

江伟, 张晓, 赵仁慧, 等. 基于全基因组关联分析挖掘小麦籽粒硬度指数和沉淀值的显著性位点[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(11): 2088-2096.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.11.002

基于全基因组关联分析挖掘小麦籽粒硬度指数和沉淀值的显著性位点

江伟^{1,2}, 张晓², 赵仁慧², 李曼², 吴旭江², 李韬¹, 胡文静², 高德荣²

(1.扬州大学农学院, 江苏扬州 225007; 2.江苏里下河地区农业科学研究所/农业部长江中下游小麦生物学与遗传育种重点实验室, 江苏扬州 225007)

摘要: 为解析小麦品质指标籽粒硬度指数(*GH*)与沉淀值(*SV*)的遗传基础, 本研究利用扬麦 16 和扬麦 22 杂交获得 F_1 , 扬麦 20 和镇麦 168 杂交获得 F_1 , 再将 2 个单交组合的 F_1 进行杂交产生四亲本杂交种, 然后自交衍生获得 320 份稳定株系并将其作为试验材料。利用小麦 15K SNP 芯片数据, 结合 3 年共 4 个环境的 *GH* 与 *SV* 表型数据, 采用混合线性模型 (MLM) 进行全基因组关联分析。结果表明, *GH* 表型分布呈现 1:1 且在不同环境间具有显著相关性, *SV* 表型符合正态分布且在不同环境间具有显著相关性。本研究共检测到 8 个与 *GH* 显著关联的位点, 其中有 4 个位点为多环境稳定位点, 分布在染色体 5D (3 个位点) 和 5A (1 个位点) 上, 可解释 5.80% ~ 13.40% 的表型变异; 检测到 20 个与 *SV* 显著关联的位点, 其中 3 个位于染色体 5D 上的位点为多环境稳定位点, 可解释 4.78% ~ 7.46% 的表型变异; 染色体 5D 上的 AX-109986939、AX-111464164 和 AX-110476332 位点同时与 *GH* 和 *SV* 显著关联, 为一因多效稳定位点。进一步分析发现, AX-109986939、AX-111464164 和 AX-110476332 对 *GH* 和 *SV* 均具有极显著效应 ($P < 0.01$)。在染色体 5A 上的位点 AX-110419834 增效等位变异可使 *GH* 值提高 24.44% ($P < 0.01$)。

关键词: 小麦; 硬度指数; 沉淀值; 全基因组关联分析

中图分类号: S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)11-2088-09

Discovering of significant sites for wheat grain hardness and sedimentation value using genome-wide association study

JIANG Wei^{1,2}, ZHANG Xiao², ZHAO Renhui², LI Man², WU Xujiang², LI Tao¹, HU Wenjing², GAO Derong²

(1. Agricultural College of Yangzhou University, Yangzhou 225007, China; 2. Institute of Agricultural Sciences of the Lixiahe District in Jiangsu Province/Key Laboratory of Wheat Biology and Genetic Breeding in the Middle and Lower Reaches of the Yangtze River, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yangzhou 225007, China)

Abstract: To elucidate the genetic basis of the grain quality indices including grain hardness (*GH*) and sedimentation value (*SV*) in wheat, this study utilized F_1 hybrids from the crosses Yangmai 16 × Yangmai 22 and Yangmai 20 × Zhenmai 168. The F_1 plants from these two single crosses were then hybridized to generate a four-parent cross, which was subsequently self-pollinated to derive 320 stable lines used as experimental materials. Using data from the wheat 15K SNP array and phenotypic data for *GH* and *SV* collected across four environments over three years, a genome-wide association study (GWAS) was con-

收稿日期: 2025-02-12

基金项目: 国家小麦产业技术体系弱筋品种改良岗位项目 (CARS-03-8); 农业生物育种重大专项 (2023ZD0402504); 江苏里下河地区农业科学研究所科研发展专项 [SJ(22)203]

作者简介: 江伟 (1989-), 男, 安徽宣城人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为小麦品质育种。 (E-mail) 183036586@qq.com

通讯作者: 高德荣, (E-mail) gdr@wheat.org.cn; 胡文静, (E-mail) huren2008@126.com

ducted using a mixed linear model (MLM). The results showed that the *GH* phenotypic distribution exhibited a 1 : 1 ratio and had significant correlations across different environments, while the *SV* phenotypic distribution followed a normal distribution and also showed significant correlations across environments. A total of eight loci significantly associated with *GH* were detected, four of which were stable across multiple environments. These stable loci were located on chromosomes 5D (three loci) and 5A (one locus), explaining 5.80% to 13.40% of the phenotypic variation. Twenty loci significantly associated with *SV* were detected, three of which on chromosome 5D were stable across multiple environments, explaining 4.78% to 7.46% of the phenotypic variation. The loci *AX-109986939*, *AX-111464164*, and *AX-110476332* on chromosome 5D were significantly associated with both *GH* and *SV*, representing stable pleiotropic loci. Further analysis revealed that *AX-109986939*, *AX-111464164*, and *AX-110476332* had highly significant effects ($P < 0.01$) on both *GH* and *SV*. The favorable allele variation at locus *AX-110419834* on chromosome 5A increased the *GH* value by 24.44% ($P < 0.01$).

Key words: wheat; grain hardness; sedimentation value; genome-wide association study (GWAS)

小麦籽粒硬度指数 (*GH*) 可以反映胚乳质地的紧密程度, 主要由胚乳细胞中蛋白质基质与淀粉之间的结合强度决定, 这种结合强度受遗传因素控制^[1]。沉淀值 (*SV*) 是食品加工品质的重要参考指标, 综合反映了小麦蛋白质、面筋含量和质量^[2]。在小麦品质育种中, 通常将小麦籽粒硬度与沉淀值作为早世代育种材料品质类型的初级分类指标^[3-4]。李宗智等^[5]和张晓等^[6]的研究结果表明, *SV* 具有较高的遗传力, 且稳定性较强, 可作为低世代育种材料的筛选指标。

pina 和 *pinb* 是 *GH* 形成的分子基础^[7], 小麦籽粒软质对硬质表现为显性, *pina-D1* 和 *pinb-D1* 基因编码 Pina 和 Pinb 蛋白, Pina 和 Pinb 蛋白组成 Friabilin 蛋白复合体, Friabilin 蛋白复合体在软质小麦中大量存在, *pina* 不表达或 *pinb* 发生突变均会导致小麦胚乳质地变硬^[8-9]。但是近年来, 多数研究结果表明, *puroindoline* 基因尚不能完全解释 *GH* 的变异情况^[10]。有研究表明, *GH* 的变异还受其他微效基因以及上位性的影响^[4, 11]。Wang 等^[12]发现控制软质小麦 *GH* 和出粉率的主效位点分别是位于 4B 染色体上的位点 *Qkha.orr-4B* 和 4D 染色体上的位点 *Qkha.orr-4D*, 可解释 20% ~ 30% 的 *GH* 表型变异。胡文静等^[13]在 1A、1B、2A 和 7A 染色体上定位到 4 个与 *GH* 相关的稳定位点, 贡献率为 7.15% ~ 10.86%。Lou 等^[14]利用 19 552 个单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 标记对 486 份自然群体进行关联分析, 在 5D 染色体上定位到的 *QNgh.cau-5D* 位于硬度基因 *Pinb* 区间内。严勇亮等^[15]在 7A 染色体 (8.91 ~ 12.44 Mb) 上检测到与 *GH* 相关的多个位点。有学者利用重组自交系 (RIL) 群体和双单倍体 (DH) 群体, 在 1A、1B、2A、

2D、3A、3B、5A、5D、6A 和 7B 染色体上检测到多个控制 *SV* 的数量性状座位 (QTL)^[16-18]。Taenzler 等^[19]把控制 *SV* 的 QTL 定位在一粒小麦的 1A 染色体长臂上。吴云鹏等^[20]利用简单重复序列 (SSR) 标记, 在 1B 和 1D 染色体上共定位到 3 个与 *SV* 相关的 QTL。严勇亮等^[15]在 1B 染色体上的 335.51 ~ 445.67 Mb 区段、6A 染色体上的 3.80 ~ 25.80 Mb 区段和 7A 染色体上的 26.47 ~ 32.70 Mb 区段检测到多个与 *SV* 相关的稳定位点。

前人的研究多以自然群体和 RIL 群体为试验材料, 而相较于 RIL 群体的低分辨率, 多亲本重组自交系 (MAGIC) 群体可以降低群体内的分化情况, 避免稀有等位变异的丢失, 多代杂交能有效打破较长范围内的连锁不平衡 (LD), 弥补了自然群体容易出现分群现象而造成假阳性的不足, 可极大提高目标 QTL 定位的精度^[21]。本研究针对目前在品质育种中被高效利用的籽粒硬度和沉淀值指标, 拟采用四亲本构建的 MAGIC 群体, 结合小麦 15K SNP 基因型数据开展全基因组关联分析 (GWAS), 挖掘与 *GH*、*SV* 相关的新显著性 SNP 位点, 以期对 *GH* 和 *SV* 相关基因克隆和分子标记辅助育种提供技术支撑。

1 材料与与方法

1.1 试验材料和种植方式

选取品质类型为中筋的小麦品种扬麦 16 和中筋偏弱筋的扬麦 22 杂交形成 F_1 , 强筋小麦品种镇麦 168 和中筋偏弱筋的扬麦 20 杂交形成 F_1 , 再将 2 份 F_1 材料进行杂交, 然后通过自交 8 代获得 320 份稳定株系。亲本扬麦 16 硬度基因型是 *Pina-D1a/Pinb-D1b*, 镇麦 168 硬度基因型为 *Pina-D1a/Pinb-D1p*, 扬麦 20 和扬麦 22 的硬度基因型均为 *Pina-D1a/Pinb-D1a*。试验材料种

植地点江苏里下河地区农业科学研究所万福基地(32°24'N, 119°26'E)土壤为沙壤土,江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地(32°90'N, 119°64'E)土壤为黏壤土,前茬均为水稻,适期播种,行长 1.3 m,每行 40~50 株,2 行区,行距 23 cm。群体材料施肥标准保持一致,每个环境下总施氮量为 210 kg/hm²,基肥、分蘖肥、拔节肥施用比例为 3:3:4。适期进行赤霉病、白粉病、蚜虫等病虫害防治。试验群体及亲本种植情况见表 1。

表 1 试验材料种植情况

Table 1 Planting status of materials

年份	地点	试验环境
2017-2018	江苏里下河地区农业科学研究所万福基地	E1
2018-2019	江苏里下河地区农业科学研究所万福基地	E2
2018-2019	江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地	E3
2020-2021	江苏里下河地区农业科学研究所万福基地	E4

1.2 表型测定

试验环境 2017-2018 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地(E1)、2018-2019 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地(E2)、2018-2019 年江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地(E3)种植小麦的硬度指数采用 Perten SKCS4100 型单粒谷物特性测定仪进行测定;试验环境 2020-2021 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地(E4)种植小麦的硬度指数采用 JYDB100×40 小麦硬度指数测定仪进行测定;试验环境 E1、E2、E3、E4 种植小麦的沉淀值参照张晓等^[6]方法进行测定。

1.3 表型数据的统计分析

利用 Microsoft Excel 2019、SPSS 22.0 软件对表型数据进行统计分析、正态性检验和相关性分析。

1.4 SNP 基因型分析和群体结构

采用基于中国春基因组开发的小麦 15K SNP 芯片(中国农业科学院作物科学研究所与中玉金公司合作开发)对试验群体进行基因型分型。本研究共检测到覆盖小麦全基因组的 13 947 个 SNP 标记。通过 Admixture1.3.0 软件,根据样本的 SNP 数据,构建样本间的亲缘关系矩阵(K 矩阵)。使用 TASSEL V5.2.3 软件对群体结构进行评估,由主成分分析中的主成分 1(PC1)、主成分 2(PC2)和主成分 3(PC3)来揭示,结果利用 R 语言绘制 3D

图呈现。对原始标记去冗余,剔除次等位基因频率(MAF) < 5% 和缺失率 > 25% 的 SNP 标记,然后进行性状关联分析。

1.5 全基因组关联分析(GWAS)

使用 TASSEL V5.2.3 中的 Q+K 混合线性模型(MLM)对由扬麦 16、镇麦 168、扬麦 20、扬麦 22 创建的小麦 MAGIC 群体在 4 个环境(E1、E2、E3、E4)下的 GH 与 SV 进行全基因组关联分析,以 $P = 1.0 \times 10^{-3}$ 为阈值,得到与目标性状显著相关的 SNP 位点。参考胡文静等^[13]的方法依据关联分析结果绘制相应的 Manhattan-Plot 和 QQ-Plot。

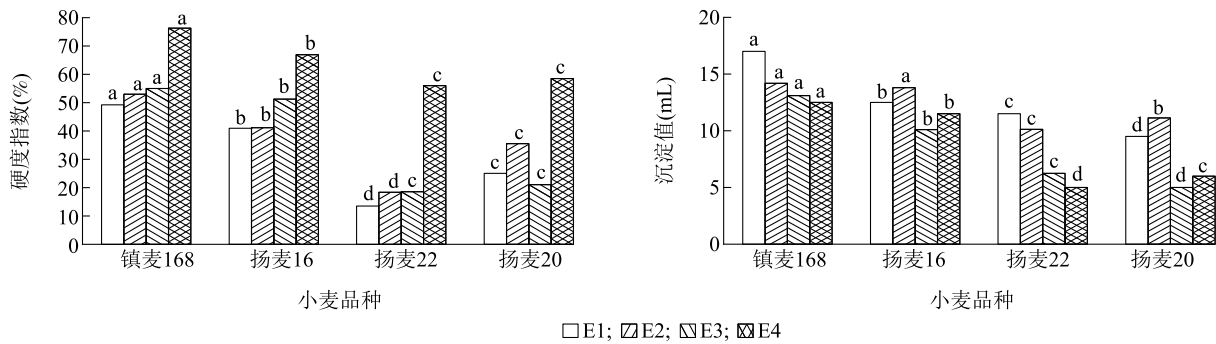
2 结果与分析

2.1 不同环境下小麦籽粒硬度指数和沉淀值表型变异分析

图 1 显示,在多个环境下亲本镇麦 168 和扬麦 16 的 GH 与 SV 均显著高于亲本扬麦 22 和扬麦 20 ($P < 0.05$),这说明该群体的亲本在品质上差异显著,这将丰富子代群体的表型多样性。对 320 份群体材料在 E1、E2、E3 和 E4 环境下的 GH 和 SV 进行统计,结果(表 2、表 3)表明, GH 平均值分别为 31.84%、31.90%、34.87%、60.15%,变异系数为 13.08%~62.05%,SV 平均值分别为 11.66 mL、10.29 mL、9.38 mL、6.83 mL,变异系数为 21.80%~24.75%,说明群体材料的 GH 和 SV 变异范围大,遗传后代具有选择多样性。表 3 显示,SV 在所有环境下的峰度与偏度绝对值均小于 1.00,符合正态分布,说明该性状是受多基因控制的。表 4 显示,SV 表型在不同环境间具有极显著相关性。图 2 显示,群体中同时存在大量高 GH 值和低 GH 值的个体,且两者数量相当(比例约为 1:1),证明该性状受主效基因控制。

2.2 SNP 基因型分析和群体结构

过滤 15K SNP 芯片,筛选得到 3 640 个高质量 SNP 标记进行群体结构分析,其中 A 基因组包含 1 284 个(35.27%)标记, B 基因组包含 1 435 个(39.42%)标记, D 基因组包含 921 个(25.30%)标记。通过 Admixture1.3.0 软件,对群体结构进行分析,预先设定亚群数目(K 值)为 1~10 进行聚类,并对聚类结果进行交叉验证。结果(图 3)显示,不同 K 值下群体的交叉验证误差无明显的拐点。同时,主成分分析结果显示,主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)分别为 14.2%、18.1%,未表现出明显的群体结构。



图中不同小写字母表示相同环境不同品种间差异显著 ($P < 0.05$)。E1:2017-2018年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E2:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E3:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地;E4:2020-2021年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地。

图1 不同环境下小麦亲本的籽粒硬度指数与沉淀值

Fig.1 Grain hardness index and sedimentation value of wheat parental lines across different environments

表2 小麦群体籽粒硬度指数的描述性统计分析

Table 2 Descriptive statistical analysis of grain hardness in the wheat population

环境	取值范围 (%)	平均值 (%)	标准差 (%)	偏度	峰度	变异系数 (%)
E1	-3.83~64.85	31.84	19.76	-0.06	-1.56	62.05
E2	-1.25~62.46	31.90	17.64	0.07	-1.44	55.30
E3	-1.30~65.27	34.87	16.52	0.04	-1.40	47.37
E4	39.60~75.80	60.15	7.87	-0.22	-0.94	13.08

E1:2017-2018年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E2:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E3:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地;E4:2020-2021年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地。

表3 小麦群体沉淀值的描述性统计分析

Table 3 Descriptive statistical analysis of sedimentation value in the wheat population

环境	取值范围 (mL)	平均值 (mL)	标准差 (mL)	偏度	峰度	变异系数 (%)
E1	5.25~17.75	11.66	2.54	0.05	-0.50	21.80
E2	5.38~17.88	10.29	2.55	0.35	-0.39	24.75
E3	4.50~16.10	9.38	2.29	0.41	-0.29	24.40
E4	4.00~13.50	6.83	1.53	0.63	0.84	22.41

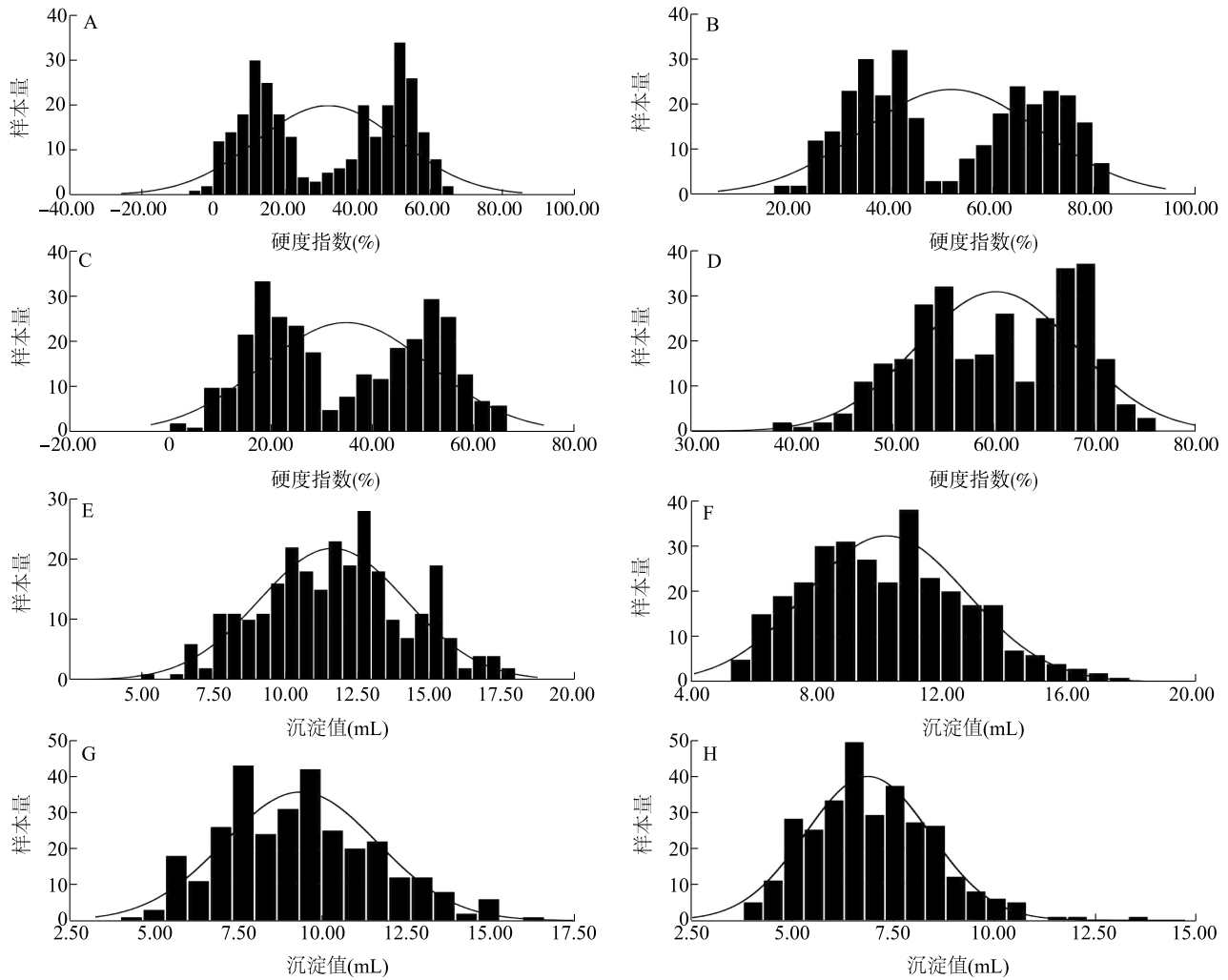
E1:2017-2018年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E2:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E3:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地;E4:2020-2021年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地。

表4 不同环境间籽粒硬度指数、沉淀值的相关系数

Table 4 Correlation coefficients of grain hardness index and sedimentation value between different environments

性状	环境	E1	E2	E3	E4
硬度指数	E1	1.00			
	E2	0.82**	1.00		
	E3	0.88**	0.83**	1.00	
	E4	0.73**	0.59**	0.66**	1.00
沉淀值	E1	1.00			
	E2	0.72**	1.00		
	E3	0.66**	0.72**	1.00	
	E4	0.42**	0.40**	0.32**	1.00

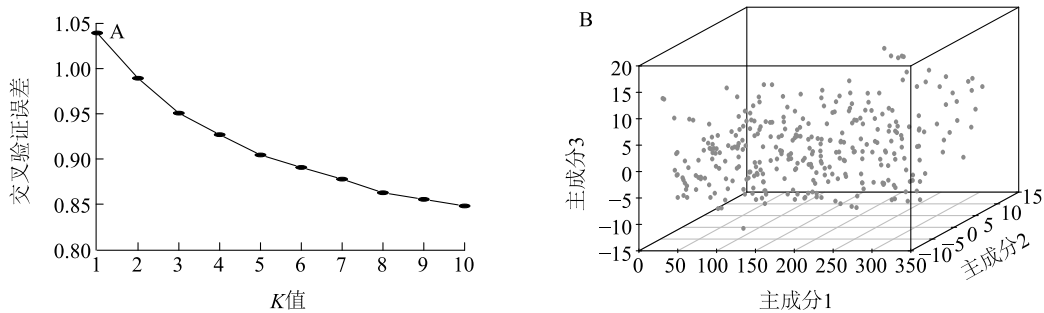
**表示极显著相关 ($P < 0.01$)。E1:2017-2018年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E2:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地;E3:2018-2019年江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地;E4:2020-2021年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地。



A: E1 环境下的小麦籽粒硬度指数; B: E2 环境下的小麦籽粒硬度指数; C: E3 环境下的小麦籽粒硬度指数; D: E4 环境下的小麦籽粒硬度指数; E: E1 环境下的小麦沉淀值; F: E2 环境下的小麦沉淀值; G: E3 环境下的小麦沉淀值; H: E4 环境下的小麦沉淀值。E1: 2017-2018 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地; E2: 2018-2019 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地; E3: 2018-2019 年江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地; E4: 2020-2021 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地。

图 2 4 个环境下群体籽粒硬度指数与沉淀值频率分布

Fig.2 Frequency distribution of grain hardness and sedimentation value in the population across four environments



A: 群体的交叉验证误差; B: 主成分分析结果。K 值: 亚群数目。

图 3 320 份小麦品系的群体结构分析

Fig.3 Population structure analysis of 320 wheat lines

2.3 标记与性状全基因组关联分析 (GWAS)

利用 15K 基因芯片对 4 个环境表型数据进行 GWAS, 根据表 5 得出, 共检测到 8 个与 *GH* 显著关联的 SNP 标记, 分布于 5D、5A、2B、7D 染色体, 可解释 4.72%~13.40% 表型变异。有 4 个 SNP 标记同时在 2 个及 2 个以上环境中被检测到, 其中位于 5D 染色体物理位置 2.68 Mb、5.56 Mb 和 6.39 Mb 处的 *AX-109986939*、*AX-111464164* 和 *AX-110476332* 位点在 4 个环境中均能被检测到, 可解释 5.80%~13.40% 的表型变异, 且物理位置接近, 可视为同一位点; 位于 5A 染色体 1.34 Mb 的 *AX-110419834* 位点为多环境稳定位点, 可解释 5.32%~9.24% 的表型变异。在 2B 与 7D 染色体上也检测到显著性位

点, 但未被重复检测。与 *SV* 显著关联的 SNP 标记有 20 个, 分布于 1D、5D、2B、5B 染色体上, 可解释 4.78%~7.46% 表型变异。其中, 位于 1D 染色体 (13 个)、2B 染色体 (2 个) 和 5B 染色体 (2 个) 位置的 17 个显著位点只在 1 个环境被检测到, 位于 5D 染色体物理位置 5.56 Mb 和 6.39 Mb 处的 *AX-111464164* 和 *AX-110476332* 在 3 个环境中能被检测到, 可解释 4.78%~7.46% 的表型变异, 位于 5D 染色体物理位置 2.68 Mb 处的标记 *AX-109986939* 在 2 个环境中能被检测到, 可解释的表型变异为 6.27% 和 6.04%。上述结果表明, 5D 染色体上的 *AX-109986939*、*AX-111464164* 和 *AX-110476332* 位点同时与 *GH* 和 *SV* 显著关联, 为一因多效位点。

表 5 小麦籽粒硬度指数和沉淀值的显著关联位点

Table 5 Significantly associated loci for wheat grain hardness index and sedimentation value

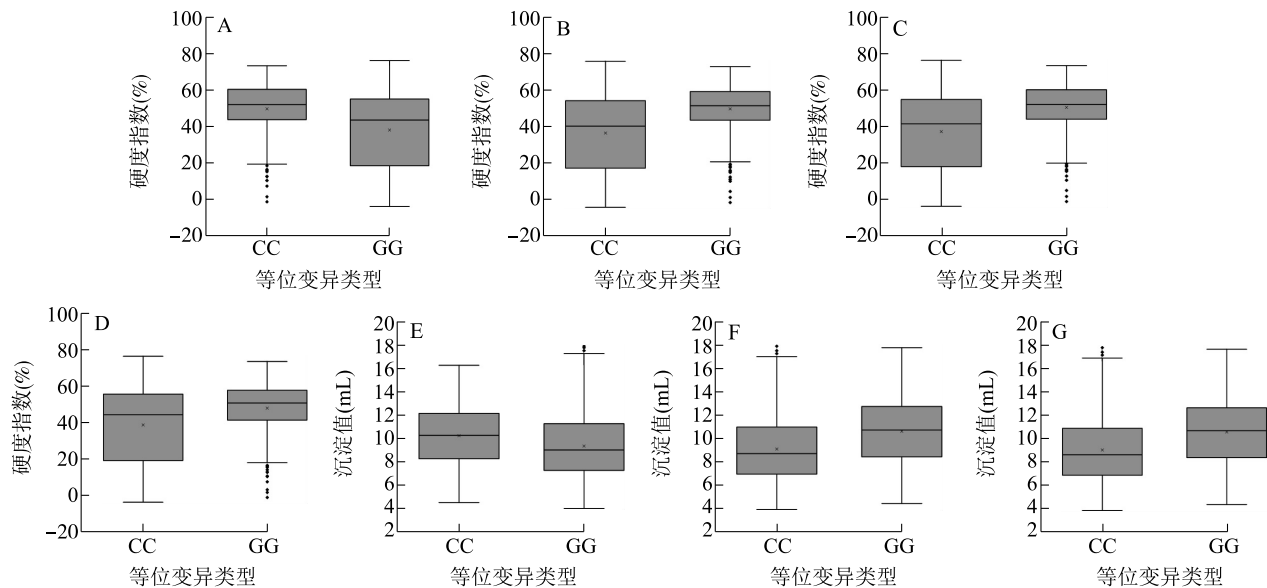
性状	SNP 标记	染色体	物理位置 (Mb)	P 值				R ² (%)			
				E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4
硬度指数	<i>AX-109986939</i>	5D	2.68	4.61×10 ⁻⁷	1.04×10 ⁻⁴	1.34×10 ⁻⁸	1.96×10 ⁻⁴	10.67	6.25	12.94	5.80
	<i>AX-111464164</i>	5D	5.56	1.35×10 ⁻⁸	2.36×10 ⁻⁶	2.28×10 ⁻⁸	3.30×10 ⁻⁶	13.40	8.99	12.63	8.67
	<i>AX-110476332</i>	5D	6.39	6.91×10 ⁻⁸	8.56×10 ⁻⁶	9.95×10 ⁻⁹	2.71×10 ⁻⁵	12.08	7.99	13.10	7.18
	<i>AX-110419834</i>	5A	1.34	3.49×10 ⁻⁵	5.12×10 ⁻⁴	2.07×10 ⁻⁶		7.40	5.32	9.24	
	<i>AX-111529691</i>	2B	24.13				3.31×10 ⁻⁴				5.35
	<i>AX-108920250</i>	7D	54.99				2.43×10 ⁻⁴				5.59
	<i>AX-110502471</i>	7D	54.59				3.80×10 ⁻⁴				5.35
	<i>AX-109731572</i>	7D	53.67				8.25×10 ⁻⁴				4.72
沉淀值	<i>AX-110476332</i>	5D	6.39	6.32×10 ⁻⁵	2.55×10 ⁻⁴	4.09×10 ⁻⁴		7.32	5.54	5.24	
	<i>AX-111464164</i>	5D	5.56	5.40×10 ⁻⁵	1.11×10 ⁻⁴		8.82×10 ⁻⁴	7.46	6.11		4.78
	<i>AX-109986939</i>	5D	2.68	2.49×10 ⁻⁴	1.44×10 ⁻⁴			6.27	6.04		
	<i>AX-109343644</i>	1D	419.60		3.89×10 ⁻⁴				5.23		
	<i>AX-109973213</i>	1D	420.65		2.31×10 ⁻⁴				5.58		
	<i>AX-110493828</i>	1D	427.32		6.08×10 ⁻⁴				5.00		
	<i>AX-110934628</i>	1D	413.31		6.81×10 ⁻⁵				6.42		
	<i>AX-111019122</i>	1D	416.46		3.63×10 ⁻⁴				5.27		
	<i>AX-111377235</i>	1D	432.34		2.25×10 ⁻⁴				5.62		
	<i>AX-111382637</i>	1D	418.53		1.67×10 ⁻⁴				5.80		
	<i>AX-111457169</i>	1D	413.78		3.26×10 ⁻⁴				5.61		
	<i>AX-111552331</i>	1D	411.24		5.29×10 ⁻⁵				6.59		
	<i>AX-111633021</i>	1D	415.98		5.35×10 ⁻⁴				5.03		
	<i>AX-111815631</i>	1D	412.29		5.37×10 ⁻⁵				6.58		
	<i>AX-111973810</i>	1D	429.99		4.48×10 ⁻⁵				6.71		
	<i>AX-94613367</i>	1D	414.30		6.81×10 ⁻⁵				6.42		
	<i>AX-111555027</i>	2B	566.42	2.42×10 ⁻⁴					6.23		
	<i>AX-94943179</i>	2B	566.63	3.64×10 ⁻⁴					5.96		
	<i>AX-108895864</i>	5B	144.88		6.83×10 ⁻⁴				4.89		
	<i>AX-111532854</i>	5B	9.07				7.93×10 ⁻⁴				4.97

SNP: 单核苷酸多态性; P 值: SNP 与目标性状之间的关联显著性; R²: 表型贡献率。E1: 2017-2018 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地; E2: 2018-2019 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地; E3: 2018-2019 年江苏里下河地区农业科学研究所高邮司徒基地; E4: 2020-2021 年江苏里下河地区农业科学研究所万福基地。

2.4 多环境重复性位点对表型的效应分析

在 5D 染色体上定位到的稳定位点 AX-109986939、AX-111464164 和 AX-110476332 对小麦籽粒硬度指数和沉淀值均具有极显著效应 ($P < 0.01$), 在 5A 染色体上定位到的稳定位点 AX-110419834 对 *GH* 具有极显著效应 ($P < 0.01$)。图 4 显示, 5D 染色体上, 携带 AX-109986939 位点增加 *GH* 和 *SV* 等位基因型(镇麦 168、扬麦 16 等位变异)家系的 *GH* 和 *SV* 比携带减少 *GH* 和 *SV* 等位基因型(扬麦 22、扬麦 20 等位变异)家系分别增加 31.27% ($P < 0.01$) 和 9.77% ($P < 0.01$), 携带 AX-111464164 位点增加 *GH* 和 *SV* 等位基因型(镇麦 168、扬麦 16

等位变异)家系的 *GH* 和 *SV* 比携带减少 *GH* 和 *SV* 等位基因型(扬麦 22、扬麦 20 等位变异)家系分别增加 36.32% ($P < 0.01$) 和 16.79% ($P < 0.01$), 携带 AX-110476332 位点增加 *GH* 和 *SV* 等位基因型(镇麦 168、扬麦 16 等位变异)家系的 *GH* 和 *SV* 比携带减少 *GH* 和 *SV* 等位基因型(扬麦 22、扬麦 20 等位变异)家系分别增加 36.25% ($P < 0.01$) 和 17.09% ($P < 0.01$)。5A 染色体上, 携带 AX-110419834 位点增加 *GH* 等位基因型(镇麦 168 等位变异)家系的 *GH* 比携带减少 *GH* 等位基因型(扬麦 16、扬麦 22、扬麦 20 等位变异)家系增加 24.44% ($P < 0.01$)。



A: 5D 染色体上定位到的稳定位点 AX-109986939 对小麦籽粒硬度指数的效应分析; B: 5D 染色体上定位到的稳定位点 AX-111464164 对小麦籽粒硬度指数的效应分析; C: 5D 染色体上定位到的稳定位点 AX-110476332 对小麦籽粒硬度指数的效应分析; D: 5A 染色体上定位到的稳定位点 AX-110419834 对小麦籽粒硬度指数的效应分析; E: 5D 染色体上定位到的稳定位点 AX-109986939 对小麦沉淀值的效应分析; F: 5D 染色体上定位到的稳定位点 AX-111464164 对小麦沉淀值的效应分析; G: 5D 染色体上定位到的稳定位点 AX-110476332 对小麦沉淀值的效应分析。

图 4 可重复检测到的显著性位点对籽粒硬度指数和沉淀值的遗传效应分析

Fig.4 Analysis of genetic effects of repeatably detectable significant loci on grain hardness and sedimentation value

3 讨论

3.1 群体材料籽粒硬度指数和沉淀值表型变异

统计分析发现, 在 4 个不同环境下群体材料的 *GH* 和 *SV* 的变异范围广, 这说明 *GH* 和 *SV* 在育种中的可选择性较大。其中 E4 环境下 *GH* 高于其他 3 个环境, 这主要是由测定仪器更换所致, 通过相关性分析发现, 不同环境间 *GH* 的相关性达极显著

水平, 故不影响继续进行基因型-表型的关联分析。不同环境下的相关性分析结果显示, *GH* 和 *SV* 具有较高的遗传力, 说明其主要受遗传变异的影响。正态性检验发现 4 个环境下小麦沉淀值均符合正态分布, 这表明沉淀值是受多基因控制的数量性状, 而 *GH* 表型值在群体中的分布表现为 1:1, 说明 *GH* 是由主效基因控制的, 这与前人研究结果^[8,10]一致。

3.2 全基因组关联分析位点比较分析

本研究利用 15K SNP 芯片,对 320 份 MAGIC 群体稳定株系在 4 个环境下的 *GH* 和 *SV* 进行全基因组关联分析,共检测到 8 个与 *GH* 显著相关的 SNP 位点,20 个与 *SV* 显著相关的 SNP 位点。关于与 *GH* 显著关联的 8 个 SNP 位点,与前人研究结果对比发现,在 2B 染色体上定位到的位点 (24.13 Mb) 与董一帆等^[22] 在 2B 染色体上定位到的位点 (12.08~17.39 Mb) 物理位置相近,推测是同一位点。在 7D 染色体定位到的 3 个位点 (53.67~54.99 Mb) 与前人研究结果^[23] 不同,推测为新的位点,但只在 1 个环境下检测到,有待进一步研究。在这些显著关联的位点中有 4 个位点在 3 个及 3 个以上环境中同时被检测到,可视为稳点关联位点;其中于 5D 染色体短臂上定位到的 3 个位点 (2.68 Mb、5.56 Mb、6.39 Mb) 与已知的硬度基因 *Pinb* (3.61 Mb) 位置相近^[24-25],且在 2 个环境 (E1、E3) 下的贡献率大于 10.00%,这也证实了本研究群体数据的可靠性。

与 *SV* 显著关联的 20 个 SNP 位点,分别位于 1D (13 个)、5D (3 个)、2B (2 个)、5B (2 个) 染色体上。在 1D 染色体 411.24~432.34 Mb 区域上定位到的 13 个基因簇位点,与严勇亮等^[15] (470.73~478.86 Mb) 定位的与 *SV* 相关位点物理位置相距大于 10.00 Mb,推测可能是新位点,这也与前人研究发现的小麦 D 基因组上存在大量控制小麦蛋白质合成基因的结果^[26] 相一致。在 2B 染色体 566.42 Mb 和 566.63 Mb 位置定位到的位点不同于前人研究结果^[25,27-28],可能是新的 *SV* 位点,但该位点仅在 1 个环境下被检测到。在 5B 染色体 9.07 Mb 和 144.88 Mb 位置定位到的位点与前人^[15,27,29] 发现的位点物理位置一致。在 5D 染色体上定位到的 3 个与 *SV* 相关位点物理位置是 2.68 Mb、5.56 Mb、6.39 Mb,这 3 个位点也与 *GH* 显著关联,这也证实了 *GH* 与 *SV* 具有高度的相关性,这些多效性位点可以同时改善 2 个性状,因此其所在区域将作为品质性状的重要选择区域。

3.3 稳定位点等位变异效应分析

在 5D 染色体上定位到的增加硬度指数和沉淀值的位点 *AX-109986939*、*AX-111464164* 和 *AX-110476332* 对 *GH* 和 *SV* 均具有极显著正向效应 ($P < 0.01$)。5A 染色体上定位到的位点 *AX-110419834* 其高硬度等位变异增加 *GH* 值 24.44% ($P < 0.01$),且在 3 个环境中被同时

检测到,利用 660K SNP 芯片的原始侧翼序列信息挖掘到到位点 *AX-110419834* 侧翼序列是 ATGCAATGCG-CAGACGTGGAGCGGAGGCACGAAGGT [A/G] GCATGAGTACATTAGCGGCATGGTAGCAGAGCAC,与中国春 1.0 版本的基因组信息比对发现,该位点位于 5A 染色体上的 1.34 Mb 物理位置,同源序列分别位于 5D 染色体上 2.50 Mb 和 5B 染色体上 3.48 Mb 物理位置 (http://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum/Tools/Blast/Results?tl=0x4X8MxlF3M2IVBo-23715663),也不同于已知的 *Pin* (3.61 Mb) 基因。5A 染色体上这一位点目前未有报道,但是否为新的 *GH* 性状关联位点,还有待进一步分析验证。

4 结论

本研究利用小麦四交组合创建的 MAGIC 群体 (320 份家系) 为材料,使用 15K SNP 芯片结合 *GH* 和 *SV* 进行全基因组关联分析,获得 8 个与 *GH* 显著相关的 SNP 位点,20 个与 *SV* 显著相关的 SNP 位点,其中,有 3 个 SNP 位点物理位置 (2.68~6.39 Mb) 在 5D 染色体上 *Pinb* 基因区间内,且这 3 个 SNP 位点同时与 *GH* 和 *SV* 显著关联。经过比对,在染色体 5A (1.34 Mb)、7D (53.67~54.99 Mb)、1D (411.24~432.34 Mb) 和 2B (566.42 Mb、566.63 Mb) 上被发掘的显著关联位点与以往报道的不同,其中染色体 5A (1.34 Mb) 上的 *GH* 位点高硬度等位变异可以显著增加 *GH*,且在多个环境中被重复检测,可能是新的对 *GH* 贡献率较大的相关位点。

参考文献:

- [1] SIMMONDS D H, BARLOW K K, WRIGLEY C W. The biochemical basis of grain hardness in wheat [J]. American Association of Cereal Chemists, 1973, 50: 553-562.
- [2] 董松果. 小麦品质性状——沉淀值的全基因组关联分析 [D]. 新乡: 河南科技学院, 2020.
- [3] 周济铭, 杜 璨, 冯 帆, 等. 沉淀值在小麦品质育种上的应用研究 [J]. 西北农业学报, 2019, 28 (8): 1211-1218.
- [4] 姚金保, 周森平, 马鸿翔, 等. 小麦籽粒硬度的遗传分析 [J]. 江苏农业学报, 2018, 34 (4): 721-725.
- [5] 李宗智, 卢少源, 张彩英, 等. 小麦遗传资源籽粒硬度和面粉沉降值的研究 [J]. 中国农业科学, 1993, 26 (4): 15-20.
- [6] 张 晓, 李 曼, 江 伟, 等. 小麦三个品质性状微量检测方法的应用与评价 [J]. 麦类作物学报, 2014, 34 (12): 1651-1655.
- [7] 刘培勋, 蒲宗君, 李晓叶, 等. 小麦籽粒硬度研究进展 [J]. 农业与技术, 2023, 43 (2): 6-8.

- [8] 陈 锋,李根英,耿洪伟,等. 小麦籽粒硬度及其分子遗传基础研究回顾与展望[J]. 中国农业科学,2005,38(6):1088-1094.
- [9] 张 晓,江 伟,高德荣,等. 94 份小麦种质 Puroindoline 和 HMW-GS 分子检测与品质分析[J]. 植物遗传资源学报,2024,25(4):509-521.
- [10] MORRIS C F. Puroindolines; the molecular genetic basis of wheat grain hardness[J]. *Plant Molecular Biology*,2002,48(5/6):633-647.
- [11] 李文福,刘 宾,彭 涛,等. 利用 DH 和 IF₂ 两个群体进行小麦粒重、粒型和硬度的 QTL 分析[J]. 中国农业科学,2012,45(17):3453-3462.
- [12] WANG Q, LI Y, SUN F S, et al. Expression of *Puroindoline a* in durum wheat affects milling and pasting properties[J]. *Frontiers in Plant Science*,2019,10:482.
- [13] 胡文静,张 晓,刘 巧,等. 普通小麦籽粒硬度的全基因组关联分析[J]. 麦类作物学报,2021,41(2):157-163.
- [14] LOU H Y, ZHANG R Q, LIU Y T, et al. Genome-wide association study of six quality-related traits in common wheat (*Triticum aestivum* L.) under two sowing conditions[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2021,134(1):399-418.
- [15] 严勇亮,时晓磊,张金波,等. 春小麦籽粒主要品质性状的全基因组关联分析[J]. 中国农业科学,2021,54(19):4033-4047.
- [16] BLANCO A, BELLOMO M P, LOTTI C, et al. Genetic mapping of sedimentation volume across environments using recombinant inbred lines of durum wheat[J]. *Plant Breeding*,1998,117(5):413-417.
- [17] ZANETTI S, WINZELER M, FEUILLET C, et al. Genetic analysis of bread-making quality in wheat and spelt[J]. *Plant Breeding*,2001,120(1):13-19.
- [18] HUANG X Q, CLOUTIER S, LYCAR L, et al. Molecular detection of QTLs for agronomic and quality traits in a doubled haploid population derived from two Canadian wheats (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2006,113(4):753-766.
- [19] TAENZLER B, ESPOSTI R F, VACCINO P, et al. Molecular linkage map of einkorn wheat; mapping of storage-protein and soft-glutene genes and bread-making quality QTLs[J]. *Genetical Research*,2002,80(2):131-143.
- [20] 吴云鹏,张业伦,肖永贵,等. 小麦重要品质性状的 QTL 定位[J]. 中国农业科学,2008,41(2):331-339.
- [21] 钟丽萍,王 尖,吴晓花,等. 基于 MAGIC 群体瓠瓜白粉病抗性的全基因组关联分析[J]. 浙江农业学报,2023,35(10):2398-2407.
- [22] 董一帆,任 毅,程宇坤,等. 冬小麦籽粒主要品质性状的全基因组关联分析[J]. 中国农业科学,2023,56(11):2047-2063.
- [23] 胡文静,吴宏亚,董亚超,等. 江苏省小麦品种(系)硬度基因分布特点解析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),2020,41(6):28-33.
- [24] MASSA A N, MORRIS C F. Molecular evolution of the puroindoline-a, puroindoline-b, and grain softness protein-1 genes in the tribe Triticeae[J]. *Journal of Molecular Evolution*,2006,63(4):526-536.
- [25] 周森平,杨学明,张 鹏,等. 小麦籽粒硬度 QTL 的分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(10):72-75.
- [26] ANDERSON O D, GREENE F C, YIP R E, et al. Nucleotide sequences of the two high-molecular-weight glutenin genes from the D-genome of a hexaploid bread wheat, *Triticum aestivum* L. cv Cheyenne[J]. *Nucleic Acids Research*,1989,17(1):461-462.
- [27] 郭利建,王竹林,汪世娟,等. 基于 SRAP 和 SSR 标记的小麦品质相关性状的 QTL 定位[J]. 麦类作物学报,2016,36(10):1275-1282.
- [28] 彭小爱,卢茂昂,张 玲,等. 基于 55K SNP 芯片的小麦籽粒主要品质性状的全基因组关联分析[J]. 作物学报,2024,50(8):1948-1960.
- [29] 黄梦豪,刘天相,强琴琴,等. 基于 SNP 和 SSR 标记的小麦品质性状的全基因组关联分析[J]. 分子植物育种,2019,17(12):3966-3973.

(责任编辑:王 妮)