

生物技術

生物技術方面利用農桿菌轉殖基因於百合癒傷組織中，共培養 2 天，添加 100 μ M 之 AS 培養基處理者較佳，10%細胞有 GUS 基因表達現象。誘導水稻癒傷組織試驗，23 個品種中以台梗 17 號、台農 67 號、台農 70 號較佳，培養基則以內含 2,4-D 2 mg/l 添加脯胺酸及酪酸水解物者較佳。觀賞鳳梨組織培養及其應用於誘變育種之研究，切取鳳梨組培苗帶有莖節之培植體，誘導產生叢生狀芽原體，以 25、35、45Gy 等三種加馬射線照射，存活的新生芽體葉片出現斑點或條紋，出現變異株之比例分別為 0、0.4、0.5、0.8%。

品種及培養基成分對誘導水稻癒傷組織之影響

為了瞭解水稻品種間形成癒傷組織的差異，選取 23 個水稻品種成熟種子，去穎消毒後培養於 2ND 培養基中(N6 礦物元素加蔗糖 30g/l、2,4-D 2mg/l、洋菜 8.5g/l)四週，結果以台梗 17 號、台農 67、70 號產生癒傷組織之比率較高，分別為 96.7%，96.0%，97.5%（表一）。另取越光、台農 67 號、台梗 4 號、16 號、17 號及台中秈 10 號等 6 個品種以 2ND 培養基為基礎，試驗添加脯胺酸 2.8g/ml，酪酸水解物 0.3g/ml 對癒傷組織形成的影響，癒傷組織產生比率之品種間排序結果與之前 23 品種試驗相同，添加酪酸水解物對誘導癒傷組織只有對台梗十六號有顯著的促進作用，而添加脯胺酸則是對台梗四號、十六號、越光及台中秈十號有顯著的促進作用（表二）。

表一、不同水稻品種產生癒傷組織能力之比較。

品 種	產生癒傷組織 比率(%)	品 種	產生癒傷組織 比率(%)
台梗 2 號	88.0 \pm 12.3	台農 67 號	96.0 \pm 5.2
台梗 4 號	95.0 \pm 5.3	台農 70 號	97.5 \pm 4.6
台梗 6 號	88.9 \pm 10.5	台農 72 號	80.0 \pm 12.2
台梗 8 號	84.4 \pm 14.2	吉野 1 號	77.5 \pm 7.1
台梗 9 號	93.8 \pm 7.4	越光	73.3 \pm 18.6
台梗 13 號	95.0 \pm 5.3	高雄 1 號	20.0 \pm 17.7
台梗 14 號	80.0 \pm 13.2	台中秈 10 號	56.0 \pm 11.4
台梗 15 號	85.0 \pm 12.7	台農秈 18 號	28.9 \pm 10.5
台梗 16 號	91.0 \pm 8.8	台農秈 20 號	35.6 \pm 7.3
台梗 17 號	96.7 \pm 5.2	台中秈糯 1 號	24.4 \pm 15.1
台梗 139 號	93.0 \pm 8.2	台梗糯 5 號	89.0 \pm 12.0

表二、培養基成分對水稻種子誘導癒傷組織百分率（%）之影響。

水稻品種	培養基種類							
	N6D		2NPD		2NCD		2 ND	
台農 67 號	100 a ^U	x ^V	96 a	x	90 a	x	75 a	x
台梗 17 號	100 a	x	100 a	x	92 a	x	88 a	x
台中秈 10 號	60 b	xy	75 a	x	53 bc	xy	30 cd	y
越光	80 ab	x	83 a	x	30 c	x	20 d	y
台梗 16 號	80 ab	xy	96 a	x	70 ab	y	48 bc	z
台梗 4 號	100 a	x	100 a	x	72 ab	y	72 ab	y

^U：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。

^V：同列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。

N6D：N6 培養基礦物元素及維生素，蔗糖 30g/l，2,4-D 2 mg/l，脯胺酸 2.8g/l，酪酸水解物 0.3g/l，gerlite 2 g/l，pH = 5.6

2NPD：N6 培養基礦物元素及維生素，蔗糖 30g/l，2,4-D 2 mg/l，脯胺酸 2.8g/l，gerlite 2 g/l，pH = 5.6

2NCD：培養基礦物元素及維生素，蔗糖 30g/l，2,4-D 2 mg/l，酪酸水解物 0.3g/l，gerlite 2 g/l，pH = 5.6

2ND：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

百合抗病蟲害基因轉殖之研究

為了將外源基因轉殖至鐵炮百合中，農桿菌採用 LBA4404 菌系內含雙偶型載體(binary vector) pCAMBIA 1301 質體(1.18kb)，此質體含有 β -glucuronidase (GUS)基因，GUS 基因聯結花椰菜嵌紋病毒 (cauliflower mosaic virus ; CaMV) 35S 啟動子，Catalase intron 及 nopaline synthase (NOS) 終止子 (terminator)，使用內含 CaMV 35S 啟動子及胰蛋白酶抑制基因之 pCAMBIA 質體，利用農桿菌基因轉殖法將質體送入由鐵炮百合未成熟胚誘導之癒傷組織或花絲中。初步試驗結果顯示，以鐵炮百合花絲，感染農桿菌 30 分鐘，褐化率和癒傷組織誘導率較高 (表一)，共培養兩天褐化率較低，癒傷組織誘導率較高 (表二)。以鐵炮百合未成熟胚誘導之癒傷組織置入菌液 10 或 30 分鐘，黑暗下共培養兩天，共培養基添加 100 μ M acetosyringon(AS)或不添加，以感染 10 分鐘及共培養基添加 AS 效果較佳，約有 16%GUS 之呈色反應 (表三) 另以鐵炮百合花絲誘導之癒傷組織置入菌液 10 分鐘，共培養基添加 100 μ M 之 AS，黑暗下共培養兩天處理者有 10%左右 GUS 之呈色反應，共培養三天者有 6%左右之 GUS 呈色反應，顯示外源基因轉殖於百合細胞中有暫時性表達現象 (表四)。

表一、農桿菌液浸漬時間長短對鐵炮百合花絲培養之影響。

感染時間(分鐘)	褐化率(%)	癒傷組織誘導率(%)
10	73.8	2.4
20	45.2	23.8
30	59.5	33.3

表二、與農桿菌共培養時間長短對鐵炮百合花絲培養之影響

共培養時間(天)	褐化率(%)	癒傷組織誘導率(%)
1	50.0	25.0
2	38.9	33.3
3	63.9	25.0

表三、感染時間及共培養基對轉殖基因百合癒傷組織篩選及 GUS 基因表達之影響。

感染時間	培養基	存活癒傷組織比率 (%)	GUS 基因表現比率(%)
10 min.	+ AS	50.2	16.2
10 min.	- AS	42.6	12.5

30 min.	+ AS	44.1	15.4
30 min.	- AS	40.3	10.4

表四、共培養天數對轉殖基因百合癒傷組織 GUS 基因表達之影響

培養基	共培養天數	GUS 基因表現比率(%)
LD3	2	10.0
LD1	2	3.2
LD3	3	5.8
LD1	3	1.0

觀賞鳳梨組織培養及其應用於誘變育種之研究

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 25、35、45 Gy 等三種，並以未照射者為對照，每種處理 12 重複，每重複 6 個培植體。加馬射線處理造成部份培植體死亡，存活的新生芽體葉片出現斑點或條紋的現象，部份芽體長成枝條後有皺縮現象，隨著新生枝條成長，這些異常現象逐漸消失，但仍有極少部份新生芽體葉部出現嵌紋變異現象，4 種處理出現變異株之比率分別為 0、0.4、0.5、0.8%，隨處理劑量之增加，變異率有增高之趨勢(表)。已成功獲得數個葉部具有嵌紋變化之植株如圖所示，將選拔斑紋優美、且具觀賞價值之植株加以培育。

表、加馬射線不同照射劑量對觀賞鳳梨誘變效果之比較

照射劑量 (Gy)	不定芽體數	發生芽體變異	
		數目	百分率(%)
0 (CK)	1315	0	0
25	1203	5	0.4
35	1279	7	0.5
45	1317	10	0.8