

# 蘭根植物 *Oncidium Varicosum* 根尖培養的再生

藥研所 高宗桂 譯

譯者按：組織培養技術近年來在農業界相當熱門的研究項目之一，因為利用組織培養技術，可以從事業上的育種，改良品種，培養新品種，提高產量及品質，抗病蟲害，縮短繁殖時間，大量繁殖，改變適應風土範圍等。作為森林、農藝、園藝，專用植物之生產。在藥學方面也能夠利用組織培養技術以從事天然生物資源的開發生產，因此希望對於藥學研究有興趣者不妨多參與此項研究工作，以增進人類保健並對醫療事業有所貢獻。

## 諸言

雖然蘭的根具有很好的新陳代謝能力，但在自然情況下由根尖長芽的可能性却非常的低。依1972 Churchill等人所述，僅12種蘭科植物擁有此種能力。

1972年Churchill等人以組織培養方法嘗試由 *Epidendrum Obrienianum* 的根尖誘導癒傷組織，並期望能再生成芽，但是經過一段很長時間的試驗都失敗了。1978年Stewart和Button二位學者成功地以相同的材料從癒傷組織獲得了一棵植物。Tanaka等人則於1976年從 *Phalaenopsis amabilis* 的根尖誘得數棵植物。

很不幸地，與具有相當進展的從芽 (Shoots) 獲得培植體 (explants) 相比較，有關蘭花根尖培養的文獻實在太少了。以分類學上之變異及對不同環境之適應性來看，巴西蘭花 (*Brazilian orchids*) 有助於此方面之研究。本文即報導 *Oncidium Varicosum* 根尖之組織栽培研究。

## 材料與方法

從 *Oncidium Varicosum* Lindl. var. *Rogersii* 的幼苗取1.5mm長的根尖當培植體。4

至5公分高之小苗乃由試管培養方法，用Knudson C培養基為基本方誘得。培養基組成中另加60g/l的香蕉果肉，1.0g/l活性炭，0.8% agar及以27.8mg/l Fe-EDTA取代FeSO<sub>4</sub>。根尖培養所用的基本培養基是用1949年Vacin及Went所修飾的以27.8mg/l Fe-EDTA取代Fe<sub>2</sub>(C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>)<sub>3</sub> (Amedium)為主。另外也以種種不同的培養基來證明某物質之作用，如：NAA和BA (D,E,F及G培養基)，測Peptone (B培養基)，測Thiamin (C培養基)，測椰子水 (H培養基)，還有提高NAA濃度且和15% CW併用者 (I, J, K及L培養基) (參表一)。每5個培植體接種於裝填20毫升培養基的三角錐瓶。每種處理皆用5瓶。移植時，則培養在25 ± 1°C，光間隔16小時，光強500 lux。

表一：培養 *Oncidium Varicosum* 根尖的修飾過的Vacin和Went培養基。

Medium A:	BM (control)
Medium B:	BM + 1.0 g/l peptone
Medium C:	BM + 0.5 mg/l thiamin
Medium D:	BM + 0.1 mg/l BA
Medium E:	BM + 0.65 mg/l NAA
Medium F:	BM + 1.0 mg/l NAA + 0.1 mg/l BA
Medium G:	BM + 1.0 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA
Medium H:	BM + 15% CW
Medium I:	BM + 15% CW + 1.25 mg/l NAA
Medium J:	BM + 15% CW + 2.5 mg/l NAA
Medium K:	BM + 15% CW + 5.0 mg/l NAA
Medium L:	BM + 15% CW + 10.0 mg/l NAA

## 結果：

在含BA的D和G培養基呈現很強烈的生長抑制。同時，在生長緩慢的培植體顯現深綠的顏色。另一方面，auxin會明顯地提昇培植體生長的速度，(E培養基)即使BA存在也是如此(F培養基

)。含Peptone (B培養基)或含thiamin (C培養基)者生長速率比對照組 (A培養基)快。然而比起含椰子水及較高NAA濃度的培養基 (I, J, K和L)來說，這些培養基仍受相當地限制。以1.25, 2.5, 5.0及10.0mg/l的NAA來誘導癒傷組織，基比率分別為8%, 12%, 16%及10%。所有癒傷組織團塊誘導之幼苗皆會有畸型根的發生。所有例子都可見生長緩慢的現象。這種特徵一直到移植二次 (90天)仍有繼續維持之現象。在我們的實驗室也曾做過並顯示由芽 (Shoots) 誘得之癒傷組織的切割表面具有高度分化的能力，而由根尖誘得者無此情況。

為了誘導K培養基上的癒傷組織形成芽，我們以大約2.0 × 1.0 cm之斷面移植到含BA (D培養基)，CW (H培養基)及BA加NAA (G培養基)等培養基中。在D和G培養基上之癒傷組織團塊變為暗綠色，雖然仍活著3—4個月，但是生長緩慢且沒有芽的形成。培養於H培養基的癒傷組織團塊則產生類原球莖體 (protocorm-like body)，生長速率相當快，但不久即褐化而死亡。我們將癒傷組織栽植於I培養基可得到類原球莖體的再生。類原球莖體若移植到液體的H培養基會產生新的類原球莖體。但若移植至半固態的H培養基則會有大量芽的生成。當mericlones長到2—3公分高的時候，將其移植到與種子萌芽相同組成的Knudson C培養基上。在此培養基生長快速並可發展出生根系統。從原始的類原球莖體可獲得超過1,000個mericlones，每個外觀都和由芽尖培養而再生的mericlones相似。

## 討論

結果顯示利用組織培養方法栽培根尖可獲得 *O. Varicosum* 再生的植株。以根尖來誘導癒傷組織或類原球莖體比用芽尖誘導還困難。同樣的困難也出現在 *Epidendrum obrienianum* 根尖的試管栽培。

BA的抑制效應似乎是起自於和Cytokinin有關連的根自律性。我們考慮以BA處理根尖和癒傷組織團塊其反應的相似點，可知癒傷組織團塊極有可能是cytokinin自律的。此種觀察可支持癒傷組織團塊具生根之性質及生理現象。1980年Petersons提出煙草的癒傷組織在生理上與其根相類似地具有Cytokinin自律性。綜如上言可知 *O. varicosum* 根尖用於當培植體的部份保有不完全分化的細胞。1981年Kerbaux提出煙草癒傷組織原先栽植於含高濃度Kinetin的培養基，當移植至長芽培養基時，其再生能力遠比具有Cytokinin自律性的癒傷組織要低。

暗綠色的培植體及生長於含BA培養基的癒傷組織團塊可反應出Cytokinin對於葉綠體生成的影響 (Stetler及Laetsch 1965)。在某些程度上NAA有利的效果應歸於重新建立auxin/cytokinin之協同作用。如此，加5.0mg/l的NAA有利於分芽繁殖，但對類原球莖體之再生則否。低濃度的NAA似乎可刺激此種作用。

人們很久以前即知Thiamine有助於發根 (Robbins和Bartley 1937)，但是這種維生素對根尖的影響在比較之下，對 *O. Varicosum* 的作用卻永遠不如對 *Catasetum trulla* 與 *Catasetum Berthrand* 雜交種的作用來得好 (Kerbaux 1984)。