

水稻抗白葉枯病之分子標誌輔助育種¹

張瑞炘²、楊嘉凌²、許志聖²

摘 要

白葉枯病是國內水稻重要的細菌性傳染病，由*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*感染所引起，為控制此傳染病之危害，目前研究已發現30個以上的抗病基因，國際水稻研究所並育成以IR24品系為遺傳背景且帶有各種抗病基因的近同源系，IRBB66為其中之一。本試驗分別以臺中秈10號與臺梗9號為母本，抗白葉枯病品系IRBB66為父本進行雜交，雜交後裔之F₂族群各有256單株，分別以STS、SSR與CAPS等分子標誌針對 $xa5$ 、 $Xa7$ 及 $Xa21$ 等抗病基因進行檢測。檢測結果顯示，試驗中所使用的分子標誌皆具有可區分而易判別之多型性，在臺中秈10號 × IRBB66之F₂族群中， $xa5$ 、 $Xa7$ 及 $Xa21$ 等3個抗病基因連鎖之同質結合分子標誌基因型個體分別佔27.95%、20.88%及24.08%；而在臺梗9號 × IRBB66之F₂族群中， $xa5$ 、 $Xa7$ 及 $Xa21$ 的抗病基因連鎖之分子標誌同質結合基因型個體分別佔25.0%、18.95%及24.28%。各基因型之分佈，大部分皆符合孟德爾遺傳分離律之比例，唯有 $Xa7$ 基因在臺梗9號 × IRBB66之F₂族群有分離偏差之現象。本試驗獲得的抗病基因之遺傳行為資訊，有助於未來擬定正確的育種策略，且試驗採用的分子標誌輔助育種試驗模式，提供比傳統抗病性狀調查更明確的選種依據，有助於縮短育種年限，對未來的育種研究工作有良好的應用價值。

關鍵字：水稻白葉枯病，*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*，分子標誌輔助育種。

前 言

水稻白葉枯病是重要的細菌性傳染病，由*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*之感染所引起，經常對臺灣的稻作生產造成危害，好發期間為每年的二期作，因近年來臺灣經常受到颱風侵襲，強風豪雨造成的葉片損傷容易導致病菌之感染，進而導致減產，如何控制白葉枯病之危害是亟待解決的問題。控制作物病害的策略有育成抗病品種、化學藥劑控制及調整栽培管理模式等，其中最符合經濟效益者為育成抗病品種⁽¹⁾。研發抗病品種之試驗過程中最大的困難為環境因素的影響，以往接菌誘導發病之試驗除了費工、耗時之外，特別容易受到氣候的干擾而造成性狀表現不穩定，導致抗病性狀調查困難。另一方面，若抗病性是由2對以上的基因所控制，亦會造成統計分析上的困難。因此，抗白葉枯病品種之育種需要更穩定的選種模式⁽¹¹⁾。

¹行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第0758號。

²行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員、助理研究員、副研究員。

分子標誌輔助育種技術(marker assisted selection, MAS)是近年來運用於作物育種的重要技術，主要是利用作物基因組中，可被穩定偵測的核酸片段，作為偵測目標基因的工具，目前已有多種作物利用分子標誌建構遺傳圖譜^(4,5,9,17,23)。分子標誌與目標性狀基因之關係，大致上可分為連鎖性標誌(linkage marker)與功能性標誌(functional marker)。連鎖性標誌是指這一類分子標誌與目標基因的遺傳距離較短，發生互換的機率很低，因此育種家可藉由偵測連鎖性標誌來掌握目標基因的動向。一般而言，連鎖性標誌與目標基因的遺傳距離若低於5 cM，則可利用於輔助育種。而功能性標誌則位於目標基因上，遺傳距離為零，輔助選種時可預測性達到百分之百⁽¹³⁾。

目前已有超過30個水稻抗白葉枯病基因被發現，分別為*Xa1*到*xa32*⁽⁶⁾，本篇報告的研究目標是*xa5*、*Xa7*及*Xa21*等3種抗病基因。*xa5*基因是一隱性抗病基因，Li等人的研究指出*xa5*有部分顯性效應，並有增強*Xa4*及*Xa21*基因的抗病性的交感效應⁽¹⁵⁾。2004年Iyer-Pascuzzi等的研究指出*xa5*編碼的蛋白質是一個轉錄因子的次單位(TRIIA γ)^(12,14)，Iyer-Pascuzzi與McCouch並於2007年開發了*xa5*的功能性標誌⁽¹³⁾。*Xa7*基因為顯性抗病基因，Sidhu等人在抗病水稻品系DV85中發現此基因⁽²¹⁾，Ogawa等曾利用回交法將*Xa7*基因轉移到IR24品系，育成抗病品系IRBB7⁽¹⁸⁾，Porter等曾定位*Xa7*在水稻基因組的位置，並發展*Xa7*的連鎖分子標誌M5⁽¹⁹⁾，因M5本身不具共顯性，輔助選種時無法分辨顯性同質結合與異質結合基因型個體，故選種強度較差。Chen等找到RM20580和RM20595等簡單重複序列(simple sequence repeat, SSR)標誌，與*Xa7*的遺傳距離不到0.5 cM，且具共顯性，比M5更適合應用於*Xa7*的輔助育種⁽⁶⁾，本次試驗則同時使用M5、RM20580及RM20595來偵測*Xa7*，並且比較其選種效率之差異。*Xa21*是從野生稻*Oryza longistaminata*發現的顯性抗病基因，其編碼的蛋白質屬於多亮胺酸區域(leucine rich region, LRR)結合蛋白質^(20,22)，*Xa21*的連鎖分子標誌pTA248是從隨機增幅多型性引子RAPD248的PCR產物設計而來⁽⁷⁾，Williams等曾利用pTA248分子標誌協助育成具有*Xa21*的IR24近同源系IRBB21⁽²⁶⁾。

雖然已有對多種不同生理小種的抗性品系育成，但病菌本身的族群演變速度相當快，每一年度流行的生理小種可能變動，所以選育抗病品種的策略要以堆疊多種抗病基因為目標，才可以維持長期有效的抗性。多種抗病基因的堆疊不僅有助於改進抗病性的「質的性狀」，也有助於改進「量的性狀」^(8,11,15)。所謂「質的性狀」是針對不同生理小種的垂直抗性幅度增廣，而「量的性狀」是指橫式抗性增強。本次試驗中使用的雜交親本IRBB66，是堆疊*Xa4*、*xa5*、*Xa7*、*xa13*及*Xa21*等5個基因的抗病品系，因此在F₂分離世代會有5種抗病基因互相排列組合的各種抗病基因型，不僅提供多樣化的分離族群作為選種來源，同時也是研究抗白葉枯病基因遺傳行為的良好試驗材料。本次研究是以良質米品種臺中秈10號與臺稈9號為母本而IRBB66為父本進行雜交，產生此兩種雜交組合產生F₂分離族群後，利用STS (sequence tagged site)、SSR (simple sequence repeat)與CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence)等分子標誌檢測F₂族群中*xa5*、*Xa7*及*Xa21*等3個基因座基因型之分離情形。檢測之結果不僅可以作為早

代選種之依據，也可藉此了解這些抗病基因的遺傳行為，作為未來擬定抗白葉枯病育種選拔策略之參考。

材料與方法

參試水稻品種(系)與雜交族群

試驗材料中的雜交組合，母本為本場育成之良質米品種臺中秈10號與臺梗9號，父本為國際水稻研究所(IRRI)提供的抗白葉枯病秈稻品系IRBB66，IRBB66具有五種抗病基因之堆疊，分別為*Xa4*、*xa5*、*Xa7*、*xa13*及*Xa21*。本試驗於99年一期作進行雜交，同年二期作栽培F₁，100年一期作栽培F₂族群。為方便標定位置，採用128孔之穴盤，每穴栽培1個F₂族群之種子，於三葉齡進行採樣，樣品為每個單株剪下5 mm的葉片組織，為避免DNA交互污染，每個單株剪葉之間隔以70%酒精棉花擦拭剪刀，經採樣後各樣品皆進行*xa5*、*Xa7*及*Xa21*等3種抗病基因之分子標誌檢測。

萃取核酸與聚合酵素連鎖反應

萃取核酸採用的試劑為Plant Genomic DNA Purification Kit (GeneMark, Taiwan)，將葉片組織置於1.5 mL離心管，浸泡於液態氮，以鋼珠振盪磨碎之後，按照產品操作手冊之步驟進行核酸萃取，已萃取之核酸保存於-20°C冰箱備用。聚合酵素連鎖反應(PCR)使用的試劑為Fast-Run *Taq* Master Kit (Protech Technology, Taiwan)，總反應體積為25 μ L，內含10 mM Tris-HCl、50 mM KCl、0.01% Gelatin、1.5 mM MgCl₂、0.1% Triton X-100、3.75 U *Taq* DNA polymerase、1 μ L DNA及0.4 μ M引子。試驗中採用的核酸引子皆由源資國際生物科技股份有限公司合成(Tri-I Biotech, Taiwan)，反應儀器為GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA)，反應溫度及反應時間依各分子標誌之不同而調整。

抗病基因*xa5*之檢測

使用Iyer-Pascuzzi與McCouch開發的CAPS標誌⁽¹³⁾，其原理是利用限制酵素*BsrI*或*SmlI*切割*xa5*基因序列的PCR產物，利用切割後的核酸片段多型性分辨抗病與感病基因型。PCR反應條件為94°C 3分鐘，接著循環33次 94°C 30秒、50°C 30秒、72°C 60秒。最後是72°C 5分鐘。PCR引子序列如下：F：5'-GATAGCAGCATTTCCTCAAGAG-3'；R：5'-GATTCCTTTAGCAAGGTGTG-3'。切割酵素採用*BsrI* (New England Biolabs, UK)，操作過程按照產品使用說明書。完成限制酵素切割反應後以2%瓊脂膠(Agarose I, Amresco, USA)進行電泳分析。

抗病基因*Xa7*之檢測

在臺中秈10號 × IRBB66之F₂族群使用M5及RM20595兩種分子標誌，在臺梗9號 × IRBB66之F₂族群則使用M5及RM20580，以上3種分子標誌都是進行PCR增幅後直接以電泳分析核酸片段大小，引子序列如下：M5F：5'-CGAT CTTACTGGCTCTGCAACTCTGT-3'；M5R：5'-GCATGTCTGTGTCGAT TCGTCCGTACGA-3'，PCR條件為94°C 5分鐘，接著循環30次94°C 30秒、55°C 30秒、72°C 60秒，最後是72°C 5分鐘。RM20595之序列為F：5'-AACTTCCTTTCCAGGCTTTCAGC-3'。R：5'-TTCCTGAGCCTGAACACATT GC-3'，PCR反應條

件為94°C 5分鐘，接著循環35次94°C 30秒、60°C 45秒、72°C 60秒。最後是72°C 5分鐘。電泳時M5之PCR產物採用1.5%瓊脂膠(Agarose I, Amresco, USA)進行電泳分析，而RM20595及RM20580以3%高解析度瓊脂膠(SFR Agarose, Amresco, USA)進行電泳分析。

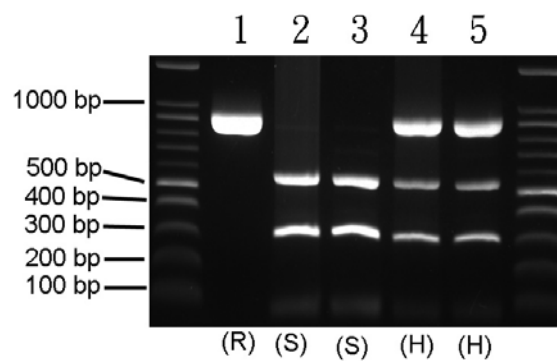
抗病基因*Xa21*之檢測

針對*Xa21*基因，採用的分子標誌為pTA248，序列為F：5'-AGACGCGGAAGGGTGGTTCCCGGA-3'；R：5'-AGACCGGTAATCGAAAGATGAAA-3'，PCR反應條件為94°C 5分鐘，接著循環30次94°C 30秒、55°C 30秒、72°C 60秒。最後是72°C 5分鐘。PCR增幅產物直接以1.5%瓊脂膠(Agarose I, Amresco, USA)進行電泳分析。

結 果

一、各分子標誌之多型性測試

以CAPS檢測*xa5*基因座之結果如圖一所示，分別以IRBB66、臺稈9號、臺中秈10號、臺稈9號 × IRBB66之F₁、臺中秈10號 × IRBB66之F₁進行PCR及限制酵素切割反應之結果，依序分別為Lane 1到Lane 5，由圖中可輕易判別抗病型同質結個體的PCR產物為850 bp，無法以*BsrI*限制酵素切割因此只有一個條帶，而感病型同質結合個體的PCR產物經*BsrI*限制酵素切割後，形成300 bp及550 bp兩個條帶。而異質結合之F₁個體則有850 bp、300 bp及550 bp三個條帶。

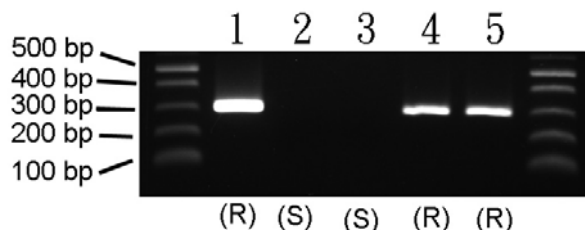


圖一、以 CAPS 分子標誌檢測 *xa5* 基因座之膠體電泳結果，Lane 1 到 Lane 5 分別代表 IRBB66、臺稈9號、臺中秈10號、臺稈9號 × IRBB66 之 F₁、臺中秈10號 × IRBB66 之 F₁。基因型之代號為(R)抗病同質結合型；(S)感病同質結合型；(H)異質結合型。

Fig. 1. The electrophoretic profiles of CAPS markers for detecting *xa5* locus. The samples from lane 1 to lane 5 are IRBB66, TK9, TCS10, F₁ of TK9 × IRBB66 and F₁ of TCS10 × IRBB66 respectively. The genotypes are homozygous resistant (R), homozygous susceptible (S), and heterozygous (H).

以M5標誌檢測*Xa7*基因座之結果如圖二所示，Lane 1 至Lane 5依序為IRBB66、臺稈9號、臺中秈10號、臺稈9號 × IRBB66之F₁、臺中秈10號 × IRBB66之F₁，M5標誌不具共顯性，因

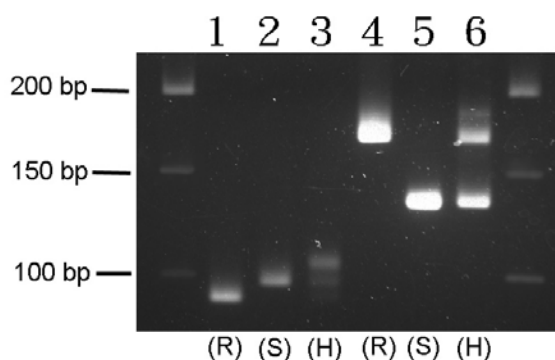
此抗病型同質結合個體與異質結合個體的PCR產物的條帶大小為300 bp，感病型同質結合個體在300 bp處則無條帶。



圖二、以 M5 分子標誌檢測 *Xa7* 基因座之膠體電泳結果，Lane 1 到 Lane 5 分別代表 IRBB66、臺稈 9 號、臺中秈 10 號、臺稈 9 號 × IRBB66 之 F₁、臺中秈 10 號 × IRBB66 之 F₁。基因型之代號為(R)抗病同質結合型或異質結合型，以及(S)感病同質結合型。

Fig. 2. The electrophoretic profiles of M5 markers for detecting *Xa7* locus. The samples from lane 1 to lane 5 are IRBB66, TK9, TCS10, F₁ of TK9 × IRBB66, and F₁ of TCS10 × IRBB66 respectively. M5 is a dominant marker, and the genotypes of homozygous resistant or heterozygous are shown as (R). The homozygous susceptible genotypes are shown as (S).

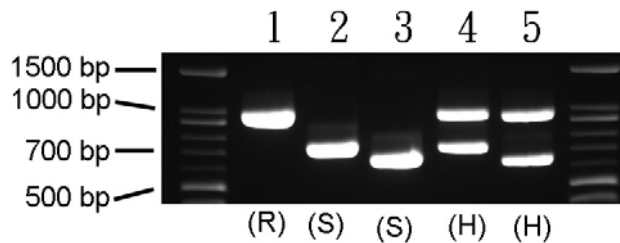
以SSR分子標誌檢測*Xa7*基因座之結果如圖三所示，Lane 1 至Lane 3依序為IRBB66、臺稈9號以及臺稈9號 × IRBB66之F₁，採用RM20580標誌之引子進行PCR，產物大小分別為抗病型同質結合個體80 bp、感病型同質結合個體95 bp，而異質結合之F₁個體則兼具80 bp、95 bp以及出現在110 bp的不規則雜合條帶。Lane 4 至Lane 6依序為IRBB66、臺中秈10號以及臺中秈10號 × IRBB66之F₁，採用RM20595標誌之引子進行PCR，產物大小分別為抗病型同質結合個體170 bp、感病型同質結合個體130 bp，而異質結合之F₁個體則兼具170 bp、130 bp以及出現在190 bp的不規則雜合的條帶。



圖三、以 SSR 分子標誌檢測 *Xa7* 基因座之膠體電泳結果，Lane 1 到 Lane 3 為 RM20580 標誌的 PCR 結果，分別代表 IRBB66、臺稈 9 號、臺稈 9 號 × IRBB66 之 F₁。Lane 4 到 Lane 6 為 RM20595 標誌的 PCR 結果，分別代表 IRBB66、臺中秈 10 號、臺中秈 10 號 × IRBB66 之 F₁。基因型之代號為(R)抗病同質結合型；(S)感病同質結合型；(H)異質結合型。

Fig. 3. The electrophoretic profiles of SSR markers for detecting *Xa7* locus. Lane 1 to lane 3 represent RM20580 markers of IRBB66, TK9 and F₁ of TK9 x IRBB66. Lane 4 to lane 6 represent RM20595 markers of IRBB66, TCS10 and F₁ of TK9 x IRBB66. The genotypes are homozygous resistant (R), homozygous susceptible (S), and heterozygous (H).

以pTA248分子標誌檢測*Xa21*基因座之結果如圖四所示，Lane 1 至Lane 5依序為IRBB66、臺稈9號、臺中秈10號、臺稈9號 × IRBB66之F₁、臺中秈10號 × IRBB66之F₁。抗病型同質結合個體PCR產物大小為950 bp，感病型同質結合個體PCR產物大小為臺稈9號的750 bp或臺中秈10號的650 bp，而異質結合之F₁個體則兼具950 bp及750 bp之條帶或兼具950 bp及750 bp之條帶。從圖一到圖四的結果可發現，此4個分子標誌皆具有明顯的多型性，各基因型之差異皆可輕易判別。



圖四、以 pTA248 分子標誌檢測 *Xa21* 基因座之膠體電泳結果，Lane 1 到 Lane 5 分別代表 IRBB66、臺稈9號、臺中秈10號、臺稈9號 × IRBB66 之 F₁、臺中秈10號 × IRBB66 之 F₁。基因型之代號為(R)抗病同質結合同型、(S)感病同質結合同型以及(H)異質結合同型。

Fig. 4. The electrophoretic profiles of M5 markers for detecting *Xa7* locus. The samples from lane 1 to lane 5 are IRBB66, TK9, TCS10, F₁ of TK9 x IRBB66, and F₁ of TCS10 x IRBB66 respectively. M5 is a dominant marker, and the genotypes of homozygous resistant or heterozygous are shown as (R). The homozygous susceptible genotypes are shown as (S).

二、臺中秈10號 × IRBB66之F₂族群*xa5*、*Xa7*、*Xa21*抗病基因型之分布。

以CAPS分子標誌檢測*xa5*基因之結果如表一所示，在F₂族群之254個有效資料中，抗病型同質結合個體為71個(27.95%)，異質結合個體為128個(50.39%)，感病型同質結合個體為55個(21.65%)，經卡方適合性分析，符合孟德爾遺傳分離律1:2:1之比例。

$$\chi^2 = 2.03 < 5.99 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 2)$$

表中所有個體的位置皆符合幼苗在穴盤之實際位置，3種基因型以不同顏色區分，以便利輔助育種之進行。

以M5分子標誌檢測*Xa7*基因之結果如表二所示，F₂族群之255個有效資料中，抗病型同質結合個體與異質結合個體總數為185個(72.55%)，感病型同質結合個體為70個(27.45%)，經卡方適合性分析，符合孟德爾遺傳分離律3:1之比例。

$$\chi^2 = 0.82 < 3.84 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 1)$$

以RM20595分子標誌檢測*Xa7*基因之結果如表三所示，F₂族群之254個有效資料中，抗病型同質結合個體為51個(20.88%)，異質結合個體為126個(51.41%)，感病型同質結合個體為71個(28.51%)，以卡方適合性分析，符合孟德爾遺傳分離律1:2:1之比例。

$$\chi^2 = 3.28 < 5.99 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 2)$$

以pTA248分子標誌檢測*Xa21*基因之結果如表四所示，F₂族群之254個有效資料中，抗病型同質結合個體為59個(24.08%)，異質結合個體為120個(48.98%)，感病型同質結合個體為66個(26.94%)，以卡方適合性分析，符合孟德爾遺傳分離律1:2:1之比例。

$$\chi^2 = 0.96 < 5.99 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 2)$$

表一、以 CAPS 分子標誌檢測臺中秈 10 號 x IRBB66 F₂ 族群 *xa5* 基因座之基因型分離結果

Table 1. The genotypic segregation of *xa5* locus in TCS10 x IRBB66 F₂ population detected by CAPS markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	H	R	H	H	R	H	H	H	H	H	H	H	H	H	S	H
B	H	H	H	H	R	H	R	H	R	R	H	S	R	S	H	S
C	R	R	H	R	R	S	H	H	H	R	H	R	H	H	H	H
D	R	H	R	S	H	R	R	R	S	H	H	R	H	H	S	R
E	H	H	S	H	H	H	R	R	S	H	R	H	H	H	S	R
F	H	H	S	R	S	R	H	R	H	R	S	R	H	H	H	S
G	R	H	H	R	H	S	H	H	S	H	H	R	H	S	H	H
H	R	H	R	R	S	S	S	S	H	R	R	R	H	H	H	R
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	R	H	R	R	H	R	H	H	R	S	H	H	H	H	H	H
B	H	H	R	H	H	H	R	S	S	S	S	H	R	H	H	H
C	S	H	S	S	H	H	R	S	H	R	H	H	R	R	H	R
D	H	R	S	H	S	R	NA	H	R	H	R	H	R	S	S	H
E	H	R	R	H	H	S	H	S	S	S	H	S	S	R	H	H
F	H	H	R	R	S	H	S	R	H	S	H	S	S	H	H	H
G	S	R	S	H	H	H	R	S	S	H	R	R	H	S	R	R
H	NA	H	S	H	S	H	R	S	H	H	H	H	R	S	H	H

R: homozygous resistant; H: heterozygous; S: homozygous susceptible; NA: not available. All the individual positions on the tables represent the actual positions of the seedlings on the cultivation plate.

R: 抗病型同質結合個體; H: 異質結合個體; S: 感病型同質結合個體。NA: 未發芽或資料無法取得之個體。

表二、以 M5 分子標誌檢測臺中秈 10 號× IRBB66 F₂ 族群 Xa7 基因座之基因型分離結果Table 2. The genotypic segregation of Xa7 locus in TCS10 x IRBB66 F₂ population detected by M5 markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R	S	S	R
B	R	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R
C	R	R	S	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R
D	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	R	S	R
E	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R
F	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
G	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
H	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
B	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S
C	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S
D	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S
E	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
F	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
G	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
H	NA	S	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S

R: homozygous resistant or heterozygous; S: homozygous susceptible. NA: not available.

R: 抗病型同質結合個體加異質結合個體; S: 感病型同質結合個體。NA: 未發芽或資料無法取得之個體。

表三、以 RM20595 標誌檢測臺中秈 10 號 × IRBB66 F₂ 族群 Xa7 基因座之基因型分離結果Table 3. The genotypic segregation of Xa7 locus in TCS10 x IRBB66 F₂ population detected by RM20595 markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	H	H	S	R	R	H	S	H	S	S	H	S	H	S	S	H
B	R	S	H	S	S	S	NA	R	H	S	S	H	R	R	S	H
C	S	H	S	H	S	S	R	S	H	H	H	S	S	H	H	R
D	H	H	S	H	H	H	S	S	R	H	S	R	R	H	H	R
E	S	H	H	R	H	H	H	R	S	R	R	S	H	H	S	R
F	H	S	S	R	H	NA	H	H	H	S	S	R	H	R	H	H
G	R	S	S	H	H	S	H	H	R	H	S	H	H	H	H	H
H	H	R	S	H	R	H	H	S	H	H	R	R	S	H	H	H
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	R	H	H	H	H	S	R	H	R	S	R	H	H	H	R	H
B	H	H	H	S	H	H	H	H	S	R	H	S	R	S	H	S
C	R	H	S	R	R	R	S	H	R	R	R	H	H	H	R	S
D	H	H	H	S	NA	H	NA	H	S	S	H	H	H	H	S	S
E	H	H	H	H	S	H	R	H	H	S	H	S	R	H	H	H
F	S	H	H	R	S	H	H	H	R	S	H	S	R	R	H	S
G	H	R	H	S	H	H	NA	H	H	H	H	H	R	H	H	H
H	NA	S	NA	R	H	S	H	R	H	S	H	S	R	S	S	S

R: homozygous resistant; H: heterozygous; S: homozygous susceptible. NA: not available.

R: 抗病型同質結合個體; H: 異質結合個體; S: 感病型同質結合個體。NA: 未發芽或資料無法取得之個體。

表四、利用 pTA248 標記檢測 TCS10 × IRBB66 F₂ 族群 *Xa21* 基因座之基因型分離結果

Table 4. The genotypic segregation of *Xa21* locus in TCS10 × IRBB66 F₂ population detected by pTA248 markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	H	S	H	S	H	S	H	H	S	S	S	R	S	H	S	H
B	S	H	H	R	R	H	R	H	H	H	H	R	R	H	H	R
C	H	H	H	H	H	H	S	H	H	R	H	H	H	H	NA	H
D	H	H	S	R	R	S	S	H	H	H	H	H	R	H	NA	H
E	R	H	R	R	S	H	R	S	R	S	H	H	R	H	H	H
F	H	R	S	H	S	H	R	H	S	H	R	S	H	H	R	S
G	H	H	H	H	H	S	H	R	H	S	H	S	H	H	S	S
H	R	R	H	S	S	H	H	S	S	H	H	R	S	R	R	H
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	S	R	S	H	R	NA	NA	H	H	NA	R	H	R	H	NA	R
B	R	H	R	R	S	H	S	R	H	H	S	S	S	R	S	R
C	R	H	R	H	S	R	S	H	S	H	R	S	H	R	H	H
D	H	R	H	H	S	S	NA	H	H	H	S	H	S	R	R	H
E	S	S	R	H	R	H	H	S	R	R	H	S	H	S	H	H
F	S	H	H	H	S	H	H	S	H	S	R	R	S	S	S	H
G	H	H	H	S	S	S	R	H	H	H	R	H	R	H	S	H
H	NA	S	R	S	S	R	NA	R	NA	H	R	NA	H	H	H	H

R: resistant homozygous; H: heterozygous; S: homozygous susceptible. NA: not available.

R: 抗病型同質結合個體; H: 異質結合個體; S: 感病型同質結合個體。NA: 未發芽或資料無法取得之個體。

二、臺稈9號 × IRBB66 之 F₂ 族群 *xa5*、*Xa7*、*Xa21* 抗病基因之分布。

以CAPS分子標記檢測 *xa5* 基因座之結果如表五所示，在 F₂ 族群之 244 個有效資料中，抗病型同質結合個體為 61 個 (25%)，異質結合個體為 125 個 (51.23%)，感病型同質結合個體為 58 個 (23.77%)，經卡方適合性分析，符合孟德爾遺傳分離律 1:2:1 之比例。

$$\chi^2 = 0.22 < 5.99 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 2)$$

以 M5 分子標記檢測 *Xa7* 基因座之結果如表六所示，F₂ 族群之 255 個有效資料中，抗病型同質結合個體與異質結合個體總數為 164 個 (66.13%)，感病型同質結合個體為 84 個 (33.87%)，經卡方適合性分析，不符合孟德爾遺傳分離律 3:1 之比例，有偏差分離 (bias distribution) 之現象。

$$\chi^2 = 10.41 > 3.84 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 1)$$

以 RM20580 分子標記檢測 *Xa7* 基因座之結果如表七所示，F₂ 族群之 254 個有效資料中，抗病型同質結合個體為 47 個 (18.95%)，異質結合個體 118 個 (47.58%)，感病型同質結合個體為 83 個 (33.47%)，以卡方適合性分析，不符合孟德爾遺傳分離律 1:2:1 之比例，有偏差分離之現象。

$$\chi^2 = 11.03 > 5.99 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 2)$$

以pTA248分子標誌檢測*Xa2I*基因座之結果如表八所示，F₂族群之254個有效資料中，抗病型同質結合個體為59個(24.28%)，異質結合個體為111個(45.68%)，感病型同質結合個體為73個(30.04%)，以卡方適合性分析，符合孟德爾遺傳分離律1:2:1之比例。

$$\chi^2 = 3.43 < 5.99 \text{ (critical } \chi^2, \alpha = 0.05, \text{ df} = 2)$$

表五、以 CAPS 標誌檢測臺稈 9 號 x IRBB66 F₂ 族群 *xa5* 基因座之基因型分離結果

Table 5. The genotypic segregation of *xa5* locus in TK9 x IRBB66 F₂ population detected by CAPS markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	S	R	S	H	H	S	NA	H	R	S	S	H	H	H	H	H
B	S	S	H	H	R	H	H	S	H	R	R	H	NA	R	H	S
C	H	H	S	H	S	R	R	R	R	H	H	S	H	S	H	R
D	H	S	S	H	R	R	H	R	H	H	R	R	H	H	R	H
E	H	R	H	H	S	H	H	H	R	H	H	H	H	S	S	H
F	R	R	H	H	NA	H	NA	S	R	H	R	H	H	NA	H	H
G	H	H	R	S	H	S	R	R	R	H	S	R	H	R	H	H
H	H	H	S	R	S	S	NA	H	S	H	H	H	S	H	S	H
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	H	H	H	H	R	H	H	S	R	S	S	R	NA	S	H	S
B	S	S	S	H	H	R	S	H	H	H	S	R	H	NA	NA	NA
C	H	R	H	R	H	NA	H	R	H	R	H	H	R	H	NA	H
D	S	S	R	H	H	H	H	H	R	H	H	H	H	S	H	H
E	H	S	H	S	H	R	R	H	H	S	H	S	H	R	H	S
F	R	H	H	S	S	R	H	R	H	S	H	H	H	H	H	H
G	R	R	S	S	R	H	R	R	H	R	S	H	S	R	R	R
H	R	H	S	H	H	R	H	R	R	H	S	H	S	S	H	S

R: homozygous resistant; H: heterozygous; S: homozygous susceptible. NA: not available.

R: 抗病型同質結合個體; H: 異質結合個體; S: 感病型同質結合個體。NA: 未發芽或資料無法取得之個體。

表六、以 M5 標記檢測臺梗 9 號× IRBB66 F₂ 族群 Xa7 基因座之基因型分離結果

Table 6. The genotypic segregation of Xa7 locus in TK9 x IRBB66 F₂ population detected by M5 markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R
B	R	R	R	S	S	S	R	R	S	R	R	S	NA	R	S	S
C	R	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R
D	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
E	R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S
F	R	S	R	R	NA	S	NA	R	S	R	R	R	R	S	R	R
G	S	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
H	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	S	R	R
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	R	R	S	NA	R	R	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S
B	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	NA	NA
C	R	R	R	S	R	NA	R	S	S	R	R	R	R	R	NA	R
D	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R
E	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	R	S	S
F	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S
G	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S
H	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R

R: homozygous resistant or heterozygous; S: homozygous susceptible. NA: not available.

R：抗病型之同質結合個體或異質結合個體；S：感病型之同質結合個體。NA：未發芽或資料無法取得之個體。

表七、以 RM20580 標記檢測臺梗 9 號× IRBB66 F₂ 族群 Xa7 基因座之基因型分離結果

Table 7. The genotypic segregation of Xa7 locus in TK9 x IRBB66 F₂ population detected by RM20580 markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	H	S	H	H	H	R	S	H	R	R	H	S	S	R	R	H
B	H	R	H	S	S	S	H	H	S	R	R	S	NA	H	S	S
C	H	H	S	S	H	R	R	S	R	R	H	S	H	H	H	H
D	H	H	H	H	S	R	H	H	H	H	H	H	H	S	R	H
E	H	S	H	H	H	S	R	S	H	S	H	S	H	R	S	S
F	H	S	H	H	NA	S	NA	H	S	H	R	R	H	S	R	H
G	S	S	H	S	H	S	H	H	R	H	H	R	H	R	H	S
H	S	H	H	R	H	H	S	S	H	H	H	S	H	S	R	R
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	H	R	S	NA	H	H	H	S	S	S	R	R	S	H	S	S
B	H	H	H	R	H	H	H	S	H	H	S	S	S	S	NA	NA
C	H	R	H	S	H	NA	H	S	S	H	R	R	H	H	NA	H
D	H	S	H	H	H	H	H	S	H	H	R	H	S	H	S	H
E	R	H	H	H	H	H	S	S	R	H	S	H	R	R	S	S
F	S	R	H	S	R	H	H	S	S	S	S	R	R	H	H	S
G	H	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	R	H	H	S
H	R	S	R	S	H	H	H	H	H	S	S	H	H	S	H	H

R: homozygous resistant; H: heterozygous; S: homozygous susceptible. NA: not available.

R：抗病型同質結合個體；H：異質結合個體；S：感病型同質結合個體。NA：未發芽或資料無法取得之個體。

表八、利用 pTA248 分子標誌偵測臺梗 9 號× IRBB66 F₂ 族群 *Xa21* 基因座之基因型分離結果
Table 8. The genotypic segregation of *Xa21* locus in TK9 × IRBB66 F₂ population detected by pTA248 markers

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	H	S	S	H	H	S	NA	R	H	R	NA	S	H	H	H	H
B	H	R	R	H	S	H	H	R	H	R	H	R	NA	H	H	S
C	R	S	H	R	H	H	R	S	H	S	H	S	H	S	H	S
D	H	S	H	S	S	H	S	R	R	R	R	H	R	H	S	R
E	H	S	H	R	R	H	H	R	H	R	R	H	H	S	R	H
F	S	H	R	R	NA	R	NA	H	R	H	S	R	S	NA	S	S
G	R	H	S	H	S	H	S	S	S	H	S	H	H	H	H	S
H	H	H	R	H	H	H	NA	H	S	H	H	H	S	S	H	S
Plate 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	S	S	S	S	H	H	S	H	S	S	H	R	NA	H	H	S
B	H	S	S	H	H	R	H	S	S	H	S	S	H	NA	NA	NA
C	H	R	H	S	H	NA	S	H	S	R	R	R	H	H	NA	H
D	R	H	S	R	H	H	S	H	H	S	S	H	R	H	H	S
E	S	S	R	S	H	H	H	R	H	S	H	R	R	H	H	H
F	S	R	R	S	S	R	R	S	R	H	H	H	R	H	S	R
G	S	H	H	S	H	H	H	R	H	S	H	S	R	H	S	S
H	H	R	R	H	H	H	R	R	H	S	R	R	R	R	H	H

R: homozygous resistant; H: heterozygous; S: homozygous susceptible. NA: not available.

R: 抗病型同質結合個體; H: 異質結合個體; S: 感病型同質結合個體。NA: 未發芽或資料無法取得之個體。

討 論

世界各國利用分子標誌進行輔助育種的研究已行之有年，現今大部分的分子標誌皆以聚合酵素連鎖反應(PCR)為基礎，其中包括隨機擴增片段多型性DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD)⁽²⁷⁾、簡單重複序列(simple sequence repeat, SSR)⁽²⁸⁾、擴增片段長度多型性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)⁽²⁵⁾，每一種分子標誌皆有不同的特性及優缺點，目前應用最廣泛之種類為SSR，其主要原因是SSR在基因組中數量多、具有豐富的多型性、再現性高及具共顯性等優點，適合利用於建構遺傳圖譜、基因定位，以及輔助育種。SSR在早期難以應用是因為兩端的引子序列不易獲得，必須經過多次設計與測試，耗費大量時間、金錢，但今日各國學者已累積數量相當大的SSR引子資訊資料庫，使SSR可利用性大增⁽²⁴⁾。本次試驗中所使用的分子標誌中，用於偵測*Xa7*的有RM20595、RM20580以及M5，其中RM20595、RM20580屬於SSR分子標誌，試驗結果顯示RM20595及RM20580因為距離*Xa7*基因較近且具共顯性，因此在應用時有良好的判別性。M5同樣是偵測*Xa7*的標誌，由於沒有共顯性無法判別顯性同質結合與顯性異質結合個體，因此選種效率較差。

分離偏差是指雜交後代分離族群中，基因型或外表型之分布不按照孟德爾分離律的情況，McCouch等發現爪哇稻和秈稻的雜交分離族群基因組偏向秈稻⁽¹⁶⁾，而He等人發現秈稻與梗稻雜交分離族群基因組同樣會偏向秈稻⁽¹⁰⁾。本次研究的試驗結果中，在臺梗9號×IRBB66的F₂分離世代則發現Xa7的分佈偏向臺梗9號，若按照孟德爾分離律，應有25%抗病型同質結合之個體，但實際上只有18.95%，感病型同質結合個體卻高達33.47%，這種情形在同一雜交組合的xa5、Xa21基因並無發現。分離偏差發生的原因可能與以下幾個因素有關：1. 小孢子發育不良；2. 大孢子發育不良；3. 特定配子基因型在受精作用時的競爭作用；4. 雙親的親緣關係遠近；5. 不同染色體之差異；6. 同一染色體的特定區域⁽²⁾。了解遺傳行為為對育種選拔策略之擬定可提供有利訊息，例如本次試驗中發現的Xa7之分佈偏向感病性基因型，若不是以分子標誌輔助選種，入選的子代數量可能太多導致選種強度過低，易造成選種效率低落。曾有研究指出臺中秈10號×越光的F₂族群中，第6對染色體的基因組成明顯偏向母本，並且推測秈稻與梗稻雜交重組之後代基因型可能偏向秈稻型⁽²⁾，此一結論與本次研究之試驗結果不符。本次試驗是以臺梗9號為母本，秈稻型的IRBB66為父本，在第6對染色體上的Xa7基因座，在F₂族群之分布偏向臺梗9號之基因型，由此現象可判斷，母本的基因型可能才是分離偏差的主要決定因素。第6對染色體的分布主要為偏向母本型，而非偏向秈稻型或偏向梗稻型。

國內已有不少的植物分子標誌相關研究報告，但實際應用於育種工作的報告較少，主要是因為新的育種模式不易建立，另一方面，兼具育種學知識與分子生物學基礎之研究人員較少。分子標誌輔助選種(MAS)的模式在先進國家已被成功應用，這年來也有不少優良品種被育成，同樣地，MAS技術在國內也被認為是重要的農業科技研發方向。若要實際應用MAS在育種試驗中，從育苗、採樣到分子生物學實驗的檢測都必須小心設計，以防止動輒上千株之試驗材料產生混淆。根據本次研究的經驗，育苗的裝置必須與聚合酵素連鎖反應的96孔盤互相對應，例如市面上常見的8×16穴盤頗為適用。萃取核酸時因數量龐大，應採用自動化設備，例如鋼珠研磨均質機或自動萃取核酸之儀器。進行電泳時，可採用八爪分注器大量分注樣品，應採用大型電泳槽，每次分析的樣品數應該在100個以上。試驗結果之記錄表也應符合育苗盤之位置，並使用不同鮮明顏色表示不同基因型，進行選取植株與移植工作時就比較容易區分，期望這些操作經驗可以提供往後進行MAS之育種工作者參考。

臺灣作物品種育種研發成本相當高，以時間成本而言，育成作物品種大約需要8~10年，以經濟成本而言，平均每個作物品種研發成功大約需要花費新臺幣2千萬元⁽³⁾。採用分子標誌技術輔助育種試驗之進行，可縮短育種年限，減少育種過程需耗費的時間與金錢，為國家節省大量資源，此外，育種年限的縮短有助於及時育成抗逆境作物品種，以利因應氣候變遷可能造成的作物栽培逆境，例如耐乾旱、耐高溫以及抗病品種。未來我們將持續致力於導入分子標誌技術於育種試驗中，以增強品種研發動能，加速品種產出效率，創造農民福祉。

參考文獻

1. 張素貞 1995 水稻抗白葉枯病生理及遺傳之研究 國立中興大學農藝學研究所博士論文。
2. 朱雅玲 2002 利用SSR分子標誌建立水稻連鎖圖譜及分析F₂族群之遺傳重組 國立臺灣大學農藝學研究所碩士論文。
3. 林順福 2005 作物品種之DNA鑑定技術 21世紀農業發展與新興科技應用研討會。
4. Adam-Blondon, A-F., M. Seignac and M. Dron. 1994. A genetic map of common bean to localize specific resistance genes against anthracnose. *Genome* 37: 915-924.
5. Becker, J. and M. Heum. 1995. Barley microsatellites: allele variation and mapping. *Plant Mol. Biol.* 27: 835-845.
6. Chen, S., Z. Huang, L. Zeng, J. Yang, Q. Liu and X. Zhu. 2008. High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* resistance gene *Xa7*. *Mol. Breed.* 22: 433-441.
7. Chunwongse, J., G. B. Martin and S. D. Tanksley. 1993. Pre-germination genotypic screening using PCR amplification of half seeds. *Theor. Appl. Genet.* 86: 694-698.
8. Dai, L. Y., X. L. Lui, Y. H. Xiao and G. L. Wang. Recent advances in cloning and characterization of disease resistance genes in rice. *J. Integr. Plant Biol.* 49: 112-119.
9. Deynze, A. E. V., J. C. Nelson, E. S. Yglesias, S. E. Harrington, D. P. Braga, S. R. McCouch, M. E. Sorrells. 1995. Comparative mapping in grasses. *Mol. Gen. Genet.* 248: 744-754.
10. He, P., J. Z. Li, X. W. Zheng, L. S. Shen, C. F. Lu, Y. Chen and L. H. Zhu. 2001. Comparison of molecular linkage maps and agronomic trait loci between DH and RIL populations derived from the same rice cross. *Crop Sci.* 41: 1240-1246.
11. Huang N., E. R. Angeles, J. Domingo, G. Magpantay, S. Singh, G. Zhang, N. Kumaravadeivel, J. Bennett and G. S. Khush. 1997. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor. Appl. Genet.* 95(3): 313-320.
12. Iyer-Pascuzzi, A. S. and S. R. McCouch. 2004. The rice bacterial blight resistance gene *xa5* encodes a novel form of disease resistance. *Mol. Plant Microbe Interact.* 17: 1348-1354.
13. Iyer-Pascuzzi, A. S. and S. R. McCouch. 2007. Functional markers for *xa5*-mediated resistance in rice (*Oryza sativa*, L.). *Mol. Breed.* 19: 291-296.
14. Jiang, J. H., Z. H. Xia, Y. L. Zou, J. Wan., R. S. Chen, W. X. Zhai and L. H. Zhu. 2006. Testifying the rice bacterial blight resistance gene *xa5* by genetic complementation and further analyzing *xa5* (*Xa5*) in comparison with its homolog TFIIA γ 1. *Mol. Genet. Genomics* 275: 354-366.
15. Li, Z. K., A. Sanchez, E. Angeles, S. Singh, J. Domingo, N. Huang and G. S. Khush. 2001. Are the dominant and recessive plant disease resistance genes similar? : A case study of rice R genes and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* races. *Genetics* 159: 757-765.

16. McCouch, S. R., G. Kochert, Z. H. Yu, G. S. Khush, W. R. Coffman and S. D. Tanksley. 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 75: 541-545.
17. Nodari, R. O., S. M. Tsai, N. P. Guzm, R. L. Gilbertson and P. Gepts 1993. Toward an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. *Genetics* 134: 341-350.
18. Ogawa, T., T. Tamamoto, G. S. Khush and T. W. Mew. 1991. Breeding of near-isogenic lines of rice with single genes for resistance to bacterial blight pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Japan. J. Breed.* 41: 523-529.
19. Porter, B. W., J. M. Chittoor, M. Yano, T. Sasaki and F. F. White 2003. Development and mapping linked to the rice bacterial blight resistance gene *Xa7*. *Crop Sci.* 43:1484-1492.
20. Ronald, P. C., B. Albano, R. Tabien, L. Abenes, K. Wu, S. McCouch and S. Tanksley 1992. Genetic and physical analysis of the rice bacterial blight resistance locus, *Xa21*. *Mol. Gen. Genet.* 235: 113-120.
21. Sidhu, G. S., G. S. Khush and T. W. Mew. 1978. Genetics analysis of bacterial blight resistance in seventy-four cultivars of rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 53: 105-111.
22. Song, Y. L., G. L. Wang, L. L. Chen, H. S. Kim and L. Y. Pi et al., 1995. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. *Science* 279: 1804-1806.
23. Taramino, G. and S. Tingey. 1996. Simple sequence repeats for gerplasm analysis and mapping in maize. *Genome* 39: 277-287.
24. Temnykh, S., W. D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii and S. R. McCouch 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100: 697-712.
25. Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acid Res.* 23: 4407-4414.
26. Williams, C. E., B. Wang, T. E. Holsten, J. Scambray, F. de Assis, G. da Silva and P. C. Ronald. 1996. Markers for selection of the rice *Xa-21* disease resistance gene. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1119-1122.
27. Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18: 6531-6535.
28. Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17: 6463-6471.

Marker-Assisted Selection for Bacterial Blight Resistant Lines of Rice¹

Ray-Shin Chang², Jia-Ling Yang² and Chih-Sheng Sheu²

ABSTRACT

Rice bacterial blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. is an important rice infectious disease in Taiwan. More than 30 bacterial blight resistance genes have been discovered during the past few decades. The International Rice Research Institute (IRRI) has successfully bred several near isogenic lines with the IR24 genetic background that contain different bacterial blight resistance genes. IRBB66 is one of them. The present study reveals the distribution of *xa5*, *Xa7*, and *Xa21* genes in the F₂ populations derived from the two crosses of Tai-Ken 9 × IRBB66 and Taichung-Shien 10 × IRBB66. The three genes were detected by closely linked molecular markers belonging to STS, SSR, and CAPS types. The results show that the above molecular markers worked efficient discrimination of various genotypes in progenies. The proportion of homozygous resistant genotypes of *xa5*, *Xa7*, and *Xa21* loci are 27.95%, 20.88%, and 24.08% respectively in the F₂ population of TCS10 × IRBB66. On the other hand, the proportion of homozygous resistant genotypes of *xa5*, *Xa7*, and *Xa21* loci are 25.0%, 18.95%, and 24.28% respectively in the F₂ population of TK9 × IRBB66. The distributions of most examined genotypes are following Mendel's segregation law except *Xa7* locus in the F₂ population of TK9 × IRBB66, which showing bias distribution. The results of our study provide the information of inheritance behaviors of these three resistance genes, and the information will be helpful for the proper strategies design of breeding. Marker-assisted selection (MAS) approach utilized in this study can provide clear and definite evidences for targeted traits selection. We believe that this strategy can enhance the efficiency and shorten the period of breeding. In general, MAS will be a valuable and practicable model for crop breeding in the future.

Key words: rice bacterial blight, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, marker-assisted selection.

¹ Contribution No. 0758 from Taichung DARES, COA.

² Assistant researcher, Assistant Researcher, and Associate Researcher of Taichung DARES.