

## 五、生物技術之開發與應用

### 一 木瓜種苗 7 號品種特異性標誌開發

陳哲仁、簡怡文、邱燕欣、李美娟  
張惠如、鍾文全

番木瓜 (*Carica papaya* L.) 俗名木瓜，根據農業統計資料顯示，國內栽培面積約在 3,000 公頃左右，以臺南及屏東為主要產區，番木瓜依據其開花特性可分為雄株、雌株、兩性株等三種性型，商業栽培多採用兩性株，因其可自交受粉果型優良，最具經濟價值。因無法早期鑑別種苗性別，傳統上以每穴種植 3 苗，後俟再摘除留存兩性株，近年由種苗改良繁殖場育成之種苗七號可生產 100 % 兩性株的實生苗，不需再於進行株性鑑別，可節省成本及提高農民收益。

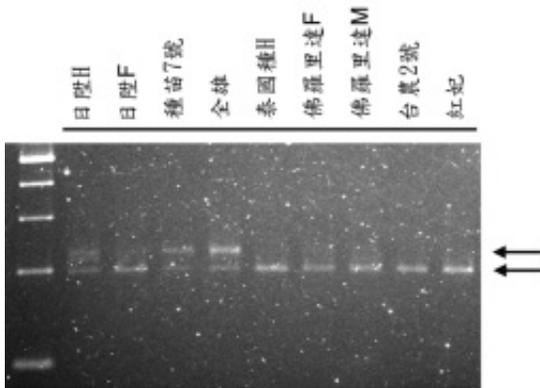


圖 5-1、番木瓜種苗 7 號及其他品種(系) Predicted preotin dCAPS 標誌分析，結果顯示種苗 7 號、全雄品系以及日陞兩性株在此 SNP 位點呈現異質結合基因型，與其他參試品種有所區別

檢索國內外相關文獻在有關番木瓜品種分子鑑定研究較缺，目前多數研究主要考量實際產業應用需求，以性別鑑定標誌為主，由於本場選育之種苗 7 號品種在株性方面為獨特之全兩性態樣圖 5-1，因此，擬由前期委託屏東科技大學及中興大學所進行種苗 7 號株性相關之次世代定序 (NGS) 基因體研究，其中獲得大量不同品種及株性間差異性序列，篩選設計數個分子標誌可作為品種鑑定方面應用。

### 二 水稻品種鑑定與純度分子檢測技術開發

陳哲仁、周佳霖、張仁銓、黃卯昌  
鍾文全

分析 DNA 差異是現今作物遺傳研究的重點，在此領域中分子標誌是非常有用的工具，用以分析作物的遺傳變異和遺傳組成，其中由基因組內 1-5 鹼基以 10-30 套不等的重複次數所組成的微衛星體標誌，又稱簡單重複序列 (simple sequence repeats, SSR) 是最為廣泛利用，也經實驗證明可有效應用於國內水稻良種繁殖田間與室內檢查遺傳變異檢測。

本場 102 年度委辦「水稻品種鑑定與遺傳純度分子檢測」計畫，已開發重複單位為 4 bp 的第二版水稻 SSR 品種鑑定套件及品種資料庫，所建立的套件包含 12 個

SSR 標誌，分散於水稻的 12 對染色體上，以 4 種螢光分別標定由 3 組分子量不同標誌所組成的次群，全部 12 組 SSR 分子標誌可於單次的多重 PCR 反應同步增幅。針對單粒穀粒樣品並以 4% SFR™ 瓊膠進行電泳分析，雖對於產物大小 >300 bp 之樣品，解析度無法達到 4 bp，惟整體結果大致與資料庫中基因型吻合，僅「高雄 144 號」在 RV241 基因座與資料不符（圖 5-2）。另以

Fragment Analyzer™ 單色毛細管電泳系統分析 8 個水稻品種，結果可成功於單次加入單一螢光顏色之引子組合增幅，12 組引子對共需以 4 個 PCR 反應完成，讀值成功的 94 個資料點中，有 33 個讀值與參考標準差距不影響結果判讀之 1 bp，9 個讀值與參考標準雖差距為 2 bp 以上，惟其相對大小皆符合參考標準之大小分佈（表 5-1）。

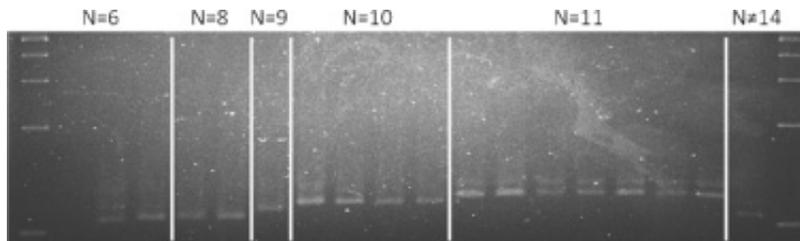


圖 5-2、水稻 SSR 基因座 RV241 不同對偶基因型分析結果，n: 序列重覆次數，Lane 1, 20: 100 bp ladder。

表 5-1、將 12 組 SSR 分子標誌分析 8 個水稻品種之基因型，以 ABI 螢光毛細管電泳系統與 Fragment Analyzer™ 單色毛細管電泳系統讀值之結果。ABI 與 Fragment Analyzer™ 列之數值為實際讀值，單位為 bp；Reference 列之數值為 SSR 重覆次數。

		TNG84	TCS17	TKW1	KH139	KH144	TNGS14	KHS7	TK11
RV211	ABI	103	99	91	95	82 <sup>a</sup>	91	99	99
	Fragment Analyzer™	110	106	98	102	90	98	106	106
	Reference	15	14	12	13	10	12	14	14
RV212	ABI	202	194	198	202	198	194	194	202
	Fragment Analyzer™	192	184	188	191 <sup>a</sup>	187 <sup>a</sup>	183 <sup>a</sup>	183 <sup>a</sup>	192
	Reference	6	4	5	6	5	4	4	6
RV213	ABI	331	315	331	310 <sup>a</sup>	331	392 <sup>b</sup>	315	310 <sup>a</sup>
	Fragment Analyzer™	331	315	332 <sup>a</sup>	310 <sup>a</sup>	331	396 <sup>a</sup>	315	310 <sup>a</sup>
	Reference	14	10	14	9	14	30	10	9
RV221	ABI	178	153 <sup>a</sup>	174	178	174	153 <sup>a</sup>	153 <sup>a</sup>	174
	Fragment Analyzer™	121	99 <sup>b</sup>	118 <sup>a</sup>	121	118 <sup>a</sup>	99 <sup>b</sup>	99 <sup>b</sup>	117
	Reference	12	6	11	12	11	6	6	11

表 5-1 (續)、將 12 組 SSR 分子標誌分析 8 個水稻品種之基因型，以 ABI 螢光毛細管電泳系統與 Fragment Analyzer™ 單色毛細管電泳系統讀值之結果。ABI 與 Fragment Analyzer™ 列之數值為實際讀值，單位為 bp；Reference 列之數值為 SSR 重覆次數。

		TNG84	TCS17	TKW1	KH139	KH144	TNGS14	KHS7	TK11
RV222	ABI	252	215	256	260	240	215	215	256
	Fragment Analyzer™	203a	163a	208	212	190	163 <sup>a</sup>	164 <sup>a</sup>	208
	Reference	15	6	16	17	12	6	6	16
RV223	ABI	410	398	410	410	398	398	398	410
	Fragment Analyzer™	421 <sup>a</sup>	408	421 <sup>a</sup>	421 <sup>a</sup>	408	408	408	421 <sup>a</sup>
	Reference	7	4	7	7	4	4	4	7
RV231	ABI	111	119	111	111	115	115	115	111
	Fragment Analyzer™	108 <sup>a</sup>	115	108 <sup>a</sup>	108 <sup>a</sup>	111	111	111	108 <sup>a</sup>
	Reference	6	8	6	6	7	7	7	6
RV232	ABI	213	160	208 <sup>a</sup>	213	213	160	160	221
	Fragment Analyzer™	208	-	204	209 <sup>a</sup>	208	-	152 <sup>b</sup>	218 <sup>b</sup>
	Reference	15	2	14	15	15	2	2	17
RV233	ABI	279	276	279	279	279	272	272	283
	Fragment Analyzer™	281 <sup>a</sup>	278	282	282	281 <sup>a</sup>	274	273 <sup>a</sup>	286
	Reference	8	7	8	8	8	6	6	9
RV241	ABI	215 <sup>a</sup>	206	210	194	202 <sup>f</sup>	202	206	210
	Fragment Analyzer™	122 <sup>a</sup>	115	119	105 <sup>a</sup>	112 <sup>f</sup>	112 <sup>a</sup>	115	118 <sup>a</sup>
	Reference	11	9	10	6	14	8	9	10
RV242	ABI	138	110	134	138	138	-	110	138
	Fragment Analyzer™	205 <sup>a</sup>	173 <sup>b</sup>	200	204	204	173 <sup>b</sup>	173 <sup>b</sup>	204
	Reference	12	5	11	12	12	5	5	12
RV243	ABI	297	293	305	301	301	293	293	297
	Fragment Analyzer™	299	295	309 <sup>b</sup>	304 <sup>a</sup>	303	295	295	298 <sup>a</sup>
	Reference	10	9	12	11	11	9	9	10

a：實際讀值僅與參考標準(reference)差距 1bp，為可容忍的誤差範圍。

b：實際讀值雖與參考標準差距 2bp 以上，惟其相對大小符合參考標準之分佈。

f：實際讀值與參考標準結果不符。

### 三 馬鈴薯品種分子鑑定

陳哲仁、王至正、張勝智、李美娟

鍾文全

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 屬於茄科植物，根據 FAO 2010 年統計資料，居世界第五大量產作物。在臺灣主要栽培品種為‘克尼伯（大葉種）’，另市面上另有其他流通品種。為了保障育種權益，新品種必須通過可區別性 (Distinctness)、一致性 (Uniformity) 與穩定性 (Stability) 檢定，植物新品種保護國際聯盟 (簡稱 UPOV) 在 2004 年公布以 42 項外部型態作為馬鈴薯品種分類之參考，但是這些生長性狀調查必須在指定機關進行，植株外觀表現容易受到環境因素影響且要求至少要通過 2 個生長週期 (通常耗時 2 年)，因此，開發分子檢測技術替代傳統型態鑑定，降低栽培過程中非預期之人為操作失誤。本試驗選用 9 個 UPOV 建議之 SSR 標誌 (STM0019、STM3009、STM2005、STM3012、

STM3023、STM2028、STM5136、STM5148、SSR1)，進行本場生產及選育品種‘克尼伯’及‘種苗 4 號’等 6 個品種 (系) 基因型鑑別，結果顯示選用之 SSR 分子標誌可有效達成品種鑑別用途 (圖 5-3)。

### 四 基因改造與非基因改造大豆共存栽培制度之研究

陳哲仁、沈翰祖、郭寶錚

大豆為自花授粉及閉花受精的作物，大豆的異交應不是靠風力來達成，根據 2013 年在行政院農業委員會臺南區農業改良場義竹工作站及臺中霧峰地區行政院農業委員會農業試驗所兩地兩期作所進行的豆花粉飄散試驗，認為這些異交的發生應是由昆蟲造成的。此外，所觀察到的異交情況 (圖 5-4)，最遠只發生在距離貢獻親 3 公尺處，此結果與其他各國的調查結果相近，而各國基於這樣的異交結果，認為隔離距離只要 10 公尺便足以達到基因改造大

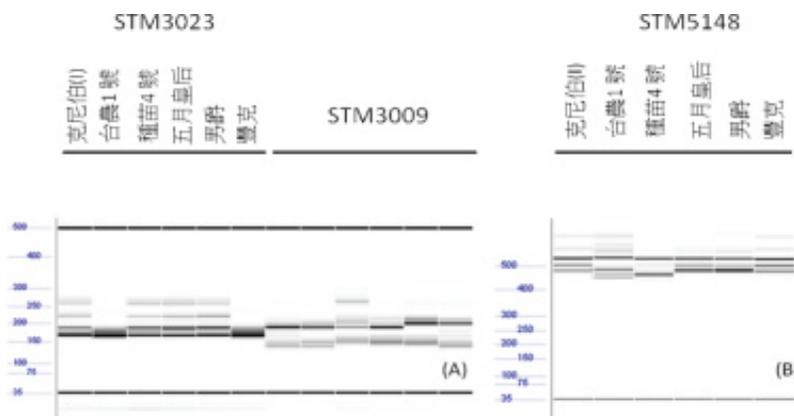


圖 5-3、馬鈴薯克尼伯 (I)、台農 1 號、種苗 4 號以及五月皇后、男爵、豐克等 6 品種 (系)，SSR 基因型鑑別結果，(A) SSR 基因座 STM3023 及 STM3009，(B) 結果顯示 STM5148 可專一性鑑別種苗 4 號。

豆與非基因改造大豆的共存，因此，根據試驗結果與前人研究建議：未來若要引進基因改造大豆在臺灣種植，可將 10 公尺作為參考的隔離距離。在現行的農業操作下，使用隔離距離、花期隔離、利用花粉藩籬或同時使用亦可防止異交。另外農民間彼此協調作物順序及播種期，選擇不同成熟期的品種等，均可改善田間共存的結果，而基因改造專區亦是可考量的方法之一。更重要的，但如要避免基因改造大豆所造成的混雜汙染，保證所使用的非基因改造大豆種子純淨度更為重要。

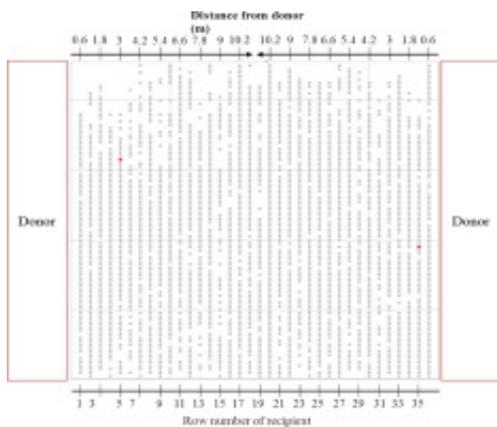


圖 5-4、2013 年霧峰地區秋作的異交情形，灰點表示沒有異交，紅點表示有發生異交。

## 五 加強基因轉殖植物安全管理- 基因轉殖植物之檢測

周明燕、陳哲仁、張惠如、周佳霖

孫永偉、鍾文全

根據 2012 年之 ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications) 統計資料，全世界種植基因轉殖作物

(Genetically Modified Crops, 簡稱 GM 作物) 面積已達 1 億 7 千萬公頃，主要栽培作物依序為大豆、玉米、棉花、油菜。基因轉殖生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，並各自訂有基因轉殖生物與其產製品相關管理法規及相關農產品建構檢測及監測平台。根據我國植物品種及種苗法與其相關管理法規，有關基因轉殖作物在上市前除須進行生物安全評估外，上市後產品除須標示外，亦須接受主管機關監控，以維護國內生態環境與消費者之安全。

本計畫針對可能種植之國內外基因轉殖作物，透過檢測能力建構模式，結合各檢測單位建立聯合檢測監測機制，配合管理單位執行基因轉殖作物管理及檢監測，透過種苗生產與販售業者抽樣調查，逐年建立動態資料，落實基因轉殖作物之檢測監測制度。

103 年度維持各小組成員檢測能力，共進行 2 次基因轉殖木瓜檢測能力試驗、基因轉殖大豆與玉米各 1 次能力試驗，完成基因轉殖檢監測小組木瓜種子檢測技術測試及能力建立。配合農糧署執行基因轉殖栽培管控，本年度共抽檢木瓜種苗生產業者 28 家、契作大豆栽培田 21 區，皆無轉殖標的基因檢出；木瓜田間栽培區不定期抽檢 32 區，發現 2 區有基因轉殖木瓜，已呈報主管機關追蹤。配合農糧署進行基因轉殖作物隔離試驗田品系鑑定，完成「FT 轉殖姬蝴蝶蘭遺傳特性調查」及「基因轉殖白花文心蘭遺傳特性調查及生物安全評估」兩件申請案之品系鑑定分析。

## 六 基因轉殖棉花、番茄、小麥 檢測技術之研究

張惠如、沈翰祖、孫永偉、陳哲仁

周明燕、周佳霖、鍾文全

在棉花檢測樣品前處理及核酸萃取研究中，先收集棉花（含棉籽、棉籽粕等）樣品、樣品處理資料及全球栽培與使用情況等資料，進行樣品前處理觀察及研討，配合不同的樣品量，找出最適合的方法並確認其一致性。本試驗首先利用所收集之棉籽粕及含棉絮棉籽樣品，分別以管柱核酸萃取法及核酸自動萃取機方法進行核酸萃取，萃取後以測量 A260/A280 吸光質的比值與濃度多寡判別萃取方法的效率。由結果發現並考量未來應用時所需花費之檢測成本，以核酸自動萃取機方法最佳。另外，在樣品前處理的部分，比較不同樣態

樣品以均質機進行處理後的分析，結果顯示萃取種仁的核酸品質及濃度最佳；棉絮部分則無法萃取到核酸。而棉花葉片的核酸自動萃取試驗，結果顯示其 A230 吸光值較由種籽樣品高，表示以葉片為核酸萃取材料時，其碳水化合物（如酚類）、鹽類等成分較高。

接續以拜耳公司所提供的去活性基因轉殖棉花商業種子（轉殖品項：LLCOTTON 25、GHB614、GHB119、T304-40）與非基因轉殖棉花種子為試驗材料。將這些試驗材料經均質機作用 30-45 秒後，以核酸自動萃取機方法萃取核酸後，再以歐盟公告之基因轉殖棉花即時聚合酶鏈鎖反應（Real-time polymerase chain reaction, 簡稱 Real-time PCR）檢測方法進行 PCR 定性檢測試驗，並以電泳圖進行結果判定（圖 5-5、圖 5-6）。其結果顯示，利用歐盟所公告之檢測方法，分別可在轉殖品項 LLCOTTON

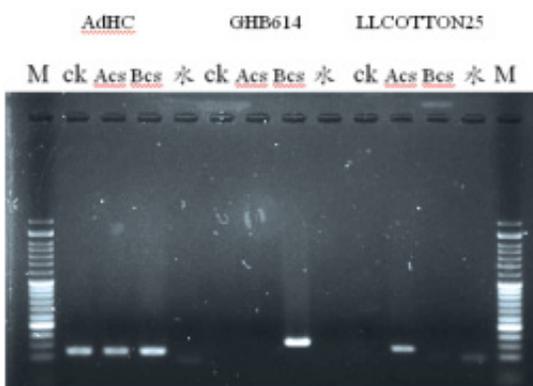


圖 5-5、轉殖品項 GHB614 及 LLCOTTON25 之 GM 棉花 PCR 定性檢測 M：Gen50-Plus DNA Ladder；ck：為非基因轉殖棉花 DNA；Acs (ACS-GH021-3)：為轉殖品項 LLCOTTON25 之棉花 DNA；Bcs (BCS-GH002-5)：為轉殖品項 GHB614 之棉花 DNA；水：DEPC-WATER（空白對照組）

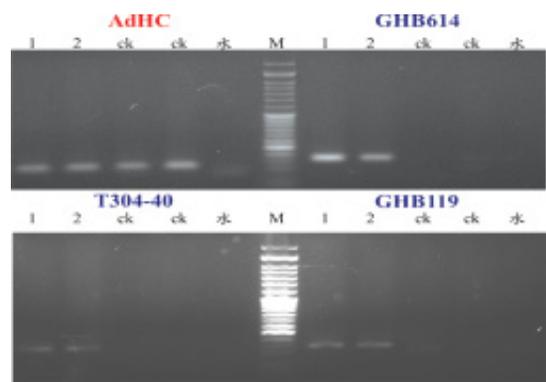


圖 5-6、轉殖品項 GHB614、T304-40、GHB119 之 PCR 定性檢測 M:Marker；ck:非基因轉殖棉花標準樣品；1、2:抗草甘膦、草銨膦除草劑及抗鱗翅目昆蟲基因轉殖棉花種子 (GHB614 × T304-40 × GHB119)；水:DEPC-Water（空白對照組）

25、GHB614、GHB119、T304-40 中，各自得到預期 79 bp、119 bp、90 bp、78 bp 大小的目標片段。經過多次確認試驗後，將轉殖品項 LLCOTTON 25 及 GHB614 之檢測流程方法撰寫成標準作業流程。

## 七 番茄抗萎凋病與菸草嵌紋病毒分子標誌建立與應用

孫永偉、周佳霖、周明燕、張惠如  
陳哲仁、鍾文全

### 1. 番茄抗萎凋病基因型之分子鑑定：

番茄萎凋病為重要真菌性病害，本試驗建立抗萎凋病基因 I-1 及 I-3 之分子標誌。利用 I1-At2 引子組可同時擴增番茄抗病

(I-1) 與感病 (i-1) 基因 150 bp 之 DNA 條帶，將抗感病品種進行 PCR 產物解序後，於序列位置 80 出現差異點，該位置感病核苷酸序列為 C，抗病核苷酸序列為 G，應可作為判斷番茄抗感萎凋病基因 I-1 之 SNP 標誌。利用 I3-P7-CAPS 引子組配合限制酶 NsiI 酶切反應 (圖 5-7)，可擴增抗病基因 (I-3) 380 bp 之 DNA 條帶，感病基因 (i-3) 無此 DNA 條帶出現。此分子標誌檢測結果與亞洲蔬菜中心及國內育種者或種子公司已知抗感性品種吻合。

### 2. 番茄抗菸草嵌紋病毒分子標誌之建立：

菸草嵌紋病毒為菸草鑲嵌病毒屬 (Tobamovirus)，為番茄三大病毒之一。本研究利用亞洲蔬菜中心提供番茄抗感病品種

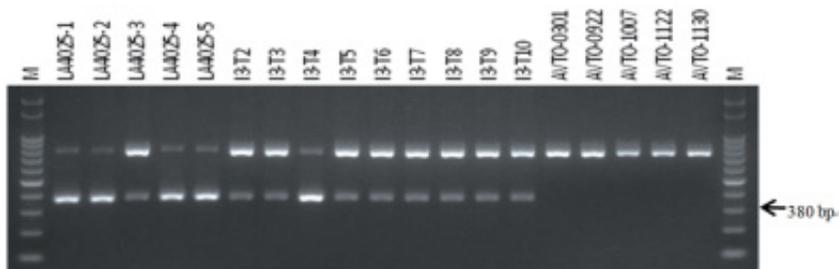


圖 5-7、利用 I3-P7-CAPS 引子組配合限制酶 NsiI 酶切反應，可擴增番茄抗病基因 (I-3) 380 bp 之 DNA 條帶，感病基因 (i-3) 無此 DNA 條帶出現。

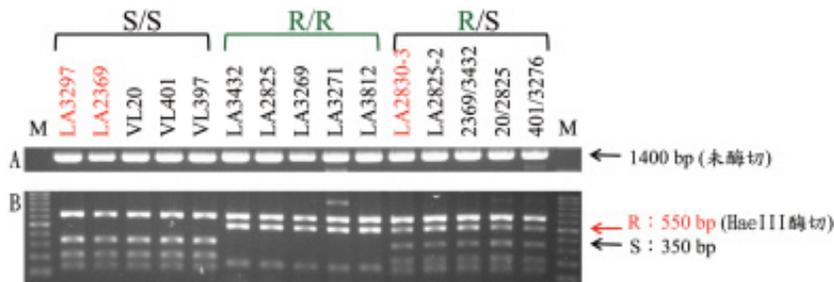


圖 5-8、利用 Tm1-CAPS 引子組可擴增番茄抗病 (Tm-1) 與感病 (tm-1) 基因 1400 bp 之 DNA 條帶 (A)，配合限制酶 (HaeIII) 反應，將出現抗病 (Tm-1) 與感病 (tm-1) 基因 550 與 350 bp 之 DNA 條帶，異質結合基因型將同時出現 550 與 350 bp 之 DNA 條帶 (B)。

進行研究，本試驗針對抗病基因（Tm-1 及 Tm-2<sup>2</sup>）與 TMV 病毒各篩選專一性分子標誌（Tm1-CAPS、Tm22-SCAR 與 TMV-012）。利用 Tm1-CAPS 分子標誌配合 HaeIII 限制酶反應後，可擴增抗病基因 550 bp 之 DNA 條帶、擴增感病基因 350 bp 之 DNA 條帶（圖 5-8）。利用 Tm22-SCAR 分子標誌（圖 5-9），可擴增 Tm-2 抗病基因 255 bp 之 DNA 條帶、擴增 Tm-2<sup>2</sup> 抗病基因 214 bp 之 DNA 條帶，感病品種無此 DNA 條帶出現。TMV-012 分子標誌可擴增嵌紋病毒株（TMV-0、TMV-1、TMV-2）2.2 kb 之 DNA 條帶。上述分子標誌可協助育種者早期篩選抗病植株、確認抗感病基因型及病毒感染情形，提高育種效率。

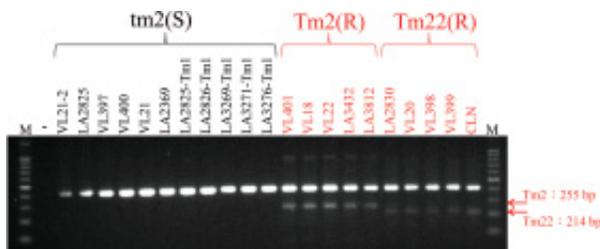


圖 5-9、利用 Tm22-SCAR 引子組可擴增番茄抗病基因（Tm-2 與 Tm-22）255 與 214 bp 之 DNA 條帶，但無法擴增感病基因（tm-2）之 DNA 條帶。

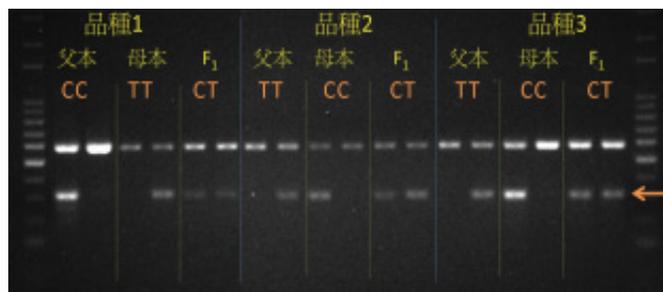


圖 5-10、開發之西瓜品種純度分子標誌在三個不同品種之表現，以 primer WM\_SNP\_21151333 為例，SNP 基因型專一性條帶為 300 bp 之條帶，單一 PCR 可偵測 SNP 基因型為 C 或 T，當基因型為異質結合（CT）時，則會分別於兩個反應皆偵測到基因型，可由此判別其是否為雜交種子而非源自母本自交。

## 八 品種純度分子標誌開發建立與檢定

周佳霖、陳哲仁、廖伯基、鄭梨櫻  
陳學文、鍾文全

西瓜與番茄的商業品種多屬雜交種，具雜種優勢遺傳質均一的優點，其種子生產乃是利用兩個自交系親本經雜交而成單交種。在生產一代雜種種子時，須經母本親的去雄及父本親花粉授粉的操作，易有去雄不完善而造成自花授粉的困擾，以分子標誌輔助檢定商業種子之雜交成功率，可大幅提昇種子品質管理之效率。

本年度本場開發西瓜品種純度 SNP 分子標誌 16 組，從公開資料庫取得的西瓜第 1 條染色體 654,169 個 SNP 在 21 個西瓜品種之基因型分析資料，挑選 PIC 值大於 0.48 之 SNP，擷取 SNP 位點前後基因序列後，以 BatchPrimer3 設計 Allele-specific primers and allele-franking primers，由設計得到的 628 個引子中逢機挑選具有完整 SNP 基因型引子且 Q-score 值高的 16 組引子，此 16 組標誌目前可檢測國內 4 家種苗業計 21 個西瓜

雜交品種純度，產生的多型性計有 54 個。

另本場以自行建立之 ISSR 分子標誌檢測系統，檢測本場自行採種或委外採種之番茄亞蔬 21 號、22 號品種純度，本年度共檢測 8 批種子，其中僅 7 批蕃茄種子純度符合規定之 98%，有效確保本場生產種子的品質（圖 5-11）。

## 九 蝴蝶蘭商業品種 DNA 資料庫之建立

張惠如、吳文鑾、安志豪、劉明宗  
鍾文全

利用 102 年度已建立之蝴蝶蘭品種 SSR 分子標誌標準鑑定流程，針對 100 個已於臺灣申請並取得植物品種權之蝴蝶蘭商業品種，鑑定其基因型並將所得原始數據以 BioNumerics 軟體建立 DNA 資料庫。進一步分析 10 組 SSR 分子標誌於 100 個蝴蝶蘭商業品種之鑑別力，其代表多型性程度的 PIC (polymorphism information content, PIC) 值介於 0.716 (PHS03) 與 0.893 (PHS07) 之間，平均約 0.84，其中 PHS04 或 PHS07 僅需一組 SSR 分子標誌即可產生 63 個相異蝴蝶蘭商業品種基因型（表 5-2）。此外，此 10 組 SSR 分子標誌在此 100 個蝴蝶蘭商業品種中，其中 PHS02 與 PHS09 皆可得到 22

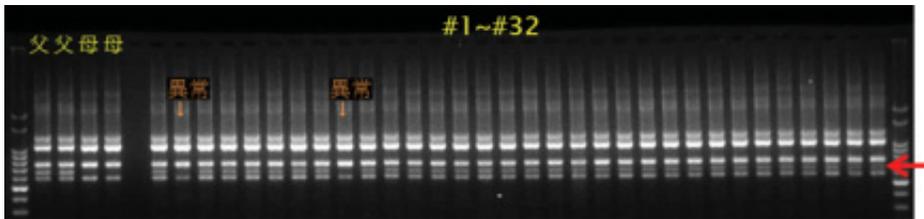


圖 5-11、以 ISSR 分子標誌檢測採種番茄之雜交一代遺傳純度，於 650 bp 處具有多型性條帶，當雜交授粉成功時，子代（雜交一代）會帶有與父本相同之 650 bp 條帶基因型。

表 5-2、10 組 SSR 引子組於 100 個蝴蝶蘭商業品種之鑑別力分析

SSR marker	Size range ( bp )	NO. of unique allele	NO. of unique genotype	PIC value
PHS01	142-200	20	60	0.872
PHS02	208-272	22	51	0.835
PHS03	253-281	8	21	0.716
PHS04	193-245	19	63	0.857
PHS05	132-216	11	44	0.81
PHS06	215-278	19	46	0.864
PHS07	175-228	19	63	0.893
PHS08	89-134	19	50	0.866
PHS09	400-439	22	49	0.867
PHS10	90-102	10	41	0.839

個相異對偶基因 (allele)，平均每組 SSR 分子標誌約有 16.9 個相異對偶基因。將經過「蝴蝶蘭品種 SSR 分子標誌標準鑑定流程」分析後的 SSR 分子標誌基因型鑑定結果，於 100 個蝴蝶蘭商業品種中進行相似性群集分析結果顯示，可完全鑑別此 100 個商業品種 (圖 5-13)。其中，基因型相似度最高的兩個商業品種為 Dtps. King Car Prince 的兩個相異個體株金車王子 E3 與金車王子 S7，其相似度高達約 0.90，SSR 分子標誌 PHS06 與 PHS10 可鑑別此兩個商業品種，後續將以此模式長期穩定地累積蝴蝶蘭品種基因型 DNA 資料庫分析數據。並進一步參考國際上相關技術方法，建立基因型判別標準以減少人為誤差，讓此 DNA 資料庫可以輔助現行性狀檢定工作，提升品種鑑定的效率。

## 十 赴荷蘭建置雙方蝴蝶蘭 DNA 資料庫

張惠如、鍾文全、楊佐琦

「第 14 屆臺荷農業合作會議」中為求雙方互利之研究工作，有關蝴蝶蘭品種分子鑑定技術合作案，雙方同意以相同品種

各自建立資料庫並調和資料格式進行多年期之合作」(圖 5-12)。而 Naktuinbouw 為荷蘭執行植物品種檢定的專責機構，亦負責歐盟成員國數種作物品種申請案件之檢定工作，具相當豐富的品種檢定業務經驗及人力。本次前往 Naktuinbouw 進行研習，研習內容主要分為：一、利用 BioNumerics 分析軟體進行蝴蝶蘭品種基因型分析，建立蝴蝶蘭 DNA 資料庫。以瞭解建立蝴蝶蘭 DNA 資料庫時需注意的參數設定、資料格式及未來雙方合作所需交換的資料內容等問題。二、為有效辦理第 14 屆臺荷農業合作會議之決議事項，針對雙方蝴蝶蘭 DNA 資料庫合作案，對於蝴蝶蘭 DNA 材料與基因型分析結果交換等技術合作細節進行溝通協調。

透過與其技術人員的交流與經驗分享，可在往後操作上更加留意一些可以增加準確度及資料庫運作順暢度的地方，進而提升分子鑑別技術及 DNA 資料庫於性狀檢定作業上的輔助性。並期許未來以此合作方式為模式，拓展與其他國家的合作交流機會，有助提升我國品種權保護於國際上的認可，進一步提升我國研發品種於國際市場之競爭力。



圖 5-12、臺荷雙方合作模式：相同品種各自建立資料庫並調和資料格式進行多年期之合作

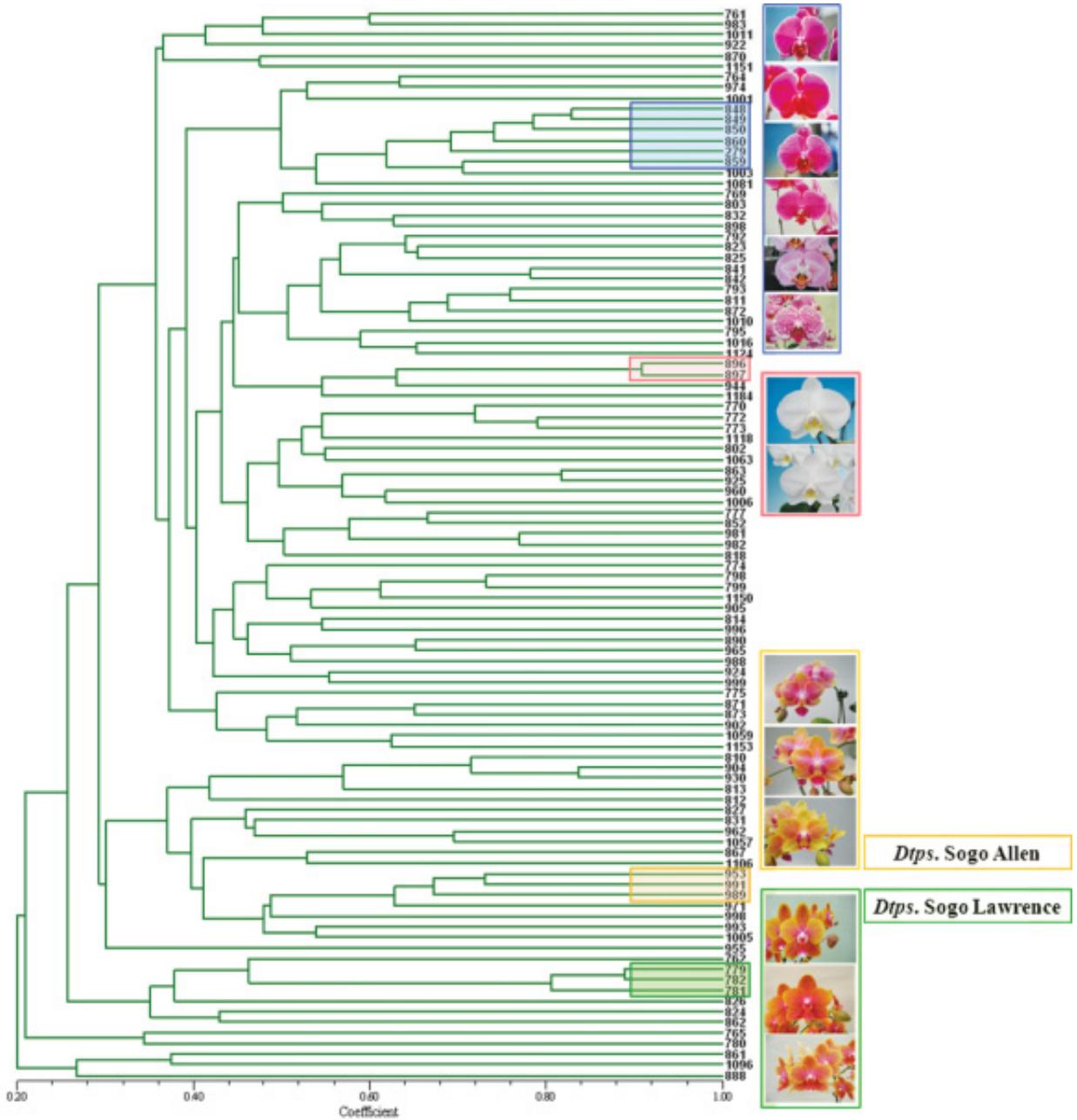


圖 5-13、10 組 SSR 分子標誌於 100 個蝴蝶蘭商業品種基因型鑑定結果，進行 UPGMA 方式相似性群集分析，顯示此 100 個蝴蝶蘭商業品種可完全被 10 組 SSR 分子標誌鑑別。

## 十 一 生技種苗檢測服務建置與產業推動

鍾文全、張正、孫永偉、蔡瑜卿

廖玉珠、邱燕欣、張珈琦

利用已開發共顯性分子標誌 (Ty1, Ty2 及 Ty3)，檢測種苗業界所提供的番茄種苗是否具有抗黃化捲葉病毒植株，得知三家種苗業者所育出的番茄種苗主要以抗 Ty2 為主。文心蘭檸檬綠組培苗依株高等級分為小苗、中苗、大苗等三級，評估小瓶苗要達到出貨標準 (株高達 7.4cm 以上) 約需培養 55 天，大瓶苗培養 30 天即可出貨。拜訪 6 家仙履蘭組培場，與經營者訪談組培設備、生產流程及瓶苗出貨標準，目前仙履蘭組培瓶苗大多為實生苗，由栽培者提供種子交由專業組培場代工。以栽培場自行雜交之綠 Maudiae 品種，無菌播種之實生瓶苗為試驗材料，培養 3、4、6 個月

後，得知仙履蘭瓶苗應以培養 4 個月後為出瓶最佳時機。本年度蒐集四個流通品種 (Phal. Tailin Red Angle 'V31'、Phal. I-Hsin White Swan、Dtsp. Tinny Honey、Dtsp. I-Hsin Yellow Tris) 之蝴蝶蘭組培瓶苗，進行生長指數調查與植體營養成分分析，並將蝴蝶蘭瓶苗依 102 年計畫建立之瓶苗品質鑑定指標進行分級種植，四個流通品種進行瓶苗形態調查及植體分析，並發育到中苗，調查花形間品質指標之結果驗證，結果顯示 5 個月後植株之乾鮮重、乾物重、葉幅、葉數、根數等四個品種各級間皆無顯著性差異，若從元素分析來看，各級間元素佔植株乾重的百分比亦並無顯著性差異，但不合苗之單株全可溶性糖含量之表現與合格苗差異較其他元素更為明顯。以去病毒技術篩選蘭園蝴蝶蘭無病毒之母本，共篩選 500 件瓶苗樣品，結果得知去病毒的健康蝴蝶蘭種苗比例介於 0-15.3% 之間。