

## 乳羅黛粉葉誘變種之微體繁殖

蕭伊芸<sup>1)</sup> 朱建鏞<sup>2)</sup>

關鍵字：癒傷組織、組織培養、再分化、瓶外發根

**摘要：**乳羅黛粉葉誘變種'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'以幼嫩完全展開葉切成1×1cm方塊為培植體，培養於含1/2 MS、蔗糖20g/l、洋菜6g/l、BA 5 mg/l及NAA 0.5 mg/l之培養基，可由葉片誘導較多的癒傷組織。將長寬5×5mm之癒傷組織塊培養於1/2 MS、蔗糖20g/l、洋菜6g/l、BA 5 mg/l以及NAA 0.125 mg/l之培養基經5-6週，可再分化植株。微體插穗長度在2.5公分以上者，於基部以NAA 0.1%粉劑處理後，瓶外發根率最佳。

### 前 言

黛粉葉(*Dieffenbachia* spp.)是原產於熱帶中南美洲巴拿馬、哥倫比亞、秘魯一帶之天南星科植物。其葉形多變化、葉色翠綠清新，斑點、斑紋極具觀賞價值，且對室內環境的適應性佳，如耐陰性等，已成為世界上極為重要之室內觀賞植物(沈等, 1994; Henny, 1995)。台灣在種苗商不斷引進新品種的刺激下，黛粉葉在市場上仍是觀葉植物的主流產品。主要產區在高雄、屏東地區；彰化、桃園一帶則主要生產較喜涼溫的品種(周, 1994)。

植物組織培養具有節省大量時間和空間的優點，培養過程不受外在環境因子的影響，終年均可進行培養。黛粉葉雖扦插繁殖容易，但扦插繁殖速率低。本研究之目的為探討黛粉葉誘變種之再生方法，作為進行第二次誘變育種(M2)，以及建立微體繁殖營養系之參考。

- 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教授，通訊作者。

## 材料及方法

### 一、植物材料

乳羅黛粉葉 (*Dieffenbachia maculata* Schott (Lodd.) G. Don. 'Rudolph Roehrs') 之誘變種 '86M<sub>1</sub>'，為中興大學園藝系黃敏展教授利用  $\gamma$  射線誘變所選拔出之誘變株，栽培於中興大學園藝系網室中。取前述植株之幼嫩完全展開葉片為培養材料。將葉片擦拭乾淨後，先去除葉脈並切為數段。以 Clorox®，(NaOCl 5.25%，Oakland, CA., U. S. A.) 之五倍液消毒 10 分鐘，再以無菌水沖洗 3 次。消毒後之葉片切割成為 1cm × 1cm 之正方塊。

### 二、培養基及培養條件

本試驗之基本培養基為 1/2 濃度之 MS 配方，即每公升培養基取 2.2 公克的商業配方 (Murashige and Skoog Basal Medium, Sigma chemical, Mo., U. S. A)，另再添加蔗糖(台糖細粒特砂)20g/l、洋菜(Difco Bacto-agar)6g/l、 $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) 0.5 mg/l 及 6-benzylamino purine (BA) 5 mg/l。試驗中所添加之植物生長調節劑 indole -3-butyric acid (IBA)、 $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA)、6-benzylamino purine (BA) 皆為 Sigma 公司之產品。初代培養容器為 15cm × 2.5cm(H × D) 之試管，試管蓋為塑膠製(Magenta Corporation, Chicago, IL.)，每瓶裝 15ml 之培養基。瓶苗增殖繼代所使用的容器為塑膠方形容器 GA-7 (Magenta Corporation, Chicago, IL 3" × 3" × 4" / L × W × H)，每瓶裝 30ml 之培養基。所有培養基於滅菌前將 pH 值調整至 5.7 ± 0.1。再置於殺菌釜中以 121°C 高壓蒸汽滅菌 15 分鐘。

培養室溫度為 25 ± 2°C，並以冷白螢光燈(旭光 FL40D/38)提供光合作用光子流密度 (Photosynthetic Photon Flux Density, PPFD) 5 ± 2  $\mu$  mol/s·m<sup>2</sup> 之低光照或 35 ± 5  $\mu$  mol/s·m<sup>2</sup> 之高光照；前者用於癒傷組織之誘導，後者用於芽體再生及增殖。培養之光週期明期為 16 小時，暗期為 8 小時。

### 三、試驗方法

#### (一) 葉片癒傷組織之誘導

癒傷組織之誘導試驗中，比較基本培養基之 MS 配方濃度(MS、1/2MS 或 1/4MS)，蔗糖濃度(0、10、20 或 30g/l)，洋菜濃度(3、6 或 9g/l)，以及生長調節劑 BA(0、3、5 或 7 mg/l)和 NAA(0、0.5、1 或 1.5 mg/l)等成分對葉片癒傷組織生長之影響。

所有試驗皆於培養七週後調查其褐化率及癒傷組織生長量(生長達生長指數之培植體百分率)。癒傷組織之生長指數分為四級；第一級(-)為培植體並未有任何癒傷組織產生，第二級(+)培植體切口變厚，有少許癒傷組織產生，第三級(++)為癒傷組織生成量較第二級多，癒傷組織厚約 1.5 mm，第四級(+++)癒傷組織厚 3 mm 以上(圖 1)。

#### (二) 癒傷組織再生植株

從繼代培養之癒傷組織切取長、寬為 5mm × 5mm 之組織塊，分別培養於含 1/2 MS

和 BA 5 mg/l, NAA 0.125 mg/l 以及每公升再添加 0、10、20 或 30 g 蔗糖之培養基, 繼代週期為三週, 繼代兩次後, 調查培植體芽體生長及發根情形。

另外於含蔗糖 20g/l 之 1/2MS 培養基中分別添加 BA0、3、5 或 7 mg/l, 以及 NAA 0、0.125、0.25 或 0.5 mg/l。經二次繼代, 每次三週後調查培植體芽體再生及發根情形。

(三)瓶外發根誘導

取繼代培養增殖之插穗, 其長度分別為 1.5~2 cm、2.1~2.5 cm、2.6~3 cm 及 3 cm 以上, 以含 IBA 或 NAA 0、0.1%、0.2%之發根粉沾於基部, 並扦插於由等體積之珍珠石與泥炭苔混合成之介質中。於扦插六週後, 調查其發根率、根數、根長等項目。

				
生長指數 (Growth Index)	-	+	++	+++

圖 1. 組織生長量以指數高低表示, 分為四級:

第一級(-): 培植體並未有任何癒傷組織產生。

第二級(+): 培植體切口變厚, 有少許癒傷組織產生。

第三級(++): 癒傷組織生成量較指數 + 多, 葉片切口略成波浪狀, 癒傷組織厚約 1.5mm。

第四級(+++): 癒傷組織厚 3mm 以上。

Fig 1. '-': no callus on explant, '+': few callus on edge of explant, '++': callus about 1.5mm in thickness, '+++': callus over 3mm in thickness.

結 果

一、葉片癒傷組織之誘導

黛粉葉乳羅誘變種 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'葉片以 1/4、1/2 及全量等三種 MS 鹽類濃度之培養基, 培養七週後, 全量 MS 之培養基導致培植體 50.1%之褐化率為最高, 其次為 1/4 MS 之培養基, 而以 1/2 MS 之培養基褐化率為最低, 佔 18.8%。在癒傷組織的產生量, 以 1/2 MS 之培養基培養, 於葉片切口可產生較大量之癒傷組織, 第三級(++)及第四級(+++)之癒傷組織佔 50%以上, 其癒傷組織呈現褐黃色, 質地結實, 呈不易鬆散之形態。其次

為全量之 MS 培養基，第三級及第四級之癒傷組織佔 14.7%；1/4 MS 之培養基並無第四級癒傷組織的產生，第三級之癒傷組織約有 9.7% (表 1)。

表 1. MS 鹽類濃度對乳羅黛粉葉'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'葉片癒傷組織生長之影響

Table 1. Effects of MS medium strength on the callus growth of leaf explant of *D. maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'.

MS 濃度 <sup>z</sup>	褐化率(%)	培植體形成癒傷組織之比率(%)			
		Rate of forming callus(%)			
MS strength <sup>z</sup>	Browning(%)	— <sup>y</sup>	+	++	+++
1/4	35.5b <sup>x</sup>	29.1b	25.8a	9.7b	0bc
1/2	18.8c	12.5c	15.5b	25.0a	28.2a
1	50.1a	11.8c	23.5a	11.8b	2.9b

<sup>z</sup> Medium contain sugar 20g/l, BA 5 mg/l, NAA 0.5 mg/l and agar 6g/l

<sup>y</sup> '—': no callus on explant, '+': few callus on edge of explant, '++': callus about 1.5mm in thickness, '+++': callus over 3mm in thickness

<sup>x</sup> Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level

表 2. 蔗糖濃度對乳羅黛粉葉'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'葉片癒傷組織生長之影響

Table 2. Effect of sugar on the callus growth of leaf explant of *D. maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'.

蔗糖濃度(g/l) <sup>z</sup>	褐化率(%)	培植體形成癒傷組織之比率(%)			
		Rate of forming callus(%)			
Sugar conc <sup>z</sup>	Browning(%)	— <sup>y</sup>	+	++	+++
0	23.5a <sup>x</sup>	55.9a	17.7b	2.9b	0b
10	15.6b	28.2b	37.5a	9.4b	8.3ab
20	12.5b	21.8b	25.0b	25.0a	13.9a
30	11.1b	25.9b	40.9a	18.6a	2.7b

<sup>z</sup> Medium contains sugar 1/2 MS, BA 5 mg/l, NAA 0.5 mg/l and agar 6g/l

<sup>y</sup> '—': no callus on explant, '+': few callus on edge of explant, '++': callus about 1.5mm in thickness, '+++': callus over 3mm in thickness

<sup>x</sup> Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

將基本培養基中分別添加每升 0、10、20 或 30 公克濃度之蔗糖，經七週後以不添加蔗糖者褐化率最高，達 23.5%，添加每升 30 公克蔗糖者為最低，為 11.1%，然而在添加 10、20 或 30 公克蔗糖時之褐化率並沒有顯著之差異。而在癒傷組織的產生量，每公升添加 20 公克蔗糖之培養基，其癒傷組織生長在第三級及第四級之培植體佔 40% 以上，第四級之癒傷組織明顯較其它處理為高。提高蔗糖含量至 30 g/l 對癒傷組織的生長並沒有明顯的提升，其癒傷組織的生長指數集中在第二級(+)(表 2)。

培植體培養在以每升 3 公克洋菜固化培養基之褐化率為最高，有 46.8%；每升以 6 公克洋菜固化之培養基，其褐化率最少，為 23.3%。在癒傷組織的產生量上，每升以 3 公克洋菜固化之培養基有 50% 的癒傷組織之生長指數是第一級(-)及第二級(+)。每升以 6 公克洋菜固化之培養基所產生的癒傷組織量明顯較其它處理組高，達到第四級(+++)之癒傷組織有 33.4% (表 3)。

表 3. 洋菜濃度對乳羅黛粉葉'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'葉片癒傷組織生長之影響

Table 3. Effect of agar concentration on the callus growth of leaf explant of *D. maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'.

洋菜濃度(g/l) <sup>z</sup> Agar conc <sup>z</sup>	褐化率(%) Browning(%)	培植體形成癒傷組織之比率(%) Rate of forming callus(%)			
		-y	+	++	+++
3	46.8a <sup>x</sup>	23.3b	26.7a	3.2b	0b
6	23.3c	16.7b	10.0b	16.7a	33.4a
9	36.4b	39.4a	6.1b	15.1a	3.0b

<sup>z</sup>Medium contains 1/2MS, sugar 20g/l, BA 5 mg/l and NAA 0.5 mg/l

<sup>y</sup>'-': no callus on explant, '+': few callus on edge of explant, '++': callus about 1.5mm in thickness, '+++': callus over 3mm in thickness

<sup>x</sup>Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

在添加 BA 0、3、5 或 7 mg/l 與 NAA 0、0.5、1 或 1.5 mg/l 之十六種生長調節劑濃度組合中，培植體之褐化率以含 BA 0 mg/l 與 NAA 0.5 或 1 mg/l 之組合為最高，為 35.7% 或 36.6%；最低之褐化率為含 BA 5 mg/l 與 NAA 0.5 mg/l 之處理組，褐化率只有 3.3%。癒傷組織生長指數則以培養於含 BA 5 mg/l 與 NAA 0.5 mg/l 之培養基者，可得到較多第四級之癒傷組織，第三及第四級之癒傷組織更有 50% 以上；培養於含 BA 3 mg/l 與 NAA 0.5 mg/l、

含 BA 5 mg/l 與 NAA 1.0 mg/l 或含 BA 7 mg/l 與 NAA 0.5 mg/l 之培養基，其第三級及第四級之癒傷組織則有 26 % 左右；其它處理之癒傷組織生長指數多在第一級與第二級(表 4)。

表 4. BA 與 NAA 對乳羅黛粉葉'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'葉片癒傷組織生長之影響

Table 4. Effects of BA and NAA on the callus growth of leaf explant of *D. maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'.

BA(mg/l) <sup>z</sup>	NAA(mg/l)	褐化率(%)	培植體形成癒傷組織之比率(%)			
		Browning(%)	Rate of forming callus(%)			
			—	+	++	+++
0	0	25.0abc <sup>x</sup>	75.0a	0c	0c	0c
	0.5	35.7a	54.8b	9.5bc	0c	0c
	1.0	36.6a	58.5b	4.9c	0c	0c
	1.5	30.8ab	59.0b	10.2bc	0c	0c
3	0	22.3abc	36.1c	41.6a	0c	0c
	0.5	10.0bc	33.3cd	30.0ab	23.3ab	3.3bc
	1.0	26.7abc	36.7c	23.3abc	10.0abc	3.3bc
	1.5	25.0abc	40.6bc	21.9abc	9.4abc	3.1bc
5	0	7.4c	48.1b	37.0ab	7.4bc	0c
	0.5	3.3c	10.0d	33.3ab	26.7a	26.7a
	1.0	12.9bc	29.0cd	32.2ab	16.2abc	9.7b
	1.5	15.4bc	38.5c	23.1bc	19.3abc	3.8bc
7	0	29.7abc	29.7cd	37.0ab	3.7c	0c
	0.5	13.3bc	26.7cd	33.3ab	23.3ab	3.3bc
	1.0	25.0abc	25.0cd	32.2ab	18.8abc	0c
	1.5	14.3bc	39.3bc	32.1ab	14.3abc	0c

<sup>z</sup> Medium contains 1/2MS, 20g/l sugar and 6g/l agar.

<sup>y</sup> ‘—’: no callus on explant, ‘+’: few callus on edge of explant, ‘++’: callus about 1.5mm in thickness, ‘+++’: callus over 3mm in thickness

<sup>x</sup> Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

## 二、癒傷組織之再分化

癒傷組織培養於未添加蔗糖之基本培養基，褐化率高達 100%，且未見有芽體及根之形成。培養於含蔗糖 10 g/l 之基本培養基，其褐化率為 44.4%，芽體形成率為 55.6%，芽體數及平均根數分別為 2.3 及 0.3 個。培養於含蔗糖 20 g/l 者則褐化率最低，僅佔 11.1%，芽體形成率為 77.8%，其再生之芽體數最多，每培植體有 3.0 個。在根生長則與添加 30 g/l 蔗糖之培養基相同，有 1.0 條。培養於含蔗糖 30 g/l 之培養基有 33.3% 之褐化率，芽體形成率有 66.7%，而其平均芽體數為 1.7 個(表 5)。

表 5. 蔗糖濃度對乳羅黛粉葉 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>' 癒傷組織再生植株之影響

Table 5. Effects of sugar concentration on shoot proliferation of *D. maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>' callus.

蔗糖濃度(g/l) <sup>z</sup>	褐化率(%)	芽體形成率(%)	芽體數/培植體	根形成率(%)	根數/培植體
Sugar conc <sup>z</sup>	Browning (%)	Rate of forming Shoot(%)	No. of shoots /explant	Rate of forming root(%)	No. of roots /explant
0	100a <sup>y</sup>	0b	—	0c	—
10	44.4b	55.6a	2.3ab	11.1bc	0.3b
20	11.1c	77.8a	3.0a	55.6ab	1.0a
30	33.3b	66.7a	1.7b	66.7a	1.0a

<sup>z</sup> Medium contains 1/2MS, BA 5 mg/l, NAA 0.125 mg/l and agar 6g/l

<sup>y</sup> Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

生長調節劑對癒傷組織再生植株的影響上，於培養基中添加 NAA 0~0.5 mg/l 時，以結合 BA 5 或 7 mg/l 之培養基，其癒傷組織褐化率最低，在芽體形成率方面除了含 BA 7 mg/l 與 NAA 0.5 mg/l 的培養基外，添加 BA 5 mg/l 與 BA 7 mg/l 之培養基之芽體形成率亦較高。由癒傷組織所產生的芽體數以 BA 5 mg/l 及 NAA 0.125 mg/l 組合之 2.2 個為最高。根形成率方面，含 BA 3 mg/l 與 NAA 0.5 mg/l、含 BA 5 mg/l 與 NAA 0.125~0.5mg/l 及 BA 7 mg/l 與 NAA 0 和 0.125 mg/l 之培養基，其根形成率最高，有 66.7~88.9%。平均根數以 BA 5 mg/l 與 NAA 0.125 或 0.5 mg/l 較高，分別為 1.1 及 1.2 條。而添加 BA 3 mg/l 與 NAA 0.125~0.5mg/l 之培養基，其平均根數亦有 0.8~1.1 條；但是其癒傷組織的褐化率偏高。癒傷組織的褐化情形為由癒傷組織之外部漸漸向內褐化，癒傷組織內部之綠色堅實之組織會漸漸轉為褐色鬆軟之水浸狀(表 6)。

表 6. BA 與 NAA 對乳羅黛粉葉 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>' 癒傷組織再生植株之影響Table 6. Effects of BA and NAA on shoot proliferation of *D. maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>' callus.

BA(mg/l) <sup>z</sup>	NAA(mg/l)	褐化率(%) Browning(%)	芽體形成率(%) Rate of forming shoot (%)	平均芽體數 No. of shoots	根形成率(%) Rate of forming root(%)	平均根數 No. of roots
0	0	100a	0e	—	0c	—
	0.125	55.6bc	22.2cde	0.3c	0c	—
	0.25	33.3bc	44.5bcde	0.3c	0c	—
	0.5	66.7ab	33.3bcde	0.2c	0c	—
3	0	100a	0e	—	0c	—
	0.125	66.7ab	22.2cde	0.7bc	22.2c	1.0a
	0.25	44.4bcd	55.6bcd	0.8bc	55.6ab	0.8ab
	0.5	22.2cd	77.8ab	1.3b	77.8a	1.1a
5	0	11.1d	55.9bcd	0.4c	11.1c	0.2c
	0.125	22.2cd	88.9a	2.2a	77.8a	1.1a
	0.25	22.2cd	88.9a	1.3b	77.8a	0.6ab
	0.5	33.3bcd	66.7abc	1.3b	66.7a	1.2a
7	0	11.1d	77.8ab	0.6bc	88.9a	0.5ab
	0.125	11.1d	77.8ab	0.8bc	88.9a	0.6ab
	0.25	33.3bcd	66.7abc	1.1bc	33.3bc	0.7ab
	0.5	44.4bcd	11.1cd	0.3c	11.1c	0.2c

<sup>z</sup> Medium contains 1/2MS, 20g/l sugar and 6g/l agar.

<sup>y</sup> Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

### 三、瓶外發根

將再生之嫩梢分為小於 2 公分、2.1~2.5 公分、2.6~3 公分及 3 公分以上，以 NAA 0.1% 發根劑處理嫩梢基部，結果發現小於 2.0 公分之插穗發根率為 0，且有些植株有褐化死亡的現象。以 2.1~2.5 公分、2.6~3 公分或 3 公分以上之插穗進行發根，則其發根率分別為 12.5%、56.3% 或 68.7%；2.5 公分以上之芽體除發根率較佳外，其植株存活率亦很高。另外，3 公分以上之插穗根數較多，平均每插穗有 2.0 條根(表 7)。

表 7. 不同芽體長度對瓶外發根的影響

Table 7. Effect of length of shoot on the rooting *ex vitro*.

芽體長度 <sup>z</sup>	發根率(%)	根數	根長(cm)
Shoot length(cm)	Rooting(%)	Root number	Root length(cm)
<2.0	0 b <sup>y</sup>	—	—
2.1-2.5	12.5b	1.0b	1.2a
2.6-3.0	56.3a	1.2b	1.3a
>3.0	68.7a	2.0a	1.2a

<sup>z</sup> Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level

以 2.5 公分以上之插穗比較進行不同生長調節劑對發根的影響，結果以 NAA 0.1% 為發根劑之芽體發根率較高，有 88.9%；IBA 0.2% 及 NAA 0.2% 處理之發根率分別為 55.6% 及 77.8% 為次；以 IBA 0.1% 發根劑處理者之發根率只有 43.4%；不沾任何發根劑之處理則發根率最低，為 11.1% (表 8)。另外在根數和根長除了對照組外，其它處理則皆無顯著差異 (表 8)。

表 8. IBA 與 NAA 對乳羅黛粉葉 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>' 芽體瓶外發根之影響Table 8. Effects of IBA and NAA on rooting of *D. maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>' *ex vitro*.

生長素(%)	發根率(%) <sup>y</sup>	根數	根長(cm)
Auxin (%)	Rooting(%)	Root number	Root length(cm)
IBA 0	11.1c	1.0a	0.2b
IBA 1	43.4bc	1.2a	0.9a
IBA 2	55.6ab	1.6a	1.0a
NAA 1	88.9a	2.3a	1.4a
NAA 2	77.8ab	1.4a	1.2a

<sup>y</sup> Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

## 討 論

植物組織培養中以葉片作為培植體已可成功地再生植株，其方法一為直接再生不定芽，二為藉由癒傷組織間接器官形成(黃, 1996; Hsia and Korban, 1998)，以葉片為培植體直接再生植株之作物已有木本的常綠杜鵑(*Rhododendron* spp.) (Hsia and Korban, 1998)、草本之草莓(Nehra and Stushnoff, 1988)及磯松(*Limonium altaica* cv. Emille) (Jeong *et al.*, 2001)等多種。而葉片培養經癒傷組織再生植株之作物也有乳羅黛粉葉(胡, 1996)、火鶴花(*Anthurium andraeanum* Lind.) (Geier, 1987)、變葉木(*Codiaeum*) (Teresa *et al.*, 1995)、菊花(Bhattacharya *et al.*, 1990)及非洲菊(*Gerbera hybrida* Bol.L.) (Reynoird *et al.*, 1993)等作物。葉片培養經癒傷組織再生植株的方法有下列優點，如使用葉片做培植體不會破壞母株，並且使得母株得以維持。另外因為癒傷組織細胞快速分裂，可得到無病之再生植株，因而改善病害所造成的產量減少及品質降低等問題(Murashige, 1977)。本實驗以經選拔的乳羅黛粉葉誘變株為試驗材料，成功地以幼嫩完全展開葉為培植體經由癒傷組織之形成而再生小植株。

培養基中添加糖的主要目的在提供碳源，供培植體生長所需的能量來源，並具有調節滲透潛勢(osmotic potential)的功能(Pierik, 1987)。一般而言，蔗糖是最廣泛利用為供作培植體能量來源的糖類，其適宜濃度為 2~5%，其中又以 2~3%蔗糖最為常用(Murashige, 1974)。又培植體的生長與發育會隨著蔗糖濃度增加而增加，達到最高點之後即下降(Pierik, 1987)。本試驗以不添加蔗糖培養基培養葉片之褐化率最高，而在每公升培養基中添加 10、20 或 30 公克蔗糖時之褐化率並沒有顯著之差異(表 2)。以每公升 20 公克蔗糖之培養基培養葉片，其癒傷組織形成量最多，提高蔗糖含量至 30 g/l 對癒傷組織的生長並沒有明顯的提升(表 2)。Edwin (1993)認為培養基中添加蔗糖對癒傷組織的生長較良好，且不同基因型在誘導形態發生或生長時對蔗糖濃度的需求也不同，此亦顯示培植體必須有適當之蔗糖濃度以利能量之吸收以及滲透調節之作用。

培植體之生長及分化除受內生生長荷爾蒙(endogenous hormones)之含量影響外，外加 cytokinin 及 auxin 之使用種類及濃度亦是主要的影響因子(Evans *et al.*, 1986)。植物生長調節劑之種類和濃度依作物種類之不同而有所差異。一般 auxin 類之植物生長調節劑有誘導癒傷組織形成之作用。Krikorian and Kann(1986)以不同濃度 NAA 誘導油椰子(oil palm)之胚形成癒傷組織，發現以 40-50 mg/l NAA 處理時，癒傷組織之產量最大。Palni *et al.* (1988)指出外加 cytokinins 會藉由減少 IAA 氧化酵素的活性而改變內生 auxin 代謝。IAA 含量的增加使得 RNA 合成以及蛋白質的合成增加，促進細胞生長而使癒傷組織增生。因此 auxin 與 cytokinin 之比例亦控制癒傷組織之生成，在火鶴花葉片培養中，於培養基添加 2,4-D 0.36  $\mu$ M 與 BA 4.4  $\mu$ M 即可由培植體誘導出癒傷組織(Kuehnle and Sugii, 1991)。其它如含 IAA 5 mg/l, BA 10 mg/l 及 2,4-D 1 mg/l 之 MS 培養基，可分別成功地誘導四種菊花品種葉片之癒傷組織(江, 1997)。本實驗於誘導黛粉葉葉片產生癒傷組織中，發現以 BA 5 mg/l

與 NAA 0.5 mg/l 之生長調節劑組合可誘導最多的癒傷組織，癒傷組織達第四級者有 26.7%；並且在所有處理中其褐化率最低，只有 3.3%(表 4)，而其它的組合中，癒傷組織級數達第四級者皆在 14%以下，顯示適當之 auxin 與 cytokinin 比例有助於癒傷組織之誘導。

在癒傷組織分化過程中，有些植物雖然能誘導出癒傷組織，但卻不分化植株(Ma and Shii, 1974; Sharp *et al.*, 1971)，癒傷組織分化雖受到許多因子之影響，如品種、培養基成分或培養環境，但影響最大者為生長調節劑之組合，通常誘導癒傷組織形成與促進癒傷組織分化芽體需要兩種不同之培養基。本試驗中以黛粉葉乳羅變種之癒傷組織誘導分化芽體，以 BA 5 mg/l 配合 NAA 0.125 mg/l 之培養基效果最佳(表 6)。Cytokinin 的添加可促進細胞分裂，誘導芽體大量繁殖。Rao *et al.*(1973)發現只需要 BA 就可以引起矮牽牛屬葉圓片形成芽體。但在蘋果及梨的葉片培養中，結合 auxin 及 cytokinin(NAA+TDZ)對誘導不定芽較有效(Chevreau *et al.*, 1989; Fasolo *et al.*, 1989)。Inoue and Maeda (1980)在稻米的癒傷組織試驗中發現，癒傷組織在低濃度 auxin 及較高濃度 cytokinin 之培養基下培養，其癒傷組織會變得較緊密且綠色癒傷組織增加，有利於分化芽體。本試驗之癒傷組織在經過 BA 5 mg/l 配合 NAA 0.125 mg/l 之培養基繼代後，其癒傷組織亦有綠色之組織增加之情形且再生之芽體數最多(表 6)。

微體繁殖苗於瓶內發根，會增加移植時之勞力，或使根系受傷而增加感病機會，因此商業生產中已逐漸朝向瓶外發根之趨勢(Maene and Debergh, 1983)。Auxin 已廣泛應用於瓶外發根上。當幼株以 auxin 處理，可以促進枝梢基部之細胞分裂而長出不定根。本試驗中以 IBA 與 NAA 作為發根劑，兩者均可提高乳羅黛粉葉誘變種再生植株之發根率，並且相同濃度下，NAA 之效果較 IBA 好(表 8)。

## 誌 謝

本試驗材料為中興大學園藝系黃敏展教授提供，謹致謝忱。

## 參 考 文 獻

- 江純雅、黃敏展。1997。菊花葉片癒傷組織之培養。興大園藝 22: 73-85。  
 沈再木、郭濶如、杜柏勳。1994。粉黛葉栽培。台灣花卉園藝 108: 22-26。  
 周明燕。1994。天南星科之黛粉葉。農藥世界 134: 56-59。  
 胡文若、黃敏展。1997。乳羅黛粉葉初代培養之研究。興大園藝 22: 95-107。  
 黃敏展。1996。亞熱帶花卉學總論。國立中興大學園藝系。台中。367pp。  
 Bhattacharya, P., S. Dey, N. Das, and B. C. Bhattacharyya. 1990. Rapid mass propagation of

- Chrysanthemum morifolium* by callus derived from stem and leaf explants. Plant Cell Rep. 9: 439-442.
- Edwin, F. G. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Edington Wilts, England. p.67-94.
- Evans, D. A. and E. Bravo. 1986. Phenotypic and genotypic stability of tissue cultured plants. In: R. H. Zimmereman, R. J. Griesbach, F. A. Hammerschlag, and R. H. Lawson (eds.), Tissue Culture as a Plant Propagation System for Horticultural Crops, p.73-94, Martinus Nijhoff Publishers.
- Fasolo, F. Z. R. H. and I. Fordham. 1989. Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* grown shoots of apple cultivars. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 16:75-87.
- Geier, T. 1987. Factors affection plant regeneration from leaf segment of *Anthurium scherzerianum* Schott (Araceae) cultured *in vitro*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 6: 115-125.
- Henny, R. J. 1995. 'Star Bright' *Dieffenbachia*. Hort. Sci. 30: 164.
- Hsia, C. N. and S. S. Korban. 1998. Effect of growth regulators, dark treatment and light intensity on shoot organogenesis from leaf tissues of evergreen azalea. J. Horticultural Sci. Biotechnol. 73: 53-60.
- Inoue, M. and E. Maeda. 1980. Effect of auxins and cytokinins on the occurrence of green regions in rice callus cultures. Japan. J. Crop Sci. 49: 167-174.
- Jeong, J. H., H. N. Murthy, and K. Y. Paek. 2001. High frequency adventitious shoot induction and plant regeneration from leaves of statice. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 65: 123-128.
- Krikorian, A. D. and R. P. Kann. 1986. Oil palm improvement *via* tissue culture. Plant Breeding Reviews 4: 175-202.
- Kudhnlle, A. R. and N. Sugii. 1991. Callus induction and plantlet regeneration in tissue cultures of Hawaiian *Anthuriums*. HortScience 26: 910-912.
- Ma, S. S. and C. T. Shii. 1974. Growing banana. Plantlets from adventitious buds. J. Hort. Soc. China. 20: 6-12.
- Maene, L. M. and P. C. Debergh. 1983. Rooting of tissue cultured plants under *in vivo* conditions. Acta Hort. 131: 201-208.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant. Physiol 25: 135-166.
- Murashige, T. 1977. Plant cell and organ cultures as horticultural practices. Acta Hort. 78: 17-30.
- Nehra, N. S. and C. Stushnoff. 1988. Direct shoot regeneration from strawberry leaf disks. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114: 1014-1018.
- Palni, L. M. S., L. Burch, and R. Horgan. 1988. The effect of auxin concentrations on cytokinin stability and metabolism. Planta 174: 213-234.

- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. 344pp.
- Rao, P. S., W. Handro, and H. Harada. 1973. Hormonal control of differentiation of shoots, roots and embryos in leaf and stem cultures of *Petunia inflata* and *Petunia hybrida*. *Physiol. Plant.* 28: 458-463.
- Reynoird, J. P., D. Chriqui, M. Noin, S. Brown, and D. Marie. 1993. Plant regeneration from *in vitro* leaf culture of several *Gerbera* species. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 33: 203-210.
- Sharp, W. R., D. K. Dougall, and E. F. Raddock. 1971. Haploid plantlets and callus from immature pollen grains of *Nicotiana* and *Lycopersicon* *Bull. Torrery Bot. Cub.* 98: 219-222.
- Teresa, O., I. Sabala, and E. Nowak. 1995. Adventitious shoot regeneration on explants of *Anthurim*, *Codiaeum*, *Dieffenbachia*, *Gerbera*, *Rosa* and *Spathiphyllum* for breeding purposes. *Acta Hort.* 420: 115-117.

## Micropropagation and Mutation of *Dieffenbachia maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>'

Yi-Yun Hsiao<sup>1)</sup> Chien-Young Chu<sup>2)</sup>

Key words: Leaf culture, Callus, Redifferentiation, Rooting *ex vitro*

### Summary

The young unfolded leaf of *Dieffenbachia maculata* 'Rudolph Roehrs-86M<sub>1</sub>' was cut into 1 × 1 cm pieces. Then explants cultured on the medium containing 1/2 MS, sugar 20g/l, agar 6g/l, BA 5 mg/l and NAA 0.5 mg/l. grew more callus .

Shoot redifferentiated from callus explants of 5mm × 5mm cultured on the medium containing 1/2 MS, agar 6g/l, sugar 20g/l, BA 5 mg/l and NAA 0.125 mg/l. Shoot longer than 2.5 cm rooted well *ex vitro* when shoot base was coated with NAA 0.1%.

---

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

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