

番茄抗根瘤線蟲植株之篩檢方法介紹

孫永偉¹、李美娟¹、沈翰祖¹、文紀鑾¹、林正雄²、廖玉珠³、陳駿季⁴

前言

番茄為茄科作物之一，果實主要用途有鮮食及加工用，本省每年栽培面積約4000餘公頃，是相當重要之蔬果類作物。

番茄生育期間喜低溫冷涼環境，本省以秋冬季節栽培較多，為供應市場需求，夏季亦有少量栽培，但高溫環境下，番茄易罹患青枯病、萎凋病及根瘤線蟲等病害。其中根瘤線蟲(Root-knot nematodes; *Meloidogyne incognita*)為絕對寄生性病原，其病徵包括根部結成瘤塊或唸珠狀、下節位葉片變黃、植株矮化、果實小且少，嚴重影響產量及品質。連作及高溫環境將使病害發生更加嚴重。防治方法雖可以噴施化學藥劑或土壤消毒減輕病害發生，卻容易對環境造成污染問題。因此，仍應以育成抗病品種方為根本解決之道。

抗根瘤線蟲基因(Mi)於1941在番茄屬之原生種*Lycopersicon peruvianum*植株上被發現。若植株缺少Mi基因或該基因受損，均會造成植株非常容易感染根瘤線蟲。Smith等人於1944年首先經由雜交育種方式將*Lycopersicon peruvianum* Mi基因轉入番茄(*Lycopersicon esculentum*)栽培種。抗根瘤線蟲亦為本場番茄育種目標

之一，已育成之雜交番茄品種“種苗七號”即具有抗根瘤線蟲基因。

抗根瘤線蟲植株之篩檢方法

可用於篩選番茄抗根瘤線蟲植株之方式有生物檢測法、蛋白質電泳法、限制酵素片段長度多型性法(RFLP)及聚合酵素鏈鎖反應法(PCR)等。

一、生物檢測法

將線蟲菌液接種至番茄栽培介質上，篩選抗病植株，此法需將植株種植於盆器內俟植株長成大苗後，方能將根瘤線蟲接種至植株根系，經過一段時間後，觀察植株根瘤形成情形。

二、蛋白質電泳法

已有學者證實Mi基因與控制作物酸性磷酸酵素(Acid phosphatase-1)合成之Aps-1基因有非常密切連鎖關係。因此，可利用檢測作物酸性磷酸酵素存在與否，判斷植株是否具有抗根瘤線蟲基因。此法須先經由繁瑣步驟萃取及純化植株酸性磷酸酵素，再以蛋白質電泳分析該酵素是否存在，作為抗病植株之依據。

三、限制酵素片段長度多型性法

以限制性酵素切割基因組DNA，篩選

¹種苗改良繁殖場 助理研究員

²種苗改良繁殖場 助理

³種苗改良繁殖場 技佐

⁴種苗改良繁殖場 副研究員兼技術課課長

【研究成果】

特定DNA片段作為RFLP探針，經由雜合反應(Hybridization)，偵測抗病基因有無。此法操作簡便，唯必須先篩選出特定DNA片段可與抗根瘤線蟲基因雜合，此過程需具備相當高分生技術且探針製備多使用放射性 ^{32}P 元素標記，非一般實驗室可執行。

四、聚合酵素鏈鎖反應法

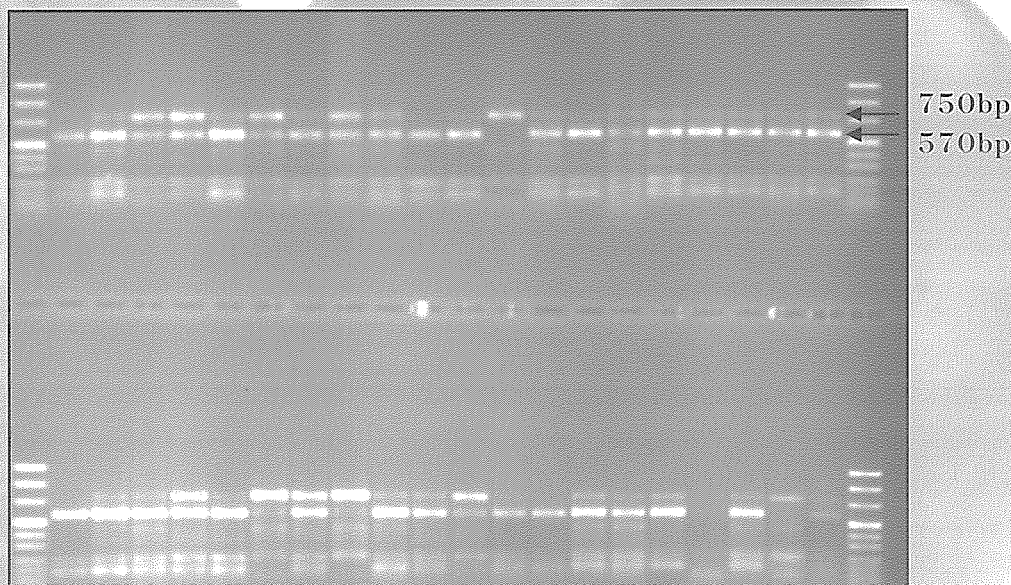
該技術由Williamson等人(1994)建立，做法是先將番茄基因組DNA以特定Primers進行聚合酵素鏈鎖反應予以倍增，再以TaqI限制酵素切割PCR產物，經由Agarose電泳分析，可發現在750及570 bp位置有特定條帶，此二條帶之出現可作為判斷番茄植株是否抗病及抗病植株基因型是否為同質結合。若異質結合抗病植株會同時出現750及570 bp二個特定條帶，

同質結合抗病植株只會出現570 bp一個特定條帶，感病植株只會出現750 bp一個特定條帶。本場利用該技術成功篩選出現有番茄抗根瘤線蟲抗病及感病品系(如圖1)。

結語

抗病及抗蟲品種之育成為育種者重要目標，篩選抗病蟲植株過程繁瑣且需相當長時間。因此，開發一套快速、準確度高且成本低廉的篩選抗病蟲植株技術，有其必要性。

利用聚合酵素鏈鎖反應法篩選番茄植株是否具有Mi基因約只需1至2天，誤差度低且成本低廉，非常值得推廣給相關育種家及業者參考。



▲圖1. 利用聚合酵素鏈鎖反應法檢測番茄抗根瘤線蟲品系之結果。

1：同質結合抗病品系。 2：異質結合抗病品系。 3：感病品系。