

梨ACC合成酶基因之分子標誌輔助育種

張瑞炘

摘要

梨品種的耐貯運程度與該品種的果實乙烯合成量有密切的關係，國外學者經多年研究，將梨乙烯合成過程中的關鍵基因「ACC合成酶基因」選殖定序，並開發了2個「ACC合成酶基因」CAPS分子標誌(cleaved amplified polymorphic sequences)，分別為A標誌與B標誌。梨品種檢測結果為A標誌顯性則代表高乙烯品種，若檢測結果為A標誌隱性而B標誌顯性則代表為中等乙烯品種，A標誌與B標誌皆為隱性者，則果實乙烯合成量最低，預期有最長的儲架壽命。本場將此一檢測方法導入於我國的梨育種試驗，可在幼年期就進行選拔，期望提高選種的效率與精準度，未來藉此技術育成的耐貯運品種，可提升我國梨產業的商品競爭力。

前言

梨的商品價值主要決定因素之一為果實儲架壽命之長短，影響儲架壽命最關鍵的因素為梨果實本身的乙烯合成量，而乙烯合成生化途徑中的ACC合成酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase)是控制乙烯合成量的重要酵素，國外學者Itai等人在1999年成功選殖定序兩個ACC合成酶基因(ACC synthase genes)，分別為PPACS1和PPACS2，並且在2003年開發了這兩個基因的分子標誌，分別為A標誌與B標誌，成功地促成梨分子標誌輔助育種的可行性。2008年共有152個亞洲的梨品種的基因型被成功鑑定。本次的書報討論之目的主要介紹這兩個分子標誌的原理，以及如何實際應用於國內的梨育種試驗。

內容

一、乙烯與梨果實後熟的關係

果樹作物依照其果實後熟的形式可以分為更年性(climacteric)與非更年性(non-climacteric)作物。更年性的果實對乙烯的反應相當敏感，接觸乙烯後的反應主要為呼吸作用增強、釋放更多乙烯、果實質地軟化、香氣及甜度的上升，並且會催化自體的乙烯合成量，最典型的例子為香蕉、木瓜、酪梨等。非更年性的果實則對乙烯較不敏感，如柑桔類。梨為單一物種就可以找到更年性與非更年性品種的作物，兩種類型的品種間主要的差異在於乙烯的合成能力。關於植物乙烯的生合成機制研究，要從1984年談起，我國的楊祥發院士當年發表了植物從Methionine到乙烯的生化反應途徑，至今世界各國仍以Yang Cycle稱呼此反應途徑，楊院士可謂植

物學界的臺灣之光。乙烯的合成途徑是從蛋胺酸(Methionine)而來，Methionine與ATP經SAM (S-adenosylmethionine)合成酶催化產生SAM，接著經由ACC合成酶催化產生ACC，而ACC為乙烯的前驅物，經由ACC氧化酶的催化產生乙烯。在此生化反應途徑中最關鍵的酵素為ACC合成酶，在一些梨品種中因為ACC合成酶的活性較強，因而表現出更年性果實的後熟現象，導致商品價值下降且不耐貯運，因此梨的育種選拔若能針對ACC合成酶活性較弱的基因型，則可育成「低乙烯、耐貯運」的梨品種。

二、ACC合成酶基因分子標誌的相關研究

各國學者深知乙烯合成途徑對產業界的重要性，紛紛選殖各種作物的ACC合成酶基因。在梨的部分，國外學者Itai等在1999年選殖了兩個ACC合成酶的基因，分別是PPACS 1與PPACS 2，其中PPACS 1顯性代表高乙烯合成量(如橫山梨)，若PPACS 1隱性而PPACS 2顯性代表中等乙烯合成量(如幸水梨)，若兩基因皆為隱性則乙烯合成量最低，有最長的櫥架壽命(如豐水梨、新興梨)。為快速進行ACC合成酶基因的檢測，需要發展以PCR技術為基礎的分子標誌，因此Itai等在2003年發表了PPACS 1與PPACS2兩個基因的CAPS標誌(cleaved-amplified polymorphic sequences markers)，分別為A標誌與B標誌。本次的研究成功開發分子標誌之外，也將42個品種的基因型初步鑑定。利用F2後裔檢定法，發現A標誌與B標誌的重組率(recombination rate)為20.8%。2005年Itai等利用32個品種、43個雜交組合、1,260個後裔，將32個品種的基因型鑑定完成，2008年Itai等發表了152個亞洲梨品種的基因型，但其中並未包含我國育種常用的親本「橫山梨」。

三、ACC合成酶基因分子標誌在國內的應用

我國的梨育種特別需要此2個基因分子標誌的輔助，因臺灣地處亞熱帶，為達成平地生產的目標，常以「低需冷性」的橫山梨作為雜交親本，而橫山梨的基因型經本場生技研究室測試的結果為AaBb，因此其雜交後裔中aabb型的比例偏低，必須以分子標誌輔助選種才能達成。本場目前已完成了500個單株的基因型檢測，突破幼年期無法評估果實性狀的限制，達成「及早篩選、精準預測」的選種效率，為國內少見應用分子生物技術輔助果樹選種的成功案例，展現本場組織內部橫向整合的軟實力。未來利用此技術可望育成「低乙烯、耐貯運」的梨品種，將有助於梨產業延長商品櫥架壽命，擴大運銷里程範圍，拓展國際市場。

結語

農業生物技術的發展讓我們能以全新的角度評估作物的性狀，也就是從基因的角度來進行分析與輔助選種，以往果樹育種的時程動輒長達20年，主要是因為雜交後裔植株的幼年期無法開花結果，更無法進行選種，今日有ACC合成酶基因的檢測技術，實為梨育種家的福音。2012年我國第一個利用分子標誌輔助選種的水稻品種已完成命名，期望將來果樹、蔬菜各種作物的育種都能以分子標誌加以

輔助，促進我國品種研發的能力，延續我國農業科技持續領先的優勢。

參考文獻

1. Itai, A. and N. Fujita. 2008. Identification of climacteric and nonclimacteric phenotypes of Asian pear cultivars by CAPS analysis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase genes. Hort. Science 43:119-121.
2. Itai, A., T. Kawata, K. Tanabe, F. Tamura, M. Uchiyama, M. Tomomitsu and N. Shiraiwa. 1999. Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase genes controlling the ethylene level of ripening fruit in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Mol. Gen. Genet. 262:42-49.
3. Itai, A., T. Kotaki, K. Tanabe, F. Tamura, D. Kawaguchi and M. Fukuda. 2003. Rapid identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate(ACC) synthase genotypes in cultivars of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) using CAPS markers. Theor. Appl. Genet. 106:1266-1272.
4. Itai, A., T. Kotaki, K. Tanabe, M. Fukuda, Y. Kawata, Y. Amano and N. Fujita. 2005. Determination of ethylene synthetic genotypes related to ripening in Japanese pear cultivars. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74:361-366.