

72

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) 中華民國 86 年 3 月創刊
通訊總號第 072 號 中華民國 104 年 6 月出刊 行政院農業委員會補助編印
發行人/邱奕志 主編/楊熙宏、黃毓婷、吳少白、高建元 編輯/林怡慧
地址：260 宜蘭市神農路 1 段 1 號 電話：03-9357400#7613 傳真：03-9354152
E-Mail：aec@niu.edu.tw

綬草的組織培養繁殖

楊熙宏、黃毓婷、吳少白、高建元

國立宜蘭大學 園藝學系

壹、前言

綬草(*Spiranthes sinensis* (pers.) Ames) 為蘭科綬草屬植物，其花序如廟宇龍柱盤繞在花莖上，肉質根似人蔘，故又名盤龍蔘，也因清明節左右為其盛花期，民間另稱之為「清明草」，為民間常用的草藥，具有藥用與觀賞價值。

根據台灣植物藥材誌中記載，綬草具補腎壯陽、強筋骨、祛風濕之功效(甘，1980)。目前綬草所含的阿魏酸二十八醇酯(octacosyl ferulate；

octacosyl 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enoate) 已被證實有抗腫瘤作用(李, 2005)。有學者發現, 將綬草之根、莖、葉所分離純化之內生真菌, 從其發酵液的抽取物, 可產生黃酮類化合物(劉, 2011)。綬草為多年生宿根性草本, 小型地生蘭, 植株迷你, 根莖短、根系肥厚、簇生; 花期為 2 至 5 月, 花謝後, 地上部葉片會枯黃凋萎, 並於 8 至 9 月間重新萌芽, 於次年春天再次開花(陳, 2010)。其花朵小巧迷人, 具有淡雅的香味, 可做為袖珍盆景。由於自然環境的過度開發、人為破壞及野生採集等因素, 綬草已經面臨到瀕臨絕種之危機。

貳、迎接新生命~無菌播種

綬草無菌播種最早之研究, 由Tanaka等人(1997)所提出, 以授粉後十三日之成熟果實, 進行無菌播種。其適用的培養基每公升含有花寶1號2.5g、peptone 2g、蔗糖35g 與洋菜膠9 g, 並將pH值調整至5.5。大約播種後一個月, 可成功成長為小苗。

其果實如同綠豆大, 消毒方式與蝴蝶蘭大同小異, 需在無菌操作台中進行。取生長飽滿的綬草果實, 將其收集集中在 1ml 離心管後, 先用 70%酒精浸泡 1 分鐘, 將廢液倒出, 再添加稀釋 7 倍漂白水搖晃 15 分鐘後, 將廢液倒出, 再利用無菌水沖洗三次, 以解剖刀將果實對切後, 將種子刮入基礎培養基中, 播種 15 天後發展成為原球體。

(圖 1)

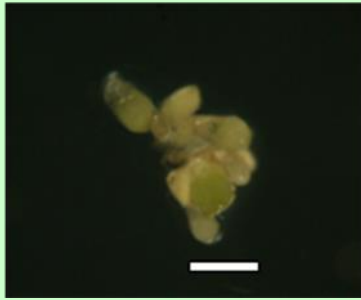


圖 1 綠熟果實播種 15 天後發展成為原球體。1bar=1mm

若取用授粉後 17 天以上的果實，顏色呈黃綠色，種子顏色成黃褐色，無菌播種後種子會有暫時停止生長的現象，要等到數個月後才開始發芽，發芽率低且發芽不整齊。這與多種蘭花種子於胚接近成熟時採收播種發芽率最高的結果相符合 (Nagashima,1982)。為解決上述問題，可使用泡水處理，泡水處理 10 分鐘 5 天後圓球體形成。(圖

2)



圖 2 完熟果實泡水處理 10 分鐘 5 天後圓球體形成。1bar=1mm

綫草的生長相當迅速，培養四個月的實生苗已經可以出瓶馴化。(圖

3)

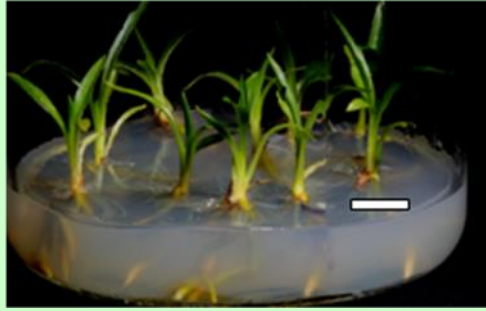


圖 3 播種 4 個月後綬草無菌實生幼苗。1bar=1cm

參、無性繁殖的方法

由於開花結實時間較長，且無菌化過程手續繁複，如果能藉由分生組織培養技術，可大量的繁殖蘭科植物。目前發現橫切綬草無菌苗（圖 4）於每公升含有花寶一號 1g、胰水解蛋白 2 g、蔗糖 30 g、洋菜 8g、TDZ 0.5 mg、pH 5.5 之培養基中可促進不定芽生成，15 天可增加綬草不定芽生成最多可獲得 7 個（圖 5）。但在高濃度植物生長調節劑的培養基，不易發根與生長，因此 TDZ 多加無益。切芽再生的不定芽生成數目雖多，分切後移至不含任何植物生長激素的培養基發根率較低，應添加 NAA 0.5 mg/L 或椰子水可使發根率提高為 100%（劉，2001）。應注意切芽位置的重要性，切對位置再加上的對的生長調節劑的誘導才能達到最佳的效果。



圖 4 正確的切芽位置

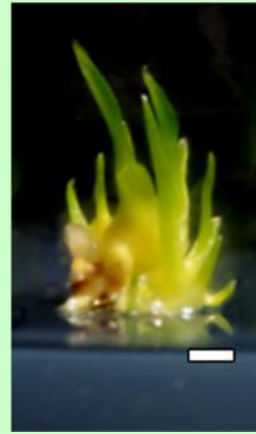


圖 5 添加 TDZ 誘導出 7 個不定芽
1bar=1cm

肆、出瓶馴化前的準備

一般來說，播種後四個月之小苗如不做切芽增值，即可繼代移植至定植瓶，準備壯苗。我們發現，在出瓶前的最後一次繼代，可移入每公升含有花寶一號 1g、胰水解蛋白 2g、蔗糖 30 g、洋菜 8g、活性碳 1g、pH 5.5 的培養基中進行壯苗，這是目前最適當的配方。繼代後三個月移植出瓶苗，出瓶植株 70 株，栽植兩個月後，共存活 64 株，存活率高達 96.4%，平均土面上株高 3.7 cm，最大葉長 8.1 cm，植株長大型態與野生無差異。（圖 6）

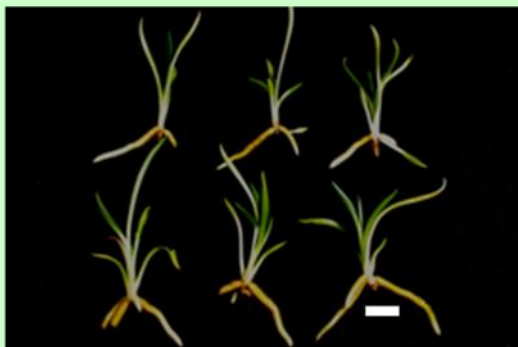


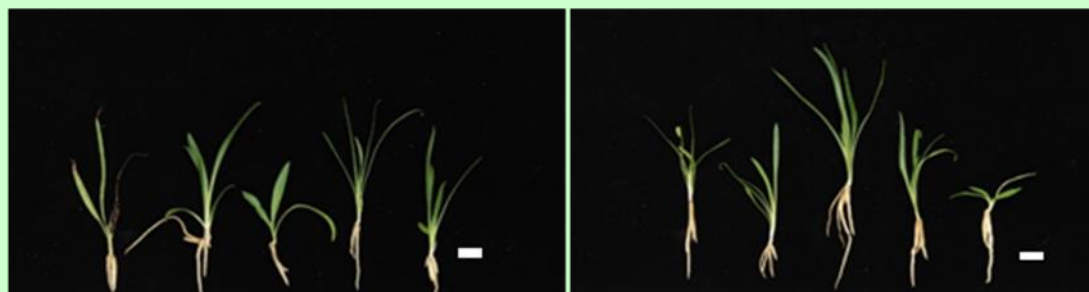
圖 6 播種 7 個月後緩草無菌實生瓶苗 1bar=1cm

伍、馴化後的相關事宜

組織培養大量繁殖是目前商業生產上之重要技術，但比較組織培養苗和野生繁殖之緩草植株，兩者之生長環境有極大的差異，組織培養苗是生長於密閉或半密閉的環境。因此，在組織培養瓶內的環境具有(1)高相對濕度，可能達到98-99% (陳和陳，2002)；(2)低光強度，約為 $30-40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ；(3)低 CO_2 濃度 (Lian *et al.*, 2002)；(4)穩定的溫度；(5)額外添加蔗糖、鹽類以及生長調節劑等物質；進而造成瓶苗具較低的蒸散作用、低光合作用力、暗呼吸作用高、生長慢等現象

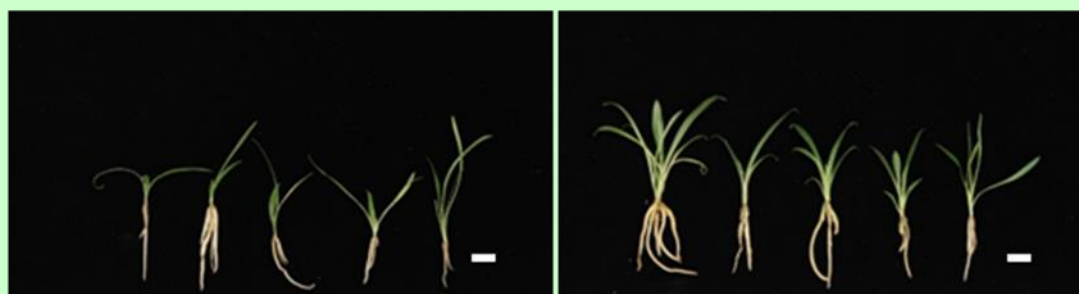
(Aitken-Christie *et al.*, 1995)，皆影響植株出瓶後的生長情形。因此組培苗面對出瓶後環境改變的成活率，有效增加組培苗品質及產量的研究是建立良好種苗的一個重要環節。其中介質之物化性與栽培容器對組培苗出瓶後生長有極大的影響，栽培介質的組成種類繁多，除了考慮其對於作物發育生長有利之外，也需要考慮其成本條件，故以種類單純、效果良好、價廉為首要考慮選擇。理想的栽培介質可以營造一個優良的根圈環境，使作物根系達到最佳的生長與活力 (Benoit and Ceustermans, 1995)，應具備良好的通氣性、保水力強、保肥力高、pH值和電導度值、無病蟲源、無毒穩定、容易取得、價格便宜等。其中又以通氣性、保水性、保肥力及對pH值得緩衝能力，是最常作為評

估介質的指標（林，1999）。目前發現水草種植的品質最佳，但成本偏高，可使用品質次之的河砂種植。（圖7）



(A) 培養土處理

(B) 河砂處理組



(C) 混合介質處理組

(D) 水草處理組

圖7 於不同栽培介質八週對綬草植株生長情形。1bar=1cm

陸、酚類含量的測定

酚類物質對於植物體生理上，具有調節植物生長機能、提供色素以及抵抗病蟲侵害的能力，有調節人體新陳代謝的功能，進而有助於抗氧化、抗發炎與抗腫瘤的功效（蔡和陳，2006；Serafini, 2006）。本研究結果顯示，栽培綬草上，使用通氣性與保水力最佳之水草做為栽培介質，並且施與有機肥或是枯草桿菌液，對於綬草葉長、根長及鮮重等有助於生長量及多酚含量之提高。不同栽培介質對於不同花色之綬草多酚含量影響的部分，可由圖8、圖9得知紅花或是白花綬草，

出瓶苗之多酚含量於上下兩部位皆無顯著差異。而於培養土、砂、混合介質及水草栽培下，各個採收時期之兩種花色上半部與下半部多酚含量亦無顯著差異。而將紅花綫草與白花綫草個別分析，兩種花色之綫草栽培於第四週前，多酚含量較低，又以水草栽培之處理，地下部之多酚含量為最少。

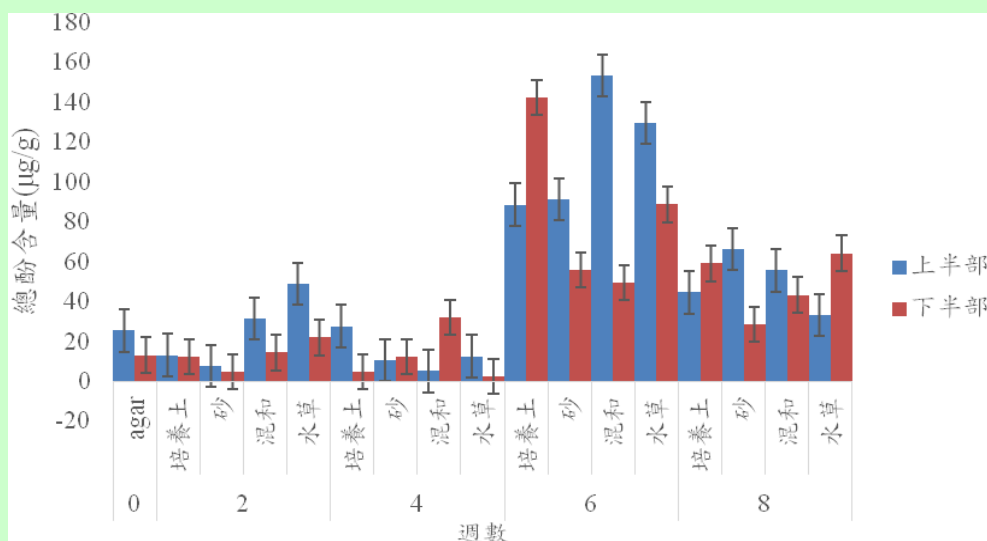


圖8 不同栽培介質對紅花綫草植株上半部與下半部總酚含量之影響

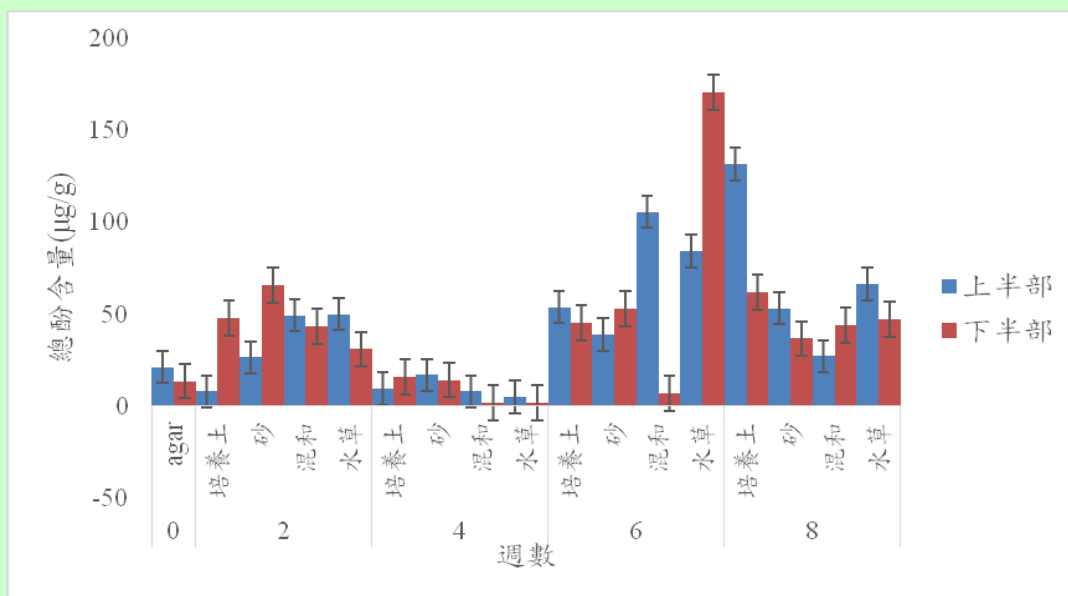


圖9 不同栽培介質對白花綫草植株上半部與下半部總酚含量之影響

柒、結論

綬草具有藥用與觀賞價值如何選育出有效成份高的綬草植株或選育出觀賞價值較高的植株，可以在綬草應用價值上提高許多。由於綬草具有多種的抗腫瘤、抗發炎、保護人類血管內皮細胞等成份，未來可以用於開發抗腫瘤藥物與糖尿病治療新藥。(吳，2012)目前台灣有花蓮區農業改良場致力於綬草種原蒐集及大量繁殖技術之研究與推廣。本研究綬草種子無菌化及運用切芽再生的方式，解決了綬草的幼苗可以全年供應，以及植株大小的一致性。還是有許多地方可以再研究。

參考文獻

- 甘偉松。1980。臺灣藥用植物藥材誌(一)(二)(三)。國立中國醫藥研究所。274-276。
- 李文麗。2005。盤龍參抗 S180 肉瘤的實驗觀察。數理醫藥學雜誌。18(3)：255。
- 吳道宏。2012。盤龍參活性成份分離分析研究。吉首大學.化學化工學院
- 陳加忠、陳駿季。2002。植物組織培養瓶內濕度分佈之研究。中華農業氣象 7：95-110。
- 陳季呈。2010。可供觀賞又保健的清明草之組織培養技術開。發花蓮區農業專訊 71：15-17。
- 陳逸忠。2010。台灣特色野花圖鑑。貓頭鷹出版:43
- 陳葦玲、周書緯、李品瑩、邱瑜君、張雅雯。2010。氮肥及鉬離子對油菜及青梗白菜硝酸鹽累積量之影響。台中區農業改良場研究彙報 106:11-21。
- 蔡旻都、陳皓君。2006。蔬果中類黃酮之抗氧化作用與生物活性。Chemistry(The Chem. Soc, Taipei). 64:313-315.

劉祖惠、許乃文、顏家瑜、吳瑞鈺。2001。利用不定芽再生進行綬草微體繁殖。中國園藝。47(1)：51-58。

劉紫英。2011。產黃酮成分的綬草內生真菌的鑒定。菌物學報 30(1)。133-137。

Aitken-Christie, J., T. Kozai and M. Smith. 1995. Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Benoit, F. and N. Ceustermans.1995.Growing cucumber on ecologically sound substrate. Acta Hort. 396:55-66.

Lian, M-L., H. N. Murthy, and K.-Y. Paek. 2002. Culture method and photosynthetic photon flux affect photosynthesis growth and survival of Limonium'Misty Blue' in vitro. Sci. Hort. 95:239-249.

Nagashima,T.1982.Studies on the seed germination and embryogenesis in The bletilla striata rchb. F. and calanthe discolor lindl.J. Japan Soc.Hort. Sci.51: 82-93.

Serafini, M. 2006. The role of antioxidants in disease prevention. Medicine 34:533-535.

Tanaka,K., K. Kondo, and K. Sato. 1997. Micropropagation of Spiranthes sinesis (Pers.) Ames (orchidaceae). Biotechnology in agriculture and forestry. 40(1):289-295