

生物技術

菊花抗蟲基因轉殖之研究

以「龍鳳紅」、「龍鳳紫」菊花未開放之舌瓣花作為培植體，利用已經建立好的組培再生系統，以農桿菌法進行基因轉殖，將抗蟲基因 Cry1AC 及 Cry1IC 進入菊花中，經過共培養及再生篩選四周後，每培植體在含抗生素再生培養基之再生芽體數在 2.6-2.8 之間（表一），將再生芽體繼代培養到含抗生素之培養基中，經數次繼代培養，「龍鳳紫」通過抗生素篩選的再生芽體總數為 14-19 株，「龍鳳紅」通過抗生素篩選的再生芽體總數僅為 3-4 株（表二），因此菊花品種「龍鳳紫」的轉殖效率較高。

表一、品種及基因對菊花培植體轉殖篩選後再生之影響

品種	基因	每培植體再生芽體數
龍鳳紫	Cry1AC	2.6±0.92
龍鳳紫	Cry1IC	2.8±1.32
龍鳳紅	Cry1AC	2.7±0.67
龍鳳紅	Cry1IC	2.6±0.98

表二、菊花兩品種轉殖抗蟲基因後經過抗生素篩選之芽數

品種	基因	通過抗生素篩選芽體數
龍鳳紫	Cry1AC	14
龍鳳紫	Cry1IC	19
龍鳳紅	Cry1AC	3
龍鳳紅	Cry1IC	4

番茄果實過氧化酶基因之選殖

為了選殖有果實表達特異性的啟動子，以供作分子農場之利用，擬選殖具有果實表達特異性的過氧化酶基因，先抽取番茄未熟果的 RNA 予以反轉錄成為

cDNA，利用 touchdown PCR 技術所夾出來的 DNA 片段大小集中在約 900bp，將其回收經定序確認比對後，有 7 條不同序列之 cDNA 片段，選擇 6-5-10、6-5-20 及 6-5-11 三條片段，利用 RACE 技術將其全長增幅出來並定序之，定序結果顯示 cDNA 核苷酸長度為 1171-1209bp，經過 ORF(open reading frame)分析，蛋白質長度分別有 329-348 個氨基酸（表），是否有器官特異性表達的現象將以北方雜交法確認之。

表、番茄過氧化酶基因大小及蛋白質長度

基因編號	基因序列長度*	蛋白質長度
6-5-10	1209bp	329 a.a.
6-5-20	1171bp	335 a.a.
6-5-11	1193bp	348 a.a.

*含 5'端及 3'端未轉譯的區域

兩種定量 PCR 方式檢測基改木瓜之比較

定量 PCR 的方式主要分成 SYBR Green 及 Taqman 兩大系統，兩種方式各有其優缺點，本實驗嘗試探討 SYBR green 及 Taqman 方式對基改木瓜檢測之差異，試驗之基改木瓜 DNA 濃度為 20ng/μl、2 ng/μl、0.2 ng/μl、0.02 ng/μl、0.002 ng/μl 及 0.0002 ng/μl，Taq 酵素為 platinum Taq DNA polymerase High Fidelity、Taq DNA polymerase recombinant 及 Taq DNA polymerase 等三種，結果顯示三種酵素所得的結果並無明顯的差異，在 20-0.0002ng/μl 時之濃度皆可檢測出來，TaqMan 的方式不論使用何種聚合酶酵素，重複性及準確度上都較 SYBR Green 的方法較好，2 個方式都可偵測到 0.0002ng/μl 濃度之樣本。而 SYBR green 的方式必需以 dissociation curve 確認 PCR 結果的專一性及避免 primer dimer 的影響，Taqman 則無此困擾，時間上也較快，因此由本試驗結果顯示 Taqman 比 SYBRgreen 的方法較好。

兼具保健與觀賞功能之植物組織培養研究

在台灣白及不定芽增生試驗，低濃度之細胞分裂素處理可獲得株高 1 公分以上之芽體 3.3 個與 1 公分以下之芽體 0.3 個，增殖倍率為 3.6 倍最高。在綬草馴化

體系之建立方面，組培苗經不同方式馴化處理，其存活率可達 85% 以上，其中不經瓶內馴化直接取出種植及經瓶內馴化 1 週之處理，其存活率均為 100%，且組培苗生育情形良好。在脈葉蘭屬種原蒐集方面，本年度蒐集 4 種台灣原生之脈葉蘭，分別為紫背脈葉蘭、綠背脈葉蘭、單花脈葉蘭及古氏脈葉蘭，並成功消毒獲得單花脈葉蘭、古氏脈葉蘭之無菌培植體，初步培養結果顯示其根莖在中基鹽濃度下生育良好；在綠背脈葉蘭無菌播種方面，以低基鹽濃度處理發芽率 22.3% 為最高。

國蘭健康種苗繁殖體系之建立

在根莖培養方面，高基鹽濃度、中高蔗糖濃度及添加有機物之處理，可促進報歲中斑及桑原晃根莖生育，經固態培養 4 個月後鮮重增加率最高，可達 3 倍以上；金荷之根莖於添加不同之有機添加物培養下，造成褐化率達 46.1% 至 58.1%，而適宜之有機添加物處理，可降低其褐化率，使新生之根莖生育良好（如表）；植物生長調節劑 Auxins 類有助於桑原晃根莖生育，濃度處理間具顯著差異；比較以固、液體兩種培養對桑原晃根莖繁殖之倍率高低，以液體培養其鮮重增加率約為固體培養的 2 倍。在芽體抽長且展葉之探討，以帶芽體或芽球之整段根莖培養可獲得展葉之正常芽體較多；有機添加物馬鈴薯泥對金荷芽體抽長且展葉之效果較其他處理佳，以 P100 處理可獲得正常芽 9.0 個為最高，且無褐化發生，但芽球有逆分化為根莖之情形且苗株外觀較纖細，故芽體抽長部分尚待進一步試驗。

表、有機添加物對金荷國蘭根莖生育之影響

處 理	鮮重增加率 (%)	新生根莖數 (根/瓶)	芽數 (個/瓶)	褐化率 (%)
A50	100.5	47.0	1.0	46.1
A100	190.6	40.3	1.3	48.3
B50	114.2	42.0	0.7	51.7
B100	154.5	33.0	0.3	58.3
P50	140.6	57.3	4.3	1.7
P100	185.8	64.3	4.0	0.0
CK	104.0	52.3	0.7	8.3

註：1. 本試驗採固體培養，基鹽濃度以 MS 配方為基礎，蔗糖 20g/L，活性碳 1g/L，pH5.2。

2. 本試驗之調查結果為經 3 個月處理後進行。