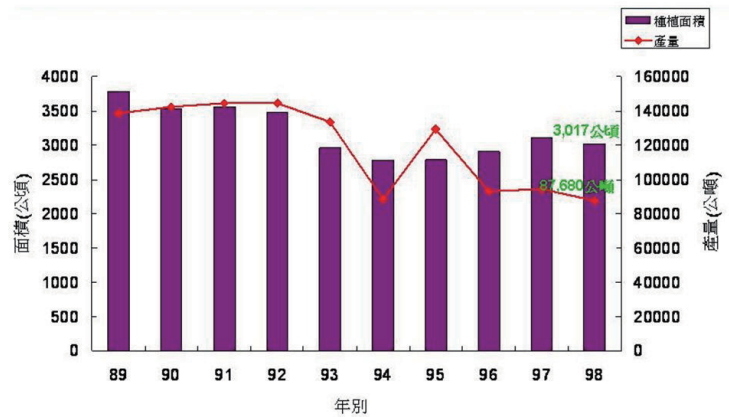


生物技術在果樹品種選育之應用-番木瓜性別檢測

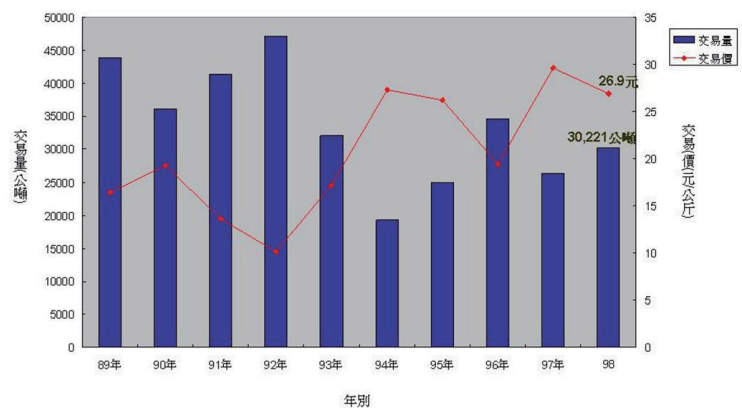
撰文/李文立

番木瓜俗稱木瓜 (*Carica papaya* L.)，屬番木瓜科 (*Caricaceae*)，番木瓜屬 (*Carica*) 植物，番木瓜科植物共有 4 個屬 31 個種；其中番木瓜屬有 22 種，僅原產於熱帶美洲的番木瓜具有食用性。番木瓜在清朝末年由中國大陸引進臺灣，目前在台灣中部以南地區均有商業生產。根據農委會農業年報統計資料顯示，1992 年以後台灣番木瓜栽培面積維持在 3,000 公頃上下；2009 年台灣栽培面積為 3,017 公頃，產量為 87,680 公噸 (圖一)。總生產量因當年氣候條件而變動，特別是豪雨或颱風來襲頻率較高的年份，番木瓜的產量即快速銳減，是造成生產不穩定的主因，批發價格高低起伏之變化亦因此而受影響 (圖二)。臺灣市場上常見的番木瓜品種多為「台農 2 號番木瓜」，果型為長橢圓形，成熟果實之果肉為橘紅色、具香氣、糖度約 12 Brix，甚受國人喜愛，約佔台灣種植面積的 90%，是國內番木瓜栽培的長青品種。番木瓜因富含胡蘿蔔素、維生素 C、高量酵素及多種有益人體健康的成分，對消化系統有正面的效益，甚受國人重視，因此也有「萬壽果」一稱。未成熟的番木瓜乳汁中含豐富的番木瓜酵素，在科學研究、食品加工、醫療、化妝品、美容等各方面具有廣泛的應用。



資料來源：行政院農業委員會農糧署。

圖一 近10年國內番木瓜生產量變動趨勢



資料來源：行政院農業委員會農糧署。

圖二 近10年國內番木瓜批發市場交易價格變化

番木瓜性別與產業的相關性

番木瓜具有開雄花(圖三)不結果的雄株(male)、開雌花(圖四)結圓形果實的雌株(female)及開兩性花(圖五)結長橢圓型果的兩性株(hermaphrodite)等三種株性(性別)。雄株通常不結果,不具經濟價值;雌株在網室內需要人工授粉才能結果,其果型為圓形不利於包裝,果實空腔大,不受消費者青睞;兩性株果實內腔小而果肉厚,長橢圓形,方便包裝且可節省運輸空間,更重要的是可以自花授粉,節省人力,因此世界各國的番木瓜生產均以兩性株為對象,例如:巴西、夏威夷、墨西哥、泰國、馬來西亞、印度及臺灣等國均以兩性株為栽培的對象,不僅供應其國內市場也作為外銷之用。雖然商業栽培者均希望種植純兩性株,然而番木瓜從生長至花蕾形成前,不論是葉型、莖幹顏色、株型等各種外部型態,都尚未發現與植株性別連鎖的外部特徵,無法利用外部型態判斷植株性別。農民為得到較具商業價值的兩性株,須於每一植穴中種植 2-3 株番木瓜苗,等生長 6-8 個月待植株花蕾形成後,始能由花朵構造確認其性別,此時再選留一棵兩性株,其餘植株砍除,以達到全園生產長橢圓形的兩性果。然而這樣的栽培方式不僅造成番木瓜幼苗期的養分競爭與浪費,也造成栽培者大量的勞力支出,增加苗木費用與管理費用。此外,部分植穴可能因無栽植到兩性株而造成缺株情形,不易控制正常株距。

為了生產同一性別的番木瓜種苗,無性繁殖法常被番木瓜種苗業者採行,如利用組織培養、扦插、嫁接等技術。在這些方式中,組織培養繁殖之商業生產,其繁殖倍數高且所有植株均為兩性株是其優點,但是這種生產方式的技術門檻高,生產成本相對提高,致使組織培養苗的售價約為實生苗的 7-15 倍;嫁接苗因需要分別培養母穗及砧木,生產步驟多,需要較大的生產空間及加濕設備,且苗木生產速度較慢;扦插苗的繁殖倍率雖然較嫁接苗高,但是因為與組織培養苗同樣沒有種子根,部分農民



圖三 番木瓜雄株產生之雄花,子房萎縮成細針狀(箭頭指處)



圖四 番木瓜雌株發育之雌花不具有雄蕊(花藥)



圖五 番木瓜兩性花具有完整雌雄蕊

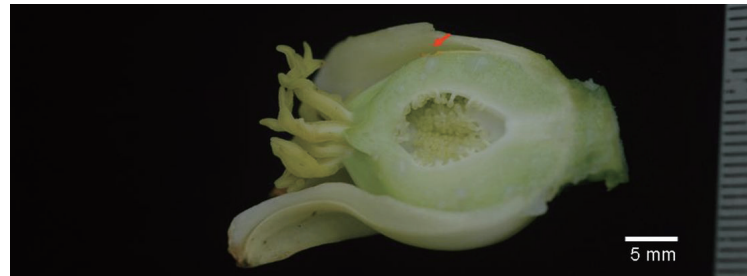
認為其對逆境環境的忍受性較差而不喜種植,因此,對於多數農民而言,全兩性株的種子苗被認為是極具發展價值的種苗生產方式。事實上,國內育有全球唯一的全兩性株的番木瓜品種(種苗七號),是科學研究上良好的材料,惟目前尚未推廣農民利用。

番木瓜性別的產生

一般來說,大多數雌雄異株植物的性別決定並

不像哺乳動物那樣在胚胎時期就已決定，而是在生長、分化和發育成熟至某個生育階段才能確定，同時還會因外界環境條件如水分、營養、CO₂、溫度、溼度、光照時間和植物激素等因素的變化而受影響。對番木瓜而言也不例外，其花型、性別也會因季節、高溫、養分、逆境等條件而變化。在日夜溫差大的環境影響下，兩性株可開出如雌株之雌花或如雄株之雄花；或雄株可開出如兩性株之兩性花。番木瓜花性型表現主要決定於花器形成的過程，且番木瓜性型之遺傳基因控制，不在於控制雄蕊或心皮分化發育基因之有無，而是各種株性之植株在花朵形成過程中抑制雄性花器（雄蕊）或雌性花器（心皮）之生長發育或這些器官敗育的結果，使花朵最終形成不同的花性。若依照目前已知的植物開花調控機制，以模式作物阿拉伯芥為例，其開花受到三群基因的影響，第一群為開花誘導基因，調節植物由營養時期轉變為花序，此群基包含光週期、春化作用與荷爾蒙等基因。第二群為調節花序產生花器的基因，使花序上長出花苞。第三群基因為花器發育基因（由 A、B、C、D、E 五種不同功能的 MADS box 基因組成），控制花朵器官的發育，這些花器發育的基因因為與環境、植株生長狀況存在交互作用，造成番木瓜花性的多樣性。

番木瓜正常花性的兩性花具 5 枚萼片、5 片花瓣、花藥 10 枚及心皮 5 枚；雌株之花具 5 枚萼片、5 片花瓣及心皮 5 枚；雄株之花具 5 枚萼片、5 片花瓣、花藥 10 枚及不具功能之退化性雌蕊。在這三種不同株性中，除了雌株的花性表現較穩定，對於非遺傳性（環境及營養）的影響感受性較小，亦即雌株的花朵發育穩定，不易有畸形花產生。兩性株的花朵在不合適的環境或營養缺乏的情況下，可產生花藥數減少為 0~9 枚、心皮數增加為 5~10 枚之雌性化兩性花 (complete or partial pistilloid) (圖六)，或花藥數 10 枚、雌蕊退化，心皮數減少為 0~4 枚之雄性化兩性花 (mild or severe carpelloid) 而形成畸形花 (圖七)；番木瓜雄株在較低的溫度條件下，退化的



圖六 番木瓜在日夜溫差大的環境下容易形成畸形花，具有退化的雄蕊（箭頭指處）



圖七 環境不適合時番木瓜兩性花將形成偏雄花，雌蕊發育不良（箭頭指處）

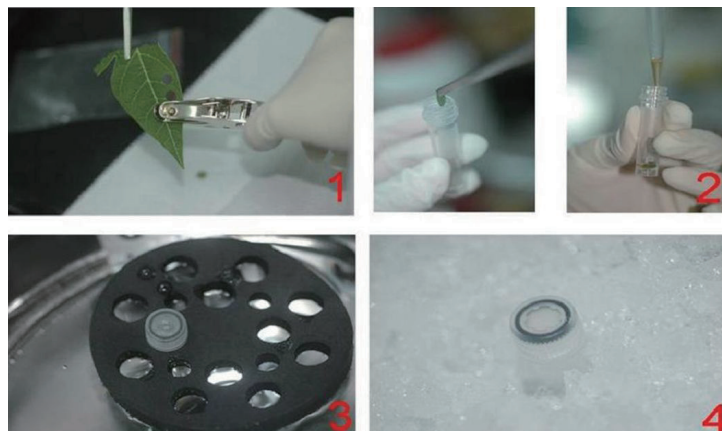
雌蕊有時可發育成正常的兩性花得以著果，果實內的種子也可以正常發芽，不難想像，當原本是雄株的番木瓜樹在溫度較低時得以正常開花，將會給趣味栽植者帶來如何的驚訝，也由此可以知道番木瓜花性的彈性與多變。

依照 Storey 等人於 1953 年提出的番木瓜株性基因控制理論，番木瓜的株性由 3 個等位基因控制： M_1 （雄性）、 M_2 （兩性）及 m （雌性）。 M_1 和 M_2 為顯性， m 為隱性。雄株及兩性株的基因型分別為 M_1m 和 M_2m ，雌株的基因型為 mm ，若基因型組合為 M_1M_1 、 M_1M_2 、 M_2M_2 的種子均無法正常發育。另外，根據屬內雜交結果，Horovitz 及 Jimenez 於 1967 年指出，番木瓜的性別決定是 XX-XY 型，雄性基因型為 XY，兩性為 XY_2 ，雌性為 XX，在 Y 染色體上含有一個致死因子 (lethal factor)， Y_2 是 Y 染色體的修正版，同時 Y_2 也保存了 Y 染色體上的這個致死因子。科學家認為 X-Y 染色體的分化是透過

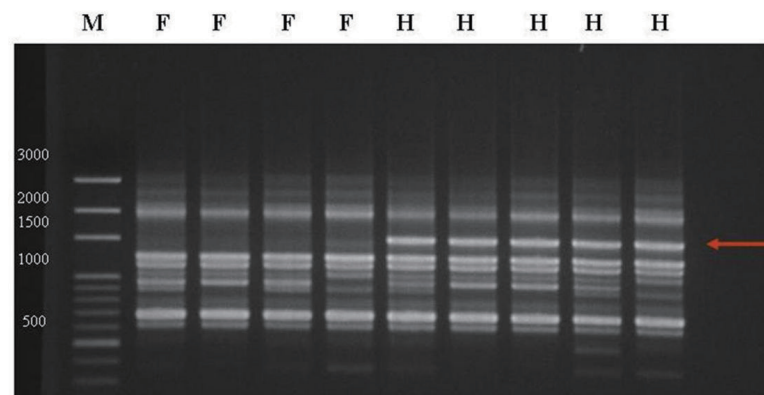
抑制重組實現的，這過程中聯會的染色體通過交叉使親本的遺傳物質發生重組，產生新的重組個體。研究小組在 2190 株番木瓜的雄性染色體區域沒有發現重組，進一步說明它是一條原始的性染色體。性染色體通常被認為是從體染色體進化而來的。番木瓜雄性區域很小，且失效基因的比例約為 38%，低於人類 Y 染色體失效基因為 95% 的比例，此研究結果說明番木瓜的雄性區域從體染色體分化的年代尚淺，屬於較原始的性別染色體，進而推測番木瓜的雄性特異區域可能與 2 億 4 千萬到 3 億 2 千萬年前人類 Y 染色體的祖先相似。

生物技術在番木瓜性別檢測之應用

近年來，生物科技相關技術進展迅速，目前 PCR(polymerase chain reaction) 已證明在生物學上可以進行早期偵測，解決許多問題，具有極佳的應用價值，它也被用來檢測番木瓜的性別。在番木瓜幼苗株性尚無法以目視辨別的現況下，利用 PCR 鑑定番木瓜花性的研究報告陸續被發表 (Chaves and Nuñez 2007; Ming *et al.*, 2007; Ren *et al.*, 2007)。就檢測的實務上，操作步驟不外乎 DNA 萃取、PCR 電泳分析、基因片段選殖或 DNA 序列分析等方法。進行 PCR 檢測時首先需進行 DNA 的萃取工作，以分離標的作物的 DNA 作為 PCR 反應的模版，一般在進行 DNA 萃取時必須先解離細胞組織並讓 DNA 溶於萃取液中，然後以酵素或化學方法移除溶液中的蛋白質、RNA 及其他巨分子以避免在 PCR 反應之干擾。植物因細胞壁及含有許多二次代謝物質，其 DNA 萃取較困難，因此一般採行四個步驟：解離或破碎細胞、沈降、移除雜質、清洗 DNA 及重新溶解 DNA。依所使用的方法不同，其萃取過程約需時 2-8 小時或更高，在作物檢測上是一項耗時費財的工作項目，往往限制了檢測的速度，也限制了番木瓜性別檢測在商業上的應用性。若能建立快速萃取基因組 DNA 的技術(圖八)，將可以大幅減少轉基因作物檢測所需之時間與費用。然而在相關的農



圖八 農業試驗所鳳山分所發展之番木瓜快速萃取技術，可以大量快速萃取得PCR等級之番木瓜基因組DNA



圖九 利用PCR的檢測方式可以獲得全兩性株的番木瓜種子苗 (箭頭所指處為兩性株特有之DNA標誌)



圖十 經PCR篩檢之番木瓜種子苗，每株均為兩性株

業研究機構中，特別是希望透過雜交方式選育新品種而必須種植種子苗的研究機關，利用 PCR 來進行早期的性別篩檢工作（圖九），可以有效且快速的獲得兩性株，減少田間的照護工作，可以大幅減少田間的照護時間，爭取時效（圖十）。

結語

對於番木瓜株性形成的探討、性染色體起源以及花朵器官形成的各種分子機制，目前有許多研究者正進行研究中，相信在未來將有豐碩的進展，而分子標誌輔助育種工作是其中值得投入研究的一個項次，在目前育種工作的應用上，以性別檢測（性別標誌）被最廣泛應用，然而檢測成本仍然高於嫁接苗的售價而未商業化，未來仍有進展的空間，期望在檢測成本下降後成為番木瓜栽培的主流應用。然而不論苗木的販售如何演進，栽培者仍須留意當

環境條件變化時，例如溫度變化大、光照不足、水分缺少或過多、養分缺乏等因素形成逆境時，番木瓜的花性也會隨著改變，形成雌花、五裂形花、畸形果、不結實花或是雄花，造成生產者的損失。在栽培生產的實務上，對容易造成番木瓜花性改變的因素加以留意，盡量調整果園的環境及植株的生理狀態，減少畸形花的產生，並配合摘除畸形花（果）的田間操作，讓第二順位的花蕾發育，延緩花朵發育時間，躲避不良環境，讓植株每一節位仍能產生正常果實，避免損失。其中最需要注意的關鍵是養分的調控，若能提供充足的肥料，採用少量多施，在必要時採取葉面噴施，使植株的營養充足，將會有助於減少番木瓜畸形與不結實花的產生，進而增進收益。

AgBIO

李文立 行政院農業委員會農業試驗所
鳳山熱帶園藝試驗分所 熱帶果樹系 主任

參考文獻

1. Chaves-Bedoya, G. and Nuñez, V. (2007) *A SCAR marker for the sex types determination in Colombian genotypes of Carica papaya*. Euphytica 153:215 - 220.
2. Ming, R., Yu, Q. and Moore, P. H. (2007) *Sex determination in papaya*. Cell & Developmental Biology 18:401-408.
3. Ren, C. X., Huang, J. C., Xiao, Y. and Li, L. (2007) *RAPD and SCAR molecular markers for male trait in Carica papaya*. Journal of Fruit Science 24(1):72-75.
4. Storey, W. B. (1953) *Genetics of papaya*. J. Hered. 44: 70-78.