

# 生物技術

## 蘭科植物組織培養之研究

### 蝴蝶蘭芽體增殖技術之建立

本研究之目的在探討物理方式處理、植物荷爾蒙及培養時間對蝴蝶蘭芽體增殖之影響，試驗如下：

#### 一、不同切割方式對蝴蝶蘭花梗芽誘導之影響

取種植於 6 吋盆之 *Phal. Sogo Yukidian* 'V3' 的花梗，自花梗第 2 節取下為供試材料，剪成數段，每一段帶 1 個花梗芽，經消毒後對芽體進行 A、B 及 C 等 3 種切割處理，對照組不進行任何切割處理，4 重複，每重複 5 瓶。培養 2 個月再繼代培養於相同培養基，於培養 5 個月後調查。結果顯示直接於花梗芽進行切割處理會降低總芽數，而其中 C 處理會有 10% 的芽枯死。就形態發育而言，多數可發育為營養芽，但部份則發育為營養芽及繁殖芽同時存在，對照組有 21.5%，而 A 及 B 處理均為 36.8%，C 處理 15%。對於花梗芽發育的營養芽大小而言，A 及 B 處理的營養芽於葉數、株高及全部鮮重方面均較對照組高，顯示雖然降低總芽數，但可促進營養芽的生長。

#### 二、TDZ 及壓傷處理對蝴蝶蘭花梗芽誘導之影響

取種植於 5 吋盆之 *Phal. Join Angel* 'M' 的花梗及種植於 3.5 吋盆之 *Phal. Dragon's Gold* 的花梗，自花梗的第 2 節取下為供試材料，剪為數段，每一段帶 1 個花梗芽，經消毒後分二種處理，A 處理為對照組，直接將花梗芽插入培養基內培養，B 處理為壓傷處理。參試 7 種誘導培養基的配方為 9007、9009-1、9010-1、9011-1、9012-1、9013-1 及 9014-1。*Phal. Join Angel* 'M' 試驗為 3 重複，每重複 3 瓶，*Phal. Dragon's Gold* 試驗為 3 重複，每重複 2 瓶，培養 2 個月後調查。結果顯示，以 *Phal. Join Angel* 'M' 蝴蝶蘭芽體誘導而言，A 處理的 9007 配方培養基約有 90% 的單芽率；而含有 TDZ 的培養基單芽率降低，叢生芽可提高至 44%，總芽數最高為 1.67 個。B 處理則隨培養基中 TDZ 濃度的提高，叢生芽的比率提高，總芽

數也提高，其中以 9014-1 配方的培養基為 7.78 個最高。整體而言，B 處理較 A 處理有較高的叢生芽及增殖芽數，且隨 TDZ 濃度的提高其叢生芽可達 100%。對 *Phal. Dragon's Gold* 蝴蝶蘭芽體增殖而言，A 處理 9007 配方的培養基有 83.3% 的單芽率，16.7% 的混合單芽率，隨組合 TDZ 濃度的提高其叢生芽可達 100%；9014-1 配方的培養基其總芽數達 5.33 個最高。B 處理所有配方的培養基均為叢生芽，但呈現嚴重褐化的現象，於 9009-1 配方的培養基下，褐化率達 100%。於含有 TDZ 的培養基下，隨濃度的提高其叢生芽可達 100%，9014-1 配方的培養基其總芽數達到 12.5 個最高。顯示此品種對壓傷的敏感度高，而添加 TDZ 可顯著提高總芽數。

### 三、誘導及繼代培養時間對蝴蝶蘭芽體增殖之影響

取種植於 6 吋盆之 *Phal. Sogo Yukidian 'V3'* 的花梗，自花梗的第 2 節取下為供試材料，剪為數段，每一段帶 1 個花梗芽，於培養 2 個月後，選擇形成單芽的花梗芽進行誘導時間及繼代培養時間試驗，誘導培養基的配方為 31 號及蘭 4，繼代培養基的配方為 22 號。試驗處理如下：(A) 31 號→31 號→22 號 (2 個月繼代一次) (B) 31 號→22 號 (2 個月繼代一次) (C) 31 號→31 號→31 號 (2 個月繼代一次) (D) 31 號→31 號→31 號 (3 個月繼代一次) (E) 蘭 4→蘭 4→22 號 (2 個月繼代一次) (F) 蘭 4→22 號 (2 個月繼代一次) (G) 蘭 4→蘭 4→蘭 4 (2 個月繼代一次) (H) 31 號→31 號→22 號 (45 天繼代一次) (I) 31 號→22 號 (45 天繼代一次)。於培養 10 個月後調查。結果顯示誘導與繼代培養的配方相同下，C 與 D、A 與 H 及 B 與 I 處理於大芽數、小芽數及總芽數以繼代培養 1.5 個月最多，顯示縮短繼代時間可提高總芽數。而相同繼代時間下，一直培養於誘導的培養基配方，其總芽數也較高。E、F 及 G 處理與 A、B 及 C 處理相較，相同的繼代培養方式，誘導的培養基配方不同，顯示蘭 4 較 31 號培養基有較高的大芽數、小芽數及總芽數。

### 四、組合不同植物荷爾蒙對蝴蝶蘭芽體增殖之影響

取 *Phal. amabilis* 瓶苗植株，大小為植株帶 4-5 片葉，培植體為完全去除植株的根及全部葉片均去除 1/2-2/3，之後置入培養基培養，每 1 瓶蘭花瓶置入 5 個培植體，參試植物荷爾蒙 IBA 組合 BA 及 TDZ 等 8 種培養基配方，為 A-H 處理。試驗為 3 重複，每重複 3 瓶，培養 2 個月後調查。結果顯示 IBA 組合 BA 及 TDZ，隨 TDZ 濃度的提高，其總芽數也會提高，以 H 處理最高，但大芽數則以 C 處理最高。

# 仙履蘭種苗繁殖之研究

本研究之目的在建立仙履蘭微體繁殖技術及探討仙履蘭實生苗芽體增殖之影響，試驗如下：

## 一、消毒方法對仙履蘭側芽培養微體繁殖污染率之影響

取仙履蘭 *Paph.* (Almaud #6 × Mishima Citron 'Hsinying') (代號為 2949) 母株，以清水洗淨後，再以 70% 酒精洗淨，分別進行 (A) 1% 次氯酸鈉消毒 15 分鐘，(B) 1% 次氯酸鈉消毒 20 分鐘，(C) 1% 次氯酸鈉消毒 15 分鐘 + 0.5% 次氯酸鈉消毒 20 分鐘，(D) 2.5% 次氯酸鈉消毒 10 分鐘 + 1% 次氯酸鈉消毒 15 分鐘，(E) 2.5% 次氯酸鈉消毒 10 分鐘 + 1% 次氯酸鈉消毒 20 分鐘，(F) 2.5% 次氯酸鈉消毒 10 分鐘 + 1% 次氯酸鈉消毒 10 分鐘 + 0.5% 次氯酸鈉消毒 20 分鐘等 6 種處理後，於無菌操作台內洗淨，切取側芽培養。誘導培養基的配方為 31 號。6 種消毒處理中，以 1% 次氯酸鈉消毒 15 分鐘及 1% 次氯酸鈉消毒 20 分鐘處理的污染率 25% 為最低，其餘處理則有 80-100% 的污染率。

## 二、實生苗芽體增殖之研究

### (一) 植物生長調節劑對仙履蘭實生苗芽體增殖之影響

取仙履蘭 *Paph.* (Emulata 'Mishima BM/JOGA × Hsinying Majakun 'C. H.' #3' SM/TPS) (代號為 PA5919)、*Paph.* Honey fra. album (primulinum var. album × philippiense auream 'Hamana Angle') (代號為 PA5909)、*Paph.* (pinocchio 'Dresden' × Thunder Mountain 'Monarch Pass') (代號為 PA5830) 及 *Paph.* (Hsinying Dragon × sib ('Doulde Trouble' × 'Hsinying')) (代號為 PA6259) 瓶苗之植株進行試驗。PA5919 及 PA5909 植株大小為株高 5-7 cm，具 5-7 片葉，PA5830 及 PA6259 植株大小為 3-5 片葉的無菌播種苗，將植株的根全部去除，同時將全部葉片去除 1/2-2/3 後做為培植體，將其置入蘭花瓶；PA6259 之參試組合為 BA 及 TDZ 等 4 種 (A-D) 培養基配方處理；PA5919 之參試 IBA 組合為 BA 及 TDZ 等 4 種 (E-H) 培養基配方處理，PA5909 之參試 IBA 組合為 BA 及 TDZ 等 2 種 (I-J) 培養基配方處理；PA5830 之參試 IBA 組合為 BA 及 TDZ 等 4 種 (K-N) 培養基配方處理，3 重複，每重複 2 瓶。每個蘭花瓶置放 5 個培植體。培養 3 個月後，PA5919、PA5909 及 PA5830 分別

繼代於相同的培養基，培養 3 個月後調查。結果顯示仙履蘭 PA6259 培養 3 個月以 A 處理的總芽數 2.18 個最多，惟處理間差異不顯著，而各處理母株均有褐化的情形發生，褐化率介於 18–24% 之間。PA5919 培養 3 個月以 F 處理總芽數 2.0 個最多，於培養 6 個月後，雖繼代於無植物生長調節的配方，但仍可促進增殖芽數，惟母株均有褐化的情形發生，且以 F 處理的配方褐化率最高。PA5909 培養 3 個月後，I 及 J 處理的總芽數相當，於培養 6 個月後，繼代於無植物生長調節的配方，可少量促進芽體增殖，I 處理有少數母株褐化的情形。PA5830 培養 3 個月，以 M 處理的總芽數最多，但處理間差異不顯著，於培養 6 個月後，繼代於無植物生長調節的配方，可促進增殖芽數，無母株褐化的情形。PA5909 經上述培養後，小苗切下另行培養，同時再繼代參試 NAA 組合 BA 等 4 種配方處理。每個蘭花瓶置放 3 個培植體，每處理 4 重複，每重複 2 瓶。結果顯示對芽體增殖的效果未隨著 BA 的濃度增加而提高。

## (二) 有機添加物對仙履蘭實生苗芽體生育之影響

取仙履蘭 *Paph.* (pinocchio 'Dresden' × Thunder Mountain 'Monarch Pass') (代號為 PA5830) 經上述培養後，將母株上的小苗切下，均培養於 650ml 蘭花瓶，繼代培養參試處理有添加香蕉組合馬鈴薯等 4 種處理 (A-D)，以不添加的基本培養基為對照組。每瓶置放 5 個培植體，每處理 2 重複，每重複 2 瓶，培養 3 個月後調查。結果顯示以 B 處理對其生育的效果最佳。

# 黃根節蘭分生苗大量繁殖技術之建立

## 一、基本鹽類對黃根節蘭分生苗小苗生育之影響

取黃根節蘭實生苗叢生芽誘導得到的小苗為培植體，株高 1–2 cm，置入培養基內培養，參試 6 種基本鹽類培養基的配方處理，為 A-F 處理。每 1 瓶試管置入 1 個培植體，每處理 5 重複，每重複 2 瓶。培養 4 個月後調查小苗的株高、葉數、全株鮮重、地上部鮮重及葉面積等園藝性狀。結果顯示，A 處理小苗的株高、葉數、全株鮮重、地上部鮮重及葉面積等園藝性狀最高，株高、葉數及葉面積等園藝性狀隨基本鹽類濃度降低而降低，顯示較高的基本鹽類濃度可促進小苗生育。

## 二、植物生長調節劑對黃根節蘭分生苗大量繁殖及生育之影響

取黃根節蘭實生苗叢生芽誘導得到的小苗，株高約 3–5 cm，去除根，基部葉片留 3 cm，其餘葉片去除，之後置入培養基培養，參試植物荷爾蒙 IBA 組合 BA 及 TDZ 等 8 種培養基配方，為 A-H 處理。每 1 瓶蘭花瓶置入 5 個培植體，2 重複，每重複 2 瓶。培養 4 個月後調查大芽數、小芽數及總芽數。同時再分別繼代於相同培養基下，培養 4 個月後調查總芽數、株高、葉數及根數。結果顯示，以 E 處理的總芽數 8.2 個為最高，但大芽數以 B 處理最高。培養 4 個月後繼代於相同培養基下，結果顯示隨 TDZ 濃度的提高，可提高小苗的總芽數，但小苗的株高、葉數及根數隨 TDZ 濃度的提高而降低，顯示較高濃度的 TDZ 會抑制小苗的生育，但可促進誘導小苗芽體分化。

## 白鶴蘭側芽培養微體繁殖技術之建立

### 一、不同時期取材對白鶴蘭側芽培養之影響

白鶴蘭 4 月開始抽梗，6 月開花，8 月花期結束，分別於 2、3、8、9、10 等月份採取白鶴蘭側芽進行側芽培養。取白鶴蘭實生苗之當年生分蘖株，自植株上取下，去除根及所有葉片，用 70%酒精表面消毒，2.5%次氯酸鈉消毒 25 分鐘，再以 1%次氯酸鈉消毒 15 分鐘，直接切取側芽培養，培養 2 個月後調查結果顯示，於 8 月份取側芽培養較佳。

### 二、消毒方法對白鶴蘭側芽培養之影響

本試驗之消毒方法係於採取白鶴蘭實生苗之當年生分蘖株，試驗前 0–3 天於溫室內先噴 1,000 倍億力噴施，之後取下當年生分蘖株，去除根及所有葉片，用 70%酒精表面消毒，2.5%次氯酸鈉消毒 25 分鐘，再以 1%次氯酸鈉消毒 10、15 及 20 分鐘，共有 12 種消毒方法，切取側芽培養，1 個月後調查。結果各處理側芽污染率介於 60–100%之間。培養 2 個月後，經繼代培養可得到小苗。

## 高赤箭繁殖及栽培技術

本試驗旨在建立高赤箭繁殖及栽培技術，利用不同培養溫度、培養基及培植體大小探討高赤箭繁殖之最佳條件。溫度試驗採用 2 種培養基，為 1/2 MS 分別添加椰子水及馬鈴薯，培養溫度為 A、B、C 及 D 等 4 個溫度處理，每處理 10 重複，

培養 9 個月進行調查。結果顯示 A 及 B 的培養條件高赤箭生長緩慢，其中添加椰子水褐化率高達 80%；於 C 溫度條件下添加椰子水及馬鈴薯培養基結果相似，約有 1/3 培植體褐化，有 1/3 培植體可大量增生芽體。而添加馬鈴薯的培養基在 D 溫度條件下，約 1/2 培植體可大量增生芽體，而添加椰子水之培養基褐化率高。培植體大小試驗，取 0.2–0.5 cm 及 1.0–1.5 cm 大小之高赤箭培植體為材料，參試不同有機添加物培養基共 8 個處理，每處理中栽培 30 個培植體，3 重複，培養 6 個月結果顯示，培植體大小會影響高赤箭的生長，較小的培植體（0.2–0.5 cm）生長速度較慢、褐化率較高，其中 6 個培養基處理之培植體增生芽數在 1–5 芽或褐化，僅有 A3、A4 培養基之培植體增生芽數較多。大培植體（1.0–1.5 cm）的結果顯示褐化數低，除了 A6 培養基增生芽數較少，A4 及 A7 培養基增生芽數中等，其餘 5 種培養基均可大量增生新芽。

## 分子標誌應用於聖誕紅、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台。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 種等。長壽花及聖誕紅使用 ISSR 分子標誌作為品種鑑定工具，長壽花試驗結果顯示，使用 13 個 ISSR 引子分析 29 個長壽花品種及 2 個原生種，共可擴增出 264 條多型性條帶，可作為品種鑑定之用。蝴蝶蘭使用 SSR 分子標誌作為品種鑑定工具，SSR 分子標誌由 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 資料庫中之蝴蝶蘭序列設計，共設計 80 對引子，有 20 組引子可以擴增出預期條帶，其中 13 個具有多型性，具有作為品種鑑定之潛力。

## 加強基因轉殖植物安全管理－基因轉殖植物之檢測

本計畫係本場與種苗改良繁殖場、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等單位共同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。目前配合基因轉殖植物聯合實驗室能力測試，本年度完成 5 次盲樣測試，並執行 6 批共 14 件抽檢樣品之檢測工作，檢測報告送農糧署辦理後續行政工作。