藥用植物苦參微體繁殖及瓶苗馴化研究

林資哲[1]、夏奇鈮[2]、陳威臣[2]、葉茂生[1*]
[1]國立中興大學農藝學系
[2]行政院農業委員會農業試驗所生物技術組

摘要

藥用植物苦參(*Sophora flavescens* Ait.)大多生長於野外，天然結實之種子發芽不易，臺灣目前亦少有商業形式的栽培，市場所需藥材皆仰賴中國大陸進口。臺灣如欲大量栽種苦參，必須克服種子發芽率低之問題外，亦可利用組織培養技術建立苦參大量繁殖方法，以提供商業栽培所需之種苗。本研究以花蓮縣生產之苦參種子建立無菌瓶苗，再以瓶苗進行芽體增殖、瓶苗發根及瓶苗出瓶馴化等試驗。以兩種方法比較促進苦參種子發芽效果，一以 1% HCl 溶液浸泡種子 30 min，另一以 60℃溫水浸泡種子 60 min。在無菌播種後的結果顯示，以 60℃溫水處理之苦參種子，接種在 1/2 MS 鹽類配方培養基中，發芽率最高可達 73.33%。瓶苗繁殖方面，以莖節之瓶苗莖段為培植體，接種於添加 0-2.0 mg L^{-1} BA (benzyladenine) 或 TDZ (thidiazuron) 之 MS 基礎鹽類培養基中培養，結果以 2.0 mg L^{-1} BA 處理組之芽體誘導率最高 (96.67%)，平均每個莖段可增殖 10.4 個芽體。瓶苗發根方面，待芽體生長至 1.5-2 cm 後，切取單一芽體接種在添加 0-1.0 mg L^{-1} NAA (α-naphthalenacetic acid) 或 IBA (indole-3-butyric acid)之 1/2 MS 培養基中誘導發根，結果以 1.0 mg L^{-1} NAA 處理之瓶苗具最高之根數及根長表現。將已發根高約 4-5 cm 之組培苗移出瓶外種植，調查瓶苗期間施以不同濃度 NAA 與 IBA 之發根植株，經過 2 及 4 wks 馴化處理後的生長情形，結果顯示，瓶內發根次佳之處理 (0.5 mg L^{-1} NAA) 在經 4 wks 馴化後其小苗生長較瓶內發根最佳之 1 mg L^{-1} NAA 處理表現更佳。顯見在瓶內發根階段，雖然較高濃度的 auxin 處理下有利於根的生長，但過高之生長素濃度可能不利於後續植株之生長。因此，建議在瓶內發根培養時使用較低之 auxin 濃度即可，對於出瓶後小苗之生長可能更為有利。

關鍵詞：苦參、藥用植物、微體繁殖、馴化。

* 通信作者, msyeh@dragon.nchu.edu.tw
投稿日期：2010 年 6 月 18 日
接受日期：2010 年 8 月 4 日
作物、環境與生物資訊 7:145-152 (2010)
Crop, Environment & Bioinformatics 7:145-152 (2010)
189 Chung-Cheng Rd., Wufeng, Taichung Hsien 41362, Taiwan ROC

Micropropagation and Acclimation Studies on Medicinal Plant of *Sophora flavescens* Ait.

Tzu-Che Lin[1], Chi-Ni Hsia[2], Uei-Chern Chen[2] and Mau-Shing Yeh[1*]

[1] Department of Agronomy, National Chung-Hsing University, Taichung 40227, Taiwan ROC
[2] Division of Biotechnology, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung Hsien 41362, Taiwan ROC

ABSTRACT

Sophora flavescens Ait. is a commonly used medicinal plant in Taiwan. However, roots of *S. flavescens* for medicinal needs are mostly imported from China. Therefore, studies on how to overcome the problem of low seed germination and provide sufficient seedings of *S. flavescens* for commercial cultivation were carried out. Seeds of *S. flavescens* were collected from Hualien Hsien of Taiwan and were used to establish aseptic explants, shoot induction, proliferation, rooting and *ex vitro* acclimation. Two methods were

examined for the function in increasing seed germination. In the first one, seeds were soaking in 1 % HCl solution for 30 min, and the second one used 60℃ warm water for 60 min. The germination rate went up to 73.33% on a 1/2 MS-based salt medium in the second method. Nodal explants were cultured in a MS-based salt medium containing 0-2.0 mg L^{-1} BA (benzyl-adenine) or TDZ (thidiazuron) for shoot proliferation. The highest induction rate (96.67%) was obtained at 2.0 mg L^{-1} BA with 10.4 shoots $explants^{-1}$. Shoots with 1.5-2.0 cm in length were subcultured into a 1/2 MS-based salt medium containing 0-1.0 mg L^{-1} NAA (α-naphthalenacetic acid) or IBA (indole-3-butyric acid) for rooting. Both the highest root number and root length were obtained at 1.0 mg L^{-1} NAA treatment. Seeding growth after 2 to 4-weeks *ex vitro* acclimation was recorded. After 4-week acclimation, the second best rooting treatment *in vitro* (0.5 mg L^{-1} NAA) was found superior than 1 mg L^{-1} NAA treatment. Although higher auxin treatment might be benifical to *in vitro* rooting, a lower concentration of auxin for *ex vitro* seeding growth was recommended.

Key words: *Sophora flavescens* Ait., Medicinal plant, Micropropagation, Acclimation.

前言

苦參 (*Sophora flavescens* Ait.) 是豆科 (Leguminosae)槐屬植物，別名野槐根、山槐根、 牛人參，產地分佈於西伯利亞至中國、韓國、日本、臺灣等地(Huang and Ohashi 1993)。苦參為傳統中藥，在神農本草經中被列為中品。最早療效見於「本草經集註」，可治黃疸、小便淋瀝、癰腫及明止淚；「本草綱目」亦記載可用於殺腸寄生蟲、治慢性腸炎、下血及慢性痢疾；「本草從新」記載用於消癰解毒、明止淚、治菌痢下血、溺赤、黃疸、去風殺蟲、治疹癬及解酒毒。歷代本草對苦參功效的記載皆有補充(Chiu and Chang 1993)。

苦參根含生物鹼，如 d-苦參鹼、d-氧化苦參鹼、槐花醇、l-臭豆鹼、槐果鹼；另含有黃酮類成分，如黃腐醇、異黃腐醇、3,4,5-三羥-7-甲氧-8-異戊烯基黃酮、8-異戊烯基山奈酚等。苦參之莖及葉則含有木犀草素-7-葡萄苷 (Chen *et al*. 2004, Chiu and Chang 1993, Woo *et al*. 1998)。在近代醫學報導中指出，苦參具有抗菌、抗病毒、抗心律失常及抗腫瘤等作用(Zheng *et al*. 2002)。

臺灣產苦參大多為野生，天然結實之種子因種皮厚，硬實率高而發芽不易，目前亦少有商業栽培，藥材皆仰賴中國大陸進口以供市場所需。如欲在臺灣栽培苦參，必須先建立其種苗供應系統，因此擬利用組織培養方法建立苦參微體繁殖技術，提供產業栽培所需之種苗，提高臺灣藥用植物之開發與利用。

材料與方法

一、材料

採集自臺灣花蓮縣壽豐地區栽培之苦參 (*Sophora flavescens* Ait.)種子。

二、方法

1. 苦參種子前處理

種子以清水清淨後以 70% 乙醇浸泡 30 s，進行種皮表面消毒。接著種子分別以 1% 稀鹽酸浸泡 30 min 或 60℃ 溫水浸泡 1 h，處理後之種子以無菌水洗淨，再進行消毒處理。

2. 苦參種子消毒與無菌苗之建立

種子浸泡於 0.5%次氯酸鈉溶液中置入超音波震盪器 (Barnsonic B220, Branson Ultrasonic Corporation, USA) 中消毒 10 min，再以無菌水洗滌 4 次。將消毒完成之種子接種於基礎鹽類配方分別為 MS (Murashige and Skoog 1962) 或 1/2 MS，並添加 3% 蔗糖 (Sigma) 及 1% agar (Difco Bacto-agar) 之培養基，pH 值在高壓滅菌前調整為 5.7±1。每一處理分別播種 25 顆種子，播種 4 wks 後調查種子發芽情形。

3. 苦參芽體繁殖

由無菌苗切取長約 0.8-1.0 cm 之苗莖段為培植體，接種於含有 0、0.5、1.0、2.0 mg L^{-1} BA

(benzyladenine) 或 TDZ (thidiazuron) 之 MS 基礎鹽類培養基，每支試管接種 1 個培植體，每一處理接種 15 支試管，重複 2 次。培養條件為 25 ± 1℃光照下培養，光週期為 16 h 光照/8 h 黑暗，光強度 38 μmol m^{-2} s^{-1} 冷白光，培養 4 wks 後調查芽體形成率及每培植體形成之芽體數。

4. 芽體發根誘導

切取長約 1.5-2.0 cm 單一芽體，分別接種於含有 0、0.25、0.5、1.0、2.0 mg L^{-1} NAA (α-naphthaleneacetic acid)或 IBA (indole-3-butyric acid)之 1/2 MS 基礎鹽類培養基，每一處理接種 15 支試管，每支試管接種 1 株培植體，重複 2 次。培養條件同芽體繁殖所述，培養 4 wks 後調查瓶苗之發根率及每瓶苗之根數。

5.瓶苗出瓶馴化與種植

將已發根之苦參組培苗自試管內取出，以清水沖洗乾淨，再以稀釋 1,000 倍之 50% 免賴得可濕性粉劑(Dupont, USA) 浸漬 10 min。栽培介質[培養土(BioMix) : 珍珠石(南海 2 號): 蛭石(南海 2 號)= 1:1:1；v/v/v]經高壓滅菌後使用。瓶苗種入穴盤後以透明塑膠袋覆蓋保持濕度，置於 26 ± 2℃ (光週期為 16 h 光照/8 h 黑暗，光強度 60 μmol m^{-2} s^{-1} 冷白光) 生長箱(和德科儀，Model 624 HD，臺灣)中培養，小苗經 2 及 4 wks 馴化後，將穴盤移至溫室內生長並調查葉長、葉寬、株高、根數、根長及存活率。

結果與討論

一、種子前處理及播種培養基對苦參無菌苗建立之影響

苦參之種子在進行無菌播種前以 1% 稀鹽酸溶液及 60℃溫水處理不同時間後，接種在不同濃度之 MS 鹽類培養基中，培養 4 wks 後種子之發芽情形，如 Table 1 所示。經 ANOVA 分析顯示，苦參種子發芽率受種子萌前處理及培養基之鹽類濃度影響均達顯著性。苦參種子播種在不同鹽類濃度之 MS 培養基中，以 1/2 MS 培養基種子發芽率高於 MS 培養基處理組。種子前處理則以 60℃溫水處理較 1%稀鹽酸處理為佳，最高之平均發芽率可達 73.33%；未經前處理之對照組發芽率最低，僅有 40.0%。

苦參種子之種皮在乾燥後透氣及透水性差，未經處理的苦參種子，普遍有吸水膨脹緩慢及發芽率低之現象，因此欲藉由改善種皮的通透性以提高種子的發芽率。本研究中利用溫水及 1%稀鹽酸溶液浸泡來改善種子發芽之情形，兩種方法中以 60℃溫水處理 1h 與對照組相較，發芽率可提高 1.8 倍。推測 1h 的溫水處理可以幫助軟化苦參硬實之種皮，增加種皮的透氣及透水性。除此之外，高溫可能活化種子內的一些酵素，進而提高種子的發芽率。本試驗中利用 1%稀鹽酸溶液處理種子之效果雖然不及溫水處理，但其發芽率仍顯著高於對照組，足見種子前處理對苦參種子發芽之必要性。Li *et al.* (2009)以不同濃度硫酸處理苦參種子，發芽常以 98% 濃硫酸處理 90 min 後效果最好(83%發芽率)。推測本研究中鹽酸溶液使用濃度可能偏低，但高濃度的鹽酸操作具有危險性，且易造成種子過度受傷，因此推薦具有良好實施性的 60℃溫水處理。此外，研究中亦發現，利用鹽類濃度較低之播種培養基有助於提高苦參種子之發芽率。

Table 1. *In vitro* seed germination of *Sophora flavescens* Ait. on different pretreatments and strengths of MS medium.

Treatment	Germination (%)	
	MS	1/2 MS
Treatment-free	40.00 ^{d}	56.67 ^{bc}
1% HCl	43.33 ^{cd}	63.33 ^{ab}
60℃ water	56.67 ^{bc}	73.33 ^{a}

Means of seed germination rate followed by a different letter are significantly different at the 5% level by least significant difference test.

二、BA 及 TDZ 不同濃度對苦參芽體繁殖之影響

以苦參之莖節，培養於含有 0、0.5、1.0、2.0 mg L^{-1} BA 或 TDZ 培養基中誘導芽體產生，結果如 Table 2 所示。在芽體誘導率方面，除未添加分裂素的對照組及低濃度 (0.5 mg L^{-1})之 BA 外，兩種分裂素不同濃度處理的芽體誘導率皆高於 90%。培植體產生之芽

Table 2. Effect of BA and TDZ on shoot proliferation of *Sophora flavescens* Ait.

Plant growth regulator	Concentration (mg L^{-1})	Shoot induction (%)	No. of shoots explant^{-1}
Control	0.0	83.34 ^{c}	0.93 ^{e}
	0.5	86.67 ^{bc}	4.53 ^{d}
BA	1.0	93.34 ^{ab}	7.53 ^{b}
	2.0	96.67 ^{a}	10.40 ^{a}
	0.5	93.34 ^{ab}	5.37 ^{cd}
TDZ	1.0	90.00 ^{abc}	8.13 ^{b}
	2.0	96.67 ^{a}	7.10 ^{bc}

Means in each column followed by different letters show significantly differences at 5% level by least significant difference test.

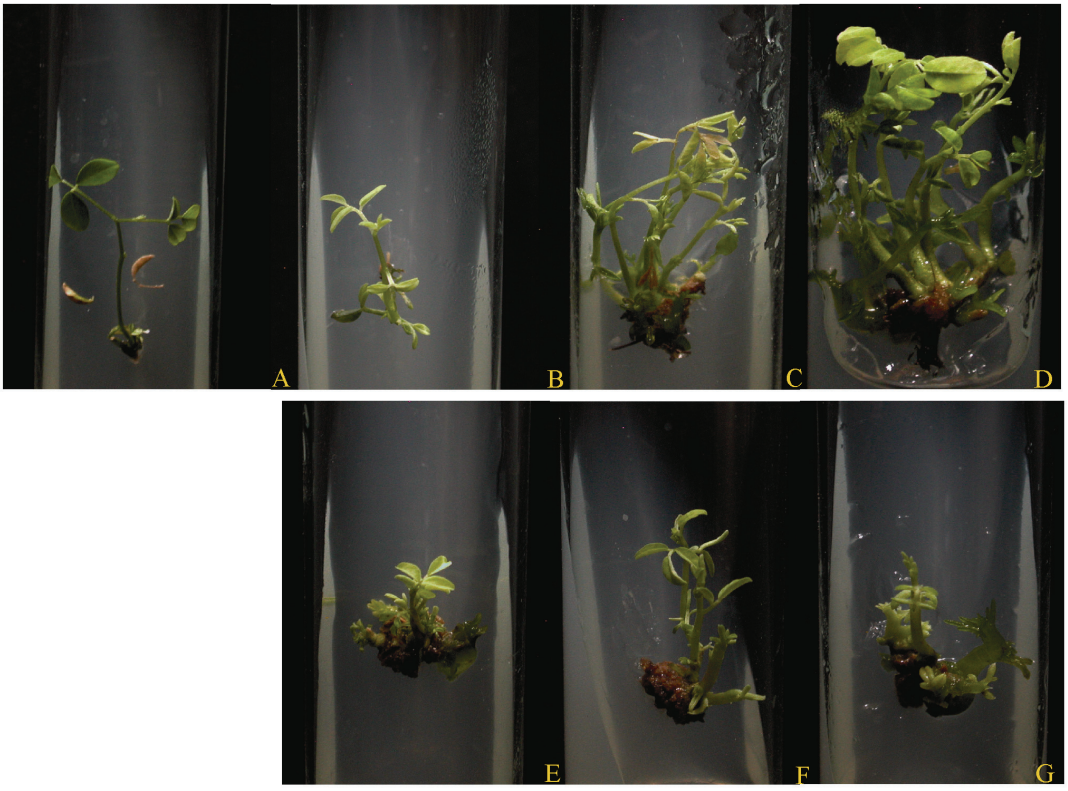


Fig. 1. Shoot proliferation of *Sophora flavescens* Ait. on a medium containing various concentrations of BA and TDZ after 4-week culture. (A) hormone – free; (B) 0.5 mg L^{-1} BA; (C) 1.0 mg L^{-1} BA; (D) 2.0 mg L^{-1} BA；(E) 0.5 mg L^{-1} TDZ; (F) 1.0 mg L^{-1} TDZ; and (G) 2.0 mg L^{-1} TDZ.

體數，明顯受生長分裂素添加之影響，且芽體數會隨著分裂素(cytokinin)濃度的提高而增加。對照組每一個培植體平均僅產生 0.93 個芽體，而 2.0 mg L^{-1} BA 處理之平均芽體數可達 10.4 個，但高濃度(2.0 mg L^{-1}) TDZ 理之芽體因有簇生之現象，正常芽體數反而減少(Fig. 1)。

植物生長調節劑中之分裂素具有促進細胞分裂、分化與生長的作用，亦具打破頂芽優勢促進側芽生長的效果，但使用過量則會抑制側根與不定根的形成。細胞分裂素中的 BA、kinetin、玉米素(zeatin)和異戊烯腺嘌呤(2ip)常用於微體繁殖時做為促進芽體增殖，其中又以 BA 的生理作用較強(Gaspar *et al*. 1996)。TDZ 是一種人工合成之植物生長調節劑，最早用於棉花除葉之用，其結構為苯基脲(diphenyl urea)置換物，作用與細胞分裂素類似。由於 TDZ 具有誘導不易再生之木本植物芽體增殖的能力，因此廣泛的被用於不定芽的誘導(Huetteman and Preece 1993)。Chang *et al*. (2002) 在牛樟 (*Cinnamomum kanehirae*)的組織培養研究上，利用不同濃度 BA、TDZ 及 BA 與 NAA 或 2,4-D 組合的增殖培養基來誘導多芽體產生。在單獨使用 BA 時隨著 BA 濃度增加，多芽體數目也跟著增加，當 BA 濃度為 2-6 mg L^{-1} 時芽體數顯著高於其它處理，且未有癒合組織形成。當芽體培養於含有 1.0 mg L^{-1} TDZ 培養基中，發現不但沒有芽體產生，在切口處還會產生癒合組織，顯示高濃度之 TDZ 處理會抑制芽體發育及誘導癒合組織之發生。本研究以不同濃度 TDZ 或 BA 處理進行芽體誘導，芽體誘導率及芽體數目皆隨生長分裂素濃度上升而有增加，但苦參培植體在 2.0 mg L^{-1} TDZ 培養基處理下，會產生叢生芽體及芽體玻璃質化現象，反而不利於芽體的正常生長(Fig. 1G)。

三、NAA 與 IBA 濃度對苦參芽體發根之影響

以 NAA 及 IBA 兩種生長素誘導芽體發根之結果如 Table 3 所示。芽體發根率以 0.5-1.0 mg L^{-1} NAA 最高，發根率為 88-98 %，每一小苗的平均發根數以 1.0 mg L^{-1} NAA 處理最佳，達 5.83 條；0.5 mg L^{-1} NAA 處理平均發根數為 3.23 條次之。IBA 各濃度處理之發根率介於 43-57 % ，平均發根數 1.03-1.20 條，與未添加生長調節劑之對照組相較，差異並不顯著。根長方面以 0.25-1.0 mg L^{-1} NAA 表現最佳，根長度在 2.9-4.0 cm 之間。

組織培養研究常利用 IAA、NAA 或 IBA

Table 3. Effects of NAA and IBA on root formation of *in vitro Sophor flavescens* Ait. seeding.

Plant growth regulator	Concentration (mg L^{-1})	Root induction (%)	No. of roots explant^{-1}	Root length (mm)
Control	0.00	35 ^{d}	1.33 ^{c}	14.51 ^{c}
NAA	0.25	48 ^{cd}	1.67 ^{c}	40.50 ^{a}
	0.50	88 ^{ab}	3.23 ^{b}	28.76 ^{ab}
	1.00	98 ^{a}	5.83 ^{a}	28.55 ^{ab}
	2.00	70 ^{bc}	1.70 ^{c}	9.45 ^{c}
IBA	0.25	43 ^{d}	1.03 ^{c}	10.01 ^{c}
	0.50	53 ^{cd}	1.63 ^{c}	17.88 ^{bc}
	1.00	57 ^{cd}	1.20 ^{c}	16.54 ^{bc}
	2.00	55 ^{cd}	1.23 ^{c}	20.44 ^{bc}

Means in each column followed by different letters show significantly differences at 5% level by least significant difference test.

等生長素促進組培苗發根，其中又以 IBA 與 NAA 之效果較佳(Gaspar *et al*. 1996, George 1993, Moncousin 1991)。本研究中苦參芽體以 1/2 MS 為基礎培養基，添加 0.25-2.0 mg L^{-1} NAA 或 IBA 進行發根誘導，結果顯示以 NAA 發根效果較 IBA 佳，其中又以 1.0 mg L^{-1} NAA 處理之芽體發根率及發根數最高，但 NAA 濃度提高至 2.0 mg L^{-1} 時，芽體基部開始有癒合組織之形成，發根率與根數皆有降低情形。

Chang *et al*. (2005) 進行喜樹(*Camptotheca acuminata*)之微體繁殖指出，2.0 mg L^{-1} NAA 處理下，喜樹瓶苗的平均發根數最高，其次是 1.0-4.0 mg L^{-1} IBA 與 0.1-1 mg L^{-1} NAA 處理，然而高濃度的 NAA 與 IBA 處理下可產生較多的根數，但正常的根會在較低濃度 IBA (0-2 mg L^{-1})形成，高濃度 IBA 與 NAA 處理會使莖芽落葉、產生癒合組織，且形成粗短的根，本試驗結果與此結果相似。在臺灣龍膽(*Gentiana davidii* var. *formosana*)組培苗發根研究中則顯示，添加 NAA 具有增加根徑的效果，但也造成發根率降低與基部癒合組織化現象，但適當添加 NAA 可增加根數與提高移植後的存活率(Chueh *et al*. 2001)。

四、瓶苗發根處理對瓶外馴化生長之影響

發根後之瓶苗移出瓶外，種植在已滅菌之栽培介質中，發根瓶苗在經 2 及 4 wks 生長箱馴化處理後，調查源自於不同生長素及濃度處理之小苗的生長表現及其存活率，結果如 Table 4 所示。在移植 2 wks 後，除高濃度之 2.0 mg L^{-1} NAA 葉片長度及小苗高度表現較差外，以及對照組及 IBA 處理組之小苗高度較矮外兩種生長分裂素各濃度以及對照組之間差異並不明顯。但在馴化 4 wks 後，除上述在 2 wks 時即表現較差之處理組外，發現低濃度 0.25-0.5 mg L^{-1} 之 NAA 或 IBA 在葉片生長之表現均較同種 auxin 較高濃度之處理組為佳；但在小苗高度與根數方面則顯不受 auxin 種類之影響；根長度則明顯不受 auxin 及濃度兩者之影響。小苗生長整體表現最佳者為源自 0.25-0.5 mg L^{-1} NAA 及 0.5 mg L^{-1} IBA 之處理組。各處理及對照組小苗在馴化 4 wks 後除 2.0 mg L^{-1} NAA 處理組外，小苗之平均存活率均可達 90%以上。

組織培養大量繁殖之瓶苗通常會在瓶內誘導發根後再出瓶，但仍有瓶苗出瓶後移植存活低的問題存在，且大多數組培苗發根的研究亦未追蹤發根瓶苗在出瓶後小苗馴化之表現。本研究在瓶苗發根階段藉由調整培養

Table 4. Influence of *in vitro* auxin treatment on plantlets acclimation of *Sophora flavescens* Ait.

Auxin	Concentration (mg L^{-1})	Length of leaf (mm)		Width of leaf (mm)		Height of shoots (mm)		No. of roots	Length of root (mm)	Survival rate (%)
		2wks	4wks	2wks	4wks	2wks	4wks	4wks	4wks	4wks
Control	0.00	5.93^{b}	8.61^{bc}	3.33^{ab}	4.47^{c}	42.91^{c}	49.88^{c}	4.67^{b}	38.55^{cd}	100.00
NAA	0.25	7.74^{ab}	12.85^{ab}	4.43^{ab}	7.11^{ab}	55.06^{bc}	61.04^{abc}	6.60^{ab}	87.13^{ab}	96.67
	0.50	9.80^{a}	13.40^{a}	5.46^{ab}	6.94^{ab}	70.42^{a}	79.48^{a}	8.40^{a}	91.69^{a}	100.00
	1.00	8.01^{ab}	8.45^{c}	3.96^{ab}	4.24^{c}	64.41^{ab}	71.04^{ab}	5.50^{ab}	73.40^{abc}	93.34
	2.00	2.43^{c}	3.05^{d}	1.61^{b}	2.08^{d}	46.11^{c}	58.42^{bc}	4.38^{b}	20.14^{d}	70.00
IBA	0.25	7.28^{ab}	11.07^{abc}	4.32^{ab}	6.33^{abc}	44.47^{c}	50.01^{c}	4.30^{b}	49.15^{bcd}	100.00
	0.50	7.57^{ab}	12.43^{abc}	7.33^{a}	7.49^{a}	44.58^{c}	64.24^{abc}	4.10^{b}	74.99^{abc}	100.00
	1.00	6.19^{b}	8.75^{bc}	3.86^{ab}	5.01^{bc}	44.73^{c}	49.41^{c}	4.10^{b}	58.88^{abcd}	96.67
	2.00	7.25^{ab}	9.22^{bc}	4.00^{ab}	5.00^{bc}	46.96^{c}	51.21^{c}	4.30^{b}	43.90^{cd}	93.34

Means in each column followed by different letters show significantly differences at 5% level by least significant difference test.

基中添加之 auxin 種類及濃度促進組培苗發根外，更進一步追蹤處理發根處理對於植株在馴化期間生長表現。本研究觀察，在瓶內發根數次佳之 0.5 mg L^{-1} NAA 處理組，以及 0.5 mg L^{-1} IBA 處理組之小苗在馴化階段生長表現上皆有漸佳之表現。本研究中亦發現瓶內 IBA 發根處理之小苗與 NAA 處理之小苗相比，除 0.5 mg L^{-1} IBA 處理組有較長之根長與株高，其餘皆較 NAA 處理組差，auxin 的種類是否影響小苗的株高與根長值得進一步研究。

瓶苗發根主要是提高瓶苗出瓶之成活率，但鮮少有研究追蹤最佳之發根處理在瓶苗出瓶後是否亦有最高之馴化成活率及小苗生長優勢(Chang *et al*. 2005, Chueh *et al*. 2001, Miguel *et al*. 2001)。本研究持續追蹤不同發根處理之瓶苗在出瓶後的生長表現，發現不能僅以瓶內發根的情形做為評斷之標準。本研究中發根結果最佳之處理 (1.0 mg L^{-1} NAA)，在經 4 wks 馴化後其表現反而不如較低之濃度(0.25-0.5 mg L^{-1} NAA) ，在瓶苗發根時表現並非最佳之 0.5 mg L^{-1} IBA 處理，經馴化 4 wks 後，在各項生長指標上卻有漸佳之表現。因此建議瓶內發根以適量或偏低濃度之 auxin 進行發根處理，避免因濃度較高的 auxin 處理，雖然瓶苗發根表現較佳，但因生長素的不平衡，反而影響小苗後續之生長表現。

結論

綜合上述試驗之結果，建議苦參之種子在播種前以溫水浸泡處理，並使用鹽類濃度較低之播種培養基，可以有效的提高苦參種子的發芽率。在瓶苗增殖階段，使用 2.0 mg L^{-1} BA 大量繁殖芽體，在瓶苗發根階段雖然在較高濃度的 auxin 處理下有利於根的生長，但可能不利於瓶苗出瓶後植株之生長。因此，建議在瓶內發根培養時，適當使用濃度較低之 auxin，對小苗出瓶後之生長較為有利。

誌謝

本研究承蒙行政院農業委員會計畫(95農科-6.1.3-糧-Z2(17))之經費支持，謹致謝忱。

引用文獻

Chang HS, CK HO, JY Tsai (2002) *In vitro* culture of *Cinnamomum kanehirae*. (in Chinese) **Taiwan J. Sci**. 17 : 491-501.

Chang, HS, JY Tsai, YR Hsui, CK HO (2005) Micropropagation and evaluation of the camptothecin content of *Camptotheca acuminate*. (in Chinese) **Taiwan J. Sci.** 20 : 331-340.

Chen XC, YX Yang, X Wang (2004) Liquid chromatography of active principles in *Sophora flavescens* root. **J. Chromatogr.** 812:149-163.

Chiu NY, KH Chang (1983) The Illustrated Medicinal Plants of Taiwan. Southern Materials Center, Taiwan. 99 pp.

Chueh FS, CC Chen, AP Sagare, HS Tsay (2001) Quantitative determination of secoiridoid glucosides in *in vitro* propagated plants of *Gentiana davidii* var. *formosana* by high performance liquid chromatography. **Planta Medica** 67 : 70-73.

Gaspar T, C Kevers, C Penel, H Greppin, DM Reid, TA. Thorpe (1996) Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. ***In Vitro* Cell Dev. Biol.** 32 : 272-289.

Gerorge EF (1993) Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1: The Technology. Exegetics Ltd., England. 574 pp.

Hung TC, H Ohashi (1993) 57 Leguminosae. p. 364-367. *In*: Flora of Taiwan. 2nd ed. vol. 3. Editorial Committee of the Flora of Taiwan (eds.) National Science Council of ROC, Taipei.

Huetteman CA, JA Preece (1993) Thidiazuronra potent cytokinin for woody plant tissue culture. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 33 : 105-119.

Li GS, S He, CK Bai (2009) Study on germination accelerating-technology on Sophora (*Sophora flavescens* Ait.) seeds and polyploidy induction by colchicine. **Seed** 28 : 24-26.

Migule J, M Larrain, A Tapia, C Roveraro (2001) *In vitro* regeneration of *Sophora toromitro* from

seeding explant. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 89 : 89-95.

Moncousin C (1991) Rooting of microcuttings: general aspects. **Acta Hortic.** 289 : 301-310.

Murashige T, F Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiol. Plant.** 15 : 437-497.

Woo ER, JH Kwak, HJ Kim, H Park (1998) A New prenylated flavonol from the root of *Sophora fllavescens*. **J. Nat. Prod.** 61 : 1552-1554.

Zheng YQ, JN Yao, XD Shao (2002) Review on the constituents and agriculture application of *Sophora flavescens* Ait. (in Chinese) **Pesticide Sci. Administr.** 21 : 24-30.

－編輯：楊純明