

# 用 SSR 标记分析福建漳浦野生稻的遗传多样性

李书柯<sup>1,2</sup>, 江川<sup>2</sup>, 王金英<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>福建农林大学作物科学学院, 福州 350002 <sup>2</sup>福建省农业科学院水稻研究所, 福州 350019)

**摘要:** 应用平均分布于水稻基因组的 21 对 SSR 引物, 对福建漳浦野生稻、海南野生稻共计 62 份材料的遗传多样性进行分析。结果表明: 漳浦野生稻具有较高的遗传多样性, 21 个位点共检测到 74 个等位变异, 平均等位变异数  $A = 3.5238$  有效等位变异数  $A_e = 2.0629$  平均期望杂合度  $H_e = 0.4635$ , 实际观察杂合度  $H_o = 0.2465$  香农指数  $I = 0.8286$  根据固定指数 ( $F = 0.3887$ ) 估算的异交率  $t = 0.4308$ , 说明漳浦野生稻的繁育系统属于一种自交率较高的混合交配类型; 分化程度石潭湖群体高于古塘群体。

**关键词:** 普通野生稻; SSR; 遗传多样性; 漳浦

## Genetic Diversity of *Oryza rufipogon* Griff. in Zhangpu County of Fujian Province by Using SSR Markers

LI Shu-ke<sup>1,2</sup>, JIANG Chuan<sup>2</sup>, WANG Jin-ying<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Crop science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002; <sup>2</sup>Rice Institute, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou 350019)

**Abstract** 21 SSR primers were used to assess the genetic diversity of 62 common wild rice individuals from Zhangpu County of Fujian Province and Hainan Province and The results indicated that common wild rice in Zhangpu County Fujian Province had a high level of genetic diversity 74 alleles were detected from 21 loci  $A = 3.5238$   $A_e = 2.0629$   $H_e = 0.4635$   $H_o = 0.2465$   $I = 0.7918$   $t$  estimated by the fixation index ( $F = 0.4304$ ) was 0.3982, it suggested that the mating system of common wild rice in Zhangpu County of Fujian Province was a type of cross-pollinate system with a high selfbreeding rate For degree of differentiation, Shitanhu population was higher than Gutang population

**Key words** *Oryza rufipogon* Griff; SSR; Genetic diversity Zhangpu County

普通野生稻是亚洲栽培稻的祖先, 蕴藏着抗病、抗虫、抗逆、高产等优良性状基因, 是水稻育种的一个重要资源。但是, 近年来人为的干扰和生境破坏已导致普通野生稻居群的大量消失<sup>[1]</sup>, 因此开展普通野生稻的遗传多样性和保护生物学研究具有重要意义。任民等<sup>[2]</sup>、杨庆文等<sup>[3]</sup>、盖红梅等<sup>[4]</sup>的研究结果表明, 我国野生稻资源的遗传多样性非常丰富, 并针对我国野生稻资源遗传多样性严重丧失的问题, 提出了相应的对策。

福建漳浦野生稻是我国大陆经度分布最东的普通野生稻, 具有抗旱性强、抗多种病害、米质优良等

特点, 福建省农业科学院水稻研究所曾利用它与栽培稻杂交育成浦野一号/IR等 20 个组合<sup>[5]</sup>, 除了以漳浦野生稻为研究对照以外<sup>[6-7]</sup>, 有关福建漳浦野生稻遗传多样性的专门研究尚未报道。本研究采用 SSR (simple sequence repeat) 分子标记技术, 研究漳浦野生稻群体的遗传多样性, 拟为漳浦野生稻的保护、研究和创新利用提供科学依据和指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

试验材料来源于种植在福建省农业科学院水稻

收稿日期: 2010-05-25 修回日期: 2010-06-10

基金项目: 国家“十一五”科技支撑项目 (2006BAD13B01-19); 福建省科技重大专项 (2008NZ0001-4)

作者简介: 李书柯, 在读硕士, 主要从事作物遗传育种研究。

通讯作者: 王金英, 研究员, 博士。E-mail: wj2233@126.com

研究所网室中的 62 份普通野生稻, 其中 51 份为漳浦野生稻, 11 份为海南野生稻 (表 1)。

表 1 野生稻来源及编号

Table 1 Source and serial number of common wild rice

编号 No	原产地 Source	数量 Amount
M1001~ M1055	福建漳浦石湖潭	32
M2001~ M2045	福建漳浦古塘	19
S1011~ S1059	海南省	11

## 1.2 全基因组 DNA 提取

按照改进后的 CTAB 法进行普通野生稻全基因组的 DNA 提取<sup>[8]</sup>。

## 1.3 SSR 引物筛选

从 24 对 SSR 引物中筛选出扩增效果好、多态性高且均匀分布于水稻 12 条染色体上的 21 对 SSR 引物。引物名称及所处染色体见表 2。

## 1.4 PCR 扩增

使用 PTC-100 扩增仪。采用 10 $\mu$ l 反应体系: 5.3 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O, 10 $\times$  PCR Buffer (without Mg<sup>2+</sup>) 1.0 $\mu$ l, 0.6 $\mu$ l Mg<sup>2+</sup> (1.5mmol/L), 0.4 $\mu$ l dNTPs (0.2mmol/L), 0.5 $\mu$ l Primers (0.36 $\mu$ mol/L), 0.2 $\mu$ l Taq 酶 (0.5U), 2 $\mu$ l DNA template (~20ng)。反应程序: 94 $^{\circ}$ C 4min, 94 $^{\circ}$ C 1min, 55 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 2min, 共运行 34 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min, 8% 聚丙烯酰胺凝胶在 Bio-Rad 凝胶测序系统上对 PCR 扩增产物进行电泳, 用 Gene Finder 染色, 并在显影仪上显影、拍照获得扩增条带。

## 1.5 数据处理

根据 POPGENE32 分析软件的要求, 将条带转换为 SCDII 码基因型数据, 将转换好的数据输入 POPGENE32 软件进行计算。

## 1.6 数据分析

选择 3 个居群的多态性位点  $N_p$ , 多态位点比例  $P$ , 平均等位变异数  $A$ , 有效等位变异数  $A_e$ , 平均期望杂合度  $H_e$ , 实际观察杂合度  $H_o$ , 香农指数  $I'$ <sup>[9]</sup> 对各居群的遗传变异进行检测, 分析其遗传多样性。选择居群内各位点的  $A, A_e, H_e, H_o$  基因流  $Nm$ 、固定指数  $F$ 、异交率  $t$  ( $t = (1-F)/(1+F)$ )<sup>[10]</sup>, 以及  $Wright$ <sup>[11]</sup>  $F$  统计量 ( $F$ -statistic) 进行居群遗传结构和居群间遗传关系检测, 并运用各位点的  $F$  统计量进行群体的 Hardy-Weinberg 平衡检测。以上数据,  $N_p, P, A, A_e, H_e, H_o, Nm, F, F$ -statistic 均利用基于 windows 平台的计算机软件 POPGENE32 计算。根据 Nei 氏距离及相似性系数, 采用 UPGMA 法, 用

NTSYSpc-2.1 软件的 SHAN 程序进行聚类分析, 并绘制树状图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 多态位点检测及其在总居群上的遗传变异

选用的 21 对引物均能扩增出清晰条带, 不同的 SSR 位点具有的等位变异数 ( $A$  allele) 不同, 共检测出 74 个等位变异。每个位点检测到的等位变异数的变化范围为 2~6, 平均 3.5238, 有效等位变异数的变化范围为 1.1027~3.7853, 平均值为 2.0629, 平均期望杂合度的变化范围为 0.0939~0.6832, 平均值为 0.4635, 实际观察杂合度  $H_o$  的变化范围为 0~0.5848, 平均值为 0.2465 (表 2)。位点 RM25Q, RM33G, RM247, RM12 的  $A, A_e, H_e$  和  $H_o$  均较高, 说明这些引物检测漳浦野生稻遗传多样性的效果较好。

### 2.2 居群遗传多样性分析

**2.2.1 多态位点数及多态位点比例** 从表 3 可以看出, 漳浦野生稻 2 个群体的多态性位点数 (21 个) 及比例最高 (100%), 而对照材料海南野生稻的多态性位点为 20 个, 多态性位点比例为 95.24%。

**2.2.2 平均等位变异数及有效等位变异** 在被检测的 21 个位点中, 漳浦野生稻石潭湖群体的平均等位变异数 ( $A$ ) 最高, 为 3.5238, 有效等位变异数 ( $A_e$ ) 为 2.0629, 古塘群体的平均等位变异数 ( $A$ ) 为 2.7619, 有效等位变异数 ( $A_e$ ) 为 1.6605; 对照材料海南野生稻的这两项指标分别为,  $A = 2.7619$ ,  $A_e = 1.9586$ , 说明在所有地区中, 漳浦野生稻石潭湖群体的基因丰富度最高, 古塘群体的基因丰富度最低。

**2.2.3 平均期望杂合度和实际观察杂合度及香农指数** 3 个居群普通野生稻的平均期望杂合度 ( $H_e$ ) 分别为 0.4635, 0.3501, 0.4548, 实际观察杂合度 ( $H_o$ ) 分别为 0.2465, 0.1830, 0.2554, 香农指数 ( $I$ ) 分别为 0.8286, 0.6042, 0.7305。

以上分析结果表明: 3 个地区居群按遗传多样性从大到小顺序排列为: 石潭湖群体 > 海南野生稻 > 古塘群体。所有地区居群总的香农指数 ( $I$ ) = 0.8286, 石潭湖群体可以真实反映整体的遗传多样性水平, 古塘群体及对照海南材料不能代表整体的遗传多样性水平。

表 2 不同 SSR 位点的相关遗传参数

Table 2 Correlated genetic parameters of different SSR locus

位点 Locus	染色体 Chr	平均等位 基因数 $A$	有效等位 基因数 $A_e$	平均期望 杂合度 $H_e$	实际观察 杂合度 $H_o$	$F$ -统计量 $F$ -statistic			基因流 $N_m$	固定指数 $F$	异交率 $t$
						$F_{is}$	$F_{it}$	$F_{st}$			
RM522	1	2	1.8115	0.4516	0.2903	0.3249	0.3686	0.0648	3.6110	0.3519	0.4794
RM212	1	3	2.4291	0.5931	0.2097	0.6134	0.6437	0.0783	2.9412	0.6436	0.2168
RM236	2	3	1.7257	0.4239	0.1129	0.7494	0.7917	0.1690	1.2290	0.7315	0.1551
RM250	2	4	3.3898	0.7107	0.5645	0.0966	0.1484	0.0573	4.1115	0.1993	0.6676
RM231	3	3	2.4414	0.5952	0.2419	0.5667	0.6106	0.1013	2.2169	0.5902	0.2577
RM335	4	3	1.1027	0.0939	0.0968	-0.0442	-0.0382	0.0058	42.7498	-0.0391	1.0814
RM303	4	4	2.2466	0.5594	0.0645	0.7323	0.8347	0.3827	0.4032	0.8837	0.0617
RM13	5	3	1.6278	0.3888	0.3548	0.0529	0.0831	0.0319	7.5919	0.0799	0.8520
RM334	5	4	1.7149	0.4203	0.3387	0.0880	0.1591	0.0780	2.9556	0.1875	0.6842
RM103	6	6	2.2552	0.5611	0.0645	0.9021	0.9212	0.1942	1.0373	0.8841	0.0615
RM111	6	3	1.3648	0.2695	0.2097	0.2759	0.3513	0.1041	2.1527	0.2156	0.6453
RM336	7	5	3.7853	0.7418	0.4839	0.3072	0.3342	0.0389	6.1734	0.3424	0.4899
RM152	8	3	2.6704	0.6303	0.4032	0.3053	0.3214	0.0233	10.4982	0.3554	0.4756
RM331	8	4	1.2826	0.2221	0.1129	0.5563	0.5724	0.0362	6.6650	0.4876	0.3444
RM288	9	3	1.2188	0.1810	0.1290	0.1980	0.2464	0.0604	3.8918	0.2812	0.5610
RM201	9	3	1.5597	0.3618	0.0968	0.7293	0.7883	0.2180	0.8969	0.7303	0.1559
RM244	10	3	1.4989	0.3356	0.1129	0.4447	0.4594	0.0264	9.2027	0.6608	0.2042
RM333	10	6	2.7253	0.6832	0.4677	0.2282	0.2948	0.0863	2.6463	0.2611	0.5859
RM181	11	2	1.5793	0.3690	0.0000	1.0000	1.0000	0.0619	3.7870	1.0000	0.0000
RM247	12	4	2.2427	0.5586	0.2742	0.5070	0.6015	0.1916	1.0551	0.5052	0.3287
RM12	12	3	2.6483	0.6275	0.5848	0.1548	0.1980	0.0511	4.6149	0.1189	0.7875
平均 Mean		3.5238	2.0629	0.4635	0.2465	0.4121	0.4732	0.1040	2.1535	0.4510	0.3784

表 3 不同地区普通野生稻居群的遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of common wild rice populations in different areas

居群 Population	多态位点数 $N_p$	多态位点比例(%) $P$	平均等位变异数 $A$	有效等位变异数 $A_e$	平均期望杂合度 $H_e$	实际观察杂合度 $H_o$	香农指数 $I$
漳浦石潭湖	21	100	3.5238	2.0629	0.4635	0.2465	0.8286
漳浦古塘	21	100	2.7619	1.6605	0.3501	0.1830	0.6042
海南	20	95.24	2.7619	1.9586	0.4548	0.2554	0.7305
总居群	21	100	3.5238	2.0629	0.4635	0.2465	0.8286

### 2.3 漳浦野生稻居群遗传结构及 Hardy-Weinberg 平衡检测

由表 4 可知,漳浦野生稻居群内偏离 Hardy-Weinberg 平衡的程度  $F_{is}$  变化范围为  $-0.1007 \sim 0.9528$  平均为 0.3887,表明居群内稍微偏离 Hardy-Weinberg 平衡,多数位点(57.96%)表现杂合体。根据固定指数  $F$  估算的异交率  $t$  的变化范围为  $0.2240 \sim 1.2240$  平均为 0.4038 表明其繁育系统属于一种自交率较高的混合交配类型。

### 2.4 聚类分析

采用 NTSYS-2.1 软件,Nei 氏距离,用 UPGMA 法对所有材料进行聚类分析,并绘成树状图(图 1)。遗传相似性和遗传距离见表 5。

漳浦野生稻石潭湖群体、古塘群体与海南对照材料的遗传相似性分别为 0.8640、0.8321;遗传距离分别为 0.1462、0.1832。漳浦野生稻两群体间的遗传相似性与遗传距离分别为 0.9533 和 0.0478 可见漳浦野生稻两群体之间的遗传相似性最高,遗传距离远小于与海南对照材料的遗传距离。

表 4 漳浦野生稻群体相关遗传参数

Table 4 Correlated genetic parameters of Zhangpu common wild rice populations

位点 Locus	染色体 Chr	F 统计量 F-statistic			基因流 <i>N<sub>m</sub></i>	固定指数 <i>F</i>	异交率 <i>t</i>
		<i>F<sub>is</sub></i>	<i>F<sub>it</sub></i>	<i>F<sub>st</sub></i>			
RM 522	1	0.1088	0.1088	0	****	0.1088	0.8037
RM 212	1	0.6600	0.6600	0	****	0.6600	0.2048
RM 236	2	0.5364	0.5364	0	****	0.5364	0.3017
RM 250	2	0.2258	0.2258	0	****	0.2258	0.6316
RM 231	3	0.5757	0.5757	0	****	0.5757	0.2693
RM 335	4	-0.0303	-0.0303	0	****	-0.0303	0.0625
RM 303	4	0.9528	0.9528	0	****	0.9528	0.0242
RM 13	5	0.1601	0.1601	0	****	0.1601	0.7240
RM 334	5	0.2076	0.2076	0	****	0.2076	0.6562
RM 103	6	-0.1007	-0.1007	0	****	-0.1007	0.2240
RM 111	6	0.3467	0.3467	0	****	0.3467	0.4851
RM 336	7	0.4721	0.4721	0	****	0.4721	0.3586
RM 152	8	0.4070	0.4070	0	****	0.4070	0.4215
RM 331	8	0.3075	0.3075	0	****	0.3075	0.5296
RM 288	9	0.5725	0.5725	0	****	0.5725	0.2719
RM 201	9	0.8384	0.8384	0	****	0.8384	0.0879
RM 244	10	0.2771	0.2771	0	****	0.2771	0.5660
RM 333	10	0.4281	0.4281	0	****	0.4281	0.3131
RM 181	11	0.8651	0.8651	0	****	0.8651	0.0723
RM 247	12	0.3453	0.3453	0	****	0.3453	0.4867
RM 12	12	0.0070	0.0070	0	****	0.0070	0.9861
平均		0.3887	0.3887	0	****	0.3887	0.4038

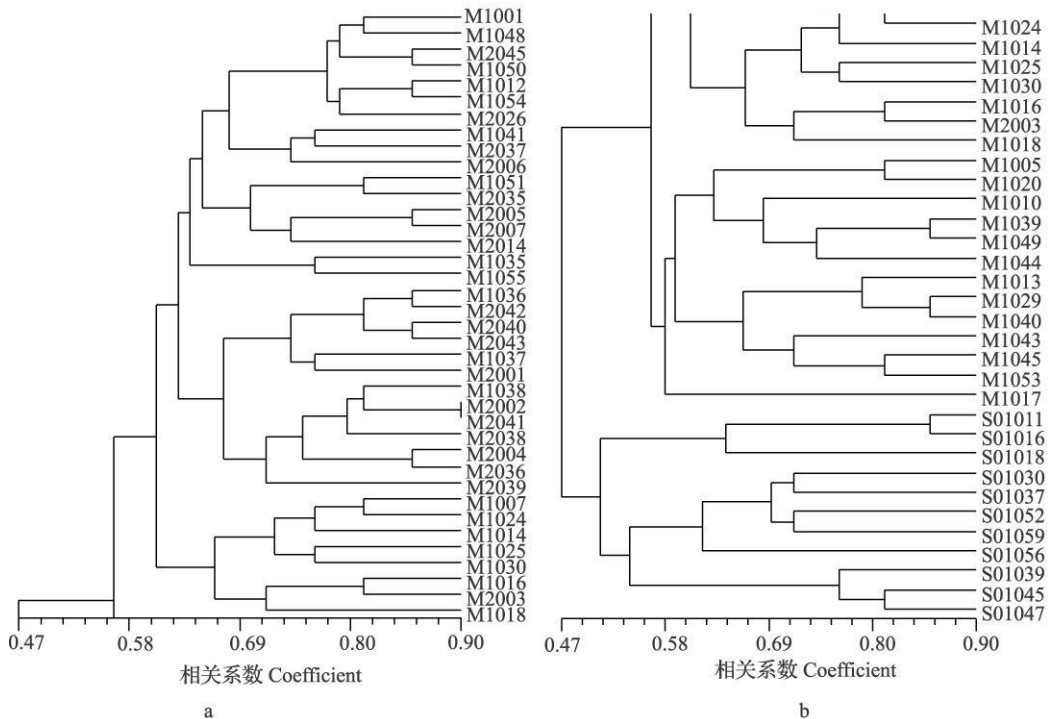


图 1 普通野生稻聚类分析图

Fig 1 Clustering of common wild rice based on NTSYS-2.1 UPGMA clustering analysis and Nei's distance

表 5 居群聚类图的遗传相似性和遗传距离  
Table 5 Genetic similarity and genetic distance of population clustering

pop	D1	D2	D3
1	****	0.9533	0.8640
2	0.0478	****	0.8321
3	0.1462	0.1838	****

D: Nei's 遗传相似性; pop 遗传距离; 1: 石潭湖群体; 2: 古塘群体; 3: 海南对照

在遗传距离为 0.47 处, 所有普通野生稻可以分为 2 类: 漳浦野生稻聚为一类, 海南对照材料聚为一类。在遗传距离为 0.57 处, 漳浦野生稻又分为 2 类, 其中石潭湖群体材料在两个类群中均有分布。在遗传距离 0.624 处分化的 3 个次级亚群中均含有古塘群体材料。总体看来, 漳浦野生稻 2 个自然居群既有分化, 又相互渗透, 说明漳浦野生稻居群内部已经发生了丰富的遗传分化, 同时依然保持着地方的特异性, 其中石潭湖群体的分化程度高于古塘群体。

## 3 讨论

### 3.1 漳浦野生稻的遗传多样性

本研究结果表明, 漳浦野生稻石潭湖群体的遗传多样性平均等位变异数  $A = 3.5238$  有效等位基因数  $A_e = 2.0629$ , 平均期望杂合度  $H_e = 0.4635$  实际观察杂合度  $H_o = 0.2465$  香农指数  $I = 0.8286$  古塘群体的相应指标分别为 2.7619 1.6605 0.3501 0.1830 0.6042。根据漳浦野生稻两群体的固定指数  $F$  估算的异交率  $t$  的变化范围为 0.2240 ~ 1.2240 平均为 0.4038 表明其繁育系统属于一种自交率较高的混合交配类型。杨庆文<sup>[12]</sup>的研究结果显示, 海南普通野生稻的遗传多样性指数为 0.4629, 王效宁<sup>[13]</sup>报道了海口、澄迈、琼海、文昌、三亚居群遗传多样性指数  $I$  分别为 1.1319, 0.6582, 0.3560, 0.4791, 0.3826 总的遗传多样性指数  $I$  为 1.6048。总体上来说, 漳浦野生稻的遗传多样性大于海南野生稻, 但不同地区的材料又各不相同, 石潭湖群体的遗传多样性高于澄迈群、琼海群、文昌群、三亚群, 低于海口群; 古塘群体的遗传多样性大于琼海群、文昌群、三亚群, 小于海口群、澄迈群。

### 3.2 研究利用价值

漳浦野生稻具有抗旱性强、抗多种病害、米质优良等特点, 可作为水稻育种的优良亲本, 福建农林大学以漳浦野生稻做亲本, 通过核置换回交, 获得一种

新的普通野生稻 (*O. rufipogon*) 雄性不育细胞质, 育成新质源不育系金农 1A<sup>[14]</sup>。另外, 作为我国内陆经度分布最东的野生稻, 对于研究我国野生稻的分布、稻种起源、演变、亲缘关系等也具有重要作用。

### 3.3 保护策略

福建省漳浦野生稻 (*O. rufipogon* Griff) 分布情况。20 世纪 70 年代初开展福建野生稻的普查时, 在福建省漳浦县发现有 2 处普通野生稻的自然居群, 即位于距离湖西畲族乡赵家堡村约 100m 左右的石湖潭群体, 此自然居群因没能得到及时的保护, 受农事活动等人为影响, 于上世纪末就已消失殆尽, 所幸的是通过异地保存的方法挽救了此居群普通野生稻及其所携带的基因。还有位于漳浦县湖西畲族乡岭脚自然村的古塘群体, 一面靠高速公路, 一面靠乡间公路, 两面靠农田, 面积约 200m<sup>2</sup>, 现已得到农业部的立项保护, 这是我国大陆普通野生稻经度分布的最东端。实验所用的漳浦野生稻材料取自国家种质野生稻圃, 石潭湖群体和古塘群体的遗传多样性指数分别为 0.8286 和 0.6042。其中古塘群体材料的遗传多样性水平较低, 不能完全反映漳浦野生稻的多样性水平, 这也与该群体材料的取样数量 (19 份) 有关<sup>[15]</sup>。

20 世纪末, 由于未得到及时保护加上农事活动等人为影响, 原生境的石潭湖群体已消失。但 20 世纪 70 年代初的拯救性异位保存, 由于取样合理, 完整保存了该群体的遗传多样性, 这对丰富我国普通野生稻群体的遗传资源库具有重大的意义, 同时也为今后居群遗传学及有益基因的筛选利用工作奠定了基础。古塘群体不但进行了拯救性异位保存, 而且原生境群体也得到了农业部的立项保护。但此次试验材料数量较少 (19 份), 不能完全反映该群体的遗传多样性水平<sup>[16]</sup>, 有必要进一步深入分析。

一般来讲, 对于普通野生稻资源的保护要以原生境保护为主, 异位保存为辅, 但对于福建漳浦野生稻的特殊情况, 二者应具有同等重要的作用。自然条件下, 野生稻与原生环境互相作用产生的可遗传变异对丰富福建野生稻的遗传多样性起着不可或缺的作用。原则上来说, 每隔 10 年应对植物遗传资源的起源中心或遗传多样性中心进行重新搜集, 20 世纪 70 年代初的野生稻资源搜集距今已近 40 年, 因此有必要对古塘群体材料进行原生境再搜集。

(参考文献见第 85 页)

- [ 32 ] Mao P, Duan M, Wei C, et al WRKY62 transcription factor acts downstream of cytosolic NPR1 and negatively regulates jasmonate-responsive gene expression [ J ]. *Plant Cell Physiol* 2007, 48: 833-842
- [ 33 ] Qiu D, Xiao J, Ding X, et al OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate and jasmonate-dependent signaling [ J ]. *Mol Plant Microbe Interact* 2007, 20: 492-499
- [ 34 ] Zhang Z L, Xie Z, Zou X, et al A rice WRKY gene encodes a transcriptional repressor of the gibberellin signaling pathway in aleurone cells [ J ]. *Plant Physiol* 2004, 134: 1500-1513
- [ 35 ] Xie Z, Zhang Z L, Zou X, et al Interactions of two abscisic acid induced WRKY genes in repressing gibberellin signaling in aleurone cells [ J ]. *Plant J* 2006, 46: 231-242
- [ 36 ] Liu X Q, Bai X Q, Qian Q, et al OsWRKY03, a rice transcriptional activator that functions in defense signaling pathway upstream of OsNPR1 [ J ]. *Cell Res* 2005, 15: 593-603
- [ 37 ] Shinono M, Sugano S, Nakayama A, et al Rice WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole inducible blast resistance [ J ]. *Plant Cell* 2007, 19: 2064-2076
- [ 38 ] Rengasamy Ramamoorthy, ShurYe Jang, Nadinuthu Kumar, et al A comprehensive transcriptional profiling of the WRKY gene family in rice under various abiotic and phytohormone treatments [ J ]. *Plant Cell Physiol* 2008, 49 ( 6 ): 865-879
- [ 39 ] Lai Z, Vinod K M, Zheng Z, et al Roles of *Arabidopsis* WRKY3 and WRKY4 transcription factors in plant responses to pathogens [ J ]. *BMC Plant Biol* 2008, 8: 68
- [ 40 ] Xing D H, Lai Z B, Zheng Z Y, et al Stress and pathogen induced *Arabidopsis* WRKY48 is a transcriptional activator that represses plant basal defense [ J ]. *Mol Plant* 2008, 1: 459-470
- [ 41 ] Cai M, Qiu D, Yuan T, et al Identification of novel pathogen-responsive cis elements and their binding proteins in the promoter of *OsWRKY3*, a gene regulating rice disease resistance [ J ]. *Plant Cell Environ* 2008, 31: 86-96
- [ 42 ] Shree P P, Inre E S. The role of WRKY transcription factors in plant immunity [ J ]. *Plant Physiology* 2009, 150: 1648-1655
- [ 43 ] Stefano B, Pamela A, Odile F R, et al Characterization of WRKY coregulatory networks in rice and *Arabidopsis* [ J ]. *BMC Plant Biology* 2009, 9: 120
- [ 44 ] Qiu J L, Füll B K, Petersen K, et al *Arabidopsis* MAP kinase 4 regulates gene expression through transcription factor release in the nucleus [ J ]. *EMBO J* 2008, 27: 2214-2221
- [ 45 ] Dèardin J, Kingston R E. Purification of proteins associated with specific genomic loci [ J ]. *Cell* 2009, 136: 175-186
- [ 46 ] Mittler G, Butter F, Mann M. A SLAC-based DNA protein interaction screen that identifies candidate binding proteins to functional DNA elements [ J ]. *Genome Res* 2009, 19: 284-293

(上接第 79 页)

#### 参考文献

- [ 1 ] 高立志, 张寿洲, 周毅, 等. 中国野生稻的现状调查 [ J ]. *生物多样性*, 1996, 4 ( 3 ): 160-166
- [ 2 ] 任民, 陈成斌, 荣廷昭, 等. 桂东南地区普通野生稻遗传多样性研究 [ J ]. *植物遗传资源学报*, 2005, 6 ( 6 ): 1-8
- [ 3 ] 杨庆文, 余丽琴, 张万霞, 等. 原异位保护普通野生稻种质资源的遗传多样性比较研究 [ J ]. *中国农业科学*, 2005, 38 ( 6 ): 1073-1079
- [ 4 ] 盖红梅, 陈成斌, 沈法富, 等. 广西武宣濠江流域普通野生稻居群遗传多样性及保护研究 [ J ]. *植物遗传资源学报*, 2005, 6 ( 2 ): 156-162
- [ 5 ] 林色标, 陈丽华, 洪彬艺. 漳浦县野生稻“浦野一号”的特征特性与利用价值 [ J ]. *福建稻麦科技*, 2004, 22 ( 4 ): 31
- [ 6 ] 李晨, 潘大建, 毛兴学, 等. 用 SSR 标记分析高州野生稻的遗传多样性 [ J ]. *科学通报*, 2006, 51 ( 5 ): 551-558
- [ 7 ] 陈成斌. 广西北回归线上野生稻遗传多样性探讨 [ J ]. *亚热带植物科学*, 2001, 30 ( 4 ): 5-9
- [ 8 ] Scott O R, A mold J B. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues [ J ]. *Plant Molecular Biology*, 1985, 5: 69-76
- [ 9 ] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [ J ]. *Genetics* 1978, 89: 583-590
- [ 10 ] Wright S. Surface of selective values revisited [ J ]. *Amer Nat* 1978, 131: 115-123
- [ 11 ] Nei M. Genetic distance between populations [ J ]. *The American Naturalist* 1972, 106: 283-292
- [ 12 ] 杨庆文. 中国普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.) 的遗传多样性及其保护研究 [ D ]. 北京: 中国农业大学农学与生物技术学院, 2004
- [ 13 ] 王效宁. 海南普通野生稻的遗传多样性研究 [ D ]. 海口: 华南热带农业大学农学院, 2006
- [ 14 ] 王乃元. 野生稻 (*O. rufipogon*) 新胞质改良不育系稻米品质的研究 [ J ]. *作物学报*, 2006, 32 ( 2 ): 253-259
- [ 15 ] 金燕, 卢宝荣. 遗传多样性的取样策略 [ J ]. *生物多样性*, 2003, 11 ( 2 ): 155-161
- [ 16 ] Xie Z W, Lu Y Q, Ge S, et al Clonality in wild rice (*Oryza rufipogon* poaceae) and its implications for conservation management [ J ]. *American Journal of Botany*, 2001, 88 ( 6 ): 1058-1064