

文章编号:1003-8701(2013)02-0047-05

吉林省水稻生物技术研究进展

王金明^{1,2}, 林秀云^{2*}, 孙强²

(1. 中国农业科技东北创新中心, 长春 130033; 2. 吉林省农科院水稻所, 吉林 公主岭 136100)

摘要: 本文主要对吉林省水稻组织培养、细胞培养、分子标记与基因工程等生物技术研究方面的现状进行了综述, 进一步阐述了吉林省水稻生物技术研究中的问题, 并提出了应重点开展的研究领域。

关键词: 水稻; 组织培养; 分子标记; 基因工程

中图分类号: S511

文献标识码: A

Progress of Researches on Biotechnology of Rice in Jilin Province

WANG Jin-ming, LIN Xiu-yun*, SUN Qiang

(Rice Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: The status and progress on researches of tissue culture, cell culture, molecular marker and genetic engineering of rice in Jilin Province were mainly summarized in the paper. Furthermore, problems of the biotechnology researches of rice and the key research area were pointed out.

Keywords: Rice; Tissue culture; Molecular markers; Genetic engineering

20 世纪 70 年代兴起的植物生物技术是现代高科技的重要组成部分, 由于该技术可打破生物之间的界限来实现遗传物质的重新组合, 因而可以按照人类预先的设计来改造生物, 使之符合人类的需要, 成为解决农业问题的一条重要出路。近 20 年来, 吉林省的农业生物技术研究进展迅速, 特别是在水稻生物技术研究方面取得了可喜的成果, 发表了不少研究论文和评述。

1 组织培养

近年来, 利用水稻组织培养技术, 已获得抗稻瘟病、抗胡麻叶斑病、抗白叶枯病、耐盐碱、高氨基酸、耐冷等抗性突变体细胞系及其无性系。

1.1 水稻转化体系优化研究

郝文媛等^[1]以吉林省 5 个粳稻品种成熟胚为外植体, 就不同基因型、不同激素浓度对愈伤组织

诱导、继代及分化的影响进行研究, NMB、CC、MS、N6 的诱导率达到 80% 以上, 但致密愈伤组织诱导率差别显著, 只有 NMB、NB 和 CC 较好, 致密愈伤组织诱导率超过 50%, 而 N6 仅为 21.05%。NMB、NB、CC 为较适宜的培养基, 可以用于北方粳稻愈伤组织的诱导; 在诱导过程中加入 2,4-D 1~2 mg/L 有利于愈伤组织的诱导; 在继代的过程中加入甘露醇 4 g/L 可明显改善愈伤组织的质量; 诱导分化时, 进行预分化-分化培养可以显著提高分化率。建立了吉林省粳稻成熟胚高频再生系统。

王纪报^[2]对水稻转化过程中激素浓度、继代时间、菌液浓度、侵染时间及共培养温度等进行了研究。继代 30~60 d 的愈伤组织最有利于作分化材料。侵染时菌液浓度为 OD₆₀₀ 值以 0.6~0.8, 侵染时间以 15~20 min 为最宜, 共培养后第一次筛选使用 300 mg/L, 第三次筛选使用 100 mg/L 的头孢霉素可有效地控制农杆菌, 且能达到理想的转化效果。共培养温度以 18~22℃ 为佳。共培养后的愈伤组织经 2 d 干燥处理后再进行筛选培养, 可以有效杀死农杆菌, 接入筛选培养基后没有农杆菌的生长, 并且愈伤组织生理状态有所改善, 抗性愈伤率明显提高。

收稿日期: 2012-09-20

基金项目: 吉林省人社厅博士后项目(01911), 吉林省科技支撑计划(20106023), 吉林省科技厅应用基础项目(20090567)

作者简介: 王金明(1978-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事水稻生物技术育种研究。

通讯作者: 林秀云, 女, 博士, 研究员,

E-mail: linxiuyun1965@163.com

刘瑞芳^[3]比较了 NB、N6 和 MS 3 种培养基对吉林省的 5 个水稻品种成熟胚愈伤组织诱导的综合效果,发现 NB 和 N6 适用于这些品种。同时,对 2,4-D 浓度进行了研究分析,不同于以往大量报道的在愈伤组织的诱导中多采用 2.0 mg/L,当 2,4-D 浓度为 2.5 mg/L 时,5 个水稻品种的综合诱导效果最好,愈伤组织的诱导率为 93.7%。农杆菌 OD₆₀₀ 值为 0.4~0.6、侵染时间 20 min 为合适的侵染条件;共培养后经 2 d 干燥处理能有效地控制农杆菌过度生长,改善愈伤组织状态,提高抗性愈伤率。

1.2 用组织培养的方法筛选耐盐碱水稻突变体的研究

吉林省西部有大量的盐碱地,为充分挖掘西部盐碱地水稻产量潜力,选育耐盐碱的水稻新材料也是吉林省水稻工作的重点研究内容。延边大学林延玉^[4]通过逐步提高培养基 pH 值的方法,对长白 9 号、珍富 19、通 35、延农 1 号等 4 个水稻品种进行愈伤组织的耐盐碱突变体筛选。研究表明,珍富 19 的愈伤组织出愈率、出苗率、存活率以及农艺性状等方面均要优于其它 3 个品种,其再生植株耐盐碱性优于原品种种子植株。再生植株耐盐碱性与愈伤组织耐盐碱性有一定的关系,但也有些差异。在种子萌发期,长白 9 号再生植株当代种子耐盐碱性优于原品种种子,而再生植株当代种子 2 叶期幼苗耐盐碱性不如原品种种子植株的 2 叶期幼苗,通 35 则相反。同时,对再生植株盐碱鉴定条件也进行了研究。研究表明,种子萌发时期用 19 000 mg/kg 的 NaHCO₃ 溶液来进行,2 叶期幼苗用 16 000 mg/kg 的 NaHCO₃ 溶液来进行,则鉴定效果较好。

1.3 水稻耐冷突变体细胞系及其无性系研究

吉林省作为东北粳稻主产区,每隔 4~5 年都会经历一次低温冷害,对吉林省粳稻的稳定生产造成一定影响。针对于此,吉林省农科院水稻所开展了水稻耐冷组培研究。金润洲等^[5]1986 年在来自粳稻种胚的愈伤组织中,用 -3℃ 处理 15~20 d 的方法,经多次选择,获得过耐冷愈伤组织系,但没有分化出再生植株。金润洲等^[6]将来自粳稻 11 个品种幼穗的愈伤组织,在 15℃ 下继代培养,每隔 5 d 调查愈伤组织块的直径,发现在 15℃ 低温下,第 15~30 d 的愈伤组织净生长量与供体品种孕穗期的耐冷性呈显著的正相关。其中第 25 天的相关系数最大,达到 1% 极显著水平(0.757**)。因此,提议在 15℃ 下培养 25 d 的愈伤组织净生

长量作为鉴定愈伤组织耐冷性的指标,在 15℃ 下培养 25 d 的方法,作为愈伤组织耐冷性的鉴定方法及选择技术。用这种方法,经多次重复选择,获得了耐冷愈伤组织及其再生植株。同时,金润洲等^[6]探讨了氯酸钾、聚乙二醇(PEG)、升汞等化学物质对愈伤组织生长的影响及其与品种耐冷性的关系。结果,在含有 0.4% 氯酸钾的培养基上 4 个耐冷品种的愈伤组织 35 d 后的平均净生长量明显大于 5 个敏感品种的平均值,大块率(>5mm 的愈伤组织块占供试总块数中的百分比)达 39.3%,比敏感品种高 3.7 倍。说明来自耐冷品种的愈伤组织抗毒性明显高于来自敏感品种的愈伤组织。1988 年金润洲等^[5]对未作任何因子处理的培养基中获得的体细胞无性系自交二代(R₂)进行了孕穗期耐冷性鉴定试验,首次获得了耐冷性明显超亲的体细胞无性系 26 份,首次证明了组织培养本身就是一种有效的耐冷性诱变技术。

同时,从愈伤组织的生长量和绿苗分化率两个方面对耐冷性的遗传稳定性也进行了相关研究。愈伤组织的生长量:1987 年金润洲选用来自粳稻品种秋光(愈伤组织生长慢)和吉粳 44 号(生长快)种胚的愈伤组织,连续培养 4 代(每代 30 d)。结果无论在哪一个世代,生长快的吉粳 44 愈伤组织大块率(在供试的愈伤组织总块数中,直径 >8 mm 的块所占的百分比)总是多于生长慢的秋光愈伤组织。在另一组试验中,在 15℃ 培养温度下来自 11 个粳稻品种幼穗的愈伤组织生长量与供体品种孕穗期的耐冷性呈极显著的正相关。即来自耐冷品种的愈伤组织生长量明显大于来自不耐冷品种的愈伤组织生长量。说明愈伤组织生长量是与品种耐冷性有相关性的相对稳定的遗传性状。绿苗分化率:金润洲的试验结果,来自幼穗的愈伤组织绿苗分化率与供体品种的孕穗期耐冷性呈显著的正相关。即品种耐冷性越强,其愈伤组织的绿苗分化率则越高。从杂种一代的绿苗分化率来看,在供试的 6 个杂交组合中 5 个组织的杂种一代绿苗分化率明显高于不耐冷亲本的绿苗分化率,相等或稍高于耐冷亲本。认为绿苗分化率是受显性基因控制的较稳定的遗传性状。

2 分子标记技术研究

2.1 分子标记辅助育种和种质渐渗研究

利用基因组特异性分子标记可以检测和促进有利基因从水稻野生种或其它物种向水稻栽培种的渐渗。朴亨茂等^[7]将菰等植物的 DNA 通过花粉管通道法导入水稻中,后代材料中获得了多个具

有优良特性的水稻材料。然而菰遗传物质渐渗给水稻的直接证据缺乏。刘振兰^[8-9]等以菰和水稻的基因组 DNA 为探针,通过点杂交,获得了 2 个菰物种专化 DNA 序列。并以这两个序列为探针,与渐渗杂交系进行杂交分析,分析结果为菰导入水稻提供了确凿的证据。初秀成等^[10]将柳叶菜科植物月见草(*Oenothera biennis*)导入水稻品种通育 211 中,对 D₃₋₆ 代中代表性变异材料进行了 AFLP 分子标记分析,证明月见草的花粉介入确定使受体水稻在 DNA 分子水平上产生了大量的变异,但要确证这些材料中是否含有直接来自月见草的遗传物质,还需要进行更深入的分子分析。

2.2 遗传连锁图谱的绘制

利用分子标记可绘制遗传连锁图谱,用于重要农艺性状基因在染色体上的定位。祁栋灵等^[11]以粳粳交“高产 106/长白 9 号”的 F₂₋₃ 代 200 个家系为作图群体,以 SSR 标记构建的分子连锁图谱为基础,对水稻幼苗前期的根数、根长和苗高及其相对碱害率进行了数量性状基因座(QTL)的检测。研究表明,上述性状在 F₃ 家系群中均表现为具有 1~2 个峰的连续分布,认为由主效基因和微效基因共同控制的数量性状。共检测到与碱胁迫下幼苗前期根数、根长和苗高及其相对碱害率相关的 QTL26 个,分布于第 1、5、6、7、8、9 和 11 染色体上。其中,碱胁迫下与根数相关的 QTL4 个,q RN 6-1 和 q RN11 对表型变异的解释率较大,分别为 29.91%和 13.42%;与根数相对碱害率相关的 QTL5 个,q RRN 11-2 对表型变异的解释率较大,为 23.86%;与根长相关的 QTL6 个,QR-RL11-2 对表型变异的解释率较大,为 21.06%;与根长相对碱害率相关的 QTL2 个,但对表型变异的解释率均较低;与苗高相关的 QTL5 个,QSH1 和 QSH11-2 对表型变异的解释率较大,分别为 15.81%和 16.53%;与苗高相对碱害率相关的 QTL4 个,QRSH5 和 QRSH6-2 对表型变异的解释率分别为 29.89%和 34.63%。而这些解释率较大的 QTL 所处的标记区间距离,除 QRN6-1 相对较小(19.0 cM)外,其余 QTL 的标记区间距离均大于 26.3 cM,需作进一步的精细定位。在所检测到的 QTL 中,13 个 QTL 的增效等位基因均来自耐碱亲本长白 9 号,而其余 QTL 的增效等位基因来自敏碱亲本高产 106;基因的主要作用方式为超显性或部分显性。

3 转基因研究

3.1 抗病转基因研究

抗病转基因研究一直是水稻转基因研究的重点。林春晶等^[12]将溶菌酶基因通过基因枪轰击法转入水稻品种超产 2 号和丰优 201 中,R₁ 代群体材料中转基因植株的发病指数要低于对照,外源基因的转入提高了水稻植株对稻瘟病的抗性水平。于彦春^[13]利用农杆菌介导法,将两个抗白叶枯病基因 CECROPINB 和 XA21 导入水稻品种 JY119 株系,获得了这两个基因的单独和共表达后的植株。接种 3 个不同白叶枯病菌后观察转基因植株与对照 JY119 株系发现,不论是单基因转化,还是共转化,转基因植株均表现为比较明显的抗性。从接种后发病的病斑长度来看,共转化植株产生高抗白叶枯病的可能性要大于转单抗白叶枯病基因材料。刘雪辉^[14]将浙江大学获得的转 RCH10 和 AGLU1 基因的抗纹枯病株系的遗传稳定性及抗病性进行了分析。研究发现,在 T6 代中,NPTII 基因全部得到保留,而 15%的植株发生 RCH10 基因或 AGLU1 基因的丢失,其中 1 株被检植株甚至丢失了 RCH10 和 AGLU1 双基因。保留 RCH10 和 AGLU1 双基因的 T6 转基因植株在接种纹枯病菌后抗性均高于野生稻。刘瑞芳^[3]利用农杆菌介导法将水稻转核糖体失活蛋白基因导入水稻品种丰优 307、富源 4 号和吉粳 88 中,获得抗性苗 32 株。采用离体叶片接种法对转基因植株进行初步稻瘟病抗性鉴定,发现外源基因的转入提高了水稻植株对稻瘟病的抗性水平。

3.2 抗虫转基因研究

林秀峰等^[15]利用农杆菌介导法,将苏云金杆菌素毒蛋白基因 CRYIA 和半夏凝集素(PINELLI-A TERNATA AGGLUTININ,PTA)基因转入水稻品种吉粳 81、吉粳 88 和通 887 中,用除草剂草丁膦(PPT)筛选得到转基因植株 25 株。水稻二化螟接虫鉴定结果表明,23 株转基因植株抗虫性比对照明显提高,2 株表现感虫。总体来讲,转基因水稻比对照的抗虫性明显提高。

3.3 抗除草剂转基因研究

王景余等^[16]应用基因枪法将抗除草剂基因(BAR)导入吉林省主栽水稻品种长白 8 号中,获得了抗除草剂转基因水稻植株。除草剂叶片涂布试验,有 3 个转基因水稻植株仍为绿色,表现对 Basta 除草剂有抗性,说明在阳性转基因植株中抗除草剂基因整合到水稻基因组中并得到表达,使转基因水稻植株产生抗性。

3.4 生物反应器

植物生物反应器是指利用植物悬浮细胞培养

或整株植物为工厂生产具有重要功能的蛋白质,如:人或动物的疫苗、抗体、重要的氨基酸、具有重要药用价值的蛋白或食品添加剂、工业原料的植物次生代谢产物等。目前,以水稻作为生物反应器在生产疫苗、工业酶制剂和工业可降解塑料及一些重要的药用蛋白等研究已经取得了很大进展。张秀香^[17]以鸚鵡热衣原保护性抗原基因 *momp* 基因和大肠杆菌热不稳定肠毒素 B 亚单位 *ltb* 基因为研究对象,分别构建了表达 *MOMP* 基因和 *LTB-MOMP* 融合蛋白的原核表达载体,通过农杆菌介导法,将 *ltb-momp* 融合基因导入水稻植株中,通过抗性筛选及整合性鉴定,证明获得了表达 *LTB-MOMP* 融合蛋白的转基因水稻植株。

维生素 A(V_A)是人体必需的营养元素,人体不能合成类胡萝卜素,主要依赖饮食中类胡萝卜素的供应,其中 β -胡萝卜素是其主要前体。目前为止,还未发现水稻胚乳能合成维生素 A 原的水稻栽培品种。王纪报^[2]选用植物类胡萝卜素遗传工程中的首选基因 *PSY* 以及编码 HIV-1 病毒外膜蛋白的 *gp120* 基因作为目的基因,以水稻成熟胚诱导的愈伤组织为受体,分别通过农杆菌介导和基因枪转化的方法将目的基因导入水稻,对获得的抗性苗进行 PCR、PCR-Southern 检测表明,目的基因已经整合到水稻基因组中。

3.5 其它水稻转基因研究

管清杰^[18]利用 RT-PCR 技术,从水稻品种金玉粳中克隆到水稻抗坏血酸过氧化物酶 (*APXa*) 目的基因片段。并将其转入烟草中,获得 8 株转基因植株,杨柏明^[19]首次克隆了短芒大麦的液泡型 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *HbNHX1*,并利用农杆菌介导法将其转入水稻中,获得 20 株转基因植株,为水稻抗逆遗传改良提供了新材料。

4 表观遗传学研究

申斯乐等^[20]用高压诱变水稻,并对变异品系的 DNA 甲基化模式和基因组结构进行了研究。通过对原种及两个变异品系基因组 DNA 分析,显示原种及两个变异品系不仅存在着基因组结构的变异,而且发生了 DNA 甲基化模式的改变。此外,研究发现原种和两个变异品系异地栽种,其形态水平的变异可以稳定表达。范建成等^[21]研究了蔡胁迫对水稻基因组 DNA 甲基化模式的影响。运用 MSAP 技术测定水稻纯系品种日本晴和松前经蔡染毒胁迫后,不同生长时期叶片基因组 DNA 甲基化变异的情况。水稻经蔡胁迫后存在基于 DNA 甲

基化水平和模式改变的表现遗传变异;5-甲基胞嘧啶百分含量的变化无统一趋势或规律;全部检测到的 1051 个位点中,日本晴有 16.56% 发生了变异,相对于松前的 12.08% 具有显著差异,一定程度上说明抗蔡胁迫能力与基因型有关:松前强于日本晴;不同基因型及不同生长时期 DNA 甲基化模式的变异存在明显差异,表现为以去甲基化为主(0.48%~10.41%),由此推测 DNA 去甲基化可能是植物抗蔡胁迫机制的一部分。

5 基因克隆及功能验证

赵增琳^[22]用 PCR 方法从水稻基因组中克隆了单加氧酶基因,构建原核表达载体,使之在大肠杆菌中得到表达。并通过吲哚生成靛蓝实验测定单加氧酶活性,以空载体为对照,单加氧原核表达蛋白活性明显增强,构建真核表达载体,转化拟南芥,发现转基因拟南芥能够耐受 50℃ 高温及 UV-B 紫外线辐射。李世鹏^[23]用 PCR 的方法克隆了两个水稻 I 型金属硫蛋白基因启动子,将其分别插入 pCambia1381 载体,构建了启动子与 GUS 基因双元表达载体,转化拟南芥,对其进行了功能分析。

6 问题与展望

目前,吉林省在水稻基因工程育种方面已取得不少进展,但是还缺乏基因的高效发掘技术,实用分子标记也较少,许多重要目标性状基因尚需紧密标记。同时,水稻组织培养技术存在一定的缺陷,比如出愈率、绿苗分化率都还不够高,影响后代基因型的充分表达,因此有待于在应用中进一步完善。加强基础研究,弄清楚细胞脱分化和发育的分子机制。加快基因工程与细胞工程的整合,并进一步完善技术体系。

参考文献:

- [1] 郝文媛,王丕武,林秀峰,等. 粳稻成熟胚高频率再生因素的研究[J]. 吉林农业科学, 2006, 31(4): 30-33.
- [2] 王纪报. 类胡萝卜素合成酶基因 *PSY* 及 HIV-1 *gp120* 基因对水稻的遗传转化[D]. 吉林大学, 2006.
- [3] 刘瑞芳. 农杆菌介导的水稻转核糖体失活蛋白基因的研究[D]. 吉林大学, 2007.
- [4] 林延玉. 用组织培养的方法筛选耐盐碱水稻突变体的研究[D]. 延边大学, 2001.
- [5] 金润洲,王景余,侯春香. 粳稻离体细胞的耐冷性变异与遗传[J]. 吉林农业科学, 1992(2): 6-9.
- [6] 金润洲. 水稻体细胞愈伤组织抗寒性鉴定方法初探[J]. 吉林农业科学, 1989(3): 20-23.

[7] 朴亨茂,赵粉善,赵基洪,等.对2个源自“水稻×菰”非常规远缘杂种的优良品系的分子分析[J].木本植物研究,2000,20(3):260-263.

[8] 刘振兰,董玉柱,刘宝.菰物种专化DNA序列的克隆及其在检测菰DNA导入水稻中的应用[J].植物学报,2000,42(3):324-326.

[9] 时羽.水稻转菰基因材料的培育、分子鉴定及mping转座子激活的研究[D].吉林农业大学,2008.

[10] 初秀成,赵基洪,柴杨,等.水稻与异科植物月见草远缘杂交[J].农业生物技术学报,2008,16(2):320-325.

[11] 祁栋灵,郭桂珍,李明哲,等.碱胁迫下梗稻幼苗前期耐碱性的数量性状基因座检测[J].作物学报,2009,35(2):301-308.

[12] 林春晶,董英山,林秀峰,等.转抗稻瘟病基因水稻遗传和表达的初步研究[J].分子植物育种,2006,4(2):167-173.

[13] 于彦春,张光恒,郭龙彪,等.CECROPINB与XA21基因共表达提高转基因水稻白叶枯病抗性[J].中国水稻科学,2006,20(1):105-108.

[14] 刘雪辉.转RCH10和AGLU1基因水稻后代的分子细胞学检测及抗纹枯病的相关研究[D].吉林农业大学,2008.

[15] 林秀峰,刘志铭,刘德璞,等.CryIA(a)-pta双价抗虫基因转

(上接第28页)

3 讨 论

荧光显带广泛应用于染色体识别等领域^[4,9],以往的荧光显带(Q-带)都是用喹吖因作为荧光染料。虽然发现了很多染料都激发染色体发出荧光,但广泛使用的并不是很多^[2-3]。通过文献分析发现DAPI是一种比较有前途的染色体荧光显带染料^[10]。DAPI染料在花生染色体上显现出有识别价值的带纹^[5-6],说明DAPI有可能可以用于植物染色体的显带和识别。通过本研究发现DAPI染色能在花生、玉米染色体上显现明显而强烈的带纹,在芝麻和丝瓜中染色体的带纹反差较花生和玉米要弱,在大豆中则没有明显的带纹。这说明DAPI染色能否出现明显的带纹具有种属特异性。此外,比较本研究、余朝文^[6]和Sejio等^[5]的研究结果发现,染色体DAPI显带不受品种特异性的影响。由此可见,DAPI染色体荧光显带在种内比较稳定,具有较好的应用价值。

DAPI能优先于富含AT碱基的DNA序列结合,一般认为DAPI强染色的区域是异染色质区域^[10]。在本研究观察到丝瓜有1对染色体基本被DAPI带纹涂布,说明该染色体主要由重复序列构成。在葫芦科植物黄瓜中也发现过类似情况^[11],这说明葫芦科植物可能存在某些富含重复序列的染色体。但豆科不同植物染色体的DAPI带纹模式则差异很大。由此可见,广泛积累不同植物染色体DAPI显带结果,对于染色体DAPI荧光显带的使

化粳稻及二化螟抗性评估[J].分子植物育种,2006,4(3):345-350.

[16] 王景余,金成海,方秀琴,等.抗除草剂基因基因枪法转化粳稻的研究[J].吉林农业科学,2005,30(2):3-6.

[17] 张秀香.表达LTB-MOMP融合蛋白转基因水稻的建立及免疫试验[D].吉林大学,2005.

[18] 管清杰.水稻抗坏血酸过氧化物酶(APXa)基因载体构建及遗传转化研究[D].延边大学,2004.

[19] 杨柏明.短芒大麦钠质子逆向转运蛋白基因表达载体的构建及水稻遗传转化的初步研究[D].吉林大学,2005.

[20] 申斯乐,王振伟,单晓辉,等.高压导致水稻变异品系发生DNA甲基化模式及基因组结构的改变[J].中国科学C辑,2005,35(6):490-496.

[21] 范建成,刘宝,王信媛,等.蔡胁迫对水稻基因组DNA甲基化模式及水平的影响[J].环境科学,2010,31(3):793-800.

[22] 赵增琳.稻瘟菌诱导性水稻单加氧酶基因克隆及其功能验证[D].吉林大学,2008.

[23] 李世鹏.两个水稻I型金属硫蛋白基因启动子功能初步分析[D].吉林大学,2007.

用具有重要的指导作用。

参考文献:

[1] 高猛,安玉麟,孙瑞芬.植物染色体分带及其荧光原位杂交技术研究进展[J].生物技术通报,2010(10):67-75.

[2] 周雁雁,关伟军,马月辉,等.染色体显带技术及其在生物学研究中的意义[J].上海畜牧兽医通讯,2004(5):2-3.

[3] 余朝文,宋运淳.植物荧光原位杂交技术的发展及其在植物基因组分析中的应用[J].武汉植物学研究,2006,24(4):365-376.

[4] 杨晓玲,程舟.用荧光素显带技术识别柑橘杂种染色体的多样性[J].同济大学学报(自然科学版),2007,35(5):705-707.

[5] Seijo J G, Lavia G I, Fernandez A, et al. Physical mapping of the 5S and 18S-25S rRNA genes by FISH as evidence that *Arachis duranensis* and *A. ipaensis* are the wild diploid progenitors of *A. hypogaea* (Leguminosae) [J]. American Journal of Botany, 2004, 91(9): 1294-1303.

[6] 余朝文,张礼华,蒋向辉.花生的荧光显带和rDNA荧光原位杂交核型分析[J].作物学报,2012,38(4):754-759.

[7] 安婷婷,汤佳立,孙健英,等.甘薯栽培种及其近缘野生种的DAPI核型及rDNA-FISH分析[J].西北植物学报,2012,32(4):682-687.

[8] 徐延浩,杨飞,程有林,等.45S rDNA和5S rDNA在南瓜,丝瓜和冬瓜染色体上的比较定位[J].遗传,2007,29(5):614-620.

[9] 赵丽娟,唐菲菲,刘良科.莪术CPD染色和45S rDNA荧光原位杂交核型分析[J].中国农学通报,2011,27(5):190-194.

[10] Liu JY, She CW, Hu ZL, et al. A new chromosome fluorescence banding technique combining DAPI staining with image analysis in plants[J]. Chromosoma, 2004, 113(1): 16-21.

[11] Koo D H, Hur Y, Jin D C, et al. Karyotype analysis of a Korean cucumber cultivar (*Cucumis sativus* L. cv. Winter Long) using C-banding and bicolor fluorescence in situ hybridization[J]. Molecules and Cells, 2002, 13(3): 413-418.