

天麻種子發育與無菌播種之研究¹

葉志新²、陳柏龍²、林惠茹²、廖芳心²

摘要

為建立天麻組織培養大量繁殖體系，本試驗紀錄天麻果莢及種子發育情形，並探討不同種子成熟度及培養基組成對無菌播種種子發芽率之影響。結果顯示，天麻授粉後果莢開始膨大，於 9-15 DAP (days after pollination) 生長速度最快，至 15 DAP 果莢已定型，至 26-30 DAP 果莢裂開種子飛散。取不同發育期種子無菌播種，14 DAP 時發芽率 3%，至 20 DAP 時發芽率達 67% 最高。當種子愈成熟，發芽率下降速度也愈明顯，至 26 DAP 時發芽率僅 10%。為提高成熟種子發芽率，取成熟種子 (28 DAP) 為材料，以超音波震盪或次氯酸鈉溶液處理，皆可提高發芽率，其中以 1% 次氯酸鈉浸泡處理可提高發芽率至 19.8%。培養基添加 peptone 0.25 g L⁻¹ 處理也可提高發芽率至 26.2%。

關鍵詞：天麻、果莢成熟、無菌播種

前言

天麻 (*Gastrodia elata* Bl.) 又稱高赤箭，為蘭科 (Orchidaceae) 赤箭屬 (*Gastrodia*) 多年生草本植物，分布於西伯利亞、韓國、日本及中國大陸，並向南延伸至喜馬拉雅山區之尼泊爾、不丹至印度東北一帶，台灣位於其分布範圍之東南限界 (許, 2008)，在台灣主要分布於宜蘭、花蓮、南投、台東及嘉義山區海拔 1,500 至 3,000 公尺之林下 (Lin and Wang, 2014)。天麻為真菌異營蘭花 (myco-heterophytic orchid)，或稱為非光合作用蘭 (Non-photosynthetic orchid)，也就是以往慣稱之「腐生蘭」(saprophyte orchid)，其植物體不具正常功能的葉綠體，根完全退化，塊莖有鱗片狀葉 (scales)，

¹ 行政院農業委員會桃園區農業改良場研究報告第 453 號。

² 桃園區農業改良場副研究員(通訊作者, zeamays@tydais.gov.tw)、研究助理、研究助理及研究員。

需與小菇屬真菌 (*Mycena* spp.) 及蜜環菌 (*Armellaria mellea*) 兩類真菌共生才能正常生長，除在開花期與結果期會有單一花梗突出地表，整個生活史中僅具地下塊莖 (Kusano, 1911; 郭和王, 2001; 徐等, 1989, 1990a, 1990b; 徐和牟, 1990; 徐和郭, 1989; 徐和蘭, 2001; 張, 2010; 楊等, 2000)。

天麻為一傳統中藥，以塊莖入藥，最早見於東漢神農本草經中，已超過 2,000 年的歷史。依據本草綱目記載，天麻氣味辛、溫、無毒，主治諸風濕痺、四肢拘攣、癱患不隨、眩暈頭痛等症，是中醫治療大腦及神經系統疾病的重要藥物，在台灣及華人地區均有非常大之需求量。現代藥理研究亦證實天麻具有鎮靜、抗驚厥、鎮痛、抗衰老、降血壓、改善學習記憶等功效 (胡等, 2001; 洪等, 2010; 楊等, 2000)，由衛福部國家中醫藥研究所、台灣大學與中央研究院之團隊在 2007 年發現天麻萃取物中一種腺苷類分子 T1-11 (N6-(4-hydroxybenzyl)adenine riboside) 具有神經元保護作用，可預防和減少亨丁頓舞蹈症及其他腦神經病變的發生及惡化 (Huang et al., 2007; Huang et al., 2011)。因其本身具有極高的藥用價值，適合開發為藥膳或銀髮族保健食品，所以如同其他的藥材作物，受到嚴重的採集壓力。台灣為天麻的原生地之一，但繁殖及栽培之基礎研究相當少，本試驗以記錄天麻果莢及種子發育情形，並探討不同種子成熟度及培養基組成對無菌播種之影響，篩選最適合之無菌播種時機及培養基組成，以建立天麻組織培養大量繁殖體系。

材料與方法

以人工栽培的天麻成熟塊莖(稱為箭麻)，於 2011 年 11 月 22 日以 4°C 低溫儲存，2012 年 1 月中旬種植於室內 (室溫 20-25°C)，花期由 2 月初至 3 月中旬。開花當日授粉並標記授粉日期，因天麻的花朵萼瓣接合呈筒狀，授粉時先以鑷子將唇瓣撕開，再將位於蕊柱頂端之花藥帽掀開，將花藥取出後置於蕊柱基部之柱頭上，即完成人工授粉 (圖 1A)，以授粉成功發育之果莢為材料進行試驗。

一、天麻果莢生長曲線與種子發育觀察

取同一天開花的天麻花朵 10 朵授粉後，每隔 2-3 天上午 9-10 時以游標尺量測每粒果莢長度及直徑，調查至果莢裂開為止，以建立果莢生長曲線。並取授粉後 9 至 24 天的果莢，以解剖刀切開，並以解剖顯微鏡觀察種子發育及播種後種子發芽情形。

二、不同成熟期蒴果對無菌播種發芽率之影響

取授粉後 10、14、17、20、23 及 26 天之果莢，先以 70%酒精擦拭外表，再以 1% 次氯酸鈉 (sodium hypochloride) (Clorox[®]) 溶液加入 2-3 滴 Tween 20 表面消毒 15 分鐘，將果莢或種子移入無菌操作台內以無菌水清洗 3 次，進行無菌播種，播種之基礎培養基為 1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962) 無機鹽類，添加 30 g L⁻¹ 蔗糖，7 g L⁻¹ agar，pH 值 5.5，每支試管約 200 粒種子，每處理重複 5 次。

三、超音波震盪及次氯酸鈉處理對天麻成熟種子發芽之影響

取授粉後 28 天尚未開裂之果莢消毒 (消毒方式同前)，在無菌操作台內取種子置於無菌水中，分別以超音波震盪器 (Bronsonic[®] B-2200-R3, 40 kHz) 震盪處理 10、20、30 分鐘及以 1% 的次氯酸鈉溶液浸泡 10 分鐘 (以無菌水清洗 3 次)，再將種子以滅菌後之濾紙過濾，待種子稍微乾燥後，均勻撒播於基礎培養基上，以未經處理之種子為對照 (CK)，每處理 6 重複。

四、不同添加物對天麻種子發芽率之影響

取 24 DAP (未裂莢) 果莢及 28 DAP (裂莢) 果莢之種子，果莢消毒方式同前，裂莢之種子則以 1% 次氯酸鈉溶液加入 1 滴 Tween 20 消毒 10 分鐘，將果莢或種子移入無菌操作台內以無菌水清洗 3 次，進行無菌播種。培養分別添加不同濃度的椰子水 (coconut water) 25、50、100 mL L⁻¹、蛋白胨 (peptone) (Merck[®]) 0.25、0.5、1 g L⁻¹ 及馬鈴薯泥 (mashed potato) 25、50、100 g L⁻¹ 之基礎培養基中，另以未處理之基礎培養基為對照 (CK)，合計 10 處理，每支試管播種約 200 粒種子，5 重複。

五、培養條件及統計方法

將播種完成後之試管，置於 23±1°C 黑暗條件下培養，每週以解剖顯微鏡 (Leica[®] Z16 APO) 觀察種子發芽情形並拍照，另以數位相機 (Nikon[®] D80) 紀錄後續生長情形，播種 4 個月後計算每一試管實際種子數及發芽率，並以 SAS EG (SAS Institute Inc. 2010) 進行變方分析 (ANOVA)，再以最小平方法 (least significant difference, LSD) 測驗比較處理間平均值之差異。

結果與討論

一、天麻果莢生長曲線與種子發育觀察

天麻授粉後即開始膨大及生長，果莢呈紡錘型（圖 1B）。果莢生長曲線約略呈現 S 型（圖 2），1-9 DAP (days after pollination) 生長速度較緩慢，在 9 DAP（圖 1C），蒴果長 8.94 ± 0.40 mm，寬 6.79 ± 0.35 mm，其內部的種子為乳白色，種子與胎座組織接連緊密，種子呈橢圓形。9-15 DAP 生長速度增快，至 15 DAP 時（圖 1D），蒴果長 16.25 ± 1.20 mm，寬 9.86 ± 0.68 mm，外觀已定型，但此時種子未完全成熟，部分仍呈乳白色，且未脫離胎座，種子呈長橢圓形。至 22 DAP 時（圖 1E），蒴果長 16.57 ± 1.27 mm，寬 9.94 ± 0.66 mm，蒴果內部的胎座組織及種子呈淡黃褐色，種子受擠壓或輕觸時易與胎座脫離。24 DAP 時（圖 1F），種子顏色轉為黃褐色更易與胎座脫離，且蒴果開始陸續裂莢，種子散出，至授粉後第 30 天，全部蒴果均開裂。天麻之果莢為蒴果 (capsule)，與大多數蘭科植物相近，由三心皮構成。一般蘭科植物的蒴果需數個月才能發育完成，有些種類甚至需 1 年以上才會裂莢，如黃根節蘭。而天麻是發育較快之物種，1 個月以內即可成熟裂莢，與脈葉蘭（林和葉，2008，林和葉，2009）較為相近。而未授粉或著果失敗之果莢不會膨大，但會一直宿存在花梗上，大約 10 天左右果莢裂開，只見胎座並無種子。果實成熟時自各心皮之中肋兩側開裂，因此會裂成 6 瓣，3 瓣較窄而 3 瓣較寬，裂莢之後兩端仍相連而呈燈籠狀。

二、不同成熟期蒴果對無菌播種發芽率之影響

大多數地生蘭種子發芽之鹽類濃度需求均較低，如台灣一葉蘭（莊和李，1986）、台灣金線連（蕭等，1995）、紫背脈葉蘭（林和葉，2008）及紫花脈葉蘭（林和葉，2009）以 1/2 MS 基本鹽類濃度最佳，本試驗也採此一濃度作為播種之培養基。不同成熟期蒴果之無菌播種結果顯示（圖 4），天麻以人工異花授粉後，10 DAP 時無種子發芽，至 14 DAP 時有部分種子發芽，發芽率 3%，至 17 DAP 時發芽率逐步升高至 36%，而以 20 DAP 時 67% 最高，23 DAP 時種子發芽率開始下降，至 26 DAP 時發芽率急遽降至 10%。蘭花種子最大發芽率通常在胚形成完全前後（Nagashima, 1993），許多報告指出蘭科植物種子外觀尚呈乳白色，且能脫離胎座之接近成熟種子進行無菌播種發芽率最佳，成熟後反而下降（Harvais, 1982；Udomdee et al., 2014；易等，2005；

馬和張，2010；蕭等，1998），本試驗顯示天麻種子發芽率最高的時間為授粉後 20 天。天麻授粉成功後 3-4 週果實成熟，而實際開裂的時間受氣候與環境的影響很大，在環境乾燥時果實通常會較早開裂，若環境濕潤則會延緩（許，2008），本試驗及其他栽培經驗中觀察到天麻裂莢的時間介於 24-30 DAP 之間。

蘭科的種子非常細小，不含胚乳，胚分化至圓球胚階段（globular embryo stage），無子葉、胚根及胚芽等構造（李，1990）。天麻的種子呈紡錘狀，兩端有時會彎折但不會明顯扭曲；種子中央之外壁細胞狹長，愈往兩端則愈短，細胞壁不規則拱形增厚形成的紋路，種子長度 0.4-0.8 mm，天麻種子中有無胚或胚發育不完全者，就具發育完整之天麻種子而言，在解剖顯微鏡下可看到白色、淡黃色橢圓球狀的胚（圖 3A）。種子播種約 2 個月開始吸水膨大，接著胚頂端發育脹破種皮，形成黃白色原球莖（protocorm）（圖 3B），視為發芽，原球莖會長出 2 個或以上的生長點（圖 3C），種子在培養基中發芽所需時間較長，且種子發芽的速度也不一致，因此，本試驗均於播種後 4 個月調查種子發芽率。之後圓球體繼續生長形成細長之塊莖（tuber），莖上有節，節間包覆淡黃色膜質鱗片狀葉，且有側芽形成（圖 3D），繼代於含有馬鈴薯及活性碳的培養基中，塊莖會持續生長並由節間長出大量之側芽，但仍維持細長狀（圖 3E），唯有與蜜環菌共生後才會膨大形成紡錘型的塊莖（圖 3F），此時稱之為白麻（immature tuber），再繼續生長至頂生花芽分化完成者稱之為箭麻（mature tuber），可作為藥材商品。

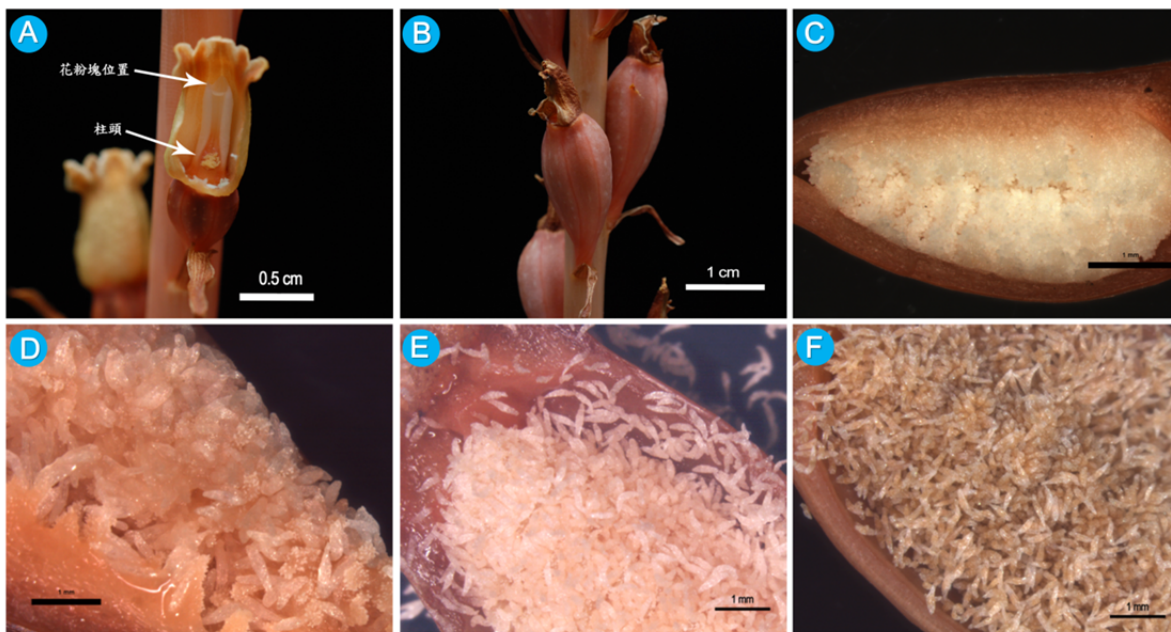


圖 1. 天麻授粉後果莢及種子發育情形，(A)人工授粉相關位置；(B)蒴果外觀；(C)授粉後 9 天；(D)授粉後 15 天；(E)授粉後 22 天；(F)授粉後 24 天

Fig. 1. Development of *G. elata* capsule and seeds after pollination. (A) Artificial pollination, (B) The capsule, (C) 9 DAP, (D) 15 DAP, (E) 22 DAP, (F) 24 DAP.

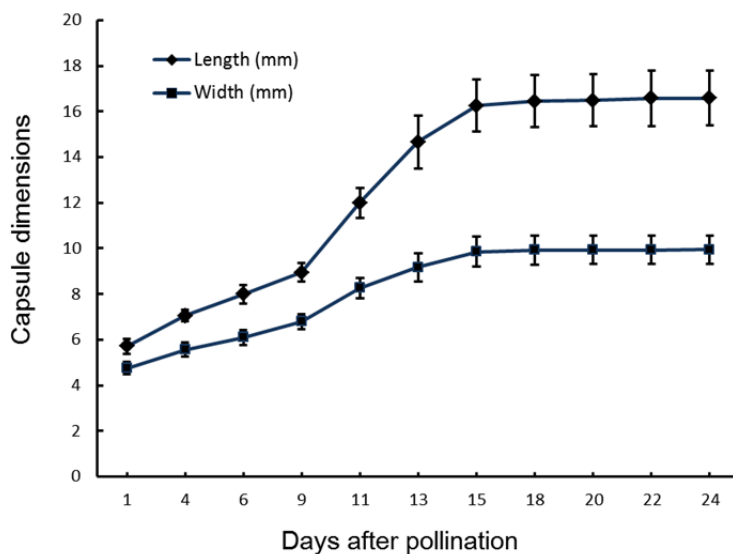


圖 2. 天麻授粉後果莢生長曲線

Fig. 2. The growth curve of the capsule length and width of *G. elata* after pollination.

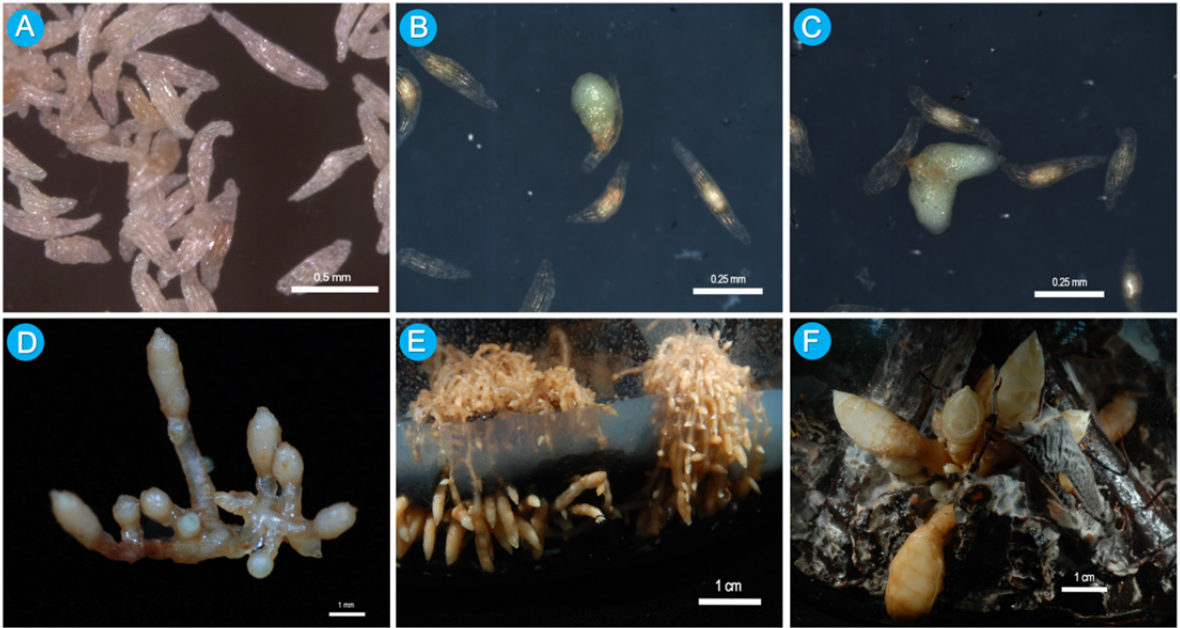


圖 3. 利用解剖顯微鏡觀察天麻種子無菌播種之發芽情形，(A)種子內白色及淡黃色橢圓形胚；(B)胚膨大形成原球體；(C)原球體形成 2 個生長點；(D) (E)原球體發育形成大量淡黃色細長塊莖；(F)接種蜜環菌後膨大形成白麻

Fig. 3. Stereomicroscopic photographs of the seeds of *G. elata* in different asymbiotic germination stages. (A) Obviously oval embryo in the seed; (B) The seeds with embryo expanded to spindle form after absorbing water and formed the protocorm; (C) The protocorm produced two apex; (D) (E) The protocorm forms lot of yellowish elongation tubers; (F) Immature tubers grow in symbiosis with the fungus *Armillaria mellea*.

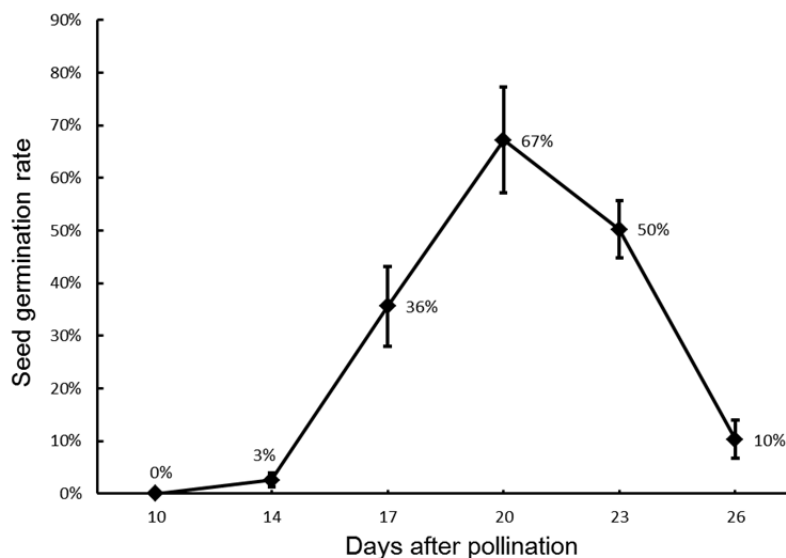


圖 4. 不同授粉後天數對天麻種子發芽率之影響

Fig. 4. Influence of different days after pollination on seed germination of *G. elata*. Data were scored at 4 months after cultured.

三、超音波震盪及次氯酸鈉處理對天麻成熟種子發芽之影響

蘭科植物種子成熟時，會因種皮木質素累積且木栓化而導致外種皮有拒水現象，且常結合一些發芽抑制物質，過於成熟或果莢開裂的種子發芽率及小苗生長均不佳 (Arditti, 1967; Lee et al., 2005)。本試驗探討超音波震盪及次氯酸鈉處理對天麻成熟種子發芽之影響，為確保種子已完全成熟，取授粉後 28 天尚未開裂之果莢，先將果莢消毒後，在無菌操作檯內取出種子置於無菌水中，以超音波震盪器(頻率 40 kHz)震盪處理 10、20 及 30 分鐘；另以 1%次氯酸鈉浸泡 10 分鐘處理。結果如表 1 所示，發芽率以 1%次氯酸鈉處理的 19.8%最高，其次為超音波震盪 10 分鐘處理的 14.5%，再增加震盪時間發芽率反而降低，而未經處理之種子發芽率僅 1.4%，顯示經處理後可明顯提高發芽率，以次氯酸鈉處理效果最佳，本試驗以 1%次氯酸鈉浸泡 10 分鐘處理兼具天麻種子消毒之作用。次氯酸鈉可氧化種皮使種皮產生裂縫，提高通透性 (Van Waes and Debergh, 1986)，本試驗透過次氯酸鈉浸泡或超音波震盪之目的為破壞種皮，讓水分滲入內部，結果均可提高發芽率，顯示天麻成熟種子發芽率低應與種皮隔絕水分有關。

表 1. 利用超音波震盪及次氯酸鈉處理對天麻成熟種子發芽 (28 DAP 未裂莢) 之影響
 Table 1. Effect of different ultrasonic treatment and soaked in NaOCl solution on germination percentage of *G. elata* mature seeds (28 DAP).

處理 treatment	發芽率 ^z Germination percentage
	%
對照 CK	1.4d ^y
超音波震盪 10 分鐘 ultrasound for 10 min	14.5b
超音波震盪 20 分鐘 ultrasound for 20 min	10.5c
超音波震盪 30 分鐘 ultrasound for 30 min	7.5c
1% 次氯酸鈉 10 分鐘 1% NaOCl for 10 min	19.8a

y: Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at $P < 0.05$ by Fisher's protected LSD test.

z: Data were scored at 4 months after cultured.

四、不同添加物對天麻種子發芽率之影響

本試驗分別以 24 DAP 未裂莢種子及 28 DAP 裂莢種子進行無菌播種，探討不同有機添加物與種子發芽率之關係，結果如表 2 所示。24 DAP 種子以對照 (CK) 培養基發芽率 34.5% 最高，與添加 0.25 g L^{-1} 蛋白胨發芽率 25.1% 無顯著差異，但當蛋白胨濃度高於 0.5 g L^{-1} 時或添加椰子水及馬鈴薯泥都會顯著降低種子發芽率，濃度越高發芽率越低，馬鈴薯泥 50 g L^{-1} 以上則會抑制種子發芽。28 DAP 種子添加 0.25 g L^{-1} 蛋白胨的發芽率 26.2% 最高，其次為 25 mL L^{-1} 椰子水 17.3%， 0.5 g L^{-1} 蛋白胨 16.4% 及對照 15.8%，較高濃度之椰子水或蛋白胨都會顯著降低發芽率，添加馬鈴薯泥之培養基會抑制種子發芽。蛋白胨為水解蛋白質的一種，具有多種胺基酸，可提供培養基中有機氮源，細胞可直接吸收，有利生長 (Arditti, 1967)。一般植物種子都儲存有蛋白質，發芽時經蛋白水解酵素 (proteolytic enzyme) 與蛋白酶類 (protease) 將蛋白質水解為胺基酸，提供器官之發育與生長所需，而蘭科種子無胚乳，當發芽時常需額外添加蛋白質或胺基酸，促進種子發芽及生長。台灣金線連 (蕭等, 1995)、鶴頂蘭 (吳和李, 1991)、紫背脈葉蘭 (林和葉, 2008) 及紫花脈葉蘭 (林和葉, 2009) 添加 $0.5\text{-}1 \text{ g L}^{-1}$ 蛋白胨可得到最高之種子發芽率。但過量的添加物濃度會增加培養基的滲透壓，造成種子的水分潛勢不足而抑制發芽 (吳和李, 1991)。

綜合試驗結果，天麻未熟種子發芽率會隨時間變化，最佳播種適期為 20 DAP，成熟或裂莢種子則以 1% 氫酸鈉浸泡處理 10 分鐘可提高發芽率，培養基添加蛋白胨 0.25 g L^{-1} 也可提高天麻種子發芽率。

表 2. 不同培養基添加物對天麻裂莢 (28 DAP) 及青莢 (24 DAP) 種子發芽率之影響
 Table 2. Influence of different medium composition on germination percentage of *G. elata* seeds at 28 DAP and 24 DAP.

培養基成分 ^x Medium composition	發芽率 ^z Germination percentage	
	28 DAP	24 DAP
	%	%
對照 CK	15.8b ^y	34.5a
椰子水 25 mL L ⁻¹ coconut water	17.3b	16.4bc
椰子水 50 mL L ⁻¹ coconut water	13.9bc	7.1cde
椰子水 100 mL L ⁻¹ coconut water	10.4c	2.3e
蛋白腴 0.25 g L ⁻¹ peptone	26.2a	25.1ab
蛋白腴 0.5 g L ⁻¹ peptone	16.4b	14.7c
蛋白腴 1 g L ⁻¹ peptone	13.3bc	12.5cd
馬鈴薯泥 25 g L ⁻¹ mashed potato	3.2d	3.0de
馬鈴薯泥 50 g L ⁻¹ mashed potato	0e	0f
馬鈴薯泥 100 g L ⁻¹ mashed potato	0e	0f

x: Base medium: 1/2 MS + sucrose 30 g L⁻¹ + agar 7 g L⁻¹, pH 5.5.

y: Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at $P < 0.05$ by Fisher's protected LSD test.

z: Data were scored at 4 months after cultured.

參考文獻

- 李晔。1990。蘭之胚培養。中國園藝 36:223-244。
- 吳新棋、李晔。1991。紅花鶴頂蘭之無菌發芽。中國園藝 37:183-198。
- 林珈芝、葉茂生。2008。紫背脈葉蘭種子發育與其發芽的研究。作物、環境與生物資訊 5:159-170。
- 林婉玉、葉茂生。2009。紫花脈葉蘭無菌發芽及發育的研究。植物種苗 11:41-56。
- 易美秀、王才義、蔡宛育。2005。文心蘭蒴果和胚的成熟度對種子發芽之影響。臺中區農業改良場研究彙報 86:37-45。
- 胡一冰、崔佳、韓笑、邱德文、許建陽。2001。中藥天麻研究進展。貴陽中醫學院學報 23:48-51。
- 郭順星、王秋穎。2001。促進天麻種子萌發的石斛小菇優良菌株特性及作用。菌物系統 20:408-412。
- 洪全、陳淼、李雪萍。2010。天麻藥理研究進展。中國實用醫藥 5:249-250。
- 徐錦堂、冉硯珠、郭順星。1990a。天麻種子發芽營養來源的研究。中國醫學科學院學報 12:431-433。
- 徐錦堂、牟春、冉硯珠。1990b。天麻種子萌發動態及紫萁小菇菌絲侵入的細胞學觀察。中國醫學科學院學報 12(5):313-316。
- 徐錦堂、郭順星。1989。供給天麻種子萌發營養的真菌—紫萁小菇。真菌學報 8:221-226。
- 徐錦堂、蘭進。2001。天麻的營養繁殖莖及其抑菌功能。植物學報 43:348-353。
- 徐錦堂、牟春。1990。天麻原球莖生長發育與紫萁小菇及蜜環菌的關係。植物學報 32:26-31。
- 徐錦堂、冉硯珠、郭順星。1989。天麻生活史的研究。中國醫學科學院學報 11:237-240。
- 馬若婷、張耀乾。2010。果莢成熟度及氟啶草酮處理對黃萼捲瓣蘭無菌播種發芽之影響。臺灣園藝 56:35-44。
- 莊錦華、李晔。1986。活性碳、蔗糖與無機鹽類濃度對台灣一葉蘭種子發芽與小苗生長之影響。中國園藝 32:61-69。
- 許天詮。2008。台灣赤箭屬植物分類研究。國立台灣大學碩士論文。
- 張毓倫。2010。南投赤箭形態觀察與培養及分離其共生菌。國立清華大學碩士論文。
- 楊進林、蘭進、徐錦堂。2000。天麻的研究進展。中草藥 1:66-69。

- 蕭翌柱、陳威臣、蔡新聲。1995。台灣金線連之組織培養 I.改進種子萌芽之研究。中華農業研究 44:279-286。
- 蕭翌柱、陳威臣、蔡新聲。1998。台灣金線連之組織培養 III.種子成熟度及前處理對萌芽與幼苗發育之影響。中華農學會報 183:69-78。
- Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seed. Bot. Rev. 33:1-97.
- Harvais, G. 1980. Scientific notes on a *Cypripedium reginae* of northwestern Ontario, Canada. Amer. Orchid Soc. Bull. 49:237-244.
- Huang, N.K., Y. Chern, J.M. Fang, C.I. Lin, W.P. Chen, and, Y.L. Lin. 2007. Neuroprotective principles from *Gastrodia elata*. Journal of natural products, 70(4):571-574.
- Huang, N.K., J.H. Lin, J.T. Lin, C.I. Lin, E.M. Liu, C.J. Lin, and J.B. Chen. 2011. A new drug design targeting the adenosinergic system for Huntington's disease. PloS one, 6(6), e20934.
- Kusano, S. 1911. *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. J. Coll. Agric. (Tokyo) 4:1-66.
- Lee, Y.I., E.C. Yeung, and M.C. Cheng. 2005. Embryo development of *Cypripedium formosanum* in relation to seed germination in vitro. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 130:747-753.
- Lin, W.M. and Y.F. Wang. 2014. The Wild Orchids of Taiwan - An Illustrated Guide KBCC Press.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
- Udomdee W., P.J. Wen, C.Y. Lee, S.W. Chin, and F.C. Chen. 2014. Effect of sucrose concentration and seed maturity on in vitro germination of *Dendrobium nobile* hybrids. Plant Growth Regul. 72:249-255.
- Nagashima, T. 1993. Studies on relationship between embryogenesis and germination in Orchidaceae. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 62:581-594.
- Van Waes J.M. and P.C. Debergh. 1986. In vitro germination of some Western European orchids. Physiol Planta. 67:253-261.

Studies on Seed Development and *in vitro* Germination of *Gastrodia elata*¹

Chih-Hsin Yeh², Bo-Lung Chen², Hui-Ju Lin², and Fang-Shin Liao²

Abstract

The objectives of this study were to investigate the growth of capsules and morphology of seeds, and the effects of capsule maturity and medium treatment on *in vitro* seed germination in *Gastrodia elata*. The results were summarized as follows. The capsules of *G. elata* rapidly increased in size after pollination, and reached the definite size on 15 DAP (days after pollination). The capsules opened and the seeds matured during 26-30 DAP. By using different maturing stages of capsules, the initial stage to germinate was collected and sowed on 14 DAP, while those collected and sowed on 20 DAP had the highest germination percentage (67%). The germination percentage decreased rapidly when the capsule began to ripen, till those collected and sowed on 26 DAP had the lower germination percentage (10%). The seeds harvested on 28 DAP, shook with ultrasound or soaked in NaOCl solution could increase germination percentage. Seeds soaked in 1% NaOCl solution for 10 minutes could enhance germination percentage up to 19.8%. The medium supplemented with 0.25 g L⁻¹ peptone had the best germination percentage (26.2%) as compared with other treatments.

Key words: *Gastrodia elata* , asymbiotic seed germination , capsule maturity

¹. Contribution No.453 from Taoyuan DARES, COA.

². Associate Researcher (Corresponding author, zeamays@tydais.gov.tw), Technical Assistant, Technical Assistant, and Researcher, respectively, Taoyuan DARES, COA.