

小粒野生稻优异基因的挖掘与利用研究进展

郭嗣斌, 韦宇, 李孝琼, 高国庆, 邓国富

(广西农业科学院水稻研究所/广西水稻遗传育种重点实验室, 南宁 530007)

摘要:小粒野生稻拥有丰富的遗传多样性, 含有大量的优异基因, 是进行栽培稻遗传改良和基因组研究的宝贵资源。本文总结了国内外研究利用小粒野生稻种质取得的系列进展, 主要包括: 小粒野生稻优异性状的鉴定和遗传群体的构建, 小粒野生稻有利基因的定位、克隆与育种利用, 还对小粒野生稻优异基因利用的困难和应对策略进行了讨论。这些结果必将有利于进一步挖掘和利用小粒野生稻的有利基因。

关键词:小粒野生稻; 基因挖掘; 育种利用; 进展

Advances in Excavation and Utilization of Elite Genes from *Oryza minuta*

GUO Si-bin, WEI Yu, LI Xiao-qiong, GAO Guo-qing, DENG Guo-fu

(Guangxi Key Laboratory of Rice Genetics and Breeding/Rice Research

Institute Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007)

Abstract: *Oryza minuta* have abundant genetic diversity, containing a large number of elite genes, is the valuable resource for cultivated rice genetic improvement and rice genome research. This paper summarized the research progress obtained in the use of *Oryza minuta* germplasm at home and abroad, mainly including: identification of excellent traits, construction of genetic populations; mapping, cloning and breeding utilization of favorable genes; and discussed the difficulties and coping strategies on the utilization of elite genes from *Oryza minuta*. These results will be conducive to further tap and exploit the favorable genes from *Oryza minuta*.

Key words: *Oryza minuta*; gene excavation; breeding utilization; advances

水稻是世界上约一半人口的主食, 是最重要的粮食作物之一。水稻种质资源的收集评价与创新利用对于保障世界粮食安全发挥了重要的作用。然而, 从 20 世纪 90 年代以来, 各国水稻产量徘徊不前, 米质亟待改良, 抵御生物和非生物胁迫的能力逐年降低。分析其原因, 主要是因为常规育种研究对种质资源的利用效率较低, 传统育种技术存在局限性^[1]。鉴于此, 国际水稻研究所 (IRRI) 在 20 世纪末启动了“全球水稻分子育种计划”, 其基本思路是利用全球稻种资源, 通过传统的回交育种和分子标记辅助选择 (MAS, Marker-assisted selection) 相结合的方法, 实现优异基因资源在分子水平上的大规模交流, 培育大批量的近等基因导入系, 进行水稻重要

新基因发掘和突破性新品种培育^[2]。

野生稻具有丰富的遗传多样性, 拥有许多特异的性状, 具有独特的利用价值, 是栽培稻遗传改良的宝贵种质资源^[3-5]。通过传统育种技术, 许多 AA 基因组野生稻中有利基因已被转移到栽培稻中。然而, 对于大量非 AA 基因组野生稻, 由于其与栽培稻的亲缘关系较远, 在挖掘和利用这类野生稻的有利基因时困难重重。不过, 随着现代生物技术的快速发展, 远缘杂交、胚拯救 (ER, Embryo rescue)、组织培养和原生质融合等技术可以获得种间杂种, MAS 技术能显著提高野栽交后代选择的效率, 这些新技术的应用使非 AA 基因组野生稻的利用成为可能。

小粒野生稻 (*Oryza minuta*) 基因组为 BBCC, 其

收稿日期: 2015-04-28 修回日期: 2015-05-18 网络出版日期: 2015-09-16

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20150916.1042.002.html>

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (“863” 计划) 项目 (2014AA10A603); 国家自然科学基金项目 (31360328); 广西自然科学基金项目 (2014GXNSFAA118124); 广西“八桂学者” 专项经费资助项目 (桂人才通字【2011】4 号)

第一作者研究方向为水稻分子育种。E-mail: guosibin@gxaas.net

中的一些特异材料拥有抗褐飞虱、白背飞虱、稻瘟病、白叶枯病和纹枯病等特性,是一种极具利用价值的种质资源^[6]。应用远缘杂交结合 ER 技术获得了小粒野生稻与栽培稻的种间杂种,通过回交育种和 MAS 获得了小粒野生稻与栽培稻的导入系材料,利用这些导入系材料发掘了一系列小粒野生稻的优异基因资源,为小粒野生稻有利基因的利用奠定了基础。

本文总结了国内外研究利用小粒野生稻种质取得的系列进展,主要包括:小粒野生稻优异性状的鉴定、小粒野生稻遗传群体的构建、小粒野生稻有利基因的定位、克隆与育种利用,还对小粒野生稻有利基因利用的困难和应对策略进行了讨论。

1 小粒野生稻优异性状的鉴定

小粒野生稻,具有匍匐茎,多年生,一般不超过 1.5 m 高,穗散生,颖花一般长 4.1 ~ 5.6 mm、宽 1.6 ~ 2.1 mm,花药长 1.5 ~ 3.0 mm,主要分布于新几内亚和东南亚^[3];具有抗多种水稻病虫害的特性,是一种极具利用价值的种质资源^[6]。

20 世纪 90 年代初,彭绍裘等^[7]对小粒野生稻 (Acc. No. 101089) 进行了抗稻飞虱、稻瘟病和白叶枯病的抗性鉴定,结果表明该小粒野生稻高抗稻瘟病、白叶枯病和稻飞虱,是一种具有多抗特性的野生稻。进一步的研究还表明该小粒野生稻中抗至高抗稻瘟病,抗谱广,抗性稳定,并兼抗稻飞虱,抗性持久^[8-9]。肖汉祥等^[10-11]通过应用改良苗期群体筛选法,对小粒野生稻进行了抗性鉴定,试验结果表明,小粒野生稻对褐飞虱的抗性级别为 0 级,属高抗褐飞虱。小粒野生稻对褐飞虱的抗性机制为抗生性和非选择性。随后,他们还测定了不同水稻品种叶鞘内游离氨基酸及草酸的含量。试验结果表明,叶鞘内的草酸是小粒野生稻对褐飞虱的重要抗性物质之一,而叶鞘内游离氨基酸总量及 6 种主要游离氨基酸的含量少也是小粒野生稻抗褐飞虱的原因之一。

S. Guo 等^[12]利用剪叶法对小粒野生稻 (Acc. No. 101133)、小粒野生稻与栽培稻的杂种 F_1 和 BC_1 植株在田间进行了水稻白叶枯病接种鉴定。结果表明该小粒野生稻对 8 个生理小种都表现为高抗,而杂种 F_1 对 8 个生理小种表现为抗。郭嗣斌等^[13]对 190 份小粒野生稻导入系进行了稻瘟病的田间鉴定,筛选出了 21 份对穗颈稻瘟病表现抗的株系;同年采用标准苗期集团法,利用相同的群体进行了褐

飞虱和白背飞虱的抗性鉴定,分别筛选出了 11 和 7 份表现抗的株系,其中有 5 份材料兼抗褐飞虱和白背飞虱^[14]。

另外,针对水稻产量和品质等相关性状,不同研究者也从小粒野生稻中鉴定出对栽培稻产量和品质改良有利的种质资源。如 K. Kang 等^[15]对小粒野生稻 (Acc. No. 101141) 与粳稻杂交获得 F_2 和 F_3 株系材料的分析表明来自小粒野生稻的等位基因增加了千粒重和小穗数。S. Guo 等^[12]在对小粒野生稻与栽培稻种间杂种及其回交后代的鉴定时,发现在穗长、一次枝梗数和每穗颖花数方面,回交后代中分离出了许多比栽培稻轮回亲本更优异的个体。

2 小粒野生稻遗传群体的构建

小粒野生稻含有丰富的优异基因,是栽培稻遗传改良的重要种质资源。为了发掘和利用小粒野生稻的优异基因,国内外的研究者分别构建了许多不同的遗传群体,如: F_1 、 F_2 、 BC_1 、回交自交系 (BILs, Backcross inbred lines)、染色体片段导入系 (CSSLs, Chromosome segment substitution lines)、基因渗入系 (ILs, Introgression lines)、重组自交系 (RILs, Recombinant inbred lines) 和 NILs (NILs, Near isogenic lines) 等。

M. Nezu 等^[16]可能是最先开展小粒野生稻与栽培稻杂交研究的,随后, L. Sitch 等^[17]也开展了栽培稻与小粒野生稻的杂交研究,他们都得到栽培稻与小粒野生稻的种间杂种。A. Amante-Bordeus 等^[18]和 A. Mariam 等^[19]是较早对小粒野生稻与栽培稻杂交进行深入系统研究的,他们分别应用不同的小粒野生稻与多个栽培稻品种杂交,不仅得到种间杂种,还进一步得到了它们的回交后代。S. Guo 等^[12]以 IR24 为母本、小粒野生稻为父本,通过杂交与 ER 得到了种间杂种。再以种间杂种为母本, IR24 为轮回亲本,通过 4 次回交和 6 次自交,结合 ER 和 MAS 获得了一套包含有小粒野生稻染色体片段的 CSSLs。随后,通过分子标记鉴定获得了导入系的图示基因型和 89 份 ILs^[20]。K. Gu 等^[21]利用小粒野生稻 ILs 材料 78-1-5 与 IR24 杂交、回交和自交构建了含有 $Xa27$ 的 NILs, 并对 $Xa27$ 进行了精细定位。S. Balkunde 等^[22]利用一份小粒野生稻 ILs 材料构建的 NILs 对控制每穗颖花数的 QTL $qSPP7$ 进行了精细定位。笔者为了精细定位来自小粒野生稻的抗白背飞虱基因,已利用小粒野生稻 ILs K1561 构建了 RILs (F_8)。

这些利用不同小粒野生稻种质构建的遗传群体,为鉴定、定位、克隆和利用来自小粒野生稻的有利基因奠定了基础。

3 小粒野生稻有利基因的定位、克隆与育种利用

3.1 抗病虫基因的定位与克隆

目前从小粒野生稻鉴定出了抗病虫基因有 6 个,包括:2 个抗白叶枯病基因 *Xa27* 和 *Xa35(t)*、1 个抗稻瘟病基因 *Pi9* 和 3 个抗褐飞虱基因 *Bph20(t)*、*Bph21(t)* 和 *Bph23(t)*,其中 *Xa27* 和 *Pi9* 已被成功克隆。

Xa27 是 IRRI 的 A. Amante-Bordeus 等^[18]从小粒野生稻 ILs 78-1-5 中鉴定出的白叶枯病抗性基因。K. Gu 等^[21]接着利用 78-1-5 与 IR24 构建的 NILs,将 *Xa27* 定位于水稻的第 6 号染色体长臂上,位于标记 M964 和 M1197 之间 0.052 cM 的区域内,同标记 M631、M230 和 M449 共分离,并验证了它是一个不完全显性抗病基因。经多国科学家联合鉴定,认为 78-1-5 所携带的是一个新的显性抗病基因,暂命名为 *Xa27*。K. Gu 等^[23]随后完成了对它的克隆。

Xa35(t) 是郭嗣斌等^[24]利用来自小粒野生稻导入系的 BC₂F₂ 群体及其 F₃、F₄ 家系发现的抗白叶枯病基因。通过抗谱分析发现 *Xa35(t)* 是一个新的抗性基因。随后对 *Xa35(t)* 进行了分子标记定位,初步将其定位于 11 号染色体的长臂上,在标记 RM7654 和 RM6293 之间 1.76 cM 的区域内,与标记 RM144 共分离。

Pi9,是来自小粒野生稻的广谱抗稻瘟病基因^[17],当时高抗来自 13 个国家的 43 个稻瘟病生理小种,先被 G. Liu 等^[25]定位于第 6 染色体短臂上,位于标记 RG64 和 R2123 之间,后被 Y. Deng 等^[26]确定在一个 76 kb 的 BAC 上。S. Qu 等^[27]进一步分析了这个 BAC,发现它包含 6 个 NBS-LRR 结构域,通过深入的鉴定与分析,最终确定 *NBS2-Pi9* 就是 *Pi9*,完成了对 *Pi9* 的克隆。

Bph20(t) 和 *Bph21(t)* 是 M. Rahman 等^[28]从小粒野生稻中鉴定出的 2 个抗褐飞虱的基因。*Bph20(t)* 被定位在第 4 染色体短臂上,在标记 B42 和 B44 之间 193.4 kb 的区域。而 *Bph21(t)* 在第 12 染色体长臂上,在标记 S12094A 和 B122 之间 194.0 kb 的区域。*Bph23(t)* 是 T. Ram 等^[29]从小粒野生稻 ILs 材料 IR 71033-121-15 中鉴定出的一个抗褐飞虱的

新基因。

另外,研究者利用不同群体还鉴定出一些来自小粒野生稻的抗虫 QTL。如:郭嗣斌等^[30]利用小粒野生稻导入系鉴定了 3 个褐飞虱抗性 QTL,*qBph3* 位于第 3 染色体 RM570 ~ RM85 之间,*qBph4* 位于第 4 染色体 RM335 ~ RM518 之间,*qBph12* 位于第 12 染色体 RM309 ~ RM17 之间,其中 *qBph4* 的效应值最大。S. Guo 等^[31]利用 131 份小粒野生稻 ILs 鉴定了 4 个白背飞虱抗性 QTL,分别位于水稻 3、4、7 和 12 染色体上,其中 *qWBph4* 的效应值最大,表现最稳定。

3.2 产量相关性状的 QTL 定位

虽然小粒野生稻存在农艺性状差、产量低等缺点,但仍蕴含许多对栽培稻产量有利的基因,发掘和利用这些特异基因,很可能打破当前栽培稻产量长期徘徊不前的局面,在进行水稻的超高产育种方面发挥重要作用。

由于杂交不亲和,将小粒野生稻中的有利 QTL 大批量地转移到栽培稻中困难重重。目前,一般是先利用含有小粒野生稻少数染色体片段的中间材料构建作图群体,再对该作图群体进行数量性状的 QTL 定位分析。如 F. Jin 等^[32]利用小粒野生稻 ILs 材料与其受体亲本杂交获得的 F_{2,3} 家系,对 12 个农艺性状进行了 QTL 定位,共定位到 19 个 QTL,其中,来自小粒野生稻的有利 QTL 有 9 个,它们分别控制抽穗期、千粒重、粒长和子粒长宽比等性状。L. Linh 等^[33]用小粒野生稻 ILs 材料与其受体亲本杂交获得的 F_{2,3} 家系,对抽穗期和芒长两性状进行了 QTL 定位。其中,*qDTH6* 在第 6 染色体上,位于标记 RM587 和 RM253 之间;而 *qDTH9* 在第 9 染色体上,与标记 RM215 连锁。M. Rahman 等^[34]利用含有小粒野生稻片段的中间材料构建的 F_{2,3} 家系,对 16 个农艺性状进行了 QTL 分析,共检测到 36 个 QTL,其中来自于小粒野生稻的有利 QTL 占 57%。

近年来,为了更深入地研究小粒野生稻与产量相关性状的 QTL,研究者开始构建和利用 CSSLs、RILs 和 NILs 等遗传群体。如郭嗣斌等^[35]利用小粒野生稻导入系,针对水稻的 6 个产量相关性状,在南宁早晚两季分别检测到了 20 和 17 个与产量相关的 QTL,其中,控制每株穗数、单穗长、千粒重、每穗实粒数、每穗总粒数和单株重的 QTL 分别有 3 个、6 个、6 个、4 个、3 个和 5 个。两季共检测到增效基因来自于小粒野生稻的 QTL 有 13 个,其中 *qPLH-2*、*qTGW-1.1*、*qTGW-9*、*qTGW-12*、*qSPP-1*、*qYGP-12* 等

6 个 QTL 在两季试验中都稳定表达。S. Balkunde 等^[22]利用小粒野生稻 ILs 材料构建的 NILs 将控制每穗颖花数的 QTL *qSPP7* 精细定位于水稻第 7 染色体上,位于标记 RM4952 ~ RM21605 之间 28.6 kb 的区域内。

3.3 品质相关性状的 QTL 定位

对小粒野生稻品质相关性状 QTL 的研究相对较少,目前的报道主要是针对粒重和粒形。

刘开强等^[36]通过 AB-QTL 分析法对一套小粒野生稻的导入系进行粒重和粒形的 QTL 定位。2 年分别检测到 18 和 12 个 QTLs,2 年都检测到的 QTL 共有 10 个,其中 4 个新鉴定的 QTL 的表型贡献率较大,分别是 *qTGW-9.2*、*qTGW-12*、*qGL-9* 和 *qGW-12*,其有利基因均来自于小粒野生稻。李孝琼等^[37]利用小粒野生稻 ILs K1561 和 G1025 构建的 F₂ 和 F_{2:3} 进行粒重和粒形 QTL 检测,结果共检测到 18 个 QTL,其有利等位基因均来源于小粒野生稻 ILs K1561。其中,控制千粒重、粒长、粒宽和长宽比的 QTL 分别有 7 个、5 个、5 个和 1 个。2 年间均能检测到的 QTL 有 8 个,分别为 *qTGW3*、*qTGW7*、*qTGW9.2*、*qTGW12*、*qGL1*、*qGL9*、*qGW12* 和 *qGL/GW12*。

3.4 有利基因的育种利用

利用小粒野生稻中优异基因对现有栽培稻进行改良,是提高水稻产量、品质和抗性的一个重要途径。目前,小粒野生稻有利基因的育种利用主要包括单个有利基因分子标记辅助育种和导入系材料的育种利用 2 个方面。

在单个有利基因分子标记辅助育种方面,目前正在利用的主要是已完成精细定位或克隆的抗病基因 *Pi9* 和 *Xa27*,如官华忠等^[38]利用与 *Pi9* 紧密连锁的分子标记 SM22 将水稻品系 75-1-127 中的稻瘟病抗性基因 *Pi9* 导入到水稻雄性不育系金山 B-1 中,显著提高了金山 B-1 对稻瘟病的抗性。倪大虎等^[39]利用 MAS 与传统育种方法相结合,将抗稻瘟病的基因 *Pi9* 和抗白叶枯病的基因 *Xa21* 及 *Xa23* 聚合到同一材料中,经多代大田和温室接菌鉴定、室内标记选择和田间农艺性状的筛选,获得了 4 个三基因聚合且农艺性状优良的株系。田大刚等^[40]选择 3 个新育成杂交水稻恢复系闽恢 3189、闽恢 3229 和闽恢 6118 为受体亲本,以携带抗稻瘟病主基因 *Pi9* 的 C750 和抗白叶枯病主基因 *Xa23* 的 C682 为供体亲本,利用 MAS 和田间鉴定选择相结合方法,获得 8 个导入 *Pi9* 或 *Xa23* 或 *Pi9 + Xa23* 的水稻新恢复系。Y. Luo 等^[41]利用 MAS 技术将 *Xa4*、*Xa21* 和

Xa27 分别转入恢复系绵恢 725 和 9311 的背景中,随后通过杂交和 MAS 将 3 个抗性聚合于一体,培育出广谱抗水稻白叶枯病的恢复系 XH2431。

而对于产量和品质等由多基因控制的数量性状而言,因大多数的研究还处于初步定位阶段,直接进行育种利用还存在困难。现在主要是利用目标导入系材料进行杂交育种改良。如 S. Guo 等^[12]以 IR24 为母本,小粒野生稻为父本,获得了一套包含有小粒野生稻染色体片段的 CSSLs。随后通过杂交测配筛选,已从小粒野生稻 CSSLs 选择出了多个三系杂交稻恢复系,如 K1561、K110、K114 等,并利用它们配制出了一些优质高产和抗褐飞虱的杂交稻新组合。李孝琼等^[37]利用一个大粒的小粒野生稻 ILs K1561 对广西优质恢复系 G1025 进行粒重的改良,并在后代中获得了农艺性状优良的强优势优质恢复系。

另外,一些研究者还开展了将小粒野生稻的基因组 DNA 直接导入栽培稻进行利用的研究。如赵炳然等^[42]通过穗茎注射法将小粒野生稻总 DNA 导入杂交稻亲本 V20B,获得了 3 个高世代变异株系。随后还进一步培育出了水稻新种质野威 B^[43]。匡勇等^[44]还对野威 B 的产量和米质性状进行了研究,发现与亲本 V20B 相比,野威 B 的有效穗数和每穗总粒数小于 V20B,但每穗实粒数却高于 V20B,平均结实率比 V20B 增加 11.8%,千粒重比 V20B 的少 6 g。资 100A 是赵炳然等^[45]采用穗颈注射法将小粒野生稻的基因组 DNA 导入 V20B 获得变异株后与福伊 B 等亲本杂交选育而成的三系不育系。目前,已利用它配制出了一系列高产、优质和抗稻瘟病的杂交稻新组合。

4 小粒野生稻有利基因利用的困难与应对策略

四倍体的小粒野生稻,基因组为 BBCC,与栽培稻(AA)的亲缘关系较远,在进行有利基因向栽培稻的转移研究中,存在两方面的障碍:一是,由于对小粒野生稻分子遗传学背景的研究较少,虽然小粒野生稻拥有丰富的优异基因,但其具体的分子机理和遗传背景并不清楚,利用时存在很大的局限性。二是,采用常规育种技术,其利用效率极低。因为小粒野生稻与栽培稻的染色体组不同,且亲缘关系较远,所以小粒野生稻与栽培稻杂交极为困难,容易出现种间杂种不育、回交一代结实率极低、后代选择效率低、不利基因与有利基因紧密连锁、达到育种利用水平的的时间较长等问题。

针对上述问题,国内外研究者提出了应用现代分子生物学手段加以解决的方案。针对如何克服稻属种间有性杂交的生殖障碍的问题,目前采取的应对策略主要是:将 ER 技术、回交育种技术和 MAS 技术相结合。ER 技术是克服远缘杂交中属种间杂种不育,获得属种间杂种的一种有效途径。K. Jena 等^[46]首先建立了一套比较成熟的幼胚拯救方法,IRRI 和韩国的研究者利用它都成功获得了栽培稻与小粒野生稻的种间杂种。在此方法的基础上,针对杂种 F₁ 易落粒、柱头外露率高的特点,郭嗣斌等^[47]对授粉方法进行了完善,利用直接授粉,连续授粉 3 d 的授粉方法,将 BC₁ 幼胚的获得率提高了近 10 倍。进一步研究表明,应用柱头外露率高的杂交稻的保持系作母本,采用类似于杂交稻制种的方法,能显著提高了小粒野生稻与栽培稻回交一代种子的获得率^[48]。而回交育种结合 MAS 技术能解决远缘杂种后代育性低或全不育、后代选择效率极低、不利基因与有利基因紧密连锁和育种周期长等问题。目前,利用回交育种结合 MAS 技术获得了小粒野生稻 CSSLs 和 ILs^[12,18-20]。

同时,国内外研究者应用现代分子生物学手段构建了许多小粒野生稻基因组文库,这些文库的构建不仅保护了小粒野生稻丰富的种质资源,同时也为小粒野生稻优异基因发掘和创新利用奠定了基础。目前已构建的小粒野生稻基因组文库有:小粒野生稻 cDNA 文库、小粒野生稻表达序列标签(ESTs, Expressed sequence tags)文库^[49]、小粒野生稻酵母双杂交 cDNA 文库的构建^[50]等。

另外,曹孟良^[51]认为,将转基因技术手段应用于野生稻有利基因的转移,可显著提高其效率。其思路是:首先构建野生稻可转化人工染色体文库(TAC, Transformation-competent artificial chromosome),再通过转基因技术,将大片段克隆导入栽培稻中,建立全基因组基因嵌入突变体库;随后通过对突变体的筛选、鉴定,结合对控制突变性状的大片段克隆进行亚克隆、序列分析和候选基因的功能分析,最终克隆野生稻有利基因。王正华等^[52]构建了小粒野生稻 TAC 文库并进行了筛选鉴定,结果表明该文库可以用于抗性基因的选择。

总之,通过对小粒野生稻有利基因资源的发掘和鉴定,虽然已获得了一些极有利用价值的基因和中间材料,并开始进行育种利用;然而在有些方面仍存在不足,如:在抗病虫性方面,重视稻瘟病、白叶枯病和褐飞虱抗性的鉴定,但对抗纹枯病和白背飞虱

的研究较少;在产量和品质方面,大多是初步的定位与分析,还未获得能直接进行育种利用的基因或主效 QTL 等等。目前,在对小粒野生稻有利基因资源的发掘与育种利用方面,还有更广阔的空间,应结合现代分子育种的技术和手段来充分利用这些有利基因资源,改良当前水稻品种的抗性、产量和品质,为培育高产、优质、多抗和广适的水稻新品种奠定良好的基础。

参考文献

- [1] 黎志康. 我国水稻分子育种计划的策略[J]. 分子植物育种, 2005, 3(5): 603-608
- [2] 罗利军. 水稻等基因系构建与分子技术育种[J]. 分子植物育种, 2005, 3(5): 609-612
- [3] Khush G. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice[J]. Plant Mol Biol, 1997, 35: 25-34
- [4] 云勇, 韩义胜. 我国野生稻资源的抗病性鉴定与利用研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(3): 472-476
- [5] 胡标林, 扬平, 万勇, 等. 东乡野生稻 BILs 群体苗期抗旱性综合评价及其遗传分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(2): 249-256
- [6] 钟代彬, 罗利军, 应存山. 野生稻有利基因转移研究进展[J]. 中国水稻科学, 2000, 14(2): 103-106
- [7] 彭绍裘, 王自平, 肖放华. 小粒野生稻多抗性鉴定简报[J]. 作物品种资源, 1991(1): 41
- [8] 刘二明, 彭绍裘, 黄费元. 水稻品种对稻瘟病抗性聚类分析[J]. 中国农业科学, 1994, 27(3): 44-49
- [9] 彭绍裘, 刘二明, 黄费元, 等. 水稻持久抗瘟性研究[J]. 植物保护学报, 1996, 23(4): 293-299
- [10] 肖汉祥, 张良佑. 小粒野生稻对褐稻虱抗性机制的研究[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(1): 77-80
- [11] 肖汉祥, 张良佑. 小粒野生稻对褐稻虱抗性物质的研究[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(4): 36-38
- [12] Guo S, Qin F, Zhang D, et al. Characterization of interspecific hybrids and backcross progenies from a cross between *O. minuta* and *O. sativa*[J]. Sci China Ser C-Life Sci, 2009, 52: 1148-1155
- [13] 郭嗣斌, 高国庆, 韦宇, 等. 构建染色体片段导入系挖掘小粒野生稻优异基因[C]//第三届全国野生稻保护与可持续利用大会论文集. 南宁: 中国农科院作物科学研究所, 2012: 31-40
- [14] 郭嗣斌, 韦宇, 李孝琼, 等. 小粒野生稻导入系对褐飞虱和白背飞虱的抗性鉴定与遗传分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(5): 754-758
- [15] Kang K, Moon H, Kim K, et al. Development and molecular analysis of alien gene introgression in japonica rices derived from a cross between *Oryza sativa* and *O. minuta* [C]//Abstracts of International Rice Congress. Beijing: IRRI, 2002: 270
- [16] Nezu M, Katayama T, Kihara H. Genetic study of the genus *Oryza*. I. Crossability and chromosomal affinity among 17 species[J]. Seiken Jihou, 1960, 11: 1-11
- [17] Sitch L, Amante A, Dalmacio R et al. *Oryza minuta*, a source of blast and bacterial blight resistance for rice improvement[M]//Mujeeb-Kazi A, Sitch L A. Review of advances in plant biotechnology 1985-1988. Proc 2nd Int Symp Genet Manipulation Crops. International Maize and Wheat Improvement Center, Lisbon, Mexico D. F., Mexico and International Rice Research Institute, Manila, Philippines, 1989: 315-322
- [18] Amante-Bordeos A, Sitch L, Nelson R, et al. Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa* [J]. Theor Appl Genet, 1992, 84: 345-354

- [19] Mariam A, Zakri A, Mahani M, et al. Interspecific hybridization of cultivated rice, *Oryza sativa* L. with the wild rice, *Oryza minuta* Presl [J]. Theor Appl Genet, 1996, 93: 664-671
- [20] Guo S, Wei Y, Li X, et al. Development and identification of introgression lines from the cross of *Oryza sativa* and *Oryza minuta* [J]. Rice Sci, 2013, 20: 95-102
- [21] Gu K, Tian D, Yang F, et al. High-resolution genetic mapping of *Xa27(t)*, a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 800-807
- [22] Balkunde S, Le H, Lee H, et al. Fine mapping of a QTL for the number of spikelets per panicle by using near-isogenic lines derived from an interspecific cross between *Oryza sativa* and *Oryza minuta* [J]. Plant Breeding, 2013, 132: 70-76
- [23] Gu K, Yang B, Tian D, et al. R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice [J]. Nature, 2005, 435: 1122-1125
- [24] 郭嗣斌, 林兴华, 张端品. 小粒野生稻抗白叶枯病新基因的鉴定与初步定位 [J]. 中国农业科学, 2010, 43 (13): 2611-2618
- [25] Liu G, Lu G, Zeng L, et al. Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9(t)* and *Pi2(t)*, are physically linked on rice chromosome 6 [J]. Mol Genet Genomics, 2002, 267: 472-480
- [26] Deng Y, Zhu X, Shen Y, et al. Genetic characterization and fine mapping of the blast resistance locus *Pigm(t)* tightly linked to *Pi2* and *Pi9* in a broad-spectrum resistant Chinese variety [J]. Theor Appl Genet, 2006, 113: 705-713
- [27] Qu S, Liu G, Zhou B, et al. 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 [J]. Genetics, 2006, 172: 1901-1914
- [28] Rahman M, Jiang W, Chu S, et al. High-resolution mapping of two rice brown planthopper resistance genes, *Bph20(t)* and *Bph21(t)*, originating from *Oryza minuta* [J]. Theor Appl Genet, 2009, 119: 1237-1246
- [29] Ram T, Deen R, Gautam S, et al. Identification of new genes for Brown Planthopper resistance in rice introgressed from *O. glaberrima* and *O. minuta* [J]. Rice Genet Newsl, 2010, 25: 67-69
- [30] 郭嗣斌, 刘开强, 李孝琼, 等. 小粒野生稻基因渗入系抗褐飞虱的 QTL 定位分析 [J]. 南方农业学报, 2014, 45 (6): 913-917
- [31] Guo S, Gao G. Identification of quantitative trait loci for resistance to whitebacked planthopper using introgression lines from *Oryza minuta* [C]//Plant Genomics in China XIV. Nanjing: 2013
- [32] Jin F, Linh L, Kang K, et al. Mapping Quantitative Trait Loci for grain traits using near isogenic line from a cross between *Oryza minuta* and *O. sativa* [J]. Korean J Breed, 2005, 37: 221-228
- [33] Linh L, Jin F, Kang K, et al. Mapping quantitative trait loci for heading date and awn length using an advanced backcross line from a cross between *Oryza sativa* and *O. minuta* [J]. Breed Sci, 2006, 56: 341-349
- [34] Rahman M, Chu S, Choi M, et al. Identification of QTLs for some agronomic traits in rice using an introgression line from *Oryza minuta* [J]. Mol Cells, 2007, 24: 16-26
- [35] 郭嗣斌, 韦宇, 李孝琼, 等. 小粒野生稻产量相关性状的 QTL 定位 [C]//2013 全国植物生物学大会论文集. 南京: 中国作物学会、中国细胞生物学学会、中国遗传学会、中国植物生理与分子生物学会、中国植物学会, 2013: 72
- [36] 刘开强, 韦宇, 李孝琼, 等. 小粒野生稻导入系籽粒大小和形状的 QTL 定位 [J]. 湖北农业科学, 2014, 53 (16): 3731-3735
- [37] 李孝琼, 韦宇, 邓国富, 等. 水稻遗传图谱的构建和粒形相关性状的 QTL 定位 [J]. 南方农业学报, 2014, 45 (7): 1156-1161
- [38] 官华忠, 陈志伟, 潘润森, 等. 通过标记辅助回交育种改良优质水稻保持系金山 B-1 的稻瘟病抗性 [J]. 分子植物育种, 2006, 4 (1): 49-53
- [39] 倪大虎, 易成新, 杨剑波, 等. 利用分子标记辅助选择聚合 *Pi9* 和 *Xa23* 基因 [J]. 分子植物育种, 2007, 5 (4): 491-496
- [40] 田大刚, 陈在杰, 陈子强, 等. 分子标记辅助选育聚合抗稻瘟病基因和抗白叶枯病基因的水稻改良新恢系 [J]. 分子植物育种, 2014, 12 (5): 843-852
- [41] Luo Y, Sangha J, Wang S, et al. Marker-assisted breeding of *Xa4*, *Xa21* and *Xa27* in the restorer lines of hybrid rice for broad-spectrum and enhanced disease resistance to bacterial blight [J]. Mol Breeding, 2012, 30 (4): 1601-1610
- [42] 赵炳然, 贾建航, 阳和华, 等. 水稻孕穗期茎注射野生稻 DNA 变异株系的 RAPD 分析 [J]. 作物学报, 2000, 26 (4): 424-430
- [43] Zhao B, Xing Q, Xia H, et al. DNA Polymorphism Among Yewei B, V20B, and *Oryza minuta* J. S. Presl. ex C. B. Presl [J]. J Integr Plant Biol, 2005, 47 (12): 1485-1492
- [44] 匡勇, 杨曼云, 匡逢春, 等. 转小粒野生稻基因种质野威 B 的产量与米质性状 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2011, 37 (3): 233-236
- [45] 赵炳然, 阳和华, 袁隆平. 国家杂交水稻工程技术研究中心育成高抗稻瘟病的优质三系不育系资 100A [J]. 杂交水稻, 2005, 20 (2): 65
- [46] Jena K, Khush G. Embryo rescue of interspecific hybrids and its scope in rice improvement [J]. Rice Genet Newsl, 1984, 1: 133-134
- [47] 郭嗣斌, 林兴华. 小粒野生稻与栽培稻远缘杂交探讨 [J]. 广西农业科学, 2010, 41 (2): 99-103
- [48] 郭嗣斌, 韦宇, 高国庆. 小粒野生稻与栽培稻远缘杂交回交一代的大量获得及性状鉴定 [J]. 杂交水稻, 2010, 25: 537-540
- [49] Cho S, Ok S, Jeung J, et al. Comparative analysis of 5,211 leaf ESTs of wild rice (*Oryza minuta*) [J]. Plant Cell Rep, 2004, 22: 839-847
- [50] 邢俊杰, 陶小平, 李玲龙, 等. 小粒野生稻酵母双杂交 cDNA 文库的构建 [J]. 杂交水稻, 2010, 25 (1): 67-69
- [51] 曹孟良. 全基因组嵌入突变体库用于挖掘野生稻的有利基因及超级杂交稻分子育种策略 [J]. 分子植物育种, 2005, 3 (6): 869-876
- [52] 王正华, 曹筑荣, 曹孟良. 小粒野生稻可转化人工染色体文库初步构建及筛选 [J]. 国防科技大学学报, 2008, 30 (1): 120-124