

知識天地

小小蘭花真有趣

林崇熙研究副技師 (農業生物科技研究中心)

摘要：

蘭花是重要的經濟作物，也是生態系中的重要一員。利用其他植物來進行蘭花的研究會面臨很多的問題，扇形文心是一個生長快速且可以在試管內開花的一個蘭科植物。所有的培養環境皆是在人工的條件，不會有轉殖株外流的生態問題，也不會因為氣候改變而影響研究成果，在農生中心施明哲主任的主導下希望能利用扇形文心成為蘭科模式植物。目前包括轉殖技術，細胞遺傳，轉錄資料庫及小核糖核酸資料庫，與人工細菌染色體庫 (BAC library) 皆已完成，並利用這個平台已有約 400 個與開花相關的基因被選殖。因此，我們認為目前我們的平台或許可以提供非模式植物研究時的一種策略。

花博讓大家知道台灣農民的能力是世界一流，其中有一項是蘭花。蘭花不僅是重要的經濟作物，也是生態系中的重要一員。目前地球上約有 1,000 屬，25,000 種的蘭科 (Orchidaceae) 植物，是種類最多的開花植物。地球上估計有 300,000 種開花植物，蘭科植物約占了 10%，其種類更勝合瓣花類的菊科、以及離瓣花類的豆科。台灣的農民及研究人員近年來在蘭科植物的栽培與育種的成就是有目共睹的，成為我國出口的重要花卉。政府在近十年來希望利用生物技術進行蘭科植物的研究，但是以蘭花進行生物技術及基礎研究的材料有其困難性，其中有一個問題是很容易進行異屬或異種間的雜交。所以可以將不同屬種之間的優點，利用雜交的方式合在一起，形成一個新的品種。所以現在才有這些的多采多姿蘭花品種，而這些品種常為同質或異質多倍體，所以染色體數目多 (以文心蘭南西為例： $2n=112$)，基因組大約為水稻的 2 倍，造成研究上的困難，所以很多的研究學者希望能從一些模式植物的經驗，來應用在蘭花上。

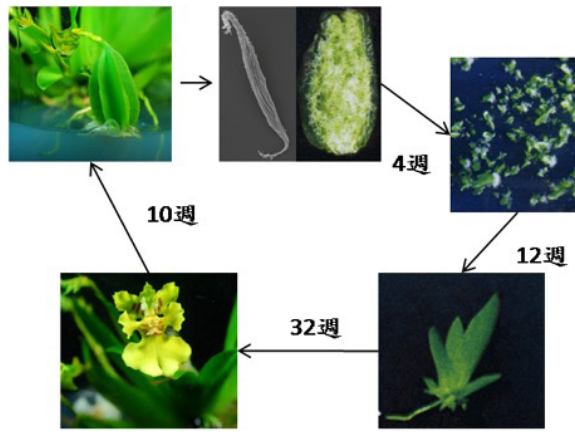
但利用模式植物來進行蘭花的研究會面臨到一個很大的問題就是蘭花的獨特性，蘭花長的與一般的模式植物不同，生長 (如假球莖，根會與蘭菌共生) 及生理有所不同 (蘭花對水分的需求很低，蝴蝶蘭的光合作用與一般植物不同，為 CAM 植物)。所以要以模式植物經驗來應用時會有差異，除了之前所說的多倍體的問題外，直接利用時還有另一個問題，蘭花幼年期長，大多數的蘭科植物從播種到開花要 2 年以上，如何去克服這個困難是很多研究同好想解決的。

早在上一世紀 70 年代，有學者提到扇形文心是一個生長快速且可以在試管內開花的一個蘭科植物。近來，中興大學張正博士多年來在扇形文心上的研究成績斐然。在此之前，扇形文心的研究資料很少，包括授粉，培養的環境，培養基的成分等等的資料是非常的缺乏。張博士將所有的細節一一釐清，所以扇形文心的組織培養目前已經可以量產 (圖一)，並對其基本的生理現象有相當的研究。



圖一 扇形文心在試管內開花的情形。

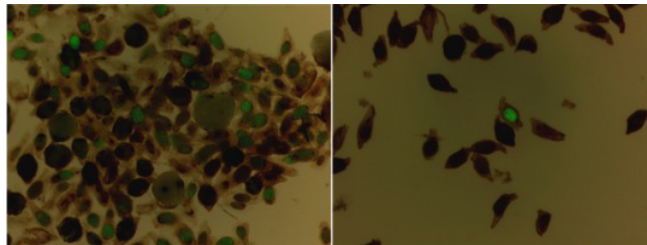
扇形文心在試管內的生長週期很短，可以在二年之內開花 (圖二)，且所有的培養環境皆是在人工的條件，不會有轉殖株外流的生態問題，也不會因為氣候改變而影響研究成果，所以被國內外的研究學者認為是一個很好研究蘭科植物的材料。因此，在農生中心施明哲主任的主導下，我們進行扇形文心是否能成為蘭科模式植物的可行性。



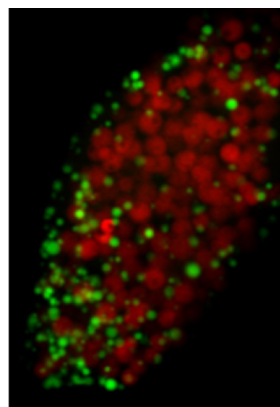
圖二 扇形文心在試管內的生活史。

雖然扇形文心有這些優點，但目前仍有一些對蘭科植物舊有的印象使得沒有辦法說服研究同好利用扇形文心這個植物進行相關的研究，主因在於有很多技術上的問題尚未克服：

1. 轉殖問題：蘭花的轉殖技術（包括蝴蝶蘭及文心蘭）已有很多實驗室建立了並且有很多的發表（如農生中心詹明才博士及植微所林納生老師）但是這個工作不似阿拉伯芥，是需要從組織培養系統中進行且轉殖效率很低。而且這個工作需要很多的材料，空間及人力。科博館李勇毅博士利用非典型轉殖法進行轉殖，得到不錯的成效並且找出重要的影響因子（圖三）。我們認為可以利用在扇形文心上進行轉殖，目前亦有其他的實驗室進行扇形文心及其他文心蘭的穩定轉殖（如中興大學曾夢蛟老師及林金和老師）。另外在短暫表現的部份，利用基因槍的轉殖方法，可以用來進行蛋白質定位（圖四）及其他相關的研究。所以我們認為目前的這些轉殖技術是可以改善轉殖的問題。

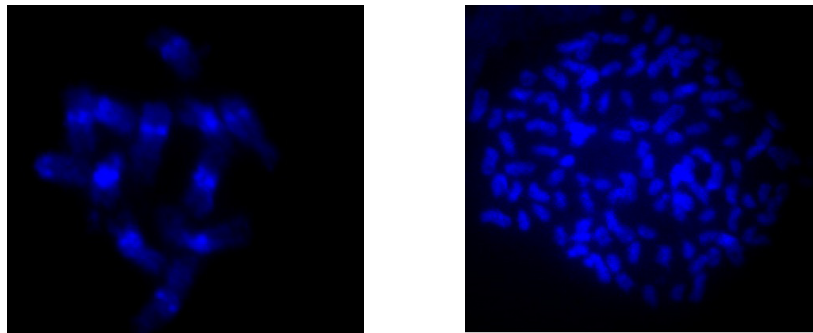


圖三 利用非典型轉殖法進行轉殖，可以將綠色螢光蛋白轉入並且在種子發芽時表現。



圖四 利用基因槍的方式，將含有不同胞器標定螢光蛋白送到花瓣中並在胞器中表現。綠色：粒線體，紅色：葉綠體。

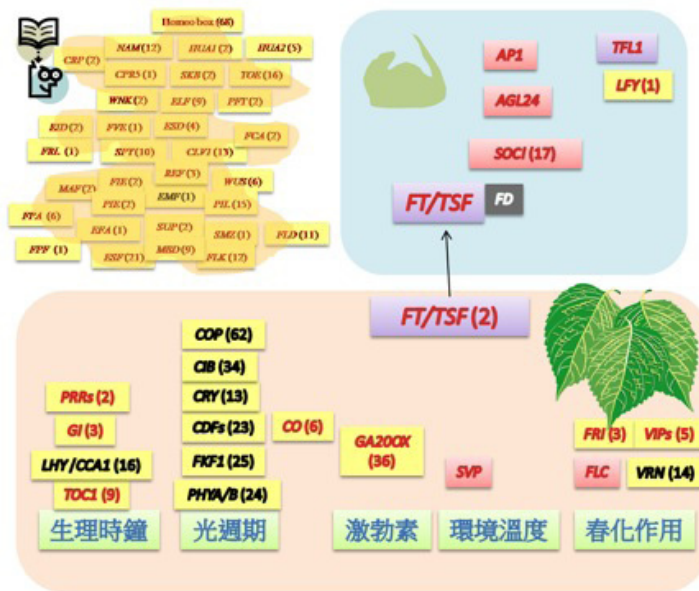
2. 沒有基因序列資料：這是很多非模式植物進行相關研究時所會面臨到的問題，以蘭科植物來說，扇形文心蘭具有蘭花中最少的染色體數 $2n=12$ ，也具較小的基因組 $1C=1.5$ pg（蘭科植物最小為 *Oncidium leucochilum* $1C=0.60$ pg, $2n=56$ ，水稻 $=0.5$ pg, 阿拉伯芥: 0.16 pg）。但相對於其他蘭科植物（如商業品種南西文心蘭 $2n=112$ ）簡單許多（圖五），目前成功大學張松彬老師在進行相關的細胞遺傳學的研究，而這些資訊可以做為未來基因組定序時的重要資料。



圖五 蘭科植物的核型分析。左：扇形文心，右：南西文心蘭

近來因為定序技術的改善，使得基因組的定序並非遙不可及，但所需經費仍非常高。因此，在未有基因組之資料前，目前先建立扇形文心轉錄資料庫及小核糖核酸資料庫，從這個資料庫中找到我們有興趣的課題相關的基因進行研究。以開花為例，我們利用目前已知阿拉伯芥開花機制中重要的基因，及文獻中與開花或發育相關之基因與資料庫中的序列進行比對，除了 FD 之外，其他的基因皆有找到序列相似基因 (圖六)。但目前資料庫中的序列長度平均在 1000 bps 左右。很多並沒有全長，為了能很快速的得到這些基因的全長，我們利用扇形文心的人工細菌染色體庫 (BAC library)，將扇形文心的基因組切為 100 kb 的大小，放到細菌中，再利用 PCR 的方式，把含有我們有興趣基因的細菌找出來，純化其質體 DNA，直接可以作為定序的材料。利用這樣的方式，約有 400 個與開花相關的基因全長及其啟動子的部份已被定序出來，目前正進行後續功能的分析。

不論在定序，分子生物學，及植物基因轉殖的進步，使得利用蘭科植物進行其特有的研究變為可行。扇形文心它的生長快，體積小使它在研究上有其優勢。但如前所說，蘭科植物的種類繁多，不同的種有其特別的現象及農業上的問題。因此，其他的蘭科植物是需要建立自己的研究平台，我們在扇形文心上的經驗，或許可以提供非模式植物研究時的一種策略。



圖六 利用目前所建立的扇形文心轉錄資料庫進行開花及花朵發育相關基因的比對，在資料庫中的相似序列名稱及個數。紅字的部份為含有基因全長及啟動子部份，黑色的部份只有 cDNA 的部份，紅框的部份為相關基因相似，其功能要進一步的研究才能區分，紫框亦同 (本圖結構引用自 Fomara, et al. 2010)。