

网络出版时间:2025-05-29

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20250529.1355.004

小麦种子活力相关性状的全基因组关联分析

董中东,孙丛苇,张舒宇,陈永芳,裴丹,陈锋,赵磊

(河南农业大学农学院/小麦玉米两熟高效生产全国重点实验室/河南粮食作物协同创新中心,河南郑州 450046)

摘要:种子活力是一个重要的小麦品质相关指标,与小麦种子发芽和穗发芽均有直接关系。为鉴定小麦种子活力相关性状的遗传位点并挖掘其相关候选基因,本研究以163份黄淮海区小麦品种(系)构成的自然群体为材料,对其发芽率、发芽势和发芽指数3个种子活力相关性状进行调查,并结合90K SNP芯片进行全基因组关联分析。结果表明,供试小麦材料的种子发芽率、发芽势和发芽指数存在丰富的变异,变异系数范围为11.81%~25.58%。利用90K SNP芯片共鉴定到196个与3个种子活力性状相关的显著性SNPs,其中67个SNPs可以同时在这3个性状中检测到;进一步通过基因表达模式和单倍型分析,推测TraesCS4B02G359600和TraesCS4A02G494700可能为调控小麦种子活力的重要候选基因。

关键词:小麦;种子活力;全基因组关联分析;候选基因分析

中图分类号:S512.1;S330

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2025)08-1017-08

Genome-Wide Association Study of Seed Vigor-Related Traits in Wheat

DONG Zhongdong, SUN Congwei, ZHANG Shuyu, CHEN Yongfang, PEI Dan, CHEN Feng, ZHAO Lei

(College of Agronomy/National Key Laboratory of High-Efficiency Production of Wheat-Maize Double Cropping/Collaborative Innovation Center of Henan Grain Crops, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450046, China)

Abstract: The germination vigor of wheat seeds is an important indicator of wheat quality, which is directly related to the seed germination and spike germination of wheat. To identify the genetic loci that regulate wheat seed vigor-related traits and explore candidate genes, a natural population consisting of 163 wheat varieties(lines) from the Huang-Huai wheat region was used as experimental materials to investigate three seed vigor-related traits of germination rate, germination potential, and germination index. A genome-wide association study was conducted using a 90K SNP array. The results showed that the seed germination rate, germination potential and germination index of the tested materials showed a rich variation, and the coefficient of variation ranged from 11.81% to 25.58. A total of 196 significant SNPs were identified that were associated with the three seed vigor-related traits using the 90K SNP array. Among them, 67 SNPs can be detected simultaneously for all the three traits. Through gene expression pattern and haplotype analyses, it was speculated that TraesCS4B02G359600 and TraesCS4A02G494700 may be important genes regulating wheat seed vigor.

Keywords: Wheat; Seed vigor; Genome-wide association study; Candidate gene analysis

小麦是中国三大主要粮食作物之一,在保障国家粮食安全上发挥至关重要的作用。高产和优质是小麦育种永恒的追求目标。小麦种子活力反

映种子萌发和幼苗生长潜能,直接影响小麦种子发芽、出苗和幼苗生长发育,是决定最终产量的重要因素^[1]。高活力小麦种子生长迅速,具有发芽

收稿日期:2024-10-17 修回日期:2025-03-07

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(25A210020);河南省科技攻关项目(232102111109);中国博士后科学基金项目(2023M741067)

第一作者 E-mail:dongzhongdong@163.com(董中东)

通讯作者 E-mail:leizhao2016@163.com(赵磊)

快、出苗率高、环境适应性强、分蘖多、耐贮藏等特点,有利于提高小麦的产量和品质,是实现小麦高产增产和农民增收的前提^[2]。同时小麦种子活力还与种子休眠及穗发芽紧密相关^[3]。而小麦的穗发芽会使面粉品质劣变,导致小麦产量和价格大幅下降和损失^[4-5]。因此,对小麦种子活力进行研究,可为小麦高产优质、抗穗发芽育种提供参考,对提升小麦产量和品质具有重要意义。

种子活力是一个反映种子质量的复杂的综合性状,其影响因素众多,主要可以划分为内部遗传因素和外界环境因素^[3,6-7]。遗传因素主要包括遗传基础、种子结构、形态特征、发芽特性、化学成分等,环境因素则主要涉及种子生长发育期间的水肥气热等外部环境因素、种子成熟情况、机械损伤程度、贮藏条件等^[7-8]。小麦种子活力水平主要由遗传因素决定,同时还受到种子的生长发育环境、贮藏条件、加工处理等因素的共同影响^[9]。对影响小麦种子活力的遗传机制进行研究,鉴定相关遗传调控位点,可为通过遗传手段改良小麦种子活力提供重要理论依据。

作物种子活力通常采用发芽率、发芽势、发芽指数、休眠特性、根长、苗长和电导率等性状指标进行综合评价^[2]。小麦种子活力是受多基因控制的复杂数量性状,近年来围绕其相关性状的遗传机制已开展一些工作并取得一定进展。例如,姜朋利用川 35050×山农 483 重组自交系(RIL)群体为供试材料,鉴定到 27 个与种子萌发过程中幼苗质量性状相关的 QTL,单个 QTL 可解释表型变异的 6.97%~22.29%^[10]。薛小雁利用中国春和西农 817 杂交构建的 RIL 群体,定位到 28 个与小麦种子发芽率、发芽势、电导率等相关的 QTL,贡献率范围为 0.83%~13.99%^[11]。郑雅潞利用由 175 份小麦品种(系)构成的关联分析群体,检测出 20 个与种子活力相关性状显著关联的位点,其表型变异解释率在 6.66%~35.21%之间^[12]。Zuo 等^[13]利用周 8425B 和中国春杂交构建的 RIL 群体对人工老化条件下的种子活力相关性状进行 QTL 定位,在染色体 2D、3D、4A 和 6B 上共鉴定出 10 个稳定的 QTL。董中东利用两个 RIL 群体对小麦种子活力的性状进行 QTL 定位,在 3B 染色体鉴定到一个主效 QTL,其对发芽率和发芽势的表型解释率达 20%以上^[14]。关望辉以早选 10 和鲁麦 14 为亲本构建的 DH 群体为试验材料,在人工老化条件下共检测到 50 个与小麦种子活力性状相关的加性 QTL^[15]。吴沁烜

等对 404 份小麦种质材料的 11 个种子活力相关性状进行全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS),鉴定出 28 个与小麦种子活力相关性状的显著关联位点,并检测到两个与种子活力高度相关的候选基因^[2,16]。总体来看,目前针对小麦种子活力研究的报道还相对较少,进展也十分有限,亟需围绕其开展更加广泛深入的研究,以更好地服务于小麦育种和生产。

利用 SNP 芯片对作物的农艺、抗病、抗逆等性状进行全基因组关联分析,可以迅速找到与目标性状相关联的 SNP 位点,进而较快的鉴定出相关控制基因,这种定位技术随着 SNP 芯片技术的改进和关联分析理论不断完善正逐渐成为科学研究的重要工具和方法^[17]。目前在小麦中利用 GWAS 已成功鉴定出多个重要性状的关键调控基因,如面粉色泽基因 *TaRPP13L1*^[18]、茎基腐病抗性基因 *TaDIR-B1*^[19]、分蘖角度控制基因 *TaHSTIL*^[20]、耐冷基因 *TaSnRK1α*^[21]等,展示出了较强的应用潜力。

本研究以 163 份小麦品种(系)组成的自然群体为材料,结合 90K SNP 芯片对小麦种子活力相关性状进行全基因组关联分析,探寻与小麦种子活力相关的 SNP 位点,并通过分析鉴定出影响小麦种子活力的相关基因,以期为发掘小麦种子活力基因资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

本研究以从小麦种质资源中挑选出的 163 份代表性小麦品种(系)构成的自然群体为供试材料,包括历史品种、现代品种等,所有材料均由河南农业大学小麦分子育种实验室提供^[18],于 2021—2022 年度分别种植于河南农业大学郑州科教示范园区和原阳科研基地,每个地点设置 2 次重复,每个材料种植 2 行,行长 1.5 m,行距 23 cm,株距 10 cm。田间管理同一般试验田。收获后自然晾晒,然后手工脱粒,放置于-20℃冰柜冷藏,试验时取出。

1.2 发芽相关指标性状测定

自每个参试品种(系)中随机选取 100 粒种子,放入铺有发芽纸(已灭菌)的一次性培养皿中,置于恒温培养箱中 25℃下进行培养,测试其发芽水平。萌发过程中每天喷洒足量的灭菌水,保持发芽纸处于湿润状态。定义胚冲破种皮为萌发。选取第 4 天发芽种子总数计算发芽势(germina-

tion potential, GP), 选取第 7 天发芽种子总数计算发芽率(germination rate, GR), 并根据公式计算出发芽指数(germination index, GI)^[22-23]。具体计算公式如下:

$$GP = (n_1 + n_2 + n_3 + n_4) / 100\%$$

$$GR = M / 100\%$$

$$GI = (7 \times n_1 + 6 \times n_2 + 5 \times n_3 + 4 \times n_4 + 3 \times n_5 + 2 \times n_6 + 1 \times n_7) / (7 \times 100\%)$$

其中, n_1, n_2, \dots, n_7 是在第一、第二, 一直到第 7 天分别对应的发芽籽粒数。而 M 是指在 7 d 内发芽粒数的总和。

1.3 群体基因分型

利用小麦 90K SNP 芯片对 163 份参试材料群体进行基因型检测, 由北京康普森生物科技有限公司完成; 对分析得到的原始芯片数据进行了质量控制, 采用基因型缺失率小于 0.1 和较小等位基因频率(minor allele frequency, MAF) 大于等于 0.05 的标准, 最终筛选出 44 790 个高质量多态性 SNP 位点用于后续分析。

1.4 GWAS 分析及数据处理

使用 TASSEL 5.0 软件包, 采用混合线性模型(mixed linear model, MLM)(PCA+K)对试验数据进行 GWAS 分析^[24]。协方差矩阵(K)通过 VanRaden 方法计算^[25], 前 4 个主成分(PCA)被纳入模型以控制群体结构。A、B、D 三个亚基因组的连锁不平衡分析采用 PLINK 软件(<https://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>), 群体结构分析采用 Structure 2.3.4 软件^[26], 显著位点的检出阈值设置为 10^{-3} , 详见之前的报道^[27]。

采用 Excel 2013 对表型数据进行整理和分析, 计算各个指标最大值、最小值、平均值、标准差、变异系数; 使用 SPSS 26.0 对数据进行方差分析及图形绘制。

1.5 生物信息学分析

利用 Ensembl Plants 网站中(http://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum/Info/Index)的中

国春注释基因组(IWGSC RefSeq v1.1)比对寻找可能与显著性 SNP 关联的注释基因; 利用小麦大数据在线平台 WheatOmics(<http://wheatomics.sdau.edu.cn/>)在线工具对目标基因的表达模式及同源基因进行分析。

1.6 qRT-PCR 分析

对参试品种萌发后的种子进行研磨, 利用 Trizol Reagent (Invitrogen, 15596026) 进行总 RNA 提取, 使用 RNAClean Kit (天根生化科技有限公司, DP412) 进行纯化, 利用 SuperScriptTM III Reverse Transcriptase (Invitrogen, 18080044) 进行反转录合成第一链 cDNA。利用目的基因特异性引物及小麦内参基因 *Actin* (Genbank: AB181991.1) 来进行基因表达定量分析。在 CFX96 实时荧光定量 PCR 仪(BioRad)上, 对目标基因的相对表达量进行检测。每个实验重复 3 次, 使用相对表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)的方法对结果进行分析比较。

2 结果与分析

2.1 种子活力相关性状表型统计分析

对 2 个环境下 4 次重复的参试品种(系)进行发芽实验, 并对测得的 3 个种子活力指标性状进行描述统计。由表 1 可知, 参试的 163 份小麦材料的种子发芽率、发芽势和发芽指数均存在丰富的变异, 变异系数范围是 11.81%~22.58%。其中, 发芽势变化范围最大, 其次是发芽指数, 最后是发芽率。方差分析表明, 发芽活力的各指标性状均存在极显著差异(表 1), 进一步说明参试群体在种子发芽活力性状上存在广泛变异, 这些丰富的变异为进行全基因组关联分析奠定了基础。经相关性分析, 发芽率、发芽势和发芽指数彼此间均存在极显著的相关性, 相关系数均在 0.9 以上, 其中发芽率与发芽势的相关系数为 0.915 6, 发芽率与发芽指数的相关系数为 0.921 4, 发芽势和发芽指数的相关系数达到 0.983 9, 说明用这 3 个指标数值衡量种子活力将会获得一致性较高的结果。

表 1 种子活力相关性状描述性及方差分析

Table 1 Statistical description and analysis of variance for the three seed vigor-related traits

性状 Trait	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均数 Average	标准差 Standard deviation	变异系数 CV/%	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
GR/%	27.00	100	92.26	10.89	11.81	219.46	4.57	<0.000 1
GP/%	10.00	100	82.56	18.65	22.58	437.65	6.27	<0.000 1
GI/%	14.71	100	80.89	16.11	19.92	275.14	5.64	<0.000 1

GR: 发芽率; GP: 发芽势; GI: 发芽指数。表 2 和图 4 同。

GR: Germination rate; GP: Germination potential; GI: Germination index. The same in table 2 and figure 4.

2.2 种子活力相关指标的全基因组关联分析

2.2.1 发芽率 GWAS 分析

对 4 次重复下的发芽率进行 GWAS 分析, 共检测到 152 个显著性 SNPs, 分布于除 1D 染色体外的 20 条染色体上, 单个表型贡献率范围 11.58%~31.34%; 其中有 63 个 SNPs 可在 3 次以上重复下检测到, 且主要分布于 5A、5B 和 5D 染色体上(图 1)。在上述 63 个 SNPs 中, *Kukri_c3701_570*(2B, 9 731 156 bp)、*BobWhite_c17047_352*(2D, 274 999 bp)、*Kukri_c49826_589*(2D, 674 692 bp)和*Excalibur_c6742_352*(5B, 3 404 297 bp)4 个 SNPs 显著性水平达到 10^{-8} 以上(图 1); 另外, *Tdurum_contig10222_68*、*RFL_Contig3621_596*、*BobWhite_rep_c63804_353*、*BobWhite_c36415_378* 和 *Tdurum_contig54532_206* 等 5 个 SNPs 均可以在 4 次重复下被检测到(表 2), 推测上述 SNPs 为比较重要的发芽率相关遗传位点。

2.2.2 发芽势 GWAS 分析

对 4 次重复下的发芽势进行 GWAS 分析, 共检测到 89 个显著性 SNPs, 分布于除 1D、3A、3B 和 3D 染色体外的 17 条染色体上, 单个表型贡献率范围 14.35%~25.36%; 其中有 34 个可在 3 次以上重复下检测到, 且主要分布于 5B 和 6B 染色体上(图 2)。在上述 34 个 SNPs 中, *RFL_Contig3621_596*

表 2 在 4 次重复下均可被检测到的稳定 SNPs

Table 2 Stable SNPs detected in quadruplicates

性状 Trait	标记名称 SNP Name	染色体 Chromosome	物理位置 Position/bp
GR	<i>Tdurum_contig10222_68</i>	1B	581 306 097
	<i>RFL_Contig3621_596</i>	4A	742 336 183
	<i>BobWhite_rep_c63804_353</i>	6B	451 926 960
	<i>BobWhite_c36415_378</i>	6D	285 184 825
	<i>Tdurum_contig54532_206</i>	7B	438 009 059
GP	<i>BS00022158_51</i>	1A	516 373 257
	<i>Tdurum_contig10222_68</i>	1B	581 306 097
	<i>RFL_Contig3621_596</i>	4A	742 336 183
	<i>Kukri_c19909_434</i>	4B	650 037 247
	<i>RAC875_c202_474</i>	4B	650 037 663
GI	<i>BobWhite_rep_c63804_353</i>	6B	451 926 960
	<i>BobWhite_c36415_378</i>	6D	285 184 825
	<i>Tdurum_contig54532_206</i>	7B	438 009 059
	<i>Tdurum_contig10222_68</i>	1B	581 306 097
	<i>BS00070426_51</i>	2D	14 899 552
GI	<i>RFL_Contig3621_596</i>	4A	742 336 183
	<i>Kukri_c19909_434</i>	4B	650 037 247
	<i>RAC875_c202_474</i>	4B	650 037 663
	<i>BobWhite_rep_c63804_353</i>	6B	451 926 960
	<i>BobWhite_c36415_378</i>	6D	285 184 825
	<i>Tdurum_contig54532_206</i>	7B	438 009 059

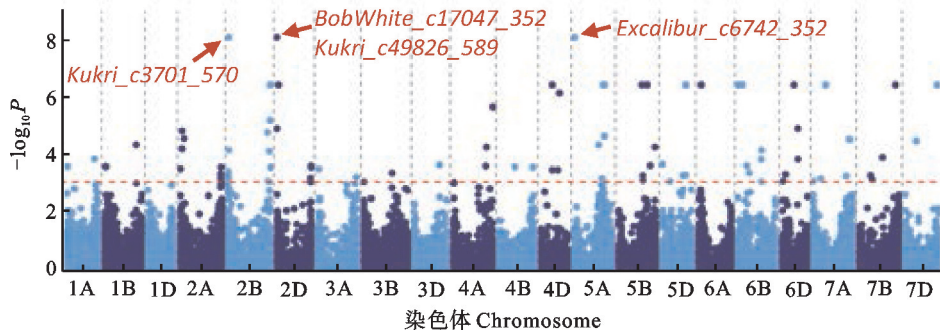


图 1 发芽率 GWAS 分析结果
Fig. 1 GWAS results of germination rate

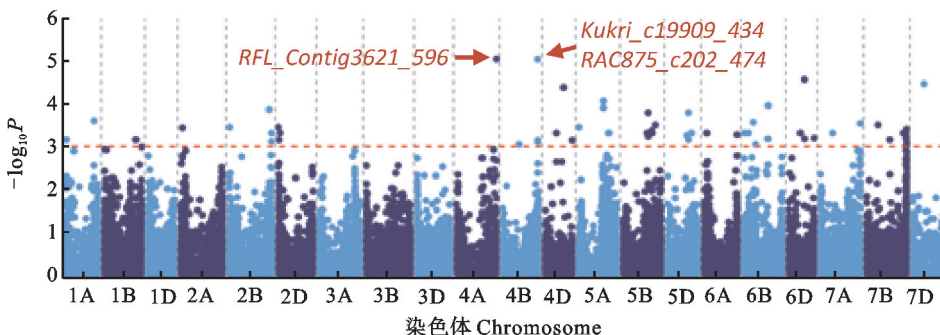


图 2 发芽势 GWAS 分析结果
Fig. 2 GWAS results of germination potential

(4A, 742 336 183 bp)、*Kukri_c19909_434* (4B, 650 037 247 bp) 和 *RAC875_c202_474* (4B, 650 037 663 bp) 3 个 SNPs 显著性水平达到 10^{-5} 以上 (图 2)。此外, 包含 *Kukri_c19909_434* 和 *RAC875_c202_474* 在内的 8 个 SNPs 均可以在 4 次重复下被检测到 (表 2), 而且包含了发芽率中 4 次重复下均可被检测到的 5 个 SNPs, 推测上述 SNPs 为比较重要的发芽势相关遗传位点。

2.2.3 发芽指数 GWAS 分析

对 4 次重复下的发芽指数进行 GWAS 分析, 共检测到 89 个显著性 SNPs, 分布于除 3D 染色体外的其余 20 条染色体上, 单个表型贡献率范围 14.44%~26.63%; 其中有 58 个可在 3 次以上重复下检测到, 且主要分布于 5A、5B、5D 和 6B 等 4 条染色体上。在上述 34 个 SNPs 中, *RFL_Contig3621_596* (4A, 742 336 183 bp) 和 *BobWhite_c36415_378* (6D, 285 184 825 bp) 两个 SNPs 显著性水平达到 10^{-5} 以上 (图 3)。此外, 包含 *RFL_Contig3621_596* 和 *BobWhite_c36415_378* 在内的 8 个 SNPs 均可以在 4 次重复下被检测到 (表 2), 且包含了发芽率中 4 次重复下均可被检测到的 5 个 SNPs, 以及 8 个发芽势中 4 次重复下均可被检测到的 SNPs, 推测上述 SNPs 为比较重要的发芽指数相关遗传位点。

2.2.4 种子活力性状综合分析

对 3 个种子活力相关性状 GWAS 结果进行综合分析, 结果显示, 共检测到 196 个显著关联的 SNPs, 其中有 80 个 SNPs 可以在 2 个及以上性状中被检测到, 67 个 SNPs 可以在 3 个性状中被检测到, 说明这些 SNPs 可能为比较重要的种子活力相关遗传位点 (表 3)。分析发现, 能够同时在 3 个指标的 4 次重复下均被检测到的 SNPs 均包含在该 67 个 SNPs 当中; 该 67 个共有的 SNPs 分布于 5D 染色体最多, 其次是 5B、6B、5A 和 2B 染色体, 其他染色体均较少, 且部分 SNPs 在

2B (785.89~786.22 Mb)、5B (459.48~462.13 Mb) 和 5D (441.10~446.40 Mb) 上形成富集区段 (表 3), 表明上述染色体上有较大可能存在调控小麦种子活力的重要遗传位点。

2.3 种子活力相关候选基因预测

围绕上述鉴定到的种子活力相关显著性 SNPs, 结合生物信息学分析进一步挖掘可能的候选基因。结果发现, *Kukri_c19909_434* 和 *RAC875_c202_474* (3 个指标中均被检测到, 同时在发芽势的 4 次重复下稳定检测到且具有较高的显著水平) 均位于 *TraesCS4B02G359600* 基因的内部。在 Wheat Omics 中对 *TraesCS4B02G359600* 表达模式进行分析, 显示其在处于发育过程中的种子中特异表达。利用 *Kukri_c19909_434* 和 *RAC875_c202_474* 两个标记的基因型并结合表型进行单倍型分析, 结果显示 3 个性状在两个单倍型 (Hap 1、Hap 2) 间均存在极显著差异 (图 4A)。另外发现, *RFL_Contig3621_596* (3 个指标中均被检测到, 同时可在发芽势和发芽指数的 4 次重复下稳定检测且具有较高显著水平) 位于 *TraesCS4A02G494700* 基因的内部。利用 *RFL_Contig3621_596* 的基因型并结合表型进行单倍型分析, 结果显示, 3 个性状在两个单倍型间同样均存在极显著差异 (图 4B)。为进一步对 *TraesCS4B02G359600* 和 *TraesCS4A02G494700* 两个候选基因进行验证, 根据参试群体发芽率表型, 自其中分别选取发芽率高 (等于 100%) 和发芽率低 (小于 55%) 的品种各 3 个, 发芽率高的品种分别为新麦 9987、周麦 16 和豫麦 8 号, 发芽率低的品种分别为烟农 15、宛 798 和西农 979, 进行催芽萌发后于露白期提取 RNA, 进行 qRT-PCR 分析。结果显示, 两个基因在发芽率高的品种中的表达水平要明显高于在发芽率低的品种 (图 5)。通过以上分析推测, 基因 *TraesCS4B02G359600* 和 *TraesCS4A02G494700* 极有可能是小麦种子活力的重要调控基因。

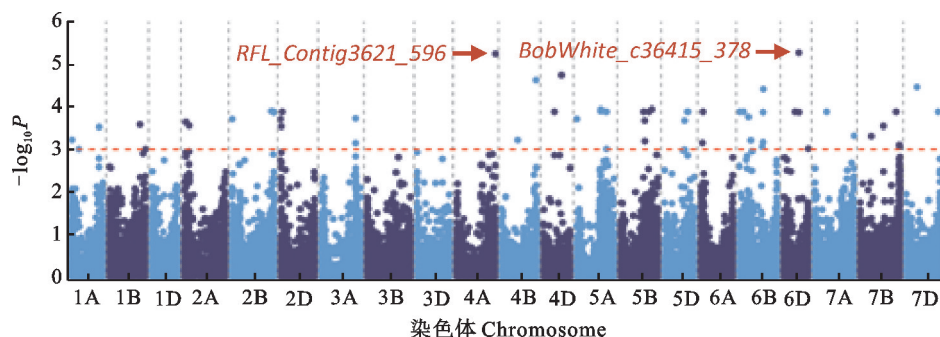
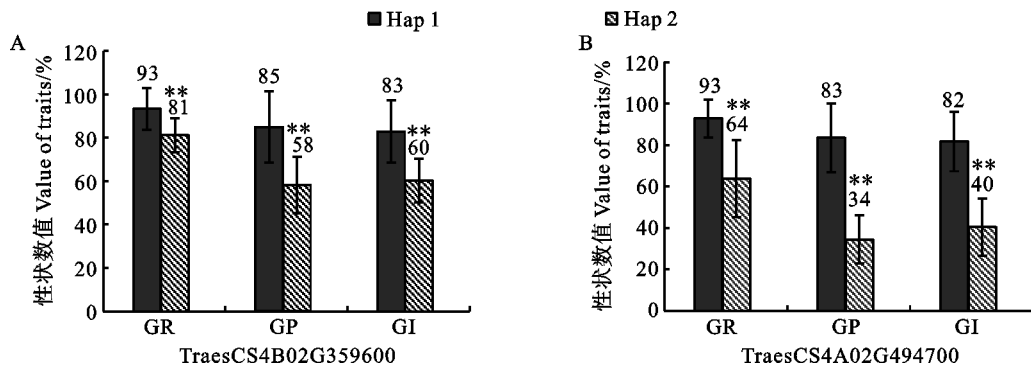


图 3 发芽指数 GWAS 分析结果

Fig. 3 GWAS results of germination index

表 3 67 个与种子活力相关性状均显著关联的 SNPs
Table 3 67 SNPs significantly associated with the three seed vigor-related traits

编号 No.	标记 SNP	染色体 Chromosome	物理位置 Position/bp	编号 No.	标记 SNP	染色体 Chromosome	物理位置 Position/bp
1	BS00022158_51	1A	516 373 257	35	BobWhite_c27885_197	5B	462 127 639
2	Tdurum_contig10222_68	1B	581 306 097	36	Tdurum_contig10691_270	5B	536 322 869
3	CAP11_rep_c4760_280	1B	643 246 671	37	RAC875_c21299_439	5B	539 074 104
4	BS00062875_51	2A	34 656 500	38	RAC875_c60758_585	5B	597 220 574
5	Kukri_c3701_570	2B	9 731 156	39	Excalibur_c23709_938	5D	384 069 073
6	Kukri_c24081_1386	2B	744 383 628	40	Excalibur_c23709_358	5D	384 069 653
7	Kukri_c94792_69	2B	785 890 205	41	Kukri_c10530_1013	5D	384 070 240
8	BobWhite_c20158_834	2B	786 035 733	42	RAC875_c7364_659	5D	437 336 975
9	RAC875_c12741_101	2B	786 229 394	43	BobWhite_c23609_292	5D	441 104 304
10	Tdurum_contig27848_179	2B	786 225 768	44	Excalibur_c27114_442	5D	443 251 771
11	BobWhite_c17047_352	2D	274 944	45	Ex_c17055_911	5D	444 548 843
12	Kukri_c49826_589	2D	674 692	46	BobWhite_c9761_225	5D	445 640 850
13	BS00070426_51	2D	14 899 552	47	Excalibur_c11929_1019	5D	446 278 510
14	D_contig05584_210	2D	31 897 703	48	RFL_Contig4244_680	5D	446 399 412
15	tplb0051b16_1324	4A	473 688 828	49	Kukri_rep_c101121_477	6A	47 902 464
16	Kukri_c61419_550	4A	488 252 138	50	BS00065870_51	6A	91 900 694
17	RFL_Contig3621_596	4A	742 336 183	51	Excalibur_c62326_253	6B	8 418 602
18	Kukri_c100377_52	4B	301 702 217	52	RAC875_rep_c72457_638	6B	84 128 786
19	Kukri_c19909_434	4B	650 037 247	53	RAC875_c49970_229	6B	149 469 940
20	RAC875_c202_474	4B	650 037 663	54	Kukri_c29591_1356	6B	149 469 981
21	Excalibur_rep_c68301_1546	4D	207 708 687	55	RAC875_rep_c119363_99	6B	175 342 473
22	RAC875_c5827_554	4D	337 152 963	56	BS00041505_51	6B	219 214 809
23	GENE-3078_101	4D	346 130 219	57	Excalibur_c6416_1712	6B	446 837 457
24	RAC875_c5145_1920	5A	3 402 090	58	BobWhite_rep_c63804_353	6B	451 926 960
25	Excalibur_c6742_352	5A	3 404 297	59	Jagger_c1503_348	6D	213 392 813
26	Tdurum_contig39869_138	5A	547 792 153	60	BobWhite_c36415_378	6D	285 184 825
27	RAC875_rep_c117766_423	5A	551 045 842	61	Kukri_c22032_619	6D	289 216 937
28	Kukri_c9522_994	5A	552 954 988	62	Kukri_c36213_211	7A	221 680 793
29	RAC875_c18065_1521	5A	558 321 777	63	Excalibur_c10902_1264	7B	216 657 373
30	RAC875_c2651_403	5A	564 242 047	64	Tdurum_contig54532_206	7B	438 009 059
31	Excalibur_c26711_222	5B	439 059 956	65	Excalibur_c62227_545	7B	680 117 131
32	RAC875_c9150_2945	5B	459 477 456	66	BobWhite_c12078_316	7D	205 133 422
33	BS00069866_51	5B	461 829 096	67	RFL_Contig4842_579	7D	600 967 796
34	BS00069867_51	5B	461 829 067				



* : $P < 0.01$

图 4 2 个候选基因的单倍型分析

Fig. 4 Haplotype analysis of the two candidate genes

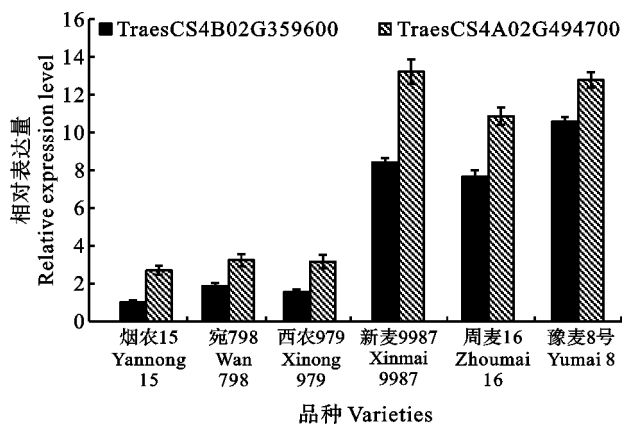


图 5 2 个候选基因在不同品种中的相对表达量分析

Fig. 5 Relative expression analysis of the two candidate genes in different varieties

3 讨论

小麦种子活力决定了种子发芽和出苗期间的活性水平,是衡量小麦种子质量的重要指标。小麦种子活力相关性状,如发芽、出苗、酶活性、激素水平等会对小麦的生产、贮藏等产生巨大影响。种子在成熟收获后发生老化会造成萌发能力下降、营养物质流失,活力减退和品质劣变,严重制约小麦种业发展和人们对于高品质小麦产品的需求。分析影响小麦种子活力的遗传因素,挖掘调控种子活力相关性状的重要基因并解析其分子机制,可为改良小麦种子活力、增强耐贮藏性和促进小麦种子生产提供有利指导。然而,目前围绕小麦种子活力相关性状进行的研究较多集中在外界理化因素、生理因素等对种子活力的影响上,对遗传基础的研究仍相对较少,仅初步定位出少量的相关 QTL 位点,距离解析小麦种子活力遗传调控机制以及分子改良育种仍有较大差距,还需在该领域投入更多力量并进行深入研究。

小麦种子活力受环境因素和遗传因素共同影响,且遗传基础复杂。目前围绕小麦种子活力相关性状开展的研究均表明其为受多基因控制的复杂数量性状。本研究通过对发芽率、发芽势和发芽指数 3 个种子活力相关指标进行 GWAS 分析,鉴定出一批可能的小麦种子活力调控位点,特别是 67 个可以在 3 个受测指标中均可被检测到 SNPs。对比前人研究发现,在 67 个 SNPs 中,位于 7B 染色体的稳定 SNP 位点 *Excalibur_c62227_545*(680 117 131 bp)可以在 3 个种子活力相关指标下检测到,这同已报道的结果一致^[28];位于 1B 染色体的 *Tdurum_contig10222_68*(581 306 097 bp)

同已报道的穗发芽抗性位点 *MQTL. PHS-1A. 4* 位置接近,推测可能为同一位点^[29];位于 4B 染色体的 *Kukri_c100377_52*(301 702 217 bp)落于已报道的穗发芽抗性位点 *qPHS. sicau-4B* 的定位区间内^[30];上述分析结果也进一步证明本研究结果的可靠性及研究价值。除前述 3 个 SNPs 外,其余则均为本研究所发现的、可能参与调控小麦种子活力的新位点。本研究发现,2B(785.89~786.22 Mb)、5B(459.48~462.13 Mb)和 5D(441.10~446.40 Mb)3 个显著性 SNP 聚集区段,可能存在调控小麦种子活力的重要遗传位点。通过基因表达和单倍型分析发现, *TraesCS4B02G359600* 和 *TraesCS4A02G494700* 是参与调控小麦种子活力的 2 个潜在候选基因。研究表明, *TraesCS4B02G359600* 在拟南芥中的同源基因 (*AT2G46740*、*AT2G46750* 和 *AT2G46760*) 参与抗坏血酸生物合成途径,在萌发的种子中特异性高表达,是拟南芥种子萌发的重要调节因子^[31-33]。 *TraesCS4A02G494700* 在拟南芥中的同源基因 (*AT2G35690*、*AT4G16760* 和 *AT5G65110*) 参与茉莉酸生物合成,在种子发育和种子萌发过程中特异性高表达,并在维持种子生活力和种子萌发中发挥重要作用^[34-35];该基因在水稻中的同源基因 *OsACX2* (*LOC_Os11g39220*) 主要在种子中表达,编码乙酰辅酶 A 氧化酶,可为萌发的种子提供糖分和能量^[36]; *TraesCS4A02G494700* 的表达模式显示其在种子中高表达。综合以上信息,推测 *TraesCS4B02G359600* 和 *TraesCS4A02G494700* 很大可能为参与调控小麦种子活力的关键基因,但未来仍需对其生物学功能进行验证。

本研究通过 3 个小麦种子活力相关性状的 GWAS 分析,分别鉴定到 152、89 和 89 个与发芽率、发芽势和发芽指数相关的显著性 SNP 位点,其中 67 个 SNPs 同时在 3 个性状中检测到;结合表达模式和单倍型分析推测, *TraesCS4B02G359600* 和 *TraesCS4A02G494700* 可能为参与调控小麦种子活力的重要基因。

参考文献:

- [1] DE OLIVEIRA I C, REGO C H Q, CARDOSO F B, et al. Root protrusion in quality evaluation of *chia* seeds [J]. *Revisita Caatinga*, 2019, 32(1): 282.
- [2] 吴沁烜, 石冰欣, 刘子辉, 等. 小麦种子活力相关性状全基因组关联分析 [J]. *四川农业大学学报*, 2024, 42(2): 277.
- [3] 郭程, 曾占奎, 韩志鹏, 等. 小麦种子活力相关性状研究进展 [J]. *中国种业*, 2021(8): 30.
- [4] GUO C, ZENG Z K, HAN Z P, et al. Research progress on seed vigor related traits of wheat [J]. *China Seed Industry*,

- 2021(8):30.
- [4] HUMPHREYS D G, NOLL J. Methods for characterization of preharvest sprouting resistance in a wheat breeding program [J]. *Euphytica*, 2002, 126(1): 61.
- [5] BLACK M, BEWLEY J D, HALMER P. The encyclopedia of seeds: science, technology and uses [M]. Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI, 2006.
- [6] BEWLEY J D, BRADFORD K J, HILHORST H W M, et al. Seeds: Physiology of development, germination and dormancy, 3rd edition [M]. New York-Heidelberg-Dordrecht-London: Springer, 2013.
- [7] FINCH-SAVAGE W E, BASSEL G W. Seed vigor and crop establishment: Extending performance beyond adaptation [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(3): 567.
- [8] 周峰, 华春, 黄爱玲, 等. 种子活力和作物产量 [J]. 种子, 2017, 36(3): 50.
ZHOU F, HUA C, BEN A L, et al. Seed vigor and crop yield [J]. *Seed*, 2017, 36(3): 50.
- [9] 陈强. 小麦种子活力相关性状的全基因组关联分析及种质资源评价 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.
CHEN Q. Genome-wide association analysis of seed vigor-related traits in wheat worldwide and genetic resource evaluation [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2022.
- [10] 姜朋. 小麦种子萌发相关性状的 QTL 定位 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
JIANG P. QTL mapping of wheat seed germination related traits [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2012.
- [11] 薛小雁. 小麦种子活力性状的 QTL 定位及遗传机理的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
XUE X Y. Study on QTL mapping and genetic mechanism of wheat seed vigor traits [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016.
- [12] 郑雅璐. 小麦种子活力性状的关联分析及配合力分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
ZHENG Y L. Correlation analysis and combining ability analysis of wheat seed vigor traits [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016.
- [13] ZUO J H, LIU J D, GAO F M, et al. Genome-wide linkage mapping reveals QTLs for seed vigor-related traits under artificial aging in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1101.
- [14] 董中东. 小麦 *Tamyb10-1* 基因的分布及种子活力相关性状的 QTL 定位与关联分析 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2018.
DONG Z D. Distribution of *Tamyb10-1* gene in wheat and QTL mapping and association analysis of seed vigor related traits [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2018.
- [15] 关望辉. 人工老化条件下小麦 DH 群体种子活力相关性状的 QTL 定位研究 [D]. 太原: 山西农业大学, 2019.
GUAN W H. QTL mapping of seed vigor related traits in DH population of wheat under artificial aging condition [D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2019.
- [16] 石冰欣. 小麦种子活力相关性状全基因组关联分析及其优异种质鉴定 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2023.
SHI B X. Genome-wide association study and its excellent germplasm identification of wheat seed vigor related traits [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2023.
- [17] HUANG X H, HAN B. Natural variations and genome-wide association studies in crop plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65: 531.
- [18] CHEN J H, ZHANG F Y, ZHAO C J, et al. Genome-wide association study of six quality traits reveals the association of the *TaRPP13L1* gene with flour color in Chinese bread wheat [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(11): 2106.
- [19] YANG X, ZHONG S B, ZHANG Q J, et al. A loss-of-function of the dirigent gene *TaDIR-B1* improves resistance to *Fusarium* crown rot in wheat [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(5): 866.
- [20] ZHAO L, ZHENG Y T, WANG Y, et al. A *HST1-like* gene controls tiller angle through regulating endogenous auxin in common wheat [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(1): 122.
- [21] ZHANG L R, ZHANG N, WANG S S, et al. A *TaSnRK1α* modulates *TaPAP6L*-mediated wheat cold tolerance through regulating endogenous jasmonic acid [J]. *Advanced Science*, 2023, 10(31): e2303478.
- [22] WALKER-SIMMONS M. Enhancement of ABA responsiveness in wheat embryos by high temperature [J]. *Plant, Cell & Environment*, 1988, 11(8): 769.
- [23] HIMI E, MARES D J, YANAGISAWA A, et al. Effect of grain color gene(R) on grain dormancy and sensitivity of the embryo to abscisic acid(ABA) in wheat [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(374): 1569.
- [24] ZHANG Z W, ERSOZ E, LAI C Q, et al. Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies [J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(4): 355.
- [25] VANRADEN P M. Efficient methods to compute genomic predictions [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(11): 4414.
- [26] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. *Genetics*, 2000, 155(2): 945.
- [27] SUN C W, ZHANG F Y, YAN X F, et al. Genome-wide association study for 13 agronomic traits reveals distribution of superior alleles in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(8): 953.
- [28] 鞠晓影. 小麦穗发芽与种子活力的 QTL 分析 [D]. 保定: 河北农业大学, 2017.
JU X Y. QTL analysis of pre-harvest sprouting and seed vigor of wheat (*Triticum aestivum* L.) [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2017.
- [29] 台莉. 小麦穗发芽性状调控基因的挖掘及其作用的分子遗传机制 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2023.
TAI L. Mining of genes regulating preharvest germination traits in wheat and its molecular genetic mechanism [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2023.
- [30] 杨剑. 合成小麦抗穗发芽 QTL 定位及六个籽粒萌发相关基因分子鉴定 [D]. 四川雅安: 四川农业大学, 2016.
YANG J. QTL mapping of pre-harvest germination resistance in synthetic wheat and molecular identification of six genes related to grain germination [D]. Sichuan, Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2016.
- [31] DEKKERS B J W, PEARCE S, VAN BOLDEREN-VELDKAMP R P, et al. Transcriptional dynamics of two seed compartments with opposing roles in *Arabidopsis* seed germination [J]. *Plant Physiology*, 2013, 163(1): 205.
- [32] ABOOBUCKER S I, SUZA W P, LORENCE A. Characterization of two *Arabidopsis* L-gulonol-1,4-lactone oxidases, *AtGulLO3* and *AtGulLO5*, involved in ascorbate biosynthesis [J]. *Reactive Oxygen Species*, 2017, 4(12): 389.
- [33] MURGIA I, MIDALI A, CIMINI S, et al. The *Arabidopsis thaliana* Gulonol-1,4 γ -lactone oxidase 2 (*GULLO2*) facilitates iron transport from endosperm into developing embryos and affects seed coat suberization [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 196: 712.
- [34] PINFIELD-WELLS H, RYLOTT E L, GILDAY A D, et al. Sucrose rescues seedling establishment but not germination of *Arabidopsis* mutants disrupted in peroxisomal fatty acid catabolism [J]. *The Plant Journal*, 2005, 43(6): 861.
- [35] SCHILMILLER A L, KOO A J K, HOWE G A. Functional diversification of acyl-coenzyme A oxidases in jasmonic acid biosynthesis and action [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(2): 812.
- [36] KIM M C, KIM T H, PARK J H, et al. Expression of rice acyl-CoA oxidase isoenzymes in response to wounding [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(5): 665.