

# SSR 分子標誌在馬鈴薯種苗品種鑑定之研究

陳哲仁<sup>1</sup>、王至正<sup>1</sup>、文紀鑾<sup>2</sup>、李美娟<sup>3</sup>

## 一、前言

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 屬於茄科 (Solanaceae) 植物，又名洋芋、荷蘭薯、山藥蛋、番仔番薯等，起源於南美洲秘魯之一年生栽培作物，根據 FAO 2010 年統計資料，馬鈴薯全球年產量 3 億 2 千 4 百萬噸，居世界第五大量產作物，僅次於甘蔗、玉米、水稻以及小麥，主要生產國依序為大陸、印度、俄羅斯、烏克蘭。馬鈴薯性好冷涼乾燥的氣候條件，而土壤則傾向以土質疏鬆肥沃、供水無虞之田區為適，因此，日夜溫差大、日照充足之臺灣中南部之秋冬時節比較符合其生理需求，2011 年臺灣種植 2,423 公頃，產量 6 萬 3 千餘噸，主要產區在雲林縣 (1,328 公頃)，其次為臺中市 (551 公頃) 和嘉義縣 (398 公頃)，其他各地僅零星種植。

根據歐洲栽培馬鈴薯資料庫 (European Cultivated Potato Database, ECPD)，目前世界上 100 多個國家中，登記有 4,201 個馬鈴薯栽培種，在臺灣主要栽培品種為“克尼伯 (大葉種)”，另市面上流通品種包括“台農 1 號”

、“種苗 2 號 (大吉)”、“大利”、“台農 3 號 (萬豐)”、“百樂 FL-1867”、“樂事 FL-1879”、“大西洋”、“西比大”等品種。為了保障育種權益 (Plant Breeder's Rights, PBR)，新品種必須通過可區別性 (Distinctness)、一致性 (Uniformity) 與穩定性 (Stability) 檢定，植物新品種保護國際聯盟 (the International Union for the Protection of New Varieties of Plants，簡稱 UPOV) 在 2004 年公布以照光芽、植株、葉片、花器以及薯球等 42 項外部型態作為馬鈴薯品種分類之參考，但是這些生長性狀調查必須在指定機關進行，植株外觀表現容易受到環境因素影響，因此，足夠的重複試驗是不可或缺的，在馬鈴薯新品種性狀檢定規範中要求至少要通過 2 個生長週期 (通常耗時 2 年)，不但耗費大量勞力及育種者的金錢和時間成本，對於有時效迫切性之品種檢定，更凸顯出此方法之不足。

## 二、分子標誌之研究

隨著 DNA 分子標誌技術的發展提供新的作物育種工具，根據不同的核酸擴增技術 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 為基礎的方法，如 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)、AFLP (Amplified Fragment Length

1 種苗改良繁殖場繁殖技術課 助理研究員

2 種苗改良繁殖場繁殖技術課 副研究員

3 種苗改良繁殖場繁殖技術課 副研究員兼課長

Polymorphism)、SSR(Simple Sequence Repeat) 以及 ISSR(Inter-SSR) 標誌等分析方法，已經成功應用在馬鈴薯種間遺傳歧異度評估與品種鑑定，新一類的 IRAP(Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) 也已成功開發，提供更多不同的選擇，其中 SSR 標誌序列是由 1~6 個鹼基重複排列組成，遍佈在基因組中，具有高的多型性比例、共顯性特性、結果可靠、分析容易等優點，並且適合自動化分析系統，便於資料儲存和分析。

### 三、SSR 標誌於馬鈴薯品種鑑定

自 2006 年起，歐盟植物品種局 (Community Plant Variety office, 簡稱 CPVO)，開始贊助建構整合馬鈴薯 SSR 標誌和關鍵型態性狀資料庫，Reid (2011) 等人發表以 SSR 標誌分析技術為基礎之馬鈴薯品種檢定方法，評估其可信度和應用性後作為 DUS 品種檢定規範之參考，可以減少檢定機構品種蒐集及維持之負擔，並降低栽培過程中非預期之人為操作失誤，試驗蒐集分析英國、荷蘭、德國以及波蘭等國共 892 個品種，選用 9 個 UPOV 建議之 SSR 標誌 (STM0019、STM3009、STM2005、STM3012、STM3023、STM2028、STM5136、STM5148、SSR1; UPOV 文件編號 BMT-TWA/Potato/2/2)，樣品由英國 SASA 和荷蘭 PRI 實驗室負責分子標誌分析，分為 3 群，採 Multiplex PCR 方式簡化分析流程，這 9 個 SSR 標誌一共產生 95 個不同對偶基因型，並可用 32 個品種涵蓋所有的基因型。

實驗結果顯示，利用上述的 9 個 SSR 標誌可區分絕大多數的品種 (99.5%)，有兩個特例是相同品種名

稱，分析結果卻顯示截然不同的基因型，可能的發生原因是在品種繁殖過程中發生標示錯誤的情形，但是在試驗過程中仍無法判定何者為真；另外，有 8 個案例為不同品種分析顯示具有相同的基因型，一例是原先就懷疑是相同品種，一例判斷為有標示錯誤，一例曾被認為是其他品種的變異株，其餘五例因品種維持過久而無法考證來源，可能在譜系維持過程中混入其他品種，而這 8 個案例的植株型態極為相似，即便增加 31 個 SSR 分析標誌或重新取得品種樣品，仍維持相同結果。最後在 2 重複的 20 個樣品盲樣測試，和兩地實驗室分析獲得結論一致的結果，確認了 SSR 標誌在馬鈴薯品種鑑定的實用性和可信度。

### 四、結語

由於分子標誌在品種鑑定方面極具價值的應用潛力，除了針對馬鈴薯、葡萄、玫瑰等物種以外，UPOV 於 2010 年制訂共通性之分子標誌使用和資料庫建構的指導方針。雖然 UPOV 支持的 SSR 標誌於馬鈴薯品種特異性比較試驗未達成完全的品種區分，但是品種鑑別率已達 99.5%，而任兩個品種的鑑別率更高達 99.99%，已能滿足大多數之新品種檢定需要，且在不同實驗地點皆可獲得相同結果，已大幅改善傳統型態鑑定易受環境影響之缺點，此外，個體 DNA 組成不因生長階段產生差異，可自光照芽、葉片、薯球等部位取少量樣品分析，能與現行之型態鑑定結合同步進行，縮短鑑定所需時間，改善目前鑑定時間和精確度兩大限制，相信此一技術之導入應用對於馬鈴薯產業能有所助益。