

蘭花組織培養的進展

陳福旗

國立屏東科技大學農園系、熱帶農業暨國際合作研究所

摘要

蘭花為台灣重要切花與盆花，尤其以蝴蝶蘭、文心蘭、及拖鞋蘭為最具潛力之種類。目前產業界已經能自行利用無菌播種生產實生苗，及利用生長點或花梗節腋芽培養來大量生產組織培養苗，甚至亦有利用生長點或試管苗葉片誘導擬原球體 (PLBs) 而增殖的例子。由文獻探討組織培養所使用培養基配方，主要係使用改良 MS 或花寶為基本鹽類，並添加不同量的 BA 及 NAA；近年亦有使用棉花落葉劑 thidiazuron 進行增殖的報告，其具有極強的細胞分裂素活性，然而是否會引起組培苗變異仍有待探討。由於品種間的差異相當大，組織培養量產效率就不同，因此產業界均自行研發認為具有實用性的配方。本文概括性地探討培養基、生長調節劑、糖類、及其他因子對蝴蝶蘭及文心蘭再生之影響。

一、前言

臺灣南部為蝴蝶蘭的原生地之一，其他原生地分佈於菲律賓群島、澳洲、新幾內亞、印尼、馬來西亞、泰國、越南、中國雲南、四川、海南島等區域，全球約有 50 個原生種。過去二十多年以來，由於民間趣味者的栽培及育種，加上水牆溫室及新栽培技術的引進，使臺灣地區的蝴蝶蘭生產形成一個產業，其產值約為每年 30-40 億元 (李、2002)。主要市場在日本、美國、中國大陸、歐洲等國家。蝴蝶蘭之品種種類相當多，主要由蝴蝶蘭屬 (*Phalaenopsis*)、及該屬與朵麗蘭屬 (*Doritis*) 雜交之屬間雜種 (*Doritaenopsis*)。目前蝴蝶蘭盆花在荷蘭及美國盆花市場均已躍居領先地位，荷蘭之蝴蝶蘭公司更積極投入組織培養量產及品種選育；而我國在過去由公家機構或大學進行之蝴蝶蘭相關研究，著重於開花調節 (李、1986) 及栽培管理技術，組織培養或無菌播種及幼苗生長雖已有研究報告發表 (涂、李，1987；王、李，1991；Hinnen et al., 1989；Ichihashi, 1997；Tanaka, 1992；Tsai et al., 1992)，對於擬新投入蝴蝶蘭之業者，仍需重新摸索技術，且即使產業界早已經能夠進行量產瓶苗，其組培關鍵技術均被視為產業機密，且組織培養過程待解決的問題仍然不少，例如如何降低組織培養變異、提高增殖倍率、提高產品品質及生產效率等，均有待進一步建立作業程序開發相關技術，以便產業界能參考使用。

文心蘭雜交種係由文心蘭屬 (*Oncidium*)、齒舌蘭屬 (*Odontoglossum*)、堇花蘭屬 (*Miltonia*) 及其他可相互人為雜交的屬間雜交種所組成。商業用途為供切花及盆花生產。在花卉市場中販售的蘭科植物中，係一種重要的盆花，尤其是歐美市場消費盆花中價格不錯且銷量不少的種類。

由於蘭花的種類極多，其組織培養技術及各種配方差異極大，本文僅就蝴蝶蘭及文心蘭進行討論。其他蘭屬的組織培養，可參考 Arditti & Ernest (1993)、富山昌克 (2000)等之著作。

二、蝴蝶蘭組織培養

蝴蝶蘭種苗生產主要使用兩種途徑，其一為經雜交授粉果莢成熟時，利用無菌播種，生產實生苗 (李, 1990)；另一途徑為利用花梗上未著生花苞的節位，或頂端分生組織，或利用幼嫩花梗節間，進行培養及增殖 (朱, 1988; Tanaka, 1992)，增殖方式包括誘導擬原球體 (protocorm-like bodies, PLBs)(Ishii et al., 1998; Lin, 1986)、以及以芽體增殖方式進行繁殖。以硝酸銀浸漬花梗節或添加於培養基中，可降低蝴蝶蘭花梗培養時的褐化，並可提高組織培養效率 (王、李, 1991)。Young 等人 (2000) 利用生物反應器來增殖 PLBs，其增殖倍率雖高，並未提到其穩定性。Yamazaki 等人 (1997) 研究 11 個蝴蝶蘭及朵麗蝶蘭品種之花梗及其莖頂培養，在 New Dogashima 培養基中產生芽體或 PLBs 的能力因品種而異。由以往組織培養報告中可以看出，大多數的文獻均使用細胞分裂素 BA 及生長素 NAA，所培養出的植株，有的報告說沒有觀察到變異 (Tokuhara. & Mii, 1993)，有的則會產生變異 (Chen et al., 1998; Tokuhara & Mii, 1998)，且變異率介於 0% 到 100% (Tokuhara & Mii, 1998)。此外若於培養基中添加 2,4-D，可能會造成組織培養苗倍數體的變異 (Mishiba et al., 2001)；因此有必要重新檢討評估蝴蝶蘭組織培養增殖體系、培養基類型及生長調節劑種類對於芽體增殖之效果，及其潛在之變異性，以便產業界可以在進行組織培養時，做為選擇培養基之參考。

1、基本培養基

Murashige & Skoog (1962) 為最常被使用的基本培養基，然而在蝴蝶蘭組織培養上，若使用全量，生長之芽體或葉片或 PLBs 似乎較易褐化死亡 (謝 等, 1993; Park et al., 1996)。降低大量元素至半量或 1/4 量對於芽體增殖或 PLBs 增殖比用全量有效 (王、李, 1991; Kobayashi & Yonai, 1990;)。其他被使用的培養基有 Knudson、Vacin & Went、Thomale GD、花寶培養基、及 New Dogashima (NDM)、NP (Islam et al., 1998) 培養基等(表一)。

蝴蝶蘭之無菌播種最常用的培養基為以花寶一號為基礎的培養基(表三)、同時該培養基亦適用於文心蘭及石斛蘭、嘉德利亞蘭、樹蘭等之無菌播種。在蝴蝶蘭中、雜交種之無菌播種可以使用表三的配方，對於種子發芽形成原球體及其後小苗隻發育可在同一種培養基中培養；然而若是原生種的種子，在培養基中最好不添加活性碳及香蕉，否則像 *Phal. amabilis* 及 *Phal. aphrodite* 等原種之種子行成原球體後很容易白化或黃化死亡。

2、生長調節劑

由表二可看出，在蝴蝶蘭花梗培養基中最常添加的生長調節劑為 BA 及 NAA，BA 之添加量介於 1~20 mg/l，而 NAA 之添加量則介於 0.05~5 mg/l。這些研究報告或報導所使用的生長調節劑組合，多指出可以誘導產生 PLBs，但是品

種間的差異極大，當培養花梗芽葉片時，有的品種容易誘導，有的品種則較困難。近年有一些報告指出添加 thidiazuron (TDZ) 可以促進芽體增殖及有效誘導 PLBs 的形成 (Chen et al., 2000; Ernst, 1994)。TDZ 與其他生長調節劑的組合亦可促進 PLBs 產生，在此培養基中蔗糖濃度會影響再生的比率 (許家嘉、陳福旗，投稿中)。

3、糖類與植株再生

培養基內最常使用的糖類為蔗糖，它是培養材料能量的來源，其他糖類較少使用。糖類可能會影響癒合組織分化為 PLBs，在含蔗糖的 NP 培養基，PLBs 較少分化微小植株，在含麥芽糖的培養基，PLBs 會再增殖為 PLBs，而在含山梨醇 (sorbitol) 的培養基，大部分的 PLBs 會發育成小植株 (Islam et al., 1998), Zhou (1999) 在美國專利公報中也指出山梨醇有促進根尖培養分化的作用。因此碳源的不同，會影響植株的分化。

4、其他成份之影響

蝴蝶蘭花梗節培養時，容易分泌酚類化合物於培養基中，氧化使培養基變成黑色，對於芽體的後續生長不利。通常在培養基內會添加一些化學藥劑，以降低酚類物質引起之不良影響，此類化合物或添加物包括活性炭、PVP、椰子水、維生素 C、硝酸銀等。

由於蝴蝶蘭大都培養在玻璃三角瓶，且使用橡皮塞，因此培養過程中，有的品種容易組織變透明化或水浸狀，可能與該品種之遺傳特性、培養基組成份、瓶內氣體組成等有關。為了減低水浸狀情形對植物生長發育所引起之不良影響，除改善培養瓶透氣性外，可嘗試添加 phloroglucinol。此化合物亦有助植物之發根 (廖 等, 1992; Chang & Peng, 1996)。低濃度的 phloridzin、naringenin、或 esculin hydrate 也可以防止水浸狀的發生 (George, 1996)。另外亦有添加檸檬酸的例子 (朱 1988; 王、李, 1991, 1992)。

培養基裡通常也會添加 1~2 g/l 的 tryptone 或 peptone，這一類成分可以提供氨基酸的來源，使用 2 g/l 的 tryptone 可以促進朵麗蝶蘭 PLB 的增殖 (Amaki & Higuchi, 1989)。

5、培養環境

通常花梗節培養於 25°C 的人工照光培養室，*Phal. amabilis* 的雜交種在 20~25°C 除了形成營養芽之外，也會產生二次花梗。若培養在 28°C，則所有供試花梗節均形成營養芽 (Tanaka, 1992)。光線的強弱會影響花梗芽的生長，以在弱光 (170 lux) 產生營養芽的百分率較高，完全在黑暗培養則芽體容易休眠 (Tanaka, 1992)，但若在照光下先令其芽體長出，再移到黑暗，則會形成白化苗，其葉片可作為誘導 PLBs 的材料。

6. 擬原球體之切割與增殖

若將擬原球體頂端切下培養，通常會形成小植株，如果培養 PLB 的基部，則在切口會產生多數 PLBs (Amaki & Higuchi, 1989)。

三、文心蘭組織培養

有關文心蘭的組織培養已經在種苗場舉辦過的組織培養訓練班中討論過，將由花協另外出版專輯，以下節錄其中的大部分內容及配方。

1、無菌播種

文心蘭雜交種間的雜交通常不易產生具有稔性的種子，由譜系資料可以看出，許多雜交種的親本多為一個雜交種及一個原種，因此進行雜交時，必需依據雜交目的進行親本間的組合授粉。果莢成熟度因種原之不同而有很大差異，有的原種可能 3.5 個月即成熟，有的可能超過五個月才能採收，雖然未熟莢亦可修改培養基成份，幫助發芽，然而其發芽率不高。

文心蘭無菌播種所需之培養基相當單純，以蝴蝶蘭或石斛蘭播種用之培養基即可應用於大部份之種原。表三花寶一號為主之無菌播種培養基配方，使用前可依需要做小幅度修正。

播種方式可分為裂莢播種或乾種子播種及未裂莢播種兩類，後者為成熟度已經足夠，但果莢尚未裂開，在無菌操作台內，可以浸泡於 95% 酒精，以鑷子挾起很快過火，通常烤三次即可達無菌狀態，再切開果莢取種子播種。裂莢播種雖然較麻煩，但是較不易把病毒帶入實生苗。收集成熟果莢之種子粉末，置入小玻璃瓶，加一小撮棉花，並添加稀釋十倍之漂白水，將蓋子蓋緊，以手往返搖勻瓶內種子及棉花，以超音波震盪器震一分鐘 (如無此項設備，亦可手搖代替)，消毒 10 分鐘後，以無菌玻璃吸管壓住棉花，將漂白水吸掉，再以無菌水洗三次及同樣方法吸掉，最後添加無菌水，以細鑷子取出棉花，置於培養基上，吸取種子懸浮液於同一瓶培養基，亦可分置於多瓶培養基，如此即完成無菌播種作業。

2、莖頂培養

由成熟假球莖基部會長出新芽，再形成新的假球莖，在新芽階段，可以用乾淨刀片將芽體切下，小心剝除葉片，露出葉腋基部芽體，經由漂白水(稀釋十倍，添加 2-4 滴展著劑) 消毒 10 分鐘，以無菌水洗三次，於無菌操作台上切取生長點，放置於含 0.4-1 mg/l BA 及 0.1 mg/l NAA 之 MS 培養基，在照光環境、25 °C 培養，約一至二個月後，可看到芽體或擬原球體長出，在用同樣培養基繼代培養，即可增殖。通常為了避免或減少污染率，在繼代培養時，可用含 10-20% 椰子水的 MS 培養基震盪培養。在液體培養基中最初須較長時間才會看到顯著的增殖情形，約兩個月後，可每隔三星期稀釋繼代培養。無論是用固體或液體培養基增殖，當數量夠多時，應回到固體培養基，使其原球體分化為芽體及小植株，

此時可移到子瓶培養基定瓶。

腋芽莖頂亦可培養於含 150 ml/l 椰子之改良 VW 培養基 (Arditti & Ernest, 1993)。

3、花梗節、花苞培養

幼嫩花序的花苞及花梗節均可經過適當培養基之誘導而產生擬原球體(PLB)或不定芽。Santana 及 Chaparro (1999) 將 *Oncidium Gower Ramsey* 的未熟花苞以 Knudson C 培養基添加 NAA、鳳梨汁、香蕉泥及蔗糖等、經二個月培養可誘導產生 PLBs (表四)，MS 培養基添加 5 mg/l BA 及 0.5 mg/l NAA 增殖，當賀爾蒙量提高時，易產生不正常 PLBs。

文心蘭花梗節培養的技術類似蝴蝶蘭的花梗節培養，但所須賀爾蒙濃度較低，否則可能促使擬原球體過度增生，導至變異。選取健康開花株之幼嫩花梗，去掉節上的苞葉，以漂白水消毒，方法同莖頂培養，使用之培養基也相同，約經一至二個月，長出芽體，將芽體自花梗節上切下，繼代培養於含 0.4 mg/l BA 及 0.1 mg/l NAA 之培養基 (陳、陳，1998)，經一個月左右，會分化長出 PLBs，此時可用相同培養基來繼續增殖，或採用如莖頂之培養方法。Lim-Ho 與 Lee (1987) 用 VW 培養基為基礎，添加 0.5 mg/l NAA、0.5 mg/l 2,4-D 及 2 mg/l BA，可誘導產生 PLBs，若將花梗節培養於只含 2,4-D 或 2,4-D 與 BA 之培養基，則不易逆分化形成 PLBs。由花梗節誘導產生之芽體或 PLBs，將來分化形成之植株，其開花特性與由新芽生長點切取培養所產生之小植株相同，因此只要不過度增殖，即可保持母株之特性。

原種之花梗尖端經適當培養可誘導形成癒合組織或 PLBs，Fast 將 *Onc. papilio* 之花梗尖端培養於含 0.5 mg/l NAA、0.05 mg/l kinetin、1 g/l peptone 及 50-100 g/l 之番茄或香蕉汁之 MS 培養基，可誘導產生 PLBs。

4、體胚誘導與再生

試管苗之葉片若培養於含低濃度之 thidiazuron (TDZ) 或 TDZ 與 2,4-D 之 MS 培養基 (大量元素為半量)，則可誘導產生 PLBs，經解剖學切片，證實為體胚的構造 (Chen et al., 1999)，體胚通常由切口或葉片尖端發生，將體胚繼代培養於不含賀爾蒙之培養基或含 0.3 mg/l TDZ，可以部份分化產生芽體，含 TDZ 培養基亦可用於增殖。將芽體置於含 0.5 mg/l NAA 之 MS 培養基，可誘導發根 (Chen et al., 1999)。

若將 *Onc. Sweet Sugar* 幼嫩花梗節間組織培養於含 0.1-3.0 mg/l TDZ，可於 20-30 天誘導產生體胚 (Chen & Chang, 2000)，與上述之試驗結果類似。

由其他作物組培的報告及筆者的經驗，TDZ 的濃度若使用不當，雖然可以誘導發生大量芽球體或體胚，可能亦會導致變異發生，因此在進行未做過品種時，應有適當的處理做為對照，最好將組培苗養到開花階段，評估其是否產生變異，在無變異或其比率低之培養條件，才可以放大量產，以免品質低略。

參考文獻

1. 陳福旗、陳采晴。1998。無機鹽類濃度及有機添加物對文心蘭擬原球體及組培苗生長之影響。中國園藝 44(4):403-412。
2. 朱欽昌。1988。蝴蝶蘭的播種與組織培養。洋蘭雜誌社，嘉義。
3. 謝瑞旻、陳文輝、蔡媚婷、吳俊謙、邱明森、傅仰明。蝴蝶蘭的無性繁殖。1993。植物組織及細胞培養研討會。p63。台灣省農業試驗所。
4. 李晔。1990。蘭之胚培養。中國園藝 36:223-244。
5. 李雪莉。2002。農業新危機：台灣品種，海外盜版。天下雜誌 250:168-169。
6. 廖萬正、王芳美、楊耀祥。1992。橫山梨及烏離莖頂組織培養之研究。台中區農改場研究彙報 34：1-9。
7. 魯雪華、郭文杰。2000。用花梗節間段繁殖蝴蝶蘭的初步研究。福建省農業科學院生物技術中心年報。<http://www.dagri.com>
8. 王珍韶、李晔。1991。硝酸銀對蝴蝶蘭培植體增殖之影響。中國園藝 37:35-41。
9. 王珍韶、李晔。1992。蝴蝶蘭的組織培養。刊於：園藝作物組織培養實用技術。豐年社，台北。
10. 富山昌克。2000。ラン科植物のクローン増殖。Tombow 出版。日本 大阪。366pp。
11. Amaki, W. & H. Higuchi. 1989. Effects of dividing on the growth and organogenesis of protocorm-like bodies in *Doritaenopsis*. *Sci. Hort.* 39:63-72.
12. Arditti, J. & R. Ernest. 1993. *Micropropagation of Orchids*. John Wiley & Sons, New York, 682pp.
13. Chang, D. C.N. & K.H. Peng. 1996. Phloroglucinol and tryptone enhance in vitro rooting and survival rate of *Asparagus* nodal sections. *Acta Hort.* 415:
14. Chen, J. T. & W. C. Chang. 2000. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus cultures of *Oncidium* (Orchidaceae). *Plant Sci.* 160:87-93.
15. Chen, J. T. & W. C. Chang. 2002. Effects of tissue culture conditions and explant characteristics on direct somatic embryogenesis in *Oncidium* Gower Ramsey. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 69:41-44.
16. Chen, J. T., C. Chang & W. C. Chang. 1999. Direct somatic embryogenesis on leaf explants of *Oncidium* Gower Ramsey and subsequent plant regeneration. *Plant Cell Rep.* 19:143-149.
17. Chen, Y. C., C. Chang & W. C. Chang. 2000. A reliable protocol for plant regeneration from culture of *Phalaenopsis*. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 36:420-423.

18. Chi, G., H. K.-L. Goh, K. Hoo & T. Legavre. 1998. GUS gene expression in *Anthurium andraeanum*, *Oncidium* Gower Ramsey and *Brassolaeliocattleya* Orange Glory Empress after particle bombardment. *Acta Hort.* 461:
19. Chia T. F. & J. He. 1999. Recovery of photosynthetic capacity in *Oncidium* Gower Ramsey after virus eradication. *Environ. Exp. Bot.* 42:11-16.
20. Chia T. F., A. Y. H. Lim, Y. Luan and I. Ng. 2000. Transgenic *Dendrobium*. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Transgenic Crops III*, Ed: Bajaj. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. Vol. 48, Chapter 8.
21. Ernst, R. 1994. Effects of thidiazuron on in vitro propagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* (Orchidaceae). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 39:273-275.
22. George, E. F. 1996. *Plant Propagation by Tissue Culture*, part 2. pp. 666-669, Exegetics, England.
23. Ichihashi, S. 1997. Research on micropropagation of *Cymbidium*, nobile-type *Dendrobium*, and *Phalaenopsis* in Japan. *Orchid Biol.* 7:285-316.
24. Islam, M. O., S. Ichihashi & S. Matsui. 1998. Control of growth and development of protocorm like body derived from callus by carbon sources in *Phalaenopsis*. *Plant Biotechnol.* 15:183-187.
25. Kerby, G. B. 1984. Plant regeneration of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) by means of root tip culture. *Plant Cell Rep.* 3:27-29.
26. Lim-Ho, C. L. & G. C. Lee. 1987. Clonal propagation of *Oncidium* from dormant buds on flower stalk. *Malay. Orchid Rev.* (Singapore) 34:148-160.
27. Manickam, S. 2000. The cloning, characterization and antisense cassettes construction for some pigmentation genes from *Oncidium* spp. Masters Thesis, Universiti Putra Malaysia, Serdang, Malaysia. 150 pages.
28. Park, S.-Y., H. N. Murthy & K.-Y. Paek. 2002. Rapid propagation of *Phalaenopsis* from floral stalk-derived leaves. *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant* 38:168-172.
29. Santana, G. E. & K. Chaparro. 1999. Clonal propagation of *Oncidium* through the culture of floral buds. *Acta Hort.* 482: 315-320.
30. Tanaka, M. 1992. Micropropagation of *Phalaenopsis* species. In: Y. P. S. Bajaj (ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 20. High-Tech and Micropropagation IV., Springer-Verlag, Berlin, pp. 246-268.
31. Tokuhara, K. & M. Mii. 1998. Somaclonal variations in flower and inflorescence axis in micropropagated plants through flower stalk bud culture of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis*. *Plant Biotechnol.* 15:23-28.
32. Wang, Y., K. Takagi & H. Nii. 2000. Some effecting factors on the formation of PLB from the root tips cultured in vitro of *Phalaenopsis*.
<http://www.green.pref.tokushima.jp/nogyo/onlbook/kenkyuhokoku/36/wang.htm>

33. Young, P. S., H. N. Murthy & P. K. Yoeup. 2000. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 63:67-72.
34. Zhou, T. S. 1999. Method for producing *Phalaenopsis* clone plants through root tip culture. US patent 5,864,985.

表一、蝴蝶蘭無菌播種及生長點培養使用之培養基

medium	全名	特徵
Knudson	Kundson	蘭花種子發芽常用培養基
VW	Vacin & Went	蘭花種子發芽常用培養基
Thomale GD	Thomale GD	拖鞋蘭常用培養基
MS	Murashige & Skoog	組培研究最常用培養基
花寶培養基	Hyponex N:P:K=7:6:19	業界最常用培養基
NDM 培養基	New Dogashima	堂之島洋蘭中心開發之培養基
NP 培養基	New Phalaenopsis	Islam 等人發表之培養基

表二、蝴蝶蘭組織培養使用之荷爾蒙濃度 (富山 2000 及其他文獻整理)

研究者 (年代)	Cytokinin (mg/l)		Auxin (mg/l)	
	BA	Kinetin	NAA	2,4-D
田中 (1980)	10	—	1	—
田中等 (1975) ^a		10	5	
阪西 (1983)	2.5	—	1	—
本間 (1985)	20	—	5	—
Park et al. (2002)	20		1	
河瀨 (1987)	10	—	5	—
米田 (1987)	3	—	—	—
百瀨 (1987)	—	0.5	—	0.05
市橋 (1988)	22	—	5	—
朱 (1988)	3~5	—	—	—
小林 (1990)	5	—	0.05	—
三位 (1993)	1	—	0.1	—
王、李 (1991, 1992)、 Wang et al. (2000)、魯郭 (2000) ^b	5	—	0.5	—
謝瑞旻等 (1993)	6	—	1	—
Park et al. (2002)	20		1	

^a 添加 10%椰子水

^b 添加 15%椰子水

表三、文心蘭播種用培養基配方

成份	每公升用量
Hyponex No.1 ^x	2 g
MS 維生素及甘氨酸 ^y	5 ml
馬鈴薯泥	50 g
香蕉泥	25 g
Peptone 或 tryptone	1 g
蔗糖	10 g
活性碳粉 ^z	2 g
pH 5.6-5.8	

^x 花寶一號，其 N-P-K 比率為 7: 6: 19

^y 配方每升 2 mg glycine, 0.5 mg 煙鹼酸、
0.5 mg HCl, 0.1 mg thiamine HCl

^z 調整 pH 值後，再添加到培養基

表四、*Oncidium* Gower Ramsey 花苞誘導 PLB 培養基

成份	用量 (每公升)
Knudson C 鹽類	
NAA	1.0 mg
鳳梨汁	120 ml
綠香蕉泥	100 g
蔗糖	20 g
洋菜	8 g
pH 4.8	

(Santana, G. E. & K. Chaparro. 1999)

表五、New Dogashima 培養基配方

成份	mg/l
NH ₄ NO ₃	480

KNO ₃	200
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	470
KCl	150
MgSO ₄ .7H ₂ O	250
KH ₂ PO ₄	550
MnSO ₄ .4H ₂ O	3
ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0.5
H ₃ BO ₄	0.5
CuSO ₄ .5 H ₂ O	0.025
Na ₂ MoO ₄ .2 H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6 H ₂ O	0.025
濃硫酸	0.5
Myo-inositol	100
Niacin	1
Pyridoxine.HCl	1
Thiamine.HCl	1
Calcium pantothenate	1
Adenine	1
l-Cystein	1
d-Biotin.	0.1
Fe-EDTA	21

(Tokuhara & Mii, 1993)