

蝴蝶蘭種原保育方法之探討

農試所 范明仁、王昭月、張淑芬

前言

蝴蝶蘭之屬名 *Phalaenopsis*，意為花似蛾蝶，常著生於樹幹或蛇木板上，花莖懸垂，有如百蝶飛舞，極為優美。原生於台灣之蝴蝶蘭有二，一為白花蝴蝶蘭(又名台灣蝴蝶蘭 *Phalaenopsis amabilis*)，分布於恆春半島、蘭嶼和台東海岸山脈等之叢林區；另一為桃紅蝴蝶蘭(*Phalaenopsis equestris*)，分布於小蘭嶼。此二種皆為台灣重要原生蘭花之一，其中台灣蝴蝶蘭更是國際間大朵白花蝴蝶蘭(經濟盆花及切花)的重要育種親本之一，非常具有保存價值。然而台灣原生之蝴蝶蘭經長年濫採，在原生地已臨絕跡，幸趣味及營利栽培者保留部份原生種，但有些亦經雜交及選拔淘汰，雖然花及葉型更美但已漸失原生蝴蝶蘭之特質。

蝴蝶蘭種原之保育與繁殖方法可分為有性及營養繁殖二種，蝴蝶蘭開花授粉後60天其果莢長和寬達穩定大小，100天種子呈黃色，到授粉110~120天，胚飽滿呈黃褐色，於果莢由綠轉黃但未開裂前可採收，果莢經消毒即可播種於培養基上大量繁殖。營養繁殖則多以花梗培養方式，產生分生苗後，取分生苗繁殖，所以在種原保育上可採種子保存、組織培養保存及植株異地保存等方法。另外配合種子繁殖保存方式下，若能增進花粉塊保存，除了可保存原來遺傳結構及歧異性外，其技術亦

可做為花期不同之種原雜交育種上使用。

種原超低溫液態氮保存

超低溫保存法，為將種子或增殖體保存在液態氮(-196°C)下，在此溫度下，所有的細胞代謝活動幾乎停止，且不會產生遺傳變異，為種原長期保存最佳方法。

大部份的果樹，以及一些不產生種子的作物如香蕉，或種子無法用乾燥後貯藏者如椰子、可及咖啡等，以及應用無性營養繁殖者如甘藷、山藥等作物，這些植物種類，除直接種植保存外，需以組織培養來行種原保存。而且應用組織培養可避免外界因素如溫度、光照等氣候因子變化產生對植物生育之影響，亦可避免病原及病毒的感染，培養所需空間小及具有高的繁殖速率等優點；但需耗費較多人力及財力，而且若繼代培養多代後，會使其基因穩定性降低。一般為延長組織培養繼代之時間可利用降低生長保存法，改變培養條件及培養基成份，維持增殖體活力但降低生長速率，但此法僅可供為營養繁殖體的中、短期保存。欲達長期保存種原，則需以超低溫(cryopreservation)方法來保存。超低溫保存是指將材料置於非常低溫(-40°C以下，通常為-160°C或-196°C)狀態下，經長時間貯存不改變或喪失種原活性(viability)，且回溫後仍可維持其活力。但因低溫時組織內會有冰晶形成而造成傷

【研究成果】

害，因此在行超低溫保存前需先瞭解所處理材料是否可進行液態氮處理，以及超低溫保存之前處理，冷凍保護劑(cryoprotectant)選擇應用，降溫及回溫速度等技術之建立。

自1976年Seibert積極開發以植物莖頂或芽等繁殖體超低溫液態氮的保存技術，希望藉此應用於營養系種原之長期保存。雖然目前大約有40種熱帶植物的超低溫保存技術及流程已建立，但大多數是以種

蝴蝶蘭花粉塊保存方法

以台灣蝴蝶蘭二年生開花株，取初開(1~3天)花朵之花粉塊，將花粉塊置於已滅菌處理的2ml耐超低溫離心管，每管放5對花粉塊，將離心管分別以室溫、冰箱冷藏及置於液態氮中，三種方式保存，於保存7天，30天，45天，300天，330天及365天後之花粉塊取出授粉後，調查種莢著果率，其結果如表一。

由授粉果莢著果率來代表不同保存環

表一、不同保存環境下台灣蝴蝶蘭花粉塊之種莢著果率

處理別	保存時間 (天)					
	7	30	45	300	330	365
室溫	80	0	0	-	-	-
冰箱冷藏	80	80	60	0	0	0
液態氮內	60	60	60	50	60	60
對照 (新鮮花粉塊)	100	100	100	100	80	60

子、接合子胚(zygotic embryos)、體胚(somatic embryos)、胚源懸浮細胞(embryogenic cell suspension)等為材料進行超低溫保存。唯經液態氮處理後之成活率多在60%以下，尚未達實用階段。有一些報告指出若能配合(一)抗凍劑(cryoprotectant)：Dimethyl sulfoxide(DMSO)或Polyethylene Glycol 10,000等。而於蝴蝶蘭方面尚無報告，因此蝴蝶蘭之種子、花粉塊，是否可利用超低溫液態氮保存，仍需進一步研究探討。(二)適當的控制降溫及回溫速率，亦具有提高液態氮處理後成活率之效用，但品種間反應差異極大，需再依作物別逐一探討應用液態氮保存種原之可行性。

境下花粉塊之活力，可以看出在室溫環境下，7天後花粉塊有80%存活，但30天時皆已死亡沒有活力。在冰箱內冷藏保存之花粉塊在30天後仍保有80%之活力，但45天後降至60%，至300天後則已全部死亡沒有活力。而保存於液態氮內之花粉塊7天後活力僅60%，為三種處理中最差者，此乃因貯存於液態氮(-196°C)內會有冰晶形成而於冷凍及解凍的過程中產生傷害所致，但可看出其不論貯藏30天或至365天其活力皆在60%左右而不會再下降，意即貯於液態氮內，花粉塊不會有生理代謝作用，因而不再老化，故活力皆保持一定。此種現象適合於種原之長期保存，另於育種上此種結果可應用不同花期品種間之雜

【研究成果】

交育種用，若父本之花期比母本早，則可將父本之花粉塊先採下，貯存於冰箱冷藏或液態氮筒內，於45天內花粉塊皆可保存60%之活力，若父本比母本之花期晚，則於前一年先取父本花粉塊存於液態氮筒內至翌年再授至母本上，此種方法對於未來國際間蝴蝶蘭育種材料交流上具有利用價值。

蝴蝶蘭種子保存方法

取台灣蝴蝶蘭授粉後120天已完全成熟之果莢內之種子，經置於silica gel內乾燥以取得不同含水率之種子後置於室溫、乾燥器及液態氮中，經30、90、180天後，種子之萌芽活力如表二。

成熟種子在室溫密閉離心瓶內保存30至90天中，種子萌芽率由85.2%降至

12.8%，在乾燥器中發芽率下降稍緩，由78.2%降至39.3%，但至180天則降至6.24%，顯示大部份種子已死亡，由此可知蝴蝶蘭種子，不可在室溫下貯藏，否則壽命不超過180天，但若貯存於液態氮筒內，水分含量在5.4%~3.4%，經180天後種子活力皆保存在80%以上，與貯存於30天後活力相若，可知蝴蝶蘭種子可採液態氮超低溫貯藏，但貯藏之前種子水分需調整到3.4%~5.4%，不可將採收後種子(本試驗下水分含量為8.2%)直接以液態氮處理，此時因種子水分含量太高而傷害，若水分含量合適則可在液態氮內長期的保存。此結果可應用於蝴蝶蘭種子長期保存用，對原生蘭族群之保育具有很大之助益。

表二、台灣蝴蝶蘭不同含水量種子保存於不同環境下萌芽率之差異

處 理	貯 藏 時 間 (天)		
	30	90	180
室溫	85.2	12.8	-
乾燥器	78.2	39.3	6.24
液態氮			
種子水分含量 8.2%	80.4	50.1	
種子水分含量 5.4%	76.8	83.0	80.3
種子水分含量 3.4%	80.7	-	82.0

