

四季蘭專一性培養基營養元素組成份開發

許芸榕¹⁾ 張正²⁾

關鍵字：四季蘭、營養、培養基

摘要：使用玉花四季蘭(*Cymbidium ensifolium* 'Yuh Hwa')及觀音素心蘭(*Cymbidium ensifolium* 'Misericors')進行葉片分析，將分析所得之元素組成換算成培養基鹽類組成，與對應的國蘭根莖作增殖與抽芽試驗。不添加生長調節劑的調整後培養基培養玉花四季蘭與觀音素心蘭根莖 6 個月後，觀音素心蘭根莖直徑與鮮重顯著優於對照組，而添加 1 mg/L BA 及 0.1 mg/L NAA 之調整後培養基培養之玉花四季蘭的根莖，經過 7 個月後可分化出高 17.41-19.53 mm 的具展開葉之植株。觀音素心蘭之根莖抽芽培養基培養同樣時間只能長出未展開葉之短芽，但觀音素心蘭培養於根莖增殖培養基中經過 6 個月以上，可從根莖尖端分化出植株，經過 9 個月之植株高度約有 81.60 mm。

前 言

自 2011 年 1 月至 2012 年 2 月，國蘭共出口 553.6 公噸，產值為 1003.98 萬美元，其中以韓國為最主要外銷國家，占總產值的 99.6% 以上，另外馬來西亞、日本、中國大陸、越南等國家次之(整理自行政院農委會網站)。目前國蘭商業上的主要繁殖方法為分株法，分株以 2-3 個假球莖為單位，此種分株子代可在分株後第二年開花，效率、成本等都低於組織培養苗，但分株時造成的傷口容易感染病菌或病毒，此外多次分芽繁殖亦會造成植株老化(洪等，2010)。因此健康種苗的生產相當重要。

使用健康組培苗是解決分株產生之問題的方法，然而國蘭從微體繁殖初代至出瓶種植達到生殖成熟需 3 至 8 年的時間，依種類不同而有差異(Peak and Murthy, 2002)，所需時

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者

間太長。另國蘭常以根莖培養來獲得植株，但根莖分化出芽體時常有以下問題：初代培養(莖頂培養及播種)建立困難(Hasegawa and Goi, 1987; 洪等, 2010)、抽芽所需時間長(Shimasaki and Uemoto, 1991; Ogura-Tsujita *et al.*, 2007)、形成芽體比例低(Ogura-Tsujita *et al.*, 2007)、形成芽體大小不整齊(Chang and Chang, 2000)等。培養時間長則獲得具有商業價值之植株的時間成本高，形成芽體比例低則生產植株效率不佳，形成芽體大小不整齊在繼代和出瓶等過程因分化出的植株大小不均等，培養效果與植株品質也會變差。欲大量生產品質均一的國蘭植株，克服這四個主要問題是必要的。由於培養仍有許多問題，組織培養苗又為業界所需之商品，故必須在培養條件上作變化以尋求解決之道。

本研究採用國蘭中的四季蘭為材料，以玉花四季蘭(Yuh Hwa)及觀音素心蘭(Misericors)之葉片進行分析，將得到之元素組成換算為對應的鹽類，使用此培養基進行國蘭根莖的增殖與抽芽，期望縮短國蘭組織培養之時間，提高繁殖速率。

材料與方法

一、四季蘭營養分析與培養基開發

採取中興大學葡萄中心風扇水牆溫室中玉花四季蘭及觀音素心蘭之葉片進行植體分析，本試驗共分析 N、P、K、Ca、Mg、Fe、Mn、Zn、Cu 等 9 種元素。採用 AOAC(1980) 出版品中之方法(凱氏定氮法/micro-Kjeldahl method)分析 N；以鉬黃法(Horwitz, 1970)分析 P；參考 AOAC(1980) 出版之測定方法，以以原子吸收光譜儀(Atomic Absorption Spectrophotometer: Hitachi Model Z-2300)測定 Ca、Mg、Fe、Mn、Zn、Cu。

將以上分析所得元素比例與 MS 相對元素比例作比較，修改 Terrer and Tomás (2001) 所提出的報導之公式換算，得出新培養基之元素比例。本試驗以 MS 培養基鹽類組成為基準，利用公式調整出適合此兩種四季蘭的培養基。

$$\alpha_c = \frac{\sum \text{reference nutrients}}{\sum \text{leaf nutrients}} = \frac{\sum M_r}{\sum M_l}$$

(修自 Terrer and Tomás, 2001)

其中 $\sum \text{leaf nutrients}$ 代表測得之葉片乾重所含營養元素重量濃度的和， $\sum \text{referencenutrients}$ 代表已知培養基中相同元素之重量濃度的和，後者除以前者得到的值 α_c ，再將測得的個別元素之重量濃度與 α_c 相乘，得出新培養基所需的元素重量濃度。再將得出的元素重量濃度與該元素原子量相除，即可得到所需的元素莫耳濃度。

將分析所得元素莫耳濃度換算成 MS 培養基中對應鹽類重量濃度的順序如下。P：由

於 P 對應 MS 的鹽類為 KH_2PO_4 ，其中包含 K，而 K 又分散在 KNO_3 、 KH_2PO_4 ，KI 中，因此先固定可避免元素計算困難。K: 固定 P 的濃度後，算出 KH_2PO_4 所含的 K 之莫耳數，另外將 KI 的所含 K 之莫耳數算出後，以試驗求得之 K 的莫耳數減去以上 2 個數，得到 KNO_3 含的 K 之莫耳數。N: 只剩下 NH_4NO_3 ，將 KNO_3 所含之 N 的莫耳數算出，由於 NH_4NO_3 含 2 個 N，因此將算出之莫耳數除以 2 後再與 NH_4NO_3 之分子量相乘，即為 NH_4NO_3 之濃度。

二、四季蘭組織培養

培養基依照用途分為根莖增殖與根莖抽芽兩種培養基。以分析所得數據調整而成之培養基配方培養對應的植物材料，根莖增殖培養基中不添加生長調節劑，蔗糖添加 20 g/L，pH 定為 5.2；根莖抽芽培養基皆添加 BA 1 mg/L 及 NAA 0.1 mg/L，蔗糖添加 20 g/L，pH 定為 5.7。其他未分析之微量元素對應之鹽類 ($\text{B-H}_3\text{BO}_3$ 、 $\text{Co-CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、I-KI、 $\text{Mo-Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)，使用 MS 培養基之鹽類濃度。Myo-Inositol、Niacin、Pyridoxine·HCl、Thiamine·HCl、Glycine 等維生素則維持 MS 培養基中的濃度。蔗糖、生長調節劑、酸鹼度等數值則依照新培養基需要而修改。

根莖增殖培養基使用 0 培養基為對照組 (1/2 MS 鹽類，鐵-EDTA 與維生素全量，添加蔗糖 20 g/L，額外添加 NaH_2PO_4 170 mg/L，無生長調節劑，添加 agar 8 g/L，pH=5.2)，根莖抽芽培養基的對照組為 MSP 培養基 (全量 MS 鹽類與維生素，添加 BA 1 mg/L 與 NAA 0.1 mg/L，蔗糖 20 g/L、agar 8 g/L，pH=5.7)。以 20 mm × 150 mm 之 pyrex (no.9820) 試管為容器，每支試管放入 10 ml 培養基，高溫高壓滅菌後使用。每支試管培養一段根莖，根莖保留尖端，切成長約 1 cm 的片段，平放在培養基上。

結 果

一、玉花四季蘭與觀音素心蘭葉片分析與調整後培養基組成

分析玉花四季蘭與觀音素心蘭的葉片，兩者元素含量接近，以微量元素的濃度稍有差異 (表 1)。如觀音素心蘭葉片中所含 Cu 濃度為玉花四季蘭的 2.8 倍，而 Fe 濃度則是玉花四季蘭含量較高，為觀音素心蘭的 1.2 倍。

換算成培養基組成後，玉花四季蘭與觀音素心蘭的鹽類濃度差異稍大於元素濃度。將兩種調整後培養基與 MS 培養基的鹽類組成相比， $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 及 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的濃度高於 MS 培養基，約在 2.86-3.47 倍之間， $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 濃度則是調整後培養基遠高於 MS 培養基。 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 等鹽類則以 MS 濃度較高。調整後培養基中的 NH_4NO_3 為 MS 培養基中 NH_4NO_3 的 0.46-0.55 倍，略等於常用的 1/2 MS 濃度， KNO_3 則略等於或稍小於 MS 培養基鹽類濃度 (表 2)。

表 1. 玉花四季蘭與觀音素心蘭葉片分析元素濃度之比較。

Table 1. Comparison with element concentration of Yuh Hwa and Misericors by leaf analysis.

Material	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
	%					mg/kg			
Yuh Hwa	1.81	0.15	2.69	1.16	0.39	83.83	44.67	20.33	12.25
Misericors	1.70	0.18	2.23	1.11	0.39	67.63	40.13	30.50	33.88

表 2. 玉花四季蘭、觀音素心蘭調整後培養基與 MS 培養基鹽類濃度之比較。

Table 2. Comparison with salts concentration of modified media in Yuh Hwa, Misericors and MS medium.

Medium	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	KH ₂ PO ₄	CaCl ₂ ·2H ₂ O	MgSO ₄ ·7H ₂ O
	(mg/L)				
MS	1650.00	1900.00	170.00	440.00	370.00
Yuh Hwa ^y	770.76	1904.43	192.70	1258.72	1156.30
Misericors ^x	919.27	1679.76	260.48	1322.61	1286.99

Medium	FeSO ₄ ·7H ₂ O	MnSO ₄ ·H ₂ O	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	CuSO ₄ ·5H ₂ O
	(mg/L)			
MS	27.80	22.30	8.60	0.03
Yuh Hwa ^y	12.31	4.05	2.64	1.42
Misericors ^x	10.95	4.02	4.37	4.33

^y the medium modified by Yuh Hwa leaves analysis, $\alpha_c=0.03$

^x the medium modified by Misericors leaves analysis, $\alpha_c=0.03$.

二、玉花四季蘭與觀音素心蘭根莖培養於調整後培養基後的生長情形

以無生長調節劑的調整後培養基培養玉花四季蘭根莖 6 個月，可見處理組較對照組(0 培養基)的單位根莖分叉數多，平均每根莖培植體可增殖出 7 條根莖分叉，而根莖長度與直徑無顯著差異(表 3)。

玉花四季蘭根莖抽芽培養基與對照組培養基培養出之根莖皆有長度不均的情形，屬於較筆直，分叉數較少的根莖。根莖上皆有吸收毛，以玉花四季蘭根莖培養基培養出的根莖吸收毛較多，對照組較稀疏(圖 1)。

表 3. 不同培養基對玉花四季蘭根莖增殖的影響

Table 3. Effects of different media on rhizome initiation of Yuh Hwa after 6 months.

Medium	Branch/ Explant	Rhizome length (mm)	Rhizome diameter (mm)	Fresh weight (mg)	Dry weight/ Rhizome (%)
0 ^y	5.00±0.00b	12.59±0.88a	0.87±0.11a	11.59±0.69a	10.34±1.02a
Modified ^x	7.00±0.58a	12.37±1.35a	1.14±0.02a	25.3±5.29a	9.30±0.61a

* Data sharing the same letter were not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

^ythe control medium. ^x the medium of modified by leaf analysing of Yuh Hwa

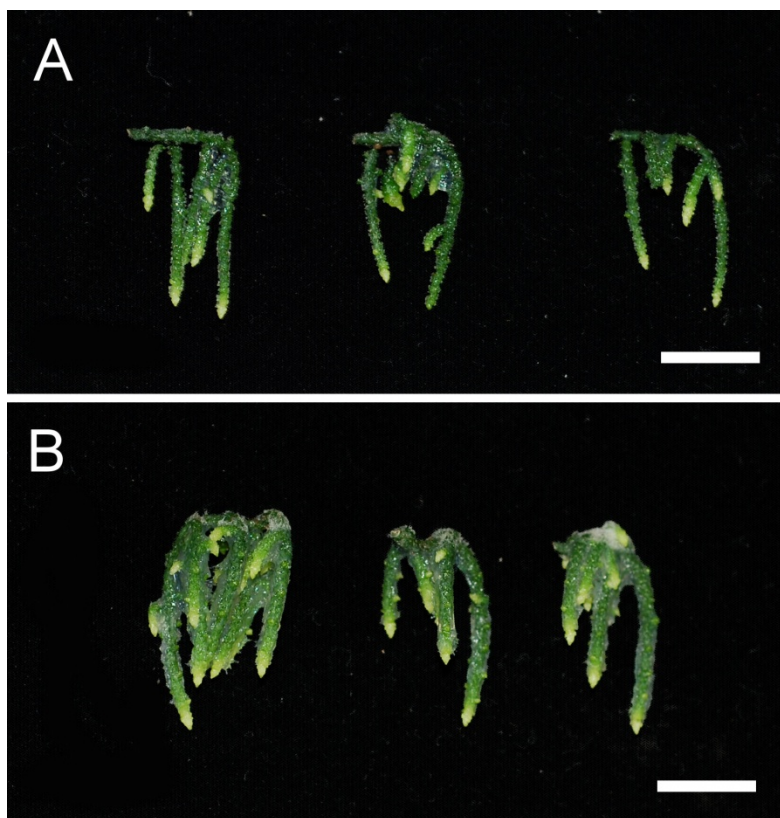


圖 1. 玉花四季蘭根莖培養於 0 培養基與調整後培養基後 6 個月的生長情形(Bar=1cm)。(A) 根莖培養於 0 培養基；(B)根莖培養於調整後培養基。

Fig. 1. Growth of rhizome of Yuh Hwa in 0 medium and modified medium after 6 months (Bar=1cm). (A) Rhizome in 0 medium, (B) Rhizome in modified medium.

以無生長調節劑的調整後培養基培養觀音素心蘭根莖 6 個月，可發現每單位根莖培植體可增殖 27.67 條根莖分叉，明顯小於對照組的 52 ± 2.09 條，但根莖直徑和鮮重等顯著優於對照組(表 4)。顯示以 0 培養基培養出的觀音素心蘭根莖直徑較小、重量也低於處理組。由表 4 和圖 2 都可看出培養於對照組中的觀音素心蘭根莖數量較多，但較細瘦，而在觀音素心蘭調整後培養基中，可分化出數量較少但較粗壯的根莖，而在圖 2 的(B)圖中可看到，培養於兩種培養基中的根莖上皆被有濃密的白色吸收毛。培養 6 個月後的根莖，可看到觀音素心蘭根莖增殖培養基部分根莖尖端已有小的芽體產生，如箭頭所示(圖 2)。

玉花四季蘭的根莖培養於根莖抽芽培養基中經過 7 個月，結果與對照組培養基相比無顯著差異。玉花四季蘭根莖抽芽培養基培養之根莖所分化出的平均芽數為 2.33 個，葉長為 2.33 mm。在培養經過約 3 個月即會分化出具有展開葉的短芽體(數據無顯示)。調整後培養基與對照組培養出的植株，通常每培植體只有一個較大的芽，且葉片會展開，其他則為葉片未展開的小芽，而培養時只有芽的分化，並無根莖的增殖現象，是從根莖上直接長出芽體。在 MSP 培養基培養的根莖，其分化出的芽沒有長根，而在調整後培養基培養出的芽有 0.50 條根(表 5)。

表 4. 不同培養基對觀音素心蘭根莖增殖的影響

Table 4. Effects of different media on rhizome initiation of Misericors after 6 months.

Medium	Branch/ Explant	Rhizome length (mm)	Rhizome diameter (mm)
0 ^y	$52.00 \pm 2.09a$	$9.13 \pm 0.42a$	$1.24 \pm 0.03b$
Modified ^x	$27.67 \pm 2.40b$	$10.15 \pm 0.36a$	$1.76 \pm 0.04a$
Medium	Fresh weight/ Rhizome (mg)	Dry weight/ Rhizome (%)	
0 ^y	$22.00 \pm 0.10b$	$9.06 \pm 0.23a$	
Modified ^x	$39.20 \pm 0.20a$	$9.72 \pm 0.17a$	

* Data sharing the same letter were not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

^y the control medium.

^x the medium of modified by leaf analysing of Misericors.

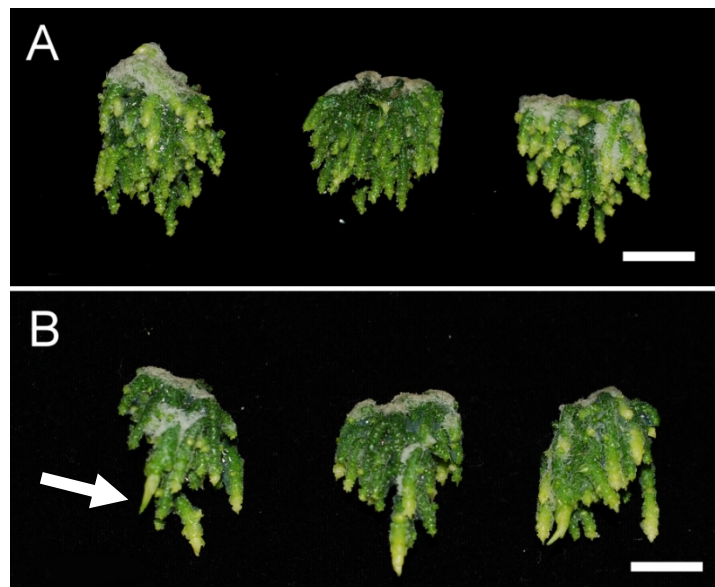


圖 2. 觀音素心蘭根莖培養於 0 培養基與調整後培養基後 6 個月的生長情形(Bar=1cm)。箭號所指為根莖尖端分化出的芽體。(A)根莖培養於 0 培養基；(B)根莖培養於調整後培養基。

Fig 2. Growth of rhizome of Misericors in 0 medium and modified medium after 6 months (Bar=1cm). Arrow points to the shoot differentiating from the rhizome tip. (A) Rhizome in 0 medium, (B)Rhizome in modified medium.

表 5. 不同培養基對玉花四季蘭根莖抽芽的影響

Table 5. Effects of different media on rhizome shooting of Yuh Hwa after 7 months.

Medium	Shoot number/ Explant	Shoot length (mm)	Leaf number/ Shoot
MSP	1.67±0.33 a	13.03±1.68 a	3.00±1.00 a
Modified ^x	2.33±0.33 a	17.41±4.33 a	2.33±0.33 a
Medium	Leaf length (mm)	Root number/ Shoot	Fresh weight/ Shoot (mg)
MSP	10.29±2.46 a	0.00±0.00 a	34.67±9.68 a
Modified ^x	17.28±2.07 a	0.50±0.50 a	34.06±9.78 a

* Data sharing the same letter were not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

^x the medium of modified by leaf analysing of Yuh Hwa.

以觀音素心蘭調整後培養基作根莖抽芽試驗經過 6 個月後，會發現經過長時間培養也無法產生較長的芽，大多為葉片未展開的小芽體。調整後培養基與對照組培養出的芽體數據並無顯著差異。由圖 3 可以看出，兩種培養基所分化出的芽體皆小於 1 cm 且生長密集，屬於無法再長長的叢生短芽體。以 MSP 培養基培養的芽體，部分是在培植體上長出根莖後，在根莖尖端分化出的芽，根莖上被有白色吸收毛；以調整後培養基培養出的芽則是從培植體上直接長出。

但觀音素心蘭根莖培養於不添加生長調節劑的根莖增殖培養基中，經過長時間會分化芽體，分化位置在根莖的尖端。培養 9 個月後，觀音素心蘭根莖增殖培養基或對照組 MS 培養基都可觀察到芽體的產生，每培植體可分化出 1-2.33 個芽，每個芽有 5-8 片葉，以對照組 MS 培養基中產生的芽較多，但觀音素心蘭根莖增殖培養基培養根莖多日後，所分化出的芽高度顯著大於對照組。觀音素心蘭根莖增殖培養基所培養出的植株，平均株高 81.6 mm，葉數 5.33 片，葉長 68 mm，每個芽平均有 6 條根(表 6)。

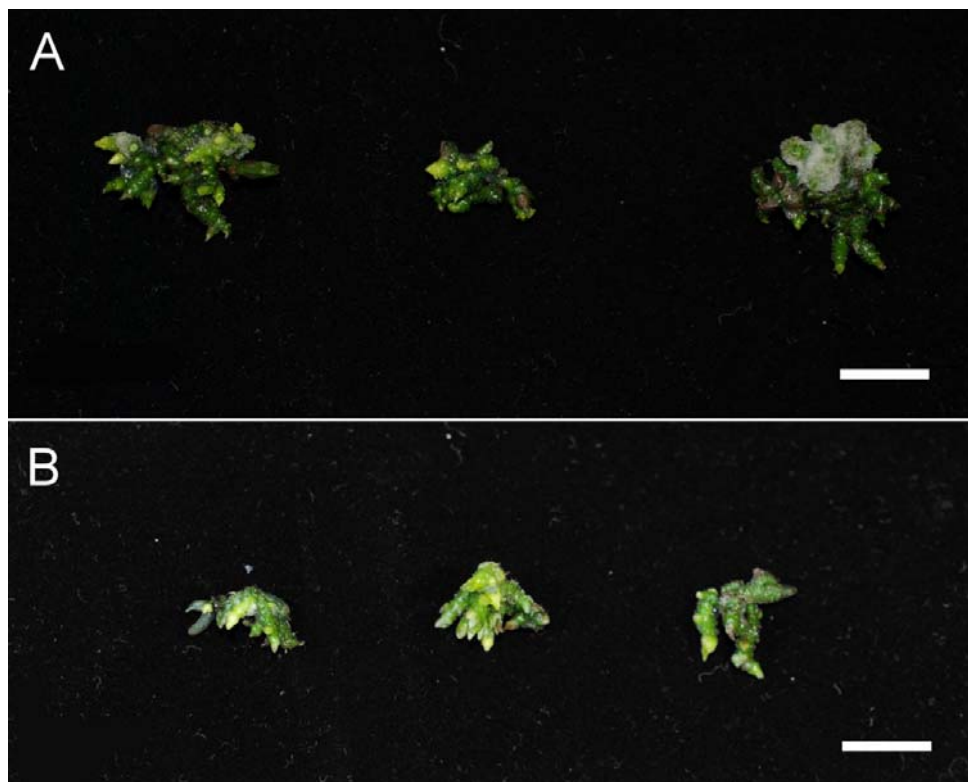


圖 3. 觀音素心蘭根莖培養於 MSP 培養基與調整後培養基後 6 個月的生長情形。(Bar=1cm)。
(A)根莖培養於 MSP 培養基；(B)根莖培養於調整後培養基。

Fig3. Growth of rhizome of Misericors in MSP medium and modified medium after 6 months (Bar=1cm). (A)Rhizome in MSP medium, (B)Rhizome in modified medium

表 6. 觀音素心蘭根莖在根莖增殖培養基中培養 9 個月後對抽芽的影響

Table 6. Effects of rhizome shooting in rhizome producing media of *Misericors* after 9 months.

Medium	Shoot number/ Explant	Shoot length (mm)	Leaf number	Leaf width (mm)
MS	2.33±0.88a	43.95±7.16b	6.08±0.98a	4.89±0.39a
Modified ^x	1.00±0.00a	81.6±11.49a	5.33±0.33a	5.81±0.41a
Medium	Root number	Root length (mm)	Fresh weight (g)	
MS	5.42±1.86a	10.33±1.13a	0.50±0.21a	
Modified ^x	6.00±0.58a	10.93±2.23a	0.71±0.12a	

* Data sharing the same letter were not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

^x the medium of modified by leaf analysing of *Misericors*.

討 論

蔡和黃(1996)分析報歲蘭營養生長時期氮、磷、鉀在葉片中的含量，得到氮：1.17±0.46 %、磷：0.12±0.02 %、鉀：2.69±1.21 %，與本篇試驗之四季蘭營養元素比例(表 1)相較之下，玉花四季蘭與觀音素心蘭的氮和鉀含量較高，磷含量則相似。而林和蔡(1995)提出的報導是以不同的肥培處理報歲蘭，再以植體分析元素含量。與本篇試驗相比，玉花四季蘭與觀音素心蘭在 N、P、K、Ca、Mg 的含量略高。微量元素方面，玉花四季蘭與觀音素心蘭在鐵、錳、鋅、銅含量都遠低於報歲蘭，推測是種類之間的差異。

以玉花四季蘭與觀音素心蘭為對象調整出的根莖增殖培養基，與對照組相比，NH₄NO₃ 在此培養基中濃度與對照組培養基濃度相近，KNO₃ 為對照組濃度的 1.77-2.00 倍；而雖然對照組中 KH₂PO₄ 含量較少，但由於添加了 170 mg/L NaH₂PO₄，因此與試驗組之總磷濃度相近。其他鹽類如 MgSO₄·7H₂O，濃度在對照組的 6.25-7.00 倍之間，CaCl₂·2H₂O 也有高於對照組約 6 倍的濃度。CuSO₄·5H₂O 的濃度則遠高於對照組，為 56.8-173.2 倍，鐵的濃度則比對照組低，約為對照組的 0.31-0.44 倍。以此培養基培養出的根莖，玉花四季蘭根莖在單位培植體增殖出的根莖分叉數優於對照組，觀音素心蘭根莖直徑與單位根莖鮮重都大於對照組。氮為構成植物蛋白質、核酸、ATP 與荷爾蒙的重要元素(Arditti, 1992; Hopkins and Hüner, 2004)，而鉀可提高蕙蘭植物體中催化 ATP 形成的丙酮酸激酶(潘等, 1994)，故推測培養基中 KNO₃ 的增加，可能為提高素心蘭根莖生長的重要鹽類之一。

Paek and Yeung (1991)提出以添加 2 mg/L NAA 的全量 MS 培養基作春蘭(*Cym. forrestii*) 的根莖增殖有最佳效果。Shimasaki and Uemoto (1990)以 MS 為基礎培養基，氮源改為 NH₄NO₃ 412.5 mg/L 和 KNO₃ 950 mg/L，添加高比例的 NAA: BAP 來培養寒蘭(*Cym. kanran*)

根莖。以上報導皆使用 NAA 促進國蘭的根莖生長，Shimasaki and Uemoto (1990)指出，高於 0.1 mg/L 的 BAP 會抑制寒蘭根莖增殖，以高於 1 mg/L 的 NAA 培養為效果較好的處理。

本試驗在根莖增殖的處理上，培養基皆不添加生長調節劑，培養結果顯著優於對照組。顯示不使用 auxin 培養國蘭根莖，而是調整植物材料所需的營養元素，是可以增加培養效果的。

根莖抽芽方面，以添加 BA 1 mg/L 與 NAA 0.1 mg/L 的調整後培養基培養國蘭根莖，在觀音素心蘭部分，試驗組與對照組皆僅長出未展開葉的密生短芽體，但以根莖增殖培養基培養觀音素心蘭 6 個月以上，會從增殖出的根莖尖端開始分化植株。可能的原因為植物材料(觀音素心蘭根莖)已在無生長調節劑的繼代培養基中培養多代，使用生長調節劑反而對抽芽產生抑制，使用無生長調節劑的調整後培養基即可讓觀音素心蘭根莖增殖及產生芽體。但在玉花四季蘭方面卻有不同的結果。以相同濃度的生長調節劑配合調整後培養基，長出的芽可順利生長並展開葉，雖然有生長不均的情形，但可以得到植株。而在玉花四季蘭根莖增殖培養基中培養的根莖並不會分化芽體，培養長時間依然維持根莖的狀態。

本試驗之植物材料為國蘭之器內根莖，且已在器內以 1/2 MS 系列的基礎培養基培養多代，若嘗試在初代培養時使用調整後之培養基，可能有機會將初代至出瓶時間縮短。

參 考 文 獻

- 林天枝、蔡宜峰。1995。利用土耕法栽培報歲蘭之肥培技術研究。臺中區農業改良場研究彙報 46: 19-25。
- 洪惠娟、魏芳明、張致盛。2010。國蘭生產作業手冊。行政院農業委員會臺中區農業改良場。
- 莊作權、譚鎮中。1989。植物營養學。國立編譯館。台北。
- 蔡宜峰、黃祥慶。1996。利用報歲蘭養分吸收效率改進肥培技術之研究。臺中區農業改良場研究彙報。53: 13-24。
- 潘瑞熾、陳俊賢。1994。硝態氮和銨態氮對墨蘭生長發育的影響。雲南植物研究。16(3): 285-290。
- AOAC, 1980. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Washington DC, USA.
- Arditti, J. 1992. Fundamentals of Orchid Biology. John Wiley & Sons, New York. p. 196-200.
- Chang, C. and W. C. Chang. 2000. Micropropagation of *Cymbidium ensifolium* var. *misericors* through callus-derived rhizomes. In Vitro Cell Dev. Biol. 36: 517-520.
- Hasegawa, A. and M. Goi. 1987. A. Rhizome formation in *Cymbidium goeringii* Reichenbach fil. and *Cymbidium kanran* Makino in Shoot-Tip Culture. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 56(1):

70-78.

- Hopkins, W. G. and N. P. A. Hüner. 2004. Introduction to Plant Physiology. United States of America.
- Horwitz, W. 1970. Association of official analytical chemist. Official methods of analysis, 12th Ed., Sec. 2. p. 204.
- Ogura-Tsujita, Y., A. Tatsumi, S. Hayashida, and H. Okubo. 2007. Interconversion between Protocorm-like-bodies (PLBs) and Rhizomes in *Cymbidium*. J. Fac. Agr., Kyushu Univ. 52(2): 325–330.
- Paek, K. Y. and E. C. Yeung. 1991. The effects of 1-naphthaleneacetic acid and N⁶-benzyladenine on the growth of *Cymbidium forrestii* rhizomes *in vitro*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 24: 65-71.
- Paek, K. Y. and H. N. Murthy. 2002. Temperate oriental *Cymbidium* species. Orchid Biology: Reviews and Perspectives, 9: 235-286.
- Shimasaki, K. and S. Uemoto. 1990. Micropropagation of a terrestrial *Cymbidium* species using rhizomes developed from seeds and pseudobulbs. Plant Cell Tissue Organ Cult. 22: 237-244.
- Shimasaki, K. and S. Uemoto. 1991. Rhizome induction and plantlet regeneration of *Cymbidium goeringii* from flower bud cultures *in vitro*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 25: 49-52.
- Terrer, J. C. and D. F. Tomás, 2001. Determination of macronutrients to be included in *in vitro* culture media according to leaf concentrations. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 76: 484-488.

Development of Nutrient Elements Composing in Specific Medium of *Cymbidium ensifolium*.

Yun-Jung Hsu¹⁾ Chen Chang²⁾

Key Words: *Cymbidium ensifolium*, Nutrient, medium.

Summary

Analysis the elements in leaves of *Cymbidium ensifolium* 'Yuh Hwa' and *Cymbidium ensifolium* 'Misericors', and converse the elementary components to the salt components of medium, to initiate rhizomes and sprout shoots the corresponding rhizomes. The modified media without plant growth regulators culture the rhizomes of Yuh Hwa and Misericors, the diameter and fresh weight of rhizomes are more than the control group. The modified media containing 1 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA can sprout 17.41-19.53 mm-long shoot with spreading leaves after 7 months. But the rhizome of Misericors in the shooting medium have only short buds after 7 months. But the rhizome of Misericors in the PRG-free modified media can sprout 81.6 mm-long shoots at the rhizome tips after 9 months.

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
Corresponding author.