

生物技術

蘭科植物組織培養之研究

一、蝴蝶蘭生長點培養

本研究之目的在探討生長點培養對蝴蝶蘭去病毒之影響，並建置蝴蝶蘭病毒檢測技術與檢測蝴蝶蘭病毒，結果如下：1.基本鹽類及植物生長調節劑對蝴蝶蘭生長點培養之影響：以 *Phal. amabilis* 及 WM373 蝴蝶蘭分生苗為材料，為帶 2-3 片葉的瓶苗植株，取生長點培養。*Phal. amabilis* 參試基本鹽類及植物生長調節劑等 30 種培養基對蝴蝶蘭生長點培養之影響，培養 2 個月後繼代培養於 22 號培養基。結果僅在 99PS5 的培養基下有 3 個生長點得到植株。就形態發生而言，生長點培養可透過擬原球體發育成植株或直接發育成植株。透過擬原球體發育成植株的方式，於培養 10 個月後可得到 32 株小苗。WM373 參試生長調節劑等 10 種培養基配方，於培養 1 個月後繼代培養於 99PS61-63 等 3 種培養基配方，培養 1 個月後再繼代培養於 22 號培養基，結果獲得 3 株植株。培養流程為 99PS42 或 99PS49 培養 1 個月，繼代培養於 99PS62，再培養 1 個月，繼代培養於 22 號培養基，再培養 3 個月後可得到植株。2.高溫處理對蝴蝶蘭生長點培養之影響：以 WM373 蝴蝶蘭分生瓶苗為材料，以 40°C 或 50°C 的高溫環境下處理 4 或 20 小時，對照組為不經高溫處理，處理後取生長點培養。培養基為 99PS41、99PS42、99PS47 及 99PS49 等 4 種，於培養 1 個月後繼代培養於 99PS61-63 等 3 種培養基配方，培養 1 個月後再繼代培養於 22 號培養基。結果以 50°C 處理 20 小時的植株褐化愈多。取生長點培養，僅 1 個生長點培養得到植株，為 40°C 處理 4 小時。培養流程為 99PS41 培養 1 個月，繼代培養於 99PS63 培養基配方，再培養 1 個月，再繼代培養於 22 號培養基，再培養 3 個月後可得到植株。

二、蝴蝶蘭病毒檢測技術之建置與檢測

本研究之目的在利用蝴蝶蘭病毒晶片檢測套組建置檢測方法，並檢測蝴蝶蘭病毒，以作為蝴蝶蘭生長點培養去病毒之依據。蒐集 *Phal. amabilis*、A03、MA44、K197-1 及 WM373 等 5 個品種的瓶苗，檢測結果為 *Phal. amabilis* 及 MA44 不帶病

毒，A03 及 WM373 為帶有 CymMV 單 1 種病毒，而 K197-1 帶有 CymMV 及 ORSV 雙病毒。

三、仙履蘭種苗繁殖之研究

本研究之目的在蒐集仙履蘭種原並建立其微體繁殖技術。自國內蒐集仙履蘭 50 種種原，栽培於標準溫室內，供種苗繁殖之試驗材料，並探討植物生長調節劑對仙履蘭側芽培養微體繁殖之影響。取 31 個品種的仙履蘭小側芽 250 個，培養 2 個月後得到 125 個小側芽，成功率 50%。培養於 17 種培養基，於 PA9、31、蘭 4、9010-1、9011-1、9013-1 及 9014-1 等代號培養基下可誘導不定芽發生。建立 25 個品種的無菌瓶苗，於 TYPAC0904、0911、0916、0920、0921、0922、0923 及 1005 等 8 品種可誘導不定芽發生，於 TYPAC0916 及 0923 的品種有褐化的情形。

四、黃根節蘭分生苗大量繁殖技術之建立

本研究之目的在探討不同月份的黃根節蘭側芽對其分生苗生育之影響。培養基配方為 9049，每個月取 6 株側芽培養，培養 2 個月後繼代培養於 88 號培養基配方。結果 1-5 月黃根節蘭側芽培養成功率均在 50% 以上，6 月以後的成功率在 50% 以下。不定芽的誘導，僅於 4 月及 9 月可增殖 3 個芽或以上的芽。

五、白鶴蘭分生苗大量繁殖技術之建立

本研究之目的白鶴蘭探討植物生長調節劑對白鶴蘭花梗芽培養之影響。白鶴蘭於 4 月開始抽梗，6 月開花，9 月花期結束，分別於 5 月 6 日、18 日及 6 月 2 日等取白鶴蘭未成熟花梗芽培養。培養於 11 種培養基配方，培養 5 個月後，未見花梗芽形成植株。另取 9 月 6 日花期即將結束的成熟花梗為試驗材料。參試基本鹽類組合及植物生長調節劑等 19 培養基配方對花梗芽培養之影響。5 重複，每重複 10 支試管，每支試管置放 1 節花梗芽。培養 3 個月後，有 50% 的成功率，未見花梗芽形成植株。以解剖顯微鏡觀察，白鶴蘭的花梗節上有側芽，大小僅 1 mm，於花梗基部節位著生側芽，花梗頂端節位著生退化的花苞，由於花梗芽相當小，因此不易促進生長。另花梗為肉質莖，其上佈滿短短的細毛，消毒不易成功。花梗基部第 1-3 節的污染率高達 70-100%，而第 4-7 節為 0-50%。

六、高赤箭（天麻）繁殖及栽培技術

本試驗旨在建立天麻與蜜環菌的繁殖及栽培技術。(1)利用添加不同植物賀爾蒙及蔗糖含量建立天麻癒合組織繁殖及誘導體胚，結果顯示，添加植物賀爾蒙不會顯著提高癒合組織繁殖速率，而提高蔗糖含量有助於癒合組織繁殖。培養蜜環菌可先於 PDA 培養基中培養 1-2 週，進行菌株純化，再將生長於 PDA 之蜜環菌，移至燕麥上以 25℃ 培養 2-3 週，燕麥完全長滿菌絲後做為菌種，菌種與天麻營養繁殖莖同時接種於含木塊之培養瓶內培養，生產米麻及白麻作為栽培用之種麻，或接種於木塊上可培養為菌材供後續栽培天麻使用。(2)探討不同養液對培養蜜環菌之影響，並與本場所繁殖之天麻營養繁殖莖共栽培。結果顯示添加養液(1-3 號)之蜜環菌菌絲生長快速，約在接種後 5-7 天就可以觀察到菌索生長，14 天時菌索生長旺盛，幾乎已遍佈整個培養瓶，而對照組稍慢，約在接種後 7-10 天可觀察到菌索開始生長。天麻與蜜環菌共培養 2 個月後，營養繁殖莖頂芽膨大為米麻，同時在營養繁殖莖側芽已生成小米麻。

日日春微體繁殖技術之建立

本研究之目的在應用組織培養技術大量繁殖日日春種苗。取日日春桃園 1 號之枝條，培植體大小以一個節為單位，置入培養基內。參試基本鹽類、NAA 及 BA 等植物荷爾蒙共 10 種培養基配方對日日春誘導不定芽之影響。培養 1 個月後，形態發生可分為 3 種，為誘導癒合組織形成、混合不定芽與不定根形成及混合不定芽與癒合組織形成。不定芽誘導率以代號日 5 的培養基誘導率最高，為 100%，代號日 8 的培養基 100%誘導混合不定芽及癒合組織形成。不定芽誘導形成的葉片在代號日 1 及日 11 的培養基下正常生長，其它培養基下誘導形成細長莖或葉片皺縮，對照組則可誘導不定根形成。培養 1 個月後，誘導形成的細長莖及皺縮葉片，經繼代培養於代號日 1 及日 11 的培養基，莖及葉片可恢復正常，於代號日 1 的培養基下可同時誘導不定根的形成。於代號日 23 培養基培養 2 個月，再繼代培養於代號日 12 培養基培養 1 個月，1 個培植體可誘導 46 個不定芽形成。

分子標誌應用聖誕紅、長壽花、蝴蝶蘭之品種鑑定

本試驗旨在對於國內流通及具有品種權之聖誕紅、長壽花、蝴蝶蘭品種，利用分子標誌建立品種鑑定平臺。目前品種收集已完成聖誕紅 84 種、長壽花 26 種、

白花蝴蝶蘭 19 種。長壽花之 SSR 分子標誌經 Roche / 454 定序所獲得之 7 萬條序列中設計 36 組引子，經由篩選可使用 5 個 SSR 引子鑑別出 23 個長壽花品種。蝴蝶蘭 SSR 分子標誌由 the National Centre for Biotechnology Information (NCBI) 資料庫中及文獻中之蝴蝶蘭序列共設計出 144 對引子，共 40 組引子可以擴增出預期條帶，具有作為品種鑑定及建構遺傳圖譜之潛力。

加強基因轉殖植物安全管理－基因轉殖植物之檢測

本計畫旨在針對可能種植之國內外基因轉殖作物，建立聯合檢測監測機制，並開發基因轉殖木瓜快速且簡易的檢測方法，使之縮短檢測時間。基因轉殖植物聯合檢測機制是由種苗改良繁殖場、花蓮區農業改良場、臺南區農業改良場及農業試驗所鳳山分所及本場共同建立，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。目前配合基因轉殖植物聯合實驗室能力測試，於本年度完成 5 次盲樣測試，並執行 7 批共 15 件抽檢樣品之檢測工作，檢測報告送農糧屬辦理後續行政工作。另外研發磁減量免疫檢測技術，此技術是將設計之探針接上 biotin 以共價鍵方式結合磁珠上（含 streptavidin）上，當磁珠上探針與單股 DNA 結合後，會造成個別磁珠聚集，減少磁珠在磁場的旋轉量，稱為免疫磁減量（ImmunoMagneticReduction, IMR），IMR 測定儀中可將微弱的磁訊號轉變為可量測的電壓訊息，可以透過量測含有不同待測生物分子含量的樣品之磁減量訊號，得到檢量線。以 NPTII 基因序列設計 20bp 的探針進行免疫磁減量試驗，結果顯示以 NPTII 探針所建立的標準曲線，受檢 DNA 濃度由 0.01–100 µg/ml，IMR（%）僅為 0.9–1.5，與試驗要求大於 4（noise level）相差甚遠，所以此檢驗方法目前尚無法實際應用於 GMO 檢測。