

## 利用 RAPD 及形態性狀評估柿種原遺傳歧異度

湯佳裕<sup>1)</sup> 倪正柱<sup>2)</sup> 溫英杰<sup>3)</sup> 嚴新富<sup>4)</sup>

關鍵字：柿樹屬、形態、逢機增幅多型性 DNA

**摘要：**以柿樹科(Ebenaceae)柿樹屬(*Diospyros*)中 45 個柿子種原之外部形態特性，並以 RAPD 分子標誌進行柿種間遺傳相似度與其鑑別能力分析。形態特性上，顯示新葉顏色、花性、果重、果色、單寧含量在種間有較大歧異度，可以供作辨別種原之特殊性狀，如四周柿新葉顏色為淡褐綠色；原生種柿均為雌雄異株，而南瓜柿具有特殊兩性花；菱葉柿具特有的菱形葉片；蘭嶼柿果實成熟後為墨綠黑色，果肉為黑色；筆柿果形為窄橢圓形，Aoso 為卵圓形；伽羅果實頂端同心圓裂痕為深裂。RAPD 分析上，由相似度樹狀圖分析可將供試驗柿種原分成二主群，第一主群內由 *D. virginiana*、*D. japonica*、*D. rhombifolia*、*D. morrisiana*、*D. kotoensis*、大葉砧木組成，第二主群由 *D. oldhamii*、*D. kaki*、日本豆柿組成；由樹狀圖可以發現 *D. virginiana* 與台灣原生柿親緣關係上屬於同一群，而 *D. oldhamii* 親緣關係則與栽培種較接近是屬於較接近栽培種(*D. kaki*)；由結果可知 RAPD 分子標誌能有效分辨無法以外觀形態辨識的富有、次郎與平核無的芽變品種。利用外部形態如新葉顏色、花性、果形等品種差異大的性狀可以將大部分的柿品種作初步分辨，而 RAPD 則可以有效將供試驗的柿種原作有效區隔，並且得知種間之遺傳相似度，有助於了解種原間之親緣關係。

- 
- 1) 國立中興大學園藝學系研究生。
  - 2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。
  - 3) 農業試驗所種原組副研究員。
  - 4) 國家自然科學博物館植物園副研究員。

## 前 言

柿樹科(Ebenaceae)植物全世界有 3 屬 500 餘種，中國僅產柿樹科中 *Diospyros* 屬，且現今栽培的柿均是 *Diospyros* 屬的種，如栽培食用的柿(*D. kaki* Thunb.) (王, 1992; 艾倫, 1996; 吳, 1981; 溫, 1995; 謝, 1953)、取柿漆用的油柿(*D. oleifera* Cheng) (吳, 1981; 廖, 1988)、砧木用途的山豆柿(*D. japonica* Sieb. and Zucc.) (倪, 1997; 廖, 1988)與美洲柿(*D. virginiana* L.) (上原敬二, 1971; 溫, 2002)、觀賞用的瓶蘭花(*D. armata* Hemsl.) (廖, 1988; 劉, 1972)。

柿栽培歷史悠久，至今品種已超過千餘種，依其澀味有無與授粉後是否產生褐斑可以分成四大類，分別為完全甜柿(pollination constant non-astringent, PCNA)、不完全甜柿(pollination variant non-astringent, PVNA)、完全澀柿(pollination constant astringent, PCA)、不完全澀柿(pollination variant astringent, PVA)四類；因完全甜柿不須脫澀即可食用，為這幾年來研究柿子國家，育種與栽培的主要方向(張, 2001; 溫, 1995; 溫, 2002)。台灣柿子產業近 10 年來發展快速，種植面積由 1995 年 1794 公頃成長到 2004 年 3431 公頃，成長了近 2 倍之多，主要栽培縣市為台中和嘉義等地，種類以牛心柿、四周柿、次郎、富有為主。

柿子種類相當繁多，以往用‘甜’、‘澀’、‘軟’、‘硬’等食用觀感來區分顯不足，栽培種中，有一些無法藉由植株外觀形態來正確判別的種，種間一種多名或一名多種情況更是常發生，以‘山柿’為例，指的可能是老鴨柿(*D. rhombifolia*)、山紅柿(*D. morrisiana*)、君遷子(*D. lotus*)、山豆柿(*D. japonica*) (上, 1971; 廖, 1988; 劉, 1972; 林, 2001)，這種情況易造成育種與種原研究者的困擾。1990 年 Williams 提出了逢機增幅多型性 DNA(簡稱 RAPD)分子標誌技術，利用遺傳最基本物質 DNA 來做為分析物種工具，提供更直接且明確的方式來辨識品種；利用人工逢機 DNA 引子進行 PCR 反應，再依據電泳結果所呈現不同大小 DNA 片段進行分析，可以計算出種間遺傳相似係數與譜系圖之建立等，用以辨別品種間差異程度與親緣關係(Kumar, 1999; Williams *et al.*, 1990; Williams *et al.*, 1993)。

本研究分析 45 個柿子種原，包括台灣種原 19 種、大陸種原 1 種、日本種原 23 種、美國種原 2 種；藉由性狀調查及 RAPD 分子標誌，分析希望能得知台灣柿子種原與其他國家柿子種原關係之遠近，與親緣關係之遠近，和柿子穗砧親和性是否有關連性。

## 材 料 方 法

### 一、材料

本試驗材料合計 45 柿種原種，分別由農業試驗所、苗栗三義農場、科博館與野外蒐集而來(表 1)。

表 1. 試驗所用 45 個柿種原名稱及來源

Table 1. The original and name of 45 persimmon germplasms used in this study.

| 代號 | 名稱      | 學名/英名   | 原產地 | 採集地   |
|----|---------|---|-----|-------|
| 1  | 山豆柿(台中) | <i>D. japonica</i> Sieb. & Zucc.                | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 2  | 山豆柿(南投) | <i>D. japonica</i> Sieb. & Zucc.                | 台灣  | 南投縣信義 |
| 3  | 俄氏柿(南投) | <i>D. oldhamii</i> Max.                         | 台灣  | 南投縣新鄉 |
| 4  | 俄氏柿(南橫) | <i>D. oldhamii</i> Max.                         | 台灣  | 高雄縣桃源 |
| 5  | 美洲柿(2N) | <i>D. virginiana</i> (2N)                       | 美國  | 台中縣霧峰 |
| 6  | Aoso    | <i>D. kaki</i> Tumb. cv. Aoso                   | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 7  | 菱葉柿     | <i>D. rhombifolia</i> Hemsl.                    | 台灣  | 南投縣水里 |
| 8  | 山紅柿     | <i>D. morrisiana</i> Hance                      | 台灣  | 苗栗三義  |
| 9  | 美洲柿(6N) | <i>D. virginiana</i> (6N)                       | 美國  | 台中縣霧峰 |
| 10 | 大葉砧木    | Da ye   | 台灣  | 南投縣信義 |
| 11 | 蘭嶼柿     | <i>D. kotoensis</i> Yamazaki                    | 台灣  | 台中市   |
| 12 | 牛心柿     | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Bull Heart            | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 13 | 四周柿     | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Syh Jou               | 台灣  | 苗栗縣三義 |
| 14 | 南瓜柿     | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Nan Gua Shih          | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 15 | 軟枝紅柿    | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Ruan Zhi Hang Shih    | 台灣  | 南投縣信義 |
| 16 | 青貢柿(白)  | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Qing Gong Shih(White) | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 17 | 青貢柿(紅)  | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Qing Gong Shih(Red)   | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 18 | 正柿      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Cheng Shih            | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 19 | 柿根      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Shih Gen              | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 20 | 大紅柿     | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Da Hong Shih          | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 21 | 蜂屋      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Hachiya               | 日本  | 台中市   |
| 22 | 富有      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Fuyu                  | 日本  | 南投縣信義 |
| 23 | 次郎      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Jiro                  | 日本  | 南投縣信義 |
| 24 | 上西早生富有  | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Wueinishi Wase Fuyu   | 日本  | 南投縣信義 |
| 25 | 松本早生富有  | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Matsumoto Wase Fuyu   | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 26 | 前川次郎    | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Maekawa Jiro          | 日本  | 南投縣信義 |
| 27 | 新秋      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Shinshuu              | 日本  | 南投縣信義 |
| 28 | 太秋      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Taishuu               | 日本  | 南投縣信義 |
| 29 | 巢南      | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Sunami                | 日本  | 台中縣霧峰 |

| 代號 | 名稱    | 學名/英名                                      | 原產地 | 採集地   |
|----|-------|--|-----|-------|
| 30 | 烏石坑甜柿 | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Wu Shi Keng Shih | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 31 | 豐原甜柿  | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Feng Yuan Shih   | 台灣  | 台中縣霧峰 |
| 32 | 西村早生  | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Nishimura Wase   | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 33 | 甘百目   | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Amahyakume       | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 34 | 禪寺丸   | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Zenjimaruru      | 日本  | 南投縣信義 |
| 35 | 伽羅    | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Kayro            | 日本  | 苗栗縣三義 |
| 36 | 正月    | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Shougatsu        | 日本  | 南投縣信義 |
| 37 | 祇園坊   | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Gionbou          | 日本  | 南投縣信義 |
| 38 | 筆柿    | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Fude Gaki        | 日本  | 南投縣信義 |
| 39 | 西條柿   | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Saijo            | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 40 | 平核無   | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Hiratanenashi    | 日本  | 南投縣信義 |
| 41 | 刀根早生  | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Tonewase         | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 42 | 日本豆柿  | rootstock var. of Japan                    | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 43 | 身不知   | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Shenbuzhi        | 日本  | 南投縣信義 |
| 44 | 蜜柿    | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Mi Shih          | 日本  | 台中縣霧峰 |
| 45 | 大磨盤   | <i>D. kaki</i> Thunb. cv. Damopan          | 大陸  | 台中縣霧峰 |

註：N 表示染色體倍數

## 二、DNA 萃取與 RAPD 分析

### (一) DNA 萃取

取新鮮嫩葉 0.1-0.2 g，利用液態氮磨碎，置入微量離心管中，加入已預熱達 65°C DNA 萃取緩衝液(100 mM Tris-HCl, pH 8.0; 20mM EDTA; 1.4 M NaCl; 2% (w/v) CTAB; 1% (v/v) PEG 6000; 0.5% (v/v) 2-Mercaptoethanol) 600 µl，輕輕混勻後，置入 65°C 恆溫槽中 30 分鐘，期間每隔 3-5 分鐘取出微量離心管反轉混合數次。然後加入 600 µl chloroform-isoamyl alcohol (24:1, v/v) 輕輕混勻，置 4°C 下，以 13684xg (MICRO 240A, Denville Scientific Inc.) 離心 10 分鐘，取上層液至新的微量離心管中，再加入 400 µl isopropanol 混勻，室溫下靜置 10 分鐘。然後置於 4°C 下，以 13684xg 離心 10 分鐘，去上清液，加入 1 ml 的 washing buffer (76% (v/v) ethanol; 10 mM ammonium acetate)，清洗沉澱物，置 4°C 下，以 13684xg 離心 10 分鐘，去上清液，沉澱物至於室溫下乾燥 1 小時。後將沉澱物溶於 50 µl TE 緩衝液(10 mM Tris-HCl, pH 7.4; 1 mM EDTA, pH 8.0)中，加入適量 RNaseA，於 37°C 反應 1 小時。完成後將 DNA 稀釋 200 倍，利用光電比色計測定 OD<sub>260</sub> 的吸光值，計算 DNA 的濃度。

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

以 50 ng/ml 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。其溶液含有 10 mM Tris-HCl, pH 9.0; 500 mM KCl; 0.1% Triton X-100; 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 200 mM dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP); 0.2 mM primer 及 0.5 unit Taq DNA polymerase (Promega), primer 採用 Operon kit (Operon kit: OPA-OPJ, OPAA-OPAE 共 300 個), 置入 DNA 熱循環儀(TC-XP-D)中反應。反應溫度條件為 94°C 3 分鐘、36°C 1 分鐘、72°C 1 分 20 秒，作為第一循環；再以 94°C 1 分鐘、36°C 1 分 20 秒、72°C 2 分 20 秒，進行 44 個循環，反應完成後置於 4°C 保存。

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 0.2% 瓊脂膠體 (Agarose, Boehringer Mannheim GmbH Germany) 進行電泳，完成後以 0.5 mg/ml ethidium bromide 染色，後置於 UV 燈下觀察膠體 DNA 多型性片段，照相及儲存影像於 Kodak Digital Science ID Image Analysis (Eastman Kodak Co.) 影像分析系統，進行資料比對分析。

### (三) 資料分析

依 Jaccard 在 1901 年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相似度計算出。並利用 NT-SYS 軟體 (Exeter software, Setauket, NY) 所提供的未加權平均法 (unweighted 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。

### 三、形態調查

參考植物新品種保護國際聯盟 (The International Union for the Protection of New Varieties of Plants) 與日本果樹種苗協會出版柿品種名鑑所定之柿種原調查項目，調查項目包含：萌芽期、新葉顏色、開花期、盛花期、花性、葉形、果實成熟期、果重、果徑、果寬、可溶性固形物、果色、果形、果尖形狀、萼片宿存形式、種子數、種子形狀、果實頂端同心圓裂、果實縱線凹溝、萼片大小、類型、可溶性單寧含量、肉質顏色、肉質共 24 種植株形態特徵進行分析。

### 四、可溶性單寧 (Soluble tannin) 分析

取達商業成熟之柿果肉 1 g，加入 20 ml 80% 甲醇後以 17750 $\times$ g 離心 5 分鐘。過濾後取上清液 1 ml，加入 6 ml 純水。然後加入 0.5 ml Folin，經振盪機混合均勻，靜置 3 分鐘；後加入 1 ml 飽和碳酸鈉 (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)，經振盪機混合均勻，再加入 1.5 ml 純水，使總體積達 10 ml。靜置 1 小時，以分光光度計 725 nm 測其吸光值，並計算其濃度。

## 結 果

### 一、外部形態調查

所調查柿種原中蘭嶼柿與菱葉柿為常綠性，而其他均為落葉性，萌芽期介於 2 月 17 日至 4 月 18 日，最早為美洲柿(6N)，最晚者為祇園坊、大磨盤和西村早生，由萌芽期早晚與當地氣候條件可以推斷出植株所需低溫需求量，最低為蘭嶼柿，最高為祇園坊。新葉顏色方面，由結果可以得知柿子種原間變化相當大，一般栽培種柿大多為淡綠色和淡黃綠色兩種，而紅褐色只出現於原生種柿，四周柿為特殊的淡褐綠色。花性上，原生種柿均為雌雄異株，而栽培種中則以雌株為主，部分品種為雌雄同株，最特殊屬南瓜柿，其不僅雌雄同株，另外還具有獨特之兩性花。果重方面，所調查的柿種原介於 1.9 g(蘭嶼柿)至 345.9 g(青貢柿-紅)之間，原生種柿果重均低於 100 g，而栽培種則介於 100 至 350 g 之間。果形方面，一般而言甜柿果形較單一化，多為扁圓形，而澀柿果形則較為多變，尤以筆柿為窄橢圓型最為特殊(表 2)。

### 二、RAPD 分析

使用 OPA-OPJ，OPAA-OPAE 共 300 個引子，分別進行 PCR 反應，初步篩選共 108 個，以供第二次試驗分析。結果顯示引子 OPA-4、OPA-5、OPA-10、OPA-13、OPB-5、OPE-17、OPF-6、OPF-9、OPH-3、OPH-5、OPH-8、OPJ-13、OPJ-19、OPAB-3、OPAB-7、OPAB-9、OPAC-19、OPAC-20、OPAD-1、OPAD-2、OPAD-3、OPAD-5、OPAD-8、OPAD-9、OPAD-16、OPAD-17、OPAD-18、OPAE-2、OPAE-10、OPAE-14 共有 30 個引子可以在 45 個柿種原間具有多型性條帶，其總共可擴增出 444 個 DNA 條帶，多型條帶有 442 條，比率達 99.5%。其中以引子 OPAE-14 共產生 11 個增殖 DNA 片段，分子量分別為 1300 bp、1150 bp、1000 bp、800 bp、725 bp、700 bp、675 bp、525 bp、425 bp、400 bp、325 bp；其中 OPAE-14<sub>1150</sub> 為蜂屋特有多型性 DNA 片段，OPAE-14<sub>725</sub> 為日本豆柿特有多型性 DNA 片段，OPAE-14<sub>425</sub> 為 *D. virginiana* 特有多型性 DNA 片段，OPAE-14<sub>325</sub> 為 *D. kotoensis* Yamazaki 特有多型性 DNA 片段(圖 1 及表 3)。

### 三、親緣關係分析

30 個引子所產生的增殖片段 DNA，依 Jaccard 所提之計算公式計算兩兩品種間相似度，再以 UPGMA 建構之相似樹狀圖分析。樹狀圖中，於相似度 19% 時可以將柿種原分成兩主群，第一主群包括山豆柿(台中)、山豆柿(南投)、大葉砧木、山紅柿、美洲柿(2N)、美洲柿(6N)、菱葉柿、蘭嶼柿，遺傳相似係數介於 20-91%。第二主群內遺傳相似係數介於 21-96% 之間，此主群中又可以再分為成四亞群，第一亞群有俄氏柿(南投)、俄氏柿(南橫)、Aoso、牛心柿、南瓜柿、軟枝紅柿、四周柿，群內遺傳相似係數介於 37-81% 之間，第二亞群有青貢柿(白)、青貢柿(紅)、正柿、柿根、大紅柿，群內遺傳相似係數介於 69-91% 之間，第三亞群有蜂屋、富有、上西早生富有、松本早生富有、巢南、太秋、次郎、前川次郎、新秋、烏石坑甜柿，群內遺傳相似係數介於 67-96% 之間，第四亞群有豐原甜柿、

西村早生、甘百目、伽羅、正月、筆柿、西條、平核無、刀根早生、禪寺丸、蜜柿、身不知、大磨盤、祇園坊，群內遺傳相似係數介於 57-89%之間，而日本豆柿為獨立成為另一亞群，其與第二主群系相似性為 21%之間(圖 2)。

表 2. 柿種原形態特性。

Table 2. Tree and fruit characteristics of persimmon germplasms.

| 名稱      | 萌芽期  | 新葉顏色  | 花性   | 果重(g)      | 果形     | 類型 |
|---------|------|-------|------|------------|--------|----|
| 山豆柿(台中) | 2.18 | 褐綠色   | ♀♂異株 | 4.8±0.2    | 圓形     | 澀柿 |
| 山豆柿(南投) | 2.22 | 褐綠色   | ♀♂異株 | 11.4±0.3   | 扁圓形    | 澀柿 |
| 俄氏柿(南投) | 2.27 | 淡黃綠色  | ♀♂異株 | 21.6±1.04  | 圓形     | 澀柿 |
| 俄氏柿(南橫) | ---  | 淡綠色   | ♀♂異株 | ---        | ---    | 澀柿 |
| 美洲柿(2N) | 2.23 | 紅褐色   | ♀♂異株 | ---        | ---    | 澀柿 |
| Aoso    | 3.28 | 淡褐綠黃色 | ♀♂同株 | 54.7±3.8   | 卵形     | 澀柿 |
| 菱葉柿     | 常綠   | 淡綠色   | ♀♂異株 | ---        | ---    | 澀柿 |
| 山紅柿     | 2.28 | 褐綠色   | ♀♂異株 | 3.1±0.4    | 圓形     | 澀柿 |
| 美洲柿(6N) | 2.17 | 褐綠色   | ♀♂異株 | 19.0±0.5   | 圓形     | 澀柿 |
| 大葉砧木    | 2.25 | 紅褐色   | ♀♂異株 | ---        | ---    | 澀柿 |
| 蘭嶼柿     | 常綠   | 淡綠色   | ♀♂異株 | 1.9±0.1    | 橢圓形    | 澀柿 |
| 牛心柿     | 2.23 | 淡黃綠色  | ♀株   | 213.6±9.1  | 超寬卵形   | 澀柿 |
| 四周柿     | 3.17 | 淡褐綠色  | ♀株   | 98.7±2.7   | 扁圓形    | 澀柿 |
| 南瓜柿     | 3.11 | 淡褐綠黃色 | ♀♂同株 | 296.6±11.8 | 超寬卵形   | 澀柿 |
| 軟枝紅柿    | 3.9  | 淡褐綠黃色 | ♀株   | 196.0±7.9  | 寬卵形    | 澀柿 |
| 青貢柿(白)  | 3.16 | 淡黃綠色  | ♀♂同株 | 320.7±14.9 | 寬卵形    | 澀柿 |
| 青貢柿(紅)  | 3.11 | 淡黃綠色  | ♀♂同株 | 345.9±28.3 | 寬卵形    | 澀柿 |
| 正柿      | 3.14 | 淡黃綠色  | ♀株   | 261.7±7.3  | 寬卵形    | 澀柿 |
| 柿根      | 3.14 | 淡黃綠色  | ♀株   | 183.6±5.5  | 圓形、扁圓形 | 澀柿 |
| 大紅柿     | 3.12 | 淡褐綠黃色 | ♀株   | 105.1±6.3  | 扁圓形    | 澀柿 |
| 蜂屋      | 3.23 | 淡綠色   | ♀株   | 340.6±2.2  | 寬卵形    | 澀柿 |
| 富有      | 3.26 | 淡黃綠色  | ♀株   | 296.3±9.8  | 扁圓形    | 甜柿 |
| 次郎      | 3.24 | 淡黃綠色  | ♀株   | 328.1±9.7  | 扁圓形    | 甜柿 |
| 上西早生富有  | 3.28 | 淡黃綠色  | ♀株   | 260.7±8.2  | 扁圓形    | 甜柿 |
| 松本早生富有  | 4.9  | 淡黃綠色  | ♀株   | 194.1±5.9  | 扁圓形    | 甜柿 |

| 名稱    | 萌芽期  | 新葉顏色  | 花性   | 果重(g)      | 果形           | 類型        |
|-------|------|-------|------|------------|--------------|-----------|
| 前川次郎  | 3.22 | 淡綠色   | ♀株   | 258.3±10.8 | 扁圓形          | 甜柿        |
| 新秋    | 3.19 | 淡綠色   | ♀株   | 269.0±8.5  | 扁圓形、<br>超寬卵形 | 甜柿        |
| 巢南    | 4.9  | 淡黃綠色  | ♀株   | 289.9±21.7 | 超寬卵形         | 甜柿        |
| 烏石坑甜柿 | 3.31 | 淡黃綠色  | ♀株   | 222.0±15.9 | 圓形           | 甜柿        |
| 豐原甜柿  | 3.21 | 淡褐綠黃色 | ♀♂同株 | 243.0±4.1  | 圓形           | 甜柿        |
| 太秋    | 3.21 | 淡綠色   | ♀株   | ---        | ---          | 甜柿        |
| 西村早生  | 4.18 | 淡綠色   | ♀♂同株 | ---        | ---          | 不完全<br>甜柿 |
| 甘百目   | 3.17 | 淡綠色   | ♀♂同株 | 163.2±2.3  | 圓形           | 不完全<br>甜柿 |
| 禪寺丸   | 4.4  | 淡黃綠色  | ♀♂同株 | 79.1±8.1   | 超寬卵形         | 不完全<br>甜柿 |
| 伽羅    | 3.17 | 淡褐綠黃色 | ♀株   | 205.4±14.3 | 圓形           | 不完全<br>甜柿 |
| 正月    | 3.19 | 淡黃綠色  | ♀♂同株 | 213.3±12.8 | 寬卵形          | 澀柿        |
| 祇園坊   | 4.18 | 褐綠色   | ♀株   | 284.2±6.0  | 寬卵形          | 澀柿        |
| 筆柿    | 3.20 | 褐黃綠色  | ♀♂同株 | 155.8±6.7  | 窄橢圓形         | 澀柿        |
| 西條柿   | 3.29 | 淡綠色   | ♀株   | 101.3±5.1  | 橢圓形          | 澀柿        |
| 平核無   | 3.24 | 淡黃綠色  | ♀株   | 174.9±5.0  | 扁圓形          | 不完全<br>澀柿 |
| 刀根早生  | 3.20 | 淡黃綠色  | ♀株   | ---        | ---          | 澀柿        |
| 日本豆柿  | 2.23 | 淡黃綠色  | ♀♂異株 | ---        | ---          | 澀柿        |
| 身不知   | 3.19 | 淡黃綠色  | ♀♂同株 | 210.4±4.1  | 扁圓形          | 澀柿        |
| 蜜柿    | 4.18 | 淡綠色   | ♀株   | ---        | ---          | 澀柿        |
| 大磨盤   | 3.28 | 淡綠色   | ---  | ---        | ---          | 澀柿        |

註：D. oldhamii(南投)、西村早生、大磨盤、蜜柿為幼年株，尚未具結果能力。

大葉砧木、日本豆柿、D. virginiana(2N)為雄株，無果。

太秋、刀根早生無果。

D. rhombifolia 無採集到果實。



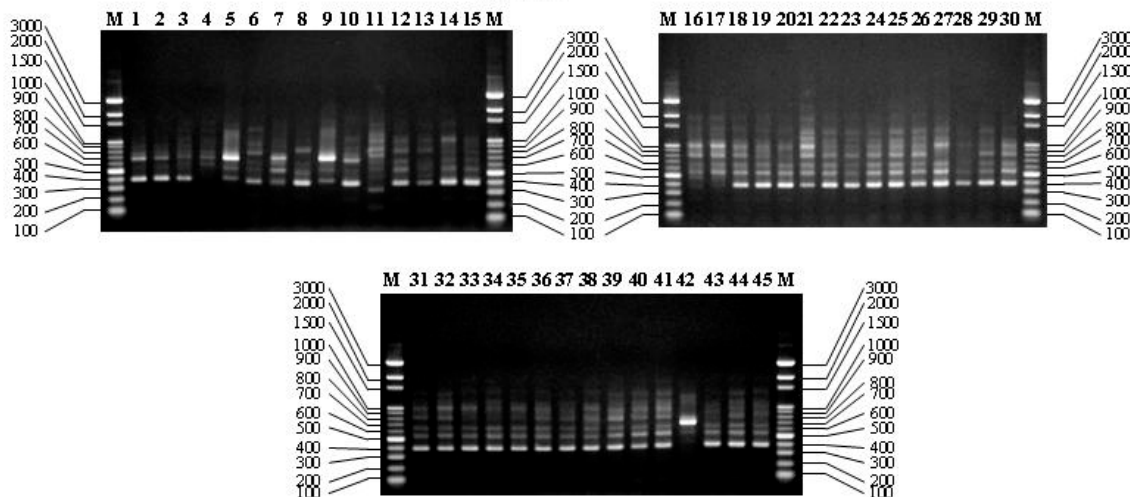


圖 1. 45 個柿種原以 OPAE-14 為引子產生之 RAPD 分析圖。1-45 同表一。

Fig 1. RAPD patterns of 45 persimmon germplasms analyzed by primer OPAE-14. 1-45: the same as table 1.

## 討 論

此研究調查中，原生種柿平均萌芽日期均比栽培種早，原生種柿於 2 月中旬即開始萌芽，而栽培種柿始於 3 月初開始萌芽，前後差異約 2 個星期，同樣為栽培種裡，台灣栽培種柿平均萌芽期也較早於日本種，若比較日本當地資料(農, 1986; 遠藤, 1987)萌芽期介於 3 月下旬至 4 月初，與本次紀錄與研究相符；影響萌芽期原因會因栽培種主要原產日本與中國地區，該地區氣候較台灣地區冷涼，冬季時間亦較長，因演化而成較深休眠與較高需冷值(chilling requirement, CR)的作物種類，而在日本地區因氣候較冷涼理當其萌芽日期會比台灣稍晚，但在本紀錄中的日期與日本文獻記載差異並不明顯，推測乃因本試驗大部分日本栽培種均栽種於中海拔地區，以致萌芽期亦會稍微往後延後，是造就此結果的原因。文獻記載柿之新葉顏色主要可分為淡綠色、淡黃綠色、褐綠色、淡褐綠色、淡褐綠黃色、紅褐色 6 種，在本研究種原中，栽培種柿子嫩葉不具有紅褐色之嫩葉顏色，而遠藤融郎(1987)記錄到柿嫩葉顏色亦無紅褐色種，另外前川次郎為淡黃綠色，松本早生富有為黃綠色亦與本紀錄相符合。記錄中四周柿是唯一嫩葉顏色為淡褐綠色，此外部形態可以供作品種辨識用。花性方面原生種柿均為雌雄異株，栽培種中混合了雌雄同株與雌株，雌雄同株者有南瓜柿、青貢柿(紅)、豐原甜柿、西村早生、甘百目、禪寺丸、正月、身不知、筆柿，而其中南瓜柿具有兩性花為較相當特殊的一種，其他學者對柿花性的研究中均與此次紀錄中相符；謝(2002)指出在台灣原生柿種均為雌雄異株，唯 *D. kaki* 具有雌株或兩性株；林(2001)

表 3. 柿種原之特定 RAPD 片段。

Table 3. Specific RAPD fragments of persimmon germplasms.

| 品種                    | 特定 RAPD 片段(bp)   |
|-----------------------|--|
| <i>D. japonica</i>    | OPAD-1 <sub>725</sub> 、OPAD-2 <sub>950</sub> 、OPAD-2 <sub>850</sub> 、OPAD-3 <sub>250</sub>   |
| <i>D. virginiana</i>  | OPJ-19 <sub>1100</sub> 、OPAD-8 <sub>1050</sub> 、OPAD-18 <sub>1000</sub> 、OPAE-14 <sub>425</sub>  |
| Aoso                  | OPAC-20 <sub>300</sub>   |
| <i>D. rhombifolia</i> | OPA-10 <sub>1000</sub> 、OPF-6 <sub>225</sub> 、OPJ-13 <sub>1450</sub> 、OPAC-20 <sub>600</sub> 、OPAD-2 <sub>1400</sub> 、OPAD-2 <sub>1250</sub> 、<br>OPAD-8 <sub>400</sub> 、OPAD-9 <sub>1150</sub> 、OPAD-18 <sub>1150</sub> 、OPAD-18 <sub>500</sub> 、OPAD-18 <sub>350</sub> 、<br>OPAE-10 <sub>1150</sub>  |
| <i>D. morrisiana</i>  | OPA-5 <sub>250</sub> 、OPA-10 <sub>850</sub> 、OPAD-2 <sub>1100</sub>  |
| 大葉砧木                  | OPF-9 <sub>1500</sub> 、OPAD-2 <sub>1000</sub>  |
| <i>D. kotoensis</i>   | OPA-10 <sub>350</sub> 、OPB-5 <sub>300</sub> 、OPF-6 <sub>1050</sub> 、OPF-9 <sub>175</sub> 、OPJ-13 <sub>1200</sub> 、OPJ-13 <sub>550</sub> 、<br>OPAB-7 <sub>350</sub> 、OPAB-9 <sub>100</sub> 、OPAC-19 <sub>250</sub> 、OPAD-1 <sub>1100</sub> 、OPAD-8 <sub>1350</sub> 、OPAD-8 <sub>900</sub> 、<br>OPAD-9 <sub>300</sub> 、OPAD-16 <sub>550</sub> 、OPAD-17 <sub>1200</sub> 、OPAD-18 <sub>825</sub> 、OPAD-18 <sub>775</sub> 、<br>OPAE-10 <sub>850</sub> 、OPAE-10 <sub>200</sub> 、OPAE-14 <sub>325</sub> |
| <i>D. kaki</i>        | OPA-4 <sub>450</sub> 、OPE-17 <sub>550</sub> 、OPJ-13 <sub>500</sub>   |
| 柿根                    | OPAC-20 <sub>550</sub>   |
| 大紅柿                   | OPAD-2 <sub>250</sub>  |
| 蜂屋                    | OPAE-14 <sub>1150</sub>  |
| 新秋                    | OPF-6 <sub>700</sub>   |
| 筆柿                    | OPF-6 <sub>900</sub>   |
| 日本豆柿                  | OPB-5 <sub>850</sub> 、OPF-9 <sub>300</sub> 、OPH-5 <sub>500</sub> 、OPH-8 <sub>200</sub> 、OPAB-7 <sub>650</sub> 、OPAB-9 <sub>800</sub> 、<br>OPAD-2 <sub>325</sub> 、OPAD-16 <sub>500</sub> 、OPAD-17 <sub>300</sub> 、OPAE-2 <sub>900</sub> 、OPAE-14 <sub>725</sub>   |

提到栽培柿如富有、次郎、牛心柿只具有雌花，所以栽培上需種植具有雄花的品種如正月、筆柿來授粉以降低落果率。原生種柿果實大小普遍比一般栽培種小，在調查種原中，原生種柿果實重量均低於 100 g，而栽培種果實重量則介於 100-350 g 之間，大者亦有超過 400 g 者(青貢柿)。若將栽培種依是否能在樹體自然脫澀分類，可得知澀柿果重大小差異大，介於 100-400 g 均有，甜柿果重則較均一，平均介於 200-300 g；另外有學者研究(Bank *et al.*, 2001; Yamagishi *et al.*, 2005)指出菱葉柿、君遷子等原生種柿染色體為 N=30 至 N=60，而一般栽培柿如富有、次郎、西村早生染色體 N=90，平核無與刀根早生為 N=135，不同種柿果重與柿染色體是否有相關值得進一步探討。*D. kotoensis* 果實是所有調查中最小，平均果重僅 1.96 g，此種為蘭嶼特有種，果實成熟會由淡綠色轉墨綠黑色，果肉為墨黑色，無

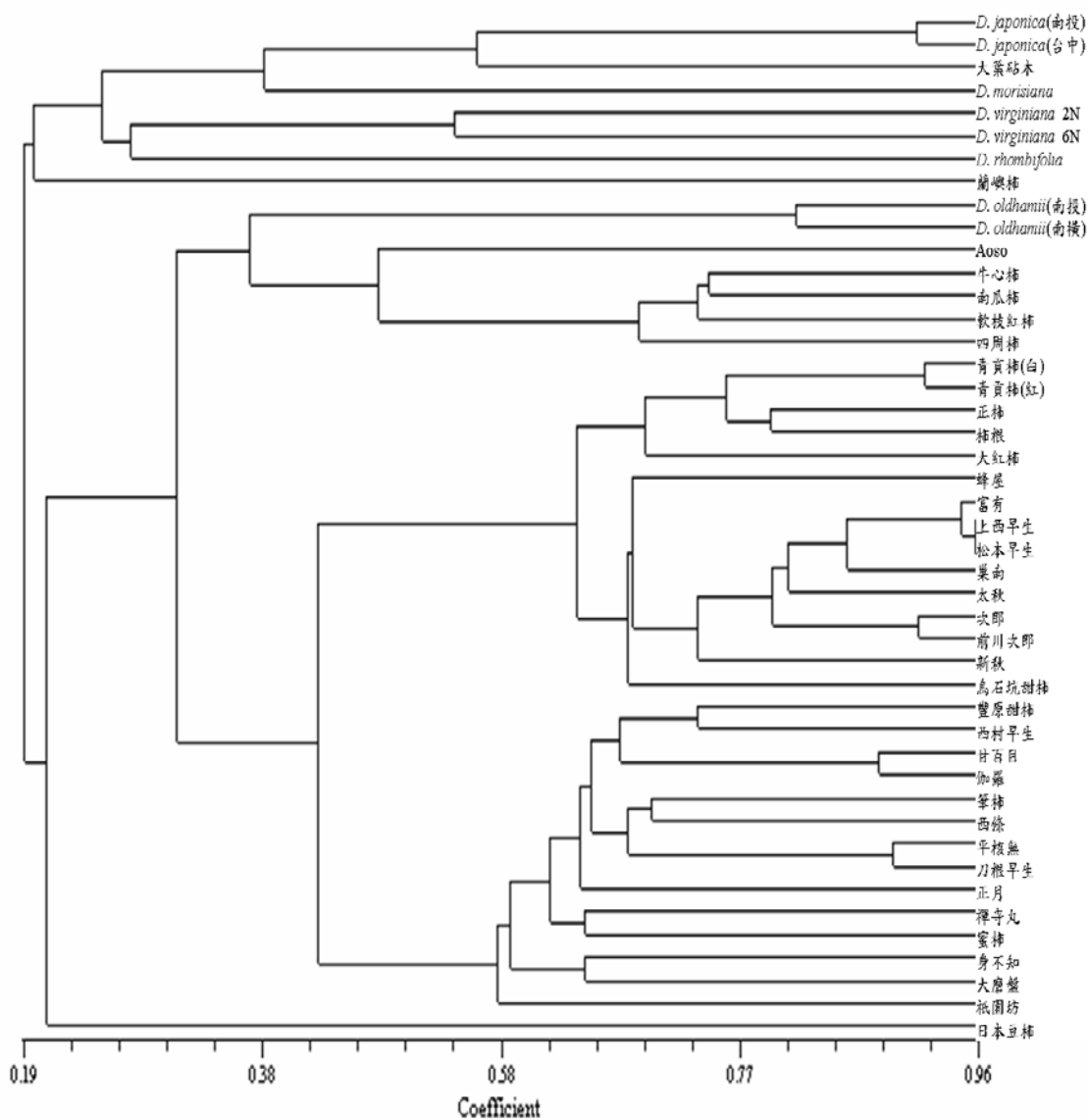


圖 2. 45 個柿種原之 RAPD 標誌群叢分析樹狀圖。

Fig. 2. The dendrogram of 45 persimmon germplasms based on RAPD marker.

脫澀即稍具甜味為所調查中較特殊的種。新秋其果形會因種子有無而改變，有籽時果形為超寬卵形，無籽時則為扁圓形；果形一般而言，甜柿果形較一致，大部分為扁圓形，而澀柿果形則較為多變，此結果與文獻中所紀錄果形(淺見等, 1971；農, 1986；遠藤, 1987)是相符合的，果形特殊性狀如蜂屋、祇園坊、筆柿果形則屬較長之寬卵形和窄橢圓形。類型

分類上栽培種柿均與遠藤融郎(1987)所記錄相符，顯示此性狀不會因為地域改變而有所變化，而原生柿子則均為澀柿。

#### (一) 品種區分

在供試驗的 45 個柿種原的差異性分辨上，可以成功的區分所有的種與品種，其中包括芽變種的區分，如平核無與其芽變種刀根早生，其兩者相似度為 88.8%，富有與其芽變品種松本早生富有和上西早生富有，其與兩者相似度分別為 93.6% 和 95.7%。Luo 等(2002)試驗利用 RAPD 技術分析次郎、平核無、刀根早生等 20 個柿品種，成功辨識所供試驗的 20 個柿品種，其中包含平核無的芽變種刀根早生的區分，此結果證明了 RAPD 分子標誌具有高度辨別柿子品種能力。

試驗所篩得引子產生條帶大小在 100-2000 bp，與 Luo 等(2002)的結果相似，特殊條帶方面，在 30 個 RAPD 引子中，共在 14 個品種有特殊 DNA 條帶的產生(表 3)，以引子 OPAD-2 共可以得到 7 個專一性條帶最多。

#### (二) 種間遺傳相似度分析

在群叢分析圖(圖 2)可以看出分支的兩大主群系，第一主群系為台灣與美洲柿共 8 個品種，第二主群係為日本柿與台灣(*D. oldhamii*)共 37 個品種，第一主群系均屬原生種，其彼此相似度介於 20-90.8%，若是扣除 *D. virginiana* (2N)、*D. virginiana* (6N)與 *D. japonica* (台中)、*D. japonica* (南投)兩同種之相似度關係，則主群係間相似度為 18.2-56.0%，顯示不同種(species)柿子遺傳歧異度大，而相似度最高為大葉砧木與 *D. japonica* 種，種間遺傳相似度為 55.2-56.0%，推斷大葉砧木為 *D. japonica* 種近親種，相似度最低為 *D. kotoensis* 與 *D. japonica* (南投)僅 18.2%；第二主群係若只計算栽培種遺傳相似度，則主群係間差異相似度為 35.2-95.7%，此結果與 Luo (2002)所分析栽培種柿子相似度情況均相類似，而台灣 *D. oldhamii* 種在遺傳相似度較為接近栽培種；*D. japonica* 與 *D. virginiana* 相似度為 22.8-28.2%，由遺傳相似樹狀圖上顯示出台灣產 *D. japonica* 與 *D. virginiana* 屬於同一群。

結果顯示栽培最廣的富有(*D. kaki* Thub. cv. Fuyu)與原生柿 *D. japonica* (台中)、*D. virginiana* (2N)、*D. oldhamii* (南橫)、*D. rhombifolia*、*D. morrisiana*、*D. kotoensis*、大葉砧木間遺傳相似度分別為 16.1%、15.7%、22.4%、18.1%、21.1%、12.9%、17.8%；Nakamura 與 Kobayashi (1994)試驗利用 11 種 *D. kaki* 栽培種與 *D. virginiana*、*D. lotus*、*D. rhombifolia*、*D. oleifera*、*D. kuroiwai* 五個原生種柿進行 RFLP 分析，發現 *D. kaki*、*D. oleifera*、*D. kuroiwai*、*D. virginiana*、*D. lotus* 遺傳相似性較為接近，而 *D. rhombifolia* 遺傳相似性與其他五種柿子關係較遠；Yamagishi 等(1997)利用 RAPD 分析 *D. kaki*、*D. lotus*、*D. taitoensis* Olashima (*D. japonica* 另一名稱)、*D. rhombifolia*、*D. oleifera* (油柿)五種柿子遺傳關係，發現 *D. taitoensis* 因其遺傳相似性與 *D. lotus* 相當高，所以應是屬於 *D. lotus* 種下一個亞種，而 *D. kaki* 栽培種柿與 *D. lotus* 遺傳相似性較高，*D. rhombifolia* 則較疏遠；Yonemori 等(1996)用 RFLP 研究數十種泰國原生柿子、*D. kaki*、*D. lotus*、*D. virginiana*、*D. rhombifolia*、*D. oleifera* 親緣關係發現，*D. kaki*、*D. lotus*、*D. virginiana* 遺傳相似關係為較接近，而 *D.*

*rhombifolia* 則與 *D. oleifera* 較為接近；Guo 等(2006)利用 IRAP (inter-retrotransposon amplified polymorphism)與 REMAP (retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism)來分析 27 種柿子，其成功辨識次郎和前川次郎與富有和松本早生富有，其中次郎與前川次郎兩者遺傳相似性為 99%，再者又分析了 *D. virginiana*、*D. lotus* 與 *D. kaki* 遺傳相似性發現兩者並不像上述學者(Nakamura 和 Yenomeri)所認同其兩者遺傳相似度較為接近，在此 Guo 認為 *D. virginiana* 與 *D. rhombifolia*，而 *D. lotus* 則與 *D. glaucifolia* (浙江柿)較為接近；由上述可以得知對於 *D. virginiana*、*D. rhombifolia*、*D. lotus* 種柿子與 *D. kaki* 種柿子遺傳相似性結果並不一致；而次研究顯示出與 Guo 較相符合，認為 *D. virginiana*、*D. rhombifolia* 與 *D. kaki* 遺傳相似性並非接近。再者本試驗中所分析富有與次郎的芽變品種遺傳相似性值遠較其他學者分析來的略低(本研究-93.6-95.7%；Guo-98-99%)，其原因可能與 Mueller 和 Wolfenbarger 曾提到 RAPD、AFLP 和 RFLP 等多種分子標誌之優缺點有關，其指出 RAPD 有 DNA 片段移位問題，而 AFLP 則無此項缺點(Muller and Wolfenbarger, 1999)；黃(2005)曾提到 RAPD 分子標誌雖操作方便，但其因所使用序列短、再現性與穩定性低所以正確性遭受到質疑。而另一值得注意為台灣種 *D. oldhamii* 在遺傳樹狀圖中顯示較接近栽培柿(*D. kaki*)，這是其他學者研究報告中未曾提及的種，此與謝(2002)曾提出 *D. oldhamii* 種親緣較台灣其他野生柿接近栽培種柿子結果相同；而另兩試驗品種大葉砧木與 *D. kotoensis* 親緣相似性與栽培種是有些距離，尤其以 *D. kotoensis* 距離最為疏遠。

同樣種在不同位置採集遺傳性質會因實生繁衍而呈現出遺傳差異，此研究使用了 *D. japonica* 與 *D. oldhamii* 作為試驗對象，*D. japonica* 採自南投與台中，*D. oldhamii* 採自南投與高雄，藉此研究同種柿子在野外遺傳差異性，經 RAPD 分析兩兩相似性發現 *D. japonica* 種相似度極高，達 90.8%，而 *D. oldhamii* 種相似度為 81.1%。

較特別的為蜂屋其遺傳相似度在群叢分析中顯示出與甜柿屬同一亞群，而非歸類與澀柿同一亞群，另一豐原甜柿是屬於甜柿，而在群叢分析中顯示與不完全甜柿品種為同一亞群，此兩品種遺傳相似性關係的特異點值得進一步探討。

許多研究報告均指出山豆柿(*D. japonica*)與富有柿(*D. kaki*)品種有嚴重的嫁接不親和現象，而山豆柿若作為四周柿或牛心柿根砧則無不親和現象產生，另外有學者指出若以四周柿或牛心柿嫁接富有柿亦有不親和現象產生，在此試驗中所得 *D. japonica* (台中)與富有柿、四周柿和牛心柿遺傳相似性為 16.6%、30.8%和 30.0%，而四周柿和牛心柿和富有柿間相似性均為 37.7%，相較之下遺傳相似關係對嫁接不親和關係不是絕對。而日本地區為解決富有柿嫁接在菱葉柿上有親和性問題產生，以西條柿作原本供作砧木之菱葉柿當中間砧來解決親和性問題，此試驗結果得知西條柿與富有柿相似性 43.4%，而菱葉柿與西條柿相似性為 17.5%，比較下仍缺乏遺傳相似性與嫁接親和直接關係；綜合嫁接親和性與遺傳相似性關係可以發現嫁接不親和產生與遺傳相似性並無絕對相關性，但無庸置疑的是分類上種越接近的作物一般對嫁接親和性越佳，此結果與王(1978)所提出親緣關係越近植物嫁接存活一般越容易，但嫁接親不親和與親緣遠近並不是絕對關係之理念相同。

## 參考文獻

- 上原敬二。1971。樹木大圖說Ⅲ。有明書房。日本東京 p. 630-649。
- 淺見与七、梶浦実、森英男、永尺勝雄。1971。新選原色果物圖說。養賢堂。日本東京 p. 245-285。
- 農山漁村文化協會。1986。果樹全書。農山漁村文化協會。日本東京 p. 185。
- 農山漁村文化協會。2000。果樹園藝大百科。農山漁村文化協會。日本東京 p. 5-86。
- 遠藤融郎。1987。力牛品種名鑑。日本果樹種苗協會。日本 p. 1-143。
- 台北農產運銷股份有限公司。2004。果菜運銷統計年報。臺北農業運銷股份有限公司。台灣台北 p. 336-368。
- 朱長志。1957。中國果樹分類學。台灣省立農學院出版委員出版。台灣台中 p. 223-226。
- 行政院農業委員會。2004。農業統計年報。行政院農業委員會。台灣台北 p. 92-93。
- 艾倫·J。科莫斯。1996。樹木圖鑑。貓頭鷹出版社。台灣台北 p. 223-227。
- 吳耕民。1981。中國溫帶果樹分類學。農業出版社。中國北京 p. 320-338。
- 張致盛。2001。柿子品種之介紹。台中區農業改良場特刊第 50 號 p. 11-19。
- 倪正柱。1997。特殊穗砧組合促進柿子矮化及著果研究。提昇果樹產業競爭力研討會專集 III。臺灣省臺中區農業改良場。台灣台中 p. 285-287。
- 廖勇為。1988。落葉果樹分類學。五洲出版社。台灣台北 p. 247-255。
- 劉業經。1972。台灣木本植物誌。中興大學農學院。台灣台中 p. 534-537。
- 劉業經、呂福原、歐辰雄。1994。台灣樹木誌。中興大學農學院。台灣台中 p. 544-550。
- 王勝鴻。1978。接木不親和性。科學農業 26: 241-246。
- 林榮貴。2001。柿的栽培-柒 生理落果的原因及其預防對策。農業世界 215: 49-52。
- 林榮貴。2001。柿的栽培-參 砧木的選擇與嫁接親和性。農業世界 211: 81-83。
- 黃國華。2005。保育類中藥材基因資料庫的建立及保育類中藥材基因鑑定晶片之研發。中醫藥年報 23(7): 1-20。
- 溫英杰。1995。農家要覽農作篇(二)落葉果樹七-柿。豐年社。台灣台北 p. 191-198。
- 溫英杰。2002。參加第二屆國際柿子研討會報告。農業試驗所技術服務季刊 49: 3-50。
- 蔡巨才。1998。柿嫁接不親和性對生長之影響。中國園藝 44(1): 11-28。
- 謝東佑。2002。台灣產柿樹科植物之訂正。興大園藝 27(2): 1-22。
- 謝照忻。1953。苗栗縣地方有用樹木誌。國立中興大學。台灣台中 p. 65-66。
- Cardena, R., G. R. Ashburner, and C. Oropeza. 2003. Identification of RAPDs associated with resistance to lethal yellowing of the coconut palm (*Cocos uncifera* L.). *Sci. Hortic.* 98: 257-263.
- Guo, D., H. Zhang, and Z. Luo. 2006. Genetic relationships of *Diospyros kaki* Thunb. and related species revealed by IRAP and REMAP analysis. *Plant Sci.* 170: 528-533.

- Kumar, L. S. 1999. DNA markers in plant improvement: An overview. *Biotech. Advance.* 17: 143-182.
- Lin. Y., X. Dexing, L. Shanjun, L. Laishui, and Y. Fanghong. 1998. The anatomical feature observation of 'Fuyu' persimmon grafted with some rootstocks. *Acta Agri. Univ. Jiangxiensis.* 20: 394-397.
- Luo, S., P. He, X. Zheng, and P. Zhou. 2002. Inheritance of RAPD markers in an interspecific F<sub>1</sub> hybrid of grape between *Vitis quinquangularis* and *V. vinifera*. *Sci. Hortic.* 93: 19-28.
- Mueller, U. G. and L. L. Wolfenbarger. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Tree* 14: 389-394.
- Nakamura, Y. and S. Kobayashi. 1994. DNA restriction fragment length variability in *Diospyros kaki* and related *Diospyros* species. *HortScience* 29(7): 809-811.
- Williams, J. G. K., R. S. Reiter, R. M. Young, and P. A. Scolonik. 1993. Genetic mapping of mutations using phenotypic pools and mapped RAPD markers. *Nucl. Acid. Res.* 21: 2697-2702.
- Yamada, M., K. Yoshinaga, H. Yamane, and T. Sumi. 1997. Dwarfing effect of the Rootstock of *Diospyros rhombifolia* Hemsl. on the tree growth of 'Fuyu' Japanese persimmon. *Acta Hort.* 436: 295-304.
- Yamagishi, M., S. Matsumot, A. Nakatsuka, and H. Itamura. 2005. Identification of persimmon (*Diospyros kaki*)cultivars and phonetic relationships between *Diospyros* species by more effective RAPD analysis. *Sci. Hort.* 105: 283-290.
- Yonemori, K., D. E. Parfitt, S. Kanzaki, A. Sugiura, N. Utsunomiya, and S. Subhadrabanhu. 1996. RFLP analysis of an amplified region of cpDNA for phylogeny of the genus *Diospyros*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64: 771-777.

## Assessment of Genetic Diversity among Persimmon Germplasms by RAPD Markers and Morphological Traits

Jia-Yu Tang <sup>1)</sup> Cheng-Chu Nee <sup>2)</sup> Ien-Chie Wen <sup>3)</sup> Hsin-Fu Yen <sup>4)</sup>

Key words: *Diospyros*, morphological, RAPD

### Summary

This study discusses genetic diversity of 45 persimmons germplasm in 7 *Diospyros* species of Ebenaceae by morphological traits and RAPD (randomly amplified polymorphic DNA). In morphology characteristics, the result shows of variation in leaflet color, flower sex expression, fruit weight, fruit color, and tannins volume were large. Some special characteristics can be used of cultivars distinguish, like leaflet color of 'Shy Jou' was pale brown green. For rootstock persimmon kinds and Taiwan Native persimmon were dioecism, and 'Nab Gua' was hermaphrodite. In leaf shape of *D. rhombifolia* was diamond. *D. kotoensis* was greenish black in fruit color and black in pulp. In fruit shape of 'Fude Gaki' was narrow ellipse, 'Aoso' was the egg circular. In concentric cracking around apex of 'Kayro' was strong.

In RAPD analysis, DNA bands construct the construction similar tree by UPGMA cluster analysis could divide of 45 persimmons into 2 groups. First group constitutes by *D. virginiana*, *D. japonica*, *D. rhombifolia*, *D. morrisiana*, *D. kotoensis*, and 'Da Ye'. Second group constitutes by *D. oldhamii*, *D. kaki*, rootstock of Japan. It indicates the genetic relationship of *D. virginiana* and Taiwan native persimmon were in the same group, and the genetic relationship of *D. oldhamii* was close to *D. kaki*. It indicates *D. oldhamii* was closer to *D. kaki* in evolution.

In this study, persimmon germplasm could be done for basis identification by morphology characteristics as leaflet color, flower sex expression, and fruit shape. RAPD showed effective to identify 45 persimmon cultivars in this study, it is helpful for analysis the germplasm genetic diversity.

---

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

3) Associate Researcher, Taiwan Agricultural Research Institute.

4) Associate Researcher, National Museum of Natural Science.