

朱军 吴平 陈昆松 主编

生命科学研究与应用

Theory and Application of Life Sciences



浙江大学出版社

生命科学研究与应用

朱 军 吴 平 陈昆松 主编

浙江大学出版社

1996 年·杭州

内 容 简 介

本书收入的 130 篇论文全文及 56 篇论文详细摘要,汇集了浙江省生命科学领域青年科技工作者的最新研究进展。全书共分分子生物学与生物技术、基础生物学、农林科学和医学与生物医学等 4 大部分,内容涉及分子生物学、基因工程、动(植)物学、动(植)物生理学、动(植)物遗传学、微生物学、医学、生态学及相关的环境与资源等基础理论与应用研究领域。

本书可供从事生命科学研究的科技工作者和大专院校师生阅读参考。

生命科学研究与应用

朱 军 吴 平 陈昆松 主编

责任编辑 董 耿 傅百荣

* * *

浙江大学出版社出版发行

(杭州玉古路 20 号 邮政编码 310027)

浙江农业大学印刷厂印刷

* * *

开本 787×1092 1/16 43 印张 993 千字

1996 年 5 月第 1 版 1996 年 5 月第 1 次印刷

印数:0001—1000

ISBN 7—308—01774—5/Q·009 定价:80.00 元

“浙江省首届生命科学与技术青年学术讨论会”名誉顾问

谈家桢院士（复旦大学）

“浙江省首届生命科学与技术青年学术讨论会”指导委员会

（按姓氏笔画为序）

毛江森院士（浙江省医学科学院）

朱祖祥院士（浙江农业大学）

陈子元院士（浙江农业大学）

陈耀祖院士（浙江大学）

吕维雪（浙江大学）

朱生保（浙江省科学技术协会）

孙漱沅（浙江省农业科学院）

李德葆（浙江省生物工程学会）

应存山（中国水稻研究所）

张上隆（浙江省园艺学会）

郑 树（浙江医科大学）

郑小明（杭州大学）

夏英武（浙江农业大学）

顾申年（浙江省科学技术协会）

黄纯农（杭州大学）

程文祥（浙江农业大学）

“浙江省首届生命科学与技术青年学术讨论会”执行委员会

主任委员:吴 平(浙江农业大学)

副主任委员:高勤建(浙江省科协) 李亚南(杭州大学)

委 员:(按姓氏笔画为序)

朱睦元(杭州大学)

刘建新(浙江农业大学)

刘树生(浙江省农学会)

李亚南(杭州大学)

吴 平(浙江农业大学)

吴 敏(浙江大学)

何祖华(浙江省生物工程学会)

陈 智(浙江医科大学)

陈枢青(浙江医科大学)

陈昆松(浙江农业大学)

俞晓平(浙江省农业科学院)

高勤建(浙江省科学技术协会)

曹家树(浙江省园艺学会)

龚兴国(浙江大学)

常 杰(杭州大学)

程式华(中国水稻研究所)

《生命科学研究与应用》编委会

(以姓氏笔画为序)

朱 军(浙江农业大学)

朱睦元(杭州大学)

吴 平(浙江农业大学)

吴 敏(浙江大学)

李亚南(杭州大学)

何 勇(浙江农业大学)

余建森(浙江农业大学)

陈昆松(浙江农业大学)

陈莉华(浙江农业大学)

陈 勇(浙江省医学科学院)

周伟军(浙江农业大学)

赵鲁杭(浙江医科大学)

徐国权(浙江农业大学)

常 杰(杭州大学)

程式华(中国水稻研究所)

傅承新(浙江农业大学)

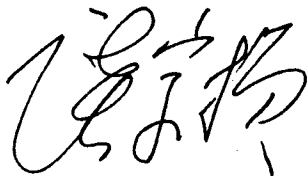
蔡 挺(浙江医科大学)

序

生命科学是推动 21 世纪自然科学发展与社会进步的关键性学科。本世纪 70 年代后快速发展起来的分子生物学(含分子遗传学)、发育生物学、神经科学、生态学等,预示着生命科学的高峰来临。生命科学技术的发展将使人类更有效地改良生物性状与品质,并控制动、植物生长发育条件,这对创造人类生存的良好环境、促进国民经济的持续与协调发展、解决 21 世纪人口增长与食品供给间的严重矛盾等具有重要意义。

顺应生命科学技术迅速发展的形势,该领域内的人才需要激增,以美国为例,近年来在 48 万博士学位获得者中,从事生命科学工作的已占 51%。从事生命科学前沿研究的我国优秀青年科学家日益增加,这对促进我国 21 世纪生命科学的发展将具有重要作用。

《生命科学研究与应用》一书是配合“浙江省首届生命科学技术青年学术讨论会”的召开而出版的。该书涉及生命科学领域内的各个分支学科,内容丰富,具有一定的深度和较高的学术价值,是目前浙江省从事生命科学研究的年轻科学工作者刻苦钻研、辛勤劳动的结晶。它的出版,无疑将有助于生命科学的研究与发展。因此,我很高兴地向读者推荐该书,并希望广大读者在该领域勇于探索,不断创新,为促进我国生命科学事业的发展而努力。



1996 年 5 月

前 言

为了更好地适应国际生命科学发展的趋势,结合浙江省世纪之交生命科学领域的具体问题,为青年科技工作者提供综合性规模的专门学术舞台,以加强青年科技工作者之间的联系,活跃学术气氛,促进跨学科的学术交流,由浙江省科学技术协会主办,浙江农业大学协办,浙江省农学会、浙江省生物工程学会、浙江省园艺学会、浙江农业大学青年学术协会、浙江农业大学学会办等承办的“浙江省首届生命科学与技术青年学术讨论会”于1996年6月10日至12日在杭州市浙江农业大学举行。本次会议共收到来自35个单位的征文250余篇。根据会议学术讨论的主题与交流活动的组织安排要求,经过专家评审,精选了130篇论文全文及56篇论文的详细摘要编入《生命科学研究与应用》一书,由浙江大学出版社正式出版。

全书共分4大部分,主要内容包括分子生物学、基因工程、动(植)物学、动(植)物生理学、动(植)物遗传学、微生物学、医学、生态学及相关的环境与资源等基础理论与应用研究领域,较全面系统地反映了浙江省生命科学领域青年科技工作者最新的研究成果和现阶段的研究水平。所选论文既有生命科学方面的学术理论研究,又有密切结合生产实际的应用研究,信息量大,范围广。由于每篇入选论文都是经同行专家严格评审精选出来的,因而具有较高的学术水平和代表性。

在本书出版之际,我们对所有应征论文的作者、论文评审专家、责任编辑、浙江农业大学青年学术协会和支持与关心本书出版的浙江农业大学和我省生命科学界的前辈们一并表示衷心的感谢!

我们希望《生命科学研究与应用》的出版,能进一步促使我省从事生命科学研究和实际应用的青年科技工作者更快成长,促进青年学者之间相互合作与交流,加快我省生命学科的发展。

由于本书从编辑到出版时间紧迫,编辑任务繁重,难免会出现疏漏与考虑不周之处,敬请广大读者批评指正。

《生命科学研究与应用》编委会

1996年5月

目 录

分子生物学与生物技术

水稻基因组研究进展	吴 平 罗安程 倪俊健(1)
水稻醇溶蛋白的生化、遗传和基因工程	何祖华 凌建群 李德葆(6)
转基因水稻研究进展	严菊强(11)
稻瘟病菌附着胞形成的分子生物学研究现状	林福呈 李德葆(17)
蚕豆萎蔫病毒研究现状及展望	周雪平 李德葆(22)
植物过敏性反应的生理学、分子生物学及信号传递	宋凤鸣 郑 重(26)
抗生素杀虫剂阿弗米丁的生物合成及其作用机制	许建平 李德葆(34)
农业生物技术与生态环境	陈进红 王兆骞(38)
水稻突变体 R917 抗稻瘟病基因分析	施 德 张铭铤 陶荣祥等(43)
水稻体细胞无性系变异体的 RFLP 分析	杨长登 庄杰云 赵成章等(46)
三个水稻胚及胚乳新性状的遗传分析	钱 前 朱旭东 曾大力等(50)
籼粳不育新位点的发现及其遗传分析	朱旭东 王建林 钱 前等(55)
用 PCR 方法研究大麦黄花叶病毒(BaYMV)的株系分化	朱睦元 童微星 沈国明等(61)
应用标准夹心直接法 ELISA 检测大麦黄花叶病毒	赵小立 马 红 翁醒华等(65)
大麦铝诱导蛋白表达的研究	童微星 朱睦元(69)
十字花科蔬菜上黄瓜花叶病毒分离物的比较研究	周雪平 刘 勇 薛朝阳等(73)
Comparison of different enzymes and probes as well as their combinations in DNA fingerprinting	傅 衍 S. Ponsuksili P. Horst(79)
新疆维吾尔族和回族人 TK-C 基因多态性研究	吴 敏 乔守怡 赵寿元(86)
甲肝病毒减毒株结构蛋白基因的克隆及其表达	陈 勇 杨能宇 洪 艳等(90)
由减式杂交筛选得到的大肠癌负相关克隆的鉴定	曹 江 蔡心涵 郑 雷等(94)
肿瘤相关基因 SH90cDNA 真核细胞表达型重组质粒的构建及其转化	吴 伟 曹 江 郑 树等(99)
表皮生长因子及其受体和 ras 基因产物 P 53 在喉癌中的表达	马未央 寿芝萍 倪灿荣(102)
pK γ TNF β 表达的人 IFN γ /TNF β 对 K562 细胞株的杀伤效应	应红宇 马志章 周 晴等(105)
Study on genotyping for the cytochrome P450 2D6(CYP2D6) polymorphism	陈枢青 Peter J. Wedlund(111)
Research on temperature effect in immunosuppression of grass carp (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	李亚南 王冀平 邵健忠等(117)
红球菌 ZAUR6 发酵生产类胡萝卜素的研究:I. 产生类胡萝卜素菌株的分离和发酵条件研究	郑晓冬 吴平谷 何国庆等(122)

酵母多倍体的原生质体电融合构建研究·····	左小明 曾云中 吴雪昌等(127)
肌肉苷发酵过程的模型化和参数估计·····	李永泉 方激炜(132)
用共固定细胞发酵生产己酸乙酯的研究·····	吴根福 马博英 陈佩华(137)
血红素加氧酶系的非膜重组及共固定化研究·····	龚兴国 曾冬云(142)
病毒诱导草鱼细胞产生类干扰素物质的研究·····	邵健忠 项黎新 李亚南等(147)
水稻胚性悬浮细胞的超低温保存与可育植株再生·····	王君晖 严庆丰 黄纯农等(152)
黄瓜种子子叶直接培养难以成花的原因初探:Ⅱ. 黄瓜种子子叶离体培养后的生理性状 变化动态·····	王首锋 梁海曼(156)
黄瓜子叶培养物花芽形成过程中 KT 和 Cu 的相互关系 ·····	杜 勤 姜维梅 梁海曼等(161)
卵清蛋白糖肽对 hCG 信号转导系统的干扰作用 ·····	吕志良 王 慧 张惟杰(164)
分子生物学新方法·····	何祖华 吴玉良 董海涛等(169)
植物阶段转变的生理生化及分子基础研究进展·····	包劲松 李载龙 张才喜等(170)
水稻对稻瘟病抗性防卫反应相关基因的克隆研究·····	何祖华 吴玉良 董海涛等(171)
蚕豆和油菜叶绿体 16SrRNA 基因在小型细胞中转录比较 ·····	贺筱蓉(172)
茶树细胞培养产生儿茶素类天然产物的研究·····	成 浩(173)
桑叶片培养及其植株再生技术的研究·····	楼程富 谈建中 周金妹(174)
利用微生物生产天然型类胡萝卜素的研究进展·····	王雅芬 王慧俐(175)
耐高温酿酒酵母菌株的改建·····	张冬妮 曾云中 吴雪昌等(176)

基础生物学

生命科学研究中的等级层次问题·····	常 杰(177)
论生物适应进化及其分子机制·····	曹家树(183)
植物染色体多样性研究现状及其在物种保护中的意义·····	傅承新 黄爱军(193)
生物多样性保护和研究利用与农业生态系统发展·····	吴建军 李全胜(199)
试论植物化学生态学研究内容·····	葛 滢 常 杰(205)
植物种群生态学的研究现状·····	陆大根 常 杰 葛 滢(210)
多聚半乳糖醛酸酶与果实的成熟软化·····	张永庆 陈昆松 张上隆(215)
植物激素与器官脱落关系的研究进展·····	徐昌杰 陈昆松 张上隆(220)
EM 技术及其应用 ·····	严力蛟 王兆骞 薛玉中(226)
富勒烯 C ₆₀ 生物学研究进展及其物理化学基础 ·····	严庆丰 钱凯先 李文铸(231)
国产菱属植物细胞分类学研究·····	黄 涛 丁炳扬 胡仁勇等(235)
国产菱属植物数量分类学研究: I. 聚类分析·····	胡仁勇 丁炳扬 史美中等(240)
睫毛婆婆纳分类地位的分支系统学研究·····	郭水良 李扬汉(245)
菝葜科(Smilacaceae)细胞分类学研究: IV. 菝葜属和肖菝葜属的核型变异和演化及科的 系统地位分析·····	傅承新 黄爱军 沈朝栋(249)
浙贝母地方品种资源的收集、考评和利用 ·····	王志安(251)
浙江开化野生果树资源的研究·····	刘 鹏 胡一中 郭水良(254)

浙江野生灵芝及其近缘种比较鉴别研究·····	陈锡林(258)
浙南山区兰属植物资源调查初报·····	柳新红 胡绍庆 周关清等(262)
演替过程中木荷种群结构和空间分布格局的研究·····	蔡 飞 宋永昌(266)
青冈常绿阔叶林生态系统分解作用研究·····	于明坚 陈启瑞 李铭红等(272)
浙江天台山七子花种群结构与分布格局研究·····	金则新(276)
大叶黄杨对遮荫胁迫的生理响应·····	陈文峻 刘茂春(280)
银杏叶中黄酮糖苷化合物的分离鉴定·····	陈云龙 谢笔钧 胡慰望(284)
三十烷醇与 6-BA 和 PP ₃₃₃ 间的协同效应研究 ·····	徐礼根 徐 程 马博英(288)
磷脂与生物膜流动性·····	杨 玲 胡燕月(293)
白颈长尾雉栖息地的植被类型研究·····	丁 平 杨月伟 姜仕仁等(296)
鸟类的方言及研究方法·····	姜仕仁 丁 平 诸葛阳(302)
部分常见淡水鱼生化组份分析·····	王冀平 李亚南(307)
碳氮源对腐霉菌丝生长、卵孢子萌发及其黄瓜苗期病害的影响 ·····	王政逸 王仲媚 张炳欣(312)
温度对耐热酿酒酵母 H1 生长的影响及其最适生长温度 ·····	吴雪昌 曾云中 左小明等(317)
家蚕核多角体病毒侵入中肠上皮细胞的电镜观察·····	林玉清(320)
三角帆蚌瘟病毒的理化及生物学特性的研究·····	项黎新 邵健忠 李亚南等(324)
浙江九龙山青冈林的数值分类·····	张方钢(328)
野葛地下器官的解剖学研究·····	胡江琴 余象煜(329)
青霉素对板栗花性别分化的调节·····	陈顺伟 李春才 余梅林等(330)
棕榈酰化修饰超氧化物歧化酶·····	孙红颖 曹海石 罗贵民(331)
动物标本的制作与保藏·····	沈 宏 范忠勇(332)
草鱼淋巴细胞亚群的研究·····	李亚南 陈全震 邵健忠等(333)
三角帆蚌瘟病的超微病理特点观察·····	邵健忠 项黎新 李亚南等(334)
榨菜卤脚水对环境的影响及防治·····	苗炳森(335)

农林科学

我国两系法杂交稻研究的现状、问题与对策 ·····	程式华 斯华敏 卓丽圣等(336)
浙江省“九五”增加粮食途径的思考——论水稻旱育稀植高产栽培技术·····	赵国平(343)
浙江省早籼稻品种区域试验 AMMI 模型分析 ·····	郭红明 吴国泉 郭银燕等(348)
试论我国杂交水稻种植制度的形成与发展·····	金千瑜(353)
水稻品种慢瘟性研究进展和应用展望·····	孙国昌 孙淑沅(358)
种子包衣技术研究进展·····	樊龙江 颜启传(362)
三唑类植物生长延缓剂调控油菜生长的作用机理·····	周伟军 叶庆富 奚海福(366)
我国甘薯脱毒薯的研究现状及其应用前景·····	陆国权(372)
鸭梨果实采后生理基础及其贮藏技术·····	陈昆松 张上隆 李 方(375)
蔬菜作物钙营养失调发生机理的研究进展·····	缪 颖 曾广文 蒋有条(380)

荒地资源开发利用环境影响评价的指标体系·····	周启星	俞凯靓(387)
赤眼蜂研究和应用进展·····	刘树生	施祖华(391)
我国档案害虫防治研究的现状与展望·····	金 玲	(397)
昆虫卵黄发生及其激素调控研究的最新进展·····	叶恭银 胡 苹	龚 和(401)
昆虫种群密度的二项抽样估计模型研究进展·····	汪信庚	刘树生(408)
膜翅目昆虫毒液研究概述·····	陈学新	余金良(413)
昆虫的脂类及其食用营养价值·····	叶兴乾	胡 苹(419)
作物生长动态模型及其与土壤水分关系的模拟·····	吕 军	(422)
硒对动物免疫机能的影响·····	吴跃明	(428)
离子注入的生物效应及其在品种改良上的应用·····	崔海瑞	(432)
鱼类遗传育种的现状和前景·····	薛良义	(437)
中波紫外线(UV-B)增强对水稻生长及产量结构形成的影响·····	华志华 王 熹	(442)
碳源和基因型对棉花离体未受精胚珠纤维发育的影响·····	郑泗军 季道藩	许复华(448)
籼稻稻米品质的遗传效应和相关分析·····	石春海	朱 军(453)
EDTA 对低酚棉某些生理特性及成铃和产量的影响·····	郭飞波 贾仁清	刘根松(460)
不同抑制物质对杂交水稻种子生活力和胚贮藏蛋白的影响 ·····	胡伟民 周祥胜 陈文岳等	(465)
稻田常用除草剂对褐飞虱主要天敌的杀伤作用·····	陈建明 黄次伟 马炳灿等	(469)
非稻田生境对稻飞虱卵期主要寄生蜂的作用·····	俞晓平 胡 苹 K. L. Heong	(473)
红麻三熟制(红麻—晚稻—冬作)栽培技术研究·····	阮关海 朱化虹 章政委	(478)
作物品种稳定性和地区效应分析·····	何 延 吴国桢	胡秉民(481)
杭州园冬瓜开花习性及其果实发育的研究·····	汪炳良	(485)
安吉白茶阶段性返白现象的研究·····	李素芳	(489)
茶树催发素对茶树新梢化学成分和品质的影响·····	梁月荣 陆建良	尚淑玲(494)
施铜对茶树 Cu、P 含量及碳氮代谢的影响·····	韩文炎	许允文(498)
土壤水分和供钾水平对茶树生长和吸钾的影响·····	阮建云	吴 洵(502)
植物对酸铝胁迫的生理生化反应·····	陆建良	梁月荣(506)
异丙甲草胺在土壤中的移动和降解研究·····	徐建民	(513)
灌溉稻田的甲烷产生潜力和甲烷排放·····	陈 苇 卢婉芳 段彬伍等	(517)
利用冠层及叶片反射光谱分析速测水稻氮素含量的研究 ·····	王 珂 沈掌泉 蒋亨显等	(523)
蚕丝蛋白—丝胶凝胶的物性研究·····	朱良均 姚菊明	(526)
之江菌素体内代谢机制的初步研究·····	施跃峰 桑金隆 夏湛恩等	(532)
鸡新城疫 V ₄ 疫苗的免疫试验·····	余旭平 朱凤君 陈亚香等	(534)
浙江省主要纤维树种资源及其定向选择研究·····	袁位高 江 波 孙敏华等	(538)
浙江省沿海基岩海岸马尾松林的研究·····	高智慧 康志雄 蒋妙定等	(544)
浙江水灾成因与森林防灾效果的研究·····	孙惠根 周晓丽	(550)
湿地松种子分级育苗的研究·····	姜景民	(555)

毛竹及浙江淡竹根际联合固氮的研究·····	顾小平	吴晓丽(561)
基因型与环境互作对水稻光敏核不育花培系育性的影响·····	张能义	薛庆中(566)
水稻不同胞质雄性不育恢复基因的探讨·····	程朝阳	薛庆中(567)
水稻肥料试验不同产量区域的误差分布特征·····	吴良欢 陶勤南	吴 平(568)
麦—稻—稻三熟制中翻耕与免耕效应的研究·····	禹盛苗 许德海	林贤青(569)
秧苗抑根与促根在晚稻上的应用探讨·····	林贤青 许德海	禹盛苗(570)
应用荧光光谱特征监测水稻钾营养的可行性研究·····	王 珂 沈掌泉	王人潮(571)
动态模拟技术在作物生产中的应用与前景·····	严力蛟 杜建生	郑志明(572)
用作物气候模型(YLDMOD)估计水稻产量 ·····	朱德峰 蔡体常	谢笑贤等(573)
二棱大麦必需氨基酸含量的遗传研究·····	闫新甫 徐绍英	李卫芬等(574)
特种甘薯资源开发利用现状及其前景·····		陆国权(575)
茶树新梢内源吲哚乙酸和吲哚乙醛的测定及其与生育的关系 ·····	钱利生 潘根生	沈生荣(576)
对我国东南部地区一些树木的施肥与营养生长关系的探讨·····		高志勤(577)
不同树种基质对香菇蛋白营养和多糖含量的影响·····	朱光权 邹达明	胡华杰等(578)
水稻稻瘟病菌小种间相对生存力研究·····	柴荣耀	金敏忠(579)
褐飞虱在抗虫水稻品种 IR26 上的适应性研究 ·····	吕仲贤 俞晓平	张志涛等(580)
甘蓝和白菜上桃蚜种群的空间格局及其时序动态·····	刘树生 汪信庚	吴晓晶等(581)
杭州郊区菜蚜种群的空间动态·····	汪信庚 刘树生	吴晓晶等(582)
杭州郊区菜蚜种群的数量消长规律·····	刘树生 汪信庚	吴晓晶等(583)
三种鳞翅目幼虫在花椰菜植株内的分布·····	郭世俭	宋会鸣(584)
菜蚜二项式抽样设计及其精度分析·····	张光美 刘树生	冯明光等(585)
考虑动物亲缘关系矩阵时杂交参数的估计·····		傅 衍(586)
酶处理对蒸煮稻草和未处理稻草营养价值改善效果的比较 ·····	刘建新 E. R. Ørskov X. B. Chen	(587)
青绿饲料生产的经济生态位效能及其发展对策·····		吴国庆(588)
食品微胶囊的设计与应用·····	杨志坚	陈云龙(589)
羟化赖氨酸清除超氧阴离子自由基能力的研究·····	张 英 丁霄霖	冯亚菲(590)

医学与生物医学

细胞凋亡的研究进展及其在医学中的应用前景·····	陈 智	刘克洲(591)
抗衰老植物药研究进展·····		唐建军(594)
肿瘤细胞耐药性的细胞动力学分析·····	杨 骅 郑 树	胡 汛等(599)
皮肤阻抗等效电路及经络低阻抗原因探讨·····	杨国平	贾晓航(602)
HCV 感染孕妇的引产胎肝内 HCV RNA 的定位研究 ·····	沃健儿 陈 智	刘克洲等(605)
肺支气管鳞癌人乳头瘤病毒抗原表达的组织学研究·····	蔡 挺 彭慧琴	魏红权等(609)
丙型肝炎病毒母婴传播的研究·····	徐陈槐 沃健儿	刘克洲等(612)
免疫组化法检测喉癌发生各阶段中 p53、PCNA 的意义 ···	任国平 许亮文	林 山等(616)

高分子载体药物—块诺酮- α,β -聚(羟烷基)-DL 天冬酰胺的研究

- 汤谷平 章志坚 吴永江等(620)
- 丙型肝炎病毒体外感染 MT-2 细胞的研究 陈 智 刘 勇 陈明华等(623)
- 右旋普萘洛尔经大鼠阴道给药后的吸收、分布和排泄 周慧君 顾芝萍 曹 霖(626)
- 苯巴比妥、西咪替丁对醋氨酚致大鼠胚泡毒性的影响 楼宜嘉 吴宇芳 程傲寒(632)
- 玻璃化冻存对骨髓细胞功能及造血重建的影响..... 胡军祥 刘向红 葛云法等(636)
- 玻璃化冻存小鼠肝细胞活性及其膜完整性研究..... 刘向红 胡军祥 余文东等(641)
- 中药预防类固醇造成兔股骨头坏死的研究..... 高根德 周林宽 许林薇等(646)
- 女贞子多糖的提取及其对小鼠淋巴细胞增殖反应的影响..... 阮 红 吕志良 毛俊浩(650)
- 倍加乐中苦参总碱的含量测定..... 俞剑平 祝 明 杨建民(655)
- 微量元素 Mn 的研究进展..... 吴巧凤(658)
- 生物学中的光学层析成像技术..... 应金品 孙 威(659)
- 基于核磁共振图像的脑组织分割..... 唐 果 赵晓东 汪元美(661)
- 一种新颖的抗原信号增强方法——BT 法在免疫组织化学中的应用: I. BT 法在石蜡切片中检测 IgD 周 韧(662)
- 不同参数的低频刺激对神经突触可塑性的影响..... 陈志雄 伊藤宪一 藤井聪等(663)
- 人胎脑细胞深低温保存后的功能和超微结构研究..... 胡军祥 王明华 李大林等(664)
- 重复缺氧对离体豚鼠心肌兴奋不连续性扩布的影响..... 包颖颖 沈岳良 陆 源等(665)
- 缺血预处理对缺血一再灌注心脏功能的影响..... 陆 源 沈岳良 夏 强(666)
- 猫肺连续组织学切片的计算机体绘制法三维重建..... 方马荣 韩永坚(667)
- 白术多糖免疫调节功能的研究..... 毛俊浩 吕志良 曾群力等(668)
- 榄香烯抗癌作用与诱导肿瘤细胞凋亡有关..... 杨 骅 王仙平 郁琳琳等(669)
- 美丽红豆杉枝叶中紫杉醇及其衍生物的分离研究..... 卢立晃 张秀梅 邱毅华等(670)
- 茶多酚对氯霉素毒性作用的影响..... 冯 磊 余应年 陈星若(671)
- 蚕蛹、蚂蚁蛋白质氨基酸的营养和药用分析 王冀平 李亚南(672)

水稻基因组研究进展

吴 平 罗安程 倪俊健 (浙江农业大学, 杭州 310029)

摘 要: 植物高密度分子标记图谱的建立为借助生物技术利用和改造植物提供了基础。分子标记技术的拓展与广泛应用加速了以最终阐明基因组的全部序列和遗传信息,建立物理图谱与基因图谱为目标的基因组研究。水稻作为禾本科植物基因组研究模式植物,在植物基因组研究中具有突出地位。本文对近年来水稻基因组研究分子标记图谱及构建有关技术的研究成果与进展作一简述,供参阅。

关键词: 水稻; 基因组; 分子标记

Advances in rice genome studies: Wu Ping, Luo Ancheng, Ni Junjian (Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Development of high density molecular map provides novel approaches to genetically improve plants by using biotechniques. The content of molecular markers has been expanded and widely used in model plant genome studies and construction of high density molecular maps which will be finally converted into physical maps and gene maps. Rice, as model plant among the cereals, is one of the most important crops for plant genome studies. In the present paper, as a mini review, current knowledge about rice genome and the molecular map construction, and related techniques developed during the past few years were discussed.

Key words: Rice (*O. sativa*); Genome; Molecular markers

植物基因组的研究是分子生物学的前沿领域,其应用已活跃在分子生物学各个方向,如基因定位,数量性状基因(QTL)定位与遗传分析,分子标记辅助选择,以分子图谱为基础的基因克隆,分子进化等。基因组研究的最终目标是阐明基因组的全部序列和遗传信息。高密度分子图谱的建立是达到最终目标的基础。在过去几年,高密度图谱快速发展得益于各种新型分子标记技术的发展与应用。水稻作为禾本科植物的基因组研究模式植物^[1],分子标记图谱已趋饱和。在比较基因组研究成为分子进化研究的重要领域后,作为模式植物的水稻基因组研究在植物基因研究计划中地位更加突出。目前水稻基因组研究计划正沿着构建物理图谱与基因图谱二条路线继续深入。本文对近几年来国际上水稻基因组研究的成果及进展作一简介,供参考。

1 水稻分子连锁图谱及比较基因组研究

美国康乃尔大学 S. D. Tanksley 实验室与日本国家水稻基因组研究实验室在 1988 年以来独立发展了水稻分子标记连锁图谱。McCouch 等于 1988 年发表了包括了 135 个限制性片段长度多态性标记(RFLP)的第 1 版水稻分子标记连锁图^[2]。RFLP 标记由单拷贝或低拷贝序列组成,对某一作图群体来说,图谱密度取决于群体亲本间 RFLP 程度及大量的探针与内切酶组合筛选。提高图谱密度的策略之一是选用远缘杂交群体作建图材料,如 Causse 等最新发表的包含 762 个标记的图谱所用建图材料为从籼稻 BS125(*O. sativa*)与野生稻 WLOZ(*O. longistaminata*)

的回交群体^[3]。另一方面,高密度图谱的快速发展得益于各种新型分子标记与其它禾本科植物分子标记的应用。如在 Causse 等^[3]发表的最近图谱中包括了 112 个燕麦 cDNA 克隆,20 个大麦 cDNA 克隆,2 个玉米基因组 DNA 克隆,11 个微卫星标记(见后),6 个随机扩增多态性 DNA (RAPD) 克隆与 3 个染色体端粒标记。该图谱覆盖了 149lcM,标记平均间距为 4cM。日本建立水稻基因组研究计划稍晚于美国,但进展很快。目前日本发表的水稻分子标记连锁图已含 1500 个标记^[4],其中有 883 个表达序列标记(EST)。图谱上标记的平均间距为 300kb,与酵母人工染色体(YAC)克隆插入片段的平均长度相当,为连续跨叠系列(Contigs)的建立奠定了基础。由日本与美国独立发展的水稻分子标记连锁图虽然所用材料不同,(Tanksley 实验室第一版及后续版图谱标记主要从籼稻 IR36 PstI 文库中筛选,日本所建图谱标记主要从梗稻 Nipponbare PstI 文库中筛选),但标记连锁群及相对位点基本一致。结合这两种版本图谱发展高密度图谱在近几年已进行。水稻分子标记图谱的发展与图谱的应用是同步进行的。水稻许多重要农艺性状基因位点已标记在图谱上。值得一提的是,基于所筛选的 15 个次级三体型及 7 个末端三体,结合剂量效应分析,水稻染色体着丝点定位工作已于 1995 年在国际水稻所完成^[5]。着丝点的确定,使各分子标记连锁群方向及标记在染色体臂的位置得以确定。

禾本科植物基因组具有大量相同保守序列的事实,使栽培禾本科作物被认为来自一个遗传系统^[6-8]。禾本科作物之间大量共同的 DNA 标记的交叉使用大大增加了分子标记数量,有利于高密度分子标记图谱构建。应用共同的 cDNA 克隆,Ahn 和 Tanksley^[9]构建了水稻与玉米的遗传同源位点图谱,发现保守连锁群占基因组的 $\frac{2}{3}$ 以上,其中有在基

因内容及基因序列上几乎一致的染色体或染色体臂。比较作图研究对重要农艺性状基因定位及遗传分析提供了有效的方法。Pater-son 等^[10]报道了控制种子大小,落花等性状的重要 QTLs 在水稻、玉米和高粱中密切相关,这反应了栽培禾本科作物在人为选择过程中形成的遗传变异一致性。这一发现支持数量性状具有少数主效基因的模型,为 QTLs 的克隆及复杂性状在各作物中有效的基因定位与克隆提供了理论依据。

2 新型分子标记技术的应用

如前所述,高密度分子标记连锁图的快速发展得益于新型分子标记的发展与应用。而新型分子标记的发展与应用得益于 PCR 技术的发展与应用。过去几年中新型分子标记技术应用主要有两个方面:(1)代表高容量标记技术的 RAPD^[11]与扩增片段长度多态性标记(AFLP)^[12]标记技术应用;(2)序标位标记(STS)技术应用^[13]。STS 标记连锁图被认为是将替代 RFLP 连锁图的新一代分子标记连锁图。基因组简单序列长度多态性标记(SSLP)^[14]被认为是 STS 标记的丰富资源。

RAPD 和 AFLP 标记技术允许同时检测基因组的多个位点,显著地提高了对基因组分析的效率。与 RAPD 类似的随机扩增多态性的方法还有任意引物 PCR(AP-PCR)与 DNA 扩增指纹图谱(DAF)分析技术。AP-PCR 反应中引物长度与一般 PCR (AP-PCR)反应引物相当,但在反应初时退火温度较低,以产生大量随机性质的扩增。DNA 反应中所用引物比 RAPD 更小(7~8 个碱基),因此在扩增反应中有比 RAPD 更大的随机性。RAPD 分析大大减少多态性分析的工作,使用的 DNA 极少,合成一套引物后可用于不同生物基因组分析。但 RAPD 检测受反

应条件影响较大,重复性差,不具单拷贝和共显性特征。因此,在构建分子连锁图谱时,需将 RAPD 标记克隆后,进行 RFLP 分析,如不是重复序列,即可转换为 RFLP 标记。

RAPD 标记已广泛地应用于遗传图与基因定位等方面。Monna 等^[15]用 40%~70%GC 含量的随机引物在水稻分子标记构图群体材料亲本 Nipponbare 与 Kasalath 之间筛选了 102 个 RAPD 标记,以筛选的 RAPDs 克隆为探针与 F₂ 群体 DNA 杂交并与 1000 个分布于 12 条染色体的 RFLP 标记连锁分析确定其位点。许多 RAPDs 填补了原 RFLP 连锁图的空白区域,某些 RAPDs 使图谱向端粒延伸。该研究结果表明了 RAPDs 对构建高密度图谱是极有价值的。如前所述,在 Causse 等^[3]发表的最新图谱中也包括了 6 个 RAPDs。

AFLP 标记技术是近年来发展起来的高效基因组多态性检测技术。在 AFLP 分析中显示多态性 DNA 片段不是由限制性内切酶酶切基因组的 DNA 产生的,而是通过 PCR 扩增基因组 DNA 模板产生的。但鉴于一般的 PCR 反应要求,在进行 AFLP 分析前,必需根据基因组中被扩增的 DNA 片段两端的序列设计合成相应的引物。确定被扩增 DNA 片段两端序列方法原理为,通过双酶切割基因组 DNA(单或低拷贝切割酶如 Pst I 与多位点切割酶如 Mse I),在切割片段两端连接内切酶识别序列接头(Mse I 接头与标有生物素基团的 Pst I 接头),接头 3' 末端碱基被替换以保证连接子 DNA 片段不再被酶切。由 Mse I 与 Pst I 接头连接的 DNA 片段用链霉抗生物素蛋白磁珠(Streptavidin magnetic beads)提取作为 PCR 反应模板。选择只能与酶切位点序列匹配的 1~3 种核苷酸连接到引物的 3' 末端,保证只有能与选择的核苷酸匹配的限制性片段才能被扩增。因此 AFLP 检测过程也称为选择性限制性片段扩

增(SRFA),应用 AFLP 技术发展水稻分子标记图谱的技术已在国际水稻基因组实验室建立。

STS 是一定长度的特异序列所界定的位点(一般为 200~500bp)。任何单拷贝的多态性标记都可转变为 STS 标记。转化的前提是测定长度适合的单拷贝的两端序列,设计一对专一扩增引物(长度为 20 个核苷酸左右),用 PCR 方法显示 STS 的特异。Monna 等^[15]报道了水稻 RAPD 标记转化为 STS 的工作。通过克隆构图群体亲本单拷贝多态性 DNA 并与 F₂ 个体 RAPDs 杂交,从而确定多态性片段的部分序列及适合引物对。由此确定的某些 STS 专一引物产生共显性多态性,在这种情况下,用 F₂ 群体材料的分析可进一步筛选 STSs。进一步从 RAPDs 转换 STSs 的工作在日本水稻基因组研究计划中作为一项重要工作正在进行。在遗传图谱上定位的 STS 标记是目前基因组研究的热点。最富信息和多态性的 STS 标记可能从微卫星重复序列的 DNA 区域获得^[16]。

3 水稻基因组 DNA 重复序列的研究

真核生物基因组中存在许多未知功能的重复序列。植物基因组的重复序列一般在 50%以上^[14]。重复序列按其在染色体上的分布方式,可分为散布重复序列和串联重复序列。散布重复序列的拷贝数很多,在重复单位之间彼此常有序列的变化,难以用作 RAPD 标记。串联重复序列按重复单位的大小,可分为卫星序列(Sattellite),小卫星序列(Minisatellite)和微卫星序列(Microsatellite)三种。卫星序列的重复单位很大,一般分布在染色体的异染色质区,难以采用分杂交或 PCR 的方法揭示其多态性。小卫星和微卫星序列重复单位较小,由重复单位的序列差异和重

复单位的数目变化,可形成非常丰富的多态性,因而可进行多态性分析和染色体定位。目前已发展了多种方法利用微卫星的多态性作为遗传作图的分子标记。如 Causse 等发表的图谱已含有 11 个微卫星标记^[3]。

水稻中存在约占 0.45×10^9 bp 大小的 (AC)_n^[17] 和大量的 (CGG)_n^[18]。Panaud^[19] 用 13 个微卫星序列(包括 2 个双碱基序列,7 个 3 碱基序列和 4 个 4 碱基序列)作为分子探针筛选水稻基因组 DNA 与 cDNA 文库。结果表明,约有 1360 个 (GA)_n 和 1230 个 (GA)_n 微卫星,获得频率分别为每 330 与 365 个 kb,这与较早时的报道基本一致^[17]。在 cDNA 与基因组 DNA 中检测到的最高频率微卫星是一致的,但在 cDNA 中未检测到 (CGG)_n 与 (ATC)_n 及 4 碱基序列。在基因组 DNA 中检测到了碱基重复序列约有 2700 个,这表示了碱基重复序列是水稻丰富的分子标记资源,但不同水稻基因型材料在这些微卫星位点的差异程度,即由这些微卫星产生简单序列长度多态性 (SSLPs) 及在基因组的分布须进一步明确。在人类基因组中 3 碱基重复序列被认为与遗传疾病有关^[20]。对含有微卫星序列的水稻 cDNA 克隆的特性的了解及筛选内含子中的简单序列重复 (SSR) 将使人们对植物基因组中这些重复序列的作用有进一步的了解。微卫星序列标记的发展是发展以 PCR 为基础的分子标记的重要内容。但微卫星 DNA 作为一种标记,其方法学上的缺点是必须针对每个染色体座位的微卫星,发现其两端的单拷贝序列以设计引物。

4 物理图谱与基因图谱研究进展

植物基因组研究的目标是建立模式植物的物理图谱与基因图谱。这二个研究方向的策略与阶段为:构建模式植物饱和遗传图;发

展用于克隆大片段 DNA 的酵母人工染色体 (YAC) 与细菌人工染色体 (BAC) 文库;利用序标位标记 (STSs) 或指纹分析建立克隆片段的 Contigs 物理图谱;建立模式植物不同发育阶段,不同组织器官的 cDNA 文库;测定文库中每个克隆的 cDNA 序列,利用已知 cDNA 序列发展表达序列标记 (EST) 并将它们定位在物理图谱上建立基因图谱。根据 1992 年日本水稻基因组研究计划提出的时间表估计,1995 年后,水稻物理图谱与基因图谱的构建将成为水稻基因组研究的重点工作^[21]。事实上,目前的研究进展比这一估计还要快一些。

水稻的 YAC 和 BAC 文库均已建成。已发表的水稻 BAC 文库包括 11000 个克隆,克隆的平均大小为 125kb,并已从该文库中分离出 Xa-21 连锁的 3 个 DNA 标记有同源性。已构建的水稻 YAC 文库已包括 7000 个平均大小为 350kb 的克隆,覆盖相当于 5.5 个单倍体基因组^[22,23]。但该文库中约有 40% 的克隆是嵌合的,这些克隆需经筛选分离所需序列。BAC 克隆片段小于 YACs,但没有发现嵌合克隆,这对有效分析克隆的特性比较有利。

我国水稻基因组研究在水稻物理图谱构建方面已进入国际先进水平。根据 1996 年 1 月在美国加州圣地亚哥召开的第四届国际植物基因组会议上的宣布,我国水稻基因组研究组已在水稻 12 条染色体上完成了 BACs 之间的跨叠,为整个水稻染色体组的测序建立了基础。这一报道引起了国际上的高度关注。确定 YACs 在染色体的位点的工作,日本水稻基因组研究于 1994 年开始,已标定在染色体上的 YACs 已达 932 个^[24]。标定 YACs 染色体位点的方法目前主要通过已标记的 RFLPs 进行菌落杂交。通过克隆 YAC 末端克隆建立 YACs 之间的跨叠及用水稻重复序列对 YACs 进行指纹分析的方法