

## 紫苞舌蘭之微體繁殖

楊宗翰<sup>1)</sup> 林瑞松<sup>2)</sup>

關鍵字：紫苞舌蘭、微體繁殖、側芽、細胞分裂素、增殖、瓶內發根

**摘要：**本試驗使用紫苞舌蘭品種 *Spathoglottis plicata* 及其變異種粉花苞舌蘭 *Spathoglottis plicata* 'RS01' 為試驗材料，利用苞舌蘭成熟植株之側芽進行微體繁殖，探討 BA 對誘導芽體形成與增殖之影響，建立有效的芽體再生路徑，接著探討 IBA 對苞舌蘭瓶苗發根及生長之效用。兩種花色的紫苞舌蘭側芽培養於添加 8.88  $\mu\text{M}$  BA 的培養基中效果較佳，8 週後每個培植體分別產生 1.89 及 2.44 個芽體，芽體形成率皆為 90%。增殖倍率的部分，兩者皆以添加 8.88  $\mu\text{M}$  BA 的培養基增殖倍率最高，4 次繼代平均增殖倍率為分別為 2.09 及 2.26 倍。發根試驗中，於 IBA 的培養下，兩種花色的紫苞舌蘭小苗都會發根，發根率皆為 100%，培養時 IBA 濃度建議使用 7.38 ~ 9.84  $\mu\text{M}$ ，對於小苗的植株發育、根部形成與發育，以及根部活性而言都有最佳效果。

### 前 言

苞舌蘭(*Spathoglottis* spp.)為複莖性(Sympodial)地生蘭類，原生種分布於熱帶亞洲、澳洲、泰國、菲律賓及馬來諸島等地，在台灣的蘭嶼及綠島有 *Spathoglottis plicata* BLUME 原生種。台灣氣候溫暖，尤其在夏天特別炙熱，一般蘭科植物較為嬌嫩，能在此種自然環境下生長開花的種類相當少，而苞舌蘭卻是耐熱的蘭科植物，其花色豐富，花朵數多，開花期長，喜歡生長於日照充足的環境，若環境條件適當甚至可以終年開花，因此為庭園觀賞或景觀設計之優良素材，觀賞價值極高，目前花色包含了紫花、粉花、白花、黃花及混色花等(胡等，2009；Teng *et al.*, 1997；Murthy *et al.*, 2006)。

---

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。  
2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

芭舌蘭的傳統繁殖方式以分球繁殖，將許多假球莖分開成數株，但其增殖速率相當低，然而以種子播種繁殖的發芽率也過低，因此更有效率的無菌播種技術便開始應用於芭舌蘭的繁殖。除此之外，利用器官組織再生的方法對於大量繁殖也是相當有效率的方法之一，器官組織培養於週年均可取材料操作，繁殖速率呈指數上升，且變異較少(Teng *et al.*, 1997; Sinha *et al.*, 2009)。目前芭舌蘭在組織培養方面之研究相當有限，大部分發表的報告著重於無菌播種技術(胡等, 2009; Minea *et al.*, 2004)，或者是利用瓶內實生苗的組織及器官進行 PLB 及癒傷組織之誘導(關, 2002; Teng *et al.*, 1997)，僅有少數報告利用成熟植株的器官或組織進行微體繁殖(Sinha *et al.*, 2009)。

因此本研究以台灣原生種紫芭舌蘭 *Spathoglottis plicata* 及其兩個變異種 *Spathoglottis plicata*‘RS01’(粉花)及 *Spathoglottis plicata*‘RS02’(白花)為試驗材料，探討細胞分裂素對側芽培植體芽體產生與增殖之影響，建立有效的芽體再生路徑，並且探討 IBA 對芭舌蘭瓶苗發根及生長之效用，期能對芭舌蘭之微體繁殖技術有所貢獻。

## 材料與方法

### 一、植物材料

以種植於國立中興大學台中市霧峰區葡萄中心之網室內，成熟假球莖上帶有數個新芽的台灣原生種紫芭舌蘭(*Spathoglottis plicata*)、以及變異種粉花芭舌蘭(*Spathoglottis plicata*‘RS01’)為試驗材料。栽培方式以泥炭土(Tref, Substrates For The Professional Horticulture, Russia)及真珠石(好成特選 4-6mm, Hopes Int’l Floriculture & Horticulture Co., Taoyuan, Taiwan)以 1:1 之比例混合成栽培介質，並於最下層鋪上一層約 2 公分厚的發泡煉石以利排水，栽植於直徑 30 公分，盆高 26.4 公分之歐洲塑膠硬盆(Ming Yuan 一呎歐洲盆, 泯元塑膠廠, 台中)。栽植後第 2 天開始澆水，之後每週固定澆水一次。

### 二、試驗方法

#### (一)、紫芭舌蘭之初代培養

將紫芭舌蘭(*Spathoglottis plicata*)及粉花芭舌蘭(*Spathoglottis plicata*‘RS01’)的假球莖所生長的新芽摘下，除去根部以及葉片，使短縮莖露出側芽，短縮莖以加入 2 滴 Tween 20 之 1%次氯酸鈉溶液消毒殺菌 10 分鐘，進入操作台後再以無菌水清洗數次，將大小約 0.2 ~ 0.3 mm 的側芽切下做為培植體。基本培養基為 1/2 MS 培養基(sigma, USA)，添加 NAA(2.69  $\mu$ M)、蔗糖 20 g/L、肌醇 100 mg/L、蛋白胍 1 g/L 以及椰子水 150 ml/L。除了上述配方外再加入不同濃度的 BA 進行試驗，分別為 4.44、6.66、8.88、11.11  $\mu$ M 之 4 種培養基，而不添加 BA 者為對照組。培養基先調整 pH 值至 5.6，再加入洋菜(Difco Bacto-agar) 8 g/L，將培養基分裝於 20 mm  $\times$  150 mm 的 pyrex 試管中，以耐熱管蓋封住試管瓶口，每隻試管裝填約 10 ml 之培養基，以 121 $^{\circ}$ C(1.1 kg/cm<sup>2</sup>)滅菌 20 分鐘。培植體植入培養基後，

於  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，白光光強度 3000 lux，光週期明暗各為 12 小時之環境下培養，8 週後調查其芽體數、芽體形成率及褐化率，並進行繼代培養。

#### (二)、紫芭舌蘭芽體之繼代培養與增殖

側芽培植體經過 BA 所誘導出來的芽體，將芽體分離後培養於培養基中。基本培養基為 1/2 MS 培養基(sigma, USA)，添加 NAA(2.69  $\mu\text{M}$ )、蔗糖 20 g/L、肌醇 100 mg/L、蛋白胍 1 g/L 以及椰子水 150 ml/L。除了上述配方外再加入不同濃度的 BA 進行試驗，分別為 4.44、6.66、8.88、11.11  $\mu\text{M}$  之 4 種培養基，而不添加 BA 者為對照組。培養基先調整 pH 值至 5.6，再加入洋菜(Difco Bacto-agar)8 g/L，分裝於蘭花瓶，以鋁箔紙封住瓶口，每瓶注入約 100 ml 之培養基，接著以  $121^{\circ}\text{C}$  (1.1 kg/cm<sup>2</sup>) 滅菌 20 分鐘。芽體移入培養基後，於  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光強度 3000 lux，光週期明暗各為 12 小時之環境下培養，每 4 週進行一次繼代，同時調查芽體數、褐化數並計算增殖倍率，共繼代 4 次。

#### (三)、紫芭舌蘭利用 IBA 誘導瓶苗發根與生長之影響

發根培養基成分為 1/2MS 培養基(sigma, USA)，添加蔗糖 20 g/L、肌醇 100 mg/L、蛋白胍 1 g/L、椰子水 150 ml/L、未成熟香蕉泥 50 g/L、活性碳 1 g/L，並且分別加入不同濃度之 IBA(2.46、4.92、7.38、9.84  $\mu\text{M}$ ) 進行發根試驗，培養基中不添加 IBA 者為對照組。培養基先調整 pH 值至 5.6，再加入洋菜(Difco Bacto-agar)8 g/L，分裝於蘭花瓶，以鋁箔紙封住瓶口，每瓶注入約 100 ml 之培養基，接著以  $121^{\circ}\text{C}$  (1.1 kg/cm<sup>2</sup>) 滅菌 20 分鐘。小苗移入培養基後，於  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光強度 3000 lux，光週期明暗各為 12 小時之環境下培養。培養 8 週後調查小苗株高、葉長、葉寬、葉數、根數、根長、發根率、植體葉綠素含量及根部 TTC 活性測定，並進行出瓶與移植。

#### (四)、分析方法

1. 葉片葉綠素含量：將葉片取 0.1 g 並切細碎，以丙酮和甲醇之混合藥劑(丙酮：甲醇=80：20) 10 ml 在黑暗中浸泡 24 小時後完全萃取葉綠素，使用光電比色計(Hitachi, U-2001) 測定於 645、652 及 663 nm 之吸光值。
2. 根部活性：依據 Steponkus and Lanphear (1967) 之方法，將瓶苗根尖部份精稱到 0.1 g 置於 TTC 液(0.8% triphenyl tetrazolium chloride、0.05 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer pH 7.4) 中，於室溫下黑暗處理 17 小時。然後將根部以蒸餾水沖洗並將水分吸乾，放入試管中，加入 20 ml 95% 酒精後置於  $78^{\circ}\text{C}$  恆溫水浴槽中震盪 20 分鐘，冷卻後再用 95% 酒精定量至 20 ml。利用分光光度計測定在 480 nm 波長下之吸光值。
3. 統計分析：試驗設計採完全隨機設計(completely randomized design)，試驗數據利用 CoStart 6.1 軟體(CoHort software, Monterey, CA, USA) 以費雪氏 LSD 法(Fisher's Least Significant Difference test) 比較 5% 差異顯著性。

## 結 果

### 一、紫苞舌蘭之初代培養

BA 誘導紫苞舌蘭(*Spathoglottis plicata*)側芽培植體試驗中，對照組以及所有含有 BA 培養基均能讓側芽培植體形成芽體。側芽培養於添加 8.88  $\mu\text{M}$  BA 的培養基中效果最佳，8 週後每個培植體產生 1.89 個芽體，芽體形成率為 90%。而添加 4.44、6.66、11.11  $\mu\text{M}$  BA 的培養基 8 週後分別產生 1.13、1.56 及 1.80 個芽體，芽體形成率分別為 80%、90% 及 50%。對照組 8 週後每個培植體產生 1 個芽體，芽體形成率為 80%。培植體褐化的部分，培養於添加 11.11  $\mu\text{M}$  BA 培養基的側芽褐化率最高，為 50%，其次為對照組及添加 4.44  $\mu\text{M}$  BA 的培養基，皆為 20%。而添加 6.66、8.88  $\mu\text{M}$  BA 的培養基培植體褐化率較少，只有 10%(表 1)。BA 誘導粉花苞舌蘭(*Spathoglottis plicata* 'RS01')側芽培植體試驗中，所側芽在培養 8 週後均有芽體增殖的現象，其中以添加 8.88  $\mu\text{M}$  BA 的培養基效果最佳，每個培植體產生 2.44 個芽體，芽體形成率為 90%。添加 4.44、6.66、11.11  $\mu\text{M}$  BA 的培養基，每個培植體分別產生 1.38、1.63 及 1.60 個芽體，芽體形成率分別為 80%、80% 及 100%。而對照組每個培植體僅產生 1 個芽體，芽體形成率為 70%。培植體褐化方面，培養於添加 11.11  $\mu\text{M}$  BA 培養基的側芽培植體存活率為 100%，完全沒有培植體褐化的發生。而添加 4.44、6.66、8.88  $\mu\text{M}$  BA 的培養基及對照組的褐化率分別為 20%、20%、10% 及 30%(表 2)。

表 1. BA 對紫苞舌蘭側芽分生組織誘導芽體形成及褐化之影響

Table 1. Effect of different BA concentrations on shoot formation、browning and survival of *Spathoglottis plicata* lateral shoot explants<sup>z</sup>

BA Concentration ( $\mu\text{M}$ )	Browning (%)	Contamination (%)	Survival (%)	Shoot formation (%)	Shoots per explant
Control	20	0	80	80	1
4.44	20	0	80	80	1.13
6.66	10	0	90	90	1.56
8.88	10	0	90	90	1.89
11.11	50	0	50	50	1.80

<sup>z</sup> Each treatment with 10 lateral shoot explants.

Data obtained after 8 weeks of culture.

表 2. BA 對粉花苞舌蘭側芽分生組織誘導芽體形成及褐化之影響

Table 2. Effect of different BA concentrations on shoot formation、browning and survival of *Spathoglottis plicata* 'RS01' lateral shoot explants<sup>z</sup>

BA Concentration (μM)	Browning (%)	Contamination (%)	Survival (%)	Shoot formation (%)	Shoots per explant
Control	30	0	70	70	1
4.44	20	0	80	80	1.38
6.66	20	0	80	80	1.63
8.88	10	0	90	90	2.44
11.11	0	0	100	100	1.60

<sup>z</sup> Each treatment with 10 lateral shoot explants.

Data obtained after 8 weeks of culture.

## 二、紫苞舌蘭芽體之繼代培養與增殖

BA 誘導紫苞舌蘭(*Spathoglottis plicata*)芽體增殖試驗中，增殖倍率以添加 8.88 μM BA 培養基的增殖倍率最高，4 次繼代平均增殖倍率為 2.09 倍。其次為添加 4.44、6.66 及 11.11 μM BA 的培養基，增殖倍率分別為 1.64、1.70 及 1.95 倍，而對照組則沒有繼續增殖(表 3)。BA 誘導粉花苞舌蘭(*Spathoglottis plicata* 'RS01')芽體增殖試驗中，增殖倍率以添加 8.88 μM BA 的培養基的增殖倍率最高，在第 2 次繼代時有最高倍率 3 倍，4 次繼代平均增殖倍率為 2.26 倍，而對照組則沒有繼續增殖(表 4)。

表 3. BA 對紫苞舌蘭側芽培植體繼代 4 次內之增殖倍率

Table 3. Multiplication of *Spathoglottis plicata* lateral shoot explants after subculture 4 times by different BA concentrations

BA concentration (μM)	Subcultue				Avrage
	1	2	3	4	
Control	1 <sup>z</sup>	1	1	1	1
4.44	1.13	1.67	2.07	1.68	1.64
6.66	1.56	2	1.54	1.70	1.70
8.88	1.89	2.94	1.50	2.04	2.09
11.11	1.80	2.56	1.40	2.03	1.95

<sup>z</sup>Data obtained after 4 weeks of subculture

表 4. BA 對粉花苞舌蘭側芽培植體繼代 4 次內之增殖倍率

Table 4. Multiplication of *Spathoglottis plicata* 'RS01' lateral shoot explants after subculture 4 times by different BA concentrations.

BA concentration ( $\mu\text{M}$ )	Subculture				Avrage
	1 <sup>z</sup>	2	3	4	
Control	1	1	1	1	1
4.44	1.38	1.91	1.14	1.50	1.48
6.66	1.63	2	2.11	2.15	1.97
8.88	2.44	3	1.71	1.90	2.26
11.11	1.60	2.19	2.02	2	1.95

<sup>z</sup>Data obtained after 4 weeks of subculture

### 三、紫苞舌蘭利用 IBA 誘導瓶苗發根與生長之影響

#### (一) 瓶苗發根與生長

經由 BA 誘導的芽體，以含有不同濃度 IBA 的培養基培養 8 週後，紫苞舌蘭 (*Spathoglottis plicata*) 在 4 種 IBA 培養基下全部都有發根，發根率為 100%，而對照組的發根率則為 93.75%，而小苗在添加 7.38  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基培養下有最多的根數(7 條)以及最長的根長(7.04 cm)。葉片方面，添加 7.38  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基有最多的葉片數，並且與添加 2.46 及 9.84  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基沒有顯著差異，分別為 8.63、8.13 及 8.13 片葉，葉長及葉寬的部分則是以添加 9.84  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基有佳的表現，分別為 14.09 及 0.8 cm。株高方面仍以添加 9.84  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基有佳的表現，株高為 13.21 cm(表 5)。粉花苞舌蘭 (*Spathoglottis plicata* 'RS01') 在所有處理中，包括對照組的所有小苗都有發根，發根率均為 100%，而小苗在添加 9.84  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基培養下有最多的根數，並且與添加 2.46  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基沒有顯著差異，根數分別為 9.38 及 9 條，根長方面則是以添加 7.38  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基有最長的根長(7.02 cm)。葉片方面，葉片數在所有處理中平均為 8~8.5 片葉，彼此之間無明顯差異，葉長及葉寬的部分則是以添加 9.84  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基有佳的表現，分別為 16.06 及 0.74 cm。株高方面仍以添加 9.84  $\mu\text{M}$  IBA 的培養基有佳的表現，株高為 15.03 cm(表 6)。

表 5. IBA 對於經由 BA 增殖之紫苞舌蘭瓶苗生長之影響

Table 5. Effect of IBA on shoot and root growth of flask plantlets induced by BA of *Spathoglottis plicata* after culture for 8 weeks

IBA treatment ( $\mu\text{M}$ )	Plant height (cm)	No. of leaves	Length of leaf (cm)	Width of leaf (cm)	Rooting (%)	No. of roots	Length of root (cm)
Control	10.35 b <sup>Z</sup>	8.44 a	11.37 b	0.58 b	100 a	4.81 b	2.78 d
2.46	10.45 b	8.13 a	11.34 b	0.60 b	100 a	9.00 a	5.99 b
4.92	8.76 c	8.19 a	9.98 c	0.50 c	100 a	4.25 b	4.44 c
7.38	10.61 b	8.00 a	11.36 b	0.59 b	100 a	4.63 b	7.02 a
9.84	15.03 a	8.50 a	16.06 a	0.74 a	100 a	9.38 a	4.36 c

<sup>Z</sup>Mean separation within columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

表 6. IBA 對於經由 BA 增殖之粉花苞舌蘭瓶苗生長之影響

Table 6. Effect of IBA on shoot and root growth of flask plantlets induced by BA of *Spathoglottis plicata* 'RS01' after culture for 8 weeks.

IBA treatment ( $\mu\text{M}$ )	Plant height (cm)	No. of leaves	Length of leaf (cm)	Width of leaf (cm)	Rooting (%)	No. of roots	Length of root (cm)
Control	10.61 b <sup>Z</sup>	7.06 b	12.02 b	0.57 c	93.75 b	2.25 d	1.31 d
2.46	10.66 b	8.13 a	11.52 b	0.62 c	100 a	5.00 c	5.49 b
4.92	7.86 c	6.00 c	8.89 c	0.48 d	100 a	2.38 d	3.08 c
7.38	10.81 b	8.63 a	11.76 b	0.74 b	100 a	7.00 a	7.04 a
9.84	13.21 a	8.13 a	14.09 a	0.80 a	100 a	5.88 b	5.38 b

<sup>Z</sup>Mean separation within columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

(二) 葉綠素含量

經由 BA 誘導的芽體，以含有不同濃度 IBA 的培養基培養 8 週後，紫苞舌蘭 (*Spathoglottis plicata*) 植株在所有處理以及對照組下的葉綠素 a、葉綠素 b 及總葉綠素含量彼此之間均無顯著差異，葉綠素 a 含量為 0.63~ 0.91 mg/g，葉綠素 b 含量為 0.29~ 0.41 mg/g，總葉綠素含量為 1~ 1.42 mg/g(圖 1)。粉花苞舌蘭 (*Spathoglottis plicata* 'RS01') 植株在添加 7.38  $\mu$ M IBA 的培養基培養下，其葉綠素 a 含量及總葉綠素含量最高，分別為 1.09 及 1.72 mg/g，而植株的葉綠素 b 含量在所有處理以及對照組下，彼此之間無顯著差異，含量為 0.37~0.43 mg/g(圖 2)。

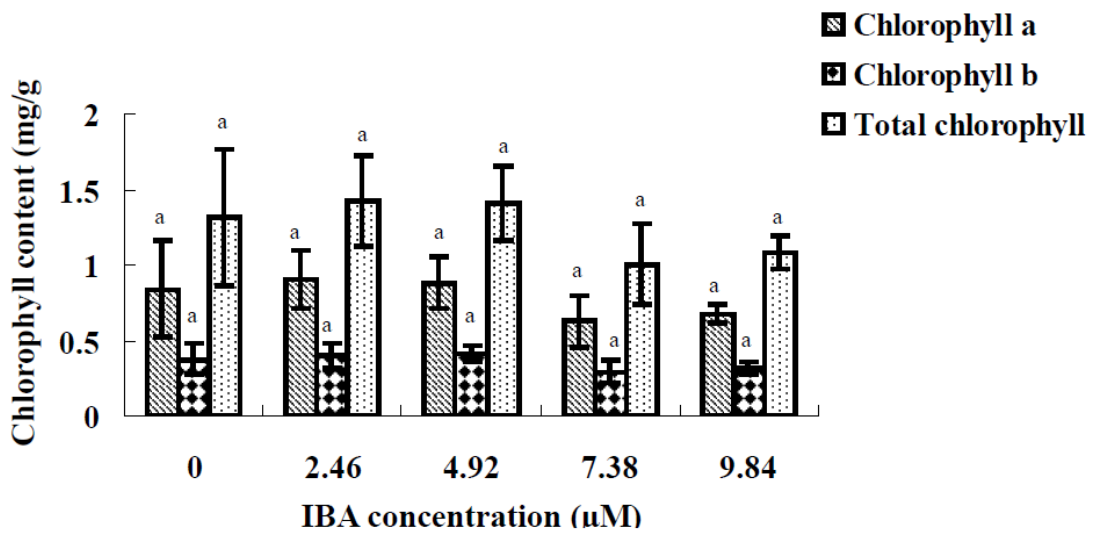


圖 1. IBA 處理對於經由 BA 增殖之紫苞舌蘭葉綠素含量之影響

Fig.1. Effect of different IBA concentrations on chlorophyll content of *Spathoglottis plicata* multiplied from BA.



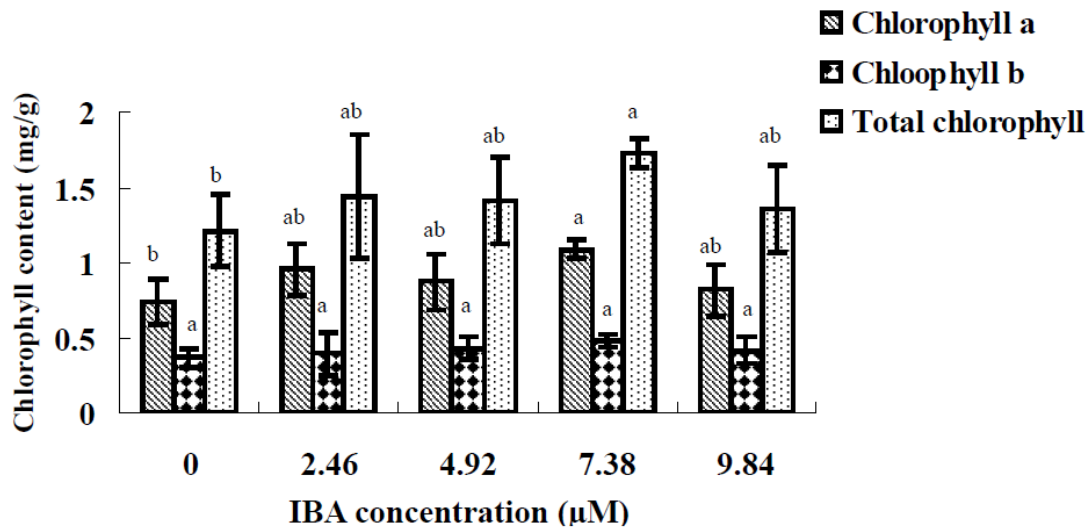


圖 2. IBA 處理對於經由 BA 增殖之粉花苞舌蘭葉綠素含量之影響

Fig.2. Effect of different IBA concentrations on chlorophyll content of *Spathoglottis plicata* 'RS01' multiplied from BA.

### (三) TTC 根部活性

經由 BA 誘導的芽體，以含有不同濃度 IBA 的培養基培養 8 週後，紫苞舌蘭 (*Spathoglottis plicata*) 植株根部的 TTC 含量以添加 9.84 µM IBA 的培養基培養下有最大值 2.51 OD.A480/g(圖 3)。粉花苞舌蘭 (*Spathoglottis plicata* 'RS01') 植株根部的 TTC 含量以添加 7.38 µM IBA 的培養基培養下有最大值 2.82 OD.A480/g(圖 4)。

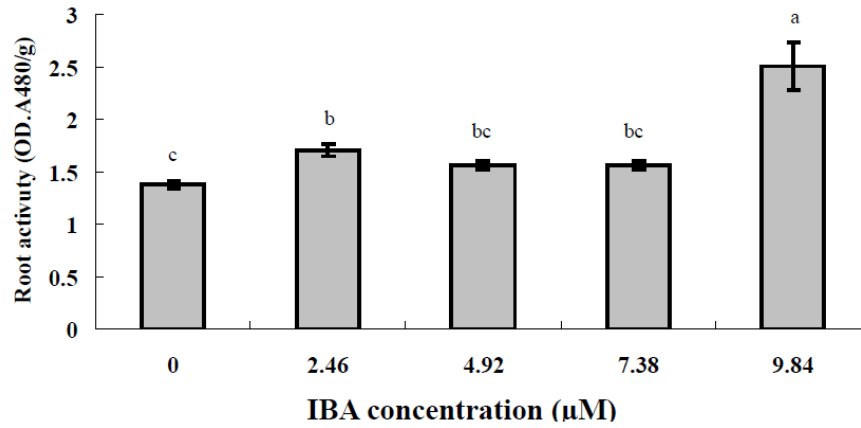


圖 3. IBA 處理對於經由 BA 增殖之紫苞舌蘭根部活性之影響

Fig.3. Effect of different IBA concentrations on root activity of *Spathoglottis plicata* multiplied from BA.

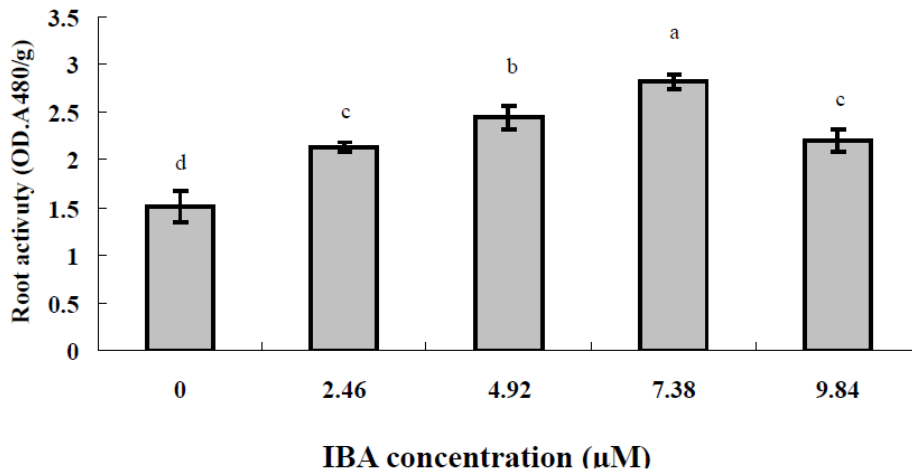


圖 4. IBA 處理對於經由 BA 增殖之粉花苞舌蘭根部活性之影響

Fig.4. Effect of different IBA concentrations on root activity of *Spathoglottis plicata* 'RS01' multiplied from BA.

## 討 論

Teng 等人(1997)切取紫苞舌蘭盆植小苗的莖節，培養於含有，BA、NAA 及活性碳的 1/2MS 培養基中進行光照培養，一個月內有 PLB 的產生，其中以 0.44  $\mu\text{M}$  BA 配合 5.37  $\mu\text{M}$  NAA 會誘導出最大量的 PLB，若 BA 濃度高於 0.44  $\mu\text{M}$  則 PLB 的誘導效果會降低。本試驗中利用兩種花色之紫苞舌蘭側芽分生組織做為培植體來誘導，培養於不含活性碳的 1/2MS 培養基中行光照培養，其中以添加 BA 8.88  $\mu\text{M}$  配合 2.69  $\mu\text{M}$  NAA 對兩種花色之紫苞舌蘭側芽分生組織的誘導效果最好(表 1-2)，並且直接產生芽體，沒有觀察到 PLB 的產生。此試驗結果與 Shinha 等人(2009)的研究結果相似，研究中將莖節培植體培養於含有 2.0 mg/l BA 及 0.5 mg/l NAA 的 1/2MS 培養基中，能夠直接誘導出最多的芽體，其中也利用與 TDZ 進行莖節培養，但芽體誘導效果遠低於 BA。

Sinha 等人(2009)將紫苞舌蘭莖節誘導出來的微芽(microshoots)團塊繼代於含有 2% 蔗糖、2g/l 蛋白脛、15% 椰子水、0.5 g/l 活性碳、200mg/l L-glutamine 的 1/2MS 培養基中，經過 8 週的繼代，微芽的數量明顯增加，而微芽也能繼續成長。本試驗中利用含有植物生長調節劑的培養基進行芽體的繼代，每 4 週繼代一次，在增殖倍率方面，兩種花色之紫苞舌蘭於繼代於含有 BA 的培養基中有較佳的增殖情形，其中以 BA 8.88  $\mu\text{M}$  下繼代第 2 次時皆出現最大增殖倍率(表 3-4)。相似的結果發現於 Kalimuthu 等人(2006)的香莢蘭(*Vanilla planifolia*)增殖試驗，將香莢蘭的莖頂與莖節培養於含有 BA 以及椰子水的 1/2MS 中，發現可以簡單又快速的進行增殖出芽體。

對於生產大量種苗而言，組織培養是相當良好的方法，而不定根的形成在此過程中更是一個關鍵，有效的發根測試可以提高發根率並且產生高品質的根系，所謂高品質的根系包括根數、根長、癒傷組織的形成與否以及植株種植之後的表現(林，2004)。於 IBA 的培養下，兩種花色的紫苞舌蘭小苗都會發根，發根率皆為 100%。陳等人(2004)在高氏柴胡發根試驗的報告中有相似的結果，高氏柴胡組培苗培養於含有 0.5 mg/l IBA 之 1/2 MS 培養基中，發根率可達 100%，並且於組培苗基部沒有癒傷組織化現象。此外，兩種紫苞舌蘭在對照組的部分也有 93.75~100%發根率，可見當環境得宜，紫苞舌蘭的發根能力相當優秀。本試驗中的培養基成分包含了香蕉泥與活性碳，蕭等人(2005)於報告指出，N6 基本培養基中加入蔗糖與香蕉泥能夠誘導鐵皮石斛發根，而活性碳添加於培養基中可形成黑暗環境，阻隔光線進入培養基，滿足植物發根的生理環境，有利於根部生長，因此紫苞舌蘭就算培養於無添加 IBA 的對照組培養基中依然能促進其發根，活性碳所形成的黑暗環境同時也能防止植物生長激素光氧化，並且吸附代謝物質或其它有毒物質(林等，2006；Dumas and Monteuis, 1995)。BA 所誘導出來的紫花苞舌蘭(*Spathoglottis plicata*)芽體，其根長與根數在 IBA 濃度 7.38 $\mu\text{M}$  之下有最佳表現，粉花苞舌蘭(*Spathoglottis plicata* 'RS01')則於 IBA 濃度 7.38  $\mu\text{M}$  及 9.84  $\mu\text{M}$  之間有最佳表現(表 5-6)。De Klerk 等人(1997)在蘋果瓶內發根試驗中有相似結果，蘋果的培植體培養於 10  $\mu\text{M}$  的 IBA 能夠產生最多的根數；

Metivier 等人(2007)進行黃欖微枝條的瓶內發根試驗，同樣以 10  $\mu\text{M}$  的 IBA 培養下有 100% 的發根率、最多的根數以及最短的發根時間，且基部沒有癒傷組織化現象。探討植株葉綠素含量與 TTC 根部活性，紫花苞舌蘭(*Spathoglottis plicata*)小苗在任何 IBA 濃度處理下的葉綠素含量均無顯著差異(圖 1)，而在 IBA 濃度 9.84  $\mu\text{M}$  之下，有最佳的根部活性(圖 3)，推測 IBA 濃度會影響到根部活性。粉花苞舌蘭(*Spathoglottis plicata* 'RS01')的小苗在 IBA 濃度 7.38  $\mu\text{M}$  之下的葉綠素含量最高(圖 2)。在根部活性的部分，粉花苞舌蘭的於 IBA 濃度 7.38  $\mu\text{M}$  之下有最佳的根部活性(圖 4)。

### 參 考 文 獻

- 王啟正。2005。原生植物紫蘭之繁殖與利用。花蓮區農業專訊. 52: 23-25。
- 林禎祥。2004。夜來香組培苗發根、田間植株性狀表現及核型分析之研究。碩士論文。國立嘉義大學園藝學研究所。
- 胡文若、王瑞章、孫文章、陳俊仁。2009。苞舌蘭無菌播種技術。台南區農業專訊 70: 1-2。
- 陳威臣、夏奇鈺、葉茂生、蔡新聲。2004。鹽類濃度、蔗糖、植物生長素及培養容器瓶口覆蓋物對高氏柴胡組培苗發根與馴化之影響。中華農業研究 53: 249-260。
- 黃子軒。2010。氮源比例、磷肥以及暗期中斷對紫苞舌蘭生長與開花之影響。碩士論文。國立中興大學園藝所。
- 楊于萱。2003。培養基成分、IBA 及香蕉成熟度對朵麗蝶蘭瓶苗生長之影響。碩士論文。國立中興大學園藝所。pp .20-22。
- 蕭翌柱、楊淑如、陳威臣、夏奇鈺、蔡新聲。2005。蔬果添加物對銅皮石斛實生苗瓶內培養之影響。台灣農業研究 54: 23-31。
- 闕巧梅。2002。紫苞舌蘭之組織培養。碩士論文。國立台灣大學園藝學研究所。
- De Klerk, G. J., M. Keppel, J. Ter Brugge, and H. Meekes. 1995. Timing of the phases in adventitious root formation in apple microcuttings. J. Exp. Bot. 46: 965-972.
- Debergh, P. C. and L. J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Scientia Hort. 14: 335-345.
- Dumas, E and O. Monteuis. 1995. In vitro rooting of micropropagated shoots form juvenile and mature Pinus Pinaster explants: influence of activated charcoal. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 40: 231-235.
- Kalimuthu, K., R. Senthilkumar, and N. Murugalatha. 2006. Regeneration and mass multiplication of *Vanilla planifolia* Andr. – a tropical orchid. Current Sci. 91: 1401-1403.
- Lee, N., and H. Y. Wetzstein. 1999. In vitro propagation of Muscadine grape by axillary shoot proliferation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115: 324-329.

- Murthy, K. S. R., D. R. Ramulu, J. C. Rao, S. Emmanuel, and T. Pullaiah. 2006. In vitro flowering of *Spathoglottis plicata* Bl.(orchidaceae). *Phytomorphology* 56: 117-120.
- Naik, S. K., S. Pattnaik, and P. K. Chand. 2000. High frequency axillary shoot proliferation and plant regeneration from cotyledonary nodes of pomegranate(*Punica granatum* L.). *Scientia Horticulturae*. 85: 261-270.
- Paek, K. Y., and E. J. Hahn. 2000. Cytokinin, auxins and activated charcoal affect organogenesis and anatomical characteristics of shoot-tip cultures of *Lisianthus*(*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn). *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*. 36: 128-132.
- Pang, J. L., L. L. Wang, J. Q. Hu, T. H. Xiang, and H. M. Liang. 2006. Synergistic promotion of gibberellin and cytokinin and cytokinin of direct regeneration of floral buds from *in vitro* cultures of sepal segments in *Sinningia speciosa* Hiern. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 42: 450-454.
- Rout, G. R., S. Samantaray and P. Das. 2000. *In vitro* rooting of *Psoralea corylifolia* Linn: Peroxidase activity as a marker. *Plant Growth Regul.* 30: 215-219.
- Salvi, N. D., L. George, and S. Eapen. 2000. Direct regeneration of shoots from immature inflorescence cultures of turmeric. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 62: 235-238.
- Singh, F. 1992. Micropropagation of orchid—*Spathoglottis plicata* and *Epidendrum radicans*. In: Bajaj Y.P.S. (ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol 20. High-tech and Micropropagation IV. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp.223-245.
- Sinha, P., M. L. Hakim, and M. F. Alam. 2009. In vitro mass clonal propagation of *Spathoglottis plicata* Biome. *Plant Tis. Cult.* 19: 151-160.
- Teng, W. L., L. Nicholson, and M. C. Teng. 1997. Micropropagation of *Spathoglottis plicata*. *Plant cell Rep.* 16: 831-835.
- Teng, W. L., L. Nicholson, and L. Y. Y. Yu. 1997. Clonal propagation of *Spathoglottis plicata* from young plants. *Acta Hort.* 447: 193-196.

## Micropropagation of *Spathoglottis plicata*

Tsung-Han Yang <sup>1)</sup> Ruey-Song Lin <sup>2)</sup>

Key words: *Spathoglottis plicata*, Micropropagation, Lateral shoot, Cytokinin, Multiplication, Flask plantlet rooting

### Summary

*Spathoglottis plicata*, and *Spathoglottis plicata*'RS01' were used in this study to investigate the effect of cytokinin on lateral shoot explants. Another purpose of this study is to research the effect of IBA on flask plantlet growth and rooting.

The lateral shoot of *Spathoglottis plicata*, and *Spathoglottis plicata*'RS01' culture in the media with 8.88  $\mu$ M BA after 8 weeks had the better result, every lateral shoot induced 1.8 and 2.44 shoots. Shoot formation rate were both 90%. Multiplication of *Spathoglottis plicata*, and *Spathoglottis plicata*'RS01' also show the better result in the media with 8.88  $\mu$ M BA, the average of 4 times subculture proliferation are 2.09 and 2.26 respectively.

The experiment of flask plantlet rooting of *Spathoglottis plicata* and *Spathoglottis plicata*'RS01', rooting rate of all plantlets had 100% by using IBA. When culture in the medium with 7.38 ~ 9.84  $\mu$ M IBA, plantlets show the best development and root morphogenesis.

---

1) Graduate student. Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Professor. Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.