

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ GIỐNG LÚA NGẮN NGÀY

**Nguyễn Quốc Trung^{1*}, Lê Văn Trung¹, Nguyễn Thị Trang¹, Nguyễn Thị Thùy Dương²
Nguyễn Thanh Tùng², Nguyễn Văn Hoan², Phạm Văn Cường^{2,3}**

*¹Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; ²Dự án DCGV, Học viện
Nông nghiệp Việt Nam; ³Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

Email: nqtrung@vnua.edu.vn*

Ngày gửi bài: 05.05.2014

Ngày chấp nhận: 22.07.2014

TÓM TẮT

Thí nghiệm tiến hành đánh giá thời gian qua các giai đoạn sinh trưởng và đa dạng di truyền của 23 mẫu giống lúa ngắn ngày và một giống dài ngày (VN10) trong vụ xuân 2013 tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian từ gieo đến trổ các giống ngắn ngày là 74 đến 107 ngày và 157 ngày ở giống đối chứng. Trong đó thời gian xuất hiện lá thứ nhất đến làm đòng của các giống lúa ngắn ngày có biên độ biến động cao nhất là 25 ngày. Xây dựng cây đa dạng sử dụng 50 chỉ thị SSR nằm trên cả 12 nhiễm sắc thể có thể chia vật liệu ngắn ngày thành 5 nhóm với hệ số di truyền 0,78.

Từ khóa: Cây lúa, chỉ thị SSR, đa dạng di truyền, ngắn ngày.

Evaluation of Genetic Diversity of Early Maturing Rice Varieties

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the duration at different growth stages and genetic diversity of twenty early maturing rice (EMRV) varieties and one late maturing rice variety (LMRV) (VN10) as check variety in 2013 spring season, Vietnam national University of Agriculture. The results showed that the days from sowing to heading in EMRV was in a range of 74 to 107 days and 157 days in LMRV. The period from first leaf and second leaf appearance and booting were diverse in which the most diverse stage was from second leaf to booting stage with 25 days difference. Phylogenetic tree was constructed with 50 SSR markers spread over 12 chromosomes and the EMRVs were divided in 5 groups at Polymorphic information content (PIC) = 0.78.

Keywords: Early maturing rice varieties, genetic diversity, rice, SSR marker.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhu cầu nâng cao giá trị sản xuất lúa gạo đồng thời tăng hiệu quả sử dụng diện tích đất nông nghiệp đòi hỏi cần thiết phải rút ngắn thời vụ đất trồng lúa. Tại đồng bằng sông Hồng, sử dụng các giống ngắn ngày sẽ giúp người nông dân đỡ vất vả hơn trong vụ Xuân, tránh được rét cho mạ và thuận lợi hơn trong canh tác vụ Đông. Tại đồng bằng sông Cửu Long, canh tác các giống lúa ngắn ngày sẽ giúp tăng lên 3-4 vụ/năm hoặc tăng thời gian nghỉ giữa 2 vụ, tránh được bùng phát dịch hại như rầy nâu, vàng lùn xoắn lá.

Trong công tác chọn tạo giống lúa ngắn ngày, việc thu thập và đánh giá nguồn gen là rất quan trọng. Hiện nay ở Việt Nam, nguồn gen ngắn ngày khá đa dạng gồm các giống bản địa và nhập nội từ nhiều nước như: Nhật Bản, Trung Quốc, Mỹ, Philipin (IRRI)... có cả nhóm *japonica* và *indica*. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu đánh giá, phân tích thời gian các giai đoạn và thời kỳ sinh trưởng để đánh giá vai trò các giai đoạn/thời kỳ tới tổng thời gian từ gieo đến thu hoạch để có các định hướng sử dụng trong lai tạo, cải tiến các giống lúa theo hướng ngắn ngày hơn.

Ngoài ra, việc đánh giá đa dạng di truyền các mẫu giống ngắn ngày để phục vụ cho công tác chọn tạo giống là rất cần thiết. Nguồn gen đa dạng là cơ sở rất quan trọng để sử dụng các gen, alen phong phú trong các phép lai khác nhau, đồng thời, đa dạng di truyền còn là cơ sở để tạo nên ưu thế lai. Việc đánh giá đa dạng di truyền có thể được thực hiện dựa trên các đặc điểm hình thái, nông sinh học và ở mức độ phân tử ADN. Với các thành tựu về giải trình tự genome lúa, các bộ chỉ thị SSR phục vụ đánh giá đa dạng di truyền được phát triển rất mạnh và có tính ứng dụng cao. Năm 2002, McCough đã công bố danh sách trên 2.000 chỉ thị SSR mới phát hiện. Cho đến nay, theo thống kê có trên 18.000 chỉ thị SSR trên cây lúa (Monaco, 2013). Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là thu thập và đánh giá thời gian qua các giai đoạn sinh trưởng một số mẫu giống lúa ngắn ngày, đồng thời xác định đa dạng di truyền các giống này bằng chỉ thị SSR, qua đó nâng cao việc bảo tồn và khai thác hiệu quả nguồn gen quý này để cải tiến các giống lúa theo hướng ngắn ngày hơn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

23 mẫu giống ngắn ngày và 1 mẫu giống dài ngày thu thập từ nhiều nguồn được gieo cấy trong

vụ Xuân 2013 tại cánh đồng dự án JICA-DCGV, Học viện Nông nghiệp Việt Nam (Bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Hạt nảy mầm được gieo trên khay đất có tạo các luống cách nhau 2cm để trong nhà kính, khoảng cách giữa các hạt là 1cm. Cây mạ 25 ngày tuổi được cấy ra ruộng theo phương pháp tuần tự không nhắc lại, mỗi ô 5m², mật độ 33 khóm/1m².

2.2.2. Phương pháp theo dõi thời gian sinh trưởng theo tiêu chuẩn của IRRI, 2002

Thời điểm xuất hiện lá thứ nhất và thứ hai được ghi nhận vào cùng thời điểm (16^h00) hàng ngày. Lá được coi là xuất hiện nếu hình thành đầy đủ các bộ phận: phiến lá, cuống lá và bẹ lá. Thời điểm phân hóa đòng được theo dõi ở giai đoạn bước thứ 4 khi bông lúa phân hóa nhị đực và nhụy, bông lúa non dài 1-1,5cm. Thời điểm trở là thời điểm có 10% số cây trong giống trở thoát khoảng 5cm khỏi bẹ lá. Kết quả được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel.

2.2.3. Đánh giá đa dạng di truyền bằng chỉ thị SSR

Tách chiết ADN: mẫu lá được lấy 30 ngày sau khi cấy và được làm đông khô bằng chân không trước khi tiến hành tách chiết theo phương pháp CTAB của Doyle (1987).

Bảng 1. Danh sách 23 giống ngắn ngày và 1 giống dài ngày

Ký hiệu	Tên giống	Nguồn gốc	Ký hiệu	Tên giống	Nguồn gốc
S1	KD18	Trung Quốc	S15	IR58	IRRI
S2	VN10	Việt Nam	S16	MTL163	Việt Nam
S3	IR24	IRRI	S17	HYMST	Nhật Bản
S4	Asominori	Nhật Bản	S18	P6 ĐB	Việt Nam
S5	AD11	Việt Nam	S19	Kim23B	Trung Quốc
S6	OM5524	Việt Nam	S20	Hoa sữa	Mỹ
S7	IRRI108	IRRI	S21	OM1121	Việt Nam
S8	IR50	IRRI	S22	OM5930	Việt Nam
S9	IRRI142	IRRI	S23	OM6162	Việt Nam
S11	Agaminmi	Nhật Bản	S24	OM6932	Việt Nam
S12	Norin PL9	Nhật Bản	S27	RufIL19	Nhật Bản
S13	RufIL3	Nhật Bản	S28	OM5964	Việt Nam

Bảng 2. Danh sách các chỉ thị khảo sát trên 12 nhiễm sắc thể (McCouch, 2002)

TT	Chỉ thị SSR	NST	Trình tự		Điều kiện PCR	
			Mỗi xuôi	Mỗi ngược	Nhiệt độ gắn mỗi	Số chu kỳ
1	RM495	1	aatccaaggtgcagatgg	caacgatgacgaacacaacc	55	30
2	RM1	1	gcgaaaacacaatgcaaaaa	gcgttggtggacctgac	55	30
3	RM283	1	gtctacatgtacccttgtggg	cggcatgagagtctgtgatg	61	30
4	RM259	1	tggagttgagaggagg	cttgtgtcatggtgccatgt	55	30
5	RM312	1	gtatgcataattgataagag	aagtcaccgagttaccttc	55	30
6	RM5	1	tgcaactctagctgctcga	gcacccgatcttgatggg	57	30
7	RM237	1	caaatcccagactgctgtcc	tgggaagagagcactacagc	55	30
8	RM431	1	tcctgcgaactgaagattg	agagcaaaacctggttcac	55	30
9	RM154	2	accctctccgctcgcctctc	ctcctcctcctcgaccgctcc	61	30
10	RM452	2	ctgatcgagagcgttaagg	gggatcaaacacggttctg	61	30
11	RM489	3	actgagacgatcggacacc	tcaccatggtatggtcag	55	30
12	OSR13	3	cattgtgctcacggagta	agccacagcggccatctctc	53	40
13	RM338	3	cacaggagcaggagaagagc	ggcaaacgatcactcagtc	55	40
14	RM55	3	ccgtcgcctgtagagaag	tcccggttatgtaagcg	55	30
15	RM514	3	agattgatctcccattcccc	cacgagcataactagtgg	55	30
16	RM307	4	gtactaccgacctaccgtcac	ctgctatgatgaactgctc	55	30
17	RM124	4	atcgtctcgtgctgctgctg	catggatcaccgagctcccc	67	30
18	RM507	5	ctaagctccagccgaaatg	ctcaccctcatcatcgcc	55	30
19	RM413	5	ggcgattctggatgaagag	tccccaccaatctgtcttc	53	30
20	RM161	5	tgcagatgagaagcggcctc	tgtgcatcagacggcctccg	61	30
21	RM178	5	tcgctgaaagataagcggcgc	gatcaccgttccctccgctgc	69	30
22	RM334	5	gttcagtggtcagtgccacc	gactttgatcttggggacg	55	30
23	RM133	6	ttggattgtttgctgctcgc	ggaaacacgggctggaagcgac	63	30
24	RM510	6	aaccggattagttctcgc	tgaggacgacgagcagattc	57	30
25	RM454	6	ctcaagcttagctgctgctg	gtgatcagtcaccatagcg	55	30
26	RM162	6	gccagcaaaaccagggatccg	caaggctctgtgcggttgcgg	61	30
27	RM125	7	atcagcagccatggcagcgacc	aggggatcatgtgccgaaggcc	63	30
28	RM11	7	tctccttccccgatc	atagcggggcaggcttag	55	30
29	RM455	7	aacaaccaccacctgtctc	agaaggaaaaggctcagtc	57	30
30	RM118	7	ccaatcggagccaccggagagc	cacatctccagcgacgccgag	67	30
31	RM408	8	caacgagctaactccgtcc	actgactctgggtagctgacc	55	30
32	RM152	8	gaaaccaccacctcaccg	ccgtagaccttctgaagtag	53	40
33	RM25	8	ggaaagaatgatcttcatgg	ctaccatcaaaaccaatgttc	53	40
34	RM44	8	acgggcaatccgaacaacc	tcgggaaaacctaccctacc	53	30
35	RM284	8	atctctgatactccatcatcc	cctgtacgtgatccgaagc	55	30
36	RM433	8	tgcgctgaactaacaacagc	agacaaaacctggcattcac	53	40
37	RM447	8	ccctgtgctgtctcctctc	acgggcttcttctcctctc	55	30
38	RM316	9	ctagttggcatacatgatggc	acgcttatagttacgcaac	55	30
39	RM105	9	gtcgtcagccatcgagccac	tggctgaggtgggagcgggtc	63	30
40	RM215	9	caaatggagcagcaagagc	tgagcacctctctctgtag	55	30
41	RM474	10	aagatgtacgggtggcattc	tatgagctggtgagcaatgg	55	30
42	RM271	10	tcagatctacaattccatcc	tcggtgagacctagagagcc	55	30
43	RM171	10	aacgcgaggacacgtacttac	acgagatacgtacgcctttg	55	40
44	RM484	10	tctccctcctaccattgtc	tgctgccctctctctctc	55	30
45	RM552	11	cgcagttgtgatttcagtg	tgctcaacggttgactgtcc	55	30
46	RM536	11	tctcctcttgtttggctc	acacaccaacacgaccacac	55	30
47	RM287	11	ttccctgtaagagagaaatc	gtgtattgggtgaaagcaac	55	30
48	RM144	11	tgccctggcgaattgatcc	gctagaggagatcagatgtagtgcag	57	30
49	RM19	12	caaaaacagagcagatgac	ctcaagatggacccaaga	55	30
50	RM277	12	cggcacaatcatcacctgac	caaggcttcaagggaag	55	30

Kỹ thuật PCR đánh giá đa dạng di truyền sử dụng bộ chuẩn 50 chỉ thị SSR được tham khảo từ Chương trình khai thác đa dạng di truyền trong cải tiến giống cây trồng (Generation Challenge Program, Consultative Group on International Agricultural Research - CGIAR). Các chỉ thị này được phân bố đều trên 12 nhiễm sắc thể (McCouch, 2002) (Bảng 2). Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel Agarose 4% và quan sát bằng đèn chiếu UV. Xây dựng sơ đồ đa dạng di truyền bằng phần mềm NTSYS 2.1: sử dụng “Hệ số tương đồng Jaccard” và phương pháp UPGMA trong NTSYS 2.1. Hệ số PIC (Polymorphic Information content) của mỗi locus SSR được tính theo công thức $PIC(i) = 1 - \sum P_{ij}^2$ (Botstein, 1980). Trong đó, I là số locus SSR tương ứng; j là số thứ tự allel của locus SSR và P_{ij} là tần suất allel thứ j với locus SSR thứ i.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

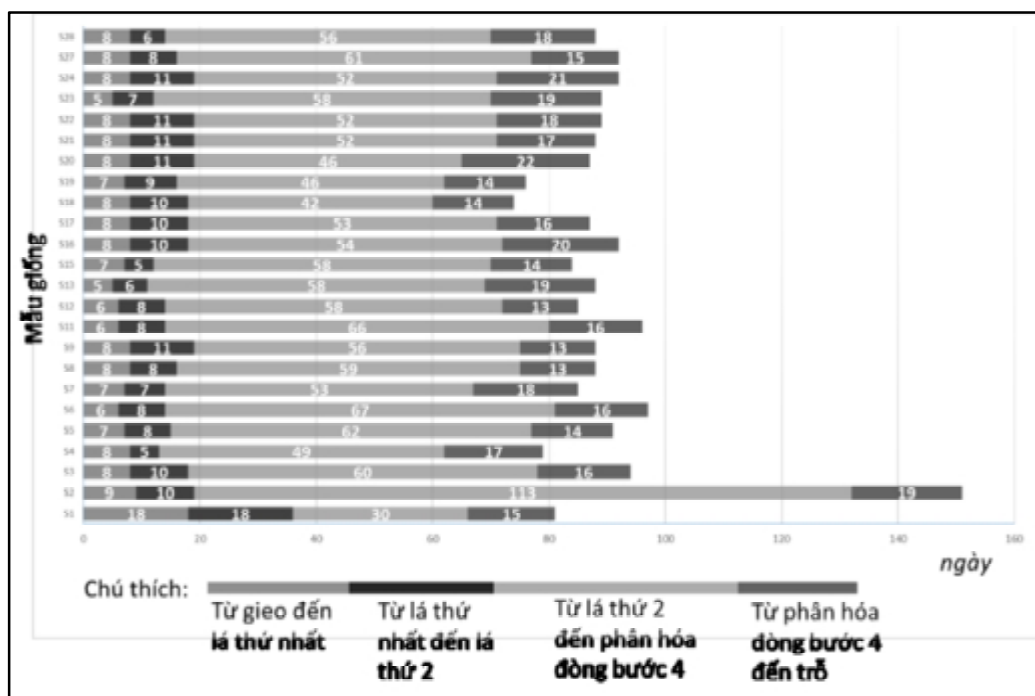
3.1. Kết quả đánh giá các giai đoạn sinh trưởng

Động thái xuất hiện lá ở các giống thể hiện khá đa dạng, các mẫu giống ra lá thứ nhất sớm

nhất là 5 ngày (S13, S23) và 6 ngày (S6, S11, S12). Tổng thời gian cho cây mạ xuất hiện 2 lá ngắn nhất ở mẫu giống S13 là 11 ngày; S15 và S23 là 12 ngày; dài nhất ở các mẫu giống S2, S9, S20, S21, S22, S24 là 19 ngày. Động thái xuất hiện lá ở giai đoạn mạ dài, ngắn có ở cả các mẫu giống có nguồn gốc Nhật Bản (*Japonica*), IRRI và Việt Nam (*Indica*).

Giai đoạn sinh sản bắt đầu từ lúc phân hóa đòng đến lúc lúa trở bông, giai đoạn này kéo dài khoảng 27-35 ngày. Theo kết quả ở hình 1, thời gian từ gieo đến phân hóa đòng bước 4 có sự dao động tương đối lớn từ 60 tới 81 ngày, riêng dài ngày VN10 là 132 ngày. Như vậy, giai đoạn phân hóa đòng có sự dao động lớn nhất về thời gian sinh trưởng, các mẫu giống ngắn ngày bắt buộc phải sinh trưởng nhanh nhất vào thời điểm này. Nhóm có thời gian ngắn nhất 60-65 ngày (S4, S18, S19 và S20).

Giai đoạn trở bông bắt đầu khi các hoa đầu tiên của bông nhô ra đòng đến khi lóng trên cùng không dài ra được nữa. Độ dài giai đoạn này dao động 8 ngày giữa giống ngắn nhất, 13 ngày (S8, S9 và S12), với giống dài nhất 22 ngày (S20).

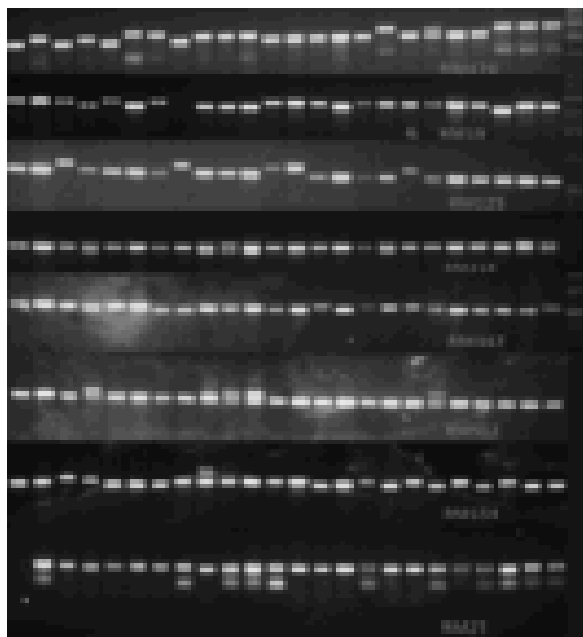


Hình 1. Tổng hợp các giai đoạn sinh trưởng từ gieo đến trở của 24 mẫu giống nghiên cứu trong vụ xuân 2013 tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Từ kết quả thể hiện ở hình 1, tổng độ dài, ngắn của thời gian sinh trưởng chủ yếu phụ thuộc vào giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng. Giai đoạn phân hóa đòng và giai đoạn chín các mẫu giống không biến động nhiều. Tốc độ ra lá nhanh hay chậm cũng không đồng nghĩa với mẫu giống ngắn hay dài ngày. Trường hợp hai mẫu giống S18 và S19 có tốc độ ra lá 1 và lá 2 cũng nằm trong khoảng giá trị trung bình nhưng thời gian sinh trưởng sinh dưỡng rút ngắn đi rất nhiều nên tổng thời gian ngắn nhất trong các vật liệu nghiên cứu: từ gieo tới trở tương ứng 74-76 ngày trong vụ Xuân.

3.2. Kết quả phân tích đa dạng di truyền bằng chỉ thị SSR

Trong 50 chỉ thị SSR được sử dụng có 19 chỉ thị xuất hiện vạch đơn hình; 31 chỉ thị xuất hiện vạch đa hình với tổng số 71 alen (trong đó có 66 alen đa hình và 5 alen đơn hình ở OSR13, RM152, RM316, RM334, RM552). Chỉ thị RM474 có hệ số đa dạng cao nhất là 0,61 (Bảng 3).



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 4% với một số SSR

Ghi chú: Từ trái qua phải: S1->S28 và DNA ladder 100bp

Kết quả phân tích khoảng cách di truyền bằng phương pháp UPGMA trong NTSYS 2.1. thể hiện trong hình 3. Với độ tương đồng di truyền ở mức 0,78 có thể chia các mẫu giống thành 5 nhóm:

Nhóm 1: Gồm các mẫu giống *Japonica*: Asominori, NorinPL9, IRR142 và Agamimi.

Nhóm 2: Mẫu giống *Indica*MTL163

Nhóm 3: Gồm các giống *Indica* có nguồn gốc từ viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long và một số mẫu giống khác. Trong đó, 2 mẫu giống ngắn ngày nhất là P6ĐB và Kim23B có khoảng cách di truyền khá gần nhau. Ở độ tương đồng 0,94 chưa thể phân biệt được 2 mẫu giống là Hoa sữa và OM6932.

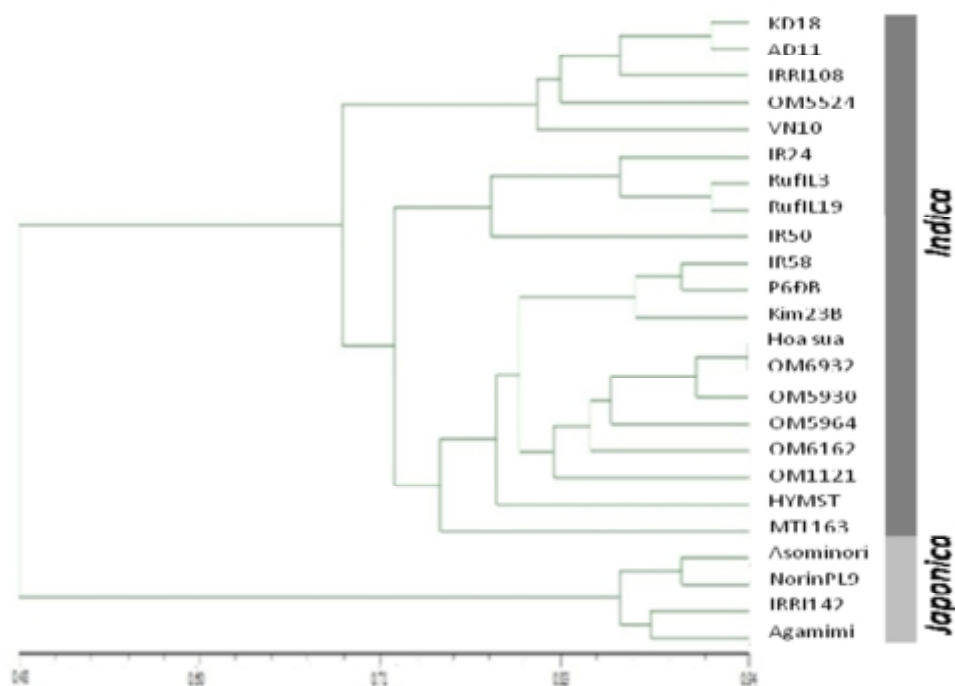
Nhóm 4: Các giống *Indica*IR24 và 2 dòng CSSLs (Chromosome segment substitution lines) RufIL3 và RufIL19 có nền gen của IR24 mang một đoạn của nhiễm sắc thể số 1 và 5 tương ứng từ *Oryza rufipogon* do phòng thí nghiệm Chọn giống cây trồng, Đại học Kyushu phát triển.

Nhóm 5: Nhóm các giống *Indica* đều được đánh giá có tiềm năng năng suất cao, tính thích nghi rộng như: KD18, AD11, OM5524, IRR108 và VN10. Trong đó quan hệ di truyền giữa KD18 và AD11 đã thể hiện rất rõ quá trình chọn tạo mẫu giống AD11 từ phép lai của KD18. So sánh sự phân nhóm trên với độ dài các giai đoạn sinh trưởng ở hình 1 nhận thấy 2 mẫu giống ngắn ngày nhất là P6ĐB và Kim23B đều nằm ở nhóm 3. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền thể hiện rõ nguồn gốc các mẫu giống thuộc *Japonica* hay *Indica*, các mẫu giống có thời gian sinh trưởng ngắn có ở cả 2 nhóm: *Japonica* (Agamimi, Norin PL9) và *Indica* (Kim23B, P6ĐB...). Vì vậy, chưa thấy được mối liên hệ rõ ràng giữa các phân nhóm theo chỉ thị SSR và theo thời gian sinh trưởng. Theo kết quả đánh giá trên, chúng tôi nhận thấy bộ 50 marker SSR sử dụng trong nghiên cứu đã đánh giá khá chính xác mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống nghiên cứu.

Bảng 3. Hệ số đa dạng di truyền của các chỉ thị SSR và điều kiện PCR tương ứng

TT	Chỉ thị SSR	NST	Hệ số đa dạng			TT	Chỉ thị SSR	NST	Hệ số đa dạng		
			Tổng số alen	Số alen đa hình	PIC*				Tổng số alen	Số alen đa hình	PIC*
1	RM495	1	2	0	-	26	RM162	6	2	0	-
2	RM1	1	2	0	-	27	RM125	7	2	2	0,34
3	RM283	1	2	2	0,28	28	RM11	7	2	0	-
4	RM259	1	2	2	0,48	29	RM455	7	2	2	0,44
5	RM312	1	3	3	0,23	30	RM118	7	2	0	-
6	RM5	1	3	3	0,29	31	RM408	8	2	2	0,34
7	RM237	1	2	0	-	32	RM152	8	2	1	0,32
8	RM431	1	2	0	-	33	RM25	8	2	2	0,44
9	RM154	2	3	3	0,54	34	RM44	8	2	0	-
10	RM452	2	2	0	-	35	RM284	8	2	2	0,42
11	RM489	3	3	3	0,53	36	RM433	8	2	0	-
12	OSR13	3	2	1	0,5	37	RM447	8	2	2	0,48
13	RM338	3	2	0	-	38	RM316	9	2	1	0,36
14	RM55	3	2	0	-	39	RM105	9	3	3	0,49
15	RM514	3	3	3	0,53	40	RM215	9	2	2	0,14
16	RM307	4	2	0	-	41	RM474	10	3	3	0,61
17	RM124	4	2	0	-	42	RM271	10	2	0	-
18	RM507	5	2	0	-	43	RM171	10	2	2	0,28
19	RM413	5	3	3	0,53	44	RM484	10	2	0	-
20	RM161	5	2	2	0,28	45	RM552	11	2	1	0,24
21	RM178	5	2	0	-	46	RM536	11	2	2	0,22
22	RM334	5	2	1	0,42	47	RM287	11	3	3	0,56
23	RM133	6	2	0	-	48	RM144	11	2	2	0,22
24	RM510	6	2	2	0,50	49	RM19	12	2	2	0,42
25	RM454	6	2	2	0,28	50	RM277	12	2	2	0,38

Ghi chú: *: polymorphic information content



Hình 3. Sơ đồ quan hệ di truyền 24 mẫu giống nghiên cứu xác định bằng chỉ thị SSR

4. KẾT LUẬN

Giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng từ xuất hiện 2 lá đến phân hóa đòng quyết định tổng thời gian sinh trưởng của các mẫu giống lúa ngắn ngày.

Mẫu giống lúa P6ĐB và Kim23B có thời gian sinh trưởng sinh dưỡng ngắn nhất 60-62 ngày.

Sử dụng chỉ thị SSR đánh giá đa dạng di truyền đã thể hiện rất tốt sự tương đồng di truyền và phân biệt các mẫu giống nghiên cứu thành 2 nhóm chính *Japonica* và *Indica*, trong đó nhóm *Indica* được chia thành 4 nhóm nhỏ với hệ số di truyền 0,78. Hai mẫu giống ngắn ngày P6ĐB và Kim23B có quan hệ di truyền khá gần nhau ~ 0,86.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn sự hỗ trợ thiết bị và vật liệu từ dự án Cải tiến mẫu giống cây trồng cho miền núi và trung du phía Bắc (JICA-DCGV).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Botstein D, White RL, Skolnick M and Davis RW (1980). Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32: 314-331.
- Doyle, J.J. and Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11-15.
- IRRI (2002). Standard Evaluation of Rice. International Rice Research Institute, LosPanos, Philippines.
- McCouch S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, et. al. (2002). Development of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA research*, 9(6): 199 - 207.
- Monaco M.K., Stein J., Naithani S., Wei S., Dharmawardhana P., Kumari S., Amarasinghe V., Youens-Clark K, Thomason J, Preece J, Pasternak S, Olson A, Jiao Y, Lu Z, Bolser D, Kerhornou A, Staines D, Walts B, Wu G, D'Eustachio P, Haw R, Croft D, Kersey PJ, Stein L, Jaiswal P, Ware D (2013). Gramene 2013: comparative plant genomics resources. *Nucleic Acids Res.* PMID: 24217918.