

## 陸、組織培養的實例

### 火鶴花組織培養種苗生產

#### 一、前言

切花用之火鶴花，花朵明艷華麗，品種花色多富變化，輕巧而耐運輸，瓶插壽命又長，在本省中南部極適合火鶴花栽培，終年可生產切花，是一種深受大眾歡迎的盆栽或切花用的觀賞植株。一般的栽培品種是以分株法進行繁殖工作。這種無性繁殖法的目的在於能得到和親本完全相同的植株，但火鶴花每年所分蘖的新芽非常有限，而且可能有線蟲或其它系統性病害侵襲之慮，因此在進行大量生產時，必需有一能保存其品種特性、能生產大量且健康植株之繁殖體系。組織培養法是生產大量商業化幼苗，且保有上述特性的唯一方法。以莖

頂生長點為培養材料，具有去除系統性病害而且分生能力較強之優點，但得犧牲一植株或一個分芽，方能取得生長點。一般操作上選擇生長情形良好、植株健壯之火鶴花的幼嫩葉片，其培養分化等較生長點困難，但因取材容易，又不犧牲植株。唯在培養過程不能像生長點般，直接誘導幼芽之分化，而須先形成器官化之癒合組織後，再進行誘導組織分化成植株。

火鶴花類的花卉，雖以實生或分株方式繁殖，然而實生時並無法獲得形質均一的苗株。而且分株的繁殖率較低，故優良個體的有效增殖，以利用莖頂生長點、葉片、葉柄、萼片、側芽等組織培養行之。

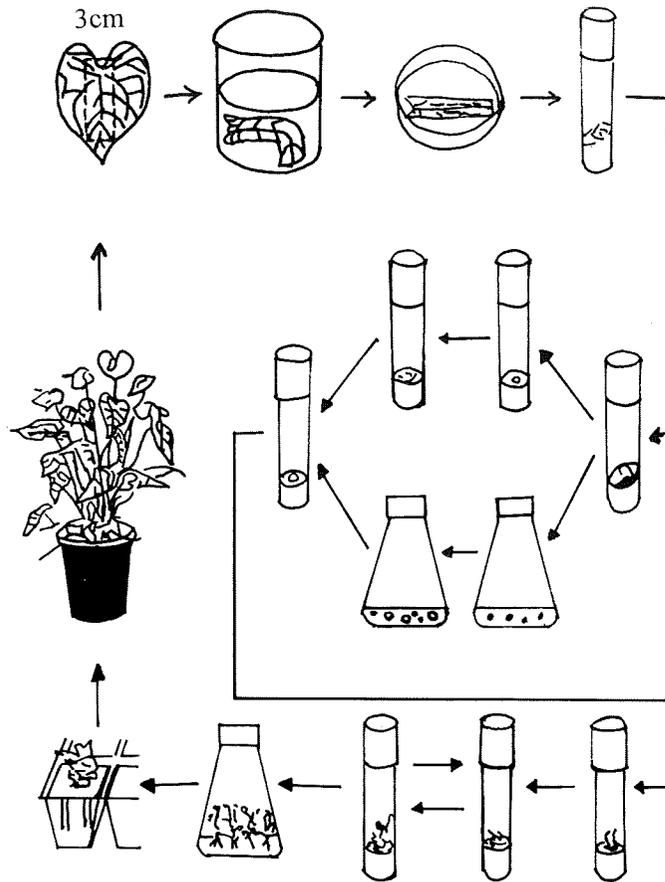
## 二、培養要領

其葉片、萼片、莖頂、側芽均可培養，但因品種不同，亦有無法培養成功的品種。利用葉片、萼片培養期間較長，若使用莖頂及側芽培養，可望縮短培養時間。

### (一)、葉片培養

- 1.火鶴花的葉片應儘量採取已展平之嫩葉為宜，由於嫩葉對酒精具滲透性，若操作錯誤，不僅容易發生感染且其外植體有褐變之慮，進行滅菌操作時要特別小心。
- 2.將包含主脈的部份切成1公分方塊，插立培養基上，於25℃，黑暗下培養2~3個月後，葉片周圍有癒合組織產生。
- 3.癒合組織的增殖，可使用固體或液體培養基均可。於25℃，黑暗下培養1~2個月後可移植至誘芽培養基。
- 4.利用誘芽培養基使癒合組織再分化，以1個月為週期反覆進行繼代培養，溫度為23℃，經2~3個月即可發芽並伸長；大芽移植於發根培養基內，小芽與癒合組織則移植於誘芽培養基內，繼續培養。
- 5.移瓶時，將洋菜徹底洗淨才可種植。濕度保持70~80%之間，遮光率則為50~70%，並於自然環境下先適應1~2星期。

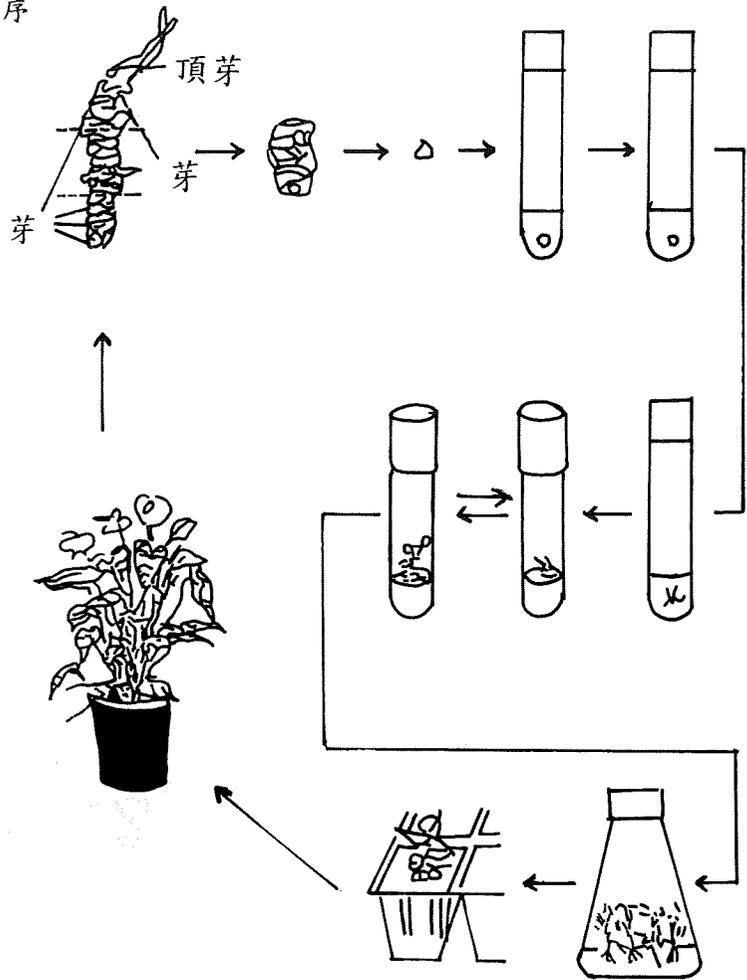
## 6. 圖解操作程序



### (二)、莖頂培養

1. 選取側枝多的品種，否則所需母本材料將較多，此乃因莖頂培養成功率偏低。
2. 取主莖上位節段，除去葉柄及側枝，將含有側芽的莖節切成 1.5 公分節段，以利消毒殺菌。
3. 殺菌時，以 0.52% NaOCl 加 2~3 滴 Tween 20 殺菌 20 分鐘，以無菌水洗三次。再於無菌下，剝除芽體外皮，切取 2mm 的莖頂，並浸於 0.1% 檸檬酸中以防褐變，然後再次以 0.26% NaOCl 加 2 滴 Tween 20 殺菌 45 分鐘，如此芽體存活率可達 60%。
4. 莖頂培養採 0.2 rpm 的轉速的液體培養，培養溫度 25~28 °C，光強度 1,100 lux，光照 16 小時，培養 3~6 週後，無污染者，芽體肥大，可形成幼小植株。
5. 幼小植株經任意切割後培養於增殖培養基，有芽團長出，利用芽團不斷切割繼代培養達到增殖之目的。

6. 圖解操作程序



三、培養基成分

(mg/l)

種類 成分	癒合組織的 誘芽培養基 No. ①	癒合組織繼生代培養用		再分化(誘 芽)培養基 No. ④	發根 培養基 No. ⑤
		固體培養基 No. ②	液體培養基 No. ③		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	825	825	1,650	206	412
KNO <sub>3</sub>	950	950	1,900	950	475
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	220	220	440	220	110
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	185	185	370	185	92
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	85	85	170	85	42
蔗糖	-	-	-	20,000	-
葡萄糖	30,000	20,000	20,000		30,000
PBA(註 1)	1	1	1	1	-
2, 4-D	0.08~1.0	0.08~1.0	0.08~1.0	-	-

註 1 : PBA: tetrahydropyranlybenzyladenine

## 金線蓮種苗生產及栽培要點

### 一、概說

金線蓮為蘭科植物是本省極名貴之中藥材，其葉面呈墨綠色上有優美之金色條紋，因以得名。其葉背紫紅色，葉呈卵圓形，全草滋養強壯、味甘性涼有清涼退火、祛傷、開中氣之功，為中藥界之聖品。本省產金線蓮有兩種，一為臺灣金線蓮，花乳黃色，唇瓣有魚刺形的裂絲；一為高雄金線蓮，花乳白色，無魚刺狀之裂絲。入藥時兩者皆宜。

### 二、生長習性

金線蓮分佈於全省海拔 500~1,800 公尺之山地，北自台北縣插天山、新竹竹東、苗栗南庄、大湖、台中武陵農場、青山、白冷、南投仁愛、蘆山、溪頭，南至高雄旗山、屏東霧台、南仁山，東至台東太麻里、花蓮玉里等陰濕混生森林內部都可見蹤跡。

金線蓮性喜弱光約 3,000~5,000 lux 之光度最適宜，光線太強或太弱均影響植株生育；其屬高山植物喜冷涼氣候，最適溫度在攝氏 15~20 度，高於 25 °C 生長停頓或枯萎，5 °C 以下生長不良；由於其屬地生蘭之一種，故喜潮濕且通風良好之環境，最適濕度在 75~85%。在自然狀態下，生長於闊葉樹林下，所以土壤需富含腐植土，有機質豐富，且呈微酸性，pH 值在 5~6 之間，最適宜生長。

### 三、生產技術

#### (一)繁殖方法

由於其種子與其他蘭科植物一樣，不易在自然環境下發芽；目前若要大量繁殖種苗，須採組織培養無菌播種法。

1. 無菌播種：於夏末初秋開花時行人工授粉，約授粉後 35~40 天之間進行無菌播種。取果莢，以 1%次氯酸鈉溶液加展著劑，充分振盪 15 分鐘，再以無菌水洗滌三次，置於培養皿內，即可進行播種。培養基每公升中含有花寶一號 (7-6-19) 3 公克，蛋白質 2 公克，糖 30 克，洋菜 8~10 克，pH 值 5.2，

播種後二個月，種子萌芽為具有多節的白色走莖，再經 2 個月後，則可發育成苗株。

2. 壓條繁殖：上述所得苗株，剪為數節莖，培養於含 BA 3 ppm，NAA 0.3~0.5 ppm 之 MS 培養基中，六週後可由節位處長出 4~6 個芽，以如此之增殖速度，可得大量植株。
3. 扦插發根：由上述得到之芽體，剪下後扦插於含花寶 1 號(7-6-19) 3 克及 NAA 3~5 ppm，活性碳 3 克之培養基中，以利發根，經 2 個月後芽體長至 4~5 公分，根系完整，則可移至栽培場而後移出種植。
4. 組織培養之環境：培養室溫度控制在 20~25 °C 間，在 3,000~5,000 lux 光強度，每日 8 小時即可。

## (二)生長點或莖節培養之大量繁殖

### 1. 莖頂培養

山野間採回之野生金線蓮，先取其莖頂培養以建立無菌株，再將此無菌株切成各含一莖節之培植體，接種於種子播種培養基外加 0.3 mg/l NAA、3 mg/l BA 及 0.3% 活性碳之培養基中，在 25±1°C 之恆溫及約 2,000 lux 光強度，且每日 12 小時照光之環境下，培養兩個月之後，可形成含有 3~6 新芽之叢生狀組織，然後取此新芽體或莖節進行下列液體培養之大量繁殖。

### 2. 液體震盪培養

將莖頂或莖節培養所衍生的小芽，先培養於含 0.3 mg/l BA、0.3 mg/l NAA、170 mg/l Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>、40 mg/l Adenine sulfate 及 3% 蔗糖之 1/2MS 培養基中培養 (pH 5.2)，以 100 rpm 之轉速及弱光下 (500 lux) 行液體震盪培養。一個月後可自莖頂或莖節形成多量白色之新芽，然後將此新芽接種於固體培養基上 (和莖頂培養之培養基相同，但 MS 基本鹽類改為全量，亦可外加 5% 香蕉及 3g/l Tryptone)，兩個月後所形成的金線蓮瓶苗，即可進行假植及定植於適當的栽培介質上。利用液體震盪培養所誘得之金線蓮側芽數，約為固體培養的 2~3 倍之多。

### 3. 組織培養瓶苗之馴化、假植與定植

金線蓮組織培養瓶苗應先置於栽培地點 1~2 星期，使其逐漸適應當地之濕度與光線後，再謹慎取出瓶苗，經消毒殺菌後之幼苗 (1,000 倍之億力)，先假植於育苗箱內，育苗箱內之介質材料以珍珠石、蛇木屑及蛭石為主，再參以少量

之腐質土。經1~2個月後取健株移植於定植圃內，行株距為10x10 cm，種植後立即澆水以增加或確保成活率。種植金線蓮定植圃之材料有四種，其種類及比例大約為腐質土30~40%、蛇木屑30%、燻稻殼20~30%、珠珍石加蛭石10%。

### (三)栽培場設施

1. 防雨遮蔭網室：栽培場須通風良好，設置防雨遮蔭網室以遮阻三分之二的陽光。防雨屋頂以塑膠或玻璃板搭之，高約2.5~3公尺，屋頂內外1公尺各搭一遮蔭網，外層主用於降溫，下層主用於調節光線強度，室內嚴防蝸牛、鳥類及蛇類之侵入，尤其大蝸牛，可能在一夜之間，吞嚥大量植株，造成極大的損失。
2. 植栽床：植床不能接觸地面，可採水平或階梯式。材料選用竹、木或鐵材均可，高度約80公分。栽培時以分籃栽植為宜，較有利於病蟲害之控制，籃高約15公分，填裝10~12公分高的植材，植材可以蛇木屑、培養土、珍珠石適當混合之，植材須排水良好，上面可鋪一層細水苔以減少水分蒸散。

### (四)栽培要點

金線蓮瓶苗移植前，可將瓶蓋稍鬆開後馴化約7天，即可洗出種植，洗出時宜以水灌入瓶中，倒出幼苗後洗淨根部之培養基並以1,000倍殺菌劑液消毒。植苗時，種植深度至少應有一莖節埋於介質中以利其發根。種植密度則視植株大小而定，儘量密植。澆水需適量，可增加濕度、降低溫度，且可健全根部，促進莖葉生長，也可灑水於栽培場中以調和溫度和濕度。由於金線蓮生長緩慢，需肥量不高，每星期噴施花寶一號一次或施以緩效性有機肥料。金線蓮栽培約8~10個月方可採收，若遇冬季低溫生長停頓，也有種植一年半才採收的，平地因夏季高溫易罹病故經濟效益低，最適栽培區域乃在海拔600~1,000公尺較宜，可周年生長，經濟效益高。

## 百合組織培養種球生產

### 一、前言

百合品種繁多、花色多樣化、花朵大、多具有香氣，深受市場歡迎，且單位面積產值頗高是本省重要花卉產業。目前本省栽培用的種球，多仰賴自荷蘭進口，但其價格頗高；且荷蘭秋末(十月底或十一月初)採收的種球，無法及時供應當年度新鮮種球以應本省秋冬之栽培期。通常以經儲藏近一年的種球供應本省所需，種球儲藏已達半年以上，休眠早已打破，在運輸過程中，易有萌芽之情形，品質可能不盡理想。

目前有農民便自行繁殖、生產之種球作為商業栽培用，一般而言，國外種球生產與切花生產是分開進行的，而本省在兩者兼要的情況下，切花朵數雖然減少，但品質仍有一定之水準，故認為本省之栽培環境應可發展成種球生產系統。

### 二、百合組織培養要件

#### (一)培植體種類

百合屬球根類植物，只要利用子球與鱗片即能繁殖。倘以消除病毒為目的時，則唯有採取組織培養方能成功。

1. 欲徹底消除病毒時應採取下列之外植體，而大小約為 0.2~0.4 mm。

- (1). 鱗片繁殖所形成的小球莖頂。
- (2). 花芽分化前的母球莖頂。
- (3). 花芽分化前，正處於伸長狀態的莖頂。

2. 一般增殖時，下述各項器官均可進行培養。

- (1). 嫩蕊與花器各部位。
- (2). 開花前，花莖頂部之葉片。
- (3). 旁芽與莖。
- (4). 培養個體的鱗片。
- (5). 癒合組織培養而成之植物體。

## (二) 培養基等條件

### 1. 培養基成分

(1) 在培植體誘導植株再生時以全量 MS 鹽類濃度為基本鹽類，再添加多種維生素如維生素 B<sub>1</sub> 0.4 mg/l、肌醇(inositol) 100 mg/l 等，有益於再生，而生長調節劑則以 Auxin 對鱗片分化再生較好，而 Cytokinin 則有異常肥大或抑制分化之影響。其中 NAA 0.1 mg/l 有利鱗片再生及小球生長，百合組織培養因品種不同，培植體部位不同，培養基之最佳組合等多有差異。NAA 使用之濃度在 0.2~5 mg/l 之間，BA 使用之濃度在 0.5~5 mg/l 之間，可依品種及培養目的做適當調整。

(2) 在小球形成成長時期，則以全量 MS 基本鹽類添加蔗糖 3g/l，則可養成小球根，經 2~3 月可得較大球根，糖濃度加高，可使球根益趨肥大，卻不易長出葉片，且栽植後休眠期較長。

### 2. 培養環境

(1) 光線：鐵砲百合於 24 小時黑暗中培養鱗片，產生小鱗莖較多，但也有品種其鱗片培養於 24 小時光照下產生小鱗莖之數量較暗處多，亦有香水百合在 16 小時光照下產生小鱗莖之數量較佳。

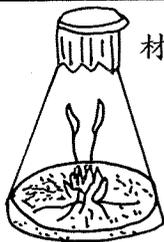
(2) 溫度：一般鱗片培養溫度在 25 °C 再生情形良好，由小鱗莖之鱗片為培植體時最適溫度為 20 °C，但最適溫也因培植體或品種不同而異。

### 3. 小鱗莖出瓶後之栽培

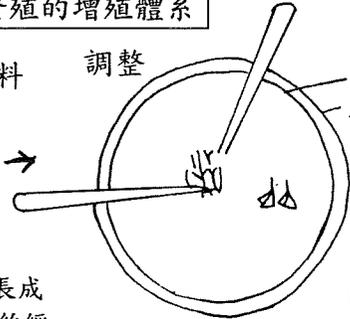
組織培養產生之小鱗莖，出瓶後必需經低溫(2 °C~5 °C)才能打破休眠，培養基內蔗糖濃度，在 3% 時小鱗莖需經 5 °C 70 天才能打破休眠，在蔗糖濃度為 9% 下，小鱗莖需 5 °C 120~149 天才能打破休眠。小鱗莖出瓶後，在移植前以 45 °C 熱水處理 10 分鐘至 8 小時，亦可減低其休眠性。

(三)瓶內鱗片繁殖之增殖體系

1. 利用球根鱗莖繁殖的增殖體系



①使用器官培養所長成之球根的鱗莖。約經90天，即可長成平均鱗莖數為10.5片的球根

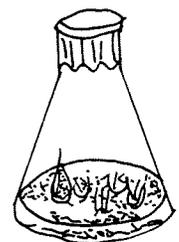
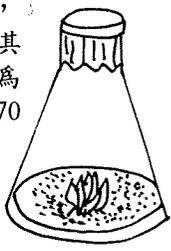


②將根截斷後，再使用兩把鑷子使鱗莖分開



③大量增殖時，可取一剝離的鱗莖5~8片，栽植於300m的燒瓶內。

⑥因品種不同而有差異，若係鐵砲百合時，則其開花球的增殖週期約為90天，器官培養為270天。



⑤90日內即可育成



④外側鱗片的子球，較中央部位者易於形成。採用5~7%的蔗糖濃度時，所長成的球根較為肥大。

90日後 球根形成於300m的燒瓶內栽植5球



# 彩色海芋組織培養種球生產

## 一、前言

彩色海芋品種多，種球價格昂貴，於本省之栽培技術尚待建立；且栽培期間易發生細菌性軟腐病及毒素病的危害；當發病嚴重時，栽培者往往血本無歸，所以研發彩色海芋健康種球生產體系是重要之課題。

## 二、組織培養要領

### (一)種球選擇及前處理

選擇花色、花梗數多、外形健壯、性狀優良之植株，休眠芽可以 GA 噴之，誘使芽體長出，再進行莖頂組織培養。

### (二)培養基等的條件

#### 1. 培養基成分

莖頂培養初期，切取 0.3~0.5 mm 之莖頂培養，以 1/2 MS 鹽類為基本培養基(較全量為佳)，添加維生素 B<sub>1</sub>、B<sub>12</sub> 及肌醇(inositol)等，有助正常芽體長出，生長調節劑則以 BA 2 mg/l 及 NAA 0.2 mg/l 之組合較 Kinetin 2 mg/l 及 IAA 0.2 mg/l 為佳，約一個月即可獲得正常單株。

#### 2. 增殖階段

莖頂培養獲得之單株，經去葉片及根後，切割成數塊培養於增殖培養基，然此組織需經 2~3 次繼代培養後才能達每月約 4~8 倍之不定芽體增殖速度，增殖時以全量 MS 加上 Kinetin 3~5 mg/l, BA 0.5~1 mg/l, IAA 0.2 mg/l 互相組合對黃色海芋之不定芽誘導較佳，芽體正常者多，紫色或淡黃色等品種間則稍有差異，需作調整。若增殖能維持 4 倍，則莖頂培養可以 4 的倍數增殖，也就是說每月增殖一次，一年後即可獲上百萬的芽體；此時期應注意，不可為求快速增殖而濫用生長素，以免造成植株變異。

#### 3. 發根階段

選取芽體正常者促其發根，一般培養基採用全量 MS 即可使根系發育良好。海芋雖為球根作物但不必於瓶內令其結球，可減少打破休眠之時間。

### (三)培養環境

1. 彩色海芋莖頂培養至增殖階段，培養溫度以 25~30 °C 為佳，光度則在 2,000 lux, 16 hr 光照下為宜，成苗階段可加強光照時間及強度，但注意溫度不可高於 34 °C，否則瓶苗老化。
2. 出瓶後之栽培：
  - (1). 瓶苗健化一周後，可洗出種植，一般於春季種植，夏天須遮蔭，發葉後經 4~5 個月可於秋季採收塊莖。
  - (2). 塊莖直徑大小約 1~1.5 cm，若於設施溫控環境下，每半年可進行繁殖一次。小塊莖繁殖第 3 次後即可達到寬 10 公分大小之塊莖，此即為商業用種球。
  - (3). 栽培時多用無土栽培，培養土調配，可以泥炭土、蛇木屑、炭化稻殼、真珠石或蛭石，以適當比例調配之。
  - (4). 栽培期應注意細菌性病害發生，定期以黴素灌之，及其他病蟲害防治，採收時儘量避免撞傷種球。

### 三、結論

彩色海芋及天南星科植物，組織培養種苗生產體系之建立並不困難，植株的強健無病，才是育成優良品種健康種球之要點。配合生產技術的改進及適當的栽培管理，才能將彩色海芋的生產風險降到最低。

# 非洲菊組織培養種苗生產

## 一、前言

非洲菊若利用種子繁殖，由於遺傳上的分離致使形質不一，因此一般增殖採用分株法，但此法一年約增殖 10 倍左右，若其尚帶有毒素病及立枯病菌，則需採用莖頂組織培養以除去病菌，並於無菌下進行植株之增殖。更新栽培時能採用健康的組織培養苗，不僅病害發生少，且能保持穩定栽培之優點。

## 二、組織培養操作要領

### (一)母株選取及前處理

選取健壯無病蟲害，開花性優良的植株，除去殘葉、外葉及根部，沖洗乾淨後，再除去葉片，只留 2 本葉即可。

### (二)殺菌

1. 流水沖洗 30 分鐘。

2. 3% NaOCl 液加 2 滴 Tween 20 浸 5 分鐘，再以 1% NaOCl 液超音波洗淨器振盪消毒 1 分鐘，最後以無菌水沖洗 3 次。

3. 置於乾的無菌紙上使其乾燥，再取 0.3~0.5 mm 莖頂培養。

### (三)培養基成分：一般採用 MS 為基本培養基。

1. 初代培養基：MS + BA 0.4 mg/l + Kinetin 0.5 mg/l + 糖, pH 5.7。

2. 增殖培養基：MS + BA 0.2 mg/l + Kinetin 1.0 mg/l + 糖 30 g/l, pH 5.7。

3. 發根培養基：MS + 糖 30 g/l, pH 5.7。

### (四)莖頂切取要點

1. 莖頂部位因毛多而識別困難，應依序除去外葉；在解剖顯微鏡下操作較易，當第 2 葉原基露出時，再除葉及周圍的毛，以使第 1 葉原基及生長點露出。

2. 將帶有第 1 葉原基的生長點切取約 0.3~0.5 mm 大小，並迅速植床於培養基上。

### (五) 培養條件

1. 生長點植床後以  $24^{\circ}\text{C}$  及 3,000 lux 光照 16 小時培養 1~2 個月後，培植體可再生約 1~2 公分。
2. 增殖時去根、去少數葉片，切割後再移於增殖培養基上，增殖一定量再進行發根培養。大約每一個月可進行一次繼代培養。

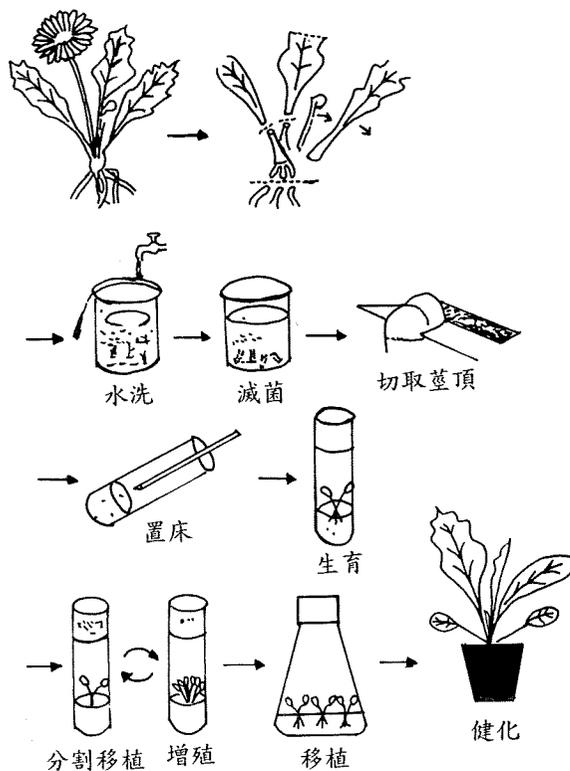
### (六) 移出瓶要領

1. 培養土應確實消毒，不可帶菌。
2. 根部沖洗時，避免傷害植株。
3. 植好後，注意保濕，前 3 日必須保持濕度於 100%，而後濕度約在 80~85% 間。

### 三、結論

無論切花用或盆栽用之非洲菊均可採用組織培養法以獲得品質優良、性狀均一的健康種苗，非洲菊栽培之產業定能日益增進。

### 四、圖解操作程序



## 觀音蓮組織培養種苗生產

### 一、前言

觀音蓮屬(*Alocasia*)是天南星科植物，其中部份商業用品種由於其葉形特殊，葉色深綠，葉脈呈明顯白色或淡黃色，是常見之室內觀葉盆栽或用為切葉材料。

觀音蓮可利用短縮莖的自然分球或行地下走莖分切，有的品種地下亦會長小塊莖，可供利用為繁殖個體，但是上述之無性繁殖方法其倍率均甚低，若要在短時間取得足夠之種苗供商業栽培用，則仍應利用組織培養方法進行大量無性繁殖為宜。

觀音蓮組織培養所使用之植物組織材料，可以利用莖頂生長點、短縮莖或地下走莖，如採用莖頂生長點因有新葉層層包覆，在材料取得後之滅菌處理上成功率較大，但每株僅有一生長點，可以取得之材料有限。若利用短縮莖或地下走莖可以得到較多之培植個體，唯其生長部位於土中，在滅菌過程中，必須較為注意。

### 二、培植體之取得

1. 先取觀音蓮之植株，用清水洗淨表面。
2. 將植株自基部切成具葉片之莖頂部位，及地下短縮莖二個部份。
3. 莖頂部份先將外葉剝除，留存新葉尚包覆之新芽部份，以 70% 酒精浸漬表面滅菌 30 秒~1 分鐘，每剝除一片新葉，重覆使用 70% 酒精之滅菌流程。
4. 剝除 2~3 片葉後，新芽部位僅剩約為 1~2 公分長，即可在無菌操作台上切取莖頂。
5. 莖頂部位可取 0.5~1mm 大小，適宜培養。
6. 地下短縮莖部位，須先以牙刷沾清潔劑將表面刷洗乾淨後，再以 1% NaOCl 加展著劑振盪滅菌 20 分鐘，切除表面受 NaOCl 漂白部位約 0.2~0.3mm 厚，再以 1% NaOCl 重複滅菌一次，以無菌水清洗三次。
7. 在無菌操作箱下將短縮莖切除表面漂白部位後切成約 1cm x 1cm x 2~3mm 厚之小塊，置於培養基上培養。

### 三、培養基

#### 1. 初代培養基

以 MS 基本鹽類培養基，加入 BA 5~10 mg/l。

#### 2. 繼代培養基

MS 基本鹽類培養基，加入 BA 2~5 mg/l。

#### 3. 育苗及發根用培養基

MS 基本鹽類培養基，加入 NAA 1~2 mg/l。

### 四、培養條件及生長過程

1. 培養條件為溫度 25 °C，1,500 lux 光強度，電照 16 小時。
2. 培植體約經 1 個月後，會於表面長出不定芽體。
3. 不定芽體分切後，置於繼代培養基上可以繼續分生不定芽。
4. 分生芽大約 3~4 公分大小後即可移入發根用培養基，使其發根。
5. 發根後之植株長至 5 公分以上大小，即可移出瓶外於溫室中健化成株。
6. 觀音蓮性喜陰濕，健化條件可以在 70~80% 遮陰下，利用噴霧或塑膠袋保濕以提高成活率。

## 玫瑰花之組織培養

有關玫瑰花組織培養之實用技術可分為胚培養和微體繁殖兩個項目，茲分述如下：

### 一、胚培養

胚培養是利用組織培養技術的有性繁殖方法。一般胚培養最常利用於作物育種時，當胚珠已受精，但卻不能發育成成熟的種子的狀況，將未成熟胚培育成植株。而玫瑰花種子由於具內種皮及休眠性，因此需經低溫濕藏打破休眠後，種子才能順利發芽。根據前人研究報告指出，玫瑰花種子，播種六個月後的發芽率僅 67%，有些種子甚且在播種後數年才會發芽；若利用胚培養技術，在育種上，可縮短育種時間。

胚培養之無菌操作程序簡述如下：

從成熟果實取出的種子清水洗淨後，經漂白粉濾液(5 公克漂白粉加水 100 毫升攪拌後過濾)2~8 小時，以無菌水沖洗 3 次後，再浸漬於無菌水中 12~24 小時以軟化種皮，去外種皮(硬殼)。然後再浸漬無菌水，使內種皮易於剝離。經 12~24 小時後，去內種皮並將胚取出培養。在剝除內種皮時，一定要非常小心，否則胚受傷後，將影響其生長與發育。胚培養到第一片真葉展開後，即可移出瓶外假植健化。移出瓶外 2 個月後即可定植田間等待開花評選。

胚培養的培養基成分簡單，可利用蘭花播種用的 Knudson C 配方培養之(如下表)：

Kundson C 配方	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500 mg/l
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1000 mg/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250 mg/l
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	250 mg/l
Fe-tartrate	2 mg/l
pH	5.7
Sucrose	30 g/l
Agar	8 g/l

## 二、微體繁殖

玫瑰花微體繁殖早在 1970 年即已開始進行，然而由於繁殖的倍率一直不能提高，以及瓶苗移出瓶外的成活率不高，故一直不能進行商業化生產。近年來有關克服上述困難的技術，頗有成就。因此玫瑰花微體繁殖已可以量化生產，事實上台灣玫瑰花種苗，也已經有少部分是組織培養苗。茲將其操作方法，敘述如下：

### 1. 初代培養

選擇適宜切花採收成熟度的枝條，經去葉、去刺後，選擇腋芽飽滿的節，並將每一節剪成腋芽在莖段中央的單節插穗。插穗經 5 倍液的漂白水(即含 1% NaOCl)滅菌 10 分鐘後，立即用無菌水沖洗 3 次，然後扦插於固體培養基(如下表)，使腋芽剛好在培養基的界面上，然後置於 3,000 lux 的光照強度下。經 3~5 週後，即可取下萌發的新梢，做為繼代培養的材料。

玫瑰花微體繁殖配方

無機鹽類成分(mg/l)		有機物質成分(mg/l)		生長調節物質(mg/l)	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	Myo-inositol	100	(1)初化培養	
KNO <sub>3</sub>	1900	Thiamine-HCl	0.1	Benzyladenine	1~10
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440	Nicotinic acid	0.5	NAA	0.01~0.1
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	Pyridoxin HCl	0.5		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	Glycine	2.0	(2)繼代培養	2~4
Na <sub>2</sub> EDTA	37.3			NAA	0.01~0.1
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8				
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.3			(3)發根培養	
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.6			NAA	0.1~1.0
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2			或 IBA	0.3~3.0
KI	0.83				
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25				
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025				
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025				

在初代培養過程中，最常見的問題是污染，其次是新梢黃葉脫落。控制污染最好的方法是選擇室內栽培的玫瑰花枝條為材料。至於容易葉片黃化脫落的品種，則宜適量的提高培養基中 Benzyladenine 的濃度，以及降低培養的光強度。凡以有黃化葉片的新梢做為繼代培養的材料，都不會有很好的結果，因此適時的繼代培養非常重要。

## 2. 繼代培養

爲了提高瓶苗的生長和繁殖的速率，繼代培養宜採用液體培養或半固體培養基或二相培養基。因爲固體培養基限制了培養基的流動，而影響了培植體的生長。然以液體培養基又常會使培植體組織變成水浸狀或腐爛褐變。利用半固體培養基，即將培養基中的洋菜粉減量，可以促進培植體生長。或先配製好固體培養基，再將殺菌且已冷卻的培養基倒在固體培養基上，製成二相培養基來培養效果更好。然而要注意的是，需要相當大的培植體才可利用二相培養基，否則培植體投入液體培養基中，一樣會有水浸狀發生。利用液體培養基培養，培植體生長速度最快，但操作的技術層次也最高。選擇相當大小的培植體，並將其葉表水分吸乾、風乾後，利用培植體葉片本身的表面張力，可以將培植體漂浮在液體培養基上一段時間。在經 2~3 週後，雖培植體略爲下沉，然此時培植體的下位葉反捲呈拋錨狀，因此使培植體大部分仍支撐在液面上，此種培養方法稱爲「浮耕」。初學者利用浮耕方法培養時，培養基之深度不宜太深，熟練操作後，可增加培養基之深度。若操作上仍有技術上的困難，可以退而求其次，以一代固體培養，一代液體培養交替。或者配製固體培養基後，其上再倒入已滅菌之液體培養基，以這種二相培養基培養，對培植體的生長速度都有相當的改善。

另外在玫瑰花繼代培養的操作中，還有一項與一般作物不同的操作。通常在繼代培養時，操作員常將培植體新長出的新梢切下，培養於新的培養基上，而原來培植體基部肥大成塊的組織丟棄不用。然而玫瑰花之培植體，新梢上的腋芽不太會萌發，而基部肥大的組織塊，常會長出新梢，其生長模式就如同田間的植株在長筍芽(即基部芽 Basal shoots)一樣。因此這種基部肥大的組織塊，除非已遭污染，否則應繼續培養。

繼代培養的培養基，除了甲苯胺(Benzyladenine)濃度調整到 2~4 mg/l 外，其餘成分與初代培養培養基相同。培養的光強度則控制在 800~3,000 lux。較強的光照可產生較強壯的枝梢，但繁殖率較低。因此前數代的繼代培養，可用較低光度培養，但準備移出瓶外時，則宜逐漸提高光強度爲宜。

### 3. 瓶內發根與瓶外發根

玫瑰花品種繁多，瓶內發根時，品種差異性很大。一般品種，發根的條件為低鹽濃度、高糖度、或將糖與無機鹽類濃度之比例提高，以及低光度。故移植前的培養基常用 1/4~1/2 濃度的 MS 無機鹽配方，加入 30~60 g/l 的蔗糖，另再加入 0.1~3.0 mg/l 濃度的 IBA 或 NAA。培養的光強度則為 1,000 lux。瓶內發根的小苗移至田間之前，還必需在高濕的環境(可利用噴霧扦插床)假植馴化 1 個月。

為了降低生產成本，玫瑰花培植體可以直接將繼代培養的枝梢沾發根劑扦插於噴霧扦插床，發根成活後即可定植於一般低濕度且高光度的環境。但在直接從瓶內取插穗時，原來的繼代培養必需是培養在 3,000 lux~5,000 lux 的光照環境，而且最後一次繼代培養之培養基，宜將蔗糖的含量減半；也可以在光期培養時，每 2 小時添加二氧化碳，將培養環境中二氧化碳的濃度提高到 1,000 ppm 都有助於微體插穗直接扦插之成活率。

## 火鶴花組織培養



火鶴花經葉片培養，誘發長出不定芽情形。



不定芽經分切後，培養成較大植株。



移入發根培養基後，長成具根適合移植之植株。



瓶苗移出後，置於栽培籃中於半陰處健化成苗，應注意濕度及水分調節。



組織培養瓶苗經健化移植成苗。



利用組織培養繁殖火鶴種苗養成可以販賣的成株。

## 金線蓮組織培養



金線蓮開花授粉後結果莢。



果莢無菌播種後，種子發芽情形。



種子發芽後，長成白色走莖，移入壓條繁殖培養基中，誘導芽長出。



長成植株後之金線蓮組織培養苗。



移出瓶外之金線蓮小植株，利用水稻育苗盤，種植於乾淨介質中。



密植生長良好之金線蓮。

## 百合組織培養



百合鱗片培養，利用植物生長調節劑促成叢生芽。



百合莖頂培養長成之小植株。



繼代培養之植株長成多量之不定鱗片球。



利用組織培養繁殖技術培育成之百合小植株，基部有小鱗莖。



組織培養苗定植於穴盤，置於溫室內健化成苗。



高雅芬芳的東方型百合，頗受喜愛。

## 彩色海芋組織培養



在解剖顯微鏡下之彩色海芋莖頂，可供為莖頂培養之材料，切取部位之大小約為0.3~0.5mm。



莖頂培養後，長成之小植株，右側為培養失敗，培植體死亡之例子。



培養成功之培植體經繼代培養，可分化大量之不定芽。



彩色海芋組織培養苗之健化處理。



組織培養苗經健化移植成功，即將進入種球休眠，等待採收。



彩色海芋之種球採收後，待進入打破休眠及貯藏。

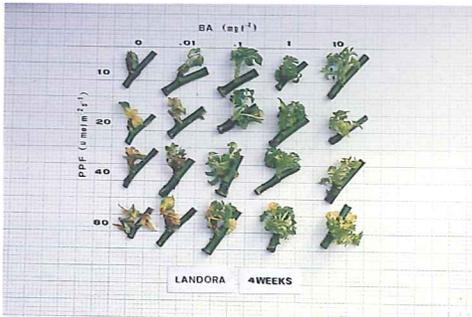
# 玫瑰花組織培養



玫瑰枝條無菌扦插培養，長出新梢。



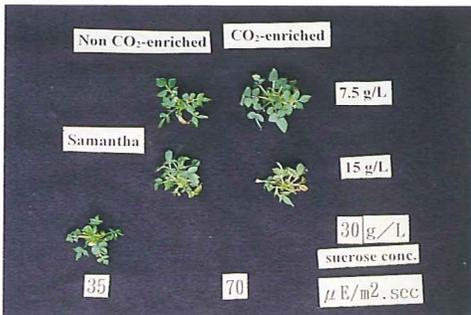
快速增殖的玫瑰新梢。



新種黃初代培養四週，甲苯胺(BA)和光強度對新梢發育之影響；甲苯胺濃度1~10 mg/l，光強度10~40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ sec}$  ( $1 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ sec} = 78 \text{ lux}$ )。



培養基物理性質與甲苯胺(BA)對玫瑰花繼代培養的影響；下行爲液體培養基；甲苯胺濃度2~4 mg/l爲宜。

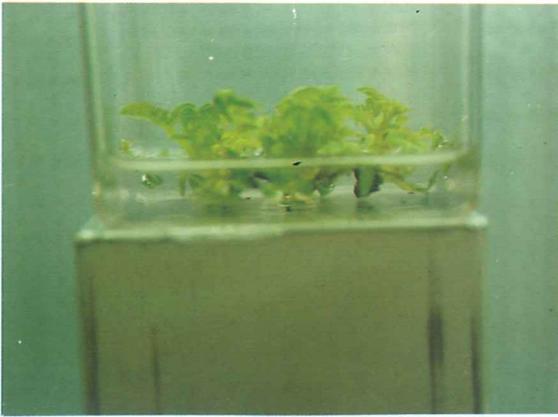


糖、光和二氧化碳對玫瑰花培植體生長之影響；利用提高光和施用二氧化碳培養，一定要先降低蔗糖濃度。



瓶外發根(左)與瓶內在固體培養基(S)或液體培養基(L)發根情形。

# 玫瑰花組織培養



↓玫瑰新梢瓶內誘導發根



↑利用液體培養基玫瑰之繼代培養



↑發育長成待售之玫瑰苗



組織培養苗移出瓶外時，需噴霧插床之設備 →