

评述与展望

Review and Progress

转移定位野生稻优异基因的主要技术与方法

阿新祥¹, 熊华斌², 徐福荣¹, 汤翠凤¹, 张恩来¹, 杨雅云¹, 戴陆园¹

1. 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 昆明, 650223

2. 云南民族大学化学与生物技术学院, 昆明, 650031

✉ 通讯作者: luyuandai@yahoo.com.cn; ✉ 作者

分子植物育种, 2011年, 第9卷, 第11篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0011

收稿日期: 2010年08月23日

接受日期: 2011年01月11日

发表日期: 2011年02月14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:

阿新祥等, 2011, 转移定位野生稻优异基因的主要技术与方法, 分子植物育种 Vol.9 No.11 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0011)

摘要 野生稻拥有栽培稻所不具有的许多优异基因, 但要把这些基因转移到栽培稻中, 普遍存在种间杂交不实、杂种不育和遗传累赘等问题。生物技术的发展为野生稻优异基因的转移利用提供了可能和途径。本文综述了近年来转移定位野生稻优异基因的主要技术与方法, 包括胚拯救技术、体细胞融合技术、外源总DNA导入技术、异源单体附加系法、外源基因渗入系法、荧光原位杂交技术、基因组原位杂交技术、分子标记定位技术; 评价了这些技术方法的优缺点; 展望了野生稻优异基因发掘的发展前景。

关键词 野生稻; 优异基因; 转移; 定位; 生物技术, 方法

Biotechnologies and Methods Applying in Transferring and Identificating Elite Genes from Wild Rice

A Xinxiang¹, Xiong Huabin², Xu Furong¹, Tang Cuifeng¹, Zhang Enlai¹, Yang Yayun¹, Dai Luyuan¹

1. Biotechnology and Germplasm Research Institute, Yunnan Academy of Agriculture Sciences, Kunming, 650223, P.R. China

2. Chemistry and Biotechnology college, Yunnan Nationalities University, Kunming, 650031, P.R. China

✉ Corresponding author, luyuandai@yahoo.com.cn; ✉ Authors

Abstract Wild rices have many elite genes which cultivated rices do not possess. These genes would play more and more important role in development of rice production. However, there are many obstacles to transfer these good genes into cultivated rice, such as cross unfruitfulness, hybrid sterility, genetic cumbersome and so on. The development of biotechnology makes it possible and feasible to transfer and identify good genes from wild rice. The article summarized the main biotechnologies and methods applied into transferring and identificating the good genes from wild rice, which are embryo rescue, somatic fusion, exogenous total DNA introduction, Monosomic alien addition lines, alien introgression lines, fluorescence in situ hybridization, genomic in situ hybridization, molecular marker mapping, compared advantages and disadvantages of the biotechnologies and methods, and some prospect for exploring of elite genes in wild rices were put forward.

Keywords Wild rice; Elite genes; Transfer; Identify; Biotechnology; Method

研究背景

稻属(*Oryza*)分为24个物种, 包括亚洲栽培稻(*O. sativa*, AA, 2n=24) (以下简称栽培稻)和非洲栽培稻(*O. glaberrima*) 2个栽培种以及22个野生种, 共BB、BBCC、CC、CCDD、KK、HHKK、GG等10个染色体组类型(傅雪琳等, 2007)。野生稻在长期的生存竞争和自然选择下积累和保存了栽培稻不具有或已消失的许多优异基因, 如高产优质基因、CMS基因、对各种病虫害和非生物逆境的抗(耐)性基因等, 但要

把这些基因转移到栽培稻中, 普遍存在种间杂交不实、杂种不育和遗传累赘等问题。生物技术的发展为有效转移利用野生稻优异基因提供了可能和途径, 如胚培养、体细胞融合可以有效克服野稻杂交不实、杂交不亲和, 花药培养能加速后代的纯合和稳定, 原位杂交和分子生物学技术可以跟踪目标染色体或基因等。近10多年来, 利用以生物技术为代表的技术方法转移野生稻优异基因资源进展较快。表1汇总了近年来从野生稻中转移定位的优异基因。

这些基因的转移定位主要通过了克服种间生殖障碍、优异基因转移、优异基因定位三个阶段。本文拟就近10年来这三方面主要技术与方法的原理、主要步骤及其应用作一简要归纳, 并对其优缺点进行评价, 可为野生稻优异基因发掘感兴趣者或初涉野生稻研究的科研人员提供可借鉴的系统资料。

1 克服稻属种间生殖障碍的主要技术及其评价

克服种间杂交障碍, 可以采取受精前的子房内授粉, 受精后的幼胚培养、胚拯救, 体细胞融合、多倍体化和组织培养等手段。其中, 胚拯救技术和体细胞融合技术是近年来克服稻属种间生殖障碍最常用的生物技术。

1.1 胚拯救(Embryo rescue)技术

胚拯救(Embryo rescue)技术是常规远缘杂交后针对幼胚发育不良等现象而采用的一种幼胚离体培养技术, 其原理是根据植物胚的全能性, 即正常发育成熟后可直接播种生长成为完整植株。但是在远缘杂交、父母本不同倍性间杂交, 受精后由于杂种胚、胚乳和子房组织之间缺乏协调性, 导致杂种胚在早期发育阶段就败育或退化, 因此在杂交幼胚败育前进行离体培养, 即将幼嫩种胚剥离已经开始退化变坏的胚乳, 在人工培养条件下生长成植株, 包括幼胚培养、发芽、成苗和移栽等程序。Brar等(1991)分别进行了8种野生稻与栽培稻的杂交, 利用胚拯救技术获得了204株杂种植株。颜辉煌(1997)以紧穗野生稻为父本, 经幼胚离体培养, 杂种幼胚出芽后存活绿苗率为14.3%~43.8%, 将紧穗野生稻的褐飞虱抗性导入栽培稻。秦学毅等(2004)利用胚挽救技术将药用野生稻高抗褐飞虱基因转移到栽培稻中。张武汉(2006)实践证明, 幼胚拯救技术是克服远缘杂交不亲和的有效方法。刘仕琴等(2009)用长雄野生稻为父本, 泰国优质籼稻RD23为母本杂交, 通过胚挽救技术获得F₁, 再用泰国优质籼稻RD23为轮回亲本与F₁回交得到BC₆F₁群体用于红米基因分子定位。

1.2 体细胞融合(Somatic fusion)技术

体细胞融合(Somatic fusion)又称原生质体融合(Protoplast fusion)的原理是不同种植物的原生质体在人工诱导条件下融合, 所产生的杂种细胞, 即异

核体经过培养再生新壁, 分裂形成愈伤组织, 进而分化产生杂种植株。体细胞融合过程包括原生质体的制备(去细胞壁), 运用物理方法或是化学方法诱导原生质体融合, 即在人为控制的条件下获得双亲原生质体, 然后进行杂种细胞的筛选和培养, 以及杂种植株的再生与鉴定等环节, 将两物种的整套染色体融合在一起。该技术能避开有性杂交受精前的种种障碍, 形成双二倍体(amphidiploid)。Hayashi等(1989)采用电融合技术分别获得了普通野生稻、药用野生稻、紧穗野生稻和短药野生稻4种野生稻各自与栽培稻体细胞杂种植株。He (1996)通过电融合技术, 获得了宽叶野生稻与栽培稻的体细胞杂种植株。Jelodar等(1999)采用电融合技术将栽培稻台北309和一个耐盐性强的紧穗野生稻材料的原生质体融合, 获得8个无性杂合株系。Yan (2004)通过疣粒野生稻和栽培稻体细胞杂交获得抗白叶枯病植株。黄佳男等(2008)通过粳稻品种8411和疣粒野生稻的体细胞杂交获得的两个抗白叶枯病新种质SH5和SH76。Ruan等(2008)从疣粒野生稻与栽培稻经体细胞杂交途径获得新种质Y76, 并鉴定出抗白叶枯病新基因*xa32(t)*, 又将该基因定位在第12条染色体长臂上。

1.3 胚拯救技术与体细胞融合技术评价

胚拯救是近年来克服稻属远缘杂交生殖隔离中最多用的一项技术, 已经有很多成功的报道。如抗白叶枯病基因*Xa21*、*Xa27*和*Xa29(t)*; 抗稻瘟病基因*Pi9*; 抗褐稻虱*Bph10*、*bph11*、*bph12*、*Bph13(t)*、*Bph14*、*Bph15*和*Bph18(t)*等基因的定位都是先利用胚拯救技术获得杂交后代的(鄂志国和王磊, 2008)。但是由于胚自身条件各不相同, 而且影响胚生长发育的因素十分复杂, 导致不同植物胚挽救体系有很大差别, 不同野生稻杂交后胚挽救难易程度存在差异。通过体细胞融合技术, 双亲核遗传信息可以实现交流与重组, 这是其他方法所不能达到的, 但由于存在水稻原生质体的培养技术还不够完善、如非对称体细胞杂交过程中染色体消失及融合的随机性、体细胞杂种的育性低等问题。因此, 目前利用体细胞杂交技术获得野生稻优异基因的报

表 1 克隆定位的野生稻优异基因

Table 1 cloned or mapped genes from wild rices

基因或 QTLs gene or QTLs	来源 Origin	染色体组 Genome	特性 character	参考文献 Reference
<i>Xa21</i> *	长雄野生稻 <i>O. longistaminata</i>	AA	抗白叶枯病 Resistance to bacterial blight	Ronald and Tanksley, 1991; Song et al., 1995
<i>Xa23</i> *	普通野生稻 <i>O. rufipogon</i>	AA	抗白叶枯病 Resistance to bacterial blight	章琦, 2005 Zhang et al., 2005
<i>Xa27</i> *	小粒野生稻 <i>O. minuta</i>	BBCC	抗白叶枯病 Resistance to bacterial blight	Amante et al., 1992; Gu et al., 2004; Gu et al., 2005
<i>Xa29(t)</i>	药用野生稻 <i>O. officinalis</i>	CC	抗白叶枯病 Resistance to bacterial blight	谭光轩等, 2004 Tan et al., 2004
<i>Xa30(t)</i>	普通野生稻 <i>O. rufipogon</i>	AA	抗白叶枯病 Resistance to bacterial blight	王春连等, 2004; 金旭炜等, 2007 Wang et al., 2004; Jin et al., 2007
<i>xa32(t)</i>	疣粒野生稻 <i>O. meyeriana</i>	GG	抗白叶枯病 Resistance to bacterial blight	Ruan et al., 2008
<i>Xa32(t)</i>	澳洲野生稻 <i>O. australiensis</i>	EE	抗白叶枯病 Resistance to bacterial blight	郑崇珂等, 2009 Zheng et al., 2009
<i>GSV</i>	一年生野生稻 <i>O. nivara</i>	AA	抗矮缩病 Resistance to grassy stunt	钟代彬等, 2000 Zhong et al., 2000
<i>Pi9</i> *	小粒野生稻 <i>O. minuta</i>	BBCC	抗稻瘟病 Resistance to rice blast	Liu et al., 2002; Qu et al., 2006
<i>Pi40(t)</i>	澳洲野生稻 <i>O. australiensis</i>	EE	抗稻瘟病 Resistance to rice blast	Jeung et al., 2007
<i>Bph10</i>	澳洲野生稻 <i>O. australiensis</i>	EE	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Ishii et al., 1994
<i>bph11</i>	药用野生稻 <i>O. officinalis</i>	CC	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Hirabayashi and Angeles, 1998; Hirabayashi, 1999
<i>bph12</i>	药用野生稻 <i>O. officinalis</i>	CC	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Hirabayashi and Angeles, 1998; Hirabayashi, 1999
<i>Bph12(t)</i>	阔叶野生稻 <i>O. latifolia</i>	CCDD	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Yang et al., 2002
<i>Bph13(t)</i>	紧穗野生稻 <i>O. eichingeri</i>	CC	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Liu et al., 2001; Renganayaki et al., 2002
<i>Bph13(t)</i>	药用野生稻 <i>O. officinalis</i>	CC	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Renganayaki et al., 2002
<i>Bph14</i> *	药用野生稻 <i>O. officinalis</i>	CC	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Huang et al., 2001; Wand et al., 2001; Du et al., 2009
<i>Bph15</i>	药用野生稻 <i>O. officinalis</i>	CC	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Huang et al., 2001; Wand et al., 2001
<i>bph18(t)</i>	普通野生稻 <i>O. rufipogon</i>	AA	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	李容柏等, 2006 Li et al., 2006

续表 1

Continuing table 1

基因或 QTLs gene or QTLs	来源 Origin	染色体组 Genome	特性 character	参考文献 Reference
<i>Bph18(t)</i>	澳洲野生稻 <i>O. australiensis</i>	EE	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	Jena et al., 2006
<i>bph19(t)</i>	普通野生稻 <i>O. rufipogon</i>	AA	抗褐飞虱 Resistance to brown planthopper	李容柏等, 2006 Li et al., 2006
基因或 QTLs gene or QTLs QTLs	来源 Origin 普通野生稻 <i>O. rufipogon</i> 一年生野生稻 <i>O. nivara</i>	染色体组 Genome AA	特性 character 抗寒、抗旱, 产量、株高、 生育期、落粒性和品质 QTLs Controlling drought tolerance, cold tolerance, high-yield, stem height, growth stages, seed shattering, quality	参考文献 Reference Liu et al., 2003; Xiong et al., 1999; 李晨等, 2001; 周少霞, 2005; 袁玲等, 2002; Xiao et al., 1996, 1998; Moncada et al., 2001; Li et al., 2002; 陈大洲等, 2002; Reddy et al., 2007; Marri et al., 2005; Swamy and Sarla, 2008; Xie et al., 2006, 2008; Tan et al., 2008; 金亮等, 2009 Liu et al., 2003; Xiong et al., 1999; Li et al., 2001; Zhou et al., 2005; Yuan et al., 2002; Xiao et al., 1996, 1998; Moncada et al., 2001; Li et al., 2002; Chen et al., 2002; Reddy et al., 2007; Marri et al., 2005; Swamy and Sarla, 2008; Xie et al., 2006, 2008; Tan et al., 2008; Jin et al., 2009

注: *: 已克隆的基因

Note: *: The genes was cloned

2 转移野生稻优异基因的常用方法及其评价

2.1 外源总DNA导入 (Exogenous total DNA introduction) 法

外源总DNA导入 (Exogenous total DNA introduction) 技术(法)原理是以生长点细胞或种胚细胞为受体, 将供体总DNA直接导入受体, 获得转化种子。主要步骤包括: 外源总DNA的提取, 外源总DNA导入受体, 变异株选育等。外源总DNA导入有多种方法, 如注射法、花粉管通道法、浸渍法等(张武汉等, 2006)。糯稻品种桂D1号是以早粳品种中铁31为受体, 广西药用野生稻为外源DNA供体, 采用花粉管通道法育成的新品种(陈成斌, 2005)。赵炳然等(2000)利用穗茎注射法将抗稻瘟病的小粒野生稻总DNA导入到明恢63中, 选育出抗稻瘟病的恢系330。Xing等(2004)利用注射DNA法将野生稻外源DNA导入栽培稻培育出优良的新品系。孙希平等(2009)通过花粉管通道法将普通野生稻DNA导入宁夏水稻品种宁粳16号和宁粳23号中, 获得外源DNA导入系。

2.2 异源单体附加系 (Monosomic alien addition lines) 法

异源单体附加系 (Monosomic alien addition lines, MAALs) 是指将供体单个染色体附加到含有受体细胞一套完整染色体中, 其构建过程是以远缘的实验材料为亲本进行杂交, 连续回交, 选择具有外源优异性状的个体作为育种中间材料, 借助形态学标记、生化标记、细胞学标记、分子标记等遗传标记和原位杂交方法, 将后代群体中的整倍体个体之间以及与非整倍体之间相互鉴别开来, 选择具有一整套受体染色体外加一条供体异源染色体的个体, 然后诱导异位实现基因转移。在此过程中, 供体野生近缘种的染色体片段通过断裂-融合的机制对接到无同源性的受体栽培种的染色体之上。因此, 当野生稻和栽培稻的亲缘关系远, 二者染色体间不能实现配对和重组时, 异源单体附加系法是十分有效的。同时, MAALs是在一个功能背景下把基因组分散成单个染色体单位的便利方法, 每个MAALs可看作是相应一个外源染色体文库。(以上部分的体律不规范, 与前面的不一致) Jena等(1992)

以18个药用野生稻为供体与3个栽培稻品系杂交, 建立了12个MAALs。Multani等(1994)获得了8个澳洲野生稻的MAALs。Multani等(2003)利用宽叶野生稻与栽培稻优良品系杂交, 从BC₃F₁、BC₃F₂及BC₄F₁的非整倍体植株中构建了11个连锁群的MAALs。Tan等(2005)建立了一套药用野生稻完整的MAALs。蓝伟侦等(2006)用栽培稻珍秈97B与药用野生稻Hy18杂交后连续回交, 在BC₂后代中得到一个药用野生稻MAALs。

2.3外源基因渗入系(Alien introgression lines)法

外源基因渗入系(Alien introgression lines)又称渗入系(introgression lines, ILs), 其原理是利用与目标基因紧密连锁的分子标记, 直接选择在目的基因附近发生重组的遗传材料, 其过程为以远缘的实验材料为亲本, 通过回交, 结合分子标记辅助选择, 将片段导入到受体中。渗入系得到的目标片段来源于供体, 其他遗传背景与受体完全相同。与外源基因渗入系含义相同或相似的还有(单)染色体片段代换/置换系(Chromosome Segment Substitution Lines, CSSLs)、(单)染色体片段导入系(Chromosomal Segment Introgression Lines, CSILs)、单片段导入系(Single Segment Introgression Lines, SSIL)等, 在此都统一称为外源基因渗入系。Jena等(1992)首次报道获得52个药用野生稻的渗入系, Ishii等(1994)用栽培稻优良品系IR31917 45-3-2与澳洲野生稻杂交获得基因渗入系, Kurakazu等(2001)构建了以澳洲野生稻为供体基因渗入系, Brar等(1996)构建了以颗粒野生稻和短花药野生稻为供体的渗入系, Sobrizal等(1999)以栽培稻台中65为受体, 构建了展颖野生稻(*O. Glumaepatula*)为供体的渗入系, Ahn等(2002)建立了粳稻品种遗传背景下大护颖野生稻的渗入系。谭禄宾(2004)构建了以特青为遗传背景, 元江普通野生稻为供体的渗入系。基因渗入系是用于QTL鉴定、精细定位、图位克隆, 聚合育种和互作分析等的理想材料, 其构建过程就是轮回亲本得到改良的过程。

2.4三种常用转移野生稻优异基因方法评述

外源总DNA导入法在一定范围和程度上可避开栽培野杂交障碍, 突破种属界限, 有利于打破优异基因与不利基因之间的连锁累赘, 实现目的基因的

定向转移, 但由于导入的DNA片段大小不同, 含有的遗传信息不同及其与受体DNA的结合部位具有较大的随机性, 因此该法目前只在个别野生稻的研究中有所应用。异源单体附加系法虽然可用于野生稻基因的染色体定位和栽培稻遗传改良, 但构建单体异源附加系不仅要经过多代回交与选择, 染色体的识别和鉴定也非常困难, 即使构建成功, 由于多了单条染色体, 不利基因同时也被整合进来, 带来一定的连锁累赘, 不利于野生稻优异基因在育种上的利用。而外源基因渗入系, 除了导入片段外, 渗入系的遗传背景与受体亲本基本一致, 因此, 渗入系和受体亲本的任何表型差异都由渗入的片段所引起, 这为功能鉴定和遗传分析提供了良好的研究材料, 并提高了目的基因定位的准确性。因此, 外源基因渗入系法是近来野生稻基因转移最常用的方法(Elsa et al., 2007; Rahman et al., 2008; Linh et al., 2008; 赵杏娟等, 2010), 也将是今后较长一段时间内转移野生稻优异基因主要途径。

3野生稻优异基因定位中应用的生物技术

追踪外源染色体或基因可通过形态学标记、细胞学标记、生化标记、分子标记等遗传标记和原位杂交的方法。其中, 荧光原位杂交技术、基因组原位杂交技术、分子标记定位是近年来应用于跟踪和定位野生稻优异基因常用的生物技术。

3.1荧光原位杂交(Fluorescence in situ hybridization, FISH)技术

荧光原位杂交(FISH)也是一种直接进行基因定位的方法, 其原理是用已知的标记单链核酸为探针, 根据碱基互补配对的原则, 与待检样品中未知的单链核酸进行异性结合, 形成可被检测的杂交双链核酸。由于DNA分子在染色体上是沿着染色体纵轴呈线性排列, 因此探针可直接与染色体杂交, 将特定的基因定位在染色体上。FISH过程是将DNA探针用生物素和毛地黄毒苷等荧光染料标记, 然后将标记的探针与组织、细胞或染色体的DNA、RNA原位杂交, 通过荧光免疫反应检测目的DNA或RNA在组织、细胞或染色体上的位置, 并通过荧光显微镜直接观察结果。Jiang等应用FISH技术证实了Xa-21基因在染色体上的物理位置及与2个BAC克隆的连锁关系。国际水稻研究所采用FISH技术, 清

晰地检测到栽培稻与野生稻(AA×CC, AA×FF, AA×GG, AA×BBCC, AA×HHJJ, EE×HHJJ和BBCC×HHJJ)远缘杂交的染色体重组或染色体片段渗入的证据(Brar and Khush, 1997)。蓝伟侦等(2007)利用荧光原位杂交(FISH), 初步将*Bph15*基因定位了在非洲栽培稻, 药用野生稻和宽叶野生稻染色体中的相对位置。

3.2 基因组原位杂交(Genomic in situ hybridization, GISH)技术

基因组原位杂交(GISH)技术是在荧光原位杂交技术上发展起来的, 其原理与荧光原位杂交相同, 不同的是所用的探针。即以亲本之一的总基因组DNA做探针, 另一亲本的基因组DNA做封阻, 检测该亲本染色体或染色体片段在杂种中的存在状况, 对代换系、易位系和附加系进行有效的鉴定, 并对其中的外源染色体或染色体片段的来源、大小、数目及发生位点进行检测和定位。GISH主要步骤为染色体制片、基因组DNA的提取与标记、原位杂交、原位杂交信号的荧光检测及图像分析。蓝伟侦等(2006)用生物素标记的药用野生稻总DNA作为探针, 未标记的栽培稻总DNA封阻, 对其药用野生稻单体附加系减数分裂染色体进行基因组原位杂交, 将来源于药用野生稻的一条染色体与栽培稻的染色体清楚地区分开来, 证实GISH技术在水稻远缘杂交育种中是最准确有效的染色体鉴定方法, 在水稻育种改良中具有重要应用前景。应用这一技术也可对杂交种中染色体组的组成进行分析、基因组组成及起源, 多倍体中基因组之间的亲缘关系进行研究。Yi等(2007)应用GISH技术, 证明了小粒野生稻(BBCC)与栽培稻(AA)的天然杂交种由A、B和C三个染色体组组成。覃瑞等(2009)利用GISH和C0t-1DNA-FISH对稻属B、C、G基因组的比较分析, 结果表明: G基因组和B、C基因组之间的关系都比较远。

3.3 分子标记定位(Molecular marker mapping)技术

分子标记定位(molecular marker mapping)的原理是, 通过杂交、回交等导入目标性状基因的过程中, 与目标性状基因连锁的分子标记也将随之进入子代中, 该标记与目标基因之间就会有一定程度的共分离, 因此借助于该标记来定位目标基因。分子

标记定位优越之处, 是分子标记共显性, 稳定性好, 可靠等。近年来主要是利用分子标记构建高密度连锁遗传图谱, 通过重组值来估计标记与性状的连锁关系及其遗传距离, 应用多个标记与性状的连锁分析, 将控制某性状的基因准确的定位在某两个确定的标记间的精确座位上。Jena等(1992)利用分子标记将褐稻虱和白背飞虱的抗性基因定位于药用野生稻第6染色体上。Multani等(1994)利用分子标记将白叶枯病和褐稻虱的抗性基因定位于澳洲野生稻第12染色体上。Brar等(1996)利用RFLP分子标记分别检测颗粒野生稻和短花药野生稻的片段渗入到受体栽培稻染色体的第6、11染色体和第6、7、9、11染色体上。Chee等(2002)用SSR标记检测到小粒野生稻渗入到栽培稻中的片段。Ahn等(2002)利用RAPD分子标记检测到大幅野生稻渗入系中有8个片段渗入, 并通过SSR分子标记将渗入片段定位于染色体上。目前利用分子标记定位技术至少已定位了21个来自野生稻的抗病、抗虫等质量性状的主基因(表1)。作物许多重要农艺性状, 如产量、生育期、品质等均属于数量性状, 对控制数量性状的基因数量性状位点(quantitative trait loci, QTL)基因的定位较控制质量性状基因定位困难, 目前QTL定位主要是以标记基因型为依据, 对分离群体进行分组, 通过比较不同基因型间目标性状的差异显著性, 来推断影响该性状的基因与标记位点的连锁关系, 已定位了一批来源于普通野生稻有关抗寒、抗旱、高产、株高、生育期、落粒性和品质有关的部分QTLs(表1)。

3.4 三种基因定位技术的比较

FISH技术检测时间短, 无污染, 检测灵敏度高, 已广泛应用于染色体的鉴定、基因定位和异常染色体检测等领域, 但其必须在已知探针的情况下方可进行。GISH技术是在FISH技术上发展起来的, 能检测亲本染色体或染色体片段在杂种中的存在状况, 还可对易位系、代换系和附加系进行有效的鉴定, 而且可对易位、代换、附加的染色体或染色体片段的来源、大小、数目及发生位点进行分析。分子标记可以在全生育期中鉴定目标基因的存在与否并明确其究竟是以纯合还是杂合体方式存在, 并能对某一特定DNA区域内的目的基因进行定位, 能获得目的基因, 用于种间或种内转移, 也是分子标记应用

于育种、创造新材料的手段。

外源基因一旦被定位后就可通过分子标记分离并克隆, 野生稻基因克隆最常用的方法是图位克隆(map-based cloning)法。来源于长雄蕊野生稻的广谱抗白叶枯病基因*Xa-21*就是利用图位克隆出来的第一个基因, 目前利用该法已克隆5个来源于野生稻的抗性基因; 对控制数量性状的基因数量性状位点(QTL)基因的克隆较质量性状基因克隆更为困难, 因为QTL的准确位置较难限定, 但一旦控制目标性状的某个QTL被确定为单个孟德尔因子后, 下一步的工作就与主基因没有太大的区别。这些抗性基因和QTL基因将在水稻育种中发挥重要的作用。

4展望

胚拯救是近年来克服稻属远缘杂交生殖隔离中最多用的一项技术因此, 但是不同基因组型野生稻与栽培稻杂交后胚挽救难易程度不同, 杂种胚挽救体系也难以程序化, 成功率存在差异。因此, 今后仍旧有必要进行野生稻种间杂种不育性的表现及机理方面的研究, 探索栽培稻与野生稻种间杂交障碍的普遍规律和遗传本质, 提高不同染色体组型野生稻与栽培稻杂交的结实率。外源基因渗入系是近几年来逐渐发展并日趋成熟的一种育种新方法, 由于其具有渗入片段单一性、渗入片段稳定性、渗入片段可分割性的特点, 因此在目标基因或QTL的回交转育、QTL的精细定位、有利基因或QTL的聚合、QTL与环境互作及QTL间互作的研究等方面具有诸多优势, 它将在今后野生稻优异基因转移中发挥更重要的作用。原位杂交和分子标记为有效评价、快速发掘野生稻优异基因提供了技术保障。但也各有不足之处, 如GISH被检植物的种类和范围、分辨率和灵敏度都有限, 虽然GISH能方便直观地检测出外源染色体及外源染色体的数目, 但却难以确定被替代的是哪条同源染色体, 与分子标记技术相结合可解决这一问题; 而分子标记是在核酸或蛋白质分子的电泳图谱上进行检测分析, 未能直观地将所转化的基因在染色体上的位置显示出来, 染色体原位杂交技术却能弥补这一不足。因此, 通过有性或体细胞杂交、胚拯救、回交等建立野生稻为供体的渗入系, 将优异基因转移到栽培稻中, 结合应用基因组原位杂交和分子标记来进行外源基因鉴定, 辅助选择, 定位后进行克隆, 转育利用是当前和今

后较长一段时间里开展转移利用野生稻资源的主要途径, 但其周期长, 需要较大的人力物力, 各环节的技术对不同基因组型的野生稻难易程度不同, 成功率存在差异。

野生稻具有许多优良的特性, 包括抗病虫、耐盐碱、耐寒、耐旱、胞质雄性不育、广亲和、耐荫、大柱头、高生物产量等(Khush and Brar, 2001; 汤圣祥等, 2008), 但由表1可看出目前育种上利用的优良性状主要是对白叶枯病、稻瘟病、褐飞虱等病虫的抗性, 且非AA型野生稻也仅限于小粒野生稻、药用野生稻、澳洲野生稻和紧穗野生稻等少数基因资源在育种上得到利用, 而非AA型野生稻资源遗传多样性丰富, 仍有大量的优异基因资源值得挖掘利用。因此, 发掘野生稻基因宝库期待新的技术策略, 迫切需要寻求一种简便、有效的高通量技术与方法来研究利用野生稻优异基因。野生稻与栽培稻大多数序列同源, 水稻基因组的成功测序和比较基因组学的发展, 无疑将加快野生稻优异基因的评价和利用的步伐。目前, 美国正在进行野生稻种全基因组测序项目(<http://www.omap.org>), 目的建立一个宽广的野生稻种全基因组图谱, 我国中科院昆明植物研究所高立志研究员带领的团队也已完成普通野生稻全基因组框架图谱, 并正在进行精细图谱的进一步绘制(http://www.stdaily.com/kjrb/content/2010-09/03/content_226051.htm)。这些项目的实施必将推动野生稻优异基因的发掘利用。基于现有技术和新技术相结合, 相信将来会有更多的野生稻优异基因应用到稻种生产中来。

作者贡献

阿新祥是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 熊华斌参与实验设计, 试验结果分析; 戴陆园是项目的负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金(30460065)和云南省自然科学基金(2007C233M)资助。

参考文献

- Ahn S.N., Kwon S.T., and Suh J.P., 2002, Mapping of quantitative trait loci related to agronomic traits in backcross progenies from *Oryza sativa/O. grandiglumis*//


- international rice congress abstract. beijing: chinese academy of engineering, state development and planning commission, china, Chinese Academy of Agricultural Sciences, and International Rice Research Institute: 269
- Ballini E., Berruyer R., Morel J.B., Lebrun M.H., Nottéghem J.L., and Tharreau D., 2007, Tharreau Modern elite rice varieties of the “Green Revolution” have retained a large introgression from wild rice around the *Pi33* rice blast resistance locus, *New Phytologist*, 175(2): 340-350
- Bordeos A.A., Sitch L.A., Nelson R., Dalmacio R.D., Oliva N.P., Aswidinnoor H., and Leung H., 1992, Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa*, *Theor. Appl. Genet.*, 84(3-4): 345-354
- Brar D.S., and Khush G.S., 1997, Alien introgression in rice, *Plant Mol. Biol.*, 35: 35-47
- Brar D.S., Dalmacio R., Elloran R., Aggarwal R., Angeles R., and Khush G.S., 1996, Gene transfer and molecular characterization of introgression from wild *Oryza* species into rice//Khush G.S., *Rice Genetics III*, Manila, Philippines: IRRI, 477-486
- Brar D.S., Elloran R., and Khush G.S., 1991, Interspecific hybrids produced through embryo rescue between cultivated and eight wild species of rice, *Rice Genetics Newsletter*, (8): 91-93
- Chee F.T., Mariam A.L., Brar D.S., and Khush G.S., 2002, Molecular characterization of introgression from tetraploid wild species *Oryza minutainto* cultivated rice using microsatellite markers//international rice congress abstract, beijing: chinese academy of engineering, State Development and Planning Commission, China, Chinese Academy of Agricultural Sciences, and International Rice Research Institute : 272
- Chen D.Z., Zhong P.A., Xiao Y.Q., Huang Y.J., and Xie J.K., 2002, Identification of QTLs for cold tolerance at seedling stage in Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) by SSR markers, *Jiangxi Nongye Daxue Xuebao (Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis (Natural Science Edition))*, 24(6): 754-756 (陈大洲, 钟平安, 肖叶青, 黄英金, 谢建坤, 2002, 利用SSR标记定位东乡野生稻苗期耐冷性基因, *江西农业大学学报(自然科学版)*, 24(6): 754-756)
- Cheng C.B., ed., 2005, Research of wild rice resources in Guangxi, Ethnic press of Guangxi, Nanning, Guangxi, pp.175-183 (陈成斌, 编著, 2005, 广西野生稻资源研究, 广西民族出版社, 广西, 南宁, pp.175-183)
- Du B., Zhang W.L., Liu B.F., Hu J., Wei Z., Shi Z.Y., He R.F., Zhu L.L., Chen R.Z., Han B., and He G.C., 2009, Identification and characterization of Bph14, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA (Pans)* Dec 29; 106(52): 22163-8
- E Z.G., and Wang L., 2008, Discovery and utilization of favorable genes in wild rice, *Yichuan (Hereditas)*, 30(11): 1397-1405 (鄂志国, 王磊, 2008, 野生稻有利基因的发掘和利用, *遗传*, 30(11): 1397-1405)
- Fu X.Y., Lu Y.G., Liu X.D., and Li J.Q., 2007, Progress on Transferring eite genes from non-AA genome wild Rice into *Oryza sativa* through interspecific hybridization, *Zhongguo Shuidao Kexue (Chinese J. Rice Sci.)*, 21(6): 559-566 (傅雪琳, 卢永根, 刘向东, 李金泉, 2007, 利用种间杂交途径向栽培稻转移非AA组野生稻有利基因的研究进展, *中国水稻科学*, 21(6): 559-566)
- Gu K., Tian D., Yang F., Wu L., Sreekala C., Wang D., Wang G.L., and Yin Z., 2004, High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L., *Theor. Appl. Genet.*, 108(5): 800-807
- Gu K., Yang B., Tian D., Wu L., Wang D., Sreekala C., Yang F., Chu Z., Wang G.L., White F.F., and Yin Z., 2005, R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice, *Nature*, 435(7045): 1122-1125
- Hayashi Y., Kyozyuka J., and Shimamoto K., 1989, Hybrid of rice (*O. sativa* L.) and wild *Oryza* species detained by cell fusion, *Mol. Gen. Genet.*, 214: 6-10
- He G.C., 1996, Plant regeneration from protoplasts of wild rice *Oryza meyeriana*, *Abstracts of 2ndAsia-Pacific conference on plant cell and tissue culture, Beijing*: 76
- Hirabayashi H., 1999, RFLP analysis of a new gene for resistance to brown planthopper derived from *O. officinalis* on rice chromosome 4, *Breed. Res.*, 49(S1): 48
- Hirabayashi H., and Angeles E.R., 1998, Identification of the brown planthopper resistance gene derived from *O. officinalis* using molecular markers in rice, *Breed. Sci.*, 48(S1): 82
- Huang J.N., Wang C.C., Hu H.T., Ma B.J., Yan C.Q., and Yang L., 2008, Primary identification of a new resistance gene to bacterial blight from *Oryza meyeriana*, *Zhongguo Shuidao Kexue (Chinese J. Rice Sci.)*, 22(1): 33-37 (黄佳男, 王长春, 胡海涛, 马伯军, 严成其, 杨玲, 2008, 疣粒野生稻抗白叶枯病新基因的初步鉴定, *中国水稻科学*, 22(1): 33-37)
- Huang Z., He G.C., Shu L.H., Li X.H., and Zhang Q.F., 2001, Identification and mapping of two brown planthopper

- resistance genes in rice, *Theor. Appl. Genet.*, 102(6-7): 929-934
- Ishii T., Brar D.S., Multani D.S., and Khush G.S., 1994, Molecular tagging of genes for brown planthopper resistance and earliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice, *O. sativa*, *Genome*, 37(2): 217-221
- Jelodar N.B., Blackhall N.W., Hartman T.P.V., Brar D.S., Khush G., Davey M.R., Cocking E.C., and Power J.B., 1999, Intergeneric somatic hybrids of rice (*O. sativa* L. (+) *Porteresia coarctata* T), *Theor. Appl. Genet.*, 99: 570-577
- Jena K.K., Khush G.S., and Kochert G., 1992, RFLP analysis of rice (*Oryza sativa* L.) introgression lines, *Theor. Appl. Genet.*, 84: 608-616
- Jena K.K., Jeung J.U., Lee J.H., Choi H.C., and Brar D.S., 2006, High resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.), *Theor. Appl. Genet.*, 112(2): 288-297
- Jeung J.U., Kim B.R., Cho Y.C., Han S.S., Moon H.P., Lee Y.T., and Jena K.K., 2007, A novel gene, *Pi40(t)*, linked to the DNA markers derived from NBS-LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance in rice, *Theor. Appl. Genet.*, 115(8): 1163-1177
- Jin L., Lu Y., and Bao J.S., 2009, Progress on the mapping and cloning of seed shattering genes in rice, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 7(2): 393-397 (金亮, 卢艳, 包劲松, 2009, 水稻落粒性基因定位与克隆研究进展, 分子植物育种, 7(2): 393-397)
- Jin X.W., Wang C.L., Yang Q., Jiang Q.X., Fan Y.L., Liu G.C., and Zhao K.J., 2007, Breeding of near-isogenic Line CBB30 and molecular mapping of *Xa30(t)*, a new resistance gene to bacterial blight in rice, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultural Sinica)* 40(6): 1094-1100 (金旭炜, 王春连, 杨清, 江祺祥, 樊颖伦, 刘古春, 赵开军, 2007, 水稻抗白叶枯病近等基因系CBB30的培育及*Xa30(t)*的初步定位, 中国农业科学, 40(6): 1094-1100)
- Khush G.S., and Brar D.S., 2001, Rice genetics from Mendel to functional genomics, In: *Rice Genetics IV*. IRRI, Los Banos, Philippines, 3-5
- Kurakzu T., Sobrizal, Ikeda K., Sanchez P. L., Doi K., Angeles E.R., Khush G.S., and Yoshimura A., 2001, *Oryza meridionalis* chromosomal segment introgression lines in cultivated rice, *O. sativa* L. [J], *Rice Genet News*, 18: 81-82
- Lan W.Z., Li G., He G.C., Wu S.J., Liu Z., and Qin R., 2006, Analyses of a *O. Officinalis* monosomic alien addition line in meiosis with GISH, *Zhongnan Minzu daxue Xuebao (Journal of South-Central University for Nationalities (Natural Science Edition))*, 25(1): 28-31 (蓝伟侦, 李刚, 何光存, 吴士筠, 刘钊, 覃瑞, 2006, 一个药用野生稻异源单体附加系在减数分裂时期的GISH分析鉴定, 中南民族大学学报(自然科学版), 25(1): 28-31)
- Lan W.Z., Liu Z.S., Li G., and Qin R., 2007, Comparative Physical Mapping of Bph15 with BAC-FISH in *O. glaberrima*, *O. officinalis*, and *O. latifolia*, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 2007, 33(4): 560-565 (蓝伟侦, 柳哲胜, 李刚, 覃瑞, 2007, Bph15在非洲栽培稻、药用野生稻和宽叶野生稻中的BAC-FISH比较物理定位, 作物学报, 33(4): 560-565)
- Li C., Sun C.Q., Mu P., Chen L., and Wang X.K., 2001, QTL Analysis of Anther length and ratio of stigma exertion, two key traits of classification for cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and common wild rice (*O. rufipogon* Griff.), *Yichuan Xuebao (Acta Genetica Sinica)*, 28(8): 746-751 (李晨, 孙传清, 穆平, 陈亮, 王象坤, 2001, 栽培稻与普通野生稻两个重要分类性状花药长度和柱头外露率的QTL分析, 遗传学报, 28(8): 746-751)
- Li D.J., Sun C.Q., Fu Y.C., Li I.C., Zhu Z.F., Chen L., Cai H. W., and Wang X. K., 2002, Identification and mapping of genes for improving yield from Chinese common wild rice (*O. rufipogon* Griff.) using advanced backcross QTL analysis. *Chin. Sci. Bull.*, 47(18): 1533-1577
- Li R.B., Li L.S., Wei S.M., Wei Y.P., Chen Y.Z., Bai D.L., Yang L., Huang F.K., Lü W. L., Zhang X.J., Li X.Y., Yang X.Q., and Wei Y.W., 2006, Evaluation and utilization of new genes for brown planthopper resistance in common wild rice, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 4(3): 365-375 (李容柏, 李丽淑, 韦素美, 韦燕萍, 陈英之, 白德朗, 杨朗, 黄凤宽, 吕维莉, 张向军, 李小勇, 杨新庆, 魏源文, 2006, 普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)抗稻褐飞虱新基因的鉴定与利用, 分子植物育种, 4(3): 365-375)
- Linh L.H., Hang N.T., and Jin F.X., 2008, Introgression of a quantitative trait locus for spikelets per panicle from *Oryza minuta* to the *O.sativa* cultivar Hwaseongbyeo, *Plant Breeding*, 127(3): 262-267
- Liu F.X., Sun C.Q., Tan L.B., Fu Y.C., Li D.J., and Wang X.K., 2003, Identification and mapping of quantitative trait loci controlling cold-tolerance of Chinese common wild rice (*O. rufipogon* Griff.) at booting to flowering stages, *Chin. Sci. Bull.*, 48(19): 2068-2071
- Liu G., Lu G., Zeng L., and Wang G.L., 2002, Two broad-spectrum

- blast resistance genes, *Pi9(t)* and *Pi2(t)*, are physically linked on rice chromosome 6, *Mol. Genet. Genomics*, 267(4): 472-480
- Liu G.Q., Yan H.H., Fu Q., Qian Q., Zhang Z.t., Zhai W.X., and Zhu L.H., 2001, Mapping of a new gene for brown planthopper resistance in cultivated rice introgressed from *Oryza eichingeri*, *Chin. Sci. Bull.*, 46(17): 1459-1462
- Liu S.Q., Zhou J.W., Li J., Xu P., Deng X.N., Hu F.Y., Wang L., and Tao D.Y., 2009, Genetic analysis and molecular mapping of red pericarp gene in *Oryza longistaminata*, *Journal of Yunnan Agricultural University*, 24(3): 336-339 (刘仕琴, 周家武, 李静, 徐鹏, 邓先能, 胡凤益, 王荔, 陶大云, 2009, 长雄野生稻红米基因的发掘定位研究, 云南农业大学学报, 24(3): 336-339)
- Marri P.R., Sarla N., Reddy V.L.N., and Siddiq E.A., 2005, Identifying of yield and yield related QTL from an Indian accession of *O.rufipogon*, *BMC Genet*; 6: 33
- Moncada P., Martinez C.P., Borrero J., Chatel M., Gauch-Jr H., Guimaraes E., Tohme J., and McCouch S.R., 2001, Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* × *Oryza rufipogon* BC₂F₂ population evaluated in an upland environment, *Theor. Appl. Genet.*, 102(1): 41-52
- Multani D.S., Khush G.S., and Reys B.G., 2003, Alien genes introgression and development of monosomic alien addition lines from *Oryza latifoli* Desv to rice, *Oryza sativa* L., *Theor. Appl. Genet.*, 107: 395-405
- Multani D.S., Jena K.K., and Brar D.S., 1994, Development of monosomic alien addition lines and introgression of genes from *Oryza australiensis* Domin to cultivated rice of *O. sativa* L., *Theor. Appl. Genet.*, 88: 102-109
- Qin R., Ma Q., Wang D.B., and Wu Q., 2009, Comparative analysis of B,C,G genome in *Oryza* with C0t-1DNA-FISH and GISH. *Zhongnan Minzu daxue Xuebao (Journal of South-Central University for Nationalities (Nat. Sci. Edition))*, 28(2): 31-35 (覃瑞, 马骞, 王德彬, 吴绮, 2009, 利用GISH和C0t-1DNA-FISH对稻属B,C,G基因组的比较分析, 中南民族大学学报(自然科学版), 28(2): 31-35)
- Qin X.Y., Zhu R.C., Wei S.M., Wu B., Huang F.K., Li D.Y., and Tang J.H., 2004, Technique for utilization and identification of resistance to brown planthopper in *Oryza officinalis*, *Zhongguo Shuidao Kexue (Chinese J. Rice Sci.)*, 18(6): 573-576 (秦学毅, 朱汝财, 韦素美, 武波, 黄凤宽, 李道远, 唐建淮, 2004, 药用野生稻抗稻褐飞虱鉴定与利用技术研究, 中国水稻科学, 18(6): 573-576)
- Qu S.H., Liu G.F., Zhou B., Bellizzi M., Zeng L.R., Dai L.Y., Han B., and Wang G.L., 2006, The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice, *Genetics*, 172(3): 1901-1914
- Rahman L., Khanam M.S., and Koh H.J., 2008, QTL Analysis for Yield Related Traits Using Populations Derived from an indica-japonica Hybrid in Rice (*Oryza sativa* L.), *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 44(3): 93-104
- Reddy C.S., Babu A.P., Swamy B.P.M., and Sarla N., 2007, Insight into genes underlying yield enhancing QTLs from *O. rufipogon*, *Rice Genet Newsl*, 23: 53-55
- Renganayaki K., Fritz A.K., Sadasivam S., Pammi S., Harrington S.E., McCouch S.R., Kumar S.M., and Reddy A.S., 2002, Mapping and progress toward map-based cloning of brown planthopper biotype-4 resistance gene introgressed from *Oryza officinalis* into cultivated rice, *O. sativa*, *Crop Sci.*, 42(6): 2112-2117
- Ronald P.C., and Tanksley S.D., 1991, Genetic and physical mapping of the bacterial blight resistance gene *Xa-21*. *Rice Genet Newsl*, 8: 142-143
- Ruan H.H., Yan C.Q., An D.R., Liu R.H., and Chen J.P., 2008, Identifying and mapping new gene *xa32(t)* for resistance to bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, Xoo) from *Oryza meyeriana* L, Xibei Nonye Xuebao (*Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*), 17(6): 170-174 (阮辉辉, 严成其, 安德荣, 刘仁虎, 陈剑平, 2008, 疣粒野生稻抗白叶枯病新基因 $xa32(t)$ 的鉴定及其分子标记定位, 西北农业学报, 17(6): 170-174)
- Sobrizal, Ikeda K., Sanchez P.L., Doi K., Angelese R., Khush G.S., and Yosimua A., 1999, Development of *Oryza glumaepatula* introgression lines in rice, *O. sativa* L. [J]. *Rice Genet News*, 16: 107-108
- Song W.Y., Wang G.L., Chen L.L., Kim H.S., Pi L.Y., Holsten T., Gardner J., Wang B., Zhai W.X., Zhu L.H., Claude F., and Pamela R., 1995, A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*, *Science*, 270: 1804-1806
- Sun X.P., Liu Z.S., Li S.H., Yang Q.W., and Zhang W.X., 2009, Genetic variation of pollen-tube transferred lines of cultivated rice with *Oryza rufipogon* DNA, *Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources)*, 10(2): 267-271 (孙希平, 柳哲胜, 李树华, 杨庆文, 张万霞, 2009, 普通野生稻(*Oryza rufipogon*) DNA导入栽培稻后代主要性状的遗传变异, 植物遗传资源学报, 10(2): 267-271)
- Swamy B.P., and Sarla N., 2008, Yield-enhancing quantitative trait loci (QTLs) from wild species, *Biotechnology*

- Advances, 26: 106-120
- Tan G.X., Jin H.J., Li G., He R.F., Zhu L.L., and He G.C., 2005, Production and characterization of a complete set of individual chromosome additions from *Oryza officinalis* to *Oryza sativa* using RFLP and GISH analyses, *Theor. Appl. Genet.*, 111:1585-1595
- Tan G.X., Jin H.J., Li G., He R.F., Zhu L.L., and He G.C., 2005, Production and characterization of a complete set of individual chromosome additions from *Oryza officinalis* to *Oryza sativa* using RFLP and GISH analyses, *Theor. Appl. Genet.*, 111: 1585-1595
- Tan G.X., Ren X., Weng Q.M., Shi Z.Y., Zhu L.L., and He G.C., 2004, Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *Oryza officinalis*, *Yichuan Xuebao (Acta. Genetic Sinica)*, 1(7): 724-729 (谭光轩, 任翔, 翁清妹, 时振英, 祝莉莉, 何光存, 2004, 药用野生稻转育后代一个抗白叶枯病新基因的定位, *遗传学报*, 31(7): 724-729)
- Tan L.B., 2004, Development of introgression lines of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) from Yanjiang in Yunnan province and identification of genetic factors controlling the domestication-related traits of rice, Thesis for M.S., China Agricultural University CAU, Supervisor: Sun C.Q., pp.36-43 (谭禄宾, 2004, 云南元江普通野生稻渗入系的构建及野栽分化性状的基因定位, 硕士学位论文, 中国农业大学, 导师: 孙传清, pp.36-43)
- Tan L.B., Zhang P.J., and Liu F. X., 2008, Quantitative trait loci underlying domestication and yield-related traits in an *Oryza sativa* x *Oryza rufipogon* advanced backcross population. *Genome*, 51(9): 692-704
- Tang S.X., Wei X.H., Xu Q., 2008, Progress of evaluation and utilization of wild rice resources Abroad, *Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources)*, 9(2): 223-229 (汤圣祥, 魏兴华, 徐群, 2008, 国外对野生稻资源的评价和利用进展, *植物遗传资源学报* 9(2): 223-229)
- Wang B.N., Huang Z., Shu L.H., Ren X., Li X.H., and He G.C., 2001, Mapping of two new brown planthopper resistance genes from wild rice, *Chin. Sci. Bull.*, 46(13): 1092-1096
- Wang C.L., Zhao B.Y., Zhang Q., Zhao K.J., and Xin Q.D., 2004, Identification of a new rice germplasm with resistance to bacterial blight and the breeding of a near-isogenic line, *Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources)* 5(1): 26-30 (王春连, 赵炳宇, 章琦, 赵开军, 邢全党, 2004, 水稻白叶枯病新抗源Y238的鉴定及其等基因系培育, *植物遗传资源学报*, 5(1): 26-30)
- Xiao J.H., Grandillo S., Ahn S.N., McCouch S.R., Tanksley S.D., Li J.M., and Yuan L.P., 1996, Genes from wild rice improve yield, *Nature*, 384: 223-224
- Xiao J.H., Li J.M., Grandillo S., Ahn S.N., Yuan L.P., Tanksley S.D., and McCouch S.R. 1998, Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*, *Genetics*, 150(2): 899-909
- Xie X.B., Song M.H., Jin F.X., Ahn S.N., Suh J.P., Hwang H.G. and McCouch S.R., 2006, Finemapping of a grain weight quantitative trait locus on rice chromosome 8 using near-isogenic lines derived from a cross between *Oryza sativa* and *Oryza rufipogon*. *Theor. Appl. Genet.*, 113: 885-94
- Xie, X.B., Jin F.X., and Song M. H., 2008, Fine mapping of a yield-enhancing QTL cluster associated with transgressive variation in an *Oryza sativa* x *Oryza rufipogon* cross, *Theor. Appl. Genet.*, 116(5): 613-622
- Xing Q.H., Zhao B.R., Xu K., Yang H.H., Liu X., Wang S.W., Jin D.M., Yuan L. P., and Wang B., 2004, Test of agronomic characteristics and amplified fragment length polymorphism analysis of new rice germplasm developed from transformation of genomic DNA of distant relatives, *Plant Mol. Biol. Rep.*, 22: 155-164
- Xiong L.Z., Liu K.D., Dai X.K., Xu C.G., and Zhang Q.F., 1999, Identification of genetic factors controlling domestication-related traits of rice using an F₂ population of a cross between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*. *Theor. Appl. Genet.*, 98(2): 243-251
- Yan C.Q., Qian K.X., Yan Q.S., Zhang X.Q., Xue G.P., Huang W. G., Wu Y.F., Zhao Y.Z., Xue Z.Y., Huang J., Xu G.Z., and Wu P., 2004, Use of asymmetric somatic hybridization for transfer of the bacterial blight resistance trait from *Oryza meyeriana* L. To *O. sativa* L. ssp. *japonica*, *Plant Cell Rep.*, 22(8): 569-575
- Yan H.H., Xiong Z.M., Min S.K., Hu H.Y., Zhang Z.T., Tian S.L., and Tang S.X., 1997, The Transfer of Brown Planthopper Resistance from *Oryza eichingeri* to *O. sativa*, *Yichuan Xuebao (Acta Genetic Sinica)*, 24(5):424-431 (颜辉煌, 熊振民, 闵绍楷, 胡慧英, 张志涛, 田淑兰, 汤圣祥. 1997, 紫穗野生稻的褐飞虱抗性导入栽培稻的研究, *遗传学报*, 24(5): 424-431)
- Yang H.Y., Ren X., Weng Q.M., Zhu L.L., and He G.C., 2002, Molecular mapping and genetic analysis of a rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) resistance gene, *Heredities*, 136(1): 39-43
- Yi C.D., Liang G. H., Gong Z. Y., Yang S.Z., Yan C.J., and Gu

- M.H., 2007, Molecular cytogenetic analysis of a spontaneous interspecific hybrid between *Oryza sativa* and *Oryza minula*, Chinese J. Rice Sci., 21(3): 223-227
- Yuan L., Zhu L.L., and He G.Q., 2002, Localization of genes controlling rice quality traits with SSR Markers, Wuhan Daxue Xuebao (Journal of Wuhan University (Natural Science Edition)), 48(4): 507-510 (袁玲, 祝莉莉, 何光存, 2002, 稻米品质性状基因的SSR标记定位, 武汉大学学报(理学版), 48(4): 507-510)
- Zhang Q., 2005, Highlights in identification and application of resistance genes to bacterial blight, Zhoanguo Shuidao Kexue (Chinese J. Rice Sci.) 19(5): 453-459 (章琦, 2005, 水稻白叶枯病抗性基因鉴定进展及其利用, 中国水稻科学, 19(5): 453-459)
- Zhang W.H., He Q., Shu F., and Deng H.F., 2006, Progress of utilizing non-AA wild rice resources in rice breeding Zajiao Shuidao (Hybrid Rice) 21(5): 1-7 (张武汉, 何强, 舒服, 邓华凤, 2006, 非AA型野生稻资源在水稻育种中的利用, 杂交水稻, 21(5): 1-7)
- Zhao B.R., Jia J.H., Yang H.H., Li C.Y., Zhan Q.C., Wang B., Zhou K. L., and Yuan L.P., 2000, RAPD analysis of new rice strains developed through the method of spikestalk injecting DNA from wild relative, Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica), 26(4): 424-430 (赵炳然, 贾建航, 阳和华, 李传友, 詹庆才, 王斌, 周坤炉, 袁隆平, 2000, 水稻孕穗期茎注射野生稻DNA变异株系的RAPD分析, 作物学报, 26(4): 424-430)
- Zhao X.J., Liu X.D., Li J.Q., and Lu Y.G., 2010, Construction of single segment substitution lines in rice by using Gaozhou common wild rice (*Oryza rufipogon*) as donor parent, Zhoanguo Shuidao Kexue (Chinese J. Rice Sci.) 24(2): 210-214 (赵杏娟, 刘向东, 李金泉, 卢永根, 2010, 以广东高州普通野生稻为供体亲本的水稻单片段代换系构建, 中国水稻科学, 24(2): 210-214)
- Zheng C.K., Wang C.L., Yu Y.J., Liang Y.T., and Zhao K.J., 2009, Identification and molecular mapping of *Xa32(t)*, a novel resistance gene for bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) in rice, Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica) 35(7): 1173-1180 (郑崇珂, 王春连, 于元杰, 梁云涛, 赵开军, 2009, 水稻抗白叶枯病新基因 $Xa32(t)$ 的鉴定和初步定位, 作物学报, 35(7): 1173-1180)
- Zhong D.B., Luo L.J., and Ying C.S., 2000, Advances on transferring elite gene from wild rice species into cultivated rice Zhoanguo Shuidao Kexue (Chinese J. Rice Sci.), 14(2): 103-106 (钟代彬, 罗利军, 应存山, 2000, 野生稻有利基因转移研究进展, 中国水稻科学, 14(2): 103-106)
- Zhou S.X., 2005, Development of drought tolerance introgression lines of common wild rice (*O. rufipogon* Griff.) from Dongxiang in Jiangxi province and QTL mapping of drought tolerance, (Master's Thesis), China Agricultural University (周少霞, 2005, 江西东乡普通野生稻抗旱渗入系的构建及抗旱基因定位, 硕士学位论文, 北京: 中国农业大学, 导师: 孙传清, pp.16-31)

 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>