

## 山西谷子萌发期耐盐性鉴定及相关性状 GWAS 分析

秦慧彬<sup>1</sup>, 任颢<sup>2</sup>, 娄坤<sup>2</sup>, 商春悦<sup>2</sup>, 阳世杰<sup>2</sup>, 侯森<sup>1</sup>, 李萌<sup>1</sup>, 王海岗<sup>1</sup>, 穆志新<sup>1</sup><sup>1</sup>山西农业大学农业基因资源研究中心/农业农村部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 太原 030031;<sup>2</sup>山西农业大学农学院, 太谷 030801)

**摘要:** 为研究山西谷子萌发期耐盐性、筛选与谷子耐盐性相关的候选基因, 及了解谷子种子在盐胁迫下萌发相关性状的遗传机制, 本试验共抽取 333 份山西核心种质, 在光照培养室采用 170 mmol/L NaCl 溶液胁迫, 对萌发期谷子进行耐盐性鉴定。采用隶属函数法对谷子耐盐等级进行分类, 以相对发芽势、相对发芽率、相对根长、相对芽长、相对发芽指数 5 个相关性状的综合评价 D 值对谷子萌发期耐盐性进行评价。结合核心种质重测序结果, 开展耐盐性全基因组在萌发期的关联分析。结果表明, 供试谷子核心种质耐盐性差异显著, 利用综合评价 D 值, 把 333 份谷子核心种质的耐盐性划分为五类, 其中高耐盐种质有 17 份。全基因组关联分析共检测到 84 个与萌发期耐盐性相关的单核苷酸多态性 (SNP) 位点, 对显著关联 SNPs 所在基因进行功能注释, 分析筛选到与萌发期相关的耐盐候选基因 *Millet\_GLEAN\_10019153*, 并对该基因进行了单倍型分析。本研究结果对耐盐谷子种质的鉴定及耐盐基因挖掘具有一定参考意义。

**关键词:** 谷子; 核心种质; 萌发期; 耐盐性; GWAS

## Salt Tolerance Identification and GWAS Analysis of Shanxi Foxtail Millet during Germination Stage

QIN Huibin<sup>1</sup>, REN Jin<sup>2</sup>, LOU Kun<sup>2</sup>, SHANG Chunyue<sup>2</sup>, YANG Shijie<sup>2</sup>, HOU Sen<sup>1</sup>, LI Meng<sup>1</sup>,  
WANG Haigang<sup>1</sup>, MU Zhixin<sup>1</sup><sup>1</sup>Center for Agricultural Genetic Resources Research, Shanxi Agricultural University; Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Taiyuan, 030031; <sup>2</sup>College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801)

**Abstract:** In order to study the salt tolerance of Shanxi foxtail millet during germination, to screen candidate genes related to salt tolerance of foxtail millet, and to understand the genetic mechanism of traits related to germination of foxtail millet seeds under salt stress, a total of 333 Shanxi core germplasm was selected for the identification of salt tolerance of foxtail millet during germination. This experiment selected 333 Shanxi core germplasm to study the salt tolerance of Shanxi foxtail millet during the germination stage and to screen for salt-tolerant germplasm materials. A stress of 170 mmol/L NaCl was applied in a light culture room to assess the salt tolerance of the cereals during germination. The subordinate function value method was used to classify the salt tolerance grade of cereals, and the comprehensive evaluation D value of five related traits, namely, relative germination potential, relative germination rate, relative root length, relative shoot length, and relative germination index, was used to evaluate the salt tolerance of cereals at the germination stage. Combined with the results of core germplasm resequencing, the genome-wide association analysis of salt tolerance at germination stage was carried out. The results showed that the salt tolerance of the core germplasm of the test cereals varied significantly, and the salt tolerance of the 333 core germplasm of the cereals was classified into five categories using the comprehensive evaluation D-value, among which there were 17 high salt-tolerant germplasm. Genome-wide association analysis

收稿日期: 2024-04-7 接受日期: 2024-10-10 网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为农作物种质资源保护与利用, E-mail: nkyqhb@163.com

通信作者: 穆志新, 研究方向为农作物种质资源保护与利用, E-mail: muzx2008@sina.com

王海岗, 研究方向为谷子种质资源创制与利用, E-mail: nkywhg@126.com

基金项目: 国家农作物种质资源保护与利用项目 (19230853); 山西省农作物种质资源保护与利用项目 (sxzyk202301); 国家农作物种质资源平台项目 (NCGR-2023-026); 山西省种业创新良种联合攻关 (gzlg-02-03)

Foundation project: National Crop Germplasm Resources Conservation and Utilization Projects (19230853); Shanxi Crop Germplasm Resources Conservation and Utilization Projects (sxzyk202301); National Crop Germplasm Resources Platform Projects (NCGR-2023-026); Seed Industry Innovation and Improved Joint Research of Shanxi Province (gzlg-02-03)

detected a total of 84 single nucleotide polymorphism (SNP) loci associated with salt tolerance during emergence. Functional annotation was performed on the genes where the significantly associated SNPs were located, and the analysis screened for the salt tolerance candidate gene *Millet\_GLEAN\_10019153*, which was associated with emergence, and haplotyped the gene. The results of this study have certain reference significance for the identification of salt-tolerant cereal germplasm and the mining of salt-tolerant genes.

**Key words:** foxtail millet; core germplasm; germination stage; salt tolerance; GWAS

土壤盐碱化是影响全球作物生长、发育和生产力的主要非生物胁迫<sup>[1]</sup>。盐胁迫对植物的各种表型性状、生理机能和生化指标均有不良影响,尤其是在繁殖期,如种子萌发和幼苗生长等阶段<sup>[2,3]</sup>。谷子(*Setaria italica* (L.) P. Beauv.)作为最古老的驯化作物之一,是典型的环境友好型作物,具有抗旱、耐盐、水分利用率高、适应性广、耐恶劣土壤条件、产量稳定性强等特性<sup>[4]</sup>。筛选耐盐性好的谷子品种,为开发适合盐碱地栽培的耐盐种质资源、选育耐盐品种、改良盐碱地和促进农业可持续发展奠定基础<sup>[5]</sup>。谷子相较于玉米、高粱等 C4 作物,它具有简明的基因组(约 420 Mb)、较短的生长周期、适合室内培养和易于遗传转化等特点,因而成为全球关注的可耐逆作物研究对象和禾本科 C4 作物新模式植物,是挖掘耐盐相关基因的理想作物<sup>[6]</sup>。

耐盐性是一个复杂的数量性状,单一性状的测定并不能很好地反映植物的耐盐性。评价植物耐盐性的方法有很多,其中隶属函数法是最常用鉴定方法,即基于权重计算隶属函数值和 D 值<sup>[7]</sup>。隶属函数分析可以整合更多的性状,以筛选和评价不同植物品种的耐盐种质。谷子萌发期以发芽势、发芽率、芽长和根长在盐胁迫与对照条件下的相对值能较好区分不同种质耐盐性差异<sup>[8,9]</sup>。甜高粱萌发期耐盐研究采用发芽势、发芽率、发芽指数、发芽活力指数、根鲜重在盐胁迫与对照条件下的相对值作为综合指标对高粱种质进行了耐盐性评价和筛选<sup>[10]</sup>。

全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)是在群体水平上和基因组层面上对遗传性状进行解析,是通过表型变异与全基因组遗传标记之间关联分析,来识别与特定性状相关的遗传位点<sup>[11]</sup>。GWAS 已经在玉米<sup>[12]</sup>、谷子<sup>[13]</sup>、高粱<sup>[14]</sup>、水稻<sup>[15]</sup>、棉花<sup>[16]</sup>等各种作物上进行了验证和实施,为分子辅助育种做出了积极的贡献。在谷子的 GWAS 研究方面, Li 等<sup>[17]</sup>通过全基因组关联分析对 300 份谷子种质资源的吸水能力进行了研究,并鉴定出两个与饱和吸水相关的候选基因 *Si4g02810* 和 *Si4g02840*。Jaiswal 等<sup>[18]</sup>对 104 份谷子材料 11 种营养物质进行多环境表型评价,并于基因型数据进行 GWAS 分析,得到 67 个高置信度标记位点。Zuo 等<sup>[19]</sup>通过 GWAS 分析确定了谷子籽粒中与黄色素相关的基因组区域,确认 *SiPSYI* 基因是谷子籽粒中黄色素积累的主要基因。然而,利用 GWAS 来鉴定谷子耐盐性相关的 QTL 尚未见报道。

本研究对 333 份山西核心谷子种质资源进行了耐盐性综合评价,确定了以相对发芽势、相对发芽率、相对根长、相对芽长、相对发芽指数作为关键评价指标对萌发期谷子进行耐盐性鉴定评价。将这 5 个关键评价指标与谷子重测序基因组进行全基因组关联分析,为挖掘谷子耐盐基因提供价值指导、为选育盐碱地谷子品种提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料由国家特色杂粮作物种质资源中期库(太原)提供,为来源于山西不同地区的 333 份谷子核

心地方品种（附表 1），能够较好地代表山西谷子地方品种的遗传变异，涵盖了山西谷子地方品种的基本遗传多样性<sup>[20]</sup>。所用材料为试验当年种植，收获后干燥，于 4℃低温库保存。

## 1.2 谷子萌发期耐盐性鉴定

在山西农业大学农业基因资源研究中心恒温发芽室内进行谷子萌发期耐盐性鉴定。挑选发芽率在 90% 上，健康饱满的种子，以双层滤纸为发芽床在经过灭菌处理的 9 cm 培养皿上进行萌发实验。通过预实验，在 NaCl 溶液胁迫浓度为 170 mmol/L 时，谷子发芽表型性状差异较大，故采用 170 mmol/L 作为盐胁迫浓度。实验组每个培养皿加入 7 mL 的 170 mmol/L 灭菌 NaCl 溶液模拟盐胁迫，对照组每个培养皿加入等量无菌蒸馏水。在 25±2℃、70%湿度、昼/夜 16/8 h 条件下进行培养，在第 6 天补充 1 mL 无菌水以弥补蒸发的水分，使滤纸保持湿润，不再额外添加盐分。在不同批次中放入同一品种谷子“红谷”作为内参照物，各处理重复三次，检验不同批次之间试验条件是否一致。

## 1.3 测定指标与方法

以根长至少与种子等长，芽长至少达到种子 1/2 的长度为发芽标准，期间第 2、4、6、8 日定时记录发芽种子数。在培养第 4 天和第 8 天分别统计种子在盐胁迫和对照中的发芽数量，并计算发芽势、发芽率、相对发芽势和相对发芽率。在培养的第 8 天从每个培养皿中随机挑选 10 株发芽的种子，用直尺测量种子在盐胁迫和对照中的根长和芽长，并计算其相对根长和相对芽长。发芽指数按照以下公式进行计算：发芽指数（GI）=G<sub>2</sub>/D<sub>2</sub>+G<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>+G<sub>6</sub>/D<sub>6</sub>+G<sub>8</sub>/D<sub>8</sub>；式中 G<sub>2</sub>、G<sub>4</sub>、G<sub>6</sub>、G<sub>8</sub> 为在发芽的第 2、4、6、8 天的发芽种子数，D<sub>2</sub>、D<sub>4</sub>、D<sub>6</sub>、D<sub>8</sub> 为对应的发芽天数。所有指标的相对值计算方法均为，在盐胁迫下的该指标绝对值与对照条件下该指标的绝对值的比值，以百分比计量。

采用隶属函数法<sup>[21, 22]</sup>对 333 份山西谷子种质资源进行耐盐综合评价，隶属函数值按照参考文献中的方法进行计算，计算公式如下：

$$\mu(X_j)=(X_j-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min}), j=1, 2, 3, \dots, n; \quad \text{公式 (1)}$$

其中 $\mu(X_j)$ 表示第 j 个综合指标在某一份种质中的隶属函数值， $X_j$ 表示在某一份种质第 j 个综合指标值； $X_{\max}$ 和 $X_{\min}$ 分别表示所有品种第 j 个综合指标的最大值和最小值。一个综合指标对应一个隶属函数值 $\mu(X_j)$ ，且 $\mu(X_j)$ 介于 0 到 1 之间。然后，根据各性状的相对重要性，赋予一定的权重。

某一特定品种的权重的计算公式为：

$$W_j=P_j / \sum_{j=1}^n P_j \quad j=1, 2, 3, \dots, n; \quad \text{公式 (2)}$$

其中， $W_j$ 表示第 j 个综合指标的重要程度； $P_j$ 为第 j 个综合指标的相关系数，代表在所有品种中该指标的贡献率。

最后，将各指标的隶属函数值与权重相乘之后的总和，作为评价各品种的综合评价价值（D 值）。

$$D= \sum_{j=1}^n [\mu(X_j) \times W_j] \quad j=1, 2, 3, \dots, n; \quad \text{公式 (3)}$$

其中, D 表示在 NaCl 溶液胁迫下不同品种耐盐能力的综合评价。谷子品种的耐盐能力可以根据各品种的综合评价(D 值)的大小而定。D 值越大, 品种耐盐能力越强, 反之, D 值越小, 品种耐盐能力越弱。

使用 Microsoft Excel 2010 软件进行数据的处理和计算, 利用 Origin 2021 软件相关指标的正态分布图。

#### 1.4 基因组测序和 SNP 基因型的获得

每个品种取倒二叶作为测序样本, 提取 333 份谷子资源的基因组 DNA。由深圳华大生命科学研究院采用 DNBseq™ 高通量测序平台完成所有材料的全基因组重测序。所有测序数据均保存在国家基因库生命大数据平台 (<https://db.cngb.org/cnsa>), 可通过登录项目号 CNP0001848 访问, 本研究中的源数据可根据要求从通讯作者处获得。去除接头及低质量数据, 将 high-quality reads 与谷子参考基因组(*Setaria italica* cv. Zhang gu, version 2.3) 进行比对, 比对数据经重新排序及去除 PCR 重复后, 进行比对统计, 获得群体样品的初始变异数据集。采用 GATK 软件(version 4.1.2.0)进行变异数据集质量过滤, 保留 Bialleles 变异位点。进一步采用 BCFtools 软件 (version 1.9) 进行 DP 深度位点过滤, 保留 SNP 位点缺失率 10%以下, 及 MAF 频率在 5% 以上的 SNP 数据集, 最终获取后续全基因组关联分析的高质量 SNP 位点基因型数据 3160066 个用于关联分析。

#### 1.5 表型性状与全基因组关联分析

选用混合线性模型 MLM (Q+K) 进行关联分析, 利用基因组重测序结果从中开发群体 SNP 标记。将每个表型性状的平均值与重测序基因组进行关联分析, 利用 R 语言中的 CMplot 绘制每个性状的曼哈顿图和 Q-Q 图。根据 Bonferroni 校正法, 阈值设置为  $1/N_e$ ,  $N_e$  为 GEC 软件计算出的有效标记数 774692, 则  $P = -\log_{10}(1/N_e) = 5.89$ , 为消除 Bonferroni 校正过于严格导致的假阴性, 挖掘更多影响芽期耐盐性的候选基因, 结合本研究关联分析结果, 设置当阈值  $-\log_{10}(P) = 5$  时, 判定其与所研究性状显著关联。通过曼哈顿图标注显著关联 SNP 位点, 并将关联分析的效果通过 Q-Q 图展示。

#### 1.6 候选基因预测与单倍型分析

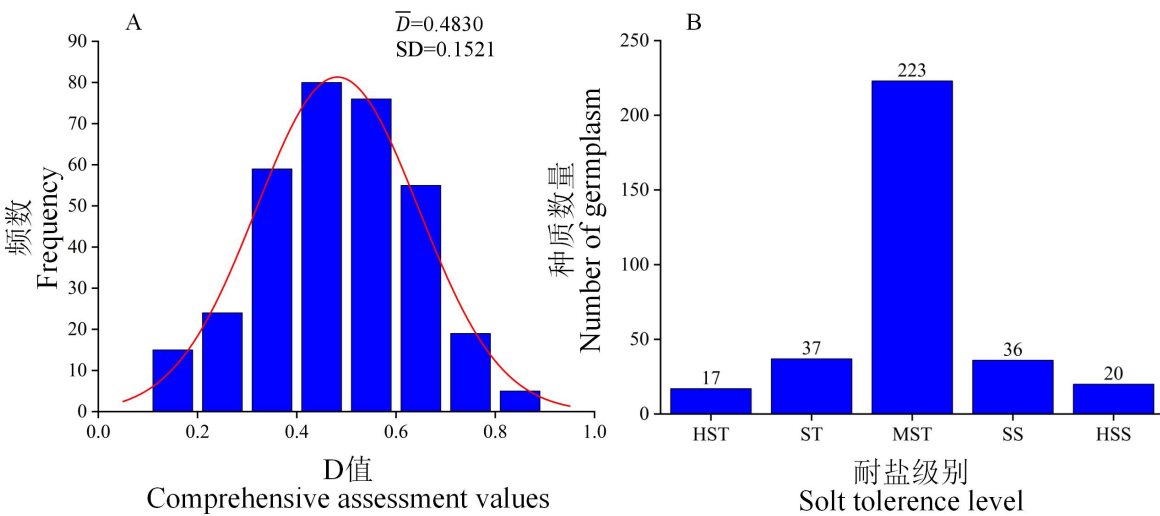
由于该批种质资源的连锁不平衡衰减(LD)距离为 20.3Kb, 因此认为峰值 SNP 附近 20.3Kb 以内的 QTL 为同一个 QTL。将最显著的单核苷酸多态性位点与“张谷”参考基因组 (*Setaria italica* cv. Zhang gu, version 2.3) 进行比对, 以每个 QTL 内最显著 SNP 所在基因或临近基因作为该 QTL 的首要候选基因, 将比较得到的候选基因依次和 InterPro 数据库、Nr (NCBI non-redundant protein) 数据库、KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 数据库、COG (clusters of orthologous groups of proteins) 数据库中的蛋白序列进行比对, 从而获得与候选基因对应的蛋白功能注释及功能分类统计, 预测出与目标性状关联度较高的候选基因。对该候选基因进行单倍型分析, 得到该基因的优势单倍型。

## 2 结果与分析

### 2.1 谷子芽期耐盐性鉴定结果

333 份山西谷子耐盐综合评价的 D 值的频率分布如图 1A 所示, D 值的范围是 0.1238~0.8632。D 值最大的为来自阳泉市的 CC183 青软谷 ( $D=0.8632$ ), 表明其耐盐性最强; D 值最小的为来自运城市的 CC582 爪

爪谷 ( $D=0.1238$ )，表明其耐盐性最弱。根据 5 个耐盐相关性状综合评价  $D$  值分布 (图 1B)， $D$  的平均值 ( $\bar{D}$ ) 和标准差 ( $SD$ ) 对 333 份山西谷子种质耐盐性进行分类，将其耐盐性分为 5 个等级。 $D_i \geq \bar{D}+1.64SD$ ，即  $D \geq 0.7324$  为高度耐盐品种 (HST)，包括 17 个品种； $\bar{D}+1.64SD > D_i \geq \bar{D}+1SD$ ，即  $0.7324 > D \geq 0.6351$  为耐盐品种 (ST)，包括 37 个品种； $\bar{D}+1SD > D_i \geq \bar{D}-1SD$ ，即  $0.6351 > D \geq 0.3309$  为中等耐盐品种 (MST)，包括 223 个品种； $\bar{D}-1SD > D_i \geq \bar{D}-1.64SD$ ，即  $0.3309 > D \geq 0.2336$ ，为盐敏感品种 (SS)，包括 36 个品种； $D_i < \bar{D}-1.64SD$ ，即  $D < 0.2336$  为高度盐敏感品种 (HSS)，包括 20 个品种。不同谷子品种的来源和萌发期耐盐性综合评价  $D$  值详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240407002>，附表 1。



(A)  $D$  值分布情况，(B) 基于  $D$  值的 333 份山西谷子种质耐盐性级别

(A) Distribution of  $D$ -values; (B) Salt tolerance level of 333 Shanxi foxtail millet Germplasm based on  $D$ -values.

注：HST, 高耐盐；ST, 耐盐；MST, 中度耐盐；SS, 盐敏感；HSS, 高度盐敏感。

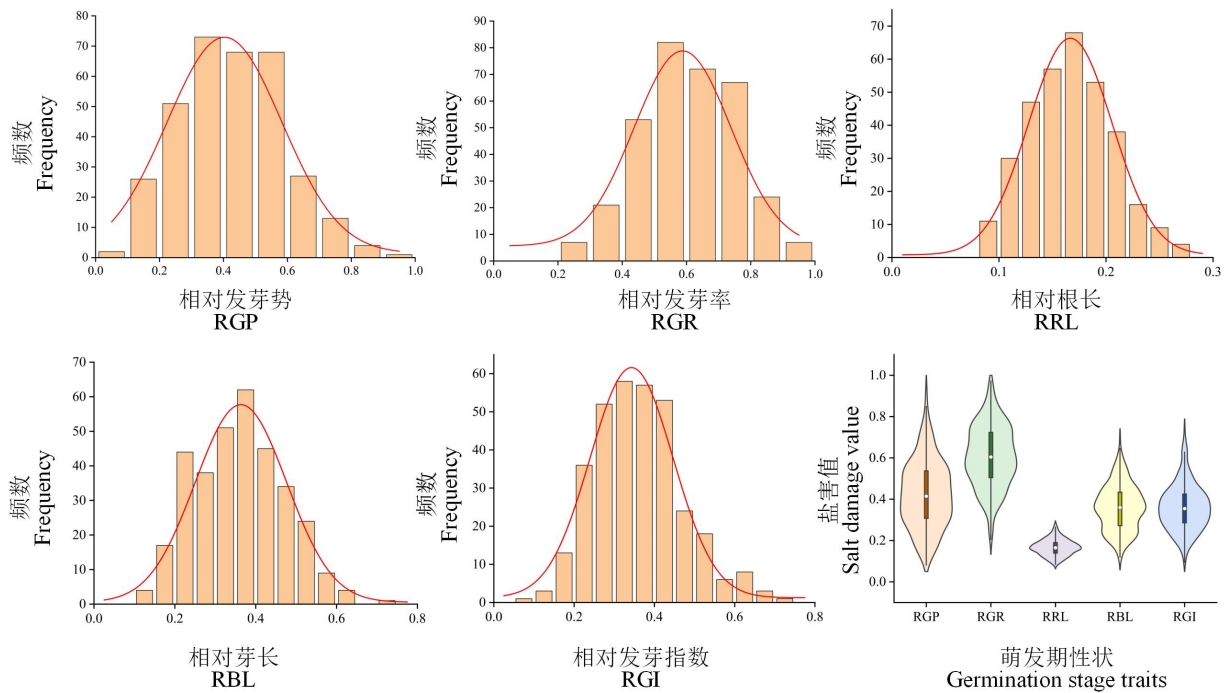
HST, highly salt-tolerant; ST, salt-tolerant; MST, moderately salt-tolerant; SS, salt-sensitive; HSS, highly salt-sensitive

图 1 基于  $D$  值的 333 份山西谷子种质耐盐性分类情况

Fig 1 Salt tolerance classification of 333 Shanxi foxtail millet germplasm based on  $D$ -values

## 2.2 谷子萌发期耐盐表型数据评估

333 份谷子在 170 mmol/L NaCl 溶液胁迫下，共测量和计算得到 5 个耐盐性相关表型的指标，分别为相对发芽势、相对发芽率、相对根长、相对芽长、相对发芽指数。对谷子萌发期的这 5 个表型性状进行描述统计分析，结果如图 2 所示，经过盐处理后的谷子发芽的相关指标表现出较为广泛的表型变异，均呈正态分布，符合数量遗传性状的特征，适于利用 GWAS 分析挖掘相关位点及候选基因。



RGP, 相对发芽势; RGR, 相对发芽率; RRL, 相对根长; RBL, 相对芽长; RGI, 相对发芽指数。

RGP, Relative germination potential; RGR, Relative germination rate; RRL, Relative root length; RBL, Relative bud length; RGI, Relative germination index.

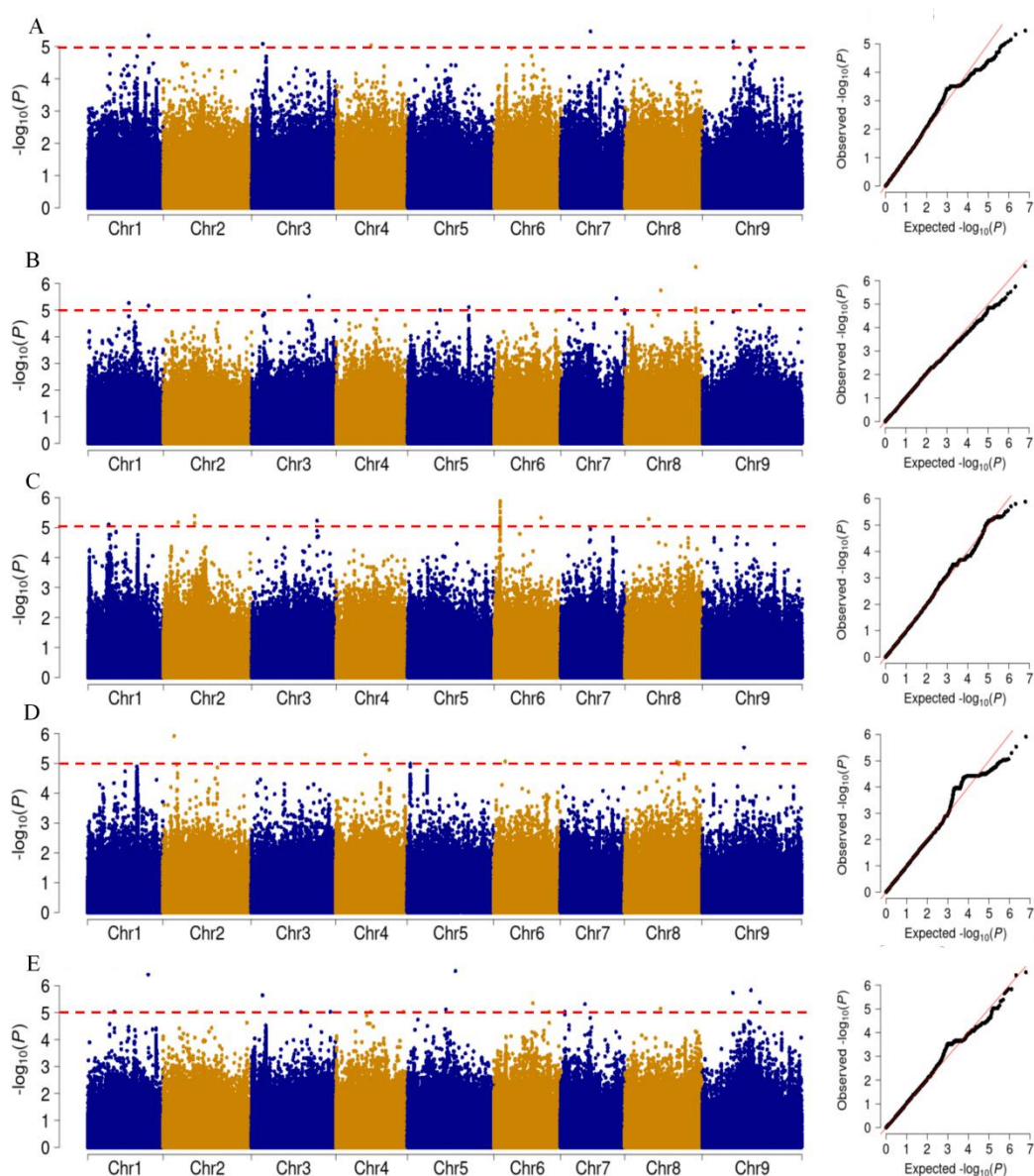
图 2 山西谷子种质耐盐相关性状的分布

Fig 2 Distribution of the salt tolerance traits in the Shanxi foxtail millet variety

### 2.3 谷子萌发期耐盐性状 GWAS 分析

对谷子萌发期耐盐相关性状进行整理后, 结合 333 份谷子基因组重测序数据, 采用单位点混合线性模型 MLM (Q+K), 使用 SVS8.4.0 软件包中 EMMAX 模块进行 GWAS 分析, Q-Q 图显示关联分析所选取的统计模型较为合理。对关联位点的 $-\log_{10}(P)$ 值进行预测, 认定当阈值大于 5 时, 可判断 SNP 位点与耐盐响应相关表型存在显著关联。筛选出的 SNP 位点通过绘制曼哈顿图展示 (图 3)。筛选出与谷子萌发期 5 个性状显著关联的 SNP 位点 84 个, 检测出 5 个与相对发芽势关联的 SNP, 分别位于 1、3、4、7、9 号染色体; 检测出 9 个与相对发芽率关联的 SNP, 其中 2 个位于 1 号染色体、1 个位于 3 号染色体、1 个位于 5 号染色体, 1 个位于 7 号染色体, 3 个位于 8 号染色体, 1 个位于 9 号染色体; 检测出 42 个与相对根长关联的 SNP, 其中有 36 个 SNP 分布在 6 号染色体上; 检测出 7 个与相对芽长关联的 SNP, 分别位于 2、4、6、8、9 号染色体上; 检测出 21 个与相对发芽指数关联的 SNP, 在 1-9 号染色体上均有分布。通过 GWAS 分析结果发明, 5 个谷子萌发期耐盐性相关表型指标都关联到了相应的 SNP 位点, 这 5 个指标可以作为谷子萌发期耐盐性分析的 GWAS 关联分析的指标。5 个耐盐表型性状在每条染色体上的峰值 SNP (Peak SNPs) 如表 1 所示, 其中在染色体上注释到基因区间 SNP 位点 (Intergenic) 有 20 个, 注释到上游区下游区 (Downstream) SNP 位点有 4 个, 内含子 (Intronic) SNP 位点有 4 个、外显子 (Exonic) SNP 位点有 1 个, 拼接区 (Splicing) SNP 位点有 1 个。





注：A 相对发芽势；B 相对发芽率；C 相对根长；D 相对芽长；E 相对发芽指数；红色虚线代表显著阈值 $-\log_{10}(P)=5$

图 3 谷子萌发期 5 个耐盐性状全基因组关联分析的曼哈顿图和 Q-Q 图

Fig 3 Manhattan and Q-Q plots for genome-wide association analyses of five salt tolerance traits in cereal germination

表 1 与谷子耐盐相关性状显著相关的遗传位点(SNPs)分布

Table1 Distribution of genetic loci (SNPs) significantly associated with salt tolerance related traits in foxtail millet

性状	染色体	SNP 数目	显著 SNP 位置	位置	$-\log_{10}(P)$
Traits	Chromosome	SNP number	Peak SNP position	region	
相对发芽势	chr1	1	33820086	downstream	5.34
	chr3	1	6186397	intergenic	5.08
	chr4	1	19582794	intergenic	5.04
	chr7	1	16687788	splicing	5.47
	chr9	1	17264701	intronic	5.15

相对发芽率	chr1	2	33820086	downstream	5.17
	chr3	1	32161954	intergenic	5.52
	chr5	1	34363071	exonic	5.11
	chr7	1	31110581	intergenic	5.44
	chr8	3	39730408	intergenic	5.05
	chr9	1	32409782	downstream	5.18
相对根长	chr1	1	11531491	intergenic	5.10
	chr2	3	17455495	intergenic	5.15
	chr3	1	36730502	intergenic	5.23
	chr6	36	3304736	intergenic	5.01
	chr8	1	13407866	intronic	5.28
相对芽长	chr2	1	6329713	intronic	5.91
	chr4	1	16684507	intergenic	5.30
	chr6	1	6516813	intergenic	5.07
	chr8	3	30641085	intergenic	5.04
	chr9	1	23666846	intergenic	5.54
相对发芽指数	chr1	2	14660900	intergenic	5.03
	chr2	3	19121924	intergenic	5.03
	chr3	3	44183090	intronic	5.03
	chr4	2	37968657	intergenic	5.03
	chr5	2	21517788	intergenic	5.11
	chr6	3	31043463	intergenic	5.03
	chr7	3	13729076	intergenic	5.31
	chr8	1	20083532	intergenic	5.14
	chr9	4	32342111	downstream	5.38

## 2.4 筛选谷子萌发期耐盐候选基因

对表 1 中列出的峰值 SNP 进行深入分析，在每个最显著峰值 SNP 位点上、下游 20.3 kb 区间，搜索和预测可能与谷子萌发期耐盐表型性状相关联的基因，在这些显著性 SNP 位点附近关联到 49 个不同的基因（表 1）。使用 InterPro 数据库、Nr 数据库、KEGG 数据库、COG 数据库中蛋白数据对关联到的基因进行功能注释，研究发现，有 27 个基因没有注释信息（#N/A），有 2 个基因注释信息为未知蛋白，其余 20 个基因均有蛋白功能注释。其中位于 5 号染色体外显子位置的 SNP 与相对发芽率关联得到的基因 *Millet\_GLEAN\_10019153* 编码蛋白激酶超家族蛋白（表 2），该蛋白家族具有蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、蛋白激酶活性、激酶活性、ATP 结合等功能。蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶被多次报道与植物耐盐性相关，因此推测 *Millet\_GLEAN\_10019153* 可能与谷子萌发期耐盐性相关，可作为控制谷子耐盐性的候选基因。

表 2 候选基因功能注释

Table 2 Functional annotation of the candidate gene

性状	染色体	显著 SNP 位置	候选基因名称	功能注释
Traits	Chromosome	Peak SNP position	gene_name	Function annotation



相对发芽势	chr1	33820086	Millet_GLEAN_10019231(dist=53)	#N/A
			Millet_GLEAN_10016827(dist=3049),	#N/A
	chr3	6186397		PEBP (phosphatidylethanolamine-binding
			Millet_GLEAN_10016828(dist=23467)	protein) family protein
	chr4	19582794	Millet_GLEAN_10038426(dist=40428),	cytochrome P450, family 709, subfamily B,
			Millet_GLEAN_10038427(dist=6184)	polypeptide 3
相对发芽率				Putative uncharacterized protein
	chr7	16687788	Millet_GLEAN_10002740(Millet_GLE AN_10002740:exon3:c.142-1G>C)	B6TVW1_MAIZE PIF-like orf1 OS=Zea mays PE=2 SV=1
	chr9	17264701	Millet_GLEAN_10018083	#N/A
	chr1	33820086	Millet_GLEAN_10019231(dist=53)	#N/A
	chr3	32161954	Millet_GLEAN_10024921(dist=32236), Millet_GLEAN_10024922(dist=2139)	#N/A #N/A
	chr5	34363071	Millet_GLEAN_10019153	Protein kinase superfamily protein
相对根长				B6TZ71_MAIZE Glycerol kinase OS=Zea
	chr7	31110581	Millet_GLEAN_10018281(dist=4156), Millet_GLEAN_10018282(dist=1909)	mays PE=2 SV=1 Putative uncharacterized protein
	chr8	39730408	Millet_GLEAN_10007724(dist=25303), Millet_GLEAN_10007723(dist=13863)	Putative uncharacterized protein Copper transport protein family
	chr9	32409782	Millet_GLEAN_10031019(dist=111)	#N/A
	chr1	11531491	Millet_GLEAN_10003594(dist=11645), Millet_GLEAN_10003593(dist=4771)	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
				#N/A
相对芽长	chr2	17455495	Millet_GLEAN_10030516(dist=6157), Millet_GLEAN_10030515(dist=8373)	#N/A RNA binding domain
	chr3	36730502	Millet_GLEAN_10004344(dist=15507), Millet_GLEAN_10004345(dist=10236)	#N/A #N/A
	chr6	3304736	Millet_GLEAN_10006203(dist=4929), Millet_GLEAN_10006204(dist=3890)	fatty acid desaturase A RNA-binding CRS1
	chr8	13407866	Millet_GLEAN_10007652	UB-like protease 1B (ULP1B)
	chr2	6329713	Millet_GLEAN_10008205	#N/A
	chr4	16684507	Millet_GLEAN_10034179(dist=3253), Millet_GLEAN_10034178(dist=48600)	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 34 (TBL34)
相对发芽指 数				#N/A
	chr6	6516813	Millet_GLEAN_10020399(dist=7275), Millet_GLEAN_10020400(dist=7984)	#N/A Coatomer, beta' subunit
	chr8	30641085	Millet_GLEAN_10036050(dist=3633), Millet_GLEAN_10036049(dist=9900)	Plant protein of unknown function (DUF247) #N/A
	chr9	23666846	Millet_GLEAN_10008459(dist=2613), Millet_GLEAN_10008460(dist=13004)	#N/A #N/A
	chr1	14660900	Millet_GLEAN_10028134(dist=37892), Millet_GLEAN_10028133(dist=31780)	F-box/RNI-like superfamily protein #N/A
	chr2	19121924	Millet_GLEAN_10029252(dist=1301), Millet_GLEAN_10029253(dist=5069)	#N/A #N/A

chr3	44183090	Millet_GLEAN_10006642	autoinhibited Ca <sup>2+</sup> -ATPase 1 (ACA1)
chr4	37968657	Millet_GLEAN_10002552(dist=3508),	#N/A
		Millet_GLEAN_10002551(dist=1626)	#N/A
chr5	21517788	Millet_GLEAN_10017579(dist=12713),	#N/A
		Millet_GLEAN_10018128(dist=25902)	#N/A
chr6	31043463	Millet_GLEAN_10022175(dist=8204),	F-box/RNI-like superfamily protein
		Millet_GLEAN_10022174(dist=9621)	F-box family protein
chr7	13729076	Millet_GLEAN_10007263(dist=9393),	#N/A
		Millet_GLEAN_10007262(dist=74698)	S-domain-2 5 (SD2-5)
chr8	20083532	Millet_GLEAN_10029012(dist=1626),	#N/A
		Millet_GLEAN_10029013(dist=8873)	dolichol phosphate-mannose biosynthesis regulatory protein-related
chr9	32342111	Millet_GLEAN_10031012(dist=557)	#N/A

2.5 候选基因的单倍型分析

将候选基因 *Millet\_GLEAN\_10019153* 的基因序列与基因组数据库中序列的编码区段进行比对分析，结果显示，*Millet\_GLEAN\_10019153* 中鉴定出 18 个 SNP（图 4），进一步的单倍型分析结果显示，候选基因 *Millet\_GLEAN\_10019153* 在 333 份谷子群体中存在 4 种单倍型，其中 Hap\_1 为主要单倍型，有 32 个品种；其次是有 18 个品种 of Hap\_2。由于该基因为相对发芽率进行 GWAS 分析所得，进一步分析比较核苷酸多态性与相对发芽率之间的相关性，以确定这些单倍型之间差异性是否显著。Hap\_1 单倍型 32 个品种的相对发芽率平均值为 49.64%，Hap\_2 单倍型 18 个品种的相对发芽率平均值为 64.16%，Hap\_3 单倍型 12 个品种的相对发芽率平均值为 54.23%，使用曼-惠特尼秩和检验（P=0.005）对不同单倍型相对发芽率的差异显著性进行分析，这三种单倍型之间两两差异显著。根据相对发芽率的平均值，得出 Hap\_2 是优异单倍型。

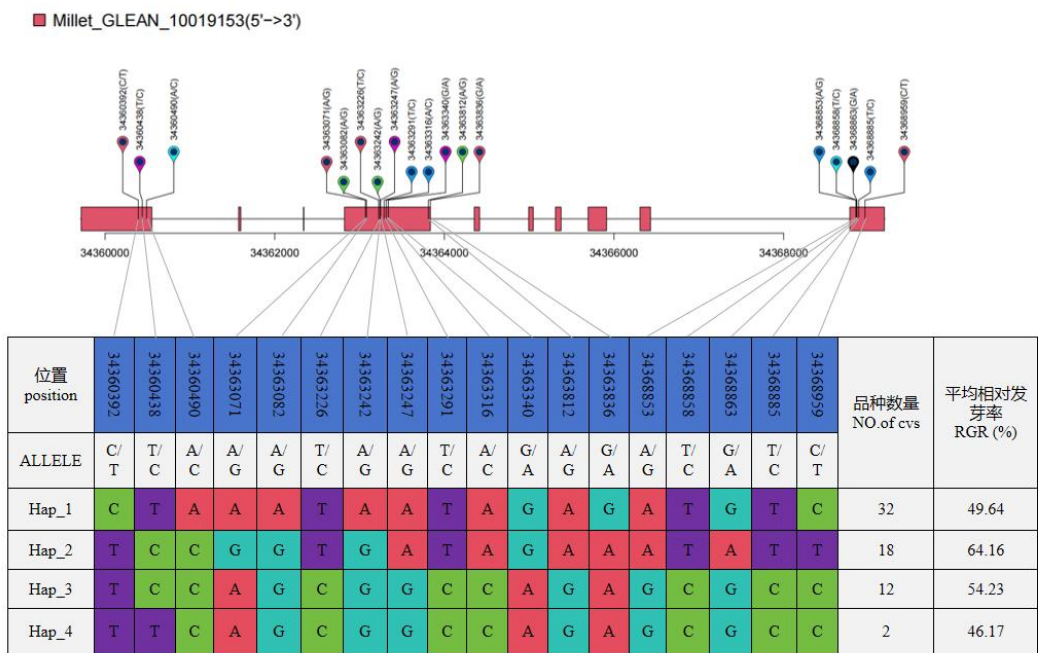


图 4 *Millet\_GLEAN\_10019153* 编码区的核苷酸多态性

Fig 4 Nucleotide diversity within the coding region of *Millet\_GLEAN\_10019153*

### 3 讨论

#### 3.1 谷子萌发期耐盐指标筛选

谷子是研究对各种非生物胁迫耐受性的重要模式作物，然而谷子对盐胁迫相应的研究相对较少，在表型和分子水平上研究谷子对盐胁迫的响应具有重要意义。表型的精准鉴定对研究作物耐盐性至关重要，在萌发期对谷子耐盐性进行鉴定，具有操作简单和测定周期短的优势，适合大批量的耐盐种质的筛选。目前，已有研究者在谷子萌发时期开展了一些耐盐筛选和鉴定的研究，如吕宗环等<sup>[8]</sup>以 108 份谷子为材料，在萌发过程中使用 180 mmol/L NaCl 溶液胁迫处理，对萌发期的相对发芽率、相对发芽势、相对芽长和相对根长进行模糊隶属函数分析，得到 5 份极端耐盐材料。崔兴国等<sup>[23]</sup>以 14 份衡水地区谷子地方品种为材料利用 150 mmol/L NaCl 溶液处理，采用了发芽率、发芽指数及其相对值作为耐盐鉴定的相关指标。本研究是以谷子萌发期的发芽势、发芽率、根长、芽长、发芽指数在盐胁迫和对照条件下的相对值作为耐盐评价指标评价谷子耐盐能力。

#### 3.2 谷子种质资源耐盐性全基因组关联分析

本研究在 170 mmol/L 的 NaCl 溶液浓度下，对 333 份山西核心谷子资源进行盐胁迫处理，发现测定的 5 个与耐盐相关性状（相对发芽势、相对发芽率、相对根长、相对芽长、相对发芽指数）呈正态分布，表明耐盐性状属于多基因控制的数量性状，能够进行全基因组关联分析。GWAS 通过重测序识别高分辨率 SNP，可以一次关联定位多个表型性状，可用于全基因组水平上对复杂数量性状遗传变异的关联分析，目前已经被广泛用于识别作物性状相关的遗传基因<sup>[24]</sup>。如应用于对非生物胁迫的响应<sup>[25-28]</sup>、生物应激<sup>[15]</sup>以及许多其他农艺性状特征<sup>[29, 30]</sup>等。在利用 GWAS 研究植物耐盐性方面，Yu<sup>[27]</sup>等测量了 268 份水稻材料的 8 个耐盐性相关性状，通过 GWAS 研究发现 *OsWRKY53* 是水稻耐盐性的关键调控因子，鉴定到 83 个相关位点，通过基因注释评估他们可能得功能，找到 10 个与水稻耐盐性相关的候选基因，其中 *OsWRKY53* 和 *OsMKK10.2* 是两个新发现的耐盐性候选基因。Zheng 等<sup>[31]</sup>对 149 份陆生棉花苗期耐盐性状进行全基因组关联分析，共检测到 27 个与耐盐性状密切相关的 SNP 标记和 15 个耐盐指数密切相关的 SNP 标记。检测到与植物耐盐性相关的基因 *Gh\_D01G0943*、*Gh\_D01G0945*、*Gh\_A01G0906*、*Gh\_A01G0908*、*Gh\_D08G1308* 和 *Gh\_D08G1309*，它们分别参与细胞内转运、蔗糖合成、渗透压力平衡、跨膜转运、n-糖基化、生长素响应和细胞扩增。Wang 等<sup>[32]</sup>对 150 份地方水稻品种苗期盐相关性状进行测定并进行 GWAS 分析，鉴定出 65 个与耐盐性显著相关的 QTL，通过单倍型分析、qRT-PCR 分析和序列比对，确定了 4 个候选基因 (*LOC\_Os06g47720*、*LOC\_Os06g47820*、*LOC\_Os06g47850*、*LOC\_Os06g47970*) 与水稻耐盐性相关。然而，利用 GWAS 对谷子耐盐 SNP 挖掘方面的研究还非常缺乏<sup>[33]</sup>。

#### 3.3 与谷子萌发期耐盐性有关的候选基因

基于 GWAS 分析绘制的曼哈顿图发现当阈值设为  $-\log_{10}(P)=5$  时，超过阈值部分在所有染色体上均有分布。其中，利用相对发芽率关联到 1 个显著性 SNP 位点，即 Chr.5: 34363071；根据基因注释结果，发现了

1 个与谷子萌发期耐盐相关的基因 *Millet\_GLEAN\_10019153*。根据功能注释信息, *Millet\_GLEAN\_10019153* 编码的是蛋白激酶超家族蛋白, 具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性, 其注释功能与耐盐直接相关。在拟南芥中, SOS1, SOS2 和 SOS3 是调控植物细胞内离子平衡和耐盐能力的重要调控路径, 其中 SOS2 (Salt Overly Sensitive 2) 基因在细胞内  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  平衡必不可少<sup>[34]</sup>, 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 属于 SNF1/AMPK 家族中的一员<sup>[35]</sup>。在近期的谷子耐盐基因研究中, 发现转录因子 *SiDi19-3* 与 *SiPLATZ12* 相互作用, 控制转基因拟南芥和谷子幼苗的耐盐性。*SiDi19-3* 的过表达增加了大多数  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  反转运体 (NHX) 的转录水平, 同时改善了谷子和拟南芥幼苗的耐盐能力, 增加了盐过度敏感(SOS)和钙调素 B 样蛋白(CBL)基因的转录水平<sup>[36]</sup>。迄今为止, 对谷子耐盐胁迫抗性基因的鉴定研究较少。一项近期的研究发现, 谷子中 R2R3-MYB 的转录因子 *SiMYB16* 在水稻中过表达, 显著提高了转基因水稻苗期和田间全生育期的耐盐能力<sup>[37]</sup>。在另一项研究中, 在谷子中发现了一个 RLKs (受体样激酶) *PTII* (Pto-interacting 1) 基因家族。鉴定出的 12 个 *PTII* 基因中, 有一个基因 *SiPTII-5* 在异源宿主酵母和大肠杆菌中过表达, 增强了宿主的盐胁迫耐受性<sup>[38]</sup>。这些研究证明, 谷子盐响应基因可能在主要作物耐盐品种的培育中发挥作用, 亟需开发和鉴定。本研究结果对耐盐谷子种质的鉴定及耐盐基因挖掘具有一定参考意义。

## 参考文献

- [1] Rathinapriya P, Pandian S, Rakkammal K, Balasangeetha M, Alexpandi R, Satish L, Rameshkumar R, Ramesh M, Rathinapriya P. The protective effects of polyamines on salinity stress tolerance in foxtail millet (*Setaria italica* L.), an important C4 model crop. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2020. 26(9): p. 1815-1829.
- [2] 胡凤仪, 侯献飞, 于月华, 贾东海, 刘忠松, 李强, 苗昊翠, 沈金雄, 顾元国. 479 份芥菜型油菜种质资源萌发期耐盐性综合评价. *中国油料作物学报*, 2023. 45(6): 1174-1184.  
HU F Y, HOU X F, YU Y H, JIA D H, LIU Z S, LI Q, MIAO H C. Comprehensive evaluation of salt tolerance of 479 Brassica juncea germplasm resources at germination stage. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2023. 45(6): 1174-1184.
- [3] 刘少华, 朱学伸, 王晗, 闫敏. NaCl 预处理对盐胁迫下水稻种子萌发特性的影响. *东北农业科学*, 2023. 48(5): 12-16.  
LIU S H, ZHU X S, WANG H, YAN M. Effects of NaCl Pretreatments on the Characteristics of Seed Germination of Hybrid Rice under Salt Stress. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2023. 48(5): 12-16.
- [4] Zhang X, Ding Y Q, Yang M, Wei A, Huo D. The role of NaHS pretreatment in improving salt stress resistance in foxtail millet seedlings: physiological and molecular mechanisms. *Plant Signaling & Behavior*, 2023. 18(1), e2276611.
- [5] Panchal A, Singh R K, and Prasad M, Recent advancements and future perspectives of foxtail millet genomics. *Plant Growth Regulation*, 2023. 99(1): 11-23.
- [6] He Q, Tang S, Zhi H, Chen J F, Zhang J, Liang H K, Alam O, Li H B, Zhang H, Xing L H, Li X K, Zhang W, Wang H L, Shi J P, Du H L, Wu H P, Wang L W, Yang P, Xing L, Yan H S, Song Z Q, Liu J R, Wang H G, Tian X, Qiao Z J, Feng G J, Guo R F, Zhu W J, Ren Y M, Hao H B, Li M Z, Zhang A Y, Guo E H, Yan F, Li Q Q, Liu Y L, Tian B H, Zhao X Q, Jia R L, Feng B L, Zhang J W, Wei J H, Lai J S, Jia G Q, Purugganan M, Diao X M. A graph-based genome and pan-genome variation of the model plant *Setaria*. *Nature Genetics*, 2023. 55(7): 1232-1242.
- [7] Li W, Zhang H, Zeng Y, Xiang L, Lei Z, Huang Q, Li T, Shen F, Cheng, Q. A Salt Tolerance Evaluation Method for Sunflower (*Helianthus annuus* L.) at the

Seed Germination Stage. Scientific Reports, 2020. 10(1): 10626.

- [8] 吕宗环, 韩康妮, 杜晓芬, 王智兰, 李禹欣, 连世超, 张林义, 王军, 谷子萌发期耐盐种质鉴定及应用. 植物科学学报, 2024, 42 (01): 75-84.
- Lü Z H, Han K N, Du X F, Wang Z L, Li Y X, Lian S C, Zhang L Y, Wang J. Identification and application of salt-tolerant germplasms at germination stage in foxtail millet (*Setaria italica* L.). Plant Science Journal.2024, 42(1): 75-84.
- [9] 韩飞, 诸葛玉平, 姜燕宏, 王会, 张乃丹, 何伟, 晁赢, 63 份谷子种质的耐盐综合评价及耐盐品种筛选. 植物遗传资源学报, 2018, 19(4): 685-693.
- Han F, Zhuhe Y P, Lou Y H, Wang H, Zhang N D, He W, Chao Y. Evaluation of salt tolerance and screening for salt tolerant accessions of 63 foxtail millet germplasm. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19 (4): 685-693.
- [10] Ding, T L, Yang Z, Wei X C, Yuan F, Yin S S, Wang B S, Evaluation of salt-tolerant germplasm and screening of the salt-tolerance traits of sweet sorghum in the germination stage. Functional Plant Biology, 2018. 45(10): 1073-1081.
- [11] 赵宇慧, 李秀秀, 陈倬, 鲁宏伟, 刘羽诚, 张志方, 梁承志, 生物信息学分析方法 I: 全基因组关联分析概述, 植物学报, 2020, 55(6): 715-732.
- Zhao Y H, Li X X, Chen Z, Lu H W, Liu Y C, Zhang Z F, Liang C Z. An Overview of Genome-wide Association Studies in Plants, Chinese Bulletin of Botany, 2020, 55(6): 715-732.
- [12] 王锐璞, 董振营, 高悦欣, 鲍建喜, 殷芳冰, 李金萍, 龙艳, 万向元, 玉米籽粒淀粉含量全基因组关联分析和候选基因预测, 作物学报, 2023, 49(1): 140-152.
- Wang R P, Dong Z Y, Gao Y X, Bao J X, Ying F B, Li J P, Long Y, Wan X Y. Genome-wide association study and candidate gene prediction of kernel starch content in maize, ACTA Agronomica Sinica,, 2023, 49(1): 140-152.
- [13] Lata C, Mishra A K, Muthamilarasan M, Bonthala V S, Khan Y, Prasad M, Genome-Wide Investigation and Expression Profiling of AP2/ERF Transcription Factor Superfamily in Foxtail Millet (*Setaria italica* L.). PLoS ONE, 2014. 9(11) e113092.
- [14] Ma S Q, Lv L, Meng C, Zhou C, Fu J, Shen X L, Zhang C S, Li Y Q. Genome-Wide Analysis of Absciscic Acid Biosynthesis, Catabolism, and Signaling in Sorghum Bicolor under Saline-Alkali Stress. Biomolecules, 2019. 9, 823.
- [15] Singh L, Pruthi R, Chapagain S, Subudhi P K. Genome-Wide Association Study Identified Candidate Genes for Alkalinity Tolerance in Rice. Plants , 2023. 12, 2206.
- [16] Zhu G Z, Gao W W, Song X H, Sun F L, Hou S, Liu N, Huang Y J, Zhang D Y, Ni Z Y, Chen Q J, Guo W Z. Genome-wide association reveals genetic variation of lint yield components under salty field conditions in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). BMC Plant Biology, 2020. 20, 23.
- [17] Li X K, Li Y J, Xi R Y, Hu M M, Han Y H, Gao J H, Wang X C. GWAS identifies candidate genes affecting water absorption in foxtail millet seeds. Plant Growth Regulation, 2024. 102(3): 545-553.
- [18] Jaiswal V, Bandyopadhyay T, Singh R K, Gahlaut V, Muthamilarasan M, Prasad M. Multi-environment GWAS identifies genomic regions underlying grain nutrient traits in foxtail millet (*Setaria italica*). Plant Cell Reports, 2024. 43, 6.
- [19] Zuo R J, Zhang Y Y, Yang Y B, Wang C F, Zhi H, Zhang L L, Tang S, Guan Y N, Li S G, Cheng R H, Shang Z L, Jia G Q, Diao X M. Haplotype variation and KASP markers for SIPSY1 - A key gene controlling yellow kernel pigmentation in foxtail millet. Crop Journal, 2023. 11(6): 1902-1911.
- [20] 王海岗, 温琪汾, 乔治军, 穆志新. 山西谷子地方品种初选核心种质构建. 农学学报, 2019. 9(4): 26-31.
- [21] Zhang H L, Yuan C, Mao G L, Gao X, Zhu L, Xu X. Evaluation of Saline-alkali and drought tolerance in maize varieties. Bangladesh Journal of Botany, 2019. 48(4): 1047-1063.
- [22] 陈二影, 秦岭, 杨延兵, 黎飞飞, 王润丰, 张华文, 王海莲, 刘宾, 孔清华, 管延安. 生产条件下谷子品种盐碱耐性的差异及综合评价. 中国农业科

学, 2019. 52(22): 4050-4065.

Chen Er Y, Qin L, Yang Y B, Li F F, Wang R F, Zhang H W, Wang H L, Liu B, Kong Q H, Guan Y An. Variation and Comprehensive Evaluation of Salt and Alkali tolerance of different Foxtail millet cultivars under production conditions. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019. 52(22): 4050-4065.

[23] 崔兴国, 时丽冉. 衡水地区 14 份夏谷品种种子萌发期耐盐性研究. *作物杂志*, 2011. 4(21): 117-119.

Cui X G, Shi L R. Evaluation of salt tolerance of 14 Foxtail Millet summer varieties in Hengshui. *Crops*, 2011. 4(21): 117-119.

[24] Xing G F, Jin M S, Qu R F, Zhang J W, Han Y H, Han Y Q, Wang X C, Li X K, Ma F F, Zhao X W. Genome-wide investigation of histone acetyltransferase gene family and its responses to biotic and abiotic stress in foxtail millet (*Setaria italica* [L.] P. Beauv). *BMC Plant Biology*, 2022. 22: 292.

[25] 逢洪波, 程露, 于茗兰, 陈强, 李玥莹, 吴隆坤, 王泽, 潘孝武, 郑晓明. 栽培稻芽期耐低温全基因组关联分析. *中国农业科学*, 2022. 55(21): 4091-4103.

Pang H B, Cheng L, Yu M L, Chen Q, Li Y Y, Wu L K, Wang Z, Pan X W, Zheng X M. Genome-Wide Association Study of Cold Tolerance at the Germination Stage of Rice. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022. 55(21): 4091-4103.

[26] Zhang X M, Zhong J W, Cao Liang, Ren C Y, Yu G B, Gu Y H, Ruan J W, Zhao S Q, Wang L, Ru H H, Cheng L L, Wang Q, Zhang Y X. Genome-wide characterization of aldehyde dehydrogenase gene family members in groundnut (*Arachis hypogaea*) and the analysis under saline-alkali stress. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1097001.

[27] 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. *Nature Communications*, 2023. 14: 3550.

[28] Yang Y L, Cheng J J, Han H R, Sun R, Li Y J, Zhang Y K, Han Y H, Zhang H, Li X K. Genome-wide identification of the HKT transcription factor family and their response to salt stress in foxtail millet (*Setaria italica*). *Plant Growth Regulation*, 2023. 99(1): 113-123.

[29] 殷芳冰, 李雅楠, 鲍建喜, 马雅杰, 秦文萱, 王锐璞, 龙艳, 李金萍, 董振营, 万向元. 玉米雌穗产量相关性状全基因组关联分析与候选基因鉴定. *作物学报*, 2023, 49(2): 377-391.

Yin F B, Li Y N, Bao J X, Ma Y J, Qin W X, Wang R P, Long Y, Li J P, Dong Z Y, Wan X Y. Genome-wide association study and candidate genes predication of yield related ear traits in maize. *ACTA Agronomica Sinica*, 2023, 49(2): 377-391.

[30] 朱双兵, 吕文恺, 何丽萍, 邢丹英, 杨隆维, 邱先进, 徐建龙. 全基因组关联分析解析水稻剑叶及单株产量的遗传基础. *植物遗传资源学报*, 2020. 21(3): 663-673.

Zhu S B, Lv W K, He L P, Xing D Y, Yang L W, Qiu X J, Xu J L. Genetic dissection of flag leaf related traits and grain yield per plant using Genome-wide Association Analysis. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020. 21(3): 663-673.

[31] Zheng J Y, Zhang Z L, Gong Z L, Liang Y J, Sang Z W, Xu Y C, Li X Y, Wang J D. Genome-Wide Association Analysis of Salt-Tolerant Traits in Terrestrial Cotton at Seedling Stage. *Plants*, 2022. 11, 97.

[32] Wang X L, Li J Q, Li Y T, Ma D R, Sun J, Gu S, Zhao M H, Wang J B, Chen W F. Mining Beneficial Genes for Salt Tolerance From a Core Collection of Rice Landraces at the Seedling Stage Through Genome-Wide Association Mapping. *Frontiers in Plant Science*, 2022. 13: 847863.

[33] Wu C A, Zhang M, Liang Y F, Zhang L, Diao X M. Salt stress responses in foxtail millet: Physiological and molecular regulation. *The Crop Journal* (2023), doi: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2023.06.001>

[34] Liu J P, Lshitani M, Halfter U, Kim C S, Zhu J K. The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000. 97(7): 3730-3734.

- [35] Halfter U, Ishitani M, Zhu J K. The Arabidopsis *SOS2* protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium-binding protein SOS3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000. 97(7): 3735-3740.
- [36] Xiao S H, Wan Y M, Guo S M, Fan J Y, Lin Q, Zheng C C, Wu C X. Transcription Factor SiDi19-3 Enhances Salt Tolerance of Foxtail Millet and Arabidopsis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. 24, 2592.
- [37] Yu Y, Guo D D, Min D H, Cao T, Ning L, Jiang Q Y, Sun X J, Zhang H, Tang W S, Gao S Q, Zhou Y B, Xu Z S, Chen J, Ma Y Z, Chen M, Zhang X H. Foxtail millet MYB-like transcription factor *SiMYB16* confers salt tolerance in transgenic rice by regulating phenylpropane pathway. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023. 195: 310-321.
- [38] Huangfu Y G, Pan J, Li Z, Wang Q G, Mastouri F, Li Y, Yang S, Liu M, Dai S J, Liu W (2021) Genome-wide identification of PTI1 family in *Setaria italica* and salinity-responsive functional analysis of *SiPTI1-5*. *BMC Plant Biology*, 21: 1-17.



Supplementary Table1 333 accessions of foxtail millet germplasm

cc 编号	种质名称	来源市	D 值	耐盐级别	cc 编号	种质名称	来源市	D 值	耐盐级别
Code	Accession neme	Origin (City)	D-value	Level	Code	Accession neme	Origin (City)	D-value	Level
CC001	紫谷	大同市	0.1540	HSS	CC061	石榴粘谷	忻州市	0.5198	MST
CC002	黄碱谷	大同市	0.4071	MST	CC062	球沙硬谷	吕梁市	0.6329	MST
CC003	小黄谷	大同市	0.5480	MST	CC063	宁武谷	吕梁市	0.7576	HST
CC004	黄钱串	大同市	0.6645	ST	CC064	一拳三	晋中市	0.4173	MST
CC005	压塌车	大同市	0.2135	HSS	CC065	金黄谷	晋中市	0.4353	MST
CC007	天障白	大同市	0.1702	HSS	CC067	各谷	晋中市	0.5752	MST
CC009	白油沙	大同市	0.4190	MST	CC068	小孟县谷	晋中市	0.5876	MST
CC012	白露黄	大同市	0.5047	MST	CC069	小凉谷	晋中市	0.3873	MST
CC013	寿阳黄	朔州市	0.3836	MST	CC070	腰谷	晋中市	0.5622	MST
CC018	皮袄白	大同市	0.3164	SS	CC071	铁鞭杆谷	阳泉市	0.4088	MST
CC022	红腿谷	大同市	0.6338	MST	CC072	丫丫贴黄	晋中市	0.6352	ST
CC023	二玉皇	大同市	0.2896	SS	CC073	牛毛黄	阳泉市	0.6063	MST
CC025	大玉皇	大同市	0.4576	MST	CC074	平遥谷	吕梁市	0.5275	MST
CC027	小毛谷	大同市	0.5265	MST	CC075	代州谷	吕梁市	0.4464	MST
CC028	黑大青谷	大同市	0.5379	MST	CC076	六月黄	晋中市	0.5690	MST
CC029	霸王鞭	大同市	0.4833	MST	CC077	知州谷	吕梁市	0.4310	MST
CC030	老少谷	大同市	0.4388	MST	CC078	母老鼠	阳泉市	0.2896	SS
CC031	竹叶青	大同市	0.4608	MST	CC079	小谷子	晋中市	0.6747	ST
CC032	大红黄谷	大同市	0.6405	ST	CC080	红草谷	太原市	0.6677	ST
CC033	白苗籽谷	大同市	0.4678	MST	CC084	玉皇谷	吕梁市	0.4536	MST
CC034	油沙白	大同市	0.3815	MST	CC085	触地黄	晋中市	0.5081	MST
CC035	油沙白	大同市	0.5995	MST	CC086	二黄谷	吕梁市	0.5321	MST
CC036	刀把齐	大同市	0.4460	MST	CC087	大黄谷	晋中市	0.3254	SS
CC037	小白谷	大同市	0.7228	ST	CC088	大黄谷	吕梁市	0.4267	MST
CC039	龙爪谷	大同市	0.4546	MST	CC089	小黄毛谷	晋中市	0.5141	MST
CC044	狼尾巴粘谷	大同市	0.3091	SS	CC090	三根齐毛谷	晋中市	0.5414	MST
CC047	大金股	忻州市	0.4202	MST	CC091	炸油谷	晋中市	0.3295	SS
CC048	齐头黄	忻州市	0.4485	MST	CC092	孟县谷	晋中市	0.3415	MST
CC049	红芍药	忻州市	0.5196	MST	CC095	铁牛谷	晋中市	0.3049	SS
CC050	铁卜罗	忻州市	0.7382	HST	CC096	三杆旗	晋中市	0.6690	ST
CC051	一把见	忻州市	0.5065	MST	CC097	猪屎谷	晋中市	0.3810	MST
CC052	六棱谷	忻州市	0.6041	MST	CC098	猪屎谷	晋中市	0.2889	SS
CC053	女儿胖	忻州市	0.3080	SS	CC099	娥阳谷	吕梁市	0.6631	ST
CC054	朝谷	忻州市	0.3922	MST	CC100	绳绳谷	晋中市	0.5015	MST
CC055	称锤红	忻州市	0.3528	MST	CC102	二虎尾	太原市	0.6707	ST
CC056	小红谷	忻州市	0.3220	SS	CC103	八一一谷	吕梁市	0.3211	SS
CC057	朝谷	忻州市	0.3514	MST	CC104	大对着谷	吕梁市	0.5247	MST
CC058	称锤红	忻州市	0.5214	MST	CC105	铁巴其	晋中市	0.3625	MST
CC059	黄软谷	忻州市	0.7374	HST	CC106	小白谷	晋中市	0.8249	HST
CC060	大白软谷	忻州市	0.6089	MST	CC107	竹叶青 2	晋中市	0.5851	MST
CC108	东风亮	太原市	0.4102	MST	CC158	九根支	晋中市	0.6161	MST

CC109	黑谷子	吕梁市	0.2753	SS	CC159	圪了腰	晋中市	0.5751	MST
CC110	蛇儿谷	晋中市	0.6019	MST	CC160	铁乔谷	晋中市	0.5054	MST
CC111	红苗二白谷	晋中市	0.6501	ST	CC161	豆花谷	太原市	0.2233	HSS
CC113	小黄谷	晋中市	0.3551	MST	CC162	尖穗白谷	晋中市	0.4903	MST
CC114	小红谷	吕梁市	0.6198	MST	CC163	三变脸	晋中市	0.6750	ST
CC115	白支安青	晋中市	0.3423	MST	CC164	大青谷	晋中市	0.5528	MST
CC116	大羊角	吕梁市	0.6780	ST	CC167	三杆旗	晋中市	0.6278	MST
CC117	大黄谷	晋中市	0.3803	MST	CC168	小临秋变	吕梁市	0.8188	HST
CC118	毛尖谷	太原市	0.4675	MST	CC169	大黄谷	晋中市	0.5427	MST
CC119	毛黄谷	晋中市	0.3756	MST	CC171	软谷	晋中市	0.6976	ST
CC121	铁鞭谷	晋中市	0.2992	SS	CC172	三变化	太原市	0.6352	ST
CC122	太一	太原市	0.6254	MST	CC173	石榴谷	太原市	0.5720	MST
CC123	红安老	晋中市	0.4867	MST	CC175	狗尾巴软谷	吕梁市	0.4905	MST
CC124	铁牛吼	阳泉市	0.1503	HSS	CC176	佛手谷	吕梁市	0.5453	MST
CC125	压塌车	晋中市	0.4594	MST	CC177	狗肠软谷	晋中市	0.4798	MST
CC126	水白造	晋中市	0.3900	MST	CC180	猪咀谷	阳泉市	0.4601	MST
CC129	白流沙	晋中市	0.6966	ST	CC181	虎尾巴	晋中市	0.4498	MST
CC130	白流沙	吕梁市	0.4550	MST	CC182	老百年	晋中市	0.7689	HST
CC131	饿死牛	晋中市	0.6456	ST	CC183	青软谷	阳泉市	0.8632	HST
CC132	翟老婆 1	晋中市	0.6977	ST	CC184	猪汉肠软谷	吕梁市	0.2496	SS
CC134	一窝蛇	阳泉市	0.6571	ST	CC185	白狗爪软谷	吕梁市	0.2526	SS
CC136	伏谷子	晋中市	0.7625	HST	CC186	海鸭腿	吕梁市	0.3965	MST
CC137	白苗黄谷	晋中市	0.6210	MST	CC187	马兵红	吕梁市	0.6314	MST
CC138	红苗白谷	晋中市	0.3103	SS	CC188	白流沙	吕梁市	0.5977	MST
CC139	紫根白	晋中市	0.7639	HST	CC189	七月黄	吕梁市	0.5813	MST
CC140	砖灰谷	晋中市	0.3199	SS	CC190	点眼	吕梁市	0.4716	MST
CC141	紫杆谷	晋中市	0.4466	MST	CC192	白地黄	吕梁市	0.7253	ST
CC142	四脂红	晋中市	0.3546	MST	CC193	红杆线谷	吕梁市	0.6003	MST
CC145	牛蹄黄	晋中市	0.6243	MST	CC194	称锤白谷	吕梁市	0.3175	SS
CC146	九根支	吕梁市	0.1413	HSS	CC195	大黄谷	吕梁市	0.5711	MST
CC147	猪屎软谷	吕梁市	0.6838	ST	CC196	打锣锤	吕梁市	0.6308	MST
CC148	大白谷	晋中市	0.6402	ST	CC197	小谷子	吕梁市	0.7648	HST
CC150	白谷	晋中市	0.6152	MST	CC198	珠沙软谷	吕梁市	0.5039	MST
CC151	白流沙	太原市	0.8151	HST	CC199	红小谷	吕梁市	0.7366	HST
CC152	小白流沙	晋中市	0.4195	MST	CC200	晋汾 13 号	吕梁市	0.6339	MST
CC153	穗谷子	晋中市	0.1685	HSS	CC201	晋谷 6 号	吕梁市	0.5722	MST
CC154	马美角	晋中市	0.2127	HSS	CC202	向阳谷	吕梁市	0.4699	MST
CC155	中对则	吕梁市	0.3163	SS	CC203	伏尽糙	长治市	0.5616	MST
CC156	紫根料交石	吕梁市	0.4701	MST	CC205	白杆谷	晋城市	0.2952	SS
CC157	大黄毛谷	晋中市	0.5732	MST	CC206	黄谷	晋城市	0.3322	MST
CC207	三变黄	长治市	0.5588	MST	CC269	三变化	大同市	0.5110	MST
CC208	六十日黄	长治市	0.3735	MST	CC270	进军曲	大同市	0.5987	MST
CC209	双挂印	长治市	0.3149	SS	CC279	三变化	大同市	0.3316	MST
CC210	圪垛棒	晋城市	0.4425	MST	CC280	大凉谷	大同市	0.4112	MST

CC211	麦种长	长治市	0.5833	MST	CC288	触坡黄	大同市	0.4519	MST
CC212	媳妇糙	长治市	0.4259	MST	CC289	山东红	大同市	0.3430	MST
CC213	八一黄	长治市	0.2608	SS	CC291	金兰玉	大同市	0.2780	SS
CC214	白毛糙	长治市	0.4821	MST	CC292	兔嘴粘谷	大同市	0.5418	MST
CC215	河南糙	长治市	0.2886	SS	CC309	五寨谷	忻州市	0.4362	MST
CC216	河南糙	长治市	0.4418	MST	CC315	毛软谷	阳泉市	0.5484	MST
CC221	老一条红	长治市	0.3774	MST	CC316	白苗粘谷	阳泉市	0.3924	MST
CC222	糙黄谷	长治市	0.6434	ST	CC317	红石榴	阳泉市	0.5656	MST
CC223	老来变	长治市	0.4306	MST	CC319	临秋变	阳泉市	0.4520	MST
CC224	紫杆黄	长治市	0.5820	MST	CC320	赛头红	阳泉市	0.5042	MST
CC225	长象白	长治市	0.7700	HST	CC322	狼尾巴	阳泉市	0.2779	SS
CC226	香色谷	晋城市	0.4188	MST	CC325	牛毛黄	太原市	0.4530	MST
CC227	红苗毛谷	长治市	0.4444	MST	CC326	石榴谷	太原市	0.1661	HSS
CC228	紫杆黄	长治市	0.6366	ST	CC335	红流沙	太原市	0.5958	MST
CC229	猫蹄谷	长治市	0.3043	SS	CC336	软谷	太原市	0.4416	MST
CC230	紫杆黄毛谷	长治市	0.5384	MST	CC337	寸寸谷	太原市	0.3809	MST
CC231	红花钻	长治市	0.4927	MST	CC341	东黄谷	晋中市	0.4209	MST
CC232	八一黄	长治市	0.2353	SS	CC343	四指红	晋中市	0.3096	SS
CC233	小红谷	长治市	0.2630	SS	CC345	黄毛谷	晋中市	0.5179	MST
CC234	软黑谷	长治市	0.5329	MST	CC354	石榴榴	晋中市	0.7708	HST
CC235	小白米谷	长治市	0.4360	MST	CC355	红小围谷	晋中市	0.4709	MST
CC236	红软谷	长治市	0.5862	MST	CC356	红苗青谷	晋中市	0.4371	MST
CC237	大白谷	长治市	0.5966	MST	CC357	沁州黄	晋中市	0.3770	MST
CC238	白母鸡咀	长治市	0.1722	HSS	CC360	紫根白	晋中市	0.2676	SS
CC239	病数谷	晋中市	0.7242	ST	CC363	黑皮谷	晋中市	0.4145	MST
CC240	青谷	长治市	0.6237	MST	CC364	小红粘	晋中市	0.5405	MST
CC241	黄沙谷	长治市	0.4673	MST	CC366	白苗谷	晋中市	0.5630	MST
CC243	小黄谷	长治市	0.5294	MST	CC370	红苗毛谷	晋中市	0.5680	MST
CC244	不断青	晋城市	0.3270	SS	CC374	一丈黄	晋中市	0.5811	MST
CC245	三变丑	长治市	0.2684	SS	CC376	母鸡嘴	晋中市	0.1971	HSS
CC246	白爪谷	长治市	0.4491	MST	CC381	竹叶青	晋中市	0.4083	MST
CC250	红种 4 号	长治市	0.6624	ST	CC383	老来白	晋中市	0.7389	HST
CC251	小白谷	长治市	0.5835	MST	CC385	侉谷	晋中市	0.3795	MST
CC252	小红谷	长治市	0.6747	ST	CC387	黄谷	晋中市	0.7128	ST
CC255	一条红	长治市	0.3330	MST	CC388	猫蹄谷	晋中市	0.4034	MST
CC256	小黄谷	大同市	0.3867	MST	CC391	糙谷	晋中市	0.3465	MST
CC261	大黑谷	大同市	0.4811	MST	CC394	马天向	晋中市	0.4674	MST
CC395	三变黄	晋中市	0.3741	MST	CC500	圪垛凹	临汾市	0.7194	ST
CC396	长枪谷	晋中市	0.6567	ST	CC502	灰谷	临汾市	0.6714	ST
CC397	白母鸡	晋中市	0.4600	MST	CC503	红酒谷	临汾市	0.3605	MST
CC400	谷子	晋中市	0.4751	MST	CC504	红黄谷	临汾市	0.3975	MST
CC402	软谷	晋中市	0.5756	MST	CC505	青米谷	临汾市	0.6094	MST
CC403	软谷秃穗	晋中市	0.5256	MST	CC507	一层黄	临汾市	0.4115	MST
CC404	晋谷 21 号	吕梁市	0.5130	MST	CC510	红杆毛谷	临汾市	0.5175	MST

CC405	高灯谷	晋中市	0.3629	MST	CC513	毛塔谷	临汾市	0.5791	MST
CC407	小白谷	晋中市	0.4818	MST	CC515	小洋谷	临汾市	0.4103	MST
CC410	小黄谷	晋中市	0.6697	ST	CC519	佛手软谷	临汾市	0.4931	MST
CC413	驴缰绳	晋中市	0.4657	MST	CC520	小红谷	临汾市	0.6734	ST
CC415	朝鲜金谷	晋中市	0.4468	MST	CC522	酒谷	临汾市	0.5935	MST
CC419	小拖地连	晋中市	0.6280	MST	CC523	猪粪谷	临汾市	0.3391	MST
CC421	毛毛谷	晋中市	0.4831	MST	CC524	大头毛谷	临汾市	0.3857	MST
CC425	红腿谷	晋中市	0.4695	MST	CC526	小红谷	临汾市	0.2960	SS
CC426	红腿山东谷	晋中市	0.5841	MST	CC533	高杆黄	运城市	0.5881	HSS
CC427	红腿山东谷	晋中市	0.2951	SS	CC535	黄谷	运城市	0.1771	MST
CC428	青谷	晋中市	0.4354	MST	CC536	黄软谷	运城市	0.5099	HSS
CC435	露米黄	晋中市	0.4279	MST	CC537	红杆谷	运城市	0.1739	MST
CC436	大白谷	晋中市	0.5314	MST	CC538	马缰绳	运城市	0.5554	HSS
CC437	爪爪谷	晋中市	0.4135	MST	CC540	六十天小谷	运城市	0.1737	MST
CC444	高杆白毛谷	晋中市	0.4985	MST	CC542	黄单子谷	大同市	0.3570	MST
CC445	黄爪爪软谷	晋中市	0.3907	MST	CC543	小白谷	大同市	0.4944	MST
CC447	楞底湾	晋中市	0.5022	MST	CC549	大同黄	晋中市	0.4716	MST
CC448	露米黄	晋中市	0.6052	MST	CC551	朱砂红谷	晋中市	0.6223	HST
CC451	白母鸡	晋中市	0.4010	MST	CC554	红谷	吕梁市	0.8061	HSS
CC463	九杆旗	吕梁市	0.4477	MST	CC563	88-56	长治市	0.1318	HSS
CC464	老福手红软谷	吕梁市	0.7293	ST	CC568	黑选 1 号	太原市	0.1957	SS
CC466	红软谷	长治市	0.5524	MST	CC569	6017	太原市	0.3207	MST
CC469	小红谷	长治市	0.5497	MST	CC570	鉴 23	吕梁市	0.5532	HSS
CC475	紫杆良	长治市	0.6198	MST	CC571	鉴 37	吕梁市	0.2171	SS
CC477	山东黄谷	长治市	0.5916	MST	CC572	鉴 38 号	吕梁市	0.2687	MST
CC479	南脑谷	长治市	0.3746	MST	CC575	软软谷	运城市	0.4775	MST
CC481	白流沙谷	长治市	0.7216	ST	CC576	谷子	运城市	0.6146	HST
CC482	红周谷	长治市	0.5275	MST	CC577	红谷子	忻州市	0.7478	MST
CC483	小白谷	长治市	0.5099	MST	CC578	老白谷	运城市	0.3370	HSS
CC485	羊毛糙	长治市	0.3798	MST	CC580	谷子	运城市	0.1367	HSS
CC491	九根青谷	晋城市	0.5112	MST	CC582	爪爪谷	运城市	0.1238	HSS
CC495	红杆谷	临汾市	0.4104	MST	CC583	油绿谷子	大同市	0.2159	ST
CC497	青谷	临汾市	0.6572	ST	CC585	红谷	大同市	0.6641	ST
CC499	五叉软谷	临汾市	0.6035	MST	CC588	谷子	大同市	0.3665	MST
CC605	红珠沙	吕梁市	0.4479	MST	CC621	红软谷	忻州市	0.5410	MST
CC607	朱砂红	忻州市	0.6972	ST	CC622	六寸谷	忻州市	0.4103	MST
CC611	阳谷 1 号	忻州市	0.3885	MST	CC623	齐头谷	忻州市	0.3464	MST
CC619	白草谷	忻州市	0.5581	MST					