

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.08.006

引用格式:魏佳,刘真真,徐欣欣,等.基于GWAS挖掘羊草结实率及种子产量相关标记与候选基因[J].草地学报,2026,34(8):2814—2825

WEI Jia, LIU Zhen-zhen, XU Xin-xin, et al. GWAS-Based Identification of Markers and Candidate Genes for Seed Setting Rate and Seed Yield in *Leymus chinensis*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(8):2814—2825

基于GWAS挖掘羊草结实率及种子产量相关标记与候选基因

魏佳¹, 刘真真¹, 徐欣欣¹, 牟林林², 董弘斌³, 高秋³, 洪军³, 王建丽², 马西青^{1*}

(1. 中国农业大学草业科学与技术学院, 北京 100193; 2. 黑龙江省农业科学院草业研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086;

3. 全国畜牧总站, 北京 100125)

摘要:羊草(*Leymus chinensis*)是欧亚草原东部的主要建群种,生态与生产价值显著,但种子产量低严重制约其产业化应用。为定位羊草种子产量性状的关联位点,挖掘关键分子标记,本研究以300份羊草种质为材料,测定小穗数、每穗小花数、总小花数、每穗种子数及结实率5个产量性状,采用混合线性模型进行全基因组关联分析(Genome wide association study, GWAS),挖掘和羊草结实率性状相关的分子标记和候选基因。结果表明,每穗种子数变异幅度最大($CV=0.52$),遗传改良潜力高;结实率是种子产量的关键限制因子,受独立的遗传机制调控。GWAS分析结合基因功能注释共筛选出120个关键单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)位点,并鉴定到调控种子产量的关键候选基因 *EZ1* 及多个 *MADS-box*, *WRKY* 类等转录因子。基于14个与结实率显著关联的SNP位点,共获得8个优异等位变异,其中,位点 Lc5Ns_97563471 的 CT 基因型结实率均值高达66.6%。本研究揭示了羊草种子产量受多基因调控的遗传特性,获得的候选基因及优异SNP位点可直接用于分子标记辅助育种。

关键词:羊草;结实率;种子产量;全基因组关联分析;优异等位变异

中图分类号:Q949.71+4.2

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)08-2814-12

GWAS-Based Identification of Markers and Candidate Genes for Seed Setting Rate and Seed Yield in *Leymus chinensis*

WEI Jia¹, LIU Zhen-zhen¹, XU Xin-xin¹, MU Lin-lin², DONG Hong-bin³, GAO Qiu³, HONG Jun³,

WANG Jian-li², MA Xi-qing^{1*}

(1. College of Grassland Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Institute of Forage and Grassland Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang Province 150086, China;

3. National Animal Husbandry Service, Beijing 100125, China)

Abstract: *Leymus chinensis* is the main dominant species in the eastern Eurasian steppe, with significant ecological and production values. However, its low seed yield severely restricts its practical application. To identify the associated loci for the seed yield traits of *L. chinensis* and to discover key molecular markers, this study used 300 diverse accessions of *L. chinensis* as materials, measured five yield traits including spikelet number per spike, floret number per spikelet, total number of florets, seed number per spikelet and seed setting rate, and conducted a genome-wide association analysis (GWAS) using a mixed linear model. The results showed that seed number per spikelet exhibited the highest coefficient of variation ($CV=0.52$), indicating substantial potential for genetic improvement. The seed setting rate was regulated by an independent genetic mechanism and was the key limiting factor for seed yield. GWAS analysis combined with gene functional annotation identified 120 key single nucleotide polymorphisms (SNPs) and identified *EZ1* and multiple *MADS-box* and *WRKY* tran-

收稿日期:2026-03-17;修回日期:2026-04-02

作者简介:魏佳(2002-),女,汉族,河南新蔡人,博士研究生,主要从事草类育种与种子科学研究, E-mail: weijia_ke@126.com; *通信作者
Author for correspondence, E-mail: ma2016@cau.edu.cn

scription factors as key candidate genes regulating seed yield. Based on 14 SNPs significantly associated with seed setting rate, 8 elite alleles were obtained. Notably, the CT genotype at the Lc5Ns_97563471 locus exhibited a high mean seed setting rate of 66.6%. This study revealed the genetic characteristics of *L. chinensis* seed yield being regulated by multiple genes, and the identified candidate genes and elite SNP loci can serve as direct targets for molecular marker-assisted breeding.

Key words: *Leymus chinensis*; Seed setting rate; Seed yield; Genome-wide association study; Superior allelic variation

羊草(*Leymus chinensis*),又名碱草,是禾本科赖草属的根茎型多年生禾草。作为欧亚草原东端的优势种,其草场分布范围广阔,自朝鲜向西延伸至蒙古及中国北方,并向西北延伸至西伯利亚地区^[1]。凭借较强的无性繁殖能力和密集横走的匍匐根茎,羊草在中国北方干旱地区常被选为固土植物,用于防治土壤沙漠化^[2]。同时,羊草适口性佳、营养价值高,兼具耐旱、耐寒和耐盐碱等特性^[3],因而成为放牧与饲草生产的理想草种。羊草兼具营养繁殖和有性生殖两种繁殖方式,其中,有性生殖对无性系植物种群的适应和进化具有重要意义^[4]。然而在生产实践中,羊草的有性生殖表现为严重的“三低”现象,即低抽穗率、低结实率和低发芽率,这导致种子产量低与质量差,严重制约其在人工草地建设、退化草地修复及畜牧业发展中的应用^[5]。研究显示,自然条件下羊草异交结实率在7%~57%之间,自交结实率常低于3%^[6]。尽管有性生殖对于羊草的适应与进化至关重要,但其“三低”性状背后的遗传基础尚不明确,这已成为通过育种提升种子产量的主要限制因子。这一关键性状的遗传机制研究仍处于起步阶段,特别是基于基因组学的系统性研究十分有限。现有研究大多集中在通过生产栽培措施提高羊草种子产量的农艺管理层面^[7-9],对控制抽穗、结实等关键产量性状的遗传位点及其分子网络的研究仍然不足,导致羊草相关分子育种工作缺乏明确的理论靶标和有效的技术支撑。

全基因组关联分析(Genome-wide association studies, GWAS)是一种在群体水平上解析数量性状遗传基础的高效方法。它通过检测全基因组遗传标记与表型的关联性来定位目标基因,已成为解析植物多种性状遗传基础的有力工具^[10]。汪凯翔^[11]以291份玉米(*Zea mays* L.)自交系为材料,结合重测序、GWAS与全基因组选择,系统解析了穗长、穗粒重等6个关键穗部性状的遗传基础,共检测到91个显著关联的单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)位点,并从中筛选出78个潜在的功能基因。类似地,Liu等^[12]以642份多亲本重组

自交系群体为材料,结合3个环境下的表型数据和6616个SNP标记,首次通过GWAS定位到16个与雄穗重量显著关联的SNP位点,并从中发掘出4个功能明确的新候选基因。白雄辉^[13]利用90K SNP芯片对298份小麦(*Triticum aestivum*)自然群体进行GWAS分析,检测到两个与小麦基部小穗粒数稳定关联的位点,进一步通过连锁不平衡分析、基因表达水平检测以及功能注释,确定 *TraesCS5A02G391800* 和 *TraesCS5A02G384000* 为调控小麦基部小穗粒数的关键基因。

尽管GWAS已在多个物种中得到广泛应用并展现出强大潜力,但在羊草种子产量性状方面的应用仍缺乏系统性探索。羊草高质量染色体级别基因组序列的发布,为在基因组水平上深入解析其重要性状的遗传机制奠定了基础^[14]。为此,本研究选取300份具有代表性的羊草自然群体,结合基因组重测序数据,在精准测定种子产量相关表型的基础上,开展系统的GWAS分析,旨在解析羊草种子产量相关性状的遗传基础,挖掘控制结实率的关键位点与优异等位变异,为羊草种子高产分子育种提供理论依据和标记资源。

1 材料与方法

1.1 植物材料与表型分析

本研究构建了一个包含300份羊草种质材料的自然群体,该群体由黑龙江农业科学院草业研究所提供。包括野生材料294份,其中黑龙江121份、内蒙古101份、吉林46份、河北13份、北京11份、辽宁2份;育成品种材料6份,其中‘中科1号’‘中科2号’‘菁牧7号’‘菁牧8号’‘农菁11号’和‘吉生2号’各1份。采用完全随机区组设计,单株种植于黑龙江省农科院草业所民主实验基地(45.79°N, 126.64°E)。2023年,在抽穗及成熟期,测量以下性状:小穗数(Spikelet number per spike, SpNS),每单株穗的总小穗数;每穗小花数(Floret number per spikelet, FNS),每穗的总小花数;总小花数(Total number of

florets, TNF), 每穗小穗数 $\times$ 每穗小花数; 每穗种子数(Seed number per spike, SeedNS), 每穗除去空和瘪种子后的饱满种子数; 每穗结实率(Seed setting rate per spike, SSR), 每穗种子数/总小花数(%)。每个材料均以5个生物学重复进行评价。

1.2 全基因组重测序与SNP检测

采集300份羊草材料的幼嫩叶片组织,经液氮速冻后研磨成细粉。采用十六烷基三甲基溴化铵法(Cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)提取基因组总DNA。使用NanoDrop核酸蛋白测定仪检测DNA纯度,并利用Qubit荧光计对DNA浓度进行精确定量。经检测合格的DNA样本用于构建测序文库。文库质检合格后,使用Illumina HiSeq平台进行高通量测序。对测序产生的原始数据(Raw reads)进行质量控制,剔除其中含 $>10\%$ 模糊碱基(N)或单碱基Phred质量值 <10 的低质量读段。使用BWA软件(v0.7.17)将高质量读段比对至羊草参考基因组Lc6-5(<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.24032238.v1>)^[14]。随后,利用BCFtools软件(v1.12)进行SNP初步检测。对检测到的SNP进行过滤,保留缺失率低于15%、次要等位基因频率大于0.05的位点,最终获得19 748 800个高质量SNP,用于后续的GWAS分析。

1.3 全基因组关联分析

为评估群体结构对关联分析的影响,本研究首先利用ADMIXTURE软件对供试材料进行群体结构分析。基于交叉验证误差确定最优群体数,将材料划分为不同的遗传类群。同时,基于全基因组SNP数据进行主成分分析(PCA),计算各主成分的特征值及方差贡献率,以评估群体分层情况。利用GEMMA(v0.98.1)软件对19 748 800个高质量SNP进行分析,以检测显著的标记-性状关联。采用混合线性模型(Mixed linear model, MLM),将亲缘关系矩阵(K)作为随机效应,同时纳入前三个主成分(PCs)作为固定效应协变量,以共同校正群体分层,进行表型性状的关联分析,其余参数均设为默认值。本实验关联作图使用每个材料五个单株重复的平均性状值,以关联显著度(P 值)取常用对数后的负数为基础。鉴于在Bonferroni校正阈值下显著标记的数量非常有限,并且为了平衡假阳性结果和假阴性结果,我们谨慎地将 $-\log_{10}(P)=5.0$ 作为判定显著关联的阈值,筛选显著关联的SNP位点。

1.4 显著性SNP标记筛选与候选基因鉴定

采用连锁不平衡(Linkage disequilibrium, LD)衰减分析与滑动窗口扫描相结合的综合方法进行显著性SNP鉴定。首先,基于本研究300份材料的基因型数据,计算全基因组的平均LD衰减距离,结果为100 kb。设置固定物理距离的滑动窗口进行扫描,窗口大小为200 kb,步长为100 kb。利用PLINK软件(v1.90)筛选鉴定显著SNP位点,参数设置为: P 值阈值 $1e-5$, LD r^2 阈值0.6。对上述位点进行连锁不平衡剪枝,最终得到一组非冗余的潜在关联SNP。将每个潜在关联SNP位点上下游各延伸100 kb,即总长度为200 kb的区域,定义为该位点的置信区间。将该区间内的序列与羊草参考基因组Lc6-5的注释文件进行比对,定位区间内的基因。进一步,将显著性SNP标记的侧翼序列在NCBI数据库中进行BLAST比对,并基于公共数据库对区间内的基因进行功能注释,以筛选潜在的候选基因。

1.5 数据分析

使用IBM SPSS Statistics 25.0和R软件(v4.5.1)进行统计分析。使用Microsoft Excel计算每个性状的均值、标准差(SD)和变异系数(CV, SD/均值)。所有统计分析均使用tidyverse包(v1.3.2)进行数据整理。使用R包GGally(v2.2.1)进行相关性分析的可视化。

2 结果与分析

2.1 羊草种子产量相关性状的表型变异分析

本研究对300份羊草种质材料种子产量相关性状进行描述性统计分析(表1),结果显示,5个与羊草种子产量相关性状存在广泛的变异,变异系数在0.25~0.52之间,其中每穗小花数变异幅度最小,每穗种子数变异幅度最大。小穗数均值为20.64个,最高为42个,最低仅8个;每穗小花数平均4.97个,最多11.64个,最少1.84个;总小花数均值为101.53个,最多252个,最少31个;每穗种子数的均值为56.64个,最高159个,最低2个;每穗结实率在1.20%~93.53%之间,均值为56.21%。此外,各种子产量相关性状均表现出连续变异,并呈正态分布,具有典型数量性状特征(图1)。

表 1 羊草种子产量相关性状的统计分析

Table 1 Statistical analysis of seed yield-related traits in *Leymus chinensis*

表型 Phenotype	平均值 Mean	标准差 SD	最大值 Max	最小值 Min	变异系数 CV
小穗数 SpNS	20.64	5.45	42.00	8.00	0.26
每穗小花数 FNS	4.97	1.24	11.64	1.84	0.25
总小花数 TNF	101.53	35.44	252.00	31.00	0.35
每穗种子数 SeedNS	56.64	29.21	159.00	2.00	0.52
每穗结实率 SSR/%	56.21	21.83	93.53	1.20	0.39

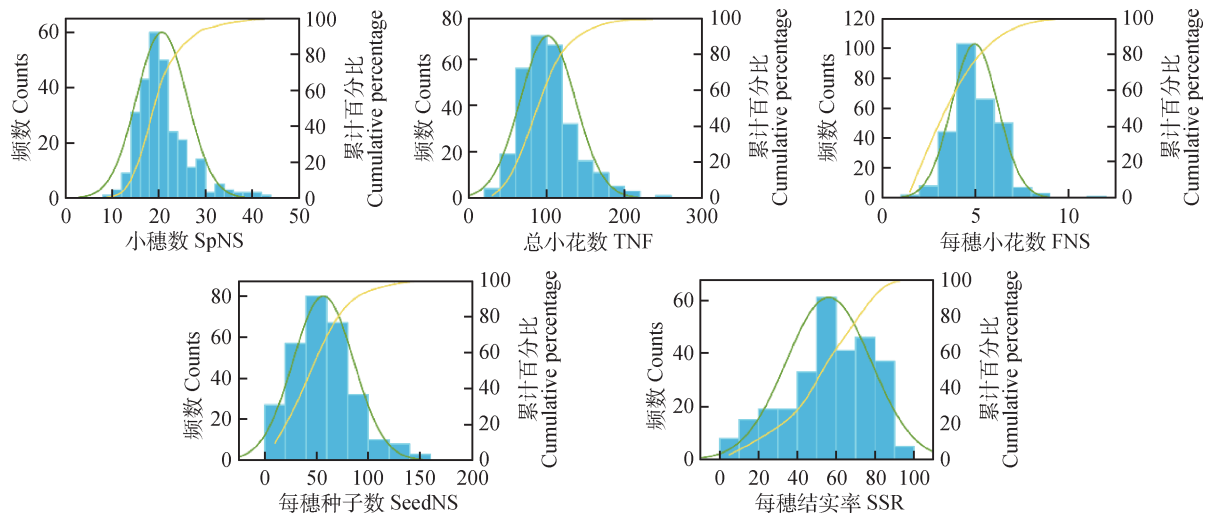


图 1 羊草种子产量相关性状分布直方图

Fig. 1 Histogram of seed yield-related trait distribution in *Leymus chinensis*

对 5 个羊草种子产量相关性状的的相关性分析显示(图 2),小穗数与总小花数、每穗种子数之间均呈极显著正相关($P<0.01$);总小花数也与每穗小花

数、每穗种子数呈极显著正相关($P<0.01$);每穗小花数与每穗种子数的相关系数为 0.43,同样达到极显著水平($P<0.01$)。结实率与每穗种子数的相关系数为 0.72,呈极显著正相关($P<0.01$)。相比之下,结实率与小穗数、总小花数、每穗小花数的相关系数分别为-0.10,-0.029 和 0.010,相关程度均较弱。总体而言,该自然群体在种子产量性状方面展现出丰富的遗传变异潜力。

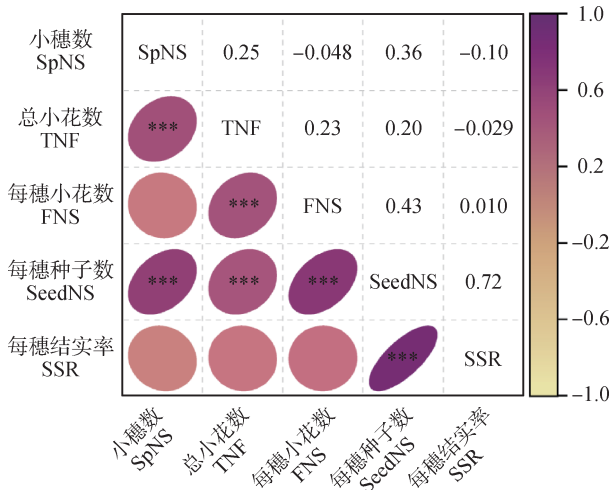


图 2 羊草种子产量相关性状的的相关性分析

Fig. 2 Correlation analysis of seed yield-related traits in

Leymus chinensis

注:星号表示显著性水平,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。下同

Note: Asterisks indicate significance levels: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. The same as below

2.2 羊草全基因组关联分析

2.2.1 重测序与 SNP 分布 本研究对 300 份羊草种质材料进行基因组重测序,共获得 19 748 800 个高质量 SNP 标记。结合羊草 Lc6-5 参考基因组分析发现,这些标记在羊草 14 条染色体上呈不均匀分布(图 3A)。全基因组 SNP 平均密度为 2560.45 SNP·Mb⁻¹。其中 Lc3Xm 染色体标记密度最高,平均 1 Mb 含有 2812.58 个标记,显著高于基因组平均水平;而 Lc1Xm 染色体密度最低,为 2319.08 SNP·Mb⁻¹。从标记数量看,Lc7Ns 染色体标记数最多(1 718 305 个),Lc4Xm 染色体最少(969 550 个)(图 3B 和表 2)。基于以上标记数据,可进一步开展全基因组关联分析研究。

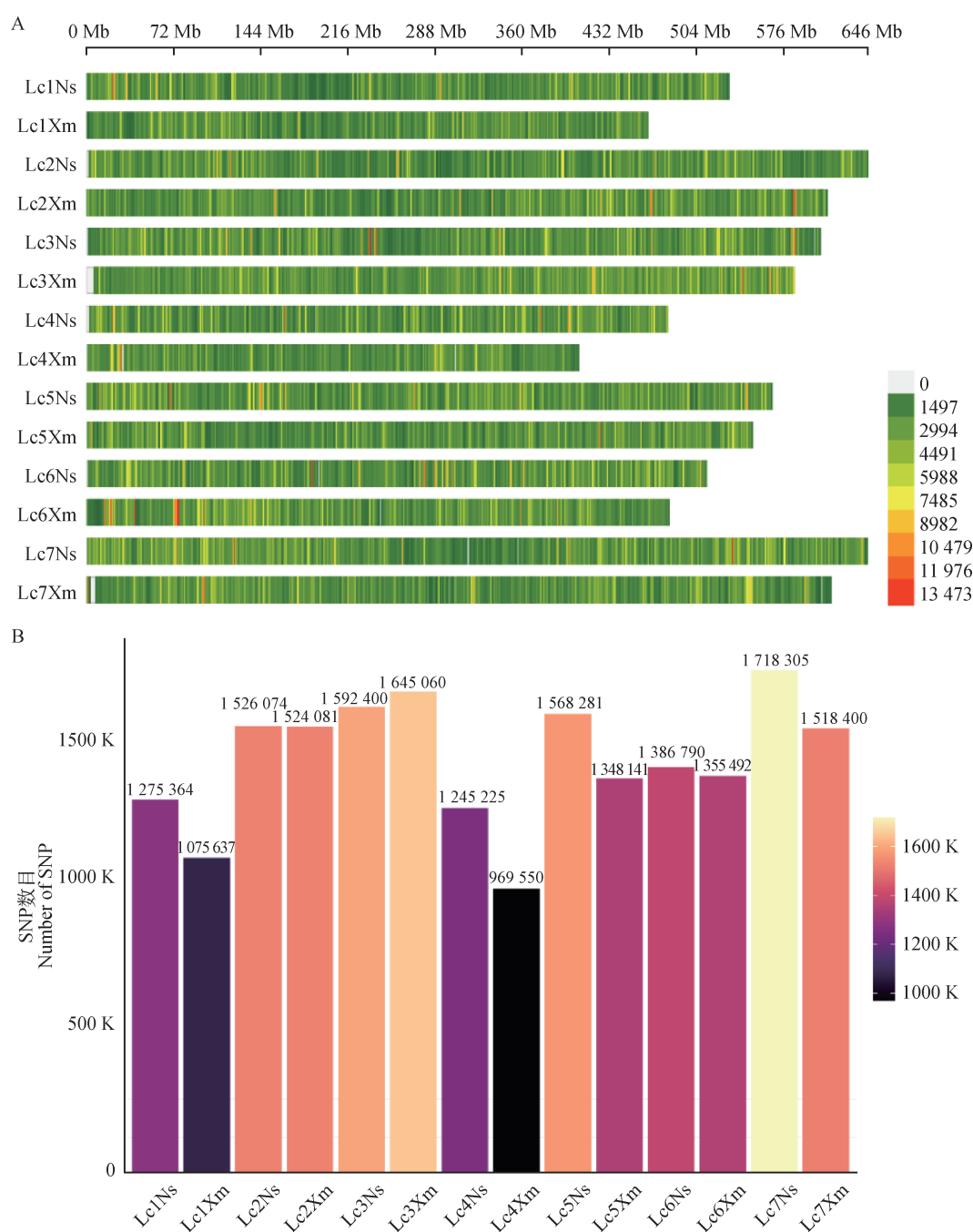


图 3 羊草全基因组 SNP 分布特征

Fig. 3 Genome-wide SNP distribution characteristics in *Leymus chinensis*

注: A 图为 SNP 标记基于染色体位置的密度分布(计算窗口为 1 Mb); B 图为每条染色体上 SNP 标记的总数

Note: A presents the density distribution of SNP markers along each chromosome, calculated using a 1 Mb sliding window; B displays the total count of SNP markers per chromosome

2.2.2 遗传多样性与群体结构 为了探究 300 份羊草种质材料之间的种群差异,本研究进行了种群结构分析,并同时进行了主成分分析。基于 $K=3$ 的群体结构分析将种质材料分为三个不同的遗传群体(Group 1、Group 2 和 Group 3),分别包含 110 个、155 个和 35 个样本(图 4A),表明整个样本群很可能源自三个原始种群。相应地,基于

这三个种群的 SNP 数据进行的主成分分析显示,前两个主成分(PC1 和 PC2)分别占总方差的 13.99% 和 11.26%,Group 1 和 Group 2 部分重叠,显示较近的遗传关系,Group 3 独立分布于右侧,与另外两组存在显著的遗传分化(图 4B)。此外,碎石图显示前 3 个主成分为主要有效主成分(图 4C)。

表 2 SNP 标记在羊草 14 条染色体上的分布

Table 2 Distribution of SNP markers on 14 chromosomes of *Leymus chinensis*

染色体 Chr	物理距离 Physical distance/bp	标记数量 Number of SNP markers	标记密度 Average maker density/(标记·Mb ⁻¹)
Lc1Ns	532 659 469	1 275 364	2394.33
Lc1Xm	463 820 772	1 075 637	2319.08
Lc2Ns	645 658 412	1 526 074	2363.59
Lc2Xm	611 876 956	1 524 081	2490.83
Lc3Ns	612 707 833	1 592 400	2598.95
Lc3Xm	584 893 914	1 645 060	2812.58
Lc4Ns	481 448 970	1 245 225	2586.41
Lc4Xm	406 651 513	969 550	2384.23
Lc5Ns	566 481 730	1 568 281	2768.46
Lc5Xm	550 464 466	1 348 141	2449.10
Lc6Ns	513 947 131	1 386 790	2698.31
Lc6Xm	482 082 734	1 355 492	2811.74
Lc7Ns	644 971 860	1 718 305	2664.15
Lc7Xm	615 360 539	1 518 400	2467.50
总计 Total	7 713 026 299	19 748 800	2560.45

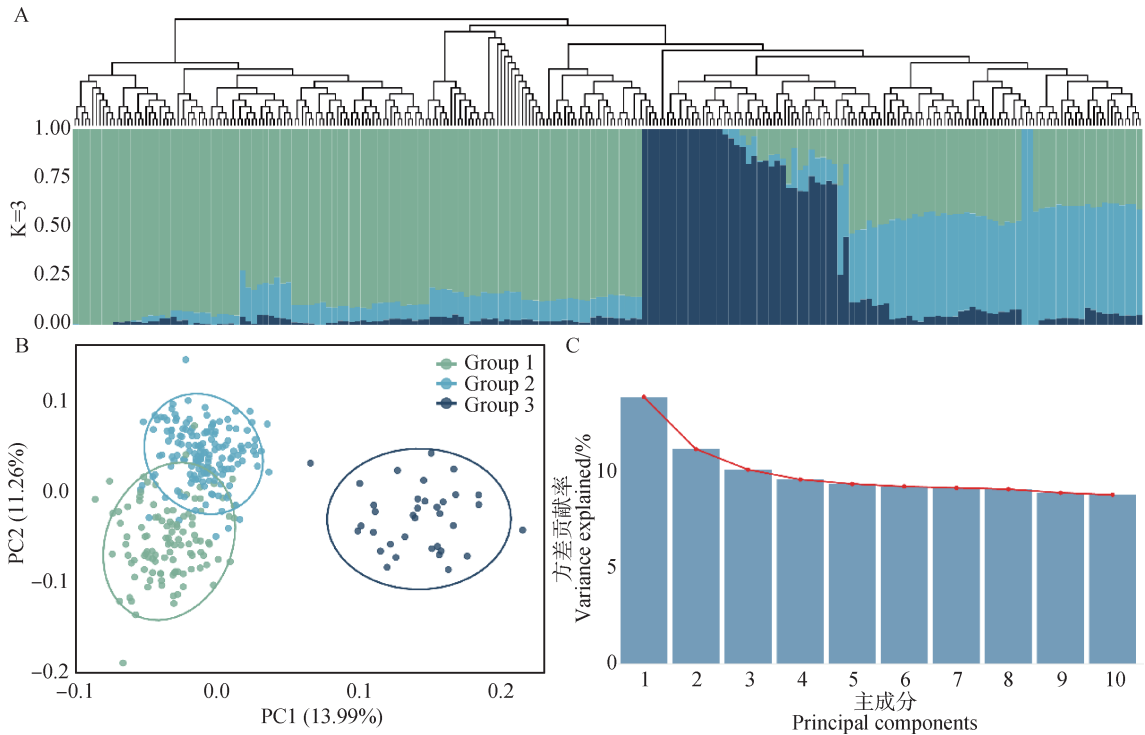


图 4 300 份羊草群体遗传结构分析

Fig. 4 Population genetic structure analysis of 300 *Leymus chinensis* accessions

注: A 图为根据 K=3 的结果匹配到相应的聚类; B 图为前两个主成分(PC1 和 PC2)的主成分分析(PCA)图; C 图为碎石图

Note: A, Clustering results corresponding to K=3; B, Principal component analysis (PCA) plot of the first two principal components (PC1 and PC2); C, Scree plot

2.2.3 羊草种子产量相关性状 SNP 分子标记预测和候选基因挖掘 基于群体结构分析结果(图 4),本研究将前三个主成分作为固定效应协变量,采用混合线性模型对 300 份羊草种质材料的 5 个种子产量性状进行全基因组关联分析。以 $-\log_{10}(P) > 5$ 作为显著性阈值,共定位到 833 个与产量性状显著相关的 SNP。基于与产量性状显著关联的 SNP 位点,对其所在物理位置上下游各 100 kb 的基因组区域进行了候

选基因筛选和功能注释。根据 SNP 在基因上的具体位置以及候选基因的注释信息,最终共纳入了 120 个与产量性状显著相关的 SNP 进行分析。从染色体分布来看,这些显著 SNP 在染色体 Lc2Xm 上分布最为集中,共 18 个,占总数 15%。而在染色体 Lc3Ns 上分布最少,仅 2 个,占比 1.6%(表 3)。在设定的候选区域内,共鉴定出 119 个候选基因。各性状关联的 SNP 数量及对应候选基因数目如下:与 SpNS 相关联的

SNP 有 2 个,对应 14 个候选基因;与 FNS 相关联的 SNP 有 5 个,对应 5 个候选基因;与 TNF 相关的 SNP 位点最多,达 82 个,对应 82 个候选基因;与 SeedNS 相关联的 SNP 有 17 个,对应 17 个候选基因;与 SSR 相关的 SNP 有 14 个,对应 13 个候选基因。

具体来看,与 SpNS 相关的两个显著 SNP 分别为 Lc2Ns_527826309 和 Lc5Xm_254307330,其附近注释到的基因分别为 *Lc2Ns001644*,编码钙调蛋白结合蛋白同源物(Calmodulin-binding protein homolog)和 *Lc5Xm067661*,编码 NAC 结构域蛋白 48(NAC domain-containing protein 48)。与 FNS 相关的 5 个 SNP 所对应的基因包括 WRKY 转录因子 23(WRKY transcription factor 23)、低亲和硝酸盐转运蛋白(Low affinity nitrate transporter)、自噬相关蛋白 13 类似蛋白(Autophagy-related protein 13-like)、ARP2/3 复合体亚基 4(Actin-related protein 2/3 complex subunit 4)以及运输蛋白颗粒复合体亚基 10(Trafficking protein particle complex subunit 10)。

与 TNF 相关的 SNP 位点最多,共 82 个,相应候选基因 82 个。其中,代谢与酶活性调控相关基因数量最多,例如转化酶抑制蛋白同源物(Putative invertase inhibitor-like)、花青素 5-芳香酰基转移酶(Anthocyanin 5-aromatic acyltransferase)、类黄酮 3'-单加氧酶(Flavonoid 3'-monooxygenase)、细胞色素 P450 家族成员(CYP72A15-like、CYP71D7)及多个糖基转移酶/氧化还原酶等,表明这些基因可能通过调节糖代谢与次生代谢途径影响产量形成。值得注意的是,*Lc7Ns018983* 在两个相关联的区间内重复出现,其注释功能为组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 EZ1(Histone-lysine N-methyltransferase EZ1),

这表明该基因同时受到两个独立调控羊草总小花数性状的显著性 SNP 变异的影响,在协同调控种子产量的关键性状中发挥重要作用。

与 SeedNS 相关的 17 个 SNP 对应的 17 个候选基因,主要包括乙烯响应转录因子 1B(Ethylene-responsive transcription factor 1B)、MADS-box 转录因子 56(MADS-box transcription factor 56)、赤霉素受体 GID1L3(Gibberellin receptor GID1L3)、富含亮氨酸重复的受体类激酶(LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR)以及组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 EZ1 等。在两次独立的性状关联分析中,组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 EZ1 编码基因 *Lc7Ns018983* 均被显著定位。具体来看,SNP 位点 Lc7Ns_109167826 在 TNF 性状的全基因组关联分析中达到显著水平,且精确定位于该基因内部。同时,另一个 SNP 位点 Lc7Ns_109169826 在 SeedNS 性状中也显示出显著关联信号,同样位于该基因区域内。这表明 *Lc7Xm040198* 是一个具有多效性的基因,同时关联着每穗总小花数和每穗种子数。

与 SSR 相关的 SNP 位点有 14 个,对应 13 个候选基因,涉及细胞壁相关受体激酶(Wall-associated receptor kinase 3)、MADS-box 转录因子 58 型类似物 X1(MADS-box transcription factor 58-like isoform X1)、 α -扩张蛋白 EXPA1(Alpha-expansin EXPA1)和富含脯氨酸的受体样蛋白激酶 PERK1(Proline-rich receptor-like protein kinase PERK1)等。值得注意的是,注释为 WRKY 转录因子 12(WRKY transcription factor 12)的基因 *Lc6Xm080990* 内部包含 2 个与每穗结实率性状显著关联的 SNP 位点,分别是 Lc6Xm_292094169 和 Lc6Xm_292094188。

表 3 羊草种子产量相关性状 120 个显著 SNP 位点信息

Table 3 Information on 120 significant SNP loci associated with seed yield-related traits in *Leymus chinensis*

表型 Phenotype	标记 SNP marker	等位基因 Allele	P 值 P value	基因 Gene	注释信息 Annotation
小穗数 SpNS	Lc2Ns_527826309	A/T	9.32E-10	<i>Lc2Ns001644</i>	钙调蛋白结合蛋白同源物 Calmodulin-binding protein homolog
	Lc5Xm_254307330	A/G	9.65E-07	<i>Lc5Xm067661</i>	含 NAC 结构域蛋白 48 NAC domain-containing protein 48
每穗小花数 FNS	Lc1Ns_508259237	T/C	4.95E-08	<i>Lc1Ns012509</i>	WRKY 转录因子 23 WRKY transcription factor 23
	Lc1Xm_69482293	A/G	9.26E-07	<i>Lc1Xm061700</i>	低亲和力和硝酸盐转运蛋白 Low affinity nitrate transporter
	Lc2Xm_404867109	T/A	7.53E-07	<i>Lc2Xm053268</i>	自噬相关蛋白 13 样 Autophagy-related protein 13-like
	Lc3Ns_1631011	T/A	9.08E-07	<i>Lc3Ns023568</i>	肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合物亚基 4 Actin-related protein 2/3 complex subunit 4
	Lc5Xm_124726172	A/G	3.02E-07	<i>Lc5Xm069008</i>	运输蛋白颗粒复合体亚基 10 Trafficking protein particle complex subunit 10
总小花数 TNF	Lc1Ns_346791677	G/C	4.28E-07	<i>Lc1Ns014537</i>	转化酶抑制剂蛋白同源物 Invertase inhibitor-like
	Lc1Ns_274424359	T/C	2.02E-07	<i>Lc1Ns015193</i>	肌动蛋白去聚合并聚蛋白 10 Actin-depolymerizing factor 10
	Lc1Ns_271601091	C/T	3.11E-07	<i>Lc1Ns015213</i>	鞘脂长链基团激酶 1 样 Sphingoid long-chain bases kinase 1-like
	Lc1Xm_433004935	A/T	3.17E-07	<i>Lc1Xm056976</i>	蛋白质 ABIL4 异构体 X1 Protein ABIL4 isoform X1
	Lc1Xm_403571849	C/T	5.68E-07	<i>Lc1Xm057340</i>	真核翻译起始因子 3 亚基 D Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D
	Lc1Xm_332923875	C/T	4.04E-07	<i>Lc1Xm058549</i>	转录因子 TFIIB 组分 B Transcription factor TFIIB component B
	Lc1Xm_287483868	C/A	6.65E-08	<i>Lc1Xm059177</i>	脱水反应元件结合蛋白 2G Dehydration-responsive element-binding protein 2G

续表 3

表型 Phenotype	标记 SNP marker	等位基因 Allele	P值 P value	基因 Gene	注释信息 Annotation
	Lc1Xm_52692059	A/G	2.95E-07	<i>Lc1Xm061952</i>	抗病性 RPP13 样蛋白 3 Disease resistance RPP13-like protein 3
	Lc1Xm_4974131	C/T	7.02E-07	<i>Lc1Xm062717</i>	细胞色素 P450 72A15 样 Cytochrome P450 72A15-like
	Lc2Ns_563429446	A/G	4.47E-07	<i>Lc2Ns001224</i>	MICOS 复合物亚基 mic60 MICOS complex subunit mic60
	Lc2Ns_561602101	C/T	2.81E-09	<i>Lc2Ns001241</i>	花青素 5-芳香基酰基转移酶 Anthocyanin 5-aromatic acyltransferase
	Lc2Ns_555224112	G/T	1.57E-07	<i>Lc2Ns001328</i>	氯离子通道样蛋白 CLC-g Chloride channel-like protein CLC-g
	Lc2Ns_547326801	T/A	1.67E-07	<i>Lc2Ns001412</i>	3-酮酰辅酶 A 合成酶 6 3-ketoacyl-CoA synthase 6
	Lc2Ns_401856672	G/C	3.88E-07	<i>Lc2Ns003056</i>	DNA 导向的 RNA 聚合酶 DNA-directed RNA polymerases
	Lc2Xm_19580350	A/C	3.63E-09	<i>Lc2Xm048479</i>	细胞色素 P450 71D7 Cytochrome P450 71D7
	Lc2Xm_26738622	A/T	3.57E-09	<i>Lc2Xm048602</i>	LRR 受体样激酶 LRR receptor-like kinase
	Lc2Xm_30283137	C/A	2.32E-07	<i>Lc2Xm048653</i>	UDP-糖基转移酶 73B4 UDP-glycosyltransferase 73B4
	Lc2Xm_48505441	T/G	4.41E-07	<i>Lc2Xm048888</i>	ATP 依赖性 Clp 蛋白酶衔接蛋白 clpS ATP-dependent Clp protease adapter protein clpS
	Lc2Xm_48505525	A/G	4.41E-07	<i>Lc2Xm048889</i>	酪氨酸 N-单加氧酶 Tyrosine N-monooxygenase
	Lc2Xm_51707037	C/A	3.33E-07	<i>Lc2Xm048957</i>	富含半胱氨酸的受体样蛋白激酶 26 Cysteine-rich receptor-like protein kinase 26
	Lc2Xm_53259294	C/A	3.96E-08	<i>Lc2Xm049003</i>	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶样蛋白 CCR3 Serine/threonine-protein kinase-like protein CCR3
	Lc2Xm_149739545	A/G	3.74E-07	<i>Lc2Xm050551</i>	E3 泛素蛋白连接酶 BAH1 E3 ubiquitin-protein ligase BAH1
	Lc2Xm_196514394	G/T	4.49E-07	<i>Lc2Xm051309</i>	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At1g54610 Serine/threonine-protein kinase At1g54610
	Lc2Xm_277255703	T/C	4.61E-07	<i>Lc2Xm051887</i>	蛋白质 SHOOT GRAVITROPISM 6 Protein SHOOT GRAVITROPISM 6
	Lc2Xm_330409326	G/C	7.49E-08	<i>Lc2Xm052291</i>	谷氧还蛋白-C3 Glutaredoxin-C3
	Lc2Xm_523917013	G/A	4.07E-07	<i>Lc2Xm055114</i>	赤霉素 3-氧化酶 1 GA 3-oxidase 1
	Lc2Xm_555874610	G/A	4.63E-07	<i>Lc2Xm055670</i>	31 kDa 叶绿体核糖核蛋白 31 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic
	Lc2Xm_574166678	A/G	2.06E-09	<i>Lc2Xm055933</i>	F-box/FBD/LRR 重复蛋白 At1g13570 样 F-box/FBD/LRR-repeat protein At1g13570-like
	Lc2Xm_579808159	A/T	9.75E-07	<i>Lc2Xm056055</i>	抗病性 RPP8 样蛋白 2 Disease resistance RPP8-like protein 2
	Lc2Xm_608189735	C/G	1.24E-07	<i>Lc2Xm056516</i>	类黄酮 3'-单加氧酶 Flavonoid 3'-monooxygenase
	Lc3Ns_37137652	G/C	5.22E-07	<i>Lc3Ns024074</i>	MATE 外排家族蛋白, 表达型 MATE efflux family protein, expressed
	Lc3Xm_15172717	T/C	2.88E-06	<i>Lc3Xm070644</i>	转录因子 bHLH168 Transcription factor bHLH168
	Lc3Xm_81285227	C/T	4.96E-07	<i>Lc3Xm071693</i>	17 kDa I 类小热休克蛋白 17 kDa class I small heat shock protein
	Lc3Xm_228743262	C/A	7.57E-07	<i>Lc3Xm073506</i>	低氧上调蛋白 1 Hypoxia up-regulated protein 1
	Lc3Xm_247466604	C/T	3.43E-07	<i>Lc3Xm073570</i>	富含 LysM 结构域的受体样激酶 3 LysM domain receptor-like kinase 3
	Lc3Xm_365160539	T/G	1.52E-07	<i>Lc3Xm074982</i>	包被蛋白亚基 δ -3 Coatomer subunit delta-3
	Lc3Xm_470960910	C/T	8.16E-07	<i>Lc3Xm076650</i>	受体蛋白激酶 ZmPK1 Receptor protein kinase ZmPK1
	Lc3Xm_500023818	G/T	6.94E-08	<i>Lc3Xm077080</i>	PHD 指蛋白 3 PHD finger protein 3
	Lc3Xm_528429615	G/A	5.72E-08	<i>Lc3Xm077490</i>	甲硫氨酰-tRNA 合成酶 Methionyl-tRNA synthetase
	Lc3Xm_584052587	A/G	9.62E-07	<i>Lc3Xm078323</i>	富含 LRR 受体样激酶 LRR receptor-like kinase
	Lc4Ns_446622916	G/C	9.23E-07	<i>Lc4Ns031406</i>	富含半胱氨酸的受体样蛋白激酶 10 Cysteine-rich receptor-like protein kinase 10
	Lc4Ns_421527697	G/A	9.32E-09	<i>Lc4Ns031695</i>	GATA 转录因子 4 GATA transcription factor 4
	Lc4Ns_388199579	G/C	7.05E-07	<i>Lc4Ns032025</i>	叶绿体谷胱甘肽还原酶 Chloroplastic glutathione reductase
	Lc4Ns_14948847	C/G	7.66E-07	<i>Lc4Ns034865</i>	含黄素单加氧酶 Flavin-containing monooxygenase
	Lc4Xm_380954105	G/C	8.62E-08	<i>Lc4Xm043486</i>	蛋白 CNGC15b 样异构体 X2 Protein CNGC15b-like isoform X2
	Lc4Xm_344356538	A/G	7.82E-07	<i>Lc4Xm044164</i>	RING-H2 指蛋白 ATL5 RING-H2 finger protein ATL5
	Lc4Xm_344356547	T/A	7.89E-07	<i>Lc4Xm044165</i>	部分聚半乳糖醛酸酶 Polygalacturonase, partial
	Lc4Xm_289277638	C/T	1.16E-08	<i>Lc4Xm044963</i>	DRE 结合因子 DRE binding factor
	Lc4Xm_232217098	C/T	5.06E-07	<i>Lc4Xm045697</i>	鞘氨醇 C (4)-单加氧酶 1 样 Sphinganine C (4)-monooxygenase 1-like
	Lc4Xm_32122343	G/A	2.63E-07	<i>Lc4Xm047738</i>	脂肪酰辅酶 A 还原酶 3 Fatty acyl-coenzyme A reductase 3
	Lc5Ns_124700952	C/T	5.14E-07	<i>Lc5Ns007739</i>	NADP 依赖性氧化还原酶 P1 NADP-dependent oxidoreductase P1
	Lc5Ns_289122198	T/C	1.44E-08	<i>Lc5Ns008810</i>	硫醇蛋白酶 aleurain Thiol protease aleurain
	Lc5Ns_411813465	A/G	1.08E-07	<i>Lc5Ns010309</i>	S-酰基转移酶 S-acyltransferase
	Lc5Xm_482588707	C/T	8.10E-07	<i>Lc5Xm063910</i>	双组分反应调节因子 ARR4 样 Two-component response regulator ARR4-like
	Lc5Xm_467014078	G/A	4.60E-07	<i>Lc5Xm064199</i>	线粒体样蛋白 Mitochondrial-like protein
	Lc5Xm_318177813	G/T	5.93E-07	<i>Lc5Xm066643</i>	TPA: 半胱氨酸蛋白酶前体抗病蛋白 RPP13 TPA: cysteine proteinase precursor
	Lc5Xm_304016838	T/C	4.15E-07	<i>Lc5Xm066865</i>	Disease resistance protein RPP13
	Lc5Xm_257830511	A/G	1.76E-07	<i>Lc5Xm067618</i>	耐盐蛋白 Salt tolerant protein
	Lc5Xm_227945608	T/A	2.40E-07	<i>Lc5Xm068017</i>	含黄素单加氧酶 FMO Flavin-containing monooxygenase FMO
	Lc5Xm_170718861	T/G	1.75E-07	<i>Lc5Xm068674</i>	交替氧化酶 Alternative oxidase
	Lc5Xm_128410786	A/G	9.47E-07	<i>Lc5Xm068965</i>	谷氧还蛋白-C15 Glutaredoxin-C15
	Lc6Ns_510718120	A/G	6.44E-07	<i>Lc6Ns027569</i>	类似 SDR39U1 的表异构酶家族蛋白 Epimerase family protein SDR39U1 homolog
	Lc6Ns_461796581	G/A	1.48E-07	<i>Lc6Ns028024</i>	类似 RICESLEEPER 2 的蛋白 RICESLEEPER 2-like
	Lc6Ns_221114130	A/C	8.23E-07	<i>Lc6Ns029484</i>	蛋白质转运蛋白 Sec1a 同种型 X2 Protein transport Sec1a isoform X2

续表3

表型 Phenotype	标记 SNP marker	等位基因 Allele	P值 P value	基因 Gene	注释信息 Annotation
每穗种子数 SeedNS	Lc6Ns_217441621	T/C	1.82E-08	<i>Lc6Ns029492</i>	类似MEI2的蛋白质4 Protein MEI2-like 4
	Lc6Ns_217441544	A/G	1.99E-08	<i>Lc6Ns029493</i>	线粒体延伸因子 Tu Elongation factor Tu, mitochondrial
	Lc6Xm_367505876	A/G	1.65E-07	<i>Lc6Xm080038</i>	脱水响应元件结合蛋白 Dehydration-responsive element-binding protein
	Lc6Xm_313814456	G/T	5.83E-07	<i>Lc6Xm080754</i>	类似寡肽转运蛋白4的蛋白 Oligopeptide transporter 4-like
	Lc6Xm_231103839	A/G	1.96E-07	<i>Lc6Xm081471</i>	类似生长素响应蛋白 IAA7 的蛋白 Auxin-responsive protein IAA7
	Lc6Xm_192104569	G/C	4.58E-07	<i>Lc6Xm081867</i>	N-乙酰转移酶 HLS1 N-acetyltransferase HLS1
	Lc6Xm_149145053	G/A	9.67E-07	<i>Lc6Xm082474</i>	蛋白质 ZEAMMB73_390723 Protein ZEAMMB73_390723
	Lc6Xm_124151922	A/G	8.52E-08	<i>Lc6Xm082864</i>	类似组蛋白 H2B.1 的蛋白 Histone H2B.1-like
	Lc6Xm_117445407	C/T	5.02E-07	<i>Lc6Xm082972</i>	富含亮氨酸重复受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 GSO2 LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO2
	Lc7Ns_109167826	T/A	8.03E-07	<i>Lc7Ns018983</i>	组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 EZ1 Histone-lysine N-methyltransferase EZ1
	Lc7Ns_117113695	C/T	9.62E-07	<i>Lc7Ns019085</i>	严格松香素合酶 1 Strictosidine synthase 1
	Lc7Ns_118805724	T/A	4.09E-07	<i>Lc7Ns019110</i>	蛋白质 SRG1 Protein SRG1
	Lc7Ns_529024511	A/G	7.89E-08	<i>Lc7Ns022193</i>	NADH-泛醌氧化还原酶 20 kDa 亚基 NADH-ubiquinone oxidoreductase 20 kDa subunit
	Lc7Ns_548871026	T/C	1.07E-07	<i>Lc7Ns022388</i>	香叶基香叶基转移酶 2 型亚基 α Geranylgeranyl transferase type-2 subunit α
	Lc7Xm_206268582	C/T	5.45E-07	<i>Lc7Xm040045</i>	纤维素酶 Cellulase
	Lc7Xm_146588926	T/A	7.67E-07	<i>Lc7Xm040924</i>	转录因子 MYB98 Transcription factor MYB98
	Lc7Xm_119796069	G/C	5.38E-08	<i>Lc7Xm041412</i>	O-甲基转移酶 2 O-methyltransferase 2
	Lc7Xm_64062412	C/T	5.14E-08	<i>Lc7Xm042265</i>	GTP 结合蛋白 GTP-binding protein
	Lc1Xm_341462266	GA	3.03E-06	<i>Lc1Xm058402</i>	乙烯响应转录因子 1B Ethylene-responsive transcription factor 1B
	Lc2Ns_248436246	TC	4.63E-06	<i>Lc2Ns004092</i>	THO 复合物亚基 4B THO complex subunit 4B
	Lc1Ns_292549340	A/G	4.12E-07	<i>Lc1Ns015019</i>	MADS 盒转录因子 56 MADS-box transcription factor 56
	Lc2Ns_426179899	A/C	4.62E-08	<i>Lc2Ns002788</i>	水通道蛋白 TIP3-2 Aquaporin TIP3-2
	Lc2Xm_118855477	T/C	6.10E-07	<i>Lc2Xm050056</i>	富含脯氨酸的伸展蛋白样蛋白 EPR1 Proline-rich extensin-like protein EPR1
	Lc3Xm_331863786	G/C	2.06E-07	<i>Lc3Xm074504</i>	甘油磷酸二酯磷酸二酯酶 Glycerophosphoryl diester phosphodiesterase
	Lc3Xm_532763744	A/G	6.50E-07	<i>Lc3Xm077534</i>	谷氨酸脱羧酶 Glutamate decarboxylase
	Lc4Ns_389480213	C/T	1.45E-07	<i>Lc4Ns032012</i>	DNA 拓扑异构酶 3- α 同种型 X1 DNA topoisomerase 3- α isoform X1
	Lc4Xm_306863955	C/T	4.04E-07	<i>Lc4Xm044715</i>	泛素结合酶 E2 24 Ubiquitin-conjugating enzyme E2 24
	Lc5Xm_336585832	G/A	6.09E-07	<i>Lc5Xm066311</i>	受体激酶 5 Receptor kinase 5
	Lc5Xm_496521470	G/A	5.26E-07	<i>Lc5Xm063718</i>	富含亮氨酸重复受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 EFR LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR
	Lc6Xm_173096536	A/C	4.01E-07	<i>Lc6Xm082129</i>	赤霉素受体 GID1L3 Gibberellin receptor GID1L3
	Lc6Xm_177521920	G/T	2.91E-07	<i>Lc6Xm082058</i>	富含亮氨酸重复受体样激酶 Leucine-rich repeat receptor-like kinase
	Lc6Xm_374023566	A/G	9.77E-07	<i>Lc6Xm079973</i>	膜结合转录因子位点 2 蛋白酶 Membrane-bound transcription factor site-2 protease
	Lc6Xm_409879526	C/T	2.83E-07	<i>Lc6Xm079465</i>	G 型凝集素 S 受体样 G-type lectin S-receptor-like
	Lc7Ns_109167826	T/A	6.43E-08	<i>Lc7Ns018983</i>	组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 EZ1 Histone-lysine N-methyltransferase EZ1
	Lc7Xm_74372224	G/A	8.79E-07	<i>Lc7Xm042114</i>	ATP 依赖型 Clp 蛋白酶 ATP-dependent Clp protease
每穗结实率 SSR	Lc1Ns_15007587	A/G	6.97E-07	<i>Lc1Ns017155</i>	细胞壁相关受体激酶 3 Wall-associated receptor kinase 3
	Lc1Ns_355671937	C/T	6.92E-07	<i>Lc1Ns014457</i>	富含脯氨酸的受体样蛋白激酶 PERK1 Proline-rich receptor-like protein kinase PERK1
	Lc1Xm_166403230	T/A	2.40E-07	<i>Lc1Xm060457</i>	MADS 盒转录因子 58 样同种型 X1 MADS-box transcription factor 58-like isoform X1
	Lc2Ns_45578454	G/A	8.04E-07	<i>Lc2Ns005910</i>	α -伸展蛋白 EXPA1 Alpha-expansin EXPA1
	Lc2Ns_60689254	G/C	8.04E-07	<i>Lc2Ns005715</i>	DNA 修复蛋白 rhp54 DNA repair protein rhp54
	Lc5Ns_97563471	C/C	5.74E-06	<i>Lc5Ns007545</i>	DNA 甲基化因子 4 Factor of DNA methylation 4
	Lc5Ns_346928302	C/A	6.53E-07	<i>Lc5Ns009467</i>	类束蛋白 FLA3 Fasciclin-like protein FLA3
	Lc5Xm_289513418	C/T	7.78E-07	<i>Lc5Xm067132</i>	枯草杆菌蛋白酶-胰凝乳蛋白酶抑制剂 2A Subtilisin-chymotrypsin inhibitor 2A
	Lc6Xm_132726532	G/G	2.60E-06	<i>Lc6Xm082714</i>	细胞壁相关受体激酶 3 Wall-associated receptor kinase 3
	Lc6Xm_292094169	T/C	3.69E-07	<i>Lc6Xm080990</i>	WRKY 转录因子 12 WRKY transcription factor 12
	Lc6Xm_292094188	G/T	4.90E-07	<i>Lc6Xm080990</i>	WRKY 转录因子 12 WRKY transcription factor 12
	Lc7Xm_253240555	C/T	9.26E-07	<i>Lc7Xm039472</i>	蛋白 BUD31-1 样蛋白 Protein BUD31-1-like protein
	Lc7Xm_534461733	T/A	6.54E-07	<i>Lc7Xm036176</i>	含 AP2 蛋白 AP2-containing protein
	Lc7Ns_621157558	A/G	6.18E-07	<i>Lc7Ns023258</i>	BTB/POZ 和 MATH 结构域蛋白 2 BTB/POZ and MATH domain-containing protein 2

2.3 羊草结实率性状显著SNP优异等位基因变异分析

结实率是决定羊草种子产量的关键性状之一，进一步对全基因组关联分析检测到的 14 个羊草结实率性状显著 SNP 位点进行基因型和表型分析，其中，8 个显著 SNP 位点的不同等位基因变异在结实

率性状上均存在显著差异(图 5)。Lc1Ns_15007587 位点检出两种基因型，结实率性状差异达到极显著水平 ($P<0.001$)，GG 型(247 份)结实率均值 59.0%，显著高于 AG 型(14 份)，表明该标记的优异等位基因为 G，基因型位点上的单碱基变化对羊草

结实率产生了显著影响。Lc1Xm_166403230 位点与每穗结实率关联极强($P=2.40E-07$),等位变异分析表明 TT 型(257 份)材料的结实率约为 58.7%,显著高于 TA 型(14 份),表明 T 为该位点优势等位基因型。在 Lc5Ns_346928302 位点,AA 型(238 份)材料的结实率(58.3%)显著高于 CA 型(37 份)(47.8%),两者差异达极显著水平($P<0.01$)。同样地,在 Lc5Ns 染色体 97563471 位点中,CT 型(53 份)材料具有较高的结实率,约 66.6%,显著高于 CC 型(193 份)($P<0.01$),表明该标记的优异等

位基因为 T。在 Lc5Xm_289513418 位点,CC 型(268 份)材料的结实率约为 58.2%,显著高于 CT 型(7 份)($P<0.05$),表明这个位点上 C 才是优势等位基因。在 Lc6Xm_132726532 位点,GA 型材料 53 份,GG 型 194 份,前者的结实率约为 66.6%,显著高于后者的 55.9%($P<0.05$),A 等位基因占优。Lc7Xm_253240555 位点的 CC 型(258 份)和 CT 型(7 份)结实率分别为 58.6% 和 43.1%,两者差异显著。Lc7Xm_534461733 位点同样,TT 型(250 份)结实率为 58.6%,显著高于 TA 型(19 份)的 47.4%。

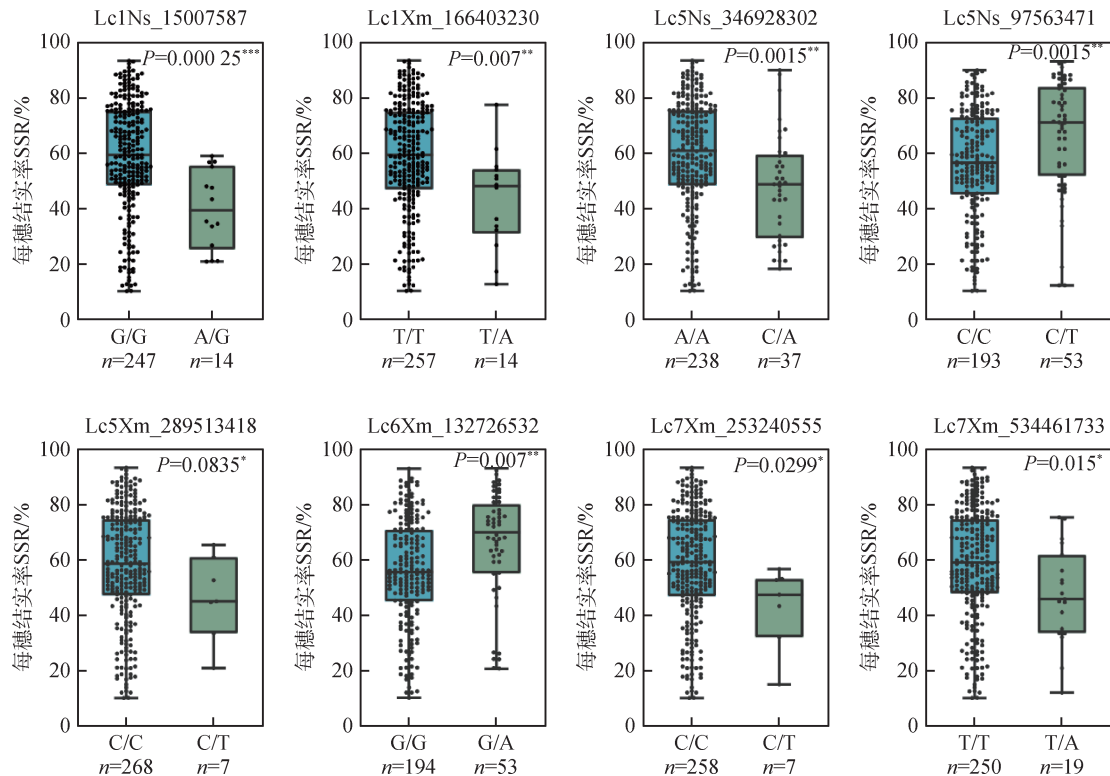


图5 羊草结实率相关显著 SNP 优异等位基因变异分析

Fig. 5 Analysis of superior allelic variation of significant SNPs associated with seed setting rate in *Leymus chinensis*

3 讨论

3.1 羊草种子产量相关性状的遗传变异与选择潜力

本研究对 300 份羊草种质材料的种子产量相关性状进行了系统评价,结果表明,5 个测定性状均表现出广泛的连续性变异(图 1),变异系数介于 0.25~0.52 之间(表 1),反映出供试群体具有丰富的遗传多样性,为羊草种子产量的遗传改良提供了重要的数据基础和育种依据。其中,每穗种子数的变异幅度最大($CV=0.52$),且极端值差异巨大(最高 159 粒,最低仅 2 粒),表明该性状受遗传控制较强,在后期的优异种质筛选中具有较大的提升潜

力。相比之下,每穗小花数变异幅度最小($CV=0.25$),表明这一性状可能受到较为严格的发育调控,遗传稳定性高。相关性分析显示(图 2),每穗种子数与小穗数、每穗小花数、总小花数、结实率均呈极显著正相关。这一结果与作物种子产量构成的基本因子相符。穗部结构特征是产量形成的基础^[15],表明充足的库容(健壮的穗部结构)是种子高产的前提。然而,产量的形成不仅依赖于库容的扩大,更有赖于光合产物的转运分配。王姣^[16]利用碳同位素技术,发现羊草在抽穗期有 19.11% 的穗部光合产物转运至种子,这一结果证实穗部作为种子邻近的光合产物源,其光合产物对于种子产量及籽粒充实至关重要。然而,结实率与小穗数、每穗小

花数之间的相关性极弱甚至为负(图2),小穗数和每穗小花数的增加并未带来结实率的同步提升。一种可能的解释是,当小穗数和小花数超过一定阈值后,有限的资源难以同时满足所有籽粒的发育需求,从而因源库失衡导致部分籽粒败育或灌浆不足,从而无法有效转化为最终的种子产量。这与禾本科牧草中普遍存在的产量构成因子间协同与拮抗现象相一致^[17]。这一结果表明,羊草种子产量的形成并非简单地依赖于穗、花器官数量的增加,而更多地受到结实率这一瓶颈因素的制约。因此,在羊草种子高产育种中,应更加关注提高结实率,或将增加小花数与提高结实率相结合,寻求最优平衡点。

3.2 种子产量相关性状的遗传位点与候选基因分析

全基因组关联分析共定位到833个与种子产量性状相关的显著SNP,这直观地表明羊草种子产量是一个由多基因控制的复杂数量性状。对于纳入的120个显著相关的SNP,从染色体分布看,显著SNP在Lc2Xm染色体上高度富集(表3),表明该染色体可能存在控制羊草种子产量性状的重要基因组区段。值得注意的是,编码组蛋白赖氨酸N-甲基转移酶EZ1的基因*Lc7Ns018983*同时在与总小花数和每穗种子数性状关联分析中被显著定位。该基因在水稻(*Oryza sativa*)中的同源基因*OsiEZ1*已被证实参与种子发育调控:突变体*osiez1*表现为种子大小和千粒重显著下降,而株高和开花时间未见明显变化^[18]。*Lc7Ns018983*的重复关联表明其可能通过调控花器官分化与发育相关基因的表达,影响小花形成及受精过程,从而参与种子产量形成。这一结果揭示了表观遗传调控在羊草种子产量形成中的潜在重要作用,推测*Lc7Ns018983*可能是一个具有多效性的核心调控因子。

此外,本研究在每穗种子数与结实率性状中定位到多个MADS-box转录因子家族成员。MADS-box转录因子家族是植物花发育和繁殖的主要调控因子。例如,MADS-box基因SEEDSTICK(STK)与Bsister基因在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)胚珠发育中功能冗余地调控内皮层分化,双突变体因该组织完全缺失,导致受精胚珠减少及后期种子败育,结实率显著降低^[19]。同样,在异花授粉植物山茶(*Camellia japonica*)中,MADS-Box基因家族的全基因组分析表明CjSTK是种子败育的关键调控因子^[20]。因此,这些MADS-box基因在羊草中的定

位进一步支持其在种子形成与结实过程中的重要作用。同时,在与结实率性状相关的候选基因中,发现了编码WRKY12的基因*Lc6Xm080990*。WRKY转录因子家族作为一个植物特异性的超基因家族,已有研究表明,WRKY53通过微调水稻花药赤霉素水平,负向调控孕穗期抗寒性,敲除后突变体在低温胁迫下结实率显著提高、花粉活力增强,且正常条件下不影响产量^[21]。*Lc6Xm080990*基因可能通过激素信号通路协同调控羊草种子产量。上述结果为深入解析羊草种子产量相关性状的遗传机制及开展分子标记辅助育种提供了重要线索。

3.3 结实率相关优异等位变异为分子标记辅助育种提供靶点

优异等位基因的挖掘是借助分子标记手段改良羊草结实率性状的重要基础。本研究基于前期关联分析所鉴定的14个与结实率显著相关的SNP位点,进一步在300份羊草种质构成的自然群体中系统解析了各等位变异的表型效应。结果显示,其中8个位点在基因型与结实率之间呈现出显著的关联(图5),表明其具有作为分子标记辅助育种靶点的潜力。通过在表型与基因型之间建立直接的等位变异联系,本研究共发掘出8个对羊草结实率具有正向效应的优异等位变异,分别为:Lc1Ns_15007587, Lc1Xm_166403230, Lc5Ns_346928302, Lc5Ns_97563471, Lc5Xm_289513418, Lc6Xm_132726532, Lc7Xm_253240555及Lc7Xm_534461733。其中,Lc5Ns_97563471位点的效应尤为突出。在该位点上,携带C等位基因(CT基因型)的种质材料数量虽少(53份),但其平均结实率高达66.6%,显著高于群体中占主导地位的CC基因型(193份)($P<0.01$)。类似地,在Lc6Xm_132726532位点,携带GA基因型的材料(53份)其平均结实率(66.6%)也显著高于GG基因型(194份,55.9%)($P<0.05$)。上述两种优异等位基因型在群体中频率较低,推测可能存在选择代价或与不利性状连锁,因而未在群体中被广泛固定,但其具有高结实率遗传改良中具有巨大的应用潜力。因此,鉴于不同等位变异对表型的贡献可能存在累加效应^[22],在育种上可优先利用携带多个优异等位变异的种质材料,以期实现性状的叠加改良。值得注意的是,本研究GWAS分析基于一年的、一个地点的表型数据,所鉴定的关联位点可能受特定环境条件影响,其稳定性和普适性尚需多环境验证。未来需在多环境、多年份

条件下进一步评估这些位点对产量构成因子、抗逆性等其他农艺性状的影响,以明确其育种利用价值。

4 结论

本研究系统评价了羊草种子产量相关性状的遗传变异规律,并基于全基因组关联分析深入挖掘了控制结实率等关键种子产量性状的显著关联位点和候选基因,表明羊草种子产量性状受多基因调控,初步明确了 *EZ1* 基因以及 *MADS-box*, *WRKY* 转录因子等在羊草产量形成中的潜在功能。此外,鉴定出8个与结实率显著关联的优异等位变异,研究结果为后续开展羊草高结实率品种的分子育种提供了可直接操作的靶点与核心标记。

参考文献

- [1] HUANG Z H, ZHU J M, MU X J, et al. Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chinensis* [J]. *Annals of Botany*, 2004, 93(3): 295-301
- [2] 王介繁,董笛,张然,等. 不同区域100份羊草种质结实性状的综合评价[J]. *中国草地学报*, 2025, 47(10): 11-21
WANG J F, DONG D, ZHANG R, et al. Comprehensive evaluation of seed setting traits in 100 *Leymus chinensis* germplasms from different regions [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2025, 47(10): 11-21
- [3] 李倩,张庆分,程丽琴,等. 羊草耐逆的分子生物学研究进展[J]. *草学*, 2018(6): 7-10
LI Q, ZHANG Q F, CHENG L Q, et al. Progress of molecular biology of stress tolerance in sheepgrass [J]. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2018(6): 7-10
- [4] 宋家敏,初丽爽,李海燕,等. 松嫩平原不同生境条件下羊草种群生殖株数量特征动态研究[J]. *草地学报*, 2025, 33(11): 3690-3697
SONG J M, CHU L S, LI H Y, et al. Research on the quantitative characteristics dynamics of reproductive ramets of *Leymus chinensis* populations under different habitats in Songnen Plain [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2025, 33(11): 3690-3697
- [5] 杨双,穆春生,蔺吉祥,等. 羊草抽穗率、结实率和发芽率的研究概述[J]. *吉林畜牧兽医*, 2018, 39(2): 12-14
YANG S, MU C S, LIN J X, et al. Summary of research on heading rate, seed setting rate and germination rate of *Leymus chinensis* [J]. *Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2018, 39(2): 12-14
- [6] 刘公社,齐冬梅. 羊草生物学研究进展[J]. *草业学报*, 2004, 13(5): 6-11
LIU G S, QI D M. Research progress on the biology of *Leymus chinensis* [J]. *Acta Prataculturae Science*, 2004, 13(5): 6-11
- [7] 才源,李子勇,于新海,等. 适量氮肥对吉林西部人工建植羊草草原的种子产量与牧草品质影响的研究[J]. *农业与技术*, 2022, 42(1): 16-20
CAI Y, LI Z Y, YU X H, et al. Effects of appropriate nitrogen fertilizer on seed productivity and forage quality of *Leymus chinensis* grassland in western Jilin Province [J]. *Agriculture and Technology*, 2022, 42(1): 16-20
- [8] 王迁,杨兆平. 刈割和施肥对内蒙古典型草原羊草种子产量的影响[J]. *中国草地学报*, 2022, 44(12): 100-106
WANG Q, YANG Z P. Effects of mowing and fertilization on seed yield of *Leymus chinensis* in Inner Mongolia steppe [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2022, 44(12): 100-106
- [9] 刘泽东,柴凤久,高海娟,等. 施用微量元素对羊草结实率的影响[J]. *黑龙江农业科学*, 2019(8): 131-134
LIU Z D, CHAI F J, GAO H J, et al. Effects of trace elements on seed setting rate of *Leymus chinensis* [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2019(8): 131-134
- [10] CAO K, ZHOU Z K, WANG Q, et al. Genome-wide association study of 12 agronomic traits in peach [J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13246
- [11] 汪凯翔. 玉米穗部相关性状关联分析与全基因组选择育种[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2025: 19-42
WANG K X. Association analysis of maize ear-related traits and genomic selection breeding [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2025: 19-42
- [12] LIU M C, ZHANG Y D, SHAW R K, et al. Genome-wide association study and prediction of tassel weight of tropical maize germplasm in multi-parent population [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(3): 1756
- [13] 白雄辉. 小麦穗基部结实粒数全基因组关联分析及关键候选基因的挖掘[D]. 太谷:山西农业大学, 2023: 27-34
BAI X H. Genome-wide association analysis of the grain numbers in the basal spikelets in wheat and mining of key candidate genes [D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2023: 27-34
- [14] LI T, TANG S J, LI W, et al. Genome evolution and initial breeding of the Triticeae grass *Leymus chinensis* dominating the Eurasian Steppe [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, 120(44): 1-10
- [15] 于辉. 羊草种子产量构成因子与产量最适调控时间的研究[D]. 长春:东北师范大学, 2010: 1-2
YU H. Studies on the effects of optimal nitrogen application and irrigation time on seed yield and yield components of *Leymus chinensis* [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2010: 1-2
- [16] 王姣. 基于光合产物转运分配的羊草低结实率研究[D]. 长春:东北师范大学, 2020: 24-25
WANG J. Study on the low seed setting percentage of *Leymus chinensis* based on photosynthetic product distribution [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2020: 24-25
- [17] CHEN Z, NIU J P, CAO X L, et al. Seed yield can be explained by altered yield components in field-grown western wheatgrass (*Pascopyrum smithii* Rydb.) [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 17976
- [18] KIM J Y, SONG J T, SEO H S. The enhancer of zeste gene *OsiEZ1* is involved in ligule and seed development in rice [J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2017: 1068-1074
- [19] MIZZOTTI C, MENDES M A, CAPORALI E, et al. The *MADS box* genes *SEEDSTICK* and *ARABIDOPSIS Bister* play a maternal role in fertilization and seed development [J]. *The Plant Journal*, 2012, 70(3): 409-420
- [20] YU Y F, CHU X, MA X J, et al. Genome-wide analysis of *MADS-box* gene family reveals *CjSTK* as a key regulator of seed abortion in *Camellia japonica* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(11): 5770
- [21] TANG J Q, TIAN X J, MEI E Y, et al. *WRKY53* negatively regulates rice cold tolerance at the booting stage by fine-tuning anther gibberellin levels [J]. *The Plant Cell*, 2022, 34(11): 4495-4515
- [22] 田春艳,边芯,郎荣斌,等. 甘蔗3个育种性状与SSR标记的关联分析及优异等位变异发掘[J]. *作物学报*, 2024, 50(2): 310-324
TIAN C Y, BIAN X, LANG R B, et al. Association analysis of three breeding traits with SSR markers and exploration of elite alleles in sugarcane [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2024, 50(2): 310-324

(责任编辑 闵芝智)