DNA分子標誌

在多個品種鑑別之應用

蔡奇助

前言:

文心蘭 (Oncidium spp.)為蘭科 (Orchidaceae) 文心蘭屬(Oncidium)植物,此類植物原產於熱帶美洲地區,主要分佈從美國、墨西哥、巴拉圭、秘魯、巴西、阿根廷等國,目前已發現700多種的原生種。植株特性大多為氣生性之複莖軸蘭,但亦有少數種類為地生蘭。大多數的文心蘭植株與其近親菫花蘭(Miltonia)及齒舌蘭(Odontoglossum)十分相近,有的屬於扁平假球莖型,有些品種葉稍圓似洋蔥之葉片如Onc. stiptatum,有些則葉片小如扇形之鳶尾葉如Onc. triquetrum。文心蘭屬(Oncidium)植物與菫花蘭、齒舌蘭、蜘蛛



▲ 文心蘭品種繁多,花形優雅,頗受消費大眾喜愛。

農業新知

育種的重要訊息,因此,在育種時若能備 有一套品種鑑定技術,在縮短育種時程上 應有所助益。

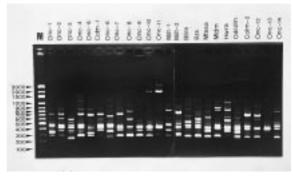
品種鑑定:

傳統的品種鑑定不外乎外部形態、比 較解剖、化學分類、染色體數目、大小及 形態等。但由於上述鑑定技術時常會遇到 許多難題,如特徵會隨不同生長時期及環 境改變、或是可獲取的特徵數量太少,以 致對相近品種無法有效判定。雖然80年 代同功酵素發展提供另一項品種鑑定技 術,但同功酵素亦是一種蛋白質,亦會有 上述問題。然而,農作物之品種鑑定可說 是農作物研究的基礎,無論是從事栽培、 管理、病害、蟲害或育種研究,明確的品 種鑑別有利於後續之研究。西元1953年 Watson 和 Crick 揭開生物遺傳物質 (DNA) 的神秘面紗之後,遺傳物質的構造與特性 得以確立,造就往後分子生物的蓬勃發 展。由於分子生物學的誕生與發展,提供 給生物相關學科新的思考方向,在生物分 類法方面,由外部或解剖特徵的判定走向 分子標誌(molecular marker)的層次。再加上 聚合酵素連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)技術之發展,使的DNA分析更簡 單、更普遍、更能實際加以應用,因此, 提供了作物品種DNA鑑定的另一捷徑。 由於此技術是針對 DNA 進行分析,因而 沒有生長階段及環境因子的限制,而且僅 需少量樣品即能分析,亦即於幼苗早期, 甚至種子階段即可進行分析,可節省不少 時間,特別在縮短育種時程及新品種之品 種專利甚有幫助。在眾多 DNA 分析技術 當中,有一種稱為隨機複製多型性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) 的指紋分析技術,此方法也是由 PCR 所衍 生出的 DNA 分析技術,可以針對作物整 個基因組進行分析。主要是利用一條隨機 合成之 10 mer 的引子,以不同品種之 DNA 為模板,進行聚合酵素連鎖反應,藉著引 子對模板 DNA (template DNA) 隨機煉合, 各品種可產生長度具多型性 (polymorphism)

的 DNA 產物,這些不同長度的 DNA 片段,即是可供利用的分子標誌。

DNA 標誌在文心蘭品種鑑別之應用:

在此參試 24 個文心蘭亞族品種,包含 14 個文心蘭屬品種、 2 個董花蘭屬品種、 1 個蜘蛛蘭屬品種及 7 個雜交屬品種,共使用 14 條隨機引子,合計產生 263 個隨機複製多型性 DNA 分子標誌 (RAPD marker),其中有 257 個分子標誌在品種間具多型性(polymorphism),這些不同的 DNA標誌即可應用於品種鑑定及育種上。另外,也將上述 DNA 標誌換算出品種互相間之相似度,再經由統計分析,也可以得知文心蘭亞族品種間的遺傳距離。



▲24 個文心蘭品種,經 RAPD 分析,其 DNA 電泳分離結果。

結語: