

木瓜品種SSR分子鑑定技術開發

文 / 圖 宋品慧¹、王仁晃²

前言

作物品種是產業發展的基礎，而品種保護與品種權主張對作物品種選育有積極正面的貢獻，目前品種鑑定主要依據外表型態辨識品種，當可供鑑別的外表性狀有限，或栽種環境不同，都會影響其判斷，也造成品種鑑定上的困難，而去氧核糖核酸(DNA)的組成與序列排列是不會受到環境因子、生育時期及取樣部位而改變，且DNA分子標誌種類多又具多型性，故廣受國際認可，已成為有效的品種鑑定方法。

木瓜產業及品種簡介

木瓜原產於熱帶美洲的大型草本植物，現為臺灣重要的熱帶果樹之一，由於可周年供果，且富含營養價值，頗受國人喜愛，並具外銷潛力。臺灣木瓜栽培面積近十年約2,450~3,294公頃，產量約為82,878~151,183公噸，其中臺南、屏東、高雄栽種面積約佔全臺7成(106年農業統計年報)，產量變化受當年氣候條件而波動，特別是豪雨或颱風來襲頻率較高的年份，木瓜產量即快速銳減，是造成生產不穩定的主因，全年批發價約為20~35元。

臺灣木瓜育種最早追溯至民國40年代，農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所從夏威夷引進蘇魯品種(Sunrise Solo)，陸續選拔出不同栽培品系，著名的有蘇魯1號、日陞等，屬小果紅肉品種，其後又雜交選育出「台農1、2、3、5、6、10號」。而「台農1號」因耐貯運為中南美洲主要品種；「台農2號」生育強健、單株產量及風味口感深受消費者喜愛，占全臺栽種面積9成以上。

隨著植物品種權的日漸重視，試驗單位及學術單位陸續取得植物品種權，其中種苗改良繁殖場育成的「種苗七號」為第一個取得品種權的木瓜品種，其全兩性株的特性(實生苗全為兩性株)為育種的突破；之後，臺灣大學張龍生老師的耐病毒病品種「台大八號」、本場育成的「高雄9號-日光」及鳳山試驗所的「台農10號」黃肉品種，亦陸續獲得木瓜品種權。

不僅如此，中興大學謝慶昌老師育成耐儲運、淡清香的「津香」；農友種苗公司育成黃肉的「農友1號」及耐病毒、大果、矮生及豐產等特性的「紅妃」，為印度最主要的栽培品種，每年出口的雜交種子(F₁)產值高達1.1億元，占木瓜種子種苗出口產值47%；稼穡種子有限公司育成耐病毒高產的「綠福」及「紅福」；穗耕種苗有限公司育成日陞的改良品種「紅壽」等，以上品種依消費習慣及偏好，已陸續銷往海內、外市場，使品種特性更符合消費市場需求(圖1)。



圖1. 市場常見的小果品種「日陞」、主力品種「台農2號」及大果品種「紅妃」。

木瓜品種SSR分子鑑定技術開發

作物品種保護已進入DNA分子鑑定的時代，為因應DNA品種鑑定或種子純度檢測等分子檢測需求，本研究以本場所蒐集的木瓜品種(系)共27種(表1)，萃取其遺傳密碼—DNA，建立木瓜品種(系)DNA資料庫，並以此開發木瓜品種分子鑑定平台，未來可依需求擴建品種DNA資料庫，增加可鑑別的品種。

表1. 本場分析的木瓜品種(系)植株、果實特徵及其來源

編號	品種	株高	果實特徵			來源
			果肉顏色	形狀(兩性)	果重(kg)	
1	Waimanalo Solo X-77	高	深黃到橘	梨形	0.4-0.5	夏威夷
2	Hawaiian Solo Sunset	高	紅橙色	梨形	0.3-0.45	夏威夷
3	Papaya Linda	高	紅橙色	梨形	0.4-0.5	夏威夷
4	Solo Sunrise Improved	高	紅橙色	梨形	0.3-0.4	夏威夷
5	Hawaiian Solo Sunrise	高	紅橙色	梨形	0.3-0.4	夏威夷
6	Golden	高	紅橙色	梨形	0.3-0.5	巴西
7	Grand Golden	高	紅橙色	梨形	0.3-0.5	巴西
8	Sunrise	中	紅橙色	梨形	0.5-0.6	巴西
9	Red Maradol Dwarf	半矮	深紅	橢圓形	1.3-1.6	墨西哥
10	Maradol op	半矮	深紅	橢圓形	1.4-1.7	墨西哥
11	Red Maradol	半矮	深紅	橢圓形	1.3-1.6	墨西哥
12	Maradol Roja	半矮	深紅	橢圓形	1.5	墨西哥
13	Holland	半矮	深紅	長圓筒形	0.8-1.2	泰國
14	黃皮	半矮	紅橙色	橢圓形	1.3-1.7	泰國
15	Hong Kong(Sekaki)	半矮	深紅	長圓筒形	1.2-1.4	馬來西亞
16	Sinta (F ₁)	半矮	深黃到橘	橢圓形	1.5-2.2	東西種苗
17	PP1	中	深黃到橘	梨形	0.4-0.6	菲律賓
18	台農1號 (F ₁)	中	紅橙色	伸長形	1.2-1.5	臺灣農友
19	台農2號 (F ₁)	中	紅橙色	伸長形	1.0-1.2	臺灣稼穡
20	圓葉	中	深紅	長圓筒形	1.0-1.4	澳洲
21	紅妃 (F ₁)	半矮	深紅	橢圓形	1.5-2	臺灣農友
22	紅秀 (F ₁)	中	紅橙色	梨形	0.5	臺灣稼穡
23	日陞	高	紅橙色	梨形	0.4	臺灣生生
24	SR-2	高	紅橙色	梨形	0.5	未知
25	Red Royale (F ₁)	半矮	深紅	橢圓形	2.0-2.5	東西種苗
26	海南島地方種	中	紅橙色	橢圓形	0.5-0.6	香港
27	台農2號	中	紅橙色	伸長形	0.9-1.2	臺灣

本場選用簡單重複序列(SSR)分子標誌開發木瓜品種分子鑑定技術，此鑑定技術的原理與人類親子關係鑑定相似，主要是利用聚合酶連鎖反應(PCR)技術，將作物基因體內特定的簡單重複序列進行增幅，由於簡單重複序列區域的重複套數演變快速，所以不同品種出現的PCR增幅產物的長度會因重複套數的改變而不同，再經電氣泳動後將上述不同長度PCR增幅產物進行分離，不同品種會呈現不一樣的DNA條帶圖譜(圖2)，即可據此進行品種的比對鑑定。

從世界最大基因資訊資料庫－美國國家生物技術資訊中心(NCBI)轉錄體基因庫中篩選77,535條木瓜表現序列標籤(EST)，設計60組木瓜SSR引子組，其中41組SSR引子組具專一性，經PCR增幅，產物具多型性及穩定性，為可用的SSR分子標誌，進一步篩選出平均多型性訊息含量(PIC)值較高的26組SSR分子標誌進行分析，結果顯示平均每個分子標誌(基因座)具有3.12個對偶基因，平均多型性訊息含量(PIC)值為0.47，除無法區別外表型非常相似的「Hawaiian Solo Sunset」和「Papaya Linda」品種外，其餘25種木瓜品種皆可清楚鑑別(圖2, 圖3)。

為了解品種間遺傳歧異度及親緣關係，作為雜交育種的親本選擇參考，進一步使用MEGA5軟體以非加權平均重法(UPGMA)建構群叢關係樹狀圖(親源愈近愈相連)，可看出木瓜品種選育歷史，品種大致分成3群：A群為小果種主要是日陞品系(Sunrise type)，涵蓋台農1、2號等，也是目前市場主力品種；B群為大果種，例如紅妃等；C群為其他品種，包含黃皮、圓葉種，分析資料中海南島地方品種為當地基轉木瓜品種之一，依分子證據顯示其具有日陞品系親緣，另外不同種苗商生產的台農2號出現了遺傳歧異，歧異度約7~8% (圖3)。

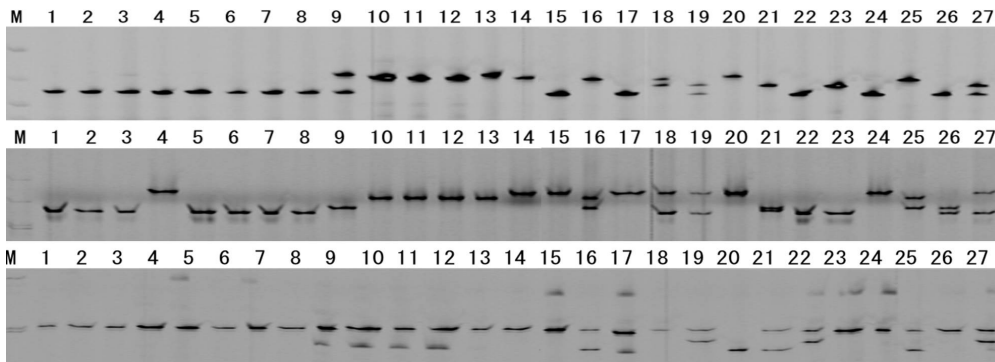


圖2. 木瓜品種(系)之pa-373(上)、pa-472(中)、pa-697(下)分子標誌分析。

結語

作物的DNA不因生長時期、不同組織或不同器官而改變，而且僅需幾毫克的葉子或果肉，既合乎科學原理且客觀的進行品種鑑定。本場研發的木瓜品種SSR分子標誌，可清楚鑑別25種木瓜品種，除可應用於木瓜品種分子鑑定或侵權鑑識工具，亦能檢測種子純度，配合外表性狀鑑定有效提升品種檢測管理水平，期待在品種分子鑑定技術輔助下，新品種得以受到保護，以提升育種的動能並確保產業的永續發展。

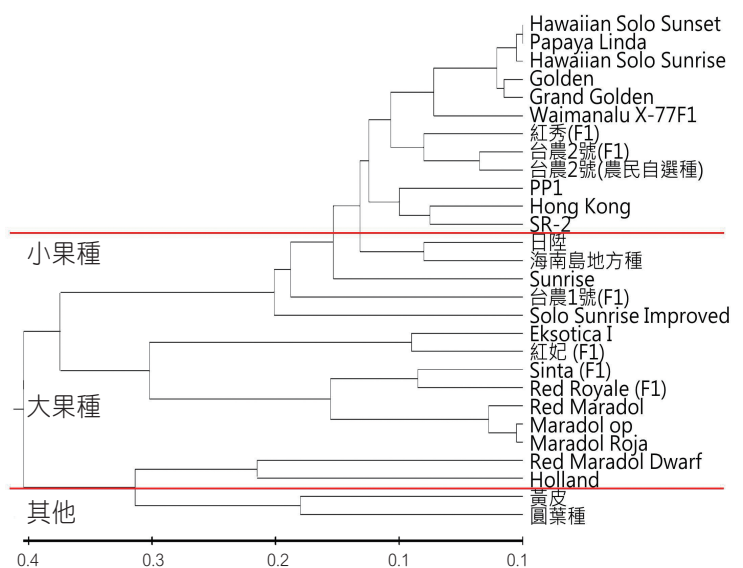


圖3. 木瓜品種(系)群叢關係樹狀圖