

作物抗病分子標誌技術於有機農業之應用—番茄篇

The application of resistance molecular markers for organic agriculture - Tomato

孫永偉 副研究員、周佳霖 助理研究員、周明燕 副研究員、
鍾文全 研究員兼課長

Yung-Wei Sun, Associate Researcher; Chia-Lin Chou, Assistant Researcher;
Ming-Yenn Chou, Associate Researcher; Wen-Chuan Chung, Researcher and Chief

行政院農業委員會種苗改良繁殖場

電子郵件：sun@tss.gov.tw；傳真：04-25814687

摘要

隨著食安與環保問題日漸受到重視，消費者對農產品生產過程與品質要求愈趨嚴格，故有機農業受到社會大眾歡迎。絕大多數農作物栽培過程中，極易遭受病菌與害蟲侵襲，雖然非農藥防治病蟲害方式陸續被開發應用，但最環保且最安全防治病蟲害手段之一為育成抗病蟲害品種。近年開發分子標誌技術已被廣泛應用於許多作物抗病育種選拔，若能建立低成本、高通量、精準檢測，對於提升育種效率與改良優質抗病品種，則有機栽培成功率將有極大助益。

關鍵詞：番茄、分子標誌、抗病

有機農業定義與重要性

有機農業是一種較不污染環境、不破壞生態，並能提供消費者健康與安全農產品的生產方式。有機農業之定義因各國法律之規定而不同，隨著農業技術的演變，有機農業法規的要求亦漸趨嚴格。主要目的，不施用化學農藥與肥料且不得種植基因改造作物，遵守自然資源循環永續利用原則。研究顯示有機農業具有能夠維護人體健康與生態環境、改進空氣品質、防止土壤流失、農產品風味與營養較佳等優點。

儘管有機農業優點眾所皆知，大家也希望食用健康安全的有機農產品，但有機栽培成敗最重要關鍵因素，需具備扎實栽培技術、了解作物品種特性、肥培與水分管理、雜草與病蟲害防治等技能，尤其作物生育過程中易遭受各種病毒、細菌、真菌與蟲危害，嚴重影響作物產量與品質，此為多數農民栽種意願低落主因。近年許多非農藥防治病蟲害技術被開發，如有益微生物、草木灰、葵無露、害蟲天敵等，往往價格過高、不易取得或效果有限。因此，育成抗病蟲害作物品種為最環保最有效防治手段之一。

育成抗病品種為有機農業成功重要環節

作物生育過程中極易遭受病蟲危害，嚴重影響產量與品質，如 1845 年馬鈴薯晚疫病造成愛爾蘭數百萬人餓死與遷徙之大饑荒，對人體危害之大可見一斑。植物主要病蟲害有病毒、真菌、細菌及蟲害等，由細菌或真菌引起之葉部病害如細菌性斑點病、晚疫病、白粉病，雖可以噴施藥劑防治，但易發生藥害，尤其對人體健康造成危害及破壞生態環境；土壤傳播性病害如萎凋病、蔓割病、根瘤線蟲等，使用藥劑防治效果有效不易有效防治且毒性更高；由病毒引起的病害則無藥劑可提供防治。育成抗病品種能夠減少農藥施用、生態環境保育及確保人體健康，為種子苗業者最重要育種目標之一，如農藝作物水稻抗稻熱病、抗白葉枯病、玉米抗銹病、抗葉斑病；園藝作物番木瓜抗病毒、香蕉抗黃葉病、番茄抗病毒、抗晚疫病、抗青枯病等。欲達成有機或無毒栽培農作物之目的，種植抗病害作物品種為必備工具之一。

分子標誌技術可協助快速、大量、精準篩選抗病作物

1980 年代之前，番茄育種方式多採用外表型態選拔法 (phenotypic selection)，但缺點是易受環境影響、不適合數量性狀、低遺傳或隱性性狀篩選。由於各種作物基因體解序與分子標誌技術日益進步，分子標誌技術已利用於作物品種及純度鑑定、抗病基因分子輔助育種，能夠協助育種者快速篩選優良。近年已開發多種檢測作物抗病、感病與病害基因之分子技術，如逢機擴增多型性 DNA (RAPD, randomly amplified polymorphic DNA)、簡單重複序列 (SSR, simple sequence repeat；又稱微衛星序列 microsatellite)、擴增片段長度多型性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP)、單核苷酸多型性 (SNP, single nucleotide polymorphism)、酶切擴增多型性序列 (CAPS, cleaved amplified polymorphic sequence)、特異性序列擴增區域 (SCAR, sequence characterized

amplified region)等，其中 SNP、CAPS 及 SCAR 分子標記技術更能夠同時鑑定作物抗病與感病基因，作為植物品種抗病性判斷依據。利用分子標記技術能夠精準選拔植株抗病基因、節省土地資源、減少田間與環境衝擊、縮短育種時程等優點，但開發成功的分子標記前提有二，確認品種、與目標性狀緊密連鎖的分子標記。利用分子標記技術已成功應用於茄科、葫蘆科及十字花科優良抗病性狀選種，如番茄抗捲葉病毒、西瓜抗蔓割病、甘藍自交不親合性狀。本文將以番茄為例，介紹番茄重要病害與相關抗病分子標記。

以番茄為例，已成功開發之抗病分子標記

番茄為茄科 *Solanaceae*，學名 *Solanum lycopersicum*。種源中心為南美安地斯山脈之秘魯、厄瓜多爾、玻利維亞等地，現今仍有許多野生種於安地斯山脈半山腰中被廣泛栽培。番茄為世界性的重要經濟作物之一，台灣栽培面積為 5143 公頃，每公頃小果番茄種子需求量約 30~60 公克(1.5~3 萬株)，大果番茄需求量約 90~110 公克(3.3~4 萬株)。每公頃種子費需 1.1~4 萬元，種苗費需 3~18 萬元。每公斤種子價格約新台幣 22~50 萬元，實生苗價格約新台幣 1.5~3 元/株，嫁接苗價格約新台幣 6~9 元/株。臺灣番茄產值以種子估算為新臺幣 0.5~2 億元，以種苗估算為新臺幣 1.5~9.2 億元；全球番茄產值以種子估算為美金 17.3~63 億元，以種苗估算為美金 47.3~284 億元，經濟價值極高。以下為番茄重要病害特徵、已知抗病品種與作物抗病基因分子檢測技術，可供育種者或相關研究人員參考。

一、病毒病

1. 番茄黃化捲葉病毒(Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)

屬於 *Begomovirus* (豆類金黃嵌紋病毒屬)，為番茄最嚴重世界性病害之一，症狀為新葉變小、褶皺、黃化、簇狀、邊緣上卷、葉厚脆硬，嚴重影響果實品質及產量。在台灣 *Begomovirus* 屬病毒中有 4 種病毒可感染番茄，分別為 AYVHuV、ToLCHsV、ToLCTWV (台灣種)、及 TYLCTHV (泰國種)等，其中以台灣種及泰國種為最主要之病毒，致病性則以泰國種病毒最強，近年台灣發生之黃化捲葉病毒多為純泰國種及泰國種/台灣種之混合種為主，故番茄罹病情形非常嚴重。

此病毒主要藉由銀葉粉蝨(silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*)傳播病毒。銀葉粉蝨可危害 500 種以上植物，完成一世代僅需 19~27 日。每一雌蟲一

生產卵達 200~500 粒，若蟲及成蟲均以刺吸式口器刺吸病毒株汁液後傳播病毒。成蟲不擅長距離飛翔，一般靠風力傳佈。研究顯示 1 隻粉蝨吸食病毒株汁液 1 hr 後即能傳毒，1 隻粉蝨傳毒率為 29%，10 隻傳毒率可達 100%，粉蝨最短接種病毒時間為 15 分鐘。粉蝨易造成寄主植物損害，除傳播病毒外，還會分泌蜜露引起煤煙病、消耗植物養分及產生毒性。由於粉蝨生育世代短、抗藥性強、寄主範圍廣、傳毒率高、全身覆蓋蠟粉(質)、須 50 目以上尼龍網方能隔離、危害情形有愈來愈嚴重趨勢等特性，使得防治非常不易，可謂世界級超級害蟲。

黃化捲葉病毒雖危害情形非常嚴重，但必須靠銀葉粉蝨方能傳毒，若能有效控制粉蝨族群量，將能大幅降低多種經濟作物粉蝨傳毒之危害，確保農民收益。銀葉粉蝨雖然具有生育期短、繁殖力及抗藥性強、寄主範圍廣等特性，不易防治，但其飢不擇食、不善飛行、對黃色及特定光質有特殊喜好、部分物質對其有忌避及毒殺效果等特性，亦將成為其致命傷。希望未來在育種、病毒、微生物、昆蟲、分子、組培、化學分析等領域專家，獲得更多經費支持，成立跨領域研究團隊，以萬物之靈的智慧必可在短時間內逐一解決相關問題並開發出更有效防治技術，所建立的技術除對提升國內番茄產業有助益外，在國際防治 TYLCV 及粉蝨領域上亦將居於領先地位，為本國爭取利基。

2. 番茄嵌紋病毒(Tomato mosaicvirus, ToMV 或 Tobacco mosaicvirus, TMV)

為菸草嵌紋病毒屬(*Tobamovirus*)之 RNA 病毒，在全世界可感染超過 150 種植物，包含許多蔬菜、花卉、水果與雜草。該病毒感染番茄主要引起病癥為頂部葉片變狹小，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、礦物質缺乏和其他植物疾病混淆，必須由專業人員以電子顯微鏡診斷確認。主要病毒株(virus strain)有 3 種，ToMV-0、ToMV-1、ToMV-2 等，由移動蛋白(movement protein)控制病毒在寄主植物體內傳播。本病毒極易經由傷口傳播，感染病毒植株須立即拔除及銷毀，避免擴散，育成抗病品種為最有效防治手段之一。目前已知番茄存在 3 種抗嵌紋病毒基因，*Tm-1*、*Tm-2*、*Tm-2*²(=*Tm-2*^o)。*Tm-1* 基因來自野生種多毛番茄(*Solanum hirsutum*)，位於第 5 條染色體，能夠干擾 ToMV 病毒複製，同質結合基因型(homozygous)能夠抑制 99%病毒複製，異質結合基因型(heterozygous)能夠抑制 90%病毒複製。*Tm-2* 與 *Tm-2*² 基因均來自野生種秘魯番茄(*Solanum peruvianum*)，位於第 9 條染色體中央著絲點(centromere)之等位基因，能夠抑制病毒之移動蛋白作用，造成病毒無法擴散，研究顯示 *Tm-2*² 基因對於 3 種病毒株均有極佳抗性與抗病持久性。

開發抗病基因 *Tm-2* 或 *Tm-2²* 專一性分子標記對於協助育種者早期篩選抗病品系基因型具有相當大助益。雖然已知 *Tm-2* 與 *Tm-2²* 抗病基因位於相同基因座，相當不易區分，但二者對於接種不同 ToMV 病毒株後，呈現不同抗病性反應(姜和楊，2003；Aramburu and Galipienso, 2005；Weber *et al.*, 2004)。Lanfermeijer 等人(2005)認為 ToMV 病毒之移動蛋白能夠誘導抗病寄主植物 R 蛋白作用，產生程序化細胞死亡(program cell death)，造成寄主葉片局部壞死，即所謂過敏性反應(hypersensitive response)。Ohmori 等人(1995)利用 RAPD 隨機引子篩選 13 組分子標記，其中 10 組可檢測 *Tm-2* 基因、3 組可檢測 *Tm-2²* 基因，Motoyoshi 等人(1996)利用其中 10 組 *Tm-2* 之 RAPD 標記開發出專一性較高的 SCAR 標記，但無法確認 F2 分離族群之 *Tm-2* 基因型。

3. 番茄斑點萎凋病毒(Tomato spotted wilt virus；TSWV)

為 *Tospovirus* 屬病毒之一，首次於澳洲的番茄植株被發現，接著在許多地區陸續發生，是番茄由薊馬傳播最嚴重的世界性病毒病害。不同作物間亦會造成交叉感染，如 1991 年台南地區的番茄受西瓜 TSWV 的感染而造成嚴重損失，目前臺灣已多年未發生此病害。主要抗病來源為野生醋栗番茄、智利番茄及祕魯番茄等。已知番茄抗斑點萎凋病毒基因有 12 個，*Sw-1^a*、*Sw-1^b*、*sw-2*、*sw-3*、*sw-4*、*Sw-5a*、*Sw-5b*、*Sw-5c*、*Sw-5d*、*Sw-5e* 及 *Sw-6*、*Sw-7* 等，其中 *sw-2*、*sw-3* 與 *sw-4* 為隱性抗病基因。目前番茄抗斑點萎凋病毒病抗性基因 *Sw-5* 為主要研究對象，該基因可同時抗落花生輪斑病毒及番茄黃化斑點病毒，番茄植株具有 *Sw5* 抗性基因，接種 TSWV 病毒的反應，呈現無病斑或限制性過敏反應，不影響番茄植株後續的生長及經濟性。*Sw-5* 基因主要存在番茄第 9 條染色體上，可分為 *Sw-5a*、*Sw-5b* 及 *Sw-5c*、*Sw-5d*、*Sw-5e* 兩群。國外學者比較兩群基因對番茄斑點萎凋病毒抗性的表現，結果顯示其中 *Sw-5a*、*Sw-5b* 較 *Sw-5c*、*Sw-5d*、*Sw-5e* 有較佳的抗病性表現。

4. 番茄退綠病毒(Tomato chlorosis virus；ToCV)

1998 年在美國佛羅里達州首次報導發現，在自然條件下，可以經由 B 型煙粉蟲 (*Bemisia tabaci* biotype B)、Q 型煙粉蟲 (*B. tabaci* biotype Q)、A 型煙粉蟲 (*B. tabaci* biotype A)、溫室白粉蟲 (*Trialeurodes vaporariorum*)、銀葉粉蟲和紋翅粉蟲 (*T. abutilonea*) 等媒介昆蟲傳播，是唯一能通過 4 種分屬於兩個屬的粉虱傳播的病毒，可以感染茄科(番茄、甜椒和煙草等)、番杏科、莧科、夾竹桃科、藜科、菊科和藍雪科等植物，ToCV 不能通過摩擦接種傳播。未來中國大陸可能大爆發。

番茄褪綠病毒發生流行主要伴隨煙粉虱等媒介昆蟲發生為害，且該病毒能夠與番茄黃化捲葉病毒混合侵染 (Martinez-Zubiaur *et. al.*, 2008)，因此防控措施主要圍繞媒介昆蟲來開展。目前國際上尚沒有針對番茄褪綠病毒的抗病品種，國內設施番茄生產上主要栽培的品種均為抗番茄黃化曲葉病毒 (TYLCV) 的品種，根據在壽光種植區的調查，大部分番茄品種不抗番茄褪綠病毒。番茄褪綠病毒是最近暴發的新病害，又多在設施中發生，其發病規律、田間診斷及防治措施目前經驗較少，生產上迫切需要加強對該病毒的深入研究，目前尚無相關抗病基因研究。

二、真菌性病害

1. 晚疫病 (Late blight, *Phytophthora infestans*)

番茄全株均可被感染，成株較幼苗略為耐病，幼苗染病後，可造成全株急速枯萎。莖部及葉柄被害時，起初出現淡褐色斑點，而後呈環狀黑褐色之稍凹陷病斑，俗稱黑骨病，嚴重時被害部位以上之組織枯萎下垂。好發於番茄冬季低溫高濕或雨季最嚴重真菌性病害，常導致 100% 植株死亡，產量、品質、貯藏性大幅降低，施藥成本大幅增加，甚至影響國家經濟發展，破壞力相當大。晚疫病菌株有 T-0、T-1、T-2，目前已知生理小種有 T₀、T₁、T_{1,2}、T_{1,3}、T_{1,2,3}、T₃ 與 T₄ 等數十個，亞洲蔬菜中心 (AVRDC) 分析鑑定臺灣番茄晚疫病有 10 個生理小種，T₁、T_{1,2}、T_{1,3}、T_{1,2,3}、T_{1,2,5}、T_{1,3,5}、T_{1,2,3,4}、T_{1,2,3,5}、T_{1,3,4,5} 與 T_{1,2,3,4,5}，其中 T_{1,2,3} 為主要菌株。

自從 1840 年代發生馬鈴薯晚疫病，造成愛爾蘭大饑荒後，學者開始重視馬鈴薯與番茄晚疫病病理學與抗病遺傳學研究。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*、*Ph-3* 與 *Ph-5* 等基因控制，遺傳表現為 (不完全) 顯性質的性狀；一種是受多基因控制的數量性狀。目前已知 3 個抗病基因 *Ph-1*、*Ph-2*、*Ph-3* 來自野生醋栗番茄 (*S. pimpinellifolium*)，分別位於 7、10、9 號染色體。*Ph-1* 對菌株 T-0 為單一顯性抗病基因，但不久全球晚疫病主要菌株成為 T-1，但 *Ph-1* 對菌株 T-1 不具抗性，相關研究不再進行。*Ph-2* 為不完全顯性抗病基因，位於 10 號染色體長臂，能夠延緩菌株 T-1 危害，但無法抵抗大量病菌危害及擴散，該基因位於分子標誌 CP105 與 TG233 之間。近年由亞洲蔬菜中心於番茄 L3708 品系 (相似種 LA1269 或 PI365957) 發現 *Ph-3* 基因抗性非常強，為不完全顯性基因，位於 9 號染色體長臂，靠近分子標誌 TG591。已有研究開發出共顯性 (同時判讀顯隱性) CAPS 分子標誌，應用於輔助育種篩選抗病品種。雖然 *Ph-3* 基因抗病力較強，但隨病原菌持續變化，任何單一抗病基因均無

法完全抵抗晚疫病危害，若番茄植株同時攜 *Ph-2* 與 *Ph-3* 抗病基因，對於大多數晚疫病 T1 菌株均呈現極佳抗病效果，如番茄育種系(breeding line)NC1 CELBR、NC2 CELBR、MountainMagic 及 MountainMerit 等。Merk 與 Foolad (2011) 於抗病品種 PSLP153 中發現新抗病基因 *Ph-5-1* 與 *Ph-5-2*(名稱暫定)，分別位於 1 號與 10 號染色體。除上述主要抗病基因外，一些與抗晚疫病有關數量性狀基因(QTL, quantitative trait)陸續於野生番茄(*S. habrochaites*, LA 2099)中被確認，但這些抗病數量基因多伴隨不良園藝性狀，如晚熟或果實變極大。由番茄 LA2099 中，篩選出 5 個主效 QTLs (Rlbhq4a, Rlbhq4b, Rlbhq7, Rlbhq8, Rlbhq12) 分別位於 4、7、8、12 號染色體，相關基因具體應用仍確認中。

2. 萎凋病(*Fusarium wilt*, *Fusarium oxysporium* f. sp. *lycopersici*)

最初葉脈透明化，葉片偏上生長，葉片由下位葉逐漸向上黃化及萎凋，隨後葉柄下垂，葉片枯死，最後整株枯萎死亡。初期病徵往往只出現於植株的一側；剖開植株莖部縱橫切面，可見植株之維管束明顯褐化。若幼苗期受感染，植株可迅速枯萎死亡；至於較大植株被感染時，可延遲至結果期才發病(蔬菜病蟲害綜合防治專輯)，為番茄最常見且最嚴重土壤及種傳真菌性病害，置於清水中，不會有白色煙霧狀的東西滲漏出來。已確定菌株有 3 種(race 1, 2, 3)及對應之抗病基因(*I-1*, *I-2*, *I-3*)，台灣主要菌株為 race 2，需要 *I-2* 抗病番茄品種，但 race 3 已逐漸成為全世界危害最嚴重菌株，故對於 *I-3* 抗病品種需求甚殷。抗病基因來自於野生醋栗番茄(*S. pimpinellifolium*, *I-1*, *I-2*)及野生潘那利番茄(*S. pennellii*, *I-3*)。

3. 根腐病(*Fusarium crown and root rot*, *Fusarium oxysporium* f. sp.

radicis-lycopersici)

好發於冷涼地區番茄幼苗莖基部，初期成水浸狀，之後呈褐色至腐爛，為嚴重土傳病害之一。雖由鐮孢菌引起病害，但與萎凋病菌株不同，抗病基因亦不同，已知抗病基因 *Frl* 來自野生秘魯番茄 9 號染色體，與抗病基因 *Tm-2²* 連鎖。雖然近年陸續開發 RAPD (UBC194)分子標誌，尚未實際運用輔助抗病育種選拔。

4. 黃萎病(*Verticillium wilt*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*)

是一種頑強且危害性大的世界性土傳真菌病害之一，能夠感染超過 200 種雙子葉植維管束，引起植物木質部變色、萎凋、落葉，導致植株枯死，類似萎凋病(*Fusarium oxysporum*)病徵。已知 2 株病原菌 race1 (引起病害之主要菌株) 與 race2 及 2 個抗病基因 *Ve-1* 與 *Ve-2*，此 2 個抗病基因只對於病原菌 race1 有明

顯抗性，位於 9 號染色體短臂並與分子標誌 GP39 緊密連鎖。*Ve-1* 與 *Ve-2* 基因分子標誌研究相當多，已實際應用於抗病輔助育種，雖然已有抗 *race2* 之番茄品種，但尚未發現相關抗病基因。

5. 葉霉病(Leaf mould, *Fulvia fulva* Cooke Cuferrri (新菌名稱), *Cladosporium fulvum* Cooke (舊菌名稱))

好發於低溫高濕的設施栽培內，當溫度為 18~26°C，溼度高達 90~100% 時最易發生。分生孢子自葉背病斑產生後，隨氣流或雨水接觸而傳播，有時亦可附著在種子上。主要發生於葉、莖、花及幼果亦可被害，在潮濕環境下，這些病斑之下表面著生紫褐色之黴狀物，病斑初呈圓形，後因葉脈阻止呈不正形，表面呈淡黃色，背面轉為黃褐色至灰紫色，後期葉捲而枯死(植物保護手冊)。抗病基因來自野生多毛番茄(*S. habrochaites*)及醋栗番茄(*S. pimpinellifolium*)，於 1986 年雜交導入栽培種番茄內。已確認 *Cf-1*~*Cf-24* 共 24 個抗病基因，主要位於 1、4、6、10 及 11 號染色體。*Cf-4* 與 *Cf-9* 基因位於相同基因座緊密連鎖，位於第 1 條短臂染色體；*Cf-2* 與 *Cf-5* 基因位於相同基因座緊密連鎖，位於第 6 條短臂染色體，此 2 群基因極難區分，亦為目前國際研究重點。

6. 白粉病(Powdery mildew, *Leveillula taurina*, *Oidium lycopersici*, *O. neolyopersici*)

初期感染大多數以老葉開始，在葉背出現細小白粉狀斑點，病斑逐漸擴大，罹病部位覆蓋上一層白粉，葉面亦常見白粉病徵，此乃病原菌之分生孢子及分生孢子梗。感染嚴重時葉表面被害組織呈現淡褐色，葉背面呈現黃化現象，導致葉肉組織壞疽，葉片乾枯、落葉。好發於溫室內，偶爾亦會出現於大田。當溫濕度適合時，分生孢子便很快長出發芽管而侵入角質層和表皮細胞，而且在短時間內便形成吸器在表皮細胞內。數日後，菌絲便產生分生孢子梗及分生孢子再傳播感染(蔬菜病蟲害防治專輯)。抗病基因有質與數量性狀二類共同作用，如 *Lv* 基因來自野生智利番茄(*S. chilense*)對 *L. taurina* 病原菌為單一顯性抗病基因，位於 12 號染色體分子標誌 CT211 與 CT219 之間，已有私人種子公司使用 PCR 分子標誌鑑定番茄品種之 *Lv* 基因。有 3 個基因 *Ol-1*、*ol-2* 及 *Ol-3* 對病原菌 *O. neolyopersici* 呈現抗性，*Ol-1* 及 *Ol-3* 基因可能是對偶基因(allele)來自野生多毛番茄(*S. habrochaites*)，位於 6 號染色體；*ol-2* 為隱性抗病基因，位於 4 號染色體，上述基因已建立分子標誌並應用於抗病輔助選種。

7. 早疫病(Early blight, *Alternaria tomatophila* and *A. solani*)

病菌一般存活於野生番茄、土壤或其他寄主上，初次感染源可能來自上述

環境或受污染之種子。本病為空氣傳播病害，分生孢子可藉氣流與雨露傳播，發芽後可直接侵入寄主表皮組織，誘發病害。春、秋季時，潮溼與溫暖（25～30℃）的環境適合發病，多施肥時，病害較輕微（台灣農家要覽）。主要好發於多雨或相對濕度高之地區與季節，是番茄常見且具破壞性病害之一。野生多毛番茄(*S. habrochaites*)、醋栗番茄(*S. pimpinellifolium*)及祕魯番茄為抗病基因來源，並非質的抗病基因，而是複雜的累加與非累加交互影響之數量基因控制，尚未實際運用輔助抗病育種選拔。

8. 莖枯病(*Alternaria stem canker, Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*)

主要發生於多雨或相對濕度高之地區與季節，如美國加州與佛羅里達州，目前尚未出現於台灣番茄作物。感染莖、葉、果實，明顯降低產量與品質。已確定抗病基因 Asc^c 位於 3 號染色體長臂。已有研究篩選出抗病基因 Asc 之 RFLP 分子標誌 TG134 及 TG442，但尚未實際運用輔助育種選拔。

9. 炭疽病(*Anthraco*se, *Colletotrichum coccodes*, *C. dematium* 及 *C.*

gloeosporioides)

主要發生於成熟或過熟且含水量高之果實上，嚴重影響商品價值。雖然已有一些 RAPD 分子標誌與 QTLs 針對抗病品種進行研究，但尚未實際運用輔助育種選拔。

10. 褐色根腐病(*Corky root rot, Pyrenochaeta lycopersici*)

主要發生於低土溫(20℃以下)時，病原菌危害莖基部及根部呈褐色、根部腐爛後大量脫落，為土傳病害。野生多毛番茄(*S. habrochaites*)及祕魯番茄為抗病基因來源，來自祕魯番茄隱性基因 *py-1* 為目前已知抗病基因，位於 3 號染色體短臂之 RFLP 分子標誌 TG40 與 CT31 之間，尚未實際運用輔助抗病育種選拔。

三、細菌性病害

1. 細菌性斑點病(*Bacterial spot, Xanthomonas* spp.)

是一種普遍發生於世界各地(尤其是熱帶與亞熱帶低區)番茄細菌性病害，主要由黃單胞菌屬(*Xanthomonas*)的 4 個種及 5 個 races 所引起，包含 *X. euvesicatoria* (race T1)、*X. vesicatoria* (race T2)、*X. perforans* (races T3, T4, T5)及 *X. gardneri* (race T2)，其中 *X. perforans* 是引起病害的主要菌種。可感染番茄莖、葉及果實等，造成落葉、果實病斑與產量銳減。感染初期葉片呈水浸狀斑點，病斑略下陷，最後當壞疽時中央形成褐色或灰色，漸擴大成不規則形斑點。病原菌可藉著風吹、雨水飛濺的方式傳播，或可藉由動物、人、昆蟲、農具、土壤粒子及水源污染等傳播。由於病原菌變異快且抗藥性強，故化學藥劑防治不佳，已確

認栽培種番茄(Hawaii 7998 與 Hawaii 7981)、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (PI 114490)、野生醋栗番茄(PI 126932 與 PI 128216)及野生潘那利番茄(LA0716)等對細菌性斑點病的抗性。一般而言，抗病基因對特定菌株抗性具有專一性，如抗病品種 Hawaii 7998 對 T1 菌株感染田間番茄產生輕微病徵或溫室番茄產生局部葉片凋亡的過敏性反應(hypersensitive response)，達到抗病目的。已知 *Rx-1* (1 號染色體)、*Rx-2* (1 號染色體)與 *Rx-3* (5 號染色體)等 3 個基因抗 T1 菌株，雖已陸續開發 RFLP 分子標誌，但無法適用潘那利番茄 LA0716 或相關育種系(不具多型性)，故限制抗病輔助育種應用性，目前已有 *Rx3-L1* 分子標誌(CAPS)實際應用於抗病輔助育種。育種系(Hawaii 7981)及野生醋栗番茄(PI 128216)對於田間或溫室栽培番茄感染 T3 菌株均有極強抗病性，主要抗病基因為 *Xv-3* (即 *Rx-4*，位於 11 號染色體)，已建立與 *Rx-4* 連鎖的 SSR 及 SNP 分子標誌。野生潘那利番茄(LA0716)對 T4 菌株呈現過敏性抗病反應，抗病基因為 *Xv-4* (可能位於 3 號染色體?)，栽培種番茄 *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (PI 114490，黃色小番茄)對於多菌株(T1、T2、T3 及 T4)呈現抗性，另有研究陸續篩選多個數量性狀基因，分別位於 3 號及 11 號染色體，其中位於 11 號染色體數量性狀基因之外表型變異的解釋量(PVE, phenotypic variance explained)接近 30 %。累積較多質與量的抗病基因，應能夠獲得較強的抗病性，但由於病原菌與植物存在複雜的交感效應，影響抗病表現，故必須結合分子標誌與病原菌接種或田間植株病害表現綜合判斷，方能獲得正確抗病植株。

2. 青枯病(Bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*)

青枯病菌可經由植物體之自然開口及任何部位出現之傷口侵入植物體內，並快速蔓延維管束內，堵塞水分輸送，造成植株萎凋枯死。此病是番茄種植於熱帶與亞熱帶地區發生最嚴重的土傳細菌性病害，即使溫帶地區亦是常見，由於寄主與分佈範圍廣、遺傳變異大且抗藥性強，故破壞性相當可怕，屬於世界性病害，學者們雖已廣泛從事各種抗病遺傳研究，篩選抗病品種與探討抗病機制，但獲得成果仍屬有限，一般小果番茄較大果番茄易獲得抗病品種，抗青枯病基因往往造成果實變小，由於育種者努力，已取得許多抗病大果番茄品種。番茄抗青枯病基因以數量性狀基因為主，品種需堆疊較多抗病基因方能獲得較佳抗病效果，由抗病品種 Hawaii 7996 與 Hawaii 7998 發現存在單一顯性抗病基因。使用不同抗病品種與病原菌株，篩選出數個 QTLs 基因，分別位於 3、4、6、7、8、10 及 12 號染色體。最新研究顯示位於 12 號染色體抗病基因貢獻度最大，其次為 6 號染色體。

3. 葉斑病(Bacterial speck, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)

主要發生於濕冷地區及氣候，生育初期病株葉片出現墨綠至暗褐色不規則形之水浸狀斑點，嚴重發病整株褐化壞疽，約造成田區 75% 植株死亡，可經由種子、土壤與罹病植株傳播。雖然殺菌劑可減輕病菌危害，但種植抗病品種為最有效防治手段之一。已知菌株有 race 0 與 race 1，雖然 race 0 為目前全世界主要危害番茄菌株，但 race 1 危害程度有顯著逐年增加趨勢。已發現多個野生番茄對細菌性葉斑病有抗性，如醋栗番茄、多毛番茄、秘魯番茄、*S. corneliomulleri* 等。來自野生醋栗番茄品種編號 PI 370093 的抗病半顯性基因(semi-dominant gene) *Pto-1* 導入番茄栽培種 Ontario 7710 內，對於 race 0 菌株有極強抗病，之後再以 Ontario 7710 品種與其他栽培種番茄雜交，抗病性仍然存在。*Pto-1* 基因位於 5 號染色體，對於細菌性斑點病亦具有抗性，*Pto-1* 基因與 *Fen* 基因(控制芬殺松殺蟲劑敏感性基因)緊密連鎖，故可利用施用芬殺松殺蟲劑，由番茄植株敏感性表現判斷植株是否存在 *Pto-1* 基因。學者已陸續開發與 *Pto-1* 基因連鎖之 PCR 分子標誌。此外，研究指出抗葉斑病基因尚有 *Pto-2*、*Pto-3* 及 *Pto-4* 基因，上述基因定位、特性與分子標誌所知甚少，仍待進一步開發。

4. 潰瘍病(Bacterial canker, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 與 *Corynebacterium michiganense* 同菌)

革蘭式陽性菌，為亞熱帶番茄極易發生的世界性種傳細菌病害，目前台灣並無正式的研究報告證實有此病害存在。本病之病徵常出現在果實上，內為壞疽斑、外圍白色暈環，似鳥眼，有時會產生半側萎凋，莖部或枝條上產生深褐色之條斑，在高濕時可見菌泥溢出，藉由灌溉水、雨水或土壤傳播。由於病原菌種類多且易變異，防治難度大。抗病基因來自野生秘魯(LA2157)、多毛(LA0407)、醋栗及智利番茄。學者研究顯示有 2 個數量性狀基因 *Rcm2* 與 *Rcm5* 分別位於 2 與 5 號染色體，能夠解釋約 68% 外表型態抗病性。已陸續發表輔助抗病育種分子標誌，但尚未實際應用於商業品種之抗病選拔。

四、根瘤線蟲(Root knot nematodes, *Meloidogyne* spp.)

目前已知根瘤線蟲種類有 56 種，其中 4 種危害作物情形最為嚴重，分別為南方根瘤線蟲(*M. incognita*)、北方根瘤線蟲(*M. hapla*)、爪哇根瘤線蟲(*M. javanica*)、花生根瘤線蟲(*M. arenaria*)等，以南方根瘤線蟲是危害最嚴重的優勢菌株。遭受根瘤線蟲侵襲之植株，水養分輸導受阻、根系有明顯瘤狀突起，導致生育受阻、萎凋、感染其他病害、嚴重影響產量及品質。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，已成為近年國際大型番茄育種公司(Syngenta、Hazera、Seminis 等)之重要抗病育種方向。傳統抗根瘤線蟲植株篩選，需於苗期接種根瘤線蟲，調查根系感染根瘤情形。此法有傳播病害、耗時、不易確認抗性基因型等缺點。研究顯示 *Aps-1* 基因(編碼 acid phosphatase-1)與番茄抗根瘤線蟲基因連鎖，可作為篩選番茄抗根瘤線蟲後裔選拔之依據。早期需經過一系列蛋白質萃取、純化、電泳分析繁瑣工作，方能確認植株是否存在 acid phosphatase-1 酵素及抗根瘤線蟲能力。研究認為 *Mi* 基因(來自於野生秘魯番茄)為作物唯一具有抗根瘤線蟲能力之基因，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*、*Mi-9* 等。*Mi-1* 基因為一對顯性基因控制，已被廣泛研究與利用，已確認 *Mi-1* 基因位於番茄第 6 條染色體位置，此基因於土溫 32°C 以上，將喪失抗根瘤線蟲能力。研究發現 *Mi-2*、*Mi-4*、*Mi-5*、*Mi-6*、*Mi-9* 等基因於土溫 32°C 以上，能具有抗根瘤線蟲能力。Williamson 等人(1994)開發與 *Mi* 基因連鎖之 *REX-1* 分子標誌，利用限制酶切反應，可應用於大量鑑定番茄抗根瘤線蟲基因型。

結 語

作物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質(單一基因)與量(QTLs)基因的分 子標誌，可確認篩選品種抗病與感病基因型，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、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。

引用文獻

1. Acciarri, N., G. L. Rotino, G. Tamietti, D. Valentino, S. Voltattorni and E. Sabatini. 2007. Molecular markers for Ve1 and Ve2 Verticillium resistance genes