

# 一、生物技術及組織培養

## 一)轉基因作物品種鑑定技術之建立

孫永偉、沈翰祖、廖玉珠、陳駿季

本試驗選用彩色海芋 'Pink persuasion' 品種及拖鞋蘭不同亞屬 18 品種為供試作物，以 UBC RAPD Primers #1~#40 組進行品種變異及品種間檢定試驗。試驗結果顯示彩色海芋有 18 組 Primer 出現多型性 (Polymorphism)，其中 #13、#18、#20、#23、#25、#31、#32、#33 等 Primer 可獲得較多條帶 (Band)，許多特定條帶均能區分變異株與正常株之差異性。拖鞋蘭 18 品種分別屬於 4 個亞屬 *Parvisepalum*、*Brachypetalum*、*Paphiopedilum*、*Sigmatopetalum*，已發現有 21 組 Primer 出現多型性，其中 #4、#15、#18、#21、#23、#28、#30、#32、#33 等 Primer 可獲得較多條帶，Primer #18 於 *Parvisepalum*、*Brachypetalum* 2 個亞屬出現特定條帶，Primer #33 於 *Paphiopedilum*、*Sigmatopetalum* 2 個亞屬出現特定條帶。因此，可以 Primer #18 及 Primer #33 大致區分

*Parvisepalum*、*Brachypetalum*、*Paphiopedilum*、*Sigmatopetalum* 亞屬，此仍待進一步以較多組 Primer 及品種測試，以確認該法之應用性。

## 二)晚香玉癒合組織之誘導

沈翰祖、廖玉珠、孫永偉、陳駿季

以晚香玉組培苗幼葉與田間植株之不同部位 (含花梗、苞片、花瓣、葉片) 為培植體進行誘導癒合組織試驗，試驗結果顯示培植體培養於全量 MS 加 2,4 -D 1mg/l、BA 1mg/l 培養基，置於 25℃ 黑暗條件下誘導癒合組織之效果最佳，但由癒合組織再生植株比例低。誘導癒合組織時培養體易發生褐化情形，其中以葉片為培植體所產生之褐化比率最高達 85%，花瓣苞片及花梗之褐化比率亦達 40-50%，推測是因晚香玉組織代謝速度快與繼代培養時間過長之氧化現象所造成，於培養基添加 ascorbic acid 15mg/l、citric acid 1mg/l 以降低氧化作用的速度，可明顯抑制組織褐化現象。實驗結果同時顯示利用

硝酸銀 10mg/l 抑制乙烯產生，可將繼代培養時間由 4 週縮短為 2 週，癒合組織發生褐化的比率平均降為 15%，但對葉片的效果不明顯。本試驗所誘導出之癒合組織移至器官分化培養基後長出類似根的器官，但無芽的形成。本試驗後續尚需試驗如何利用不同培養基配方與培養條件以誘導芽體再生。

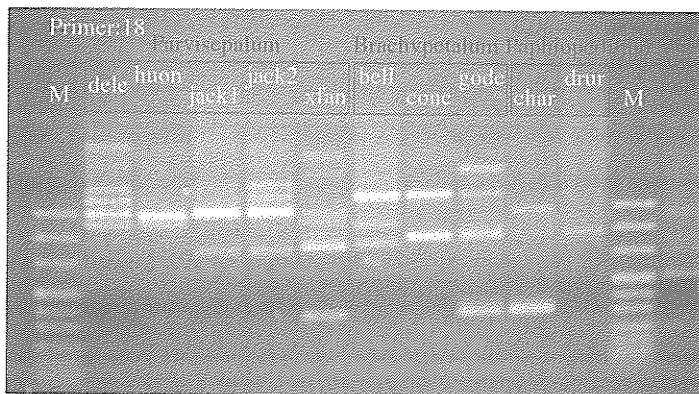


圖1-1、以UBC Primer #18進行拖鞋蘭RAPD試驗之電泳圖譜

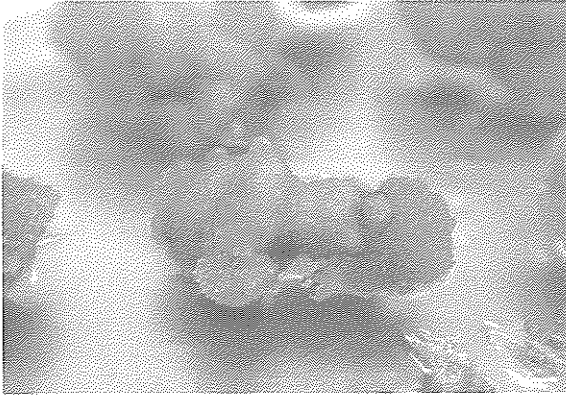


圖1-2、夜來香花梗誘導誘導癒合組織產生

### 三) 球根花卉接種囊叢枝菌根菌 養球效益之研究

柯天雄、劉麗珠、邱展臺

叢枝菌根菌 (*arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF) 是一種真菌，能與植物共生的土壤有益微生物。其孢子在土壤中發芽後，遇到合適的宿主，發芽管及菌絲會受根部分泌物之吸引而至根附近，並於根表面蔓延形成附著器，由附著器下方伸出侵入菌絲，菌絲進入根後在皮層細胞內形成菌絲捲 (hyphal coil)，並穿越細胞壁，於細胞內不斷的雙叉分枝，最後形成叢枝狀 (arbuscule) 構造，是與宿主細胞彼此交換養分的場所。宿主植物提供醣類等養分給菌根菌，菌根菌則提供根外菌絲吸收之水分與礦物營養給宿主。皮層細胞間與根外之菌絲末端或中段膨大，形成囊胞 (vesicle)，是菌根菌貯存養分的場所，故可幫助宿主植物吸收土壤中的礦物元素及水分等，因而促進宿主植物的生長。

本年度以彩色海芋及彩葉芋組培苗進行養球之同時，接種 ① *Glomus mosseae*. (Gm) ② *Glomus etunicatum*. (Ge) ③ *Glomus fasciculatum*. (Gf) ④ *Glomus clarum*. (Gc) ⑤

*Acaulospora* sp.(ASP) ⑥ *Gigaspora* sp. (Gg) 等六種菌種之養球效益，篩選促進種球增長之菌種，評估菌根之實用性。試驗結果顯示：彩色海芋組培苗接種菌根菌後對種球增長之效益，在球徑大小方面以接種GC菌種2.94cm的效益較為顯著，其次為接種ASP菌種2.85cm、Gg菌種2.83cm及Gm菌種2.85cm；種球球重方面之效益差異均為不顯著；種球感染率以接種Ge菌種13.33%為最高，其次為接種Gm菌種3.33%。彩葉芋種球之感染率以接種Gf菌種45%最高，其次分別為Ge菌種32.5%，Gc菌種22.5%，ASP菌種12.5%，Gg菌種10%，Gm菌種5%最低；感染強度以接種Gf菌種6.25%最高，其次為接種Ge菌種5.5%及Gc菌種2.5%。

### 四) 内生菌根菌應用於木瓜田間 示範推廣

柯天雄、邱展臺、戴雍發

叢枝内生菌根菌 (*arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF) 是一種能與植物根部共生的有益土壤微生物，感染宿主植物後，其根外菌絲可延伸8公分或更遠之距離，協助植物吸收水分及氮、磷、鎂、鈣、銅、鋅等礦物營養，由穴盤育苗及田間試驗結果顯示，木瓜育苗時接種菌根菌有提升種苗品質、提高幼苗移植存活率、提早抽出花芽及採收果實、減少肥料用量及節省成本等五點益處。

本場與屏東科技大學自八十六年度示範推廣5.6公頃 (28,000苗)，並於八十七年六月廿三日於屏東縣高樹鄉舉辦示範成果觀摩會、八十七年度示範推廣35公頃 (175,000苗)、八十八年度示範推廣100公頃 (500,000苗)、八十八下半年及八十九年度示範推廣160公頃 (800,000苗)，並於八十九年五月九

日於雲林縣林內鄉舉辦示範成果觀摩會，八十九年八月廿二日於屏東科技大學舉辦木瓜育苗接種菌根菌技術講習會、九十年年度示範推廣200公頃（1,000,000苗），合計示範推廣500.6公頃（2,503,000苗），舉辦示範成果觀摩會2場次，接種菌根菌技術講習會1場次。

## 五) 利用耐熱塑膠袋培育彩色海芋組織培養苗之研究

沈翰祖、文紀鑒、廖玉珠、孫永偉、陳駿季

彩色海芋組織培養的容器多以玻璃蘭花瓶或塑膠方盒為主，需花費運輸與回收成本，本試驗擬利用市售耐熱塑膠袋為育苗容器，模擬運輸之環境條件，以研究取代傳統容器、降低運輸成本之可行性。於無菌狀態下利用PP耐熱塑膠袋移植彩色海芋（*Z. cv. 'Florex Gold'*），並模擬冷凍貨車廂以4℃或25℃、黑暗處理24小時。試驗結果顯示以PP耐熱塑膠袋培養之組培苗株高最矮，且完全無黃化；而模擬常溫貨車廂25℃、24小時黑暗之株高最高，且有6%的苗發生黃化與嚴重徒長。本試驗另測試光照效應對組培苗運輸期間生長之影響，以25℃條件下，自然光照與16小時光照之生長速率及黃化比率差異不顯著，但相對於全黑暗狀況，有光照處理者，其植株生長速率明顯較高，且植株不易黃化。

℃、黑暗處理24小時。試驗結果顯示以PP耐熱塑膠袋培養之組培苗株高最矮，且完全無黃化；而模擬常溫貨車廂25℃、24小時黑暗之株高最高，且有6%的苗發生黃化與嚴重徒長。本試驗另測試光照效應對組培苗運輸期間生長之影響，以25℃條件下，自然光照與16小時光照之生長速率及黃化比率差異不顯著，但相對於全黑暗狀況，有光照處理者，其植株生長速率明顯較高，且植株不易黃化。

本試驗建議利用具有冷凍或空調車廂的貨車來載送組培苗，若於車廂內給予適當人工照明則效果更好。

## 六) 海芋、拖鞋蘭等重要花卉組織培養之研究

廖玉珠、陳駿季、孫永偉、沈翰祖

利用'Black magic'等14個海芋品種進行種

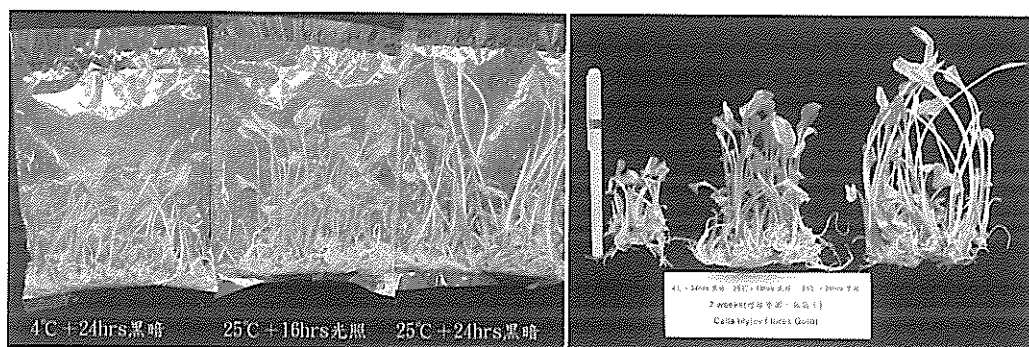


圖1-3、利用PP耐熱塑膠袋移植彩色海芋（*Z. cv. 'Florex Gold'*）於不同溫度與光照條件二週後之生長情形

表1-1、利用PP耐熱塑膠袋移植彩色海芋（*Z. cv. 'Florex Gold'*）於不同溫度與光照條件二週後之生長情形

| 原株高平均 (cm)   | 4°C. 24hr. 黑暗 | 25°C. 16hr. 光照 | 25°C. 24hr. 黑暗 |
|--------------|---------------|----------------|----------------|
| 二週後株高平均 (cm) | 5.0           | 10.6           | 15.6           |
| 黃化比率%        | 0             | 0              | 6              |

間雜交與自交胚培養，調查品種間親合雜交情形。試驗結果發現海芋品種間的雜交親和力差異極大，雜交成功比率亦不同。彩色海芋之間因核型較類似而雜交親合力較大，自交與雜交的成功比率較高，而與白色海芋間因核型差異大，其自交或與彩色海芋間的雜交親合力則較低。目前彩色海芋自交及雜交

之胚培養共獲得38個雜交品系，16個自交品系，並已養成二代種球。白色海芋與彩色海芋種間雜交之胚培養5個品系，並已建立母瓶。

芭菲爾拖鞋蘭屬之*Parvisepalum*亞屬為本省目前雜交使用最高的親本群之一。其原生種*P. delenatii*及*P. armeniacum*自交後果莢成熟度分別以授粉後150天（79.6%）及120天（64.6%）之發芽率最高，*P. rothschildianum* × *P. armeniacum*以授粉後160天之發芽率最高達34.2%（表1-2）。*P. malipoense* × *P. armeniacum*播種前以超音波振盪前處理對種子發芽率有促進效果且處理時間越長發芽率越高之趨勢（表1-3），但相同處理對*P. delenatii* × *P. micranthum*則有相反之結果（表1-4）。培養基中添加有機物則普遍有抑制種子發芽的現象（表1-2、1-3）。

表1-2、果莢成熟度對*P. rothschildianum* × *P. armeniacum* 種子無菌發芽之影響

| 果莢成熟度 (天)<br>/播種後天數(weeks) | 發芽率 (%) |       |        |
|----------------------------|---------|-------|--------|
|                            | 9       | 16    | 23     |
| 75                         | 23.36   | 25.78 | 26.46b |
| 135                        | 11.78   | 21.68 | 26.26b |
| 160                        | 25.1    | 28.92 | 34.20a |
| 200                        | 10      | 25.2  | 25.92b |

※ medium: 1/4 MS+charcoal 2g/l

表1-3、播種前處理對*P. malipoense* × *P. armeniacum* (授粉後160天) 種子無菌發芽之影響

| 種子播種前處理/<br>培養基成分 | 發芽率 (%) |            |                  |
|-------------------|---------|------------|------------------|
|                   | CK      | 添加 trptone | 添加Casein hydrate |
| CK                | 1.93    | 0.21       | 0.51             |
| 超音波振60分           | 5.93    | 2.95       | 1.73             |
| 超音波振90分           | 4.80    | 1.50       | 0.52             |
| 超音波振120分          | 7.44    | 2.19       | 0.99             |

※ 1.播種後75天調查

表1-4、播種前處理對*P. delenatii* × *P. micranthum* (授粉後160天) 種子無菌發芽之影響

| 種子播種前處理/<br>培養基成分 | 發芽率 (%) |            |                  |
|-------------------|---------|------------|------------------|
|                   | CK      | 添加 trptone | 添加Casein hydrate |
| CK                | 0.61    | 0.33       | 0.09             |
| 超音波振60分           | 5.29    | 0.63       | 1.34             |
| 超音波振90分           | 2.05    | 0.85       | 0.71             |
| 超音波振120分          | 3.33    | 0.60       | 0.99             |

※ 1.播種後75天調查