

分子標誌在高苣品種遺傳相似性 分析的研究

莊淑貞¹、張義弘²、鍾文全³、蔡東耀⁴

前言

高苣學名 *Lactuca sativa* L.，為菊科高苣屬，英名 lettuce，染色體 $2n = 2x = 18$ ，為世界性的重要蔬菜之一。台灣年栽培面積約二千六百多公頃，一般多稱鵝仔菜、高仔菜或生菜，為本省主要的一、二年生葉菜類之一。高苣依食用部位可分類成嫩莖高苣、結球高苣、荷花高苣及不結球的葉用高苣等，加上因葉片的圓、尖、長、短或皺葉、立生、劍葉及結球的包被型或抱合型等而分化成許多用途各別之品種。

近年來，分子標誌技術為輔助品種外表性狀檢定的有利方式，許多作物如高粱、玉米、大豆、大麥及一些園藝作物分析所得的資料，更可用來進行親緣關係、連鎖與圖建立等遺傳背景的分析。並已實際應用在各類農、園藝作物的分類及育種分析應用，但目前的成就距新、速、實、簡之境界仍有很大的空間可以開發。面對

高苣的多型性，嘗試以分子標誌技術建立品種遺傳背景的相關資訊，在育種上也可利用這些訊息對育種材料在種子期進行材料的選擇。

分子標誌相似性分析

以市售品種及部分種原共 23 個品種（系）（表一）為材料及 60 組 RAPD 引子所作的分析，總計產生 189 個擴增之 DNA 片段，其中 132 個為多型性 DNA 片段，獲得的片段大小，則介於 400~2900 bp 之間。

23 個高苣品種（系）所作之遺傳歧異度群叢分析，依 Jaccard's 相似性係數，當截點為 0.64 時，共可分成 A、B、C、D 四個主要群組（圖 1）。A 群組由花葉生¹菜（Lettuce 30）一個品種（系）自成一群。B 群組包含 10 個參試品種（系）並內分成兩個小群組 B₁ 及 B₂，其中 B₁ 有 3 個品種（系）（Lettuce 13、24 及 25），B₂ 有 7 個品種（系）（Lettuce 3、4、6、9、29、L2 及 L3）為不結球高苣。C 群組亦包含 10 個參試品種並內分成兩個小群組 C₁ 及 C₂，其中 C₁ 有 7 個品種（系）（Lettuce 7、8、11、12、26、31 及 32）為結球高苣，其間具較高之遺傳相似性（相似性係數為 0.725），C₂ 有 3 個品種（系）（Let-

1 種苗改良繁殖場 生物技術課 副研究員兼代課長

2 種苗改良繁殖場 生物技術課 研究員兼課長
（已退休）

3 種苗改良繁殖場 繁殖技術課 副研究員

4 種苗改良繁殖場 繁殖技術課 助理研究員
（已退休）

研究成果

tuce 2、27、28) 相似性係數為 0.719 為半結球萵苣。D 群組則有 2 個品種(系)(Lettuce 1 及 10) 組成皺葉萵苣。

連鎖四個群叢的 23 個品種(系)間, 以 RAPD 分析之遺傳相似性係數達 0.314。B、C 及 D 各群組之遺傳相似性係數分別為 0.698、0.694 及 0.648。連鎖 B、C、D 三

個群組的 22 個品種(系), 遺傳相似性係數為 0.612。顯見花葉生菜(Lettuce 30)之遺傳背景明顯異於其它品種(系)。

進一步以二向的角度, 依 RAPD 分子標誌之第 1 及第 2 主成份分析之萵苣品種(系)遺傳距離分佈圖(圖 2), 其中主成份 1 及主成份 2 對變異的累積解釋程度

表一、萵苣參試品種(系)名稱及代號。

代號	品種(系)	代號	品種(系)	代號	品種(系)
1	皺葉萵苣(義大利生菜)	10	明豐皺葉萵苣	28	羅馬生菜
2	吉林甜脆	11	大湖結球(大湖 366)	29	米香油麥
3	紅尖萵苣	12	結球萵苣(Moran Vard)	30	花葉生菜
4	四季生菜	13	明豐三號(葉用)	31	皇帝生菜
6	萵筍	24	油麥生菜	32	劍葉生菜
7	結球萵苣(van MAX)	25	四季油麥	L2	小尖鵝菜
8	結球萵苣(Valley Green)	26	美國結球生菜	L3	大葉鵝菜(LG320)
9	白尖萵苣	27	軟尾生菜		

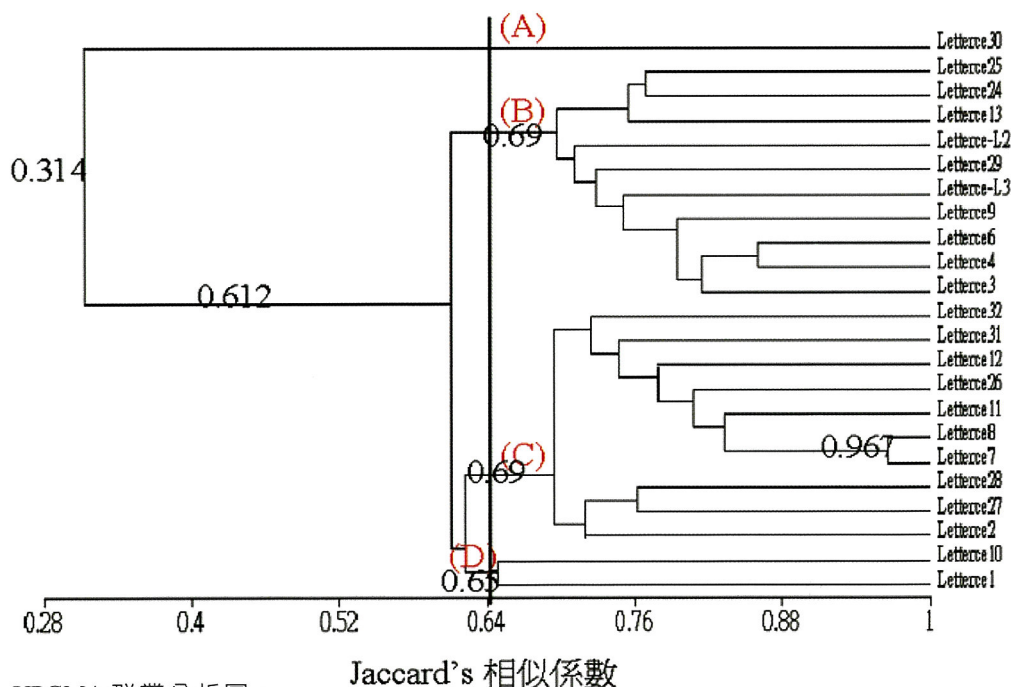


圖 1. UPGMA 群叢分析圖。

為 36.4 % 未達 50 %，顯示 RAPD 分子標誌無特別具有較大解析效果之單一分子標誌，可將參試之品種（系）分群。而依第 1 及第 2 主成份所作遺傳距離的分群關係中四季油麥（Lettuce 25）及吉林甜脆（Lettuce 2）則分別從 B₁ 及 C₂ 群叢被併群到皺葉萵苣的 D 群叢，顯見這兩個品種（系）除了分別是不結球及半結球萵苣外，亦具有皺葉萵苣的遺傳背景，此外其它品種（系）所作的分群關係與圖 1 完全一致。

參試品種（系）間的相似性及其依此建立的群叢關係分析，基本上已對眾多的育種材料進行分類，育種者可依據此部分的分析對育種材料作初步的選擇。

分子標誌品種識別鑑定流程分析

以 RAPD 分子標誌對萵苣參試的 23 個品種（系）進行品種完全識別流程如圖 3 所示。結果顯示，流程 A：識別 14 個品種（系）（Lettuce 1、2、10、25、13、3、7、8、11、12、26、27、28、31）共使用 2 組引子（ubc-15 及 59），7 個標誌。流程 B：識別 9 個品種（系）（Lettuce 30、32、4、6、9、24、29、L2、L3）共使用 5 組引子（ubc-15、59、19、51、06），9 個標誌。流程 A 加 B：識別 23 個品種（系）共使用 5 組引子，13 個標誌，對所有參試品種（系）作完全識別。品種識別鑑定流程分析，僅須用有限的引子及標誌數即可對參試的品種（系），依所建立的鑑定流程而作品種的完全識別。

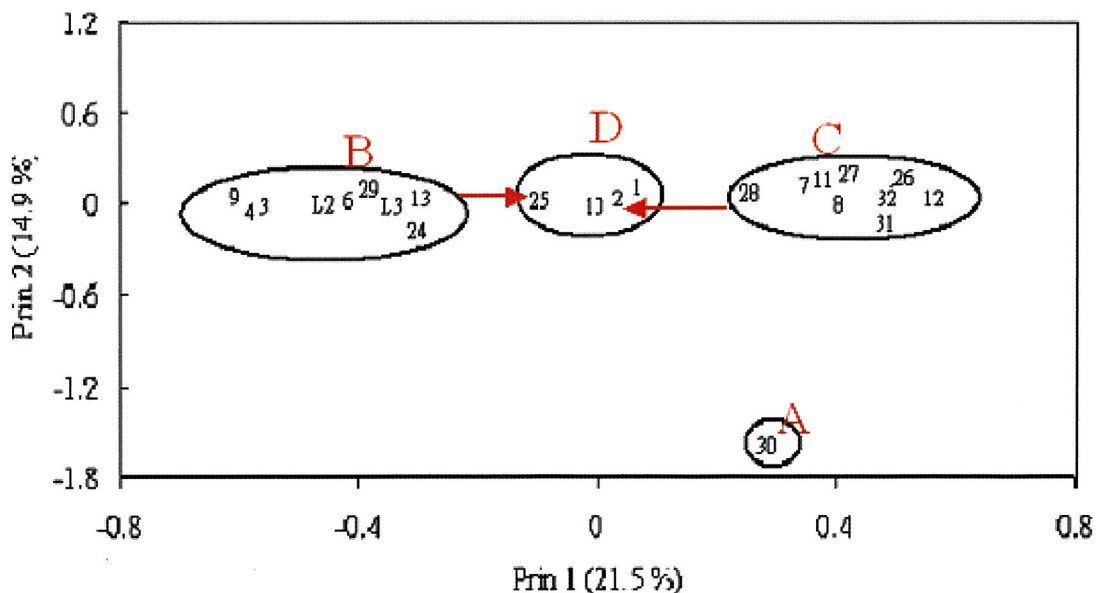


圖 2. 依 RAPD 分子標誌之第一及第二主成份所繪之萵苣品種（系）遺傳距離分佈圖。

研究成果

RAPD 分析與種子外觀、微細構造及結球性的表現

茼蒿各品種（系），利用掃描式電子顯微鏡或解剖顯微鏡觀察茼蒿種子種皮的微細結構可見到模式化的條狀凸起與溝狀凹陷及種皮色澤。茼蒿種子種皮的顏色有銀白色、褐色及黑褐色等；其大小介於

0.5X0.2 cm之間；至於種皮上的條狀凸起數目及寬度則分別為6~11條及40~95μm之間，但花葉生菜則較寬約為163μm（表二）。種子外觀則除了花葉生菜（Lettuce 30）為兩端開放尾端有附屬物（圖4），其餘參試品種（系）均為兩端縮結尾端無附屬物（圖5）。

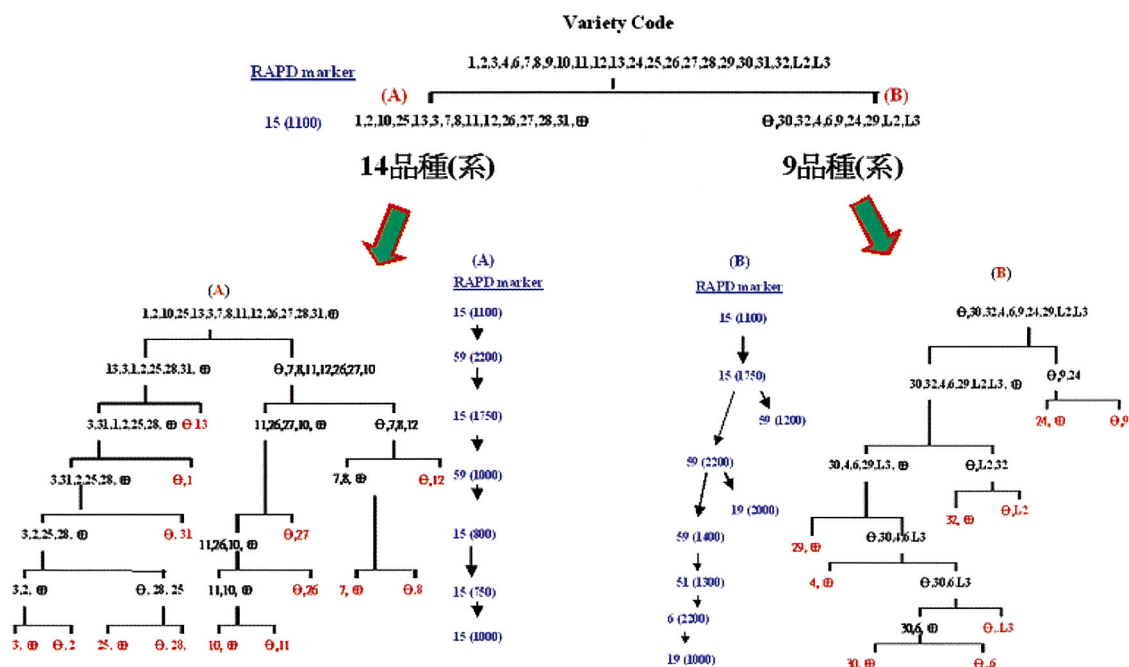


圖 3. 茼蒿參試品種（系）識別鑑定流程圖。

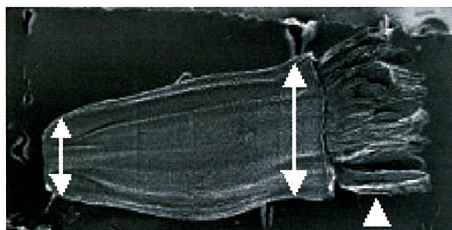


圖 4. 茼蒿-花葉生菜，種子兩端開放尾端有附屬物

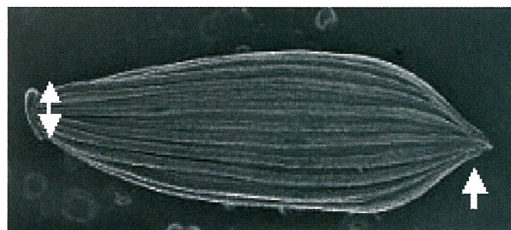


圖 5. 一般茼蒿，種子尾端縮結無附屬物。

由 RAPD 分析的群叢 A 中花葉生菜 (Lettuce 30) 獨自構成 1 群與種子的外觀、微細構造及結球性也充分表現與其他品種 (系) 間的獨特差異性。其他 B、C、D 各群叢間種子的外觀、微細構造及結球性等調查性狀各有重疊，因此在相似性係數為 0.612 處併群而與 A 群叢的併群則在相似性係數為 0.314 處，顯示與 A 群叢的遺傳距離較遠，也印證在種子的外觀、微細構造及結球性等性狀上。

結論

綜合以上分析的結果，RAPD 分子標

誌在萵苣品種遺傳相似性分析的應用，可獲得以下結論：

1. 利用 RAPD 分析所建立的群叢關係與萵苣結球特性相符合。
2. 利用 RAPD 分析可將參試的 23 個品種 (系)，在苗期即作品種完全識別 (共使用 5 組引子，13 個標誌)。
3. 種子種皮外觀及顯微觀察，依 RAPD 群叢僅 A 群叢的調查性狀獨異於其他群叢與 RAPD 結果一致，其他各群叢間各調查性狀各有重疊，也顯示這些群叢間有較高的相似性。

表二、萵苣種子外觀、微細構造及結球性總表。

RAPD 群叢	品種(系) 代號	種子 外觀	種子 顏色	種子大小 (mm)	種皮條紋數 (放大視野)	條紋寬度 (μm)	結球性
A	30	兩端開放尾 端有附屬物	銀白色	3.1x1.4	6.4	163.3	花葉
B ₁	25,13,24	兩端縮結尾 端無附屬物	銀白色、褐色	3.5 ~ 4.1x 1.4	9.1 ~ 10.2	70 ~ 83.6 48.2	不結球
B ₂	3,6,29,4,9	兩端縮結尾 端無附屬物	銀白色、褐色、黑褐色	3.6 ~ 4.3x 1.2~1.6	9.2 ~ 11.1	81.8 ~ 86.4 55.5 ~ 56.4	不結球
C ₁	7,11,26, 31,8,12,32	兩端縮結尾 端無附屬物	銀白色、褐色、黑褐色	3.6 ~ 4.1x 1.1~1.5	8.7 ~ 10.8	61.4 ~ 95 39.1 ~ 51	結球
C ₂	27,28,2	兩端縮結尾 端無附屬物	銀白色	3.8 ~ 4.2x 1.3~1.5	8.6 ~ 9.1	47.2 ~ 58.5	半結球
D	1,10	兩端縮結尾 端無附屬物	銀白色、黑褐色	3.2 ~ 4.2x 1.2~1.6	10.1 ~ 10.2	47.3 ~ 54.9	皺葉