生物技術在稻作品種改良上的應用

吳 信 淦
中央研究院植物研究所

本省稻米育種，在日據時代就有台北帝國大學（國立台灣大學前身）的磯永吉教授育成蓬萊米品稻而聞名。光復之後，育種家對於增加稻米單位面積產量亦有輝煌的成就。過去，稻米育種家的目標是改進品質與產量，所依靠的主要是個人的經驗，雖則也指望遺傳研究，尤其是遺傳（連鎖群）輿圖的協助，實質上，這種協助得之不多。近年來，由於分子標記興起，六、七年間已作成可以實際應用於育種的遺傳輿圖。所以，今日的稻米育種家面臨著如何使用這些新的工具，繼續不斷地向目標前進。

生物技術是應用分子生物學的工具和技術以解決相關問題。稻米生物技術季訊（Rice Biotech. Quarterly)所報導的話題包括：基因的表現、RFLP輿圖、原生質轉殖、基因選殖、原位雜交、逆境、毒素體病害、體細胞殖系變異、分子細胞遺傳、基因定序、葉綠體及粒線體、組織培養、儀器方法的進展等。本文只就分子標記時代的來臨及其應用於育種作一介紹。

一、分子標記的種類

分子標記有三類，即酶切長度多形性、逢機擴增多形性及任意擴增多形性，幾乎同時發展、成熟與公開。

(一)酶切長度多形性（RFLP)：它是用同物種一個體染色體組的一短片段DNA測試一雜交組合的兩親、F_1及F_2各個體染色體組DNA的變異。設兩親本的染色體組DNA的核甘酸組成（即A、T、G、C等的序列）是完全一樣的，經同一種限制酶切後，會得到許多長度不相同的DNA片段。用一短片段DNA 作探針與這些DNA片段雜交，則會顯示兩親各有一雜交正反應的片段，而且長度相等。但如果兩親之一的那條雜交正反應片段一端酶切點的序列有所變異，酶就無法切開那切點，那條雜交正反應片段的長度就會較另一親的爲長（因酶切了與變異點相鄰同一種酶的切點）。如此，兩親的雜交正反應片段一長一短，就稱爲酶切長度多形性，能告知兩親的染色體組DNA在那片段上有變異。同一種酶相鄰兩切點之間的核苷酸序列，如在一親有缺失或外加，也可由酶切多形性測知兩親間染色體組DNA有所不同。不同種類的酶可測知兩染色體組上不同部位的變異。顯現酶切多形性所用的探針，通常是選用一種合適的酶將一品種的染色體組DNA切成大小不同的片段（例如0.5kb至1.5kb），篩選出單份的片段（即在該染色體組只出現一次而不是多次或無數次）爲之。也可以是一cDNA，甚或是其他不同物種染色體組上的一短片段DNA。

凡是可使兩親染色體組DNA顯現酶切長度多形性的單份DNA片段就相當於一基因座。在兩親出現一長一短的雜交正反應片段相當於該基因座的兩個等位基因。這兩個等位基因在兩

親雜交組合的F_1同時出現，在F_2世代依孟氏定律分離。於玉米、番茄等，這樣找出來的單份DNA片段（也即基因座）已經很多，且已構築成RFLP連鎖群輿圖。稻的第一個RFLP連鎖群輿圖是由McCouch 於1990發表（McCouch, 1990），第二個RFLP輿圖在日本筑波作出（Kurata et al, 1994)。稍後，法人Causse等補增第一個RFLP連鎖群輿圖使之有726個基因座，兩兩基因座間的距離約爲2.0cM(Causse et al, 1994）。由於這些基因座是由稻染色體組的短片段DNA所定出，故也稱爲分子標記，與形態突變等用作形態標記的不同。

(二）逢機擴增多形性（RAPD)：使用一個隨意組合的10個核苷酸序列作引子，以兩親的染色體組DNA爲模板，在DNA擴增儀（polymerase chain reaction, PCR)中擴增。所得的DNA片段有兩親共有的，也有只見於一親而不見於另一親的，後者成爲多形性。多形性的形成是由於兩親染色體組DNA的變異，此包括染色體組DNA引子結合位置單一核苷酸的取代以及該位置核苷酸的缺失、外加或重新排列等。目前，上千條隨意組合的寡核苷酸序列（每序列有10個核苷酸）已經商品化，用以擴增只見於一親的DNA片段極爲方便。這些只見於一親的DNA片段稱爲RAPD分子標記，各別代表一基因座，可構築成一遺傳輿圖。在阿剌伯芥已築成一含有252個RAPD分子標記及60個RFLP分子標記的遺傳輿圖（Reiter, et al 1992)。稻的若干RAPD分子標記已併入RFLP連鎖輿圖，未見單獨構築成一RAPD輿圖。

(三）任意擴增多形性（AFLP)：此種多形性爲任選一DNA片段其長度爲20-30個核甘作爲引子，在PCR儀中以一個體染色體組DNA爲模版，擴增出2-20個DNA片段（以放射性標示以便使量少的也能顯示在PAGE膠體上(Welsh and McClelland, 1990)。稍後，Caetano-Anolles et al (1991) 用一或多條短至5個核苷酸的片段爲引子，擴增到相當多的DNA片段，分布在PAGE膠體，且用銀染顯示DNA量少的片段。此兩種都能顯示一生物的染色組DNA經特定的寡核苷酸的片段爲引子，擴增到的DNA片段有特定的分布，一如指紋，故又稱爲指紋法（DAF)。指紋法可區別生物個體間染色體組DNA組成的差別，善用引子時，也可區別物種間遺傳物質組成的不同。對種源庫中重複種源的檢定，也有用處。當擴增到的DNA片段較少時，顯示出多形性的片段也可用作分子標記。

二、稻分子標記的應用

分子標記多應用於重要基因的定位，但也可應用於生物個體 遺傳變異的發掘。如稻兩亞種（日本型、印度型）染色體組DNA的分化(Qian et al, 1995)，稻種源庫中重複種源的檢定(Virk et al, 1995)，澳洲栽培稻品種間染色體組的異同(Ko et al. 1994)及稻善變DNA序列的指紋分析(Ramakrisma et al 1995)。

(一）稻形態基因在RFLP輿圖上的定位：稻傳統的遺傳輿圖上有164個基因座，包括形態的、同功酶及農藝性狀的(Kinoshita 1993)。這些形態變異往往是阿白、矮株及變形葉等，在育種上不便直接作爲標記使用。假如能在此等形態基因座附近找到分子標記，則可以其附近新檢定的分子標記取代形態基因，避免不受歡迎的形態突變介入育種計畫。Yu, et al (1995)把稻五個形態基因利用雜交 F_2 世代定位於RFLP輿圖上。即第4染色體上有紫穎(Pr)及酚反應(Ph)兩基因，各離分子標記RG163爲16.8±7.9cM及RG163爲20.8±8.4cM。光葉(gl-1)在第5染色體上離RG182爲14.3±7.4cM。棕色果皮(Rc)在第7染色體上，距離RG30爲12.5±7.2cM。懶散株

(la)在第 11條染色體上，距RG118爲28.8±9.4cM。又利用近同源自交系把半矮性(sd-1)定位在第1條染色體上，介乎RG350及RG462之間。

(二）稻熱病直式抗病性基因的定位：Yu et al (1991)利用抗(Tetep)感(CO39)兩親雜交組合的近同源系及稻第一個RFLP輿圖中142個分子標記，找出何些分子標記在抗病基因Pi-2(t)及Pi-4(t)附近。結果顯示Pi-2(t)基因在第6條染色體上，與RG64相距2.8 ±1.4cM，而Pi-4(t)基因在第12 條染色體上，與RG869相距15.3±4.2cM。稍後Wang et al (1994)利用Moroberekan（抗）X CO39（感）雜交組合281個F7重組自交系及RFLP輿圖中的 127個分子標記找出Pi-5(t)及Pi-7(t)兩個抗病基因，分別位於第4條染色體的RG498與RG864之間及第11條染色體的RG16與RG103之間。此兩個基因能抗5個稻熱病菌菌系（小種）。另外，第2條染色體上的RG188及RG102，第12條染色體上的RG323及第7條染色體上RG528均與抗的表型相連。

(三）數量性狀基因的定位：

1.紋枯病是稻作主要病害之一，抗病品種之育成並不容易。Li et al (1995)利用113個RFLP分子標記在雜交組合Lemont X Teqing 225個混合F_4族群（每一族群由單一F_2個體自交所得的7株F_3組成）檢得6個抗病基因座，分布在6條染色體上。此6個基因座各別命名爲QSbr2a、QSbr3a、 s QSbr4a、QSbr8a、QSbr9a 及QSbr12a。各別順次位於兩個RFLP分子標記RG654-RZ260、RG348-RG944、RG143-RG214、RG20-RG1034、RG910b-RZ777及RG214a-RZ397之間，且有累加（抗病性）的效果。顯然，這些基因座是屬於數量性狀基因座(QTLs)，故冠以Q, Sbr爲抗紋枯病，2a爲第2條染色體上的第a個抗病基因座（或許以後在同條染色體上還會出現更多抗紋枯病的基因座b，c.....等）。

2.稻根的形態可能與耐旱有關，但那些形態性狀與之有關，又座落在何一位置，是育種家關心的事。Champoux et al (1995) 在Moroberekan X CO39後代203個重組自交系中找出根徑、根莖比、每叢根乾重等各有18、16及14個數量性狀基因座所控制，且與耐旱性有關。每一性狀的各個數量性狀基因座分別位於染色體的特定位置，即某兩個RFLP分子標記之間，或一個或多個分子標記附近。但控制2或3種不同形態性狀的各個數量性狀基因座常落在同一位置。每一數量性狀基因座對同一形態性狀的貢獻大小不同。

3.雜種優勢：雜種優勢是由於顯性（異結合的F_1個體中，一親的顯性等位基因減除了另一親的隱性等位基因的效果），還是超顯性（一基因座上兩等位基因的異結合優於顯性同結合或隱性同結合）很難確定。Xiao et al(1995)利用114個RFLP分子標記及秈X酶的194個F8重組自交系，築成一RFLP輿圖。以此爲基礎找出在BC1F7分離世代中控制產量、千粒重、每株粒數等12個數量性狀基因座(QTLs)在該RFLP輿圖上的位置，並比較異結合、顯性同結合或與隱性同結合對表型所作的貢獻。結論是雜交稻的雜種優勢是由於顯性所致。

4.稻熱病橫式抗病性基因的定位：稻熱病的橫式抗病性（也稱田間抗病性，常從病斑的數目、大小及病葉面積等判斷其大小）是由微效基因所控制。這些基因已可用數量性狀基因座（QTL)分析法定位在染色體上。Wang et al (1994)利用 Moroberekan X CO39的281個F7重組自交系及127個RFLP 分子標記找出10個控制病斑數目的數量性狀基因座分別分布在8條染色體的10個染色體片段上，每一片段都有RFLP分子標記標示其位置。例如第一條染色體上有二個片段，一片段的兩端有RG197及RZ276，另一片段上則有RG140及RG612。病葉面積的基因座則分布在6條染色體的7個片段上。控制病斑大小的片段則分布在第1及11兩條染色體上。分

布有控制病斑數目基因座的10個染色體片段中有7個片段重疊著控制3個數量性狀(即病斑數目、大小及病葉面積）中之2個，甚至3個的基因座。

基因定位的結果，可告知一物種或品種的染色體組上確有這樣的基因。在過去，如果有一個抗病基因與一形態基因緊密連鎖，則在育種過程中選拔該形態基因的同時，也可能選拔到該一抗病基因。但傳統的遺傳輿圖上形態基因數目不多。如今就刻意用分子標記，期能有更多機會找到與抗病基因連鎖的分子標記以利抗病個體的選拔。形態基因定位於分子層次的遺傳輿圖之後，不僅可作爲染色體組DNA上的地標，也知其位於一分子標記附近。因此有分離到形態基因、定出其序列的可能，進而研究其功能。爲何一基因的突變能使植株顯現無葉舌，或脆葉等的性狀，是一個基礎且有趣的研究課題。在實用上，可將分離到的有用的基因，如直式抗病基因，轉殖到栽培品種以改進其品質。

無論是基礎或應用，都需要把目標基因分離出來。分離目標基因的要件是目標基因在遺傳輿圖上某一分子標記的附近。稻的二個新的分子層次的遺傳輿圖（Causse et al 1994, Kurata et al 1994）總加起來已有約2000個分子標記，分布在稻的12個連鎖群。各分子標記間的距離合計約1800cM ，即每二個分子標記間平均相距0.9cM。稻的染色體組DNA約有450百萬個核酸對(bp)，即每一cM有250-300kbp。從前面所舉的實例來衡量，這些目標基因與特定分子標記間的距離都超過0.9cM，目標基因的分離顯然難以如願，還需要設法補救。Martin et al (1993)利用番茄酵母染色體(YAC) 基因庫中選出帶有一個抗病（抗Pseudomonas syringae pv tomato）基因(Pto)的殖系。該基因已知位於番茄遺傳輿圖第5條染色體上分子標記 TG538 附近，而該YAC殖系，PTY538-1，有一段番茄染色體組DNA長約400kbp，足以涵蓋該抗病基因及其附近的分子標記的基因座。最後終於藉此分離出抗病基因 Pto。

三、利用分子標記作基因定位的技術

(一)RFLP分子標記法通常可以向構築RFLP輿圖的實驗室分批要到總數約150個分子標記的殖系（設每條染色體上選用10個左右分子標記）作爲開始。其次測試自己所作雜交組合兩親染色體組DNA在那些限制酶切割下，與任選的少數RFLP分子標記能在兩親染色體組DNA上顯示較多的多形性。選定一、二種酶繼續測試何些RFLP分子標記與目標基因共分離，即兩者間連鎖。然後，將分離世代(BC_1, F_2...等）各個體、F_1及兩親的染色體組DNA酶切、電泳後，以已測知與目標基因連鎖的RFLP分子標記爲探針作南氏分析，取得目標基因與各分子標記間的共分離數據，則各基因座間的距離就可依MAPMAKER/EXP的程式計算之。前文中稻的幾個形態基因定位(Yu, et al, 1995)就是這樣做的。由於　切、探針之用放射性藥物標記以及上百次的南氏分析，此法十分費工費時。

(二)RAPD分子標記法：此法用寡核苷酸片段以近同源自交系雜交組合的兩親染色體組DNA爲模版在PCR儀擴增。所得的多形性片段作爲分子標記，在雜交組合的分離世代找出何些RAPD分子標記與目標基因連鎖在何一染色體上。再以RFLP輿圖上目標基因所在連鎖群的分子標記爲探針，於合適雜交組合的分離世代個體DNA作南氏分析找出該一RFLP分子標記與連鎖於目標基因的RAPD分子標記間的共分離，並以MAPMAKER/EXP計算各個間的距離。此爲Martin et al (1991)定位番茄抗細菌性(Pseudomonas syringae pv tomoto)病害的基因(Pto)所

用的策略，雖則其最後一段還是用了RFLP分子標記，前段使用RAPD分子標記取代RFLP的已經節省了不少時間與精力。

在有些情況，已知某一RFLP分子標記與目標基因緊密連鎖。則可將該分子標記定序，取兩端短序列合成引子，以PCR儀擴增兩親染色體組DNA檢視是否擴增到多形性的DNA片段。如不，繼將擴增所得，用不同酶切，再在電泳膠體上找出於兩親顯現多形性的DNA片段。此種多形性片段稱之爲特定擴增片段多形性(SAP)。在分離世代中，可據以選拔目標基因。如目標基因爲抗病基因，則抗親染色體組DNA有該多形性片段而感親染色體組的DNA中缺如。在分離世代中選拔有此多形性片段的植株，即是具有抗病基因者。這是以PCR爲基礎選拔目標基因(Hittalmani et al 1995)。

用 RFLP 或 RAPD 分子標記測知一分子標記與目標基因連鎖，往往要使用150個或更多分子標記及一相當數目的近同源系族群才能達到目的。Michelmore et al (1991)所創的混合法則較簡便。此法先把一雜交組合 F_2 分離世代中選取10-12個目標基因爲顯性同結合的個體及10-12個目標基因爲隱性同結合的個體歸爲兩群，分別取得此兩群染色體組DNA爲模版，以一群10個核甘酸的片段爲引子，PCR儀中擴增之。所得DNA片段在雜交組合兩親間及混合的兩群間均顯現多形性的便是與目標基因連鎖的分子標記。從此分子標記與目標基因在F_2世代共分離的數據，可用MAPMAKER/EXP，定出兩者間的距離。如所得距離過大，可將第一次所得的分子標記當作目標基因，在原F_2世代中選取顯性及隱性的各10-12株歸爲兩群，以一群10核苷酸片段爲引子作第二輪的擴增，找出在兩親間及混合的兩群間的染色體組DNA均顯現多形性的片段。如此數次循環擴增，最後可找到多個與目標基因連鎖的分子標記，彼等的距離則可利用在F_2世代共分離的數據及MAPMAKER/EXP程式作多點分析定之。

(三)控制數量性狀基因座的定位：數量性狀基因座(QTL)分析就作物育種而言，可選擇性的分析控制一複雜性狀如株高、產量及橫式抗病性等的各個遺傳成分。此分析可估計數量性狀不同基因座對表型所作貢獻的大小，並能區別各種變異，例如由基因與環境相互作用、不同基因座基因間相互作用、或同一基因座等位基因所形成的。因此，數量性狀基因座分析賦予作物育種家判斷何一基因座在不同遺傳背景（品種）及環境中較爲有用的能力。

數量性狀基因座分析的基本是檢定控制一數量性狀各個基因所表現的表型與特定分子標記間的連鎖。此處的分子標記是指已建立在遺傳輿圖上的RFLP或RAPD分子標記。作此分析時又可分爲單一分子標記法及連鎖群（染色體）區段定位法兩種。前者使用t 值、變方分析及迴歸(Regression) 等測定，此乃將族群中的個體依表型分群，如群的表型與各群表型的平均有顯著差別，即認其所連鎖的分子標記位置爲控制該數量性狀的基因座。連鎖群區段定位法是把數量性狀基因座定位在連鎖群的區段範圍內，需要使用重組自交系(RIL)以及MAPMAKER/QTL或其他新推出的程式計算各基因座間顯著差別的臨界值。重組自交系族群的形成是將兩親（設一親抗病，另一親感病）雜交所得的F_1個體自交，得F_2個體。次從每一F_2植株逢機取一粒種子自交得F_3，如此取單粒種子及自交直至F_8。最後取F_8單株之全部種子成爲一重組自交系。如此，重組自交系的數目取決於F_2族群的大小，而每一自交系生產數百粒水稻種子並非難事，足供田間試驗重複區集之用。

四、實驗材料及工具的取得

(一) Causse et al 1994 增補的RFLP輿圖中分子標記的殖系可寫信給

Dr. Steven D. Tanksley
Dept. of Plant Breeding and Biometry
Cornell University
Ithaca, NY 14853
U.S.A.

(二) Kurata et al. 1994 構築的RFLP輿圖中分子標記的殖系可向

Rice Genome Research Program (RGP)
MAFF DNA Bank
NIAR
2-1-2, Kannondai
Tsukuba, Ibaraki 305
Japan

(三) MAPMAKER/EXP 及MAPMAKER/QTL可向下列地址索取，但要說明自己所用電腦的類別

Dr. Eric S. Lander
Whitehead Institute
9 Cambridge Center, Cambridge
MA 02142
U.S.A.

(四) 寡（10）核苷酸片段爲OPERON的產品有A.....Z，AA....等數十組，每組有20個寡核苷酸的片段。可向本地代理商購買，地址爲台北市八德路四段403巷9號4樓。

五、結　語

本文回顧了分子標記的興起及其應用，看到應用分子標記於育種的時代，確已來臨。雖則目標基因與分子標記間的距離，尚未能做到垂手可摘的程度，卻已可在電泳膠體上確實看到分子標記在分離族群的個體間代代相傳。使分子標記與目標基因的距離縮得更短的技術已經存在，稻作育種家如何選擇、組合此等技術應用於育種，似乎更爲重要。目標基因與分子標記距離的縮短，只是確定目標基因確實存在於當選的育種材料內。進一步如何使用這材料，那是育種家的專長。稻的轉殖技術，已經領先於玉米等作物。一旦分離到有用的基因，則稻作育種的前途更是光明燦爛。

參考文獻

Caetano-Anolles, G., B.J. Bassam, and P.M. Gresshoff, 1991. DNA amplification fingerprinting

using very short arbitrary oligonucleotide primers. Bio/Technology 9:553-557

Causse, M.A. T.M. Fulton, Y,G, Cho, S.N. Ahn, J. Chunwongse, K. Wu, J. Xiao, J. Wu, P.C. Ronald, S.E. Harrington, G. Second, S. R. McCouch and S. D. Tanksley, 1994. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. Genetics 138:1251-1274.

Champoux, M.C., G. Wang, S. Sarkarung, D.J. Mackill, J. C.O. Toole, N. Huang, S.R. McCouh, 1995. Locating genes associated with root morphology and drought avoidance in rice via linkage to molecular markers. Theor. Appl. Genet. 90:969-981.

Hittalmani, S., M.R. Foolad, T.Mew, R.L. Rodriguez, N. Huang, 1995.Development of a PCR-bassed marker to identify rice blast resistance gene, Pi-2(t), in a segregating population, Theor. Appl. Genet. 91:9-14.

Kurata, N., Y. Nagamura, K. Yamanoto, Y. Harushima, N. Sue, J. Wu, B.A. Antonio, A. Shomura, T. Shimizu, S-y. Lin, T. Inoue, A. Fukuda, T. A.. Miyao, L. Monna, H.S. Zhong, Y. Tamura, Z-x. Wang, T. Monna, Y. Umehara, M. Yano, T. Sasaki, and Y. Minobe, 1994. A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. Nature Genetics 8:365-372.

Ko, H.L., D.C. Cowan, R.J. Henry, G.C. Graham, A.B. Blakeney, and L. G. Lewin, 1994. Random amplified polymorphic DNA analysis of Australian rice (Oryza sativa L.) varieties. Euphytica 80:179- 189.

Li, Z, S.R.M. Pinson, M.A. Marchetti, J.W. Stansel, W.D. Park, 1995. Characterization of quantitative trait loci (QTLs) in cultivated rice contributing to field resistance to sheath blight (Rhizoctonia solani). Theor. Appl. Genet. 91:382-388.

Martin, G.B., J.G.K. Williams, and S. D. Tanksley, 1991, Rapid identification of markerd linked to a Pseudomonas resistance gene in tomato using random primers and near-isogenic lines. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:2336-2340.

Martin, G.B., S.H. Brommonschenkel, J. Chunwongse, A. Fray, M.W. Ganal, R. Spvey, T. Wu, E.D. Earle, S.D. Tanksley. 1993. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. Science 262:1432-1436.

Michelmore, R.W., I. Paran, and R. V. Kesseli, 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9828-9832.

Qian, H.R., J.Y. Zhuang, H.X. Lin, J. Lu, K.L. Zheng, 1995. Identification of a set of RFLP probes for subspecies differentiation in Oryza sativa L. Theor. Appl. Genet. 90:878-884.

Ramakrishma, W.,K.V. howdari, M.D. Lagu, V.S. Gupta, P.K. Ranjekar, 1995. DNA fingerprinting to detect genetic variation in rice using hypervariable DNA sequences. Theor. Appl. Genet. 90:1000-1006.

Reiter, R.S., J.G.K. Williams, K.A. Feldman, J.A. Rafalski, S.V. Tingy, and P.A. Scolnik, 1992. Global and local genome mapping in Arabidopsis thaliana by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1477-1481.

Virk, P.S., H.J. Newbury, M.T. Jackson, and B.V. Ford-Lloyd, 1995. The identification of duplicate

acccessions within a rice germplasm collection using RAPD analysis. Theor. Appl. Genet. 90: 1049-1055.

Wang, G.L., D.J. Mackill, J.M. Bonman, S.R. McCouch, M.C. Chanpoux and R.J. Nelson, 1994. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durable resistant rice cultivar. Gentics. 136: 1421-1434.

Welsh, J., and M. McClelland, 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucl. Acids Res. 18:7213-7218.

Xiao, J.,J. Li, L. Yuan and S.D. Tanksley, 1995. Dominance is the major genetic basis of heterosis in rice revealed by QTL analysis using molecular markers. Genetics 140:745-754.

Yu, Z.H., S.R. McCouch, T.Kinoshita, S. Sato, and S.D. Tanksley, 1995. Association of morphological and RFLP markers in rice (Oryza sativa L.). Genome 38:566-574.

Yu, Z.H., D.J. Mackill, J.M. Bomman and S.D. Tanksley, 1991. Tagging genes for blast resistance in rice via linkage to RFLP markers. Theor. Appl. Genet. 81:471-476.