DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.01078

小麦穗发芽性状的全基因组关联分析

谢磊^{1,2} 任毅^{1,2} 张新忠^{1,3} 王继庆^{1,2} 张志辉^{1,2} 石书兵^{1,2}
耿洪伟^{1,2,*}

¹ 新疆农业大学农学院, 新疆乌鲁木齐 830052; ² 新疆农业大学生物技术重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830052; ³ 新疆农业科学院粮食作物研究所, 新疆乌鲁木齐 830091

摘要: 为了解小麦穗发芽的遗传机制, 发掘与小麦穗发芽相关的候选基因, 采用整穗发芽法对来自全国的 207 份小麦品种(系)进行表型鉴定, 并结合小麦 90K SNP 基因芯片, 通过 TASSLE 软件的 MLM (Q+K)模型对小麦的整穗发芽率进行全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)。研究结果表明, 不同年份间小麦品种(系)的穗发芽表现出丰富的表型变异, 变异系数为 0.34 和 0.25, 多态性信息含量(polymorphic information content, PIC)为 0.01~0.38, 全基因组 LD 衰减距离为 3 Mb。群体结构分析和主成分分析表明, 207 份小麦品种(系)所构成的自然群体结构简单, 可分为 3 个亚群。GWAS 检测结果显示, 在不同环境间共检测到 34 个与小麦穗发芽显著关联的 SNP 标记位点($P \leq 0.001$), 分布在小麦 3A、3B、4A、4B、5D、6A、6B、6D、7B 和 7D 染色体上, 单个位点可解释 5.55%~11.63% 的表型变异, 16 个标记位点在两个及以上环境下均被检测到, 其中 6B 染色体上的标记 *wsnp_Ex_c14101_22012676* 在 E1、E2 及平均环境下被共同检测到, 属稳定遗传的位点。通过对表型效应值大且稳定遗传的关联位点进行挖掘, 共筛选到 13 个与小麦穗发芽相关的候选基因。其中 *TraesCS3A01G589400LC*、*TraesCS6B01G138600*/*TraesCS6B01G516700LC*/*TraesCS6B01G548900LC*、*TraesCS6D01G103600* 及 *TraesCS7B01G200100* 等基因通过调控植物内源激素-脱落酸(abscisic acid, ABA)的灵敏性进而影响种子的休眠; *TraesCS3B01G415900LC*、*TraesCS6A01G144700LC* 及 *TraesCS6B01G294800* 等基因编码的 F-box 蛋白在植物激素的信号转导、光信号转导以及花器官发育等生理过程中起重要作用; *TraesCS6A01G108800*、*TraesCS6B01G138200*/*TraesCS6B01G293700* 基因编码 Myb 转录因子家族蛋白能调控种子中类黄酮的生物合成, 对籽粒颜色有重要影响, 这些候选基因是与小麦穗发芽相关的重要基因。

关键词: 小麦; 穗发芽; 全基因组关联分析; SNP; 候选基因

Genome-wide association study of pre-harvest sprouting traits in wheat

XIE Lei^{1,2}, REN Yi^{1,2}, ZHANG Xin-Zhong^{1,3}, WANG Ji-Qing^{1,2}, ZHANG Zhi-Hui^{1,2}, SHI Shu-Bing^{1,2}, and GENG Hong-Wei^{1,2,*}

¹ Agricultural College of Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China; ² Key Laboratory of Biotechnology, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China; ³ Institute of Grain Crops, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, Xinjiang, China

Abstract: To understand the genetic mechanism of wheat pre-harvest sprouting (PHS) in wheat breeding, it is significant to explore marker loci and candidate genes associated with PHS resistance using intact spikes. In this study, a total of 207 wheat varieties (lines) from China and 16,686 SNP markers were analyzed in wheat whole genome. The mixed liner model (Q + K) was used to analyze PHS phenotypic data in three environments. Genome-wide association study showed that there were abundant phenotypic variations in different environments and wheat varieties (lines). The coefficient of variation was 0.34 and 0.25, the polymorphic information content of value (PIC) was from 0.01 to 0.38, and the attenuation distance of whole genome LD was 3

本研究由国家自然科学基金项目(31771786)和新疆维吾尔自治区科技创新基地建设项目(PT1910)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31771786) and the Technical Innovation Bases Construction Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region (PT1910).

* 通信作者(Corresponding author): 耿洪伟, E-mail: hw-geng@163.com

第一作者联系方式: E-mail: 1784462634@qq.com

Received (收稿日期): 2020-10-04; Accepted (接受日期): 2021-01-13; Published online (网络出版日期): 2021-02-24.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20210223.1702.006.html>

Mb. The population structure and principal component analysis revealed that 207 wheat varieties (lines) could be divided into three subgroups. GWAS results indicated that 34 SNP markers were detected, which were significantly associated with pre-harvest sprouting at $P < 0.001$. They were located on chromosomes 3A, 3B, 4A, 4B, 5D, 6A, 6B, 6D, 7B, and 7D, and each explained 5.55%–11.63% of phenotypic variation. There were 16 markers loci detected in more than two environments, and the marker Np_Ex_c14101_22,012,676 on 6B chromosome detected in E1, E2, and average environment. Meanwhile, 13 candidate genes were screened out by mining association loci with large phenotypic effect value and stable inheritance. *TraesCS3A01G589400LC*, *TraesCS6B01G138600/TraesCS6B01G516700LC/TraesCS6B01G548900LC*, *TraesCS6D01G103600*, and *TraesCS7B01G200100* could affect seed dormancy by regulating the sensitivity of endogenous ABA in plants. The F-box proteins were encoded by *TraesCS3B01G415900LC*, *TraesCS6A01G144700LC*, and *TraesCS6B01G294800*, which played major roles in plant hormone signal transduction, light signal transduction, and flower organ development. *TraesCS6A01G108800*, *TraesCS6B01G138200/TraesCS6B01G293700* encoded Myb transcription factor family. These candidate genes are important genes related to wheat sprouting.

Keywords: wheat; pre-harvest sprouting; genome-wide association analysis; SNP; candidate gene

小麦是我国乃至世界最重要的粮食作物之一,其产量与品质备受关注^[1-2]。近年来,随着全球气候变暖以及极端天气频发,小麦成熟至收获期间穗上发芽现象越发频繁,严重降低小麦产量,劣化小麦品质,穗发芽已成为全球性危害^[3]。穗发芽促使籽粒内部水解酶活性增加,籽粒内部储藏物质被分解消耗,从而造成籽粒容重和千粒重下降,导致小麦减产^[4]。同时,由于蛋白质被降解,小麦制粉后的 SDS 沉降值和面筋含量逐渐降低,用发芽小麦粉加工的面制品如馒头、面包等,外形和口感较差,严重影响其营养品质和加工品质^[5-6]。全球每年因穗发芽而造成的直接经济损失约 10 亿美元^[7]。培育抗穗发芽小麦新品种是解决这一问题最有效的途径之一。

小麦穗发芽是受种子休眠水平、种子结构、种皮颜色等内部因素以及温度、湿度、光照等外界环境因素共同作用的结果^[8-9]。种子的休眠特性是影响小麦穗发芽抗性的主要遗传因素^[10]。目前对于小麦穗发芽鉴定的方法主要有籽粒发芽法、整穗发芽法和 α -淀粉酶活性测定法^[10]。籽粒发芽主要反映小麦籽粒的休眠情况,并不能表现出颖壳、麦芒等抑制物的作用^[10]。 α -淀粉酶活性测定可以鉴定胚乳抑制物对穗发芽的影响,但操作复杂,不适合进行批量化测定^[11]。整穗发芽不仅能综合性反映小麦穗发芽的抗性,而且操作简单,适合批量化测定,因此常用来鉴定小麦的穗发芽抗性。测定小麦整穗发芽常用的方法有沙培法、发芽纸发芽法、塑料袋保湿法、模拟降雨法、纱布保湿法等^[11-12]。

小麦穗发芽是受多基因调控的数量性状,存在微效和主效基因^[13]。连锁分析与全基因组关联分析目前已成为数量性状基因定位和挖掘的重要途径^[14]。许多研究通过双单倍体(doubled haploid, DH)或重组自交系(recombinant inbred lines, RIL)等人工作图群体,

将穗发芽相关基因定位于 2AL、2BS、3AS、3AL、4AL、5D、6BS 及 7DL 染色体上^[14-20]。但连锁作图受限于遗传群体亲本间的差异度及标记密度等的不同, QTL 定位的区间较大,仅能分析部分等位基因。全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)与连锁分析互补,可以高效定位和挖掘多个小麦穗发芽相关的优异等位基因^[10]。Kulwal 等^[21]利用 1166 个简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)和多样性芯片(diversity arrays technology, DArT)分子标记,对 208 份白皮冬小麦品种 4 年的穗发芽率进行测定,定位了 8 个与穗发芽相关的数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL),分布在 1BS、2DS、4AL、6DL、7BS 和 7DS 染色体上,并证实了 7BS 是新的 QTL 位点。Jaiswal 等^[22]通过对 242 份普通小麦的穗发芽率进行鉴定,并结合 250 个 SSR 标记对穗发芽性状进行 QTL 分析,发现了 30 个小麦穗发芽抗性相关的主效位点,其中仅有 8 个标记位点与前人研究结果相同,其余 22 个标记位点均处在前人未报道的染色体区域。Lin 等^[23]首次使用 9K 和 90K 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)基因芯片对 155 份美国冬小麦品种(系)的穗发芽率进行全基因组关联分析,共检测到 12 个与穗发芽相关的 QTL,其中 3AS、3AL、3B、4AL 和 7A 是 QTL 分布频率较大的区域。Zhu 等^[24]利用 90K SNP 基因芯片对 192 份小麦品种(系)的穗发芽率进行全基因组关联分析,检测到 23 个显著关联位点,解释了 6.0%–18.9% 的表型变异,其中 1A、3B 和 6B 是抗性位点的热点区域。Zuo 等^[25]对周 8425B×中国春重组自交系群体家系和 166 份普通小麦的籽粒发芽率进行了 QTL 定位及 GWAS 分析,研究结果除发现位于 3AS、6AL、7BL 和 3DL 上已报道的 QTL 外,还挖掘了位于 5A、7A、4B、3D、6D 染色体上的 8 个新位点。

虽然前人在小麦穗发芽的鉴定、基因的筛选及其定位等方面取得了一定进展,但由于小麦穗发芽的遗传机制较为复杂,遗传背景来源不同的材料携带着不同的抗性因子^[10]。因此,为了进一步发掘穗发芽相关基因并开发相关功能标记,本研究对 207 份小麦品种(系)的整穗发芽率进行鉴定,结合 SNP 标记进行全基因组关联分析,以期小麦穗发芽遗传机制研究和分子育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试小麦品种(系)共计 207 份,是我国各麦区主推品种(系)、部分骨干亲本和历史品种。其中国内品种(系) 165 份,包含黄淮麦区 93 份,西南麦区 12 份,长江麦区 29 份,北部麦区 31 份以及国外品种(系) 42 份,供试材料在不同区域间的分布频率依次为: 45%、6%、14%、15%和 20%,上述供试材料均由中国农业科学院作物科学研究所小麦品质课题组夏先春研究员惠赠。供试材料分别于 2017—2018 (简称 E1)和 2018—2019 年度(简称 E2)种植于新疆农业科学院玛纳斯试验站,单行种植,行长 2 m,行距 25 cm,施肥、滴灌、防虫及除草同当地田间管理。以连续 2 年的均值为平均环境(简称 E3)。

1.2 整穗发芽的表型鉴定及分析

2017—2018 和 2018—2019 年度的供试材料均在室内进行表型鉴定。在小麦生长到蜡熟后期时,剪取每份材料的 10 个主茎穗(带穗下节),每 5 穗结扎为一个重复,室内风干 1 d,立即存放于-20℃的冰箱内以维持其休眠性,待收获全部材料后统一进行穗发芽实验。先将整穗在蒸馏水中浸泡 10~12 h,再用 0.1%次氯酸钠溶液浸泡消毒 15 min 后,用无菌水冲洗干净,用发芽纸卷裹,保鲜袋保湿,置于人工气候培养箱(温度 20℃,光周期为 16 h 昼/8 h 夜,相对湿度为 80%)培养 7 d 后取出,在电热恒温烘箱(150℃)内快速烘干,阻止其继续发芽,手工脱粒,以种胚破裂为鉴定标准^[26],记录每份材料的穗发芽率,2 次重复的平均值为此材料在该年度的穗发芽率。整穗发芽率(sprouting rate, SR)=5 穗的发芽粒数/总粒数×100%。

采用 Microsoft Excel 2016 进行基本数据统计与分析,采用 SPSS 21.0、QTL IciMapping V4.1 软件进行描述性统计分析和方差分析^[27]。

1.3 群体结构分析和主成分分析

应用 Tassel 5.0 软件计算多态性信息量(PIC, polymorphic information content), $PIC = 1 - \sum P_{ij}^2$ (P_{ij}^2

表示第 i 个位点的第 j 个等位变异出现的频率)^[28]。

从筛选过的标记中,选取 2000 个最小等位基因频率大于 10%且在染色体上均匀分布的 SNP 标记,利用 Structure 2.3.4 软件进行群体结构分析。参数设置: Length of Burn-Period=10,000, MCMC Reps after Burn-in=100,000, 选择 Admixture Ancestry 模型和 Dependent Allele Frequencies 模式,令 $K=2\sim12$,每个 K 值重复运行 5 次。将不同 K 值下重复运行 5 次的结果上传至 Structure Harvester (http://taylor0.biology.ucla.edu/struct_harvest/)^[29],使用 Tassel 5.0 软件绘制群体结构分析图。

利用 TASSEL5.0 软件进行主成分分析(principle component analysis, PCA),利用 ggplot2 工具绘制主成分分析图。

1.4 全基因组关联分析

实验室前期使用 90K SNP 基因芯片对 207 份自然群体材料进行了基因分型,共获得 16,686 个高质量 SNP 标记。基于这些高质量 SNP 标记,使用 Tassel 5.0 软件中的 MLM (Q+K)模型对 207 份小麦品种(系)在不同环境下的整穗发芽率进行全基因组关联分析,以 $P=1.0\times10^{-3}$ 为阈值,判定 SNP 标记与目标性状关联的显著性^[30]。

1.5 连锁不平衡分析

以位点间的相关系数平方(r^2)作为衡量多态性位点两两之间的连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)参数。采用 Tassel 5.0 软件计算 r^2 ,以第 95 百分位的 r^2 值作为阈值估测 LD 衰减距离。考虑连锁群(linkage group)间连锁不平衡背景的影响,对连锁群间的 r^2 值进行平方根转换,以大于此分布 95%的参数值为阈值,用来截取同一连锁群内 LD 的衰减距离^[31]。关联分析中,超过 LD 衰减距离的 2 个位点则认为是 2 个不同的位点。

2 结果与分析

2.1 小麦穗发芽的表型分析

本研究采用整穗发芽法对 207 份供试材料进行表型鉴定(图 1 和图 2),研究结果表明,在 2 个环境下,整穗发芽率的变异幅度分别为 12.98%~100.00%和 13.84%~100.00%,变异系数为 0.34 和 0.25,平均值均较高,分别为 74.31%和 84.80%,表明遗传背景来源不同的材料在 2 个环境下均表现出丰富的表型变异,但自然群体内多数材料的穗发芽抗性较弱,具有较大的遗传改良潜力。不同年份间相关系数为

图 1 部分供试材料的整穗发芽图
Fig. 1 Pre-harvest sprouting diagram of some tested materials
A: 京冬 8 号; B: 淮麦 20 号; C: 郑麦 2 号。
A: Jingdong 8; B: Huaimai 20; C: Zhengmai 2.

图 2 207 份材料在 2 个环境下的整穗发芽率变异
Fig. 2 Variation of germination rate of intact spike in 207 wheat genotypes detected in two environments
SR: 整穗发芽率。SR: sprouting rate.

0.51。方差分析(表 1)显示, 2 个环境下测得供试材料间整穗发芽率差异极显著($P = 0.00001$), 基因型、环境及基因型与环境互作皆影响小麦穗发芽的抗性。其遗传力为 0.60, 表明小麦穗发芽抗性主要由基因型决定, 但也受到环境因素的影响, 遗传因素是导致其表型变异的主要原因。

表 1 207 份自然群体小麦穗发芽方差分析
Table 1 ANOVA of sprouting in 207 genotypes used in this study

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值	遗传力
Source of variance	DF	SS	MS	F-value	P-value	h^2
基因型 Genotype (G)	206	95,102,272.00	312,836.40	540.38	0.00001	0.60
环境 Environment (E)	1	756,525,632.00	378,262,816.00	653,396.18	0.00001	
基因型×环境 G×E	443	94,041,216.00	212,282.65	366.68	0.00001	
误差 Error	747	432,451.71	578.91			
总变异 Total	1397	946,109,312.00				

2.2 SNP 多态性及分布

使用 90K SNP 基因芯片对 E1、E2 及平均环境 (E3)下的 207 份小麦品种(系)的整穗发芽率进行检测, 经过优质筛选, 最终采用 16,686 个具有多态性的 SNP 标记进行 GWAS 分析, 平均单条染色体包含 795 个 SNP 标记, 其中分布在 A、B 和 D 基因组染色体上的 SNP 标记数分别为 7145、7343 和 2198。A、B 基因组的染色体组所用标记数目、标记密度和多态性信息含量均高于 D 染色体组。物理图谱总长度为 14,043.30 Mb, 每个标记间的平均物理距离为 1.27 Mb, SNP 标记的 PIC 值介于 0.01~0.38 之间(表 2)。

2.3 群体结构及连锁不平衡分析

利用 Structure 2.3.4 软件对 207 份供试材料进行群体结构分析(图 3-A, B)。结果显示, 当 $K=3$ 时, ΔK 达到峰值, 曲线变化程度最大。PCA 分析(图 3-C)与 Structure 分析结果一致。供试材料可分为 3 个亚群, 其中, 亚群 1 有 60 份品种(系), 主要来自法国(14 份)和中国北京(13 份); 亚群 2 有 62 份品种(系), 主要来自中国河南(27 份); 亚群 3 有 85 份品种(系), 主要来自中国河南(17 份)、陕西(16 份)和江苏(13 份)。3 个亚群所含材料的分布频率依次为: 28.99%、29.95% 和 41.06%。经计算得到 207 份小麦品种(系)在基因组 A、B、D 和全基因组的 LD 衰减距离分别为 5、3、1 和 3 Mb, 依据全基因组的 LD 衰减距离, 将在物理图谱上前后 3 Mb 区间内的位点认定为一个候选位点。

2.4 全基因组关联分析

利用 TASSEL5.0 软件将 207 份小麦品种(系)的整穗发芽率结合 90K SNP 芯片筛选分型出的 16,686 个高质量 SNP 标记进行全基因组关联分析。基于 MLM (Q+K)模型, 当 $P < 0.001$ 时, 认为该标记与性状显著关联, 在多个环境下检测到的位点视为可稳定遗传的位点(图 4)。GWAS 分析结果表明, 共检测到 34 个显著性位点, 分布于小麦 3A、3B、4A、4B、5D、6A、6B、6D、7B 和 7D 染色体上, 单个位点可解释 5.55%~11.63%的表型变异。其中, 定位于 6B

表 2 标记的分布及多态性
Table 2 Genome coverage and polymorphism of markers

染色体 Chromosome	标记数目 No. of markers	染色体长度 Chromosome length (Mb)	标记密度 Density of marker	多态信息量 PIC	
				平均值 Mean	变异范围 Range
1A	1263	592.38	0.47	0.27	0.01–0.38
2A	1145	780.46	0.68	0.24	0.01–0.38
3A	891	749.46	0.84	0.25	0.01–0.38
4A	708	741.73	1.05	0.25	0.01–0.38
5A	960	709.43	0.74	0.28	0.01–0.38
6A	1006	617.40	0.61	0.27	0.03–0.38
7A	1172	736.44	0.63	0.25	0.01–0.38
1B	1292	688.60	0.53	0.27	0.01–0.38
2B	1291	799.62	0.62	0.26	0.01–0.38
3B	1087	829.32	0.76	0.27	0.01–0.38
4B	571	672.56	1.18	0.26	0.01–0.38
5B	1156	712.82	0.62	0.28	0.01–0.38
6B	1085	720.82	0.66	0.25	0.01–0.38
7B	861	750.49	0.87	0.26	0.02–0.38
1D	568	495.14	0.87	0.13	0.01–0.38
2D	482	650.94	1.35	0.25	0.02–0.38
3D	232	613.92	2.65	0.24	0.01–0.38
4D	99	508.58	5.14	0.25	0.08–0.38
5D	240	563.41	2.35	0.26	0.02–0.38
6D	319	472.61	1.48	0.25	0.03–0.38
7D	260	637.17	2.45	0.23	0.01–0.38
A 染色体组 Total genome A	7145	4927.30	0.72	0.26	0.01–0.38
B 染色体组 Total genome B	7343	5174.23	0.75	0.27	0.01–0.38
D 染色体组 Total genome D	2198	3941.77	2.33	0.23	0.01–0.38
总计 Total	16686	14043.30	1.27	0.25	0.01–0.38

染色体上的标记 *wsnp_Ex_c14101_22012676* 在 E1、E2 及平均环境下被共同检测到, 对表型的贡献率为 5.86%~11.61%; 另有 15 个标记位点均在 1 个环境及平均环境下被检测到, 分布于 3A、6A、6B 及 7B 染色体上, 其贡献率为 5.55%~11.63%, 这 16 个可重复检测到的位点属稳定遗传位点, 其中 6B 染色体是携带小麦穗发芽相关基因的热点区域; 其余的 18 个标记位点均仅在 1 个环境或平均环境下被检测到。表明在影响小麦穗发芽的众多基因中, 存在效应稳定的 QTL, 同时也受到基因型与环境互作的影响, 方差分析的结果也证实了这一点。将 GWAS 检测到的 34 个显著性位点与前人的定位结果进行比较, 发现 10 个位点被定位到前人报道的基因/标记/QTL 区间附近, 其余 24 个标记位点均处在前人未报道的染色体区域(表 3)。

2.5 小麦穗发芽候选基因功能预测

将表型效应值大且能稳定遗传的 SNP 标记在普通小麦中国春基因组数据库中进行检索, 并在 NCBI 数据库中进行 BLASTx 序列比对, 共挖掘了 13 个最有可能与穗发芽相关的候选基因(表 4)。穗发芽候选基因主要与种子的休眠、植物激素的生物合成及信号转导相关。其中, 定位于 3A、6B、6D 和 7B 染色体上的基因 *TraesCS3A01G589400LC*、*TraesCS6B01G138600/TraesCS6B01G516700LC/TraesCS6B01G548900LC*、*TraesCS6D01G103600* 及 *TraesCS7B01G200100* 均编码锌指结构蛋白; 定位于 3B、6A 和 6B 染色体上的基因 *TraesCS3B01G415900LC*、*TraesCS6A01G144700LC* 及 *TraesCS6B01G294800* 均编码 F-box 家族蛋白; 定位于 6B 染色体上

图 3 207 份小麦品种(系)群体结构分析

Fig. 3 Population structure analysis of 207 wheat varieties (lines)

(图 4)

图 4 不同环境中穗发芽的曼哈顿图和 Q-Q 图
Fig. 4 Manhattan and Q-Q diagrams of pre-harvest sprouting traits in different environments
E1: 2017–2018 年, 玛纳斯; E2: 2018–2019 年, 玛纳斯; E3: 平均环境。
E1: 2017 and 2018 in Manasi; E2: 2018 and 2019 in Manasi; E3: average environment.

表 3 小麦穗发芽显著关联位点信息
Table 3 Information of significant association sites for PHS

标记 Marker	染色体 Chr.	位置 Position (Mb)	MLM		环境 Environment	已报道的 QTL/标记/ 基因 Known QTL/marker/gene
			<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	贡献率 <i>R</i> ² (%)		
Kukri_c8465_54	3A	684.04–685.36	2.35E-04–9.14E-04	5.55–8.75	E2/E3	<i>TaVp-I</i> ^[32]
Kukri_c9259_421	4A	673.07	5.95E-04	6.34	E2	<i>IWB23723</i> ^[23]
RAC875_rep_c107892_142	6A	77.78	2.56E-05–9.28E-05	8.04–9.25	E1/E3	
Kukri_c5744_92	6A	483.90	2.78E-05–7.41E-04	8.34–9.25	E1/E3	
RAC875_c43536_193	6A	490.50	3.03E-04	6.94	E1	
IAAV8536	3B	422.52	6.78E-05	9.81	E1	<i>TaDFR</i> ^[33]
Tdurum_contig60051_838	4B	644.68	7.10E-04	9.42	E2	<i>Xwmc349</i> ^[34]
CAP11_c2542_147	6B	24.92	7.71E-05–3.83E-04	6.71–8.29	E1/E3	<i>TaCYP707A1</i> ^[35]
Kukri_c33668_877	6B	119.53	4.55E-04–5.32E-04	6.05–6.16	E2/E3	<i>AX-108844376</i> ^[24]
GENE-3171_203	6B	135.11–138.65	2.15E-05–5.50E-04	6.09–9.71	E1/E3	
BS00069412_51	6B	143.20	9.03E-04	5.64	E1	
Excalibur_c18382_760	6B	151.13	9.24E-04	5.60	E3	
wsnp_Ku_c2614_4970880	6B	226.87	8.44E-04	5.59	E3	
Tdurum_contig13698_141	6B	475.73	7.54E-04	5.70	E3	
RFL_Contig6050_941	6B	481.47–481.86	3.10E-06–1.63E-04	8.83–11.63	E1/E3	
wsnp_Ex_c3640_6644345	6B	485.54	2.36E-05–1.08E-04	8.21–11.04	E1/E3	<i>IWB2831</i> ^[24]
wsnp_Ex_c14101_22012676	6B	492.02	2.26E-06–6.77E-04	5.86–11.61	E1/E2/E3	
wsnp_Ex_c6143_10747643	6B	516.08–519.15	1.30E-05–1.65E-04	8.30–10.65	E1/E3	
Kukri_c16568_287	6B	522.49	4.81E-05–1.69E-04	7.21–8.45	E1/E3	
Excalibur_c7785_123	6B	526.48–528.92	1.19E-05–6.21E-04	5.94–10.02	E1/E3	
Excalibur_c11245_880	6B	530.57	2.79E-04–5.34E-04	6.06–6.83	E1/E3	
wsnp_Ex_c3990_7223090	6B	577.48	1.67E-05–6.19E-05	8.45–9.95	E1/E3	<i>Qphs.ahau-6B</i> ^[36]
RAC875_c57261_265	6B	609.38	6.10E-04–6.34E-04	5.99–6.02	E1	

(续表 3)

标记 Marker	染色体 Chr.	位置 Position (Mb)	MLM		环境 Environment	已报道的 QTL/标记/ 基因 Known QTL/marker/gene
			<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	贡献率 <i>R</i> ² (%)		
RAC875_rep_c117796_352	6B	632.97	5.23E-04–5.35E-04	6.19–6.21	E3	
wsnp_CV776265A_Ta_2_1	6B	651.01–652.00	1.21E-04–7.21E-04	5.78–7.51	E1/E3	
BS00023032_51	6B	664.38	8.28E-04	5.90	E3	
IAE36519	6B	701.98–704.04	7.44E-04–9.92E-04	5.87–6.09	E2	
wsnp_Ku_c18780_28136150	7B	223.61	8.12E-05	10.12	E2	
Excalibur_c25719_238	7B	363.24	3.92E-05–3.24E-04	6.64–8.89	E2/E3	
RAC875_c4834_694	7B	613.38	7.14E-04	5.87	E2	<i>Dorm-1</i> ^[37]
BobWhite_c8092_726	5D	246.30	4.94E-04	6.22	E3	
wsnp_Ex_c1249_2399894	6D	67.39–68.10	8.81E-04–9.23E-04	5.72–5.78	E1	
D_wsnpbe403818_Contig1_1	6D	389.70	6.71E-04	5.79	E3	
D_contig10382_335	7D	23.50–55.42	7.24E-04–9.41E-04	5.70–6.15	E2	<i>MST101</i> ^[37]

E1: 2017–2018 玛纳斯; E2: 2018–2019 玛纳斯; E3: 平均环境。

E1: in 2017 and 2018 in Manasi; E2: in 2018 and 2019 in Manasi; E3: average environment.

表 4 候选基因信息

Table 4 Information of candidate genes

位点 Marker	染色体 Chr.	物理位置 Position (Mb)	基因 Gene	基因注释或编码蛋白 Gene annotation or coding protein
Kukri_c8465_54	3A	684.76	<i>TraesCS3A01G589400LC</i>	Zinc finger MYM-type-like protein
IAAV8536	3B	421.53	<i>TraesCS3B01G415900LC</i>	F-box protein
RAC875_rep_c107892_142	6A	77.61	<i>TraesCS6A01G144700LC</i>	F-box family protein
	6A	77.54	<i>TraesCS6A01G108800</i>	Myb-like transcription factor family protein
GENE-3171_203	6B	135.71	<i>TraesCS6B01G138200</i>	Myb family transcription factor-like
	6B	135.94	<i>TraesCS6B01G138600</i>	RING/U-box superfamily protein
RFL_Contig6050_941	6B	481.79	<i>TraesCS6B01G511400LC</i>	Anaerobic nitric oxide reductase transcription regulator NorR
wsnp_Ex_c14101_22012676	6B	491.55	<i>TraesCS6B01G516700LC</i>	Zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein
Excalibur_c7785_123	6B	528.92	<i>TraesCS6B01G294800</i>	F-box protein
	6B	527.93	<i>TraesCS6B01G293700</i>	Myb family transcription factor-like
	6B	526.49	<i>TraesCS6B01G548900LC</i>	Zinc finger MYM-type-like protein
Excalibur_c25719_238	7B	363.00	<i>TraesCS7B01G200100</i>	Zinc finger C-x8-C-x5-C-x3-H type family protein
wsnp_Ex_c1249_2399894	6D	67.39	<i>TraesCS6D01G103600</i>	Zinc finger BED domain-containing protein DAYSLEEPER

的基因 *TraesCS6B01G511400LC* 功能注释为厌氧型一氧化氮还原酶转录调控因子。

3 讨论

3.1 小麦穗发芽性状的分析

小麦穗发芽的抗性机制较为复杂, 主要受籽粒休眠性、穗部形态、种皮颜色及环境等因素的影响^[38-39]。朱冬梅等^[40]对 33 份长江中下游麦区主

推品种的穗发芽抗性进行评价, 结果表明, 品种的休眠特性与其穗发芽抗性呈正相关。苗西磊等^[41]利用相关的分子标记并结合整穗发芽实验, 证实穗部形态如麦芒、颖壳及其抑制物对小麦穗发芽具有抑制作用。Warner 等^[42]的研究指出, 种皮颜色与小麦穗发芽抗性呈正相关。在众多的环境因素中, 温度和水分是影响穗发芽的主要因素。温度在 26℃ 以上时, 籽粒的休眠程度会降低或丧失; 在 15℃ 以下时,

籽粒的休眠程度加深^[43-44], 20℃时, 小麦的发芽率最高, 温度继续升高, 发芽率降低^[45]。从穗发芽的定义可以看出, 水分是导致小麦穗发芽的直接外界因素。本研究利用整穗发芽法在人工气候培养箱(温度 20℃, 相对湿度为 80%)进行发芽实验, 不仅能反映出各品种(系)间穗发芽受种子本身的休眠特性及穗部形态等的影响, 还能体现出环境等因素对其抗性的作用, 能较好的反映出各小麦品种(系)间的综合抗性。研究结果显示, 在同一年份及不同年份间, 整穗发芽率的变异幅度较大(12.98%~100.00%和 13.84%~100.00%), 且平均值均高于标准差, 表明不同小麦品种(系)可能有着不同的抗性因子, 抗性材料间的抗性因子也不同, 因而表现出了丰富的表型变异。与 2018 年相比, 207 份小麦品种(系)在 2019 年整穗发芽率的变异范围较小, 平均值较大, 究其原因可能是受小麦成熟期间的温度及收获前降雨的影响, 导致供试品种(系)整体的穗发芽抗性水平下降。此外, 本研究在 2 个环境下的方差分析与朱玉磊等^[13]利用 264 份供试材料在 3 个环境下分析整穗发芽率的结果一致, 表明小麦穗发芽抗性既受基因型调控, 也易受环境因素的影响, 同时基因与环境互作效应对其影响显著, 这也是导致不同年份间的相关系数较低的原因。

3.2 小麦穗发芽关联分析

随着分子生物学及生物信息学的迅速发展, GWAS 分析与 QTL 定位已成为研究植物数量性状的重要途径, 小麦穗发芽相关基因的挖掘也得到了较大程度的推动。Munkvold 等^[14]、Osa 等^[15]、Lin 等^[17]利用不同的 RIL 群体结合基因芯片对小麦穗发芽进行连锁分析, 定位了 2AL、2BS、3AS、3AL、4AL、5D、6B 及 7D 上的主效 QTL 位点, 其中 3A、5D、6B 及 7D 位点与本研究相同, 验证了这些位点的重要性, 同时也进一步证明了关联分析与连锁分析均能检测到与目标性状显著相关的 QTL 位点。将 GWAS 检测结果与前人定位的结果相比较, 发现一些已报道的基因/标记位点/QTL 在本研究中被重复定位到, 如本研究定位于 3A 染色体上的显著性位点 *Kukri_c8465_54*, 根据染色体上位置的比对结果发现, 该位点与 Bailey 等^[46]报道的调控种胚休眠性的 *TaVp-1* 基因距离较近。定位于 4B 染色体上的标记位点 *Tdurum_contig60051_838* (644.68 Mb) 与 Rasul 等^[34]定位在 4B 染色体上的标记位点 *Xwmc349* (640.9 Mb)相距约 4 Mb, 可能为同一位点。Zhu 等^[24]

定位了 3 个与穗发芽抗性相关的 QTL, 且 6B 位点是携带穗发芽抗性基因的热点区域, 这一结果与本研究一致。同时, 本研究发现定位在 6B 染色体上的标记 *wsnp_Ex_c3990_7223090* (577.48 Mb)与 Zhu 等^[24]定位的 *Qphs.ahau-6B* (574.6~576.8 Mb)物理位置相近, 可以推测这一区段内可能存在与穗发芽抗性相关的基因。但本研究鉴定结果中有 24 个显著性位点与相同染色体上已报道的位点在物理位置上相距较远, 如 7B 染色体上的 *wsnp_Ku_c18780_28136150* (223.61 Mb)与王焕雪等^[47]定位在 7B 染色体上的 *AX-109349257* (718.5~720.0 Mb)相距约 500 Mb。这些小麦穗发芽相关位点可能均为新位点。

此外, 本研究检测到在 E1、E2 及平均环境下被共同检测到, 物理位置为 492.02 Mb, 对表型解释效应为 5.86%~11.61%。该位点可能是与小麦穗发芽抗性相关的重要位点。对其进行候选基因的挖掘, 筛选到的候选基因 *TraesCS6B01G516700LC*, 其基因功能注释为锌指(C3HC4 型指环)家族蛋白, 该蛋白的功能是通过调控植物内源激素-脱落酸(abscisic acid, ABA)的灵敏性进而影响种子的休眠。今后将着手开发多种标记(EST、EST-SSR、CAPS 等)用于加密标记图谱, 同时构建适当的作图群体, 以准确定位这些关联位点, 并对效应值大且稳定遗传的候选基因进行图位克隆、功能验证等, 以期进一步剖析小麦穗发芽的遗传机制。

3.3 候选基因的功能分析

本研究利用 GWAS 检测到 34 个与小麦穗发芽显著关联的 SNP 标记位点, 并在普通小麦中国春基因组数据库筛选获得 13 个可能与穗发芽相关的候选基因。位于 3A、6B、6D 和 7B 上的基因 *TraesCS3* 蛋白, 该蛋白的功能是通过调控植物内源激素-脱落酸(abscisic acid, ABA)的灵敏性对种子的休眠进行调控^[48]; 位于 3B、6A 和 6B 上的基因 *TraesCS3B01G415900LC*、*TraesCS6A01G144700LC* 及 *TraesCS6B01G294800* 编码 F-box 家族蛋白, 该家族蛋白在植物激素的信号转导, 光信号转导以及花器官发育等生理过程有重要作用^[49]; 6B 染色体上的基因 *TraesCS6B01G511400LC* 注释为厌氧型一氧化氮还原酶转录调控因子, 一氧化氮对植物种子的休眠解除和萌发有促进作用^[50]; 位于 6A 和 6B 染色体上的基因 *TraesCS6A01G108800*、*TraesCS6B01G138200*/*TraesCS6B01G293700* 编码 Myb 转录因子家族蛋白, 该蛋白调控种子中类黄酮的生物合成, 对籽

粒颜色有重要影响^[48]。Himi 等^[51]证明 *R* 基因能够促进类黄酮基因的转录,但在小麦白皮品种中并不表达。红皮小麦因受控制种皮颜色的三重 *R* 基因的调控导致其穗发芽抗性较强,*R* 基因与休眠位点紧密连锁,在对应区间检测到 *Myb* 家族转录因子,并成功开发相关标记。这对本研究在 6A 和 6B 染色上检测到 *Myb* 转录因子区段具有借鉴作用,但能否据此开发有效的功能标记,是我们下一步工作的重点。

4 结论

本研究采用 Q+K 混合线性模型,使用 90K SNP 芯片对 207 份国内外小麦品种(系)的整穗发芽率进行全基因组关联分析,获得 34 个显著关联的 SNP 标记位点,其中 6B 是携带穗发芽抗性基因的热点区域,定位于 6B 染色体上的 *wsnp_Ex_c14101_22012676* 在 E1、E2 及平均环境下被共同检测到,对表型的贡献率为 5.86%~11.61%,该位点可能是与小麦穗发芽抗性相关的重要位点。将表型效应值大且能稳定遗传的 SNP 标记在普通小麦中国春基因组数据库中进行检索,共挖掘了 13 个最有可能与穗发芽抗性相关的候选基因。

References

- [1] Zhou Y, He Z H, Chen X M, Wang D S, Yan J, Xia X C. Genetic improvement of wheat yield potential in north China. In: Wheat Production in Stressed Environments. Berlin: Springer Netherlands, 2007. pp 583–589.
- [2] Zheng T C, Zhang X K, Yin G H, Wang L N, Han Y L, Chen L. Genetic gains in grain yield, net photosynthesis and stomatal conductance achieved in Henan province of China between 1981 and 2008. *Field Crops Res*, 2011, 122: 225–233.
- [3] Xiao S H, Zhang X Y, Yan C S. Germplasm improvement for pre-harvest sprouting resistance in Chinese white-grained wheat: an overview of the current strategy. *Euphytica*, 2002, 126: 35–38.
- [4] 于立河,刘德福,郭伟,薛盈文,曾玲玲,张健,侯海鹏.收获期降雨对春小麦品质的影响.麦类作物学报, 2007, 27: 658–660.
Yu L H, Liu D F, Guo W, Xue Y W, Zeng L L, Zhang J, Hou H P. Effects of raining during harvest season on quality of spring wheat. *J Triticeae Crops*, 2007, 27: 658–660 (in Chinese with English abstract).
- [5] 苏东民,魏雪芹.发芽对小麦及面粉品质的影响.粮食科技与经济, 2005, (6): 39–41.
Su D M, Wei X Q. Effect of germination on quality of wheat and flour. *Grain Sci Technol Econ*, 2005, (6): 39–41 (in Chinese with English abstract).
- [6] Humphreys D G, Noll J. Methods for characterization of pre-harvest sprouting resistance in a wheat breeding program. *Euphytica*, 2002, 126: 61–65.
- [7] 王黎明,李永霞,高华利,王春平,王洪刚,李兴锋.小麦穗发芽基因等位变异及其区域分布研究.西北植物学报, 2019, 39(1): 52–58.
Wang L M, Li Y X, Gao H L, Wang C P, Wang H G, Li X L. Molecular identification and distribution of pre-harvest sprouting (PHS) genes in different common wheat regions of China. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2019, 39: 52–58 (in Chinese with English abstract).
- [8] King R W, Richards R A. Water uptake in relation to pre-harvest sprouting damage in wheat: ear characteristics. *Aust J Agric Res*, 1984, 2: 55–63.
- [9] Detje H. Effects of varying nitrogen rates on pre-harvest sprouting and α -amylase activity in cereals. *J Agron Crop Sci*, 1992, 169: 38–45.
- [10] 杨燕,张春利,何中虎,夏兰芹.小麦抗穗发芽研究进展.植物遗传资源学报, 2007, 8: 503–509.
Yang Y, Zhang C L, He Z H, Xia L X. Advances on resistance to pre-harvest sprouting in wheat. *J Plant Genet Resour*, 2007, 8: 503–509 (in Chinese with English abstract).
- [11] 王志龙,于亚雄,王志伟,程加省,乔祥梅,杨金华.小麦穗发芽抗性鉴定及机制分析.西南农业学报, 2016, 29: 2513–2519.
Wang Z L, Yu Y X, Wang Z W, Cheng J S, Qiao X M, Yang J H. Resistance and mechanism of pre-harvest sprouting in wheat. *Southwest China J Agric Sci*, 2016, 29: 2513–2519 (in Chinese with English abstract).
- [12] 李玉莹,马东方,王晓玲,方正武.小麦穗发芽鉴定方法的比较与分析.广西植物, 2016, 36: 245–248.
Li Y Y, Ma D F, Wang X L, Wang X L, Fang Z W. Comparison and analysis of wheat pre-harvest sprouting screening methods. *Guihaia*, 2016, 36: 245–248 (in Chinese with English abstract).
- [13] 朱玉磊,王升星,赵良侠,张德新,胡建帮,曹雪连,杨亚杰,常成,马传喜,张海萍.以关联分析发掘小麦整穗发芽抗性基因分子标记.作物学报, 2014, 40: 1725–1732.
Zhu Y L, Wang S X, Zhao L X, Zhang D X, Hu J B, Cao X L, Yang Y J, Chang C, Ma C X, Zhang H P. Exploring molecular markers of pre-harvest sprouting resistance gene using wheat intact spikes by association analysis. *Acta Agron Sin*, 2014, 40: 1725–1732 (in Chinese with English abstract).
- [14] Munkvold J D, J, Tanaka J, Benscher D, Sorrells M E. Mapping quantitative trait loci for preharvest sprouting resistance in white wheat. *Theor Appl Genet*, 2009, 119: 1223–1235.
- [15] Osa M, Kato K, Mori M, Shindo C, Torada A, Miura H. Mapping QTLs for seed dormancy and *Vp1* homologue on chromosome 3A of wheat. *Theor Appl Genet*, 2003, 169: 1491–1496.
- [16] Somyong S, Ishikawa G, Munkvold J D, Tanaka J, Benscher D, Cho Y G. Fine mapping of a preharvest sprouting QTL interval on chromosome 2B in white wheat. *Theor Appl Genet*, 2014, 127: 1843–1855.
- [17] Tyagi S, Gupta P K. Meta-analysis of QTLs involved in pre-harvest sprouting tolerance and dormancy in bread wheat. *TGG*, 2012, 3: 9–24.
- [18] Lin M, Cai S, Wang S, Liu S, Zhang G, Bai G. Genotyping-by-sequencing (GBS) identified SNP tightly linked to QTL for pre-harvest sprouting resistance. *Theor Appl Genet*, 2015, 128: 1385–1395.
- [19] Liu S B, Cai S B, Robert G. Quantitative trait loci for resistance to pre-harvest sprouting in US hard white winter wheat. *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 691–699.

- [20] Chen G F, Zhang H, Deng Z Y, Wu R G, Li D M, Wang M Y. Genome-wide association study for kernel weight-related traits using SNPs in a Chinese winter wheat population. *Euphytica*, 2016, 212: 173–185.
- [21] Kulwal P, Ishikawa G, Benschel D, Feng Z, Yu L X, Jadhav A. Association mapping for pre-harvest sprouting resistance in white winter wheat. *Theor Appl Genet*, 2012, 125: 793–805.
- [22] Jaiswal V, Mir R R, Mohan A, Balyan H S, Gupta P K. Association mapping for pre-harvest sprouting tolerance in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 2012, 188: 89–102.
- [23] Lin M, Zhang D, Liu S, Zhang G, Yu J, Fritz A K. Genome-wide association analysis on pre-harvest sprouting resistance and grain color in U.S. winter wheat. *BMC Genome*, 2016, 17: 794–801.
- [24] Zhu Y L, Wang S, Wei W, Xie H, Liu K, Zhang C, Wu Z, Jiang H, Cao J, Zhao L, Lu J, Zhang H, Chang C, Xia X, Xiao S, Ma C. Genome-wide association study of pre-harvest sprouting tolerance using a 90K SNP array in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2019, 132: 2947–2963.
- [25] Zuo J H, Lin C T, Cao H, Chen F Y, Liu Y X, Liu J D. Genome-wide association study and quantitative trait loci mapping of seed dormancy in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Planta*, 2019, 250: 187–198.
- [26] Groos C, Gay G, Perretant R M. Study of the relationship between pre-harvest sprouting and grain color by quantitative trait loci analysis in a white red grain bread-wheat cross. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 39–47.
- [27] Meng L, Li H, Zhang L, Wang J. QTL IciMapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. *Crop J*, 2015, 3: 269–283.
- [28] Wang S X, Zhu Y L, Zhang D X. Genome-wide association study for grain yield and related traits in elite wheat varieties and advanced lines using SNP markers. *PLoS One*, 2017, 12: 1–14.
- [29] Zhu C S, Gore M, Buckler E S, Yu J M. Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome*, 2008, 1: 5–20.
- [30] Yu J M, Pressoir G, Briggs W H, Irie V, Yamasaki M, Doebley J F, McMullen M D, Gaut B S, Nielsen D M. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nat Genet*, 2006, 38: 203–208.
- [31] Marco M, Walid E F, Ghasemali N, Silvio S, Canè M A, Chiara C M. Prioritizing quantitative trait loci for root system architecture in tetraploid wheat. *J Exp Bot*, 2016, 67: 1161–1178.
- [32] Yang Y, Zhao X L, Xia L Q, Chen X M, Xia X C, He Z H. Development and validation of a *viviparous-1*, STS marker for pre-harvest sprouting tolerance in Chinese wheats. *Theor Appl Genet*, 2007, 115: 971–980.
- [33] Bi H H, Sun Y W, Xiao Y G, Xia L Q. Characterization of *DFR* allelic variations and their associations with pre-harvest sprouting resistance in a set of red-grained Chinese wheat germplasm. *Euphytica*, 2014, 195: 197–207.
- [34] Rasul G, Humphreys D G, Brûlé-Babel A, McCartney C A, Knox R E, Depauw R M. Mapping QTLs for pre-harvest sprouting traits in the spring wheat cross ‘RL4452/AC Domain’. *Euphytica*, 2009, 168: 363–378.
- [35] Zhang C L, He X Y, He Z H, Wang L H, Xia X C. Cloning of *Ta CYP707A1* gene that encodes ABA 8'-hydroxylase in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agric Sci China*, 2009, 8: 902–909.
- [36] Hucl P, Singh R, Matus-Cádiz M A, Bga M, Ravindra N. Identification of genomic regions associated with seed dormancy in white-grained wheat. *Euphytica*, 2010, 174: 391–408.
- [37] Roy J K, Prasad M, Varshney R K, Balyan H S, Blake T K, Dhaliwal H S. Identification of a microsatellite on chromosomes 6B and a STS on 7D of bread wheat showing an association with preharvest sprouting tolerance. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 336–340.
- [38] Gao F, Ayele B T. Functional genomics of seed dormancy in wheat: advances and prospects. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 458–463.
- [39] 刘莉, 王海庆, 陈志国. 小麦抗穗发芽研究进展. 作物杂志, 2013, (4): 6–11.
- Liu L, Wang H Q, Chen Z G. Advances on resistance to pre-harvest sprouting in wheat. *Crops*, 2013, (4): 6–11 (in Chinese with English abstract).
- [40] 朱冬梅, 张晓祥, 王玲, 方正武, 江伟, 张晓. 长江中下游麦区主要小麦品种穗发芽抗性鉴定方法比较. 麦类作物学报, 2014, 34: 944–949.
- Zhu D M, Zhang X X, Wang L, Fang Z W, Jiang W, Zhang X. Resistance of pre-harvest sprouting of wheat cultivars planted in the valley of middle and lower reach of Yangtze River and comparison of the identification methods. *J Triticeae Crops*, 2014, 34: 944–949 (in Chinese with English abstract).
- [41] 苗西磊, 王德森, 夏兰芹, 张运宏, 王忠伟, 何中虎, 陈新民. 白粒小麦品种(系)穗发芽抗性机制分析. 麦类作物学报, 2011, 31: 741–746.
- Miao X L, Wang D S, Xia L X, Zhang H Y, Wang Z W, He Z H, Chen X M. Analysis on the mechanism of pre-harvest sprouting resistance in white-grain wheat. *J Triticeae Crops*, 2011, 31: 741–746 (in Chinese with English abstract).
- [42] Warner R L, Kudrna D A, Spaeth S C, Jones S S. Dormancy in white-grain mutants of Chinese spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Seed Sci Res*, 2000, 10: 51–60.
- [43] Nielsen M T, McCrate A J, Heyne E G, Paulsen G M. Effect of weather variables during maturation on pre-harvest sprouting of hard white wheat. *Crop Sci*, 1984, 24: 779–782.
- [44] Osanai S I, Amano Y, Mares D. Development of highly sprouting tolerant wheat germplasm with reduced germination at low temperature. *Euphytica*, 2005, 143: 301–307.
- [45] Mares D J. Temperature dependence of germinability of wheat grain in relation to pre-harvest sprouting. *Aust J Agric Res*, 1984, 35: 115–128.
- [46] Bailey P C, McKibbin R S, Lenton J R, Holdsworth M J, Flintham J E, Gale M D. Genetic map locations for orthologous *Vp1* genes in wheat and rice. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 281–284.
- [47] 王焕雪. 小麦穗发芽抗性基因的全基因组关联分析及等位变异发掘. 北京农学院硕士学位论文, 北京, 2019.
- Wang H X. Genome Wide Association Analysis and Allelic Variation of Wheat Pre-Harvest Sprouting Resistance Genes. MS Thesis of Beijing University of Agriculture, Beijing, China, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [48] 张海萍, 常成, 肖世和. 小麦胚休眠中 ABA 信号转导的蛋白质组分析. 作物学报, 2006, 5: 690–697.
- Zhang H P, Chang C, Xiao S H. Proteomic analysis on abscisic acid signal transduction in embryo dormancy of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Agron Sin*, 2006, 5: 690–697 (in Chinese with English abstract).

English abstract).

- [49] 吴丹, 唐冬英, 李新梅, 李丽, 赵小英, 刘选明. F-box 蛋白在植物生长发育中的功能研究进展. 生命科学研究, 2015, 19: 362–367.
Wu D, Tang D Y, Li X M, Li L, Zhao X L, Liu X M. Research progress on the function of F-box protein in plant growth and development. *Life Sci Res*, 2015, 19: 362–367 (in Chinese with English abstract).
- [50] 张华. 外源一氧化氮促进小麦种子萌发及其信号作用机制研

究. 南京农业大学硕士学位论文, 江苏南京, 2005.

- Zhang H. Exogenous Nitric Oxide Promotes Wheat Seed Germination and Its Signaling Mechanism. MS Thesis of Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, China, 2005 (in Chinese with English abstract).
- [51] Himi E, Maekawa M, Miura H, Noda K. Development of PCR markers for *Tamyb10* related to *R-1*, red grain color gene in wheat. *Theor Appl Genet*, 2012, 122: 1561–1576.

更正：马娟等发表在本刊 2020, 46(3): 385–394 的论文《利用 WGCNA 鉴定玉米株高和穗位高基因共表达模块》中的图 1B 更正如下。

原图

更正为