

一、生物技術之開發與應用

一 作物特定性狀分子標誌之建立

莊淑貞、黃俊杉、楊佐琦、張義弘

胡瓜為重要的夏季蔬菜種類，目前國內栽培面積約為三千餘公頃，小胡瓜約占一半的栽培面積，中南部為主要產區，尤其是高屏地區栽培最多，並以設施栽培為主。由於設施栽培能使作物在有利的條件下發揮最大的生產潛力，設施栽培胡瓜具有生長快速、提早收穫、增加產量、提高品質及減少病蟲害發生等優點。一般而言，胡瓜結果過程需要媒介昆蟲授粉才能使得果實發育生長，全雌性及單偽結果特性的應用可以節省人工或蜜蜂授粉的生產

成本。

單偽結果特性受不完全顯性基因Pc所控制，使胡瓜果實的發育不須經過授粉的步驟加上無種子果實果囊較小有利於切片加工出售，在歐洲價格比一般胡瓜高上10倍左右。

胡瓜單偽結果性早期鑑定之建立，試驗結果顯示，胡瓜育種材料可能受環境影響，單偽結果性表現不穩定異於前一年度調查的結果。胡瓜不同強度單偽結果性F₂集團分離無法判定。胡瓜不同果期RT-PCR篩選出之專一性引子，在胡瓜F₂集團單株之Cucu-157GY3-760標誌表現多型性，但應用於單偽結果性的判定仍不足。

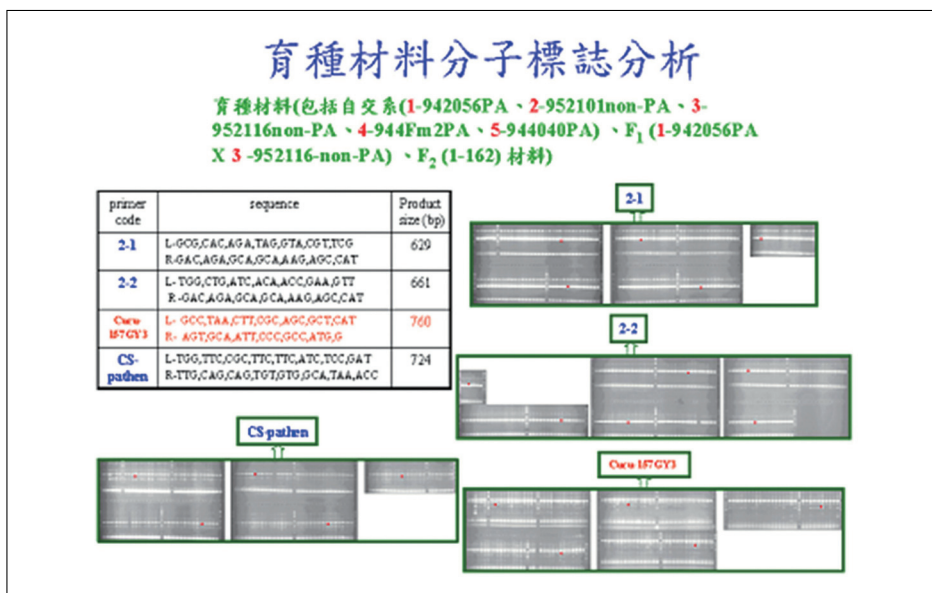


圖1-1、胡瓜育種材料分子標誌分

二 番茄新品種檢定技術開發

莊淑貞、郭宏遠、楊佐琦、張義弘

番茄屬茄科番茄屬，學名 *Lycopersicon esculentum* Mill，為一至二年生草本，是世界性重要蔬菜，全球每年生產逾15億噸。由於富含維他命A、B1、B2、C、E及茄紅素，經醫學及營養學研究報導，番茄有益人類健康。台灣近年來由於生活水準提高，對高營養價值之蔬果購買力很強，番茄因其營養豐富、風味佳且食用方便，頗受消費者青睞。同時，番茄汁飲料也大為盛行，成為目前最受歡迎的園藝作物之一。消費市場需求日益增加，促使生產面積迅速成長，台灣栽培面積目前都維持在每年3500-5000公頃左右。為了滿足消費者的嗜性、氣候土宜及抗病蟲害，育種家不斷育成新品種也活絡整個種子苗市場。

隨著聚合酵素連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 技術的提出及分生技術的進展，使分子標誌技術僅使用少量的DNA材料即能對園藝特性的表現進行早期鑑定，這些方法包括RAPD (random amplified polymorphic)、ISSR (inter simple sequence repeat) 及 AFLP (amplified fragmentlength polymorphism) 等。因此本試驗擬由DNA的層次積極建立分子標誌技術對番茄品種進行早期鑑定。

開發番茄新品種檢定技術，初步利用大果與小果番茄之F₁組合進行100組ubc-ISSR引子篩選。建立番茄ISSR-PCR的反

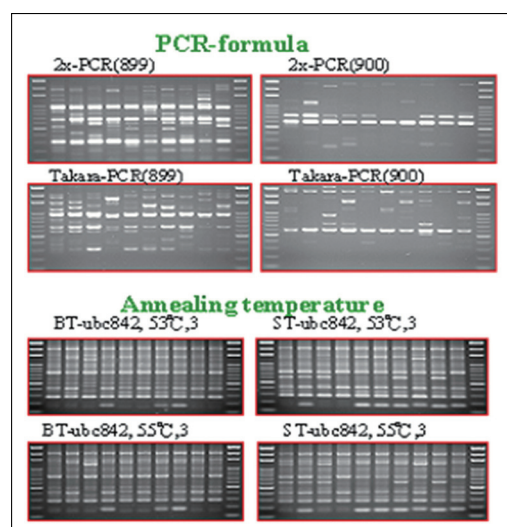


圖1-2、番茄不同摻合溫度及配方電泳分

應條件及初步篩選出共20組ISSR引子、30個標誌具多型性。利用大果與小果番茄之F₁組合進行RAPD分子標誌多型性引子篩選，參試的Operon引子共180組除了建立番茄RAPD-PCR的反應條件外初步篩選出共41組RAPD引子、54個標誌具多型性。

三 基因轉殖植物檢測技術標準化

沈翰祖

根據2007年之ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications) 統計資料，全世界基因轉殖作物之種植面積已達1億2千萬公頃，轉殖作物及其產品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關切並重視。本場為能建立基因轉殖植物檢測監測技術標準化，進而與國際接軌，故推

動檢測進行標準認證。其中針對國內可能種植之基因轉殖作物，申請符合國際規範並具有公正、獨立、透明認證機制之全國認證基金會 (Taiwan Accreditation Foundation, TAF) 的認證，以落實基因轉殖作物之檢測監測制度，確保各項檢驗結果之準確性，故依據國際品保標準 ISO/IEC 17025 建立運作品質管理系統。生物技術課基因轉殖木瓜之檢測已於97年7月取得TAF生物領域之測試實驗室認證(圖1-3)，於同年10月種苗場以「基因轉殖植物檢測監測標準化」為題，榮獲經濟部標準檢驗局第九屆全國標準化獎之團體標準化獎(圖1-4)。檢測實驗室的標準化包括技術的標準化以及管理層面的標準要求，技術與管理二者相互配合才能達到實質標準化的意義，亦即以管理的手段來達



圖1-3、種苗改良繁殖場生物技術課已於97年7月22日取得TAF生物領域之測試實驗室認證



圖1-4、種苗改良繁殖場於97年10月榮獲經濟部標準檢驗局第九屆全國標準化獎之團體標準化

到確保檢測技術無誤、檢測結果正確、檢測品質提升的目的，因此本場生物技術課即以「精準」、「效率」、「服務」為我們的品質政策。未來將陸續把基因轉殖玉米、大豆等檢測項目納入TAF認證的範圍之內。

四 作物特定性狀分子標誌建立及功能性基因選殖

孫永偉、張惠如、鍾文全、李美娟、
楊佐琦、張義弘

1. 番茄抗根瘤線蟲基因型之分子鑑定

本研究設計2組特殊專一性primer sets，primer set#1及primer set#2，直接進行

PCR反應，無須再使用限制酶作用，即可快速鑑定番茄抗根瘤線蟲之基因型。研究結果顯示，利用primer set#1進行PCR反應，可將同質結合基因型抗病株 (R) 擴增出480 bp之DNA條帶，可將同質結合基因型感病株 (S) 擴增出700 bp之DNA條帶，可將異質結合基因型抗病株 (R) 擴增出480及700 bp之二條DNA條帶。利用primer set#2進行PCR反應，可將同質結合基因型抗病株 (R) 擴增出680 bp之DNA條帶，可將同質結合基因型感病株 (S) 擴增出170 bp之DNA條帶，可將異質結合基因型抗病株 (R) 擴增出170及680 bp之二條DNA條帶。

2. 木瓜花器分化與性別相關基因及其分子標誌之建立

在木瓜花器分化基因方面：觀察轉CpMADS3基因之轉基因煙草開花情形及花器構造，發現與未轉基因煙草植株並無差異。根據前人研究之與之前實驗所得的序列分析結

果，推論可能因為CpMADS3基因屬於E群基因，而E群基因需與其他MADS box基因共同作用調控花器發育。因此，僅轉殖CpMADS3基因的轉植株對於花器構造可能無明顯影響。

而在木瓜全兩性性狀基因方面：利用所建立之木瓜性別相關基因鑑別品系，抽取胚珠及胚囊組織蛋白質，進行蛋白質二維電泳分析。目前所得結果需進一步以專業性軟體分析；尋找具差異性的蛋白質點，以進行後續的實驗研究分析。



圖1-5、轉殖CpMADS3基因片段煙草與對照組開花情形

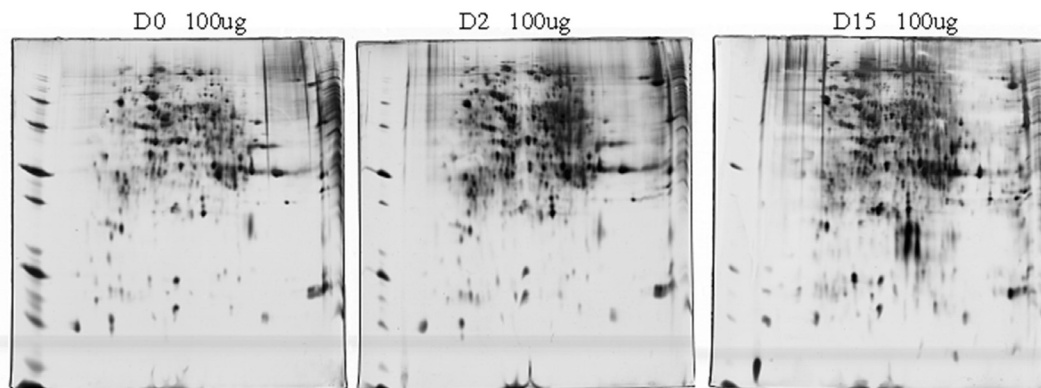


圖1-6、D0、D2與D15木瓜鑑別品系之胚珠與胚囊組織蛋白質二維電泳分析圖



圖1-7、枯草桿菌(*Bacillus thuringiensis*) AiiA 基因在晶片上之表現(白點與紅點)

3. 多功能因晶片之製成與應用

利用Combi設計法合成20組有益微生物(枯草桿菌、放線菌、木黴菌及螢光細菌)專一性功能基因探針,其Tm值落在68-70℃。進行枯草桿菌AiiA基因、放線菌Chitinase及glucanase基因和螢光細菌與木黴菌二次代謝物基因黏合溫度、不同DNA量及PCR配方等一系列試驗,完成枯草桿菌AiiA基因、放線菌Chitinase及glucanase基因最佳的晶片PCR反應條件。各基因晶片反應條件與晶片雜交等試驗,完成晶片不同雜交溶液、雜交溫度、雜交時間及雜交溶液清洗的最佳化條件。最後進行枯草桿菌AiiA基因與螢光細菌二次代謝物基因(phlA)的測試,此晶片可有效偵測到枯草桿菌AiiA基因表現,但卻無法

偵測到螢光細菌二次代謝物基因(phlA)的表現。

五 春石斛微體繁殖技術之建立

廖玉珠

春石斛為總狀花序,花朵數多且花色繁多,色彩鮮豔,頗具觀賞價值,近年來國內已有業者自行育種,其種苗可以假鱗莖之高芽或莖段扦插無性繁殖,但種苗品質不一。本試驗擬以微體繁殖技術,獲得大量品質一致之春石斛種苗。取23個品系新長出之芽體之莖頂、莖節及基部經殺菌後,分別培養於含2ppm之kinetin之MS中調查成活率及繁殖率。結果顯示:以莖頂

表1-1、不同節位之芽體對春石斛初代培養之影響

部位	總數	褐化數	發霉數	成活數	褐化率%	發霉率%	成活率%
莖頂	49	15	0	34	30.61	0.00	69.39
基部	29	6	5	18	20.69	17.24	62.07
1節	17	3	2	12	17.65	11.76	70.59
2節	11	2	1	8	18.18	9.09	72.73

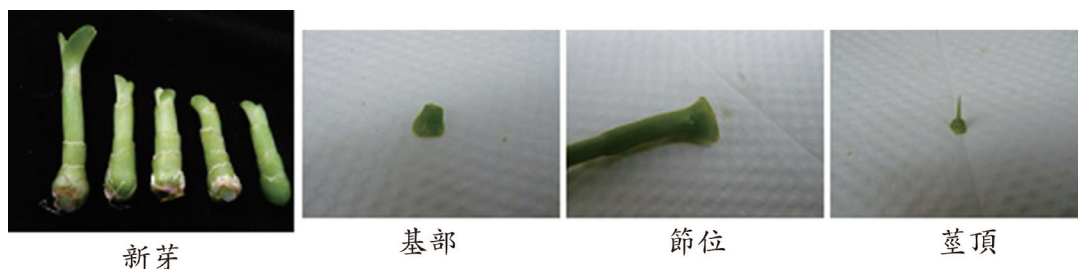


圖1-8、不同節位及莖頂之春石斛初代培養

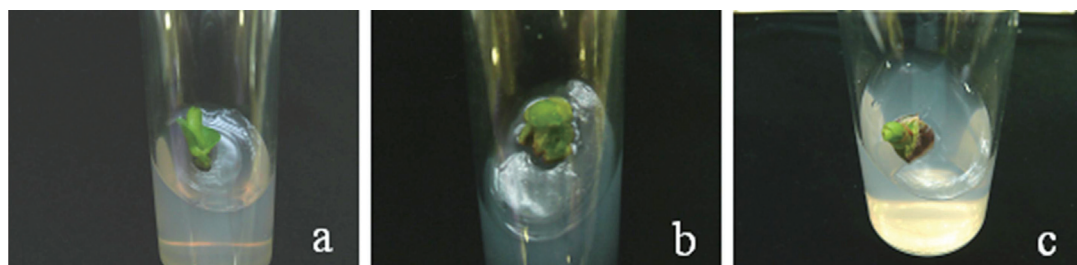


圖1-9、不同節位及莖頂之春石斛初代培養之生長情形。a：莖頂長成正常之植株；b、c：基部節位綠色膨大之情形

部位之成活率最高可達70%。不同節位之芽體進行初代培養(圖1-8)，基部及第一、二節位雖成活率62-72%(表1-1)，但有些品種只有綠色膨大無正常植株(圖1-9)，初代及第一次繼代培養共有10個品系褐化，成活之13個品系，以頂芽成活率最高，且有叢芽現象，基部培養只有4個品系長出植株(圖1-10)。

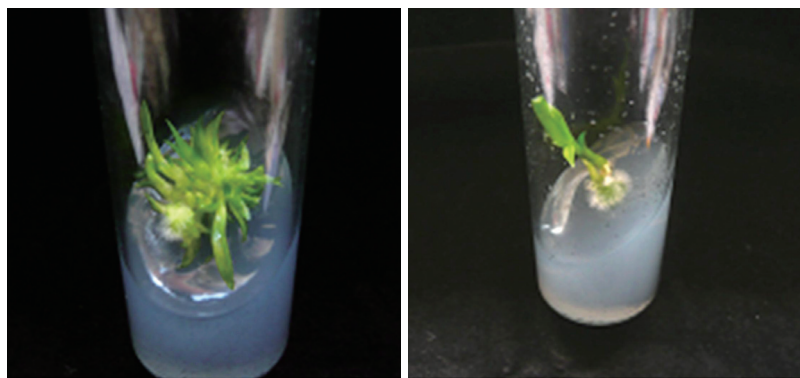


圖1-10、繼代長成叢芽及長出植株之情形