

石桃雄, 黎瑞源, 潘凡, 等. 苦荞黄酮含量与 SSR 标记的关联分析 [J]. 福建农业学报, 2021, 36 (8): 884–891.

SHI T X, LI R Y, PAN F, et al. Correlation Between Flavonoids Content and SSR Markers of Tartary Buckwheat [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36 (8): 884–891.

苦荞黄酮含量与 SSR 标记的关联分析

石桃雄, 黎瑞源, 潘凡, 黄娟, 朱丽伟, 汪燕, 梁成刚*

(贵州师范大学荞麦产业技术研究中心, 贵州 贵阳 550001)

摘要:【目的】开展苦荞籽粒总黄酮含量与 SSR 标记的关联分析, 挖掘与黄酮含量相关的分子标记, 为高黄酮含量苦荞品种的遗传改良提供依据。【方法】以 193 份苦荞种质为供试材料, 基于 62 对 SSR 引物分析了供试种质的遗传多样性, 对总黄酮含量和 SSR 标记进行了关联分析。【结果】193 个种质籽粒总黄酮含量的变幅为 1.04%~2.99%, 变异系数为 27.93%。62 对引物在 193 个种质中共扩增出 267 个等位基因, 每个 SSR 位点平均检测到 2.45 个有效等位基因, 基因多样性为 0.503, Shannon 信息指数为 0.942, 观测杂合度为 0.513, 引物多态信息量为 0.74。群体结构分析将 193 份种质划分为 3 个亚群。基于广义线性模型 (GLM) 共检测到 5 个与籽粒总黄酮含量显著关联的 SSR 标记, 表型贡献率为 6.3%~12.9%, 其中标记 TatG0124 (12.9%) 和 S6853 (8.5%) 的表型贡献率较高。【结论】供试苦荞种质遗传多样性丰富, 可用于苦荞重要农艺和品质性状的关联分析。TatG0124 和 SSR6853 可能是控制籽粒黄酮含量的重要位点, 对改良苦荞籽粒黄酮含量具有重要意义。

关键词: 苦荞; SSR 标记; 黄酮含量; 遗传多样性; 群体结构; 关联分析

中图分类号: S 517

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2021) 08-0884-08

Correlation Between Flavonoids Content and SSR Markers of Tartary Buckwheat

SHI Taoxiong, LI Ruiyuan, PAN Fan, HUANG Juan, ZHU Liwei, WANG Yan, LIANG Chenggang*

(Buckwheat Industry Technology Research Center, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

Abstract: 【Objective】Correlation between the flavonoids content and associated markers was analyzed for genetic improvement studies on Tartary buckwheat. 【Method】Sixty-two SSR primer pairs were used to assess the genetic diversity of 193 Tartary buckwheat germplasms. The SSR markers closely related to the total flavonoids content were selected by association analysis. 【Result】The total flavonoids content of 193 Tartary buckwheat germplasms varied from 1.04% to 2.99% with a coefficient variation of 27.93%. Sixty-two pairs of SSR primers amplified 267 polymorphic sites with an average number of effective alleles of 2.45. The mean values of gene diversity, Shannon index, observed heterozygosity and polymorphism information content of SSR markers were 0.503, 0.942, 0.513 and 0.74, respectively. The population structure analysis divided the 193 germplasms into 3 subgroups. Five SSR markers were determined to be significantly associated with flavonoids content by the general linear model (GLM). The phenotypic variations ranged from 6.3% to 12.9% with TatG0124 at 12.9% and S6853 at 8.5% being the higher markers. 【Conclusion】The germplasms used in this study were diverse in genetic variation and feasible for related genome-wide mapping on important traits of Tartary buckwheat. The loci, TatG0124 and S6853, appeared to closely associate with the flavonoids content of Tartary buckwheat and were considered to be potentially useful for breeding new varieties with high content of the functional components.

Key words: Tartary buckwheat; SSR marker; flavonoids content; genetic diversity; population structure; correlation analysis

收稿日期: 2021-04-25 初稿; 2021-06-29 修改稿

作者简介: 石桃雄 (1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 荞麦种质资源保育及创新 (E-mail: shitaoxiong@126.com); 共同第一作者: 黎瑞源 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 生物信息学 (E-mail: ruiyuan_li@126.com)

* 通信作者: 梁成刚 (1985-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 荞麦遗传育种 (E-mail: jessselcg@163.com)

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFD1001300, 2019YFD1001301); 国家自然科学基金项目 (31960125); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合 ZC [2019]2298); 贵州省荞麦种质资源保育及创新重点实验室建设基金项目 (黔教合 KY[2017]002); 贵州师范大学博士启动基金项目 (11904/0514027)

0 引言

【研究意义】苦荞 (*Fagopyrum tataricum*), 又名鞑靼荞麦 (*Tartary buckwheat*), 属蓼科 (*Polygonaceae*) 荞麦属 (*Fagopyrum* Mill) 双子叶植物, 是荞麦的两大栽培品种之一^[1], 广泛种植于云、贵、川、藏等省区的高原和高寒地带^[2]。苦荞是我国重要的杂粮作物之一, 其籽粒含有丰富的多酚类化合物、抗性淀粉、可溶性纤维、蛋白质、氨基酸、维生素及微量元素等, 可有效地预防和改善肥胖、胆结石和心血管等疾病^[3-4], 在食品、保健品、医药等领域具有广泛的应用前景。黄酮类化合物属多酚类物质, 苦荞黄酮类化合物含量和种类丰富, 生物活性独特, 是苦荞保健功能最突出的一类生物活性物质, 对肿瘤、“三高”(高血脂、高血压, 高血糖) 和炎症等都有一定的辅助治疗作用^[3-4]。因此, 研究苦荞籽粒黄酮含量的遗传机制, 挖掘与之紧密连锁的分子标记, 对苦荞高黄酮含量专用型品种的选育具有重要意义。

【前人研究进展】目前国内外学者对荞麦黄酮类化合物的研究主要集中在其含量和组分的遗传变异评价^[5-9]、生物合成调控机理揭示及代谢途径上一些关键基因的挖掘与鉴定^[10]等方面。苦荞种质资源中黄酮含量变异丰富, 表现出数量性状遗传的特点^[6-9], 所以传统育种方法很难短期改良苦荞品种的黄酮含量。目前苦荞数量性状基因座 (QTL) 定位还处于遗传群体和图谱的构建阶段^[11], 还没有和黄酮含量关联的 QTL 或分子标记的报道。关联分析是解析数量性状、挖掘有利等位基因、开发与目标性状紧密连锁分子标记的有效手段, 在作物遗传育种中发挥着重要作用。近年来, 随着苦荞参考基因组的公布^[12], Zhang 等^[13]对 510 份苦荞种质黄酮含量和重要农艺性状进行了全基因组关联分析, 推测 *FlUGFT3* 和 *FlAP2YT1* 可能分别是调控籽粒黄酮含量积累和粒重的关键基因。【本研究切入点】SSR 标记是关联分析常用的分子标记之一。随着测序技术的发展和测序成本的降低, 荞麦属植物 SSR 标记已被大规模开发^[14-18], 主要用于苦荞种质资源遗传多样性和群体结构的研究^[19-24]。但目前 SSR 标记与苦荞黄酮含量关联分析的研究鲜有报道。【拟解决的关键问题】本研究调查了来自我国 12 个省区的 193 个苦荞审定品种、地方品种和育种品系的籽粒总黄酮含量, 利用 SSR 标记关联作图法寻找可能与籽粒黄酮含量紧密连锁的标记, 以期分子标记辅助选育高黄酮含量苦荞品种提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

搜集来自全国不同省区的审定品种、育种品系和地方品种等 193 个苦荞种质作为试验材料, 其中贵州 139 个、四川 16 个、云南 13 个、陕西 7 个、山西 6 个、江西 2 个, 甘肃和湖南各 3 个, 辽宁、内蒙古、宁夏和西藏各 1 个。193 个苦荞资源由 36 个审定品种、75 个地方品种和 82 个育种品系组成。

1.2 田间种植

供试种质于 2016 年种植于贵州师范大学柏杨试验基地。每个种质种植四行区, 行长 2.0 m, 行间距为 0.33 m, 常规田间管理。籽粒成熟后, 按小区收获, 脱粒、风干至恒重。

1.3 籽粒总黄酮含量的测定

称取风干后的饱满籽粒 30 g 充分研磨, 称取 0.1000 g 粉末置于 10 mL 离心管中。采用 75% 的甲醇 60 ℃ 恒温水浴浸提, 0.1 mol·L⁻¹ AlCl₃-1.0 mol·L⁻¹ KAc 显色, 在波长 420 nm 处测定吸光度 (新世纪 T6 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司), 芦丁标准曲线的绘制和黄酮含量的具体测定过程参照吕丹等^[8]的方法和步骤。

1.4 SSR 基因型检测和遗传多样性分析

在每份种质种植小区中混合采集幼嫩叶片, 采用植物基因组 DNA 提取试剂盒 (北京天根) 提取 DNA。对本课题组前期合成的 350 对 SSR 引物进行筛选, 包含了 150 对 Genic-SSR 引物和 200 对 Genomic-SSR 引物, 分别以“S”和“TatG”开头命名, 引物信息详见黎瑞源等^[25]的报道。PCR 反应体系为 10 μL, 包括: DNA 模板 (50 ng·μL⁻¹) 2.0 μL, 2×Taq PCR MasterMix 5 μL, 上下游引物 (100 ng·μL⁻¹) 各 0.5 μL, ddH₂O 2.0 μL。

PCR 扩增产物在 2000 V, 80 W, 100 mA/板的电泳条件下, 采用 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳后, 胶板用 0.15% AgNO₃ 染色 15 min, 1.5% NaOH 显影, 具体步骤参考杨美^[26]的试验方法。胶板晾干后读带, 将可重复的、清晰的条带记为 1, 同一位置无带或不易分辨的弱带计为 0, 建立原始数据矩阵。利用 PowerMarker V3.25 软件计算每对引物扩增的等位基因数 (Na)、有效等位基因数 (Ne)、Shannon 信息指数 (I)、观察杂合度 (Ho) 和基因多样性 (He) 及多态性信息量 (PIC)。

1.5 群体结构分析

利用 STRUCTURE 2.2 软件对供试种质 SSR 数据矩阵进行基于数学模型的亚群划分。群体结构 K 值设定为 1~9, 每个设定的 K 值进行 10 次独立运算, Burn-in 与 MCMC 周期均设定为 100 000 次。将

STRUCTURE 2.2 软件的运算结果先导入在线工具 STRUCTURE HARVESTER (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>) 计算统计值 ΔK , 确定最有可能的亚群数; 再导入在线工具 CLUMPAK (<http://clumpak.tau.ac.il/>) 计算群体结构。最后将计算结果导入到 EXCEL 2019 完成结果图的绘制。

1.6 黄酮含量与 SSR 分子标记的关联分析

使用软件 TASSEL 3.0 计算、绘制标记连锁不平衡 (LD) 配对检测的矩阵图, 观测 LD 水平, Permutation 设置 1000 次。使用该软件的广义线性模型 (GLM), 将各个材料相应的 Q 值作为协变量进行群体矫正, 将黄酮含量与 62 个 SSR 标记基因型数据进行回归分析, 标记与表型性状的显著性水平设定为 $p=0.05$ 。TASSEL 3.0 软件中表型变异解释率的计算公式为: $R^2=SSM/SST$, 其中 SSM 为标记基因型间平方和, SST 为总平方和。

2 结果与分析

2.1 苦荞种质 SSR 标记的遗传多样性分析

利用从 350 对 SSR 引物中筛选到的多态性较好的 62 对引物, 对 193 个苦荞种质进行扩增 (图 1), 共

检测出 267 个等位变异, 每个 SSR 标记平均检测到 4.31 个等位基因 (N_a), 2.45 个有效等位基因 (N_e), 范围分别为 3~9 和 1.02~7.28。观测杂合度 (H_o) 平均为 0.503, 范围为 0~0.964。基因多样性 (H_e) 平均为 0.513, 范围为 0.021~0.863。Shannon 信息指数 (I) 平均为 0.942, 范围为 0.065~2.031。引物多态信息量 (PIC) 平均为 0.74, 范围为 0.20~0.91。在 62 个 SSR 标记中, 有 35.5% 的标记至少能检测到 5 个以上等位基因, 98.3% 的标记 $PIC>0.5$, 64.5% 的标记 $H_e>0.5$ (表 1), 表明供试的 193 个苦荞种质具有丰富的遗传多样性。

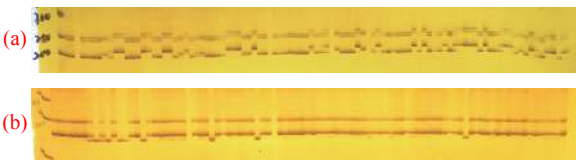


图 1 SSR 引物 TatG0124 (a) 与 S2234 (b) 在部分苦荞种质中的扩增结果

Fig. 1 DNA fragments amplified by SSR primer TatG0124 (a) and S2234 (b) in part of Tartary buckwheat germplasm

2.2 苦荞种质群体结构的分析

利用 62 个 SSR 标记对供试种质进行群体结构分

表 1 基于 62 对 SSR 引物的 193 个苦荞种质的遗传多样性参数
Table 1 Genetic diversity indicators of 193 Tartary buckwheat germplasm based on 62 pairs of SSR primers

序号 Index	引物名称 Primer name	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	Shannon 信息指数 I	观察杂合度 H_o	基因多样性 H_e	多态信息量 PIC
1	S7582	4	2.253	0.918	0.932	0.556	0.82
2	S9023	5	4.120	1.497	0.813	0.757	0.90
3	S7676	3	1.451	0.519	0.005	0.311	0.58
4	S7622	3	1.418	0.568	0.130	0.295	0.61
5	S7678	4	3.110	1.224	0.802	0.678	0.77
6	S7642	4	3.501	1.320	0.578	0.714	0.81
7	S8993	3	2.196	0.858	0.865	0.545	0.73
8	S9065	5	2.309	1.002	0.771	0.567	0.79
9	S9095	3	1.442	0.532	0.328	0.307	0.77
10	S8951	3	1.696	0.727	0.151	0.410	0.64
11	S9007	3	2.813	1.063	0.188	0.644	0.73
12	S8983	3	1.759	0.736	0.109	0.432	0.64
13	S9045	3	1.099	0.206	0.000	0.09	0.66
14	S7606	3	2.089	0.802	0.839	0.521	0.73
15	S7662	3	1.709	0.721	0.109	0.415	0.65
16	S2218	5	2.400	1.012	0.844	0.583	0.72
17	S2298	3	1.833	0.753	0.479	0.455	0.80
18	S2314	3	1.241	0.389	0.026	0.194	0.56
19	S2158	5	3.401	1.351	0.797	0.706	0.82
20	S2214	4	3.486	1.314	0.438	0.713	0.81

续上表

序号 Index	引物名称 Primer name	等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	Shannon信息指数 I	观察杂合度 Ho	基因多样性 He	多态信息量 PIC
21	S2252	3	1.840	0.749	0.469	0.457	0.66
22	S2288	4	2.471	1.033	0.875	0.595	0.74
23	S6827	4	1.875	0.814	0.417	0.467	0.67
24	S6865	3	2.038	0.780	0.766	0.509	0.60
25	S2234	5	3.378	1.348	0.870	0.704	0.83
26	S6871	5	2.274	0.938	0.901	0.560	0.77
27	S6821	5	3.136	1.230	0.672	0.681	0.82
28	S6873	4	2.752	1.187	0.266	0.637	0.85
29	S2216	6	2.695	1.193	0.948	0.629	0.87
30	S2310	5	2.173	0.879	0.88	0.540	0.70
31	S2312	7	1.535	0.784	0.094	0.349	0.85
32	S6853	7	3.615	1.453	0.953	0.723	0.88
33	S6805	4	1.350	0.470	0.271	0.259	0.80
34	S6891	3	1.244	0.366	0.000	0.196	0.20
35	S6875	4	2.178	0.863	0.880	0.541	0.78
36	S6789	4	1.505	0.698	0.125	0.335	0.79
37	S6843	3	1.299	0.464	0.078	0.230	0.79
38	S6859	4	1.582	0.664	0.036	0.368	0.72
39	S7654	5	2.811	1.151	0.438	0.644	0.78
40	S7668	4	2.219	0.893	0.813	0.549	0.61
41	S6819	5	3.461	1.325	0.734	0.711	0.80
42	S6811	3	2.105	0.796	0.964	0.525	0.53
43	S5216	3	1.021	0.065	0.000	0.021	0.67
44	S5196	3	2.128	0.82	0.870	0.530	0.57
45	S5166	4	2.300	0.922	0.875	0.565	0.79
46	S5176	3	1.134	0.252	0.000	0.118	0.69
47	S9013	4	2.544	1.026	0.964	0.607	0.73
48	S8963	4	1.065	0.165	0.005	0.061	0.52
49	S8969	3	1.321	0.489	0.135	0.243	0.59
50	S8947	4	1.295	0.412	0.219	0.228	0.71
51	S2304	4	2.228	0.951	0.214	0.551	0.82
52	TatG0242	8	7.283	2.031	0.747	0.863	0.91
53	TatG0164	4	2.248	0.923	0.124	0.555	0.78
54	TatG0227	6	2.625	1.148	0.916	0.619	0.83
55	TatG0272	4	2.391	1.096	0.202	0.582	0.79
56	TatG0188	5	2.542	1.118	0.006	0.607	0.79
57	TatG0124	6	4.437	1.573	0.787	0.775	0.89
58	TatG0004	8	4.684	1.744	0.433	0.787	0.91
59	TatG0156	6	4.370	1.562	0.899	0.771	0.88
60	TatG0214	5	3.526	1.390	0.579	0.716	0.87
61	TatG0184	9	4.248	1.699	0.646	0.765	0.91
62	TatG0175	5	3.851	1.421	0.944	0.740	0.85

析，在 $K=3$ 时， ΔK 值最大（图 2），因此将 193 个苦荞种质划分为 3 个亚群，命名为 POP1、POP2 和 POP3（图 3），分别包含 88、90 和 15 个种质。对各亚群的遗传多样性参数的统计可以看出，POP1 是遗传多样性最丰富的亚群，平均每个 SSR 标记检测出 4.21 个 Na， He 为 0.513， I 为 0.943。其次是 POP2，平均每个 SSR 标记检测出 3.74 个 Na， He 为 0.484， I 为 0.870（表 2）。亚群 POP2 与 POP3 之间的 Nei's 遗传距离最小，为 0.026；POP1 与 POP3 之间的 Nei's 遗传距离最大，为 0.076。3 个亚群之间的成对 F_{st} 值平均为 0.027；亚群 POP2 和 POP3 之间的成对固定系数 F_{st} 最小，为 0.014；POP1 和 POP3 之间的成对

F_{st} 值最大，为 0.037（表 3），表明划分的 3 个亚群间遗传分化程度低。

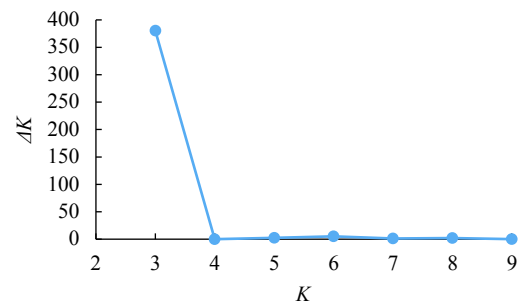


图 2 群体结构划分中 ΔK 随 K 值的变化率
Fig. 2 ΔK of K s in structure analysis

表 2 苦荞种质各亚群的遗传多样性指数
Table 2 Genetic diversity indicators for each Tartary buckwheat subgroup

亚群 Subgroup	样本数 N	等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	Shannon 信息指数 I	观察杂合度 H_o	基因多样性 He
POP1	88	4.21	2.42	0.943	0.493	0.513
POP2	90	3.74	2.33	0.870	0.502	0.484
POP3	15	2.95	2.27	0.800	0.576	0.468

2.3 连锁不平衡分析

对 62 个 SSR 标记形成的 1891 个成对组合进行

表 3 各亚群成对 F_{st} 系数（下三角）和 Nei's 遗传距离（上三角）

Table 3 Pairwise estimated F_{st} (below diagonal) and Nei's genetic distance (above diagonal) for subgroups

亚群 Subgroup	POP 1	POP 2	POP 3
POP1		0.065	0.076
POP2	0.030		0.026
POP3	0.037	0.014	

注：全部 F_{st} 差异显著（ $P<0.001$ ）。
Note: All F_{st} values are significant ($P<0.001$).

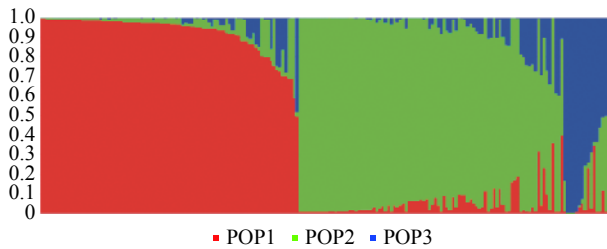


图 3 193 个苦荞种质的群体结构分析

Fig. 3 Population structure analysis on 193 Tartary buckwheat germplasms

连锁不平衡（LD）分析，整体共有 644 个组合存在显著（ $P<0.05$ ）的 LD，占总组合数的 34.1%，而三个亚群 POP1、POP2 和 POP3 中，存在显著的 LD 成对标记组合数分别只有 90（4.8%）、206（10.9%）和 97（5.1%）个（表 4），远少于在全体种质中检测到的数目，表明群体结构会影响连锁不平衡的分析。

2.4 黄酮含量的变异和关联分析

193 个苦荞种质籽粒黄酮含量平均为 2.11%，变幅为 1.04%~2.99%，变异系数为 27.93%。偏度和峰度分别为-0.29 和-1.17，说明籽粒黄酮含量呈近似的

表 4 显著 LD 的 SSR 标记成对组合数的比例和 D' （标准不平衡系数）

Table 4 Percentage and D' (standardized disequilibrium) value of pairs with significant LD

群体与亚群 Population and subgroup	种质数 No. of germplasms	LD 的 SSR 标记 成对组合数	LD 的 SSR 标记 成对组合所占比例	D'
		No. of SSR marker pairs in LD	Percentage of SSR marker pairs in LD	
群体 Population	193	644	34.06	0.277
Pop1	88	90	4.76	0.412
Pop2	90	206	10.89	0.304
Pop3	15	97	5.13	0.493

正态分布。以上结果表明，供试种质籽粒黄酮含量的变异丰富，可以进行关联分析。

对黄酮含量与 62 个 SSR 标记进行基于群体结构的关联分析，检测到 5 个与黄酮含量显著关联的 SSR 标记（表 5），共解释 43.30% 的表型变异率。其中 TatG0124 解释了 12.9% 的表型变异率，是 5 个位点中贡献率最大的。其次是 S6853，解释了 8.5% 的表型变异率。

表 5 与苦荞籽粒黄酮含量显著相关的 SSR 标记
Table 5 SSR markers significantly associated with flavonoids content in Tartary buckwheat grains

SSR 标记 SSR marker	F 值 F value	显著水平 P	表型贡献率 R ² /%
S2310	3.146	0.009 5	7.9
S2304	2.423	0.037 3	6.3
TatG0124	1.848	0.040 1	12.9
S2312	2.157	0.040 2	7.7
S6853	2.066	0.041 5	8.5

3 讨论与结论

群体具有丰富的遗传和表型变异，且内部没有明显的群体结构是关联分析成功的关键条件^[27]。群体的遗传多样性与群体的大小、来源、标记数量和引物的类型等因素有关。有效等位基因数目（Ne）、期望杂合度/基因多样性（He）、Shannon 信息指数（I）和多态信息量（PIC）等参数能有效地度量和比较不同群体的遗传多样性。一般认为 He>0.5，群体没有高强度的选择，拥有丰富的多态性，He<0.5 的群体遗传多样性低；PIC>0.5 的位点为高度多态座位^[28]。本文利用 62 对 SSR 引物分析了 193 个苦荞种质遗传多样性，其 I 和 PIC 平均分别为 0.942 和 0.74，高于山西地方品种（He 和 PIC 的均值分别为 0.4475 和 0.3869）^[29]、云南地方品种（He 和 PIC 的均值分别为 0.508 和 0.44）^[20]、我国审定品种（PIC 均值为 0.44）^[19] 和国内外苦荞种质（PIC 均值为 0.40）^[16] SSR 标记的遗传多样性，说明本研究中的 193 个苦荞种质的遗传多样性丰富。62 对 SSR 引物中 11 对来自苦荞基因组序列，其 Ne、I、He 和 PIC 均值分别为 3.837、1.427、0.707 和 0.855；51 对来自苦荞转录组序列，其 Ne、I、He 和 PIC 分别为 2.154、0.837、0.471 和 0.719。可见，基因组 SSR 位点的多态性程度要高于转录组 SSR 位点。62 个引物中，有 35.5% 的引物至少能检测到 5 个以上等位基因，98.3% 的引物 PIC>

0.5，64.5% 的引物 He>0.5，这些等位基因丰富、高度多态性的引物可有效地用于今后苦荞种质遗传多样性的研究。

群体结构是指一个群体内存在亚群的情况，群体结构会增加染色体间的 LD，造成目标性状和基因位点的伪关联^[27]。本研究利用群体结构分析将 193 个供试苦荞种质划分为 3 个亚群，亚群间的成对固定系数 Fst 为 0.014~0.037，表明 3 个亚群间遗传分化程度低。62 个 SSR 标记之间的 LD 分析显示，三个亚群 POP1、POP2 和 POP3 间存在显著的 LD 的标记组合数分别有 90、206 和 97 个，数目远少于在全体材料中检测到的 644 个，这表明通过群体结构可对供试种质进行有效的划分，降低目标性状与标记关联的假阳性，提高关联分析的准确度。以上结果为利用该群体进行苦荞重要性状的关联分析提供了重要参考。

本研究中 193 份苦荞种质籽粒总黄酮含量变幅为 1.04%~2.99%，变异系数为 27.93%，黄酮含量的变异程度大于 Gupta 等^[30] 报道的印度喜马拉雅地带的 195 份苦荞种质和刘三才等^[6] 调查的来自我国四川、云南、贵州、宁夏、湖南和山西等地的 76 份苦荞种质籽粒总黄酮含量的变异程度，也大于吕丹等^[8] 和郑冉等^[9] 报道的苦荞遗传群体籽粒总黄酮含量的变异程度。本研究对供试验种质籽粒黄酮含量与 62 个 SSR 标记进行了基于群体结构的关联分析，定位到了 5 个与籽粒黄酮含量显著关联的 SSR 标记，共解释 43.3% 的表型变异率。其中 TatG124（12.9%）和 SSR6853（8.5%）解释的表型变异率较大，由此推测 SSR0124 和 SSR6853 是控制籽粒黄酮含量的重要位点，可进一步验证开发为实用性标记，将为分子标记辅助选育高籽粒黄酮含量苦荞品种提供依据。

参考文献：

[1] 陈庆富. 荞麦属植物科学[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 10–11.
[2] 黄凯丰, 李振宙, 王炎, 等. 我国荞麦高产栽培生理研究进展 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2019, 37 (1): 115–120.
HUANG K F, LI Z Z, WANG Y, et al. Research progress on physiology of buckwheat under high-yield cultivation [J]. Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences), 2019, 37 (1): 115–120. (in Chinese)
[3] 吴韬, 肖丽, 李伟丽. 苦荞的营养与功能成分研究进展 [J]. 西华大学学报 (自然科学版), 2021, 40 (2): 91–96, 109.
WU T, XIAO L, LI W L. Research progress of chemicals in Tartary buckwheat [J]. Journal of Xihua University (Natural Science Edition), 2021, 40 (2): 91–96, 109. (in Chinese)
[4] LUTHAR Z, GOLOB A, GERM M, et al. Tartary buckwheat in

- human nutrition [J]. *Plants*, 2021, 10 (4) : 700.
- [5] 王璐瑗, 荣玉萍, 黄娟, 等. 211份金荞麦收集系根茎黄酮含量的分析评价 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2019, 37 (4) : 25–30, 48.
- WANG L Y, RONG Y P, HUANG J, et al. Analysis and evaluation of the flavonoid content of rhizomes of 211 different Golden buckwheat accessions (*Fagopyrum cymosum* complex) [J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences)*, 2019, 37 (4) : 25–30, 48. (in Chinese)
- [6] 刘三才, 李为喜, 刘方, 等. 苦荞麦种质资源总黄酮和蛋白质含量的测定与评价 [J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8 (3) : 317–320.
- LIU S C, LI W X, LIU F, et al. Identification and evaluation of total flavones and protein content in Tartary buckwheat germplasm [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2007, 8 (3) : 317–320. (in Chinese)
- [7] 吕丹, 黎瑞源, 郑冉, 等. 苦荞种质资源籽粒黄酮含量及籽粒性状的变异分析 [J]. 分子植物育种, 2020, 18 (14) : 4762–4774.
- LYU D, LI R Y, ZHENG R, et al. Variation analysis of flavonoids content in seeds and seed traits of Tartary buckwheat germplasm resources [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18 (14) : 4762–4774. (in Chinese)
- [8] 吕丹, 黎瑞源, 郑冉, 等. 苦荞“翅米荞×野苦荞”重组自交系群体籽粒黄酮含量及籽粒性状的分析 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2019, 37 (6) : 40–46.
- LYU D, LI R Y, ZHENG R, et al. Analysis of flavonoids content in grains and grain traits on ‘Chimiqiao’ and ‘Yekuqiao’ recombinant inbred lines population of Tartary buckwheat [J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences)*, 2019, 37 (6) : 40–46. (in Chinese)
- [9] 郑冉, 黎瑞源, 吕丹, 等. 苦荞重组自交系群体籽粒黄酮含量与产量性状分析 [J]. 广西植物, 2021, 41 (2) : 216–224.
- ZHENG R, LI R Y, LYU D, et al. Variation analysis of flavonoid contents in seeds and yield traits on recombinant inbred line population of Tartary buckwheat [J]. *Guihaia*, 2021, 41 (2) : 216–224. (in Chinese)
- [10] MATSUI K, WALKER A R. Biosynthesis and regulation of flavonoids in buckwheat [J]. *Breeding Science*, 2020, 70 (1) : 74–84.
- [11] SHI T X, LI R Y, ZHENG R, et al. Mapping QTLs for 1000-grain weight and genes controlling hull type using SNP marker in Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22: 142.
- [12] ZHANG L J, LI X X, MA B, et al. The Tartary buckwheat genome provides insights into rutin biosynthesis and abiotic stress tolerance [J]. *Molecular Plant*, 2017, 10 (9) : 1224–1237.
- [13] ZHANG K X, HE M, FAN Y, et al. Resequencing of global Tartary buckwheat accessions reveals multiple domestication events and key loci associated with agronomic traits [J]. *Genome Biology*, 2021, 22 (1) : 23.
- [14] 马名川, 刘龙龙, 刘璋, 等. 苦荞全基因组SSR位点特征分析与分子标记开发 [J]. 作物杂志, 2021 (1) : 38–46.
- MA M C, LIU L L, LIU Z, et al. Analysis of SSR loci in whole genome and development of molecular markers in Tartary buckwheat [J]. *Crops*, 2021 (1) : 38–46. (in Chinese)
- [15] 贺润丽, 尹桂芳, 李春花, 等. 苦荞种皮转录组SSR位点信息分析及其分子标记的开发 [J]. 分子植物育种, 2020, 18 (18) : 6085–6092.
- HE R L, YIN G F, LI C H, et al. Development of molecular markers and SSR loci information analysis of transcriptome in Tartary buckwheat seed coat [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18 (18) : 6085–6092. (in Chinese)
- [16] 杜伟, 王东航, 侯思宇, 等. 基于苦荞全长转录组测序开发SSR标记及遗传多样性分析 [J]. 植物生理学报, 2020, 56 (7) : 1432–1444.
- DU W, WANG D H, HOU S Y, et al. Development of SSR markers based on full-length transcriptome sequencing and its application for genetic diversity analysis in *Fagopyrum tataricum* [J]. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56 (7) : 1432–1444. (in Chinese)
- [17] SHI T X, LI R Y, CHEN Q J, et al. De novo sequencing of seed transcriptome and development of genic-SSR markers in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) [J]. *Molecular Breeding*, 2017, 37 (12) : 1–15.
- [18] 黎瑞源, 潘凡, 陈庆富, 等. 苦荞转录组EST-SSR发掘及多态性分析 [J]. 中国农业科技导报, 2015, 17 (4) : 42–52.
- LI R Y, PAN F, CHEN Q F, et al. Excavation and polymorphism analysis of EST-SSR from transcriptome of Tartary buckwheat [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2015, 17 (4) : 42–52. (in Chinese)
- [19] 黎瑞源, 石桃雄, 陈其皎, 等. 中国35个苦荞审定品种EST-SSR指纹图谱构建与遗传多样性分析 [J]. 植物科学学报, 2017, 35 (2) : 267–275.
- LI R Y, SHI T X, CHEN Q J, et al. Construction of EST-SSR fingerprinting and analysis of genetic diversity of thirty-five registered Tartary buckwheat cultivars (*Fagopyrum tataricum*) in China [J]. *Plant Science Journal*, 2017, 35 (2) : 267–275. (in Chinese)
- [20] 李春花, 陈葵坤, 王艳青, 等. 利用SSR标记构建云南苦荞种质资源分子身份证 [J]. 分子植物育种, 2019, 17 (5) : 1575–1582.
- LI C H, CHEN R K, WANG Y Q, et al. Establishment of the molecular ID for Yunnan Tartary buckwheat germplasm resources based on SSR marker [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17 (5) : 1575–1582. (in Chinese)
- [21] 屈洋, 周瑜, 王钊, 等. 苦荞产区种质资源遗传多样性和遗传结构分析 [J]. 中国农业科学, 2016, 49 (11) : 2049–2062.
- QU Y, ZHOU Y, WANG Z, et al. Analysis of genetic diversity and structure of Tartary buckwheat resources from production regions [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49 (11) : 2049–2062. (in Chinese)
- [22] 徐笑宇, 方正武, 杨璞, 等. 苦荞遗传多样性分析与核心种质筛选 [J]. 干旱地区农业研究, 2015, 33 (1) : 268–277.
- XU X Y, FANG Z W, YANG P, et al. Genetic diversity analysis of Tartary buckwheat and selection of core collections [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2015, 33 (1) : 268–277. (in Chinese)
- [23] 杨学文, 丁素荣, 胡陶, 等. 104份苦荞种质的遗传多样性分析 [J].

- 作物杂志, 2013 (6): 13–18.
- YANG X W, DING S R, HU T, et al. Genetic diversity of 104 Tartary buckwheat accessions [J]. *Crops*, 2013 (6): 13–18. (in Chinese)
- [24] HOU S Y, SUN Z X, BIN L H, et al. Genetic diversity of buckwheat cultivars (*Fagopyrum tartaricum* Gaertn.) assessed with SSR markers developed from genome survey sequences [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2016, 34 (1): 233–241.
- [25] 黎瑞源, 梁龙兵, 石桃雄, 等. 苦荞重组自交系群体F₅代SSR遗传图谱的构建 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2017, 35 (4): 31–45.
- LI R Y, LIANG L B, SHI T X, et al. Construction of a microsatellite-based genetic map of Tartary buckwheat using F₅ recombinant inbred lines [J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences)*, 2017, 35 (4): 31–45. (in Chinese)
- [26] 杨美. 甘蓝型油菜根系形态对低磷胁迫的反应及其QTL分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- YANG M. Response of root morphology to low phosphorus stress and QTL analysis in *Brassica napus*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010. (in Chinese).
- [27] 赵宇慧, 李秀秀, 陈倬, 等. 生物信息学分析方法 I: 全基因组关联分析概述 [J]. *植物学报*, 2020, 55 (6): 715–732.
- ZHAO Y H, LI X X, CHEN Z, et al. An overview of genome-wide association studies in plants [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2020, 55 (6): 715–732. (in Chinese)
- [28] 徐刚标. 植物群体遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 193–200.
- [29] 马名川, 张丽君, 刘璋, 等. 基于SSR标记的山西省不同地区苦荞遗传多样性分析 [J]. 山西农业大学学报 (自然科学版), 2021, 41 (3): 25–31.
- MA M C, ZHANG L J, LIU Z, et al. Analysis of genetic diversity of Tartary buckwheat from different regions of Shanxi Province based on SSR marker [J]. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2021, 41 (3): 25–31. (in Chinese)
- [30] GUPTA N, SHARMA S K, RANA J C, et al. AFLP fingerprinting of Tartary buckwheat accessions (*Fagopyrum tataricum*) displaying rutin content variation [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83 (6): 1131–1137.

(责任编辑: 于洪杰)