植物遗传资源学报
Journal of Plant Genetic Resources DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20221231003

盐胁迫下水稻种质资源 Na^+、K^+平衡和 *SKC1* 单倍型分析

杨 辉[1]，白天亮[1]，朱春艳[1]，冯培媛[1]，宋佳伟[1]，刘晓刚[1,2]，李培富[1]，罗成科[1]，田 蕾[1]
（[1]宁夏大学 农学院/宁夏优势特色作物现代分子育种重点实验室，银川 750021；[2]宁夏润丰种业有限公司，银川 750001）

摘要：为探究盐胁迫下水稻地上部和根部 Na^+、K^+含量和分布对其生物量累积和苗期耐盐性的影响，利用 125 mmol/L NaCl 对 51 份不同类型水稻种质资源进行胁迫处理，测定 5 个形态学指标：耐盐级别（STS）、相对根长（RRL）、相对地上部干重（RSDW）、相对根干重（RRDW）和地上部含水量（SWC）；6 个离子指标：地上部 Na^+含量（SNC）、根系 Na^+含量（RNC）、地上部 K^+含量（SKC）、根系 K^+含量（RKC）、地上部 Na^+/K^+（SNa^+/K^+）和根系 Na^+/K^+（RNa^+/K^+），共 11 个耐盐相关指标。在主成分分析基础上，利用隶属函数和标准差系数赋予权重法获得水稻苗期耐盐性综合评价值（*D* 值）。利用特异引物扩增 *SKC1* 基因编码区进行测序、比对和单倍型分析。结果表明：除 RRL 外，SNC 与其余 4 个形态学指标呈极显著负相关，STS 与 SNC、RNC 和 SNa^+/K^+均呈极显著负相关，STS、RSDW、RRDW、SWC 4 个指标两两之间均呈极显著正相关。利用 SPSS 主成分分析将 11 个单项指标转换为 4 个主成分（CI），累计贡献率达 82.093%。依据 CI1 中各指标的载荷系数，筛选出 RSDW、STS、RRDW、SNC、SNa^+/K^+和 RNC 6 个重要指标；结合综合评价 *D* 值与这 6 个指标的线性回归分析，发现 SNa^+/K^+的系数较大，可能是影响离子平衡的关键因子。通过对 51 份水稻种质资源 *SKC1* 编码区序列比对，共检测到 9 种不同的单倍型。其中越光的单倍型（Hap1）为粳稻种质资源的优势等位基因；Nona Bokra 的单倍型（Hap7）为籼稻和 *Aus* 的优势等位基因。本研究结果可从离子平衡层面为耐盐水稻资源筛选与鉴定提供理论依据。

关键词：水稻；耐盐性；离子平衡；*SKC1*；单倍型分析

Analysis of Na^+ and K^+ Homeostasis and *SKC1* Haplotype of Rice Germplasm Accessions under Salt Stress

YANG Hui[1], BAI Tian-liang[1], ZHU Chun-yan[1], FENG Pei-yuan[1], SONG Jia-wei[1], LIU Xiao-gang[1,2], LI Pei-fu[1], LUO Cheng-ke[1], TIAN Lei[1]
([1]College of Agriculture, Ningxia University/Key Laboratory of Modern Molecular Breeding for Dominant and Characteristic Crops in Ningxia , Yinchuan 750021; [2]Ningxia Runfeng Seed Industry Co., Ltd, Yinchuan 750001)

Abstract: To investigate if the Na^+ and K^+ content and distribution of the seedling shoot and root make impacts on the biomass accumulation and salt tolerance in rice, 51 rice germplasm accessions were analyzed under salt stress treatment by using Yoshida culture solution containing 125 mmol/L NaCl. Five morphological parameters including salt tolerance score (STS), relative root length (RRL), relative shoot dry weight (RSDW), relative root dry weight (RRDW), shoot water content (SWC), and six ion indexes, namely shoot Na^+ content (SNC), root Na^+ content (RNC), shoot K^+ content (SKC), root K^+ content (RKC), shoot Na^+/K^+(SNa^+/K^+) and root Na^+/K^+(RNa^+/K^+) were measured. On the basis of principal component analysis (PCA), with membership functions and weighted standard deviation coefficient method, a comprehensive evaluation *D* value for each rice germplasm accession was obtained. Specific primers for amplifying the coding region of *SKC1* were applied for sequencing, alignment and haplotype analysis. SNC was significantly negatively correlated with other morphologic indexes except RRL, and STS was found to be significantly negatively correlated with SNC, RNC and SNa^+/K^+. Meanwhile, significant positive correlations among STS, RSDW, RRDW and SWC were revealed by correlation analysis. PCA with 11 indexes suggested four major components, with a cumulative contribution rate of 82.093%. Six key indexes, including RSDW, STS, RRDW, SNC, SNa^+/K^+ and RNC, were selected based on the loadings of 11 indexes in CI1. Combined with the linear regression analysis between the *D* value and these six indexes, it was found that SNa^+/K^+ may be the key factor affecting ion balance in rice seedlings with a great regression coefficient. The diversity analysis of *SKC1* coding sequence suggested nine different haplotypes of 51 rice germplasm accessions. The haplotype of Koshihikari (Hap1) was dominant in *japonica*

收稿日期：2022-12-31 修回日期： 网络出版日期：
URL：
第一作者研究方向为耐盐碱水稻遗传育种，E-mail: yh_2475@163.com；白天亮为共同第一作者
通信作者：田蕾，主要研究方向为水稻抗逆分子育种，E-mail: tianlei2012@nxu.edu.cn
基金项目：国家重点研发计划项目课题（2021YFD1900603）
Foundation project: National Key Research and Development Project（2021YFD1900603）

rice accessions, and the haplotype of Nona Bokra (Hap7) was dominant in *indica* and *Aus* rice accessions. Collectively, the results gained from this study provided a theoretical foundation for identifying the salt-tolerant rice germplasm accessions in ion homeostasis.

Keywords: rice; salt resistance; ion homeostasis; *SKC1*; haplotype analysis

我国盐碱地面积大、分布广，总面积约为 3.6×10^7 hm^2，其中盐碱耕地面积已达到 9.2×10^6 hm^2[1]。土壤盐渍化已成为水稻生产栽培的一个主要制约因素。水稻（*Oryza sativa* L.）是我国主要粮食作物之一[2]，作为一种中度盐敏感作物，在不同生长发育阶段其耐盐性表现不尽相同。水稻在种子萌发期、分蘖期和成熟期相对耐盐，而在幼苗期、孕穗和抽穗期则表现为高度盐敏感[3]。盐胁迫下植物细胞损伤的主要原因包括高渗透压[4]、膜系统过氧化[5]和离子毒害[6]等，是一系列复杂的生理生化过程。其中钠、钾离子稳态的失衡是引起水稻细胞死亡，影响水稻生长发育的一个重要因素。盐胁迫下水稻叶片 Na^+含量显著升高，由于竞争作用减少了 K^+的吸收和转运，Na^+/K^+比率随之增大，最终打破了两种离子的动态平衡[7]。

离子通道蛋白及其编码基因是调控离子平衡的关键因子，主要来自于 HAK、AKT、NHX 和 HKT 等 K^+、Na^+转运蛋白家族。He 等[8]研究发现钾离子转运蛋白 HAK 家族成员 OsHAK21 在盐胁迫下水稻种子萌发过程中通过促进 K^+和 Na^+的吸收，诱导脱落酸生物合成和脱落酸信号通路基因表达，抑制了活性氧在种子中的积累，从而提高了萌发种子的耐盐性；Yang 等[9]研究发现 OsHAK5 在水稻吸收和运输 K^+过程中发挥了重要作用，在外界 Na^+浓度较高的环境下，该蛋白表现出对 Na^+不敏感的 K^+转运活性，通过维持较低的地上部 Na^+/K^+比率来增强水稻耐盐性；*OsAKT2* 也是盐胁迫下维持水稻植株 K^+平衡的 1 个重要基因，其编码的转运蛋白在 K^+于水稻韧皮部的装载和再分配中发挥了重要作用[10]。水稻调节 Na^+平衡主要是通过区隔化和长距离运输实现的。液泡膜 Na^+/H^+逆向转运蛋白家族成员 OsNHX1 可将 Na^+逆向转运至液泡中，通过离子区隔化来维持细胞离子稳态，从而影响水稻苗期耐盐性[11,12]。HKT 钠离子转运蛋白家族则主要通过介导盐胁迫下 Na^+在水稻体内的长距离运输和再分配来调节水稻耐盐性。其中，*SKC1* (*OsHKT1;5*) 编码 1 个 Na^+特异性转运蛋白，在控制水稻中 K^+和 Na^+从根部向地上部的运输过程中发挥重要作用；当水稻受到盐胁迫时，*SKC1* 通过木质部的卸载把地上部过量的 Na^+回流到根部，同时打开钾离子通道，促进 K^+分泌到木质部导管，从而维持地上部较低的 Na^+/K^+比率，来减轻 Na^+毒害，增强水稻耐盐性[13]，该基因在 OsBAG4、OsMYB106 和 OsSUVH7 共同组成的转录复合物调控下响应盐胁迫[14]。

近年来，众多国内外学者在钠钾离子平衡调控水稻耐盐性生理机制的解析方面开展了大量工作，也克隆了一些离子平衡相关基因；但关于盐胁迫下地上部和根部 Na^+、K^+含量和比值对水稻生物量累积的影响，以及 *SKC1* 在不同类型水稻种质资源中的单倍型分布特征报道较少。本研究通过测定盐胁迫下不同类型的 51 份水稻种质资源苗期 5 个形态学指标和地上部与根系的 Na^+、K^+含量，应用主成分分析、隶属函数、逐步线性回归和通径分析等多元统计学方法筛选耐盐关键指标，揭示 *SKC1* 不同单倍型的分布特点和对水稻种质资源 Na^+、K^+平衡的影响，以期为利用分子育种途径提高水稻品种耐盐性提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采用宁夏大学农学院作物遗传育种实验室提供的 51 份水稻种质资源为试验材料（表 1），其中包括 23 份粳稻栽培种质，21 份粳稻地方种质，5 份籼稻种质和 2 份 *Aus* 种质。

表 1　51 份水稻种质资源名称、来源、种质类型、综合评价 *D* 值及排名

Table 1 Names, origin and types of 51 rice germplasm accessions and their *D* values, comprehensive ranking

编号 No.	种质资源名称 Name of germplasm	原产地或来源 Origin	*D* 值 *D* value	排名 Ranking	编号 No.	种质资源名称 Name of germplasm	原产地或来源 Origin	*D* 值 *D* value	排名 Ranking

1	长白 26	中国吉林	0.708	3	27	杨和白皮稻	中国宁夏	0.632	18
2	宁资 629	中国宁夏	0.619	21	28	叶盛白皮大稻	中国宁夏	0.585	26
3	丰光	日本	0.676	6	29	大白芒稻	中国宁夏	0.435	35
4	新稻 10 号	中国新疆	0.666	7	30	小红板稻	中国宁夏	0.470	31
5	长白 9 号	中国吉林	0.692	4	31	小琥板稻	中国宁夏	0.645	12
6	农科 843	中国宁夏	0.641	13	32	有芒小琥板稻	中国宁夏	0.548	28
7	惠糯	日本	0.648	11	33	小白板稻	中国宁夏	0.623	19
8	铁粳 2 号	中国辽宁	0.663	8	34	有芒大琥板稻	中国宁夏	0.509	30
9	长元 26	中国北京	0.632	17	35	呈贡旱谷	中国云南	0.603	24
10	中科长 6 号	中国北京	0.652	9	36	上南旱稻	韩国	0.405	38
11	云村稻	朝鲜	0.323	49	37	圭陆 1 号	中国云南	0.355	42
12	龙粳 22	中国黑龙江	0.351	45	38	漾濞光壳陆稻	中国云南	0.614	22
13	新竹 8 号	中国台湾	0.299	50	39	罗平懒汉谷	中国云南	0.435	34
14	嘉南 8 号	中国台湾	0.345	47	40	Bertone	葡萄牙	0.722	1
15	花育 2 号	中国宁夏	0.333	48	41	Agostono	意大利	0.641	14
16	美山锦	日本	0.354	44	42	湟罗	俄罗斯	0.634	15
17	庆林 518	中国吉林	0.376	41	43	Banat725	澳大利亚	0.349	46
18	新稻 36 号	中国新疆	0.408	36	44	矮脚早	中国云南	0.385	40
19	辽开 79	中国辽宁	0.236	51	45	Pokkali	印度	0.678	5
20	六粳 2 号	中国贵州	0.390	39	46	9311	中国湖南	0.623	20
21	4154-4	中国江苏	0.355	43	47	蜀恢 881	中国四川	0.720	2
22	千重浪	日本	0.406	37	48	露水稻	中国河南	0.649	10
23	山福利亚	几内亚	0.526	29	49	中籼 91499	中国江苏	0.602	25
24	毛毛糯	中国宁夏	0.458	33	50	Aus317	孟加拉	0.464	32
25	小糯稻	中国宁夏	0.604	23	51	Aus426	孟加拉	0.633	16
26	黑兰稻	中国宁夏	0.553	27					

编号 1~23：粳稻栽培种质；24~44：粳稻地方种质；45~49：籼稻种质；50~51：*Aus* 种质

No. 1-23: *Japonica* rice cultivars; 24-44: *Japonica* rice landraces; 45-49: *Indica* rice germplasm; 50-51: *Aus* rice germplasm

1.2 试验方法

1.2.1 水稻幼苗培养及形态学指标测定

本试验分别于 2020 年和 2021 年 7 月在宁夏大学国家大学科技园日光温室进行。参照田蕾等[15]的方法培育水稻幼苗，利用水培法悬浮培养。于种子萌发后 14 d，设置对照（1×水稻营养液）和盐胁迫（1×水稻营养液中添加 125 mmol/L NaCl）两种处理方式，每个处理 3 次重复，每重复 24 株。盐胁迫期间，每 2 d 更换一次营养液，通过添加适量盐酸调节营养液 pH 值在 5.0~5.5 之间。于盐胁迫 6 d，参照马帅国等[16]报道的粳稻种质资源苗期耐盐性鉴定评价方法和重要指标，测定各水稻种质的耐盐级别（STS）、相对根长（RRL）、相对地上部干重（RSDW）、相对根干重（RRDW）和盐胁迫下的地上部含水量（SWC）。各指标分别取两年的均值。

1.2.2 水稻苗期地上部和根部 Na^+、K^+含量测定

参照 Ren 等[13]醋酸消煮法进行水稻苗期 Na^+、K^+含量的测定。于盐胁迫 6 d，每份种质盐胁迫处理的 3 个重复分别随机选取 5 株利用蒸馏水洗涤后，105 ℃杀青 30 min，75 ℃烘干至恒重。称取 0.1 g 粉碎后的水稻地上部或根系干样品，置于 50 mL 离心管中，加入 100 mmol/L 醋酸溶液 10 mL，于 95 ℃水浴摇床中震荡 5 h 进行消煮；离心之后，取各样品上清母液分别稀释 20~100 倍，终体积为 10 mL，用岛津 Z-2000 原子吸收光谱仪分别检测水稻地上部和根系的 Na^+、K^+含量，分别计算 Na^+/K^+比率。各指标分别取 3 个重复的均值。

1.2.3 DNA 提取与 PCR 扩增

采用改良 1.5% CTAB 法[17]提取各种质资源叶片 DNA。利用孙平勇等[18]针对 *SKC1* 编码区功能变异位点设计的引物对 F：GCATCCTTGGCCTCTACTTC；R：ATATGTCCCAGGCCAGAGTA，对各种质资源 DNA 进行 PCR 扩增。选用北京聚合美生物科技有限公司 M5 Magic Neo High-Fidelity Polymerase，采用 25 μL 扩增体系：2×Magic Neo PCR Buffer 12.5 μL，2 mM dNTPs 2.5 μL，Primer（10 μM）0.5 μL，超保真酶 0.5 μL，DNA 2 μL，ddH_2O 7 μL；反应程序如下：95 ℃ 2 min；95 ℃ 25 s，55 ℃ 25 s，68 ℃ 30 s，36 个循环，68 ℃ 后延伸 5 min，4 ℃保存。扩增产物通过 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测，然后送至生工生物工程（上海）股份有限公司测序

1.3 数据分析

利用 Excel2013 整理试验数据、绘图。利用 SPSS25.0 对 51 份水稻种质资源 11 个耐盐相关指标进行相关性分析、差异显著性分析、主成分分析、逐步回归分析和通径分析。隶属函数值、各综合指标的权重、综合耐盐能力 *D* 值的计算方法及公式参照文献[19]，利用 DNAMAN 对测序结果进行比对分析。

2 结果与分析

2.1 51 份水稻种质资源盐胁迫下形态学和离子平衡特征分析

2.1.1 水稻种质资源盐胁迫条件下苗期各评价指标表现

由表 2 可知，在 5 个形态学指标中，耐盐级别、相对地上部干重和相对根干重的变异范围较广，变异系数较大，均在 30.0%以上；地上部含水量的变异系数最小，仅为 4.4%。6 个离子指标在 51 份水稻种质资源中，均表现出较大的变异系数，分布范围为 27.7%~78.9%；地上部、根系 Na^+含量的最小值和最大值均高于相应部位的 K^+含量；其中根系 Na^+含量和根系 Na^+/K^+的变异范围分别为 44.2 mg/g~263.9 mg/g 和 3.6~60.1；地上部 Na^+/K^+和根系 Na^+/K^+的变异系数分别为 67.3%和 78.9%。11 个耐盐相关指标中，除了地上部含水量和相对根长之外，其他 9 个指标的变异系数均在 20.0%以上，表明盐胁迫下它们在不同水稻种质资源间差异较大，表现出更加丰富的变异。

表 2　51 份水稻种质资源盐胁迫条件下苗期各评价指标的参数统计

Table 2 Parameters statistics of evaluation indexes of 51 rice germplasm accessions under salt stress at seedling stage

指标 Indexes	最小值 Min	最大值 Max	中值 Median	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数（%） CV
耐盐级别 STS	1.4	7.5	5.3	4.9	1.7	35.7
相对根长（%）RRL	45.4	98.8	71.2	70.9	12.8	18.1
相对地上部干重（%）RSDW	31.1	96.9	73.2	67.3	20.3	30.2
相对根干重（%）RRDW	20.2	98.7	59.3	60.7	23.9	39.3
地上部含水量（%）SWC	64.2	80.0	74.6	74.3	3.3	4.4
地上部 Na^+含量（mg/g）SNC	41.1	135.6	71.4	72.9	20.2	27.7
根系 Na^+含量（mg/g）RNC	44.2	263.9	64.7	75.2	34.1	45.4
地上部 K^+含量（mg/g）SKC	5.0	42.3	21.0	21.8	7.1	32.6
根系 K^+含量（mg/g）RKC	1.0	16.6	6.3	6.6	3.2	47.9
地上部 Na^+/K^+ SNa^+/K^+	1.3	13.4	3.2	4.0	2.7	67.3
根系 Na^+/K^+ RNa^+/K^+	3.6	60.1	11.0	14.7	11.6	78.9

2.1.2 盐胁迫处理下水稻苗期各指标间的相关性分析

通过分析盐胁迫下水稻种质资源 11 个耐盐相关指标的相关性（表 3），发现 5 个形态学指标之间存在不同程度的相关性。耐盐级别、相对地上部干重、相对根干重、地上部含水量 4 个指标两两之间均呈极显著正相关；相对根长分别与耐盐级别、相对地上部干重呈显著正相关。耐盐级别与地上部 Na^+含量、根系

Na^+含量和地上部 Na^+/K^+均呈极显著负相关，其中与地上部 Na^+含量相关系数最大，为-0.749。除相对根长外，地上部 Na^+含量与其余 4 个形态学指标均呈极显著负相关。在 6 个离子指标之间，地上部 Na^+含量与根系 Na^+含量呈极显著正相关，且均与地上部 Na^+/K^+和根系 Na^+/K^+呈极显著正相关，与地上部 K^+含量呈显著负相关；地上部 Na^+/K^+与地上部 Na^+含量、根系 Na^+含量、根系 Na^+/K^+均呈极显著正相关，与地上部 K^+含量呈极显著负相关；根系 Na^+/K^+与地上部 Na^+含量、根系 Na^+含量、地上部 Na^+/K^+均呈极显著正相关，与根系 K^+含量呈极显著负相关，与地上部 K^+含量呈显著负相关。上述结果表明各指标间存在着不同程度的相关性，会导致信息之间相互重叠，故采用主成分分析来消除信息重叠造成的不利影响。

表 3　盐胁迫处理下水稻苗期各指标的相关系数矩阵

Table 3 Correlation coefficient matrix of each index in rice at seedling stage under salt stress treatment

指标 Indexes	耐盐级别 STS	相对根长 RRL	相对地上部干重 RSDW	相对根干重 RRDW	地上部含水量 SWC	地上部 Na^+含量 SNC	根系 Na^+含量 RNC	地上部 K^+含量 SKC	根系 K^+含量 RKC	地上部 Na^+/K^+ SNa^+/K^+	根系 Na^+/K^+ RNa^+/K^+
耐盐级别 STS	1.000										
相对根长 RRL	0.280*	1.000									
相对地上部干重 RSDW	0.804**	0.312*	1.000								
相对根干重 RRDW	0.655**	0.239	0.764**	1.000							
地上部含水量 SWC	0.482**	-0.184	0.403**	0.442**	1.000						
地上部 Na^+含量 SNC	-0.749**	-0.211	-0.671**	-0.530**	-0.471**	1.000					
根系 Na^+含量 RNC	-0.478**	-0.205	-.507**	-.404**	-0.264	0.769**	1.000				
地上部 K^+含量 SKC	0.197	-0.135	0.360**	0.381**	0.231	-0.309*	-0.356*	1.000			
根系 K^+含量 RKC	0.023	-0.329*	0.097	0.191	0.488**	0.012	-0.106	0.183	1.000		
地上部 Na^+/K^+ SNa^+/K^+	-0.444**	0.024	-0.493**	-0.358**	-0.254	0.603**	0.615**	-0.748**	-0.15	1.000	
根系 Na^+/K^+ RNa^+/K^+	-0.225	0.152	-0.324*	-0.302*	-0.524**	0.420**	0.535**	-0.348*	-0.617**	0.555**	1.000

表中数值为相关系数（r^2）；**表示在 0.01 水平上极显著相关；*表示在 0.05 水平上显著相关。

The values in the table are correlation coefficient (r^2); ** indicates significant correlation at 0.01 level; * indicates significant correlation at the 0.05 level.

2.1.3 盐胁迫处理下水稻苗期各指标的主成分分析

使用 SPSS25.0 软件对 51 份水稻种质资源 11 个苗期耐盐相关指标进行主成分分析。结果发现，前 4 个主成分特征值均在 0.84 以上，累计贡献率为 82.093%（表 4），已充分概括了大部分指标，将原有的 11 个单项指标转化为 4 个新的独立综合指标。第一主成分（CI1）的特征值和贡献率分别为 4.940 和 44.909%，其中地上部 Na^+含量、相对地上部干重、耐盐级别、地上部 Na^+/K^+、根系 Na^+含量和相对根干重的载荷值较大，均高于 0.74，是第一主成分的主要作用因子；第二主成分（CI2）的特征值和贡献率分别为 2.005 和 18.231%，其主要作用因子是根系 K^+含量，载荷值为 0.756；第三主成分（CI3）中地上部 K^+含量的载荷值最大，为 0.561，特征值和贡献率分别为 1.237 和 11.247%；第四主成分（CI4）的特征值和贡献率分别为 0.848 和 7.706%，根系 Na^+含量的载荷值最大，为 0.465，是 CI4 的主要作用因子。综合上述 4 个主成分所反映的信息，可用地上部 Na^+含量、相对地上部干重、耐盐级别、地上部 Na^+/K^+、根系 Na^+含量和相对根干重 6 个指标来概括 11 个指标中的大部分信息。

表 4 盐胁迫条件下各因子的载荷矩阵、各综合指标的特征值及贡献率

Table 4 Load matrix of each factor, characteristic value and contribution rate of each comprehensive index under salt stress condition

指标 Indexes	主成分特征向量 Ingredient feature vector

	CI1	CI2	CI3	CI4
耐盐级别 STS	0.784	0.367	0.272	0.100
相对根长 RRL	0.149	0.751	0.061	-0.228
相对地上部干重 RSDW	0.827	0.310	0.170	0.205
相对根干重 RRDW	0.747	0.191	0.273	0.353
地上部含水量 SWC	0.614	-0.371	0.494	0.049
地上部 Na^+含量 SNC	-0.847	-0.241	0.040	0.237
根系 Na^+含量 RNC	-0.756	-0.090	0.269	0.465
地上部 K^+含量 SKC	0.567	-0.264	-0.561	0.456
根系 K^+含量 RKC	0.298	-0.756	0.346	-0.062
地上部 Na^+/K^+ SNa^+/K^+	-0.757	0.146	0.552	-0.048
根系 Na^+/K^+ RNa^+/K^+	-0.642	0.556	0.000	0.361
特征值 Eigenvalues	4.940	2.005	1.237	0.848
贡献率（%）Contribution rate	44.909	18.231	11.247	7.706
累计贡献率（%）Cumulative contribution rate	44.909	63.140	74.387	82.093

2.1.4 水稻种质资源苗期耐盐性综合评价

利用提取到的 4 个主成分综合性状值（CI1-CI4）分别计算参试水稻种质资源的隶属函数值 u（*Xj*），根据 4 个主成分贡献率的大小，依次求出 4 个耐盐综合指标（主成分）的权重，分别为 0.5470、0.2221、0.1370 和 0.0939。将 4 个隶属函数结合权重处理并累加计算综合评价 *D* 值（表 1）。结果表明，51 份水稻种质资源苗期耐盐综合评价 *D* 值分布范围为 0.236~0.722，选取综合排名第 1~5 名的 Bertone、蜀恢 881、长白 26、长白 9 号和 Pokkali 为高 *D* 值种质，其 *D* 值均在 0.678 以上，表现出较强的耐盐性；综合排名第 47~51 的嘉南 8 号、花育 2 号、云村稻、新竹 8 号和辽开 79 为低 *D* 值种质，*D* 值均在 0.345 以下，耐盐性相对较弱。

2.1.5 *D* 值与苗期耐盐重要指标的逐步线性回归分析

利用主成分分析得到的水稻苗期 6 个重要耐盐相关指标与综合评价 *D* 值构建数学模型，将 *D* 值作为因变量，耐盐级别（STS）、相对地上部干重（RSDW）、相对根干重（RRDW）、地上部 Na^+含量（SNC）、根系 Na^+含量（RNC）和地上部 Na^+/K^+（SNa^+/K^+）6 个指标作为自变量进行逐步回归分析，构建最优回归方程：D=0.326+0.006STS+0.003RSDW+0.002RRDW-0.002SNC-0.001RNC-0.005SNa^+/K^+。相关系数 R=0.988，决定系数 R^2=0.974。根据方程中各指标的偏回归系数，发现耐盐级别和地上部 Na^+/K^+可分别作为反映水稻苗期耐盐性的关键形态学、离子平衡指标。

2.1.6 通径分析

为深入了解最优方程中 6 个因子对综合评价 *D* 值的作用方向和影响程度，利用通径分析将因变量和自变量的相互影响分解为直接影响和间接影响（表 5）。耐盐级别、相对地上部干重和相对根干重 3 个形态学指标对 *D* 值的直接通径系数均为正值，其中相对地上部干重对 *D* 值的直接作用最大，为 0.389；地上部 Na^+含量、根系 Na^+含量和地上部 Na^+/K^+ 3 个离子指标对 *D* 值的直接通径系数均为负值，其中地上部 Na^+含量对 *D* 值的直接作用最大，为-0.226。分析任意两指标对 *D* 值的间接通径系数发现，在形态学指标中，耐盐级别通过相对地上部干重对 *D* 值的间接影响最大，间接通径系数为 0.312756；相对地上部干重和相对根干重通过相互作用间接影响 *D* 值，且均通过地上部 Na^+含量实现对 *D* 值的间接影响。在离子指标中，地上部 Na^+含量通过相对地上部干重对 *D* 值的间接影响最大，间接通径系数为-0.261019；根系 Na^+含量和地上部 Na^+/K^+主要通过相对地上部干重、相对根干重和地上部 Na^+含量间接影响 *D* 值。

表 5 盐胁迫下 6 个重要指标与 *D* 值的通径分析

Table 5 Path analysis among six essential indexes and *D* value under salt stress

指标 Indexes	简单相关系数 SCC	直接通径系数 DPC	间接通径系数 IPC						合计 Total
			耐盐级别 STS	相对地上部干重 RSDW	相对根干重 RRDW	地上部 Na^+含量 SNC	根系 Na^+含量 SNC	地上部 Na^+/K^+ SNa^+/K^+	
耐盐级别 STS	0.832	0.073		0.312756	0.249555	0.169274	0.068832	-0.040404	0.760013
相对地上部干重 RSDW	0.917	0.389	0.058692		0.291084	0.151646	0.073008	-0.044863	0.529567
相对根干重 RRDW	0.871	0.381	0.047815	0.297196		0.11978	0.058176	-0.032578	0.490389
地上部 Na^+含量 SNC	-0.799	-0.226	-0.054677	-0.261019	-0.20193		-0.110736	0.054873	-0.573489
根系 Na^+含量 SNC	-0.647	-0.144	-0.034894	-0.197223	-0.153924	-0.173794		0.055965	-0.50387
地上部 $Na^+/K^+SNa^+/K^+$	-0.494	-0.091	-0.032412	-0.191777	-0.136398	-0.136278	-0.08856		-0.585425

SCC：简单相关系数；DPC：直接通径系数；IPC：间接通径系数。

SCC: simple correlation coefficient; DPC; direct path coefficient; IPC: indirect path coefficient.

2.2 *SKC1* 核苷酸多样性和单倍型分析

2.2.1 *SKC1* 及其上下游染色体区域核苷酸多样性分析

利用来自 ECOGEMS[20]（http://venyao.xyz/ECOGEMS）数据库中 1612 份栽培稻种质和 446 份野生稻种质对包含 *SKC1* 基因启动区、5’-UTR、编码区、3’-UTR 以及上、下游约 5 kb 范围内核苷酸多样性进行分析。结果表明在该区段，粳稻种质资源的核苷酸序列比较保守，多样性指数始终在 0.1 以下，显著低于另外 3 种水稻类型（图 1）。与野生稻相比，粳稻种质资源仅在 *SKC1* 下游 5 kb 范围内有 2 个区域核苷酸多样性略高，其他区域多样性指数均低于野生稻，而籼稻的核苷酸多样性与野生稻相比差异较小。野生稻、籼稻和 *Aus* 种质在这一区段都存在 10 个核苷酸多样性指数＞0.1 的区域，但分布的位置和范围存在一定差异；其中，*Aus* 种质在 *SKC1* 第 1，3 个外显子中分别存在 1 个核苷酸多样性指数＞0.1 的区域，在第 1 个外显子中存在 1 个核苷酸多样性指数＞0.2 的特有区域。籼稻和野生稻在 *SKC1* 外显子中表现出相似的核苷酸多样性变化趋势，分别存在 2 个和 3 个核苷酸多样性指数＞0.1 的区域，其中位于第 1 个外显子中部的区域为这 3 种水稻类型所共有。

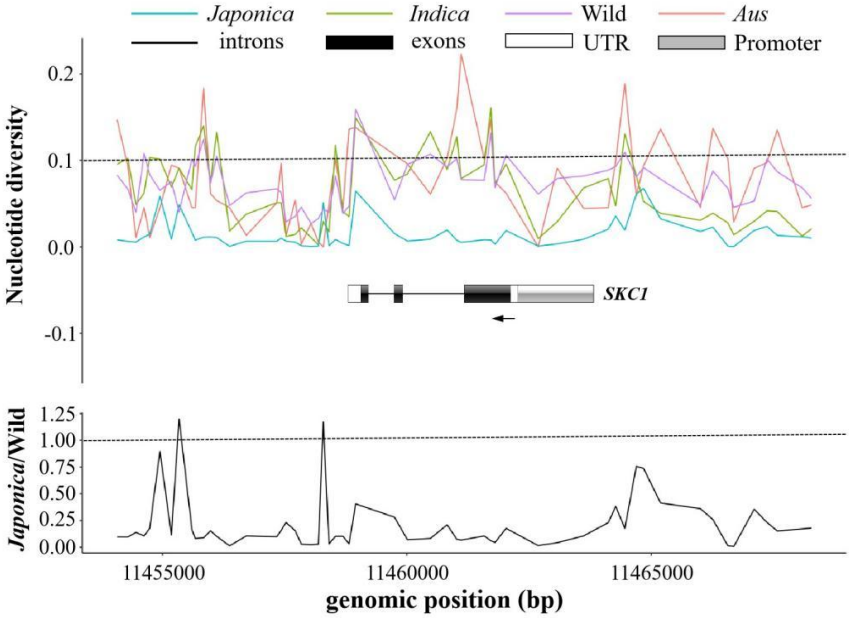


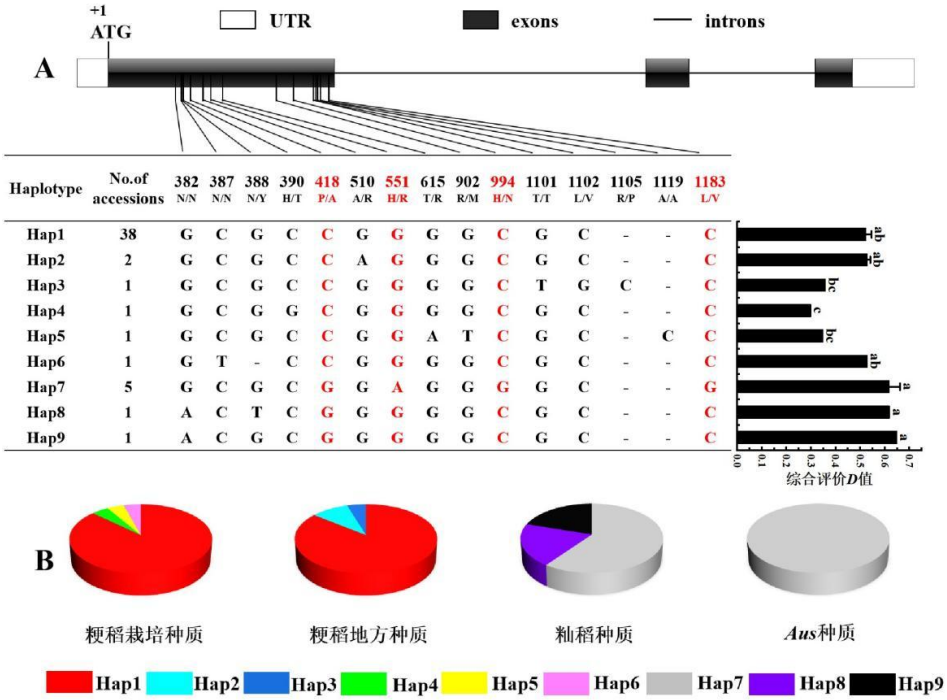
图 1 *SKC1* 及其上下游染色体区域在不同类型水稻种质资源中的核苷酸多样性

Fig. 1 Nucleotide diversity of *SKC1* and its upstream and downstream chromosomal regions in different types of rice germplasm

2.2.2 51 份水稻种质资源 *SKC1* 编码区单倍型分析

利用 DNAMAN 对 51 份水稻种质资源 *SKC1* 编码区序列进行比对，共检测到 15 个多态性位点，均分布在第 1 个外显子中。共获得 9 种不同的单倍型（图 2A），其中 Hap1 表现为盐敏感粳稻越光单倍型，包含

的种质资源最多，为 38 个，由 20 份粳稻栽培种质和 18 份粳稻地方种质组成；Hap2 由 2 份宁夏粳稻地方种质有芒小琥板稻和有芒大琥板稻组成；Hap3、Hap4、Hap5 和 Hap6 中各包含 1 份粳稻种质，分别为圭陆 1 号、新竹 8 号、美山锦和山福利亚。Hap7 表现为耐盐籼稻 Nona Bokra 单倍型，由 3 份籼稻种质 Pokkali、蜀恢 881、露水稻和 2 份 *Aus* 种质 Aus317、Aus426 组成；Hap8 和 Hap9 各包含 1 份籼稻种质，分别为 9311 和中籼 91499。通过对 9 种单倍型的综合评价 *D* 值做差异显著性分析，发现 Hap4 的 *D* 值显著低于粳稻单倍型 Hap1、Hap2、Hap6 和籼稻与 *Aus* 组成的 Hap7、Hap8、Hap9；Hap3 和 Hap5 的 *D* 值也显著低于 Hap7~9。通过分析 9 种单倍型在不同水稻类型中的分布和比例（图 2B），发现粳稻栽培种质具有 4 种单倍型（Hap1、Hap4、Hap5 和 Hap6），粳稻地方种质和籼稻种质各包含 3 种单倍型，分别为 Hap1~3 和 Hap7~9，*Aus* 种质均表现为单倍型 Hap7。在粳稻栽培种质中，Hap1 占比最大，为 86.95%，另外 3 种单倍型占比均为 4.35%；在粳稻地方种质中，也是 Hap1 占比最大，为 85.7%，Hap2 和 Hap3 占比分别为 9.5%和 4.8%。在籼稻种质中，Hap7 占比 60%，Hap8 和 Hap9 分别占比 20%；*Aus* 种质中仅有 Hap7，占比 100%。



A：51 份水稻种质资源 *SKC1* 编码区不同单倍型分布频率和 *D* 值差异显著性分析；B：9 种单倍型在不同水稻类型中的分布；1.ATG：起始密码子；2.UTR：转录非翻译区；3.Hap：单倍型；4.No.of accessions：单倍型包含种质数量；5.382-1183：*SKC1* 基因编码区差异位点；6.差异位点下字母表示核苷酸差异影响氨基酸变化；7.红色字体表示 Ren 等[13]报道的核苷酸多态性位点；不同小写字母表示不同单倍型综合评价 *D* 值差异显著（P＜0.05）

A: analysis of the distribution frequencies and *D* value differences of different haplotypes of the *SKC1* gene coding region in 51 rice germplasm accessions; B: distribution of nine haplotypes in different rice types; 1.ATG: start codon; 2.UTR: untranslated regions; 3.Hap: haplotype; 4.No.of accessions: number of germplasm accessions in the haplotype; 5.382-1183: polymorphic loci of *SKC1* gene coding region; 6.The letters below the polymorphic loci indicate that nucleotide differences affecting amino acid changes; 7.The red font indicates that nucleotide polymorphic sites reported by Ren[13]; Different lowercase letters indicates significant difference of *D* value at $p < 0.05$ level.

图 2　51 份水稻种质资源 *SKC1* 基因编码区差异位点与 *D* 值差异显著性分析及 9 种单倍型在不同水稻类型中的分布

Fig. 2 Analysis of the polymorphic loci and *D* value of *SKC1* gene coding region in 51 rice germplasm resources and distribution of nine haplotypes in different rice types

2.2.3 *SKC1* 不同单倍型耐盐关键指标差异显著性分析

通过对 *SKC1* 9 种不同单倍型 6 个耐盐重要指标做差异显著性分析（表 6），发现 Hap2 和 Hap9 的耐盐级别显著高于除 Hap1、Hap7、Hap8 之外的其它 4 种单倍型；Hap3、Hap4、Hap6 的耐盐级别显著低于 Hap1、Hap2、Hap7、Hap8 和 Hap9。Hap9 的相对地上部干重显著高于 Hap3~6；Hap4 的相对地上部干重显著低于除 Hap3、Hap5、Hap6 之外的其它 5 种单倍型。Hap9 的相对根干重显著高于除 Hap7、Hap8 之外的其它 6

种单倍型；Hap3~5，3 种单倍型的相对根干重显著低于单倍型 Hap7~9。Hap5 的地上部 Na^+含量最高，为 98.97 mg/g，显著高于 Hap2、Hap8 和 Hap9。Hap6、Hap8 和 Hap9 的根系 Na^+含量显著低于除 Hap7 之外的其它 5 种单倍型；Hap4 的根系 Na^+含量最高，为 112.13 mg/g，显著高于除 Hap1、Hap2 和 Hap5 之外的其它 5 种单倍型。Hap4 的地上部 Na^+/K^+最高，为 13.12，显著高于其他 8 种单倍型；籼稻和 *Aus* 的 3 种单倍型地上部 Na^+/K^+显著低于粳稻单倍型 Hap4 和 Hap6。

表 6 盐胁迫下 *SKC1* 不同单倍型耐盐关键指标差异显著性分析

Table 6 Significant difference analysis of key indexes among different *SKC1* haplotypes under salt stress

Haplotype	指标 Indexes					
	耐盐级别 STS	相对地上部干重 RSDW	相对根干重 RRDW	地上部 Na^+含量 SNC	根系 Na^+含量 RNC	地上部 Na^+/K^+ SNa^+/K^+
Hap1	5.13±1.07^{ab}	67.44±20.61^{abcd}	58.25±22.34^{bc}	72.03±20.05^{ab}	75.67±37.59^{ab}	3.94±2.48^{cd}
Hap2	5.60±0.48^{a}	74.47±4.58^{abc}	51.80±9.80^{bc}	72.50±0.14^{b}	83.13±16.49^{ab}	3.22±0.24^{cd}
Hap3	1.76±0.11^{c}	48.85±3.04^{cde}	26.93±0.58^{c}	80.35±2.08^{ab}	81.08±1.01^{b}	4.11±0.81^{cd}
Hap4	2.30±0.52^{c}	31.14±1.95^{e}	28.26±2.21^{c}	93.67±1.00^{ab}	112.13±0.53^{a}	13.12±0.73^{a}
Hap5	2.80±0.69^{bc}	40.89±0.93^{de}	33.94±2.29^{c}	98.97±0.88^{a}	96.75±2.18^{ab}	5.73±1.12^{bc}
Hap6	1.55±0.26^{c}	53.33±4.16^{bcde}	57.80±1.56^{bc}	79.24±1.67^{ab}	58.44±1.15^{c}	8.93±0.81^{b}
Hap7	4.98±1.05^{ab}	76.70±15.80^{abc}	89.68±6.91^{ab}	72.55±31.44^{ab}	65.20±23.87^{bc}	2.41±1.64^{cd}
Hap8	5.03±0.57^{ab}	80.67±0.60^{ab}	88.02±1.41^{ab}	61.11±0.62^{b}	66.30±3.13^{c}	1.74±0.33^{d}
Hap9	5.50±0.60^{a}	87.40±1.93^{a}	97.14±0.72^{a}	60.13±0.48^{b}	58.28±1.28^{c}	2.51±0.57^{cd}

相同列不同小写字母表示不同单倍型间该指标差异显著（$P<0.05$）

Different lowercase letters in the same column indicate significant difference of this index among different haplotypes ($P < 0.05$)

3 讨论

3.1 水稻苗期耐盐性评价的关键指标选择

耐盐种质资源筛选和鉴定是水稻耐盐育种的重要研究内容之一。耐盐评价指标的选择主要从水稻耐盐机理、实验目的或育种目标两个角度综合考虑。盐胁迫下水稻幼苗主要通过渗透调节[21]、清除过量活性氧（ROS）[8,22,23]、维持 Na^+、K^+稳态[8-13]和营养平衡[24]等生理机制来保持正常的生长发育。形态学参数如耐盐级别、叶片死亡率，相对苗高、根长，植株、地上部或根的干、鲜质量，含水量等，可反映水稻的受害程度、生长发育和营养状况；由于测定方法简单，对实验条件要求不高，可应用于大量种质资源的耐盐性筛选评价。反映水稻叶片细胞 ROS 累积和质膜过氧化程度的参数[25]，如 H_2O_2 或 O_2^-含量、丙二醛含量、叶片伤害百分率、SOD、POD、CAT、LOX 等抗氧化酶活性，则主要被用来解析水稻耐盐碱抗氧化机制，适用于水稻品种或野生型和突变体的耐盐机理分析。离子毒害是水稻细胞遭受盐胁迫的直接伤害来源，通过测定盐胁迫下水稻不同器官的 Na^+、K^+含量，计算 Na^+/K^+比率可有效反映水稻调节体内离子平衡的能力。此外，也有利用叶绿素荧光参数[26]间接评价水稻苗期耐盐性的报道。在众多的水稻耐盐性评价指标中，如何选择关键指标？一直以来都是学者们探讨的一个热点。谢留杰等[27]以 20 个水稻品系为研究对象，通过两种不同浓度的盐处理，筛选出根系钠钾离子比值和相对茎叶干质量 2 个有效评价指标；吴家富等[28]认为叶片死亡率是评价水稻苗期耐盐性的关键指标；马帅国等[16]研究发现耐盐级别、地上部含水量、相对根长、水稻根和地上部的相对干重可从生理生态、水分累积和生长发育 3 个角度较为全面地实现水稻苗期耐盐性评价。Zheng 等[29]在评价 341 份粳稻种质资源苗期耐盐性时，测定了幼苗存活天数（SDS）和地上部 K^+/Na^+比率两个关键指标。本研究利用主成分分析筛选到 6 个与水稻苗期耐盐性密切相关的指标，结合苗期耐盐性综合评价 *D* 值与 6 个指标的逐步回归分析，筛选到耐盐级别和地上部 Na^+/K^+两个可反映水稻苗期耐盐性的关键形态学和离子平衡指标。这分别与马帅国等和 Zheng 等的研究结果相一致。

3.2 *SKC1* 核苷酸多样性与水稻驯化

在水稻的驯化过程中，由于自然或人工选择在全基因组范围内显著降低了基因的核苷酸多样性和等位基因频率[30]。Lu 等[31]通过对亚洲栽培稻及其近缘野生种 12 对染色体上 101 个基因开展基于系谱的突变分析，发现正向选择是水稻性状驯化的主要力量，且多发生在 5’区域（启动子区），其选择频率高于编码区。这些基因主要涉及落粒性、芒长、抽穗期、粒色、株型等农艺性状，也包括几个抗逆基因，如 *OsEPSPS*（抗草甘膦）、*OsMYB15*（耐寒性）和 *AGO2*[32]（耐盐性），均在启动子区发现了 3 个正向选择突变位点，通过调控基因的表达来发挥生物学功能。目前，关于水稻耐盐基因的驯化研究相对较少，除了上述的 *AGO2* 之外，Deng 等[33]研究发现水稻转录抑制因子 RST1（OsARF18）通过抑制 *OsAS1* 转录负向调节氮代谢；当 *RST1* 功能缺失时，可促进氮素的利用，减少盐胁迫引起的 NH_4^+积累，提高了水稻在盐胁迫下的生存能力。*RST1* 区域的核苷酸多样性急剧下降，在驯化过程中经历了定向选择。本研究利用 ECOGEMS 数据库中 2058 份不同类型水稻种质资源，分析了 *SKC1* 及其上下游 5 kb 区域的核苷酸多样性，发现粳稻种质核苷酸序列比较保守，多样性指数始终在 0.1 以下（图 1），显著低于野生稻、籼稻和 *Aus*。而且 51 份不同类型水稻种质资源 *SKC1* 编码区测序分析也发现，虽然检测到了 15 个多态性位点，但其分布频率很不均衡，在粳稻种质中 Hap1 占比 85%以上，表现为优势等位变异（图 2），表明 *SKC1* 由野生稻向栽培稻，尤其是粳稻驯化过程中，可能受到了盐碱环境或人工定向选择。进一步解析 *SKC1* 等水稻耐盐基因的分子演化过程，有利于从驯化层面上阐明其遗传机制，可为耐盐水稻品种的选育提供新助力。

3.3 *SKC1* 编码区不同单倍型与耐盐性的关系

单倍型是在一个给定群体的染色体片段上观察到的等位基因（标记）的特殊组合[34]。在作物遗传学中，重要功能基因优异单倍型的发掘对基因功能解析和应用意义重大[35]。在水稻耐盐基因优异单倍型筛选方面，He 等[8]在 *OsHAK21* 上游启动子区 2036 bp 位置检测到一个与盐胁迫下种子萌发呈正相关的单倍型 HAP3（包含 2036T SNP）；Deng 等[33]研究发现单倍型 RST1$^{Hap\ III}$ 降低了其编码蛋白的转录抑制活性，显著增强了水稻耐盐性且使粒重增加。*SKC1* 是第一个被图位克隆的水稻苗期耐盐基因，Ren 等的研究报道了在其编码区存在 4 个改变氨基酸编码的突变位点，分别位于 ATG 后 418 bp、551 bp、994 bp 和 1183 bp 处，影响了 SKC1 蛋白的 Na^+转运效率；耐盐籼稻 Nona Bokra 单倍型 Hap7（图 2）的地上部钠离子含量显著低于盐敏感粳稻越光，表现出更强的耐盐性。孙平勇等[18]在对 21 份水稻种质资源芽期和苗期耐盐碱性综合评价及耐盐基因分析过程中，发现 *SKC1* 在耐盐碱品种和盐碱敏感品种之间有明显差异，主要表现在上述 4 个突变位点，且呈现明显的籼粳分化。Krishnamurthy 等[36]利用由 341 个家系组成的籼稻 MAGIC 群体分析了 *SKC1* 的单倍型，共检测到 3 种单倍型，但三者之间盐胁迫下活力指数差异不显著，这可能是因为 *SKC1* 的靶性状是 K^+/Na^+ 平衡的缘故。本研究利用 51 份不同类型水稻种质资源对 *SKC1* 基因编码区测序分析，共检测到 9 种不同的单倍型。其中源于宁夏地方种的 Hap2 是粳稻中的 1 个稀有耐盐单倍型，其耐盐综合评价 *D* 值显著高于 Hap3~5，且在 6 个关键指标中耐盐级别、相对地上部干重和地上部 Na^+含量较 Hap1 更为出色，可用于粳稻 *SKC1* 基因改良。Hap4 是粳稻中的 1 个典型盐敏感单倍型，仅包含新竹 8 号 1 份种质，综合排名第 50 名，6 个关键指标均表现较差。来自籼稻的 3 种单倍型 Hap7~9 均表现出较好的苗期耐盐性，其中 Hap7 表现为优势等位变异，在育种应用方面具有更大的潜力。

参考文献

[1] 杜学军, 闫彬伟, 许可, 汪顺义, 高子登, 任雪芹, 胡树文, 郧文聚. 盐碱地水盐运移理论及模型研究进展. 土壤通报, 2021, 52(3): 713-721
Du X J, Yan B W, Xu K, Wang S Y, Gao Z D, Ren X Q, Hu S W, Yun W J. Research progress on water-salt transport theories and models in saline-alkali soil. Chinese Journal of Soil Science, 2021, 52(3): 713-721

[2] Khush G S. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. Plant Molecular Biology, 2005, 59(1): 1-6

[3] Frukh A, Siddiqi T O, Khan M I R, Ahmad A. Modulation in growth, biochemical attributes and proteome profile of rice cultivars under salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 146: 55-70

[4] Wang Y X, Wang J, Zhao X Q, Yang S, Huang L Y, Du F P, Li Z K, Zhao X Q, Fu B Y, Wang W S. Over expression of the transcription factor gene *OsSTAP1* increases salt tolerance in rice. Rice, 2020, 13(1): 1-12

[5] Lee M H, Cho E J, Wi S G, Bae H, Kim J E, Cho J Y, Lee S, Kim J H, Chung B Y. Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 70: 325-335

[6] Hasegawa P M. Sodium (Na^+) homeostasis and salt tolerance of plants. Environmental and Experimental Botany, 2014, 92: 19-31

[7] Feng H M, Tang Q, Cai J, Xu B C, Xu G H, Yu L. Rice OsHAK16 functions in potassium uptake and translocation in shoot, maintaining potassium homeostasis and salt tolerance. Planta, 2019, 250(2): 549-561

[8] He Y Q, Yang B, He Y, Zhan C F, Cheng Y H, Zhang J H, Zhang H S, Cheng J P, Wang Z F. A quantitative trait locus, *qSE3*, promotes seed germination and seedling establishment under salinity stress in rice. The Plant Journal, 2019, 97(6): 1089-1104

[9] Yang T Y, Zhang S, Hu Y B, Wu F C, Hu Q D, Chen G, Cai J, Wu T, Moran N, Yu L, Xu G H. The role of a potassium transporter OsHAK5 in potassium acquisition and transport from roots to shoots in rice at low potassium supply levels. Plant Physiology, 2014, 166(2): 945-959

[10] Tian Q X, Shen L K, Luan J X, Zhou Z Z, Guo D S, Shen Y, Jing W, Zhang B L, Zhang Q, Zhang W H. Rice shaker potassium channel OsAKT2 positively regulates salt tolerance and grain yield by mediating K^+ redistribution. Plant Cell and Environment, 2021, 44(9): 2951-2965

[11] Liu S P, Zheng L Q, Xue Y H, Zhang Q, Wang L, Shou H X. Over expression of *OsVP1* and *OsNHX1* increases tolerance to drought and salinity in rice. Journal of Plant Biology, 2010, 53(6): 444-452

[12] Fukuda A, Nakamura A, Hara N, Toki S, Tanaka Y. Molecular and functional analyses of rice NHX-type Na^+/H^+ antiporter genes. Planta, 2011, 233(1): 175-188

[13] 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. Nature Genetics, 2005, 37(10): 1141-1146

[14] Wang J, Nan N, Li N, Liu Y T, Wang T J, Hwang I, Liu B, Xu Z Y. A DNA methylation reader–chaperone regulator–transcription factor complex activates *OsHKT1;5* expression during salinity stress. The Plant Cell, 2020, 32(11): 3535-3558

[15] 田蕾, 王娜, 张雪艳, 杨斌林, 孙佳莹, 李敏, 李培富. 盐胁迫下不同粳稻品种的形态和生理特性. 广东农业科学, 2014, 41(23): 1-6+237

Tian L, Wang N, Zhang X Y, Yang B L, Sun J Y, Li M, Li P F. Morphological and physiological characteristics of different *japonica* rice varieties under salt stress. Guangdong Agricultural Science, 2014, 41(23): 1-6+237

[16] 马帅国, 田蓉蓉, 胡慧, 吕建东, 田蕾, 罗成科, 张银霞, 李培富. 粳稻种质资源苗期耐盐性综合评价与筛选. 植物遗传资源学报, 2020, 21(5): 1089-1101

Ma S G, Tian R R, Hu H, Lv J D, Tian L, Luo C K, Zhang Y X, Li P F. Comprehensive evaluation and screening of salt tolerance of *japonica* rice germplasm resources at seedling stage. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(5): 1089-1101

[17] 王小雷, 李炜星, 曾博虹, 孙晓棠, 欧阳林娟, 陈小荣, 贺浩华, 朱昌兰. 基于染色体片段置换系对水稻粒形及千粒重 QTL 检测与稳定性分析. 作物学报, 2020, 46(10): 1517-1525

Wang X L, Li W X, Zeng B H, Sun X T, Ou-Yang L J, Chen X R, He H H, Zhu C L. QTL detection and stability analysis of rice grain shape and thousand-grain weight based on chromosome segment substitution lines. Acta Agronomica Sinica, 2020, 46(10): 1517-1525

[18] 孙平勇, 张武汉, 舒服, 何强, 张莉, 阳祝红, 彭志荣, 谢芸, 邓华凤. 水稻资源芽期和苗期耐盐碱性综合评价及耐盐基因分析. 生物工程学报, 2022, 38(1): 252-263

Sun P Y, Zhang W H, Shu F, H Q, Zhang L, Yang Z H, Peng Z R, Xie Y, Deng H F. Comprehensive evaluation of salt-alkali tolerance of rice germplasms at germination and seedling stages and analysis of salt-tolerant genes. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(1): 252-263

[19] 耿雷跃, 马小定, 崔迪, 张启星, 韩冰, 韩龙植. 水稻全生育期耐盐性鉴定评价方法研究. 植物遗传资源学报, 2019, 20(2): 267-275

Geng L Y, Ma X D, Cui D, Zhang Q X, Han B, Han L Z. Identification and evaluation method for saline tolerance in rice during the whole growth stage. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(2): 267-275

[20] Yao W, Huang F F, Zhang X H, Tang J H. ECOGEMS: efficient compression and retrieve of SNP data of 2058 rice accessions with integer sparse matrices. Bioinformatics, 2019, 35(20): 4181-4183

[21] Zhao H, Li Z X, Wang Y Y, Wang J Y, Xiao M G, Liu H, Quan R D, Zhang H W, Huang R F, Zhu L, Zhang Z J. Cellulose synthase-like protein OsCSLD4 plays an important role in the response of rice to salt stress by mediating abscisic acid biosynthesis to regulate osmotic stress tolerance. Plant Biotechnology Journal, 2022, 20(3): 468-484

[22] Wang T, Ma Y Q, Huang X X, Mu T J, Li Y J, Li X K, Liu X, Hou B K. Overexpression of *OsUGT3* enhances drought and salt tolerance through modulating ABA synthesis and scavenging ROS in rice. Environmental and Experimental Botany, 2021, 192: 104653

[23] Chen G, Han H M, Yang X L, Du R Y, Wang X. Salt tolerance of rice is enhanced by the *SS3* gene, which regulates ascorbic acid synthesis and ROS scavenging. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(18): 10338

[24] Liu C T, Mao B G, Yuan D Y, Chu C C, Duan M J. Salt tolerance in rice: physiological responses and molecular mechanisms. The Crop Journal, 2022, 10: 13-25

[25] Lu X P, Min W F, Shi Y F, Tian L, Li P F, Ma T L, Zhang Y X, Luo C K. Exogenous melatonin alleviates alkaline stress by removing reactive oxygen species and promoting antioxidant defence in rice seedlings. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 849553

[26] 朱春艳, 宋佳伟, 白天亮, 王娜, 马帅国, 普正菲, 董艳, 吕建东, 李杰, 田蓉蓉, 罗成科, 张银霞, 马天利, 李培富, 田蕾. NaCl 胁迫对不同耐盐性粳稻种质幼苗叶绿素荧光特性的影响. 中国农业科学, 2022, 55(13): 2509-2525

Zhu C Y, Song J W, Bai T L, Wang N, Ma S G, Pu Z F, Dong Y, Lv J D, Li J, Tian R R, Luo C K, Zhang Y X, Ma T L, Li P F, Tian L. Effects of NaCl stress on the chlorophyll fluorescence characteristics of seedlings of *japonica* rice germplasm with different salt tolerances. Scientia Agricultura Sinica, 2022, 55(13): 2509-2525

[27] 谢留杰, 段敏, 潘晓飚, 唐兴国, 朱长志, 黄善军. 不同类型水稻品系苗期和全生育期耐盐性鉴定与分析. 江西农业大学学报, 2015, 37(3): 404-410.

Xie L J, Duan M, Pan X B, Tang X G, Zhu C Z, Huang S J. Identification and analysis of salt tolerance in different type rice cultivars during seedling and whole plant growth stage. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2015, 37(3): 404-410

[28] 吴家富, 杨博文, 向珣朝, 许亮, 颜李梅. 不同水稻种质在不同生育期耐盐鉴定的差异. 植物学报, 2017, 52(1): 77-88

Wu J F, Yang B W, Xiang X C, Xu L, Yan L M. Identification of salt tolerance in different rice germplasm at different growth stages. Chinese Bulletin of Botany, 2017, 52(1): 77-88

[29] Zheng H L, Wang J G, Zhao H W, Liu H L, Sun J, Guo L Y, Zou D T. Genetic structure, linkage disequilibrium and association mapping of salt tolerance in *japonica* rice germplasm at the seedling stage. Molecular Breeding, 2015, 35(7): 1-16

[30] Zhang J C, Zhang D J, Fan Y W, Li C C, Xu P K, Li W, Sun Q, Huang X D, Zhang C Y, Wu L Y, Yang H Z, Wang S Y, Su X M, Li X X, Song Y Y, Wu M E, Lian X M, Li Y B. The identification of grain size genes by RapMap reveals directional selection during rice domestication[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 1-18

[31] Lu Y Q, Xu Y Z, Li N. Early domestication history of asian rice revealed by mutations and genome-wide analysis of gene genealogies[J]. Rice, 2022, 15(1): 1-20

[32] Yin W C, Xiao Y H, Niu M, Meng W J, Li L L, Zhang X X, Liu D P, Zhang G X, Qian Y W, Sun Z T, Huang R Y, Wang S P, Liu C M, Chu C C, Tong H N. ARGONAUTE2 enhances grain length and salt tolerance by activating *BIG GRAIN3* to modulate cytokinin distribution in rice. The Plant Cell, 2020, 32(7): 2292-2306

[33] Deng P, Jing W, Cao C J, Sun M F, Chi W C, Zhao S L, Dai J Y, Shi X Y, Wu Q, Zhang B L, Jin Z, Guo C X, Tian Q X, Shen L K, Yu J, Jiang L, Wang C M, Chin J H, Yuan J Y, Zhang Q, Zhang W H. Transcriptional repressor RST1 controls salt tolerance and grain yield in rice by regulating gene expression of asparagine synthetase. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2022, 119(50): e2210338119

[34] Zhao J T, Sauvage C, Bitton F, Causse M. Multiple haplotype-based analyses provide genetic and evolutionary insights into tomato fruit weight and composition. Horticulture Research, 2022, 9: uhab009

[35] Garg S, Balboa R, Kuja J. Chromosome-scale haplotype-resolved pangenomics. Trends in Genetics, 2022, 38(11): 1103-1107

[36] Krishnamurthy S L, Sharma P C, Dewan D, Lokeshkumar B M, Rathor S, Warraich A S, Vinaykumar N M, Leung H, Singh R K. Genome wide association study of MAGIC population reveals a novel QTL for salinity and sodicity tolerance in rice. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2022, 28(4): 819-835