

五、生物技術之開發與應用

建立茄科重要性狀之分子標誌 — 番茄抗黃化捲葉病毒基因

孫永偉

番茄黃化捲葉病毒 (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) 是由粉蝨傳播的重大病害。本研究係於文獻上及基因庫中發表之序列資料，設計合成可檢測TYLCV病毒基因及 *Ty-1*、*Ty-2*、*Ty-3* 基因引子對。經過 PCR 試驗及電泳分析後，試驗結果顯示在目前的材料中，已建立 *Ty1*-SCAR 分子標

誌，可擴增 *Ty-1* 抗病基因 300 bp 之 DNA 條帶，可擴增 *ty-1* 感病基因 200 bp 之 DNA 條帶。已建立 *Ty2*-TYLCV-SCAR 分子標誌，可擴增 *Ty-2* 抗病基因 850 bp 之 DNA 條帶，可擴增 *ty-2* 感病基因 750 bp 之 DNA 條帶，可擴增 TYLCV 病毒基因 550 bp 之 DNA 條帶。已建立 *Ty3*-SCAR 分子標誌，可擴增 *Ty-3* 抗病基因 550 bp 之 DNA 條帶，可擴增 *ty-3* 感病基因 250 bp 之 DNA 條帶。上述分子標誌可協助育種者早期篩選抗病植株及確認抗病基因型 (R/R、R/S、S/S)，提高育種效率。

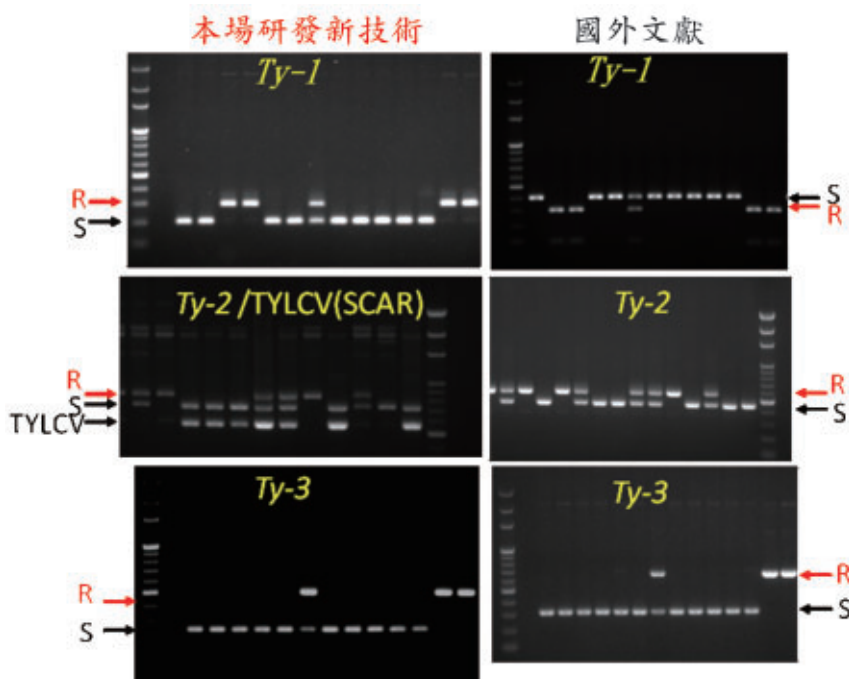


圖 5-1、比較國外文獻與本場研發檢測番茄抗黃化捲葉病毒基因 (*Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, TYLCV) 專一性分子標誌之差異性，本技術正辦理技術移轉

二 番茄抗斑點萎凋病毒基因型之分子鑑定

莊淑貞、孫永偉、鍾文全

番茄為世界性的重要經濟作物之一，在台灣栽培面積維持在 5000 公頃左右。番茄斑點萎凋病毒病，為番茄溫室栽培的主要病害之一，近年更有蔓延的趨勢。番茄斑點萎凋病毒主要透過薊馬取食病株的途徑傳染，不同作物間亦會造成交叉感染，如 1991 年台南地區的番茄受西瓜 TSWV 的感染而造成嚴重損失（Green and Chou, 1991）（Yeh et al., 1992）。番茄斑點萎凋病毒病，危害症狀變化大，從苗期到成株各部位均可感染呈現症狀，Sw5 抗性基因控制下接種 TSWV 的反應呈現無病斑或僅限制性過敏反應。

選育抗病品種一直是番茄育種的重要目標，傳統以接種的方式所進行的抗病性檢定，除了要有一定的設施隔離避免病原外傳污染外常須要較長的時間及較多的人力物力，而且會因為環境條件、接種技術等的影響而導致鑑定結果不穩定。因此育種家致力於不同的且安全的技術的開發，目前分子標誌技術為抗病基因早期篩選有利的方法之一，因此開發分子標誌不但有利於國內番茄產業的穩定成長也可提高番茄種子外銷的競爭力。

本試驗完成在 Sw5 基因位置上建立分子標誌並利用 F2 族群分析抗性基因之分離情形，結果栽培種中之 Sw5a 與 Sw5b 抗性基因表現連鎖關係，F2 族群基因型（圖 5-2）分離比為 15:44:22 接近 1:2:1 並已運用於大量樣品基因型檢定。

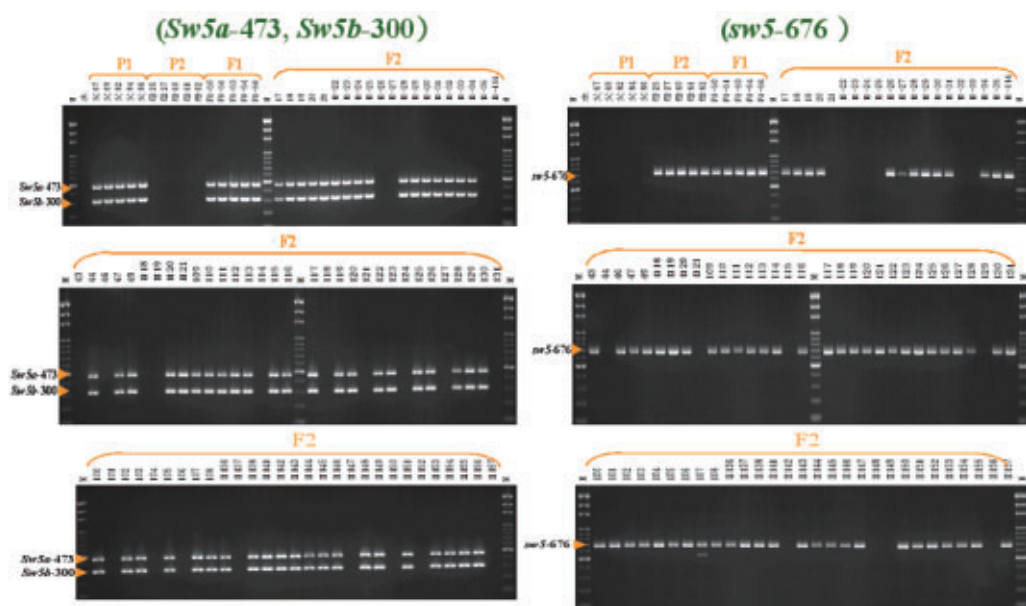


圖 5-2、番茄抗斑點萎凋病毒病基因型之分子鑑定，F2 族群 81 單株基因型電泳圖

木瓜性別相關基因及其分子標誌之建立

張惠如、邱展臺

本試驗由屏東種苗研究中心邱展臺先生提供材料，計有 A1（種苗七號*菲律賓 6005 品種之雜交後代）與 A68（吉隆坡瓜*種苗七號自交系之雜交後代），其上述二個雜交組合之 F1 單株，分別編號：A1-1、A1-3、A1-4、A1-5、A1-7、A68-4、A68-5、A68-6、A68-7。並取前述 F1 單株之 F2 種子 40 顆，密植於田間觀察其性別性狀表現（如表 5-1）。由調查結果發現 A1-1、A68-4、A68-5 此三個單株為非全兩性株；A1-3、A1-4、A1-5、A1-7、A68-6、A68-7 則為全兩性株。取此九個 F1 單株的植株葉片為試驗材料。由 DNA 層次進行分子標誌的篩選工作，期望能獲得與全兩性性狀相關之分子標誌。經過多組的 SSR 及 RAPD 引子 PCR 試驗篩選，電泳分析結果發現：目前所設計之 SSR 引子對在各試驗材料間，不具有差異性條帶。而 RAPD-PCR 試驗分析結果發現：有一組 UBC-726 引子在具全兩性性狀之（A1-3+A1-4+A1-5+A1-7）、

（A68-6+A68-7）與不具全兩性性狀之 A1-1、（A68-4+A68-5）的試驗材料間有差異性條帶的出現（圖 5-3）。

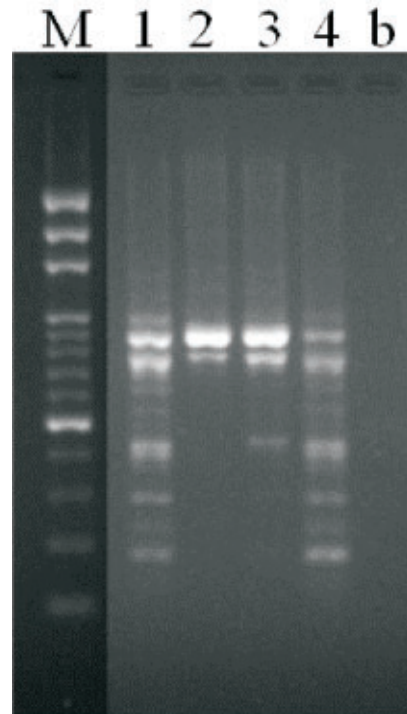


圖 5-3、M：marker；1：全兩性性狀（A1-3+A1-4+A1-5+A1-7）；2：非全兩性性狀（A1-1）；3：非全兩性性狀（A68-4+A68-5）；4：全兩性性狀（A68-6+A68-7）；blank 水

表 5-1、木瓜 F1 單株試驗材料編號與 F2 後代植株性別調查表

	A1-1	A1-3	A1-4	A1-5	A1-7	A68-4	A68-5	A68-6	A68-7
兩性株	21	35	36	37	34	22	23	38	35
雌株	9	0	0	0	0	11	11	0	0

四 番木瓜種苗七號全兩性株調控基因分析與產業應用

李美娟、簡怡文、邱展台、張惠如
鍾文全

番木瓜是重要的經濟果樹，具雌株、雄株及兩性株三種性型植株。利用染色體定位，配合番木瓜不同株性，分析番木瓜 9 條染色體，期能找出 X 及 Y 染色體，藉以做為選殖性別控制基因之主要目標染色體及 DNA 序列區，以提供育種上早世代選拔之分子標誌及未來利用基因轉殖技術產生全兩性株新品系。本年度完成 9 個木瓜品系雜交或自交或回交之相關世代，完成建立番木瓜染色體螢光原位雜交技術（圖 5-4），並完成搜索番木瓜基因體或相關基因序列共 14 筆，據此分析完成組裝一 2200bp 大小之序列進行探針合成，作為後續染色體雜合定位研究。於控制木瓜全兩性株分子機制探討方面，利用顯微鏡觀察木瓜三性型花朵形態及花粉活力，在 0.2 公分花苞中，三性型均已發育基本構造。於 7 月到 9 月試驗期間，比較全兩性株（種苗七號）之正常兩性花與雌蕊退化花之花粉充實度，結果後者較穩定，後者 7 月充實率 77.3-85%，9 月充實率 63.8%。一般兩性株（日陞）之正常兩性花 7 月之花粉充實率約 85%，較九月高；全雄株（種苗七號×佛羅里達 F8-8/F8-9）9 月採樣之充實度約 70%。FDA 螢光反應與花粉充實度之結果一致。經由高通量定序結果顯

示，在種苗七號全兩性、日陞雌株雌花及全雄株 RNA 序列分別為 44,486,120、38,565,358 及 40,290,084 條。再由軟體進行功能性比對後，木瓜三性型差異表現基因，包括轉錄因子、花藥專一性及逆境反應相關蛋白等。挑選 30 組以上具差異表現之基因進行 real-time PCR 分析後，具有 92% 的基因符合定序結果，且各基因間皆有差異性。於木瓜全兩性株基因體定序研究方面，收集已發表的木瓜基因體初稿（Hawaii and CpGDB papaya genome draft），業已匯整成檔案。全兩性基因近同源系材料之選育，將以現有種苗七號（No. 7）與日陞一般兩性（SR）進行雜交（F1），再持續與種苗七號（No.7）或日陞一般兩性（SR）回交，以育成與全兩性相關之近同源系，方完成木瓜全兩性性狀基因遺傳細定位試驗規劃（圖 5-5）。以高通量定序儀進行全兩性株（種苗七號）基因體定序，獲得 45 Gbp 的定序資料，覆蓋率（coverage）達到 120 倍，超過當初所預期。進行初步木瓜基因體組裝，獲得 45646 contigs，最大的 contig 是 423Kbp，總長度是 287Mbp。也試著使用 Hawaii Papaya 的木瓜基因體初稿為參考，來強化木瓜種苗七號基因體組裝工作。本年度全兩性近同源系木瓜回交選育工作，目前已完成種苗七號與日陞一般兩性之雜交 F1 性別調查；而全兩性性狀近同源系回交選育，已完成 15 個品系回交輪迴親（日陞一般兩性）授粉。為調查雜交後代何品系為全兩性品系，已將自交 F2 族群 14 個品系種植於田間，待後續植株性別調查。

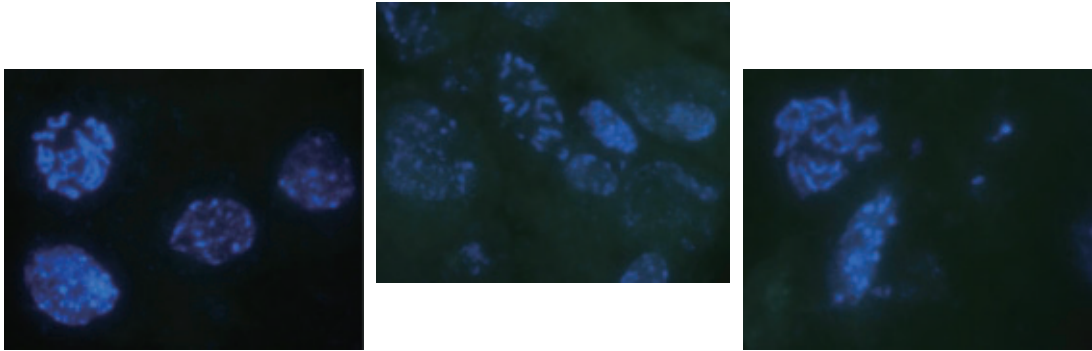


圖 5-4、番木瓜以 DAPI 螢光染色之染色體

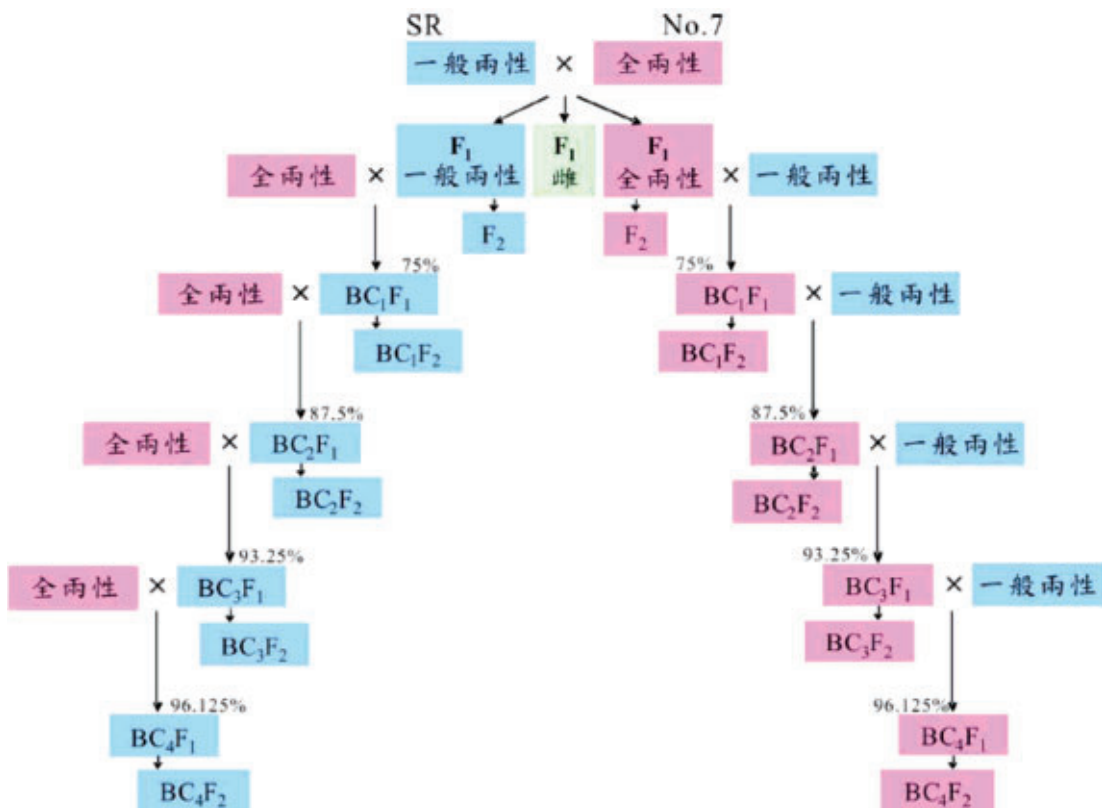


圖 5-5、全兩性基因近同源系材料之選育。利用種苗七號（No.7）與日陞一般兩性（SR）進行雜交（ F_1 ），再持續與種苗七號（No.7）或日陞一般兩性（SR）回交，以期育成與全兩性相關之近同源系。 F_2 ：為 F_1 品系自交後代； $BC_{(1-4)}$ ：雜交 F_1 品系與親本回交之代數（1-4 代）

五 蝴蝶蘭及朵麗蝶蘭商業品種 SSR 分子標誌技術開發

張惠如、張岳隆、劉明宗、安志豪

本試驗以蝴蝶蘭與朵麗蝶蘭為目標作物，應用分子生物原理與技術，建立重要品種（系）的 SSR 分子識別標誌。進行試驗之 18 個黃底斑紋花系蝴蝶蘭（含朵麗蝶蘭）商業品種之花型與花色如表 5-2。依據本實驗室先前試驗所獲得之相關序列資料，經由簡單重複序列（Simple Sequence Repeat, SSR）區域分析軟體，設計 SSR 引子對序列，共設計有 59 組 SSR 引子，並以具品種權保護及其對照品種之 18 個試驗材料進行具差異性分子標誌篩選。由 Acrylamide 電泳分析結果發現，共有 12 組 SSR

引子對在試驗材料間具有多型性，其中利用 4 組 SSR 引子對所產生的分子標誌可區分此 18 個黃底斑紋花系試驗材料（圖 5-6）。未來將擴大試驗材料族群並利用螢光標定引子後以次世代定序儀進行毛細管電泳分析，以確認所建立之 SSR 分子標誌的鑑別能力。

另委託嘉義大學生物農業科技系張助理教授岳隆針對蝴蝶蘭（*Phalaenopsis* spp.）品種進行 SSR 分子識別標誌開發，利用高通量定序獲得大量基因組序列資料後，再以特定軟體 SSRIT 找到簡單序列重複（simple sequence repeat, SSR）片段的結構，設計共 100 組 SSR 引子。並以 52 種蝴蝶蘭材料（包括 6 種原生種蝴蝶蘭）之篩選多型性條帶，目前結果顯示，有 10 組的 SSR 引子多型性的資料可作為蝴蝶蘭品種的辨識用途。

表 5-2、18 個黃斑花系朵麗蝶蘭與蝴蝶蘭材料其代號與名稱

申請/對照	公開案號	中文品種名	英文品種名
申請品種	660	鎮宇 501	Dtps. KV Charmer 'Zhen Yu501'
對照品種	C660		Phal. Brother Girl 'Brother'
申請品種	699	大中 61	Dtps. Fusheng Sweet Paradise 'TM61'
申請品種	720	鎮宇 5705	Dtps. KV Charmer 'Zhen Yu 5705'
申請品種	804	一心陽光美女	Dtps. I-Hsin Sun Beauty 'I-Hsin Sunny Beauty'
對照品種	C804		Dtps. I-Hsin Sun Beauty "KHM1080"
申請品種	827	世芥 F-1143	Dtps. Sogo Maria 'Sogo F-1143'
申請品種	890	鎮宇 503	Dtps. KV Charmer 'Zhen Yu503'
申請品種	962	台大小猴子	Dtps. Taida Little Monkey
申請品種	965	鎮宇 柯 5	Dtps. KV Charmer 'Zhen Yu Ko5'
申請品種	1003	一心 KHM 1499	Dtps. I-Hsin Spot Leopard 'I-Hsin KHM1499'
申請品種	1060	太陽鸚鵡	Dtps. Fusheng Sweet Paradise

表 5-2、18 個黃斑花系朵麗蝶蘭與蝴蝶蘭材料其代號與名稱（續）

申請/對照	公開案號	中文品種名	英文品種名
申請品種	364	世芥金莎	Phal. Sogo David 'F-891'
申請品種	460	世芥琥珀 F-802	Phal. Sogo Firework 'Sogo F-802'
申請品種	518	美達虹星	Phal. Dou-dii pride 'Mei Dar Red Star'
申請品種	661	鎮宇 5701	Phal. KV Beauty 'Zhen Yu5701'
申請品種	662	鎮宇 5707	Phal. KV Beauty 'Zhen Yu5707'
申請品種	727	小甜心	Phal. Charm Sun Mini Sweetie 'Mini Sweetie'

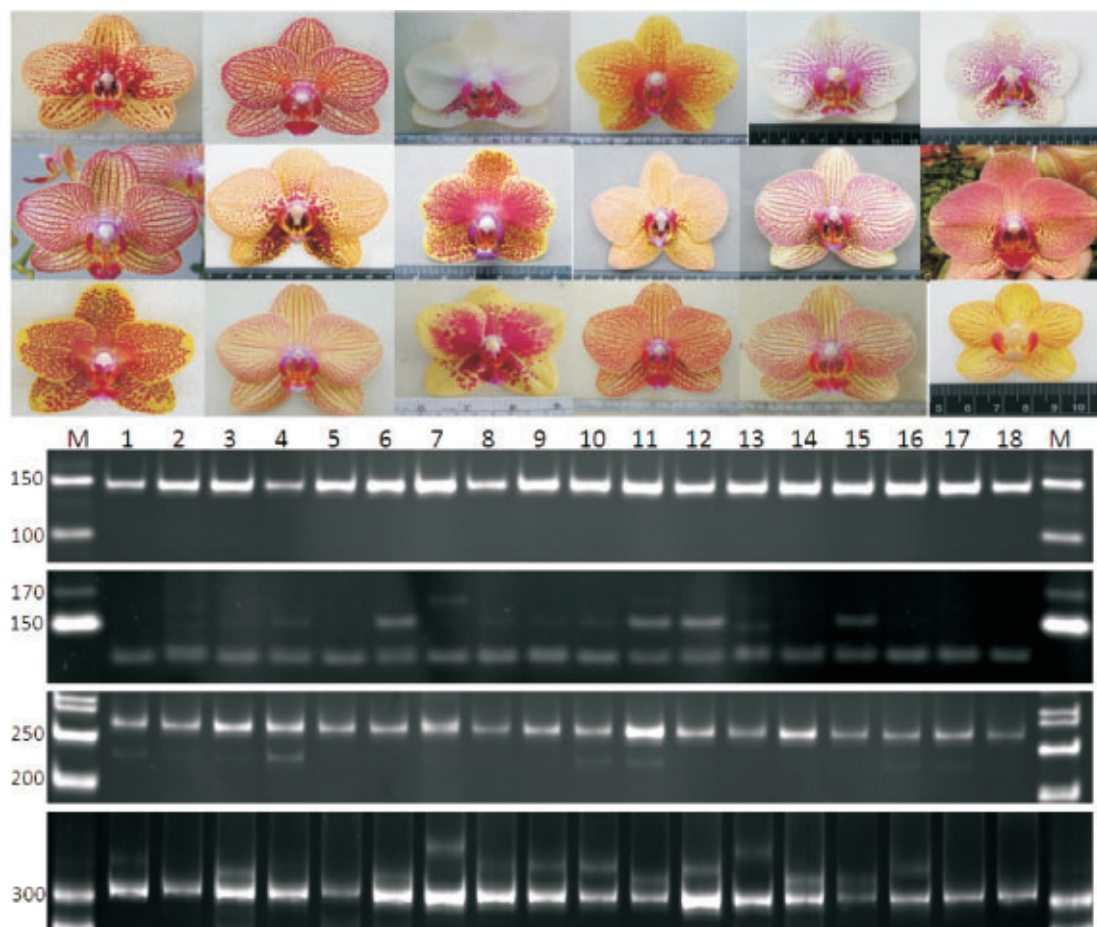


圖 5-6、Acrylamide 電泳分析結果，利用 SSR 分子標誌篩選 18 個黃斑花系朵麗蝶蘭與蝴蝶蘭品種之差異性條帶。

六 春石斛擬原球體之誘導和增殖

張珈錡、廖玉珠

為加速春石斛種苗之繁殖，提升我國春石斛之外銷潛力，本場擬運用組織培養技術開發春石斛種苗量產繁殖之方法，其中擬原球體（protocorm-like-body）再生途徑，因具有繁殖倍率高之優點，已廣泛的應用於蘭科作物之健康種苗生產。本研究結果顯示，取春石斛瓶苗之莖頂，培養於添加 4 mg/L NAA 之 1/2 MS 培養基，對莖頂誘導擬原球體形成之效果最佳，誘導率達 36.4%（表 5-3）。而觀察誘導之擬原球體，繼代培養於含有不同有機添

加物之 1/2 MS 培養基中之發育情形，結果顯示培養基中添加 1g/L 活性碳或 100 ml/L 椰子汁較有利於擬原球體增殖，其增殖比例分別為 77.0%和 62.0%，而添加 4 g/L 馬鈴薯粉則有助於擬原球體發育為芽體，其芽體形成比例達 69.0%（表 5-4）。基於上述試驗結果，進一步將春石斛擬原球體培養於添加 1 g/L 活性碳、100 ml/L 椰子汁和 20 g/L 蔗糖之 1/2 MS 培養基，於培養 2 個月後擬原球體之平均鮮重由 0.82g 增加為 8.41g，平均鮮重增加率達 931.2%（圖 5-7）。本研究初步建立春石斛擬原球體誘導和增殖之方法，其培養生長情形如圖 5-8，未來期應用於春石斛種苗之量產繁殖。

表 5-3、NAA 對春石斛擬原球體誘導之影響

Concentration of NAA (mg/L)	Number of inoculated explants (No.)	Number of explants forming shoots (No.)	Number of explants forming PLB (No.)	Percentage of explants forming PLB (%)
2	22	14	3	13.6
3	24	16	4	16.7
4	22	9	8	36.4
5	22	11	4	18.2

表 5-4、不同有機添加物對春石斛擬原球體發育之影響

Medium	Percentage of survival PLB (%)	Percentage of PLB proliferate PLB (%)	Percentage of PLB forming shoot (%)
CK	84.4	47.8	55.6
Active carbon (1g/L)	96.0	62.0	54.0
Iced banana juice (80g/L)	48.0	38.0	20.0
Coconut milk (100ml/L)	93.0	77.0	57.0
Potato powder (4g/L)	86.0	55.0	69.0
Fresh banana juice (80g/L)	66.0	35.0	39.0

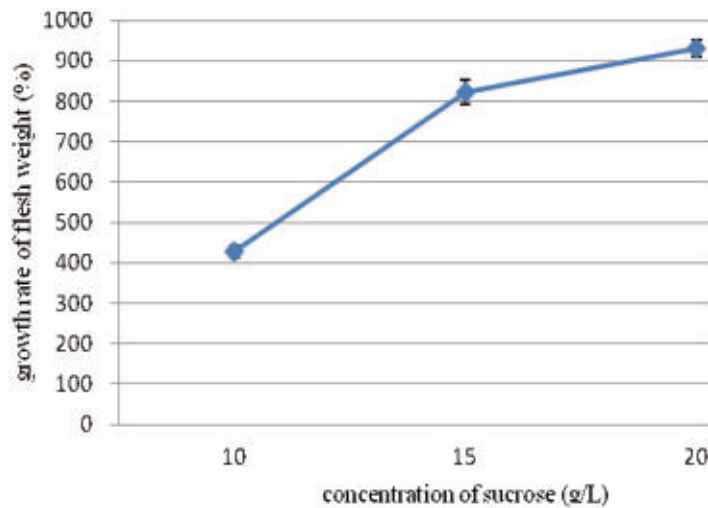


圖 5-7、蔗糖濃度對春石斛擬原球體增殖之影響

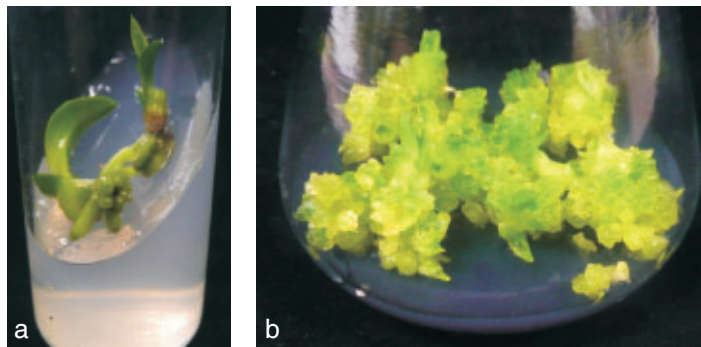


圖 5-8、春石斛擬原球體之誘導 (a) 與增殖 (b)

七 不同切割方式及培養基成份對仙履蘭瓶苗增殖之影響

廖玉珠、張珈鈺

本試驗以仙履蘭 *Maudiae* Type (穎川蘭園代號 44115) 開花株側芽經初代培養後之瓶內芽體為培植體，於無菌操作台內將每個培植體分別以縱切（但芽體不切

離）、分割（芽體切分為兩半）、橫切等三種不同切割方式（圖 5-9），培養於每公升含香蕉粉 20 克、馬鈴薯粉 4 克、椰子汁 100ml 之 $1/3$ MS 培養基中，每處理 3 瓶，每瓶 10 個培植體。探討不同切割方式培養於含不同有機物質之培養基中對仙履蘭瓶苗增殖之影響。經 6 個月培養後，調查結果顯示：以縱切不分割方式平均褐化率 32% 最低，增殖倍數 2.6 最高；其次為橫切

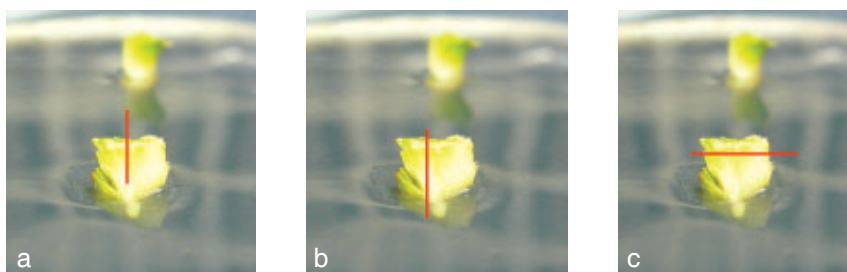


圖 5-9、仙履蘭培植體不同切割方式：a. 縱切、b. 分割、c. 橫切

表 5-5、仙履蘭培植體以不同切割方式培養於含不同有機物質之培養基中對其增殖之影響

培養基	切割方式			增殖倍數		
	縱切	分割	橫切	縱切	分割	橫切
椰子汁	0%	85%	41%	4	0.4	2.0
馬鈴薯粉	20%	73%	45%	1.5	0.3	1.6
香蕉粉	75%	72%	68%	1	0.6	0.9
平均	32%	77%	51%	2.16	0.4	1.5

方式平均褐化率 51%，增殖倍數 1.5 倍；分割方式平均褐化率 77%，增殖倍數 0.4 倍最差。就培養基成份而言：以培養基中含椰子汁之縱切方式，其褐化率 0% 最低、增殖倍數 4 最高；培養基中含馬鈴薯粉，以縱切方式褐化率最低，分割方式增殖倍數最低，但增殖倍數縱切與橫切並無明顯差異；若培養基中含香蕉粉，則以橫切方式褐化率最低，分割方式增殖倍數亦最低，但增殖倍數縱切與橫切並無明顯差異（表 5-5）。

因此依據試驗結果顯示，仙履蘭瓶內增殖以縱切方式培養基中含椰子汁之處理效果最佳。

八 種子（苗）品質純度分子檢測技術研發

莊淑貞、孫永偉、鍾文全

因應 WTO 全球化的挑戰種子（苗）產業需高度精密之技術及高額之資本投入，才更有競爭力，100 年除了五大農業生技園區總值即上看 290 億外加上台灣幾大種子公司的種子（苗）產值則更不止於此。種子（苗）是農業產業之母，種子（苗）商品品質純度管控方面，高品質的種用種子除了健康且具高發芽活力外，爲了提高推廣品種的商業競爭能力，所供應種子的純

度亦為高品質的指標。一般以外表形態進行遺傳純度分析鑑定的時候，除須要廣大的田間種植且須達一定的生長期加上外表形態易受栽培環境的影響等鑑定執行上的困難外加上檢定作業的冗長、繁複且限制種子（苗）即時供銷。如能在種子期或苗期即能由其外表型態特性或生化特性進行純度識別為最佳，因此許多早期快速的檢定方法有期建立的需要。其中分子標誌的機會在於僅用少量的植體材料在植物生長的早期即苗期或種子期即可進行分析鑑定。

分子標誌技術結合在種子（苗）產業的品質管理模式，應用於組織培養及田間的量產純度管理，有助於種子（苗）產業在台灣의深耕及隨科技進步而達不同面向的品質提升。種子（苗）產業的各個階段結合嚴謹的技術管理，除有助於提升產業永續的發展也提高消費者對產業的信，並

對結合技術管理的新種苗產業寄予厚望。本計畫擬以茄科如番茄等作物為基礎，逐年建立雜交種子（苗）品質純度分子檢測管理體系以營造優質種子產業環境，提昇產業國際化競爭力。

本研究以種苗公司自有 4 個小果番茄雜交品種之雜交組合（兩親本及雜交一代）為材料，100 組 ISSR 通用引子中篩選出 6 組 DNA 標誌分別存在父本與 F₁ 或母本與 F₁，無法對 F₁ 材料單獨進行識別。利用 SCAR 方法對 6 組 DNA 標誌進行條帶回收、定序及專一性引子設計並對引子專一性進行確認。本計畫並進行 Multiplex-PCR 最佳反應條件建立，共開發 1 組 Multiplex-PCR 具條帶專一性的引子組，可同時對所收集的種苗公司自有 4 個小果番茄雜交品種之 F₁ 種子純度進行自交母本種子及父本種子之檢出（圖 5-10）。

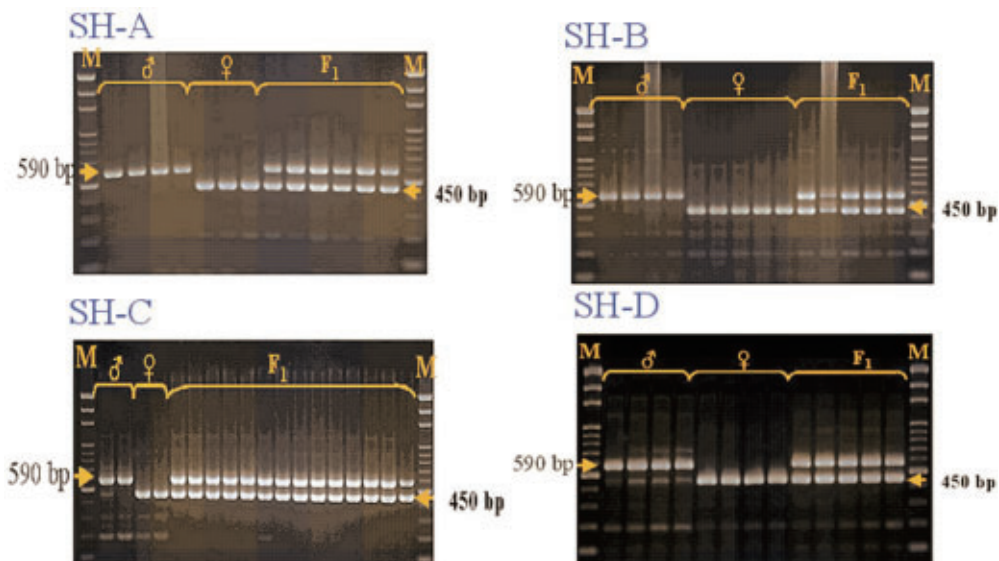


圖 5-10、分子識別標誌組 2，在 4 個雜交番茄品種（SH-A~D）之雜交組合（父本、母本及 F₁）的識別標誌電泳圖。

九 分子標誌運用於輔助育種、品種保護與品種純度之技術盤點與產業應用研究

孫永偉、張惠如、鍾文全

本研究以輔助育種、品種保護與品種純度為分析方向，並以茄科、葫蘆科、十字花科、萵苣、大豆及蝴蝶蘭等作物為目標，分別收集及盤點 89 年以後國內外相關研究報告，彙整已成熟或將成熟之分子標誌技術並提出缺口技術。

輔助育種部分，主要針對茄科作物番茄與番椒；葫蘆科作物黃瓜、甜瓜、西瓜、苦瓜；十字花科作物甘藍、青花菜、花椰菜；菊科作物萵苣等。番茄已成熟技術，如抗黃化捲葉病毒基因（*Ty-1*、*Ty-2*、*Ty-3* 等）、抗斑點萎凋病毒基因（*Sw-5*）、抗菸草嵌紋病毒基因（*Tm-1*、*Tm-2*）、抗晚疫病基因（*Ph-1*、*Ph-2*、*Ph-3* 等）、抗萎凋病基因（*I1*、*I2*、*I3* 等）、抗葉霉病基因（*Cf-1*、*Cf-2*、*Cf-4*、*Cf-5*、*Cf-9* 等）、抗根瘤線蟲基因（*Mi-1*、*Mi-2*）等。缺口技術有：抗胡瓜嵌紋病毒基因、抗病毒基因、抗粉蝨基因及抗逆境基因等。番椒已建立抗馬鈴薯 Y 病毒基因分子標誌（*pvr1*、*pvr2*、*pvr3*、*pvr4*、*pvr5*、*pvr6*）、抗斑點萎凋病毒（*Tsw*）、抗菸草嵌紋病毒（*L1*、*L2*、*L3*、*L4*）、抗細菌性斑點病基因（*Bs1*、*Bs2*、*Bs3*）、抗疫霉病基因、抗根瘤線蟲基因（*Me1*、*Me2*、*Me3*、*Me4*、*Me5* 等）、辣椒素基因（*Pun1*）、雄不稔基因等。缺口技術有：抗胡瓜嵌紋病毒基因、抗炭疽病基因、

抗病毒基因、耐儲運控制基因等。葫蘆科作物目前已有初步成果：甜瓜抗胡瓜嵌紋病毒基因、西瓜抗小西葫蘆黃瓜花葉病毒、黃瓜及甜瓜抗白粉病基因、黃瓜抗黑星病基因甜瓜抗蔓割病基因（*Fom-1*、*Fom-2*）、甜瓜抗蔓枯病基因、黃瓜全雌基因、黃瓜單偽結果基因等。技術缺口為所有葫蘆科作物抗病基因分子標誌。十字花科作物相關基因資訊較少，目前已有初步成果：青花菜抗霜霉病基因、青花菜抗白粉病基因、甘藍及花椰菜抗黑腐病基因、十字花科雄不稔性基因、花椰菜自交不親和性基因、甘藍延緩抽苔基因等。技術缺口所有十字花科作物抗病基因分子標誌。萵苣已開發輔助育種之分子標誌相當少，技術缺口有：萵苣抗病蟲、耐熱及耐鹽基因分子標誌。

品種保護部分，蝴蝶蘭品種分子鑑定技術多使用 RAPD、ISSR 及 SSR 等，ITS 檢測技術可應用於品種親緣分類。毛豆品種鑑定及親緣分類使用 RAPD、ISSR、SSR 技術。缺口技術，急需開發廣效性特殊分子標誌，可同時鑑定相同作物所有（或多數）品種，協助保護本國出口品種之品種權。

品種純度鑑定部分，各種作物如番茄、辣椒、西瓜、甜瓜、苦瓜、甘藍及花椰菜等，商業 F1 種子純度之分子鑑定大多利用 RAPD、ISSR、SRAP 及 SCAR 等技術鑑定，多數品種多能鑑定區別，但不同商業品種鑑定必須個別開發專一性分子標誌。缺口技術，急需開發廣效性特殊分子標誌，可利用 1~數組分子標誌鑑定作物所有（或多數）商業品種，協助進出口種子公司鑑定商業種子純度。

十 基因轉殖玉米花粉飄散模式之研究

沈翰祖、郭寶錚

利用花粉直感效應模擬基因轉殖玉米花粉飄散，並計算被污染之穀粒數來判定是否發生基因流動的現象（圖 5-11），以黑糯玉米黑美珍（模擬基因轉殖品種玉米）做為花粉貢獻親，白糯玉米玉美珍當做花粉接受親，紀錄開花期時之田間氣象資料，觀察白糯玉米被污染之比例。試驗田區規模 0.5 公頃，南北長 50m、東西寬 100m，田區中央種植花粉貢獻親，長 10m×寬 100m，南向與北向部分種植接受親，大小皆為南北向 20m×東西向 100m，行株距為 75×30cm。抽樣的方式為在每 5m 設一個樣本點，每個樣本點抽樣 3 株玉米，共抽樣 47 行，共 998 個樣本點。

黑美珍吐絲期的風速和風向如圖 5-12，和各行的異交率如表 5-6。可以看到離花粉親 0.75m 遠的上風處異交率為 10.12%，但在下風處的異交率受到風向的影響，

異交率為 13.15%，隨著離花粉親的距離增加，異交率都有驟降的趨勢，整體而言，在離花粉親 14.24m 遠的異交率已經非常低。

過去的研究指出，玉米的異交率和飄散距離間的模式配適可分為 3 種，分別為 exponential function、polynomial function、polynomial 10 power function，把田間資料配適這 3 個模式的結果如表 5-7，無論是何種模式， R^2 大約等於 0.67，MSE 等於 0.0002，顯示模適配適情況良好，再把配適結果繪製成圖 5-13，更可以清楚看到回歸線的資料走向的趨勢一致。



圖 5-11、在白糯玉米上出現的黑色硬粒

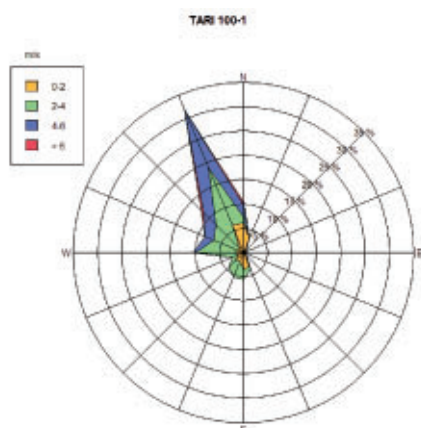


圖 5-12、玉美珍吐絲期的風向和風速圖

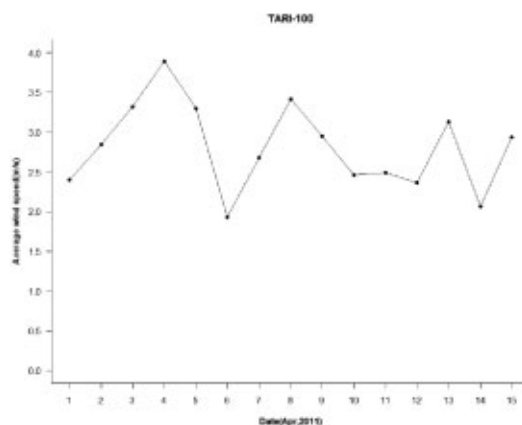


表 5-6、各距離 (m) 下之異交率 (%)

方位 距離	全部	貢獻親左方	貢獻親右方
0.75 (m)	11.64±6.553	10.12±6.565	13.15±6.334
2.25	1.16±1.243	1.02±1.452	1.30±1.012
3.75	0.59±0.602	0.47±0.559	0.70±0.634
5.25	0.24±0.286	0.31±0.351	0.18±0.190
6.75	0.17±0.170	0.16±0.156	0.18±0.186
8.25	0.10±0.128	0.06±0.111	0.14±0.133
9.75	0.14±0.180	0.12±0.176	0.15±0.187
11.25	0.12±0.206	0.11±0.150	0.12±0.252
12.75	0.10±0.206	0.07±0.080	0.14±0.277
14.25	0.08±0.159	0.08±0.187	0.09±0.130
15.75	0.09±0.130	0.10±0.149	0.09±0.112
17.25	0.09±0.120	0.08±0.106	0.09±0.120
18.75	0.09±0.110		0.09±0.110

表 5-7、不同模式配適結果

model	R ²	MSE
exponential function	0.6704	0.000262
polynomial function	0.6797	0.000255
polynomial 10 power function	0.6749	0.000259

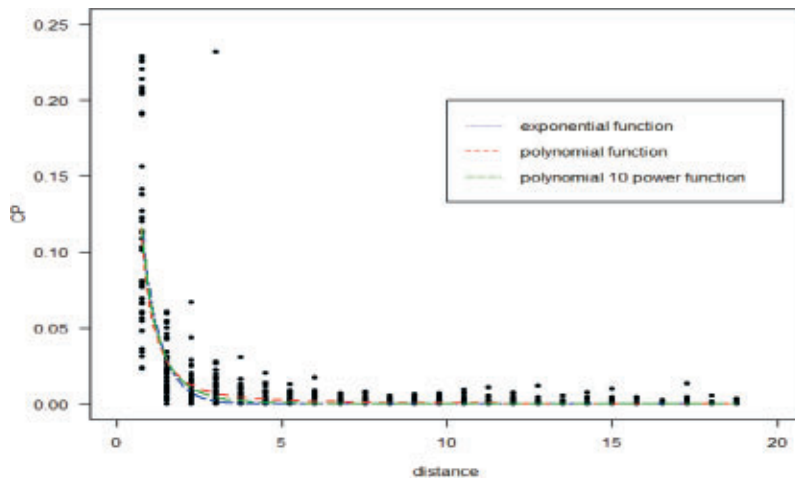


圖 5-13、不同模式配適結果

十 基因轉殖作物種苗檢測監測體系之建立

張珈錡、沈翰祖、莊淑貞、孫永偉
廖玉珠、張惠如、鍾文全

全球基因轉殖作物栽培面積逐年增加，對生態環境與人體健康所可能產生的衝擊，廣泛的受到世界各國的關切及重視。我國業已制定植物種苗法和基因轉殖作物田間試驗管理規範，進行基因轉殖作物進出口及相關試驗研究之管理。本計畫目的即為落實我國對基因轉殖作物之管理，建構基因轉殖作物及產品的檢測技術與生物安全平台，針對可能進口之基因轉殖作物研發取樣及檢測技術，並採取適當的管理措施。本計畫於 97 年首先通過全國認證基金會（Taiwan Accreditation Foundation，TAF）認證之基因轉殖作物檢測實驗室，辦理國內基因轉殖作物檢測業務，並蒐集歐盟基因

轉殖大豆品項 6 種、玉米品項 20 種之參考樣品，建立其檢測技術及流程。在基因轉殖大豆檢測方面，已建立標準檢測流程和定量檢測方法，基因轉殖大豆檢測敏感度達含量為 0.1% 之樣品均可檢出。而在基因轉殖玉米檢測方面，現已完成基因轉殖玉米檢測技術之建立，將進一步建立其標準檢測流程。此外，本計畫亦開發一套實驗室電腦條碼管理系統，將有助於簡化執行認證實驗室之文書工作，大幅提升管理效能。



圖 5-14、本場基因轉殖作物檢測實驗室通過 TAF 認證之證書

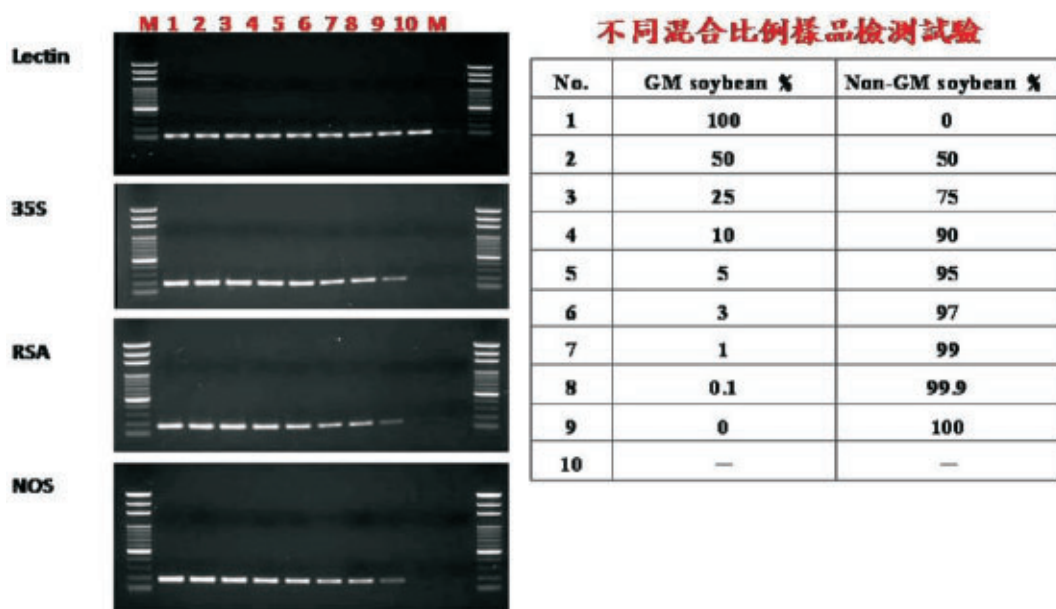


圖 5-15、基因轉殖大豆種子 Roundup Ready 不同重量百分比製作標準樣品之檢測敏感度試驗。M: Marker.

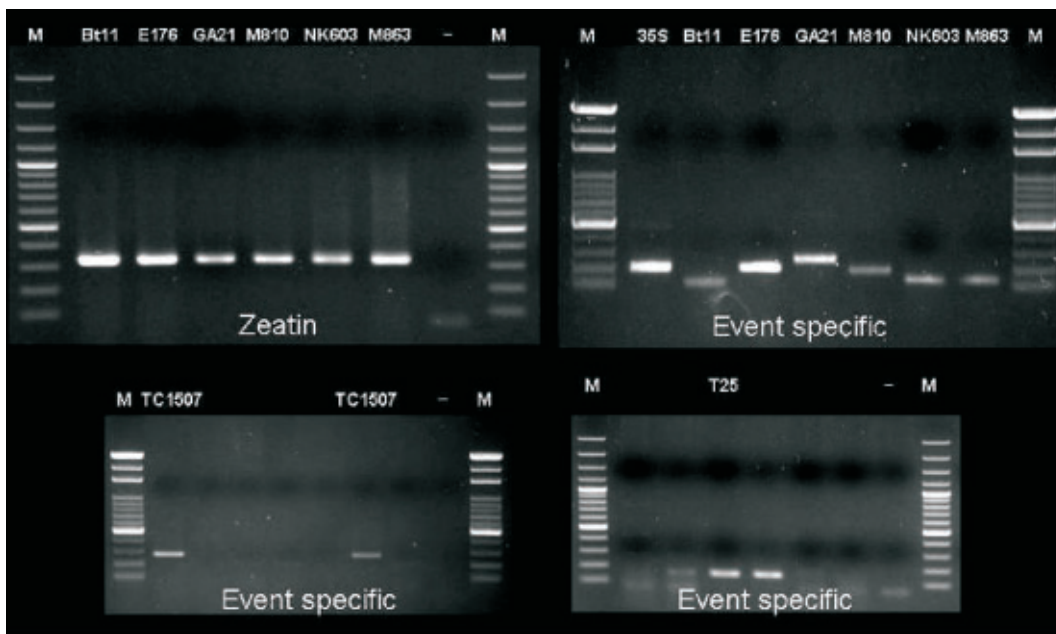


圖 5-16、基因轉殖玉米種子 Bt11、E176、GA21、MON810、NK603、MON863、TC1507、T25 檢測結果 M：Marker.