

云南地方稻种 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基变异与直链淀粉含量的关系

张娅丽^{1,2} 许明辉^{1,*} 曾亚文¹ 姚春馨¹ 陈善娜²

(¹ 云南省农业科学院 云南省农业生物技术重点实验室, 云南 昆明 650223; ² 云南大学 生命科学学院, 云南 昆明 650091; * 通讯联系人, E-mail: xuminhui@sohu.com)

Relationship Between the First Base of Splice Donor of *Wx* Gene Intron 1 and Amylose Content in Yunnan Indigenous Rice Varieties

ZHANG Ya li^{1,2}, XU Ming hui^{1,*}, ZENG Ya wen¹, YAO Chun xin¹, CHEN Shan na²

(¹ Key Laboratory of Biotechnology Research of Yunnan Province, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China; ² College of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091, China; * Corresponding author, E-mail: xuminhui@sohu.com)

Abstract: There is a single nucleotide polymorphism, G or T, at the first base of splice donor site of *Wx* gene intron 1. A one step PCR method was used to determine whether it is G or T in 220 Yunnan indigenous rice varieties from 14 districts, 55 towns/counties of Yunnan Province, of which 101 varieties were validated by PCR-Acc method. According to the G/T polymorphism, 164 rice varieties showed GG genotype, while the other 56 were TT genotype, accounting for 74.5% and 25.5% of all the varieties, respectively. When all the rice varieties were divided into indica and japonica subspecies, it was found that 80.5% of indica rice and 67.0% of japonica rice showed GG genotype. The rice varieties with GG genotype had significantly higher amylose content (mean 18.97%) than those with TT genotype (all below 16%), though 33 rice varieties with GG genotype still had low amylose content ranging from 3.91% to 15.93%, but most of them came from the Dai minority area in the Southwest of Yunnan Province. However, there was no significant difference in the mean amylose content of the same GG or TT genotypes between indica and japonica rice, indicating that different genetic background, indica or japonica, had no effect on amylose content. The coefficient of correlation between genotype and amylose content was 0.733 ($P < 0.01$).

Key words: Yunnan; indigenous rice variety; waxy gene; intron; base; amylose content

摘要:应用 PCR 一步法对来自云南省 14 个地州、55 个市/县的 220 个籼、粳地方稻种 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基 G/T 进行了检测,同时用 PCR-A α I 酶切法对其中的 101 份进行验证,结果表明两种方法检测结果一致。根据 G/T 碱基将 220 个供试材料分为 GG、TT 两种基因型。云南地方稻种以 GG 型占优势,有 164 个,占 74.5%;TT 型有 56 个,占 25.5%。籼稻中 80.5% 属 GG 型,粳稻中 67.0% 属 GG 型。GG 型直链淀粉含量较高,平均 18.97%,TT 型较低,均低于 16%,GG、TT 基因型之间的平均直链淀粉含量差异极显著。G/T 与直链淀粉含量存在密切的联系,其相关系数为 0.733^{**}。GG 型品种中有 33 个直链淀粉含量较低(3.91% ~ 15.93%),多数为来源于云南西南部傣族地区的品种。籼稻中的 GG 型或 TT 型品种与粳稻中的 GG 型或 TT 型品种间平均直链淀粉含量无显著差异,表明 GG/TT 基因型在籼粳不同遗传背景下直链淀粉表达无显著差异。

关键词: 云南; 地方稻种; 蜡质基因; 内含子; 碱基; 直链淀粉含量

中图分类号: Q943; S511.033

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2007)01-0020-05

直链淀粉含量是决定稻米食用和加工品质的一个重要因素^[1-2]。直链淀粉含量高的稻米,米饭较硬,饭粒松散,胀性好;直链淀粉含量低的稻米,米饭较软,饭粒黏结,胀性小。随着人们生活水平的提高以及用途和地域的不同,人们对直链淀粉含量的要求也不尽相同,直链淀粉含量已成为水稻品质育种研究的一个重要方面^[3-4]。

水稻中控制稻米直链淀粉合成的主要是蜡质基因(*Wx*)编码的结合在淀粉粒上的淀粉合成酶(GBSS)^[5-7]。水稻蜡质基因表达调节规律的研究表明稻米中直链淀粉含量的高低是由该品种蜡质基因第一内含子的剪接效率决定的^[8]。进一步的研究还显示蜡质基因第一内含子的剪接效率与第一内

含子供体 + 1 位置的碱基是正常的 G 还是突变成 T 有关^[9-13]。若蜡质基因第一内含子供体 + 1 位是正常的碱基 G,蜡质基因第一内含子能被正常剪接,水稻胚乳中就能产生较多的蜡质基因成熟 mRNA,GBSS 的量就较多,胚乳中直链淀粉含量就高;反之,蜡质基因第一内含子供体 + 1 位的碱基 G 突变成 T 后,蜡质基因第一内含子利用别的剪接位点进行剪接,剪接效率低,胚乳中产生的蜡质基因成熟 mRNA 的量减少,GBSS 的量也较少,相应的胚乳中

收稿日期: 2006-07-13; 修改稿收到日期: 2006-08-08。

基金项目: 云南省攻关计划资助项目。

第一作者简介: 张娅丽(1980-),女,硕士研究生。

直链淀粉的合成水平也降低。Ayres 等^[14] 最早根据 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位的这种 G/T 多态性,设计了 PCR *Acc* 检测方法,即 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基是 G 时,它能与旁邻的碱基构成 *Acc* 的识别位点 AG_ATA,使含 AG_ATA 序列的扩增片段能被 *Acc* 酶切,而含 AG_ATA 序列的不能被 *Acc* 酶切。通过对 89 份水稻品种的检测发现,高直链淀粉含量的品种 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基为 G,可以被 *Acc* 酶切,低直链淀粉含量的品种为 T,不能被 *Acc* 酶切。蔡秀玲等^[15] 利用这种分析方法,改进了可以检测水稻 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基的 PCR *Acc* 分子标记来研究籼稻品种的直链淀粉含量。毛兴学等^[16] 又根据 PCR 扩增时引物 3 末端碱基与模板的匹配程度对扩增效率的影响而设计了 PCR 一步法,为满足育种中批量检测需要提供了一个简单、快速、经济的方法。

云南省是世界上最大的稻种遗传多样性和生态多样性中心之一^[17-19]。本研究对 220 个云南地方稻种 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基 G/T 进行了检测分析,以揭示云南地方稻种 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基 G/T 的特点及与直链淀粉含量的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试材料是来自云南省 14 个地州、55 个市(县)的 220 个地方品种,皆为多年自交提纯的纯合株系。按照程氏指数法^[20-21] 分为籼稻 123 份、粳稻 97 份,经过多年自交,纯合度高。这些稻种在地理上几乎涵盖了云南全境,所处的气候生态类型极其多样。

1.2 直链淀粉含量的测定

供试材料于 2003 年统一种植在云南省新平县腰街镇(海拔 500 m),顺序排列,每个材料种植 100 株,管理同大田,成熟后收获。按国家标准(GB/T15683-1995)由农业部农产品质量与监督中心(云南昆明)测定稻米直链淀粉含量。

1.3 DNA 的提取

采用 Murray 等的 CTAB 法^[22],从单株叶片中提取总 DNA,试剂均为国产分析纯。

1.4 PCR 一步法检测

PCR 一步法反应体系、扩增程序、引物参考毛兴学等^[16] 报道的 PCR 一步法,引物序列为 5-

TCAGGAAGAACATCTGCAAGG 3 和 5-TCAGCCTAACCAACATAACGAA 3,由上海生物工程公司合成。扩增产物在 3% 琼脂糖凝胶上电泳,以 *Hinc* 酶切后的 Bacteriophage X174 *amb* DNA 作为分子标记。

1.5 PCR *Acc*I 酶切法检测

PCR *Acc* 酶切法的 PCR 反应体系、扩增程序、引物参照蔡秀玲等^[15] 报道,引物序列为 5-GCTTCACTTCTCTGCTTGTG-3 和 5-ATGATTTAACGAGAGTTGAA-3,由上海生物工程公司合成。

在 0.5 mL 离心管中,加入 12 μ L PCR 扩增产物、1.5 μ L 10 \times 酶解缓冲液和 5 U *Acc* 酶,用 ddH₂O 将总体积补足为 15 μ L,混匀后在 37 $^{\circ}$ C 下保温 1.5 h。酶解产物和未酶解的产物(对照)在 3% 琼脂糖凝胶上电泳,以 *Hinc* 酶切后的 Bacteriophage X174 *amb* DNA 作为分子标记,根据迁移距离区分能被酶解与不能被酶解的 DNA 带。

2 结果与分析

2.1 PCR *Acc* 酶切法与 PCR 一步法比较

应用 PCR 一步法对每个品种 DNA 进行 PCR 扩增,有的品种可以扩增出一条带,有的则无产物或仅有模糊影子。由于所用上游引物 3 末端碱基设计为 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基且为 G,如果模板链 DNA 相应位置是 C,其扩增效率就比模板链相应位置为 A 时高 100 倍^[16,23],扩增产物在 3% 琼脂糖凝胶电泳图上显示为一条清晰的 237 bp DNA 条带,基因型记为 GG 型(图 1 中样品 1、2、5、6、7、8、10、11、12、15);如果模板链 DNA 相应位置是 A,产物在电泳图上只有模糊影子或没有条带,基因型为 TT 型(图 1 中样品 3、4、9、13、14)。

应用 PCR *Acc* 酶切法的引物先对 101 个品种 DNA 进行了 PCR 扩增,每个品种都可以扩增出一条 460 bp 的带,在用 *Acc* 内切酶处理前每个品种的扩增带电泳位置都一样(图 2)。再用 *Acc* 内切酶对扩增产物进行酶切,当 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基为 G 时,它与旁邻的碱基序列 GTATAC 正好成为限制性内切酶 *Acc* 的识别位点,*Acc*

内切酶处理后,460 bp 的扩增产物被 *Acc* 内切酶切割成 403 bp 和 57 bp 两个片段(图 2,样品 2、4),而当该位点为碱基 T 时,*Acc* 不能识别,460 bp 扩增产物不能被 *Acc* 内切酶切割,与处理前一样仍为 460 bp DNA 条带(图 2,样品 1、3、5)。

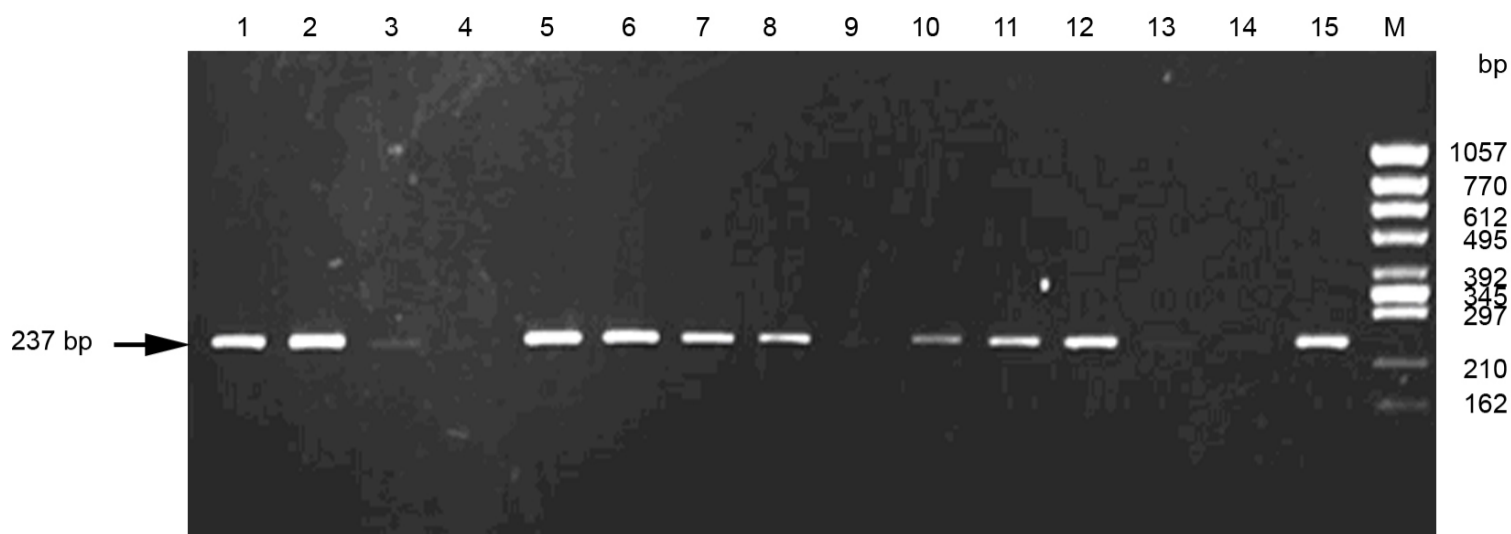


图 1 部分水稻品种 PCR 一步法扩增产物琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1. Electrophoresis of GG/TT genotype of 15 rice varieties by one step PCR method.

1 - 盐酸谷 ; 2 - 红长毛 ; 3 - 毫糯壳 ; 4 - 背子糯 ; 5 - 麻线谷 ; 6 - 昌宁大白谷 ; 7 - 黄皮糯 ; 8 - 黑长毛谷 ; 9 - 黑糯 ; 10 - 短脚糯 ; 11 - 矮桩谷 ; 12 - 江边白谷 ; 13 - 红心糯 ; 14 - 毫公混 ; 15 - 白长芒谷 ; M - 分子标记 (*Hinc* 酶切 Bacteriophage X174 *amb* DNA)。其中 1、2、5、6、7、8、10、11、12、15 为 GG 型 ; 3、4、9、13、14 为 TT 型。

Lane 1, Yansuangu ; Lane 2, Hongchangmao ; Lane 3, Haonuoke ; Lane 4, Beizينو ; Lane 5, Maxianggu ; Lane 6, Changningdabaigu ; Lane 7, Huangpinuo ; Lane 8, Heichangmaogu ; Lane 9, Heinuo ; Lane 10, Duanjiaonuo ; Lane 11, Aizhuanggu ; Lane 12, Jiangbianbaigu ; Lane 13, Hongxinnuo ; Lane 14, Haogonghun ; Lane 15, Baichangmanggu ; M, X174 *Hinc* digested DNA marker. Lanes 1, 2, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12 and 15 show the electrophoretic bands of GG genotype ; Lanes 3, 4, 9, 13 and 14 show the electrophoretic bands of TT genotype.

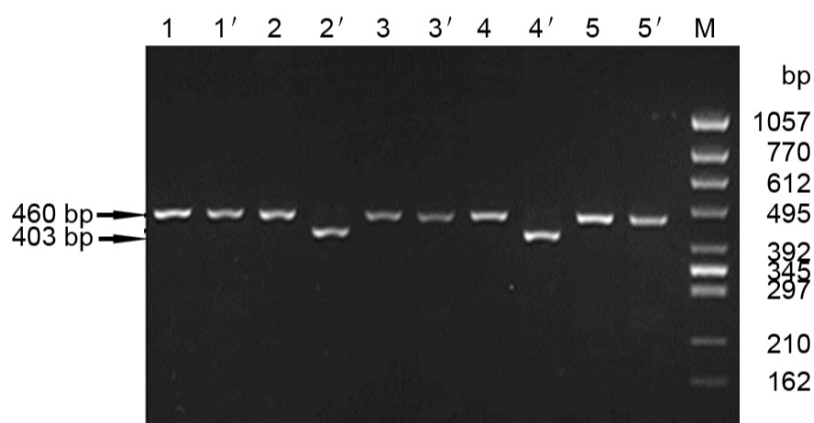


图 2 部分品种 PCR 扩增产物 *Acc* 内切酶处理前后电泳图

Fig. 2. Electrophoresis of GG/TT genotype of five rice varieties by PCR-*Acc* method.

1 - 白镰刀谷 ; 2 - 芒谷 ; 3 - 毫咪 ; 4 - 粃粃谷 ; 5 - 紫糯。1~5, 样品 *Acc* 内切酶处理前的扩增产物 ; 1~5, 样品 *Acc* 内切酶处理后的扩增产物 ; M - 分子标记 (*Hinc* 酶切 Bacteriophage X174 *amb* DNA)。其中样品 1、3、5 为 TT 型 ; 2、4 为 GG 型。

Lane 1, Bai-liandao-gu ; Lane 2, Manggu ; Lane 3, Haoka ; Lane 4, Babagu ; Lane 5, Zinuo. Lanes 1 to 5, Undigested by *Acc* ; Lanes 1 to 5, Digested by *Acc*. M, X174 *Hinc* digested DNA marker. Lanes 1, 3 and 5 show the electrophoretic bands of TT genotype ; Lanes 2 and 4 show the electrophoretic bands of GG genotype.

不能被酶解的 460 bp DNA 和被酶解产生的 403 bp 两种分子量的 DNA 条带, 在 3% 琼脂糖凝胶电泳上的泳动速率不同, 可以被识别 (图 2)。将 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位是碱基 G 的基因型记作 GG 型, 是碱基 T 的记作 TT 型 ; 如果酶解产物只有一

条与未经酶解的 PCR 产物相同分子量的 460 bp DNA 条带, 则该水稻品种的基因型为 TT 型 ; 若观察到一条分子量为 403 bp 的 DNA 条带, 则该品种为 GG 型。

PCR *Acc* 酶切法检测的 101 份材料, 结果与 PCR 一步法检测结果完全一致, 进一步证明了 PCR 一步法检测水稻 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基的可靠性。

2.2 云南地方稻种 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基特点与直链淀粉含量的关系

根据 *Wx* 基因第一内含子供体 + 1 位碱基 G/T 220 个云南地方稻种划分为 GG 和 TT 两种基因型 : GG 型为 164 个, 占 74.55% ; TT 型 56 个, 占 25.45% ; 籼稻中 80.49% 属 GG 型, 粳稻中 67.01% 属 GG 型。可见, 云南地方稻种无论籼粳都是 GG 型占优势, 籼稻中比例更高。

两种基因型直链淀粉资料列于表 1 和图 3。由表 1 和图 3 可知, 第一, GG 型与 TT 型品种平均直链淀粉含量分别为 18.95% 和 8.40%, 两类品种存在极显著的差异, 籼稻和粳稻群体的 GG 型与 TT 型直链淀粉含量之间也存在极显著差异。可见, G/T 与直链淀粉含量存在密切的联系。经统计分析, GG、TT 基因型与直链淀粉含量的相关系数为 0.733**, 存在极显著相关。第二, TT 型品种直链淀粉含量均低于 15.92% ; 大多数 GG 型品种直链

表 1 供试材料的基因型频率与直链淀粉含量

Table 1. Genotype and amylose content of test materials.

群体 Population	基因型 Genotype	数目 Number	百分比 Percent/%	直链淀粉含量 Amylose content/%	
				幅度 Range	均值±标准差 Mean±SD
总群体 Total	GG	164	74.55	3.91~24.88	18.95±4.22
	TT	56	25.45	1.84~15.92	8.40±4.53
籼稻 indica	GG	99	80.49	3.91~24.88	18.91±4.64
	TT	24	19.51	2.64~15.92	8.91±4.50
粳稻 japonica	GG	65	67.01	5.16~24.30	18.97±3.50
	TT	32	32.99	1.84~15.63	8.02±4.60

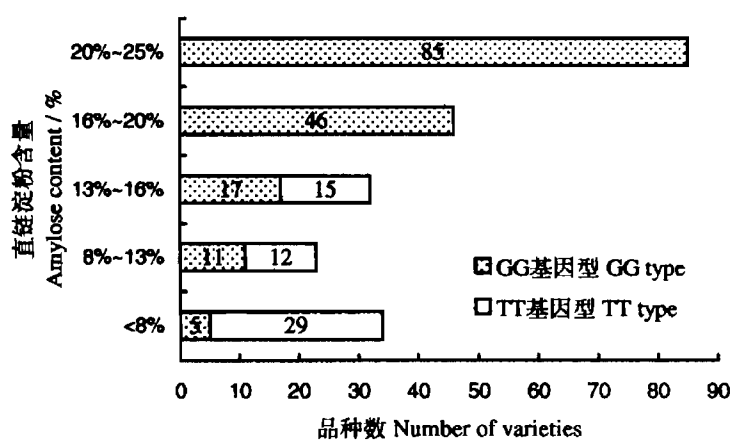


图 3 供试材料 GG/TT 基因型直链淀粉含量的分布频率

Fig. 3. Frequency of amylose content in GG/TT genotype.

淀粉含量较高,但有 19 个籼稻和 14 个粳稻的 GG 型品种(占总 GG 型的 20.12%)直链淀粉含量低或较低(3.91%~15.93%)。第三,总群体、籼稻、粳稻三个群体中的 GG 型品种平均直链淀粉含量分别为 18.95%、18.91%和 18.97%,差异不显著,TT 型品种平均直链淀粉含量分别为 8.40%、8.91%和 8.02%,差异也不显著,表明同一种基因型在云南稻种不同遗传背景下直链淀粉表达无显著差异。

3 讨论

本研究用 PCR-Acc I 酶切法对随机抽取的 101 份水稻材料进行了检测,进一步验证了 PCR 一步法的可靠性。PCR-Acc I 酶切法在 PCR 完成后要进行酶切,需要内切酶,增加成本和分析时间。相比之下 PCR 一步法扩增后直接电泳,操作简便、经济,更符合水稻育种的大批量检测需要。PCR 一步法根据电泳检测扩增带是清晰还是模糊或没有来确定材料的基因型,有时个别 GG 型材料因为扩增或电泳效果不好,未出现清晰条带而被误判为 TT 型。应用时为了避免 GG 型被误判为 TT 型,实验时要保证良好的扩增效率和电泳操作,并对无清晰扩增带的材料进行重复扩增验证。

直链淀粉含量实际上是 W_x 基因序列、表达、调控协同作用的结果,不仅 W_x 基因第一内含子供体+1 位碱基起作用,而且修饰基因、 W_x 基因调控蛋白和调控序列都一起发挥作用,所以 W_x 基因第一内含子供体+1 位碱基与直链淀粉含量的相关性达到 0.733 **,并不能完全解释所有稻种直链淀粉含量的变异。在本研究中,TT 型品种直链淀粉含量均低于 15.92%,而 GG 型一般较高。不过,有部分 GG 型品种(33 个,占 GG 型的 20.12%)直链淀粉含量在 3.91%~15.93%,这部分品种在分布上具有强烈的地域性,多数位于云南西部傣族地区。其中 23 个分布于曾亚文等^[24]划分的云南稻种资源多样性中心区,该区也是中国最大的稻种遗传多样性中心和优异种质富集区;7 个分布于中心区周围的多样性扩散区;3 个分布于多样性贫乏区。这可能与滇西南的多样性中心区生态环境和当地少数民族喜食偏糯米质的稻米有关。

本实验中 GG 型籼稻与 GG 型粳稻直链淀粉含量差异不显著,TT 型籼稻与 TT 型粳稻直链淀粉含量差异也不显著。这与张建勇等^[25]的 GG 型籼稻直链淀粉含量显著高于 GG 型粳稻的结果不一致,可能与实验材料有关。张建勇等所选的材料为籼粳分化比较彻底的材料,而我们的实验材料来源于稻种多样性中心,籼粳遗传分化可能不彻底,造成同一种基因型在两种遗传背景下表现无差异。

Hirano 等^[13]的研究发现普通野生稻和籼稻的 W_x 基因第一内含子供体+1 位碱基都是 G,而粳稻是 T,认为粳稻的 W_x 基因是从普通野生稻 W_x 基因中分化而来。Yamanaka 等^[26]的研究认为粳稻 W_x 基因都是 T。但其他研究^[15-16,25,27]显示籼稻中除了 G 碱基也有 T 碱基,张建勇等^[25]、何风华等^[27]的研究还显示粳稻中也存在 G 碱基。本实验中我们发现云南地方稻种无论籼、粳稻均以 G 碱基占优势,这是否说明云南地方稻种 W_x 基因较原始,籼粳遗传分化可能不彻底,尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Juliano B O . Criteria and test for rice grain quality//Juliano B O . Rice Chemistry and Technology . Saint Paul , Minnesota (USA) : AACC , 1985 : 443-513 .
- [2] 陈 能 , 罗玉坤 , 朱智伟 , 等 . 食用稻米米饭质地及适口性的研究 . 中国水稻科学 , 1999 , 13(3) : 152-156 .
- [3] 蒋雅光 , 潘重光 . 水稻品质育种(含香糯品质育种)//翟凤林 . 作物品质育种 . 北京 : 农业出版社 , 1988 : 242-272 .
- [4] 莫惠栋 . 我国稻米品质的改良 . 中国农业科学 , 1993 , 26 : 8-14 .
- [5] Okagaki R J , Wessler S R . Comparison of non mutant and mutant waxy genes in maize . *Genetics* , 1988 , 120 : 1137-1143 .
- [6] 申岳正 , 闵绍楷 , 熊振民 , 罗玉坤 . 稻米直链淀粉含量的遗传及测定方法的改进 . 中国农业科学 , 1990 , 23(1) : 60-68 .
- [7] 黄超武 , 李 锐 . 水稻杂种直链淀粉含量的遗传分析 . 华南农业大学学报 , 1990 , 11(1) : 23-29 .
- [8] Wang Z Y , Zheng F Q , Shen G Z , et al . The amylose content in rice endosperm is related to the post transcriptional regulation of the waxy gene . *Plant J* , 1995 , 7 : 613-622 .
- [9] Cai X L , Wang Z Y , Xing Y Y , et al . Aberrant splicing of intron 1 leads to the heterogeneous 5' UTR and decreased expression of waxy gene in rice cultivars of intermediate amylose content . *Plant J* , 1998 , 14(4) : 459-465 .
- [10] 程世军 , 葛鸿飞 , 王宗阳 , 等 . 在转基因水稻植株中蜡质基因第 1 内含子对基因表达影响的分析 . 植物生理学报 , 2001 , 27(5) : 381-386 .
- [11] Bligh H F J , Larkin P D , Roach P S , et al . Use of alternate splice sites in granule bound starch synthase mRNA from low amylose rice varieties . *Plant Mol Biol* , 1998 , 38 : 407-415 .
- [12] Isshiki M , Morino K , Nakajima M , et al . A naturally occurring functional allele of the rice waxy locus has a GT to TT mutation at the 5' splice site of the first intron . *Plant J* , 1998 , 15(1) : 133-138 .
- [13] Hirano H Y , Eiguchi M , Sano Y . A single base change altered the regulation of the waxy gene at the post transcriptional level during evolution of rice . *Mol Biol Eval* , 1998 , 15 : 978-987 .
- [14] Ayres N M , McClung A M , Larkin P D , et al . Microsatellites and a single nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germplasm . *Theor Appl Genet* , 1997 , 94 : 773-781 .
- [15] 蔡秀玲 , 刘巧泉 , 汤述翥 , 等 . 用于筛选直链淀粉含量为中等的籼稻品种的分子标记 . 植物生理与分子生物学学报 , 2002 , 8(2) : 137-144 .
- [16] 毛兴学 , 肖 昕 , 陈建伟 , 等 . PCR 一步法检测水稻蜡质基因第一内含子剪接供体 + 1 位碱基 . 中国水稻科学 , 2005 , 19(3) : 285-287 .
- [17] Nakagahra K . The differentiation , classification and center of genetic diversity of cultivated rice (*Oryza sativa* L .) by isozyme analysis . *Trop Agric Res Ser* , 1978 , 11 : 77-82 .
- [18] Chang T T . The origin , evolution , cultivation , dissemination and diversification of Asian and African rices . *Euphytica* , 1976 , 5 : 425-441 .
- [19] 黄燕红 , 孙新立 , 王象坤 . 中国栽培稻遗传多样性中心和起源研究 . 植物遗传资源学报 , 2005 , 6(2) : 125-129 .
- [20] 程侃声 , 周季维 , 卢义宣 , 等 . 亚洲栽培稻分类的再认识 . 作物学报 , 1984 , 10(4) : 271-280 .
- [21] 程侃声 , 王象坤 , 卢义宣 , 等 . 论亚洲栽培稻的籼粳分类 . 中国种业 , 1988(1) : 1-5 .
- [22] Murray M G , Thompson W F . Rapid isolation of high molecular weight plant DNA . *Nucl Acids Res* , 1980 , 8 : 4321-4325 .
- [23] Kwok S , Chang S Y , Sninsky J J , et al . 错配和简并引物的设计和应用//PCR 技术实验指南 . 黄培棠 , 俞炜源 , 陈添弥 , 等译 . 北京 : 科学出版社 , 1998 : 95-102 .
- [24] 曾亚文 , 李自超 , 申时全 , 等 . 云南地方稻种的多样性及优异种质研究 . 中国水稻科学 , 2001 , 15(3) : 169-174 .
- [25] 张建勇 , 陈德全 , 李仕贵 , 等 . 利用分子标记鉴定水稻品种的 *Wx* 等位基因及其与直链淀粉含量的关系 . 作物学报 , 2005 , 31(4) : 420-424 .
- [26] Yamanaka S , Nakamura I , Watanabe K N , et al . Identification of SNPs in the waxy gene among glutinous rice cultivars and their evolutionary significance during the domestication process of rice . *Theor Appl Genet* , 2004 , 108(7) : 1200-1204 .
- [27] 何风华 , 曾瑞珍 , 席章营 , 等 . 不同 *Waxy* 基因型水稻的遗传多样性 . 分子植物育种 , 2003 , 1(12) : 179-186 .