

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.23055

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[J]. 植物科学学报, 2024, 42 (1): 75-84
Lü ZH, Han KN, Du XF, Wang ZL, Li YX, Lian SC, Zhang LY, Wang J. Identification and application of salt-tolerant germplasms at germination stage in foxtail millet (*Setaria italica* L.) [J]. *Plant Science Journal*, 2024, 42 (1): 75-84

谷子萌发期耐盐种质鉴定及应用

吕宗环[#], 韩康妮[#], 杜晓芬, 王智兰, 李禹欣, 连世超, 张林义, 王军^{*}

(山西农业大学谷子研究所, 山西省后稷实验室, 山西长治 046011)

摘要: 本研究利用不同浓度 NaCl 溶液对 10 份谷子 (*Setaria italica* L.) 种质进行处理, 通过分析其萌发期的相对发芽势、相对发芽率、相对芽长以及相对根长等 4 项指标, 明确了适于谷子萌发期耐盐性鉴定的 NaCl 浓度为 180 mmol/L。在该浓度下, 利用主成分分析和聚类分析等方法, 对 180 份种质资源进行了耐盐性综合评价和等级划分。结果显示, 除相对发芽率和相对芽长之间相关性不显著以外, 其余指标之间均呈极显著正相关; 主成分分析结果表明, 这 4 项指标可作为谷子耐盐性评价的重要指标; 聚类分析结果将 180 份谷子种质分为极端耐盐、耐盐、盐敏感和极端盐敏感 4 类; 进一步采用隶属函数进行综合评价, 筛选到碛谷、衡谷 12、齐头白、K-3606 和晋谷 20 等 5 份极端耐盐种质材料。最后, 在该浓度处理下, 对黑枝谷×长农 35 号 (极端盐敏感×耐盐) F₇ 代重组近交系遗传群体进行了初步分析, 发现 40 份株系耐盐性等级频率分布近似正态分布, 表明该群体适宜耐盐 QTL 挖掘。研究结果说明, 在 180 mmol/L NaCl 处理下, 通过谷子萌发期相对发芽势、相对发芽率、相对芽长和相对根长等 4 个指标能较好地地区分不同种质耐盐性的差异。

关键词: 谷子; 盐胁迫; 萌发期; 综合评价

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837 (2024) 01-0075-10

Identification and application of salt-tolerant germplasms at germination stage in foxtail millet (*Setaria italica* L.)

Lü Zonghuan[#], Han Kangni[#], Du Xiaofen, Wang Zhilan, Li Yuxin, Lian Shichao, Zhang Linyi, Wang Jun^{*}

(Hou Ji Laboratory in Shanxi Province, Millet Research Institute, Shanxi Agricultural University, Changzhi, Shanxi 046011, China)

Abstract: In this study, 10 foxtail millet (*Setaria italica* L.) germplasm accessions were treated with varying concentrations of NaCl solution. By analyzing four indexes, including the relative germination potential, relative germination rate, relative shoot length, and relative root length during germination stage, we established that the suitable NaCl concentration for the identification of salt tolerance during germination in foxtail millet was 180 mmol/L. To evaluate the salt-tolerance of 180 core germplasms during the germination stage, correlation analysis and principal component analysis were employed to calculate the aforementioned four traits under 180 mmol/L NaCl treatment. Comprehensive evaluation and salt-tolerant grade of the 180 germplasms were identified by membership functional analysis and cluster analysis. Results revealed that except for the non-significant correlation between relative germination rate and relative shoot length, all other indexes showed a highly significant positive correlation. Furthermore, principal component analysis suggested that the

收稿日期: 2023-02-21, 接受日期: 2023-04-07。

基金项目: 杂粮种质资源创新与分子育种国家实验室 (筹) 项目 (202204010910001-14); 山西省现代农业产业技术体系谷子体系项目 (GZTX202202); 国家重点研发计划子课题项目 (2018YFD1000706-14); 山西农业大学 (山西省农业科学院) 农业科技创新工程项目 (YGC2019FZ3)。

作者简介: 吕宗环 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向为谷子分子育种 (E-mail: 1959634928@qq.com); 韩康妮 (1993-), 女, 研究实习员, 硕士, 研究方向为谷子基因组学 (E-mail: 243350080@qq.com)。

[#] 共同第一作者。

^{*} 通信作者 (Author for correspondence. E-mail: 128wan@163.com)。

four indexes could be considered as key indices for assessing salt tolerance. Cluster analysis revealed that the 180 germplasms could be divided into four groups: highly salt tolerant, salt tolerant, salt sensitive, and extremely salt sensitive. Jiangu, Henggu 12, Qitoubai, K-3606, and Jingu 20 were identified as extremely salt tolerant accessions through comprehensive evaluation using membership function. In addition, under 180 mmol/L NaCl stress, 40 lines from the F_7 generation recombinant inbred line (RIL) of Heizhigu (extremely salt-sensitive) × Changnong 35 (salt-tolerant) were analyzed. Results showed significant variation among the 40 lines, with their frequency distribution of salt tolerance grades approximating normal distribution, indicating that this population was suitable for salt-tolerant QTL mapping. These findings demonstrated that 180 mmol/L NaCl could be used for the identification of salt-tolerant foxtail millet germplasms during the germination stage and that at this concentration, salt tolerance differences among various germplasms can be better distinguished by four indexes: relative germination potential, relative germination rate, relative shoot length, and relative root length.

Key words: *Setaria italica*; Salt stress; Germination stage; Comprehensive evaluation

土壤盐渍化是植物面临的主要非生物胁迫之一, 严重影响了农作物的地理分布和产量, 是长期困扰全球农业发展的难题。我国盐渍化土地分布广泛, 总面积位居世界第三, 约 3 600 万 hm^2 , 耕地中盐渍化面积达到 920.9 万 hm^2 , 约占全国耕地面积的 6.62%^[1-3]。近年来, 由于耕作方式落后、灌溉措施不当^[4, 5], 再加上全球气候变暖、极端天气增多和人口增加等原因^[6], 全球范围内盐碱地面积逐年增加, 严重威胁到全球粮食安全。因此, 加强耐盐种质资源挖掘与利用成为保障国家粮食安全、提高战略储备竞争力的重要途径之一。

耐盐种质资源的鉴定是耐盐育种中需要解决的首要问题, 也是进一步开展耐盐机制研究的前提。近年来, 国内外在水稻 (*Oryza sativa* L.)、小麦 (*Triticum aestivum* L.)、玉米 (*Zea mays* L.)、绿豆 (*Vigna radiata* L.) 等不同作物耐盐性方面开展了大量研究, 鉴定出许多耐盐种质^[7-10]。谷子 (*Setaria italica* L.) 须根粗壮、根系发达、吸水能力较强、叶形狭窄、水分蒸腾量较少, 其耐盐碱性高于水稻、玉米、小麦等作物^[11-13]。但是, 谷子耐盐种质资源鉴定方面研究还很不充分。韩飞等^[14]以 1.0% (约 171 mmol/L) 的 NaCl 溶液对 63 份谷子种质资源进行萌发期耐盐性鉴定, 利用相关性分析、主成分分析、隶属函数分析和聚类分析等方法进行综合评价, 发现发芽率、发芽指数、相对根长、相对芽长可以作为谷子耐盐性评价关键指标, 并筛选出济谷 16、汾特 11 号、峰红谷、晋谷 57、晋汾 106 号等 5 份耐盐谷子种

质。秦岭等^[15]采用类似分析方法, 用 1.5% (约 256 mmol/L) 的 NaCl 溶液对不同生态区的 54 份谷子种质进行萌发期耐盐性鉴定, 筛选出 4 个高度耐盐种质, 分别是济谷 16、矮 88、陇谷 3 号和延谷 13。张笛^[16]以 150 mmol/L NaCl 对 100 份谷子种质资源进行了萌发期的盐胁迫处理, 通过综合评价和等级划分, 最终筛选出晋育红谷、公矮 6 号、红钙谷和晋谷 29 等 4 个综合耐盐能力强的种质。

本研究利用不同浓度的 NaCl 溶液对 10 份谷子种质进行盐胁迫处理, 采用培养皿发芽实验, 分析了谷子萌发期相对发芽势、相对发芽率、相对芽长以及相对根长等 4 个指标, 明确了谷子萌发期耐盐性鉴定的最适盐浓度为 180 mmol/L。利用该浓度 NaCl 溶液, 对不同栽培区收集的 180 份种质资源进行耐盐性鉴定, 通过隶属函数分析和主成分分析等综合评价谷子耐盐性, 此外, 对一个重组自交系 (Recombinant inbred lines, RIL) 群体后代进行了耐盐性评价, 研究结果旨在为谷子耐盐 QTL (Quantitative trait locus) 或基因的挖掘与耐盐机制解析奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

10 份谷子种质用于萌发期耐盐种质适宜浓度筛选 (表 1); 180 份核心种质用于耐盐性种质资源鉴定, 包括: 育成种 63 份、农家种 115 份、突变材料 2 份 (附表 1¹⁾); 40 个株系 (来自黑枝

1) 如需查阅附表内容请登录《植物科学学报》网站 (<http://www.plantscience.cn>) 查看本期文章。

表 1 10 份供试种质材料及来源
Table 1 Name and source of 10 germplasms

编号 Code	名称 Name	来源 Origin
1	长农 35 号	山西
2	六月鲜	河北
3	龙辐	黑龙江
4	毛毛谷	河北
5	小乌谷	河北
6	金棒子	甘肃
7	茶清谷	河北
8	小红谷	甘肃
9	菠菜腿	内蒙古
10	郑 448	河南

谷（极端盐敏感）×长农 35 号（耐盐）RIL 群体）用于后裔材料耐盐性分析。本实验谷子种质材料均为山西农业大学谷子研究所保存资源。

1.2 耐盐性鉴定

种子处理：用分析天平称取谷子成熟种子 1.5 g，自来水浸泡 3 min，倒掉漂浮种子，将剩余种子置于滤纸上，室内自然晾干。用 75% 酒精处理自然晾干的种子 30 s，采用 5% NaClO 浸泡 20 min，再用无菌蒸馏水清洗 3 次，最后用无菌滤纸将种子表面水分吸干。

实验设置：在直径为 9 cm 的玻璃培养皿中放置双层滤纸，滤纸中间夹带 4 层灭菌纸巾，以确保滤纸在实验过程中始终保持湿润。在处理好的培养皿中，分别加入不同浓度的 NaCl 溶液，分别为 0（CK，无菌蒸馏水）、50、100、120、150、160、170、180、200 mmol/L^[14,17,18]，每个实验设置 3 次重复。进一步挑选籽粒饱满、大小一致的种子各 50 粒分别置于上述培养皿中，保持种子高度的一半浸在 NaCl 溶液中。最后，将上述处理好的种子放置于植物组织培养室中，于 28 ℃、黑暗条件（表面覆盖遮光性强的黑布）下，培养 2 d，第 3 天取掉黑布，使其在 28 ℃、14 h 光照/10 h 黑暗条件下，继续培养 5 d。每隔 1 d 补充适量蒸馏水，以保持培养皿中的盐溶液浓度。

数据采集：以根、芽长度均超过种子直径一半为发芽标准，从第 2 天开始每日记录种子发芽数，第 4 天发芽数用于计算发芽势。第 8 天发芽数计算发芽率，从每个培养皿中随机选取 5 粒萌发的种子，用直尺分别测量其芽长、根长。以相对发芽势 RGP（Relative germination potential）、相对发芽率 RGR（Relative germination rate）、

相对芽长 RCL（Relative coleoptile length）和相对根长 RRR（Relative radical root length），这 4 个指标作为耐盐性鉴定的性状指标，计算公式如下：
发芽势（%）= 第 4 天发芽数/供试种子粒数×100；
发芽率（%）= 第 8 天发芽数/供试种子粒数×100；
相对发芽势（%）= 处理发芽势/对照发芽势×100；
相对发芽率（%）= 处理发芽率/对照发芽率×100；
相对根长（%）= 处理根长/对照根长×100；
相对芽长（%）= 处理芽长/对照芽长×100。

1.3 数据处理

采用 Excel 2010 软件对数据进行统计，采用 SPSS 22.0 软件进行主成分分析、隶属函数、建立载荷矩阵等，采用 LSD 法进行显著性检验，采用隶属函数法进行耐盐性综合评价，计算各指标^[19,20]。使用 GraphPad Prism 8.0 软件绘制柱状图，利用 R 4.2.2 软件的 corrplot 包进行相关性分析，graphics 包绘制直方图以及 ggtree 包做聚类分析。

隶属函数值：

$$\mu(X_i) = \frac{X_i - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}}, i = 1, 2, \dots, n \quad (1)$$

权重：

$$\omega_i = P_i / \sum_{i=1}^n P_i, i = 1, 2, \dots, n \quad (2)$$

综合耐盐指数：

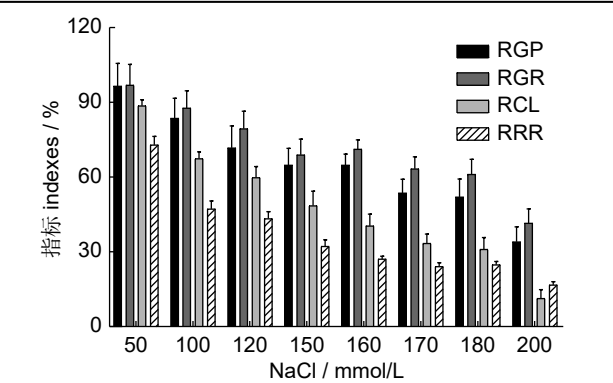
$$D = \sum_{i=1}^n \left[\mu(X_i) \times \left\{ P_i / \sum_{i=1}^n P_i \right\} \right], i = 1, 2, \dots, n \quad (3)$$

公式（1）中，计算每一个材料各综合指标的隶属函数值， X_i 表示第*i*个综合指标的测定值； X_{\min} 、 X_{\max} 分别表示第*i*个综合指标的最小值和最大值。公式（2）计算综合指标的权重， P_i 代表各材料第*i*个综合指标的贡献率。公式（3）计算各材料的耐盐性综合评价值 D 。

2 结果与分析

2.1 适宜盐浓度筛选

为了筛选适宜谷子萌发期耐盐性研究的 NaCl 处理浓度，本研究采用 9 个不同浓度的 NaCl 溶液处理种子，分析了 10 份谷子种质的相对发芽势、相对发芽率、相对芽长及相对根长等 4 个指标。结果表明，随着 NaCl 浓度升高，4 个指标值整体均呈下降趋势（图 1），所有指标性状变异系数几乎均在 10% 以上（表 2），表明 10 份谷子种质在



RGP: 相对发芽势; RGR: 相对发芽率; RCL: 相对芽长; RRR: 相对根长。下同。
RGP: Relative germination potential; RGR: Relative germination rate; RCL: Relative coleoptile length; RRR: Relative radical root length. Same below.

图 1 不同浓度 NaCl 处理下的 4 个指标分析
Fig. 1 Analysis of four indexes under different NaCl treatments

盐胁迫下存在变异。

随着 NaCl 浓度的升高, 相对发芽势和相对发芽率整体表现抑制作用, 并逐渐增强。NaCl 浓度低于 150 mmol/L 时, 有 8 份材料表现抑制作用, 有 2 份材料表现促进作用; 高于 150 mmol/L 时, 相对发芽势和相对发芽率在 10 份材料中均表现出不同程度抑制作用, 并随着盐浓度升高抑制作用增强; 180 mmol/L 时, 相对发芽势和相对发芽率的变异幅度最大 (10.00%~94.00% 及 12.00%~89.00%), 变异系数相对较高 (49.12%、40.03%); 200 mmol/L 时, 变异系数达最高 (53.70%、41.80%), 但变异幅度明显降低 (10.00%~67.44% 及 6.56%~63.16%)。

在所有 NaCl 浓度处理下, 相对芽长和相对根长都表现出抑制作用, 随着盐浓度升高抑制作用增强。当 NaCl 浓度为 200 mmol/L 时, 相对芽长的变异系数最大 (93.87%), 但相对根长及其变异幅度、相对芽长的变异幅度相对其他浓度处理下较低; 180 mmol/L 时, 相对芽长和相对根长的变异幅度和变异系数都达到较高水平 (分别为 2.00%~55.00%、54.23% 及 13.00%~34.00%、22.74%)。

综上所述, NaCl 浓度为 180 mmol/L 时, 10 份谷子种质的相对发芽势、相对发芽率、相对芽长以及相对根长存在显著差异, 适宜谷子种质耐

表 2 10 份谷子种质在不同盐浓度下的指标分析
Table 2 Analysis of four indexes in 10 germplasms of *Setaria italica* under different NaCl concentrations

指标 Indexes	NaCl 浓度 concentration / mmol/L	性状值 Average± SE / %	变异幅度 Range of variation / %	变异系数 CV / %
RGP	50	96.58±27.64a	58.70~166.67	28.62
	100	83.63±23.98ab	57.50~138.10	28.67
	120	71.79±26.69b	45.00~139.68	37.18
	150	64.88±20.19b	37.59~96.83	31.12
	160	64.88±13.16b	54.00~91.00	20.29
	170	53.63±16.72bc	33.00~87.00	31.17
	180	52.07±25.58b	10.00~94.00	49.12
	200	34.00±18.26c	10.00~67.44	53.70
RGR	50	96.91±25.90a	66.41~155.56	26.72
	100	87.70±21.10ab	54.10~127.78	24.06
	120	79.42±21.00 ab	56.10~134.72	26.51
	150	68.97±19.54b	39.34~101.39	28.34
	160	71.22±11.21b	61.00~96.00	15.74
	170	63.37±14.32b	40.00~90.00	22.60
	180	61.10±24.46b	12.00~89.00	40.03
	200	41.52±17.36c	6.56~63.16	41.80
RCL	50	88.61±8.69a	73.87~101.19	9.81
	100	67.40±9.88b	50.70~81.92	14.66
	120	59.83±13.85b	37.38~82.34	23.15
	150	48.53±18.03c	16.59~68.66	37.15
	160	40.42±14.27cd	14.00~62.00	35.30
	170	33.49±11.18d	12.00~54.00	33.38
	180	31.07±16.85d	2.00~55.00	54.23
	200	11.37±10.67e	0.00~32.15	93.87
RRR	50	72.93±11.22c	59.21~94.54	15.38
	100	47.25±9.43b	31.94~57.26	19.97
	120	43.36±8.07b	28.44~51.31	18.62
	150	32.30±9.63c	18.40~49.43	29.80
	160	27.10±3.77c	23.00~33.00	13.89
	170	24.18±4.41c	18.00~34.00	18.23
	180	24.82±5.65c	13.00~34.00	22.74
	200	16.79±4.06d	9.72~24.99	24.17

注: 指标名缩写同图 1。同一指标同列不同字母表示不同处理间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

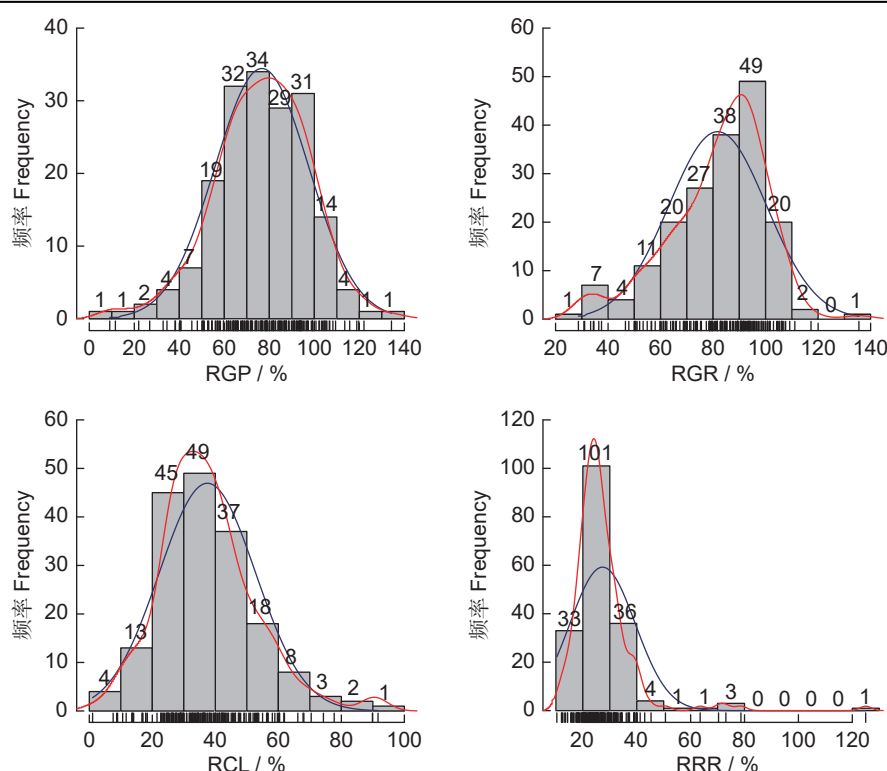
Notes: Abbreviations are the same as those in Fig. 1. Different letters indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).

盐性筛选鉴定。

2.2 180 份谷子种质萌发期各项指标频数分布及相关性分析

采用 180 mmol/L 的 NaCl 溶液对 180 份谷子种质进行处理, 分析了相对发芽势、相对发芽率、相对芽长和相对根长等 4 个指标, 采用直方图表示上述 4 个指标在材料间的频数分布 (附表 2¹⁾、

1) 如需查阅附表内容请登录《植物科学学报》网站 (<http://www.plantscience.cn>) 查看本期文章。



横坐标表示相对值大小，纵坐标表示各组所占频数，图中红线表示密度线，蓝线表示正态分布曲线。

Abscissa represents relative value; Ordinate represents frequency of each group; Red line represents density; Blue line represents normal distribution curve.

图 2 谷子萌发期耐盐性指标频数分布直方图

Fig. 2 Frequency distribution of salt tolerance traits during the germination stage in *Setaria italica*

图 2)。由图 2 可知，4 个指标均广泛分布，相对发芽势和相对发芽率的分布范围分别为 0~140% 和 20%~140%，两个指标主要分布在 60%~100%；相对芽长和相对根长的分布范围分别为 0~100% 和 20%~120%，两个指标主要分布在 20%~50% 和 20%~30%。

采用 SPSS 22.0 软件中双变量相关法，对盐胁迫下谷子萌发期各性状相对值进行相关分析与显著性差异分析。基于 Spearman 相关分析结果可知，180 mmol/L NaCl 处理下，除相对发芽率和相对芽长之间相关性不显著以外，其余性状之间均呈极显著正相关，其中相对发芽势与相对发芽率的相关系数最高 ($r=0.79$)，相对芽长与相对根长的相关系数次之 ($r=0.34$) (图 3)。

2.3 180 份谷子种质萌发期耐盐性综合评价

2.3.1 谷子种质萌发期耐盐性主成分分析

根据主成分提取原则，即特征值大于 1 及累计贡献率大于 75%，选取了前两个主成分，累计

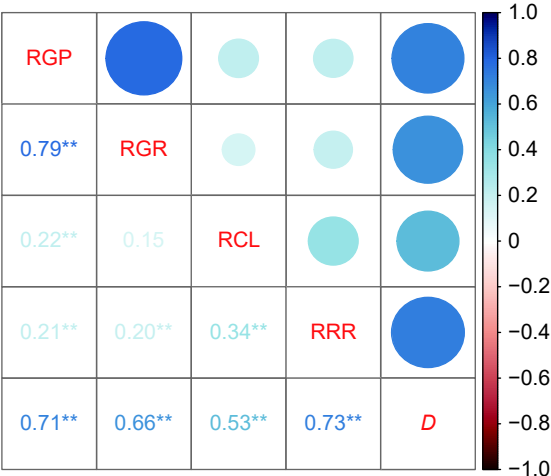
贡献率为 78.827%，可有效反映出绝大部分信息。第 1 主成分的方差贡献率为 51.140%，主要特征向量为相对发芽势和相对发芽率；第 2 主成分方差贡献率为 27.687%，载荷较高的是相对芽长和相对根长 (表 3、表 4)。将 4 个耐盐相关指标，转换为 2 个相互独立的综合指标，用于耐盐性综合评价。

2.3.2 谷子种质萌发期耐盐性综合评价

运用隶属函数法，对 180 份谷子种质进行萌发期耐盐性综合评价。根据公式 (1) 计算得到贡献率 $\mu(X)$ ，根据公式 (2) 计算得到两个综合指标的权重分别为 0.535、0.289，运用公式 (3) 计算谷子的萌发期综合耐盐评价价值 D 值 (附表 3¹⁾)，采用最大距离法，对 180 份种质材料耐盐性进行综合评价和聚类分析。

将 180 份种质按 7 : 3 的比例随机分成回归组和检验组，回归组 126 份材料 4 个性状的耐盐指标值为自变量，耐盐性综合评价价值 D 值为因变量，

1) 如需查阅附表内容请登录《植物科学学报》网站 (<http://www.plantscience.cn>) 查看本期文章。



D: 综合评价价值; **: 表示在 0.01 水平上显著相关。
D: Comprehensive evaluation value; **: Values with different superscript indicate significant different at 1% level.

图 3 NaCl 胁迫条件下谷子萌发期各指标相对值的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis of four indexes during the germination stage under NaCl stress in *Setaria italica*

表 3 NaCl 胁迫下谷子萌发期综合指标的主成分及贡献率
Table 3 Principal component and contribution rates of comprehensive indexes of *Setaria italica* during the germination stage under NaCl stress

主成分 Principal component	特征值 Eigen value	贡献率 Contribution rate / %	累计贡献率 Cumulative contribution rate / %
1	2.046	51.140	51.140
2	1.107	27.687	78.827

表 4 NaCl 胁迫条件下谷子萌发期各指标的因子载荷矩阵
Table 4 Factor loading matrix of four indexes of *Setaria italica* during the germination stage under NaCl stress

指标 Indexes	成分 1 Component 1	成分 2 Component 2
RGP	0.439	-0.293
RGR	0.425	-0.353
RCL	0.260	0.540
RRR	0.218	0.633

注: 指标名缩写同图 1。
Note: Abbreviations are the same as those given in Fig. 1.

进行多元逐步回归分析。建立多元回归分析方程为: $y=0.067+0.005X_1+0.002X_2+0.001X_3$ 。方程中 y 代表耐盐评价价值 D 值, X_1 代表相对根长, X_2 代表相对发芽势, X_3 代表芽长。方程决定系数 $R^2=0.977$, $F=2524.518$, $P<0.01$, 该回归方程对观测数据的真实反映程度为 99%。运用该回归方程计算检验组 54 份材料的耐盐预测值, 与对应 D 值做相关性分析, 显示相关性系数为 0.987, 呈显

著正相关, 表明该回归方程能够很好地预测谷子种质资源的耐盐性。

综合相关性分析结果表明, 各指标隶属函数值和 D 值之间均存在极显著正相关, 其中相对发芽势和相对根长有较大的相关系数 (均大于 0.7) (图 3), 表明相对发芽势和相对根长与 D 值之间存在不少于 70% 的重叠信息, 因此可以认为这两个指标与耐盐性关系最为密切。

聚类分析结果显示, 180 份种质耐盐性可划分为 4 类 (图 4: A、表 5), 第 1 类为极端耐盐种质, 共 5 份, 占供试材料的 2.78%, 分别为硷谷、衡谷 12、齐头白、K-3606 和晋谷 20, 其相对发芽势和相对发芽率较高, 其中晋谷 20 的相对发芽势和相对发芽率均最高, 分别为 134.29% 和 135.53%, 表现出较强促进作用; 第 2 类为耐盐种质, 共 91 份, 占 50.56%; 第 3 类为盐敏感种质, 共 76 份, 占 42.22%; 第 4 类为极端盐敏感种质, 共 8 份, 占 4.44%, 分别为小青谷、黑谷、Red manna、秃头、锤罗、蒙金谷 1 号、山东-4、黑枝谷, 其中小青谷和锤罗相对发芽势和相对发芽率最小, 分别为 9.09%、30.77% 和 11.61%、28.70%, 表现出强烈抑制作用。

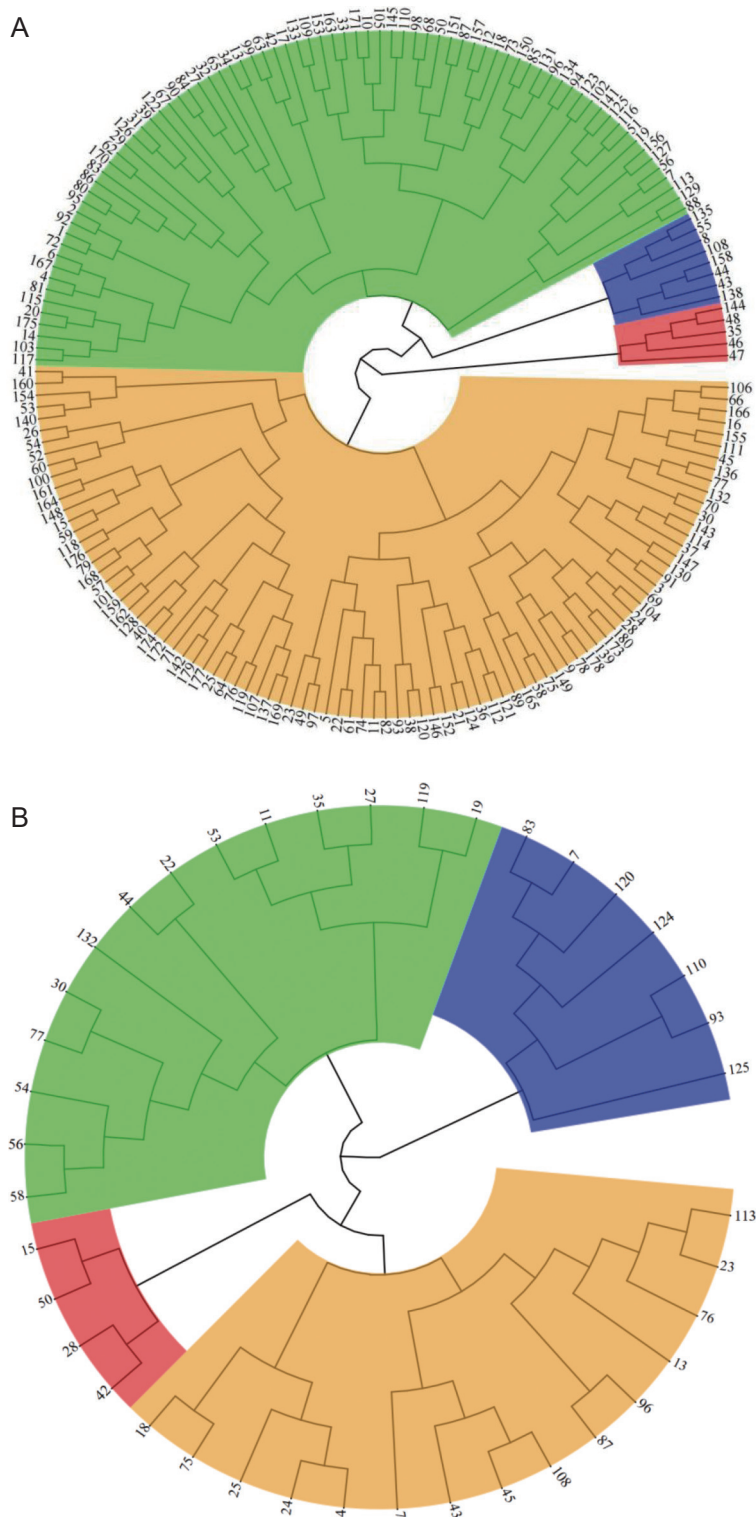
2.4 RIL 群体后代耐盐性分析

为了加强耐盐种质创制和耐盐基因挖掘, 利用以上 180 份谷子种质萌发期耐盐性综合评价中所得到的聚类结果, 结合本实验室现有的遗传群体, 我们选取黑枝谷 (极端盐敏感) × 长农 35 号 (耐盐) RIL 群体 (通过单粒传繁殖到 F_7 代) 40 个株系进行了耐盐性鉴定验证。

运用 R 语言最大距离法进行聚类分析, 可将 40 个株系分为 4 类 (图 4: B), 第 1 类属于极端耐盐株系, 占供试材料的 10%; 第 2 类属于耐盐株系, 占 35%; 第 3 类为盐敏感株系, 占 37.5%; 第 4 类为极端盐敏感株系, 占 17.5%。进一步株系耐盐性频率分布分析发现, 40 个株系相对发芽势、相对发芽率、相对芽长和相对根长表现正态分布 ($P>0.05$) 或近似正态分布 (图 5), 表明各株系之间的耐盐性存在明显差异, 该群体适宜耐盐 QTL 挖掘。

3 讨论

耐盐性鉴定是筛选耐盐种质资源的重要手段。



A: 180 份谷子种质材料；数字代表 180 份谷子种质的编号（附表 3）。B: 遗传群体 40 份株系；数字代表 RIL 群体 40 份种质的编号；红色代表极端耐盐种质；黄色代表耐盐种质；绿色代表盐敏感种质；蓝色代表极端盐敏感种质。

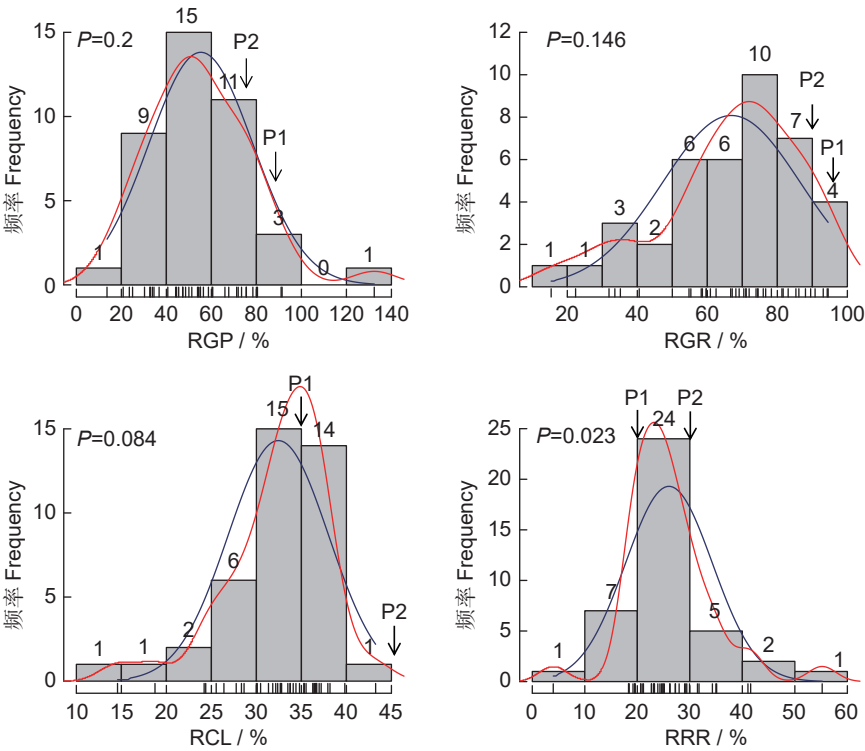
A: 180 germplasm; Numbers represent codes of 180 germplasm (Attached Table 3). B: 40 lines from one genetic population; Numbers represent the code of 40 germplasm from a RIL population. Red represents extremely salt-tolerant accessions; Yellow represents salt-tolerant accessions; green represents salt-sensitive accessions; Blue represents extremely salt-sensitive accessions.

图 4 180 份谷子种质及 40 份遗传群体后代耐盐性的聚类分析

Fig. 4 Cluster of 180 germplasm and 40 lines from one genetic population for salt tolerance

表 5 180 份谷子种质萌发期耐盐分类情况
Table 5 Classification of 180 *Setaria italica* germplasms for salt tolerance during the germination stage

耐盐性 Salt tolerance	综合评价值 D	种质名称 Name
极端耐盐	0.335~0.436	硷谷、衡谷 12、齐头白、K-3606、晋谷 20
耐盐	0.200~0.311	长治 204、济矮秆 6、小黄谷子、晋谷 33、大青苗、小三变、小白谷、长农 35 号等
盐敏感	0.121~0.199	红苗金耙齿、鸭子嘴、显 256B、金香玉、高粱红、黄粘谷、六棱谷、猫屎谷等
极端盐敏感	0.058~0.113	小青谷、黑谷、Red manna、秃头、锤罗、蒙金谷 1 号、山东-4、黑枝谷



指标名缩写同图 1。P1：黑枝谷；P2：长农 35 号。
Annotations are the same as in Fig. 1. P1: Heizhigu. P2: Changnong 35.

图 5 40 个株系耐盐性指标频数分布直方图
Fig. 5 Frequency distribution of salt tolerance indexes of 40 lines

谷子不同生育阶段盐敏感性不同，耐盐性鉴定所采用的鉴定指标也有一定差异。种子萌发期作为植株生长发育的初始阶段，其耐盐性能直接决定植物的出苗率和成苗力^[21, 22]，发芽率、发芽势、根长和芽长的相对值及盐害率是谷子有效的耐盐性鉴定指标^[14, 15, 17, 18, 23-27]。此外，也有学者对谷子苗期和全生育期的耐盐性进行了鉴定，认为株高和相对盐害率可作为苗期的鉴定指标^[17, 28]，穗重、单穗粒重、干物质重、地上部含水量则是全生育期的耐盐性鉴定指标^[18]。综合考虑，本研究选用萌发期的相对发芽势、相对发芽率、相对根长、相对芽长等作为谷子耐盐性的鉴定指标。

合适的筛选浓度能够使各指标在材料间的变异系数和变异幅度最大。前人研究中，谷子 NaCl 处理

浓度主要有 150 mmol/L^[17, 18]、200 mmol/L^[17]、1.5%（约 256 mmol/L）^[29]、1.0%（约 171 mmol/L）^[14]等。此外，也有学者利用混合盐碱胁迫方法，所鉴定到的盐浓度相比单一 NaCl 较低^[30, 31]。本实验在 150~200 mmol/L 设置了更为精细的浓度梯度，明确 180 mmol/L NaCl 是谷子萌发期耐盐筛选的最适浓度。

作物耐盐性是一个非常复杂的数量性状，单一指标无法准确评价其耐盐性。在耐盐性评价过程中，为减少各指标间代表信息的交叉或重叠，又考虑到综合指标重要性的差异，通常选用综合评价的方法来鉴定耐盐性状，在水稻、小麦、玉米、绿豆、谷子等不同作物中均有报道，并以此鉴定出大量耐盐种质^[7-10, 14-16, 32]。本研究选用相对

发芽势、相对发芽率、相对芽长和相对根长等 4 个指标, 利用主成分分析、综合相关性分析、聚类分析和多元线性回归方程等进行耐盐指标筛选。主成分分析结果表明相对发芽势、相对发芽率、相对芽长和相对根长可以作为评价谷子萌发期耐盐性的重要指标, 采用综合相关性分析, 发现相对发芽势和相对根长可以作为耐盐评价的首选指标, 通过多元回归方程分析发现相对根长、相对发芽势、相对芽长为耐盐筛选的密切指标。综上, 我们认为相对发芽势和相对根长是体现谷子耐盐性的最重要指标, 这与小麦中的研究结果类似^[33]。

本研究选用综合评价的方法, 在 180 mmol/L NaCl 胁迫下, 从 180 份谷子种质中筛选到 5 份极端耐盐种质及 8 份极端盐敏感种质。结合前人研究结果, 发现几乎无相同种质的重复鉴定。考虑到一方面, 研究中所用材料多少以及统计指标有一定差异; 另一方面所选材料中农家种、自育品种所占比重不同, 也会造成一定影响。因此, 本研究认为在谷子萌发期耐盐性鉴定方面, 要特别重视材料选择和分析指标的代表性。

随着功能基因组学和分子生物学技术的发展, 在不同作物中, 学者们利用不同的遗传群体定位了很多耐盐 QTL。迄今, 已检测到农作物耐盐相关 QTL 近 1 000 个, 其中 22% 的 QTL 表型贡献率大于 20%^[34], 已精细定位或图位克隆耐盐相关 QTL 主要有水稻第 1 染色体上的 *Salto1* 和 *qSKC-1*^[35, 36], 而谷子尚无耐盐性相关 QTL 的报道。本研究中, 我们在 180 份谷子种质资源耐盐性鉴定基础上, 结合本实验室现有遗传群体, 对黑枝谷 (极端盐敏感) × 长农 35 号 (耐盐) RIL 群体部分株系进行了耐盐性分析, 证实该群体后代株系间耐盐性存在显著差异且表现为近似正态分布, 适宜耐盐 QTL 挖掘。因此, 须进一步利用该群体, 加快谷子萌发期耐盐 QTL 挖掘, 同时, 利用本研究鉴定出的耐盐性差异种质, 进行杂交组配, 构建不同类型的耐盐性 QTL 鉴定遗传群体 (盐敏感 × 极端耐盐、盐敏感 × 耐盐、极端盐敏感 × 耐盐、极端盐敏感 × 极端耐盐), 用于谷子耐盐 QTL 挖掘和新品种选育。

参考文献:

- [1] 王遵亲. 中国盐渍土[M]. 北京: 科学出版社, 1993: 400-515.
- [2] 中国科学院国家计划委员会, 自然资源考察委员会. 中国 1: 100 万土地资源图土地资源数据集[M]. 北京: 中国人民

大学出版社, 1991: 89-175.

- [3] 全国土壤普查办公室. 中国土壤[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 1253.
- [4] 马子林, 马玉兰. 盐碱地的形成原因及改良措施[J]. 青海农牧业, 2007(2): 18.
- [5] 黄琼. 浅谈盐碱地的改良措施与对策[J]. 现代园艺, 2016(22): 230-231.
- [6] 殷炳政, 张怀东, 周彬. 农业综合开发治理盐碱地措施和方法初探[J]. 山东省农业管理干部学院学报, 2013, 30(4): 38-39.
- [7] 袁杰, 王学强, 张燕红, 赵志强, 贾春平, 等. 水稻种质资源苗期耐盐性鉴定[J]. 分子植物育种, 2020, 18(20): 6808-6814.
- [8] Yuan J, Wang XQ, Zhang YH, Zhao ZQ, Jia CP, et al. Identification and screening of salt tolerance in rice germplasm resources at seedling stage[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(20): 6808-6814.
- [8] 李小康, 吴崇宁, 王维, 李文淑, Masahiro K, 等. 人工合成六倍体小麦耐盐种质资源的筛选及评价[J]. 麦类作物学报, 2021, 41(12): 1487-1495.
- [8] Li XK, Wu CN, Wang W, Li WS, Masahiro K, et al. Screening and evaluation of salt-tolerant germplasm of synthetic hexaploidy wheat[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2021, 41(12): 1487-1495.
- [9] 段雅娟, 曹士亮, 于滔, 李文跃, 杨耿斌, 等. 玉米自交系萌发期耐盐性鉴定[J]. 作物杂志, 2022(1): 213-219.
- [9] Duan YJ, Cao SL, Yu T, Li WY, Yang GB, et al. Identification of salt tolerance during germination of maize inbred lines[J]. *Crops*, 2022(1): 213-219.
- [10] 胡亮亮, 王素华, 王丽侠, 程须珍, 陈红霖. 绿豆种质资源苗期耐盐性鉴定及耐盐种质筛选[J]. 作物学报, 2022, 48(2): 367-379.
- [10] Hu LL, Wang SH, Wang LX, Cheng XZ, Chen HL. Identification of salt tolerance and screening of salt tolerant germplasm of mungbean (*Vigna radiata* L.) at seedling stage[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2022, 48(2): 367-379.
- [11] 张海金. 谷子在旱作农业中的地位和作用[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(10): 169-170.
- [12] 张一中, 张一弓, 柳青山. 谷子在山西省旱作农业中的地位和作用[J]. 中国种业, 2011(8): 21-22.
- [13] 刁现民. 中国谷子生产与发展方向[M]//柴岩, 万福世, 编. 中国小杂粮产业发展报告. 北京: 中国农业出版社, 2007: 32-43.
- [14] 韩飞, 诸葛玉平, 姜燕宏, 王会, 张乃丹, 等. 63 份谷子种质的耐盐综合评价及耐盐品种筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(4): 685-693.
- [14] Han F, Zhuge YP, Lou YH, Wang H, Zhang ND, et al. Evaluation of salt tolerance and screening for salt tolerant accessions of 63 foxtail millet germplasm[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(4): 685-693.
- [15] 秦岭, 张艳亭, 陈二影, 杨延兵, 黎飞飞, 管延安. 谷子萌发期耐盐种质筛选及其保护酶系统对盐胁迫的响应[J]. 中国

- 农业科学, 2019, 52(22): 4027-4038.
- Qin L, Zhang YT, Chen EY, Yang YB, Li FF, Guan YA. Screening for germplasms tolerant to salt at germination stage and response of protective enzymes to salt stress in foxtail millet[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(22): 4027-4038.
- [16] 张笛. 谷子耐盐种质资源筛选及生长发育与农艺性状的鉴定[D]. 黑龙江: 黑龙江八一农垦大学, 2020: 5-60.
- [17] 田伯红, 王素英, 李雅静, 王建广, 张立新, 等. 谷子地方品种发芽期和苗期对NaCl胁迫的反应和耐盐品种筛选[J]. 作物学报, 2008, 34(12): 2218-2222.
- Tian BH, Wang SY, Li YJ, Wang JG, Zhang LX, et al. Response to sodium chloride stress at germination and seedling and identification of salinity tolerant genotypes in foxtail millet landraces originated from China[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(12): 2218-2222.
- [18] 张笛, 苗兴芬, 王雨婷. 100份谷子品种资源萌发期耐盐性评价及耐盐品种筛选[J]. 作物杂志, 2019(6): 43-49.
- Zhang D, Miao XF, Wang YT. Evaluation and screening of salt tolerance in 100 foxtail millet at germination stage[J]. *Crops*, 2019(6): 43-49.
- [19] 谢志坚. 农业科学中的模糊数学方法[M]. 武汉: 华中理工大学出版社, 1983: 99-193.
- [20] 戴海芳, 武辉, 阿曼古丽·买买提阿力, 王立红, 麦麦提·阿皮孜, 等. 不同基因型棉花苗期耐盐性分析及其鉴定指标筛选[J]. 中国农业科学, 2014, 47(7): 1290-1300.
- Dai HF, Wu H, Amanguli · Maimaitiali, Wang LH, Maimaiti · Apizi, et al. Analysis of salt-tolerance and determination of salt-tolerant evaluation indicators in cotton seedlings of different genotypes[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(7): 1290-1300.
- [21] Khan AA, Rao SA, McNeilly T. Assessment of salinity tolerance based upon seedling root growth response functions in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Euphytica*, 2003, 131(1): 81-89.
- [22] Verma OPS, Yadava RBR. Salt tolerance of some oats (*Avena sativa* L.) varieties at germination and seedling stage[J]. *J Agron Crop Sci*, 1986, 156(2): 123-127.
- [23] 智慧, 刁现民, 吕芑, 李伟, Akolavo Z. 人工盐胁迫法鉴定谷子及狗尾草物种耐盐基因型[J]. 河北农业科学, 2004, 8(4): 15-18.
- Zhi H, Diao XM, Lü P, Li W, Akolavo Z. Methodology analysis on screening of salt tolerant genotypes from foxtail millet and other *Setaria* species[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2004, 8(4): 15-18.
- [24] 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[J]. 作物杂志, 2011(4): 117-119.
- Cui XG, Shi LR. Evaluation of salt tolerance of 14 foxtail millet summer varieties in Hengshui[J]. *Crops*, 2011(4): 117-119.
- [25] 田伯红, 王建广, 李雅静, 张立新, 孔德平. 谷子发芽期和幼苗前期耐盐性鉴定指标的研究[J]. 河北农业科学, 2008, 12(7): 4-6.
- Tian BH, Wang JG, Li YJ, Zhang LX, Kong DP. Studies on screening indexes for salt tolerance of millet during germination period and early seedling stage[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2008, 12(7): 4-6.
- [26] Ardie SW, Khumaida N, Nur A, Fauziah N. Early identification of salt tolerant foxtail millet (*Setaria italica* L. Beauv) [J]. *Proc Food Sci*, 2015, 3: 303-312.
- [27] Pan JW, Li Z, Dai SJ, Ding HF, Wang QG, et al. Integrative analyses of transcriptomics and metabolomics upon seed germination of foxtail millet in response to salinity[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 13660.
- [28] 陈二影, 秦岭, 杨延兵, 黎飞飞, 王润丰, 等. 生产条件下谷子品种盐碱耐性的差异及综合评价[J]. 中国农业科学, 2019, 52(22): 4050-4065.
- Chen EY, Qin L, Yang YB, Li FF, Wang RF, et al. Variation and comprehensive evaluation of salt and alkali tolerance of different foxtail millet cultivars under production conditions[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(22): 4050-4065.
- [29] 张艳亭. 谷子种质资源耐盐性鉴定和耐盐机理的研究[D]. 曲阜: 曲阜师范大学, 2018: 7-9.
- [30] 郭瑞峰, 张永福, 任月梅, 杨忠. 混合盐碱胁迫对谷子萌发、幼芽生长的影响及耐盐碱品种筛选[J]. 作物杂志, 2017(4): 63-66.
- Guo RF, Zhang YF, Ren YM, Yang Z. Effects of saline-alkali stress on millet germination and shoots growth and saline-alkali tolerance variety screening[J]. *Crops*, 2017(4): 63-66.
- [31] 陈二影, 王润丰, 秦岭, 杨延兵, 黎飞飞, 等. 谷子芽期耐盐碱综合鉴定及评价[J]. 作物学报, 2020, 46(10): 1591-1604.
- Chen EY, Wang RF, Qin L, Yang YB, Li FF, et al. Comprehensive identification and evaluation of foxtail millet for saline-alkaline tolerance during germination[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, 46(10): 1591-1604.
- [32] 虞晓芬, 傅玳. 多指标综合评价方法综述[J]. 统计与决策, 2004(11): 119-121.
- [33] 张巧凤, 陈宗金, 吴纪中, 蒋彦婕, 杨继书, 等. 小麦种质芽期和苗期的耐盐性鉴定评价[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(4): 620-626.
- Zhang QF, Chen ZJ, Wu JZ, Jiang YJ, Yang JS, et al. Screening for salinity tolerance at germination and seedling stages in wheat germplasm[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14(4): 620-626.
- [34] 周和平, 张立新, 禹锋, 李平. 我国盐碱地改良技术综述及展望[J]. 现代农业科技, 2007(11): 159-161.
- [35] Ren ZH, Gao JP, Li LG, Cai XL, Huang W, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter[J]. *Nat Genet*, 2005, 37(10): 1141-1146.
- [36] Niones JM. Five mapping of the salinity tolerance gene on chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using near-isogenic lines[M]. Laguna: University of the Philippines, 2004: 1-100.