

DNA 分子標誌

在作物品種鑑定之應用

文/圖 蔡奇助

前言

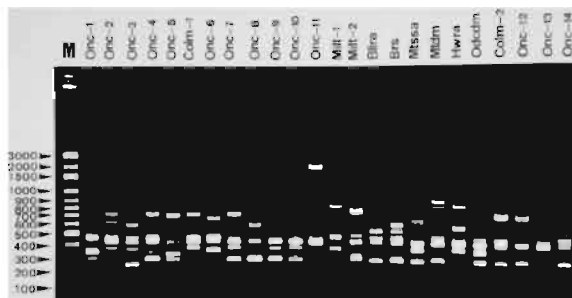
作物品種鑑定是作物研究的基礎，無論是栽培、管理、病害、蟲害或育種等研究，明確的作物品種鑑定皆有其必要性。傳統的品種鑑定不外乎藉由外部形態、比較解剖、化學分類、染色體數目、大小及形態等，但常遇到特徵會隨不同生長時期、環境而改變，或可獲取的特徵數量太少，以致相近品種無法有效判定。

雖然80年代同功酶發展提供另一項品種鑑定技術，但同功酶亦是一種蛋白質，亦會有上述問題。自DNA指紋技術發展以來，很快被應用在品種鑑定上，因該技術是直接分析作物的DNA，所以不因生長時期或環境不同而改變，且可提供之特徵數量龐大。若再配合90年代發展的聚合酶連鎖反應(PCR)，不僅快速，且所需樣本量少，在植株幼苗早期，甚至種子階段即可進行分析，可節省不少時間。

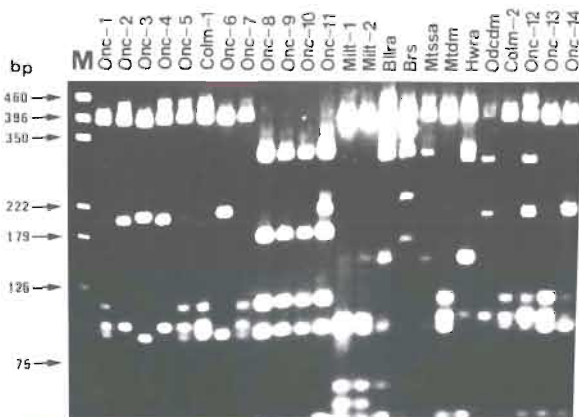
DNA分子標誌之應用

品種鑑定在育種上的重要性，除了可以篩選正確的親本外，還可以促進育種的發展。因為有效的品種鑑定技術，可保障育種者所育成的品種，因而間接鼓勵從事育種。此外，由於品種權利與品種保護是目前國際間普遍的共識，建立有效的作物品種鑑定技術，對育種者、生產者、銷售者與消費者都是樂見的。

早期鑑定DNA之技術，稱為限制片段長度多型性分析(RFLP)。本技術利用限制酶，



利用RAPD 分析24個文心蘭品種。



利用PCR-RFLP技術分析24個文心蘭品種。

進行不同品種的核酸序列差異。但由於需要耗費相當的人力與物力，且需使用放射線同位素，目前較不普遍。自從聚合酶連鎖反應發展以來，衍生的DNA快速鑑定技術繁多，茲選擇6種主要鑑定技術，分述如下：

1. 隨機複製多型性DNA (RAPD)

西元1990年發展出來，以聚合酶連鎖反應為基礎，以一隨機引子(primer)進行DNA隨機複製反應，不同品種所具之不同遺傳物質經聚合酶隨機複製後，會出現DNA的多型性片段，即可供品種鑑定之

用。本技術具快速、簡單、無需知道分析的樣本基因組，且所需樣本量少等優點，但穩定度較差。

2. PCR-amplified RFLP 技術

此技術是針對特定DNA區域進行分析。設計一組特定引子組，利用聚合酶連鎖反應，可將作物品種特定之 DNA片段大量複製，再利用限制酶來偵測該不同品種DNA區域之差異，從中獲取各品種之分子標誌。

3. PCR-Sequencing 指紋分析

乃針對特定DNA區域進行分析。設計一特定引子組，利用聚合酶連鎖反應，可將作物品種特定之 DNA片段大量複製，再將各品種所複製之DNA片段定序，比較其間之序列差異，從中獲取各品種之分子標誌。

4. AFLP指紋分析技術

1995年代發展出來的指紋技術，為結合聚合酶連鎖反應與限制酶水解之技術，與PCR-amplified RFLP的差別，在於此技術是針對整個基因組進行分析，且無需知

道分析樣本基因組之資料。然而，此法偵測時，需靠螢光或放射線同位素顯影。

5. SSR指紋分析技術：

本技術稱為簡單序列重複。在基因組中，可發現大量的1~8個重複性序列，如(GA)_n，(TAC)_n等。這些重複性序列相鄰成群，其套數在演化過程中變異快速。因此在重複性序列群組的兩端，尋找序列保留區設計引子，即可藉由PCR技術來偵測SSR區域的多型性。由於本技術穩定，已獲日本國家種子種苗中心(NCSS)及國際植物新品種保護聯盟(UPOV)的採用。

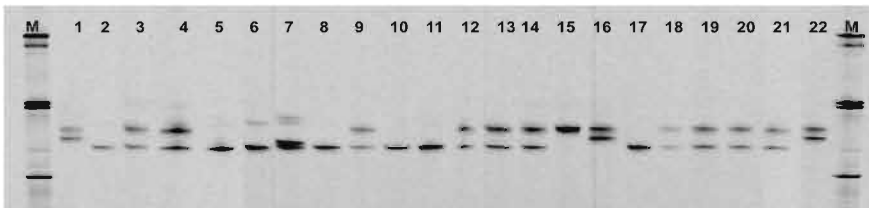
6. ISSR指紋分析技術：

本技術稱為重複性序列間隔區。是探討基因組中兩兩相鄰的SSR區域之間隔區，其原理是設計與SSR相關的引子，進行PCR反應後所獲得的多型性。

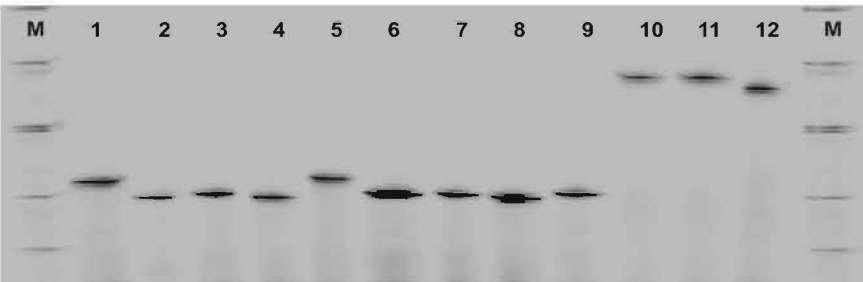
結語

由於DNA分析方法快速、簡便，且獲得的訊息多且穩定，因此已被大量應用在與生物相關的各個領域上，如人類親子鑑定、刑事

罪犯鑑定、食品病菌污染檢驗、自然生態種原檢定及環境微生物污染監測等。在農業上，也被廣泛應用於作物品種的鑑定、種子純度、品種間遺傳距離及親緣關係等。由於農業研究攸關我國未來農業的發展，在科學日新月異的今日，若能善用許多新發展的生物技術，應能開啓農業研究新視野，提升產業競爭力。🌱



利用SSR分子標誌技術分析22個芒果品種(系)。



利用SSR分子標誌技術分析12個毛豆品種(系)。