

水稻核心种质耐盐鉴定与分子标记开发应用

王世壮¹, 聂亚敏¹, 黄婧芬¹, 张巧玲³, 郑崇珂⁴, 谢先芝⁴, 王艳艳^{1,2}, 邢梦^{1,2},
陈文熹^{1,2}, 陈子易¹, 郑晓明¹, 王文生^{1,2}, 杨庆文^{1,2}, 乔卫华^{1,2}

(¹中国农业科学院作物科学研究所/作物基因资源与育种全国重点实验室, 北京 100081; ²三亚中国农业科学院国家南繁研究院, 海南三亚 572024; ³济宁市农业科学院, 山东济宁 272007; ⁴山东省水稻研究所, 济南 250100)

摘要: 水稻是盐敏感植物, 土壤盐渍化对水稻产量影响巨大。发掘并聚合耐盐基因的优异单倍型, 创制耐盐种质, 对于水稻耐盐品种选育及我国盐碱地的高效利用都具有重要意义。本研究首先对水稻3K数据库的236份核心种质进行苗期及大田耐盐鉴定, 筛选出一份来自澳大利亚的强耐盐种质‘71011’, 其在150 mmol/L NaCl处理条件下存活天数25.5 d, 耐盐等级5.2, 大田盐胁迫浓度为0.3%~0.5%条件下耐盐存活率100%; 利用236份核心种质对已报道的、功能清晰的20个耐盐基因进行单倍型分析, 筛选出AKT1、CPK12、MYB48、P5CS1、SIK1、SKC1、SNAC1、HKT1共8个与耐盐性状相关联的基因单倍型。然后利用耐盐品种‘盐丰47’与普通品种‘农垦57’作为亲本, 分析序列差异、验证表达量并构建重组自交系, 最终开发出AKT1、MYB48以及HKT1三个耐盐相关基因的分子标记, 并利用分子标记聚合耐盐基因优异单倍型, 创制出强耐盐的新品系。研究结果为水稻耐盐育种提供了可利用的分子标记、耐盐品种资源与创新种质。

关键词: 水稻种质资源; 耐盐鉴定; 单倍型分析; 分子标记

Identification of Salt Tolerance in Rice Core Germplasm and Development and Application of Molecular Markers

WANG Shizhuang¹, NIE Yamin¹, HUANG Jingfen¹, ZHANG Qiaoling³, ZHENG Chongke⁴, XIE Xianzhi⁴,
WANG Yanyan^{1,2}, XING Meng^{1,2}, CHEN Wenxi^{1,2}, CHEN Ziyi¹, ZHENG Xiaoming¹,
WANG Wensheng^{1,2}, YANG Qingwen^{1,2}, QIAO Weihua^{1,2}

(¹Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ State Key Laboratory of Crop Gene Resources and Breeding, Beijing 100081; ²National Nanfan Research Institute (Sanya), Chinese Academy of Agricultural Sciences, Sanya 572024, Hainan; ³Jining Academy of Agricultural Sciences, Jining 272007, Shandong; ⁴Rice Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100)

Abstract: Rice is a salt-sensitive plant, and soil salinization significantly impacts rice performance. Therefore, exploring excellent haplotypes of salt-tolerant genes and generating elite germplasm are of great significance for rice breeding. In this study, we firstly analyzed 236 core germplasm lines collected from the 3K Rice Genome Project Database, for salt tolerance during the seedling stage and throughout the entire growth period in the field. A highly salt-tolerant germplasm ‘71011’ from Australia was identified. This germplasm survived for 25.5 d and exhibited a salt tolerance level of 5.2 under 150 mmol/L NaCl treatment conditions, with a 100% survival rate under 0.3% to 0.5% salt treatment in the paddy field. We further conducted haplotype

收稿日期: 2024-06-02 网络出版日期: 2024-08-09

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240602001>

第一作者研究方向为种质资源创新利用, E-mail: wangshizhuang2021@163.com; 聂亚敏为共同第一作者

通信作者: 乔卫华, 研究方向为种质资源创新利用, E-mail: qiaoweihua@caas.cn

杨庆文, 研究方向为种质资源创新利用, E-mail: yangqingwen@caas.cn

王文生, 研究方向为种质资源创新利用, E-mail: wangwensheng02@caas.cn

基金项目: 国家重点研发项目(2021YFD1200100); 中国农业科学院南繁专项(YYLH2402)

Foundation projects: National Key R&D Program of China (2021YFD1200100); Nanfan Special Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences (YYLH2402)

analysis on 20 reported salt tolerance genes in the core collection. Eight genes, including *AKT1*, *CPK12*, *MYB48*, *P5CS1*, *SIK1*, *SKC1*, *SNAC1*, and *HKT1*, were identified as having haplotypes associated with salt tolerance. One salt-tolerant variety ‘Yanfeng 47’ and one normal variety ‘Nongken 57’ were selected as parents to generate recombinant inbred lines. Finally, three molecular markers, which have been confirmed by PCR and qRT-PCR, were designed for selecting elite haplotypes of three genes, *AKT1*, *MYB48*, and *HKT1*. Through marker-assisted selection, we successfully developed three high salt-tolerance lines by aggregating these elite haplotypes. Our results provide available germplasm resources, molecular markers and innovative lines for breeding new salt-tolerant rice varieties.

Key words: rice germplasm resources; salt tolerance identification; haplotype analysis; molecular markers

盐碱地是国家后备的农业耕地资源,具有重要的战略意义。现如今盐渍化影响了全球超过三分之一的灌溉土地^[1],我国有近1亿hm²盐碱地,并且面积还在逐渐扩大^[2]。栽培稻是中度盐敏感的作物,盐胁迫是水稻生产中主要的非生物胁迫之一^[3]。水稻在种子萌发期以及苗期对盐胁迫极为敏感,在生殖生长阶段受到盐胁迫则严重影响产量,并造成稻米品质的下降^[4]。我国目前约有五分之一的水稻田已经受到盐渍化的危害^[5]。近年来,耐盐碱水稻已成为盐碱地与滩涂地改良与利用的首选粮食作物,种植耐盐水稻在国内外多地得到了实践^[6]。发掘优异抗性基因,创制综合农艺性状优良且具有强盐碱耐性的水稻新种质是利用盐碱地生产粮食的有效途径。

国内外育种家进行了大量耐盐碱水稻品种的选育和收集,斯里兰卡在1939年最早培育出一份耐盐水稻品种Pokkali,随后,印度、菲律宾、日本等也相继培育出耐盐水稻品种,如Nona Bokra、Kalarata 1-24、SR 26B、Chin. 13、349 Jhona等^[7-9]。我国于20世纪50年代开展水稻耐盐性鉴定研究工作,20世纪70年代江苏省农业科学院等多家单位对国内水稻种质进行耐盐鉴定,先后筛选出长毛谷、韭菜青等耐盐性较强的地方水稻品种^[10]。随着对耐盐水稻品种的重视,我国陆续培育出盐粳927、辽盐2号、盐丰47、盐稻21号等耐盐水稻品种^[11]。此外,国内外学者已经鉴定了很多与水稻耐盐相关的基因,同时也发现一些与功能相关的变异位点^[12]。但是大部分基因是利用反向遗传学或者突变体进行功能研究,在水稻育种与生产中难以利用。鉴定出的具有自然变异位点的耐盐基因更是极其有限,其中*SKC1*编码一个HKT家族的钠离子转运蛋白,耐盐材料Nona Bokara携带的*SKC1*优异等位基因序列在+418、+551、+994和+1183处具有4个非同义SNP,从而导致水稻的耐盐性显著提高^[13]; *OsARF18*

编码一个生长素响应因子,在优异等位基因中+1743、+1830、+1986、+2102处具有4个非同义SNP,增强水稻耐盐性^[14]。鉴定强耐盐的水稻种质资源,尤其是地方品种资源,确定耐盐基因中具有自然变异的优异单倍型,设计分子标记,聚合优异单倍型创新种质,对于培育耐盐水稻新品种、保障国家粮食安全具有非常重要的意义。本研究对国内外的200多份水稻核心种质进行耐盐鉴定,筛选出强耐盐的种质资源;对水稻中已报导的20个耐盐基因进行单倍型分析,鉴定优异单倍型,开发分子标记并在育种中应用。研究结果为水稻育种提供了基础材料,同时为水稻耐盐育种的分子辅助选择提供了理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

本研究材料为来自水稻3K数据库的236份水稻核心种质,包括79份粳稻、146份籼稻以及11份其他品种材料,来自33个国家,其中160份来自中国,具体来源信息详见<https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240602001>,附表1。这些种质包括部分中国微核心种质^[15-16],代表了世界范围内栽培稻种质资源的遗传多样性。用于开发验证分子标记的材料是国内耐盐品种盐丰47、常规粳稻品种农垦57,以及盐丰47与农垦57的重组自交系群体。

1.2 水稻耐盐性鉴定与产量性状调查

将待鉴定种子在50℃烘箱中处理72h打破休眠。随机挑选饱满的种子放入垫有滤纸的培养皿中,去离子水浸泡,置于30℃培养箱中催芽48h。待种子发芽后,随机选取健康且生长状态一致的种子(30粒)移至96孔播种板中,使用Yoshida水稻营养液培养2周左右(两叶一心时期),换为含150mmol/L NaCl的Yoshida水稻营养液培养7~15d,再用正常的Yoshida水稻营养液水培恢复7~15d,每个

处理3个重复,每个重复30株。观察表型,拍照并统计存活率;随机选取5株测量株高、根长、地上部鲜重、地下部鲜重、地上部干重和地下部干重并取平均值。具体实验方法为用滤纸吸干地上部或地下部表面的水分及附着物,用电子天平称取鲜重,将称取完成的地上部或地下部装入已知重量的容器中,放入烘箱内,在80℃下烘干48 h,烘干后的地上部或地下部取出放入干燥器内,待冷却至室温时,用电子天平称量其干重。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》^[17],具体将耐盐等级分为9级,1级为耐盐性最强,9级最弱。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。

大田耐盐试验在山东东营耐盐鉴定基地进行鉴定,每小区面积4.5 m²,种植100株,3次重复。盐胁迫浓度为0.3%~0.5%;正常插秧20 d后调整盐浓度至0.3%,抽穗前调整盐浓度至0.5%,单株完成整个生育期的抽穗、开花、结实为存活,统计存活率。水稻单株产量调查利用在三亚基地南繁季生长的材料,每份材料种植3次重复,每重复4行,取中间2行20株单株测产。

1.3 DNA提取与PCR扩增

采用DNA提取试剂盒(TIANGEN)对水稻叶片进行DNA提取。采用KOD-FX高保真酶进行PCR扩增,PCR扩增体系为50 μL,包括DNA 2 μL(50 ng),引物(正向+反向)各1.5 μL(10 μmol/L), Buffer 25 μL, ddH₂O 10 μL, dNTP 10 μL。PCR扩增程序为98℃预变性5 min;98℃变性10 s,58℃退火30 s,68℃延伸30 s,35个循环;68℃延伸10 min。PCR反应结束后,取产物于1.0%的琼脂糖凝胶200V电压下电泳分离。

1.4 RNA提取与qRT-PCR分析

利用RNA提取试剂盒(TIANGEN)对试验材料进行RNA提取,然后使用HiScript IV RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)(Vazyme)反转录试剂将RNA反转录为cDNA,反转录体系分为两步,第1步体系包含RNase-free ddH₂O 7 μL,5 × gDNA wiper Mix 3 μL,模板RNA 5 μL;反应程序为42℃,2 min。第2步体系包含4 × HiScript IV qRT SuperMix 5 μL,第1步的反应液15 μL;反应程序:37℃ 15 min,85℃ 5 s。利用Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix(Vazyme)进行qRT-PCR实验,反应体系为20 μL,包括2 × Taq Pro Universal SYBR qPCR

Master Mix 10 μL,正反向引物(10 μmol/L)各0.4 μL, cDNA 4 μL, ddH₂O 5.2 μL;反应程序95℃ 15 min;95℃ 10 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,40个循环;熔解曲线设定默认为95℃ 15 s,60℃ 1 min,95℃ 30 s,60℃ 15 s。数据分析采用2^{-ΔΔCT}法,利用T检验的方法判断显著性。

1.5 单倍型分析

基于Rice SNP-Seek Database网站(https://snpseekv3.irri-e-extension.com/v2/_download.zul)提供的水稻基因分型数据集3K RG 1M GWAS SNP Dataset下载3024份水稻的SNP数据,根据测序编号利用plink软件包从中提取本研究中用到的236份材料的SNP信息,为保证数据质量和分析结果的准确性,按照样本间SNP缺失率<0.05、次等位基因频率MAF≥0.05进行筛选,共获得338112个SNP标记用于提取材料中耐盐基因编码区的多态性SNP位点;利用Launch DnaSP6软件进行单倍型分析。

1.6 分子标记开发

根据单倍型分析以及亲本盐丰47和农垦57基因序列比对的结果,确定优势单倍型携带的特有变异位点,并针对这些位点开发分子标记。本研究开发了AKT1、MYB48、HKT1这3个基因的分子标记。根据存在的SNP位点,利用Primer Premier 3软件设计引物,开发扩增片段在100~300 bp的SNP分子标记。在KASP分子标记开发中,根据目的SNP位点上下游各100 bp的DNA序列,利用网站<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>设计3条分子标记引物,包括一条反向通用引物,两条正向特异性引物,正向引物3'端为SNP位点,5'端加上2种检测探针序列,扩增产物长度一般为70~150 bp。

1.7 分子标记分析

对于KASP分子标记,PCR扩增体系为50 μL,包括DNA 2 μL(50 ng),引物(正向+反向)各1.5 μL(10 μmol/L), Buffer 25 μL, ddH₂O 10 μL, dNTP 10 μL。扩增程序为:预变性阶段95℃反应15 min;循环阶段95℃变性10 s,65℃~55℃退火延伸60 s(每个循环降低1℃,10个循环后退火延伸温度保持在55℃),95℃ 10 s,57℃ 60 s,30个循环;然后对PCR产物进行荧光值检测(PHERAstar PLUS酶标仪),并根据荧光检测结果判断基因型。

对于SNP分子标记,PCR反应为采用KOD-FX高保真酶进行PCR扩增,PCR扩增体系同KASP分子标记。PCR扩增程序为98℃预变性5 min;98℃变性10 s,58℃退火30 s,68℃延伸30 s,35个循环;

68℃延伸 10 min。PCR 产物利用 1.0% 的琼脂糖凝胶 200 V 电压下电泳分离, 观察并记录每个样品的带型。

2 结果与分析

2.1 水稻核心种质耐盐鉴定

水稻核心种质群体苗期与大田耐盐性鉴定统计结果如表 1 所示。群体耐盐性存在较大的变异幅度, 其中苗期存活率变异系数最大, 为 45.36%。筛选出一份来自澳大利亚的籼稻种质‘71011’, 苗期

存活率 100%, 苗期存活天数 25.5 d, 苗期耐盐等级 5.2, 大田耐盐存活率 100%, 均为群体材料中的最高值, 可作为强耐盐种质应用于我国水稻育种。此外, 综合评价苗期耐盐指标以及大田耐盐存活率, 筛选出强耐盐的种质 5 份和盐敏感种质 5 份, 详细信息列于表 2。筛选出的 5 份强耐盐种质可用于我国水稻育种, 5 份盐敏感种质可用于找寻新的耐盐基因或耐盐机理。同时将 236 份水稻种质做了耐盐综合评估并排序, 前 20 名定义为耐盐种质, 后 20 名定义为盐敏感种质, 用于后续研究。

表 1 236 份水稻核心种质的耐盐表型统计

Table 1 Statistical analysis of salt tolerance phenotypes for 236 core rice germplasms

指标 Traits	均值 Mean	标准差 SD	范围 Range	变异系数(%) CV	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
苗期存活天数(d)Seedling survival days	15.97	3.68	9.60~25.49	23.07	-0.39	0.56
苗期耐盐等级 Seedling salt-tolerant grade	7.17	1.07	4.60~9.00	14.90	-0.87	-0.03
苗期存活率(%)Seedling survival rate	66	30	0~100	45.36	-0.89	-0.55
大田存活率(%)Field survival rate	81	20	0~100	24.52	3.85	-1.85

表 2 236 份水稻核心种质中筛选出的强耐盐种质和盐敏感种质的耐盐表型统计

Table 2 Statistical analysis of salt-tolerant phenotypes of the strong salt-tolerant and salt-sensitive rice germplasms selected from 236 core rice germplasms

种质类型 Germplasm type	品种名 Name	地区 Origin	分组 Group	苗期存活 天数(d) Seedling survival days	苗期耐盐等级 Seedling salt- tolerant grade	苗期存活率 (%) Seedling survival rate	大田存活率 (%) Field survival rate	大田耐盐等级 Field salt- tolerant grade
强耐盐种质 Strongly salt-tolerant germplasm	71011	澳大利亚	XI-1A	25.50	5.2	100	100	3.4
	加巴拉	孟加拉	XI-1A	22.15	5.4	100	81	4.2
	湘晚籼 3 号	中国	XI-adm	24.90	5.6	100	100	5.0
	镇籼 232	中国	XI-1A	25.10	4.6	100	87	4.2
	献改 B	中国	XI-adm	24.40	6.1	100	93	5.0
盐敏感种质 Salt-sensitive germplasm	CHANH 148	越南	XI-adm	10.10	9.0	2.8	0	9
	秕五升	中国	XI-adm	9.80	9.0	2.0	0	9
	光壳香糯	中国	GJ-tmp	9.60	9.0	1.0	0	9
	一支香	中国	GJ-tmp	9.60	9.0	1.0	5.0	8.5
	高丽秋	朝鲜	GJ-tmp	10.40	9.0	0	0	9

2.2 水稻耐盐基因单倍型分析

通过查询国家水稻数据库(<http://www.ricedata.cn/gene/>), 目前发掘到的水稻耐盐相关基因共约 300 个, 分布于 12 条染色体上。选取已有相关文献报道、具有耐盐功能以及耐盐调控机理清晰的 20 个基因(详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240602001>, 附表 2), 作为下一步研究的目标。从 3K 数据库中提取 236 份核心种质中 20 个基因的全基因组序列, 包括编

码区序列、启动子区序列(2-kb 5'UTR)、1-kb 3'UTR。筛选在前 20 名耐盐种质和后 20 名盐敏感种质间产生明显的分型的基因, 随后对 236 份核心种质进行这些基因的序列比对和单倍型分析, 与耐盐相关联的单倍型命名为 Hap-A, 盐敏感相关联的单倍型命名为 Hap-B。其中, *AKT1*^[18]、*CPK12*^[19]、*MYB48*^[20]、*P5CSI*^[21]、*SIK1*^[22]、*SKC1*^[23]、*SNAC1*^[24]、*HKT1*^[25], 这 8 个基因存在与耐盐性状相关联的单倍型, 其他基因未找到与耐盐相关联的单倍型。这 8 个基因的单倍型在 236 份种质中的分布如图 1 所示。

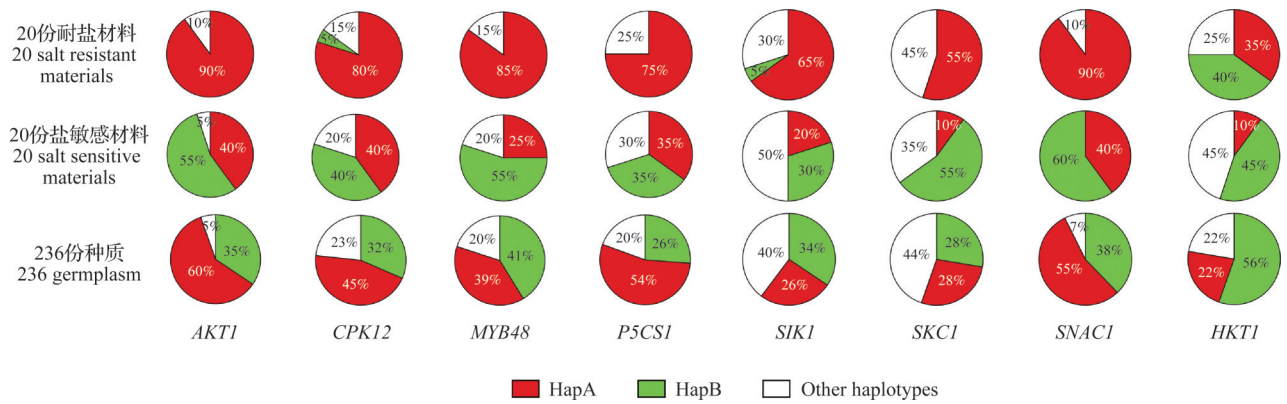


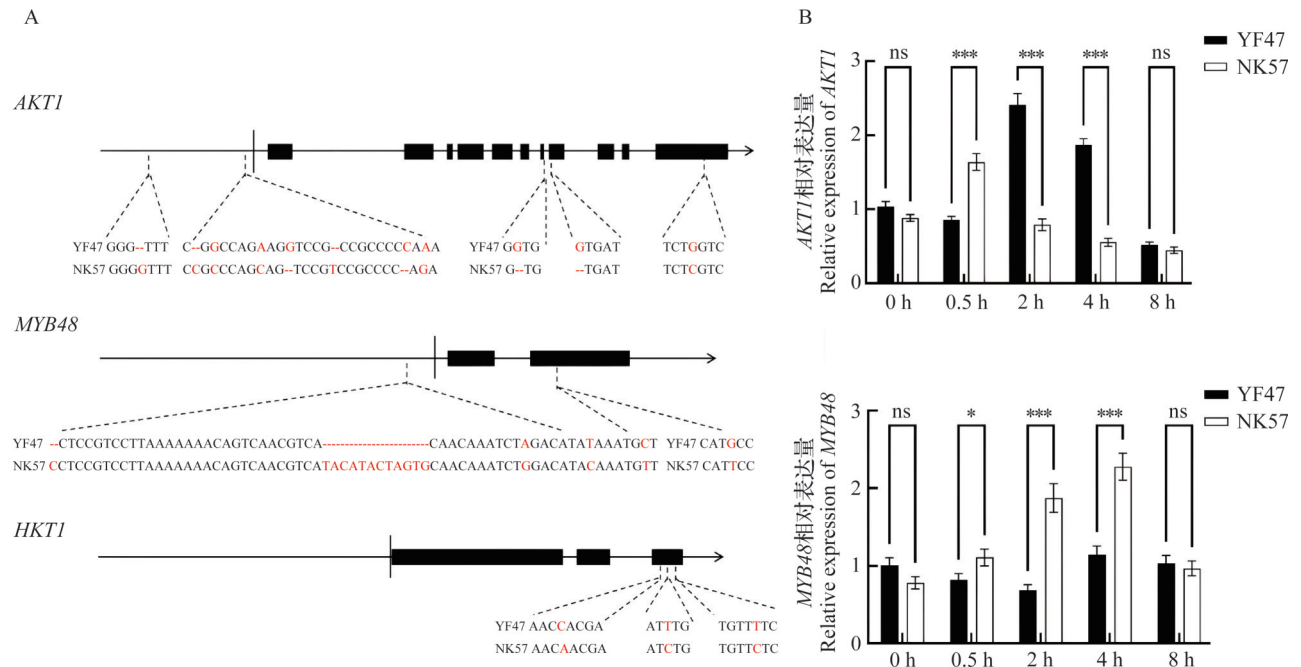
图1 8个耐盐基因在236份核心种质群体中的单倍型分布

Fig. 1 Distribution of haplotypes of eight genes in 236 rice core germplasm

2.3 耐盐基因分子标记开发

选择强耐盐水稻品种盐丰47(YF47),普通品种农垦57(NK57)作为亲本,测序鉴定上述20个耐盐相关基因在两亲本间的序列差异位点。结果表明,在这两份育成品种中,AKT1、HKT1、MYB48、ONAC022^[26]、HAK5^[27]、CPK12、NHX1^[28]这7个基因存在可能影响其功能的变异位点。其中,AKT1在启动子区存在多个InDel,MYB48在启动子区域存

在1个12 bp的InDel,HKT1在编码区存在3个非同义突变的SNP(图2A),CPK12在编码区只存在1个SNP位点的非同义突变,ONAC022、HAK5、NHX1三个基因变异位点位于非编码区。为了验证AKT1、MYB48这两个基因启动子区的变异是否对基因表达量产生影响,对盐处理下的亲本材料进行AKT1、MYB48基因的表达量分析。结果显示,盐胁迫处理前,两个基因的表达量在YF47与NK57中均没有显



A: AKT1、MYB48和HKT1在两亲本间的变异位点分布,其中--代表该位置碱基缺失,红色碱基代表两亲本间变异位点;

B: AKT1和MYB48在两亲本间的表达量模式,20 d幼苗分别在150 mmol/L NaCl处理0、0.5、2、4、8 h后提取叶片RNA,

ns:无显著差异,*:在P<0.05水平差异显著,***:在P<0.001水平差异极显著,下同

A: Variation site distribution of AKT1, MYB48 and HKT1 between the two parents, where '--' represents base deletion at that position, the red nucleotide base represents variation site; B: Expression patterns of AKT1 and MYB48 in two parents under salt treatments. 20-days seedlings were treated with 150 mmol/L NaCl, RNA was extracted after treatments 0, 0.5, 2, 4, 8 hours respectively. ns: No significant difference,

*: Significant difference at P<0.05 level, ***: Extremely significant difference at the P<0.01 level, the same as below

图2 三个基因序列在两亲本间的变异位点及表达量分析

Fig. 2 Variations and transcriptional patterns of three genes in both parents

著差异,处理2~4 h后,*AKT1*在YF47中的表达量极显著高于NK57。而*MYB48*则相反,盐处理后在NK57中的表达量极显著高于YF47(图2B)。鉴于*AKT1*与*MYB48*都是正调控耐盐的基因,将高表达量的基因型定义为耐盐基因型,即*AKT1*的YF47基因型定义为耐盐基因型,*MYB48*的NK57基因型定义为耐盐基因型,*HKT1*的YF47基因型为耐盐基因型。

根据在核心种质中鉴定的存在优异单倍型的基因,以及YF47、NK57之间的基因型差异,最终选择启动子区有变异且表达量差异显著的*AKT1*、*MYB48*,以及编码区有非同义突变的*HKT1*用以开发SNP分子标记和KASP分子标记(表3)。*AKT1*、*HKT1*的SNP分子标记引物在NK57中分别扩增出278 bp、238 bp的条带,而YF47中不能扩增出条带。*MYB48*分子标记引物在YF47中扩增出253 bp条带,而在NK57中不能扩增出条带。琼脂糖凝胶电泳结果表明,3个分子标记多态性良好,均可以用于区分双亲基因位点的基因型(图3A);KASP分子标记中,亲本间均呈现差异分型结果(图3B)。

2.4 耐盐分子标记应用及耐盐新种质创制

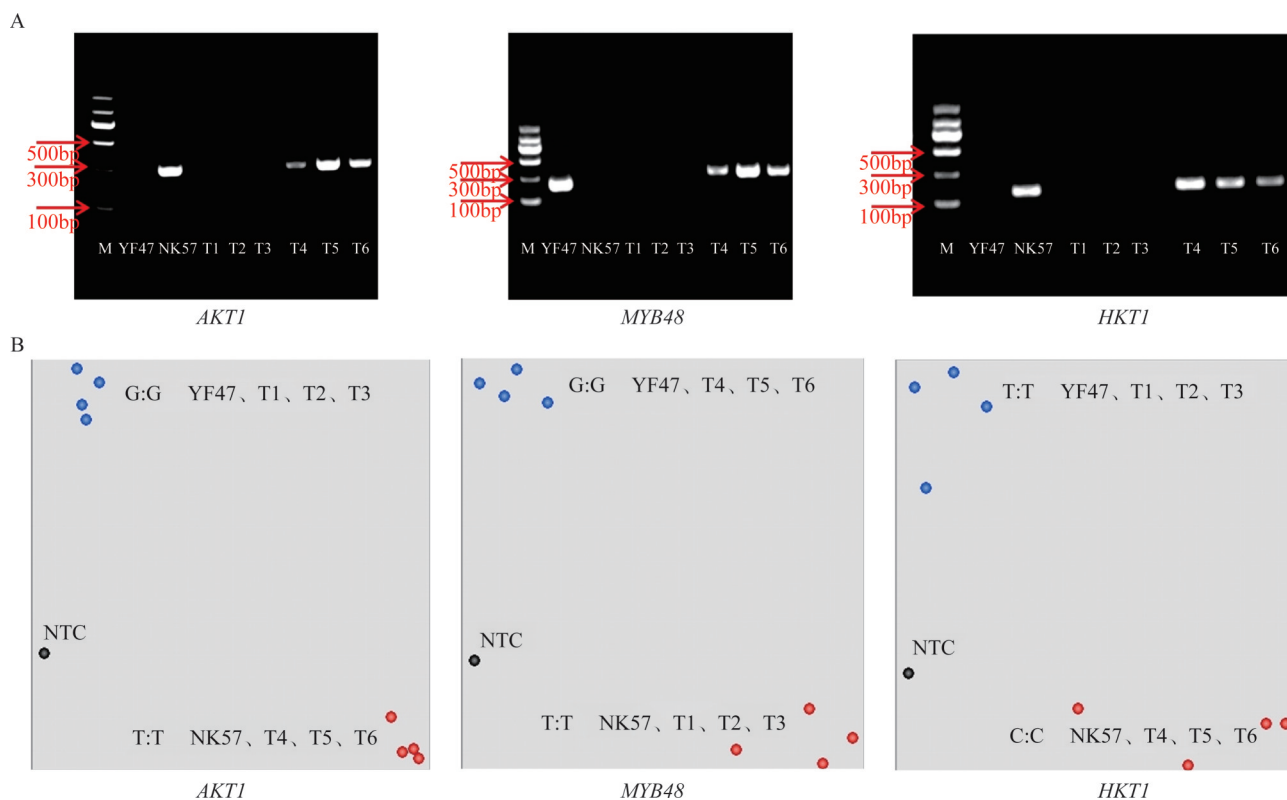
构建YF47/NK57重组自交系至F₆,对30份重组自交系进行SNP分子标记鉴定,如图3A所示,T1、T2、T3中*AKT1*与YF47条带一致,*MYB48*与NK57

条带一致,*HKT1*与YF47条带一致,均为耐盐基因型。T4、T5、T6株系中,3个基因全部为非耐盐基因型(图3A)。在KASP分子标记基因分型验证中,基因*AKT1*中YF47、T1、T2、T3为一种分型,NK57、T4、T5、T6为另一种分型;基因*MYB48*中NK57、T1、T2、T3为一种分型,YF47、T4、T5、T6为另一种分型;基因*HKT1*中YF47、T1、T2、T3为一种分型,NK57、T4、T5、T6为另一种分型,结果与SNP分子标记鉴定结果相一致(图3B)。随后,对6个株系进行了苗期耐盐鉴定,如图4所示,T1~T3与T4~T6耐盐性差异极显著,T1~T3表现出了比耐盐亲本YF47更强的耐盐性,苗期盐处理后的存活率、株高、根长、地上部鲜重与干重、地下部的鲜重与干重,都高于耐盐亲本YF47。与之相反的是,T4、T5、T6这3个株系耐盐能力显著下降,各种耐盐指标均低于YF47,部分指标低于NK57。同时,将上述T1~T6株系盐处理后,检测了*AKT1*、*MYB48*基因的表达量,qRT-PCR结果显示,在耐盐株系T1、T2和T3中,*AKT1*基因表达模式与YF47趋于一致,而*MYB48*基因表达模式与NK57趋于一致(图5A)。在正常栽培条件下对T1~T3耐盐株系进行产量测试,3个株系除T1株系外,其他株系的单株产量与高产亲本YF47相比,并未有显著的变化(图5B)。

表3 分子标记引物序列信息

Table 3 Sequence information of molecular markers developed in this study

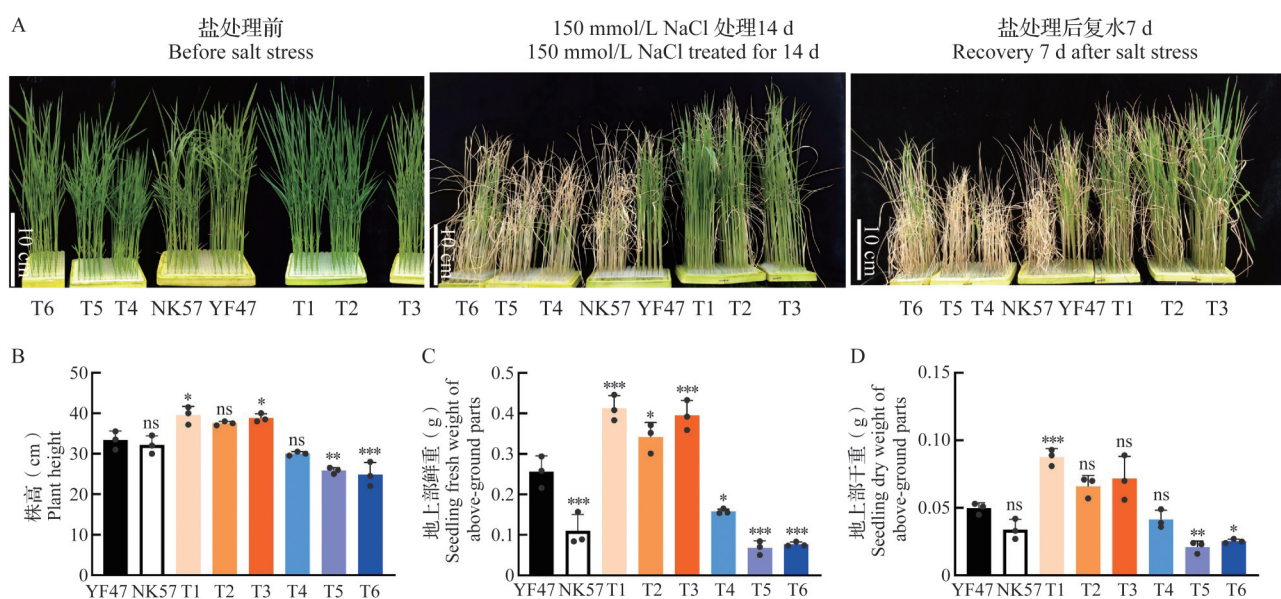
引物名称 Primer name	引物序列(5'-3')Primer sequence(5'-3')
AKT1-S-F1	CCGATTCGTCGCCGCCAGC
AKT1-S-R1	CACAAGGCCACAAATCTGG
MYB48-S-F1	TCAACGTCACAACAAATCTA
MYB48-S-R1	AGCAAGTATCAAGGTTAGTA
HKT1-S-F1	CAAGTAGTAAGATCCACATC
HKT1-S-R1	CGGCTTGCTCCTGGCAGATGC
AKT1-FAM1	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTAAATATGATAACTTGGAAATCTGCAGG
AKT1-HEX1	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTCTAAATATGATAACTTGGAAATCTGCAGT
AKT1-COM1	TGTTCGAACTGTGAATAGCTGAGG
MYB48-FAM1	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCATCGCCCAAGAGCATG
MYB48-HEX1	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTGCATCGCCCAAGAGCATT
MYB48-COM1	GCCAGTAGTCTTGATCTCGTTGTC
HKT1-FAM1	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCAAGCAAGTAGTAAGATCCACATT
HKT1-HEX1	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTGCAAGCAAGTAGTAAGATCCACATC
HKT1-COM1	TGTCTCTGAAAGATTCTGAGGTGTC



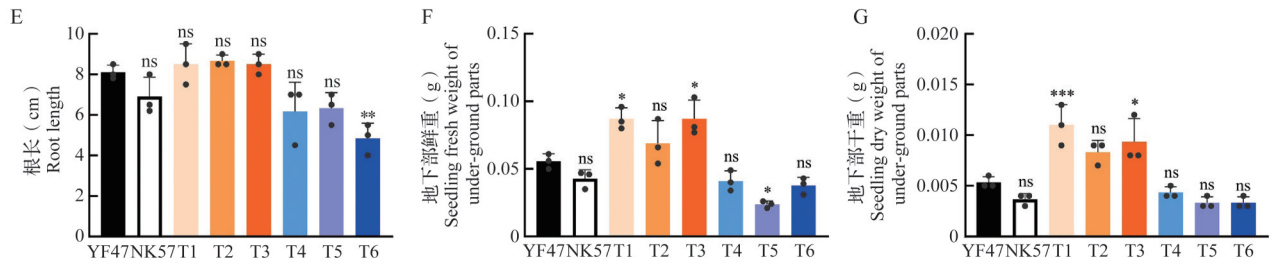
A: 3个基因SNP标记引物的PCR产物电泳检测, T1~T6为盐丰47(YF47)/农垦57(NK57)重组自交系; B: 3个等位基因的KASP标记分型, 图中每个圆点代表一个样品, 蓝色圆点表示该基因携带HEX标签序列, 红色表示该基因携带FAM标签序列, 黑色圆点为空白对照
A: PCR product electrophoresis detection of 3 gene SNP marker primers, T1~T6 is a recombinant inbred lines of YF47/NK57, M: Marker; B: KASP marker typing of 3 alleles. Each dot in the figure represents a sample, the blue dots indicate that the gene carries a HEX tag sequence, red indicates that the gene carries the FAM tag sequence, black dots are blank controls

图3 *AKT1*、*MYB48*和*HKT1*分子标记开发验证

Fig. 3 Development and validation of molecular markers of *AKT1*, *MYB48* and *HKT1*



(图4)



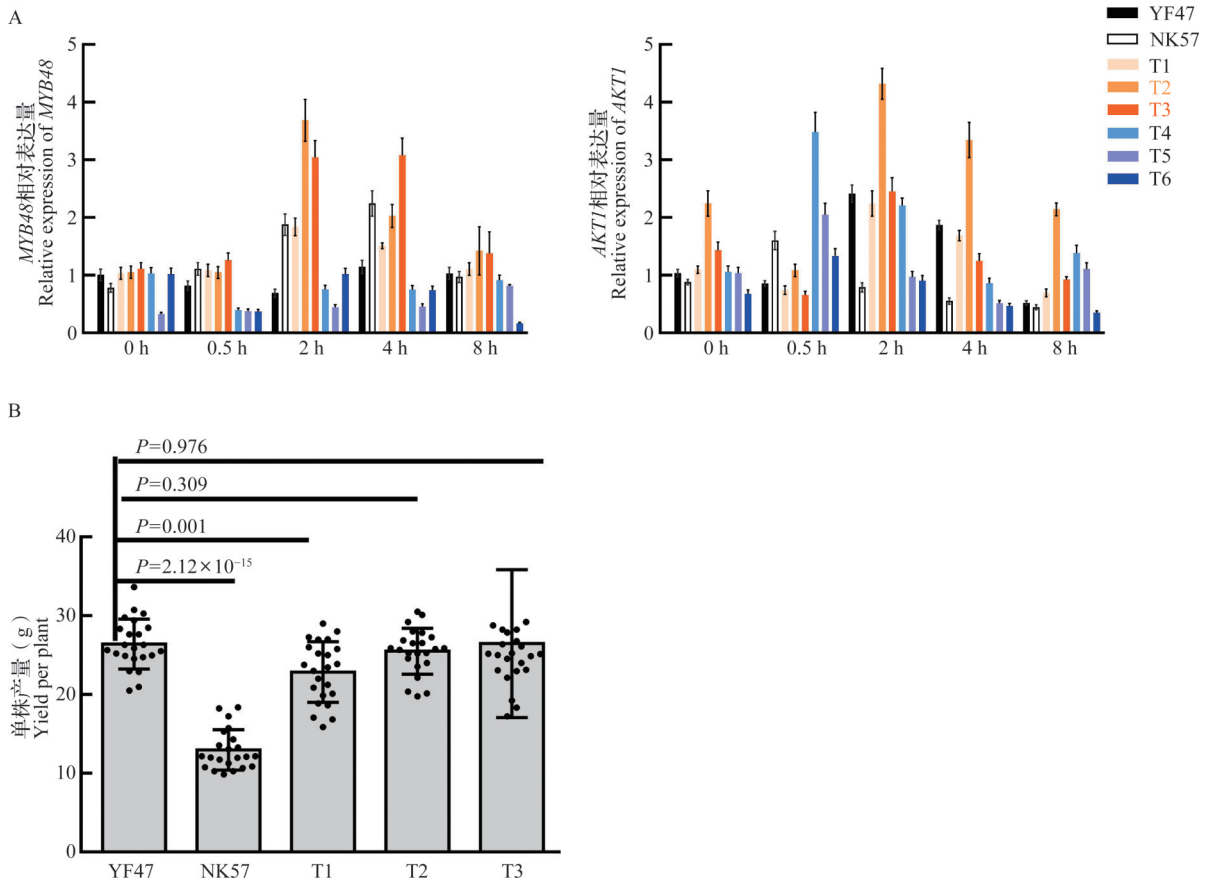
A: YF47、NK57及6个株系耐盐表型; B-G: YF47、NK57及6个株系NaCl处理后复水7天后耐盐相关表型调查, T1-T6为盐丰47(YF47)/农垦57(NK57)重组自交系, **在 $P < 0.01$ 水平差异极显著

A: Salt tolerance phenotypes of YF47, NK57, and 6 lines; B-G: Phenotypic investigation related to salt tolerance of YF47, NK57, and 6 other strains following 7 days of recovery after NaCl stress, T1-T6 is a recombinant inbred line of YF47/NK57,

** : Extremely significant difference at the $P < 0.01$ level

图4 盐丰47与农垦57重组自交系耐盐表型鉴定

Fig. 4 Salt tolerance identification of six recombinant inbred lines from Yanfeng47 and Nongken57



A: *AKT1* 和 *MYB48* 基因在两亲本和6个重组自交系中的表达模式, 20 d 幼苗 150 mmol/L NaCl 分别处理 0、0.5、2、4、8 h; B: 盐丰47与农垦57, 以及3个耐盐株系 T1~T3 在田间的单株产量统计, 样本数 > 20 株, 各株系单株产量与高产亲本盐丰47比较的 P 值列于上方

A: The expression patterns of *AKT1* and *MYB48* genes in two parents and six recombinant inbred lines. After 20 days of treatment with 150 mmol/L NaCl at 0, 0.5, 2, 4, and 8 h; B: The yield statistics of Yanfeng 47 and Nongken 57, as well as three salt tolerant plant lines T1-T3 in the field, showed a sample size of more than 20 plants. The P -values of the yield comparison between each plant line and its high-yielding parent Yanfeng 47 are listed above

图5 *AKT1* 和 *MYB48* 在6个重组自交系中的表达模式以及耐盐株系 T1~T3 田间单株产量统计

Fig. 5 The expression patterns of *AKT1* and *MYB48* in 6 recombinant inbred lines and yield statistics of salt tolerant T1-T3 plants in the field

3 讨论

随着我国盐渍化土地的不断增多,培育耐盐水稻新品种越发重要。目前,国内外创制的耐盐水稻材料很多,但生产中的绝大多数品种耐盐性并不高^[29]。其原因就在于抗逆性状往往与产量以及高品质性状负关联,强耐盐品种的其他产量性状并不突出。而大面积推广的育成品种中,强耐盐的品种并不多,难以满足高盐碱地块的种植需求。优异的地方品种资源是水稻耐盐遗传改良的基础^[30-31]。在本研究中,对来自全球的236份水稻核心种质进行了耐盐鉴定,包括在0.3%~0.5%盐胁迫下的大田全生育期耐盐鉴定。筛选出了一批综合耐盐能力强的种质,这些种质既有中国的地方品种,也有来自国外的品种。尤其是一份来自澳大利亚的强耐盐种质,耐盐表型稳定且突出。本研究鉴定的水稻种质为我国水稻耐盐育种提供了可利用的材料。同时筛选出耐盐机制研究清楚的20个基因,在236份核心种质中进行单倍型分析,通过与耐盐鉴定结果关联,发现其中有8个基因可能存在优异单倍型。这些基因的优异单倍型为聚合耐盐基因提供了基本的数据信息,虽然其耐盐功能仍需要进一步的验证。

本研究选择了两个亲本品种,对耐盐基因优异单倍型进行验证并开发分子标记。盐丰47是目前水稻生产中推广面积较大的耐盐品种^[32]。农垦57为20世纪60-70年代育成的老品种,在现在水稻生产中已经基本上淘汰,该品种具有高品质、抗病等优良特征,但对盐胁迫敏感、产量偏低^[33]。通过比较以上20个基因在两品种之间的序列差异,有7个基因存在可能影响功能的变异位点,与以上在核心种质群体中鉴定的可能存在优异单倍型的8个基因有4个基因重合,即*AKT1*、*HKT1*、*MYB48*和*CPK12*,而*CPK12*只存在1个SNP的变异,因此选择了*AKT1*、*HKT1*、*MYB48*这3个基因开发分子标记。据报道,*AKT1*是一种shaker家族钾离子通道蛋白,过表达*AKT1*会通过增加组织中特别是根中的K⁺水平,提高水稻对盐胁迫的耐受性^[34-35]。*HKT1*编码一个高亲和Na⁺转运蛋白,正向调控水稻耐盐^[25]。*MYB48*是一个MYB转录因子,通过调节胁迫诱导的ABA合成,在水稻耐旱性和耐盐性上起着重要作用^[20]。*AKT1*与*MYB48*均在启动子区存在变异位点,且显著影响其在盐胁迫下的表达量。有意思的是,在150 mmol/L NaCl处理条件下*MYB48*在农垦

57中的表达量显著高于盐丰47,已有很多的研究报道*MYB48*是正调控水稻耐盐的转录因子^[20],这个结果说明,即使在农垦57这样耐盐能力并不强的老品种里,也可能存在耐盐基因的优异基因型。本研究构建的重组自交系证实了这一点:在3个强耐盐株系中,这3个基因的基因型均为耐盐基因型,而3个盐敏感株系中这3个基因的基因型均为盐敏感基因型。结果表明本研究开发的分子标记可用于耐盐育种中分子标记辅助选择。

本研究中聚合了*AKT1*、*HKT1*、*MYB48*三个基因优异基因型的3个株系T1、T2、T3,其耐盐程度高于盐丰47,且单株产量性状并未受到影响。下一步将进一步进行盐胁迫下的大田产量试验,以及测定3个株系的稻米品质等性状,这3个株系作为创新种质,既可以用作育种改良的中间材料,也可以作为耐盐的新品系在生产中推广应用。

4 结论

本研究通过对国内外的236份水稻核心种质进行苗期、大田耐盐鉴定,筛选出一批耐盐种质,包括一份强耐盐的来自澳大利亚的水稻新种质。通过筛选已报道耐盐基因的优异单倍型,开发了*AKT1*、*HKT1*、*MYB48*的分子标记,并利用耐盐品种盐丰47与常规品种农垦57构建重组自交系,聚合耐盐基因的优异基因型,创制了3个强耐盐的新品系。本研究为水稻耐盐育种提供了可利用的品种资源、分子标记以及创新种质。

参考文献

- [1] Zhao C, Zhang H, Song C, Zhu J K, Shabala S. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. *Innovation (Camb)*, 2020, 1(1):100017
- [2] 段国康, 刘森, 梁正伟. 盐碱胁迫水稻根系研究. *土壤与作物*, 2024, 13(1): 119-126
Duan G K, Liu M, Liang Z W. Rice roots under saline-alkali stress. *Soils and Crops*, 2024, 13(1): 119-126
- [3] Qin H, Li Y, Huang R. Advances and challenges in the breeding of salt-tolerant rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(21): 8385
- [4] Machado R, Serralheiro R. Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 2017, 3(2): 30
- [5] 徐培智, 戴文举, 黄旭, 林碧珊, 曾招兵, 张桥, 解开治. 广东省滨海盐土特征及改良策略. *广东农业科学*, 2023, 50(2): 87-94
Xu P Z, Dai W J, Huang X, Lin B S, Zeng Z B, Zhang Q, Xie K Z. Characteristics of seashore saline soils in guangdong

- province and improvement strategies. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2023, 50(2):87-94
- [6] Pardo J M. Biotechnology of water and salinity stress tolerance. *Current Opinion in Biotechnology*, 2010, 21(2):185-196
- [7] 马国辉, 郑殿峰, 母德伟, 王奉斌, 戴其根, 魏中伟, 冯乃杰, 王才林. 耐盐碱水稻研究进展与展望. *杂交水稻*, 2024, 39(1):1-10
- Ma G H, Zheng D F, Mu D W, Wang F B, Dai Q G, Wei Z W, Feng N J, Wang C L. Research progress and prospect of salinealkali tolerant rice. *Hybrid Rice*, 2024, 39(1):1-10
- [8] Fageria N K. Salt tolerance of rice cultivars. *Plant Soil*, 1985, 88(2):237-243
- [9] 巫明明, 曾维, 翟荣荣, 叶靖, 朱国富, 俞法明, 张小明, 叶胜海. 水稻耐盐分子机制与育种研究进展. *中国水稻科学*, 2022, 36(6):551-561
- Wu M M, Zeng W, Zhai R R, Ye J, Zhu G F, Yu F M, Zhang X M, Ye S H. Research progress in molecular mechanism and breeding status of salt tolerance in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 2022, 36(6):551-561
- [10] 王才林, 张亚东, 赵凌, 路凯, 朱镇, 陈涛, 赵庆勇, 姚妹, 周丽慧, 赵春芳, 梁文化, 孙明法, 严国红. 耐盐碱水稻研究现状、问题与建议. *中国稻米*, 2019, 25(1):1-6
- Wang C L, Zhang Y D, Zhao L, Lu K, Zhu Z, Chen T, Zhao Q Y, Yao S, Zhou L H, Zhao C F, Liang W H, Sun M F, Yan G H. Research status, problems and suggestions on saltalkali tolerant rice. *China Rice*, 2019, 25(1):1-6
- [11] 陈思蓉, 李晨, 孙炳蕊. 水稻耐盐分子机制研究进展. *广东农业科学*, 2023, 50(12):29-42
- Chen S R, Li C, Sun B R. Research progress on molecular mechanism of salt tolerance in rice. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2023, 50(12):29-42
- [12] Xiao F, Zhou H. Plant salt response: Perception, signaling, and tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:1053699
- [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, 10, 37(10):1141-1146
- [14] Deng P, Jing W, Cao C, Sun M, Chi W, Zhao S, Dai J, Shi X, Wu Q, Zhang B, Jin Z, Guo C, Tian Q, Shen L, Yu J, Jiang L, Wang C, Chin J H, Yuan J, Zhang Q, Zhang W. 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 of the United States of America*, 2022, 119(50):e2210338119
- [15] Zhang H L, Zhang D L, Wang M X, Sun J L, Qi Y W, Li J J, Wei X H, Han L Z, Qiu Z G, Tang S X, Li Z C. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122: 49-61
- [16] Wang W, Mauleon R, Hu Z, Chebotarov D, Tai S, Wu Z, Li M, Zheng T, Fuentes R R, Zhang F, Mansueto L, Copetti D, Sanciangco M, Palis K C, Xu J, Sun C, Fu B, Zhang H, Gao Y, Zhao X, Shen F, Cui X, Yu H, Li Z, Chen M, Detras J, Zhou Y, Zhang X, Zhao Y, Kudrna D, Wang C, Li R, Jia B, Lu J, He X, Dong Z, Xu J, Li Y, Wang M, Shi J, Li J, Zhang D, Lee S, Hu W, Poliakov A, Dubchak I, Ulat V J, Borja F N, Mendoza J R, Ali J, Li J, Gao Q, Niu Y, Yue Z, Naredo M E B, Talag J, Wang X, Li J, Fang X, Yin Y, Glaszmann J C, Zhang J, Li J, Hamilton R S, Wing R A, Ruan J, Zhang G, Wei C, Alexandrov N, McNally K L, Li Z, Leung H. Genomic variation in 3,010 diverse accessions of Asian cultivated rice. *Nature*, 2018, 557:43-48
- [17] Shen Y, Shen L, Shen Z, Jing W, Ge H, Zhao J, Zhang W. The potassium transporter OsHAK21 functions in the maintenance of ion homeostasis and tolerance to salt stress in rice. *Plant, Cell & Environment*, 2015, 38(12): 2766-2779
- [18] 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
- [19] Ahmad I, Mian A, Maathuis F J. Overexpression of the rice *AKT1* potassium channel affects potassium nutrition and rice drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(9):2689-2698
- [20] Asano T, Hayashi N, Kobayashi M, Aoki N, Miyao A, Mitsuhashi I, Ichikawa H, Komatsu S, Hirochika H, Kikuchi S, Ohsugi R. A rice calcium-dependent protein kinase *OsCPK12* oppositely modulates salt-stress tolerance and blast disease resistance. *Plant Journal*, 2012, 69(1):26-36
- [21] Xiong H, Li J, Liu P, Duan J, Zhao Y, Guo X, Li Y, Zhang H, Ali J, Li Z. Overexpression of *OsMYB48-1*, a novel MYB-related transcription factor, enhances drought and salinity tolerance in rice. *PLoS ONE*, 2014, 9(3):e92913
- [22] Sripinyowanich S, Klomsakul P, Boonburapong B, Bangyeekhun T, Asami T, Gu H, Buaboocha T, Chadchawan S. Exogenous ABA induces salt tolerance in indica rice (*Oryza sativa* L.): The role of OsP5CS1 and OsP5CR gene expression during salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, 86:94-105
- [23] Ouyang S Q, Liu Y F, Liu P, Lei G, He S J, Ma B, Zhang W K, Zhang J S, Chen S Y. Receptor-like kinase OsSIK1 improves drought and salt stress tolerance in rice (*Oryza sativa*) plants. *Plant Journal*, 2010, 62(2):316-329
- [24] Wang H, Zhang M, Guo R, Shi D, Liu B, Lin X, Yang C. Effects of salt stress on ion balance and nitrogen metabolism of old and young leaves in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biology*, 2012, 12(1):194
- [25] Liu G, Li X, Jin S, Liu X, Zhu L, Nie Y, Zhang X. Overexpression of rice NAC gene *SNAC1* improves drought and salt tolerance by enhancing root development and reducing transpiration rate in transgenic cotton. *PLoS ONE*, 2014, 9(1): e86895
- [26] Wei H, Wang X, He Y, Xu H, Wang L. Clock component OsPRR73 positively regulates rice salt tolerance by modulating

- OsHKT2;1-mediated sodium homeostasis. *EMBO Journal*, 2021, 40(3):e105086
- [27] Hong Y, Zhang H, Huang L, Li D, Song F. Overexpression of a stress-responsive NAC transcription factor gene *ONAC022* improves drought and salt tolerance in rice. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:4
- [28] Yang T, Zhang S, Hu Y, Wu F, Hu Q, Chen G, Cai J, Wu T, Moran N, Yu L, Xu G. 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
- [29] Liu S, Zheng L, Xue Y, Zhang Q, Wang L, Shou H. Overexpression of *OsVPI* and *OsNHX1* increases tolerance to drought and salinity in rice. *Journal of Plant Biology*, 2010, 53(6):444-452
- [30] 陶维旭, 程生海, 冀俊超, 艾治勇. 水稻品种资源耐盐性综合评价及耐盐指标筛选. *江苏农业科学*, 2022, 50(18):180-187
- Tao W X, Cheng S H, Ji J C, Ai Z Y. Comprehensive evaluation of salinity tolerance of rice variety resources and screening of salinity tolerance indexes. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(18):180-187
- [31] 张所兵, 张云辉, 林静, 方先文. 水稻全生育期耐盐资源的初步筛选. *中国农学通报*, 2013, 29(36):63-68
- Zhang S B, Zhang Y H, Lin J, Fang X W. Primary screening of salt-tolerant rice germplasm in entire growth period. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2013, 29(36):63-68
- [32] 陈思蓉, 李晨, 孙炳蕊. 水稻耐盐分子机制研究进展. *广东农业科学*, 2023, 50(12):29-42
- Chen S R, Li C, Sun B R. Research progress on molecular mechanism of salt tolerance in rice. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2023, 50(12):29-42
- [33] 王志兴, 王宇, 李振宇, 陈广红, 王绍林. 水稻盐丰47特征特性及高产栽培技术要点. *垦殖与稻作*, 2003(6):6-8
- Wang Z X, Wang Y, Li Z Y, Chen G H, Wang S L. The character and planting keys of the new variety Yanfeng47. *Reclaiming and Rice Cultivation*, 2003(6):6-8
- [34] 谢庆军, 朱立宏. 粳稻若干数量性状的配合力和遗传分析. *江苏农业学报*, 1985(4):6-14
- Xie Q J, Zhu L H. Combining ability and genetic analysis of several quantitative traits of *Oryza sativa* L. subsp. keng. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 1985(4):6-14
- [35] Li J, Long Y, Qi G N, Li J, Xu Z J, Wu W H, Wang Y. The *Os-AKT1* channel is critical for K^+ uptake in rice roots and is modulated by the rice CBL1-CIPK23 complex. *Plant Cell*, 2014, 26(8):3387-3402

附表 1 236 份核心种质信息

Supplementary Table1 Information of the 236 rice accessions

测序编号	品种名	来源地	分组
Sequencing number	Germplasm name	Origin	Group
B166	江花稻	朝鲜	GJ-tmp
B167	清津早生	朝鲜	GJ-tmp
B001	黑标	中国	GJ-tmp
B002	三穗锦	中国	GJ-tmp
B003	早生白	中国	GJ-adm
B168	竹原	日本	GJ-tmp
B004	秋光 藤系 104 号	日本	GJ-tmp
B005	晚实	日本	GJ-tmp
B169	矮陆羽	日本	GJ-tmp
B006	伊空	越南	XI-adm
B007	田旱稻	越南	XI-adm
B008	八香	越南	GJ-tmp
B009	越南早稻	越南	XI-1A
B010	马来红	马来西亚	XI-1A
B011	CO 22	印度	XI-adm
B012	2037 (Rajahamsal)	印度	XI-2
B013	斯里兰卡 1 号	斯里兰卡	XI-adm
B170	红色 90	俄罗斯	GJ-tmp
B014	乌兹罗斯 215	乌兹别克斯坦	GJ-tmp
B015	卡哈姆	罗马尼亚	XI-1A
B016	奥米尔特 168	匈牙利	GJ-tmp
B017	阿尔季托	保加利亚	GJ-tmp

B171	临果	意大利	GJ-tmp
B018	美国黄壳稻	美国	GJ-trp
B019	布雷达 A-75	墨西哥	XI-adm
B020	几内亚稻	几内亚	admix
B021	Seln 244A6-20	澳大利亚	XI-adm
B023	高丽秋	朝鲜	GJ-tmp
B024	暹罗斯赤	泰国	XI-1A
B025	Djanda Mandja	印度尼西亚	GJ-trp
B026	Padi Ladang Ase Polo Komek	印度尼西亚	XI-adm
B173	Tjantajan	印度尼西亚	admix
B027	C 894-21	菲律宾	XI-3
B028	IR 10179-23-1-3	菲律宾	XI-adm
B029	Dumai	印度	XI-1B
B030	Jaibattey	印度	XI-adm
B031	Ngatsin	印度	XI-2
B032	Rohini	印度	XI-1B
B033	BW 293-2	斯里兰卡	XI-1B
B176	BRC 25-146-2-1	孟加拉国	XI-adm
B179	克罗多 B	法国	GJ-tmp
B035	美国稻	美国	XI-adm
B180	P1790-5-1M-4-5M-1B-3M-B	哥伦比亚	XI-adm
B036	Jijucas Claro	巴西	GJ-adm
B037	Nanoay P.A	阿根廷	GJ-trp
B038	Nabated A Smar	埃及	GJ-tmp
B039	IRAT 10	科特迪瓦	XI-adm
B040	K 24	印度	XI-adm

B181	71011	澳大利亚	XI-1A
B043	YR 83-23-11	澳大利亚	GJ-trp
B044	三田 糯	日本	XI-adm
B182	赤毛	日本	GJ-tmp
B045	宫城香	日本	GJ-tmp
B046	秋田小町	日本	GJ-tmp
B047	珍富 8	韩国	GJ-tmp
B183	清 糯 キョハタモチ	日本	GJ-tmp
B184	CHANH 148	越南	XI-adm
B185	SLK 2-18-2	老挝	XI-adm
B048	CISOKAN	印度尼西亚	XI-1B
B049	杂草稻 13	尼泊尔	cA (Aus)
B187	RP 1570-44-1	印度	XI-adm
B051	GZ 1368-5-4	埃及	XI-adm
B188	IRAT 36	科特迪瓦	GJ-trp
B189	IRAT 669	科特迪瓦	GJ-trp
B190	ITA 221	尼日利亚	GJ-trp
B052	J 34	马达加斯加	XI-2
B191	80 A 60 YR 71009-1-5	澳大利亚	GJ-trp
B053	80 A 97 YR 303-304-1-3	澳大利亚	GJ-trp
B054	80050 YR 72136-43	澳大利亚	GJ-trp
B055	YR 196	澳大利亚	GJ-tmp
B192	R 42	菲律宾	admix
B193	C.MEDIO 7	古巴	XI-adm
B194	ECIA 179-S13	古巴	XI-1B
B195	PMS 10B	印度	XI-adm

B056	铁秆乌	中国	GJ-tmp
B057	秀水 115	中国	GJ-tmp
B058	二九南 1 号	中国	XI-1B
B059	南京 11 号	中国	XI-1A
B060	矮脚南特	中国	XI-1A
B061	广陆矮 4 号	中国	XI-1A
B062	南特号	中国	XI-1A
B063	桂朝 2 号	中国	XI-1A
B196	台东陆稻	中国台湾	GJ-trp
B197	台中籼选 2	中国台湾	XI-1A
B198	解放籼	中国	XI-1A
B199	红米三担	中国	GJ-tmp
B064	湘早籼 7 号	中国	XI-adm
B065	黄丝桂占	中国	XI-adm
B200	金优 1 号	中国	XI-1B
B201	成农水晶	中国	XI-1B
B066	光亮香糯	中国	GJ-tmp
B202	包协 123B	中国	XI-adm
B203	秣五升	中国	XI-adm
B067	抚宁紫皮粳子	中国	XI-1A
B068	高阳淀稻大红芒	中国	GJ-tmp
B069	丹东陆稻	中国	GJ-adm
B070	老光头 83	中国	GJ-adm
B071	木樨球	中国	GJ-tmp
B205	寸三粒	中国	GJ-adm
B072	秋前白	中国	XI-1A

B073	金溪白	中国	XI-adm
B074	台山糯	中国	XI-1A
B207	矮禾迟	中国	XI-adm
B075	金包银	中国	XI-adm
B076	闽北晚籼	中国	XI-adm
B208	陆财号	中国	XI-1A
B077	一支香	中国	GJ-tmp
B079	饿死牛	中国	XI-1A
B210	南雄早油占	中国	XI-1A
B081	黑督 4	中国	XI-1A
B082	七月籼	中国	XI-adm
B083	洞庭晚籼	中国	XI-1A
B213	柳叶粘	中国	XI-1A
B214	宣恩长坛青粘	中国	XI-1B
B084	霸王鞭 1	中国	admix
B085	须谷糯	中国	XI-1A
B086	木瓜糯	中国	admix
B215	红旗 5 号	中国	GJ-tmp
B216	旱麻稻	中国	XI-1A
B087	中农 4 号	中国	XI-2
B217	红谷	中国	XI-1B
B088	三**七十箩	中国	XI-adm
B089	齐头白谷	中国	XI-adm
B090	紫米	中国	XI-adm
B091	小红谷	中国	XI-adm
B218	五子堆	中国	GJ-tmp

B092	公居 73	中国	XI-1A
B093	齐头谷	中国	XI-1A
B094	紫糯	中国	XI-1A
B095	魔王谷内杂	中国	XI-adm
B219	毫莱	老挝	XI-adm
B096	金枝糯	中国	XI-adm
B097	鸡血糯	中国	XI-adm
B221	饭毫皮	中国	XI-1A
B222	背子糯	中国	XI-1A
B100	红壳折糯	中国	GJ-tmp
B223	寸谷糯	中国	GJ-tmp
B224	油粘	中国	XI-1A
B225	贯推白禾 1	中国	GJ-tmp
B101	阳壳糯	中国	GJ-tmp
B104	加巴拉	孟加拉国	XI-1A
B226	黑芒稻	中国	GJ-tmp
B227	闷加高 1	中国	XI-adm
B105	包选 21 号	中国	XI-adm
B106	文香糯	中国	XI-adm
B107	大弯糯	中国	XI-adm
B108	香谷	中国	XI-adm
B228	毫巴永 1	中国	GJ-adm
B229	闷加丁 2	中国	XI-adm
B110	黄皮糯	中国	GJ-tmp
B230	半节芒	中国	GJ-adm
B111	紫芒飞蛾	中国	GJ-tmp

B112	柳沙 1 号	中国	XI-1A
B113	郴晚 3 号	中国	XI-adm
B114	成都矮 3 号	中国	XI-1A
B115	矮麻抗	中国	XI-1A
B116	蜀丰 101	中国	XI-adm
B117	立新粳	中国	GJ-tmp
B118	二钢矮	中国	XI-adm
B119	广陆矮 15-1	中国	XI-1A
B120	红晚 1 号	中国	XI-adm
B232	湘矮早 10 号	中国	XI-1B
B233	湘晚粳 1 号	中国	XI-adm
B121	沪科 3 号	中国	XI-1A
B234	矮沱谷 151	中国	XI-1A
B235	中花 8 号	中国	GJ-tmp
B236	晋稻 1 号	中国	GJ-tmp
B122	辽粳 287	中国	GJ-tmp
B123	早熟香黑米	中国	XI-adm
B238	墨米	中国	XI-adm
B124	粳 87-304	中国	GJ-tmp
B125	湘晚粳 3 号	中国	XI-adm
B239	镇粳 232	中国	XI-1A
B126	早粳 240	中国	XI-1A
B127	当育 5 号	中国	XI-1A
B240	郑稻 5 号	中国	GJ-tmp
B128	四倍体朝 6	中国	XI-adm
B129	红矮糯	中国	XI-adm

B130	万利粳	中国	XI-1A
B131	矮仔占	中国	XI-adm
B132	小白米	中国	XI-adm
B133	盐水赤	中国	XI-adm
B134	西什 15	中国	GJ-sbtrp
B135	红粳旱谷	中国	XI-adm
B241	拉木加	中国	GJ-sbtrp
B136	鱼眼糯	中国	GJ-adm
B137	80B	菲律宾	XI-adm
B138	古 154	中国	XI-adm
B242	圭 630	中国	XI-adm
B139	IR 661-1	菲律宾	XI-adm
B140	培 C122	中国	XI-1A
B141	粳 7623	中国	admix
B142	宁恢 21	中国	admix
B143	76--1	中国	GJ-tmp
B144	湖恢 628	中国	GJ-adm
B145	特青选恢	中国	XI-adm
B243	湘恢 91269	中国	cA (Aus)
B146	JWR 221	中国	XI-1B
B147	白壳旱禾	中国	XI-1A
B244	香稻	中国	XI-1A
B245	山酒谷	中国	GJ-sbtrp
B246	老造谷	中国	XI-adm
B148	冷水糯	中国	GJ-adm
B149	毫香	中国	XI-1A

B247	金南特 B	中国	XI-adm
B248	竹珍 B	中国	XI-1A
B249	朝阳一号 B	中国	XI-1A
B150	L 301B	中国	XI-1A
B250	安农晚粳 B	中国	GJ-tmp
B151	金南特 43B	中国	XI-1A
B152	早熟农虎 6	中国	GJ-tmp
B153	青四矮 16B	中国	XI-adm
B252	献改 B	中国	XI-adm
B253	江农早 1 号 B	中国	XI-adm
B254	京虎 B	中国	XI-adm
B154	黎明 B	中国	GJ-tmp
B255	滇瑞 409B	中国	XI-adm
B155	包协-7B	中国	XI-adm
B156	G 珍汕 97B	中国	XI-1A
B157	88B	中国	XI-1A
B258	兴国	中国	GJ-tmp
B259	雷火占	中国	XI-1A
B158	台中 65 号/台中 HR539	中国台湾	admix
B159	台中在来 1 号/台中 65	中国台湾	XI-adm
B260	麻麻谷	中国	XI-1A
B261	梅花糯	中国	XI-1A
B160	水原 300 粒	中国	GJ-tmp
B161	叶里藏花	中国	GJ-tmp
B263	卫国	中国	GJ-tmp
B162	百歌稻	中国	GJ-tmp

B163	六十早	中国	XI-1A
B264	三百粒	中国	XI-1A
B266	毫马克(K)	中国	GJ-sbtrp
B164	清可	中国	cA (Aus)
B165	毫荒腊	中国	XI-adm
B268	南高谷	中国	XI-adm

附表 2 本研究中用于检测耐盐单倍型的 20 个基因列表

Supplementary Table2 The list of 20 genes used in this study to detect salt-tolerant haplotypes

基因符号	基因登录号	编码蛋白质	蛋白质功能
Gene symbol	LOC number	Protein encoding	Protein function
<i>BADH1</i>	LOC_Os07g48950	甜菜碱醛脱氢酶	催化乙醛氧化
<i>NHX1</i>	LOC_Os07g47100	液泡膜 Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	具有 Na ⁺ /H ⁺ 交换(逆向转运)能力, 降低细胞内的 Na ⁺ 含量
<i>NHX2</i>	LOC_Os05g05590	液泡膜 Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	胞质中 Na ⁺ 和 K ⁺ 向液泡区隔化
<i>SNAC1</i>	LOC_Os03g60080	胁迫响应的 NAC 转录因子	上调诸多与胁迫相关基因的表达
<i>P5CS1</i>	LOC_Os05g38150	△1-吡咯啉-5-羧酸合成酶	促进脯氨酸的合成
<i>SIK1</i>	LOC_Os06g03970	Mn ²⁺ 依赖性蛋白激酶	OsSIK1 通过激活抗氧化系统, 并影响叶表皮远轴和近轴的气孔密度, 在水稻耐盐和耐旱过程中起重要作用
<i>SOS1</i>	LOC_Os12g44360	质膜型钠氢交换蛋白	具有 Na ⁺ /H ⁺ 交换(逆向转运)能力, 降低细胞内的 Na ⁺ 含量
<i>HKT4</i>	LOC_Os04g51820	高亲和性钾离子转运蛋白	转运 Na ⁺
<i>SKC1</i>	LOC_Os01g20160	钠离子转运蛋白	通过木质部的卸载把地上部过量的 Na ⁺ 回流到根部, 从而减轻 Na ⁺ 毒害
<i>CBL8</i>	LOC_Os02g18930	类钙调磷酸酶 B 蛋白	OsCBL8-OsCIPK24 蛋白激酶复合体调控位于质膜上的 Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白 OsSOS1, 在盐胁迫下将多余的 Na ⁺ 排出细胞外, 维持细胞内的离子动态平衡, 从而提高植物的耐盐性
<i>HAK5</i>	LOC_Os01g70490	钾转运蛋白基因	HAK 钾转运蛋白家族成员, 对钾离子具有转运活性

<i>OsVPI</i>	LOC_Os06g43660	液泡膜质子转运无机磷酸酶	<i>OsVPI</i> 和 <i>OsNHX1</i> 通过包括渗透调节在内的多种策略, 提高水稻对干旱和盐的耐受性
<i>COIN</i>	LOC_Os01g01420	锌指蛋白	上调了 <i>OsP5CS</i> 的表达, 增加了细胞内脯氨酸含量
<i>SERF1</i>	LOC_Os05g34730	盐应答的 ERF 转录因子	在盐胁迫初始应答阶段放大活性氧激活的 MAPK 级联信号通路, 将盐诱导信号转化为适当的表达应答, 从而产生盐耐性
<i>HKT1</i>	LOC_Os06g48810	高亲和性钠离子转运蛋白	通过调节钠离子稳态和活性氧水平
<i>CPK12</i>	LOC_Os04g47300	钙依赖性蛋白激酶	降低活性氧的积累提高耐盐性
<i>ONAC022</i>	LOC_Os03g04070	NAC 转录因子	调控脱落酸信号传导
<i>HAK21</i>	LOC_Os03g37930	钾离子转运蛋白	促进水稻种子萌发过程中 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, 抑制活性氧在种子中的积累, 从而提高了种子萌发过程中的耐盐特性
<i>MYB48</i>	LOC_Os01g74410	MYB 转录因子	通过调节胁迫诱导的 ABA 合成, 在水稻耐旱性和耐盐性上起着重要作用
<i>AKT1</i>	LOC_Os01g45990	shaker 家族钾离子通道蛋白	受水稻 CBL1-CIPK23 复合体调控。OsCBL1-OsCIPK23 复合体能增强 OsAKT1 介导的钾离子吸收。增加组织中特别是根中的 K^+ 水平, 提高水稻对渗透和干旱胁迫的耐受性