

以氣霧式生物反應器生產台灣金線連

蕭 翌 柱¹⁾ 朱 建 鏞²⁾

關鍵字：營養液霧化生物反應器、台灣金線連、天麻素、聚碳酸酯容器。

摘要：本試驗利用養液霧化生物反應器(nutrient mist bioreactor, NMB)生產台灣金線連(*Anoectochilus formosanus* Hayata)種苗及次級代謝物-天麻素(gastrodin)。利用 NMB 培育台灣金線連 60 天後，其 gastrodin 含量($626.1 \pm 113.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)與培養於傳統蘭花瓶($663.3 \pm 169 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、聚碳酸酯容器($670 \pm 51.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)或溫室者($677.5 \pm 115.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)無明顯差異。台灣金線連平均莖徑(3.7 mm)和單株鮮重(2.6 g)也與其他處理組無顯著差異。營養液氣霧供應週期為每日 8 次時，台灣金線連的株高(7.9 cm)、莖徑(3.6 mm)、葉長(4.4 cm)、葉寬(2.7 cm)、根長(3.7 cm)以及單株鮮重(2.4 g)，也與每日供應 16 次的處理組無顯著差異。

前 言

台灣金線連(*Anoectochilus formosanus* Hayata)為蘭科多年生草本植物，屬於地生蘭類，主要分佈於海拔高約800-1500公尺高濕的原始林蔭處(Anon, 1999)。其生育適溫約為18-24 °C。在台北陽明山、宜蘭棲蘭山、南投水社大山以及屏東縣南仁山等針葉或雜木林區均可見其蹤跡。台灣金線連性味甘、平，入肝、脾、腎三經，故民間常用為清涼解熱、祛風活血、止血、解鬱、強心、利尿，降血糖、降血壓，治肝亢、肝炎、肺病、肺癆、胸腹痛、小兒發育不良、蛇類咬傷以及作為肝脾諸臟器之滋養強壯劑(甘，1979；李等，1976；昭人出版社，1979)。民間相傳其效用廣泛，故有藥王、藥虎、金蠶、烏人蔘、石松、金石松、本山石松、金線屈腰、金線蕨龍、金線蓮、金線蘭、虎頭蕉、樹草蓮、雉雞草、金錢草以及黃花糯子蘭等別名(邱和張，1995)。由動物試驗證實台灣金線連水抽出液，

1) 行政院農委會農業試驗所生技組助理研究員；國立中興大學園藝學系博士班研究生。
2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

靈芝等藥材(林等, 1991)。其根莖部位所含物質可抑制血小板前列環素產生；葉片所含物對四氯化碳(CCl₄)誘發的肝中毒，有降低GOT及GPT值的作用，且保肝效果優於絞股藍或質則能促進內皮組織前列凝素的合成。這些化合物在治療心血管疾病具有良好功效(Huang *et al.*, 1991; Mak *et al.*, 1990)。而以熱水萃取的天麻素(gastrodin)和金線連糖苷(kinsenoside)等成分，可作為金線連品質的重要參考指標(Du *et al.*, 1998; Ito *et al.*, 1993)。

營養液霧化生物反應器(nutrient mist bioreactor, NMB)是一項應用超音波換能器高頻振盪原理，將液態培養基霧化成微細營養氣霧以培育植物種苗的設備，其不同於一般發酵槽運轉模式，無需顧慮培養液溶氧不足，也無需監控pH值變化，故能精減多餘裝置以節省成本(Levin and Tanny, 2004)。另外，根據研究指出，若以套袋等密閉方式維持高濕度及置於適溫的環境下，台灣金線連苗株對於CO₂的固定和利用模式可由CAM型轉變為C₃型，植株生長速率較為快速(李, 2000)。因此，本研究主要目的，在應用改良的NMB系統(Shiau and Chu, 2010)培育台灣金線連種苗，並與傳統設施栽培和瓶內培養者，進行植株生長速率和天麻素成分含量之比較。

材料與方法

一、材料來源

本試驗所使用之台灣金線連瓶苗購自台中縣霧峰鄉桐林村育峰農場。瓶苗培養至高約5 cm且含有2-3片展開葉時，即可進行試驗。篩選供試驗用的苗株，其最大片葉(自莖頂心葉下數第1或2片)平均葉長 3.5 ± 0.5 cm、葉寬 2.2 ± 0.3 cm，莖頂心葉長度約為0.5-1 cm。

二、試驗方法

(一) 栽培方法對於台灣金線連植株生育及天麻素含量之影響

試驗採用的四種不同培育方式，分別為8000 mL黑色培育盤(長×寬×高=47 cm×27 cm×6.3 cm；對照組A)、500 mL玻璃蘭花瓶(對照組B)、2000 mL聚碳酸酯(Polycarbonate, PC)容器和6000 mL改良的NMB系統培養。並依照各處理組培育容器體積之比例，調整相近的接種密度，且計算每1株種苗在試驗期間所取得的營養量(含香蕉添加物質)也相似。亦即每瓶蘭花瓶含有100 mL固體培養基並接種5株(共接種12瓶，總計60株)、每個PC容器含有400 mL固體培養基並接種20株(共接種3罐，總計60株)、生物反應器上層及下層栽培盤各含有200 mL固體培養基且各接種30株(總計60株)，另準備800 mL液體培養基作為營養液霧化之用。經馴化出瓶並移植於傳統黑色培育盤之台灣金線連苗株，每盤則種植80株，栽培使用的介質為育苗用泥碳土(BVB 3號，荷蘭)。

試驗使用的培養基主要是1/2MS (Murashige and Skoog, 1962)基本鹽類配方，即NH₄NO₃用量由原先 $1,650 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 減半成為 $825 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，但其他的營養鹽用量不變。在配製固體培養基時，依培育容器尺寸和接種株數之不同，調整培養基中香蕉的用量為20或60

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，使各處理組之每 1 棵苗株在培育 60 天期間可吸收利用的香蕉總重量為 0.4 g。此外，另再加入 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性碳、 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $9\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 洋菜粉(表 1)。提供改良的 NMB 系統霧化用液態培養基則不添加香蕉、活性碳和凝膠物質。培養基調配完成後，先以 1N NaOH 或 0.5N HCl 調整培養基 pH 值為 5.7。培養基經分裝後，置入殺菌釜內以溫度 121°C 、壓力 $1.05\text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ 滅菌 15 min，再放冷備用。各供試處理組除移植於培育盤者需置於附有水牆降溫且室溫約 $26\pm 2^\circ\text{C}$ 的溫室，其餘皆置於恆溫 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 、 $30\text{-}38\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光合成光子流量密度(photosynthetic photon flux density, PPFD)及光週期為明/暗 14/ 10 hr 的培養室。

本項研究採用的 NMB 系統操作條件，係將氣體流量設定為 $3\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 、營養液氣霧供應週期為每隔 90 min 霧化養液 80 sec，即每日供給之營養液氣霧次數為 16 次(蕭，2010)。試驗前，先逢機取樣供試植株並記錄原始的植株最大葉片平均葉長與葉寬，及莖徑、鮮重、乾物重等數量性狀。經培育 60 天後，採收並逢機取樣 15 株，再進行調查與分析，以比較不同培養方法對於種苗生育及 gastrodin 含量之影響。

(二) 氣霧供應週期對於台灣金線連植株生育及天麻素含量之影響

本試驗採用的 NMB 系統操作模式與前一項試驗所述者相似，惟營養液氣霧供給週期為每隔 90 或 180 min 霧化養液 80 sec，即每日供給之營養液霧化次數分別為 16 或 8 次。生物反應器上層及下層栽培盤各含有 200 mL 固體培養基且各接種 30 株台灣金線連(總計 60 株)，另各準備 800 mL 液體培養基作為各處理組營養液霧化之用。試驗使用之培養基及樣本取樣和調查項目，也與第一項試驗所述者相似，據以比較不同氣霧供應週期對於台灣金線連植株生育及天麻素含量之影響。

表 1. 台灣金線連植株在不同培育方法可利用之培養基體積及其組成分

Table 1. The media volume and composition for *Anoectochilus formosanus* Hayata plantlets cultured in different methods.

培育方法 Culture methods	容器體積 Vessel volume (mL)	植株數 Number of plantlets	培養基體積及香蕉含量 ^z Media volume and banana content ^z		
			液體 Liquid (mL)	固體 Solid (mL)	固體培養基香蕉含量 Banana in solid medium ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
蘭花瓶	500	5	0	100	20
聚碳酸酯容器	2000	20	0	400	20
氣霧式生物反應器	6000	60	800	400	60

^z 固體培養基組成分：1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962) + $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性碳粉 + $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖 + $9\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ agar, pH=5.7。液體培養基：1/2 MS + $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖, pH=5.7。計算各處理組每 1 棵苗株在培養基中培育 60 天可吸收利用的香蕉總重量為 0.4 g。

(三) 天麻素分析

天麻素的萃取與分析流程，係先秤取供試樣本鮮重並分置於不鏽鋼鐵盤，以 -20°C 冷凍乾燥機(FD-25B3P8，宏誠，台灣)進行乾燥處理。乾燥的樣本精秤其乾物重後再磨粉取樣。每次試驗各取 0.2 g 樣本粉末並加入 10 mL 去離子水作為溶劑，再以Elma[®]超音波震盪器(T-760DH, Germany)進行 50°C 定溫與 1 hr 震盪萃取。萃取液在Hermle[™]高速離心機(Z383K, Germany)及 15°C 定溫條件下，以轉速 5000 rpm 離心 10 min ，再吸取上清液。取得的上清液以Speed Vac[®]真空減壓離心濃縮機(SC110, NY)進行濃縮，再用去離子水定量至 5 mL ，經過濾後使用高效液相層析儀(HPLC)進行分析。使用的HPLC系統包括分離模組(Waters 2695 HPLC separation module, USA)、紫外光/可見光偵測器(2489 UV/Visible Detector, USA)以及自動樣品注入器。固定相(stationary phase)使用Atlantis[®] dC18 ($5\mu\text{m}$, $4.6\times 250\text{ mm}$ Waters, Ireland)且管柱溫控設定為 40°C ；移動相(mobile phase)則是超純水及乙月青(ACN, Germany) ($95:5; \text{v/v}$)混合溶液，並在流速 $0.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 條件下，依梯度(gradient)方式進行流注。所有供試樣本和標準品溶液在進行檢測前，先以 $0.22\mu\text{m}$ 過濾膜(Millipore, Carrigtwohill, Co. Cork, Ireland)濾除雜質，再以每次 $30\mu\text{L}$ 的注射量進行含量分析。本試驗使用之gastrodin標準品購自中華醫藥產業股份有限公司(Lot. 20071114, 台灣)，並且先用去離子水溶解後，再分別配製成 1 、 10 、 50 、 100 和 $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的標準濃度，以繪製標準檢量線(圖1)及層析光譜圖。

三、試驗統計分析

試驗樣本gastrodin成分含量數據係計算其算術平均值及標準差(standard deviation, SD)；其他試驗重覆三次所取得的植株數量性狀數據，先計算其算術平均值並以CoStat V. 6.311統計軟體(CoHort software, 2005, USA)進行變異數分析(ANOVA)後，再以最小顯著性差異法(least significant difference test, LSD test)檢定各處理間差異的顯著性($p < 0.05$)。

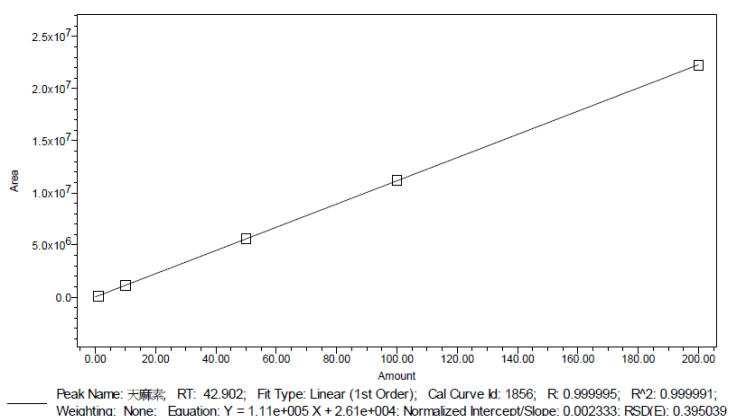


圖 1.天麻素之標準檢量線(標準溶液濃度： 1 、 10 、 50 、 100 和 $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

Fig. 1.The standard calibration curve of gastrodin (standard concentrations: 1 , 10 , 50 , 100 and $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

結 果

一、栽培方法對於台灣金線連植株生育及天麻素含量之影響

台灣金線連以不同栽培方法培育 60 天後，在自動化溫室栽培之成活率為 72.5 % (表 2)，其他各處理組之成活率皆為 100 %，且種苗與根系生育強健(圖 2)。以改良的 NMB 系統培育者，其平均株高可由剛開始栽培時之 4.9 cm 增加至 7.7 cm，此一數值與傳統玻璃蘭花瓶(7.9 cm)、PC 容器(7.8 cm)或在自動化溫室(6.5 cm)培育者比較，皆未有顯著差異。若在莖徑(3.7 mm)、平均葉數(3.7 片)、最大片葉之葉長(4.6 cm)、葉寬(3.0 cm)、根數(3.7 條)、根長(4.2 cm)、鮮重(2.6 g)和乾物重(254.2 mg)等植株性狀方面，也與其他各處理組未有顯著差異。

本試驗另分析以不同方法栽培台灣金線連所取得的 gastrodin 含量，經比對 HPLC 圖譜(圖 3)的結果顯示，各處理組樣本經 -20 °C 冷凍乾燥機乾燥後再萃取的 gastrodin 含量中，以氣霧式生物反應器培育的種苗平均含有 $626.1 \pm 113.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，其與培養於傳統蘭花瓶($663.3 \pm 169 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、聚碳酸酯容器($670 \pm 51.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)或自動化溫室栽培者($677.5 \pm 115.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)並無明顯差異(圖 4)。

表 2. 栽培方法對於台灣金線連栽培 60 天後植株生長之影響

Table 2. Effect of culture methods on the growth of *Anoectochilus formosanus* Hayata after 60 day-cultured.

培育方法 Culture methods	存活率 Survival rate (%)	株高 Plantlet height (cm)	莖徑 Stem diameter (mm)	葉數 Number of leaves	葉長 Leaf length (cm)	葉寬 Leaf width (cm)	根數 Number of roots	根長 Root length (cm)	單株鮮重 Fresh weight/ plantlet (g)	單株乾重 Dry weight/ plantlet (mg)
A ^z	100	7.9 ^{ay}	3.5 ^a	3.4 ^a	4.5 ^a	2.5 ^a	3.2 ^a	4.1 ^a	2.4 ^a	223.2 ^a
B	100	7.8 ^a	3.5 ^a	3.5 ^a	4.5 ^a	2.6 ^a	3.5 ^a	3.6 ^a	2.3 ^a	220.8 ^a
C	100	7.7 ^a	3.7 ^a	3.7 ^a	4.6 ^a	3.0 ^a	3.7 ^a	4.2 ^a	2.6 ^a	254.2 ^a
D (CK)	72.5	6.5 ^a	3.5 ^a	3.3 ^a	4.3 ^a	2.6 ^a	2.5 ^a	3.8 ^a	2.3 ^a	231.4 ^a

^z A. traditional flask cultured; B. polycarbonate vessel cultured; C. mist bioreactor cultured; D. soilless media cultured in greenhouse (control).

^y Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% level by Fisher's protected least significance difference (LSD) test.

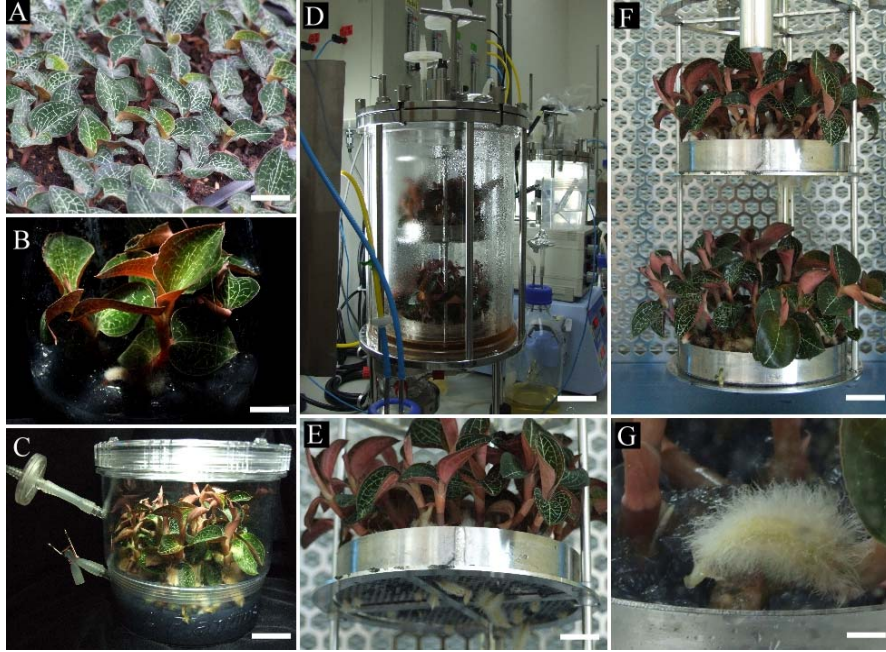


圖 2. 以不同栽培方法培育台灣金線連種苗 60 天後的情形。

(A)溫室無土栽培(比例尺=2.6 cm)；(B)傳統蘭花瓶培養(比例尺=1.7 cm)；(C)聚碳酸酯容器培養(比例尺=3.2 cm)；(D)氣霧式生物反應器培養(比例尺=7.6 cm)；(E-G)生物反應器栽培架上生育健壯的苗株及根系(比例尺依序為=2.0、2.7 cm 和 2.8 mm)。

Fig. 2. The plantlet growth situations of *Anoectochilus formosanus* Hayata cultured for 60 days with different methods.

(A) soilless media cultured in greenhouse (scale bar=2.6 cm); (B) traditional flask cultured (scale bar=1.7 cm); (C) polycarbonate vessel cultured (scale bar=3.2 cm); (D) mist bioreactor cultured (scale bar=7.6 cm); (E-G) the plantlets and roots grew healthy on cultural shelf (scale bar=2.0, 2.7 cm and 2.8 mm, respectively).

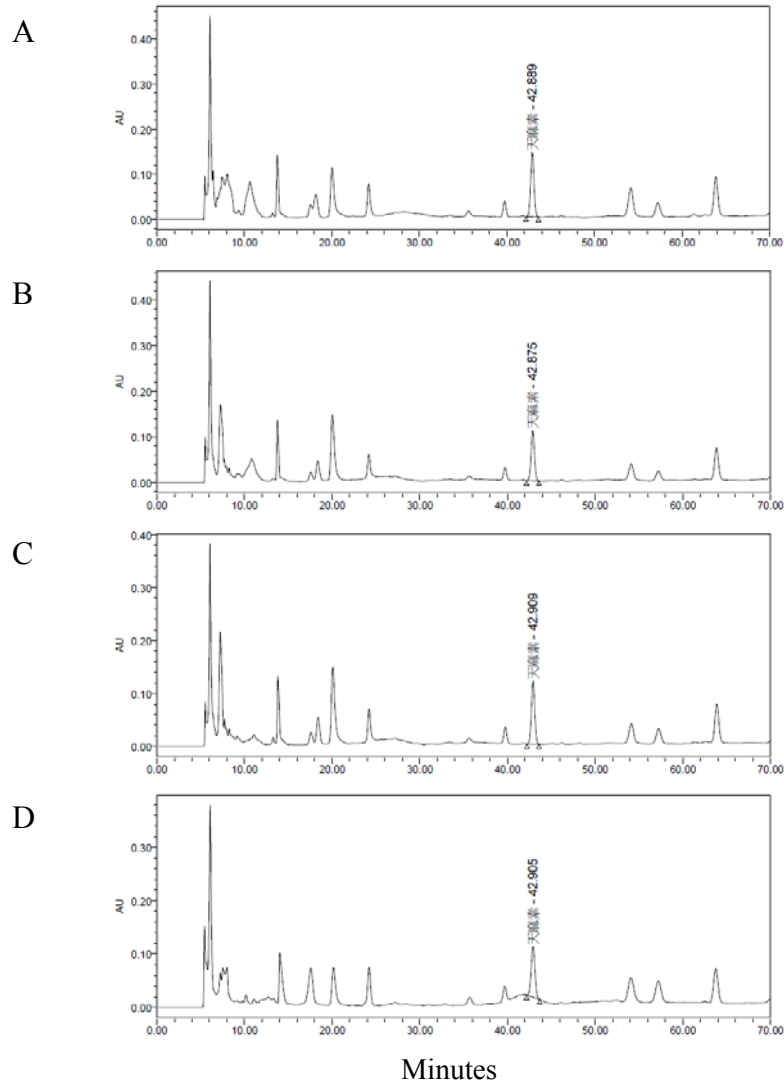


圖 3. 使用不同方法培養 60 天後之台灣金線連天麻素高效液相層析儀(HPLC)層析光譜圖。
(A)蘭花瓶培養；(B)聚碳酸酯容器培養；(C)氣霧式生物反應器培養；(D)溫室無土栽培(對照組)。

Fig. 3. The high performance liquid chromatography chromatograms of *Anoectochilus formosanus* Hayata gastrodin contents with different methods cultured for 60 days.
(A) flask cultured; (B) polycarbonate vessel cultured; (C) mist bioreactor cultured; (D) soilless media cultured in greenhouse (control).

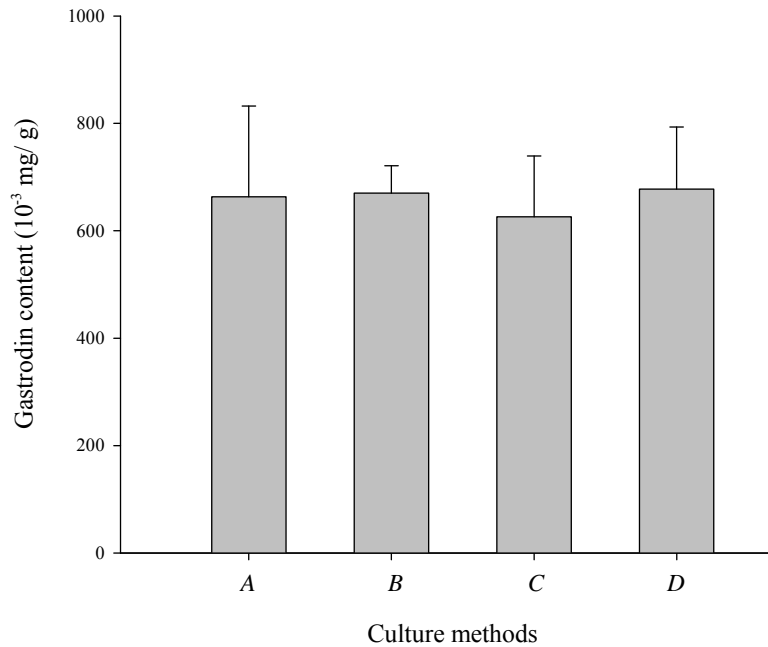


圖 4. 使用不同方法培育台灣金線連植株 60 天後之天麻素含量。

(A)傳統蘭花瓶培養；(B)聚碳酸酯容器培養；(C)氣霧式生物反應器培養；(D)溫室無土栽培(對照組)。試驗計算平均值和標準偏差。

Fig. 4. The gastrodin contents of *Anoectochilus formosanus* Hayata with different methods cultured for 60 days.

(A) tradition flask cultured; (B) polycarbonate vessel cultured; (C) mist bioreactor cultured; (D) soilless media cultured in greenhouse (control). Values represent the mean and vertical bars indicate standard deviation.

二、氣霧供應週期對於台灣金線連植株生育及天麻素含量之影響

比較不同氣霧供應週期對於台灣金線連植株生育及天麻素含量之影響結果顯示，營養液氣霧供給週期為每隔 180 min 霧化養液 80 sec，亦即每日供給培植體生長所需之營養液氣霧次數為 8 次者，其平均株高為 7.9 cm (表 3)。此一數值與營養液氣霧供給週期為每隔 90 min 霧化養液 80 sec，亦即每日供給培植體生長所需之營養液氣霧次數為 16 次者(7.7 cm)並無顯著差異(圖 5)。若再比較其他項植株生育性狀，不論是莖徑(3.6 和 3.7 mm)、葉數(3.4 和 3.7 片)、葉長(4.4 和 4.6 cm)、葉寬(2.7 和 3.0 cm)、根數(3.1 和 3.7)、根長(3.7 和 4.2 cm)、單株平均鮮重(2.4 和 2.6 g)或是單株平均乾重(249.6 和 254.2 mg)，亦未達顯著差異之水準。

表 3. 營養液氣霧供應週期對於台灣金線連培育 60 天後植株生長之影響

Table 3. The effect of nutrient mist supply cycles on *Anoectochilus formosanus* Hayata growth after 60 day-cultured.

每日氣霧供應次數 Mist supply times/day (times)	株高 Plantlet height (cm)	莖徑 Stem diameter (mm)	葉數 Number of leaves	葉長 Leaf length (cm)	葉寬 Leaf width (cm)	根數 Number of roots	根長 Root length (cm)	單株鮮重 Fresh weight/plantlet (g)	單株乾重 Dry weight/plantlet (mg)
8	7.9 ^{a,z}	3.6 ^a	3.4 ^a	4.4 ^a	2.7 ^a	3.1 ^a	3.7 ^a	2.4 ^a	249.6 ^a
16	7.7 ^a	3.7 ^a	3.7 ^a	4.6 ^a	3.0 ^a	3.7 ^a	4.2 ^a	2.6 ^a	254.2 ^a

^z Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% level by Fisher's protected least significance difference (LSD) test.



圖 5. 營養液氣霧供應週期在培育台灣金線連種苗 60 天後的情形。

(A)每日供應 16 次營養液氣霧； (B)每日供應 8 次營養液氣霧。(比例尺=1.0 cm)

Fig. 5. The plantlet growth situations of *Anoectochilus formosanus* Hayata cultured for 60 days with different nutrient mist supply cycles.

(A) nutrient mist supply 16 times per day; (B) nutrient mist supply 8 times per day. (scale bar = 1.0 cm)

討 論

台灣金線連以改良的 NMB 系統培育 60 天後，種苗與根系生長勢強健(圖 2)，且與在自動化溫室中栽培者比較，並無受到病蟲危害植株的困擾，故育成率達 100 % (表 2)。林和李(1988)曾報導指出，蝴蝶蘭實生苗在適宜的環境下進行培育，有助於葉面積增加、提高葉片長寬比值以及促進新葉的分化和成熟。李(1988)也認為適合蝴蝶蘭葉片營養生長的溫度是介於 25-30 °C 之間。Malda 等(1999)進一步指出，兼具 C₃-CAM 光合成生理轉變特性的 CAM 植物，極適合以容器內培養促進其營養生長。假若能在蝴蝶蘭幼苗階段提供良好的培育環境以維持較長期的 C₃ 型光合成生長型態，將有助於提高苗株的生長速度(陳和李，2002；蔡，2003)。學者也證實以套袋等密閉方式栽培之台灣金線連苗株，在高濕度及適宜的環境下，其 CO₂ 固定模式可由 CAM 型轉變為 C₃ 型，且植株生長速率更加快速(李，2000)。Yoon 等(2007)曾選取台灣金線連莖節作為供試材料，並進行氣球型氣泡生物反應器 (balloon-type bubble bioreactor, BTBB)、長期淹灌式生物反應器 (continuous immersion bioreactor, CIB)、浮動培養式生物反應器 (raft culturing bioreactor, RCB) 和間歇淹灌式生物反應器 (temporary immersion bioreactor, TIB) 對於種苗增殖效能之比較，結果 BTBB 和 CIB 兩種淹灌類型的生物反應器在 8 g·L⁻¹ 接種密度 (inoculum density) 和 50 μmol·m⁻²·s⁻¹ PPF 的條件下培育 2 個月，可獲得較高的生物量(鮮重和乾物重)；不過，若再計算苗株的乾重/鮮重比值僅有 0.079，顯示植株水分含量偏高或固形物質累積量較少。

本試驗以改良的 NMB 系統培育台灣金線連種苗 60 天，雖然調查各項生育性狀之平均數值有高於其他各處理組的趨勢(表 2)，但可能是栽培時間尚短，以致於與其他各處理組比較後皆未有顯著差異。不過，改良的 NMB 系統可以提供高濕度且適宜的培育環境，且輸送至培育容器中的空氣和營養氣霧，兼具供氧及葉面施肥的效果，因此，若能長期進行培育，應有助於提高台灣金線連種苗的生物量及單位面積產量。此外，檢測及分析以不同方法栽培台灣金線連所取得的天麻素 (gastrodin) 含量(圖 3、圖 4)，結果以改良的 NMB 系統培育的種苗平均含有 626.1 ± 113.2 μg·g⁻¹，此與其他栽培方法獲得的 663.3-677.5 μg·g⁻¹ 含量比較並無明顯差異，因此，以改良的 NMB 系統生產 gastrodin 成分具有應用潛力。

Correll 等(2001)曾報導指出，康乃馨 (*Dianthus caryophyllus* L.) 的芽體若採用較長時間的噴霧培育，植株出現玻璃質化 (hyperhydrate) 的比率會大幅提高；若是降低每日噴霧的次數和時間，雖具有抑制玻璃質化發生的效果，但會減少植株鮮重及乾物重。本試驗則在室溫 25 °C 且設定 3 L·min⁻¹ 氣體流量及 6 rpm 栽培架轉速的運作條件下，比較不同氣霧供應週期對於台灣金線連植株生育及天麻素含量之影響，結果顯示，每日供給培植體生長所需之營養液氣霧次數為 8 次者，調查其平均株高、莖徑、葉數、葉長、葉寬、根數、根長、單株鮮重或是乾重，均與每日供給培植體生長所需之營養液氣霧次數為 16 次者並無顯著差異(表 3、圖 5)，故適度減少每日氣霧的供給次數為每日 8 次，在生產上應可行。

本研究驗證應用改良的 NMB 系統培育台灣金線連種苗的效能，且在培育期間不受病蟲危害和天候的影響，故對於減少農藥用量、提升總體產量與品質將有正面的助益。

參 考 文 獻

- 甘偉松。1979。藥用植物學。p.646-647。國立中國醫藥研究所。台北市。
- 李晔。1988。蝴蝶蘭之生長與開花生理。蝴蝶蘭之生產改進研討會專集。p.13-27。台東區農業改良場編印。台東縣。
- 李國基。2000。台灣金線連及蘭菌之鑑定與生產技術改進。191pp. 博士論文。園藝學系研究所。台灣大學。台北市。
- 李煥燊、劉國柱、周正仁。1976。臺灣藥用植物之探討。p.279-280。國立中國醫藥研究所。台北市。
- 林菁敏、李晔。1988。蝴蝶蘭葉面積之估算與溫度對葉片生長之影響。中國園藝 34:73-80。
- 林哲民、林俊清、吳佩珊、邱慧芬、李興進。1991。臺灣產生藥金線蓮、靈芝、絞股藍之抗炎症及保肝作用研究。藥用及保健植物研討會專輯。p.89-98。台東區農業改良場編印。台東市。
- 邱年永、張光雄。1995。原色台灣藥用植物圖鑑(4)。p.282-283。南天書局。台北市。
- 昭人出版社。1979。中藥大辭典。p.2021-2022。台中市。
- 陳怡靜、李晔。2002。台灣蝴蝶蘭瓶苗內二氧化碳與乙烯濃度及有機酸含量之日韻律變化。中國園藝 48:157-166。
- 蔡媿婷。2003。通氣性對蝴蝶蘭瓶苗生長之影響。通氣性和液體培養基對蝴蝶蘭瓶苗生長之影響。p.22-65。博士論文。園藝學系研究所。中興大學。台中市。
- 蕭翌柱。2010。氣霧式生物反應器之改良及應用於台灣金線連與白芷之生產。146pp. 博士論文。園藝學系研究所。中興大學。台中市。
- Anon. 1999. *Anoectochilus formosanus* Hayata. p.672-673. In: "Chung-Hua-Ben-Tsao", Vol. 8. Shanghai Science Technology Press, Shanghai. China.
- Correll, M. J., Y. Wu, and P. J. Weathers. 2001. Controlling hyperhydration of carnations (*Dianthus caryophyllus* L.) grown in a mist reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 71:307-314.
- Du, X. M., T. Yoshizawa, and Y. Shoyama. 1998. Butanoic acid glucoside composition of whole body and *in vitro* plantlets of *Anoectochilus formosanus*. *Phytochemistry* 49:1925-1928.
- Huang, D. D., R. C. S. Law, and O. T. Mak. 1991. Effects of tissue-cultured *Anoectochilus formosanus* Hay. extracts on the arachidonate metabolism. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 32:113-119.
- Ito, A., R. Kasai, K. Yamasaki, and H. Sugimoto. 1993. Aliphatic and aromatic glucosides from *Anoectochilus koshunensis*. *Phytochemistry* 33:1133-1137.
- Levin, R. and Tanny, G. 2004. Bioreactors as a low cost option for tissue culture. p.47-54. In: Low cost options for tissue culture technology in developing countries. Vienna, International Atomic Energy Agency/FAO.
- Mak, O. T., D. D. Huang, and R. C. S. Law. 1990. *Anoectochilus formosanus* Hay. contains

- substances that affect arachidonic acid metabolism. *Phytotherapy Res.* 4:45-48.
- Malda, G., H. Suzan, and R. Backhaus. 1999. In vitro culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacene acid metabolism. *Scientia Hort.* 81:71-87.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Shiau, Y.-J. and C.-Y. Chu. 2010. Comparative effects of ultrasonic transducers on medium chemical content in a nutrient mist plant bioreactor. *Sci. Hortic.* 123:514-520.
- Yoon, Y.-J., H. N. Murthy, E. J. Hahn, and K. Y. Paek. 2007. Biomass Production of *Anoectochilus formosanus* Hayata in a Bioreactor System. *J. Plant Biology* 50:573-576.

The Production of *Anoectochilus formosanus* Hayata Using a Mist Bioreactor

Yih-Juh Shiau ¹⁾ Chien-Young Chu ²⁾

Key words: Nutrient mist bioreactor, *Anoectochilus formosanus* Hayata, Gastrodin,
Polycarbonate vessel

Summary

This study were to produce *Anoectochilus formosanus* Hayata and its secondary metabolite- gastrodin by a nutrient mist bioreactor (NMB). The gastrodin content ($626.1 \pm 113.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) of *A. formosanus* Hayata cultured in NMB for 60 days was not significantly different from those cultured in traditional flask ($663.3 \pm 169 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), polycarbonate vessel ($670 \pm 51.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) or greenhouse culture ($677.5 \pm 115.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). As well as the average stem diameter (3.7 mm) and fresh weight (2.6 g) per plantlet were also not significantly different. On the plantlet height (7.9 cm), stem diameter (3.6 mm), leaf length (4.4 cm), leaf width (2.7 cm), root length (3.7 cm), and fresh weight (2.4 g) per plantlet of *A. formosanus* Hayata cultured in NMB supplied 8 times mist per day were similar to those cultured in NMB supply of 16 times mist per day.

1) Assistant Researcher, Division of Biotechnology, Agricultural Research Institute, 189 Chung-Cheng Road, Wufeng, Taichung 413, Taiwan, ROC. Graduate student in Ph.D. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, 250 Kuo-Kuang Road, Taichung 402, Taiwan, ROC.

2) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, 250 Kuo-Kuang Road, Taichung 402, Taiwan, ROC. Corresponding author.

