

分子标记辅助选择及其在水稻育种中应用与展望

王 麒

(黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 随着现代分子生物学的迅速发展, 分子标记辅助选择技术给水稻育种提供了新的途径, 加强分子标记辅助选择技术在水稻育种上的应用研究具有重要的实践意义。综述了分子标记辅助选择的特点, 重点介绍了分子标记辅助选择在水稻育种上的利用现状, 主要包括质量性状改良、数量性状改良、回交育种、基因聚合等方面的应用进展, 同时讨论了该技术存在的问题以及发展前景和展望。

关键词: 分子标记辅助选择; 水稻; 育种

中图分类号: S511 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)01-0140-04

Application and Potential Prospects of Molecular Marker-assisted Selection in Rice Breeding

WANG Qi

(Crop Tillage and Cultivation Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: With the rapid development of the modern molecular biology, the molecular marker-assisted selection (MAS) technology provided a new method for rice breeding. To intensify the application of MAS was greatly significant in rice breeding. In this essay, we summarized the characteristics of molecular marker-assisted selection, focused on improving qualitative and quantitative characters, backcross breeding and gene polymerization. At the same time the problems and potential prospects of molecular marker-assisted selection have also been discussed.

Key words: molecular marker-assisted selection; rice; breeding

作物育种有赖于作物的遗传变异及利用恰当的选择方式改良作物的性状, 以适应消费者的需要^[1]。在这一过程中, 选择是最重要的环节之一。传统的育种方法主要是依据作物在田间的表现进行评价和选择, 即通过表型间接对基因型进行选择, 要求有丰富的育种经验及长达数年的时间^[2]。另外, 对一些数量性状(如产量、品质性状)的直接选择还受到许多条件的限制, 因此, 如何提高选择效率, 减少育种过程中的盲目性成为进一步拓展品种生产力的关键^[3]。

分子标记辅助选择育种作为水稻分子育种的主要应用技术之一, 国内外对分子标记辅助选择育种做了很多有益的尝试。其应用已开展多年, 育成品种已开始在生产上应用^[4]。在此, 综述了分子标记辅助选择的特点, 重点介绍了分子标记辅助选择在水稻育种上的利用现状, 主要包括质量性状改良、数量性状改良、

回交育种、基因聚合等方面的应用进展, 同时讨论了该技术存在的问题, 并展望了其应用前景。

1 分子标记辅助选择育种的特点

分子标记辅助选择(Molecular Marker-Assisted Selection MAS)是利用与目标性状基因紧密连锁的分子标记进行间接选择, 是对目标性状在DNA水平的选择, 不受环境影响, 不受等位基因显隐性关系干扰, 选择结果可靠, 同时又可避免等位基因间显隐性关系的干扰, 从而达到作物产量、品质和抗性等综合性状的高效改良; 标记辅助育种具有标记基因型鉴定可以在低世代和植株生长的任何阶段进行、共显性的分子标记允许在杂合体阶段进行鉴定隐性基因、对目的基因的选择不受基因表达和环境条件的影响等优点。应用标记辅助育种, 理论上只要回交3代就可以选到理想的材料。因此, 可以加快育种速度, 提高选择效率, 特别是对多基因位点控制的许多重要农艺性状的准确选择很有利, 同时对于开发高新产品具有重要意义。基于传统的杂交、回交育种方法, 结合标记筛选, 转移有利性状的基因并进行多个基因的聚合, 是分子标记辅助

收稿日期: 2008-10-25

作者简介: 王麒(1980-), 男, 黑龙江省鸡西市人, 硕士, 研究实习员, 从事水稻遗传育种研究。E-mail: neauwq@163.com.

选择育种的核心。

2 分子标记辅助选择在水稻育种中的应用状况

分子标记辅助选择(MAS)的理论和技術已趋于成熟,在提高抗病性和改良品质方面已经有不少成功的实例。

2.1 分子标记辅助选择在质量性状或主基因控制的数量性状改良上的应用

对于质量性状,标记辅助选择有两个基本方法:对目标基因进行选择的前景选择和对基因组中除了目标基因之外其他部分(即遗传背景)选择的背景选择。对质量性状的选择通常是在 F_2 代开始的,在 F_2 群体中 MAS 的效果取决于该分子标记与目标基因的重组频率和它们之间的连锁关系,分子标记与目标基因的距离越近,选择的可靠性越大;此外,应用位于目标基因两侧两个分子标记同时对该性状进行选择可大大提高选择效率。

李仕贵等^[6]应用与稻瘟病抗性基因 *Pi-d* 紧密连锁的微卫星标记 RM262 对含有该抗病基因的品种地谷与感病品种江南香糯和 8987 的 F_2 群体进行 MAS 选择,结果发现应用该标记的抗性纯合和杂合带型选择抗性植株的准确率达 98% 以上。陈志伟等^[7]将稻瘟病抗性基因 *Pi-1* 导入受体亲本珍汕 97B、金山 B-1、金山 S-1 等保持系中,用与 *Pi-1* 基因紧密连锁的分子标记 RM224 和 M RG 4766 同时对杂种后代 *Pi-1* 基因进行 MAS 选择的准确率达 100%,中选单株抗病性明显提高。Cho 等^[8]在利用与半矮秆基因 *Sd-1* 紧密连锁的两侧标记 RG220 和 RG109 辅助选择时也发现,根据分子标记从 F_2 代选择到的纯合植株在 F_6 代仍表现半矮秆,这说明利用目的基因两侧分子标记辅助选择可以达到很高的准确率。I oannidou^[9]将抗水稻黄斑病毒的主效 QTL 转到改良品种 IR64 中,创建近等基因系,接种后 14.28 d 的抗病性明显提高。刘士平等^[10]通过 MAS 将带有广谱性基因 *Pi-1* 导入珍汕 97B 中,获得了带有 *Pi-1* 基因的 17 个株系。

2.2 分子标记辅助选择在数量性状改良上的应用

作物的许多重要的经济性状属于数量性状,受多位点数量性状基因(Quantitative trait locus, QTL)控制。受环境影响大,对表现型进行直接选择效率不高,采用标记辅助选择意义更大,但标记辅助选择难度亦较大,但通过分子标记辅助选择可以大大提高选择的效率已得到实践的证实。

薛庆中等^[11]利用 MAS 成功地选育了抗白叶枯病的水稻恢复系,他们对杂交后代 243 个品系进行 PCR 分子标记检测,从中筛选出纯合抗性系 46 个,进一步对这 46 个纯合抗性系进行人工接种鉴定,结果发现 43 株为纯合抗病,准确率达 93.5% 以上。邓启云等^[12]、杨益善等^[13]报道,国家杂交水稻工程技术研究中心在

马来西亚普通野生稻中鉴定出两个高产 QTL *yld1.1* 和 *yld2.1* 均为具有显著增产效应的主效 QTL,并找到与其紧密连锁的分子标记(*yld1.1* 位于 RM9 和 RM306 之间,*yld2.1* 位于 RM166 和 RM208 之间),并成功地将其转入优良晚稻恢复系测 64-7 及中稻恢复系 9311 和明恢 63 中,育成了 Q611 等携带野生稻高产 QTL 的强优恢复系,进而选配出一批具有超高产潜力的杂交水稻新组合。王春明等^[14]利用 CAPS 标记进行辅助选择,选出了聚合抗叶蝉基因的水稻重要中间材料。

2.3 分子标记辅助选择在水稻回交育种中的应用

为改善某品种的某一性状,常用的方法是以此品种作轮回亲本,以具有目的性状基因的另一品系为供体,经多次回交,最终获得的是具有轮回亲本遗传背景但携带 1~2 个目标性状的新材料。利用 MAS,不论是显性基因还是隐性基因都不再需要每隔 1~2 代测交确认目的基因是否存在,此外,利用与目的基因紧密连锁的分子标记,可以直接选择在目的基因附近发生重组的个体,从而避免或显著减少连锁累赘,达到改良受体亲本个别性状的目的,因此,回交育种中应用 MAS,既可大大加快育种进程,也能改进育种效果。

2.3.1 分子标记辅助选择在水稻抗叶枯抗病育种中的应用 林荔辉等^[15]以 *Xa21* 为白基因的供体亲本,珍汕 97B 为受体亲本,进行杂交、回交、自交,在回交过程中利用分子标记进行选择,获得了 6 个导入 *Xa21* 的珍汕 97B 导入系。罗彦长等^[16]通过回交育种途径,结合分子标记辅助选择技术,将源于非洲的长药野生稻对水稻白叶枯病具有广谱抗性的显性基因 *Xa21*,导入不同的水稻品种中,培育出一批抗白叶枯病的优良杂交稻恢复系 3418S 中,并进一步配组育成了协优 218、中优 218 等抗病杂交稻新组合,在生产应用中得到大面积推广。Chen 等^[17]将 IRBB21 的 *Xa21* 转育到恢复系 6078 和明恢 63 中,提高了这个品种的白叶枯病抗性。彭应财等^[18]通过分子标记选择,把白叶枯病抗性基因 *Xa21* 导入辐恢 838 中,培育出抗白叶枯病恢复系中恢 218。

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室张启发等和 Cheng 等^[19]利用 MAS 技术已成功地将广谱抗白叶枯病基因 *Xa-21* 导入优良恢复系明恢 63 中,并选择在 *Xa-21* 两侧小于 1.0cM 内均发生重组的单株,通过一轮回交和自交,获得了除 *Xa-21* 外绝大多数位点上为明恢 63 等位基因的纯合单株。由此可见,只要有合适的分子标记, MAS 确实可提高抗性选择效率和加快抗病育种进程。

2.3.2 分子标记辅助选择在水稻品质改良育种中的应用 水稻直链淀粉含量是水稻品质的重要指标,但易受环境(主要是温度)影响,育种者需对杂种后代做多年多点鉴定, Bergman^[20]报道找到一个与直链淀粉成分密切相关的 SSR 标记,利用此标记在改良水稻品种 Cadet 和 Jacinto 时可将育种年限从 7~10 a 缩短到

5 a.

刘巧泉^[21]利用分子标记辅助选择,经回交转育向常规籼稻品种特青导入来自中等直链淀粉含量优质籼稻的 *Wx* 基因,选育出保持特青主要农艺性状的 3 个优质品系,改良品系直链淀粉合成大幅减少,所配两系杂交组合稻米的直链淀粉含量也明显降低。江良荣等^[22]利用优质早籼稻佳幅占作为籼稻外观性状优良基因供体亲本,以珍汕 97B 作为受体亲本,利用 MAS 将与外观品质性状相关的基因组目标区间 RM169-RM516 回交渗入珍汕 97B 的基因组中,用以改良其籼稻的外观品质;中选群体的粒宽和长宽比得到明显改良,垩白和腹白显著减少。张士陆等^[23]以 4 种低直链淀粉含量的籼稻品种作优质基因供体,对高直链淀粉含量的三系籼稻恢复系 057 进行回交改良,回交后代利用分子标记选择基因型,培育出了一套农艺性状与 057 相似且值得改良的稳定株系。李浩杰等^[24]以美国光身稻 Lemont 为优质基因供体亲本,优良保持系冈 46B 为轮回亲本,利用与 *Wx* 基因紧密连锁的分子标记 484/485 对冈 46B/Lemont 回交及其自交群体进行目标基因型选择,同时进行冈 46B 的背景选择,回交 3 代就选出具有中等直链淀粉含量且综合性状与轮回亲本冈 46B 相似的个体,从而提高育种效率。

从以上实验结果中可以看出,应用标记辅助选择方法在回交育种中转移 QTL 的有利等位基因是可行的,即对数量性状的改良也是有效的。

2.4 分子标记辅助选择在目的基因聚合上的应用

基因聚合 (gene pyramiding) 就是将分散在不同品种中的有用基因聚合到同一个基因组中,基因聚合育种就是通过传统杂交、回交、复交技术将有利基因聚合到同一个基因组,突破了回交育种改良个别性状的局限,在分离世代中通过分子标记选择含有多个目标基因的单株,从中再选出农艺性状优良的单株,实现有利基因的聚合,产生更有实用价值的育种材料。

育种家利用聚合水稻抗性基因已取得较大的育种成效,育出一批水稻新品系,其中一些品种(组合)已通过审定;在抗稻瘟病育种、籼稻品质改良、高产的利用等方面的研究也取得一定的进展。

2.4.1 抗白叶枯病基因的聚合 分子标记辅助选择技术为抗性基因的聚合提供了强有力的工具。只要找到与抗性基因紧密连锁的分子标记,育种者就可以运用 MAS 的手段筛选出同时含有那些基因的单株,而无需在早代进行抗病虫性接种鉴定。而且,育种者只需从供试单株中提取少量 DNA 即可完成筛选,而无碍于植株的生长发育。

Huang 等^[25]成功地利用 MAS 在 F_4 代将 4 个抗白叶枯病基因 *Xa4*、*Xa5*、*Xa13* 和 *Xa21* 聚合到 IRBB60 品系中,聚合后的品系比原品系的抗谱更广、抗性更高。Yoshimura 等^[26]通过 RFLP 和 RAPD 标记将来自不同组合的 5 个白叶枯病抗性基因 *Xa1*、

Xa3、*Xa4*、*Xa5* 和 *Xa10* 聚合在一起。徐建龙等^[27]在 3 个晚粳品系中聚合了抗白叶枯病基因 *Xa3* 和 *Xa5*,聚合后的抗性水平和抗扩展能力强于双亲。Singh 等^[28]把 3 个水稻白叶枯病抗性基因 *Xa5*、*Xa13* 和 *Xa21* 进行分子标记辅助聚合,获得了含 2 个或 3 个白叶枯病抗性基因的品系,该品系在自然条件下表现出较高的抗谱,并把上述 3 个基因聚合到 PR106 籼稻品种中。Sanchez 等^[29]聚合 3 个抗性基因 *xa*、*xa13*、*Xa21* 到 IR655982112、IR6560024 和 IR65600296 中。

2.4.2 抗白叶枯病基因与其它抗性基因的聚合 何光明等^[30]通过分子标记辅助选择结合回交转育,首次成功在进行了抗衰老 *IP T* 基因、抗白叶枯病基因 *Xa23* 和抗稻瘟病基因 *Pi-6* 的聚合,并向两系杂交稻亲本进行转移。倪大虎等^[31]将抗白叶枯病基因 *Xa21* 和抗稻瘟病基因 *Pi-9(t)* 聚合到一起,获得 4 个含双抗基因的株系。杨子贤等^[32]将抗白叶枯病基因 *Xa21* 和抗水稻螟虫基因 *Bt* 导入 93-11,获得含 *Xa21* 和 *Bt* 基因均为纯合的株系,经改良的 93-11 及其所配的杂交种显示出良好的抗虫、抗病性。据郑康乐等^[33]报道,国际水稻研究所已通过分子标记辅助选择的方法成功地获得分别聚合 3 个抗稻瘟病基因和 3 个抗白叶枯病基因的株系。

2.4.3 抗稻瘟病基因的聚合 Hittal-mani 等^[34]聚合了 3 个抗稻瘟病基因 *Pi-1*、*Piz-5* 和 *Pi-ta*,获得含有 *Piz-5* 的 2 个或 3 个抗性基因比单独存在时抗性增强,能感染单个基因的兼性生理小种不能侵染抗性基因累加的品系,说明非等位基因有互补作用。Zheng 等通过 MAS 将稻瘟病抗性基因 *Pi1*、*Pi2*、*Pi4* 聚合到同一品种中。通过标记选择, Narayanan 等^[36]聚合 3 个主效基因 *Pi-1*、*Piz-5* 和 *Xa21* 到 Co39, 2 个主效基因 *Piz-5* 和 *Xa21* 到 IR50。陈学伟等^[37]通过对地谷、*BL-1*、*Pi-4* 等 3 个分别含有抗病基因 *Pi-d(t)*、*Pi-b*、*Pi-ta2* 的稻瘟病抗性材料聚合杂交,并利用抗病基因连锁的分子标记对杂交后代进行辅助选择,在聚合杂交的 F_2 代群体中共获得 15 株聚合 3 个抗病基因的单株。

3 MAS 存在的问题及展望

分子标记辅助选择技术是现代生物技术作物遗传改良中应用的一个重要方面。中国利用 MAS 在水稻抗白叶枯病育种、抗稻瘟病育种、籼稻品质改良等方面虽已取得一定的进展。但 MAS 在改良数量性状方面的应用远不如最初设想的那样广泛。这主要是因为实际工作中还存在一些问题。

主要农艺性状基因发掘不足,大量的遗传信息处于零散的状态,缺乏集中归纳和总结;对不同遗传背景和环境条件下 QTL 研究不够系统全面,不同实验者对同一性状得出不同结论,不利于定位的成果转化为实际的育种效益;现在报道的已经定位的 DNA 分子标记与目的基因之间的遗传距离一般都超过 5.0 cM, QTL 定位的准确性和精确度达不到 MAS 的要求;对控制同一性状的 QTL 数目、位置、效应等的结论不同,基因定

位基础研究与育种应用脱节,大量的基因定位工作仅是对目标基因进行定位,没有进一步走向育种应用;目前 DNA 分子标记的分析鉴定技术要求比较高,成本相对较高。

针对 MAS 存在的问题,在今后的研究策略上应重视与标记辅助选择相结合。

缩短基因定位研究与育种应用的距离,在选择材料上应尽量与育种直接相关,所构建的群体也应尽可能既是遗传研究群体,又是育种群体,实现基因定位与育种同步进行;寻找与目标基因紧密连锁的两侧分子标记,提高基因型与表现型的一致性;对于控制数量性状的 QTL 进行精细定位,充分发掘 QTL 的信息,进行分子标记辅助选择;将分子标记辅助选择技术与常规育种紧密结合起来,利用中国传统水稻育种的丰富经验,加快水稻育种进程,尽快产生较大的经济效益和社会效益。

分子标记辅助选择技术将是我国农业新技术革命中一个重要的组成部分。我们相信,随着水稻基因组研究不断的迅速发展,目前研究的进一步深入和新的分子生物学技术的发展应用,检测技术的简化和实验成本的降低,更完善、效率更高的新的分子标记辅助选择育种技术体系将建立起来,分子标记辅助育种一定在不久的将来达到人们预期的目标,届时,分子标记辅助选择将会在品种改良中大展宏图,这必将对我国的作物改良做出革命性的贡献。

参考文献:

- [1] Asins M J. Present and future of quantitative trait locus analysis in plant breeding [J]. *Plant Breeding*, 2002, 121: 281-291.
- [2] 方宣钧, 吴为人, 李维明. 作物 DNA 标记辅助选择育种 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 11-84.
- [3] 陆朝福, 朱立煌. 植物育种中的分子标记辅助选择 [J]. *生物工程进展*, 1995, 15(4): 11-17.
- [4] 万建民. 中国水稻分子育种现状与展望 [J]. *中国农业科技导报*, 2007, 9(2): 1-9.
- [5] 李仕贵, 王玉平, 黎汉云, 等. 利用微卫星标记鉴定水稻的稻瘟病抗性 [J]. *生物工程学报*, 2000, 16(3): 324-327.
- [6] 陈志伟, 官华忠, 吴为人, 等. 稻瘟病抗性基因 Pi-1 连锁 SSR 标记的筛选和应用 [J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2005, 34(1): 74-77.
- [7] Cho Y G, Darvasi A. Optimum spacing of genetic markers for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 89: 54-55.
- [8] Ioannidou D A, Pinela C, Brigidou L, et al. Characterisation of the effects of a major QTL of the partial resistance to Rice yellow mottle virus using a near isogenic - line approach [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003, 63: 213-221.
- [9] 刘士平, 李信, 汪朝阳, 等. 利用分子标记辅助改良珍汕 97 的稻瘟病抗性 [J]. *植物学报*, 2003, 45(11): 1346-1350.
- [10] 薛庆中, 张能义, 熊兆飞, 等. 应用分子标记辅助选择培育抗白叶枯病水稻恢复系 [J]. *浙江农业大学学报*, 1998, 24(6): 581-582.
- [11] 邓启云, 袁隆平, 梁凤山, 等. 野生稻高产基因及其分子标记辅助育种研究 [J]. *杂交水稻*, 2004, 19(1): 6-10.
- [12] 杨益善, 邓启云, 陈立云, 等. 野生稻高产 QTL 的分子标记辅助育种进展 [J]. *杂交水稻*, 2005, 20(5): 1-5.
- [13] 王春明, 安井秀, 吉村醇, 等. 水稻叶蝉抗性基因回交转育和 CAPS 标记辅助选择 [J]. *中国农业科学*, 2003, 36(3): 237-241.
- [14] 林嘉辉, 陈志伟, 张积森, 等. 利用回交和 MAS 技术改良珍汕 97B 的白叶枯病抗性 [J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2004, 33(3): 280-283.
- [15] 罗彦长, 王守海, 李成基, 等. 应用分子标记辅助选择培育抗稻白叶枯病光敏核不育系 3418S [J]. *作物学报*, 2002, 9(3): 402-407.
- [16] Chen S, Lin X H, Xu C G, et al. F. Improvement of bacterial blight resistance of "Minghui63", an elite restorer line of hybrid rice by molecular marker-assisted selection [J]. *Crop Sci*, 2000, 40: 239-244.
- [17] 彭应财, 李文宏, 方又平, 等. 采用分子标记技术育成优质抗病杂交稻新组合中优 218 [J]. *杂交水稻*, 2004, 19(3): 13-16.
- [18] Cheng S, Lin H X, Xu G, et al. Improvement of bacterial blight resistance of Minghui63 an elite restorer lines of hybrid rice by molecular-assisted selection [J]. *Crop Sci*, 2000, 40: 239-244.
- [19] Bergman C J, Fjellstrom R G, McClung A M. Association between amylose content and a microsatellite marker across exotic rice genotypes [J]. *Rice Genetics Symposium*, 2000, (4): 22-27.
- [20] 刘巧泉, 蔡秀玲, 李钱峰, 等. 分子标记辅助选择改良特性及其杂交稻米的蒸煮与食味品质 [J]. *作物学报*, 2006, 32(1): 64-69.
- [21] 江良荣, 方宣钧. 分子标记辅助渗入佳福占基因组 800k 区间定向改良珍汕 97B 外观品质 [J]. *分子植物育种*, 2004, 2(3): 453-454.
- [22] 张士陆, 倪大虎, 易成新, 等. 分子标记辅助选择降低籼稻 057 的直链淀粉含量 [J]. *中国水稻科学*, 2005, 19(5): 467-470.
- [23] 李浩杰, 李平, 高远方, 等. SSR 标记辅助改良冈 46B 直链淀粉含量的研究 [J]. *作物学报*, 2004, 30(11): 1159-1163.
- [24] Huang N, Angeles E R, Domingo J, et al. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice, marker-assisted selection using RFLP and PCR [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 313-320.
- [25] Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, et al. Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers [J]. *Mol Breed*, 1995, 1: 375-387.
- [26] 徐建龙, 赵新立. 水稻白叶枯病抗性基因的聚合及其遗传效应 [J]. *作物学报*, 1996, 22(2): 129-134.
- [27] Singh S, Silhu J S, Huang N, et al. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (Xa-5, Xa-13, Xa-21) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PRI06 [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 1011-1015.
- [28] Sanchez A G, Brar D S, Huang N, et al. Sequence tagged site marker-assisted selection for three bacterial resistance genes in rice [J]. *Crop Sci*, 2000, 40: 792-797.
- [29] 何光明, 孙传清, 付永彩, 等. 水稻抗衰老 IPT 基因与抗白叶枯病基因 Xa23 的聚合研究 [J]. *遗传学报*, 2004, 31(8): 836-841.
- [30] 倪大虎, 易成新, 李莉, 等. 利用分子标记辅助选择聚合水稻基因 Xa21 和 Pi-9(t) [J]. *分子植物育种*, 2005, 3(3): 329-334.
- [31] 杨子贤, 姜恭好, 徐才国, 等. 利用分子标记辅助选择改良 93-11 对叶枯病和螟虫抗性 [J]. *分子植物育种*, 2004, 2(4): 473-480.
- [32] 郑康乐, 黄宁. 标记辅助选择在水稻改良中应用前景 [J]. *遗传*, 1997, 19(2): 40-44.
- [33] Hittalmani S, Parco A, Mew T V, et al. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 1121-1128.
- [34] Nanayanan N N, Baisakh N, Cruz CM V, et al. Molecular breeding for the development of blast and bacterial blight resistance in rice cv. IR50 [J]. *Crop Sci*, 2002, 42: 2072-2079.
- [35] 陈学伟, 李仕贵, 马玉清, 等. 水稻抗稻瘟病基因 Pi-d(t)¹、Pi-b、Pi-ta² 的聚合及分子标记选择 [J]. *生物工程学报*, 2004, 20(5): 708-714.