

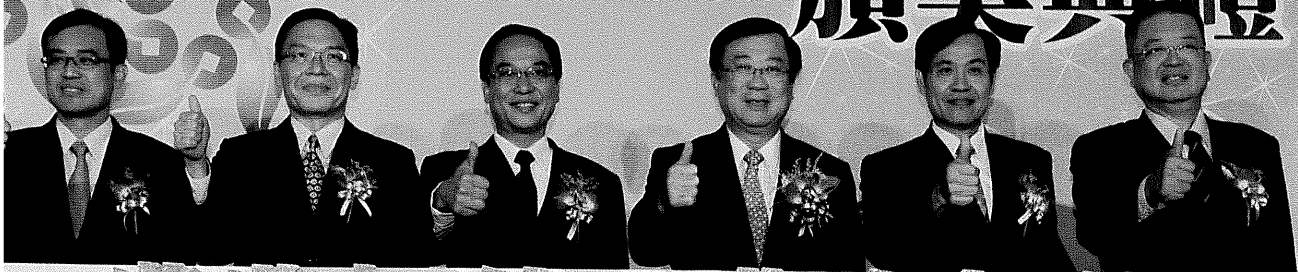
# 農政與農情

No. 269

AGRICULTURE Policy & Review

## 第8屆 農金獎

### 頒獎典禮



農業加值 農金加贈

#### ◆主題報導

#### 強化國際農漁業合作(下)

我國與在臺農業國際組織之合作綜效  
與國際稻米研究所 (IRRI) 建立國際夥伴關係  
水土保持及坡地防災國際交流現況與展望  
人畜共通傳染病監測與診斷技術之國際交流

#### ◆農業科技快訊

櫻花新品種「桃園1號—報春」及「桃園2號—紅梅」簡介  
番茄抗病基因分子標誌應用

# 番茄抗病基因分子標誌應用

## 壹. 前言

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 為茄科番茄屬作物，原產於美洲安地斯山區，營養、產量及經濟價值極高，為全世界產量最高的30種作物之一，亦為全球重要蔬果作物之一。番茄生育過程中極易遭受病蟲危害，嚴重影響產量與品質。常見病蟲害，如根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.; Root-knot nematodes)、萎凋病 (*Fusarium oxysporum*; Fusarium wilt)、黃萎病 (*Verticillium* spp.; Verticillium wilt)、葉霉病 (*Fulvia fulva*; Leaf mold)、晚疫病 (*Phytophthora infestans*)、番茄黃化捲葉病毒 (*Tomato yellow leaf curl virus*; TYLCV)、番茄斑點萎凋病毒 (*Tomato spotted wilt virus*; TSWV)、番茄嵌紋病毒 (*Tomato mosaic virus*; ToMV)、胡瓜嵌紋病毒 (*Cucumber mosaic virus*; CMV)、青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) 及細菌性斑點病 (*Xanthomonas campestris*) 等，已成為栽培番茄過程中主要障礙。由於農藥過度使用、病原菌變異快速及環保意識抬頭等因素，培育抗病品種為最經濟有效防治病害手段之一。番茄主要抗性育種材料存在於野生種，如醋栗番茄 (*S. pimpinellifolium*)、秘魯番茄 (*S. peruvianum*)、智利番茄 (*S. chilense*)、契斯曼尼番茄 (*S. cheesmanii*)、多毛番茄 (*S. hirsutum*) 及潘那利番茄 (*S. pennellii*) 等，如何由眾多野生番茄快速篩選有用抗病基因導入栽培種番茄中，將是育種者非常重要工作目標。近年蓬勃發展的分子標誌技術恰能彌補傳統育種冗長時程的缺點，以下將概述番茄主要病害與抗病基因分子標誌關係。

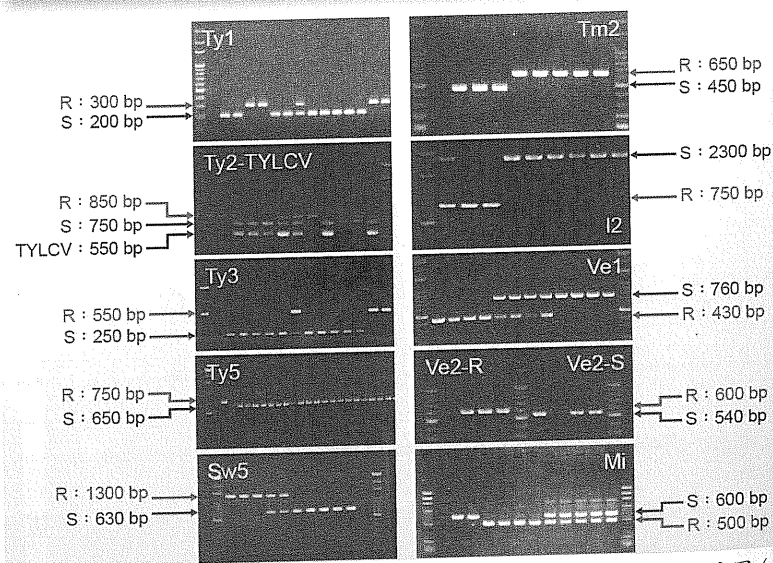
## 貳. 病害與抗病基因分子標誌

傳統番茄抗病育種必須靠植株外表型抗病性表現選拔，此選拔方式需有數十年以上經驗方能達成，並且易受田間病原菌有無或發病條件影響選拔結果。如何快速正確選育抗感病品種為提升育種效率重要課題，分子標誌輔助育種技術 (marker

assisted selection, MAS) 是藉由篩選與抗病基因緊密連鎖的分子標誌，判斷作物品種抗病基因型。MAS 技術優點有，早期鑑定作物抗感病基因型、植株罹病情形、約可縮短 1/2 回交育種時程等，對於育種者收集抗病品種及育成商品化雜交一代品種將有相當大助益。常用分子標誌技術有 RAPD (random amplified polymorphic DNA)、AFLP (amplification fragment length polymorphism)、SSR (simple sequence repeat)、CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 及 SCAR (sequence characterized amplified region) 等。本文將介紹種苗改良繁殖場與國內外研究單位開發準確且實用之番茄抗病分子標誌與抗病基因來源 (附表與附

附表 番茄主要抗病品種、基因與分子標誌

病害	基因	分子標誌	抗病品種
根瘤線蟲	Mi-1	Rex-1	<i>S. peruvianum</i> (PI128657)
	Mi-3	TG263	<i>S. peruvianum</i> (PI126443)
萎凋病	I-1	At2	<i>S. pimpinellifolium</i> (PI370093)
	I-2	TG105,S20	<i>S. pimpinellifolium</i> (PI126915)
	I-3	RGA332	<i>S. pennellii</i> (LA0716)
黃萎病	Ve-1	GP39	<i>S. lycopersicum</i> (VFN-8)
	Ve-2	V2LeO	<i>S. lycopersicum</i> (LA3428)
葉霉病	Cf-2/Cf-5	TG232	<i>S. pimpinellifolium</i> (PI187002)
	Cf-4/Cf-9	TG236	<i>S. habrochaites</i> 、 <i>S. pimpinellifolium</i>
晚疫病	Ph-2	TG233,TG403	<i>S. pimpinellifolium</i> (L3708)
	Ph-3	TG591,TG328	<i>S. pimpinellifolium</i> (L3708)
番茄黃化捲葉病毒	Ty-1	TG97,TG25	<i>S. chilense</i> (LA1969)
	Ty-2	TG36	<i>S. habrochaites</i> (B6013)
	Ty-3	TG153,CT83	<i>S. chilense</i> (LA1932,LA2779)
	ty-5	SINAC1	<i>S. peruvianum</i> (PI 126926, PI 126930, LA0441)
番茄嵌紋病毒	Tm-1	PK12,SCN20	<i>S. habrochaites</i> (GCR237)
	Tm-2/Tm-2 <sup>2</sup>	TG291,TG207	<i>S. peruvianum</i> (PI128650)
番茄斑點萎凋病毒	Sw-5	CT71,CT220	<i>S. peruvianum</i> (PI 128660)



附圖 農委會種苗改良繁殖場研發番茄抗感病 SCAR 分子標誌之電泳圖 (含 Ty-1, Ty-2, Ty-3, Ty-5, Sw-5, Tm-2, I-2, Ve-1, Ve-2 及 Mi)

圖)，期能對於國內育種家有些許幫助。

### 一. 根瘤線蟲

是一種植物內寄生型害蟲，寄主範圍達2,000多種植物。根部感染後分化成不規則腫瘤狀、傷口易引起土傳病害入侵、抑制側根形成發育、根部極易腐爛，造成植株生育嚴重衰弱，是一種極難防治的土傳病害。感染番茄的根瘤線蟲約有70種，以南方根瘤線蟲(*M. incognita*)危害最為嚴重。由於線蟲對於殺線蟲劑或土壤燻蒸劑藥劑已逐漸產生抗藥性，且化學藥劑防治法不易完全消滅線蟲卵塊，增加防治困難度，因此，育成抗病品種無論對於環境安全維護或阻止根瘤線蟲蔓延均為最佳方式之一。主要抗性育種材料存在於野生種秘魯番茄，已發現9個抗根瘤線蟲基因—*Mi-1*、*Mi-2*、*Mi-3*、*Mi-4*、*Mi-5*、*Mi-6*、*Mi-7*、*Mi-8*及*Mi-9*。已知最常見*Mi-1*基因遭遇土溫高於28°C以上時，對根瘤線蟲抗性將顯著降低，但*Mi-2*、*Mi-3*、*Mi-4*、*Mi-5*、*Mi-6*及*Mi-9*共6個基因即使生長於32°C高土溫環境，仍有明顯耐高溫抗性(heat-stable resistance)。國內外研究單位多從事*Mi-1*基因研究，目前已開發免用限制酶反應即可檢測*Mi-1*基因之SCAR共顯性分子標誌，若能育成抗根瘤線蟲耐熱番茄品種(系)及分子標誌，對產業應用價值將非常大。

### 二. 萎凋病

為一種非常嚴重的土壤及種子傳播真菌性病害，植株莖部縱切面，維管束呈現褐變，具有非常頑強抗逆性與抗藥性。已知生理小種有race1、race2及race3三種，主要抗病基因*I-1*(抗race1)、*I-2*(抗race2)及*I-3*(抗race3)，分別來自醋栗及潘那利野生番茄。目前國外研究單位已開發出檢測*I-1*、*I-2*及*I-3*顯性基因(R)之分子標誌。

### 三. 黃萎病

是一種危害性很大的土壤傳播植物維管束病害，可感染600餘種植物，病徵類似萎凋病，於中國大陸發生情形非常嚴重。生理小種有race1及race2。主要抗病基因*Ve-1*(抗race1)及*Ve-2*(抗race2)，分別來自野生秘魯番茄及醋栗番茄。目前國外研究單位已開發出檢測*Ve-1*及*Ve-2*CAPS分子標誌。

### 四. 葉霉病

罹病初期葉背呈現灰白色小斑點，不久產生灰黴，常見於高濕溫室栽植番茄，

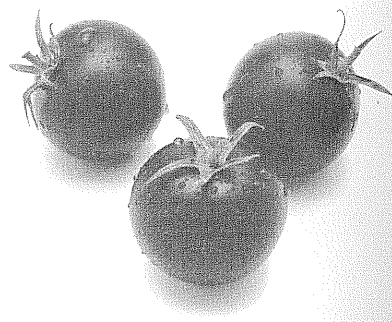
嚴重影響番茄品質與產量，為重要世界性病害之一，但臺灣發生率極低。防治葉霉病難度相當高，主因病原菌生理小種多，目前已知抗病基因有 *Cf-1*~*Cf-12*，其中 *Cf-2*/*Cf-5* 及 *Cf-4*/*Cf-9* 基因抗病效果較強。研究顯示番茄 *Cf* 基因能夠辨識葉霉病菌之無毒 *Avr* 基因後，方能誘發產生抗病性，若葉霉病 *Avr* 基因發生變異，*Cf* 基因將無法產生抗病性。*Cf-2*/*Cf-5* 來自野生醋栗番茄 (PI187002)，*Cf-4*/*Cf-9* 來自野生多毛番茄。未來國際抗病育種產業將著重多重抗病基因，方能有效防治病害。

## 五. 晚疫病

通常發病由葉片向莖部與果實擴展，呈黑褐色、腐爛、植株枯萎倒折，是冬季低溫高濕季節栽培番茄時最易發生的一種非常嚴重真菌性病害，每年均在許多國家造成嚴重危害。晚疫病生理小種種類繁多，2001年亞蔬—世界蔬菜中心 (AVRDC) 分析鑑定臺灣番茄晚疫病有5個生理小種— $T_1$ 、 $T_{1.2}$ 、 $T_{1.2.3}$ 、 $T_{1.4}$  及  $T_{1.2.4}$ 。一般番茄抗晚疫病性狀由2類基因控制，一種主要受 *Ph-1*、*Ph-2* 及 *Ph-3* 等基因控制，遺傳表現為不完全顯性質量性狀；一種是受多基因控制的數量性狀。近年許多研究單位積極開發與番茄抗晚疫病緊密連鎖的分子標誌。

## 六. 番茄黃化捲葉病毒

病徵為新葉變小、褶皺、黃化、簇狀、邊緣上卷及葉厚脆硬，被稱為番茄癌症，主要靠銀葉粉蝨傳毒，在臺灣主要病毒以 ToLCTWV (臺灣種) 及 TYLCTHV (泰國種) 為主，屬於 DNA 病毒。目前鑑定番茄黃化捲葉病毒抗性方法有粉蝨接種、農桿菌感染、嫁接接種及基因槍轟擊等，其中以粉蝨接種法較佳，且可應用於大規模接種鑑定。已知抗性基因有  $\tau y-1$  (來自於智利番茄)、 $\tau y-2$  (來自於多毛番茄)、 $\tau y-3$  (來自於智利番茄)、 $\tau y-4$  (來自於智利番茄) 及  $\tau y-5$  (來自於秘魯番茄，2009年以色列成功導入栽培種番茄中)。由亞蔬—世界蔬菜中心研究顯示，國內番茄感染黃化捲葉病毒株多為泰國種或泰國種與臺灣種混合株，單一抗病基因對於泰國種或混合病毒株無法有效抵抗，必須組合兩個以上抗病基因方能產生明顯防病效果。國內番茄研究團隊已開發抗病基因 SCAR 標誌且檢測結果與國內多家種子公司之已知抗病品種表現一致，該技術可減少育種者檢測成本與時間，對於協助育種者篩選多抗病基因有相當大助益。



## 七. 番茄嵌紋病毒

屬於菸草鑲嵌病毒屬 (*Tobamovirus*)，主要引起番茄頂部葉片變狹小、葉緣變尖、葉表面凹凸不平呈黃綠相間嵌紋或褐色斑點，嚴重時捲曲枯乾、植株生長停滯或不結果，此病癥易與噴灑殺草劑、空氣污染損害、礦物質缺乏、或其他疾病混淆，必須由專業人員診斷確認，在全世界可感染超過150種植物，主要病毒株有3種—ToMV-0、ToMV-1及ToMV-2。目前已知番茄存在3種抗嵌紋病毒基因—*Tm-1* (抗 strains 0, 2)、*Tm-2* (抗 strains 0, 1) 及 *Tm-2<sup>2</sup>* (抗 strains 0, 1, 2，與 *Tm-2* 基因位於相同基因座)。抗病基因來自於野生種多毛番茄及秘魯番茄，*Tm-2<sup>2</sup>* 基因對於3種病毒株均有極佳抗性與抗病持久性，世界各國番茄種子公司對於具有強抗病 *Tm-2<sup>2</sup>* 基因之品種需求高。

## 八. 番茄斑點萎凋病毒

病徵為產生斑點、黃化、斑駁、矮化、萎凋及壞疽等，嚴重影響實品質及產量，由薊馬 (thrips) 傳播病毒，屬於RNA病毒。番茄抗斑點萎凋病毒基因已知有12個，*Sw1<sup>a</sup>*、*Sw1b*、*sw2*、*sw3*、*sw4*、*Sw-5a*、*Sw-5b*、*Sw-5c*、*Sw-5d*、*Sw-5e* 及 *Sw-6* 及 *Sw-7*，其中 *Sw-5* 基因抗病效果最顯著，可同時抗落花生輪斑病毒及番茄黃化斑點病毒，該基因主要來自於秘魯番茄。目前國內外研究單位均已開發出檢測 *Sw-5* 基因之 SCAR 分子標誌。

## 參. 結語

番茄生育過程中常遭受許多病害侵襲，利用傳統育種方式篩選及純化抗病品種相當耗時。近年隨分子生物技術突飛猛進，已為番茄育種開闢新途徑，如品種與純度鑑定、輔助篩選耐逆境、抗病蟲害等。目前已經找到一些與抗病 (病毒病、細菌及真菌性病害) 或抗逆境緊密連鎖的分子標誌，可確認篩選品種抗感病基因型，分子標誌亦可以在眾多番茄資源材料中，快速挑選出優良性狀品種，大幅縮短育成新品種所需時間。雖然許多文獻發表番茄抗病 RFLP、AFLP、RAPD 及 CAPS 等分子標誌，但這些標誌常有操作繁瑣或無法同時判別感病基因的缺點，降低分子標誌實用性。因此，如何找到與抗病基因緊密連鎖且可同時鑑定番茄植株抗感病及病原基因型的簡易分子標誌 (SCAR)，以提升育種效率、縮短育種時程，將成為今後研究重點，獲得研究成果亦將能夠立即應用協助增進國內育成抗病品種之國際競爭力。☞