

DOI: 10.13376/j.cblls/2016150

文章编号: 1004-0374(2016)10-1122-07



余四斌, 华中农业大学教授, 博士生导师, 作物遗传改良国家重点实验室研究人员。主要从事水稻种质创新、基因多样性与分子育种等方面的研究。先后主持承担国家高技术研究发展计划、国家重大基础研究计划、国家自然科学基金以及国际合作项目等。在国内外学术刊物上发表论文 70 余篇, 参编专著和教材 5 部, 获得国家和省部级科技进步奖 5 项次。

水稻种质资源及其在功能基因组中的应用

余四斌^{1*}, 孙文强¹, 王记林¹, 黎志康²

(1 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070; 2 中国农科院作物科学研究所, 北京 100080)

摘要: 水稻种质资源群体分为自然种质资源和遗传资源两类, 是作物遗传改良和功能基因组学研究的基础材料。现简要介绍利用水稻种质资源群体开展全基因组关联分析定位数量性状位点、剖析基因变异与功能多样性、发掘与利用有利基因、分析基因组多样性及驯化选择区域等方面的研究进展及其展望。

关键词: 水稻; 种质资源; 核心种质; 基因多样性; 驯化; 选择

中图分类号: Q343.1; S32; S511 **文献标志码:** A

Rice germplasm and its pivotal role in functional genomics research

YU Si-Bin^{1*}, SUN Wen-Qiang¹, WANG Ji-Lin¹, LI Zhi-Kang²

(1 National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2 Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Rice germplasm collections are the fundamental resources for crop genetic improvement and functional genomics research. The rice germplasm is composed of natural accessions and artificial genetic populations. It represents a rich reservoir for genome-wide association studies of identifying quantitative trait loci, dissecting gene structure variation and functional diversity, exploiting favorable alleles, exploring genome diversity and its pivotal role in rice domestication and selection. This paper presents an overview of current advances and prospects of the utilization of the genetic resources in rice.

Key words: rice; germplasm; core collection; gene diversity; domestication; selection

作物种质资源 (germplasm resources) 又称遗传资源或基因资源, 一般分为自然种质资源和遗传资源两类。自然种质资源包括地方品种、育成品种以及野生近缘种等; 遗传资源主要包括人工创造的突变体、高代杂交或回交群体以及近等基因系等材料。作物种质资源是作物遗传改良和功能基因组学研究的基础材料, 也是支撑农业可持续发展的战略性资源。许多国家已经充分认识到种质资源对作物育种

的作用和贡献, 非常重视种质资源的收集、保存与创新研究。

收稿日期: 2016-08-25

基金项目: 国家高技术研究发展计划(2014AA10A600); 国家自然科学基金项目(31271695, 31261140369); 国家重点研发计划“水稻功能基因组研究与应用”项目(2016YFD0100900)

*通信作者: E-mail: ysb@mail.hzau.edu.cn

水稻是我国乃至世界上最重要的粮食作物之一。因其基因组较小, 且与其他禾本科作物基因组存在较高度度的共线性, 水稻已成为功能基因组研究的模式作物。随着基因组测序以及高通量基因分型技术的发展, 作物种质资源在全基因组关联分析性状的遗传基础、基因组多样性、基因结构与功能多样性研究等方面取得了较大进展。本文将简要概述水稻种质资源在这些方面的研究进展。

1 水稻种质资源概况

水稻种植历史悠久, 稻种资源极为丰富。稻属 (*Oryza*) 共有 21 个野生种和 2 个栽培种, 分属 10 个不同的基因组类型^[1]。栽培稻包括亚洲栽培稻 (*O. sativa* L.) 和非洲栽培稻 (*O. glaberrima* Steud.)。亚洲栽培稻广泛分布于全球各稻区, 分化为适应各种地理生态环境的两个主要亚种: 籼稻 (*O. sativa* ssp. *indica*) 和粳稻 (*O. sativa* ssp. *japonica*), 表型变异和遗传变异差异较大。许多国际机构和国家从 20 世纪 70~80 年代开始建立植物种质资源库, 如国际水稻研究所建立的世界上最大的水稻公共种质资源库^[2](<http://www.irri.org/grc/>), 拥有从世界各地收集的栽培稻种资源 10.5 万余份以及野生稻资源约 5 000 份。此外, 世界主要水稻生产国也建立了各自的水稻种质资源库。我国目前保存有整理编目的稻种资源约 8 万余份 (<http://www.cgris.net/>), 包括地方稻种、国外引进稻种、野生稻及近缘种、选育品种等, 还收集筛选了一批高产、优质、抗逆性强、广亲和基因以及高光效等特异稻种资源, 建有中国水稻选育品种及其系谱数据库 (<http://www.ricedata.cn/>)。

1.1 核心种质

长期以来, 种质资源保护与利用多侧重于保护, 对其表型的精确鉴定、全基因组水平的遗传多样性分析以及新基因发掘等研究的力度并不够^[3]。一个主要的原因是收集到的种质资源数目过于庞大, 针对这一主要挑战, Brown^[4] 提出构建以最小数量的资源样品来最大程度地代表整个种质资源遗传多样性的作物核心种质 (core collection)。目前, 国内外相关研究单位按照一定的取样技术和方法, 从主要农作物种质资源库选出适量的样品构建核心种质, 用以代表该作物资源的最大遗传多样性 (<http://www.generationcp.org>)。在水稻方面, 我国已完成构建一套由 930 多份栽培稻组成的核心种质资源, 代表了近 5.59 万水稻种质的 85% 的遗传和表型变异; 在此基础上, 精简构建了能代表水稻种质资源约 75%

遗传变异的 300 份左右的微核心种质^[5]。构建的核心种质资源对群体遗传多样性、种质资源的鉴定和评价、品种选择与驯化规律、种质创新以及功能基因组学研究均发挥着重要的作用^[6]。

随着基因组技术及测序技术的快速发展, 全基因组分析不同来源的水稻核心种质的基因变异和基因组多样性, 绘制高密度的基因型 (或单倍型) 图谱^[7], 已成为水稻种质资源鉴定与评价的重要内容。研究表明, 不同水稻种群或品种 (系) 间存在大量的单核苷酸多态性 (simple nucleotide polymorphism, SNP)、重复序列变异、基因的缺失或插入以及染色体结构变异等^[8-12]。粳稻和籼稻亚种还可细分为不同亚群, 如籼稻可分为籼稻 I 和籼稻 II^[8], 粳稻可分为温带粳稻和热带粳稻。亚群间的基因频率和基因型频率差异较大, 遗传分化明显。这些丰富的基因组序列变异及其遗传多样性分析加深了人们对水稻种质资源群体的遗传结构以及基因多样性的认识^[13], 为深入解析复杂性状的遗传基础、鉴定基因功能以及分子设计育种提供了有利条件。

1.2 遗传资源

遗传资源一般包括两大类型, 一类是通过人工杂交或回交等方式产生的遗传群体, 另一类是通过理化诱变等技术产生的突变体, 如插入突变体和诱变突变体等。插入突变体是一种基于外源 DNA 插入作物基因内部导致遗传变异的突变体。插入突变元件一般包括植物转座子和农杆菌 T-DNA (transfer DNA)。T-DNA 或转座子可以作为标签元件帮助人们快捷地找到突变基因, 经过插入标签基因与突变体表型的共分离检测, 从而鉴定基因的生物学功能。国内外许多科研单位相继建立了大型 T-DNA 突变体库^[14], 建有包含 T-DNA 和转座子 Tos17 突变体约 13.4 万余份的水稻大型数据库 RMD (rice mutant database, <http://rmd.ncpgr.cn/>)。研究人员利用这些插入突变体分离得到大量与植物器官发育、营养吸收、品质、逆境胁迫等相关的基因, 加快了水稻重要基因功能的解析^[15]。

理化诱变突变体是通过理化因子 (如甲基磺酸乙酯、快中子等) 诱变产生的突变体。该类型突变体仅个别或者一些位点上的碱基发生变化。借助 TILLING (targeting induced local lesions in genomes) 技术^[16]和突变体基因组测序方法, 如 MutMap 等^[17], 可以有效地寻找并鉴定突变基因及其功能。近年来, 基因组编辑等技术逐渐应用到作物突变体等种质创建的研究^[18], 其中尤以 CRISPR-Cas9 技术 (clustered

regulatory interspaced short palindromic repeat/CRISPR associated protein) 受到广泛关注。该技术利用 Cas9 核酸酶以及 RNA 导向的双链 DNA 结合蛋白, 在靶位点对双链 DNA 进行定点切割, 产生 DNA 双链断裂, 由此激活细胞的修复机制, 并导致靶位点 DNA 的缺失、插入、替换甚至染色体片段的重排。研究者已利用 CRISPR-Cas9 技术成功地创建出抗白叶枯病水稻、抗除草剂玉米、加工品质改善的马铃薯等人工作物新材料^[19-20]。

然而, 水稻突变体库由于受体背景比较有限, 不能涵盖水稻种质资源的所有基因及其自然发生的等位变异, 另外, 许多重要农艺性状是受微效多基因控制的复杂性状, 突变体往往由于涉及的数量性状表型不明显, 不能代替其他遗传群体对复杂性状开展遗传基础研究。因此, 研究者通过杂交或回交等方法创建了大批遗传群体或新材料, 如重组自交系 (recombinant inbred lines, RIL)、高代回交导入系 (advanced backcross introgression lines, ABIL)、近等基因系 (near-isogenic lines, NIL)、染色体片段代换系 (chromosome segment substitution lines, CSSL)、多亲本高代互交系 (multi-parent advanced generation intercross, MAGIC) 以及巢式关联作图群体 (nested association mapping, NAM) 等。ABIL、NIL 和 CSSL 的每个品系材料只带有少数来源于供体亲本的染色体片段 (或基因), 其遗传背景与优良的受体遗传背景高度相似, 这些特性增强了其检测微效基因的能力, 有利于评价基因的遗传效应以及优异基因在遗传改良中的快速应用^[21]。而 RIL、NAM 和 MAGIC 等遗传群体由于多次的杂交或自交增加了基因重组频率和基因型多样性, 且能消除自然群体中遗传结构的影响, 有助于提高稀有等位基因的检测能力^[22]。目前, 国内外许多研究单位已创建了大量的遗传群体, 如 ABIL、CSSL、NAM 以及 MAGIC 等^[21-23]。这些创新群体极大地促进了大规模鉴定和发掘功能基因以及利用有利基因改良水稻重要性状等研究工作。它们与自然种质资源和突变体库可以相互补充, 组成水稻功能基因组研究和遗传改良重要性状的最重要的资源平台 (图 1)。

2 全基因组检测水稻性状位点

按照利用的种质资源类型不同, 目前可将基因定位的方法分为: 基于自然群体的关联作图、基于连锁群体的图位克隆、基于突变体的遗传分析以及比较基因组学等方法^[24]。丰富的水稻种质资源以及

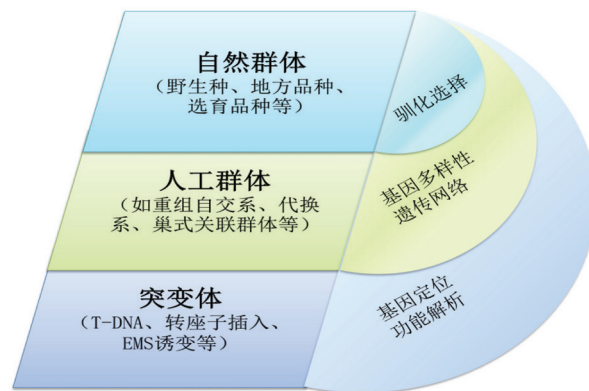


图1 利用不同水稻种质资源定位基因、剖析基因多样性与生物学功能

高通量的基因组测序技术等的发展为利用水稻自然资源群体进行全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 奠定了良好的基础。

关联分析是利用自然群体的历史重组事件和连锁不平衡进行遗传位点和表型变异的关联。连锁不平衡一般指由于不同位点上的非等位基因之间呈非随机关联的状况, 它与基因的重组事件和进化密切相关。自然或人工选择会增加连锁不平衡的程度。双亲本群体遗传连锁分析只能检测 1 对等位基因的变异, 相对而言, 关联分析能够检测自然种质资源中同一位点上多个等位基因的变异。近年来, 研究者利用水稻种质资源对农艺性状、抗逆性、抗病性以及营养成分或代谢组开展了卓有成效的全基因组关联分析^[25]。例如, Huang 等^[9]利用 517 份籼稻地方品种基因组重测序数据, 对 14 个农艺性状进行基因组关联分析, 检测到 37 个显著关联位点。他们进一步把材料扩大到包括籼稻和粳稻的 950 份种质资源, 对开花期和籽粒相关性状进行 GWAS 分析, 检测到 32 个新的关联位点, 并通过芯片表达谱和序列变异信息分析, 在关联区域共获得 18 个候选基因。同样, 华中农业大学水稻团队利用 533 份水稻核心种质的全基因组低覆盖度测序获得的 SNP 开展重要农艺性状以及叶片代谢组等关联分析, 定位了数百个控制代谢物含量变异以及重要农艺性状等的位点^[26-27]。当然, 由于所用水稻种质群体存在遗传结构的异质性 (例如, 栽培稻可分为籼、粳两个亚群), 某个亚群只含有某些特异的等位基因或者其等位基因出现频率较低, 导致 GWAS 对稀有等位基因的检测能力较差以及产生假阳性等问题。为了解决这个问题, 研究者往往采用

以下几种方式。一是将种质资源分不同亚群进行独立的 GWAS 分析来发现稀有等位基因。二是构建双亲或多亲的遗传作图群体如 CSSL、MAGIC 或 NAM 等, 检测微效基因并验证 GWAS 定位的优异等位基因的效应^[12,23]。更重要的是, 通过突变体、基因的干扰或沉默、遗传互补等实验, 明确关联点上的基因变异与功能变化。整体来看, 联合利用自然群体、突变体和其他创新遗传群体, 鉴定遗传位点、精细定位基因、剖析基因变异与功能多样性关系(图 1), 已成为解析水稻复杂性状的遗传基础和开展功能基因组研究的有效策略。

3 基因多样性与功能差异

基因多样性是指种质资源中存在的基因结构变异和功能差异。目前, 研究者已定位了大量控制水稻重要农艺性状的数量性状位点, 且分离克隆到一些如产量、品质、抗病性以及抗逆性等性状的重要基因^[28](<http://www.gramene.org/>)。从已克隆的基因来看, 基因的不同区域, 如启动区、调控区或非编码区的序列变异引起的转录(表达)水平的差异, 或者基因编码区的序列变异引起的编码氨基酸的缺失等改变, 均会导致基因功能的获得或丧失等变化。例如, 对一个调控穗枝梗数的基因 *APO1* (aberrant panicle organization 1) 的分析表明^[29-30], 该基因的不同区域可以调控不同的表型, 编码区和靠近编码区的一段启动子区只影响一次枝梗数, 而不影响穗粒数, 远端的启动子区则调控微管束形成、影响产量和收获指数; 超表达该基因可以形成更多的大微管束并提高产量。*GS3* 是控制水稻粒长的一个主效基因, 编码一个跨膜蛋白, 含有 4 个结构域, 分别是器官大小调控区 (organ size regulation, OSR)、PEBP (phosphatidylethanolamine-binding protein)-like 结构域, TNFR (tumor necrosis factor receptor)/NGFR (nerve growth factor receptor) 富含半胱氨酸结构域和 VWFC (Von Willebrand factor type C) 结构域。OSR 区上的碱基 C 到 A 的突变导致功能丧失, 使粒形显著变长。OSR 区为粒长的负调控因子, 而 TNFR/NGFR 和 VWFC 区则抑制 OSR 的负调作用^[31]。利用水稻核心种质对 *GS3* 单倍型分析显示, 该基因至少存在 4 种等位基因, 且南方野生稻还携带一种特异的等位变异^[32]。水稻自然种质资源中许多基因均存在着类似的大量等位变异及功能差异^[33], 发掘其中有利等位基因可以改良水稻的产量、品质、抗性等重要性状。Xue 等^[34] 分离克隆到一个控制穗

粒数、抽穗期和株高的多效基因 *Ghd7*, 对栽培稻品种中 *Ghd7* 测序分析发现, *Ghd7* 至少存在 9 种等位基因, 既有缺失或无功能的等位基因, 也有表达差异的功能等位基因, 不同等位基因的感光性差别很大, 在地理分布上具有鲜明的特点。*BADH2* (betaine aldehyde dehydrogenase) 是控制水稻香味的一个主要基因, 编码甜菜碱醛脱氢酶, 能分解 2-乙酰-1-吡咯啉 (2AP) 的前体物。该基因的突变会导致 2AP 的积累, 产生香味。研究发现, 该基因在自然资源中存在 10 种等位基因^[35], 有功能的野生型等位基因不产生香味, 而存在于 Basimati 和 Jasmine 香稻品种的主要等位基因 *badh2.1* 是一种功能缺失型, 可产生浓郁的香味。2016 年, 研究者对来自 12 个国家主产稻区 467 份品种中的抗稻瘟病基因 *Pib* 开展了基因多样性分析, 发现 25 个新的等位基因, 其中 14 个等位基因具有明显的地域特异性^[36]。研究结果为利用抗病基因多样性合理布局水稻品种、保持水稻抗病的持久性提供了重要的实践指导。因此, 充分发掘种质资源中的基因变异以及具有育种价值的优异等位基因, 对水稻分子设计育种实践十分重要。

在野生稻到栽培稻的驯化过程中, 基因发生了大量丢失^[37]; 而且在现代作物育种过程中, 品种的遗传异质性也有一定程度的下降。大多数选育品种往往集中利用少数优良骨干亲本, 其有利等位基因大多已近固定, 导致新育成品种的遗传背景较单一, 品种同质化严重。野生近缘种和地方品种在长期适应环境变化的过程中形成并积累了丰富的遗传多样性, 特别是对非生物或生物胁迫的适应性^[38]。因此, 研究者创建大量野生种和地方品种来源的 ABL、NIL 和 CSSL 等遗传群体, 发掘利用野生种质或地方品种中的优异等位基因^[23,39], 为解决以上问题提供了一条重要的途径。

4 基因组多样性与驯化选择

随着基因组测序以及高通量基因分型技术的发展, 利用大量水稻种质资源(野生稻、地方品种、选育品种等)分析水稻基因组多样性已成为可能。由于在强烈的自然或人为选择压力下, 许多重要性状的有利基因会在种群中快速固定, 导致该基因及其附近连锁区段上的遗传多样性极度降低(即所谓的选择清除)。通过栽培稻与野生种的基因组变异的比较, 可以发现一些遗传多样性显著降低的基因组区域或位点, 这些位点可能与驯化相关。通过比较现代选育品种与地方品种的基因组变异, 可以鉴

定出基因频率显著改变的受育种选择的位点(图2)。据此,可以利用群体遗传学等方法分析不同水稻种

质群体的基因组多样性,寻找驯化或受选择位点,从而鉴定重要性状基因。

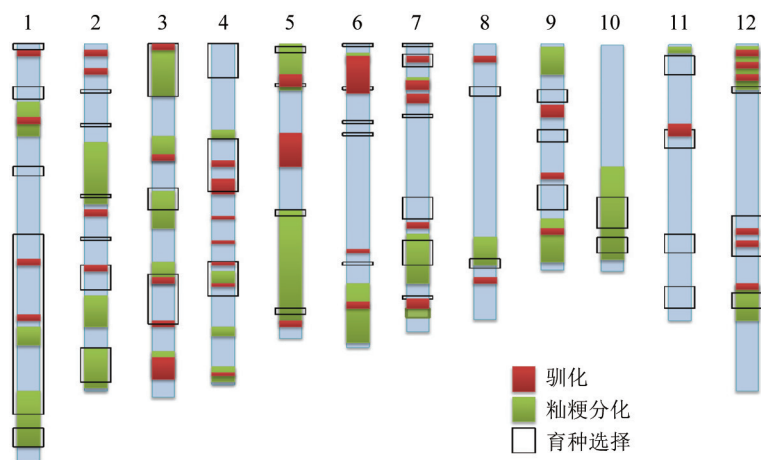


图2 水稻全基因组多样性分析显示驯化选择和籼粳分化的区域^[9,10,40]

最近,野生稻和栽培稻基因组的核苷酸多样性水平的许多研究表明,水稻基因组存在大量的选择清除基因组区域以及驯化位点^[9,40],这些位点包括已知的驯化基因如匍匐基因 *PROG1*、落粒基因 *sh4* 等^[41-43]。值得提出的是,对20份非洲栽培稻和94份野生稻 (*O. barthii*) 群体的基因组学分析表明,亚洲栽培稻和非洲栽培稻可能具有独立而平行的起源演化途径,非洲稻是从尼罗河流域某个地方驯化而来的^[44]。

比较籼粳亚种的基因组多样性同样发现,许多基因或区域在亚种间分化明显^[9]。这些区域可能与籼粳亚种的生殖隔离和生态适应性相关。而且通过籼稻品种间基因组多样性的研究,发现了大量与现代育种选择相关的基因区域。例如, Xie 等^[10] 基于高质量的 SNP 数据鉴别出籼稻内存在两大主要的亚群 *indI* 和 *indII*, 发现这两个亚群具有不同的地理起源,鉴定到亚群间受到选择的200个基因组区域或“育种印迹”。这些区域包括了与产量、株型、抗性以及营养吸收等重要农艺性状相关的已知功能基因和大量功能未知的基因(图2)。如“绿色革命”半矮秆基因 *sd-1* 在水稻中存在多个等位基因^[33], 该基因及其附近区域在籼稻亚群或者粳稻群体中的序列多态性均明显偏低,表明该驯化选择基因在籼粳中分别受到了独立的人工选择^[10,45]。

利用重测序和水稻 60K 芯片技术分析优良水稻品种“黄华占”的21份系谱品种及其衍生的96

个育种品系的全基因组基因型^[46],通过系谱信息溯源分析鉴定出黄华占选育过程中存在一些重要的选择区域或育种保守区段,与产量、株型、品质、抗性相关的众多功能基因关联。综合而言,通过不同层次的水稻种质基因组多样性分析,可以发现许多控制株型、粒型、产量等重要性状的基因受到了较强的驯化或选择压力。

5 展望

自从模式植物拟南芥和水稻等参考基因组发表以来,目前已有超过100种植物基因组完成了测序工作^[47]。我国及国际研究机构还开展了大量水稻种质资源的基因组重测序分析^[13,48]。结果显示,不同水稻种质群体基因组含有大量的单核苷酸多态性、插入或缺失等结构变异,而且存在着种群特异甚至品系独有的基因或核苷酸序列,即有些基因或序列只在一个或者少数品系中存在,在目前少数的参考基因组中无法体现^[49],表明单一或少数品种的参考基因组的所有基因数不足以代表整个稻种的遗传多样性或基因组多样性。为了更好地了解水稻基因组多样性,阐明所有基因变异与功能差异的关系,有必要开展包括不同来源的近缘野生种、地方品种和育成品种等种质资源的基因组深度测序或重测序,建立更多高质量的水稻参考基因组,组装物种的泛基因组(pan-genome)。

同时,利用现有种质资源的基因多样性和群体

遗传结构的信息, 调整或优化水稻核心种质, 并根据不同的目的用途, 重构水稻核心种质。对同一套核心种质开展多环境的系统鉴定和性状评价。除此之外, 全面开展组织、器官、细胞和分子水平等不同层次的自然变异鉴定以及转录组、代谢组或表观组等研究。利用高通量表型检测平台对核心种质的重要农艺性状进行精细测量, 结合基因组关联分析等手段发掘更有价值的新基因或位点^[50]。搭建核心种质多组学数据库和信息共享平台, 整合核心种质群体的基因组学、表型组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学以及表观基因组学信息, 帮助科学家展开水稻基因组多样性和功能基因组的全面注释, 建立基因的调控网络系统, 最终阐明水稻基因组所有基因的功能^[51]。

预期到 2050 年, 全球人口将达到 90 亿, 需要增加 70% 的粮食产量才能满足这种快速的人口增长, 农业生产与资源环境的矛盾将会更加突出。尤其是在当前水土资源有限以及自然灾害和生物灾害频发等日益严峻的形势下, 迫切需要加快转变当前的农业生产方式, 形成“资源节约型、环境友好型”的农业生产体系^[52]。由于水稻在粮食生产中占有举足轻重的地位, 我国科学家提出了发展“绿色超级稻”的理念, 要求水稻新品种同时兼顾抗病虫、节水抗旱、抗逆、养分高效利用和高产优质等特性, 在水稻生产中率先实现“少打农药、少施化肥、节水抗旱、优质高产”的战略目标。为此, 水稻种质资源基因组学研究近期建议开展以下几方面的主要工作。通过核心种质和骨干品种基因组的深度测序, 系统开展种质资源基因组多样性研究。建立高效的种质资源鉴定体系, 完善水稻种质资源信息平台。联合利用不同种质资源群体, 规模化地发掘产量、品质、抗病虫、抗逆、营养高效等重要基因, 明确其基因变异、功能变化以及网络调控特征。利用功能基因组学技术及基因组编辑技术等建立种质创新技术体系及资源利用新策略, 加快有利基因的发掘与利用, 为作物分子设计育种以及绿色超级稻培育提供更多的功能基因。

[参 考 文 献]

- [1] Jacquemin J, Bhatia D, Singh K, et al. The international *Oryza* map alignment project: Development of a genus-wide comparative genomics platform to help solve the 9 billion-people question. *Cur Opin Plant Biol*, 2013, 16: 147-56
- [2] Jackson MT. Conservation of rice genetic resources: the role of the International Rice Genebank at IRRI. *Plant Mol Biol*, 1997, 35: 61-7
- [3] 黎裕, 李英慧, 杨庆文, 等. 基于基因组学的作物种质资源研究: 现状与展望. *中国农业科学*, 2015, 48: 3333-53
- [4] Brown AHD. Core collections: A practical approach to genetic resources management. *Genome*, 1989, 31: 818-24
- [5] Zhang HL, Zhang DL, Wang MX, et al. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China. *Theor Appl Genet*, 2011, 122: 49-61
- [6] 李自超. 中国稻种资源及其核心种质研究与利用[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2013
- [7] Chen HD, Xie WB, He H, et al. A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Mol Plant*, 2014, 7: 541-53
- [8] Zhang JW, 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 [Epub ahead of print]
- [9] Huang XH, Zhao Y, Wei XH, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nat Genet*, 2011, 44: 32-9
- [10] Xie WB, Wang GW, Yuan M, et al. Breeding signatures of rice improvement revealed by a genomic variation map from a large germplasm collection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: E5411-9
- [11] Lu Q, Zhang MC, Niu XJ, et al. Genetic variation and association mapping for 12 agronomic traits in indica rice. *BMC Genomics*, 2015, 16: 1067
- [12] McCouch S, Wright M, Tung C, et al. Open access resources for genome-wide association mapping in rice. *Nat Commun*, 2016, 7: 10532
- [13] Li JY, Wang J, Zeigler RS. The 3,000 rice genomes project: new opportunities and challenges for future rice research. *Gigascience*, 2014, 3: 8
- [14] 肖景华, 吴昌银, 韩斌, 等. 中国水稻功能基因组研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2009, 39: 909-24
- [15] Jiang YH, Cai ZC, Xie WB, et al. Rice functional genomics research: progress and implications for crop genetic improvement. *Biotech Adv*, 2012, 30: 1059-70
- [16] Till BJ, Reynolds SH, Greene EA, et al. Large-scale discovery of induced point mutations with high-throughput TILLING. *Genome Res*, 2003, 13: 524-30
- [17] Abe A, Kosugi S, Yoshida K, et al. Genome sequencing reveals agronomically important loci in rice using MutMap. *Nat Biotech*, 2012, 30: 174-9
- [18] Liu WS, Yuan JS, Stewart CN Jr. Advanced genetic tools for plant biotechnology. *Nat Genet*, 2013, 14: 781-93
- [19] Shan QW, Wang YP, Li J, et al. Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. *Nat Biotechnol*, 2013, 7: 686-8
- [20] 严芳, 周焕斌. CRISPR/Cas9 技术在植物基因功能研究和新种质创制中的应用与展望. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 498-513
- [21] Bandillo N, Raghavan C, Muyco PA, et al. Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in

- rice: progress and potential for genetics research and breeding. *Rice*, 2013, 6: 11
- [22] Huang B, Verbyla K, Verbyla A, et al. MAGIC populations in crops: current status and future prospects. *Theor Appl Genet*, 2015, 128: 999-1017
- [23] Ali ML, Sanchez PL, Yu SB, et al. Chromosome segment substitution lines: A powerful tool for the introgression of valuable genes from *Oryza* wild species into cultivated rice (*O. sativa*). *Rice*, 2010, 3: 218-34
- [24] Williams EG, Auwerx J. The convergence of systems and reductionist approaches in complex trait analysis. *Cell*, 2015, 162: 23-32
- [25] Huang XH, Han B. Natural variations and genome-wide association studies in crop plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, 65: 531-51
- [26] Chen W, Gao YQ, Xie WB, et al. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism. *Nat Genet*, 2014, 46: 714-21
- [27] Wang QX, Xie WB, Xing HK, et al. Genetic architecture of natural variation in rice chlorophyll content revealed by a genome-wide association study. *Mol Plant*, 2015, 8: 946-57
- [28] Xing YZ, Zhang Q. Genetic and molecular bases of rice yield. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 421-42
- [29] Ikeda K, Ito M, Nagasawa N, et al. Rice *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1*, encoding an F-box protein, regulates meristem fate. *Plant J*, 2007, 51: 1030-40
- [30] Terao T, Nagata K, Morino K, et al. A gene controlling the number of primary rachis branches also controls the vascular bundle formation and hence is responsible to increase the harvest index and grain yield in rice. *Theor Appl Genet*, 2010, 120: 875-93
- [31] Mao HL, Sun SY, Yao JL, 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: 19579-84
- [32] Wang CR, Chen S, Yu SB. Functional markers developed from multiple loci in *GS3* for fine marker-assisted selection of grain length in rice. *Theor Appl Genet*, 2011, 122: 905-13
- [33] 余四斌. 水稻重要性状的等位基因研究进展. *分子植物育种*, 2010, 8: 1059-67
- [34] 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
- [35] Kovach MJ, Calingacion MN, Fitzgerald MA, et al. The origin and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.). *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 14444-9
- [36] Vasudevan K, Vera Cruz CM, Gruissem W, et al. Geographically distinct and domain-specific sequence variations in the alleles of rice blast resistance gene *Pib*. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 915
- [37] Dwivedi S, Ceccarelli S, Blair M, et al. Landrace germplasm for improving yield and abiotic stress adaptation. *Trends Plant Sci*, 2016, 21: 31-42
- [38] Tanksley SD, McCouch SR. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 1997, 277: 1063-6
- [39] Ma X, Fu YC, Zhao XH, et al. Genomic structure analysis of a set of *Oryza nivara* introgression lines and identification of yield-associated QTLs using whole-genome resequencing. *Sci Rep*, 2016, 6: 27425
- [40] Xu X, Liu X, Ge S, et al. Resequencing 50 accessions of cultivated and wild rice yields markers for identifying agronomically important genes. *Nat Biotechnol*, 2012, 30: 105-11
- [41] Li CB, Zhou AL, Sang T. Rice domestication by reducing shattering. *Science*, 2006, 311: 1936-9
- [42] Jin J, Huang W, Gao JP, et al. Genetic control of rice plant architecture under domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1365-9
- [43] Tan LB, Li XR, Liu FX, et al. Control of a key transition from prostrate to erect growth in rice domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1360-4
- [44] Wang MH, Yu Y, Haberer G, et al. The genome sequence of African rice (*Oryza glaberrima*) and evidence for independent domestication. *Nat Genet*, 2014, 46: 982-8
- [45] Asano K, Yamasaki M, Takuno S, et al. Artificial selection for a green revolution gene during japonica rice domestication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 11034-9
- [46] Zhou DG, Chen W, Lin ZC, et al. Pedigree-based analysis of derivation of genome segments of an elite rice reveals key regions during its breeding. *Plant Biotechnol J*, 2016, 14: 638-48
- [47] Michael T, VanBuren R. Progress, challenges and the future of crop genomes. *Curr Opin Plant Biol*, 2015, 24: 71-81
- [48] The 3000 rice genomes project. *Gigascience*, 2014, 3: 7
- [49] Yao W, Li GW, Zhao H, et al. Exploring the rice dispensable genome using a metagenome-like assembly strategy. *Genome Biol*, 2015, 16: 187
- [50] Yang WN, Guo ZL, Huang CL, et al. Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 5087
- [51] Zhang Q, Li JY, Xue YB, et al. Rice 2020: A call for an international coordinated effort in rice functional genomics. *Mol Plant*, 2008, 1: 715-9
- [52] 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