

台灣育成的花椰菜 F₁ 商業栽培品種及其親本間遺傳歧異度之研究

羅惠齡¹、林照能¹、李碩朋¹、陳綉萍¹、王三太¹、陳甘澍¹、楊堯文^{2,3}

摘要

本試驗係採用國內自行育成之花椰菜品種，總計有 18 個品種(系)，其中 16 個為 F₁ 品種，2 個為固定品種，34 個為其 F₁ 親本的自交系。利用 120 個逢機引子(Operon A,B,C,D,E,and L kits) 進行花椰菜品種(系)間多型性篩選，篩選出 OPA-1，OPA-13，OPA-18，OPB-5，OPB-15，OPE-15 及 OPL-18 等 7 個可產生多型性 DNA 條帶的逢機引子；在進一步針對國內 3 家花椰菜育種公司所提供的 F₁ 品種及其親本自交系篩選試驗中，總計選獲 92 個多型性條帶，可以很明顯的把這 3 家公司品種分辨出來，而對同一家公司內大部份親本其親緣關係比較接近，不同公司則相似度較低，由此可知國內花椰菜育種公司，所使用花椰菜親本皆為其培育獨有之自交系。本研究亦找到至少 30 個以上只出現在 F₁ 及父本上，而不出現在母本上的分子標誌，這些標誌不但可以鑑定參試花椰菜品種的親緣性，且可作為種原間親緣關係之探討，更有機會發展應用作為花椰菜 F₁ 品種的種子純度鑑定上。另比較國內 3 家花椰菜育種公司所使用親本的親緣性關係，結果顯示其所育成的花椰菜品種皆可獨立區分出來。

關鍵詞：花椰菜、品種、遺傳歧異度、分子標記

1.本所鳳山熱帶園藝試驗分所蔬菜系約聘人員、助理研究員、助理研究員、雇員、

副研究員兼主任、分所長。台灣 高雄縣 鳳山市。

2.慶揚生技股份有限公司。台灣 台南市 新市。

3.通訊作者，電子郵件：yauwenyang@yahoo.com.tw

前言

花椰菜(*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.)，別名：花菜、菜花，為十字花科芸薹屬之多年生宿根性草本植物，是甘藍類的一個變種。原產於歐洲地中海沿岸一帶，再發展到英國及法國(Song *et al.* 1990)。約在八十五年前由中國大陸引進台灣栽種(廖，1993)。日治時期由農業試驗所從日本及印度引進試種及推廣，經過多年的馴化及適應，以及育種改良，有很多品種變得比較耐熱(Chang, 1998)。花椰菜年產量為 67,877 公噸，佔蔬菜生產面積的 2.5 % (2008 年農業統計年報)。台灣地區所選育的十字花科蔬菜，大多具有早生、耐熱及質優的特性，不僅是國內最大宗且重要的蔬菜，每年亦有大量種子外銷熱帶及亞熱帶地區或國家，是極具發展潛力的蔬菜種類。目前國內種苗業者所育成的花椰菜品種，大多具有耐熱及耐濕的特性，而此一特性正是世界上許多國家或地區所缺乏的。因此，如何進行品種鑑定，以保護育種者對其所育成具有早生、晚生、耐熱、抗病或其它特殊性狀等品種的權利保障，特別是鑑定新品種的特性、整齊性、穩定度及品種純度上，皆非常重要。而早期的品種鑑定，多是利用植物外觀形態標誌，做為品種間差異的主要依據，但是外表形態易受到環境因子影響而改變，不易正確鑑定各品種間之差異。近年來因為生物科技的發展，分子標誌技術大量被開發及利用，且由於 DNA 是遺傳的基本物質，所以 DNA 分子標誌可說是最直接的鑑定依據。而應用生物 DNA 層次上所測得的現象和特徵來進行品種鑑定或品系親緣關係之建立，可提供育種者在進行品種改良，親本選擇時的重要參考依據。目前台灣一些商業的 F₁ 種原大都由一些私人公司所生產，但是其育種過程的詳細資料卻常付之闕如。而過去已有許多報告關於利用不同 DNA 分子標誌如利用 RFLP (Song *et al.*, 1988a; 1988b; 1990; McGrath and Quiros, 1992), RAPD (Hu and Quiros, 1991; Kresovich *et al.*, 1992; Mailer *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 1997; Divaret *et al.*, 1999) 以及簡單重複序列 (Plieske and Sturss, 2001; Cheung *et al.* 2004; Chen, 2004) 來研究十字花科植物種原遺傳歧異度及鑑定。過去我們對部分花椰菜遺傳歧異極品種鑑定已經有一些研究(Yang *et al.*, 1997; 1998; Chen, 2004)。目前將針對一些耐熱具有外銷潛力的商業品種及其親本利用分子標記從事遺傳標記分析及親緣鑑定。本研究乃針對國內 3 家主要生產花椰菜

種子的公司，其自行育成花椰菜品種之 F_1 種子及親本的 DNA，以建立其 DNA 指紋分析資料庫，並利用遺傳分析，探討了解不同公司品種間遺傳的歧異度，作為將來品種鑑定及種原利用之參考。

材料與方法

供試材料品種來源

供試花椰菜品種（系）來源，係分別由國內農友、慶農及欣樺等 3 家主要花椰菜育種公司所育成之內、外銷用品種，包括 F₁ 商業栽培品種、自交系以及本分所收集之花椰菜系等 18 個品（種）系（表 1）。

DNA 的萃取

DNA 的抽取採用 Junghans 和 Metzloff (1990) 所發展的方法稍加修正。首先選取各供試花椰菜品種（系）植株生長正常、健康、無病蟲害之新鮮嫩葉，秤取 0.1 g 左右，以適量液態氮，將葉片研磨碎。於組織將水化時加入 extraction buffer 1 ml (100 mM Tris-HCl, pH 8.0; 1.0 mM β -mercaptoethanol 3.75 μ l; 500 mM NaCl; 50 mM EDTA; 20 % SDS; 5 μ g/ml RNase A) 研磨。然後將粗萃取液倒入 1.5 ml 微量離心管中，置於 65 °C 水浴 10 分鐘，並不時搖晃均勻。加入 350 μ l 5 M KOAc，翻轉離心管數次並確定混合均勻，置於冰上 20 分鐘。以 13,000 rpm (Eppendorf, Centrifuge 5402, Germany) 4 °C 離心 15 分鐘。將上清液倒入新的微量離心管中，並加入 phenol/chloroform 600 μ l，上下晃動混合 3 分鐘。再以 12,000 rpm 離心 10 分鐘，吸取上層液，置入新的離心管中。加入 0.6 倍體積(約 600 μ l)的 isopropanol 混合均勻，在室溫下進行 DNA 沉降至少 30 分鐘。以 10,000 rpm 4 °C 離心 10 分鐘，倒掉上清液，以 70 % 酒精 500 μ l 清洗兩次。於真空濃縮機 STRATQENE 1800 (EYELA, Japan.) 乾燥 7 分鐘(離心轉速 4000 rpm)。加入 50 μ l 1X TE buffer，並輕拍管壁使 DNA 溶解。加入 1 μ l RNase A 並保持在 37 °C，30 分鐘後將試管移至 70 °C 5 分鐘。萃取所得花椰菜 DNA 於 -20 °C 儲存備用。另取 5 μ l DNA 稀釋成 500 μ l 測定 OD₂₆₀ 之讀值，及計算 DNA 含量濃度。

逢機引子篩選

篩選 120 個逢機引子(Operon A,B,C,D,E,and L kits)，然後由其中選出可產生多型性 DNA 條帶的 7 個引子來做實驗，每個試驗有 3 個重複。

PCR 反應以及電泳膠分析

參考 Yang 等人(1998)方法，進行 PCR 反應以及電泳膠分析。將萃取得之花椰菜基因組 DNA 先稀釋作為模板 DNA (template DNA)，每一樣品反應總體積為 25 μ l，內容物含 2.5 μ l 的 10X PCR buffer，0.25 μ l 的 10 mM dNTPs，1.5 mM $MgCl_2$ ，0.4 μ l 的 5 Unit Taq DNA polymerase (MDBio Inc., Taipei, Taiwan.)，0.4 μ l primer (20 μ M) 及花椰菜 2.5 μ l 的 DNA (10 ng/ μ l) 混合於 0.5 ml 微量離心管中。所有溶液混合後覆蓋上 50 μ l 礦物油 (sigma mineral oil M3516)，置於 PCR 熱循環儀 (Gene Amp PCR System 2400) 進行聚合反應。PCR 溫度條件設定為先進行 94 $^{\circ}C$ ，5 分鐘 1 次 (cycle)；再以 94 $^{\circ}C$ 1 分鐘 \rightarrow 37 $^{\circ}C$ 1 分鐘 \rightarrow 72 $^{\circ}C$ 2 分鐘，如此做重複進行 40 個循環反應；最後以 72 $^{\circ}C$ 10 分鐘使反應完全，反應完成時自動保存在 4 $^{\circ}C$ 。經 PCR 增殖之 DNA，加入 1 μ l 6X sample loading dye (1.0 mM EDTA- Na_2 ，0.4 % bromophenol blue (w/v))，0.4 % Xylene cyanol (w/v)，50 % glycerol) 混合後，在 1.2 % 的瓊脂膠 (in 0.5X TBE) 進行電泳分析，再以 ethidium bromide 染色，在 UV 燈下觀察並照相記錄。

資料分析

所得到分子標記，根據不同樣本存在此標誌標示為 1，不存在標示為 0，三重複至少有 2 次試驗結果為一致才採取、列表，再參考 Cheung *et al.*(2004)等方法，使用 Bayesian analysis (Huelsenbeck & Ronquist, 2001)，進行親緣樹分析。本試驗用 Bayesian 方法以最大值及 (maximum likelihood method)，將至少具有 50 % 以上機率聚合在一起的樣本歸納在一起，提供不同樣本親緣關係比較可靠的資料，可和形態學及已知養本的歷史互相比較。

結果

逢機引子篩選

我們剛開始利用 120 個逢機引子(Operon A,B,C,D,E,and L kits)針對不同公司各選出 1~2 品種當樣本進行花椰菜品種(系)間多型性篩選，其中由具有良好再現性及可重複產生特定分子標誌的引子初步篩選出 OPA-1，OPA-13，OPA-18，OPB-5，OPB-15，OPE-15 及 OPL18 等 7 個可產生多型性 DNA 條帶的引子。再利用上述選出的 7 個可產生多型性 DNA 條帶的逢機引子，進一步針對國內 3 家花椰菜育種公司所提供的親本自交系進行篩選(表 1)，總計選獲 92 個多型性條帶(圖 2)。由這些多型性條帶，可以很明顯的把這 3 家公司品種分辨出來。

由親緣關係看各家的特性

根據 Bayesian analysis 不同公司親本及自交系所產生的親緣關係圖，使用 34 個親本或自交系來研究不同種原之間的親緣關係，並探討不同群屬之間關係的可信度(圖 1)。由試驗結果得知，對同一家公司內大部份親本其親緣關係比較接近，例如欣樺種苗公司的 E13 及 M16 品種，其聚合在一起的機率達 93%，

M14 及 M9 品種，聚合在一起的機率達 73%；農友種苗公司的鳳山極早生及農友極早生品種，聚合在一起的機率達 87%，另外麗雪母本、芳雪母本、麗雪父本、白秀母本、嬌雪母本及嬌雪父本品種聚合在一起的機率達 90%，由此可知這些品種應該是屬於同一個來源。而慶農種苗公司的 H37 及 H46 品種，聚合在一起的機率達 65%，其 H55 父本、H80 父本、M45 父本及 H80 母本品種聚合在一起的機率達 66%，相似值數值越高代表可信度越高。由此可知國內花椰菜育種公司，所使用花椰菜親本皆為其培育獨有之自交系。就單一公司而言，早生親本和中晚生親本也可清楚分辨出來。例如慶農種苗公司的 H37、H41 及 H46 品種屬於早生親本，而 H55 及 H80 屬於中晚生親本。

尋找可作為品種純度檢定的分子標誌

收集不同種苗公司所提供之母本及父本自交系，利用 OPA1、OPA13、OPA18、OPB5、OPB15、OPE15 及 OPL18 等 7 個可產生多型性條帶的 DNA 逢機引子，分別進行種苗公司所

提供花椰菜 F₁ 商業品種及其自交系母本和父本之 DNA 分析，包括欣樺種苗公司 5 組雜交組合的父母本、農友種苗公司 5 組雜交組合的父母本及慶農種苗公司的 6 組雜交組合的父母本，合計 32 個花椰菜的雜交親本(表 3)。尋找只出現於 F₁ 及父本上，而不出現在母本上的分子標誌，此標誌可用來作為品種純度的檢定。由試驗結果顯示，在欣樺種苗公司中找到 13 個分子標誌，分別為 OPB5-1800、OPB15-1200、OPA18-1900、OPL18-800、OPA1-2500、OPB15-500、OPB15-1000、OPA18-1900、OPL18-800、OPB5-1800、OPB15-1200、OPA18-1900 及 OPL18-800。在農友種苗公司中找到 7 個分子標誌，分別為 OPA1-1000、OPA18-700、OPL18-800、OPL18-1500、OPA18-700、OPB5-1000 及 OPB15-1250。在慶農種苗公司中找到 18 個分子標誌，分別為 OPB15-1250、OPA1-1100、OPA13-1250、OPB5-1000、OPE15-1000、OPE15-1400、OPE15-450、OPL18-840、OPA1-1100、OPB15-500、OPE15-450、OPL18-840、OPE15-950、OPB15-350、OPA13-1250、OPA1-1200、OPE15-450 及 OPE15-850。因此，我們找到至少 30 個以上的分子標誌，只出現在 F₁ 及父本上，而不出現在母本上的分子標誌，OPA18-1700 及 OPA18-1850 兩引子只出現在慶農種苗公司所育成花椰菜品種上而出現在農友種苗公司育成花椰菜品種上(圖 3)。這些標誌不但可以鑑定這些品種的親緣性，且可作為種原間親緣關係之探討，將來更有機會應用作為 F₁ 品種的種子純度鑑定上。

討論

利用可產生多型性 DNA 條帶的逢機引子 OPA-1, OPA-13, OPA-18, OPB-5, OPB-15, OPE-15 及 OPL-18 等 7 個, 選獲 92 個多型性條帶, 根據本研究之調查, 目前台灣地區有 3 家主要生產花椰菜種子的公司, 比較國內 3 家花椰菜育種公司所使用親本的親緣性關係(圖 1、表 1)。結果顯示, 3 家公司花椰菜品種皆可獨立區分出來, 足以建立不同自交系的親緣關係。對同一家公司內大部份親本其親緣關係比較接近, 不同公司則相似度較低, 由此可知國內花椰菜育種公司, 所使用花椰菜親本皆為其培育獨有之自交系。利用遺傳分析, 探討了解不同公司品種間遺傳的歧異度。另一方面, 利用 OPA1、OPA13、OPA18、OPB5、OPB15、OPE15、OPL18 等 7 個可產生多型性條帶的 DNA 逢機引子, 分別進行欣樺種苗公司 5 組雜交組合的父母本、農友種苗公司 5 組雜交組合的父母本及慶農種苗公司的 6 組雜交組合的父母本, 合計 32 個花椰菜的雜交親本, 比較其所使用親本的親緣性差異及耐熱或早生的分子標誌, 我們找到至少 30 個以上的分子標誌, 只出現在 F_1 及父本上, 而不出現在母本上的分子標誌, 這些標誌不但可以鑑定這些品種的親緣性, 且可作為種原間親緣關係之探討, 將來更有機會應用作為 F_1 品種的種子純度鑑定上。這些資料我們已建立成 Excel 的資料檔, 可供廠商檢測其 F_1 純度的參考。

結論

利用分子標誌除了可找到一些分子標誌可以區分不同公司的親本外，亦利用 F₁ 品種父母本具有不同的分子標誌來檢測其 F₁ 品種後代的純度。根據國內不同私人種苗業者或公家機關育種者所提供之花椰菜主要商業栽培品種，建立 DNA 指紋分析資料庫，並利用遺傳分析，了解不同品種間遺傳的歧異度，作為品種鑑定及種原利用之參考。另一方面，我們找到至少 30 個以上的分子標誌，只出現在 F₁ 及父本上，而不出現在母本上的分子標誌，這些標誌不但可以鑑定這些品種的親緣性，且可作為種原間親緣關係之探討，將來更有機會應用作為 F₁ 品種的種子純度鑑定上。利用分子標記及田間形態、生長調查之特徵，以建立台灣重要耐熱花椰菜商業品種之鑑定技術，未來希望能發展快速抽取單一 F₁ 種子 DNA 的方法，此工作不但可保護種苗業者在 F₁ 商業品種專利，並可有效提高生產 F₁ 雜交種子的純度及檢定技術。最終目的希望促成我國蔬菜產業升級及提高國際市場競爭力。

引用文獻(Literature cited)

- Chuang, H. Y., Tsao, S. J., Lin, J. N., Chen, K. S., Liou, T. D., Chung, M. C., and Yang, Y. W. 2004. Genetic diversity and relationship of non-heading Chinese cabbage in Taiwan. *Bot. Bull. Acad. Sin* 45:331-337.
- Chen, Y. T. 2004. Genetic variation of *Brassica oleracea* L. var. *botris* and *B. rapa* L. in Taiwan as depicted by simple sequence repeat markers. Master Thesis.
- Chang, L. C. 1998. Varietal improvement of cruciferous vegetables in Taiwan. In: Proceedings of Symposium on Industrial Development of Cruciferous Vegetables. p.35-53. 6 January 1998, Taoyuan District Agricultural Improvement Station, Taoyuan, Taiwan, R.O.C. (in Chinese)
- Charters, Y. M., A. Roberson, and M. J. Wilkinson. 1996. PCR analysis of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*) using 5'-anchored simple sequence repeat (SSR) primers. *Theor. Appl. Genet.* 92 : 442-447.
- Chuang, H.Y., S.-J. Tsao, J. N. Lin, K. S. Chen, T. D. Liou, M.. C. Chuang, and Y. W. Yang. 2004. Genetic diversity and relationship of non-heading Chinese cabbage in Taiwan. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45:331-337.
- Divaret I., E. Margalé, and G. Thomas. 1999. RAPD markers on seed bulks efficiently assess the genetic diversity of a *Brassica oleracea* L. collection. *Theor. Appl. Genet.* 98 : 1029-1035.
- Gillings, M. and M. Holley. 1997. Amplification of anonymous DNA fragment using pairs of long primers generates reproducible DNA fingerprints that are sensitive to genetic variation. *Electrophoresis* 18:1512-1518.
- Hu, J. and C.F. Quiros. 1991. Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. *Plant cell Rep.* 10:505-511.
- Huelsenbeck, J.P. and F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17:754-755.
- Junghans, H. and M. Metzloff. 1990. A simple and rapid method for the preparation of total plant DNA. *BioTechniques* 8 : 176.
- Kresovich, S., A. K. Szewc-McFadden, S. M. Blied, and J. R. McFerson. 1995. Abundance and characterization of simple-sequence repeats (SSRs) isolated from a size-fractionated genomic library of *Brassica napus* L.(rapeseed). *Theor. Appl. Genet.* 91 : 206-211.
- Kresovich, S., J.G.K. Williams, J.R. McFerson, E.J. Routman, and B.A. Schaal. 1992. Characterization of genetic identities and relationships of *Brassica oleracea* L. via a random amplified polymorphic DNA assay. *Theor. Appl. Genet.* 85:190-196.
- Mailer, R. J., R. Scarth, and B. Fristensky. 1994. Discrimination among cultivars of rapeseed

- (*Brassica napus* L.) using DNA polymorphisms amplified from arbitrary primers. *Theor. Appl. Genet.* 87 : 697-704.
- McGrath, J. M. , and C. F. Quiros. 1992. Genetic diversity at isozyme and RFLP loci in *Brassica campestris* as related to corp type and geographical origin. *Theor. Appl. Genet.* 83 : 783-790.
- Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in term of restriction endonucleases. *Prob. Nathl. Acda. Sci. USA* 76 : 5269-5273.
- Plieske, J., and D. Struss. 2001. Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica*. I. Development in *Brassica napus* and abundance in *Brassicaceae* species. *Theor. Appl. Genet.* 102 : 689-694.
- Song, K. M., T. C. Osborn, and P. H. Williams. 1988a. *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs)—1. *Genome evolution of diploid and amphidiploid species*. *Theor. appl. Genet.* 75 : 784-794.
- Song, K. M., T. C. Osborn, and P. H. Williams. 1988b. *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) —2. Preliminary analysis of subspecies within *B.rapa (syn.campestris)* and *B.oleracea*. *Theor. Appl. Genet.* 76 : 593-600.
- Song, K. M., T. C. Osborn, and P. H. Williams. 1990. *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) —3. Genome relationship in *Brassica* and related genera and the origin of *B. oleracea* and *B. rapa(syn.campestris)*. *Theor. Appl. Genet.* 79 : 497-506.
- Tsao, C. Y., C. Z. Xu, F. S. Chueh, U. C. Chen, and C. N. Hsia. 2009. Genetic diversity analysis of *Bletilla* species using RAPD technique. *J. Taiwan Agric. Res.* 58:245-264.
- Welsh, J. and M. McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18:7213-7218.
- Williams, J.G.K., A.R.Kubelik, K.J.Livak, J.A.Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res.* 18: 6531-6535.
- Yang, Y. W., S. F. Hung, T. H. Wong, T. L. Chang, H. Huang, and C. T. Tsai. 1997. Using RAPD markers to study genetic variation among F₁ hybrids and their parents of broccoli and cauliflower. *J. Chinese Soc. Hort. Sci.* 43(4): 306-313.
- Yang, Y. -W., W.H.J. Kuo, T.H. Wong. 1998. Genetic polymorphism of seven populations of *Capsella bursa-pastoris* based on RAPD markers. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 39:17-21.

表 1. 供試花椰菜品種及其來源

品種名稱 Cultivar	一代雜交或其親本 F ₁ or parent	來源 Source
M7	♀	欣樺種苗公司
M2	♂	欣樺種苗公司
M7×M2	F ₁	欣樺種苗公司
M14	♀	欣樺種苗公司
E7	♂	欣樺種苗公司
M14×E7	F ₁	欣樺種苗公司
E13	♀	欣樺種苗公司
M16	♂	欣樺種苗公司
E13×M16	F ₁	欣樺種苗公司
M9	♀	欣樺種苗公司
M6	♂	欣樺種苗公司
M9×M6	F ₁	欣樺種苗公司
M17	♀	欣樺種苗公司
E2	♂	欣樺種苗公司
M17×E2	F ₁	欣樺種苗公司
芳雪	♀	農友種苗公司
芳雪	♂	農友種苗公司
芳雪	F ₁	農友種苗公司
嬌雪	♀	農友種苗公司
嬌雪	♂	農友種苗公司
嬌雪	F ₁	農友種苗公司
白秀	♀	農友種苗公司
白秀	♂	農友種苗公司
白秀	F ₁	農友種苗公司
農友早生 2 號	♀	農友種苗公司
農友早生 2 號	♂	農友種苗公司
農友早生 2 號	F ₁	農友種苗公司
麗雪	♀	農友種苗公司
麗雪	♂	農友種苗公司
麗雪	F ₁	農友種苗公司

表 1. 供試花椰菜品種及其來源 (續)

品種名稱 Cultivar	一代雜交或其親本 F ₁ or parent	來源 Source
H37	♀	慶農種苗公司
H37	♂	慶農種苗公司
H37	F ₁	慶農種苗公司
H41	♀	慶農種苗公司
H41	♂	慶農種苗公司
H41	F ₁	慶農種苗公司
H46	♀	慶農種苗公司
H46	♂	慶農種苗公司
H46	F ₁	慶農種苗公司
H55	♀	慶農種苗公司
H55	♂	慶農種苗公司
H55	F ₁	慶農種苗公司
M45	♀	慶農種苗公司
M45	♂	慶農種苗公司
M45	F ₁	慶農種苗公司
H80	♀	慶農種苗公司
H80	♂	慶農種苗公司
H80	F ₁	慶農種苗公司
鳳山極早生	OP	農友種苗公司
農友極早生	OP	農友種苗公司

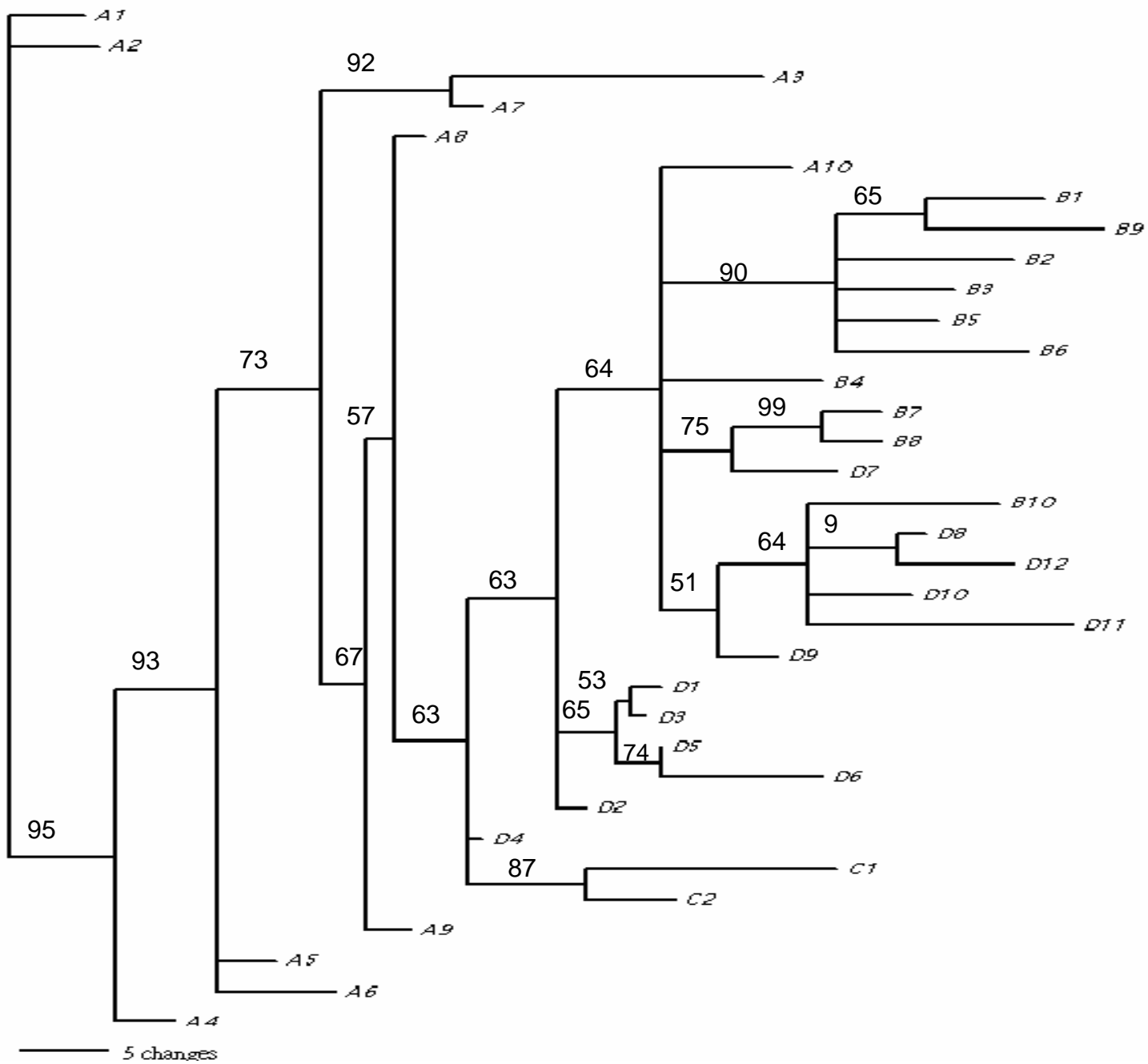


圖 1. 根據 Bayesian analysis (Huesen beck Ronquist, 2001)不同公司親本及自交系所產生的親緣關係圖

表 2. 花椰菜指紋圖譜分析品種來源及代號

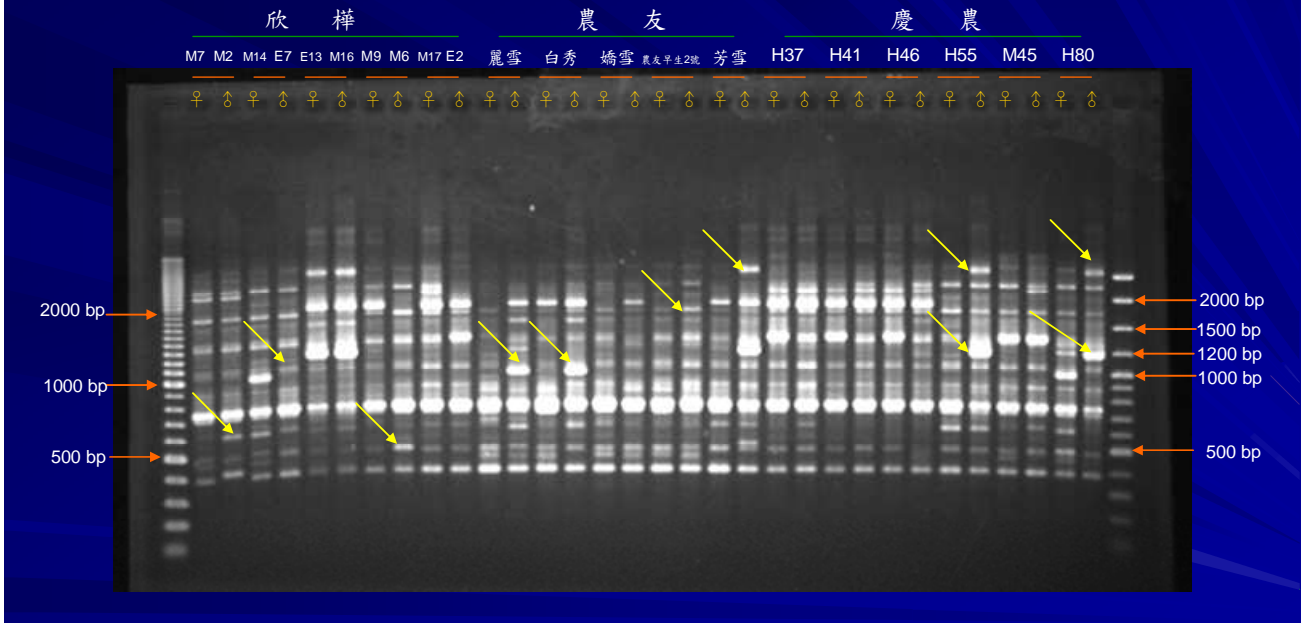
代號	品種名稱	來源
A1	M7	欣樺種苗公司
A2	M2	欣樺種苗公司
A3	M14	欣樺種苗公司
A4	E7	欣樺種苗公司
A5	E13	欣樺種苗公司
A6	M16	欣樺種苗公司
A7	M9	欣樺種苗公司
A8	M6	欣樺種苗公司
A9	M17	欣樺種苗公司
A10	E2	欣樺種苗公司
B1	麗雪♀	農友種苗公司
B2	麗雪♂	農友種苗公司
B3	白秀♀	農友種苗公司
B4	白秀♂	農友種苗公司
B5	嬌雪♀	農友種苗公司
B6	嬌雪♂	農友種苗公司
B7	農友早生 2 號♀	農友種苗公司
B8	農友早生 2 號♂	農友種苗公司
B9	芳雪♀	農友種苗公司
B10	芳雪♂	農友種苗公司
D1	H37♀	慶農種苗公司
D2	H37♂	慶農種苗公司
D3	H41♀	慶農種苗公司
D4	H41♂	慶農種苗公司
D5	H46♀	慶農種苗公司
D6	H46♂	慶農種苗公司
D7	H55♀	慶農種苗公司
D8	H55♂	慶農種苗公司
D9	M45♀	慶農種苗公司
D10	M45♂	慶農種苗公司
D11	H80♀	慶農種苗公司
D12	H80♂	慶農種苗公司
C1	鳳山極早生	農友種苗公司
C2	農友極早生	農友種苗公司

表 3. 花椰菜指紋圖譜分析特異性條帶

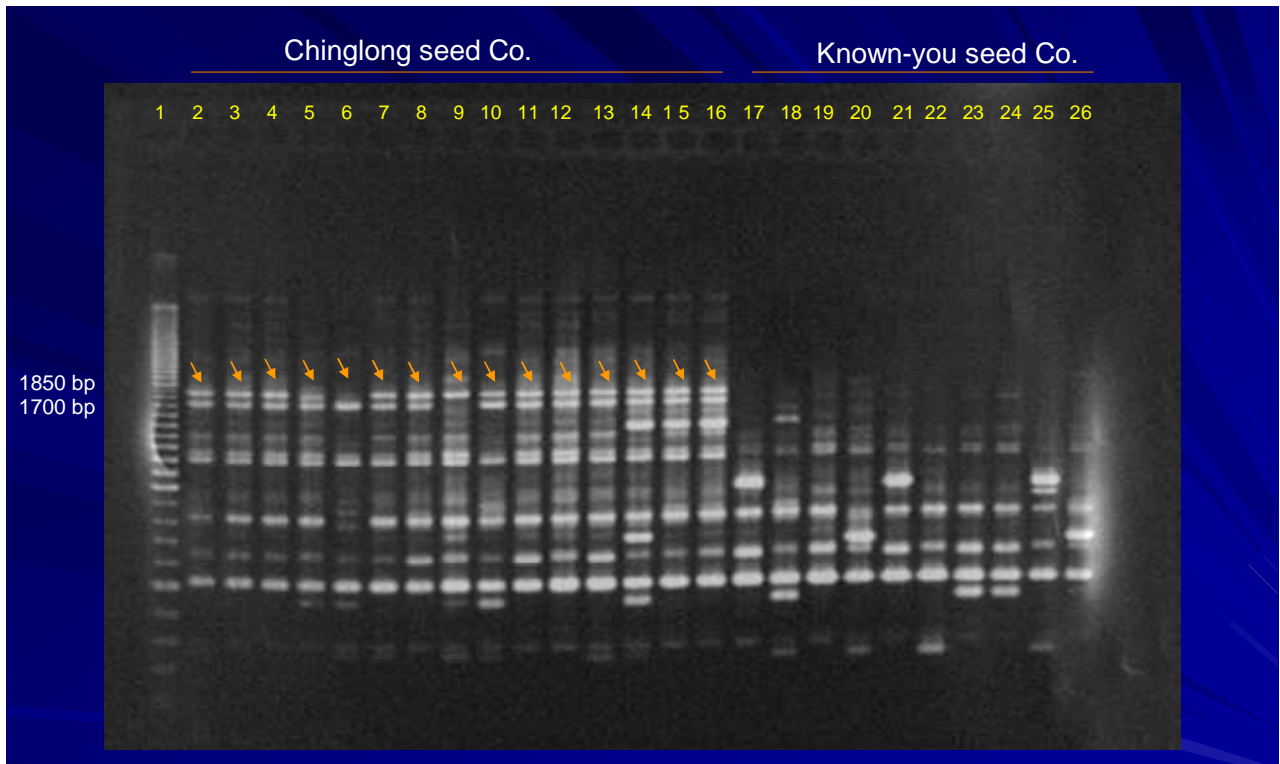
引子名稱 Primer name	DNA 大小 DNA size (bp)	DNA 選殖 Clone	品種名稱 Cultivar	來源 Source
OPB-5	1800	OPB5-1800	M14×E7	欣樺
OPB-15	1200	OPB15-1200	M14×E7	欣樺
OPA-18	1900	OPA18-1900	E13×M16	欣樺
OPL-18	800	OPL18-800	E13×M16	欣樺
OPA-1	2500	OPA1-2500	M9×M6	欣樺
OPB-15	500	OPB15-500	M9×M6	欣樺
OPB-15	1000	OPB15-1000	M9×M6	欣樺
OPA-18	1900	OPA18-1900	M17×E2	欣樺
OPL-18	800	OPL18-800	M17×E2	欣樺
OPB-5	1800	OPB5-1800	M14×E7	欣樺
OPB-15	1200	OPB15-1200	M14×E7	欣樺
OPA-18	1900	OPA18-1900	E13×M16	欣樺
OPL-18	800	OPL18-800	M17×E2	欣樺
OPA-1	1000	OPA1-1000	白秀	農友
OPA-18	700	OPA18-700	白秀	農友
OPL-18	800	OPL18-800	白秀	農友
OPL-18	1500	OPL18-1500	嬌雪	農友
OPA-18	700	OPA18-700	芳雪	農友
OPB-5	1000	OPB5-1000	芳雪	農友
OPB-15	1250	OPB15-1250	芳雪	農友
OPB-15	1250	OPB15-1250	H-41	慶農
OPA-1	1100	OPA1-1100	H-55	慶農
OPA-13	1250	OPA13-1250	H-55	慶農
OPB-5	1000	OPB5-1000	H-55	慶農
OPE-15	1000	OPE15-1000	H-55	慶農
OPE-15	1400	OPE15-1400	H-55	慶農
OPE-15	450	OPE15-450	H-68	慶農
OPL-18	840	OPL18-840	H-68	慶農
OPA-1	1100	OPA1-1100	H-80	慶農
OPB-15	500	OPB15-500	H-80	慶農
OPE-15	450	OPE15-450	H-80	慶農
OPL-18	840	OPL18-840	H-80	慶農
OPE-15	950	OPE15-950	M-45	慶農
OPB-15	350	OPB15-350	S-65	慶農

引子名稱 Primer name	DNA 大小 DNA size (bp)	DNA 選殖 Clone	品種名稱 Cultivar	來源 Source
OPA-13	1250	OPA13-1250	S-85	慶農
OPA-1	1200	OPA1-1200	S-90	慶農
OPE-15	450	OPE15-450	S-90	慶農
OPE-15	850	OPE15-850	S-90	慶農

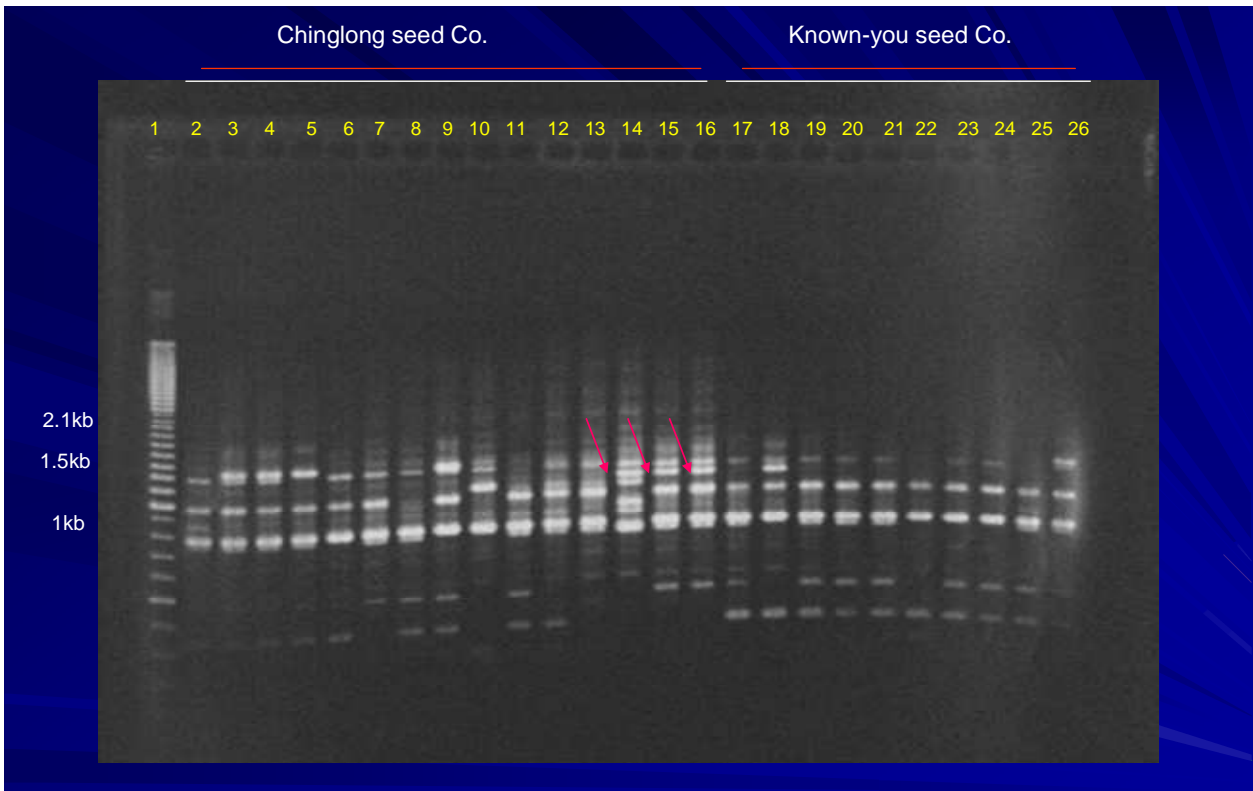
花椰菜(欣樺, 農友, 慶農) - OPA-1 (I) :



圖二、利用 OPA-1 引子進行國內 3 家花椰菜種苗公司所提供的親本及自交系篩選



圖三、OPA18-1700 及 OPA18-1850 兩引子只出現在慶農種苗公司所育成花椰菜品種上而不出現在農友種苗公司育成花椰菜品種上。



圖四、OPB15-1150 標記只出現在花椰菜晚生硬花品種上而不出現在早生或中生品種上。



圖五、H37 花椰菜



圖六、H41 花椰菜



圖七、H46 花椰菜



圖八、H55 花椰菜



圖九、白秀花椰菜



圖十、雪華花椰菜



圖十一、嬌雪花椰菜



圖十二、芳雪花椰菜



圖十三、鳳山極早生花椰菜



圖十四、農友極早生花椰菜