

# 聚合鋤連鎖反應在品種鑑定上之應用～

## 文心蘭核糖體內轉錄間隔區之分子標誌

台中區農業改良場／蔡奇助、黃勝忠

文心蘭 (*Oncidium* spp.) 爲蘭科 (Orchidaceae) 文心蘭屬 (*Oncidium*) 植物，此類植物原產於熱帶美洲地區，已發現 700 多種原生種。植株特性大多爲氣生性之複莖軸蘭，但亦有少數種類爲地生蘭。大多數的文心蘭植株與其近親堇花蘭 (*Miltonias*) 及齒舌蘭 (*Odontoglossums*) 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*) 植物與其近親屬容易雜交，如堇花蘭 (*Miltonias*)，齒舌蘭 (*Odontoglossums*)，蜘蛛蘭屬等，因此上述各屬與其雜交品種皆通稱爲文心蘭。

文心蘭花形特殊，花色變化多，是極佳的切花花材；且花期又長，適合各種場合擺設。近年來，由於本省花藝設計之題材多樣化，及花材變化與需求大增，故使文心蘭漸受青睞。而且本省氣候環境條件十分適合生產文心蘭，使文心蘭成爲目前本省新興栽培花卉之一。爲了育成高品質文心蘭，品種的鑑定、純度分析及品種間的遺傳距離即相當重要，本研究在建立一套品種指紋技術，以提高未來育種效率。

我們利用 PCR-amplified RFLP 指紋技術來分析，此技術是聚合鋤連鎖反應 (polymerase chain reaction, 簡稱 PCR) 之衍生，應用於分析各文心蘭品種核糖體核酸 (rDNA) 之內轉錄區間隔區 (簡稱 ITS)。共參試 24 個文心蘭品種，包含 14 個文心蘭屬品種、2 個堇花蘭屬品種、1 個蜘蛛蘭屬品種及 7 個雜交屬品種。由基因庫中設計一組引子，利用 PCR 將文心蘭品種 rDNA 之 ITS DNA 片斷大量複製。其長度約 715 bp，各文心蘭品種之 ITS 在長度上並無差異。爲進一步確定此 PCR 產物爲 ITS 區域，取其中一樣本進行定序，經送入基因庫比對，證實爲 rDNA 之 ITS 區域。之後利用限制<sup>7</sup>來偵測各文心蘭品種之 ITS 序列差異，共使用 *CfoI*, *EcoRV*, *HinfI*, *HaeIII*, *RsaI*, *BstOI*, *Hsp92II*, *TaqI*, *MvaI* 及 *MspI* 等 10 種限制鋤。總計可記錄 166 個分子分標誌，其中有 159 個標誌具多型性 (polymorphism)。這些分子標誌即可應用於品種鑑定及育種上。另外，將上述分子標誌換算出樣本兩兩間相似度，再經由不加權平均法 (UPGMA) 行群叢分析，完成樹狀關係圖，由樹狀關係圖可判定各文心蘭品種之親緣關係。

由上述研究可顯示，利用 PCR-amplified RFLP 來分析文心蘭 rDNA 之 ITS 區域，確可獲取不少有用的分子標誌，應用在文心蘭品種的鑑定與育種的研究甚有幫助，並可進一步應用在親緣研究。