中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）44(3)：279～286（1995）

# 臺灣金線連之組織培養

## I. 改進種子萌芽率之研究[1]

蕭翌柱　陳威臣　呂佳宜　蔡新聲[2]

**摘要**：臺灣金線連被廣泛應用於治療糖尿病、高血壓及腫瘤等病症，甚具醫療價值，由於天然生產之金線連不敷藥用所需，如以傳統的播種法繁殖，種子也很難發芽，因此利用組織培養技術提高種子萌芽率，大量繁殖此一重要的藥用植物種苗，是本研究之目的。試驗結果顯示含有1/2 MS 基本鹽類配合1g/1 HYPONeX 及1g/1 peptone 之培養基，有助於金線連種子之萌芽，播種90天後，胚萌芽並突破種皮形成根莖之百分率爲17%，稍高於對照組14.6%；此外，以較低成熟度之種子（62.5%－87.5%）播種，約有10.5－18.5%之萌芽率。播種前如以3%過氧化氫溶液預處理這些幼嫩種子3分鐘，會導致種胚死亡而無法形成根莖；若將較老熟種子（成熟度87.5%以上）以3%過氧化氫溶液預處理，則有高達35%之種子能萌芽並形成根莖；可能因3%過氧化氫溶液預處理可洗除金線連老熟種子種皮所含之萌芽抑制物質，進而提高其發芽率。

**關鍵詞**：臺灣金線連、組織培養、種子萌芽率。

臺灣位居亞熱帶地區，氣候溫和，境內多高山丘陵，自古以來即被視爲藥物之產區，金線連即爲其中之一。清朝初年趙學敏所撰之本草綱目拾遺就有臺灣產鳳頭蓮與虎頭蕉（現稱金線連）等藥物之記載。臺灣原產之金線連，自何時起被應用於治療疾病已不可考，只知早期山地原住民以不同方式服食或外用，治療病痛或蛇類咬傷[4]。文獻上較早被採集之記錄應屬1892—1895年間（清光緒18—21年）英人 Augustin Henry 在屏東萬金庄（今屏東縣萬巒鄉萬金村附近）[5,9]採得標本，經 Rolfe 鑑定爲花葉開唇蘭*Anoectochilus roxburghii*（non Lindl.）Rolfe[16]；後由日本人早田文藏氏定名爲*Anoectochilus formosanus* Hayata[17]。

金線連屬之植物種類超過35種，分佈於印度、喜瑪拉亞山脈及東南亞各國，在中國大陸部份地區應也有出產。現今本省自產者大致有臺灣金線連（*A. formosanus* Hayata）、單囊開唇蘭（*A. inabai* Hayata）、高雄（恆春）金線連（*A. koshunensis* Hayata）、單囊開唇蘭（*A. lanceolatus* Lindl）等四種[11,13,14]，一般供藥用者爲臺灣金線連和高雄（恆春）金線連二種，屬臺灣特有植物[12,16]；而前者更爲民間貴重藥材之一，據1995年1月之市場調查，新鮮生草零售價格每台兩（37.5g）達300元，因相傳效用廣泛，故有藥王、藥虎、金蠶、鳥蔘、石松、金石松、本山石松、虎頭蕉、金線屈腰、金線蕨龍、金線蓮、樹草蓮、雉雞草、金錢草和黃花糯子蘭等別名[1,3,4]。

金線連常自生於山地林蔭處或草叢陰溼處，屬多年生草本蘭科植物，爲地生蘭之一種，莖圓筒形肉質，先端直立，基部可成匍匐狀；葉互生，其長度約爲5公分，寬約3公分，卵形或圓卵形，前端

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第1799號。
2. 本所農藝系助理、助理、研究計畫助理及研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

漸尖，平滑全緣，葉面暗綠色，葉背淺紅或紫紅色，葉柄基部薄膜狀包覆莖節及不定芽；中央主脈線條明顯，成金黃色或黃白色，細小網狀支脈均佈於葉面，甚具觀賞價值，或爲其得名之由來。在本省一般於夏末秋初（十月中下旬）由莖頂部位抽苔開花，花4—7枚，頂生；花莖披茸毛，總狀花序，常由下往上依序開；花萼近肉質；花梗連同子房部位爲細長微彎下勾狀；苞片卵狀披針形，長約1公分；後萼片圓形，凸頭狀，和兩瓣片形成兜狀；側萼片卵狀長橢圓形，瓣片半卵形；唇瓣呈Y字形，隱藏於花萼內，末端白色，中間部份兩側前裂爲黃色深梳狀[4,13,17]。

金線連分佈於本省海拔約500～1,800公尺之林地，在全省各地皆可見其蹤跡[6]。因其性味甘、平，入肝、脾、腎三經，故民間常用於清涼解熱、祛風活血、止血、解鬱、強心、利尿，降血糖、降血壓、治肝亢、肝炎、肺病、肺癆、腫傷、胸腹痛、遺漏、遺精、牙痛、小兒發育不良、蛇類咬傷及肝脾諸臟器疾病之滋養強壯劑[3,4,7,10]。由於相傳金線連藥效甚廣，故野外採擷者日衆，而多年來坡地、林地濫墾濫伐，加以其自然授粉與種子萌芽不易[14]，鳥獸喜食，使得野生族群銳減，如不善加保護，終將面臨絕跡之命運，近年來有心人士開始從事金線連之人工繁殖栽培研究，已略見成效[14,15]，然有系統的探索其生態、生理及組織培養繁殖技術和配方之相關文獻，仍需加強，使此項有意義之栽培產業，儘速普及於民間，而造福於大衆。故本研究首先以提高臺灣金線連種子萌芽率爲目標，再逐步研究其芽體大量繁殖等組織培養技術及栽培模式，以期對國人有所助益。

## 材 料 與 方 法

### 一、HYPONeX 及 peptone 對金線連種子發芽之效果

取臺灣金線連健壯植株，栽培於植物生長箱中，以14/10小時之明/暗光期及22/17°C之日/夜變溫處理，待其花芽分化及抽苔開花後，進行人工授粉，並記錄授粉日期。經調查自授粉後到果莢成熟開裂之時間約60日，故將此生育日數之果莢成熟度定義爲100%，而授粉後第30日果莢之成熟度定爲50%。本項試驗選取成熟度約爲62.5%～87.5%（授粉後第37.5～52.5天）之果莢，以70%酒精消毒30秒及1%次氯酸鈉溶液消毒殺菌20分鐘，在無菌操作檯上用無菌水清洗2—3次，再以解剖刀切開果莢，取出種子，此時種子多呈白色棉絮狀。將各果莢取出之種子充分混合後分成8組，分別播種於表1所列之各種培養基中，測定不同濃度 HYPONeX (No. 1) 及 peptone 對種子發芽的影響。

表 1. HYPONeX (No.1) 及 peptone 對金線連種子萌芽之影響[z]

Table 1. Influence of HYPONeX (No.1) and peptone on the seed germination of *Anoectochilus formosanus* Hayata[z]

| Agar medium with | % of seed germination after culture for | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 45 days | 60 days | 75 days | 90 days |
| 1/2 MS (CK) | 23.1±3.8 | 22.7±3.2 | 13.6±1.4 | 14.6±1.5 |
| 1/2 MS+1g/1H[y] | 21.0±3.5 | 21.4±2.9 | 10.5±1.4 | 11.6±0.6 |
| 1/2 MS+1.5g/1H | 24.7±2.5 | 25.8±3.2 | 12.1±1.2 | 12.5±1.9 |
| 1/2 MS+2g/1H | 28.4±3.9 | 28.2±2.9 | 13.9±2.6 | 15.1±2.6 |
| 1/2 MS+1g/1P[y] | 16.7±3.6 | 19.3±2.1 | 10.9±1.8 | 10.5±1.6 |
| 1/2 MS+1.5g/1P | 26.2±4.6 | 25.7±4.2 | 11.4±2.2 | 13.0±1.7 |
| 1/2 MS+2g/1P | 24.6±4.7 | 23.9±3.3 | 10.6±1.3 | 10.8±1.1 |
| 1/2 MS+1g/1P+1g/1H | 26.8±3.8 | 25.3±3.4 | 16.8±2.1 | 17.0±3.4 |

[z] The degree of seed maturity was 62.5%－87.5%. No $H_2O_2$ pretreatment was employed.
[y] H：HYPONeX(No.1)；P：Peptone

**二、過氧化氫（$H_2O_2$）溶液處理對金線連種子發芽之影響**

選取和前項試驗相同條件果莢之種子，以3％過氧化氫溶液浸漬處理0、1.5、3、6及9分鐘，用無菌水清洗2—3次後，播種於含有3％ sucrose 及0.9% agar 之1/2 MS 基本鹽類培養基上。

**三、不同成熟度果莢所含種子之發芽率比較試驗**

選取成熟度爲50%以下、50%－62.5%、62.5%－75%、75%－87.5%及87.5%－100%之果莢，以前述之方法消毒與取出種子。將種子分別以3％過氧化氫溶液浸漬處理3分鐘後，用無菌水清洗2—3次，再播種於含有3％ sucrose 及0.9% agar之 1/2 MS 基本鹽類培養基上。

以上各試驗每處理均爲10重覆，置於溫度24°C、光照12hr、光量爲100$\mu$E/m²·s 及光波長爲350—800nm 之環境下栽培。於播種後於45天及第60日逢機取樣，以解剖顯微鏡（放大30倍）調查各成熟度種胚膨大發育情形，在第75及第90日時鏡檢形成根莖（rhizome）之比率，並計算所得結果之平均值及標準偏差（standard deviation）。

試驗所添加之花寶（HYPONeX No.1）爲美國 THE HYPONeX 公司授權台和園藝公司分裝之粉狀肥料，其成份爲7—6—19（N.P.K）及未知微量元素。

## 結　果

**一、HYPONeX（No.1）及 peptone 對金線連種子發芽之效果**

以含有1/2 MS 基本鹽類之固體培養基配合不同比例之 HYPONeX 及 peptone，進行金線連種子發芽試驗，結果示於表2。在播種後60天，添加1.5及2g/1 HYPONeX 之培養基，其促使胚膨大率爲25.8—28.2%，略優於只添加1g/1 HYPONeX 之21.4%，及對照組之22.7%。添加1.5及2g/1 peptone 之培養基，促使胚膨大率爲23.9—25.7%；如同時添加1g 1之 HYPONeX 及 peptone，胚膨大率爲25.3%，都略優於對照組。然而在播種後第90天比較胚萌芽並破種皮發育形成根莖之情形，結果以同時添加 HYPONeX 及 peptone 各1g/1之處理的根莖形成率爲17%，高於對照組及其它配方，而培養基如只單獨含有 HYPONeX 或 peptone，其形成根莖百分率分別爲11.6—15.1%及10.5—13.0%，和對照組之14.6%比較，差異未達顯著水準。由上述結果推論同時添加適量的 HYPONeX 及 peptone，較能提高種子萌芽率及萌芽後形成根莖之百分率。

表 2. 不同時間之過氧化氫（3% $H_2O_2$）溶液處理對金線連種子萌芽之影響[z]

Table 2. Influence of 3% $H_2O_2$ solution incubation time on the seed germination of *Anoectochilus formosanus* Hayata[z]

| Incubation time ( min ) | % of seed germination after culture for | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 45 days | 60 days | 75 days | 90 days |
| 0 | 21.6±5.5 | 23.2±3.2 | 17.8±3.8 | 18.5±3.4 |
| 1.5 | 18.2±3.9 | 20.2±4.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 |
| 3 | 23.8±3.4 | 23.6±3.8 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 |
| 6 | 20.9±3.9 | 21.9±2.2 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 |
| 9 | 19.8±2.8 | 19.2±2.8 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 |

[z] Basal medium : 1/2 MS basic salts with 3% sucrose and 0.9% agar. The degree of seed maturity was 62.5%～87.5%.

**二、過氧化氫（$H_2O_2$）溶液處理對金線連種子發芽之影響**

表 1 及表 2 資料顯示如未經 3 %過氧化氫處理，成熟度爲62.5%—87.5%之金線連種子在播種後第90天之萌芽率約在10.5—18.5%之間，而經 3 %過氧化氫溶液處理者，播種初期（0—60天）雖有約20%左右之胚膨大，但播種後90天卻完全未見胚萌芽並形成根莖。表 3 資料也顯示處理早於87.5%成熟度之種子，亦得到相同之結果，因此推斷可能是金線連種子尙屬幼嫩，3 %過氧化氫溶液之濃度過高，以致於處理種子後，種胚受到傷害之結果。

**三、不同成熟度果莢所含種子之發芽率比較試驗**

取不同成熟度金線連種子，以 3 %過氧化氫溶液預處理 3 分鐘後播種，結果列於表 3 。種子成熟度爲50%者，播種後始終沒有萌芽，亦無胚膨大跡象。隨著種子成熟度增加，可發現種子顏色由幼嫩狀白色轉變爲成熟時之黃竭色，播種後60天之胚膨大率提高，如成熟度50%—62.5%種子之胚膨大率爲7.6%，成熟度爲75%種子之胚膨大率則爲12.3%，而成熟度在87.5%以上時，胚膨大率可提高到36.9%。此外，在播種後第90天比較胚萌芽並突破種皮發育形成根莖之情形，結果得知種子成熟度在75%以下者，並無根莖之形成，而成熟度爲75%—87.5%者，也只有0.6%可形成根莖，反觀成熟度提高至87.5%以上時，形成根莖的百分率高達35%，差異極顯著。

表 3. 不同種子成熟度對金線連種子萌芽之影響[z]

Table 3. Influence of seed germination of *Anoectochilus formosanus* Hayata[z]

| Seed maturity[y] (%) | Seed color | % of seed germination after culture for | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 45 days | 60 days | 75 days | 90 days |
| 50 | white | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 |
| 50～62.5 | white | 8.5±3.8 | 7.6±1.5 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 |
| 62.5～75 | white | 12.2±3.5 | 12.3±2.5 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 |
| 75～87.5 | white | 27.9±5.4 | 27.6±5.1 | 0.6±1.0 | 0.6±1.0 |
| 87.5～100 | tawny | 33.9±4.8 | 36.9±2.7 | 29.5±3.7 | 35.0±3.1 |

[z] Basal medium : 1/2 MS basic salts with 1 g/l hyponex (No.1) , 1 g/l peptone, 3% sucrose, and 0.9% agar.

[y] Seeds of different maturity were pretreated with 3% $H_2O_2$ solution for 3 min before sowing.

## 討 論

根據蘭科植物栽培繁殖技術資料[15]，一般洋蘭類植物種子發芽後，直接形成芽球體(protocorm)；而屬於小型蕙蘭類之國蘭（Cymbidium），種子發芽後常先形成地下根莖（rhizome），再分化長出莖葉，金線連種子之萌芽習性與國蘭極爲相似。國蘭類即將開裂之成熟果莢，其種子發芽率極低，原因爲成熟果莢所含之種子含有極高濃度之植物賀爾蒙離層酸（adscisic acid），對種子萌芽有抑制作用[14]。如以化學藥品預措或前處理蘭科種子，可減少發芽抑制物質並進而促進發芽，例如以0.1N氫氧化鉀溶液處理蕙蘭屬種子10—20分鐘，可有效提高發芽率[2]；以 3 %過氧化氫溶液處理臺灣白及種子 5 分鐘，亦能提高發芽率[8]。本試驗播種金線連種子，也顯示75%—87.5%成熟度之果莢

，在未經預處理的情況下，種子萌芽率優於老熟之種子（圖 2）；此外，以 3 %過氧化氫溶液浸漬處理成熟種子 3 分鐘，也較能有效促進種胚萌芽及形成根莖（圖3，4）；因此嘗試以過氧化氫溶液分不同時間處理金線連種子，希望能找出最適當之處理模式，以提高種子發芽率。只是本次試驗可能因 3 %過氧化氫溶液之濃度過高，超出已具備萌芽能力但較幼嫩種子之忍受程度，使其無法承受傷害而死亡，今後將再檢討較低濃度之處理效應；此外，也發現較老熟之種子經 3 %過氧化氫溶液預處理 3 分鐘後，能有效提高其萌芽率，故本試驗結果對促進老熟種子之發芽，有其正面意義。

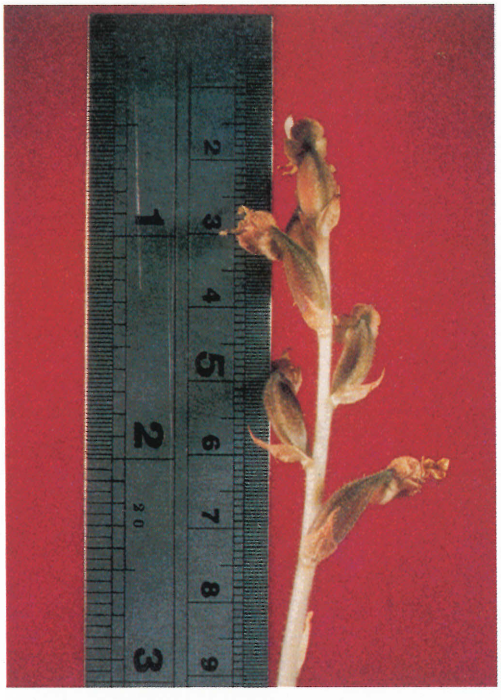


圖 1. 臺灣金線連87.5%成熟度之果莢（0.8X）

Fig. 1. Pod of *A. formosanus* Hayata with 87.5% maturity (0.8X).

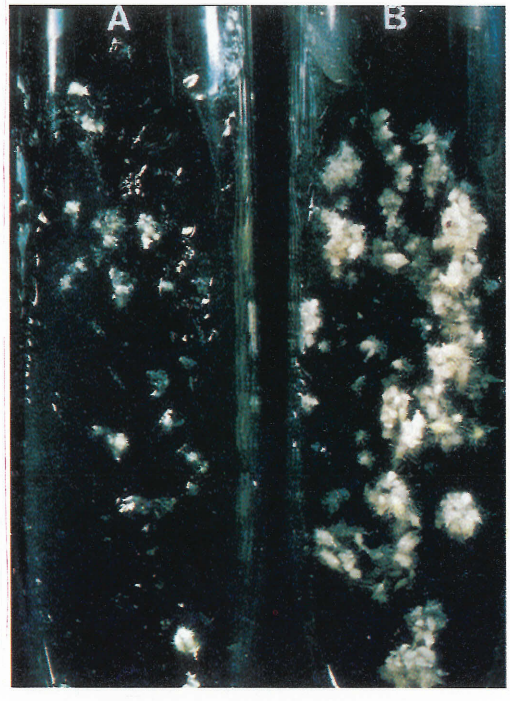



圖 2. 不同成熟度種子於播種50天後之萌芽情形(1X) A：100%；B：75-87.5%。

Fig. 2. Appearance of seed germination of A formosanus Hayata seeds with different maturity degree after 50 days in culture. (1.5 X ) .A：100%；B：75-87.5%.

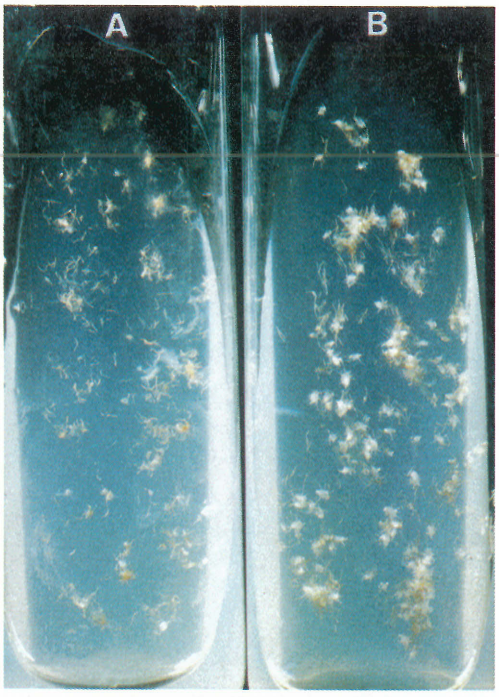



圖 3. 以 3 過氧化氫溶液預處理87.5%以上成熟度之金線連種子於播種後40天之萌芽情形 (1X) A：處理0分鐘；B處理 3 分鐘。

Fig. 3. Appearance of seed germination of *A. formosanus* Hayata seeds (over 87.5% maturity) prepreated with 3%$H_2O_2$ after 40 days in cultured (1 X) A : O min ; B : 3 min.

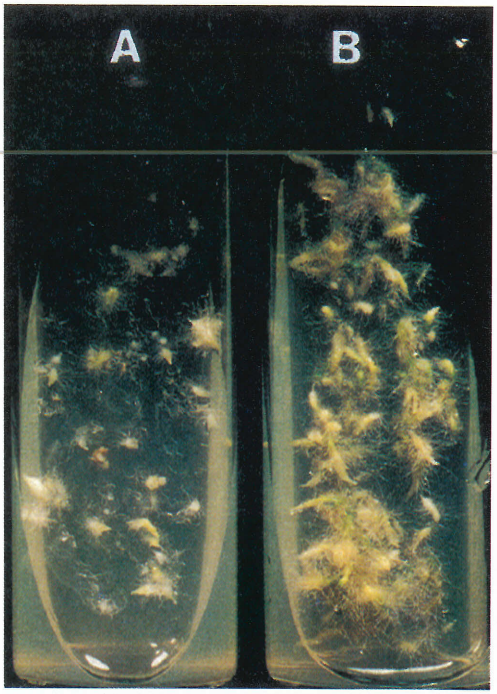



圖 4. 以 3 %過氧化氫溶液預處理87.5%以上成熟度之金線連種子於播種後90天之萌芽情形 (1X) A：處理 0 分鐘；B：處理 3 分鐘。

Fig. 4. Appearance of seed germination and rhizome development of *A. formosanus* Hayata seeds (over 87.5% maturity) pre-preated with 3% $H_2O_2$ after 90 days in culture (1 X) . A : O min ; B : 3 min.

## 致 謝

本報告承本所農藝系研究員劉大江博士指導及斧正，謹此致謝。

## 引用文獻

1. 昭人出版社。1979。中藥大辭典。第2021—2022頁。臺中市。
2. 王博仁。1980。蕙蘭屬的無菌播種與器官分化。中央研究院植物研究所專刊第四號。第20—30頁。臺北市。
3. 甘偉松。1979。藥用植物學。第646—647頁。國立中國醫藥研究所。臺北市。
4. 李煥桑、劉國柱、周正仁。1976。臺灣藥用植物之探討。第279—280頁。國立中國醫藥研究所。臺北市。
5. 林衡道。1982。臺灣勝蹟採訪册（第七輯）。第308—309頁。臺灣省文獻委員會。臺北市。
6. 林俊義。1986。金線蓮之繁殖與推廣。農友 37(6)：14—17。
7. 林哲民、林俊清、吳佩珊、邱慧芬、李興進。1991。臺灣產生藥金線連、靈芝、絞股藍之抗炎症及保肝作用研究。藥用及保健植物研討會專輯。第89—98頁。臺東區農業改良場編印。臺東市。
8. 林郁進、陳忠川、葉豐次、邱年永、蔡新聲。1994。臺灣白及之組織培養 I .種子成熟度及前處理對種子萌芽與小苗發育之影響。中華農業研究 43：40—50。
9. 那琦、甘偉松、廖勝吉。1982。屏東縣藥用植物資源之調查研究。私立中國醫藥學院研究年報 13：301—403。臺中市。

10. 梁文俐、陳榮進、江育人、蘇慶華、楊玲玲、顏焜熒。1991。臺灣產金線蓮之研究Ⅰ.金線蓮之生理活性研究。藥用及保健植物研討會專輯。第89—98頁。臺東區農業改良場編印。臺東市。
11. 蔡新聲。1994。設施盆花及觀葉植物的組織培養技術。興農306：8—15。
12. 臺灣省特有植物研究保育中心。1993。臺灣特有植物名錄。第96頁。南投縣。
13. 劉新裕、蔡新聲、徐原田、劉柏煙。1987。金線連之繁殖與栽培技術。科學農業 35(5—6)：125—129。
14. 劉新裕、蔡新聲、黃漢津、胡敏夫、葉常青。1987。金線連大量繁殖與栽培後之生育性狀、種間比較及營養成分研究。中華農業研究 36：357—366。
15. 豐年社。1992。園藝作物組織培養實用技術。第43—48頁。臺北市。
16. 謝阿才、楊再義。1969。新撰臺灣植物名彙。第280—281頁。臺灣大學農學院。臺北市。
17. 應紹舜。1977。臺灣蘭科植物彩色圖鑑。第46—48頁。臺灣大學森林系。臺北市。

# Tissue Culture of *Anoectochilus formosanus* Hayata I. Studies on the Improvement of Seed Germination[1]

Yih-Juh Shiau, Uei-Chin Chen, Chia-Yi Lu and Hsin-Sheng Tasy[2]

## Summary

*Anoectochilus formosanus* Hayata has been widely used in Taiwan for treating many diseases such as diabetes, high blood pressure, and tumors, This medicinal herb is short in supply due to over-harvest of the naturally-grown plants and poor germination of the seeds. The purpose of this study was to explore ways to improve the seed germination rate through tissue culture techniques in order to establish a mass-propagation system of this precious plant species. Experimental results indicated that medium containing 1/2 MS basic salts with 1 g/l each of HYPONeX and peptone slightly increased the seed germination rate as compared with the control treatment (17.0% vs. 14.6%). Culture of the less-matured seeds (62.5%−87.5% in maturity) resulted in germination rates of 10.5−18.5%. Pretreatment of the less-matured seeds with 3% $H_2O_2$ for 3 min was detrimental to the viability of embryos and no rhizome was produced. However, $H_2O_2$ pretreatment of mature seed (over 87.5% in maturity) increased the germination rate to 35.0% with vigorous rhizome development. It was presumed that pretreatment of mature seed with 3% $H_2O_2$ for 3 min would remove substances inhibitory to germination from the seed-coat and thereby increase the seed germinatioin rate.

Key words : *Anoectochilus formosanus* Hayata, Tissue culture, Seed germination.

1. Contribution No. 1799 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Respectively, Research Assistant, Research Assistant, Assistant, and Senior Agronomist, Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.