

# 梅種原評估及其親緣關係研究<sup>1</sup>

溫英杰<sup>3</sup> 張靜誼<sup>2</sup> 蕭婉婷<sup>2</sup>

## 摘 要

溫英杰、張靜誼、蕭婉婷。2006。梅種原評估及其親緣關係研究。台灣農業研究 55:250~262。

調查 30 個梅種原特性，選出‘青廣’與‘甲仙’兩個優良果梅品種，以及‘紅粉台閣’、‘白閣宮粉’、‘Pink double’、‘道知邊’及‘Pink lady’等五個低需冷性觀賞梅品種作為經濟栽培及育成不同花色、花香濃、低需冷性觀賞梅花的親本材料。利用 RAPD 技術對 30 個梅品種進行遺傳相似度分析，由 300 條隨機引子中篩選出 36 條引子共擴增 382 條條帶，其中多態性條帶為 348 條占 91.1%。共獲得 OPG 19 (300)、OPH 5 (950)、OPI 7 (1550)、OPI 18 (750)、OPAA 10 (1050)、OPAB 9 (1100)、OPAD 1 (450)、OPAE 12 (800)等 8 條多型性 DNA 片段，可作為‘胭脂梅’、‘老梅’、‘小粒梅’、‘紅梅’、‘骨裡紅’等 5 個梅品種的鑑別標誌。群集分析結果顯示，30 個供試品種共分為八群，遺傳相似度係數介於 0.42-0.91 之間，‘Pink double’與‘紅粉台閣’難以區分，相似度係數達 0.91，親緣關係最近。‘紅梅’與其他品種的親緣關係的遺傳相似度係數為 0.42，親緣關係最遠。

**關鍵詞：**梅、種原評估、隨機增殖多型性 DNA。

## 前 言

梅 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) 為薔薇科 (*Rosaceae*) 李屬 (*Prunus*) 的落葉喬木，其開花期及果實成熟期較同屬的桃、李為早，是台灣春季重要加工果品，此外梅花還是重要觀賞花木，故其品種可大別為果梅與花梅兩大類。台灣果梅的栽培面積在 1994 年為 10,509 公頃，約與梨栽培面積相當，為重要經濟栽培果樹。但由於對品種及栽培缺乏基礎研究，面對大陸梅競爭，無法提出有效對策而告沒落，栽培面積大幅減少，2004 年栽培面積降為 7,957 公頃 (C.O.A. 2005)，且仍在繼續下降中，由台灣重要經濟果樹，演變為以賞花、採果自製的休閒產業。

台灣栽培梅品種皆為果梅，花皆單瓣，白色，觀賞價值不如變化較多的花梅。從有關的文獻記載中，果梅的栽培已有 3000 年以上的歷史，到了距今 2000 年前的漢代初期，才有單瓣的江梅及重瓣的宮粉兩個花梅類型的記載，顏色多了粉紅及紅色，唐代出現了紫紅色的朱砂型及萼片綠色的綠萼梅，到了民國初年，枝條下垂的垂枝梅和枝條產生彎曲變化的龍遊梅也一一出現 (Chen 1989)。

台灣位處亞熱帶，是梅樹栽培的南限，往南即無梅樹栽培的報導。台灣果梅的栽培，早期皆由果農利用實生育苗種植，幾百年來的演化及人為選拔，產生了一些優良品種，這些果梅品種皆為白

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2272 號。接受日期：95 年 10 月 30 日  
2. 本所作物種原組副研究員、研究助理。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。  
3. 通訊作者，電子郵件：icwen@wufeng.tari.gov.tw；傳真：(04)23390791。

花、單瓣，未見較具觀賞價值的花梅品種，其命名方式大體依果皮顏色而定，果皮不著色的稱青梅，如大青梅、二青梅，果皮著紅色者就叫胭脂梅、大紅梅、二紅梅等。因此同一種梅在不同地方可能有不同名稱，而同樣名稱的梅可能包含數個品種，此一情況對引種、種原保存及評估都會產生困擾。

RAPD 是根據 DNA 聚合酵素連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)，利用人工隨機合成的 DNA 分子作引子 (primer)，將取自組織中的基因組 DNA 為模板，經過 PCR 反應器，進行 DNA 片段的隨機合成 (Williams *et al.* 1990)。如果引子與某一片段的模板 DNA 具有互補核苷酸序列，則該引子就會結合到單鏈的 DNA 上去，因此可以對整個基因組 DNA 進行多型性分析，用以建立特定基因標誌，或供種和品種的演化、分類和鑑定等。利用一系列引子進行 PCR 反應，能獲得不同長度的 DNA 片段，這些 DNA 片段可作為鑑定不同分類等級的分子性狀，根據電泳譜條帶的差異，可以計算遺傳距離或相似系數，建立譜系關係樹狀圖，用來鑑別它們的差異程度及親緣關係。

由於不同的分子標記可以在不同的類群中產生獨特的帶型，或者得到種或種以上分類等級特異性的條帶，沒有傳統分類法易受環境及季節影響的缺點，因此 DNA 分子標記用於種級的分類的研究越來越多。國內利用此一技術來鑑定種原親緣關係的果樹作物有桃子 (Wen & Chieh 2003)、李子 (Wen & Liu 2004) 及桶柑 (Wong *et al.* 2003)，其它國家則有許多報導。Lanham & Brennan (2001) 曾對樹莓三個種的 37 個個體進行 RAPD 分類，在品種、品系間已進行分類鑑定的有蘋果 (Harada *et al.* 1993; Koller *et al.* 1993)、梨 (Botta *et al.* 1998; Oliveira *et al.* 1999)、柿 (Luo *et al.* 1995)、栗 (Botta *et al.* 1999)、杏 (Wu & Chen 2003)、仁用杏 (Bartolozzi *et al.* 1998)、芒果 (Schnell *et al.* 1995)、枇杷 (Pan *et al.* 2002)、荔枝 (Anuntalabhochai *et al.* 2002)、葡萄 (Fanizza *et al.* 1999; Moreno *et al.* 1995; Qu *et al.* 1996)、胡桃 (Nicese *et al.* 1998)、木瓜 (Sondur *et al.* 1996; Stiles *et al.* 1993)、香蕉 (Damasco *et al.* 1996)、橄欖 (Wiesman *et al.* 1998)、酪梨 (Fielder *et al.* 1998) 及阿月渾子 (Tang *et al.* 2003) 等，此說明 RAPD 技術已在許多種果樹的親緣鑑定上得到廣泛的應用。

農業試驗所羅娜種原保存園收集及保存梅種原超過 30 種，來自其他國家的梅種原與本地的梅品種，彼此的親緣關係有待確認，以作為品種改良及種原核心保存之參考，此為本試驗之目的。

## 材料與方法

### 供試植物材料

試驗所用材料由定植於南投縣信義鄉海拔 850 m 之羅娜種原保存園保存之梅種原 30 種，嫁接於梅實生砧，7-12 年生，其名稱及來源詳如表 1。

### 種原特性調查

調查項目包括：開花日期、花朵形態、顏色及香味、果梅品種並調查平均果重、可溶性固形物及滴定酸含量等。調查標準如下：開花日期：全株約有 50% 的花朵開花。平均果重：20 果平均重量。

### DNA 之抽取方法

從不同植株採取新鮮的嫩葉 0.1~0.2 g，利用液態氮脫水乾燥，再研磨成粉末。加入 65°C DNA 萃取緩衝液 (100mM Tris-HCl, pH8.0; 20 mM EDTA; 1.4M NaCl; 2% (w/v) CTAB; 1% (v/v) PEG6000; 0.5% (v/v) 2-Mercaptoethanol) 600  $\mu$ l，輕輕混勻後，置於 65°C 水浴鍋中 30 min，取出靜

表 1. 試驗所使用之梅品種名稱及來源

Table 1. The name and origin of 30 cultivars of mei (*Prunus mume*) used in the study

No	Cultivar name	Country of origin	No	Cultivar name	Country of origin
1	Pai fen 白粉	Taiwan	16	Ta hung 大紅	Taiwan
2	Erh hung 二紅	Taiwan	17	Tao hsing mei 桃形梅	Taiwan
3	Ta ching 大青	Taiwan	18	Yuan chung 圓種	Taiwan
4	Tai tung 台東	Taiwan	19	Pin pang 乒乓	Taiwan
5	Erh ching 二青	Taiwan	20	Chin kuang 錦光	Japan
6	Yen chin 胭脂	Taiwan	21	Ching kuang 青廣	Taiwan
7	Fenghung taiga 紅粉台閣	China	22	Ta gong fen 大宮粉	China
8	Pink double	Unknown	23	Chia hsien 甲仙	Taiwan
9	Sha lien 沙連	Taiwan	24	Pink lady	Unknown
10	Lao mei 老梅	Taiwan	25	Long you 龍遊	China
11	Tao chih pien 道知邊	Japan	26	Yang lao chih chui 養老枝垂	Japan
12	Wan fan 萬豐	Taiwan	27	Yu yuan chih chui 玉垣枝垂	Japan
13	Tsiao li mei 小粒梅	Taiwan	28	Hung mei 紅梅	China
14	Peige gongfen 白閣宮粉	China	29	Wei kai hung 未開紅	Japan
15	Ching wu 青霧	Taiwan	30	Ku li hung 骨裡紅	China

置至室溫。加入 600  $\mu$ l chloroform-isoamyl alcohol (24 : 1, v/v), 混勻, 以 9,000 rpm (MICRO 240A, Denville Scientific Inc.) 離心 10 min。取上層液至新的微量離心管中, 加入 400  $\mu$ l 的異丙醇 (Isopropanol) 混勻, 以 9,000 rpm 離心 10 min。去上清液, 加入 1 mL 的洗滌緩衝液 (washing buffer) (76% (v/v) ethanol; 10mM ammonium acetate) 清洗沈澱物, 再以 9,000 rpm 離心 10 min。去上清液, 沈澱物以真空乾燥之。沈澱物溶於 50  $\mu$ l TE 緩衝液 (10mM Tris-HCl, pH7.4; 1mM EDTA) 中, 加入 RNaseA, 使其最後濃度為 50 mg/mL, 於 37°C 下反應 1hr。將 DNA 稀釋 100 倍, 利用光電比色計測定 OD<sub>260</sub> 的吸光值, 計算 DNA 的濃度。

#### 聚合酵素連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 與電泳分析

以 30 ng 的 genomic DNA 當模板, 在總體積 30  $\mu$ l 反應溶液中進行聚合酵素連鎖反應。其溶液中另含有 10 mM Tris-HCl, pH9.0; 50 mM KCl; 0.1% Triton X-100; 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 200 mM dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP); 0.2 mM 引子 (primer) 及 0.5 unit Taq DNA polymerase (Promega, USA.), 引子採用 Operon kit (Operon kit: OPAA-OPAE, OPA-OPJ 共 300 條), 並在溶液上層加入 50  $\mu$ l 的礦物油, 置入 DNA 熱循環儀 (STRATAGENE, RoboCycler Gradient 96 Temperature Cycler) 中。反應溫度條件為 94°C 3 min → 37°C 1 min 20 sec → 72°C 1 min 20 sec, 當第一個循環 (cycle); 再以 94°C 1 min 20 sec → 37°C 1 min 20 sec → 72°C 2 min 20 sec, 進行 43 個循環, 反應完成時自動保存於 4°C 恆溫槽中。

取 12  $\mu$ l 經聚合酵素連鎖反應增殖的 DNA, 加入 1  $\mu$ l 稀釋 6 倍電泳指示液 (loading dye, 30% Glycerol; 0.025% Bromophenol blue), 以 1.5% 瓊脂膠體 (Agarose, Boehringer Mannheim GmbH Germany) 進行電泳, 時間約 30 min。電泳後以 0.5 mg/mL ethidium bromide 染色 20-30 min, 於 UV 燈下觀察膠體 DNA 多型性片段, 照相及貯存影像於 Kodak Digital Science ID Image Analysis (Eastman Kodak Co.) 影像分析系統, 進行資料比對分析。

## 資料分析

依 Jaccard (1901) 所提之相似度計算公式計算各族群間的相似度，其公式如下： $Nab / (Na + Nb - Nab)$ ，其中  $Na$  是樣本 a 的條帶數， $Nb$  是樣本 b 的條帶數， $Nab$  是樣本 a 和 b 共有的條帶數。依此法將所有樣本間兩兩的相似度計算出。

並利用 NT-SYS 軟體所提供的未加權平均法 (unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA) 來計算其放大 DNA 片段相似性及建立其親緣關係圖。

## 結 果

### 種原特性調查

表 2 為參試 30 種梅種原之開花期、花朵形態、顏色及香味、平均果重、可溶性固形物及滴定酸含量等性狀的調查結果。所調查的 30 種梅種原開花期介於 12 月下旬至 2 月下旬，其中台灣的果梅品種開花期集中在 12 月下旬至 1 月上旬。開花期早晚與樹體冬季休眠所需之低溫時數有關，藉著與桃指標品種如 'Okinawa' (150 chill unit, cu) 之開花期相比較 (Sherman *et al.* 1988)，推估台灣果梅品種之低溫需求單位介於 50-150 cu 之間。'小粒梅' 在 12 月 20 日即有 50% 花朵綻放，為所有參試梅種原中開花最早者，估計低溫需求單位為 50 cu，來自其他地區之梅種原開花期介於 1 月中旬至 2 月下旬，低溫需求單位估計介於 175-450 cu 之間。台灣果梅品種冬季休眠所需之低溫時數少，花期早，為台灣冬季重要觀賞樹木，但是只有白色、單瓣花，花香淡。'紅粉台閣'、'白閣宮粉'、'Pink double'、'道知邊' 及 'Pink lady' 於 1 月中旬開粉紅重瓣花，推估低溫需求單位介於 175-200 cu 之間，'紅粉台閣'、'白閣宮粉' 及 'Pink double' 花香較本地種濃郁，'道知邊' 開粉紅單瓣大花，'Pink lady' 在中部低海拔地區開花繁密，'未開紅'、'骨裡紅'、'錦光' 花色艷紅，為少見的紅梅品種，皆為育成低需冷性觀賞梅花的珍貴材料。'龍遊' 梅枝條曲折，'養老枝垂' 及 '玉垣枝垂' 枝條下垂如柳樹，是兼具賞花及觀賞枝條的品種。參試的觀賞梅品種皆未見結果，所調查的台灣果梅品種平均果重介於 8.3-28 g 之間，'青廣' 梅為所有調查品種中平均果重最重者，果實大且圓正，果實酸度亦高，有潛力成為主力栽培品種。'甲仙' 梅果實品質佳，核小不帶尖，自交親和，開花結實受氣候影響小，若加以適當的肥培管理，平均果重可再大幅提升，亦有潛力成為主要栽培品種。在調查的 17 個果梅品種中可溶性固形物含量在 6.3~8.7° Brix 之間，可滴定酸的含量則介於 2.0~3.3% 之間，品系間差異大。調查結果顯示，這些材料充分顯示參試梅品種具有豐富的型態多樣性。

### RAPD 分析

以 Operon kit OPA-OPJ, OPAA-OPAE 共 300 條逢機引子篩選試驗材料，得到 36 個引子對試驗材料之 DNA 可呈現多型性且再現性良好 (OPA 13, OPC 8, OPC 12, OPC 19, OPD 18, OPD 20, OPE 6, OPE 15, OPF 13, OPG 17, OPG 18, OPG 19, OPH 3, OPH 5, OPH 8, OPI 6, OPI 7, OPI 11, OPI 13, OPI 18, OPJ 4, OPJ 5, OPJ 10, OPJ 13, OPJ 19, OPAA 6, OPAA 7, OPAA 10, OPAA 15, OPAA 17, OPAA 18, OPAB 1, OPAB 9, OPAD 16, OPAE 12)。由此 36 個引子所獲得的 RAPD 產物在電泳膠片上總共產生 382 個可辨識之條帶，其中 348 條多型性條帶，占 91.1%。每個逢機引子擴增的 DNA 條帶數在 4-19 條之間，條帶大小介於 150 bp 至 2600 bp。整體而言，所篩選的逢機引子以 OPH, OPI, OPJ, OPAA 及 OPAB 五組的擴增效果最好 (表 3)。以 OPH 5 引子進行 PCR 反應結果獲得 19 條多

表 2. 試驗所使用之梅種原特性 (2006)

Table 2. Tree and fruit characteristics of mei (*Prunus mume*) germplasm investigated in 2006

Cultivar name	Blossom Date <sup>z</sup>	Flower			Fruit Weight (g)	Soluble Solids (°Brix)	Titrat. Acid (%malic)
		Type	Color	Fragrance			
Pai fen 白粉	12/26	single	white	slightly	22.0±3.2	7.0±0.2	2.2±0.1
Erh hung 二紅	1/9	single	white	slightly	13.6±1.0	7.8±0.3	2.6±0.2
Ta ching 大青	1/2	single	white	slightly	25.6±4.8	7.6±0.2	2.8±0.1
Tai tung 台東	1/2	single	white	slightly	21.5±7.5	7.4±0.2	2.8±0.3
Erh ching 二青	1/9	single	white	slightly	18.7±2.7	6.3±0.2	2.3±0.1
Yen chin 胭脂	1/9	single	white	slightly	14.8±2.2	8.6±0.3	3.3±0.1
Fenghung taiga 紅粉台閣	1/12	double	pink	medium	---	---	---
Pink double	1/12	double	pink	medium	---	---	---
Sha lien 沙連	12/26	single	white	slightly	19.6±3.2	8.4±0.2	3.0±0.1
Lao mei 老梅	1/2	single	white	slightly	21.2±2.6	8.7±0.3	2.4±0.1
Tao chih pien 道知邊	1/15	single	pink	slightly	---	---	---
Wan fan 萬豐	12/26	single	white	slightly	15.2±2.5	7.6±0.3	2.5±0.2
Tsiao li mei 小粒梅	12/20	single	white	slightly	8.3±1.4	6.5±0.4	2.7±0.3
Peige gongfen 白閣宮粉	1/15	double	pink	medium	---	---	---
Ching wu 青霧	1/9	single	white	slightly	20.4±7.8	6.7±0.1	2.0±0.1
Ta hung 大紅	1/2	single	white	slightly	17.6±3.5	7.8±0.3	2.6±0.3
Tao hsing mei 桃形梅	12/26	single	white	slightly	18.8±2.9	7.0±0.4	2.3±0.2
Yuan chung 圓種	1/9	single	white	slightly	14.9±1.2	7.7±0.1	2.4±0.1
Pin pang 乒乓	1/9	single	white	slightly	25.8±3.7	7.6±0.1	2.6±0.1
Chin kuang 錦光	2/15	double	red	medium	---	---	---
Ching kuang 青廣	1/2	single	white	slightly	28.0±1.9	8.4±0.2	3.0±0.3
Ta gong fen 大宮粉	1/25	double	pink	medium	---	---	---
Chia hsien 甲仙	1/9	single	white	slightly	12.8±1.3	7.7±0.2	2.4±0.2
Pink lady	1/17	double	pink	slightly	---	---	---
Long you 龍遊	2/7	double	white	strong	---	---	---
Yang lao chih chui 養老枝垂	2/22	single	pink	slightly	---	---	---
Yu yuan chih chui 玉垣枝垂	2/15	double	pink	slightly	---	---	---
Hung mei 紅梅	2/22	double	pink	strong	---	---	---
Wei kai hung 未開紅	1/25	double	red	medium	---	---	---
Ku li hung 骨裡紅	2/22	double	red	slightly	---	---	---

<sup>z</sup> 50% of the flower bloom.<sup>y</sup> No fruit set.

表 3. 36 個 RAPD 引子在梅品種上增幅結果

Table 3. Observed polymorphism with 36 random primers used for RAPD analysis in the 30 cultivars of mei (*Prunus mume*)

Primer code	Primer Sequence 5'→3'	No. of polymorphic bands	No. of amplified bands	Band size (bp)	
				Min.	Max.
OPA 13	CAGCACCCAC	10	11	300	1400
OPC 8	TGGACCGGTG	12	12	150	1800
OPC 12	TGTCATCCCC	5	6	400	2000
OPC 19	GTTGCCAGCC	6	9	200	2000
OPD 18	GAGAGCCAAC	6	8	290	1200
OPD 20	ACCCGGTCAC	12	13	430	2100
OPE 6	AAGACCCCTC	8	9	510	1700
OPE 15	ACGCACAACC	10	10	410	1400
OPF 13	GGCTGCAGAA	3	4	290	750
OPG 17	ACGACCGACA	7	8	370	1400
OPG 18	GGCTCATGTG	10	11	450	1400
OPG 19	GTCAGGGCAA	14	15	300	2200
OPH 3	AGACGTCCAC	7	9	280	1400
OPH 5	AGTCGTCCCC	19	19	290	1750
OPH 8	GAAACACCCC	13	13	450	2000
OPI 6	AAGGCGGCAG	18	18	180	1750
OPI 7	CAGCGACAAG	15	16	290	200
OPI 11	ACATGCCGTG	7	8	580	2500
OPI 13	CTGGGGCTGA	8	9	510	1750
OPI 18	TGCCCAGCCT	10	11	550	1600
OPJ 4	CCGAACACGG	6	7	420	1950
OPJ 5	CTCCATGGGG	5	6	380	2600
OPJ 10	AAGCCCGAGG	6	8	290	1400
OPJ 13	CCACACTACC	12	13	230	1600
OPJ 19	GGACACCACT	7	8	350	1400
OPAA 6	GTGGGTGCCA	12	12	380	2100
OPAA 7	CTACGCTCAC	11	11	480	2400
OPAA 10	TGGTCGGGTG	5	6	250	1050
OPAA 15	ACGGAAGCCC	6	8	350	1300
OPAA 17	GAGCCCGACT	7	8	350	2000
OPAA 18	TGGTCCAGCC	13	14	290	1500
OPAB 1	CCGTCGGTAG	14	14	400	2100
OPAB 9	GGGCGACTAC	16	18	210	2000
OPAD 1	CAAAGGGCGG	6	8	360	950
OPAD 16	AACGGGCGTC	12	12	250	1900
OPAE 12	CCGAGCAATC	10	10	300	1600
Total		348	382		

型性片段，其中包含可供鑑別‘胭脂梅’的特殊片段 (950 bp) (圖 1 及表 4)。OPAB 9 引子擴增結果產生 16 條多型性 DNA 片段，其中 1100 bp 之片段為‘紅梅’品種標誌之特定條帶 (圖 2 及表 4)，總計 36 條逢機引子擴增結果共獲得 OPH 5 (950), OPAD 1 (450), OPI 18 (750), OPAE 12 (800), OPI 7 (1550), OPAA 10 (1050), OPAB 9 (1100), OPG 19 (300) 等 8 條多型性 DNA 片段，作為‘胭脂梅’、‘老梅’、‘小粒梅’、‘紅梅’、‘骨裡紅’等 5 個梅品種的鑑別標誌。群組或亞群中也篩選出特殊 DNA 片段，如‘台東梅’、‘大青梅’亞群的 OPC 19 (1150) 和 OPAE 12 (850)，‘雲龍梅’、‘未開紅’亞群的 OPAA 18 (1200) (表 4)。

**親緣關係分析**

將篩選得到的 36 條逢機引子其 RAPD 產物產生之 382 個可辨識之條帶，進行未加權平均法 (unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA) 群集分析，並以 Jaccard's 相似度係數分析，來估算試驗品種間之遺傳相似度係數。再以相似度係數矩陣 (similarity coefficient matrix) 繪製相似度樹狀圖 (dendrogram)，相似度係數越高代表親緣關係越近。分析結果顯示 30 個梅種原可分為八群：第一群包括‘白粉’、‘二紅’、‘大青’、‘台東’、‘沙連’、‘老梅’、‘二青’、‘萬豐’、‘胭脂’等九個台灣果梅品種。第二群為‘紅粉台閣’、‘Pink double’、‘白閣宮邊’則來自日本‘Pink double’

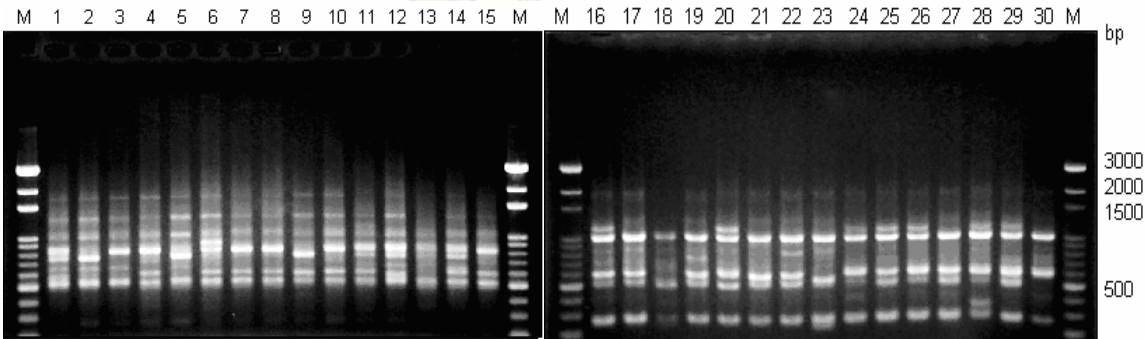


圖 1. 以 OPH5 為引子之 30 個梅品種 RAPD 圖譜。(1~30 為梅品種代號，詳見表 1)  
 Fig. 1. The RAPD patterns of 30 cultivars of mei (*Prunus mume*) obtained using primers OPH5. Line numbers at top refer to the number in Table1. M= molecular weight marker.

表 4. 分析梅品種之特定 RAPD 片段

Table 4. Specific RAPD fragments for identification of mei (*Prunus mume*) cultivars

Mei cultivars	Primer revealing specific fragments (bp)	Mei cultivars	Primer revealing specific fragments (bp)
Taching 大青	C19 (1150), AE12 (850)	Longyou 龍遊	AA18 (1200)
Taitung 台東	C19 (1150), AE12 (850)	Hungmei 紅梅	I7 (1550), AA10 (1050), AB9 (1100)
Yenchin 胭脂	H5 (950), AD1 (450)	Wei Kai Hung 未開紅	AA18 (1200)
Lao Mei 老梅	I18 (750)	Ku Li Hung 骨裡紅	G19 (300)
Tsiaoli Mei 小粒梅	AE12 (800)		

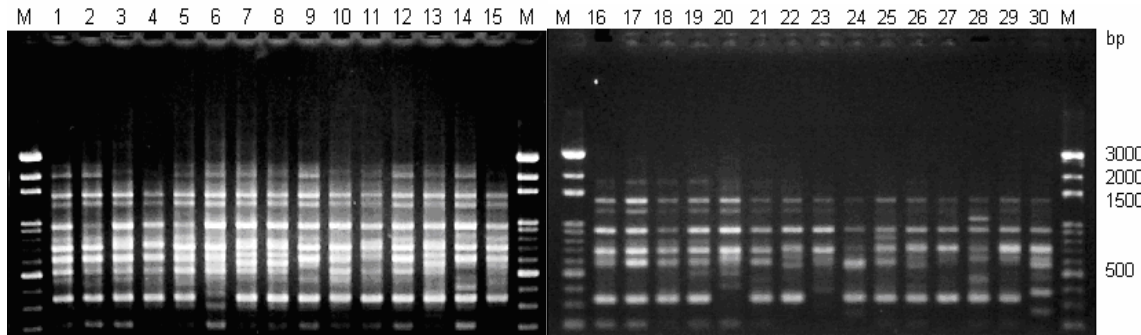


圖 2. 以 OPAB9 為引子之 30 個梅品種 RAPD 圖譜。(1~30 為梅品種代號，詳見表 1)

Fig. 2. RAPD patterns of 30 cultivars of mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) obtained using primers OPAB9. Line numbers at top refer to the number in Table 1. M= molecular weight marker.

植物性狀與‘紅粉台閣’難以區分，相似度係數達 0.91，親緣關係最近。第三群包括六個台灣果梅品種‘大紅’、‘桃形’、‘乒乓’、‘青廣’、‘甲仙’及‘圓種’。第四群由‘錦光’、‘龍游’、‘未開紅’、‘養老枝垂’、‘玉垣枝垂’、‘大宮粉’及‘Pink lady’等七個觀賞梅品種組成，其中‘龍游’及‘未開紅’、‘養老枝垂’及‘玉垣枝垂’、‘大宮粉’及‘Pink lady’兩兩成一分群。‘青霧’、‘小粒梅’、‘骨裡紅’及‘紅梅’則各自成一群（圖 3）。在所分析的 30 個梅品種中，遺傳相似度係數介於 0.42-0.91 之間，‘Pink double’與‘紅粉台閣’相似度係數達 0.91，親緣最近，‘紅梅’與其他品種的親緣關係的遺傳相似度係數為 0.42，親緣關係最遠。

## 討 論

梅經霜傲雪與國人吃苦耐勞的精神相似，因此被選為我國國花，台灣位處梅栽培南限，果梅的栽培面積曾經高達一萬多公頃，為當年栽培面積最廣的落葉果樹，與人民的經濟和文化生活有很深的關連。台灣有梅的野生族群的發現（Wu 1984），是梅的起源地之一，但是大部分經濟栽培的果梅品種，推測是先民早年由華南地區引入，經過數百年來的實生種植及人為選拔，發展出目前亞熱帶地區可以栽培的果梅品種。本研究經過多年的蒐集與調查，選出‘青廣’與‘甲仙’兩個優良果梅品種，作為經濟栽培或進一步品種改良的親本。在觀賞梅方面，台灣果梅品種只開白色、單瓣花，香味淡，本研究蒐集到‘紅粉台閣’、‘白閣宮粉’、‘Pink double’、‘道知邊’及‘Pink lady’等五個低需冷性品種，其中‘紅粉台閣’、‘白閣宮粉’、‘Pink double’開大型粉紅、重瓣花，花香濃郁，‘道知邊’開粉紅、單瓣大花，‘Pink lady’開粉紅、重瓣花，開花量多，花期亦長，這些種原正是育成不同花色、花香濃郁、低需冷性觀賞梅花的寶貴種原，此研究同時蒐集到枝條下垂的垂枝梅及枝條彎曲具觀賞價值的‘龍游’梅品種，亦是育種上珍貴的種原。

本試驗首次揭示台灣梅種原之親緣關係，根據 RAPD 親緣關係分析結果，大部分台灣果梅品種分為兩個主群，只有‘青霧’及‘小粒梅’與其他果梅品種關係較遠，獨立成群，顯示這兩個品種可能為台灣原生梅品種。觀賞梅品種也分為兩個主群，中國大陸及日本的梅品種在兩群中皆有分布，並未各自成群，顯示兩地梅品種互有交流，垂枝梅的兩個品種及開粉紅重瓣花的‘紅粉台閣’、



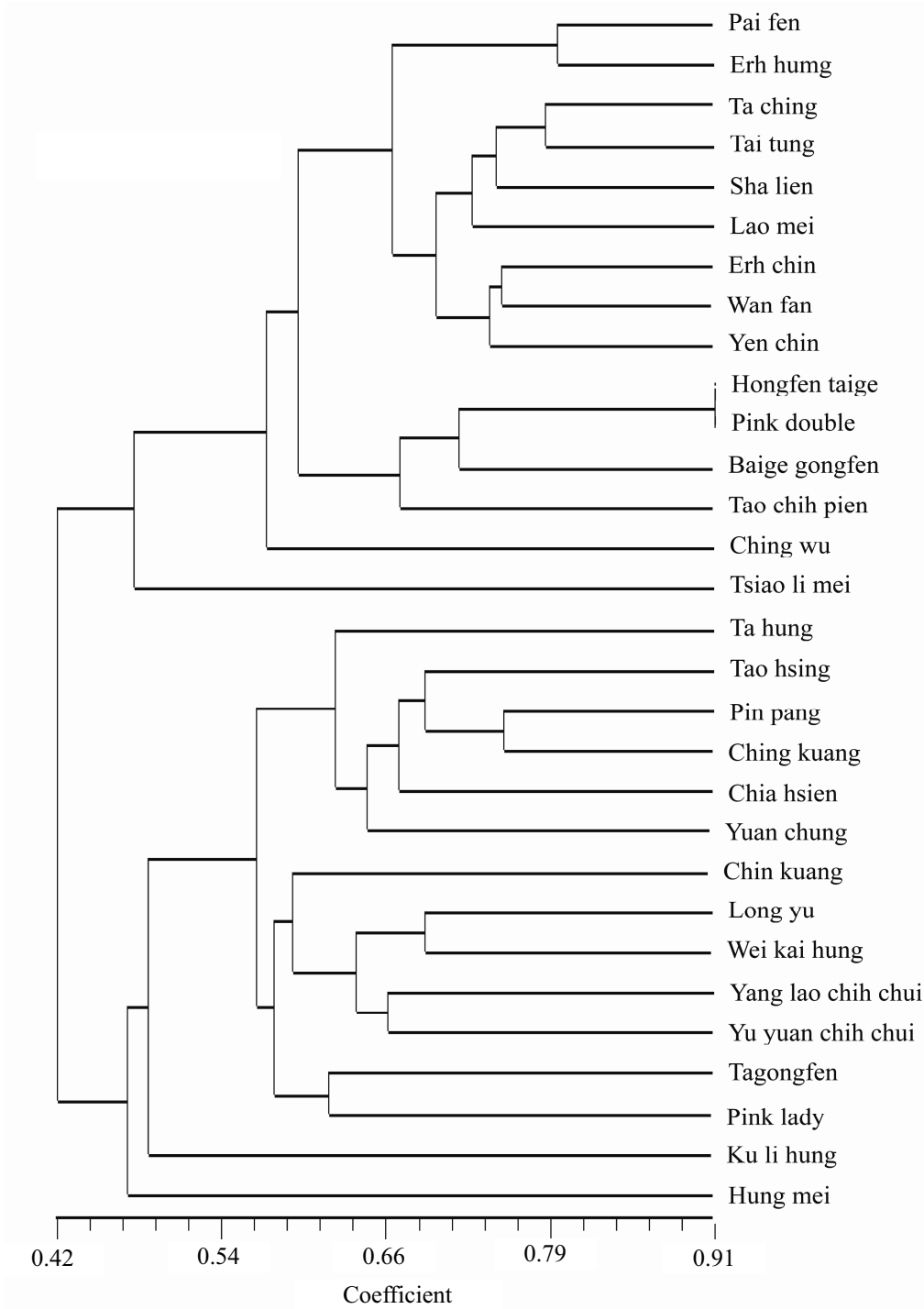


圖 3. 30 個梅品種之 RAPD 遺傳相似度聚類分析樹狀圖。

Fig. 3. Dendrogram illustrating genetic relationship among 30 mei varieties. Constructed by Jaccard's distance and UPGMA clustering method using 382 RAPD markers.

‘白閣宮粉’各自聚集成一亞群，顯示 RAPD 為梅種原親緣關係分析上有用的技術。不知來源的‘Pink Double’與‘紅粉台閣’的遺傳相似度係數十分接近，可能為同一品種或枝條變異品種，同樣不知道來源的‘Pink 粉’、‘道知 Lady’與來自中國大陸的‘大宮粉’歸為同一分群，推測可能為中國大陸品種。‘骨裡紅’及‘紅梅’則與其他觀賞梅親緣關係較遠，各自成一類。利用 RAPD 分析本省桃種原之親緣關係，參試的 30 個桃種原其遺傳相似度係數介於 0.73-0.93 之間 (Wen & Chieh 2003)，本研究在所分析的 30 個梅品種中，遺傳相似度係數介於 0.42-0.91 之間，顯示本省梅種原遺傳歧異度較桃種原高，這表示梅品種受到人為選育的影響程度較桃為低。

台灣果梅種原冬季休眠所需的低溫時數少，為世界上獨特的低需冷性梅種原基因庫，經過仔細的種原調查、蒐集與特性評估，發現許多品種特性優異，為育成低需冷性果梅及觀賞梅花的良好親本，若能進行育種，應可育出優良品種，造福果農及豐富國民文化及休閒活動。

### 引用文獻 (Literature cited)

- Anuntalabhochai, S., R. Chundet, J. Chiangda, and P. Apavatjirut. 2002. Genetic diversity within lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) based on RAPD analysis. *Acta Hort.* 575:253-260.
- Bartolozzi, F., M. L. Warburton, S. Arulsekhar, and T.M. Gradziel. 1998. Genetic characterization and relatedness among California almond cultivars and breeding lines detected by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 123:381-387.
- Botta, R., A. Akkarak, and V. Casavecchia. 1998. Identification of pear cultivars by molecular markers. *Acta Hort.* 457:63-70.
- Botta, R., A. Akkarak, D. Marinoni, G. Bounous, S. Kampfer, H. Steinkellner, and C. Lexer. 1999. Evaluation of microsatellite markers for characterizing chestnut cultivars. *Acta Hort.* 494:277-282.
- Chen, J. Y. 1989. Chinese Mei Flower Cultivars. China Forestry Publishing House. Beijing, China. 142 pp.
- Council of Agriculture. 2005. Yearly Report of Taiwan's Agriculture. p.94-95. Taipei, Taiwan.
- Damasco, O. P., G. C. Graham, R. J. Henry, S. W. Adkins, M. K. Smith, and I. D. Godwin. 1996. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) detection of dwarf off-types in micropropagated Cavendish (*Musa* spp. AAA) bananas. *Plant Cell Rep.* 16:118-123.
- Fanizza, G., G. Colonna, P. Resta, and G. Ferrara. 1999. The effect of the number of RAPD markers on the evaluation of genotypic distances in *Vitis vinifera*. *Euphytica* 107:45-50.
- Fielder, J., G. Bufler, and F. Bamgerth. 1998. Genetic relationships of avocado using RAPD markers. *Euphytica* 101:249-255.
- Harada, T., K. Matsukawa, and T. Sato. 1993. DNA-RAPDs detect genetic variation and paternity in *Malus*. *Euphytica* 65:87-91.

- Jaccard, P. 1901. Study of comparative distribution of flower in the porition of Alpes and Jura. (Etude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura.) Bull. Soc. Vaudoise Sci. Nat. 37:547-549.
- Koller, B., A. Lehmann, J. M. McDermott, and C. Gessler. 1993. Identification of apple cultivars using RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 85:901-904.
- Lanham P. G. and R. M. Brennan. 2001. Genetic diversity in *Ribus*. Acta Hortic. 546:135-144.
- Luo, Z. R., K. Yonemori, and A. Sugiura. 1995. Evaluation of RAPD analysis for cultivar identification of persimmons. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 64:535-541.
- Moreno, S., Y. Gorgocena, and J. M. Ortiz. 1995. The use of RAPD markers for identification of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.). Sci. Hortic. 62:237-243.
- Nicese, F. R., J. I. Hormaza, and G. H. McGranahan. 1998. Molecular characterization and genetic relatedness among walnut genotype based on RAPD markers. Euphytica 101:199-206.
- Oliveira, C. M., M. Mota, L. Monte-Corvo, L. Goulao, and D. M. Silva. 1999. Molecular typing of *Pyrus* based on RAPD markers. Sci. Hortic. 79:163-174.
- Qu, X., J. Lu, and O. Lamikanra. 1996. Genetic diversity in Muscadine and American bunch grapes based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 121:1020-1023.
- Pan, X. F., X.G. Meng, G. L. Cao, and C. M. Xu. 2002. Application of RAPD-PCR technique for identification of varieties in loquat. J. Fruit Sci. 19:136-138.
- Schnell, R. J., C. M. Ronning, and R. J. Knight, Jr. 1995. Identificaion of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 90:269-274.
- Sherman, W. B., P. M. Lyrene, N. F. Childers, F. G. Gmitter, and P. C. Andersen. 1988. Low chill peach and nectarine cultivars for trial in Florida. Proc. Fla. State. Hortic. Soc. 101:241-244.
- Sondur, S. N., R. M. Manshardt, and J. I. Stiles. 1996. A genetic linkage map of papaya based on randomly amplified polymorphic DNA markers. Theor. Appl. Genet. 93:547-553.
- Stiles, J. I., C. Lemme, S. Sondur, M. B. Morshidi, and R. Manshsrdt. 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. Theor. Appl. Genet. 85:697-701.
- Tang, D. M., S. P. Luo, J. Li, and H. T. Han. 2003. Sex identification of pistachio by using RAPD analysis. J. Fruit Sci. 20:124-126.
- Wen, I. C. and T. C. Chieh. 2003. Genetic relationship analysis on peach germplasm by RAPD. J. Agric. Res. China 52:143-151. (in Chinese with English abstract)
- Wen, I. C. and Y. L. Liu. 2004. Evaluation and genetic relationship analysis by RAPD on oriental plum germplasm. J. Agric. Res. China 53:97-110. (in Chinese with English abstract)

- Wiesman, Z., N. Avidan, S. Lavee, and B. Quebedeaux, 1998. Molecular characterization of common olive varieties in Israel and the west bank using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 123(5):837-841.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.
- Wong, L. C., W.J. Yang, L.S. Chang, and T. S. Lin. 2003. The analysis of genetic variation among Tankan accessions. *J. Chinese. Soc. Hortic. Sci.* 49:19-32.
- Wu. G. M. 1984. *Taxonomy of China Temperate Fruit Crops*. Agriculture Publish Co. Beijing, China. 530 pp.
- Wu. S. J. and X. S. Chen. 2003. RAPD analysis of apricot cultivars. *J. Fruit Sci.* 20:107-111.



# Evaluation and Phylogeny of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. Germplasm by Using RAPD Analysis<sup>1</sup>

Ien-chie Wen<sup>2,3</sup>, Ching-yi Chang<sup>2</sup> and Wang-ting Shaw<sup>2</sup>

## Abstract

Wen, I. C., C. Y. Chang and W. T. Shaw. 2006. Evaluation and phylogeny of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. germplasm by using RAPD analysis. J. Taiwan Agric. Res. 55:250~262.

The characteristics of 30 cultivars of *Prunus mume* collected at Wangshian Germplasm Farm, Taiwan Agriculture Research Institute were investigated, of them two excellent cultivars 'Ching kuang' and 'Chia hsien' with high fruit quality and five ornamental cultivars 'Fenghung taiga', 'Peige gongfen', 'pink double', Tao 'chih pien' and 'Pink lady' with pink and double petals flowers were selected for economic cultivation and further breeding use. The genetic relationships of the 30 *Prunus mume* cultivars were analyzed by using RAPD markers. A total of 300 primers were screened for their ability in production of strongly amplified products. Out of 36 primers amplified 382 DNA bands, 348 of which were polymorphic (91.1%). Eight specific RAPD fragments-- OPG 19 (300), OPH 5 (950), OPI 7 (1550), OPI 18 (750), OPAA 10 (1050), OPAB 9 (1100), OPAD 1 (450), OPAE 12 (800) could be used as specific markers for identification of cultivars of 'Yen chin', 'Lao mei', 'Tsiao li mei', 'Hung mei', 'Ku li hung'. A dendrogram based on the UPGMA cluster analysis was constructed. The 30 *P. mume* cultivars were divided into eight groups, including 2 groups of local cultivars, 2 groups of ornamental cultivars and 4 individual cultivars. The similarity index between 'Pink double' and 'Fenghung taige' was 91% indicating they were the most closest among test cultivars. Whereas, 'Hung mei' was the cultivar far away from others due to only 42% similarity between it and the closest one.

**Key words:** *Prunus mume*, germplasm evaluation, phylogeny, RAPD.

---

1. Contribution No. 2272 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted : October 30, 2006.  
2. Associate Researcher, Research Assistant, Plant Germplasm Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.  
3. Corresponding author, e-mail : icwen@wufeng.tari.gov.tw ; Fax : (04)23390791.