

引用格式: 徐勇, 毛一茹, 马远潇, 等. 野生玫瑰与重瓣白玫瑰杂交一代耐盐性评价及耐盐 SNP 筛选[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(5): 984–993. XU Yong, MAO Yiru, MA Yuanxiao, et al. Evaluation of salt tolerance and screening of salt-tolerant SNP markers in F_1 generation derived from wild *Rosa rugosa* \times *R. rugosa* 'Alba Plena'[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 42(5): 984–993.

野生玫瑰与重瓣白玫瑰杂交一代耐盐性评价及耐盐 SNP 筛选

徐 勇, 毛一茹, 马远潇, 叶银秋, 陈锈熔, 王建文, 冯立国

(扬州大学园艺园林学院, 江苏扬州 225009)

摘要: 【目的】培育强耐盐的玫瑰 *Rosa rugosa* 新种质, 可为玫瑰育种提供亲本选配策略, 以提升耐盐育种效率。【方法】首先通过野生玫瑰与重瓣白玫瑰 *R. rugosa* 'Alba Plena' 获得杂交一代 (F_1) 幼苗, 然后通过盐胁迫处理评价幼苗耐盐性, 最后使用重测序和高分辨率熔解 (high-resolution melting, HRM) 基因分型技术, 进行玫瑰耐盐性单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 筛选与验证。【结果】83 株 F_1 幼苗中, 中度以上耐盐占比超过了 50%, 其中 12 株属于强耐盐性植株。对所有杂交后代进行重测序及 SNP 分析, 共检测出 11 412 504 个 SNP 位点, 其中胞嘧啶 (C) $>$ 胸腺嘧啶 (T) 和鸟嘌呤 (G) $>$ 腺嘌呤 (A) 的变异类型最多。SNP 布区域最多的为基因间区, 占比约 34.46%。此外, 共筛选出 5 个分型良好的 SNP 位点及引物, 其中 SNP63 位点的 I 型可以较好地筛选掉敏感盐的单株, 可用于玫瑰耐盐性分子标记辅助选择。【结论】获得耐盐性强于亲本的玫瑰 F_1 12 株, 并筛选出了 1 个与玫瑰耐盐性显著相关的 SNP 标记 (SNP63)。图 5 表 5 参 25

关键词: 玫瑰; 杂交一代 (F_1); 耐盐性; 单核苷酸多态性 (SNP)

中图分类号: S68 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)05-0984-10

Evaluation of salt tolerance and screening of salt-tolerant SNP markers in F_1 generation derived from wild *Rosa rugosa* \times *R. rugosa* 'Alba Plena'

XU Yong, MAO Yiru, MA Yuanxiao, YE Yinqiu, CHEN Xiurong, WANG Jianwen, FENG Liguo

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China)

Abstract: **[Objective]** This study aims to provide a parental selection strategy for salt-tolerant breeding of *Rosa rugosa*, with the goal of enhancing breeding efficiency. **[Method]** F_1 generation seedlings were first obtained by crossing wild *R. rugosa* with *R. rugosa* 'Alba Plena'. The salt tolerance of these seedlings was then evaluated under salt stress conditions. Resequencing and high-resolution melting (HRM) genotyping were employed to screen and validate single nucleotide polymorphisms (SNP) associated with salt tolerance. **[Result]** Among the 83 F_1 seedlings, more than 50% exhibited moderate or higher salt tolerance, with 12 individuals showing strong salt tolerance. Resequencing and SNP analysis of all hybrid progenies detected a total of 11 412 504 SNP loci, among which cytosine (C) $>$ thymine (T) and guanine (G) $>$ adenine (A) were the most frequent mutation types. The largest proportion of SNP (approximately 34.46%) were located in intergenic regions. Furthermore, 5 well-genotyped SNP loci and their corresponding primers were screened. Among them, type I of SNP63 could effectively eliminate salt-sensitive individuals, demonstrating its potential for marker-

收稿日期: 2025-08-12; 修回日期: 2025-09-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32002076)

作者简介: 徐勇 (ORCID: 0009-0004-8588-7428), 从事观赏植物种质资源评价与应用研究。E-mail: yongxu@yzu.edu.cn。通信作者: 冯立国 (ORCID: 0000-0001-9893-7579), 教授, 博士, 从事观赏植物种质资源与分子生物学研究。E-mail: lgfeng@yzu.edu.cn

assisted selection in breeding for salt tolerance in *R. rugosa*. [Conclusion] The 12 salt-tolerant *R. rugosa* F₁ generation exhibiting stronger salt tolerance than their parent lines were obtained, and a significantly salt tolerance-associated SNP marker (SNP63) was preliminarily identified, which will significantly enhance breeding efficiency. [Ch, 5 fig. 5 tab. 25 ref.]

Key words: *R. rugosa*; F₁ generation; salt tolerance; single nucleotide polymorphisms (SNP)

土壤盐碱化已成为全球性生态问题, 目前全球盐碱地总面积约 9.56 亿 hm², 其中中国占 10.4%^[1]。玫瑰 *Rosa rugosa* 兼具观赏及经济价值, 在“上山下滩”的非粮化战略背景下, 培育耐盐玫瑰新品种具有重要意义。目前, 栽培玫瑰品种仅约 60 个, 以山东平阴为代表的地区培育了紫枝玫瑰 *R. rugosa* ‘Zizhi’、重瓣玫瑰 *R. rugosa* ‘Plena’, 以及花白色且精油含量较高的重瓣白玫瑰 *R. rugosa* ‘Alba Plena’ 等 24 个品种^[2-4], 但仍缺乏出油率高、抗性强和花期长的优良种质。野生玫瑰具有较强的耐盐特性, 其耐盐性显著优于重瓣白玫瑰等栽培品种^[5-7]。野生玫瑰具有丰富的遗传资源, 如优异的抗逆基因, 因此可以通过杂交获得优良的栽培品种^[8]。然而, 玫瑰作为木本植物, 童期较长, 实生苗开花约需 3 a, 导致传统育种周期长、效率低, 严重制约了育种进展, 亟需引入高效育种手段。

目前, 分子标记辅助选择是提高育种效率的有效手段^[9]。其中, 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 标记因具高通量、高稳定性等优点, 在植物遗传育种中广泛应用。例如, 乔东亚等^[10]基于简化基因组测序结果, 在紫薇 *Lagerstroemia indica* 中开发出 21 个 SNP 标记, 成功对 85 份种质进行群体划分。本研究以耐盐性强的野生玫瑰与耐盐性较弱的重瓣白玫瑰为亲本构建杂交群体, 通过对杂交一代 (F₁) 进行耐盐性评价和筛选, 结合重测序与高分辨率熔解 (high-resolution melting, HRM) 基因分型技术开发耐盐相关的 SNP 标记, 以期为玫瑰耐盐育种提供亲本选配策略与分子标记资源, 助力玫瑰耐盐育种效率的提升。

1 材料与方法

1.1 杂交试验

杂交试验于 2023 年 4—5 月在山东省平阴玫瑰研究所玫瑰种质资源圃 (36.29°N, 116.46°E) 内进行。母本为野生玫瑰, 父本为重瓣白玫瑰, 所选植株生长强壮、无病虫害。杂交操作参考欧哲等^[11]的方法。2023 年 10 月上旬采收成熟杂交果实, 置于阴凉通风处自然干燥 1~2 周, 剥出种子并于 4 °C 冰箱中沙藏。2024 年 1 月, 将露白种子播种于穴盘, 至 3 月幼苗长出 3~4 片复叶时移除穴盘盖。生长期每 3~5 d 浇 1 次水, 每 2 周浇 1 次营养液。待幼苗长至 10 cm 时移栽至口径 15.5 cm、高 14.0 cm 的花盆中培养, 定期清除杂草, 保障植株正常生长。

1.2 F₁ 幼苗盐胁迫处理及盐害指数统计

植物在盐胁迫下的表型会随时间而发生改变, 其变化程度可反映植物耐盐性强弱。因此, 盐害指数 (*h*) 可以作为评价耐盐性的可靠指标。2024 年 9 月, 对所有野生玫瑰与重瓣白玫瑰 F₁ 幼苗 1 次性浇灌 300 mL 的 NaCl 溶液 (2 g·L⁻¹), 并分别于第 3、18、21 天补浇 100 mL 相同质量浓度的 NaCl 溶液。处理 25 d 后, 观测并记录所有植物叶片的盐害程度。参考王涛等^[12]的方法, 按盐害表型将 F₁ 幼苗分为 5 级: 0 级, 叶片绿色, 正常无黄化; 1 级, 叶片焦黄面积约 25%; 2 级, 叶片焦黄面积约 50%; 3 级, 叶片焦黄面积约 75%; 4 级, 叶片焦枯严重, 焦黄面积达 90% 以上甚至死亡。盐害指数计算公式为: 盐害指数=Σ(盐害等级×该等级叶片数)/(总叶片数×最高盐害等级)。盐害指数越低, 耐盐性越好。

根据盐害指数 (*h*) 将幼苗耐盐性划分为 5 级: 强耐盐 *h* 为 0~0.069 9; 中度耐盐 *h* 为 0.070 0~0.159 9; 轻度耐盐 *h* 为 0.160 0~0.249 9; 敏盐 *h* 为 0.250 0~0.499 9; 极度敏盐 *h* 为 0.500 0~1.000 0。

1.3 基因组重测序

提取母本野生玫瑰、父本重瓣白玫瑰及其 F₁ 群体各单株的基因组 DNA。建库质检合格后, 采用 Illumina HiSeq 4000 平台进行测序。使用 BWA-MEM v0.7.17, 采用默认参数, 将测得的高质量数据与野生玫瑰参考基因^[13]比对, 获得基因组比对文件。通过 Picard v2.27.2 (<https://github.com/broadinstitute/>)

picard) 的 Mark Duplicate 工具去除重复，再使用 GATK v4.5.0.0 (<https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us>) 中的 HaplotypeCaller 进行变异检测^[14]，以单个样本为单位，采用默认参数运行，并生成基因组 VCF (variant call format) 文件。最后，采用北京百迈客生物科技有限公司自主研发的 HighMap 软件，对变异检测结果进行过滤与基因分型质量评估^[15]。本研究相关结果数据已保存于生命大数据平台的序列归档系统 (CNSA)，项目编号为 CNP0007945。

1.4 SNP 标记筛选与验证

首先，使用 GATK-4.5.0 进行 SNP 检测，经过滤后得到最终的 SNP 位点集，再通过 GATK 的 hard filter 工具进一步筛选，保留覆盖至少 70% 样本的 SNP 位点，其中参数设置具体为：MQ<40.0、QUAL<50.0、DP<5.0、DQ<2.0、FS>60.0、MQRankSum<-12.5、ReadPosRankSum<-8.0。利用 SnpEff v5.0 (http://snpeff.sourceforge.net/SnpEff_manual.html) 对 SNP 进行注释及功能预测 (默认参数)，分析采用该软件的默认参数。结合野生玫瑰基因组的基因位置信息，明确变异所在基因组区域及其效应 (同义、非同义突变等)。

其次，基于拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中已报道的 54 个耐盐性相关基因 (包括 *HKT1*、*ANKT1*、*SOS2*、*NHX1* 等)^[16-17]，通过序列比对筛选玫瑰的高度同源基因。结合重测序数据，在上述基因的编码区、启动子区域及其他潜在调控区域 (如内含子、非翻译区等) 内识别 SNP 位点。为获得可用于耐盐表型鉴定的分子标记，优先选择在耐盐与敏盐单株间基因型差异显著、分型清晰的 SNP 位点，并要求侧翼 200 bp 内无其他密集突变，以确保分型特异性和准确性。将筛选出的 SNP 位点列为耐盐关联位点，用于后续验证。使用 Primer3Plus 设计候选 SNP 位点的特异性引物，由生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成。以父母本 DNA 为模板，采用诺唯赞公司生产的 2 × KeyPo Master Mix (Dye Plus) 进行 PCR 扩增，反应体系按照说明书配制。扩增产物使用 20 g·L⁻¹ 的琼脂糖凝胶电泳检测。

对 PCR 扩增特异性良好的引物，随机选取强耐盐和敏盐各 4 个单株，进行 HRM 基因分型分析。然后，选择分型效果较好的 SNP 位点，并采用对应引物对 F_1 群体所有单株进行 HRM 基因分型分析。

1.5 数据处理

使用 Excel 整理数据，采用 SPSS 27 进行统计分析。 F_1 盐害指数的差异显著性采用独立样本 *t* 检验，显著性水平为 0.05。使用 Levene 检验验证方差齐性，使用 Origin 2022 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 F_1 盐害分析及耐盐等级划分

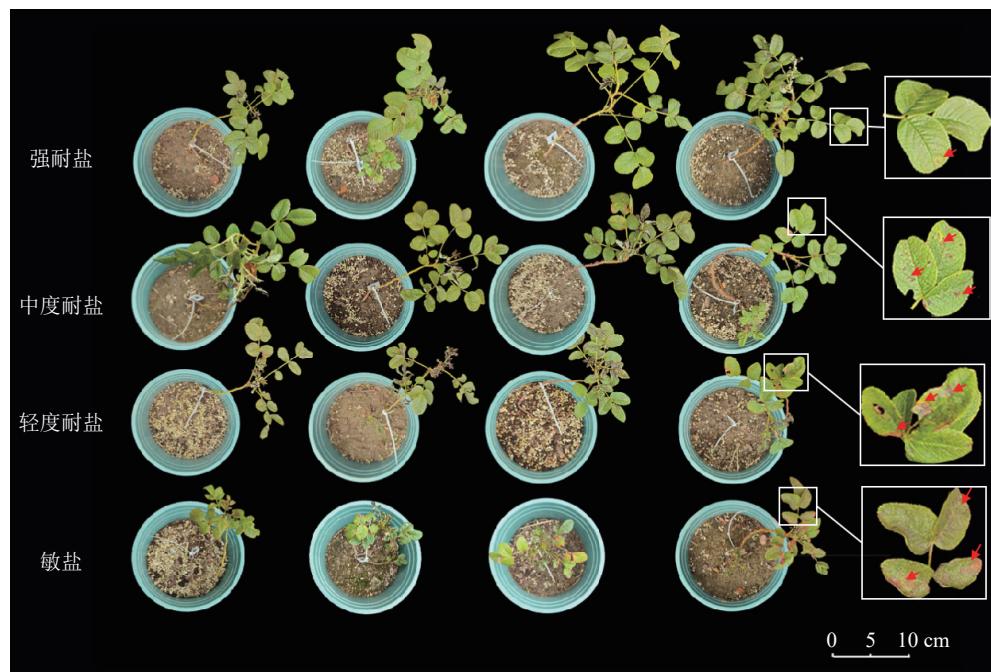
共获得野生玫瑰与重瓣白玫瑰 F_1 幼苗 83 株。如图 1 所示：耐盐等级越强的植株盐害症状越轻、长势越好。经盐胁迫处理后，除 4 株死亡外，其余植株的平均盐害指数为 0.2072 ± 0.2033 。其中，仅 5 株幼苗的盐害指数低于 0.0400，最低为 0.0323；3 株幼苗的盐害指数超过 0.4000，最高达 0.5000。 F_1 幼苗个体间盐害指数存在极显著差异 ($P < 0.001$)， F_1 幼苗盐害指数的变异系数为 98.11%，表明群体具有较高的遗传多样性。83 株 F_1 幼苗的盐害指数共分为 5 个耐盐等级 (表 1)。其中，强耐盐的幼苗共有 12 株 (占比 14.5%)，中度耐盐的幼苗最多，共 30 株 (占比 36.1%)；轻度耐盐的幼苗有 20 株 (占比 24.1%)。由此可见，中度及以上耐盐植株占总体的 50% 以上。

2.2 重测序数据及其与参考基因组比对分析

对亲本及 83 株 F_1 幼苗叶片的重测序结果 (表 2) 显示：所有样本均获得高质量序列，Q30 碱基 (即测序错误率 $\leq 0.1\%$ 的碱基) 均不低于 97.95%。母本 (野生玫瑰) 和父本 (重瓣白玫瑰) 的测序深度分别达 $36.74 \times$ 和 $36.63 \times$ ，与参考基因组的比对率均高于 98.50%； F_1 群体平均每株获得 5.57 Gb 有效数据 (clean data)，平均测序深度为 $12.16 \times$ ，平均比对率为 99.02%。亲本及子代材料中 $4 \times$ 和 $10 \times$ 碱基覆盖率均处于较高水平，这表明测序质量可靠、覆盖均匀，可用于后续变异检测与遗传分析。

2.3 SNP 在染色体上的分布统计

SNP 在染色体上的分布统计结果 (表 3) 表明：共检测出 11 412 504 个 SNP 位点，其在 7 条染色体上分布较为均匀，在各染色体上的分布比例为 11.06%~19.00%。其中，SNP 数量在 Chr 7 上最少 (11.06%)，在 Chr 5 上最多 (19.00%)。



右边白色方框内为叶片局部放大图, 箭头所指为叶片盐害特征较明显的部位。同种程度耐盐性选择4盆代表性植株进行盐害分析。

图1 不同耐盐等级植株的生长状态及叶片盐害情况

Figure 1 Phenotypic performance and leaf salt injury symptoms of plants with different salinity tolerance levels

进一步分析 SNP 在染色体上的分布密度可知: Chr 1 的 SNP 分布密度总体较高, 但在该染色 42~58 Mb 区段 (除 47 Mb 处外) 均低于 $30\,000 \text{ 个} \cdot \text{Mb}^{-1}$ 。Chr 2 大部分区域 SNP 分布密度较小, 低于 $27\,000 \text{ 个} \cdot \text{Mb}^{-1}$ 。Chr 3 大部分区域 SNP 分布密度较高, 大于 $27\,000 \text{ 个} \cdot \text{Mb}^{-1}$; Chr 4 和 Chr 6 末端区域的 SNP 数量较少, 分布密度低于 $24\,000 \text{ 个} \cdot \text{Mb}^{-1}$ 。Chr 5 的 SNP 分布密度较为均匀, 平均约 $21\,000 \text{ 个} \cdot \text{Mb}^{-1}$; Chr 7 的 SNP 分布密度整体较低, 绝大多数区域低于 $27\,000 \text{ 个} \cdot \text{Mb}^{-1}$ (图 2)。

2.4 SNP 注释结果分析

由图 3A 可见: SNP 变异类型最多的是胞嘧啶 (C)>胸腺嘧啶 (T) 和鸟嘌呤 (G)>腺嘌呤 (A)(转换型), 均超过 200 万个; 其次为 A>G 和 T>C 类型, 数量超过了 150 万个。而 C>G 和 G>C 类型 (均为颠换型) 的 SNP 数量最少, 不足 40 万个。SNP 总数转换型为 205 895 725 个, 颠换型为 115 865 531 个, 转换与颠换的比率为 1.78。就分布位置而言, 基因间区 SNP 数量最多, 占总数的 34.46%, 其次是基因的上游 (24.94%) 和基因的下游 (23.61%) 区域; 剪切位点区 SNP 数量最少, 仅占 0.25%(图 3B)。

表1 83株 F_1 幼苗耐盐等级划分

Table 1 Classification of salt tolerance grades of 83 F_1 generations

盐害指数	耐盐等级	对应单株数量/株	占总 F_1 幼苗比例/%
0~0.069 9	强耐盐	12	14.5
0.070 0~0.159 9	中度耐盐	30	36.1
0.160 0~0.249 9	轻度耐盐	20	24.1
0.250 0~0.499 9	敏感	17	20.5
0.500 0~1.000 0	死亡	4	4.8

表2 样品重测序及其与参考基因组比对数据统计

Table 2 Statistics of sample resequencing data and its comparison with the reference genome

组别	重测序					与基因组比对					
	读段(reads)数量	碱基数量/Gb	Q20/%	Q30/%	GC/%	读段(reads)数量	碱基数量/Gb	比对率/%	平均测序深度	4×碱基覆盖率/%	10×碱基覆盖率/%
野生玫瑰 ♀	56 372 513	16.87	99.66	98.26	38.43	112 745 026	11.27	98.68	36.74×	93.88	88.85
重瓣白玫瑰 ♂	55 952 390	16.74	99.60	97.95	38.46	111 904 780	11.19	99.16	36.63×	94.75	89.46
F_1 个体平均	18 627 223	5.57	99.66	98.26	38.83	37 254 447	3.73	99.02	12.16×	83.10	53.00

说明: Q20 表示碱基的测序错误率 $\leq 1\%$; Q30 表示碱基的测序错误率 $\leq 0.1\%$ 。

2.5 SNP位点筛选

针对初步筛选的65个SNP位点设计特异性引物(<https://zlx.zafu.edu.cn/fileZJNLDXXB/journal/article/file/8cecd486-d712-4e8b-9ac4-6ea810861562.pdf>)，并通过PCR扩增检验其扩增效果与特异性(图4)。结果显示(表4)：SNP01、SNP02等33个位点扩增条带大小正确；SNP10、SNP14等11个位点出现引物二聚体；SNP11、SNP12等19个位点出现非特异性条带；SNP15及SNP52位点未扩增出任何条带。将33个条带大小符合预期的PCR产物送交生工生物工程(上海)股份有限公司进行Sanger测序验证。结果证实这些条带与预期大小一致，因此后续研究仅保留这33个SNP位点及对应引物。

2.6 SNP位点与耐盐性状关联分析

从PCR扩增特异性良好的引物中，随机选取4株强耐盐和4株敏盐单株进行HRM基因分型分析。选择分型清晰、稳定的SNP位点，将其基因型与植株盐害指数进行比对分析，从而筛选能够有效区分

表3 单核苷酸多态性(SNP)染色体分布统计

Table 3 Single nucleotide polymorphisms (SNP) chromosome distribution statistics

染色体	SNP数量/个	百分比/%
Chr 1	1 647 427	14.44
Chr 2	1 641 102	14.38
Chr 3	1 268 168	11.11
Chr 4	1 687 647	14.79
Chr 5	2 168 035	19.00
Chr 6	1 738 000	15.23
Chr 7	1 262 125	11.06
合计	11 412 504	100.00

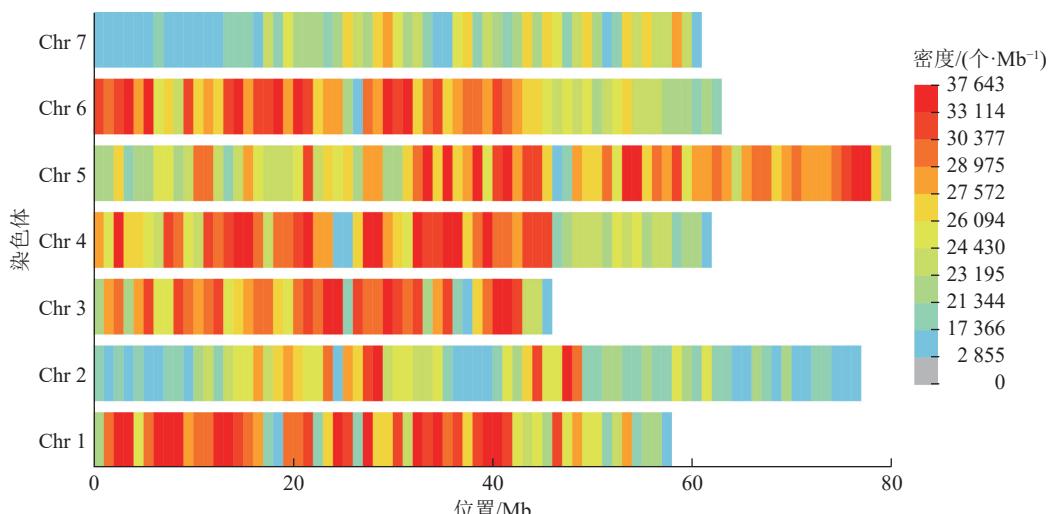
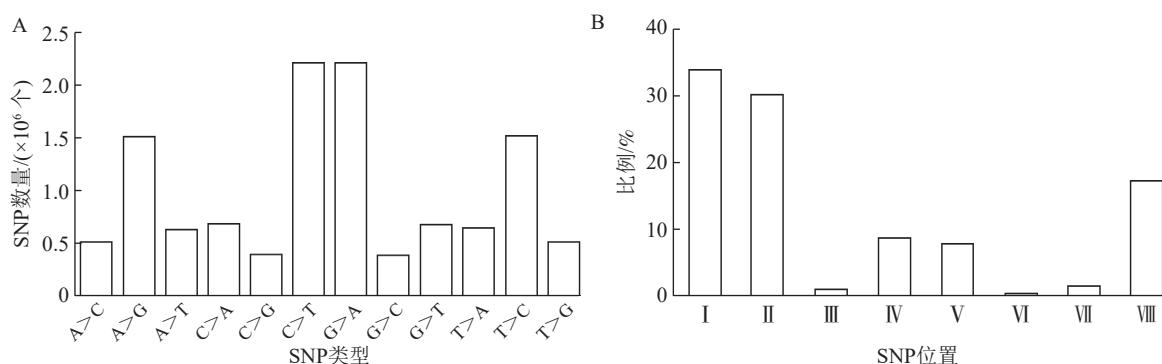


图2 单核苷酸多态性(SNP)在染色体上的密度分布

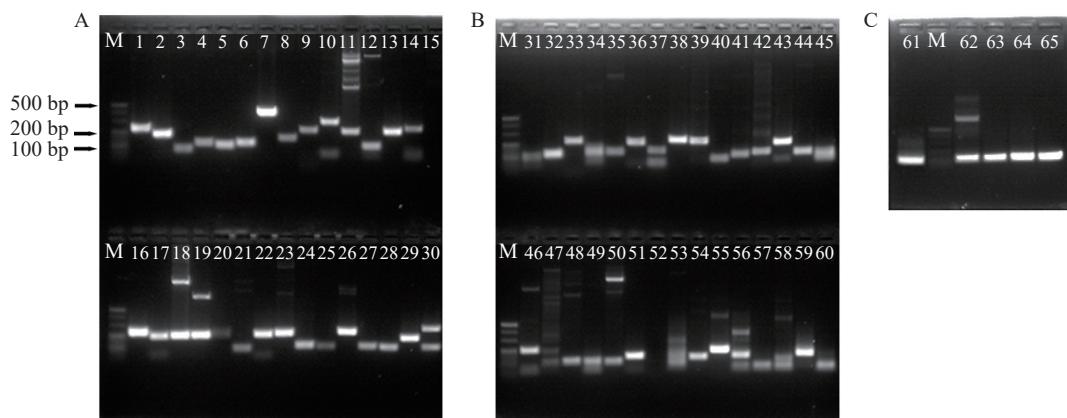
Figure 2 Density distribution of single nucleotide polymorphisms (SNP) on chromosomes



I. 基因间区；II. 基因转录起始位点上游5 kb；III. 基因5'非翻译区内；IV. 内含子区；V. 外显子区；VI. 剪切位点；VII. 基因3'非翻译区内；VIII. 基因转录终止位点下游5 kb。

图3 单核苷酸多态性(SNP)变异类型(A)及分布区域(B)数量统计

Figure 3 Statistics of the number of single nucleotide polymorphisms (SNP) for different mutation types (A) and locations (B)



A. 1~15表示SNP01~SNP30引物的扩增结果; B. 31~60表示SNP31~SNP60引物的扩增结果; C. 61~65表示SNP61~SNP65引物的扩增结果; M. 表示分子量参照标准Marker。

图4 65个单核苷酸多态性(SNP)位点引物PCR扩增特异性电泳检测结果

Figure 4 Electrophoresis analysis of PCR amplification specificity for primers of 65 single nucleotide polymorphisms (SNP) loci

表4 各单核苷酸多态性(SNP)位点突变类型及引物PCR扩增情况

Table 4 Single nucleotide polymorphisms (SNP) mutation types and primer PCR amplification

位点名称	SNP突变类型	PCR扩增结果	位点名称	SNP突变类型	PCR扩增结果	位点名称	SNP突变类型	PCR扩增结果
SNP01	T>C	正确	SNP23	T>A	多条带	SNP45	T>C	正确
SNP02	A>G	正确	SNP24	G>T	正确	SNP46	A>G	多条带
SNP03	G>T	正确	SNP25	C>T	正确	SNP47	T>C	多条带
SNP04	A>G	正确	SNP26	C>T	多条带	SNP48	A>T	多条带
SNP05	T>G	正确	SNP27	G>A	正确	SNP49	A>T	引物二聚体
SNP06	C>A	正确	SNP28	G>T	正确	SNP50	C>T	多条带
SNP07	C>T	正确	SNP29	C>G	正确	SNP51	A>C	引物二聚体
SNP08	T>G	正确	SNP30	C>T	多条带	SNP52	T>A	无条带
SNP09	G>C	正确	SNP31	G>A	引物二聚体	SNP53	T>A	多条带
SNP10	C>T	引物二聚体	SNP32	A>T	正确	SNP54	T>A	正确
SNP11	A>G	多条带	SNP33	C>T	正确	SNP55	G>A	多条带
SNP12	A>T	多条带	SNP34	A>G	引物二聚体	SNP56	A>C	多条带
SNP13	T>C	正确	SNP35	A>C	多条带	SNP57	T>C	引物二聚体
SNP14	G>A	引物二聚体	SNP36	G>C	正确	SNP58	C>T	多条带
SNP15	G>C	无条带	SNP37	T>A	多条带	SNP59	C>T	正确
SNP16	C>G	正确	SNP38	G>A	正确	SNP60	C>T	引物二聚体
SNP17	G>C	引物二聚体	SNP39	C>T	正确	SNP61	C>T、G>C	正确
SNP18	T>C	多条带	SNP40	T>A	正确	SNP62	T>C、A>T	多条带
SNP19	C>G	多条带	SNP41	G>C	正确	SNP63	A>G、A>C	正确
SNP20	G>A	正确	SNP42	A>G	多条带	SNP64	C>G	正确
SNP21	C>A	正确	SNP43	G>A	引物二聚体	SNP65	A>C、T>A	正确
SNP22	T>C	引物二聚体	SNP44	T>C	正确			

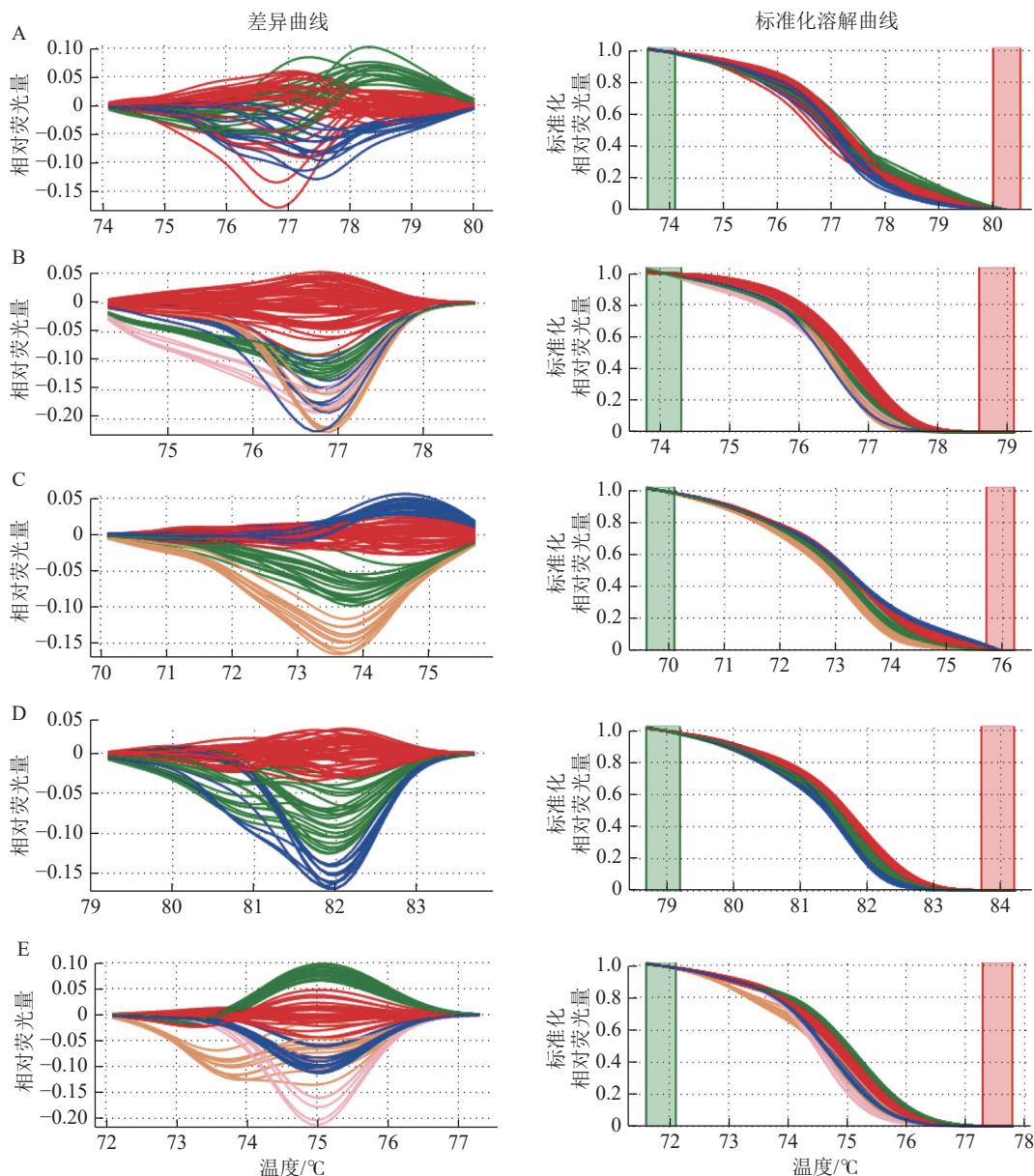
耐盐与敏盐植株的 SNP 位点。最终筛选 5 个候选耐盐相关标记的位点, 分别为 SNP54、SNP61、SNP63、SNP64、SNP65。其中, SNP54 位于 Chr 6 的 *AKT1* 基因外显子区 (53 946 206 bp); SNP61 为双碱基突变, 均位于 Chr 1 的 *BZIP24* 基因外显子区 (分别为 5 370 601 和 5 370 616 bp); SNP63 也为双碱基突变, 均位于 Chr 1 的 *SOS3* 基因内含子区 (分别为 55 569 563 和 55 569 553 bp); SNP64 位于 Chr 5 的 *ABC1K10A* 基因外显子区 (3 642 238 bp); SNP65 为双碱基突变, 横跨 *SOS3* 基因的外显子 (55 570 406 bp) 和内含子区 (55 570 455 bp)。采用各 SNP 位点特异性引物, 对 F_1 群体进行 HRM 分型, 5 对引物均表

现出良好的多态性。其中，SNP54与SNP64分别分出3种基因型，SNP63分出4种，SNP61和SNP65各分出5种基因型(图5)。

对比强耐盐与敏盐植株在各SNP位点的HRM分型结果(表5)发现：SNP54、SNP61、SNP64和SNP65对耐盐性状的区分效果较差，但SNP63的分型效果较好，其I型在强耐盐植株中占63.6%，在敏盐植株中仅占18.7%。因此，SNP63的I型可用于淘汰大部分敏盐单株。

3 讨论

本研究表明： F_1 植株的盐害指数差异极显著，变异系数高达98.11%，表明耐盐性在杂交后代中具有丰富的遗传多样性。耐盐等级划分结果显示：50%以上植株具有中度以上的耐盐性(强耐盐植株占14.5%，中度耐盐植株占36.1%)，表明野生玫瑰具有较好的耐盐遗传潜力^[18]。在经过盐胁迫处理后， F_1 群体中12个强耐盐株系的耐盐性可能优于已报道的野生玫瑰^[7]，后续需要进一步培育这些优良单株的无性系，并与亲本开展同期的对照试验，以便更直接衡量其是否超越亲本的耐盐性。盐害指数分布范围较广，说明耐盐性可能由多个微效基因共同作用，而非单一主效基因控制^[19]。耐盐性多为数量性状，



A. SNP54; B. SNP61; C. SNP63; D. SNP64; E. SNP65。红色. I型; 蓝色. II型; 绿色. III型; 橙色. IV型; 粉色. V型。

图5 单核苷酸多态性(SNP)位点高分辨率熔解(HRM)分型分析

Figure 5 High-resolution melting (HRM) typing analysis of Single nucleotide polymorphisms (SNP)

表 5 高分辨率熔解 (HRM) 基因分型结果统计

Table 5 Statistics of high-resolution melting (HRM) genotyping results

位点 名称	耐盐等级	不同基因分型植株占比/%				
		I型	II型	III型	IV型	V型
SNP54	强耐盐	50.0	30.0	20.0	0	0
	敏盐	69.2	23.1	7.7	0	0
SNP61	强耐盐	70.0	10.0	10.0	0	10.0
	敏盐	50.0	6.3	25.0	6.3	12.5
SNP63	强耐盐	63.6	9.1	18.2	9.1	0
	敏盐	18.7	31.3	31.3	18.7	0
SNP64	强耐盐	63.6	9.1	27.3	0	0
	敏盐	50.0	25.0	25.0	0	0
SNP65	强耐盐	36.4	18.1	36.4	9.1	0
	敏盐	31.2	6.3	25.0	31.2	6.3

受 *SOS*、*NHX*、*HKT* 等多基因家族控制, F_1 变异可能源于亲本等位基因重组^[17]。此外, 4 株植株因盐胁迫死亡可能与极端盐敏感基因型或环境互作有关。

玫瑰为童期较长的木本灌木, 前期辅助选择对其优良种质的选育较为重要。SNP 数量丰富, 是植物基因组 DNA 序列上广泛存在的最基本的变异形式^[20]。本研究在亲本及杂交后代中检测到 SNP 在 7 条染色体上分布均匀, 但 Chr 1 的分布密度较高, 可能与该区域功能基因密集或重组热点有关, 而 Chr 7 的分布密度低, 可能反映其较高的序列保守性^[21]。C>T 和 G>A(转换型) 的 SNP 占比最高, 与文雁成等^[22]的研究结果一致, 可能与 C、G 中胞嘧啶甲基化后自发的脱氨成为胸腺嘧啶有关。SNP 在基因间区分布最多(34.46%), 提示这些 SNP 可能通过调控基因表达影响耐盐性。

随机选取耐盐与敏盐单株进行分型, 发现共有 5 对引物的 HRM 基因分型效果较好。全群体分析表明: SNP63 可以有效区分耐盐与敏盐单株, 说明它可能与耐盐主效基因或调控元件有关, 具备作为耐盐辅助选择分子标记的潜力^[23]。该标记可在幼苗期应用, 提前淘汰耐盐性差的种质, 显著缩短育种周期及成本。然而, 单个 SNP 标记的效率易受到群体特异性遗传结构或上位性效应的影响^[24], 尽管 SNP63 标记在本研究群体中展现了较可靠的辅助选择, 但在其他玫瑰遗传背景(如不同栽培品种或育种品系)中的普适性仍需验证。此外, 玫瑰亲本的高度杂合性为遗传分析提供了丰富的多态性基础, 致使杂交后代群体中出现大量分离的 SNP 位点。本研究鉴定的 SNP63 位点虽与耐盐性存在关联, 但未必为因果变异, 可能仅与功能位点紧密连锁。今后需采用精细作图策略, 例如通过构建更大的次级分离群体(如 F_2 群体)进行高分辨率数量性状位点定位^[25], 结合转录组、基因编辑等功能基因组学手段, 深入解析其候选基因及耐盐机制。

4 结论

在野生玫瑰与重瓣白玫瑰杂交 F_1 群体中, 中度及以上耐盐植株占比达 50.6%, 其中强耐盐植株 12 株(占 14.5%)。群体重测序共检测到 11 412 504 个 SNP 位点, 均匀分布于 7 条染色体上, SNP 数量 Chr 5 最多(19.00%), Chr 7 最少(11.06%)。SNP 变异类型以 C>T 和 G>A 为主, 数量均超 200 万个。HRM 基因分型筛选获得 5 个多态性 SNP 位点, 其中 SNP63 的 I 型可有效区分耐盐与敏盐单株, 表明它具备作为玫瑰耐盐性辅助选择分子标记的潜力。

5 参考文献

- [1] SHABALA S, WU Honghong, BOSE J. Salt stress sensing and early signalling events in plant roots: current knowledge and hypothesis [J]. *Plant Science*, 2015, 241: 109–119.
- [2] 杨明, 赵兰勇. 山东平阴玫瑰种质资源调查研究及类型划分[J]. 中国园林, 2003, 19(7): 61–63.

- YANG Ming, ZHAO Lanyong. Research and classification on the germplasm resources of the Pingyin rugose rose in Shandong Province [J]. *Journal of Chinese Landscape Architecture*, 2003, **19**(7): 61–63.
- [3] 徐勇, 马远潇, 梁悦, 等. 玫瑰花瓣表皮分泌细胞的显微观察及其与精油含量的关系 [J]. 江苏农业科学, 2024, **52**(24): 148–155.
- XU Yong, MA Yuanxiao, LIANG Yue, et al. Microscopic observation of epidermal secretory cells of *Rosa rugosapetals* and their relationship with essential oil content [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2024, **52**(24): 148–155.
- [4] WANG Jianwen, LIANG Yue, CHU Yadong, et al. BOX38, a DNA marker for selection of essential oil yield of *Rosa × rugosa* [J/OL]. *Biomolecules*, 2023, **13**(3): 439 [2025-08-01]. DOI: [10.3390/biom13030439](https://doi.org/10.3390/biom13030439).
- [5] XU Yong, SHI Yuqing, ZHANG Weijie, et al. C2H2 zinc finger protein family analysis of *Rosa rugosa* identified a salt-tolerance regulator, RrC2H2-8 [J/OL]. *Plants*, 2024, **13**(24): 3580 [2025-08-01]. DOI: [10.3390/plants13243580](https://doi.org/10.3390/plants13243580).
- [6] 杨志莹, 赵兰勇, 徐宗大. 盐胁迫对玫瑰生长和生理特性的影响 [J]. 应用生态学报, 2011, **22**(8): 1993–1998.
- YANG Zhiying, ZHAO Lanyong, XU Zongda. Impacts of salt stress on the growth and physiological characteristics of *Rosa rugosa* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, **22**(8): 1993–1998.
- [7] 李雪剑. 玫瑰种质耐盐性评价及响应盐胁迫的关键基因筛选 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2022.
- LI Xuejian. *Salt Tolerance Evaluation of Rosa rugosa Germplasm and Key Genes Screening in Response to Salt Stress* [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2022.
- [8] 牛若宇, 高瞻, 熊显鹏, 等. 棉花野生种质资源的育种应用研究与前景 [J]. 生物技术通报, 2025, **41**(4): 21–32.
- NIU Ruoyu, GAO Zhan, XIONG Xianpeng, et al. Breeding applications and prospects of wild cotton germplasm resources [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2025, **41**(4): 21–32.
- [9] ZENDA T, LIU Songtao, DONG Anyi, et al. Omics-facilitated crop improvement for climate resilience and superior nutritive value [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, **12**: 774994 [2025-08-01]. DOI: [10.3389/fpls.2021.774994](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.774994).
- [10] 乔东亚, 王鹏, 王淑安, 等. 基于 SNP 标记的紫薇遗传多样性分析 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, **44**(4): 21–28.
- QIAO Dongya, WANG Peng, WANG Shu'an, et al. Genetic diversity analysis of *Lagerstroemia* germplasm resources based on SNP markers [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2020, **44**(4): 21–28.
- [11] 欧哲, 杨宇, 冯策婷, 等. 单叶蔷薇远缘杂交中花粉管生长的荧光显微观察 [J]. 东北农业大学学报, 2022, **53**(10): 18–26.
- OU Zhe, YANG Yu, FENG Ceting, et al. Fluorescent microscope observation on growth of pollen tube on distant hybridization in *Rosa persica* [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2022, **53**(10): 18–26.
- [12] 王涛, 蒙仲举, 张佳鹏, 等. NaCl 胁迫对紫穗槐幼苗生长及生理特性的影响 [J]. 西北林学院学报, 2021, **36**(1): 25–30.
- WANG Tao, MENG Zhongju, ZHANG Jiapeng, et al. Effects of NaCl stress on the growth and physiological characteristics of *Amorpha fruticosa* seedlings [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2021, **36**(1): 25–30.
- [13] LIU Dan, LIU Kun, TONG Boqiang, et al. Telomere-to-telomere, gap-free assembly of the *Rosa rugosa* reference genome [J/OL]. *Horticultural Plant Journal*, 2024 [2025-08-01]. DOI: [10.1016/j.hpj.2024.06.005](https://doi.org/10.1016/j.hpj.2024.06.005).
- [14] ZHOU Yong, KATHIRESAN N, YU Zhichao, et al. A high-performance computational workflow to accelerate GATK SNP detection across a 25-genome dataset [J/OL]. *BMC Biology*, 2024, **22**(1): 13 [2025-08-01]. DOI: [10.1186/s12915-024-01820-5](https://doi.org/10.1186/s12915-024-01820-5).
- [15] LI Heng, DURBIN R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform [J]. *Bioinformatics*, 2009, **25**(14): 1754–1760.
- [16] van ZELM E, ZHANG Yanxia, TESTERINK C. Salt tolerance mechanisms of plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2020, **71**: 403–433.
- [17] ZHU Yanchun, LI Mengxia, WANG Tao, et al. Research advances of salt exclusion, salt sequestration, salt secretion, and salt signaling regulation in plants [J/OL]. *Plant Stress*, 2025, **17**: 100952 [2025-08-01]. DOI: [10.1016/j.stress.2025.100952](https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100952).
- [18] LIU Citao, MAO Bigang, ZHANG Yanxia, et al. The OsWRKY72-OsAAT30/OsGSTU26 module mediates reactive oxygen species scavenging to drive heterosis for salt tolerance in hybrid rice [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2024, **66**(4): 709–730.
- [19] 朱庆林, 王紫阳, 于朝广, 等. 盐胁迫下(落羽杉×墨西哥落羽杉)×墨西哥落羽杉回交子代根尖分生区 Na^+ 、 K^+ 流特征及 QTL 定位 [J]. 植物资源与环境学报, 2025, **34**(4): 1–8, 22.

- ZHU Qinlin, WANG Ziyang, YU Chaoguang, *et al.* Characteristics and QTL mapping of Na^+ and K^+ flows in root apical meristem of backcross generations of $(\text{Taxodium distichum} \times \text{T. mucronatum}) \times \text{T. mucronatum}$ under salt stress [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2025, **34**(4): 1–8, 22.
- [20] 洪森荣, 曾清华, 谭鑫, 等. 上饶早梨‘六月雪’和‘黄皮消’全基因组重测序分析 [J]. 浙江农林大学学报, 2019, **36**(2): 227–235.
- HONG Senrong, ZENG Qinghua, TAN Xin, *et al.* Whole genome re-sequencing analysis of two cultivars ('Liuyuexue' and 'Huangpixiao') of *Pyrus pyrifolia* in Shangrao [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2019, **36**(2): 227–235.
- [21] MI XIAOZENG, QIAO DAHE, AN YANLIN, *et al.* Genome-wide association study of tea plant based on SLAF-seq revealed SNP variations regulating timing of bud flush [J/OL]. *Plant Gene*, 2025, **42**: 100511 [2025-08-01]. DOI: [10.1016/j.plgene.2025.100511](https://doi.org/10.1016/j.plgene.2025.100511).
- [22] 文雁成, 何俊平, 蔡东芳, 等. 基于全基因组重测序技术的甘蓝型油菜光叶突变体基因定位 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2023, **49**(4): 497–506.
- WEN Yancheng, HE Junping, CAI Dongfang, *et al.* Gene mapping of a novel glossy mutant in *Brassica napus* L. based on whole genome resequencing technology [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2023, **49**(4): 497–506.
- [23] CHENG Yuanhang, WANG Tao, WEN Yeying, *et al.* Genetic variation and assessment of seven salt-tolerance genes in an indica/Xian rice population [J/OL]. *Agronomy*, 2025, **15**(3): 570 [2025-08-01]. DOI: [10.3390/agronomy15030570](https://doi.org/10.3390/agronomy15030570).
- [24] MCCARTHY M I, ABECASIS G R, CARDON L R, *et al.* Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges [J]. *Nature Reviews. Genetics*, 2008, **9**(5): 356–369.
- [25] 刘飞, 黄娟, 杜千禧, 等. 苦荞重组自交系的 RS 和 GABA 的 QTL 定位及候选基因分析 [J]. 浙江农林大学学报, 2025, **42**(4): 703–713.
- LIU Fei, HUANG Juan, DU Qianxi, *et al.* QTL mapping and candidate gene analysis of RS and GABA based on the recombinant inbred lines(RILs) of *Fagopyrum tataricum* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, **42**(4): 703–713.