

生物技術

摘要

農桿菌轉殖芋頭抗線蟲基因在番茄之研究：將已轉殖成功之 16 株番茄，經接種南方根瘤線蟲，一個月後檢測抗性結果，根瘤數數目為 1 至 20 個，均較台南亞蔬 6 號之 40 個為低。進行 16 株轉基因番茄之隔離溫室種子採收，其中有 3 株無法收到任何種子，果實形狀也改變，呈長橢圓形至圓形；外表種皮顏色有 1 株呈金黃色，與台南亞蔬 6 號之紅色極為不同。

轉基因作物種子種苗檢測技術之開發與體系之建立：目前已利用「35S」及「NOS」兩組引子進行 PCR 反應方式，完成了玉米及番茄標準化之基改檢測流程。木瓜檢測部分則另外使用 PRSV coat protein 基因及 kanamycin 抗性基因引子對所進行之 PCR 反應作為其標準檢測流程，目前已完成雲林縣林內鄉、嘉義縣中埔鄉、台南縣大內鄉三個鄉鎮木瓜產銷班外銷供果園之抽檢，在完成的 130 個果園中，均未檢出基改木瓜；為了增加基因改造作物之檢測效率，本場亦完成木瓜多目標 PCR (multiplex PCR) 檢測技術之開發，該技術可同時針對木瓜酵素 (papain) 基因、木瓜輪點病毒鞘蛋白 (PRSV CP) 基因、抗生素抗性基因 (NPT II)、35S 啟動子 (promoter) 序列、及 NOS 終止子 (terminator) 序列進行 PCR 檢測。

利用分子生物技術進行花椰菜品種間之鑑定 (產學合作)：採用 ISSR 方法，建立用其常用來生產青花菜 F1 商業品種之 12 個親本指紋資料庫，並進一步運用於其 F1 商業品種之種子純度鑑定技術，在實驗過程中所選用 9 個 F1 品種經利用此 ISSR 中選用 2-3 個引子交互檢測結果發現，除了 2 個品種 (Br0702 及 Br0527) 種子純度有差異外，其餘則未發現有變異，且其變異植株 DNA 指紋圖譜與母本相似，推論其變異可能來自母本自身自交種子污染結果

農桿菌轉殖芋頭抗線蟲基因在番茄之研究

線蟲是一種全球性的植物病害，可侵害許多農作物，全球每年因線蟲危害所造成的農作物損失約為 1,000 億美金，目前對防治線蟲危害的方法，不外乎輪作、抗性品種之育成和施用化學藥劑。很明顯需要發展另一種對環境污染更低的方法以控制植物寄生性線蟲之問題。因此生物技術的發展-基因轉殖，提供一個快速且安全的方法；在大部分的植物，一旦遭受到外來的攻擊均會釋放某種信息進而誘導物質防禦包括產生蛋白酶抑制劑，因此發展蛋白質抑制劑可能是另種抗病蟲害之方式，半胱胺酸蛋白質抑制劑在植物防禦上扮演一種重要之角色，它會影響寄生性線蟲雌體之生長及繁殖，因此，希望以芋頭抗線蟲基因 (CeCPI) 轉殖至番茄作物中，以培育出抗線蟲番茄品種。本年度

1. 將已轉殖成功之 16 株番茄，經接種南方根瘤線蟲，一個月後檢測抗性結果，根瘤數數目為 1 至 20 個，均較台南亞蔬 6 號之 40 個為低。
2. 進行 16 株轉基因番茄之隔離溫室種子採收，其中有三株無法收到任何種子，果實形狀也改變，呈長橢圓形至圓形；外表種皮

顏色有一株呈金黃色，與台南亞蔬 6 號之紅色極為不同。 3. 繼續進行後代之選育及檢測。

轉基因作物種子種苗檢測技術之開發與體系之建立

「基因改造作物」(Genetically Modified Crops) 意指將某特定的基因或 DNA 片段藉由生物性或物理性的力量導入植物的基因體中，而使其表現出預期的某些性狀，除了在食品衛生安全上的疑慮之外，基因轉殖作物潛在的隱憂是對生態所造成的衝擊。國內常見的基改作物是進口黃豆、玉米及部分國內自行研發的基改木瓜。因應各種基因轉殖作物在台灣種植及其產品上市的衝擊，必須先建立有效的管理計畫，並且盡量降低基因轉殖作物可能造成之農業生態系統及野生生態系統的影響。目前已利用「35S」及「NOS」兩組引子進行 PCR 反應方式，完成了玉米及番茄標準化之基改檢測流程。木瓜檢測部分則另外使用 PRSV coat protein 基因及 kanamycin 抗性基因引子對所進行之 PCR 反應作為其標準檢測流程，目前已完成雲林縣林內鄉、嘉義縣中埔鄉、台南縣大內鄉三個鄉鎮木瓜產銷班外銷供果園之抽檢，在完成的 130 個果園中，均未檢出基改木瓜；另外隨機在雲林縣 3 鄉鎮取樣 31 處、嘉義縣 6 鄉鎮取樣 30 處、台南縣 8 鄉鎮取樣 27 處木瓜果園，試驗結果顯示在雲林縣林內鄉，嘉義市東區，嘉義縣中埔鄉、民雄鄉，台南縣官田鄉及新化鎮均檢測出有果園種植基改木瓜。為了增加基因改造作物之檢測效率，本場亦完成木瓜多目標 PCR (multiplex PCR) 檢測技術之開發，該技術可同時針對木瓜酵素 (papain) 基因、木瓜輪點病毒鞘蛋白 (PRSV CP) 基因、抗生素抗性基因 (NPT II)、35S 啟動子 (promoter) 序列、及 NOS 終止子 (terminator) 序列進行 PCR 檢測，該 5 組引子將對可以在同一次 PCR 反應中對基因改造木瓜擴增出 5 個條帶 (211bp、359bp、295bp、134bp 及 180bp)，明確區隔傳統與基改木瓜。

利用分子生物技術進行花椰菜品種間之鑑定 (產學合作)

對於十字花科蔬菜的栽培、品種的鑑定、F1 種子純度分析，對於種苗生產業者而言，均是很重要的課題。由於種子之外表或植株早期性狀不易區分，無法有效進行 F1 商業品種純度的鑑定，所以傳統進行 F1 種子生產過程為檢定其種子純度，一般只能靠 GOT (grow out test) 方法，種植於田間進觀察；因此往往需至開花結果期才能依性狀差異比對調查，故須投入大量人力、時間及金錢。近年來利用生化及分子標誌作為品種檢定技術逐漸興起，從早期利用型態學或細胞學的觀察 (Attia et al 1986.)，及利用儲存蛋白或同功異構素 (Arus et al 1983.) 以及目前的分子生物技術檢測方法。利用分子生物技術來建立商業品種親本之 DNA 指紋圖譜資料，常用的方法有：RAPD、AFLP、RFLP 以及 microsatellite 等；其中又以 microsatellite 最廣為使用於作物指紋資料庫 (genomic fingerprinting)，因其具有較 RAPD 現性高及較 AFLP、RFLP 便利及迅速等優點；因此本實驗即採用 ISSR 方法，建立用其常用來生產青花菜 F1 商業品種之 12 個親本指紋資料庫，並進一步運用於其 F1 商業品種之種子純度鑑定技術，在實驗

過程中所選用 9 個 F1 品種經利用此 ISSR 中選用 2-3 個引子交互檢測結果發現，除了 2 個品種(Br0702 及 Br0527)種子純度有差異外，其餘則未發現有變異；且其變異植株 DNA 指紋圖譜與母本相似，推論其變異可能來自母本自身自交種子污染結果。本實驗因仍在進行田間檢測交叉比對中，以分析其間差異，預測若可順利達到預期效果，將可廣泛取代傳統漫長而耗時耗力之田間檢查成本；由本實驗結果與學者普遍認為 F1 種子變異主要來源因素相符。因此本實驗室計畫將用此一特性，進一步分別針對其父、母本尋找特有之標誌基因，並設計一適當引子直接進行 PCR 反應可行性嘗試，以提高 F1 種子純度檢測效率，並降低檢測成本。