

文心蘭之組織培養

陳福旗^{*}

前言

文心蘭利用組織培養生產種苗，主要目的為生產健康無特定病原、品質穩定之種苗，以供栽培生產切花及盆花用。新品種之來源為利用雜交育種，果莢成熟時，以無菌播種培養實生苗，待長成開花株時，進行優良單株選拔，進行品種特性調查，品種登錄、及申請新品種保護或植物專利。

組織培養生產的切花品種如 *Oncidium* Gower Ramsey，在植床栽培至開花期，可再加以選拔開花特性優良，或盆栽特性符合需求的單株，以組織培養來增殖。因此同一雜交種(如 Gower Ramsey)，就會產生不同個體，通常稱為品種(如 *Onc.* Gower Ramsey 'Hamana' , *Onc.* Gower Ramsey 'Volcano Queen' 等)，依據文心蘭植株材料的來源，可將其分為莖頂培養、花梗節培養、及利用無菌苗葉片或擬原球體進行體胚之誘導與再生等途徑。常見組織培養基之配方可到網路上查詢。

洋蘭類之組織培養可以參考 Goh (1990)之綜論，其報告中有多個培養基配方可供參照。

無菌播種

文心蘭雜交種間的雜交通常不易產生具有稔性的種子，由譜系資料可以看出，

許多雜交種的親本多為一個雜交種及一個原種，因此進行雜交時，必需依據雜交的進行親本間的組合授粉。果莢成熟度因種原之不同而有很大差異，有的原種可能3.5個月即成熟，有的可能超過五個月才能採收，雖然未熟莢亦可修改培養基成分、幫助發芽，然而其發芽率不高。

文心蘭無菌播種所需之培養基相當單純，以蝴蝶蘭或石斛蘭播種用之培養基即可應用於大部份之種原。表一為以花寶一號為主之無菌播種培養基配方，使用前可依需要做小幅度修正。

播種方式可分為裂莢播種或乾種子播種及未裂莢播種兩類，後者為成熟度已經足夠，但果莢尚未裂開、在無菌操作台內，可以浸泡於95%酒精，以鑷子夾起很快過火，通常烤三次即可達無菌狀態，再切開果莢取種子播種。裂莢播種雖然較麻煩，但是較不易把病毒帶入實生苗。收集成熟果莢之種子粉末，置入小玻璃瓶，加一小撮棉花，並添加稀釋十倍之漂白水，將蓋子蓋緊，以手往返搖勻瓶內種子及棉花，以超音波震盪器震一分鐘(如無此項設備，亦可手搖代替)，消毒10分鐘後，以無菌玻璃吸管壓住棉花，將漂白水吸掉，再以無菌水洗三次及同樣方法吸掉，最後添加無菌水，以細鑷子取出棉花，置於培養基上，吸取種子懸浮液於同一瓶培養基，亦可分置於多瓶培養基，如此即完

^{*}國立屏東科技大學農園生產系 教授兼系主任

成無菌播種作業。

莖頂培養

由成熟假球莖基部會長出新芽，再形成新的假球莖，在新芽階段，可以用乾淨刀片將芽體切下，小心剝除葉片，露出葉腋基部芽體，經由漂白水(稀釋十倍，添加2~4滴展著劑)消毒10分鐘，以無菌水洗三次，於無菌操作台上切取生長點，放置於含0.4~1 mg/l BA 及 0.1 mg/l NAA之MS培養基培養，即可增殖。通常為了避免或減少污染率，在繼代培養時，可用含10~20%椰子水的MS培養基震盪培養。在液體培養基中最初須較長時間才會看到顯著的增殖情形，約兩個月後，可每隔三星期稀釋繼代培養。無論是用固體或液體培養基增殖，當數量夠多時，應回到固體培養基，使其原球體分化為芽體及小植株，此時可移到子瓶培養基定植。

腋芽莖頂亦可培養於含150 ml/l 椰子之改良VW培養基(Arditti & Ernest, 1993)。

花梗節、花苞培養

幼嫩花序的花苞及花梗節均可經過適當培養基之誘導而產生擬原球體(PLB)或不定芽。Santana 及 Chaparro (1999) 將 *Oncidium* Gower Ramsey 的未熟花苞以 Knudson C 培養基添加NAA、鳳梨汁、香蕉泥及蔗糖等、經二個月培養可誘導產生PLBs，再於MS培養基添加5 mg/l BA 及 0.5 mg/l NAA 增殖，當荷爾蒙量提高時，易產生不正常PLBs。

文心蘭花梗節培養的技術類似蝴蝶蘭

的花梗節培養，但所須賀爾蒙濃度較低，否則可能促使擬原球體過度增生，導致變異。選取健康開花株之幼嫩花梗，去掉節上的苞葉，以漂白水消毒，方法同莖頂培養，使用之培養基也相同，約經一至二個月，長出芽體，將芽體自花梗節上切下，繼代培養於含0.4 mg/l BA 及 0.1 mg/l NAA 之培養基 (陳、陳, 1998)，經一個月左右，會分化長出PLBs，此時可用相同培養基來繼續增殖，或採用如莖頂之培養方法。Lim-Ho 與Lee (1987) 用VW 培養基為基礎，添加0.5 mg/l NAA、0.5 mg/l 2,4-D及2 mg/l BA，可誘導產生PLBs，若將花梗節培養於只含2,4-D 或2,4-D與BA 之培養基，則不易逆化形成PLBs。由花梗節誘導產生之芽體或PLBs，將來分化形成之植株，其開花特性與由新芽生長點切取培養所產生之小植株相同，因此只要不過度增殖，即可保持母株之特性。

原種之花梗尖端經適當培養可誘導形成癒合組織或PLBs，Fast 將 *Onc. papilio* 之花梗尖端培養於含0.5 mg/l NAA、0.05 mg/l kinetin、1 g/l peptone 及50~100 g/l 之番茄或香蕉汁之MS培養基，可誘導產生PLBs。

體胚誘導與再生

試管苗之葉片若培養於含低濃度之 thidiazuron (TDZ)或TDZ與2,4-D之MS 培養基 (大量元素為半量)，則可誘導產生PLBs，經解剖學切片，證實為體胚的構造 (Chen et al., 1999)，體胚通常由切口或葉片尖端發生，將體胚繼代培養於不含荷爾蒙之培養基或含0.3 mg/l TDZ，可以部份

分化產生芽體，含TDZ培養基亦可用於增殖。將芽體置於含0.5 mg/l NAA之 MS培養基，可誘導發根(Chen et al., 1999)。

若將*Onc. Sweet Sugar*幼嫩花梗節間組織培養於含0.1~3.0 mg/l TDZ，可於20~30天誘導產生體胚(Chen & Chang, 2000)，與上述之試驗結果類似。

由其他作物組培的報告及筆者的經驗，TDZ 的濃度若使用不當，雖然可以

誘導發生大量芽球體或體胚，可能亦會導致變異發生，因此在進行未做過品種時，應有適當的處理做為對照，最好將組培苗養到開花階段，評估其是否產生變異，在無變異或其比率低之培養條件，才可以放大量產，以免品質低劣。

參考文獻(略)

表1. 文心蘭播種用培養基配方

成份	每公升用量
Hyponex No.1 ^x	2 g
MS 維生素 ^y	5 ml
馬鈴薯泥	50 g
香蕉泥	25 g
Peptone 或tryptone	1 g
蔗糖	10 g
活性碳粉 ^z	2 g
pH 5.6-5.8	

x花寶一號，其N-P-K 比率為7: 6: 19

y配方見最後一表

z調整pH值後，再添加到培養基

表2. *Oncidium* Gower Ramsey花苞誘導PLB培養基

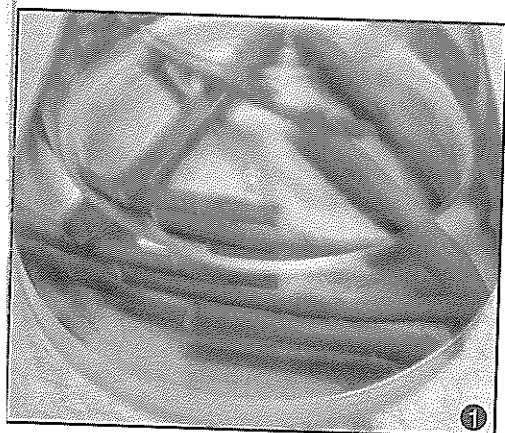
成份	用量 (每公升)
Knudson C	
NAA	1.0 mg
鳳梨汁	120 ml
綠香蕉泥	100 g
蔗糖	20 g
洋菜	8 g
pH 4.8	

(Santana, G. E. & K. Chaparro, 1999)

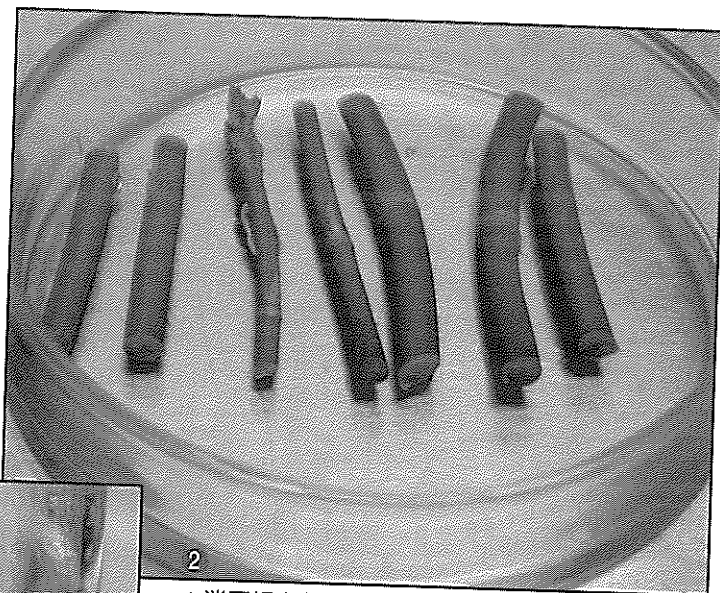
表3. MS維生素及氨基酸母液配方
(每公升培養基加母液 5ml)

藥 品	200ml	500ml	1000ml
Nicotinic acid (菸鹼酸)	20mg	50mg	100mg
Pyridoxine.HCl (吡多醇)	20mg	50mg	100mg
Thiamine.HCl (硫胺素)	4mg	10mg	20mg
Glycine (甘氨酸)	80mg	200mg	400mg

【研究成果】



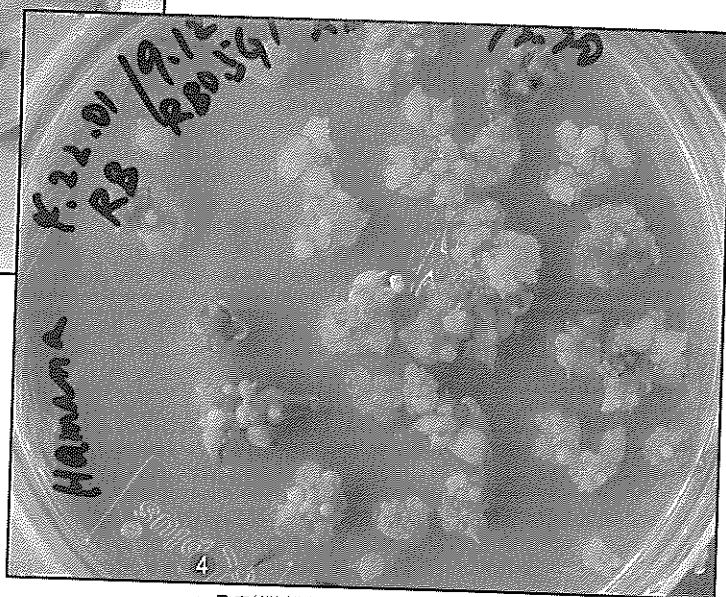
▲花梗節以漂白水消毒。



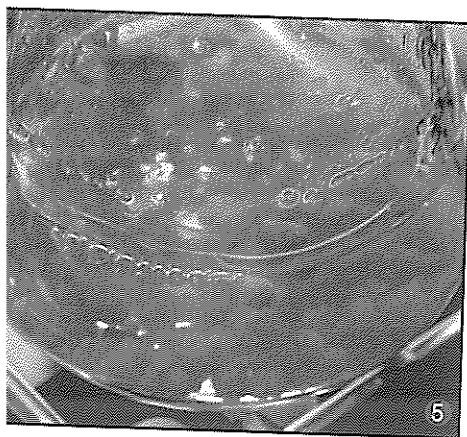
▲消毒好之花梗等待切割整修。



▲接種於培養基，約1~2個月長出芽體及擬原球體。



▲分割繼代培養於增殖培養基。



◀以不含生長調節劑之液體培養基震盪培養增殖。