



利用全基因體關聯分析 篩選作物抗病基因

郭建志¹

一、前言

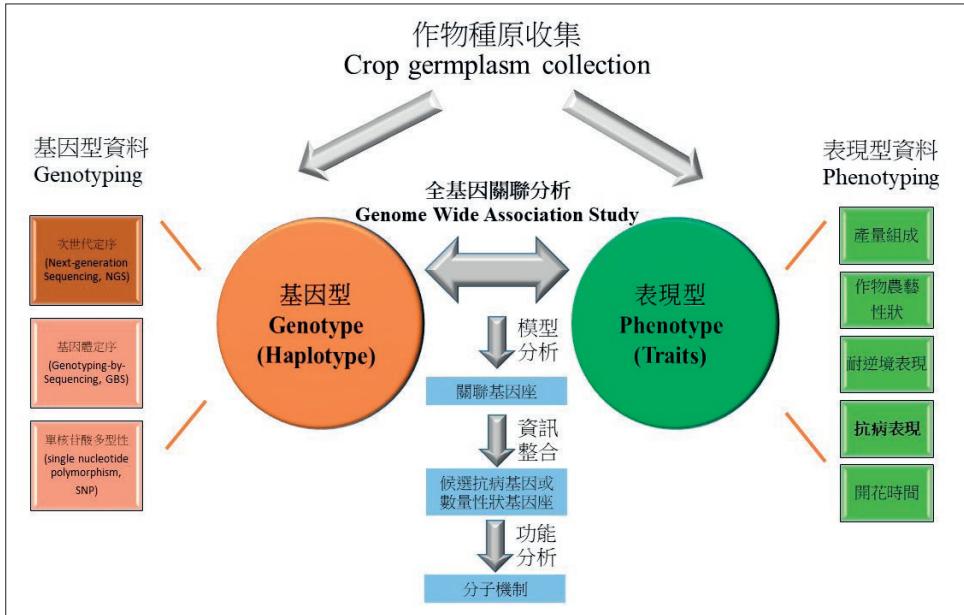
抗病育種為作物防治病害的一種策略，首要目標為找尋作物抗病基因（R Gene）或是與抗病相關的數量性狀基因座（Quantitative Trait Loci, QTLs）。傳統抗病育種模式主要利用引種、雜交及回交育種等方式，將野生種或地方種中具有抗病特性保留在雜交抗感分離的後代中，此方式主要依據為表現型（Phenotype）進行抗病篩選，此方式容易受病原菌毒力強弱、接種方式、發病條件、環境因子

與病害檢定等條件影響，往往造成選拔不精確，過程費時耗力。因此，近數十年來，利用分子育種技術，尋找與抗病基因緊密連鎖的分子標誌，作為選拔依據，運用此方式可在幼苗期篩選基因型，藉以加速作物抗病育種的時程與效率。

二、分子標誌種類與應用

早期所使用的分子標誌多利用限制性片段長度多型性（Restriction Fragment Length Polymorphism,

| 註 1：行政院農業委員會臺中區農業改良場。



全基因體關聯分析流程，取得作物品種基因型及表現型資料後，即可利用適合的模型進行分析。

RFLP)、隨機增幅多型性DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)、增幅片段長度多型性 (Amplification Fragment Length Polymorphism, AFLP) 等技術，屬於第一代分子標誌，但上述技術有較耗費時效及再現性不佳等問題。第二代分子標誌主要為簡單序列重複 (Simple Sequence Repeat, SSR)，依照作物基因體DNA特性，某些區域具有1~5個核甘酸重複排列，重複數量根據作物品種有所差異。學者陳等人利用11個具多型性條帶的SSR分子標誌，分析近同源系水稻IRBB7與IR24雜交後之721個F2族群，定位水稻白葉枯病顯性抗性基因Xa7位於第6號染色體上GDSSR02和RM20593兩個分子標誌之間，基因片段大小約118.5kb。SSR分子標誌仍然廣泛使用，但單次能判讀的

基因座不多，並有判讀不易與分布密度不足等問題。因此，第三代分子標誌為單一核甘酸多型性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)，以SNP為主的基因體選拔快速發展，並搭配次世代定序系統可以進行大量定序的特性，亦可應用於SNP分子標誌的開發與基因型分析。

三、全基因體關聯分析應用於水稻抗病基因探勘

全基因體關聯分析 (Genome Wide Associated Study, GWAS) 最早是應用於醫學遺傳疾病研究，分析病患與正常個體的基因樣本，找出與致病機制相關的基因變異位點 (SNP)，可應用於疾病預防及評估。目前農業技術也有相當多研究應用GWAS分析，探勘種原內有益基因的



水稻細菌性條斑病病徵形態，感染葉片後，會造成葉表條狀黃褐色水浸狀病斑，嚴重時會整片枯萎。



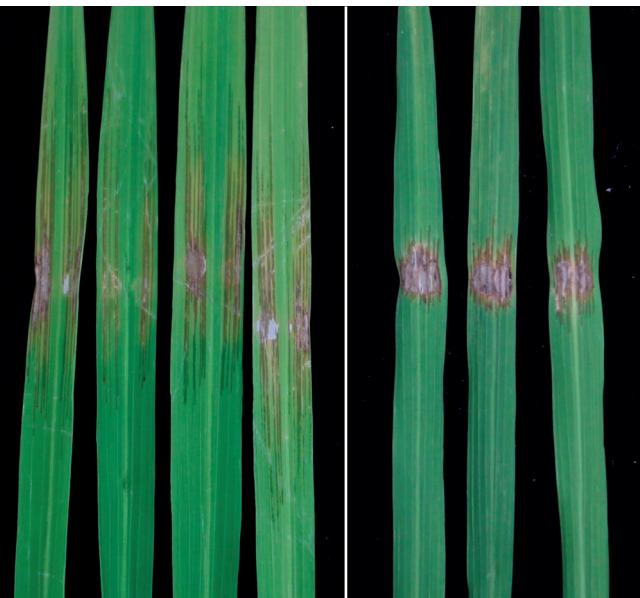
利用注射法將水稻細菌性條斑病高濃度懸浮液接種於水稻葉片。

頻度差異，配合分子輔助育種方式，選拔優良農藝、園藝性狀及抗病蟲之作物品種。在抗病研究方面，以水稻為例，國內研究學者林等人接種於自美國引進之 Rice Diversity Panel 1 (RDP1) 水稻種原（來自 82 國家的 413 歧異品種、具 44100 SNPs）中之 314 個水稻品種，利用 GWAS 方式評估並篩選抗稻熱病基因，利用臺灣 2 株遺傳背景與分離地點具有差異性之稻熱病菌株，經人工噴霧接種於 RDP1 水稻品系，評估病斑類型與 Image J 影像輔助辦別罹病葉面積，藉由 2 種指標獲得表現型資料，並結合 44,100 高通量 SNP 資料，利用 GWAS 與 2 單套體 (Haplotype) 方式進行關聯分析，其結果獲得 32 個 QTLs，其中有 22 個區域與已知發表之 R Gene QTLs 位置相近，依據試驗結果確認 100 個候選基因與抗性有高度相關。國內另有學者陳等人利用水稻徒長病菌 Ff266 菌株，評估 RDP1

水稻品系中之抗病基因，試驗共接種 231 個 RDP1 水稻品系，並利用病害罹病指數 (Disease Severity Index, DSI) 與病原纏據比例 (Colonization Rate) 為評估指標，結果共獲得 14 個 QTLs 以及 206 個候選基因。其中 qBK1.7 亦經由雙親本雜交族群驗證，與前人報導之候選區域重疊。

四、應用全基因關聯分析篩選水稻抗細菌性條斑病基因

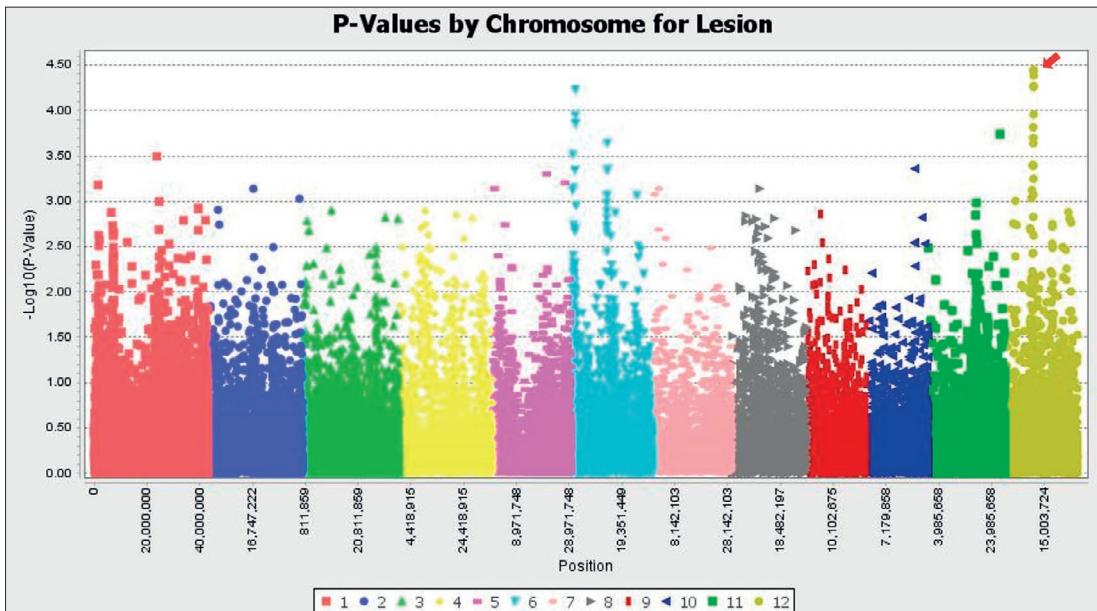
水稻細菌性條斑病為 10 多年前自中部地區水稻田被發現，此病原菌與水稻白葉枯病為同屬同種之不同病原型 (Pathovar)，相較於水稻白葉枯病已發表了 30 個以上的 R Gene，水稻細菌性條斑病仍未發現具有 R Gene 的存在。因此，行政院農業委



水稻細菌性條斑病菌株接種於不同水稻種原上之差異，左為感病品種，右為抗病品種。

員會臺中區農業改良場利用 GWAS 技術評估及篩選水稻抗細菌性條斑病之 R Gene 或 QTLs，利用強毒力水稻細

菌性條斑病 X023 菌株，利用注射接種法接種 258 個 RDP1 水稻品系之葉片，並量測病斑長度作為表現型評估指標，應用混合線性模型分析，將表現型、基因型、親緣關係與族群結構等因子合併考量，進行關聯性分析結果，於水稻第 1、4、6 及 12 條染色體上，初步篩選出 6 個與細菌性條斑病抗感性高度相關的候選 QTLs，其中第 12 條染色體上的 QTL 與國外研究發表可抗水稻細菌性條斑病的 QTL 有高度重疊，顯示此區域可能存在抗病相關的 R Gene 或 QTL，後續仍再進行重複試驗，確認其再現性，並經由單套體分析，來評估此抗性 QTL 頻度與位置，相關的資訊結果可協助水稻細菌性條斑病抗性基因的育種資料。



利用注射接種水稻細菌性條斑病 X023 菌株後，應用全基因關聯分析 258 個 RDP1 水稻種原，以混合線性模型分析之曼哈頓圖 Manhattan Plot，於第 12 條染色體上，超過設定的 $-\log_{10}(P) = 3.0$ 作為閥值，具有多個與水稻細菌性條斑病菌抗感病高度相關的 SNP 位點存在（右上方箭頭標示）。