

盐胁迫下水稻苗期 Na⁺ 含量的 QTL 定位

汪 斌¹ 兰 涛^{2,3} 吴为人^{2,3,*}

(¹ 福建农林大学 生命科学学院, 福建 福州 350002; ² 福建农林大学 作物科学学院, 福建 福州 350002; ³ 福建省水稻分子标记辅助育种重点实验室, 福建 福州 350002; * 通讯联系人, E-mail: wrwu2005@yahoo.com.cn)

Mapping of QTLs for Na⁺ Content in Rice Seedlings under Salt Stress

WANG Bin¹, LAN Tao^{2,3}, WU Weiren^{2,3,*}

(¹ College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; ² College of Crop Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; ³ Fujian Provincial Key Laboratory of Rice Molecular Marker Assisted Breeding, Fuzhou 350002, China; * Corresponding author, E-mail: wrwu2005@yahoo.com.cn)

Abstract: Based on a recombinant inbred population consisting of 131 lines derived from a cross between two indica rice varieties, H359 and Acc 8558, and a corresponding genetic map comprising 147 RFLP and 79 SSR markers, QTL mapping was performed for salt tolerance in rice indicated by Na⁺ content in shoots of seedlings after treatment with 150 mmol/L NaCl by using the method of composite interval mapping. A total of 13 QTLs were detected on chromosomes 1, 2, 5, 6, 7 and 12, which could explain 60.88% of total phenotypic variance. Among the QTLs, *qSC1b* had the largest additive effect, explaining about 45% of the phenotypic variance. The QTLs identified in this study shared the same or similar regions with many salt stress related QTLs/genes reported previously.

Key words: rice; sodium ion content; quantitative trait loci; salt stress; salt tolerance

摘 要: 利用来自籼稻品种 H359 和 Acc 8558 的一个重组自交系群体 (131 个株系) 及相应的遗传图谱 (包含 147 个 RFLP 和 79 个 SSR 标记), 以 150 mmol/L 的 NaCl 处理后的幼苗地上部 Na⁺ 含量为指标, 采用复合区间定位方法, 对水稻耐盐性 QTL 进行了定位。共检测到 13 个 QTL, 分别位于第 1、2、5、6、7 和 12 染色体上, 对表型变异的总贡献率达到 60.88%, 其中, *qSC1b* 的效应最大, 可解释约 45% 的表型变异。通过比较表明, 许多前人报道的与水稻盐胁迫有关的 QTL/基因与本研究检测到的 QTL 的位置相同或相近。

关键词: 水稻; 钠离子含量; 数量性状座位; 盐胁迫; 耐盐性

中图分类号: Q943.2; Q945.78; S332.6; S511.034

文献标识码: A **文章编号:** 1001-7216(2007)06-0585-06

全世界约有 10 亿 hm² 的盐碱土, 占陆地面积的 7.6%^[1]。我国是世界盐碱地面积较大的国家之一, 盐渍土面积有 0.27 亿 hm², 其中海涂土壤近 241 万 hm², 占海岸带土壤总面积的 17.35%。这部分土地难以在农业上利用。而随着全球性气候变暖, 淡水资源日益紧缺, 许多耕地正面临着盐碱化的威胁。因此, 盐害正成为世界农业的重要问题^[2]。培育耐盐品种是克服盐害的有效途径之一。为此, 必须研究植物耐盐性的遗传基础。水稻是世界上最主要的粮食作物之一, 也是单子叶的模式植物, 对其耐盐机制进行研究, 无论在理论上还是在应用上都具有重要意义。

植物耐盐性属数量性状, 受多基因控制, 遗传基础十分复杂。借助分子标记对数量性状基因座 (QTL) 进行定位, 是研究数量性状遗传基础的有力手段。近年来, 对水稻耐盐性的 QTL 定位研究已有一些报道^[3-8], 且有一些主效 QTL 被克隆^[9], 取得了显著进展。另外, 随着水稻基因组测序的完成, 反向遗传学的方法也被应用于水稻耐盐性遗传基础

的研究中。利用 DNA 芯片技术和抑制性消减杂交 (SSH) 方法已经在水稻中鉴定出大量的受盐胁迫诱导的基因^[10-16]。不过, 这些受盐胁迫诱导的基因大多数并非直接与水稻的耐盐性有关, 要从中鉴定出控制水稻耐盐性的基因还是非常困难的。将 QTL 定位与基因表达谱分析相结合可能是加快发掘水稻耐盐性基因的一条有效途径。

盐胁迫导致水稻植株生长受阻, 引起各种生理变化。耐盐性的强弱在某种程度上取决于植株对外界过量 Na⁺ 的排斥能力。因此, 在盐胁迫条件下植株中 Na⁺ 含量是耐盐性的一个重要指标。Na⁺ 含量越低, 则表明对盐分的排斥能力愈强, 因而耐盐性也愈高^[17]。本研究以水稻苗期盐胁迫条件下地上

收稿日期: 2007-04-25; 修改稿收到日期: 2007-06-14。

基金项目: 福建农林大学青年教师基金资助项目 (03A05, 04B02); 福建省科技计划资助项目 (2006F5020)。

第一作者简介: 汪 斌 (1966 -), 女, 博士, 讲师, E-mail: wangbin_doc@163.com。

部 Na^+ 含量为指标,对水稻耐盐性有关的 QTL 进行定位,并将 QTL 定位结果与前人的 QTL 定位结果以及用 DNA 芯片和 SSH 分析得到的表达谱分析结果进行比较,以期为水稻耐盐基因的克隆和分子机理的研究奠定基础,并为水稻耐盐育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

以籼稻品种 H359 和 Acc 8558 的杂交后代衍生而来的重组自交系 (recombinant inbred lines, RIL, F_{10}) 群体 (共 131 个株系) 及其双亲为供试材料。

1.2 植物培养和处理

以 0.5% 的琼脂作为支持物,采用菲律宾国际水稻研究所推荐的常规营养液^[18],在电炉上煮沸,加入 NaCl 至终浓度为 150 mmol/L,于 60℃ 左右下分装至 250 mL 玻璃瓶,每瓶大约装 100 mL,冷却后即成为盐胁迫处理的培养基。将 RIL 群体各株系及亲本浸种催芽后播种于盛有培养基的玻璃瓶中,每株系播 2 瓶,每瓶 20 粒种子。将所有玻璃瓶放入光照培养箱中培养,白天温度 24℃,夜温 22℃,每天光照 12 h,光合有效辐射约为 150 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。培养 18 d 的水稻幼苗用于 Na^+ 含量的测定。通过预备试验,发现盐胁迫处理下水稻幼苗的 Na^+ 含量与正常 (即无盐胁迫) 条件下的 Na^+ 含量相差 1 个数量级以上,因而在数据分析中,将正常条件下生理指标的遗传变异忽略不计,不会引起太大的误差,故本试验未设非盐处理对照。

1.3 Na^+ 含量测定

采用原子吸收分光光度法测定 Na^+ 含量^[19]。实验步骤如下:取不同株系水稻幼苗地上部 6~7 g,用蒸馏水漂洗数次后,装入纸袋中,在鼓风干燥箱中烘干,用小型粉碎机粉碎。各株系称取干粉 0.3 g,每瓶 1 次重复,放入凯氏烧瓶中,加入高氯酸和浓硝酸,在消化炉上消化。将消化后的溶液转入 50 mL 容量瓶中,定容到 50 mL。摇匀后,稀释 10 倍。配制 1000 mg/L 的 Na^+ 标准溶液,再配制成 0、5、10、20、30 和 50 mg/L 的 Na^+ 标准系列溶液,以水为空白参比液,在原子吸收分光光度计上 589 nm 处测定 Na^+ 的吸收光强度,绘制 Na^+ 的工作曲线。用同样方法测定各株系稀释液的 Na^+ 的吸收光强度,由测得结果在 Na^+ 的工作曲线上查出 Na^+ 的浓度 (mg/L),并转化为 mg/g (以地上部干质量计)。

1.4 QTL 分析

使用本研究室编制的基于最小二乘的复合区间定位法 (composite interval mapping, CIM)^[20] 的 QTL 分析软件进行 QTL 定位,所用“窗口”宽度为 0 cM (亦即不设置“窗口”)。用逐步回归法在 0.05 和 0.10 两种显著水平下筛选余因子。LOD 统计量的显著阈值用置换测验 (permutation test)^[21] 的方法估计。为提高阈值估计的准确性,共重复抽样 3000 次。QTL 的检验采用 10% 的总体显著水平。QTL 名称的前 3 个字母为 qSC ,代表控制 Na^+ 含量的 QTL,第 4 个数字代表 QTL 所在染色体,第 5 个字母代表同一染色体上不同的 QTL。在 CIM 分析之后,用包含所有已定位的 QTL 的线性模型进行逐步回归分析,在 5% 和 10% 两个显著水平下对 QTL 进行重新检验,以排除假阳性,并估计各 QTL 的加性效应及其对表型变异的贡献率。

1.5 Na^+ 含量 QTL 与盐胁迫相关基因/QTL 的比较

利用 Gramene 网站 (<http://www.gramene.org>) 将本研究中定位的 QTL 与前人报道的水稻耐盐相关 QTL^[3,9,22-25] 及水稻盐胁迫应答基因^[10,16] 进行位置比较。对于盐胁迫应答基因,直接根据其序列确定它在水稻基因组中的物理位置;对于 QTL,根据其 1~LOD 支撑区间 (LOD 峰值减 1 后 LOD 值对应 2 个标记覆盖的区间) 附近标记的序列确定它在水稻基因组中的大致物理位置。

2 结果与分析

2.1 表型变异

水稻幼苗地上部 Na^+ 含量在 RIL 群体中表现为连续变异 (图 1),说明是典型的数量性状。但

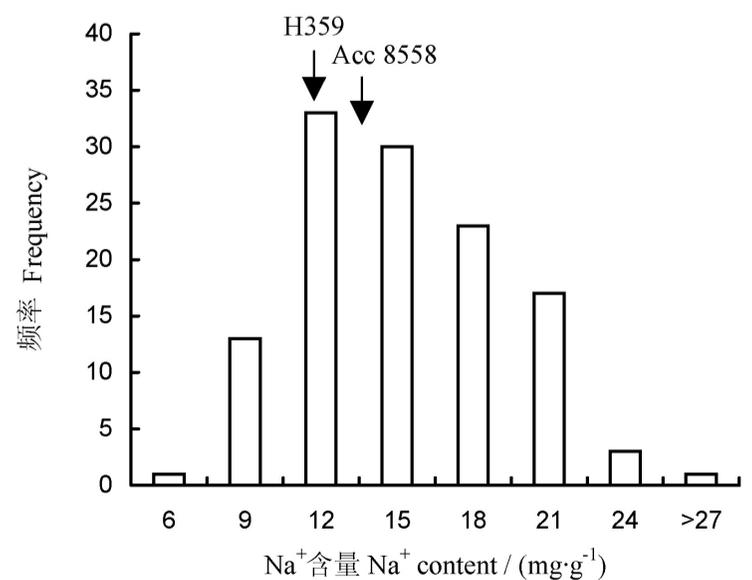


图 1 盐胁迫下 RIL 群体苗期 Na^+ 含量的频率分布
Fig. 1 Frequency distribution of Na^+ content in the shoots of rice seedlings under salt stress in the RIL population.

Na⁺ 含量在两亲本间差异很小,表现出超亲遗传现象。该结果显示,水稻幼苗地上部 Na⁺ 含量存在明显的遗传变异,因而适合于 QTL 分析。

2.2 QTL 定位

共检测到 13 个 QTL,分别位于第 1、2、5、6、7 和 12 染色体上(表 1,图 2)。它们对表型变异的总贡献率为 60.88%,其中 *qSC1b* 的加性效应为 -3.03326 mg/g,对表型变异的贡献率最大,能解

释表型变异的 45.39%。*qSC7b* 的加性效应和贡献率最小,加性效应为 -0.58318 mg/g,只能解释表型变异的 1.68%。其他 11 个 QTL 对表型变异的贡献率介于 1.74%~39.24%。

在 13 个 QTL 中,8 个 QTL 的增效基因来自 H359,其加性效应总和为 10.11561 mg/g;其余 5 个 QTL 的增效基因来自 Acc 8558,其加性效应总和为 8.70609 mg/g(表 1)。可以看出,两亲本的增

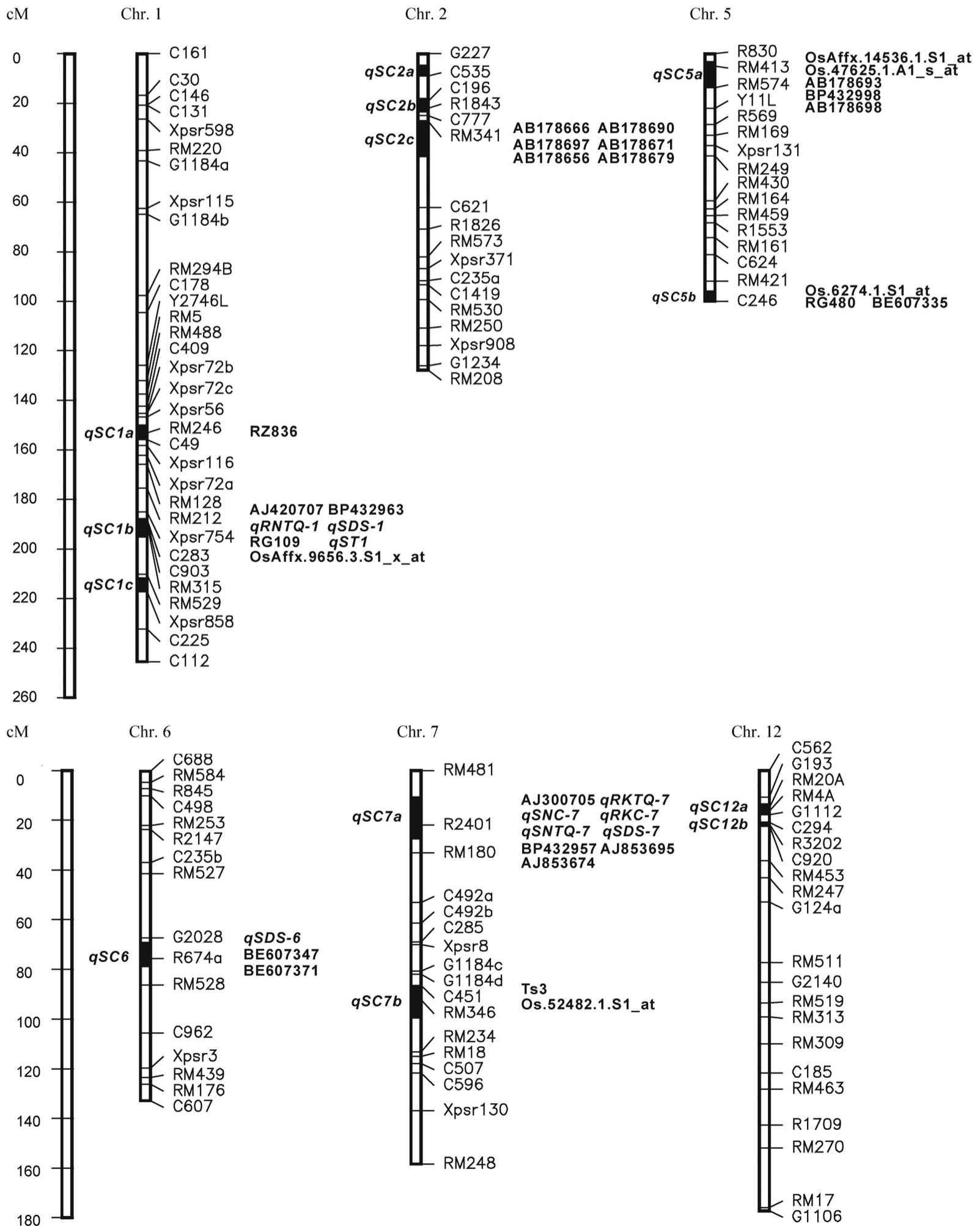


图 2 水稻 Na⁺ 含量 QTL 位置及已报道的盐胁迫相关基因/QTL

Fig. 2. Locations of QTLs for Na⁺ content in rice seedlings and salt stress related genes/QTLs reported.

表 1 水稻苗期 Na⁺ 含量 QTL 定位的结果Table 1 . Results of QTL mapping for Na⁺ content in rice seedlings .

数量性状座位 QTL	染色体 Chromosome	1 ~ LOD 支撑区间 1 - LOD support interval /cM	LOD 峰值 ¹⁾ Peak LOD ¹⁾	加性效应 ²⁾ Additive effect ²⁾ /(mg · g ⁻¹)	贡献率 ³⁾ PVE ³⁾ /%
<i>qSC1a</i>	1	153.0 - 156.0	3.04	0.55014	1.74
<i>qSC1b</i>	1	189.4 - 195.0	19.80	-3.03326	45.39
<i>qSC1c</i>	1	212.0 - 217.0	3.96	0.72059	2.81
<i>qSC2a</i>	2	4.0 - 9.0	5.96	1.72165	16.33
<i>qSC2b</i>	2	19.3 - 21.0	7.81	-2.65777	39.24
<i>qSC2c</i>	2	25.0 - 41.0	5.12	2.51239	26.15
<i>qSC5a</i>	5	2.0 - 10.0	7.43	1.18741	7.13
<i>qSC5b</i>	5	97.0 - 100.0	2.95	1.45863	11.11
<i>qSC6</i>	6	71.0 - 79.0	4.31	-0.78691	3.41
<i>qSC7a</i>	7	12.0 - 27.0	4.68	0.61498	1.88
<i>qSC7b</i>	7	87.0 - 99.0	4.12	-0.58318	1.68
<i>qSC12a</i>	12	17.0 - 17.9	7.37	-1.64497	15.37
<i>qSC12b</i>	12	20.9 - 21.4	4.21	1.34982	10.46

¹⁾ 10% 总体显著水平下的阈值为 2.82 ; ²⁾ H359 等位基因的作用方向 ; ³⁾ 单个 QTL 对表型变异的贡献率。总贡献率为 60.88%。

¹⁾ The threshold at 10% overall significant level is 2.82 ; ²⁾ The acting direction of H359 s allele ; ³⁾ The percentage of phenotypic variance explained by QTL . The total percentage of explained variance is 60.88% .

效基因的数量和效应总和都比较接近。说明控制 Na⁺ 含量的增效基因和减效基因在两亲本之间的分布是高度分散的,这是两亲本间幼苗地上部 Na⁺ 含量差异很小的原因(图 1)。

2.3 与水稻苗期 Na⁺ 含量 QTL 位置相似的盐胁迫相关基因/QTL

通过比较,在我们定位到的 13 个水稻苗期 Na⁺ 含量 QTL 中,有 8 个 QTL 的附近找到了已报道的水稻盐胁迫相关 QTL (12 个) 或基因 (24 个),其中 *qSC7a* 对应的已报道的相关基因/QTL 的数量最多,有 9 个;其次是 *qSC1b*,有 7 个(表 2,图 2)。这些盐胁迫相关 QTL 可能与相应的水稻苗期 Na⁺ 含量 QTL 是等位的,为水稻苗期 Na⁺ 含量 QTL 的真实性提供了支持;而盐胁迫相关基因则可能成为相应的水稻苗期 Na⁺ 含量 QTL 的候选基因,为进一步深入研究奠定基础。

3 讨论

在 QTL 定位研究中,群体中目标性状的遗传变异越大,则遗传率越高,因而 QTL 定位的准确性越高。对于耐盐性性状,不同的盐处理浓度会对群体的表型变异产生不同的影响,浓度太高或太低都会使表型变异减小,只有在合适的浓度范围内才能使表型变异达到最大,但不同的耐盐性指标的最适盐浓度范围不完全一致^[26]。在本研究中,我们通过预备试验,证明 150 mmol/L 的盐处理浓度比较合适,基本上能兼顾不同耐盐性指标(如脯氨酸、丙二

醛、超氧化物歧化酶、过氧化物酶等)遗传变异的充分表现,使表型变异达到最大,从而可以同时多项指标进行 QTL 定位。

本研究检测到 1 个效应很大的 QTL (*qSC1b*),可以解释大约 45% 的表型变异(表 1)。前人在不同的群体中,使用多种不同的耐盐性指标,都在这个位置上检测到 QTL (表 2),说明这个 QTL 是真实存在的。有趣的是,在该群体中,我们曾经定位到半矮秆基因座 *SD1* (未发表),位置与 *qSC1b* 相同(位于标记 C903 和 RM529 之间)。虽然还不清楚 *qSC1b* 是否就是 *SD1*,但值得注意的是,*SD1* 座位上的半矮秆等位基因 *sd1* 是来自亲本 H359 的,而 *qSC1b* 上来自 H359 的等位基因使水稻苗期 Na⁺ 含量下降,因此,对矮秆性状的选择将有助于耐盐性的提高,这对水稻育种无疑是很有意义的。

除了 *qSC1b* 之外,本研究还在第 2 染色体上检测到两个效应很大的 QTL (*qSC2b* 和 *qSC2c*) (表 1)。值得注意的是,这两个 QTL 靠得很近而效应相反,这使得它们在遗传行为上近似于一个效应很小的 QTL,采用区间定位法 (interval mapping)^[27-28] 或在复合区间定位时设置较大的“窗口”,都无法检测到这两个 QTL。第 12 染色体上的两个 QTL (*qSC12a* 和 *qSC12b*) 也存在类似的情况。如果两个 QTL 之间靠得更近,则通常很难被检测到,除非采用很大的群体和高密度的分子标记图谱。由于这种紧密连锁、效应相反的两个基因(或 QTL) 从表型效应上很难被发现,因而被称为隐蔽 QTL

表 2 可能与水稻苗期 Na⁺ 含量 QTL 等位的盐胁迫相关基因/QTLTable 2 . Salt stress related genes/QTLs possibly allelic to the QTLs for Na⁺ content in rice seedlings .

名称/编号 Name/code	类型 Type	染色体 Chromosome	物理位置 Physical position	注释 Annotation
<i>qSC1a</i>				
RZ836 ^[5]	QTL	1	~ 29 479 166	盐胁迫下茎叶重、有效穗
<i>qSC1b</i>				
AJ420707 ^[13]	SSH	1	37 559 221	60S 核糖体蛋白
BP432963 ^[15]	microarray	1	38 725 837	未知
<i>qRNTQ 1</i> ^[7]	QTL	1	~ 38 163 032	盐胁迫下根的 Na ⁺ 含量
<i>qSDS 1</i> ^[7]	QTL	1	~ 38 163 032	盐胁迫下幼苗存活天数
RG109 ^[5]	QTL	1	~ 38 858 849	盐胁迫下分蘖数
<i>qST1</i> ^[24]	QTL	1	~ 39 323 938	水稻耐盐 QTL
OsAffx .9656 .3 .S1_x_at ^[14]	microarray	1	40 327 742	AGP9
<i>qSC2c</i>				
AB178666 ^[12]	SSH	2	19 247 057	ATP 依赖型 Clp 蛋白酶 ATP 结合亚基前体
AB178690 ^[12]	SSH	2	19 247 057	ATP 依赖型 Clp 蛋白酶 ATP 结合亚基前体
AB178697 ^[12]	SSH	2	19 247 059	ATP 依赖型 Clp 蛋白酶 ATP 结合亚基前体
AB178671 ^[12]	SSH	2	19 249 902	ATP 依赖型 Clp 蛋白酶 ATP 结合亚基前体
AB178656 ^[12]	SSH	2	19 324 972	类 CTR1 蛋白激酶
AB178679 ^[12]	SSH	2	19 325 200	类 CTR1 蛋白激酶
<i>qSC3a</i>				
OsAffx .14536 .1 .S1_at ^[14]	microarray	5	1 885 939	脱水诱导 myb 蛋白 Cpm7
Os 47625 .1 .A1_s_at ^[14]	microarray	5	2 060 290	蛋白过氧化物酶 prx12 前体
AB178693 ^[12]	SSH	5	2 069 177	S 腺苷甲硫氨酸合成酶
BP432998 ^[15]	microarray	5	2 197 769	未知
AB178698 ^[12]	SSH	5	3 105 051	胁迫响应 cDNA
<i>qSC3b</i>				
Os .6274 .1 .S1_at ^[14]	microarray	5	27 262 444	脂质转运蛋白
RG480 ^[5]	QTL	5	27 292 623	苗期盐害级别
BE607335 ^[10]	microarray	5	28 105 572	未知
<i>qSC6</i>				
BE607371 ^[10]	microarray	6	24 492 046	未知
<i>qSC7a</i>				
AJ300705 ^[13]	SSH	7	3 199 465	水稻 dbEST ID 7009078 的同源物
<i>qRK TQ 7</i> ^[7]	QTL	7	~ 3 360 408	盐胁迫下根的 K ⁺ 含量
<i>qSNC 7</i> ^[7]	QTL	7	~ 3 602 849	盐胁迫下地上部 Na ⁺ 含量
<i>qRKC 7</i> ^[7]	QTL	7	~ 3 845 290	盐胁迫下根的 K ⁺ 含量
<i>qSNTQ 7</i> ^[7]	QTL	7	~ 4 087 732	盐胁迫下地上部 Na ⁺ 含量
<i>qSDS 7</i> ^[7]	QTL	7	~ 4 572 615	盐胁迫下幼苗存活天数
BP432957 ^[15]	microarray	7	4 572 634	未知
AJ853695 ^[13]	subtractive	7	4 685 468	拥有 WD 40 重复的膜蛋白质
AJ853674 ^[13]	subtractive	7	4 969 263	AAA 型 ATP 酶
<i>qSC7b</i>				
Ts3 ^[11]	cDNA	7	~ 20 973 602	盐胁迫响应 cDNA
Os .52482 .1 .S1_at ^[14]	microarray	7	21 908 532	纤维素合成酶类似蛋白

QTL - 数量性状座位 ; SSH - 抑制性消减杂交 ; microarray - 微阵列 ; cDNA - 互补 DNA ; subtractive - 消减杂交。

QTL , Quantitative trait loci ; SSH , Suppression subtraction hybridization .

(cryptic QTL) 这种现象已在越来越多的实验中得到证实^[29 30]。

本研究所用的两个亲本间耐盐性差异不大,但 RIL 群体的株系间却存在广泛的变异,存在明显的超亲分离现象,说明耐盐性增效基因是分散在双亲中的。QTL 分析的结果也证实了这一点。因此,通过遗传重组,聚合增强耐盐性的等位基因,将可培育出耐盐性比双亲高的品种。本研究的 QTL 定位结果将有助于对耐盐等位基因的标记辅助选择,在水稻育种中发挥作用。

参考文献 :

- [1] 刘友良,汪良驹.植物对盐胁迫的反应和耐盐性//余叔文,汤章城.植物生理与分子生物学.第2版.北京:科学出版社,1998:752-769.
- [2] Flowers T J. Salinisation and horticultural production. *Sci Hort*, 1999, 78: 1-4.
- [3] 林鸿宣,柳原城司,庄杰云,等.应用分子标记检测水稻耐盐性的 QTL. *中国水稻科学*, 1998, 12(2): 72-78.
- [4] 龚继明,钱前.水稻耐盐性 QTL 的定位. *科学通报*, 1998, 43(17): 1847-1850.
- [5] 顾兴友,梅曼彤,严小龙,等.水稻耐盐性数量性状位点的初

- 步检测. 中国水稻科学, 2000, 14(2): 65-70.
- [6] 龚继明, 郑先武, 杜保兴, 等. 控制水稻重要农艺性状的 QTL 在盐胁迫与非胁迫条件下的对比研究. 中国科学: C 辑, 2000, 30(6): 561-569.
- [7] Lin H X, Zhu M Z, Yano M, et al. QTLs for Na⁺ and K⁺ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 253-260.
- [8] Koyama M L, Levesley A, Koebner R M D, et al. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiol*, 2001, 125: 406-422.
- [9] Ren Z H, Gao J P, Li L G, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Gene*, 2005, 37(10): 1141-1146.
- [10] Kawasaki S, Borchert C, Deyholos M, et al. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant Cell*, 2001, 13: 889-905.
- [11] 钱前, 柳原城司, 滕胜, 等. 水稻盐胁迫应答 cDNA 的克隆、表达和染色体定位. 植物学报, 2003, 45(9): 1090-1095.
- [12] Shiozaki N, Yamada M, Yoshihara Y. Analysis of salt stress inducible ESTs isolated by PCR subtraction in salt tolerant rice. *Theor Appl Genet*, 2005, 110: 1177-1186.
- [13] Sahi C, Agarwal M, Reddy M K, et al. Isolation and expression analysis of salt stress associated ESTs from contrasting rice cultivars using a PCR-based subtraction method. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 620-628.
- [14] Walia H, Wilson C, Condamine P, et al. Comparative transcriptional profiling of two contrasting rice genotypes under salinity stress during the vegetative growth stage. *Plant Physiol*, 2005, 139: 822-835.
- [15] Rabbani M A, Maruyama K, Abe H, et al. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high salinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA gel blot analyses. *Plant Physiol*, 2003, 133: 1755-1767.
- [16] Ueda A, Kathiresan A, Bennett J, et al. Comparative transcriptome analyses of barley and rice under salt stress. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 1286-1294.
- [17] Bajwa W S. A study on the salt and sodium tolerance of rice. *J Agric Sci*, 1982, 98: 475-482.
- [18] 吉田昌一. 水稻生理实验指南. 北京: 科技出版社, 1957.
- [19] Yoshida S, Douglass F, Janosh C, et al. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. Los Banos, Philippines: IRRI, 1976: 46-49.
- [20] Wu W R, Li W M, Tang D Z, et al. Time related mapping of quantitative trait loci underlying tiller number in the rice. *Genetics*, 1999, 151: 297-303.
- [21] Churchill G A, Doerge R W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 1994, 138: 963-971.
- [22] Koyama M L, Levesley A, Koebner R M D, et al. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiol*, 2001, 125: 406-422.
- [23] Lee K S, Choi W Y, Ko J C, et al. Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. *Planta*, 2003, 216: 1043-1046.
- [24] Lee S Y, Ahn J H, Cha Y S, et al. Mapping of quantitative trait loci for salt tolerance at the seedling stage in rice. *Mol Cells*, 2006, 21(2): 192-196.
- [25] Flowers T J, Koyama M L, Flowers S A, et al. QTL: Their place in engineering tolerance of rice to salinity. *J Exp Bot*, 2000, 51: 99-106.
- [26] 顾兴友, 郑少玲, 严小龙, 等. 盐含量对水稻苗期耐盐指标变异度的影响. 华南农业大学学报, 1998, 19(1): 30-34.
- [27] Lander E S, Botstein D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 1989, 121: 185-199.
- [28] Haley C S, Knott S A. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity*, 1992, 69: 315-324.
- [29] Lauter N, Doebley J. Genetic variation for phenotypically invariant traits detected in teosinte: Implications for the evolution of novel forms. *Genetics*, 2002, 160: 333-342.
- [30] Gibson G, Dworkin I. Uncovering cryptic genetic variation. *Nat Rev: Genet*, 2004, 5: 681-690.