

小麦成熟期产量及钾效率相关性状的全基因组关联分析

徐易如¹, 赵艳艳¹, 孙福来², 郭营¹, 赵岩¹, 李斯深¹, 孔凡美^{1*}

(1 作物生物学国家重点实验室/土壤资源高效利用国家工程实验室/山东农业大学, 山东泰安 271018;
2 滨州市农业农村局, 山东滨州 256600)

摘要:【目的】探明不同钾供应条件下控制产量及钾效率相关性状的稳定的显著关联分子标记位点, 为小麦产量及钾效率相关性状的遗传控制机理研究及相关基因的克隆提供参考。【方法】利用 134 个小麦品种(系)组成的群体为试验材料, 设置正常供钾(T1)和不施钾(T2)两个处理, 进行了 2 年田间试验(E1、E2)。对小麦成熟期株高、穗长、穗粒数及钾吸收、利用效率等 23 个性状进行了表型鉴定, 分别定义了同年同一处理和同一处理两年平均共 6 个环境平均值。采用 GLM+Q 一般线性模型和 MLM+K+Q 混合线性模型相结合的方法, 利用群体差异 SNP 分子标记(90K SNP 芯片)对小麦产量和钾效率相关性状进行全基因组关联分析。【结果】与正常钾处理相比, 不施钾处理条件下籽粒钾利用效率显著升高, 单株钾累积量、单株钾含量及总小穗数等性状显著降低。供试小麦各性状的群体变异系数为 6.98%~350.38%, 有 14 个性状的遗传力在 50% 以上, 以株高的遗传力最高(92.03%)。利用保留的 7485 个多态性好的群体差异(SNP)进行了全基因组关联分析, 共检测到 1420 个分子标记位点与供试 23 个性状在 $P \leq 0.001$ 水平存在显著关联, 分布在 21 条染色体上。有 1097 个(77.25%)分子标记位点仅在一个关联分析环境中被检测到; 能在至少两个关联分析环境中被检测到的相对稳定分子标记位点有 323 个, 其中 113 个位点与钾效率相关性状有关, *Tdurum_contig26281_139*、*Kukri_c307_2053* 等分子标记位点可以提高钾吸收效率, *Ex_c19038_571*、*BS00039148_51* 等分子标记位点能够提高钾利用效率。在至少 4 个关联分析环境中被检测到的位点有 22 个, 分别与株高、千粒重、穗粒数等 5 个性状相关。与株高和千粒重显著关联的分子标记位点 *RFL_Contig4069_2628* 和 *BS00003632_51* 可同时在全部 6 个关联分析环境中检测到, 平均贡献率为 9.59% 和 13.66%, 环境稳定性非常好, 与株高的降低和千粒重的提高显著关联。【结论】不同钾供应水平下与产量及钾效率相关性状显著关联的分子标记位点存在显著差异, 77.25% 的分子标记位点仅在特定环境下被检测到。但也有 22 个显著关联分子标记位点(涉及 9 个产量及钾效率相关性状)在至少 4 个关联分析环境(共 6 个环境)下被检测到, 形成高频表达分子标记位点。其中与株高和千粒重分别显著关联的两个分子标记位点在所有 6 个关联分析环境中均稳定被检测到, 能显著降低株高和提高千粒重。这些分子标记位点的相关基因对相关性状的调控效应受钾处理环境影响小, 具有较高的理论和应用价值, 值得深入研究。

关键词: 小麦; 关联分析; 产量; 钾效率

Genome-wide association analysis for yield and potassium efficiency related traits of wheat at maturity stage

XU Yi-ru¹, ZHAO Yan-yan¹, SUN Fu-lai², GUO Ying¹, ZHAO Yan¹, LI Si-shen¹, KONG Fan-mei^{1*}

(1 State Key Laboratory of Crop Biology/National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources/Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2 Binzhou Agriculture and Rural Affairs Bureau, Binzhou, Shandong 256600, China)

Abstract: 【Objectives】Crops are found response genetically to potassium (K) nutrition, so the identification and localization of the molecular markers, that are stable and significantly correlated to traits of yield and K efficiency under different K nutrition levels, will provide reference for further genetic modification of related traits and genes cloning in breeding. 【Methods】A group of 134 wheat varieties (or lines) were used in a two-years

收稿日期: 2019-09-29 接受日期: 2020-02-24

基金项目: “十三五”国家重点研发计划“七大作物育种”重点专项(2017YFD0100600); 山东省现代农业产业技术体系。

联系方式: 徐易如 E-mail: 694173975@qq.com; *通信作者 孔凡美 E-mail: fmkong@sdau.edu.cn

field experiment, in which applying K (T1) and not applying K (T2) were setup. The yield and K efficiency related traits of wheat were measured, and the average data of traits were calculated under 6 defined environments, as the respective average values of each treatment in one year and two years. Genome-wide association analysis was carried out for the tested traits using SNP molecular markers. **【 Results 】** Compared with K application treatment, the K use efficiencies were significantly higher, while the K contents and accumulation of individual plant and the total spikelet number were significantly lower under no K application treatment. The coefficients of variation of the traits were 6.98%–350.38% among the group of cultivars (lines), and 14 of traits had heritability of > 50%, with the highest trait of plant height (92.03%). According to genome-wide association analysis on the 7485 SNPs with satisfactory diversity, a total of 1420 molecular marker sites were identified associating with 23 traits significantly ($P \leq 0.001$), and located in 21 chromosomes. There were 1097 (77.25%) molecular marker sites detected in only one environment, and 323 molecular marker sites that could be stably identified in at least 2 environments, and 113 of them were related to K efficiency, e.g. the molecular marker sites *Tdurum_contig26281_139* and *Kukri_c307_2053* could upregulate the absorption of K, *Ex_c19038_571* and *BS00039148_51* could increase K use efficiency. There were 22 molecular marker sites that could be identified in at least 4 environments, which were related to 5 traits such as plant height, 1000-grain weight (1000-GW) and grain number per spike. Among the 22 molecular marker sites, *RFL_Contig 4069_2628* and *BS00003632_51* were related to plant height and 1000-GW, and were extremely stable and could be detected in all the 6 environments. The expression of genes in the two molecular marker sites significantly affected the variation of plant height and 1000-GW, with average contribution rate of 9.59% and 13.66%. **【 Conclusions 】** Under different K nutrition levels, the molecular markers that are closely correlated to the yield and K efficiency traits, are detected in different sites. About 77.25% of the molecular marker sites are detected only in specific environments. However, 22 significantly correlated molecular marker sites (involving 9 traits related to yield and K efficiency) can be detected in at least 4 environments (6 environments in total), forming high-frequency expression molecular marker sites. Among them, two molecular marker sites are stably correlated with plant height and 1000-GW in all environments. The regulation effects of related genes on related traits of these molecular marker sites are less affected by K treatments, which has high theoretical and applied value and is worthy of in-depth study.

Key words: wheat; association analysis; yield; potassium efficiency

小麦是世界上最重要的粮食作物之一，在中国的种植面积超过 2.45 亿 hm^2 ，产量超过 1.34 亿 t (<http://faostat.fao.org>)。钾是植物必需的大量营养元素之一，对提高作物产量及品质具有重要意义^[1-2]。然而，全世界 130 亿 hm^2 的土壤中，受矿质养分严重胁迫的占 22.5%，其中大约 40% 的养分胁迫土壤缺钾^[3]。世界上农业用地大面积缺钾，在过去的 10 年里，钾肥平均每年施用 616 万 t (<http://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01>)，同时，农产品的产出和土壤淋洗也加重了土壤钾的缺乏^[4]。与此同时，我国钾矿资源缺乏，钾肥的进口依赖度超过 50%，提高钾效率是小麦生产可持续发展的必然要求。发掘小麦中的钾高效基因，对小麦进行钾高效定向培育改良是提高小麦钾效率的重要途径。

对现有小麦品种进行钾效率评价，挖掘钾高效

小麦资源是品种选育的前提和基础。钾效率通常被定义为在低钾胁迫下产量潜力所占的比例^[3-5]。钾高效的基因型通常在缺钾土壤中表现出较高的钾吸收能力(钾吸收效率)^[6-7]或单位钾吸收量的干物质产量较高^[8-9]。利用产量、生物量相关指标和钾吸收累积及利用相关指标可以在一定程度上全面反映小麦的钾效率情况。通过关联分析可以找到与这些钾效率相关指标显著相关的分子标记，从而进一步挖掘相关基因。全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)是一种以不同基因座等位基因间的连锁不平衡(LD)为基础，在群体内进行分子标记与性状的相关性分析，来鉴定目标性状与染色体区段关系的分析方法^[10-11]。关联分析基于连锁的不平衡，以自然群体为研究对象，检测到的标记基本位于前人定位的 QTL 位点所在区段，并且定位结果精度较

高, 因此关联分析是一种十分有效的标记定位方法。目前, 通过关联分析研究, 已经发现了许多与小麦产量、株高等农艺性状相关的标记位点并发现了一些位点的优异等位变异^[12-14], 与小麦钾养分效率相关性状的 QTL 分析已有部分报道, 也获得了一些相关分子标记位点。例如, Kong 等^[15]设置了不同钾处理下的水培、池栽和大田试验, 在“Chuan 35050 × Shannong 483”群体中共定位到 80 个与小麦成熟期性状有关和 87 个与小麦苗期性状有关的 QTL 位点; 宫晓平^[16]利用 SL (鲁麦 21 × 山农 0431) 群体在不同钾处理下定位到 79 个小麦产量性状的 QTL。

由于 SNP 在基因组中数量多、分布广, 具有较高的遗传稳定性, 并且易实现自动化分析, 在小麦遗传学上应用越来越广泛。本研究以 134 份小麦品种 (系) 组成的自然群体为研究材料, 对施钾和不施钾两个处理下小麦成熟期产量性状和钾效率相关性状共 23 个性状进行全基因组关联分析, 以期获得与这些性状显著关联的分子标记位点, 为钾高效小麦育种和相关基因克隆提供参考和数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

材料为源自山东、河北、河南、陕西、山西、江苏、四川、澳大利亚和加拿大的共 134 个小麦品种 (系) 组成的群体 (表 1)。

1.2 试验设计

1.2.1 试验处理 试验设在山东省泰安市山东农业大学农学实验站, 试验时间为 2012 年 10 月 7 日至 2013 年 6 月 9 日 (E1) 和 2013 年 10 月 6 日至 2014 年 6 月 8 日 (E2)。供试土壤为褐土, pH 7.8, 土壤速效氮、磷、钾含量分别约为 84、25 和 82 mg/kg。试验设施钾 (T1) 和不施钾 (T2) 两个处理, 所有处理小麦均施尿素 N 195 kg/hm²、P₂O₅ 92 kg/hm² (过磷酸钙), 施钾小区施 K₂O 114 kg/hm² (硫酸钾), 每个处理重复两次, 随机排列。同一个钾处理小区内, 小麦品种随机排列, 排列位置两年相同。

1.2.2 试验方案 按株距 10 cm、行距 23 cm 点播, 行长 40 cm, 每个材料种植 3 行, 每行点播 15 粒种子, 每行留苗 5 株。磷、钾肥作为基肥一次施用, 氮肥按照基肥: 拔节肥=5:5 的比例施用, 正常田间管理。

1.2.3 性状调查 收获前 10 天分别对每个材料中

间一行 5 个单株的总穗数 (SN)、主茎株高 (PH)、穗长 (SL)、基部不育小穗数 (BSSS)、顶部不育小穗数 (TSSS)、总小穗数 (TSSN) 和穗粒数 (GNPS) 进行调查统计, 计算可育小穗数 (FSS)、不育小穗数 (SSS), 取平均值代表该材料的相关性状。收获时, 将各材料选取的中间一行 5 个单株地上部收获至网袋中, 及时晾晒。晒干后称量地上部总重获得地上部总生物量后脱粒, 脱粒时将颖壳收集起来与秸秆合并粉碎为秸秆样品, 留样测定。称取籽粒总重, 计算单株籽粒产量 (GWP)、单株秸秆产量 (StWP) 和单株地上部总生物量 (SWP), 其中 StWP=SWP-GWP。

1.2.4 测定方法 植株籽粒钾含量 (GKC)、秸秆钾含量 (StKC) 采用 H₂SO₄-H₂O₂ 消解—火焰光度法测定, 地上部钾含量 (SKC) = (GKC × GWP + StKC × StWP) / SWP; 钾积累量 (籽粒钾积累量 GKA、秸秆钾积累量 StKA) 为相应部位的钾含量与其生物量的乘积, 地上部钾积累量 (SKA) = GKA + StKA; 钾利用效率为单位钾含量支撑的生物量^[17], 钾利用效率 = 生物量 / 该部位钾含量; 收获指数 (HI) = GWP / SWP; 千粒重 (1000-GW) 通过每个材料随机选择 3 个 200 粒称重换算。

1.3 表型数据分析

利用 SPSS 17.0 软件对小麦成熟期产量及钾效率相关性状进行表型数据分析。性状广义遗传力计算公式^[18]为: $h_b^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_e^2)$, 式中, σ_g^2 和 σ_e^2 分别为遗传方差和环境方差。

1.4 SNP 标记检验及群体结构分析

使用美国 Illumina 公司和美国堪萨斯州立大学共同开发的小麦 90K SNP 芯片进行群体的基因组分析, 共检测到 91829 个 SNP 标记, 覆盖了小麦全基因组^[19]。通过对获得的差异标记信息进行单拷贝 SNP 筛选, 去除最小等位基因频率 (MAF) 小于 5%、缺失率大于 15% 的 SNP 位点, 保留 7485 个多态性好的 SNP^[20]。利用 Powermarker 3.25 软件分析等位变异数并计算多态性信息含量 (polymorphism information content, PIC)。多态性信息含量的计算公式为: $PIC = 1 - \sum_{j=1}^i P_{ij}^2$, 式中, P_{ij} 为位点 i 的第 j 个等位变异出现的频率。

在每条染色体每隔 15 cM 选取一个 SNP, 保证两个 SNP 间互相独立, 最终用 375 个标记和软件 Structure 2.3.4 进行群体结构分析^[20-21]。将群体数目

表 1 供试小麦品种
Table 1 Wheat varieties used in this study

序号 No.	品种(系) Cultivar (line)	序号 No.	品种(系) Cultivar (line)	序号 No.	品种(系) Cultivar (line)	序号 No.	品种(系) Cultivar (line)	序号 No.	品种(系) Cultivar (line)
1	昌乐 5 号	28	山农 45	55	淄 12	82	石麦 15 号	109	蓝 58
2	德选 1 号	29	山农 483	56	954(7)-8	83	石麦 16 号	110	陕 627
3	济麦 20	30	山农 664	57	BSS	84	石麦 18 号	111	陕农 138
4	济麦 21	31	山农 8355	58	LS3283	85	石新 616	112	陕农 534
5	济麦 22	32	山农紫麦 1	59	山农 25	86	石新 618	113	西农 85
6	济南 17	33	山融 3 号	60	LS4697	87	石新 828	114	西农 213
7	济宁 16	34	泰农 18	61	LS4942	88	石优 17 号	115	西农 889
8	济宁 17	35	泰山 21	62	LS6045	89	唐麦 8 号	116	西农 9871
9	科信 9 号	36	泰山 22	63	山农 29	90	小偃 81	117	小偃 22
10	莱州 137	37	泰山 23	64	M8008	91	洛早 6 号	118	小偃 92
11	莱州 95021	38	泰山 24	65	贵农 35 选 21	92	洛早 8 号	119	小偃 216
12	良星 99	39	郟麦 98	66	薛淮	93	洛早 21 号	120	运丰 139
13	临麦 4 号	40	潍麦 7 号	67	藁优 9618	94	洛早 23 号	121	黑小麦 76
14	临麦 6 号	41	潍麦 8 号	68	邯 00-7086	95	洛早 24 号	122	晋麦 33 号
15	鲁麦 14	42	汶农 5 号	69	河农 827	96	漯珍 1 号	123	临丰 3 号
16	鲁麦 21	43	汶农 6 号	70	河农 4198	97	新麦 16	124	临早 822
17	鲁麦 22	44	鑫 289	71	河农 6049	98	新麦 18	125	临抗 16 号
18	鲁麦 23	45	烟 5072	72	衡 0628	99	新麦 26	126	临优 145
19	齐丰 1 号	46	烟农 999	73	衡 6599	100	豫麦 49	127	品资旱 99-2
20	山农 0431	47	烟 99603	74	冀 5265	101	豫麦 54	128	平阳 298
21	山农 1186	48	烟农 0428	75	冀丰 703	102	郑麦 9023	129	淮麦 16
22	山农 12	49	烟农 15	76	金麦 1 号	103	中优 9507	130	淮麦 18
23	山农 15	50	烟农 19	77	科农 199	104	周 99233	131	川 35050
24	山农 17	51	烟农 21	78	廊研 43 号	105	周黑麦 1 号	132	中国春
25	山农 18	52	烟农 22	79	石 54	106	周麦 24	133	澳-红麦
26	山农 21	53	烟农 23	80	石 4185	107	AN2	134	加-超强筋麦
27	山农 23	54	烟农 836	81	石家庄 8 号	108	AN3		

注 (Note) : 表中品种(系)来源 Source of cultivar (line) listed in the table: 1~66, 中国山东 Shandong, China; 67~74, 中国山西 Shanxi, China; 75~90, 中国河南 Henan, China; 91~114, 中国河北 Hebei, China; 115~128, 中国陕西 Shaanxi, China; 129~130, 中国江苏 Jiangsu, China; 131~132, 中国四川 Sichuan, China; 133, 澳大利亚 Australia; 134, 加拿大 Canada.

K 值设为 1~12, 每个 K 值重复 5 次, 并假设位点间是相互独立的。开始时的不作数迭代 (length of burnin period) 设为 10000, 不作数迭代后的 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) 设为 100000, 然后参照 Evanno 等^[22]的方法确定亚群数目 K 。同时获得 Q 矩阵作为关联分析中的协方差矩阵。利用软件 PowerMarker V3.25 分析 SNP 的 PIC 值、基因多样性

和遗传距离^[20]。

1.5 数据分析

采用 TASSEL 5.0 软件, 利用 GLM+Q (general linear model) 一般线性模型和 MLM+K+Q (mixed linear model) 混合线性模型结合群体分子标记数据和表型数据对两年两个钾处理 (T1E1、T2E1、T1E2、T2E2) 以及相同钾处理两年平均值 (T1AV、T2AV)

共 6 个关联分析环境下进行关联分析, 确定显著关联分子标记 ($P \leq 0.001$)。

2 结果与分析

2.1 不同钾供应条件下供试群体产量、钾效率相关性状及其遗传力分析

表 2 表明, 与施钾处理相比, 不施钾处理小麦产量相关性状穗长、总小穗数、地上部生物量、单

株钾积累量和钾含量均显著下降, 收获指数和籽粒钾利用效率显著升高。不同基因型之间差异显著, 供试群体变异系数 6.98%~350.38%。

不同性状的遗传力存在显著差异, 有 14 个性状遗传力较高, 在 50% 以上, 其中株高的遗传力最大 (92.03%), 地上部钾含量的遗传力最小 (4.25%)。株高在不同钾处理下仍然主要受遗传因素控制, 遗传力较高, 而地上部钾含量受钾处理影响大, 遗传力较小。

表 2 产量性状及钾效率相关性状的统计及遗传力分析

Table 2 Statistical and heritability analysis for yield traits and K efficiency related traits

性状 Trait	处理 Treatment	测定值 (AV \pm SD) Measured value	遗传力 (%) ^[18] Heritability	性状 Traits	处理 Treatment	测定值 (AV \pm SD) Measured value	遗传力 (%) ^[18] Heritability
穗数 Spike number	T1E1	12.80 \pm 3.13 a	52.85	秸秆产量 Straw weight (g/plant)	T1E1	28.69 \pm 6.14 a	53.96
	T2E1	11.57 \pm 3.15 a			T2E1	24.29 \pm 7.09 b	
	T1E2	10.43 \pm 2.77 a			T1E2	29.12 \pm 9.54 a	
	T2E2	8.80 \pm 2.42 b			T2E2	25.04 \pm 8.41 b	
株高 Plant height (cm)	T1E1	64.32 \pm 9.50 a	92.03	地上部生物量 Shoot weight (g/plant)	T1E1	52.58 \pm 10.29 a	55.25
	T2E1	58.41 \pm 8.89 b			T2E1	44.47 \pm 11.73 b	
	T1E2	73.01 \pm 11.79 a			T1E2	52.63 \pm 13.57 a	
	T2E2	70.80 \pm 11.59 a			T2E2	45.93 \pm 11.69 b	
穗长 Spike length (cm)	T1E1	9.88 \pm 1.26 a	60.83	籽粒钾含量 Grain K content (g/kg)	T1E1	5.23 \pm 0.67 a	71.60
	T2E1	9.46 \pm 1.21 b			T2E1	3.74 \pm 0.74 b	
	T1E2	9.85 \pm 2.88 a			T1E2	4.75 \pm 0.57 a	
	T2E2	9.28 \pm 1.16 b			T2E2	4.39 \pm 0.67 b	
总小穗数 TSSN	T1E1	19.40 \pm 1.35 a	80.37	秸秆钾含量 Straw K content (g/kg)	T1E1	29.99 \pm 4.85 a	4.83
	T2E1	18.77 \pm 1.50 b			T2E1	16.49 \pm 4.82 b	
	T1E2	19.18 \pm 1.42 a			T1E2	20.60 \pm 3.01 a	
	T2E2	19.20 \pm 1.37 b			T2E2	17.58 \pm 3.21 b	
基部不育 小穗数 BSSS	T1E1	0.44 \pm 0.43 a	46.75	地上部钾含量 Shoot K content (g/kg)	T1E1	35.13 \pm 4.92 a	4.25
	T2E1	0.37 \pm 0.37 a			T2E1	20.52 \pm 4.78 b	
	T1E2	0.62 \pm 0.47 a			T1E2	25.35 \pm 3.13 a	
	T2E2	0.51 \pm 0.52 b			T2E2	21.96 \pm 3.29 b	
顶部不育 小穗数 TSSS	T1E1	0.35 \pm 0.51 a	41.60	籽粒钾积累量 Grain K accumulation (g/plant)	T1E1	0.13 \pm 0.03 a	45.45
	T2E1	0.31 \pm 0.51 a			T2E1	0.08 \pm 0.03 b	
	T1E2	0.04 \pm 0.15 a			T1E2	0.11 \pm 0.03 a	
	T2E2	0.09 \pm 0.24 a			T2E2	0.09 \pm 0.03 b	
不育小穗数 SSS	T1E1	0.79 \pm 0.67 a	51.86	秸秆钾积累量 Straw K accumulation (g/plant)	T1E1	0.86 \pm 0.21 a	16.34
	T2E1	0.68 \pm 0.70 b			T2E1	0.41 \pm 0.19 b	
	T1E2	0.65 \pm 0.49 a			T1E2	0.60 \pm 0.21 a	
	T2E2	0.59 \pm 0.56 a			T2E2	0.43 \pm 0.15 b	

续表 2 Table 2 continued

性状 Traits	处理 Treatment	测定值 (AV ± SD) Measured value	遗传力 ^[18] (%) Heritability	性状 Traits	处理 Treatment	测定值 (AV ± SD) Measured value	遗传力 (%) ^[18] Heritability
可育小穗数 FSS	T1E1	18.61 ± 1.32 a	74.40	地上部钾累 积量	T1E1	0.98 ± 0.22 a	20.00
	T2E1	18.09 ± 1.44 a		Shoot K accumulation	T2E1	0.49 ± 0.20 b	
	T1E2	18.52 ± 1.47 a		(g/plant)	T1E2	0.71 ± 0.22 a	
	T2E2	18.61 ± 1.40 a		T2E2	0.52 ± 0.16 b		
穗粒数 GNPS	T1E1	58.22 ± 6.99 a	71.08	籽粒钾利用 效率	T1E1	4.62 ± 1.11 b	52.93
	T2E1	55.92 ± 7.16 b		GKUE	T2E1	5.58 ± 1.76 a	
	T1E2	59.35 ± 8.75 a		(g/kg)	T1E2	5.06 ± 1.60 b	
	T2E2	57.89 ± 8.19 a		T2E2	5.13 ± 2.03 a		
千粒重 1000-GW (g)	T1E1	45.10 ± 0.50 a	79.94	秸秆钾利用 效率	T1E1	0.99 ± 0.30 b	47.74
	T2E1	44.10 ± 0.46 a		StKUE	T2E1	1.58 ± 0.56 a	
	T1E2	51.60 ± 0.53 a		(g/kg)	T1E2	1.46 ± 0.53 a	
	T2E2	50.50 ± 0.53 a		T2E2	1.51 ± 0.69 a		
收获指数 Harvest index	T1E1	1.15 ± 0.27 b	75.54	地上部钾 利用效率	T1E1	5.61 ± 1.30 b	63.54
	T2E1	1.33 ± 0.33 a		SKUE	T2E1	7.14 ± 2.06 a	
	T1E2	1.18 ± 0.43 b		(g/kg)	T1E2	6.52 ± 1.87 a	
	T2E2	1.43 ± 0.57 a		T2E2	6.50 ± 2.25 a		
籽粒产量 Grain weight (g/plant)	T1E1	23.89 ± 5.04 a	49.72				
	T2E1	20.18 ± 5.33 b					
	T1E2	23.53 ± 6.19 a					
	T2E2	21.14 ± 6.65 b					

注 (Note) : AV—Average; TSSN—Total small spike number; SSS—Sterile small spike; BSSS—Base sterile small spike; TSSS—Top sterile small spike; FSS—Fertile small spike; GNPS—Grain number per spike; 1000-GW—1000-grain weight; GKUE—Grain K utilization efficiency; StKUE—Straw K utilization efficiency; SKUE—Shoot K utilization efficiency; 处理中, E1 和 E2 代表两个试验年份, T1、T2 代表施钾和不施钾处理 In the treatments, E1 and E2 represent the two experimental years, T1 and T2 represent K and no K application treatments; 同列数据后不同小写字母代表同一年份两个处理之间差异显著 ($P < 0.05$) Values followed by different lowercase letters indicate significant difference between two treatments in the same year at the 0.05 level.

2.2 产量及钾效率相关性状的分子标记及稳定表达的分子标记位点

将 23 个产量及钾效率相关性状分别与两年两个钾处理 (T1E1、T2E1、T1E2、T2E2) 以及相同钾处理两年平均值 (T1-AV、T2-AV) 共 6 个关联分析环境的供试性状进行分子标记关联分析, 共检测到 1420 个关联极显著 ($P \leq 0.001$) 的分子标记位点, 分布在 21 条染色体上。关联分析结果中, R^2 为特定表型性状 (测定值) 在不同钾处理环境下产生的变异 (表型变异) 由该分子标记/基因贡献的比例 (贡献率)。本研究检测到的显著关联分子标记位点对相应性状表型变异的贡献率 (R^2) 范围是 7.53%~18.01% (表 3)。其中, 与千粒重 (1000-GW) 关联显著的位点最多, 共 269 个, 表型变异贡献率为 7.80%~18.01% (R^2);

与籽粒钾含量 (GKC) 关联的位点最少, 只定位到 23 个, 表型变异贡献率 7.74%~13.51% (R^2)。在定位到的全部 1420 个显著关联的分子标记位点中, 有 1097 个分子标记位点仅在一个关联分析环境中被检测到, 占总数的 77.25%。有 323 个分子标记位点至少在两个关联分析环境中被检测到, 其中 113 个位点与钾效率相关性状有关, *Tdurum_contig26281_139*、*Kukri_c307_2053* 等分子标记位点可以提高钾吸收效率, *Ex_C19038_571*、*BS00039148_51* 等分子标记位点能够提高钾利用效率。其中有 22 个分子标记位点至少在四个关联分析环境中被检测到, 分别与株高、千粒重、穗粒数等 5 个性状相关, 形成高频表达分子标记位点 (表 4)。值得注意的是, 分别与株高和千粒重显著关联的分子标记位点 *RFL_Contig4069_*

表 3 与产量及钾效率相关性状显著相关的分子标记数及其对性状表型变异的贡献率
Table 3 Markers significantly associated with yield and K efficiency traits and their contribution to phenotypic variations

性状 Trait	定位分子标记数 Located markers	稳定标记数 Stable markers	贡献率 (%) R^2	最大 R^2 标记 Max- R^2 marker	最大 R^2 位置 Max- R^2 site	标记在染色体上的分布 Markers distribution
PH	32	18	7.85~11.87	<i>RFL_Contig5170_330</i>	6A	1A,2A,2B,3A,3B,4B,5A,5B,6A,6B,7A
SL	53	5	7.99~13.72	<i>BobWhite_c1456_615</i>	1B	1A,1B,3A,4B,4D,5A,5D,6A,7A,7B
SN	66	6	7.97~13.37	<i>BS00029013_51</i>	1B	1B,2B,2D,3B,4A,4B,5A,5D,6B,7A,7D
BSSS	37	10	7.53~12.87	<i>Tdurum_contig70123_354</i>	5B	1A,2B,2D,3B,4A,4B,5A,5B,6B,7A
TSSS	35	3	7.69~11.89	<i>Kukri_c39767_204</i>	5B	1A,1B,4B,5B,6A,6B,7A,7B
FSS	24	4	7.56~14.68	<i>Tdurum_contig43078_90</i>	5B	1A,1B,2B,3B,4A,4B,5A,5B,6B,7A,7B
SSS	25	1	8.13~13.05	<i>Excalibur_c25239_283</i>	3A	2D,3A,5A,6B
TSSN	34	3	8.14~13.19	<i>Excalibur_c25239_283</i>	3A	1B,2A,2D,3A,3B,4A,5A,6B,7A
GNPS	24	4	8.00~12.24	<i>R4C875_c58966_471</i>	5A	2A,2B,4B,5A,5B,6A,7B
1000-GW	269	137	7.80~18.01	<i>BS00003632_51</i>	6A	1A,1B,2A,2B,2D,3A,3B,3D,4B,5A,5B,5D,6A,6B,6D,7A
HI	68	4	7.73~15.53	<i>w SNP_ Ex_c24135_33382521</i>	2B	1A,1B,2B,3A,3B,3D,4A,4B,5A,5B,6A,7A,7B
GWP	39	2	7.82~12.05	<i>Excalibur_c46601_265</i>	7A	1B,1D,2B,2D,3B,5B,6A,6B,7A,7D
StWP	33	7	7.56~12.56	<i>BobWhite_c3506_1151</i>	6B	1B,2D,3A,3B,5A,5B,6A,6B,6D,7B
SWP	25	5	7.90~12.54	<i>w SNP_ Ex_c8208_13870372</i>	3B	3A,3B,6A,6B,7A,7D
GKA	91	12	7.89~13.57	<i>Kukri_c13136_1363</i>	1A	1A,1B,2A,2B,2D,3A,3B,4A,4B,5B,6A,6B,7A,7B,7D
StKA	127	25	7.89~13.02	<i>Tdurum_contig7992_605</i>	4A	1A,1B,1D,2A,2B,2D,3A,4A,5A,5B,6A,6B,6D,7A,7D
SKA	139	26	7.90~13.46	<i>Tdurum_contig7992_605</i>	4A	1A,1B,1D,2A,2B,2D,3A,3B,3D,4A,4B,5A,5D,6A,6B,6D,7A,7B,7D
GKC	23	2	7.74~13.51	<i>Excalibur_c46601_265</i>	7A	1D,2D,4A,5A,5B,6A,7A,7D
StKC	80	19	7.68~13.47	<i>CAP7_c3178_52</i>	3A	1B,2A,2B,2D,3A,3B,3D,4A,5A,5B,6A,6B,7A,7B
SKC	60	14	8.00~13.50	<i>CAP7_c3178_52</i>	3A	1B,2A,2B,2D,3A,3B,3D,4A,5B,5D,6A,6B,7A,7B
GKUE	40	4	7.90~11.71	<i>w SNP_ Ex_c8208_13870372</i>	3B	1B,2A,2B,3B,4A,5B,6A,7A,7B,7D
StKUE	64	9	7.58~14.25	<i>CAP7_c4283_67</i>	6A	1A,1B,1D,2A,2B,3A,3B,4A,4B,5A,5B,5D,6A,6B,6D,7A,7B
SKUE	32	3	7.82~12.81	<i>w SNP_ Ex_c8208_13870372</i>	3B	1B,2B,3B,4A,4B,5A,5B,6A,7A

注 (Note): PH—株高 Plant height; SL—穗长 Spike length; SN—穗数 Spike number; BSSS—基部不育小穗数 Base sterile small spikes; TSSS—顶部不育小穗数 Top sterile small spikes; FSS—可育小穗数 Fertile small spikes; SSS—不育小穗数 Sterile small spikes; TSSN—总小穗数 Total small spike number; GNPS—穗粒数 Grain number per spike; 1000-GW—千粒重 1000-grain weight; HI—收获指数 Harvest index; GWP—籽粒产量 Grain weight; StWP—籽粒产量 Straw weight; SWP—地上部生物量 Shoot weight; SKC—籽粒钾含量 Grain K content; StKC—籽粒钾含量 Straw K content; SKC—地上部钾含量 Shoot K content; GKA—籽粒钾积累量 Grain K accumulation; StKA—籽粒钾积累量 Straw K accumulation; SKA—地上部钾积累量 Shoot K accumulation; GKUE—籽粒钾利用效率 Grain K utilization efficiency; SKUE—籽粒钾利用效率 Straw K utilization efficiency.

表 4 稳定表达的产量和钾效率相关性状的标记及其关联标记位点
 Table 4 The environmental stable markers significantly associated with yield and K efficiency related traits

性状 Trait	标记 Markers	染色体 Chr.	位置 (cM) Loci	P 值 P-value												贡献率 R ² (%)	
				T1AV	T1E1	T1E2	T2AV	T2E1	T2E2	T1AV	T1E1	T1E2	T2AV	T2E1	T2E2		
GKA	RAC875_c52504_215	6A	45.11	8.08E-04	7.04E-05	8.59E-04	6.56E-05	8.20	11.30	8.10	11.30	8.10	11.30	8.10	11.30		
GNPS	BS00060796_51	1A	25.34	6.06E-04	9.92E-04	7.03E-04	5.32E-04	8.42	7.88	8.26	8.26	8.26	8.26	8.26	8.59		
PH	Excalibur_c15332_1194	3B	73.35	5.38E-04	2.58E-04	3.42E-04	3.30E-04	8.57	9.61	9.23	9.23	9.23	9.23	9.23	9.20		
	RAC875_rep_c115516_134	3B	73.35	5.38E-04	2.58E-04	3.42E-04	3.30E-04	8.57	9.61	9.23	9.23	9.23	9.23	9.23	9.20		
	Excalibur_c15332_453	3B	73.35	5.38E-04	2.58E-04	3.42E-04	3.30E-04	8.57	9.61	9.23	9.23	9.23	9.23	9.23	9.20		
	RFL_Contig5170_330	6A	16.58	3.94E-05	6.13E-05	1.11E-04	5.14E-04	11.87	11.44	10.60	10.60	8.71	10.60	8.71	10.89		
	wspn_Ku_c1468_2912489	6A	138.04	4.62E-04	8.47E-04	3.32E-04	6.74E-04	8.77	8.08	9.21	9.21	8.29	9.21	8.29	8.29		
	RFL_Contig4069_2628	6A	140.87	2.95E-04	4.82E-04	5.76E-04	9.04E-05	3.31E-04	1.08E-04	8.51	8.51	10.93	8.51	10.93	10.61		
	RAC875_c28630_214	7A	33.45	7.54E-04	7.38E-04	5.57E-04	3.89E-04	8.14	8.14	8.19	8.19	8.60	8.19	8.60	9.15		
	RAC875_c7828_598	7A	33.45	7.54E-04	7.38E-04	5.57E-04	3.89E-04	8.14	8.14	8.19	8.19	8.60	8.19	8.60	9.15		
	RAC875_c42866_1323	7A	33.45	7.54E-04	7.38E-04	5.57E-04	3.89E-04	8.14	8.14	8.19	8.19	8.60	8.19	8.60	9.15		
STWP	BS00046264_51	6B	109.70	9.21E-04	8.09E-04	3.91E-04	1.60E-04	7.62	7.89	9.13	7.89	9.13	10.33	9.13	10.33		
	wspn_Ra_c33025_41968284	1A	82.67	9.11E-04	5.38E-04	2.28E-04	5.04E-04	0.001	7.96	8.68	8.68	9.66	8.66	9.66	7.83		
1000-GW	Kukri_c29039_315	1A	83.70	4.88E-04	7.29E-04	1.04E-04	1.14E-04	9.75E-04	8.77	8.29	8.29	10.67	10.54	10.67	7.87		
	GENE-4064_599	3B	61.64	4.32E-04	8.94E-06	2.63E-05	8.04E-05	8.92	8.92	13.72	12.37	13.72	12.37	13.72	11.05		
	Excalibur_c58066_180	3B	60.25	9.44E-04	4.50E-05	9.72E-05	3.19E-04	7.92	7.92	11.71	10.74	11.71	10.74	11.71	9.30		
	BS00023193_51	3B	59.78	9.44E-04	4.50E-05	9.72E-05	3.19E-04	7.92	7.92	11.71	10.74	11.71	10.74	11.71	9.30		
	wspn_Ku_c4078_7436510	3B	71.34	6.85E-04	2.43E-04	6.69E-04	8.69E-04	8.33	8.33	9.59	8.30	9.59	8.30	9.59	8.02		
	wspn_Ku_c21818_31604716	3B	71.34	6.85E-04	2.43E-04	6.69E-04	8.69E-04	8.33	8.33	9.59	8.30	9.59	8.30	9.59	8.02		
	RAC875_c16943_404	5A	80.43	2.06E-04	2.95E-05	7.65E-04	8.72E-04	9.87	12.38	8.13	7.96	8.13	7.96	8.13	8.02		
	BS00003632_51	6A	22.01	3.29E-06	5.17E-04	3.28E-04	2.54E-07	6.76E-07	7.40E-06	15.05	8.73	18.01	16.84	18.01	14.04		
	BS00078460_51	7A	82.95	1.75E-05	1.71E-04	5.89E-04	7.90E-04	12.98	10.14	8.46	8.08	8.46	8.08	8.46	8.08		

注 (Note) : GKA—籽粒钾积累量 Grain K accumulation; GNPS—穗粒数 Grain number per spike; pH—株高 Plant height; STWP—秸秆产量 Straw weight; 1000-GW—千粒重 1000-grain weight. 处理中, E1 和 E2 代表两个试验年份, T1、T2 代表施钾和不施钾处理, T1AV 和 T2AV 代表两年处理平均值 In the treatments, E1 and E2 represent the two experimental years, T1 and T2 represent K and no K application treatments, T1AV and T2AV represent the two years' averages of T1 and T2 treatments.

2628 和 *BS00003632_51* 在全部 6 个关联分析环境中均被检测到, 平均贡献率分别为 9.59% 和 13.66%, 环境稳定性非常好 (表 4)。

3 讨论

3.1 施钾对小麦产量及钾效率相关性状的影响

钾是植物的大量营养元素之一, 农作物对钾的需求仅次于氮, 而土壤中常因钾供应不足影响作物产量。钾具有增强植物细胞抵御外界恶劣环境的能力, 如高温、低温、干旱、倒伏等, 低钾胁迫会限制植物生长, 降低生物量^[23]。本研究结果也发现, 在两年不施钾条件下, 单株钾积累量和单株钾含量显著低于施钾处理, 但籽粒钾利用效率显著升高, 表明在低钾胁迫条件下, 小麦籽粒能够更加有效地利用钾元素^[24]。本研究中不施钾处理还显著降低了小麦产量相关性状穗长、总小穗数。张会民等^[2]的研究结果也表明, 在缺钾处理下, 小麦穗数、穗粒数和千粒重均显著低于施钾处理, 施用钾肥对冬小麦的增产效果显著。

3.2 小麦产量和钾效率相关性状的显著关联位点

本研究采用 GLM+Q 一般线性回归和 MLM+Q+K 混合线性模型相结合的方法, 并采用较高的阈值 $P \leq 0.001$, 可有效消除由群体分层和亲缘关系引起的伪关联, 增加关联结果的可信度。本研究利用全基因组 7485 个 SNP 标记与两年两个钾处理 (T1E1、T2E1、T1E2、T2E2) 以及相同钾处理两年平均值 (T1AV、T2AV) 共 6 个关联分析环境中小麦成熟期产量及钾效率相关性状进行了关联分析, 共定位到 1420 个显著关联分子标记位点, 分布在 21 条染色体上。所有检测到的显著关联分子标记表型变异贡献率 (R^2) 范围是 7.53%~18.01% (表 3), 表明所有供试性状均由多个微效基因控制, 检测到的分子标记位点表型变异贡献率均不高。但是我们也发现有许多分子标记位点同时与多个性状关联, 这与经典的一因多效现象相符。例如, Sukumaran 等^[25]在 5A 染色体上检测到的 *BS00079989_51* 位点与产量相关, 在本研究中与不孕小穗数相关; Shi 等^[26]在 3D 染色体上发现的 *Kukri_c18420_705* 位点在本研究中与地上部钾积累量相关联; Zanke 等^[27]在 3B 染色体上发现的与千粒重关联的 *Tdurum_contig59953_220* 位点, 在本研究中与顶部不育小穗数关联。本研究也发现了一些同时与多个钾效率相关性状显著关联的位点, 如在 6A 染色体上检测到的分子标记位点 *Excalibur_rep_c111263_307*、*BobWhite_c23839_119*

同时与钾含量、累积量及利用效率性状显著关联。

不同环境下检测出的分子标记位点不完全一致, 这可能是小麦适应不同环境条件的表现, 这也是由多基因控制的数量性状的突出特点。本研究中 1097 个分子标记位点仅被检测到一次, 占有分子标记位点的 77.25%, 表明钾处理对产量及钾效率相关性状控制基因的表达影响显著, 绝大多数分子标记位点/基因仅在特定环境下表达, 一旦环境变化, 就会有大量的不同分子标记位点/基因产生适应性变化。由于这些分子标记位点/基因数目多, 对表型变异的贡献率较低, 受环境影响大, 因此很难锁定重要的适应性相关分子标记位点/基因。但我们也检测到一些环境稳定性好的分子标记位点, 在至少两个关联分析环境中被检测到的相对稳定的显著关联分子标记位点有 323 个, 占总数的 22.75%。在相对稳定的显著关联分子标记位点中, 有 113 个位点与钾效率相关性状有关, 其中, *Tdurum_contig26281_139*、*Kukri_c307_2053* 等分子标记位点与钾吸收效率的提高显著关联, *Ex_c19038_571*、*BS00039148_51* 等分子标记位点能够显著提高钾利用效率。一些环境稳定性好的分子标记位点值得进一步关注, 如至少在 4 个关联分析环境中被检测到的 22 个分子标记位点 (表 4), 还有两个分子标记位点 *RFL_Contig4069_2628* 和 *BS00003632_51* 分别与株高的降低和千粒重的提高相关联, 在本试验检测的全部 6 个关联分析环境中均能定位到, 平均表型变异贡献率分别为 9.59% 和 13.66%。这些分子标记位点在多个钾处理环境中均能检测到, 表明这几个分子标记位点基因的表达受钾处理环境影响较小, 在不同钾处理环境条件下均可以稳定地与相关性状关联, 形成高频表达分子标记位点。这些高频表达分子标记位点与众多 QTL 研究中关于高频 QTL 的研究结果^[17-18]一致, 这些分子标记位点相关基因可能更倾向于组成型表达, 对相关性状调控效应的环境稳定性更强, 因而具备更加实用的价值, 值得深入挖掘与研究。

4 结论

不同钾供应水平下与产量及钾效率相关性状显著关联的分子标记位点存在显著差异, 77.25% 的分子标记位点仅在特定环境下被检测到。但有 22 个显著关联分子标记位点 (涉及 9 个产量及钾效率相关性状) 在至少 4 个关联分析环境 (共 6 个环境) 下被检测到, 形成高频表达分子标记位点。其中, 与株高和千粒重分别显著关联的两个分子标记位点在所有 6 个关联分析环境中均稳定地被检测到, 能在

不同钾处理环境下稳定发挥作用,且显著降低株高和提高千粒重,这值得深入研究。

参 考 文 献:

- [1] Pettigrew W T. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 133(4): 670–681.
- [2] 张会民,刘红霞,王林生,等. 钾对旱地冬小麦后期生长及籽粒品质的影响[J]. *麦类作物学报*, 2004, 24(3): 73–75.
Zhang H M, Liu H X, Wang L S, *et al.* Effect of potassium on the growth at the late stages and grain quality of winter wheat in dry land[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2004, 24(3): 73–75.
- [3] 王利,陈防,万开元. 植物钾效率及其评价的研究进展与展望[J]. *土壤*, 2010, 42(2): 164–170.
Wang L, Chen F, Wan K Y. Progress and expectation of the research on plant K efficiency and its evaluation[J]. *Soils*, 2010, 42(2): 164–170.
- [4] Rengel Z, Damon P M. Crops and genotypes differ in efficiency of potassium uptake and use[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 133(4): 624–636.
- [5] Damon P M, Rengel Z. Wheat genotypes differ in potassium efficiency under glasshouse and field conditions[J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2007, 58(8): 816–825.
- [6] Zhang H, Rong H, Pilbeam D. Signalling mechanisms underlying the morphological responses of the root system to nitrogen in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(9): 2329–2338.
- [7] Trehan S P, Sharma R C. Potassium uptake efficiency of young plants of three potato cultivars as related to root and shoot parameters[J]. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 2002, 33(11–12): 1813–1823.
- [8] Wang T B, Gassmann W, Rubio F, *et al.* Rapid up-regulation of HKT1, a high-affinity potassium transporter gene, in roots of barley and wheat following withdrawal of potassium[J]. *Plant Physiology*, 1998, 118(2): 651–659.
- [9] Woodend J J, Glass A D M, Person C O. Genetic variation in the uptake and utilization of potassium in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties grown under potassium stress[J]. *Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition*, 1987, 27(1): 383–391.
- [10] Flint-Garcia S A, Thornsberry J M, And E S, *et al.* Structure of linkage disequilibrium in plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, 54(4): 357–374.
- [11] Flint-Garcia S A, Thuillet A C, Yu J, *et al.* Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection[J]. *The Plant Journal*, 2005, 44(6): 1054–1064.
- [12] 武玉国,吴承来,秦保平,等. 黄淮冬麦区 175 个小麦品种的遗传多样性及 SSR 标记与株高和产量相关性状的关联分析[J]. *作物学报*, 2012, 38(6): 1018–1028.
Wu Y G, Wu C L, Qin B P, *et al.* Diversity of 175 wheat varieties from yellow and huai river valleys facultative wheat zone and association of SSR markers with plant height and yield related traits[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(6): 1018–1028.
- [13] Zhang D L, Hao C Y, Wang L F, *et al.* Identifying loci influencing grain number by microsatellite screening in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Planta(Berlin)*, 2012, 236(5): 1507–1517.
- [14] 张国华,高明刚,张桂芝,等. 黄淮麦区小麦品种(系)产量性状与分子标记的关联分析[J]. *作物学报*, 2013, 39(7): 1187–1199.
Zhang G H, Gao M G, Zhang G Z, *et al.* Association analysis of yield traits with molecular markers in Huang-Huai river valley winter wheat region, China[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(7): 1187–1199.
- [15] Kong F M, Guo Y, Liang X, *et al.* Potassium (K) effects and QTL mapping for K efficiency traits at seedling and adult stages in wheat[J]. *Plant & Soil*, 2013, 373(1–2): 877–892.
- [16] 宫晓平. 小麦钾养分效率及产量相关性状的 QTL 分析[D]. 山东泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2014.
Gong X P. QTL mapping for K efficiency traits at seedling and yield related traits at harvest stages in wheat[D]. Tai'an, Shandong: MS Thesis of Shandong Agricultural University, 2014.
- [17] Siddiqi M Y, Glass A D M. Utilization index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1981, 4(3): 289–302.
- [18] Knapp S J, Stroup W W, Ross W M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis[J]. *Crop Science*, 1985, 25(1): 192–194.
- [19] Wang S, Wong D, Forrest K, *et al.* Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90,000 single nucleotide polymorphism array[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2014, 12(6): 787–796.
- [20] 屈春艳. 水旱条件下小麦产量性状和抗旱性的全基因组关联分析[D]. 山东泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2018.
Qu C Y. Genome-wide association study on yield traits and drought tolerance under irrigation and drought conditions in wheat[D]. Tai'an, Shandong: PhD Dissertation of Shandong Agricultural University, 2018.
- [21] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. *Genetics*, 2000, 155(2): 945–959.
- [22] Evanno G S, Regnaut S J, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study[J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14(8): 2611–2620.
- [23] Hermans C, Hammond J, White P, *et al.* How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation?[J]. *Trends in Plant Science*, 2006, 11(12): 610–617.
- [24] 钟晓兰,张德远,李江涛,等. 施钾对烤烟钾素吸收利用效率及其产量和品质的影响[J]. *土壤*, 2008, 40(2): 216–221.
Zhong X L, Zhang D Y, Li J T, *et al.* Effects of K application on K absorption, K utilization efficiency, and yield and quality of flue-cured tobacco[J]. *Soils*, 2008, 40(2): 216–221.
- [25] Sukumaran S, Dreisigacker S, Lopes M, *et al.* Genome-wide association study for grain yield and related traits in an elite spring wheat population grown in temperate irrigated environments[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, 128(2): 353–363.
- [26] Shi W P, Hao C Y, Zhang Y, *et al.* A combined association mapping and linkage analysis of kernel number per spike in common wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1412.
- [27] Zanke C D, Ling J, Plieske J, *et al.* Analysis of main effect QTL for thousand grain weight in European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by genome-wide association mapping[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 644.