

水稻低直链淀粉含量基因育种利用的研究进展

朱昌兰¹, 沈文彪¹, 翟虎渠², 万建民^{1,2}

(¹南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室/江苏省植物基因工程研究中心, 南京 210095; ²中国农业科学院, 北京 100081)

摘要: 胚乳的直链淀粉含量是影响稻米品质的主要因素。直链淀粉含量在5%~15%之间的低直链淀粉水稻, 具有米饭柔软、外观油润光泽、冷不回生、膨化性好等特点, 不仅成为人们直接煮食的特优稻米, 也是加工方便调理米饭、膨化食品和米类点心的上等原料。在概述水稻低直链淀粉含量突变体及其基因的主要类型、遗传规律、分子机理和育种利用现状的基础上, 重点对功能糖组学时代的低直链淀粉含量水稻遗传育种的研究方向进行了探讨, 提出今后应进一步加强低直链淀粉含量资源的筛选、鉴定和创新, 探明低直链淀粉含量突变的分子机理, 并加快 *Wx* 非等位的低直链淀粉含量基因的育种利用, 选育复合型优质专用水稻品种。

关键词: 水稻 (*Oryza sativa* L.); 低直链淀粉; 品质育种; 分子机理

5511 A

Advances in Researches of the Application of Low-Amylose Content Rice Gene for Breeding

ZHU Chang-lan¹, SHEN Wen-biao¹, ZHAI Hu-qu², WAN Jian-min¹

(¹State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Jiangsu Plant Gene Engineering Center, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; ²Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Amylose content is a key determinant of eating quality of rice. With content ranging from 5% to 15%, the low-amylose rice is characterized by fluffy texture, glossy appearance of the cooked rice, soft texture of cooled rice, and excellent expansibility for food processing, which can be used as not only cooked rice directly, but also as good material for instant, mixed rice and expanded foods. Current status on characterization, inheritance, molecular mechanism and breeding of low amylose content rice was reviewed in this paper. The strategy of related researches in the era of glyomics was mainly discussed furthermore. The future research should focus on screening and enhancing the germplasm, further elucidating the molecular mechanism on mutation of low amylose content, utilizing the genes independent of *Wx* on low-amylose content rice breeding program, developing high quality functional rice cultivars for special usage through pyramiding low amylose gene and other special quality gene.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.); Low amylose content; Quality breeding; Molecular mechanism

近年来, 随着生活水平提高, 人们对稻米品质的要求越来越高。我国加入WTO后, 稻米市场面临的国际竞争也日益加剧。实现稻米品质改良的突破, 培育优质水稻品种满足市场和消费需求, 是目前水稻育种中最重要的研究课题。

稻米胚乳淀粉的组成和结构直接影响稻米的外观、加工和食味品质, 其中直链淀粉含量是稻米食味品质的主要决定因素。直链淀粉含量高, 米饭硬、粘性小、光泽差; 相反, 则米饭软粘、光泽好。因此,

直链淀粉含量已成为稻米食味品质改良的主要指标。而不同直链淀粉含量水平的水稻品种满足了食味嗜好相异的各种人群需要。低直链淀粉含量的稻米, 是介于一般黏米和糯米之间的中间类型, 其柔软、富弹性的米饭质地不仅受到喜好软米的人群的青睐, 而且具有冷不回生、冷饭食口性及膨化性好等特点, 特别适合加工方便调理米饭(如寿司、方便饭等)、膨化食品和各种米类点心。

在我国长江中下游沿岸和北方粳稻消费区, 有

收稿日期: 2003-01-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270811), 国家“863”计划资助项目(2003AA222131)

作者简介: 朱昌兰(1965-), 女, 江西信丰人, 副教授, 博士研究生, 主要从事水稻遗传育种和分子生物学研究。现在江西农业大学工作。万建民和翟虎渠为通讯作者, Tel (Fax): 025-4396516; E-mail: wanjm@mail.njau.edu.cn

相当一部分人群偏好软米型稻米；随着生活节奏的不断加快，人们对方便米饭等方便食品的需求也在增加。在南方稻区培育软米型优质籼稻品种，有助于提高南方籼米在北方稻米市场的竞争力，缓解稻米过剩压力。因此，培育优质低直链淀粉含量水稻品种，不仅可以满足多样化的消费需求，而且有利于开拓国内外稻米市场。

1 低直链淀粉含量水稻突变体的鉴定及其遗传研究

日本在20世纪80年代初开始利用放射线和化学诱变剂处理水稻种子和杂交，有计划、大规模地

筛选胚乳突变体，获得了多个低直链淀粉含量突变体^[1~7]，其中一些突变体在直链淀粉含量下降的同时，胚乳外观也发生了显著改变，呈半透明或不透明。此外，我国云南地区特有的软米品种，是野生稻中自然发生的低直链淀粉含量突变体^[8,9]，直链淀粉含量在8%~15%之间^[10]。同时，根据与 *Wx* 基因等位性关系的不同，可将目前已报道的低直链淀粉含量水稻突变体的基因分为与 *Wx* 等位和非等位两大类（表1）。其中，*Wx-mq*、*Wx^{op}* 等属于与 *Wx* 等位的低直链淀粉含量基因，而 *du*、*lam(t)* 等属于与 *Wx* 非等位的基因。由于云南软米的低直链淀粉含量基因与 *Wx* 的等位性关系未见报道，因此无法将其进行归类。

表1 目前已报道的低直链淀粉含量突变体(截止2003年1月)¹⁾

Table 1 The low amylose content mutants reported (Up to January 2003)

突变体名称 Mutant	直链淀粉含量 Amylose content (%)	表型 Phenotype		基因名称 Name of gene	染色体 Chromosome	来源 Source		参考文献 References
		胚乳外观 Appearance of endosperm				亲本 Cultivar	突变方式 Mutagen	
Milky Queen	9~12	半透明	Translucent	<i>Wx-mq</i>		Koshihikari	MNU	6, 7
ARC6622	13.5	不透明	Opaque	<i>Wx^{op}</i>		Pokhareli Mashino	自然突变 Naturally occurring variation	11, 12
ARC10818	13.2	不透明	Opaque	<i>Wx^{op}</i>		Pokhareli Mashino	自然突变 Naturally occurring variation	11, 12
2035	4.6	半透明	Translucent	<i>du(2035)</i>	6	Sasanishiki	EMS	14
2057	2.3	半透明	Translucent	<i>du-2</i>		Sasanishiki	EMS	14
2083	2.8	半透明	Translucent	<i>du-2</i>		Sasanishiki	EMS	14
2091	2.7	半透明	Translucent	<i>du-2</i>		Sasanishiki	EMS	14
2077	5.9	半透明	Translucent	<i>du(2120)</i>	9	Sasanishiki	EMS	14
2078	6.1	半透明	Translucent	<i>du(2120)</i>	9	Sasanishiki	EMS	14
2120	4.9	半透明	Translucent	<i>du(2120)</i>	9	Sasanishiki	EMS	14
EM47	3.8	半透明	Translucent	<i>du(EM47)</i>	6	Kinmaze	MNU	14
EM12	4.1	半透明	Translucent	<i>du-1</i>	7	Kinmaze	MNU	5
EM15	4.4	半透明	Translucent	<i>du-2</i>		Kinma	MNU	5
EM-69	3.3	半透明	Translucent	<i>du-3</i>		Kinmaze	MNU	5
EM98	1.5	半透明	Translucent	<i>du-4</i>	4	Kinmaze	MNU	5
EM-140	5.7	半透明	Translucent	<i>du-5</i>		Kinmaze	MNU	5
NM391	<15	透明	Transparent	<i>du(t)</i>		Nihonmasari	EI	15
SM-1	14	透明	Transparent	<i>lam(t)</i>		Shiokari	Y-ray; EMS	15
云南软米 Yunnan soft rice	8~15	半透明或不透明	Translucent or opaque	不明Unclear		野生稻 Wild rice	自然突变 Naturally occurring variation	8, 10

¹⁾ EMS: 甲基磺酸乙酯; MNU: N-甲基-N-亚硝基脲; EI: 乙烯亚胺

EMS means ethylmethane sulfonate; MNU means N-methyl-N-nitrosourea; EI means ethyleneimine

1.1 *Wx-mq* 基因

以 N-甲基-N-亚硝基脲 (MNU) 处理越光的受精卵，获得了低直链淀粉含量突变体“Milky Queen”，直链淀粉含量9%~12%^[6]。分别与越光和糯稻品种杂交，发现与越光杂交的F₂种子中高直链淀粉含量与低直链淀粉含量的性状分离比均为3:1；而与糯稻杂交的F₂中只出现低直链淀粉含量及糯性籽粒，表明Milky Queen的低直链淀粉含量由1个 *Wx* 等位基因控制^[7]，并命名为 *Wx-mq*。

1.2 *Wx^{op}* 基因

在尼泊尔水稻品种中发现的不透明 (opaque) 胚乳自然突变体，籽粒外观与糯稻相似，直链淀粉含量在10%左右。将突变体与糯稻品种杂交，F₂种子均为不透明，高直链淀粉含量与低直链淀粉含量种子呈3:1分离，表明其低直链淀粉含量由1个隐性单基因控制，与 *Wx* 基因等位，将其命名为 *Wx^{op}*^[11~13]。

1.3 *du* 基因

胚乳为半透明 (dull) 的低直链淀粉含量突变体又称 dull 突变体。以 dull 突变体与正常型品种杂交, F_2 代非 dull 粒与 dull 粒呈 3:1 分离, 回交 1 代呈 1:1 分离; 与糯性突变体杂交, 除分离出糯性及低直链淀粉含量籽粒外, F_2 代还有许多介于两亲之间及超亲的高直链淀粉含量籽粒, 表明这些 dull 突变体的低直链淀粉含量是由 1 个独立于 *wx* 的隐性单基因 *du* 控制。通过等位性测验, 已经发现了 8 个 *du* 基因, 分别命名为 *du-1*、*du-2*、*du-3*、*du-4*、*du-5*、*du* (EM47)、*du* (2120) 和 *du* (2035)。利用三体分析, 将 *du-1*、*du-4*、*du* (EM47)、*du* (2120) 和 *du* (2035) 分别定位于第 7、4、6、9 和 6 染色体上^[4, 5, 14]。另外, 还发现日本优的突变体 NM391 中的低直链淀粉含量基因 *du(t)* 与 *wx* 不等位, 但与上述 8 个 *du* 基因的等位性关系还不清楚^[15]。进一步通过杂交和回交的方法, 将 *du* 基因转入不同遗传背景的水稻品种中, 发现其作用程度明显不同^[16~18]。

1.4 *lam(t)* 基因

以 γ 射线和 EMS 处理北海道品种 Shiokari, 获得胚乳透明的低直链淀粉含量突变体 SM-1, 其直链淀粉含量降至 14%, 为野生型的 80%。遗传分析表明, SM-1 的低直链淀粉含量由 1 个与 *wx* 不等位的隐性单基因控制, 命名为 *lam(t)*, 并定位于第 9 染色体上^[15]。

2 分子机理研究

2000 年 Isshiki 等应用 RT-PCR 和 Northern 印迹技术研究了 *wx^b* 型的低直链淀粉含量突变体 *du-1* 和 *du-2* 的分子机理, 发现与野生型相比, *du-1* 和 *du-2* 突变体中未完全剪接的 3.4 kb 的 *wx* 基因转录产物含量几乎没有差异, 而剪接完全的 2.3 kb 的转录本含量显著下降, 另 2 个胚乳淀粉合成关键酶基因—水稻胚乳淀粉分支酶基因 *RBE1* 和 ADPG 焦磷酸化酶基

因 *AGPP* 则不受影响。进一步研究推测, *Du-1* 和 *Du-2* 可能编码某种类似于 SR 蛋白的剪接蛋白因子, 通过与 *wx^b* 前体 mRNA 可能的剪接增强子结合, 并在 *wx^b* 基因的第 1 个内含子因 5' 剪接位点 G \rightarrow T 突变而激活的 2 个隐蔽剪接位点处形成稳定的复合体, 从而引导 *wx^b* 前体 mRNA 的剪接。相反, *du-1* 和 *du-2* 由于未能形成正常的剪接蛋白因子, 使 *wx^b* 前体 mRNA 的正确剪接过程受到一定的影响, 导致突变体直链淀粉含量的降低, 但对剪接后的转录后调控却无影响。同时, 发现 *du-1* 和 *du-2* 却不影响 *wx^a* 前体 mRNA 的正常剪接^[17], Dung 等也发现类似的现象^[18]。

2002 年 Sato 等采用 RT-PCR 方法克隆了越光突变体 Milky Queen 中的低直链淀粉基因 *wx-mq*, 获得了 1 个接近全长的 cDNA。序列分析表明, *wx-mq* 与来自野生型亲本越光中的 *wx^b* 基因相比, 在编码区发生了 2 个碱基的替换, 其中 497 位的 G 突变为 A, 595 位的 T 突变为 C, 从而使相应的氨基酸序列产生了 2 个错义突变, 即位于第 4 外显子的 Arg¹⁵⁸ 和第 5 外显子的 Trp¹⁹¹ 均突变为 His, 推测 *wx-mq* 的这 2 个错义突变是造成 Milky Queen 直链淀粉含量下降的原因^[19]。

3 品种选育

目前, 在日本、韩国等东南亚国家, 对低直链淀粉含量水稻育种非常重视^[15, 20]。例如, 日本自 20 世纪 80 年代中期开始, 进行低直链淀粉突变体诱变筛选和育种计划, 相继育成了 Milky Queen、Sari 等一系列优质低直链淀粉含量品种 (表 2), 深受商家和消费者欢迎。据统计, 日本低直链淀粉含量水稻品种的种植面积 1996 年为 394 ha, 2001 年达到 4 064 ha, 5 年间共增加了 10 倍多^[15]。

表 2 日本低直链淀粉含量水稻主栽品种

Table 2 The main cultivars of low amylose content rice in Japan

品种名称 Cultivar	直链淀粉含量 Amylose content (%)	胚乳外观 Appearance of endosperm	育成年份 Release year
Milky Queen	9~12	半透明 Translucent	1991
Sunobara	7~9	乳白色 Opaque	1991
Sofuto 158	10~12	透明 Transparent	1991
Sari	≈ 15	透明 Transparent	1988
Yawarakamachi	13	乳白色 Opaque	1993
Hanabuki	13	透明 Transparent	1993
Milky Prince	9~12	半透明 Translucent	1994
Mirukibara	7~9	乳白色 Opaque	1993
Asatuya	8	乳白色 Opaque	1996
Ayahime	8.7	乳白色 Opaque	1997
Takitata	6.2	乳白色 Opaque	1995
Madoka 180	6~12	乳白色 Opaque	1993

相比而言,我国对低直链淀粉含量水稻品种选育的重视程度相当不够。我国滇南边疆少数民族人民,根据饮食嗜好和当地特殊的自然气候条件,经过千百年的选择,形成了毫屁、毫皮、毫木细等40多个珍稀优质软米和香软米地方品种^[21]。但这些品种植株高大、株型松散、叶片披软、极易倒伏、产量低,已不适合当前的高水肥种植体系的要求。20世纪70年代开始,云南省农业科学院和云南德宏州农业科学研究所等单位对地方品种进行改造,育成了滇陇201、滇屯502等多个高产软米品种。但这些品种具有较严格的地域适应性,引种到外省后品质差异很大^[22]。在我国其它稻作区,虽然也育成了湖南软米、丰优香占等几个品种,但低直链淀粉水稻品种的选育往往未真正纳入育种计划。以opaque胚乳突变体为亲本培育的湖南软米,虽曾在生产上有一定的推广面积,但由于是早稻品种,米饭弹性较差,没能继续推广。而以粤丰A与恢复系R6547配组育成的优质软米杂交组合丰优香占,稻米品质9项指标达部颁优质米一级标准,2项指标达部颁优质米二级标准,被誉为赛泰米,为长江中下游地区优质籼型软米品种特别是杂交稻组合选育提供了成功的范例。

4 展望

4.1 进一步加强对低直链淀粉含量育种材料的鉴定和创新

许多研究者往往根据半透明或乳白色的胚乳外观来快速鉴定低直链淀粉含量突变体,由于胚乳半透明或乳白色表型与低直链淀粉含量不具有完全的等同关系。例如低直链淀粉含量突变体中也有胚乳透明的材料(如SM-1等),胚乳半透明的玉米du11突变体却是高直链淀粉含量类型^[23],因此这种快速鉴定方法的准确性较差。此外,胚乳外观呈半透明或乳白色也会严重影响稻米的商品价值。而作为基因组和蛋白质组研究的延伸,后基因组时代的糖组学研究目的,在于探索糖结构、组成和代谢与其功能之间的关系。因此,水稻直链淀粉含量测定的准确性显得尤为重要。考虑到直链淀粉含量测定常规方法较为繁琐,建立其它准确、方便的快速筛选低直链淀粉特性的方法,包括采用无损的傅立叶变换近红外漫反射光谱法和基于对低直链淀粉含量突变的分子机理和糖生物学了解基础上开发的单核苷酸多态性分子标记等,都将有利于育种基础

材料和相关资源的鉴定。另一方面,除建立常规的理化诱变外,还有必要利用转座子插入、基因捕获、T-DNA插入突变和基因功能互补体系,建立相应的突变体筛选群体,大规模地创造、诱导、筛选新的低直链淀粉含量突变体,并通过对突变体和插入位点进行分子生物学分析,逐步掌握这些突变体分子遗传的基本信息,为以后的糖组学和低直链淀粉含量相关分子机理的研究及其育种提供材料和资源。

4.2 阐明低直链淀粉含量突变的分子机理研究

Isshiki推测*Du*基因可能编码与*Wx^b*前体mRNA剪接相关的剪接蛋白,反式调控*Wx^b*基因的表达^[17]。Hirano发现灌浆期间的温度也是通过调控*Wx^b*基因的表达,影响GBSS的生物合成,进而影响粳稻胚乳直链淀粉含量^[24],暗示它们之间的调控机制存在某种相似之处。因此,阐明*du*基因反式调控直链淀粉合成的机理,不仅有助于*du*突变体更好地应用于低直链淀粉含量水稻育种,而且对于阐明环境温度、栽培条件等影响直链淀粉合成从而影响稻米品质的机制,全面揭示直链淀粉合成机理具有重要意义。以后的工作首先要克隆水稻*Du/du*基因,比较其核苷酸序列的差异,并利用遗传分析、酵母杂交和凝胶阻滞试验等方法,研究*Du*与*Wx*位点的互作和*Du/du*基因编码产物的功能,从而揭示*du*基因与*Wx*位点互作调控胚乳直链淀粉合成的机理,并进一步应用于低直链淀粉含量的鉴定和稻米食味品质的分子标记辅助选择。另外,我国的地方珍稀品种云南软米属于籼稻类型,表明低直链淀粉含量相关基因除了编码与*Wx^b*前体mRNA剪接相关的剪接蛋白因子外,还可能存在其它作用形式以影响*Wx^a*的表达。因此,对籼稻类型软米进行的研究,将有助于全面了解低含量直链淀粉突变的分子机理。

4.3 加强*Wx*非等位的低直链淀粉含量基因的育种利用

*Wx*基因编码的颗粒结合淀粉合酶(GBSS)是催化直链淀粉合成的关键酶,通过调控其表达来适当降低现有栽培品种胚乳的直链淀粉含量,是改良稻米食味品质的有效途径。由于目前的研究主要集中于对主效基因*Wx*的利用^[25~29],考虑已检测到的*Wx*等位基因数目有限,而人们对稻米直链淀粉含量的要求却是多样化的,因此利用单一的*Wx*基因位点难以满足进一步的要求。现已发现直链淀粉的合成和*Wx*基因的表达除受*Wx*本身的影响外,还受

其它非等位基因如 *du* 基因的调控, 从而间接影响胚乳直链淀粉的生物合成。由于遗传背景和直链淀粉含量的差异, *du* 基因对 *Wx* 基因的调控作用效果不同^[16]。因此, 利用不同的 *du* 基因不仅可以培育优质低直链淀粉含量品种, 满足喜好软米型稻米的人群和加工方便调理食品的需求, 而且将其导入到高或较高直链淀粉含量的水稻品种中, 以适当降低这些品种的直链淀粉含量, 从而培育能满足大众消费需求的中等直链淀粉含量优质水稻品种也是可能的。同时, *du* 基因在引起直链淀粉含量下降的同时, 还能使支链淀粉的中短链比例增高, 这对提高食味品质也是非常有利的^[3]。

4.4 复合型优质专用水稻品种的选育

除了低直链淀粉含量突变体外, 目前已获得了低谷蛋白、高 γ -氨基丁酸(巨大胚)、高赖氨酸、富铁化等多种水稻胚乳突变体, 可用于功能性水稻新品种的选育^[2]。将低直链淀粉含量基因与这些具有营养或保健功能的胚乳突变体进行聚合育种, 培育高附加值的复合型优质专用水稻品种, 无疑将使低直链淀粉含量水稻这一优异食味品质资源具有更加广阔的利用前景。例如低谷蛋白材料 LGC-1, 因胚乳中可吸收的谷蛋白少, 不能被人体所吸收的醇溶蛋白含量高, 作为肾脏病、糖尿病人专用的水稻品种应用于临床, 效果显著^[30,31]。但醇溶蛋白含量的提高, 使其适口性有所下降。因此, 如果用低直链淀粉含量品种与 LGC-1 配组, 培育软米型低谷蛋白品种, 不仅可以满足肾脏病患者和部分糖尿病患者因其肾机能不全引起的蛋白质代谢障碍而不能食用普通大米的需要, 而且又可解决 LGC-1 适口性较差的问题。

建立和应用分子标记辅助选择技术, 有助于复合型优质专用育种效率的提高。Sato 等根据 *Wx-mq* 的序列结构特点, 设计特异性引物进行 PCR, 发现在含有 *Wx-mq* 的低直链淀粉品种中, 能扩增出 1 条特异性带, 可以用于分子标记辅助育种^[19]。另外, 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室已将谷蛋白突变基因的 RFLP 标记转化为更加便于育种利用的 SSR 标记, 这将进一步加快复合型优质专用水稻育种的进程。

References

[1] Amano E. Genetic and biochemical characterization of waxy mutants in cereals. *Environmental Health Perspect*, 1981, 37:35-41.

- [2] Satoh H, Omura T. New endosperm mutations induced by chemical mutagens in rice (*Oryza sativa* L.). *Japanese Journal of Breeding*, 1981, 31:316-326.
- [3] Okuno K, Fuwa H, Yano M. A new mutant gene lowering amylose content in endosperm starch of rice, *Oryza sativa* L. *Japanese Journal of Breeding*, 1983, 33:387-394.
- [4] Okuno K, Nagamine T, Oka M. New lines harboring *du* genes for low amylose content in endosperm starch of rice. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 1993, 27:102-105.
- [5] Yano M, Okuno K, Satoh H, Omura T. Chromosomal location of genes conditioning low amylose content of endosperm starches in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 1988, 76:183-189.
- [6] Suto M, Ando I, Numaguchi K, Horisue N. Breeding of low amylose content paddy rice variety "Milky Queen" with good eating quality. *Japanese Journal of Breeding*, 1996, 46(Suppl. 1): 221.
- [7] Sato H, Suzuki Y, Okuno K, Hirano H Y, Imbe T. Genetic analysis of low-amylose content in a rice variety, 'Milky Queen'. *Japan Breeding Research*, 2001, 3: 13-19.
- [8] 李铮友, 师常俊, 李晓艾, 林贤国. 香软米滇屯 502 的选育. 云南农业大学学报, 1999, 14(1):27-31.
Li Z Y, Shi C J, Li X A, Lin X G. Breeding of Diantun 502: Fragrant and soft rice. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 1999, 14(1): 27-31. (in Chinese)
- [9] 李铮友. 滇型软米杂交籼稻的选育进展. 杂交水稻, 2001, 16(5):16.
Li Z Y. Progress in Breeding Dian Type soft Indica hybrid rice. *Hybrid Rice*, 2001, 16(5): 16. (in Chinese)
- [10] 黄世君, 周勇, 李乾安, 曾松, 胡太明, 陈仁烽. 优质软米不育系乐软 101A 的选育. 杂交水稻, 2002, 17(3):7-9.
Huang S J, Zhou Y, Li Q A, Zeng S, Hu T M, Chen R F. Breeding of soft grain CMS line leruan 101A in rice. *Hybrid Rice*, 2002, 17(3): 7-9. (in Chinese)
- [11] Heu M H. Inheritance of chalkiness of brown rice found in a nonglutinous cultivar "Pokhareli Mashino". *Korean Journal of Breeding*, 1986, 18:162-166.
- [12] Heu M H, Kim Y K. Inheritance of an opaque endosperm derived from a Nepal Indica rice cultivar "Pokhareli Mashino". In: S. Iyama & G. Takeda. (eds). *Breeding Research: The key to the survival of the earth, Proceeding of the 6th, International Congress SABRAO*, Tsukuba, 1989, 321-324.
- [13] Mikami I, Aikawa M, Hirano H Y, Sano Y. Altered tissue-specific expression at the *Wx* gene of opaque mutants in rice. *Euphytica*, 1999, 105:91-97.
- [14] Kaushik R P, Khush G S. Genetic analysis of endosperm mutants in rice, *Oryza sativa* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 1991, 83:146-152.
- [15] Sato H. Genetics and breeding of high eating quality rice: Status and perspectives on the researches of low amylose content rice. *Japan Agriculture and Horticulture*, 2002, 77(5): 20-28.
- [16] Kaushik R P, Khush G S. Endosperm mutants in rice: Gene expression in Japonica and Indica backgrounds. *Cereal Chemistry*, 1991, 68(5): 487-491.
- [17] Isshiki M, Nakajima M, Satoh H, Shimamoto K. Dull: Rice mutants with tissue-specific effects on the splicing of the waxy pre-mRNA. *The Plant Journal*, 2000, 23(4): 451-

- 460.
- [18] Dung L V, Mikami I, Amano E, Sano Y. Study on the Response of *dull* endosperm 2-2, *du2 2*, to Two *Wx* Alleles in Rice. *Breeding Science*, 2000, 50:215-219.
- [19] Sato H, Suzuki Y, Sakai M, Imbe T. Molecular characterization of *Wx-mq*, a novel mutant gene for low-amylose content in endosperm of rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science*, 2002, 52:131-135.
- [20] Kim K H, Kim E Y, Jeong Y P. Physicochemical properties of non-glutinous, *dull*, and glutinous rice grain in segregating population of *dull*/glutinous crosses. *Korean Journal of Crop Science*, 1999, 44(3): 277-281.
- [21] Tang S, Wang Z. Breeding for superior quality aromatic rice varieties in China. *Speciality Rices of the World: Breeding, Production and Marketing*. Food and agricultural organization of the United Nations. 2001: 35-44.
- [22] 董保柱. 云南德宏“遮放米”潜在的商业价值. 云南农业科技, 2000, 5:13-15.
Dong B Z. The potential commercial value of Yunnan “Zhefang rice”. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, 2000, 5: 13-15. (in Chinese)
- [23] Gao M, Wanat J, Stinard P S, James M G, Myers A M. Characterization of *dull1*, a maize gene coding for a novel starch synthase. *Plant Cell*, 1998, 10:339-412.
- [24] Hirano H Y, Sano Y. Enhancement of *Wx* gene expression and the accumulation of amylose in response to cool temperatures during seed development in rice. *Plant Cell Physiology*, 1998, 39:807-812.
- [25] Ayres N M, McClung A M, Larkin P D, Bligh H F J. Microsatellites and a single-nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 94:773-781.
- [26] Bligh H F J, Larkin P D, Roach P S, Jones H. Use of alternate splice sites in granule-bound starch synthase mRNA from low-amylose rice varieties. *Plant Molecular Biology*, 1998, 38:407-415.
- [27] Shimada H, Tada Y, Kawasaki T, Fujimura T. Antisense regulation of the rice waxy gene expression using a PCR-amplified fragment of the rice genome reduces the amylose content in grain starch. *Theoretical and Applied Genetics*, 1993, 86:665-672.
- [28] 刘巧泉, 王宗阳, 陈秀花, 蔡秀玲, 彭凌涛, 顾铭洪. 反义 *waxy* 基因导入水稻降低胚乳直链淀粉含量的研究. 21世纪水稻遗传育种展望, 北京: 中国农业出版社, 1999, 9: 206-213.
Liu Q Q, Wang Z Y, Chen X H, Cai X L, Peng L T, Gu M H. Transgenic rice of antisense *waxy* gene and its effect on reducing the amylose content in endosperm. In: *Rice Genetics and Breeding in 21 Century*. Beijing: China Agriculture Press, 1999:206-213. (in Chinese)
- [29] 谈移芳, 张启发. 水稻蜡质基因引导区的两个 SSR 序列与直链淀粉含量的相关性. 植物学报, 2001, 43 (2):146-150.
Tan Y F, Zhang Q F. Correlation of simple sequence repeat (SSR) variants in the leader sequence of the waxy gene with amylose content of the grain in rice. *Acta Botanica Sinica*, 2001, 43 (2): 146-150. (in Chinese)
- [30] Iida S, Amano E, Nishio T A. Rice mutant having a low content of glutelin and a high content of prolamine. *Theoretical and Applied Genetics*, 1993, 87: 374-378.
- [31] Mochizuki T, Hara S. Usefulness of the low protein rice on the diet therapy in patients with chronic renal failure. *Nippon Jinzo Gakkai Shi*, 2000, 42(1): 24-29.

(责任编辑 孙雷心)