

野生稻 *Oryza officinalis* 基因導入系統褐飛蝨抗性的研究¹

李長沛² 黃守宏³ 陳哲仁⁴ 曾東海² 賴明信² 古新梅^{5,6}

摘 要

李長沛、黃守宏、陳哲仁、曾東海、賴明信、古新梅。2011。野生稻 *Oryza officinalis* 基因導入系統褐飛蝨抗性的研究。台灣農業研究 60:263–278。

褐飛蝨為水稻的主要害蟲，除栽培稻外，野生稻為另一可提供培育抗褐飛蝨的重要基因庫。本試驗由栽培品種台農 67 號為輪迴親本，野生稻 *Oryza officinalis* 為貢獻親，所建立的 134 個導入系統 (BC₂F₁₉) 中獲得 96 個抗褐飛蝨系統。利用 172 對 SSR 分析 134 個導入系統結果顯示，抗蟲系統 (RS ≤ 5) 與感蟲系統 (RS > 5) 的 *O. officinalis* 或非親本基因型比例，平均分別為 20.4%、13.0%。探討各分子標誌與褐飛蝨抗性之關聯性顯示，除第 1 對、第 8 對染色體外，其餘 10 對染色體上均發現與褐飛蝨抗性有關的標誌；單一系統最多具有 9 對染色體上含有與褐飛蝨抗性有關的標誌，但有 25 個抗性系統不帶有試驗中所獲得的任一個抗性連鎖標誌。另外，也發現 *O. officinalis* 及 4 個導入系統帶有與 *Bph2* 共連鎖 KPM2 的抗性標誌。所獲得的這些抗性系統及其遺傳背景資料，將有利於由 *O. officinalis* 而來的抗褐飛蝨特性在遺傳研究及育種上的利用。

關鍵詞：野生稻 *Oryza officinalis*、導入系統、褐飛蝨抗性、簡單重複序列 (SSR)。

前 言

褐飛蝨為水稻主要害蟲之一，台灣褐飛蝨的族群除可由本地越冬蟲繁殖者外，大部分為由海外遷入者所繁殖之後代。海外主要遷出地區以大陸華南為主，其次為越南北部及菲律賓呂宋島等地 (Cheng & Lu 1990; Huang *et al.* 2010)。根據褐飛蝨對水稻判別品種之危害的反應，可分為不同生物小種 (biotype) (Chelliah &

Bharathi 1993)，第一型生物小種 (biotype 1) 只能危害不具抗性基因的品種；第二型生物小種 (biotype 2) 是在連續廣泛種植帶有 *Bph1* 抗性基因的水稻品種後出現 (Khush 1977)；第三型生物小種 (biotype 3) 則是在連續種植帶有抗褐飛蝨基因 *bph2* 品種地區出現 (Pathak *et al.* 1969; Pathak & Heinrichs 1982)；顯示褐飛蝨在抗性寄主植物的壓力下，可逐漸篩選出適應於該抗蟲品種上之有害生物小種的族群，而使水

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2593 號。接受日期：100 年 10 月 21 日。
2. 本所作物組助理研究員、副研究員、副研究員。台灣 台中市。
3. 本所嘉義試驗分所植物保護系助理研究員。台灣 嘉義市。
4. 本所生物技術組前聘用助理研究員。台灣 台中市。
5. 國立中興大學農藝系副教授。台灣 台中市。
6. 通訊作者，電子郵件：hmku@email.nchu.edu.tw；傳真機：(04)22877054。

稻原有抗蟲性因而崩潰 (Cheng & Chang 1979; Chang 1980; Jain et al. 2007)。國內已育成的抗褐飛蝨品種，由其親緣推估大多為帶有 *Bph1* 或 *bph2* 抗性基因之親緣 (Huang 1987)。這些抗褐飛蝨品種自 1990 年代開始因遭受由海外遷入之有害生物小種 (virulent biotypes) 個體之持續增加，除台農 69 號 (其抗蟲基因可能為 *Bph3*，來自野生稻 *O. rufipogon*) 仍具有抗性外 (Huang et al. 1982)，其他抗蟲品種對目前遷入之褐飛蝨族群 (含有高比率之第二型及第三型生物小種) 已無抵抗力 (黃守宏未發表報告)，顯示由單主效抗蟲基因所支配之抗蟲性易於被褐飛蝨所適應，而失去抗蟲作用，因此尋求更多元的抗蟲基因為當前之亟務。

水稻抵抗褐飛蝨的研究開始於 1967 年 (Pathak et al. 1969)，至目前已發現 20 個以上與褐飛蝨抗性有關的主效基因 (Brar et al. 2009)，這些主效基因絕大部份來自印度與錫蘭等南亞之傳統籼稻型地方品種。此外，各類野生稻種原提供抗性來源亦日益受到重視，其中包括具有與栽培稻相同基因組 (AA) 的祖先種 *O. rufipogon* (Huang et al. 1982; Li et al. 2001) 及一年生的 *O. nivara* (Wu et al. 2009)；或有別於栽培稻基因組的 *O. australiensis* (EE) (Ishii et al. 1994; Jena et al. 2006)、*O. eichingeri* (CC) (Liu et al. 2001)、*O. officinalis* (CC) (Hirabayashi et al. 1997; Huang et al. 2001; Renganayaki et al. 2002; Yang et al. 2004)；甚至四倍體之野生稻種 *O. latifolia* (CCDD) (Yang et al. 2002) 及 *O. minuta* (BBCC) (Rahman et al. 2009)。其中值得注意的是從 *O. officinalis* 的導入系統中，已檢測出 5 個與褐飛蝨抗性有關的基因，分別散布在第 3、4 及 12 對染色體上，對於目前已能區分之 4 種褐飛蝨的生物小種皆具有不同程度的抗性；從該野生稻種也獲得抗白背飛蝨 (Tan et al. 2004a) 及抗白葉枯病 (Tan et al. 2004b) 的基因。許多研究均顯示野

生稻中具有豐富的抗病、蟲基因，且同一野生稻系統可能帶有多個可供應用於育種上的有利基因。

多年生野生稻種 *O. officinalis* 分布於南亞、東南亞至澳洲北方，與栽培稻雜交因胚乳種子發育後期容易退化，導致雜交成功率較低，藉由幼胚培養可以提高成活率，而其雜種 F_1 會有高度不稔及穎花退化的現象，透過連續回交栽培稻可以逐漸恢復稔性並獲得可以分析的族群。越來越多的證據指出在進行種間雜交育種的同時，配合分子標誌的應用，導入系統成為遺傳分析、偵測新基因及數量基因座 (QTL) 基礎圖譜之建構的良好材料 (McCouch et al. 2007)。農業試驗所進行稻屬種間雜交擴大栽培稻遺傳變異之研究已有多年，利用由菲律賓國際稻米研究所引進原產於泰國之 *O. officinalis* (IRGC Acc. 100896) 與梗稻品種台農 67 號 (TNG67) 雜交及回交，經多年外表型的選拔與褐飛蝨抗性檢定，育成 134 個 BC_2F_{19} 導入系統 (Introgression lines, ILs)。本試驗即針對這些導入系統進一步確認其對褐飛蝨的抗蟲性，並進行簡單重複序列 (Simple sequence repeat, SSR) 分析以了解其遺傳組成，利用已知的褐飛蝨抗性連鎖標誌進行分析，以及討論由 *O. officinalis* 的導入系統可能帶有的褐飛蝨抗性基因型，供做未來進行褐飛蝨抗性遺傳及育種之應用的參考。

材料與方法

導入系統的建立

試驗中參試的系統，係農業試驗所以台農 67 號 (Tainung 67, TNG 67) 為輪迴親本，原產於泰國的野生稻 *O. officinalis* 系統 (IRGC Acc. 100896) 為貢獻親本，在農業試驗所 (台中) 進行雜交及回交，並經幼胚拯救培養，從後代中選取株型及稔實率佳之植株繼續繁殖，於各世代淘汰株高太高、易倒伏、芒太長、落

粒性強及褐飛蝨抗性表現不佳的系統，並於優良系統中增選 3-5 株於下一世代繁殖，至 BC₂F₁₉ 獲得 134 個導入系統 (Introgression lines, ILs)，供進一步褐飛蝨檢定及 DNA 分析之用。

褐飛蝨檢定

褐飛蝨檢定於農業試驗所嘉義分所進行，將供檢品種 (系) 種子播種於檢定盤，每盤可栽植 72 品種 (系)，各含輪迴親本 TNG67、抗蟲對照品種 Mudgo、H105 及感蟲對照品種台中在來 1 號 (TN1)。待秧苗發育至 3 葉期，移置於溫室內檢定槽，然後再將人工大量繁殖之褐飛蝨若蟲 (2-3 齡) 釋放於秧苗，讓其選擇危害，接蟲密度約為每秧 2-3 隻。抗、感對照品種均重複 4 次，導入系統則每品系重複 2 次。待感蟲對照品種 TN1 被害枯萎時，開始按其被害情況分為 0-9 級級記錄 (IRRI 2002)。

總量 DNA 萃取

總量 DNA 萃取，使用 Promega 公司生產的 DNA 純化萃取組 (purification kit)。將 0.1 g 完全展開的水稻新鮮葉片剪碎，置入 2 mL 的離心管中，並加入 3 顆直徑 3 mm 鋼珠，以均質機震盪 1 分鐘，將葉片研磨成粉末狀。隨後於 2 mL 離心管中，各加入 600 μ L 的 nuclei lysis 溶液，震盪 30 秒，置於 65°C 水浴槽反應 1 小時。之後加入 3 μ L 的核醣核酸水解酵素 (RNase) 溶液，在 37°C 的水浴槽中反應 15 分鐘，再置於室溫 5 分鐘。加入 200 μ L 的蛋白質沉澱 (protein precipitation) 試劑後震盪 20 秒，之後以 13,000 rpm 離心 3 分鐘。離心後，吸取 600 μ L 上清液移至新的 1.5 mL 離心管，加入 0.8 倍異丙醇 (isopropanol)，輕微的來回搖晃使 DNA 沉澱。放入 -20°C 冰箱沉降 3 小時，再以 13,000 rpm 離心 1 分鐘。倒去上清液，加入 400 μ L 的 70% 冰酒精潤洗，隨後以 13,000 rpm 離心 1 分鐘。最後倒去上清液，置於 65°C 烘箱烘乾 5 分鐘，再加入 50 mL 的蒸餾水回溶

DNA 後，估算 DNA 濃度及品質後，保存於 -20°C 備用。

已知褐飛蝨抗性基因及連鎖標誌分析

源自於籼型地方品種 ASD7 抗性基因 *bph2*，經導入梗稻品種育成梗稻背景下的近同源系後，其抗性呈現顯性 (*Bph2*) 的表現 (Murata *et al.* 1997)。Murai *et al.* (2001) 以 AFLP (Amplified fragment length polymorphism) 定位 *bph2* 的位置，Sharma *et al.* (2004) 則進一步從中獲得的與 *Bph2* 抗性共分離的酶切擴增多型性序列 (cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS) 標幟 KPM2。試驗中則針對 KPM2 篩選兩親本及各導入系統，探討親本及導入系統帶有 *Bph2* 的可能性。參試材料經 PCR 反應後，以 *Hinf*I 酶切後進行電泳分析，分析步驟如 Sharma *et al.* (2004) 所述。此外，針對已知的褐飛蝨抗性相關基因 (*bph12*、*Bph12(t)*、*Bph13(t)*、*Bph14*、*Bph15*) 落在物理圖譜位置上連鎖的 SSR 標誌，先篩選親本 TNG67 與 *O. officinalis* 間的多型性，再以多型性標誌用來篩選 134 個 ILs。

水稻簡單重複序列 (Simple sequence repeat, SSR) 分析與分組分析法

簡單重複序列分析參考 Temnykh *et al.* (2000) 之方法，依據 Gramene 網站水稻資料庫 (<http://www.gramene.org/>) 及 McCouch *et al.* (2002) 提供之 SSR 引子資訊。篩選平均分佈於水稻 12 條染色體上的 SSR 分子標誌；SSR 分析的操作步驟則是參照 McCouch *et al.* (1997) 的方法，將 PCR 增幅的產物 DNA 以 2-3% 洋菜膠體 (SFR) 電泳分離，並以溴乙炔 (Ethidium Bromide) 溶液顯影，於紫外光下呈像並拍照紀錄之。

混合分組分析法是將各系統所得之抗性等級由抗到感級按序排列後，以最抗褐飛蝨的 6 個系統 (RS = 3.0) 及最不抗褐飛蝨的 9 個系統 (RS > 7) 分為兩群，比較兩群之間差異性的分

子標誌，再進行差異性標誌與全部 ILs 褐飛蝨抗性的關連性檢定。

最後，就各標誌所得之基因型及其褐飛蝨抗性等級，依輪迴親本基因型之抗性等級及非輪迴親本基因之抗性等級進行顯著性測驗 (t-test)，以測定親本基因型間抗性等級的差異性。

結 果

導入系統之褐飛蝨抗性及其基因組成

參試系統的抗蟲性是利用褐飛蝨第一型生物小種 (biotype 1)，於秧苗期進行集團篩檢，檢定結果示如圖 1，兩個帶有抗性基因的對照品種 Mudgo (帶有 *Bph1*) 和 H105 (帶有 *bph2*) 之抗性等級 (RS) 分別為 5.0 和 4.7，輪迴親本台農 67 號 (TNG67) 抗性等級 7.0–9.0 平均為 7.7，感蟲對照品種台中在來 1 號則為 9.0，顯示輪迴親本並不具有褐飛蝨的抵抗力。各導入系統篩檢所得抗性等級的分布由 3.0–9.0，其中以 5.0–6.0 的數目最多。若以抗性對照品種為基準，參試的 134 個系統中有 96 個系統的褐飛蝨抗性與對照品種 Mudgo (RS = 5.0) 相同或抗性更高，其中有 18 個系統抗性等級低於 4.0，顯示這些系統可能具有不同的抗蟲基因，且其抗性對本檢定使用之褐飛蝨生物小種，比抗蟲對照品種 Mudgo 及 H105 具有更強的褐飛蝨抗性。

探討各導入系統之遺傳組成上，經 172 個 SSR 分析之結果，比較抗褐飛蝨系統與不抗褐飛蝨系統間不同基因型頻度的變化 (圖 2)，帶有的 *O. officinalis* 或非親本型頻度增加抗蟲系統也有增加的趨勢。抗蟲系統中 (RS ≤ 5.0) 所帶有的 *O. officinalis* 或非親本型比例最高為 51.2%、最低 4.2%；感蟲系統 (RS > 5) 所帶有的 *O. officinalis* 或非親本型比例最高為 42.1%、最低 1.7%，抗蟲與感蟲兩群平均分別為 20.4% 和 13.0%。另外，抗蟲與感蟲兩群中分別有 40% 及 60% 的系統其 *O. officinalis* 或非親本基因型的比例低於 10%。綜合而言，抗性

系統帶有較多 *O. officinalis* 或非親本基因型，而感蟲系統則有較多的輪迴親本 TNG67 的基因型。

已知褐飛蝨抗性基因相關標誌的分析

分析已知褐飛蝨抗性基因的緊密連鎖標誌，本研究利用 KPM2 篩選發現在兩親本 TNG67 及 *O. officinalis* 間有多型性，進一步分析 ILs 結果顯示有 2 個系統的 KPM2 具有 *O. officinalis* 的同型結合基因型，也有 2 個系統於 KPM2 上呈現異質結合基因型，其餘系統均表現出與 TNG67 相同的同質結合基因型 (圖 3)。這 4 個帶有 *O. officinalis* KPM2 條帶的系統，其褐飛蝨抗性等級 (RS) 為 4.7–5.7 (圖 3 中分別以 5、6 示之)，接近抗性對照品種 Mudgo 及 H105，顯示野生稻 *O. officinalis* 對褐飛蝨的抗性也可能與 *Bph2* 的抗性基因或含有同等抗性等級的基因有關。

另外，在前人研究中發現 *Bph12*、*Bph12(t)*、*Bph13(t)*、*Bph14*、*Bph15* 等抗性基因已獲得定位 (Hirabayashi *et al.* 1997, 2003; Huang *et al.* 2001;

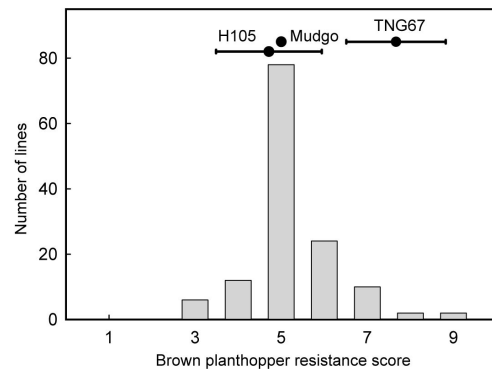


圖 1. 台農 67 號 × 野生稻 *O. officinalis* 之導入系統 (BC₂F₁₉) 的褐飛蝨抗性分布

Fig. 1. Number of BC₂F₁₉ introgression lines from TNG67 × *O. officinalis* (IRGC acc. 100896) in each of the nine scores of resistance to brown planthopper. Note Mudgo and H105 are rice varieties for resistant control and TNG67 is the recurrent parent for susceptible control.

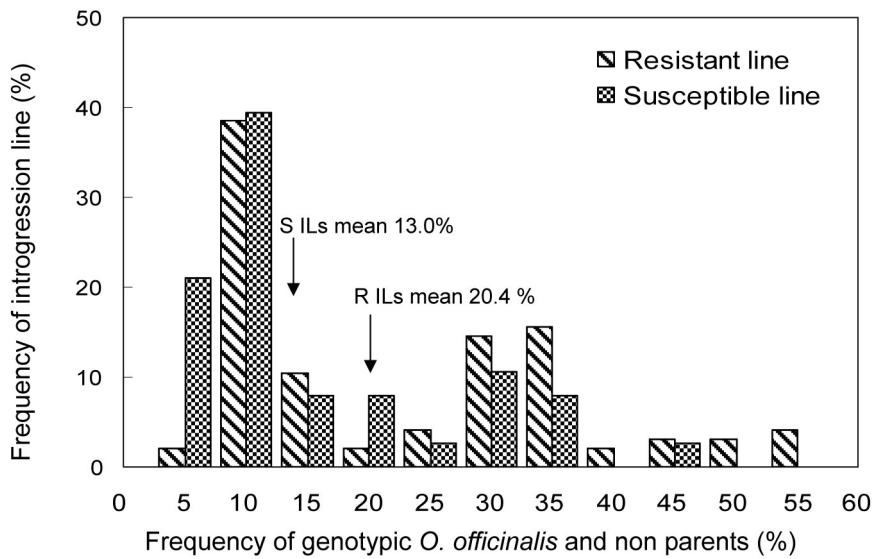


圖 2. 導入系統中 *O. officinalis* 基因頻度與褐飛蟲之抗性及感性之影響。

Fig. 2. Distribution of BPH resistant and susceptible introgression lines from advanced backcross inbred lines of TNG67 × *O. officinalis* (IRGC acc. 100896). R: Resistance (introgression lines with score of 5 or less); S: Susceptible (introgression lines with score higher than 5).

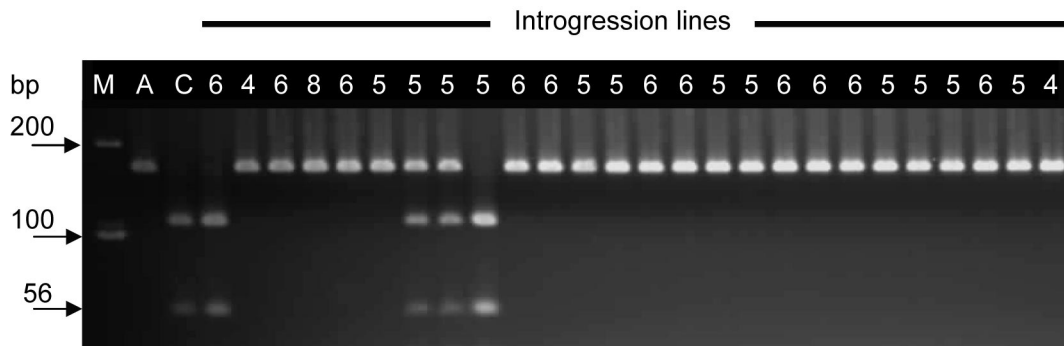


圖 3. 由台農 67 號 × *O. officinalis* 而來之導入系統應用褐飛蟲抗性基因 *Bph2* 共分離 KPM2 引子進行 PCR 反應後之 CAPS 電泳分析圖。M: 分子量標誌 (bp); 樣品號碼: A 為輪迴親台農 67 號, C 為野生稻 *O. officinalis*, 其餘為 *O. officinalis* 基因導入系統, 數字代表各系統的褐飛蟲抗性等級。條帶出現在 56 bp 及 105 bp 時為 RR; 161 bp 時為 rr (Sharma *et al.* 2004)。

Fig. 3. PCR reaction of the resistance introgression lines of rice from TNG67 × *O. officinalis* (IRGC acc. 100896) showing bandings of *Bph2* (BPH resistance gene)-linked co-dominant marker KPM2 Lane M is marker of map positions (bp), lane A is recurrent parent rice variety TNG67, lane C is wild rice *O. officinalis* (IRGC acc. 100896) and other lanes are introgression lines. Number represents BPH resistance score for individual introgression lines. Bandings of 56 bp and 105 bp represent RR and banding of 161 bp represents rr (Sharma *et al.* 2004).

表 1. 導入系統褐飛蟲抗性連鎖標誌之抗感分離檢定

Table 1. Testing introgression lines of rice for resistance to brown planthopper (BPH) using resistance linkage markers

Marker	Gene	Chr. ^z	Position (Mb) ^y	Number of lines		Mean of resistance score ^v		t-test for score
				1/1 ^x	2/2 ^w	1/1	2/2	
RM1002	<i>Bph13(t)</i>	3	7.12	87	47	5.2	5.3	ns
RM218	<i>Bph13(t)</i>	3	8.38	91	40	5.3	5.2	ns
RM489	<i>Bph13(t)</i>	3	4.31	99	35	5.3	5.2	ns
RM5480	<i>Bph13(t)</i>	3	5.31	101	33	5.3	5.0	ns
RM1317	<i>Bph13(t)</i>	3	15.75	90	44	5.2	5.3	ns
RM3199	<i>Bph14</i>	3	30.31	82	42	5.4	5.0	ns
RM1038	<i>Bph14</i>	3	33.59	64	70	5.4	5.2	ns
RM514	<i>Bph14</i>	3	35.23	96	38	5.3	5.1	ns
RM6987	<i>Bph14</i>	3	34.71	92	42	5.3	5.1	ns
RM1354	<i>bph12</i>	4	26.07	108	26	5.2	5.5	ns
RM8213	<i>Bph12(t)</i>	4	4.43	87	47	5.2	4.5	***
RM16563	<i>Bph12(t)</i>	4	9.53	82	52	5.2	4.7	**
RM3658	<i>Bph15</i>	4	6.31	83	51	5.3	4.5	***
RM5953	<i>Bph15</i>	4	9.36	82	52	5.2	4.7	**
RM16578	<i>Bph15</i>	4	10.53	110	23	4.9	5.2	ns
RM5633	<i>Bph15</i>	4	13.05	84	50	5.1	4.7	**

^z Chromosome number.

^y The estimation of physical distance was based on the Nipponbare sequence.

^x Homozygosity of recurrent parent TNG67.

^w Homozygosity of *O. officinalis* (IRGC acc. 100896) or non parents.

^v Resistance ≤ 5 , Susceptible > 5 .

,* significantly at 1%, 0.1% respectively by t-test for means of resistance score.

Renganayaki *et al.* 2002), 本研究根據其位置或連鎖的 SSR 標誌, 篩選出具有兩親本 *O. officinalis* 和 TNG67 的多型性標誌 (表 1), 以這些多型性標誌篩選各導入系統的結果, 發現第 3 對色體上與 *Bph13* 及 *Bph14* 有關的 10 個 SSR 標誌在 ILs 各基因型間褐飛蟲抗性並無明顯的差異; 但位於第 4 對染色體上的 7 個與 *Bph12*、*Bph12(t)*、*Bph15* 連鎖 SSR 標誌中, 除 RM1354 及 RM16578 外, ILs 在這些分子標誌的各基因型間與褐飛蟲抗性具有顯著性的差異, 帶有 *O. officinalis* 親本型或非親本型的抗性等級 (RS = 4.5–4.7) 顯著低於 TNG67 親本

基因型之抗性等級 (RS = 5.1–5.3)。綜言之, 根據上述結果推測 ILs 並不帶有位於第 3 對染色體上已知的 *Bph13* 及 *Bph14*; 反之, ILs 可能帶有位於第 4 對染色體上已知的 *O. officinalis* 褐飛蟲抗性基因 *Bph12* 及 *Bph15*。

褐飛蟲抗性分群與相關標誌的分析

根據各導入系統篩選 BPH 的結果, 選出最抗褐飛蟲 (RS = 3) 的 6 個系統, 與最不抗褐飛蟲 (RS ≥ 7) 的 9 個系統, 比較兩群內各染色體上基因型的分布, 結果顯示抗群的系統有較多野生稻 *O. officinalis* 的基因型以及非親本型, 其比例由 20.9–32.0%, 平均為 26.3%。反

之，在感群的系統中野生稻片段明顯減少，其比例由 1.7–19.4%，平均為 9.3%，更明確的顯示出抗性系統帶有較多的 *O. officinalis* 基因型及非親本基因型。

比較兩群各染色體上差異性的分子標誌(圖 4)，也發現抗、感兩群之間，除第 1 及第 8 對染色體上，無明顯差異性的標誌分佈外，其餘 10 對染色體上，共發現 26 個差異性較大的 SSR。在第 5 對及第 10 對染色體上，感蟲的系統均屬於輪迴親的基因型，未發現導入的 *O. officinalis* 或非親本的基因型。將這些差異性的標誌分為屬於輪迴親 TGN67 之基因型及非輪迴親之基因型(含 *O. officinalis* 和非親本基因型)，檢定單一分子標誌於兩群基因型間褐飛蝨抗性的差異性，除第 3 對染色體上的 RM5480 及第 6 對染色體上的 RM1161 外，其餘分布在 10 對染色體上的 24 個 SSR，兩群基因型間之褐飛蝨抗性均有不等程度的顯著性差異(表 2)，其中原本在第 3 對染色體上已知基因附近未發現與抗性有關的標誌，在分群分析中 RM3646 則與褐飛蝨抗性具有相關性。第 4 對染色體上也多出 3 個與抗性有關的 SSR，分別

為 RM3839、RM6089、RM349。另外，在第 9、11、12 對染色體上各僅獲得一個 SSR 與褐飛蝨抗性有關，在第 2、5、6、7、10 對染色體上均可發現 2 個或 2 個以上與褐飛蝨抗性相關的 SSR。

綜合以上利用已知基因標誌篩選以及分群篩選的結果，來自栽培稻與野生稻 *O. officinalis* 育成的導入系統，可能帶有已知的基因(*Bph2*、*Bph12(t)*、*Bph15*) 外，也受到其他抗性基因的調控。將位在同一染色體上與褐飛蝨抗性有關的標誌視為單一染色體片段的作用，估算抗性系統 ($RS \leq 5$) 可能帶有褐飛蝨抗性基因片段，12 對染色體中有 10 對染色體與褐飛蝨抗性有關。就單一系統而言，如圖 5 所示，最多帶有 9 對染色體上抗性有關的標誌(9 個系統)，整體而言有 55 個系統帶有 3 對以上染色體上的褐飛蝨抗性有關的分子標誌，但也發現有 25 個抗性系統，並未帶有任染色體上所獲得褐飛蝨抗性有關的標誌，其中有 5 個系統抗性等級為 3.7，比對照品種 Mudgo 及 H105 具有更強的褐飛蝨抗性。顯示抗性系統中尚有許多未偵測出的褐飛蝨抗性連鎖的標誌。

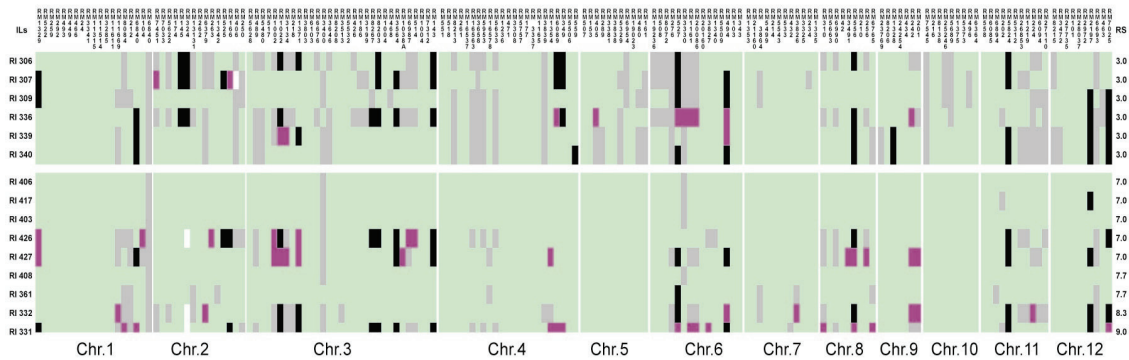


圖 4. 最抗及最不抗褐飛蝨之導入系統群以 172 對 SSR 篩選之結果。

Fig. 4. Distribution of 172 SSR on chromosomes of introgression lines of rice from TNG67 × *O. officinalis* (IRGC acc. 100896) with the highest (Top) and the lowest (Bottom) score of BPH resistance. Light blue, black, and gray colors represent the homozygous allele of recurrent parents TNG67, donor parents *O. officinalis*, and non parents respectively. Pink represents the heterozygous allele of parents and white represents the allele of non parents' type.

表 2. 各導入系統對褐飛蟲之抗性及其感性感群的差異性標誌篩選

Table 2. Testing introgression lines of rice for resistance to brown planthopper using different markers (BPH) from the best resistant and the least resistant introgression lines

Marker	Chr. ^z	Position (Mb) ^y	Number of lines		Mean of resistance score ^v		t-test for score
			1/1 ^x	2/2 ^w	1/1	2/2	
RM145	2	7.71	99	35	5.1	4.7	*
RM324	2	11.39	95	32	5.0	4.6	*
RM6379	2	23.57	92	42	5.1	4.7	**
RM406	2	35.24	103	28	5.1	4.5	**
RM5480	3	5.32	101	31	5.0	4.8	ns
RM3646	3	21.95	98	35	5.1	4.7	*
RM3839	4	23.87	81	49	5.1	4.6	***
RM6089	4	29.37	103	26	5.0	4.7	*
RM349	4	32.47	103	27	5.0	4.8	*
RM5329	5	20.01	96	31	5.1	4.7	*
RM6954	5	22.00	115	19	5.1	4.4	***
RM480	5	27.29	89	45	5.1	4.7	**
RM161	5	- ^u	95	39	5.2	4.5	***
RM19236	6	0.27	92	37	5.1	4.6	**
RM508	6	0.44	96	37	5.1	4.6	**
RM8072	6	1.41	93	35	5.1	4.6	**
RM1161	6	13.75	94	40	5.0	4.9	ns
RM3864	7	6.30	107	24	5.1	4.7	**
RM234	7	25.40	108	26	5.0	4.7	**
RM1328	9	9.00	83	51	5.2	4.6	***
RM7545	10	3.79	96	38	5.2	4.4	***
RM25246	10	10.31	95	36	5.1	4.6	**
RM5689	10	13.22	92	37	5.2	4.5	***
RM496	10	22.17	93	41	5.1	4.8	*
RM224	11	21.80	94	36	5.1	4.6	**
RM8215	12	1.59	99	35	5.1	4.5	***

^z Chromosome number.

^y The estimation of physical distance was based on the Nipponbare sequence.

^x Homozygosis of recurrent parent Tainung 67.

^w Homozygosis of *Oryza officinalis* (IRGC acc. 100896) or non parents.

^v Resistance ≤ 5 , Susceptible > 5 .

^u The Nipponbare sequence is not decided yet.

*, **, *** significantly at 5%, 1%, 0.1% respectively by t-test for means of resistance score.

討 論

稻屬除具有 AA 染色體組的栽培稻種

Oryza sativa、*O. glaberrima* 以及其近緣野生稻種外，還有多種不同類型染色體組野生稻種，這些野生稻種具有豐富的環境適應性及遺傳變

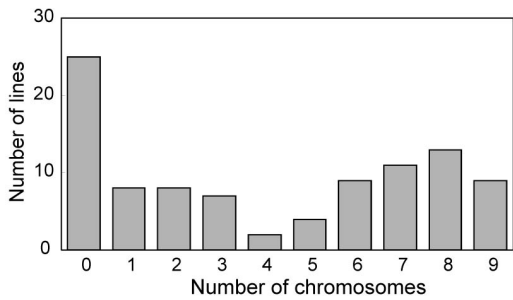


圖 5. 台農 67 號 × 野生稻 *O. officinalis* 之褐飛蝨抗性導入系統其抗性基因座落的染色體數。

Fig. 5. Number of rice chromosomes harboring the resistance marker from the BPH resistance lines in BC₂F₁₉ introgression lines of TNG67 × *O. officinalis* (IRGC acc. 100896).

異性，已成為稻作品種改良的重要種原 (Brar & Ishii 1997)。其中多年生野生稻種 *O. officinalis* (CC 染色體組) 已被發現帶有許多抗褐飛蝨、白背飛蝨及白葉枯病等有利基因 (Brar *et al.* 2009)。尤其在褐飛蝨抗性的研究上，從 *O. officinalis* 的導入系統中定位出多個抗性基因，有位在第 3 對染色體上的 *bph11*、*Bph13* 及 *Bph14*，落在第 4 對染色體上的 *Bph12*、*Bph12(t)*、*Bph15* 以及第 11 對染色體上的 *Bph6* (Huang *et al.* 2001; Jena *et al.* 2002; Renganayak *et al.* 2002; Hirabayashi *et al.* 2003)。

在褐飛蝨抗性基因的利用上，應用最早且最廣的抗性基因為位在第 12 對染色體上的 *Bph1* 及 *bph2* (Hirabayashi & Ogawa 1995; Murata *et al.* 1997; Murai *et al.* 2001)。其中源自於籼型地方品種 ASD7 褐飛蝨性基因，於籼稻背景下呈隱性基因表表現，但導入在粳稻背景下，則呈顯性 (*Bph2*) 的表現 (Murata *et al.* 1997)。Murai *et al.* (2001) 以 AFLP 定位 *bph2* 的位置，為增進兩抗性基因標誌的利用效率，Sharma *et al.* (2004) 進一步將 *Bph1* 及 *Bph2* 之 AFLP 分子標誌轉換成 PCR 進行的 CAPS 共顯

性標誌 Em24G、KPM2。本試驗中則發現野生稻 *O. officinalis* 及其導入系統帶有位於第 12 對染色體上標誌 KPM2，顯示 *O. officinalis* 也可能帶有 *Bph2* 的基因。Sun *et al.* (2006) 也針對 ASD7 所定位到褐飛蝨抗性區域，再度利用目標位置的相應的 SSR 標誌，進行其後代抗性個體的篩選，結果兩標誌 RM7102、RM463 對 *bph2* 的褐飛蝨抗性能力分別達 89.9%、91.2%。參試材料中可能帶有 *Bph2* 的基因的導入系統，可進一步參考 Sun *et al.* (2006) 建立分析族群並增加 RM7102–RM463 區間附近多型性標誌密度，以確定 *O. officinalis* 是否帶有 *bph2* 有抗性標誌及探討分子標誌輔助選拔效率。

另外，位在第 12 對染色體上與褐飛蝨抗性有關基因，還有 Hirabayashi *et al.* (2003) 由 *O. officinalis* 而來之抗褐飛蝨導入系統 IR54742-1-11-17 與不具抗性的粳稻品種 Hinohikari 建立 94 個重組自交系，獲得的抗褐飛蝨 QTLs，其中定位出新的褐飛蝨抗性基因 *bph11* 及 *bph12*，位於第 3 及第 4 對染色體上，也在第 12 對染色體上發現與抗性有關的 QTL，但 LOD 值偏低。其餘在第 12 對染色體上的褐飛蝨抗性有關的基因，尚有來自野生稻 *O. australiensis* 的 *Bph10* (Ishii *et al.* 1994; Lang & Buu 2003)、*Bph18* (Jena *et al.* 2006) 以及來自秈稻的 *Bph9* (Murata *et al.* 2000) 及 *bph2* (Sun *et al.* 2006)。試驗中在第 12 對染色體上有關的褐飛蝨抗性連鎖標誌除 *Bph2* 外，還有 RM8215 (1.59 Mbp)，但該位置則明顯與這些已知基因位在不同區間上。

隨著帶有 *Bph1* 及 *bph2* 抗性品種大面積推廣，褐飛蝨族群在環境壓力下，許多地區已發現新的有害生物小種，使得原有 *Bph1* 及 *bph2* 抗性受到瓦解，因而育種者不得不尋求新的抗性來源。Lakashminarayana & Khush (1977) 於南亞籼型傳統品種 Rathu Heenati 中發現與 *Bph1* 獨立分離的顯性基因 *Bph3*。Jairin *et al.*

(2007) 進一步將帶有 *Bph3* 的 PTB33 及 Rathu Heenati 定位在第 6 對染色體上的 RM589 (1.38 Mbp)–RM190 (1.76 Mbp) 之間，並收集不同地區褐飛蝨族群進行親本間的篩選，發現 *Bph3* 基因具有廣幅的抗褐飛蝨潛力。本試驗中位於第 6 對染色體與抗性有關的標誌則分布在 0.27–1.41 Mbp 之間，與 *Bph3* 之定位區域有部份重疊的現象，顯示 *O. officinalis* 的抗性也可能與 *Bph3* 有關。

目前在 *O. officinalis* 發現的抗性基因位置主要在第 3 對及第 4 對染色體上，就第 3 對染色體上已知抗性基因 (*Bph13*、*Bph14*) 其相鄰 SSR 連鎖標誌分析結果，基因型間與褐飛蝨抗性無顯著的相關性。但以褐飛蝨抗性進行分群分析，第 3 對染色體上仍可發現與褐飛蝨抗性有關的標誌 (MR3646)；而在第 4 對染色體上，除原有的 *Bph12(t)* 及 *Bph15* 連鎖的標誌外，也有與褐飛蝨抗性有關的其他標誌，顯示參試的導入系統可能帶有這些原來在第 3 對及第 4 對染色體上發現的抗性基因。

在褐飛蝨抗性基因定位上，除第 1、5、8 對染色體外，在其他染色體上均發現褐飛蝨抗性相關的基因 (Brar *et al.* 2009)。試驗中利用分群分析之結果，也顯示第 1、8 對染色體上，沒有連鎖的褐飛蝨抗性標誌。但在第 5 對染色體上則有 3 個抗性連鎖的標誌，其他染色體 (2、6、7、9、10、11、12) 上也可發現與抗性相關的 SSR。綜合以往研究中，褐飛蝨抗性基因於染色體上的分布，發現在第 3 對染色體短臂及長臂、第 4 對染色體的短臂及第 12 對染色體的長臂上具有褐飛蝨抗性基因叢集 (clusters) 現象 (Jena & Kim 2010)。本試驗中於第 4 對染色體短臂上的抗性標誌 (4.43–13.05 Mbp) 則涵蓋已知叢集 (4.40–9.60 Mbp)；另一方面在第 3 對染色體上獲得的褐飛蝨抗性相關標誌 RM3646 (21.95 Mb) 的位置並未落在前人預期的短臂 (5.18–8.40 Mbp) 或長臂 (35.43–35.70

Mbp) 叢集上，此外，第 12 對染色體上抗性標誌 (RM8215; 1.59 Mbp) 也未落在叢集上 (19.08–24.37 Mbp)。

由野生稻而來的導入系統，除具褐飛蝨抗性的主效基因作用外，同一系統上同時具有 2 個抗性基因，如 *O. officinalis* 的 IR54742-1-11-17 及 B5 分別有 *Bph11*、*Bph12(t)* 及 *Bph14*、*Bph15*；在其他野生稻種 *O. australiensis* (*Bph10*、*Bph18*)、*O. minuta* (*Bph20*、*Bph21*) 的導入系統也有類似的現象 (Jena *et al.* 2006; Rahman *et al.* 2009)。由 *O. officinalis* 而來的 B5，其抗白背飛蝨的基因也與褐飛蝨抗性基因 *Bph14*、*Bph15* 的位置相同 (Tan *et al.* 2004a)，可能是基因多效性的表現。另外，抗性基因在褐飛蝨控制機制上，一般認為由多基因控制的抗蟲品種比由單基因控制的抗蟲品種表現出更強、更持久的抗性，如帶有 *bph2* 和 *Bph3* 基因的抗蟲品種 Ptb33 (Jairin *et al.* 2007)，或是同時帶有主效基因與微效基因的抗蟲品種 IR64 等 (Sidhu & Kush 1978; Alam & Cohen 1998)。試驗中的抗性系統在抗性表現上，若以 Mudgo 和 H105 分別所帶有 *Bph1* 及 *bph2* 基因之抗性等級相比較，可發現多數的抗性系統中其褐飛蝨抵抗力比兩抗性對照強。驗證於抗性系統所帶有抗性基因連鎖標誌的多寡，也發現單一個系統最多帶有分佈在 9 對染色體上抗性有關的標誌，且抗性系統 (96 個) 中超過一半以上 (55 個) 的系統帶有 3 個以上的基因，足以解釋抗性系統中比兩對照組抗性強。然而，也有約 1/4 (25 個) 系統不帶有任何試驗中所獲得與褐飛蝨抗性有關的已知或新增標誌。其原因可能是所用以篩選的標誌不過縝密，因而無法偵測出潛在褐飛蝨抗性相關的標誌；而導入系統是與輪迴親本回交 2 次後，再依褐飛蝨抗性及外表性狀可接受度的優劣進行汰選，因此帶有大部分輪迴親本的基因型，最高達 98.3% (*O. officinalis* 及非親本型的比例僅為 1.7%)，這些不帶抗性標誌

且具有抗性的系統，大都具有較高的輪迴親本基因型頻度，但 RI358 (91.3%)、RI389 (93.6%) 褐飛蝨抗性均為 3.7，卻未發現與抗性有關的分子標誌，其中 RI358 已再與良質米品種台農 71 號建立雜交組合，以便進一步探討 *O. officinalis* 褐飛蝨抗性之遺傳表現。

野生稻種在改良栽培稻的性狀上，除抗病蟲害的利用外，也有利用野生稻改良栽培稻數量性狀的應用，尤其在產量的應用上，有些學者認為於育種過程中，針對數量性狀進行選拔的結果，除可以導入野生稻的有利數量性狀外 (Cheema *et al.* 2008)，也發現具有高產的導入系統帶有較少的野生稻基因的導入片段 (Rangel *et al.* 2008)。證之於本試驗的結果，因為於選育過程中主要針對褐飛蝨抗性的選拔的結果，褐飛蝨抗性的系統反而帶有較多的野生稻基因導入及非親本型的片斷，間接證實野生稻 *O. officinalis* 而來的基因確實具有抗褐飛蝨的表現。

透過種間雜交及分子標誌的應用，使得褐飛蝨抗性的遺傳與育種上進展快速，然而褐飛蝨族群的變異性也不容忽視，以泰國為例，不但帶有 *Bph1*、*bph2* 推廣品種對其境內的褐飛蝨族群均不具有抗性外，帶有屬於廣幅抗性的 *Bph3* 品種也有受到危害的紀錄，*bph4*–*Bph9* 抗性種原對不同來源的褐飛蝨族群或多或少甚至完全不具有抗性的表現 (Jairin *et al.* 2007)，顯示不同來源的褐飛蝨族群之變異性足以對帶有單主效抗性基因 (single major gene) 的品種產生危害。另外，利用同一個野生稻系統所育成之導入系統，系統間對同一褐飛蝨的生物小種族群的抗性表現可能會有所不同，且同一系統也會因不同地區的褐飛蝨生物小種族群而有不同的抗性表現；如同一個系統於韓國可表現出抗性，但在印度對當地的褐飛蝨族群卻不具有抵抗力 (Santhanalakshmi & Kadirvel 2007)。此種現象說明同一種野生稻所獲得的抗性系統也可能具有不同的抗性基因，而同一抗性系統也

會因褐飛蝨的生物小種族群的變化而出現不同程度的抗性，顯示在褐飛蝨育種上，除了稻種原收集利用的重要性外，褐飛蝨生物小種族群生態型的研究與確立，也有助於對抗性種原的評估與進一步利用。

試驗中用來檢定的褐飛蝨是在溫室內以 TNG67 及 TN1 飼養的族群，由檢定時抗性對照品種的表現，顯示兩對照品種仍對檢定用褐飛蝨具有中等程度之抗性，由於 Mudgo 和 H105 對褐飛蝨第一型生物小種均具有抗性，但 Mudgo 對第二型生物小種則不具抗性。Mudgo 在以往利用褐飛蝨第一型生物小種檢定之抗蟲等級多為 1–3 級，屬於高抗級，而 H105 則多為 3–5 級為中抗級，本檢定 Mudgo 之抗性為 5 級，顯示蟲源已受遷入蟲污染，可推斷目前檢定之褐飛蝨仍以第一型生物小種為主，且含有相當比例之第二型生物小種，證實試驗中育成之導入系統確實對褐飛蝨第一型生物小種具有抗性，且有 18 個系統的抗性高於兩對照品種，也可能帶有抵抗外來褐飛蝨蟲源之基因。國際上已在 *O. officinalis* 中所發現的抗性基因，也有抗多種褐飛蝨生物小種的表現 (Brar *et al.* 2009)。試驗材料目前僅能得知對第一型生物小種具有抗性，但就各系統對褐飛蝨抗性連鎖標誌的廣泛分布 (除第 1、8 對染色體外均可發現褐飛蝨性有關的標誌)，顯示 *O. officinalis* 具有豐富的褐飛蝨抗性遺傳變異，值得繼續深入探討對其他生物小種之抗性，藉以因應外來褐飛蝨族群之危害。

野生稻種中具有許多抗病蟲害的種原，為改良栽培稻重要的來源，如 *O. latifolia*、*O. minuta*、*O. nivara*、*O. officinalis*、*O. punctata* 及 *O. rufipogon* 均可發現對褐飛蝨抗性不同生物小種的抗性種原 (Heinrichs *et al.* 1985)，其中非 AA 染色體組野生稻種中 *O. officinalis* 已然成為栽培稻在抗蟲及抗病育種利用上的重要種原，因為染色體組成上的差異性，這些新導入的基因可

能都有別於栽培稻中發現的等位基因。但近 20 年針對 *O. officinalis* 種原的利用仍少，文獻研究上所利用的種原侷限在少數的 *O. officinalis* 系統上，如原產泰國的 IRGC. 100896，以及中國原產 *O. officinalis* 的少數系統，而在國際稻米研究所的張德慈遺傳資源中心，目前保有至少約 272 份的 *O. officinalis*。在中國在雲南、廣東、廣西及海南島仍有 *O. officinalis* 族群的分布，如何善用這些野生稻資源，將是擴大栽培稻遺傳變異的重要研究方向。

非 AA 染色體組之野生稻的有利基因之開發與利用，由於種間雜交親和性不佳，或雜種後代產生困難，雜交的成功率，因野生稻不同及栽培稻的差異而有不同程度上的差異 (Sitch *et al.* 1989)，通常需利用多次回交來消除種間的不親和性、染色體配對異常及分離異常等現象 (Li *et al.* 2009)。針對多次回交後再自交的系統進行標的基因的研究，McCouch *et al.* (2007) 認為以栽培品種做為輪迴親本，野生稻為貢獻親，建立多次回交的高級系統，使得定位族群的遺傳背景得到純化，提高 QTL 定位的精確度。而經多代回交的高級系統中，也可被選出具有應用價值的新品系而被加以推廣利用。綜合本試驗的研究結果顯示，在 *O. officinalis* 的導入系統已獲得抗褐飛蟲系統，也發現這些系統中可能帶有多個已知或未知的抗性基因，這些具有與褐飛蟲抗性連鎖的分子標誌優良系統，除可進一步建立族群或育成近同源系，供探討野生稻有利性狀外，也可做為命名推廣之用。

誌 謝

本研究承蒙洪東旭先生於材料繁殖期間之協助管理調查，陳美伶小姐進行各項分子標誌之分析與判讀作業，謹致最深謝意。

引用文獻 (Literature cited)

- Alam, S. N. and M. B. Cohen. 1998. Durability of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resistance in rice variety IR64 in greenhouse selection studies. *Entomol. Exp. Appl.* 89:71–78.
- Brar, D. S., P. S. Virk, K. K. Jena, and G. S. Khush. 2009. Breeding for resistance to planthoppers in rice. p.401–428. *in: Planthoppers: New Threats to the Sustainability of Intensive Rice Production Systems in Asia* (Heong, K. L. and B. Hardy, eds.) Int. Rice Res. Inst., Los Baños Philippines.
- Brar, D. S. and G. S. Khush. 1997. Alien introgression in rice. *Plant Mol. Biol.* 35:35–47.
- Chang, N. T. 1980. The comparison of different biotypes of brown planthopper and the reaction of several rice varieties. *Taichung Dist. Agric. Stat. Res. Rept.* 3:57–67.
- Cheng, C. H. and W. L. Chang. 1979. Studies on varietal resistance to the brown planthopper in Taiwan. p.251–271. *in: Brown Planthopper: Threat to Rice Production in Asia.* Int. Rice Res. Inst., Los Baños, Philippines.
- Cheng, C. H. and J. L. Lu. 1990. Detection of the trans-oceanic immigration of rice planthoppers, *Nilaparvata lugens* Stål and *Sogatella furcifera* Harváth to the southwestern Taiwan and their relative weather conditions. *Chinese J. Entomol.* 10:301–324. (in Chinese with English abstract)
- Chelliah, S. and M. Bharathi. 1993. Biotypes of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (homoptera: Delphacidae) - host influenced biology and behavior. p.133–148. *in: Chemical Ecology of Phytopathogenic Insects.* (Ananthakrishnan, T. N. and A. Raman. eds.) International Science Pub., New York.
- Cheema, K. K., N. J. Bains, G. S. Mangat, A. Das, Y. Vikal, D. S. Brar, G. S. Kush, and K. Singh. 2008. Development of high yielding IR64 × *O. rufipogon* (Griff.) introgression lines and identification of introgressed aliens chromosome segments using SSR markers. *Euphytica* 160:401–409.
- Fujita, D., K. K. M. Myint, M. Matsumura, and H. Yasui. 2009. The genetics of host-plant resistance to rice planthopper and leafhopper. p.389–399. *in: Planthoppers: New Threats to the Sustainability of Intensive Rice Production Systems in Asia* (Heong, K. L. and B. Hardy, eds.) Int. Rice Res. Inst., Los Baños, Philippines.
- Heinrichs, E. A., F. G. Medrano, and H. R. Rapusas. 1985. Genetic Evaluation for Insect Resistance in Rice.

- Int. Rice Res. Inst., Los Baños, Philippines. 356 pp.
- Hirabayashi, H., R. Kaji, M. Okamoto, T. Ogawa, D. S. Brar, E. R. Angeles, and G. S. Khush. 2003. Mapping QTLs for brown planthopper (BPH) resistance introgressed from *Oryza officinalis* in rice. p.268–270. *in*: Advances in Rice Genetics. (Khush, G. S., D. S. Brar, and B. Hardy, eds.) Int. Rice Res. Inst., Los Baños, Philippines.
- Hirabayashi, H., R. Kaji, T. Ogawa, D. S. Brar, E. R. Angeles, and G. S. Khush. 1997. Mapping of new introgression gene for brown planthopper (BPH) resistance from *O. officinalis* using RFLP markers in rice. p.401–402. *in* the Proceedings of the 8th SABRAO General Congress and the Annual Meeting of the Korean Breeding Society. Seoul, Korea.
- Hirabayashi, H. and T. Ogawa. 1995. RFLP mapping of *Bph-1* (brown planthopper resistance gene) in rice. *Breed. Sci.* 45:369–371.
- Huang, C. S., R. H. Buu, C. H. Cheng, and C. Lu. 1982. Breeding for resistance to brown planthopper in Keng (Japonica) rice. p.89–97. *in*: Plant Breeding. (Hsieh, S. C. and D. J. Liu, eds.) Agricultural Association of China and Regional Society of SAABRAO. Taipei. ROC.
- 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.
- Huang, S. H., C. H. Cheng, C. N. Chen, W. J. Wu, and A. Otuka. 2010. Estimating the immigration source of rice planthoppers, *Nilaparvata lugens* (Stål) and *Sogatella furcifera* (Horváth) (Homoptera: Delphacidae), in Taiwan. *Appl. Entomol. Zool.* 45:521–531.
- IRRI. 2002. Standard Evaluation System for Rice (SES). Int. Rice Res. Inst., Los Baños Philippines. 64 pp.
- 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.
- Jairin, J., K. Phengrat, S. Teangdeerith, A. Vanavichit, and T. Toojinda. 2007. Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6. *Mol. Breed.* 19:35–44.
- Jena, K. K. and S. M. Kim. 2010. Current status of brown planthopper (BPH) resistance and genetics. *Rice* 3:161–171.
- Jena, K. K., J. U. Jeung, J. H. Lee, H. C. Choi, and D. S. Brar. 2006. High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 112:288–297.
- Jena, K. K., I. C. Pasalu, Y. K. Rao, Y. Varalaxmi, K. Krishnaiah, G. S. Khush, and G. Kochert. 2002. Molecular tagging of a gene for resistance to brown planthopper in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 129:81–88.
- Khush, G. S. 1977. Disease and insect resistance in rice. *Adv. Agron.* 29:265–341.
- Lang, N. T. and C. B. Buu. 2003. Genetic and physical maps of gene *Bph-10* controlling brown planthopper resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Omonrice* 11:35–41.
- Li, C. P., C. G. Chern, M. H. Lai, C. S. Tseng, T. H. Tseng, J. R. Chen, T. K. Hu, and H. M. Ku. 2009. Construction of introgression lines from wild rice (*Oryza australiensis* Domin) and assessment of yield-related traits. *J. Taiwan. Agric. Res.* 58:219–233. (in Chinese with English abstract)
- Li, R. B., X. Y. Qin, S. M. Wei, M. P. Pandey, P. K. Pathak, F. G. Huang, Q. Li, and S. Y. Luo. 2001. Inheritance of resistance to brown planthopper in an *Oryza rufipogon* (Griff.) - derived line in rice. *Current. Sci.* 80:1421–1423.
- Liu, G. Q., H. H. Yan, Q. Fu, Q. Qian, Z. T. Zhang, W. X. Zhai, and L. H. Zhu. 2001. Mapping of a new gene for brown planthopper resistance in cultivated rice introgressed from *Oryza eichingeri*. *Chin. Sci. Bull.* 46:1459–1462.
- Lakashminarayana, A. and G. S. Khush. 1977. New genes for resistance to the brown planthopper in rice. *Crop Sci.* 17:96–100.
- McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware, and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice *Oryza sativa* L. *DNA Res.* 9:199–207.
- McCouch, S. R., M. Sweeney, J. Li, H. Jiang, M. Thomson, E. Septiningsih, J. Edwards, P. Moncada, J. Xiao, A. Garris, T. Tai, C. Martinez, J. Tohme, M.

- Sugiono, A. McClung, L. P. Yuan, and A. N. Ahn. 2007. Through the genetic bottleneck: *O. rufipogon* as a source of trait-enhancing alleles for *O. sativa*. *Euphytica* 154:317–339.
- McCouch, S. R., X. Chen, O. Panaud, S. Temnykh, Y. Xu, Y. G. Cho, N. Huang, T. Ishii, and M. Blair. 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Mol. Biol.* 35:89–99.
- Murai, H., Z. Hashimoto, P. N. Sharma, T. Shimizu, K. Murata, S. Takumi, N. Mori, S. Kawasaki, and C. Nakamura. 2001. Construction of a high-resolution linkage map of a rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance gene *bph2*. *Theor. Appl. Genet.* 103:526–532.
- Murata, K., C. Nakamura, M. Fujiwara, N. Mori, and C. Kaneda. 1997. Tagging and mapping of brown planthopper resistance genes in rice. p. 217–231. *In the Proceedings of the 5th International Symposium on Rice Molecular Biology*. Yi-Hsien Pub, Taipei, Taiwan.
- Murata, K., M. Fujiwara, H. Murai, S. Takumi, N. Mori, and C. Nakamura. 2000. *Bph9*, a dominant brown planthopper resistance gene, is located on long arm of chromosome 12. *Rice Genet. Newsl.* 15:13.
- Pathak, M. D., C. H. Cheng, and M. E. Furtono. 1969. Resistance to *Nephotettix cincticeps* and *Nilaparvata lugens* in varieties of rice. *Nature* 223:502–504.
- Pathak, P. K. and E. A. Heinrichs. 1982. Selection of biotype population 2 and 3 of *Nilaparvata lugens* by exposure to resistant rice varieties. *Environ. Entomol.* 11:85–90.
- Rahman, M. L., W. Jiang, S. H. Chu, Y. Qiao, T. H. Ham, M. O. Woo, J. Lee, M. S. Khanam, J. H. Chin, J. U. Jeung, D. S. Brar, K. K. Jena, and H. J. Koh. 2009. High-resolution mapping of two rice brown planthopper resistant genes, *Bph20(t)* and *Bph21(t)* from *Oryza minuta*. *Theor. Appl. Genet.* 119:1237–1246.
- Rangel, P. N., R. P. V. Brondani, P. H. N. Rangel, and C. Brondani. 2008. Agronomic and molecular characterization of introgression lines from the interspecific cross *Oryza sativa* (BG90-2) × *Oryza glumaepatula* (RS-16). *Genet. Mol. Res.* 7:184–195.
- Renganayaki, K., A. K. Fritz, S. Sadasivam, S. Pammi, S. E. Harington, S. R. McCouch, S. M. Kumar, and A. S. Reddy. 2002. Mapping and progress toward map - based cloning of brown planthopper biotype - 4 resistance gene introgressed from *Oryza officinalis* into cultivated rice. *O. sativa*. *Crop Sci.* 42:2112–2117.
- Huang, C. H. 1987. Rice varieties in Taiwan 1930–1987. Council of Agriculture, Executive Yuan. Department of Agriculture & Forestry Taiwan Provincial Government. Food & Fertilizer Technology Center Asian and Pacific Council. Taipei, Republic of China. 339 pp. (in Chinese)
- Santhanalakshmi, S. and P. Kadirvel. 2007. Reaction of introgression lines of rice to a BPH population from India. *IRRN* 32:23–24.
- Sharma, P. N., A. Torii, S. Takumi, N. Mori, and C. Nakamura. 2004. Marker-assisted pyramiding of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance genes *Bph1* and *Bph2* on rice chromosome 12. *Hereditas* 140:61–69.
- Sidhu, G. S. and G. S. Khush. 1978. Genetic analysis of brown planthopper resistance in twenty varieties of rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 53: 199–203.
- Sitch, L. A., R. D. Dalmacio, and G. O. Romero. 1989. Crossability of wild *Oryza* species and their potential use for improvement of cultivated rice. *Rice Genet. Newsl.* 6:58–60.
- Sun, L., C. Wang, C. Su, Y. Liu, H. Zhai, and J. Wan. 2006. Mapping and marker-assisted selection of a brown planthopper resistance gene *bph2* in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta. Genet. Sin.* 33:717–723.
- Tan, G. X., Q. M. Weng, X. Ren, Z. Huang, L. L. Zhu, and G. C. He. 2004. Two whitebacked planthopper resistance genes in rice share the same loci with those for brown planthopper resistance. *Heredity* 92:212–217.
- Tan, G. X., X. Ren, Q. M. Weng, Z. Y. Shi, L. L. Zhu, and G. C. He. 2004. Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *O. officinalis*. *Yi Chuan Xue Bao* 31:724–729.
- Temnykh, S., W. D. Park, N. S. Ayres Catinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii, and S. R. McCouch. 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100:697–712.
- Wu, M. T., C. P. Li, J. R. Chen, S. H. Huang, and H. S. Ku. 2009. Mapping of brown planthopper resistance gene introgressed from *Oryza nivara* into

- cultivated rice, *O. sativa*. p.56–65. in: International Symposium (2009) Rice Research in the Era of Global Warming. (Wu, M. T. and J. R. Chen, eds.) Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Taichung.
- Yang, H., X. Ren, Q. Weng, L. Zhu, and G. He. 2002. Detection and analysis of QTL for resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), in rice (*Oryza sativa* L.), using backcross inbred lines. *Hereditas* 136:39–43.
- Yang, H., A. You, Z. Yang, F. Zhang, R. He, L. Zu, and G. He. 2004. High resolution genetic mapping at the *Bph15* locus for brown planthopper resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 110:182–191.

Molecular Characterization of Introgression Lines from a Wild Rice, *Oryza officinalis*, with Resistance to Brown Planthopper¹

Chang-Pei Li², Shou-Horng Huang³, Jen-Ren Chen⁴, Tung-Hi Tseng²,

Ming-Hsing Lai², and Hsin-Mei Ku^{5,6}

Abstract

Li, C. P., S. H. Huang, J. R. Chen, T. H. Tseng, M. H. Lai, and H. M. Ku. 2011. Molecular characterization of introgression lines from a wild rice, *Oryza officinalis*, with resistance to brown planthopper. *J. Taiwan Agric. Res.* 60:263–278.

Brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens*, is one of the most destructive insect pests in rice. Species of wild rice are very important sources of germplasm for genetic improvement of cultivated rice for resistance to BPH. From the interspecific crossing of the cultivated rice variety Tainung 67 as the recurrent parent and the perennial wild rice *Oryza officinalis* (IRGC 100896) as the donor parent, 134 BC₂F₁₉ introgression lines (ILs) were obtained and 96 of these ILs were resistant to BPH. Results of screening of 134 ILs using 172 SSR primers showed that the average genetic ratios of resistant ILs (Resistance Score, RS ≤ 5) and susceptible ILs (RS > 5) were 20.4% and 13.0% for *O. officinalis* and non-parental genotypes, respectively. Markers linked to BPH resistance were detected on 10 out of the 12 rice chromosomes except for chromosomes 1 and chromosome 8 in which BPH resistant markers were absent. There was a single IL harboring BPH resistant markers on as high as 9 chromosomes, whereas 25 resistant ILs showed no markers linked to BPH resistance. Furthermore, KPM2, a marker co-segregating with *Bph2* gene, was also detected in the donor parent *O. officinalis* and 4 other ILs. The findings in this study suggest that all of the BPH resistant ILs and the information of their genetic background would be useful in further investigations of BPH resistant genes in the wild rice *O. officinalis* and in other rice breeding programs for improvement of resistance to BPH.

Key words: Wild rice, *Oryza officinalis*, Introgression lines, *Nilaparvata lugens*, Brown planthopper resistance, Simple sequence repeat (SSR).

-
1. Contribution No. 2593 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: October 21, 2011.
 2. Respectively, Assistant Researcher, Associate Researcher, and Associate Researcher, Crop Science Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Assistant Researcher, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Station TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
 4. Assistant Researcher, Biotechnology Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
 5. Associate Professor, Department of Agronomy, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
 6. Corresponding author, hmku@email.nchu.edu.tw, Fax: (04)22877054.