 86-89
Li X F, Zhang Z L. Experimental guidance of plant physiology. 5th Edition. Beijing: Higher Education Press, 2015: 86-89
- [21] 马生敏,王春好,徐长安,徐长青,王永祥. 竹柳耐盐碱盆栽试验研究. 安徽农业通报, 2013, 19(18): 28, 44.
Ma S M, Wang C H, Xu C A, Xu C Q, Wang Y X. Study on saline-alkali tolerance of bamboo and willow in pot. *Anhui Agricultural Sciences Bulletin*, 2013, 19(18): 28, 44
- [22] 张华新,刘正祥,刘秋芳. 盐胁迫下树种幼苗生长及其耐盐性. 生态学报, 2009, 29(5): 2263-2271
Zhang H X, Liu Z X, Liu Q F. Seedling growth and salt tolerance of tree species under NaCl stress. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(5): 2263-2271
- [23] 陈展宇,常雨婷,邓川,杨振明. 盐碱生境对甜高粱幼苗抗氧化酶活性和生物量的影响. 吉林农业大学学报, 2017, 39(1): 15-19
Chen Z Y, Chang Y T, Deng C, Yang Z M. Effects of saline-alkali habitat on antioxidant enzyme activity and biomass of sweet sorghum seedlings. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2017, 39(1): 15-19
- [24] 张阔国,胡馨丹,李萍,刁志宏,王娟,郑晟. 盐及低温胁迫对油菜 ROS 和抗氧化酶活性的影响. 兰州大学学报: 自然科学版, 2019, 55(4): 497-505
Zhang T G, Hu X D, Li P, Diao Z H, Wang J, Zheng S. Effects of low temperature and salt stress on the activity of ROS and antioxidant enzymes in *Brassica campestris* seedlings. *Journal of Lanzhou University: Natural Sciences*, 2019, 55(4): 497-505
- [25] 高福元,张吉立,刘振平,郭芳芳. 持续低温胁迫对园林树木电导率和丙二醛含量的影响. 山东农业科学, 2010(2): 47-49, 81
Gao F Y, Zhang J L, Liu Z P, Guo F F. Effects of continuous low-temperature stress on electrical conductivity and MDA content of garden trees. *Shandong Agricultural Sciences*, 2010(2): 47-49, 81
- [26] 孟昱,张钢,高志民,李雪平. 毛竹叶片保护酶、丙二醛和叶绿素荧光参数对 NaCl 胁迫的响应 // 中国林业学术大会. 第三届中国林业学术大会论文集. 福州: 中国林学会, 2013, 145-154
Meng Y, Zhang G, Gao Z M, Li X P. Responses of protective enzyme activities, malondialdehyde content and chlorophyll fluorescence parameters on NaCl stress in Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) leaves // Chinese Forestry Academic Congress. Proceedings of the third Chinese forestry academic congress. Fuzhou: Chinese Forestry Society: 2013, 145-154
- [27] 丁玉梅,张杰,谢俊俊,姚春馨,刘庆,周晓罡,周丽英,杨正安,张兴国. 枯萎病菌胁迫下 3 种黑籽南瓜 HQRGA2 表达及抗氧化酶活性差异分析. 植物生理学报, 2019, 55(3): 349-358
Ding Y M, Zhang J, Xie J J, Yao C X, Liu Q, Zhou X G, Zhou L Y, Yang Z A, Zhang X G. Expression analysis of HQRGA2 and differences of anti-oxidant enzymes in three varieties of *Cucurbita ficifolia* under stress of *Fusarium oxysporum* f. sp.

- Cucumerinum*. Plant Physiology Journal, 2019, 55 (3) : 349-358
- [28] Wang Y, Zhuang L, Zhang X, Rossi S, Huang B. Antioxidant regulation of iron as a repressor for salt-induced leaf senescence in perennial grass species. Plant Growth Regulation, 2021 (94) : 287-301
- [29] 梁艳荣, 胡晓红, 张颖力, 刘湘萍. 植物过氧化物酶生理功能研究进展. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2003 (2) : 110-113
Liang Y R, Hu X H, Zhang Y L, Liu X P. Research progress on the physiological functions of plant peroxidase. Journal of Inner Mongolia Agricultural University: Natural Science Edition, 2003 (2) : 110-113
- [30] 楚乐乐, 罗成科, 李芳兰, 路旭平, 马天利, 李培富. 盐胁迫下 *O_sDSR2* RNAi 转基因水稻的生理特性及转录组学分析. 植物遗传资源学报, 2020, 21 (4) : 954-965
Chu L L, Luo C K, Li F L, Lu X P, Ma T L, Li P F. Analysis of the physiological characteristics and transcriptome profiles of *O_sDSR2* RNAi transgenic rice under salt stress. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21 (4) : 954-965
- [31] 任根增, 高志远, 张瑜, 崔江慧, 张素梅, 常金华. 混合盐碱胁迫对高粱农艺性状及生理指标的影响. 作物杂志, 2017 (1) : 100-106
Ren G Z, Gao Z Y, Zhang Y, Cui J H, Zhang S M, Chang J H. The influence of mixed salt and alkali stress on physiological and agronomic traits of sorghum. Crop Journal, 2017 (1) : 100-106
- [32] Wang Y, Ying Y, Chen J, Wang X C. Transgenic *Arabidopsis* overexpressing Mn-SOD enhanced salt-tolerance. Plant Science, 2004, 167 : 671-677
- [33] 段文学, 张海燕, 解备涛, 汪宝卿, 张立明. 甘薯苗期耐盐性鉴定及其指标筛选. 作物学报, 2018, 44 (8) : 1237-1247
Duang W X, Zhang H Y, Xie B T, Wang B Q, Zhang L M. Identification of salt tolerance and screening for its indicators in sweet potato varieties during seedling stage. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44 (8) : 1237-1247
- [34] 籍贵苏, 杜瑞恒, 刘国庆, 李素英, 侯升林, 吕芑, 马雪, 张之越, 赵全民. 高粱耐盐性评价方法研究及耐盐碱资源的筛选. 植物遗传资源学报, 2013, 14 (1) : 25-30
Ji G S, Du R H, Liu G Q, Li S Y, Hou S L, Lv F, Ma X, Zhang Z Y, Zhao Q M. Methodology and screen of saline-alkaline tolerance in sorghum accessions. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14 (1) : 25-30
- [35] Struyf A, Hubert M, Rousseeuw P. Clustering in an object-oriented environment. Journal of Statistical Softw, 1997, 1 : 1-30
- [36] Hastie T, Tibshirani R, Friedman J. The elements of statistical learning, data mining inference and prediction. New York: Springer-Verlag, 2001 : 453-480