2005 年 4 月 1 日

生物技術在水稻育種上之應用

台灣大學農藝系 林順福

註：發表於 2005 年四月『東部稻米產銷研討會專刊』第 33-46 頁

中文摘要

自從 1994 年第一個基因轉殖作物(蕃茄)在美國上市，象徵作物分子育種時代的來臨,而於 2001 年及 2002 年分別公布黃金米及水稻基因體解碼完成,也對水稻育種在觀念上及技術上帶來許多衝擊。因此本報告將先說明生物技術之意義及重要性，再介紹與水稻育種較相關生物技術，將以基因轉殖及分子標誌利用爲重點，討論國際生物技術於水稻遺傳研究與育種應用實例，及介紹我國進行中之相關研究。由於我國農業生產面臨成本過高及市場規模太小而導致缺乏市場競爭能力的困境，無論傳統育種方法或生物技術都必須以能解決台灣當前農業生產問題爲首要考量，況且我國水稻育種之研究經費及人力資源極其有限，因此本報告希望能引起水稻產、官、學相關學者專家共同討論我國未來稻作育種方向與策略，爲水稻發展規劃可行且有效之藍圖。

中英文關鍵字

水稻、育種、生物技術、基因轉殖、分子標誌
Rice, Breeding, Biotechnology, Gene transfer, Molecular marker

一、生物技術之定義？

生物技術(biotechnology)一詞最早由 Karl Ereky(1917)所提出，係指利用生物之生長、發育、及繁殖等系統進行大量生產之總稱；因此，其範圍包括動物、植物及微生物等生產技術，即一般之農業研究或生產技術都可通稱生物技術。美國技術評估局則於 1988 年定義生物技術爲利用於生產或改良生物

體之技術；上述之兩種定義均爲廣義之生物技術。而我國經濟部工業局則於1998年定義爲利用生命科學方法，如基因重組、細胞融合、細胞培養、發酵工程、酵素轉化等方法爲基礎，進行研發或製造產品，或提昇產品品質，以改善人類生活素質之科學技術；另外一般稱分子生物技術(molecular biotechnology)則指在細胞或分子層次研究或利用生物體及其產品之技術；此兩種定義均爲狹義之生物技術。

二、農業生物技術之重要性

生物技術之應用範圍非常廣泛，包括農業、醫藥及工業之應用，相關之產業包括醫療、診斷試劑、作物生產、食品工業、環境保護、化學製藥、及儀器等。美國是農業生物技術發展最早且生技產業規模最大之國家，於2003年之生技產業市場高達230億美元，其中農業生技約爲16億美元，約佔生技總市場之 7%，全世界二十大農業生技公司中美國就佔了十家，其中孟山都(Monsanto)公司最具規模，爲全美第二大生物技術公司(林菁華，2003)，其員工數目約兩萬兩千人，每年投資研發經費約兩億美元。人類糧食之安全爲全世界重視農業生物技術之最主要原因，雖然許多國家進行人口數目與糧食生產之控制，但是全世界每年仍以1.5%之人口成長速度，但是糧食增產速度自從1990年之後僅維持0.5之成長速度，預計在2050年世界人口將達91億人，而糧食之需要量約爲目前之三倍量(Sharma et al., 2002; Vasil, 1998)。此外，許多農業生物技術公司及研究人員認爲生物技術不但可以提昇作物產量，尙可提高作物品質，並且可減少農藥之使用，而確保環境生態之維護及人類飲食健康(//www.whybiotech.com/)。

生物技術利用於作物品種改良方面主要包括基因轉殖(gene transfer)或稱基因改造(genetic modifying)與分子標誌輔助選種(marker assisting selection, MAS)兩個重要方向。近幾年進展迅速之基因體及生物資訊研究等對基因轉殖或分子標誌輔助選種都有很大幫助；此外，有關雜種優勢之利用及無融合生殖技術之利用等對水稻育種及栽培亦將有重大影響。本報告將針對上述重點分項討論。

三、水稻基因轉殖之研究及利用

基因轉殖水稻或是基因改造水稻就是將不同物種之基因(或一段 DNA)轉移至水稻，不同物種基因來源可能包括一種或多種之不同作物、動物或微生物。而最常用之作物基因轉殖工具爲基因槍及農桿菌輔助基因轉移。生技公司發展基因改造作物主要有三種訴求：即(一)增加產量解決人口日益增加所造成之糧食問題；(二)增加農產品之營養成份及確保產品外觀，以提高品質；(三)減少農藥之使用及土地之過度開發利用，以維繫優良環境。然而亦有科學家及民眾擔心基因改造作物對於人體健康之危害(過敏性或毒性)、對於土壤、空氣及水分等之污染、少數生技公司壟斷全世界種苗來源或控制糧食生產、及農民無法自行留種、無非基因改造產品可供消費者選擇等問題。自從 1994 年五月 Calgene 公司上市全世界第一個基因改造作物(FLAVR SAVR™ 蕃茄)以來，陸續已經有許多基因改造作物大量栽培及生產，依據 2004 年所調查全世界主要栽培作物中種植最高比例之基因改造作物爲大豆(佔全球大豆栽培之 56%)，其次爲玉米(佔全球玉米栽培之 14%)、棉花(佔全球棉花栽培之 28%)及油菜(佔全球油菜栽培之 19%)；而這些基因改造作物主要種植於美國(59%)、阿根廷(20%)、加拿大(6%)、巴西(6%)及中國(5%)等五個國家。至於基因轉殖水稻雖有多個品種育成，但仍未大規模之種植(James, 2004)。

於 2005 年三月正式登錄在加拿大 AGBIOS 網站(//www.agbios.com/)之基因改造水稻一共有三筆資料，共有 6 個品系。第一筆資料係由 Aventis CropScience 公司於 2000 年經美國審查通過之食品及飼料用之抗殺草劑 glufosinate (抑制 glutamine 合成)品系 LLRICE06 及 LLRICE62；第二筆資料則由 BASF 公司於 2002 年經加拿大審查通過之食品及飼料用之由 EMS 誘變產生的抗殺草劑 Imidazolinone (抑制 valine、leucine 及 isoleucine 合成)品系 CL121、CL141 及 CFX51；第三筆資料亦由 BASF 公司於 2002 年經加拿大審查通過之僅供飼料用之由 EMS 誘變產生的抗殺草劑 Imidazolinone (抑制 valine、leucine 及 isoleucine 合成)品系 PWC16 品系，已經於 2003 年上市銷售。

根據 Huering (2005 年二月)年指出在美國加州之隔離田區已經連續種植生產醫藥用蛋白(治療腹瀉)之基因改造水稻，而 2004 年在密西西比州也種植 200 英畝之醫藥用基因改造水稻，密蘇里州則將於今年選擇與一般水稻栽培區距離 14 英里之田區種植醫藥用基因改造水稻。中國新華社於 2005 年三月

二日報導中國將於今年核准大量種植轉殖 Bt 基因(抗蟲)之水稻。依據 ISAAA(International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Application)之水稻專家 Randy Hautea(2005 年三月)指出含 Bt 基因(抗三化螟、大螟蛾及捲葉螟等)之兩個轉殖水稻品系在河北省及福建省進行試種，結果顯示可增產約 4%~8%，殺蟲劑之用量可減少 80%，平均每公頃可增加 80~100 美元之收益。而印度及越南兩國亦正在進行基因改造水稻之田間評估試驗。

表 1. 世界基因改造水稻研究現況 (整理自 Brookes and Barfoot, 2003 等報告)

國別/地區	研究現況	備註
美國	1997-2002 年共有 173 個 GM 水稻田間試驗登記，其中 Monsanto 及 Aventis 佔 80%以上，重點在抗殺草劑(但 Monsanto 亦加強高產技術)，康乃爾大學(耐旱/耐鹽，但僅限於秈稻)。	
歐洲	只有 8 個 GM 水稻完成田間試驗登記，Bayer 著重抗殺草劑 glufosinate， 其他歐盟合作計畫重點在抗稻熱病及真菌病害。	
日本	1993 年開始有 1 個隔離田間試驗，而 2001 年有 11 個，2000 年有 7 個開放田間試驗。 主要研究重點： National Agri. Res. Center －稻熱病。 Monsanto － Glyphosate 抗性 (Dec 2002 宣佈失敗)。 Japan Tobacco －釀造用低蛋白質品種。 National Ins. of Agrobio. Sci －(誘發胰導素, 2003)。	
南美	唯一之 GM 水稻試驗由 Aventis 在巴西及阿根廷進行抗 glufosinate GM 水稻。	
印度	有 4 個研究機構進行 GM 水稻研究,正研擬田間試驗。	
澳洲	2001 年有 3 個機構合作進行 5 個 GM 水稻試驗。 CSIRO Univ. of Southern Cross Charles Stuart Univ	
東南亞	Philippine Rice Research Institute 進行 3 個 GM 水稻	中國將於 2005 年

	田間試驗，以評估 Xa-21 對 9 種白葉枯病抗性。 中國在 1999 及 2000 年於武漢田間評估轉殖 Bt 之雜種水稻，正準備評估轉殖 Bt、Xa-21 及 Dwarf Virus 鞘蛋白水稻。	開放含 Bt 之基因改造雜種水稻供農民大量種植。

表 2. 全世界預定於 2003-2012 年培育之基因轉殖水稻品種特性
(整理自 Brookes and Barfoot, 2003)

類別	特性	2003-2005 年	2006-2008 年	2009-2012 年
殺草劑抗性	抗嘉磷塞 抗固殺草	極可能 極可能		
細菌或真菌抗性	白葉枯病 稻熱病(chitinase) 稻熱病(PR5)	極可能 可能 可能	 很可能 很可能	 很可能 很可能
病毒抗性	RHBV(白葉病) RTSV(東格魯病) RYMV(黃斑駁病) RRSV（矮業萎縮病）	可能 可能 可能 可能	很可能 很可能 很可能 很可能	很可能 很可能
抗蟲性	抗褐飛蝨 抗莖螟蟲	 極可能	很可能	極可能
營養成份	維他命 A 鐵質含量 鐵質含量 高品質蛋白	可能 可能	極可能 極可能 很可能 很可能	 很可能 很可能
逆境抗性	浸水 耐鹽及耐旱		很可能 很可能	很可能 很可能
提高產量	雄不稔雜種 澱粉品質 稻穗發育/穗數		很可能 可能 很可能	極可能 極可能 極可能

註：「可能」表示可能性爲 30%-50%，「很可能」表示可能性爲 50%-80%，「極可能」表示可能性大於 80%。

Brookes and Barfoot (2003)整理世界基因改造水稻之研究現況(表 1)，顯示目前有關水稻基因轉殖之研究以美國爲主，其中有以 Monsanto 及 Aventis 兩公司投入較多之研發；歐洲及日本等國則有較小規模之研究，主要以抗病、抗殺草劑、及醫藥用途爲目標；而國際稻米研究所(IRRI) 非常積極協助及推動亞洲各國之水稻基因轉殖研究。此外，尚有許多零星之水稻轉殖研究分佈在世界各國，例如利用基因轉殖技術轉移水稻幾丁質分解基因(*PR-3*)以提高其對紋枯病抗性(Datta et al., 2001)、轉入蛾之抗微生物蛋白(cecropin B)或水稻 *Xa21* 基因以抗白葉枯病(Sharma et al., 2000；Tu, et al., 2000)、轉入 hammerhead 之 ribozyme 基因以抗萎縮病((Han et al., 2000)、轉入 *Rir1b* 基因以抗稻熱病(Schaffrath et al., 2000)、轉入 Bt 基因(cry1A9b 或 cry1(c))以抗 leaffolder and 螟蟲(Tu et al., 2000)。研發中水稻基因轉殖特性非常廣泛，包括抗殺草劑、抗病、抗蟲、抗逆境、提高營養成份、及提高產量等，預期可能推廣栽培之期間如表 2。

除了美國小規模種植醫藥用及抗殺草劑基因改造水稻外，中國大陸預期在 2005 年允許農民大量種植轉殖 Bt 基因(抗蟲)水稻，因爲稻米爲亞洲國家之主要糧食，屆時將會引起國際重視，而我國亦需防範基因改造產品或種苗非法進口。由瑞士研究團隊歷經 10 年投入經費高達 1 億美元所研發富含維他命 A 之黃金米，於 2001 年公布成果後，不僅爲水稻基因轉殖研究的重大進展，亦是農業生物技術的重要歷程，但因涉及數十項專利及尚未達到商品化要求(每人至少食用 200 克白米才可補充基本維他命 A 要求)，仍在繼續研發中。我國目前正進行田間安全性評估之基因轉殖水稻包括轉殖乳鐵蛋白基因、植酸酵素、及澱粉分解酵素等。

四、水稻重要農藝性狀之遺傳研究

分子標誌爲遺傳標誌之一種，遺傳標誌係利用一個基因、遺傳特性、DNA 片段或染色體片段等來標記或追蹤其他基因、特性或個體。而分子標誌則是遺傳標誌之一種，主要依據個體間分子層次之差異(林順福，2001)。分子標誌之種類很多，且不斷有新的類型持續開發中，依據其分析原理可分爲兩大類型：第一類型爲以限制酵素剪切不同長度 DNA 片段爲基礎，包括 RFLP(restriction fragment length polymorphism) 及 CFLP(cleaved fragment

length polymorphism)等；第二類型則以聚合酵素連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)所產生不同長度或序列之 DNA 片段爲基礎，包括 RAPD(random amplified polymorphic DNA)、SSR(simple sequence repeat)及 SNP(single nucleotide polymorphism)等。而 AFLP(amplified fragment length polymorphism)則綜合上述兩種類別之原理(林順福、陳成，2002)。因爲第一類型之分子標誌常需使用放射性物質(P^{32})，故在我國較少使用。由於分子標誌可以分析多個基因控制之重要經濟性狀，近幾年在水稻農藝性狀基因之研究進展非常快速，Gowda et al.曾於 2003 年綜合整理，經過一年後又有許多重要成果（表 3），所整理之特性包括與產量或栽培相關之性狀(種子發芽率、抽穗期、分蘗數、株高、光敏感性、落粒性)、穀粒特性或品質性狀(巨型胚、甜胚乳、穀粒長度、穀粒寬度、穀粒長寬比、心腹白、碾米品質、米飯品質、直鏈性澱粉含量、蛋白質含量、油份含量、米香氣)、抗病蟲害(白葉枯病、稻熱病、褐飛蝨、紋枯病)、抗逆境(耐鹽性、浸水耐性、耐寒性、耐旱性)、及稔實特性(雜種不稔性、光敏感不稔性、稔性恢復、雜種親和性)等。由表 3 可知，有些性狀受到少數基因控制，有些性狀則受許多基因影響，而且不同基因對同一性狀之影響程度有明顯差異。雖然控制農藝性狀之基因尚未全部發現，但是主要影響性狀之基因位置已經被標定，而且許多基因相鄰之分子標誌已被開發利用，至少有 2240 個分佈在各染色體之 SSR 水稻分子標誌已經發表(McCouch et al., 2002)，已爲分子標誌輔助水稻育種建立良好基礎。

表 3. 影響水稻重要農藝性狀的基因位置
(整理自 Gowda et al., 2003；Bao and Corke, 2004 等報告)

性狀	相關染色體	備註(其他報告)
產量	1、1、1、2*、3、3、4、4、5、5、6、6、7、8、9、10*、11、12	
抽穗期	1、1、2、3、3、3、4、4、5、6、6、6、7、7、8、8、9、10、10、11、12	Chardon et al., (2004); Ishimaru and Kashiwagi (2004)
種子發芽	1、2、3、5、6、7、11	Miura et al., (2002)；Miyamoto et al., (2004)
分蘗數	1、1、2、3、3、4、4、5、6、	Miyamoto et al., (2004)

	7、8、12	
株高	1、1、1、2、2、2、3*、4*、5*、6、11、12	
光敏感性	5、6、6	
落粒性	11	
巨型胚	7	
甜胚乳	8	
千粒重	1、1、1、2、3、3、4、5、5、6、8、9、10、11	
穀粒長度	1、2、3、3*、4、6、7、9、10、11*	Aluko et al., (2004)；Miura et al., (2002)
穀粒寬度	1、2、3*、5、6*、8*、10、11	Aluko et al., (2004)
穀粒長寬比	1、2、3、3*、5*、6、8*	Aluko et al., (2004)
心腹白比例	8、12	
心腹白面積	3	
碾米品質	3、5*	
米飯品質	1、2、4、5、5、6*、6*、7、12	
直鏈性澱粉含量	3、5、6*、8	Aluko et al., (2004)
蛋白質含量	1、2、4、5*、6、7、10、11	Aluko et al., (2004)；Hu et al., (2004)
油份含量	1、2*、2、2、4、4、5*、5、5、6、7、8、10、11、11	Hu et al., (2004)
米香氣	4、8*、12	
白葉枯病	1、4、4、5*、6、8*、11*、11、11、11、11、12、12	
稻熱病	1、1、2、2、2、3、4、4、5、5、6*、6、6、6、7、8、8、8、9、10、11*、11、11、11、11、12*、12、12、12	

褐飛蝨	1、2、3、4*、5、5、6、8、9、11、11、12、12、12、12、12	Ren et al., (2004)
紋枯病	2、3、3、4、4、8、9、10、11、11、12	
耐鹽性	1、4、6、9	
浸水耐性	1、2、4、6、7、9、11、11、11、11、12	
耐寒性	1、2、3、4、5、6、7、9、11、12	Miura et al., (2001)
耐旱性	1*、1、2*、2、3、3、4、4、5、6、7*、8、8、9*、9、10、11、12、12	
雜種不稔性	5*、6、8	Song et al., (2005)
光敏感不稔性	3、7、12	
雜種親和性	6、12	
稔性恢復	1、7、10	

註：有 * 號標註者表示該染色體上的基因對性狀有較大影響。

五、分子標誌應用於水稻育種

分子標誌因為具有可以鑑別單一個體(甚至單粒種子)之基因型(genotype)、不受環境影響基因型偵測、極少量樣品即可進行分析、可由植物任何生育階段或組織取樣分析等優點，為作物遺傳研究及育種應用之良好工具。在作物育種之應用包括種原歧異性分析、雜交親本選擇、品種純度分析、雜交後代選拔、品種鑑定、基因改造產品鑑定等（林順福，2001）。數個具代表性之研究如下：Xu et al. (2004)以 RFLP 及 SSR 分子標誌發現美國育成水稻品種之遺傳歧異性過窄(佔世界種原變異 56%-82%)，將以此工具做為日後種原收集及親本選擇之依據；廖慧雅(2000)利用 9 組 SSR 引子可鑑別台灣育成之梗稻品種，並且驗證此項工具可偵測含 10%以上之不同品種混合米；而 Jain et al. (2004)則應用 ISSR 分子標誌於區分原始種印度香米(Bbasmati)、雜交種印度香米及非印度香米品種；Sing et al., (2004)則成功地篩檢出 41 個 ISSR 分子標誌可有效偵測原原種及原種等種子純度。

分子標誌輔助選種主要係依據分子標誌與基因連鎖之原理而進行間接選拔。分子標誌應用於水稻選種之成功例子甚多，亦僅舉出較具有代表性之成果供參考。國際稻米研究所(IRRI)利用分子標誌輔助回交方法成功地將 4 個耐旱基因轉移至優良栽培種 IR64，極顯著地改良 IR64 品種之耐旱性，為分子標誌輔助選種成功例子之一 (Courtois and Lafitte, 2003)。此外，分子標誌利用於白葉枯病及稻熱病之改良亦有顯著效果，Chen et al. (2000)僅利用 3 個分子標誌將 *Xa21* 基因轉移至雜種水稻之稔性回復親本明恢 63(Minghui 63)，改良許多雜種水稻栽培品種對白葉枯病之抗性；而 Sanchez et al. (2000)也利用分子標誌將 *xa5*、*xa13* 及 *Xa21* 等 3 個抗病基因轉移至 3 個優良品系；Joseph et al.(2004)也成功利用分子標誌選拔具有 *Xa4*、*xa8*、*xa13* 及 *Xa21* 等 4 個抗病基因之香米品系。利用分子標誌選拔雜交後代個體，選獲多個品系具有位於染色體 11、6、及 12 之三個主要抗稻熱病基因(*Pi1*、*Piz-5* 及 *Pita*)(Hittalmani et al., 2000)。甚至 Narayanan et al., (2002)同時利用分子標誌同時將抗白葉枯病基因(*Xa21*)及抗稻熱病基因(*Piz-5*)導入栽培種 IR50，而有效改良抗病性。Zhou et al. (2003)利用分子標誌將影響直鏈性澱粉含量之 *wx-MH* 基因由 Minghui(雜種之稔性回覆親)轉移至 Zhenshan 97(雄不稔親本)，而顯著改良雜種水稻品種 Shanyou 63(佔中國栽培面積約 25%，每年約 670 萬公頃)之食味品質。Cordeiro et al. (2002)僅利用一個分子標誌可由雜交分離族群中選拔具有香氣基因之水稻品系。目前應用分子標誌輔助選拔水稻品種最為普遍之國家為菲律賓、中國、美國、印度及日本等國，而我國應用分子標誌於選種仍不普遍。

六、其他與水稻育種有關之重要生物技術

中國在 1964-1975 期間積極研究雜種水稻以解決糧食問題，目前種植雜種水稻品種之面積已經達到 50% (約 3000 萬公頃)，於 2000-2001 年之平均公頃產量可達 9.2-9.6 公噸，最高可達 17.1 公噸之記錄。雜種水稻品種已經推展至越南、印度、菲律賓、巴基斯坦、印尼、及美國等 20 個國家，目前也已經有梗稻品種相互雜交之雜種水稻(Virmani et al., 2003)，然而我國過去投入有關雜種水稻之研究甚少。另外，為便利雜種水稻之大量繁殖已供應實際栽培之需要，已經進行雜種水稻孤雌(單性)生殖技術之研發，目前仍孤雌生殖特性之突變體(Virmani et al., 2003)，此種技術若能成功，將更有助於雜種水

稻之推廣。誘變育種為產生遺傳變異及重要基因選殖之良好工具，目前我國水稻突變育種之大型研究計畫包括化學藥劑(例如，疊氮化鈉)誘變、T-DNA誘變及移位基因（例如，Tos17）誘變，目前正投入大量經費與人力執行計畫中。而我國參與之國際水稻基因體解碼計畫已於 2002 年完成，加上 Syngenta 公司及北京團隊所解碼之資料庫共有三套可供利用(Bullell, 2002)，對於水稻之遺傳研究或基因轉殖及分子標誌選種等利用將有很大幫助，因此需重視有關水稻生物資訊之研究及應用。另外，基因轉殖水稻所產生之生物安全、環境保護及基因改造食品檢測等問題亦應及早提出有效且可行之管理策略。

七、結論

回顧近十年來，生物技術對於國際農業發展及我國稻作研發上均帶來很大衝擊，我國政府投注大量經費及人力資源於生物技術發展，仍未有具體成果，但卻令水稻育種專家疲於應對，值得產、官、學相關單位重視，建議政府主管單位能邀集各領域專家共同研商未來發展方向。雖然水稻品種改良依其育種目標有多種策略可供選擇，但是無論利用傳統育種方法或生物技術於作物品種改良，我國都難以克服農產品生產成本過高所導致缺乏競爭能力之困境。而以高品質、新鮮及食用安全為目標之作物(包括稻米)育種或生產，或許可為台灣稻作育種及生產開拓新契機。大家都注意到全世界基因改造作物產值於 2005 年預估可達 50 億美元(ISAAA，2004)，但卻忽略有機農產品於同年可達 370 億美元，未嘗不是另一方向之思考。近五十年來，我國許多稻作專家為糧食生產奉獻心力，並且傳承許多寶貴經驗，應該有充分之智慧決定出既可投注彩券(生物技術)，也能加強扁擔(傳統育種技術)功能之雙贏策略。

八、主要參考文獻

林菁華 2003 美國農業生物技術產業現況 (//agbio.coa.gov/information_detail.asp?bi_id=475/)。 生物技術開發中心。

林順福 2001 分子標誌在作物育種上之應用。生物技術在農業上之應用。pp21-30。楊盛行編。國立台灣大學農業陳列館。

林順福 陳成 2002 作物育種觀念與技術之發展。 科學農業 50:110-121.
廖慧雅 2000 利用 AFLP、SSLP 和 ISSLP DNA 分子標誌於台灣水稻品種之白米樣品辨識與親原關係分析。國立台灣大學農藝系碩士論文。
Aluko G., C. Martinez, J. Tohme, and C. Castano. 2004. QTL mapping og grain quality traits from the interspecific crpss Qryza sativa x O. glaberrima. Theor. Appl. Genet. 109:630-639.
Brookes G. and P. Barfoot. 2003. GM Rice: Will this lead the way for global acceptance of GM crop technology? ISAAA: Ithaca, NY.
Buell C. R. 2002. Obtaining the sequence of the rice genome and lessons learned along the way. Trends in Plant Science 17:538-542.
Chardon F., B. Virlon, L. Moreau, M. Falque, J. Joets, L. Decousset, A. Murigneux, and A. Charcosset. 2004. Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from quantitative trait loci meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. Genetics 168:2169-2185.
Chen S., X. H. Lin, C. G. Xu, and Q. Zhang. 2000. Improvement of bacterial resistance of "Minghui 63", an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. Crop Sci. 40:239-244.
Cordeiro G. M., M. J. Christopher, R. J. Henry, and R. F. Reinke. 2002. Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence. Molecular Breeding 9:245-250.
Courtois B. and R. Lafitte. 2003. Using marker-aided selection for a specific drought-tolerance trait. In Breeding Rice for Drought-Prone Environments (pp. 84-90), Eds. Fischer K. S., R. Lafitte, S. Fukai, G. Altin, and B. Hardy. IRRI.
Gowda M., R. C. Venu, K. Roopalakshmi, M. V. Sreerekha, and R. S. Kulkarni. 2003. Advances in rice breeding, genetics and genomics. Molecular Breeding 11:337-352.
Hittallmani S., A. Parco, T. V. Mew, R. S. Zeigler. 2000. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the tree major genes for blast resistance in rice. Theor. Appl. Genet. 100:1121-1128.
Hu Z., P. Li, M. Zhou, Z. Zhang, L. Wang, L. Zhu, and Y. Zhu. 2004. Mapping of quantitative trait loci (QTLs) for rice protein and fat content using doubled haploid lines. Euphytica 135:47-54.

Ishimaru K. and T. Kashiwagi. 2004. Identification of a locus for asynchronous in rice, Oryza sativa L. Euphytica 139:141-145.

Jain S., R. K. Jain, and S. R. McCouch. 2004. Genetic analysis of Indian aromatic and quality rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using panels of fluorescently-labeled microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. 109:965-977.

James C. 2004. Preview: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops:2004. ISAAA Briefs No.32. ISAAA: Ithaca, NY.

Joseph M., S. Gopalakrishnan, R. K. Sharma, V. P. Singh, A. K. Singh, N. K. Singh, and T. Mohapatra. Combining bacterial blight resistance and basmati quality characteristics by phenotypic and molecular marker-assisted selection in rice. Molecular Breeding 13:377-387.

Miura K., S. Y. Lin, M. Yano, and T. Nagamine. 2002. Mapping quantitative trait loci controlling seed longevity in rice *(Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 104:981-986.

Miyamoto N., Y. Goto, M. Matsui, Y. Ukai, M. Morita, and K. Nemoto. 2004. Quantitative trait loci for phyllochron and tilling in rice. Theor. Appl. Genet. 109:700-706.

Narayanan N. N., N. Baisakh, C. M. V. Cruz, S. S. Gnanamanickam, K. Datta, and S. K. Datta. 2002. Molecular breeding for the development of blast and bacterial blight resistance in rice cv. IR50. Crop SCi. 42:2072-2079.

Oard, J. and G. H. Liang. 2004. Rice transformation: current progress and future prospects. In *Genetically Modified Crops* (pp.225-246), Eds. Liang G. H. and D. Z. Skinner. Food Products Press, New York.

Ren X., X. Wang, H. Yuan, Q. Weng, L. Zhu, and G. He. 2004. Mapping quantitative trait loci and expressed sequence tags related to brown planthopper resistance in rice. Plant Breeding 123:342-348.

Sanchez A. C., D. S. Brar, N. Huang, Z. Li, and G. S. Khush. 2000. Sequence tagged site marker-assisted selection for three bacterial blight resistance gene in rice. Crop Sci. 40:792-797.

Sharma H. C., J. H. Crouch, K. K. Sharma, N. Seetharama, and C. T. Hash. 2002. Applicatios of biotechnology for crop improvement: prospects and constraints.

Plant Science 163:381-395.

Sing R. K., R. K. Sharma, A. K. Sing, V. P. Sing, N. K. Sing, S. P. Tiwari, and T. Mohapatra. 2004. Suitability of mapped sequence tagged microsatellite site markers for establishing distinctness, uniformity and stability in aromatic rice. Euphytica 135:135-143.

Song X., S. Q. Qiu, C. G. Xu, X. H. Li, and Q. Zhang. 2005. Genetic dissection of embryo sac fertility, pollen fertility, and their contributions to spikelet fertility of intersubspecific hybrids in rice. Theor. Appl. Genet. 110:205-211.

Vasil I. K. 1998. Biotechnology and food security for the 21st century: A real-world perspective. Nature Biotechnology 16:399-400.

Virmani S. S., C. X. Mao, and B. Hardy. 2003. *Hybrid Rice for Food Security, Proverty Alleviation, and Environmental Protection*. IRRI

Zhou P. H., Y. F. Tan, Y. Q. He, C. G. Xu, and Q. Zhang. 2003. Simultaneous improvement for four quality traits of Zhenshan 97, an elite parent of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. Theor. Appl. Genet. 106:326-331.