

# 藥用蘭花-綬草種苗量產研發

王啟正<sup>1</sup>、陳季呈<sup>2</sup>、余德發<sup>2</sup>、陳任芳<sup>2</sup>

行政院農業委員會花蓮區農業改良場 助理研究員<sup>1</sup>

行政院農業委員會花蓮區農業改良場 副研究員<sup>2</sup>

## 摘要

綬草具有觀賞及藥用的蘭科植物，目前由於人為採集已經不多見，為了大量繁殖綬草的種苗，進行了組織培養及菌根菌輔助綬草繁殖技術研發，結果顯示綬草以授粉後 20 天成熟度果莢播種發芽率較佳，且以弱光環境下(2200-2500lux)比較適合發芽，以 1/2 或 1/4MS 培養基添加 MES 及 peptone 可提高綬草之發芽率，實生苗培植體在特定基鹽與蔗糖濃度的培養下，存活率可高達 70.8%且生育良好，無褐化及玻璃質化現象發生。細胞分裂素與椰子水處理均可誘導培植體產生芽體，最高可獲得 7 個不定芽形成，過高濃度的細胞分裂素處理，培植體葉片易發生肥大扭曲且出現白化現象。組培苗經不同馴化處理方式其存活率可達 85%以上，其中不經瓶內馴化及經瓶內馴化 1 週之處理，其存活率均為 100%，且組培苗生育情形良好。先以將菌根菌先接種於培養基上，7 天後播種其上綬草種子之發芽率 73.2%最高，播種密度以每平方公尺 0.2 克的種子用量之鮮重、乾重、鮮乾重比及株數較高，栽培介質以溪砂加牛糞可使栽培之綬草收成達最高之鮮重。利用這些技術從綬草發芽到大量繁殖均有一系列的技術建立，可供外界參考。

關鍵字：綬草、組織培養、菌根菌、大量繁殖

## 一、前言

綬草為蘭科綬草屬之藥用植物，其可愛的小花沿著花軸盤繞，花序如綬帶一般，故得名；又如紅龍或青龍般盤繞在花莖上，故民間稱為青龍抱柱，因其在清明節附近開花，又稱清明草，肉質根似人蔘，故綬草也常被稱為盤龍蔘。開紫紅色或白色小花，唇瓣較大，花形別緻奇特，美麗玲瓏，有淡雅的香味，可栽培於草地或盆栽，是很好的觀賞植物，適合作為袖珍盆景觀賞。綬草作根和全草可入藥，氣味微弱，味道甜而微酸，中醫認為綬草性甘、苦、平，歸心、肺經，有益氣養陰、清熱解毒的功效。

綬草的分布極為廣泛，而其植株的大小、葉形、花色以及花莖上部腺狀柔毛的有無在不同地區都有較為明顯的差異。未處於花期的綬草形態與其他雜草類似，不易分辨，故易被忽視，當作雜草除去，而且由於其為一味重要的中藥，常遭到過度採掘，這造成野生綬草難以覓得。因此本場研究人員為了進行綬草大量繁殖以避免其滅絕，開發一系列的組織培養技術及利用菌根菌大量生產綬草之技術，這些技術已經技術移轉給業者使用，茲將這些技術介紹如下。

## 二、開發組織培養促進授草種子發芽關鍵技術

綬草跟一般蘭科植物相同，不具有完整之種子構造，所以在自然環境下對逆境比較敏感，發芽率不高。一般影響綬草無菌播種的發芽率有果莢成熟度、光照強度及培養基配方等。劉等(2001)認為以授粉後 14-18 天的成熟果莢播種會有休眠現象，要等到 1-1.5 個月才開始看到種子發芽，發芽率低於 5% 並且發芽不整齊，以 10-12 天果莢播種，3-4 週即可發芽，發芽率為 70-80% 之間，4-6 週即可看到葉片長出；而張等(2003)以授粉後 15-20 天之綬草果莢播種，1 個月後形成原球體(綬草種子發芽過程中膨大成球狀體，稱為原球體)，3-4 個月才形成小苗，因此利用未成熟之果莢播種似乎為較好的方式。

Oliva 及 Arditti(1984)以綬草屬 *S. gracilis* 與 *S. romanzoffiana* 兩種植物行無菌播種，認為 *S. gracilis* 一定要照光才會發芽，*S. romanzoffiana* 則要在黑暗下培養才能發芽，劉等(2001)及張等(2003)播種時光照環境皆為 1000lux，Tanaka 等(1997)則是 500 lux。劉等人在其文章中認為光照對綬草發芽並不影響，然筆者曾將大花綬草成熟果莢無菌播種於 3300-3600lux 光照環境下，需時 5-7 個月才發芽，然將另一批置於光照較弱(2200-2500lux)之處，則於 3-4 月即可發芽，或許綬草種子在弱光環境下比較適合發芽，這方面有待更詳細的試驗來確定。

發芽培養基主要成分為礦物鹽類、維生素、糖類及洋菜所構成，主要可以提供種子發芽適合的養分及水分，劉等(2001)及張等(2003)綬草的發芽培養基兩種配方各不相同(表一)，在報告中並沒有比較，亦無人推薦最適合的培養基，根據筆者的經驗，礦物鹽類以 1/2 倍之 MS 巨量元素、1 倍之 MS 微量元素及維生素加入 Peptone 2 g/l 也很適合。而綬草一年才開一次花，花期短，種子壽命短不耐儲藏，加上以種子繁殖時，後代由於基因分離造成外表性狀不一，為種子繁殖的缺點。

(一)培養基成分對發芽率之影響試驗：

有鑑於前人研究組織培養對綫草無菌播種發芽率皆有不同的影響，所以必須針對花蓮地區之綫草之無菌播種技術與已開發，首先根據前人研究及預備試驗，配置五種培養基如下，以 MS(1962)培養基、1/2MS 培養基、1/4MS 培養基、1/2MSMP 培養基(1/2MS 元素及維生素，MES 1 g/l，peptone 2 g/l)及 WORS 培養基(資料未發表)，以上培養基皆添加蔗糖 20 g/l，滅菌前 pH 值調為 5.6。調查綫草播種後 30 天發芽率，同時觀察褐化率。

綫草開花後標定日期，採取開花後 22-24 天之蒴果果莢，進行無菌播種，結果顯示綫草播種後 30 天平均發芽率以 WORS 培養基最高為 58%(表一)。綫草為成熟胚在發芽培養基上會先形成擬原球體，而且此擬原球體會自行增生(圖一 a)，增生約 2 至 4 週後才慢慢長出地上部之芽體(圖一 b)。

蘭科種子發芽所需之培養基氮量並不用太高，而 MS 培養基對許多蘭花而言，其含氮量過高溶液造成肥害現象，因此由表一顯示以 1/2 量之 MS 培養基發芽率較高，而 1/4 量之 MS 培養基平均發芽率皆較 1/2MS 培養基為低，但不顯著，在考量 1/4 量 MS 雖然氮含量更低，為許多蝴蝶蘭品種發芽適合培養基，但考慮其他微量元素亦為 MS 培養基之四分之一，似乎比較缺乏，故綫草播種培養基仍以 1/2MS 為主的培養基較佳，未來則可以考慮以 1/2 或 1/4MS 巨量元素及 MS 全量微量元素、維生素的培養基作為發芽培養基。

植物分泌酚類化合物為培養基酸化之主因，而又以蘭科作物較會分泌酚類化合物，所以在組織培養蘭科作物時，培養基添加 pH 值緩衝劑較佳，MES 是一種溶液 pH 值緩衝劑，在含有 MES 之培養基加入強酸或強鹼時，其 pH 值並不會變化很強烈，因此常被使用在組織培養基中以防止 pH 值強烈變化。另外，在蘭科作物組織培養時常被加入有機化合物，可作為培養基氮不足之緩慢補給，其中 peptone 是常被添加之有機化合物。1/2MSMP 及 WORS 培養基中都有添加 MES 及 peptone，可以減少因蘭科作物較會分泌酚類化合物及有機酸時減少 pH 值變化，這可能是此兩種培養基褐化程度非常低(表一)的主因。

表一、播種培養基對綫草未成熟胚發芽率之影響

Table 1. Effect of germination medium on the embryo germination percentages of *Spiranthes sinensis*

培養基種類	發芽率 %	褐化程度
MS	38±8.7	+++
1/2MS	49±7.4	++
1/4MS	44±9.5	+
1/2MSMP	55±9.1	-
WORS	58±10.1	-

發芽率以播種後 30 天時估算

(二)不同果莢成熟度對發芽之影響：

綬草蒴果果莢約在授粉後 25 天以後開裂，故 25 天以後之完整果莢較難收集，因此只有採取授粉後 10-15、16-20、21-25 天三種成熟度之蒴果果莢，結果顯示以 16-20 天成熟度之果莢發芽率較高(表二)，劉等(2001)認為以授粉後 14-18 天的成熟果莢播種會有休眠現象，要等到 1-1.5 個月才開始看到種子發芽，發芽率低於 5%並且發芽不整齊，以 10-12 天果莢播種，3-4 週即可發芽，發芽率為 70-80%之間，4-6 週即可看到葉片長出；而張等(2003)以授粉後 15-20 天之綬草果莢播種，1 個月後形成原球體。因此眾說紛紜，並沒有確定的答案，可能所使用之品種不同造成不同之差異。而本實驗之結果類似張等人(2003)之報告，以中等成熟度之蒴果果莢播種發芽率較高，使用授粉後 10-15 天之果莢播種之發芽率甚至比成熟(21-25 天)者高(表二)，本試驗使用之品種為大花品種，品種與劉等(2001)及張等(2003)所使用的不同，為其結果不同之主因。

表二、蒴果成熟度對綬草及紫蘭未成熟胚發芽率之影響

Table 2. Effect of the capsules ages on the embryo germination percentages of *Spathoglottis plicata*, and ribbon grass (*Spiranthes sinensis*)

蒴果成熟度 (授粉後天數)	發芽率 %
10-15	21±8.3
16-20	55±9.1
21-25	42±7.8
26-30	--

發芽率以播種後 30 天時估算

三、開發授草繼代培養關鍵技術

(一)基鹽及蔗糖濃度對綬草繼代培養之影響

以實生瓶苗供作試驗材料，探討適宜綬草生育之基鹽、蔗糖、植物生長調節劑、有機添加物等培養基組成分。試驗結果顯示培植體於基鹽濃度 T2 處理下，存活率 70.8%為最高，T3 處理次之，T1 處理最低僅 24.3%(表三)。綬草培植體在上述 3 個基鹽濃度處理下，皆能正常發根，株高、根數及根長以低基鹽濃度 T2 及 T3 處理表現較 T1 好且差異顯著(表三)。觀察培植體外觀，T1 處理培植體外觀粗短，鮮重 0.46 g 為 3 個處理中之最高，與其他處理差異顯著(表三)。於 T2 基鹽濃度條件下，以 S1-S6 之蔗糖濃度處理綬草培植體，結果顯示培植體在 S1 至 S6 處理皆可正常發根，根數為 2.4 至 3.2 根，其中 S6 處理根長 0.6 cm 較其他處理短且差異顯著(表四)。培植體之鮮重隨著蔗糖濃度提高有增加之趨勢，以 S1 處理鮮重 0.24 g 最低，S6 處理鮮重 0.32 g 最高。培植體株高則以 S2 處理 5.1 cm 最高，隨著蔗糖濃度提高而株高隨之降低，以 S6 處理培植體 3.2 cm 最矮(表四)，故在高蔗糖濃度處理下，培植體地上部與地下部外觀較為粗短，低濃度

蔗糖處理則較為細長。因此，綬草培植體以 T2 基鹽濃度搭配 S3 蔗糖濃度培養最為適宜，培植體生育良好，且可正常發根展葉。

表三、基鹽濃度對綬草生育之影響

Table 3. Effect of salt-base strength on the growth of explants of *Spiranthes sinensis*

基鹽濃度	存活率 (%)	單株鮮重 (g)	株高 (cm)	No. of roots /explant	Root length /explant (cm)
T1	24.3 <sup>b*1</sup>	0.46 <sup>a</sup>	3.0 <sup>b</sup>	0.6 <sup>b</sup>	0.4 <sup>b</sup>
T2	70.8 <sup>a</sup>	0.37 <sup>b</sup>	3.8 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>
T3	60.1 <sup>a</sup>	0.33 <sup>b</sup>	3.8 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>

\* 1.Means separation within columns by LSD at 5% level.

表四、蔗糖濃度對綬草生育之影響

Table 4. Effect of sucrose concentrations on the growth of explants of *Spiranthes sinensis*

Sucrose	Fresh weight /explant (g)	Plant height /explant (cm)	No. of roots /explant	Root length /explant (cm)	No. of leaves /explant
S1	0.24 <sup>b*1</sup>	4.6 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>	4.9 <sup>b</sup>
S2	0.27 <sup>ab</sup>	5.1 <sup>a</sup>	3.2 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	5.4 <sup>ab</sup>
S3	0.31 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	6.1 <sup>a</sup>
S4	0.30 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	6.2 <sup>a</sup>
S5	0.30 <sup>a</sup>	4.1 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	6.2 <sup>a</sup>
S6	0.32 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	2.7 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	6.1 <sup>a</sup>

\* 1.Means separation within columns by LSD at 5% level.

## (二)植物生長調節劑對綬草芽體增殖之影響

試驗以植物生長調節劑組合處理 T1-T12 探討對綬草芽體增殖之影響，試驗結果顯示培植體培養於不含細胞分裂素之處理(T1、T5、T9)，基部有根與不定芽形成，且隨著細胞分裂素處理提高，培植體形成不定芽數亦隨之增加，但過高的細胞分裂素處理(T4、T8、T12)其不定芽生成數反之降低(表五)，且培植體部分葉片發生肥大扭曲且出現白化現象。組合處理中以 T7 處理可獲得 7.0 個不定芽表現最好(表五)。另於培植體基部有芽球生成，隨著細胞分裂素處理濃度提高，誘導芽球數亦隨之增加，以 T8 及 T12 處理最高與其他處理差異顯著(表五)，將芽球繼代於不含植物生長調節劑之培養基持續培養後，芽球則易長成葉片肥大扭曲的芽體或發生白化現象，為生長異常之芽體。添加 auxin 處理可誘導根形成，以 T9 處理之根數為 9.6 枝最高，T5 處理 7.4 枝次之(表五)。

表五、植物生長調節劑組合對綬草不定芽增殖之影響

Table 5. Effect of plant growth regulators combined treatments on the shoots formation of *Spiranthes sinensis*

Treatments	No. of shoots /explant	No. of shoot buds /explant	No. of roots /explant
T1	3.6 <sup>cd*1</sup>	0.0 <sup>e</sup>	5.5 <sup>d</sup>
T2	6.0 <sup>ab</sup>	1.1 <sup>e</sup>	3.0 <sup>fg</sup>
T3	6.0 <sup>ab</sup>	2.4 <sup>de</sup>	1.9 <sup>gh</sup>
T4	5.3 <sup>bc</sup>	4.4 <sup>bc</sup>	3.3 <sup>fg</sup>
T5	3.3 <sup>d</sup>	0.0 <sup>e</sup>	7.4 <sup>b</sup>
T6	5.8 <sup>b</sup>	3.4 <sup>cd</sup>	2.3 <sup>gh</sup>
T7	7.0 <sup>a</sup>	5.4 <sup>b</sup>	2.1 <sup>gh</sup>
T8	4.3 <sup>cd</sup>	7.5 <sup>a</sup>	1.6 <sup>h</sup>
T9	4.0 <sup>cd</sup>	0.0 <sup>e</sup>	9.6 <sup>a</sup>
T10	5.4 <sup>bc</sup>	3.0 <sup>cd</sup>	1.6 <sup>h</sup>
T11	6.5 <sup>ab</sup>	3.4 <sup>cd</sup>	2.5 <sup>gh</sup>
T12	3.6 <sup>cd</sup>	7.4 <sup>a</sup>	1.4 <sup>h</sup>

\* 1. Means separation within columns by LSD at 5% level.

比較細胞分裂素 BA 與 Kinetin，調查結果顯示 BA 處理可獲得較多的不定芽生成，顯示 BA 之處理效果較 Kinetin 佳。綬草培植體於 BA 處理下基部有芽球生成，Kinetin 處理則無。添加椰子水亦有促進芽體生成之效果。凝膠物質則以 gelrite 較 agar 為佳。將培養獲得之不定芽切下，繼代於不含植物生長調節劑之 T2 基鹽搭配 S3 蔗糖濃度培養下，芽體會抽長並且發根展葉成完整植株，惟培養約 1 個月後，培植體葉片有黃化脫落情形。

#### 四、開發利用菌根菌大量繁殖綬草關鍵技術

##### (一) 菌根菌之最適生長溫度

將供試菌株切取菌絲尖端在 PDA 平板上培養 7 天，在菌落邊緣以打孔器切取菌落周圍直徑 8mm 之菌絲塊圓盤，植至新鮮之 PDA 平板上，分別置於 20、23、26、29、32 及 35°C 定溫箱中培，第 10 天記錄其菌絲生長長度。結果顯示菌根菌之菌絲生長長度在 20°C 定溫箱中培養其菌絲生長長度僅 3.2 公分，隨生長溫度上昇菌根菌之菌絲生長長度越長，菌根菌在 32°C 定溫箱中培養其菌絲生長長度最長，當溫度到 35°C 時菌根菌之菌絲生長長度有趨緩之趨勢；根菌在 32°C 定溫箱中培養其菌絲生長長度 8.3 公分最長、其次為在 29°C 定溫箱中培養其菌絲生長長度為 8.0 公分(表六)。

表六、溫度對共生菌根菌菌絲生長之影響

Table 6. Effect of Temperature on the growth of symbiotic fungal hyphae

Temp . °C	dia. cm										Average cm
35	7.6	7.2	7.4	7.6	7.5	6.8	7.1	7.2	7.1	7.2	7.3
32	8.4	8.2	8.2	8.5	8.5	8.3	8.3	8.5	8.2	8.3	8.3
29	7.7	8.3	8.5	8.1	8.5	6.8	8.2	7.2	8.5	8.0	8.0
26	5.9	6.0	5.7	6.0	5.7	5.8	5.9	6.2	6.0	5.9	5.9
23	5.3	4.4	5.6	5.6	4.5	5.8	4.6	5.2	5.8	6.0	5.3
20	3.5	3.4	3.3	3.3	2.9	3.5	3.4	3.2	2.7	2.4	3.2

(二)菌根菌對綬草種子發芽之影響試驗

取綬草果莢表面消毒後，將之切開直播種子於水瓊脂上，並接種菌根菌，觀察菌根菌對綬草種子發芽及發芽後之生長情形。14 天後開始調查每一處理之發芽數，之後每 7 天調查一次。結果顯示先以將菌根菌先接種於培養基上，7 天後播種其上綬草種子之發芽率 73.2% 最高，其次為綬草種子播種 7 天後再接種菌根菌之綬草種子發芽率 68.4%，播種 7 天後再接種菌根菌之綬草種子發芽率 54.0%，播種同時接種菌根菌之綬草種子發芽率 47.5% 較差，不接種菌根菌之綬草種子完全不發芽；試驗結果顯示將菌根菌先接種於培養基上，7 天後再播種綬草種子最適合綬草之發芽(表七)。

表七、菌根菌接種時間對綬草種子發芽的影響

Table 7. Effect of symbiotic fungi inoculated time on the germination rate of seeds of *Spiranthes sinensis*

接種 日期	播種 日期	發芽率 (%)										平均.
4/27	4/27	57.0	46.6	54.1	47.5	42.1	41.3	57.0	38.5	37.9	53.3	47.5
4/27	5/4	82.7	71.2	83.9	74.6	65.1	81.6	64.6	71.6	56.7	79.6	73.2
4/27	5/11	97.5	31.1	34.2	78.2	92.6	54.9	55.8	38.8	25.7	31.0	54.0
5/4	4/27	67.3	56.7	50.9	56.3	78.7	80.8	73.2	45.6	87.0	87.5	68.4
無接種	4/27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

### (三)利用菌根菌協助綬草量產關鍵技術研發

將菌根菌先接種於裝有溪沙的育苗盤內，7 天後以每平方公尺 0.2 克、0.6 克及 1.0 克三種綬草種子用量進行播種量試驗，調查結果顯示綬草種子用量隨種子用量提高之單位面臨綬草鮮重、乾重、鮮乾重比及株數有降低之趨勢，以每平方公尺 0.2 克的種子用量之鮮重、乾重、鮮乾重比及株數較高，以每平方公尺 1.0 克的種子用量之鮮重、乾重、鮮乾重比及株數較低，結果顯示綬草種子用量以每平方公尺 0.2 克較佳(表八)。

表八、綬草播種量對採收量之影響

Table 8. Effect of seeds amount for sowing on the harvest of *Spiranthes sinensis*

播種量 (g/m <sup>2</sup> )	鮮重 (g/m <sup>2</sup> )	乾重 (g/m <sup>2</sup> )	鮮乾重比 (%)	株數 m <sup>2</sup>
1.0	216.23	29.01	13.42	730
0.6	336.05	53.52	15.93	894
0.2	883.68	144.05	16.30	2575

### 五、授草栽培介質試驗

為探討不同栽培介質對於綬草之生育影響，分別以壤土加牛糞(19:1)、溪沙加牛糞(19:1)、栽培土(滿地王 3 號)、栽培土加溪沙(2:1)、栽培土混合真珠石(4:1)等五種栽培介質，種子來源以同一植株在隔離區讓其自然授粉，採收同一花穗成熟蒴果。育苗以溪沙為育苗栽培介質並接種菌，再撒播綬草種子。待幼苗 2-3 葉，根長約 1-2 公分時再移植到長槽每盆 20 株進行不同栽培介質試驗。試驗結果顯示綬草根鮮重、地上部鮮重、單株鮮及乾重等均以溪砂加牛糞為栽培介質最重，其次為栽培土加真珠石，再其次為栽培土；以壤土及栽培土加溪沙栽培介質種植綬草較差；綜合試驗結果以溪砂加牛糞為栽培介質種植綬草之生育表現最好。

表九、栽培介質對綬草生長之影響

Table 9. Effect of medium on growth of *Spiranthes sinensis*

栽培介質	根鮮重 (g/plant)	地上部鮮重 (g/plant)	單株鮮重 (g/plant)	單株乾重 (克/株)	鮮乾重比 (%)
壤土	1.25	1.25	2.47	0.51	20.38
溪沙	2.33	1.76	4.09	1.01	24.56
栽培土	1.72	1.30	3.02	0.63	21.46
栽培土+溪沙	1.39	1.08	2.46	0.39	15.56
栽培土+真珠石	1.87	1.65	3.57	0.70	19.12



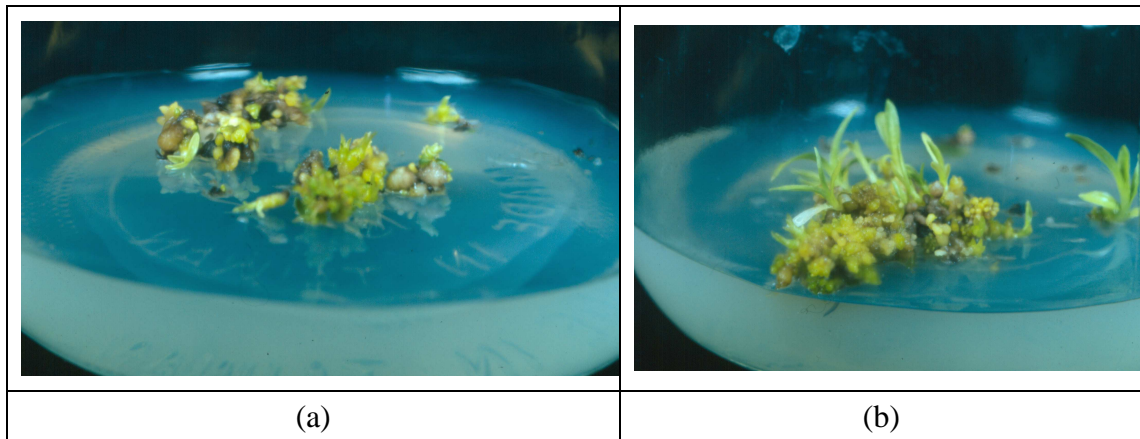
## 六、結論

綬草因為人們無情的採集，目前已經不多見，唯有利用人工大量繁殖才能獲得大量品質均一之綬草植株產品，並且可以間接減少於自然界的人工採集，本場利用組織培養技術及菌根菌技術來大量繁殖綬草種苗，其中包含了無菌播種技術、組織培養大量增生分生苗技術、組織培養出瓶技術以及菌根菌培養及輔助綬草發芽技術、介質栽培綬草技術等。這些技術確實可以大量繁殖綬草種苗，相信對這種以前在台灣東部草地上處處可見的藥用蘭科植物之復育與繁殖有所助益。

## 參考文獻

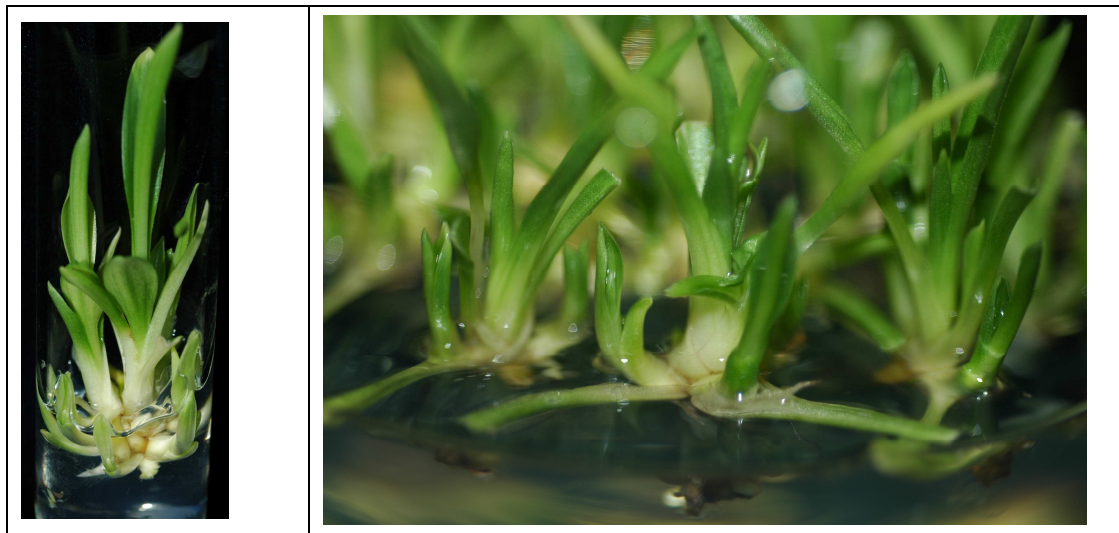
- 1.王啟正 2004 兼具觀賞及藥用綬草之組織培養技術 花蓮區農業專訊 49:17-19。
- 2.余德發 陳任芳 2001 小巧玲瓏的原生植物-綬草 花蓮區農業專訊 36:8-10。
- 3.林讚標 1977 台灣蘭科植物 II 台北 南天書局 pp355。
- 4.林讚標 1988 綬草 台灣蘭科植物第一卷 南天書局 台北 p.244-245。
- 5.邱年永 張光雄 2001 原色台灣藥用植物圖鑑(6) 台北 南天書局 pp325。
- 6.張正、陳盈君、嚴新富 2003 綬草無菌播種與生長發育 中國園藝 49:407-410。
- 7.董必慧、楊小蘭 沿海灘涂瀕危物種綬草的生長利用特性和保護策略 江蘇農業科學 2006 (3):193-195。
- 8.劉祖惠、許乃文、嚴家瑜、吳瑞玉 2001 利用不定芽再生進行綬草微體繁殖 中國園藝 47:51-58。
- 9.蔡靜怡 1997 蘭菌及溫度對台灣金線連生長之影響 碩士論文 國立台灣大學園藝研究所。
- 10.Masuhara, G. Katsuya, K. Yamaguchi, K. 1993. Potential for symbiosis of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* with seed of *Spiranthes sinensis* var. *amoena* in vitro. *Mycological Research* 97(6): 746-752.
- 11.Oliva, A. P. and J. Arditti. 1984 Seed germination of northern American orchids. II. Native California and related of *Aplectrum*, *Cypripedium* and *Spiranthes*. *Bot. Gaz.* 145(4):495-501.
- 12.Su, H I. 2000 *Spiranthes* L. C. Rich. In:Huang. T. C. (eds). *Flora of Taiwan V5*. Editorial Committee of *Flora of Taiwan*, Department of Botany. National Taiwan University. Taipei. p.1034.
- 13.Tanaka, K., K. Kondo, and K. Sato. 1997. Micropropagation of *Spiranthes sinensis*(Pers.) Ames(Orchidaceae) In:Bajaj, Y. P. S.(ed.) *Biotechnology in agriculture and forestry*. Vol.40. p.289-295. Spring-Verlag. Berlin Heidelberg.

14. Tsutsui, K. Tomita, M. 1986. Symbiotic germination of *Spiranthes sinensis* Ames associated with some orchid endophytes. Journal of the Faculty of Agriculture Hokkaido University 62(4): 440-452.
15. Tsutsui, K. Tomita, M. 1989. Effect of plant density on the growth of seedlings of *Spiranthes sinensis* Ames and *Liparis nervosa* Lindl. in symbiotic culture. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 57(4): 668-673.
16. Uetake, Y. and Peterson, R. L. 1998. Association between microtubules and symbiotic fungal hyphae in protocorm cell of the orchid species, *Spiranthes sinensis*. New Phytol. 140: 715-722.



圖一、綬草未成熟胚於培養基發芽之情形

Fig. 1. Germination of *Spiranthes sinensis* on the medium.



圖二、綬草於培養基上不定芽增生之情形

Fig. 2. Growth of Adventitious shoots of *Spiranthes sinensis* on the medium.



圖三、綬草組織培養苗於盆中生長及其全株

Fig 3. The whole plants and growth of the tissue culture explants of *Spiranthes sinensis* in the pots.