

水稲トビロウンカ抵抗性遺伝子のDNAマーカーによる解析 (第2報) — 関東PL5に由来する抵抗性系統から得られたクローンのSTS化 —

遠山孝通*・藤 晋一*・坂 紀邦**・辻 孝子***・
井澤敏彦**・中前 均*

摘要: 関東PL5に由来するトビロウンカ抵抗性遺伝子のPCRマーカーを開発するために、抵抗性系統からクローニングされたゲノムDNAクローンUBC148R5Cの組込み断片の両末端の塩基配列を解析し、Sequence Tagged Site (STS) 化を行い、STS特異的プライマーA3 (5'-TGTCACCAGATCTTAAGGG-3')、(5'-GCAGCCTGATAAAACCTAGGT-3')を設定した。PCR産物の両末端の塩基配列の解析と、UBC148R5CをプローブとしたPCR-サザンハイブリダイゼーションにより、A3プライマーで増幅したPCR産物とUBC148R5Cの同一性を確認した。61種の抵抗性系統及び感受性品種にA3プライマーを使用した結果、抵抗性系統に限り1本のバンドが認められた。

キーワード: イネ、STS、関東PL5、トビロウンカ抵抗性、PCRマーカー

An Analysis of Brown Rice Planthopper Resistance by DNA Marker II Sequence Tagged Site (STS) of the Clone found out Resistance Lines Originated in "Kanto PL5"

Takamichi TOUYAMA, Shin-ichi FUJI, Norikuni SAKA, Takako TSUJI,
Toshihiko IZAWA and Hitoshi NAKAMAE

Abstract: In order to develop a PCR maker for resistance to brown rice planthopper, which was originally found in Kanto PL5 cultivar, sequence-tagged site(STS) was employed. The STS-specific primer pair A3 (5'-TGTCACCAGATCTTAAGGG-3'), (5'-GCAGCCTGATAAAACCTAGGT-3') came from the end sequences of UBC148R5C, the genomic DNA clone isolated from resistant lines. Southern blot analysis using UBC148R5C as the probe and, sequence determination of the A3-primed PCR product obtained the same gene as UBC148R5C. The PCR maker specified by the A3 primers proved useful in identifying resistant lines from among sixty one varieties. The A3 primers amplified only one fragment specific in resistant lines.

Keywords: brown rice planthopper resistance, Kanto PL5, PCR maker, rice, sequence tagged site(STS)

緒言

トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens* Stal) は我国の暖地、温暖地におけるイネの重要害虫である。関東PL5³⁾ (のちの中間母本農4号) に由来するトビイロウンカ抵抗性遺伝子は、現在、我国に飛来するバイオタイプに抵抗性を示し⁹⁾、この遺伝子を持つ抵抗性品種の育成が期待されている。

DNAマーカーとの連鎖を利用した間接的な抵抗性検定は、従来から行われている生物検定に比べ、検定植物や放飼虫などの生育ステージにとらわれず、検定技術の習得が比較的簡単であるという点で優れている。今後は、連続戻し交配等、短期間に比較的少数の系統の抵抗性遺伝子の有無を知る必要がある場合などに、DNAマーカーの間接選抜への利用が期待される。

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 法¹⁰⁾は、PCR装置と電気泳動の機材があれば、RFLP法で必要となるハイブリダイゼーションのための機材や操作を必要とせず、使用する鋳型DNAの量も少量でよく、DNAの抽出精製も大幅に簡略化できるため簡便な多型検出法として広く用いられている。しかし、ゲノムDNAを鋳型に10塩基程度の短いプライマーを用いてPCR反応を行い多型を得るため、通常の解析では複数のバンドが認められ再現性や、バンドの見間違えなどが起こりやすく、信頼性が若干劣ることがある。この場合、Sequence Tagged Site (STS) 化してシングルバンドのSTS特異的プライマーを作成すれば再現性は高くなる。

辻ら⁹⁾は、関東PL5に由来する抵抗性遺伝子と連鎖するDNAマーカーを開発する目的で、抵抗性品種育成系統のバルクDNAを用いてRAPD解析を行い、当該抵抗性遺伝子と連鎖が示唆される4種プライマーを選定し、抵抗性バルクに特異的に増幅される2種のDNA断片をクローニングした。

本研究では、2種の内の1クローンUBC148R5CについてSTS化を行い、抵抗性系統に特異的なシングルバンドのPCRマーカーを開発し、クローニングの基と

なった育種材料より、更に育成の進んだ抵抗性系統と多くの感受性品種を用いて、実用性を確認することを目的とした。

材料及び方法

1 供試クローン

辻ら⁹⁾が10塩基のプライマーUBC148 (University of British Columbia) を用いて葵の風/育トビ1137のF₄抵抗性系統のバルクDNAから増幅した多型バンドを、pBluescriptII SK+ (Stratagene) のSmaI部位にクローニングしたUBC148R5Cクローンを解析に用いた。UBC148R5CのインサートのDNA断片のサイズはおよそ1.3Kbpである。

2 末端塩基配列の解析

UBC148R5Cの組込み断片の両末端の塩基配列をシーケンサー (Perkin-Elmer Japan Applied Biosystems 373A型) で、DNAダイターミネーターサイクルシーケンシングレディリーアクションキット (同前) を用いてターミナルシーケンシング反応により決定し、A3プライマー (5'-TGTCCACCAGATCTTAAGGG-3') と (5'-GCAGCCTGATAAACCTAGGT-3') を設計した。

関東PL5から抽出したゲノムDNAを鋳型にA3プライマーで増幅したPCR産物を、pGEM-T Easyベクターシステム (Promega) を用いてクローニングし、Easy prepキット (Pharmacia) によりプラスミドを調整後、ターミナルシーケンシング反応で両末端の塩基配列を解析し、UBC148R5Cの両末端の塩基配列との相同性を確認した。

3 供試品種

供試した育成中の抵抗性系統を第1表に示した。これらは当场作物研究所育種研究室の育種素材である。1996年における育成中の系統の内、前々世代、前世代と当代の幼苗検定から抵抗性遺伝子を確実に持ち、関東PL5に対する戻し交配数が比較的多い22系統を選んだ。

第1表 関東PL5由来の抵抗性育成系統と比較品種

試験世 番号代	組合せ及び比較品種名	系統番号	トビイロウンカ抵抗性		
			前々世代	前世代	当代
1~6 F ₆	コシヒカリ/(F ₆ コシヒカリ/(F ₄ 月の光//愛知56号/関東PL5))	R ₄ -33-1~6	R	R	R
7~11 F ₄	葵の風//葵の風/育トビ1284	R ₂ -21-1~5	R	R	R
12~15 F ₇	葵の風/育トビ1137	P ₃ -26-4-2-1~4	—	R	R
16~22 F ₄	育1274 //あいちのかおり/関東PL5	R ₂ -28-1~7	R	R	R
23	コシヒカリ	—	—	—	S
24	関東PL5	—	—	—	R
25	南海133号	—	—	—	R

注 系統番号は選抜の経過を示す。R₂はF₂世代で個体選抜を実施、P₃はF₃世代で穂別系統で選抜を実施、—は世代の経過、数字は個体番号を表す。個体選抜世代の抵抗性検定は後代検定による。

育トビ1284: 愛知78号/4/愛知77号/3/月の光//月の光/関東PL5、育トビ1137: 月の光//愛知56号/関東PL5、育1274: あいちのかおり//愛知78号/あいちのかおり、R: 抵抗性、S: 感受性。

UBC148R5Cにクローニングした系統は、葵の風／育トビ1137のF₄系統で、関東PL5に他の品種を3回戻し交配した系統である。供試品種の葵の風／育トビ1137のF₇系統は、この後代に当たる。その他、関東PL5に対する他の系統の戻し交配数が7回と多い葵の風//葵の風／育トビ1284のF₄世代、その他に主な戻し交配親にコシヒカリ、あいちのかおりを用いた系統を供試した。

抵抗性の比較品種として、関東PL5、宮崎県総合農業試験場で育成された抵抗性系統南海133号を用いた。

供試した感受性品種を第2表に示した。これらは、当場、作物研究所育種研究室及び山間農業研究所稲作研究室から分与されたものである。国内で水稲の育種母本と

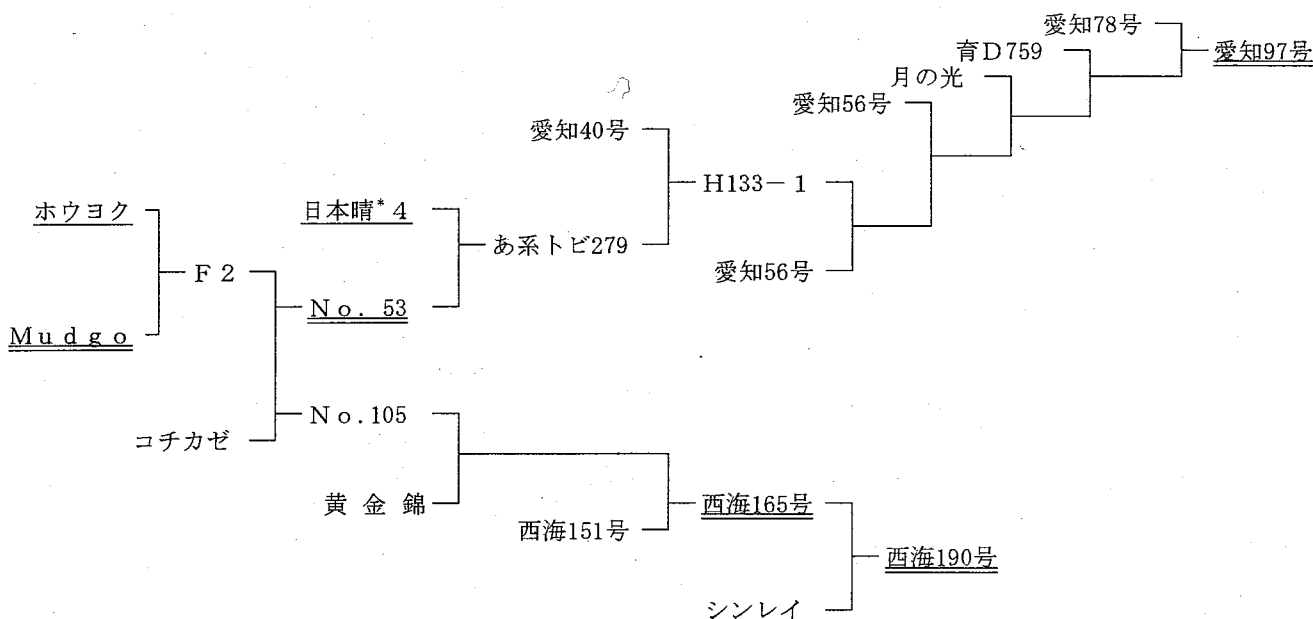
して使用されているもの、第1表に示した抵抗性系統の戻し交配感受性親として用いられた主な品種・系統32種を選んだ。極早生種（当県熟期区分）から中生種のうるち種、糯種、酒米、Modanに由来する縞葉枯病抵抗性遺伝子 (*Str-b'*) と穂いもち抵抗性遺伝子を持つ月の光、ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子 (*Grh-3(t)*) を持つ愛知77号、愛知96号、Basmati370由来の香り米であるサリークィーン、多収イネのアケノホシを使用した。

また、第1図に示した関東PL5の持つ抵抗性遺伝子との密接な連鎖が報告されている²⁾トビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph1* の育成系譜上の7種も用いた。

第2表 感受性品種

試験 番号	品 種 名	試験 番号	品 種 名	試験 番号	品 種 名
1	ナツヒカリ	12	フクヒカリ	23	ココノエモチ (糯種)
2	アキヒカリ	13	秀峰	24	恵糯 (")
3	初星	14	月の光 (縞葉枯病抵抗性)	25	十五夜糯 (")
4	ミネアサヒ	15	黄金晴	26	若水 (酒米)
5	トヨニシキ	16	愛知77号	27	五百万石 (")
6	新潟早生	17	愛知96号 (ツマグロヨコバイ抵抗性)	28	美山錦 (")
7	越路早生	18	露葉風	29	兵庫北錦 (")
8	トドロキワセ	19	金南風	30	山田錦 (")
9	ササニシキ	20	中生新千本	31	サリークィーン (香り米)
10	コシヒカリ	21	あいちのかおり	32	アケノホシ (多収)
11	チヨニシキ	22	ハツシモ		

注 () : 主な特徴



第1図 トビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph1* を持つ系統の系譜

注 下線の品種・系統を供試した。 ———— : 抵抗性系統 - - - - - : 感受性品種

4 DNAの抽出

品種及び系統各20個体を育苗し、3葉期の葉身、葉鞘から全DNAをCTAB法⁴⁾で抽出した。

5 PCR解析

反応液の組成は、鋳型DNA10ng、プライマー96mM、Tris-HCl10mM、KCl50mM、MgCl₂1.5mM、dNTPs150μM、Taqポリメラーゼ(Takara)1Unitとし、全量を25μlに調整した。反応条件は、94℃で4分間熱変性後、熱変性を94℃1分間、アニーリングを55℃1分間、伸長反応を72℃2分間で30回繰り返し、72℃で7分間伸長反応を行った。PCR産物各5μlを2%アガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色した。

6 PCR-サザンハイブリダイゼーション

第1表の供試材料について、A3プライマーで増幅したPCR産物20ngを0.8%のアガロースゲルで電気泳動し、ナイロンメンブレン(Boehringer Mannheim)に写し取った後、UBC148R5CのインサートフラグメントをプローブにECL遺伝子検出キット(Amarsham)によりハイブリダイゼーションを行った。プローブの濃度は5ng/mlで、2時間ハイブリダイゼーションを行った後、5分間露光した。

試験結果

1 塩基配列の解析

第2図に、UBC148R5Cの両末端の塩基配列と、関東PL5から抽出したDNAを鋳型にした、A3プライマーによるPCR産物の両末端の塩基配列を示した。

UBC148R5Cの全長およそ1.3Kbpの挿入断片のうち、両側の約300bpを解析した。

A3プライマーは、センス側はUBC148プライマーの内側20塩基に相当する配列を、アンチセンス側は、UBC148プライマーの全部を含み、その内側方向に延長するように21塩基を利用して設計した。

関東PL5を鋳型とした、A3プライマーによるPCR産物の末端塩基配列とUBC148R5Cの挿入断片の末端塩基配列の相同性は高く、UBC148R5Cのアンチセンス側の130番目が、欠失または不明である点のみで相同性は99.8%であった。

2 PCR解析

A3プライマーを用いたPCR解析の結果を第3図と第4図に示した。供試した全ての抵抗性系統で、UBC148R5Cのインサートサイズに相当する、およそ1.3Kbpの1本のバンドが認められた。感受性の材料では、バンドの増幅は認められなかった。

第5図に、Bph-1を持つ育成系統の系譜上の系統のPCR解析の結果を示した。トビイロカ抵抗性遺伝子Bph-1を持つ、Mudgo、NO.53、西海165号、西海190号、愛知97号ではバンドが認められなかった。比較に用いた関東PL5では、およそ1.3Kbpの1本のバンドが認められ、感受性のハウヨクと日本晴ではバンドの増幅は認められなかった。

```

1      10      20      30      40
UBC148R5C : TGTCCACCAGGCAGCCTGATAAACCTAGGTCCAACCCG
A3産物   : *****
センス側)
          50      60      70      80
TCCGGGCCCGGTGCACTGTTCTGTCCATTGCCGGATTG
*****
          90      100     110     120
CCAACAGTATTTCACTCTGGGTGAATGGAGCGATCAGACT
*****
          130     140     150     160
GTCGCAATTCCAACACGATGACGATAACAATGCTGCAAGA
*****
          170     180     190     200
TCAAATGCCACTCAGAGTTTGAGGTAGACCTAGAATTG
*****
          210     220     230     240
CACTGTAATAATCATGCATGACGACGCTTAGCAGCATG
*****
          260     270     280
ATCGGAGAATTCGACACCCTGAACCTTAATCGAGCGCACA
*****
          290     300
TAAGTTTTGCGATGATTGTT...
*****

```

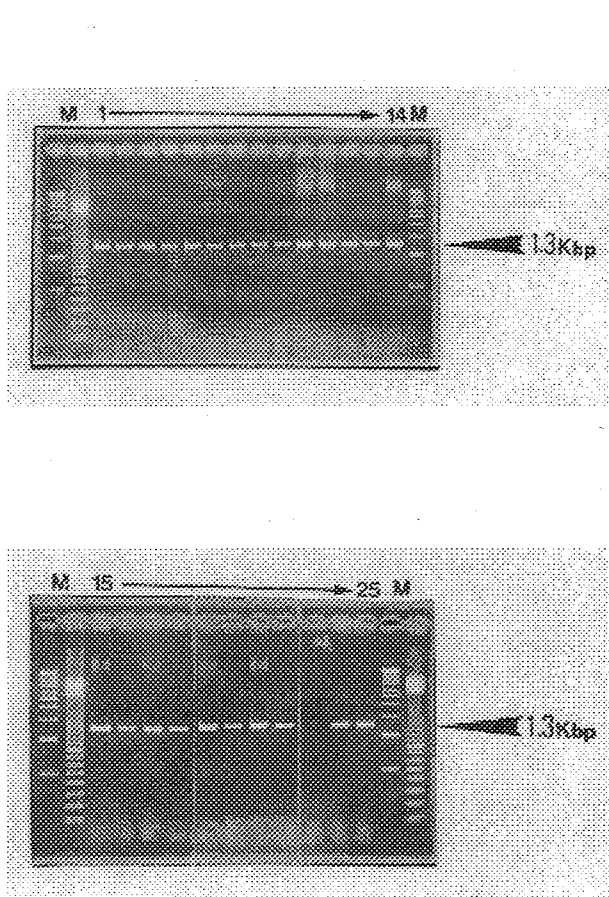
```

1      10      20      30      40
UBC148R5C : TGTCCACCAGATCTTAAGGGACGGGGGGGGGGGGGTTG
A3産物   : *****
アンチセ
ンス側)
          50      60      70      80
GTCTCTGTCTGGGATAGCACTTCGCTCTCAAAAACCTTCGT
*****
          90      100     110     120
ATATCTCTCGTCACCATACGCTTTTGATTACTTTTCAATC
*****
          130     140     150     160
TCTAATTGA-TCGATCTCCCCTCACTGTACCAATGTTTA
*****[*****]*****
          170     180     190     200
TGCTCCATCCGACCACGCTACACTGATATTTCTGCTGA
*****
          210     220     230     240
GCTGATTGATCTTGATAGAACCATCTCGGGACATTGGCTT
*****
          250     260     270     280
CTTATCGGAGACTTAACTAATCCGTTCCCAGCAGATA
*****
          290
AGAACAATGA...
*****

```

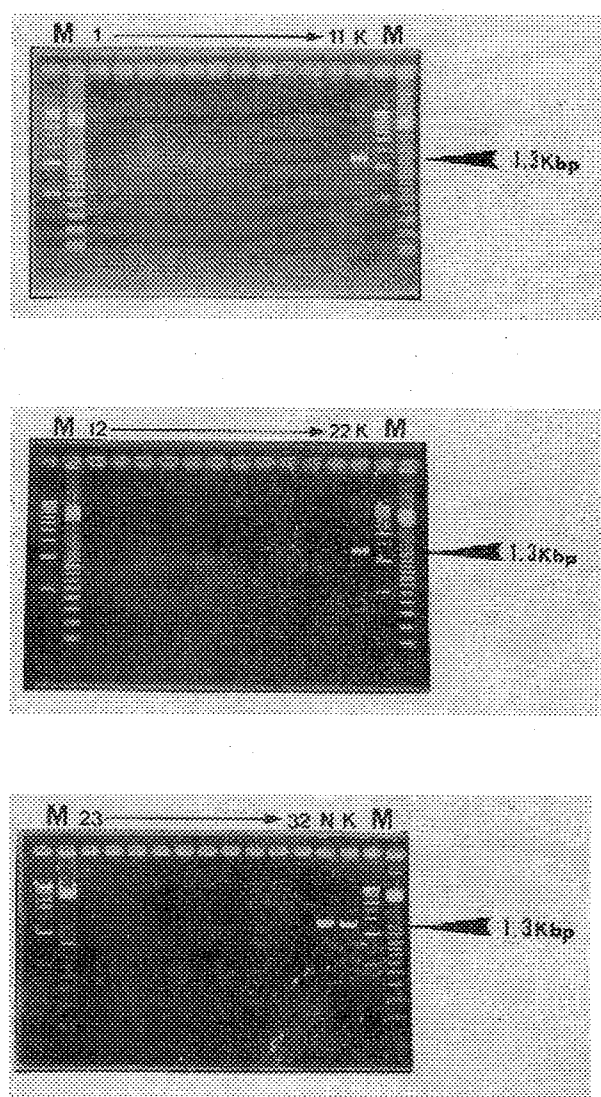
第2図 UBC148R5Cの挿入断片と関東PL5からA3プライマーで増幅したPCR産物の両末端塩基配の比較

注 アンダーラインはプライマーを、*は塩基が一致した部分を、-は該当する塩基が無いことを示す。



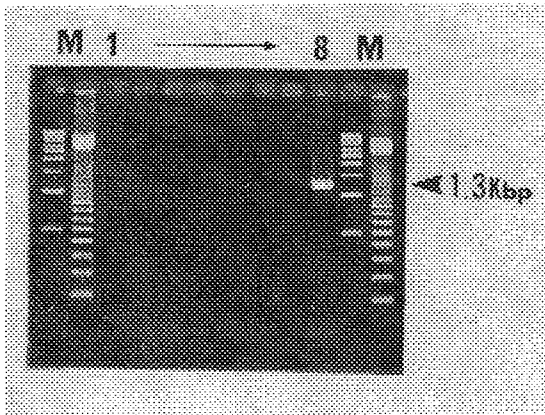
第3図 抵抗性育成系統のA3プライマーによるPCR解析結果

注 1～6 : F₆ コシヒカリ/(F₆コシヒカリ/(F₄月の光//
愛知56号/関東PL5))
7～11 : F₄ 葵の風//葵の風/育トビ1284
12～15 : F₇ 葵の風/育トビ1137
16～22 : F₄ 育1274 // あいちのかおり/関東PL5
23 : コシヒカリ (感受性)
24 : 関東PL5 (抵抗性)
25 : 南海133号 (抵抗性)
M : サイズマーカー
(KiloBase DNAMaker, 100Base-PairLadder)



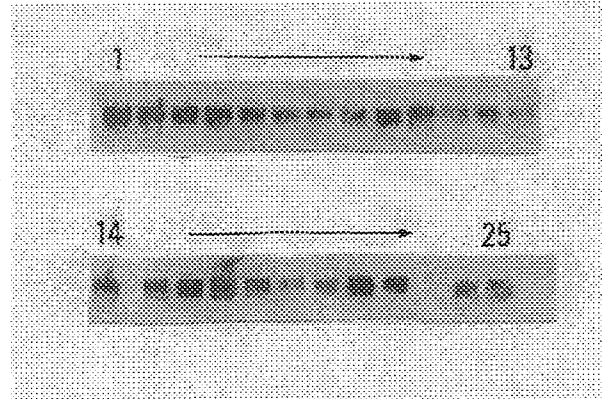
第4図 感受性品種のA3プライマーによる解析結果

注 1 : ナツヒカリ 12 : フクヒカリ 23 : ココノエモチ
2 : アキヒカリ 13 : 秀峰 24 : 恵糯
3 : 初星 14 : 月の光 25 : 十五夜糯
4 : ミネアサヒ 15 : 黄金晴 26 : 若水
5 : トヨニシキ 16 : 愛知77号 27 : 五百万石
6 : 新潟早生 17 : 愛知96号 28 : 美山錦
7 : 越路早生 18 : 露葉風 29 : 兵庫北錦
8 : トドロキワセ 19 : 金南風 30 : 山田錦
9 : ササニシキ 20 : 中生新千本 31 : サリークィーン
10 : コシヒカリ 21 : あいちのかおり 32 : アケノホシ
11 : チヨニシキ 22 : ハツシモ
K : 関東PL5 N : 南海133号 M : サイズマーカー
(左: KiloBase DNAMaker 右: 100Base-Pair Ladder)



第5図 トビイロウンカ抵抗性遺伝子*Bph-I*を持つ系統のA3プライマーによる解析結果

注 1 : Mudgo (*BphI*) 2 : No. 53 (*BphI*)
 3 : 西海165号 (*BphI*) 4 : 西海190号 (*BphI*)
 5 : 愛知97号 (*BphI*) 6 : ホウヨク (感受性)
 7 : 日本晴 (感受性) 8 : 関東PL5 (*bph2*)
 M : サイズマーカー(左 : kiloBase DNAMaker
 右 : 100Base-Pair Ladder)



第6図 抵抗性育成系統のA3プライマーによるPCR産物に対するUBC148R5Cのサザンハイブリダイゼーションの結果

注 1~6 : F₆ コシヒカリ/(F₆コシヒカリ/(F₄月の光//
 愛知56号/関東PL5))
 7~11 : F₄ 葵の風//葵の風/育トビ1284
 12~15 : F₇ 葵の風/育トビ1137
 16~22 : F₄ 育1274 //あいちのかおり/関東PL5
 23 : コシヒカリ (感受性)
 24 : 関東PL5 (抵抗性)
 25 : 南海133号 (抵抗性)

3 PCR-サザンハイブリダイゼーション

第1表の抵抗性育成系統を鋳型とした、A3プライマーによるPCR増幅産物への、UBC148R5Cのインサートフラグメントをプローブとしたハイブリダイゼーションの結果を第6図に示した。全ての抵抗性系統で、ハイブリダイズによるシグナルが認められた。

考 察

PCRマーカーは、ゲノム中のPCR増幅が可能な長さの範囲内で、偶然に向かい合ってプライマーと相補的な塩基配列が存在した場合その領域間を増幅する。通常、10塩基のプライマーでイネのDNAを鋳型に増幅した場合、数本から数10本のバンドが検出される。20塩基のプライマーでは塩基の組み合わせは4²⁰通りあり、ゲノム中にプライマーと相補的な塩基配列が存在する確率は、10塩基のプライマーより4¹⁰低くなる¹¹⁾。したがって、プライマーの長さを20塩基にすることによりバンドの数を1本とすることが可能となる。

プライマーを長くすることでSTS化を行った例として、MONNA et. al. は⁹⁾、イネにおいて20組の10塩基のプライマーによるPCR増幅産物の末端塩基配列から、新たに20塩基のプライマーを設計し、PCR産物の特異性が高まったことを報告している。

本研究では、関東PL5由来のトビイロウンカ抵抗性

遺伝子との連鎖が示唆されたクローン、UBC148R5CについてSTS化を完成し、約20塩基の特異的プライマーA3を設定した。

関東PL5のゲノムDNAを鋳型にしたA3プライマーによるPCR産物と、UBC148R5Cの挿入断片は、両者ともサイズが1.3Kbpと一致し、両DNAの両末端約300bpの塩基配列が1塩基の違いを除いて一致したことから、相同性は非常に高く、A3プライマーによって、関東PL5のゲノム上のUBC148R5Cに相当する部分を特異的に増幅できたものと考えた。

また、関東PL5由来の22種の抵抗性系統を鋳型としたA3プライマーによるPCR反応産物は、サイズが1.3Kbpで、UBC148R5Cをプローブに用いたサザンハイブリダイゼーションにおいて、全抵抗性系統にシグナルが認められたため、A3プライマーによって、関東PL5をもとにした育成系統についても、UBC148R5Cと同じ領域が増幅されることが示唆された。

供試抵抗性系統中最も戻し交配の進んだ 葵の風//葵の風/育トビ1284「愛知78号/4/愛知77号/3/月の光//月の光/関東PL5」のF₄系統の関東PL5に由来するゲノム領域は、(1/2)⁶ = 1.5%となる。感受性の戻し交配親の、葵の風(愛知78号は後の葵の風)、愛知77号、月の光にはA3プライマーでバンドが検出されないため、A3プライマーにより増幅されるSTS化領域は関東PL5に由来する領域に含まれる。したがって、A3 プラ

イマーにより増幅されるSTS化領域は、抵抗性遺伝子にかなり近いものと考えられた。

なお、村田ら⁵⁾は、ツクシバレ/中間母本農4号（地方系統名：関東PL5）の90のF₂個体を解析材料に用いて、トビイロウンカ抵抗性検定結果とRFLPマーカーとの連鎖解析を行い、*bph2*は第12染色体上のマーカーG2140と3.5cMで連鎖することを報告している。適当なF₂集団を用いて、UBC148R5CとG2140の連鎖解析を行い、*bph2*との連鎖関係を間接的に知ることで、A3プライマーの有効性を連鎖距離として把握できる。また、*bph2*と*Bph1*は密接に連鎖が報告されているが²⁾、村田ら⁵⁾は*bph2*を、中間母本農7号を用いてマップした*Bph1*と30cM以上離れた位置にマップしている。今回の実験ではA3プライマーを用いたPCRでは、*Bph1*を持つ抵抗性系統にバンドが生じなかったため、ゲノム上における、A3プライマーによる増幅部分は、*Bph1*よりも*bph2*に近い位置に座乗することが示唆された。

一方、坂ら⁷⁾は、当场作物研究所の関東PL5由来の抵抗性育成系統において長稈形質と抵抗性の連鎖を観察している。今後、A3プライマーにより増幅されるSTS化領域と不良形質の連鎖の有無を検討する必要があると考えている。

A3プライマーは、トビイロウンカに感受性で、今日国内で水稲の品種改良に母本として使用されている主な品種・系統及び、トビイロウンカ抵抗性遺伝子*Bph1*を持つ材料からはバンドを生じない。したがって、これらの品種及び系統を、関東PL5の諸特性を改良するために、関東PL5に交配した場合には、A3プライマーによって関東PL5は育成系統の間接的な抵抗性検定に使用でき、A3プライマーの適用範囲は広いことが解かった。また、月の光等の縞葉枯病抵抗性品種でもバンドが認められないため、早野ら¹⁾による縞葉枯病抵抗性遺伝子を検出できるPCRマーカーST10との同時使用も可能と考えられた。A3プライマーが、育種選抜に広く活用され品種育成に有効に利用されることを期待する。

謝辞：本研究の実施にあたって、農林水産省農業生物資源研究所ゲノム構造研究室の長村吉晃博士のお手数を煩わせた。四日市市農業研究指導所の石田宗孝氏には長期研修の課題として当研究の実験の多くを実施していただいた。また本研究は、企画情報部共同研究推進室の実施する共同研究によるものであり、石本佳之博士、普及指導部藤井潔専門技術員にアドバイスを戴いた。また、当场作物研究所育種研究室、山間農業研究所稲作研究室加藤恭宏技師から数多くの材料を頂いた。ここに記して謝意を表す。

引用文献

1. 早野由里子, 藤井 潔, 遠山孝通, 斎藤浩二, 井澤敏彦, 岩崎真人. イネ縞葉病枯病抵抗性遺伝子 *Stv-bi* と密接に連鎖する分子マーカー. 育種. 47 別(2)164, (1997)
2. 池田良一. イネにおけるトビイロウンカ抵抗性遺伝子およびトビイロウンカ抵抗性とウイルス病抵抗性の複合化に関する育種学的研究. 農研センター研究報告. 3, 1-54(1985)
3. 金田忠吉, 根本 博, 池田良一, 横尾政雄, 小林陽, 池橋 宏, 滝田 正. トビイロウンカ抵抗性遺伝子 *bph2* をもつ水稲中間母本農4号の育成. 農研センター研究報告. 6, 19-32(1986)
4. Monna, L., Miyao, A., Inoue, T. et al. Determination of RAPD makers in rice and their conversion into sequence tagged sites (STSs) and STS-specific primers. DNA Res. 1, 139-148(1994)
5. 村田和優, 藤原学, 中村千春, 森直樹, 金田忠吉. イネトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *bph2* と *Bph9* のマッピング. 近畿作育研究. 43 4-7, (1998)
6. Murray, M. G. and Thompson, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res. 8, 4321-4325(1980)
7. 坂 紀邦, 辻 孝子, 中嶋泰則, 杉浦直樹, 井澤敏彦. 水稲良食味・複合抵抗性品種の育成(3)萎縮病・ツマグロヨコバイ・トビイロウンカ抵抗性系統の比較試験. 普通作物品種・育種関係成績摘要集 愛知農総試作物研究所育種研究室. 1-9(1996)
8. 寒川一成. わが国へ飛来するトビイロウンカのバイオタイプ形質の変化とその飛来源地帯の推定. 九病虫研会報. 38, 63-68(1992)
9. 辻 孝子, 坂 紀邦, 遠山孝通, 岩田久史. 水稲トビイロウンカ抵抗性遺伝子のDNAマーカーによる解析(第1報) トビイロウンカ抵抗性系統を用いたRAPDマーカーの検索. 愛知農総試研報 30(1998)「投稿中」
10. Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic makers. Nucleic Acids Res. 18, 6531-6535(1990)
11. 吉田 薫, 植物のPCR実験プロトコール, 秀潤社, 129-134(1995)