

器內培養支撐物對蝴蝶蘭種苗生長之影響

蔡 娟 婷¹⁾ 朱 建 鏞²⁾

關鍵字：不織布、微孔膜塑膠筏、水化

摘要：本研究以 GA-7 容器，培養基成分為 Knudson C(1946)無機鹽類、蔗糖 20 g L⁻¹ 及馬鈴薯 34 g L⁻¹，配合以不織布、微孔膜塑膠筏等支撐物進行蝴蝶蘭液體播種。當培養基量為 50 ml 時，播於不織布或微孔膜塑膠筏者，經 75 天後有 70 % 以上小植株產生水化。將播種 75 天之小植株，移植至固體培養基，經 90 天後，來自不織布培養之小植株水化率降至 3 %，且 77 % 植株有正常葉片分化，與原來自固體培養者無差異。但苗來自微孔膜塑膠筏培養者僅 20 % 之小植株可正常分化葉片。將液體培養基量降為 40 ml，並以不織布上鋪棉紙為支撐物進行播種，經 75 天後小植株之水化百分率為 3 %，且小植株鮮重、乾重及乾/鮮重比值皆比固體培養者為高。將小植株繼代至不織布鋪棉紙之液體培養 45 天後，其葉片較大、葉數亦較原為固體培養者多。

前 言

蝴蝶蘭種苗是台灣內、外銷之重要園產品。在西元 2002 年之瓶苗產量高達 9,000 萬苗(陳等, 2003)。近年來雖然分生苗產量有增加的趨勢，但植株變異為大量繁殖之瓶頸，故仍以實生苗為主(Young *et al.*, 2000)。

以洋菜為凝膠物質製成固體培養基，最早利用於微生物學，也是最早被利用為植物器內培養之支撐物(Edwin, 1996)。然洋菜會影響培養基之滲透潛勢，間接影響到培養基鹽類(Von Arnold and Triksso, 1984)、以及細胞分裂素(cytokinin)(Debergh and Maene, 1981; Bornmam and Vogelmann, 1984)的吸收，導致增殖體的繁殖率降低。利用液體培養殖體上之培養基；而且增殖體之生長和增殖率都顯著增加 (Hale *et al.*, 1992; Pâques *et al.*, 1992)，故

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

常被利用於培植體增殖階段培養，例如玫瑰花(王與朱, 1995)、石楠(Douglas, 1984)、梨(Visieur, 1987)等之微體繁殖。

長期培養於液體培養基，容易有水化(hyperhydricity)或稱為玻璃質化(vitrification)之問題發生(Pâques and Boxus, 1987a; Ziv, 1991)。高濃度細胞分裂素及低洋菜濃度亦會促進水化培植體之產生，而植物組織含氧量降低所引起之脂質過氧化作用亦是引起水化之部分原因(Olmos *et al.*, 1997; Piqueras *et al.*, 2002)。Phan 與 Hafadus(1986)指出水化培植體之產生，主要由培養基之水分潛勢提高所引起；即培植體可利用之水分增加，產生快速的不正常生長，而使培植體缺乏木質素及角質層而呈水浸狀，且葉綠素含量會降低，及產生大量乙烯。又乙烯會改變苯丙胺酸氨裂解酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)之活性，而影響木質素的合成，因此被認為可能是啟動水化發生之荷爾蒙(Edwin, 1996)。

已水化之培植體，可經由培養於含 GA₃、蛋白胨(Bacto peptone)(Jain *et al.*, 1997 and 2001)、間苯三酚(phloroglucinol)(Phan and Hafadus, 1986)或抗玻璃質化藥劑(anti-vitrification agent)-- EM2 (Sigma Chemical Co.)(Whitehouse *et al.*, 2002)等之培養基，使培植體恢復正常生長。而降低細胞分裂素濃度、提高洋菜用量、提高容器之氣體交換率(Kadota *et al.*, 2001; Jain *et al.*, 2001; Pasqualetto *et al.* 1986; Zobayed *et al.*, 1999)，或提供支撐物(Adelberg *et al.*, 1997; Pâques *et al.*, 1992)則可避免水化培植體之產生。

液體培養時所使用之支撐物可分為二種：一為非吸濕性材料，如打洞之玻璃紙等(Edwin, 1996)。另一種為吸濕性材料，如濾紙、岩棉、棉墊、微孔膜塑膠筏等(湯, 1998; Etienne and Berthouly, 2002)。前者僅提供支持作用，後者則除了支持作用外，亦因其吸濕性不同，而可提供培植體不同之養分與水分，因此對培植體之影響亦較複雜。

目前以洋菜固體培養基培養蝴蝶蘭實生苗，自播種至出瓶約需費時一年。根據李(1990)之報告，蝴蝶蘭之原球體表皮細胞具有吸收養分的功能。本試驗即以備有不同支撐物之液體培養基，以增加小植株與培養基之接觸面積，並評估蝴蝶蘭液體播種培養之可行性。

材料與方法

一、植物材料：以 *Doritaenopsis* (Tinny Antique x Sinica Peeress) x *Doritaenopsis* Sogo Beach 之授粉後 4.5 個月之未裂果莢為材料。將果莢以 70% 酒精擦拭後，經 2% NaOCl 溶液進行表面消毒 10 min，再以無菌水沖洗 3 次，然後將果莢剖開敲下種子。種子先以 1% TTC (triphenyl tetrazolium chloride, pH7.0) 染劑於室溫、黑暗下染色 24 小時後測定其活性。取種子活性大於 90% 者為播種之材料。

二、培養基配製：播種培養基成分為 Knudson C(1946)無機鹽類、蔗糖 20 g L⁻¹ 及馬鈴薯 34 g L⁻¹。所有試驗使用之馬鈴薯，為產自斗南並於 90 年 2 月 8 日採收之‘克尼伯’品種。於買回當天去皮，以果汁機打成泥狀後，分裝成小包裝冷凍備用，使用前於室溫下解凍。

繼代培養基鹽類成分改為 1/4 MS (Murashige and Skoog, 1962)，其餘成分同播種培養基。液體培養基於滅菌前以 500 ml 之血清瓶分裝，每瓶裝 400 ml。部份播種或繼代培養基另以添加洋菜(Difco Bacto agar) 8 g L⁻¹ 固化為對照組。固體培養以 500 ml 玻璃三角瓶為容器，內裝 80 ml 播種培養基，或 100 ml 繼代培養基。三角瓶封口之橡膠塞高度為 3 cm，中央有一直徑為 7.5 mm 之孔洞，孔洞內均勻塞入 0.1 g 乾燥棉花。所有培養基滅菌前之 pH 值調整為 5.3，以殺菌釜於 121°C 下滅菌 15 分鐘後冷卻備用。

試驗一：

液體培養以 GA-7 瓶(Magenta Corporation, Chicago, USA, IL 77 mm x 77 mm x 97 mm / L x W x H)為容器，培養基量為 50 ml，並分別配合下述 3 種支撐物處理。L-N 處理是以 4 層(高為 20 mm)之 50 x 50 mm² 不織布(NCB-60-160 g, 新麗公司, 台灣)為支撐物。L-R 處理是以長、寬、高分別為 55 mm、55 mm、20 mm，而孔徑為 25 μm 之微孔膜塑膠筏(microporous polypropylene membrane raft, Magenta Co., Chicago, USA)為支撐物，筏的下方有一個長、寬、高分別為 59 mm、59 mm、19 mm，且中央有一 16 x 16 mm² 之正方形孔洞的浮板。各種支撐物分別置於 GA-7 瓶內，以殺菌釜於 121°C 下滅菌 15 分鐘。

進行播種前，將滅菌過之液體培養基 50 ml 倒入裝有支撐物之 GA-7 瓶，然後將種子均勻播於支撐物上。另外，以固體培養(S-A)作為對照組。每個 GA-7 容器之播種量約為 2 mg、三角瓶之播種量約為 3 mg。以上每處理有 4 個重複。播種 14 天後，以上每處理取 1 重複調查發芽率。其餘 3 重複於 75 天後調查小植株之生長情形。然後將死亡之小植株去除，並將存活小植株移植於固體之繼代培養基(S-B)，經 90 天後，每重複隨機取 100 個小植株調查其生長情形。

試驗二：

本試驗之液體播種以 GA-7 瓶為容器，內裝 40 ml 液體培養基，並分別配合下述 3 種支撐物處理：L-R 處理與試驗一所述相同。L-NC 或 L-NP 處理是於 4 層不織布上，分別再鋪 1 層 50 x 50 mm² 之棉紙(摺疊式紙巾, 舒潔, 台灣)或濾紙(Whatman, No.1)作為支撐物。以固體播種培養基作為對照處理(S-A)。播種量與重複數如試驗一。

播種 14 天後，以上每處理取 1 重複調查發芽率。其餘 3 重複於 75 天後隨機取 100 個小植株調查其生長情形。然後選取 L-NC 處理中有 1 mm 葉片突起之小植株，移植至固體或液體繼代培養基進行培養。

繼代液體培養以 GA-7 為容器，每瓶裝 36 ml 培養基，並培養 36 株小植株。支撐物有二種，一上述之 L-NC；另一為扦插海綿(vivid cubes, Pioneer U. N. Co., LTA, Taiwan)，每小塊規格為長、寬、高分別為 2.25 cm、2.25 cm、3 cm，以 4 塊相連、切成 2 cm 高度之海棉為支撐物(L-C)。另以固體繼代培養基(S-B)作為對照處理，每瓶置入 100 個小植株。以上每處理有 3 重複，經培養 45 天後，調查其葉片與根之生育情形。

三、培養環境：培養室溫度 24±2°C，並以冷白螢光燈(FL40D/38, 旭光, 台灣)提供 35±5 μmol m⁻² s⁻¹ PPFD 及每日 12 小時光期。

四、調查項目：播種試驗者，於播種後 14 天隨機取 1 瓶，將支撐物或洋菜取出，隨機選擇 3 區塊，各調查 100 個種子之發芽率，以胚直徑伸長 2 倍以上、突破種皮者視為發芽。發芽率 = (發芽種子數/有胚種子數) x 100%。其餘於培養所需天數後調查其生長情形，以小植株完全白化或褐化視為死亡；呈透明暗綠色視為水化；有 2 個以上小球體結成一團塊者視為增生。於生長調查後測其鮮重，並於 60°C 烘乾 48 小時後，測其乾重。

五、統計分析：所有試驗採完全隨機試驗設計(Complete randomized Design)，試驗結果利用 Costat 統計軟體以鄧肯氏多變域分析(Duncan's multiple range test)比較 5% 差異顯著性。

結 果

播種 75 天後之小植株生長情形如表 1 所示。播種於液體培養基，不論以不織布(L-N)或塑膠筏為支撐物(L-R)，其水化情形皆明顯較固體培養基(S-A)為高，水化與死亡率總和超過 93%，且小植株之乾/鮮重比值亦較低。其中以播種於微孔膜塑膠筏者，死亡情形最嚴重，而播種於不織布者雖死亡率較低，但其纖維會與小植株之吸收毛緊密糾結，使小植株無法自不織布脫離，嚴重影響繼代之操作。

因液體播種者有嚴重之水化情形，因此將上述不同處理之播種後 75 天植株移植至固體繼代培養基。經培養 90 天後，原播種於 L-N、L-R 之液體培養者，水化比率顯著下降，僅為 3.1% 或 18.1%(表 2)，且播種自 L-N 之小植株有 70.8% 已具有 1 或 2 片葉片(圖 1A)。但是原來培養在 L-Ra 者之小植株經移植至固體培養基後，有 57.8% 產生多球體之團塊，且沒有葉片分化(圖 1B、C)，而且 20.5% 發育正常之小植株只有一片葉片，其發育較其他處理為慢。原播種於 L-N 者，經移植至固體培養基後，其正常株、分生率或水化植株比率，以及小植株生長與固體培養者並無差異，但植株死亡率較低。

為改善水化情形，及解決不織布纖維與小植株糾結問題，將液體培養處理之培養基量由 50ml 降為 40ml，並於不織布上鋪棉紙或濾紙。結果如表 3 所示。多孔膜塑膠筏(L-R)處理之小植株水化百分率較表 1 之 L-R 處理為低，表示降低水位可減少水化之發生。於不織布上鋪棉紙(L-NC)或濾紙(L-NP)亦可降低水化百分率，但是鋪濾紙處理會使死亡率提高。液體培養之小植株鮮重、乾重及乾/鮮重比值皆比固體培養為高，固體培養雖無水化之發生，但其生長較慢。

表 1. 培養基物相及支撐物對播種 75 天後之蝴蝶蘭小植株生長之影響

Table 1. The growth of phalaenopsis seedlings after 75 days of sowing

處理 Treatments	S-A ^x	L-N ^y	L-R ^y
死亡率 Mortality rate (%)	1.7 b ^z	2.3 b	28.7 a
水化率 Hyperhydration rate (%)	10.3 c	91.4 a	70.3 b
鮮重/100 小植株 Fresh wt./100 seedling (mg)	1341 a	653 b	664 b
乾重/100 小植株 Dry wt./100 seedling (mg)	69.7 a	29.9 b	31.1 b
乾重/鮮重 Dry wt./Fresh wt. (%)	5.2 a	4.6 b	4.7 b

^x: 固體播種培養基，每瓶 80 ml。

^y: 液體培養基量為 50ml；L-N 或 L-R 之支撐物分別為不織布或微孔膜塑膠筏。

^z: 同一列中英文字母相同者，表示以 5% 鄧肯氏多域變方分析結果無顯著差異。

^x: Solidified sowing medium was 80 ml/ flask.

^y: Medium volume in liquid culture was 50 ml. Support of L-N or L-R was non-woven fabric and microporous membrane raft, respectively.

^z: Means with the same letters in a row are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.



圖 1. 播種後 75 天之蝴蝶蘭小植株移植至固體繼代培養基 90 天後之生長情形

A: 正常之葉片分化；B: 增殖之培植體(未水化)；C: 增殖之培植體(水化)

Figure 1. The growth of phalaenopsis seedlings after subculturing 75 day old seedlings to solid media for 90 days. A: seedling with normal leaves; B: proliferated explants (non-hyperhydric); C: proliferated explants (hyperhydric)

表 2. 不同來源植株對繼代至固體培養基後生長之影響^w

Table 2. Effect of phalaenopsis seedlings source on the growth of subculturing on solid medium

小植株來源		S-A ^x	L-N ^y	L-R ^y
Source of seedling				
不正常生長 Abnormal growth	死亡率 Mortality rate (%)	16.0 a ^z	1.0 b	3.6 b
	增生率 Proliferation rate (%)	10.7 b	18.6 b	57.8 a
	水化率 Hyperhydration rate (%)	1.3 b	3.1 b	18.1 a
	小計 Subtotal (%)	28.0	22.7	79.5
正常生長 Normal growth	無葉片 Without leaf (%)	12.0 a	16.5 a	0 b
	具 1 片葉 With 1 leaf (%)	26.7 ab	34.0 a	20.5 b
	具 2 片葉 With 2 leaves (%)	32.0 a	26.8 a	0 b
	具 3 片葉 With 3 leaves (%)	1.3 a	0 a	0 a
	小計 Subtotal (%)	72.0	77.3	20.5
最長葉片長度		1.18 a	0.87 b	0.85 b
Length of the longest leaf (cm)				

^w : 75 天苗齡蝴蝶蘭繼代於固體培養基 90 天。

^x 及 ^y : 敘述如表 1。

^z : 同一列中英文字母相同者，表示以 5% 鄧肯氏多域變方分析結果無顯著差異。

^w : Seedlings of 75-day-old and subculturing for 90 days.

^x and ^y : The same description as shown in Table 1.

^z : Means with the same letters in a row are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

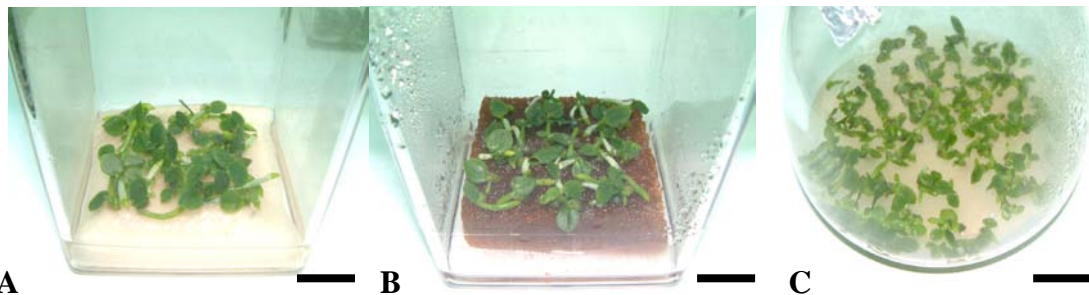


圖 2. 將播種後 75 天之蝴蝶蘭小植株以不同方式繼代培養 45 天後之生長情形

A : 不織布鋪棉紙(L-NC) ; B : 扦插海棉(L-C) ; C : 固體培養基(S-B)

Fig. 2. The growth of 75- day- old phalaenopsis seedlings after 45 days of subculture

A: non-woven fabric covered with paper towel (L-NC); B: vivid cubes (L-C); C: solidified medium (S-B). Bar = 1.5 cm

將播種於4層不織布上鋪1層棉紙(L-NC)上、已有1 mm 葉片發育之小植株，進行3種處理之繼代培養，經45天後所有處理之培植體無死亡、水化或增生之情形發生(圖2)。液體培養之葉片長與寬皆比固體培養為大，而以不織布鋪棉紙(L-NC)之液體培養者之葉片數最多(表4)。固體培養之發根率、根數與根之長度皆較液體培養為低(表4、圖2C)。以扦插用海棉為支撐物者(L-C)(圖2B)，雖然其葉片發育較不織布鋪棉紙者(L-NC)(圖2A)為慢，二者之根發根率、根數與根長度無明顯差異(表4、圖2A、B)。

表3. 修正後之液體培養對播種75天後蝴蝶小植株生長之影響

Table 3. Effects of modified liquid culture on the growth of phalaenopsis seedlings after 75 days of sowing

播種處理 Sowing	S-A ^x	L-NC ^y	L-NP ^y	L-R ^y
死亡率 Mortality rate (%)	0.5 c ^z	4.0 c	20.5 b	30.5 a
水化率 Hyperhydration rate (%)	0 c	2.9 c	8.3 b	62.2 a
鮮重/50 小植株 Fresh wt./50 seedlings (mg)	135 d	206 c	320 b	402 a
乾重/50 小植株 Dry wt./50 seedlings (mg)	6.3 d	10.5 c	15.8 b	20.9 a
乾重/鮮重 Dry wt./Fresh wt. (%)	4.7 b	5.2 a	4.9 a	5.2 a

^x: 固體播種培養基，每瓶 80 ml。

^y: 液體培養基量為 40ml。 L-NC: 不織布鋪棉紙; L-NP: 不織布鋪濾紙;

L-R: 微孔膜塑膠筏

^z: 同一列中英文字母相同者，表示以 5% 鄧肯氏多域變方分析結果無顯著差異。

^x: Solidified sowing medium was 80 ml/ flask.

^y: Medium volume in liquid culture was 40 ml. Support of L-NC, L-NP and L-R was non-woven fabric covered with paper towel, non-woven fabric covered with filter paper and microporous membrane raft, respectively.

^z: Means with the same letters in a row are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. 播種於 L-NC 75 天後之蝴蝶蘭小植株經繼代培養 45 天後之生長情形

Table 4. Growth of phalaenopsis seedlings after transplanting 75 day old L-NC seedlings to subculture media for 45 days.

繼代處理 Subculture	S-B ^x	L-NC ^y	L-C ^y
葉數 Number of leaves	1.05 b	1.75 a ^z	1.10 b
葉長 Leaf length (mm)	0.45 c	0.85 a	0.62 b
葉寬 Leaf width (mm)	0.36 c	0.68 a	0.49 b
發根率 Rooting (%)	56.7 b	100 a	100 a
根數 Number of roots	0.5 b	1.1 a	1.2 a
根長 Root length (mm)	3.8 b	7.7 a	9.3 a

^x : 固體繼代培養基，每瓶 100 ml。

^y : 液體培養基量為 36ml，L-NC 或 L-C 之支撐物分別為不織布鋪棉紙或扦插海綿。

^z : 同一列中英文字母相同者，表示以 5% 鄧肯氏多域變方分析結果無顯著差異。

^x : Solidified subculture medium was 100 ml/flask.

^y : Medium volume in liquid culture was 36 ml. Support of L-NC and L-C was non-woven fabric covered with paper towel and vivid cubes, respectively.

^z : Means with the same letters in a row are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

討 論

利用支撐物之液體培養，始於 1949 年由 Heller 與 Gautheret 將濾紙摺成 M 或倒 U 形，藉以培養較小之培植體(例如莖頂組織)，稱為 Heller support(Edwin, 1996)。Lee 等人(1986)以 Whatman No.1 濾紙做成之紙橋(Heller's raft)進行膠皮糖香樹(*Liquidambar styradiflua* L.)之液體培養，結果其枝梢與根之鮮重皆較固體培養者為高，且根之乾重在液體培養基者有極明顯增加之趨勢。本試驗以高 20 mm 之 Whatman No.1 濾紙橋播種，液面高度為 19 mm，種子可正常發芽，但 2 星期後，濾紙橋中央之小植株開始褐化，且死亡率隨培養期增長而提高。此可能因小植株之重量使濾紙橋中央下陷，造成液體培養基淹沒小植株之生長點，使其缺乏氧氣而死亡。

Adelberg 等人(1992)利用微孔膜塑膠筏為支撐物進行蕾麗亞嘉德麗亞蘭(*Laeliocattleya*)癒傷組織之液體培養，其鮮重之增加量較固體培養者為高，並認為此可能與養液之利用率較高有關。Hale 等人(1992)利用微孔膜塑膠筏作支撐物，可避免秋海棠(*Begonia*)在生物反應器中液體培養時之水化情形。但本研究以微孔膜塑膠筏(L-R)為支撐

物，其死亡及水化情形皆最為嚴重(表 1、3)。將播種於微孔膜塑膠筏之水化小植株，移植至固體培養基 90 天後，雖少數(20.5%)可恢復正常並分化葉片，但其葉片生育仍明顯較其他處理為慢，且仍有 79.5%之小植株呈現異常生長(表 2)。此可能因微孔膜塑膠筏處理之培植體經常浸泡於液體培養基中造成缺氧、或與微孔膜吸收過多銨態氮有關。以微孔膜培養石斛蘭(*Dendrobium*)之癒傷組織，其吸收銨態氮較硝酸態氮為高(Adelberg *et al.*, 1997)。而植物吸收過量銨態氮可提高麩胺酸去氫酶(glutamate dehydrogenase enzyme, GDE)之活性，促使銨離子結合成麩胺酸(glutamate)之有機氮化合物，並使碳水化合物轉為被用於合成胺基酸，而不再合成纖維素(cellulose)或木質素(lignin)，因此產生水化(Edwin, 1993)。

但是在相同情況下，生長於不織布之小植株(L-N)經移植至固體培養基 90 天後，異常生長率大幅降低，且除了最長葉片之長度較短外，其小植株生長與固體培養並無顯著差異(表 2)，且水化率由 91.4%降至 3.1%，表示大部分之小植株可回復正常生長。Pâques 等人(1987b)已證實當水化情形未達嚴重程度時，培植體可於誘導期(induction stage)誘導使其回復正常生長。利用底部冷卻，可使玫瑰花(Ghashghaie *et al.*, 1992)與香石竹(Piqueras *et al.*, 2002)之水化培植體恢復至正常形態及生長速率。Piqueras 等人(2002)並指出腐胺(putrescine)與屍胺(cadaverine)二種接合二胺類(conjugated diamines)濃度的增加，與香石竹水化植株之回復正常生長有密切相關。

培養基添加細胞分裂素(cytokinin)被認為是引起水化之重要因子(Edwin, 1996)。本試驗目的為培育實生瓶苗，因不需要使小植株增生，因此培養基中並未添加細胞分裂素，但亦發生嚴重之水化現象(表 1)。而降低培養液水位，可降低液體播種之水化百分率(表 1、3)。因此，以液體培養基培育實生瓶苗，最需考慮支撐物與養液水位之配合，以減少水化之發生。在本研究中，播種培養階段並無小植株增生之現象發生，但經移植後則部分有增生現象發生(表 2、圖 1)，尤以播種於微孔膜塑膠筏(L-R)之情況最為嚴重。且由表 2 亦可得小植株若進入增生階段，則葉片之分化會延遲，對實生苗之培育而言極為不利。此結果與 Zhou (1995)之研究結果相符，即，朵麗蝶蘭之水化擬原球體(protocorm like body, PLB)經移植後，其分生率較正常擬原球體為高，且其新梢之形成率亦較正常擬原球體為低。

播種於 4 層不織布(L-N)之植株有 91.4%之水化率(表 1)，此可能為因水位較高，且不織布之纖維將小植株包覆，使小植株長期處於浸水狀態下所至。而繼代至固體培養基後，仍有 18.6%之分生率(表 2)，此可能原因為植株之吸收毛與不織布纖維緊密糾結，造成繼代時之機械傷害而引起。為解決不織布纖維之糾結問題，在試驗二中於不織布上鋪棉紙(L-NC)或濾紙(L-NP)後，並降低培養基量，結果蝴蝶蘭苗之水化率皆下降(表 3)。至於鋪濾紙或棉紙之小植株死亡率及水化率有顯著差異，推測可能為二者對水分及養分之吸收性不同所引起。而將播種於不織布鋪棉紙(L-NC)者繼代至固體或液體培養基，皆無死亡、水化或小植株分生之情形發生(圖 2)，且液體培養者之葉與根之生長皆較固體培養快(表 4)。表示在有適當水位及支撐物情形下，液體播種之培植體亦可於繼代液體培養基正常生長，且有促進生長之效果。

本研究結果顯示，在配合適當支撐物與培養基水位情況下，可減少液體培養之水化百分率，且小植株之鮮重、乾重及乾重/鮮重比值皆比固體培養為高。經繼代至液體培養基亦可促進小植株葉與根之生育，表示其具取代固體培養之可行性。

參 考 文 獻

- 王美陽、朱建鏞。1995。培養基物相對組織培養培植體生長的影響。農林學報 44(4): 71-77。
- 李晔。1990。蘭之胚培養。中國園藝 36(4): 223-244。
- 陳駿季、廖玉珠、蕭吉雄。2003。台灣花卉組織培養產業—1998-2002 年間產業結構變動分析。台灣花卉園藝 193: 52-59。
- 湯惠嫻。1998。固形材質在組培苗健化之研究。國立中興大學碩士論文。
- Adelberg, J. W., N. Desamero, S. A. Hale, and R. E. Young. 1992. Orchid micropropagation on polypropylene membranes. Amer. Orchid Soc. Bull. 61: 688-695.
- Adelberg, J. W., N. Desamero, S. A. Hale, and R. E. Young. 1997. Long-term nutrient and water use during micropropagation of *Cattleya* orchid on liquid/membrane system. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 48: 1-7.
- Bornman, C. H. and T. C. Vogelmann. 1984. Effect of rigidity of gel medium on benzyl adenine induced adventitious bud formation and vitrification *in vitro* in *Picea abies*. Physiol. Plant. 61: 501-512.
- Debergh, P. C. and L. J. Maene. 1981. A Scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Sci. Hort. 14: 335-345.
- Douglas, G. C. 1984. Propagation of eight cultivars of *Rhododendron* *in vitro* using agar-solidified and liquid media and direct rooting of shoots *in vivo*. Sci. Hort. 24: 337-347.
- Edwin F. G. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1. The Technology. 2nd ed. Exegetics Ltd., Edington Wilts. England.
- Etienne, H. and M. Berthouly. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 69: 215-231.
- Ghashghaie J., F. Brenckman, and B. Saugier. 1992. Water relations and growth of rose plants cultured *in vitro* under various relative humidities. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 30: 51-57.
- Hale S. A., R. E. Young, J. W. Adelberg, R. J. Keese, and N. D. Camper. 1992. Bioreactor development for continual-flow, liquid plant tissue culture. Acta Hort. 319: 107-112.
- Jain A., S. Hussain, and S.L. Kothari. 1997. Micropropagation of *Dianthus caryophyllus* L. control of vitrification. J. Plant Biochem. Biotechnol. 6: 35-37.
- Jain A., A. Kantia, and S. L. Kothari. 2001. *De novo* differentiation of shoot buds from

- leaf-callus of *Dianthus caryophyllus* L. and control of hyperhydricity. *Sci. Hort.* 87: 319-326.
- Kadota, M., K. Imizu, and T. Hirono. 2001. Double-phase *in vitro* culture using sorbitol increases shoot proliferation and reduces hyperhydricity in Japanese pear. *Sci. Hort.* 89: 207-215.
- Lee, N., H. Y. Wetzstein, and H. E. Sommer. 1986. The effect of agar vs. liquid medium on rooting in tissue-cultured sweet gum. *HortScience* 21(2): 317-318.
- Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Olmos, E., A. Piqueras, J. R. Martínez-Solano, and E. Hellín. 1997. The subcellular localization of peroxidase and the implication of oxidative stress in hyperhydrated leaves of regenerated carnation plants. *Plant Sci.* 130: 97-105.
- Pâques, M. and Ph. Boxus. 1987a. "Vitrification": review of literature. *Acta Hort.* 212: 155-166.
- Pâques, M., Ph. Boxus, and M. Dulos. 1987b. "Vitrification": an induceable and reversible phenomenon. *Acta Hort.* 212: 253-258.
- Pasqualetto, P. L., R. H. Zimmerman, and L. Fordham. 1986. Gelling agent and growth regulator effects on shoot vitrification of 'Gala' apple *in vitro*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111: 976-980.
- Phan, C. T. and P. Hafadus. 1986. Possible metabolic basis for the developmental anomaly observed in *in vitro* culture, called 'vitreous plants'. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 6: 83-94.
- Piqueras A., M. Cortina, M. D. Serna, and J. L. Casas. 2002. Polyamines and hyperhydricity in micropropagated carnation plants. *Plant Sci.* 162: 671- 678.
- Viseur, J. 1987. Micropropagation of pear, *Pyrus communis* L., in a double-phase culture medium. *Acta Hort.* 212: 117-124.
- Von Arnold and T. Eriksson. 1984. Effect of agar concentration on growth and anatomy of adventitious shoots of *Picea abies* (L) Karst. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 3: 257-264.
- Whitehouse, A. B., T. R. Mark, and G. A. Edwards. 2002. Control of hyperhydricity in *Eucalyptus* axillary shoot cultures grown in liquid medium. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 71: 245-252.
- Young P. S., H. N. Murphy, and P. K. Yoeup. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 63: 67-72.
- Zhou T. S. 1995. *In vitro* culture of *Doritaenopsis*: comparison between formation of the hyperhydric protocorm-like-body (PLB) and the normal PLB. *Plant Cell Rep.* 15: 181-185.

Ziv M. 1991. Quality of micropropagated plants – Vitrification. *In Vitro Cell. Dev. Bio.-Plant* 27: 64-69.

Zobayed S. M. A., J. Armstrong, and W. Armstrong. 1999. Evaluation of a closed system, diffusive and humidity-induced convective throughflow ventilation on the growth and physiology of cauliflower *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 59: 113-123.

Effect of Support on the Growth of Phalaenopsis Seedlings *in Vitro*

Wei-Ting Tsai ¹⁾ Chien-Young Chu ²⁾

Key words: Non-woven fabric, Microporous membrane raft, Hyperhydration

Summary

In this study, non-woven fabric (L-N), filter paper (L-P) and microporous membrane raft (L-R) were used as supports in GA-7 vessels with liquid medium, containing Knudson C (1946) basal salts, 34 g L⁻¹ potato and 20 g L⁻¹ sucrose, for phalaenopsis seed culture. As 50 ml liquid medium was used per vessel, over 70 % hyperhydric seedlings were observed after 75 days cultured in L-N or L-R. After transplanted to agar solidified medium for 90 days, hyperhydration rate of seedlings from L-N culture decreased to 3 % and 70 % of total seedlings developed into normal seedlings. As 40 ml liquid medium was used per vessel, hyperhydration rate was at 3 % after 75 days of sowing as non-woven fabric covered with paper towel (L-NC) was used as support. The fresh and dry weight and of seedlings cultured on L-NC support were higher than that cultured on solid medium. Seedlings from L-NC culture transplanted to liquid medium with L-NC support grew more leaves than that cultured on solid medium or cultured on liquid medium with vivid cube as support.

1) Graduate student in Ph.D. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

