

# 孤挺花組織培養之研究

張盛添、王才義<sup>1)</sup>

## 摘 要

本研究目的在探討孤挺花雙鱗片組織培養繁殖之生產過程及方式，試驗採用孤挺花「Red Lion」品種三年生鱗莖，周徑 20~22 cm，鱗莖經消毒後於無菌操作台以米字形 16 分割切開後，切取雙鱗片約 0.5 × 0.5 cm 為試驗材料，試驗結果顯示：孤挺花雙鱗片組織培養繁殖時，種球的消毒以 50°C 熱水處理 90 分鐘或 55°C 熱水處理 45 分鐘以上，可降低污染率至 10 % 以下，且不影響小鱗莖形成。培養基蔗糖濃度以 50 g/l 處理可得到最多的小鱗莖，小鱗莖平均重則以 30 g/l 蔗糖處理最重。不同醣源比較以添加葡萄糖：果糖 = 15 : 15 g/l 之處理，小鱗莖形成最多，單獨使用果糖 30 g/l 表現最差。在有光環境下，配合培養基加入活性炭 3 g/l，可促進小鱗莖形成，且小鱗莖亦較重；培養基添加植物生長調節劑 BA 雖可促進小鱗莖形成，但對小鱗莖生長發育則沒有促進作用，BA 濃度以不超過 2.0 mg/l 為宜，高濃度 BA 處理初期小鱗莖形成顯然有抑制現象，後期亦有不正常生長現象。

關鍵字：孤挺花、組織培養。

## 前 言

球根花卉之無性繁殖方式很多，有自然分球法、鱗片扦插繁殖、種球切割繁殖<sup>(1)</sup>及組織培養繁殖。其中以組織培養方式可快速大量的得到植株<sup>(2)</sup>，且又可應用於無病毒種苗之建立。水仙每個種球可切得 80~100 個雙鱗片，經組織培養 6 個月後，可得 200~300 個小鱗莖<sup>(10)</sup>。金花石蒜雙鱗片無菌扦插繁殖，每二個月約可增殖三倍<sup>(9)</sup>。金花石蒜一個鱗莖之鱗片培養經 7~8 個月可得 50~75 株小植株<sup>(2)</sup>。

影響組織培養繁殖率之因素，可分為預措處理、培植體來源、培養基之組成分和培養環境。殺菌是為使繁殖體進入無菌環境中生長所必然的步驟，納麗石蒜先以 45°C 熱水處理種球表面 30 分鐘，再以 70 % 酒精消毒處理雙鱗片，可得到最好的存活率，約 80 %<sup>(4)</sup>。培養基之組成分上，在百合鱗片以 3 % 蔗糖濃度之小鱗莖形成率最好<sup>(11)</sup>。培養基中加入活性炭，再配合生長調節劑使用可得最佳表現，在水仙若再以暗處理，效果更好<sup>(17)</sup>。生長調節劑使用上，常以 Auxin 與 Cytokinine 之比例為調整誘導芽體或根之分化<sup>(3)</sup>；文珠蘭之雙鱗片繁殖體以 BA 20 mg/l + NAA 0.5 mg/l 表現最好<sup>(16)</sup>；金花石蒜則以 BA 3 mg/l + NAA 0.5 mg/l 最佳<sup>(2)</sup>。本試驗希望能瞭解孤挺花組織培養繁殖之過程及方式，祈能應用於大量增殖種球，以供產業生產推廣之參考。

1) 國立中興大學園藝學系副教授

## 材料與方法

試驗材料以孤挺花「Red Lion」品種三年生鱗莖，周徑 20~22 cm，鱗莖由田間挖取後，將葉、根及最外層之乾枯鱗片去除，洗淨表面後備用。本試驗組織培養的基本配方為採用 MS(Murshige and Skoog, 1962)基本配方，pH 值調整為  $5.7 \pm 0.1$ ，洋菜為 8 g/l 之固體培養基；依各試驗需要加入不同濃度之醣類(蔗糖、葡萄糖及果糖)、生長調節劑 BA 或活碳性。培養室溫度控制在  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光源以旭光牌冷白光燈，照度為 2500~3000 lux，光週期明期為 16 小時，暗期為 8 小時。鱗莖消毒後以 16 分割法將其切成雙鱗片，約  $0.5 \times 0.5$  cm 之繁殖體，再以 70%酒精表面消毒 1 分鐘，以無菌水清洗 3 次，再依不同處理移入培養基中培育。每處理 3 重複，每重複 20 支，進行以下試驗。

### 一、種球消毒處理

#### (一)不同溫度熱水消毒處理

以水浴循環機(DENG YNG water bath)，分別調整水溫至 45、50、55、 $60 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ，水溫穩定後，分別將鱗莖完全浸於水浴機中處理 1 小時後取出，置於無菌台內 1 小時回溫，以 1% 次氯酸鈉(NaClO)表面消毒 30 分鐘為對照組。鱗莖切成雙鱗片繁殖體處理後移入 1/2 MS 固體培養基中培育 2 週，調查雙鱗片污染率及小鱗莖再生率。

#### (二)熱水消毒不同時間處理

以水浴循環機，分別調整水溫至 50、 $55 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ，溫度穩定後，分別將鱗莖完全浸於水浴機中處理 15~180 分鐘不等時間後取出。置於無菌台內 1 小時回溫，鱗莖切成雙鱗片繁殖體處理後移入 1/2 MS 固體培養基中培育 2 週，調查雙鱗片污染率及小鱗莖再生率。

### 二、培養基不同蔗糖濃度之處理

將供試孤挺花雙鱗片繁殖體消毒處理後移入含蔗糖濃度各為 0、10、30、50 g/l 之 1/2 MS 固體培養基中培養。培育 4 週後調查小鱗莖形成率，培育 8 週後調查小鱗莖球重、球徑、葉數、葉長及繁殖體發根數、根長。

### 三、培養基不同醣源之處理

將供試孤挺花雙鱗片繁殖體消毒處理後移入濃度各為 30 g/l 的蔗糖、葡萄糖或果糖及濃度為 15 g/l 葡萄糖加 15 g/l 果糖之 1/2 MS 固體培養基中培養。4 週後調查小鱗莖形成率，8 週後調查小鱗莖球重、球徑、葉數、葉長及繁殖體發根數、根長。

### 四、培養基活性碳添加及光或暗處理

將供試孤挺花雙鱗片繁殖體消毒處理後移入添加活性碳 3 g/l 或不添加活性碳之 1/2 MS 固體培養基中培養。並將置於光/暗週期為 16/8 小時及全暗環境下培養，8 週後調查小鱗莖形成率、球重、球徑、葉數、葉長及繁殖體發根數、根長。

### 五、培養基不同 BA 濃度處理

將供試孤挺花雙鱗片繁殖體消毒處理後移入含不同濃度生長調節劑 BA 為 0、0.5、1.0、2.0、4.0 ppm 之 1/2 MS 固體培養基中培養。8 週後調查小鱗莖形成率，12 週後調查小鱗莖大小及繁殖體發根數。

## 結果與討論

### 一、熱水消毒處理

許多取自土壤之繁殖體，於組織培養繁殖時常會受到真菌、細菌及有機微生物污染，一般之藥劑表面消毒又不能達到很好的殺菌效果，Hol 和 Van der Linde 在水仙試驗上，種球以 1% 次氯酸鈉(NaClO)消毒 30 分鐘，其雙鱗片繁殖體仍然有 40 ~ 60 % 的污染，其主要污染源多為真菌類 (*Fusarium spp.*)，即使將消毒時間延長至 2 小時，也無法降低污染率，而採用 54°C 熱水處理即可大幅減低污染率<sup>(8)</sup>。賴氏於納麗石蒜試驗上，以 45°C 熱水處理鱗莖 30 分鐘加 70 % 酒精浸泡 1 分鐘的培植體表面消毒方式最好<sup>(4)</sup>。

#### (一)不同溫度熱水消毒處理

本試驗以 45、50、55、60°C 不同熱水溫度處理孤挺花鱗莖，比較以 1% 次氯酸鈉表面消毒 30 分鐘之殺菌效果。試驗結果如圖 1 所示，污染率隨溫度的增高而降低，各溫度處理污染率分別為 55、20、0、0%，對照組為 80%，未污染的植體除 60°C 處理外，均可正常形成小鱗莖。60°C 處理已有部分植體褐化，有些雖未褐化，但於植體切口處形成半透明狀組織，而無小鱗莖產生。此與 Hol 和 Van der Linde 在水仙試驗上，以 50、54、58、62°C 的熱水處理之結果相似<sup>(8)</sup>。本試驗中之污染源亦多為真菌類污染，經初步檢定有黏帚菌(*Gliocladium sp.*) 及 *Aureobasidium sp.*，均屬不完全菌，大量存在於土壤中，亦有少部分為細菌性污染。

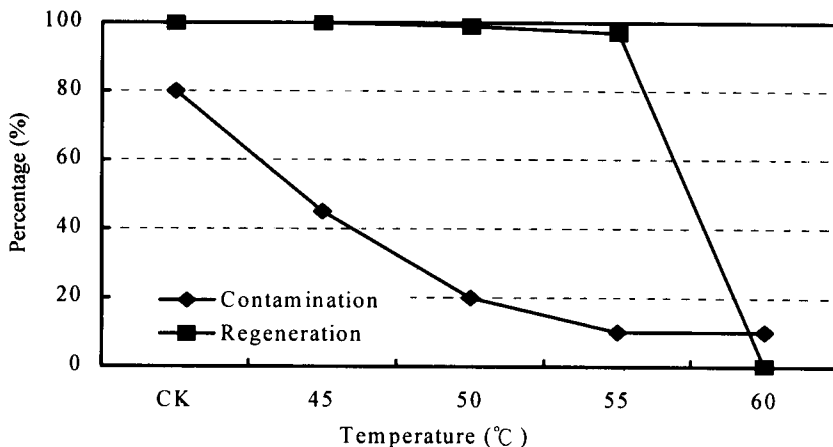


圖 1. 不同溫度熱水處理對孤挺花「Red Lion」品種雙鱗片組織培養污染率及再生率之影響  
Fig 1. Effect of hot water treatment on contamination and regeneration of *Hippeastrum* 'Red Lion' by twin-scaling *in vitro*. Control was treated by 1% NaOCl for 30 minutes.

#### (二)熱水消毒不同時間處理

本試驗以 50°C 及 55°C 熱水配合不同時間處理，探討其殺菌之效果，結果由圖 2 所示，50°C 處理 90 分鐘僅有 10 % 之污染率，120 分鐘以上均無污染發生，但小鱗莖形成率約降 5-10 % 左右。55°C 處理 45 分鐘即可降低污染率至 10 % 以下，處理 60 分鐘僅 5 %，小鱗莖形成

率達 96%，處理 120 分鐘幾乎零污染，但小鱗莖形成率也很低僅 4% 左右(圖 3)。此與 Hol & Van der Linde 在水仙試驗上，以 54°C 的熱水處理 1~3 小時結果相似<sup>(8)</sup>。由以上結果可知，孤挺花於組織培養種球消毒上可先以熱水消毒處理來減低真菌類的污染，溫度以 50°C 處理 90 分鐘以上或 55°C 處理 45~60 分鐘為佳，可降低污染率至 10% 以下。本試驗中亦有少部分為細菌性污染，高溫 60°C 下依然無法將其殺死，故在細菌性污染上還要尋求其他方式克服。

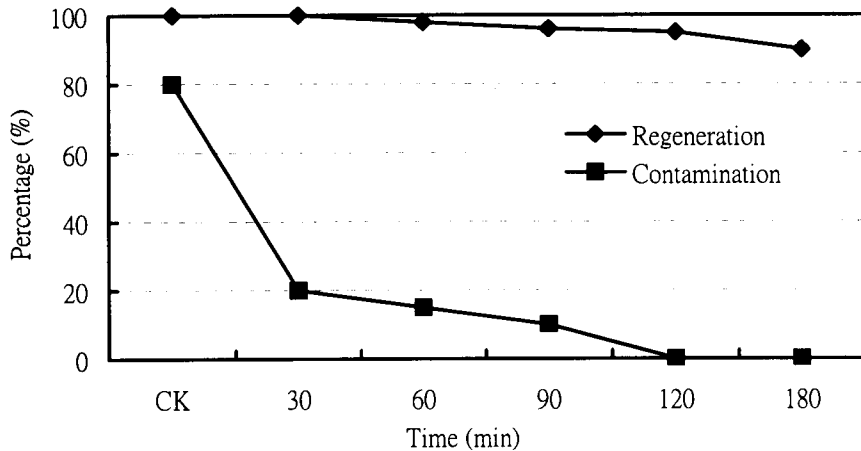


圖 2. 50°C 熱水處理不同時間對孤挺花「Red Lion」品種組織培養雙鱗片污染率及再生率之影響  
Fig 2. Effect of 50°C water treatment period on contamination and regeneration of *Hippeastrum* 'Red Lion' by twin scaling *in vitro*. Control was treated by 1% NaOCl for 30 minutes.

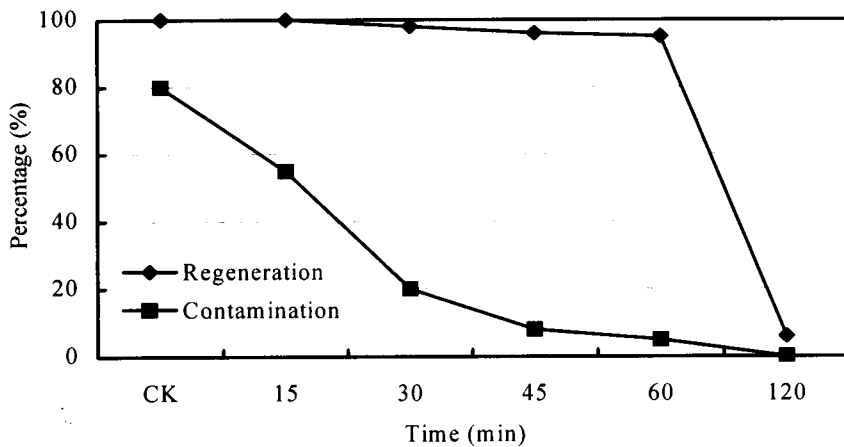


圖 3. 55°C 熱水處理不同時間對孤挺花「Red Lion」品種雙鱗片組織培養污染率及再生率之影響  
Fig 3. Effect of 55°C water treatment period on contamination and regeneration of *Hippeastrum* 'Red Lion' by twin scaling *in vitro*. Control was treated by 1% NaOCl for 30 minutes.

## 二、培養基不同蔗糖濃度之處理

表 1 顯示在 1/2 MS 培養基中，不同蔗糖濃度對孤挺花小鱗莖形成，有隨蔗糖濃度的增加而增加，50 g/l 蔗糖處理之小鱗莖平均形成數可達 2.0 個；小鱗莖平均重以 30 g/l 蔗糖處理最重，可達 0.62 g，其次為 50 g/l 蔗糖處理的 0.52 g，而 0 g/l 及 10 g/l 蔗糖處理較差僅 0.41 g 及 0.46 g。四種處理間小鱗莖形成葉數差異不顯著，平均葉長以 10 g/l 蔗糖處理之 10.2 cm 最長，以 50 g/l 蔗糖處理的 4.8 cm 最短。根形成數以 30 g/l 及 50 g/l 蔗糖處理的 2.0 條及 2.1 條較多；平均根長隨著蔗糖濃度的增加而增加，以 50 g/l 蔗糖處理的 9.5 cm 最長。De Bruyn 等人於孤挺花雙鱗片組織培養試驗中指出，以蔗糖濃度 20 g/l 小鱗莖形成率表現最好<sup>(7)</sup>；Chow 等人於水仙組織培養試驗中，發現提高蔗糖濃度由 3 ~ 9 % 可增加小鱗莖的形成，且有助於小鱗莖出瓶後於田間栽培時葉及根之生長<sup>(5)</sup>。在百合的鱗片繁殖上，培養基蔗糖濃度在 30 g/l 小鱗莖的形成率達最高，增加蔗糖濃度則可增加小鱗莖形成數及重量<sup>(11)</sup>。

表 1. 培養基添加不同蔗糖濃度處理對孤挺花「Red Lion」品種雙鱗片組織培養繁殖小鱗莖形成之影響

Table 1. Effect of sugar on bulblet formation of *H. hybridum* Hort. cv. 'Red Lion' by twin-scaling *in vitro*.

蔗糖濃度 Sucrose (g/l)	小鱗莖形成數 / 雙鱗片 No. of bulblet per twin-scale	小鱗莖重 Mean bulblet weight (g)	小鱗莖直徑 Mean bulblet diameter (mm)	小鱗莖葉數 No. of leaves per bulblet	平均葉長 Mean leaf length (cm)	根形成數 / 雙鱗片 No. of roots per twin-scale	平均根長 Mean root length (cm)
0	1.00 <sup>b</sup>	0.41 <sup>b</sup>	5.2 <sup>b</sup>	1.2 <sup>a</sup>	8.9 <sup>a</sup>	1.4 <sup>b</sup>	2.7 <sup>d</sup>
10	1.20 <sup>b</sup>	0.46 <sup>b</sup>	5.1 <sup>b</sup>	1.0 <sup>a</sup>	10.2 <sup>a</sup>	1.0 <sup>b</sup>	5.1 <sup>c</sup>
30	1.63 <sup>ab</sup>	0.62 <sup>a</sup>	8.0 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	9.9 <sup>a</sup>	2.1 <sup>a</sup>	7.2 <sup>b</sup>
50	2.00 <sup>a</sup>	0.52 <sup>ab</sup>	7.8 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>	4.6 <sup>b</sup>	2.0 <sup>a</sup>	9.5 <sup>a</sup>

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。

Means followed by the same letter are not significantly ( $p = 0.05$ ) different according to the LSD test.

## 三、培養基不同醣源之處理

表 2 顯示在 1/2 MS 培養基中，不同醣源對孤挺花小鱗莖形成數以 30 g/l 葡萄糖及 15 g/l 葡萄糖加 15 g/l 果糖的 2.04 及 2.18 個表現最好，而以 30 g/l 果糖的 1.82 個最少；在小鱗莖重量上，30 g/l 蔗糖、30 g/l 葡萄糖及 15 g/l 葡萄糖加 15 g/l 果糖無顯著差異，30 g/l 果糖表現最差。小鱗莖之平均葉數及葉長均以 30 g/l 蔗糖最好，根形成數則以 30 g/l 蔗糖的 2.2 條最多；而平均根長則以 30 g/l 葡萄糖及 15 g/l 葡萄糖加 15 g/l 果糖處理表現最好，分別有 9.0 及 8.5 cm。由上結果得知，以 15 g/l 葡萄糖加 15 g/l 果糖整體表現最好，推測可能是繁殖體能很快的由培養基中獲得完整的單糖類，供給小鱗莖的形成發育用，單獨添加果糖可能影響糖類分解之平衡，而使小鱗莖的形成發育受影響。

表 2. 培養基添加不同醣源處理對孤挺花「Red Lion」品種雙鱗片組織培養繁殖小鱗莖形成之影響  
Table 2. Effect of different sugar sources on bulblet formation of *H. hybridum* Hort. cv. 'Red Lion' by twin-scaling *in vitro*.

醣源種類 Conc. (g/ℓ)	小鱗莖形成數 / 雙鱗片 No. of bulblet per twin-scale	小鱗莖重 Mean bulblet weight (g)	小鱗莖直徑 Mean bulblet diameter (mm)	小鱗莖葉數 No. of leaves per bulblet	平均葉長 Mean leaf length (cm)	根形成數 / 雙鱗片 No. of roots per twin-scale	平均根長 Mean root length (cm)
30Su <sup>y)</sup>	1.91 <sup>bcz)</sup>	0.49 <sup>a</sup>	6.8 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	7.8 <sup>b</sup>
30Gl	2.04 <sup>ab</sup>	0.48 <sup>a</sup>	7.6 <sup>a</sup>	1.0 <sup>ab</sup>	5.4 <sup>b</sup>	1.6 <sup>c</sup>	9.0 <sup>a</sup>
30Fr	1.82 <sup>c</sup>	0.34 <sup>b</sup>	6.9 <sup>a</sup>	0.2 <sup>c</sup>	2.6 <sup>d</sup>	1.1 <sup>d</sup>	4.6 <sup>c</sup>
15Gl/15Fr	2.18 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	5.0 <sup>c</sup>	1.8 <sup>b</sup>	8.5 <sup>ab</sup>

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。

Means followed by the same letter are not significantly ( $p = 0.05$ ) different according to the LSD test.

y) 30Su: 30 g sucrose/ℓ; 30Gl: 30 g glucose/ℓ; 30Fr: 30 g fructose/ℓ; 15Gl/15Fr: 15 g glucose/ℓ 15 g fructose/ℓ.

#### 四、培養基活性碳添加及光或暗處理

培養基添加活性碳，可引起有利或有害的影響，例如吸附有害物質、造成培養基的暗環境、吸附植物生長調節劑或其它有機化合物、改善培養基的通氣性及吸附植物體釋放的生長促進物質或有毒物質<sup>(14)</sup>。本試驗於 1/2 MS 培養基中有無添加活性碳處理及於光或暗環境下培育，探討其對小鱗莖形成之影響，結果如表 3 顯示，於光環境下添加活性碳有最多的小鱗莖形成數，平均達 1.73 個，其他三個處理則無顯著差異；小鱗莖球徑、根形成數及根長均以光環境下添加活性碳處理表現最好。就整體而言，添加活性碳可促進小鱗莖的形成及生長，而不加活性碳處理，由於鱗片繁殖體於切割受傷，在移入組織培養環境中，會有褐化現象及分泌一些物質到培養基中而造成小鱗莖形成受阻，生長較為緩慢。添加活性碳及暗環境處理均給與根形成的暗環境，故鱗片根數及根長均能有較佳的表現。Steinitz 和 Yahel 於水仙鱗片組織培養繁殖上，培養基中添加活性碳較未添加者，小鱗莖形成數及球重均可倍加<sup>(17)</sup>。Leshem 等人於鐵炮百合試驗中指出，光或暗環境對小鱗莖形成率不顯著，但光環境對每一鱗片之小鱗莖形成數量較多且呈顯著差異，小鱗莖重則以暗環境較重<sup>(13)</sup>。活性碳也可誘導鬱金香(*Tulipa*)<sup>(6)</sup>與風信子(*Hyacinth*)<sup>(12)</sup>的小鱗莖形成。在含 BA 及 NAA 的葡萄百合(*Muscari armeniacum*)培養基中添加活性碳可增加小鱗莖形成，不添加則僅產生癒傷組織<sup>(15)</sup>。

表 3. 光/暗(L/D)處理及有無添加活性碳(AC)對孤挺花「Red Lion」品種雙鱗片組織培養繁殖小鱗莖形成之影響

Table 3. Effect of light (L/D) and activated charcoal (AC) on bulblet formation of *H. hybridum* Hort. cv. 'Red Lion' by twin-scaling *in vitro*.

處理 Treatment	小鱗莖形成數 / 雙鱗片 No. of bulblet per twin-scale	小鱗莖重 Mean bulblet weight (g)	小鱗莖直徑 Mean bulblet diameter (mm)	根形成數 / 雙鱗片 No. of roots per twin-scale	平均根長 Mean root length (cm)
L+AC	1.73 <sup>a</sup>	0.13 <sup>ab</sup>	6.0 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a</sup>	4.8 <sup>a</sup>
L-AC	1.24 <sup>b</sup>	0.08 <sup>b</sup>	4.4 <sup>c</sup>	0.5 <sup>c</sup>	2.0 <sup>c</sup>
D+AC	1.30 <sup>b</sup>	0.19 <sup>a</sup>	5.5 <sup>b</sup>	0.7 <sup>b</sup>	2.8 <sup>b</sup>
D-AC	1.35 <sup>b</sup>	0.08 <sup>b</sup>	4.6 <sup>bc</sup>	0.6 <sup>c</sup>	2.8 <sup>b</sup>

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。

Means followed by the same letter are not significantly ( $p = 0.05$ ) different according to the LSD test.

## 五、培養基不同 BA 濃度處理

表 4 顯示在 1/2 MS 培養基添加不同濃度 BA 對小鱗莖形成之影響，以 BA 4 ppm 處理 2.13 個的小鱗莖形成數最多，其他三個 BA 濃度處理無顯著差異，但都比對照組多。小鱗莖重量及球徑則以兩對照組較佳，重量分別達 0.40 g 及 0.25 g，球徑分別為 6.3 mm 及 5.5 mm；而 BA 4 ppm 處理最輕也最小，僅 0.11 g 重及 4.3 mm 寬的球徑，其他三個 BA 濃度處理小鱗莖亦輕。小鱗莖之平均葉數、葉長及繁殖體根形成數、平均根長均以不添加 BA 僅添加活性碳處理(CK<sub>2</sub>)最好。就本試驗而言，添加 BA 雖然可促進小鱗莖之形成，但對小鱗莖生長發育則沒有促進作用。低濃度 BA 處理初期之小鱗莖形成數很多，但於後期僅有 1~2 個能正常生長，可能與生長空間有關；高濃度 BA 處理初期小鱗莖形成顯現有抑制現象，後期亦有不正常生長現象。Huang 等人於孤挺花雙鱗片繁殖，培養基添加 BA 或 Kinetin (0.5、5 ppm)，對小鱗莖形成均無促進作用，高濃度反有抑制現象<sup>(9)</sup>。林和馬氏於金花石蒜鱗片組織培養試驗顯示，培養基增加 BA 濃度由 0~3 ppm 可提高小鱗莖形成率，若再加用 NAA 0.5 ppm 可使小鱗莖形成率達 100 %<sup>(2)</sup>。賴氏於納麗石蒜鱗片組織培養繁殖上，以 BA 1~3 ppm 之整體表現較好，BA 濃度以不超過 4 ppm 為佳<sup>(4)</sup>。Slabbert 等人於文珠蘭(*Crinum macowanii*)鱗片組織培養繁殖上，就 BA 濃度 0、5、10、20 ppm 而言，以 BA 20 ppm 表現較好，若配合 NAA 0、5、10、20 ppm 處理，則以 BA 0 或 20 ppm 加 NAA 5 ppm 表現最好，但與對照無顯著差異<sup>(16)</sup>。

表 4. 培養基添加不同 Cytokinin (BA) 濃度處理對孤挺花「Red Lion」品種雙鱗片組織培養繁殖小鱗莖形成之影響

Table 4. Effect of BA on bulblet formation of *H. hybridum* Hort. cv. 'Red Lion' by twin-scaling *in vitro*.

BA 濃度 Conc. (ppm)	小鱗莖形成數 / 雙鱗片 No. of bulblet per twin-scale	小鱗莖重 Mean bulblet weight (g)	小鱗莖直徑 Mean bulblet diameter (mm)	小鱗莖葉數 No. of leaves per bulblet	平均葉長 Mean leaf length (cm)	根形成數 / 雙鱗片 No. of roots per twin-scale	平均根長 Mean root length (cm)
0.5	1.87 <sup>bc z)</sup>	0.17 <sup>d</sup>	5.6 <sup>b</sup>	0.4 <sup>d</sup>	0.7 <sup>c</sup>	1.1 <sup>c</sup>	4.2 <sup>b</sup>
1.0	1.92 <sup>b</sup>	0.21 <sup>c</sup>	5.2 <sup>c</sup>	1.0 <sup>ab</sup>	1.3 <sup>c</sup>	0.9 <sup>d</sup>	3.8 <sup>c</sup>
2.0	1.89 <sup>bc</sup>	0.19 <sup>d</sup>	6.0 <sup>b</sup>	0.9 <sup>bc</sup>	1.3 <sup>c</sup>	1.0 <sup>c</sup>	3.5 <sup>d</sup>
4.0	2.13 <sup>a</sup>	0.11 <sup>e</sup>	4.3 <sup>d</sup>	0.9 <sup>c</sup>	0.8 <sup>c</sup>	0.8 <sup>d</sup>	2.0 <sup>e</sup>
CK <sub>1</sub> <sup>y)</sup>	1.39 <sup>d</sup>	0.25 <sup>b</sup>	5.5 <sup>bc</sup>	0.9 <sup>c</sup>	2.8 <sup>b</sup>	1.3 <sup>b</sup>	3.4 <sup>d</sup>
CK <sub>2</sub> <sup>x)</sup>	1.67 <sup>cd</sup>	0.40 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	6.2 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup>

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。

Means followed by the same letter are not significantly ( $p = 0.05$ ) different according to the LSD test.

y) 0 BA- AC

x) 0 BA+AC

## 參考文獻

- 1.王才義。1992。孤挺花種球雙鱗片繁殖技術。興農 281: 87-91。
- 2.林純瑛、馬溯軒。1987。金花石蒜之鱗片組織培養繁殖。中國園藝 33 (4): 255-264。
- 3.高景輝。1994。Cytokinins。植物荷爾蒙生理。華香出版社 p.170。
- 4.賴淑芬。1995。納麗石蒜生育習性與繁殖方法之研究。國立中興大學園藝研究所 碩士論文 104pp。
- 5.Chow, Y. N., C. Selby, and B. M. R. Harvey. 1992. Stimulation by sucrose of *Narcissus* bulbil formation *in vitro*. J. Hort. Sci. 67 (2): 289-293.
- 6.Cumming, B. G. and D. E. Peck. 1984. Tissue culture of grape hyacinth. HortScience. 19: 723-724.
- 7.De Bruyn, M. H., D. I. Ferreira, M. M. Slabbert, and J. Pretorius. 1992. *In vitro* propagation of *Amaryllis belladonna*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 31: 179-184.
- 8.Hol, G. M. G. M. and P. C. G. Van der Linde. 1992. Reduction of contamination in bulb-explant cultures of *Narcissus* by a hot-water treatment of parent bulbs. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 31: 75-79.
- 9.Huang, C. W., H. Okubo, and S. Uemoto. 1990. Comparison of bulblet formation form twin scales and single scales *Hippeastrum hybridum* cultured *in vitro*. Sci. Horti. 42: 151-160.
- 10.Hussey, G. 1982. *In vitro* propagation of *Narcissus*. Ann. Bot. 49: 707-719.
- 11.Jeong, J. H. 1996. *In Vitro* propagation of bulb scale section of several korean native lilies. Acta Hort. 414: 269-276.
- 12.Kim, Y. J., P. M. Hasegawa, and R. A. Bressan. 1981. *In vitro* propagation of *Hyacinth*. HortScience. 16 (5): 645-647.
- 13.Leshem, B., H. Lilien-Kipnis, and B. Steinitz. 1982. The effect of light and of explant orientation on the regeneration and subsequent growth of bulbets on *Lilium longiflorum* Thunb. bulb scale sections cultured *in vitro*. Sci. Horti. 17: 129-136.
- 14.Mohamed-Yasseen, M., S. Barringer, R. M. Schloupt and W. E. Splittstoesser. 1995. Activated charcoal in tissue culture: An overview. The plant growth regulation society of America. 23(4): 206-213.
- 15.Peck, D. E. and B. G. Cumming. 1986. Beneficial effect of activate charcoal on bulblet production in tissue culture of *Muscari armeniacum*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 6: 9-14.
- 16.Slabbert, M. M., M. H. de Bruyn, D. I. Ferreira, and J. Pretorius,. 1993. Regeneration of bulblets from twin scales of *Crinum macowanii* *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 33: 133-141.
- 17.Steinitz, B. and Hweur Yahel. 1982. *In vitro* propagation of *Narcissus tazetta*. HortScience. 17(3): 333-334.



## Studies on Twin-Scaling of *Hippeastrum hybridum* Hort. *In vitro*.

Sheng-Tien Chang and Tsai-Yih Wang<sup>1)</sup>

### Summary

*In vitro* tests with *Hippeastrum*, the bulbs of 3-year-old plants and with 20-22 cm circumference were cut into sixteen parts evenly (1/16) for scaling study. A significant decrease in contamination rate was observed by pasteurizing the bulbs at 50°C hot-water for 90 minutes or 55°C for 45 minutes. The greatest bulblet number was found in the sugar 50 g/ℓ hot-treatment. In comparisons of sucrose sources, the largest number of bulblet formation was obtained in glucose : fructose = 15 g/ℓ : 15 g/ℓ treatment and the smallest was found in fructose 30 g/ℓ only. It was revealed that Bulblet formation was promoted while activated carbon was added on the medium under the light conditions and the bulbs from treated plants was often heavier than the control set. BA supplement enhanced bulblet formation, however, bulblet growth and development was not promoted. Therefore, the BA concentration is better to remain below 2.0 mg/ℓ when twin-scaling *in vitro*.

Key words: Amaryllis, Tissue culture.

---

1) Associate Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.