

水稻 Wx 复等位基因的鉴定及单片段代换系的建立

曾瑞珍 张泽民 何风华 席章营 Akshay TALUKDAR 施军琼 秦利军

黄朝锋 张桂权*

(华南农业大学 广东省植物分子育种重点实验室, 广东 广州 510642; * 通讯联系人, E-mail: gqzhang@scau.edu.cn)

Identification of Multiple Alleles at the Wx Locus and Development of Single Segment Substitution Lines in Rice

ZENG Rui-zhen, ZHANG Ze-min, HE Feng-hua, XI Zhang-ying, Akshay TALUKDAR, SHI Jun-qiong, QIN Li-jun,

HUANG Chao-feng, ZHANG Gui-quan*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

* Corresponding author, E-mail: gqzhang@scau.edu.cn)

Abstract: The microsatellite markers 484/485 and 484/W2R were used to identify the multiple alleles at the Wx locus in rice germplasm. Fifteen alleles were identified in 278 accessions by the use of microsatellite class and G-T polymorphism. Among them, (CT)₁₂-G, (CT)₁₅-G, (CT)₁₆-G, (CT)₁₇-G, (CT)₁₈-G and (CT)₂₁-G are new ones. Seventy-two single segment substitution lines (SSSLs) carrying different alleles at the Wx locus were developed by the use of Huajingxian 74 with the (CT)₁₁-G allele as a recipient and 20 varieties containing 12 alleles at the Wx locus as donors. The estimated length of the substituted segments ranged from 2.2 cM to 77.3 cM with an average of 17.4 cM.

Key words: rice; waxy gene; single segment substitution line

摘 要: 利用微卫星标记“484/485”和“484/W2R”结合 *Acc* I 酶切对 278 份来自国内外水稻品种(系)进行了 Wx 座位复等位基因分析,共检测到 15 种等位基因,其中(CT)₁₂-G、(CT)₁₅-G、(CT)₁₆-G、(CT)₁₇-G、(CT)₁₈-G、(CT)₂₁-G 为新发现的等位基因。以含不同 Wx 等位基因的 20 个品种(系)为供体亲本,利用回交和微卫星标记辅助选择相结合的方法,建立了 72 个以 Wx 等位基因为 (CT)₁₁-G 的“华梗籼 74”为受体的 Wx 复等位基因单片段代换系。这些单片段代换系共包含 12 种 Wx 等位基因,其代换片段长度最短为 2.2 cM,最长为 77.3 cM,平均为 17.4 cM。

关键词: 水稻; 糯性基因; 单片段代换系

中图分类号: Q943; S330; S511.03

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2005)06-0495-06

直链淀粉含量(amylose content, AC)是稻米品质的重要指标,是影响稻米蒸煮和食用品质的关键因素之一。遗传研究表明, Wx 基因是影响稻米直链淀粉含量的主要基因^[1]。Sano 等^[2]利用 RFLP 标记在 Wx 座位上鉴定出两个等位基因 Wx^a 和 Wx^b 。1990 年, Wang 等^[3]对 Wx 基因进行了全序列分析。Blight 等^[4]发现 Wx 基因前导内含子 5' 端剪切位点上游 55 bp 处存在一段 (CT)_n 重复序列,并设计了一对微卫星标记引物“484/485”进行 PCR 扩增,在不同水稻品种中共发现 4 种 (CT)_n 多态性。Ayres 等^[5]利用该引物在 Wx 座位上共检测出 8 种不同的 (CT)_n 等位基因。舒庆尧等^[6]在中国 74 个非糯性籼稻和粳稻材料中共检测出 7 种 (CT)_n 多态性。Tan 和 Zhang^[7]利用 Wx 基因引导区的两个简单重复序列 (CT)_n 和 (AATT)_n 在 74 份水稻材料中进行了多态性分析,以 (CT)_n 作标记共检测到 8 种等位基因,以 (AATT)_n 作标记检测到 2

种等位基因 (AATT)₅ 和 (AATT)₆。Wang 等^[8]对水稻 Wx 基因表达调控规律的研究结果表明,稻米直链淀粉含量的高低是由该品种 Wx 基因第 1 内含子的剪接效率决定的。Ayres 等^[5]在对一个包含 (CT)_n 微卫星序列和 Wx 基因前导内含子 5' 端剪切位点的 PCR 扩增片段(长 200 bp)的测序结果中,发现凡直链淀粉含量低于 18% 的品种在 Wx 基因前导内含子 5' 端剪切位点上含有 AGTTATA 序列,而直链淀粉含量高的品种则含有 AGGTATA 序列,这种 G-T 多态性可用 *Acc* I 酶切进行检测,即含 AGGTATA 序列的扩增片段能被 *Acc* I 酶切,而含 AGTTATA 序列的不能被 *Acc* I 酶切。进一步的研究结果也表明, Wx 基因第 1 内含子的剪接效率与第 1 内含子 +1 位置的碱基是正常的 G 还是

收稿日期: 2005-01-07; 修改稿收到日期: 2005-05-10。

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(30330370)。

第一作者简介: 曾瑞珍(1971—),女,硕士,助理研究员。

突变成 T 有关^[9~11]。蔡秀玲等^[12]利用 PCR-*Acc* I 分子标记检测方法,也发现第 1 内含子+1 位置是 G 碱基的水稻品种 AC 均高于 20%,而该位置是 T 的均低于 18%,*Wx* 基因第 1 内含子+1 位置是碱基 G 或是 T 与直链淀粉含量的高低是紧密连锁、共同分离的。利用(CT)_{*n*}多态性和 G-T 多态性,迄今已鉴定出 10 种 *Wx* 等位基因^[4~7]。

Wx 复等位基因与水稻直链淀粉含量之间存在显著相关性,可以解释水稻品种中 81.2%~91.2% 的直链淀粉含量变异^[5~7]。舒庆尧等^[13]利用杂交后代群体也证明了(CT)_{*n*}多态性与直链淀粉含量之间存在高度相关性。但由于 *Wx* 基因的表达受遗传背景和环境因素的影响,要准确评价不同 *Wx* 复等位基因的遗传效应,最好是使其处于同一遗传背景和环境条件下作进一步的分析。

染色体片段代换系(chromosome segment substitution lines, CSSL)或称导入系(introgression lines, IL),是在受体的遗传背景中代换某个或某些供体亲本的染色体片段^[14~16]。当代换系只代换来自供体亲本的一个染色体片段,而基因组的其余部分均与受体亲本相同时,则称为单片段代换系^[17,18]。由于单片段代换系只存在代换片段与受体亲本的差异,其遗传背景与受体亲本一致,可将复杂性状分解为单个孟德尔因子,而逐渐受到研究者的重视,目前在番茄、油菜和水稻中均已建立了一些单片段代换系(导入系)^[17~20]。但这些单片段代换系只来源于一个或少数几个供体,不利于分析同一座位不同复等位基因的效应。本研究利用微卫星标记进行 *Wx* 座位复等位基因分析,并选择含不同 *Wx* 等位基因的水稻品种(系)为供体,利用回交和分子标记辅助选择相结合的方法,建立了一批携带不同 *Wx* 等位基因的单片段代换系,以期为准确评价 *Wx* 复等位基因的遗传效应奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料来自国内外的包括粳、粳 2 个亚种的 278 个品种(系)(资料未列出)。单片段代换系的建立共选用 20 个含有不同 *Wx* 等位基因的品种(系)为供体亲本,以优良水稻品种“华梗粳 74”为受体亲本,这些材料的名称和来源见表 1。所有试验材料种植于华南农业大学教学试验场。

1.2 DNA 的抽提

278 个品种(系)的 DNA 抽提参照 Murray 和

Thompson^[22]的 CTAB 方法,单片段代换系建立的各世代材料的 DNA 抽提参照 Zheng 等^[23]的方法。

1.3 微卫星标记分析

微卫星标记的检测方法按 Li 等^[24]的方法进行。*Wx* 复等位基因鉴定采用的微卫星标记为“484/485”^[4]和“484/W2R”^[5]，“484/W2R”的扩增产物在 37℃ 下用 *Acc* I 内切酶酶切过夜。酶切产物及“484/485”的扩增产物均用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳。单片段代换系的建立共选择分布于 12 条染色体上,在 20 个供体亲本与受体亲本“华梗粳 74”之间有多态性的 549 个 SSR 标记进行代换片段检测和遗传背景分析,每条染色体上的微卫星标记数为 32~66 个,平均为 45.8 个,这些标记之间的平均图距为 2.8 cM。其中 RM 引物由美国 Cornell 大学提供^[25],OSR 引物由 Akagi 等^[26]设计,PSM 引物由本实验室设计^[27]。

1.4 *Wx* 等位基因单片段代换系的建立

采用回交和分子标记辅助选择相结合的方法^[18]。即在各回交世代先利用微卫星标记 484/485 进行 *Wx* 基因检测,从 BC₂F₁ 代起在 12 条染色体上约每 5 cM 选 1 个 SSR 标记进行供体亲本全基因组的代换片段检测,直至筛选出含 *Wx* 等位基因

表 1 用于单片段代换系建立的亲本材料的来源及类型
Table 1. Origin and type of the parents used for development of SSSLs.

亲本 Parent	来源 Origin	类型 Type ^[21]
受体 Recipient 华梗粳 74 Huajingxian 74	中国 China	粳
供体 Donor		
Tetep	越南 Vietnam	粳
中 4188 Zhong 4188	中国 China	粳
BG367	孟加拉国 Bangladesh	粳
籽恢 100 Zihui 100	中国 China	粳
Kaity	美国 USA	粳
IR66897B	IRRI	粳
苏御糯 Suyunuo ¹⁾	中国 China	粳
IR64	IRRI	粳
南洋占 Nanyangzhan	中国 China	粳
Basmati 370	巴基斯坦 Pakistan	粳
IR58025B	IRRI	粳
江西丝苗 Jiangxisimiao	中国 China	粳
美国茉莉香 American jasmine	美国 USA	粳
赣香糯 Ganxiangnuo ¹⁾	中国 China	粳
IR66167-27-5-1-6	IRRI	粳
成龙水晶米 Chenglongshuijingmi	中国 China	粳
IR65598-112-2	IRRI	粳
Lemont	美国 USA	粳
Star bonnet 99	美国 USA	粳
IAPAR9	巴西 Brazil	粳

¹⁾ 糯稻。
¹⁾ Glutinous rice.

的单片段代换系。然后在各条染色体上选择代换片段以外的具多态性的微卫星标记,特别是选用本实验室在 Cornell 微卫星图谱中标记间隙较大区段发展的微卫星标记(PSM 标记)对获得的候选单片段代换系进行供体残留片段检测,各供体亲本用于背景检测的多态性标记数平均为 67 个。淘汰含有供体亲本残留片段的伪单片段代换系,对没有残留片段的单片段代换系进行代换片段长度测定。

1.5 代换片段长度的测定

参照 Young 和 Tanksley^[28]的方法计算代换片段长度。每个代换片段在其两端增加分子标记进行检测,直至亲本间有多态性的标记表现为受体亲本的纯合基因型为止。以代换片段末端标记与相邻受体纯合基因型标记之间的中点为该末端边界点,按本实验室整合绘制的水稻微卫星标记图谱^[27]计算各代换片段的长度。

2 结果与分析

2.1 *Wx* 座位上复等位基因的鉴定

2.1.1 *Wx* 座位的(CT)_n多态性

以 Ayres 等^[5]和舒庆尧等^[6]所用的 6 个水稻品种(Tetep、IR72、特青、Katy、IR64 和 Lemont)为标准对照,利用微卫星标记“484/485”对 278 份来自国内外的水稻品种(系)进行 *Wx* 基因座的(CT)_n多

态性检测,共检测出 12 种带型,其中 CT 重复数最少为 8 次,最多为 21 次(图 1-A)。

2.1.2 *Wx* 座位的 G-T 多态性

利用引物对“484/W2R”对 278 份来自国内外水稻品种(系)的 DNA 样品进行 PCR 扩增,扩增产物用 *Acc* I 酶切后进行电泳,结果见图 1-B 和表 2。从表 2 可以看出,*Wx* 等位基因为 (CT)₈、(CT)₁₀、(CT)₁₁、(CT)₁₂、(CT)₁₄、(CT)₁₅、(CT)₁₉、(CT)₂₀ 和 (CT)₂₁ 的各 DNA 样品的 PCR 产物均能被 *Acc* I 酶切,表明这些 DNA 序列在 *Wx* 基因前导内含子 5'端剪切位点上的 G-T 多态性为 G。在 *Wx* 等位基因为 (CT)₁₆、(CT)₁₇ 和 (CT)₁₈ 的材料中,一些 DNA 样品的 PCR 产物能被 *Acc* I 酶切,而另一些 DNA 样品的 PCR 产物不能被 *Acc* I 酶切。在这部分材料中,能被 *Acc* I 酶切的 G-T 多态性为 G,不能被 *Acc* I 酶切的 G-T 多态性为 T。因此,这 3 种 (CT)_n等位基因按 G-T 多态性可进一步分为 6 种等位基因,即 (CT)₁₆-G、(CT)₁₇-G、(CT)₁₈-G、(CT)₁₆-T、(CT)₁₇-T 和 (CT)₁₈-T。图 1-B 展示的是 12 种 G-T 多态性为 G 的 *Wx* 等位基因。

通过检测(CT)_n多态性和 G-T 多态性,在 *Wx* 座位上共鉴别出 15 种等位基因。

2.2 *Wx* 复等位基因在水稻种质资源中的分布

不同 *Wx* 等位基因在水稻种质资源中的分布如

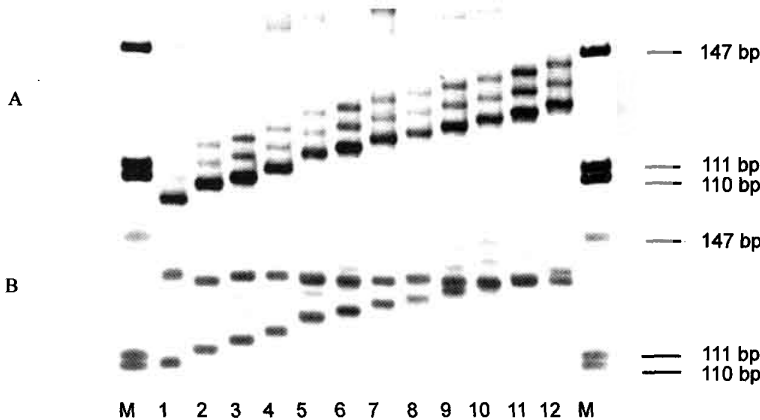


图 1 水稻 *Wx* 座位不同等位基因的带型
Fig. 1. Band patterns of multiple alleles at the *Wx* locus in rice.

A—(CT)_n等位基因; B—(CT)_n-G 等位基因。
1—(CT)₈(特特普); 2—(CT)₁₀(IR72); 3—(CT)₁₁(特青); 4—(CT)₁₂(籽恢 100); 5—(CT)₁₄(Katy); 6—(CT)₁₅(IR66897B); 7—(CT)₁₆(Nutsuriwai); 8—(CT)₁₇(IR64); 9—(CT)₁₈(IR66167-27-5-1-6); 10—(CT)₁₉(IR65598-112-2); 11—(CT)₂₀(Lemont); 12—(CT)₂₁(元子 2)。
A, (CT)_n alleles at the *Wx* locus; B, G-T polymorphism at the *Wx* locus.
1—(CT)₈(Tetep); 2—(CT)₁₀(IR72); 3—(CT)₁₁(Teging); 4—(CT)₁₂(Zihui 100); 5—(CT)₁₄(Katy); 6—(CT)₁₅(IR66897B); 7—(CT)₁₆(Nutsuriwai); 8—(CT)₁₇(IR64); 9—(CT)₁₈(IR66167-27-5-1-6); 10—(CT)₁₉(IR65598-112-2); 11—(CT)₂₀(Lemont); 12—(CT)₂₁(Yuanzi 2).

表 2 Wx 复等位基因在水稻种质资源中的分布

Table 2. Distribution of Wx alleles detected by microsatellite class and G-T polymorphism in rice germplasm.

类型 Type	(CT) _n												合计 Total
	8	10	11	12	14	15	16	17	18	19	20	21	
能被 Acc I 酶切 Digested by Acc I	2	13	105	5	4	2	2	12	6	1	17	1	170
不能被 Acc I 酶切 Undigested by Acc I	0	0	0	0	0	0	2	29	77	0	0	0	108
合计 Total	2	13	105	5	4	2	4	41	83	1	17	1	278

表 3 Wx 复等位基因单片段代换系代换片段的来源及其长度

Table 3. Origin and length of substituted segments containing Wx multiple alleles in the SSSLs.

Wx 基因型 Wx genotype	供体 Donor	单片段代换系数 Number of SSSLs	代换片段长度 Length of substituted segments /cM	代换片段平均长度 Average length of substituted segments /cM
(CT) ₈ -G	Tetep	6	8.0~38.7	20.9
(CT) ₁₀ -G	中 4188 Zhong 4188	7	2.2~14.8	9.9
	BG367	4	2.2~41.7	15.9
(CT) ₁₂ -G	籽恢 100 Zihui 100	2	2.8~6.8	4.8
(CT) ₁₄ -G	Katy	1	8.2	8.2
(CT) ₁₅ -G	IR66897B	3	5.6~36.0	19.0
(CT) ₁₆ -T	苏御糯 Suyunuo	2	6.5~9.5	8.0
(CT) ₁₇ -G	IR64	4	9.8~28.0	21.2
	南洋占 Nanyangzhan	2	26.4~37.0	31.7
(CT) ₁₇ -T	Basmati 370	1	5.9	5.9
	IR58025B	4	2.2~11.5	6.1
	江西丝苗 Jiangxisimiao	7	2.4~50.8	25.8
	美国茉莉香 American jasmine	4	2.2~11.8	25.3
	赣香糯 Ganxiangnuo	2	8.5~48.0	28.2
(CT) ₁₈ -G	IR66167-27-5-1-6	1	16.3	16.3
(CT) ₁₈ -T	成龙水晶米 Chenglongshuijingmi	2	8.8~50.3	29.5
(CT) ₁₉ -G	IR65598-112-2	4	10.8~42.0	19.6
(CT) ₂₀ -G	Lemont	5	3.5~77.3	27.4
	Star bonnet 99	7	2.2~26.0	13.2
	IAPAR9	4	9.5~26.0	15.0
合计 Total		72	2.2~77.3	17.4

表 2 所示。在 278 份水稻品种(系)中,大多数品种(系)在 Wx 座位上的 (CT)_n 多态性为 (CT)₁₁、(CT)₁₇ 和 (CT)₁₈, 占总数的 82.4%; 其次为 (CT)₁₀ 和 (CT)₂₀, 而含 (CT)₁₉ 和 (CT)₂₁ 的样品数各只有 1 个。从表 2 还可以看出,具有不同 CT 重复数的 Wx 等位基因酶切情况不同,具有 (CT)₈、(CT)₁₀、(CT)₁₁、(CT)₁₂、(CT)₁₄、(CT)₁₅、(CT)₁₉、(CT)₂₀ 和 (CT)₂₁ 等位基因的所有样品均能被 Acc I 酶切,没有发现不能被酶切的样品,而大部分具有 (CT)₁₆、(CT)₁₇ 和 (CT)₁₈ 等位基因的样品不能被酶切,只有 13.2% 的样品能被酶切。

2.3 Wx 复等位基因单片段代换系的建立

以 Wx 等位基因为 (CT)₁₁-G 的“华梗粳 74”为母本,含不同 Wx 等位基因的水稻品种(系)为父本,通过杂交和 3~5 代回交,结合微卫星标记辅助选择及严格的遗传背景残留片段筛选,共获得了 72 个带有不同 Wx 等位基因的单片段代换系。这些单片段代换系来源于 20 个不同品种(系),包含 12 种不同

的 Wx 等位基因,其中 Wx 等位基因为 (CT)₁₇-T 的最多,有 17 个,其次为 (CT)₂₀-G,有 16 个,而 (CT)₁₄-G 和 (CT)₁₈-G 最少,各只有 1 个。在 72 个单片段代换系中,代换片段长度最长的为 77.3 cM,最短的为 2.2 cM,大多数代换片段长度在 2.2~15.0 cM,平均长度为 17.4 cM(表 3 和图 2)。

3 讨论

大量研究结果表明,Wx 基因存在广泛的复等位基因分化。Sano 等[2] 首先应用 RFLP 标记在 Wx 座位上鉴定出两个等位基因 Wx^a 和 Wx^b,并发现 Wx^a 和 Wx^b 在不同水稻亚种中出现明显分化,籼稻以 Wx^a 为主;粳稻全为 Wx^b,但这两个等位基因还不足以全面解释水稻品种直链淀粉含量的变异。随后一些研究者利用 (CT)_n 多态性和 G-T 多态性对 Wx 座位进行了复等位基因分析,鉴定出 10 种 Wx 等位基因,即 (CT)₈-G、(CT)₁₀-G、(CT)₁₁-G、(CT)₁₄-G、(CT)₁₆-T、(CT)₁₇-T、(CT)₁₈-T、

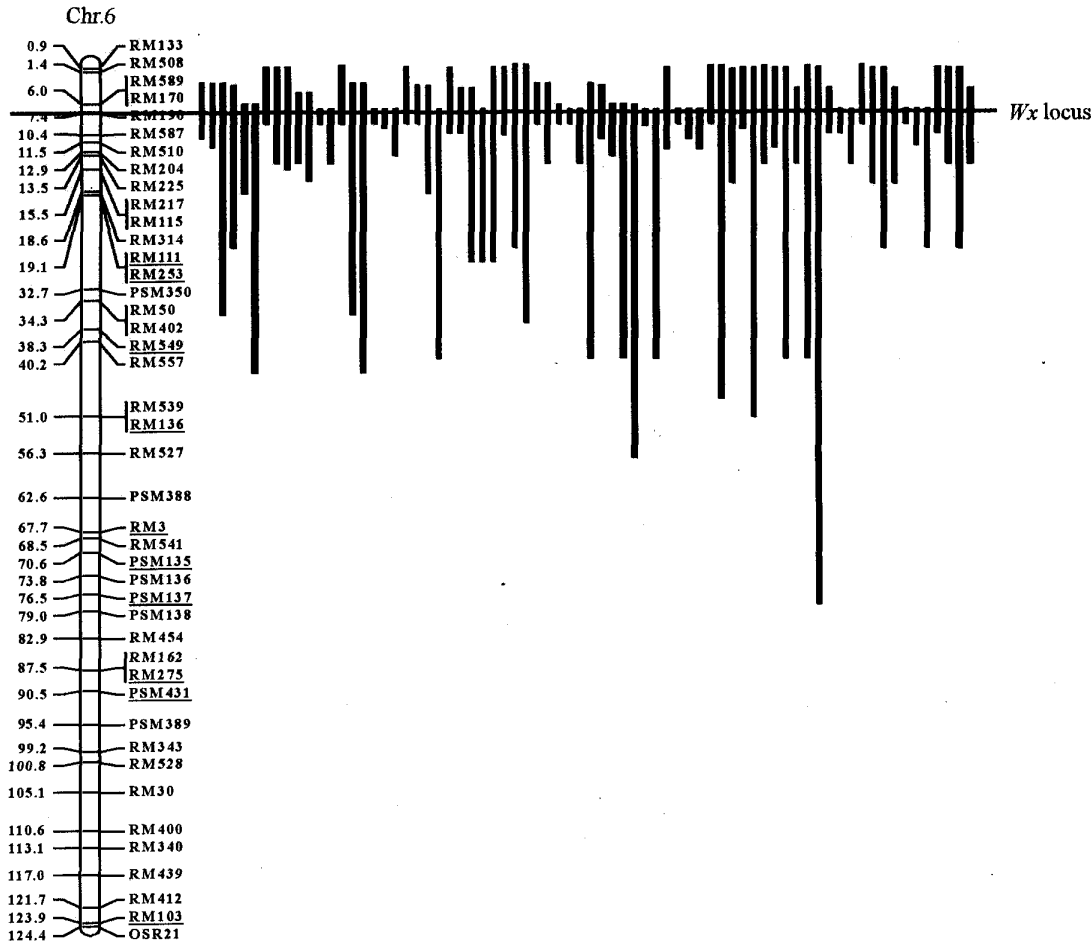


图2 72个 *Wx* 复等位基因单片段代换系的代换片段在染色体上的位置(图中各单片段代换系按表3的顺序排列)

Fig. 2. Position of substituted segments containing *Wx* multiple alleles in 72 SSSLs (The 72 SSSLs were arranged based on the order in Table 3).

(CT)₁₉-G、(CT)₁₉-T 和 (CT)₂₀-G^[4~7]。本研究利用(CT)_n多态性和 G-T 多态性相结合,对来源广泛的 278 份水稻材料进行了 *Wx* 复等位基因分析,共检测出 15 种等位基因,其中(CT)₁₂-G、(CT)₁₅-G、(CT)₁₆-G、(CT)₁₇-G、(CT)₁₈-G 和 (CT)₂₁-G 共 6 种等位基因未见报道。这些新等位基因的发现为进一步分析 *Wx* 基因的遗传效应奠定了基础,对改良稻米直链淀粉含量具有重要作用。

前人对 *Wx* 基因与直链淀粉含量(AC)关系的研究主要是以品种作为研究材料,但由于 *Wx* 基因的表达受遗传背景和环境因素的影响,因此无法准确评价不同 *Wx* 复等位基因的遗传效应。本研究以含不同 *Wx* 等位基因的 20 个品种(系)为供体亲本,利用回交和微卫星标记辅助选择相结合的方法,建

立了 72 个以“华梗粳 74”为受体的 *Wx* 复等位基因单片段代换系,共包含 12 种 *Wx* 等位基因。这些单片段代换系由于与其受体亲本之间只存在一个已知代换片段的差异,相当于一系列的近等基因系,可排除遗传背景的影响,是准确研究 *Wx* 复等位基因的遗传效应的优良材料,将在 *Wx* 基因研究中发挥重要的作用。

参考文献:

- 1 Sano Y. Differential regulation of waxy gene expression in rice endosperm. *Theor Appl Genet*, 1984, 68: 467-473.
- 2 Sano Y, Katsamata M, Okuno K. Genetic studies of speciation in cultivated rice. 5. Inter- and intraspecific differentiation in the waxy gene expression in rice. *Euphytica*, 1986, 35: 1-9.
- 3 Wang Z Y, Wu Z L, Xing Y Y, et al. Nucleotide sequence of

- rice waxy gene. *Nucl Acids Res*, 1990, 18(19): 5898.
- 4 Bligh H F J, Till R I, Jones C A. A microsatellite sequence closely linked to the waxy gene of *Oryza sativa*. *Euphytica*, 1995, 86: 83—85.
 - 5 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.
 - 6 舒庆尧, 吴殿星, 夏英武, 等. 籼稻和粳稻中蜡质基因座位上微卫星标记的多态性及其与直链淀粉含量的关系. *遗传学报*, 1999, 26(4): 350—358.
 - 7 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 Bot Sin*, 2001, 43(2): 146—150.
 - 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 Hirano H Y, Eiguchi M, Sano Y. A single base change altered the regulation of the waxy gene at the posttranscriptional level during the domestication of rice. *Mol Biol Evol*, 1998, 15: 978—987.
 - 11 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. *Plant J*, 1998, 15(1): 133—138.
 - 12 蔡秀玲, 刘巧泉, 汤述裘, 等. 用于筛选直链淀粉含量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, 28(2): 137—144.
 - 13 舒庆尧, 吴殿星, 夏英武, 等. 水稻杂交后代表观直链淀粉质量分数与蜡质基因(CT)_n微卫星多态性的相关性. *应用与环境生物学报*, 1999, 5(5): 464—467.
 - 14 Eshed Y, Abu-Abied M, Saranga Y, *et al.* *Lycopersicon esculentum* lines containing small overlapping introgressions from *L. pennellii*. *Theor Appl Genet*, 1992, 83: 1027—1034.
 - 15 Aida Y, Tsunematsu H, Doi K, *et al.* Development of a series of introgression lines of japonica in the background of indica rice. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 41—43.
 - 16 Kubo T, Aida Y, Nakamura K, *et al.* Reciprocal chromosome segment substitution series derived from japonica and indica cross of rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Sci*, 2002, 52: 319—325.
 - 17 刘冠明, 李文涛, 曾瑞珍, 等. 水稻亚种间单片段代换系的建立. *中国水稻科学*, 2003, 17(3): 201—204.
 - 18 何风华, 席章营, 曾瑞珍, 等. 利用高代回交和分子标记辅助选择建立水稻单片段代换系. *遗传学报*, 2005, 32(8): 825—831.
 - 19 Eshed Y, Zamir D. A genomic library of *Lycopersicon pennellii* in *L. esculentum*: A tool for fine mapping of genes. *Euphytica*, 1994, 79: 175—179.
 - 20 Howell P M, Marshall D F, Lydiate D J. Towards developing intervarietal substitution lines in *Brassica napus* using marker-assisted selection. *Genome*, 1996, 39: 348—358.
 - 21 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(2): 179—186.
 - 22 Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl Acids Res*, 1980, 8(19): 4321—4325.
 - 23 Zheng K L, Huang N, Bennett J, *et al.* PCR-based marker-assisted selection in rice breeding. IRRI Discussion Paper, Series 12. Manila: IRRI, 1995.
 - 24 Li W T, Zeng R Z, Zhang Z M, *et al.* Mapping of *S-b* locus for F₁ pollen sterility in cultivated rice using PCR based markers. *Acta Bot Sin*, 2002, 44(4): 463—467.
 - 25 McCouch S R, Teytelman L, Xu Y B, *et al.* Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res*, 2002, 9: 199—207.
 - 26 Akagi H, Yokozeki Y, Inagaki A, *et al.* Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 1071—1077.
 - 27 黄朝锋. 水稻 PSM 标记的发展及抗虫基因的分子定位[学位论文]. 广州: 华南农业大学, 2003.
 - 28 Young N D, Tanksley S D. Restriction fragment length polymorphism maps and the concept of graphical genotypes. *Theor Appl Genet*, 1989, 77: 95—101.