

矮格拉/徐稻10号DH群体的SNP标记图谱构建及耐盐QTL定位分析

刘艳 李景芳 迟铭 章雨沁 孙志广 李健 杨波 徐波 邢运高 周群 王德荣
陈庭木 刘金波 卢百关 徐大勇 王宝祥*

(连云港市农业科学院, 江苏 连云港 222000; *通信作者, email: wbxrice@163.com)

Construction of a SNP-Based Genetic Map and QTL Mapping for Salt Tolerance in a Rice DH Population Derived from Aigela and Xudao 10

LIU Yan, LI Jingfang, CHI Ming, ZHANG Yuqin, SUN Zhiguang, LI Jian, YANG Bo, XU Bo, XING Yungao, ZHOU Qun, WANG Derong, CHEN Tingmu, LIU Jinbo, LU Baiguan, XU Dayong, WANG Baoxiang*

(Lianyungang Academy of Agricultural Sciences, Lianyungang 222000, China; *Corresponding author, email: wbxrice@163.com)

Abstract: 【Objective】 Soil salinization is an important abiotic factor affecting agricultural production in China, and the identification of salt tolerance-related genes/QTLs in rice is crucial for ensuring stable rice production in saline-alkali soils.

【Method】 Aigela and Xudao 10, which exhibit significant differences in salt tolerance related traits, were used as parent plants to create a doubled haploid (DH) population. Salt tolerance was identified under field and hydroponic conditions. Genotyping of the targeted population was performed using the rice 1 K mGPS SNP chip. Phenotypic data combined with genotype data of DH population were used for QTL mapping with the QTL IciMapping 4.2 software. 【Result】 Through QTL mapping analysis, a total of 22 salt tolerance related QTLs were detected, including 10 QTLs for grain yield per plant, 4 for grains per panicle, 2 for root length, and 6 for root dry weight. These QTLs are located on chromosomes 1, 6, 8, 10, 11, and 12, explaining phenotypic variation of 3.37%–15.52% with LOD values ranging from 4.04 to 9.65. Based on the gene annotation, *Arabidopsis* homologous gene comparison, spatiotemporal expression analysis and sequence comparison within the mapping interval of *qST11*, a candidate gene (*LOC_Os11g30560*) encoding a hydroxysteroid dehydrogenase (*OsHSD1*) was identified. 【Conclusion】 Among the 22 QTLs detected in this study, 11 were known genes or loci related to salt tolerance, and the remaining 11 were newly identified. Meanwhile, the candidate gene analysis was conducted on the newly identified salt tolerance QTL (*qST11*), laying a foundation for cloning of salt-tolerance related genes and deciphering their genetic regulatory networks.

Key words: salt tolerance-related trait; doubled haploid population; QTL mapping; candidate gene

摘要: 【目的】土壤盐碱化是一个影响我国农业生产的重要非生物胁迫因素,挖掘水稻耐盐相关性状基因/QTL对保障盐碱地水稻的安全生产至关重要。【方法】以耐盐性差异较大的矮格拉和徐稻10号为亲本构建定位群体,利用田间和室内水培进行耐盐性鉴定,利用水稻1 K mGPS SNP芯片对定位群体进行基因分型,结合表型数据和基因型数据,利用QTL IciMapping 4.2软件进行QTL定位。【结果】通过QTL定位分析,最终鉴定出22个耐盐相关QTL,其中单株产量QTL 10个,每穗粒数QTL 4个,根长QTL 2个,根干质量QTL 6个,这些QTL位于水稻1、6、8、10、11和12号染色体上,LOD值为4.04~9.65,表型贡献率为3.37%~15.52%。根据新发现QTL(*qST11*)定位区间内的基因注释、与拟南芥的同源基因比对、时空表达分析和序列分析,最终筛选到1个编码羟基类固醇脱氢酶的候选基因*LOC_Os11g30560*(*OsHSD1*)。【结论】在本研究检测到的22个QTL中,11个为已知耐盐性基因位点,11个是新鉴定位点。同时,本研究对新鉴定耐盐QTL(*qST11*)进行了候选基因分析,为进一步开展耐盐基因的克隆和遗传调控的解析奠定了基础。

关键词: 耐盐相关性状; 双单倍体群体; QTL定位; 候选基因

土壤盐渍化是制约全球作物生产的重要非生物胁迫之一,它是沿海地区水稻农业系统存在的主要问题,同时,由于灌溉和排水不当,部分内陆水

稻种植区也受到不同程度盐害的影响^[1-3]。水稻是一种盐敏感植物,高盐度抑制水稻从土壤中吸收水分和养分,对幼苗在田间的生长、发育等过程产生负面影

收稿日期: 2025-06-10; 修改稿收到日期: 2025-12-15。

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-01-97); 生物育种钟山实验室项目(ZSBBL-KY2024-01); 江苏省自然科学基金面上项目(BK20221276); 江苏省种业振兴揭榜挂帅项目(JBGS(2021)043); 连云港市财政专项(QNJ2411)。

响,最终导致产量损失^[4-5]。由于气候变化、化肥使用增加等因素的影响,土壤盐渍化问题将不断加剧,培育耐盐水稻品种已成为保障粮食安全的重要策略。

数量性状位点(Quantitative trait locus, QTL)定位技术已有数十年发展历史,作为经典的遗传学分析方法,在解析水稻耐盐遗传基础中发挥了重要作用。大量研究表明水稻耐盐性是一个复杂的生理性状,其调控机制十分复杂^[6-8]。目前,利用 QTL 定位方法已鉴定出许多水稻耐盐相关 QTL,它们相对均匀地分布在水稻的 12 条染色体上,这些 QTL 大多数都是微效 QTL,而且使用的多数耐盐亲本都是具有野生习性且携带较多不良农艺性状(产量低、易倒伏、红果皮等)的种质资源,使这些基因/QTL 在育种利用过程中复杂化^[9-12]。此外,现有 QTL 研究多基于籼粳交遗传群体或全基因组关联分析群体,多数研究聚焦于幼苗期或田间生长期,很少同时兼顾幼苗期和生长期^[13-19],导致关联结果分散且难以直接应用于育种实践,导致耐盐水稻育种进展十分缓慢。

大田耐盐性鉴定具有操作简单、易于规模化等优点,但是由于土壤盐度的不均一以及温度和相对湿度等与天气因素的影响,大田耐盐性鉴定往往均一性比较差。室内水培鉴定具有快速、易于控制、规模化等优点,但在这种条件下,蒸腾作用较低,无法代表田间条件,因此,将两者结合能够有效规避缺点,集合优点。本研究利用耐盐粳稻种质矮格拉和中等耐盐粳稻品种徐稻 10 号为亲本,矮格拉/徐稻 10 号双单倍体(Doubled Haploid, DH)群体为研究材料,进行了田间耐盐性鉴定和实验室苗期耐盐性鉴定,对单株产量、每穗粒数、根长和根干重进行 QTL 检测,并利用多种生物学方法对稳定表达的 QTL(*qST11*)进行候选基因预测,以期为进一步的基因克隆和育种利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究使用群体为矮格拉/徐稻 10 号的 DH 群体,其中,矮格拉是常规粳稻地方品种,具有矮秆、抗倒伏、分蘖能力强、耐盐碱等特点,徐稻 10 号是徐州市农业科学院选育的常规粳稻品种,具有高产、优质、抗稻瘟病等特点。在初次杂交后,对 F₁ 代花药进行离体培养,随后利用染色体加倍技术获得 169 个纯合家系。徐稻 10 号由徐州市农业科学院水稻育种团队提供,其余材料均由连云港市农业

科学院水稻育种团队提供。

1.2 耐盐表型评价

1.2.1 田间鉴定

定位群体及双亲于 2023 年 5–10 月间种植于连云港市农业科学院东辛农场试验基地(盐度:0.0%, pH 值为 7.2)和青口盐场试验基地(盐度 0.3~0.5%, pH 值为 8.1)。正常田和盐碱田土壤类型均为黏土,正常田耕作层有机质、全氮、有效磷和速效钾的含量分别为 28.2 g/kg、1.45 g/kg、41.3 mg/kg 和 321.8 mg/kg。盐碱田耕作层有机质、全氮、有效磷和速效钾的含量分别为 36.4 g/kg、1.81 g/kg、29.7 mg/kg 和 393.9 mg/kg。行株距为 26.65 cm×16.65 cm,均单本种植于同一试验田,每份材料 3 次重复,常规肥水管理。在成熟期选取中间 10 株单株收取其所有穗子,在 55℃ 烘箱中放置 5 d,称重并计算每穗粒数,通过计算相对单株产量和相对每穗粒数来评估耐盐性。

1.2.2 室内水培鉴定

将双亲及 DH 群体的种子自然风干,在 55℃ 烘箱中放置 5 d 打破休眠。然后用 1%次氯酸钠溶液表面消毒 10 min,后用无菌去离子水反复冲洗 3 次,在 30℃ 黑暗条件下用蒸馏水浸泡 3 d。当芽长大于或等于种子长度的一半时,将 60 个均匀萌发的种子分为两部分,每部分均播种在一个 96 孔板中,每孔播种一粒种子。将种子置于具有昼夜循环 28/21℃ 和相对湿度 70%的培养箱中。种子先在蒸馏水中培养 4 d,后转移至 Yoshida 营养液上继续生长,生长至三叶一心期时分别转移到无 NaCl(对照)和含有 0.5% NaCl(盐胁迫)的培养液中,每 2 d 更换 1 次溶液,盐处理 7 d 后,选择 15 株生长一致的幼苗,测定对照和盐胁迫幼苗的最长根长,随后将每株的所有根系分离,在 100℃ 条件下烘干并称重。通过计算相对根长和相对干质量来评估耐盐性,所有表型均重复 3 次。

1.3 连锁图谱构建及 QTL 分析

采用 CTAB 法提取双亲及所有 DH 系的基因组 DNA,经检测质量合格后,使用水稻 1 K mGPS SNP 芯片进行基因分型。基因分型工作由华智生物技术有限公司完成,最终获得 5391 个高质量 SNP 位点。使用 QTL IciMapping 4.2 软件中的 Bin 功能进行分组,每个分组中缺失数据最少的单个标记被选中用于构建连锁图,使用该软件中的 Kosambi 映射功能对分组标记进行分组和排序,并据此将连锁群分配到特定的染色体上,最终构建了一个包含 595 个 Bin 标记的遗传图谱。采用完备区间作图法进行 QTL 定位,LOD 值阈值设为 2.5。

1.4 候选基因筛选

参考RGAP数据库(<http://rice.uga.edu>)对*qST11*定位区间内的开放阅读框(open reading frames, ORFs)及其功能进行分析,通过拟南芥TAIR数据库(<https://www.arabidopsis.org>)分析这些ORF同源序列的功能,进一步查询MBKBASE数据库(<https://www.mbkbase.org/>),获取候选基因在水稻品种日本晴不同组织及发育阶段的时空表达谱,从RAP-DB数据库(<https://rapdb.dna.affrc>)下载候选基因序列,使用Primer Premier 5.0设计测序引物扩增矮格拉和徐稻10号的基因组DNA,再用PCR产物直接测序后拼接候选基因组的序列。PCR体系包括0.1 μg DNA模板, 10 μL *Taq*聚合酶(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)、1 pmol 的正向和反向引物,补ddH₂O至20 μL。PCR扩增程序: 95℃下5 min; 94℃下15 s, 58℃下15 s, 72℃下30 s, 共36个循环; 72℃下10 min。

1.5 RNA提取和qRT-PCR

以矮格拉和徐稻 10 号为材料,分别取 0.5% NaCl 处理 3 d 的植株地上部分,按照 RNAprep Pure 植物总 RNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司)说明书提取总 RNA,随后利用普洛麦格(Promega)公司的反转录试剂盒 GoScript™(GoScript™ Reverse

Transcription System)将 RNA 合成 cDNA,在 qTower3G 实时 PCR 系统中进行 qRT-PCR 分析,所用试剂盒为擎科生物(TSINGKE)的 2 × TSINGKE® 荧光定量 PCR 预混液 SYBR Green I (2 × TSINGKE® Master qPCR Mix with SYBR Green I),所用引物为 *OsHSD1*-RT-F (5'-TCAGCAAGAAGA TCCTCGAG-3') 和 *OsHSD1*-RT-R (5'-CATGGCTG CGGATGGTCTTG-3'),设 3 次生物学重复,应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法分析相对表达情况。

1.6 数据分析和图表绘制

数据录入与三线表绘制使用Microsoft Excel 2010完成; GraphPad Prism 8.3.0软件用于绘制柱状图、频率分布直方图、热图及执行相关统计分析。连锁图谱由在线工具MapGene2Chromosome v2.0 (http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.0)生成,最终图谱经 Adobe Illustrator CS6优化完善。

2 结果与分析

2.1 亲本与群体的表型变异

对双亲及 DH 群体在对照和盐胁迫下耐盐相关性状进行分析(表 1),发现在对照条件下徐稻 10 号

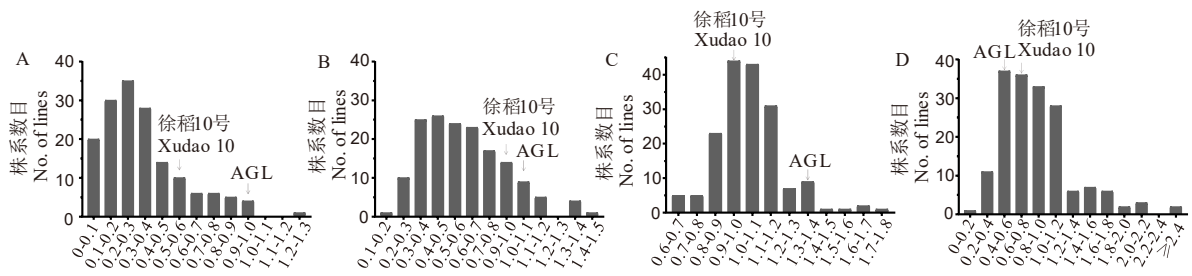
表1 矮格拉/徐稻10号群体的耐盐相关性状描述性统计分析

Table 1. Descriptive statistical analysis of salt tolerance-related traits of Aigela/Xudao 10

处理 Treatment	性状 Trait	矮格拉 Aigela	徐稻 10 号 Xudao 10	群体 Population				
				均值±标准差 Mean ± SD	变幅 Range	变异系数 CV (%)	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
对照 CK	单株产量	24.38**	36.90	21.19±7.46	0.00~43.76	35.21	0.46	0.13
	GYPP(g)							
	每穗粒数	138.20	144.01	166.80±37.95	70.39~268.70	22.75	-0.32	-0.13
	NGPP							
	根长	81.02	89.65	89.67±18.82	30.46~134.50	20.98	0.14	-0.42
盐胁迫 Salt stress	RL(mm)							
	根干质量	0.07*	0.08	0.07±0.07	0.01~0.94	95.98	142.00	11.41
	RDW(g)							
	单株产量	22.82*	18.92	7.77±5.07	1.50~34.56	65.25	5.42	1.76
	GYPP(g)							
	每穗粒数	125.91	120.50	99.04±41.17	29.05~218.30	41.57	-0.67	0.42
	NGPP							
	根长	102.83**	82.43	91.16±18.35	38.21~148.00	20.13	0.33	-0.17
	RL(mm)							
	根干质量	0.04*	0.06	0.06±0.02	0.02~0.12	34.34	0.26	0.36
比值 Ratio	RDW(g)							
	单株产量	0.94**	0.51	0.33±0.24	0.00~1.23	72.36	1.01	1.02
	GYPP							
	每穗粒数	0.91*	0.84	0.61±0.24	0.20~1.32	39.81	0.23	0.73
	NGPP							
	根长	1.27*	0.92	1.03±0.18	0.64~1.71	16.95	2.44	0.87
	RL							
	根干质量	0.60*	0.75	0.89±0.50	0.07~4.73	56.17	20.28	3.25
	RDW							

GYPP: 单株产量; NGPP: 每穗粒数; RL: 根长; RDW: 根干质量。*表示在 0.05 水平差异显著; **表示在 0.01 水平差异显著。

GYPP, Grain yield per plant; NGPP, Number of grains per panicle; RL, Root length; RDW, Root dry weight. * Significant at $P<0.05$; ** Significant at $P<0.01$.



矮格拉/徐稻 10 号 DH 群体相对单株产量 (A)、每穗粒数 (B)、根长 (C) 和根干质量 (D) 的频率分布直方图。AGL: 矮格拉。
Histogram distribution of relative grain yield per plant (A), number of grains per panicle (B), root length (C), root dry weight (D) in the doubled haploid (DH) population derived from Aigela/Xudao 10. AGL, Aigela.

图 1 矮格拉/徐稻 10 号 DH 群体耐盐相关性状直方图分布

Fig. 1. Histogram distribution of salt tolerance-related traits in the DH population derived from Aigela and Xudao 10

的单株产量、每穗粒数、根长和根干质量比矮格拉分别高 33.93%、4.03%、9.63%和 12.50%，其中，在单株产量和根干质量上两亲本之间达到显著差异($P < 0.05$)。在盐胁迫条件下徐稻 10 号的单株产量、每穗粒数和根长比矮格拉分别低 20.61%、4.49%和 24.75%，根干质量比矮格拉高 33.33%，其中，在单株产量、根长和根干质量上两亲本之间的差异达到显著水平($P < 0.05$)。以盐胁迫/对照的比值作为指标，相对单株产量、相对每穗粒数、相对根长和相对根干质量在两亲本之间均存在显著差异。双亲各性状在盐胁迫下的表现差异较大，DH 群体中各性状的变异系数较大，呈现出广泛的变异，且存在超亲分离现象，表现出数量性状的遗传特征(表 1 和图 1)。

2.2 连锁图谱构建

利用基因芯片进行基因分型，经过筛选后共获得 5391 个 SNP 数据位点，根据 QTL IciMapping 4.2 软件中的 Bin 功能进行分组后，595 个 Bin 标记被分配到了染色体上，平均每条染色体上包含 49.58 个，每个连锁群上的标记在遗传位置和物理位置上显示出较好的一致性，连锁图谱总长度为 4202.55 cM，平均标记间隔为 7.06 cM。

2.3 水稻耐盐相关性状QTL检测

使用 QTL IciMapping v4.2 软件对水稻耐盐相关性状进行 QTL 定位，在本研究群体中检测出 22 个耐盐相关性状 QTL(图 2)，LOD 值为 4.04~9.65，表型贡献率为 3.37%~15.52%(表 2)。

表 2 矮格拉/徐稻 10 号 DH 群体检出的水稻耐盐相关性状 QTL

Table 2. QTLs for salt tolerance-related traits detected in DH population from Aigela/Xudao 10

处理 Treatment	性状 Trait	性状位点 Trait locus	染色体 Chr.	标记区间 Marker interval	物理位置 Physical position (bp)	LOD 值 LOD score	表型 贡献率 PVE (%)	加性 效应 Additive effect	已知位点 Known loci
田间 Field	单株产量 GYPP (g)	<i>qGYPP1</i>	1	Bin1-12-Bin1-14	9298140-9492186	4.44	3.79	-0.25	
		<i>qGYPP6-1</i>	6	Bin6-12-Bin6-15	7458474-7668549	6.64	7.43	0.21	<i>qSIS6.7</i> [13]
		<i>qGYPP6-2</i>	6	Bin6-29-Bin6-30	8234582-8374658	8.21	3.86	0.24	
		<i>qGYPP6-3</i>	6	Bin6-36-Bin6-40	17802740-18211466	5.87	5.12	0.23	<i>qDSW6.1</i> [14]
		<i>qGYPP10-1</i>	10	Bin10-14-Bin10-19	3582800-3974958	4.99	4.34	0.18	
		<i>qGYPP10-2</i>	10	Bin10-30-Bin10-31	4667214-5334672	6.73	9.57	-0.25	
		<i>qGYPP11-1</i>	11	Bin11-2-Bin11-3	6034232-6542007	5.96	6.29	0.23	<i>qRWCs11.1</i> [15]
		<i>qGYPP11-2</i>	11	Bin11-26-Bin11-27	6544143-6946407	7.92	7.11	0.24	<i>qW2SES11.1</i> [16]
		<i>qGYPP11-3</i>	11	Bin11-38-Bin11-41	17699906-18106609	6.95	15.52	0.17	
		<i>qGYPP12</i>	12	Bin12-18-Bin12-19	2398764-2967519	6.21	6.44	-0.15	<i>CYP94C2b</i> [20]
	每穗粒数 NGPP	<i>qNGPP6</i>	6	Bin6-12-Bin6-15	7458474-7668549	5.02	12.94	0.22	<i>qSIS6.7</i> [13]
		<i>qNGPP8</i>	8	Bin8-14-Bin8-15	15795996-16513772	4.71	5.43	-0.07	
		<i>qNGPP11</i>	11	Bin11-38-Bin11-41	17699906-18106609	7.07	14.51	0.20	
		<i>qNGPP12</i>	12	Bin12-18-Bin12-19	2398764-2967519	5.41	7.25	-0.19	<i>CYP94C2b</i> [20]
室内 Green-house	根长 RL (mm)	<i>qRC1</i>	1	Bin1-12-Bin1-14	9298140-9492186	4.83	12.35	-0.25	
		<i>qRC8</i>	8	Bin8-22-Bin8-24	19682575-20333667	4.91	8.00	-0.23	<i>qRTL8.19</i> [13]
	根干质量 RDW (g)	<i>qRDWI</i>	1	Bin1-12-Bin1-14	9298140-9492186	5.51	3.37	-0.82	
		<i>qRDW6</i>	6	Bin6-12-Bin6-15	7458474-7668549	4.86	6.86	0.63	<i>qSIS6.7</i> [13]
		<i>qRDW8-1</i>	8	Bin8-14-Bin8-15	15795996-16513772	4.04	10.63	0.68	
		<i>qRDW8-2</i>	8	Bin8-16-Bin8-20	16513924-17029875	4.90	8.74	0.65	<i>OsELF4c</i> [21]
		<i>qRDW10-1</i>	10	Bin10-14-Bin10-19	3582800-3974958	4.95	5.12	0.70	
		<i>qRDW10-2</i>	10	Bin10-67-Bin10-68	11325178-11843441	9.65	7.99	0.19	<i>GH5BG</i> [22]

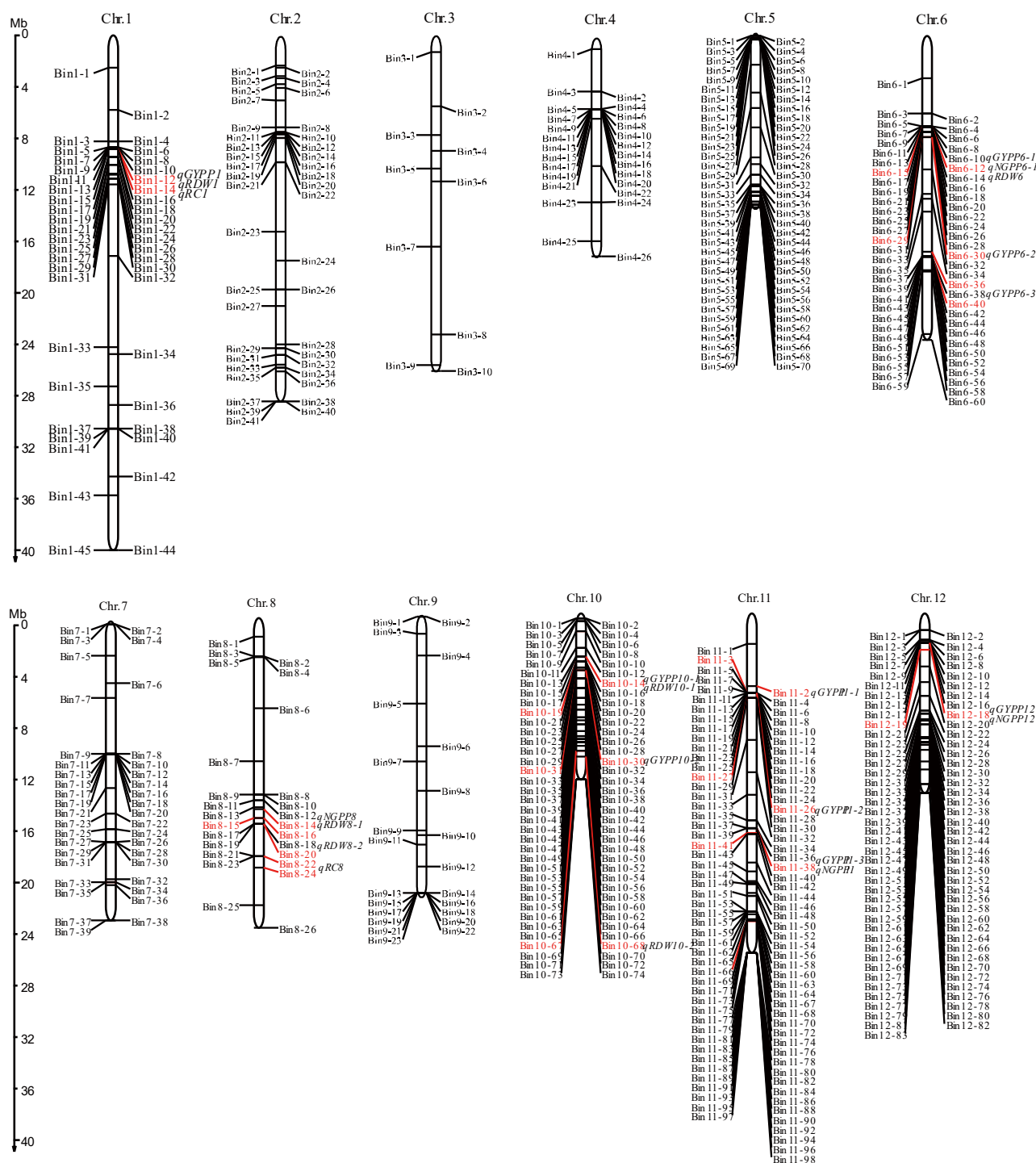


图2 矮格拉/徐稻10号DH群体中检测的耐盐相关QTL

Fig. 2. Salt-tolerance-related QTLs detected in Aigela/Xudao 10 DH population

调控单株产量的 QTL 有 10 个, 其中 *qGYPP6-1*、*qGYPP6-2*、*qGYPP6-3*、*qGYPP10-1*、*qGYPP11-1*、*qGYPP11-2* 和 *qGYPP11-3* 来自矮格拉的等位位点具有正加性效应, *qGYPP1*、*qGYPP10-2* 和 *qGYPP12* 来自徐稻 10 号的等位位点具有正加性效应。调控每穗粒数的 QTL 有 4 个, 分别命名为

qNGPP6、*qNGPP8*、*qNGPP11* 和 *qNGPP12*, 其中 *qNGPP6* 和 *qNGPP11* 增效等位位点来自矮格拉, *qNGPP8* 和 *qNGPP12* 增效等位位点来自徐稻 10 号。调控根长的 QTL 有 2 个, 分别为 *qRC1* 和 *qRC8*, 增效等位位点均来自徐稻 10 号。调控根干质量的 QTL 有 6 个, 分别命名为 *qRDW1*、*qRDW6*、*qRDW8*、

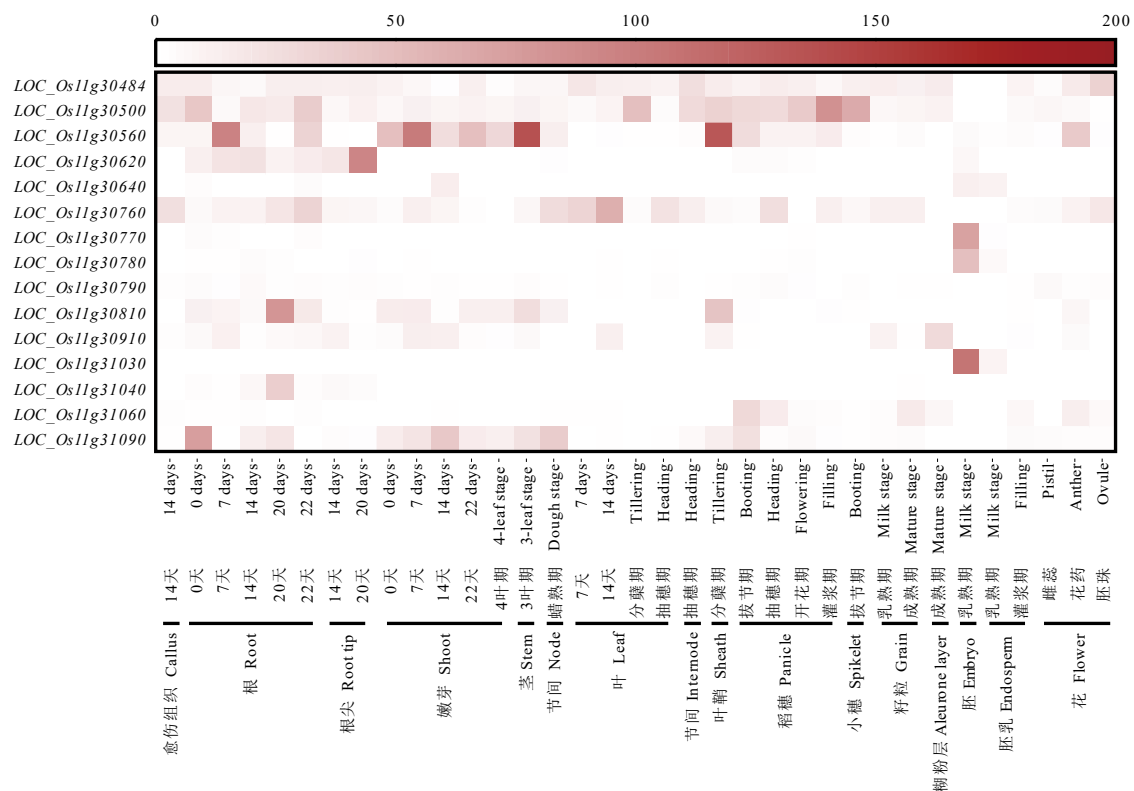
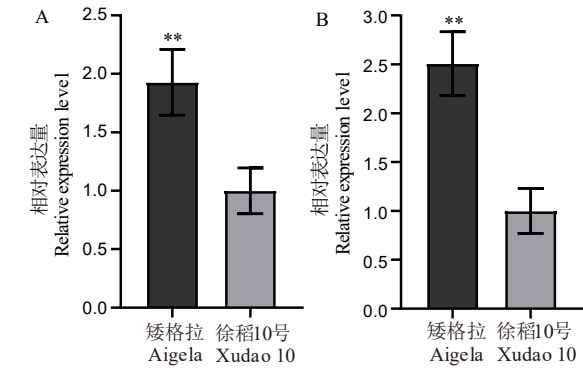


图3 *qST11*定位区间内基因表达谱分析
Fig. 3. Expression profiling analysis of genes in *qST11* locus

l、*qRDW8-2*、*qRDW10-1* 和 *qRDW10-2*, 其中, *qRDW1* 来自徐稻 10 号的等位位点具有正加性效应, 其余 5 个 QTL 来自矮格拉的等位位点具有正加性效应。

2.4 *qST11*候选基因分析

qGYPP11-3 和 *qNGPPI1* 是本研究检测到的贡献率最大的 2 个 QTL, LOD 值分别为 6.95 和 7.07, 贡献率分别为 15.52%和 14.51%, 两者被定位于同一标记区间, 应为同一个 QTL, 命名为 *qST11*, 通过与前人报道耐盐基因/QTL 物理位置比对, 发现 *qST11* 为新的 QTL, 对应物理位置为 Chr.11: 17699906–18106609 bp(基于日本晴基因组序列), 该区间包含 56 个开放阅读框。根据基因注释及拟南芥同源基因的比较, 筛选到 15 个可能影响耐盐性的相关基因, 利用水稻 MBKBASE 数据库进行表达谱分析, 结果表明 *LOC_Os11g30500*、*LOC_Os11g30560*、*LOC_Os11g30760* 和 *LOC_Os11g31090* 在根、茎、芽、叶鞘等组织中高表达 (图 3)。测序后发现, *LOC_Os11g30500*、*LOC_Os11g30760* 和 *LOC_Os11g31090* 在两亲本编码区内无差异, *LOC_Os11g30560* 在两亲本编码区内有 7 个单核苷酸多态性位点, 其中 2 个导致氨基酸发生改变。第 453 个碱基中 A/C 碱基发生替换导致赖



盐胁迫条件下, 矮格拉、徐稻 10 号地上部 (A) 和根部 (B) *LOC_Os11g30560* 的相对表达量。Ubiquitin 作为内参, 数值为平均值±标准差, **表示在 $P < 0.01$ 下的统计显著性 (t 检验, $n=3$)。
The relative expression levels of *LOC_Os11g30560* in the aboveground (A) and root (B) part of Aigela and Xudao 10 under salt stress conditions. Ubiquitin was used as the internal control. Values are means $\pm$ SD; ** represent statistical significance at $P < 0.01$ determined by Student's t -test ($n=3$).

图4 *LOC_Os11g30560*在盐胁迫下的表达水平

Fig. 4. Expression level of *LOC_Os11g30560* under salt stress

氨酸替换成天冬酰胺; 第 850 个碱基中 A/G 碱基发生替换导致天冬酰胺替换成天冬氨酸。此外, RT-PCR 结果表明, 盐胁迫条件下 *LOC_Os11g30560* 在矮格拉地上部和根部的表达量分别是徐稻 10 号的

1.93 倍和 2.51 倍($P<0.01$, 图 4)。根据以上结果,我们将 *LOC_Os11g30560* 暂定为 *qST11* 的候选基因。

3 讨论

本研究通过构建矮格拉/徐稻 10 号 DH 群体,结合田间与室内水培双重表型鉴定体系,系统解析了水稻耐盐相关性状的遗传基础,共鉴定出 22 个耐盐相关 QTL,分布于水稻 1、6、8、10、11 和 12 号染色体上,研究结果不仅为解析水稻耐盐性状的遗传调控网络提供了新见解,也为耐盐水稻品种的分子设计育种奠定了重要基础。

3.1 常规粳稻亲本及DH群体的育种优势

本研究选用矮格拉和徐稻 10 号作为亲本,二者均为常规粳稻品种,具有典型的优良农艺性状。矮格拉作为耐盐地方粳稻品系,具有独特的耐盐特性;徐稻 10 号作为高产优质中抗稻瘟病品种,其遗传背景清晰,适应性广。双亲均为常规粳稻,遗传同源性较高,显著降低了籼粳交群体中因基因组片段杂合或亚种间互作导致的遗传噪声,提高了 QTL 定位的精准性。此外, DH 群体通过单倍体加倍技术快速获得纯合株系,避免了传统 F_2 或 RIL 群体中因多代自交引起的杂合位点持续分离,从而降低表型鉴定的复杂度。群体的高纯合性使得 QTL 效应更易解析。与多数基于籼粳交或野生种质的研究相比,本研究利用常规粳稻亲本定位的 QTL 更易与现有栽培品种的遗传背景兼容,减少了因不良等位基因渗入导致的育种障碍,能够加速耐盐性状的基因聚合与品种改良。

3.2 多环境表型鉴定体系的优势

本研究通过田间与室内水培相结合的表型鉴定策略,有效平衡了环境异质性与实验可控性,有效降低了单一方法的系统误差。田间试验模拟了实际盐碱地条件,而水培体系精准量化了盐胁迫对根系性状的影响。我们发现在多条染色体上存在多个性状 QTL 在同一标记区间内重叠的现象,比如 *qGYPP1*、*qRDW1* 和 *qRC1* 同时坐落于 1 号染色体 Bin1-12–Bin1-14 区间, *qGYPP6-1*、*qNGPP6-11* 和 *qRDW6* 同时坐落于 6 号染色体 Bin6-12–Bin6-15 区间,表明这些 QTL 遗传力较高,其效应能在不同环境中被检测到,两套数据的互补性增强了 QTL 检测的可靠性,为解析耐盐性的生理基础提供了新视角。然而,本研究中利用的 DH 群体规模较小可能限制了部分微效 QTL 的检出效率,且 Bin 标记密度仍有提升空间,下一步将通过扩大群体规模或引

入高通量测序技术进一步提高定位精度。

3.3 与前人研究的对比

本研究鉴定的 QTL 中,多数为小效应位点,符合水稻耐盐性由多基因微效应位点协同调控的遗传特征。经过比对发现,本研究检测到的位点与前人研究具有很好的区间一致性(表 2)。如本研究鉴定到的 *qGYPP6-1*、*qNGPP6-1* 和 *qRDW6*,其在染色体上的物理位置与 De Leon 等^[13]检测到的 *qSIS6.7* 位置重叠,可能互为等位基因。*qGYPP12* 和 *qNGPP12* 与已克隆细胞色素 P450 基因 *CYP94C2b* 区间一致, *CYP94C2b* 表达量的升高增强了水稻在盐胁迫条件下的生存能力,停止盐处理并在正常条件下恢复生长后, *CYP94C2b* 高表达株系存活率显著升高,而且植株变绿,不定根恢复生长。因此, *CYP94C2b* 很可能是 *qGYPP12* 和 *qNGPP12* 的目的基因^[20]。此外,本研究鉴定到的 *qRDW8-2*,在染色体上的物理区间内包含抽穗期基因 *OsELF4c*,在 180 mmol/L NaCl 处理下,突变体 *oself4c* 存活率降低、抽穗期变晚,通过转录组分析和生化试验确定该基因正向调控水稻对盐胁迫的应答。因此,我们怀疑两者可能受到同一基因调控^[21]。综上,在本研究检测到的耐盐相关性状 QTL 中,既包含前人已经定位或克隆的耐盐相关 QTL 基因,也有新发现的调控耐盐相关性状的 QTL,这些结果说明本研究的检测方法可靠,结果真实可信。

3.4 *qST11*候选基因预测

本研究在水稻 11 号染色体上检测到一个同时调控单株产量和每穗粒数的主效耐盐相关 QTL(*qST11*), LOD 值分别为 6.95 和 7.07,贡献率分别为 15.52%和 14.51%,经过物理位置比对,其定位区间内(Chr.11: 17.7–18.1 Mb)尚未见耐盐相关功能基因的报道,表明其可能为新的耐盐位点。通过 *qST11* 定位区间内的基因注释及拟南芥同源基因对比、表达谱分析和序列比对,发现 *LOC_Os11g30560*(*OsHSD1*)在两亲本间存在非同义 SNP (K453N、N850D),可能导致酶活性或底物结合能力的改变,该基因编码一个羟基类固醇脱氢酶。Zhang 等^[23]利用 RT-PCR 证明盐胁迫会显著诱导 *OsHSD1* 的表达,提示该基因可能参与调控水稻盐胁迫。在本研究中,我们比较了 *OsHSD1* 基因在盐胁迫条件下两亲本中的相对表达量,耐盐亲本矮格拉在盐胁迫响应关键部位(根)与生长维持部位(地上部)均表现出更高的盐诱导表达水平,且根部差异更显著,进一步支持该基因作为 *qST11* 候选基因的合理性。羟基类固醇脱氢酶在植物中通常参与甾醇代谢,而

甾醇类物质是细胞膜的重要组分,其稳态与植物抗逆性密切相关^[24]。已有研究表明,拟南芥同源基因 *AtHSD1* 通过调控脱落酸(ABA)合成途径增强耐盐性^[25],提示 *LOC_Os11g30560* 可能通过类似机制影响水稻耐盐性。此外,该基因在根、茎等组织中高表达,进一步支持其在根系发育与盐胁迫响应中的潜在作用。然而,其具体功能仍需通过转基因互补实验、基因敲除突变体分析等进一步验证。

参考文献:

- [1] 李景芳,温舒越,赵利君,陈庭木,周振玲,孙志广,刘艳,陈海元,张云辉,迟铭,邢运高,徐波,徐大勇,王宝祥. 基于 CRISPR/Cas9 技术创制耐盐香稻[J]. 中国水稻科学, 2023, 37(5): 478-485.
Li J F, Wen S Y, Zhao L J, Chen T M, Zhou Z L, Sun Z G, Liu Y, Chen H Y, Zhang Y H, Chi M, Xing Y G, Xu B, Xu D Y, Wang B X. Development of aromatic salt-tolerant rice based on CRISPR/Cas9 technology[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2023, 37(5): 478-485. (in Chinese with English abstract)
- [2] Yuan H, Cheng M, Wang R, Wang Z, Fan F, Wang W, Si F, Gao F, Li S. miR396b/GRF6 module contributes to salt tolerance in rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22(8): 2079-2092.
- [3] Xie T, Xu J, Hu W, Shan S, Gao H, Shen J, Chen X, Jia Y, Gao X, Huang J, Zhang H, Cheng J. *OsAAH* confers salt tolerance in rice seedlings[J]. *The Plant Journal*, 2024, 120(5): 1954-1968.
- [4] Hasanuzzaman M, Fujita M. Plant responses and tolerance to salt stress: Physiological and molecular interventions[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9): 4810.
- [5] 韦还和,马唯一,左博源,汪璐璐,朱旺,耿孝宇,张翔,孟天瑶,陈英龙,高平磊,许轲,霍中洋,戴其根. 盐、干旱及其复合胁迫对水稻产量和品质形成影响的研究进展[J]. 中国水稻科学, 2024, 38(4): 350-363.
Wei H H, Ma W Y, Zuo B Y, Wang L L, Zhu W, Geng X Y, Zhang X, Meng T Y, Chen Y L, Gao P L, Xu K, Huo Z Y, Dai Q G. Research progress in the effect of salinity, drought, and their combined stresses on rice yield and quality formation[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2024, 38(4): 350-363. (in Chinese with English abstract)
- [6] Jian G, Mo Y, Hu Y, Huang Y, Ren L, Zhang Y, Hu H, Zhou S, Liu G, Guo J, Ling Y. Variety-specific transcriptional and alternative splicing regulations modulate salt tolerance in rice from early stage of stress[J]. *Rice*, 2022, 15(1): 56.
- [7] Chen G, Hu K, Zhao J, Guo F, Shan W, Jiang Q, Zhang J, Guo Z, Feng Z, Chen Z, Wu X, Zhang S, Zuo S. Genome-wide association analysis for salt-induced phenotypic and physiologic responses in rice at seedling and reproductive stages[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 822618.
- [8] Xiao F, Zhou H. Plant salt response: Perception, signaling, and tolerance[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 1053699.
- [9] Wang X, Li J, Sun J, Gu S, Wang J, Su C, Li Y, Ma D, Zhao M, Chen W. Mining beneficial genes for salt tolerance from a core collection of rice landraces at the seedling stage through genome-wide association mapping[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 847863.
- [10] 程怡冰,黄倩,韩冰,崔迪,邱先进,马小定,韩龙植. 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[J]. 植物遗传资源学报, 2024, 25(8): 1245-1253.
Cheng Y B, Huang Q, Han B, Cui D, Qiu X J, Ma X D, Han L Z. QTLs analysis for salinity tolerance at seedling stage using chromosome segment substitution lines of Dongxiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.)[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2024, 25(8): 1245-1253. (in Chinese with English abstract)
- [11] 许睿,张莉珍,谢先芝,王艳艳,黄婧芬,郑晓明,张丽芳,程云连,郑崇珂,乔卫华,杨庆文. 基于染色体置换系的普通野生稻耐盐性 QTL 定位[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(2): 442-451.
Xu R, Zhang L Z, Xie X Z, Wang Y Y, Huang J F, Zheng X M, Zhang L F, Cheng Y L, Zheng C K, Qiao W H, Yang Q W. QTL mapping revealed salt tolerance traits from *Oryza rufipogon* using chromosome segment substitution lines[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(2): 442-451. (in Chinese with English abstract)
- [12] 黎明辉,朱士伦,李彪,于百洋,贾佩陇,罗继景. 基于水稻染色体片段代换系的耐盐发芽 QTL 分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(2): 720-725.
Li M H, Zhu S L, Li B, Yu B Y, Jia P L, Luo J J. QTL analysis of high salt tolerance at budding stage in rice based on chromosome segment substitution lines[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, 40(2): 720-725. (in Chinese with English abstract)
- [13] De Leon T B, Linscombe S, Subudhi P K. Molecular dissection of seedling salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) using a high-density GBS-based SNP linkage map[J]. *Rice*, 2016, 9(1): 52.
- [14] Wang Z, Cheng J, Chen Z, Huang J, Bao Y, Wang J, Zhang H. Identification of QTLs with main, epistatic and QTL × environment interaction effects for salt tolerance in rice seedlings under different salinity conditions[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(4): 807-815.
- [15] Nayyeripasand L, Ali Garoosi G, Ahmadikhah A. Genome-wide association study (GWAS) to identify salt-tolerance QTLs carrying novel candidate genes in rice during early vegetative stage[J]. *Rice*, 2021, 14(1): 9.
- [16] Geng L, Zhang W, Zou T, Du Q, Ma X, Cui D, Han B,

- Zhang Q, Han L. Integrating linkage mapping and comparative transcriptome analysis for discovering candidate genes associated with salt tolerance in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1065334.
- [17] Ganapati R K, Naveed S A, Zafar S, Wang W, Xu J. Saline-alkali tolerance in rice: Physiological response, molecular mechanism, and QTL identification and application to breeding[J]. *Rice Science*, 2022, 29(5): 412-434.
- [18] Wei H, Wang X, Zhang Z, Yang L, Zhang Q, Li Y, He H, Chen D, Zhang B, Zheng C, Leng Y, Cao X, Cui Y, Shi C, Liu Y, Lv Y, Ma J, He W, Liu X, Xu Q, Yuan Q, Yu X, Wang T, Qian H, Li X, Zhang B, Zhang H, Chen W, Guo M, Dai X, Wang Y, Zheng X, Guo L, Xie X, Qian Q, Shang L. Uncovering key salt-tolerant regulators through a combined eQTL and GWAS analysis using the super pan-genome in rice[J]. *National Science Review*, 2024, 11(4): nwae043.
- [19] Quan R, Wang J, Hui J, Bai H, Lyu X, Zhu Y, Zhang H, Zhang Z, Li S, Huang R. Improvement of salt tolerance using wild rice genes[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 8: 2269.
- [20] Kurotani K I, Hayashi K, Hatanaka S, Toda Y, Ogawa D, Ichikawa H, Ishimaru Y, Tashita R, Suzuki T, Ueda M, Hattori T, Takeda S. Elevated levels of CYP94 family gene expression alleviate the jasmonate response and enhance salt tolerance in rice[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2015, 56(4): 779-789.
- [21] Wang X, He Y, Wei H, Wang L. A clock regulatory module is required for salt tolerance and control of heading date in rice[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(10): 3283-3301.
- [22] Opasiri R, Pomthong B, Akiyama T, Nakphaichit M, Onkoksoong T, Ketudat Cairns M, Ketudat Cairns J R. A stress-induced rice (*Oryza sativa* L.) beta-glucosidase represents a new subfamily of glycosyl hydrolase family 5 containing a fascin-like domain[J]. *The Biochemical Journal*, 2007, 408(2): 241-249.
- [23] Zhang Z, Cheng Z J, Gan L, Zhang H, Wu F Q, Lin Q B, Wang J L, Wang J, Guo X P, Zhang X, Zhao Z C, Lei C L, Zhu S S, Wang C M, Wan J M. *OsHSD1*, a hydroxysteroid dehydrogenase, is involved in cuticle formation and lipid homeostasis in rice[J]. *Plant Science*, 2016, 249: 35-45.
- [24] Chu Z, Wang H, Wang Y, Chang S, Jia S, Pang L, Xi C, Liu J, Zhao H, Zhou X, Han S, Wang Y. OsHSD2 interaction with and phosphorylation by OsCPK21 is essential for lipid metabolism during rice caryopsis development[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2022, 274: 153714.
- [25] Li F, Asami T, Wu X, Tsang E W T, Cutler A J. A putative hydroxysteroid dehydrogenase involved in regulating plant growth and development[J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(1): 87-97.