

## 異屬雜交蘭花組織培養技術之研究

### *Research on in vitro propagation techniques of intergeneric hybrid orchids*

張珈綺<sup>1</sup>、紀綱如<sup>2</sup>、林庭羽<sup>2</sup>、廖玉珠<sup>3</sup>、李美娟<sup>4</sup>、吳光昭<sup>5</sup>

#### 一、前言

蘭科植物為開花植物中最大的家族之一（僅次於菊科），約有 736 屬 (Chase et al.,2015)，超過 27,000 種 (The Plant List, 2013)。由於其種類繁多、觀賞價值高為世界重要之花卉作物，亦為我國之旗艦花卉產業，年外銷總產值將近新臺幣 60 億元 (農委會，2019)。一直以來我國致力於蘭花品種的創新，將育種視為重要的產業競爭優勢，近年來為突破種原限制導入新穎性狀，開啓一連串蘭花屬間雜交育種之研究，蔡 (2009) 將蝴蝶蘭與同為萬代蘭族之大彗星風蘭屬和菲律賓風蘭之物種進行屬間雜交，育成 2 個新人工雜交屬 -*Chouara*、*Amenopsis*，登錄品種名為 *Chouara Kaohsiung Dream*、*Amenopsis Kaohsiung Magic*。蔡和翁 (2012) 以香味育種為目的將具有濃烈香氣之狐狸尾蘭 (*Rhynchostylis*) 與蝴蝶蘭雜交育成包括白花、黃綠花紅唇、紅花、豹斑和黃綠花等具有香味之狐狸尾蝶蘭。吳等 (2016) 以育成藍紫花色為目的，將蝴蝶蘭與藍色狐狸尾蘭雜交育成 *Rhyndoropsis Tariflor Blue Kid*。由於屬間雜交之個體遺

傳特殊、生育習性未知，相關之種苗繁殖技術仍有待研究建立。因此，本研究嘗試以蘭花異屬雜交種為材料，建立種苗量化繁殖方法，以期後續可應用於新品種推廣、商業化生產上。

#### 二、初代培養之培植體選擇

莖頂、側芽為植物組織培養常使用之培植體材料，然蝴蝶蘭、萬代蘭、狐狸尾蘭等多屬於單莖類蘭花，須將母株去頂以促進側芽萌發，此舉可能危害母株生長。而自 1949 年 Rotor 成功培養蝴蝶蘭花梗芽獲得小植株，花梗芽亦為蘭花組織培養常用之培植體。本研究試驗比較不同異屬雜交組合之蘭花，利用不同培植體部位（側芽、花梗芽和花序頂端）進行消毒與初代培養之成功率。消毒方法為：75% 酒精表面消毒 30 秒，再浸泡於 1% 次氯酸鈉溶液以超音波震盪消毒 15 分鐘，最後以滅菌水清洗 3-4 次後培養於芽體誘導培養基。結果顯示 *Vanda* × *Holcoglossum* (V × H) 之異屬雜交蘭花，三種培植體之消毒成活率分別為：花序頂端 63.0% 最佳、側芽

<sup>1</sup> 種苗改良繁殖場繁殖技術課 助理研究員

<sup>2</sup> 種苗改良繁殖場繁殖技術課 臨時人員

<sup>3</sup> 種苗改良繁殖場繁殖技術課 技正 (已退休)

<sup>4</sup> 種苗改良繁殖場 研究員

<sup>5</sup> 計畫合作農民

55.6% 次之、花梗芽 44.4% 最差；*Vanda* × *Rhynchostylis*(V × R) 之異屬雜交蘭花，不同培植體之消毒存活率以側芽 37.0% 最佳、其次為花序頂端 25.9%、花梗芽 18.5% 最差，雜交組合間以 V × H 之培植體消毒成活率顯著高於 V × R，然不同培植體部位間之成活率未達顯著差異。在褐化率、汙染率方面，研究發現側芽培植體有較高之汙染率 (V × H、V × R 皆為 44.4%)、較低之褐化率 (V × H 為 0.0%、V × R 為 18.5%)。而花序頂端培植體表現相反，有較高之褐化率 (V × H 為 37.0%、V × R 為

66.7%) 及較低之汙染率 (V × H 為 0.0%、V × R 為 7.4%)。另外花梗芽培植體則褐化率、汙染率皆偏高 (表一)。綜合上述結果可知，除了培植體部位不同影響褐化率和汙染率之表現外，不同雜交組合之異屬雜交蘭花相比，V × R 組合之各培植體部位不僅汙染率高，即使通過消毒處理在後續初代培養過程中，表現出更容易褐化死亡之情形，導致整體成活率較低。而本研究初步以 9 種異屬雜交蘭花 (圖 1) 之進行培植體消毒及初代培養，結果平均成活率為 39.5%，汙染率 16.7%、褐化率 43.7% (表二)。

表一、不同異屬雜交組合 (*Vanda* × *Holcoglossum*、*Vanda* × *Rhynchostylis*) 與不同培植體對初代培養之影響

培植體部位	成活率 (%) <sup>z</sup>		褐化率 (%)		汙染率 (%)	
	V × H	V × R	V × H	V × R	V × H	V × R
花序頂端	63.0	25.9	37.0	66.7	0.0	7.4
花梗芽	44.4	18.5	40.7	33.3	14.8	48.1
側芽	55.6	37.0	0.0	18.5	44.4	44.4
Significance <sup>y</sup>						
Hybrid(H)	***		*		*	
Explant(E)	ns		***		***	
H × E	ns		ns		ns	

<sup>z</sup> 數值以平均值表示。每欄各平均值上標示相異字母者為 5% 水準下經 Fisher's protected LSD 測驗達顯著差異。  
<sup>y</sup> 以 F-test 檢測顯著性。ns 代表無顯著；\* 代表於 5% 水準下、\*\* 代表於 1% 水準下、\*\*\* 代表於 0.1% 水準下經 Fisher's protected LSD 測驗達顯著差異

表二、不同種異屬雜交蘭花培植體經消毒後之初代培養差異

異屬雜交蘭花代號	培植體數	成活率		
		成活率	褐化率	汙染率
		----- % -----		
1	42	54.8	26.2	19.0
2	16	43.7	50.0	6.3
4	31	54.8	25.8	19.4
7	16	31.2	50.0	18.8
10	81	32.1	58.0	9.9
12	4	75.0	25.0	0.0
15	26	19.2	38.5	42.3
21	20	25.0	60.0	15.0
61	5	20.0	60.0	20.0
平均值		39.5	43.7	16.7

<sup>z</sup> 數值以平均值表示。

# 研究成果

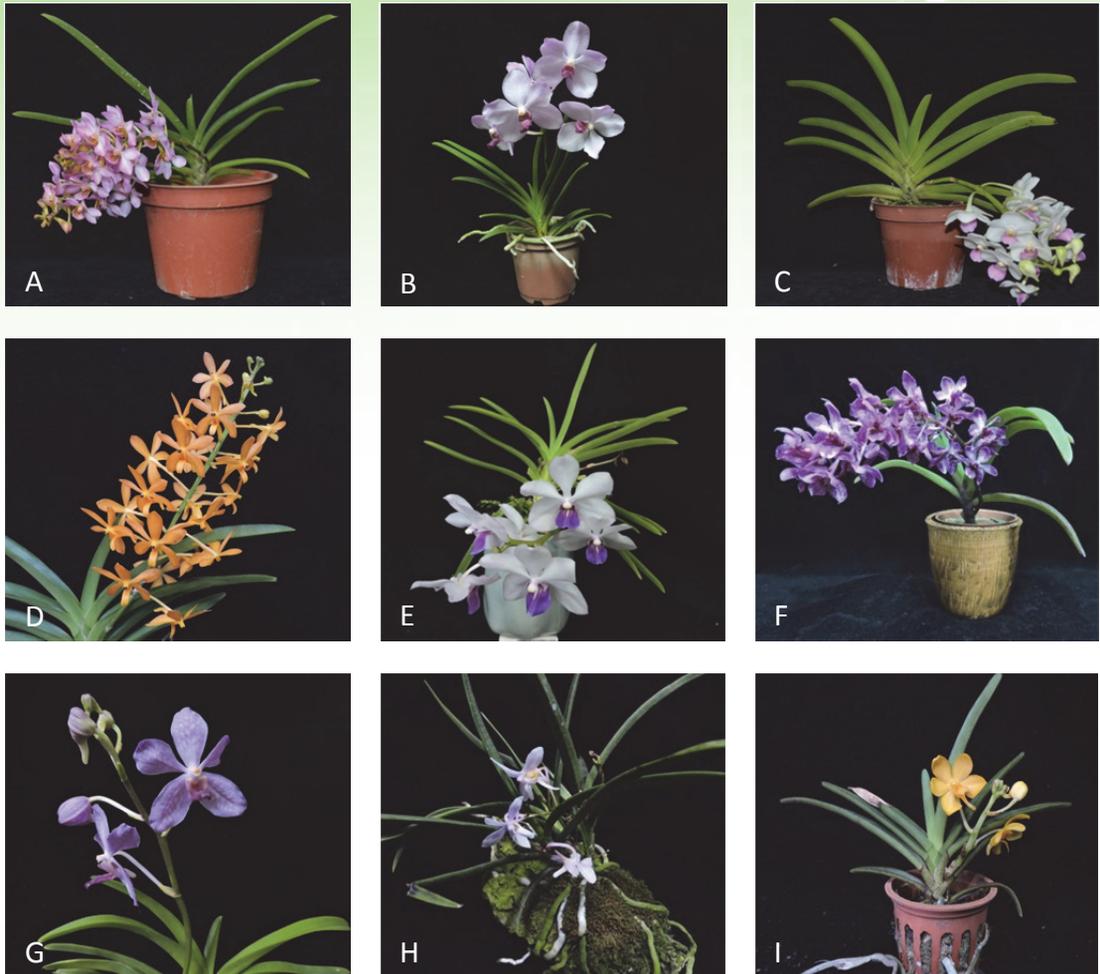


圖 1. 供試之異屬雜交蘭花。A. *Holcostylis* Pink Yawi (代號 1) ; B. *Vandoglossum* Yawi' s Taiwan Queen (代號 2) ; C. *Holcostylis* Yawi Girl (代號 4) ; D. *Vandachostylis* Sugar Baby (代號 7) ; E. *Vandoglossum* TSS Taiwan Achoerodus (代號 10) ; F. *Vandachostylis* TSS Taiwan Gandharva (代號 12) ; G. *Vandachostylis* Yawi' s Blue Angel (代號 15) ; H. *Holcovanstylis* TSS Taiwan Krytallos (代號 21) ; I. *Holcoglossum flavescens* × *Vanda miniatum* (代號 61)。

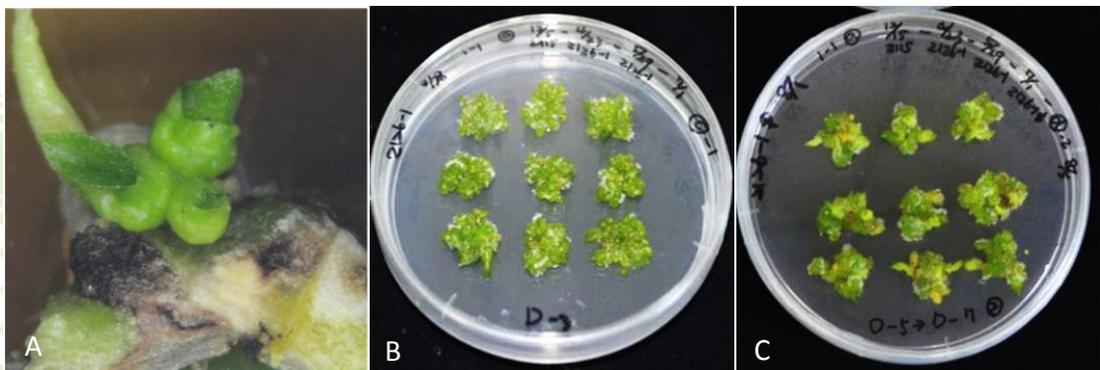


圖 2. *Holcostylis* Pink Yawi 擬原球體誘導與增殖 A. 葉片經 8 週培養形成之 PLB B. PLB 繼代於 1/4MS 無蔗糖之培養基  
黑暗培養 8 週 C. PLB 繼代於 1/4MS 加蔗糖之培養基黑暗培養 8 週

### 三、擬原球體 (Protocorm like body, PLB) 誘導與增殖

關於異屬雜交蘭花組織培養之研究國內僅楊和郭 (2017) 以橘色萬代蝶蘭 (*Vandaenopsis Irene Dobkin 'Elmhurst'* 及 *Vandaenopsis Pulcherrimin*) 溫室栽培植株之莖頂、幼嫩葉片經消毒後誘導 PLB 並獲得再生植株。本研究嘗試利用無菌瓶苗之葉片，將之切成長度約 1 公分之片段，培養於添加不同 NAA 和 BA 濃度組合之 PLB 誘導培養基，進行黑暗培養 8 週，結果同樣可成功自葉片培植體誘導 PLB 形成 (圖 2A)。進一步試驗 PLB 繼代培養條件，包括：培養基成分測試 (基礎鹽類濃度、蔗糖濃度)、光照培養條件等 (部分數據未顯示)。結果顯示，PLB 增殖表現以培養於 1/4MS 基礎鹽類培養基不添加蔗糖之培養基較佳，增殖率高且 PLB 褐化比例低。當培養基添加蔗糖時，少量的 PLB 可發育葉片再生成芽體，平均每團 PLB 可再生 0.7-1.6 個芽體，惟持續於光照下培養 8 週，有 66.7% 的擬原球體出現褐化現象。改以黑暗培養或先黑暗再光照處理則可顯著降低褐化率為 20.0-35.6% (表三)。在楊和郭 (2017) 之研究中嘗試以有機添加物 (椰子

汁、香蕉粉、馬鈴薯粉) 以及細胞分裂素 (TDZ、BA、Zeatin) 試驗對 PLB 繼代培養之影響，結果 PLB 在無添加物之對照組僅有 30% 之存活率；添加有機添加物或細胞分裂素 PLB 之存活率可提高至 70% 以上，惟調查每 PLB 團塊於培養 6 週後之平均再生芽體數皆未超過 0.5 芽。綜合上述結果發現，異屬雜交蘭花之 PLB 於繼代培養時出現褐化率偏高，且再生芽體比例低之情形。

### 四、結論

本研究針對異屬雜交蘭花之初代培養及擬原球體再生繁殖方法進行探討，研究顯示初代培養之成功率受到不同蘭屬雜交組合與使用之培植體部位之影響，花序培植體在不易取得側芽培植體做為培養材料時可做為另一種培植體之選擇，且以花序頂端培養效果較花梗芽為佳，惟部分雜交組合於後續培養過程表現較容易褐化。另外，本研究以 *Holcostylis Pink Yawi* 品種建立以葉片誘導擬原球體之植株再生途徑，然遭遇擬原球體於繼代培養過程中易褐化、再生芽體數低，以及培養時間長等問題皆有待進一步研究改善。

表三、添加蔗糖、光照處理對萬代蘭族蘭花屬間雜交種 (*Holcostylis Pink Yawi*) 擬原球體繼代增殖及芽體再生之影響

光照處理	1/4MS			1/4MS+S		
	PLB 增殖率 (%)	平均芽體再生數 (No.)	褐化率 (%)	PLB 增殖率 (%)	平均芽體再生數 (No.)	褐化率 (%)
光照 8 週	100.0 a	0.0 a	0.0 a	88.9 a	1.4 a	66.7 a
黑暗 8 週	100.00 a	0.0 a	8.9 a	97.8 a	1.6 a	20.0 b
黑暗 4 週 光照 4 週	100.0 a	0.0 a	5.6 a	91.1 a	0.7 a	35.6 b

<sup>2</sup>數值以平均值表示。每欄各平均值上標示相異字母者為 5% 水準下經 Fisher's protected LSD 測驗達顯著差異。