江西产山药微型块茎萌发苗耐盐性隶属函数及主成分分析

尹明华, 王 丽, 徐玉琴, 杨星鹏, 吴 丹, 江 霞, 洪森荣*

上饶师范学院生命科学学院, 江西 上饶 334001

摘要:目的 对江西地方山药(瑞昌山药、南城淮山、永丰淮山和广丰千金薯)微型块茎萌发苗耐盐胁迫的生理调节机制进行研究,比较江西 4 个地方山药微型块茎萌发苗的耐盐性,为瑞昌山药、南城淮山、永丰淮山和广丰千金薯的耐盐机制研究与耐盐育种提供参考。方法 采用分光光度法探究盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗部分生理生化指标的变化,同时利用模糊数学隶属函数公式和 SPSS 19.0 软件对江西地方山药微型块茎萌发苗的耐盐性进行隶属函数及主成分分析和聚类分析。结果 在 0~300 mmol/L 盐胁迫下,对于总叶绿素量和根系活力而言,江西 4 个山药微型块茎萌发苗的总叶绿素量和根系活力均呈显著下降的趋势。对于可溶性蛋白量而言,瑞昌山药、南城淮山和广丰千金薯微型块茎萌发苗的可溶性蛋白量呈先增后降的趋势,而永丰淮山微型块茎萌发苗的可溶性蛋白量呈显著下降。对于可溶性总糖、脯氨酸(Pro)和丙二醛(MDA)量以及 PMP 而言,江西 4 种山药微型块茎萌发苗的可溶性总糖、Pro 和 MDA 量以及 PMP 均呈显著增加。对于 POD、SOD 和过氧化氢酶(CAT)活性而言,江西 4 种山药微型块茎萌发苗的 POD、SOD 和 CAT 活性均呈先增后降的趋势。基于隶属函数及 SPSS 19.0 软件的主成分分析,盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗 10 个生理生化指标被归纳成 3 个主成分,江西地方山药微型块茎萌发苗的耐盐性从强到弱依次为广丰千金薯>永丰淮山>瑞昌山药>南城淮山。通过 SPSS 19.0 软件的聚类分析,江西 4 种地方山药的耐盐性分成 2 种类型,广丰千金薯和永丰淮山为耐盐较强的品种,而南城淮山和瑞昌山药为耐盐较弱的品种。结论 揭示了江西 4 种地方山药微型块茎萌发苗耐盐胁迫的生理调节机制,同时对江西 4 种地方山药的耐盐性进行了客观评价,这些结果将会为江西 4 种地方山药微型块茎的大田播种提供理论依据。

关键词:江西地方山药;微型块茎萌发苗;耐盐性;隶属函数分析;主成分分析

中图分类号: S632.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)14-2526-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.14.023

Subordinate function and principal component analysis of salt tolerance of seedlings germinated from microtubers of Jiangxi local yam

YIN Ming-hua, WANG Li, XU Yu-qin, YANG Xing-peng, WU Dan, JIANG Xia, HONG Sen-rong

College of Life Sciences, Shangrao Normal University, Shangrao 334001, China

Abstract: Objective The physiological regulation mechanism of seedlings germinated from Jiangxi local yam (Ruichang yam, Nancheng yam, Yongfeng yam, and Guangfeng yam) microtubers under salt stress was studied and the salt tolerance of seedlings germinated from microtubers of four kinds of local yams in Jiangxi was compared, which provided some references for salt tolerance mechanism research and salt tolerance breeding of four local yams in Jiangxi. **Methods** Some physiological and biochemical index detection of seedlings germinated from Jiangxi local yam microtubers under salt stress were studied by spectrophotometer method. The subordinate function, principal component analysis (PCA), and clustering analysis of their salt tolerance were accomplished by fuzzy mathematics subordinate function formula and SPSS 19.0 software, respectively. **Results** The total chlorophyll content and root activity of seedlings germinated from Jiangxi local yam microtubers under 0—300 mmol/L salt stress decreased significantly. The soluble protein content of seedlings germinated from Ruichang yam, Nancheng yam, and Guangfeng yam microtubers under 0—300 mmol/L salt stress increased firstly and then decreased, while the soluble protein content of seedlings germinated from Yongfeng yam microtubers under 0—300 mmol/L salt stress decreased significantly. The total soluble sugar content, proline content, MDA content and membrane permeability of seedlings germinated from Jiangxi local yam microtubers under 0—300 mmol/L salt stress significantly increased. The POD, SOD, and CAT activities of seedlings germinated from Jiangxi local yam microtubers under 0—300 mmol/L salt

收稿日期: 2016-02-13

基金项目: 江西省教育厅 2014 年度科学技术研究一般项目(GJJ14712); 2015 年国家级大学生创新创业训练计划项目(201510416007)

作者简介: 尹明华(1973—), 女, 江西永新人, 硕士, 副教授, 主要研究方向为生物技术。E-mail: yinminghua04@163.com

*通信作者: 洪森荣, 男, 硕士, 副教授, 主要研究方向为植物生物技术。E-mail: hongsenrong@163.com

stress firstly increased and then decreased. Based on the subordinate function and PCA of SPSS 19.0 software, three principal components of 10 physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi local yam microtubers under salt stress were induced. The salt tolerance order of seedlings germinated from Jiangxi local yam microtubers was Guangfeng yam > Yongfeng yam > Ruichang yam > Nancheng yam. Through the cluster analysis by SPSS 19.0 software, the salt resistance of four kinds of Jiangxi local yam is divided into two types, the salt tolerance of Guangfeng yam and Yongfeng yam was strong, and of Ruichang yam and Nancheng yam were sensitive to salt stress. **Conclusion** The regulation mechanism of salt tolerance of seedlings germinated from four kinds of Jiangxi local yam microtubers is revealed and the objective evaluation of salt tolerance of four kinds of Jiangxi local yam is made in the paper, which will provide a theoretical basis for sowing in the field of four kinds of Jiangxi local yam microtubers.

Key words: Jiangxi local yam; seedling germinated from microtuber; salt tolerance; subordinate function analysis; principal component analysis

土壤盐渍化是影响农作物产量和质量的主要环境因子之一。最近几年,由于盲目过量地使用肥料以及栽培过程中高温高湿的特殊环境,导致了土壤的次生盐渍化^[1],严重威胁着农业生产和生态环境^[2-3]。山药 *Dioscorea opposita* Thunb. 为薯蓣科 (Dioscoreaceae) 薯蓣属 *Dioscorea* L. 多年生攀缘性草本植物,在国内外享有盛誉,如瑞昌市的瑞昌山药、南城县的南城淮山、永丰县的永丰淮山、广丰县的广丰千金薯等^[4]。瑞昌山药为江西瑞昌市的传统特色蔬菜产品,是一种药食两用兼优的上等佳品,素有“江南人参”之誉^[5]。南城淮山在南城县也有 1 300 多年的栽培历史,2011 年获批为国家地理标志农产品,肉质较密,口感细腻紧实,具有良好的药用价值和优良的鲜食品质^[6]。永丰淮山,药食兼优,食用,嫩滑爽口,风味独特;药用,健脾养胃、补中益气、滋补肝肾^[7]。广丰千金薯是广丰县传统名优地方品种,其肉质幼嫩、香甜爽口,具有健脾、助消化、补虚劳、益气、祛痰等功效,闻名省内外,深受消费者青睐^[8]。微型块茎,俗称零余子或珠芽,是指在山药腋芽处形成的变态块茎^[9],可以用作繁殖材料,具有移栽成活率高、易保存、运输方便、生产成本低、便于优良品种的推广应用等优点^[10-11]。目前,国内外对于山药微型块茎的离体诱导形成^[11-12]、愈伤组织诱导^[13]、化合物提取工艺^[14]、药理学效应^[15]、休眠破除^[16-17]等方面的研究报道较多,但对山药微型块茎萌发苗胁迫生理方面的研究少见报道。在国外, Jalell 等^[18]和 Wheatley 等^[19]对白山药 *Dioscorea rotundata* cv. Sree Priya 微型块茎萌发苗和参薯 *Dioscorea alata* L. 试管苗的盐胁迫进行了研究。本实验将以江西地方山药(瑞昌山药、南城淮山、永丰淮山和广丰千金薯)微型块茎为材料,用氯化钠模拟盐胁迫条件,探讨盐胁迫对江西地方山药微型块茎萌发苗的影响,为江西地方

山药的耐盐机制研究与耐盐育种提供参考,也为促进江西地方山药产业的可持续发展提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

瑞昌山药微型块茎取材于江西瑞昌市南阳乡,南城淮山微型块茎取材于江西南城建昌镇,永丰淮山微型块茎取材于江西永丰县坑田镇,广丰千金薯微型块茎取材于江西广丰县五都镇。4 种样品经上饶师范学院生命科学学院洪森荣副教授鉴定为山药 *Dioscorea opposita* Thunb. 的微型块茎,俗名为“瑞昌山药”“南城淮山”“永丰淮山”和“广丰千金薯”,放于带透气 PP 塑料盖的兰花玻璃瓶中,置于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.2 方法

1.2.1 微型块茎萌发 微型块茎在 4 °C 冰箱中保存至第 2 年 4 月初时取出,并挑选外形大小一致的微型块茎,用 1% NaClO 消毒 10 min 后,无菌水清洗 3 遍,然后用吸水纸吸去微型块茎表面浮水,播种于 35 cm×25 cm×4 cm (长×宽×高)的不锈钢托盘中,内垫 3 层滤纸,每盘 50 粒,微型块茎上面覆盖蛭石。每天往托盘里添加 MS 基本培养液。播有微型块茎的托盘均置于光照培养箱中培养,温度为 (25±1) °C,光照 12 h/d,光强 1 500~2 000 lx。

1.2.2 幼苗培养与生理生化指标的测定 培养 30 d 时,微型块茎大多已经萌发,可以挑选芽长和根长大致相同的微型块茎,将其移栽到装有蛭石的花钵中,花钵底部放一托盘(便于储存花钵中流出的培养液),花钵和托盘一起放入光照培养室培养,温度为 (25±1) °C,光照 12 h/d,光强 1 500~2 000 lx。每天用 MS 基本培养液对微型块茎进行浇灌,当山药幼苗长到 15~20 cm 时便开始进行盐胁迫处理。每天浇灌 1 次含有不同浓度 NaCl 的 MS 基本培养液。NaCl 浓度设置为 0 (蒸馏水对照)、50、100、

200、300 mmol/L, 并测定流出托盘中培养液的电导值, 使其与配制的培养液的电导值保持恒定(无差异性差异), 以保持处理期间 NaCl 浓度的一致性^[20]。微型块茎在花钵中盐胁迫 30 d 后, 取不同处理的山药幼苗相同部位新鲜叶片和根系测定其 10 项生理生化指标: 根系活力(RA)采用氯化三苯基四氮唑还原法^[21]测定。总叶绿素(Chl)量采用丙酮比色法测定^[21]。可溶性蛋白(SP)量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定^[21]。可溶性总糖(TSS)量采用蒽酮比色法测定^[21]。Pro 量采用酸性茚三酮法测定^[21]。丙二醛(MDA)量采用硫代巴比妥酸比色法测定^[21]。质膜透性(PMP)采用相对电导率法测定^[21]。过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定^[21]。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定^[21]。过氧化氢酶(CAT)活性采用高锰酸钾滴定法测定^[21]。

1.2.3 数据处理和统计方法 以上实验均重复 3 次, 本实验所有数据表示为 $\bar{x} \pm s$, 数据用 SPSS 19.0 软件进行 One-Way ANOVA 分析, 再进行 LSD 法检验, $P < 0.05$ 为有统计学差异显著性。根据鱼小军等^[3]的方法利用模糊数学隶属函数公式对试验原始数据进行定量转换。先利用公式 $X(\mu) = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ 计算每个处理的 RA、Chl、SP、TSS、Pro、MDA 量、PMP、POD、SOD 和 CAT 活性在盐胁迫下的具体隶属函数值(式中, X 为江西地方山药某一品种某一抗旱指标的测定值, $X_{\max}$ 和 $X_{\min}$ 分别为江西地方山药 4 个品种中该指标的最大值和最小值), 然后把每一指标在不同盐胁迫下的隶属值累加求平均值, 最后把江西地方山药某一品种各耐盐指标隶属函数值累加求平均值, 根据江西地方山药某一品种平均隶属函数值大小评价其耐盐性强弱, 平均值越大, 耐盐性越强, 反之, 耐盐性越弱。然后再用 SPSS 19.0 软件对各指标隶属函数值进行标准化处理, 并对标准化值进行主成分分析及聚类分析, 最后对供试的 4 个江西地方山药的耐盐性强弱进行综合评价。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的影响

通过用氯化钠模拟盐胁迫条件, 本实验研究了盐胁迫对江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的影响。结果表明, 不同 NaCl 浓度对江西地方山药微型块茎萌发苗 10 项生理生化指标(RA、Chl、SP、TSS、Pro、MDA 量及 PMP、POD、SOD、

CAT 活性)的影响也不同(图 1)。对于 Chl 量和 RA 而言, 0~300 mmol/L 盐胁迫下江西 4 种山药微型块茎萌发苗均呈显著下降的趋势。对于 SP 量而言, 0~300 mmol/L 盐胁迫下瑞昌山药、南城淮山和广丰千金薯微型块茎萌发苗的 SP 量呈先增后降的态势, 而永丰淮山微型块茎萌发苗的 SP 量呈显著下降的趋势。对于 TSS、Pro 和 MDA 量以及 PMP 而言, 0~300 mmol/L 盐胁迫下江西 4 种山药微型块茎萌发苗均呈显著增加的趋势。对于 POD、SOD 和 CAT 活性而言, 0~300 mmol/L 盐胁迫下江西 4 种山药微型块茎萌发苗活性均呈先增后降的趋势。

2.2 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的隶属函数分析

通过盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗的 RA、Chl、SP、TSS、Pro、MDA 量及 PMP、POD、SOD 活性和 CAT 活性的隶属函数分析, 对江西地方山药微型块茎萌发苗的耐盐性进行评价(表 1)。结果表明, 广丰千金薯、永丰淮山、瑞昌山药和南城淮山的平均隶属函数值依次下降。因此, 根据隶属函数分析, 江西地方山药微型块茎萌发苗的耐盐性从强到弱为广丰千金薯 > 永丰淮山 > 瑞昌山药 > 南城淮山。

2.3 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的主成分分析

通过 SPSS 19.0 软件对各指标隶属函数值进行标准化处理, 并对标准化值进行主成分分析(表 2)。结果表明, 虽然江西地方山药微型块茎萌发苗各项生理生化指标之间相关性表现为不显著, 但有些单项指标之间(如 POD 活性与 Chl 量、CAT 活性与 Chl 量、TSS 量与 RA、MDA 量与 SOD 活性)还是具有一定的相关性。

通过 SPSS 19.0 软件将江西地方山药的 10 项生理生化指标(RA、Chl、SP、TSS、Pro、MDA 量及 PMP、POD、SOD、CAT 活性)转化为 10 个主成分(表 3)。结果表明, 前 3 个主成分的贡献率分别为 49.893%、28.471% 和 21.636%, 它们的累计贡献率为 100%。因此, 选取前 3 个主成分作为江西 4 种地方山药耐盐性的重要主成分。

通过 SPSS 19.0 软件做出盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗 10 项生理生化指标的载荷图(图 2)。各项生理生化指标离中心越远, 说明指标与主成分之间的相关系数越大。结果表明, CAT 和 SP 2

同图中不同的小写字母表示同一山药品种不同盐浓度之间的差异显著 ($P < 0.05$)

Different lowercase letters in same figure represent significant difference of same Chinese yam among different salt concentration ($P < 0.05$)

图 1 盐胁迫对江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的影响

Fig. 1 Effects of salt stress on physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers

表 1 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的隶属函数分析

Table 1 Subordinate function analysis of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

山药品种	隶属函数值										平均隶属函数值	排序
	Chl	RA	SP	TSS	Pro	MDA	PMP	POD	SOD	CAT		
南城淮山	0.592	0.646	0.419	0.252	0.406	0.236	0.541	0.293	0.286	0.355	4.026	4
广丰千金薯	0.604	0.508	0.573	0.498	0.652	0.530	0.376	0.421	0.472	0.471	5.105	1
瑞昌山药	0.394	0.752	0.363	0.489	0.198	0.152	0.514	0.554	0.546	0.206	4.168	3
永丰淮山	0.360	0.663	0.661	0.544	0.328	0.301	0.314	0.196	0.375	0.579	4.321	2

表 2 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的相关系数矩阵

Table 2 Correlation matrix of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

指标	Chl	RA	SP	TSS	Pro	MDA	PMP	POD	SOD	CAT
Chl	1.000	-0.725	-0.145	-0.607	0.789	0.541	0.292	0.048	-0.320	-0.018
RA	-0.725	1.000	-0.525	-0.024	-0.994	-0.965	0.439	0.201	0.158	-0.564
SP	-0.145	-0.525	1.000	0.543	0.433	0.634	-0.964	-0.674	-0.211	0.975
TSS	-0.607	-0.024	0.543	1.000	-0.051	0.284	-0.747	0.138	0.665	0.343
Pro	0.789	-0.994	0.433	-0.051	1.000	0.942	-0.344	-0.138	-0.153	0.480
MDA	0.541	-0.965	0.634	0.284	0.942	1.000	-0.608	-0.141	0.034	0.618
PMP	0.292	0.439	-0.964	-0.747	-0.344	-0.608	1.000	0.481	-0.051	-0.880
POD	0.048	0.201	-0.674	0.138	-0.138	-0.141	0.481	1.000	0.831	-0.800
SOD	-0.320	0.158	-0.211	0.665	-0.153	0.034	-0.051	0.831	1.000	-0.419
CAT	-0.018	-0.564	0.975	0.343	0.480	0.618	-0.880	-0.800	-0.419	1.000

表 3 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的特征值和贡献率

Table 3 Eigenvalue and contribution rate of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

主成分	初始特征值		
	特征值	贡献率/%	累计贡献率/%
1	4.989	49.893	49.893
2	2.847	28.471	78.364
3	2.164	21.636	100.000
4	3.249×10^{-16}	3.249×10^{-15}	100.000
5	1.598×10^{-16}	1.598×10^{-15}	100.000
6	1.191×10^{-16}	1.191×10^{-15}	100.000
7	7.180×10^{-18}	7.180×10^{-17}	100.000
8	-7.526×10^{-17}	-7.526×10^{-16}	100.000
9	-1.765×10^{-16}	-1.765×10^{-15}	100.000
10	-3.141×10^{-16}	-3.141×10^{-15}	100.000

个指标聚集在一起, PMP、POD 和 SOD 3 个指标聚集在一起, Chl、Pro 和 MDA 3 个指标也聚集在一起, 这些均表明这些指标之间的亲疏关系。10 项生理生化指标的成分矩阵(表 4)和成分得分系数矩阵(表 5)也表明, 第 1 个主成分对应较大的指标有 RA、SP、Pro、MDA 量、PMP 和 CAT 活性,

图 2 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标在主成分空间上的载荷图

Fig. 2 Loading diagram in principal component space of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

说明耐盐能力较强的江西地方山药品种在盐胁迫下保持了一定的 RA, PMP 下降, MDA 量减少, 同时山药植株在盐胁迫下产生了较多的可以抵御盐害的 SP 和 Pro, 提高了 CAT 活性, 使植株免受盐胁迫的伤害; 第 2 个主成分对应较大的指标有 Chl 和 TSS, 说明耐盐能力较强的江西地方山药品种在盐胁迫下保持了一定量的叶绿素, 同样产生了较多的可以抵

表 4 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的成分矩阵

Table 4 Component matrix of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

指标	主成分		
	1	2	3
Chl	0.300	-0.938	0.173
RA	-0.841	0.447	-0.305
SP	0.898	0.416	-0.145
TSS	0.298	0.829	0.473
Pro	0.781	-0.530	0.331
MDA	-0.877	-0.217	0.429
PMP	-0.813	-0.581	-0.051
POD	-0.579	-0.087	0.810
SOD	-0.284	0.410	0.867
CAT	0.917	0.257	-0.304

表 5 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的成分得分系数矩阵

Table 5 Component score coefficient of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

指标	主成分		
	1	2	3
Chl	0.060	-0.329	0.080
RA	-0.169	0.157	-0.141
SP	0.180	0.146	-0.067
TSS	0.060	0.291	0.218
Pro	0.157	-0.186	0.153
MDA	0.176	-0.076	0.198
PMP	-0.163	-0.204	-0.023
POD	-0.116	-0.031	0.375
SOD	-0.057	0.144	0.401
CAT	0.184	0.090	-0.140

表 6 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的标准化值

Table 6 Standard value of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

山药品种	Chl	RA	SP	TSS	Pro	MDA	PMP	POD	SOD	CAT
南城淮山	0.814	-0.619	-1.475	0.052	0.962	-0.469	-1.180	-0.299	-0.424	0.037
广丰千金薯	0.907	0.503	0.398	1.340	-0.553	0.354	0.461	0.427	1.390	-1.331
瑞昌山药	-0.728	-1.027	0.329	-1.037	0.714	1.209	1.114	-1.230	-0.942	1.088
永丰淮山	-0.992	1.144	0.748	-0.356	-1.122	-1.093	-0.395	1.102	-0.023	0.206

表 7 盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的各主成分得分及综合得分

Table 7 Principal component scores and comprehensive score of physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from Jiangxi yam microtubers under salt stress

山药品种	主成分 1	排序	主成分 2	排序	主成分 3	排序	综合得分	排序
南城淮山	-0.313	3	-1.138	4	-0.926	4	-0.680 4	4
广丰千金薯	0.948	1	-0.467	3	1.064	1	0.570 3	1
瑞昌山药	-1.267	4	0.488	2	0.638	2	-0.354 9	3
永丰淮山	0.631	2	1.117	1	-0.777	3	0.465 4	2

御盐害的 TSS; 第 3 个主成分对应较大的指标有 POD 活性和 SOD 活性, 说明耐盐能力较强的江西地方山药品种在盐胁迫下保持了较强的 POD 活性和 SOD 活性。

运用 SPSS 19.0 软件对隶属函数值进行处理, 得到盐胁迫下江西 4 种地方山药的标准化值及其各主成分得分 (表 6 和 7)。然后以每个主成分所对应的特征值占所提取主成分总的特征值之和的比例作为权重, 计算江西 4 种地方山药的综合主成分值作为综合得分 (表 7)。结果表明, 在主成分 1 中, 广丰千金薯得分第一, 说明广丰千金薯在盐胁迫下保持了一定的 RA, PMP 减小, MDA 减少, SP 和 Pro 量以及 CAT 活性得到提高。在主成分 2 中, 永丰淮山排名第一, 说明永丰淮山在盐胁迫下其叶绿素量稳定, TSS 量显著增加; 在主成分 3 中, 广丰千金薯再次排名第一, 说明广丰千金薯在盐胁迫下保持了较强的 POD 活性和 SOD 活性。从综合得分来说, 在盐胁迫下江西 4 种地方山药的耐盐性强弱顺序为广丰千金薯 > 永丰淮山 > 瑞昌山药 > 南城淮山。这与模糊数学隶属函数法的评价结果一致。

2.4 盐胁迫下江西地方山药基于微型块茎萌发苗生理生化指标的聚类分析

根据盐胁迫下江西地方山药微型块茎萌发苗生理生化指标的 Z 值标准化的数据, 用 SPSS 19.0 软件对江西 4 种地方山药进行聚类分析 (图 3)。结果表明, 盐胁迫下基于微型块茎萌发苗生理生化指标的 Z 值标准化数据, 江西 4 种地方山药的耐盐性可以分成 2 类: 广丰千金薯和永丰淮山为一类, 为耐盐较强的品种; 而南城淮山和瑞昌山药为另一类, 为耐盐较弱的品种。

图3 盐胁迫下江西地方山药基于微型块茎萌发苗生理生化指标的聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis of Jiangxi local yam based on physiological and biochemical indexes of seedlings germinated from microtubers under salt stress

3 讨论

植物的生长发育受环境条件的影响，而土壤盐渍化是影响植物生长的主要因素之一^[1]。大量实验证明，盐胁迫对植物光合作用具有抑制效应，而叶绿体是对盐胁迫比较敏感的细胞器，叶绿素量是直接反映光合强度的一个重要生理指标。黑果枸杞^[22]、四倍体泡桐^[23]和水飞蓟^[24]幼苗随着盐浓度的增大，叶绿素量显著减小。但低浓度盐胁迫对北沙参的叶绿素量影响不大，只有高浓度盐胁迫才会显著降低北沙参的叶绿素量^[25]。本实验结果与此基本一致。盐胁迫一般会造成活性氧(ROS)的大量积累，启动膜脂过氧化，MDA量随之升高，而SOD、POD和CAT等抗氧化酶系统可以清除ROS，减轻植物的盐害反应^[26]。但如果盐浓度过高，将会导致SOD、POD和CAT等抗氧化酶系统失去功能，MDA量随之升高，质膜完整性降低，PMP增加。黑果枸杞幼苗随着盐胁迫的加剧，POD活性均呈现“先上升，后下降”的变化趋势，MDA量和相对电导率显著增加，质膜的完整性显著下降^[22]。在盐胁迫下，水飞蓟幼苗SOD、POD和CAT活性先升高后降低，MDA量显著升高^[24]。这个结果与本实验结果相一致。但北沙参^[25]和四倍体泡桐^[23]幼苗随着盐胁迫浓度的增加其相对电导率、SOD活性和MDA量显著升高。盐胁迫还会引起植物体内渗透性物质的变化。随着盐浓度的不断提高，四倍体泡桐^[23]和北沙参^[25]幼苗的SP量先升后降，而其可溶性糖和Pro量显著升高，这与本实验相一致。但水

飞蓟幼苗在盐胁迫下可溶性糖量先升高后降低，MDA量显著升高，Pro量持续增加，SP和可溶性糖量先稳定后显著下降^[24]。因此，盐胁迫下植物体内的一些生理生化指标如RA、Chl、SP、TSS、Pro、MDA量及PMP、POD、SOD、CAT活性等一些与耐盐性密切相关的指标可作为耐盐性的评价指标。

但植物的耐盐性是许多性状相互作用的一种综合表现，不同植物由于其耐盐方式和耐盐机制不同，使得其生理代谢和生化变化也不同^[27]。采用隶属函数分析可以在多指标测定的基础上为植物品种的耐盐性提供一条综合评价的途径。在本实验中，根据隶属函数分析，江西地方山药微型块茎萌发苗的耐盐性从强到弱为广丰千金薯>永丰淮山>瑞昌山药>南城淮山。目前，用隶属函数法对作物的抗逆性进行综合评价的研究较多，但由于植物逆境胁迫下的生理生化指标具有一定的相关性，仅用隶属函数法对植物的逆境抗性进行综合评价也存在一定局限性^[28]。主成分分析法在各指标间内在联系的基础上，克服了信息的重叠与指标的相关性，将原来多个且彼此相关的指标转换成新的、个数较少且彼此独立的综合指标，同时根据各自贡献率大小可以知道各综合指标的相对重要性^[29]。本实验利用主成分分析法将原来的10个生理生化指标综合成为3个主成分。在此基础上，求出江西地方山药4个品种的综合得分，继而对江西地方山药4个品种的耐盐性进行评价。结果表明，在盐胁迫下江西4种地方山药的耐盐性强弱顺序为广丰千金薯>永丰淮山>瑞昌山药>南城淮山。这与模糊数学隶属函数法的评价结果一致。本实验结果与玉簪^[28]、多年生黑麦草^[29]和紫花苜蓿^[30]抗旱性的隶属函数及主成分分析结果相一致。因此，利用隶属函数及主成分分析对植物的抗逆性进行综合评价，可以使得出的结论更为客观合理，在植物抗逆性的综合评价中具有重要的实践意义。

微型块茎作为山药快速繁殖的材料，尤其是利用脱毒苗获得的脱毒微型块茎更是山药优质种苗的重要来源^[31]。虽然脱毒微型块茎可以进行周年生产，但只有在播种季节可以规模化种植，因此，如何让生产出的脱毒微型块茎在播种季节统一高效的萌发，是规模化生产中需要解决的关键问题之一^[33]。大量研究表明，作物在种子萌发期和幼苗期

对盐分最敏感,可在种子萌发期和幼苗期对大量材料进行耐盐性筛选^[34]。因此,通过挖掘江西地方山药种质本身的耐盐能力,筛选和培育出江西地方山药耐盐品种是实现江西山药脱毒种苗工厂化生产和大田种植最为经济有效的途径。

参考文献

- [1] 蔡晓锋,胡体旭,叶杰,等.植物盐胁迫抗性的分子机制研究进展[J].华中农业大学学报,2015,34(3):134-141.
- [2] 卢艳敏,苏长青,李会芬.不同盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生长的影响[J].草业学报,2013,22(4):123-129.
- [3] 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.
- [4] 涂伟凤,汤洁,涂玉琴,等.江西山药生产现状及发展优势[J].江西农业学报,2012,24(11):21-24.
- [5] 彭琴,陈晔,樊有赋.瑞昌山药茎段组织培养研究[J].长江蔬菜:学术版,2009,(10):10-12.
- [6] 吴英权,杨经荣,李冬香.南城淮山产业化情况的调查[J].江西园艺,2001(1):24-26.
- [7] 袁子鸿,刘发岩,黄青.永丰淮山丰产优质栽培技术[J].当代蔬菜,2004(4):32.
- [8] 方利平,尤玉英,邱翠金,等.广丰千金薯高产栽培技术[J].安徽农学通报,2009,15(6):147-148.
- [9] 蔡国红,杨泉,李洪波,等.蔗糖、多效唑、ABA、KT对淮山薯试管芽诱导的影响[J].热带作物学报,2010,31(9):1458-1463.
- [10] 龙雯虹,王琼,肖关丽,等.山药珠芽休眠期内源激素量的变化及多效唑破除休眠的效应[J].西南农业学报,2013,26(5):1996-2000.
- [11] Liu M J, Li J H, Liu W, et al. A protocol for *in vitro* production of microtubers in Chinese yam (*Dioscorea opposita*) [J]. *Bio Biotech Biochem*, 2014, 16(1): 1-5.
- [12] 李书杰,张晓丽,李俊华,等.植物生长物质对山药微型块茎诱导形成的影响[J].北方园艺,2014(14):200-203.
- [13] 郭君丽,张晓丽,李明军,等.不同光质对47号山药零余子愈伤组织诱导的影响[J].河南师范大学学报:自然科学版,2013,41(4):145-148.
- [14] 贾丽艳,任盛财.复合酶法提取零余子多糖工艺的优化[J].山西农业大学学报:自然科学版,2013,33(2):130-135.
- [15] 梁潇,黄月琴,陈建平.山药零余子多糖抗氧化活性及对糖尿病小鼠降血糖作用[J].江苏农业科学,2014,42(3):273-275.
- [16] 龙雯虹,王琼,肖关丽,等.山药珠芽休眠期内源激素量的变化及多效唑破除休眠的效应[J].西南农业学报,2013,26(5):1996-2000.
- [17] 苗利娟,韩锁义,张新友,等.双氧水和赤霉素打破怀山药零余子休眠的效应[J].西南农业学报,2014,27(1):453-455.
- [18] Jaleell C A, Gopi R, Gomathinayagam M, et al. Effects of calcium chloride on metabolism of salt-stressed *Dioscorea rotundata* [J]. *Acta Biol Cracoviensia S Bot*, 2008, 50(1): 63-67.
- [19] Wheatley A O, Ahmad M H, Asemota H N. Development of salt adaptation in *in vitro* greater yam (*Dioscorea alata*) plantlets [J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2003, 39(3): 346-353.
- [20] 努尔帕提曼·买买提热依木,齐曼·尤努斯,谭敦炎.盐胁迫对4种短命植物种子萌发及植株生长的影响[J].西北植物学报,2011,31(8):1618-1627.
- [21] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [22] 王恩军,李善家,韩多红,等.中性盐和碱性盐胁迫对黑果枸杞种子萌发及幼苗生长的影响[J].干旱地区农业研究,2014,32(6):64-69.
- [23] 邓敏捷,张晓申,范国强,等.四倍体南方泡桐和四倍体白花泡桐对盐胁迫的生理响应研究[J].河南农业大学学报,2013,47(6):698-702.
- [24] 张晓倩,王康才,张彦南,等.水飞蓟萌发期和苗期对盐胁迫的生长生理响应[J].西北植物学报,2013,33(10):2050-2056.
- [25] 彭英,刘晓静,汤兴利,等.盐胁迫对北沙参生长及生理特性的影响[J].江苏农业学报,2014,30(6):1273-1278.
- [26] 赫兰保,徐永清,李凤兰,等.盐胁迫对鲁梅克斯杂交酸模种子萌发及幼苗生理特性的影响[J].草业科学,2015,32(3):400-405.
- [27] 杨升,张华新,张丽.植物耐盐生理生化指标及耐盐植物筛选综述[J].西北林学院学报,2010,25(3):59-65.
- [28] 付宝春,薄伟.玉簪抗旱性隶属函数及主成分分析[J].草地学报,2014,22(6):1324-1330.
- [29] 石永红,万里强,刘建宁,等.多年生黑麦草抗旱性主成分及隶属函数分析[J].草地学报,2010,18(5):669-672.
- [30] 韩瑞宏,卢欣石,高桂娟,等.紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析[J].草地学报,2006,14(2):142-146.
- [31] 尹明华,洪森荣.黄独微型块茎胚性愈伤组织超低温保存及遗传稳定性研究[J].中草药,2015,46(17):2623-2631.
- [32] 洪森荣,尹明华,夏瑾华.植物生长调节剂对黄独试管苗微型块茎诱导形成的影响[J].中草药,2014,45(13):1928-1937.
- [33] 王运英,张晓丽,白英豪.山药微型块茎萌发影响因素研究[J].北方园艺,2015(17):194-196.
- [34] 董志刚,程智慧.番茄品种资源芽苗期和幼苗期的耐盐性及耐盐指标评价[J].生态学报,2009,29(3):1348-1355.