

小麦种质资源茎基腐病抗性鉴定及定位分析

张磊磊¹, 闫香凝¹, 原敏捷¹, 简俊涛², 韦佳杰¹, 李佳琦¹, 高梦娟¹,

刘璐¹, 李松刚¹, 胡鹏雨¹, 任妍¹, 陈锋¹, 阳霞¹

(¹河南农业大学农学院/省部共建小麦玉米作物学国家重点实验室, 郑州 450046; ²南阳市科学院, 河南南阳 473000)

摘要: 采用小米培养基接种法对 163 份当前推广的小麦种质资源进行室内和田间茎基腐病抗性鉴定。结果表明, 没有鉴定出高抗和免疫的小麦材料, 但是不同材料的抗性能被明显区分, 群体抗性整体上呈现正态分布趋势, 室内鉴定病情指数分布在 13.28~83.33 之间, 田间鉴定病情指数分布在 10.27~73.89 之间。室内和田间鉴定结果较稳定, 两环境病情指数的相关系数为 0.79, 说明室内鉴定结果可较好地反映田间抗性情况。全基因组关联分析 (GWAS, genome-wide association study) 显示, 显著 SNP 广泛分布于小麦各条染色体上, 其中 2A 上最多, 集中在 725~763 Mb 区段内。进一步集群分离分析法 (BSA, bulked segregant analysis) 结果显示, 显著 SNP 集中在 2A 上的 730~750 Mb 区段内。综合来看, 小麦 2A 染色体上 730~750 Mb 区段内可能存在显著调控小麦茎基腐病的抗性基因。本研究能够为小麦茎基腐病抗性材料筛选及抗病位点挖掘提供重要的参考意义。

关键词: 小麦; 茎基腐病; 抗性鉴定; 全基因组关联分析; 集群分离分析法

The Resistance Investigation and Mapping Analysis of Fusarium Crown Rot for Wheat Accessions

ZHANG Leilei¹, YAN Xiangning¹, YUAN Minjie¹, JIAN Juntao², WEI Jiajie¹, LI Jiaqi¹, GAO Mengjuan¹,

LIU Lu¹, LI Songgang¹, HU Pengyu¹, REN Yan¹, CHEN Feng¹, YANG Xia¹

(¹College of Agronomy, Henan Agricultural University/State Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science, Zhengzhou 450046; ²Nanyang Academy of Sciences, Nanyang 473000, Henan)

Abstract: By applying the millet grains as pathogen medium, we inoculated the 163 wheat germplasm accessions which widely cultivated currently. No immune or highly resistant wheat accessions were identified, while the resistance variations estimated by disease index (DI) were found following a normal distribution 13.28-83.33 in greenhouse and 10.27-73.89 in field, respectively. The correlation coefficient, based on the phenotype collected from greenhouse seedling assay and field trials was 0.79, supporting a high correlation on resistance at the seedling and adult stages. Furthermore, the genome-wide association study (GWAS) found significant SNPs distributed on all chromosomes of wheat, with enrichment on chromosome 2A with an interval from 725 Mb to 763 Mb. This was in keeping with the results of the bulked segregant analysis (BSA), which revealed significant SNPs distributed from 730 Mb to 750 Mb on chromosome 2A. GWAS and BSA indicated a significant resistance locus, which resided from 730 Mb to 750 Mb on chromosome 2A and associated with fusarium crown rot (FCR) infection. This study can provide important reference for identifying resistant wheat materials and exploring FCR resistant loci in wheat.

Key words: wheat; fusarium crown rot; resistance identification; GWAS; BSA

收稿日期: 2023-07-18 修回日期: 2023-08-26 网络出版日期: 2023-09-13

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230718001>

第一作者研究方向为小麦抗病育种, E-mail: 2411730450@qq.com

通信作者: 阳霞, 研究方向为小麦抗病育种, E-mail: tianshiyangxia@163.com

基金项目: 河南省重大科技专项 (201100110100); 国家重点研发计划项目 (2019YFE0118300); 河南省科技攻关项目 (222102520002); 中国博士后科学基金面上项目 (2022M711066)

Foundation projects: Henan Major Science and Technology Project (201100110100); National Key Research and Development Program (2019YFE0118300); Key Scientific and Technology Projects of Henan Province (222102520002); China Postdoctoral Science Foundation (2022M711066)

小麦茎基腐病(FCR, fusarium crown rot)是由多种病原菌引起的一种土传病害^[1],其主要致病菌是假禾谷镰孢菌(*Fusarium pseudograminearum*)、禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)和黄色镰孢菌(*Fusarium culmorum*)等^[2-3],其中假禾谷镰孢菌(*Fusarium pseudograminearum*)致病力强、分布范围广且危害严重,是小麦茎基腐病的主要流行菌株^[4]。小麦茎基腐病的发生贯穿小麦生长发育的整个过程,种子萌发期,病原菌会抑制种子的出苗率,严重时直接使种子腐烂^[5];苗期,受感染的植株茎基部开始变褐、变黑,病原菌不断向上侵袭^[6];中后期,病害蔓延到小麦茎秆,节间呈现出褐色坏死,节点处有红色霉点,物质运输受阻,引起小麦白穗,出现秕粒或无籽,造成严重的产量损失和经济损失^[7-8]。此外,小麦茎基腐病发生过程中还会产生脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON, deoxynivalenol)、雪腐镰刀菌烯醇(NIV, nivalenol)等多种毒素和次级代谢物,严重影响食品安全并危害人畜健康^[9-11]。

小麦茎基腐病已成为一种世界性病害,该病在澳大利亚、加拿大、中国和美国等多个国家连年发生,对粮食生产造成了不可估量的损失^[12-13]。近年来,我国的河南、山东和河北等多地小麦种植区受到了该病害的严重影响^[14]。2020年山东省小麦茎基腐病的发生面积高达80万公顷,遍布16个市,管理粗放地区白穗率高达30%~50%^[15];2021年河南安阳、平顶山、漯河等地,小麦茎基腐病发生面积占各地小麦种植面积的20%以上,减产20%~30%,严重地区减产50%以上^[16]。此外,由于秸秆还田、免深耕等农艺措施的实行和近年来极端天气的频繁出现,该病害呈现出不断蔓延和加重的趋势,因此亟需进行抗性品种的筛选和利用来对病害进行防治。高效、稳定的小麦茎基腐病抗性鉴定体系有利于小麦茎基腐病抗性品种的筛选,但是国内外尚未建立统一、公认的接种鉴定方法,目前使用最多的是苗期室内鉴定和成株期田间鉴定。2014年杨云等^[17]对黄淮海区88个主推小麦品种进行苗期和成株期茎基腐病抗性鉴定,发现绝大多数品种表现感病或高度感病,其中兰考198、许科718、豫保1号等一些品种在成株期表现中等抗性。2019年Yang等^[1]对234份黄淮海区小麦品种进行茎基腐病抗性鉴定,发现仅有9个品种表现出较好抗性。目前尚未发现高抗或免疫小麦茎基腐病的材料,我国大部分推广品种均感病或高感,虽然杀菌剂结合包衣等农艺措施能降低病害发生率,但是作用有限,因此

抗病品种的筛选和培育仍是防治小麦茎基腐病最为经济、有效和环保的途径^[18-19]。

当前,小麦茎基腐病抗性位点的定位研究已有多个报道,据统计,在小麦的21条染色体上几乎都有定位到茎基腐病抗性位点。首个报道的茎基腐病QTL来源于Kukri和Janz构建的双单倍体(DH, doubled Haploid)群体,定位于4B染色体上矮秆基因*Rht1*附近^[20]。Poole等^[21]利用Sunco/Macon和Sunco/Otis构建的重组自交系(RIL, recombinant inbred lines)群体,在2B、3B、4B、4D和7A染色体上均检测到茎基腐病相关QTL,其中3B上的位点效应最大,可解释36%的表型变异。Jin等^[22]利用一套358份的小麦材料在1B、1D、2A、5A、5D、6B和7B染色体上均定位到茎基腐病抗性位点,其中5D上效应最大。Yang等^[23]利用一套435份偃展1号导入系材料和1个DH群体将茎基腐病抗性位点定位在4B染色体上,该研究进一步克隆了小麦茎基腐病调控基因*TaDIR*,并指出该基因通过调控木质素的含量来显著负调控小麦茎基腐病抗性。综合来看,在众多的抗性位点中,能重复检测到的位点分别位于3B、4B和5D染色体上,这些位点中3B上的效应最大,如何有效地挖掘和利用这些抗性位点是小麦茎基腐病抗性育种的重要研究内容。

小麦茎基腐病近年来发生严重,本研究采用小米培养基接种法对163份当前推广的小麦种质资源进行室内和田间茎基腐病抗性鉴定,进一步利用全基因组关联分析(GWAS, genome-wide association study)和集群分离分析法(BSA, bulked segregant analysis)对抗性位点进行定位,旨在筛选出一些抗性较好的种质资源,并挖掘有效的小麦茎基腐病抗性位点,为今后小麦茎基腐病抗性育种工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为课题组收集的163份当前广泛种植的背景差异较大的小麦种质资源。材料的分布情况为:河南省68份、河北省24份、陕西省19份、山东省17份、江苏省7份、山西省7份、四川省7份、北京市7份、安徽省2份、甘肃省2份、贵州省1份、浙江省1份、宁夏回族自治区1份。

1.2 供试菌株、小米培养基制备及病原菌扩繁方法

供试菌株为当前流行的假禾谷镰孢菌WZ-8A,该菌株致病能力强、流行范围广,由河南农业大学植物保护学院分离提供。

小米培养基制备方法。将大小均匀的小米放入开水中煮沸3 min,捞出后于通风干燥处晾至表面无水,然后装入三角瓶中,扎好瓶口,于121 °C、0.1 Mpa条件下灭菌20 min备用。

病原菌扩繁方法。在超净工作台中,挑取新活化的假禾谷镰孢菌至灭过菌的小米培养基中培养,培养温度为25°C±2°C,培养7 d,每天摇晃两次,确保病原菌扩繁均匀。

1.3 小麦茎基腐病苗期抗性鉴定方法

小麦茎基腐病苗期抗性鉴定于2022年春季在河南农业大学龙子湖校区小麦遗传育种人工气候室内进行,利用小米培养基接种法^[1]进行鉴定,每个材料设置3次重复。称取150 g过筛的无菌土放入8 cm×8 cm小方盒中,每个小盒表面均匀摆种12粒健康的小麦种子,覆土20 g后依次放入托盘中,从托盘底部浇水直至浸透上层土壤,置于温室16 h/8 h光暗交替、温度25 °C/15 °C、湿度60%~80%的环境条件中培养。一周后剔除弱勢苗,在每盒麦苗基部均匀接种0.4 g经过小米培养基扩繁的病原菌接种物,覆盖30 g无菌土后放置于上述条件温室中继续培养,每2 d浇水一次,接菌4周后调查植株表型。

苗期鉴定的分级采用0~9级分级法(图1)^[24]。其中,0级:植株健康无症状;1级:第一叶鞘有轻微症状;3级:第一叶鞘明显变褐或者变黑;5级:第二叶鞘变褐或变黑;7级:第三叶鞘变褐或变黑;9级:植株因病死亡。依据苗期病情分级标准,对植株表型进行鉴定,统计每盒苗对应各病级的总株数,记录数据并计算病情指数(DI, disease index),最终病情指数以3个重复的平均病情指数为准。根据病情指数,抗性评价标准如下^[25]:免疫(I):DI=0;高抗(HR):0.01≤DI≤10.00;中抗(MR):10.01≤DI≤20.00;感病(S):20.01≤DI≤30.00;高感(HS):DI≥30.01。病情指数计算公式为:

$$\text{病情指数(DI)} = \frac{\sum(\text{各病级株数} \times \text{该病级数})}{\text{调查总株数} \times 9} \times 100$$

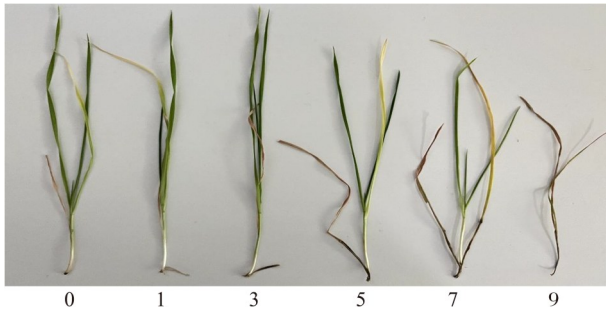


图1 小麦茎基腐病苗期病情分级示例图
Fig.1 Typical FCR symptoms on seedlings in greenhouse investigation

1.4 小麦茎基腐病田间抗性鉴定及评价

小麦茎基腐病田间抗性鉴定于2021-2022年进行,群体材料于2021年10月种植于河南农业大学郑州试验园区。种植前将试验地划分成3 m²(1.5 m×2 m)的小区,将用小米扩繁的病原菌接种物均匀铺撒在土壤表面,每个小区200 g,接种物与表层土壤混合均匀后种植材料,种植时选择双行播种,行距25 cm,每行点播20粒。采用随机区组试验设计,重复两次,田间管理按照一般麦田管理办法进行。

在2022年5月小麦蜡熟期时,每个材料随机选取30个单茎,按照成株期分级标准进行调查并计算病情指数。成株期病情分级标准参照杨云等^[17]的方法:0级:植株茎秆无褐变腐烂症状;1级:第一茎节有褐变腐烂症状;2级:第二茎节有褐变腐烂症状;3级:病斑上升至第二茎节以上,但是没有白穗;4级:植株整株死亡(白穗)。抗性评价标准同1.3,病情指数计算公式为:

$$\text{病情指数(DI)} = \frac{\sum(\text{各病级株数} \times \text{该病级数})}{\text{调查总株数} \times 4} \times 100$$

利用Microsoft Excel 2010软件对群体材料抗性鉴定结果进行整理排序,统计不同抗性区段小麦品种数量,绘制群体茎基腐病抗性分布柱状图;计算苗期和田间鉴定结果的平均病情指数及差异显著性,并进行相关性分析。

1.5 全基因组关联分析

利用小麦90K SNP芯片对群体进行基因分型,采用PLINK软件进行质控,通过GAPIT软件,采用混合线性模型(MLM, mixed linear model)进行全基因组关联分析^[26]。分析中,以 $P < 0.001$ 为标准,将质控后 P 值小于该阈值的SNP判为与表型显著关联的位点。进一步参考中国春基因组数据库(http://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum/Tools/Blast?db=core),对显著SNP定位的位点进行分析。

1.6 群体集群分离分析

根据表型调查结果,从群体中分别选取10个病情指数低于35和高于65的材料进行室内种植和接菌处理,种植和接菌方法同1.3,接菌4 d后选取材料茎基部组织等量混合,构建极端抗、感材料的混池,进一步利用小麦660K SNP芯片进行全基因组扫描。根据基因分型结果,剔除分型成功率低于90%的SNP位点后,对检测的显著SNP进行统计分析,确定定位区段^[27]。

2 结果与分析

2.1 小麦种质资源茎基腐病的抗性分布及各区段代表材料

通过调查可知,室内(E1)和田间(E2)鉴定的小麦资源材料均不同程度感染小麦茎基腐病,且大部分材料高感(详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230718001>,附表1);群体的茎基腐病抗性能被很好区分,整体上呈现正态分布趋势,但没有鉴定出高抗或者免疫的小麦品种(图2)。统计分析发现,室内和田间鉴定中抗($10.01 \leq DI \leq 20.00$)的小麦资源分别有2份(矮丰3号、西农881)和3份(陇麦157、怀麦19、矮丰3号),占鉴定总数的1.2%和

1.8%;感病($20.01 \leq DI \leq 30.00$)的小麦资源分别有11份和12份,占鉴定总数的6.7%和7.4%;高感的小麦资源($DI \geq 30.01$)分别有150份和148份,占鉴定总数的92.0%和90.8%。进一步分析发现,大部分材料的病情指数集中在40~60之间,室内和田间鉴定分别有77份和93份,占鉴定总数的47.2%和57.1%。各抗性区段的代表材料见表1。综合来看,按照常规的抗性评价标准分析,虽然绝大多数材料的茎基腐病抗性属于感病至高感,但是方差分析表明,不同品种的茎基腐病抗性存在极显著差异,因此,对小麦资源进行茎基腐病抗性鉴定并按病情指数进行区段分类具有重要意义。

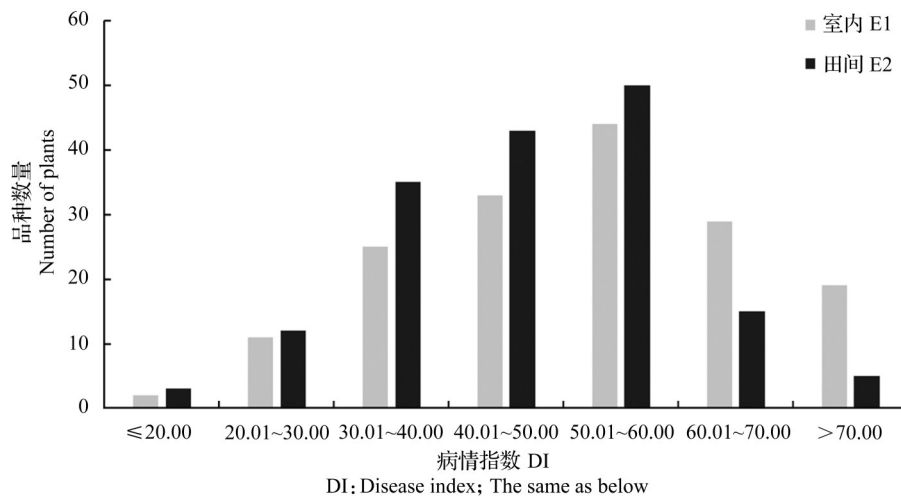


图2 材料间小麦茎基腐病的抗性分布区段

Fig.2 Number of wheat accessions at different levels for resistance to FCR

表1 室内及田间茎基腐病不同抗性区段的代表材料

Table 1 The representative accessions with different resistance level to FCR in greenhouse and field

病情指数 DI	代表材料(DI-苗期 / DI-田间)				
	Representative accessions (DI-seedling / DI-field)				
≤30.00	矮丰3号 (13.28 / 15.57)	泛麦5号 (22.22 / 22.68)	陕农7859 (28.89 / 26.09)	陇麦157 (20.20 / 10.27)	淮麦19 (29.00 / 19.33)
30.01~40.00	周麦18 (32.22 / 38.26)	冀麦32 (33.00 / 31.00)	豫农211 (33.33 / 31.64)	鲁麦23 (33.33 / 31.35)	周麦23 (36.11 / 33.19)
40.01~50.00	西农979 (42.22 / 40.17)	晋麦50 (43.21 / 46.86)	品冬34 (46.03 / 47.52)	偃展4110 (48.89 / 48.77)	陕合6号 (50.00 / 40.06)
50.01~60.00	百农64 (56.56 / 50.08)	豫农201 (55.56 / 50.70)	豫麦1号 (53.09 / 57.57)	郑麦98 (55.56 / 57.51)	烟农15 (58.02 / 51.77)
60.01~70.00	郑麦8998 (65.08 / 60.90)	冀C527-2 (65.08 / 68.49)	冀麦30 (66.67 / 67.58)	西安93991矮 (66.67 / 63.86)	扬麦4号 (68.89 / 60.76)
>70.00	邢麦1号 (70.37 / 70.83)	核生2号 (71.72 / 70.48)	河农35 (74.60 / 72.77)	北农大92 (80.00 / 72.98)	中农28 (83.33 / 73.89)

2.2 小麦种质资源茎基腐病抗性的总体范围及相关性分析

对当前广泛种植的小麦种质资源材料进行室内(E1)及田间(E2)茎基腐病抗性鉴定,群体的抗性分布范围及两环境的相关性如表2所示。由表2可知,室内和田间群体的茎基腐病病情指数分布范围分别为13.28~83.33和10.27~73.89,平均病情指数分别为51.73和46.49,说明室内平均病情指数显著高于田间平均病情指数。进一步对两环境鉴定结果进行相关性分析,其相关系数为0.79,并达到极显著

表2 不同环境间材料病情指数的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of disease index of wheat accessions in different environments

环境	最小值	最大值	平均数	相关系数
Environments	Min.	Max.	Average	Correlation coefficient
室内E1	13.28	83.33	51.73 **	0.79 **
田间E2	10.27	73.89	46.49	

** : 差异极显著 ($P < 0.01$)

** : Significant difference ($P < 0.01$)

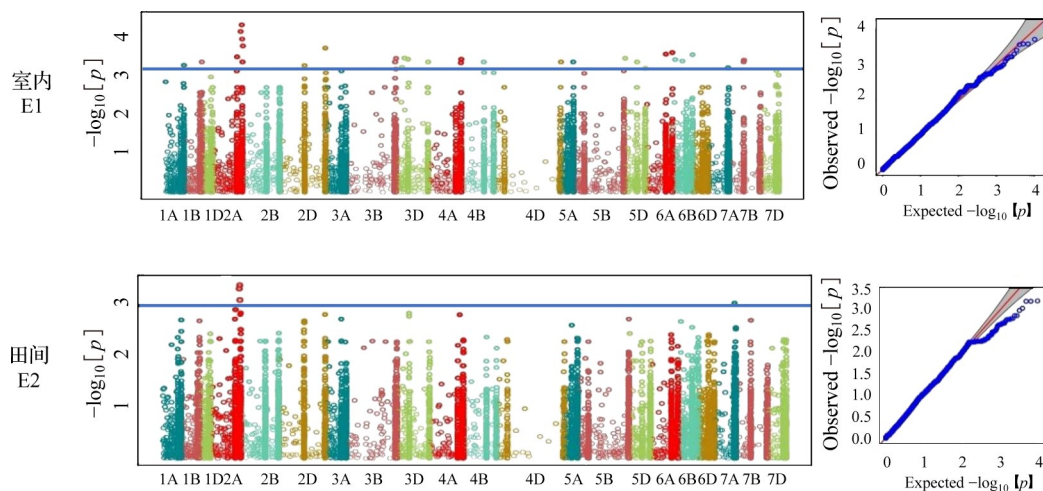


图3 群体不同环境茎基腐病的全基因组关联分析

Fig.3 The GWAS analysis of FCR in different environments

2.4 群体集群分离分析

根据表型调查结果,选取群体中抗、高感极端材料分别种植、接菌,构建混池后进行BSA分析。结果显示,共检测到784个差异SNP标记,这些标记广泛分布于小麦21条染色体上,其中2A上最多,有188个,占总差异标记的23.98%(图5A)。进一步对2A上的差异SNP标记进行统计分析,发现有152个分布在700~780 Mb之间,主要集中在730~750 Mb区间内(图5B),说明该区段附近可能存在调控小麦茎基腐病的抗性基因。

著相关水平($P < 0.01$)。此研究表明,室内和田间小麦茎基腐病抗性鉴定具有较高相关性,室内鉴定结果可较好反应田间抗性情况。

2.3 群体全基因组关联分析

为挖掘材料中的茎基腐病抗性位点,对群体进行小麦茎基腐病抗性鉴定后,计算病情指数并评价材料抗性,利用PLINK软件对群体基因型进行质控,利用质控后的20690个标记进行GWAS分析(图3)。结果显示,共检测到57个与小麦茎基腐病显著关联的SNP,主要分布在2A、2D、3B、3D、4B、5D、6A、6B和7A上(图4),其中2A染色体上最多,7A其次(详见<https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230718001>,附表2、附表3)。进一步分析发现,2A染色体上能重复检测到的显著SNP标记为RAC875_c19282_1102、Excalibur_c49077_94、RAC875_c42310_173和BobWhite_c28726_131等,这些标记定位的主要区段为725~763 Mb,说明该区段附近可能存在调控小麦茎基腐病的有效位点。

结合上述GWAS分析和BSA分析,两种定位方法的共定位区段为2A染色体的730~750 Mb之间,该区段可能存在调控小麦茎基腐病的抗性基因。参考中国春基因组注释信息,对2A染色体上730~750 Mb区段内基因进行分析,发现该区段内共有324个注释基因(http://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum/Tools/Blast?db=core),这些基因广泛参与植物的生长发育及抗病抗逆等各项生命活动,后续将结合其他方法对该区段内的抗性基因进行深入挖掘。



红色标记为室内和田间共同检测到的 SNP

The SNPs marked red were identified both in greenhouse and field

图 4 各染色体上显著 SNP 分布图

Fig.4 The distribution of significant SNPs on each chromosome

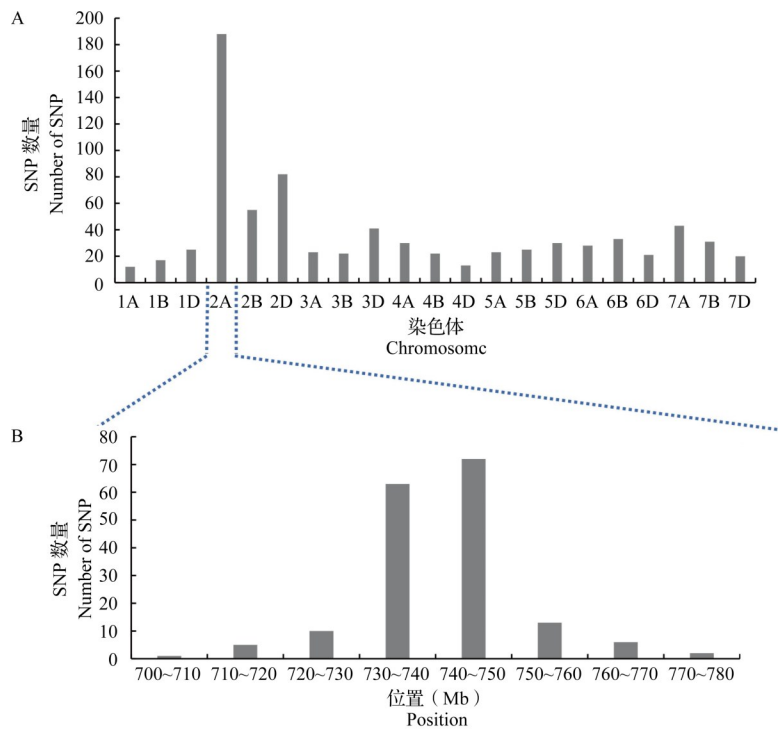


图 5 群体极端材料 BSA 分析图

Fig.5 The BSA analysis of the extremely materials to FCR

3 讨论

小麦茎基腐病发生范围广、危害严重,近年来呈现出不断蔓延和加重的趋势,因此,如何快速准确地筛选出稳定的抗病品种是防治茎基腐病首要解决的问题。小麦茎基腐病的接种方法和抗性分类有很多报道,目前使用较多的有棉球接种法、茎基部滴注法、幼苗浸泡法和天然谷物接种法等^[28]。在这些鉴定方法中,茎基部滴注法和幼苗浸泡法操作复杂、实验误差较大,不同品种间的抗性无法得到明显区分;天然谷物接种法和棉球接种法相对有效和简便,但棉球接种法倾向于病原菌的致病力检测,天然谷物接种法更适合群体抗性鉴定^[29]。本研究采用小米培养基接种法,利用当前侵染范围广且致病力强的假禾谷镰孢 WZ-8A 对群体进行室内苗期及田间成株期抗性鉴定。鉴定结果表明,各材料抗性得到了很好区分,苗期和成株期群体病情指数分布范围分别在 13.28~83.33 和 10.27~73.89 之间,且苗期和成株期的相关系数为 0.79,说明苗期抗性能很好地反映成株期抗性。进一步比较发现,苗期鉴定的病情指数比成株期分布更广,且平均病情指数更高,说明室内鉴定选择压力较大,材料在室内鉴定能得到更好地区分,也反映田间环境的复杂性。综合来看,该鉴定方法分级标准明确、操作简单,可为后期大规模群体的抗性鉴定提供参考,并为进一步的定位分析打下基础。

种植抗病品种是小麦病害防治过程中最经济、安全、有效的方法。由于当前小麦生产中缺乏有效的茎基腐病抗性品种,近年来该病的发生面积和产量损失给小麦生产带来严重威胁。本研究对 163 份广泛种植的小麦种质资源进行了室内及田间茎基腐病抗性鉴定,在所有鉴定材料中,没有发现高抗和免疫的小麦品种,且鉴定的大部分材料表现出高感。值得注意的是,本研究虽然没有鉴定出高抗和免疫的材料,但对不同抗性区段的品种进行分类种植同样具有重要意义^[1]。对于室内和田间病情指数均低于 30 的抗性较好品种,如泛麦 5 号、陕农 7859、矮丰 3 号等,可种植于茎基腐病高发地区,并结合加强田间管理和药剂防治以达到理想的茎基腐病防治效果。对于病情指数分布于 40~60 之间的感病品种,如西农 979、品冬 34、豫麦 1 号等,应根据地域特点和材料优良性状进行综合考量以实现种植材料的最大化利用。对于病情指数大于 70 的高感材料,如核生 2 号、中农 28、北农大 92 等,应尽可能避免在

茎基腐病高发地区使用,以减轻病害带来的损失。因此,明确材料病情指数抗性区段,并结合种植地区环境条件及气候特点来合理布植,对防治病害具有重要意义。

小麦茎基腐病是由多个微效基因控制的一种典型数量性状病害,当前,多个报道对小麦茎基腐病进行了定位分析。据统计,小麦茎基腐病抗性位点广泛分布于小麦各条染色体上,其中在多个研究中能重复检测的位点分别位于 3B、4B 和 5D 染色体,但是这些位点往往只含有部分抗性,或者抗性不稳定,且使用范围较为狭窄^[30]。此外,以往的定位方法多使用传统的 QTL 定位,定位过程中多使用几百个简单的 RFLP、SSR 或 DArT 等标记,有限的标记数量及标记自身质量严重限制了定位结果的准确性^[31]。本研究利用全基因组关联分析(GWAS)结合集群分离分析法(BSA)对广泛种植的小麦种质资源自然群体进行定位,GWAS 分析方法采用过滤后的 20690 个高密度 SNP 标记对遗传背景丰富的自然群体进行连锁不平衡分析,能够有效地筛选出与表型关联的分子标记,从而实现快速准确地定位;BSA 分析方法利用极端表型材料进行分析,可快速检测位于特定染色体区段的标记,已成为挖掘重要性状的常用手段^[32]。本研究充分结合 GWAS 和 BSA 分析方法的优点,将小麦自然群体中茎基腐病抗性位点定位于 2A 染色体的 730~750 Mb 区段内。进一步比较可知,该位点区别于以往 2A 染色体上定位的抗性位点,是一个新的抗性区段。对该区段抗性位点进行抗病基因挖掘和利用,将有效改善小麦种质资源茎基腐病的抗性基础。后续将进一步对该区段进行深入分析,以找出区段内的抗病基因应用于小麦的茎基腐病防治。

近年来,小麦茎基腐病在我国各大麦区甚至世界各地不断蔓延和加重,已逐渐上升为小麦主要病害。然而,抗性品种的缺失、鉴定方法和评价标准的不统一,导致病害研究进展缓慢。2022 年中国科协将小麦茎基腐病的暴发成因和科学防控列入我国十大产业技术问题之一,这对推动我国小麦茎基腐病研究具有重要意义。针对小麦茎基腐病的研究,统一接种鉴定及评价标准、扩大种质资源的筛选范围、挖掘有效的抗性位点及抗病基因对实现该病害绿色防控具有重要作用。本研究通过对小麦种质资源进行室内和田间茎基腐病抗性鉴定和筛选,挖掘出一批抗性较好的小麦资源,进一步利用 GWAS 和 BSA 等分析方法对抗性位点进行定位,找到一个

显著的茎基腐病抗性位点区段,本研究可为我国小麦茎基腐病抗性育种提供重要参考。

参考文献

- [1] Yang X, Pan Y, Singh P K, He X Y, Ren Y, Zhao L, Zhang N, Cheng S H, Chen F. Investigation and genome-wide association study for *Fusarium* crown rot resistance in Chinese common wheat. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1):153
- [2] Pariyar S R, Erinbas-Orakci G, Dadshani S, Chijioke O B, Leon J, Dababat A A, Grundler F M W. Dissecting the genetic complexity of *Fusarium* crown rot resistance in wheat. *Scientific Reports*, 2020, 10(1):3200
- [3] Kazan K, Gardiner D M. *Fusarium* crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: Recent progress and future prospects. *Molecular Plant Pathology*, 2018, 19(7): 1548
- [4] Backhouse D, Abubakar A A, Burgess L W, Dennis J I, Hollaway G J, Wildermuth G B, Wallwork H, Henry F J. Survey of *Fusarium* species associated with crown rot of wheat and barley in eastern Australia. *Australasian Plant Pathology*, 2004, 33(2): 255
- [5] Kettle A J, Batley J, Benfield A H, Manners J M, Kazan K, Gardiner D M. Degradation of the benzoxazolinone class of phytoalexins is important for virulence of *Fusarium pseudograminearum* towards wheat. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(9): 947
- [6] Smiley R W. *Fusarium* crown rot whitehead symptom as influenced by wheat crop management and sampling date. *Plant Disease*, 2019, 103(10): 2612
- [7] Sohail Q, Erginbas O G, Ozdemir F, Jighl Y A, Dreisigacker S, Bektas H, Birisik N, Ozkan H, Dababat A A. Genome-wide association study of root-lesion nematodes *pratylenchus* species and crown rot *Fusarium culmorum* in bread wheat. *Life*, 2022, 12(3): 372
- [8] Xu F, Yang G Q, Wang J M, Song Y L, Liu L L, Zhao K, Li Y H, Han Z H. Spatial distribution of root and crown rot fungi associated with winter wheat in the North China Plain and its relationship with climate variables. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9:1054
- [9] Fan X F, Yan Z, Yang M X, Waalwijk C, Lee T, Diepeningen A V, Brankovics B, Chen W Q, Feng J, Zhang H. Contamination and translocation of deoxynivalenol and its derivatives associated with *Fusarium* crown rot of wheat in Northern China. *Plant Disease*, 2021, 105(11): 3397
- [10] Mandala G, Geoloni C, Busato I, Favaron F, Tundo S. Transgene pyramiding in wheat: Combination of deoxynivalenol detoxification with inhibition of cell wall degrading enzymes to contrast *Fusarium* Head Blight and Crown Rot. *Plant Science*, 2021, 313: 111059
- [11] Beccari G, Prodi A, Pisi A, Senatore M T, Balmas V, Tini F, Onofri A, Pedini L, Sulyok M, Brocca L, Covarelli L. Cultivation area affects the presence of fungal communities and secondary metabolites in Italian durum wheat grains. *Toxins*, 2020, 12(2):97
- [12] Duan S N, Jin J J, Gao Y T, Jin C L, Mu J Y, Zhen W C, Sun Q X, Xie C J, Ma J. Integrated transcriptome and metabolite profiling highlights the role of benzoxazinoids in wheat resistance against *Fusarium* crown rot. *The Crop Journal*, 2022, 10(2): 407
- [13] Jin J J, Duan S N, Qi Z Y, Zhen W C, Ma J. Identification of proteins associated with *Fusarium* crown rot resistance in wheat using label-free quantification analysis. *Journal of Integrative Agriculture*, 2021, 20(12): 3209
- [14] 崔晓敬,陈洁,岳建超.小麦茎基腐病的发生与综合防治.园艺与种苗, 2022, 7: 64-65
- Cui X J, Chen J, Yue J C. Occurrence and comprehensive control of wheat crown rot. *Horticulture & Seed*, 2022, 7: 64-65
- [15] 李怡文,李桂香,黄中乔,苗建强,刘西莉.假禾谷镰孢引起的小麦茎基腐病发生危害与防控研究进展.农药学学报, 2022, 24(5): 949-961
- Li Y W, Li G X, Huang Z Q, Miao J Q, Liu X L. Research progress on the occurrence, damage and prevention of *Fusarium* crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum*. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2022, 24(5): 949-961
- [16] 赵利民,吕国强,何洋,冯贺奎,彭红.河南省小麦茎基腐病发生现状及综合防控措施.中国植保导刊, 2022, 42(05): 49-51
- Zhao L M, Lv G Q, He Y, Feng H K, Peng H. Occurrence status and integrated control measures of wheat crown rot in Henan province. *China Plant Protection*, 2022, 42(5): 49-51
- [17] 杨云,贺小伦,胡艳峰,侯莹,牛亚娟.黄淮海区主推小麦品种对假禾谷镰刀菌所致茎基腐病的抗性.麦类作物学报, 2015, 35(3): 339-345
- Yang Y, He X L, Hu Y F, Hou Y, Niu Y J. Resistance of wheat cultivars in Huang-Huai region of China to crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum*. *Journal of Triticeae Crops*, 2015, 35(3): 339-345
- [18] Ren Y, Hou W X, Lan C X, Basnet B, Singh R P, Zhu W, Cheng X Y, Cui D Q, Chen F. QTL analysis and nested association mapping for adult plant resistance to powdery mildew in two bread wheat populations. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1212
- [19] Lan C X, Basnet B R, Singh R P, Huerta-Espino J, Herrera-Foessel S A, Ren Y, Randhawa M S. Genetic analysis and mapping of adult plant resistance loci to leaf rust in durum wheat cultivar Bairds. *Theoretical & Applied Genetics International Journal of Breeding Research & Cell Genetics*, 2017, 130(3):609
- [20] Wallwork H, Butt M, Cheong J P E, Williams K J. Resistance to crown rot in wheat identified through an improved method for screening adult plants. *Australasian Plant Pathology*, 2004, 33: 1-7

- [21] Poole G J, Smiley R W, Paulitz T C, Walker C A, Carter A H, See D R, Garland-Campbell K. Identification of quantitative trait loci (QTL) for resistance to *Fusarium crown rot* (*Fusarium pseudograminearum*) in multiple assay environments in the Pacific Northwestern US. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(1): 91-107
- [22] Jin J J, Duan S N, Qi Y Z, Yan S H, Li W, Li B Y, Xie C J, Zhen W C, Ma J. Identification of a novel genomic region associated with resistance to *Fusarium crown rot* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133 (7): 2063-2073
- [23] Yang X, Zhong S B, Zhang Q J, Ren Y, Sun C W, Chen F. A loss-of-function of the dirigent gene TaDIR-B1 improves resistance to *Fusarium crown rot* in wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19 (5): 866-868
- [24] Mitter V, Zhang M C, Liu C J, Ghosh R, Ghosh M. A high-throughput glasshouse bioassay to detect crown rot resistance in wheat germplasm. *Plant Pathology*, 2006, 55(3): 433
- [25] 陆宁海, 吴利民, 郎剑锋, 杨蕊, 李营营. 小麦茎基腐病苗期抗病性鉴定. *贵州农业科学*, 2015, 43(10): 119-121
Lu N H, Wu L M, Lang J F, Yang R, Li Y Y. Identification and of different wheat seedlings with resistance to crown rot. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2015, 43(10): 119-121
- [26] Sun C W, Zhang F Y, Yan X F, Zhang X F, Dong Z D, Cui D Q, Chen F. Genome-wide association study for 13 agronomic traits reveals distribution of superior alleles in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(8): 953-969
- [27] 耿君佑, 陈建辉, 董中东, 任妍, 张宁, 孙丛苇, 陈锋, 赵磊. 小麦芒性基因的定位与候选基因分析. *植物遗传资源学报*, 2021, 22 (4): 1090-1098
Geng J Y, Chen J H, Dong Z D, Ren Y, Zhang N, Sun C W, Chen F, Zhao L. Mapping and candidate gene analysis of awn type in common wheat. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22 (4): 1090-1098
- [28] 周森平, 姚金保, 张鹏, 余桂红, 马鸿翔. 小麦抗茎腐病种质筛选及鉴定新方法的建立. *植物遗传资源学报*, 2016, 17(2): 377-382
Zhou M P, Yao J B, Zhang P, Yu G H, Ma H X. Screening of germplasm and establishment of new evaluation method for the resistance to wheat crown rot. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(2): 377-382
- [29] 张鹏, 霍燕, 周森平, 姚金保, 马鸿翔. 小麦禾谷镰孢菌茎基腐病抗源的筛选与评价. *植物遗传资源学报*, 2009, 10(3): 431-435
Zhang P, Huo Y, Zhou M P, Yao J B, Ma H X. Identification and evaluation of wheat germplasm resistance to crown rot caused by *Fusarium graminearum*. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, 10(3): 431-435
- [30] Lv G G, Zhang Y X, Ma L, Yan X N, Yuan M J, Chen J H, Cheng Y Z, Yang X, Qiao Q, Zhang L L, Niaz M, Sun X N, Zhang Q J, Zhong S B, Chen F. A cell wall invertase modulates resistance to fusarium crown rot and sharp eyespot in common wheat. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2023, 65(7): 1814-1825
- [31] Flint-Garcia S A. Genetics and consequences of crop domestication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(35): 8267-8276
- [32] 陈浣, 夏菲, 吴新儒, 孙玉合. 集群分离分析法在植物基因定位上的应用. *基因组学与应用生物学*, 2016, 35(6): 1546-1551
Chen H, Xia F, Wu X R, Sun Y H. The application of bulked segregant analysis in plant gene mapping. *Genomics and Applied Biology*, 2016, 35(6): 1546-1551

附表 1 室内及田间小麦品种茎基腐病表型鉴定结果

Table S1 The phenotype identification of wheat accessions for FCR in greenhouse and field

编号 No.	名称 Name	DI-苗期 DI-seedling	DI-田间 DI-field	编号 No.	名称 Name	DI-苗期 DI-seedling	DI-田间 DI-field	编号 No.	名称 Name	DI-苗期 DI-seedling	DI-田间 DI-field
1	中国春	45.00	33.22	56	石 4185	52.78	33.53	111	陕 225	55.56	36.75
2	石 84-7111	27.00	36.10	57	郑花 0840-3	68.25	43.17	112	邯 98-4025	63.89	54.37
3	新麦 9987	63.89	51.14	58	偃 893 选	33.33	42.57	113	NP209-1-2-1	75.56	61.43
4	新麦 19	46.67	35.30	59	百农 64	56.56	50.08	114	平阳 181	70.37	50.28
5	邯 4589	51.11	40.85	60	莱州 953	43.21	41.94	115	豫麦 2 号	67.90	58.49
6	内乡 182	50.62	40.51	61	开麦 18	75.56	67.03	116	宿 553	69.44	53.50
7	冀 923235	26.67	25.40	62	济麦 20	47.22	50.51	117	京 411	65.08	53.66
8	04 中 70	40.00	31.69	63	郑麦 9023	36.51	35.71	118	徐州 14	60.00	51.91
9	高优 503	68.89	54.23	64	洛早 3 号	43.21	38.61	119	扬麦 4 号	68.89	60.76
10	远丰 898	67.90	51.56	65	陇麦 157	20.20	10.27	120	扬麦 5 号	75.00	59.74
11	晋麦 50	43.21	46.86	66	陇麦 862	33.33	25.08	121	渭麦 4 号	70.37	58.29
12	晋麦 54	60.00	42.18	67	鹤麦 026	31.00	21.68	122	中农 28	83.33	73.89
13	豫麦 47	36.11	40.31	68	矮抗 58	42.00	35.10	123	北京 841	24.44	37.27
14	冀矮小麦 1 号	58.02	47.60	69	豫农 202	33.33	23.22	124	南大 2419	48.15	51.05
15	庆丰 1 号	62.96	47.13	70	豫麦 57	23.81	24.30	125	师 02-1	52.00	41.00
16	鲁麦 15	51.11	39.11	71	淮麦 19	29.00	19.33	126	苏麦 3 号	64.44	55.81
17	晋麦 33	62.22	45.13	72	博农 5 号	44.44	36.58	127	陕早 8675	53.33	58.64
18	晋麦 47	48.89	34.30	73	豫麦 41	33.00	26.12	128	丰抗 8 号	45.49	53.80
19	BN160	55.56	49.67	74	鲁麦 23	33.33	31.35	129	冀审 5099	61.90	59.50
20	豫麦 13	38.89	31.25	75	矮丰 3 号	13.28	15.57	130	邯 94-5316	72.84	57.90
21	冀麦 36	50.62	35.77	76	品冬 34	46.03	47.52	131	陕 354	61.90	56.23
22	冀麦 41	27.78	30.84	77	西农 881	19.11	41.80	132	邯 97-5297	51.11	58.98
23	陕 160	53.33	41.51	78	豫麦 51	55.56	47.61	133	烟优 361	74.07	69.67
24	小偃 4 号	40.74	29.35	79	冀矮 9 号	45.00	47.02	134	郑麦 98	55.56	57.51
25	鲁麦 19	57.78	44.92	80	豫麦 58	33.33	34.54	135	宁春 10 号	49.00	50.11
26	晋麦 49	57.78	37.17	81	冀 C522-9	77.78	47.27	136	郑麦 9201	58.02	50.06
27	豫麦 10 号	80.25	58.96	82	豫农 416	45.56	39.54	137	临抗 5027	51.11	59.02
28	冀麦 26	55.56	43.06	83	周麦 23	36.11	33.19	138	新引 13-2	70.37	67.34
29	冀麦 30	66.67	67.58	84	豫麦 50	55.56	46.06	139	川育 10 号	45.89	52.54
30	华北 187	57.78	55.04	85	豫麦 3 号	44.44	39.81	140	邢麦 1 号	70.37	70.83
31	新麦 18	61.73	47.92	86	豫麦 9 号	60.49	54.49	141	郑州 005	48.15	53.41
32	豫麦 53	52.78	41.10	87	豫麦 55	30.56	32.97	142	郑麦 8998	65.08	60.90
33	内乡 184	40.74	45.07	88	周麦 22	48.15	57.98	143	烟农 15	58.02	51.77
34	晋麦 61	30.86	27.44	89	豫麦 52	35.80	46.06	144	川麦 8 号	77.78	69.67
35	周麦 16	61.11	55.73	90	豫麦 14 优	40.00	37.62	145	北大农 92	80.00	72.98
36	郑麦 004	60.49	38.47	91	豫麦 4 号	46.46	55.59	146	郑州 8761	66.67	48.10
37	偃展 4110	48.89	48.77	92	豫麦 1 号	53.09	57.57	147	偃师 16	57.56	58.69
38	豫农 9901	44.44	35.27	93	西农 979	42.22	40.17	148	山农 M17	62.22	53.30
39	濮麦 9 号	68.89	56.20	94	豫农 201	55.56	50.70	149	冀 C527-2	65.08	68.49
40	周麦 18	32.22	38.26	95	郑麦 9694	66.67	55.73	150	绵阳 8640	49.67	66.53

41	泛麦 5 号	22.22	22.68	96	豫农 209	41.67	43.52	151	贵农 16	77.78	64.09
42	兰考矮早 8	38.27	32.90	97	绵阳 86-11	59.26	40.94	152	河农 35	74.60	72.77
43	太空 6 号	55.56	66.18	98	川 77-1293	62.96	52.25	153	绵阳 8168-0-14	48.15	41.94
44	陕 229	56.94	48.85	99	双吉 2 号	58.33	53.99	154	济早 2 号	60.00	58.29
45	陕农 7859	28.89	26.09	100	京双 16	38.27	41.65	155	宛 798	55.56	61.54
46	西农 6028	55.56	56.51	101	鲁麦 14	25.93	26.62	156	新麦 13	55.56	44.90
47	昌乐 5 号	48.89	44.85	102	京双 2 号	40.00	33.50	157	山农 413863	47.22	62.02
48	豫农 035	33.33	33.90	103	昌农 339-5-1	48.15	39.11	158	陕 89150	51.11	59.76
49	陕合 6 号	50.00	40.06	104	昌潍 18	50.00	44.69	159	西安 93991 矮	66.67	63.86
50	冀麦 32	33.00	31.00	105	原协 62	65.43	48.81	160	皖宿 9908	55.56	28.74
51	豫农 211	33.33	31.64	106	济南 17	72.84	53.16	161	郑优 6 号	33.33	47.61
52	扬麦 12	57.14	41.80	107	SW601	55.56	52.56	162	济麦 1 号	55.56	60.09
53	豫麦 8 号	22.22	33.44	108	丰优 6 号	52.38	46.69	163	核生 2 号	71.72	70.48
54	优麦 2 号	30.56	31.18	109	蒿城 8901	74.60	58.41				
55	新麦 3306	55.56	42.89	110	小偃 6 号	60.49	52.56				

附表 2 室内及田间全基因组关联分析显著 SNP 结果

Table S2 The significant SNP identified by GWAS in greenhouse and field

环境	显著 SNP	染色体	物理位置	P 值	较小等位基因频率	可解释的表型变异	矫正后 P 值
Environments	Significant SNP	Chr.	Position	P.value	maf	Rsquare with SNP	Adjusted_P-values
室内	Excalibur_c5443_473	1A	3917396	5.44E-03	0.25786164	0.32625388	0.40598906
E1	BS00030770_51	1B	3812342	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	Excalibur_c19640_270	1D	2241915	2.32E-03	0.28301887	0.33452847	0.36703485
	GENE-1246_417	2A	5203194	7.59E-03	0.13836478	0.32305965	0.42956109
	Kukri_c2009_463	2A	5309087	3.27E-03	0.40566038	0.33117658	0.36703485
	Kukri_c31381_1690	2A	6419270	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	RAC875_c19282_1102	2A	725346623	2.34E-05	0.41509434	0.35358267	0.37557200
	Ku_c4168_547	2A	732853373	4.54E-05	0.31761006	0.37201390	0.42956109
	BobWhite_c9164_182	2A	737046165	4.54E-04	0.38993711	0.36029584	0.36703485
	BS00064436_51	2A	741827498	3.44E-04	0.23899371	0.36821871	0.36703485
	RAC875_c42310_173	2A	745265261	5.65E-04	0.13207547	0.36322187	0.36703485
	BobWhite_c28726_131	2A	747616716	6.34E-04	0.3081761	0.35821871	0.42823733
	Excalibur_c49077_94	2A	762900354	8.15E-04	0.14150943	0.36431871	0.36703485
	Kukri_c49522_313	2D	5346401	5.49E-03	0.12578616	0.32615269	0.40598906
	Excalibur_rep_c84765_764	2D	9849225	1.98E-03	0.36477987	0.33610106	0.36703485
	D_contig01089_344	2D	9910957	8.46E-03	0.39622642	0.32201390	0.42956109
	Kukri_c8475_305	3A	3424555	7.59E-03	0.13836478	0.32305965	0.42956109
	Kukri_c8223_1889	3B	10513282	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	Kukri_c23811_506	3B	10567348	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	Ra_c52736_1354	3B	10718708	6.88E-03	0.17610063	0.32399885	0.42956109
	CAP7_rep_c12123_125	3B	10766856	3.58E-03	0.29874214	0.33029584	0.36703485
	Excalibur_rep_c68757_1424	3D	1281392	6.10E-03	0.40566038	0.32514270	0.42823733
	Excalibur_c42974_156	3D	1847392	3.56E-03	0.29559748	0.33034342	0.36703485
	D_contig79290_372	3D	2602309	3.80E-03	0.25471698	0.32970619	0.36703485
	D_GB5Y7FA01EVJPB_299	3D	6951310	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	Ex_c5902_1448	4A	7034100	4.72E-03	0.41194969	0.32761765	0.37557200
	tplb0024b15_1494	4A	7171600	3.81E-03	0.31761006	0.32970153	0.36703485
	Kukri_c1985_1666	4B	4863679	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	Tdurum_contig12453_246	4B	4930327	8.31E-03	0.38993711	0.32218544	0.42956109
	BS00063008_51	4B	6972721	8.44E-03	0.14465409	0.32203887	0.42956109
	Kukri_c32686_1714	4D	14472296	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	RAC875_c11532_308	5A	2671066	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	TA004167-0738	5B	2244027	8.78E-03	0.25786164	0.32166712	0.42956109
	Tdurum_contig47033_241	5B	10853003	7.59E-03	0.13836478	0.32305965	0.42956109
	RAC875_c51670_117	5D	171781	3.59E-03	0.25157233	0.33027221	0.36703485
	D_GBF1XID01CPPTH_149	5D	2736800	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	BS00019894_51	5D	4605329	6.43E-03	0.3081761	0.32464854	0.42885423
	BS00110963_51	6A	4353667	3.44E-04	0.23899371	0.35358267	0.36703485
	Kukri_s90839_74	6A	4403209	2.80E-03	0.30188679	0.33268713	0.36703485
	wsnp_Ku_rep_c71567_71302	6A	5834888	2.58E-03	0.05974843	0.33348331	0.36703485

	RAC875_c31381_883	6B	583151	3.90E-03	0.46540881	0.32947388	0.36703485
	RAC875_c4198_1065	6B	2085254	4.24E-03	0.28930818	0.32864761	0.36703485
	wsnp_Ex_c3854_7003399	6B	4291198	2.90E-03	0.13207547	0.33233058	0.36703485
	GENE-4826_86	7A	4251750	6.21E-03	0.14779874	0.32497693	0.42823733
	JG_c225_999	7B	3089122	4.44E-03	0.41509434	0.32821871	0.36703485
	Excalibur_c19288_288	7B	3132722	4.01E-03	0.28930818	0.32919262	0.36703485
	RAC875_c43810_265	7D	3386058	7.43E-03	0.3081761	0.32325203	0.42956109
	IAAV649	7D	3956020	9.65E-03	0.14150943	0.32076901	0.42956109
田间	Excalibur_c7444_391	2A	1916734	6.81E-03	0.375	0.29484665	0.67108711
E2	RAC875_c19282_1102	2A	725346623	4.54E-04	0.3899371	0.31029584	0.67108711
	RAC875_c42310_173	2A	745265261	5.65E-04	0.1320755	0.29322187	0.67108711
	BobWhite_c28726_131	2A	747616716	6.34E-04	0.3081761	0.29821871	0.67108711
	Excalibur_c49077_94	2A	762900354	8.15E-04	0.1415094	0.30431871	0.67108711
	BS00010115_51	4B	4952162	3.72E-03	0.2361111	0.30173274	0.67108711
	Ku_c4397_1536	5D	2749021	2.58E-03	0.0555556	0.30593109	0.67108711
	RAC875_c16313_1175	5D	4605538	6.24E-03	0.0416667	0.29583660	0.67108711
	BS00110963_51	6A	4353667	6.86E-03	0.1909722	0.32143543	0.67108711
	wsnp_Ex_c3854_7003399	6B	4291198	4.83E-03	0.0972222	0.29873236	0.67108711
	GENE-4654_196	7A	4180681	5.80E-03	0.0555556	0.29665621	0.67108711
	wsnp_RFL_Contig4475_5295587	7A	4193923	2.50E-03	0.0625	0.30629937	0.67108711
	GENE-4826_86	7A	4251750	7.89E-03	0.1215278	0.29318813	0.67108711
	Kukri_c26118_583	7A	4388478	5.80E-03	0.0555556	0.29665621	0.67108711
	Kukri_c28917_96	7B	6742105	1.84E-03	0.0486111	0.30983303	0.67108711
	RAC875_c43810_265	7D	3386058	9.54E-03	0.2743056	0.29105249	0.67108711
	tplb0026e22_471	7D	3924494	2.50E-03	0.0625	0.30629937	0.67108711

加粗表示在室内 E1 和田间 E2 环境下都能检测到的显著 SNP

The bold represent the significant SNPs that can be identified in both greenhouse and field