

# 利用药用野生稻 C 基因组 *C<sub>0</sub> t-1* DNA 比较分析 宽叶野生稻 CCDD 基因组

吴 琦, 覃 瑞, 李 刚, 刘 虹

(中南民族大学生命科学院 南方少数民族地区生物资源保护与综合利用联合工程中心, 武汉 430074)

**摘要:** 以来源于 C 基因组的药用野生稻的中高度重复序列 *C<sub>0</sub> t-1* DNA 为探针, 在不同的洗脱严谨度下, 通过荧光原位杂交对宽叶野生稻 (CCDD) 基因组进行了分析。结果发现, 随着洗脱严谨度的调整, 杂交信号呈现出较高的特异性, 主要分布在着丝粒、近着丝粒及端粒区域。本文以宽叶野生稻的核型分析为基础, 比较其与二倍体药用野生稻基因组的异同, 从而进一步探讨野生稻的进化起源机制。

**关键词:** *C<sub>0</sub> t-1* DNA; 荧光原位杂交; 洗脱严谨度; 宽叶野生稻

## Comparative Analysis on CCDD Genome of *O. latifolia* with CC *C<sub>0</sub> t-1* DNA from *O. officinalis*

WU Qi QIN Rui LI Gang LIU Hong

(Engineering Research Centre for the Protection and Utilization of Bioresource in Ethnic Area of Southern China/College of Life Sciences South-Central University for Nationalities Wuhan 430074)

**Abstract** The highly and moderately repetitive DNA sequence CC *C<sub>0</sub> t-1* DNA of *O. officinalis* was used as probe to analyse *O. latifolia* genome comparatively by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) in different stringency. Result shows that the hybridizational signals of chromosomes mainly distributed on centromere, acrocentric and telomere, showing higher specificity with the change of stringency relatively. In order to explore the evolutionary and genetic mechanism and find out the genomic differences between diploid *O. officinalis* and polyploid *O. latifolia*, comparative analysis of genomes between *O. officinalis* and *O. latifolia* was carried out based on karyotype analysis.

**Key words** *C<sub>0</sub> t-1* DNA; FISH; Stringency; *O. latifolia*

稻属 (*Oryza* L.) 隶属于禾本科 (Gramineae) 稻族 (Oryzaceae Dumortier), 为了合理界定和体现稻属中各物种间的关系, Vaughan 等<sup>[1-2]</sup> 把稻属分成 4 个复合体, 即栽培稻复合体 (*O. sativa* complex)、药用野生稻复合体 (*O. officinalis* complex)、马来野生稻复合体 (*O. rileyi* complex)、疣粒野生稻复合体 (*O. meyeriana* complex)。其中, 药用野生稻复合体含有 10 个种, 涵盖了 BB, CC, EE, BBCC 和 CCDD 共 5 种类型的染色体组<sup>[3]</sup>。C 基因组是药用野生稻复合体最基本的基因组成分, 由于该复合体中同时存在二倍体和四倍体多个物种, 而且这些物

种在形态上的相似性、地理分布的相互重叠以及历史上频繁的杂交和多倍化, 使得该复合体成为稻属中最大、最复杂、多样性最丰富的群体<sup>[4-5]</sup>。弄清该稻属群体物种间的遗传关系, 有利于探讨异源多倍体的起源进化机制, 可以更好地利用和保护野生稻的遗传资源。

野生稻 CCDD 基因组中, 曾经彼此独立进化的基因组经杂交多倍化后同处于一个异源多倍体的细胞核中, 祖先基因组间如何相互进化、作用是一个非常重要而又异常活跃的研究领域<sup>[6]</sup>。一般而言, 可从两个角度探讨上述问题: 其一, 了解多倍体整个基

收稿日期: 2009-08-26 修回日期: 2010-05-17

基金项目: 湖北省自然科学基金 (2006ABA367); 中南民族大学自然科学基金项目 (YZY10007)

作者简介: 吴琦, 在读硕士, 研究方向为细胞遗传学。Email: kiki\_wq1985@hotmail.com

通讯作者: 刘虹, 讲师, 博士。Email: liuhong2007@yahoo.cn

基因组的变化;其二,研究某一些基因在多倍体形成前后的变化<sup>[6]</sup>。已有研究表明,3个CCDD基因组的野生稻起源于母本为CC基因组的单次杂交事件<sup>[3-7,8]</sup>,因此CC *C<sub>0</sub>t-1* DNA用于研究多倍体形成前后的变化是合适而有效的。植物基因组中, *C<sub>0</sub>t-1* DNA作为中高度重复序列<sup>[9]</sup>,是基因组中受到的选择压力最小、变异速度最快的序列之一。以 *C<sub>0</sub>t-1* DNA作为分析基因组的探针,它包含了整个基因组的中高度重复序列,在近缘属以及属内种间基因组分析中具有很强的优势。

本研究选用药用野生稻的 *C<sub>0</sub>t-1* DNA作为探针,并通过调整杂交后的洗脱严谨度,提高杂交的分辨力,从而确定药用野生稻重复序列在宽叶野生稻基因组中的分布情况,以FISH结果为依据,进行核型分析,并在此基础上,与本实验室蓝伟侦CC *C<sub>0</sub>t-1* DNA自身原位杂交的结果进行对比,试图探讨宽叶野生稻起源进化的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料和染色体制片

供试材料药用野生稻(*O. officinalis* Wall)稻株HY018由武汉大学遗传研究所提供。宽叶野生稻(*O. latifolia*) IRW 6由华南农业大学卢永根院士提供。染色体制片参照Yan等<sup>[10]</sup>的方法。

### 1.2 *C<sub>0</sub>t-1* DNA的制备

CTAB法提取药用野生稻总DNA,参照Doyle等<sup>[11]</sup>的方法稍作修改。*C<sub>0</sub>t-1* DNA制备参照Zwick等<sup>[9]</sup>的方法并稍作修改,gDNA于0.14Mpa高压灭菌3~5min,使药用野生稻gDNA打断成800~1500bp的长度,根据*C<sub>0</sub>t-1* DNA动力学公式  $C_0t-1 = \text{mol/L} \times T_s$  计算 *C<sub>0</sub>t-1* DNA完全复性所需的时间。*C<sub>0</sub>t-1* DNA完全复性后,S1核酸酶(2U/μg DNA, Promega) 37℃酶解1h,平衡酚抽提,无水乙醇沉淀过夜,12000 r/min离心10min,70%的乙醇洗涤,用TE buffer溶解,得到所需 *C<sub>0</sub>t-1* DNA。

### 1.3 探针标记

*C<sub>0</sub>t-1* DNA采用Nick Translation Kit (Roche)标记。20μl反应体系中含有dATP、dCTP、dGTP、dTTP、biotin-11-dUTP、DNaseI DNA聚合酶I 0.2~0.5μg *C<sub>0</sub>t-1* DNA,15℃下标记1.5~3h后加1μl 0.5mol/L EDTA (pH 8.0)终止反应,抗生物素蛋白的碱性磷酸酶(AP, alkaline phosphatase conjugate, Roche)的点印记法检测标记效果。

### 1.4 原位杂交及检测

荧光原位杂交方法参阅Jiang等<sup>[12]</sup>和Wei等<sup>[13]</sup>程序稍加修改。染色体制片于60℃烤片1h, RNase A /2×SSC (10μg/ml) 37℃处理1h, 2×SSC室温漂洗10min,胃蛋白酶(Genview)/10mmol/L HCl (5μg/ml)处理15min, 2×SSC室温漂洗10min, 70%甲酰胺70℃变性3.5~5min, -20℃70%、95%和100%乙醇各洗脱5min,室温晾干。每张片子杂交液含有80ng标记的探针DNA, 50%去离子甲酰胺(Sigma), 8%硫酸葡聚糖(Amresco), 2×SSC, 0.5% SDS, 0.5μg鲑鱼精DNA (DNA Salmon, Sigma), 37℃杂交过夜。杂交信号的荧光检测: 根据不同洗脱严谨度, 42℃20%~40%的甲酰胺, 2×SSC, 0.2×SSC各洗脱10min, 室温0.1% TritonX-100(Sigma)处理10min, 室温1×PBS洗脱10min, 依次加入streptavidin-Cy3 (Rockland), Biotinylated Streptavidin (Vector), streptavidin-Cy3 (Rockland), 37℃温育1h, 1×PBS室温洗涤3次, 每次5min, 10μg/ml DAPI(Sigma)复染, Olympus BX61荧光显微镜观察,用Case Data Manager Expo 2.1.1图象系统控制的Cool1300QS CCD (VDS Germany)照相系统摄取图片。SPOT advanced软件测量染色体长度, FISH View EXPO 2.0进行软件图片处理和核型分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 FISH图像分析

药用野生稻 *C<sub>0</sub>t-1* DNA作为探针,对宽叶野生稻进行荧光原位杂交,其结果如图1所示,图1A、B是洗脱严谨度为50%的FISH图像,图1C、D是洗脱严谨度为60%的FISH图像,图1E、F是洗脱严谨度为70%的FISH图像,图1G、H是洗脱严谨度为80%的FISH图像。根据红色荧光信号结果来看,当洗脱严谨度为50%~60%时,几乎所有的染色体上均有信号分布;当洗脱严谨度调整为70%时,信号在染色体上的分布逐渐变弱,一些染色体上信号分布较多,另一些染色体上信号分布较少;当洗脱严谨度调整为80%时,信号分布变化显著,明显有数条染色体上不再有信号分布,根据核型分析的结果显示,仅有十几对染色体上的信号比较强烈。FISH分析的结果说明,随着洗脱严谨度的调整,信号分布逐渐呈特异性,在排除非特异性杂交信号的同时,提高对杂交结果的分辨力,从而很好地识别不同的染色体。

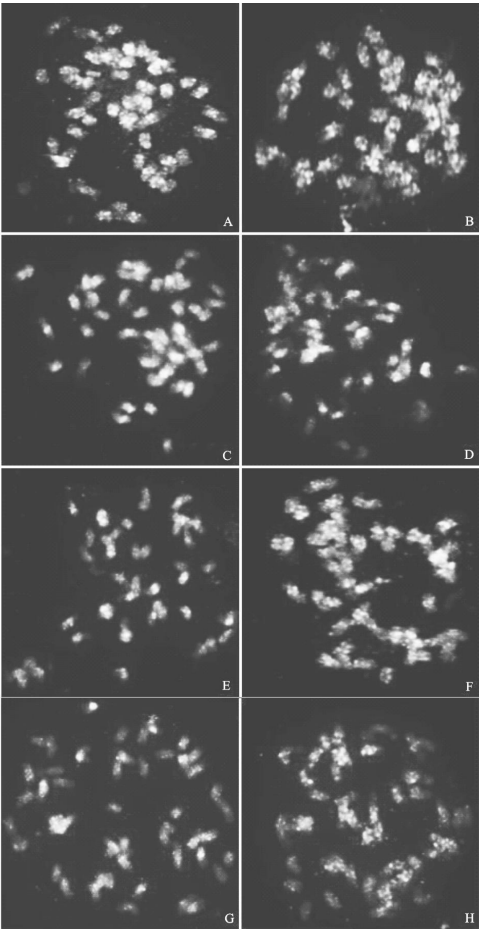


图 1 药用野生稻 CC  $C_0t-1$  DNA 对宽叶野生稻基因组的 FISH 图像

Fig 1 CC  $C_0t-1$  DNA of *O. officinalis* used as probe to analyses *O. latifolia* genome by FISH

2. 2 核型分析

以 FISH 图像为依据, 使用 FISH View EXPO 2.0 软件对宽叶野生稻的染色体从长到短进行配对排序, 图 2A ~ D 分别为严谨度 80%、70%、60% 和 50% 时的宽叶野生稻的核型图。从图 2A 来看, 重复序列在染色体上的分布有特异性, 主要集中在染色体的着丝粒、近着丝粒和端粒区, 并且具有一定的带型, 具有相同带型的应该是同源染色体。其中, 第 3 7 9 10 11 12 17 18 和 22 号染色体上的信号最强。核型分析结果见表 1。

3 讨论

多倍体起源研究的困难是由于在漫长的进化过程中, 形成了复杂的网状进化模式<sup>[6]</sup>。另外, 由于选择压力、遗传漂变等因素影响, 多倍体种与祖先种的性状状态有明显间断, 甚至有的祖先种已灭绝<sup>[6]</sup>。迄今自然界中没有发现 DD 二倍体野生稻, 因此对 CCDD 中 DD 基因组的组成有诸多猜测。Ge 等<sup>[3]</sup>通过 PCR 扩增与测序, 分别绘制了两个核基因

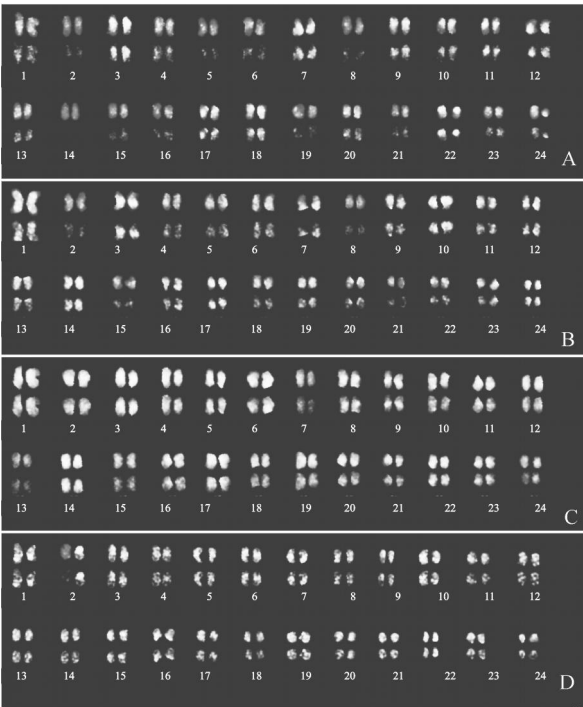


图 2 基于不同洗脱度下 FISH 结果的核型图

Fig 2 Karyotype image of *O. latifolia* in four different stringencies on FISH image

表 1 基于 FISH 图像对宽叶野生稻的核型分析

Table 1 Karyotype analysis of *O. latifolia* based on FISH images

序号 Number	相对长度 RL $\pm$ SD	臂比 AR $\pm$ SD	着丝粒位置 PC
1	6.67 $\pm$ 0.27	1.22 $\pm$ 0.14	m
2	6.19 $\pm$ 0.32	1.33 $\pm$ 0.19	m
3	5.70 $\pm$ 0.25	1.27 $\pm$ 0.17	m
4	5.36 $\pm$ 0.24	1.33 $\pm$ 0.06	m
5	5.07 $\pm$ 0.32	1.36 $\pm$ 0.24	m
6	4.82 $\pm$ 0.21	1.54 $\pm$ 0.37	m
7	4.57 $\pm$ 0.19	1.60 $\pm$ 0.34	m
8	4.53 $\pm$ 0.19	1.24 $\pm$ 0.24	m
9	4.43 $\pm$ 0.13	2.07 $\pm$ 0.50	sm
10	4.30 $\pm$ 0.24	1.32 $\pm$ 0.27	m
11	4.22 $\pm$ 0.24	1.56 $\pm$ 0.42	m
12	4.10 $\pm$ 0.18	1.22 $\pm$ 0.09	m
13	3.82 $\pm$ 0.29	1.07 $\pm$ 0.05	m
14	3.78 $\pm$ 0.31	1.86 $\pm$ 0.60	sm
15	3.66 $\pm$ 0.22	1.69 $\pm$ 0.50	m
16	3.62 $\pm$ 0.18	1.28 $\pm$ 0.19	m
17	3.49 $\pm$ 0.20	1.80 $\pm$ 0.44	sm
18	3.47 $\pm$ 0.21	1.34 $\pm$ 0.49	m
19	3.44 $\pm$ 0.19	1.99 $\pm$ 0.15	sm
20	3.37 $\pm$ 0.17	1.27 $\pm$ 0.19	m
21	3.27 $\pm$ 0.17	1.40 $\pm$ 0.14	m
22	3.13 $\pm$ 0.07	2.21 $\pm$ 0.13	sm
23	2.70 $\pm$ 0.22	1.30 $\pm$ 0.24	m
24	2.39 $\pm$ 0.21	1.11 $\pm$ 0.03	m

RL: relative length AR: arm ratio PC: position of centromere SD: standard deviation

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Adh1和 Adh2与一个叶绿体基因 *maK* 的基因树, 据此推测稻属中 23个物种基因组间的关系, 并认为 EE基因组与 CCDD基因组中 DD基因组的祖先关系最近。由于 DD基因组的起源存在诸多争议, 且不能确定, 所以我们利用已确定的 CCDD基因组的二倍体祖先, 即药用野生稻的 *C<sub>0</sub>t-1* DNA 作为探针, 对宽叶野生稻 CCDD基因组进行杂交, 来研究中高度重复序列在异源多倍体形成前后的变化。

蓝伟侦等<sup>[14]</sup>研究表明, 在药用野生稻第 1、2、4 和 6染色体上, 重复序列信号主要分布在端粒、着丝粒和近着丝粒区, 且同源染色体具有相似的带型。在第 3和 7染色体上, 重复序列信号主要集中在染色体短臂的端粒区。第 10和 11染色体重复序列信号主要分布在着丝粒区, 而第 9染色体重复序列主要在长短臂的端部。其余第 5、8和 12染色体上的信号分布较少, 并且分布相对较分散。董正伟利用来源于栽培稻 (A 基因组) 的 *C<sub>0</sub>t-1* DNA 和基因组 DNA 作为探针, 对栽培稻、斑点野生稻和短药野生稻进行比较基因组分析, 得出了类似的结果。进一步确定了利用含有中高度重复序列的 *C<sub>0</sub>t-1* DNA 用于属内种间关系研究, 并根据 *C<sub>0</sub>t-1* DNA 的 FISH 结果进行染色体核型分析的可行性<sup>[15]</sup>。本研究结果的核型也显示, 信号特异地分布在染色体的端粒、着丝粒及近着丝粒区。其中, 在宽叶野生稻第 3、7、17 和 18染色体上, 重复序列信号主要分布在端粒、着丝粒和近着丝粒区。在第 12和 20号染色体上, 重复序列信号主要分布在着丝粒区。在第 22号染色体上, 信号主要分布在短臂的端部。其余染色体上的信号分布比较分散, 约 10对染色体上没有信号。通过比较分析, 我们可以将二倍体中对应的同源染色体定位于四倍体中, 进一步揭示宽叶野生稻与药用野生稻的进化机制。

准确的核型分析能够提高稻属染色体识别的准确性, 是野生稻比较基因组研究的基础和依据<sup>[16]</sup>。在传统的染色体核型分析方法中, 由于稻属染色体小, 形态相似, 着丝粒不明显, 易发生折叠和扭曲, 分析存在偏差。特别是荧光信号呈发散状, 且位于着丝粒附近, 发散的荧光信号覆盖了着丝粒, 使得判断 *C<sub>0</sub>t-1* DNA 杂交带是位于染色体长臂还是短臂变得很困难<sup>[17]</sup>。而准确的核型分析, 是将二倍体中对应的同源基因定位于四倍体中的基础。本研究通过调整洗脱严谨度, 排除特异的杂交信号, 将具有同样信号分布的染色体视为同源染色体进行配对, 能够提高染色体的识别能力及核型分析的准确性。

多倍体的物种存在遗传多样性, 在遗传结构上必然存在差异, 但在遗传组成上也具有较大的相似性。蓝伟侦等<sup>[14]</sup>曾利用药用野生稻 (CC 基因组) *C<sub>0</sub>t-1* DNA 作为探针对宽叶野生稻 (CCDD), 高秆野生稻 (CCDD) 的体细胞染色体进行荧光原位杂交比较分析, 结果显示高秆野生稻和宽叶野生稻的 C 组染色体上均有杂交信号, 进一步分析后发现, 高秆野生稻 D 组染色体上的杂交信号要比宽叶野生稻 D 组染色体上的杂交信号多。由于其结果是在低洗脱严谨度下的实验所得, 难以区分形态相似的染色体, 且所用的 *C<sub>0</sub>t-1* 探针不具有同一性, 因此, 在上述研究的基础上, 后期研究可以通过调整洗脱严谨度, 对另外两种 CCDD 基因组的野生稻 (高秆野生稻 *O. alta* 和大颖野生稻 *O. grandiglumis*) 进行荧光原位杂交, 从而弄清异源多倍体 CCDD 基因组间的亲缘关系及进化起源机制。已有研究表明<sup>[6]</sup>, 多倍体基因组的进化方向有较大差异, 杂交后的多倍体可能发生双向进化, 也有可能是在进化因子的影响下, 使多倍体基因组在进化过程中偏向某一亲本的基因组, 即单向进化。由于自然界中迄今没发现稻属 DD 基因组, 有理由推测稻属 CCDD 基因组的进化方式可能是遵循单向进化的方式, 但是这种推测需要进一步的实验加以验证。

#### 参考文献

- [1] Vaughan D A. The genus *Oryza* L. Current status of taxonomy [J]. IRRI Res Paper Series, 1989, 138: 1-21
- [2] Vaughan D A, Morishima H, Kadowaki K. Diversity in the *Oryza* genus [J]. Curr Opin Plant Biol, 2003, 6: 139-146
- [3] Ge S, Sang T, Lu B R, et al. Phylogeny of rice genomes with emphasis on origins of allo-tetraploid species [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 14400-14405
- [4] 卢宝荣, 葛颂, 桑涛, 等. 稻属分类的现状及其存在问题 [J]. 植物分类学报, 2001, 39: 373-388
- [5] Bao Y, Lu B R, Ge S. Identification of genomic constitutions of *Oryza* species with the B and C genomes by the PCR-RFLP method [J]. Genet Resour Crop Ev, 2005, 52: 69-76
- [6] 王超, 张宗申, 王建波. 植物多倍体起源与分子进化研究进展 [J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(4): 339-343
- [7] Wang Z Y, Second G, Tanksley S D. Polymorphism and phylogenetic relationships among species in the genus *Oryza* as determined by analysis of nuclear RFLPs [J]. Theor Appl Genet, 1992, 83: 565-581
- [8] Jena K K, Kochert G. Restriction fragment length polymorphism analysis of CCDD-genome species of the genus *Oryza* L. [J]. Pl Mol Biol, 1991, 16: 831-839
- [9] Zwick M S, Hanson R E, McKnight T D, et al. A rapid procedure for the isolation of *Cot-1* DNA from plants [J]. Genome, 1997, 40: 138-142
- [10] Yan H M, Song Y C, Li L J, et al. Physical location of rice *Pis-5(t)*, *Gh* and *RTSV* genes by FISH of BAC clones [J]. Wuhan University Journal of Natural Science, 1998, 3(2): 226-230

(下转第 599 页)

重复出现的只有 2 个 QTL 位点, 其中群体 A 2007 年在第 2 7 染色体检测到 2 个控制铁含量的 QTL 位点 (qFe2 qFe7) 贡献率分别为 43. 67% 和 43. 49%。但这一位点在 2008 年没有检测到。群体 B 在 2007 年检测到第 4 染色体上有 1 个控制锌含量的 QTL 位点, 其贡献率达到 48. 80%; 同样在 2008 年没有检测到相同位点。位点重现性低可能是由于本试验 2 年均 在田间进行, 试验结果受各种因素的影响大, 增加了试验误差, 导致效应小的 QTL 难以得到检测, 并使检测到的 QTL 效应估算值偏低。这也从另一个方面说明, 对子粒锌铁铜锰含量等数量性状进行 QTL 定位, 有必要选用多年多点有重复的田间试验结果, 以便提高这些性状 QTL 定位的准确性。

### 3.4 玉米子粒锌铁铜锰含量 QTL 定位的准确性

对于一个数量性状通过定位能检测出几个 QTL, 与所设定的 LOD 值、检验群体容量、标记间平均的遗传距离和贡献率值有关。LOD 值大, 一些效应小的 QTL 检测不到。通常将临界 LOD 值设定在 2~3 之间<sup>[13]</sup>。QTL 检测是逐个分辨的, 任何两个或几个 QTL 之间的交互作用, 都可以检验其显著性。一些分析结果显示, QTL 的高级互作是不显著, 即使是一级互作 (即两个 QTL 间) 大多也不显著, 所以在多数数量性状中一个主效 QTL 能单独说明表型总变异的 10%~50%, 其余 QTL 效应则较小<sup>[20]</sup>。但也有例外, Illinois 玉米蛋白含量选择试验, 6 个显著的标记座位说明了蛋白质含量变异的 68%, 加入 5 个显著的一级互作后, 被说明的蛋白质含量变异增值 84%, 表明 QTL 间互作有重要的作用<sup>[20]</sup>。这些研究结果不难解释为什么本文对锌铁铜锰含量 QTL 位点贡献率变化在 9. 41%~68. 69% 之间。因此, 对玉米子粒锌铁铜锰含量 QTL 更精细的检测, 需要有高分辨率遗传图谱 (标记平均距离 < 5cM)、更大的分离群体 (n > 1000) 和更加灵敏的统计分析方法。

### 参考文献

- [1] Yang X, E Chen W R, Feng Y. Improving human micronutrient nutrition through biofortification in the soil-plant system: China as a case study [J]. *Environ Geochem Health*, 2007, 29: 413-428
- [2] 岳向峰, 张健, 黄承钰. 生物强化谷物铁营养状况评价及品种筛选 [J]. *现代预防医学*, 2008, 35 (5): 862-865
- [3] Domagoj Šinica, Rezaica Sudana. Genetic variation of bioavailable iron and zinc in grain of a maize population [J]. *Journal of Cereal Science*, 2009, 50 (3): 392-397
- [4] R. D. Graham. Biofortification: A Global Challenge Program [R/ LD]. 2003. <http://www.irrigator.org/publications/im/pdfs/vol28no1/IRRN28-Imnil.pdf>
- [5] Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? [J]. *Plant Soil*, 2008, 302: 1-17
- [6] Wolfgang H. Pfeiffer, Bonnie McClafferty. Harvestplus: breeding crops for better nutrition [Z]. Washington, Published in Crop Sci, 2007
- [7] Vasconcelos M, Datta K, Oliva N, et al. Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene [J]. *Plant Science*, 2003, 164: 371-378
- [8] Deniau A X, Pieper B, Ten Bookum W M, et al. QTL analysis of cadmium and zinc accumulation in the heavy metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 907-920
- [9] 赵永亮. 小麦微营养素相关基因的 QTLs 作图和克隆 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2005
- [10] 孙明茂, 洪夏铁, 李圭星, 等. 水稻籽粒微量元素含量的遗传研究进展 [J]. *中国农业科学*, 2006, 39 (10): 1947-1955
- [11] 高小宽, 黄亚群, 陈景堂. 玉米自交系子粒中锌和铁含量的配合力分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2008, 9 (1): 36-40
- [12] 李永明, 赵玉琪. 实用分子生物学方法手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1999
- [13] 孔繁玲. 植物数量遗传学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2006
- [14] A vendano B S. Tagging high zinc content in the grain, and zinc deficiency tolerance genes in rice (*Oryza sativa* L.) using simple sequence repeats (SSR) [J]. M S thesis College Laguna (Philippines), 2000: 1-77
- [15] 沈希宏, 曹立勇, 邵国胜, 等. 水稻籽粒中 5 种微量元素含量的 QTL 定位 [J]. *分子植物育种*, 2008, 6 (6): 1061-1067
- [16] 孙勇, 藏金萍, 王韵, 等. 利用回交导入系群体发掘水稻种质资源中的有利耐盐 QTL [J]. *作物学报*, 2007, 33 (10): 1611-1617
- [17] 郭龙彪, 罗利军, 邢永忠, 等. 水稻重要农艺性状的两年 QTL 剖析 [J]. *中国水稻科学*, 2003, 17 (3): 211-218
- [18] 王贤智, 张晓娟, 周蓉, 等. 大豆重组自交系群体荚粒性状的 QTL 分析 [J]. *作物学报*, 2007, 33 (3): 441-448
- [19] 许凌, 张亚东, 朱镇, 等. 不同年份水稻产量性状的 QTL 分析 [J]. *中国水稻科学*, 2008, 22 (4): 370-376
- [20] 莫惠栋. 数量遗传学的新发展—数量性状基因图谱的构建和应用 [J]. *中国农业科学*, 1996, 29 (2): 8-16
- [11] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. *Focus*, 1990, 12: 13-15
- [12] Jiang J M, Gill B S, Wang G L, et al. Metaphase and interphase fluorescence *in situ* hybridization mapping of the rice genome with bacterial artificial chromosome [J]. *The Proceedings of the National Academy of Science of USA*, 1995, 92: 4487-4491
- [13] Wei W H, Qin R, Song Y C, et al. Comparative analyses to diseases resistant and nonresistant lines from maize  $\times$  Zea diploperennis by GBS [J]. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 2001, 42: 109-114
- [14] 蓝伟侦, 覃瑞, 李刚, 等. 利用 C 基因组 *C<sub>0</sub>t1* DNA 对稻属 A、B、C 和 D 基因组的比较分析 [J]. *科学通报*, 2006, 51 (12): 1422-1431
- [15] 董正伟, 柳哲胜, 王德彬, 等. 利用栽培稻 *C<sub>0</sub>t1* DNA 和基因组 DNA 比较分析斑点野生稻和短药野生稻基因组 [J]. *植物遗传资源学报*, 2007, 8 (3): 343-346
- [16] 庄南生, 郑成木. 植物特异性 DNA 探针的制备与应用研究进展 [J]. *遗传*, 2002, 24 (4): 507-514
- [17] 王太霞, 吴春红, 魏文辉, 等. 甘蓝 rDNA 及 *C<sub>0</sub>t1* DNA 荧光原位杂交及其核型分析 [J]. *武汉大学学报*, 2006, 52: 230-234