

分子育種 (MAS) 全球發展現況與趨勢

1970 年代晚期，以 DNA 為基礎的基因標記出現，科學家開始針對特定物種大量尋找其基因物質上的標記，並且使用這些標記去偵測與目標性狀之間的關聯性，讓傳統表現型的育種方式走向基因型的選拔，由基因層次達成培育新品種的目的，分子標記輔助育種(Marker-assisted Selection, MAS)自此從理想幻化成真，同時也開創了一個全新的學術研究領域。

一、分子標記系統概述

分子標記輔助育種依據個體間分子層次的差異包括重複性序列、點突變、插入/缺失等，利用與目標性狀連鎖或高度相關的特性進行品種選拔，目前已經有多種分子標記系統成功建立，包括廣為人知的限制片段長度多型性(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)、隨機增幅多型性 DNA(Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)、增幅片段長度多型性(Amplification Fragment Length Polymorphism, AFLP)等。而從這些原有的分子標記系統衍伸出來的系統則有：包含 PCR 與 RFLP 兩項技術的限制酵素切割擴增片段多型性(Cleaved Amplified Polymorphic Sequence, CAPS)以及將 RAPD 或 AFLP 方式產生出的 DNA 條帶進行回收與定序的序列特徵化增幅區域(Sequence Characterized Amplified Region, SCAR)。

此外，隨著 DNA 序列的可獲得性越來越高，從已知的序列設計引子，以 PCR 增幅基因體片段的可能性也得以提升，例如單核苷酸多型性(Single nucleotide Polymorphism, SNP)，可針對同一位點不同對偶基因之間單一核苷酸的差異開發做為分子標記。然而增幅已知序列進行基因型辨別時，並非所有的基因座都具有多型性而可供鑑定，因此若選擇高度變異性的 DNA 片段如屬於串聯重複序列(tandem repeats)的微衛星標記(microsatellite)、轉座元素(transposable elements)作為分子標記，將可以增加測得多型性的可能性，進而達到遺傳相似性分析及遺傳連鎖圖譜建構等用途。

在基因型高通量分析技術(High-throughput Techniques)的發展上，SNP 整合相關基因分析技術如 DNA Chip，可以達到快速、有效率的基因型分析功效，在

MAS 發展作為永續保存物種和增加作物基因物質利用時，扮演著重要的角色，另外值得一提的是，高通量分析時需要大量處理分析樣品，技術層次上已跳脫出許多舊有的分析系統，需要更先進的設備、試劑、電腦分析軟體等協助，而這些軟、硬體設施，甚至技術本身都有可能申請專利，因此這也代表著未來分子標記技術在不斷的演進下，可能在選用 MAS 技術的同時，還必須考慮智慧財產權的問題。

二、MAS 的育種優勢

在有足夠可用之基因標記的前提下，MAS 的主要育種優勢包括：

1. 針對多基因控制之性狀，傳統育種方式難以篩選出最佳表現之品系，尤其是抗蟲抗病之性狀，在此情況下，MAS 成為可直接偵測此群基因以確定表現強度的有力工具。
2. 無需等待生物體表現基因，MAS 便可及早確定該品種是否具有目標性狀，這對於生長週期長的生物，如林木，更具使用優勢。
3. 在傳統育種程序中，需再進行一次自交才可確認原品系是否帶有隱性基因而影響子代的性狀表現，MAS 則可直接確認。
4. 如某些疾病乃特定季節或在特地區域才會發生，利用 MAS 則可不受時空之限制，進行季節型/地域型性狀之篩選育種。
5. MAS 可同時篩選不同之目標性狀。

儘管使用 MAS 有上述優勢，但對於是否要應用 MAS 技術於育種，並無一體適用的標準供決策，因為在不同的目標物種和時空背景，如性狀的重要性、天然種原的豐富性、人力素質和硬體設施的充足性等，皆有不同的考量權重。然而，有價值的育種計畫大多同時針對數個性狀進行選拔，且重要的抗病抗蟲性狀又多得應用 MAS 來篩選，所以 MAS 仍是相當重要之育種工具。

三、MAS 在作物上的應用

二十多年來，科學家藉由分子標記的技術，對於許多動、植物的農業性狀，在基因層次上有了更深入的了解，而在應用領域的部分，相較於林、漁、牧業，MAS 在作物領域的應用更加廣泛，引入了大量的資源用於發展分子標記圖譜以及尋找分子標記與表現型之間關聯性的研究，目前科學家們已經研究建構許多重要的作物的分子標記圖譜，各界應用 MAS 所進行的研究，在學術領域可謂如火如荼的進展著，同時研究的應用成果也備受各界期待。然而，近期聯合國糧食及農業組織(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)對 MAS 所做的研究報告中，指出了目前 MAS 在研發上的困境：正當學術界研究偵測數量性狀基因座(Quantitative Trait Loci, QTL)的理論以及實驗數據不斷累積的同時，證據顯示出對於如何應用 MAS 正確的估計 QTL 效用，研究上仍然有許多的瓶頸等待突破。這也意謂著，要將 MAS 的研究成果應用，開發出能正確表現出目標性狀的商品，仍有待研究，這也使得利用分子標記獲得基因資訊的熱度，近來已經逐漸趨緩。

不過綜觀目前的研究成果，已有一些 MAS 應用成功的案例，這些成功的案例多是私人育種公司的研究成果，而分子標記輔助導入(Marker-Assisted Introgression)的目標基因性狀，則多是植物體廣泛利用、已知的基因，而那些未知的基因，在進行 MAS 時，實際上的效用則多不如預期。

不同的作物品種應用 MAS 進行品種選拔，其研究成果的歧異度很大。學者 Koebner 提出與作物育種結構有關的看法，玉米在 MAS 的研究較小麥、大麥來得多，主要是因為玉米的品種選育多是在先進國家少數幾家大規模的私人公司，以產品開發的角度進行，這些私人企業以生產第一代的雜交子代(F1)做為產品，販售雜交子代的機制可以避免農家自行留種以及被競爭者所使用，因此可以全力進行研發；但是重要穀類的育種主要由公部門主導，而且大多數育種成果為基因、性狀穩定的純種育種品系(pure breeding line)，這樣的育種系統對於所釋出的品種保護性不足，私人企業無利可圖，在研發的動能上自然減弱許多。儘管如此，各國政府在糧食作物分子標記輔助育種相關的研究仍有成果，如美國農業部自 2002 年起成立全國小麥、大麥、燕麥分子標記輔助育種計畫，並於北卡州立大學、華盛頓州立大學、北達科他州立大學、堪薩斯州立大學建立核心實驗室，以因應周遭公、私立育種單位之需求，進行小麥、大麥、燕麥等作物農藝性狀(產量、株高、開花時間、及抗病性等)之基因型鑑定，找出與重要性狀密切關連之分子標記，提供給各育種單位；日本越光米在日本農林水產省的支持研究下，利

用分子標記技術育成抽穗期不同之品種，可在北海道與沖繩縣之間全境栽培；另外，國際稻米研究中心(International Rice Research Institute, IRRI)也有利用分子標記技術育成耐淹水及抗白葉枯病之水稻品種等例。

果樹作物如蘋果、梨，儘管 MAS 對於這些生長週期長的植物在育種時相當有用，但是目前在分子標記圖譜的建構以及 QTL 的研究進展上，仍較其他可耕作物來的緩慢；林業部分則因為導入 MAS 技術所支出的成本不及品種改良後所增加的收入、QTL 研究資訊不充裕等原因而造成 MAS 應用不普及，侷限於應用在少數品種如具有經濟價值的松樹品種以及桉樹上。

除此之外，MAS 也應用於基因改造作物的開發，最知名的例子為發展基改 Bt 抗蟲玉米，其乃先採用較易轉殖的玉米品系開發出抗蟲基改玉米，再利用 MAS 技術，以雜交方式將該品系的抗蟲基因導入目標品系中，完成最終產品的開發。

四、發展中國家 MAS 技術的應用情形與趨勢探討

FAO Biotechnology in Developing Countries (FAO-BioDeC)是一彙整發展中國家和正轉型為發展中國家共 74 國，各國當前研究計畫中正在使用和預計使用的農業生物技術的統計資料庫，從資料庫中可以窺得各國對於各項生物技術採用以及發展的情形，有助於發現農業研究需要補強之處，同時提供各國彼此了解相關研究計畫，進而促成國與國合作，共同研究開發的契機。FAO-BioDeC 雖然未對已開發國家或是國際型研究中心的研究活動加以調查，但是仍可以從資料中看到世界多國應用於植物育種相關生物技術的資訊以及研究的趨勢。

根據 2010 年 7 月搜尋 FAO-BioDeC 資料庫結果顯示，FAO-BioDeC 資料庫中超過 4,000 筆的生物技術研究資料，其中 912 筆是與運用分子標記技術有關，912 筆中有 650 筆是運用於作物上，262 筆則是在林木方面的相關研究（表 1）。

分子標記系統在作物研究方面以 DNA 為基礎的分子標記技術為研究大宗，RAPD、SSR 應用最為普遍，較近期所開發的分子標記 AFLPs 也是重要的分子標記技術；林木的 MAS 研究同樣也以技術門檻較低的分子標記系統 RAPDs 應用最為廣泛，在作物上較少利用的同工異構酶(Isozymes)則是林木研究時重要的分子標記。在研究的趨勢上，若是分別以 2006、2010 年從資料庫所查得的研究計畫

筆數進行比較，作物分子標記的研究上，排除研究筆數過少的 Isozymes，SSR 為分子標記技術中應用成長最為快速的一項技術，而同樣以 PCR 技術為基礎的兩種研究系統 AFLP 以及 RAPD，研究成長也頗為迅速，至於開發歷史最久的 RFLP 多年來依舊是重要的分子標記技術；林木方面，若不考慮 2006 年其他未分類的研究計畫已獲得重新分類的影響，近幾年的研究以 AFLP 的增加幅度最大，RFLP、RAPD 的相關研究筆數也有增加，Isozymes 則多為之前研究之延續。

表 1 作物及林木領域使用不同種類分子標記所進行之研究計畫數量

分子標誌系統	作物			林木		
	2006 ^a	2010 ^b	增加件數	2006 ^a	2010 ^b	增加件數
Protein marker	0	2	2	0	0	0
RFLP	61	65	4	9	14	5
RAPD	158	199	41	15	76	61
SSRs/Microsatellites	68	133	65	19	19	0
AFLP	65	94	29	3	25	22
Isozymes	2	8	6	50	52	2
Chloroplast DNA sequences	0	0	0	11	11	0
rDNA	0	0	0	4	4	0
其他未分類	135	149	14	77	61	-16
總計	489	650	161	188	262	74

^a 2006 年 9 月檢索資料庫所得計畫筆數

^b 2010 年 7 月檢索資料庫所得計畫筆數

資料來源：FAO-BioDeC、FAO MARKER-ASSISTED SELECTION；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理

912 筆分子標記相關的研究資料中，其中 725 個研究計畫仍舊是處於較早期的研究階段，119 個研究計畫已進入田間試驗，商品化階段的研究成果佔不到 1% 僅有七項，與品種開發相關的研究成果有：巴西利用 RFLP 技術開發出一種觀賞植物品種、印尼應用 AFLP 技術發展出耐旱的稻米品系、荷屬安第列斯群島開發出具有水稻白葉枯病抗性基因的水稻品種以及中非國家蒲隆地研究出一個林木品種。（表 2）

表 2 2010 年作物及林木領域使用分子標記所進行研究計畫之研發進展

計畫研究階段	作物	林木	合計
實驗階段	476	249	725
田間試驗階段	109	10	119
商品化階段	5	2	7
未定義	60	1	61
總和	650	262	912

資料來源：FAO-BioDeC；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理

表 3 則顯示出發展中國家分子標記技術主要應用的作物種類，穀類作物是最重要的研究物種，其次分別是特用作物、果樹類、豆菽類等。品種方面，穀類作物著重於小麥、稻米與玉米三大類，特用作物中甘蔗、棉花為重點物種；果樹類的香蕉、木瓜、椰子亦是主要研究項目；豆菽類的黃豆、菜豆、豇豆；薯芋類的作物如馬鈴薯、蕃薯、樹薯；蔬菜類的番茄、紅蘿蔔與胡瓜同樣是 MAS 研究的主要標的。而以地理區來看，分子標記在南美洲以及加勒比海地區廣泛使用，特別是用在安第斯山地區特有的根或莖類作物、甘蔗、米、可可、香蕉、玉米等作物上；在亞太地區分子標記相關的研究活動主要著眼於林木、甘蔗、米、黃麻、香蕉、椰子和小麥；非洲地區集中在衣索比亞、南非、辛巴威和奈及利亞，研究範圍則橫跨傳統的商品到熱帶水果。

表 3 以作物類別區分 2010 年分子標記相關研究計畫

作物類別	研究計畫筆數
穀物及類穀物	203
特用作物	86
果樹類	85
豆菽類	76
根莖類	57
蔬菜類	34
飼料作物	18
香料類作物	15
其他或無特定對象之作物	76
總合	650

資料來源：FAO-BioDeC；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理

五、成本效益分析

以投入之資金成本而言，MAS 雖可增加育種之準確度，但與傳統育種比較後，並非總是最具成本效益的方式，仍需比較在育種程序上基因型篩選是否比表現型篩選更為容易，如「數量型性狀」(quantitative traits)相較「質性性狀」(qualitative traits)使用 MAS 技術將較具成本效益、而「次要基因」相較「主要基因」、「隱性基因」相較「顯性基因」、表現性狀較難判斷者相較易於判斷者，在使用 MAS 技術將較具成本效益。簡單來說，MAS 對於性狀較難以從表現型篩選者，如從外觀無法判斷的疾病感染，較具有成本優勢，但對於像花色等可簡單進行表現型判別的育種計畫，則多不具成本優勢。當然，資金投入效益也受到標的作物的特性、研究機構的能量、育種家的技能水準、研究工作的地點等因素之影響。

在決定是否導入 MAS 技術前，可先依育種目的估算傳統育種與 MAS 的資金成本細目，但除此之外，也需考量時間之投入，以及利用 MAS 所衍生的其它有價育種資訊，如了解基因表現機制等。而在育種時程的縮短上，對於育種家和企業來說，是除了成本之外，另一個重要的考量點。因此即使有些案例，使用 MAS 比傳統育種的成本高，但若能加快品種上市速度，仍是值得使用 MAS。但如何在資金成本和開發時程中進行取捨，可利用淨現值法¹(Net Present Value；NPV)來進行品種開發案評估。

依據國際知名農業研究中心：國際玉米及小麥改良中心(International Maize and Wheat Improvement Center, CIMMYT)的品種開發數據資料，其將育種時程依

¹淨現值法評估原則係將待評價的產品可使用的年限與預期可獲得之淨利，再利用折現的方式換算成當前的現值，之後再將不同時間點所產生的現值進行加總，最後扣除期初投入金額則可得之，而總淨現值越高代表該產品的投資報酬越佳。公式如下所示：

$$NPV = \sum_{t=1}^n \frac{CF_t}{(1+r)^t} - CF_0$$

CF₀ = 期初所投入的現金流量

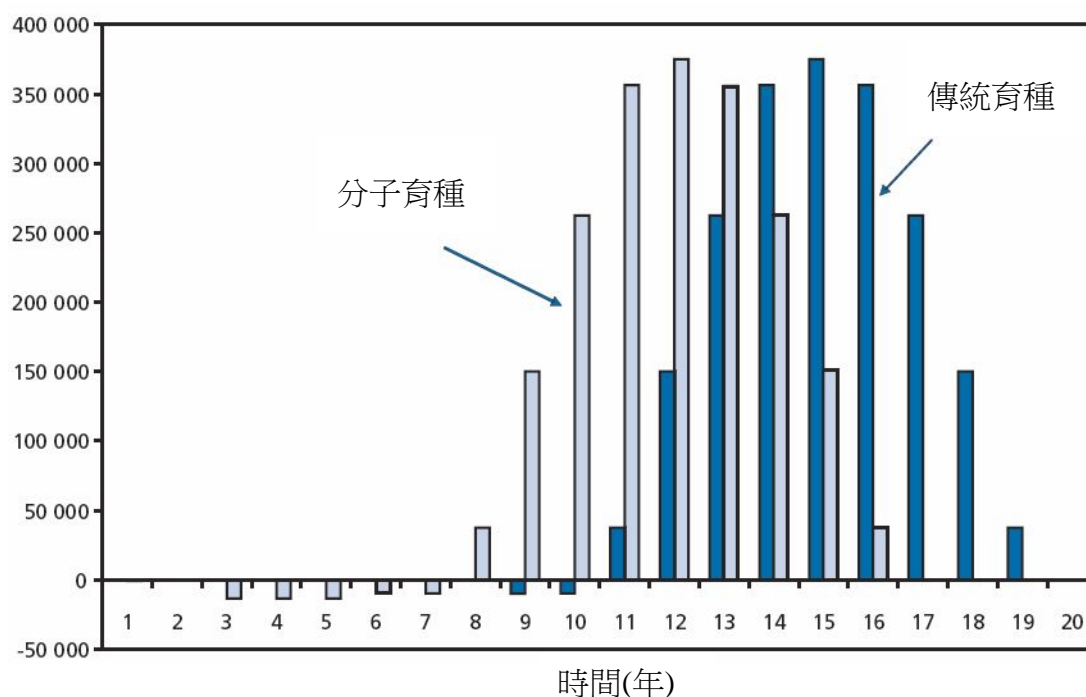
CF_t = 產品於第 t 期所產生現金流量

r = 折現率

n = 該項產品存續期間

序分成三個階段以建立評估模式：第一為研究開發期，第二為登記上市期，第三為農民採用期。以玉米為例，MAS 的研究開發期約 5 年，傳統育種約 8 年，登記上市期則同為 2 年，農民採用期皆為 13 年。前二期多為成本投入，第三期才有收益產生，一般而言，收益在第三期內達到高峰後，便因其它更優質新品種的取代而逐漸下滑。以選育某個單一基因控制性狀之玉米品種開發為例，如圖 1，MAS 雖早期需投入較多資源，但較傳統育種可提早獲取收益，因此 NPV 高於傳統育種(MAS 約為 50 萬美元，傳統育種約為 36 萬美元)，所以在 MAS 成本高於傳統育種的情況下，若有足夠的期初資金可作後盾，選擇 MAS 將可得到較高的收益。

淨損益(美元)



資料來源：Morris *et al.*, 2003

圖 1 傳統育種與分子育種之產品開發淨損益圖

但對於資源相對不足的國家，或是中小型的育種業者，導入 MAS 技術，首要考量還是投入的成本。值得慶幸的是，之前提及的 SNP 技術在 MAS 的應用，將使得 MAS 可朝快速簡易篩選平台發展，不但大大減少分子育種之作業成本，也降低成本投入門檻。

六、投資評估模式

導入 MAS 進行育種，除了實驗室設備的硬體投資外，也包括研究人員的專業訓練，以國家的角度而言，依可分配資源的多寡，在應用分子育種上可分為三種不同的投入方式：

1. 使用 MAS 技術育種出的既有品系：投入的資源最少，直接使用該品系與本地品種進行回交，以開發具有該品系特色性狀之品種；
2. 導入既有的 MAS 技術：直接使用現有的 MAS 工具與技術，並進一步調整成適合當地使用之方式，導入本地育種實務；
3. 開發新 MAS 技術：投入資源最多，需建立最完整的 MAS 開發能量。

上述三者所需建立的技術/硬體層次，依序越來越複雜且需投入成本越來越高，實務上而言，投資的決策重點在於考量整體開發效益，如該品種的市場規模等，以決定要建立多少的 MAS 開發能力(capacity)，並依此選擇不同的投入方式。重點在於無需一定得投入巨額成本來發展 MAS 技術，投入適度的成本、利用既有的技術也可享受到分子育種所帶來的好處。

七、面臨之挑戰與議題

近代生物技術發展快速且多樣，多數國家在資源有限的情況下要決定優先發展方向相當困難，且不同於過去農業技術多為共享，許多重要的生技專利掌握在私人公司手上，因此初起步發展的國家所面臨的問題更加艱鉅。而國情不同，農業生技能量也不同，大部分的國家只有中等的傳統育種能力，幾乎沒有發展生技的能力，可進行自主研究或合作研究的國家相當少。

一般而言，可投入資源雖不足但農業產值高的國家，因市場機會較大容易吸引企業進駐開發產品，但也因此突顯公部門的期初研究成果與外來企業的落差，造成政府不願持續投入資源，導致國家無法建立自主的研究能力，如美國的玉米生技的發展便發生過類似的情況，值得引以為戒。而以自給農戶為主、生技研究能量低的國家更難有市場誘因吸引重要生技公司的投入，此時便需求助國際組織，以協助評估導入何種生物技術、開發何種作物，並建立農民選用的策略。

但過去國際組織協助國家建立初級生技研究能力後，許多案例指出，在國際組織功成身退後，相關設備硬體不是低度使用就是閒置，因此只有國家真正重視、並以長期永續的態度面對 MAS 的應用，才有可能建立分子育種能力。

國家型農業研究計畫最後能成功地將生物技術運用在品種開發，關鍵在於能否長期持續維持一定的研究能量，使得成果可循序漸進地導入實際育種作業中。許多國屬研究能量，多因生物技術初期只能運用於少數性狀和少數作物上，在短時間內成果不彰的情況下，逐漸減少資源投入，而陷入失敗的惡性循環中。除此之外，專業人才、完整硬體設備和妥善營運管理都是成功的重要因子，特別是專業人才的培訓更為重要，因此人才的培養也需要長期的思維，並從學校教育著手，以養成新一代的生技科研人員。

在資源有限之下，可從使用既有的分子標記開始，建置初級實驗室設備和專業人力，便足以切入 MAS 的應用，但在相對落後的國家，還需克服實驗室耗材的取得、設備的維護服務、電力的持續供應等問題，此時，尋求相關國際組織的協助便相當重要。

在智財部分，MAS 相關技術，尤其是具相當成本效益的 SNP 技術平台，專利多掌握在私人企業手上，國家除了可利用公共基金，設計誘因讓公共研究部門可與這些企業合作外，如何藉由國際組織的力量，與相關業者建立理想的合作共利關係，以利相關技術的導入和自動化篩選作業平台的建置，並避開智財的爭議，也是重要的議題之一。

許多發展中國家無法建立完整的生技研究體系以發展生技，但第一步可由 MAS 開始，將生物技術應用於育種上，針對物種及育種目標進行可行性評估，以建置基本可用的相關設施與能量，選擇目前已有大量分子標記可用的大宗作物作為育種標的，也是相當可行的作法。另外，也可利用先進國家所開發出的基因改造作物，使用 MAS 技術將其育成適應當地農業環境之品系，如中國、印尼，甚至國際稻米研究所都有相關的稻米開發計畫。值得注意的是，分子育種的成功也需要傳統育種技術的協助，因此不要因過度投入 MAS 而排擠傳統農業的研究資源。

八、未來的發展方向

儘管在理論上 MAS 有許多育種時的優勢，但是直接利用 MAS 所提供的資訊，進行具有複雜性狀優良品種的選種仍有許多限制，因而先前對於 MAS 的貢獻抱持的樂觀態度，也逐漸轉趨中立，不過 MAS 是一發展中的科技，未來仍有無限可能，FAO 也注意到這股研究力量並且針對「分子標記輔助育種在農、林、漁、牧領域的應用」舉行座談會，匯集世界各地分子育種領域的科學家以及許多國家及國際研究機構的意見，對於未來 MAS 提出一些建言：(1) 需要發展設定優先機制以及成本利益分析，提供育種時如何最佳化應用 MAS 和其他創新技術的建議。(2) MAS 應被理解只是複雜的育種流程中的一環，在育種計畫中用以補足其他育種方式之不足、整合其他技術提升育種效率等。(3) 明確客觀的定義公、私領域的功能以及對於資金和技術研發所擁有的責任，公、私部門以及不同機構組織間的合夥開發，將有助於加速 MAS 技術的開發以及提升 MAS 應用效率。

育種需要詳細的觀察與不斷重複試驗才能達成，是一門高深且複雜的學問，而導入現代生物技術的 MAS 更是結合了傳統與現代的育種知識，未來在研發上不僅分子標記朝向更精準、更能快速偵測的角度往前邁進，相關的輔助技術的開發如：高通量有效率、節省成本的分析技術以及模式生物基因體資訊，也需持續的研究及導入，惟有在各界互相合作共同研究下，才得以利用 MAS 加速從天然物種中選育出優良品種，開發出及時切合農民及消費者需求的商品，屆時不僅能創造出農業的新價值，同時也將提供農業永續發展之動力。

(作者：台灣經濟研究院 生物科技產業研究中心 朱鴻鈞 專案經理、
余祁暉 組長)

參考文獻：

1. 吳明哲，2010，分子標誌在蔬菜種子之研發與應用，“農業生技產業季刊”，21:18~22。
2. 吳方勝、沈翰祖、孫永偉、郭宏遠、莊淑貞、鍾文全、李美娟、劉明宗、陳

駿季，2008，植物分子育種技術平台之建構，“農業生技產業季刊”，13:28~35。

3. FAO Biotechnology in Developing Countries (FAO-BioDeC),
http://www.fao.org/biotech/inventory_admin/dep/default.asp
4. Morris, M.L., Ribaut, J-M., Dreher, K. & Khairallah, M. 2003. Money matters (II): Costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and marker-assisted selection. *Mol. Breeding* 11: pp 235-247.
5. Jeremy, D.E. & Susan, R.M. 2007 Molecular markers for use in plant molecular breeding and germplasm evaluation. *MARKER-ASSISTED SELECTION*: pp 29-50. FAO
6. Ruane, J. & Sonnino, A. 2007. Marker-assisted selection as a tool for genetic improvement of crops, livestock, forestry and fish in developing countries: an overview of the issues. *MARKER-ASSISTED SELECTION*: pp 3-14. FAO
7. Sonnino, A., Carena, Marcelo. J., Guimarães, E.P., Baumung, R., Pilling, D. & Rischkowsky, B. 2007 An assessment of the use of molecular markers in developing countries *MARKER-ASSISTED SELECTION*: pp 15-26. FAO
8. William, H.M., Morris M., Warburton M. & Hoisington D.A. 2007. Technical, economic and policy considerations on marker-assisted selection in crops: lessons from the experience at an international agricultural research centre. *MARKER-ASSISTED SELECTION*: pp 381-404. FAO