

评述与展望

Reviews and Progress

水稻稻米品质的分子设计育种研究进展

易俊良^{1,2,3}, 周少川^{1,2}, 唐晓艳³, 周向阳⁴, 彭琼⁵, 陈立云¹, 王海斌⁶

1. 湖南农业大学水稻科学研究所, 长沙, 410128

2. 广东省农业科学院水稻科学研究所, 广州, 510640

3. 深圳热带亚热带作物分子设计育种研究中心, 深圳, 518040

4. 深圳市农作物良种引进中心, 深圳, 518040

5. 湖南农业大学生物技术学院, 长沙, 410128

6. 衡阳市现代农业示范园, 衡阳, 421200

✉ 通讯作者: xxs123@163.com ✉ 作者

分子植物育种, 2011 年, 第 9 卷, 第 19 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0019

收稿日期: 2010 年 11 月 02 日

接受日期: 2011 年 02 月 11 日

发表日期: 2011 年 02 月 23 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

易俊良等, 2011, 水稻稻米品质的分子设计育种研究进展, 分子植物育种 Vol.9 No.19 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0019)

摘要 随着水稻基因组测序及其分析技术和功能基因组学研究的深入发展, 大量与稻米品质有关的基因或 QTL 在染色体上精确定位并克隆。新一代分子标记技术的发展, 高通量、高效、简便的检测技术平台的建立, 为水稻在品质的分子设计育种奠定了基础。本文从水稻品质遗传的分子生物学基础、品质分子设计育种相关基础研究, 影响未来品质分子设计育种的限制因子等几个方面进行了概述, 提出高通量、高效、简便的检测技术平台的建立与完善, 是未来品质分子设计育种的主要研究方向。

关键词 水稻; 品质; 分子设计育种

Research Progress of Rice Breeding by Molecular Design in Grain Quality

Yi Junliang^{1,2,3}, Zhou Shaochuan^{1,2}, Tang Xiaoyan³, Zhou Xiangyang⁴, Peng Qiong⁵, Chen Liyun¹, Wang Haibin⁶

1. Rice Research Institute, Hunan Agricultural University, Changsha, 410128, P.R. China

2. Rice Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, 510640, P.R. China

3. Shenzhen Molecular Crop Design Center for Tropical and Subtropical Regions, Shenzhen, 518040, P.R. China

4. Shenzhen Center for Crop Seed, Shenzhen, 518040, P.R. China

5. College of Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha, 410128, P.R. China

6. Hengyang Demonstration Garden for Modern Agriculture, Hengyang, 421200, P.R. China

✉ Corresponding author, xxs123@163.com; ✉ Authors

Abstract With the available genomic sequence technologies and information analysis and further development of research in functional genomics, an increasing number of genes and/or QTLs related with grain quality have been mapped precisely and cloned in rice. New-generation technology of molecular markers, establishment of high-through out and high-efficient and simple testing platforms will lay an important foundation of technology and practice in molecular design breeding of grain quality in rice. In this article, we mainly summarized about molecular-biological basis of rice quality genetic, basic work of research related with molecular design breeding of grain quality and restrict factors influencing future molecular design breeding and so on. Establishment of high-throughout and high-efficient and simple testing platforms are regarded as the main approach to molecular design breeding of grain quality in the future.

Keywords Rice; Grain quality; Molecular design breeding

研究背景

水稻不仅是世界上约一半人口的重要粮食作物 (Chen et al., 2002; Xue et al., 2008; Chen et al., 2009; Yuichi et al., 2005; Takujl et al., 1998), 而且在禾谷

类作物中具有较小的基因组, 并处于禾谷类作物共线性同心圆的中心, 使其成为单子叶植物中基因组研究的模式植物 (Kim et al., 2007; Devos, 2005; Gale et al., 1998)。传统的水稻育种, 主要是根据杂交后

代分离群体中的优良个体表型来选择的。通过表型对水稻重要农艺性状的选择虽然取得了长足的发展, 但在此选择过程中仍然面临很大的困难, 主要是由于基因型与环境因子之间的相互作用所致 (Bernardo, 2001)。随着人们生活水平的不断提高, 稻米品质已成为水稻育种工作者和消费者首要考虑的因素。水稻的品质是由数量性状位点(QTLs)控制的, 在杂交后代表现出连续的表型变异。在杂交后代中缺乏连续型性状分离的有效统计和选择方法, 而采用传统的方法来提高水稻品质, 是非常困难的。稻米品质实际上就是胚乳性状, 遗传方式是极其复杂的, 这主要是由于胚乳性状的遗传表达, 不仅受到三倍体胚乳基因型的影响, 而且还受到二倍体母系基因型和其它任何可能的细胞质差异的影响 (He et al., 1999; Shi et al., 1996)。因此, 培育优质的高产水稻新品种在实际育种工作中仍面临很大的困难与挑战。分子生物学及其技术的发展为我们提供了新的机遇。

1 水稻品质遗传的分子生物学基础

稻米品质包括外观、加工、营养、蒸煮和食味品质。在这些品质中, 消费者更多关注的是良好的外观、蒸煮和食味品质。因此, 三者便成为稻米品质改良中的首要目标 (Huang et al., 1998)。稻米外观品质主要取决于粒形(shape), 垩白(chalkiness)和透明度(translucency), 水稻的食味品质直接与3个理化性质有关, 即直链淀粉含量, 胶稠度和糊化温度。到目前为止, 关于稻米食味和蒸煮品质方面的研究, 主要集中在直链淀粉含量、胶稠度和糊化温度3个方面。稻米加工品质是稻谷在加工过程中所表现出来的特性, 衡量指标主要有糙米率(brown rice%)、精米率(milled rice%)和整精米率(head rice%), 在不同品种间变异较大。营养品质则是指稻米中各营养成分的含量。稻米的营养成分包括碳水化合物、含氮化合物、脂类、纤维素、维生素等。其中蛋白质、脂肪含量是其主要的鉴定指标。

1.1 水稻外观、加工品质遗传的分子生物学基础

外观品质是是稻米商品优劣性的直接体现, 直接影响到人们的喜好。稻米的三维形状, 如粒长, 粒宽, 粒厚, 是水稻外观品质重要的组成部分。稻米的外观品质还与其它品质性状诸如蒸煮食用、加

工品质等密切相关 (江良荣等, 2003)。

多年来对稻米外观品质的研究表明, 粒长、粒宽和粒形属于数量性状, 受多基因控制, 受母体基因型控制, 以加性效应为主 (陈建国和朱军, 1998; 李欣等, 1999)。He等(1999)以粳/籼杂交后代为基础建立水稻DH群体, 用于稻米品质的遗传分析。试验主要测定DH群体与杂交亲本外观品质的5个重要参数, 包括垩白率(PGWC)和垩白面积(SWC)等。分析结果表明, 对于在三地种植的亲本而言, 每个参数的数值是相对稳定的, 而在群体中的参数数值则拥有明显的差异, AC呈现出双峰分布, ASV分布偏向于JX17这一数值, 而其他3个参数显示出连续分布。Bai等(2010)通过谷粒大小有明显差异的粳稻和籼稻品种(Nanyangzhan和Chuan)杂交, 构建了一个F7: 8重组自交系群体(RIL)用作谷粒形状的遗传分析, 同时建立了一个包含164个简单重复序列(SSR)标记的遗传连锁图谱。这项研究的主要目的是检测控制谷粒形状的数量性状位点, 并成功实现了一个微效QTL(qGL7)的精细定位。Shi等(2002)在水稻不同的灌浆阶段, 对稻米的垩白(chalkiness)和透明度(translucency)进行了遗传分析, 结果表明, 垩白和透明度不仅是多基因控制的数量性状, 而且还受到三倍体胚乳遗传效应、细胞质遗传效应、二倍体母系植株遗传效应或三种效应共同的影响, 试验还证明了垩白(chalkiness)和透明度(translucency)区域的最终形成, 虽然取决于整个发育阶段的光合产物的最终积累, 但它们在任何一个灌浆阶段的基因表达都与其遗传效应有关, 且在不同的灌浆阶段, 基因的表达和遗传效应的影响不同。但也有学者认为垩白是受单个主基因控制的性状 (Chang and Somrith, 1979), 胚乳透明度的遗传表达则是以基因型作用为主, 并存在地点与基因型的互作, 遗传力较高 (Liu et al., 2006)。此外, Sweeney等(2006)对红米的研究证实, 红米是由与进化有关的Rc基因控制的, Rc基因编码一种基本的螺旋—环—螺旋结构的蛋白质, 被精确定位在7号染色体约18.5kb的区域。

稻米加工品质的遗传表达比较复杂, 受遗传效应、环境效应和遗传与环境互作效应的综合作用, 其中遗传效应又可分为母体基因型效应、种子胚乳基因型效应和细胞质效应三种类型。Wong等(2005)的研究证实, 稻米胚乳旁侧区域的高密度贮藏蛋白

(如谷蛋白)能增加稻米的韧性, 从而减少稻米加工过程中的破损率。此区域含有的另外一些蛋白则能更好的增加稻米的硬度, 使其在稻米加工过程中的抗破损能力进一步增强。

1.2 水稻食味、蒸煮品质遗传的分子生物学基础

在世界许多的稻米生产区, 蒸煮、食味品质始终是评价稻米品质的一个主要标准。直链淀粉(Amylose)是由蜡质基因(*Wx*)编码的颗粒结合性淀粉合成的。低直链淀粉含量(AC)常被用于软米的选育方面。Liu等(2009)为了研究控制直链淀粉形成的分子机理, 筛选出了83个中国云南水稻地方品种, 并鉴定出一个低直链淀粉含量的水稻品种Haopi。经遗传分析和转基因实验的结果显示, 低直链淀粉含量是由*Wx*位点一个新的等位基因控制, 即*Wx^{hp}*基因, 它编码颗粒结合淀粉合成酶 I。水稻淀粉胶稠度谱, 也称之为RVA谱(因为它是在快速粘度分析仪进行测试的), 是由稻米粉处于标准温度程序的热保持与冷保持的设置中所产生的稻米糊化曲线, 主要受*Wx*基因的控制, 而且受外界环境的影响较大(Bao et al., 2000)。稻米淀粉糊化是一个动态的过程, 当水加热的温度超过一定的阈值时就会破坏淀粉颗粒分子的正常排列顺序, 是评价稻米蒸煮食味品质的重要指标。研究证实, 编码颗粒结合淀粉合成酶的*Wx*基因是控制AAC、GC, 以及大部分RVA特征值的主效基因(Tan et al., 1999; Wang et al., 2007; Wan et al., 2004; Fan et al., 2005; He et al., 2006), 而GT则主要由可溶性淀粉合成酶基因SSII-3控制, 同时还受其它与淀粉合成相关基因的影响(Gao et al., 2003; Umemoto and Aoki, 2005; Umemoto et al., 2002; Bao et al., 2006; Nakamura et al., 2005; 严长杰等, 2010)。张名位等(2001)对特殊粳型黑米糊化温度和胶稠度的遗传效应研究表明, 黑米碱消值糊化温度和胶稠度同时受制于种子直接遗传效应、母体效应和细胞质作用影响, 其中, 种子直接效应和细胞质效应比母体效应的作用更大, 种子直接效应以加性效应占主导。

稻米中所含有的香味因子是最具价值的稻米品质性状之一, 香味的产生与2-乙酰基-1-吡咯啉的积累有关, 而位于第8染色体上的一隐性基因*fgr*与这一重要品质性状相关联, *fgr*基因由15个外显子和14个内含子组成, 编码甜菜碱醛脱氢酶(BAD), 此酶

功能的丧失, 常导致芳香类化合物2-乙酰基-1-吡咯啉的积累(Bourgis et al., 2008; Niu et al., 2008; Michael et al., 2009; Louis et al., 2005)。

1.3 水稻营养品质遗传的分子生物学基础

稻米营养品质主要包括蛋白质、游离氨基酸、脂肪、维生素及微量矿质元素四个方面。稻米蛋白质的质量是由限制氨基酸的含量决定的, 而胚乳又是营养物质的主要贮存器官。虽然稻米品质性状是由三倍体胚乳基因控制的, 但稻米作为一个新的世代, 不同于母体植株。至此, 所提供的营养物质和细胞质效应便成为核外效应的重要影响因子。对稻米营养品质的研究具有以下不同的结果: (1)受母系效应的影响, 而细胞质效应的影响甚微; (2)受母体植株或细胞质效应的影响; (3)一部分是受母体植株基因型的影响, 另一部分是受不同细胞质类型的影响; (4)受种子和母系遗传效应的显著影响。Shi等(1996)利用9个细胞质雄性不育系和5个恢复系, 采用不完全双列杂交的方式, 对影响稻米营养品质的种子遗传, 细胞质遗传和母系遗传效应进行了分析, 结果表明, 稻米营养品质性状是受细胞质遗传效应、母系遗传效应和种子直接效应的调控, 与母系遗传效应有关的赖氨酸含量, 赖氨酸指数以及赖氨酸含量与蛋白质含量的比值较种子直接遗传效应的影响更为重要, 而种子直接遗传效应主要影响蛋白质含量和蛋白质指数。细胞质遗传效应占整个遗传变异的2.41%~20.8%, 因此, 它对于稻米营养品质性状的影响是极为重要的。在所研究的稻米营养品质性状中, 加性遗传效应比显性遗传效应影响更为显著, 适于在早世代进行选择(江良荣等, 2004)。前人对稻米蛋白质含量和蛋白质指数的研究证实, 稻米蛋白质含量及指数为微效多基因控制的数量性状, 且控制稻米蛋白质含量QTL的表达具有一定的稳定性, 在遗传过程中主要受制于母体植株加性效应和显性效应的作用, 但亦受到种子基因效应的影响。

脂肪是稻米营养品质的重要组成成分之一, 脂肪含量的高低不仅反映了稻米的营养价值, 而且对稻米的蒸煮食味品质有较大的影响, 同时还与人们的健康状况密切相关。脂肪的主要成分是三酰甘油(triacylglycerols, TAG)。王海莲等(2007)以测序水稻“日本晴”为实验材料, 研究了在三个不同环境中的

BIL群体及其亲本脂肪含量的表型变异, 结果表明, 脂肪含量表型值在BIL群体中呈现连续分布, 并存在双向超亲分离现象, 说明脂肪含量是典型的数量性状, 受多基因控制, 同时利用RT-PCR方法克隆了脂肪合成途径中一个重要的酶, 二酰甘油酰基转移酶(DGAT), 从而为进一步研究水稻TAG的合成和调控机制提供一定的理论基础。Hu等(2004)利用Gui630/02428构建的加倍单倍体群体和一个包含有232个标记位点的RFLP连锁图谱, 对稻米脂肪含量的遗传基础进行了研究, 结果表明, 控制稻米脂肪含量的3个QTL分别定位于第1、2、5染色体上, 共解释44%的表型变异, 位于第2、5染色体上的QTL表现为主效QTL。

人类在20世纪40年代就已经发现了所有的必需维生素, 并实现了必需维生素的人工合成。与饮食有关的必需矿质营养元素(Ca, P, K, Na等)的功能和微量元素(Si, Ni, Sn, V等)也已被发现。维生素A、Fe和高质量蛋白的缺乏, 通常被认为是人类营养中最严重的问题。维生素、矿质营养元素功能的研究远远超出了在预防特殊的缺乏症方面的作用(David, 2005)。当前, 分子遗传学方法正被用于增加农作物中某种或某几种营养元素的含量(Grusak and Dean, 1999)。水稻中Fe³⁺的增加, 不仅可以预防人类的缺Fe症状, 而且还可以增加水稻的产量(Mary, 2007)。矿质营养元素或微量元素含量丰富的稻米在加工过程中, 所产生的副产品(米糠)的价值也高, 而米糠中营养物质的分离与提取, 则是一种提升人类健康的重要途径, 同时有利于经济回报的增加(Schramm et al., 2007)。

2 水稻品质分子设计育种开展的相关基础研究

分子设计育种的目标在于控制所有与重要农艺性状有关的等位基因变异。优良基因的聚合和基因与表达调控元件的有机整合, 是其基本思想(肖景华等, 2009)。分子设计育种不仅能够改善现有的选择途径, 而且还能帮助创造具有优良农艺性状(优质、高产、多抗)的新品种或组合, 它主要包括3个方面的步骤:(1)定位所有与农艺性状有关的基因座;(2)等位基因效应的评价;(3)分子设计育种的开展(Johan and Jeroen, 2003)。因此, 加强水稻品质分子设计育种的相关基础研究, 是十分必要的,

有助于培育出集色、香、味、营养于一体的优质稻米品种或组合, 从而达到高营养高产量高效益的目的。目前水稻品质分子设计育种的基础工作研究主要表现在如下几个方面。

2.1 生物信息学数据库中基因组序列信息、功能基因组学遗传信息资源的累积与整合

水稻作为作物基因组研究的模式作物, 基因组大小约为4.3亿个碱基对, 是禾谷类作物(玉米、小麦)中最小的。水稻基因组研究计划(RGP)最初于1991年提出, 共分为两个阶段: 第一阶段的主要目标, 包括构建了近2257个DNA标记的高密度遗传连锁图谱和YAC克隆为基础的覆盖水稻全基因组序列约70%的物理图谱; 第二阶段的主要目标, 包括基因组序列的测定、基因功能的分析、基因组学在遗传育种中的应用等(Katsumi et al., 2000)。水稻的两个籼、粳亚种, 即以9311为代表的籼亚种和以“日本晴”为代表的粳亚种的测序工作已经完成(Matsumoto et al., 2005; Yu et al., 2002), 从而奠定了基因分析和分子设计育种的基因遗传信息基础。美国国家信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)的GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/web/GenBank/index.html>)、欧洲分子生物学实验室(European Molecular Biology Laboratory-European Bioinformatics Institute, EMBL-EBI)的EM-BL(<http://www.ebi.ac.uk/databases/index.html>)和日本DNA数据库(DNA Data Bank of Japan, DDBJ)被称为三大国际一级核苷酸生物信息数据库, 截止2009年, 三大数据库收录的核苷酸序列信息分别为108,431,692条, 185,231,366条和116,720,237条。蛋白质序列数据库则主要是SWISS—PROT、PRI、TrEMBL等, 其中成立于1996年的TrEMBL, 是对SWISS—PROT数据库注解的补充, 这使得SWISS—PROT蛋白质序列数据库的功能变得更加完善(Boeckmann et al., 2003)。蛋白质结构数据库PDB, 是由X射线晶体衍射和核磁共振测得的生物大分子的三维结构所组成的最完整的蛋白质结构数据库。它在全世界有七个镜像站点, 可应用于蛋白质结构预测和结构同源性比较, 是进行生物分子结构研究的基本数据(Berman et al., 2000)。据2010年5月的最新统计, PDB已收录了60409个蛋白质结构序列, 其中52753个结构序列是由X射线衍射所

测, 7315个结构序列是由核磁共振所测。同时, PDB数据库也收录了DNA结合蛋白复合物序列2686条。此外, 一批功能独特的新数据库已被建设, 如水稻基因组注释数据库(RAD)(Yuichi et al., 2005)、水稻蛋白激酶数据库(RKD)(Christopher et al., 2007), 水稻内含子多态性标记数据库(PIP)(Yang et al., 2007)等, 其中有许多都是与品质有关的基因遗传(标记)信息, 奠定了水稻品质分子设计育种的实践基础。

水稻功能基因组学是鉴定和识别水稻基因功能的一种科学手段, 其目标是明确基因组中全部基因的功能, 并由此所产生的表型性状。水稻基因组测序的快速完成, 加速了水稻功能基因组学的研究。水稻功能基因组学的基础技术平台(infrastructures)主要包括, 水稻芯片、T-DNA标签或逆转录转座子的插入突变体库、基因的全长cDNA文库。功能基因组学已被应用于提供关于不同生物学过程的详细或补充信息。Fan等(2006)以明恢63(大粒型, 轮回亲本)和川7(小粒型, 非轮回亲本)为实验材料, 通过一系列的杂交与回交, 构建了一个近等基因系群体, 并采用定位克隆的方法分离了一个控制水稻粒重、粒长的GS3基因。经研究证实, 该基因cDNA全长956bp, 包括5个外显子, 编码一个由232个氨基酸组成的跨膜蛋白, 该蛋白产物包含下列几个结构域: 由54个氨基酸组成的类似于PEBP结构域、一个跨膜区、TNFR/NGFR 家族中富含半胱氨酸的同源区域和一个VWFC模块。通过与小粒品种的序列分析表明, 大粒品种GS3第2外显子中编码第55位半胱氨酸的密码子TGC突变成终止密码子TGA, 从而造成GS3编码的蛋白在C末端丢失了178个氨基酸, 表明此蛋白对粒重起负调控作用。水稻淀粉突变体的研究表明, 编码颗粒结合淀粉合成酶(GBSS)的Wx基因的转录仅在胚乳, 花粉和胚囊中检测到, 从而证实Wx基因的表达可能在转录水平进行调控。对水稻Wx基因的序列测定表明, 此基因中第一个内含子的基因序列能提高其表达。另外的研究显示, 转录后水平的调控在水稻种子直链淀粉含量和Wx蛋白的积累中起非常重要的作用。基因上游约860—640bp处的核酸序列对基因的表达起正调控作用。转基因研究也证实, 含有31核苷酸序列(840-810bp)的Wx基因启动子对GUS基因的表达活性比一个无31bp序列的Wx基因启动

子的表达活性高2—3倍, 因此, 31bp的核苷酸序列在水稻Wx基因转录水平的调控中起重要的作用(Cheng et al., 2002; Chen et al., 2003; Yang et al., 2002; Zhu et al., 2003)。对于控制淀粉和蛋白质积累的生理、生化过程的基因组学研究, 不仅有助于建立控制稻米特殊品质属性机理的知识库, 而且也有助于鉴定出控制其它稻米品质性状的关键基因和蛋白质(Appels et al., 2003)。

在功能基因组学的研究过程中, 大型突变体库的创建被认为是大规模研究基因功能的最佳策略。中国在2000年末启动了水稻大型突变体库的创建计划。2006年, 水稻大型T-DNA突变体数据库RMD(Rice Mutant Database)(<http://rmd.ncpgr.cn/>)构建完成并开放使用。截止2009年6月, RMD数据已收录了将近132,193份由增强子捕捉系统所获得的T-DNA插入突变株系。突变体表型的综合信息、报告基因的表达模式、T-DNA插入位点的侧翼序列、种子有无等都被收集在RMD数据库中(Zhang et al., 2006)。中国科学院上海植物生理研究所的Xue研究组, 以水稻粳稻品种中花11为受体, 创建了SHIP数据库。2008年3月, 该库已有约8000份种子的淀粉含量、直链淀粉含量、蛋白质含量、脂肪含量、含水量以及胶稠度等6个指标进行了测定, 为稻米品质基因的研究提供了良好的研究材料。此外, 还有中国水稻研究所的国家水稻基因数据库也大量收集了与稻米品质相关的基因或QTL以及一些优异的种质、突变体材料, 共约5 379份。

2.2 新一代分子标记技术的发展与完善及其检测手段的高效、简便化

分子标记技术始于20世纪80年代, 是基于DNA碱基序列变异(多态性)为基础的。水稻许多重要的农艺性状(如稻米品质, 产量和抗性等)都表现为多基因控制的复杂的数量性状, 即在杂交后代中具有连续变异性。因此, 要实现以加性效应(QTL), 隐性基因等多基因编码的复杂性状的组合, 或者实现控制同一性状多个基因之间的聚合, 采用传统的育种方法将会是十分困难的。然而, 分子标记技术的使用, 却方便了此问题的解决。因为它能加速新品种选育进程, 建立控制此类性状的基因位点与表型性状之间的联系。与其它标记方法(形态标记、细胞学标记、生化标记)相比, 分子标记的优越性主要表

现在: ①直接以DNA的形式出现, 对表型无影响, 准确度高, 在作物的各个生长发育时期均可检测到, 不受环境条件的影响; ②基因组DNA的变异(等位变异)极其丰富, 因此分子标记的数量几乎是无限的, 而且多态性高; ③有些能够鉴别出纯合的基因型与杂合的基因型, 表现为共显性标记, 提供完整的遗传信息。分子标记种类繁多, 包括基于限制性酶切和Southern杂交的分子标记技术, 以限制性片段长度多态性(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)和数目可变串联重复多态性(Variable Number of Tandem Repeats, VNTR)为代表; 基于PCR技术的分子标记技术, 以随机扩增多态性DNA(Random Amplified Polymorphism DNA, RAPD)、序列标志位点(Sequence Tagged Sites, STS)和微卫星标记(Simple Sequence Repeat, SSR)为代表; 基于限制性酶切和PCR技术的DNA标记, 以扩增片段长度多态性(Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP)、酶切扩增多态性序列(Cleaved Amplified Polymorphism Sequences, CAPS)为代表; 基于DNA芯片技术的分子标记技术, 以单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)为代表。

SNP标记是美国学者Lander E于1996年提出的第三代DNA遗传标记。主要是指同一位点的不同等位基因之间仅有个别核苷酸的差异或只有小的插入、缺失等。此类分子标记具有高丰度、易实现自动化检测等特点。水稻等模式植物大规模基因组测序的完成, 促进了大批量SNP标记的发现, 从而奠定了进行全基因组多样性分布及重要性研究的基础。SNP标记也提供了构建分辨率高于当前DNA标记约100倍左右的变异图谱的可能性。F. Alex等(2004)对已测序的粳、粳亚种全基因组序列以及遗传多样性模式进行了分析, 结果表明, 在两水稻亚种间, 除去筛选出的多拷贝和低质量的序列后, 共有408,898个候选DNA多态性(SNPs/INDELS)被鉴定出, 从而为水稻的遗传育种提供了大量的SNP标记资源。Patrick等(2003)对直链淀粉含量和胶稠度明显不同的一系列水稻品种中的Wx基因序列进行了测定, 结果表明, 在Wx基因第6外显子和第10外显子处发现两个导致氨基酸替代(点突变)的SNP位点, 此位点与直链淀粉含量、胶稠度特性存

在明显相关性。因此, 此突变点可作为选育具有优良加工、蒸煮和食味品质新品种的有效分子标记。Bao等(2006)对30个分布于不同地区和具有不同淀粉理化特性的水稻品种的淀粉合成酶II a基因的第6内含子、第7外显子、第7内含子和第8外显子部分序列以及3'端非翻译区部分序列的约2051bp的DNA片段进行了序列测定, 共发现24个GC/TTSNP和1个InDel位点, 其中GC/TTSNP能将高或中等糊化温度的水稻品种与低糊化温度的水稻品种区分开。Shi(2008)和Jin等(2003)发现了与稻米香味基因相连锁的SNP标记, 可作为香稻选育的功能标记。

SNP的检测技术与方法可分为两个时代, 一为凝胶时代, 二为高通量时代。基于凝胶电泳的主要技术和方法包括限制性酶切片长度多态性分析(RFLP)、寡核苷酸连接分析(OLA)、等位基因特异聚合酶链反应分析(AS2PCR)、单链构象多态性分析(SSCP)、变性梯度凝胶电泳分析(DGGE)等。高通量时代的SNP检测技术可分为: TaqMan检测、分子信标(molecular beacons)、DNA芯片或微阵列、动态位点特异性杂交、高温连接酶检测反应技术(ligase detection reaction, LDR)等。此外, 采用特殊的质谱法和高效液相色谱法也可以大规模、快速检出SNP或进行SNP的初筛。其中, DNA芯片(微阵列)技术是检测SNP的最佳方法。

可视薄膜生物传感器芯片技术是一种简便而又可靠的用于检测植物中特殊核苷酸序列的分析技术。该技术主要是通过带生物素标记的PCR扩增产物与芯片表面的探针进行杂交, 以实现特殊DNA序列或基因的检测。在SNP检测中, 目标序列(PCR扩增产物)是在同生物素标记的探针和耐热性DNA连接酶混合的条件下被杂交的。只有当探针与目标序列完全杂交, 并共价结合在芯片表面时, 再通过同底物发生酶促反应所产生的沉淀物, 即导致薄膜厚度的增加, 从而引起芯片表面颜色的改变, 转变成可以直接通过肉眼观察到的信号。由于此芯片检测技术的敏感性与特异性, 同时还可以根据需要点制不同通量的探针, 因此, 常被用于核苷酸序列鉴定分析、作物遗传育种、性状(品质、抗性)定位以及对特异核苷酸序列(阳性)检测工作的其它方面(Bai et al., 2006; Zhong et al., 2003)。此外, 还有另一种适合SNP研究的工具, 即Illumina公司的

BeadXpress数码微珠芯片系统, 该系统可同时进行大量SNP位点的研究, 包括GoldenGate技术和ASPE方法。

2.3 高密度、高质量分子图谱的构建及重要品质性状QTL、基因研究的深入

分子标记技术的发展与应用促进了高密度、高质量分子图谱的构建, 高密度、高质量分子图谱不仅是开展分子设计育种的基础, 也是定位和克隆基因的起始点。Wu等(2002)利用PCR为基础的YAC克隆筛选技术, 构建了包含有6591个EST位点的水稻转录分子图谱, 该图谱不仅覆盖水稻基因组80%以上的区域, 而且还显示出水稻1、2、3号染色体分布有较高密度的EST位点, 约为11、12号染色体的2倍左右, 其中更多的EST密集区分布在每条染色体臂的末端区域。Li等(2007)构建了具有植株转化能力的BIBAC/BAC水稻图谱, 用于基因组序列的功能分析和遗传转化分析。稻米品质是一种由多基因控制和多项指标组成的综合性状。近年来我国水稻科学工作者从分子(基因)领域对稻米品质进行研究, 并取得了重大的突破与进展(表1所示), 不仅促进了对稻米品质分子机理的理解, 而且为高效、定向改良稻米品质奠定了坚实的基础。

2.4 水稻核心种质、骨干亲本资源的构建与研究

种质资源常被称之为遗传资源、基因资源, 是进行作物育种的“元件”和物质基础。作物育种过程实际上是由原始的基因系统向理想基因系统运动的轨迹。为了解决遗传研究和育种工作中大量材料的保存、评价、鉴定等工作所面临的困难, 澳大利亚Frankel提出了核心种质(Core collection)概念, 即以最小的资源数量和遗传重复最大程度地代表整个遗传资源的多样性, 具有代表性、实用性、动态性和有效性的特征。周少川等(2005, 2008)从“优良种质及其衍生系统”即(骨干亲本)发展到动态的核心种质, 从而使水稻种质资源学与水稻遗传育种学实现有效联接, 核心种质育种理论进一步得到完善。在品种改良中, 核心种质能够沿着育种目标置换和扩充基因群体, 直至全面符合育种目标。核心种质可用一级、二级、三级核心种质标志其动态变化, 并随着科技的发展而逐步精确地量化。周少川等人继2008年启动水稻核心种质体系关键节点青六矮1

号等三个品种高倍数重测序后, 于2010年对具有完整家系背景的一级核心种质青六矮1号至七级核心种质黄丝占(约21份育种材料)的全基因组序列进行了重测序(未发表)。一方面通过生物信息学平台对各级核心种质的基因组序列进行比对, 以筛选与水稻品质、抗性有关的SNP标记进行水稻的品质、抗性方面的分子设计育种工作; 另一方面通过基因组序列信息能实现种质资源的聚类压缩, 有利于从分子水平更好的把握核心种质对外源基因的兼容以及不断创新升级的动态过程, 为展开高效的水稻核心种质育种奠定基础。该团队还以六级优质稻核心种质黄华占为受体材料, 构建了几十份黄华占重组自交系, 用于基因、QTL定位和品质、抗性的分子设计育种研究。

2.5 水稻遗传转化体系及分子标记辅助选择技术的发展与成熟

生物技术的应用, 尤其是转基因技术及分子标记辅助选择技术的应用, 被认为是未来改良作物品种的重要技术手段, 它们所体现的也是一种农业可持续发展的方法。Zhang(2007)认为通过转基因技术及分子标记辅助选择技术与常规育种技术相结合, 是实现将当前优良骨干品种(elite cultivars)改造、升级为绿色超级稻(GSR)的一条重要途径, 主要包括产量、稻米品质和抗性间的“飞跃”。Li等(2003)构建了可同时插入多个外源基因的TAC载体系统, 可同时实现多个外源基因的遗传转化操作, 从而为多基因聚合育种奠定了基础。Qu等(2008)对6个来源于水稻的种子贮藏谷蛋白基因的启动子在转基因水稻中的时空表达特异性进行了研究, 结果表明, 由这6个贮藏谷蛋白基因的启动子所连接的 β -葡萄糖苷酶(GUS)基因能在水稻胚乳中实现预期的特异性表达, 此研究不仅有助于解决胚乳特异性强表达启动子缺乏的问题, 而且在一定程度上阐明了时空特异性启动子在水稻胚乳中特异性表达的调控机理。近年来, 随着一些控制稻米品质性状的重要基因被克隆以及稻米品质相关QTL被精确定位(表1所示), 在很大程度上促进了借助转基因技术及分子标记辅助选择技术来实现对稻米品质的改良。当前转基因技术主要被应用于改良稻米营养方面的品质(表2所示), 笔者认为这很可能与稻米其它品质方面的遗传调控机理的复杂性有关。

3 水稻分子设计育种的限制因子与未来相应的研究策略

基因组序列信息、基因图谱和分子标记技术以及基因转化技术(3G生物技术)所取得的重大突破性进展, 并借助生物信息学技术所提供的储存和共整合技术平台, 为优质高产水稻在“硅片”中进行的分子设计模拟, 提供了所需的“设施基础”, 实现了分子技术平台与育种平台相结合。分子设计育种使作物

新品种选育工作呈现出以信息技术为导向的特性, 包含有两个重要信息元件, 即建立在以基因组学、基因研究信息等基础上的第一信息元件和以当前计算机技术革命(重要性状统计、模拟软件和大型数据库等)为基础的 第二信息元件 (Ganesh and Christine, 1999)。水稻基因组学研究的最终目标是实现水稻的分子设计育种, 包括稻米品质、产量、抗性等方面。当前我国的水稻分子设计育种的限制

表 1 稻米部分相关品质性状基因或 QTL 的定位

Table 1 Several genes and QTLs related with grain quality mapped

品质性状 Quality traits	QTL 数目或基因 Number of QTLs or genes	染色体位置 Chromosome position	定位群体 Mapping population	参考文献 References
稻米淀粉特性 Starch properties of rice	44	2、6、8、9、11 号染色体 Chromosome 2、6、8、9、11	RIL	Bao et al.,(2003)
稻米粒长 Rice length	Lk-4	3 号染色体 Chromosome 3	BC2F2	Zhou et al., (2006)
稻米粒长粒重 Rice length and weight	GS3	3 号染色体 Chromosome 3	BC3F2	Fan et al., (2006)
稻米粒型 Rice shape	28	2、3、5、7、9、10 号染色体 Chromosome 2、3、5、7、9、10	RIL	Bai et al., (2010)
稻米粒宽、粒重 Rice width and weight	GW5	5 号染色体 Chromosome 5	RIL	Weng et al., (2008)
稻米食味品质 Eating quality of rice	21	1、2、3、6、7、9、10 号染色体 Chromosome 1、2、3、6、7、9、10	BIL、CSSL	Yoshinobu et al., (2008)
稻米胶稠度 Gel consistency of rice	Wx	6 号染色体 Chromosome 6	RIL	Tan et al., (1999)
稻米糊化温度 Temperature of rice gelatinization	Alk	6 号染色体 Chromosome 6	RIL	Wang et al., (2007)
稻米淀粉黏滞性 Starch viscosity of rice	9	5、6 号染色体 Chromosome 5、6	RIL	沈圣泉, (2005) Shen, et al., (2005)
稻米直链淀粉含量 Amylose content of rice	Wx	6 号染色体 Chromosome 6	RIL	Tan et al., (1999)
稻米蒸煮和食味品质 Cooking and Eating quality of rice	12	1、2、3、6、11 号染色体 Chromosome 1、2、3、6、11	DH	Tian et al.,(2005)
稻米理化特性 Physical and chemical properties of rice	14	1、2、3、4、5、6 号染色体 Chromosome 1、2、3、4、5、6	BIL	Li et al., (2003)
稻米垩白 Rice chalkiness	Chlk5	5 号染色体 Chromosome 5	RIL	Tan et al., (2000)

表2 近年来的部分转基因优质水稻实验

Table 2 Experiments of several transgenic rice with good quality in recent years

外源基因 Exogenous genes	基因来源 Genetic Source	基因转化方法 Transformation method of genes	基因功能 Genetic function	参考文献 References
<i>psy</i>	黄水仙 Daffodil	基因枪法 Method of gene bombardment	编码一种关键的控制维生素A原合成的中间体 A key intermediate controlling synthesis of provitamin of vitamin A	Burkhart et al., 1997
<i>fer</i>	大豆 Soybean	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	编码一种铁原子贮藏蛋白 A Fe ⁺ storage protein	Fumiyuki et al., 1999
<i>lys</i>	四棱豆 Psophocarpus tetragonolobus	基因枪法 Method of gene bombardment	高赖氨酸蛋白 Lysine-rich protein	Gao et al., 2001
<i>sb401</i>	马铃薯花粉 Potato pollen	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	高赖氨酸蛋白 Lysine-rich protein	王为民等, 2005 Wang et al., 2005
<i>LRP</i>	四棱豆 Psophocarpus tetragonolobus	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	高赖氨酸蛋白 Lysine-rich protein	Tang et al., 2006
<i>hLF</i>	人 Human	基因枪法 Method of gene bombardment	参与铁的转运 Involved in the transport of metal ions	Suzuki et al., 2003
<i>gly</i>	大豆 Soybean	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	大豆球蛋白 Glycinin	张宪银等, 2001 Zang et al., 2001
<i>b-conglycinin</i>	大豆 Soybean	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	β伴大豆球蛋白 (7S球蛋白) 7S Glycinin	Takayasu et al., 2009
<i>ADPglcp</i>	大肠杆菌 Escherichia coli	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	稻米淀粉的调控 Regulation of rice starch	Yasuko et al., 2009
<i>GmFAD3</i>	大豆 Soybean	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	大豆微粒体的Ω3脂肪酸脱氢酶, 提高种子含油量 Ω3fatty acid desaturase soybean microsome, improving oil content of seed	Anai et al., 2003
<i>OASA1</i> <i>OASA2</i>	<i>and</i> 水稻 Rice	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	水稻(邻)氨基苯甲酸盐(或酯)合成酶, 促进色氨酸的积累 Aminobenzoate synthase of rice, improving tryptophan accumulation	Yuzuru et al., 2001

续表2

Continued table 2

外源基因 Exogenous genes	基因来源 Genetic Source	基因转化方法 Transformation method of genes	基因功能 Genetic function	参考文献 References
<i>mGLP-1</i>	动物 Animals	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	胰高血糖素, 提高血糖水平 Glucagon, improving blood sugar levels	Hiroshi et al., 2006
<i>Anti-Wax</i>	水稻 Rice	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	降低稻米中直链淀粉的含量 Reduction of Amylose content of rice	Liu et al., 2003
<i>CTB</i>	霍乱弧菌 Bacillus comma	农杆菌介导法 Method of agrobacterium-mediated transformation	霍乱毒素B亚基, 口服疫苗 Cholera toxin B subunit, oral vaccine	Tomonori et al., 2007
<i>shGH</i>	人工合成 Artificial Synthesis	基因枪法 Method of gene bombardment	人生长激素, 促进蛋白质的合成、细胞的分裂, 新陈代谢 Human growth hormone, promoting protein synthesis, cell division and metabolism	Kim et al., 2008

因子主要表现在:

3.1 QTL定位结果的可靠性和准确性

QTL仅仅是建立在统计学推测基础之上的一群假设基因, QTL定位“承载”着相对于单一性状而言, 在遗传学上表现更为复杂的由众多微效基因所控制的性状, 其定位结果的可靠性与准确性受到多重因素的影响, 包括表型数据与研究群体大小的可重复性水平, 遗传模型对于复杂性状处理本身的脆弱性, 不同群体材料遗传背景的多样性, 导致QTL定位结果具有很大的差异, 从而使其生物学重要性显著降低。此外, QTL定位所积累的大量遗传信息在很大程度上还处于一种游离、零散状态, 缺乏系统的归纳与整理。重要农艺性状的QTL或基因之间的互动、调控、代谢网络的研究以及重要农艺性状(品质、抗性等的)形成机制的研究还颇为缺乏, 从而大大限制了QTL在水稻分子育种工作中的实际效力。

3.2分子设计育种技术的成本因素

相对于以表型选择为基础的传统育种技术而言, 分子设计育种技术的成本具有更为广阔的变幅。主要包括分子育种中所需的仪器设备、药品、检测技术的复杂性、分子设计育种的成本与收益率同目标性状的遗传效应、表型的估测方法、田间、

温室检测的成本以及仪器设备的日常维护成本等因素有关。此外, 科研工作者对一些重要基因、检测技术和方法所具有的专利权, 也是影响进行分子设计育种所要考虑的成本因素。

3.3实验室基础研究工作与传统育种工作“应用真空”的存在

由于长期以来, 我国在实验室研究中所取得的基础理论成果除了最终以论文形式被出版之外, 很难被应用到大田的实际育种工作中, 即基础理论科研成果的转化率极为低下。很多情况下, 分子生物学技术的研究是由大学, 国家级重点研究所承担, 而传统育种工作则是由分散在全国各地的研究所(站)以及一些企业等来进行的。因此, 在将以分子生物学知识作为工具的水稻育种技术转化至进行传统育种工作的所(站)、企业等时, 将会存在很大的困难, 这主要与两机构之间平时工作的衔接性以及传统育种工作者的知识技术水平等因素有关。

3.4分子生物学家与作物育种学家之间出现的“知识断层”

传统育种工作主要是建立在杂交后代表型性状选择的基础之上, 在长期的一线育种工作中, 作物育种学家常常建立了一套自己独有的、稳定的材料

选择、评价“艺术”，即经验选择，因为它是以育种学家多年的工作经验及分布于各生产(品比)点的表型观测值和数据统计分析结果作为衬垫的，因此经验选择是一种主观性很强的实践工作，与育种学家的主观技能及工作经验有关(John, 2004)。分子生物学家却是在基因(分子)水平上实现对材料的筛选工作并与目标性状的表型值相结合。分子标记技术、基因组学信息、QTL理论及统计学方法和分子设计育种等技术的概念不能被作物育种学家或其它的植物学家所理解与把握。此外，在分子生物学平台中所使用的设备与仪器是以分析标记基因型的复杂技术作为基础的。与此类似，在作物育种学中的一些基本概念及原理，分子生物学家也不能很好的理解。因此，在分子生物学家与作物育种学家之间出现的“知识断层”，大大限制了传统育种技术与分子育种技术的结合，并最终影响到新育种技术体系的形成与发展。

针对上述水稻分子育种工作中所存在的限制因子，未来有关稻米品质分子设计育种工作的研究策略主要集中于，

(1)进一步加强对控制稻米品质形成的基因或主效QTL的发掘工作，同时建立适用于分析数量性状变异更为复杂的高精确度、高效率的统计学模型或作图软件，以提高QTL分析、定位的准确性；

(2)注重大型稻米品质方面数据库的研究与开发工作，建立拥有自主知识产权的计算机软件和生物信息学技术平台，加强对“逆向遗传学”分析方法(如RNAi技术、离体定向诱变技术等)、转录组学、蛋白质组学及代谢组学的研究工作，以便在各级水平上把握和理解稻米品质性状表达调控的各级网络基础和每一品质性状在数量、质量上表达的细微差别，以便为水稻品质方面的分子设计育种研究提供重要的“信息元件”；

(3)分子生物学的研究工作主要是在实验室进行，而育种研究主要的工作需要在田间完成，但决定两者工作成败的最重要、最具挑战性的因素在于所设计和筛选材料最后在田间的表型性状，因此，必需实现分子育种技术与传统育种技术相结合，同时注重培养既具有扎实分子生物学理论基础和遗传育种实践基础的年轻科学家，以便更好的消除分子生物学家与作物育种学家之间出现的“知识断层”；

(4)建立高效的技术转化平台，实现实验室研究人员与田间育种工作者之间的直接“对话”。美国国家农业研究部定期主办关于农作物基因组学研究成果转化的研讨会，并决定出资建立一项联合农业基金计划，用于加快基因组学研究成果向应用领域的“扩散”，以便田间育种工作者能更好的利用基因组学信息用于品种改良(Deborah, 2005)，同时还必需将分子设计育种涉及的相关分子生物学技术向简单实用化方向发展，而且最好能高效率(高通量)这样才能提高检测与选择的效率，从而真正能被育种家所采用；

(5)加强与国际的合作。到目前为止，中国已经同世界上95个国家签署了(生物)科学技术合作协议，并与150多个国家开展各种形式的生物技术合作研究，如人类基因组计划、国际HapMap计划和国际水稻基因组测序计划等，所有这些国际“大科学”合作计划的参与，对提高我国在基因组学、转录组学、蛋白质组学及代谢组学等研究领域的整体技术水平和加快相应研究平台的建设，将发挥着至关重要的作用。

4以基因组学SNP标记为基础的水稻品质分子设计育种技术路线的探讨

分子设计育种技术目标的进行，主要取决于高精度遗传连锁图谱、高分辨率染色体单体型图和全面表型分析三者的结合。由于分子标记技术、模拟软件工具和基因表达调控原理的深入研究，使得分子设计育种技术目标从理论层次转变为现实层次。笔者对以基因组学SNP标记为基础的水稻品质分子设计育种技术路线进行了探讨(图1所示)，可望为分子标记辅助育种乃至全基因组层次的分子设计育种提供理论与实践基础。

5水稻品质的分子设计育种研究展望

水稻是二倍体作物，基因组较小，在遗传和育种研究上具有雄厚的基础，因而是开展分子设计育种的首推作物。稻米品质是一种由多基因控制和多项指标组成的综合性状，在杂交后代中具有连续的表型变异性，因此采用传统的育种方法来提高水稻品质，将会面临很大的困难。近年来，随着水稻基因组序列信息的获得，代谢网络和基因调控网络数据的大量增长，基因型-表型关联分析模型的建立

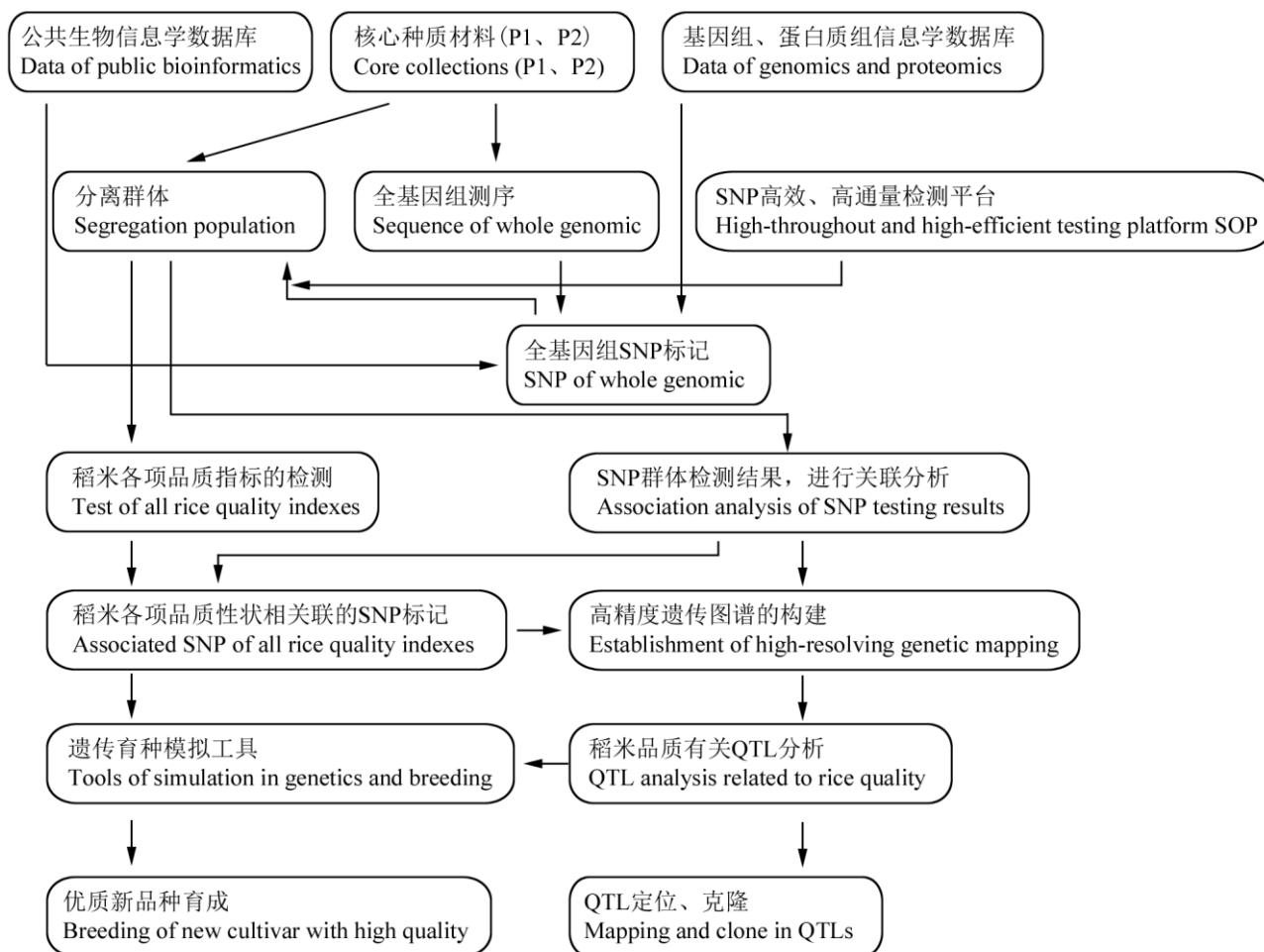


图1 SNP标记为基础的水稻品质分子设计育种技术路线流程图

Figure 1 Flowchart for technology of SNP-based rice breeding by molecular design in grain quality

以及系统生物学分析方法的出现, 增加了对稻米重要品质性状的分子生物学、遗传学以及生物化学等机理方面的理解, 从而使水稻的品质分子设计育种成为了可能。基因组学的研究催生了许多新的研究工具的产生, 如功能分子标记、生物信息学, 以及与统计学方法、遗传学现象等方面有关的新知识的积累, 将大大提高水稻的育种效率和精准性。在后基因组时代, 中国科学家针对国内外水稻功能基因组研究的发展态势, 于2008年提出了水稻功能基因组2020年研究计划, 其目标是, 到2020年基本明确水稻基因组全部基因的功能, 并对农业生产上有重大影响作用的等位基因鉴定其功能多样性, 同时将上游的功能基因组研究成果应用到下游的水稻育种实践, 以实现全基因组层次

的水稻分子设计育种(Zhang et al., 2008)。然而, 基因组学层次上的育种技术必须与传统的育种技术相结合, 才能从根本上将分子设计育种概念真正应用于品种选育的实践工作中, 从而更好的解决人类目前以及将来所面临的粮食生产、安全、布局以及品质等方面的相关问题。

作者贡献

易俊良是本文的执笔人和实验研究执行人, 周少川是本文的实验设计和研究执行人, 唐晓艳和周向阳是本文的实验研究指导人, 彭琼、陈立云、王海斌是本文的实验研究执行人, 全体作者都阅读和同意最终的文本。

致谢

本研究由国家-广东联合基金项目(U1031001)和国家重点基础研究发展计划(973项目)课题(2007CB108902)

资助。

参考文献

- Anai T., Koga M., Tanaka H., Kinoshita T., Rahman S.M., and Takagi Y., 2003, Improvement of e (*Oryza sativa* L.) seed oil quality through introduction of a soybean microsomal omega-3 fatty acid desaturase gene, *Plant Cell Reports*, 21(10): 988-992
- Appels R., Francki M., and Francki R., 2003, Advances in cereal functional genomics, *Funct Integr Genomics.*, 3: 1-24
- Bai S.L., Zhong X.B., Ma L.G., Zheng W.J., Fan L.M., Wei N., and Deng X.W., 2006, A simple and reliable assay for detecting specific nucleotide sequences in plants using optical thin-film biosensor chips, *Plant J.*, 49(2): 354-366
- Bai X.F., Luo L.J., Yan W.H., Kovi M.R., Zhan W., and Xing Y.Z., Zhu J., and Wu P., 2010, Genetic dissection of rice grain shape using a recombinant inbred line population derived from two contrasting parents and fine mapping a pleiotropic quantitative trait locus qGL7, *BMC Genetics*, 16(11): 1-11
- Bao J.S., Corke H., and Sun M., 2006, Nucleotide diversity in starch synthase IIa and validation of single nucleotide polymorphisms in relation to starch gelatinization temperature and other physicochemical properties in rice (*Oryza sativa* L.), *Theor. Appl. Genet.*, 113: 1171-1183
- Bao j.S., Harold C., HE P., and Zhu L.H., 2003, Analysis of Quantitative Trait Loci for Starch Properties of Rice Based on an RIL Population, *Acta Botanica Sinica*, 45(8): 986-994
- Bao J.S., Zheng X.W., Xia Y. W., He P., Shu Q.Y., Lu X., Chen Y., and Zhu L.H., 2000, QTL mapping for the paste viscosity characteristics in rice (*Oryza sativa* L.), *Theor. Appl. Genet.*, 100: 280-284
- Berman H.M., Westbrook J., Feng Z.K., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., and Bourne P.E., 2000, The protein data bank., *Nucleic Acids Research*, 28(1): 235-242
- Bernardo R. 2001, What if we knew all the genes for a quantitative trait? *Crop sci.*, 41: 1-4
- Boeckmann B., Bairoch A., Rolf A., Blatter M.C., Anne E., Elisabeth G., Maria J.M., Karine M., Claire O., Isabelle P., Sandrine P., and Michel S., 2003, The SWISS—PROT protein knowledgebase and its supplement TrEMBL in 2003, *Nucleic Acids Research*, 31(1): 365-370
- Bourgis F., Guyot R., Gherbi H., Tailliez E., Amabile I., Salse J., Lorieux M., Delseny M., and Ghesquière A., 2008, Characterization of the major fragrance gene from an aromatic japonica rice and analysis of its diversity in Asian cultivated rice, *Theor. Appl. Genet.*, 117: 353-368
- Burkhart P.K., Beyer P., Wunn J., Klbt A., Armstrong G.A., MichaelSchledz., Lintig J.V., and Potrykus I., 1997, Transgenic rice (*oryza sativa*) endosperm expressing daffodil(*Narcissus pseudonarcissus*) phytoene synthase accumulates phytoene, a key intermediate of provitamin A biosynthesis[J]. *The Plant Journal*, 11(5): 1071-1078
- Chang T.T., and Somrith B., 1979, Genetic studies on the grain quality aspects of rice quality of rice. In: *Chemical. IRRI, Los Banos, Philippines*, pp.49-58
- Chen H., Lin Y.J., and Zhang Q.F., 2009, Review and prospect of transgenic rice research, *Chinese Science Bulletin*, 54: 4049-4068
- Chen J., Tang W.H., Hong M.M., and Wang Z.Y., 2003, OsBP-73, a rice gene, encodes a novel DNA-binding protein with a SAP-like domain and its genetic interference by double-stranded RNA inhibits rice growth, *Plant Mol. Biol.*, 52: 579-590
- Chen J.G., and Zhu J., 1998, Genetic Effects and Genotype×Environment Interactions for Appearance Quality Traits in *Indica-japonica* crosses of Rice (*Oryza sativa* L.), *Zhongguo Nongye Kexue (Agricultural Sciences in China)*, 31(4): 1-7 (陈建国, 朱军, 1998, 籼粳杂交稻米外观品质性状的遗传及基因型环境互作效应研究, *中国农业科学*, 31(4): 1-7)
- Chen M.S., Presting G., Barbazuk W.B., Goicoechea J.L., Blackmon B., and Fang G.C., 2002, An Integrated Physical and Genetic Map of the Rice Genome, *The Plant Cell*, 14: 537-545
- Cheng S.J., Wang Z.Y., and Hong M.M., 2002, Rice bZIP protein, REB, interacts with GCN4 motif in promoter of Waxy gene, *Sci. China, Series C.*, 45(4): 352-360
- Christopher D., Johann C., Todd R., Shu O.Y and Pamela R., 2007, The Rice Kinase Database. A Phylogenomic Database for the Rice Kinome., *Plant Physiology*, 143: 579-586
- David H.B., 2005, Comparative nutrition and metabolism: Explication of open questions with emphasis on protein and amino acids, *PNAS*, 102(50): 17897-17902
- Deborah P.D., 2005, Agriculture in the developing world: Connecting innovations in plant research to downstream applications, *PNAS*, 102(44): 5739-15746
- Devos, K. M, 2005, Updating the ‘Crop Circle’. *Curr. Opin.*

- Plant Biol., 8: 155-162
- Fan C.C., Xing Y.Z., Mao H.L., Lu T.T., Han B., Xu C.g, Li X.H., and Zhang Q.F., 2006, GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein, *Theor. Appl. Genet.*, 112: 1164-1171
- Fan C.C., Yu X.Q., Xing Y.Z., Xu C.G., Luo L.J., and Zhang Q.F., 2005, The main effects, epistatic effects and environmental interactions of QTLs on the cooking and eating quality of rice in a doubled-haploid line population, *Theor. Appl. Genet.*, 110: 1445-1452
- Feltus F.A., Wan Jun., Schulze S.R., Estill J.C., Jiang N., and Paterson A.H., 2004, An SNP Resource for Rice Genetics and Breeding Based on Subspecies Indica and Japonica Genome Alignments, *Genome Res.*, 14: 1812-1819
- Fumiyuki G., Toshihiro Y., and Naoki S., 1999, Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene, *Nature Biotechnology*, 17: 282-286
- Gale M., and Devos K. M., 1998, Plant comparative genetics after 10 years, *Science*, 282: 656-659
- Ganesh M., Kishore., Christine S., 1999, *Biotechnology: Enhancing human nutrition in developing and developed worlds*, PNAS, 96: 5968-5972
- Gao Y.F., Jing Y.X., Shen S.H., Tian S.P., Kuang T.Y., Samuel S.M.S., 2001, Transfer of lysine-rich protein gene into rice and production of fertile transgenic plants, *Acta Bot Sin.*, 43: 506-511
- Gao Z.Y., Zeng D.L., Cui X., Zhou Y.H., Yan M., Huang D., Li J.Y., and Qian Q., 2003, Map-based cloning of the ALK gene, which controls the GT of rice, *Sci. China (Ser C)*, 46: 661-668
- Grusak, M., and Dean D.P., 1999, Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health, *Plant Physiol.*, 50: 133-161
- He P., Li S.G., Qian G., Ma Y.Q., Li J.Z., Wang W. M., Chen Y., and Zhu L. H., 1999, Genetic analysis of rice grain quality, *Theor. Appl. Genet.*, 98: 502-508
- He Y., Han Y.P., Jiang L., Xu C.W., Lu J.F., and Xu M.L., 2006, Functional analysis of starch-synthesis genes in determining rice eating and cooking qualities, *Mol. Breed.*, 18: 277-290
- Hiroshi Y., Yuji H., Takahito J., and Fumio T., 2006, The Correlation between Expression and Localization of a Foreign Gene Product in Rice Endosperm, *Plant Cell Physiol.*, 47(6): 756-763
- Hu Z.L., Li P., Zhou M.Q., Zhang Z.H., Wang L.X., Zhu L.H., and Zhu Y.G., 2004, Mapping of quantitative trait loci (QTLs) for rice protein and fat content using doubled haploidlines, *Euphytica*, 135: 47-54
- Huang F.S., Sun Z.X., Hu P.S., and Tang S.Q., 1998, Present situations and prospects for the research on rice grain quality forming, *Chinese J. Rice Sci.*, 12(3): 172-176
- Jiang L.G., Li Y.Z., Wang H.C., Huang Y.M., 2003, Research Progresses on Appearance Quality of Rice Grain and Strategies for its Molecular Improvement, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 2(1): 243-255 (江良荣, 李义珍, 王侯聪, 黄育民, 2003, 稻米外观品质的研究进展与分子改良策略, *分子植物育种*, 2(1): 243-255)
- Jiang L.R., Li Y.Z., Wang H.C., and Huang Y.M., 2004, Research Progresses on Nutrient Quality of Rice Grain and Molecular Breeding Approach, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 2(1): 113-121 (江良荣, 李义珍, 王侯聪, 黄育民, 2004, 稻米营养品质的研究现状及分子改良途径, *分子植物育种*, 2(1): 113-121)
- Jin Q.S., Waters D., Cordeiro G.M., Henry R.J., and Reinke R.F., 2003, A single nucleotide polymorphism (SNP) marker linked to the fragrance gene in rice (*Oryza sativa* L), *Plant Science*, 165: 359-364
doi:10.1016/S0168-9452(03)00195-X
- Johan D.P., and Jeroen R.V.V., 2003, Breeding by Design, *TRENDS in Plant Science*, 8(7): 330-334
- John W S., 2004, Challenges of integrating conventional breeding and biotechnology: a personal view!“New directions for a diverse planet”, *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*, 26Sep–1Oct, Brisbane, Australia, pp.1-11
- Katsumi S., Baltazar A.A., Yoshiyuki M., Hideki N., Yasumichi S., Kazuyoshi M., and Takuji S., 2000, INE: a rice genome database with an integrated map view, *Nucleic Acids Research*, 28(1): 97-101
- Kim H.R., Miguel P.S., and Nelson W., 2007, Comparative Physical Mapping Between *Oryza sativa* (AA Genome Type) and *O. punctata* (BB Genome Type), *Genetics*, 176: 379-390
- Kim T.G., Baek M.Y., Lee E.K., Kwon T.H., and Yang M.S., 2008, Expression of human growth hormone in transgenic rice cell suspension culture, *Plant Cell Rep.*, 27: 885-891
- Li X., Mo H.D., Wang A.M., Xu Z.W., Zhu Y.H., and Yu H.X., 1999, Genetic Expression of Grain Quality in Japonica Hybrid Rice, *Zhongguo Shuidao Kexue*

- (Chinese J. Rice Sci.), 13(4): 197-224 (李欣, 莫惠栋, 王安民, 徐辰武, 朱毅华, 于恒秀, 1999, 粳型杂交稻米品质性状的遗传表达, 中国水稻科学, 13(4): 197-224)
- Li Y., Uhm T., Ren C.G., Wu C.C., Santos T.S., Lee M.K., Yan B., Santos F., Zhang A.M., Scheuring C., Sanchez A., Millena A.C., Nguyen H.T., Kou H.D., Liu D.Q., and Zhang H.B., 2007, A plant-transformation-competent BIBAC/BAC-based map of rice for functional analysis and genetic engineering of its genomic sequence, *Genome*, 50(3): 278-288
- Li Z.F., Wan J.M., Xia J.F., and Yano M., 2003, Mapping of Quantitative Trait Loci Controlling Physico-chemical Properties of Rice Grains (*Oryza sativa* L.), *Breeding Science*, 53: 209-215
- Lin L., Liu Y.G., Xu X.P., and Li B.J., 2003, Efficient linking and transfer of multiple genes by a multigene assembly and transformation vector system, *PNAS*, 100: 5962-5967
- Liu L.L., Ma X.D., Liu S.J., Zhu C.G., Jiang L., Wang Y.H., Shen Y., Ren Y.L., Dong H., Chen L.G., Liu X., Zhao Z.G., Zhai H.P., and Wan J.M., 2009, Identification and characterization of a novel Waxy allele from a Yunnan rice landrace, *Plant Mol Biol.*, 71: 609-626 doi:10.1007/s11103-009-9544-4 PMID:19760367
- Liu Q.Q., Li Q.F., Cai X.L., Wang H.M., Tang S.Z., Yu H.X., Wang Z.Y., and Gu M.H., 2006, Molecular Marker-Assisted Selection for Improved Cooking and Eating Quality of Two Elite Parents of Hybrid Rice, *Crop science*, 46: 2354-2360 doi:10.2135/cropsci2006.03.0180
- Liu Q.Q., Wang Z.Y., Chen X.H., Cai X.L., Tang S.Z., Yu H.X., Zhang J.J., Hong M.M., and Gu M.H., 2003, Stable Inheritance of the Antisense Waxy Gene in Transgenic Rice with Reduced Amylose Level and Improved Quality, *Transgenic Research*, 12(1): 71-82
- Louis M.T.B., Timothy L.F., Robert J.H., Jin Q.S., and Daniel L.E.W., 2005, The gene for fragrance in rice, *Plant Biotechnology Journal*, (3): 363-370
- Mary L.G., 2007, It's elementary: Enhancing Fe³⁺ reduction improves rice yields, *PNAS.*, 104(18): 7311-7312
- Matsumoto T., Wu J.Z., Kanamori H., Katayose Y., and Fujisawa M., 2005, International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice genome, *Nature*, 436: 793-800
- Michael J.K., Mariafe N.C., Melissa A.F., and Susan R.M., 2009, The origin and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.), *PNAS*, 106(34): 14444-14449
- Nakamura Y., Francisco J.P.B., Hosaka Y., Sato A., Sawada T., Kubo A., and Fujita N., 2005, Essential amino acids of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between japonica and indica rice varieties., *Plant Mol Biol.*, 58: 213-227
- Niu X.L., Tang W., Huang W.Z., Ren G.J., Wang Q.L., Luo Di., Xiao Y.Y., Yang S.m., Wang F., Lu B.R., Gao F.Y., Lu T.G and Liu Y.S., 2008, RNAi-directed downregulation of OsBADH2 results in aroma (2-acetyl-1-pyrroline) production in rice (*Oryza sativa* L.), *BMC Plant Biology*, 100(8): 1-10
- Patrick D.L., and Willian D.P., 2003, Association of waxy gene single nucleotide polymorphisms with starch characteristics in rice (*Oryza sativa* L.), *Molecular Breeding*, 12: 335-339
- Qu L.Q., Xing Y.P., Liu W.X., Xu X.P., and Song Y.R., 2008, Expression pattern and activity of six glutelin gene promoters in transgenic rice, *Journal of Experimental Botany*, 59(9): 2417-2424
- Schramm R., Abadie A., Hua N., Xu Z.M., and Lima M.B., 2007, Fractionation of the rice bran layer and quantification of vitamin E, oryzanol, protein, and rice bran saccharide, *Journal of Biological Engineering*, 186: 1754-1611
- Shen S.Q., Zhuang J.Y., Shu Q.Y., Bao J.S., Wu D.X., and Xia Y.W., 2005, Analysis of QTLs with Main, Epistasis and G x E Interaction Effects of Starch Paste Viscosity in Rice, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 31(10): 1289-1294 (沈圣泉, 庄杰云, 舒庆尧, 包劲松, 吴殿星, 夏英武, 2005, 稻米淀粉黏滞性 QTL 定位及其 GxE 互作分析, 作物学报, 31(10): 1289-129)
- Shi C.H., Wu J.G., and Lou X.B., 2002, Genetic analysis of transparency and chalkiness area at different filling stages of rice (*Oryza sativa* L.), *Field Crops Research*, 76: 1-9
- Shi C.H., Xue J.M., Yu Y.G., Yang X.E., and Zhu J., 1996, Analysis of genetic effects on nutrient quality traits in indica rice, *Theor. Appl. Genet.*, 92: 1099-1102
- Shi W.W., Yang Y., Chen S.H., and Xu M.L., 2008, Discovery of a new fragrance allele and the development of functional markers for the breeding of fragrant rice varieties, *Mol. Breeding.*, 22: 185-192
- Suzuki Y.A., Kelleher S.L., Yalda D., Wu L.Y., Huang J.M., Huang N., and Lonnerdal B., 2003, Expression, characterization, and biologic activity of recombinant human lactoferrin in rice, *Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 36(2): 190-199
- Sweeney M.T., Thomson M.J., Pfeil B.E., and McCouch

- Susan., 2006, Caught Red-Handed: Rc Encodes a Basic Helix-Loop-Helix Protein Conditioning Red Pericarp in Rice, *Plant Cell*, 18: 283-294
- Takayasu M., Nobuyuki M., and Yoshiki A., 2009, a Subunit of soybean b-conglycinin forms complex with rice glutelin via a disulphide bond in transgenic rice seeds, *Journal of Experimental Botany*, 60(14): 4015-4027
- Takuji Sasak., 1998, The rice genome project in Japan, *PNAS.*, 95: 2027-2028
- Tan Y F., Li J X, Yu S.B, Xing Y.Z, Xu C.G, and Zhang Q.F., 1999, The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63, *Theor. Appl. Genet.*, 99: 642-648
- Tan Y.F., Xing Y.Z., Li J.X., Yu S.B., Xu C.G., and Zhang Q.F., 2000, Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid, *Theor. Appl. Genet.*, 101: 823-829
- Tang L., Liu Q.Q., Deng X.X., Wu X.J., and Samuel S.M.S., 2006, LRP Transgenic Indica Rice Restorer Line without Resistance Selection Marker, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 32: 1248-1251 (唐俐, 刘巧泉, 邓晓湘, 2006, 无抗性选择标记的转高赖氨酸蛋白(LRP)基因籼稻恢复系的获得, *作物学报*, 32: 1248-1251)
- Tian R., Jiang G.H., Shen L.H., Wang L.Q., and He Y.Q., 2005, Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population, *Molecular Breeding*, 15: 117-124
- Tomonori N., Hidenori T., Yoshikazu Y., Yang L.J., Takehiro M., Mio M., Ushio N., Akiko Matsumura., Akihiro U., Takachika H., Shigeto M., Kunisuke T., Fumio T., and Hiroshi K., 2007, Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination, *PNAS.*, 104(26): 10986-10991
- Tozawa., Yuzuru., Hasegawa., Hisakazu., Terakawa., Teruhiko., Wakasa., and Kyo., 2001, Characterization of Rice Anthranilate Synthase Subunit Genes *OASA1* and *OASA2*. Tryptophan Accumulation in Transgenic Rice Expressing a Feedback-Insensitive Mutant of *OASA11*, *Plant Physiology*, 126: 1493-1506
- Umamoto T., and Aoki N., 2005, Single-nucleotide polymorphisms in rice starch synthase IIa that alter starch gelatinization and starch association of the enzyme, *Funct Plant Biol.*, 32: 763-768
- Umamoto T., Yano M., Satoh H., Shomura A., and Nakamura Y., 2002, Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between *japonica*-type and *indica*-type rice varieties, *Theor. Appl. Genet.*, 104: 1-8
- Wan X.Y., Wan J.M., Su C.C., Wang C.M., Shen W.B., Li J.M., Wang H.L., Jiang L., Liu S.J., Cheng L.M., Yasui H., and Yoshimura A., 2004, QTL detection for eating quality of cooked rice in a population of chromosome segment substitution lines, *Theor. Appl. Genet.*, 110: 71-79
- Wang H.L., 2007, QTL Analysis of Fat Content in Rice and Molecular Cloning of Diacylglycerol Acyltransferase 2 Type, Dissertation for Ph.D., Nanjing Agricultural University, Supervisor: Wan J.M., and Zhai H.Q, pp.30-53 (王海莲, 2007, 稻米脂肪含量 4TL 分析及二酰甘油酰基转移酶基因的克隆, 博士学位论文, 南京农业大学, 导师:万建民和翟虎墀, pp.30-53)
- Wang L.Q., Liu W.J., Xu Y., He Y.Q., Luo L. J., Xing Y. Z., Xu C.G, and Zhang Q.F., 2007, Genetic basis of 17 traits and viscosity parameters characterizing the eating and cooking quality of rice grain, *Theor. Appl. Genet.*, 115: 463-476
- Wang W.M., Zhao Q., and Yu J.J., 2005, Transfer of high lysine gene sb401 into rice and analysis for protein and amino acid content in transgenic rice seeds, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 31: 603-607 (王为民, 赵倩, 余静娟, 2005, 水稻转高赖氨酸蛋白质基因 (sb401)植株的获得及种子中蛋白质和氨基酸的含量分析, *作物学报*, 31: 603-607)
- Weng F., Gu S.H., Wan X.Y., Gao He., Guo T., Su N., Lei C., Zhang X., Cheng Z.J., Guo X.P., Wang J.L., Jiang L., Zhai H.Q., and Wan J.M., 2008, Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight, *Cell Research*, 18: 1199-1209
- Wong M. L., Jamjod S., Kuo J., Dell B., and Rerkasem B., 2005, Nitrogen Fertilizer Increases Seed Protein and Milling Quality of Rice, *Cereal Chem.*, 82(5): 588-593
- Wu J.Z., Maehara T., Shimokawa T., Yamamoto S., Harada C., Takazaki Y., Ono N., Koike Y.M., Kazuhiro., Yazaki J., Fujii F., Shomura A., Ando T., Kono I., Waki K., Yamamoto K., Yano M., Takashi and Matsumoto T.S., 2002, A Comprehensive Rice Transcript Map Containing 6591 Expressed Sequence Tag Sites, *Plant Cell*, 14: 525-535
- Xiao J.H., Wu C.Y., Han B., Xue Y.B., Deng X.W., and Zhang Q.F., Rice functional genomics research in China, *Zhongguo Kexue (Science In China), Sci. China (Ser C).*, 1149

- 39(10): 909-924 (肖景华, 吴昌银, 韩斌, 薛勇彪, 邓兴旺, 张启发, 2009, 中国水稻功能基因组研究进展, 中国科学 C 辑: 生命科学, 39 (10): 909-924)
- Xue W.Y., Xing Y.Z., Weng X.Y., Zhao Y., Tang W.J., Wang L., Zhou H.J., Yu S.b., Xu C.G., Li X.H., and Zhang Q.F., 2008, Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice, *Nature genetics*, 40(6): 761-767
- Yan C.J., Fang Y.W., Li M., Peng J.C., Liu Q.Q., Tang S.Z., and Gu M.H., 2010, Effect of *PUL* Allelic Variation on Rice Cooking and Eating Quality, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 36(5): 728-735 (严长杰, 房玉伟, 李敏, 彭军成, 刘巧泉, 汤述翥, 顾铭洪, 2010, 水稻淀粉分支酶基因 *PUL* 对稻米理化品质的影响, 作物学报, 36(5): 728-735)
- Yang H.J., Shen H., Chen L., Xing Y.Y., Wang Z.Y., Zhang J.L., and Hong M.M., 2002, The *OsEBP-89* gene of rice encodes a putative EREBP transcription factor and is temporally expressed in developing endosperm and intercalary, *Plant Mol Biol.*, 50: 379-391
- Yang L., Jin G.L., Zhao X.Q., Zheng Y., Xu Z.H., and Wu W.R., 2007, PIP: a database of potential intron polymorphism markers, *Bioinformatics*, 23(16): 2174-2177
- Yasuko S.N., Chotipa S., Gerald E.E., Hikaru S., Thomas W.G., Beth B., and Thomas W.O., 2009, Control of Starch Synthesis in Cereals: Metabolite Analysis of Transgenic Rice Expressing an Up-Regulated Cytoplasmic ADP-Glucose Pyrophosphorylase in Developing Seeds, *Plant Cell Physiol.*, 50(3): 635-643
- Yoshinobu T., Kiyosumi H., Keitaro S., Yasunori N., Yoko T., Hideo M., Hiroyuki S., Hideyuki H., Hisatoshi O., Takuro I., Hiroshi K., Hiroshi N., Tokio I., Ken'ichi O., Masahiro Y., and Ikuo A., 2008, Major QTLs for eating quality of an elite Japanese rice cultivar, *Koshihikari*, on the short arm of chromosome 3, *Breeding Science*, 58: 437-445
- Yu J., Hu S.N., Wang J., Wong G.K.S., Li S.G., Liu B., and Deng Y.J., 2002, A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *Indica*), *Science*, 296(5565): 79-92
- Yuichi I., Kohji A., Baltazar A.A., Isamu O., Shinji N., Yoshiyuki M., Atsuko S., Masatoshi M., Michie S., Mayu Y., Yukiyo I., Junri Y., Yasumichi S., Katsumi S., Yoshiaki N., Nobukazu N., Takashi M., Kenichi H., and Takuji S., 2005, Rice Annotation Database (RAD): a contig-oriented database for map-based rice genomics, *Nucleic Acids Research*, 33: 651-655
- Zhang J.W., Li, C.S., Wu C.Y., Xiong L.Z., Chen G.x., Zhang Q.F., and Wang S.P., 2006, RMD: a rice mutant database for functional analysis of the rice genome, *Nucleic Acids Research*, 34: 745-748
doi:10.1093/nar/gkj016 PMID:16381972 PMCID:1347379
- Zhang M.W., He C.X., and Peng Z.M., 2001, Studies on Genetic Effects of Gelatinization Temperature and Gel Consistency in *Indica* Black Pericarp Rice Grains, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 27(6): 869-874 (张名位, 何慈信, 彭仲明, 2001, 籼型黑米糊化温度和胶稠度的遗传效应研究, 作物学报, 27(6): 869-874)
- Zhang Q.F., 2007, Strategies for developing Green Super Rice, *PNAS*, 104(42): 16402-16409
- Zhang Q.F., Li J.Y., Xue Y.B., Han Bin., and Deng X.W., 2008, Rice 2020: A Call For An International Coordinated Effort In Rice Functional Genomics, *Molecular Plant*, 1(5): 715-719
- Zhang X.Y., and Xue Q.Z., 2001, Introduction of soybean glycinin gene into rice (*Oryza sativa* L.) with *Agrobacterium*-mediated transformation, *Zhejiang Daxue Xuebao (Journal of Zhejiang University)*, 27(5): 495-499 (张宪银, 薛庆中, 2001, 用农杆菌介导法将大豆球蛋白基因导入水稻, 浙江大学学报, 27(5): 495-499)
- Zhong X.B., Reynolds R., Kidd J.R., Kidd K.K., Jenison R., Marlar R.A., and Ward D.C., 2003, Single-nucleotide polymorphism genotyping on optical thin-film biosensor chips, *PNAS.*, 100: 11559-11564
- Zhou L.Q., Wang Y.P., and Li S.G., 2006, Genetic Analysis and Physical Mapping of *Lk-4(t)*, a Major Gene Controlling Grain Length in Rice, with a BC_2F_2 Population, *Acta Genetica Sinica.*, 33(1): 72-79
doi:10.1016/S0379-4172(06)60011-5
- Zhou S.C., Li H., Huang D.Q., and Lu D.C., 2005, Rice Core Germplasm Breeding, *Keji Daobao (Science and Technology Review)*, 23(11): 23-26 (周少川, 李宏, 黄道强, 卢德城, 2005, 水稻核心种质育种, 科技导报, 23(11): 23-26)
- Zhou S.C., Li H., Huang D.Q., Lu D.C., Lai S.C., Zhou D.G., Wang Z.D., Miao R.W., and Li K.H., 2008, Practice and

Achievement of Rice Core Germplasm Breeding, Zhongguo Shuidao Kexue (Chinese J. Rice Sci.), 22(1): 51-56 (周少川, 李宏, 黄道强, 卢德城, 赖穗春, 周德贵, 王志东, 缪若维, 李康活, 水稻核心种质的育种成效, 中国水稻科学, 22(1): 51-56)

Zhu Y., Cai X.L., Wang Z.Y., and Hong M.M., 2003, An interaction between a MYC protein and an EREBP protein is involved in transcriptional regulation of the rice Wx gene, Biol Chem., 278: 47803-47811



5thPublisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>