

分子標誌前景背景選拔在番茄 抗病育種之應用

Markers assisted for foreground and background selection in tomato breeding for disease resistance

周明燕¹、周佳霖²、龔美玲³、張惠如⁴

一、前言

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 屬於高單價的經濟作物，全球栽培面積達 500 餘萬公頃，是栽培面積僅次於馬鈴薯的重要蔬菜作物。番茄種子是我國重要蔬菜種子出口項目，2021 年出口額達 3579.2 萬元，僅次於木瓜及西瓜種子。我國番茄品種早已被國際肯定，特別是小番茄品種在市場一直佔有重要地位。全球每年番茄種子需求量估計約需 18~20 萬公斤，產值高達 50 億美元，番茄品種是國際種苗公司研發的重點項目之一，國際間競爭激烈。番茄由病毒、細菌、真菌和線蟲等引起的病害，超過 100 種以上，且多數病害均普遍發生於世界各地，常造成嚴重產量損失，導致供應不穩定及價格飆漲。爲了確保收益，生產者運用各種物理性、化學性、生物性的防治手法，進行病蟲害管理控制，但成效

有限外，也對環境生態造成一定的破壞，根本的解決對策還是培育出抗耐病品種。持續推出優良的番茄品種是維持種苗企業競爭力的根本，配合目標市場需求導入抗病性是必然的趨勢。

二、分子標誌輔助選拔

學術界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，但能夠商業化的品種仍屬有限。我國大多數的番茄育種仍然是透過作物田間表現進行外表型選種 (Phenotypic selection)。實際上運作上，外表型選種受到許多限制因子影響，包括選育環境、低度遺傳組合、病蟲害、生長期長短、栽培空間，甚至遺傳型與環境的交感作用等皆會影響到外表型選拔的成效，培育一個抗病品種往往耗費大量人力、物力、土地及時間。有別於過外表型表現進行篩選，是應用分子標誌輔助

¹ 種苗改良繁殖場生物技術課 副研究員

² 種苗改良繁殖場屏東種苗研究中心 助理研究員

³ 種苗改良繁殖場生物技術課 助理研究員

⁴ 種苗改良繁殖場生物技術課 副研究員兼課長

選拔 (marker-assisted selection, MAS)。近年隨著分子標誌技術及遺傳圖譜研究的大幅發展，應用 MAS 技術可有效進行基因型選拔 (Genomic selection, GS)，MAS 技術能夠協助克服部分外表型選拔所遇到的限制因子，而且 DNA 偵測可以在植物的任何一個生長階段進行，提供選拔材料的遺傳背景資訊，讓育種者可以更有效率進行早期世代選拔，減少土地、人力消耗，大幅提高育種效率及精準度。因此應用分子技術輔助抗病育種已經是育種界習用的工具，番茄是第一個被廣泛運用於生物技術研究的經濟作物，為較早導入 MAS 育種技術的作物之一，我國番茄育種業者也漸漸能接受該項技術，特別在抗病品種開發上能不用倚靠不穩定的田間發病或省去病原接種篩選是主要的使用目標與誘因。

三、番茄前景選拔與背景選拔

MAS 應用於育種選拔可分為前景選拔 (Foreground selection) 和背景選拔 (Background selection)。前景選拔是根據基因的功能性分子標誌或緊密連鎖的分子標誌作為篩選依據，可導入一個或是堆砌數個標的基因，尤其對於易受環境影響表現而不容易鑑定的性狀 (如耐熱性、抗病性等)、生育晚期才能調查或需要堆砌數個不同數量性狀基因的新品種開發，利用前景選拔都能相當有效率地達成；慣用的分子標誌輔助抗病育種模式如圖 1 (Hasan et al., 2021)，將感病親 P1(Susceptible, S) 與具有抗病性的貢獻親 P2(Resistant, R) 雜交，產生異質結合的雜交一代 F_1 ，再進行自交取得大量分離族群 (F_2)，針對分離後代逐一

篩檢每個單株，剔除沒有目標抗病基因 (SS) 的單株後，其他植株於田間進行園藝性狀篩選，挑選表現優良單株與 P1 回交，如此重複幾代，直到培育初具有目標抗病基因且園藝性狀與 P1 相近的單株為止，獲得的單株可作為優良的核心親本材料。前景選拔仰賴專一性或高關聯性分子標誌的開發，以番茄作物為例，由於番茄作物已經建構了完整的基因訊息，因此 MAS 分子標誌的應用也最為廣泛，種苗場自 2010 年起投入番茄抗病基因分子標誌開發研究，針對番茄重要病害如土傳性病害 (圖 2)、葉部病害及病毒病 (圖 3) 陸續開發高關聯性分子標誌，並透過技術移轉給業界應用。

導入抗病基因只是抗病育種選拔的第一階段，後續移除連鎖累贅 (linkage drag)

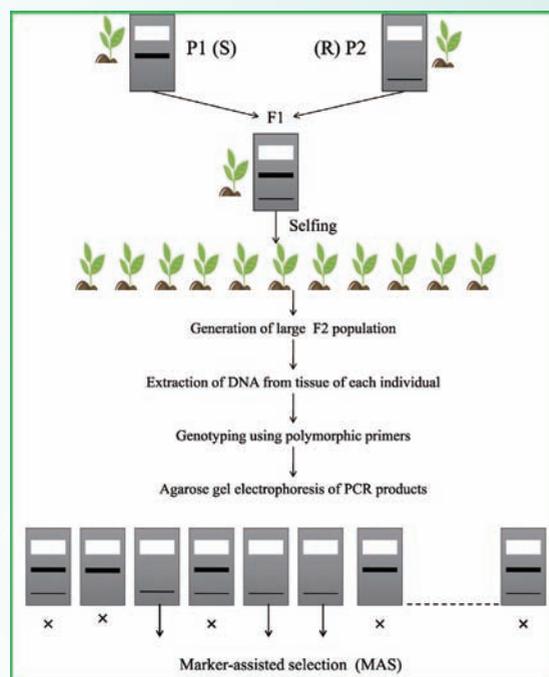


圖 1. 分子標誌輔助育種選拔流程示意圖 (<https://reurl.cc/rDyQNZ>)

研究成果

及回復特定親本之優良性狀的回交育種工作仍然需耗費巨量人力及時間。有別於前選拔及傳統回交育種，背景選拔則是利

用均勻分布於全基因體之多型性分子標誌作為篩選依據，以回復特定親本(輪迴親)之基因型，特別適用於輔助回交育種，可

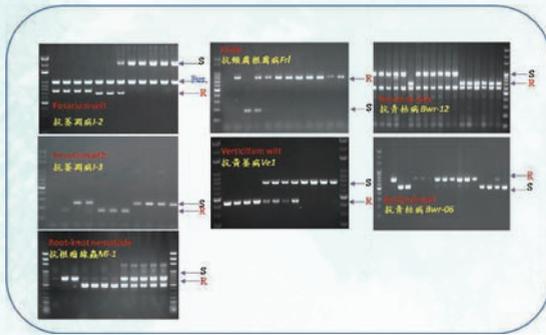


圖 2. 針對番茄重要土壤傳播型病害抗病基因所開發之關連性分子標誌，PCR 分析結果電泳圖

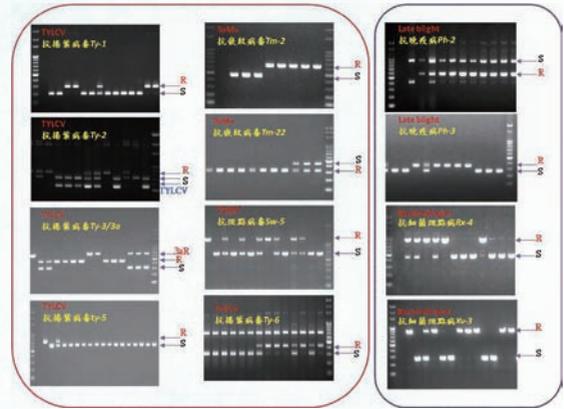
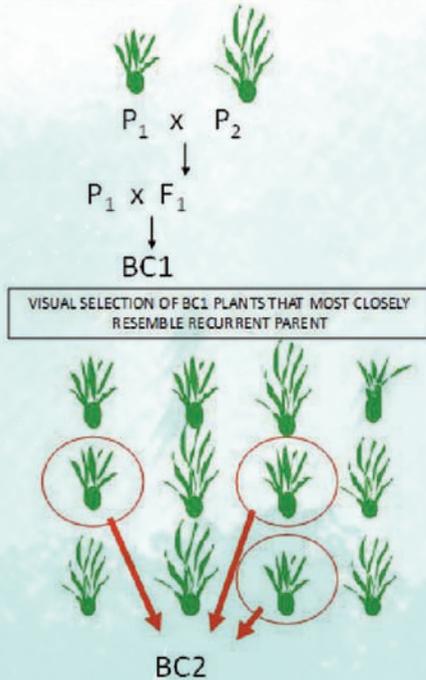


圖 3. 針對番茄病毒病(左)及葉片型病害抗病基因所開發之關連性分子標誌，PCR 分析結果電泳圖

CONVENTIONAL BACKCROSSING



MARKER-ASSISTED BACKCROSSING

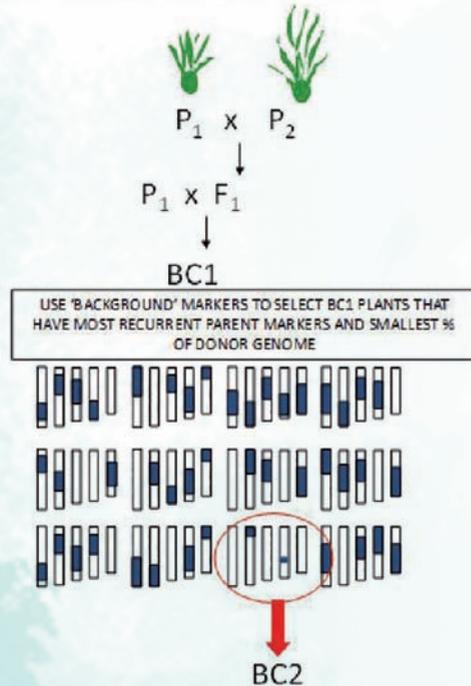


圖 4. 傳統回交與分子標誌輔助回交 (MABC) 之比較示意圖 (http://www.knowledgebank.irri.org/ricebreedingcourse/Marker_assisted_breeding.htm)。傳統回交需要 5~6 個的回交世代以回復輪迴親背景，但採用 MABC 能減少至僅需 2~4 的回交世代即能達成目標

提升回交選拔效率，大幅縮短育種時程(圖4)。背景選拔就宛如將輪迴親的基因體用一群分子標誌套組劃出一個專屬輪廓，經過分子標誌套組篩選過的分離後代，可以視為與回交親具備相似的基因體。因此能否成功建立回交親專屬的背景選拔分子標誌套組，是背景選拔能否成功的關鍵。

四、結語

分子標誌輔助回交育種技術 (Marker-assisted backcrossing, MABC) 被廣泛應用於在玉米、稻米等雜交作物，成果斐然；園藝作物中的番茄、西瓜也應用該技術大大縮短回交世代(圖5)，證明 MAS 前景及背景選拔是非常有效率的輔助工具，國際種苗企業早已廣泛應用在各項作物的品種研

發上。我國大多數育種者經營規模小，仍以傳統育種為主，較少應用分子輔助工具，或僅運用在導入某些特定基因的前景選拔上，將前景選拔及背景選拔技術整合運用者仍屬極少數，相當可惜。因此，本場於2021年起與番茄育種業者協力合作，將番茄萎凋病 *I-3* 抗病基因導入優良親本，應用 *I-3* 基因分子標誌篩檢，確保目標基因導入雜交組合後代(前景選拔)，另一方面，開發建立背景選拔分子標誌群，在回交的分離後代中篩選基因型最相似輪迴親者(背景選拔)。因此，期待透過與產業的育種協作，能建立一套可行的應用 MAS 技術整合模式，提供給育種業者運用，進而提升業界品種研發效率。

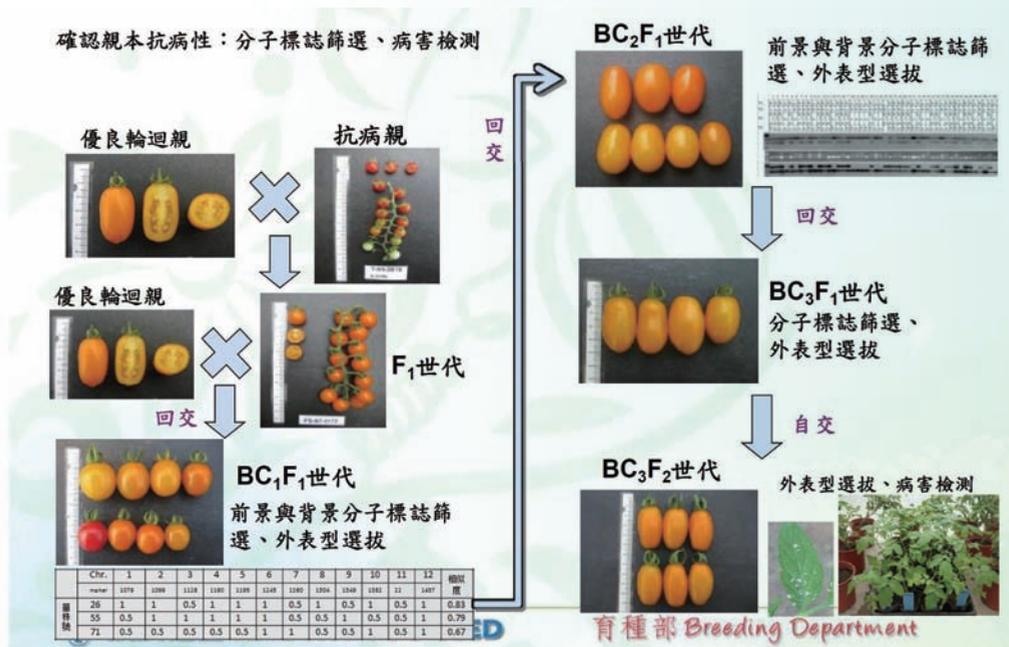


圖 5. 透過前景及背景分子標誌運用篩選，可以有效縮短選拔時程 (農友種苗公司提供)