

西藏青稞遗传多样性及粒色全基因组关联分析

乔云祥^{1,2} 王艳彩^{1,2} 凌勃^{1,2} 马海娟^{1,2} 冯西博^{1,2}

(¹ 西藏农牧大学植物科学学院, 860000, 西藏林芝; ² 高原作物种质资源保护与利用实验平台, 860000, 西藏林芝)

摘要 西藏青稞遗传变异丰富, 籽粒颜色多样。利用 22 个多态性 SSR 标记对 327 份西藏地方青稞材料群体的遗传多样性进行检测, 并对籽粒颜色、遗传相似度及遗传结构等进行分析。结果表明, 22 个 SSR 标记从 327 份材料中共检测出 76 个等位变异, 变异范围为 2~6。基因多样性指数在 0.3405~0.8012, 平均为 0.5760, 多态性信息含量 (PIC 值) 在 0.3297~0.7974, 平均为 0.5531, 2 个多样性核心指标一致。327 份青稞亲本的遗传相似系数 (GS) 在 0.5983~1.0000, 平均为 0.7546。在 GS 值约为 0.6215 时, 可将 327 份参试群体聚为 3 类。籽粒颜色的全基因组关联分析发现 12 个与粒色相关联的标记, 其中, 与籽粒紫色和黑色关联的 HVM54 以及与蓝色关联的 HVM60 标记同时被 GLM 和 MLM 模型检测到。深色籽粒颜色与海拔呈正相关。

关键词 西藏青稞; SSR; 遗传多样性; 遗传结构; 关联分析; 粒色

青稞 (*Hordeum vulgare* L. var. *nudum* Hook. f.) 属禾本科大麦属, 是栽培大麦的变种, 俗称裸大麦, 具有悠久的栽培历史^[1]。作为青藏高原最早驯化的作物及最具特色的农作物, 其不仅是藏族农耕文明的核心载体, 更表现出突出的耐寒性、抗旱性、广适性及短生育期等特点^[2]。该作物独特的营养组分“三高” (高纤维、高蛋白、高 β -葡聚糖) 与“二低” (低脂肪、低糖) 结构特性, 与现代饮食营养需求高度契合^[3]。青稞籽粒富含 β -葡聚糖和膳食纤维, 具有较高的营养价值, 可以加工为糌粑和青稞酒, 兼具粮食、饲料及藏药原料功能^[4-5]。高原青稞籽粒颜色丰富, 包括紫色、蓝色、黑色和白色等, 且海拔越高深色型大麦分布愈广^[6-7]。众多学者^[8-12]把紫色、黑色和蓝色基因定位在 1H、2H 和 3H 染色体上。杨希娟^[13]研究认为不同颜色的青稞都具有各自独特的营养价值。青稞与其他几大主要粮食作物相似, 亟需开展种质资源遗传差异的系统解析及优异等位基因的挖掘^[14]。青稞维系着藏区粮食安全、经济支柱及文化认同。深入解析青稞表型特征与遗传背景的关联机制, 对实现西藏地区种质创新与遗传改良具有双重战略价值, 为区域粮食安全体系构建和农业经济可持续发展提供理论支撑。

简单重复序列 (SSR) 分子标记是鉴定各品种

遗传多样性的有效工具, 其特点是稳定性高、检测方便、成本低且信息含量高^[15]。SSR 分子标记技术具有多维度应用价值, 涵盖遗传多样性解析、种质资源鉴定、遗传连锁图谱构建、分子标记辅助选择育种 (MAS) 及群体遗传结构解析等研究领域^[16-19]。为提升遗传变异检测的精度与分辨率, 整合 SSR 分子标记与表型组学数据进行关联分析, 已成为解析作物遗传分化的有效分析策略^[20-21]。表型性状可以直接反映种质资源的多样性和丰富性, 且与 SSR 标记结果有较高的相关性^[22]。关联分析是一种数量遗传学分析方法, 研究对象主要是自然群体^[23], 其具有材料遗传基础广泛的优点^[24], 目前已经在水稻^[25]、小麦^[26]和大麦^[27]等作物中发掘出数个优异等位基因。Sun 等^[28]基于 42 对 SSR 标记的关联分析中, 鉴定出大麦中与株高、穗长及千粒重等关键农艺性状显著关联的分子标记。

青稞作为西藏特色作物, 利用 SSR 分子标记对青稞籽粒颜色进行的相关研究较少, 缺乏针对籽粒颜色的特异性 SSR 标记, 且基因型和表型关联分析不足。本研究采用 22 个 SSR 分子标记, 对西藏多地域来源的 327 份青稞开展遗传多样性解析, 系统分析其遗传背景差异, 利用全基因组关联分析筛选鉴定籽粒颜色相关标记, 以期对特色青稞品种改良

作者简介: 乔云祥, 研究方向为作物遗传育种, E-mail: qyx0990@163.com

冯西博为通信作者, 主要从事高原作物遗传育种研究, E-mail: fxb750217@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目“不同环境下西藏彩色青稞基因组的遗传变异分析及隆子黑青稞粒色 QTL 定位的研究” (32060482); 高原作物学创新团队建设 (XZNMXYRCDWJS-2024-11); 西藏特色农牧资源研发省部共建协同创新中心—青稞方向 (XZTSZY202001)

收稿日期: 2025-06-05; 修回日期: 2025-07-15; 网络出版日期: 2025-10-14

及分子标记辅助育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的 327 份青稞材料由西藏农牧大学高原作物种质资源保护与利用实验平台提供，其中昌都市 32 份、林芝市 24 份、日喀则市 137 份、山南市 134 份。

1.2 试验方法

1.2.1 籽粒颜色测定 于 2023 年 10 月下旬，将 327 份青稞亲本材料种植于西藏农牧大学植物科学学院实习农场（林芝市巴宜区），每份青稞材料种植 3 行，行长 1.5 m，行距 30.0 cm，在青稞成熟后，从各材料中选 10 株进行单株脱粒，观察各单株籽粒颜色，籽粒颜色表型见图 1。

1.2.2 基因组 DNA 提取 对 327 份青稞材料进行

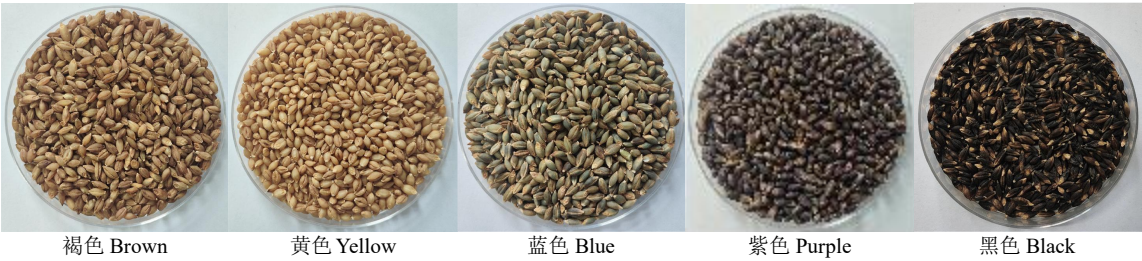


图 1 不同粒色青稞籽粒颜色表型
Fig.1 Color phenotype of highland barley grains with different grain colors

发芽处理，将材料种植于穴盘，放入培养箱，培养箱设置昼 20 °C/14 h/12 000 lx、夜 16 °C/10 h/0 lx，培养约 7 d 待幼苗长至叶片完全展开时取样，使用锡纸包裹后，放于-80 °C冰箱冷冻保存。采用 CTAB 法^[29-30]提取 327 份青稞亲本材料的 DNA，使用分光光度计检测纯度和浓度，稀释至浓度 50~

100 ng/μL，置于-20 °C冰箱保存。
1.2.3 SSR 标记检测及遗传多样性分析 挑选 22 个均匀分布于青稞 1H-7H 染色体上的分子标记（表 1），对已提取的 327 份 DNA 进行 PCR 扩增。PCR 扩增体系：2×PCR MasterMix 5.00 μL，模板 DNA（50~100 ng/μL）1.00 μL，上下游引物各 0.75 μL，

表 1 22 对 SSR 引物的名称、所在染色体及序列
Table 1 Names, chromosomes and sequences of 22 pairs of SSR primers

引物名称 Primer name	染色体 Chromosome	正向序列 Forward primer	反向序列 Reverse primer
Bmac0305	1H	TGTCCCACTGGTCATACTC	AGGATGTTGTGTGGGTGT
Bmac0399	1H	CGATGCTTTACTATGAGAGGT	GGGTCTGAAGCCTGAAC
HVAB	1H	ATCTGTTTCAAAATCCGATA	ATAGCCAGGGTATTAAAGGAC
Bmag0749	2H	CGGATTCTTGAGTAGTCTCTG	GATCTGTTTTTTGTAGAACATGC
HVM54	2H	AACCCAGTAACACCTGTCCTG	AGTTCCTGACCCGATGTC
HVM36	2H	TCCAGCCGACAATTTCCTG	AGTACTCCGACACCACGTCC
Bmag0006	3H	TTAAACCCCCCCTCTAG	TGCAGTTACTATCGCTGATTAGC
HVM62	3H	TCGCGACCAGACGAGAAG	AGCTAGCCGACGACGCAC
HVM74	3H	AGGAAGTCATTGCGTGAG	TGATCAAGAATGATAACATGG
EBmac0701	4H	ATGATGAGAACTCTTACCC	TGGCACTAAAGCAAAAGAC
EBmac0775	4H	GCTTCCTTCATAGACCCAT	ATATCATGCCAATGGTGTC
Bmgcc0002	4H	TAGCAAAGCCCATGGTACATC	TGACGAGGAGGGAGTAGTTCTC
HVM20	5H	CTCCACGAATCTCTGCACAA	CACCGCCTCTCTTTCAC
AF043088A	5H	CGACAAGGTGGAGGACTA	CTGAAGGCCTGAACTCAC
Bmag0401	5H	GGTTCATAGGTATTAGCTACA	TCCTACTAAACAAACCATAGAAA
AB009307	6H	TTGTGCATATGTTGATGTGA	CGGTACCAATTCTTTGATTAC
AB009308	6H	ATGGAATCTTATCGCTGTTT	CGGCAGATTGAGAACTATTA
Bmac0018	6H	GTCCTTTACGCATGAACCGT	ACATACGCCAGACTCGTGTG
AF022725B	7H	AAACAAGACAGATTAGCTTGAA	TACATCATCGCATGAACATAA
HVM60	7H	CAATGATGCGGTGAACTTTG	CCTCGGATCTATGGGTCTT
Bmag0385	7H	CTCCACAGAGTCAGAGTTAGA	CTGACATTAGCTGACTCTCTATC
Bmac0286	7H	GTGGACGATTGCTTGAT	ATTTATTCTGCACCCTGG

最后加 1.00 μL ddH₂O。扩增程序：预变性 96 $^{\circ}\text{C}$ 3 min；变性 96 $^{\circ}\text{C}$ 15 s，退火 55 $^{\circ}\text{C}$ 15 s，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s，变性退火延伸 3 步设置 40 个循环；72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min，4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。电泳步骤：取 9 μL 的 PCR 产物于 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳，时间设置为 2 h 30 min，电泳完成后使用硝酸银染色 15 min 后，于 NaOH 和甲醛溶液中进行显影，待到条带清晰后，拍照并编号保存胶图。以 DNA Marker 说明书的 6 个条带为参考，对胶图进行处理，记录各扩增条带的大小；使用 NTsys-pc 2.1 软件进行聚类分析并计算遗传相似系数（GS）；采用 Popgene 32 软件统计等位基因频率及 Shannon 多样性指数；结合 Babu 等^[31]的方法，使用 Power Marker v3.25 软件解析多态性信息含量（PIC）、等位基因数目与遗传距离参数，同时完成系统进化树构建；使用 MEGA5.1 软件和 Evolview2 工具对进化树进行处理。

1.2.4 关联分析 采用 Structure 2.3.4 软件分析群体遗传结构，使用 DataFormater 将胶图所得到的 01 矩阵转化为 Structure 所需的格式并导入，参数设置参考文献[32]。将参数 Length of burnin period 设为 10 000，估计最佳群体组群数（ K ），设置 1~10 为取值范围，设置 K 值 15 次重复。将所得到的 Results 文件压缩，导入 Harvester 在线工具分析得出 K 和 ΔK 的矩阵，得出最佳 K 值。再使用 Structure Harvester-master 本地化工具，结合 Evanno 等^[33]的统计方法计算得出所有 K 值文件，将最佳 K 值对应的 2 个文件放入 CLUMPP v1.1.2 软件的工作目录，运行后得出 Q 值。将 Q 值文件导入 TBtools-II v2.225 软件，使用 Admixture Q Matrix Viz 程序得出群体结构图。参考 Earl 等^[34]的方法，使用 SPAGeDi 软件处理基因型数据，以 Q 参数为协变量，获得材料个体间亲缘关系的 Kinship 矩阵。

采用 Tassel v2.1 软件利用广义线性模型和混合线性模型 2 种方式进行关联分析。籽粒颜色性状采用二分类变量编码（目标表型=1，其他=0）。针对广义线性模型（GLM），设置群体结构 Q 矩阵作为协变量，通过 SSR 标记与表型性状的回归分析筛选显著性关联位点（ $P < 0.01$ ），并量化标记对表型变异的解释率（ R^2 ）^[35]。混合线性模型（MLM）则利用 Q 矩阵与亲缘关系矩阵作为协变量，结合 SSR 标记和表型数据进行关联分析，确定关联位

点，同时计算表型变异解释率。采用 PCA+Kinship 的方法，利用 PCA 校正群体分层，解释主成分和表型的相关性，作图时使用 PC1 和 PC2 的值，置信区间设置为 95%，可视化群体结构。

1.2.5 相关性分析 使用 Origin 2021 的 Correlation Plot 插件绘制热图，独热编码方式编辑籽粒颜色数据，保留类别独立性，利用 Spearman 相关系数进行计算分析，热图中标注相关性系数。并制作箱线图来可视化不同颜色类别对应的海拔分布差异。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记分析

基于 22 个 SSR 标记进行群体遗传学分析，结果显示，327 份青稞种质中共检测到 76 个等位变异，各标记位点的等位基因数在 2~6，平均等位基因数达 3.45（表 2）。标记 Bmag0401 检测到 6 个等位变异；标记 Bmac0305、HVAB、HVM62 和 Bmac0018 检测到的等位变异最少，为 2 个。Shannon 指数变化范围为 0.3782~1.0632，平均值为 0.6941，标记 EBmac0775 的 Shannon 指数最低，为 0.3782，标记 Bmac0305 的 Shannon 指数最高，为 1.0632。遗传多样性分析显示，基因多样性指数在 0.3405~0.8012，平均为 0.5760，PIC 值在 0.3297~0.7974，平均为 0.5531，2 个多样性核心指标一致。该结果表明 327 份青稞种质存在丰富的遗传变异，其中 Bmag0401 与 HVM36 位点表现出最高多态性，PIC 值分别为 0.7974 和 0.7340，基因多样性指数分别为 0.8012 和 0.7541，可作为遗传多样性评估的核心标记组。

2.2 遗传相似系数及聚类分析

基于 22 个 SSR 标记的遗传相似性分析表明，327 份青稞亲本的 GS 在 0.5983~1.0000，平均为 0.7546。聚类分析结果（图 2）显示 SSR 分子标记技术有效实现了西藏多地域青稞种质的遗传鉴别。在相似性为 0.6215 时，群体被划分为 3 个遗传类群，类群 I、类群 II 和类群 III 分别有 58、84 和 185 份，该分类模式与群体遗传结构解析结果高度吻合。依据上述数据可得，GS 值较大的材料产地基本相同，产地不同的材料 GS 值较小，聚类结果与材料的地理来源特征基本符合。由此可得，GS 值较大的材料，亲缘关系更近，材料间的遗传距离较小，可能为来自同一环境的品种，不适合作为杂交组合；GS

表 2 22 对 SSR 引物在 327 份青稞材料中的多态性检测
Table 2 Detection of polymorphism of 22 pairs of SSR primers in 327 highland barley materials

标记 Marker	染色体 Chromosome	位置 Position	等位基因数 Number of alleles	基因多样性指数 Gene diversity index	Shannon 指数 Shannon's index	多态性信息含量 PIC
Bmac0305	1H	45	2	0.4325	1.0632	0.3417
Bmac0399	1H	125	4	0.6844	0.5895	0.6408
HVAB	1H	76	2	0.3515	0.6897	0.3304
Bmag0749	2H	85	3	0.4952	0.4074	0.4781
HVM54	2H	90	3	0.4745	0.5151	0.4527
HVM36	2H	108	5	0.7541	0.9635	0.7340
Bmag0006	3H	34	3	0.5523	1.0286	0.5322
HVM62	3H	84	2	0.3405	0.8251	0.3297
HVM74	3H	122	3	0.4985	0.4533	0.4778
EBmac0701	4H	24	4	0.6943	0.6939	0.6764
EBmac0775	4H	80	3	0.5776	0.3782	0.5640
Bmgcc0002	4H	130	5	0.7053	0.9813	0.6875
HVM20	5H	34	4	0.6354	0.3858	0.6104
AF043088A	5H	76	3	0.5784	0.7156	0.5530
Bmag0401	5H	115	6	0.8012	0.7133	0.7974
AB009307	6H	23	5	0.7032	0.7617	0.6876
AB009308	6H	36	4	0.5998	0.5296	0.5830
Bmac0018	6H	72	2	0.3769	0.7539	0.3554
AF022725B	7H	50	4	0.7123	0.5888	0.6879
HVM60	7H	154	3	0.5683	1.0539	0.5473
Bmag0385	7H	120	3	0.5749	0.5403	0.5579
Bmac0286	7H	163	3	0.5627	0.6404	0.5425

较低的种质材料表明其遗传分化程度较高，亲缘关系较远，具有显著的遗传异质性，可以考虑作为杂交组合进行配置。

2.3 群体遗传结构

基于 22 个 SSR 分子标记对 327 份青稞材料进行群体遗传结构研究。对数似然值 $\ln P(D)$ 随预设亚群数递增而持续上升，未呈现显著拐点（图 3a）。如图 3b 所示， ΔK 值在 $K=3$ 时达到峰值，据此将群体划分为 3 个遗传亚群（图 4），该结果与聚类分析结果具有较高的一致性。群体遗传结构分析表明材料遗传背景相对单一，可有效降低群体混杂因素对关联分析的干扰。后续关联研究中，将各样本的亚群归属 Q 值纳入协变量矩阵，以精准解析 SSR 标记与表型变异的遗传关联。

2.4 SSR 标记与籽粒颜色的关联分析

基于群体遗传结构解析及亲缘关系矩阵，GLM 模型分析以群体结构 Q 矩阵作为固定效应协变量，通过 SSR 标记与籽粒颜色表型的关联分析筛选显著性关联位点，并量化其表型变异解释率。而对于 MLM 模型，则将 Q 矩阵与亲缘关系 K 矩阵结合作为协变量，开展遗传关联分析。GLM 结果（表 3）表明，在 22 个标记当中，有 8 个标记

与粒色极显著相关。各标记对表型变异的解释率在 12.07%~46.32%，Bmac0305 标记解释率最大，标记 AB009307 对籽粒颜色性状的解释率最小。MLM 结果显示，检测的 22 个标记中有 4 个与粒色性状极显著相关，各标记对表型变异的解释率为 13.23%~28.07%，标记 HVAB 对籽粒颜色的解释率最大，标记 HVM60 对籽粒颜色的解释率最小。与籽粒颜色性状相关的 SSR 标记，MLM 检测比 GLM 分析结果少了 4 个，且解释率降低。GLM 简单高效，敏感性较高，但特异性较低，对复杂群体结构的适应性差；MLM 关联信号更保守，控制群体结构和个体间的遗传相关性，显著降低假阳性，适合大规模群体或存在显著亲缘关系的样本，二者结合分析更为准确。分析结果得出，控制不同颜色的基因可能对应不同的染色体，对高海拔地区较为常见蓝色、紫色和黑色籽粒性状进行单独分析，控制蓝粒的基因在 4H（*Bmgcc0002*）、6H（*AB009307*）和 7H（*HVM60*、*Bmac0286*）染色体上，控制紫粒的基因在 1H（*Bmac0305*、*HVAB*）、2H（*Bmag0749*、*HVM54*）和 4H（*Bmgcc0002*）染色体上，控制黑粒的基因在 1H（*Bmac0305*、*HVAB*）、2H（*HVM54*、*Bmag0749*）、3H（*HVM62*）和 5H（*HVM20*）染

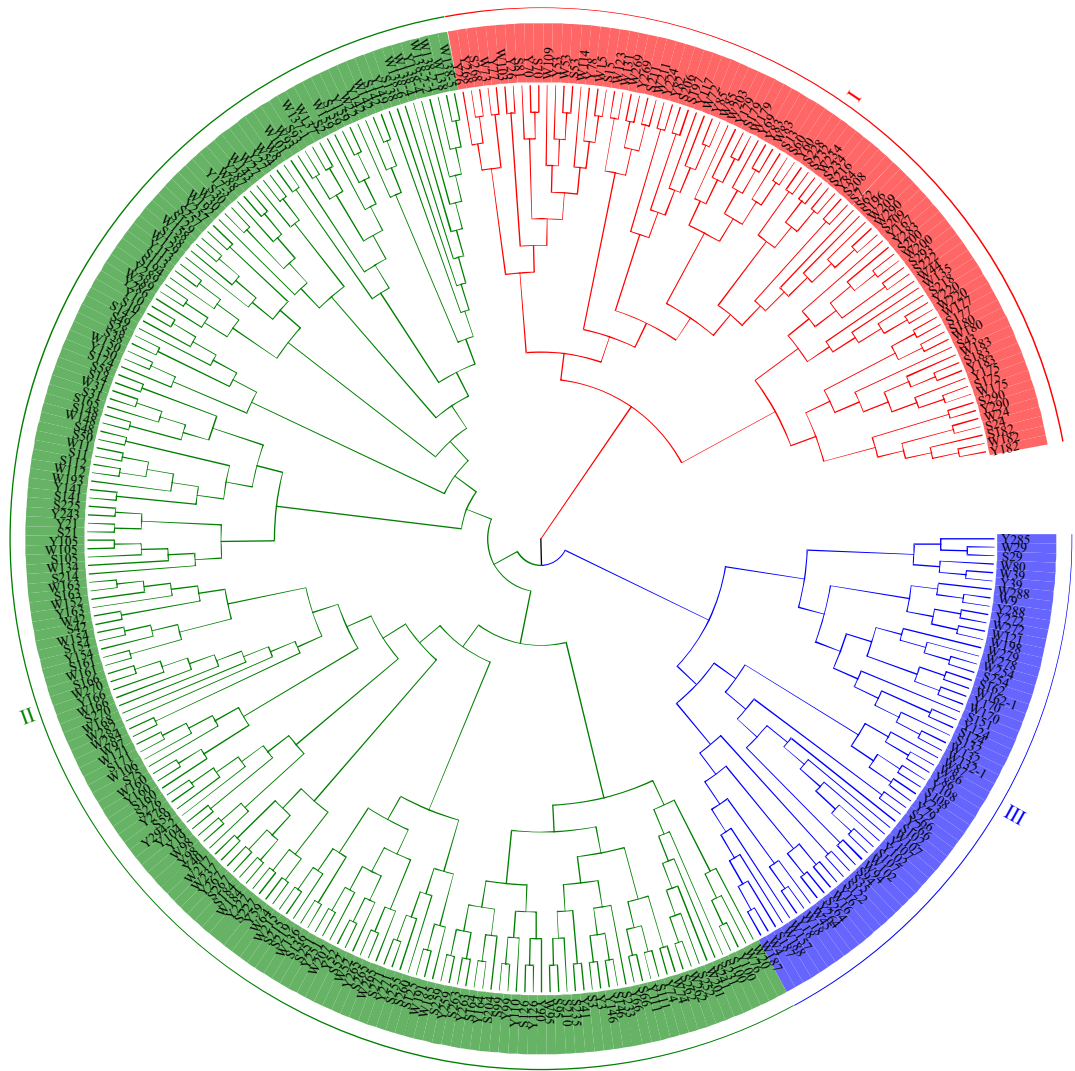


图 2 基于 22 个 SSR 标记数据的 327 份青稞材料聚类分析
Fig.2 Cluster analysis of 327 highland barley materials based on 22 SSR Markers

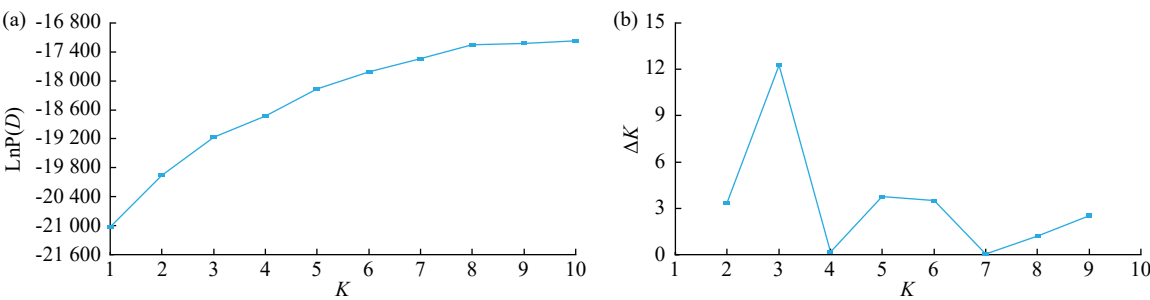


图 3 K 值与 $\text{LnP}(D)$ 、 ΔK 值的折线图
Fig.3 Line graph of K value versus $\text{LnP}(D)$ and ΔK value

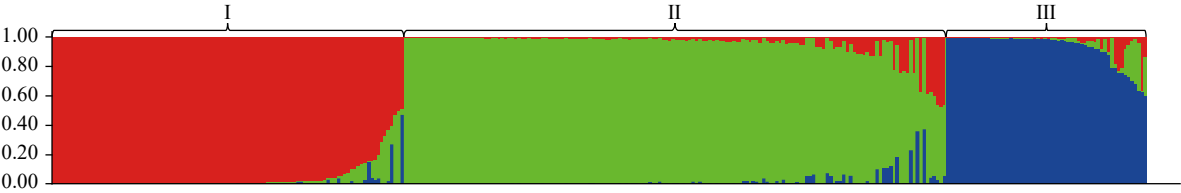


图 4 327 份青稞材料的群体遗传结构图
Fig.4 Population genetic structure diagram of 327 highland barley materials

表 3 关联标记及其对表型变异的解释率
Table 3 Association markers and their explained variance rate for phenotype %

标记 Marker	染色体 Chromosome	解释率 Explained variance rate		籽粒颜色 Grain color
		GLM	MLM	
Bmac0305	1H	46.32		紫色、黑色
Bmac0399	1H			
HVAB	1H		28.07	
Bmag0749	2H	16.41		紫色、黑色
HVM54	2H	22.52	20.24	
HVM36	2H			
Bmag0006	3H			黑色
HVM62	3H		24.21	
HVM74	3H			
EBmac0701	4H			蓝色、紫色
EBmac0775	4H			
Bmgcc0002	4H	32.04		
HVM20	5H	43.46		黑色
AF043088A	5H			
Bmag0401	5H			
AB009307	6H	12.07		蓝色
AB009308	6H			
Bmac0018	6H			
AF022725B	7H			蓝色
HVM60	7H	17.87	13.23	
Bmag0385	7H			
Bmac0286	7H	35.39		蓝色

染色体上。HVM60 标记通过 2 种模型均能检测到与蓝色性状关联；HVM54 标记在 2 种模型中对紫色和黑色的解释率均较大，作为紫粒和黑粒连锁标记值得关注。对其进行主成分分析（图 5），研究各青稞亲本材料的主成分分布情况发现，不同 SSR

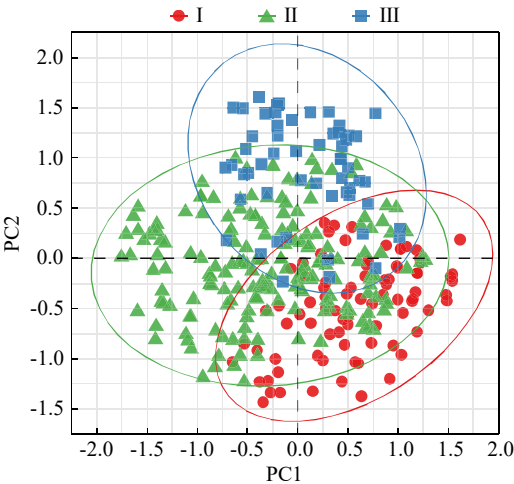


图 5 327 份青稞材料的 SSR 标记信息主成分分析
Fig.5 PCA analysis of SSR marker information from 327 highland barley materials

标记的材料没有形成明显的分布差异，而是接近团簇拥在一起，群体结构分化不明显。

2.5 海拔与籽粒颜色的相关性分析

海拔与籽粒颜色的相关性分析（图 6）表明，海拔与褐色、黄色的相关系数均为负值且不显著，说明海拔与浅色籽粒相关性不显著；海拔与蓝色、紫色和黑色相关性系数分别为 0.3732、0.3406 和 0.4030，呈显著正相关，籽粒颜色会随着海拔的升高而加深。使用分组分析，直接比较不同颜色对应的海拔差异（图 7），箱线图通过第 1 个四分位数（Q1）、中位数、第 3 个四分位数（Q3）和最大值呈现数据的中枢趋势、离散程度及潜在异常值。褐色的 4 个指标分别为 3551.0、3815.0、3939.5 和 4475.0 m；黄色分别为 3339.0、3702.0、3932.0 和 4100.0 m；蓝色分别为 4156.0、4242.0、4305.0 和 4590.0 m；紫色分别为 4297.0、4340.5、4409.0 和 4497.0 m；黑色分别为 4460.0、4711.0、4776.0 和 4890.0 m。褐色、蓝色和紫色存在异常值，如褐色籽粒材料出现在海拔 2634.0、2639.0 和 2825.0 m

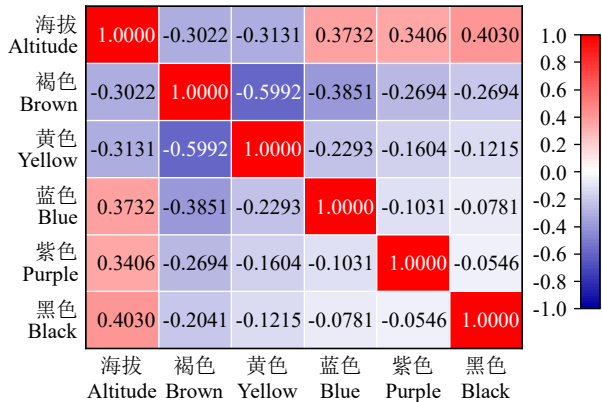


图 6 327 份青稞材料的海拔与籽粒颜色相关性热图
Fig.6 Heatmap of correlation between altitude and grain color of 327 highland barley materials

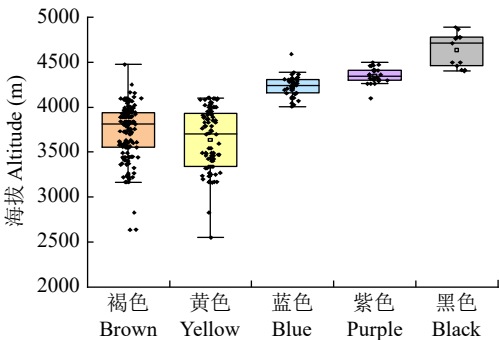


图 7 327 份青稞材料的海拔与籽粒颜色箱线图
Fig.7 Boxplot between altitude and grain color of 327 highland barley materials

的地区。

3 讨论

种质资源创新是作物遗传改良的核心物质基础,优异种质资源的发掘与创新是育种突破的关键前提^[36]。当前,基于 SSR 分子标记技术的大麦(青稞)遗传多样性系统分析已形成完整方法体系,如赖勇等^[37]基于 SSR 分子标记构建的遗传距离矩阵,采用双模型验证策略开展关联分析,其中 9 个位点与株高、芒长、穗长及穗粒数多性状协同调控相关,6 个位点特异性调控株高与芒长性状,这些显著关联位点主要分布于 1~4H 及 7H 染色体区域。由于作物在进化过程中必然会存在许多基因重组事件,导致出现复杂的群体结构,因此在进行关联分析时需要考虑群体结构的影响。本研究采用群体遗传学分析方法进行群体遗传结构解析,明确最佳的遗传聚类参数($K=3$),将 327 份青稞材料划分为 3 个遗传亚群,其样本量分别为 58、84 和 185 份,结果说明群体结构相对简单,存在伪关联的概率很小,对于 SSR 标记与性状的关联分析较为有利。胡倩文等^[38]基于 224 对 SSR 标记对 137 份大麦种质开展遗传多样性研究,利用 GLM 和 MLM 2 种模型对多环境试验点下大麦的穗粒数、小穗密度、小穗数和穗长等进行关联分析,鉴定出能在 2 个环境同时检测到的标记位点。刘志敏等^[39]构建了包含 96 份大麦种质的核心种质库,采用 SSR 分子标记技术开展遗传多样性研究,解析遗传结构特征,通过扫描 107 对引物并进行群体遗传学分析,发现现代大麦育种存在显著的遗传瓶颈效应,该研究提出建立跨生态区种质资源交流机制,建议优先整合遗传多样性热点区域的种质材料,以拓展育种材料的遗传变异频谱。张元元等^[40]以 102 份青稞材料为基础,使用 92 个 SSR 标记分析其遗传多样性和群体遗传结构,发现了与千粒重相关的标记 GBM1238。孟亚雄等^[35]通过构建 108 份青藏高原青稞种质资源的关联分析体系,采用 92 个 SSR 标记进行遗传距离矩阵计算与多态性评估,通过比较广义线性模型和混合线性模型的统计效力,针对穗粒数、株高、穗长及分蘖数量等重要性状,分别检测到 12 个(GLM)和 8 个(MLM)显著性关联位点。王国平等^[41]针对 39 份青稞核心种质,采用 27 个高多态性 SSR 标记开展遗传结构解析。并结合株高、小穗

密度和分蘖数等农艺性状进行关联分析,筛选出具有互补遗传特征的优异亲本组合。王晋^[42]构建了包含 113 份大麦核心种质资源的遗传评估体系,基于 86 对 SSR 标记进行全基因组多样性解析,进一步进行群体遗传结构解析,筛选出高信息量标记并开展农艺性状全基因组关联研究,该研究证实,基于遗传多样性评估框架的群体结构分层策略,可使关联分析结果的遗传解释力提升,为作物复杂性状的分子解析提供了方法论范式,在其他作物上的应用亦是如此。汤翠凤等^[43]以来自云南边境 3 个地区的 376 份稻种为材料,基于 27 对分子标记研究稻种的遗传多样性,找出了与表型性状关联性较密切,且能解释穗长、穗实粒数、穗总粒数和千粒重等性状变化 10%以上的标记,并筛选出了具有亲本潜力的优异资源。

本研究通过 SSR 标记对控制不同籽粒颜色形成的基因进行研究,粗略分析得出控制青稞蓝粒的基因可能在 4H、6H 和 7H 染色体上,控制紫粒的基因可能在 1H、2H 和 4H 染色体上,控制黑粒的基因可能在 1H、2H、3H 和 5H 染色体上,与上述研究基本相同,后续需要利用更多的标记进行鉴定。对于大麦粒色的相关研究,国内外的报道均较多,关于青稞控制粒色的基因定位,国内外也已进行了较多研究,Xu 等^[44]通过图位克隆技术将蓝粒青稞花青素合成关键基因 *HvGST* 精细定位于 7H 染色体。Jia 等^[8]以黑色青稞和紫色青稞为材料,对其 F_2 和 F_3 群体进行分析,采用 BSA-seq 技术鉴定出黑色籽粒主效 QTL 定位于 1H 染色体上,紫色籽粒调控基因在 1H 与 2H 染色体呈多效性分布。Shoeva 等^[9]利用紫黑色青稞近等基因系(NILs),最终将紫色籽粒基因 *HvPLP* 定位到 1H 染色体上,而黑色籽粒基因 *HvBLP* 定位于 2H 染色体。传统分子标记技术构建的遗传图谱存在分辨率有限和候选基因筛选范围宽泛等局限,可以通过靶向测序(如特异性位点扩增测序)与多组学技术,通过全基因组关联分析与共表达网络构建,系统解析青稞籽粒色泽形成的关键调控通路及其核心基因簇。

西藏地理位置特殊,其高寒缺氧、强紫外辐射及昼夜温差显著等极端环境因子,为作物遗传多样性形成提供了基础^[45]。生态型青稞种质在多元环境条件下呈现显著表型分化,例如产量、品质及生物胁迫抗性 etc 利用来源地不同的青稞种质资源寻找

其有利基因,对于构建青稞核心种质保护体系以及开发优质青稞种质具有重要的意义^[46]。基因组多样性作为物种环境适应性与进化潜能的量化指标,其多态性水平与物种分布范围密切相关,对物种的进化和保护具有重要意义。本研究为西藏青稞亲本选配策略优化、籽粒性状的遗传研究及分子标记辅助育种提供理论依据。

4 结论

22 对 SSR 标记共检测到 76 个等位变异,各标记位点的等位基因数在 2~6,平均等位基因数为 3.45。327 份材料分为 3 个大类群,类群I、类群II 和类群III 分别有 58、84 和 185 份。控制蓝粒的基因在 4H (*Bmgcc0002*)、6H (*AB009307*) 和 7H (*HVM60*、*Bmac0286*) 染色体上,控制紫粒的基因在 1H (*Bmac0305*、*HVAB*)、2H (*Bmag0749*、*HVM54*) 和 4H (*Bmgcc0002*) 染色体上,控制黑粒的基因在 1H (*Bmac0305*、*HVAB*)、2H (*HVM54*、*Bmag0749*)、3H (*HVM62*) 和 5H (*HVM20*) 染色体上。*HVM60* 标记通过 2 种模型均能检测到与蓝粒性状关联,*HVM54* 标记在 2 种模型中对紫粒和黑粒解释率均较大,这 2 个标记值得关注。

参考文献

- [1] 李赢, 刘海翠, 韩笑, 等. 裸大麦种质资源研究进展. 大麦与谷类科学, 2021, 38(6): 7-11.
- [2] 夏腾飞, 王蕾, 徐金青, 等. 267 份青藏高原青稞种质材料的表型多样性分析. 西北农业学报, 2018, 27(2): 182-193.
- [3] 陆培, 安明哲, 李茂, 等. 青稞营养成分研究进展及其应用现状. 酿酒科技, 2022(7): 110-116.
- [4] 夏虎, 晏熙明, 卢利聃, 等. 青稞的营养功能及其高值化利用研究进展. 食品工业科技, 2022, 43(20): 403-413.
- [5] 矫晓丽, 迟晓峰, 董琦, 等. 青海地区不同品种青稞中 B 族维生素含量分布. 氨基酸和生物资源, 2011, 33(2): 13-16.
- [6] 徐廷文, 马得泉, 顾茂芝, 等. 西藏山南地区大麦种质资源的分类和分布. 中国农业科学, 1984, 17(2): 41-48.
- [7] 马得泉, 李雁勤, 洛桑更堆, 等. 西藏栽培大麦分类研究进展. 西藏科技, 1997(1): 2-8.
- [8] Jia Q J, Zhu J H, Wang J M, et al. Genetic mapping and molecular marker development for the gene *Pre2* controlling purple grains in barley. *Euphytica*, 2016, 208(2): 215-223.
- [9] Shoeva O Y, Mock H, Kukoeva T V, et al. Regulation of the flavonoid biosynthesis pathway genes in purple and black grains of *Hordeum vulgare*. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0163782.
- [10] Jia Q J, Wang J M, Zhu J H, et al. Toward identification of black lemma and pericarp gene *Blp1* in barley combining bulked segregant analysis and specific-locus amplified fragment sequencing. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1414.
- [11] 苏乐平. 基于 SLAF-seq 的青稞黑粒基因的挖掘及候选基因的功能验证. 西宁: 青海大学, 2020.
- [12] 李文博. 青稞籽粒颜色及淀粉相关性状的全基因组关联分析. 雅安: 四川农业大学, 2022.
- [13] 杨希娟. 不同粒色青稞营养品质评价. 青海农林科技, 2023(4): 58-64.
- [14] 苏乐平, 姚晓华, 吴昆仑, 等. 大麦(青稞)籽粒颜色相关研究进展. 江苏农业科学, 2019, 47(18): 70-74.
- [15] Chen H L, Chen X, Tian J, et al. Development of gene-based SSR markers in rice bean (*Vigna umbellata* L.) based on transcriptome data. *PLoS One*, 2017, 11(3): e0151040.
- [16] 李巧英. SSR 标记技术在种子纯度鉴定中的研究进展. 中国种业, 2009(11): 22-24.
- [17] 王学霞, 马静, 安永平. SSR 标记在水稻种质研究中的应用进展. 陕西农业科学, 2012, 58(6): 137-140, 194.
- [18] 向盈盈, 唐绍清, 卢永彬. 基于 SSR 标记淡黄金花茶的遗传多样性和遗传结构研究. 广西植物, 2025, 45(4): 654-666.
- [19] Maccaferri M, Sanguineti M C, Noli E, et al. Population structure and long-range linkage disequilibrium in a durum wheat elite collection. *Molecular Breeding*, 2005, 15(3): 271-290.
- [20] 温蕊, 赵雅杰, 贾祎明, 等. 基于 SSR 标记的 197 份谷子遗传多样性分析. 西北农业学报, 2025, 34(6): 980-990.
- [21] 赖勇, 贾建磊, 王晋民, 等. 外引大麦 SSR 标记遗传多样性及其与农艺性状的关联分析. 麦类作物学报, 2017, 37(2): 197-204.
- [22] 齐永文, 张冬玲, 张洪亮, 等. 中国水稻选育品种遗传多样性及其近 50 年变化趋势. 科学通报, 2006(6): 693-699.
- [23] Flint-Garcia S A, Thornsberry J M, Buckler IV E S. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, 54(1): 357-374.
- [24] Wen Z X, Zhao T J, Zheng Y Z, et al. Association analysis of agronomic and quality traits with SSR markers in *Glycine max* and *Glycine soja* in China: I. Population structure and associated markers. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(7): 1169-1178.
- [25] Huang X H, Zhao Y, Wei X H, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nature Genetics*, 2012, 44(1): 32-39.
- [26] 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, 128(2): 353-363.
- [27] Visionsi A, Tondelli A, Francia E, et al. Genomewide association mapping of frost tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 424.
- [28] Sun D F, Ren W B, Sun G L, et al. Molecular diversity and association mapping of quantitative traits in Tibetan wild and worldwide originated barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm. *Euphytica*, 2011, 178(1): 31.
- [29] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1993, 11(2): 122-127.
- [30] Porebski S, Bailey L G, Baum B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1997, 15: 8-15.
- [31] Babu B K, Sood S, Agrawal P K, et al. Molecular and phenotypic characterization of 149 finger millet accessions using

- microsatellite and agro-morphological markers. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 2017, 87(4): 1217-1228.
- [32] 赖勇, 孟亚雄, 王晋, 等. 大麦遗传多样性及连锁不平衡分析. 作物学报, 2013, 39(12): 2154-2161.
- [33] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [34] Earl D A, VonHoldt B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing structure output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources, 2012, 4(2): 359-361.
- [35] 孟亚雄, 孟祎林, 汪军成, 等. 青稞遗传多样性及其农艺性状与 SSR 标记的关联分析. 作物学报, 2016, 42(2): 180-189.
- [36] 兴旺, 崔平, 潘荣, 等. 不同国家甜菜种质资源遗传多样性研究. 植物遗传资源学报, 2018, 19(1): 76-86.
- [37] 赖勇, 王鹏喜, 范贵强, 等. 大麦 SSR 标记遗传多样性及其与农艺性状关联分析. 中国农业科学, 2013, 46(2): 233-242.
- [38] 胡倩文, 徐延浩, 王容, 等. 大麦 4 个穗部性状的关联分析. 浙江农业学报, 2020, 32(11): 1941-1953.
- [39] 刘志敏, 金能, 吕超, 等. 大麦种质资源的 SSR 遗传多样性分析. 麦类作物学报, 2011, 31(5): 839-846.
- [40] 张元元, 冯举伶, 肖婧凤, 等. 青稞遗传多样性及其农艺性状与 SSR 标记的关联分析. 浙江农业学报, 2024, 36(9): 1977-1989.
- [41] 王国平, 胡再青, 徐冬丽, 等. 青稞遗传多样性及其农艺性状与 SSR 标记的关联分析. 云南农业大学学报 (自然科学), 2023, 38(1): 1-8.
- [42] 王晋. 大麦 SSR 标记遗传分析及其与农艺性状关联分析. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- [43] 汤翠凤, 阿新祥, 董超, 等. 云南边境地区稻种资源的 SSR 标记遗传多样性及其主要农艺性状关联性分析. 作物杂志, 2026(1): 33-46.
- [44] Xu D D, Dondup D, Dou T Y, et al. *HvGST* plays a key role in anthocyanin accumulation in colored barley. The Plant Journal, 2023, 113(1): 47-59.
- [45] 格桑卓玛. 西藏半野生大麦表型多样性及其关联分析. 拉萨: 西藏大学, 2023.
- [46] 徐肖, 栾海业, 张英虎, 等. 青藏高原原大麦种质资源形态多样性分析. 浙江农业学报, 2019, 31(7): 1037-1044.

Genetic Diversity and Genome-Wide Association Analysis of Grain Color in Xizang Highland Barley

Qiao Yunxiang^{1,2}, Wang Yancai^{1,2}, Ling Bo^{1,2}, Ma Haijuan^{1,2}, Feng Xibo^{1,2}

(¹College of Plant Sciences, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000, Xizang, China;

²Experimental Platform for Protection and Utilization of Plateau Crop Germplasm Resources, Linzhi 860000, Xizang, China)

Abstract Xizang highland barley exhibits abundant genetic variation and diverse grain coloration. The genetic diversity of 327 Xizang highland barley landrace accessions was detected by using 22 polymorphic SSR markers, and the grain color, genetic similarity and genetic structure were analyzed. The results showed that a total of 76 alleles were detected from 327 materials with 22 SSR markers, with the number of alleles per marker ranging from 2 to 6. The gene diversity index ranged from 0.3405 to 0.8012, with an average of 0.5760. The polymorphism information content (PIC value) ranged from 0.3297 to 0.7974, with an average of 0.5531. The two core diversity indicators were consistent. The genetic similarity coefficient (GS) of 327 highland barley parents ranged from 0.5983 to 1.0000, with an average of 0.7546. When the GS value was about 0.6215, 327 tested materials could be clustered into three groups. Genome-wide association analysis of grain color revealed 12 markers associated with grain color, among them, HVM54 associated with purple and black grains and HVM60 associated with blue grains were simultaneously detected by both GLM and MLM models. Dark grain color was positively correlated with altitude.

Key words Xizang highland barley; SSR; Genetic diversity; Genetic structure; Correlation analysis; Grain color