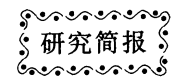


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2018.00938



## 基于高密度 Bin 图谱的水稻抽穗期 QTL 定位

董骥驰\*\* 杨靖\*\* 郭涛 陈立凯 陈志强\* 王慧\*

华南农业大学 / 国家植物航天育种工程技术研究中心, 广东广州 510642

**摘要:** 以籼稻品种 02428 和粳稻品种玉针香进行杂交, 按单粒传法连续自交 10 代, 得到包含 192 个株系的重组自交系(RIL)作图群体。通过对两亲本重测序及 RIL 群体简化基因组测序, 构建了包含 2711 个 Bin 标记的高密度遗传图谱。该图谱各染色体标记数在 162~311 个之间, 标记间平均物理距离为 137.68 kb。将亲本及 192 个株系分别于 4 个环境下采用随机区组种植, 并记录抽穗期。使用 WinQTL Cartographer 2.5 软件的 CIM 分析方法, 进行抽穗期相关 QTL 检测及定位。在 4 个环境下定位到影响抽穗期的 QTL 共 14 个, 分布于第 1、第 2、第 3、第 7、第 8、第 9 和第 10 染色体。其中, *qHD2.2* 和 *qHD10.2* 能在 3 个环境中被重复检测到, 表型贡献率分别为 5.14%~11.15% 和 5.35%~16.97%, 分别能缩短抽穗期 1.66 d 和 1.56 d, 具有聚合育种的应用价值。通过物理位置比对, 14 个 QTL 中有 11 个与前人定位在相同或邻近区域, *qHD1.1*、*qHD2.2* 和 *qHD9.1* 尚未见报道。经对 *qHD2.2* 详细分析, 在其染色体区间内找到 3 个与抽穗期相关的注释基因 *LOC\_Os02g46450*、*LOC\_Os02g46710* 和 *LOC\_Os02g46940*, 其中 *LOC\_Os02g46450* 已被克隆。测序分析发现, 这 3 个基因在两亲本间都存在差异, 可作为候选基因。

**关键词:** 水稻; 抽穗期; Bin 图谱; QTL 定位

## QTL Mapping for Heading Date in Rice Using High-density Bin Map

DONG Ji-Chi\*\*, YANG Jing\*\*, GUO Tao, CHEN Li-Kai, CHEN Zhi-Qiang\*, and WANG Hui\*

National Engineering Research Centre of Plant Space Breeding / South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

**Abstract:** A recombination inbred lines (RIL) population including 192 lines derived from an inter-subspecific cross between *indica* rice ‘Yuzhenxiang’ and *japonica* rice ‘02428’ was used in the experiment. The two parent varieties and RIL population were separately sequenced by Whole Genome Sequencing (WGS) and Genotyping-By-Sequencing (GBS) to construct a genetic linkage map with 2711 recombination Bin markers. The number of markers on 12 chromosomes ranged from 162 to 311, and the average physical distance between two markers was 137.68 kb. The WinQTL Cartographer 2.5 was used to analysis QTLs associated with heading date in four different environments. A total of 14 QTLs associated with heading date were detected on chromosomes 1, 2, 3, 7, 8, 9, and 10. Among them, *qHD2.2* and *qHD10.2*, which explained 5.14%–11.15% and 5.35%–16.97% of the total phenotypic variation for heading date separately, could be detected in three environments and shorting heading date about 1.66 days and 1.56 days on average. The two QTLs could inherit stably, having a good potential to be applied in QTL pyramiding. After comparing the physical positions of these QTLs with those previously reported, we found 11 QTLs were located in the same or near position, among them *qHD1.1*, *qHD2.2*, and *qHD9.1* were newly reported. Furthermore, we found one cloned gene *LOC\_Os02g46450* and two annotated genes *LOC\_Os02g46710* and *LOC\_Os02g46940* in the genomic region of *qHD2.2*, might be related to heading date. DNA sequence comparison between YZX and 02428 revealed that all the three genes could be candidate genes.

**Keywords:** rice; heading date; Bin map; QTL mapping

本研究由国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-12), 国家重点研发计划项目(2016YFD0102102)和广东省应用型研发项目(2015B020231011)资助。

This study was supported by the China Agriculture Research System (CARS-01-12), the National Key Research and Development Program of China (2016YFD0102102), and the Research and Development Program for Application in Guangdong Province (2015B020231011).

\* 通信作者(Corresponding authors): 王慧, E-mail: wanghui@scau.edu.cn; 陈志强, E-mail: chenlin@scau.edu.cn

\*\* 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 董骥驰, E-mail: Johnkeatsno.1@gmail.com; 杨靖, E-mail: 1349643559@qq.com

Received(收稿日期): 2017-12-14; Accepted(接受日期): 2018-03-25; Published online(网络出版日期): 2018-04-16.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20180416.0843.004.html>

水稻抽穗期决定了品种的种植地区与季节适应性<sup>[1]</sup>, 而且与产量、品质和抗逆性关系密切<sup>[2]</sup>, 相关的研究对指导育种实践、品种改良及品种推广均具有重要意义<sup>[3]</sup>。自 Yano 等克隆了第一个水稻抽穗期 QTL (*Hd1*) 以来, 目前至少已有 734 个与水稻抽穗期相关的 QTL 被报道 (<http://www.grammene.org/>), 用图位克隆的方法至少克隆了 14 个抽穗期相关的 QTL<sup>[4-17]</sup>。已有研究表明, 水稻有 2 个成花素基因 *Hd3a* (*heading date 3a*) 和 *RFT1* (*RICE FLOWERING LOCUS T 1*), 以及几个抽穗抑制基因(如 *OsPRR37* 和 *OsDof12*), 它们形成的调控网络精密控制着抽穗。至少有 2 个抽穗期调节通路控制着成花素基因表达, 分别是 *Hd1* (*heading date 1*) 通路和 *Ehd1* (*early heading date 1*) 通路。大量研究证实, 大多数抽穗期相关基因通过 *Hd1* 通路或 *Ehd1* 通路来调节成花素基因的表达, *OsCO3* 和 *DTH2* 则不同, 它们独立于 *Hd1* 和 *Ehd1* 通路, 直接调节成花素基因的表达进而促进抽穗<sup>[18]</sup>。然而, 已定位和克隆的 QTL 还并不能完全解释水稻抽穗期自然变异的形成, 从根本上理解水稻抽穗期的遗传机理还需更多的深入研究, 从而更好地帮助适宜生育期品种的选育<sup>[19-20]</sup>。目前的研究大多基于传统分子标记(如 AFLP、RFLP、SSR 等), 操作起来耗时耗力, 不能实现高通量操作<sup>[21]</sup>。用传统分子标记构建的遗传图谱密度低、定位区间过大, 导致 QTL 贡献率估算偏高、基因克隆困难以及难以开发标记应用于聚合育种。此外, 标记密度低的图谱上存在大量 Gap, 在 QTL 定位中不能提供足够的信息, 甚至一些研究最终陷入多态性分子标记缺乏而难以进一步定位的境地<sup>[22]</sup>。本研究中的 Bin 标记分布于整个基因组, 构建的 Bin 图谱标记密度高、位置精确, 达到精细定位要求, 可直接进行分子育种标记的开发和候选基因的筛选。本研究以籼稻玉针香(YZX)和粳稻 02428 衍生的 RIL 为作图群体, 采用 GBS 技术构建包含 2711 个 Bin 标记的高密度遗传图谱, 分别于 4 个环境对水稻抽穗期进行 QTL 定位, 以期鉴定一些新的、可稳定遗传的 QTL 位点作为育种资源, 并为水稻抽穗期调控基因克隆及分子标记辅助育种提供更多依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

用籼稻玉针香(YZX)和粳稻 02428 杂交, 通过单粒传法, 从 F<sub>2</sub> 代开始构建玉针香/02428 的重组自交系群体。群体包含 192 个株系, 基因型鉴定为 F<sub>6</sub> 世代, 表型调查为 F<sub>8</sub>~F<sub>11</sub> 世代。

### 1.2 田间种植与性状考查

2016 年早造(E1 环境)、2016 年晚造(E2 环境)、2017 年早造(E3 环境)和 2017 年晚造(E4 环境)于华南农业大学试验教学基地(23.17°N, 113.37°E)种植 192 个株系的 RIL 群体及两亲本。采用随机区组设计, 田间管理(水、肥、病虫害防治等)按当地大田常规栽培要求实施。E1 环境, 于 2016 年 3 月 5 日播种育秧, 4 月 5 日移栽。E2 环境, 于

2016 年 7 月 25 日播种育秧, 8 月 8 日移栽。E3 环境, 于 2017 年 2 月 28 日播种育秧, 3 月 31 日移栽。E4 环境, 于 2017 年 7 月 22 日播种育秧, 8 月 7 日移栽。每个株系 6 行, 每行 6 株, 行株距为 20 cm × 20 cm, 均单本种植。

以单株为单位调查表型, 当单株的第 1 个稻穗尖露出剑叶叶鞘至少 1 cm 时, 记为该单株的抽穗日期, 每隔 1 d 调查一次。剔除异常数据后, 以株系内全部单株从播种到抽穗所经历天数的均值作为该株系的抽穗期表型值。

### 1.3 DNA 提取及高通量测序

采用本实验室自主开发设计的高通量磁珠法制备 DNA 样品。用 Precellys 24 研磨仪(4000 × g, 12 s)研磨液氮冷冻过的叶片至粉末, 迅速加入 85 预热的 LB 提取液(200 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 7.8), 250 mmol L<sup>-1</sup> NaCl, 25 mmol L<sup>-1</sup> ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 0.5% sodium dodecyl sulfate (SDS), 2% polyvinylpyrrolidone (PVP)-40), 确保叶片粉末都浸泡在提取液中, 迅速盖上橡胶盖并混匀, 置于 65 水浴锅中水浴 20~25 min 后, 置 -20 冰箱放置 20 min。将样品转移至 96 孔深孔板, 每孔加入 540 μL 异丙醇和 2.5 μL 磁珠液(100 mg mL<sup>-1</sup>, 洛阳惠尔纳米科技有限公司), 用自动核酸纯化仪 KingFisher Flex 进行 DNA 分离纯化。DNA 最终溶于 150 μL 洗脱液(10 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 1 mmol L<sup>-1</sup> EDTA (pH 8.3), 100 μg mL<sup>-1</sup> RNase A), 于 -80 保存备用。以琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的质量, Nanodrop ND-1000 微量核酸蛋白检测仪检测 DNA 的浓度与纯度<sup>[23]</sup>。

采用 WGS (Whole Genome Sequencing) 和 GBS (Genotyping-By-Sequencing) 技术分别对两亲本及其衍生的 RIL 群体测序。水稻基因组经电子酶切评估, 选择酶切片段大小适宜, 酶切位点在基因组上分布均匀, 且能有效降低酶切片段中基因组重复序列所占比例的限制性内切酶。基因组加上带有 barcode 的接头后, 对每个样品进行扩增, 随后混合选择需要的片段构建 GBS 文库。利用 Illumina HiSeq2500 测序平台, 进行双末端(Paired-End)测序。测序后的数据分析流程如下: (1)数据质量评估, 去除接头、污染序列及低质量 reads; (2)统计酶捕获的 Reads 数量; (3)参考基因组 ([http://plants.ensembl.org/Oryza\\_sativa/](http://plants.ensembl.org/Oryza_sativa/)) 比对: 利用 BWA 软件(<http://bio-bwa.sourceforge.net/>)将测得基因组与参考基因组比对, 统计比对率、覆盖深度、基因组覆盖率等; (4)群体 SNP 检测; (5)遗传标记开发。基于亲本 SNP 检测结果, 开发子代标记, 并统计子代测序深度、覆盖度等, 评估测序质量。与亲本玉针香相同的基因型记为“0”, 与亲本 02428 相同的基因型记为“2”, 部分杂合基因型记为“1”。(6)遗传标记过滤。检查异常碱基, 检查基因型缺失覆盖率并过滤, 检查基因型频率, 过滤偏分离标记。

### 1.4 遗传重组鉴定和连锁图谱构建

采用 ScmapV5 软件构建遗传图谱。构建原理是: (1)通过“滑动窗口”法(sliding window approach)寻找交换点; (2)将所有样本中同一段序列上 2 个交换点之间紧密连锁

不发生重组的若干个 SNP 位点看做一个整体区块, 即“Bin 标记”, 以 Bin 的起点来确定其所在物理位置; (3)根据基因型, 用最大似然函数计算重组率; (4)用 Kosambi 作图函数将重组率转换为遗传距离; (5)利用两点检验法检验两个标记间是否连锁。 (6)通过最短距离法进行聚类分析, 把两两连锁的标记聚为一个类, 得到连锁群; (7)基于三点测验法, 对连锁群内的标记进行排序。

### 1.5 数据的统计分析

在 Microsoft Excel 2010 中完成表型数据处理和作图。采用 BWA 软件的默认设置进行基因组比对及相关测序数据统计分析。采用 WinQTL Cartographer 2.5 软件定位水稻抽穗期 QTL, 以 LOD=2.5 为阈值检测 QTL; 应用 CIM 算法, 扫描区间为 1.0 cM, 遗传背景控制选择标准模型 (模型 6)。QTL 定位结果以 LOD 的峰值作为该 QTL 的 LOD 值, 以 LOD 峰值位置的 Bin 标记来估计 QTL 效应, 以 LOD 值下降 1.0 的区域作为 QTL 的置信区间, 遵循 McCouch 等<sup>[24]</sup>的原则命名 QTL。应用 SPSS 19.0 软件进行方差分析及计算。应用 Origin 8.0 进行频次分布图的绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传连锁图谱构建

亲本玉针香和 02428 重测序  $Q_{20}$  的比例分别为 93.72% 和 94.22%,  $Q_{30}$  比例分别为 86.44% 和 87.47%。两亲本测序 Reads 与 Nipponbare (*Oryza sativa* ssp. *japonica*) 参考基因组的比对率分别为 96.29% 和 97.97%, 平均深度分别达到 20.26 $\times$  和 26.21 $\times$ , 1 $\times$  以上覆盖度为 90.60% 和 96.36%, 4 $\times$  以上覆盖度为 85.41% 和 94.53%。两亲本中共发现 1 534 036 个多态性 SNP, 筛选后剩余 aa $\times$ bb 型 1 334 454 个。

利用 GBS 技术对 192 个 RIL 株系进行测序, 测序深度平均值为 11.76 $\times$ , 4 $\times$  以上覆盖度为 7%。分别提取 192 个子代在上述的 1 334 454 个亲本多态性标记位点的基因型, 经过分析和筛选最终共获得 2711 个均匀分布于 12 条染色体的 Bin 标记。将 Bin 标记锚定于连锁群后, 各染色体上标记数量为 162~311 个, 各染色体的平均遗传距离为 195.3 cM, 两标记间遗传距离平均值为 0.86 cM, 两标记间物理距离平均值为 137.36 kb, 标记整体的分布达到精细作图的要求 (图 1)。

### 2.2 抽穗期表型特征

方差分析表明两亲本抽穗期天数的均值存在极显著差异, 4 个环境下玉针香的抽穗期均显著长于 02428 (表 1)。

表 2 表明, 在 E1 环境中, RIL 群体抽穗期的平均值为 95.65 d, 抽穗期最短的株系为 81.33 d, 抽穗期最长的株系为 117.83 d; 在 E2 环境中, RIL 群体抽穗期的平均值为 69.15 d, 抽穗期最短的株系为 53.13 d, 抽穗期最长的株系为 85.4 d; 在 E3 环境中, RIL 群体抽穗期的平均值为 95.29 d, 抽穗期最短的株系为 81 d, 抽穗期最长的株系为 110.3 d; 在 E4 环境中, RIL 群体抽穗期的平均值为 70.54 d, 抽穗期最短的株系为 61.3 d, 抽穗期最长的株系为 87.5 d; 四个环境中 RIL 群体的抽穗期峰度和偏度绝对值都小于 1, 总体呈正态分布 (图 2), 表现为数量性状遗传模式。

### 2.3 抽穗期 QTL 定位

在 4 个环境中共检测到 14 个抽穗期 QTL (表 3 和图 1)。其中, E1 环境中检测到 9 个, 分布于第 2、第 3、第 7、第 8 和第 10 染色体, LOD 值介于 2.9~5.6 之间, 贡献率介于 4.7%~9.5% 之间; E2 环境中检测到 5 个, 分布于第 2、第 7 和第 10 染色体, LOD 值介于 3.0~5.0 之间, 贡献率介于 5.2%~9.5% 之间; E3 环境中检测到 3 个, 分布于第 1、

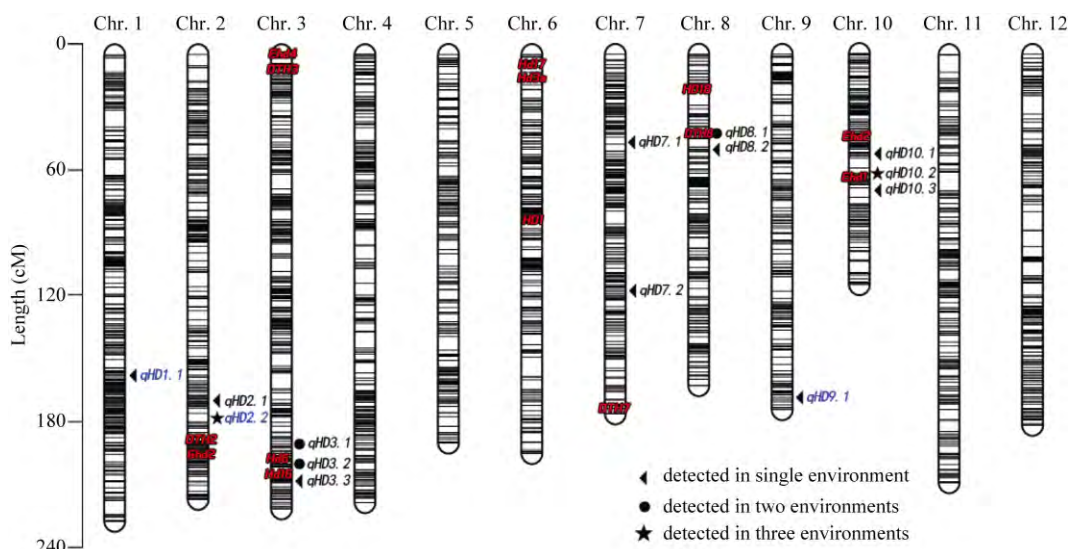


图 1 遗传标记在染色体上的分布及 QTL 位置

Fig. 1 Distribution of genetic markers and QTLs on chromosomes

每条染色体上的黑色线条代表 Bin 标记所在位置; 红色字体为已克隆 QTL; 蓝色字体为新发现的 QTL。

Black lines represent the positions of Bin markers on each linkage group; fonts in red are cloned QTLs; fonts in blue are novel QTLs.

表 1 02428 与玉针香抽穗期天数比较  
Table 1 Comparison of heading date between 02428 and YZX

环境 Environment	平均值 Average (d)		变异系数 CV (%)		差异 Difference
	02428	玉针香 Yuzhenxiang	02428	玉针香 Yuzhenxiang	
E1	91.36	97.00	1.08	1.57	-5.64**
E2	64.11	69.27	3.25	3.60	-5.16**
E3	89.20	97.03	0.84	0.76	-7.83**
E4	65.00	70.33	3.91	3.75	-5.33**

\*\* 表示差异在 0.01 水平达到极显著。

\*\* indicates significant difference at the 0.01 probability level.

表 2 RIL 群体抽穗期性状表现  
Table 2 Phenotypic performance of RILs for heading date

环境 Environment	平均值 ± 标准差 Mean ± SD	变异范围 Range	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
E1	95.64±6.25	81.33–117.83	0.44	0.60
E2	69.15±4.92	53.13–85.40	0.30	0.27
E3	95.29±4.99	81.00–110.30	0.43	0.11
E4	70.54±4.15	61.30–87.50	0.48	0.46

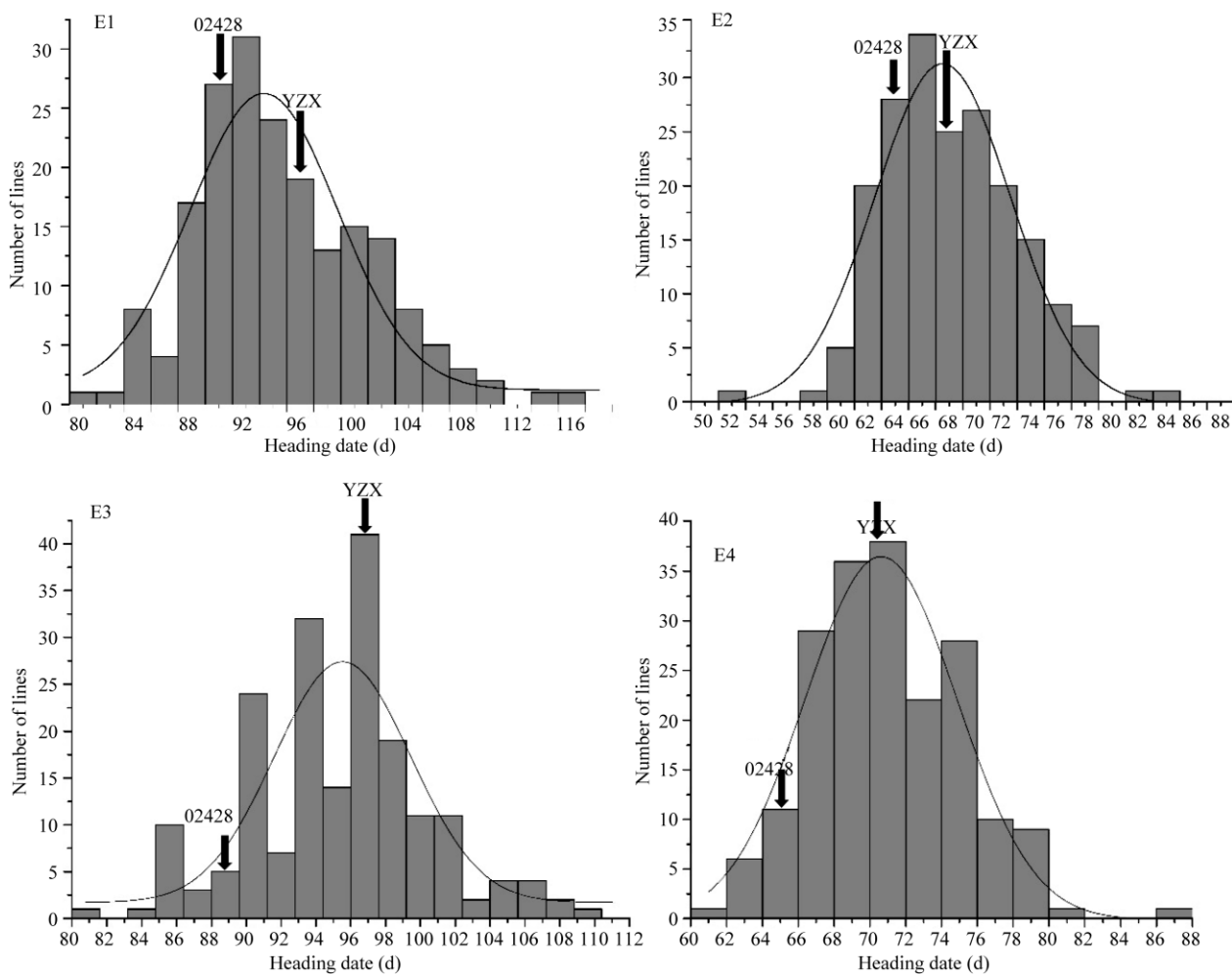


图 2 玉针香/02428 重组自交系及亲本的抽穗期表型分布特征  
Fig. 2 Distribution of heading date for YZX/02428 RIL population and parents

第 2 和第 8 染色体, LOD 值介于 2.5~5.9 之间, 贡献率介于 4.5%~11.2% 之间; E4 环境中检测到 5 个, 分布于第 3、第 9 和第 10 染色体, LOD 值介于 2.8~9.6 之间, 贡献率介于 4.6%~17.0% 之间。其中, 有 2 个 QTL 在 3 个环境中均检测到。

*qHD1.1* 在第 1 染色体上, 仅在 E3 环境中被检测到, 位于 160.17 cM, 与 mk186 连锁。其 LOD 值为 2.5, 置信区间为 25.95~26.05 Mb, 表型贡献率为 4.5%, 来自于 02428 的等位基因可缩短生育期 1.3 d。

*qHD2.1* 位于第 2 染色体, 仅在 E2 环境中被检测到, 在 173.61 cM LOD 达到峰值 3.2, 与 mk484 紧密连锁, 置信区间为 17.60~28.35 Mb, 能解释 5.8% 的表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.3 d。同一染色体上的 *qHD2.2* 在 3 个环境中均被检测到, 表现出较强的稳定性。在 E1 环境检测到的位置是 178.21 cM, LOD 值为 3.1, 置信区间为 28.25~28.65 Mb, 可解释 5.1% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.5 d; 在 E2 环境检测到的位置是 179.71 cM, LOD 值为 5.0, 置信区间为 28.45~28.65 Mb, 可解释 9.5% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.6 d。在 E3 环境检测到的位置是 175.19 cM, LOD 值为 5.9, 置信区间为 28.15~28.65 Mb, 可解释 11.2% 的表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.9 d。

第 3 染色体上共有 3 个抽穗期 QTL, 分别为 *qHD3.1*、*qHD3.2* 和 *qHD3.3*。*qHD3.1* 在 E1 环境中被检测到, 位于 194.21 cM 处, LOD 值为 2.9, 置信区间为 30.05~30.65 Mb, 可解释 4.7% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.4 d; 在 E4 环境中被检测到, 位于 197.3 cM 处, LOD 值为 3.4, 置信区间为 30.45~31.05 Mb, 可解释 5.6% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.0 d。*qHD3.2* 在 E1 环境被检测到, 位于 205.11 cM 处, LOD 值为 3.2, 置信区间为 31.85~32.45 Mb, 可解释 5.25% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.5 d; 在 E4 环境被检测到, 位于 205.11 cM 处, LOD 值为 3.0, 置信区间为 31.85~32.45 Mb, 可解释 4.85% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.0 d。*qHD3.3* 仅在 E1 环境中被检测到, 位于 211.21 cM 处, LOD 值为 3.2, 置信区间为 33.10~33.55 Mb, 可解释 5.3% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.5 d。

第 7 染色体上共有 2 个抽穗期 QTL。*qHD7.1* 只在 E1 环境中被检测到, 位于 48.81 cM 处, 与 mk1681 紧密连锁, LOD 值为 4.2, 置信区间为 8.65~8.85 Mb, 可解释 7.0% 的表型变异, 来自于 02428 的等位基因可推迟抽穗期 1.7 d。*qHD7.2* 只在 E2 环境中被检测到, 位于 118.41 cM 处, 与 mk1725 紧密连锁, LOD 值为 3.0, 置信区间为 22.05~22.55 Mb, 可解释 5.2% 的表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.2 d。第 8 染色体上共有 2 个抽穗期 QTL, 即 *qHD8.1* 和 *qHD8.2*。在 E1 环境检测到 *qHD8.1* 的位置

是 42.41 cM, 与 mk1823 紧密连锁, LOD 值为 5.6, 置信区间为 4.20~4.55 Mb, 可解释 9.5% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因能推迟抽穗期 2 d; 在 E3 环境检测到 *qHD8.1* 的位置是 42.44 cM, 与 mk1823 紧密连锁, LOD 值为 3.9, 置信区间为 4.20~4.55 Mb, 可解释 7.5% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因能推迟抽穗期 2.4 d。*qHD8.2* 仅在 E1 环境被检测到, 位于 56.71 cM 处, 与 mk1830 紧密连锁, LOD 值为 4.3, 置信区间为 4.65~5.15 Mb, 可解释 7.4% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因能推迟抽穗期 1.7 d。

*qHD9.1* 在第 9 染色体上 125.4 cM 处, 仅在 E4 环境中被检测到, 与 mk2090 连锁。其 LOD 值为 2.8, 置信区间为 16.55~16.75 Mb, 表型贡献率为 4.6%, 来自于 02428 的等位基因可缩短生育期 1.0 d。

第 10 染色体 56.71 cM 处为 *qHD10.1*, 仅在 E1 环境被检测到, 它与 mk2245 紧密连锁, LOD 值为 3.5, 置信区间为 16.35~16.65 Mb, 可解释 6.7% 表型变异, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.6 d。同一染色体上的 *qHD10.2* 在 E1、E2 和 E4 环境被重复检测到, 置信区间为 16.75~17.25 Mb, E1 环境的 LOD 值为 4.5, 贡献率为 8.2%, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.4 d; E2 环境的 LOD 值为 3.2, 贡献率为 5.4%, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.5 d; E4 环境的 LOD 值为 9.6, 贡献率为 17.0%, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.7 d。第 10 染色体 67.41 cM 处是 *qHD10.3*, 仅在 E2 环境中被检测到, LOD 值为 4.2, 可解释 7.5% 表型变异, 置信区间为 17.75~17.95 Mb, 来自于 02428 的等位基因可缩短抽穗期 1.4 d。

## 2.4 注释基因筛选

在 3 个环境中可重复检测到 *qHD2.2*, 其置信区间最大时为 28.15~28.65 Mb, 在该染色体区间有 33 个注释基因(The Rice Annotation Project Database), 逐一筛选发现有 3 个位点很可能影响抽穗期, 分别是 *LOC\_Os02g46450*、*LOC\_Os02g46710* 和 *LOC\_Os02g46940*。其中, *LOC\_Os02g46450* 与拟南芥中 *PIE1 (PHOTOPERIOD-INDEPENDENT EARLY FLOWERING1)* 同源, 可影响水稻抽穗期、胚的发育及小花器官数目。*LOC\_Os02g46710* 和 *LOC\_Os02g46940* 的基因产物是可表达的蛋白, 其涉及的生物学进程包括花器官的发育、生殖生长等。

DNA 双向测序发现, 玉针香和 02428 的 3 个候选基因间均有序列差异(图 3)。玉针香与 02428 的 *LOC\_Os02g46450* 基因存在 23 处碱基差异, 共 18 处为单碱基的转换, 5 处为 3 碱基以内的插入缺失; 其中 7 处在 CDS 区变异, 有 5 处发生错义突变, 分别位于 CDS+830 bp (TTT/TCT)、CDS+1008 bp (GAG/GAT)、CDS+150 bp (TTG/TTT)、CDS+2413 bp (CGT/TGT) 和 CDS+2 418 bp (GAC/GAG)。玉针香与 02428 的 *LOC\_Os02g46710* 基因存在 23 处碱基差异, 其中 21 处为单碱基的转换, 2 处为单碱基插入缺失; 其中 2 处在 CDS 区的变异, 有 1 处为错义突变, 位置是 CDS+394 bp (AAT/TAT)。玉针香与 02428

的 *LOC\_Os02g46940* 基因存在 13 处碱基差异, 其中 9 处为单碱基的转换, 4 处为插入缺失; 其中 2 处在 CDS 区变异, 有 1 处为错义突变, 位置是 CDS+883 bp (CTT/TTT)。同时, 测序比对发现, 02428 中 3 个候选基因的 CDS 序列

与日本晴参考序列完全相同。

除此之外, 还在其他 QTL 的置信区间内找到一些与抽穗期相关可能性较大的注释基因, 它们都涉及到花的发育过程(表 4)。

表 3 4 个环境下检测到的抽穗期 QTL  
Table 3 QTLs detected for heading date in four environments

环境 Environ- ment	QTL	染色体 Chr.	位置 Peak position (cM)	LOD	加性效应 <sup>1)</sup> Additive effect <sup>1)</sup>	贡献率 Variation explained (%)	Bin 标记区间 Bin marker interval	置信区间 Confidence interval (Mb)
E1	<i>qHD2.2</i>	2	178.2	3.0	-1.5	5.1	mk487-491	28.25-28.65
E1	<i>qHD3.1</i>	3	194.2	2.9	-1.4	4.7	mk813-814	30.55-30.65
E1	<i>qHD3.2</i>	3	205.1	3.2	-1.5	5.2	mk826-831	31.85-32.45
E1	<i>qHD3.3</i>	3	211.2	3.2	-1.5	5.3	mk836-840	33.10-33.55
E1	<i>qHD7.1</i>	7	48.8	4.2	1.7	7.0	mk1618-1620	8.65-8.85
E1	<i>qHD8.1</i>	8	42.4	5.6	2.0	9.5	mk1821-1824	4.20-4.55
E1	<i>qHD8.2</i>	8	49.3	4.3	1.7	7.4	mk1825-1830	4.65-5.15
E1	<i>qHD10.1</i>	10	56.7	3.5	-1.6	6.7	mk2244-2247	16.35-16.65
E1	<i>qHD10.2</i>	10	64.8	3.2	-1.5	5.4	mk2248-2253	16.75-17.25
E2	<i>qHD2.1</i>	2	173.6	3.2	-1.3	5.8	mk481-488	27.60-28.35
E2	<i>qHD2.2</i>	2	179.7	5.0	-1.6	9.5	mk489-491	28.45-28.65
E2	<i>qHD7.2</i>	7	118.4	3.0	-1.2	5.2	mk1723-1727	22.05-22.55
E2	<i>qHD10.2</i>	10	62.1	4.5	-1.4	8.2	mk2248-2253	16.75-17.25
E2	<i>qHD10.3</i>	10	67.4	4.1	-1.4	7.5	mk2258-2260	17.75-17.95
E3	<i>qHD1.1</i>	1	160.1	2.5	-1.3	4.4	mk185-186	25.95-26.05
E3	<i>qHD2.2</i>	2	175.2	5.9	-1.9	11.1	mk486-491	28.15-28.65
E3	<i>qHD8.1</i>	8	42.4	3.9	2.4	7.4	mk1821-1824	4.20-4.55
E4	<i>qHD3.1</i>	3	197.3	3.4	-1.0	5.6	mk812-818	30.45-31.05
E4	<i>qHD3.2</i>	3	205.1	3.0	-1.0	4.9	mk826-831	31.85-32.45
E4	<i>qHD9.1</i>	9	125.4	2.8	-1.0	4.6	mk2088-2090	16.55-16.75
E4	<i>qHD10.2</i>	10	63.5	9.6	-1.7	17.0	mk2249-2250	16.85-16.95
E4	<i>qHD10.3</i>	10	70.0	7.1	-1.5	13.5	mk2259-2260	17.85-17.95

<sup>1)</sup> 指来自于 02428 的等位基因造成的加性效应, 正值为延长抽穗期, 负值为缩短抽穗期。

<sup>1)</sup> Additive effect from 02428's allele. Positive (negative) values mean increasing (decreasing) heading date.

表 4 QTL 置信区间内注释基因筛选  
Table 4 Annotated genes in confidence interval of QTLs

QTL	染色体 Chromosome	置信区间 Confidence interval (Mb)	抽穗期相关注释(克隆)基因 <sup>1)</sup> Annotated (cloned) gene <sup>1)</sup>
<i>qHD1.1</i>	1	25.95-26.05	<i>LOC_Os01g45760</i>
<i>qHD2.1</i>	2	27.60-28.35	<i>OsPIE1 (LOC_Os02g46450)</i>
<i>qHD2.2</i>	2	28.45-28.65	<i>LOC_Os02g46710; LOC_Os02g46940</i>
<i>qHD3.1</i>	3	30.45-31.05	<i>LOC_Os03g53190; LOC_Os03g54160; LOC_Os03g54170</i>
<i>qHD3.2</i>	3	31.85-32.45	<i>LOC_Os03g55990</i>
<i>qHD3.3</i>	3	33.10-33.55	<i>LOC_Os03g58400; LOC_Os03g58530; LOC_Os03g58530</i>
<i>qHD7.1</i>	7	8.65-8.85	
<i>qHD7.2</i>	7	22.05-22.55	
<i>qHD8.1</i>	8	4.20-4.55	<i>DTH8 (LOC_Os08g07740)</i>
<i>qHD8.2</i>	8	4.65-5.15	<i>LOC_Os08g08210; LOC_Os08g08830</i>
<i>qHD9.1</i>	9	16.55-16.75	
<i>qHD10.1</i>	10	16.35-16.65	
<i>qHD10.2</i>	10	16.85-16.95	<i>Ehd1 (LOC_Os10g32600)</i>
<i>qHD10.3</i>	10	17.85-17.95	

<sup>1)</sup>Source: CHINA RICE DATA CENTER and The Rice Annotation Project Database.



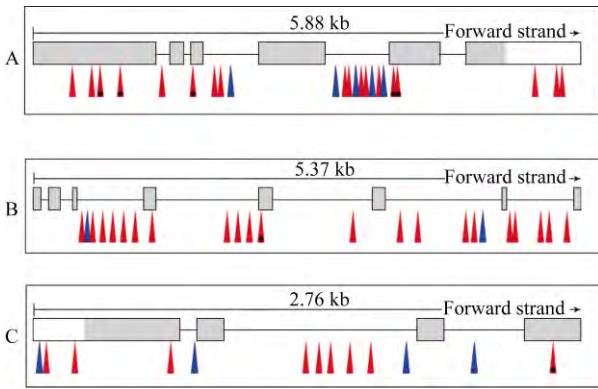


图 3 玉针香与 02428 之间候选基因的结构和变异  
Fig. 3 Gene structure and variation of candidate genes between YZX and 02428

A: *LOC\_Os02g46450*; B: *LOC\_Os02g46710*; C: *LOC\_Os02g46940*.  
黑色框: 外显子; 灰色部分: 编码序列; 红色箭头: SNP; 带黑点红色箭头: 错义突变; 蓝色箭头: 插入缺失。  
A: *LOC\_Os02g46450*; B: *LOC\_Os02g46710*; C: *LOC\_Os02g46940*.  
Frames with black lines: exon; Grey boxes: protein coding sequence;  
Red arrow: SNP; Red arrow with a black point: missense mutation;  
Blue arrow: InDel.

### 3 讨论

#### 3.1 采用 Bin 图谱定位 QTL 的优势

目前大多数研究者采用传统分子标记(如 SSR、RFLP 等)构建遗传图谱<sup>[25]</sup>, 精度约为 1~10 Mb, 存在标记数量少且分布不均匀的问题, 影响了 QTL 定位的精确度, 另外标记密度较小还可能导致某些双交换位点的漏测<sup>[26]</sup>。Bin 图谱与传统的遗传图谱相比, 标记密度高, 精度达 100 kb, 且一个 Bin 内部包含多个不发生重组的 SNP, 因而双交换能够被精确检测。同时, Bin 图谱是基于测序技术构建的, 能提供准确的物理位置, 可使遗传分析和 QTL 定位更准确。此外, 测序分型得到的大量 SNP 标记可快速应用于分子育种。本研究采用 GBS 技术构建了以 SNP 为基础的高分辨率 Bin 图谱, 包含 2711 个 Bin 标记, 标记间平均物理距离 137.36 kb, 标记整体的分布达到精细作图的密度, 可直接从定位区间筛选候选基因。另外, 定位结果显示, 在 LOD 值超过阈值的一段区域一般存在多个峰值, 可定位到多个 QTL, 如位置相邻的 *qHD10.1* 和 *qHD10.2*, 以及 *qHD3.1*、*qHD3.2* 和 *qHD3.3* 等, 说明 Bin 图谱对 QTL 的检测更精细, 可将位置相邻的 QTL 有效地分离、解析。

#### 3.2 本研究与前人定位 QTL 的比较

本研究定位的 *qHD1.1* 在第 1 染色体上, 仅在 E3 环境中被检测到, 其 LOD 值为 2.5, 置信区间为 25.95~26.05 Mb, 表型贡献率为 4.5%, 在前人的研究中未见报道。

*qHD2.1* 位于第 2 染色体 27.95 Mb 处, 置信区间为 17.60~28.35 Mb, 表型贡献率为 5.8%, LOD 值为 3.2, 在该区间有多篇相关的报道<sup>[27-32]</sup>, 其中 Thomson 等<sup>[31]</sup>报道的 *dth2.1* 表型贡献率为 4.4%, LOD 为 4.06, 在 5 个环境中检

测到 1 次, 与 *qHD2.1* 位置也最近, 它们可能为同一 QTL。在第 2 染色体上, E1 环境于 28.55 Mb 位置检测到 1 个 QTL, 其置信区间为 28.25~28.65 Mb; E2 环境于 28.65 Mb 位置检测到 1 个 QTL, 置信区间为 28.45~28.65 Mb; E3 环境于 28.35 Mb 位置检测到 1 个 QTL, 置信区间为 28.15~28.65 Mb。这 3 个 QTL 位置十分相近, 置信区间十分相似, 因此视为同一 QTL, 命名为 *qHD2.2*, 它在前人的研究中未见报道, 很可能是与水稻抽穗期相关的新位点。

第 3 染色体上检测到 3 个 QTL *qHD3.1*、*qHD3.2* 和 *qHD3.3*。*qHD3.1* 在 2 个环境中被重复检测到, 在 E1 环境定位的位置是 30.55 Mb, 置信区间分别为 30.55~30.65 Mb; E4 环境定位的位置是 30.95 Mb, 置信区间为 30.45~31.05 Mb。*qHD3.2* 也在 2 个环境中被重复检测到, 定位的位置是 32.35 Mb, 置信区间为 31.85~32.45 Mb。*qHD3.3* 仅在 E1 环境被检测到, 位于 33.35 Mb, 置信区间为 33.10~33.55 Mb。这 3 个 QTL 所在区域已有相关报道<sup>[31,33-34]</sup>。

*qHD7.1* 位于第 7 染色体 8.85 Mb 处, 置信区间为 8.65~8.85 Mb, 已精细定位的 *HD4* 包含了该区间<sup>[35]</sup>。同一染色体上的 *qHD7.2* 位于 22.35 Mb 处, 置信区间为 22.05~22.55 Mb, 该区间位于 Thomson 等<sup>[31]</sup>定位的 *dth7.1* 所在区间 RM125-RM336 内部, Jiang 等<sup>[36]</sup>定位的 *qHd-7* 与 *qHD7.2* 的区间也有部分重叠。

*qHD8.1* 位于第 8 染色体 4.45 Mb 处, 置信区间为 4.20~4.55 Mb, 与已克隆的 *DTH8*<sup>[39]</sup>位置相吻合, 都表现为长日照延长抽穗期。*qHD8.2* 位于第 8 染色体 5.15 Mb 处, 置信区间为 4.65~5.15 Mb, 在该区段也有多个相关报道<sup>[37-40]</sup>。

*qHD9.1* 仅在 E4 环境被检测到, 位于第 9 染色体 16.75 Mb 处, 与 mk2090 紧密连锁, 置信区间为 16.55~16.75 Mb, 未发现相关报道。

*qHD10.1* 位于第 10 染色体 16.45 Mb 处, 置信区间为 16.35~16.65 Mb, 与 Thomson 等<sup>[31]</sup>定位的 *dth10.1* 区间有部分相重叠。在第 10 染色体上, E1 环境于 17.25 Mb 位置检测到 1 个 QTL, 其置信区间为 16.75~17.25 Mb; E2 环境于 16.75 Mb 位置检测到 1 个 QTL, 置信区间为 16.75~17.25 Mb。这 2 个 QTL 位置相近、区间相同, 因此视为同一 QTL, 命名为 *qHD10.2*, Doi 等<sup>[7]</sup>报道的 *Ehd1* 的位置在其区间内。同在第 10 染色体上的 *qHD10.3* 位于 17.85 Mb 处, 置信区间为 17.75~17.95 Mb, Mei 等<sup>[32]</sup>报道了与抽穗期相关的 RG241a-CDO98 染色体区段在 *qHD10.3* 的区间内, Zhou 等<sup>[28]</sup>报道的 *qQTL10b* 与 *qHD10.3* 区间基本相同。

#### 3.3 检测到的 QTL 应用价值及研究价值

本研究在 4 个环境中共检测到 14 个影响抽穗期的 QTL, 分布于第 1、第 2、第 3、第 7、第 8、第 9 和第 10 染色体上。除 *qHD2.2*、*qHD3.1*、*qHD3.2*、*qHD8.1* 和 *qHD10.2* 能在 2 个及以上环境被检测到外, 其他 QTL 只在单个环境被检测到。其中, *qHD8.1* 和 *qHD10.2* 所在的位置分别是克隆基因 *DTH8* 和 *Ehd1*。

Hori 等<sup>[20]</sup>同时用 12 个群体进行抽穗期相关的 QTL

定位, 在其中 3 个群体中能检测到 *DTH8*, 表型贡献率为 7.9%~74.0%; 在其中 2 个群体中能检测到 *Ehd1*, 表型贡献率为 18.2%~18.3%。Cheng 等<sup>[2]</sup>同时用 3 个群体进行抽穗期相关的 QTL 定位, 在其中 1 个群体中能检测到 *DTH8*, 表型贡献率为 3.5%; 在 3 个群体中均能检测到 *Ehd1*, 表型贡献率为 3.6%~33.7%。而本研究中检测到 *DTH8* 的表型贡献率为 7.5%~9.5%; *Ehd1* 的表型贡献率为 5.4%~17.0%。这些研究表明, 对于不同群体, 由于材料遗传背景影响, QTL 贡献率的变化很大; 其次, 图谱的精度对 QTL 贡献率的估算影响也较大, 传统分子标记构建的图谱精度通常约为 4 Mb, 两标记之间经常会存在多个相关基因或 QTL 簇, 粗定位到的 QTL 贡献率会较高。因此我们认为, 重点关注 QTL 在不同环境或不同群体中的重复定位情况对聚合育种的意义更大。

*qHD3.1* 和 *qHD3.2* 在定位到的 QTL 中表型贡献率相对较小, 表达也较不稳定, 只能 2 次被重复检测到, 因而利用的可能性小。*qHD8.1* 在两年的早造中被重复检测到, 仅在早造环境特异表达, 表现为延长生育期, 这些都与 *DTH8* 在长日条件下延长抽穗期的特性相对应, 它对于将早熟品种改良成半晚熟的高产品种具有一定价值。*qHD2.2* 和 *qHD10.2* 都能在 3 个环境中被重复检测到, 且都能够缩短生育期, 说明它们受环境影响较小、表达较稳定, 对光照和温度变化不敏感, 它们的表型贡献率最低时分别为 5.1% 和 5.4%, 表型贡献率最高时分别为 11.2% 和 17.0%, 因此对于 QTL 聚合改良品种生育期具有重要价值。

此外, *qHD2.2* 的置信区间在 3 次定位中略有变化, 在 E2 环境判定的置信区间较其他 2 个环境中小, *LOC\_Os02g46450(PIE1)* 不在此置信区间内, 但此时 *qHD2.2* 对表型的贡献率仍然达到 9.5%。因此 *LOC\_Os02g46710* 和 *LOC\_Os02g46940* 更有可能是导致抽穗期表型变异的新 QTL, 具体情况还需深入研究。

## References

- [1] Fujino K, Sekiguchi H. Mapping of quantitative trait loci controlling heading date among rice cultivars in the northernmost region of Japan. *Breed Sci*, 2008, 58: 367–373
- [2] Cheng L R, Wang J M, Ye G, Luo C G, Xu J L, Li Z K. Identification of stably expressed QTL for heading date using reciprocal introgression line and recombinant inbred line populations in rice. *Genet Res*, 2012, 94: 245–253
- [3] 戴高兴, 杨占烈, 邓国富, 张迎信, 王会民, 翟荣荣, 曹立勇, 程式华. 超级杂交稻协优 9308 重组自交系主茎叶片数的动态 QTL 分析. *中国水稻科学*, 2012, 26: 291–296  
Dai G X, Yang Z L, Deng G F, Zhang Y X, Wang H M, Zhai R R, Cao L Y, Cheng S H. QTL analysis for leaf number on main stem in RILs of super hybrid rice Xieyou 9308. *Chin J Rice Sci*, 2012, 26: 291–296 (in Chinese with English abstract)
- [4] Yano M, Katayose Y, Ashikari M, Yamanouchi U, Monna L, Fuse T, Baba T, Yamamoto K, Umehara Y, Nagamura Y. Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2473–2484
- [5] Takahashi Y, Shomura A, Sasaki T, Yano M. Hd6, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the  $\alpha$  subunit of protein kinase CK2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 7922–7927
- [6] Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, Monna L, Sasaki T, Araki T, Yano M. Hd3a, a rice ortholog of the Arabidopsis FT gene, promotes transition to flowering downstream of Hd1 under short-day conditions. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 1096–1105
- [7] Doi K, Izawa T, Fuse T, Yamanouchi U, Kubo T, Shimatani Z, Yano M, Yoshimura A. *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT-like* gene expression independently of Hd1. *Gene Dev*, 2004, 18: 926–936
- [8] Xue W, Xing Y, Weng X, Zhao Y, Tang W, Wang L, Zhou H, Yu S, Xu C, Li X, Zhang Q. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40: 761–767
- [9] Wei X, Xu J, Guo H, Jiang L, Chen S, Yu C, Zhou Z, Hu P, Zhai H, Wan J. *DTH8* suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously. *Plant Physiol*, 2010, 153: 1747–1758
- [10] Bian X F, Liu X, Zhao Z G, Jiang L, Gao H, Zhang Y H, Zheng M, Chen L M, Liu S J, Zhai H Q. Heading date gene, *dth3* controlled late flowering in *O. glaberrima* Steud. by down-regulating *Ehd1*. *Plant Cell Rep*, 2011, 30: 2243–2254
- [11] Yan W H, Wang P, Chen H X, Zhou H J, Li Q P, Wang C R, Ding Z H, Zhang Y S, Yu S B, Xing Y Z. A major QTL, *Ghd8*, plays pleiotropic roles in regulating grain productivity, plant height and heading date in rice. *Mol Plant*, 2011, 4: 319–330
- [12] Matsubara K, Ogisotanaka E, Hori K, Ebana K, Ando T, Yano M. Natural variation in Hd17, a homolog of Arabidopsis ELF3 that is involved in rice photoperiodic flowering. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53: 709–716
- [13] Gao H, Zheng X, Fei G, Chen J, Jin M, Ren Y, Wu W, Zhou K, Sheng P, Zhou F, Jiang L, Wang J, Zhang X, Guo X, Wang J, Cheng Z, Wu C, Wang H, Wan J. *Ehd4* encodes a novel and *Oryza-Genus-Specific* regulator of photoperiodic flowering in rice. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003281
- [14] Hori K, Ogisotanaka E, Matsubara K, Yamanouchi U, Ebana K, Yano M. *Hd16*, a gene for casein kinase I, is involved in the control of rice flowering time by modulating the day-length response. *Plant J Cell Mol Biol*, 2013, 76: 36–46
- [15] Koo B H, Yoo S C, Park J W, Kwon C T, Lee B D, An G, Zhang Z Y, Li J J, Li Z C, Paek N C. Natural variation in *OsPRR37* regulates heading date and contributes to rice cultivation at a wide range of latitudes. *Mol Plant*, 2013, 6: 1877–1888
- [16] Ogisotanaka E, Matsubara K, Yamamoto S, Nonoue Y, Wu J, Fujisawa H, Ishikubo H, Tanaka T, Ando T, Matsumoto T. Natural variation of the *RICE FLOWERING LOCUS T 1* contributes to flowering time divergence in rice. *PLoS One*, 2013, 8: e75959
- [17] Wu W, Zheng X M, Lu G, Zhong Z, Gao H, Chen L, Wu C, Wang H J, Wang Q, Zhou K, Wang J, Wu F, Zhang X, Guo X, Cheng Z, Lei C, Lin Q, Jiang L, Wang H, Ge S, Wan J. Associa-



- tion of functional nucleotide polymorphisms at DTH2 with the northward expansion of rice cultivation in Asia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 2775–2780
- [18] Sun B, Zhan X D, Lin Z C, Wu W X, Yu P, Zhang Y X, Sun L P, Cao L Y, Cheng S H. Fine mapping and candidate gene analysis of qHD5, a novel major QTL with pleiotropism for yield-related traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2016, 130: 1–12
- [19] Shen G, Xing Y. Two novel QTLs for heading date are identified using a set of chromosome segment substitution lines in rice (*Oryza sativa* L.). *J Genet Genomics*, 2014, 41: 659–662
- [20] Hori K, Nonoue Y, Ono N, Shibaya T, Ebana K, Matsubara K, Ogisotanaka E, Tanabata T, Sugimoto K, Taguchishiobara F. Genetic architecture of variation in heading date among Asian rice accessions. *BMC Plant Biol*, 2015, 15: 115
- [21] Xie W, Feng Q, Yu H, Huang X, Zhao Q, Xing Y, Yu S, Han B, Zhang Q. Parent-independent genotyping for constructing an ultrahigh-density linkage map based on population sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 10578–10583
- [22] Yu H, Xie W, Wang J, Xing Y, Xu C, Li X, Xiao J, Zhang Q. Gains in QTL detection using an ultra-high density SNP map based on population sequencing relative to traditional RFLP/SSR markers. *PLoS One*, 2012, 6: e17595
- [23] Chen L, Gao W, Guo T, Huang C, Huang M, Wang J, Xiao W, Yang G, Liu Y, Wang H, Chen Z. A genotyping platform assembled with high-throughput DNA extraction, codominant functional markers, and automated CE system to accelerate marker-assisted improvement of rice. *Mol Breed*, 2016, 36: 123, <https://doi.org/10.1007/s11032-016-0547-y>
- [24] McCouch S R. Gene nomenclature system for rice. *Rice*, 2008, 1: 72–84
- [25] Golicz A A, Bayer P E, Edwards D. Skim-based genotyping by sequencing. *Methods Mol Biol*, 2015, 1245: 257–270
- [26] Yu H, Xie W, Li J, Zhou F, Zhang Q. A whole-genome SNP array (RICE6K) for genomic breeding in rice. *Plant Biotechnol J*, 2014, 12: 28–37
- [27] Zou J H, Pan X B, Chen Z X, Xu J Y, Lu J F, Zhai W X, Zhu L H. Mapping quantitative trait loci controlling sheath blight resistance in two rice cultivars (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 569–573
- [28] Zhou Y, Li W, Wu W, Chen Q, Mao D, Worland A J. Genetic dissection of heading time and its components in rice. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 1236–1242
- [29] Li Z K, Yu S B, Lafitte H R, Huang N, Courtois B, Hittalmani S, Vijayakumar C H M, Liu G F, Wang G C, Shashidhar H E, Zhuang J Y, Zheng K L, Singh V P, Sidhu J S, Srivantaneeyakul S, Khush G S. QTL×environment interactions in rice: I. Heading date and plant height. *Theor Appl Genet*, 2003, 108: 141–153
- [30] Xiao J, Li J, Yuan L, Tanksley S D. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 230–244
- [31] Thomson M J, Tai T H, McClung A M, Lai X H, Hinga M E, Lobos K B, Xu Y, Martinez C P, McCouch S R. Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 479–493
- [32] Mei H W, Luo L J, Ying C S, Wang Y P, Yu X Q, Guo L B, Paterson A H, Li Z K. Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred rice population and two test-cross populations. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 89–101
- [33] Takeuchi Y, Hayasaka H, Chiba B, Tanaka I, Shimano T, Yamagishi M, Nagano K, Sasaki T, Yano M. Mapping quantitative trait loci controlling cool-temperature tolerance at booting stage in temperate japonica rice. *Breed Sci*, 2001, 51: 191–197
- [34] Sarma R N, Gill B S, Sasaki T, Galiba G, Sutka J, Laurie D A, Snape J W. Comparative mapping of the wheat chromosome 5A Vrn-A1 region with rice and its relationship to QTL for flowering time. *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 103–109
- [35] Lin H, Liang Z W, Sasaki T, Yano M. Fine mapping and characterization of quantitative trait loci Hd4 and Hd5 controlling heading date in rice. *Breed Sci*, 2003, 53: 51–59
- [36] Jiang L, Xu J, Wei X, Wang S, Tang J, Zhai H, Wan J. The inheritance of early heading in the rice variety USSR5. *J Genet Genomics*, 2007, 34: 46–55
- [37] 国广泰史, 钱前, 佐藤宏之, 滕胜, 曾大力, 藤本宽, 朱立煌. 水稻纹枯病抗性 QTL 分析. *遗传学报*, 2002, 29: 50–55  
Kunihiro Y, Qian Q, Sato H, Teng S, Zeng D L, Fujimoto K, Zhu L H. QTL analysis of sheath blight resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genet Sin*, 2002, 29: 50–55 (in Chinese with English abstract)
- [38] Wang C M, Yasui H, Yoshimura A, Wan J M, Zhai H Q. Identification of quantitative trait loci controlling F<sub>2</sub> sterility and heading date in rice. *Acta Genet Sin*, 2002, 29: 339–342
- [39] Lu C, Shen L, Tan Z, Xu Y, He P, Chen Y, Zhu L. Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments using a doubled haploid population. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 1211–1217
- [40] 谭震波, 沈利爽, 况浩池, 陆朝福, 陈英, 周开达, 朱立煌. 水稻上部节间长度等数量性状基因的定位及其遗传效应分析. *遗传学报*, 1996, 23: 439–446  
Tan Z B, Shen L S, Kuang H C, Lu C F, Chen Y, Zhou K D, Zhu L H. Identification of QTLs for lengths of the top internodes and other traits in rice and analysis of their genetic effects. *Acta Genet Sin*, 1996, 23: 439–446 (in Chinese with English abstract)