植物遗传资源学报 2020，21（3）：663-673
Journal of Plant Genetic Resources
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20191230002

全基因组关联分析解析水稻剑叶及单株产量的遗传基础

朱双兵[1,2,3]，吕文恺[1]，何丽萍[1]，邢丹英[1]，杨隆维[1]，邱先进[1,4]，徐建龙[3]
（[1]湿地生态与农业利用教育部工程技术中心 / 长江大学，荆州 434025；[2]岭南现代农业科学与技术广东省实验室深圳分中心 / 中国农业科学院农业基因组研究所，深圳 518210；[3]中国农业科学院作物科学研究所，北京 100081；[4]湖北省农业科学院粮食作物研究所，武汉 430064）

摘要：剑叶是水稻主要的源器官，剑叶大小与产量呈极显著的正相关，揭示剑叶大小和单株产量的遗传基础对于选育株型适宜的水稻高产品种具有重要意义。本研究以来源广泛、多样性丰富的1016份全球水稻核心种质资源为材料，在湖北荆州连续两年考察了种质资源的剑叶大小和单株产量。结果显示，剑叶长、宽、面积和单株产量在两年变异丰富，受环境影响大；剑叶长、宽和面积与单株产量相关性程度较低，说明这些性状的遗传基础不同。利用4.8M高密度SNP基因型数据进行全基因组关联分析，共定位到31个影响水稻剑叶相关性状和单株产量的QTL，其中1个QTL（*qFLW4*）在两年均定位到，3个位点同时影响多个性状（*qFLW4* 和 *qFLA4*、*qFLL6* 和 *qFLA6*、*qFLL10.1* 和 *qFLA10*）。结合候选区间单倍型分析和生物信息学分析，鉴定到7个候选基因和10个有利等位基因。研究结果为克隆水稻剑叶性状新基因和通过分子标记辅助选择配置不同剑叶相关基因塑造理想株型提供基因资源。

关键词：剑叶性状；单株产量；关联分析；数量性状位点；候选基因；有利等位基因

Genetic Dissection of Flag Leaf Related Traits and Grain Yield per Plant Using Genome-wide Association Analysis

ZHU Shuang-bing[1,2,3], LV Wen-kai[1], HE Li-ping[1], XING Dan-ying[1], YANG Long-wei[1], QIU Xian-jin[1,4], XU Jian-long[3]
([1]*Engineering Research Center of Ecology and Agricultural Use of Wetland, Ministry of Education/ Yangtze University, Jingzhou 434025*; [2] *Shenzhen Branch, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture/ Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518210*; [3]*Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081*; [4]*Institute of Food Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064*)

Abstract: Flag leaf, which is a major sink organ of rice plant, was reported to significantly positive correlate with the grain yield. Illustrating the genetic basis of flag leaf related traits and the grain yield is of significance in breeding for high-yield varieties with ideal plant type. In the present study, a diverse panel of 1016 rice accessions was evaluated for flag leaf related traits including flag leaf length (FLL), flag leaf width (FLW), flag leaf area (FLA), as well as the grain yield per plant (GY) in Jingzhou of Hubei province in two calendar years (2015 and 2016). The abundant variations at four traits were observed within this population, but the phenotypic variations were found to be largely environmental-dependent. The correlations between GY and each of FLL, FLW, FLA were low. Using genome-wide association analysis based on 4.8M high throughput SNP datasets, a total of 31 QTL for flag leaf related traits and GY were identified. Especially, one QTL (*qFLW4*) for FLW was

收稿日期：2019-12-30　**修回日期：**2020-01-14　**网络出版日期：**2020-02-04
URL：http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191230002
第一作者研究方向为水稻有利基因挖掘与分子育种，E-mail：1102032200@qq.com
通信作者：徐建龙，研究方向为水稻分子育种，E-mail：xujianlong@caas.cn
邱先进，研究方向为水稻有利基因挖掘，E-mail：xjqiu216@yangtzeu.edu.cn
基金项目：湿地生态与农业利用教育部工程技术中心开放基金（KF201806，KFT201901，KFT201905）；中国农业科学院科技创新工程协同创新任务（CAAS- ZDXT201800）

Foundation project: Open fund of Engineering and Agricultural Use of Wetland, Ministry of Education (KF201806, KFT201901, KFT201905), The Agricultural Science and Technology Innovation Program Cooperation and Innovation Mission to JX (CAAS-ZDXT201800)

detected in both two calendar years. Three regions were found to be associated with two traits including *qFLW4* and *qFLA4* for FLW and FLA, *qFLL6* and *qFLA6* for FLL and FLA, and *qFLL10.1* and *qFLA10* for FLL and FLA. Using haplotype and bioinformatic analyses in QTL regions, seven candidate genes and 10 favorable alleles were identified. Taken together, our results provided a preliminary base in order to clone the functional genes underlying rice flag leaf related traits, and breed for elite rice varieties with an ideal plant type by deploying different favorable genes by marker-assisted selection.

Key words: flag leaf trait; grain yield per plant; genome-wide association analysis; quantitative trait locus (QTL); candidate genes; favorable allele

水稻是世界上一半以上人口的主食[1-2]。随着人口的迅猛增长,高产一直是水稻育种家首要的育种目标[3]。水稻产量主要取决于源、库、流的大小及其协调性,其中上三叶尤其是剑叶是水稻主要的源器官[4-5]。剑叶较长和较宽有利于扩大水稻的源,并有利于增产。因此解析水稻剑叶大小和产量的遗传基础,定位影响水稻剑叶大小和产量的QTL,对于塑造理想株叶型进而提高水稻产量具有重要意义。

水稻剑叶包括剑叶大小、叶夹角和披垂、卷曲等。其中剑叶长宽决定了剑叶面积,并决定了净光合速率和群体透光性[6]。剑叶长宽均为典型的数量性状,受多基因控制,且容易受环境影响。研究者利用双亲本杂交群体定位了多个影响剑叶长宽的QTL[6-18],精细定位了1个QTL[19],并克隆了几个控制水稻剑叶宽的基因。*NRL1*编码一个类纤维素合酶基因,该基因突变导致叶片变窄且半卷[20]。*NAL1*(*SS1*)编码一个植物特定蛋白,在维管组织中表达量高,该基因突变后剑叶变窄,维管束系统发育出现缺陷[21-22]。*NAL2*和*NAL3*两个基因同时突变时导致叶片变窄且卷曲[23]。*NRL2*编码一个新的未知生化功能的植物特异蛋白,该基因突变后导致叶片变窄且卷曲[24]。相比剑叶性状,水稻产量的QTL定位和基因克隆研究非常深入,目前已定位到了超过500个(www.gramene.org),其中多个基因已克隆[25-26]。

以上定位和克隆的QTL/基因都是利用双亲本杂交构建群体或创造突变体的方式获得的,这种方法需要构建一定的群体,群体构建的时间较长,而且只能鉴定到两种等位基因[27]。如果双亲两种等位基因一致则无法定位到相应的QTL,更无法鉴定到种质资源中的优异等位基因。广泛收集的水稻种质资源变异十分丰富,且蕴含了大量的有利等位基因[28]。近年来,以种质资源为研究材料,采用基于连锁不平衡(LD, linkage disequilibrium)的全基因组关联分析策略(GWAS, genome-wide association study),定位了大量影响水稻重要农艺性状的QTL[27-28]。该方法不仅可以直接实现QTL的精细定位,而且可以挖掘种质资源中的有利等位基因,为育种提供重要的等位基因资源。Huang等[29]利用950份水稻品种,共鉴定到10个与水稻产量性状相关的基因位点。Lu等[30]利用世界范围内的469份籼稻种质资源,结合全基因组关联分析,在陵水和杭州两个环境下定位到17个和24个影响水稻剑叶长和宽的QTL。Wang等[31]利用272份籼稻种质资源,定位了11个源库和产量相关性状70个QTL。

为进一步解析水稻剑叶大小和单株产量的遗传基础,定位更多的影响水稻剑叶性状和单株产量的QTL,本研究从3000份重测序种质资源中(3K RGP, 3K Rice Genome Project)[32]挑选了1016份在湖北荆州能正常抽穗的遗传多样性丰富的水稻种质,2015-2016年连续两年考察了这些品种的剑叶长、剑叶宽、剑叶面积和单株产量。结合全基因组4.8 M高密度的SNP基因型,采用全基因组关联分析挖掘影响水稻剑叶性状和单株产量的QTL位点,针对重要位点进行候选区间的关联分析和单倍型分析,鉴定候选基因,并挖掘有利等位基因,为克隆水稻剑叶性状和单株产量基因提供理论基础,也为分子育种选育高产品种提供基因资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用的1016份水稻种质资源来源于70个国家或地区,包括中国262份(25.79%),印度132份(12.99%),菲律宾78份(7.68%),孟加拉国63份(6.20%),日本38份(3.74%),其他亚洲国家201份(19.78%),美洲、欧洲、非洲和大洋洲共234份(23.03%),未知来源的8份(0.79%)。1016份种质资源可分为5个亚群,包括籼稻(XI)543份(53.44%),粳稻(GJ)318份(31.30%),*Aus*型115

份（11.32%），*Basmati* 型（Bas）12 份（1.18%）和中间型（Admix）28 份（2.76%）。

1.2　材料种植与性状考察

2015-2016 年连续两年在湖北荆州长江大学校内农场种植 1016 份种质资源，2 次重复，采用随机区组设计。每年 5 月 5 日播种，6 月 8 日移栽，每个品种种植 4 行，每行 6 株，种植规格为 20 cm × 20 cm。每个品种记录抽穗期，并于抽穗后 10 d 采用 Wang 等[19]描述的方法调查中间行生长一致的 8 株的主穗剑叶长和剑叶宽，按剑叶长 × 剑叶宽 × 0.75 计算剑叶面积[33]。抽穗后 30~45 d 按小区混收，测定小区产量后根据单株数计算单株产量。

1.3　SNP 基因型的获得

3K RGP 项目原始测序数据已在 GigaScience 公开[34]。首先使用 BWA 软件“mem”算法将测序数据与参考基因组日本晴 IRGSP 1.0 比对，使用 samtools、GATK、Picardtools 等对短序列比对结果进行处理得到单核苷酸多态性（SNP）数据。针对 1016 份资源品种，分别剔除稀有等位基因标记（基因型频率 <5%）、缺失标记数多于 10% 的标记和相关性大于 >0.95 的标记，最终获得高质量高密度的 4.8 M SNP 标记用于关联分析[35]。

1.4　数据分析

1.4.1　表型数据分析　用 Microsoft Excel 2007 进行表型数据整理，剔除异常数据后以 2 个重复的平均值作为性状值进行后续分析。利用 Statistica5.5 进行年际间的差异性分析以及性状间和年际间的相关性分析。

1.4.2　群体结构和连锁不平衡分析　对 4.8 M SNP 标记，首先使用 plink 软件“--indep-pairwise 50 10 0.5”参数过滤掉临近的连锁较强的 SNP，选择染色体上均匀分布的 386065 个 SNP 标记分析群体结构。使用 EIGENSOFT 软件进行主成分分析（PCA，principal component analysis），以 PC1 和 PC2 揭示群体结构。使用 TASSEL 软件（5.0 版）构建亲缘矩阵（kinship）。提取 MAF>0.1 的 SNP 数据，利用 plink v1.90 软件“--r2--ld-window-kb 1000--ld-window 99999--ld-window-r2 0”参数计算全基因组水平 1 Mb 区域内 SNP 之间的 r^2，进行连锁不平衡（LD）分析。选用极显著（P<0.001）的位点对绘制 LD 衰减图，并绘制拟合曲线，以 LD 衰减至起始值一半时所对应的物理距离作为 LD 衰减距离。

1.4.3　全基因组关联分析　结合 4.8 M SNP 标记的基因型数据和两年的性状进行全基因组关联分析。利用 SVS 软件包中单位点混合线性模型中的 EMMAX（efficient Mix-Model AssociationeXpedited）程序[36-37]进行全基因组关联分析，阈值设置为 2.14×10^{-6}（或 –log10（p） 为 5.67，1/*Ne*，*Ne* 为 GEC 软件计算出的有效标记数 467290 个）。由于该套种质资源的 LD 为 161 Kb，因此认为峰值 SNP 附近 161 Kb 以内的 QTL 为同一个 QTL。

1.4.4　重要 QTL 的候选基因分析　针对两年能重复定位到的 QTL 或同时影响不同表型的 QTL 进行候选基因分析。以日本晴作为参考基因组筛选该 QTL 峰值 SNP 上下游各 161 Kb 区间内所有的显著 SNP，采用每个基因上的非同义突变的显著 SNP 进行相关性状的单倍型分析，利用单因素方差分析来检验不同单倍型之间的差异显著性，阈值设置为 0.01。不同单倍型间性状达到显著差异的基因结合生物信息学进行候选基因的推断。

2　结果与分析

2.1　种质资源剑叶性状及单株产量的表现

种质资源 2015-2016 年在荆州的剑叶性状及单株产量见表 1。两年中剑叶长、宽和面积均表现为正态分布，且变异丰富，平均变异系数分别为 25.43%、17.45% 和 33.69%，其中剑叶面积的变异最大，剑叶宽的变异相对较小。同样地，单株产量也表现为正态分布，其变异系数均大于剑叶性状。两年间剑叶性状和单株产量均表现出显著差异，其中 2016 年 3 个剑叶性状均显著大于 2015 年，但 2016 年单株产量显著小于 2015 年，其中单株产量年度间的差异最显著，表明产量受环境影响最大。

2.2　剑叶性状与单株产量间的相关性

除 2015 年剑叶长与 2016 年单株产量之间相关性不显著外，其他性状在两年间均表现出不同程度的显著正相关关系（表 2），而且不同性状之间的相关性在两年间表现相似，例如剑叶长与剑叶宽两年相关性较低，表明剑叶长与剑叶宽之间的生长相对比较独立，两者之间有一定的可塑性。剑叶相关性状与单株产量之间表现为低相关或无显著相关，表明单株产量除了取决于源相关性状的大小外，还可能与其他因素有关。此外，同一性状在两年间均表现为极显著正相关关系，其中剑叶性状在两年间为中度正相关，而单株产量在两年间为低度正相关，再次说明单株产量受环境影响较大。

表 1 种质资源在两年的剑叶性状及单株产量表现

Table 1 Performances of flag leaf length and width in the two years

性状 Trait	年份 Year	平均值 ± 标准差 Mean ± *SD*	变幅 Range	变异系数 (%) *CV*	*P* [a]
剑叶长 (cm) Flag leaf length	2015	35.94 ± 9.18	12.00~72.00	25.54	5.84×10^{-11}
	2016	38.68 ± 9.79	11.90~86.70	25.31	
剑叶宽 (cm) Flag leaf width	2015	1.67 ± 0.30	0.90~3.10	17.87	7.81×10^{-8}
	2016	1.74 ± 0.30	0.85~2.80	17.03	
剑叶面积 (cm^2) Flag leaf area	2015	45.42 ± 15.72	10.98~138.78	34.62	3.21 ± 10^{-14}
	2016	50.85 ± 16.65	9.82~119.20	32.75	
单株产量 (g) Grain yield per plant	2015	24.97 ± 9.67	0.22~75.31	38.74	1.08 ± 10^{-93}
	2016	16.39 ± 6.98	1.78~48.00	42.59	

[a] 利用单因素方差分析计算的相同性状两年的差异显著水平

[a] Significant differences for the same trait between the two years by one-way ANOVA

表 2 种质资源在两年间剑叶长宽的相关性

Table 2 Correlation coefficients among flag leaf related traits and grain yield per plant in the two years

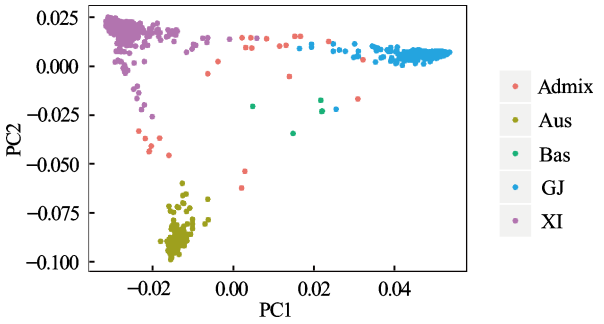
性状 Trait	剑叶长 -2016 Flag leaf length-2016	剑叶宽 -2016 Flag leaf width-2016	剑叶面积 -2016 Flag leaf area-2016	单株产量 -2016 Grain yield per plant-2016
剑叶长 -2015 Flag leaf length-2015	0.44***	0.21***	0.85***	0.04
剑叶宽 -2015 Flag leaf width-2015	0.20***	0.63***	0.67***	0.13***
剑叶面积 -2015 Flag leaf area-2015	0.84***	0.68***	0.46***	0.09*
单株产量 -2015 Grain yield per plant-2015	0.09**	0.15***	0.13***	0.29***

*、** 和 *** 表示 0.05、0.01 和 0.001 水平上显著

*, ** and *** represent significant levels at $P<0.05$, 0.01 and 0.001, respectively

2.3 连锁不平衡分析

1016 份种质资源的 PC1 和 PC2 分别为 11.8% 和 8.3% (图 1),表现出较强的群体结构。连锁不平衡分析结果显示该群体的 r^2 随物理距离增加而下降的趋势,其临界值为 0.24 (图 2)。以连锁不平衡



群体最大变异的 2 个主成分分别图示于 X 轴和 Y 轴; Admix: 中间型; Aus: Aus 型; Bas: Basmati 型; GJ: 粳稻; XI: 籼稻

The two principal components (PCs) capturing the largest amount of variation are shown as X- and Y-axis, respectively, Admix: *admixture* type, Aus: *Aus* type, Bas: *Basmati* type, GJ: *Japonica* type, XI: *Indica* type

图 1 1016 份种质的主成分分析

Fig. 1 Principal component analysis of 1016 rice germplasm resources

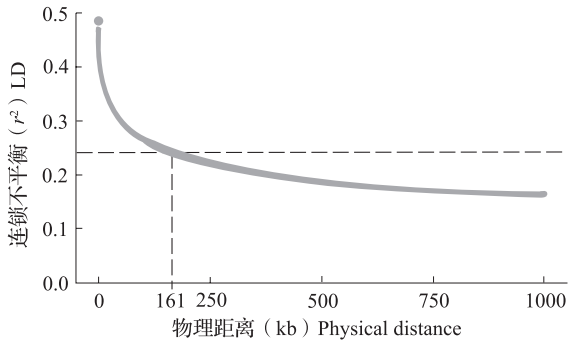


图 2 群体的 LD 衰减图

Fig. 2 LD (r^2) decay of marker-pairs over all chromosomes for the population

降低至原始值的一半 (r^2>0.24) 为阈值,该套种质资源的 LD 物理距离为 161 kb。

2.4 全基因组关联分析

利用 4.8 M 的 SNP 基因型和两年的表型共定位到 31 个影响水稻剑叶相关性状和单株产量的 QTL (表 3、图 3)。

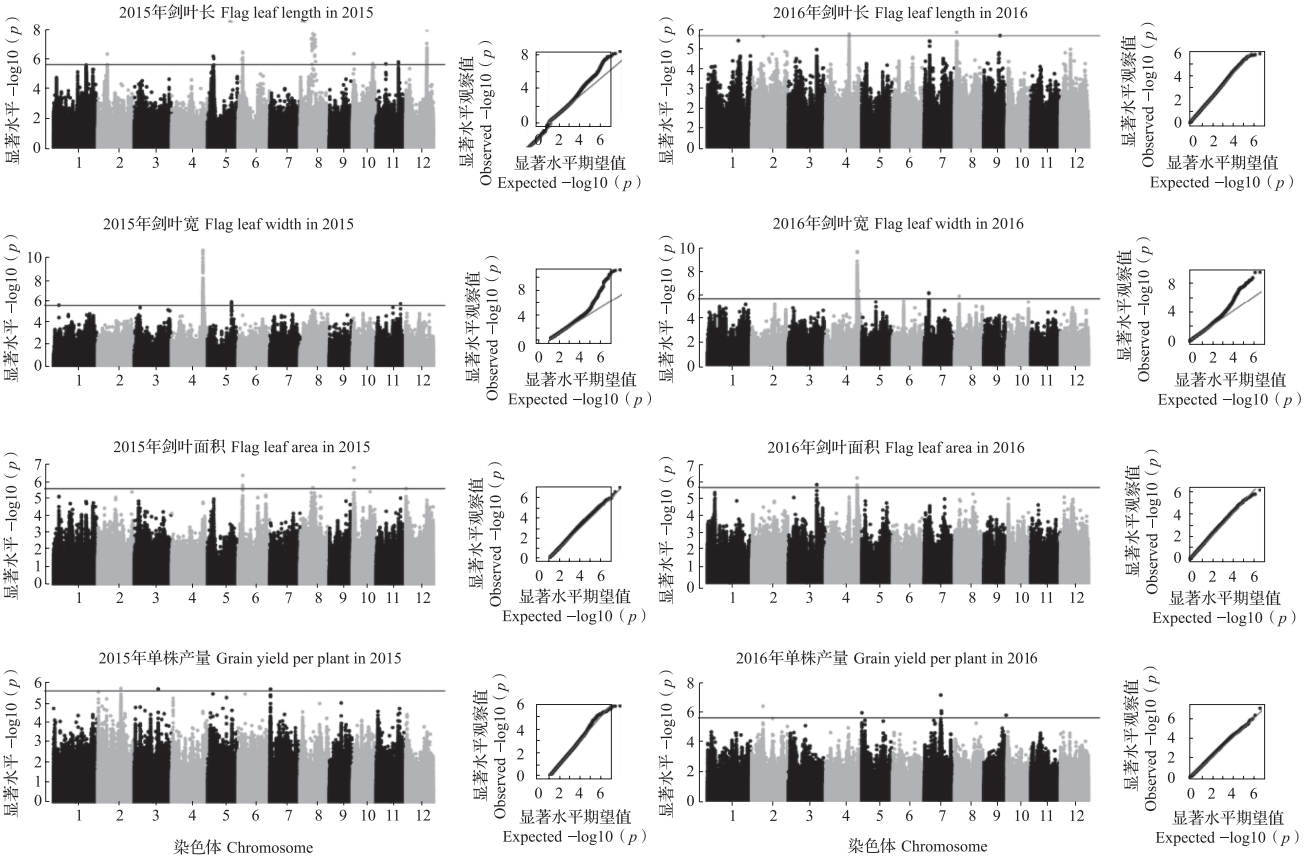
定位到 12 个影响水稻剑叶长的 QTL, 2015 年和 2016 年分别定位到 9 个和 3 个,它们位于除第 1、

表 3　利用全基因组关联分析定位到影响剑叶相关性状和单株产量的 QTL

Table 3　QTL for flag leaf length and width detected by genome-wide association analysis

性状 Trait	QTL	年份 Year	染色体 Chr.	峰值 SNP Peak SNP	优势 / 劣势等位基因 Major/minor allele	等位基因频率 MAF	*P* 值 *P*-value	效应 Effect	表型贡献率 (%) R^2	克隆的基因 Cloned gene
剑叶长	*qFLL2*	2015	2	rs2_9469330	C/T	0.11	4.18×10^{-7}	3.34	5.08	
Flag leaf length	*qFLL4*	2016	4	rs4_23198537	C/A	0.40	1.76×10^{-6}	1.46	2.25	
	qFLL5	2015	5	rs5_5766753	C/T	0.29	5.93×10^{-7}	–0.43	0.17	
	qFLL6	2015	6	rs6_4737943	G/A	0.20	3.54×10^{-7}	2.78	5.73	
	qFLL8.1	2016	8	rs8_2013344	C/A	0.29	1.43×10^{-6}	2.32	4.95	
	qFLL8.2	2015	8	rs8_11143479	C/A	0.07	3.88×10^{-8}	4.66	6.84	
	qFLL9	2016	9	rs9_16271846	C/T	0.10	2.12×10^{-6}	3.67	5.28	
	qFLL10.1	2015	10	rs10_1660773	T/A	0.37	3.97×10^{-7}	1.85	3.82	
	qFLL10.2	2015	10	rs10_20173166	C/T	0.20	1.81×10^{-6}	–1.71	2.09	
	qFL11.1	2015	11	rs11_9705547	C/T	0.17	1.94×10^{-6}	–0.44	0.12	
	qFLL11.2	2015	11	rs11_22157236	C/G	0.16	1.44×10^{-6}	–0.19	0.02	
	qFLL12	2015	12	rs12_21134380	C/A	0.18	1.01×10^{-8}	0.19	0.02	
剑叶宽	*qFLW1*	2015	1	rs1_5293237	C/T	0.35	2.05×10^{-6}	0.06	3.66	
Flag leaf width	*qFLW4*	2015	4	rs4_31049635	A/G	0.48	7.08×10^{-10}	–0.04	1.45	*NAL1/SS1*[21–22]
		2016	4	rs4_31113748	T/A	0.13	2.33×10^{-10}	–0.04	1.27	
	qFLW5	2015	5	rs5_23746806	C/G	0.33	8.9×10^{-7}	0.01	0.17	
	qFLW7	2016	7	rs7_4602855	C/G	0.388	6.93×10^{-7}	–0.03	0.69	
	qFLW8	2016	8	rs8_4598392	C/T	0.36	1.28×10^{-6}	0.03	0.66	
	qFLW11	2015	11	rs11_24266497	C/A	0.40	1.39×10^{-6}	0.07	4.40	
剑叶面积	*qFLA3*	2016	3	rs3_27947681	G/A	0.37	1.45×10^{-6}	1.43	0.68	
Flag leaf area	*qFLA4*	2016	4	rs4_31199843	G/A	0.10	2.01×10^{-6}	2.98	1.09	*NAL1/SS1*[21–22]
	qFLA6	2015	6	rs6_4727405	C/T	0.19	3.51×10^{-7}	5.93	8.45	
	qFLA8	2015	8	rs8_12746308	C/A	0.07	1.85×10^{-6}	7.99	6.38	
	qFLA10	2015	10	rs10_1660773	T/A	0.37	1.22×10^{-7}	3.80	5.23	
	qFLA12	2015	12	rs12_691051	T/C	0.39	2.09×10^{-6}	0.54	0.11	
单株产量	*qGY2.1*	2016	2	rs2_11258953	G/T	0.37	3.49×10^{-7}	3.44	22.18	
Grain yield per plant	*qGY2.2*	2015	2	rs2_22898578	A/G	0.05	1.59×10^{-6}	1.98	0.42	
	qGY3	2015	3	rs3_23574827	C/G	0.09	1.68×10^{-6}	0.94	0.26	
	qGY5	2016	5	rs5_228752	C/T	0.09	9.90×10^{-7}	–2.43	3.67	
	qGY7.1	2015	7	rs7_780430	A/G	0.17	1.71×10^{-6}	0.66	0.23	
	qGY7.2	2016	7	rs7_16310522	C/T	0.10	6.27×10^{-8}	0.76	0.41	
	qGY9	2016	9	rs9_22137372	T/C	0.46	1.46×10^{-6}	2.13	9.64	

MAF：Frequency of minor allele，R^2：Phenotypic variation rate



横线代表关联定位 QTL 的阈值

Line showed the threshould to determine QTLs by GWAS

图 3 剑叶性状和单株产量的曼哈顿散点图和 QQ 图

Fig. 3 Manhattan plots and QQ plots for flag leaf related traits and grain yield per plant in 2015 and 2016

3 和 7 染色体外的其他 9 条染色体上，对表型的贡献率变幅为 0.02%~6.84%。其中位于第 8 染色体的 *pFLL8.2* 对表型的贡献最大，能解释表型变异的 6.84%。

在 2015 年和 2016 年分别定位到 4 个和 3 个影响水稻剑叶宽的 QTL，位于第 1、4、5、7、8 和 11 染色体，对表型的平均贡献率为 1.76%。其中位于第 4 染色体的 *qFLW4* 在两年间均被定位到，分别解释表型变异的 1.45% 和 1.27%。*qFLW11* 对表型的贡献最大，为 4.40%。

定位到 6 个影响水稻剑叶面积的 QTL，包括 2015 年的 4 个和 2016 年的 2 个，位于第 3、4、6、8、10 和 12 染色体，对表型的贡献率的变幅为 0.11%~8.45%。其中 *qFLA6* 对表型的贡献最大，为 8.45%。

2015 年和 2016 年分别定位到 3 个和 4 个影响水稻单株产量的 QTL，它们对表型的贡献率的变幅为 0.23%~22.18%。其中 *qGY2.1* 对表型的贡献最大，为 22.18%。

以上定位到的 31 个 QTL 中，有 3 个位点同时影响 2 个性状，其中第 4 染色体 31.1 Mb 附近同时定位到影响剑叶宽的 *qFLW4* 和影响剑叶面积的 *qFLA4*；第 6 染色体 4.73 Mb 处同时定位到影响剑叶长的 *qFLL6* 和影响剑叶面积的 *qFLA6*；第 10 染色体 1.7 Mb 附近同时定位到影响剑叶长的 *qFLL10.1* 和影响剑叶面积的 *qFLA10*。此外，仅 1 个影响剑叶宽的 QTL（*qFLW4*）在年度间被稳定检测到。

2.5 候选区间关联分析及单倍型分析

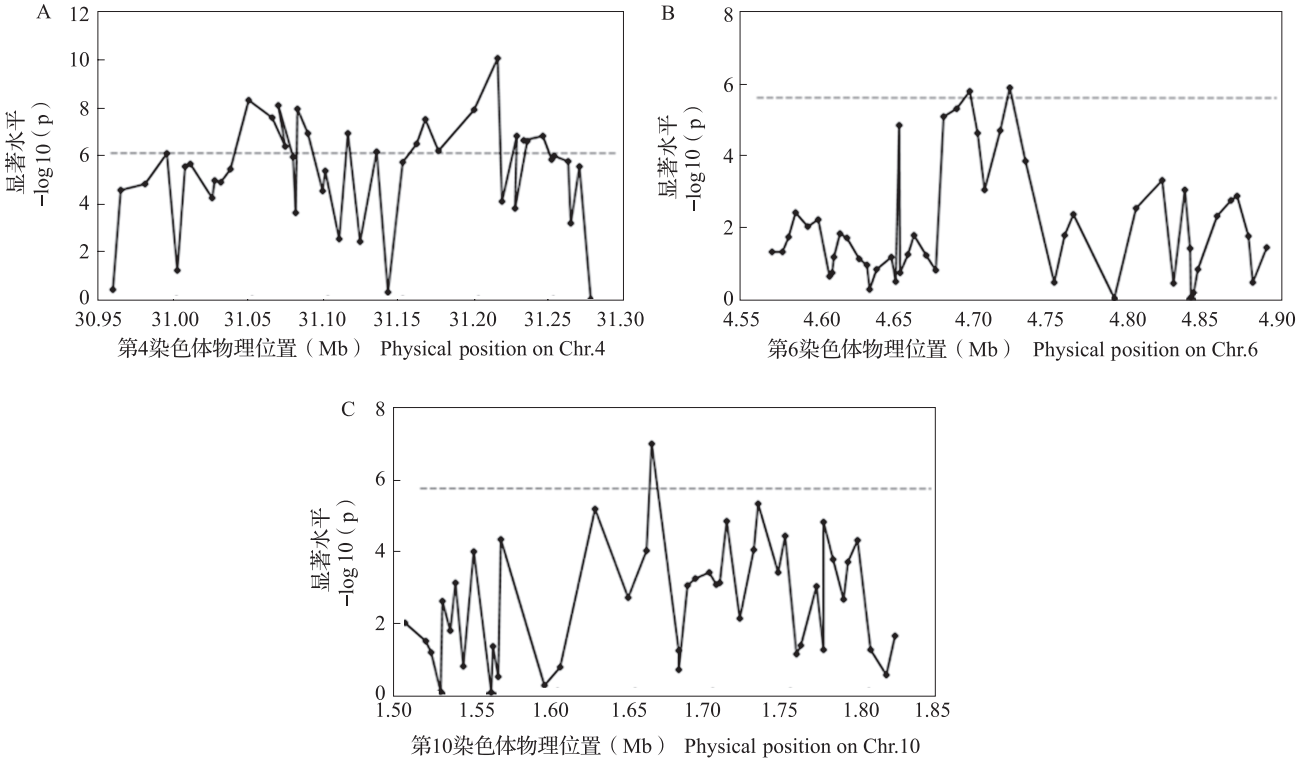
对同时影响 2 个性状的 3 个染色体区间，即第 4 染色体同时定位到 *qFLW4* 和 *qFLA4* 的 31.1 Mb 附近，第 6 染色体同时定位到 *qFLL6* 和 *qFLA6* 的 4.73 Mb 附近和第 10 染色体同时定位到 *qFLL10.1* 和 *qFLA10* 的 1.7 Mb 附近，进行不同性状的单倍型分析（图 4、表 4）。

在第 4 染色体 30.95~31.27 Mb 区间内存在 44 个候选基因（图 4），其中 23 个候选基因内有 SNP 超过阈值，但其中仅有 4 个候选基因

（*LOC_Os04g52290*、*LOC_Os04g52310*、*LOC_Os04g52370* 和 *LOC_Os04g52479*）的不同单倍型之间的剑叶宽或剑叶面积存在显著差异，可能为 *qFLW4/qFLA4* 的候选基因（表 4），而其余的 17 个基因的单倍型之间剑叶宽和剑叶面积均不显著差异。*LOC_Os04g52290* 编码一个含有 PPR 重复结构域的蛋白质，1 个 SNP 将该基因分为 2 种单倍型，且这两种单倍型之间叶宽和剑叶面积均存在显著差异，其中 Hap2 为有利等位基因。*LOC_Os04g52310* 编码一个锌铁调控转运蛋白，该基因共含 6 个 SNP，分为 4 种单倍型，其中 Hap2 和 Hap3 的叶宽显著宽于 Hap1，为有利等位基因。3 种单倍型间剑叶面积差异不显著。*LOC_Os04g52370* 编码一个尿苷三磷酸 - 葡萄糖 -1- 磷酸尿苷酰基转移酶，含有 5 个 SNP，并被分为 4 种单倍型，其中 Hap2 和 Hap3 的叶宽显著宽于 Hap1，为有利等位基因。四种单倍型间剑叶面积差异不显著。*LOC_Os04g52479* 是已克隆的 *NAL1*，编码类胰蛋白酶丝氨酸和半胱氨酸蛋白酶，含有 3 个 SNP。该基因共有 4 种单倍型，其中 Hap1 在 2015 年的剑叶宽显著窄于 Hap2 和 Hap3，而在 2016 年的剑叶宽显著窄于 Hap3；Hap1 在 2016 年的剑叶面积显著小于 Hap2 和 Hap3。因此，Hap2 和 Hap3 为有利等位基因。Hap4（CAA）只有一个品种，品种数太少不列入分析。

在第 6 染色体 4.57~4.89 Mb 区间内存在 49 个候选基因（图 4），其中有 2 个候选基因有 SNP 超过阈值。*LOC_Os06g09330* 编码一个泛素结合酶，基因内 3 个 SNP 将该基因分为 2 种单倍型，且 2 种单倍型的剑叶长和剑叶面积均差异显著，其中 Hap2 为有利等位基因（表 4）。*LOC_Os06g09380* 编码一个表达蛋白，启动子区的 1 个 SNP 将种质资源分为 2 种单倍型，其中 Hap2 的剑叶长和剑叶面积均极显著大于 Hap1，Hap2 为有利等位基因。

在第 10 染色体 1.50~1.82 Mb 区间内存在 44 个候选基因（图 4），仅有 1 个候选基因内有 SNP 超过阈值。*LOC_Os10g03700* 编码一个转座子蛋白，基因内的 1 个 SNP 将该基因分为 2 种单倍型，其中 Hap2 的剑叶长和剑叶面积均显著大于 Hap1，为有利等位基因。



虚线代表决定候选基因的阀值

Dash line showed the threshold to detenmine candidate genes. A: *qFLW4/ qFLA4*, B: *qFLL6/ qFLA6*, C: *qFLL10.1/ qFLA10*

图 4　重要 QTL 候选区间的曼哈顿散点图

Fig. 4　Manhattan plots for candidate regions of important QTLs

表 4 重要 QTL 候选基因的单倍型分析

Table 4 Haplotype analysis of candidate genes of important QTLs

QTL	候选基因 Candidate gene	编号 Hap#	单倍型 Haplotype	2015 年 Year 2015			2016 年 Year 2016		基因描述 Gene description
				剑叶长 Flag leaf length	剑叶宽 Flag leaf width	剑叶面积 Flag leaf area	剑叶宽 Flag leaf width	剑叶面积 Flag leaf area	
qFLW4/ qFLA4	*LOC_Os04g52290*	Hap1	T	—	1.54a	—	1.57a	46.83a	含 PPR 重复结构域蛋白
		Hap2	C	—	1.70b	—	1.77b	52.71b	
	LOC_Os04g52310	Hap1	CCTCAG	—	1.53a	—	1.58a	46.79a	锌铁调控转运蛋白
		Hap2	CCTCCG	—	1.70b	—	1.78b	52.41a	
		Hap3	TGCACA	—	1.71b	—	1.77b	53.11a	
	LOC_Os04g52370	Hap1	CTGAC	—	1.52a	—	1.56a	47.28a	尿苷三磷酸 - 葡萄糖 -1- 磷酸尿苷酰基转移酶
		Hap2	CTGTC	—	1.71b	—	1.78b	51.81a	
		Hap3	TGTTT	—	1.69b	—	1.77b	52.48a	
		Hap4	CTTTT	—	1.90ab	—	2.15ab	77.86a	
	LOC_Os04g52479	Hap1	CGG	—	1.39a	—	1.53a	39.81a	类胰蛋白酶丝氨酸和半胱氨酸蛋白酶
		Hap2	TGA	—	1.67b	—	1.73ab	50.81b	
		Hap3	CAG	—	1.72b	—	1.78b	53.05b	
qFLL6/ qFLA6	*LOC_Os06g09330*	Hap1	TGT	31.98a	—	36.83a	—	—	泛素结合酶
		Hap2	AAC	37.79b	—	48.69b	—	—	
	LOC_Os06g09380	Hap1	GT	32.11a	—	37.11a	—	—	表达蛋白
		Hap2	CC	37.76b	—	48.70b	—	—	
qFLL10.1/ qFLA10	*LOC_Os10g03700*	Hap1	A	34.38a	—	41.81a	—	—	转座子蛋白
		Hap2	T	38.07b	—	49.40b	—	—	

不同字母表示多重比较在 10^{-3} 水平的差异显著水平

Different letters represent differences significant at $P<10^{-3}$ by multiple comparison

3 讨论

3.1 水稻剑叶性状和单株产量的遗传复杂性

剑叶是水稻最主要的源器官，单株产量是水稻光合产物积累的最终体现。本研究利用 1016 份来源广泛、多样性丰富的水稻种质资源在荆州连续两年鉴定了剑叶性状和单株产量，两年间剑叶长、剑叶宽、剑叶面积和单株产量的变幅大，遗传变异十分丰富。相同剑叶性状在两年间表现为中度正相关，而单株产量在两年间表现为低度正相关，说明环境对这些性状的影响大，尤其对单株产量的影响更大。剑叶长与剑叶宽之间相关虽达显著水平，但相关系数低，表明两者变异的同步性不十分明显，即剑叶变长的同时剑叶变宽的范围较大；同样地，剑叶变宽的同时剑叶变长的范围也较大，暗示剑叶长宽的可塑性较大，资源中存在不同长宽形状的剑叶类型。单株产量与剑叶长、宽和面积虽呈正相关，但相关系数小，相关程度低，说明追求剑叶长、剑叶宽或剑叶面积的单一变化都不一定带来高产，单株产量在很大程度上还受其他因素的影响，水稻产量与剑叶性状之间存在复杂的遗传关系。

利用全基因组关联分析共定位到影响水稻剑叶性状和单株产量的 31 个 QTL，其中只有 1 个（3.2%）QTL 在两个环境下均被定位到，说明大多数 QTL 对环境很敏感。剑叶长和剑叶宽没检测到相同的 QTL，说明两个性状的遗传机制重叠性小，分别受控于不同的基因。在 3 个染色体的相同区间定位到影响剑叶长、宽与面积的相同 QTL，相关性状的表现可能是相同基因或是一因多效作用的结果。候选基因分析发现，第 4 染色体 30.95~31.27 Mb 区间存在 4 个候选基因影响剑叶宽和剑叶面积，其中 *LOC_Os04g52290* 和 *LOC_Os04g52479* 的不同单倍型之间的剑叶宽和面积差异均显著，其余 2 个候选基因（*LOC_Os04g52310* 和 *LOC_Os04g52370*）

仅剑叶宽显著差异，面积均无显著差异，表明剑叶宽可能受到该区间内 1 个或多个基因控制，而剑叶面积主要受 *LOC_Os04g52290* 和 *LOC_Os04g52479* 紧密连锁基因控制，其中 *LOC_Os04g52479* 即为已克隆的 *NAL1* 基因，同时影响剑叶宽和剑叶面积[21-22]。第 6 染色体 4.57~4.89 Mb 区间的 2 个候选基因（*LOC_Os04g52290* 和 *LOC_Os06g09380*）和第 10 染色体 1.50~1.82 Mb 区间的候选基因 *LOC_Os10g03700* 的不同单倍型之间的剑叶长与剑叶面积均表现出显著差异，推测这 2 个区间的剑叶长和剑叶面积很可能是一因多效的结果。单株产量与剑叶相关性状之间未定位到相同的 QTL，再次验证了源相关性状与单株产量之间的相互关系，说明源性状基因对产量的直接贡献可能不大，可能是通过对其他性状的影响间接对产量发挥作用。

3.2　本研究定位到的 QTL 与前人研究的比较

利用全基因组关联分析在 2 年共定位到影响水稻剑叶性状和单株产量的 31 个 QTL 中，其中 1 个 QTL 在 2 年间同时定位到，2 个位点同时控制 2 个剑叶性状。这些 QTL 中，有 10 个 QTL 位于前人定位到的 QTL 相同或附近区域，其中 *qPY2* 与 *yld2.1*[38]、*qFLL7* 与 *qFLL7*[6]、*qPY7.1* 与 *qGYn7-2*[39]、*qPY7.2* 与 *qGYn7-1*[39] 位于相近区间，*qFLL1.1* 和 *qFLW1* 与 *qFLL1-1*[9] 位于相同区间，*qFLW2* 与 *QFlw2*、*qFLW12* 与 *QFlw12*[10] 位于相近区间，*qFLL1.2* 与 *qFLL1.2*、*qFLW5* 与 *qFLW5.1*[12] 位于相同区间，*qFLW4* 和 *qFLA4* 与已克隆的 *NAL1/SS1*[21-22] 位于相同区间。此外，还有 10 个 QTL 与前人利用关联分析鉴定到的 QTL 相近，例如本研究定位到的 *qFLL2*、*qFLL4*、*qFLL9*、*qFLL11.2*、*qFLL12*、*qFLW1*、*qFLW4*、*qFLW5* 和 *qFLW7* 与 Lu 等[30] 定位到的 QTL 相近，*qFLL11.2*、*qGLW4* 和 *qGLW11* 与 IRRI 的 IRIC 数据库中关联分析的定位到的 QTL 位置一致[40]。这些在不同群体中稳定定位到的 QTL，受遗传背景的影响较小，可能具有十分重要的育种价值。下一步应对关联分析挖掘出来的候选基因，通过遗传转化试验验证其功能。

3.3　对水稻育种的启示

高产是水稻育种最重要的育种目标性状。育种实践表明，高产水稻品种必须具备源大、库足、流畅[31]。改良品种群体的剑叶相关性状在一定范围内与水稻产量呈显著正相关[6]。本研究利用来源广泛的多样性丰富的 1016 份水稻种质资源，研究结果表明，单株产量与剑叶相关性状之间关系复杂，没有十分显著的相关性。研究认为尽管剑叶相关性状和单株产量之间未检测到遗传重叠，对单株产量的直接作用可能较小，但理想的剑叶性状是理想株型的重要内容。鉴于众多影响剑叶长、宽的 QTL 分布在不同的染色体区域（表 3），因此，理想株型所需的理想剑叶类型可以通过分子标记辅助选择合理配制不同的剑叶长、宽基因来实现。通过塑造理想的叶型从而达到培育理想株型，协调好源、库、流的关系，是确保高产的重要途径。

参考文献

[1] Hu H, Lv W K, Li Q L, Ou X X, Xu J Y, Li Z X, Xing D Y, Yang L W, Xu L J, Qiu X J, Zheng T Q, Wang X Y, Jiang J F, Liu Z Y. Characterization of main effects, epistatic effects and genetic background effects on QTLs for yield related traits by two sets of reciprocal introgression lines in rice (*Oryza sativa*). International Journal of Agriculture and Biology, 2018, 20: 2125-2132

[2] 王述民，张宗文 . 世界粮食和农业植物遗传资源保护与利用现状 . 植物遗传资源学报，2011，12（3）：325-338
Wang S M, Zhang Z W. The state of the worlds plant genetic resources for food and agriculture. Journal of Plant Genetic Resource, 2011, 12(3): 325-338

[3] Zhang J, Ou X X, Hu H, Du B, Lv W K, Yang L W, Xing D Y, Xu J L, Qiu X J, Zheng T Q, Xu J Y, Li Z X, Zhang Y B, Wang X Y. Identification of QTLs for yield-related traits using two sets of introgression lines with a common donor parent in rice. International Journal of Agriculture and Biology, 2018, 20: 15-24

[4] 曹显祖，朱庆森 . 水稻品种的库源特征及其类型划分的研究 . 作物学报，1987，13（4）：265-272
Cao X Z, Zhu Q S. Study on characteristics of the relationship between source and sink in rice varieties and their classification. Acta Agronomica Sinica, 1987, 13(4): 265-272

[5] 杨建昌，王志琴，朱庆森 . 水稻产量源库关系的研究 . 扬州大学学报，1993，14（3）：47-53
Yang J C, Wang Z Q, Zhu Q S. Studies on yield source and sink relationship in rice. Journal of Jiangsu Agricultural College, 1993, 14(3): 47-53

[6] 周勇，陶亚军，姚锐，李畅，谭文琛，裔传灯，龚志云，梁国华 . 利用染色体片段代换系定位水稻叶片形态性状 QTL. 作物学报，2017，43（11）：1650-1657
Zhou Y, Tao Y J, Yao R, Li C, Tan W C, Yi C D, Gong Z Y, Liang G H. QTL mapping for leaf morphological traits of rice using chromosome segment substitution lines. Acta Agronomica Sinica, 2017, 43(11): 1650-1657

[7] 曹刚强，高用明，朱军 . 多环境下水稻 DH 群体剑叶长度的 QTL 分析 . 作物学报，2007，33（2）：223-229
Cao G Q, Gao Y M, Zhu J. QTL analysis for flag leaf length in a rice DH population under multi environments. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(2): 223-229

[8] 彭茂民，杨国华，张菁晶，安宝光，李阳生 . 不同遗传背景下水稻剑叶形态性状的 QTL 分析 . 中国水稻科学，2007，21（3）：247-252

Peng M M, Yang G H, Zhang J J, An B G, Li Y S. QTL analysis for flag leaf morphological traits in rice (*Oryza sativa* L.) under different genetic backgrounds. Chinese Journal of Rice Science, 2007, 21(3): 247-252

[9] 肖珂,左海龙,巩迎军,张俊芝,张永娟,董彦君. 控制水稻剑叶形态相关性状的数量基因位点(QTL)的定位. 上海师范大学学报:自然科学版, 2007, 36(2): 66-70
Xiao K, Zuo H L, Gong Y J, Zhang J Z, Zhang Y J, Dong Y J. Locating quantitative trait loci affecting flag leaf shape in rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Shanghai Normal University: Natural Sciences, 2007, 36(2): 66-70

[10] 王韵,程立锐,郑天清,孙勇,周政,杨静,徐正进,徐建龙. 影响水稻株高和剑叶宽主效QTL对人工选择的响应. 中国水稻科学, 2009, 23(4): 363-370
Wang Y, Cheng L R, Zheng T Q, Sun Y, Zhou Z, Yang J, Xu Z J, Xu J L. Response of main-effect QTL for plant height and flag leaf width to artificial selection in rice. Chinese Journal of Rice Science, 2009, 23(4): 363-370

[11] 王智权,刘喜,江玲,杨超,刘世家,陈亮明,翟虎渠,万建民. 利用染色体片段置换系(CSSLs)群体检测水稻剑叶形态性状QTL. 南京农业大学学报, 2010, 33(6): 1-6
Wang Z Q, Liu X, Jiang L, Yang C, Liu S J, Chen L M, Zhai H Q, Wan J M. QTL detection for flag leaf morphological traits of rice in a population of chromosome segment substitution lines. Journal of Nanjing Agricultural University, 2010, 33(6): 1-6

[12] 徐建军,赵强,赵元凤,朱磊,徐辰武,顾铭洪,韩斌,梁国华. 利用重测序的水稻染色体片段代换系群体定位剑叶形态QTL. 中国水稻科学, 2011, 25(5): 483-487
Xu J J, Zhao Q, Zhao Y F, Zhu L, Xu C W, Gu M H, Han B, Liang G H. Mapping of QTLs for flag leaf shape using whole-genome re-sequenced chromosome segment substitution lines in rice. Chinese Journal of Rice Science, 2011, 25(5): 483-487

[13] 周丽慧,谢永楚,陈涛,张亚东,朱镇,赵庆勇,姚姝,于新,赵凌,王才林. 水稻剑叶形态与产量的关系及相关性状的QTL分析. 江苏农业学报, 2012, 28(6): 1207-1211
Zhou L H, Xie Y C, Chen T, Zhang Y D, Zhu Z, Zhao Q Y, Yao S, Yu X, Zhao L, Wang C L. Relations between flag leaf morphology and yield and QTL analysis of related traits. Jiangsu Journal of Agricultural Science, 2012, 28(6): 1207-1211

[14] 王兰,黄李超,代丽萍,杨窑龙,徐杰,冷语佳,张光恒,胡江,朱丽,高振宇,董国军,郭龙彪,曾大力. 利用日本晴/9311重组自交系群体定位水稻成熟期叶形相关性状QTL. 中国水稻科学, 2014, 28(6): 589-597
Wang L, Huang L C, Dai L P, Yang Y L, Xu J, Leng Y J, Zhang G H, Hu J, Zhu L, Gao Z Y, Dong G J, Guo L B, Zeng D L. QTL analysis for rice leaf morphology at maturity stage using a recombinant inbred line population derived from a cross between Nipponbare and 9311. Chinese Journal of Rice Science, 2014, 28(6): 589-597

[15] 张向阳,张红宇,徐培洲,陈晓琼,田永航,王志,黄廷友,吴先军. 重穗型水稻穗部性状及剑叶宽的QTL定位. 杂交水稻, 2014, 29(6): 56-61
Zhang X Y, Zhang H Y, Xu P Z, Chen X Q, Tian Y H, Wang Z, Huang T Y, Wu X J. QTL mapping of flag leaf width and panicle traits of heavy panicle rice. Hybird Rice, 2014, 29(6): 56-61

[16] 韩保林,杜伦静,顾朝建,张洪凯,廖泳祥,彭永彬,张红宇,徐培洲,陈晓琼,吴先军. 水稻剑叶QTL定位及遗传偏分离分析. 分子植物育种, 2017, 15(7): 2671-2677
Han B L, Du L J, Gu C J, Zhang H K, Liao Y X, Peng Y B, Zhang H Y, Xu P Z, Chen X Q, Wu X J. QTL analysis and genetic segregation distortion analysis on flag leaf in rice. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(7): 2671-2677

[17] 邹德堂,张恩源,孙健,王敬国,刘化龙,郑洪亮. 盐、碱条件下水稻剑叶形态相关性状QTL分析. 东北农业大学学报, 2017, 48(11): 9-17
Zou D T, Zhang E Y, Sun J, Wang J G, Liu H L, Zheng H L. QTL analysis on characters related to flag leaf morphology of rice under salt and alkali conditions. Journal of Northeast Agricultural University, 2017, 48(11): 9-17

[18] 彭伟业,孙平勇,潘素君,李魏,戴良英. 水稻品种魔王谷粒形、剑叶性状和株高QTL定位. 作物学报, 2018, 44(11): 1673-1680
Peng W Y, Sun P Y, Pan S J, Li W, Dai L Y. Mapping QTLs for grain shape, flag leaf traits, and plant height in rice variety Mowanggu. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(11): 1673-1680

[19] Wang P, Zhou G L, Cui K H, Li Z K, Yu S B. Cluster QTL for source leaf size and yield traits in rice (*Oryza sativa*). Molecular Breeding, 2012, 29: 99-113

[20] Hu J, Zhu L, Zeng D L, Gao Z Y, Guo L B, Fang Y X, Zhang G H, Dong G J, Yan M X, Qian Q. Identification and characterization of *NARROW LAND ROLLED LEAF 1*, a novel gene regulating leaf morphology and plant architecture in rice. Plant Molecular Biology, 2010, 73(3): 283-292

[21] Cho S H, Yoo S C, Zhang H T, Lim J H, Paek N C. Rice *NARROW LEAF1* regulates leaf and adventitious root development. Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32(1): 270-281

[22] Xu J L, Wang Y, Zhang F, Wu Y, Zheng T Q, Wang Y H, Zhao X Q, Cui Y R, Chen K, Zhang Q, Lin H X, Li J Y, Li Z K. *SS1* (*NAL1*)- and *SS2*-mediated genetic networks underlying source-sink and yield traits in rice (*Oryza sativa* L.). PLoS ONE, 2015, 10(7): e0132060

[23] Cho S H, Yoo S C, Zhang H T, Pandery D, Koh H J, Hwang J Y, Kim G T, Paek N C. The rice *narrow leaf2* and *narrow leaf3* loci encode WUSCHEL-related homeobox 3A (OsWOX3A) function in leaf, spikelet, tiller and lateral root development. New Phytologist, 2013, 198(4): 1071-1084

[24] Zhao S S, Zhao L, Liu F X, Wu Y Z, Zhu Z F, Sun C Q, Tan L B. *NARROW AND ROLLED LEAF2* regulates leaf shape, male fertility, and seed size in rice. Journal of Integrative Plant Biology, 2016, 58(12): 983-996

[25] Xing Y Z, Zhang Q F. Genetic and molecular bases of rice yield. Annual Review of Plant Biology, 2010, 61: 421-442

[26] Wing R A, Purugganan M D, Zhang Q F. The rice genome revolution: from an ancient grain to green super rice. Nature Reviews Genetics, 2018, 19: 505-517

[27] 康乐,徐建龙. 水稻产量相关QTL研究现状. 植物遗传资源学报, 2008, 9(4): 545-550
Kang L, Xu J L. Genetic basis of grain yield potential in rice: a critical review on QTL studies. Journal of Plant Genetic Resource, 2008, 9(4): 545-550

[28] Zhao K Y, Tung C W, Eizenga G C, Wright M H, Ali M L,

Price A H, Bustamante C D, McCouch S R. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. Nature Communication, 2013, 27: 598-606

[29] Huang X H, Zhao Y, Wei X H, Li C Y, Wang A H, Zhao Q, Li W J, Guo Y L, Deng L W, Zhu C R, Fan D L, Weng Q J, Liu K Y, Zhou T Y, Jing Y F, Si L Z, Gong G J, Huang T, Lu T T, Feng Q, Qian Q, Li J Y, Han B. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. Nature Genetics, 2012, 44: 32-39

[30] Lu Q, Zhang M C, Niu X J, Wang S, Xu Q, Feng Y, Wang C H, Deng H Z, Yuan X P, Yu H Y, Wang Y P, Wei X H. Genetic variation and association mapping for 12 agronomic traits in indica rice. BMC Genomics, 2015, 16: 1067

[31] Wang Y, Pang Y L, Chen K, Zhai L Y, Shen C C, Wang S, Xu J L. Genetic bases of source-, sink-, and yield-related traits revealed by genome-wide association study in Xian rice. The Crop Journal, 2019, 8: 119-131

[32] Wang W S, Mauleon R, Hu Z Q, Chebotarow D, Tai S S, Wu Z C, Li M, Zheng T Q, Fuentes R R, Zhang F, Mansueto L, Copetti D, Sanciangco M, Palis K C, Xu J L, Sun C, Fu B Y, Zhang H L, Gao Y M, Zhao X Q, Shen F, Cui X, Yu H, Li Z C, Chen M L, Detras J, Zhou Y L, Zhang X Y, Zhao Y, Kudrna D, Wang C C, Li R, Jia B, Lu J Y, He X C, Dong Z T, Xu J B, Li Y H, Wang M, Shi J X, Li J, Zhang D B, Lee S, Hu W S, Poliakov A, Dubchak I, Ulat V, Borja F N, Mendoza J R, Ali M, Li J, Gao Q, Niu Y C, Yue Z, Naredo M E B, Talag J, Wang X Q, Li J J , Fang X D, Yin Y, Glaszmann J C, Zhang J W, Li J Y, Hamilton R S, Wing R A, Ruan J, Zhang G Y, Wei C C, Alexandrov N, McNally K L, Li Z K, Leung H. Genomic variation in 3010 diverse accessions of Asian cultivated rice. Nature, 2018, 557: 43-49

[33] Yoshida S. Fundamentals of rice crop science. Los Banos, Laguna, Philippines: International Rice Research Institute, 1981: 17-24

[34] The 3, 000 Rice Genomes Project. The 3, 000 rice genomes project. GigaScience, 2014, 3: 7–13

[35] Alexandrov N, Tai S, Wang W S, Mansueto L, Palis K, Fuentes R R, Ulat V J, Chebotarov D, Zhang G Y, Li Z K. SNP-Seek database of SNPs derived from 3000 rice genomes. Nucleic Acids Research, 2015, 43: D1023

[36] Kang H M, Sul J H, Service S K, Zaitlen N A, Kong S Y, Freimer N B, Sabatti C, Eskin E. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies. Nature Genetics, 2010, 42: 348-354

[37] Vilhjalmsson B J, Nordborg M. The nature of confounding in genome-wide association studies. Nature Review Genetics, 2013, 14: 1-2

[38] Fu Q, Zhang P J, Tan L B, Zhu Z F, Ma D, Fu Y C, Zhan X C, Cai H W, Sun C Q. Analysis of QTLs for yield-related traits in Yuanjiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff). Journal of Genetics and Genomics, 2010, 37: 147-157

[39] Wei D, Cui K H, Pan J F, Wang Q, Wang K, Zhang X M, Xiang J, Nie L X, Huang J L. Identification of quantitative trait loci for grain yield and its components in response to low nitrogen application in rice. Australian Journal of Crop Science, 2012, 6(6): 986-994

[40] Mansueto L, Fuentes R R, Borja F N, Detras J, Abriol-Santos J M, Chebotarov D, Sanciangco M, Palis K, Copetti D, Poliakov A, Dubchak I, Solovyev V, Wing R A, Hamilton R S, Mauleon R, McNally K L, Alexandrov N. Rice SNP-seek database update: new SNPs, indels, and queries. Nucleic Acids Research, 2017, 45(D1): D1075-D1081