

花椰菜自交不親和分子鑑別分析

張惠如¹、鍾文全²

一、前言

花椰菜 (cauliflower; *Brassica oleracea* var. botrytis) 屬於十字花科蕓薹屬 (*Brassicaceae*) 甘藍類 ($2n=18$) 的蔬菜，含有人類飲食所需的維生素、礦物質及抗氧化物質，以及豐富的膳食纖維 (謝等，2011)。國內產區主要集中於彰化、雲林、嘉義及高雄等地區，除提供國內食用市場需求外，每年外銷東南亞地區的種子量亦高達 10 公噸以上，具有非常高的經濟價值。花椰菜為異花授粉作物，其形質之整齊性很難一致，因此 Syngenta 種苗公司 (Saini, 2009) 將蕓薹屬蔬菜的整齊度 (Uniformity) 設定為最重要之育種目標。甘藍類為異花授粉作物，其形質之整齊性很難一致。為提升甘藍類蔬菜品種之整齊性，育種公司多利用自交不親和特性來生產一代雜交 F1 種子。因此在選育一代雜交種之前，通常會先培育出具有自交不親和 (self-incompatibility, SI) 的親本；在採種時，將兩雜交親本種於採種田，利用親本自交不親和特性即可得到天然異交的一代雜交種子，可大幅降低採種生產成本，提升性狀整齊度，同時增加了雜種優勢。但親本自交繁殖若干代後，生長勢容易變得衰弱，產生所謂自交弱勢之現象，且因具有自交不親和而有無法採到自交種子的困擾 (沈，1998)。因此，若育種家了解自己育種材料的自交不親和

基因特性，便可掌握自花授粉親本維持、回交及雜交等繁殖工作。

二、蕓薹屬自交不親和介紹

植物在長期進化過程中，形成了各種有利於異花授粉的機制，自交不親和就是其中最為有效的一種，並且被認為是被子植物進化迅速的主要原因之一。自交不親和是指雌雄配子均有正常授粉受精能力，在不同基因型的株間授粉能正常結子，但自交不能結籽或結籽率極低。幾乎一半以上的顯花植物包括 70 多個科，250 個屬具有此特性 (de Nettancour, 1977)，尤其以十字花科植物最為普遍。自交不親和是大多數高等植物防止近親繁殖的一種遺傳屏障，可被廣泛應用於 F1 雜交種子的生產。自交不親和從形態上可劃分成異型 (heteromorphic) 和同型 (homomorphic) 兩類。同型自交不親和又分成孢子體型自交不親和 (Sporophytic self-incompatibility, SSI) 和配子體型自交不親和 (gametophytic self-incompatibility, GSI) (陳等，2007)，而蕓薹屬植物為孢子體型自交不親和，即柱頭的表皮細胞會抑制花粉的萌發，誘發此抑制反應的物質位於花粉粒的表面，由雄蕊花藥的孢子體組織產生。孢子體型自交不親和為 S 單一基因座 (S-locus) 所控制，且此 S 基因座是由多個基因組成的複雜區域，具有多個等位基因，目前研究指出蕓薹屬甘藍類植物 S 基因座上的等位基因大約有 50 種 (Ockendon, 2000)。此多個等位基因之間存在複雜的相互關係，使得 SSI 型有獨特的遺傳規律。

1 種苗改良繁殖場生物技術課 助理研究員

2 種苗改良繁殖場生物技術課 研究員兼課長

三、自交不親和之相關基因

透過蛋白質學研究發現在S基因座上有三個緊密連鎖的基因與調控自交不親和作用有關，分別為SLG基因（S-locus glycoprotein）、SRK基因（S receptor kinase）和SP11/SCR基因（S locus protein11/S locus cystein rich protein）（Masao et al., 2012）。研究發現當自交不親和反應發生時，SLG的表現量也同時增加，SLG基因會在柱頭乳突細胞中表現分泌蛋白，因此是最早被認為參與自交不親和反應的基因。另一緊密連鎖的SRK基因，其S結構區（S domain）的核苷酸序列與SLG基因相似性高達85%~98%，而SRK也於柱頭乳突細胞中表現，可轉譯出一種膜蛋白鑲嵌在細胞膜上，一端游離在細胞膜外，另一端則游離在細胞質中。為了解SLG及SRK基因在自交不親和反應中的功能性，透過轉基因技術，由研究結果發現SRK基因為雌蕊S基因的決定因子，扮演辨識同類花粉的作用。而

SLG基因可能參與整個自交不親和反應，可增強自交不親和反應。另外，SP11/SCR基因則表現於花粉中，為雄株花粉辨識因子。蕁薹屬作物花粉親和分子辨識模式圖如圖1。

四、利用分子標誌進行花椰菜自交不親和S基因型的鑑別

由先前蛋白質及核酸序列研究結果發現，參與花椰菜自交不親和反應的SLG、SRK與SP11基因，在基因序列上具有多型性。因此，學者們利用此特性來分辨自交不親和S基因型。Brace等人（1994）利用6種限制酵素分解S多基因家族片段之PCR產物，經由瓊脂凝膠電泳分析可得不同條帶圖譜，可成功檢定出48種自交不親和等位基因型。雖然此法可於苗期判定植株自交不親和基因型，但因需透過限制酵素的截切判讀，較一般PCR方法所花費的時間與金錢多。故後續其他研究多以此三個基因為依據進行SCAR分子標誌的開發，希

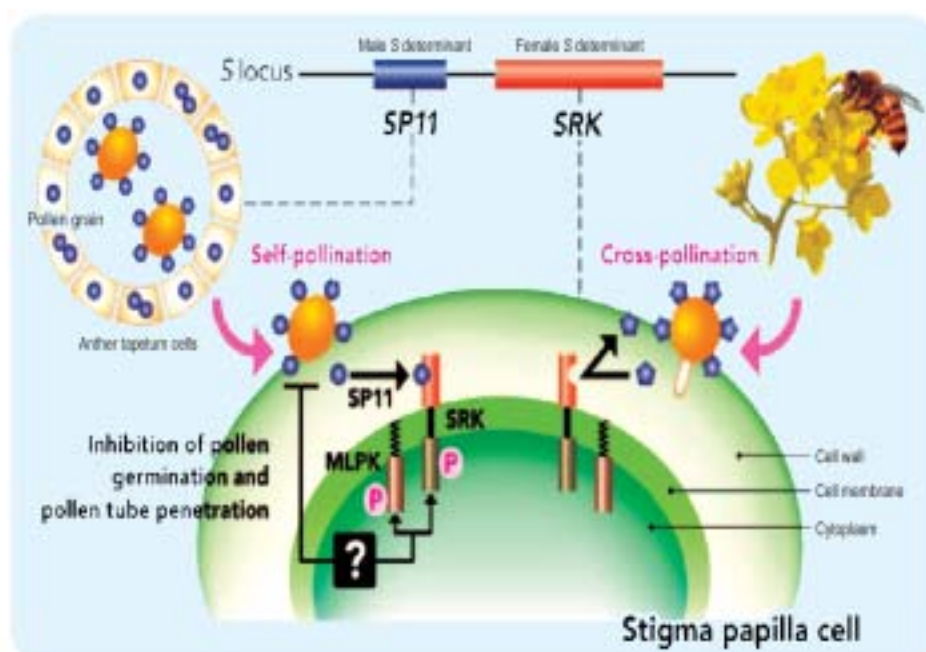


圖1 | 蕁薹屬植物自花授粉辨識模式圖。（Masao et al., 2012）

研究成果

望能辨別花椰菜育種親本的自交不親和基因型，以減少分子檢定之時間與費用，進而提高判斷效率，協助育種者進行花椰菜育種工作。目前由種苗改良繁殖場所開發的花椰菜專一性SCAR分子標誌，與Brace等人所使用之CAPS方法相比較後，所得之SCAR分子標誌識別能力有限，在六個不同自交不親和基因型（SP04 與 SP06 為同品系不同單株）的花椰菜品系中，兩組專一性 SCAR 引子組：D4-1*D7-2 僅可鑑別品系 SP01、SP04/SP06、SP08；K1-2*K4-4 僅可鑑別品系 SP07 及 SP09（圖 2）。此兩組 SCAR 引子對，雖能鑑別部分不同類型之自交不親和基因型，但差異性片段大小相差不大，用肉眼判讀時不易發現，經後續序列分析後，將重新設計 SCAR 引子對，使得差異性片段大小能更明顯。

五、結論

利用分子標誌辨別花椰菜自交不親和基因型極具應用價值，但如何改善已發表之CAPS技術方法，建立更具效率且易於使用的分子標誌方法，為本試驗研究的挑戰。另外，雖然透過分子標誌的分析，可以獲知不同的花椰菜自交不親和基因型，但因本試驗材料尚未完全進行自交及互交試驗，無法得知授粉是否親和的情形。故未來需進一步與育種者配合，進行重要花椰菜育種親本材料的田間雜交授粉調查結果與分子標誌的鑑別實驗相互比對，以瞭解重要育種親本品種的不親和性狀與基因型的連結關係，才可更有效協助育種者對於花椰菜育種材料進行分類，進而協助育種計畫的設計，提高花椰菜雜交育種的效率及後續雜交後代F1 種子的採種工作。

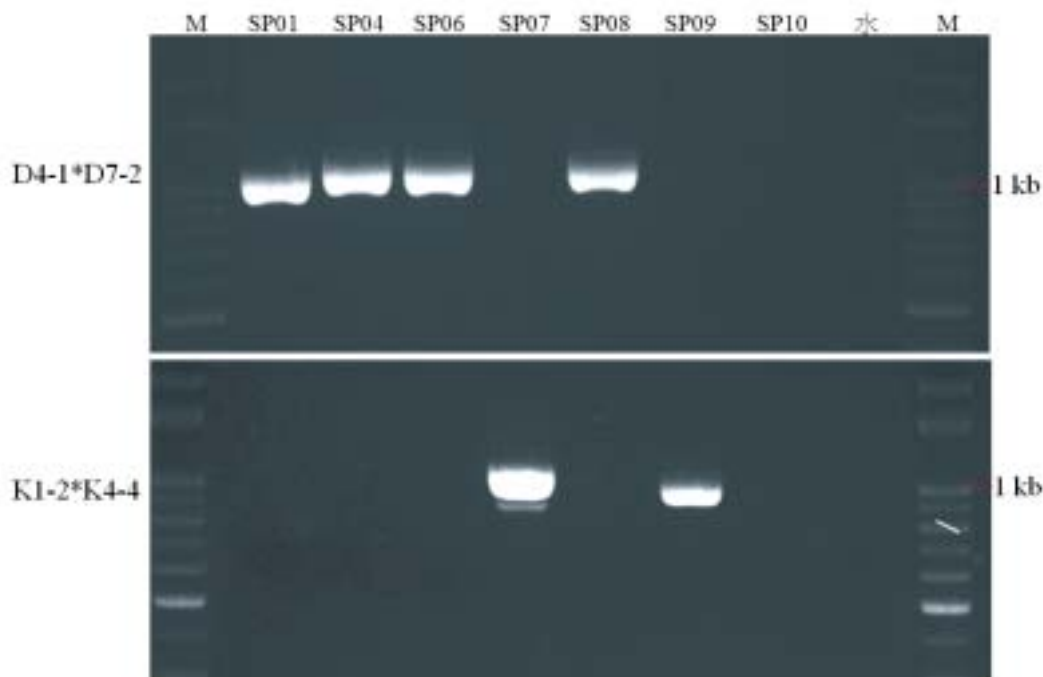


圖 2 | 可鑑別不同自交不親和基因型之花椰菜專一性SCAR引子組。M:size maker;D4-1*D7-2 與K1-2*K4-4 為花椰菜 SCAR 引子對名稱;SP01,SP04/SP06,SP07,SP08,SP09,SP10 為參試之 6 個自交不親和品系;水為空白對照組。