

國立台灣大學生物技術研究中心

生物技術方法
Methods in Biotechnology
Volume 3

卷三

植物組織培養與基因轉殖
**Plant Tissue Culture
and Gene Transfer**



2003

植物組織培養與基因轉殖

Plant Tissue Culture and Gene Transfer

策劃：陳益明教授 國立臺灣大學植物科學研究所
 國立臺灣大學生物技術中心主任

主編：劉麗飛教授 國立臺灣大學農藝學系

江苏工业学院图书馆

作者群：王亞男教授 國立臺灣大學森林學系
 黃鵬林教授 國立臺灣大學園藝學系
 王淑美副教授 國立臺灣大學植物科學研究所
 鄭石通副教授 國立臺灣大學植物科學研究所
 常玉強助理教授 國立臺灣大學農藝學系
 王淑珍助理教授 國立臺灣大學農藝學系
 鄭誠漢技士 國立臺灣大學農藝學系

審稿：陳其昌教授 國立臺灣大學植物科學研究所

序

1902 年德國學者 Haberlandt 首先提出『植物組織或細胞可以分離獨立培養，並具有分化全能性 (totipotency)』的概念，自此開啟了植物組織培養的研究；發展至今，成果相當豐碩。可以進行培養的植物種類眾多，舉凡低等植物的苔蘚類、藻類、蕨類，高等植物的單子葉類、雙子葉類，裸子植物的松柏類等，都有成功的例子。培養的部位則包括了植株體所有的器官、組織與細胞，例如根、莖、葉、生長點、花藥、花粉粒、子房、胚珠、果實、種子、胚、胚乳、表皮組織、微管束組織、儲藏組織、葉肉細胞、及除去細胞壁的原生質體等，並且針對不同種類植物、不同組織與細胞、及不同的培養目的，而發展出各種適當的培養基，及許多精良的培養技術。

組織培養的應用範圍亦相當廣泛，在基礎研究方面，可利用培養系統探討植物細胞的營養、代謝、生長、分化、細胞遺傳等；在實際應用方面，則包括健康無菌苗的大量繁殖、人工種子生產、種源保存、誘導突變、由單倍體培養同型結合純系、由原生質體融合培育體細胞雜種、及二次代謝物生產等，近年來更發展到基因轉殖技術，對植物的改良與增進生產都提供了更有效率的途徑。

本實驗手冊分為十四章，第一章首先介紹基本的技術，包括設備器材、培養基配製、滅菌方法及基本操作要領等，其他各章依培養部位、培養技術或培養目的而設計，每一章內，再選擇數個不同植物種類，分別說明操作重點及步驟，除了文字敘述以外，本書特別加入了許多有關的圖片，力求清晰，以期讓讀者更容易了解由於可以進行培養的植物種類眾多，實際上並無法一一列入，讀者們可先從本書中的材料與方法開始練習，有經驗後即很容易進行其他植物材料的培養了。

本書由教育部第二階段「生物技術科技教育改進計畫」推動出版，作者群集合了國立台灣大學擔任相關課程的教師，包括劉麗飛教授、王亞男教授、黃鵬林教授、王淑美副教授、鄭石通副教授、常玉強助理教授、王淑珍助理教授與鄭誠漢技士等，共同編寫完成。在此並謝謝以下同學們協助：陳秀惠小姐、江敏小姐、余金益先生、林敏宜小姐、周宏祈先生、周書旭先生、陳恩遠先生、蔡國書先生、及楊佩慈小姐等。

在編輯過程中，雖然努力小心謹慎，但仍不免疏忽，若蒙賜教錯誤遺漏、或需加強改進之處，將可使本書更加完善，當不勝感謝。

編者識

植物組織培養與基因轉殖實驗

目錄

- 第一章 植物組織培養基本技術
- 第二章 無菌苗培養
- 第三章 癒合組織誘導
- 第四章 植物細胞培養
- 第五章 器官誘導與微體繁殖
- 第六章 體胚誘導與人工種子
- 第七章 莖頂生長點培養與無病毒植株繁殖
- 第八章 花藥培養與單倍體誘導
- 第九章 根培養
- 第十章 原生質體分離、融合與培養
- 第十一章 植物基因轉殖 — 農桿菌法
- 第十二章 植物基因轉殖 — 基因槍法
- 第十三章 植物基因轉殖 — 電穿孔法
- 第十四章 植物基因轉殖 — 浸潤法

植物組織培養與基因轉殖實驗

目錄

章	節	題 目	作 者	頁 數
		序		i
		序		ii
		目錄		iii
第一章		植物組織培養基本技術	劉麗飛、王淑珍	1
	1.1	設備與器材	劉麗飛、王淑珍	2
	1.2	培養基配製	劉麗飛、王淑珍	8
	1.3	滅菌方法	劉麗飛、王淑珍	13
	1.4	基本操作要領	劉麗飛、王淑珍	17
	1.5	植物細胞及組培的攝影技巧	劉麗飛、王淑珍	18
第二章		無菌苗培養	王淑美	21
	2.1	菸草種子無菌播種	王淑美	23
	2.2	蘭花種子無菌播種	王淑美	25
第三章		癒合組織誘導	劉麗飛	29
	3.1	菸草癒合組織誘導	劉麗飛	30
	3.2	胡蘿蔔癒合組織誘導	王淑美	32
	2.3	水稻癒合組織誘導	劉麗飛	35
	3.4	紅檜癒合組織誘導	王亞男	37
第四章		植物細胞培養	劉麗飛	41
	4.1	水稻小量細胞懸浮培養	劉麗飛	43
	4.2	水稻大量細胞懸浮培養	劉麗飛	46
	4.3	生物反應器培養紅檜胚原性細胞	王亞男	48
第五章		器官誘導與微體繁殖	王亞男	51
	5.1	菸草癒合組織之器官分化	劉麗飛	53
	5.2	非洲堇微體繁殖	劉麗飛	55
	5.3	金線蓮無性繁殖	王淑美	58
	5.4	蝴蝶蘭花梗芽繁殖	王淑美	60
	5.5	銀杏微體繁殖	王亞男	62
	5.6	紅檜微體繁殖	王亞男	64
第六章		體胚誘導與人工種子	王亞男	67
	6.1	胡蘿蔔體胚誘導	王淑美	69
	6.2	紅檜之體胚培養	王亞男	71
	6.3	紅檜、台灣扁柏人工種子製作	王亞男	73
第七章		莖頂生長點培養與無病毒植株繁殖	王淑美	75
	7.1	馬鈴薯生長點培養	王淑美	77
	7.2	草莓生長點培養	王淑美	80
	7.3	大蒜生長點培養	劉麗飛	82

第八章	花藥培養與單倍體誘導		劉麗飛	85
	8.1	菸草花藥與花粉培養	王淑美	86
	8.2	水稻花藥培養	劉麗飛	88
第九章	根培養		劉麗飛	91
	9.1	水稻根培養	劉麗飛	92
第十章	原生質體分離、融合與培養		劉麗飛、鄭誠漢	95
	10.1	植物原生質體分離	劉麗飛、鄭誠漢	97
	10.2	植物原生質體培養	劉麗飛、鄭誠漢	101
	10.3	植物原生質體融合	劉麗飛、鄭誠漢	104
第十一章	植物基因轉殖 — 農桿菌法		常玉強	107
	11.1	農桿菌轉形	常玉強	108
	11.2	菸草無菌苗農桿菌基因轉殖	常玉強	112
第十二章	植物基因轉殖 — 基因槍法		黃鵬林	121
	12.1	粒子槍基因轉殖	黃鵬林	122
第十三章	植物基因轉殖 — 電穿孔法		鄭石通	129
	13.1	電穿孔基因轉殖	鄭石通	130
第十四章	植物基因轉殖 — 浸潤法		王淑美	133
	14.1	阿拉伯芥 <i>In Planta</i> 浸潤基因轉殖實驗	王淑美	134
附 錄				139
教師備忘錄				142

圖表目錄

頁

圖 1.1. 植物組織培養無菌操作設備。	5
圖 2.1. 轉殖菸草種子發芽情形。	24
圖 2.2. 蕙蘭種子發芽情形。	27
圖 2.3. 石斛蘭種子發芽情形。	28
圖 3.1. 由菸草葉片誘導形成癒合組織。	31
圖 3.2. 胡蘿蔔癒合組織誘導。	34
圖 3.3. 水稻癒合組織誘導。	36
圖 3.4. 紅檜胚原性癒合組織之誘導過程。	39
圖 4.1. 水稻小量細胞培養。	45
圖 4.2. 水稻大量細胞培養。	47
圖 4.3. 生物反應器培養紅檜胚原性細胞。	50
圖 5.1. 生長調節劑 kinetin 與 NAA 對菸草器官分化的影響。	54
圖 5.2. 非洲堇組織培養大量繁殖。	57
圖 5.3. 金線蓮瓶內扦插繁殖情形。	59
圖 5.4. 銀杏微體繁殖系統。	63
圖 5.5. 紅檜微體繁殖過程。	66
圖 6.1. 胡蘿蔔體胚形成。	70
圖 6.2. 紅檜體胚培養過程。	72
圖 6.3. 紅檜、台灣扁柏人工種子製作過程。	74
圖 7.1. 馬鈴薯生長點培養。	79
圖 7.2. 大蒜生長點培養。	83
圖 8.1. 菸草花藥培養。	87
圖 8.2. 水稻花藥培養。	90
圖 9.1. 水稻種子發芽情形。	93
圖 10.1. 植物原生質體分離。	100
圖 10.2. 菸草原生質體平埋培養。	103
圖 10.3. 原生質體融合。	106
圖 11.1. Tri-parental mating 之操作及原理。	108
圖 11.2. BinLuc 雙偶型質體。	109
圖 11.3. 農桿菌感染蕃茄葉片。	119
圖 12.1. pRT99gus 質體之圖譜。	122
圖 12.2. PDS-1000/He 消耗品。	125
圖 12.3. PDS-1000/He 基因槍各部位構造圖。	126
圖 12.4. 菸草葉片暫時表達 GUS 基因之組織染色情形。	128
圖 13.1. 電穿孔實驗所用質體 pBI221。	130
圖 13.2. Baekon 2000 電穿孔儀。	132
圖 14.1. 阿拉伯芥植株之處理。	136
表 12.1. 各培養階段使用之培養基成分。	123
附表一 培養基組成份。	139
附表二 CPW 溶液組成份。	140
附表三 GUS 染色試劑。	140

第一章 植物組織培養基本技術

國立臺灣大學農藝學系 劉麗飛、王淑珍

植物組織培養是比較簡化的名稱，實際上包括了整株植物、器官、組織、細胞及原生質體等不同層次的培養；雖然材料上的變化很大，培養目的各自不同，但是基本上都必須掌握住五大重要條件，才能得到成功的培養。

- ◆ 適當的材料
- ◆ 適當的培養基
- ◆ 適當的培養條件
- ◆ 嚴密控制的無菌環境
- ◆ 操作者的技術

依據研究目的及實用功能，操作者須慎選適合的材料與培養條件，例如欲生產某種植物二次代謝物，首先要考慮使用哪種植物、使用植物哪種組織建立培養系統、亦必需考慮此物質之合成、代謝途徑及在植物體內分布特性，進一步考慮培養系統，決定採用懸浮細胞培養或器官培養以達到目的，當然培養基之成分及培養條件亦須調整，此外，培養過程中材料會不斷發生變化，必須經常小心觀察，有時候需要適當調整培養狀況，因此整個實驗要有周詳的設計，實驗的時間也比較長，考驗了操作者的細心與耐心。

本章中綜合介紹各項設備、器材、培養基的配製、各種滅菌方法、及操作要領等，這些基本原則，適用於每一項目的培養，因此各單項目中將不再重複說明。材料的選擇則於各單項目中分別介紹。

1.1 設備與器材

國立臺灣大學農藝學系 劉麗飛、王淑珍

植物組織培養實驗室不同於一般的生物或化學實驗室，特別需要注意清潔、維持無菌、環境條件控制等，因此除了基礎設備以外，還需要特殊空間與設備，規劃時，首先要遵守一般實驗室規則，注重實驗室安全與方便性，操作者使用時，更要充分熟習各項設備的特性，正確操作。

實驗室空間安排

建立組織培養室，首先必須要有妥當的空間安排，各個空間適當隔離，避免互相干擾，又能合理連繫，以便各項儀器及設備有效率的使用與管理，得到理想的培養結果。

空 間	用 途 與 注 意 事 項
空間一 (準備室)	配製培養基、滅菌、各種培養用具存放及清洗、污染物暫存 ◆ 宜適當規劃空間、經常整理
空間二 (接種室)	植物材料接種無菌操作 ◆ 宜儘量避免干擾、保持整潔、舒適、適度照明
空間三 (培養室)	培養材料置於控制之環境下生長 ◆ 須密閉獨立、保持整潔並控制溫度、光照、濕度等
空間四 (觀察室)	觀察、記錄、分析培養結果 ◆ 須保持整潔、注意溫度，以免材料受傷

實驗室基礎設備

設 備 名 稱	用 途 與 注 意 事 項
電動天平 (electrical balancer)	秤藥用，至少需可測至 0.001 g (mg) ◆ 置放於穩定工作台，避免震動、風吹、並注意水平 ◆ 使用前後保持天平載臺表面及周圍桌面清潔 ◆ 使用前先歸零 ◆ 使用刮勺取出適量試藥，慢慢秤量至所需重量，避免過重

酸鹼度儀 (pH meter)	調整培養基酸鹼值 (pH) <ul style="list-style-type: none"> ◆ 注意電極清潔，保持潤濕 ◆ 電極管內裝滿飽和 KCl 溶液 ◆ 使用前確認酸鹼度儀已經校正
電磁攪拌加熱板 (hot and stir plate)	配製培養基，溶解洋菜及藥品 <ul style="list-style-type: none"> ◆ 不可加熱塑膠製器皿 ◆ 易燃物品勿近加熱板 ◆ 依容器大小及溶液體積選擇適當大小的攪拌子及最佳轉速，旋轉不要太過激烈，避免打破容器或濺出溶液
微波爐 (microwave)	配製培養基，溶解洋菜及藥品 <ul style="list-style-type: none"> ◆ 金屬物及未特別標示之塑膠品不能以微波爐加熱 ◆ 注意容器與溶液比例，最好使用較大容器 ◆ 容器要加蓋或以保鮮膜封口，避免溶液翻騰濺出或蒸發散失 ◆ 配合溶液或待加熱物容積及材質，以適當火力與時間加熱 ◆ 隨時觀察加熱狀況，若有異狀立即停止加熱 ◆ 取出器皿時，需戴隔熱手套或做好適當防燙措施
冰箱 (refrigerator) 4°C freezer -20°C freezer	儲存藥品及培養基 <ul style="list-style-type: none"> ◆ 所有瓶罐均應加蓋並標示清楚其內容物、所有人、日期等 ◆ 做適當的分區及歸類，方便尋找試劑取用
蒸餾水製造設備	製造蒸餾水，精密的試驗則需二次蒸餾水 (ddH ₂ O) <ul style="list-style-type: none"> ◆ 注意原水品質，最好先過濾處理
純水製造設備	製造去離子純水
Milli-Q 水製造設備	製造逆滲透處理的水
一般離心機	收集細胞、試藥、組織萃取等 <ul style="list-style-type: none"> ◆ 以水平式旋轉較理想 ◆ 使用時注意保持離心管對稱及平衡
微量試管離心機	收集微量材料、試藥等 <ul style="list-style-type: none"> ◆ 使用時注意保持離心管對稱及平衡
真空抽氣機	減壓抽氣

無菌操作設備

設備名稱	用途與注意事項
高壓蒸汽滅菌釜 (autoclave) (圖 1.1 A-D)	<p>用於培養基、玻璃容器、金屬器材、及耐高溫的塑膠製品類之滅菌</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ 檢查釜內蒸餾水高度，至少要覆蓋加熱線圈 ◆ 檢查蒸氣水罐內存水，以蒸餾水補充至 Low 高度（圖 1.1C） ◆ 將要滅菌之瓶罐以蓋子或鋁箔封套好（勿密封），以黑色簽字筆（最不易掉）標好標籤，適當排列置於不鏽鋼網籃內，移至滅菌釜內 ◆ 旋緊釜蓋，檢查排氣開關是否為關閉，氣壓指示是否為室內氣壓讀值（圖 1.1D） ◆ 依內含物品數量及性質適當調整滅菌條件及時間，一般為 121°C, 1.2 kg/cm^2, 20 min.（圖 1.1B） ◆ 按下啟動鍵後，隨時注意其升溫及加壓狀況是否正常 ◆ 滅菌完成後，須待氣壓降至室內壓力，溫度冷卻至 $<100^{\circ}\text{C}$ 後，才可打開蓋，小心水蒸氣及過熱器皿 ◆ 取出所有完成滅菌之物品，關閉電源
乾熱烘箱 (oven)	用於玻璃容器，及金屬器材類之乾燥與滅菌
無菌操作台 (laminar flow) (圖 1.1 E-F)	<p>利用 HEPA (high efficiency particulate air) 過濾網，阻隔空氣中的微粒與菌類孢子，營造無菌的操作環境；一般可分為水平送風式（圖 1.1 E）與垂直送風式（圖 1.1 F）</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ 注意 HEPA 的使用時間及期限
紫外線燈 (ultra violet, UV)	<p>利用紫外線的直接照射使操作檯面、空間達到無菌</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ 注意不可照射操作者及培養材料
微孔過濾設備 (Millipore filter) (圖 1.1 G)	<p>不能耐受高溫的藥劑或培養基成分，以微孔過濾方式滅菌</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ 注意濾孔大小、濾紙材質
超音波震盪器 (sonicator)	<p>用具清潔、植物材料表面之滅菌，尤其是表面有絨毛或凹凸不平之植物材料</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ 注意超音波速
酒精燈、或瓦斯槍 (圖 1.1 H)	<p>置於無菌操作台內，用於玻璃容器、及金屬器材類之滅菌</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ 遠離酒精、塑膠等易燃物 ◆ 使用後關閉或切除電源



圖 1.1. 植物組織培養無菌操作設備。

- A. 高壓蒸汽滅菌釜；B. 高壓蒸汽滅菌釜控制面板；
- C. 蒸氣水罐內需補充蒸餾水；D. 排氣開關需關閉；
- E. 水平送風式無菌操作台；F. 垂直送風式無菌操作台；
- G. 微孔過濾設備；H. 瓦斯槍。

培養與觀察設備

設備名稱	用途與注意事項
培養架	注意培養架層間高度、隔層材料、通氣散熱
照明設備	注意照明強度、照明時間、光波長、溫度控制等
定溫培養箱 (incubator)	控制溫度及照明
震盪培養機 (shaker)	以迴轉式較理想，適用於小量細胞懸浮培養
生物反應器 (bioreactor)	適用較多量細胞懸浮培養和培養條件變化之偵測
實體解剖顯微鏡	切取生長點等材料；觀察培養體生長情形
一般光學顯微鏡	觀察細胞及原生質體等
倒立式顯微鏡 (inverted microscope)	細胞平埋於洋菜培養基內，以培養皿培養時，無法用一般光學顯微鏡觀察，必須使用倒立式顯微鏡，可以觀察到細胞生長情形。
相機	紀錄培養體生長情形
翻拍架	架設相機攝影

操作器材

- 1) 各型鑷子、剪刀、解剖刀、接種環、注射針等。
- 2) 各型培養容器：試管、培養皿、錐形瓶、蘭花瓶、培養盒等。
- 3) 定量滴管、分注器、離心管。

藥品試劑

藥品名稱	用 途 與 注 意 事 項
一般藥劑	
無機鹽類	試藥級
蔗糖及其他糖類	試藥級，或台糖公司產品白砂糖（此產品不適於細胞及原生質體培養）
洋菜膠	Agar-Agar (Merck) , Bacto-agar (Difco) , 或 phytigel (Merck)
維生素類	維生素 B ₁ 、B ₂ 、B ₆ 、維生素 C 等
胺基酸類	glycine、glutamate、glutamine、proline、methionine、cysteine 等
複合物	yeast extract、casein hydrolysate、chacoal、coconut water
其他	inositol
殺菌用藥劑	
抗生素	ampicilin、hygromycin、kanamycin
滅菌劑	酒精、次氯酸鈉 (NaOCl) 或漂白水、雙氧水 (H ₂ O ₂)
其他	Tween 20、清潔劑
植物生長調節劑	
生長素類 (auxin)	Indole-3-acetic acid (IAA)、indole-3-butyric acid (IBA)、 α-naphthaleneacetic acid (NAA)、2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
細胞分裂素類 (cytokinin)	Kinetin、benzyl adenine (BA)、2-ip
激勃素	Gibberellin (GAs)，主要使用 GA ₃
離層酸	Abscisic acid (ABA)
乙烯	Ethrel (ethylene)

本實習學習重點

- ◆ 認識各項設備與器材。
- ◆ 學習各項設備與器材之正確使用與維護方法。
- ◆ 學習組織培養室空間安排與管理。

1.2 培養基配製

國立臺灣大學農藝學系 劉麗飛、王淑珍

組織培養的培養基種類甚多，本實習以使用最廣泛的 MS 培養基為例，學習儲藏液與固態培養基的配製方法。儲藏液是將各項無機鹽類、微量有機物質等先配製成濃縮液，當配製培養基時，只需依適當比例稀釋使用，具有方便、迅速、準確等優點。本次實習配製的固態培養基只含 $1/2 \times$ MS 無機鹽、inositol、維生素、1% 蔗糖、0.8% agar，不含任何生長調節劑，可適用於菸草或其他種子發芽使用。

儀器用具

- 1) 電動天平、電磁攪拌加熱板、酸鹼度儀、微波爐。
- 2) 定量瓶、血清瓶、洗瓶、燒杯、定量吸管、注射筒或分注器、培養試管。

方法步驟

一、無機鹽儲藏液配製

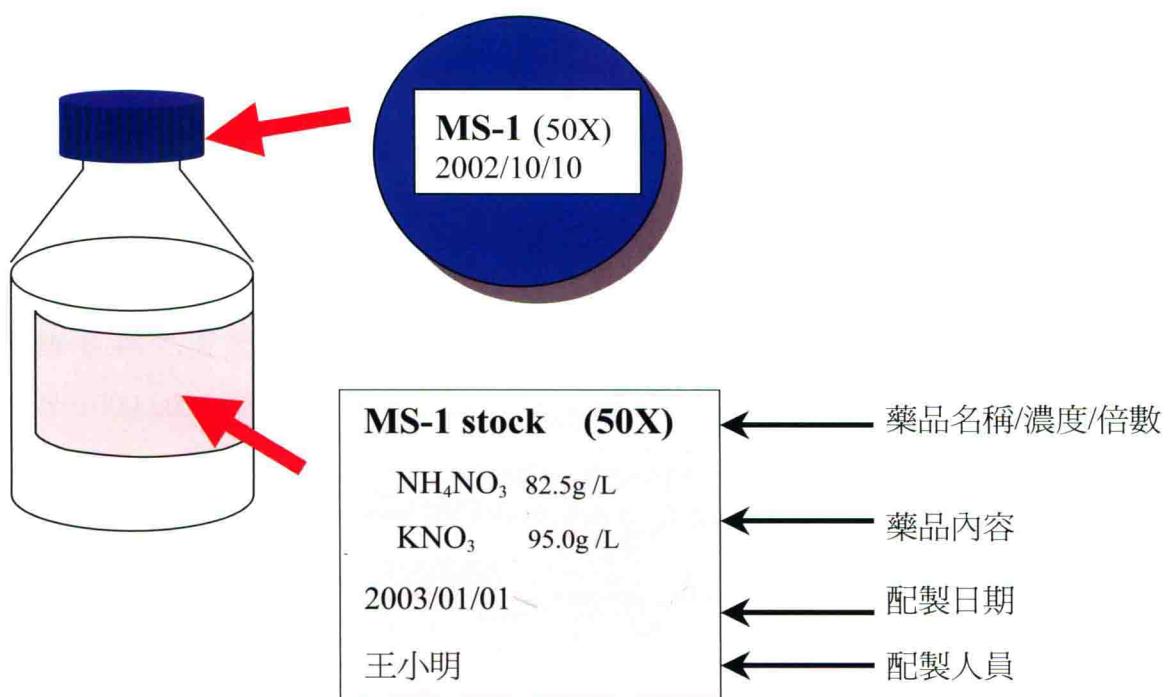
- 1) 將 MS 培養基無機鹽類分為六個儲藏液：

儲藏液編號 (No.)	無機鹽種類	使用濃度 (mg/L)	儲藏液濃度 (g/500 mL)	倍 數
1	NH ₄ NO ₃	1650	41.25	(50x)
	KNO ₃	1900	47.5	
2	CaCl ₂ · 2H ₂ O	440	11	(50x)
3	MgSO ₄ · 7H ₂ O	370	9.25	(50x)
	MnSO ₄ · 4H ₂ O	22.3	0.558	
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6	0.215	
4	FeEDTA	37.5	0.94	(50x)
5	KH ₂ PO ₄	170	4.25	(50x)
	H ₃ BO ₃	6.2	0.155	
	KI	0.83	0.021	
	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25	0.006	
6	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025	12.5	(1000x)
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025	12.5	

* 決定儲藏液最重要的原則是藥品之間不可互相作用產生沉澱，並避免高濃度。

2) 儲藏液配製：以 MS-1 為範例

步驟 1	確定所需要的儲藏液體積，計算各藥品實需數量： MS-1 儲藏液 500 mL，需要 41.25 g NH ₄ NO ₃ 和 47.5g KNO ₃ 。
步驟 2	秤取藥品，溶解於所需總體積 1/2 左右的純水： 先取約 250 mL 純水置於 500 mL 燒杯中， 接著秤取 NH ₄ NO ₃ 加入燒杯中，以磁轉攪拌至完全溶解， 再秤取 KNO ₃ 加入，繼續攪拌至完全溶解。
步驟 3	將溶液倒入 500 mL 定量瓶中，添加純水至標線。
步驟 4	配製完成後倒入血清瓶內， 瓶蓋與瓶璧均貼上標籤， 註明儲藏液名稱、濃縮倍數、藥品內容、配製日期、配製人員等 置於 4°C 冰箱保存。



二、微量有機成分儲藏液配製

1) 常用的微量有機成分如下：

種類	成 分	分子量	使用濃度 (mg/L)	儲藏液濃度 (mg/100 mL)	倍 數	配製 要訣
inositol	inositol	180.2	100	1000	(100X)	i
維生素	Thiamine HCl	337.3	1	10	(100X)	i
	Pyridoxine HCl	205.6	1	10		i
	Nicotinic acid	123.1	10	100		i
生長調節劑	IAA	175.2	(視材料而定)	20	(不定)	ii, iii
	IBA	203.2		20	(不定)	ii, iii
	NAA	186.2		20	(不定)	ii, iii
	2,4-D	221.0		20	(不定)	ii, iii
	Kinetin	215.2		20	(不定)	ii
	BA	225.2		20	(不定)	ii
	2-ip	203.3		20	(不定)	ii
	GA3	346.4		20	(不定)	i
	ABA	264.3		20	(不定)	i

2) 配製要訣說明：

i：使用純水即能溶解的藥品，大多數的藥品屬此類。

ii：可溶解於鹼（KOH / NaOH）的藥品。

iii：可溶於醇類（95% ethanol / 100% propanol）的藥品。

3) 使用濃度一般常用二種方式表示，體積重量濃度 (mg / L) 或莫耳濃度 (μM)，可以利用分子量換算。例如 IAA 使用濃度為 $10\mu\text{M}$ ，配製 100 倍儲藏液濃度 100 mL，IAA 分子量為 175.2，因此計算過程為：

$$\text{儲藏液濃度} = 10\mu\text{M} \times 100 = 1\text{mM}$$

$$1\text{mM 溶液} = 175.2 \text{ mg} / 1000 \text{ mL}$$

但因只配 100 mL，所以需要 17.52 mg IAA