

杂交粳稻花优 14 及其亲本孕穗期剑叶的基因表达谱芯片分析

储黄伟¹, 牛付安¹, 程灿¹, 周继华¹, 王新其¹, 罗小金², 袁勤¹, 曹黎明¹

1. 上海市农业科学院, 作物育种栽培研究所, 上海 201403;

2. 复旦大学生命科学学院, 上海 200433

摘要: 本文以孕穗期的杂交粳稻花优 14 及其母本申 9A 和父本繁 14 的剑叶为材料, 利用 Affymetrix 水稻基因组芯片检测了 3 个样品中的基因表达谱, 并用生物信息学方法对差异表达基因进行了分析。结果表明: 与其亲本相比, 杂交粳稻花优 14 中共有 2057 个基因的表达水平出现了 2 倍(变化倍数 ≥ 2 或 ≤ 0.5)以上的变化。通过对这些差异表达基因进行 GO(Gene Ontology)功能分类, 发现差异表达基因在光合系统 I、叶绿体膜和叶绿体被膜等与叶绿体相关的细胞组分中显著富集; 同时差异表达基因还在叶绿素合成、叶绿素代谢和类胡萝卜素合成等生物学过程中富集。光合作用效率的改变可能和花优 14 杂种优势的形成相关。与已报道结果不同, 本文在代谢途径分析结果中并没有发现花优 14 中差异表达基因在碳固定和光合作用等途径中显著的富集, 但是发现差异表达基因在光合作用-天线蛋白以及淀粉和蔗糖的代谢途径中显著富集。该结果表明, 在不同的杂交组合中, 参与杂种优势形成的基因或者代谢途径可能是不同的。

关键词: 水稻; 杂交粳稻; 杂种优势; 基因芯片; 光合作用

Gene expression profiling of flag leaves at the booting stage in the japonica hybrid rice Huayou14 and its parental lines by microarray

Huangwei Chu¹, Fuan Niu¹, Can Cheng¹, Jihua Zhou¹, Xinqi Wang¹, Xiaojin Luo²,
Qin Yuan¹, Liming Cao¹

1. Institute of Crop Breeding and Cultivation, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China;

2. School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China

Abstract: Gene expression profiling using microarray has contributed significantly to heterosis studies. Using the Affymetrix rice genome array, we investigated gene expression profiles in the flag leaves of the japonica hybrid rice Huayou14 and its parental cultivars Shen9A and Fan14 at the booting stage. A total of 2057 genes differentially expressed (fold change ≥ 2 or ≤ 0.5) between Huayou14 and its parents were identified. Functional classification of

收稿日期: 2015-03-03; 修回日期: 2015-07-29

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(编号: 沪农科攻字(2014)第 7-1-2 号和沪农科攻字(2013)第 1-3 号)和上海市科委农业科技攻关项目(编号: 14395810601)资助

作者简介: 储黄伟, 博士, 助理研究员, 研究方向: 植物分子生物学。E-mail: chuhuangwei@saas.sh.cn

通讯作者: 曹黎明, 研究员, 研究方向: 水稻杂种优势利用。E-mail: clm079@163.com

袁勤, 研究员, 研究方向: 水稻杂种优势利用。E-mail: zw3@saas.sh.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.15-094

网络出版时间: 2015-8-10 13:08:40

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150810.1308.002.html>

the differentially expressed genes by Gene Ontology (GO) analysis indicated the differentially expressed genes were significantly enriched in photosynthesis-related cellular component categories (e.g. photosystem I, chloroplast membrane and chloroplast envelope), and biological process categories (e.g. chlorophyll catabolic, chlorophyll biosynthetic and carotenoid biosynthetic processes). These results suggest that the changes in the photosynthetic ability of the *japonica* hybrid rice Huayou14 may be related to heterosis. Metabolic pathway analysis indicated that differentially expressed genes were significantly enriched in photosynthesis-antenna proteins and starch and sucrose metabolic pathways, instead of photosynthesis and carbon fixation pathways as reported previously. These results suggest that different genes or metabolic pathways might contribute to the heterosis of different hybrid combinations.

Keywords: rice; *japonica* hybrid rice; heterosis; microarray; photosynthesis

杂种优势(Heterosis)是指杂交 F_1 代在生长、发育和繁殖等各个方面的表现优于两个亲本的现象^[1]。对杂种优势的研究已经有上百年的历史^[2]。传统的遗传学研究提出了“显性假说”^[3,4]、“超显性假说”^[1,5]和“上位性假说”^[6]等几种理论来解释这一现象。然而这几种假说并没有从分子水平解释杂种优势产生的机理,它们之间虽然不相互排斥,但是并不能概括所有的杂种优势的现象^[7]。数量遗传学分析表明,杂种优势的产生可能是由许多遗传位点共同作用产生的^[8]。随着功能基因组学的兴起和发展,全基因组水平的基因表达谱分析日渐成为研究杂种优势分子机理的一种手段。通过比较水稻(*Oryza sativa*)^[9~15]、玉米(*Zea mays*)^[16~18]和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[19]等杂种后代和亲本之间的基因表达谱的差异,发现在杂种后代中许多基因的表达水平出现了差异。目前,学术界普遍认为杂种优势是由于杂交后代和其亲本之间差异表达基因的综合作用引起的^[20]。

水稻的杂交育种是杂种优势在农业生产中成功应用的一个典型例子。中国从 1964 年开始研究杂交水稻,1973 年取得了突破性的进展,到 1976 年开始大面积的推广,目前杂交水稻的种植面积达到 1.67×10^7 公顷,占全国水稻种植面积的 57%^[21]。杂交水稻的推广应用为水稻产量的提高做出了重要贡献^[22]。近年来,科学家们利用基因表达谱分析方法比较了粳型杂交稻两优培 9^[9~12,15]、两优 2186^[13,15]、两优 2163^[15]和粳型杂交稻协优 9308^[14]等超级杂交稻与其亲本之间差异表达基因。对差异表达基因的 GO 功能分类发现,许多差异表达的基因与碳水化合物代谢^[14,15]和能量代谢有关^[15]。代谢途径分析还发现,杂交水稻中差异表达基因在碳固定^[13,15]和光合作用^[13]等代谢途径中显著的富集。

目前,对水稻中杂种优势的研究主要以杂交粳稻或粳粳杂交稻为材料,而对于杂交粳稻杂种优势形成的机理研究还未见报道。花优 14 是上海市农业科学院选育的一种优质高产的三系杂交粳稻,具有优良的米质和抗性^[23]。2014 年在上海及周边地区种植大约 25 万亩。本研究利用水稻基因组芯片分析了杂交粳稻花优 14 及其母本申 9A 和父本繁 14 在孕穗期剑叶中基因表达谱的差异,结合生物信息学方法分析花优 14 中差异表达基因所参与的生物学过程和代谢途径,探讨了花优 14 杂种优势形成的机理。

1 材料和方法

1.1 材料

以三系杂交粳稻花优 14 及其两个亲本申 9A(不育系)和繁 14(恢复系)作为试验材料,种植在上海市农业科学院试验田。在孕穗期,每个品种选生长整齐一致的 10 个植株,取主分蘖的剑叶,液氮速冻后在 -80°C 条件下保存,用于基因芯片分析。

1.2 基因芯片杂交分析

采用 TRIZOL 试剂(Cat#15596-018, Life technologies)进行样品的总 RNA 抽提。RNA 经 Agilent Bioanalyzer 2100(Agilent technologies)电泳质检合格后使用 RNeasy micro 试剂盒(Cat#74004, QIAGEN)和 DNA 酶(Cat#79254, QIAGEN)纯化总 RNA。对总 RNA 中的 mRNA 进行放大、标记和纯化,获得带有生物素标记的 cRNA。然后按照 Affymetrix 表达谱芯片的标准流程与 Affymetrix 水稻基因组芯片进行杂交和洗涤。最后芯片结果采用 GeneChip® Scanner 3000(Cat#00-00212, Affymetrix)进行扫描,用 Command Console Software 3.1 (Affymetrix)读取原始数

据, 质控合格的数据采用 Gene Spring 11.0 (Agilent technologies) 进行归一化处理。

1.3 GO(Gene Ontology)功能分类和代谢途径分析

GO 注释从 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、UniProt(<http://www.uniprot.org/>)和 GO(<http://www.geneontology.org/>)等网站下载。用费雪尔正确性检验 (Fisher's exact test) 差异表达基因在 GO 分类中是否显著的富集^[24]。

利用 KEGG(Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 数据库对差异表达基因进行代谢途径的分析, 各个通路中基因富集的显著程度以 $P < 0.05$ 为标准评估^[25]。

1.4 荧光定量 PCR 验证表达谱芯片的检测结果

为验证基因表达谱芯片结果的可靠性, 本文选择 7 个差异表达的基因, 以 *ACTIN* 基因为参照基因, 采用荧光定量 PCR 的方法检测花优 14 与其亲本申 9A 和繁 14 孕穗期剑叶中的基因表达量。荧光定量 PCR 引物采用网站(<http://www.quantprime.de/>)提供的方法设计^[26]。

取每个样品 RNA 1 μg , 用 DNA 酶(Cat#79254, QIAGEN)去除基因组 DNA。然后用反转录试剂盒 (Cat#K1622, Thermo) 合成 cDNA; 最后在荧光定量 PCR 仪(Quant Studio 6 Flex, ABI)上进行检测。反应体系 20 μL , 包括: SYBR qPCR Mix(Cat#KR0389, KAPA) 10 μL , 上下游引物(5 $\mu\text{mol/L}$)各 0.8 μL , cDNA (20 倍稀释) 1 μL , 50 \times ROX High 0.4 μL , 超纯水 7 μL 。扩增程序为: 95 30 s; 95 5 s, 60 45 s, 40 个循环。每个样品进行 3 个重复, 所得结果用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算目的基因的相对表达量。最后用 SPSS20.0(IBM)软件分析荧光定量 PCR 结果和基因芯片结果的相关性。

2 结果与分析

2.1 杂交粳稻花优 14 及其亲本中差异表达基因分析

本研究采用 Affymetrix 水稻基因组芯片包含 57 258 个原位合成的探针组, 覆盖水稻约 51 279 个转录本, 代表大约 48 564 个粳稻转录本和 1260 个籼稻的转录本。基因芯片数据经过归一化处理后发现, 分别有 27 282、27 464 和 27 384 个探针组在杂交粳稻花优 14, 母本申 9A 和父本繁 14 中检测到了

表达信号。综合 3 张芯片的结果, 总共有 31 403 个探针组至少在一个品种中能检测到表达信号, 在这些能够检测到表达信号的探针组中, 共有 23 908 个探针组在 3 个品种中都有表达信号(图 1A)。

将杂交粳稻花优 14 中这些探针组的信号与其亲本中探针组的信号比较, 总共发现了有 2 473 个探针组的信号在花优 14 和其亲本之间出现了 2 倍(变化倍数 2 或 0.5)以上的差异。这些能在花优 14 和其亲本中检测到差异表达信号的探针组, 可分为 3 类: (1) 探针没有对应的已注释基因; (2) 一个探针组对应 2 个或 2 个以上的基因; (3) 一个探针组对应一个基因。我们将前 2 类探针组删除, 保留第 3 类探针组。在第 3 类探针组中, 还可以发现多个探针组对应同一个基因的情况, 在统计差异表达基因的数目时, 将这些重复的数据去掉。最终在我们的基因芯片结果中发现, 花优 14 中共有 2 057 个基因的表达量及其亲本相比, 出现了 2 倍以上的差异(图 1B, 表 1), 其中花优 14 和其母本申 9A 相比 2 倍上调和 2 倍下调的基因分别是 585 个(附表 1)和 682 个(附表 2), 花优 14 和其父本繁 14 相比 2 倍上调和 2 倍下调的基因分别是 566 个(附表 3)和 493 个(附表 4)。

2.2 差异表达基因的细胞组分 GO 功能分类

本文对差异表达的基因进行了细胞组分 GO 功能分类。发现差异基因在 12 类细胞组分(Cellular

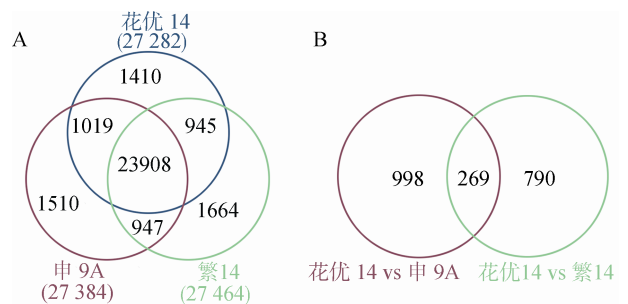


图 1 基因芯片数据的分析

A: 在 3 个样品中, 能检测到表达信号的探针组数目的维恩图; B: 花优 14 和其亲本比较的差异表达基因的维恩图。

表 1 杂交粳稻花优 14 和其亲本差异表达基因分析

数据比较	差异表达的探针组		差异表达的基因	
	2 倍上调	2 倍下调	2 倍上调	2 倍下调
花优 14 vs 申 9A	779	821	585	682
花优 14 vs 繁 14	797	610	566	493

Component)的 GO 分类中极显著的富集($P < 0.01$)。在这 12 类 GO 分类中,有 3 类是和水稻叶绿体相关的(表 2),分别是光合系统 (Photosystem), 叶绿体膜(Chloroplast membrane)和叶绿体被膜(Chloroplast envelope)。此外,本文还发现,虽然没有达到统计学上显著的水平,但是光捕获复合体(Light-harvesting complex),叶绿体类囊体膜(Chloroplast thylakoid membrane), 叶绿体内膜(Chloroplast inner membrane)和光合系统 (Photosystem)等 4 类和叶绿体相关的细胞组分 GO 分类中分别有 4 个($P=0.061$), 34($P=0.066$)个,9($P=0.074$)个和 9($P=0.100$)个差异表达的基因。这些结果表明,杂交粳稻花优 14 的光合作用能力和它的亲本相比可能出现了显著的变化。

2.3 差异表达基因的生物学过程 GO 功能分类

为了解杂交粳稻花优 14 中有哪些生物学过程和它的亲本相比可能出现了变化,本文对差异表达基因进行了生物学过程的 GO 功能分类。分析发现,共有 1460 个差异表达基因可以归类到 1105 个不同生物学过程的 GO 功能分类中,约占所有 2057 个差异表达基因的 71%。其中在 77 个生物学过程中差异基因极显著的富集($P < 0.01$)。与已有的报道相似的是,本文同样发现了差异表达基因在生物钟(Circadian rhythm)^[13,15]、碳水化合物代谢(Carbohydrate metabolic process)^[13,14]和光合作用-光捕获(Photosynthesis-light harvesting)^[14]等生物学过程中显著的富集。此外,还发现差异表达基因在叶绿素分解代

表 3 部分差异基因显著富集($P < 0.01$)的生物学过程 GO 分类

GO ID	GO 名称	差异基因数	P 值
GO:0007623	生物钟	21	0.00018
GO:0005975	碳水化合物代谢过程	94	0.00041
GO:0015996	叶绿素分解代谢过程	13	0.00081
GO:0015995	叶绿素合成过程	18	0.00349
GO:0016117	类胡萝卜素合成过程	17	0.00413
GO:0009765	光合作用-光捕获	5	0.00840

谢(Chlorophyll catabolic process)、叶绿素合成(Chlorophyll biosynthetic process)和类胡萝卜素的合成(Carotenoid biosynthetic process)等生物学过程中显著富集(表 3)。

2.4 差异表达基因的代谢途径(Metabolic pathway) 分析

为了解杂交粳稻花优 14 中有哪些代谢途径发生了改变,我们对差异表达基因进行了代谢途径分析。结果发现差异表达基因在 15 个代谢途径中显著富集($P < 0.05$)。在这 15 个代谢途径中,有 4 个代谢途径(PATH:00902、00903、00904 和 00909)是和核苷类的代谢途径有关的,另有 3 个代谢途径(PATH:00561、00591 和 00592)是和脂类代谢途径相关的。这两大类代谢途径的总和接近所有差异基因显著富集的代谢途径的一半左右。此外,还发现了差异表达基因显著富集的一个能量代谢(PATH:00196,光合作用-天线蛋白)相关的代谢途径和一个碳水化合物代谢(PATH:00500,淀粉和蔗糖代谢途径)相关的代谢途径(表 4)。

2.5 差异表达基因的荧光定量 PCR 验证

为验证基因芯片所筛选的差异表达基因,本文选取了 7 个基因,以 ACTIN 作为参照基因,用荧光定量 PCR 的方法进行了验证。两种方法所得的基因表达差异的趋势基本上一致(图 2)。用 SPSS 软件对两种不同方法获得的基因表达变化倍数的数据进行相关性分析,相关系数为 0.992($P=2.5811E-12$),这表明基因表达谱芯片的检测结果是可靠的。

3 讨 论

在水稻生产中,水稻植株的碳同化能力是和水

表 2 差异基因显著富集($P < 0.01$)的细胞组件 GO 分类

GO ID	GO 名称	差异基因数	P 值
GO:0005576	胞外区	267	1.26E-11
GO:0016023	细胞质膜结合囊	111	6.73E-07
GO:0005623	细胞	207	2.06E-06
GO:0048046	质外体	61	2.25E-05
GO:0005618	细胞壁	96	6.54E-05
GO:0009536	质体	272	0.002204
GO:0031225	锚定的膜组件	24	0.003034
GO:0009522	光合系统 I	9	0.003673
GO:0005811	脂肪颗粒	6	0.005574
GO:0031969	叶绿体膜	15	0.006758
GO:0009941	叶绿体被膜	51	0.007359
GO:0009897	细胞膜外侧	5	0.009685

表 4 差异基因显著富集($P<0.05$)的代谢途径

代谢途径 ID	GO 名称	差异基因数	P 值
PATH:00940	苯丙烷合成途径	42	1.08E-07
PATH:00360	苯丙氨酸代谢途径	31	7.364E-06
PATH:01110	次生代谢物合成途径	128	8.904E-06
PATH:01100	代谢途径	173	0.0003813
PATH:00903	柠檬烯, 蒾烯降解途径	14	0.0058337
PATH:00945	芪类, 二芳基庚醇及姜辣素合成途径	15	0.0114715
PATH:00591	亚油酸代谢途径	5	0.0190179
PATH:00196	光合作用-天线蛋白	4	0.0198857
PATH:00561	亚油脂代谢途径	9	0.0276659
PATH:00902	类单萜合成途径	2	0.0283159
PATH:00592	亚麻酸代谢途径	8	0.0298937
PATH:00480	谷光氨肽代谢途径	14	0.0315455
PATH:00500	淀粉和蔗糖代谢途径	19	0.0355658
PATH:00904	双萜类合成途径	6	0.0363515
PATH:00909	倍半萜和三萜合成途径	4	0.0496239

稻的产量密切相关的^[9]。利用基因表达系列分析 (Serial analysis of gene expression, SAGE)技术比较了超级杂交稻两优培 9 和它的两个亲本(93-11 和 培矮 64s)之间的基因表达谱的差异, 发现了许多与碳的同化相关的基因在杂交后代的叶片和根中的表达水平显著上升^[9,10]。对两优培 9、两优 2163 和两优 2186 等杂交水稻开花和灌浆期剑叶中差异表达基因进行 GO 功能分类后发现, 差异表达基因在许多叶绿体或叶绿体相关的细胞组分 GO 分类中显著的富集^[13,15]。在灌浆时期, 两优 2186、两优培 9 和汕优 63 等 3 个籼型杂交稻剑叶中的光合作用速率分别比它们的亲本的平均值高出 10.4%、11.3%和 11.7%^[13]。在本文对杂交粳稻花优 14 孕穗期的剑叶中差异表达基因的分析中, 同样发现了差异表达基因在光合系统、叶绿体膜和叶绿体被膜等细胞组分 GO 分类中显著富集(表 2)。这一结果说明光合作用能力的增强可能对不同类型的杂交水稻的杂种优势的形成, 具有普遍的意义。

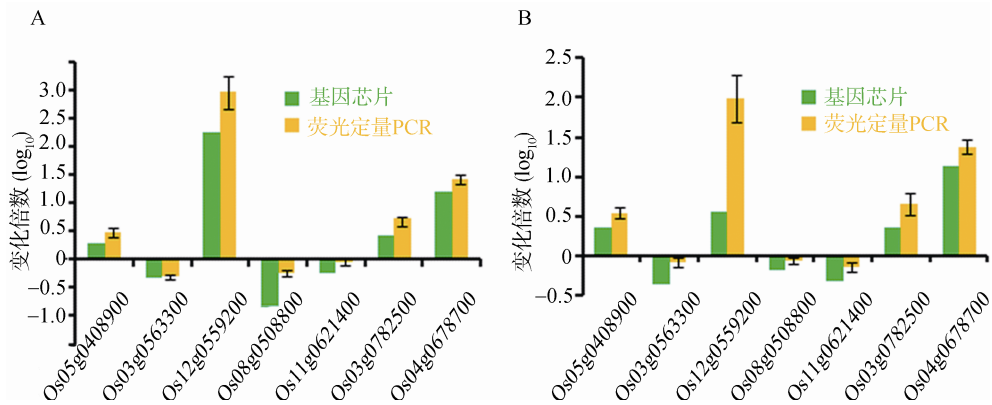


图 2 基因芯片和荧光定量 PCR 检测基因差异表达倍数趋势比较
A: 花优 14 与母本申 9A 比较的基因表达差异; B: 花优 14 与父本繁 14 比较的基因表达差异。

Bao 等^[9]的研究发现,在两优培 9 乳熟期的剑叶中有一些编码叶绿素和类胡萝卜素合成相关酶的基因表达比其亲本中的表达显著升高。叶绿素吸收光能,并将叶绿素离子化是植物进行光合作用的第一步。而类胡萝卜素在植物光合作用中同样具有重要的作用,一方面可以吸收光能用于光合作用,另一方面还可以保护叶绿素不受光氧化的损害^[27]。在本研究结果中发现,杂交粳稻花优 14 孕穗期的剑叶中差异表达的基因在叶绿素合成、叶绿素分解代谢和类胡萝卜素合成等生物学过程的 GO 分类中显著的

富集(表 3)。该结果说明在花优 14 中,由于叶绿素和类胡萝卜素含量改变而引起的光合作用效率的改变,可能是花优 14 杂种优势形成的原因之一。例如,单乙烯基原叶绿素酯 a 在光照和 NADPH 的存在下,由 NADPH:原叶绿素酯氧化还原酶(NADPH:Protochlorophyllide OxidoReductase, POR)的催化形成叶绿素酯 a,这是叶绿素生物合成最关键的需光过程。在水稻中有两个编码 POR 基因,分别为 *OsPORA* 和 *OsPORB*^[28]。本文的基因芯片结果中,花优 14 中编码 *OsPORA* 的基因 *Os04g0678700* 的表达量分别是

其母本申 9A 和父本繁 14 中的表达量的 15.88 倍和 13.89 倍。

Song 等^[13]分析了杂交水稻两优 2186 灌浆期的剑叶中差异表达基因代谢途径的分类, 结果表明差异表达基因在碳固定和光合作用这两个代谢途径中显著富集。最近的研究发现, 在两优 2163、两优 2186 和两优培 9 这 3 个杂交水稻开花和灌浆期的剑叶中, 差异表达基因都在碳固定这一代谢途径中显著富集^[15]。而本文对杂交粳稻花优 14 孕穗期的剑叶中差异表达基因进行代谢途径分类的结果发现, 在碳固定和光合作用这两个代谢途径中, 各只有 4 个差异表达基因, 但都没有达到显著的水平(P 值分别为 0.76 和 0.31)。有趣的是, 在本文的分析结果中发现, 差异表达基因在光合作用-天线蛋白与淀粉和蔗糖代谢这两个代谢途径中显著富集(表 4)。这些结果表明, 在不同的杂交组合中, 参与杂种优势形成的基因或代谢途径是有差异的。这些参与杂种优势形成的基因或代谢途径的差异, 可能是最终形成不同杂交组合性状差异的原因。

本研究在全基因组水平上对杂交粳稻花优 14 杂种优势形成的分子机制进行了初步探索。通过基因芯片数据的分析, 发现在孕穗期的剑叶中花优 14 和其亲本相比, 共有 2057 个基因的表达量出现了 2 倍以上的变化。通过对这些差异表达基因进行 GO 功能分类发现, 差异表达基因在一些和叶绿体相关的细胞组分 GO 分类中显著富集, 同时也在叶绿素合成代谢、类胡萝卜素合成等生物学过程的 GO 分类中富集。这些结果表明, 光合作用效率的改变, 可能在花优 14 杂种优势的形成中起到重要的作用。后续更深入的生理和生化分析可能会更进一步支持这一结果。

附录: 附表 1~4 见文章电子版(www.China-gene.cn)。

参考文献

- [1] Shull GH. The composition of a field of maize. *J Hered*, 1908, 4(1): 296–301. [DOI]
- [2] 许晨璐, 孙晓梅, 张守攻. 基因差异表达与杂种优势形成机制探讨. *遗传*, 2013, 35(6): 714–726. [DOI]
- [3] Davenport CB. Degeneration, albinism and inbreeding. *Science*, 1908, 28(718): 454–455. [DOI]
- [4] Bruce AB. The mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor. *Science*, 1910, 32(827): 627–628. [DOI]
- [5] East EM. Inbreeding in corn. *Connecticut Agric Exp Sta Rep*, 1908, 1907: 419–428. [DOI]
- [6] Yu SB, Li JX, Xu CG, Tan YF, Gao YJ, Li XH, Zhang QF, Saghai Maroof MA. Importance of epistasis as the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(17): 9226–9231. [DOI]
- [7] Hochholdinger F, Hoecker N. Towards the molecular basis of heterosis. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(9): 427–432. [DOI]
- [8] Schnable PS, Springer NM. Progress toward understanding heterosis in crop plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 71–88. [DOI]
- [9] Bao JY, Lee S, Chen C, Zhang XQ, Zhang Y, Liu SQ, Clark T, Wang J, Cao ML, Yang HM, Wang SM, Yu J. Serial analysis of gene expression study of a hybrid rice strain (*LYP9*) and its parental cultivars. *Plant Physiol*, 2005, 138(3): 1216–1231. [DOI]
- [10] Song SH, Qu HZ, Chen C, Hu SN, Yu J. Differential gene expression in an elite hybrid rice cultivar (*Oryza sativa* L.) and its parental lines based on SAGE data. *BMC Plant Biol*, 2007, 7: 49. [DOI]
- [11] Ge XM, Chen WH, Song SH, Wang WW, Hu SN, Yu J. Transcriptomic profiling of mature embryo from an elite super-hybrid rice *LYP9* and its parental lines. *BMC Plant Biol*, 2008, 8: 114. [DOI]
- [12] Wei G, Tao Y, Liu GZ, Chen C, Luo RY, Xia HA, Gan Q, Zeng HP, Lu ZK, Han YN, Li XB, Song GS, Zhai HL, Peng YG, Li DY, Xu HL, Wei XL, Cao ML, Deng HF, Xin YY, Fu XQ, Yuan LP, Yu J, Zhu Z, Zhu LH. A transcriptomic analysis of superhybrid rice *LYP9* and its parents. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(19): 7695–7701. [DOI]
- [13] Song GS, Zhai HL, Peng YG, Zhang L, Wei G, Chen XY, Xiao YG, Wang LL, Chen YJ, Wu B, Chen B, Zhang Y, Chen H, Feng XJ, Gong WK, Liu Y, Yin ZJ, Wang F, Liu GZ, Xu HL, Wei XL, Zhao XL, Ouwerkerk PBF, Hanke-meier T, Reijmers T, van der Heijden R, Lu CM, Wang M, van der Greef J, Zhu Z. Comparative transcriptional profiling and preliminary study on heterosis mechanism of super-hybrid rice. *Mol Plant*, 2010, 3(6): 1012–1025. [DOI]
- [14] Zhai RR, Feng Y, Wang HM, Zhan XD, Shen XH, Wu WM, Zhang YX, Chen DB, Dai GX, Yang ZL, Cao LY, Cheng SH. Transcriptome analysis of rice root heterosis by RNA-Seq. *BMC Genomics*, 2013, 14: 19. [DOI]

- [15] Peng YG, Wei G, Zhang L, Liu GZ, Wei XL, Zhu Z. Comparative transcriptional profiling of three super-hybrid rice combinations. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(3): 3799–3815. [DOI]
- [16] Swanson-Wagner RA, Jia Y, De Cook R, Borsuk LA, Nettleton D, Schnable PS. All possible modes of gene action are observed in a global comparison of gene expression in a maize F₁ hybrid and its inbred parents. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(18): 6805–6810. [DOI]
- [17] Uzarowska A, Keller B, Piepho HP, Schwarz G, Ingvarsen C, Wenzel G, Lubberstedt T. Comparative expression profiling in meristems of inbred-hybrid triplets of maize based on morphological investigations of heterosis for plant height. *Plant Mol Biol*, 2007, 63(1): 21–34. [DOI]
- [18] Hoecker N, Keller B, Muthreich N, Chollet D, Descombes P, Piepho HP, Hochholdinger F. Comparison of maize (*Zea mays* L.) F₁-hybrid and parental inbred line primary root transcriptomes suggests organ-specific patterns of nonadditive gene expression and conserved expression trends. *Genetics*, 2008, 179(3): 1275–1283. [DOI]
- [19] Vuylsteke M, van Eeuwijk F, van Hummelen P, Kuiper M, Zabeau M. Genetic analysis of variation in gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 2005, 171(3): 1267–1275. [DOI]
- [20] Tsafaris SA. Molecular aspects of heterosis in plants. *Physiol Plantarum*, 1995, 94(2): 362–370. [DOI]
- [21] Yuan LP. Development of hybrid rice to ensure food security. *Rice Sci*, 2014, 21(1): 1–2. [DOI]
- [22] Cheng SH, Zhuang JY, Fan YY, Du JH, Cao LY. Progress in research and development on hybrid rice: a super-domesticated in China. *Ann Bot*, 2007, 100(5): 959–966. [DOI]
- [23] 程灿, 周继华, 曹黎明, 倪林娟, 袁勤. 优质杂交粳稻新组合花优 14 的选育. 见: 第 1 届中国杂交水稻大会论文集, 长沙, 2010: 212–213. [DOI]
- [24] Dupuy D, Bertin N, Hidalgo CA, Venkatesan K, Tu D, Lee D, Rosenberg J, Svrikapa N, Blanc A, Carnec A, Carvunis AR, Pulak R, Shingles J, Reece-Hoyes J, Hunt-Newbury R, Viveiros R, Mohler WA, Tasan M, Roth FP, Le Peuch C, Hope IA, Johnsen R, Moerman DG, Barabási AL, Baillie D, Vidal M. Genome-scale analysis of *in vivo* spatiotemporal promoter activity in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(6): 663–668. [DOI]
- [25] Kanehisa M, Goto S, Kawashima S, Okuno Y, Hattori M. The KEGG resource for deciphering the genome. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(Suppl. 1): D277–D280. [DOI]
- [26] Arvidsson S, Kwasniewski M, Riaño-Pachón DM, Mueller-Roeber B. QuantPrime—a flexible tool for reliable high-throughput primer design for quantitative PCR. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 465. [DOI]
- [27] Armstrong GA, Hearst JE. Carotenoids 2: Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *FASEB J*, 1996, 10(2): 228–237. [DOI]
- [28] Sakuraba Y, Rahman ML, Cho SH, Kim YS, Koh HJ, Yoo SC, Paek NC. The rice *faded green leaf* locus encodes protochlorophyllide oxidoreductase B and is essential for chlorophyll synthesis under high light conditions. *Plant J*, 2013, 74(1): 122–133. [DOI]

(责任编辑: 储成才)