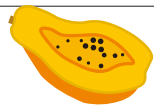


木瓜果肉



顏色及性別分子檢測技術

文/宋品慧¹ 圖/宋品慧¹、王仁晃²

前言

分子標誌輔助選種(marker-assisted selection, 簡稱分子選種)為一透過分子標誌的應用,輔助現行育種方法的技術。分子選種利用和目標基因連鎖或扣合目標基因的分​​子標誌,選拔出符合需求特性的作物,為費時耗力的傳統育種注入新方向,並避開因環境的影響而誤選。應用分子選種可以使育種工作更精準有效率,亦可應用於隱性基因控制性狀早期選拔及同時堆砌數個基因等多項優點,因此逐漸受到重視。

木瓜育種與果肉顏色選育

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,也有「萬壽果」一稱。未成熟的番木瓜乳汁中含豐富的番木瓜酵素,在食品加工、醫療、化妝品、美容等各方面具有廣泛的應用,並具外銷潛力。

臺灣木瓜育種由60年代以來,由農業試驗所從夏威夷蘇魯品種衍生系統,經選拔不同栽培品系後開始了一連串的木瓜育種工作,此後本場、種苗改良繁殖場及學界、業界也紛紛投入木瓜育種行列,先後育成中南美洲主要推廣品種台農1號,臺灣市占率9成的台農2號、全兩性株的種苗7號、耐病毒病的紅妃及橙黃果肉的台農10號—橙寶。每一新品種的育成背後需要耗費龐大的研究人員來進行選育工作,更需仰賴種苗公司敏銳的市場評估與行銷,才能使品種特性更符合消費市場需求。

由於國內外消費者對木瓜消費習慣及偏好性不同,因此木瓜育種方向及規劃應切合不同市場需求做調整。過去國內市場一直都以台農2號為主,少部分為日陞、紅妃,這些皆為橙紅果肉品種,但隨著國人生活習慣改變,滑手機的低頭族出現及老人化人口急遽上升後,市場對於護眼營養素的需求增加,催生了葉黃素含量高的橙黃果肉品種的問世,提供消費者更多的選擇。木瓜果肉的顏色屬於天然色素的類胡蘿蔔素,橙紅果肉品種為類胡蘿蔔素之一的茄紅素(lycopene)累積,橙黃果肉品種則較少含茄紅素,一般來說大部分的茄紅素都可經由茄紅素環化酶(lycopene β -cyclase)作用,轉化為 β -胡蘿蔔素(β -



圖1. 木瓜果肉顏色,左邊為橙紅果肉品種,右邊為橙黃果肉品種。

carotene)進一步再生成葉黃素(lutein)、玉米黃素(Zeaxanthin)等黃色素，當茄紅素環化酶失去功能或表現量低時則累積較多的茄紅素，木瓜果肉顏色就會偏向橙紅色，例如台農2號(圖1)，然而果肉顏色品系選拔，往往需要開花結果後才能知曉，育種工作曠日廢時。因此，針對茄紅素環化酶設計分子標誌作為果肉顏色選拔標的，能不受時間、空間影響的分子選育方法，將提升品種選育的精準度並縮短選育時程。

木瓜性別決定機制

木瓜的性別決定相當複雜，可能由Y(表現雄性)、 Y^h (表現兩性)及X(表現雌性)3個對偶基因控制，X為隱性基因，Y及 Y^h 對X表現為顯性，雌株基因型為XX，雄株與兩性株木瓜的基因型分別為XY及 XY^h ，其他基因型如YY、 YY^h 及 Y^hY^h 則無法發育。性別除了3個等位基因控制外，外表型也受到外界環境條件如溫度、水分、營養、光照時間和植物荷爾蒙等因素影響，依據其開花特性可分為只開雌花的雌株(female plant)、只開雄花的雄株(male plant)與一朵花中同時具有雄蕊與雌蕊的兩性株(hermaphrodite plant)。雄株的木瓜雖然會開花，但結果非常少，不具經濟價值；雌株則只開雌花，需要經過授粉，果實才能長大成圓胖型；兩性株的木瓜由於一朵花中同時具有雄雌蕊，因此可以自花授粉，不需要另外種植雄株以供授粉或進行人工授粉，相對來說栽培容易、生產成本低，且長出來的果實內腔小而果肉厚，長梨形，適合包裝運輸，因此兩性株木瓜生產即成為木瓜商業生產的主流(圖2)。

做為商業栽培的木瓜株，國內育苗時多使用生長良好的兩性株作為父母本($XY^h \times XY^h$)進行雜交，這樣產生的後代就有67%的機率會是兩性株(XY^h)，國外則使用兩性株花粉授粉雌株，後代約有50%為兩性株，而以上方法皆無法早期鑑別種苗性別，因此傳統上以每穴種植3~4苗，

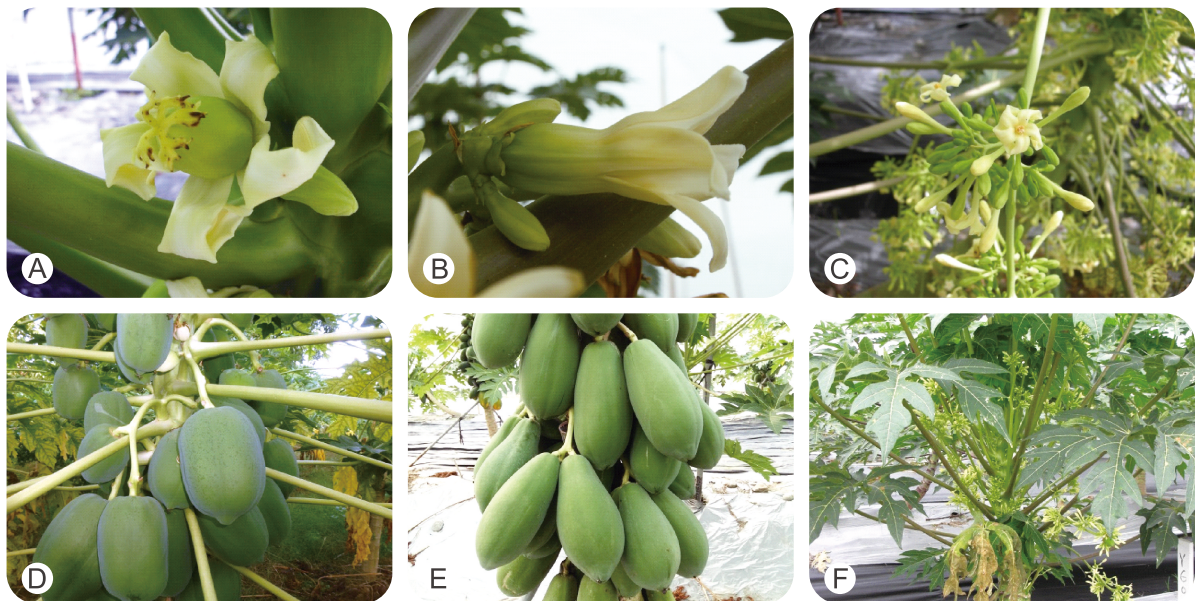


圖2. 不同性別木瓜型態
雌性株的花與果實(A、D)；兩性株的花與果實(B、E)；雄性株的花與植株(C、F)。

俟開花後再砍除，僅留存兩性株，不僅耗費種苗花費、種植成本，更需專業人員選別移除非兩性株，本技術根據木瓜兩性株性別決定基因，開發專一性分子標誌，完全滿足目前商業生產兩性株所面臨兩性及全雌性別的鑑定。

木瓜性別及果肉顏色分子鑑定技術開發

為篩選木瓜果肉顏色及性別，針對木瓜果肉顏色及性別決定基因，設計3組分子標誌，第一組側翼序列為內部控制組，有木瓜基因組去氧核糖核酸(DNA)存在時，會在電泳膠體上出現條帶，第2組為果肉顏色分子標誌，紅肉品種只會在紅肉指示區出現條帶，若為均質基因型的黃肉品種會在黃肉指示區出現條帶，若為異質結合基因型的黃肉品種會在紅肉及黃肉指示區出現條帶，第3組為性別分子標誌，兩性株則會在兩性株指示區出現條帶，沒有則為雌株。



圖3. 木瓜果肉及性別分子檢測流程。
A) 木瓜幼苗取樣；B) 抽取基因組DNA；C) 分子標誌檢測；
D) 依檢測結果選拔幼苗定植田間。

本研究所使用的材料為橙黃果肉商業品種‘Sinta’（雜交第一代，F1），F1自交後生產第二代雜交（F2，品系代號98-1~98-10）分別為橙紅或橙黃果肉，挑選橙紅果肉98-4、橙黃果肉98-5及均質基因型橙黃果肉98-8自交產生雜交第三代（F3），其中98-4後裔，分子標誌顯示皆為橙紅果肉，兩性株比例為60%（20/33）；98-5後裔，分子標誌顯示橙紅果肉14.2%（5/35）、橙黃果肉85.7%（30/35），兩性株比例為65.7%（23/35）；98-8後裔，分子標誌皆顯示為橙黃果肉，兩性株比例為70%（24/34），以上分析除3株樣品出現非專一性條帶，無法判別外，其餘102株皆能分析，進一步田間觀察性別及果肉顏色，皆與分子檢測結果相符，檢測率達97.1%，準確率100%，分析流程如圖3所示。

結語

木瓜種苗販售時大多以組織培養苗及實生苗為主，少部分販售嫁接苗。除了扦插苗、嫁接苗及組織培養苗等無性繁殖苗為兩性株外，實生苗銷售多面臨性別無法早期檢測，需多種植苗株再移除非兩性株的困境，透過性別分子標誌結合核酸快速萃取技術，達到快速經濟的檢測技術不再遙不可及，更可依需求添加木瓜果肉顏色等分子標誌，進行苗期選育工作，可大幅縮短育種時程及精準度，作為日後產業應用。