素心蘭與報歲蘭的無菌播種法

⊙文／邱金春
鳳山園藝試驗分所

前　言

蘭花是的重要觀賞植物之一，目前臺灣栽培的蘭花種類大多引自國外的名貴洋蘭品種，在國內大量繁殖推廣。其實，臺灣有極豐富的原生蘭花種類，例如俗稱「中國蘭」的小型蕙蘭（Cymbidium）花不但芳香而且葉姿優雅，即使在非開花期也極具觀賞價值，因此國蘭除了注重花形、花色外，也極講究葉形的纖細與生長的彎曲弧度。此外，部份失去葉綠素而成爲黃色或白色條狀（或斑紋）的蘭株，也就是俗稱的「金線蘭」或「藝蘭」，其線藝色彩更是千變萬化，依其斑紋的形狀及品種稀有的程度而高價居奇，但藝蘭多僅限於蘭友間的交換買賣，少有主動促銷，因此藝蘭栽培數量及面積較受限制。

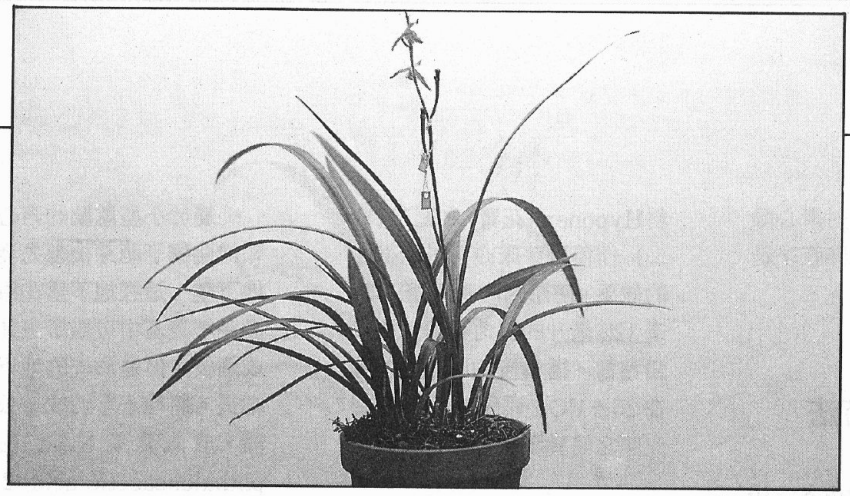
國蘭面臨絕種之虞

臺灣原產的小型蕙蘭有春蘭、九華蘭、報歲蘭、四季蘭、卑南春蘭、素心蘭等，均爲東洋蘭界的主要栽培對象，因此日本業者競相收購。多年來，蘭商雇人入山收集，大量搬運，銷售國內外，使原來存在山區的蘭花數目銳減，有面臨絕種之虞。

本省的陽明山、埔里一帶，因氣候涼爽，已成爲大量栽培國蘭的中心，但主要仍以分株法來繁殖。由於分株法繁殖的速度較爲緩慢，使得國蘭種苗之價格一直居高不下，尤其是近年來山林中的國蘭在人們濫採下，數量已越來越少。



▲素心蘭爲國蘭的一種，於6～9月開花，花呈黃綠色，具有芳香。



報歲蘭，位於下方的兩朵花經人工授粉後子房逐漸膨大轉綠，將來形成莢果。

在不影響生態環境的前題下，若想拓展臺灣原產國蘭的栽培事業，必須能突破種苗繁殖的困境，因此以人爲的方式進行種苗的繁殖與培育，極具重要。

國蘭生長習性特殊

蘭花種子縱使完全成熟，其胚在形態上仍是屬於一種未完全發育的胚，因此若無蘭菌的共生提供營養無法萌芽。1922年Knudson首先發現將蘭花種子播在含糖的培養基上，可使大多數的洋蘭種子發芽成苗，因此無菌播種技術廣爲園藝學家應用於蘭花的品種改良。

雖然蘭花無菌播種法在洋蘭方面已實用化，然而國蘭若以洋蘭的模式，採取成熟果莢內的種子進行無菌播種，通常需要一年以上的時間才陸續有少數種子發芽。此種長時間、低發芽率的結果，頗不合乎經濟效益。況且，國蘭種子發芽之後並不如洋蘭一般形成芽球體(protocorm，已具有葉綠素能獨立生活的原始個體)，再直接發育成苗；而是先形成地下莖(rhizome，匍伏於地下的根狀莖)，亦即一般農民所稱的「龍根」，以後再分化葉芽(shoot)的習性。種子的發芽不整齊，但發芽後的地下莖發育很快。在自然狀態下，地下莖的主枝可不斷地生長同時形成側枝而大量繁殖。在地下莖大量增殖生長的過程中，偶而會有葉芽的自然形成而得到完整的菌體。

報歲蘭與素心蘭授粉方法

報歲蘭與素心蘭均屬於小型蕙蘭的種類；素心蘭於6～9月開花，花呈黃綠色，具有很高雅的芳香。報歲蘭爲本省特產，花期在1～3月，因此時正值春節前後，故有「蘭報新歲」的象徵意義。

分別在素心蘭與報歲蘭之開花期間，於花開2天後，用鑷子掀開藥帽，取下花粉塊，置於他朵花的柱頭上完成人工授粉。掛上交配記錄牌子，並立支柱使花梗不會因爲子房肥大而折斷。植株置於無軟體動物及蟲害之處，並防強風。

素心蘭及報歲蘭其子房在授粉後第一天無變化，第二天柱頭粘液將花粉塊包入，柱頭開始膨大，花器萎凋。三、四天後蕊柱轉綠，花瓣花萼及唇瓣凋落，子房肥大變濃綠色。素心蘭於人工授粉後需15個月的時間果莢才會成熟，報歲蘭約9個月果莢即轉黃。果莢一旦轉色，會突然裂開，而使得種子飛散落地。

未成熟胚才是最佳無菌播種時期

對這些地生性的中國蘭而言，種子不容易發芽是事實，至於其發生的原因則有不同的說法。由於素心蘭及報歲蘭的成熟種子中可分析出高含量的抑制物質ABA (abscisic acid)，而ABA之含量一般而言隨著種子的發育而含量漸高，因此乃想到利用未成熟種子進行培養。試驗的結果也確實發現，綠熟果之素心蘭及報歲蘭種子經培養後其發芽百分比遠較成熟種子的培養結果高，而且大大地縮短了種子發

芽所需的時間，因此對素心蘭及報歲蘭而言，未成熟胚才是最佳的無菌播種時期。

無菌播種方法

素心蘭採取授粉後 8～10 個月齡之果莢，報歲蘭則摘取 5～6 月齡之綠熟果作爲無菌播種材料。將採下的綠果莢（尚未裂開）以軟刷沾清潔劑輕輕刷洗果莢的外部，洗淨後浸在 75%酒精 1 分鐘，再以 1%之次氯酸鈉（sodium hypochlorite solution，NaOCl）溶液振盪 10 分鐘，並以無菌水充分清洗果莢三次。在無菌操作台內以無菌的解剖刀將果莢縱切成兩半後，再以消毒過的鑷子挖取內部未成熟的種子置於培養基上，並於培養瓶內加入少許的無菌水以利種子的分散及養份的吸收。

常用的播種培養基爲 knudson C配方，可修正如表一所示之配方使用，此培養基也常應用於實生苗的培養。此外，1961 年kano使用混合肥料Hyponex（花寶）之配方（表二）作爲發芽床亦可得到很好的效果。使用的培養容器以 50 或 125 毫升的三角圓錐燒瓶較爲適當。播種後的培養瓶放置在 25±1°C，弱光下，12 小時光照之培養環境下進行培養。

種子萌芽後形成地下莖

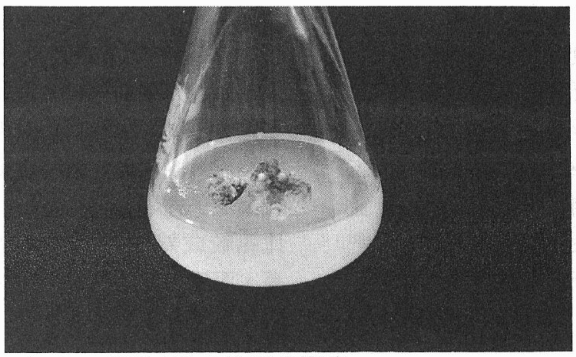
素心蘭以未成熟種子進行無菌播種，約經過三個月的培養，種子便陸續發芽形成地下莖。以授粉後 8～10 個月齡綠果莢內的素心蘭未成熟種子播種的結果，所得的發芽百分比最高，授粉後 11～12 月齡之未成熟種子次之，若以 7 個月齡前或 13 月齡後之果莢所挖取之未成熟種子，經培養後材料嚴重褐化，通常不發芽或是僅得少數的發芽體。報歲蘭以授粉後 5～6 月齡之未成熟種子進行無菌播種，可得極高的發芽率，若以第 4 個月齡前或第 7 個月齡後之果莢進行無菌播種，則種子的胚不容易萌芽。

屬於小型蕙蘭的素心蘭及報歲蘭種子萌芽後都先發育成地下莖，這些地下莖在原來的發芽培養基中可繼續生長並形成側枝，但是形成的地下莖較細長。將地下莖切成 2 公分片段，放入含有 NAA（α-naphthaleneacetic acid）2 ppm 的培養基，地下莖在含有NAA的培養基中不但生長較快，而且所得的地下莖也較粗壯。

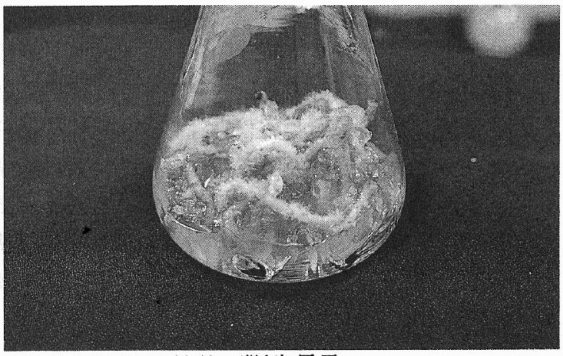
因蘭花植株容易分泌代謝一種褐色物質，對植物體本身的生長阻礙，添加活性炭（activated charcoal）3 g/ℓ 可有效地吸收這些代謝物質，而且由於活性炭的添加造成黑暗的效果，對地下莖的生長發育有利。但須注意的是，活性炭會吸收某些添加物質如微生素、荷爾蒙等，使其不活性化，所以此類添加物的濃度須提高使用。

人工育苗

國蘭除了觀花外，也可欣賞其優美的葉姿；然而在自然

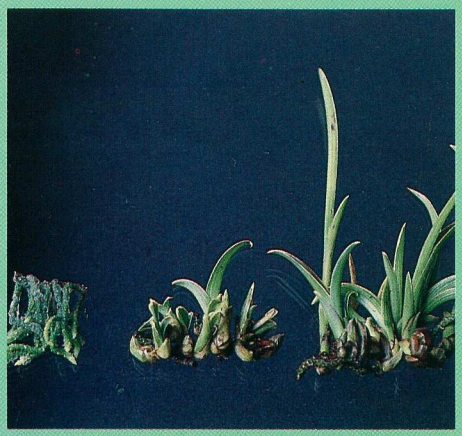


▲ 中國蘭種子發芽後長成特殊的地下莖構造。



▲ 地下莖靠主枝的不斷生長及側枝的形成而大量繁殖。





▲ 利用細胞分裂素的作用使地下莖長出芽體。

▶ 經人工育苗形成的國蘭種苗高約 5 公分就可管外移植。

狀態下，地下莖在大量繁殖的過程中偶而才有芽的分化，顯然無法達到大量育苗的目的。經研究人員努力的結果，目前已可利用細胞分裂素的作用，在弱光下人工誘導芽體的形成。素心蘭的地下莖經移植於含有腺嘌呤（adenine）10 ppm，BA（Benzyladenine）3～5 ppmNAA 0.1 PPM之發芽培養基中，可得到許多芽體的分化；再將這些芽體移植到含有精氨酸（arginine）50 ppm，BA 3 ppm之培養基，並施以連續的光照，可以促進芽體的生長發育。報歲蘭則於經修正的Knudson C之配方中添加 adenine 10 ppm，BA 1～3 ppm 及 NAA 0.1～1 ppm，地下莖可分化出葉芽，將芽體移到不含BA或含BA 1 ppm的培養基中可繼續生長。待芽體約 3 公分長時，再移入含活性炭 3 g/ℓ 及 NAA 2 ppm之培養基中誘導不定根的形成。等根莖葉都形成以後，移到較強的光線下培養便可得到健壯的蘭苗。

結語

國蘭以未成熟種子進行無菌播種，種子採自未成熟果莢不但可以減少母株養育果實所造成的養份消耗，而且也提高種子發芽百分比、縮短種子發芽時間及促使種子發芽快速整齊，是一種一舉數得的培養方法。

表一：經修正的 knudson C 培養基適用於國蘭無菌發芽

藥品	含量（mg/l）
硫酸銨 $(NH_4)_2SO_4$	500
硝酸鈣 $Ca(No_3)_2 \cdot 4H_2O$	1,000
硫酸鎂 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250
磷酸二氫鉀 KH_2PO_4	250
Na_2EDTA	37.3
硫酸亞鐵 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8
硫酸錳 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3
硫酸鋅 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6
硼酸 H_3BO_3	6.20
氯化鈷 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025
硫酸銅 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
鉬酸鈉 $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25
碘化鉀 KI	0.83
維生素 B 6 pyridoxin	0.5
維生素 B 1 Thiamin	0.1
菸草酸 Nicotinic acid	0.5
甘氨酸 Glycine	2
肌醇 Myo-inositol	100
蔗糖 Sucrose	30，000.
洋菜 Agar	10，000.

表二：適用於蘭花無菌播種之花寶培養基

藥品	含量（mg/l）
花寶 1 號 Hyponex No.1	3,000
蛋白腖 Bacto-tryptone	2,000
蔗糖 Sucrose	30,000
洋菜 Agar	10,000