

肆、生物技術之研發與應用

李淑真、葉志新、廖芳心、鄭隨和

一、前言

植物生物技術是結合新興生物技術於植物的生產及利用的領域，包括植物組織培養技術、基因轉殖技術及分子標誌技術等。本場於 2005 年成立生技小組，主要工作為應用植物組織培養技術開發多種蘭花之種苗繁殖技術，除了輔助蘭花育種及繁殖之外，同時也對於台灣原生遺傳資源進行保存與利用之研究；另外本場開發不同分子標誌技術，用以研究不同物種或品種之親緣關係及遺傳歧異度，也做為轄區內重要作物品種鑑定平台建立之依據。

二、執行情形

本場生物技術研發的方向主要有三方面：(1)蝴蝶蘭及根節蘭的育種；(2)植物組織培養技術的研發包括有蝴蝶蘭屬、根節蘭屬、石斛蘭屬、風鈴蘭屬、鶴頂蘭屬及赤箭蘭屬等作物的種苗繁殖與栽培技術；(3)分子標誌技術的研發是利用不同分子鑑定技術鑑別草莓、聖誕紅、蝴蝶蘭、長壽花、風鈴蘭屬、鶴頂蘭屬、肖頭蕊蘭屬等的親緣關係與品種鑑定，以及開發鑑定基因轉殖作物之技術，其執行概況說明如下：

三、利用組織培養技術繁殖種苗與栽培技術

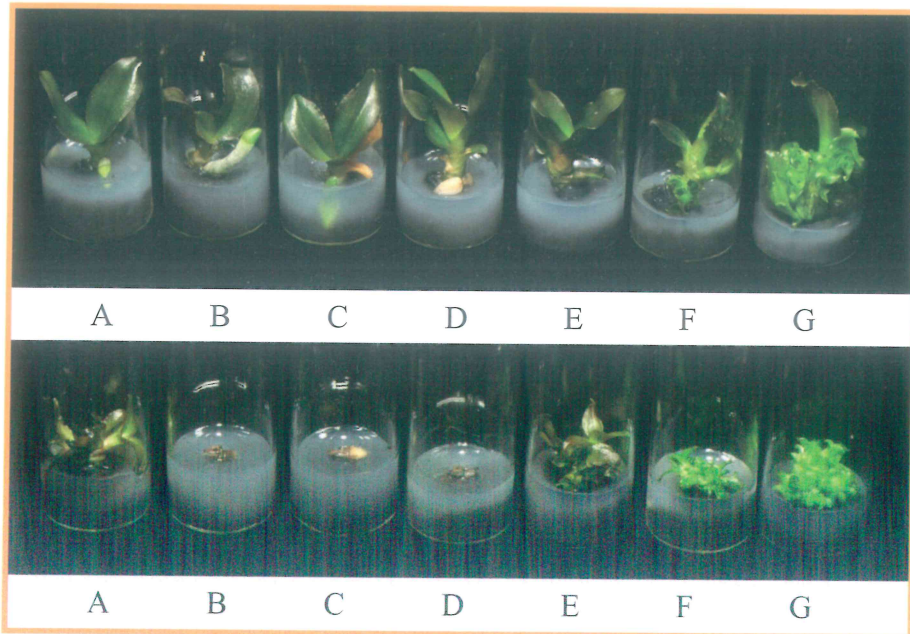
(一) 蝴蝶蘭屬及朵麗蝶蘭屬種苗繁殖之研究

本場應用短暫浸漬系統、液體培養及物理傷害處理，以加速蝴蝶蘭種苗的繁殖。短暫浸漬系統以打氣 4 hr 或浸漬 15 min 對蝴蝶蘭 *Dtps. Han-Ben's Girl* × *Dtps. Sogo Golden* 及 *Dtps. I-Hsin New Girl* × *Dtps. Jiuhbao Red Rose* 實生苗生育最佳。分

生苗繁殖技術，液體培養技術以 *Dtps.* Leopard Prince 平均每個培植體增殖 3.9 個最高、*Phal.* Fortune Saltzman 增殖 3.8 個。物理傷害處理，以 *phal.* Tai-Lin Angel 'V31' 固體培養配合切割處理，平均每個培植體增殖數最高為 8.9 個，較對照組高一倍，植物荷爾蒙配合壓傷處理對蝴蝶蘭 *Phal.* Join Angel 'M' 及 *Phal.* Dragon's Gold 增值數最高為 5.33 個及 12.5 個。



短暫浸漬系統打氣時間對蝴蝶蘭 *Dtps.* Han-Ben's Girl × *Dtps.* Sogo Golden 實生苗生育之影響

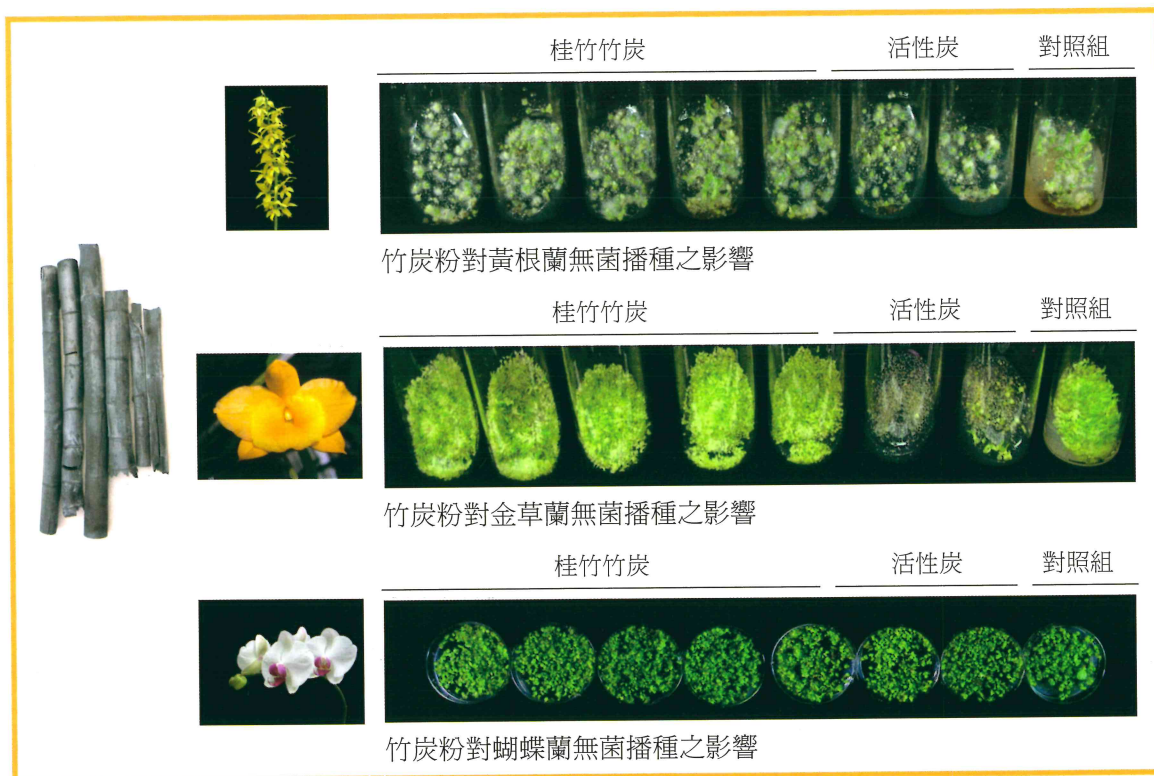


植物荷爾蒙配合壓傷處理對蝴蝶蘭 *Phal. Dragon's Gold* 花梗芽誘導之影響
 (上圖為植物荷爾蒙處理，下圖為植物荷爾蒙配合壓傷處理)

(二) 竹炭在蘭花種苗繁殖及蝴蝶蘭栽培之研究

本場開發竹炭應用於蘭花種苗繁殖與栽培，改進生產環境，提高產品品質，增加農業廢棄物之再利用價值。桂竹炭粉應用在金草蘭 (*Dendrobium clavatum*)、黃根節蘭 (*Clanthe sieboldii*) 及朵麗蝶蘭 (*Dtps. Han-Ben's Girl 'HB728'*) 之無菌播種，可提高黃根節蘭、朵麗蝶蘭及金草蘭無菌播種的發芽率，並促進金草蘭小苗的發育。桂竹炭粉及綠竹炭粉可取代活性炭在朵麗蝶蘭 (*Dtps. Sinaca Sunday 'SCL141'*) 的花梗芽培養並促進蝴蝶蘭 (*Phal. Casablanca Joy × Phal. Yukimai-Dinlong Spring 'Sincen'*) 及 (*Phal. I-Hsin Bride 'KH5570D-1'*) 與朵麗蝶蘭 (*Dtps. Han-Ben's Girl 'HB728'*) 組培分生苗的生長。以適當比例的桂竹炭或綠竹炭粒混合水苔作為蝴蝶蘭的栽培介質，可促進 1.5 吋盆朵麗蝶蘭 (*Dtps. Taisuco Firebird 'DL18#21'*) 及蝴蝶蘭 (*Phal. I-Hsin Bride 'KH5570D-1'*)、2.5 吋盆朵麗蝶

蘭 (*Dtps.* Sogo Smith KH5521#100)、3.5 吋盆朵麗蝶蘭 (*Dtps.* I-Hsin New Girl 'KH5250') 及 (*Dtps.* I-Hsin Maple 'KH5872') 等不同階段的蝴蝶蘭及朵麗蝶蘭小苗生長。



竹炭對黃根節蘭、金草蘭及蝴蝶蘭無菌播種之影響

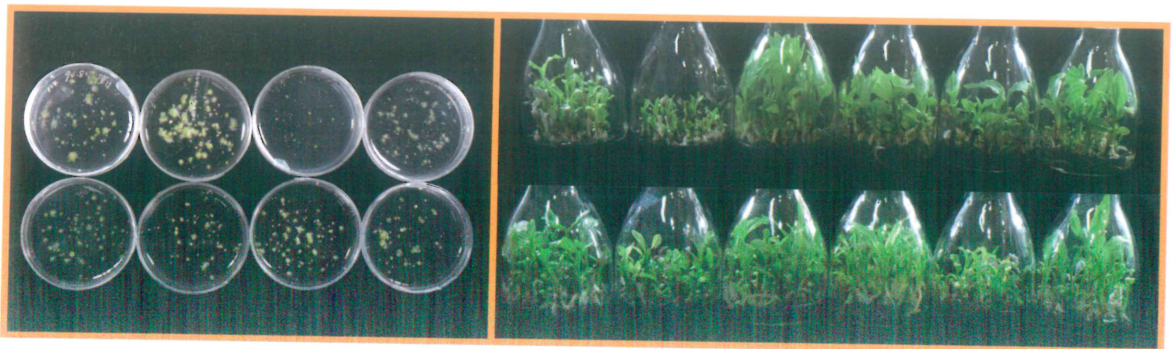


竹炭對蝴蝶蘭 1.5 吋盆花生育之影響

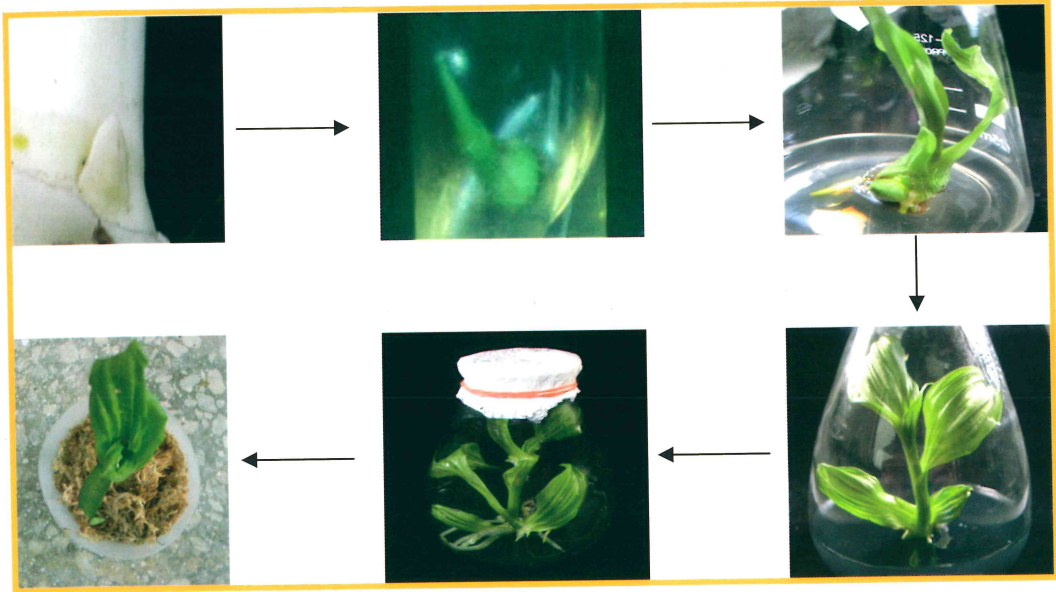
(三) 根節蘭屬(*Calanthe*)種苗繁殖之研究

本場開發黃根節蘭 (*C. sieboldii* Decne. ex Reg.)、白鶴蘭 (*C. triplicata* (Willem) Ames.)、長距根節蘭 (*C. masuca* (D. Don.) Lindl.) 之種內及種間雜交種的無菌播種及繁殖技術，建立新與花卉種苗繁殖之基礎。黃根節蘭實生苗繁殖以授粉後 110 天的果莢發芽率最佳為 38.35%，繼代培養密度以 15 株/瓶最佳。實生苗芽體增殖，培養 4 個月後增殖為 8.2 個芽，再經繼代培養 4 個月增殖為 11.5 個芽。側芽培養微體繁殖，經誘導培養 3 個月，添加各種植物生長調節劑，僅有少數不定芽被誘導，經繼代培養，於培養 11 個月後，可馴化及定植於溫室。

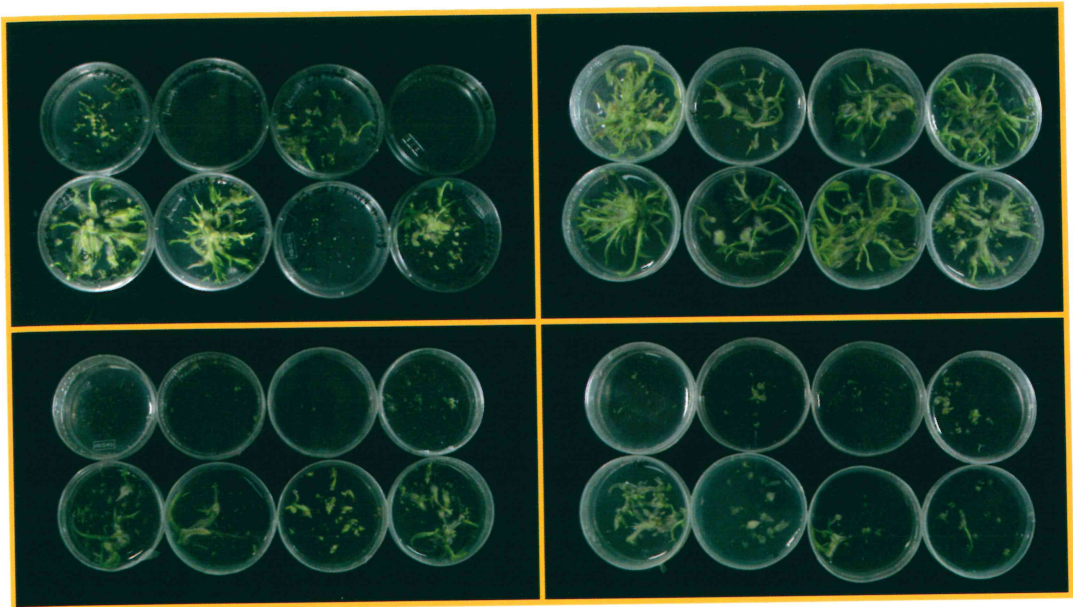
白鶴蘭、長距根節蘭及黃根節蘭物種內及物種間雜交種種苗繁殖，白鶴蘭授粉後 188 天的種子發芽率 25.7%；長距根節蘭授粉後 91 天的發芽率 28.5%。種間雜交方面，白鶴蘭 × 長距根節蘭以授粉後 151 天發芽率 9.3%；白鶴蘭 × 黃根節蘭授粉後 109 天發芽率只有 0.7%；長距根節蘭 × 白鶴蘭以授粉後 94 天發芽率為 10.9%；長距根節蘭 × 黃根節蘭以授粉後 105 天發芽率為 3.1%。



培養基成分對黃根節蘭無菌播種(左)及繼代培養(右上及右下)之影響



黃根節蘭側芽培養微體繁殖技術



培養基成份對根節蘭屬無菌播種發芽之影響

長距根節蘭物種內雜交(左上)；長距根節蘭×白鶴蘭(左下)；
白鶴蘭物種內雜交(右上)；白鶴蘭×長距根節蘭(右下)。

(四) 石斛蘭屬 (*Dendrobium*) 種苗繁殖之研究

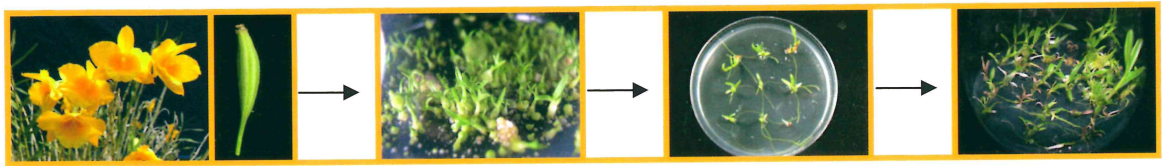
台灣原生石斛 (*Dendrobium* spp.) 目前已知有 13 種，部分含有石斛鹼，具有藥效，而多數種類具有觀賞價值。黃石斛 (*Den. tosaense* Makino.)、紅石斛 (*Den. miyakei* Schltr.) 及金草蘭 (*Den. clavatum* Lindl.) 為具有觀賞價值，經多年來的採集，野生族群已相當稀少。本場為建立種苗大量繁殖技術，提供研究及復育材料，以不同個體間雜交，取綠莖無菌播種。黃石斛及紅石斛於參試基本鹽類之發芽率皆很高。黃石斛經繼代培養於花寶 1 號添加有機添加物的培養基下可發育成小苗，紅石斛經繼代培養於花寶 1 號添加植物賀爾蒙的培養基下可發育成小苗。金草蘭側芽培養，經誘導、繼代及發根培養，之後馴化及定植於溫室，於培養 10 個月後一個側芽平均可得到 18.8 個芽。



黃花石斛的植株、花朵、無菌播種發芽及繼代培養生育情形



紅花石斛的植株、花朵、無菌播種發芽及繼代培養生育情形



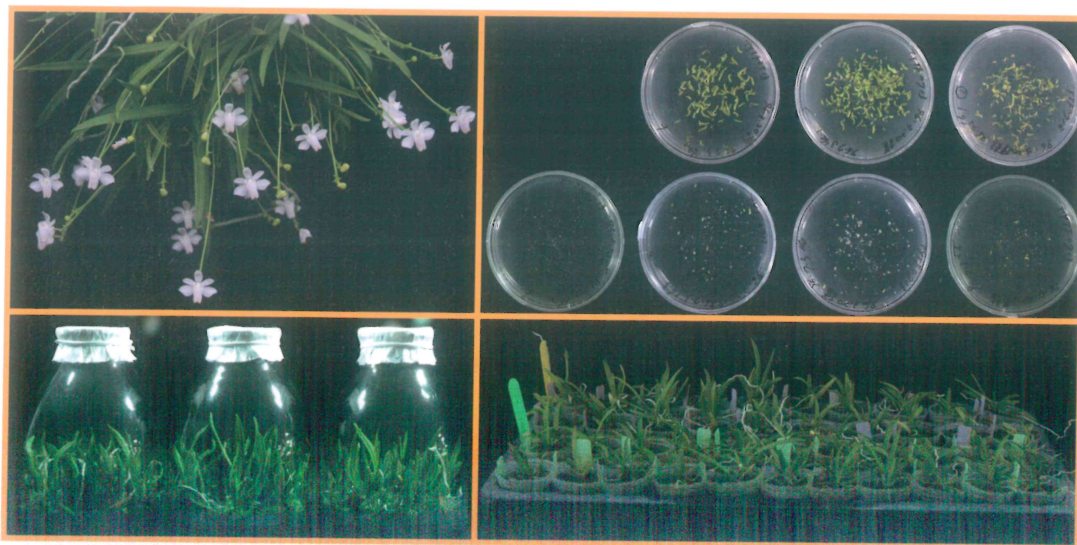
金草蘭果莢無菌播種大量繁殖技術



金草蘭側芽培養微體繁殖技術

(五) 風鈴蘭屬 (*Thrixspermum*) 種苗繁殖之研究

台灣原生風鈴蘭屬 8 種，其中台灣風蘭 (*Tx. formosanum* (Hay.) Schltr) 植株小，花型特殊，花白色具香味，具觀賞價值，具有開發為桌上型迷你盆花之潛力。厚葉風蘭 (*Tx. subulatum* Rchb. f.) 為倒垂性大型附生蘭，數量相當稀少。本場開發風鈴蘭屬之無菌播種技術，以保存物種及開發其利用性，建立種苗大量繁殖技術。台灣風蘭以異株白花授粉之綠莢進行無菌播種，發芽率最高達 72.8%，經 2 次繼代培養，植株達 5 公分高，葉片 7-8 片葉時，出瓶定植於溫室，次年即可開花。厚葉風蘭於溫室行異株白花授粉，以授粉後 83 天的綠莢無菌播種，發芽率可達 99% 以上，經繼代培養後，馴化、出瓶定植於溫室。



台灣風蘭種苗繁殖

台灣風蘭的植株及花朵(左上)；培養基成分對台灣風蘭無菌播種之影響(左下)；培養基成分對台灣風蘭實生苗生育之影響(右上)；台灣風蘭實生苗溫室栽培情形(右上)。



厚葉風蘭種苗繁殖

厚葉風蘭的植株(左上)及花朵(右上)；培養基成分對厚葉風蘭無菌播種之影響(左下)；培養基成分對厚葉風蘭小苗發育之影響(右下)

(六) 赤箭屬 (*Gastrodia*) 種苗繁殖之研究

高赤箭 (*Gastrodia elata* Bl.)，別名天麻，為蘭科 (Orchidaceae) 赤箭屬 (*Gastrodia*) 多年生草本植物，是重要的中藥材。天麻入藥始於東漢《神農本草經》已有 2000 多年的歷史。綜合歷代本草對天麻的描述為，味辛，溫，無毒，主息，息風，定驚。治眩暈眼黑，頭風頭痛，肢體麻木，半身不遂，小兒驚風等症。而經現代藥理研究證明天麻具有鎮靜、鎮痛、抗癲癇、降低血壓、增智健腦等功效，具有極高的藥用價值，而近代養生保健觀念的重視，天麻除了作為中藥方劑使用外，同時也常做為藥膳使用。天麻屬於單價高的中藥材，而目前台灣尚未有商業栽培之天麻，且種苗取得不易，因此本場利用植物組織培養技術繁殖天麻種苗，以建立天麻之生產體系，包含建立無菌播種及誘導營養繁殖莖增生之培養基配方；並利用不同培養溫度及培植體大小建立營養繁殖莖增殖之培養條件；另外也建立高赤箭癒合組織誘導、增殖、體胚分化及再生之培養條件。



天麻圓球莖、營養繁殖莖及繁殖之白麻

(七) 鶴頂蘭屬 (*Phaius*) 種苗繁殖之研究

本場蒐集台灣原生鶴頂蘭屬種原 4 種，其中粗莖鶴頂蘭 (*Phaius takeoi* (Hayata) H. J. Su) 花色素雅、香味宜人，是一個很好的觀賞植物，目前粗莖鶴頂蘭人工授粉及繁殖仍相當困難，原本分佈就較為狹隘，加上多年來原生棲地遭受開墾破壞，野生族群數量相當稀少，因此需要建立繁殖技術來進行保育及復育工作。以授粉後 100 天之果莢進行無菌播種，於 4 個月後種子膨大發芽，5 個月後形成 PLB，再經繼代培養 8-14 個月後，定植於田間，利用此技術可繁殖大量實生苗。



原生粗莖鶴頂蘭植株、花朵及無菌播種苗

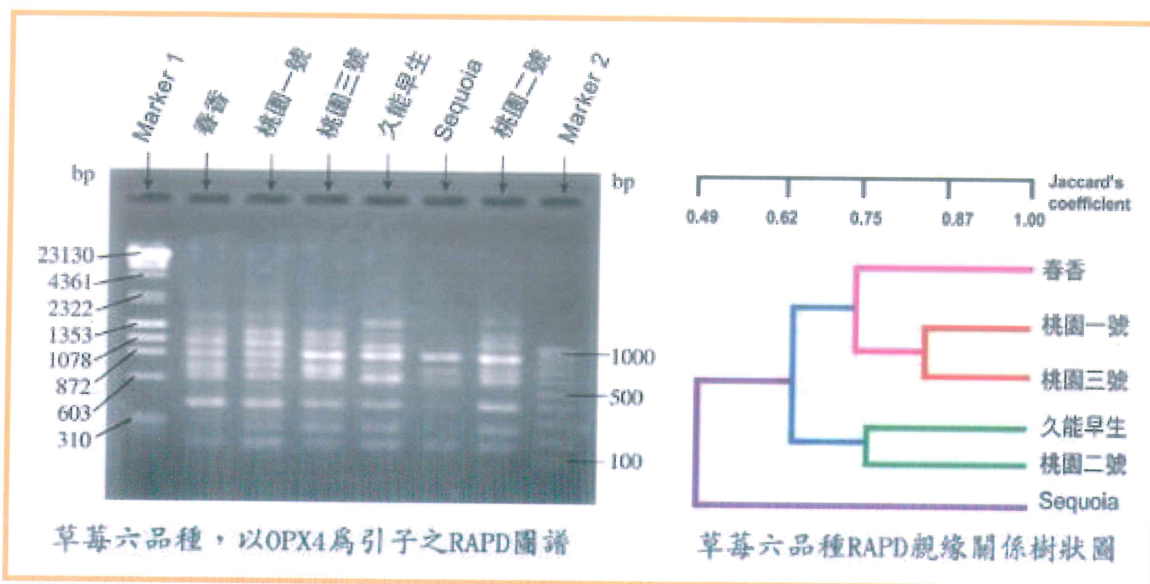


粗莖鶴頂蘭在不同培養基下發芽情況

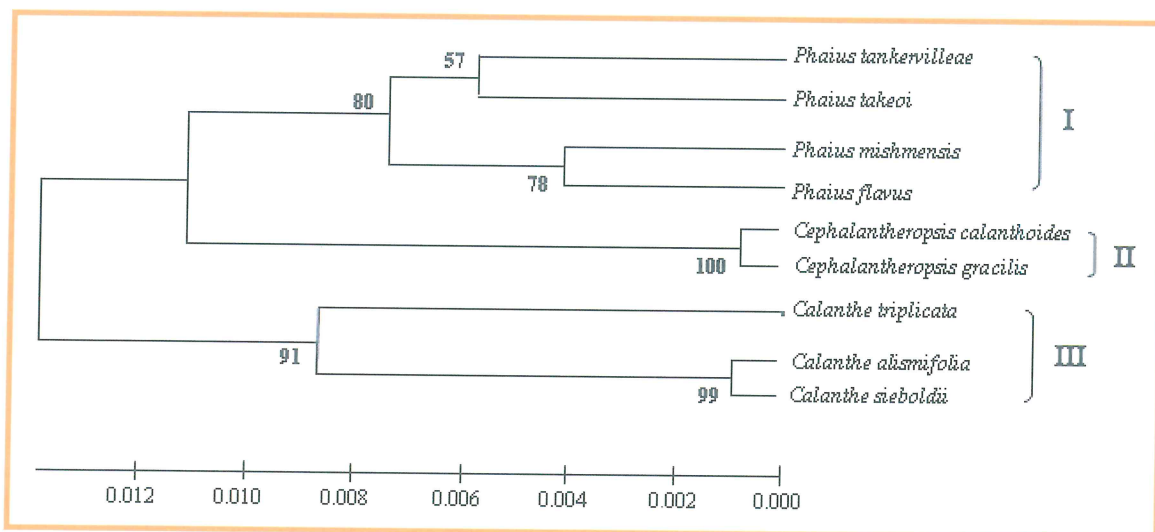


四、分子標誌應用於作物品種鑑定、親緣關係及 GMO 檢測之研究

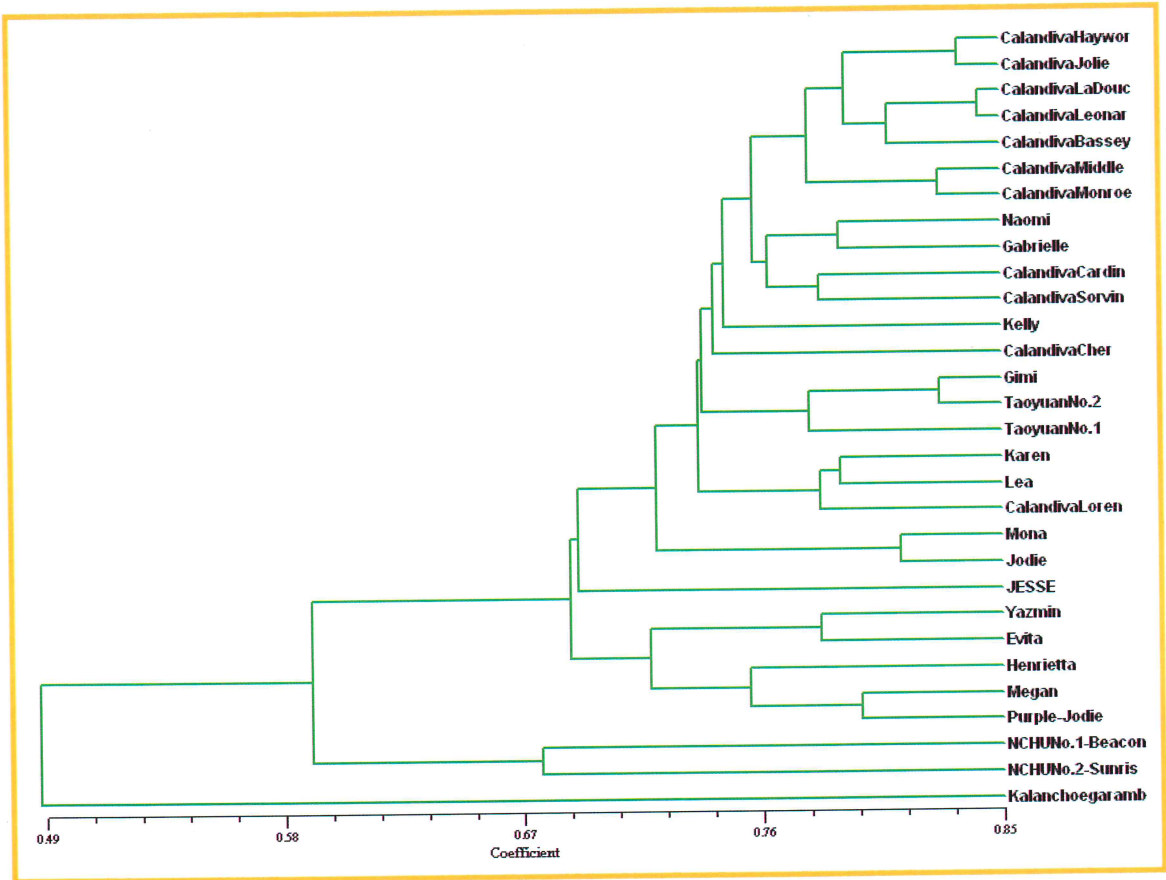
分子標誌 (molecular marker) 指與基因組中的特定位置或與特定基因有關聯的 DNA 片段，在不同物種或品種間有多型性可做區別。分子標誌在分析作物的遺傳變異和遺傳組成是非常有用的工具，可提供一個穩定、快速且可靠的品種分類及親源鑑定方法，在農業上常應用於品種鑑定、種子品質檢查、基因轉殖作物檢測及分子標誌輔助育種選拔 (marker assisted selection, MAS)。本場開發多種作物的分子標誌技術，在遺傳材料之親緣關係研究，已完成應用逢機增殖多型性 DNA (RAPD) 標誌分析草莓及聖誕紅親緣關係，以核糖體核酸內轉錄間序列 (ITS) 分析台灣原生風鈴蘭屬 6 個原種之親緣關係，以葉綠體 *rpl32-trnL* 之序列以及核糖體 ITS 序列分析台灣原生鶴頂蘭屬及肖頭蕊蘭屬之親緣關係，以 ISSR 分析探討長壽花品種之親緣關係。在開發品種鑑定之分子標誌，目前對於國內重要之盆花如聖誕紅、長壽花、蝴蝶蘭品種，使用 ISSR 及 SSR 分子標誌技術建立品種鑑定平台，作為品種智慧財產權之保護之參考。另外開發可鑑定基因改造作物 (GMO) 之分子標誌，同時與種苗改良繁殖場、花蓮區農業改良場、台南區農業改良場及農業試驗所鳳山分所，建立基因轉殖植物聯合檢測機制，並針對主要種苗生產與販售業者進行抽樣檢測並輔導生產非基因轉殖木瓜種苗，以落實基因轉殖作物之管理。



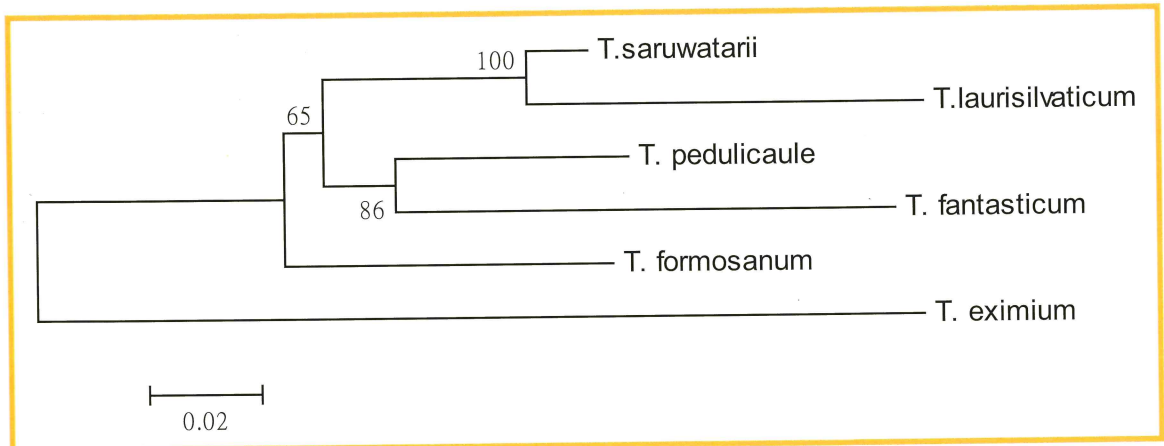
應用隨機增殖多型性 DNA 標誌鑑別草莓品種親緣關係之研究



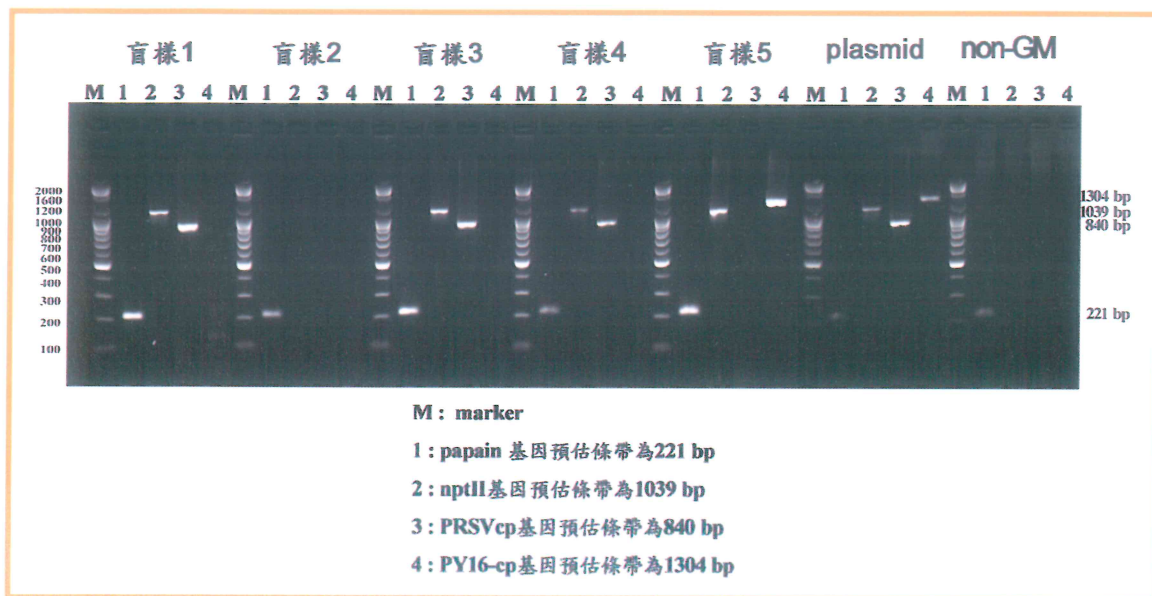
使用葉綠體 *rpl32-trnL* 區域分析台灣原生鶴頂蘭屬及肖頭蕊蘭屬之親緣關係



使用 ISSR 分子標誌分析長壽花品種之親緣關係



6 種台灣原生風鈴蘭之 ITS 序列分析



用於鑑定基因改造作物（GMO）木瓜之分子標誌

五、結 語

本場生技小組致力於利用植物組織培養技術大量繁殖台灣原生蘭花的種苗並應用植物組織培養技術輔助蘭花育種，以保存台灣原生蘭花物種及發展其多樣性的應用，並從其中開發新興的花卉。另一方面，配合產業的發展，利用 DNA 分子標誌技術，除了可了解及分析台灣原生蘭花種原遺傳歧異度、發展品種鑑定技術、基因轉殖作物檢測技及分子標誌輔助育種選拔技術等，建立本場植物生物技術的基礎，未來可持續研發並擴大應用於其他作物的育種、植物的防疫與檢疫及土壤肥料的應用等，開拓本場農業生物技術的發展。