

77

國立宜蘭大學

農業推廣季刊

國立宜蘭大學農業推廣委員會 農業推廣(季刊)

通訊總號第 077 號 中華民國 105 年 9 月 出刊

發行人/邱奕志 主編/高建元

地址：260 宜蘭市神農路 1 段 1 號

E-Mail：aec@niu.edu.tw

中華民國 86 年 3 月 創刊

行政院農業委員會補助編印

編輯/林怡慧

電話：03-9357400#7613

傳真：03-9354152

腎藥蘭組織培養體系的建立

林雅莉、鄭筱奕、高建元

國立宜蘭大學 園藝學系

前言

腎藥蘭(*Renanthera spp.*)為蘭科腎藥蘭屬植物，又名火焰蘭，主要分佈於印度東部至東南亞各地，在台灣主要栽培於屏東，因其在亞洲、歐洲深受喜愛，因此形成國內新的開發熱點，極具有外銷潛力。腎藥蘭傳統以扦插的方式進行繁殖，但繁殖速率慢，因此本實驗目的將開發腎藥蘭組培量產技術，以扶持國內專業的蘭花植物業者，建立其組織培養量產的技術平台，而且能在豐富觀賞需求同時，創造經濟價值，推動台灣花卉產業的多元發展，希望帶來更高的附加價值與商機，滿足逐漸成長的國內外市場，替農民帶來更多的收益。

腎藥蘭‘富麗紅’品系(*Renanthera spp. 'Fulihong'*)為蘭科(*Orchidaceae*)多年生草本植物，傳統以扦插的方式進行繁殖，但繁殖速率慢，因此本研究探討利用器官再生途徑及擬原球體(PLB)再生分化成完整植株，並且以不同的荷爾蒙組合、橫向及縱切芽法、添加有機物等多項測試，來找出最適當培養基組合，以達到在短時間繁殖大量具有相同形態後代的植株並加以馴化。出瓶馴化則是，將腎藥蘭組培苗，分成具有 4 條根、2 條根及沒有根的幼苗，分別種植至水苔、樹皮、蛇木屑與竹碳介質中栽培後發現以樹皮作為介質能誘導較多新生根。沒有根系的幼苗在水苔、蛇木屑和竹碳的介質中都無法存活，而在樹皮介質的存活率也僅達 33.3%，而有帶根的幼苗則在四種介質中，存活率皆達到 100%，因此本研究建立了完整的腎藥蘭組織培養繁殖體系。

材料與方法

本研究之腎藥蘭植株為富麗紅(*Renanthera spp.*)品種之植株(圖 1)作為材料，取花梗、頂芽與側芽再進行消毒。依不同的部位做無菌化試驗並觀察記錄。培植體無菌化後，將無菌化的組培苗以橫切及縱切兩個面向的方法，再加上利用不同濃度的 BA 與 NAA 組合調控進行生長試驗，觀察存活率及芽體數。並以添加有機質(蘋果、馬鈴薯、椰子水)的方式誘導生根、長芽和長擬原球體，兩週後進行觀察並記錄根數、芽體數及擬原球體的分化情形。最後進行出瓶馴化的介質試驗，將無根及兩條、四條根的組培苗種植於不同的介質中，觀察其身長的根數、株高、株寬以找出最適合之介質。

結果與討論

(一) 不同部位無菌化組培苗的生長情形

取腎藥蘭花梗、頂芽與側芽無菌消毒，將其以稀釋 5 與 7 倍的次氯酸鈉消毒 20 分鐘，再以無菌水沖洗數次。經過一週後觀察其發霉率，發現以 5 倍次氯酸鈉消毒 20 分鐘有較高的成功率。培養經二週後，三種培植體基部均有明顯膨大的現

象。一個月後再觀察，花梗芽沒有生長，而基部仍有膨大現象，但並沒有觀察到分化或其他現象，即使利用戳傷，也沒有其他反應；側芽則是有明顯的生長情形，一個月後將側芽切下，繼代至發根培養基；頂芽在經過消毒一個月後，基部膨大處有明顯的芽體生成，且經過戳傷後的花梗芽可產生更多的芽體。

(二) 器官再生途徑之切芽繁殖試驗

將芽體分為橫向切及縱向切，橫切是以組培苗區隔莖和根的基部作為基準點，橫切後分成地上部與地下部；縱切則是保留根系，只去除一半的地上部，並以 MS 作為基礎添加植物生長調節劑，目的希望能夠誘導地上部發根而地下部出芽。

(1) 橫向芽切法：

經過 30 天培養後，觀察到實驗結果顯示在全量 MS 培養基單獨添加 1 mg/L BA 時，能誘導地上部長出 10 個根體數，增殖倍率達到 2.5 倍左右為最佳，而單獨添加 3 mg/L NAA 時，能誘導出 5 個不定芽，其增值倍率為 1.25 倍左右。在 1/3MS 培養基在添加 0.5 mg/L NAA 與 5 mg/L BA 組合與 1 mg/L NAA 與 1 mg/L BA 組合時，皆產生四個芽體。培養兩個月後再觀察其芽體大小，結果顯示全量 MS 培養基除了添加 3 mg/L NAA 與各濃度 BA 處理芽體，有較多大於 2 公分的芽體，芽體大小平均、膨大部分也有發根。在 1/3 MS 為基礎培養基，大多數的芽體小於等於 1 公分(圖 2)。因此在基本鹽類的比較上，培養於全量的 MS 擁有較大芽體，但在經過兩個月後芽體總數部份，1/3MS 培養基具有較多芽體，達 30 個，大於全量 MS 的 24 個。

(2) 縱向芽切法：

經過 30 天培養後，結果顯示，全量 MS 培養基在添加 1 mg/L NAA 與 3 mg/L BA 組合時，能誘導地下部長出 9 個芽體數，增殖倍率達到 2.25 倍左右最佳。在 1/3MS 培養基添加 0.5 mg/L NAA 與 5 mg/L BA 組合與 1 mg/L NAA 與 3 mg/L BA 組合時與單獨添加 5 mg/L BA 有較佳的芽體增值率，皆產生五個芽體。同樣在兩個月後再觀察其芽體大小，結果顯示在培養第二個月時，芽體數有減少的現象，但是比起橫向芽切法，平均芽體數有增大的趨勢。在 1/3 MS 為基礎培養基，添加 0.5 mg/L NAA

與 5 mg/L BA 組合有最多芽體數，達 10 個，芽體大多小於等於 1 公分。此外，比起橫向切法，縱向切法可以克服橫向芽切法芽體生長較困難也較慢且芽體平均相對較小的缺點。

(三) 胚胎再生途徑之誘導擬原球體繁殖試驗

誘導擬原球體，將頂芽經消毒兩週後，基部切口處產生擬原球體，而葉片基部消毒經過一個月後才有擬原球體的產生(圖 3)，又再經過一個月後，在葉片基部也出現少量擬原球體，經過戳傷後再培養於含有椰子水的培養基。而在擬原球體增殖與分化試驗中發現添加 90 ml/L 椰子水較能誘導擬原球體增殖；而添加較少的椰子水僅 45 ml/L 能促進分化。

添加蘋果與馬鈴薯有機質誘導生根與長芽試驗將橫切組培苗培養於含有植物生長調節劑與蘋果、馬鈴薯之培養基，經過兩個月後，含馬鈴薯培養基除了添加 0.1 mg/L NAA 與 0.5 mg/L BA 及 0.5 mg/L NAA 與 1 mg/L BA 組合時，僅能誘導地上部長出 2 個根數，其餘皆含 3 個根數；誘導芽體方面，僅添加 0.1 mg/L NAA 與 0.3 mg/L BA 組合時，有芽體產生。含蘋果培養基在添加 0.1 mg/L NAA 與 0.3 mg/L BA 及 0.1 mg/L NAA 與 0.5 mg/L BA 組合時，能誘導地上部長出 3 個根數，其餘皆沒有或僅有一條根，而且沒有芽體產生。

(四) 出瓶馴化

將要出瓶的組培苗分成沒有根系、帶有 2 條根與帶有 4 條根，分別培養於不同介質中：水苔、樹皮、蛇木屑與竹碳。經過 30 天培養後，觀察到結果顯示。

(1) 無根系苗：

除了種植於樹皮平均長 1.5 條根，其餘介質中的植株皆已死亡；株高方面以樹皮為介質平均為 1.93 公分，其次是種植於水苔可達平均 1.61 公分；株寬同樣以種植於樹皮為最佳，平均達 2.59 公分。

(2) 帶有 2 條根：

種在樹皮平均有 4 條根，比發根率最低的蛇木屑平均 1.33 條多出了 3 倍多；株高與株寬方面，皆是以種植於水苔與樹皮的為佳。

(3) 帶有 4 條根：

種植於樹皮與水苔與 1-2 條根結果相同，皆是以種植於水苔及樹皮有

最佳根數，種植於水苔，平均長 4 條根，種植於樹皮，平均長 4.3 條根；株高仍是以種植於水苔與樹皮為最佳，不過在株寬部份，最佳為種植於水苔，平均 6.83 公分，其次是蛇木屑，平均 6.43 公分。

圖 1、腎藥蘭植株富麗紅(*Renanthera spp.*)品种植株之型態。



圖 2、經橫向切芽法橫切後一個月，有小芽體從基部形成。



圖 3、培養於分生培養基經消毒兩週的頂芽，基部切口處有擬原球體的產生。

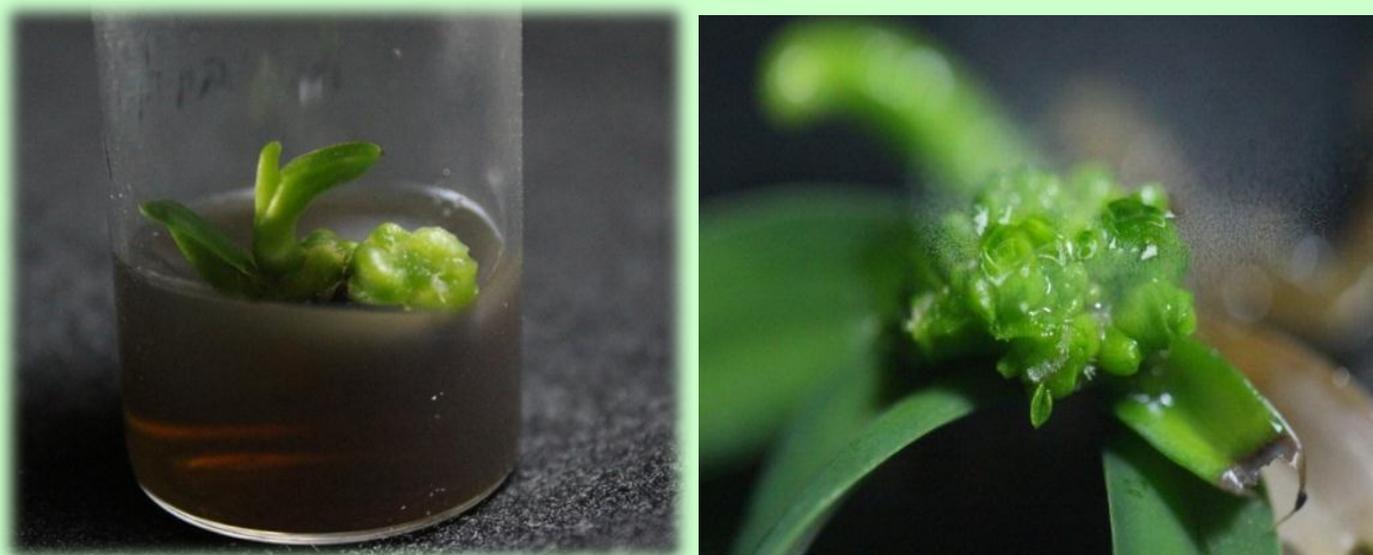


圖 4、組織培養生產流程圖



結論

本研究利用植物細胞全能性針對腎藥蘭的組織培養，讓單一細胞或組織能夠獨立分化成完整植株。並成功克服了傳統扦插繁殖速率慢以及利用無菌組織培養大量再生，更建立了腎藥蘭組織培養的 SOP 標準作業流程。應用於現有的腎藥蘭品種，未來亦可利用此技術開發出具有優良性狀且適於生產需求的自主品種，以扶持國內專業的蘭花植物業者，建立其組織培養量產的技術平台。