



根莖類作物種原之保存 及利用

農業試驗所嘉義分所
羅淑芳

報告大綱

- 一、前言
- 二、甘藷種原之蒐集
- 三、甘藷種原之保存
- 四、超低溫冷凍保存技術



➤ 五、根莖類作物種原之利用

➤ (一) 甘藷健康種苗繁殖

➤ (二) 馬鈴薯健康種苗繁殖


➤ (三) 山藥健康種苗繁殖

➤ (四) 甘藷葉片誘導再生殖株

➤ 六、結語

一、前言

✦ 根莖類作物種原保存方式以田間保存及植物組織培養的方式為主，此兩種種原保存方式，皆必須耗費大量的人力、物力及空間去維持及運作，而超低溫冷凍保存技術改善了上述缺點，可更加長久且經濟的保存種原。




植物組織培養是生物技術的基礎 → 細胞
分化全能性 (totipotency) → 完整植株。
植物體如胚、花器、莖頂、生長點、芽體、
葉、根、根莖、或其衍生的細胞及原生質體
等 → 含有無機鹽類、糖類、植物生長調
節劑等人工培養基上，以無菌方式培養大量
的繁殖個體 → 進行育種、生理等之研究
與改良。

植物組織培養技術之應用

- (一)生長點或莖頂培養去病毒生產健康種苗：
甘藷、馬鈴薯、山藥、草莓、香蕉、柑橘、
豇豆、綠竹、百香果、火鶴花、四季蔥、球
根花卉等。
- (二)無菌苗或懸浮細胞培養進行種原保存及
引種：如無性繁殖種原之組織培養保存與超
低溫液態氮保存之研究。



- (三)生物反應器及細胞懸浮培養生產植物重要二次代謝產物：如柴胡皂甘、紅豆杉醇、紫杉醇、黃蘗等。
- (四)利用試管授精及胚培養技術將野生種之優良特性轉移至栽培品種：苦瓜、花生、海芋種間雜交胚培養研究。
- (五)花藥培養生產同質二倍體，可加速品種純化、縮短育種年限：水稻、青花菜之花藥培養。

- 
- (六)生產具研究與商業價值之突變體：利用誘變技術生產重要花卉品種如文心蘭、金花石蒜、晚香玉、小天堂鳥、蔓綠絨、夏堇、美女櫻及青花菜誘變育種之研究。
 - (七)以原生質體或細胞融合技術生產種間雜種或創造新種。
 - (八)以胚狀細胞生產人工種子：牛樟、台灣肖楠、台灣雲杉體胚繁殖研究

二、甘藷種原之蒐集

✦ 豐富的甘藷種原可提供育種家育出更多樣化的品種，因此種原的蒐集及保存更顯重要；自1946-1966年此一時期的甘藷改良係向大陸東南各省、美國及東南亞等地區，引進130餘個甘藷品種，充實育種材料；1991年自亞蔬及國內外蒐集甘藷種原，至2012年保存的種原有1434品系(種)。

表1. 蒐集不同國家的甘藷種原

Table1. Collection of sweet potato germplasm from different country

Country	No. of lines (varieties)	Country	No. of lines (varieties)
Taiwan	304	Indonesia	24
Papua New Guinea	297	Solomon Islands	19
Japan	128	China	15
U.S.A.	120	Nigeria	11
Philippines	36	Others	449
Thailand	31	Total	1434



三、甘藷種原之保存



表2.不同碳源對甘藷莖生長及發育之影響

Table2. Effect of sugar source on the growth and development of sweet potato shoot segments cultured for two months on modified MS medium^z.

Sugar	Fresh wt. (mg/shoot)		Plant height(cm)		No. of expanded leaves		Dry weight (mg/shoot)	
	TNG57 ^y	TNG66 ^y	TNG57	TNG66	TNG57	TNG66	TNG57	TNG66
Lactose	101 ^{dex}	84 ^{ef}	2.2 ^d	1.5 ^d	2.6 ^d	0.3 ^e	8.2 ^{de}	8.1 ^e
Maltose	354 ^c	637 ^b	5.1 ^c	10.7 ^b	7.2 ^c	6.6 ^c	25.1 ^c	45.6 ^b
Fructose	596 ^b	527 ^c	7.3 ^b	9.1 ^c	12.1 ^b	7.6 ^b	42.0 ^b	43.1 ^b
Mannose	84 ^{de}	201 ^d	1.9 ^d	2.4 ^d	2.6 ^d	2.2 ^d	10.0 ^d	24.0 ^c
Galactose	0 ^{ew}	0 ^f	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^e	0.0 ^e	0.0 ^e	0.0 ^f
Glucose	202 ^d	158 ^{de}	2.6 ^d	2.2 ^d	4.5 ^d	2.1 ^d	16.9 ^{cd}	16.5 ^d
Arabinose	0 ^{ew}	0 ^f	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^e	0.0 ^e	0.0 ^e	0.0 ^f
Sucrose	877 ^a	1024 ^a	9.4 ^a	13.8 ^a	14.8 ^a	8.8 ^a	67.7 ^a	77.5 ^a

^z Concentration of all sugars was 3% ^y TNG 57: Tainung 57; TNG 66: Tainung 66

^x Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 20 replications.

^w Explants did not survive under the experimental conditions.

表3. 不同濃度之葡萄糖對台農57號連續培養六個月之影響

Table3. Influence of glucose concentration on the growth of Tainung 57 shoot segments cultured continuously for six months on modified MS medium.

Glucose conc. (%)	Fresh weight (g/plant)	Stem diameter (mm)	Plant height (cm)	No. of expanded leaved	Rooting Rate (%)	Dry weight (mg/plant)	<i>In Vitro</i> survival rate(%)
0	0.01 ^{dz}	0.1 ^d	1.6 ^c	0.2 ^c	5.0 ^c	0.8 ^d	7.5
3	1.12 ^b	1.9 ^b	8.6 ^b	9.2 ^a	100.0 ^a	115.8 ^b	100
6	1.92 ^a	2.4 ^a	9.7 ^a	4.3 ^b	100.0 ^a	208.0 ^a	100
9	0.55 ^c	0.6 ^c	2.0 ^c	0.9 ^c	40.0 ^b	67.0 ^c	40.0
12	0.00 ^{dy}	0.0 ^d	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^d	0.0
15	0.00 ^{dy}	0.0 ^d	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^d	0.0

^z Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 40 replications.

^y Explants did not survive under the experimental conditions.



表4. 不同濃度之葡萄糖對台農66號連續培養六個月之影響

Table4. Influence of glucose concentration on the growth of Tainung 66 shoot segments cultured continuously for six months on modified MS medium.

Glucose conc. (%)	Fresh weight (g/plant)	Stem diameter (mm)	Plant height (cm)	No. of expanded leaved	Rooting Rate (%)	Dry weight (mg/plant)	<i>In Vitro</i> survival rate(%)
0	0.01 ^{dz}	0.0 ^{dy}	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0
3	1.19 ^b	1.8 ^b	10.4 ^a	2.4 ^a	100.0 ^a	102.8 ^b	100
6	1.59 ^a	2.2 ^a	9.5 ^a	0.9 ^b	100.0 ^a	261.0 ^a	100
9	0.55 ^c	1.0 ^c	2.8 ^b	0.2 ^c	45.0 ^b	108.3 ^b	45.0
12	0.00 ^{dy}	0.0 ^d	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0
15	0.00 ^{dy}	0.0 ^d	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0


^z Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 40 replications.

^y Explants did not survive under the experimental conditions.



四、超低溫冷凍保存技術 (cryopreservation)

植物組織 → 液態氮保存 →
生化代謝停止 → 細胞維持穩定不
至於死亡 → 種原長期保存，超過
160 個品種或栽培種 → 如體胚、不
定芽及莖頂等。



✦ 凡有使用抗凍劑 **PVS2** (plant vitrification solution 2) 溶液處理之流程者稱為**玻璃質化法** (Vitrification)，玻璃化法是以高濃度、化學性的冷凍保護劑混合物前處理材料，此劑必須**滲透進細胞**，使**細胞脫水且穩定蛋白質及細胞膜**。於是發展出以**甘油**為基本，低毒性的冷凍保護劑-**PVS2**。



PVS2 (Plant vitrification solution)

30% (w/v) GLYCEROL

15% (w/v) ETHYLENE GLYCOL (EG)

15% (w/v) DMSO

DISSOLVED IN MEDIUM

CONTAINING 0.4M (136.8g/L)SUCROSE



→ **玻璃質化法 (Vitrification) :**

→ **植物組織的預培養 (pre-cultured)、
滲透保護 (osmoprotection)、PVS2
溶液處理、液態氮保存、回溫 (rapid
warming)、稀釋 (dilution) 及回復
生長等。**

(一)藻膠包埋玻璃質化法

- ✦ 藻膠包埋玻璃質化法由 Matsumoto 等 (1995) 所發表以玻璃質化法為基礎配合藻膠包埋的處理技術，其處理步驟為植物組織的預培養、藻膠包埋 (encapsulation)、滲透保護、PVS2 溶液處理、液態氮保存、回溫、稀釋及回復生長等。

(二) 冷凍鋁片超低溫保存技術

- ✦ 乃由Yamamoto等(2011)所發表利用 37 mm(長)× 7 mm(寬)× 0.5 mm(厚)的鋁片，將植物莖頂組織放置於鋁片上的小孔，先以藻膠固定後，再經LS (loading solution) 溶液及 PVS2 溶液處理後，放入冷凍管中即可置入液態氮中保存。

(三) 材料與方法

✚ 供試材料：

✚ 甘藷臺農 57 號、66 號、71 號及 73 號品種的組織培養苗，將培植體切成單節後，置於 MS 基本鹽類培養基，添加 30 g/L 蔗糖及 9.0 g/L Difco agar, pH 5.7，其培養環境為光照 16 小時，溫度 25 °C，經 14 天生長後，切取莖頂進行下列試驗。

(四) 莖頂高濃度蔗糖之預培養

將臺農 57 號、66 號、71 號及 73 號品種的莖頂組織切下後，直接移入 MS 基本鹽類及 9.0 g/L Difco agar，配合 0.0, 0.1, 0.2, 0.3 或 0.4 M 高濃度蔗糖培養 3 天後，再將莖頂再次切成 2–3 mm 大小，並移入上述不同濃度蔗糖的培養基培養 1 天。





將上述預培養的莖頂組織移至冷凍管中，加入 1 mL 的 **LS 溶液** (標準配方為 **2M 甘油 + 0.4 M 蔗糖**，pH 5.8) 處理 60 分鐘，將 LS 溶液吸出後，再加入 1 mL 的 **PVS2 溶液** (標準配方為 **30 % 甘油 + 15 % 乙二醇 + 15 % DMSO + 0.4 M 蔗糖**，pH 5.8) 於冰浴下處理 75 分鐘，將冷凍管中的 PVS2 溶液吸出，並加入 1.2 M 蔗糖 MS 基本培養液進行 **稀釋處理** 靜置 20 分鐘，最後將莖頂組織移至含 0.1 mg/L IAA 的 MS 基本鹽類培養基，於溫度 25 °C 條件下，先 **暗培養 7 天** 後，再移至每日光照 16 小時下培養 23 天後調查其植物組織存活率。

三、藻膠包埋玻璃質化法

將莖頂組織置於藻膠培養液(含 2% (w/v) Na - alginate 及 30 g/L 蔗糖，不含 Ca^{2+} 的 MS 基本培養液)，以滴管將莖頂與藻膠培養液一同滴入包埋培養液，並於 25 °C 中靜置 30 分鐘，待其形成直徑約 0.5 cm 之球形，再將藻膠球培養於含有 30 g/L 蔗糖之 MS 基本鹽類液體培養基，每錐形瓶含有 15 粒藻膠球及 50 mL 的培養液，以震盪速率為 90 rpm 培養 1 天，再移至含有 0.3 M 蔗糖之 MS 基本鹽類液體培養基培養 16 小時。


將上述處理的藻膠球置於改良之 **LS 溶液** (2 M 甘油 + 1.6 M 蔗糖 , pH 5.8) , 以震盪速率 60 rpm 分別培養 **0, 60, 120, 180, 240, 300 及 360分鐘** , 再移至含有 **PVS2 或 PVS3 溶液** (50% 甘油 + 50% 蔗糖) 的錐形瓶 , 以震盪速率 60 rpm 培養 **60 分鐘** , 每瓶含有 10 粒藻膠球及 20 mL 的 **LS 溶液** 、 **PVS2 溶液** 或 **PVS3 溶液**



將處理後的藻膠球移入含有 1 mL 的 PVS2 溶液或 PVS3 溶液的冷凍管中，並置於液態氮中保存 1 小時後，取出冷凍管直接置入 40 °C 溫水中回溫 2 分鐘，將冷凍管中的 PVS2 溶液或 PVS3 溶液吸出，再加入含 1.2 M 蔗糖 MS 基本鹽類培養液，靜置 15 分鐘，最後將藻膠球移至含 0.18mg/L NAA, 0.1mg/L BA, 0.02mg/L Kinetin, 30 g/L 蔗糖及 9.0g/L Difco agar 的 MS 基本鹽類培養基，於溫度 25 °C 條件下，先暗培養 7 天後，再移至每日光照 16 小時下培養 23 天後調查其植株再生率，各處理分別以每 10 粒藻膠球為一重複，共重複三次。

四、冷凍鋁片法 (Aluminium cryo-plates)

- 切取莖頂 (約 1 mm) 置於含 0.3 M 蔗糖的 MS 基本鹽類之固體培養基，培養 1 天後，以微量滴管將藻膠培養液滴至冷凍鋁片上的小孔，再用鑷子將莖頂組織移置冷凍鋁片，每片可放置 10 個莖頂組織，滴入包埋培養液至冷凍鋁片上，於 25 °C 中靜置 15 分鐘待其凝固，再置於 LS 溶液處理 30 分鐘後，移至含 PVS2 溶液分別處理 15、30、45、60、75 或 90 分鐘，將處理後的冷凍鋁片移入冷凍管中



每管 1 片置於液態氮保存 1 小時後，取出冷凍鋁片直接置入含 **1.2 M 蔗糖之 MS 基本鹽類培養液**，於 25 °C 中靜置 15 分鐘，將冷凍鋁片上的莖頂組織取下，移至含 0.18mg/L NAA, 0.1mg/L BA, 0.02mg/L Kinetin, 30 g/L 蔗糖及 9.0g/L Difco agar 的 MS 基本鹽類培養基，於溫度 25 °C 條件下，先暗培養 7 天後，再移至每日光照 16 小時下培養 23 天候調查植株再生率，各處理以每 1 片冷凍鋁片為一重複，共三重複。

結果

↘ 一、莖頂高濃度蔗糖之預培養



Table 1. Effect of different sucrose concentrations in preculture on the survival rates of *Ipomoea batatas* (L) Lam. cv. Tainung Nos. 57, 66 and 71 without cryopreservation.

Sucrose concentration (M)	Survival rate (%)			
	TN57	TN66	TN71	TN73
0.0	30	50	40	0
0.1	90	90	90	60
0.2	80	100	80	90
0.3	100	100	100	60
0.4	100	100	100	20

Preculture shoot tips with different sucrose concentration, were loaded with LS for 60 min and dehydrated with PVS2 for 75 min before immersion into LN. Approximately 10 shoot tips were tested for each treatment.



結果

- ✦ 一、莖頂高濃度蔗糖之預培養
- ✦ 二、不同LS溶液處理時間配合PVS2溶液對甘藷4個品種經藻膠包埋超低溫冷凍處理後植株再生的影響



Table 2. Effect of different time for LS and PVS2 treatment on the plant regeneration rate of *Ipomoea batatas* (L) Lam. (TN 57, 66, 71 and 73) shoot tips after cryopreservation¹.

LS treatment (min.)	Plant regeneration rate (%)							
	Sweet potato cultivar							
	TN 57		TN 66		TN 71		TN 73	
	-LN ²	+LN	-LN	+LN	-LN	+LN	-LN	+LN
0	23.3	0	6.7	0	20.0	0	0	0
60	26.7	0	3.3	0	3.3	0	0	0
120	13.3	0	0	0	0	0	0	0
180	3.3	0	6.7	0	0	0	0	0
240	6.7	0	13.3	0	0	0	0	0
300	0	3.3	6.7	3.3	0	3.3	0	3.3
360	0	0	13.3	0	0	3.3	0	0

¹ Recovery medium: Full strength MS basal medium with 1.0 µM NAA, 0.5 µM BA 0.1µM Kinetin, 30 g/L sucrose and 9.0 g/L Difco agar. Data was collected after 30days of culture.

² Shoot tips pre-cultured on full strength MS basal medium with 0.3 M sucrose and 9.0 g/L Difco agar, then loaded with different times for LS and dehydrated with PVS2 for 60 min without (-LN) / with (+LN) immersion into liquid nitrogen. Approximately 10 shoot tips were tested for each of three replicates.

結果

- 一、莖頂高濃度蔗糖之預培養
- 二、不同LS溶液處理時間配合PVS2溶液對甘藷4個品種經藻膠包埋超低溫冷凍處理後植株再生的影響
- 三、不同LS溶液處理時間配合PVS3溶液對甘藷4個品種經藻膠包埋超低溫冷凍處理後植株再生的影響

Table 3. Effect of different times for LS treatment with PVS3 on the plant regeneration rates of shoot tips of *Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Tainung Nos. 57, 66, 71 and 73 without / with encapsulation – vitrification for cryopreservation¹.

LS treatment (min.)	Plant regeneration rate (%)							
	Sweet potato cultivar							
	TN 57		TN 66		TN 71		TN 73	
	-LN ²	+LN	-LN	+LN	-LN	+LN	-LN	+LN
0	0	0	26.7	0	16.7	0	0	0
60	0	0	16.7	0	3.3	0	0	0
120	0	0	6.7	0	0	0	0	0
180	0	0	0	0	0	0	3.3	0
240	0	0	3.3	0	6.7	0	0	0
300	0	0	6.7	3.3	3.3	0	0	0
360	0	0	0	0	6.7	3.3	0	0

¹ Recovery medium: Full strength MS basal medium with 1.0 µM NAA, 0.5 µM BA 0.1µM Kinetin, 30 g/L sucrose and 9.0 g/L Difco agar. Data was collected after 30days of culture.

² Shoot tips pre-cultured on full strength MS basal medium with 0.3M sucrose and 9.4 g/L Difco agar, then loaded with different times for LS and dehydrated with PVS3 for 60 min without (-LN) / with (+LN) immersion into liquid nitrogen. Approximately 10 shoot tips were tested for each of three replicates.



結果

- 一、莖頂高濃度蔗糖之預培養
- 二、不同LS溶液處理時間配合PVS2溶液對甘藷4個品種經藻膠包埋超低溫冷凍處理後植株再生的影響
- 三、不同LS溶液處理時間配合PVS3溶液對甘藷4個品種經藻膠包埋超低溫冷凍處理後植株再生的影響
- 四、不同PVS2溶液處理時間配合LS溶液對甘藷4個品種經冷凍鋁片超低溫冷凍處理後植株再生的影響



Table 4. Effect of PVS2 with different times of LS treatment on the plant regeneration rates of shoot tips of *Ipomoea batatas* (L) Lam. cv. Tainung Nos. 57, 66, 71 and 73 without/ with aluminium cryo-plates for cryopreservation ¹.

PVS2 treatment (min.)	Plant regeneration rate (%)							
	Sweet potato cultivar							
	TN 57		TN 66		TN 71		TN 73	
	-LN ²	+LN	-LN	+LN	-LN	+LN	-LN	+LN
15	0	0	10.0	0	13.3	3.3	3.3	0
30	0	0	6.7	3.3	3.3	0	0	0
45	0	0	3.3	0	6.7	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	6.7	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0	0


¹ Recovery medium: Full strength MS basal medium with 1.0 μ M NAA, 0.5 μ M BA 0.1 μ M Kinetin, 30 g/L sucrose and 9.0 g/L Difco agar. Data was collected after 30days of culture.


² Shoot tips pre-cultured on full strength MS basal medium with 0.3M sucrose and 9.0 g/L Difco agar, then loaded with different times of **LS for 30 min** without (-LN) / with (+LN) immersion into liquid nitrogen. Approximately 10 shoot tips were tested for each of three replicates.



小結

- ✦ 一、台農57號及66號莖段培養於改良式MS培養基，添加1mg/L IAA, 3%Glucose及0.9%Agar，可延長繼代培養時間達6個月。
- ✦ 二、臺農 57 號、66 號、71 號及 73 號等4個品種，以MS 基本鹽類培養基添加 0.3 M 蔗糖及0.9% Difco agar進行預培養4天，可有效提升莖頂組織經LS溶液及PVS2溶液處理後之組織存活率達 60-100 %。

- 
- ✦ 三、以藻膠包埋玻璃質化法配合 LS 溶液 300分鐘及 PVS2 溶液 60分鐘處理，經液態氮保存後，結果4個品種的植株再生率皆為 3.3 %。
 - ✦ 四、若以PVS3替代PVS2 溶液配合 LS 溶液處理，僅2個品種即臺農 66 號及 71 號有3.3 %的植株再生率。顯示PVS2溶液較 PVS3 溶液適合作為甘藷超低溫冷凍保存技術的冷凍保護劑。

- 
- ✦ 五、冷凍鋁片超低溫保存技術以 LS 溶液及 PVS2 溶液皆處理 30 分鐘，經超低溫冷凍處理後結果臺農 66 號的植株再生率達 3.3%，而 LS 溶液處理 30 分鐘及 PVS2 溶液處理 15 分鐘，使臺農 71 號植株再生率亦為 3.3%，而臺農 57 號及 73 號則無任何植株再生。



五、根莖類作物種原之利用

(一)甘藷健康種苗繁殖

前言

- 甘藷健康管理—「優質健康的種苗」
- 主要甘藷羽狀斑駁病毒(sweet potato feathery mottle virus, SPFMV)及甘藷潛伏病毒(sweet potato latent virus, SPLV)複合感染植株感染病毒病—產量損失高達10—87%
- 去除病毒病的方法—莖頂組織培養

1.連續三年健康苗及病毒苗產量比較

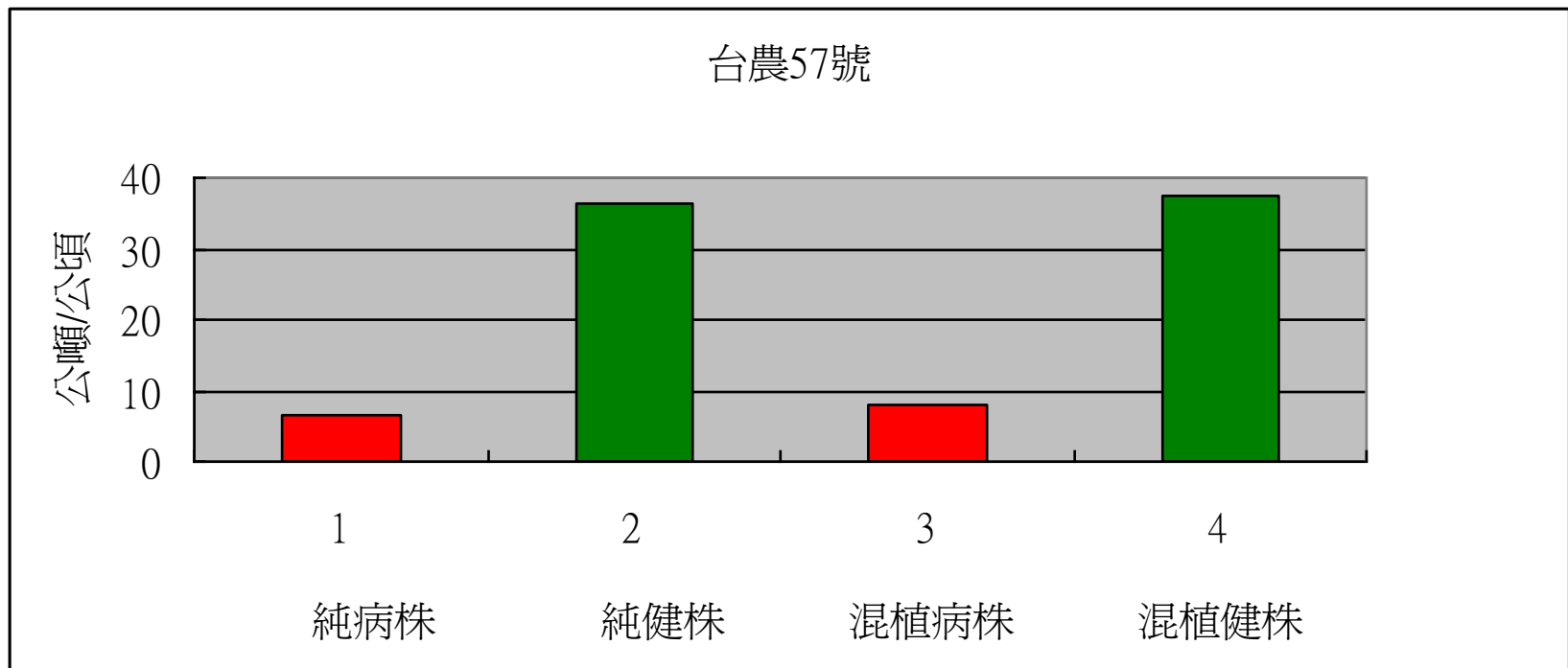


圖1.甘藷台農57號連續三年健康苗及病毒苗產量比較試驗

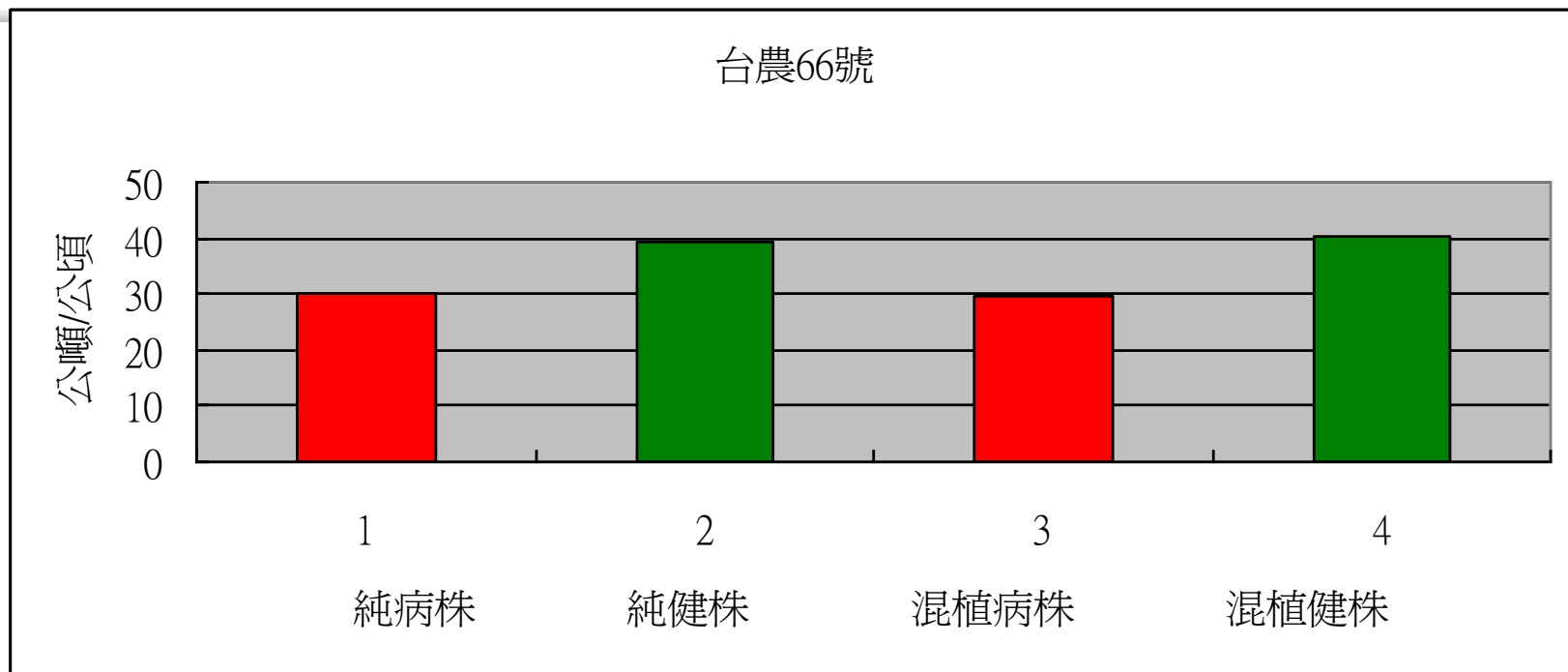



圖2.甘藷台農66號連續三年健康苗及病毒苗產量比較試驗

2.甘藷健康種苗繁殖的過程

✦ 「甘藷健康種苗大量繁殖技術」於95年至102年以非專屬技術移轉予五家專業農戶，分別為雲林縣元長鄉農會吳天原先生、水林鄉良好農業資材行林建南先生、台南縣新化鎮食用甘藷產銷班、慶全地瓜生產合作社及彰化縣福興鄉蔬菜產銷班第10班等

- 
- **研發效益：**
 - **30公頃的採種圃—每年4,200萬苗以上的優質種苗。**
 - **增加農民產值—10萬元/公頃**
 - **1000公頃—10,000萬元/年收入。**

早期檢定方法

嘉義分所自1978年開始甘藷莖頂組織培養研究工作，當時尚無抗血清可供檢定病毒，即以指示植物進行生物檢定，將葉片磨成汁液行摩擦接種或以頂芽嫁接指示植物 *Ipomoea nil* 及 *Ipomoea setosa*，接種約10-15天出現嵌紋、斑駁等病徵。

現行檢定方法

- ✦ 檢定方法：利用**酵素連結抗體法(ELISA)**、**西方轉漬法 (Western blot)** 及**逆轉錄-聚合酵素連鎖反應 (RT-PCR)** 檢測甘藷羽狀斑駁病毒 (sweet potato feathery mottle virus, SPFMV) 及甘藷潛伏病毒 (sweet potato latent virus, SPLV) 等針對**塊根芽體、組培苗、基本種、原種苗及採種苗**進行檢測。



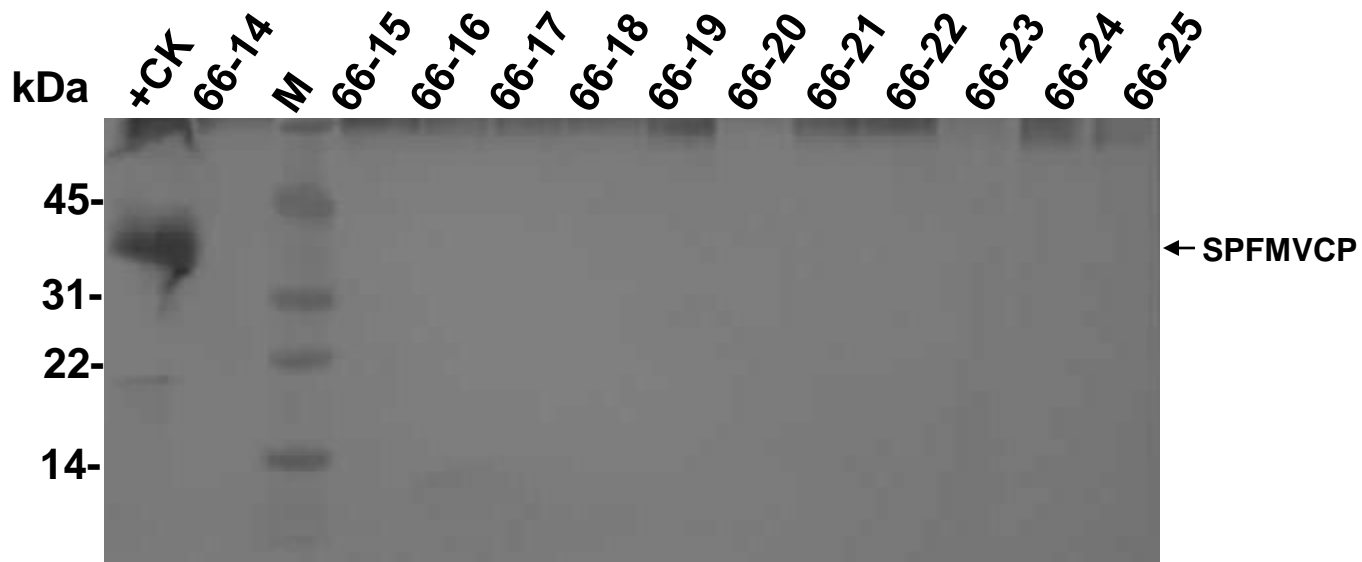
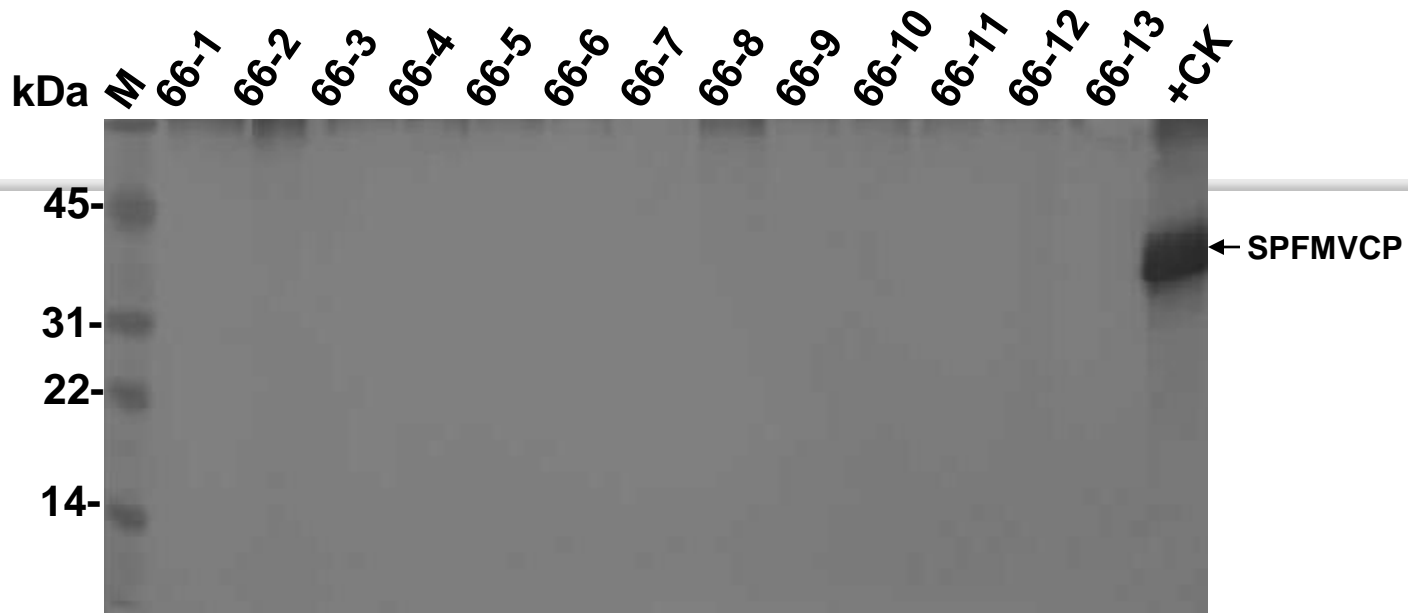


表1.不同濃度之蔗糖對甘藷莖生長及成活率之影響

Table1. Effect of sucrose concentration on the growth, development and *in vitro* survival rate of sweet potato shoot segments cultured for one month on modified MS medium.

Sucrose conc. (%)	Fresh wt. (mg/shoot)		Stem diameter (mm)		Plant height (cm)		No. of expanded leaves		<i>In Vitro</i> survival rate(%)	
	TNG57 ^z	TNG66 ^z	TNG57	TNG66	TNG57	TNG66	TNG57	TNG66	TNG57	TNG66
0	13 ^{ey}	97 ^e	0.1 ^e	0.7 ^c	1.6 ^c	1.7 ^d	0.1 ^e	0.3 ^d	12.5	56.7
3	538 ^c	766 ^c	1.4 ^c	1.8 ^b	6.6 ^b	5.4 ^b	6.1 ^b	4.1 ^a	100.0	100.0
6	1110 ^a	1177 ^{ab}	1.6 ^b	2.3 ^a	9.2 ^a	6.6 ^a	7.0 ^a	3.4 ^b	100.0	100.0
9	956 ^b	1309 ^a	1.8 ^a	2.6 ^a	6.3 ^b	5.4 ^b	5.0 ^c	2.5 ^c	100.0	100.0
12	252 ^d	1148 ^b	0.8 ^d	2.4 ^a	2.1 ^c	3.8 ^c	1.1 ^d	2.4 ^c	50.0	100.0
15	38 ^e	255 ^d	0.2 ^e	1.0 ^c	1.6 ^c	1.8 ^d	0.1 ^e	0.6 ^d	22.5	56.7

^z TNG 57: Tainung 57; TNG 66: Tainung 66

^y Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 40 replications.



表2. 不同濃度之蔗糖對台農57號移植45天後莖生長及成活率之影響

Table 2. Agronomic characters measured at 45 days after transplanting of pot-cultured Tainung 57 sweet potato plants originated from shoot segments cultured for one month on modified MS medium with different sucrose concentrations.

Sucrose conc. (%)	Fresh wt. (g/plant)	Stem diameter (mm)	Plant height (cm)	No. of expanded leaves	No. of branches	Dry weight (mg/plant)	Survival rate after transplanting (%)
0	0.03 ^{dz}	0.1 ^d	1.6 ^d	0.1 ^e	0.1 ^d	2.7 ^d	20.0
3	2.64 ^b	2.4 ^a	12.6 ^b	5.1 ^b	1.1 ^b	506.5 ^b	100.0
6	3.60 ^a	2.4 ^a	15.5 ^a	7.6 ^a	1.7 ^a	659.2 ^a	100.0
9	2.99 ^b	2.4 ^a	14.6 ^a	5.5 ^b	1.3 ^b	483.0 ^b	100.0
12	1.27 ^c	1.2 ^b	6.4 ^c	2.2 ^c	0.5 ^c	219.5 ^c	100.0
15	0.34 ^d	0.5 ^c	2.5 ^d	1.0 ^d	0.2 ^d	43.8 ^d	100.0

^z Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 40 replications.

表3. 不同濃度之蔗糖對台農66號移植45天後莖生長及成活率之影響

Table 3. Agronomic characters measured at 45 days after transplanting of pot-cultured Tainung 66 sweet potato plants originated from shoot segments cultured for one month on modified MS medium with different sucrose concentrations.

Sucrose conc. (%)	Fresh wt. (g/plant)	Stem diameter (mm)	Plant height (cm)	No. of expanded leaves	No. of branches	Dry weight (mg/plant)	Survival rate after transplanting (%)
0	0.15^{ez}	0.3^c	2.4^e	0.7^d	0.2^c	13.0^d	41.2
3	3.19^c	2.6^a	11.9^b	3.8^b	1.1^a	473.7^b	100.0
6	4.10^a	2.6^a	14.8^a	4.5^a	1.1^a	584.7^a	100.0
9	3.96^{ab}	2.7^a	12.6^b	4.3^{ab}	1.1^a	544.7^{ab}	100.0
12	3.47^{bc}	2.6^a	9.6^c	3.8^b	1.0^a	489.3^b	100.0
15	1.14^d	1.3^b	3.6^d	1.6^c	0.6^b	166.3^c	94.1

^z Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 40 replications.

甘藷種苗

病害驗證申請手冊



申發驗系以產收
證月害保，及的
驗12病植責質民
害年苗所負品農
病98種分士的高
苗自藷義博苗提
種冊甘嘉媛種以
藷手，由麗保，
甘請行證王確量益。

行政院農業委員會動植物防疫檢驗局
行政院農業委員會農業試驗所嘉義分所

發行
編印





小結

- ✦ 一、台農57號健康種苗較病毒苗的產量顯著高出4.5倍，而台農66號健康種苗較病毒苗的產量高30%。
- ✦ 二、台農57號及66號健康苗大量繁殖最適當培養基為改良式MS培養基，添加1mg/L IAA, 6% Sucrose及0.9% Agar。




(二)馬鈴薯健康種苗繁殖

- 
- ✦ 馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 為茄科作物，根據聯合國糧食及農業組織 (Food and Agriculture Organization, FAO) 2012年指出，馬鈴薯的產量佔全世界糧食作物的第四位，僅次於玉米、水稻及小麥。根據農糧署2012年統計全台馬鈴薯的栽培面積為1,887 ha，平均產量為24.1 ton/ha，現為台灣秋冬季節重要裡作作物，每年9月至11月間種植，12月至翌年4月採收，產區主要集中於臺中縣、雲林縣及嘉義縣的幾個鄉鎮。



✦ 有關馬鈴薯因病毒病害所造成之經濟損失，PVA可造成馬鈴薯之產量損失為40%，PVS (Potato S potyvirus, PVS) 則可造成減產15%；楊等 (2001) 指出馬鈴薯感染PVX (Potato X potyvirus, PVX) 種薯種植後比健康者減產39.9%，感染PVY種薯則減產61.8%，二者複合感染者則嚴重減少72.7%；PVX與PVS二種病毒複合感染則嚴重減少62.2%。



➡ 「馬鈴薯健康種苗繁殖技術」於
2010年11月以非專屬技術移轉予台
灣藤博農產有限公司，授權金為21
萬元整，授權期限5年。

表1.馬鈴薯之基本種苗及扦插苗不施肥處理
之離土栽培的產量比較

品種	基本種苗 種薯產量 (公克/10株)	扦插苗 種薯產量 (公克/10株)	P-value
台農1號	95.3	47.6	0.0002* ^z
台農3號	135.2	145.6	0.2648
Pike	89.1	45.0	< .0001*

^z Data for the treatments with an asteriated(*) are significantly different at 5% level according to t-test.



小結

- ✦ 一、利用基本種苗及扦插苗所生產的種薯產量除了台農3號沒有明顯差異外，台農1號及Pike兩品種以基本種苗所生產的種薯產量皆高於扦插苗。
- ✦ 二、台農1號健康種薯產量平均27.5公噸/公頃而普通種薯產量平均15.4公噸/公頃，顯示健康種薯產量較普通種薯高78%。



(三)山藥健康種苗繁殖

山藥(*Dioscorea* spp.)是薯蕷科多年生蔓生性根莖類作物，全省栽培面積已超過2000公頃，主要分佈在南投縣名間鄉及竹山鎮、嘉義縣、臺北縣雙溪鄉，中部地區山藥栽培的種類有白肉及紅肉種，由於產值高且栽培容易，栽培面積逐年增加。病蟲害之問題也就日形嚴重，山藥病毒病於抽蔓後即可發現，葉脈壞疽，脈間黃化，葉片狹小或扭曲變型，所結塊莖變小而影響產量。



取組培苗葉片經由ELISA檢測五種病毒病分別為：

日本山藥嵌紋病毒(Japanese yam mosaic virus, JYMV)、

山藥嵌紋病毒(Yam mosaic virus, YMV)、胡瓜嵌紋病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)及泛馬鈴薯Y病毒屬(Potyvirus)。

小結

- ✦ 一、山藥種原55個品系(種)以田間、盆栽及組培苗等三種方式保存種原。
- ✦ 二、山藥以莖頂培養可去除病毒病，利用ELISA方式檢測5種病毒病，確定為健康種苗再大量繁殖。

五、根莖類作物種原之利用

(四)甘藷葉片誘導再生植株



前言

甘藷有自交不親和性，對傳統育種是一大障礙，多位學者嘗試以標識基因 (marker gene) 或報導基因 (reporter gene) 進行基因轉移，但其前提必須能再分化成完整之植株，才能達到基因轉殖之最終目的。因此本研究之目的為篩選不同的甘藷品種誘導再生植株的比率，以利於基因轉殖之工作。



表1.不同甘藷品種葉片培養之植株再生率

Table1. Regeneration rate in leaf explants of sweet potato (*Ipomoea batata* L.) from different genotypes^z

Genotype	No. of leaf cultured	Root formation		Plantlet regeneration		Callus formation	
		No.	%	No.	%	No.	%
Pin108	36	21	58(42-74) ^y	2	6(0-13)	11	31(16-46)
TNG57	50	19	38(25-52)	1	2(0- 6)	0	0
TNG63	41	30	73(60-87)	9	22(9-35)	4	10(1- 19)
TNG64	32	1	3(0- 9)	0	0	0	0
TNG65	33	31	94(86-100)	2	6(0-14)	0	0
TNG66	29	5	17(27- 63)	0	0	0	0
TNG67	43	20	47(32-61)	8	19(7-30)	16	37(23-52)

^z Basal medium: MS basic salts, 3% sucrose and 0.8% Difco agar, pH=5.7. Culture duration was 60 days.

^y Data in parentheses are 95% confidence limits of Binomial Distribution.

表2. 不同BA及NAA濃度對台農67號30天葉齡的葉片再生植株的影響

Table 9. Regeneration rate in 30 day-old leaf of sweet potato (cv. Tainung 67) cultured on MS medium containing varying concentrations of BA and NAA^z

Concentration (mg/L)	No. of leaf cultured	Root formation		Plantlet regeneration		Callus formation	
		No.	%	No.	%	No.	%
CK	49	35	71(59-84) ^y	9	18(8-29)	28	57(43-71)
BA 0.1	49	0	0	1	2(0-6)	49	100
BA 0.5	50	0	0	0	0	50	100
NAA 0.1	50	47	94(87-100)	39	78(67-90)	46	92(85-100)
NAA 0.5	48	41	85(84-86)	26	54(40-68)	45	94(87-100)
BA 0.1+ NAA 0.2	49	0	0	0	0	49	100

^z Basal medium: MS basic salts, 3% sucrose and 0.8% Difco agar, pH=5.7. Culture duration was 60 days.

^y Data in parentheses are 95% confidence limits of Binomial Distribution.

小結

- ✦ 台農67號以30天葉齡的組培苗葉片基部，培養於MS基本鹽類添加0.1mg/L NAA則可使植株再生率高達78%，有利於甘藷基因轉殖之研究。



六、結 語

- ✦ 利用生物技術應用於根莖類作物的種原保存可節省人力、物力及金錢的支出，並可避免種原的流失及滅種。
- ✦ 應用於健康種苗繁殖之生物技術，可減輕作物栽培過程中病蟲害之損失，降低農藥等化學藥劑之使用，此乃永續農業經營中極重要的環節。



謝 謝
敬請指教
