

作物基因聚合分子育种

徐小万¹, 雷建军², 罗少波¹, 李颖¹, 王恒明¹

(¹广东省农业科学院蔬菜研究所, 广州 510640; ²华南农业大学园艺学院, 广州 510642)

摘要: 基因聚合分子育种与常规育种技术相结合已成为今后作物育种的主流方向。基因聚合分子育种主要包括遗传转化基因聚合分子育种和分子标记筛选基因聚合分子育种。本文简要综述了近年来作物基因聚合分子育种的研究进展, 分析了遗传转化基因聚合分子育种以及分子标记基因聚合分子育种技术的研究方法及基因聚合分子育种存在的问题。

关键词: 作物; 基因聚合分子育种; 分子标记; 遗传转化

Crop Gene Pyramiding Molecular Breeding

XU Xiao-wan¹, LEI Jian-jun², LUO Shao-bo¹, LI Ying¹, WANG Heng-ming¹

(¹Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640;

²Horticultural College, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

Abstract: Most agronomic characteristics and complex biosynthetic pathways are determined by the coordination of multiple gene expression, and gene pyramiding molecular breeding combined with conventional breeding techniques have become the main means for the crop breeding. Gene pyramiding molecular breeding includes genetic transformation molecular breeding and marker-assisted selection molecular breeding. Genetic transformation molecular breeding, marker-assisted selection molecular breeding in crops were reviewed in recently years. The research methods, the countermeasures on the existing problems of gene pyramiding molecular breeding were discussed and the prospects were described as well in this paper.

Key words: Crops; Gene pyramiding molecular breeding; Molecular markers; Genetic transformation

自然界中植物的许多农艺性状和生理生化代谢都是由多基因调控。长期以来, 育种家通过回交、远缘杂交、物理化学诱变等手段培育高产、优质、多抗作物品种。近年来, 随着分子生物学的发展, 研究者试图通过多基因聚合分子育种手段来达到上述目的。简单地说基因聚合分子育种就是在常规育种的基础上通过分子生物学手段实现 2 个或 2 个以上基因整合到同一个体的育种方法。到目前为止, 植物基因聚合分子育种主要包括两个方面的内容: (1) 遗传转化基因聚合分子育种方法。该法结合常规育种技术, 运用农杆菌介导法、植物 DNA 病毒介导法、电激法、显微注射法、基因枪轰击法、花粉管通道法等基本的植物转化方法, 采用不同策略将人工分离

和修饰的 2 个或 2 个以上的基因导入受体植物, 由于导入基因的表达, 引起生物体的性状可遗传的修饰, 从而培育具有特异目标性状的植物新品种。(2) 分子标记辅助选择基因聚合分子育种方法。该法通过成对杂交、回交、添加杂交、合成杂交、多父本混合授粉杂交等技术, 将有利基因聚合到同一个基因组, 在后代中通过分子标记选择含有多个目标基因的单株, 再从中选出优良株系, 以实现有利基因的聚合^[1-2]。

1 遗传转化基因聚合分子育种

多数遗传转化研究都是将单一的外源基因转入受体植物。可能有时单一基因表达强度不够或作用

收稿日期: 2009-07-05

修回日期: 2009-12-07

基金项目: 国家 863 计划 (2008AA10Z150-53); 广东省科技计划项目 (2009B060600004); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助

作者简介: 徐小万, 博士, 助理研究员, 从事辣椒育种与生物技术研究。E-mail: xxw7505@163.com

通讯作者: 王恒明, E-mail: whming2006@21cn.com

机制单一,尚不能获得理想转基因植物,因此,发展植物多基因转化系统尤为重要。近年来,研究者们将多个基因导入到植物基因组中进行探索,成功地实现了多个目的基因在作物中整合或表达。遗传转化多基因聚合技术主要有:一次转化、顺序转化、共转化、杂交聚合及质体转化^[3-5]。

1.1 单载体一次转化

多基因表达载体的构建主要有以下3种方法。**独立表达框组合法** 这是目前多基因表达载体构建中应用较多的一种。将2个或2个以上目的基因串联在一起组建于同一表达载体中,目的基因的两端均具有各自的启动子、增强子、终止子等转录和翻译调控元件。现已经组建了 *pAH + pAB*^[6]、*pUH + pUB*^[6]、*mtlD + gutD*^[7]、*RCH10 + AGLU*^[8]、*RC24 + β -1,3-Glu*^[9]、*ech42 + nag70*、*ech42 + gluc78*、*nag70 + gluc78*、*ech42 + nag70 + gluc78*^[10]、*ACA + GNA*^[11] 等载体,通过一次性转化获得了基因聚合的抗病虫水稻、抗蚜虫烟草、耐盐杨树等。**多聚蛋白酶解法** 应用这种方法将目的基因的编码序列融合在同一表达框(OFR)内,多个基因在同一个启动子下转录成一个转录单位^[3,12],转录单位翻译形成多聚蛋白前体,而后,蛋白酶切释放单体蛋白^[3]。王三等^[13]将 *DREB*、*rolC*、*IRT1* 等3个基因利用 FMDV 2A 序列融合在一个开放阅读框中,并通过农杆菌菌株 LBA4404 和 Gv3101 介导转化八棱海棠,获得了转基因植株,转化率分别为 0.72% 和 0.15%。但这种方法基因表达量低而且可能是组织特异性或受发育调控,阻碍转基因在组织中的同时表达。**内部核糖体进入位点法** IRES 是一段 mRNA 序列,可以直接引导核糖体对下游开放阅读框进行翻译而不需要 5' 帽子结构,能完全独立于上游顺反子而介导下游顺反子的有效翻译^[14],不依赖于启动子的翻译起始区。

1.2 多载体顺序转化

顺序转化,又叫重复转化或多次转化,是多次将多个基因转入植物基因组中^[3]。通常情况下,一个目的基因构建一个表达载体。要转化多个目的基因需要构建多个表达载体,也就是把多价基因的转化变为多个单价基因的转化,但进行多次独立的转化,各个基因的表达水平差异也较大^[3]。Cao 等^[15] 先后将 *cryIC*、*cryIAC* 基因转入印度芥菜 (*Brassica juncea* cv. "Green Wave") 获得了含 *cryIAC + cryIC* 基因的植株。多载体顺序转化不需考虑载体的容量、目的基因的数目,利用目前成熟的载体构建以及基因转化技术就可以达到要求。但是要转化的目的

基因的数目越多,工作量也就越大,试验周期也就越长,得到转多价基因植株的难度就越来越大。

1.3 多载体共转化

多载体共转化是将位于不同载体上的多个目的基因同时转到同一植物中,也叫一步法多基因转化。Poirier 等^[16] 用双菌株/双质粒(2个质粒载体分别位于不同的农杆菌细胞)共转化法,获得共转化率为 37%、0~35%、16% 的拟南芥转化植株。Wu 等^[17] 利用基因枪法对水稻进行了9个外源基因的共转化,结果发现 56% 的植株带有7个或更多基因。Nicholson 等^[18] 通过基因枪法把参与免疫球蛋白抗体形成的4个基因及1个选择标记基因同时转化了水稻,结果有12个株系(19%)表达所有4种免疫球蛋白组分。目前,多载体共转化已成为多基因聚合转化的首选方法,其简单易行,但由于不同大小和数量的目的基因、不同的表达载体和受体、不同转化事件和转化技术,其共转化的共整合频率也是不稳定的,目的基因在受体植物基因组的整合位点也难以确定。

1.4 杂交聚合转化

杂交聚合转化法先是产生不同的转基因植株,然后采用常规育种手段再将这些植株进行杂交,借助分子标记辅助选择,获得转基因纯系。采用这种方法也已有成功的范例。Cao 等^[19] 将含有单转基因的植株杂交,获得了聚合 *cryIAC + cryIC* 基因的花椰菜和菜用甘蓝。郭龙彪等^[20] 通过农杆菌介导法和基因枪法将 *CMO*、*BADH*、*mtlD*、*gutD* 和 *SAMDC* 基因以单价或双价的形式导入水稻,再结合常规杂交育种,选育出了5价强耐盐性的转基因水稻植株。李进斌等^[21] 也通过杂交的方法将几丁质酶基因、 β -1,3 葡聚糖酶基因和溶菌酶基因聚合于同一材料,获得了高抗稻瘟病的水稻新品系。张光恒等^[22] 利用农杆菌介导 *glgC-TM* 基因而获得的水稻优质晚粳品种中超 123 T₁ 纯系,并以其作为葡萄糖焦磷酸酶(*AGP*)基因的供体亲本,与营养功能粳稻品种巨胚 1 号为 *ge* 基因供体亲本进行杂交,获得了含 *glgC-TM* 基因和 *ge* 基因的聚合株系。杂交聚合转化避免了共转化中因外源基因经常插入同一位点而彼此影响表达,但杂交聚合转化法费时费力,多适用于已有的转基因纯系。

1.5 质体转化法

运用质体转化法,可将多个目的基因通过同源重组转入叶绿体基因组中。植物叶绿体多个基因共用一个启动子,它们以多顺反子的形式同时转录和

表达^[3]。苏宁等^[23]利用基因枪法将含有水稻硫基蛋白酶抑制剂(Oryzacystatin, OC)基因烟草叶绿体表达载体和含有苏云金芽孢杆菌晶体毒蛋白基因(Bt cryIac)烟草叶绿体表达载体共转化到烟草叶绿体,获得壮观霉素抗性植株。质体转化法是一种自然的多基因共表达法,许多叶绿体基因都是以操纵子的形式聚合在一起。另外,叶绿体属母系遗传,外源基因可以稳定遗传,而且可避免外源基因通过花粉漂移。因此,质体转化法可望为高等植物的多基因转化开辟一条新的途径^[3]。

2 分子标记辅助选择基因聚合分子育种

通过常规育种将分散于各个种质中的多个优良基因聚合于同一个体,从而培育优良新品种的过程缓慢、难度较大。分子标记由于能对基因型进行直接的选择,具有快速、准确的优点。将分子标记技术与常规育种相结合,即分子标记辅助选择,进行作物多基因的聚合育种正引起广泛的重视。随着作物遗传图谱的不断饱和,以及越来越多的目标性状基因及QTL的定位,分子标记辅助多基因聚合正日益体现出巨大的优势和应用前景。目前利用分子标记辅助选择进行多基因聚合育种在大田作物中已有应用,如抗稻瘟病基因*Pil*、*Piz-5*和*Pita*基因的聚合^[24]。分子标记辅助选择基因聚合,能同时有效地对多个抗性基因进行选择,并将之聚合于同一植株,以提高抗性,拓宽抗谱,达到持久抗性的目的^[25]。分子标记辅助选择应用于基因聚合分子育种的基本要求有:标记必须与目标性状共分离或紧密连锁,建立较大筛选群体,筛选技术具有重复性、简便低耗、安全高效^[26]。分子标记辅助选择应用于基因聚合育种有以下两个重要步骤:一是将多个供体亲本中与目标性状紧密连锁的基因导入受体亲本,并根据回交与否将其分为3大类:(1)不通过回交方式;(2)多个供体亲本先与受体回交;(3)多个供体亲本间先杂交后再与受体亲本回交^[27]。二是从亲本杂交后产生的分离世代,通过分子标记筛选出含有目标基因的纯系^[27-28]。根据亲本杂交后产生的分离世代,应用分子标记辅助聚合育种有5个基本策略:利用F₂群体及衍生群体、回交群体、重组自交系群体、双单倍体群体及同时应用多种群体筛选聚合株系^[29]。

2.1 F₂群体及其衍生群体

F₂群体及其衍生群体是更容易获取的后代群

体。张增艳等^[30]利用小麦抗白粉病基因*Pm4*、*Pm13*、*Pm21*的特异PCR,对含有*Pm4b*、*Pm13*、*Pm21*的小麦品系复合杂交F₂ 40个植株进行检测,从中选择到*Pm4b + Pm13 + Pm21* 3个基因聚合的抗病植株11个,筛选到*Pm4b + Pm13*、*Pm4b + Pm21*、*Pm13 + Pm21* 2个基因聚合的抗病植株19个,为持久、广谱抗病小麦育种奠定了基础。秦钢等^[31]以含白叶枯病抗性基因*Xa23*的水稻品种WBB1为亲本,分别与含白叶枯病抗性基因*Xa4*的恢复系杂交,利用SSR标记对F₂群体进行筛选,取得了较好的结果。

2.2 回交群体

Sanchez等^[32]应用STS分子标记辅助选择将*Xa5*、*Xa13*和*Xa21*等3个抗白叶枯病基因聚合到IR65598-112中,发现BC₃F₃群体抗性水平明显提高,与单个抗性基因相比具有更强更广谱抗性。SINGH等^[33]应用STS分子标记辅助选择,将*Xa5*、*Xa13*和*Xa21* 3个抗白叶枯病基因聚合到水稻品种PR106,结果发现BC₂F₂、BC₂F₃群体水平抗性明显加强。Narayanar等^[34]将*Piz-5*和*Xa21*基因聚合到IR50中,应用STS标记检测BC₄F₂群体抗性,结果同时提高了对白叶枯病和稻瘟病的抗病能力。张晓科等^[35]认为,在聚合多种优质HMW-GS基因和改良高产小麦品系品质育种中,回交转育、HMW-GS基因分子标记辅助选育与高代蛋白质电泳筛选相结合是一种定向、快速、有效的育种途径。邓其明等^[36]通过常规回交育种结合分子标记辅助选择技术,将来自IRBB24的2个抗白叶枯病基因*Xa21*和*Xa4*聚合到感病的杂交稻恢复系绵恢725中,通过分子标记检测目标基因和亲本遗传背景差异,快速获得了具有良好的产量潜力蜀恢207。易懋升等^[37]运用回交群体结合分子标记辅助选择获得了完全纯合的聚合有2个恢复基因*Rf3*、*Rf4*和4个抗白叶枯病基因*Xa4*、*Xa5*、*Xa13*和*Xa21*的新材料。

2.3 重组自交系

重组自交系是用单粒传方法产生的F₂群体中各个体的后代连续自交获得的纯系。Twardowska等^[38]将541 × Ot1-3杂交产生的重组自交系通过RAPD标记筛选出含抗穗发芽性和α-淀粉酶活性基因的黑麦新株系。巴沙拉特等^[39]将含*Xa4*、*Xa5*、*Xa13*、*Xa2*共4个抗白叶枯病基因的重组自交系IRBB60与8个水稻新品系,配制8个杂交组合,应用分子标记辅助选择技术从后代分离群体中共获得216个携带4个抗白叶枯病基因的纯合体。通过分

子标记辅助选择将不同类型的抗病基因聚合在一起报道不多,研究者们还是开展了一些有益的工作。倪大虎等^[40]利用分子标记辅助选择将广谱高抗稻瘟病的 *Pi9(t)* 基因和全生育期高抗白叶枯病的 *Xa21* 或 *Xa23* 基因聚合到优良株系中,建立了含双抗或三抗基因重组自交系,获得了一批优良株系。

2.4 双单倍体群体

罗瑛皓等^[41]利用小麦抗白粉病基因 *Pm4b* 的 STS-PCR 标记, *Pm13* 和 *PmV* 的 SCAR-PCR 标记,以及与 *Pm12* 共分离的同工酶标记(α -Amy-1),对来自小麦与玉米杂交产生的双单倍体材料的 7 个株系和 9 个穗系的 49 个随机单株进行检测,分别筛选出含有 *Pm12 + Pm4b + PmV* 和 *Pm13 + Pm4b + PmV* 3 个抗病基因的植株 7 个和 1 个,含有 *Pm12 + Pm4b*、*Pm4b + PmV*、*Pm12 + PmV* 和 *Pm13 + Pm4b* 2 个抗病基因的植株 3 个、6 个、2 个和 2 个。朱晓娜等^[42]分别用抗条中 32 号、31 号小种和水源 14 号小种的花育 888-5、西农 1376 和 2123 个育种材料进行杂交、复交,并花培纯合,对来自 3 个抗条锈育种材料的不同抗性基因进行聚合,建立 DH 系。对该 DH 群体中抗条中 32 号小种基因进行 RAPD 标记分析,创制了聚合 2 个抗条锈流行小种基因的小麦抗条锈新种质 13 个。

2.5 同时应用多种群体

在采用分子标记进行抗稻瘟病基因的聚合育种方面,陈学伟等^[43]将 Digu、BL1 和 Pi4 号水稻品种中 *Pid(t)*、*Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因聚合到保持系杂交品种 G46B 中,在聚合杂交的 F_2 及 BC₁ 群体中共获得了 15 株含 *Pid(t) 1*、*Pi b*、*Pi ta2* 等 3 个抗稻瘟病基因的材料。邓其明等^[44]采用复合杂交结合分子标记辅助选择技术将 *Xa21*、*Xa23*、*Xa4* 聚合到水稻优良恢复系绵恢 725 中,得到 *Xa21*、*Xa23* 和 *Xa4* 的累加系植株对白叶枯病菌的抗性明显强于基因型为单基因和双基因累加系植株。谭彩霞等^[45]利用特青/Lemont 的 115 个高代无性系在第 9 和第 11 染色体上各发现了 1 个抗纹枯病主效 QTL,并于 2005 年通过分子标记辅助选择,分别聚合得到特青背景下的双感纯合系, Lemont 背景下的双感、双抗纯合系。陈红旗等^[46]以 C101LACt 和 C101A51 为稻瘟病抗性基因的供体亲本,金 23B 为受体亲本,通过杂交、复交及一次回交,在分离世代利用分子标记辅助选择技术结合特异稻瘟病菌株接种鉴定和农艺性状筛选,获得 6 个导入 *Pil*、*Pi2* 和 *Pi33* 基因的金 23B 导入系,对稻瘟病的抗病性明显高于携带单个基因的 C104LAC (*Pil*)、C101A51 (*Pi2*) 和北京糯 (*Pi33*)。

3 问题与展望

近 10 年来,作物基因聚合分子育种已经取得了较大的进展,本文简要地综述了基因聚合分子育种的策略和成功事例。但是,通过基因聚合分子育种手段育成的、能在生产上大面积应用的农作物品种相对很少,大多数基因聚合分子育种研究仍停留在实验室阶段。通过基因聚合分子育种以培育高产、优质、多抗农作物品种,还有许多方面的研究需要加强。

在遗传转化基因聚合分子育种方面:(1)在多基因单载体共转化聚合研究中,表达载体容量是其研究的瓶颈,因此大容量人工染色体以及相应的转化技术研究需要进一步加强;(2)如何保证基因高效表达又要防止同源重组和基因沉默的发生,这是多基因单载体共转化聚合研究中一个尚待解决的重要问题;(3)质体转化法目前研究较少,在今后多基因聚合分子育种研究需要加强;(4)多个基因在同一个转基因植株中的转录和表达水平往往不一致,这涉及蛋白质组学和转录组学,因此有待加强这方面的研究;(5)由中国农业科学院棉花研究所等单位采用花粉管通道法,把 *Bt + CpTI* 双价抗虫基因导入常规棉品种中,选育出第一个国审双价转基因抗虫棉品种,我国应加强自主研发的花粉管通道法以培育更多的转基因作物品种。

在分子标记辅助选择进行基因聚合分子育种方面:(1)到目前为止,真正可用于分子标记的基因有限,还需构建和整合更多较饱和的分子标记连锁图谱,寻找与目标基因紧密连锁的分子标记;(2)加大力度进行受体亲本与多供体亲本间传统育种聚合方法研究,从中筛选出一套最有效的杂交途径;(3)有必要寻找新型的分子标记,以实现检测过程的自动化、规模化。另外,基因聚合分子育种在水稻、小麦、玉米、烟草等大田作物研究较多,而在园艺作物方面研究较少,今后应该加强园艺作物基因聚合分子育种研究。

随着分子生物学的不断发展及其与传统育种技术结合的日益紧密,通过基因聚合分子育种改良农作物多个农艺性状,创造优良作物种质资源,快速培育高产、优质、多抗作物新品种,将产生较大的经济效益和社会效益。


参考文献

- [1] 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
- [2] Servin B, Martin O C, Mézard M, et al. Toward a theory of marker-

- assisted gene pyramiding[J]. *Genetics*, 2004, 168(9):513-523
- [3] Francois I E J A, Broekaert W F, Cammue B P A. Different approaches for multi-transgene-stacking in plants[J]. *Plant Sci*, 2002, 163:281-295
- [4] 李宝健, 朱华展. 论应用多基因转化策略综合改良生物体遗传性研究方向的前景 I. 多基因转化的基因来源与技术平台[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2004, 43(6):11-16
- [5] 李宝健, 朱华展. 论应用多基因转化策略综合改良生物体遗传性研究方向的前景 II. 多基因转化策略中的规律、前景和问题[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2005, 44(4):79-83
- [6] Katiyar - Agarwal S, Kapoor A, Grover A. Binary cloning vectors for efficient genetic transformation of rice[J]. *Current Science*, 2002, 82(7):873-876
- [7] 樊军锋, 韩一凡, 李玲, 等. 84K 杨树耐盐基因转化研究[J]. *西北林学院学报*, 2002, 7(4):21-24
- [8] 毛碧增, 李德葆, 李群, 等. 转化双价防卫基因获得抗纹枯病水稻[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(4):322-326
- [9] 李爱宏, 许薪萍, 戴正元, 等. 转基因水稻株系的纹枯病抗性分析[J]. *中国水稻科学*, 2003, 17(4):302-306
- [10] 刘梅, 孙宗修, 徐同. 哈茨木霉 (*Trichoderma harzianum*) 多种胞壁降解酶基因表达载体的构建及转化水稻[J]. *浙江大学学报*, 2004, 30(6):596-602
- [11] 刘召华, 张振山, 郭洪年, 等. 两种凝集素基因在转基因烟草中表达的研究[J]. *遗传学报*, 2005, 32(7):758-763
- [12] Peschen D, Li H P, Fischer R, et al. Fusion proteins comprising a *Fusarium*-specific antibody linked to antifungal peptides protect plants against a fungal pathogen[J]. *Nat Biotechnol*, 2004, (22):732-738
- [13] 王三红, 杨梦悦, 顾敏, 等. 农杆菌介导三价融合基因 *Rirol* 转化八棱海棠的研究[J]. *果树学报*, 2007, 24(6):731-736
- [14] Toth R L, Chapman S, Carr F, et al. A novel strategy for the expression of foreign genes from plant virus vectors[J]. *FEBS Lett*, 2001, 489(2-3):215-219
- [15] Cao J, Shelton A M, Earle E D. Sequential transformation to pyramid two *Bt* genes in vegetable Indian mustard (*Brassica juncea* L.) and its potential for control of diamondback moth larvae[J]. *Plant Cell Reports*, 2008, 27:479-487
- [16] Poirier Y, Ventre G, Nawrath C. High-frequency linkage of co-expressing T-DNA in transgenic *Arabidopsis thaliana* transformed by vacuum-infiltration of *Agrobacterium tumefaciens*[J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100:487-493
- [17] Wu L, Nandi S, Chen L, et al. Expression and inheritance of nine transgenes in rice[J]. *Transgenic Res*, 2002, 11(5):533-541
- [18] Nicholson L, Gonzalez - Melendi P, van Dolleweerd C, et al. A recombinant multimeric immunoglobulin expressed in rice shows assembly-dependent subcellular localization in endosperm cells[J]. *Plant Biotechnol*, 2005, 3:115-127
- [19] Cao J, Shelton A M, Earle E D. Development of transgenic collards (*Brassica oleracea* L., var. *acephala*) expressing a *cry1Ac* or *cry1C* B gene for control of the diamondback moth[J]. *Crop Prot*, 2005, 24:804-813
- [20] 郭龙彪, 薛大伟, 王慧中, 等. 转基因与常规杂交相结合改良水稻耐盐性[J]. *中国水稻科学*, 2006, 20(2):141-146
- [21] 李进斌, 姚春馨, 许明辉, 等. 三个外源抗稻瘟病基因聚合与抗性研究[J]. *西南农业学报*, 2007, 20(1):49-52
- [22] 张光恒, 曾大力, 郭龙彪, 等. 葡萄糖蔗糖酶基因与巨胚基因聚合创建营养功能稻[J]. *中国水稻科学*, 2007, 21(6):567-572
- [23] 苏宁, 孙萌, 杨波, 等. 双价杀虫基因叶绿体共转化植株抗虫性及其后代代表型分析[J]. *遗传*, 2002, 24(3):288-292
- [24] Hittalmani S, Parco A, Mew T W, 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
- [25] Chen H L, Wang S P, Zhang Q F. New gene for bacterial blight resistance in rice located on chromosome 12 identified from Minghui63, an elite restorer line[J]. *Phytopathology*, 2002, 92(7):750-754
- [26] 潘海军, 王春连, 赵开军, 等. 水稻抗白叶枯病基因 *Xa23* 的 PCR 分子标记定位及辅助选择[J]. *作物学报*, 2003, 29(4):501-509
- [27] Ishii T, Yonezawa K. Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: I. schedule of crossing between the donor lines[J]. *Crop Sci*, 2007, 47:537-546
- [28] Ishii T, Yonezawa K. Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: II. strategies for selecting the objective homozygous plant[J]. *Crop Sci*, 2007, 47:1878-1886
- [29] Bonnett D G., Rebetzke C J, Spielmeier W. Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding[J]. *Mol Breed*, 2005, 15:75-85
- [30] 张增艳, 陈孝, 张超, 等. 分子标记选择小麦抗白粉病基因 *Pm4b*, *Pm13* 和 *Pm21* 聚合体[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(7):789-793
- [31] 秦钢, 李杨端, 李道远, 等. 水稻白叶枯病抗性基因 *Xa4*, *Xa23* 聚合及分子标记检测[J]. *分子植物育种*, 2007, 5(5):625-630
- [32] Sanchez A C, Brat D S, Hung N, et al. Sequence tagged site marker-assisted selection for three bacterial blight resistance genes in rice[J]. *Crop Science*, 2000, 40:792-797
- [33] Sing S, Sidhu J S, Huang N, et al. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106[J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102:1011-1015
- [34] Narayanan N, Baisakha N, Vera C M, et al. Molecular breeding for the development of blast and bacterial blight resistance in rice cv. IR50[J]. *Crop Sci*, 2002, 42(6):2072-2079
- [35] 张晓科, 魏益民. 快速导入小麦多个优质 *HMW-GS* 基因方法和效果的研究[J]. *中国农业科学*, 2004, 38(1):208-212
- [36] 邓其明, 王世全, 郑爱萍, 等. 利用分子标记辅助育种技术选育高抗白叶枯病恢复系[J]. *中国水稻科学*, 2006, 20(2):153-158
- [37] 易懋升, 丁效华, 张泽民, 等. 水稻抗白叶枯病恢复系的分子育种[J]. *华南农业大学学报*, 2006, 27(2):1-4
- [38] Twardowska M, Masojć P, Milczarski P. Pyramiding genes affecting sprouting resistance in rye by means of marker assisted selection[J]. *Euphytica*, 2005, 143:257-260
- [39] 巴沙拉特, 丁效华, 曾列先, 等. 水稻抗白叶枯病基因的聚合育种[J]. *分子植物育种*, 2006, 4(4):493-499
- [40] 倪大虎, 易成新, 李莉, 等. 分子标记辅助培育抗白叶枯病和稻瘟病三基因聚合系[J]. *作物学报*, 2008, 34(1):100-105
- [41] 罗瑛皓, 陈新民, 夏兰芹, 等. 小麦抗白粉病基因聚合体 DH 材料的分子标记鉴定[J]. *作物学报*, 2005, 31(5):565-571
- [42] 朱晓娜, 陈耀锋, 曹婷, 等. 小麦抗条锈基因聚合及抗条中 32 号基因分子标记筛选[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2008, 36(3):187-191
- [43] 陈学伟, 李仕贵, 马玉清, 等. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi-d(t)1*, *Pib*, *Pita2* 的聚合及分子标记选择[J]. *生物工程学报*, 2004, 20(5):708-713
- [44] 邓其明, 周宇嫻, 蒋昭雪, 等. 白叶枯病抗性基因 *Xa21*, *Xa4* 和 *Xa23* 的聚合及其效应分析[J]. *作物学报*, 2005, 31(9):1241-1246
- [45] 谭彩霞, 纪雪梅, 杨勇, 等. 水稻回交世代中两个抗纹枯病主效数量基因的鉴定与标记辅助选择[J]. *遗传学报*, 2005, 32(4):399-405
- [46] 陈红旗, 陈宗祥, 倪深, 等. 利用分子标记技术聚合 3 个稻瘟病基因改良金 23B 的稻瘟病抗性[J]. *中国水稻科学*, 2008, 22(1):23-27

作者: [徐小万](#), [雷建军](#), [罗少波](#), [李颖](#), [王恒明](#), [XU Xia-wan](#), [LEI Jian-jan](#), [LUO Shao-bo](#), [LI Ying](#), [WANG Heng-ming](#)

作者单位: [徐小万, 罗少波, 李颖, 王恒明, XU Xia-wan, LUO Shao-bo, LI Ying, WANG Heng-ming \(广东省农业科学院蔬菜研究所, 广州, 510640\)](#), [雷建军, LEI Jian-jan \(华南农业大学园艺学院, 广州, 510642\)](#)

刊名: [植物遗传资源学报](#) 

英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)

年, 卷(期): 2010, 11(3)

参考文献(46条)

1. [李爱宏; 许薪萍; 戴正元](#) [转基因水稻株系的纹枯病抗性分析](#) [期刊论文] - [中国水稻科学](#) 2003(04)
2. [毛碧增; 李德葆; 李群](#) [转化双价防卫基因获得抗纹枯病水稻](#) [期刊论文] - [植物生理与分子生物学学报](#) 2003(04)
3. [樊军锋; 韩一凡; 李玲](#) [84K杨树耐盐基因转化研究](#) [期刊论文] - [西北林学院学报](#) 2002(04)
4. [Kutiyar-Agarwal S; Kapoor A; Graver A](#) [Binary cloning vectors for efficient genetic transformation of rice](#) [外文期刊] 2002(07)
5. [李宝健; 朱华晨](#) [论应用多基因转化策略综合改良生物体遗传性研究方向的前景 II. 多基因转化策略中的规律、前景和问题](#) [期刊论文] - [中山大学学报\(自然科学版\)](#) 2005(04)
6. [陈红旗; 陈宗祥; 倪深](#) [利用分子标记技术聚合3个稻瘟病基因改良金23B的稻瘟病抗性](#) [期刊论文] - [中国水稻科学](#) 2008(01)
7. [谭彩霞; 纪雪梅; 杨勇](#) [水稻回交世代中两个抗纹枯病主效数量基因的鉴定与标记辅助选择](#) [期刊论文] - [遗传学报](#) 2005(04)
8. [邓其明; 周宇燧; 蒋昭雪](#) [白叶枯病抗性基因Xa21、Xa4和Xa23的聚合及其效应分析](#) [期刊论文] - [作物学报](#) 2005(09)
9. [陈学伟; 李仕贵; 马玉清](#) [水稻抗稻瘟病基因Pi-d\(t\)1, Pib, Pita2的聚合及分子标记选择](#) [期刊论文] - [生物工程学报](#) 2004(05)
10. [朱晓娜; 陈耀锋; 曹婷](#) [小麦抗条锈基因聚合及抗条中32号基因分子标记筛选](#) [期刊论文] - [西北农林科技大学学报\(自然科学版\)](#) 2008(03)
11. [罗瑛皓; 陈新民; 夏兰芹](#) [小麦抗白粉病基因聚合体DH材料的分子标记鉴定](#) [期刊论文] - [作物学报](#) 2005(05)
12. [倪大虎; 易成新; 李莉](#) [分子标记辅助培育抗白叶枯病和稻瘟病三基因聚合系](#) [期刊论文] - [作物学报](#) 2008(01)
13. [巴沙拉特; 丁效华; 曾列先](#) [水稻抗白叶枯病基因的聚合育种](#) [期刊论文] - [分子植物育种](#) 2006(04)
14. [Twardowska M; Masoj\(c\) P; Milczarski P](#) [Pyramiding genes affecting sprouting resistance in rye by means of marker assisted selection](#) [外文期刊] 2005(3)
15. [易懋升; 丁效华; 张泽民](#) [水稻抗白叶枯病恢复系的分子育种](#) [期刊论文] - [华南农业大学学报](#) 2006(02)
16. [邓其明; 王世全; 郑爱萍](#) [利用分子标记辅助育种技术选育高抗白叶枯病恢复系](#) [期刊论文] - [中国水稻科学](#) 2006(02)
17. [张晓科; 魏益民](#) [快速导入小麦多个优质HMW-GS基因方法和效果的研究](#) 2004(01)
18. [Narayanana N; Baisakha N; Vera C M](#) [Molecular breeding for the development of blast and bacterial blight resistance in rice cv. IR50](#) 2002(06)
19. [Sing S; Sidhu J S; Huang N](#) [Pyramidig three bacterial blight resistance genes\(xa5, xa13 and Xa21\) using marker-assisted selection into indica rice euhivar PR106](#) [外文期刊] 2001(6/7)
20. [Sanchez A C; Brat D S; Hung N](#) [Sequence tagged site marker-assisted selection for three bacterial](#)

[blight resistance genes in rice](#)[外文期刊] 2000(3)

21. [秦钢;李杨瑞;李道远](#) [水稻白叶枯病抗性基因Xa4、Xa23聚合及分子标记检测](#)[期刊论文]-[分子植物育种](#) 2007(05)
22. [张增艳;陈孝;张超](#) [分子标记选择小麦抗白粉病基因Pm4b、Pm13和Pm21聚合体](#)[期刊论文]-[中国农业科学](#) 2002(07)
23. [Bonnett D G;Rebetzke G J;Spielmeyer W](#) [Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding](#)[外文期刊] 2005
24. [李宝健;朱华晨](#) [论应用多基因转化策略综合改良生物体遗传性研究方向的前景 I. 多基因转化的基因来源与技术平台](#)[期刊论文]-[中山大学学报\(自然科学版\)](#) 2004(06)
25. [Francois I E J A;Broekaert W F;Cammue B P A](#) [Different approaches for multi-transgene-stacking in plants](#) 2002
26. [Servin B;Martin O C;M\(e\)zard M](#) [Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding](#)[外文期刊] 2004(09)
27. [Ishii T;Yonezawa K](#) [Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: II. strategies for selecting the objective homozygous plant](#)[外文期刊] 2007(5)
28. [Ishii T;Yonezawa K](#) [Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: I. schedule of crossing between the donor lines](#)[外文期刊] 2007(2)
29. [潘海军;王春连;赵开军](#) [水稻抗白叶枯病基因Xa23的PCR分子标记定位及辅助选择](#)[期刊论文]-[作物学报](#) 2003(04)
30. [Chen H L;Wang S P;Zhang Q F](#) [New gene for bacterial blight resistance in rice located on chromosome 12 identified from Minghui63, all elite restorer line](#)[外文期刊] 2002(07)
31. [Hittalmani S;Pareo A;Mew T W](#) [Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice](#) 2000
32. [苏宁;孙萌;杨波](#) [双价抗虫基因叶绿体共转化植株抗虫性及其后代代表型分析](#)[期刊论文]-[遗传](#) 2002(03)
33. [张光恒;曾大力;郭龙彪](#) [葡萄糖焦磷酸酶基因与巨胚基因聚合创建营养功能稻](#)[期刊论文]-[中国水稻科学](#) 2007(06)
34. [李进斌;姚春馨;许明辉](#) [三个外源抗稻瘟病基因聚合与抗性研究](#)[期刊论文]-[西南农业学报](#) 2007(01)
35. [郭龙彪;薛大伟;王慧中](#) [转基因与常规杂交相结合改良水稻耐盐性](#)[期刊论文]-[中国水稻科学](#) 2006(02)
36. [Cao J;Shelton A M;Earle E D](#) [Development of transgenic collards\(Brassica oleracea L., vat. acephala\) expressing a cry1Ac or cry1C Bt gene for control of the diamondback moth](#) 2005
37. [Nicholson L;Gonzalez-Melendi P;vail Dolleweerd C A](#) [recombinant muhimerie immunoglobulin expressed in rice shows assembly-dependent subcellular localization in endosperm cells](#) 2005
38. [Wu L;Nandi S;Chen L](#) [Expression and inheritance of nine transgenes in rice](#)[外文期刊] 2002(05)
39. [Poirier Y;Ventre G;Nawrath C](#) [High-frequency linkage of coexpressing T-DNA in transgenic Arabidopsis thaliana transformed by vacuum-infiltration of Agrobacterium tumefaciens](#) 2000
40. [Cao J;Shelton A M;Earle E D](#) [Sequential transformation to pyramid two Bt genes in vegetable Indian mustard\(Brassica juncea L.\) and its potential for control of diamondback moth larvae](#)[外文期刊] 2008(3)

41. [Toth R L;Chapman S;Carr F A novel strategy for the expression of foreign genes from plant virus vectors](#)[外文期刊] 2001(2-3)
42. [王三红;杨梦悦;顾敏 农杆菌介导三价融合基因Rirol转化八棱海棠的研究](#)[期刊论文]-[果树学报](#) 2007(06)
43. [Peschen D;Li H P;Fischer R Fusion proteins comprising a Fusarium-specific antibody linked to antifungal peptides protect plants against a fungal pathogen](#)[外文期刊] 2004(22)
44. [刘召华;张振山;郭洪年 两种凝集素基因在转基因烟草中表达的研究](#)[期刊论文]-[遗传学报](#) 2005(07)
45. [刘梅;孙宗修;徐同 哈茨木霉\(Trichoderma harzianum\) 多种胞壁降解酶基因表达载体的构建及转化水稻](#)[期刊论文]-[浙江大学学报](#) 2004(06)
46. [何光明;孙传清;付永彩 水稻抗衰老IPT基因与抗白叶枯病基因Xa23的聚合研究](#)[期刊论文]-[遗传学报](#) 2004(08)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201003019.aspx