# 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[1]

林郁進[3] 陳忠川[3] 葉豐次[3] 邱年永[3] 蔡新聲[2]

**摘要**：臺灣白及〔*Bletilla formosana* (H.) S.〕係臺灣固有植物，種子於自然狀態下不易萌芽，且傳統分芽繁殖法速度極爲緩慢，致產量不足，無法供爲藥用。本研究以臺灣白及種子進行無菌播種，期能誘導種子萌芽並提高萌芽率，建立大量繁殖之模式，結果發現臺灣白及各種成熟度之果莢，以發育至魚雷前期之種子萌芽率最佳且小苗生長快速；在2,000 lux光照下，3％雙氧水預措處理種子5分鐘，可使種子提早萌芽並提高萌芽率至98％。4°C低溫前處理種子與培養基中添加活性碳均無益於種子萌芽。

**關鍵詞**：臺灣白及、組織培養、種子萌芽率。

白及著錄於神農本草經，列爲草部下品，以後歷代諸家本草皆有收載與增著，並延用迄今之重要藥材之一；本經云白及主癰腫惡瘡、敗疽傷陰死肌、胃中邪氣、賊風鬼擊、痱緩不收[3]。近代藥理學研究更顯示，白及具有止血、抗炎與抗肝腫瘤之作用，主治肺炎、肺結核及胃、十二指腸潰瘍等疾病。

臺灣白及 [*Bletilla formosana* (H.) S.] 係臺灣固有蘭科 (Orchidaceae) 、白及屬 (*Bletilla*) 之多年生草本植物，與白及 (*Bletilla striata*) 爲同屬植物，亦可採其塊莖乾燥後視爲白及藥材使用。因產量不豐，復因屢被採摘爲園藝觀賞用，野生今已不多見，故罕被入藥用。白及傳統上皆賴塊莖分割法繁殖，速度極爲緩慢，致產量不足，無法大量生產以供藥用，故白及藥材自來皆仰賴進口以供市場所需。爲開發省產藥材與因應園藝資源之供需，研究利用組織培養大量繁殖臺灣白及有其必要。

本研究之目的爲探討臺灣白及胚之成熟度與萌芽能力關係，並了解種子之前處理對萌芽與小苗發育之影響，以建立臺灣白及種子無菌播種模式。

### 材料與方法

#### 一、材　料

本研究使用之材料，係白及之同屬植物臺灣白及 [*Bletilla formosana* (H.) S.] (圖1.)，經人工自花授粉後之未成熟果莢 (圖2.)

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第1704號。
2. 本所農藝系研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。
3. 中國醫藥學院中國藥學研究所研究生、副教授、副教授、技正。臺灣省　臺中市。







圖1. 野生之臺灣白及。

圖2. 臺灣白及不同成熟度果莢。自花受粉後約（A）90（B）75（C）60（D）45及（E）30天。

Fig. 1. Wild-grown plant of *Bletilla formosana*

Fig. 2. Outward appearance of different maturity capsule of *B. formosana* after self-fertilization for (A) 90 (B) 75 (C) 60 (D) 45 and (E) 30 days.

## 二、方 法

㈠果莢之消毒與種子播種

將果莢以清水洗淨，先以70%酒精消毒 3 分鐘，再用0.5%次氯酸鈉溶液，配合手振盪消毒10分鐘以加強效果後，移至無菌接種箱中，以無菌水清洗三次，再持刀片剖開果莢，挑取種子實施無菌播種，剩餘種子則以石蠟包埋法並用 Hematoxylin 染色，製作10$\mu$厚度之永久切片觀察。另將未消毒種子播種於蛇木屑與蛭石之混合植材中，置於室外，同步觀察其萌芽情形。

㈡培養基的配製

本研究使用之培養基其含有成分爲 Murashige & Skoog (1962) (MS)[18]之無機鹽類，添加 3% sucrose、3mg/l BA、0.2mg/l NAA、20%椰子汁、2g/l peptone、40mg/l adenine sulfate、3g/l 活性碳及0.8%agar 之固體培養基。培養基於加入 agar 前，先用 1 NNaOH 或 HCl 將 pH 值調至5.7±0.1，再以121°C、15 lb/in$^2$ (1.05kg/cm$^2$) 之高溫高壓滅菌15分鐘後，每根試管 (25×150mm) 內放置10ml 培養基，擺成長斜面放冷備用。

㈢培養環境：將接種後之材料置於25±1°C之恆溫，以2,000 lux之光強度，每日光照16小時下培養。

㈣種子播種法：成熟度試驗中，種子分別來自五種不同成熟度果莢，其它試驗則以成熟度試驗之最佳結果爲材料。用接種環將種子以散佈方式平均播種，每試管內約有100～150個種子，每一處理均有10根試管以上之重複數。

㈤種子發育時期之區隔：爲方便調查多種處理對種子萌芽之效果，將白及種子之早期發育時期區分爲如表 1 所示的七個時期。

表1. 臺灣白及種子萌芽與小苗發育之分期

Table 1. Developmental stages in seed germination and seedling growth of *B. formosana*

| | |
|---|---|
| 0 | Seed germination |
| | a. Embryo swelling inside the coat and turning green. |
| | b. Papillá formed and extruded out of seed coat. |
| 1 | Embryo burst out of the seed coat and formed a protocorm with a pointed vegetative apex. |
| 2 | Protocorm with 1st leaf initiation and stomata formed under apex. Apex length is between 0.2～0.5 mm. |
| 3 | Protocorm with 1st leaf. Apex length is between 0.5～2.0 mm. |
| 4 | Protocorm with 1st leaf. Apex length is more than 2.0 mm. |
| 5 | Protocorm with 2nd leaf formed. Leaf length is smaller than 0.5 mm. |
| 6 | Protocorm with 2nd leaf formed. Leaf length is larger than 0.5 mm. |

㈥統計分析法：各處理間之比較，係以 Duncan's 多變域測定法 (multiple range test) 測定其差異性。

## 結 果

### 一、種子成熟度對種子萌芽率與小苗發育之影響

臺灣白及授粉前子房呈淡綠色略帶紫色，經自花授粉後轉爲綠色，顏色逐漸加深且快速膨大，圖 2 顯示多個發育時期之果莢外形；白及雖爲單子葉植物，但其發育過程卻與雙子葉植物頗爲類似，即

胚之發育成熟度約可分爲球形期（globular shape stage），心臟前期（early-heart shape stage），心臟末期（late-heart shape stage），魚雷前期（early-torpedo shape stage）與魚雷後期（late-torpedo shape stage），本文爲敍述上之便，而以上述五種時期作爲不同成熟度種子之指標。授粉後約30天，果莢長與寬之比例雖已穩定，但仍十分瘦小不夠飽滿，此時種子呈白色，種皮已形成，內部胚發育成球形，細胞核明顯，細胞大小約略相等但偶有空胞，（表1；圖3）；授粉後45天，果莢漸飽滿，仍爲深綠色，種子微呈黃白色，細胞質較球形期時濃密，胚細胞數增多且緊密，顯已分裂至心臟前期；授粉後60天，果莢由一側開始變黃，種子黃色，胚細胞呈兩極分化，頂端（anterior）細胞較小但細胞核明顯，下端（posterior）細胞大且細胞核不明顯，爲心臟末期；授粉後75天，果莢呈黃竭色，種子顏色趨近淺褐色，胚細胞數目增多且細胞變小，胚形體變大延長爲魚雷前期（圖3），石蠟切片觀察，發現胚中似有某種物質與染劑緊密結合，致染劑並未完全褪除（圖4），授粉後90天，果莢已呈褐色且近乾裂狀態，種子呈褐色，內部胚已發育至魚雷後期，且染劑佈滿胚細胞（圖5）。

上述各期之種子皆無菌播種於MS基本鹽類添加1％ sucrose，3mg/l BA，0.2mg/l NAA，20％ coconut water，2g/l peptone，40mg/l adenine sulfate，3g/l active charcoal及0.8% agar之固體培養基中。結果如表2與圖6所示，播種後45天，各時期種子之萌芽率皆不理想，且原球體發育緩慢；播種後90天，心臟末期與魚雷前期之種子皆有七成以上萌芽率，且魚雷前期之種子已有第三片眞葉形成；播種後135天，魚雷前期種子約有98%之萌芽率，且小苗發育快速，已萌發至第五片眞葉，平均每株小苗鮮重達26.5mg，葉片長度可達13mm，而心臟末期種子則較差，僅形成第三片眞葉，平均每株小苗鮮重5.2mg，葉片長度亦僅達6mm。隨成熟度減低至球形期，種子萌芽率降低且小苗發育遲緩，但高度成熟之魚雷末期種子雖已播種135天，仍未發現發芽跡象。另外播種於已滅菌混合植材之種子，亦未見發芽。

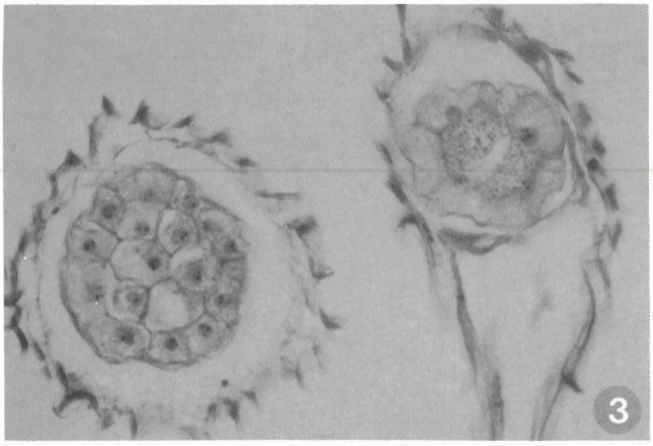
表2. 種子成熟度對臺灣白及種子萌芽與小苗發育之影響

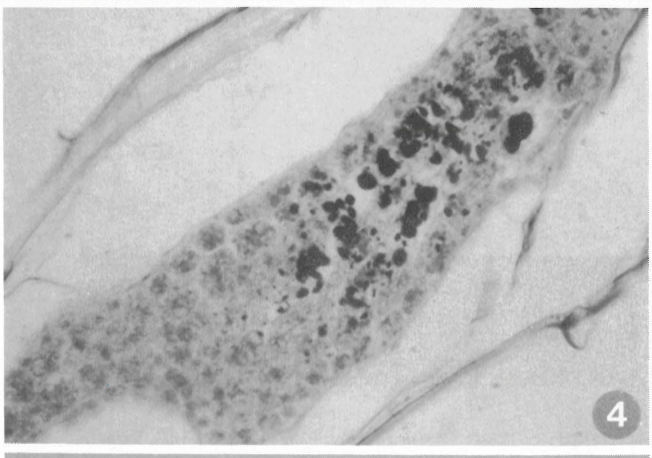
Table 2. Influence of seed maturity on seed germination and seedling development of *B. formosana**

| Seed maturity | Germination rate (%) | | Fresh weight per each plant taken from 135 days after inoculation (mg) |
|---|---|---|---|
| | 45 days after inoculation | 135 days after inoculation | |
| Globular shape | 0.83$^{d}$** | 6.40$^{c}$ | 0.8$^{d}$ |
| Early-heart shape | 2.14$^{c}$ | 66.65$^{b}$ | 1.8$^{c}$ |
| Late-heart shape | 2.41$^{b}$ | 86.48$^{a}$ | 5.2$^{b}$ |
| Early-torpedo shape | 3.96$^{a}$ | 90.21$^{a}$ | 26.5$^{a}$ |
| Late-torpedo shape | 0.00$^{e}$ | 0.00$^{c}$ | 0.0$^{d}$ |

* Basal medium : MS salts with 1% sucrose, 20% coconut water, 2g/l peptone, 40mg/l adenine sulfate, 3mg/l BA, 0.2mg/l NAA, 0.3% charcoal and 0.8% agar.

** Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.



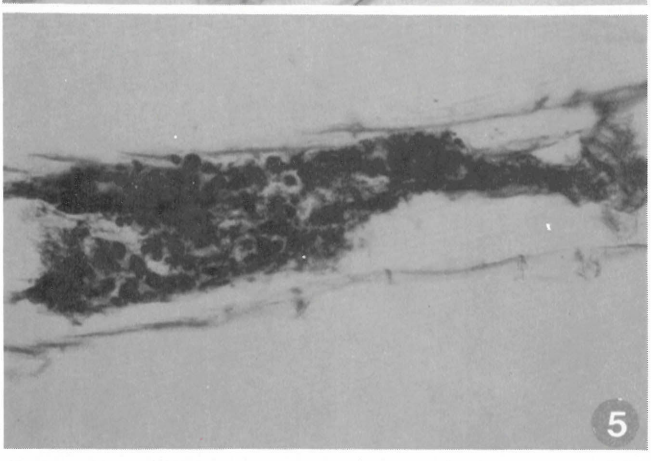




圖3. 球型期胚之切片，左：縱切面右：橫切面（100 x）。
圖4. 魚雷前期胚之切片（150 x）。
圖5. 魚雷末期胚之切片（100 x）。

Fig. 3. Cross (right) and longitudinal section of embryo at globular shape stage
Fig. 4. Section of embryo at early-torpedo shape stage
Fig. 5. Section of embryo at late-torpedo shape stage

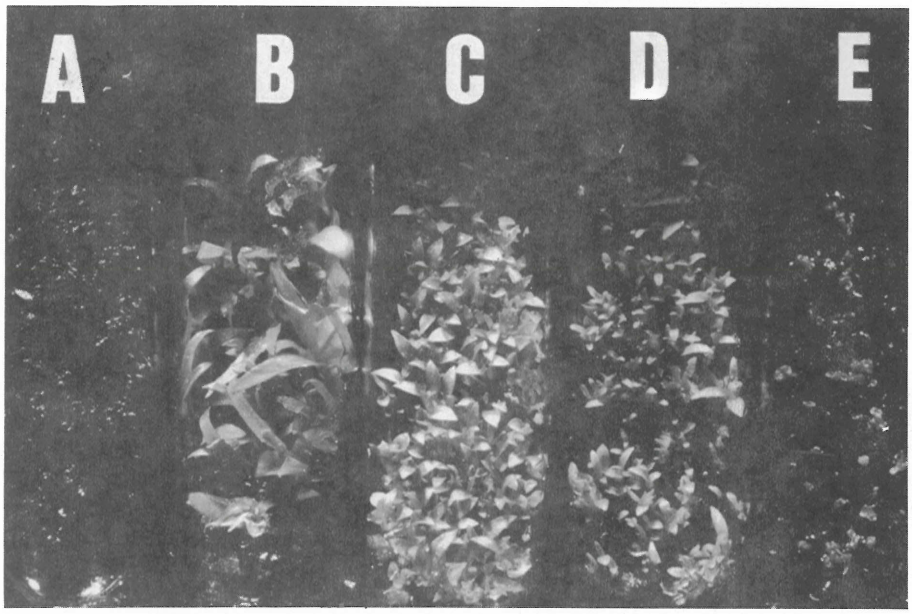



圖6. 不同成熟度種子播種135天後，種子萌芽與小苗發育情形。
(A)魚雷末期胚　(B)魚雷前期胚　(C)心臟末期胚　(D)心臟前期胚及　(E)球型期胚。

Fig. 6. Outward appearance of seed germination and seedling development from different seed maturity of *B. Formosana* after 135 days in cultured.
(A) Late-torpedo shape (B) Early-torpedo shape (C) Late-heart shape
(D) Early-heart shape and (E) Globular shape stage

## 二、預措處理對種子萌芽率與小苗發育之影響

取魚雷前期之種子，分別以3％雙氧水、0.1N NaOH 及0.1 M $KMnO_4$ 三種化學藥劑進行預措處理後再播種，結果如表3所示，3％雙氧水可促進種子提早發芽且有效提高萌芽率，未經處理之種子經接種40天後，發芽率僅3.9%，經3％隻氧水處理1分鐘之種子，其萌芽率可提高至74.3%，而處理5分鐘之種子，其萌芽率更高達96.3%，效果極爲顯著且小苗發育十分快速，顯示雙氧水處理之效果甚佳，但處理時間過長（10分鐘）時，不僅萌芽率不及處理5分鐘者，且小苗發育亦相對減緩；0.1N NaOH 溶液處理1～5分鐘雖可提高萌芽率，但效果不若雙氧水佳而小苗發育也較遲緩；至於0.1M $KMnO_4$ 對種子萌芽率與小苗發育則無效。

表3. 化學試劑預處理對臺灣白及種子萌芽與小苗發育之影響

Table 3. Influence of chemical agents pretreatment on seed germination and seedling development of *B. formosana**

| Duration of chemical agents pretreatment (min) | | | Germination rate | % of seedling in different developmental stage** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 3% $H_2O_2$ | 0.1N NaOH | 0.1M $KMnO_4$ | —%— | 3 | 4 | 5 |
| CK:(pretreated in water for 1 min) | | | 3.9[g]*** | 3.8 | 0.3 | 0.0 |
| 1 | 0 | 0 | 74.3[b] | 1.1 | 72.1 | 1.1 |
| 5 | 0 | 0 | 96.4[a] | 0.3 | 94.2 | 1.9 |
| 10 | 0 | 0 | 46.4[c] | 2.2 | 43.1 | 1.3 |
| 0 | 1 | 0 | 12.4[d] | 4.0 | 7.4 | 1.0 |
| 0 | 5 | 0 | 10.6[e] | 4.8 | 5.2 | 0.6 |
| 0 | 10 | 0 | 5.2[f] | 3.6 | 1.6 | 0.0 |
| 0 | 0 | 1 | 3.3[g] | 2.4 | 0.9 | 0.0 |
| 0 | 0 | 5 | 1.4[h] | 1.4 | 0.0 | 0.0 |
| 0 | 0 | 10 | 0.0[i] | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

* Seeds maturity at 75 days after pollination were used as culture material. Culture duration : 40 days.
Basal medium : same as Table 2.
** Seedling in different developmental stage : same as shown in Table 1.
*** Same as Table 2.

## 三、活性碳對種子萌芽率與小苗發育之影響

添加0.3%活性碳之培養基，雖小苗葉片伸展極佳，顏色深綠，背地性良好，但隨著活性碳濃度由0.1%提高至0.7%時，種子萌芽率呈下降趨勢，且小苗生長逐漸遲緩，故仍以不添加活性碳爲適當選擇（表 4）。

表4. 活性碳對臺灣白及種子萌芽與小苗發育之影響

Table 4. Influence of charcoal concentration on seed germination and seedling development of *B. formosana**

| Charcoal conc. | Germination rate | % of seedling in different developmental stage** | | | Color of |
|---|---|---|---|---|---|
| (%) | —%— | 4 | 5 | 6 | the plant |
| 0.0 | 99.2[a]*** | 70.4 | 9.0 | 19.8 | light green |
| 0.1 | 98.7[a] | 92.6 | 6.2 | 0.0 | light green |
| 0.3 | 96.4[b] | 94.7 | 2.1 | 0.0 | dark green |
| 0.5 | 94.4[c] | 94.4 | 0.0 | 0.0 | dark green |
| 0.7 | 80.2[d] | 80.2 | 0.0 | 0.0 | dark green |

* Seeds maturity at 75 days after pollination were pretreated by 3% $H_2O_2$ for 5 min before inoculation. Culture duration : 40 days. Basal medium : same as Table 2.
** Same as Table 1.
*** Same as Table 2.

## 四、低溫前處理對種子萌芽率與小苗發育之影響

種子經 4 °C之低溫前處理14～48天，不但無法提高萌芽率且對小苗發育與生長有不利之影響；隨處理時間延長，萌芽率逐漸降低且小苗發育漸趨細長柔弱；處理時間超過42天，不論種子萌芽或小苗發育皆呈抑制效果（表 5）。

表5. 低溫（4°C）前處理對臺灣白及種子萌芽與小苗發育之影響

Table 5. Influence of cold pretreatment (4°C) on seed germination and seedling development of *B. formosana**

| Duration of 4°C pretreatment (day) | Germination rate | % of seedling in different developmental stage** | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | —%— | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 0 | 97.2a*** | 2.4 | 68.5 | 16.3 | 10.0 |
| 14 | 99.2a | 2.6 | 65.8 | 16.3 | 14.5 |
| 28 | 97.3a | 5.7 | 74.6 | 12.8 | 4.2 |
| 42 | 76.7b | 8.4 | 66.2 | 1.5 | 0.6 |

* Same as Table 4.
Basal medium : same as Table 2 except 0.3% charcoal was omitted.
** Same as Table 1.
*** Same as Table 2.

## 討　論

許多報告指出蘭科植物種子常因內生發芽抑制物質，造成種子不能發芽或發芽延遲現象。Horiuchi et al. 曾報導 *Polyembryonic citrus* 之心臟期種子萌芽率較高[12]；Mathews and Rao 亦指出當萬代蘭果莢仍呈綠色時即採收播種，可獲得80～100%發芽率，俟成熟轉黃時，發芽率降低至30%[17]；而 Nagashima 認爲*Bletilla striata* 授粉後45天之未成熟胚雖具發芽能力，卻以較接近成熟之種子萌芽率最佳[19]；莊及李則報導觀察臺灣一葉蘭種子之胚在開始轉黃後播種，小苗生長勢漸減弱，至胚呈黃褐色時再播種，已嚴重損害種子之發芽與小苗生長[4]；Harvis and Madley 則報導蘭花果莢過於成熟至將開裂時，其種子發芽率極差[11]；以上學者認爲萌芽率隨種子成熟度增加而增加，至成熟後則反而下降，因此果莢由綠轉黃或種子之胚由白轉黃至褐色之成熟過程中，似有發芽抑制物質逐漸形成，致過熟種子萌芽能力降低。本研究發現臺灣白及種子，由球形期發育至魚雷前期時，種子之胚顏色逐漸加深，萌芽率亦逐漸上升，而以魚雷前期種子萌芽率最高，至魚雷末期種子則已完全失去萌芽能力，故推論發芽抑制物質可能在本時期大量形成且發生抑制作用。

利用化學藥劑預措處理蘭科種子，較能克服種子因內生發芽抑制物質，而無法發芽或發芽延遲之困難。Kim et al. 報導以10%氫氧化鉀溶液洗滌蘭花種子，可使萌芽率由2.8%提高至12.8%[16]；王以0.1M 氫氧化鉀溶液處理東亞蘭種子10～20分鐘，亦發現可有效去除發芽抑制物質而提高萌芽率[1]；Baker et al. 則報導0.05%雙氧水雖可顯著提高洋蘭種子萌芽率，但卻抑制 Ponthieva 種子之萌芽能力[5]；以上結果顯示因品種材料及差異，而可產生不同發芽抑制物質，故選用適當之化學藥劑是成功之關鍵。本研究結果顯示，以 3 %雙氧水處理臺灣白及種子 5 分鐘後，可有效提高萌芽率（表 3），處理時間過長或不足均不適宜，而0.1N NaOH 及0.1M $KMnO_4$之處理則效果不佳。提高臺灣白及種子萌芽率之機制，是否爲洗清發芽抑制物質？抑因雙氧水之處理，使水分、養分與空氣容易進入種皮，而有利其發芽？或其它原因？尚有待進一步之研究。

本研究發現培養基中添加活性碳，可使臺灣白及小苗具有強烈背地性，其原因可能如Horner et al. 與 Wang and Huang 所報導，活性碳可吸附乙稀及減弱光源有關[13,22]。Ernst 指出活性碳可促進拖鞋蘭及蝴蝶蘭之生長[6,7,8]；呂和李（1986）亦報導活性碳可促進鳳蘭種子之發芽[2]，而其主要機制 Fonnesbech 及 Fridborg and Eriksson 指出，活性碳可吸附某些植物細胞所分泌之有毒物質[9]，如大量 phenylacetic acid 及 benzoic acid 等衍生物，而使小苗生長較佳[10]。本研究結果顯示，臺灣白及種子播種於含活性碳之培養基中，小苗生長具強烈背地性，葉片開展良好，但提高活性碳濃度卻使萌芽率下率，且小苗體型較小，此可能與某些營養成分被活性碳吸附，致小苗營養不良有關

(21)。

植物種子常具有休眠週期性以適應不良環境。低溫前處理是最常被應用於打破種子休眠的方法。Kato and Ozawa 發現先將 *Heloniopsis orientalis* 葉片及塊莖以16°C前處理 7 ～12天後再培養，可提高其分化不定芽之能力(15)；Inamura and Saitou 將 *Aerides japonicum* 種子冷凍（−18°C）處理380天後，再行播種，可顯著提高發芽率(14)；Tsay et al. 也證實10°C低溫前處理，可打破半夏（*Pinellia ternata*）珠芽之休眠期，而有益於珠芽形成不定芽(19)。但本研究將臺灣白及種子先以4°C前處理14、28及42天後再行播種，發現14或28天之冷藏處理，並無提高萌芽率之效果，而冷藏超過42天時，反使萌芽率下降（表 5），因此臺灣白及種子發芽不良可能非休眠之故。

本研究顯示臺灣白及以未達完全成熟之種子較易發芽，且 3%雙氧水前處理種子 5 分鐘後，可大幅提高發芽率之結果觀之，臺灣白及種子極有可能因過度成熟而形成發芽抑制物質，配合生化學者分析此物質，乃未來值得研究之方向。

## 誌 謝

本研究承國科會經費補助（82NSC—0409—B055—04）特此申謝。

## 引用文獻

1. 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。20～30頁。臺北。
2. 呂依倫、李 晔。1990。鳳蘭之無菌發芽。中國園藝 36：198～209。
3. 唐愼微。1249。重修政和經史證類備用本草。卷十，草部下品之上。255～256頁。南天書局。1976。臺北。
4. 莊錦華、李 晔。1983。臺灣一葉蘭無菌發芽與小苗生長。中華農學會七十二年度年會特刊。62～78頁。臺北。
5. Baker, K.M., M. C. Mathes and B. J. Wallace. 1987. Germination of Ponthieva and Cattleya seeds and development of *phalaenopsis* protocorms. Lindleyana 2：77～83.
6. Ernst, R. 1974. The use of activated charcoal in asymbiotic seedling culture of Paphiopedilum. Journal of American Orchid Society Bulletin 43：35～38.
7. Ernst, R. 1975. Studies in asymbiotic culture of orchid. Journal of American Orchid 44：12～18.
8. Ernst, R. 1980. Seed Germination of Paphiopedilums. Orchid Review 88：235～236.
9. Fonnesbech, M. 1972. Organic nutrients in the media for propagation of Cymbidium in vitro. Physiol. Plant. 27：360～364.
10. Fridborg, G. and T. Eriksson. 1975. Effect of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures：Adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. Physiol. Plant 43：104～106.
11. Harvais, G. and G. Madley. 1980. The development of *Orchis purpurella* in asymbiotic and inoculated cultures. New Phytologist 66：217～230.
12. Horiuchi, S., E. Yuhysi and S. Nakagowa. 1976. In vitro culture of young embryo in *Polyembryonic citrus* (I). Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 45：253～250.
13. Horner, M., J. A. Mccomb and A. J. Mccomb. 1977. Ethylene production and plantlet formation by *Nicotiana* anthers cultured in the presence and absence of charcoal. J. Exp. Bot. 28：1365～1372
14. Inamura, H. and T. Saitou. 1987. Studies on the aseptic culture in *Aerides japonicum.* Bulletin of the Shimane Agricultural Experiment Station 22：48～65.
15. Keto, Y. and N. Ozawa. 1979. Adventitious bud formation on leaf and stem segments of *Holoniopsis orientalis* grown at various temperatures. Plant and Cell Physiol. 20：491～497.
16. Kim. Y. J., J. S. Lee., D. Y. Yam and S. M. Roh. 1979. Exploitation of native orchid plants and their propagation for the floricultural crops I. Wild orchid survey and propagation. Journal of

Korean Society for Horticultural Science 20 : 94～105.

17. Mathews, V. H. and P. S. Rao. 1980. In vitro multiplication of Vanda hybrids throught tissue culture technique. Plant Science Letters 17 : 383～389.
18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962 · A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15 : 473～497.
19. Nagashima, T. 1982. Studies on seed germination and embryogensis in *Bletilla striata* and *Calauthe discolor*. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 51 : 82～93.
20. Tsay, H. S., T. G. Gau and C. C. Chen. 1989. Rapid clonal propagation of *Pinella ternata* by tissue culture. Plant cell Reports 8 : 450～454.
21. Waes, J. Van. 1987. Effect of activated charcoal on in vitro propagation of western European Orchids. Acta Horticulturae 22 : 131～138.
22. Wang, P. J. and L. C. Huang. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. In Vitro 12 : 260～262.

# Tissue Culture of *Bletilla Formosana* I. The Influence of Seed Maturity and Pretreament on Seed Germination and Seedling Development[1]

Yuh-Jinn Lin[3], Chung-Chuan Chen[3], Feng-Tsgh Yeh[3], Nien-Yung Chiu[3] and Hsin-Sheng Tsay[2]

## Summary

Pai-chi (*Bletilla formosana)* was first recorded in Shen-Nung-Pen-ts'ao-Ching (神農本草經) under inferior category and was also recorded of the China in the successive Pen-ts'aos of the descending dynasties. It has been widely used as astringent styptic for haematemesis, anti-bacteria and anti-tumor. The tubers collected from plants grown in the mountain or propagated by traditional methods are far from enough for medicinal used. The tissue culture was therefore studied in order to mass propagate this important medicinal crop. It was found that among five maturity stages of seeds tested, embryo at early-torpedo shape stage was the best for seed germination and seedling development. Pretreatment of seeds with 3% hydroxyperoxide solution for 5 minutes and germinated under 2,000 -lux intensity light enhanced the seed germination rate. As high as 98% germination rate was recorded. Cold-pretreatment of seeds and the cultural medium containing active charcoal were not benefit for germination rate and seedling development.

Key words : *Bletilla formosana,* Tissue culture, Seed germination.

1. Contribution No. 1704 from Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported by a grant from National Sciences Council, Republic of China (82NSC-0409-B055-04) .
2. Senior Plant Tissue Culturist, Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Respectively, Graduate student, Professors of Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Science, China Medical Collage, Taichung, Taiwan ROC.