

小花蕙蘭利用無菌播種 建立種苗繁殖技術簡介

一、前言

小花蕙蘭(俗稱國蘭)為蘭科(Orchidaceae)、蕙蘭屬(*Cybidium* spp.)多年生草本植物,除了具有植株姿態優雅與花朵淡雅幽香外,其花藝及葉藝的表現也極具觀賞價值,為一種集觀葉、賞花及聞香於一身之觀賞植物。早期台灣栽培之國蘭以山採品居多,歷經工商業高度發展及長年採集後,目前在原生地已不易發現野生蘭株的蹤跡。台灣栽培小花蕙蘭技術純熟且品質優良,深受國外市場喜愛,每年外銷金額約3億元新台幣,主要以平價蘭銷往韓國、日本、新加坡及香港等地。小花蕙蘭慣行繁殖方式為分株法,在適宜環境與栽培管理下,報歲蘭與四季蘭每年分別約可產生2~3株新芽,繁殖倍率極低;近年來國蘭產能雖然快速擴充,但是能夠達到外銷標準之產品率並不高,貨源無法滿足外銷市場之需求。因此,建立一個可供應生長整齊、生理一致與栽培管理方便的優

農試所生技組 陳威臣 夏奇鈺 曹進義

質種苗給農民種植,使國蘭商品品質可達到外銷標準,且數量亦可滿足市場需求,是產業急需的目標。

蘭科植物之組培繁殖種苗技術可採用兩種方式,其一係利用種子(實為未熟胚, *immature embryo*)進行無菌播種產生實生苗,另一為利用蘭株之營養組織或器官進行分生苗繁殖方式。其中實生苗是經過雌、雄配子受精作用形成種子發育而來,其個體經過有性生殖的基因重組,因此每一個體之性狀均不同;分生苗則是經由無性繁殖而來,其個體間具有完全相同的基因組合與外觀特性,可獲得與優良母本表現完全一致的種苗。一般而言,實生與分生繁殖方式在應用上有所不同,未熟胚無菌播種實生繁殖可應用於育成不同特性的新種,篩選花期、花形或花色具有特殊性的優良新種;然而利用組培分生苗繁殖技術則以量產性狀一致之優質種苗為其目標。

農業試驗所經過多年研究,已建立小花蕙蘭實生苗繁殖之組培方法,過程包括未熟胚培養、無菌根莖(*rhizome*, 俗稱龍根)生長與繁殖及利用根莖產生芽體以達繁殖目的,並研發提昇馴化存活率

作者:陳威臣助理研究員
連絡電話:04-23317326

與縮短馴化時程之技術。本文以玉華四季蘭 (*Cybidium ensifolium* var. Uie Hwa) (圖一) 為例, 介紹其無菌播種實生繁殖種苗體系, 提供國蘭產業在利用組織培養繁殖小花蕙蘭種苗時之參考應用。

二、小花蕙蘭組織培養繁殖種苗技術

小花蕙蘭之未熟胚無菌播種發芽後首先形成根莖, 再以根莖形成芽體的途徑達成種苗繁殖需求, 芽體 (葉芽) 經小苗養成與發根等階段培養, 成為可出瓶種植的小植株。小花蕙蘭組培技術已有許多相關學者開發, 惟其根莖芽體之分化率與出瓶移植存活率偏低, 此外組培

苗培育時程過長, 這些均是小花蕙蘭組織培養種苗繁殖體系能否成功的關鍵所在。綜合來看, 玉華四季蘭之無菌播種繁殖種苗流程包括: 1. 無菌播種; 2. 根莖誘導、生長與增殖; 3. 芽體誘導; 4. 小苗生長; 5. 小苗發根、出瓶與馴化等作業, 茲簡述如下。

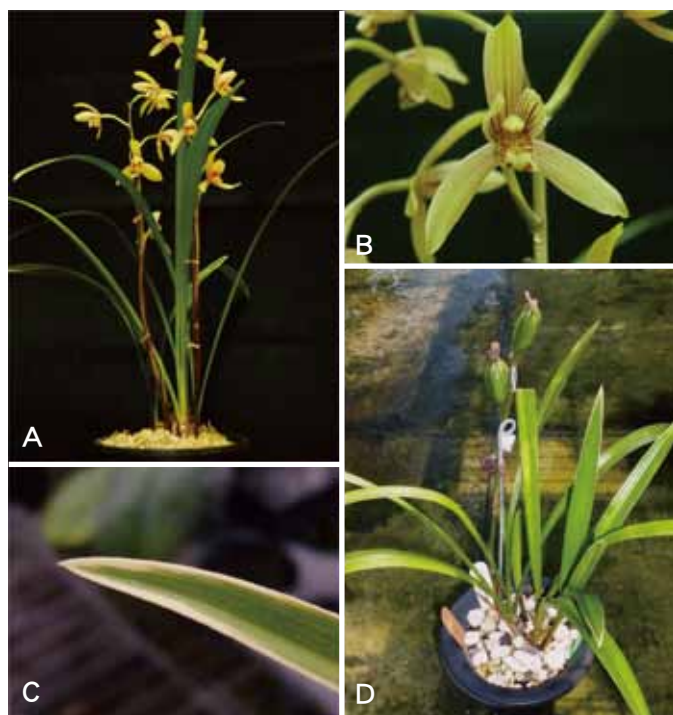
1. 無菌播種與根莖培植體建立

利用授粉後約5~6個月後之未開裂果莢進行未熟胚無菌播種; 果莢先以清水充分洗淨後, 再以70%酒精棉擦拭果莢表面, 之後將果莢以0.5%次氯酸鈉 (sodium hypochlorite) 溶液充分搖盪15分鐘進行除菌, 於無菌操作台以無菌水沖洗後即可播種。果莢以解剖刀剖開後將種子均勻撒播於發芽培養基, 未熟胚經過2~3個月

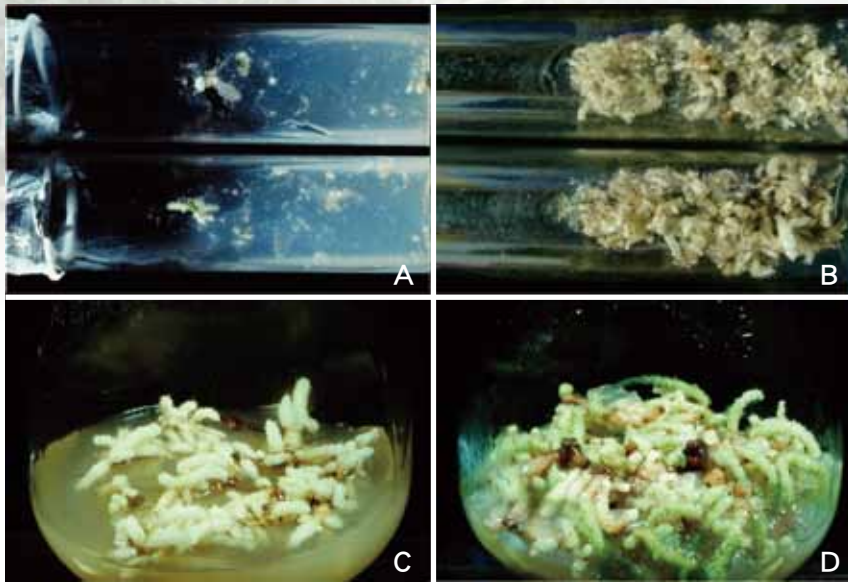
培養後可形成無菌根莖 (圖二A); 再經3~4個月培養, 可獲得大量無菌根莖 (圖二B); 將根莖繼代於根莖生長培養基中培養, 待根莖直徑達2~3 mm後再進行後續試驗。

2. 根莖的生長及增殖

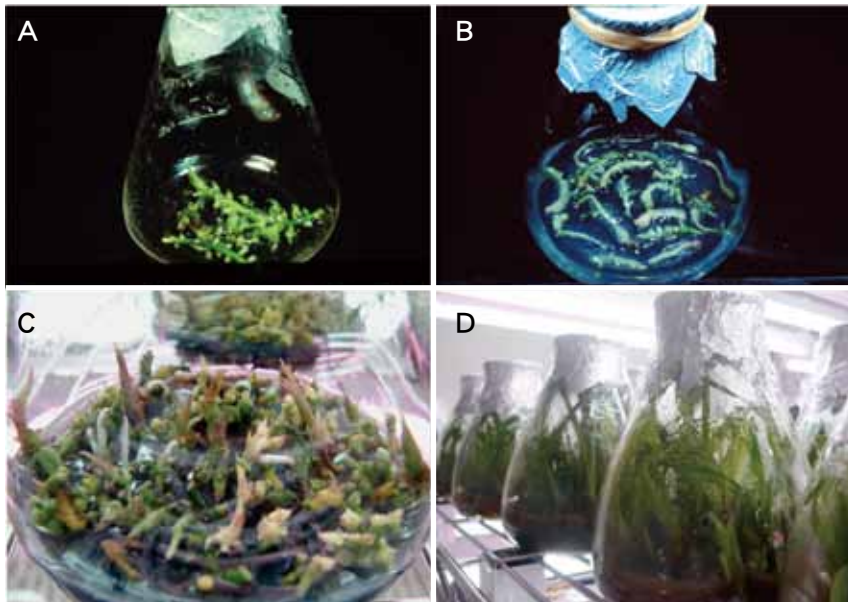
取長約1.5~2 cm根莖培養於含有適量NAA及peptone組合的 $\frac{1}{2}$ MS固態培養基, 於 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 之恆溫、黑暗環境下培養, 可獲得大量生長良好之根莖 (圖二C); 當繁殖到足夠數量後, 可將根莖移至光照條件下培養, 則白色根莖會轉變成更為健壯的綠色根莖 (圖二D)。



圖一、玉華四季蘭之植株特性與果莢。A. 植株的立葉姿型態與開花情形; B. 綠黃底帶紅線的花; C. 葉尾帶乳白爪的葉藝; D. 授粉達6個月的果莢生長情形。



圖二、玉華四季蘭未熟胚播種所得無菌根莖與其增殖的情形。A. 未熟胚播種後經2-3個月培養後形成無菌根莖；B. 未熟胚播種6-8個月後可獲得大量根莖；C. 根莖於適當培養基中培養可獲得生長良好之根莖；D. 將暗培養下獲得之白色根莖培養移至光照下培養，則白色根莖可轉變成為綠色根莖。



圖三、玉華四季蘭未熟胚播種所得之根莖芽體誘導、芽體生長與小苗增殖的情形。A. 根莖於液態培養基中培養，具有較佳的芽體誘導效果。B. 根莖於固態培養基中培養，芽體誘導之情形。C. 將誘導所得芽體培養於適當培養基中，大量芽體生長之情形。D. 小苗培養於適當培養基中發育長大，並且形成芽長芽增殖之情形。

3. 芽體誘導

將直徑約2~3 mm、長約1.5~2 cm之粗壯根莖，培養於含有適量BA、NAA與椰子汁組合之 $\frac{1}{2}$ MS花寶固態或液態培養基，於 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 之恆溫、光照（固態培養約2000 Lux；液態培養約600 Lux）環境下培養。

結果顯示，液態培養（圖三A）較固態培養（圖三B）有較佳的芽體誘導效果，平均每段根莖可得到4~6個芽體，而固態培養僅得3~4個芽體，且液態培養所得芽體亦較為粗壯。

4. 小苗生長與增殖

將已形成芽體（約3~5 mm）之根莖培植體繼代於含有適量BA、NAA與香蕉泥組合之 $\frac{1}{2}$ MS

花寶固態培養基中培養，則誘導之芽體可持續生長發育成小苗(圖三C)。後續取苗長約2~3 cm小苗繼代培養於修飾後含適量BA、NAA與香蕉泥組合之 $\frac{1}{2}$ MS花寶固態培養基中培養，可促使小苗生長，並且在小苗基部再萌發新的小芽體，形成芽長芽的種苗繁殖模式(圖三D)。

5. 小苗發根與馴化

取長約4~5 cm小苗繼代於含適量BA、NAA與香蕉泥組合之花寶固態培養基中，培養4~5個月後可長成約7~10 cm健壯小苗，並且約有70%之小苗皆能長出4~6條長約3 cm的健壯根系(圖四A)，將已發根之玉華四季蘭瓶苗進行馴化處理，將瓶苗移至遮陰之網室內，將瓶塞

開啟但不要移除，增加其透氣性，並且逐漸適應網室內之溫度與濕度條件。

馴化2-3週之瓶苗開瓶取出後，利用自來水洗淨根部附著之培養基，稍微陰乾後以濕潤水苔包裹根部種植於塑膠軟盆(直徑9 cm)，在防雨遮陰之網室環境中進行馴化，初期應注意保濕以避免組培幼苗枯死，栽培約4~6個月後需更換至以蛭石、珍珠石、唐山石、碎石、蛇木屑、泥炭土適當比例混合之介質中栽培，之後可依一般國蘭之栽培管理方式進行，栽培一年後可長成高約20-25 cm的健壯蘭株(圖四B)。

三、組織培養無葉藝綠苗之栽培、開花與病毒檢測



圖四、玉華四季蘭未熟胚播種所得之發根小苗、生長、換盆及開花的情形。A. 小苗培養於適當培養基中，組培苗具有健壯根系之情形。B. 組培苗於防雨遮陰網室環境中栽培18個月後，長大之蘭株的生長情形。C. 於適當時期更換植材，並除去老化之植株與死亡的根部殘體後，可得到健壯之植株。D. 玉華四季蘭無菌播種之組培苗栽培達三年後，蘭株開花之情形。

組培苗在培養初期可利用稀釋1,000倍之花寶5號肥料噴施，促進幼小蘭苗的生長，待6個月更換至混合介質後，可利用長效性肥料如好康多或便利肥適量、適時施用，栽培期間並適時進行植材更換，並且除去老化植株與死亡根部殘體，後續培養時可有利於新葉芽之增殖與生長(圖四C)。

經由玉華四季蘭無菌播種所得之種苗，每次更新介質時估算之植株存活率可達約90%，育成率相當高；該批經由無菌播種所得之無葉藝綠苗(俗稱黑木)，在經過約3年的栽培後即可開花，然而此時植株之株型較小且花莖亦較短，每枝花梗約可開出4~5朵花(圖四D)。比較該批無葉藝綠苗所開之花，其花形、花色等性狀與其母本玉華四季蘭無異，惟花期較一般玉華四季蘭之花期為早，是否因環境條件與栽培管理之差異所導致，則有待進一步證實。另將組培苗進行病毒檢測之結果顯示，該批由播種而來之組培苗皆無檢出病毒反應，符合一般認為病毒不會經由種子傳播的觀點，因此無菌播種而來的組培苗可做為健康種苗的來源。

四、組織培養苗栽培時所出現之異常植株

該批無菌播種組培苗在組織培養過程中，出現有高度葉藝表現(俗稱高藝)的小苗，將其分離培養後可保存此特殊葉藝之表現，這些中透葉藝植株在培養過程中小苗與根系均能生長良好(圖五A)；然而這些小苗在出瓶馴化時常見新

芽長出後老芽即枯死，到最後則整株死亡，雖已出瓶數百苗但皆未能存活(圖五B)；推測這些高藝相的異常植株有可能是因為葉片中葉綠素含量稀少，降低其光合作用效率與減少營養物質之累積，導致植株存活不易。

此外，該批無葉藝綠苗在栽培換盆過程中，出現少數具有特殊葉藝表現的植株，其葉藝與玉華四季蘭之乳白爪葉藝不同，觀察其分株子代也可表現此特殊性狀，但其數量極為稀少，若以約3,000株的總出瓶苗數來估算的話，這些異常植株僅有0.1%，此2~3株表現之特殊葉藝分別為白覆輪葉藝(圖五C)與黃中縞葉藝(圖五D)；此外，在此批植株開花時也有出現素色花的異常植株(圖五E)，且此異常植株葉姿多呈現45度角(圖五F)，有別於玉華四季蘭60度角之葉姿，但是否具商業生產價值，則尚待進一步評估。

五、結語

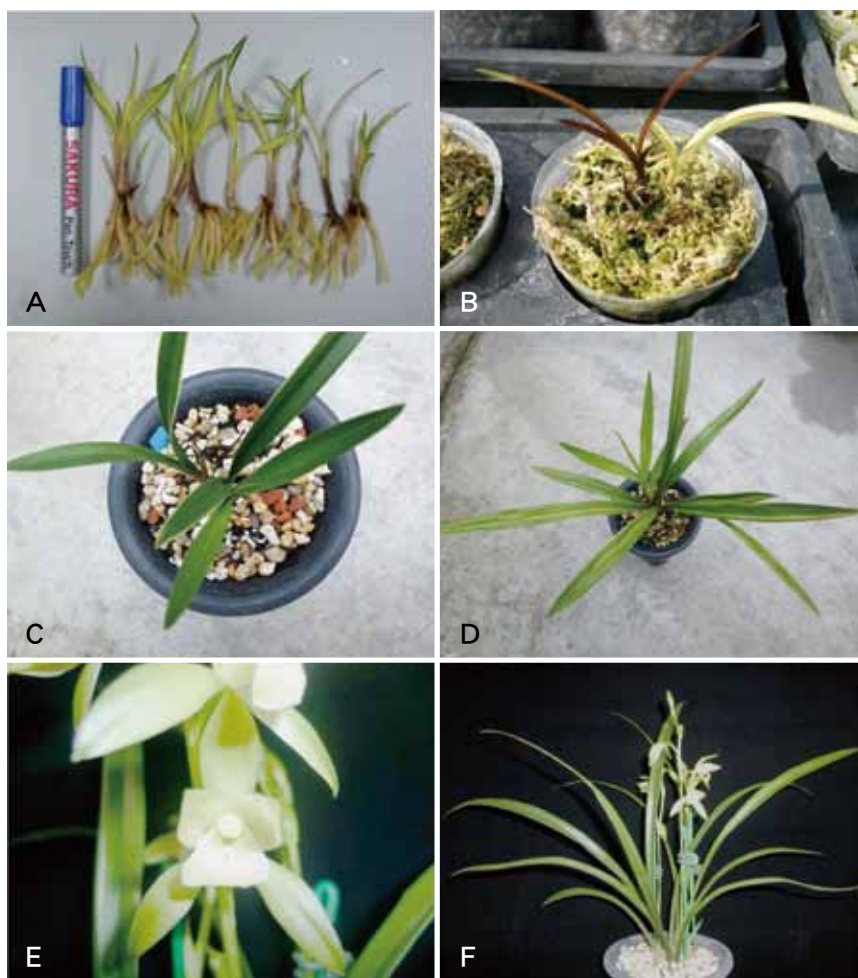
小花蕙蘭傳統上採用分株法進行量化繁殖，一般每年僅能增殖1~2株，最高也只達到2~3株，繁殖倍率很低。因此，利用組織培養技術進行小花蕙蘭種苗快速繁殖方法的建立對產業有其必要性。小花蕙蘭的組織培養向來是以根莖形成芽體的途徑達成量產目的，而根莖來源主要是由未熟胚無菌播種所產生。由於未熟胚無菌播種所得植株會有遺傳性狀不一致的結果，但可藉以在眾多個體中篩選適合栽培環境的族群，也可在其中篩選異常花期或特殊性狀的植株，此時

若能夠配合貿易商與蘭農觀點，選擇適合於商業化栽培之特殊品種，並採用捲揚防雨設施栽培，將可使小花蕙蘭之種苗與產品符合商業需求，藉以提昇臺灣小花蕙蘭產業的競爭力。

本文介紹利用玉華四季蘭之未熟胚播種方式建立其組培苗繁殖體系，組培苗在遮陰防雨網室經過約3年栽培後開花，其花形、花色與玉華四季

蘭無異。玉華四季蘭未熟胚播種所得組培苗，絕大部分為葉色全綠無葉藝之植株，然而有極少數出現白中透葉藝、黃中縞葉藝或白覆輪葉藝蘭株，或是全綠葉植株開出素色花的異常植株，有別於玉華四季蘭之葉尾鑲乳白爪藝，以及綠黃花帶紅線的親本品種特性。其中白中透葉藝品系不僅栽培困難且容易死亡，對於產業而言並無助益，但是黃中縞葉

藝、白覆輪葉藝及素色花植株則與一般國蘭生長狀況無異，惟其數量稀少且部分尚未開花，是否能夠從中選拔出符合外銷產業需求的栽培品種，則有待進一步觀察評估。本文所建立之玉華四季蘭實生苗繁殖體系，其相關結果應可做為小花蕙蘭其他品種實生苗繁殖時的參考應用，並且期望能夠對小花蕙蘭的產業發展有所幫助。



圖五、玉華四季蘭未熟胚播種所得之發根小苗、生長、換盆及開花的情形。A. 經分離培養後大量繁殖之特殊葉藝表現的品系。B. 高度中透葉藝表現的植株在栽培過程中植株陸續死亡之情形。C. 白覆輪葉藝表現的異常株。D. 黃中縞葉藝表現的異常株。E. 素色花異常株品系之花色表現情形。F. 素色花異常株品系所表現的45度角葉姿之情形。