

中国水稻功能基因组研究进展与展望

肖景华*, 吴昌银, 袁猛, 王妮丽, 范优荣, 杨猛, 欧阳亦聘, 阮一骏, 张启发

华中农业大学生命科学技术学院, 作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070

* 联系人, E-mail: xiaojh@mail.hzau.edu.cn

2015-04-14 收稿, 2015-05-04 接受, 2015-05-22 网络版发表

国家高技术研究发展计划(2012AA10A300)资助



摘要 功能基因组研究是植物生命科学研究的核心领域之一。从少数基因的克隆到重要农艺性状的功能基因组解析, 我国水稻功能基因组研究实现了跨越式发展, 阐明了水稻育种中的一些重大生物学问题, 功能基因组的研究为水稻品种改良和育种技术变革奠定了基础。着眼未来, 我国科学家提出了继续推进“水稻2020”研究计划, 适时启动水稻4D基因组的发展建议。

关键词

功能基因组
全基因组 SNP 芯片
4D 基因组
水稻育种

水稻(*Oryza sativa*)是最主要的粮食作物, 水稻的安全生产直接关系到农业的可持续发展和社会稳定。同时, 水稻由于其基因组小, 与玉米(*Zea mays*)、小麦(*Triticum aestivum*)等主要禾本科作物在基因组上存在共线性, 其重要农艺性状的功能基因组研究成为植物生物学的前沿和热点。1998年, 我国作为主要发起和参与国参加了国际水稻基因组测序计划(International Rice Genome Sequencing Project, IRGSP)。并于2002年率先完成了粳稻品种日本晴第4号染色体的精确测定^[1]和超级杂交稻亲本籼稻品种9311的全基因组草图^[2]。2005年IRGSP宣布日本晴的全基因组精确序列完成。全基因组序列的获得在给研究工作提供极大方便的同时, 也给生命科学研究带来了巨大的挑战。其中最主要的挑战就是如何确定DNA序列的功能。“功能基因组学”的一个主要任务是确定这些序列(包括编码区、调控因子和重复序列)的功能, 并在此基础上揭示各种生命现象所涉及的基因及其表达调控的机理, 最终阐明基因组的功能。

早期的功能基因组研究大体包括两块内容: 研究工具即技术平台的创建和重要功能基因发掘及功能鉴定。继完成水稻基因组精确测序后, 我国适时启动了水稻功能基因组研究。科研人员相继创建了大

型突变体库、核心种质资源和高密度的基因表达谱芯片等功能基因组研究平台, 发掘和克隆了一批控制重要农艺性状的具有自主知识产权的功能基因, 在重要农艺性状形成的分子网络解析方面取得突破性进展, 为水稻基因组选择育种奠定了坚实基础。

1 水稻功能基因组研究的技术平台

功能基因组研究的技术平台大致包括以下内容: (i) 突变体库的构建; (ii) cDNA大规模测序及基因表达序列标签(expressed sequence tags, EST)库的建立; (iii) 以DNA芯片技术为基础的基因表达谱; (iv) 全长cDNA克隆; (v) 生物信息分析平台和相应的数据库。突变体库的创建开始于20世纪90年代末期, 国际上利用T-DNA、转座子和反转录转座子插入等手段创建了多个突变体库, 到目前为止共分离插入标签侧翼序列302285条, 覆盖约70%的注释基因^[3]。我国创建了含27万多株突变体株系的水稻大型T-DNA插入突变体库, 分离得到T-DNA和Tos17的有效侧翼序列总数已达到49538条(<http://rmd.ncpgr.cn>)。利用cDNA芯片、Affymetrix全基因组表达芯片, 系统地完成了优良杂交稻汕优63及其亲本珍汕97和明恢63进行全生育期和不同胁迫条件(低氮、低磷、干旱、低

引用格式: 肖景华, 吴昌银, 袁猛, 等. 中国水稻功能基因组研究进展与展望. 科学通报, 2015, 60: 1711-1722

Xiao J H, Wu C Y, Yuan M, et al. The progress and perspective of rice functional genomics research in China (in Chinese). Chin Sci Bull, 2015, 60: 1711-1722, doi: 10.1360/N972015-00391

温等)的全基因组表达谱分析(<http://crep.ncpgr.cn/>). 目前通过KOME(Knowledge-Based Oryza Molecular Biological Encyclopedia)和RICD(Rice *indica* cDNA database)数据库可以检索的全长cDNA大约60000条. 国家基因研究中心公布了籼稻品种广陆矮4号的全长cDNA 10081条和明恢63的全长cDNA 12727条(<http://www.ncgr.ac.cn/ricd/>).

随着技术手段的发展,大规模高通量的代谢组、表型组平台逐渐被发展起来,成为功能基因组研究的新兴助力.

我国科学家建立了基于液相色谱-质谱联用广泛靶向代谢组分析的作物代谢组学研究平台,能够在单次分析中定量超过800种代谢物^[4]. 以此为基础,系统开展了水稻及玉米等重要作物的代谢组学研究,在作物代谢组的变异及其遗传、生化基础研究方面取得了一系列重要进展. 对水稻品种珍汕97与明恢63重组自交群体的代谢组分析,共检测到了近千种代谢物. 以高密度遗传连锁图进行了代谢数量性状位点(metabolomics quantitative trait locus, mQTL)的分析,获得了大量高精度、大效应的位点^[5]. 通过对这些高精度、大效应位点的分析,获得一批控制植物生长发育(激素、核苷酸等)、逆境生理(酚胺、萜类、生物碱等)及营养品质形成(氨基酸、类黄酮和绿原酸等)过程重要代谢物的候选基因,解析并重构了水稻逆境抗性及相关营养成分相关的重要代谢途径^[6].

表型组学是近年来新兴的一个研发领域. 华中农业大学联合华中科技大学自主研发了一套全生育期高通量水稻表型测量平台(high-throughput rice plant phenotyping facility),可以自动提取水稻株高、叶面积、分蘖数等15个表型数据^[7]. 按45 s测量一个植株计算,1天24 h可以测量1920个单株. 与国际同类型仪器相比,测量表型参数更多、成本更低. 该套系统能够真实客观地获取作物生长信息,做到性状无损实时测量. 对多种性状并行测量,提供完备可靠的表型信息. 基于该平台所获取的表型数据结合全基因组关联分析发现,该方法不仅有潜力取代传统的表型测量手段,还可对表型开辟新的观察侧面,发掘出更多新颖的基因位点^[8]. 同时,他们正在将高光谱成像技术、微型电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)成像技术等应用于水稻植株的表型观察,并尝试探索高通量表型无损测量技术在大田里的推广应用. 相对于传统的人工测量手段,表型组技

术具备快、准、新的特点,能更好地服务于功能基因组研究.

2 水稻重测序和全基因组关联分析

全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)作为寻找基因变异与表型之间关系的遗传分析方法在人类疾病基因研究中已有广泛应用. 我国科学家率先开发了基于新一代测序技术的高通量基因型鉴定方法,与广泛应用的分子标记相比,新方法在速度上加快了20倍,在精度上提高了35倍^[9]. 完成了明恢63和珍汕97的全基因组重测序,构建了包含25万个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)标记的明恢63和珍汕97杂交分离群体238个重组自交系的超高密度遗传连锁图^[10]. 利用基于第二代测序技术的高通量基因型分析平台,完成了中国水稻517个地方品种的低丰度测序,成功构建出第一张高密度的水稻单倍体型图谱. 结合性状考察分析,对14个重要农艺性状进行了全基因组关联分析,并以高分辨率定位了农艺性状相关基因的候选位点^[11]. 2010年的*Nature Genetics*配发“水稻全基因组关联分析的时代终于来临”专评. 2011年底又完成了950份较有代表性的水稻品种的重测序,首次通过全基因组关联分析在水稻自然变异群体材料中,直接定位到一些候选基因. 特别是基于同类基因单倍体型的序列组装分析,创新了全基因组关联分析的方法,对复杂性状相关基因的高效鉴定有新的突破^[12]. 2012年研究人员获得了来自446个地理上不同的普通野生稻和1083个栽培籼稻和粳稻品种的基因组序列,构建出了一张水稻全基因组遗传变异的精细图谱,对栽培稻驯化和起源提出了全新的见解^[13].

最近,中国农业科学院联合国际水稻研究所和华大基因完成了全球3000份水稻核心种质的重测序工作,获得了单核苷酸多态性(SNP)及小片段插入缺失(InDel)等大量的基因组变异数据^[14].

3 重要农艺性状基因的分离克隆和机理解析

3.1 产量、品质相关基因

产量性状是复杂的数量性状. 水稻产量由单位面积穗数、每穗粒数和粒重等3个因素构成. 在产量

构成因子中,粒重是遗传力最高的性状。粒重由粒长、粒宽、粒厚和籽粒充实度4因素共同控制。控制粒长和粒重的GS3基因编码一个含有OSR, TNFR以及VWFC结构域的蛋白,负调控颖壳细胞的数目,控制种子的长度^[15]。进一步的研究发现,OSR结构域是决定GS3功能的必要条件^[16],同样含有OSR结构域的水稻同源基因DEP1,也通过控制细胞数目,决定穗长以及种子长度^[17]。GS5是一个正调控种子大小的基因,编码S10家族的丝氨酸羧基酶,通过调节细胞周期G1/S期基因来调控细胞数目决定种子的宽度^[18]。粒宽基因GW2,编码参与泛素代谢途径的RING-type E3连接酶,它抑制颖壳的细胞分裂,从而决定种子的宽度^[19]。水稻粒宽基因GW5可能与泛素蛋白互作,参与蛋白质降解途径调控谷粒的发育^[20]。GW8是同时影响水稻品质和产量的关键基因,该基因高表达可促进细胞分裂,使籽粒变宽,提高灌浆速度,增加千粒重,从而促进水稻增产^[21]。另一个重要的水稻粒形基因GL3.1^[22]和qGL3-1^[23]位于同一个基因位点,在水稻粒长调控中发挥负调节子的作用。

株型也是决定产量的核心性状。2013年, *Nature* 同期发表了我国的2篇研究论文。研究发现D53蛋白作为一种抑制因子,负调控独角金内酯信号转导^[24]。证实了D53蛋白作为独角金内酯信号途径的抑制子参与调控植物分枝(蘖)的生长发育^[25]。独角金内酯信号途径,是近年来发现的一种植物激素或其前体,能够抑制植物的分枝和侧芽的生长,并与生长素和细胞分裂素一起调控植物的分枝(蘖)数量。该项研究为农作物的株型改良提供了重要的理论基础。

2014年,2个稻米品质基因Chalk5和OsAAP6相继被克隆。Chalk5是一个胚乳特异表达的控制腹白率的正调控因子,对很多稻米品质性状具有普遍性影响^[26]。OsAAP6基因是一氨基酸转运子,其通过调控水稻种子储藏蛋白(谷蛋白、醇溶蛋白、球蛋白和清蛋白)和淀粉的合成与积累来调控稻米的营养品质和蒸煮食味品质^[27]。

此外,控制水稻株高、抽穗期和穗粒数的主效基因Ghd7^[28],控制每穗粒数、株高和抽穗期多效性基因Ghd7.1^[29],调控水稻芒发育、籽粒大小和籽粒数基因An-1^[30],水稻叶绿体UDP-葡萄糖差向异构酶基因PHD1^[31],控制株高和粒形基因TUDI^[32],水稻理想株型基因IPAI^[33]等基因相继被分离克隆,为农作物品种改良提供了重要的基因资源。

3.2 杂种不育基因

栽培稻分为粳、籼2个亚种,存在生殖隔离、杂种不育性低,但粳籼杂种有较强的杂种优势。杂种不育是合子后生殖隔离的主要形式之一,是粳籼亚种间杂种优势利用的最大障碍,杂种不育基因的克隆为有效利用亚种间杂种优势提供新思路。

S5位于水稻第6号染色体上,它是控制粳籼不育的一个主效位点,通过控制胚囊的发育调控杂种不育性^[34]。在S5位点发现3个毗邻的基因(ORF3, ORF4, ORF5),形成一个“杀手-保护者”互作的生殖隔离体系,通过不同等位基因之间的互作引起生殖隔离^[35]。对ORF5在亚洲栽培稻(*O. sativa*),一年生野生稻(*O. nivara*)和普通野生稻(*O. rufipogon*)中的演化过程进行了初步分析^[36],发现在野生稻中可能就已建立起生殖隔离的系统。

合子后生殖隔离的另一种形式是杂种劣势。研究发现2个遗传座位Hwi1和Hwi2上的3个基因共同调控水稻种间杂种劣势。野生稻杂种劣势显性座位Hwi1上存在25L1和25L2 2个基因,与栽培稻特青携带的显性基因Hwi2在遗传上互作,导致杂种劣势的发生。杂种植株由于同时携带这2个位点Hwi1和Hwi2,其体内的自身免疫应答被组成型激活,影响了植株的正常生长发育,从而使绝大多数植株在进入生殖生长前发生死亡,阻碍了物种间正常的遗传交流,形成合子后生殖隔离^[37]。

3.3 光、温敏雄性不育基因

自从20世纪70年代光敏雄性不育水稻被发现以来,由于两系育种相比三系育种有多方面的优势,因而在水稻杂交稻生产制种上得到了非常广泛的应用,但是对于两系不育系中主要包含的光敏雄性不育系和温敏雄性不育系的作用机理一直不清楚,直到近几年一些控制光温敏雄性不育性状的基因才被陆续被克隆和深入研究。

光敏雄性不育基因pms3编码一个long non-coding RNA,产生small RNA osa-smR5864w。长日照下一个SNP改变了基因的RNA二级结构,并且提高了转录本启动子区的甲基化水平,使基因转录水平上的表达被抑制,从而造成了雄性不育^[38]。另一方面位于small RNA上的SNP可能导致osa-smR5864m的功能缺失,使其在粳稻和籼稻中分别表现为光敏和温敏雄性不育^[39]。与传统光敏雄性不育系长日照下不

育,短日照下可育的性状恰好相反,CSA基因的突变能造成籼稻和粳稻在短日照下不育,长日照条件下可育.CSA编码一个R2R3 MYB转录因子,主要参与调控水稻雄性生殖发育过程中糖的分配,在长日照下*cas*突变体的糖分配缺陷能够得到恢复,表现为雄性可育^[40].

温敏雄性不育基因*TMS5*编码一个保守的短版本RNase Z同源蛋白RNase Z^{S1},RNase Z^{S1}介导了受高温诱导表达的*Ub_{L40}* mRNA的降解.在高温下,*tms5*突变体中由于RNase Z^{S1}的功能缺失,致使*Ub_{L40}* mRNA过度积累,导致雄性不育,而野生型中过量的*Ub_{L40}* mRNA能被RNase Z^{S1}降解,不影响育性^[41].

此外,通过对光敏和温敏雄性不育系进行转录组及甲基化组学分析,得到了大量参与该过程的基因^[42,43],这些数据对于进一步解析和拓展光、温敏雄性不育的机理提供了很好的参考.

3.4 抗病基因

稻瘟病、白叶枯病和纹枯病是危害水稻生产的主要病害.研究发现白叶枯病菌通过激活*Xa13*基因的表达,调控铜离子在水稻体内的重新分布侵害水稻.*XA13*蛋白和另外2个蛋白COPT1和COPT5在细胞膜上共同作用,将细胞外的铜离子运输进细胞内,从而减少导管中的铜离子,使白叶枯病菌能够在导管中繁殖并蔓延,造成水稻病害^[44].*xa25*和*xa13*是隐性抗白叶枯病基因,同属于一个基因家族.白叶枯病菌TAL效应子可以直接靶定在显性*Xa25*基因启动子上以调控其表达致使水稻感病,而隐性*xa25*基因在对应的启动子区域存在核苷酸多态性,白叶枯病菌TAL效应子无法直接靶定,不能调控*xa25*基因的表达,故水稻表现为抗病^[45].源自我国普通野生稻的*Xa23*基因是目前已知抗谱最广、抗性最强的抗白叶枯病主效基因,且具有全生育期抗性的特点,该基因编码一个具有跨膜结构的含113个氨基酸的未知功能蛋白质,其对应的隐性*xa23*基因是感病基因.来自白叶枯病菌各生理小种中广泛存在的一个TAL效应子*avrXa23*可以直接靶定在显性*Xa23*基因启动子上以调控其表达致使水稻抗病^[46].

*AvrPiz-t*是水稻广谱抗稻瘟病基因*Piz-t*相对应的稻瘟病效应蛋白.*AvrPiz-t*可以和RING E3泛素连接酶APIP6,APIP10互作,被APIP6和APIP10体外泛素化修饰且促进其降解.该研究结果表明,真菌的效应

子可以通过与寄主泛素化蛋白复合体互作来抑制泛素连接酶的活性以抑制寄主的先天免疫^[47].水稻中另外一个具有E3泛素连接酶活性的*OsBB1*基因正调控抗病反应,过量表达该基因伴随着H₂O₂和多种植保素的积累,以及细胞壁的增厚,对多个稻瘟病菌生理小种表现为广谱抗性^[48].

第一个水稻抗条纹叶枯病基因*STV11*于2014年被成功克隆.*STV11*编码一个水稻磺基转移酶,抗性位点基因STV11-R编码的蛋白具有磺基转移酶活性,可以催化水杨酸磺化生成磺化水杨酸,从而上调水杨酸的生物合成.*STV11*对条纹叶枯病的抗性依赖于水杨酸介导的抗病毒途径^[49].

水稻表观调控也参与对病原菌的先天免疫过程.过量表达水稻组蛋白去乙酰化酶*HDT701*基因导致组蛋白H4乙酰化水平的降低,转基因水稻表现为对稻瘟病菌和白叶枯病菌感病性的增强.抑制*HDT701*基因的表达,转基因水稻对稻瘟病菌和白叶枯病菌表现为抗病性增强^[50].水稻中另外一个重要表观调控因子JM1705,具有去除组蛋白H3第27位赖氨酸位点甲基化的去甲基化酶活性,过量表达该基因的水稻呈现超敏反应,叶片上出现类病斑,正调控对白叶枯病菌的抗性^[51].

长期以来,寻找植物细胞表面针对各种病原微生物相关分子特异识别受体一直是解释植物先天免疫的瓶颈.研究发现定位于水稻细胞膜的具有LysM结构的糖基化磷脂酰肌醇锚定蛋白LYP4和LYP6具有识别细菌病原相关分子(肽聚糖)与真菌病原相关分子(几丁质)的双重功能,体内和体外实验均发现它们可以和肽聚糖以及几丁质发生特异性结合,作为细胞膜受体引发水稻对稻瘟病菌和白叶枯病菌的天然免疫反应^[52].此外,水稻的一个具有E3泛素连接酶活性的SPL11蛋白,与Rho型小G蛋白激活酶SPIN6相互作用作为负调控因子参与水稻对稻瘟病菌和白叶枯病菌的天然免疫反应^[53].

3.5 抗褐飞虱基因

螟虫、褐飞虱是水稻生产中的主要虫害.水稻种质资源中,螟虫抗源较少.由于Bt基因对鳞翅目害虫具有较好的抗性,因此对内源的抗螟虫性遗传和抗性基因的研究很少.我国有丰富的野生稻和栽培稻种质资源,经过几十年来的努力,从中鉴定了大量的抗褐飞虱材料,为抗褐飞虱基因的鉴定和定位奠定

了基础。目前,已经定位了24个抗褐飞虱基因,这些基因集中分布于水稻第3,4,6,12号染色体上^[54]。

2009年第一个水稻抗褐飞虱主效基因*Bph14*被我国科学家成功分离克隆,与抗病基因相似,*Bph14*是一个典型的CC-NBS-LRR家族成员^[55]。此后国际上先后又有多个抗褐飞虱基因被克隆成功,这些已被克隆的抗褐飞虱基因均编码免疫受体蛋白。*Bph15*是另外一个对褐飞虱具有高抗性的基因,从*Bph15*区间克隆了一个新型的类凝集素受体蛋白激酶基因*OslecRK*,该基因参与了水稻抗褐飞虱防御反应,在植物先天免疫中起作用^[56]。*Bph3*定位于同一位置,研究表明该区段4个*OsLecRK*基因中,单个或2个*OsLecRK*能部分提高对褐飞虱的抗性,而同时转入3个*OsLecRK*能进一步增强该抗性^[57]。

目前,*Bph3/6/9/14/15/18*已经广泛应用到育种之中,国内多个育种单位通过基因聚合的手段培育出抗褐飞虱恢复系、不育系和杂交稻新组合^[58-60]。

3.6 抗非生物逆境功能基因

干旱、盐碱、高温、冷害等非生物逆境胁迫环境因子是影响植物生长发育,造成农作物减产的重要因素。近年来在水稻非生物逆境应答机制和重要功能基因组鉴定方面取得一系列重要进展。ABA是调控非生物逆境抗性的重要激素。*DSM2*基因编码β-胡萝卜素羟化酶,参与内源ABA的合成,水稻中过量表达该基因可以显著提高苗期及孕穗期的抗干旱能力^[61]。AP2类型转录因子OsAP2-39可以直接结合OsNCED1的启动子区域调控ABA的合成。在水稻中过量表达*OsAP2-39*基因,ABA含量显著上升,转基因水稻的抗旱性也显著增加^[62]。这些结果表明,增加ABA合成或提高ABA的敏感性可以增强抗旱性。组氨酸磷酸转移蛋白OsAHP1和OsAHP2,在细胞分裂素信号中起正调因子的作用,但在水稻耐盐和耐旱中发挥不同的作用,表明细胞分裂素也参与水稻的抗逆性^[63]。生长素参与水稻抗旱的调控,过量表达水稻生长素输入载体基因*OsPIN3t*,可以显著提高转基因水稻的抗干旱能力^[64]。我国科学家鉴别出一个水稻*DWA1*基因,该基因编码一个未知功能的巨型蛋白,*dwa1*突变体干旱胁迫下角质层蜡质累积受损,干旱敏感性增高,而*DWA1*基因过量表达水稻中中长超链脂肪酸水平增高,抗干旱能力增强^[65]。

最近刚刚报道的水稻AP2转录因子家族成员

*HYR*参与调控水稻光合作用,过量表达该基因可以提高水稻在正常水份环境及干旱环境下的产量^[66]。编码含有BTB结构域的E3连接酶*OsETOL1*基因参与乙烯合成的调控,影响干旱胁迫下能量的消耗,对抗旱性和抗涝性表现出不同功能^[67]。最新研究发现,调控水稻能量代谢的基因*SKINs*,参与的水稻“库”和“源”的调控在非生物逆境抗性中发挥重要作用^[68]。这些结果为通过能量调控改良植物抗逆性提供新途径。

2015年2月*Cell*在线发表文章阐明水稻感知冷害的分子机制。*COLD1*是水稻感受低温的重要QTL,该基因编码一个G-蛋白信号调节因子。研究分析了127个不同水稻品种和野生稻中*COLD1*基因序列,发现了7个SNP位点,其中粳稻特异的SNP2影响了*COLD1*蛋白活性而赋予粳稻耐寒性^[69]。这项研究结果对于培育水稻耐冷抗寒新品种具有重要意义。

3.7 养分代谢调控基因

氮是作物生长发育需求量最大的营养元素。水稻中存在高亲和以及低亲和2种硝酸根转运系统,分别对应NRT2和NRT1蛋白家族。NRT2家族有6个同源基因,已鉴定了4个(*OsNRT2.1-2.4*)^[70]。PTR/NRT1家族有80多个同源基因^[71],已鉴定的只有4个:*OsNPF8.9* (*NRT1.1*)^[72],*OsNPF4.1* (*OsSPI*)^[73],*OsNPF7.3* (*OsPTR6*)^[74]和*OsNPF8.20* (*OsPTR9*)^[75]。水稻对铵的吸收由AMT家族基因来完成,共有12个成员^[76]。过量表达*OsAMT1.1*能提高水稻对铵的吸收能力,在充足氮供应条件下能增加水稻产量^[77]。

水稻N利用效率相关基因的定位和克隆也取得新进展。控制水稻氮利用效率的主效QTL(*qNGR9*)被克隆,与之前报道的直立密穗基因*DEP1*为同一基因。携带显性*dep1-1*等位基因的水稻显示氮不敏感性营养生长,氮摄取和同化增高,施以适当水平的氮肥可提高收获指数和产量^[78]。控制水稻缺氮耐受性的主效基因*TONDI*被克隆。通过对150个水稻品种(籼稻75个,粳稻75个)测序发现,只有27.3%的品种(41个籼稻)含有*TONDI*,剩余72.7%的品种(34个籼稻和全部75个粳稻)不含有*TONDI*基因。在*TONDI*缺失的品种中,过量表达*TONDI*可以增强对缺N的耐受性^[79]。

磷是植物生长发育所必需的大量元素之一。水稻对磷的吸收是通过根部表皮细胞中的磷酸盐转运蛋白(PTs)对根际周围土壤溶液中的无机磷进行主动

吸收转运的过程. 与水稻磷吸收密切相关的是Pht1家族基因, 水稻Pht1家族基因共有13个成员, 其中*OsPT1/2/4/6/8/9/10/11/13*已被克隆并报道^[80-86]. *OsPT1*是Pht1家族中一个重要的成员, 在磷供应充足的条件下参与了磷的吸收和转运^[87].

植物对钾的吸收和运输主要是通过钾离子转运体实现的, 这些转运体包括钾离子通道和钾离子转运蛋白两大类. 在水稻中, 尽管已有不少钾离子转运相关蛋白的报道, 但大多基于同源比对及酵母互补, 而在水稻体内的钾吸收转运机制鲜有报道. 2014年Shaker类型的钾离子通道蛋白*Os-AKT1*介导的水稻根部对钾的吸收过程及相应调控机制得到了解析. *Os-AKT1*在水稻根部强烈表达, 并具有钾离子转运活性, 是水稻根部对钾离子吸收十分关键的基因. *Os-AKT1*的功能突变会导致水稻钾吸收能力的显著降低并增强水稻对低钾的敏感. *Os-AKT1*的功能及其调控机制的解析为探究水稻钾转运机制和培育钾高效吸收水稻品种提供了新的线索^[88].

上述我国近年来分离克隆的部分重要功能基因见表S1.

根据水稻基因组最新注释, 全基因组包含55986个基因位点, 其中39045个位点具有编码蛋白质能力 (MSU rice genome annotation project release 7, <http://rice.plantbiology.msu.edu/>). 截至2015年4月, 全世界已克隆的水稻基因数目约为2000个 (<http://www.ricedata.cn/gene>). 要解析水稻基因组全部基因的功能, 任务还很艰巨.

4 水稻功能基因组的应用及影响

4.1 功能基因组与绿色超级稻

水稻是我国最重要的粮食作物, 在保障我国粮食安全方面发挥了重大作用. 但我国近20多年来实行的以高投入换取高产量的农业生产方式与资源环境可持续发展有着尖锐的矛盾: 我国的农药用量超过世界平均水平的4倍以上, 但病虫害危害仍然常年对我国农作物生产造成巨大损失; 多年来我国化肥用量维持在世界化肥总用量的35%以上, 但利用率极低, 增施的化肥增产效果较低, 且严重污染环境; 我国是世界上水资源匮乏的国家, 干旱频繁发生, 对作物产量影响很大. 我国科学家提出了发展“绿色超级稻”的战略设想^[89], 将品种资源、基因组研究、分子

育种紧密结合, 培育出抗病、抗虫、节水、抗旱、营养元素高效吸收利用、高产、优质的水稻新品种, 使水稻生产逐渐实现“少打农药、少施化肥、节水抗旱、优质高产”, 从而做到资源节约, 环境友好. 绿色超级稻的育种理念已经得到了国内外同行普遍认同, 绿色超级稻项目得到比尔和美琳达·盖茨基金会的资助, 成为重大国际合作项目. 国家高技术研究发展计划以重大项目对“绿色超级稻新品种培育”进行重点支持, 培育绿色超级稻已经成为水稻育种的新目标, 期待培育出新型品种引领新的绿色革命.

水稻功能基因组项目实施以来, 分离克隆了一大批的控制水稻高产、优质、抗逆和营养高效等重要农艺性状的功能基因, 为绿色超级稻的培育储备了良好的基因资源. 水稻功能基因组的研究极大丰富和发展了遗传学理论, 使人们能从基因及其表达调控机制来认识性状遗传, 由对一个性状的表型研究深入到性状形成的时空过程. 这些认识大大开阔作物育种研究的范畴, 促进作物改良的性状由过去对单一、简单的性状的改良发展成对多个复杂性状的同时改良, 从根据田间的表观性状经验式的选择转变为有计划的对一些重要生理生化过程的定向修饰. 可以预见, 在不久的将来, 功能基因组学的研究成果将使作物改良由过去的以机遇性为主的育种发展到设计性育种, 人们将能在实验室设计作物基因型、组装基因, 从而大大提高作物遗传改良的目的性和针对性, 提高育种效率.

4.2 水稻全基因组选择育种平台

植物基因组的测序以及高通量分子标记检测体系的完善为有效鉴定和选择优良基因组提供了条件. 全基因组选择技术平台的出现有望实现育种过程的科学控制: 有目的地选择优良性状相关位点进行组合, 创造优良基因型; 在导入目标性状, 使受体亲本主要缺点得到改良的情况下, 高度保持其原有优良性状.

利用水稻基因组序列和公共资源中大量的SNP信息, 我国科学家首先设计制作了中等密度芯片RICE6K. 该芯片是基于Infinium技术开发的, 芯片上的标记是从500多份水稻农家品种重测序数据中发掘的400多万SNP中挑选的代表性SNP. RICE6K包含5102个SNP和InDel标记, 其中大约有4500个高质量标记在测试的水稻样品中表现出很高的重复性^[90]. 在RICE6K的基础上, 在对801份水稻品种的重测序

数据中发掘的1000000个SNP位点进行筛选之后,设计制作了60 K基因芯片RICE60K^[91]。测试表明,这种芯片在基因分型上有很高的准确性并且可以用于不同的检测目的。这种芯片已经成功用于品种鉴定和性状基因导入的检测。在RICE60K基因芯片的基础上增加30 K探针,已设计完成水稻90 K基因芯片第一版(RICE60KAddon1)。水稻6 K和60 K全基因组育种芯片为全球首例。

充分利用高通量测序技术获得的大量水稻品种重测序结果,将世界上最先进的分子标记检测技术和我国10多年的水稻基因组研究成果积累结合起来,开展水稻全基因组选择育种技术,将对促进我国育种行业的转型,从传统育种向现代化、以基因组信息为依据的科学育种起重要影响,提高我国种业创新能力以及与国际种业巨头竞争的實力。水稻全基因组选择育种技术平台的建设和育种应用将为我国其他作物的全基因组选择育种技术提供示范和经验。

5 未来发展趋势

在以高通量为基础的组学技术的推动下,功能基因组正逐渐形成多学科、多层次、多角度、多时空的整体研究格局。水稻功能基因组的研究内容和目标也将不断拓展。

5.1 水稻2020研究计划(RICE 2020)

水稻2020计划是我国科学家基于全球水稻功能基因组研发现状和生物技术手段的不断创新,提出的关于水稻功能基因组研究发展的国际合作计划^[92],包括以下主要内容。

建立国际共享的水稻功能基因组研究的技术平台和基因资源。继续完善补充插入突变体和全长cDNA文库。另外,通过化学和辐射等新方法构建突变体库,作为对没有T-DNA标签区域的重要补充。以及TILLING, amiRNA, TALENs, CRISP技术方法来快速简便地靶向敲除目标基因。

明确水稻全部基因的生物学功能。高产、优质、对多种生物/非生物逆境的抗性以及对营养元素的高效利用等是重要的农艺性状,也是研究的重点。用系统分析的方法把基因和表型变化联系起来,最终为每个基因进行功能注释。

系统的表观基因组学和基因表达分析。在水稻全基因组精确测序完成后,所面临新的挑战是发掘

鉴定全部的基因编码区,非编码基因的转录区,转录调控区,表观遗传学修饰区域如DNA甲基化、组蛋白甲基化和乙酰化等,表观基因组学已成为水稻功能基因组研究的重要内容。

蛋白质组和蛋白互作组。真正生命功能的“执行者”是蛋白质,从mRNA转录到蛋白质的翻译并不是简单的对应,蛋白质组学则将基因组序列信息与特定组织器官中蛋白质的种类连接起来。

挖掘栽培稻和野生亲本的自然变异和基因组多样性。水稻的遗传资源极为丰富,目前新的测序技术使大规模品种的测序成为现实。对包括野生种在内的水稻种质资源深度测序,对丰富的遗传基因进行评价可以发掘大量的抗病虫、抗瘠、抗旱、品质和产量等重要基因,将对水稻基因功能的系统鉴定及作物遗传育种产生重大的影响。深度测序可以极致地发掘水稻全基因组SNP。随着各种不同种质资源中SNP标记的开发和遗传作图群体的构建,控制重要农艺性状的基因将以前所未有的速度被克隆。

发展生物信息学,建立海量数据搜索和分析的数据库平台,数据共享。目前可以从多个数据库查询水稻的基因组、突变体、全长cDNA、基因产物、功能分析等信息,且新的数据和分析工具还在不断地整合到数据库中。水稻科学家们需要致力建立一个完善的公共的水稻注释数据库,该数据库可以与其他数据库较容易地整合;能为使用者提供海量数据搜索和分析的服务平台。

建立以基因组研究成果为基础的分子设计育种技术。水稻功能基因组研究的最终目的是实现“设计育种”,以满足全球水稻生产中高产、优质、多抗性以及高养分吸收效率的多样化需求。开发面向育种应用的高通量、低成本的全基因组分子标记技术以满足水稻育种中多样化的需求,以最终实现育种过程集成化的目标。水稻功能基因组学研究过程中积累的知识和技术将大大加快水稻遗传育种工作的进程。

5.2 水稻4D基因组学(RICE 4Dome)

随着高通量测序技术的发展以及越来越多模式生物参考基因组测序的完成,大量产生的线性(1D)基因组序列信息,正在革命性地改变现代生物学的发展,包括对生物学问题的认识和研究生物学问题的方法。海量的基因组DNA元件如外显子、内含子、转录起始位点、RNA拼接位点和调控各个基因表达

的顺式元件, 增强子、抑制子以及参与DNA复制和基因组行使功能的等特异DNA元件被鉴定出来. 但是, 研究者们也意识到仅依靠一维和二维的基因组信息还不能回答很多基本的生物学问题, 因为基因组功能的正常发挥依赖于线性的基因组DNA形成的空间三维结构. 目前基因组学的一个巨大的挑战是在空间(3D)和不同的时间维度研究基因组的动态变化(4D), 及其在细胞核活动中发挥的作用.

1D基因组学. 对基因组中基因和调控元件进行定义, 建立水稻基因组百科全书(ENCyclopedia of DNA Elements, ENCODE).

2D基因组学. 回答每一个调控元件具体调控了哪些基因, 每个基因受到哪些调控元件的调控. 同时辅助蛋白质之间的相互作用、非编码RNA尤其是长链非编码RNA在染色质序列交联中的作用, 系统研究水稻全基因组的2D结构.

3D基因组学. 所有生物的基因表达和调控都是在一个物理的三维空间结构中进行的. 理解基因的表达和调控, 不仅要了解不同调控元件和它们目标基因之间的调控关系, 同时也要知道它们在物理空间位置和相互关系. 利用全基因组空间结构测定(Hi-C)或染色质远程交互测序(ChIA-PET)数据可重建细胞核内水稻基因组的3D空间结构, 同时整合1D和2D基因组学中的数据, 对基因组在3D空间中的结构进行注释. 不同基因的物理空间, 将可以说明它们之间的相对位置, 为它们的相互关系和后续的动态研究提供依据.

4D基因组学. 时空动态的3D基因组, 就是4D基因组. 在考虑时间的情况下, 研究基因组三维结构的动态变化, 及其如何影响基因的表达和调控. 开展RICE4Dome研究, 将有望从水稻基因组时空动态的整体上全面解析水稻基因组序列和调控元件, 真正从生物学的角度剖析水稻生命现象、性状形成的分子基础并应用于水稻遗传改良.

5.3 水稻基因组育种技术的发展和應用

以种业公司为主体, 开展以育种应用为目标的功能基因组研究, 包括基因组设计、基因组预测、全基因组选择、基因编辑、转基因、单倍体技术等, 创建大型种业育种技术平台, 以育种目标为导向将基因组技术与常规育种紧密整合, 提升我国种业科技水平和育种能力, 服务农业生产.

以功能基因组研究的成果为基础, 推动水稻育种目标的发展与创新. 水稻品种应适应农业发展转型, 贯彻绿色发展理念, 为资源节约型、环境友好型的农业生产体系作贡献. 除提供给人们能量外, 水稻育种目标中还应考虑为提高人民的健康水平作贡献. 品种选育还需要充分考虑包括小型个体农民在内的生产者群体的利益, 通过改变田间管理方式降低劳动力、降低资源投入、实现机械化来大幅度提高作物生产效率.

6 建议

水稻功能基因组研究计划实施以来, 从少数基因的克隆到重要农艺性状的功能基因组研究, 实现了跨越式发展, 集中攻克了水稻育种中一些重大生物学难题, 取得了一批重大科技创新成果. 基于我国水稻功能基因组研究的良好基础和优势地位, 应提出以解析全基因组DNA功能元件及其相互作用机理研究的远大目标. 推进水稻功能基因组对促进水稻育种行业的转型, 从传统育种向现代化、以基因组信息为依据的科学育种的重要作用.

(1) 继续推动“水稻2020”研究计划(RICE2020)的实施, 巩固和发展我国在水稻功能基因组研究的国际优势地位. 建立技术和资源平台; 确定全部基因的生物功能; 全系统水平的基因表达谱、表观基因组、表达调控网络; 蛋白组、蛋白-蛋白互作组; 栽培稻及其野生稻亲缘的基因组多样性; 生物信息学、数据库、信息的交流与共享; 育种应用. 加强分工协作、整合资源, 搭建水稻功能基因组的大数据库和分析平台.

(2) 适时探讨和启动水稻4D基因组(RICE4Dome)研究, 培育新的新生长点和制高点. 研究计划实施中可借鉴美国ENCODE项目运作经验, 寻求国家硬件和软件的支持, 将分散的小数据库和资源有效地整合起来, 确定统一标准和参考, 为全国水稻科研工作者提供一个完备的水稻大数据库平台.

(3) 水稻基因组育种技术推动生物种业发展. 开展以育种应用为目标的功能基因组研究, 创建规模化种业育种技术平台; 以基因组研究成果推动水稻育种目标的发展与创新. 将功能基因组的成果应用于育种技术、育种平台和育种体系, 培育绿色超级稻新品种, 服务于资源节约、环境友好的两型农业生产体系, 促进我国育种行业的转型, 提升我国种业创新能力, 不断增强我国农业生物技术育种的国际竞争力.

致谢 本文是综合第520次香山科学会议(水稻功能基因组研究的现状和未来)讨论意见撰写而成. 感谢香山科学会议办公室及与会科学家的支持.

参考文献

- 1 Feng Q, Zhang Y, Hao P, et al. Sequence and analysis of rice chromosome 4. *Nature*, 2002, 420: 316–320
- 2 Yu J, Hu S, Wang J, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*, 2002, 296: 79–92
- 3 Yang Y, Li Y, Wu C. Genomic resources for functional analyses of the rice genome. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16: 157–163
- 4 Chen W, Gong L, Guo Z, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification and quantification of widely-targeted metabolites: Application in study of rice metabolomics. *Mol Plant*, 2013, 6: 1769–1780
- 5 Gong L, Chen W, Gao Y, et al. Genetic analysis of the metabolome exemplified using a rice population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 20320–20325
- 6 Chen W, Gao Y, Xie W, et al. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism. *Nat Genet*, 2014, 46: 714–721
- 7 Yang W, Duan L, Chen G, et al. Plant phenomics and high-throughput phenotyping: accelerating rice functional genomics using multi-disciplinary technologies. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16: 180–187
- 8 Yang W, Guo Z, Huang C, et al. Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 5087
- 9 Huang X, Feng Q, Qian Q, et al. High-throughput genotyping by whole-genome resequencing. *Genome Res*, 2009, 19: 1068–1076
- 10 Xie W, Feng Q, Yu H, et al. Parent-independent genotyping for constructing an ultrahigh-density linkage map based on population sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 10578–10583
- 11 Huang X, Wei X, Sang T, et al. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nat Genet*, 2010, 42: 961–967
- 12 Huang X, Zhao Y, Wei X, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nat Genet*, 2012, 44: 32–39
- 13 Huang X, Kurata N, Wei X, et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature*, 2012, 490: 497–501
- 14 3,000 rice genomes project. The 3,000 rice genomes project. *GigaScience*, 2014, 3: 7
- 15 Fan C, Xing Y, Mao H, et al. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 1164–1171
- 16 Mao H, Sun S, Yao J, et al. Linking differential domain functions of the *GS3* protein to natural variation of grain size in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 19579–19584
- 17 Huang X, Qian Q, Liu Z, et al. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nat Genet*, 2009, 41: 494–497
- 18 Li Y, Fan C, Xing Y, et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nat Genet*, 2011, 43: 1266–1269
- 19 Song X, Huang W, Shi M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nat Genet*, 2007, 39: 623–630
- 20 Weng J, Gu S, Wan X, et al. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Res*, 2008, 18: 1199–1209
- 21 Wang S, Wu K, Yuan Q, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice. *Nat Genet*, 2012, 44: 950–954
- 22 Qi P, Lin Y, Song X, et al. The novel quantitative trait locus *GL3.1* controls rice grain size and yield by regulating *Cyclin-T1;3*. *Cell Res*, 2012, 22: 1666–1680
- 23 Zhang X, Wang J, Huang J, et al. Rare allele of *OsPPKL1* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 21534–21539
- 24 Jiang L, Liu X, Xiong G, et al. *DWARF 53* acts as a repressor of strigolactone signalling in rice. *Nature*, 2013, 504: 401–405
- 25 Zhou F, Lin Q, Zhu L, et al. D14–SCF^{D3}-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signalling. *Nature*, 2013, 504: 406–410
- 26 Li Y, Fan C, Xing Y, et al. *Chalk5* encodes a vacuolar H⁺-translocating pyrophosphatase influencing grain chalkiness in rice. *Nat Genet*, 2014, 46: 398–404
- 27 Peng B, Kong H, Li Y, et al. *OsAAP6* functions as an important regulator of grain protein content and nutritional quality in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4847
- 28 Xue W, Xing Y, Weng X, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40: 761–767

- 29 Yan W, Liu H, Zhou X, et al. Natural variation in Ghd7.1 plays an important role in grain yield and adaptation in rice. *Cell Res*, 2013, 23: 969–971
- 30 Luo J, Liu H, Zhou T, et al. *An-1* encodes a basic helix-loop-helix protein that regulates awn development, grain size, and grain number in rice. *Plant Cell*, 2013, 25: 3360–3376
- 31 Li C, Wang Y, Liu L, et al. A rice plastidial nucleotide sugar epimerase is involved in galactolipid biosynthesis and improves photosynthetic efficiency. *PLoS Genet*, 2011, 7: e1002196
- 32 Hu X, Qian Q, Xu T, et al. The U-Box E3 ubiquitin ligase TUD1 functions with a heterotrimeric G α subunit to regulate brassinosteroid-mediated growth in rice. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003391
- 33 Jiao Y, Wang Y, Xue D, et al. Regulation of *OsSPL14* by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. *Nat Genet*, 2010, 42: 541–544
- 34 Chen J, Ding J, Ouyang Y, et al. A triallelic system of *S5* is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of indica-japonica hybrids in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 11436–11441
- 35 Yang J, Zhao X, Cheng K, et al. A killer-protector system regulates both hybrid sterility and segregation distortion in rice. *Science*, 2012, 337: 1336–1340
- 36 Du H, Ouyang Y, Zhang C, et al. Complex evolution of *S5*, a major reproductive barrier regulator, in the cultivated rice *Oryza sativa* and its wild relatives. *New Phytol*, 2011, 191: 275–287
- 37 Chen C, Chen H, Lin Y, et al. A two-locus interaction causes interspecific hybrid weakness in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 3357
- 38 Ding J, Lu Q, Ouyang Y, et al. A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 2654–2659
- 39 Zhou H, Liu Q, Li J, et al. Photoperiod- and thermo-sensitive genic male sterility in rice are caused by a point mutation in a novel noncoding RNA that produces a small RNA. *Cell Res*, 2012, 22: 649–660
- 40 Zhang H, Xu C, He Y, et al. Mutation in *CSA* creates a new photoperiod-sensitive genic male sterile line applicable for hybrid rice seed production. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 76–81
- 41 Zhou H, Zhou M, Yang Y, et al. RNase Z^{S1} processes *Ubl40* mRNAs and controls thermosensitive genic male sterility in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4884
- 42 Wang W, Liu Z, Guo Z, et al. Comparative transcriptomes profiling of photoperiod-sensitive male sterile rice nongken 58s during the male sterility transition between short-day and long-day. *BMC Genomics*, 2011, 12: 462–471
- 43 Chen X, Hu J, Zhang H, et al. DNA methylation changes in photoperiod-thermo-sensitive male sterile rice PA64S under two different conditions. *Gene*, 2014, 537: 143–148
- 44 Yuan M, Chu Z, Li X, et al. The bacterial pathogen *Xanthomonas oryzae* overcomes rice defenses by regulating host copper redistribution. *Plant Cell*, 2010, 22: 3164–3176
- 45 Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al. A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ*, 2011, 34: 1958–1969
- 46 Wang C, Zhang X, Fan Y, et al. *XA23* is an executor R protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant*, 2015, 8: 290–302
- 47 Park C H, Chen S, Shirsekar G, et al. The *Magnaporthe oryzae* effector AvrPiz-t targets the RING E3 ligase APIP6 for suppression of PAMP-triggered immunity in rice. *Plant Cell*, 2012, 24: 4748–4762
- 48 Li W, Zhong S, Li G, et al. Rice RING protein OsBBI1 with E3 ligase activity confers broad-spectrum resistance against *Magnaporthe oryzae* by modifying the cell wall defence. *Cell Res*, 2011, 21: 835–848
- 49 Wang Q, Liu Y, He J, et al. *STV11* encodes a sulphotransferase and confers durable resistance to rice stripe virus. *Nat Commun*, 2014, 5: 4768
- 50 Ding B, Bellizzi M R, Ning Y, et al. HDT701, a histone H4 deacetylase, negatively regulates plant innate immunity by modulating histone h4 acetylation of defense-related genes in rice. *Plant Cell*, 2012, 24: 3783–3794
- 51 Li T, Chen X, Zhong X, et al. Jumonji C domain protein JMJ705-mediated removal of histone H3 lysine 27 trimethylation is involved in defense-related gene activation in rice. *Plant Cell*, 2013, 25: 4725–4736
- 52 Liu B, Li J, Ao Y, et al. Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell*, 2012, 24: 3406–3419
- 53 Liu J, Park C H, He F, et al. The RhoGAP SPIN6 associates with SPL11 and OsRac1 and negatively regulates programmed cell death and innate immunity in rice. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004629
- 54 Cheng X, Zhu L, He G. Towards understanding of molecular interactions between rice and the brown planthopper. *Mol Plant*, 2013, 6: 621–634
- 55 Du B, Zhang W, Liu B, et al. Identification and characterization of *Bph14*, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 22163–22168

- 56 Chen X, Wu Y, Guo J, et al. A rice lectin receptor-like kinase that is involved in innate immune responses also contributes to seed germination. *Plant J*, 2013, 76: 687–698
- 57 Liu Y, Wu H, Chen H, et al. A gene cluster encoding lectin receptor kinases confers broad-spectrum and durable insect resistance in rice. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 301–305
- 58 Jena K, Kim S M. Current status of brown planthopper (BPH) resistance and genetics. *Rice*, 2010, 3: 161–171
- 59 Qiu Y, Guo J, Jing S, et al. Development and characterization of japonica rice lines carrying the brown planthopper-resistance genes BPH12 and BPH6. *Theor Appl Genet*, 2011, 124: 485–494
- 60 Hu J, Cheng M, Gao G, et al. Pyramiding and evaluation of three dominant brown planthopper resistance genes in the elite indica rice 9311 and its hybrids. *Pest Manag Sci*, 2013, 69: 802–808
- 61 Du H, Wang N, Cui F, et al. Characterization of the β -carotene hydroxylase gene *DSM2* conferring drought and oxidative stress resistance by increasing xanthophylls and abscisic acid synthesis in rice. *Plant Physiol*, 2010, 154: 1304–1318
- 62 Yaish M W, El-Kereamy A, Zhu T, et al. The APETALA-2-like transcription factor OsAP2-39 controls key interactions between abscisic acid and gibberellin in rice. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1001098
- 63 Sun L, Zhang Q, Wu J, et al. Two rice authentic histidine phosphotransfer proteins, OsAHP1 and OsAHP2, mediate cytokinin signaling and stress responses in rice. *Plant Physiol*, 2014, 165: 335–345
- 64 Zhang Q, Li J, Zhang W, et al. The putative auxin efflux carrier OsPIN3t is involved in the drought stress response and drought tolerance. *Plant J*, 2012, 72: 805–816
- 65 Zhu X, Xiong L. Putative megaenzyme DWA1 plays essential roles in drought resistance by regulating stress-induced wax deposition in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17790–17795
- 66 Ambavaram M M, Basu S, Krishnan A, et al. A Coordinated regulation of photosynthesis in rice increases yield and tolerance to environmental stress. *Nat Commun*, 2014, 5: 5302
- 67 Du H, Wu N, Cui F, et al. A homolog of ETHYLENE OVERPRODUCER, OsETOL1, differentially modulates drought and submergence tolerance in rice. *Plant J*, 2014, 78: 834–849
- 68 Lin C, Lee K, Chen C, et al. SnRK1A-interacting negative regulators modulate the nutrient starvation signaling sensor SnRK1 in source-sink communication in cereal seedlings under abiotic stress. *Plant Cell*, 2014, 26: 808–827
- 69 Ma Y, Dai X, Xu Y et al. *COLD1* confers chilling tolerance in rice. *Cell*, 2015, 160: 1209–1221
- 70 Tang Z, Fan X, Li Q, et al. Knockdown of a rice stelar nitrate transporter alters long-distance translocation but not root influx. *Plant Physiol*, 2012, 160: 2052–2063
- 71 Tsay Y, Chiu C, Tsai C, et al. Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS Lett*, 2007, 581: 2290–2300
- 72 Lin C, Koh S, Stacey G, et al. Cloning and functional characterization of a constitutively expressed nitrate transporter gene, OsNRT1, from rice. *Plant Physiol*, 2000, 122: 379–388
- 73 Li S, Qian Q, Fu Z, et al. Short panicle1 encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size. *Plant J*, 2009, 58: 592–605
- 74 Fan X, Xie D, Chen J, et al. Over-expression of OsPTR6 in rice increased plant growth at different nitrogen supplies but decreased nitrogen use efficiency at high ammonium supply. *Plant Sci*, 2014, 227: 1–11
- 75 Fang Z, Xia K, Yang X, et al. Altered expression of the PTR/NRT1 homologue OsPTR9 affects nitrogen utilization efficiency, growth and grain yield in rice. *Plant Biotechnol J*, 2013, 11: 446–458
- 76 Li B, Merrick M, Li S, et al. Molecular basis and regulation of ammonium transporter in rice. *Rice Science*, 2009, 16: 314–322
- 77 Ranathunge K, El-Kereamy A, Gidda S, et al. AMT1;1 transgenic rice plants with enhanced NH₄(+) permeability show superior growth and higher yield under optimal and suboptimal NH₄(+) conditions. *J Exp Bot*, 2014, 65: 965–979
- 78 Sun H, Qian Q, Wu K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice. *Nat Genet*, 2014, 46: 652–656
- 79 Zhang Y, Tan L, Zhu Z, et al. TOND1 confers tolerance to nitrogen deficiency in rice. *Plant J*, 2015, 81: 367–376
- 80 Seo H, Jung Y, Song S, et al. Increased expression of OsPT1, a high-affinity phosphate transporter, enhances phosphate acquisition in rice. *Biotechnol Lett*, 2008, 30: 1833–1838
- 81 Ai P, Sun S, Zhao J, et al. Two rice phosphate transporters, OsPht1;2 and OsPht1;6, have different functions and kinetic properties in uptake and translocation. *Plant J*, 2009, 57: 798–809
- 82 Zhang F, Sun Y, Pei W, et al. Involvement of OsPht1;4 in phosphate acquisition, and mobilization facilitates embryo development in rice. *Plant J*, 2015, doi: 10.1111/tpj.12804
- 83 Jia H, Ren H, Gu M, et al. The phosphate transporter gene OsPht1;8 is involved in phosphate homeostasis in rice. *Plant Physiol*, 2011, 156: 1164–1175
- 84 Wang X, Wang Y, Pineros M, et al. Phosphate transporters OsPHT1;9 and OsPHT1;10 are involved in phosphate uptake in rice. *Plant Cell Environ*, 2014, 37: 1159–1170

- 85 Paszkowski U, Kroken S, Roux C, et al. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 13324–13329
- 86 Guimil S, Chang H, Zhu T S, et al. Comparative transcriptomics of rice reveals an ancient pattern of response to microbial colonization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 8066–8070
- 87 Sun S, Gu M, Cao Y, et al. A constitutive expressed phosphate transporter, OsPht1;1, modulates phosphate uptake and translocation in phosphate-replete rice. *Plant Physiol*, 2012, 159: 1571–1581
- 88 Li J, Long Y, Qi G, et al. The Os-AKT1 channel is critical for K⁺ uptake in rice roots and is modulated by the rice CBL1-CIPK23 complex. *Plant Cell*, 2014, 26: 3387–3402
- 89 Zhang Q. Strategies for developing Green Super Rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16402–16409
- 90 Yu H, Xie W, Li J, et al. A whole-genome SNP array (RICE6K) for genomic breeding in rice. *Plant Biotechnol J*, 2014, 12: 28–37
- 91 Chen H, Xie W, He H, et al. A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Mol Plant*, 2014, 7: 541–553
- 92 Zhang Q, Li J, Xue Y, et al. Rice 2020: A call for an international coordinated effort in rice functional genomics. *Mol Plant*, 2008, 1: 715–719

The progress and perspective of rice functional genomics research in China

XIAO JingHua, WU ChangYin, YUAN Meng, WANG NiLi, FAN YouRong, YANG Meng, OUYANG YiDan, RUAN YiJun & ZHANG QiFa

National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Functional genomics research is the core field in plant scientific research. As a staple food crop and a reference of monocot plant, tremendous progress has been made in rice functional genomics in China. Various methods and technical platforms have been developed to enable high-throughput analyses and effective determination of gene functions, including: large T-DNA insertion mutant libraries; global gene expression profiles for the entire life cycle of rice growth and development, abiotic and/or biotic conditions; full-length cDNA clones; high-throughput genotyping by whole-genome resequencing; large-scale analyses of metabolome and reliable high-throughput phenotyping platforms, etc. With those enabling tools and genetic resources, large efforts have been focused on identifying genes controlling yield, fertility, superior quality, resistances to biotic and abiotic stresses, and high nutrient-use efficiency. The combination of approaches based on the advances in genomic research has been formulated to develop rice cultivars referred to as Green Super Rice (GSR). We briefly summarize these advances and call for the prospects in future proposed by Chinese scientists: the RICE2020 Project and the RICE 4D Genome Program.

functional genomics, a whole-genome SNP array, 4D genome, rice genomic breeding

doi: 10.1360/N972015-00391

补充材料

表 S1 我国近年来分离克隆的部分水稻重要功能基因

本文以上补充材料见网络版 csb.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.