

利用核糖體基因內轉錄間隔區限制片段長度多型性探討 文心蘭亞族植物親緣關係

陳裕星、易美秀、蔡奇助、黃勝忠

目 的

蘭花在全世界花卉市場中越來越受到矚目，近年來蘭花類的銷售金額持續上升，在台灣，文心蘭已成為僅次於蝴蝶蘭的重要蘭花類作物。文心蘭屬植物約包含600個以上的原種，加上其他如蜘蛛蘭 (*Brassia* spp.)、堇花蘭 (*Miltonia* spp.)、齒舌蘭屬 (*Odontoglossum* spp.) 植物，在蘭科植物中可算是種原最豐富變化多端且吸引人的一族。由於文心蘭類植物在近緣種屬間雜交並無障礙，許多的跨屬複合品種於焉產生，發展一套迅速有效的分子標誌分析系統可以有助於了解品種的親緣關係及遺傳背景。本研究收集文心蘭及近緣種屬之植物共24種，利用核糖體基因內轉錄間隔區之限制片段長度多型性探討分析文心蘭族植物之親緣關係遠近。

材料與方法

於中部地區蘭園購買文心蘭及近緣屬間之雜交種共24品種，作為本研究所用之材料。依照CTAB法抽取植物葉片DNA後定量，取80ng作為模板，進行聚合酶連鎖反應 (PCR)，反應液內含有10 mM Tris HCl (pH8.3)，50 mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.2 mM dATP, dTTP, dCTP, dGTP, 1.25 unit of Taq 聚合酶，0.5μM的引子對，序列分別為 ITF : 5' - CGTAACAAGGTTTCC - 3' ; ITR : 5' - AGTTTCTTCTCCTCC - 3'，總體積為50 μl。PCR反應條件如下：首先94°C進行10分鐘，之後三步驟為94°C、45秒，52°C、30秒，72°C、1分鐘中共進行30個循環，最後一步驟為72°C、5分鐘。限制酵素反應使用不同限制酶 (Roche Biochemicals) 對PCR反應產物進行酶切，然後使用澱粉膠體電泳並染色觀察紀錄條帶並分析。

結果與討論

由於核糖體基因高度保守的特性，在不同物種中甚至可以發現相當長的保守序列，本研究所使用的引子對可以成功的複製出24個文心蘭類品種，各品種內轉錄間隔區的長度 (163 b.p.) 沒有明顯變異，同時5.8S區域的長度也和其他單子葉植物相當。PCR擴大之片段在進行限制酶切後，共產生166條帶，而條帶的多型性足以區分本研究所使用之24個品種，顯示核糖體基因內轉錄間隔區在不同品種間有相當之歧異性，可作為親緣關係的分析工具。