

水稻トビロウンカ抵抗性遺伝子のDNAマーカーによる解析 (第1報) 関東PL5に由来する抵抗性系統を用いたRAPDマーカーの検索

辻 孝子*・坂 紀邦**・遠山孝通***・岩田久史****

摘要: イネのトビロウンカ抵抗性品種を効率的に育成するため、DNAマーカーの開発をおこなった。感受性品種「葵の風」に、関東PL5に由来する抵抗性遺伝子(*bph-2*)を有する「育トビ1137」を交配した後代F₄系統を用いて、抵抗性系統に特異的なバンドを生じるRAPDマーカーを、バルク法により検索した。269プライマーを供試した結果、抵抗性バルクに特異的にバンドを生じるものが4プライマー得られた。このうち、PCRの再現性が高く、バンドの切り出しが可能であった3プライマーについて、多型バンドをクローニングし、サザン法で多型の有無を検証した結果、2クローンで抵抗性系統と感受性系統で多型が得られた。したがって、抵抗性バルクに特異的にバンドを生じる2プライマーは、抵抗性個体の識別に利用できるものと考えられた。また、関東PL5のトビロウンカ抵抗性遺伝子は、F₄世代における抵抗性個体の存在割合及び育成中の系統を用いた生物検定結果から、優性遺伝子である可能性が示唆された。

キーワード: イネ、抵抗性、トビロウンカ、*bph-2*、DNAマーカー、RAPD

Analysis of Rice Brown Planthopper Resistance Gene by DNA Marker I Screening of the RAPD Marker by using Resistant Lines derived from Japonica Rice Parental Line, "Kanto PL5"

Takako TSUJI, Norikuni SAKA, Takamichi TOUYAMA and Hisashi IWATA

Abstracts: In order to develop a DNA marker which could detect the resistance gene to rice brown planthopper (*bph-2*), RAPD markers which could generate the specific bands to the resistant lines, were screened by bulked segregant analysis in F₄ lines derived from the cross between a sensitive variety (Aoi-no-kaze) and a resistant one (Iku-tobi 1137). Four primers were obtained for the detection of *bph-2* from 269 primers tried in this experiment. DNA fragments amplified by three of those primers were cloned by ordinary method, and DNA polymorphisms were detected by Southern blot analysis. The F₄ lines indicated RFLPs for two clones. This result indicates that these two primers are usable in the detection and selection of *bph-2*.

It is concluded that this resistance gene is dominant, depending on the progeny test of some resistant lines derived from different cross-combinations.

Keywords: Rice (*Oryza sativa* L.), Resistance, Brown planthopper (*Nilaparvata lugens* STAL), *bph-2*, DNA marker, RAPD

緒言

近年、バイオテクノロジー技術の進展に伴い、様々な生命現象に関与する遺伝子の存在と機能が明らかにされてきている。中でも、進展の著しいゲノム解析研究では、効率的な遺伝子解析や遺伝子単離を目的として、制限酵素断片長多型（以下RFLP）を用いて、イネ^{11),13),16)}をはじめとして、トマト²¹⁾、大麦⁹⁾、ダイズ³⁾等、ほとんどの作物で遺伝子地図が作成されている。現在までに、これらの遺伝子地図を利用して、農業上の有用形質、特に単一遺伝子支配で、生物検定により交配後代個体の形質の特定が比較的容易な病害抵抗性遺伝子（イネ *Xa-21*²⁴⁾ 大麦 *Yd2*²⁾等）が数多くマッピングされ、イネ *Xa-21* は、Bacterial artificial chromosome (BAC)のライブラリーを作製し²³⁾、遺伝子単離に成功している¹⁹⁾。

しかしながら、RFLP分析では、比較的大量のDNAを用い、多型検出にあたって煩雑な操作を必要とするため、F₂解析によるマッピングにより、迅速に形質に連鎖するマーカーを選抜するには、多大な労力と時間を必要とする。これに対し、近年、その手法が急速に多様化した、Polymerase Chain Reaction (PCR)を利用した解析技術の開発により、Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD)²⁶⁾、Simple Sequence Repeat DNA¹²⁾や Amplified Fragment Length Polymorphism(AFLP)²²⁾が遺伝子解析手法に加わり、より高密度の遺伝子地図が作成されるとともに、目的遺伝子の単離や構造解析が、簡便に行えるようになった。

そこで、PCRを利用した解析技術を用いて、我が国の暖地及び温暖地におけるイネの重要害虫であるトビイロウンカ (*Nilaparvata lugens* STAL)に対する抵抗性遺伝子の一つである、*bph-2* を検出可能なRAPDマーカーをバルク法¹⁴⁾を用いて検索し、利用できると思われるプライマーを選抜するとともに、本遺伝子に関する若干の知見を得たので報告する。

材料及び方法

1 供試材料

供試材料として、愛知県農業総合試験場（以下当場）の育成系統である、葵の風/育比¹¹³⁷のF₄世代 30系統を用いた。葵の風は、トビイロウンカに対する特定の抵抗性遺伝子を保有しない感受性品種である。育比¹¹³⁷の交配組合せは、月の光//愛知56号/関東PL5であり、本種は関東PL5由来の抵抗性遺伝子(*bph-2*)を有すると推定される。比較品種には、抵抗性系統として農林水産省農業研究センターの育成した中間母本である関東PL5を、感受性品種としてあいちのかおり、星の光、IR8を供試した。

2 供試材料からのDNA抽出

種子をパーミキュライトに播種し、暗所で芽出した苗の葉鞘部分3gを採取した。これを、乳鉢を用いて液体窒素中で磨砕し、CTAB法¹⁵⁾でゲノムDNAを抽出した。抽出したゲノムDNAは、1/10TE緩衝液に溶解し、RNase処理後、0.8%アガロースゲル電気泳動によりDNA量を推定した。

3 バルク法を用いたプライマーの検索

F₄30系統中、DNA収量の劣る5系統を除いた25系統について、生物検定の結果から4グループに分類し（第1表）、同一グループに分類された系統のDNAを等量混合し、PCRの鋳型DNAとした。PCRの反応条件は鋳型DNA20ng、dNTPs 200μM、プライマー0.2μM、耐熱性DNAポリメラーゼ（東洋紡 *Tth* DNA Polymerase）0.5Uとし、94℃30秒→40℃2分→72℃3分を45サイクル行った。反応産物は1.5%アガロースゲルで電気泳動し、10塩基からなる269種類のプライマー（オペロン社及びブリティッシュコロロンビア大学製）について、グループ間でのバンドパターンを比較した。

4 多型断片のクローニングとサザン法による多型確認

抵抗性品種・系統に特異的に断片を生じるプライマーについて、多型断片をアガロースゲルから切り出し、TAKARA製のSUPRECO1で精製した。これをT₄DNAカイネース、T₄DNAポリメラーゼで末端修復した後、pBluescript SK⁺の *Sma*I 部位に連結し、大腸菌 JM109 に導入した。得られた形質転換菌からプラスミドを抽出

第1表 葵の風/育比¹¹³⁷のF₄系統の分類とバルク作成

試験 番号	耐虫性検定 R(%)	グループ	試験 番号	耐虫性検定 R(%)	グループ	試験 番号	耐虫性検定 R(%)	グループ
579	50	S分離	589	0	S固定	599	95	R固定
580	0	S固定	590	20	S分離	600	70	—
581	80	R分離	591	80	—	601	100	R固定
582	50	S分離	592	70	—	602	5	S固定
583	90	R固定	593	100	R固定	603	5	S固定
584	80	R分離	594	100	R固定	604	95	—
585	80	R分離	595	95	R固定	605	95	R固定
586	0	S固定	596	30	S分離	606	95	R固定
587	5	S固定	597	0	S固定	607	80	R分離
588	0	S固定	598	80	—	608	80	R分離

注) —の系統は、抽出DNA量が少なかったため、バルクに加えなかった

し、M13 プライマーで挿入部分を増幅してサイズを確認するとともに、サザン法での多型有無を調査するためのプローブとして用いた。

サザン法は、25F₄系統のDNAを用いて行った。各系統のDNAを制限酵素 *Hind*III および *Dra*I で消化し、0.8%アガロースゲルで電気泳動後、キャピラリーブロッティングでDNAをナイロン膜に転写した。プローブはアマシャム社のECL核酸標識・検出システムでラベルし、F₄系統の多型の有無を確認した。

5 第12染色体上のRFLPマーカーを用いた解析

25F₄系統について、イネゲノムチームにより第12染色体にマップされている16個のRFLPマーカーを用いて、サザン法による多型解析を行い、生物検定により抵抗性および感受性と判定された系統間での多型の有無を検索した。

6 トビイロウンカによる生物検定

プライマー検索の供試材料に用いたF₄ 30系統については、株播きポット育苗箱に1系統5粒を播種し、3葉期まで育苗した後、トビイロウンカに対する耐虫性検定を行った。また、当场で育成中の関東PL5由来の抵抗性系統について、坂ら¹⁷⁾の方法で検定を行い、抵抗性と判定した15組合せ、172系統について、次代検定を行った。

結 果

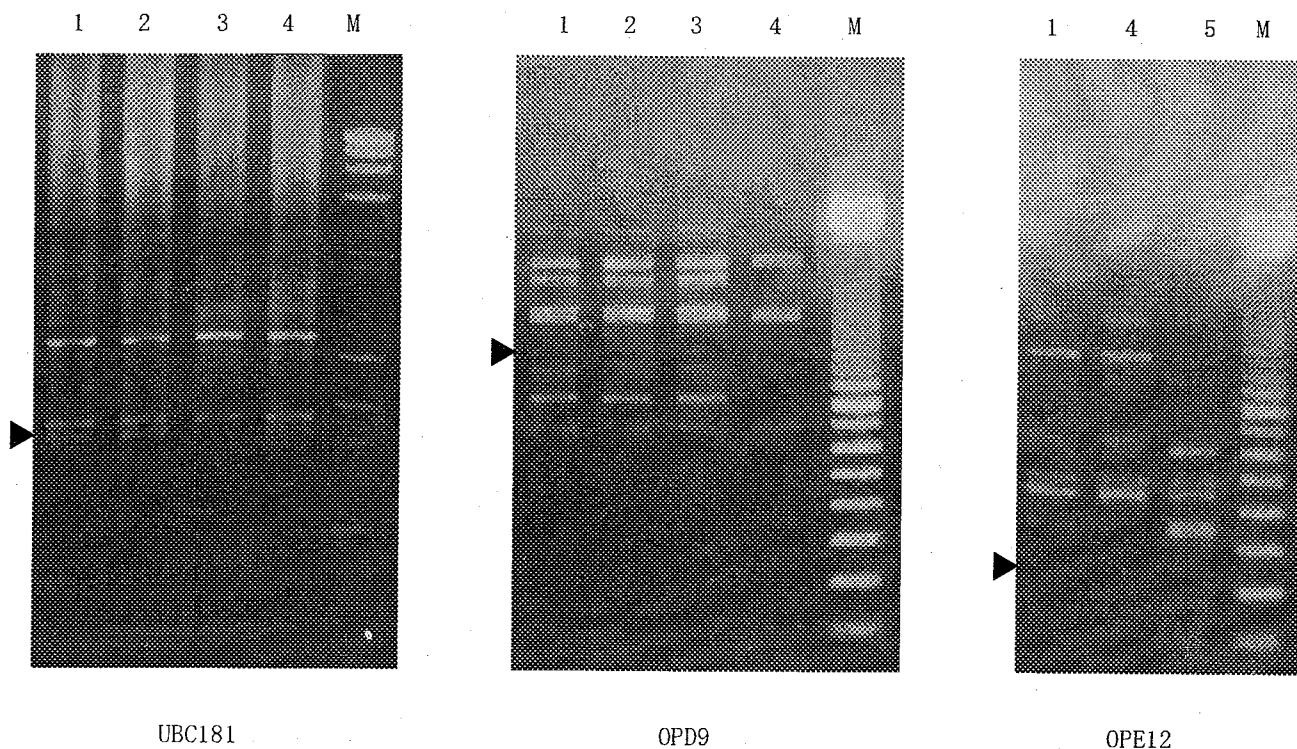
1 バルク法によるプライマー検索

269プライマーについて、作成した4バルク間でのバンドパターンを比較した結果、13個のプライマーでバルク特異的な多型が認められた。このうち、抵抗性バルクに特異的なバンドを生じるプライマーが7個（第1図）、感受性バルクに特異的なバンドを生じるものが5個（第2図）、分離バルクに特異的にバンドを欠失するものが1個（第3図）であった。13個中、抵抗性バルクで特異的にバンドを生じる7個について、比較品種を用いて、再度バンドパターンの検討を行った結果、4個について、抵抗性遺伝子を有する系統にのみ、特異的なバンドが得られた。

2 多型断片のクローニングとサザン法による多型確認

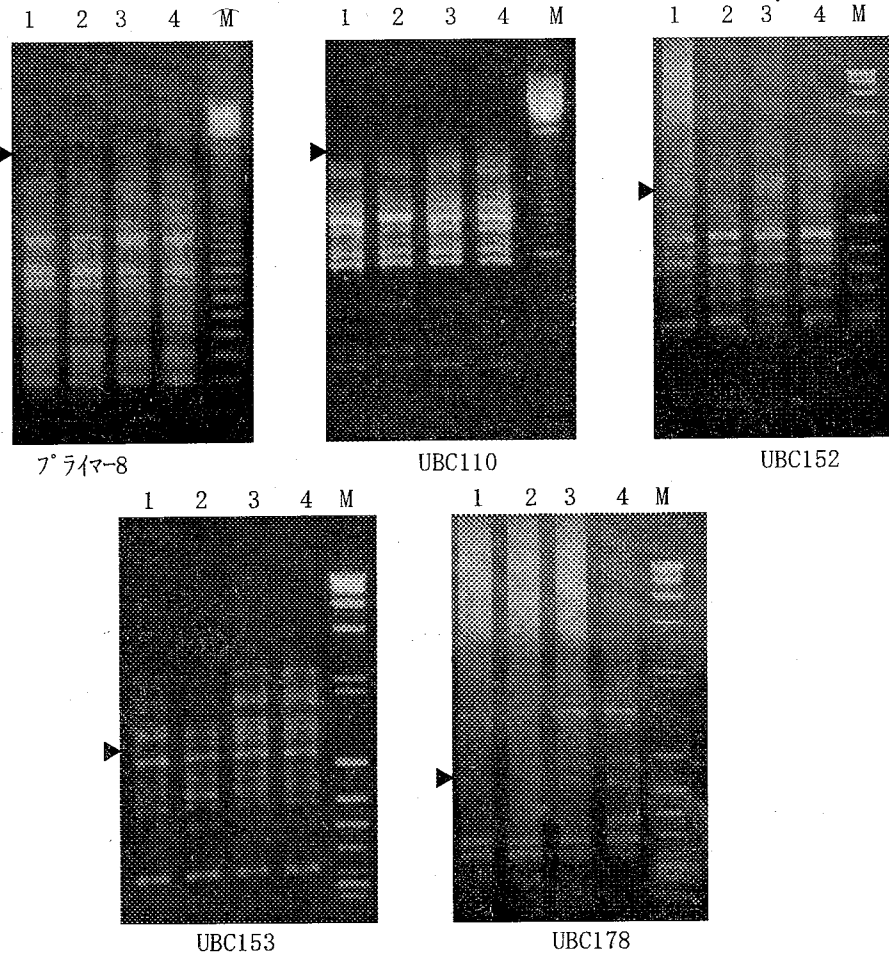
多型断片のクローニングの際、4個中1個については、目的バンドに近接して多型を示さないバンドが存在するため、バンドの切り出しができなかった。残る3個(UBC148, OPD9, OPE12)で生じた抵抗性バルクに特異的なバンドについてクローニングした。挿入断片をM13プライマーで再増幅した後、電気泳動によりサイズを確認した結果（第4図）、目的バンドをクローニングできた。

また、F₄系統間での多型の有無を、サザン法により確認した結果、クローニングした3断片中、2断片をプローブとして用いた場合、両者ともに多型を示した（第5図）。このうち、OPE12により得られたクローンのRFLPは、イネゲノムチームによりマップされている第12染色体に座乗する、G1391 と同一のバンドパターンを示した（第6図）。

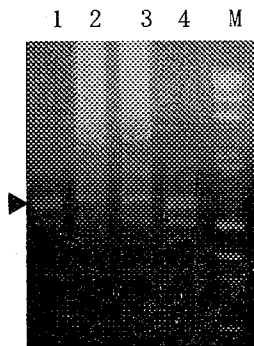


1: R固定バルク 2: R分離バルク 3: S分離バルク 4: S固定バルク 5: 関東PL5 M: DNAサイズマーカー

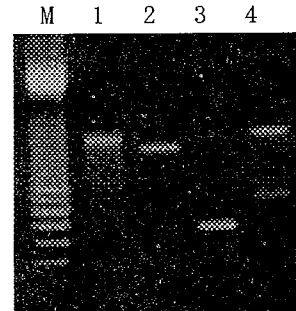
第1図 抵抗性系統に特異的なバンドを生じたプライマーの電気泳動像



1: R固定バルク 2: R分離バルク 3: S分離バルク 4: S固定バルク M: DNAサイズマーカー
第2図 感受性系統に特異的なバンドを生じたプライマーの電気泳動像



1: R固定バルク 2: R分離バルク 3: S分離バルク
4: S固定バルク M: DNAサイズマーカー
第3図 分離系統に特異的にバンドを生じないプライマーの電気泳動像



1: UBC148の関東PL5多型断片
2: OPD9のR固定バルク多型断片
3: OPE12のR固定バルク多型断片
4: UBC148のR固定バルク多型断片
第4図 クローニングした多型断片のPCR再増幅による電気泳動像

3 第12染色体上のRFLPマーカーを用いた解析

16個のRFLPマーカー中、多型を示したのは4マーカーで、主に第12染色体上腕に位置するマーカーでは多型を示さず、4マーカーはスメアあるいはシグナルが弱く解析できなかった(第7図)。

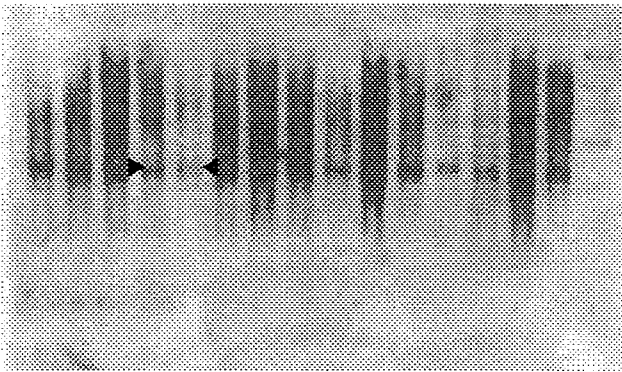
4 関東PL5由来の育成系統の生物検定

当代の検定で抵抗性と判定された、15組合せ172系統の次代系統について検定を行った結果、第2表に示すよ

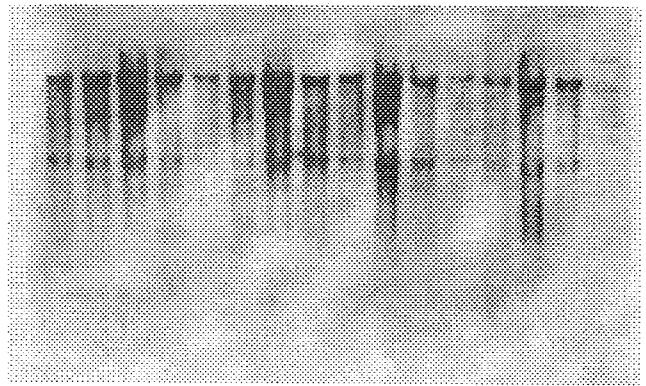
うに感受性個体の分離系統(H)、および感受性のホモ系統(S)が存在した。

考 察

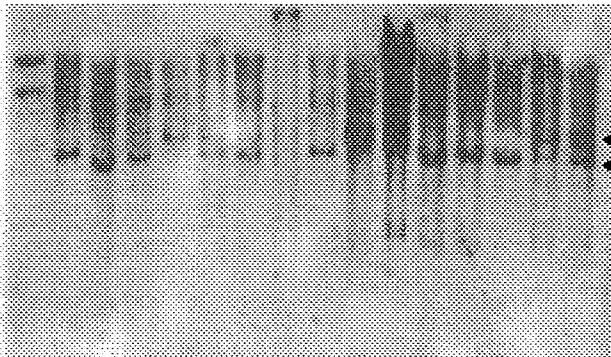
バルク法によるRAPD分析は、RFLP分析に比較して、操作が簡便である利点はあるものの、遺伝子地図に依らないスクリーニングとなるため、目的形質に関与しない遺



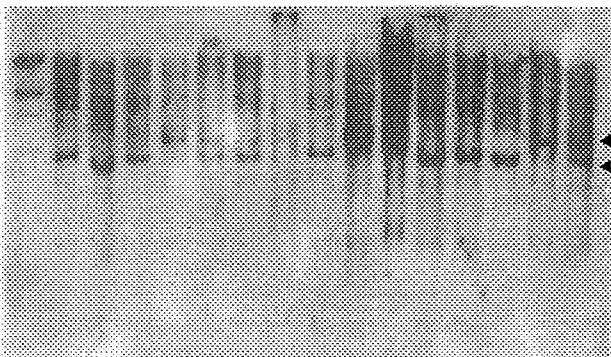
UBC148



第6図 G1391のRFLP像

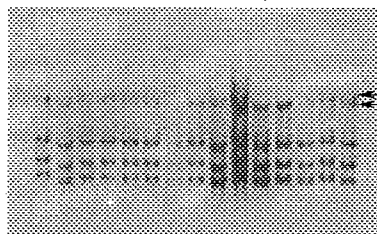


OPE12

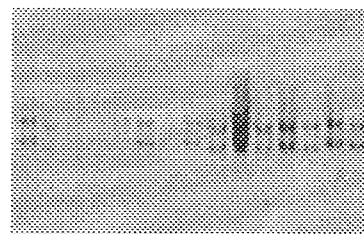


OPD9

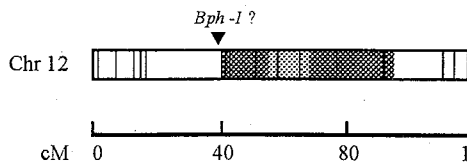
第5図 クローニングした断片をプローブとした F₄系統のRFLPパターン



多型を示したプローブの一例 (G214)



多型を示さなかったプローブの一例 (G1112)



■ 多型を示した領域
 ■ スメア等により不明な領域

注) *bph-1* については既往の報告から推定されるおよその位置を示した

第7図 葵の風/育トビ1137のF₄系統を用いた場合の染色体12のグラフィカルジェノタイプ

伝子領域を解析する危険性がある。この危険性を回避するため、優性遺伝子を対象としたイネ白葉枯病抵抗性遺伝子のRAPD分析では、供試材料に準同質遺伝子系統を²⁵⁾、トマト果実におけるショ糖蓄積形質では、F₂集団に加え、戻し交雑を行った複数系統⁴⁾を解析材料に使用している。これに対し、劣性の単一遺伝子を解析対象としたダイズモザイクウイルス抵抗性遺伝子(*bc-3*)では、1組合せのF₂集団を供試材料として、抵抗性及び感受性ホモのバルクを作成し、検出プライマーの選抜、タギング及びマッピングに成功している²²⁾。本試験では、1組合せのF₄系統を材料として、抵抗性遺伝子を検出できる2プライマーを選抜できた。これは、バルク法によりプライマーを選抜する際に、選抜の加わった、世代の進んだ材料を用いることにより、遺伝的背景がより均質化され、目的遺伝子に近い領域を特定できたこと、バルク作成において抵抗性及び感受性ホモ系統を正確に把握できたことによるものと考えられる。

本試験におけるバルク作成は、第1表に示したとおり4群に分類したが、個々のF₄系統の抵抗性個体の割合は、0~100%の間で広く分布した。ここで、F₄系統全体を一つの集団として考えた場合、無選抜で世代が進んだと仮定すると、集団内に占める抵抗性個体の割合は、理論上44%になる。しかし、筆者らは関東PL5由来の

トビイロウンカ抵抗性育種を進める段階で、抵抗性遺伝子と連鎖する不良形質が存在することを観察している(未発表)。このため、立毛選抜が加わると、抵抗性個体が選抜される可能性は低くなるため、選抜集団内に占める抵抗性個体の割合は、理論値よりもさらに低くなることが予想される。これに対し、本試験で用いた選抜F₄系統集団内における抵抗性個体の存在割合は、57.7%と理論値より高く、優性遺伝子での理論値、56%に近いものであった。

bph-2 はインディカ品種 ASD 7 の有する単一の劣性遺伝子として報告され¹⁾、この遺伝子と同一の遺伝子を保有すると推定される IR1154-243 から関東 PL 5 が育成された⁸⁾。しかし、近年、滝田ら²⁰⁾ は農林 PL 4 号(関東 PL 5)を始め、*bph-2* を有するとされる品種および後代雑種集団を用いて遺伝解析を行い、同抵抗性遺伝子は劣性ではなく、優性遺伝子である可能性を示唆している。

本試験において、関東 PL 5 由来の抵抗性遺伝子を有する当场育成系統について、次代検定を行った結果、当代を抵抗性と判定した系統の次代に感受性分離系統および感受性系統が存在した(第2表)。これは、当代の検定において、分離系統群が抵抗性として判定されたことを示している。関東 PL 5 が保有するとされる、*bph-2* が劣性遺伝子であれば、分離系統における抵抗性個体の割合は、理論上25%であり、個体数の制限される生物検定で、分離系統と感受性ホモ系統との区別は困難となる。しかし、抵抗性ホモ系統との区別は容易であり、分離系統群が抵抗性と判定される可能性は低い。これに対し、本遺伝子が優性であった場合、分離系統における抵抗性個体の割合は75%となり、劣性遺伝子の場合と逆に、分

離系統を抵抗性ホモ系統と区別することが困難となる。さらに、本遺伝子は従来、劣性遺伝子と報告されているため¹⁾、劣性遺伝子の判定基準で生物検定を行った場合、抵抗性個体の存在割合が高い分離系統が、抵抗性ホモ系統と判定される可能性がさらに大きくなる。また、次代において感受性系統の存在割合が優性の単一遺伝子を仮定した場合に想定される値以上に多い理由として、劣悪形質との連鎖の残る抵抗性個体は、立毛選抜されにくいことを考慮すれば、当代の分離系統で感受性個体が選抜され、次代において感受性系統がより多く存在することはなんら矛盾のないものと考えられる。以上のことから、本試験に供試した関東 PL 5 由来のトビイロウンカ抵抗性遺伝子は、劣性ではなく優性と考えられ、滝田ら¹⁹⁾の指摘を支持するものであった。

さらに、*bph-2* はトリゾミック分析により、第II連鎖群(第4染色体)に所属するとされ⁷⁾、*Bph-1* に密接に連鎖あるいは複対立である^{1),7)}と報告されている。しかしながら、近年、トリゾミック等を使用した遺伝子分析で染色体地図上にマップされた遺伝子の中で、RFLP分析により、イネ縞葉枯病抵抗性は第11染色体⁵⁾、トビイロウンカ抵抗性(*Bph-1*)⁸⁾は第12染色体に新たにマップし直されている。本試験において、関東 PL 5 由来のトビイロウンカ抵抗性遺伝子に関する、第12染色体上のRFLPマーカーを用いた解析では、*Bph-1* が存在すると推定される領域に位置するマーカーでは多型が認められず、その下部領域に位置するマーカーで多型が認められた。また、本試験で選抜したRAPDマーカーのクローンの一つが、第12染色体の下部領域に位置するRFLPマーカーと同一の多型を示した。これらのことから、関東 PL 5 由来のトビイロウンカ抵抗性遺伝子は *Bph-1* と同じく第12染色体に

第2表 抵抗性系統群の組合せ一覧と次世代検定結果

世代	組 合 せ	検定結果(数字は系統数)		
		R	H	S
F ₇	愛知92号 / F ₄ (あ系558/4/愛知78号/3/愛知77号//月の光*2/関東PL5)	1		3
F ₅	葵の風*2 / 育比*1284	7	2	2
F ₅	葵の風 / 育比*1284	4		
F ₅	葵の風 / F ₄ (葵の風 / 育比*1137)	2	1	6
F ₅	あ系642 / F ₅ (あいちのかおり/3/愛知78号//月の光*2/関東PL5)	6	4	10
F ₇	あ系642 / F ₅ (あいちのかおり/3/愛知78号//月の光*2/関東PL5)	2		1
F ₅	育1274 // あいちのかおり / 関東PL5	7	6	12
F ₇	育1274 // あいちのかおり / 関東PL5	5		
F ₄	あいちのかおり / F ₅ (あいちのかおり / 育比*1137)	4	8	6
F ₆	愛知95号/3/愛知92号/あ系558 // F ₄ (月の光*2 / 関東PL5)	2	2	2
F ₆	育D1339 / F ₁ (コシカ/ F ₆ (コシカ/ F ₄ (月の光*2 / 関東PL5)		2	
F ₅	育1348 // あ系642 / F ₅ (あいちのかおり//愛知78号/月の光*2 / 関東PL5)		2	
F ₆	愛知95号//あ系642 / F ₅ (あいちのかおり//愛知78号/月の光*2/ 関東PL5)	1		3
F ₆	愛知96号//あ系642 / F ₅ (あいちのかおり//愛知78号/月の光*2/ 関東PL5)	2	3	14
F ₆	愛知92号/ F ₅ (あ系558 / 3/ 愛知92号/あ系558 // F ₄ (月の光*2 / 関東PL5)	10	10	20

存在し、その座乗位置は *Bph-1* の存在領域の下部であると考えられた。

本試験では、関東PL5由来のトビロウカ抵抗性遺伝子を検出できるRAPDマーカーを選抜することができた。今後は、選抜した2プライマーについて、劣悪形質がより除かれた育成系統を用いて、バンドパターンが保存されているかどうかを検討した上で、STS化する必要があるものと考えられる。また、本試験において、関東PL5由来の当該育成系統のトビロウカ抵抗性遺伝子は、優性であることが確認できたので、今後のトビロウカ抵抗性育種に連続多系戻し交配の利用¹⁸⁾やヘテロ選抜を利用した育種手法の適用¹⁰⁾が可能となった。さらに、より効率的な抵抗性個体の選抜が行えるという点で、本試験で得たプライマーは、イネ複合抵抗性育種の効率化の一助となるものと考えられる。

謝辞：本試験を遂行するにあたり、供試プライマーの一部を三重大学生物資源学部の神山康夫助教授から分譲いただいた。また、第12染色体上のRFLPマーカーの一部を農林水産省農業生物資源研究所イネゲノムチームより分譲いただいた。ここに記して深甚の謝意を表す。

文 献

- Athwal, D. S. et al.. Genetics of resistance to brown planthoppers and green leaf hoppers in *Oryza sativa* L. *Crop Sci* 11, 747-750 (1971)
- Collins, N. C. et al.. The *Yd2* gene for barley yellow dwarf virus resistance maps close to the centromere on the long arm of barley chromosome 3. *Theor Appl Genet* 92, 858-864 (1996)
- Gepts, P. et al.. Linkage mapping in common bean. *BIC Invited Paper Annu Rep Bean Improv Coop* 35 (1993)
- Harada, S. et al.. Genetic analysis of the trait of sucrose accumulation in tomato fruit using molecular marker. *Breeding Sci* 45, 429-434 (1995)
- Hayano, Y. et al.. Localization of rice stripe disease resistance gene, *Stv-bj*, by graphical genotyping and linkage analyses with molecular markers. *Theor Appl Genet* 96, 1044-1099 (1998)
- Hirabayashi, H. and T. Ogawa. RFLP mapping of *Bph-1* (Brown planthopper resistance gene) in rice. *Jpn J Breed* 45, 369-371 (1995)
- 池田良一, イネにおけるトビロウカ抵抗性の遺伝およびトビロウ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., 農研センター研報 3, 1-54 (1985)
- 金田忠吉ら, トビロウカ抵抗性遺伝子 *bph-2* をもつ水稲中間母本農4号の育成., 農研センター研報 6, 19-32 (1986)
- Kleinhofs, A. et al.. A molecular, isozyme and morphological map of barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theor Appl Genet* 86, 705-712 (1993)
- 香村敏郎ら, イネ縞葉枯病抵抗性の新品種「青い空」の育成., 愛知農総試研報 15, 1-13 (1983)
- Kurata, N. et al.. A-300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nat Genet* 8, 365-372 (1994)
- Mahinur, S. et al.. Integration of simple sequence repeat DNA markers into a soybean linkage map. *Crop Sci* 35, 1439-1445 (1995)
- McCouch, S. R. et al.. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor Appl Genet* 76, 815-829 (1988)
- Michelmore, R. W. et al.. 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* 88, 9828-9832 (1991)
- Murray, M. G. and Thompson W. F.. Rapid isolation high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acid Res* 8, 4321-4325 (1980)
- Saito, A. et al.. Linkage map of restriction fragment polymorphism loci in rice. *Jpn J Breed* 41, 665-670 (1991)
- 坂紀邦ら, 水稲複合抵抗性品種育成のためのトビロウカ大量検定法., 愛知農総試研報 29, 11-18 (1997)
- 朱宮昭男ら, 水稲病害虫複合抵抗性系統「愛知97号」の育成 育雑 45 別冊2, 279 (1995)
- Song, W.-Y. et al.. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa-21*. *Science* 270, 1804-1806 (1995)
- 滝田正, 「農林PL4号」由来の「南海133号」のトビロウカ抵抗性は優性遺伝子支配だ., 農研センター研究成果情報, (1996)
- Tanksley, S. D. et al.. High-density molecular-linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics* 132, 1141-1161 (1992)
- Vos, P. et al.. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Res* 23, 4407-4414 (1995)
- Wang, G.-L. et al.. Construction of a rice bacterial artificial chromosome library and identification of clones linked to the *Xa-21* disease resistance locus. *Plant J* 7, 525-53 (1995)
- Williams, C. E. et al.. Markers for selection of the rice *Xa-21* disease resistance gene. *Theor Appl Genet* 93, 1119-1122 (1996)
- William, C. J. et al.. Molecular tagging of the *bc-3* gene for introgression into andean common bean. *Crop Sci* 37, 248-254 (1997)
- Williams, J. G. et al.. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res* 18, 6531-6535 (1990)
- Yoshimura, S. et al.. Tagging *Xa-1*, the bacterial blight resistance gene in rice, by using RAPD markers. *Breeding Sci* 45, 81-85 (1995)