

篩選與水稻抗褐飛蝨基因連鎖之分子標誌¹

黃惠娟² 李長沛² 陳治官^{2,5} 鄭清煥³ 謝兆樞⁴ 林順福⁴

摘要：本試驗以台農 69 號與越光雜交所得的 160 個 F_{2:4} 衍生品系為材料，利用 135 個具多型性的分子標誌來建構一個稈型稻的分子圖譜，以釐定與褐飛蝨抗性相關的基因。藉由不同年度綜合的變方分析，估算此族群對褐飛蝨抗性的廣義遺傳率 (h^2_B) 是 73.9%。從三年的外表型調查資料，偵測到 5 個與褐飛蝨抗性相關的具有主效作用的數量性狀基因座 (Quantitative trait loci, QTL)，其中 2 個是位於 C 連鎖群上，另外三個分別位於連鎖群 E、G 及 H 上。位於 G 群上的 QTL 與 OPK16 相距 4-6cM 呈緊密連鎖，可解釋的外表型變異量介於 36.8~75.8% 之間，LOD 值為 7.19~14.64，此 QTL 為來自母本台農 69 號具抗性的對偶基因。而位於連鎖群 H 上的 QTL，在 GLM (General linear model) 的單一因子分析時並沒有偵測到，故此 QTL 可能是虛無的。另一位於連鎖群 C 及 E 上的 QTL 對褐飛蝨的抗性則呈現超顯性遺傳現象。而 OPL9 標誌雖仍未歸屬於特定連鎖群，但因與其連鎖之抗蟲基因在三個年度均測得，所以 OPK16 及 OPL9 兩個分子標誌應能夠有效的應用於抗褐飛蝨育種，輔助進行早期世代的選拔，可省卻耗工的抗蟲檢定工作，提高育種效率。

關鍵詞：水稻、褐飛蝨、分子標誌。

前 言

褐飛蝨 (*Nilaparvata lugens* Stal, Brown planthopper (BPH)) 發生嚴重時會導致水稻完全乾枯致死，而輕度的危害亦會導致植株矮化、減少作物生長勢、穀粒不充實及降低產量等症狀，故為亞洲種植水稻地區最嚴重的蟲害之一^(3,8)。防治褐飛蝨的方法包括化學藥劑、改變施肥方式及抗蟲育種，最常見為施用化學藥劑，但除增加生產成本外，在長期使用後對環境會造成嚴重的污染，並破壞生態平衡；而少施氮肥可減緩蟲害發生情況並兼顧生態環境^(3,6,8,12)，但效果有限，且在考慮產量的因素下並非最恰當，所以育成具有抗蟲性的水稻品種，將是最根本且經濟的防治方法；台灣第一個稈稻抗蟲品種為 1982 年嘉義分所推出台農 68 號，帶有 *bph2* 抗蟲基因，此後農試所及嘉義分所又分別育成帶有 *Bph3* 抗蟲基因的台農 69 號及 *Bph1* 抗蟲基因的台農 70 號，但以台農 69 號的中抗性較為穩定，其抗性基因係自野生稻 *Oryza rufipogon* Griff 所導入^(1,2,4)。

藉由分子標誌建立分子連鎖圖譜，加上利用與抗性基因連結的分子標誌輔助育種選拔 (marker-assisted selection, MAS) 或進一步選殖目標基因，為目前分子育種學重要研究方向。就褐飛蝨而

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2129 號。接受日期：91 年 10 月 15 日。

2. 本所農藝組助理研究員、助理研究員和副研究員。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

3. 本所嘉義分所植物保護系研究員兼系主任：臺灣省 嘉義市。

4. 台灣大學農藝系教授及助理教授。台北市。

5. 通訊作者，電子郵件：cgchern@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

言，已有多個實例利用分子標誌進行抗蟲基因的篩選、定位及遺傳分析，像 1992 年 Jena *et al.*⁽¹⁶⁾以種間雜交的 BC₂F₈ 進行基因定位，發現在第 4 條染色體上有三個標誌與抗褐飛蟲基因連鎖，第 12 條染色體則有一個標誌與抗性有關。Ishii *et al.* (1994)⁽¹⁵⁾亦利用 RFLP 標誌在種間雜交後代找到第 12 條染色體上與抗性基因相距 3.68cM 的 RG457，以及第 10 條上與抗性基因相距 9.96cM 的 CDO98。如此近的連鎖對於利用 MAS 轉移抗性基因至其它優良品系，或選拔雜交後代分離品系是相當有用的。

1997 年 Huang *et al.*⁽¹⁰⁾利用籼稈雜交的雙單倍體(double haploid, DH)後代為材料，亦找到位於第 12 條染色體來自 IR64 的抗性基因 *Bph-1*，此可能與野生稻 *O. australiensis* 中的 *Bph-10(t)* 為同一對偶基因。Alam 及 Cohen⁽⁷⁾ 同樣使用籼稈雜交的 DH 後代進行抗蟲性的數量性狀基因座(Quantitative trait loci, QTL)分析，結果發現在 6 條染色體上，共有 7 個 QTL 與抗性相關，而每個 QTL 所能解釋的外表型變異介於 5.1~16.6%之間。1999 年 Jeon *et al.*⁽¹⁷⁾利用 RAPD 標誌找到與抗性基因相連結的 OPD-7 之 700bp，故進一步將此片段轉換為 SSR 標誌進行定位，確認此 700 bp 標誌與 *Bph-1* 基因共同位於第 12 條染色體上，與 *Bph-1* 緊密的連鎖。Huang *et al.*⁽¹¹⁾利用種間雜交 F₂ 後代進行測定，結果顯示在第 3、4 條染色體上各帶有抗蟲基因，並確認此兩個基因與先前研究的 10 個抗褐飛蟲基因中的 9 個不同。2002 年 Xu *et al.*⁽¹⁹⁾ 以籼 雜交的重組合自交系為材料，結果顯示 7 個 QTLs 與抗蟲性相關，而此 7 個 QTLs 分別位於第 1、3、5、8 及 11 條染色體上，可解釋的遺傳變異量為 3.3-16.9%。

因此本試驗之目的，即希望在育種程序上能有效的結合分子生物技術，尋求與抗蟲基因連結的分子標誌，以間接或直接定位抗性基因，可在早期世代來輔助抗蟲育種選拔，縮短育種年限，並節省抗蟲檢定工作，提高育種效率。

材料與方法

供試材料

台農 69 號(TNG69)與越光(KHK)雜交後代之 160 個 F_{2:4} 品系，其中母本台農 69 號為 稻品種，具有野生稻 *O. rufipogon* 基因，可抗褐飛蟲 1、2、3 種生物小種及白背飛蟲。父本為越光，係自日本引進之 稻良質米品種。試驗年期：2000 年第 2 期作及 2001、2002 年第 1 期作共三個期作。

檢定圃設置於農業試驗所嘉義分所，由植物保護系協助進行檢定。將供檢品種(系)種子播種於檢定盤，每盤播種 72 品種(系)，並含抗蟲品種 Mudgo、H105 及感蟲對照品種台中在來 1 號，待秧苗發育至 3 葉期，移置於溫室檢定槽，然後將經人工大量繁殖之飛蟲若蟲(2-3 齡)釋放於秧苗，釋放密度約為每秧苗 2-3 隻蟲，待感蟲對照品種被害枯萎時，開始按其被害情況分級記錄，等級的劃分以國際稻米研究所(International Rice Research Institute, IRRI)訂定的標準為依據。而以三年度綜合資料進行卡方(χ^2)分析的遺傳測定，當三年資料有差異時記錄較嚴重等級，如第 102 品系三年的蟲害反應分別為 5, 7, 5 時，登記為 7 等級。褐飛蟲抗性調查標準如下列：

0 級：極抗(HR)，無被害徵狀

1 級：抗(R)，被害徵狀極為輕微

3 級：抗(R)，大部份植株第 1 及第 2 葉片部份黃化

5 級：中抗(MR)，植株明顯黃化及矮化或約 10~25%之植株枯萎

7 級：感(S)，1/2 以上植株枯萎或死亡，其餘植株嚴重矮化或即將死亡

9 級：感(S)，全部植株枯死

試驗方法

DNA 萃取及分子標誌篩選參照黃等(2001)⁽⁵⁾發表之方法。抗褐飛蟲相關基因之定位使用 SAS-GLM 程式篩選與抗蟲性狀相關之分子標誌(SAS Institute 1990)⁽¹⁸⁾，再利用 Mapmaker-QTL 程式進行抗蟲相關基因之定位及遺傳分析⁽¹⁴⁾。

結 果

抗蟲性之遺傳變異分析

經由綜合三年抗蟲檢定資料變方分析的結果顯示(表 1)，160 個 $F_{2.4}$ 衍生品系之間抗蟲性呈現極顯著的差異($P=0.0001$)，年度之間則呈現顯著的差異($P=0.0241$)，另在品系與年度的交感也呈極顯著差異($P=0.0001$)。而在綜合觀察三個年度 160 個 F_2 衍生品系抗蟲反應(圖 1)，其中 8 個衍生品系之幼苗有極輕微的被害徵狀被劃分為第一級(抗)，21 個衍生品系以及具抗性的親本台農 69 號，其葉片呈現部分黃化劃為第三級(抗)，13 個衍生品系植株明顯黃化或少部分植株枯萎則評為第五級(中抗)(因三年資料有差異的品系多數為介於五與七等級，一般劃為第七級，造成綜合資料中第五等級的品系數較少)，而感蟲受到危害而使植株嚴重矮化或即將死亡的第七級有 40 個衍生品系，另有多達 78 個衍生品系以及感病親本越光，其植株全部枯死為最嚴重第九級。若以第一、三、五等級列為抗蟲，第七、九等級列為感蟲，即將所有 160 個 F_2 衍生品系資料分為抗、感兩等級來進行卡方分析的遺傳測定，由於觀測值只區分抗、感兩項所以自由度為 1，需作卡方分析的連續性矯正(χ_c^2)，其測定結果符合 3:1 的感蟲:抗蟲分離比($\chi_c^2=0.133$, $P=0.70-0.80$)，顯示台農 69 號中來自野生種的抗性基因可能為一對隱性主效基因(major gene)所控制(表 2)。160 個衍生品系三個年度個別反應如圖 1，此 F_2 衍生品系在三年度對褐飛蟲反應頻度分佈均呈現非常態分佈，第一、二年偏向於感病的父本越光，第三年則呈現雙峰分佈；另在第一年有 11 個、第二年有 13 個、第三年有 37 個品系的抗蟲性高於台農 69 號，呈現越親分離(transgressive segregation)。而藉由綜合變方分析所估算出的廣義遺傳率(h^2_B)為 73.9% (表 1)，亦支持可能為主效基因控制抗蟲性之推論。

分子標誌遺傳連鎖圖譜之建立

本試驗由篩選得到 135 個有效性的 DNA 分子標誌，其中包括了 78 個 RAPD、12 個 SSLP、4 個 ISSLP、2 個 STS 及 3 個 SSLP+STS 分子標誌，構建了一個包含 13(A~M)個連鎖群的梗型稻分子圖譜(資料未顯示)，另有 36 個分子標誌無法進行連結，而整個分子圖譜長度為 1400cM，每兩個相鄰標誌的區間平均為 14.7cM，符合理想的分子圖譜間距(20cM 以內)；然已知栽培種水稻具有 12 對染色體，可知仍有一對染色體之分子標誌連鎖圖仍無法連結。所以若能在後繼續篩選有效分子標誌，填補區間較大之片段，當能更提高此一 梗型稻分子圖譜的利用效率。

表 1. 水稻台農 69 號 × 越光之 160 F_2 衍生品系在不同年度之褐飛蟲抗性綜合變方分析表

Table 1. The combined ANOVA of resistance to brown planthopper for 160 F_2 -derived lines of rice TNG69×KHK population

Source of variation	df	MS	EMS	F	Pr>F
Years (Y)	2	288.654		14.44	0.0289
Replication (R)/Y	3	19.988			
Lines (L)	159	25.288	$M1 = \sigma_c^2 + R \sigma_{ge}^2 + RY \sigma_g^2$	6.98	0.0001
L×Y	318	6.593	$M2 = \sigma_c^2 + R \sigma_{ge}^2$	1.82	0.0001
Error	477	3.621	$M3 = \sigma_e^2$		

$$\sigma_c^2 = M3 = 3.62; \sigma_{ge}^2 = M2 - M3 \div R = 1.49; \sigma_g^2 = M1 - M2 \div R \cdot Y = 3.12; \sigma_{ph}^2 = M1 \div R \cdot Y = 4.21; h^2_B = \sigma_g^2 \div \sigma_{ph}^2 = 0.739$$

表 2. 水稻台農 69 號 × 越光之 F_2 衍生品系之感蟲及抗蟲個數比值的卡方適合度分析測定

Table 2. The chi-square test for goodness of fit to the ratios of susceptible to resistant lines in 160 $F_{2.4}$ lines from rice TNG69 × KHK

Susceptible lines	Observed values		Expected ratio	χ_c^2 (value)	P value
	Resistant lines	Total			
118	42	160	3:1	0.13	0.80-0.70

抗褐飛蝨基因的分子圖譜定位

藉由 Mapmarker-QTL 程式⁽¹⁴⁾分析後結果列於表 3，無論是分別第一、二、三年度或綜合三年度資料，都顯示在此雜交 $F_{2:4}$ 衍生品系中，對褐飛蝨的抗性係由 1~2 個左右的主效基因控制，其在分子連鎖圖上的位置如圖 2 所示，主要分佈於連鎖群 C、E、G 及 H；表 3 中，每個標誌區間所能解釋的抗褐飛蝨遺傳變異量 (R^2)，除了第三年在 OPK16~R736 及綜合年度的 R309-2~R309-3 兩標誌區間為 36.8% 及 37.6% 外，其餘 10 個標誌區間所都能解釋 46.5% 以上的遺傳變異量，像在第一年有三個標誌區間，R217-1~R672 及 OPD17~R170 二個位於 C 連鎖群上，個別解釋的遺傳變異量分別為 68.9 及 74.7%，其為來自感病的父本越光，所以 F_2 個體在具有此 DNA 條帶時，即基因型是 A_2A_2 時感蟲性分別為 7.61 及 8.47，而無此條帶的 F_2 個體即基因型是 A_1A_1 時分別為 8.05 及 7.28，兩種同質結合體的基因型均為感蟲性較嚴重，只有在異質結合體時 (A_1A_2) 有較高的抗蟲性， A_1A_2 分別為 3.50 及 3.58，呈現超顯性遺傳現象。另位於 G 連鎖群上的 OPK16~R736 區間，在第一、二、三年及綜合年度均出現，為來自具抗性的母本台農 69 號，具有此條帶的 $F_{2:4}$ 品系的抗蟲性均較高 (基因型為 A_1A_1)，而不具此條帶的品系 (基因型為 A_2A_2) 抗蟲性較低。像第一年 A_1A_1 為 3.29， A_2A_2 為 8.24，第二年 A_1A_1 為 3.02， A_2A_2 為 8.12，第三年 A_1A_1 為 2.21， A_2A_2 為 7.96，在綜合年度資料 A_1A_1 為 3.11， A_2A_2 為 5.79，而異質結合體則呈現較高的感蟲性 (三年的 A_1A_2 分別為 6.68、7.71 及 8.10)，此亦證明抗性基因應為隱性；另其 LOD 值在三年資料及綜合分析亦分別高達 7.19、11.32、9.15 及 14.64，此區間為抗蟲表現較為穩定之 DNA 片段；在以純系為目標之水稻育種，此一基因對抗蟲性有重要影響。第二年參試族群所測得的五個標誌區間中，位於連鎖群 C 及 G 上的 R217-1~R672、OPD17~R170 及 OPK16~R736 三個標誌區間均與第一年測定相同，另外二個分別位於連鎖群 E 及 H 上的 R217-2~R134 及 R309-3~R769-1 標誌區間，雖然有 66.5 及 47.1% 的外表型解釋變異量，但只在這一年出現，故此兩個來自越光的 DNA 片段對褐飛蝨抗性反應

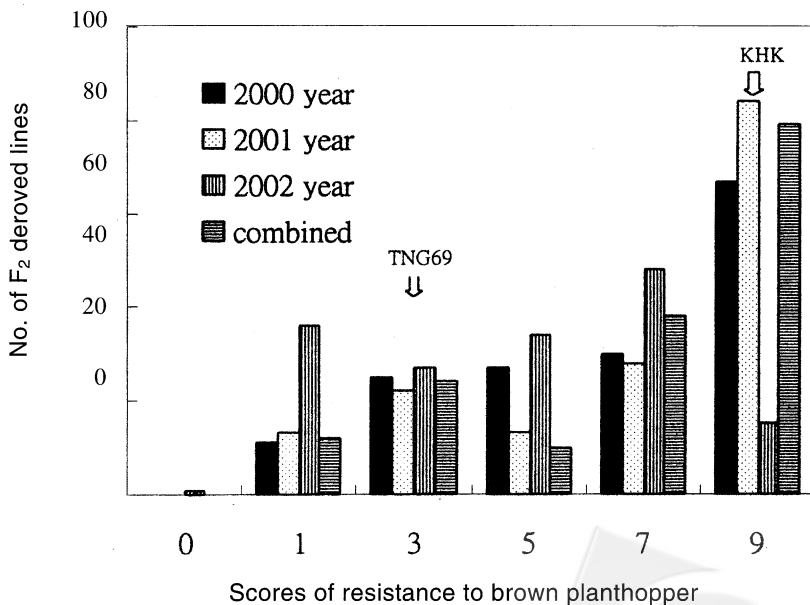


圖 1. 水稻台農 69 號 × 越光之 160 個 $F_{2:4}$ 衍生品系的抗蟲等級分佈圖。

Fig. 1. Frequency distribution of $F_{2:4}$ -derived lines of rice TNG69 × KHK resistant to brown planthopper in different years.

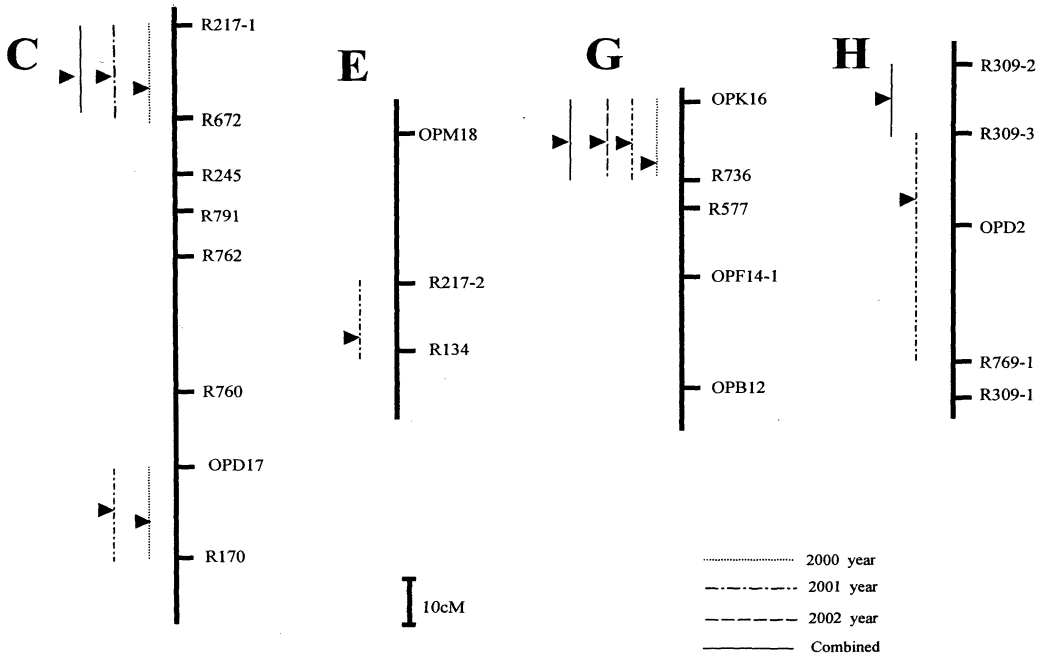


圖 2. 控制褐飛蝨抗性基因在分子標誌連鎖群之位置。

Fig.2. Locations of QTL controlling brown planthopper resistance for the TNG69 x KHK population. The straight lines and arrows beside the linkage groups show the confidence intervals and locations of the detected QTL, respectively.

表 3. 與褐飛蝨抗性呈顯著連鎖之標誌區間

Table 3. Intervals significantly associated with variations of brown planthopper resistance

Interval	Linkage group	R ² (%)	LOD value	Mean of QTL genotypic classes			Parental contrib.
				A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₂ A ₂	
1st year							
R217-1~R672	C	68.9	4.88	8.05	3.50	7.61	KHK
OPD17~R170	C	74.7	6.92	7.28	3.58	8.47	KHK
OPK16~R736	G	46.5	7.19	3.29	6.68	8.24	TNG69
2nd year							
R217-1~R672	C	79.0	11.96	8.00	2.74	8.06	KHK
OPD17~R170	C	80.2	9.33	7.79	2.93	7.34	KHK
R217-2~R134	E	66.5	7.14	5.67	8.07	2.81	KHK
OPK16~R736	G	70.6	11.32	3.02	7.71	8.12	TNG69
R309-3~R769-1	H	47.1	3.08	6.37	7.78	2.66	KHK
3rd year							
OPK16~R736	G	36.8	9.15	2.21	6.60	7.96	TNG69
Combined							
R217-1~R672	C	79.9	11.03	8.36	3.23	8.23	KHK
OPK16~R736	G	75.8	14.64	3.11	8.10	5.79	TNG69
R309-2~R309-3	H	37.6	2.20	7.10	8.06	3.23	KHK

的表現是容易受到環境因素所影響，具有此 DNA 片段的 F_2 植株體較易受到蟲害的危害(A_1A_1 蟲害反應等級分別為 5.67 及 6.37)，而不具此 DNA 片段的 F_2 植株較能抗蟲(A_2A_2 蟲害反應等級分別為 2.81 及 2.66)。而在綜合三年資料的分析中有三個與抗蟲性相關的標誌區間存在，除前述的 OPK16-R736 在 2000、2001 及 2002 共三年的測定均出現過外，其中 OPD17~R170 及 R217-1~R672 區間的片段亦在第一、第二兩年中均出現，故此在綜合年度測得的三個標誌區間亦為褐飛蝨抗性表現穩定之 DNA 片段。

而為進一步確認與抗蟲性相連結的分子標誌，我們利用 SAS-GLM 的單一因子變方分析資料⁽¹⁸⁾來比對前述資料，在 135 個有效性標誌中，找到 16 個與抗蟲性呈極顯著相關的標誌及 1 個(R577)顯著相關的分子標誌(表 4)，其中 OPK16、R736、R577、OPF14-2 及 OPB12 五個分子標誌分別位於相同連鎖群上，在第一、二、三及綜合年度都表現出相關性，利用 Mapmaker-QTL 測定時，LOD 值的高峰表現在與 OPK16 相距 4~6cM 處(圖 2)；可知此位置存在一 QTL，且對抗性之影響甚大。另外 C 連鎖群的 R170 標誌，雖在區間測定時，在第一、二及綜合年度都表現，但在此只表現在第一年，且同一連鎖群上的其它標誌都沒有相關性；另外分別位於 E 群上的 R775、R217-2 及 OPD7，I 群上 Rm253-2，J 群上的 R596 及 M 群上的 R826，都只有在一或二年組資料中出現，且在 Mapmaker-QTL 分析時均沒有出現，故可知這些分子標誌離抗蟲基因座較遠，或與其連鎖之基因易受環境影響。而 OPL9 標誌雖然尚無法在連鎖群上定位，但其在三年的四組分析資料中都呈現極顯著的相關，故仍可利用在抗蟲性的標誌輔助選拔上。

討 論

由多年度資料之分子標誌與褐飛蝨抗性相關分析結果，顯示此 F_2 衍生品系中與抗蟲性相關的基因是位於 G 連鎖群上，與 OPK16 分子標誌緊密的連鎖，可能為一具主效作用的 QTL，而同樣位於 G 連鎖群的 R736、R577、OPF14-1 及 OPB12 的分子標誌，亦可測得此 QTL 與其連鎖，在綜合年度的 SAS-GLM 分析下均與抗蟲性呈極顯著的相關(表 2、3 及圖 2)，故此五個分子標誌，具有利用分子標誌輔助選拔抗蟲品種之潛力。另在圖 2 顯示連鎖群 C 之 R217-1~R672 及 R170~R205 兩標誌區間，也

表 4. 在不同年度測得與褐飛蝨抗性連鎖之 DNA 標誌

Table 4. DNA markers associated with QTL controlling resistant to brown planthopper in different years

Marker	1 st year Pr<p	2 nd year Pr<p	3 rd year Pr<p	Combined Pr<p	Linkage Group
R170	0.0041	-----	-----	-----	C
R775	-----	-----	0.0041	-----	E
R217-2	-----	-----	0.0001	-----	E
OPD7	-----	-----	0.0020	-----	E
OPK16	0.0005	0.0062	0.0001	0.0076	G
R736	0.0009	0.0001	0.0001	0.0008	G
R577	0.0106	0.0188	0.0077	0.0080	G
OPF14-2	0.0003	0.0003	0.0001	0.0001	G
OPB12	0.0014	0.0028	0.0001	0.0023	G
Rm253-2	-----	0.0030	-----	0.0318	I
R596	-----	-----	0.0001	-----	J
R826	-----	-----	0.0064	0.0030	M
OPL9	0.0083	0.0011	0.0037	0.0004	Unlinked
R51	0.0088	-----	-----	-----	Unlinked
R9-7	-----	0.0024	-----	-----	Unlinked
R541	-----	-----	0.0052	-----	Unlinked
OPF17	-----	-----	0.0001	-----	Unlinked

在第 1、2 年及綜合年度分析中穩定的出現，此 DNA 片段是來自感蟲的親本越光(表 3)，但此標誌在表 4 的 SAS-GLM 分析中只有 R170 在第一年的測定出現，另 C 群上在圖 2 呈現相關的 R217 至 R672 在表 4 中均無顯著的連鎖關係，所以 C 群上的 R217-1~R672 及 OPD17~R170 可能為虛無 QTL(false QTL)，C 群上的四個標誌並不適合於輔助選拔，故就本試驗結果而言，G 群上的 OPK16、R736、R577、OPF14-1 及 OPB12 及未知位置但呈極顯著連結的 OPL9，共六個 RAPD 分子標誌可利用於水稻抗褐飛蝨之育種輔助選拔上。或若為求得較穩定或較有效率之分子標誌分析，可將此些有效的分子標誌定序轉化為 SCAR (Sequence characterized amplified region) 之共顯性的分子標誌。

全世界對於水稻抗褐飛蝨之遺傳研究始於 1971 年，至 1994 年時已有 5 個顯性 (*Bph 1*、*Bph 3*、*Bph 6*、*Bph 9* 及 *Bph10*) 與 5 個隱性 (*bph 2*、*bph 4*、*bph 5*、*bph 7* 及 *bph 8*)，共 10 個抗性基因被命名^(8,10,11,12,15)，其中定位了八個基因 (*bph 8* 及 *bph 9* 未知染色體位置)，但至今仍是只有這 10 個被命名的基因(Oryzabase Network, 2002 年 10 月),可見在褐飛蝨的抗蟲育種進行的不易及褐飛蝨生物小種(biotype)變化的複雜性，台農 69 號的抗性基因係來自野生稻 *O. rufipogon*，可抗褐飛蝨 1、2、3 生物小種⁽⁴⁾。在農業試驗所早期的研究指出，所育成的抗蟲品系中，來自 *O. rufipogon* 的抗蟲性為一對顯性，並推測可能為 *Bph 3* 基因⁽³⁾，但在本試驗的遺傳分析結果，顯示抗性是受到隱性主效基因所控制，由此可瞭解 *O. rufipogon*，其抗蟲機制可能較為複雜，且顯隱性遺傳控制均有。另外台農 69 號的抗蟲性並非單純的來自 *O. rufipogon* 而已，有可能其它的親緣亦提供了抗蟲相關的染色體片段。

在目前已發現的 5 個隱性抗蟲基因 *bph 2*、*bph 4*、*bph 5*、*bph 7*、*bph 8* 中，*bph 5* 和 *bph 7* 已被証實是不能抗褐飛蝨 1、2、3 三種生物小種，只能抗生物小種 4⁽¹³⁾；而 *bph 2* 基因,其抗性為主效基因與數個微效基因所共同控制，能抗生物小種 1、2 型，但不抗第 3 型的生物小種⁽⁸⁾；由此可知 *bph 2*、*bph 5* 及 *bph 7* 與台農 69 號中能抗三種生物小種的抗性基因不同，所以本試驗測得的基因是否與同樣能抗 1、2、3 型生物小種的 *bph 4*(位於第 10 條染色體)，或 *bph 8* 其中的一個，抑或是另一個新基因，有待進一步探討。另在最新的研究指出⁽¹⁹⁾，由一籼粳雜交族群定位出的褐飛蝨抗性，因其為數量性狀，且抗性親本為籼稻品種，故與本試驗中的隱性主效基因抗性應該是不同。而尤(1996)⁽¹⁾利用台農 67 號的四個誘變品系，進行水稻抗褐飛蝨分子標誌之篩選與選殖，結果顯示原不具抗性的台農 67 號經疊氮化鈉(NaN₃)誘變後，其產生的抗蟲性為單一顯性基因所控制，可知亦與本試驗台農 69 號之抗性不同，且其與本試驗有相同使用的 480 支 RAPD 引子，但篩選到的 20 支多型性引子中在兩試驗完全不同，顯見兩套材料的抗性是不同的。

在育種選拔過程中，利用與抗褐飛蝨基因緊密連結的分子標誌，輔助選育具抗蟲性且產量穩定的水稻品種，可避免繁鎖之抗病性檢定，及同時篩檢多個抗病基因之效果，為分子標誌在育種利用上的首要功能;此外亦可進一步在染色體上選殖抗蟲基因的 DNA 片段，供基因轉殖之應用。然而若能應用分子標誌對水稻種原進行抗蟲性基因型的評估及鑑定，並把抗性與其他優良農藝性狀結合，對水稻育種將有長期之貢獻。

引用文獻

1. 尤淑娟。1996。水稻抗褐飛蝨分子標誌之篩選與選殖。國立中興大學農藝學系碩士論文。
2. 台灣稻作品種圖誌。1987。梗稻 P.221-222。行政院農業委員會、台灣省政府農林廳及亞太糧肥技術中心合編。
3. 台灣稻作發展史。1999。稻之遺傳及細胞遺傳研究。P.65-85。台灣南投。台灣省政府農林廳發行。
4. 黃真生、卜瑞雄、陳正昌、鄭清煥。1985。水稻台農 69 號之育成。中華農業研究 34:125-134。
5. 黃惠娟、林順福、謝兆樞。2001。利用 DNA 分子標識確認落花生種間雜交種 (4X×2X) 基因組組成與外表型變異間之矛盾性。中華農業研究 50:12-24。

- 6.鄭清煥。1975。作物抗蟲現象及其在害蟲防除上之利用價值。植物保護學會會刊 17:81-98。
- 7.Alam, S.N. and M.B. Cohen. 1998. Detection and analysis of QTLs for resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, in a doubled-haploid rice population. *Theor. Appl. Genet.* 97:1370-1379.
- 8.Athwal, D.S., M.D. Pathak, E.H. Bacalangco, and C.D. Pura. 1971.Genetics of resistance to brown planthopper and green leafhoppers in *Oryza sativa* L. *Crop Sci.*11:747-750.
- 9.Brar, D. S. and G. S. Khush. 1997. Alien introgression in rice. *Plant Mol. Bio.* 35:35-47.
- 10.Huang, N., A. Parco, T. Mew, G. Magpantay, S. McCouch, E. Guiderdoni, J. Xu, P. Subudhi, E.R. Angeles, and G.S. Khush. 1997. RFLP mapping of isozymes, RAPD and QTLs for grain shape, brown planthopper resistance in a double-haploid population. *Mol. Breed.* 3:105-113.
- 11.Huang,Z., G.He, L.Shu, X.Li, and Q.Zhang. 2001. Identification and mapping of two brown planthopper resistance genes in rice. *Theor. Appl. Genet.* 102:929-934.
- 12.Khush, G. S.1989. Multiple disease and insect resistance for increased yield stability in rice. pp 79-92. in: *Progress in Irrigated Rice Research*. International Rice Research Institute, Manila, The Philippines,
- 13.Ikeda, R. and D.A. Vaughan. 1991. The distribution of resistance genes to the brown planthopper in rice germplasm. *Rice Genetics Newsletter* 8: 125-128.
- 14.Lander, E.S. and D. Botstein, 1989. Mapping Mendelian factor underlying quantitative traits using RFLP maps. *Genetics* 121:185-199.
- 15.Ishii, T.D., S. Brar, D.S. Multani, and G.S. Khush. 1994. Molecular tagging of genes for brown planthopper resistance and earliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice, *O. sativa*. *Genome* 37:217-221.
- 16.Jena, K.K., G.S. Khush, and G. Kochert.1992.RFLP analysis of rice (*Oryzae sativa* L.) introgression lines. *Theor. Appl. Genet.* 84:608-616.
- 17.Jeon, Y.H., S.N. Ahn, H.C. Choi, T.R. Hahn, and H.P. Moon. 1999. Identification of a RAPD marker linked to a brown planthopper resistance gene in rice. *Euphytica.* 107:23-28.
- 18.SAS Institute.1990. SAS Procedures Guide Release,6.04 version. SAS Institute, Cary N.C.
- 19.Xu, X.F., H.W. Mei. L.J. Luo, X.N. Cheng, and Z.K. Li. 2002. RFLP-facilitated investigation of the quantitative resistance of rice to brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). *Theor. Appl. Genet.* 104:248-253.
- 20.Yadav, R., B. Courtois, N. Huang, and G. McLaren. 1997. Mapping genes controlling root morphology and root distribution in a double haploid population of rice. *Theor. Appl. Genet.* 94:619-632.



Screening Molecular Markers Linked with Genes Resistant to Rice Brown Planthopper¹

Huey-Jiuan Huang², Chang-Pei Li², Chyr-Guan Chern^{2,5},
Ching-Huan Cheng³, Jaw-Shu Hsieh⁴ and Shun-Fu Lin⁴

Summary

To detect genes associated with resistance to rice brown planthopper (BPH), linkage map of *japonica* rice constructed by 160 F_{2:4} lines of TNG 69 x Koshihikari population and 135 molecular markers were used. According to the combined analysis of variance across years, the estimated broad sense heritability (h^2_B) of resistance to BPH was 73.9%. From the phenotypic data investigated in three years, five major quantitative trait loci (QTL) related to resistance to BPH were detected. Two detected QTL were located on linkage group C, and the others were distributed on linkage groups E, G, and H respectively. The QTL located on linkage group G contributing 36.8%~75.8% phenotypic variation was detected with 7.19~14.64 LOD values and was closely linked with OPK 16 marker within 4-6 cM. This QTL contributed a recessive allele resistant to BPH from male parent TNG69. The QTL on linkage group H was not detected from single point (General linear model, GLM) test implying a likely inaccurate detection. While the detected QTL on linkage groups C and E had overdominance inheritance for the resistance to BPH. A chromosome region linked to marker OPL9 was detected significantly related resistance to BPH in three years. As a result, the OPK16 and OPL9 markers are useful tools to be applied in marker-assisted-selection (MAS) for varieties resistant to BPH.

Key words : Rice (*Oryzae sativa*), Brown planthopper, Molecular marker.

-
1. Contribution No.2129 from Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted : October 15, 2002.
 2. Assistant Agronomist, Assistant Agronomist and Associated Agronomist, Respectively. Department of Agronomy, TARI., Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Senior Entomologist and Chairman, ChiaYi Agricultural Experiment Station, TARI, ChiaYi, Taiwan, ROC.
 4. Professor and Assistant Professor, Department of Agronomy, National Taiwan University. Taipei, Taiwan, ROC.
 5. Corresponding author, e-mail: CGChern@wufeng.tari.gov.tw ; Fax: (04)23302806.