

利用东乡普通野生稻染色体片段置换系定位水稻 苗期耐盐性 QTL

程怡冰^{1,2}, 黄倩^{2,3}, 韩冰², 崔迪², 邱先进¹, 马小定², 韩龙植²

(¹长江大学农学院, 湖北荆州 434025; ²作物基因资源与育种全国重点实验室/中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ³重庆师范大学生命科学学院, 重庆 401331)

摘要: 水稻是中度盐敏感作物, 在盐碱地种植水稻, 其产量将严重受到影响, 发掘耐盐相关基因, 阐明耐盐分子机制, 对于水稻耐盐品种选育及盐碱地的有效利用具有重要意义。前期, 本实验室利用东乡普通野生稻和日本晴为亲本创制了强耐盐染色体片段置换系 CSSL91, 其耐盐性与 Pokkali 相当。本研究利用 CSSL91 与日本晴构建的 F_{2:3} 群体为实验材料, 以耐盐等级和幼苗存活率为指标, 检测到 5 个耐盐相关 QTL, 分布于第 4、9、10 染色体上, LOD 值介于 2.95 - 3.97, 贡献率变幅为 9.83%-18.48%; 其中耐盐等级 QTL *qST4* 的表型变异贡献率最高, 为 18.48%, 定位在第 4 染色体 DX-C4-1 和 DX-S4-16 标记间, 而且该位点用连锁标记分析和 BSA 分析均能被检测到; 耐盐等级 QTL *qST4-1* 和幼苗存活率 QTL *qSSR4* 均定位在第 4 染色体 DX-C4-12 和 DX-C4-13 标记间, LOD 值为 3.36 和 3.92, 表型贡献率为 13.97% 和 9.49%; 在第 9、10 染色体还定位到两个耐盐等级 QTL *qST9* 和 *qST10*; *qST4-1/qSSR4* 和 *qST10* 是本研究新定位的耐盐性 QTL。本研究结果将为水稻耐盐性相关基因克隆和分子标记辅助改良水稻品种的耐盐性奠定基础。

关键词: 耐盐等级; 幼苗存活率; 分离群体分组分析; Pokkali

Mapping QTLs for salt tolerance related traits at seedling stage using chromosome segment substitution lines of Dongxiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and Nipponbare (*Oryza sativa* L.)

CHENG Yibing^{1,2}, HUANG Qian^{2,3}, HAN Bin², CUI Di², QIU Xianjin¹, MA Xiaoding², HAN Longzhi²

(¹ College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei; ² State Key Laboratory of Crop Gene Resources and Breeding/Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ³ College of Life Science, Chongqing Normal University, Chongqing 401331)

Abstract: Rice is a moderately salt-sensitive crop, and its yield will be severely affected when grown in saline soils. Exploring salt-tolerance related genes and clarify the molecular mechanism of salt tolerance are important for the breeding of salt-tolerant rice varieties and the efficient utilization of saline soils. Previously, our laboratory created a strong salt-tolerant chromosome segment substitution line CSSL91 using Dongxiang common wild rice and Nipponbare as the parents, and its salt tolerance was comparable to that of Pokkali. In this study, the F_{2:3} population constructed from CSSL91 and Nipponbare was used as experimental material. With salt tolerance grade and seedling survival rate as indicators, five salt tolerance-related QTLs were detected, distributed on chromosomes 4, 9, and 10, with LOD values ranging from 2.95 to 3.97 and phenotypic contribution rates ranging from 9.83% to 18.48%. Among them, the salt tolerance grade QTL *qST4* had the highest phenotypic variation contribution of 18.48%, localized between markers DX-C4-1 and DX-S4-16 on chromosome 4, and the locus could be detected by both linkage marker analysis and BSA analysis. QTLs *qST4-1* for salt tolerance grade and *qSSR4* for seedling survival rate were both located between markers DX-C4-12 and DX-C4-13 on chromosome 4, with LOD values of 3.36 and 3.92, and phenotypic contribution rates of 13.97% and 9.49%, respectively. In addition, two salt tolerance grade QTLs, *qST9* and *qST10*, were located on chromosomes 9 and 10, respectively. The *qST4-1/qSSR4* and *qST10* are the newly localized salt tolerance-related QTLs in this study. The results of this study will lay the

收稿日期: 修回日期: 网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为水稻新基因发掘与新种质创制, E-mail: cybgzxy@163.com

通信作者: 韩龙植, 研究方向为水稻种质资源, E-mail: hanlongzhi@caas.cn

马小定, 研究方向为水稻种质资源, E-mail: maxiaoding@caas.cn

邱先进, 研究方向为水稻分子育种, E-mail: xjqiu216@yangtzeu.edu.cn

基金项目: 科技创新 2030—重大项目 (2022ZD04017); 中国农业科学院科技创新工程项目

Foundation project: STI 2030 - Major Projects (2022ZD04017); the CAAS Science and Technology Innovation Program

foundation for the cloning of salt tolerance-related genes and the improvement of rice salt tolerance varieties by molecular marker assisted selection.

Keyword: salt tolerant grade; seedling survival rate; bulked segregation analysis (BSA); Pokkali

目前, 全球约有 9.6 亿 hm^2 的盐渍化土地^[1], 土壤盐渍化影响作物生长, 严重时甚至导致作物死亡, 危害世界粮食安全^[2]。水稻作为中度盐敏感作物, 当土壤中可溶性盐浓度达到 0.3% 时, 即对水稻的主要代谢活动产生不利影响, 导致产量下降^[3]; 改良水稻耐盐性是增强品种抵御盐渍胁迫和提高盐渍化土地利用效率的有效途径。利用强耐盐种质资源, 定位和发掘耐盐主效 QTL, 克隆耐盐性状关键调控基因, 是利用分子育种方法提高水稻耐盐性的基础。

水稻耐盐性是一种由多基因控制的数量性状^[4-7]。近年来, 许多研究人员利用不同分离群体定位了水稻不同生长时期的耐盐性相关 QTL。目前, 已定位的大部分耐盐 QTL 分布在第 1、2、6、7 号染色体上, 而第 10、11 号染色体上较少^[8]; 在种子萌发期, Prasad、Wang、Mardani^[4, 6, 9]等分别利用 IR64、韭菜青和 Gharib 耐盐亲本, 构建了重组自交系 (RIL)、双单倍体群体 (DH) 和 $F_{2:3}$ 群体, 以发芽势、发芽率、吸胀率、幼苗根长等性状为耐盐鉴定指标, 检测到许多与种子萌发期耐盐相关的 QTL, 如 *qSRTL-6*、*qGP-2*。幼苗期和生殖生长期是水稻对盐比较敏感的时期^[10], 其中, 苗期定位到的耐盐 QTL 居多^[11-12], 主要是针对盐害等级、存活天数及茎干 Na^+/K^+ 浓度等相关性状^[13]。Lin^[7] 等利用耐盐籼稻品种 Nona Bokra, 对水稻苗期耐盐性进行了 QTL 定位, 共定位到 11 个 QTL, 其中与幼苗存活率相关的 QTL 有 3 个, *qSNC7* 和 *qSKC1* 是其中的两个主效 QTL, 贡献率分别为 48.5% 和 40.1%; 此外, 还检测到 8 个与地上部与地下部 Na^+ 、 K^+ 浓度相关 QTL。Gong^[14] 等利用窄叶青 8 号/京系 17 构建的 DH 群体, 检测到 8 个与幼苗存活天数相关的 QTL。段敏^[11] 等利用 ST1050 和越光为亲本构建的 F_2 群体, 在第 8、12 号染色体上检测到 2 个与幼苗存活率相关的 QTL, 命名为 *qSR-8* 和 *qSR-12*, 贡献率分别为 13.57% 和 6.91%; Takehisa 等^[15] 针对分蘖数、茎长苗期耐盐性状检测到 3 个相关的 QTL, 贡献率在 14%-24% 之间。耿雷跃^[16] 利用吉冷 1 号/密阳 23 构建的 RIL 群体, 检测到 12 个耐盐相关 QTL 位点, 其中 6 个可在不同环境下重复检测到。

虽然已定位了很多水稻耐盐性相关 QTL, 但是目前仅有少数耐盐基因被克隆。*SKC1* 是第一个被克隆的耐盐基因, 任仲海^[17] 利用 Nona Bokra 与 Koshihikari 构建的 F_2 群体, 检测到的一个控制地上部 K^+ 含量的主效 QTL (*qSKC-1*), 该 QTL 能解释总表型变异的 40.1%, *SKC1* 编码 HKT 家族的离子转运蛋白, 通过把地上部过量的 Na^+ 回流到根部, 减轻 Na^+ 毒害, 增强水稻耐盐性。*OsWRKY5*^[18] 是通过 286 个不同水稻群体耐盐相关性状进行 GWAS 分析鉴定出的耐盐基因, *OsWRKY53* 作为耐盐的负调控因子, 直接调控 *OsMKK10.2* 和 *OsHKT1* 的表达, 保护水稻免受盐胁迫危害。虽然水稻耐盐基因克隆取得了一些进展, 但是可直接应用于耐盐育种上的基因资源较少。因此, 继续挖掘水稻耐盐相关 QTL 和新基因, 可为耐盐品种的选育提供更多可选择的新基因源。

本研究以东乡普通野生稻和日本晴 (Nipponbare, Nip) 为亲本创制的强耐盐染色体片段置换系 CSSL91

为材料，开展水稻耐盐相关 QTL 定位分析，旨在为后续耐盐基因精细定位与克隆奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究材料包括强耐盐种质 CSSL91 及其与日本晴构建的 F_{2:3} 分离群体，CSSL91 来自以东乡普通野生稻为供体亲本、日本晴为受体亲本构建的染色体片段置换系；所有材料均由中国农业科学院作物科学研究所水稻种质资源团队创制。

1.2 水稻苗期耐盐性鉴定

将待鉴定种子在 45°C 烘箱中放置 1 周，以打破休眠。选择 30 粒籽粒饱满的种子用 1% 浓度的次氯酸钠溶液消毒 15 分钟，蒸馏水冲洗 3 次后置于 35°C 烘箱催芽，直至种子刚露出芽尖。挑选 15 粒发芽一致的种子播种在 96 孔板置于光照培养箱中培养（光照和黑暗各 12 h，光照温度 29°C，黑暗温度 25°C，相对湿度 50%），种子在蒸馏水中培养 4 天后转移至 Yoshida 营养液上继续生长，每 2 天更换一次营养液；生长至三叶一心期（大约 15 天）时在含有 0.9% NaCl 的 Yoshida 营养液中盐胁迫处理 7 天，每 2 天更换 1 次盐溶液。耐盐等级调查标准参照《水稻种质资源描述规范和数据标准》^[19]，具体将耐盐等级分为 5 级，1 级为耐盐性极强，3 级为耐盐性较强，5 级为中等耐盐，7 级为耐盐性较弱，9 级为耐盐性极弱。幼苗存活标准按照有绿叶即为存活，幼苗存活率为存活株数与总株数的比值，以 3 次重复的幼苗存活率的平均值作为统计数据。

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

采用 CTAB 法对试验材料进行 DNA 提取^[20]。根据 CSSL91 家系中野生稻插入的片段和位置信息，选择 CSSL91 与日本晴样本间有多态的引物检测 F_{2:3} 分离群体的基因型。PCR 扩增体系为 10.0 μL，包括 DNA 1.0 μL（50 ng），引物（正向+反向）各 0.5 μL（10 μmol·L⁻¹），2×Taq PCR Mix（Vazyme）5.0 μL，ddH₂O 3.0 μL。PCR 扩增程序为 94°C 预变性 5 min；94°C 变性 30 s，59°C 退火 30 s，72°C 延伸 30 s，35 个循环；72°C 延伸 10 min。PCR 产物利用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，考察并记录每个样品的带型。

1.4 QTL 定位与 BSA 分析

首先，利用 QTL IciMapping（V4.1）软件分析耐盐性相关 QTL^[21]，LOD 阈值设定为 2.5^[22]，采用 RSTEP-LRT-ADD 方法检测 QTL、计算每个 QTL 解释的表型变异率（PVE）以及估算 QTL 的加性效应。QTL 的命名采用 McCouch 等^[23]提出的规则。

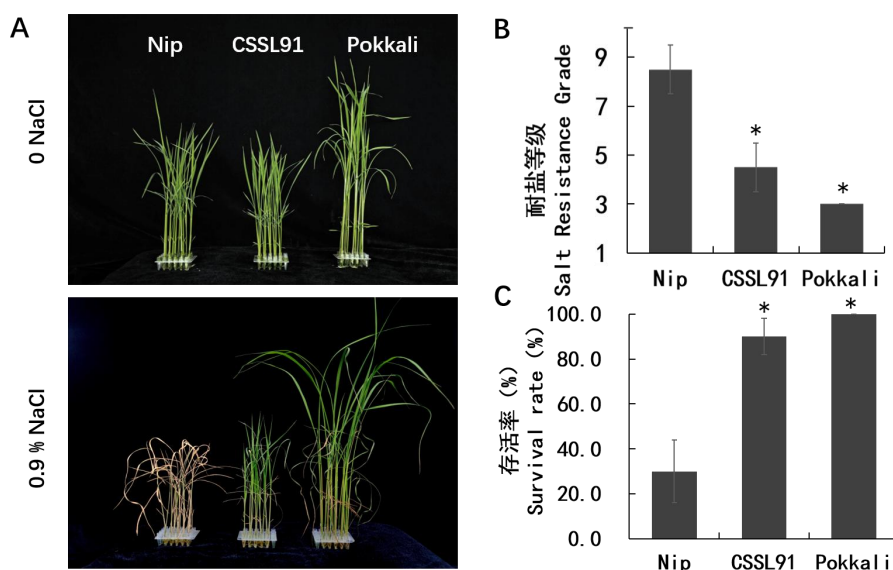
其次，利用 BSA 分析法定位耐盐相关 QTL。根据 F_{2:3} 分离群体耐盐等级鉴定结果，将分离群体中 30~50 株极端表型的单株叶片等量混合，提取基因组 DNA，构建极端表型 DNA 混池。基因组测序在 Illumina 平台上进行，测序深度为 50×；后续数据质控、参考基因组比对和变异检测按等照常规流程进行

[24]。采用欧几里得距离 (Euclidean distance, ED) 法进行 BSA 分析[25], 为了降低背景噪音, 按照滑窗的方法对计算获得的 ED 结果进行拟合, 滑窗窗口大小为 1 Mb, 步长大小为 10 Kb, 取窗口内的平均值作为拟合后的值。为了方便查看, 最后以曼哈顿图显示每个 SNP 的 ED 平方值在染色体上的分布情况。

2、结果与分析

2.1 CSSL91 耐盐性分析

前期, 实验室从东乡普通野生稻染色体片段置换系中筛选到一个强耐盐家系 CSSL91, 为了检验其耐盐性, 利用强耐盐种质 Pokkali 作为对照[26], 进一步评价 CSSL91 的耐盐特性。在正常条件下, 轮回亲本 Nip、CSSL91 和 Pokkali 均生长正常, Pokkali 植株较高; 在盐胁迫条件下, 0.9% NaCl 溶液处理 7d 后, Nip 叶片全部干枯死亡, CSSL91 和 Pokkali 只有少数植株下部叶片干枯死亡, 新叶生长正常 (图 1A); 根据耐盐等级指标, Nip 耐盐等级为 8.5, CSSL91 为 4.5, Pokkali 为 3.0 (图 1B), CSSL91 耐盐等级显著小于 Nip, 稍高于 Pokkali; 根据幼苗存活率指标, Nip 存活率为 30%, CSSL91 为 90%, Pokkali 为 100%, CSSL91 和 Pokkali 存活率没有显著差异, 但显著高于 Nip (图 1C)。因此, CSSL91 耐盐性明显强于 Nip, 与 Pokkali 耐盐能力相当。



A: 盐处理前和 0.9% NaCl 溶液处理 7d 后 Nip、CSSL91 和 Pokkali 植株的表型。B: Nip、CSSL91 和 Pokkali 耐盐等级比较。C: Nip、CSSL91 和 Pokkali 幼苗存活率比较。数据代表 3 次独立重复的平均值 \pm SD。*表示 CSSL91、Pokkali 与 Nip 比较的差异显著性 ($p < 0.05$)。

A: Phenotypes of Nip, CSSL91 and Pokkali plants before salt treatment and after 7 days treatment with 0.9% NaCl solution. B: Comparison of the salt tolerant grade of Nip, CSSL91 and Pokkali. C: Comparison of the survival rates of Nip, CSSL91 and Pokkali. The data represent the mean of 3 independent replicates \pm SD. * indicates the significant difference between CSSL91, Pokkali and Nip ($p < 0.05$).

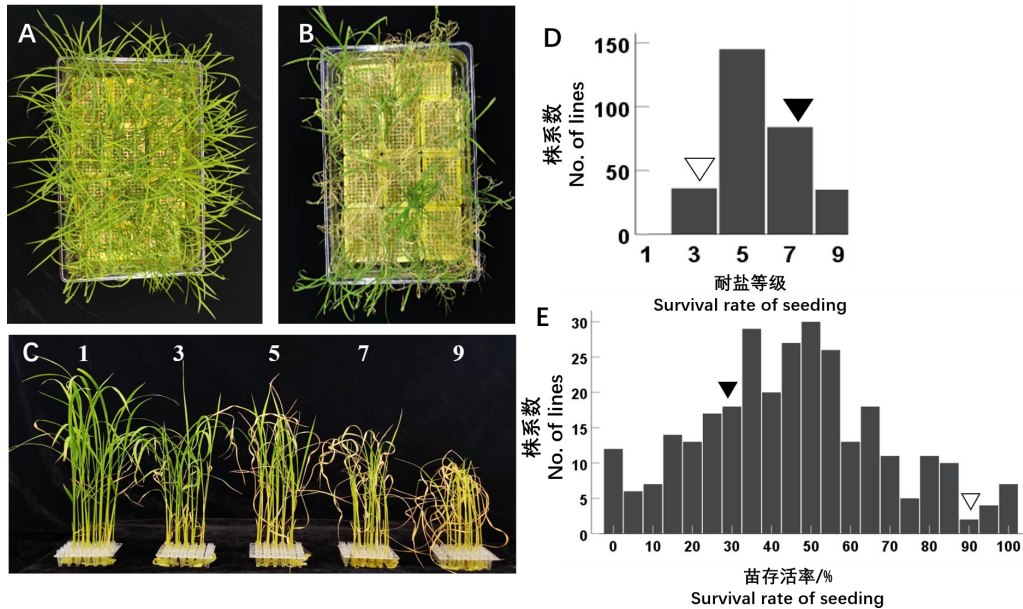
图 1 Nip、CSSL91 和 Pokkali 苗期耐盐性比较

Fig. 1 Comparison of salt tolerance of Nip, CSSL91 and Pokkali at seedling stage

2.2 分离群体苗期耐盐性分析

为了定位 CSSL91 耐盐相关基因, 将 CSSL91 与 Nip 杂交, 构建了 $F_{2:3}$ 分离群体 (图 2A-C)。根据耐

盐鉴定结果, Nip 耐盐等级为 8.5, CSSL91 为 3.5, $F_{2:3}$ 分离群体介于 3~9 之间 (图 2D); Nip 幼苗存活率为 30%, CSSL91 为 90%, $F_{2:3}$ 分离群体介于 0~100% 之间 (图 2E)。耐盐等级和幼苗存活率表型均呈连续分布, 耐盐等级有单向超亲分离, 幼苗存活率有双向超亲分离, 说明耐盐等级和幼苗存活率性状是受多基因控制的数量性状。



A-B: 盐处理前、后 $F_{2:3}$ 群体表型; C: 苗期耐盐等级鉴定标准; D: $F_{2:3}$ 群体耐盐等级的频率分布, 黑色和白色三角形分别代表 Nip 和 CSSL91 的平均耐盐等级; E: $F_{2:3}$ 群体幼苗存活率的频数分布, 黑色和白色三角形分别代表 Nip 和 CSSL91 的平均幼苗存活率。

A-B: Phenotypes of $F_{2:3}$ population before and after salt treatment. C: Standard for salt tolerance grade at seedling stage. D: Frequency distribution of salt tolerance grade in $F_{2:3}$ population. Black and white triangles represent the average salt tolerance grade of Nip and CSSL91, respectively. E: Frequency distribution of seedling survival rate in $F_{2:3}$ population. Black and white triangles represent the average seedling survival rate of Nip and CSSL91, respectively.

图 2 $F_{2:3}$ 群体苗期耐盐性鉴定

Fig.2 Evaluation of salt tolerance in $F_{2:3}$ population at seedling stage

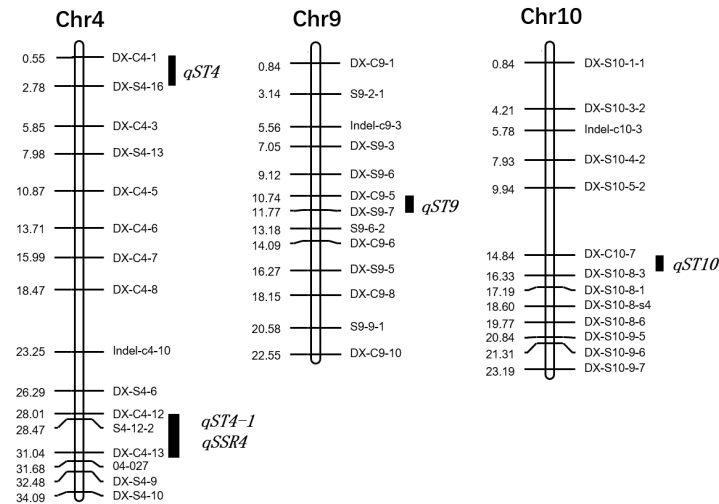
2.3 苗期耐盐 QTL 定位

针对苗期耐盐等级和幼苗存活率性状, 共鉴定到 5 个耐盐相关 QTL (表 1), 其中耐盐等级 4 个, 幼苗存活率 1 个, 两个性状有一个共定位区间 (图 3)。耐盐等级 QTL $qST4$ 位于第 4 染色体 DX-C4-1 和 DX-S4-16 标记之间, LOD 值为 3.97, 可解释表型变异的 18.48%; $qST4-1$ 位于第 4 染色体 DX-C4-12 和 DX-C4-13 标记之间, LOD 值为 3.36, 可解释表型变异的 13.97%; $qST9$ 位于第 9 染色体 DX-C9-5 和 DX-S9-7 标记之间, LOD 值为 3.02, 可解释表型变异的 9.83%; $qST10$ 位于第 10 染色体 DX-C10-7 和 DX-S10-8-3 标记之间, LOD 值为 2.95, 可解释表型变异的 9.93%。幼苗存活率 QTL $qSSR4$ 位于第 4 染色体 DX-C4-12 和 DX-C4-13 标记之间, LOD 值为 3.92, 可解释表型变异的 9.49%, 该 QTL 定位区间与耐盐等级 QTL $qST4-1$ 相同。

表 1 水稻苗期耐盐性相关 QTL 检测结果及其遗传效应

Table 1. Summary of QTL detection and genetic effects of salt tolerance related traits at seedling stage in rice

位点名称 Locus	染色体 Chromosome	标记区间 Marker Interval	LOD 值 LOD score	可解释表型变异(% PVE (%)	加性效应 Additive effect
<i>qST4</i>	4	DX-C4-1~DX-S4-16	3.97	18.48	0.92
<i>qST4-1</i>	4	DX-C4-12~DX-C4-13	3.36	13.97	0.77
<i>qST9</i>	9	DX-C9-5~DX-S9-7	3.02	9.83	0.62
<i>qST10</i>	10	DX-C10-7~DX-S10-8-3	2.95	9.93	-0.23
<i>qSSR4</i>	4	DX-C4-12~DX-C4-13	3.92	9.49	0.04



每个标记的物理位置标注在染色体的左侧，标记名称标记在染色体的右侧；定位到的 QTL 用黑色粗线标记

The position of each marker is based on the physical distance shown to the left of each chromosome, and the molecular marker is shown on the right. The mapping locations of QTLs are marked with a thick black line on the right side of the chromosomes.

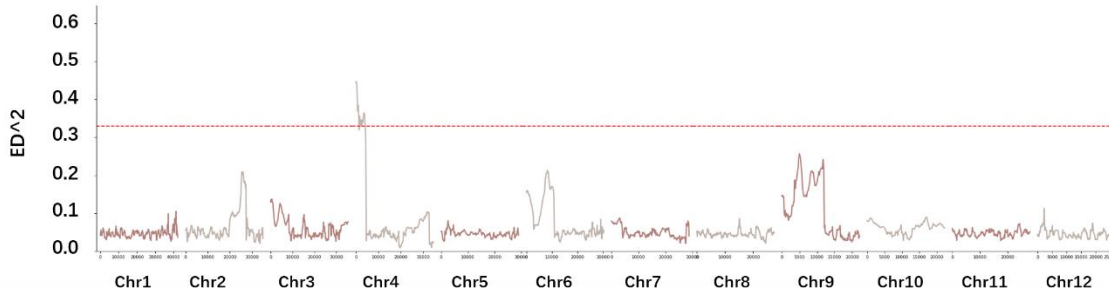
图 3 苗期耐盐相关性状 QTL 在染色体上的分布

Fig.3 Mapping locations of QTLs associated with salt tolerant related traits at seedling stage in rice

2.4 BSA 分析

通过高通量测序，极端敏盐混池获得 58,712,964 个 Reads，极端耐盐混池获得 88,698,194 个 Reads，检测到 573,944 个高质量 SNP，ED 平方值在染色体上的分布如图 4（图 4）；仅在第 4 染色体的 0 ~ 5,000,000 区间检测到一个超过阈值的 QTL，该位点与 *qST4* 区间重合。

综合两种定位方法，均在第 4 染色体的 0 ~ 5,000,000 区间定位到耐盐等级 QTL，说明 *qST4* 是可靠的耐盐位点。此外，在第 4 染色体标记 DX-C4-12 和 DX-C4-13 间，以耐盐等级和幼苗存活率两个指标均能定位到该区间，说明该区间也可能存在一个可靠的耐盐相关 QTL 位点。



红色虚线表示阈值位置

The red dotted line indicates the threshold position

图 4 每个 SNP 的欧几里得距离平方值在染色体上的分布

Fig.4 The distribution of square values of the Euclidean distance for each SNP on the chromosomes

3、讨论

由于不同育种时期与稻作生态区的育种目标差异，人们在培育新品种过程中，丢失了野生稻中原有的一些优异性状和抗性基因。东乡野生稻具有丰富的遗传性，而且携带耐寒、耐旱、耐贫瘠、广亲和性、野败育性恢复性、胞质雄性不育、抗病虫和高产等相关基因^[27]。因此，利用东乡普通野生稻作为供体资源是找回栽培稻中丢失优异基因的有效途径之一。本实验前期利用东乡普通野生稻为供体亲本，栽培稻日本晴为受体亲本，构建了一套东乡普通野生稻染色体片段置换系^[28]；本研究的 CSSL91 家系就是从该套置换系中经过多年室内和大田耐盐性鉴定筛选到的强耐盐材料。

水稻耐盐性是复杂的数量性状，不同生长时期的植株对盐胁迫反应不同，采用的耐盐鉴定指标各异。针对水稻芽期、苗期和分蘖期，已报道了一些耐盐性相关鉴定方法^[6, 13, 14, 29, 30]，这些方法除了考虑遗传因素外，鉴定的环境条件选择也非常重要。在室内水培条件下，盐浓度容易控制，温、湿度等一致性较高，但受营养液限制，分蘖期后将发育不良，该方法多用于水稻芽期和苗期的耐盐性鉴定。室外大田鉴定主要是在盐渍化土壤上，或者通过灌溉一定浓度的海水创制盐胁迫环境，与水稻自然生长环境相似，可以进行大规模鉴定筛选，但不同区域盐浓度一致性相对较差，而且还受鉴定材料的生育期、生态适应性等影响，该方法需要经过多点、多年重复鉴定才能取得较好结果，常用于分蘖期和全生育期等耐盐性鉴定。由于苗期耐盐性鉴定环境条件相对一致，性状考察容易，操作简单，实验周期短，水稻苗期耐盐性的研究最多^[31-33]。本研究主要针对 CSSL91 家系和分离群体的苗期耐盐性进行了研究，采用的耐盐指标为耐盐等级和幼苗存活率。

本研究定位的 5 个苗期耐盐相关 QTL 中，有 3 个 QTL 是新位点，其余 2 个位点与已报道耐盐相关位点位置相近。郑洪亮^[34]等利用长白 10 号（耐盐亲本）与东农 425（轮回亲本）构建的 BC₂F_{2,3} 群体为材料，在第 4 染色体 RM518 标记定位到一个苗期耐盐 QTL- *qRSH4*，LOD 值为 3.24，可解释总耐盐表型变异的 16.8%；Mohammadi R^[35]等利用 Sadri/FL478 杂交的 F₂ 群体，在第 4 染色体 RM551-RM518 标记定位

到分蘖期耐盐相关位点秸秆干重 QTL-*qSTW4* 和单株产量 QTL-*qGY4*, LOD 值分别为 5.1 和 4.2, PVE 分别是 9.6%和 7.9%; Wang^[36]等利用韭菜青/IR26 构建的 RIL 群体为材料, 在第 4 染色体 RM518-RM16535 标记定位到芽期耐盐 QTL-*qGP-4-1*, LOD 值为 2.6, PVE 为 9.0%; Gao^[37]等利用 SR86×Nip 和 SR86×9311 两套定位群体, 定位了 11 个苗期和孕穗期耐盐相关候选基因, 其中位于第 4 染色体的候选基因 *LOC_Os04g03320* 在 SR86 中的表达量高于 Nip 和 9311。上述定位的耐盐性相关 QTL 和候选基因, 均在第 4 染色体 0~5.0 Mb 区间内, 与本研究 *qST4* 位置相当, 说明该区间有一个稳定的耐盐性 QTL, 值得进一步深入研究。此外, Wang^[36]等利用韭菜青/IR26 群体还在第 9 染色体 RM219-RM7048 标记定位到芽期耐盐 QTL-*qGP-9*, LOD 值为 26.6, PVE 为 43.7%, 与本研究的耐盐等级位点 *qST9* 位置相近。而本研究位于第 4 染色体的 *qST4-1/qSSR4* 和位于 10 号染色体的 *qST10* 还未见报道, 是新发现位点。

参考文献

- [1] 杨帆, 王志春, 马红媛, 杨福, 田春杰, 安丰华. 东北苏打盐碱地生态治理关键技术研发与集成示范. 生态学报, 2016, 36(22): 7054-7058
Yang F, Wang Z C, Ma H Y, Yang F, Tian C J, An F H. Research and integrated demonstration of ecological amelioration techniques of saline-sodic land in northeast China. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(22): 7054-7058
- [2] 杨真, 王宝山. 中国盐渍土资源现状及改良利用对策. 山东农业科学, 2015, 47(04): 125-130
Yang Z, Wang B S. Present status of saline soil resources and countermeasures for improvement and utilization in China. Shandong Agricultural Sciences, 2015, 47(04): 125-130
- [3] 赵春芳, 张善磊, 赵庆勇, 周丽慧, 赵凌, 姚姝, 张亚东, 王才林. 基于 CSSL 的水稻芽期耐盐性 QTL 定位. 华北农学报, 2017, 32(05):106-111
Zhang C F, Zhang S L, Zhao Q Y, Zhou L H, Zhao L, Yao S, Zhang Y D, Wang C L. Mapping of QTLs for bud-stage salinity tolerance based on chromosome segment substitution line in rice. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2017, 32(05): 106-111
- [4] Wang Z F, Wang J F, Bao Y M, Wu Y Y, Zhang H S. Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. Euphytica, 2011, 178: 297-307
- [5] Tiwari S, Si K, Kumar V, Singh B, Rao A R, Mithra S A, Rai V, Singh A K, Singh N K. Mapping QTLs for Salt Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) by Bulk Segregant Analysis of Recombinant Inbred Lines Using 50K SNP Chip. PLoS One, 2016, 11(4): e0153610
- [6] Prasad S R, Bagali P G, Hittalmani S, Shashidhar H E. Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). Current Science, 2000, 78: 162-164
- [7] Lin H X. Identification of QTL for Salt Tolerance in Rice Via Molecular Markers. Chinese Journal of Rice Science, 1998, 12(2): 72-78
- [8] 林静, 张云辉, 陈海元, 朱晓妹, 张所兵, 汪迎节, 方先文. 水稻地方品种苗期耐盐 QTL 的定位. 华北农学报, 2019, 34(S1): 1-5
Lin J, Zhang Y H, Chen H Y, Zhu X M, Zhang S B, Wang Y J, Fang X W. Mapping of salt tolerance QTLs at seedling stage of landrace rice. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2019, 34(S1): 1-5
- [9] Mardani Z, Rabiei B, Sabouri H, Sabouri A. Identification of molecular markers linked to salt-tolerant genes at germination stage of rice. Plant Breeding, 2014, 133: 196-202
- [10] Negrão S, Courtois B, Ahmadi N, Abreu I A, Saibo N J, Oliveira M M. Recent Updates on Salinity Stress in Rice: From Physiological to Molecular Responses. Critical Reviews in Plant Sciences, 2011, 30, 329-377
- [11] 段敏, 谢留杰, 朱亚军, 黄善军, 潘晓曦, 徐建龙. 盐胁迫下水稻幼苗存活率的 QTL 定位. 中国农业科技导报, 2019, 21(09): 25-35
Duan M, Xie L J, Zhu Y J, Huang S J, Pan X B, Xu J L. QTL mapping of seedling survival rate under salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Agricultural

Science and Technology, 2019, 21(09): 25-35

- [12] 井文, 章文华. 水稻耐盐基因定位与克隆及品种耐盐性分子标记辅助选择改良研究进展. 中国水稻科学, 2017, 31(02): 111-123
- Jing W, Zhang W H. Research progress on gene mapping and cloning for salt tolerance and variety improvement for salt Tolerance by molecular marker-assisted selection in rice. Chinese Journal of Rice Science, 2017, 31(02): 111-123
- [13] 胡时开, 陶红剑, 钱前, 郭龙彪. 水稻耐盐性的遗传和分子育种的研究进展. 分子植物育种, 2010, 8(04): 629-640
- Hu S K, Tao H J, Qian Q, Guo L B. Progresses on genetics and molecular breeding for salt-tolerance in rice. Molecular Plant Breeding, 2010, 8(04): 629-640
- [14] Gong J M, He P, Qian Q, Shen L S, Zhu L H, Chen S Y. Identification of salt-tolerance QTL in rice (*Oryza sativa* L.). Chinese Science Bulletin, 1999, 44(1): 68-71
- [15] Takehisa H, Shimodate T, Fukuta Y, Ueda T, Yano M, Yamaya T, Kameya T, Sato T. Identification of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy field flooded with salt water. Field Crops Research, 2004, 8: 85-95
- [16] 耿雷跃. 基于连锁和关联分析的水稻耐盐性 QTL 定位与候选基因发掘[D]. 中国农业科学院, 2021
- Geng L Y. Linkage Analysis and GWAS Reveal QTL Controlling Salt Tolerance in Rice and Candidate Genes Discovery [D]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021
- [17] Ren Z H, Gao J P, Li L G, Cai X L, Huang W, Chao D Y, Zhu M Z, Wang Z Y, Luan S, Lin H X. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. Nat Genet, 2005, 37(10): 1141-6
- [18] Yu J, Zhu C S, Xuan W, An H Z, Tian Y L, Wang B X, Chi W C, Chen G M, Ge Y W, Li J, Dai Z Y, Liu Y, Sun Z G, Xu D Y, Wang C M, Wan J M. Genome-wide association studies identify OsWRKY53 as a key regulator of salt tolerance in rice. Nat Commun. 2023, 14(1): 3550
- [19] 韩龙植, 魏兴华. 水稻种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006: 15-18
- Han L Z, Wei X H. Rice germplasm resource description specifications and data standards. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 15-18
- [20] McCouch S R, Kochert G, Yu Z H, Wang Z Y, Khush G S, Coffman W R, Tanksley S D. Molecular mapping of rice chromosomes. Theor Appl Genet, 1988, 76(6): 815-29
- [21] Meng L, Li H, Zhang L, Wang J. QTL IciMapping: Integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in bi-parental populations. The Crop Journal, 2015, 3: 269-283
- [22] 龚继明, 郑先武, 杜保兴, 钱前, 陈受宜, 朱立煌, 何平. 控制水稻重要农艺性状的 QTL 在盐胁迫与非胁迫条件下的对比研究. 中国科学, 2000(6): 561-569
- Gong J M, Zheng X W, Du B X, Qian Q, Chen S Y, Zhu L H, He P. Control of important agronomic traits of rice under salt stress comparative studies with non-stressed conditions. Science in China, 2000(6): 561-569
- [23] McCouch S, Cho Y, Yuno M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, Kinoshita H. Report on QTL nomenclature. Rice Genet Newsl, 1997, 14: 11-13
- [24] 罗兰, 雷丽霞, 刘进, 张瑞华, 金桂秀, 崔迪, 黎毛毛, 马小定, 赵正武, 韩龙植. 利用东乡普通野生稻染色体片段置换系定位产量相关性状 QTL. 作物学报, 2021, 47(07): 1391-1401
- Luo L, Lei L X, Liu J, Zhang R H, Jin G X, Cui D, Li M M, Ma X D, Zhao Z W, Han L Z. Mapping QTLs for yield-related traits using chromosome segment substitution lines of Dongxiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and Nipponbare (*Oryza sativa* L.). The crop journal, 2021, 47(07): 1391-1401
- [25] Hill J T, Demarest B L, Bisgrove B W, Gorski B, Su Y C, Yost H J. MMAPP: mutation mapping analysis pipeline for pooled RNA-seq. Genome research, 2013, 23(4): 687-697
- [26] Fernando L H. The performance of salt resistant paddy, Pokkali in Ceylon. Tropical Agriculturist, 1949, 105: 124-126
- [27] 黄依南, 黄国勤. 东乡野生稻的发现、价值与保护. 农业资源与环境学报, 2012, 29: 13-15
- Huang Y N, Huang G Q. The discovery, value and protection of Dongxiang wild rice. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2012, 29: 13-15
- [28] Ma X D, Han B, Tang J H, Zhang J N, Cui D, Geng L Y, Zhou H Y, Li M M, Han L Z. Construction of chromosome segment substitution lines of Dongxiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in the background of the japonica rice cultivar Nipponbare (*Oryza sativa* L.). Plant Physiol Biochem, 2019, 144: 274-282
- [29] Tiwari S, Si K, Kumar V, Singh B, Rao A R, Mithra S V, Rai V, Singh A K, Singh N K. Mapping of QTL for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) via molecular markers. China Rice Research, 1997, 5, 1-2

- [30] Hossain H, Rahman M A, Alam M S, Singh R K. Mapping of quantitative trait loci associated with reproductive-stage salt tolerance in rice. *Agronomy and Crop Science*, 2015, 201(1): 17-31
- [31] 孙勇, 藏金萍, 王韵, 朱芩华, Fotokian Mohammadhosein, 徐建龙, 黎志康. 利用回交导入系群体发掘水稻种质资源中的有利耐盐 QTL. *作物学报*, 2007, 33(10): 1611-1617
- Sun Y, Zang J P, Wang Y, Zhu L H, Fotokian M, Xu J L, Li Z K. Mining favorable salt-tolerant QTL from rice germplasm using a backcrossing introgression line population. *Acta Crops Sinica*, 2007, 33(10): 1611-1617
- [32] 邢军, 常汇琳, 王敬国, 刘化龙, 孙健, 郑洪亮, 赵宏伟, 邹德堂. 盐碱胁迫条件下粳稻 Na⁺、K⁺浓度的 QTL 分析. *中国农业科学*, 2015, 03: 604-612
- Xing J, Chang H L, Wang J G, Liu H L, Sun J, Zheng H L, Zhao H W, Zhou D T. QTL analysis of Na⁺ and K⁺ concentrations in Japonica rice under salt and alkaline stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 03: 604-612
- [33] Liang J L, Qu Y P, Yang C G, Ma X D, Cao G L, Zhao Z W, Zhang S Y, Zhang T, Han L Z. Identification of QTLs associated with salt or alkaline tolerance at the seedling stage in rice under salt or alkaline stress. *Euphytica*, 2015, 201(3) : 441-452
- [34] 郑洪亮, 刘博文, 赵宏伟, 王敬国, 刘化龙, 孙健, 邢军, 邹德堂. 利用连锁和关联分析定位粳稻芽期及幼苗前期耐盐性 QTL. *中国水稻科学*, 2014, 28(04): 358-366
- Zheng H L, Liu B W, Zhao H W, Wang J G, Liu H L, Sun J, Xing J, Zou D T. Identification of QTLs for Salt Tolerance at the germination and early seedling stage using linkage and association analysis in japonica rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 2014, 28(04): 358-366
- [35] Mohammadi R, Mendioro M S, Diaz G Q, Gregorio G B, Singh R K. Mapping quantitative trait loci associated with yield and yield components under reproductive stage salinity stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Genetics*, 2013, 92: 433-443
- [36] Wang Z F, Wang J F, Bao Y M, Wu Y Y, Zhang H S. Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. *Euphytica*, 2011, 178(3): 297-307.
- [37] Gao Q M, Wang H Y, Yin X L, Wang F, Hu S, Liu W H, Chen L B, Dai X J, Liang M Z. Identification of salt tolerance related candidate genes in 'Sea Rice 86' at the seedling and reproductive stages using QTL-Seq and BSA-Seq. *Genes*, 2023, 14(2): 458