



王江旭. 基于关联分析的水稻剑叶宽基因定位与分析[J]. 黑龙江农业科学, 2023(2):1-5, 10.

基于关联分析的水稻剑叶宽基因定位与分析

王江旭

(黑龙江省农业科学院 科研处, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:叶形是影响梗稻光合作用和碳水化合物积累的重要因素之一,而叶宽是决定水稻叶形的核心性状之一。挖掘和利用新的叶宽相关基因/QTL 可以进一步丰富分子育种理论,提升叶宽性状遗传改良的效率。本研究利用 295 份梗稻品种的自然群体,于 2020 年和 2021 年对各品种的剑叶宽进行考察。结合高通量重测序获得的 788 396 个高质量多态性 SNP,对梗稻剑叶宽相关性状进行全基因组关联分析(GWAS),共检测到 45 个关联 SNPs,分布在水稻的 12 条染色体上,表型贡献率范围为 8.61%~15.76%。其中,*qFL10* 在两年间被重复检测到,定位区间在 10.11 Mb~10.23 Mb,此区段内包含 15 个基因。

关键词:水稻;叶形;剑叶宽;关联分析;主效 QTL

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



长期栽培实践证明,将理想株型与杂种优势相结合利用是实现水稻进一步增产的重要途径^[1]。水稻叶形是水稻理想株型的重要组成部分,也是水稻产量形成的重要性状。同时,叶片形态和分布也影响水稻光能利用效率和干物质积累,与水稻产量紧密相关^[2]。叶宽是影响叶片形态特征的主要指标之一,直接决定着水稻叶面积,即光合面积和蒸腾面积,间接决定着水稻叶片卷曲度和披垂度等整体叶形指标^[3]。尽管叶片形态对于实现高效光合影响较大,但对于决定叶片形态特征的遗传机制尚不明确,主要通过 QTL 定位挖掘目的基因和反向遗传学来解析叶形相关性状形成机制。叶片尺寸主要包括叶长、叶宽、叶面积,其中叶宽是受多基因控制的复杂性状,在水稻 12 条染色体上分布有大量与之相关的数量性状位点(QTL)。全基因组关联分析(Genome-Wide Association Study, GWAS)以连锁不平衡为基础,通过群体基因型数据与表型数据检测有效关联位点,可以实现对同一复杂性状多数基因座以及一个基因座上多个等位基因的检测^[4]。目前对已克隆的定位于 4 号染色体上的 *NAL1* 基因研究较清楚^[5],突变体表现为植株矮化、窄叶,该基因突变影响侧叶生长。通过对 *NAL1* 等位基因的研究发现,突变体中与生长素极性运输和叶片发育相关基因表达水平发生改变,*NAL1* 在维管组织中高度表达,在细胞分裂及细胞大小调控方面起作

用,影响生长素极性运输,促进叶片横向生长^[6]。*NAL7* 编码一个黄素单加氧酶,过表达 *NAL7* 出现根部的过度生长及异常形态,表明 *NAL7* 参与生长素的生物合成途径。相较于野生型,突变体 *nal7* 泡状细胞面积减小,但数目增多,表现为叶片窄化卷曲^[7]。*OsCHR4* 影响生长素和赤霉素相关信号通路,通过对生长素和蜡生物合成基因表达的表观遗传调控影响叶片形态发生和角质层蜡的形成,植株失水率降低,耐旱性增强^[8],可作为抗逆性研究的重要材料。目前宽叶相关性状研究及定位克隆基因较少,*FLW7* 基因调控水稻剑叶宽度,使光合叶面积增大,叶片态势得到改善。*FLW7* 与粒长基因 *GL7/GW7* 等位,可能与籽粒性状调控相关,发现突变体粒长增加、籽粒充实度提高、产量得到显著增加^[9]。

所以,本研究通过 GWAS 和高密度 SNP 图谱定位叶宽可靠 QTL,可以为梗稻良好叶形、理想株型分子育种提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究采用的自然群体由 295 个梗稻品种构成,均为国内外广泛收集的梗稻资源(附表 1,详见 OSID 码)。群体材料来源于东北农业大学农学院,其中,国内材料主要来自黑龙江、吉林和辽宁等地,国外材料主要来自日本、韩国和俄罗斯等国家。

1.2 方法

1.2.1 表型测定 所有材料于 2020—2021 年种植在黑龙江省哈尔滨市道外区民主乡国家现代农业科技示范展示基地,每份材料种植 8 行,每行 20 株,行距、株距为 30.0 cm×13.3 cm,单株插秧。所有材料采用统一的常规水肥管理。在齐穗期选取每个品种中间第 4 行,中间部位连续 5 株具有相同形态

收稿日期:2022-10-31

基金项目:黑龙江省省属科研院所科研业务费(CZKYF2022-1-B011);黑龙江省农业科学院院级课题(2021YYF037);高端外国专家引进项目(G2022011015)。

作者简介:王江旭(1989—),男,博士,助理研究员,从事水稻抗逆分子育种研究。E-mail:jiangwang39@sina.com。

的植株作为考察对象,采用托普YMJ-D活体叶面积测定仪测定剑叶宽(FW,cm)。

1.2.2 全基因组关联分析 使用植物基因组DNA提取试剂盒提取自然群体叶片的总DNA,检测合格后由北京华大公司进行建库和重测序。共计筛选出符合标准的(最小等位基因频率 $\geq 5\%$,缺失率 $\leq 20\%$)788 396个SNP用于后续分析,前期已经完成了295份粳稻品种的群体结构分析、亲缘关系分析和连锁不平衡分析^[10]。采用TASSEL 5.0软件中的混合线性模型(MLM)进行全基因组关联分析。与性状显著关联SNP位点的阈值定为 $P<5.46\times 10^{-6}$,该阈值由1型误差计算器GEC软件计算得出(<http://statgenpro.psychiatry.hku.hk/gec/>)。基于LD方法进行重要关联位点的确定;如果两个或两个以上的SNP位点位于同

一个LD区间内,则将这些SNP视为同一个QTL, P 值最小的SNP作为lead SNP,该SNP的贡献率作为QTL的贡献率。使用R语言中的CMplot软件包绘制关联分析结果的曼哈顿图和Q-Q图。QTL命名方式遵循McCouch^[11]等的原则。

2 结果与分析

2.1 粳稻剑叶宽表型数据分析

2020—2021年连续两年对自然群体进行了剑叶宽度测定,结果见表1。剑叶宽表型值在两年间表现稳定,两年间变异系数分别为12.95%和16.85%;说明该群体在叶宽上具有很大差异。其峰度、偏度绝对值位于1附近,符合正态分布,呈现典型的数量性状遗传模式,表现出主基因或多基因控制的数量性状遗传特征,适于进行全基因组关联分析。

表 1 两年环境下自然群体的剑叶宽表型值

年份	剑叶宽/cm	变幅/cm	变异系数/%	偏度	峰度
2020	1.48±0.19	1.00~2.44	12.95	0.91	3.32
2021	1.37±0.23	0.94~2.86	16.85	1.37	2.82

2.2 粳稻剑叶宽全基因组关联分析

利用TASSEL 5.0的混合线性模型(MLM),于2020—2021年分别对295份粳稻品种的剑叶宽进行全基因组关联分析检测,在 $P<5.46\times 10^{-6}$ 的条件下,共检测到45个与粳稻剑叶形态相关性状显著关联的SNPs(图1,图2)。表2和表3列出了与各个性状显著关联的峰值SNP位置信息,这些SNP位于44个QTL区间内,在水稻的12条染色

体上均有分布,解释了8.28%~15.76%的表型贡献率(R^2)。2020年检测到27个与剑叶宽度显著关联的QTL,分布在除4号、9号、11号、12号染色体外水稻其他8条染色体上,贡献率范围在8.61%~15.76%。2021年检测到18个与剑叶宽度显著关联的QTL分布在除3号、4号染色体外水稻其他10条染色体上。贡献率范围在8.69%~12.06%,其中 $qFWn11-1$ 贡献率最高。

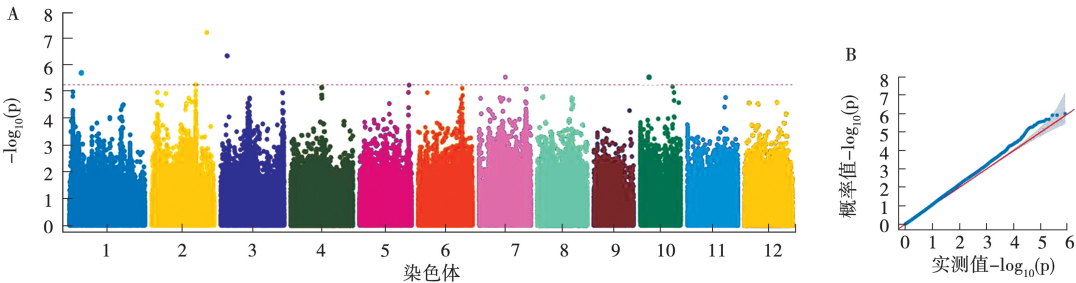


图 1 2020 年叶宽全基因组关联分析的曼哈顿图(A)和 Q-Q 图(B)

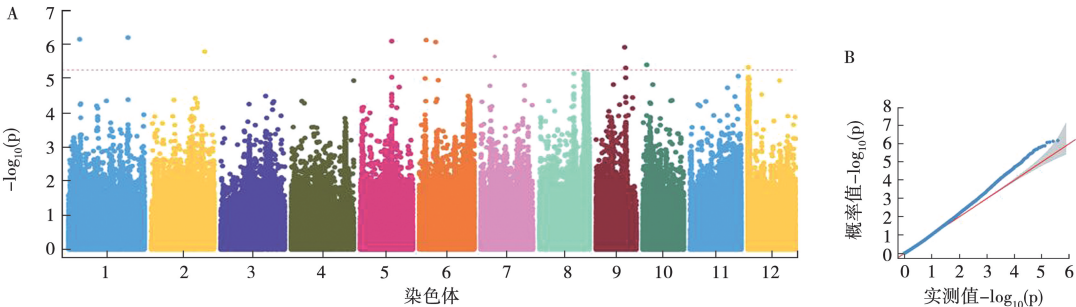


图 2 2021 年叶宽全基因组关联分析的曼哈顿图(A)和 Q-Q 图(B)

表 2 2020 年自然群体剑叶宽显著关联的 SNP 位点

QTL	峰值 SNP	染色体	位置	P	贡献率/%	已知基因
<i>qFWn1-2</i>	Chr1_18340871	1	18340871	1.88E-06	9.37	<i>OsFbox113</i> ^[12]
<i>qFWn2-2</i>	Chr2_33332579	2	33332579	3.18E-08	12.45	
<i>qFWn3-1</i>	Chr3_18626	3	18626	5.19E-07	10.38	
<i>qFWn3-2</i>	Chr3_1944506	3	1944506	1.65E-06	11.12	<i>SLR1</i> ^[13]
<i>qFWn3-3</i>	Chr3_26078239	3	26078239	3.69E-06	8.88	
<i>qFWn5-1</i>	Chr5_2420490	5	2420490	1.34E-08	13.11	
<i>qFWn6-1</i>	Chr6_1167044	6	1167044	3.95E-07	12.34	<i>qFLWnpt-5</i> ^[14]
<i>qFWn6-2</i>	Chr6_2942192	6	2942192	1.86E-07	11.11	
<i>qFWn6-6</i>	Chr6_29037062	6	29037062	3.35E-06	8.94	
<i>qFWn7-2</i>	Chr7_13395248	7	13395248	1.71E-06	9.44	<i>FLW7</i> ^[9]
<i>qFWn7-3</i>	Chr7_20475568	7	20475568	4.39E-08	12.81	
<i>qFWn7-4</i>	Chr7_22550027	7	22550027	8.25E-07	9.99	
<i>qFWn7-5</i>	Chr7_22800992	7	22800992	1.09E-07	11.77	<i>OsARF19</i> ^[15]
<i>qFWn7-6</i>	Chr7_23101562	7	23101562	3.20E-06	8.98	
<i>qFWn8-1</i>	Chr8_325457	8	325457	1.54E-06	9.76	
<i>qFWn8-2</i>	Chr8_1524695	8	1524695	7.73E-07	10.16	<i>OsBAK1</i> ^[16]
<i>qFWn8-3</i>	Chr8_2906951	8	2906951	8.86E-07	11.97	
<i>qFWn8-4</i>	Chr8_3649931	8	3649931	7.67E-07	10.10	
<i>qFWn8-6</i>	Chr8_5133437	8	5133437	2.15E-07	10.04	<i>OsSPL14</i> ^[17]
<i>qFWn8-7</i>	Chr8_20920718	8	20920718	1.67E-06	10.05	
<i>qFWn8-8</i>	Chr8_24985617	8	24985617	4.38E-07	10.46	
<i>qFWn8-10</i>	Chr8_26970768	8	26970768	3.36E-06	9.07	
<i>qFWn8-12</i>	Chr8_27828726	8	27828726	4.04E-07	10.52	
<i>qFWn10-2</i>	Chr10_4257147	10	4257147	1.67E-06	10.32	
<i>qFWn10-3</i>	Chr10_5588219	10	5588219	4.82E-10	15.76	
<i>qFWn10-4</i>	Chr10_8032420	10	8032420	3.38E-06	8.98	
<i>qFWn10-6</i>	Chr10_10230100	10	10230100	5.23E-06	8.61	

表 3 2021 年自然群体剑叶宽显著关联的 SNP 位点

QTL	峰值 SNP	染色体	位置	P	贡献率/%	已知基因
<i>qFWn1-1</i>	Chr1_6294146	1	6294146	6.96E-07	10.12	<i>OsOFP2</i> ^[18]
<i>qFWn1-3</i>	Chr1_33883944	1	33883944	6.21E-07	10.21	
<i>qFWn2-1</i>	Chr2_30499110	2	30499110	1.60E-06	9.50	
<i>qFWn5-2</i>	Chr5_17982797	5	17982797	7.93E-07	10.03	<i>SNFL1</i> ^[18]
<i>qFWn6-3</i>	Chr6_3907011	6	3907011	7.32E-07	10.09	
<i>qFWn6-4</i>	Chr6_9329226	6	9329226	8.43E-07	10.02	
<i>qFWn6-5</i>	Chr6_10031161	6	10031161	1.63E-06	9.49	<i>OsCCC1</i> ^[13]
<i>qFWn7-1</i>	Chr7_5528099	7	5528099	8.48E-07	9.98	
<i>qFWn7-3</i>	Chr7_20345187	7	20345187	2.56E-06	9.29	
<i>qFWn8-5</i>	Chr8_4595776	8	4595776	3.36E-06	10.54	
<i>qFWn8-6</i>	Chr8_19575956	8	19575956	2.07E-07	11.04	
<i>qFWn8-9</i>	Chr8_26041647	8	26041647	6.04E-07	10.23	
<i>qFWn8-11</i>	Chr8_27338345	8	27338345	5.06E-06	8.71	
<i>qFWn9-1</i>	Chr9_16271846	9	16271846	1.20E-06	9.72	
<i>qFWn9-2</i>	Chr9_16890634	9	16890634	4.80E-06	8.69	
<i>qFWn10-5</i>	Chr10_10107835	10	10107835	4.32E-06	8.79	
<i>qFWn11-1</i>	Chr11_21617939	11	21617939	1.51E-06	12.06	
<i>qFWn12-1</i>	Chr12_478610	12	478610	4.30E-06	8.82	

由表 4 两年的全基因组关联分析数据可知,有 2 个 SNP 作为峰值 SNP 同时在两年间稳定表达。2020 年检测结果中位于 Chr10_10230100 的 *qFWn10-6* 和 2021 年检测结果中位于 Chr10_10107835 的 *qFWn10-5* 被检测到同时控制水稻剑叶叶宽,是全基因组关联分析中唯一一对在两年间重复检测到的稳定 QTL,把这个 QTL 重命名为 *qFL10*。*qFL10* 属于调控粳稻剑叶宽的稳定表达 QTL,位置处在粳稻的第 10 染色体上,由

表 4 共定位 QTL 名称及分布

QTL 名称	染色体	原 QTL	峰值 SNP	P	贡献率/%
<i>qFL10</i>	10	<i>qFWn10-6</i>	Chr10_10230100	5.23E-06	8.61
		<i>qFWn10-5</i>	Chr10_10107835	4.32E-06	8.79

3 讨论

水稻是一种自花授粉的作物,这往往会导致较大的 LD 衰减距离。全基因组关联分析的分辨率是由所在基因组的 LD 水平和等位基因或单倍型频率所决定的。如果想要减小基因组 LD 衰减的距离,就需要足够多的 SNP 标记,与之相应的分辨率也会升高。同时,可以通过不同群体和分析方法结合的手段对候选基因进行综合定位、筛选,进一步缩小选择范围,提升定位精度。

本研究通过全基因组关联分析进行粳稻剑叶宽度基因的挖掘,在第 10 号染色体 10.11 Mb~10.23 Mb 区间得到一个两年间稳定表达的重要 QTL *qFL10*。剑叶宽在两年定位结果重复性不佳,可能是因为两年种植地块及气候条件不同所致。一些前人研究中已经定位到的 QTL 或克隆出的与叶形相关的基因位于本研究检测到的 QTL 区间内部或区间附近。例如,*SLR1* 属于 GRAS 基因超家族,被检测到位于 *qFWn3-3* 所在区间附近。*SLR1* 是 GA 信号传导的负调控因子,即阻止 GA 信号向下传导。本研究中检测到的 *qFWn7-3* 与前人研究中的剑叶宽度 QTL *FLW7* 位置重合^[9]。前人研究中定位到的 *qFLWnpt5* 包含本研究的 *qFWn5-1*^[14]。*qFWn1-2* 区间中包含水稻 F-box 家族基因 *OsFbox113*^[13]; *qFWn6-6* 区间内含有调控水稻叶倾角的基因 *OsARF19*^[15]。LRR 受体激酶基因 *OsBAK1* 与本研究叶宽 QTL *qFWn8-6* 位置相近^[16]。*Squamosa* 启动子结合蛋白 *OsSPL14* 被检测到与控制粳稻剑叶宽度及剑叶面积的 QTL

全基因组关联分析在两年间同时检测到的稳定表达显著关联的 SNP 组成。两年定位结果存在一个重叠的区间即第 10 号染色体 10.11 Mb~10.23 Mb(*qFWn10-5*、*qFWn10-6* 的重合区域),所以认为 *qFL10* 极有可能是控制粳稻剑叶宽度的主效 QTL。对该区段内的基因进行统计,发现目标区段共有 15 个基因,其中包括 5 个功能注释基因、4 个功能未知的表达蛋白和 6 个反转录转座子蛋白。

qFWn8-8 位置相近^[17]。调节水稻木质素生物合成和激素稳态的基因 *OsOFP2* 被检测到位于 *qFWn1-3* 附近^[18]。参与水稻表皮细胞,纵向叶脉发育的锌指蛋白 *SNFL1* 被检测到与本研究叶宽 QTL *qFWn5-2* 位置相近^[19],在前人研究中这些基因均被证实参与水稻的叶片宽度调控。Chen 等^[13] 利用 *OsCCC1* 突变体和 *Kasalath* 构建 F₂ 分离群体,将候选基因定位在 8 号染色体 440 kb 的区域内,与本研究中控制剑叶宽位点 *qFWn8-6* 位置相近,并通过测序发现 LOC_Os08g23440 基因内发生核苷酸点突变,导致编码的氨基酸由半胱氨酸替换为苯丙氨酸。进一步实验表明 *OsCCC1* 通过调控离子 K⁺/Na⁺/Cl⁻ 平衡以维持细胞渗透势,参与细胞伸长进程并且对水稻叶片发育发挥重要作用。Ikeda^[20] 认为 *SLR1* 基因在信号传导过程中的连续活动促进内源拮抗的 ABA 水平,即促进 ABA 的合成且抑制 GA 的合成。Itoh^[21] 研究表明 GA 的信号传导受 SLR 蛋白的出现和消失控制,即 GA 达到一定浓度时,SLR 蛋白消失,GA 的信号得以传导下去,但 GA 反过来刺激 SLR 的转录和翻译,从而抑制 GA 的传导。Hu 等^[22] 对窄卷叶基因 *NRL1* 进行分析验证和克隆转化,研究发现, *NRL1* 编码 OsCSLD4 蛋白,3 个等位基因突变体都表现出叶宽减小和半卷叶的表型,显微镜分析表明,与野生型相比, *NRL1* 突变体具有更少的纵脉和更小的近轴块状细胞, *NRL1* 对水稻叶的形态发生和营养发育起着关键作用。除上述水稻叶形相关基因外,还有一部分本研究中检测到的 QTL 位于前人研究中定位到的与水稻叶形相关的

QTL 区间内部或附近区间。如本研究定位到的 *qFwn11* 与 Cai 等^[23] 利用 ZYQ8/JX17 和 CJ06/TN1 杂交获得的两个水稻双单倍体 (DH) 群体对水稻剑叶形态开展的 QTL 定位研究中 *qFLr11-1* 几乎完全重合。

下一步将会对梗稻第 10 号染色体 10.11 Mb~10.23 Mb 区间内的基因开展单倍型分析、qRT-PCR 分析、候选基因测序等研究,进一步筛选目的基因,为水稻株型育种提供可靠理论依据。

4 结论

本研究采用经过重测序的 295 个梗稻品种组建的自然群体进行多年 GWAS 分析。在 2020 和 2021 年分别定位到 *qFwn10-6*、*qFwn10-5* 两个稳定表达的叶宽 QTL,重合区间为水稻第 10 号染色体 10.11 Mb~10.23 Mb,视为控制水稻叶宽的主效 QTL,重命名为 *qFL10*,此区段内包含 15 个基因。

参考文献:

- [1] 姚栋萍,刘春林,吴丹,等.水稻叶形遗传调控机理的研究进展[J].湖南农业科学,2014(5):6-9.
- [2] 陈洪娟,商晨阳,黄梅艳,等.水稻叶片夹角调控机制的研究进展[J/OL].分子植物育种,2021:1-25(2021-05-11)[2022-10-15].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20210420.1030.002.html>.
- [3] WANG J J,XU J,QIAN Q,et al. Development of rice leaves: how histocytes modulate leaf polarity establishment[J]. Rice Science,2020,27(6):468-479.
- [4] MACKAY I,POWELL W. Methods for linkage disequilibrium mapping in crops[J]. Trends in Plant Science,2007,12(2):57-63.
- [5] LANDER E S,BOTSTEIN D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps[J]. Genetics,1989,121(1):185-199.
- [6] JIANG D,FANG J J,LOU L M,et al. Characterization of a null allelic mutant of the rice *NAL1* gene reveals its role in regulating cell division[J]. PLoS One,2015,10(2):e0118169.
- [7] FUJINO K,MATSUDA Y,OZAWA K,et al. Narrow leaf 7 controls leaf shape mediated by auxin in rice[J]. Molecular Genetics & Genomics,2008,279:499-507.
- [8] GUO T T,WANG D F,FANG J J. Mutations in the rice *OsCHR4* gene,encoding a CHD3 family chromatin remodeler, induce narrow and rolled leaves with increased cuticular wax[J]. International Journal of Molecular Sciences,2019,20(10):2567.
- [9] XU J,WANG L,WANG Y X,et al. Reduction of *OsFLW7* expression enhanced leaf area and grain production in rice[J]. Science Bulletin,2017,62(24):1631-1633.
- [10] LI N,ZHENG H L,CUI J N,et al. Genome-wide association study and candidate gene analysis of alkalinity tolerance in

- japonica rice germplasm at the seedling stage[J]. Rice, 2019,12(1):1-12.
- [11] McCOUCH S R,CHEN X,PANAUD O,et al. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding[J]. Springer Netherlands,1997,35(1-2):89-99.
- [12] WANG M,HUANG Q,LIN P,et al. The overexpression of a transcription factor gene *VbWRKY32* enhances the cold tolerance in *Verbena bonariensis*[J]. Frontiers in Plant Science,2020,10:1746.
- [13] CHEN Z C,YAMAJI N,FUJII-KASHINO M,et al. A cation-chloride cotransporter gene is required for cell elongation and osmoregulation in rice[J]. Plant Physiology,2016,171(1):494-507.
- [14] MUHAMMAD F,TAGLE A G,SANTOS R E,et al. Quantitative trait loci mapping for leaf length and leaf width in rice cv. IR64 derived lines[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2010,52(6):578-584.
- [15] ZHANG S,WANG S K,XU Y X,et al. The auxin response factor, *OsARF19*, controls rice leaf angles through positively regulating *OsGH3-5* and *OsBR11*[J]. Plant, Cell & Environment,2015,38(4):638-654.
- [16] LI D,WANG L,WANG M,et al. Engineering *OsBAK1* gene as a molecular tool to improve rice architecture for high yield[J]. Plant Biotechnology Journal,2009,7(8):791-806.
- [17] JIAO Y,WANG Y,XUE D,et al. Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice[J]. Nat Genet,2010,42(6):541-544.
- [18] SCHMITZ A J,BEGCY K,SARATH G,et al. Rice Ovate Family Protein 2 (OFP2) alters hormonal homeostasis and vasculature development[J]. Plant Science,2015,241:177-188.
- [19] HE P L,WANG X W,ZHANG X B,et al. Short and narrow flag leaf1, a GATA zinc finger domain-containing protein, regulates flag leaf size in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. BMC Plant Biology,2018,18(1):273.
- [20] IKEDA A. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the *SLR1* gene, an ortholog of the height-regulating gene *GAI/RGA/RHT/D8*[J]. The Plant Cell Online,2001,13(5):999-1010.
- [21] ITOH J I. A recessive heterochronic mutation, *plastochron1*, shortens the plastochron and elongates the vegetative phase in rice[J]. The Plant Cell,1998,10(9):1511-1522.
- [22] HU J,ZHU L,ZENG D,et al. Identification and characterization of narrow and rolled leaf 1, a novel gene regulating leaf morphology and plant architecture in rice[J]. Plant Molecular Biology,2010,73(3):283-292.
- [23] CAI J,ZHANG M,GUO L B,et al. QTLs for rice flag leaf traits in doubled haploid populations in different environments[J]. Genetics and Molecular Research,2015,14(2):6786-6795.

(下转第 10 页)

- an approach for precision plant breeding in the twenty-first century [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2008, 363: 557-572.
- [11] EVANS L T. Adapting and improving crops: the endless task[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 1997, 352: 901-906.
- [12] GUPTA P K, LANGRIDGE P, MIR R R. Marker-assisted wheat breeding: present status and future possibilities [J]. Molecular Breeding, 2010, 26(2): 145-161.
- [13] 王亚琦, 孙子洪, 郑峥, 等. 作物分子标记辅助选择育种的现状与展望[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(5): 6-12.
- [14] LÜ X B, ZHANG Y B, SONG Q J, et al. Qualitative difference between HMW-GS 5+10 and 2+12 NILs of four

- spring wheat cultivars with high-quality genetic background [J]. Agricultural Sciences in China, 2004, 3(8): 568-574.
- [15] 张延滨, 孙连发, 辛文利, 等. 主栽小麦品种中 5+10 亚基对品质改良的影响[J]. 中国农业科学, 2003, 36(3): 242-247.
- [16] 张延滨, 赵海滨, 宋庆杰, 等. 龙麦 20 小麦品种中 7+8* 亚基和 17+18 亚基近等基因系间的品质差异[J]. 中国农业科学, 2008, 41(5): 1536-1541.
- [17] 张延滨, 辛文利, 张春利, 等. 黑龙江省超强面筋小麦的育种策略和方法[J]. 黑龙江农业科学, 2005(1): 1-3.
- [18] 吕晓波, 张延滨, 宋庆杰, 等. 5+10 亚基对超强面筋小麦品质的影响[J]. 麦类作物学报, 2004, 24(2): 45-48.
- [19] 韩一军, 姜楠. 新时期中国粮食安全研究[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2017.

Genetic Effects of *Glu-A3d* Gene in Strong-Gluten Spring Wheat Variety Longmai 26

SONG Weifu, YANG Xuefeng, ZHAO Lijuan, LIU Dongjun, SONG Qingjie, BAI Guangyu, ZHANG Chunli, XIN Wenli

(Crop Recourse Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Longmai 26 is the core parent of strong gluten wheat breeding in Northeastern Spring Wheat Zone of China. In order to further improve the quality potential and broaden the genetic basis of this variety, the novel gene *Glu-A3d* at the *Glu-A3* locus was transferred into the genetic background of Longmai 26 by six consecutive backcrosses using molecular marker-assisted selection. The genetic effects of *Glu-A3d* were evaluated by using BC₅F₁, BC₆F₁ populations and Longmai 26 nearly isogenic lines (NILs) at the *Glu-A3* locus. The results showed that the transfer of *Glu-A3d* gene, under the genetic background of strong gluten wheat variety Longmai 26, increased the grain protein, dry gluten, gluten index, water absorption, formation time and stability time in 3-year average by 0.07%, -2.13%, 10.73%, 0.13%, 1.57% and 4.97% ($P=0.96$) respectively in 3-year average. The Zeleny sedimentation and the breakdown time of the Farinograph in 2-year average increased by 3.05% and 12.65% respectively in 2-year average. The above results showed that the quality traits of Longmai 26 were improved by transferring *Glu-A3d* gene.

Keywords: strong-gluten wheat; quality; low molecular weight glutenin subunits; *Glu-A3d* gene

(上接第 5 页)

Mapping and Analysis of Rice Flag Leaf Width Gene Based on GWAS

WANG Jiangxu

(Office of Academic Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Leaf shape is one of the important factors affecting photosynthesis and carbohydrate accumulation in rice (*Oryza sativa* Geng Group), while leaf width is one of the core traits determining leaf shape in rice. Mining and using new leaf width related genes/QTLs can further enrich molecular breeding theory and improve the effect of genetic improvement of leaf width traits. In this study, 295 natural populations of rice (*Oryza sativa* Geng Group) varieties were used to investigate the flag leaf width of each variety in 2020 and 2021. Combined with 788 396 high-quality polymorphic SNPs obtained by high-throughput re-sequencing, GWAS was performed on the correlation of flag leaf width in rice. A total of 45 associated SNPs were detected, distributed on 12 chromosomes of rice, and the phenotypic contribution rate ranged from 8.61% to 15.76%. Among them, *qFL10* was detected repeatedly in two years, and the localization interval was 10.11 Mb-10.23 Mb, which contained 15 genes.

Keywords: rice; leaf shape; flag leaf width; GWAS; main QTLs