

DOI: 10.13376/j.cbls/2016148

文章编号: 1004-0374(2016)10-1103-10



何予卿, 华中农业大学教授、博士生导师, 植物遗传育种和植物分子生物学专业。首批教育部新世纪优秀人才和农业部现代农业产业技术体系水稻育种与繁育研究室科学家岗位。主要从事的研究工作包括稻米品质遗传研究及其基因定位、基因克隆和杂交水稻的分子遗传改良育种。主持国家“863”计划项目、国家植物转基因专项和国家自然科学基金重大研究计划等项目, 在国内外重要学术期刊发表论文 60 余篇, 获得专利 6 项。获得教育部 2011 年度“中国高等学校十大科技进展”奖, 参与获得湖北省自然科学奖一等奖和国家自然科学奖二等奖多项。

## 农业发展对作物功能基因组研究需求

胡 杰, 何予卿\*

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070)

**摘 要:** 作物生命科学研究对我国农业的可持续发展提供了强大的科技支撑, 功能基因组研究是作物生命科学研究的核心领域之一。现通过提出我国农业发展中面临的一些主要问题, 基于作物功能基因组学特别是水稻功能基因组学的最新研究成果, 分析农业发展对作物功能基因组研究的多种需求, 包括种质资源创新、重大应用价值基因的克隆和功能解析、基因编辑技术和全基因组分子育种。为了进一步满足农业发展对基因组学的需求, 我国需要推进功能基因组研究, 促进作物育种行业的转型、发掘更多的优异种质资源、培育重大突破的新品种, 提升我国种业创新能力, 不断增强我国功能基因组学对农业生物技术的贡献力度。

**关键词:** 功能基因组; 两型农业; 分子育种; 农作物

**中图分类号:** Q943; S984.3      **文献标志码:** A

## A demand of agricultural development for crop functional genomics research

HU Jie, HE Yu-Qing\*

(National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Crop scientific research provides a powerful support to develop a sustainable agriculture in China. Functional genomics research is the core field in crop scientific research. In order to deal with some of the major problems of our agricultural development, we reviewed some demands of agricultural development for crop functional genomics research, especially rice functional genomics research including germplasm innovation, cloning and functional analysis of valuable genes, gene editing technology and whole-genome breeding. Further to meet the needs of agricultural development for functional genomics research, we must promote a transformation from genomics to crop breeding industry, exploring more excellent germplasm resources, breeding new varieties for breakthrough in yield, quality and resistance, improving capacity for innovation of our seed industry, and increasing

收稿日期: 2016-08-26

基金项目: 国家重点研发计划“水稻功能基因组研究与应用”项目(2016YFD0100900); 国家转基因重大专项(2016ZX08001002-002)

\*通信作者: E-mail: yqhe@mail.hzau.edu.cn

the contribution portion of functional genomics in agricultural biotechnology.

**Key words:** functional genomics; two-oriented agriculture; molecular breeding; crop

我国是一个农业大国，农业安全和发展与国家利益息息相关。当今世界，科技进步日新月异，科技已成为农业、工业现代化发展的第一生产力。种子是整个农业的基础，“良种”是实现粮食增产的第一要素。而良种的培育过程是对决定多个优良性状基因的完美组合。基因是一个DNA片段，是一个储存着生命孕育、生长、凋零的黑箱子，为破译其中的奥秘，就必须大力开展作物基因组学研究。庆幸的是，21世纪以来，主要农作物水稻(*Oryza sativa* L.)<sup>[1-2]</sup>、玉米(*Zea mays* L.)<sup>[3]</sup>、大豆(*Glycine max* L.)<sup>[4]</sup>和小麦(*Triticum aestivum* L.)<sup>[5-6]</sup>的基因组相继被破译。中国已对水稻、小麦、玉米和黄瓜(*Cucumis sativus* L.)等70%~80%的重要作物完成了基因组测序，并初步掌握了这些作物性状遗传的功能基因，研究水平已走在国际前列。在全基因组序列的基础上，我国科学家适时地启动了旨在解析重要作物性状基因功能的“功能基因组学”研究计划。特别是水稻功能基因组计划实施的短短几年内，我国科学家已经克隆了近300个控制水稻重要农艺性状的具有自主知识产权的功能基因，并获得了基因的高效分子标记用于水稻分子育种和遗传改良，为培育高产优质、抗多种病虫害、节水抗旱和营养高效利用的“绿色超级稻”提供了坚实的基础<sup>[7]</sup>。

## 1 我国粮食作物增产为农业发展作出了巨大贡献

中国是一个农业大国，新中国成立后特别是改革开放以来，我国粮食生产取得举世瞩目的伟大成就，成功解决了13亿人口的吃饭问题，创造了以不足世界9%的耕地养活世界近21%人口的奇迹，为全面建成小康社会、保障国家现代化作出了巨大贡献。1949年我国粮食产量仅有1131.8万吨，1978年提高到3047.65万吨，到了2015年达到历史最高水平的62143.5万吨。特别是从2004年至2015年，中国粮食生产实现“十二连增”。我国农业发展取得的巨大成就，科技水平的不断提高发挥了重要的影响作用。建国初期我国农业科技进步贡献率在“一五”期间还不到20%，到2014年已经达到56%，农业科技在我国农业发展中取得了显著

成效。目前，我国水稻、小麦、玉米三大粮食作物已迈入世界农业科技大国行列，水稻功能基因组研究、超级稻研究与新品种选育均居国际领先水平。一大批优质高产、抗逆、广适性的超级杂交稻、杂交玉米、杂交小麦等粮食新品种选育和大规模推广，为我国粮食单产和总产的提高作出巨大贡献<sup>[8]</sup>。主要表现在以下三方面。

### 1.1 遗传育种技术的提高使农作物产量大幅度提高

建国以来，我国已收集和保存各类农作物种质资源33万份，自主培育并大规模推广的41种农作物新品种和新组合近6000个，使得我国粮棉油等主要农作物品种在全国范围内更换3~5次，优良农作物良种覆盖率达到85%~90%，同时品种的更换在产量、品质和抗性上都得到很大的改良，一般可增产10%~30%，良种在科技进步中发挥的作用占30%左右。

### 1.2 化肥农药和田间管理技术的改进提高了农作物产量

在农作物种植上，通过改进施肥技术、增施化肥，推广配方施肥、平衡施肥等肥料技术，提高化肥利用率10%以上，农作物增产10%~15%；同时通过水利建设和改进灌溉技术等节水措施，提高水利用率30%~40%，增产20%~30%以上。

### 1.3 生物技术的发展为农作物新品种的选育提供了新的机遇

由于分子生物学的飞速发展，细胞工程技术、分子标记技术和转基因技术等现代育种技术均取得成功，相继创造了一批抗病虫害、抗除草剂、优质高产的水稻、小麦、玉米、大豆、油菜等新品系，取得了超级杂交稻、优质专用小麦、高产优质玉米和转基因抗虫棉等一批新成果。特别是转基因抗虫棉等获得了广泛的推广，转基因抗虫水稻和耐储藏番茄获得了农业部颁发的安全证书。水稻、小麦、玉米和油菜功能基因组研究取得了重大突破，大批重要作物性状如产量、品质、生物逆境和非生物逆境抗性等重要基因均已被定位和克隆，这些重要基因正通过分子标记辅助选择体系等应用于农作物育种，将大大提升我国农作物新品种的竞争力。

总之,建国以来我国农业为保障我国粮食安全和国家稳定作出了巨大贡献,但这种水肥农药等高投入、低产出和消耗资源环境的现象成为我国未来农业发展的重要限制因子。特别是进入新世纪以来,我国农业发生结构性的改变,人口增多、农业人员老龄化、耕地面积减少、环境恶化和对粮食的进一步需求,需要利用作物功能基因组学的最新成果对传统农业技术进一步升级,建设资源节约型和环境友好型的两型生态农业,才能继续保证我国粮食安全和农业可持续发展。

## 2 我国未来农业发展面临多方面的挑战

我国是人口众多的发展中国家,粮食安全一直是我国政府的头等大事。然而,我国自然资源相对不足,人均资源占有量少,农业快速发展几十年来,由于一味地追求产量,大肥大水高投入的粗放式生产直接导致我国农业发展与资源环境之间的矛盾加剧。随着人口的持续增加,对粮食的需求数量还会继续增加,这种供需矛盾日益突出的局面将会长期存在,这一现实已经成为制约我国经济可持续发展的主要因素。主要表现在以下几方面。

### 2.1 干旱对我国农业影响巨大

我国水资源分布不均和降水季节不均是造成我国农业缺水旱灾的重要因素。我国降水量年内及年际间变化大,使得我国位于东亚季风区内的水旱灾害频繁。据统计,我国农作物受旱面积每年约0.2亿~0.27亿公顷,粮食损失200亿~350亿千克,位于各种自然灾害粮食损失之首,约占总量的60%。其次,我国水资源分布表现为南多北少、东多西少。我国北方气候相对干燥,土壤偏砂性,以旱地为主,地下水位低,于是造成我国北方乃至西北地区长期缺水,少水干旱已成为这些地区农业生产发展的主要限制因子。

### 2.2 频繁的极端气候对农业安全生产构成威胁

我国高碳农业极大地增加了农业温室气体的排放,导致了农业高投入、高消耗、高污染和低产出的现实局面,是温室气体的重要来源,直接影响气候的变化。

气候变化对我国农作物产量的影响主要表现为:温度逐年升高导致作物生长期普遍缩短,影响籽粒产量和降低品质;气候变化加剧作物病虫害的发生;温度影响肥效的释放和利用率;极端气候频繁发生,严重影响农作物产量等。

### 2.3 农药化肥超量施用加重农业生产成本

化肥和农药是农业生产最基本和必需的生产资料,为农作物的产量提高作出了巨大的贡献。我国长期以来农业种粮方式是大肥大水,化肥农药使用粗放。我国耕地面积约占世界9%,却消耗了全球35%以上的化肥农药,直接导致农民种粮成本大大提高。另一方面,过量的化肥和农药的施用并没有带来产量的增加,直接导致我国成为单位肥料投入粮食产出率最低的国家之一。据统计,20世纪50年代,我国每千克纯氮可增产15~20千克稻谷,到2000年降为5千克,而菲律宾每千克纯氮可以增产15~18千克稻谷<sup>[9]</sup>。农药的大量使用也造成害虫和益虫的大量死亡,以及害虫的耐药性增强,直接破坏了农田生态系统食物链,是害虫大发生的重要原因。大量的化肥农药施用还会导致土壤板结和土壤结构的变化,使得其肥力下降,甚至还污染地下水环境,严重影响农产品质量、人民群众的身体健康和农业生态环境。这种高投入、高浪费、高消耗、低产出和破坏农业生态环境的粮食生产现状确实需要改变,也不符合我国农业长期可持续发展。

### 2.4 农作物新品种单一、产量徘徊不前

作物遗传育种在我国农业科学中居核心地位,为我国农业发展保障粮食安全作出了重要贡献。我国粮食产量的“十二连增”离不开作物遗传育种学科的创新和进步。据统计,目前全国农作物良种覆盖率达95%以上,优良品种对粮食增产的贡献率达40%以上。

自从以矮秆为基础的第一次绿色革命成功实现以来,我国主要粮食作物以矮秆、抗倒、耐肥、密植为基础,以大肥大水和高农药的粗放管理为手段,以提高单位面积的产量为目标,形成了高投入、环境污染和低产出的生产模式。近年来,我国育种家在高产稳产、抗病虫害和优质上取得了一些新的突破,但总体上还存在以下问题。(1)品种单一,血缘关系重复的品种较多。像汕优63曾经在生产上推广面积达20年之久,面积最大时占我国杂交水稻面积的50%,直到导致稻瘟病和白叶枯病的大发生才慢慢退出历史舞台。当前,生产上的两系品种血缘关系父本主要都以9311类型为主,不育系来源血缘关系也较窄,也是当前品种单一造成稻瘟病和稻曲病流行的重要原因之一。(2)多抗性品种较少。我国每年审定的水稻品种中,抗稻瘟病、白叶枯病的单一抗性品种不到5%,多种抗性聚合和抗虫型

品种更是少之又少。由于生产上多种病虫害的发生, 农药使用过量, 导致作物害虫对农药的抗药性增强, 对农作物的破坏性增强, 直接导致农民投入增加和农作物产量损失严重, 同时大量的农药造成残留, 加大了环境污染, 毒杀了有益昆虫, 破坏了生态平衡。(3) 作物营养高效未能列入育种目标。由于化肥农药的施用不作为我国育种目标, 我国选育的品种均在高化肥施用的基础上选育出来。大量的化肥由于不能被作物吸收利用, 大大浪费了投入并污染了自然生态环境。(4) 缺少对极端环境耐受性新品种。随着全球气候变暖, 极端气温变化日益频繁, 季节性旱、涝和局部高低温危害严重, 已经成为继耕地之后长期制约我国农业发展的重要因素。因此, 开展农作物节水抗旱研究, 苗期和灌浆期耐低温和高温逼熟研究, 以及穗期高低温影响水稻、小麦等结实性研究, 对提高我国农作物的稳产性、缓解气候导致的极端恶劣环境造成农作物减产以及保障粮食安全均具有重要的战略意义。(5) 资源的发掘、筛选和利用不够, 缺乏有重大突破性的新种质资源。如水稻籼粳杂交种优势的利用、野生稻优异抗病虫基因的利用等方面刚刚起步, 急需加大研究投入。

总体来说, 未来我国农业发展必须改变长期以来以资源消耗和环境污染为代价的发展模式, 提倡以发展优质、高产、高效、环保、安全的现代农业为目标, 依靠生物技术和功能基因组学的科技创新, 培育和发掘水肥高效利用, 增强农作物对生物和非生物逆境的抗性, 提高农作物的产量和品质, 实现我国农业的可持续发展。

### 3 作物功能基因组研究取得重要进展

作物种质资源的发掘和利用是作物育种的重要基础, 每一次育种的重大突破均离不开重要资源

和基因发现和利用。矮秆基因和细胞质雄性不育基因的发现和应用为过去粮食增产作出了巨大贡献。未来作物育种需要现代生物技术发掘和利用更多的优异资源和基因, 才能培育出突破性的农作物新品种。

由于主要农作物性状主要受数量性状多基因控制, 近 20 多年来, 我国已经构建了不同的作物遗传群体, 通过分子标记连锁遗传图谱的建立, 对重要农作物水稻、玉米、小麦、棉花和油菜等进行了大规模的基因定位和克隆, 定位的性状基本涵盖所有重要性状如产量、品质、生物逆境和非生物逆境抗性等, 精细定位的 QTL 超过 1 000 余个<sup>[10]</sup>。我国科学家克隆了来源于不同主要农作物包括育性、产量、品质和生理特性的基因 400 余个, 其中水稻基因 121 个(图 1), 奠定了我国农作物功能基因组学在国际上的领先地位<sup>[11-14]</sup>。相关重要进展如下:

#### 3.1 农作物产量相关基因的克隆及其功能鉴定

2003 年, Li 等<sup>[15]</sup>克隆了控制水稻分蘖的基因 *MOCI*, 该基因可编码一个属于 GRAS 家族的转录因子, 该转录因子主要在腋芽中表达, 功能是促进分蘖和腋芽的生长。2008 年, Xue 等<sup>[16]</sup>克隆解析了控制水稻株高、抽穗期和穗粒数的基因 *Ghd7*。*GS3* 是国际上的第一个被发现的调控作物粒形的基因, 对水稻粒形起决定作用<sup>[17]</sup>。*GS5* 是控制水稻粒形、种子大小和千粒重的微效 QTL, 是国际上克隆的第一个正调控种子大小的基因<sup>[18]</sup>。此外, 一系列与水稻籽粒相关的基因被克隆并验证功能, 如 *GW2*<sup>[19]</sup>、*qSW5/GW5*<sup>[20-21]</sup>、*GS2*<sup>[22-24]</sup>、*GL7/GW7*<sup>[25-26]</sup> 等为水稻产量和品质的遗传改良奠定了重要基础。

不育性直接影响以籽粒收获的农作物的产量, 其也是间接的产量性状之一。华中农业大学于 2008 年成功克隆了籼粳广亲和 *S5* 位点的 5 号基因, 同

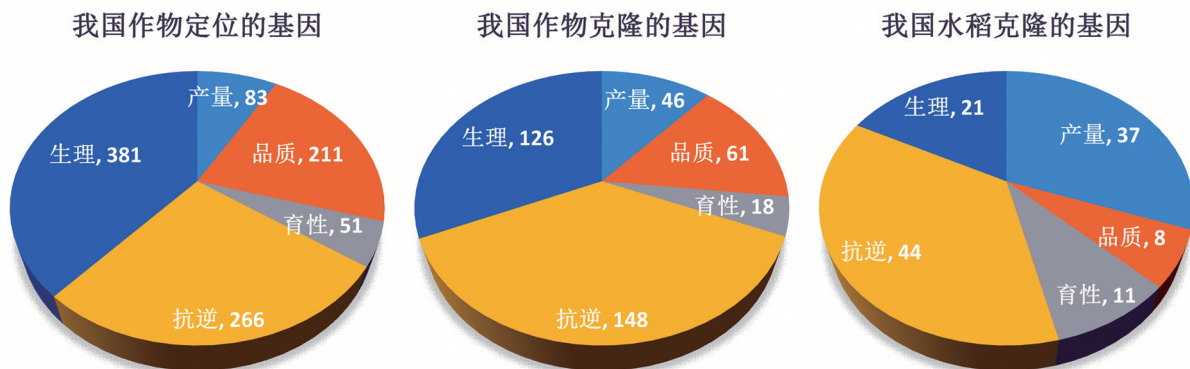


图1 我国近年来在作物中定位和克隆的基因数量

时于2012年还发现广亲和现象是两个与之紧密连锁的基因(3号和4号基因)与5号基因协同作用控制杂种不育,这一重要发现揭示了水稻籼粳杂种育性调控的分子机制,为有关籼粳杂种不育、物种生殖隔离分子机理、生物进化的研究提供了借鉴和参考<sup>[27-28]</sup>。Yi3A是我国在油菜中发现的原生型细胞核雄性不育类型。2016年,Xin等<sup>[29]</sup>研究表明,Yi3A的育性受到MS5位点的3个复等位基因控制,并成功克隆了MS5,证明MS5编码一个功能未知的芸薹属特异蛋白(孤儿基因),并通过调控减数分裂早期染色体的结构和减数分裂进程,调控生殖细胞发育。

### 3.2 农作物品质相关基因的克隆及其功能鉴定

随着人们生活水平的提高,作物品质显得越来越重要。近年来水稻、玉米和小麦等农作物品质研究取得了一系列重要进展。水稻中,控制直链淀粉合成的Wx<sup>[30]</sup>、影响储藏蛋白的OsRab5a和gpa3<sup>[31-32]</sup>以及决定香味的基因Badh2<sup>[33]</sup>相继被克隆。OsAAP6是分离克隆的一个控制水稻种子蛋白质含量的QTL,它通过调控种子中的谷蛋白、醇溶蛋白、球蛋白、清蛋白和淀粉的合成与积累来控制种子蛋白质含量<sup>[34]</sup>。2014年,Li等<sup>[35]</sup>成功分离克隆了第一个控制稻米垩白品质的主效QTL基因Chalk5,它对很多稻米品质性状具有普遍性影响,尤其是极大地影响外观品质、精米产量和储藏蛋白的总含量。此外,在玉米中,2012年Li等<sup>[36]</sup>基于全基因组关联分析(GWAS),共发现74个座位与籽粒油分相关性状显著关联,其中1/3的座位编码油脂代谢的关键酶;鉴定出26个与籽粒总含油量显著相关的座位,能解释83%的表型变异。

### 3.3 农作物生物逆境和非生物逆境抗性基因的克隆及其功能验证

#### 3.3.1 生物逆境抗性基因

稻瘟病、白叶枯病和纹枯病是水稻的三大病害。目前已经成功分离克隆了9个抗白叶枯病主效基因: Xa1、Xa3/Xa26、xa5、Xa10、xa13、Xa21、Xa23、Xa27和xa25;克隆了20余个稻瘟病抗性基因: Pi37、Pit、Pish、Pib、Pi21、Pi63、Pid2、Pi9、Pi2、Piz-t、Pid3、Pi25、Pi36、Pi5、Pik-h/Pi54、Pik-m、Pb1、Pik、Pik-p、Pia、Pi1、Pi56、Pita和PiCO39(国家水稻数据中心, [http://www.ricedata.cn/gene/gene\\_xa.htm](http://www.ricedata.cn/gene/gene_xa.htm), [http://www.ricedata.cn/gene/gene\\_pi.htm](http://www.ricedata.cn/gene/gene_pi.htm));克隆了4个褐飞虱抗性基因,分别是Bph14<sup>[37]</sup>、Bph26<sup>[38]</sup>、Bph3<sup>[39]</sup>和bph29<sup>[40]</sup>。

#### 3.3.2 非生物逆境抗性基因

植物在干旱、盐碱和高低温等逆境下,可以激发内源信号传递系统,调节非生物胁迫应答和适应相关基因表达,进而适应不利环境。SKC1是从耐盐水稻品种Nona Bokra中筛选出的一个主效QTL,其对水稻耐盐表型变异的贡献率达40.1%,SKC1编码一个HKT家族的钠离子转运蛋白(OsHKT8)<sup>[41]</sup>。SNAC1和SNAC2编码NAC类转录因子,其表达受逆境因子如ABA、旱、盐、低温等诱导,过量表达SNAC2的转基因植株其抗旱性明显增强<sup>[42]</sup>。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,粳稻特异的SNP2影响了COLD1蛋白活性而赋予粳稻耐寒性<sup>[43]</sup>。

#### 3.3.3 氮磷资源等高效利用基因

2014年,Sun等<sup>[44]</sup>在水稻中克隆了氮介导生长反应的QTL,qNGR9,其显性等位基因dep1-1能显著提高水稻氮的同化效率,提高收获指数和产量。2015年,Hu等<sup>[45]</sup>从籼稻中克隆出高氮利用效率基因NRT1.1B,它编码一个硝酸盐转运蛋白,在籼粳稻间只有一个氨基酸的差别,且籼稻与粳稻呈现出显著的分化,籼稻型具有更高的硝酸盐吸收及转运活性。OsPTF1是第一个被报道在植物中有明确提高磷效率功能的转录因子基因,该基因为磷胁迫诱导转录因子表达调控、高亲和磷转运体及控制根系发生发育的激素代谢过程机制研究奠定了重要基础<sup>[46]</sup>。Pup1是国际水稻所在Kasalath中鉴定的一个与磷缺乏耐性相关的主要数量性状位点,该基因是一个Pup1特异的蛋白激酶基因(PSTOL1),当种植在磷缺乏土壤时,PSTOL1在现代水稻品种中的超表达可以提高谷物产量<sup>[47]</sup>。

总之,我国农作物品种资源丰富,作物资源中具有大量的优良性状基因,如产量、品质、抗性和营养高效利用等。在现代遗传改良过程中,我国绝大多数品种将产量作为第一目标,它们都是在化肥农药大量密集施用的环境下选择的,直接导致这些有益基因丢失,使得目前生产上的推广品种单一化,而不具备这些有益基因。随着测序技术的发展和测序成本的降低,利用新一代测序技术进行种质资源分析、基因定位、基因克隆及其功能分析将更加容易,未来品种需要利用功能基因组学将这些作物资源中具有的水肥抗性等重要基因加以发掘并利用,为作物分子育种培育产出高效、产品安全、资源节约和环境友好的现代化农作物新品种提供坚实的基因、技术和材料基础。

## 4 农业发展对作物功能基因组研究需求的多样化和精细化

从20世纪80年代开始,我国相继启动了“863”、“973”和转基因重大专项等重大研究计划,使我国农作物种质资源鉴定、各种组学以及高产优质多抗农作物新品种的培育均取得了重大进展。2014年《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006—2020年)实施情况中期评估》“农业领域专题评估报告”中,“水稻等主要农作物功能基因组学”的研究成果被列为农业领域重大标志性成果之首。特别是我国作为世界上较早启动作物功能基因组研究计划的国家,项目针对作物生产中“少投入、多产出、保护环境”的作物育种目标,通过解析水稻、玉米、小麦这三大农作物的功能基因组,在水稻、玉米和小麦资源、信息和生物技术平台的构建完善,调控产量、品质、抗逆、养分水分高效吸收利用重要农艺性状的功能基因和调控因子的克隆,以及基因调控网络解析等领域,取得了一系列重要进展。进入“十三五”以来,我国农作物功能基因组研究将继续为我国农业发展作出巨大贡献,主要表现在以下几点:

### 4.1 收集特异种质资源,助力基因的高效发掘

种质资源是人类赖以生存与农业发展的物质基础,也是作物遗传改良和相关基础研究的物质基础。自从人类诞生以来,就没有停止对生物资源的探索和利用,但人类利用的作物遗传资源只占其中一小部分,同时主要集中在几种为数不多的作物上。由于人口增加和对食物的需求,人们通过对野生植物资源长期驯化培育了产量和品质大幅提高的农家品种和现代栽培种,使得大量的基因(含有利基因)丢失,造成现代农作物新品种遗传基础单一和狭窄,从而在对自然环境的适应性上表现出一些不稳定的因素。长期的实践证明,每一次作物育种的重大突破都与作物优异种质资源的发掘和利用密不可分。如20世纪60年代第一次绿色革命主要利用了小麦和水稻中的矮秆资源,70年代中国的杂交水稻和杂交油菜的推广主要利用了野败型细胞质雄性不育系和波里马细胞质雄性不育系等资源,80年代湖北省光敏核不育水稻的发现使得两系法杂交水稻得以应用。这些有利资源的发现和利用是我国农作物高产、品质和抗性品种培育的主要推动力。

中国国家作物种质资源保存体系中长期保存库和种质圃保存了45万份种质资源(约2300个物种),

还建立了原生境保护点163个。此外,核心种质收集和研究表明大大提高了遗传种质资源的保存效率。我国主要农作物的核心种质系统研究走在国家前列,已经构建了水稻<sup>[48]</sup>、玉米<sup>[49]</sup>、小麦<sup>[50]</sup>、大豆<sup>[51]</sup>等主要农作物的核心种质和微核心种质资源库,这些精简的几百份材料代表了80%以上的总的遗传多样性。目前,利用玉米、水稻的核心种质或多个地方品种构建的自然群体,基于全基因组关联分析的方法,已经快速、规模化地鉴定和验证了许多重要基因<sup>[52-53]</sup>。种质资源的收集和研究表明为快速高效的发掘功能基因提供了宝贵的遗传资源。

### 4.2 定位、克隆和评价更多具有育种应用价值的基因

目前,科研工作者已经在水稻、玉米、小麦等重要的农作物性状中克隆了大约400多个基因。虽然水稻基因组较小、克隆基因较多且其功能研究相对容易,但这也不到1%,要解析水稻和农作物的全部基因功能,任务相当艰巨。更为重要的是,很多基因都是在突变体中鉴定出来的,还有大量微效基因、隐性基因,它们的育种利用价值相当有限。因此,对基因应用价值的评估也必须加以重视。目前,在水稻抗病虫基因的利用方面,基因价值的评估变得更加迫切<sup>[54-56]</sup>。此外,在一些特异种质中存在稀有变异基因,它们一般很难通过关联分析检测到,但是又非常重要,如控制水稻粒形的主效基因*GW2*<sup>[19]</sup>,来源于药用野生稻的水稻抗褐飞虱基因*Bph14*<sup>[37]</sup>。这些稀有变异基因的发掘不但有助于丰富功能基因组研究,而且还为功能基因的驯化和演化提供了研究线索。基于未来农业生产的需求,需要鉴定和克隆一大批生物逆境抗性(抗病、抗虫等)、非生物逆境抗性(抗旱、耐盐碱、氮磷高效利用等)、异常气候耐性(如热、冷、涝、风害等)、品质和产量等相关的重要基因及其组织特异性启动子,阐明农作物基因组所有基因的功能及其等位变异的功能多样性,解析重要农艺性状、抗性基因调控机理和调控网络,为培育少打农药、少施化肥、节水抗旱和优质高产的绿色农作物新品种提供重要基因资源。

### 4.3 基因组编辑技术为功能基因的发掘和新品种的培育提供了契机

基因组编辑(genome editing)是利用人工核酸酶,对生物基因组特定基因位点进行定点修饰和遗传改造,获得预期生物体基因组序列改变,从而导致基因表型改变的一项新技术。特别是该技术通过改造而来的CRISPR/Cas9系统的简单、廉价、高效以及通用的特性,能够定点编辑基因组来实现基因

序列特异性的遗传改造,对于功能基因组研究和定向育种来改良农作物重要性状具有重要的意义<sup>[57-58]</sup>。目前该技术已经在水稻、玉米、小麦和高粱等农作物中得到成功应用,如在水稻中实现了香味、长粒、糯性和抗白叶枯病等改良;白粉病是小麦的重要病害,通过对六倍体小麦中抗白粉病相关基因 *MLO* 的3个拷贝同时进行敲除,获得了广谱抗白粉病突变体<sup>[59]</sup>。同时,该技术在其他作物中也获得了成功应用<sup>[60-61]</sup>。这种高效的基因组编辑技术,通过精确性高度依赖于同源重组的定点突变,理论上可以改造生物基因组中的任何一个基因。它不仅是一种有效的研究功能基因的方法,也是准确改造农作物性状的重要途径。

#### 4.4 全基因组选择分子育种为功能基因组的应用提供了广阔平台

自从20世纪80年代分子标记技术发现以来,各种分子标记如 RFLP、SSR 和 SNP 等已成为作物种质资源鉴定、基因定位和基因克隆的重要工具。在分子标记的基础上,已经先后发展了多项结合常规育种的技术,进行重要农作物性状的遗传改良。它们分别是:分子标记辅助选择、全基因组分子选择、分子设计育种技术。

分子标记辅助育种 (molecular marker-assisted selection, MAS) 能够有效地突破常规育种技术的各种瓶颈,使育种的目地性更强,准确性和精确性更高,成本更低,加速了育种进程。目前, MAS 已经广泛应用到水稻、玉米、小麦和大豆等主要农作物中,涉及的性状包括作物抗病虫性、育性、产量、株高、品质和耐旱性<sup>[62-64]</sup>。利用 MAS 进行 QTL 定位、上位性分析以及基因型-环境互作研究是目前研究的热点。我国在 QTL 定位和 MAS 育种领域的基础研究实力较强,论文数量高居世界第二,这些重要的 QTL 可以通过分子标记辅助选择在现代育种中直接加以利用。

全基因组选择技术 (genomic selection, GS) 并不像传统的 MAS 那样着重于有限几个主效基因的选择,而是基于覆盖全基因组的高密度分子标记的基因型和大量表型数据,估计每个与表型相关的标记的育种值,然后计算出全基因组预估育种值 (GEBVs),对所有与表型变异相关的位点予以检测,实现多个微效 QTLs 贡献的精确解析,真正实现所有位点的高通量选择<sup>[65]</sup>。全基因组选择技术在动物育种中发展尤为迅速,特别是澳大利亚、新西兰、荷兰和美国的研究小组已经用该方法进行了优质奶

牛的选择育种,并取得了 MAS 等方法所不能比拟的巨大成功。相对而言,作物全基因组选择技术的应用较为滞后,但是发展也较为迅速。最近,中国种子集团公司牵头开发的全球首例水稻 6K 和 60K 育种芯片<sup>[66-67]</sup>已经成功应用于品种鉴定和性状基因导入的检测。此外,在小麦、大豆中也开始利用全基因组选择技术进行育种改良,并取得了一定成效<sup>[68-69]</sup>。

设计育种 (breeding by design) 是 Peleman 和 Vander Voort<sup>[70]</sup>于2003年提出来的利用 MAS 将多个基因进行有效聚合和达到某种育种目标的一种育种技术。后来, Varshney 等<sup>[71]</sup>于2005年又将基因组学和设计育种结合起来,提出了基因组学辅助育种 (genomics-assisted breeding, GAB)。分子设计育种是通过技术集成找到符合目标性状的最适基因型,并通过计算机进行模拟设计达到预期目标的育种程序,从而大大优化传统育种的一种高级育种方式。分子设计育种刚刚提出几年时间就获得快速的发展,并逐渐成为引领动植物遗传改良的新兴领域。特别是随着基因组测序等多种技术的快速突破,功能基因组学、表达组学、代谢组学等多种组学及生物信息学的迅猛发展,全基因组选择得以在分子设计育种中实现,从而大幅提高育种效率,加快育种进程,并实现从传统“经验育种”到定向、高效的“精确育种”的质的飞跃。我国分子设计育种近年也有较大进展,主要体现在:重要作物的重要性状的遗传研究日趋深入,全基因组关联分析在多个作物中快速发展,高密度 SNP 标记平台日益成熟并商业化,育种模拟工具和程序日益完善并应用于育种<sup>[72]</sup>。

总之,随着功能基因组研究的进一步深入,人们对农作物基因组的认知度会更高,通过分子标记辅助选择、全基因组技术和分子设计育种对有益基因进行操作也将更为方便。

## 5 小结与展望

传统育种为我国粮食安全作出了巨大贡献,其选择方法主要根据生产和育种经验,对株型和产量等农艺性状进行目测选择,大部分品种是在高水肥、重农药条件下选育出来的高产品种,不利于环境友好和可持续发展的现代农业需求。特别是对一些难以目测的性状,如抗病性、抗虫性、营养高效利用性和品质等常规育种选择的准确性较差,效率较低,优异基因丢失严重。作物功能基因组的研究成果能够通过全基因组分析,大大弥补常规育种的缺陷,

将能够或不能够目测的产量、品质、抗生物逆境和非生物逆境精细定位于染色体上, 通过常规育种与分子技术相结合, 最大程度地将抗病虫、抗逆、营养高效利用和高产优质等优异基因, 快速精确地组合在一起, 培育具有现代农业需求的安全优质、高产高效和环境友好的突破性的农作物新品种。

我国农业的可持续发展需要作物功能基因组学的研究成果提供强大的科技支撑。水稻功能基因组研究计划率先实施以来, 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, 获得了一批具有自主知识产权的重要功能基因及其分子标记, 也推动了我国其他作物功能基因组研究, 为作物分子育种和遗传改良提供了坚实的理论和材料基础。随着我国农业的发展, 对功能基因组研究成果的需求也越来越多样化和精细化, 特别是在解析产量等复杂数量性状的分子遗传机理, 克隆具有重大应用价值的广谱抗病虫基因, 推进水稻功能基因组研究, 促进现代农作物育种行业的转型, 发掘更多的优异种质资源, 培育在产量、品质和抗病虫害等方面具有重大突破的新品种等方面。建议加大国家层面的投入力度, 提升我国种业创新能力, 不断增强我国功能基因组学对农业生物技术的贡献力度。

#### [参 考 文 献]

- [1] 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
- [2] Zhang J, Chen LL, Xing F, et al. Extensive sequence divergence between the reference genomes of two elite *indica* rice varieties Zhenshan 97 and Minghui 63. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E5163-71
- [3] Schnable PS, Ware D, Fulton RS, et al. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science*, 2009, 326: 1112-5
- [4] Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, et al. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 2010, 463: 178-83
- [5] Ling HQ, Zhao S, Liu D, et al. Draft genome of the wheat A-genome progenitor *Triticum urartu*. *Nature*, 2013, 496: 87-90
- [6] Jia J, Zhao S, Kong X, et al. *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. *Nature*, 2013, 496: 91-5
- [7] Zhang QF. Strategies for developing green super rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16402-9
- [8] 张启发. 资源节约型、环境友好型农业生产体系的理论与实践[M]. 北京: 科学出版社, 2015
- [9] 彭少兵, 黄见良, 钟旭华, 等. 提高中国稻田氮肥利用率的研究策略. *中国农业科学*, 2002, 35: 1095-103
- [10] 黎裕, 王建康, 邱丽娟, 等. 中国作物分子育种现状与发展前景. *作物学报*, 2010, 36: 1425-30
- [11] 邱丽娟, 郭勇, 黎裕, 等. 中国作物新基因发掘: 现状、挑战与展望. *作物学报*, 2011, 37: 1-17
- [12] Jiang YH, Cai ZX, Xie WB, et al. Rice functional genomics research: Progress and implications for crop genetic improvement. *Biotechnol Adv*, 2012, 30: 1059-70
- [13] Rao Y, Li Y, Qian Q. Recent progress on molecular breeding of rice in China. *Plant Cell Rep*, 2014, 33: 551-64
- [14] 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: 1711-22
- [15] Li XY, Qian Q, Fu ZM, et al. Control of tillering in rice. *Nature*, 2003, 422: 618-21
- [16] Xue WY, Xing YZ, Weng XY, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40: 761-7
- [17] 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: 1164-71
- [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: 1266-9
- [19] Song XJ, 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: 623-30
- [20] Shomura A, Izawa T, Ebana K, et al. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1023-8
- [21] 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: 1199-209
- [22] Che R, Tong H, Shi B, et al. Control of grain size and rice yield by GL2-mediated brassinosteroid responses. *Nat Plant*, 2015, 2: 15195
- [23] Duan P, Ni S, Wang J, et al. Regulation of *OsGRF4* by *OsmiR396* controls grain size and yield in rice. *Nat Plant*, 2015, 2: 15203
- [24] Hu J, Wang Y, Fang Y, et al. A rare allele of *GS2* enhances grain size and grain yield in rice. *Mol Plant*, 2015, 8: 1455-65
- [25] Wang YX, Xiong GS, Hu J, et al. Copy number variation at the *GL7* locus contributes to grain size diversity in rice. *Nat Genet*, 2015, 47: 944-8
- [26] Wang S, Li S, Liu Q, et al. The *OsSPL16-GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality. *Nat Genet*, 2015, 47: 949-54
- [27] Chen JJ, Ding JH, Ouyang YD, 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: 11436-41
- [28] Yang JY, Zhao XB, Cheng K, et al. A Killer-protector system regulates both hybrid sterility and segregation distortion in rice. *Science*, 2012, 337: 1336-40



- [29] Xin Q, Shen Y, Li X, et al. MS5 mediates early meiotic progression and its natural variants may have applications for hybrid production in *Brassica napus*. *Plant Cell*, 2016, 28: 1263-78
- [30] Wang ZY, Wu ZL, Xing YY, et al. Nucleotide sequence of rice waxy gene. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 5898
- [31] Wang Y, Ren Y, Liu X, et al. *OsRab5a* regulates endomembrane organization and storage protein trafficking in rice endosperm cells. *Plant J*, 2010, 64: 812-24
- [32] Ren Y, Wang Y, Liu F, et al. *GLUTELIN PRECURSOR ACCUMULATION3* encodes a regulator of post-Golgi vesicular traffic essential for vacuolar protein sorting in rice endosperm. *Plant Cell*, 2014, 26: 410-25
- [33] Chen S, Yang Y, Shi W, et al. *Badh2*, encoding betaine aldehyde dehydrogenase, inhibits the biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline, a major component in rice fragrance. *Plant Cell*, 2008, 20: 1850-61
- [34] Peng B, Kong HL, Li YB, et al. OsAAP6 functions as an important regulator of grain protein content and nutritional quality in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4847
- [35] Li Y, Fan C, Xing Y, et al. *Chalk5* encodes a vacuolar H<sup>+</sup>-translocating pyrophosphatase influencing grain chalkiness in rice. *Nat Genet*, 2014, 46: 398-404
- [36] Li H, Peng Z, Yang X, et al. Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels. *Nat Genet*, 2013, 45: 43-50
- [37] 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: 22163-8
- [38] Tamura Y, Hattori M, Yoshioka H, et al. Map-based cloning and characterization of a brown planthopper resistance gene *BPH26* from *Oryza sativa* L. ssp. *indica* cultivar ADR52. *Sci Rep*, 2014, 4: 5872
- [39] 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: 301-5
- [40] Wang Y, Cao L, Zhang Y, et al. Map-based cloning and characterization of *BPH29*, a B3 domain-containing recessive gene conferring brown planthopper resistance in rice. *J Exp Bot*, 2015, 66: 6035-45
- [41] Ren ZH, Gao JP, Li LG, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Genet*, 2005, 37: 1141-6
- [42] Hu H, Dai M, Yao J, et al. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 12987-92
- [43] Ma Y, Dai X, Xu Y, et al. *COLD1* confers chilling tolerance in rice. *Cell*, 2015, 160: 1209-21
- [44] Sun H, Qian Q, Wu K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice. *Nat Genet*, 2014, 46: 652-6
- [45] Hu B, Wang W, Ou SJ, et al. Variation in *NRT1.1B* contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies. *Nat Genet*, 2015, 47: 834-8
- [46] Yi K, Wu Z, Zhou J, et al. OsPTF1, a novel transcription factor involved in tolerance to phosphate starvation in rice. *Plant Physiol*, 2005, 138: 2087-96
- [47] Gamuyao R, Chin JH, Pariasca-Tanaka J, et al. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature*, 2012, 488: 535-9
- [48] Zhang H, Zhang D, Wang M, et al. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China. *Theor Appl Genet*, 2011, 122: 49-61
- [49] Li Y, Shi YS, Cao YS, et al. Establishment of a core collection for maize germplasm preserved in Chinese National Genebank using geographic distribution and characterization data. *Genet Res Crop Evol*, 2004, 51: 845-52
- [50] 董玉琛, 曹勇生, 张学勇, 等. 中国普通小麦初选核心种质的产生. *植物遗传资源学报*, 2003, 4: 1-8
- [51] 邱丽娟, 曹永生, 常汝镇, 等. 中国大豆(*Glycine max*)核心种质构建. I. 取样方法研究. *中国农业科学*, 2003, 36: 1442-9
- [52] Yano K, Yamamoto E, Aya K, et al. Genome-wide association study using whole-genome sequencing rapidly identifies new genes influencing agronomic traits in rice. *Nat Genet*, 2016, 48: 927-34
- [53] Tian F, Bradbury PJ, Brown PJ, et al. Genome-wide association study of leaf architecture in the maize nested association mapping population. *Nat Genet*, 2011, 43: 159-62
- [54] 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: 802-8
- [55] Fang P, Lu R, Sun F, et al. Assessment of reference gene stability in rice stripe virus and rice black streaked dwarf virus infection rice by quantitative real-time PCR. *Virol J*, 2015, 12: 175
- [56] Khanna A, Sharma V, Ellur RK, et al. Development and evaluation of near-isogenic lines for major blast resistance gene(s) in Basmati rice. *Theor Appl Genet*, 2015, 128: 1243-59
- [57] Cong L, Ran FA, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 2013, 339: 819-23
- [58] Mali P, Yang L, Esvelt KM, et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*, 2013, 339: 823-6
- [59] Wang Y, Cheng X, Shan Q, et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 947-51
- [60] Li QL, Zhang DB, Chen MJ, et al. Development of *japonica* photo-sensitive genic male sterile rice lines by editing carbon starved anther using CRISPR/Cas9. *J Genet Genomics*, 2016, 43: 415-9
- [61] Shi J, Gao H, Wang H, et al. *ARGOS8* variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnol J*, 2016 [Epub ahead of print]
- [62] Zhao XR, Tan GQ, Xing YX, et al. Marker-assisted

- introgression of qHSR1 to improve maize resistance to head smut. *Mol Breeding*, 2012, 30: 1077-88
- [63] Shi Z, Liu S, Noe J, et al. SNP identification and marker assay development for high-throughput selection of soybean cyst nematode resistance. *BMC Genomics*, 2015, 16: 314
- [64] Mi JM, Li GW, Huang JY, et al. Stacking S5-n and f5-n to overcome sterility in indica-japonica hybrid rice. *Theor Appl Genet*, 2016, 129: 563-75
- [65] Desta ZA, Ortiz R. Genomic selection: genome-wide prediction in plant improvement. *Trends Plant Sci*, 2014, 19: 592-601
- [66] 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
- [67] Chen H, Xie W, He H, et al. A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Mol Plant*, 2014, 7: 541-53
- [68] Zhao Y, Mette M, Gowda M, et al. Bridging the gap between marker-assisted and genomic selection of heading time and plant height in hybrid wheat. *Heredity*, 2014, 112: 638-45
- [69] Zhang J, Song Q, Cregan PB, et al. Genome-wide association study, genomic prediction and marker-assisted selection for seed weight in soybean (*Glycine max*). *Theor Appl Genet*, 2016, 129: 117-30
- [70] Peleman JD, van der Voort JR. Breeding by design. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 330-4
- [71] Varshney RK, Graner A, Sorrells ME. Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends Plant Sci*, 2005, 10: 621-30
- [72] 王健康, 李慧慧, 张学才, 等. 中国作物分子设计育种. *作物学报*, 2011, 37: 191-201