

培養基組成及培養密度對黃根節蘭種子發芽與 小苗生育之影響¹

李淑真²、廖芳心²、鄭隨和²

摘要

本研究之目的在建立黃根節蘭 (*Calanthe sieboldii* Decne) 實生苗大量繁殖系統，探討培養基組成分及培養密度對黃根節蘭種子發芽及小苗生育之影響。結果顯示，以授粉後 110 天的種子，培養於基本培養基 3 g L^{-1} 花寶 1 號組合 20 g L^{-1} 蔗糖、 2 g L^{-1} 活性炭及 8 g L^{-1} 洋菜，其發芽率為 14.1%。另補充 7 種有機物，除了馬鈴薯泥外，其它 6 種添加物皆可促進發芽，其中以 150 ml L^{-1} 椰子水處理發芽率較佳，達 39.1%。實生苗生長培養基組成以花寶 1 號補充 15 g L^{-1} 蔗糖、 1 g L^{-1} 活性炭及 2.5 g L^{-1} 水晶洋菜，在 15-30 株/瓶培養密度，苗生長勢及鮮重遠比花寶 2 號配方為佳。前者配方苗生長勢及鮮重隨培養密度增加而降低。在低密度下另添加有機物對苗生長勢未明顯改善，但添加香蕉泥則可顯著提高鮮重。在 20-30 株/瓶培養密度時，補充香蕉泥或馬鈴薯泥皆可明顯改善苗生長勢及鮮重。

關鍵字：根節蘭、胚發育、非共生發芽

前言

黃根節蘭 (*Calanthe sieboldii* Decne)，別名川上氏根節蘭，為台灣原生根節蘭屬植物，主要分佈於台灣北部低中海拔山區，如拉拉山、插天山、李棟山及南庄等。於 2 至 3 月展葉，同時從中心抽出花莖，花莖長 40-60 cm，總狀花序具 5-20 朵花，黃色花，具檸檬香味，是根節蘭中花朵最大且最具觀賞價值者，亦是值得開發為新興球根蘭花（林，1988；周，1986；葉，1990）。

¹ 行政院農業委員會桃園區農業改良場研究報告第 421 號。

² 桃園區農業改良場副研究員、研究員及場長(通訊作者，shcheng@mail.coa.gov.tw)。

野生黃根節蘭早期曾被大量採集出口至日本，但隨著山坡地的開發及濫採，植株數量已極度稀少，瀕於絕種（葉，1990）。蘭花於自然環境下繁殖速度慢，為開發新興蘭花產業及保育物種，有必要探討人工大量繁殖技術，供保存、復育、繁殖及栽培等應用參考。關於根節蘭的種子形態、胚發育過程、無菌播種及小苗發育等於日本有部分研究成果發表(Hibono et al., 1978; Ichihashi and Yamashita, 1977; Miyoshi and Mii, 1988; Nagashima, 1982; 1983; 1984; 1985)，但主要以日本根節蘭品種為主，而日本的根節蘭屬植物中，於夏季開花的根節蘭比較容易發芽，而春季開花者發芽困難，其發芽率約在 2%以下(三吉，1996)。

葉氏(1990)研究結果顯示黃根節蘭發芽受原生地及栽培環境影響，需進一步探討發芽之影響因子。為建立黃根節蘭大量繁殖系統，供繁殖、栽培及推廣等研究，故本研究擬探討培養基組成及培養密度對黃根節蘭種子發芽及小苗生育之影響。

材料與方法

一、試驗材料與培養環境：

供試材料為自台灣北部地區蒐集之原生黃根節蘭，種植於本場溫室。培養基製備於殺菌前 pH 值以 NaOH 或 HCl 調至 5.2，以 121°C 、 1.5 kg cm^{-2} 的滅菌金滅菌，滅菌時間為 15 min。培養室溫度為 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照 16 小時，暗期 8 小時，光強度為 $23 \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 。

二、培養基組成對黃根節蘭種子發芽之影響

於 2-3 月盛花期異株授粉，同時將植株置於 $25/20^{\circ}\text{C}$ (日/夜溫) 之生長箱內栽培，光強度約為 $2.3 \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 。取授粉後 110 天的果莢供無菌播種試驗材料。果莢經消毒後，於無菌操作台內取出種子均勻播種於培養基上，培養基成分以基本培養基為 3 g L^{-1} 花寶 1 號添加 20 g L^{-1} 蔗糖、 2 g L^{-1} 活性炭及 8 g L^{-1} 洋菜，並以其為對照組，另再添加 25 g L^{-1} 香蕉泥、 150 ml L^{-1} 椰子水、 50 g L^{-1} 馬鈴薯泥、 2 g L^{-1} tryptone、 2 g L^{-1} peptone、 1ppm NAA 或 1ppm Kinetin 等，共 8 種處理。每處理 4 重複，每重複 5 個培養皿。培養基於滅菌後在無菌操作台下分裝至 5.5 cm 無菌培養皿，每個培養皿 10 ml 。播種後於解剖顯微鏡下計算種子數，並於培養 135 天後於解剖顯微鏡下計算發芽數及褐化數。

三、培養密度與有機添加物對黃根節蘭小苗生育之影響

取上述黃根節蘭無菌播種發芽至 0.5-1.5 cm 小苗（突起－展葉期）為試驗材料，進行培養密度與有機添加物對黃根節蘭小苗生育之影響。移植容器為 650 ml 蘭花瓶，瓶底直徑為 9.5 cm，植入 15, 20, 25 及 30 株共 4 種培養密度。培養基成分以基本培養基 3 g L^{-1} 花寶 1 號添加 15 g L^{-1} 蔗糖、 1 g L^{-1} 活性炭及 2.5 g L^{-1} 水晶洋菜為對照組，參試以 3 g L^{-1} 花寶 2 號取代 3 g L^{-1} 花寶 1 號，另再添加 50 g L^{-1} 香蕉泥、 50 g L^{-1} 馬鈴薯泥、 2 g L^{-1} tryptone 及 2 g L^{-1} peptone 等，共 6 種處理，每處理 3 重複，每重複 2 瓶。培養基於殺菌前分裝於 650 ml 蘭花瓶，每瓶 100 ml。於培養前調查植株鮮重，於培養 6 個月後調查每一瓶蘭花瓶內的全部植株，包括植株鮮重、株高、葉片數、葉幅、根數、褐化株數、褐化鮮重及褐化葉片數等，並換算植株鮮重增加量。

四、試驗設計與統計分析

本試驗採用完全隨機設計 (CRD)，培養密度與培養基成分對黃根節蘭小苗生育之影響結果的顯著性進行複因子統計。

結果與討論

一、培養基組成對黃根節蘭種子發芽之影響

黃根節蘭授粉後 110 天的果莢，其未成熟種子呈白色粉狀。無菌播種約 90 天種胚發育成綠色原球體，並陸續發芽。培養 135 天後調查，培養基組成對黃根節蘭種子發芽結果如表 1，播種於對照之基本培養基其發芽率為 14.11%，外加不同有機添加物處理中，以 150 ml L^{-1} 椰子水的發芽率較高，達 39.14%，與其它處理呈顯著性差異。添加 1 ppm NAA 或 2 g L^{-1} tryptone 次之，添加 50 g L^{-1} 馬鈴薯泥最低，為 3.28%。黃根節蘭無菌播種發芽後部份會有褐化的現象，以基本培養基添加 150 ml L^{-1} 椰子水較高，為 2.20%，與其它處理呈顯著性差異。添加 1 ppm NAA 次之，添加 50 g L^{-1} 馬鈴薯泥最低，為 0%。

培養基添加有機添加物可提供養分、植物荷爾蒙、作物緝合劑、或具有穩定 pH 值的緩衝作用及維持鐵等礦物元素的有效性，達到促進原始胚發育與發芽，但也可能帶有不利發芽的因子，或改變培養基的滲透壓而影響種子發芽或幼苗的生長（呂等，

1992；吳和李，1991；Arditti, 1967；Chung et al., 1985；Vacin and Went, 1949；Withner, 1974）。紅花鶴頂蘭培養基添加 tryptone 再添加鳳梨汁或香蕉汁或馬鈴薯或番茄汁等，發芽率下降，褐化率提高，尤以加入鳳梨汁褐化最嚴重，但椰子水不會促進褐化程度，且可促進原球體發育及吸收毛的產生（吳和李，1991）。培養基添加椰子水可促進台灣一葉蘭早期原球體的生長與發育（莊和李，1986）。香蕉泥對蝴蝶蘭種子（涂，1986）及鶴頂蘭（李，1989）種子發芽均有良好的效果。培養基添加椰子水對黃根節無菌播種發芽的效果較馬鈴薯泥或香蕉泥佳（葉，1990）。本試驗結果（表 1）顯示培養基添加椰子水或香蕉泥均可提高種子發芽率，但馬鈴薯泥會降低發芽率。

根節蘭屬及蕙蘭屬的種子發芽研究顯示，培養基添加 peptone 及 tryptone 對其發芽均有促進的作用，如 *C. discolor*、黃根節蘭及白鶴蘭均可用 Hyponex 或 MS 培養基添加 peptone 及 tryptone 可促進成熟或未成熟胚的發芽，（Ichihashi and Yamashita, 1977；Nagashima, 1982；1983；1984；1985）。培養基中添加含氮化合物 tryptone 對黃根節無菌播種發芽的促進較 peptone 佳（葉，1990），如表 1 顯示結果相同。

表 1. 培養基組成對黃根節蘭無菌播種發芽之影響

Table 1. Effect of medium composition on germination of *Calanthe sieboldii*.

培養基成分 Medium Composition	發芽率 Germination	褐化率 Browning
-----%-----		
Banana 25 g L ⁻¹	19.99 bc ^z	0.53 bc
Coconut 150ml L ⁻¹	39.14 a	2.20 a
Potato 50 g L ⁻¹	3.28 d	0 d
Tryptone 2 g L ⁻¹	21.92 b	0.10 cd
Peptone 2 g L ⁻¹	16.25 bc	0.10 cd
NAA 1ppm	21.71 b	0.98 b
Kinetin 1ppm	21.55 bc	0.24 bc
CK	14.11 c	0.06 cd

基本培養基：3 g L⁻¹ 花寶 1 號+20 g L⁻¹ 蔗糖+2 g L⁻¹ 活性炭 + 8 g L⁻¹ 洋菜, pH5.2。

Basal medium : 3 g L⁻¹ Hyponex No. 1, 20 g L⁻¹ sucrose, 2 g L⁻¹ charcoal, 8 g L⁻¹ agar, pH5.2.

^z 同行英文字母相同者表示經 LSD 顯著性測驗在 5% 水準差異不顯著。

^z Mean with the same letter within columns are not significantly different by LSD at 5% level.

植物生長調節劑方面，素心蘭培養基中添加 cytokinin (BA、2iP、kinetin) 或 NAA 皆無促進發芽的效果（呂等，1992）。紅花鶴頂蘭培養基加入 0.5-5 ppm NAA 與對照組無差別，但 BA 濃度超出 1ppm 則種子發芽受抑制，發芽隨 BA 濃度提高而降低（吳和李，1991）。黃根節蘭培養基中加入 NAA 效果不顯著，且有褐化現象。加入 0.1-5 ppm kinetin 皆有促進發芽的效果，而 BA 則須 5 ppm（葉，1990）。本試驗顯示添加較低濃度 NAA 或 kinetin 均可促進發芽（表 1），且 NAA 的效果稍比 kinetin 佳。

二、培養密度與有機添加物對黃根節蘭小苗生育之影響

實生苗生長基本培養基為 3 g L^{-1} 花寶 1 號、 15 g L^{-1} 蔗糖、 1 g L^{-1} 活性炭、 2.5 g L^{-1} 水晶洋菜，pH5.2，參試培養密度與有機添加物對小苗生長之影響。結果如表 2 及表 3，培養密度與有機添加物間完全無交互作用。就培養密度而言，於株高、葉片數、葉幅及植株鮮重等性狀，其在處理間是有顯著與極顯著性差異。而於根數、褐化株數、褐化葉片數及褐化鮮重等性狀，其在不同處理間則無顯著性差異。在培養基成分方面，於株高、葉片數、葉幅、植株鮮重增加量、根數及褐化株數等性狀在處理間有極顯著性差異，而於褐化葉片數及褐化鮮重等性狀在處理間無顯著性差異。培養基成分以花寶 1 號添加香蕉泥比較有助於增加植株鮮重，為 0.701 g。而添加馬鈴薯泥則有利於促進株高及葉幅，分別為 4.4 cm 及 3.3 cm。葉片數及根數則以基本培養基較高，為 4.5 片及 6.6 條。基本培養基成分以花寶 2 號培養基取代花寶 1 號的褐化株數較多，為 0.74 株。有機添加物香蕉泥及馬鈴薯泥有促進小苗生育的作用，但添加 tryptone 却提高褐化葉片數及褐化鮮重。基本培養基花寶 2 號取代花寶 1 號，提高其氮、磷的含量，並無促進小苗生長作用，反而提高褐化株數，抑制小苗生育。於培養密度每瓶為 20、25 及 30 株時，培養基成分對小苗生育之影響，結果與培養密度每瓶 15 株相似，但隨培養密度的提高，植株鮮重增加量、株高、葉片數及葉幅也隨之降低，顯示培養密度愈高，小苗生育愈差。

椰子水能促進台灣一葉蘭早期原球體及小苗的發育，但對小苗後期則影響不大（Juang and Lee, 1986）。文心蘭 (*Oncidium ‘Grower Ramsey’*) 培養於培養基添加馬鈴薯泥、香蕉泥及 tryptone 等三種有機添加物之培養基，其植株在株高、葉數、根數、鮮重及乾重的表現均較其他組合佳（Chen and Chen, 1998）。銅皮石斛則培養基混合添加馬鈴薯、香蕉及椰子水對植株的生長最佳（羅等，2008）。如表 2 顯示，黃根節蘭培養基添加馬鈴薯泥或香蕉泥對植株的鮮重增加量、葉數及株高等效果較佳。

表 2. 培養密度與有機添加物對黃根節蘭小苗生長的影響

Table 2. Effect of cultural density and organic additives on seedling growth of *Calanthe sieboldii*.

培養密度 Cultural density	有機添加物 ^z Organic additives	植株高度 Plant height cm	葉片數 Leaf No.	葉幅 Leaf span cm	根數 Root No.	植株鮮重增加量 Increase of plant fresh weight g
15	A	4.1 ab ^y	4.5 a	3.0 ab	6.6 a	0.670 ab
	B	1.2 ef	1.7 def	1.0 ghi	1.7 fg	0.109 g
	C	3.9 abc	3.8 abc	2.9 abc	6.1 ab	0.701 a
	D	4.4 a	4.0 ab	3.3 a	5.7 ab	0.499 abc
	E	2.2 cdef	3.2 abcd	1.6 cdefghi	3.7 abcdefg	0.384 bcdefg
	F	3.7 abc	4.0 ab	2.9 abc	5.0 abcd	0.523 abc
20	A	3.3 abcd	3.8 abc	2.3 abcdefg	5.4 abc	0.520 abc
	B	1.4 ef	2.3 cdef	1.2 fghi	2.1 efg	0.158 defg
	C	2.9 abcde	3.7 abc	2.4 abcdef	4.8 abcde	0.555 abc
	D	3.7 abc	3.7 abc	2.5 abcde	5.3 abc	0.462 abcd
	E	1.7 def	2.4 bcdef	0.9 hi	2.9 cdefg	0.259 cdefg
	F	2.6 abcdef	3.2 abcd	1.7 bcdefghi	4.2 abcdefg	0.333 cdefg
25	A	2.9 abcde	3.5 abc	2.1 abcdefg	4.4 abcdefg	0.385 bcdefg
	B	0.9 f	1.5 f	0.8 hi	1.5 g	0.085 g
	C	3.5 abc	3.2 abcd	2.7 abcd	5.0 abcd	0.510 abc
	D	3.6 abc	4.0 ab	2.7 abcd	4.9 abcde	0.450 abcd
	E	1.7 def	2.9 abcdef	1.2 efgi	3.1 cdefg	0.248 cdefg
	F	2.9 abcde	3.9 ab	2.1 abcdefg	5.2 abc	0.432 abcde
30	A	2.4 bcdef	3.2 abcd	1.6 cdefghi	4.0 abcdefg	0.251 cdefg
	B	1.2 ef	1.8 def	1.0 ghi	2.4 defg	0.119 efg
	C	2.5 bcdef	2.9 abcdef	1.9 bcdefghi	4.5 abcdef	0.427 abcdef
	D	2.7 abcde	3.2abcd	1.9 bcdefghi	4.4 abcdefg	0.367 bcdefg
	E	0.9 f	1.6 ef	0.6 i	1.7 fg	0.113 fg
	F	2.3 bcdef	2.9 abcdef	1.6 cdefghi	3.4 bcdefg	0.275 cdefg
Significance						
Cultural Density (C)		**	**	***	NS	**
Media (M)		***	***	***	***	***
C × M	NS ^x	NS	NS	NS	NS	NS

基本培養基：3 g L⁻¹ 花寶 1 號+15 g L⁻¹ 蔗糖+1 g L⁻¹ 活性炭 + 2.5 g L⁻¹ 水晶洋菜, pH5.2。

Basal medium : 3 g L⁻¹ Hyponex no.1, 15 g L⁻¹ sucrose, 1 g L⁻¹ charcoal, 2.5 g L⁻¹ gelrite, pH5.2.

^z 培養基成份：A:3 g L⁻¹ 花寶 1 號, B: 3 g L⁻¹ 花寶 2 號, C: 50 g L⁻¹ 香蕉, D:50g L⁻¹ 馬鈴薯, E: 2 g L⁻¹ 試驗蛋白質, F: 2 g L⁻¹ 蛋白質。

^z Organic additives of A:3 g L⁻¹ Hyponex No.1, B: 3 g L⁻¹ Hyponex No.2, C: 50 g L⁻¹ Banana, D:50g L⁻¹ Potato, E: 2 g L⁻¹ tryptone, F: 2 g L⁻¹ peptone.

^y 同行英文字母相同者表示經 LSD 顯著性測驗在 5%水準差異不顯著。

^y Mean with the same letter within columns are not significantly different by LSD at 5% level.

^x NS, **, *** 分別表示沒有顯著性差異、P≤0.05 顯著性差異及 P≤0.01 極顯著性差異。

^x NS, **, *** indicate non-significant or significant at P≤0.05 and 0.01, respectively

表 3. 培養密度與有機添加物對黃根節蘭小苗褐化的影響

Table 3. Effect of cultural density and organic additives on seedling browning of *Calanthe sieboldii*.

培養密度 Cultural density	有機添加物 ^z Organic additives	褐化株數 Brown plant No.	褐化葉片數 Brown leaf No.	褐化重量 Weight of brown leaf g
15	A	0.14 g ^y	0.6 a	0.040 a
	B	0.66 abc	2.2 a	0.123 a
	C	0.26 efg	0.6 a	0.062 a
	D	0.17 fg	0.4 a	0.019 a
	E	0.46 abcdefg	1.5 a	0.129 a
	F	0.26 efg	0.7 a	0.080 a
20	A	0.29 defg	0.7 a	0.058 a
	B	0.60 abcd	1.5 a	0.092 a
	C	0.33 cdefg	0.9 a	0.082 a
	D	0.23 efg	0.3 a	0.035 a
	E	0.53 abcde	4.8 a	0.130 a
	F	0.49 abcdef	1.3 a	0.104 a
25	A	0.33 cdefg	1.0 a	0.083 a
	B	0.74a	1.1 a	0.084 a
	C	0.30 defg	0.5 a	0.062 a
	D	0.25 efg	0.6 a	0.045 a
	E	0.45 abcdefg	1.6 a	0.164 a
	F	0.31 defg	1.2 a	0.084 a
30	A	0.38 bcdefg	1.3 a	0.083 a
	B	0.67ab	1.2 a	0.092 a
	C	0.40 bcdefg	0.8 a	0.107 a
	D	0.41 bcdefg	1.1 a	0.067 a
	E	0.70 ab	1.7 a	0.119 a
	F	0.44 abcdefg	1.3 a	0.073 a
Significance				
Cultural Density (C)		NS ^x	NS	NS
Media (M)		***	NS	NS
C × M		NS	NS	NS

基本培養基：3 g L⁻¹ 花寶 1 號 + 15 g L⁻¹ 蔗糖 + 1 g L⁻¹ 活性炭 + 2.5 g L⁻¹ 水晶洋菜, pH5.2。

Basal medium : 3 g L⁻¹ Hyponex No.1, 15 g L⁻¹ sucrose, 1 g L⁻¹ charcoal, 2.5 g L⁻¹ gelrite, pH5.2.

^z 有機添加物同表 2。

^y Organic additives is the same as table 2.

^x 同行英文字母相同者表示經 LSD 顯著性測驗在 5% 水準差異不顯著。

^y Mean with the same letter within columns are not significantly different by LSD at 5% level.

^x NS, **, *** 分別表示沒有顯著性差異、P≤0.05 顯著性差異及 P≤0.01 極顯著性差異。

^x NS, **, *** indicate non-significant or significant at P≤0.05 and 0.01, respectively

參考文獻

- 三吉一光。1996。發芽困難性地生蘭－根節蘭屬種子之促進。圖解蘭花繁殖最新技術。
蔡平里(譯)。p.35-41。淑馨出版社。台北。
- 呂依倫、李志仁、李咗。1992。培養基成分對素心蘭種子無菌發芽之影響。中國園藝
38(3):161-169。
- 李沐。1989。紅花鶴頂蘭之生長習性研究與繁殖。國立台灣大學園藝研究所碩士論文。
128pp。
- 吳新棋、李咗。1991。紅花鶴頂蘭之無菌播種。中國園藝 37:183-198。
- 林讚標。1988。台灣蘭科植物(2)。p.68-100。南天書局。台北。
- 周鎮。1986。台灣蘭圖鑑－地生蘭篇。p.107-141。周鎮出版。台中。
- 涂美智。1986。蝴蝶蘭白花雜交種果莢發育與培養基成分對種子發芽及幼苗生長之影
響。國立台灣大學園藝研究所碩士論文。128pp。
- 莊錦華、李咗。1986。菸鹼酸、椰子汁與香蕉泥對台灣一葉蘭種子發芽與小苗生長之
影響。中國園藝 32:132-138。
- 葉淑如。1990。黃根節蘭、繡邊根節蘭及白鶴蘭植株之生長習性與種子發芽生理。國
立臺灣大學園藝學研究所碩士論文。133pp.
- 羅淑芳、郭昭麟、陳宗禮、蔡新聲。2008。台灣銅皮石斛的種子發芽及大量繁殖。台
灣農業研究 57:295-304
- Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seed. Bot. Rev. 33:1-97.
- Chung, J. D., C. K. Chun, and S. O. Choi. 1985. Asymbiotic germination of *Cymbidium
ensifolium*. II. Effects of several supplements to the medium, pH values and light and/or
dark culture periods on rhizome growth and organogenesis from the rhizome. J. Korean
Soc. Hort. Sci. 26:186-192.
- Chen, F. C. and T. C. Chen. 1998. Effect of salt strength and organic additives on the *in
vitro* growth of protocorm-like-bodies and plantlets of *Oncidium* Gower Ramsey. J.
Chinese Soc. Hort. Sci. 44:403-412. (in Chinese with English abstract)
- Hibono, K., N. Mizuno, and S. Kako. 1978. Studies on germination of *Calanthe discolor*. I.
Effect of pretreatment on germination. Proc. Jap. Soc. Hort. Sci. Conf. p.356-357.

- Ichihashi, S. and M. Yamashita. 1977. Studies on the media for orchid seed germination. I. The effect of balances inside each cation and anion group for the germination and seedling development of *Bletilla striata* seeds. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 45:407-413.
- Juang, J. H. and N. Lee. 1986. Effect of activated charcoal, sucrose and mineral concentration on seed germination and seedling growth of *Pleione formosana*. J. Chinese Soc. Hort. Sci. 32:61-69. (in Chinese with English abstract)
- Miyoshi, K. and M. Mii. 1988. Ultrasonic treatment for enhancing seed germination of terrestrial orchid, *Calanthe discolor* in symbiotic culture. Sci. Hort. 35:127-130.
- Nagashima, T. 1982. Studies on the seed germination and embryogenesis in the *Bletilla striata* Rchb. f. and *Calanthe discolor* Lindl. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51:82-93.
- Nagashima, T. 1983. On the Seed Germination and Embryogenesis in the *Calanthe sarcata* Beteman, *Calanthe Cardioglossa* Schltr. and *Phaius minor* Blume. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 52:65-77.
- Nagashima, T. 1984. On the seed germination and embryogenesis in the *Calanthe aristulifera* Rchb. f., *Calanthe izu-insularis*. Ohwiet. Satomi. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 53:176-186.
- Nagashima, T. 1985. On the Seed Germination and Embryogenesis in *Calanthe sieboldii* Decne, *Calanthe elemeri* Ames and *Calanthe venusta* Schltr. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 54:231-241.
- Shiau, Y. J., S. M. Nalawade, C. N. Hsai, and H. S. Tsay. 2005. Propagation of *Haemaria discolor* Via in vitro seed germination. Biol. Plant. 49:341-346.
- Vacin, E. F. and F. W. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Bot Gaz. 110:605-613.
- Withner, C. L. 1974. Developments in orchid physiology. p.129-168. In: Withner, C. L. (eds.) The orchids, a Scientific Survey. Wiley-Interscience. New York.

Effects of Medium Composition and Cultural Density on Seed Germination and Seedling Growth of *Calanthe sieboldii*¹

Shu-Jen Lee², Fang-Shin Liao², and Shui-Ho Cheng²

Abstract

To establish seedling propagation system, this research examined the influence of medium composition and cultural density on seed germination and seedling growth of *Calanthe sieboldii* Decne. The results of the germination rate showed seeds 110 days after pollination cultured on basal medium 3 g L⁻¹ Hyponex No. 1, 20 g L⁻¹ sucrose, 2 g L⁻¹ activated carbon and 8 g L⁻¹ agar was 14.1%. Six organic additives, except potatoes, could enhance seed germination. The germination rate at 39.1% was highest supplied with 150 ml L⁻¹ coconut milk. The growth vigor and fresh weight of seedlings growth on the medium supplemented with Hyponex No.1, 15 g L⁻¹ sucrose, 1 g L⁻¹ activated carbon and 2.5 g L⁻¹ gelrite in the 15-30 plants / flask cultural density was higher than on Hyponex No.2 basal medium, but decreased when the cultural density increased. In low cultural density, the growth vigor of seedlings was not significantly improved by organic additives, except that addition of banana increased fresh weight. In 20-30 plants / flask cultural density, addition of banana or potato significantly improved seedling growth vigor and fresh weight of seedlings.

Key words: *Calanthe*, embryo development, asymbiotic germination

¹. Contribution No.421 from Taoyuan DARES, COA.

². Associate Researcher, Senior Researcher and Director (Corresponding author, shcheng@mail.coa.gov.tw), respectively, Taoyuan DARES, COA.