



## 生物多樣性種原之超低溫保存技術之研究－以竹柏為例

(Cryopreservation of Germplasm of Biodiversity – the case study of Nageia Nagi)

指導教授：李魁鵬 博士

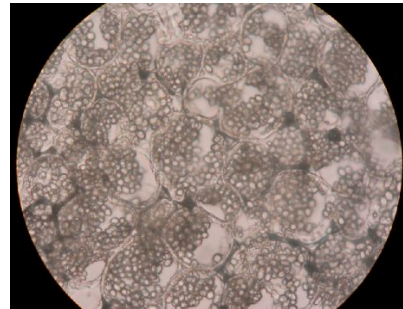
專題學生：郭誌宏、許友維

### 壹、前言

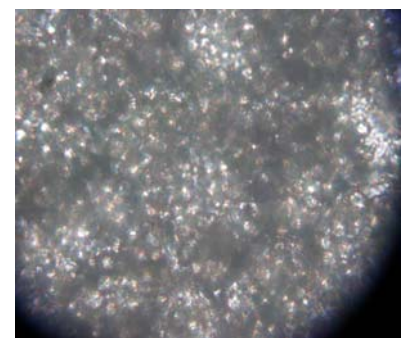
本研究嘗試利用極精密高速溫控樣品處理槽，以及利用 TTC 活性檢測法，以快速開發並尋求種原在超低溫冷凍與復溫過程中之最佳化處理程序的生物多樣性種原超低溫保存技術。

### 貳、研究方法

本文以實驗方法分別將有浸泡過甘油之種子與無浸泡過甘油之種子，經過降溫處理再復溫。再以 TTC 活力檢測法判斷其存活力。再經過脫水→滲蠟→埋蠟後，使用迴轉式切片機，切成  $8\mu\text{m}$  的蠟帶，再以二甲苯溶蠟於光學顯微鏡下觀察拍照，並照相紀錄之。



原始細胞圖

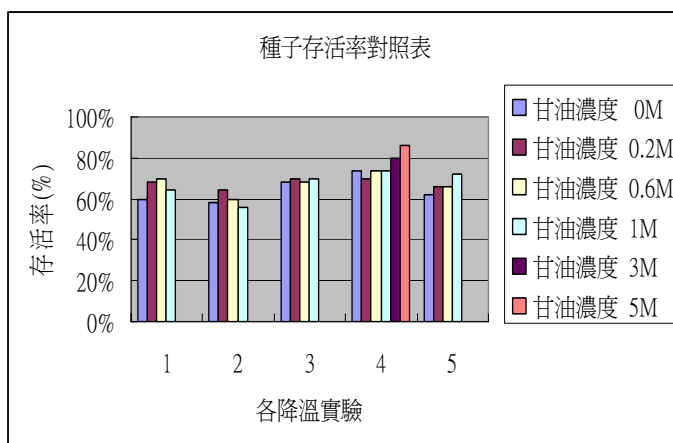


低溫處理後之活細胞圖



低溫處理後之死細胞圖

| 實驗條件<br>實驗編號 | 降溫速率      | 添加抗凍劑濃度                   |
|--------------|-----------|---------------------------|
| 實驗 1         | -4°C/min  | 無, 0.2M, 0.6M, 1M         |
| 實驗 2         | -10°C/min | 無, 0.2M, 0.6M, 1M         |
| 實驗 3         | -20°C/min | 無, 0.2M, 0.6M, 1M         |
| 實驗 4         | -35°C/min | 無, 0.2M, 0.6M, 1M, 3M, 5M |
| 實驗 5         | -50°C/min | 無, 0.2M, 0.6M, 1M         |



### 參、結果與討論

- 由實驗數據得知最佳存活率為降溫速率-35°C/min、抗凍劑 5M 為 86%；最低的為降溫速率-10°C/min、抗凍劑 1M 為 56%。
- 以降溫速率而言，-35°C/min 在各濃度上之存活率最高；而-10°C/min 為最差。