

## 生物技術

### 水稻癒傷組織誘導、再生及基因轉殖之研究

爲了建立水稻基因轉殖的再生系統，由 22 個水稻品種中選取 6 個具代表性的品種：台農 67 號、台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號、越光及台中秈 10 號，將其種子去穎消毒後以 N6D 培養基誘導癒傷組織，以台梗 17 號及台農 67 號產生癒傷組織之比率較佳，分別爲 92.8-97.5% 及 90.0-96.9%。誘導癒傷組織培養基添加脯胺酸或酪酸水解物試驗，增加脯胺酸對誘導水稻癒傷組織之增大有較顯著的結果，尤其對癒傷組織形成率較低之台中秈 10 號及越光有較顯著之影響（表一）。癒傷組織繼代培養基添加脯胺酸或酪酸水解物對癒傷組織的生長並沒有顯著的影響。另將形成之癒傷組織放入 kinetin 1-2 mg/l 及 NAA 0.1-0.02mg/l 之再生培養基，結果顯示以內含 kinetin 2mg/l 及 NAA 0.02 mg/l 之再生培養基較佳。在這些再生培養基中以台農 67 號、台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號的再生芽體數顯著優於越光及台中秈 10 號。另外利用研發之再生系統進行基因轉殖試驗，初步成果顯示台農 67 號、台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號有 GUS 基因表達之再生植株，將待出瓶抽取 DNA 供 PCR 及南方式雜交法檢測。

表、培養基成分對水稻種子誘導癒傷組織之影響<sup>1</sup>

品種	N6D <sup>2</sup> (公釐)	2NPD (公釐)	2NCD (公釐)	2N (公釐)
台農 67 號	8.5 a	6.5 bc	5.1 b	5.5 ab
台梗 17 號	8.5 a	8.9 a	6.9 a	6.8 a
台梗 16 號	7.7 a	7.7 ab	5.5 b	4.7 bc
台梗 4 號	8.3 a	7.9 ab	6.4 ab	5.3 ab
越光	5.0 b	5.2 c	3.6 c	3.1 c
台中秈 10 號	5.4 b	6.8 bc	6.9 a	5.6 ab

<sup>1</sup>：同行英文字母相同者表示鄧肯氏多變域區間平均值檢定差異達 5% 顯著水準。

<sup>2</sup>：培養基分別表示以 N6 培養基礦物元素及維生素，蔗糖 30g/l，2,4-D 2 mg/l，gerlite 2 g/l，pH = 5.6 爲基礎，N6D：添加脯胺酸 2.8g/l 及酪酸水解物 0.3g/l，2NPD：添加脯胺酸 2.8g/l，2NCD：添加酪酸水解物 0.3g/l，2ND：都不添加。

### 農桿菌法轉殖基因於蕃茄花蓮亞蔬五號之研究

以 pCAMBIA1301 之質體轉殖胰蛋白抑制基因於番茄子葉及下胚軸培植體，以再生培養基較佳之 S1-1 及 MSG1 培養基作爲農桿菌轉殖中的培養基，菌系爲 LBA4404，從事數次試驗，在篩選後三週記錄，褐化率分別爲 76-87% (S1-1) 及 61-70% (MSG1)，但在八週後均已褐化死亡。另改以農桿菌 PBI121 質體內含 GUS 基因轉殖，菌液濃度 O.D. 值 0.6-0.7 或 1.0-1.2，共培養時間有 2 天及 4 天，以 S1-1 及 MSG1 再生培養基誘導植株再生，以抗生素篩選後再生率爲 33.1-74.3%，培植體平均再生芽數爲 1.8-3.4 個，初步顯示部分植株有藍色 GUS 基因表

達現象，將再以分子遺傳的方法檢測。

表、以農桿菌法轉殖基因於番茄花蓮亞蔬五號之研究

試驗	質體種類	共培養基	再生率%	再生芽數	可染色芽數	GUS 表現芽數
1	PBI121	MSG1AS	52.9±8.9	2.8±0.9	38	1 (嵌合體)
1	PBI121	S1-1	33.1±9.7	2.1±0.8	22	1 (嵌合體)
2	PBI121	MSG1AS	67.2±11.1	3.1±0.9	135	2 (1 個嵌合體, 1 個生長畸形)
3	PBI121	MSG1AS	69.4±11.1	3.3±1.0	32	0
3	PBI121	S1-1	44.2±10.1	2.5±1.1	21	0
4	PBI121	MSG1AS	58.1±21.1	1.8±0.6	26	1 (生長正常)
5	PBI121	MSG1AS	74.3±21.8	3.4±1.1	54	0

#### 百合基因轉殖之研究

為將外源基因轉殖至百合植株及改善轉殖後癒傷組織增生及再生問題，百合癒傷組織 LG41 品系以農桿菌媒介法進行 TI 基因及 DFR 基因轉殖後，已有芽體再生現象，以 200mg/l 之 hygromycin 進行篩選，芽體褐化率為 32.9-49.8%，但再生培植體之 GUS 基因並沒有表現。另以本場所雜交之百合三品系 LA2、FO1、FA1 及台灣百合之花器誘導癒傷組織，以 LA2 品系癒傷組織形成率及癒傷組織型態較佳。在再生培養基添加不同濃度之 picloram 以增加植株分化效率，結果顯示在含有 picloram 10mg/l 之 MS 培養基上，癒傷組織的外觀呈黃綠色，且不易褐化，未來分化成植株的機會較大。

表、百合基因轉殖試驗之褐化率及 GUS 表現率

質體種類	感染培養基	共培養天數	褐化率%	GUS 表現率%
AL-AGUS	LD3.AS	2	44.3±24.5	0
DFR1AGUS	LD3.AS	2	49.8±27.2	0
DFR1AGUS	AAM.AS	2	45.9±21.3	0
DFR1AGUS	LD3.AS	2	32.9±21.2	0

#### 觀果鳳梨誘變育種技術之研究

為培育觀果用鳳梨新品種，結合組織培養與放射線照射技術，促使培植體產生芽體變異，以選拔優良突變體成為新品種，切取鳳梨組培苗帶有莖節之培植體，先行誘導產生叢生狀芽原體，再送往核能研究所照射加馬射線，照射劑量為 60、75 及 90 Gray 等三種，並以未照射者為對照。加馬射線處理造成部份培植體死亡，部份芽體長成枝條後有皺縮現象，這些異常現象隨著新生枝條成長而逐漸消失，有少部份枝條的葉部出現白色條紋之變異現象，4 種處理出現變異枝條之比率分別為 3.7、5.8、1.7 及 1.5%(對照)，照射劑量 75Gray 之變異率最高。此外，上年度誘變成功獲得之枝條，經培養發根成獨立植株後，移出瓶馴化並定植於溫室中，成活率達 95.6%，總計獲得 44 個變異植株。部份植株葉片上的變異性狀，在成長過程中逐漸消失，少部份植株則繼續存在，經繼代培養八個月後，獲得 5 株外觀變異性狀明顯且表現穩定的植株。

表、加馬射線不同照射劑量對觀果鳳梨誘變效果之比較

照射劑量 (Gray)	不定芽體數	發生芽體變異	
		數目	百分率
0 (CK)	1336	20	1.5
60	1341	49	3.7
75	1130	65	5.8
90	753	13	1.7

#### 普拉特草、金石榴、布勒德藤組織培養技術之研究

利用組織培養技術來研發原生植物之高品質插穗母株、簇生株等，以提昇種苗生產效率及品質。研究結果顯示以 70% 酒精及 1% 次氯酸鈉配合消毒普拉特草、金石榴及布勒德藤可獲得無菌培植體，其污染率分別約為 10% 以下、60% 及 70%，其中金石榴及布勒德藤因莖葉具絨毛故消毒較為不易。將帶一葉一芽的普拉特草培植體處理不同濃度之 BA，結果發現當濃度為 0.5ppm 時根呈肥大，葉變小節間縮短，芽體大量增殖，但自 2-3 節起長有氣根，當濃度達 5ppm 時，培植體葉片更小節間更為縮短，且地上部無氣根，再以 BA 5ppm 繼代後可獲得大量的叢生芽體，且無褐化及玻璃質化現象發生。而金石榴及布勒德藤在 BA 濃度達 2.5ppm 時可獲得大量芽體增殖，芽體生長呈芽球狀，數量多且無褐化及玻璃質化現象發生。在基鹽濃度方面，普拉特草在 1/4MS 以上之基鹽濃度處理下均可生長且差異不顯著，而金石榴在 1/2MS 培養基下生育表現較為良好。

#### 蝴蝶蘭組織培養體系之建立

植物生長調節劑對蝴蝶蘭芽體增殖之影響試驗結果顯示培養基添加 BA 2ppm 及 NAA 0.05ppm 對其芽體增殖較為有效。椰子水含 cytokinins 為蝴蝶蘭芽體增殖培養基配方之重要有機添加物。在蝴蝶蘭芽體增殖階段以玉米泥替代椰子水培養，結果顯示玉米泥並無明顯促進蝴蝶蘭芽體增殖之效果，故玉米泥無法替代椰子水之功能。蝴蝶蘭發根展葉階段，將帶有二葉（約 3 公分）之蝴蝶蘭培植體置於不同濃度的甘藷及香蕉泥培養基下培養，結果發現甘藷泥以台農 66 號（紅肉）品種製作者較 57 號（白肉）為佳，甘藷泥及香蕉泥處理比例以甘藷泥：香蕉泥=40：60 及 50：50 (g/l) 蝴蝶蘭生育情形較良好，調查培養基膠體強度均為 2.52 (gw·cm)。

#### 青蔥種源鑑定技術之研究

二十個青蔥品種(系) DNA 稀釋濃度至 5 ng/μl，作為聚合酶連鎖反應之模板之用。以 Super-Therm Taq 為聚合酶。由 Operon 公司 10 個核苷酸長之寡核苷酸鏈 Kit A、C、D、G、AB、AO、AP、AQ、AR、AS 共 200 組引子，經聚合酶連鎖反應器產生多型性表現明顯的引子有 12 個，OPA3、OPA9、OPA10、OPA11、OPG10、OPG18、OPG19、OPAB2、OPAB4、OPAO6、OPAR8、OPAR2 共產生三十五個隨機增幅多型性核酸標誌。