

# 花卉微體繁殖技術

文／圖 胡文若、陳俊仁

所謂植物細胞全能分化性 (totipotency)，是指植物細胞經由適當誘導，具有可以再生長分化成為一完整植物的能力，這種潛能是植物組織培養的理論基礎。

將培養植物體的器官、組織、細胞甚至原生質體於無菌環境下，提供生長所需的條件，光、溫度、養分與荷爾蒙等，使之重新長成完整植物的系列操作，稱之為植物組織培養技術。起始的培養材料稱為培植體 (explant)。

## 植物組織培養的部位與目的

理論上，植物體的各部位皆能拿來培養。包括：

1. **培養完整的植物體**。例如蘭花的種子發育不完全，播種於人工培養基可使之順利發芽，這是目前蘭花育種中不可或缺的技术之一。無菌播種蕨類的孢子於較精密的組織培養環境下，可以避免藻類污染，得到數量龐大且生長旺盛的植株。
2. **胚培養**。胚培養是最早被應用於育種方面的組織培養技術。培養柑橘類的珠心胚，可以得到保留親本優良性狀的無病毒植株。進行育種工作時，也常利用胚培養技術來拯救不親合的雜種胚，避免胚夭折，以獲得雜交後代。

3. **器官培養**。培養植物體的器官或片段，包括：葉片、胚軸、子葉、莖頂、芽體、莖段、球莖、根尖、各種花器構造，幼花序、小花梗、花托、花瓣、子房、甚至花藥等。培養子房、胚珠或花藥多是以育種為目的，而器官培養是建立組織培養體系最常見也最簡便的方式。此項技術多以無性繁殖為目的，為避免變異發生，最好利用定芽誘導產生叢狀芽來大量繁殖，以維持遺傳穩定度。

4. **組織培養**。組織就是功能近似的一群細胞，僅培養組織時，困難度較器官培養為高。癒傷組織、分生組織、髓或切碎的葉肉等，都能用來建立組織培養系統。一般來說，幼嫩的組織或具有胚性的生殖細胞再生潛力較大；雙子葉植物較單子葉植物容易培養。癒傷組織 (callus) 就是一群未分化，



▲ 菊花「精興之秋」品種莖頂培養情形

沒有特定功能的細胞團。在器官培養時，器官逆分化所產生。通常經過逆分化的過程，細胞發生變異的機率會增加，所以癒傷組織培養一般是以誘發變異為目的；而以繁殖為培養目的時，則要儘量避免利用癒傷組織再分化成芽體或體胚。

5. **細胞培養**。將植物組織或癒傷組織分解成單一細胞，利用液體懸浮的方式培養。細胞培養多應用於誘變育種、體胚發生、提供原生質體培養及生產二次代謝產物等方面，所需設備較為精密，技術性亦較高。
6. **原生質體培養**。去除細胞壁的裸細胞叫做原生質體，自1970年代以來，許多植物都能自幼嫩組織分離大量具活性的原生質體，並進而再生成植株。此項技術已受到各國生物學家的重視，研究範圍日趨深入及擴大。此種精密的研究，主要應用於品種的改良以及基礎細胞學的研究。

### 植物組織培養技術在園藝上的應用

#### 1. 大量繁殖

##### (1) 有性繁殖

植物組織培養技術在有性繁殖上，應用最多的就是蘭花的無菌播種。蘭科植物的種子非常原始，在自然環境下發芽率極低，利用無菌播種的方式可大幅提高發芽率，為台灣蝴蝶蘭產業的主要繁殖方法。

##### (2) 無性繁殖

傳統的扦插、分株、分芽、壓條等無性繁殖方法，往往繁殖效率低，耗時甚久，且容易傳播病蟲害。利用組織培

養繁殖不僅不受季節限制，一年四季均可大量繁殖健康、整齊、活力旺盛、生長勢強且與母株性狀完全相同的種苗，初期僅需少量的植物材料，也可節省傳統培育母株所需的設備投資及栽培管理的勞力成本。

利用生長點、莖頂或芽體大量繁殖的途徑有：

- (1) 以芽體或分生組織誘導大量芽體的方式增殖。例如星辰花產生叢生芽後，再以瓶內分株繁殖。而菊花則是誘導枝條抽長，再以瓶內單節扦插的方式增殖，如此利用定芽繁殖，較能避免突變產生，維持品種穩定性。
- (2) 先刺激培植體產生癒傷組織，再分化芽體或體胚發育成小植株。例如山蘇花的繁殖，就是以心部未伸長的葉原體刺激癒傷組織形成，再誘發葉片抽出。
- (3) 培植體誘導產生體胚或擬原球體，再發芽形成小植株。例如以BA 10mg/L、NAA 0.5mg/l的配方培養蝴蝶蘭嫩葉，可自切口直接產生擬原球體。

第(2)、(3)項路徑雖可得到龐大的繁殖數量，但經過逆分化的步驟，較路徑(1)容易產生突變，所以利用組織培養技術繁殖種苗時，不應一味追求繁殖倍率，大量增殖時變異率要能壓低，才有商業利用的價值。

#### 2. 去病毒

無性繁殖作物一旦感染病毒，不僅生長衰弱，品質與產量也會顯著降低，對農業生產造成重大損失。植物體的生長點或莖頂分生組織所含病毒顆粒較少，因此莖頂或生長點培養可獲得無病

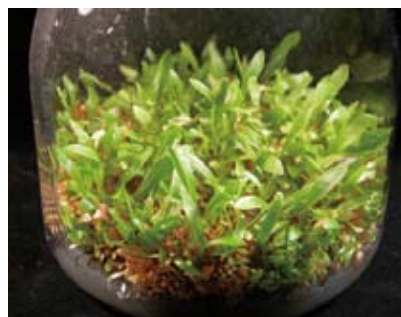




▲ 南洋巢蕨的初代培養



▲ 南洋巢蕨癒傷組織培養



▲ 南洋巢蕨大量繁殖母瓶

毒的健康種苗。但莖頂培養時，培植體的大小是成活關鍵，太小則不易培養，太大又有病毒感染的風險。配合熱處理使病毒不活性化，可摘取較大之莖頂部位，增加培養成功率。目前馬鈴薯、康乃馨、百合、草莓、甘藷、香蕉等作物都是以組織培養的方法去除病毒，生產健康種苗。

### 3. 育種

#### (1) 胚培養

傳統的雜交育種法為過去數十年來品種改良主流，但在有限的親本重複利用下，優良的雜交組合已趨極限。為求更多、更大的變異產生，往往需擴大引用遠源遺傳材料，以致產生許多雜交不親合的現象。利用組織培養技術在試管內授精，並配合培養子房、胚珠或發育初期的幼胚，提供了雜交種子發芽的機會。而胚拯救則能迴避雜種胚與母體的排斥，防止胚的天折或退化。林木種子常具有休眠性，發芽需時數年。將胚分離轉移至培養基，可以去除胚乳或種皮中所含的抑制物質，幫助打破休眠，縮短每一育種世代的時間。

#### (2) 誘變育種

一般誘變育種很難控制突變的方向，但在容器內培養癒傷組織、細胞或原生質時，藉由在培養基中添加鹽分、殺草劑、病原菌或化學誘變藥劑，或將之培養於高溫、低溫等逆境環境的選擇，可導引變異產生，並以選種壓力篩選出具抗性之新品種。培養懸浮細胞或原生質體時，即使不以誘變劑處理，自然會產生許多變異可供選拔之用。

#### (3) 花藥培養

傳統雜交育種時，往往需自交5、6次以純化個體內的遺傳物質即生產純系，再以雜交方法生產具雜種優勢的F<sub>1</sub>種子。利用花藥培養誘導產生染色體數目僅為正常植株一半的單倍體植株，若再經染色體加倍處理，即可得到遺傳物質純化的純系。不僅節省多代純化的時間及勞力，縮短育種年限，更能避免異交作物自交劣勢的生長孱弱或稔實性低下的問題。

#### (4) 原生質融合

由於缺乏細胞壁的屏障，原生質體彼此間相互接觸，在自然環境下，其細胞膜可能發生融合而成為一個細胞。此種方法可以獲得遠源，或種、屬甚至

科間雜種，以克服傳統雜交育種法的瓶頸。配合化學藥劑PEG或通入電場的電穿孔操作，更可能將修飾過的基因導入細胞當中，創造出全新的品種。此種尖端的生物科技，對於未來作物育種改良，將產生深遠的影響。

#### (5) 基因工程

植物組織培養技術為基因工程之必要操作，不同的基因轉移方法需配合不同的組織培養技術。如使用顯微注射、電穿孔或基因槍法，將基因直接注入或打入原生質體或未熟胚，則需搭配原生質或未熟胚培養；如利用農桿菌感染葉圓片或下胚軸而將修飾基因送進植物細胞內，則需要誘導器官發生以再生轉殖小植株。

#### 4. 國際流通

在國際互動日趨頻繁的現代，各種病蟲害的傳播更是無遠弗屆，世界各國為此莫不設有嚴密的檢疫制度。植物組織培養繁殖的種苗，不僅體積小、健康、清潔、無病毒，也不帶有其他病原菌，更沒有蟲體或蟲卵，是國際交換、引種的最佳方式，在國際流通時，也免除檢疫的手續和刁難。

#### 5. 種原保存

作物品種改良的種源是相當重要的，為求更廣泛的變異組合、引入抗病蟲或優良風土適應的性狀，遺傳資源的多樣性需更為擴大，包含遠源種與野生種。然而種源的保存不僅費時、費力還耗費空間，利用植物組織培養技術將種源縮小，保存於容器中，配合高滲透壓或低溫等環境的控制，可以將種源生長

速度降低，避免外界環境的變遷以及人為的破壞。

#### 6. 二次代謝產物

所謂「二次代謝產物」就是植物天然形成，但對於細胞本身重要性並不大的代謝化合物。植物體具有很強的生成能力，許多人類有用之天然植物鹼、藥物、酵素、色素、香料、殺蟲劑、荷爾蒙等都是來自於植物。利用組織和細胞培養方式，大量生產提煉對人類有益的藥物，可以在人工控制的環境下，不受季節限制，利用科學方法提高產量與品質，使得植物免於被直接砍伐提煉的浩劫與生態破壞。

### 雲林分場建立之微體繁殖體系

#### 1. 菊花「精興之秋」與「黑心黃」品種的微體繁殖

將菊花「黑心黃」品種5mm莖頂培養在MS配方+蔗糖30g/L+BA 0.2mg/L+NAA 0.02mg/L+7g/L洋菜的培養基中，一個月後形成許多癒傷組織，但並未產生芽體。將菊花「精興之秋」品種莖頂培養在相同配方培養基中，約一個月則可產生許多叢生狀芽體。

「黑心黃」品種繼代於不含生長素的培養基後，約兩週便有芽體抽起。外觀型態正常，葉片小，顏色深綠並被附有絨毛。之後每個月以瓶內扦插方式，將培植體切成2~3節的小段，繼代於與初代相同配方的培養基，如此可以穩定增加培植體數量，並避免不定芽及癒傷組織產生。

經過3~4次繼代，將培植體移至相



同配方但不含生長素的培養基，以進行瓶內發根誘導，約一週即可見到莖基部發出白色細長少分枝的根，所有培植體皆可發根。一個月後移至穴盤，並於溫室中馴化，培植體幾乎全部存活。

## 2. 星辰花、烏芙蓉及海當歸微體繁殖體系

星辰花及烏芙蓉幼花序培養於MS配方，添加蔗糖30g/L、BA 0.1mg/L和IBA 1mg/L以及7g/L的洋菜的培養基中。海當歸葉片培養於上述相同配方的培養基中，約兩週即可見自葉片切口長出許多不定芽。約一個月後，培植體形成許多叢生狀葉片。之後每個月以每培植體約5片葉的瓶內分株方式，繼代於相同配方的培養基，使培植體增殖。

增殖至足夠數量後，將培植體移至相同配方但生長素改為含IBA 3ppm的培養基，以誘導瓶內發根，約一週即可於培植體基部見到白色的根長出。

在星辰花進行繼代培養時，如超過一個月的長時間未進行繼代培養，葉片容易有半透明、肥厚捲曲的玻璃質化現象。培植體基部或葉片與培養基接觸的部分，也有淡黃色帶紅色的顆粒狀癒傷組織出現。

因此，以組織培養方式繁殖星辰花時，應注意繼代時間，最長不多於40天，以避免玻璃質化的型態異常出現。縮短繼代時間，在培植體增殖最旺盛時進行分割培養，不但增殖快速，也較易維持正常培植體型態，是避免星辰花水化的方式之一。雖然同為*Limonium*屬，烏芙蓉和海當歸瓶內型態較為正常，而星辰則易出現型態異常，可見近原屬之

間在植物組織培養時，反應亦是大有不同。

## 3. 山蘇花的微體繁殖體系

將南洋巢蕨心部未抽出的葉原體培養在1/2MS配方，添加蔗糖20g/L、BA 5mg/L及7g/L洋菜的培養基中，約兩個月以後在切口處形成許多球狀癒傷組織。繼代是將自葉原體長出的癒傷組織分開，培養於相同配方的培養基，以增加培植體數量。增殖足夠數量後，將培養基中細胞分裂素除去，可誘導葉片產生，建立大量繁殖母瓶。山蘇花的初代建立是較為困難的，不僅無菌體系建立不易，初代至第一次繼代時間也較長。

## 4. 雜交苞舌蘭種子播種

將雜交苞舌蘭尚未開裂的成熟果夾表面消毒，播種在MS+蔗糖30g/L+agar 7g/L+tryptone 2g/L的培養基上。約一週可見種子轉綠，再經2個月繼代分瓶於相同配方但添加活性炭2g/L的培養基上，繼續培養約3個月即可移出瓶外馴化。

## 結語

植物組織培養技術配合遺傳工程的操作，在種苗繁殖及品種改良上，前景將大有可為。但是微體繁殖技術初期硬體設備投資大，技術門檻高，並非所有有興趣者可以貿然投入的。容器內大量繁殖的種苗，出瓶後馴化成活率也是另一道關卡。今後發展方向將在：苞舌蘭的無性繁殖、山蘇花誘變育種、星辰花大量繁殖及種原保存等方面。