

應用分子標誌及快速 PCR 技術進行番茄抗黃化捲葉病毒育種

王啟正

發展快速 PCR 篩選含 Ty-2 及 Ty-3 基因後代技術，可加速番茄抗病育種，但此快速篩選 Ty-3 基因之技術每批次檢出率有時較低並不穩定必須加以改進。

分析最接近 Ty-3、Ty-3a、Ty-3b 基因分子標誌之序列，重新設計 P625W-F3、P625W-F4、P625W-F5 為 forward 引子，P625W-R1、P625W-R2 為 backward 引子，以舊有之 P6-25-F2、P6-25-R5 引子對為對照。以 AVT01122 等含 Ty-3 基因之 13 個番茄品系 DNA 進行測試，結果以 P625W-F3、P625W-R2 與 P625W-F4、P625W-R2 此兩對引子效果較好，再以雜交育種後代族群之快速葉片萃取液 288 個樣本進行測試，結果以 P625W-F3、P625W-R2 引子對較佳。再進行 PCR 條件測試，以 94°C 10 分鐘，再進行 94°C 45 秒、55°C 45 秒、72°C 45 秒之 30 個循環，72°C 7 分鐘條件最佳。以此條件進行分子標誌大規模篩選雜交育種後代族群 2112 個番茄穴盤苗，每 96 個後裔樣本為一批次，共檢測 22 個批次，其快速葉片萃取液經 PCR 平均檢出率可提高至 98.2%，最低檢出率高達 95.8% 以上，因此改進後的引子及 PCR 條件可提高 Ty-3 基因的平均檢出率及穩定度。另開發 Ty-3 的 on-gene-marker，初步顯示分子標誌可區分抗病、感病及異質結合的番茄品系，未來針對雜交後代族群進行粉蝨接種以確定此 on-gene 分子標誌的準確度。

經過改進的 PCR 方式來偵測番茄抗病育種後代之葉片快速萃取液，針對 Ty-3 基因平均檢出率可提高至 98.2%，最低檢出率也能高達 95.8% 以上，變異量也降低，表示改進的方式不但提高檢出率也增加檢測的穩定度。另外開發 on-gene 分子標誌，初步顯示可以區分抗感病之品系，但仍須由雜交後代族群抗病表現與分子標誌關係來確定分子標誌之可行性。

個人重大績效：

- 一、開發葉片快速 PCR 技術應用在番茄抗黃化捲葉病毒育種流程中，減少分子標誌篩選過程抽 DNA 時間及人力物力。
- 二、有償讓與抗病基因同質結合之 F4 世代兩個小果番茄單株種子，每單株種子新台幣十萬元。

發表文章：

一、期刊論文

二、研討會論文

三、論文摘要

★ 1.王啟正 2013 改進快速葉片 PCR 技術偵測番茄 *Ty-3* 基因之效率與穩定度 台灣園藝 58(4):(編印中)

四、專書及專書章節

五、技術報告

六、其他出版品

★ 1.王啟正 2013 歐洲番茄品種之演進 花蓮區農業專訊(已接受)