

ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA HAI LOÀI LÚA HOANG (*Oryza rufipogon* and *O. officinalis*) Ở VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Phạm Văn Phương¹, Trần Thượng Tuấn¹ và Yutaka Hirata²

ABSTRACT

*In order to find out useful gene(s) controlling proteins with high nutritive values, surveys to collect two wild rice species, which were surveyed from 2001 to 2003 in many sites in the Mekong Delta of Viet Nam. Results showed that there were significantly genetic diverse among populations of these two wild rice species. The phenotypic diversity (H_o) was 0.65- 1.96 in *O. officinalis* species while *O. rufipogon*, was 1.03- 4.57 according to sites sampled. The genetic diversity value of *O. officinalis* species was ($H_{EP}=0.52$) lower than that of *O. rufipogon* species ($H_{EP}=0.66$). Similarly, the sum of the effective number of alleles (SENA) values had the same trend. Within *O. rufipogon* species there were genetic diversity among sites sampled but H_{EP} and SENA values were different insignificantly. Many samples of *O. rufipogon* species were detected that they were very useful for rice breeding with high glutelin nutritive value.*

Keywords: wild rice, *Oryza rufipogon*, *O. minuta*, *O. officinalis*, globulin, prolamin, glutelin

Title: Genetic diversities of two wild rice (*Oryza rufipogon* and *O. officinalis*) in the Mekong Delta of Viet Nam

TÓM TẮT

Để tìm ra gen hữu ích kiểm soát protein có chất lượng cao, nhiều cuộc khảo sát và thu thập tại các tỉnh Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) đã được tiến hành từ năm 2001 đến năm 2003. Kết quả ghi nhận các quần thể lúa hoang có đa dạng kiểu hình $H_o = 0.65 - 1.96$ ở loài *O. officinalis* trong khi loài *O. rufipogon* có H_o 1.03 đến 4.57 tùy theo điểm lấy mẫu.

Giá trị đa dạng của loài *O. officinalis* ($H_{EP}=0.52$) thấp hơn so với loài *O. rufipogon* ($H_{EP}=0.66$). Tương tự, tổng số alen có hiệu quả (SENA) có khuynh hướng có giá trị giống như loài *O. officinalis* (1.09) so với loài *O. rufipogon* (1.94). Bên trong loài *O. rufipogon*, có biểu hiện đa dạng giữa các điểm lấy mẫu. Mẫu lúa hoang *O. rufipogon*, sưu tập tại tỉnh Trà Vinh, đã được phát hiện là rất hữu ích cho công tác chọn giống lúa mới theo hướng chất lượng cao.

Từ khóa: lúa hoang *Oryza rufipogon*, *O. minuta*, *O. officinalis*, globulin, prolamin, glutelin

1 GIỚI THIỆU

Chi lúa hoang *Oryza* có hơn 20 loài hoang dại. Các dạng hoang dại có nhiều gen kháng dùng để cải thiện giống lúa trồng, như gen kháng côn trùng (Heinrich et al. 1985, Khush and Jena 1986), kháng bệnh (Khush 1977, Khush et al. 1990), ngoài

¹ Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Đại học Công Nông Tokyo, Nhật Bản

ra lúa hoang cũng có gen chống chịu stress như chịu mặn, chịu phèn, (Tanksley and McCouch 1997, Buu and Lang 2001). Lúa hoang *O. rufipogon*, dạng này có đặc tính là ưa ánh sáng, và người ta cho rằng loài này là tổ tiên của loài lúa trồng (*O. sativa*) hiện nay (Thành, 2003). Loài này cung cấp nhiều gen kháng rầy nâu dòng sinh học 4. gen nằm ở nhiễm sắc thể số 3 và số 7 liên kết với cặp môi RM168 và RM18 (Buu và Lang 2001). Các tính trạng hình thái (Buu và Lang 2001) và các phổ điện di protein SDS-PAGE cũng đã được mô tả (Thanh và Hirata 2002). Tuy nhiên, cho đến nay chưa có báo cáo nào về các thông số di truyền nói lên tính đa dạng của loài này.

Mục tiêu của nghiên cứu này là phân tích tính đa dạng của hai loài lúa hoang có nguồn gốc tại vùng ĐBSCL dựa trên protein dự trữ, là sản phẩm của bộ gen.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Các cuộc khảo sát và sưu tập hạt lúa hoang đã được tiến hành từ tháng 11 năm 2001 đến tháng 12 năm 2003. Các điểm đã thu thập là tỉnh Vĩnh Long, Đồng Tháp, Trà Vinh, Tiền Giang, Hậu Giang và Thành phố Cần Thơ (Hình 1). Tại mỗi tỉnh có từ 2-16 quần thể được lấy mẫu (Bảng 2), cách nhau ít nhất 1km. Ngoài ra, mẫu loài lúa hoang *O. minuta* đã được thu thập từ Philippines (Viện Nghiên cứu và phát triển ĐBSCL thu thập 1990). Đối với loài *O. officinalis*, chúng tôi đã thu thập được tại 5 địa điểm: 2 ở thành phố Cần Thơ, 2 ở tỉnh Đồng Tháp, và 1 ở Tỉnh Hậu Giang (Bảng 1) trong khi loài *O. rufipogon* có đến 31 địa điểm ở 4 tỉnh bao gồm Thành phố Cần Thơ, Vĩnh Long, Hậu Giang và Tiền Giang (bảng 2).

2.2 Phương pháp

Mỗi mẫu hạt được cân chính xác 3 mg bột nội nhũ (phần không có phôi), nghiền mịn với 100 µl protein extraction buffer of 60 mM Tris-HCl (pH8.8) containing 0.2M SDS, 7M urea and 0.2% 2-Mercaptoethanol. Giữ mẫu qua đêm rồi ly tâm 10,000 vòng cho 5 phút và phân tích theo quy trình điện di protein SDS-PAGE (Laemmli, 1970), gel cô có 5% và gel phân tách 12% Acrylamide, với dòng điện 80 V trong 5 giờ. Gel được nhuộm trong dung dịch 0.2M CBBR250 trong dung dịch methanol, acetic acid và nước cất theo tỷ lệ 44: 6: 50 theo thứ tự. Gel được rửa trong dung dịch acetic acid, methanol, và nước cất theo tỷ lệ 5: 28: 67 theo thứ tự.

Protein thành phần bao gồm: albumin, glutelin, globulin and prolamin, chúng tôi áp dụng quy trình của Watson và Ramstat (1987). Mỗi protein thành phần của 10 hạt gạo lức được cân chính xác 5mg bột nội nhũ (phần không có phôi) nghiền mịn với 50µl dung dịch ly trích cho vào ống 1,5 ml. Lắc ít nhất 1 giờ hoặc để qua đêm, ly tâm 12.000 vòng / phút trong 5 phút.

Hạt lúa được phân tích theo quy trình điện di protein SDS-PAGE (Laemmli, 1970), gel cô có 5% và gel phân tách 12% Acrylamide, với dòng điện 80 V trong 5 giờ. Gel được nhuộm trong dung dịch 0.2M CBBR250 trong dung dịch methanol, acetic acid và nước cất theo tỷ lệ 44: 6: 50 theo thứ tự. Gel được rửa trong dung dịch acetic acid, methanol, và nước cất theo tỷ lệ 5: 28: 67 theo thứ tự.

2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Bảng protein được phân loại dựa theo mức độ ăn màu Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBBR-250), hàm lượng nhiều biểu hiện mức độ ăn màu đậm, hàm lượng thấp biểu hiện mức độ ăn màu CBBR-250 trung bình, và hàm lượng protein ít thì biểu hiện mức độ ăn màu nhạt. Mức độ ăn màu được ghi nhận bằng mắt thường (Davies C.S, 1985; Hajika M., M. Takahashi, S. Sakai and K. Igita, 1996; Harada K., Y. Toyokawa and K. Kitamura, 1983; Phan T. H., 1996).

Tất cả các band thấy được bằng mắt thường được ghi điểm (1), band ăn màu nhạt không thấy được ghi điểm (0). Mức độ đa dạng kiểu hình protein (Ho) được định lượng bằng chỉ số Shannon và được dùng so sánh giữa các loài khác nhau (Võ Công Thành, 2003). Mức độ đa dạng di truyền protein dự trữ H_{EP} (deversity value for the genetic marker), tổng số alleles có tác động SENA (sum of the effective number of alleles) được tính bởi sự xác định số alleles có hiệu quả cho mỗi locus được tính theo công thức dưới đây:

$$H_o = - \sum f_i \ln f_i$$

$$H_{EP} = 1 - \sum f_i^2 / n$$

$$SENA = \sum [(1^n / f_i^2 - 1)]$$

* *f_i* là tần suất của kiểu hình protein

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân tích các mẫu lúa hoang tại các tỉnh trong vùng ĐBSCL cho thấy lúa hoang *O. officinalis* tại xã Phước Thới, thành phố Cần Thơ là kém đa dạng $H_o=0.65$ trong khi mẫu loài lúa hoang của hai quần thể ở huyện Lai Vung, tỉnh Đồng Tháp, cho kết quả khá đa dạng $H_o= 1.96$ (Bảng 1). Tương tự, ở bảng 2 cho thấy loài *O. rufipogon* ở Cần Thơ có giá trị trung bình đa dạng kiểu hình $H_o= 2.60$. Các mẫu thu thập tại tỉnh Hậu Giang và Tiền Giang giá trị trung bình H_o tương đương với Thành phố Cần Thơ, thay đổi từ 2.49 ở Hậu Giang đến 2.51 ở Tiền Giang, trong khi đó ở tỉnh Vĩnh Long là 3.06 và giá trị trung bình chung là 2.66. Điều này cho thấy lúa hoang ở ĐBSCL có kiểu hình rất đa dạng, biến thiên từ 2.49 ở Hậu giang đến 3.06 ở Vĩnh Long. Giá trị H_{EP} biểu thị tính đa dạng di truyền và SENA là tổng số alen có hiệu quả cho thấy giá trị của chúng không thay đổi qua nhiều giữa các điểm khảo sát. Giá trị trung bình chung H_{EP} là 0.66 và SENA=1.94.

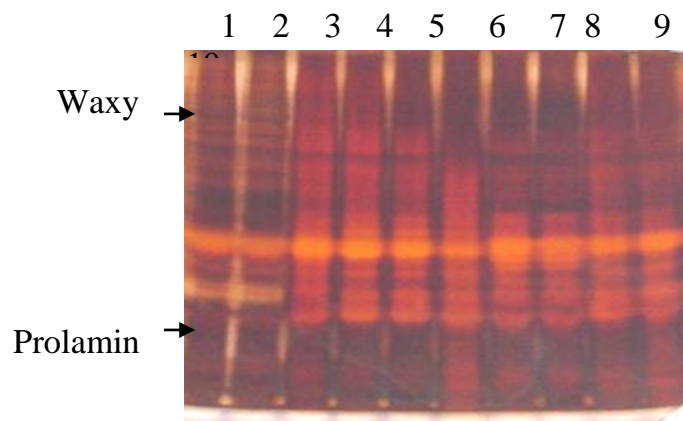
Bảng 1: Các thông số biểu thị tính đa dạng di truyền (Đa dạng kiểu hình protein Ho), dấu di truyền (HEP), và tổng số allele có hiệu quả (SENA) của 2 loài lúa hoang *O. minuta* được sưu tập ở Philippines, và *O. officinalis* ở Vùng Đồng bằng sông Cửu long

Species	Site collected	Ho	HEP	SENA
<i>O.minuta</i>	Đại học Cần Thơ	1.77	0.50	1.01
<i>O.officinalis</i>	Thành phố Cần Thơ	2.21	0.56	1.30
	Phước Thới, TP Cần Thơ	0.65	0.53	1.11
	Lai Vung 1, Đồng Tháp	1.96	0.54	1.15
	Lai Vung 2, Đồng Tháp	1.22	0.49	0.96
	Cái Tắc, Hậu Giang	1.76	0.55	1.20
	Trung bình của <i>O.officinalis</i>	1.56	0.53	1.14

Kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE giúp nhận dạng phân loại rất rõ loài lúa hoang *O. officinalis* với lúa hoang *O. rufipogon* và lúa trồng *O. sativa* (hình 1) nhờ vào sự sai biệt về trọng khối và mức độ ăm màu của các băng protein. Kết quả phân tích bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE cho thấy *O. rufipogon* biểu thị hàm lượng amylose thấp hơn so với *O. officinalis* và protein dạng prolamin có trọng khối lớn hơn so với các loài còn lại, giữa các loài *O. rufipogon* và lúa trồng chúng có những băng protein rất giống nhau. Kết quả này càng khẳng định rằng lúa trồng *O. sativa* có nguồn gốc từ lúa hoang dại *O. rufipogon*, ngoài ra lúa cỏ là dạng lai trung gian giữa lúa hoang *O. rufipogon* và lúa trồng *O. sativa* (Võ Công Thành 2003).

Bảng 2: Các thông số biểu thị tính đa dạng di truyền kiểu hình (Ho), đa dạng di truyền (H_{EP}) và tổng số allele có hiệu quả (SENA) trên loài lúa hoang (*O. rufipogon*) sưu tập ở Đồng bằng sông Cửu long

Nơi sưu tập	Số điểm sưu tập Ho	H_{EP}	SENA
Thành phố Cần Thơ	5	2.60	0.66
Tỉnh Vĩnh Long	6	3.06	0.67
Tỉnh Hậu Giang	7	2.49	0.65
Tỉnh Tiền Giang	2	2.51	0.66
Trung bình chung		2.66	0.66



Hình 1: Phổ điện di của lúa hoang *O. officinalis*, *O. rufipogon* và lúa trồng *O. sativa*

Giếng 1-2: *O. officinalis*; Giếng 3-6: *O. rufipogon*; Giếng 7-8: lúa cỏ; Giếng 9-10: *O. sativa* (lúa trồng).

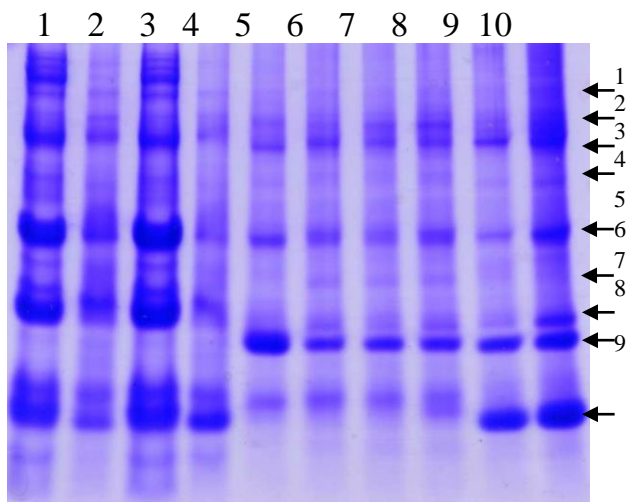
3.1.1 Tính đa dạng Glutelin waxy

Theo Ogawa et al. (1987) chỉ ra rằng giữa prolamin và glutelin có tương quan âm, do đó nhà chọn giống lúa có thể làm gia tăng lượng glutelin bằng cách giảm hàm lượng prolamin. Glutelin chứa đến 80% protein tổng số là thành phần chính của protein hạt lúa (Juliano 1972). Do đó, tính đa dạng di truyền lúa hoang ở Vĩnh Long là nguồn vật liệu hữu ích cho nhà chọn giống bằng cách lai tạo và cải thiện nhóm glutelin (Giếng 10, hình 2)

Lúa hoang *O. rufipogon*, 9 băng có thể quan sát (hình 2,3 và 4) trong đó băng số 5, số 8 và số 9 ăm màu đậm nhất. Các glutelin này tuy chưa phát hiện là có đột biến mất nhưng hàm lượng lại rất khác nhau giữa các quần thể và bên trong quần thể thu thập được. Băng Glutelin số 2 của mẫu Hậu Giang không có (Giếng 10, hình 4), mẫu ở Đồng Tháp có băng số 7 ăm màu đậm hơn các mẫu khác. Hình 2 cho

thấy có sự khác biệt rất rõ giữa 3 loài lúa hoang với loài lúa trồng ở băng glutelin số 7,8 và 9. Đặc biệt *O.rufipogon* ở điểm Vĩnh Long có băng số 7 là đậm nhất.

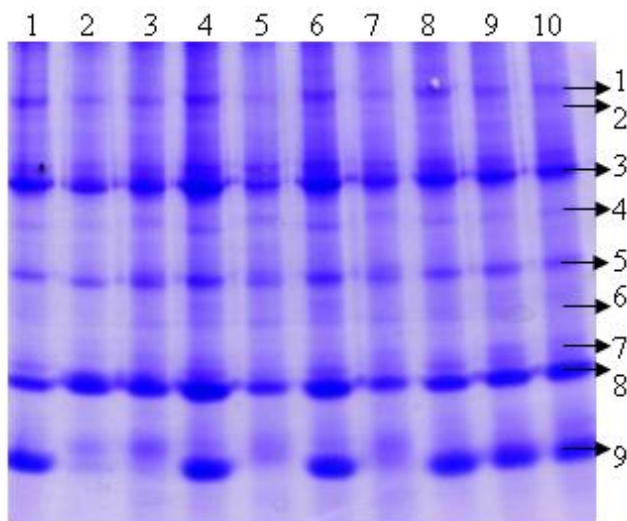
Glutelin băng số 1 của *O.rufipogon* ăn màu đậm hơn ở *O.officinalis*. Các băng Glutelin số 7,8 và 9 của hai loài này khác biệt khá rõ. Glutelin số 7 của loài *O.officinalis* nhạt trong khi băng số 8 thì đậm hơn so với loài *O.rufipogon*. So với loài *O.minuta* có nguồn gốc ở Philippines, loài *O.officinalis* ở ĐBSCL có các băng glutelin giống nhau ngoại trừ băng số 4 có sự sai khác về mức độ ăn màu (Hình 3).



Hình 2 : Phổ điện di protein Glutelin của 3 loài lúa hoang , *O.Rufipogon*, *O.officinalis*, *O. minuta* và 2 giống lúa trồng *O. sativa*

Giếng 1, 3: Protein tổng của 2 giống lúa trồng ; Giếng 2, 4: Protein thành phần (glutelin)

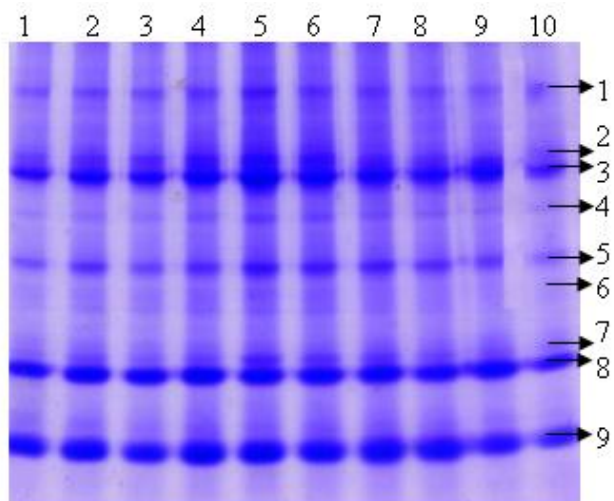
Giếng 5: *O.minuta* ;Giếng 6,7,8: *O.officinalis* mẫu thu thập ở Đồng Tháp, Cần thơ, Vĩnh Long theo thứ tự ; Giếng 9, 10: *O.rufipogon* thu thập ở Cần Thơ, Vĩnh Long theo thứ tự



Hình 3: Phổ điện di glutelin của 3 loài lúa hoang *Oryza officinalis*, *O. rufipogon* và *O. minuta*

Giếng 1,2: *O.rufipogon* và *O.officinalis* theo thứ tự (Điểm Cần Thơ)

Giếng 3: *O.minuta* (Philippines);Giếng 4,5:*O.rufipogon* và *O.officinalis* theo thứ tự (Điểm Vĩnh Long); Giếng 6,7: *O.rufipogon* và *O.officinalis* theo thứ tự (Điểm Đồng Tháp); Giếng 8,9: *O.rufipogon* (Điểm Trà Vinh); Giếng 10: *O.rufipogon* (Điểm Tiền Giang)

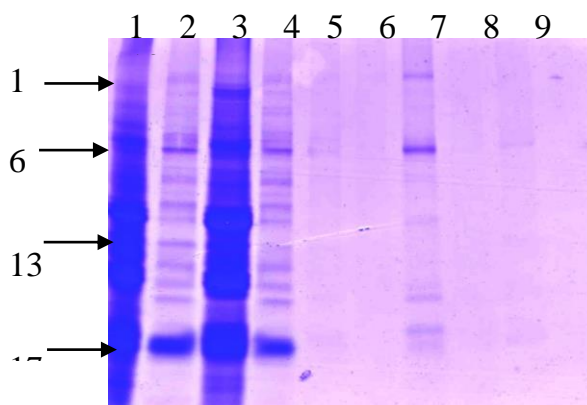


Hình 4: Đa dạng di truyền Glutelin của loài lúa hoang *O. rufipogon* sưu tập tại các địa điểm khác nhau ở Đồng Bằng Sông Cửu Long

Giếng 1-2: Điểm Cần Thơ, Giếng 3-4: Điểm Vĩnh Long, Giếng 5-6: Điểm Đồng Tháp
Giếng 7-8: Điểm Trà Vinh, Giếng 9: Điểm Tiền Giang, Giếng 10: Điểm Hậu Giang

3.1.2 Tính đa dạng albumin

Albumin là nhóm protein tan trong nước, với phổ điện di protein SDS-PAGE nội nhũ albumin sẽ có nhiều enzymne (Watson và Ramstad,1987), có 17 băng protein có thể quan sát (Hình 5). Băng protein số 6 và số 17 biểu hiện ăn màu đậm nhất. Lượng albumin trong các loài lúa hoang nhìn chung biểu hiện rất thấp, albumin của lúa hoang *O. officinalis* (Giếng 7, hình 5) có khác biệt với loài lúa trồng, đặc biệt ở băng số 17. albumin xuất hiện nhiều băng hơn lúa trồng, điều này có thể giải thích là khả năng tồn tại trong tự nhiên lúa hoang dài lâu hơn lúa trồng.



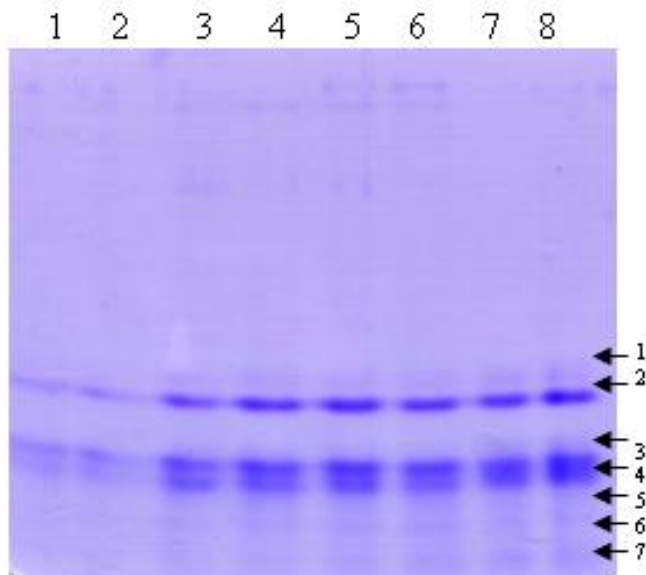
Hình 5: Phổ điện di protein của 3 loài lúa hoang , *O. Rufipogon*, *O. officinalis*, *O. minuta* và 2 giống lúa trồng (*O. sativa*)

Giếng 1 và 3: Protein tổng của 2 giống lúa trồng,
Giếng 2 và 4: Protein thành phần (albumin), Giếng 5: *O. minuta*
Giếng 6,7,8: *O. officinalis* mẫu thu thập ở Đồng Tháp, Cần thơ, Vĩnh Long,
Giếng 9, 10: *O. rufipogon* thu thập ở Cần thơ, Vĩnh Long

3.1.3 Tính đa dạng Globulin

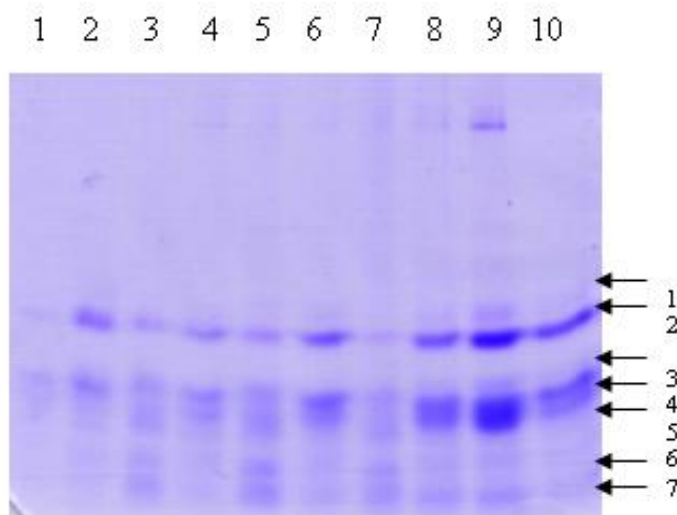
Globulin của loài lúa hoang *O. rufipogon* khác nhau giữa các điểm sưu tập (Hình 6 và 7), thường trong phổ điện di protein tổng số globulin chỉ phát hiện ở trạng thái 1

bằng (Tanaka 1997, Thanh và Hirata 2002). Với phương pháp phân tích protein thành phần, phòng thí nghiệm Di truyền-Chọn giống & Ứng Dụng CNSH đã ghi nhận được globulin có thể đến 7 băng protein có trọng khối khác nhau. *O.rufipogon* ở các điểm khác nhau biểu hiện rất khác biệt về cường độ ăn màu như băng protein số 2,4, và 5 tại điểm Vĩnh Long (giếng 7,8, hình 6) và Trà Vinh (giếng 9, hình 7) ăn màu đậm hơn so với các điểm tại Cần Thơ, Tiền Giang và Đồng Tháp.



Hình 6: Phổ điện di protein glutelin của loài lúa hoang *O. rufipogon* sưu tập tại những điểm khác nhau ở Đồng Bằng Sông Cửu Long

Giếng 1: Cần Thơ; 2: Tiền Giang; 3-4: Trà Vinh; 5-6: Đồng Tháp; 7-8: Vĩnh Long



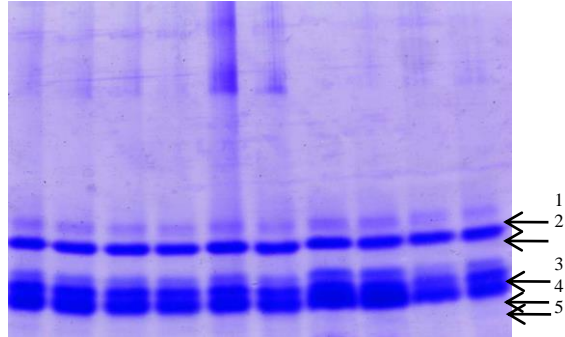
Hình 7: Phổ điện di protein glutelin của loài lúa hoang (*O.officinalis* và *O.rufipogon*) sưu tập tại những điểm khác nhau ở Đồng Bằng Sông Cửu Long

Giếng 1-3: *O. rufipogon*, *O. officinalis*, *O. minuta* theo thứ tự sưu tập tại Cần Thơ. Giếng 4-5: *O. rufipogon*, *O. officinalis* theo thứ tự sưu tập tại Vĩnh Long

Giếng 6-7: *O. rufipogon*, *O. officinalis* theo thứ tự sưu tập tại Đồng Tháp. Giếng 8-9: *O. rufipogon* sưu tập tại Trà Vinh. Giếng 10: *O. rufipogon* sưu tập tại Tiền Giang.

3.1.4 Tính đa dạng prolamin

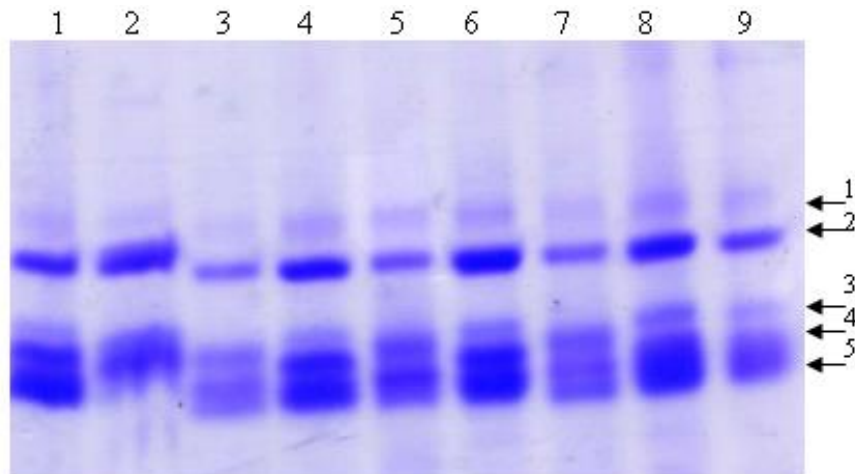
Loài *O.rufipogon* prolamin biểu hiện khác nhau đối với từng địa điểm thu thập mẫu, với loài này chúng ta có thể quan sát được 5 băng (Hình 8 và 9). Prolamin số 2,4, và 5 ăn màu đậm hơn so với băng prolamin khác. Đặc biệt, mẫu lúa ở Trà Vinh có băng prolamin số 3, 4 và 5 (giếng 7-8, hình 8) có trọng khối nặng hơn các loài khác một cách rõ rệt.



Hình 8: Phổ điện di protein của một loài lúa hoang *O. rufipogon*. sưu tập tại những điểm khác nhau

Giếng 1-2: Cần Thơ, 3-4: Vĩnh Long, 5-6: Đồng Tháp, 7-8: Trà Vinh, 9: Tiền Giang, 10: Hậu Giang

So sánh prolamin giữa loài *O.rufipogon*, thì ở loài *O.officinalis* ít ăn màu hơn, globulin số 3, 4, và 5 là khác biệt nhau về trọng khối (Hình 9). Prolamin của loài lúa hoang *O.rufipogon* có trọng khối nặng hơn so với loài lúa hoang *O.officinalis*.



Hình 9: Phổ điện di protein của 3 loài lúa hoang *O. rufipogon*, *O. officinalis* *O. minuta*

Giếng 1,2: *O. rufipogon*, *O. officinalis* theo thứ tự sưu tập tại Cần Thơ

Giếng 3: *O. minuta* sưu tập từ Philippines;

Giếng 4,5: *O. rufipogon*, *O. officinalis* theo thứ tự sưu tập tại Vĩnh Long.

Giếng 6,7: *O. rufipogon*, *O. officinalis* theo thứ tự sưu tập tại Đồng Tháp;

Giếng 8,9: *O. rufipogon* sưu tập tại Trà Vinh.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

Mặc dù số loài lúa hoang ở ĐBSCL ít nhưng quần thể của mỗi loài rất đa dạng về mặt di truyền tạo điều kiện thuận lợi cho việc khai thác và sử dụng trong chương trình cải tiến giống lúa.

Biến dị di truyền đối với các tính trạng chống chịu sâu bệnh như đốm vằn, sâu đục thân, đất phèn, mặn hiện rất khó tìm trong nguồn vật liệu lúa địa phương cổ truyền, nhưng chúng ta hy vọng sẽ tìm thấy ở các loài hoang dại.

4.2 Đề nghị

Tiếp tục đánh giá mối quan hệ giữa protein dự trữ với các đặc tính chống chịu mặn, phèn và sâu bệnh trên các loài lúa hoang nhằm phục vụ cho công tác lai tạo giống lúa mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bang T.M (2004) Genetic diversity of aromatic rice germplasm of Cantho University. BSc thesis, College of Agriculture, Cantho University, pp. 73.
- Buu, B.C. and N.T. Lang (2001) Rice genetic resources. O Mon Rice Research Institute, 37pp. (in Vietnamese).
- Heinrich, E. A., F.G. Meddrano, and H.R. Rapusas (1985) Genetic evaluation for resistance in rice. IRRI, Philippines, pp.205.
- Juliano, B.O., 1972. The rice caryopsis and its composition. In the Rice Chemistry and Technology. Ed. Houston American assoc. Cereal Chemistry. P16-17.
- Krishnan H. B. and T. W. Okita, 1986. Structural relationship among therice glutelin polypeptides. Plant physiology 81(3): 748-753.
- Khush, G.S. (1977) Disease and insect resistance in rice. Advanced Agronomy 29: 265-341.
- Khush, G.S. and K.K. Jena (1986) Production of monosomic alien addition lines of *O. sativa* having single chromosome of *O. officinalis*. In: IRRI (ed.); Rice Genetics, IRRI, Philippines, pp. 199-209.
- Khush, G. S., E. Bacalangco, and T. Ogawa (1990) A new gene for resistance to bacterial blight from *O. longistaminata*. Rice Genet. Newsletter 17: 121-123.
- Ogawa, M., T. Kumamaru, H. Satoh, N. Iwata, T. Omura, Z. Kasai, and K. Tanaka (1987) Purification of protein body I of rice seed and its polypeptide composition. Plant cell physiology 28(8): 1517-1527.
- Qu L. Q., T. Kumamaru, H. Satoh, and M. Ogawa, 1998. Genetic analyses on glutelin mutants in rice, 4: 78-82.
- Sacker, S.C., M. Ogawa, M. Takahashi, and K. Asada (1986) Processing of a 57-KDa precursor peptide to subunits of rice glutelin. Plant Cell Physiology 27: 1579-1586.
- Tanaka, K. (1997) Quality of grain: protein. Chapter 3 Inheritance of physiological characters. Science of the rice plant. Genetics, Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo, 3: 422-430.
- Tanksley, S.D. and S.R. McCouch (1997) Seed bank, molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. Science 277: 1063-1066.
- Thanh, V.C. and Y. Hirata (2002) Seed storage protein diversity of three rice species in the Mekong Delta. Biosphere Conservation 4(2): 59-67.

- Thanh, V.C., T.N.Nguyen, N.V. Thuong, Y. Hirata (2003) Antenna protein diversity of prawns (*Macrobrachium*) in the Mekong Delta. *Biosphere Conservation* 5 (1): 11-17.
- Watson, S. A. and P. E. Ramstad (1987) Proteins of the kernel. In *Corn: Chemistry and Technology*. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, USA, 273-305.