

觀賞鳳梨 *Aechmea fulgens* var. *fulgens* 直接不定芽誘導之研究

黃柄龍^{1,2}、劉景煌²、廖麗貞³

摘 要

本研究目的為探討觀賞鳳梨 *Aechmea fulgens* var. *fulgens* 之直接不定芽誘導與增殖之能力，及建立其植株再生系統。應用栽培管理技術及慎選材料來源，可減少病原菌污染，降低培養風險。莖頂及側芽培植體之不定芽直接發生率，均以 1.0 mg l^{-1} BA 組合 0.5 或 1.0 mg l^{-1} NAA，及 3.0 mg l^{-1} BA 組合 0.5 mg l^{-1} NAA 之誘導效果較佳，各處理間並無顯著差異。最基部側芽培植體的不定芽直接發生率最高，為 47.5% ，其不定芽誘導能力隨莖節位置的上升而有下降的趨勢。不定芽可生長及發育成完全的植株，並可成功移植至試管外種植。

關鍵語：觀賞鳳梨、不定芽、莖頂、側芽

前 言

Aechmea fulgens var. *fulgens* (Bromeliaceae)，中文名稱為珊瑚鳳梨，原產於巴西，主要分布在南美洲亞馬遜河流域的熱帶雨林中，為 *A. fulgens* 之一變種，具直立的走莖，可攀爬於樹幹上；植株外型呈漏斗狀，葉開展，葉片帶狀，革質堅韌，綠色，葉背面紅褐色，葉緣有鋸齒；穗狀花序自植株中央抽出，漿果呈豆粒狀，深紅色，成熟時紫色的小花自漿果中展開，色澤鮮豔(圖 1A)⁽⁵⁾。切花採收是最主要的生產模式，瓶插壽命長，花穗觀賞期久，為一新興的切花種類。

觀賞鳳梨的繁殖可分為有性繁殖及無性繁殖二種。有性的種子繁殖，因種源遺傳歧異性大及遺傳形質不親和，使得部分品種不易形成種子；同時，有性繁殖的變異性高、種子活力喪失快及發芽率低等，一般少為採用。無性繁殖是最常用的繁殖法，因大多數觀賞鳳梨是屬於合軸型植物，每一株只有

¹高雄區農業改良場助理研究員

²國立中山大學生物科學系研究生、教授

³國立高雄師範大學生物科技系教授

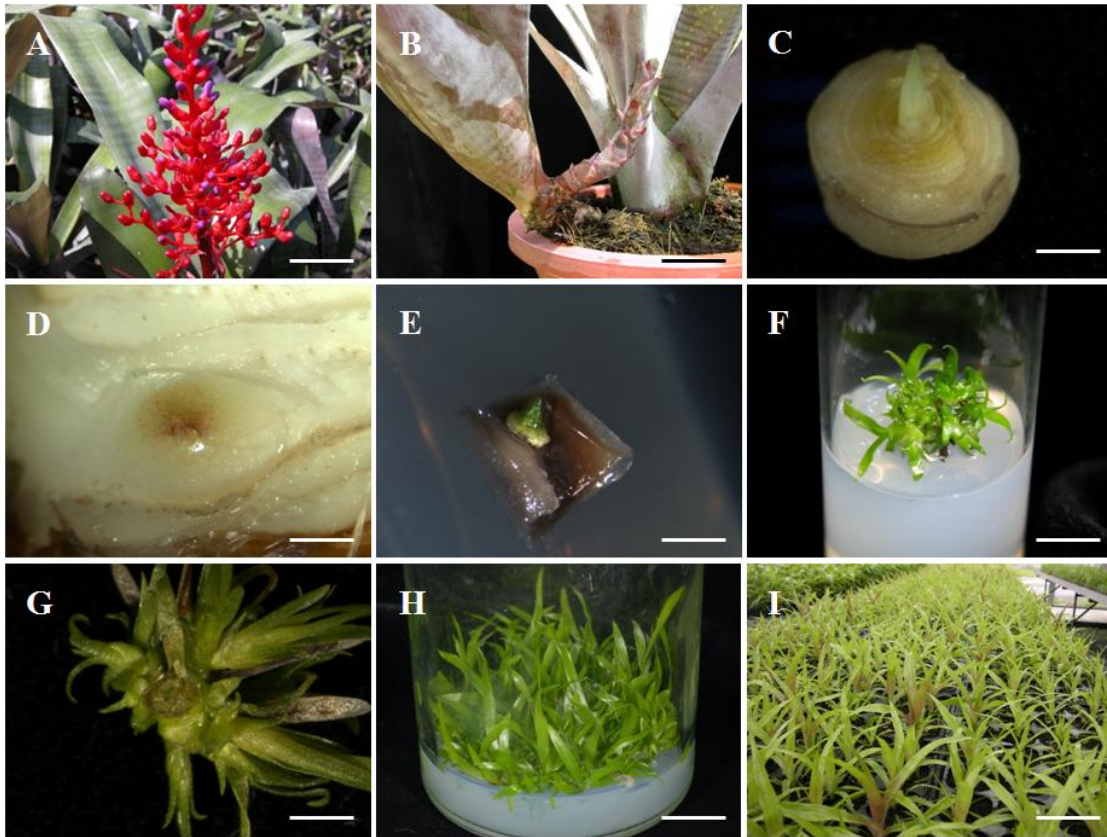


圖 1. 觀賞鳳梨 *A. fulgens* var. *fulgens* 直接不定芽誘導與植株再生之情形
 (A)珊瑚鳳梨植株(bar = 50 mm) (B)基部形成之吸芽(bar = 25 mm)
 (C)吸芽之莖頂培植體(bar = 2 mm) (D)吸芽之側芽培植體(bar = 1 mm)
 (E)側芽培養(bar = 3 mm) (F)不定芽增殖(bar = 7 mm) (G)不定芽增殖
 (bar = 3 mm) (H)不定芽發育形成植株及大量繁殖(bar = 18 mm)
 (I)移植於網室栽培的組培苗(bar = 50 mm)

Fig. 1. Direct adventitious bud induction and shoot regeneration of *A. fulgens* var. *fulgens* via bud explants culture. (A) *Aechmea fulgens* var. *fulgens* plant (bar = 50 mm). (B) The suckers formed at the stem base (bar = 25 mm). (C) Shoot apex explant obtained from sucker (bar = 2 mm). (D) Lateral bud explant obtained from sucker (bar = 1 mm). (E) Lateral bud explant cultured on 1/3MS basal medium supplemented with 1.0 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} NAA (bar = 3 mm). (F) Adventitious buds proliferated after cultured on 1/3MS basal medium supplemented with 1.0 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} NAA (bar = 7 mm). (G) Adventitious buds proliferation (bar = 3 mm). (H) Mass propagation by shoots developed into plantlets (bar = 18 mm). (I) Plantlets cultivated in greenhouse develop normally (bar = 50 mm)

一個生長點，當這個生長點由營養生長轉變為生殖生長後就會死亡，而從基部長出吸芽來替代母株的生長；因此，繁殖觀賞鳳梨最簡單的方法為將吸芽與母株分離，另盆種植。但觀賞鳳梨自苗期種植，必須經過 1-3 年的生長才具有開花能力，生長期長；同時，吸芽產生的數目少，視品種的不同而有差異；且栽培管理亦會影響到抽出的吸芽數及品質。隨著產生的吸芽數愈多，吸芽的生長勢也愈加微弱⁽²⁵⁾，因此，限制了種苗的生產，而無法供應市場上的龐大需求。又根據許(2004)研究發現⁽²⁾，觀賞鳳梨分株苗的生育整齊度較不一致，對抑制自然開花的控制效果較差，若該年氣候異常，如寒流來襲，則容易發生自然開花現象，可能造成較大的栽培損失。因此，要獲得品質良好的觀賞鳳梨植株，需栽培組培苗。

組織培養為提高種苗生產效率的有利工具，且生育整齊，可達成經濟栽培所需之大量繁殖之目的。觀賞鳳梨組織培養，許多都是採用短縮莖為培植體，誘導由葉腋長出芽體^(12, 13, 17, 26)；然而，短縮莖長期暴露於空氣中及受灌溉水的污染，材料不容易完全消毒，並且，使用的培植體部位亦會影響其再生能力⁽¹⁰⁾。因此，本研究以 *A. fulgens var. fulgens* 之吸芽之莖頂組織及側芽為培植體，分別探討其不定芽之直接誘導與增殖能力。

材料與方法

一、植物材料與滅菌處理

本研究係採栽培於高雄區農業改良場溫網室之 *A. fulgens var. fulgens* 分蘖的吸芽(圖 1B)為材料。首先，將外型健康的開花株切除整個花柱，去除頂芽優勢，令其從母株基部長出吸芽。分離吸芽，以自來水洗淨後，逐層剝除其上緊密包裹的葉片，使莖節上的側芽裸露。切取莖頂(圖 1C)及側芽組織(圖 1D)，利用 0.5% NaOCl (Clorox; Clorox Co, Oakland, CA)溶液，每 100 ml 並加入 2 滴展著劑 Tween 20 (Merck, Darmstadt, Germany)，以超音波振盪 10 分鐘進行表面消毒，再以無菌水沖洗 3 次，每次 3 分鐘。去除側芽及莖頂受滅菌劑傷害的組織後，作為培植體。

二、培養基與培養條件

基礎培養基組成以大量鹽類濃度減為 1/3 之 MS 培養基(1/3 strength Murashige and Skoog inorganic salts)⁽¹⁸⁾為主，其他添加有機物包括 50 mg l⁻¹ arginine、50 mg l⁻¹ asparagine、50 mg l⁻¹ L-glutamine、0.5 mg l⁻¹ Ca-pantothenate 及 200 mg l⁻¹ citric acid，另添加 3% Sucrose，並以 0.8% Merck agar 作為固體凝膠劑，滅菌前 pH 值調至 5.7，並經高溫高壓滅菌釜以 121°C，加熱 20 分鐘。培養環境溫度 25 ± 2°C。照光培養採 16 小時光週明

期(光強度 $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，日光燈管 FL-30 D/29, 40W，東亞，中國電器股份有限公司)，暗期為 8 小時。

三、不同濃度 BA 與 NAA 組合對不定芽直接誘導之影響

將莖頂及側芽培植體，培養於添加不同濃度 BA ($1.0, 3.0 \text{ mg l}^{-1}$)與 NAA ($0.5, 1.0 \text{ mg l}^{-1}$)組合之基礎培養基，每單位容器內之培養基定量成 10 ml。每一處理 4 個重複，每重複分別培養 5 個莖頂或 20 個側芽培植體。培養 10 週後，調查培植體之不定芽直接發生率。不定芽發生率為計算能直接誘導或增殖不定芽之培植體數，占所有培植體總數之比率。不定芽增殖以每 2 個月繼代培養一次，待植株生長至 5-6 cm，自培養容器內小心取出，以自來水徹底洗去附著於根部的培養基，再以 0.1% (w/v) Benlate[®]殺菌劑(Du Pont de Nemours & Co, Wilmington, DE)浸漬 10 分鐘，風乾後，栽培於網室中。

四、不同部位之側芽培植體對不定芽直接誘導之影響

觀賞鳳梨 *A. fulgens* var. *fulgens* 之吸芽，逐層剝除葉片，裸露側芽，切取莖節最基部(lower)、中間部位(middle)及最上部位(upper)之側芽組織，並依序編號。滅菌方法同上。各部位側芽培植體培養於含有 1.0 mg l^{-1} BA 組合 0.5 或 1.0 mg l^{-1} NAA，及 3.0 mg l^{-1} BA 組合 0.5 mg l^{-1} NAA 等三種直接不定芽誘導反應較佳的培養基。每一處理 4 個重複，每重複分別培養 10 個側芽培植體。培養 10 週後，調查各部位側芽培植體之不定芽直接發生率，不定芽發生率估算方法同上，以瞭解不同部位的側芽培植體，與不同種類及不同濃度之植物生長調節劑組合，對直接不定芽誘導之影響，以建立一個觀賞鳳梨不定芽誘導頻度較高的組織培養繁殖方法。

五、統計分析

各處理均經過 4 重複以上試驗，所得數據使用 SAS 軟體(SAS Institute, Cary, NC)進行 ANOVA 變異數分析($\alpha=0.05$)，並以 LSD (Least significant difference)方法統計其差異性。

結果與討論

一、不同濃度 BA 與 NAA 組合對直接不定芽誘導之影響

鳳梨科植物之吸芽，可供增生叢生枝或不定芽繁殖⁽²⁶⁾，但滅菌不易。雖然，可以較高濃度次氯酸鈉(1-3%)及較長時間(10-30 分鐘)進行滅菌處理⁽³⁾，但亦會增加培植體褐化死亡的風險。*A. fulgens* var. *fulgens* 幼嫩吸芽莖節上的側芽不明顯，須待直立的走莖發育完全後，開展狀吸芽的短縮莖才表現出大且明顯的側芽組織。不過，由於葉片基部相互抱合呈漏斗狀，容易受雨水及灌溉水的污染，滋生病原菌。此時，可預先以人工澆水的方式調節澆水量，

避免水分蓄積於葉片或芽體之基部，並配合噴灑免賴得殺菌劑 1000 倍稀液 [0.1% (w/v) Benlate]，即可以 0.5% 次氯酸鈉溶液進行培植體之滅菌。

圖 2 的結果顯示，*A. fulgens* var. *fulgens* 之莖頂培植體的不定芽誘導率，為 45%、35%、45% 及 25%，各處理間無顯著差異。1.0 mg l⁻¹ BA 組合 0.5 或 1.0 mg l⁻¹ NAA，及 3.0 mg l⁻¹ BA 組合 0.5 mg l⁻¹ NAA，其莖頂培植體之不定芽直接發生率較 3.0 mg l⁻¹ BA + 1.0 mg l⁻¹ NAA 之處理為高。而側芽培植體之不定芽誘導率亦呈現類似的結果，1.0 mg l⁻¹ BA 組合 0.5 或 1.0 mg l⁻¹ NAA，及 3.0 mg l⁻¹ BA 組合 0.5 mg l⁻¹ NAA，其產生不定芽的培植體數均較 3.0 mg l⁻¹ BA + 1.0 mg l⁻¹ NAA 之處理為多。*A. fulgens* var. *fulgens* 之側芽培植體的不定芽發生率，分別為 31.25%、30%、28.75% 及 22.5%。整體而言，莖頂培植體之不定芽直接發生率高於側芽培植體。圖 1E 為觀賞鳳梨 *A. fulgens* var. *fulgens* 利用側芽組織誘導不定芽直接發生的情形，側芽培植體經培養後會逐漸轉成綠色，膨大，並開始生長，並於基部增生數量眾多的不定芽(圖 1F,G)。

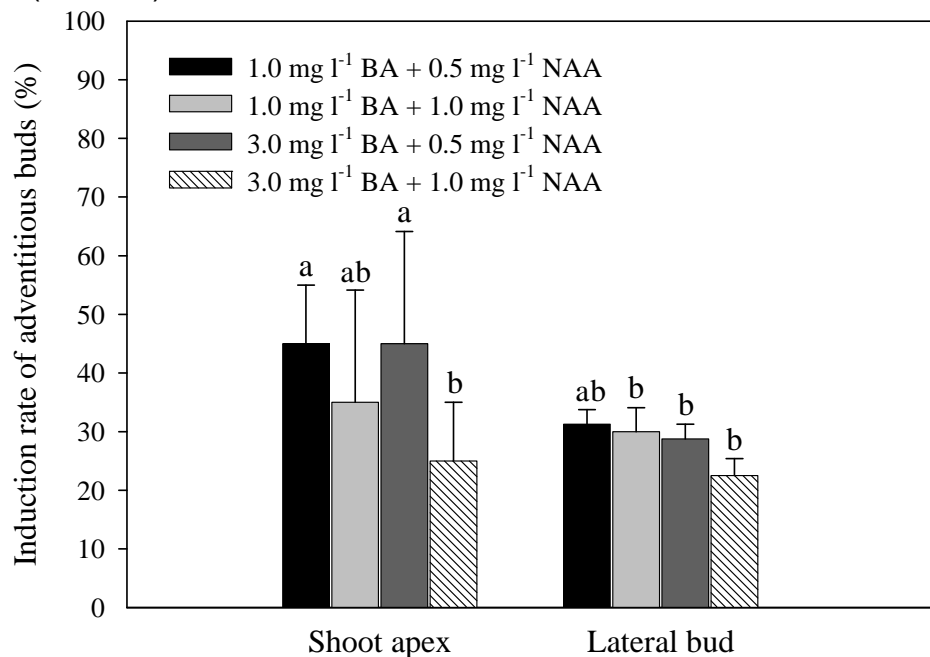


圖 2. 不同濃度之 BA 與 NAA 對觀賞鳳梨 *A. fulgens* var. *fulgens* 莖頂及側芽培植體直接不定芽誘導之影響

Fig. 2. Effect of different combinations of BA and NAA supplemented to 1/3MS basal medium on the induction of direct adventitious buds from shoot apices and lateral buds culture of *A. fulgens* var. *fulgens*.

Thorpe (1986)指出⁽²²⁾，含有莖頂或分生組織的培植體，較容易再生植株。而器官分化與培養基內的cytokinin及auxin間的含量比值有關，比值高時，可促進芽的分化與側芽的增殖^(4, 7, 9, 24)。本研究也發現，當BA濃度為 3.0 mg l^{-1} 時，誘導產生的芽體數較多，但較小；若BA濃度降為 1.0 mg l^{-1} 時，則誘導產生的芽體數較少，但芽體較大。這與Dalton和Dale (1985)認為⁽¹¹⁾，cytokinin在組織培養過程中，扮演著誘導不定芽分化及產生枝條的主要角色，當cytokinin的濃度增加時，不定芽再生的數量會隨之增加，但不定芽體則較小，而較低濃度的cytokinin誘導產生的不定芽數較少，但個別的芽體則較大之理論一致。

二、不同部位之側芽培植體對不定芽直接誘導之影響

植物體不同部位的培植體對荷爾蒙的感受性不同，甚至在不同發育時期的同一組織對荷爾蒙的反應亦有差異⁽²³⁾。本試驗以*A. fulgens* var. *fulgens*之最基部、中間部位及最上部位之側芽培植體進行直接不定芽誘導之比較。由表1的結果顯示，培養於相同組成之培養基，不定芽發生的趨勢類似，均以最基部側芽的不定芽直接發生率最高，分別為40.0%、27.5%及47.5%，誘導結果隨著cytokinin/auxin比值的增加而增加，而以 1.0 mg l^{-1} BA + 1.0 mg l^{-1} NAA的誘導效果最差。三種不同部位的側芽培植體，除了中間部位側芽培養於含有 1.0 mg l^{-1} BA + 1.0 mg l^{-1} NAA之培養基，表現出不同的誘導結果外，培植體的不定芽誘導能力隨著莖節位置的上升而有減弱的趨勢，推究其原因，或許與auxin的極性分布有關，舉凡生長較旺盛的部位都含有濃度較高的auxin⁽¹⁹⁾；另可能是因為側芽培植體的成熟度不同，而有不同的不定芽發生能力表現，在初始培養階段，培植體需具有適當的年齡，不可太過幼嫩或過於老化⁽¹⁾；另一原因為培植體的大小，最適宜的培植體應具有至少20,000-25,000個細胞⁽²²⁾，側芽所含的細胞數不能太少；而機械或化學藥劑傷害也可能是另一項因素，體積較小的培植體，較容易受器具或外力或殺菌藥劑之傷害⁽¹⁶⁾，而表現出較差的誘導效果。此外，文獻指出BA對促進腋芽與不定芽生長的效果常較kinetin或2-IP佳^(6, 21)，適當濃度的BA可誘導芽體增殖，但不適當濃度的BA，反而會導致幼芽發育不正常，植株矮小、腫脹⁽²⁰⁾，及降低增殖速率等⁽⁸⁾。也許，調整植物生長調節劑的濃度，或採用其他促進細胞分裂能力較強的cytokinin，如TDZ (thidiazuron)^(8, 15)，則可改變不定芽的誘導效果。

表 1. 觀賞鳳梨 *A. fulgens* var. *fulgens* 不同部位之側芽培植體對直接不定芽發生之影響(%)

Table 1. Percentage of direct adventitious bud induction from different positions of lateral bud explants culture of *A. fulgens* var. *fulgens*. Data were scored after 10 weeks culture.^z

Explant position	Tested media ^x		
	B ₁ N _{0.5}	B ₁ N ₁	B ₃ N _{0.5}
Upper	22.5b ^y	17.5b	22.5c
Middle	25.0b	15.0b	32.5b
Lower	40.0a	27.5a	47.5a

^zData shown are mean of four experiments; each experiment consisted of 10 replicates.

^y Means followed by the same letter within columns are not significantly different at $p < 0.05$.

^x Tested media, 1/3MS basal medium with different BA and NAA combinations (mg l^{-1}).

三、植株形成

獲得的不定芽，培養於大量鹽類濃度減半之MS培養基，可生長並形成組培苗(圖 1H)。組培苗經黃等人的馴化方法⁽¹⁴⁾，即可移植至試管外種植，組培苗之生育健康、整齊(圖 1I)。

參考文獻

1. 高景輝. 1987. 植物生長與分化. 國立編譯館. 臺北. pp.731.
2. 許哲夫. 2004. 乙烯抑制劑(Retain)對觀賞鳳梨開花之影響. 行政院農業委員會高雄區農業改良場 93 年報. 臺北. pp.79-80.
3. 張麗慧. 2003. 玉扇鳳梨(*Tillandsia cyanea*)及擎天屬栽培種(*Guzmania* cv. Cherry)觀賞鳳梨花器衍生癒合組織細胞懸浮培養及再生. 國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
4. Arteca, R. N. 1995. Plant growth substances. State University of Pennsylvania, USA, pp.68.
5. Baensch, U. 1994. Blooming bromeliads (text book). Tropic Beauty Publishers USA, pp.20-24.
6. Bennett, L. K. and F. T. Davies. 1986. In vitro propagation of *Quercus shumardii* seedlings. HortScience 21:1045-1047.
7. Bhojwani, S. S. and M. K. Razdan. 1983. Plant tissue culture: Theory and practice. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, The Netherlands, pp.502.
8. Chang, H. S., D. Chakrabarty, E. J. Hahn, and K. Y. Paek. 2003. Micropropagation of calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot tip proliferation. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 39:129-134.
9. Chawla, H. S. 2002. Introduction to plant biotechnology, 2nd edn. Science Publishers, Enfield, pp.3-56.
10. Chen, J. and M. Ziv. 2005. The effects of storage condition on starch metabolism and regeneration potentials of twin-scales and inflorescences stem explants of *Narcissus tazetta*. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 41:816-821.
11. Dalton, S. J. and P. J. Dale. 1985. The application of *in vitro* tiller induction in *Lolium multiflorum*. Euphytica 34:897-904.
12. Fitchet, M. 1990. Clonal propagation of Queen and Smooth Cayenne pineapple. Acta Hort. 275:261-266.
13. Hosoki, T. and T. Asahira. 1980. *In vitro* propagation of bromeliads in liquid culture [*Quesnelia quesneliana*, *Vriesea poelmannii*, *Aechmea fasciata*, *Guzmania* spp.]. HortScience 15:603-604.
14. Huang, P. L., L. J. Liao, C. C. Tsai, and Z. H. Liu. 2011.

- Micropropagation of bromeliad *Aechmea fasciata* via floral organ segments and effects of acclimatization on plantlet growth. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 105:73-78.
15. Khawar, K. M., C. Sancak, S. Uranbey, and S. Zcan. 2004. Effect of thidiazuron on shoot regeneration from different explants of lentil (*Lens culinaris* Medik.) via Organogenesis. *Turk. J. Bot.* 28:421-426.
 16. Lebowitz, R. J. 1995. *Plant biotechnology*. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, pp.1-9.
 17. Mekers, O. and J.G. van Onsem. 1983. *In vitro* propagation *Viresea* cultivars in comparison with other ornamental Bromeliaceae. *Acta Hort.* 131:125-130.
 18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
 19. Murphy, A. 2006. Auxin, In: Taiz, L. and E. Zeiger (Eds.), *Plant physiology*, 4th edn. Sinauer, Sunderland, pp.467-507.
 20. Nieuwkerk, J. P., R. H. Zimmerman and I. Fordham. 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. *HortScience* 21:516-518.
 21. Stafer, R. E. and C. W. Heuser. 1986. Rapid multiplication of *Heuchera sanguinea* Engelm. "Rosamundi" propagated *in vitro*. *HortScience* 21:1043-1044.
 22. Thorpe, T. A. 1986. *Plant tissue culture*. Academic Press, Inc. New York, pp.45-46.
 23. Trewavas, A. J. 1982. Growth substance sensitivity: the limiting factor in plant development. *Physiol. Plant.* 55:60-72.
 24. Van Staden, J., E. Zazimalova, and E. F. George. 2008. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. In: George, E. F., M. A. Hall, and G. J. De Klerk (Eds.), *Plant propagation by tissue culture* 3rd edition. Volume 1. The background. Springer, New York, pp.205-226.
 25. Williams, B. E. and I. Hodgson. 1990. *Growing bromeliads*. Christopher Helm, London.
 26. Zimmer, K. and W. Pieper. 1976. Methods and problems of clonal propagation of bromeliads *in vitro*. *Acta Hort.* 64:25-30.