

兼具觀賞及藥用綬草之組織培養技術

王啟正 2004-09 花蓮區農業專訊 49:17-19

前 言

綬草 (*Spiranthes sinensis* (Pers.) Ames) 屬於蘭科綬草屬植物，為民間常用的草藥，其可愛的小花沿著花軸盤繞，故又稱青龍抱柱、盤龍參，也有人將其做為觀賞用小品盆花。由於綬草在不開花時外表型與禾本科雜草相似，採藥者多在易於辨識的其開花期時採集，將全株或根部用藥，因此野生之族群因而逐漸變少，多年生根部較大之植株已難尋得，市場價格也跟著逐年升高，因此已有民間業者以種子進行人工田間播種繁殖，但田間環境難以控制，發芽率不高，加上綬草開花期時間短，繁殖上的時效性受限，因此利用組織培養大量繁殖綬草優良種苗，可以減少人為在自然界的無情採集，並穩定綬草植株之生產。

所謂植物組織培養就是在無菌環境下將植株的一部份放在培養基中，培養基可提供植物生長、分化所需的物質，因此植物的一部份可以生長、分化成完整的植株。綬草組織培養包括無菌播種技術及不定芽增殖技術，茲將這些組織培養技術整理如下。

綬草的無菌播種

組織培養時所需要之器具如手術刀、鑷子都要在無菌操作台內以 75% 酒精及高溫方式消毒殺菌，培養基以蘭花組培用玻璃瓶分裝後，瓶口蓋上兩層錫箔紙封緊後送入殺菌釜內高壓高溫滅菌 20 分鐘，待殺菌釜降溫降壓取出於室溫下凝固後即可使用。在綬草蒴果果莢進入無菌操作台之前，果夾亦先予以消毒殺菌，消毒時先以 75% 酒精浸泡一分鐘，或用棉花吸取 75% 酒精將果夾表面充分擦拭，再置入 2% 次氯酸鈉（市售漂白水稀釋 3 倍）中，加入一滴展著劑（Tween 20）後充分搖動 10-20 分鐘，再用無菌水清洗三次，以無菌之濾紙將表面水分吸乾後，用手術刀切開果莢並將種子平均分佈在培養基表面，將瓶子封口以防微生物污染，再移至適當環境下使其發芽生長即可。

目前國內已經有張正及劉祖惠等人發表兩篇關於綬草之組織培養研究報告，其種子發芽培養基成分如表一，培養基包含了植物生長所需的礦物元素、維生素、糖類及洋菜等所構成，礦物鹽類就是植物生長所需的氮、磷、鉀三要素及鈣、鎂等元素，維生素為植物生長過程的生化反應的幫助酵素，洋菜等凝固基質則是提供植物生根和固定的功能，由於表一所列兩種綬草的發芽培養基配方各不相同，最適合的培養基無人推薦，本場研究認為每公升礦物鹽類以 1/2 倍之 MS 巨量元素、1 倍之 MS 微量元素及維生素加入 Peptone 2g 也很適合當作綬草之發芽培養基。

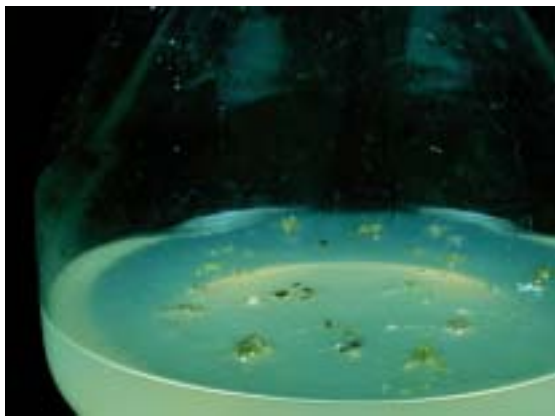
表一 兩種綬草無菌播種培養基配方之比較 (每公升)

	劉等人 (2001) 配方	張等人 (2003) 配方
礦物鹽類	花寶 1 號 3g	1/4 MS+NaH ₂ PO ₄ 170mg
維生素	1/2 MS 維生素	MS 維生素 (thiamine HCl 改為 0.5mg)
糖類	蔗糖 10g	蔗糖 20g
其他	Peptone 2g	香蕉泥 50g

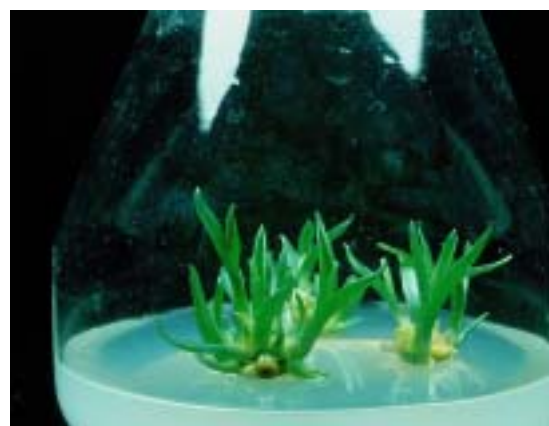
凝固基質	Difco-bacto agar 8g	活性炭 1g
酸鹼值	pH = 5.8	Gelrite 4g
		pH = 5.5

MS：Murashige 及 Skoog 兩位學者在 1962 年發表的培養基。

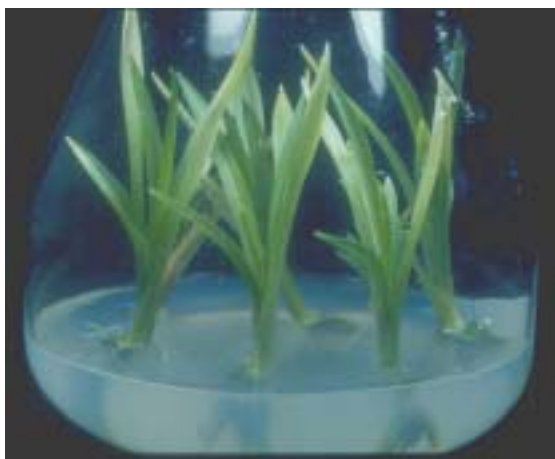
此外，綬草在無菌播種時要注意果莢成熟度，利用未成熟之種子播種為較好的方式，最好取授粉後 10-15 天的果莢內種子播種，發芽率高且沒有休眠現象，若取授粉後 15-20 天的成熟果莢，播種後種子會有休眠現象，要等到 1-1.5 個月後才開始發芽，發芽率低且發芽不整齊。播種之後宜置於光照強度小於 1000 lux 環境之下，可使發芽時間提早。



▲圖 1 綬草種子於瓶內發芽之情形



▲圖 3 綬草於不定芽增殖培養基產生許多不定芽，此不定芽即可獨立繁殖成一完整個體



▲圖 2 綬草於蘭花瓶內正常生長



▲圖 4 大花綬草經過無菌播種 繁殖及馴化出瓶開花之情形

綬草的不定芽增殖培養

綬草在自然環境下會在葉和根的交接處長出小芽，植物學上稱為不定芽，此芽的遺傳性狀跟母株完全相同，可以切下與母株分離而生成一個完整植株。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。因此若能選擇優良單株利用組織培養增生不定芽，大量生產外表均一、優良之種苗，則是較佳的研究方向。

利用組織培養技術，培養基中添加 cytokinin 類的植物生長調節劑，例如添加 BA 1-5mg/l 可增加綬草不定芽生成的數目，但在高濃度的 BA (5mg/l) 培養基中，綬草不定芽生成數目雖多，葉片會肥大扭曲及較多之白化現象，並不適合繁殖，因此添加低濃度 BA 的培養基比較適合。

然而綬草主要利用部位在於根部，使用含中高濃度之 BA 培養基處理後之不定芽並不容易生根，可使用 NAA 這種促進生根的物質使綬草在培養過程中生根，參考劉祖惠等人的試驗，添加 NAA 及椰子水可使發根率提高為 100%，但本場曾利用綬草大花品種重複此試驗，生根率只有 80% 左右，根部細小，出瓶後花序大多緊縮，觀賞用及藥用之商品價值較低。本場經過不斷研發，建立一套既可增加這種大花品種綬草之不定芽數，地下根部又健壯之組織培養技術，出瓶植株地上部可正常開花又有足夠的根部鮮重，此技術已透過技術轉移給花蓮吉安鄉的蓮福精緻蕙蘭種苗場使用。

結 語

利用無菌播種及不定芽增殖的研究雖有許多實驗室在進行，但就如上所述，繁殖效率高之組織培養方式不一定能產出外觀正常、根部鮮重足夠之綬草種苗，若能在維持綬草出瓶的品質的原則上，研究使組織培養繁殖效率更為增加的方法，將其使用在本場收集、繁殖的大花綬草品種，相信一定能使這種兼具觀賞及藥用之作物產業蓬勃發展。