

研究生:	李胤德
研究生(英文姓名):	Yin-Te Lee
論文名稱:	生物多樣性種原之超低溫保存技術研究---以竹柏為例
英文論文名稱:	Cryopreservation of Germplasm of Biodiversity—the Case Study of Nageia Nagi
指導教授:	李魁鵬
指導教授(英文姓名):	Kuei-Peng Lee
學位類別:	碩士
校院名稱:	國立臺北科技大學
系所名稱:	冷凍空調工程系所
學號:	92458030
學年度:	93
語文別:	中文
論文頁數:	57
關鍵詞:	超低溫保存；種原；生物多樣性
英文關鍵詞:	Cryopreservation；Germplasm；Biodiversity
被引用次數:	0

【摘要】

由於在低溫狀態能抑制生物體的生理變化，甚至在液氮溫度下，更能長期保存植物。本試驗以不同抗凍劑甘油濃度（-4℃/min、-10℃/min、-20℃/min、-30℃/min、-35℃/min、-40℃/min及-50℃/min）保存處理，探討其在超低溫保存技術。

種原竹柏進行超低溫冷凍保存後，經TTC檢測，結果顯示當降溫速率-30℃/min、抗凍劑 1M的條件具有較佳存活率 50%。本研究再將活與死種子藉由石蠟包埋切片法後，於光學顯微鏡下觀察，可發現死細胞比活細胞的澱粉粒明顯密。

【英文摘要】

This research set up a precision and high speed temperature controlled biological cryofreezer. The germplasm p through the analysis of TTC viability tests and observation of ultrastructural changes in cells brought about by low Nagi as an example to find the optimal protocol of the freezing process.

The experiments were designed to determine the optimum freeze/thaw cycle for cryopreservation of Nageia Nag seeds of Nageia Nagi. The viability was analyzed by TTC viability tests after exposure to four concentrations of C seven cooling rates（-4℃/min、-10℃/min、-20℃/min、-30℃/min、-35℃/min、-40℃/min and -50℃/min）while The optimum freeze/thaw cycle for cryopreservation of the seeds of Nageia Nagi was the cooling rate of -30℃/min, the worst cycle was the cooling rate of -4℃/min and CPA of 0M and got the viability of 50%. Through the observat low temperatures, the results reveal that the cell textures of died seeds were damaged.

【論文目次】

目錄	
摘要 i	
ABSTRACT ii	
誌謝 iii	
目錄 iv	
表目錄 v	
圖目錄 vi	
第一章 前言 1	
第二章 前人研究 3	
2.1 低溫生物學的定義及其研究範圍 3	
2.2 研究簡史 5	

2.3 生物多樣性	6
2.4 生物多樣性的保護	7
2.5 低溫保存之常用抗凍劑	8
2.6 冷卻速率	9
2.7 種子之TTC活力檢定	10
第三章 研究方法與使用儀器	11
3.1 抗凍劑濃度之調配	11
3.2 TTC活力檢測法	13
3.3 試驗材料方法與設備	13
3.4 試驗流程與溫控圖	22
第四章 試驗結果與討論	37
4.1 種子之TTC活力檢測	37
4.2 種子之石蠟包埋切片	46
4.3 降溫速率與抗凍劑各種濃度關係分析	50
第五章 結論	55
參考文獻	56

[參考文獻]

- [1] Cobb,K.D.1952, 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride as an viability indicator of seeds fumigated with methyl b Analysis.
- [2] Florent Engelmann and Hiroko Takagi, 2000, Cryopreservation of tropical plant germplasm : current research International Research Center for Agricultural Sciences ; Rome : International Plant Genetic Resources Institute
- [3] Genebank Standards, 1994, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, International P
- [4] Knowlton, H. E., 1992, Studies on Pollen with Special Reference to Longevity, Cornell Univ. Exp. Stn. Mem.,
- [5] Pasha,M.K, and R.K.Das.1982.Quick viability test of soybean seeds by using tetrazolium chloride.Seed Sci.&
- [6] Pence, V.C., 1990, Cryostorage of Embryo Axes of Several Large-seeded Temperate Tree Species, Cryobio
- [7] Pence, V.C., 1992, Desiccation and Survival of Aesculus , Castanes , and Quercus Embryo Axes through Cr
- [8] Reed, B.M.; Schwanke, S.; Shala, R., 2001, Pear seeds retain viability after liquid nitrogen immersion, HortS
- [9] Sakai, A. et al., 1978, Cryopreservation of Winter Vegetative Buds of Hardy Fruit Trees in Liquid Nitrogen, H
- [10] 石思信等，1992，超低溫(-196℃)保存植物種子花粉和營養器官的研究，第二屆全國低溫生物學大會論文，第
- [11] 朱德民，1989，植物生長與發育，台北市，國立編譯館。
- [12] 李廣武，鄭從義，唐兵，1998，低溫生物學，湖南科學技術出版社
- [13] 辛淑邨等，1992，甘薯種植試管苗保存，第二屆全國生物學大會論文，青島。
- [14] 林湘玲，郭幸榮，2003，紅檜與臺灣扁柏種子在不同水逆境模式下之發芽，台灣林業科學18(1): 13-23。
- [15] 林讚標，1996，林木種子採集、處理、儲藏、休眠與發芽，臺北市，臺灣省林業試驗所。
- [16] 馬建崗譯，2003，生物技術，西安市，西安交通大學出版社。
- [17] 梁繼霞等，1992，馬鈴薯試管苗種植保存及其遺傳穩定性的研究，第二屆全國生物學大會論文，青島
- [18] 郭幸榮，1971，林木種子生活力之速測法。
- [19] 陶培基等，1992，籽瓜花粉的液氮保存研究，福建省衣科院學報，7(1)：32-35 10。
- [20] 陶嘉齡、鄭光華，1991，種子活力，科學出版社出版。
- [21] 華澤釧、任禾盛，1994，低溫生物醫學技術，科學出版社出版。
- [22] 楊忠祐，2002，台農69號甘薯之超低溫冷凍保存研究，中興大學碩士論文。
- [23] 廖吟梅，1996，樟樹種子之儲藏發芽前處理及TTC檢驗，台灣大學碩士論文。
- [24] 蔡淑華，1957，植物組織切片技術綱要，茂昌圖書公司出版。
- [25] 閻安琪、郭華仁、張鈞隆，1997，臺灣之種苗