

應用核酸分析技術鑑定

絲瓜品種



文/圖 宋品慧

前言

絲瓜 (*Luffa aegyptiaca* Mill) 又名菜瓜，是臺灣常見的蔬菜種類，為葫蘆科一年生蔓性植物，性喜高溫 and 日照充分的氣候，是臺灣夏季重要的蔬菜，2020年全臺栽培面積約2,351公頃，年產量約47,700公噸，主要產地分布於中南部地區，且因南部氣候溫暖，一年四季皆可生產，消費者整年都可享用美味的絲瓜。

絲瓜果實未熟時很柔軟可供蔬菜食用，炎炎夏日來上一碗絲瓜湯，開胃又解暑，果實成熟後纖維化不能食用，可為洗浴的材料，而新鮮絲瓜水中含有醣類、植物粘液、維生素及礦物質等成分，研究指出亦有養顏美容的效果，由於取得容易，是早期美容聖品，廣受歡迎。

絲瓜品種介紹

絲瓜品種眾多，一般以果實外觀來區分，依果實形狀可區分為圓筒絲瓜和稜角絲瓜二大栽培群。圓筒絲瓜又可細分成長圓筒型及短筒型(圖1)，臺灣本島以圓筒絲瓜為主流，栽培歷史悠久，地方種相當多，中部地區多種植果色略白的白皮種，南部則種植濃綠色果皮的粗鱗種、溪州種為大宗。為符合市場需求，種苗公司陸續推出雜交一代品種，但由於農民喜歡自行留種，逐漸造成品種混亂和退化，性狀改變，以致常有產量低落、果實品質不穩、裂果和罹病等問題出現。為確保品種的正確性，可藉由開發絲瓜品種核酸鑑定技術，突破鑑定材料狀態(新鮮或乾燥)及發育時期(幼苗、花果期)等限制，快速而精準鑑定品種。

絲瓜品種核酸鑑定技術

現今作物品種核酸鑑定皆利用去氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)序列差異為基礎的遺傳研究，早期分析法多使用限制性片段長度多態性、隨機擴增多型性DNA及增殖片段長度多型

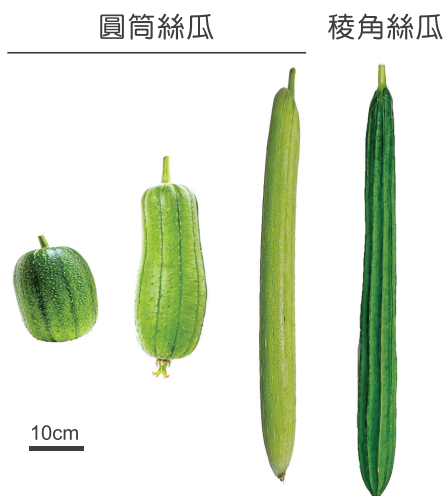


圖1. 市面上常見的絲瓜品種，左到右依序為短筒絲瓜、一般圓筒絲瓜、長筒絲瓜及稜角絲瓜。

性分析。其中限制性片段長度多態性分析為大家所信賴的工具，然而因較耗費時間、成本高，甚至必須使用放射線物質則為其最大缺點。現在利用基因體中存在大量的簡單重複序列 (Simple Sequence Repeat, SSR) 再現性佳、可區別多對偶基因、具共顯性、且易於操作與判讀，成為品種鑑定的主流，其實也是人類親子關係鑑定採用的方法之一。

本場蒐集40個絲瓜品種(系)(表1)，進行核酸萃取，保存絲瓜品種(系)遺傳物質(DNA)，並使用SSR分子標誌開發品種核酸鑑定技術。分子標誌的設計來自美國國家生物技術資訊中心轉錄體基因庫中，篩選表現序列標籤，再利用聚合酶連鎖反應(PCR)儀，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，會因不同品種而改變，經電氣泳動後，不同品種可分離出不同長度核酸片段，呈現不同的核酸指紋圖譜(圖2)，即可據此進行品種的比對鑑定。本場建立的絲瓜品種核酸鑑定技術已可清楚鑑定40個絲瓜品種，未來還可依需求，擴增可鑑別的品種(圖3)。

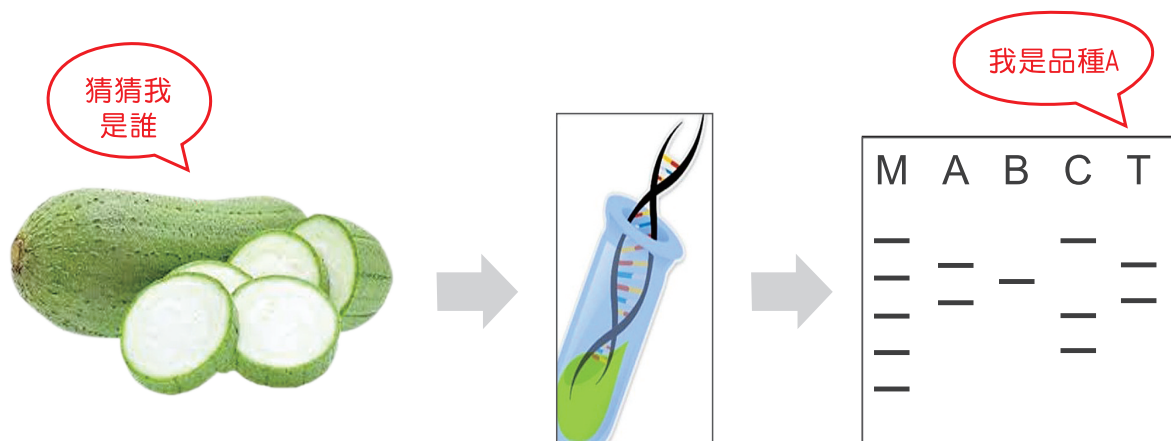


圖2. 絲瓜品種核酸鑑定流程

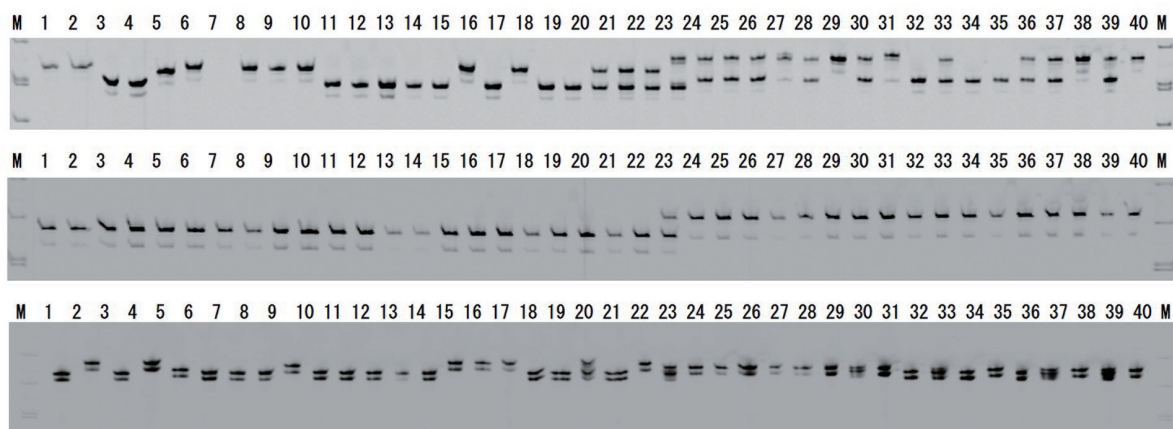


圖3. 絲瓜分子標誌核酸指紋圖譜

表1. 40種絲瓜品種(系)及其園藝性狀

編號	來源	特性	果皮	果長 (cm)	果色	種皮	萎凋病 抗病性
L1	旗山	溪州種	粗鱗	20	綠	黑	抗
L2	旗山	細長	粗鱗	50	綠	白	中
L3	萬丹	中短	特粗鱗	18	濃綠	黑	中
L4	大樹	旗山白	細鱗	22	白皮	白	感
L5	里港	長香水	細鱗	50	綠	黑	抗
L6	二水	白皮種	中鱗	22	白皮	黑	感
L7	杉林	粗鱗	粗鱗	25	綠	黑	抗
L8	霧峰	短香水	細鱗	25	綠	黑	抗
L9	埔里水窪窟	白絲瓜	細鱗	20	白皮	黑	抗
L10	杉林	極粗鱗(變異株)	粗鱗	20	綠	黑	抗
L11	大寮	長白絲瓜黑籽	細鱗	28	綠	黑	抗
L12	柴里	綠皮白籽	細鱗	20	綠	白	中
L13	柴里	白皮黑籽	細鱗	23	白皮	黑	抗
L14	大樹	白皮白籽粗鱗	中鱗	24	白皮	白	感
L15	山東壽光	長形	細鱗		綠	黑	感
L16	板橋	圓形絲瓜	中鱗	15	綠	黑	中
L17	沖繩	大長絲瓜				黑	感
L18	旗山	粗鱗	粗鱗	22	綠	黑	抗
L19	山西	正宗肉絲瓜	粗鱗	23	綠	黑	感
L20	旗南	F1	中鱗	21	綠	白	中
L21	旗南分場	F1	粗鱗	24	綠	黑	
L22	農友公司	F1	細鱗	24	白皮	黑	
L23	農友公司	沾木用品種				黑	
L24	雜交F1(城北*84-3)	101-013					
L25	雜交F1(城北*84-2)				綠	黑	
L26	雜交F1(城北*84-4)				綠	黑	
L27	雜交F1(城北*84-5)						
L28	純系			60-70	綠	黑	
L29	純系			60-70	綠	黑	
L30	純系			60-70	綠	黑	
L31	純系			60-70	綠	黑	
L32	澎湖	晚生、短		20-30	綠	黑	
L33	金夏1號			40-50	綠	黑	
L34	越南			50	綠	黑	
L35	廣東			30-40	綠	黑	
L36	斯里蘭卡-1			60	綠	黑	
L37	金可			40-50	綠	黑	
L38	金麗			40-50	綠	黑	
L39	綠霸			50	深綠	黑	
L40	春豐			70-80	深綠	黑	

萃取絲瓜核酸後，加入分子標誌、酵素等物質進行聚和酶連鎖反應，經電氣泳動後，不同品種(系)會出現不一樣的核酸圖譜，範例中(圖2)待測品種T的核酸圖譜與品種A一樣，則可鑑定為品種A。

除了鑑定品種外，由於簡單重複序列在生物體基因組的分布廣泛，且能隨著物種演化而保留，亦能進行親緣關係樹分析，以了解種原的遺傳資訊，作為雜交育種的親本選擇參考。透過MEGA5軟體繪製親緣關係樹(親緣愈近愈相連)，可看出絲瓜品種分成圓筒絲瓜和稜角絲瓜2大群(圖4)，符合外表性狀的分群結果，而雙依品種(L23)位於圓筒絲瓜群與稜角絲瓜群之間，推測其可能為圓筒絲瓜和稜角絲瓜雜交後裔。另外親緣關係樹顯示，果實性狀對分群影響力較大，果皮的特徵、果皮顏色和種皮影響則較小，顯示果實性狀於絲瓜遺傳分析上扮演重要的角色。

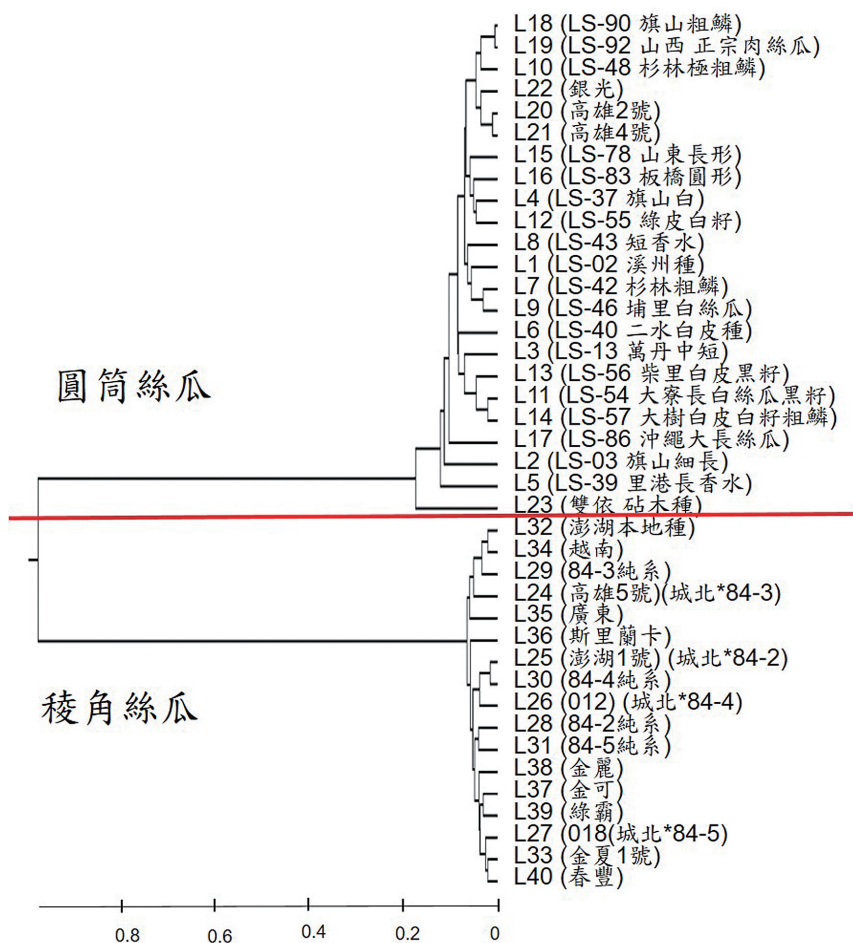


圖4. 絲瓜品種(系)親緣關係樹

結語

作物品種是產業發展的基礎，而品種保護與品種權主張是作物品種的後盾，對育種者的激勵具有積極正面的貢獻。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，或是栽種環境不同，都會影響其判斷，也造成品種鑑定上的困難，而核酸鑑定不會受到環境因子、生育時期及取樣部位而改變，已廣受國際認可，提供科學且客觀的品種鑑定方式。