

水稻台農 67 號突變品系對褐飛蟲之反應及 抗性遺傳之探討

曾東海¹ 鄭清煥² 陳治官¹ 顏信沐¹ 鄭統隆¹ 卓緯玄¹ 王強生^{1*}

1.台中縣霧峰鄉 行政院農委會農業試驗所農藝組

2.嘉義市 行政院農委會農業試驗所嘉義分所植保系

(接受日期：中華民國 92 年 8 月 15 日)

摘 要

曾東海、鄭清煥、陳治官、顏信沐、鄭統隆、卓緯玄、王強生* 2003 水稻台農 67 號突變品系對褐飛蟲之反應及抗性遺傳之探討** 植保會刊 45：211-223

以疊氮化鈉 (NaN₃) 化學誘變所建立之水稻臺農 67 號 (TNG67) 突變庫之突變品系為試驗材料，利用秧苗集團檢定法篩檢其對褐飛蟲之反應，第一次誘變之突變品系，對褐飛蟲之生理小種 1、2、3，分別有 9.6-12.5%、3.4%及 7.7%之突變品系，呈現 3 級以上之抗性反應，其中 SA0006、SA0038、SA0080、SA0088、SA0159 及 SA0283 等 6 個品系，對三個生理小種皆呈抗性；第二次誘變處理的突變品系，則有 19.22-25.99%對生理小種 1 具有抗性，顯示以疊氮化鈉誘變可使不抗褐飛蟲的 TNG67 後裔產生抗性，且比率頗高。將抗性突變品系 SA0006、SA0285 與不抗褐飛蟲的 TNG67、台梗 2 號 (TK2) 品種雜交，針對其 F₂ 族群或 BC₁F₁ 進行抗性之遺傳分析，其抗、感分離比，經 X² 分析皆呈 3：1 或 1：1，符合一對顯性基因控制之擬說。以抗褐飛蟲之 SA0006、SA0007、SA0236、SA0283、SA0284 及 SA0285 等六個突變品系分別與同為抗性之 Mudgo 及 Babawee 品種雜交，檢定其 F₂ 族群之表現，結果 12 個組合的 F₂ 族群，皆呈現明顯抗、感分離；顯示，此 6 個突變品系之抗蟲基因即應與 Mudgo (*Bph1*) 或 Babawee (*bph4*) 不同。將上述六個抗褐飛蟲突變品系，分別與感蟲的 TNG67 及抗蟲的台農 69 號進行互交，針對其 F₃ 族群進行褐飛蟲抗性檢定，結果發現以 TNG67 為母本之組合除了 TNG67 / SA0235 組合的感蟲率達 88% 外，其餘組合的感蟲率約佔四分之一，近似由一對顯性基因所控制之性狀表現；而抗蟲品種 (系) 互交的組合中，有 21 個組合的 F₃ 品系呈現抗、感分離現象，顯示二親本應具不同的抗性基因；而其中 7 個組合的 F₃ 系統皆呈抗性，可能二親本的抗性基因即相同。這些抗褐飛蟲之水稻突變體將成為基因選殖及抗蟲育種之重要材料。

*通訊作者。E-mail: cswang@wufeng.tari.gov.tw

**行政院農委會農業試驗所研究報告第 2137 號

(關鍵詞：水稻、突變體、突變庫、褐飛蝨、抗蟲、遺傳)

緒 言

突變體除提供遺傳、育種、生理、生化及植物與病原菌關係研究之材料外，隨著基因組學及蛋白質組學之快速發展，古水稻基因組解序後之後基因體時代 (post genomic era) 或功能性基因體時代，突變體更可作為基因選殖與基因功能性分析之材料，更顯示其重要性。

疊氮化鈉 (sodium azide, NaN_3) 是一種無殘效、使用量少而誘變率高的誘變劑，古適當狀況下，能誘發極高的突變率，且大部分是基因的突變，染色體的異常極少。1976 年起疊氮化鈉開始被應用於水稻誘變研究，1979 年後才較普遍被使用。Afsar Awan 等人⁽⁷⁾報告疊氮化鈉古 0.12 - 1.75 mM 的濃度皆具誘變力，古 M_2 世代可發現葉綠體、矮桿、矮化株、早抽穗、晚抽穗等可見的變異株。Guimaraes 與 Ando⁽¹⁰⁾比較疊氮化鈉和 γ 射線對水稻品種 Dourado Precoce 的誘變效果，認為疊氮化鈉具有較好的誘變效果。

褐飛蝨 (*Nilaparvata lugens* Stal., brown planthopper, BPH) 屬半翅目 (Hemiptera)、稻蝨科 (Delphacidae)，成蟲善跳，有長翅型和短翅型個體，若蟲除體型和翅羽外，酷似成蟲；褐飛蝨產卵於葉鞘組織內，不論成蟲、若蟲皆以刺吸式口器古水稻莖基吸食，嚴重時甚至會使稻株枯萎倒伏，即所謂的「蝨燒」，嚴重影響稻穀產量及品質，是台灣地區稻作之主要害蟲，古台灣因冬季低溫影響，殘存蟲密度極低，對一期作水稻不致構成危害^(5,9)；古二期作水稻，褐飛蝨因受洩外遷入蟲數之影響，族群密度及危害程度變異頗大，古其危害面積約七千至九萬餘公頃，防治面積常超過十萬公頃。褐飛蝨危害雖可使用藥劑防治，但因其棲息於稻莖基部，一則發覺初期容易疏忽，再則藥劑不易噴及，且需多次施藥方能避免受害，因此防

治效果不彰，且有環境污染及農藥殘留之慮。栽植抗蟲品種仍為最經濟有效方法之一，除可降低生產成本、減少農藥對環境的污染，並可確保稻穀之產量與品質^(3,4)，因此抗蟲育種更顯其重要性。農業試驗所嘉義分所自 1968 年著手進行水稻抗褐飛蝨研究及育種工作⁽⁴⁾，隨後各改良場所亦相繼參與，至 1997 年國內已育成嘉農稻 11、12 號，台中稻 10、16 號，台農稻 14、18、19、20 號，台稻 1 號，台中稻糯 1 號，台農稻糯 2 號，台農 68、69、70、72 號，台稈 2、16 號等抗褐飛蝨品種，其中台農 69 號、台稈 16 號、嘉農稻 11 號、嘉農稻 12 號、台農稻 14 號、台農稻 20 號等為具高度抗性的品種，其他屬中等抗性品種。但由於該等品種除台農 69 號外，其抗性基因均源自 *Bph-1* 及 *bph-2* 兩種，一旦新生理小種產生，抗性將全盤崩潰，而台農 69 號由於其抗源來自野生稻 *O. rufipogon* 對褐飛蝨的三個生理小種均具抗性，是優良的抗蟲種原，但因其後裔常伴隨倒伏及穗型不佳等性狀，以致稈稻抗褐飛蝨育種之成果有限，因此，引進不同抗蟲基因供利用，已成為台灣抗褐飛蝨育種的當務之急。

化學誘變法 (chemical mutagenesis) 亦為產生水稻變異的方法之一種，為獲得稈稻型的抗褐飛蝨突變體，農業試驗所利用疊氮化鈉誘變，已建立一個以台農 67 號為遺傳背景的同源突變庫 (mutation pool)，包含 3,000 個突變品系⁽²³⁾。本報告即將這些突變品系多次進行褐飛蝨之抗性篩檢結果，與部分抗蟲品系進行抗蟲性遺傳及基因型探討的試驗結果所得資料撰寫成報告，提供今後水稻抗褐飛蝨育種及相關研究之參考。

材料與方法

台農 67 號突變庫之誘導

分別於 1987 及 1996 年依照陳與黃⁽²⁾的方法，以 1mM 疊氮化鈉進行台農 67 號 (TNG67) 水稻種子誘變處理，萌芽種子育苗後移植田間，是為 M₀ 世代，收穫其種子後，M₁ 以集團培育，自 M₁ 集團選拔具變異特性之單株，自 M₂ 世代起以譜系法進行培育、純化及突變性狀之調查，歷經多年計劃建立一個以台農 67 號為遺傳背景的同源突變庫，包含 3,000 個突變品系⁽²³⁾。

參識之水稻品種 (系)

- A. 台農 67 號 (TNG67) 於 1978 年命名推廣，具有適應性廣，產量高且穩定的特性，次年即成為台灣栽培最廣的品種，但對褐飛蟲極為敏感。
- B. 台農 69 號 (TNG69) 於 1984 年命名，抗稻熱病，抗褐飛蟲生理小種 1、2、3 及白背飛蟲 (*Sogatella furcifera*)，其抗病蟲特性來自野水稻 *O. rufipogon*。
- C. 台梗 2 號 (TK2) 於 1989 年命名，具有米質佳及豐產的特性，也不抗褐飛蟲。
- D. Mudgo 及 Babawee 為爪哇型 (Javanica type) 的水稻品種，分別具抗褐飛蟲基因 *Bph1* 及 *bph3*。
- E. 突變品系 SA0006、SA0007、SA0235、SA0236、SA0284、SA0283 及 SA0285 為經多次的檢定具有抗褐飛蟲特性之台農 67 號突變品系，均為至少到達 M₁₂ 之穩定純系。

突變品系抗褐飛蟲之篩檢

以台農 67 號水稻之突變品系為材料，採用秧苗集團檢定法 (bulk seedling test) 進行篩檢⁽⁴⁾，將供檢品系種子每品系 10 粒播種於檢定盤，每盤可栽植 72 品系，各含抗蟲品種 Mudgo、H105 及感蟲對照品種台中古來 1 號 [T(N)1]。待秧苗發育至 3 葉期 (約 10 cm)，移置於溫室內檢定槽 (水盤)，水盤置水 2-3 cm，以保持土壤之濕度，然後再將人工大量繁殖之褐飛蟲若蟲 (2-3 齡)

釋放於秧苗，讓其選擇危害，釋放密度約為每秧苗 2-3 隻，接蟲後罩以紗網，以防若蟲逃逸或預防其他害蟲之進入為害。待感蟲對照品種 90% 以上被害枯萎時，開始按 IRRI^(12, 13) 方法，依其被害情況分級加以記錄，0 為完全不受影響，1 為基葉微黃化，3 為基葉及第二葉局部黃化，5 為明顯黃化及矮化，並有 1/2 以下秧苗枯萎，7 為 1/2 以上秧苗枯萎，其餘顯著矮化，9 為全部秧苗被害枯萎；並將抗性等級區分為 0-3 為抗級，4-6 為中抗級，7-9 為感蟲級。

抗性基因探討

1. 褐飛蟲抗性突變品系之遺傳分析：

- A. 試驗材料：以抗褐飛蟲之突變品系與不抗蟲品種台農 67 號、台梗 2 號及日本晴 (Nipponbare) 或抗蟲品種 Mudgo (含抗蟲基因 *Bph1*)、Babawee (*bph3*) 為親本，以傳統之溫湯法雜交進行雜交，於田間以單本植培育 F₁，並經汰偽、汰雜所獲得之 F₂ 種子；BC₁F₁ 則以 F₁ 為親本與不抗蟲品種再雜交而得。
- B. 檢定方法：親本、對照品種 (TNG67) 及 F₂ 種子經浸種催芽後，點播於試盆中 (長寬深=48 x 38 x 12 cm 塑膠盆)，行株距為 3.6 x 3 cm，每盆之兩邊行分別栽植親本；若為抗蟲品系與抗蟲品種雜交之組合，另於中間播一行台農 67 號為感蟲對照；苗高約 10 cm 時，每個檢定盆分別架設不銹鋼網架，以保持每一株苗皆直立生長。約於苗齡 30 日送至嘉義分所，於溫室內進行接蟲檢定，方法如上述，待感蟲對照品種被害枯萎時，調查記錄試驗材料之存活率。

2. 褐飛蟲抗性基因之遺傳分析或比較：

- (1) 以 F₂ 抗褐飛蟲單株衍出之 F₃ 系統為材料：
 - A. 試驗材料：以前述 F₂ 集團篩檢所得存活之抗蟲單株，於原檢定盆中培育，所獲得之 F₃ 種子為材料。

B. 檢定方法：與 F₂ 集團之篩檢方法相同，惟每一 F₃ 系統種一行 12 株。待感蟲對照品種被害枯萎時，調查記錄試驗材料之存活率，F₃ 系統 12 株全存活者，推論其 F₂ 之抗蟲基因型為同質型 (RR)，F₃ 系統有 1 株以上感蟲 (死亡) 者，則其 F₂ 之抗蟲基因型為異質型 (Rr)，F₃ 系統全部感蟲 (死亡) 者，則其 F₂ 之抗蟲基因型為同質型 (rr)。

(2) 以未經篩選之 F₂ 單株衍出之 F₃ 系統為材料：

A. 試驗材料：以抗褐飛蝨突變品系 SA0006、SA0007、SA0235、SA0236、SA0284、SA0283 及 SA0285 及 TNG67、TNG69 等 9 個品種 (系)，進行半互交，F₁ 及 F₂ 集團培育於一般試驗田，F₂ 不經選拔，單株收穫為 F₃ 系統，做為抗性檢定材料。

B. 檢定方法：以前述的秧苗集團檢定法進行篩檢，F₃ 系統之被害等級大於 6

者，推論其 F₂ 具有抗蟲基因 (rr)，計算其感蟲率。

結 果

突變品系抗褐飛蝨之篩檢

1990 年與 1993 年以苗期抗蟲篩檢法，篩檢第一次誘變處理的突變品系對褐飛蝨生理小種 1 的反應抵抗力，篩檢結果詳如表 1，二次篩檢分別有 38 及 30 個突變品系對褐飛蝨呈現抗級 (<3)，佔總篩檢品系的 12.5 及 9.6%。綜合二次篩檢結果，有 24 個品系在二次篩檢皆呈現抗級，有 14 或 6 個品系分別只在第一次或第二次呈抗級。

2000 年第二期作、2001 年第一期作與 2002 年第二期作，篩檢第二次誘變處理的 M₉、M₁₀ 及 M₁₃ 世代的突變品系對褐飛蝨生理小種 1 的抗蟲性 (表 1)，二次篩檢分別有 244、340 與 370 個突變品系對褐飛蝨呈現抗級，佔總篩檢品系的 26.0、20.6 及 19.1%。

表 1、水稻台農 67 號突變品系對褐飛蝨生理小種 1 之反應

Table 1. Response (damage scale) of TNG67 mutants to rice brown planthopper Race 1

Year crop ¹⁾	Number of mutant line tested and damage scale ²⁾						Total
	0	1	3	5	7	9	
1990II	0 (0.0) ³⁾	25 (8.2)	13 (4.3)	9 (3.0)	9 (3.0)	248 (81.6)	304 (100)
1993II	0 (0.0)	15 (4.8)	15 (4.8)	13 (4.2)	8 (2.6)	262 (83.7)	313 (100)
2000II	13 (1.4)	76 (8.1)	155 (16.5)	117 (12.5)	149 (15.9)	429 (45.7)	939 (100)
2001I	58 (3.5)	140 (8.5)	142 (8.6)	128 (7.8)	141 (8.6)	1035 (63.0)	1644 (100)
2002II	27 (1.4)	65 (3.4)	272 (14.3)	319 (16.8)	301 (15.8)	917 (48.2)	1901 (100)

¹⁾ Materials used for 1990II and 1993II were from the first mutation pool; the others experiments were from the second mutation pool.

²⁾ 1 = very slight damage; 3 = first and second leaves of most plants partially yellowed; 5 = pronounced yellowing and stunting, or about 1/2 of the plants wilted or dead; 7 = more than 1/2 of plants wilted or dead and remaining plants severely stunted or dying; 9 = all plants dead.

³⁾ Numbers in parentheses are the percentage (%) of the total (=100%) mutant lines analyzed.

而突變品系對褐飛蟲生理小種 2 及生理小種 3 的抗性反應，係於 1995 年就第一次誘變處理之突變品系，進行重複二次的篩檢，結果詳如表二。突變品系對褐飛蟲生理小種 2 及 3 的抵抗力，雖無突變品系呈現 1 級之反應，但分別有 11 (3.4%)、25 (7.7%) 個突變品系對褐飛蟲生理小種 2 及 3 呈現 3 級抗性，而水稻台農 67 號對褐飛蟲生理小種 2 及 3 無抗性。

抗性突變體之遺傳分析

為了解突變品系抗褐飛蟲基因的遺傳行為，於 1995 年第一期作，以抗蟲突變品系 SA0006 及 SA0285 與感蟲品種 TNG67 及 TK 2 雜交，同年第二期作，在田間以單本植培育 F₁，並經以偽雜，於抽穗適期以 F₁ 為母本與 TNG67 及 TK 2 再雜交，獲得 BC₁F₁ 種子；F₁ 成熟適期收穫 F₂ 種子；1996 年 3 月間進行 F₂、BC₁F₁ 族群及其親本之檢定，結果詳如表三，所得抗、感性

表二、台農 67 號突變品系對褐飛蟲生理小種 2 及生理小種 3 之反應 (1995)

Table 2. Response (damage scale) of TNG67 mutants to rice brown planthopper (BPH) Race 2 and Race 3 (1995)

BPH Biotype	Damage Scale ¹⁾ and Number of Mutant Line Tested					
	1	3	5	7	9	Total
Race2	0 (0.0) ²⁾	11 (3.4)	42 (13.0)	132 (40.9)	138 (42.7)	323 (100)
Race3	0 (0.0)	25 (7.7)	13 (4.0)	34 (10.5)	251 (77.7)	323 (100)

¹⁾ very slight damage; 3 = first and second leaves of most plants partially yellowed; 5 = pronounced yellowing and stunting, or about 1/2 of the plants wilted or dead; 7 = more than 1/2 of the plants wilted or dead and remaining plants severely stunted or dying; 9 = all plants dead.

²⁾ Numbers in parentheses are the percentage (%) of the total (=100%) mutant lines analyzed.

表三、水稻台農 67 號抗褐飛蟲生理小種 1 突變品系 SA0006 與 SA0285 之遺傳分析 (1995)

Table 3. Genetic analysis of the BPH-resistant mutants SA0006 and SA0285 of the TNG67 variety in response to BPH challenge (1995)

Cross	Replica- tion	Genera- tion	Segregation Number ¹⁾			Ratio tested	X ² test	Theoretical value (p=0.95)
			Resistant	Susceptible	Total			
SA0006 / TNG 67 ²	I	BC ₁ F ₁	46	59	105	1:1	1.610	3.841
SA0006 / TNG 67 ²	II	BC ₁ F ₁	36	36	72		0.000	
SA0285 / TNG 67 ²	I	BC ₁ F ₁	47	65	112	2.893		
SA0285 / TNG 67 ²	II	BC ₁ F ₁	38	34	72	0.222		
SA0006 / TK 2 ²	I	BC ₁ F ₁	60	60	120	0.000		
SA0285 / TK 2 ²	I	BC ₁ F ₁	46	42	88	0.182		
SA0006 / TNG 67	I	F ₂	506	150	656	1.593		
SA0006 / TNG 67	II	F ₂	204	74	278	0.388		
SA0285 / TNG 67	I	F ₂	410	160	570	3:1	2.865	
SA0285 / TNG 67	II	F ₂	204	84	288	2.667		
SA0006 / TK 2	I	F ₂	492	164	656	0.000		
SA0285 / TK 2	I	F ₂	460	179	639	3.093		

¹⁾ Resistant: BPH damage scale less than 3; susceptible: BPH damage scale greater than 7.

分離比，經 X^2 檢測結果，各組合 BC₁F₁ 的實測 X^2 值，介於 0.000 - 2.893，各組合 F₂ 的實測 X^2 值，介於 0.000 - 3.093，皆小 5% 的理論 X^2 值 (3.841)，分別符合 1:1 或 3:1 的一對顯性基因控制之擬說。

培育 SA0285/TNG67 及 SA0285/TK 2 二雜交組合 F₂ 族群之抗蟲單株，分別收穫 F₃ 種子各成系統，點播於檢定盆中，每一系統點播一行各 12 株，兩邊行分別以 TNG67 或 SA0285 為對照。點播後 40 天將人工大量繁殖之褐飛蝨若蟲 (2-3 齡) 釋放於秧苗，約經 25 天，當感蟲之對照品種被害枯萎時 (褐飛蝨之第二代選擇危害造成)，調查記錄各系統植株之存活率 (抗蟲率) (表 4)。由調查結果得知，各系統之存活率皆超過 30%，將 F₃ 系統存活率介於 30 - 99.9% (4/12 - 11/12) 者，推論其抗蟲 F₂ 單株的基因型為異質體 (Rr)；存活率為 100% (12/12) 者，推論其抗蟲 F₂ 單株的基因型為同質體 (RR)，計算結果 (表 5) SA0285 / TNG 67 之 Rr:RR=71:44，SA0285 / TK2 之 Rr:RR=67:33，以一對顯性基因控制之 Rr:RR 的理論分離比 2:1，進行 X^2 測驗，其實測 X^2 值分別為 1.927、0.007，亦皆小 5% 的理論 X^2 值。

為比較突變品系抗褐飛蝨基因與常用的抗蟲品種 Mudgo、Babawee 的抗蟲基因

之異同，1996 年第一期作，以 SA0006、SA0007、SA0236、SA0283、SA0284 及 SA0285 等 6 個抗褐飛蝨突變品系，分別與 Mudgo 及 Babawee 雜交，共獲得 12 個雜交組合，同年第二期作，以單株培育 F₁，於 F₁ 成熟期收穫 F₂ 種子，1997 年 3 月上旬依前述方法進行植株培育、褐飛蝨餵食，調查記錄試驗材料對褐飛蝨之反應。

表 4、F₂ 抗蟲單株之 F₃ 系統對褐飛蝨生理小種 1 之抗、感分離比 (1996)

Table 4. Segregation of F₃ lines derived from BPH-resistant F₂ plants in response to BPH (Race1) challenge (1996)

BPH Resistance Rate (R/T)	Number of F ₃ line in cross of	
	SA0285/TNG67	SA0285/TK2
1/12	0	0
2/12	0	0
3/12	0	0
4/12	0	1
5/12	1	1
6/12	4	0
7/12	4	9
8/12	10	13
9/12	8	13
10/12	23	17
11/12	21	13
12/12	44	33
Total	115	100

表 5、由 F₃ 系統對褐飛蝨生理小種 1 之抗性反應推估抗蟲 F₂ 單株之基因型 (1996)

Table 5. Speculation of the genotype of BPH-resistant F₂ by analyzing the BPH (Race1) response in F₃ lines (1996)

Cross	Resistance ratio (%) of F ₃			Total line tested	X^2 value RR:Rr = 1:2
	<29.9%	30 - 99.9% (F ₂ =Rr)	100% (F ₂ =RR)		
SA0285 / TNG 67	0	71	44	115	1.927
SA0285 / TK 2	0	67	33	100	0.007
Total	0	138	77	215	1.707

表六、六個抗褐飛蝨突變品系與 Mudgo、Babawee 品種之雜交組合 F₂ 族群對褐飛蝨生理小種 1 之反應(1997)

Table 6. BPH (Race1) responses of the F₂ populations of crosses made between 6 resistant mutants and the 2 javanica varieties of Mudgo and Babawee (1997)

Cross	Number of F ₂ plant			Resistant ratio (%)
	Resistant	Susceptible	Total	
SA0006 / Mudgo	232	128	360	64.4
SA0007 / Mudgo	147	32	179	82.1
SA0236 / Mudgo	123	54	177	69.5
SA0283 / Mudgo	141	39	180	78.3
SA0284 / Mudgo	134	46	180	74.4
SA0285 / Mudgo	108	70	178	60.7
SA0006 / Babawee	210	148	358	58.7
SA0007 / Babawee	99	79	178	55.6
SA0236 / Babawee	63	114	177	35.6
SA0283 / Babawee	119	60	179	66.5
SA0284 / Babawee	91	89	180	50.6
SA0285 / Babawee	183	174	357	51.3

檢定結果詳如表六，6 個抗褐飛蝨突變品系與 Mudgo 及 Babawee 雜交之 F₂ 族群皆出現抗、感株的分離，其中與 Mudgo 雜交 F₂ 族群的抗蟲單株介於 60.7 - 82.1%，而與 Babawee 雜交 F₂ 族群的抗蟲單株介於 35.6 - 66.5%，顯示 SA0006、SA0007、SA0236、SA0284、SA0283 及 SA0285 等 6 個抗褐飛蝨突變品系應與 Mudgo 或 Babawee 的抗蟲基因不同。

為比較 SA0006、SA0007、SA0235、SA0236、SA0284、SA0283、SA0285 及 TNG69 等抗褐飛蝨品種(系)，彼此間抗褐飛蝨基因的異同，1996 年第一期作，以抗褐飛蝨突變品系 SA0006、SA0007、SA0235、SA0236、SA0284、SA0283 及 SA0285 及感蟲品種 TNG67 與抗蟲品種 TNG69 等 9 個品種(系)，進行半互交，共得 36 個雜交組合，F₁ 苗圃間以單本植培育，經汰偽汰雜，成熟期收穫 F₂ 種子，繼而以單本植培育 F₂ 族群，成熟期各組合分別收穫不經

選拔之 50 - 88 個單株，分別成爲 F₃ 系統，以秧苗集團篩檢法進行篩檢，篩檢結果：各組合之感蟲百分率介於 0.0 - 88.0% (詳如表七)，就這 36 個雜交組合，進行比較，其中有 8 個組合爲以感蟲的 TNG67 爲母本，除了 TNG67 / SA0235 的感蟲率達 88.0% 外，其餘組合的感蟲率約爲四分之一，近似一對顯性基因所控制之性狀表現，而 TNG67 / SA0235 的感蟲率明顯偏高，可能爲隱性基因所控制；以抗蟲的 TNG69 與抗褐飛蝨突變品系雜交的 7 個組合中 TNG69 / SA0284 及 SA0283 / TNG69 二組合的感蟲百分率皆爲 0，其餘各組合之感蟲百分率，介於 1.1 - 22.5%，此結果顯示 SA0006、SA0007、SA0235、SA0236 及 SA0285 等 5 個抗蟲突變品系之抗蟲基因，與 TNG69 之抗蟲基因不同，而 SA0283 與 SA0284 二突變抗蟲突變品系之抗蟲基因，有可能與 TNG69 相同，但因檢測樣品數只有 67 - 88 個，因此尚待進一步試驗予

頭七、六個抗褐飛蝨突變品系與台農 67 號、台農 69 號雜交組合之 F₃ 系統對褐飛蝨生理小種 1 之反應(1997)

Table 7. BPH-susceptibility ratio (%) of F₃ lines in the half-diallelic crosses made between 6 BPH-resistant mutants, TNG67 (BPH-S) and TNG69 (BPH-R) varieties (1997)

Female \ Male	BPH susceptible ratio (%) in F3 line							
	TNG 69	SA0006	SA0007	SA0235	SA0236	SA0283	SA0284	SA0285
TNG 67	25.5	29.0	22.0	88.0	28.0	24.0	30.0	24.0
TNG 69		1.1	2.7	22.5	1.2	--	0.0	--
SA0006			0.0	11.1	2.9	0.0	1.3	6.9
SA0007				5.9	26.8	0.0	0.0	2.3
SA0235					18.0	9.6	22.2	0.0
SA0236						6.8	1.6	4.6
SA0283	0.0						1.8	1.5
SA0284								5.3
SA0285	1.2							

以確認；抗褐飛蝨突變品系間互交的有 21 個組合，其中 SA0006 / SA0007、SA0006 / SA0283、SA0007 / SA0283、SA0007 / SA0284、SA0235 / SA0285 等 5 個雜交組合之感蟲百分率皆為 0，其餘各組合之感蟲百分率，介於 1.3 - 26.8%，此結果顯示 SA0006 與 SA0007、SA0006 與 SA0283、SA0007 與 SA0283、SA0007 與 SA0284、SA0235 與 SA0285 等的抗蟲基因可能相同，但因檢測樣品數只有 50 - 88 個，亦尚待進一步試驗予以確認；而其餘 16 個組合的 F₃ 系統呈現抗、感分離現象，因此其二親本間的抗蟲基因應為不同。

討 論

水稻為台灣最主要作物之一，稻米為重要糧食，褐飛蝨自 1950 年代後期在台灣興起，而於 1960 年間在台灣各地猖獗為害，迄今仍為水稻之最主要害蟲⁽⁵⁾；因此抗蟲育種更顯其重要性，台灣地區水稻抗褐飛蝨育種之抗源，除台農 69 號外，多為秈稻，而台灣地區以栽培稈稻為主，因此

稈稻抗源之開發與使用具有其重要性。

水稻台農 67 號雖然對褐飛蝨、稻熱病、白葉枯病等許多病蟲害皆具抗性，但因其具有適應性廣、忍受性高及易於栽培等特性，自 1978 年命名推廣後，第二年即成為栽培最廣的品種。為改良台農 67 號對病、蟲害的抗性，農試所三次以 0.1mM 疊氮化鈉 (NaN₃) 處理水稻臺農 67 號種子進行化學誘變，計獲得一以台農 67 號遺傳背景近似 (99.5% 以上) 之同源突變庫，即含約 3,000 突變品系⁽²³⁾。這些突變品系曾分別經過 2 或 3 次的褐飛蝨生理小種 1 之抗性篩檢，呈現明顯的變異，二批誘變品系顯現近似的變異性，三次篩檢結果分別有 9.6 - 23.0% 呈現抗蟲性 (<3 級)；第一次誘變處理獲得之突變品系，分別有 11 (3.4%)、25 (7.7%) 個對褐飛蝨生理小種 2 及生理小種 3 呈現 3 級抗性，而水稻台農 67 號對褐飛蝨生理小種 2 及生理小種 3 無抗性，顯示疊氮化鈉誘變處理，確可將不抗褐飛蝨的品種，誘導變成對褐飛蝨生理小種 1、2 及 3 具有抗性的品系，且其誘變率頗高。

比較二次篩檢第一次誘變處理的突變品系對褐飛蟲生理小種 1 的抵抗力結果，有 SA0006、SA0007、SA0015、SA0037、SA0038、SA0041、SA0045、SA0048、SA0055、SA0056、SA0057、SA0058、SA0080、SA0105、SA0108、SA0110、SA0111、SA0159、SA0235、SA0236、SA0239、SA0283、SA0284 等 24 個品系在二次篩檢皆呈現抗級。有 SA0081、SA0106、SA0131、SA0286、SA0294、SA0133、SA0160 等 7 個品系在第一次篩檢呈現抗級，在第二次篩檢呈現中抗級；SA0287、SA0020、SA0028、SA0040、SA0051、SA0078、SA0132 等 7 個品系在第一次篩檢呈現抗級，而在第二次篩檢呈現感級。SA0049、SA0281、SA0293、SA0285 等 4 個品系在第二次篩檢呈現抗級，在第一次篩檢呈現中抗級；SA0017、SA0050 等 2 個品系在第二次篩檢呈現抗級，在第一次篩檢呈現感級。

綜括第一次誘變處理之突變品系對褐飛蟲三種生理小種均呈現抗性反應者有 SA0006、SA0038、SA0080、SA0088、SA0159 及 SA0283 等 6 個品系；另外有 SA0007、SA0041、SA0045、SA0046、SA0048、SA0055、SA0056、SA0057、SA0058、SA0105、SA0236 及 SA0284 等 12 品系，對褐飛蟲生理小種 1 呈抗性，而對生理小種 2 及 3 呈現中抗或抗級，這 18 個品系，可供水稻褐飛蟲之抗蟲育種或其他研究之材料。

古水稻褐飛蟲的抗性遺傳研究⁽¹⁷⁾，Athwal 等^(8,11)最早利用抗、感品種雜交後裔分離族群，經接蟲篩檢後，進行遺傳分析，共篩選到 4 個抗褐飛蟲品種 Mudgo、ASD7、MTU15 及 CO22，其抗性均受單基因座所控制，其中 Mudgo、MTU15 及 CO22 係受顯性基因控制，命名為 *Bph1*；ASD7 係受隱性基因控制，命名為 *bph2*。經等位性測驗 (allelism test) 結果，顯示

Bph1 與 *bph2* 可能是等位 (allelic) 或是緊密連鎖的基因。Lakshminarayana 與 Khush⁽¹⁸⁾以等位性測驗古 Rathu Heenati 品種中發現另一顯性基因，與 *Bph1* 呈獨立分離，命名為 *Bph3*；而在 Babawee 品種中發現另一隱性基因，與 *bph2* 呈獨立分離，命名為 *bph4*。Khush 等^(16,20)古水稻品種 ARC10550 中發現隱性抗褐飛蟲基 *bph5*，Kabirand 與 Khush⁽¹⁵⁾古水稻品種 Swarnalata 中發現顯性抗褐飛蟲基 *Bph6*；並在 T12 品種中發現隱性抗褐飛蟲基因 *bph7*。Nemoto 等⁽¹⁹⁾古水稻品種 Chin saba 中發現隱性抗褐飛蟲基 *bph8*；在 Balamawee 品種中發現顯性基因 *Bph9*。Ishii 等⁽¹⁴⁾古水稻品種 IR65482-4-136 中發現顯性抗褐飛蟲基 *Bph-10 (t)*，其抗源來自野稻 *O. australiensis*。平林氏等^(6,21)古水稻品種 IR54742-23-19-16-12 中發現隱性的抗褐飛蟲基 *bph11 (t)*，古水稻品種 IR54742 (GSK185-2) 中發現隱性的抗褐飛蟲基 *bph12 (t)*，其抗源均來自 *O. officinalis*⁽²¹⁾。平林氏⁽⁶⁾報告指出 Liu 等自 *O. eichingeri* 導入抗蟲基因，命名為 *Bph13 (t)*。在目前 13 個抗褐飛蟲基因中 6 個為顯性基因，7 個為隱性基因，第 10-13 基因係自野稻導入，而這些基因中以 *Bph1*、*bph2*、*Bph3* 及 *bph4* 等四個基因被研究與應用較廣，但目前尚未有任何褐飛蟲抗性基因被選殖出來。

疊氮化鈉誘變處理台農 67 號種子，所獲得的 SA0006 及 SA0285 二個抗褐飛蟲突變品系，經一系列的抗褐飛蟲基因檢測，其 BC₁F₁ (表三)、F₂ (表三)、抗蟲 F₂ 單株之後裔 (表四、五) 的檢測資料皆符合一對顯性基因控制之假說，應可推論突變品系 SA0006 及 SA0285 的抗褐飛蟲基因為一對顯性基因，與 Wang 等人⁽²²⁾先前之研究結果相符。SA0006 及 SA0285 的抗褐飛蟲基因雖同樣為一對顯性基因，但由其雜交 F₂ 集團不經選拔收取單株，進行抗褐

飛蝨檢定，有 6.9% 的單株為感蟲反應（表七）顯示，二品系的抗褐飛蝨基因是不同的，此一結果與周氏⁽¹⁾的報告相符，周氏利用差異表現法自 SA0006 及 SA0285 篩選抗褐飛蝨相關基因，發現二品系與褐飛蝨抗性相關的殖系不同，且其染色體上之分布情形也不同。Wang 等人⁽²²⁾ 利用限制片段長度多型性（RFLP）分析亦發現二突變體具明顯差異，這些結果皆顯示 SA0006 與 SA0285 二突變品系的褐飛蝨抗性基因是不相同的。

SA0007、SA0236、SA0284 及 SA0283 等 4 個抗褐飛蝨突變品系與 TNG67 之雜種 F₃ 後裔，呈現約 22 - 30% 的感蟲率，與 TNG67/SA0006、TNG67/SA0285 之雜種 F₃ 的表現近似（表七），推論 SA0007、SA0236、SA0284 及 SA0283 可能與 SA0006、SA0285 相似，亦受一對顯性基因控制；而 TNG67/SA0235 之雜種 F₃ 的感蟲率達 88%（表七），應為隱性基因控制，與 SA0006、SA0285 的表現有極大的差異。∪，SA0006、SA0007、SA0236、SA0284、SA0283 及 SA0285 等 6 個抗褐飛蝨突變品系與 Mudgo 或 Babawee 的雜交後裔對褐飛蝨呈現抗感分離現象（表六），顯示此 6 個抗褐飛蝨突變品系應與 Mudgo 或 Babawee 的抗蟲基因不同。

依據本試驗結果推論 6 個突變品系的抗褐飛蝨基因為一對顯性基因控制，就褐飛蝨生理小種 1 篩檢反應而言，與具有 *bph4* 隱性基因的 Babawee 雜交其 F₂ 的理論抗蟲率應為 75%，而本調查結果只有 35.6 - 66.5%；與具有 *Bph1* 顯性基因的 Mudgo 雜交其 F₂ 的理論抗蟲率應為 93.3%，而本調查結果只有 60.7 - 82.1%，顯示此實測抗蟲率有偏低之現象，推測其原因，可能是篩選壓力過高，以致一些中抗的單株亦死亡，使實測值低於理論值。但就各個突變品系與 Babawee 或 Mudgo 之 F₂ 兩兩比較結果，與 Mudgo 雜交之 F₂ 的抗

蟲率皆高於與 Babawee 雜交者。而此 6 個抗褐飛蝨突變品系的抗蟲基因與 Mudgo 不同，而 Mudgo 的抗蟲基因為 *Bph1*，因此，6 個抗褐飛蝨突變品系的抗蟲基因與 *Bph3*、*Bph6*、*Bph9*、*Bph10* 或 *Bph13* 等基因的關係為何？或是為一尚未被發現的新基因，則有待進一步之探討。

抗褐飛蝨突變品系間半力交的 21 組合，就其完全不受篩選的 F₃，進行褐飛蝨抗性篩檢，各雜交組合之感蟲百分率為 0 - 26.8%，一般而言，雜種後裔如皆呈抗蟲反應，則其二親本的抗蟲基因應該相同，若雜種後裔呈現抗感分離反應，則其二親本的抗蟲基因型應不相同，但因本試驗之檢測樣品數只有 50 - 88 個，要判定抗蟲基因相同似有偏低情形，但應足以判定抗蟲基因不同，因此 SA0006 與 SA0007、SA0006 與 SA0283、SA0007 與 SA0283、SA0007 與 SA0284、SA0235 與 SA0285 等的抗蟲基因可能相同，但尚待進一步試驗予以確認；而其餘 16 個組合之二親本的抗蟲基因不同，應無疑問。由此結果顯示，抗褐飛蝨突變品系的抗蟲基因，彼此間多數不同，顯示疊氮化鈉誘變處理台農 67 號種所誘導的褐飛蝨抗性基因型並不是唯一的，而是多數的，造成各個抗褐飛蝨突變品系有不同的染色體位置發生變異，產生不同的抗性基因，這些具有差異的抗蟲基因，對水稻抗褐飛蝨育種將具有深遠的意義，若能將不同基因合併於同一品種，育成廣幅抗性品種，將可避免或延緩抗蟲基因之崩潰，對稻作產業將有極大的貢獻。至於為何疊氮化鈉有如此顯著之誘變效果，而其誘變機制為何？將於另文探討。

國內水稻抗褐飛蝨育種工作始於 1968 年，初期以秈稻抗蟲育種為目標，抗源品種皆為秈稻，且抗蟲基因近似，對於粳稻抗蟲育種幫助不大，至 1984 年台農 69 號命名推廣後，始有抗蟲基因不同的粳型抗源。本省水稻抗褐飛蝨育種使用之抗蟲基

因以 *Bph1* 為引，以日危害本省稻作之褐飛蟲亦以生理小種 1 為引，但平林氏 (2002) 引用歌川 (1992)、田中 (1999) 及 Tanaka 與 Matsumura (2000) 之報告指出⁽⁶⁾，已有不同生理小種的褐飛蟲飛到日本，因此日本正著重導入不同抗蟲基因之品種改良工作；國內雖尚無其他生理小種的褐飛蟲入侵之報導，但台灣與日本同樣易受東南亞其他國家或地區的褐飛蟲入侵，因此導入不同抗蟲基因，育成廣幅抗性品種之工作，亦為本省水稻育種當務之急，因此不同抗性基因之來源更具重要性。本報告之結果顯示台農 67 號突變庫中，抗褐飛蟲突變品系的抗性基因，具有多樣性，其中 SA0006、SA0038、SA0080、SA0088、SA0159 及 SA0283 等 6 個品系，對褐飛蟲三個生理小種皆呈抗性，且 SA0006 及 SA0283 的抗蟲基因與 Mudgo (*Bph1*) 不同，應是籼後水稻抗褐飛蟲育種極佳的抗源，值得深入研究並予利用。

引用文獻

- 周琪英。2002。利用差異表現法自水稻突變體篩選抗褐飛蟲相關基因。中興大學碩士論文。
- 陳治官、黃真真。1984。疊氮化鈉對水稻台農 67 號之誘變效應。中華農業研究 33: 345-353。
- 鄭清煥。1975。作物抗蟲現象及其有害蟲防治上之利用價值。植保會刊 17: 81-98。
- 鄭清煥。1991。台灣作物抗蟲育種之研究與發展。近年來台灣昆蟲學之研究發展研討會專刊 第 99-126 頁。
- 鄭清煥。1997。氣候因子對水稻褐飛蟲長距離遷移及其族群豐度之影響。氣象因子與作物病蟲害發生研討會論文集 輯 第 163-180 頁。中華氣象學會出版。
- 平林秀介。2002。イネのウンカ類抵抗性遺傳子とその利用。植物防疫 56: 483-487。
- Afsar Awan, M., Konzak, C. F., Rutger, J. N., and Nilan, R. A. 1980. Mutagenic effects of sodium azide in rice. *Crop Sci.* 20: 663-668.
- Athwal, D. S., Pathak, M. D., Bacalangco E. H., and Pura, C. D. 1971. Genetics of resistance to brown planthoppers and green leafhoppers in *Oryza sativa* L. *Crop Sci.* 11: 747-750.
- Cheng, C. H. 1983. Studies on the integrated control of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal) in Taiwan. PhD Thesis, Tokyo University, Tokyo, Japan, 335pp.
- Guimaraes, E. P., and Ando, A. 1980. Effect of the use of the mutagens sodium azide and gamma radiation in rice seeds. *Ciencia Cultura*, 32: 619-622.
- Ikeda, R., and Kaneda, C. 1981. Genetic analysis of resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal., in rice. *Jpn. J. Breed.* 31: 279-285.
- IBPGR-IRRI. 1980. Descriptors for Rice. IRRI, Philippines 21 pp.
- International Rice Testing Program. 1980. Standard evaluation system for rice. 2nd Ed. IRRI, Philippines 44 pp.
- Ishii, T., Brar, D. S., Multani, D. S., and Khush G. S. 1994. Genome molecular tagging of genes for brown planthopper resistance and earliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice, *O. sativa*. 37: 217-221.
- Kabirand, M. A., and Khush, G. S. 1988. Genetics analysis of resistance to brown planthopper in rice, *Oryza Sativa* L. *Plant Breed.* 100: 54-58
- Khush, G. S., Karim, A. N. M. R., and

- Angeles, E. R. 198. Genetics of resistance of rice cultivar ARC10550 to Bangladesh brown planthopper biotype. *J. Genet.* 64: 121-125.
17. Kinoshita, T. 1995. Report of committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. *RGN* 12: 9-153.
18. Lakshminarayana, A., and Khush, G. S. 1977. New genes for resistance to the brown planthopper in rice. *Crop Sci.* 17: 96-100.
19. Nemoto, H., Ikeda, R., and Kaneda, C. 1989. New genes for resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal., in rice. *Jpn. Breed.* 39: 23-28.
20. Sidhu, G. S., and Khush, G. S. 1978. Genetic analysis of brown planthopper resistance in twenty varieties of rice, *Oryza sativa* L. *Theo. Appl. Genet.* 53: 199-203.
21. Yoshimura, A., and Nagato, Y. 2000. Report of committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. *RGN* 18: 6-8.
22. Wang, C. S., You, S. J., Tseng, T. H., Cheng, C. H., Chern, C. G., Lin, J. L., and Kuo, Y. C. 1997. Development of RAPD markers linked to brown planthopper resistance gene from rice mutants. pp. 59-71. *In: Proceeding of The 5th international rice biotechnology symposium, Academia Sinica, Taipei, Taiwan.*
23. Wang, C. S., Tseng, T. H., and Lin, C. Y. 2002. Rice biotech research at the Taiwan Agricultural Research Institute. *APBN.* 6: 950-956.

ABSTRACT

Tseng, T. H.¹, Cheng, C. H.², Chern, C. G.¹, Yen, S. M.¹, Jeng, T. L.¹, Jwo, W. S.¹, and Wang, C. S.^{1*} 2003. Response and genetic analysis of brown planthopper resistance in rice mutants of the TNG67 variety. Plant Prot. Bull. 45: 211 – 223.** (¹Agronomy Division, Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung, Taiwan 413, ROC; ²Department of Plant Protection, Chia-Yi Branch, Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Taiwan 600, ROC)

Pure line mutants from the mutation pools of the TNG67 rice variety derived from seed mutagenesis using sodium azide were subjected to brown planthopper (BPH) challenge by the bulk-seedling method. About 9.6% – 12.5%, 3.4%, and 7.7% of the mutants from the first mutation pool showed resistance (score ≤ 3) to Race 1, Race 2, and Race 3 of BPH, respectively. Among them, 6 mutants (SA0006, SA0038, SA0080, SA0088, SA0159, and SA0283) were resistant to all races of BPH tested. In the second mutation pool, about 19.2% – 26.0% of mutants showed resistance to BPH Race 1. Our experiments demonstrated that sodium azide produced a significant mutagenesis effect on inducing resistance to TNG67, a BPH-susceptible variety, at a rather high rate. A genetic study of BPH resistance of mutants SA0006 and SA0285 was conducted by crossing to the susceptible varieties TNG67 and TK2; the segregation of resistant (R) to susceptible (S) progenies in F₂ or BC₁F₁ was 3:1 and 1:1, respectively, suggesting that the resistance was controlled by a single dominant gene. Significant segregations were observed in the F₂ of crosses made between the resistant mutants (SA0006, SA0007, SA0236, SA0283, SA0284, and SA0285), Mudgo (*Bph1*), and Babawee (*bph4*) indicating that their resistant genes are distinct. BPH responses in F₃ of half-diallelic crosses made among 6 BPH-resistant mutants and 2 varieties, TNG67 (S) and TNG69 (R), showed that all crosses derived from TNG67 as their mother parents produced only 1/4 susceptible progeny, except that of SA0235 (88%), indicating that a single dominant gene was individually involved. Segregation of the BPH response was found in 21 F₃ populations of crosses made between the resistant lines suggesting that the resistant genes of parents differ; however, progeny of 7 populations were all resistant to BPH, indicating that parents have the same resistant genotype. The BPH-resistant mutants obtained in this experiment provide good resources for resistant gene cloning and for breeding BPH-resistant rice varieties.

(Key words: rice, mutation pool, genetics, brown planthopper (BPH), resistance, mutant, sodium azide)

*Corresponding author. E-mail: cswang@wufeng.tari.gov.tw

**Contribution no. 2137 from Agricultural Research Institute.