中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）40(3)：274～279（1991）

蜻蜓鳳梨（*Aechmea fasciata* Baker）微體繁殖之研究[1]

邱　金　春[2]

摘要：以蜻蜓鳳梨（*Aechmea fasciata* Baker）的新芽爲試驗材料，切取高約2～3㎜莖頂，置入含有arginine，glutamic acid 及 aspargine 各25 mg/l，citric acid 150mg/l，NAA 0.1～1.0mg/l，BA 1.0～3.0mg/l 的½MS 液體培養基，可誘導多芽的形成。使用低鹽類濃度液體培養基可提高莖頂初代培養之成活率及側芽之萌發率。所形成之芽體可切割繼代培養或直接剝取不定芽的葉片培養，均可誘導大量芽體的形成。受 cytokinin 的影響，芽體需在只含有 auxin 的培養基中經過2～3次的移植，才可順利抽長並形成不定根發育而成完整小苗。

關鍵詞：蜻蜓鳳梨，微體繁殖

觀賞鳳梨由於花型奇特美麗，花苞色彩豔麗，觀賞期間可長達3～6個月；除觀花外，葉型、葉姿及葉色亦富於變化，爲外型極顯目的盆花，很受消費者歡迎。臺灣的氣候高溫多濕，適合於多種觀賞植物的大量繁殖，於1925年開始引進觀賞鳳梨栽培，經過多年的馴化，目前很多品種已可在臺灣經濟生產。*Aechmea* 爲觀賞鳳梨中重要之一屬，其中數品種目前甚受消費者歡迎。對 *Aechmea* 屬而言，由種子繁殖時，經常遭遇種子發芽率低、植株生長勢弱及變異等之困擾[8,9]；若經由吸芽繁殖，又面臨其繁殖速度太慢之問題[20]。目前已知組織培養技術可廣泛地應用在多種經濟作物的大量繁殖[6,16]，在觀賞鳳梨上也有成功之例[7,9,10,13,15,18,22]，此顯示經器內繁殖觀賞鳳梨的種苗頗具可行性，唯使用的培養基及其生長條件依品種的不同而有極大的差異。本研究之目的在於探討蜻蜓鳳梨莖頂培養繁殖的生長條件，以建立觀賞鳳梨種苗生產之體系。

材料與方法

以蜻蜓鳳梨（*Aechmea fasciata* Baker）爲試驗材料，主要採取成株基部生長的3～8cm長新芽。新芽自母體切離後放置在室內陰乾2～3天再進行莖頂培養。先除去基部的部份莖，並剝除較外圍的葉片，僅保留莖頂附近的幼葉3～4片。這些帶有莖長約1.0～1.5cm的芽體以清水沖洗後，先以含檸檬酸（citric acid）150 mg/l 及鏈黴素（streptomycin）1,000mg/l 的0.2%次氯酸鈉（NaOCl）溶液在電磁攪拌器上旋轉浸漬1小時的前處理，再以1.0%NaOCl於超音波洗淨器中振盪10分鐘，並以無菌水清洗三次，切下大小約2～3mm的莖頂後，將材料以對等直線切割分爲四份，分別置入培養基中。培養基以 Murashige and Skoog（MS）[17]的營養成分爲基本配方，但大量無機鹽類分爲全量、½及⅓三種濃度。其他添加物包括蔗糖 3 %，citric acid 150 mg/l，arginine，asparagine 及 glutamic acid 各 25mg/l，BA0.5～3.0mg/l，NAA0.1～1.0mg/l。初代及繼代培養均採用液體培

1. 臺灣省農業試驗所研究報告　第 1581 號。本試驗承行政院農委會76農建—8.1—糧—105（16）經費補助，試驗期間和文成後分別承林昭雄主任與劉政道主任指導、斧正，一併致謝。
2. 本所鳳山熱帶園熱試驗分所助理。臺灣省　高雄縣　鳳山市。

養基，培養容器爲18×180mm之試管，內裝10ml 之培養基。發根培養基則使用只含 auxin 0.5～2.0 mg/l的 MS 固體培養體，培養容器爲25×150mm 之試管。每處理各有15個重覆，初代及繼代培養使用的液體培養基皆以50 rpm旋轉培養。培養環境爲光照12小時，2,000 lux，溫度爲25±2°C。

結果與討論

對很多植物而言，欲進行組織培養繁殖，首先面對的問題即是材料難以充分殺菌處理[16]。鳳梨科植物的葉片呈張開型，由於莖頂長期暴露於空氣中及受灌溉水的汚染，不容易得到無菌化的培植體[3,6,9,13,15,22]。本試驗將摘取的新芽經過2～3天的陰乾處理後，再以次氯酸鈉溶液滅菌，所培養之80瓶中，僅11瓶有細菌性汚染，汚染率減少爲13.8%，顯示以此種方法所得的莖頂培植體，有較低的汚染率，此法前人的研究中亦曾應用[15]。

觀賞鳳梨的微體繁殖除汚染不易消毒問題外，培植體有極易褐化的現象，本試驗中的蜻蜓鳳梨如此，在其他的種類也有相同的困擾[3,9,18,23]。在預備試驗中，以青天鳳梨（A. *tillandsioides*）及細葉小鳳梨（*Dyckia fasterians*）的莖頂培養於含有活性炭（activated charcoal）及 citric acid 的固體培養基中，培植體在培養的第2～3天即發生嚴重的褐化現象；改用液體振盪培養，則褐化現象可以減輕，顯示液體培養仍較固體培養有利。在前人的研究中，雖然也有少數報告試驗結果以固體結果較好[13,15]，但大致而言仍以液體培養的效果較固體培養基好[2,7,9,10,11,12,20,21]，顯然與本文的結論相似，因此在本研究中蜻蜓鳳梨仍採取液體培養方式進行。

用不同鹽類濃度及 cytokinin/auxin 比例對蜻蜓鳳梨莖頂培養之結果如表1所示。蜻蜓鳳梨莖頂組織的培養用全量 MS 鹽濃度之液體培養時，培養體常發生嚴重之褐化現象；僅少數之培植體經過長時間之培養可得到1～2個芽體的形成。莖頂組織培養用⅓ MS 鹽類濃度之液體培養時，培植體的褐化程度較輕微，約在培養的第二週即可觀察到培植體的膨大轉綠，四週後即有不定芽的形成，形成之芽數約3～8個，視褐化的程度而定。不同之 cytokinin/auxin 組合濃度對於蜻蜓鳳梨莖頂培養不定芽的形成有明顯的影響，由表1顯示， BA1.0/NAA0.5（mg/l）組合濃度所得的芽數較 BA3.0/NAA1.0（mg/l）處理者多，可知較低的 cytokinin/auxin 組合濃度對蜻蜓鳳梨莖頂初期的培養有利，此結論與 Jones 和 Murashige[9]的結果相似；此外在其他觀賞鳳梨的培養亦同[7,13]。

表 1. 不同鹽類濃度及 cytokinin/auxin 比例對蜻蜓鳳梨莖頂培養之影響

Table 1. Effects of salt concentration and cytokinin/auxin ratio on shoot-tip culture of *Aechmea fasciata* Baker.

MS Salt conc.	BA/NAA (mg/)	adventitious bus formation*
1 MS	3.0/1.0	+
	1.0/0.5	++
⅓ MS	3.0/1.0	++
	1.0/0.5	+++

* +=1—2 adventitious shoots per explant
++=3—5 adventitious shoots per explant
+++=6—8 adventitious shoots per explant

不同的鹽類濃度及生長調節劑會影響觀賞鳳梨莖頂培養不定芽的形成[7,10,13,14,15,18]。蜻蜓鳳梨莖頂於⅓ MS 鹽類濃度的液體培養基中，培植體的褐化程度較全量鹽類濃度處理者輕微，因此不定芽的萌發率也較好（表1），此結果與前人的研究有相同的結論[13,14,15,18]。利用低鹽類培養基減少培植體

褐化以提高莖頂培養初期成活率的方法，在其他植物的培養亦可見[3,4]。如同前面所提及，觀賞鳳梨莖頂在進行無菌培養時材料容易褐化，而褐變的培植體往往失去生機而不易誘導芽體的形成，也直接地影響初代培養的成功率。因此如何抑制或減輕莖頂培植體的褐化現象，成爲觀賞鳳梨微體繁殖成功與否的關鍵。使用液體培養基，有助於褐變物質的擴散；而抗氧化劑 citric acid、ascorbic acid 或活性炭的添加，亦可減輕材料的褐化程度[9]，唯在液體培養基中添加活性炭極不方便進行培植體的觀察與記錄。Van Dijck 和 De Droft (1988) 指出，觀賞鳳梨側芽的萌發與乙烯的產生有關；若抑制乙烯的濃度，同時會抑制芽的增殖； ACC (1—aminocyclopropane—1—carboxylic acid，乙烯之一種前驅物質) 雖可取代 auxin 促進乙烯的形成，但是無法取代 cytokinin 的功能，因此欲誘導 *Aechmea* 屬植株側芽的形成，使用生長調節劑是必需的；唯有 auxin 及 cytokinin 的協力作用，使得乙烯形成，方能促使側芽的生長[19]。在本試驗中，採用低鹽類濃度、低濃度的生長調節劑並配合液體培養基的使用，可成功地提高蜻蜓鳳梨莖頂初代培養的成活率。

將莖頂培養形成之不定芽切割繼代培養或直接剝取不定芽的葉片培養，都可於培植體的基部再形成多量的不定芽。在本試驗中，切下之芽體繼代培養後，材料很少再發生褐化現象。培植體約在培養的第12日即可見到不定芽的形成，顯示蜻蜓鳳梨利用不定芽的切割極易再誘導新的不定芽的形成。由表2顯示，在所測試的培養基中，無論是½ MS 或 1 MS 鹽濃度均可以形成多芽，但繁殖的倍率以全量處理者較佳，½ MS 處理者其繁殖倍率約僅全量處理的半數而已，而且全量 MS 鹽類濃度培養基所形成的芽體也較½ MS 處理者健壯。不同之 cytokinin/auixin 組合濃度所形成之芽數略有差異，其中以全量 MS 鹽類濃度含BA 及 NAA 各1mg/l 之液體培養基所得之結果最好可達16.7倍。

表 2. 不同鹽類濃度及 cytokinin/auxin 比例對蜻蜓鳳梨不定芽培養繁殖倍率之影響

Table 2. Effects of salt concentration and cytokinin/auxin ratio on propagation rate of *Aechmea fasciata* Baker by adventitious bud culture.

Salt conc.	BA/NAA (mg/)	multishoot formation (%)	shoots per explant
1/2 MS	0.5/0.1	100.0	8.6
	0.5/0.5	100.0	8.1
	1.0/0.1	100.0	8.1
	1.0/0.5	100.0	7.0
	1.0/1.0	100.0	7.8
1 MS	0.5/0.1	100.0	12.8
	0.5/0.5	100.0	13.0
	1.0/0.1	100.0	13.5
	1.0/0.5	100.0	12.9
	1.0/1.0	100.0	16.7

由表3可知，直接剝取不定芽的葉片培養，可誘導多芽的形成，亦可供爲觀賞鳳梨繁殖途徑之一。然而不定芽葉片單獨切離培養，培植體較容易發生褐化而停止生長，在本試驗中約有40～60%的培植體有此現象。在有生長反應之培植體中，也僅有40～70%的培植體可形成多芽；其餘半數則只形成單芽，不定芽葉片的培養偶而同時形成不定根而成爲完整的小苗。其繁殖倍率大致而言，隨 cytokinin/auxin 比例的增加而增加，其中以 BA1.0/NAA0.5 (mg/l) 之組合所得結果最佳，約培養11週可得13.5倍。

表 3. 不同 cytokinin/auxin 組合濃度對蜻蜓鳳梨不定芽葉片培養繁殖倍率之影響

Table 3. Effects of various cytokinin/auxin concentration on adventitious bud formation of *Aechmea fasciata* Baker by leaf culture.

BA/NAA (mg/l)	browning (%)	adventitious bud formation		
		multishoot formation (%)	shoots per explant	rooting (%)
0.5/0.5	53.8	46.2	6.5	30.8
0.5/1.0	61.5	38.5	6.8	7.7
1.0/0.5	38.5	69.2	13.5	7.7
1.0/1.0	53.8	46.2	8.5	7.7
3.0/0.5	53.8	46.2	10.2	0.0
3.0/1.0	61.5	38.5	11.6	7.7
5.0/0.5	53.8	46.2	12.5	0.0
5.0/1.0	61.5	38.5	4.4	23.1

將形成之不定芽切割繼代培養或直接剝取不定芽葉片再培養，都可在培植體的基部再形成多數的不定芽[5,7,9,10,11,12,15,18,20]。在本試驗中，利用不定芽的切割繁殖於全量 MS 鹽類濃度含 BA 及 NAA 各 1 mg/l 之液體培養中，所得倍率最高且形成的芽體較壯。不定芽葉片的培養，雖然也是觀賞鳳梨繁殖的之途徑一，但其形成多芽的比率較低，因此仍以整個不定芽的繼代培養，爲蜻蜓鳳梨大量繁殖的最佳途徑。

容器內形成之蜻蜓鳳梨芽體經切割移植到含不同 auxin 種類與濃度之 MS 固體培養基中進行芽體生長與發根試驗。培植體約經四週的培養即可見到不定根的形成，而且自基部陸續形成不定芽。如表4顯示，NAA 或 IAA 都可誘導芽體形成不定根，IBA 則沒有不定根的發生；但就芽體生長效果及根群的形成而言，IAA 明顯地較 NAA 有效。但移植至含 IAA 培養基的培植體都自基部陸續形成多量的不定芽而成叢生狀，此種現象需經2～3次的移植始可消除，與 Jones 和 Murashige [9]的結果相似，此種現象顯示在繁殖過程中 cytokinin 抑制芽體頂端之生長而促進側芽的形成，此抑制效應甚至延遲至不含 cytokinin 的培養基[13,15,21]，需經2～3次的移植始可消除。

表 4. auxin 種類與濃度（mg/l）對蜻蜓鳳梨芽體拙長發根之影響

Table 4. Effects of different auxin and concentration on root formation of *Aechmea fasciata* Baker shoots.

	IAA		IBA		NAA	
	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
plant height (mm)	29.7	27.5	12.4	18.5	9.7	18.7
multishoot (%)	100.0	100.0	70.0	70.0	40.0	90.0
shoots/explant	9.2	13.4	6.9	10.7	6.8	14.6
rooting*	++	++	—	—	+	+
survival (%)	100.0	100.0	70.0	70.0	100.0	90.0

* —without rooting
+rooting but less number
++excellent rooting

當瓶苗長約3cm 且根系完整時即可進行馴化工作，經過四週的馴化處理，適應外界的光度及溫度後再將瓶苗移出管外種植。種植前將苗株基部浸泡於含 NAA 1,000 ppm 和免賴得（Benlate

) 1,000倍的殺菌劑中[1]約15分鐘，以根基旺＃3作爲栽培介質，並覆蓋打洞的透明塑膠布以保持濕度，約經4～6週即形成新根而順利成活。

參考文獻

1. 何偉眞 1985. 鳳梨瓶苗怎樣才易發根成活。 豐年 35(15)：13—15。
2. 邱金春 1988. 觀賞鳳梨組織培養繁殖。 豐年 38(20)：40—42。
3. 邱金春，林昭雄 1987. 觀賞鳳梨組織培養繁殖之研究，花卉生產改進研討會專集（張學琨及許東暉編輯）PP. 130—134， 桃園區農業改良場發行。
4. 馬溯軒 1984. 杜鵑之組織培養繁殖。 臺灣省農業試驗所特刊第14號 PP. 191—194， 臺灣省農業試驗所發行。
5. Davidson, S.E. and A. Donnan. 1977. In vitro propagation of *Cryptanthus* spp. Proceeding Florida State Horticultural Society 90 : 303—304.
6. Debergh, P. C. and L. J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Sci. Hort. 14 : 335—345.
7. Hosoki, T. and T. Asahira. 1980. In vitro propagation of bromeliads in liquid culture. Hortscience 15 (5) : 603—604.
8. Jolliffe, A. G. 1981. Propagation and cultural of Bromeliads. Proc. Intern. Plant Prop. Soc. 31 : 324—329.
9. Jones, J. B. and T. Murashige. 1974. Tissue culture propagation of *Aechmea fasciata* Baker and other bromeliads. Proc. Intern. Plant Prop. Soc. 24 :117—126
10. Mapes, M. O. 1973. Tissue culture of bromeliads. Int. Plant Propag. Soc. 23 : 47—55.
11. Mathews, V. H. and T. S. Rangan 1979. Multiple plantlets in lateral bud and leaf explant in vitro cultures of pineapple. Sci. Hort. 11 (4) : 319—328.
12. Mathews, V. H.; T. S. Rangan and S. Narayanaswamy. 1976. Micropropagation of *Ananas sativus* in vitro. Z. Pflanzenphsiol 79 : 450—454.
13. Mekers, O. 1977. In vitro propagation of some Tillandsioideae (Bromeliaceae). Acta Hort. 78 : 311—320.
14. Mekers, O. 1984. In vitro culture techniques in a breeding program of Bromeliaceae. Eucarpia. Potplant Breeding 43—46.
15. Mekers, O. and J. G. Van Onsem. 1983. In vitro propagation of *Vriesea* cultivars in comparison with other ornamental Bromeliaceae. Acta. Hort. 131 : 125—130.
16. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 135—166.
17. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15 : 473—492.
18. Pierik, R. L. M. and H. H. M. Steegmans. 1984. Vegetative propagation of *Nidularium fulgens*Lem. in vitro. Neth. J. Agric. Sci. 32 : 101—106.
19. Van Dijck, R.; M. De Proft and J. De Greef. 1988. Role of ethylene and cytokinins in the initiation of lateral shoot growth in bromeliads. Plant Physiol. 86 (3) : 836—840.
20. Zimmer, K. and W. Pieper. 1974. Propagation of *Aechmea fasciata* from lateral buds. Gartenbauwissenschaft 39 (6) : 569—574.
21. Zimmer, K. and W. Pieper. 1975. Further investigation on growing *Aechmea* in vitro. Gartenbauwissenschaft 40 (3) : 129—132.
22. Zimmer, K. and W. Pieper. 1976. Methods and problems of clonal propagation of bromeliads in vitro. Acta Hort. 64 : 25—29.
23. Ziv, M. and A. H. Halevy. 1983. Control of oxidative browning and in vitro propagation of *Strelitzia reginae*. Hortscience 18 (4) : 434—436.

Micropropagation of *Aechmea fasciata* Baker in vitro[1]

Chin-chun Chiou[2]

Summary

A tissue culture procedure for rapid clonal multiplication of *Aechmea fasciata* Baker is described. The procedure started with shoot-tips obtained from growing lateral shoots. Multiple-shoot arose from shoot-tip were grown on modified Murashige and Skoog's liquid medium with naphthaleneacetic acid (NAA) and 6－benzylamino purine (BA). A low salt concentration and liquid culture improved the survived rate of initial cultures. Subcultured young shoots or leaves produced many adventitious buds from the basal parts. In order to stop the proliferation of adventitious buds and to initiate rooting, several subcultures to hormone-free medium or with the addition of auxin as growth substance was necessary. Plantlet rooting was sucessfully established in pots.

Key words : *Aechmea fasciata* Baker, micropropagation

1. Contribution No. 1581 from Taiwan Agricultrual Research Institute. This research was supported by grants from the Council of Agriculture, Executive Yuan, R. O. C.

2. Research Assistant, Department of Vegetable Crops, Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Kaohsiung, Taiwan 83017, R. O. C.