

# 半夏癒合組織的誘導及植物體分化之研究<sup>1</sup>

陳忠川 高宗桂 蔡新聲<sup>2</sup>

**摘要** 以組織培養技術從事生藥之資源開發及研究，近年來引起學術界之興趣與重視。本研究就半夏癒合組織的誘導及植物體分化進行探討，發現野生株芽，試管中形成之不定芽、根尖及葉片等四種培植體，其癒合組織之誘導，以含 4—8mg/l 2, 4-D 之 MS 培養基最佳；未成熟種子則以 2mg/l NAA 之效果最佳。在含 NAA 或 2, 4-D 的培養基中，株芽上半部均較下半部易於誘導癒合組織；株芽徑 14~22 天之 9°C 低溫前處理，不但可提高癒合組織的形成率，且可減少癒合組織分化根的比率，照光與否並不影響培植體之癒合組織形成率，但暗處理者癒合組織質地較佳。含 2mg/l BA 的 MS 培養基，對株芽所產生的癒合組織分化效果最佳。不同來源之癒合組織其分化能力差異極大，分化能力之強弱依序為株芽、根尖、未成熟種子及葉片。

半夏 (*Pinellia ternata* Breitenbach) 為天南星科 (*Aracea*) 之多年生草本植物<sup>(1,9,10,13,14,16)</sup>。最早收載於本經下品，爾後歷代諸家本草均有著錄<sup>(2,3,4,5,6,7)</sup>，並延用迄今之重要藥材。其有燥濕化痰，降逆止嘔，消痞散結之功能；據近代藥理學之研究，具有鎮咳祛痰，鎮靜止嘔等作用<sup>(11,15,17,18)</sup>。

生藥市場對於半夏藥材之需求量相當大，臺灣地區雖有野生半夏，但產量不足，所以市場需求皆靠進口，花費外匯甚多，著者有鑑於此，乃進行半夏組織培養之研究，以期作為新的資源開發，達到生藥自給自足之目的。

近二十年來植物組織培養技術廣泛地被應用於農業遺傳工程，作物品種改良及大量繁殖上，惟成功之例以雙子葉植物為多。近十年來單子葉植物的組織培養已有突破性的進展，例如水稻、甘蔗、小米等禾穀類作物都已可由分離之原生質體單細胞再生成植株<sup>(23,28,30,37,38,43)</sup>。藥用植物方面如柴胡、黃耆、山藥、人蔘及罌粟等高貴藥材均已能藉組織培養法在短期內獲得大量植株<sup>(21,22)</sup>，或從細胞懸浮培養中得到令人滿意之二次代謝產物。

本文就半夏植株之株芽、葉片、根尖及未成熟種子進行癒合組織之誘導及分化能力之探討，並評估組織培養所得之半夏與野生品種之差異，達到開發省產藥材資源，充實半夏藥材來源之目的。

## 材料及方法

### 1. 材料

半夏所選用之材料係採自臺中縣和平鄉武陵農場之野生半夏 (*Pinellia ternata* Breitenbach)

### 2. 方法：

#### (1) 不同部位之採樣及消毒：

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告第 1446 號。

2. 中國醫藥學院藥學研究所副教授，前研究生(臺中市學士路)及本所農藝系研究員。臺灣省 臺中縣霧峰鄉。

A、株芽：將採回之野生半夏以蛇木屑為植材，栽於素燒盆中，栽植期間僅澆水保持濕度而不施肥。待葉柄基部長出之株芽，直徑約 2~4mm 時取下，以竹片刮淨其表皮之葉鞘組織及污物，並用自來水洗淨。株芽之消毒係以70%酒精浸漬30秒，再以0.5%次氯酸鈉（每 50ml 加一滴Tween 20）於超音波振盪器中殺菌10分鐘後，以無菌水清洗 3~4 次，再於無菌接種箱內，切取近芽尖五分之三的株芽培養。

B、種子：觀察上述盆栽之半夏，自佛焰花苞成形開始算起，約二星期後摘取、剖開，將未成熟種子刮下，以清水洗淨。此未成熟種子用70%酒精浸漬10秒，再以 1%次氯酸鈉於超音波振盪器中消毒10分鐘，最後以無菌水清洗三次，以供培養。

C、葉片：取自發芽試驗的無菌葉片。

D、根尖：取自發根試驗所生的無菌根尖。

(2) 培養基的配製及培養環境：

半夏組織培養基主要以含有 3%蔗糖之 Murashige and skoog (1962) (MS) 無機鹽類為基本配方<sup>(31)</sup>。培養基在加 1%洋菜前，先用1N NaOH或HCl將pH值調至 $5.7 \pm 0.1$ ，經 $121^\circ\text{C}$ ， $15 \text{ lb/in}^2$  ( $1.05\text{kg/cm}^2$ ) 之壓力殺菌15分鐘後擺置斜面備用。接種後之材料於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 之恆溫下培養。

結 果

1. 不同來源培植體癒合組織之誘導

(1) 野生株芽及試管株芽誘導癒合組織形成之能力

表 1 和表 2 結果顯示，野生株芽和試管栽培株芽兩者皆可誘導癒合組織產生；惟野生株芽之污染率極高約在 5~50%間。NAA不適合半夏株芽癒合組織之誘導；8mg/l以下之NAA 雖能誘導部分株

表1. 植物生長調節劑對野生半夏珠芽形成癒合組織之影響

Table 1. Effects of plant growth regulators on callus formation from bulbils of field-grown *P. ternata*\*

MS salts with NAA		No. of bulbil cultured	Contaminated bulbil		Callus-forming bulbil		Root-forming callus	
mg/l			No.	%	No.	%	No.	%
1	0	75	33	44	3	4	3	100
2	0	60	30	50	24	40	24	100
4	0	45	21	47	21	47	21	100
8	0	60	3	5	30	50	30	100
10	0	75	20	27	0	0	0	0
20	0	75	12	16	0	0	0	0
0	1	96	9	9	84	88	84	100
0	2	60	3	5	54	90	3	6
0	4	75	6	8	66	88	0	0
0	8	75	9	12	66	88	0	0
0	10	75	12	16	12	16	0	0
0	20	75	15	20	0	0	0	0

\*Bulbils were cultured for 45 days.

表2. 植物生長調節劑對試管半夏珠芽形成癒合組織之影響

Table 2. Effects of plant growth regulators on callus formation from bulbils of in vitro-grown *P. ternata*\*

NAA	MS salts with 2, 4-D		BA	No. of bulbil cultured	Callus-forming bulbil		Root-forming callus	
	mg/l				No.	%	No.	%
1	0	0	0	140	23	20	26	93
2	0	0	0	124	57	46	57	100
4	0	0	0	119	64	54	64	100
8	0	0	0	156	83	53	83	100
0	1	0	0	147	53	36	49	92
0	2	0	0	155	57	37	0	0
0	4	0	0	150	132	88	0	0
0	8	0	0	148	144	97	0	0
0	4	1	1	148	148	100	0	0
0	8	1	1	150	150	100	0	0

\*Data collected from bulbils cultured for 45 days.

Average size of bulbils : 2.5×3×1mm.

表3. 半夏珠芽上下部位誘導癒合組織能力之比較

Table 3. Comparison of callus formation ability between upper and lower parts of bulbils from field-grown *P. ternata*\*

MS salts with NAA		Part of bulbil segment	No. of segment cultured	Callus-forming segment	
mg/l				No.	%
1	0	upper	112	30	27
		lower	110	0	0
2	0	upper	90	33	37
		lower	90	0	0
4	0	upper	90	48	53
		lower	90	0	0
8	0	upper	96	56	58
		lower	112	0	0
0	1	upper	104	14	14
		lower	90	30	33
0	2	upper	100	22	22
		lower	90	36	40
0	4	upper	105	105	100
		lower	96	48	50
0	8	upper	104	104	100
		lower	96	80	83

\*Bulbils were cultured for 30 days.

芽形成癒合組織，惟所誘導之癒合組織皆有根之分化，過高濃度之 NAA (10~20mg/l) 則無法誘導株芽形成癒合組織。對半夏株芽癒合組織的誘導，2,4-D較NAA佳，其用量以 4mg/l及8mg/l較適合，超過10mg/l 以上有濃度過高之害。在僅含 2,4-D 的培養基中，所誘導之癒合組織呈粘質狀，若以4~8mg/l的2, 4-D配合 1mg/lBA 之培養基，不但癒合組織的誘導率高達100%，且所形成之癒合組織質地鬆脆晶瑩剔透，呈現較佳之生長效果。

(2) 野生株芽上下部形成癒合組織之差異

取球體徑長5mm野生半夏之株芽，對等分割為上下二部分，並接種於含不同濃度auxins之MS培養基中以誘導癒合組織之形成，培養30天之結果如表 3 顯示，無論NAA或2, 4-D 之培養基，株芽上半部(尖端部位)誘導癒合組織之能力大部份優於下半部(基部)。

(3) 誘導根尖形成癒合組織之能力

表 1 及表 2 之結果顯示，在含 1, 2, 4, 8mg/l NAA或1~2mg/l 2, 4-D之MS 培養基，所誘得之癒合組織有發根之現象，切取此等根尖 10mm 作為誘導癒合組織之材料，結果如表 4 所示，在含 2、4、8mg/l NAA與1mg/l BA 配合之培養基可促使根尖體積伸長，繼續發根，雖有少部分根尖形成癒合組織，但質地較堅硬，且數日後即有根之分化，其上並密佈根毛。在含有 4 或 8mg/l 2, 4-D 之MS培養基，誘導癒合組織之比率可高達100%，若再配合1mg/l BA，則所誘導之癒合組織較鬆脆，質地較佳。

表4. 植物生長調節劑對半夏根尖形成癒合組織之影響

Table 4. Effects of plant growth regulators on callus formation from root tip of *P. ternata*\*

BA	MS salts with NAA mg/l	2, 4-D	Number of root tip		
			Cultured	Producing roots	Producing callus
1	2	0	100	98(98)**	2( 2)
1	4	0	100	64(64)	36( 36)
1	8	0	98	30(31)	68( 69)
1	0	2	99	26(26)	73( 74)
1	0	4	100	1( 1)	99( 99)
1	0	8	100	0( 0)	100(100)
0	0	8	100	0( 0)	100(100)
0	0	8	100	0( 0)	100(100)

\* 1-cm root tips were cultured for 30days.

\*\*Numbers in parentheses are percentages relative to total number of root tip cultured.

(4) 誘導未成熟種子形成癒合組織之能力

取野生半夏花苞出現二星期之未成熟種子，接種於二種不同 auxin，八種濃度組合之培養基中，以誘導癒合組織之形成，結果如表 5 所示，低濃度的 NAA (1~2mg/l) 對誘導半夏未成熟種子形成癒合組織較具效果，提高濃度至8mg/l 以上反產生藥害，此可由褐化死亡種子百分比增加看出。2, 4-D之效果不如NAA，在1~2mg/l低濃度下，全部種子褐化死亡，而8~20mg/l之高濃度則反有30~40%之癒合組織誘導率。

(5) 誘導葉片形成癒合組織之能力

表 6 顯示全葉培養誘導癒合組織之比例遠勝於分割葉片，惟二種培植體所誘導出癒合組織之位置皆

在葉片與葉柄連接處。

表5. 植物生長調節劑對半夏未成熟種子形成癒合組織之影響

Table 5. Effects of plant growth regulators on callus formation from immature seeds of *P. ternata*\*

MS salts with NAA 2, 4-D		No. of immature seed cultured	Callus-forming seed		Browned seed	
mg/l			No.	%	No.	%
1	0	100	64	64	36	36
2	0	100	88	88	12	12
8	0	90	25	28	65	72
20	0	100	24	24	76	76
0	1	90	0	0	90	100
0	2	90	0	0	90	100
0	8	95	30	32	65	68
0	20	70	30	43	40	57

\*Cultured duration was 30 days.

表6. 半夏葉片大小對癒合組織形成能力之影響

Table 6. Influence of leaf size on callus formation from leaf blades of *P. ternata*\*

Leaf source	No. of leaf source cultured	Callus-forming leaves	
		No.	%
whole leaf (13×18mm)	60	60	100
Leaf segment (6×2mm)	60	12	20

\*Cultured duration was 30 days. Basal medium was MS salts with 8mg/l 2, 4-D.

## 2. 光照及植物生長調節劑對株芽衍生之不定芽形成癒合組織之影響

將分化培養基所得之不定芽，接種於表 7 所示，含不同植物生長調節劑之 6 種培養基中，並分別施以暗培養或每日光照 16 小時，光強 1,600 lux 之處理，結果顯示，在 2, 4 及 8mg/l NAA 與 1mg/l BA 配合之三種培養基中，無論照光與否均只有根的分化，而無癒合組織之形成；暗培養者由原接種不定芽所衍生之二次不定芽總數比光培養者少。但根之發育較佳。在 2, 4 及 8mg/l 2, 4-D 與 1mg/l BA 組成之三種培養基則無論照光與否皆可形成癒合組織，惟暗培養者癒合組織之質地較佳。

## 3. 低溫處理對誘導株芽形成癒合組織之影響

在接種前，分別將株芽施以不同時間之冷藏處理，再切割成約 2mm 厚之片狀，接種於含不同種類及濃度 auxin 的培養基中，並於培養 21 天後觀察癒合組織形成之情形。表 8 結果顯示，在 1~8mg/l NAA 之 MS 培養基中，經 14 天低溫前處理者，其癒合組織之誘導率較未處理者高，且癒合組織分化根之比率顯著降低。含 4mg/l 2, 4-D 之培養基，經前處理 14 天以上者，癒合組織之誘導率可達 94%，

表7. 光照及植物生長調節劑對半夏不定芽誘導癒合組織之影響

Table 7. Influence of light and plant growth regulators on callus formation from adventitious bud of *P. ternata*

BA	MS salts with NAA mg/l	2, 4-D	Treatment	No. of adventitious bud cultured	Callus-forming adventitious bud	
					No.	%
1	2	0	Dark	30	0	0
1	4	0	Dark	30	0	0
1	8	0	Dark	30	0	0
1	0	2	Dark	30	30	100
1	0	4	Dark	30	30	100
1	0	8	Dark	30	30	100
1	2	0	Light	30	0	0
1	4	0	Light	30	0	0
1	8	0	Light	30	0	0
1	0	2	Light	30	30	100
1	0	4	Light	30	30	100
1	0	8	Light	30	30	100

\*Cultured duration was 30 days.

表8. 低溫處理對半夏珠芽癒合組織形成之影響

Table 8. Influence of cold pretreatment (9°C) of bulbil of *P. ternata* on its callus-formation ability

MS salts with NAA mg/l	2, 4-D	Duration of cold pretreatment (day)	No. of bulbil segments cultured**	Callus-forming segment		Root-forming callus	
				No.	%	No.	%
1	0	0	140	28	20	28	100
2	0	0	124	57	46	57	100
4	0	0	119	64	54	64	100
8	0	0	156	83	53	83	100
1	0	14	115	83	72	17	20
2	0	14	109	94	86	15	16
4	0	14	110	98	89	14	14
8	0	14	128	128	100	13	10
0	4	0	150	132	88	0	0
0	4	3	100	85	85	0	0
0	4	14	130	122	94	0	0
0	4	22	120	120	100	0	0

\* Cultured duration was 21 days.

\*\*Thickness of bulbil segment was about 2mm.

且癒合組織質地甚佳。從表 8 可知低溫處理不僅能促進半夏株芽癒合組織之形成率，同樣的亦影響癒合組織之分化。

4. 誘導癒合組織分化植物體之研究

(1) 植物生長調節劑對半夏株芽癒合組織分化能力之研究

將20天大小的株芽癒合組織分別移入如圖 1 所示之 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub> 及 B<sub>2</sub>D<sub>05</sub> 等 4 種培養基中進行植物分化之誘導，結果顯示在僅含 BA 之培養基中，其癒合組織可分化較多之不定芽；其中尤以含 2mg/l BA 之 B<sub>2</sub> 培養基分化率最高。同時，在 B<sub>2</sub> 培養基上由不定芽發育長大之綠苗，其外觀與野生株類似，而在 2mg/l BA 與 0.5mg/l 2, 4-D 組合之 B<sub>2</sub>D<sub>05</sub> 培養基，其癒合組織分化能力較弱，且外形與野生株差異較大。

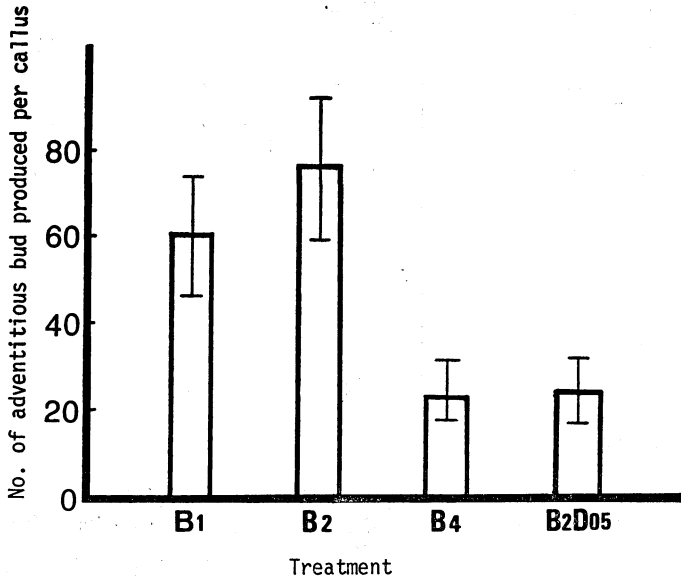


Figure 1. Influence of plant growth regulator on adventitious bud formation of bulbil-derived callus of *P. ternata*. Culture medium was MS salts supplemented with 1mg/l BA (B<sub>1</sub>), 2mg/l B (B<sub>2</sub>), 4mg/l BA (B<sub>4</sub>) and 2mg/l BA and 0.5mg/l 2, 4-D (B<sub>2</sub>D<sub>05</sub>). Culture duration was 50days. Size of callus used for culture was about 7×5×5mm.

圖1. 植物生長調節劑對半夏株芽癒合組織分化不定芽之影響

表9. 不同來源癒合組織分化不定芽之能力

Table 9. Adventitious bud differentiation ability of callus from different tissue sources of *P. ternata*\*

Callure source**	No. of callus cultured	Adventitious bud-forming callus		Adventitious bud	
		No.	%	Total No.	Average No. per callus
Immatus seed	25	12	48	175	15
Bulbil	25	25	100	1,888	76
Root tip	25	21	84	925	44
Leaf	25	2	8	4	2.

\* Cultured duration was 50 days. Basal medium was MS salts supplemented with BA 2mg/l.

\*\*Size of callus used for culture : 6×5×4mm.

## (2) 不同來源癒合組織分化不定芽之研究

由未成熟種子、株芽、根尖及葉片所誘導之四種不同癒合組織，經均勻切割成相同大小，繼代培養於含2mg/l BA之分化培養基，50天後觀察其分化結果，表9顯示株芽來源之癒合組織分化能力最佳，達100%；根尖來源84%次之；未成熟種子48%，又次之，而以葉片為來源之癒合組織分化能力最差，僅8%。每個癒合組織形成之不定芽數，亦以株芽之76最多，根尖之44次之，未成熟種子14，而葉片僅形成2個不定芽最少。

## 討 論

### 1. 癒合組織的誘導

取自野生的株芽，消毒效果欠佳（表1），雖經多次嘗試，污染率仍在5~50%之間。消毒不易成功的原因，可能與野生植株表面有較多的微生物有關；此外株芽亦含多量的內生菌，故難以由表面清除。

許多報告指出培養基中之植物生長調節劑，為誘導癒合組織形成及促進芽體分化之成敗關鍵。Carswell and Locy<sup>(20)</sup>報導0.1mg/l NAA與10mg/l BA組合最能促進甘藷莖葉及貯藏根等培植體形成癒合組織；而Hu and Wang指出IAA、IBA、NAA及2, 4-D等四種auxins中，以2, 4-D誘導癒合組織形成之能力最強<sup>(26)</sup>。Noboru *et al*亦曾報導0.1 $\mu$ M 2, 4-D即可誘導70%三島柴胡 (*Bupleurum falcatum*) 之嫩葉形成癒合組織，而相同濃度之IAA則僅20%<sup>(33)</sup>。本研究由株芽誘導癒合組織之試驗發現，無論株芽培植體來自試管苗或野生植株，2,4-D皆比NAA之效果好，此與Hu and Wang之觀點相同。植物生長調節劑對同株植物不同部位之組織，誘導癒合組織之能力並不一致。本研究發現，含4~8mg/l 2,4-D之MS培養基對半夏株芽或根尖誘導癒合組織之能力比NAA強，所誘導之癒合組織品質較佳，且無NAA培養基中分化根系之現象；但對未成熟種子而言，2, 4-D之效果反不如NAA，即使1~2mg/l的低濃度下，足使未成熟種子全部褐化死亡，而8~20mg/l之高濃度却又可產生部分癒合組織，則有待更進一步的研究。這種結果顯示NAA及2, 4-D對同株植物不同部位組織，誘導癒合組織的效果不盡相同，此種差異可能與培植體內自生荷爾蒙之含量有關。

培植體來源經常影響癒合組織之形成率；大多數有關組織培養之報告均指出，生長點分生組織部位植物荷爾蒙含量較多，分生能力最強，所以以生長點或莖頂為培植體，成功的機會較大<sup>(25,36)</sup>。本研究結果顯示在含NAA或2, 4-D之培養基中，株芽上半部誘導癒合組織之能力皆較下半部為優。又以葉片誘導癒合組織形成能力之研究也發現，無論全葉或切割成6 $\times$ 2mm<sup>2</sup>的葉塊培養，形成癒合組織之部位皆在葉片與葉柄之連接處。而自然界野生植株之半夏葉形較大者在此處皆有株芽之生成，顯見此處組織之細胞較具分生能力，此項研究再度印證含分生組織之部位，誘導癒合組織之效果較佳。

許多學者曾研究光強與光照時間對培植體芽數與發根之影響<sup>(19,29,32)</sup>。Anderson報導，增加光照強度可縮短豌豆在組織培養中之休眠期<sup>(19)</sup>；Margara發現甘藍 (*Brassica oleracea*) 最適宜之組織培養環境為光強4,000 lux，每日9小時之照光<sup>(29)</sup>；Nitsch and Nitsch則認為7,000 lux，每日照光9小時之環境，可使plumbago莖頂組織形成最多之芽數<sup>(32)</sup>。Vanstaden *et al.*推測光照可能影響auxin或cytokinin之生產及運輸等作用，而打破莖頂之休眠期<sup>(42)</sup>。本研究發現無論照光與否，1mg/l BA與2、4、8mg/l NAA組合之培養基皆無癒合組織之形成，且不定芽培植體繼續分蘗更多不定芽，甚至出現分化根系之現象。而於1mg/l BA與2、4、8mg/l 2, 4-D組合之培養基中，全部培植體皆形成癒合組織，僅有少數不定芽之形成。研究顯示，誘導半夏不定芽形成癒合組織之諸因素中，植物生長調節劑之作用較重要；光照之影響力較小。外觀之主要區別，僅在於有照光之培植體分生不定芽數較多而已。

### 2. 低溫處理對癒合組織形成之影響

Kato and Ozawa發現，接種前將*Holoniopsis orientalis*之葉片與莖塊以16°C前處理7~12天

，可提高發芽率<sup>(27)</sup>。Tsay and Chen 報導水稻花藥經10°C低溫處理一星期，可使癒合組織之誘導率提高一倍<sup>(41)</sup>。而蘇指出木瓜花藥培養，若將花蕾以10°C低溫處理2天，7天及14天後，再取其花藥培養，結果大部分花藥都產生白化而死亡<sup>(12)</sup>。故低溫處理對不同作物，不同培植體組織培養之效果不盡相同。本研究將株芽塊接種前以9°C低溫處理3~22天，再接種至誘導癒合組織之培養基，結果發現低溫前處理14~22天，能提高株芽癒合組織之形成。而前處理3天者並無明顯之影響；這可能與半夏株芽之休眠期有關，陳等曾指出半夏株芽具有休眠週期，開花後之半夏經過一段時間即開始休眠，其休眠日數受非休眠期時間長短與株芽大小之影響。非休眠期時間長及株芽大者，休眠日數多；非休眠期時間短及株芽小者，休眠日數少<sup>(8)</sup>。故本項研究中，癒合組織誘導率提高的原因，極可能是低溫冷藏打破其休眠期之故。

### 3. 癒合組織的分化

不同來源培植體誘導癒合組織之能力不盡相同，而不同來源培植體誘導之癒合組織，其分化不定芽之能力也有極大差異。Tsay *et al.* 曾報導甘藷癒合組織分化器官(擬胚體)的能力，以莖段癒合組織最強，花藥癒合組織次之；塊根癒合組織之分化能力最差<sup>(40)</sup>。本研究表9之結果亦顯示，四種不同來源的半夏癒合組織，在含2mg/l BA之MS基本鹽類分化培養基中，以株芽來源癒合組織分化不定芽之能力最強；根尖來源之癒合組織次之；未成熟種子來源之癒合組織又次之；葉片來源之癒合組織不但誘導不定芽之能力最差，且每個有分化能力之癒合組織，平均分化之不定芽數僅2個。此種現象可能與培植體對植物生長調節劑之感應性不同，或與培植體原先所含內生性植物生長調節劑之量有關。

許多報告指出，癒合組織之分化能力常受植物生長調節劑之控制<sup>(18)</sup>。而培養基中auxin及cytokinin之濃度和比例經常影響分化的形成<sup>(24,39)</sup>，Cytokinn/auxin<sup>-</sup>之比例提高，有助於芽之形成，反之，則促進根系之發生。本試驗取誘導20天之半夏株芽癒合組織移入圖1之4種培養基以促使癒合組織分化。結果顯示2mg/l BA最能誘導株芽癒合組織形成不定芽；4mg/l顯現濃度過高之害，反不利癒合組織之分化。至於2mg/l BA及0.5mg/l 2, 4-D之培養基，則因2, 4-D呈抑制癒合組織再生不定芽之作用，故雖亦含2mg/l BA，仍未提高株芽癒合組織分化之能力。Wang and Yan曾報導培養基中之2, 4-D會妨礙*Echinochloa crusgalli*癒合組織體胚之再生<sup>(44)</sup>。Syono也指出，只在減少或去除培養基中之2, 4-D，胡蘿蔔癒合組織才具形成器官之能力<sup>(35)</sup>。本研究之結果與上述學者之結果頗為相近。

本研究經由癒合組織所誘導之半夏植株，其與野生半夏在外觀上及染色體數目均甚一致，本結果與Shoyama *et al.* 之報告極為吻合<sup>(34)</sup>。因此確信半夏為一染色體極為穩定之生藥，經由組織培養大量繁殖應極具價值。

### 引用文獻

1. 甘偉松·1981·藥用植物學·PP. 597—598·國立中國醫藥研究所，臺北，臺灣。
2. 李時珍·1593·圖解本草綱目，上下冊，張紹棠重訂，卷17，毒草類·PP. 693—698·文光圖書公司·1966，臺北，臺灣。
3. 吳其濬·1848a·植物名實圖考，卷24，毒草類，PP. 603—604·世界書局，1974·臺北，臺灣。
4. 吳其濬·1848b·植物名實圖考長編。卷14，毒草，PP. 783—785·世界書局，1962·臺北，臺灣。
5. 岡西為人·1964，重輯新修本草，卷十，草部下品之上，PP. 246—247·國立中國醫藥研究所，臺北，臺灣。
6. 唐慎微·1108·經史證類大觀本草。艾晟校定，吳家鏡譯述，草藥下部，PP. 277—278·正言出版社，1970，臺南，臺灣。
7. 唐慎微·1249·重修政和經史證類備用本草。張存惠利，那琦解題并序，魏德文索引并刊，卷十，草部下品之上，PP. 245—246·南天書局景印，1976，臺北，臺灣。

8. 陳慶京、許鴻源、陳貴。1960。半夏珠芽之形成及其對塊莖形態變化之影響。臺灣藥學雜誌。12(2) : 96—100。
9. 楊再義。1982。臺灣植物名藥P. 312
10. 賴榮祥。1976。原色生藥學PP. 188—191。創澤出版社。
11. 顏焜熒。1970。常用中藥之藥理(Ⅱ)。PP. 31—33, 國立中國醫藥研究所, 臺北, 臺灣。
12. 蘇至怡。1984。木瓜的花藥培養。國立中興大學植物學研究碩士論文, 臺中, 臺灣。
13. 刈米達夫。1959。最新生藥學, PP. 86—81。廣川書店。
14. 刈米達夫, 北村四郎。1961。藥用植物分類學, PP. 296—297。廣川書店。
15. 伊沢凡人。1962。原色日本藥用植物事典。Vol. 2, PP. 115—116。誠文索新光社。
16. 東文夫, 名越規部。1961。新編生藥學, PP. 57—58。廣川書店。
17. 高部登。1956。日本藥理學雜誌52 : 187。
18. 笠原義正, 齋藤惠利子, ヒキノヒロシ。1983。半夏ねよび乾姜の藥理作用。生藥學雜誌37(1) : 73—83。
19. Anderson, A. S. 1976. Regulation of apical dominance by ethephon, irradiance and CO<sub>2</sub>. *Physiol. Plant.* 37 : 303—308.
20. Carswell, G. K. and R. D. Locy. 1984. Root and shoot initiation by leaf, stem and storage root. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 3 : 229—236.
21. Chang, W. C. and Y. I. Hsing. 1980a. In vitro flowering of embryoids derived from mature root callus of ginseng (*Penax ginseng*). *Nature* 284 : 341—342.
22. Chang, W. C. and Y. I. Hsing. 1980b. Plant regeneration through somatic embryogenesis in root-derived callus of ginseng. *Proc. 3rd Intl. Ginseng Symp.* pp. 21—27, Ginseng Res. Inst. Seoul, Korea.
23. Chen, W. H. 1987. Genetic manipulation of sugarcane. Ph. D Thesis, Univ. of Nottingham, UK.
24. George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture: Handbook and dictionary of commercial laboratories (ed. by E. F. George and P. D. Sherrington). pp. 125—330. Eastern Press, Reading, Berks. England.
25. Hollings, N. and O. M. Stone. 1968. Techniques and problems in the production of virus-tested plant material. *Sci. Hort.* 20 : 57—72.
26. Hu, C. Y. and P. J. Wang. 1983. Meristem, shoot tip, and bud cultures. In Handbook of plant cell culture. Vol. I. Techniques for propagation and breedings (ed. by D. A. Evans *et al.*). pp. 177—227. New York.
27. Kato, Y. and N. Ozawa. 1979. Adventitious bud formation on leaf and stem segments of *Helonio psis orientalis* grown at various temperatures. *Plant and cell psiol.* 20 : 491—497.
28. Kyojuka, J., Y. Hayashi and K. Shimamoto. 1987. High frequency plant regeneration from rice protoplast by novel nurse culture methods. *Mol. Gen. Genet.* 206:408~413.
29. Margara, J. 1969. Etude des facteurs de la neoformation de bourgeons en culture in vitro chez le chou-fleur (*Brassica oleracea* L. V. Botrytis). *Ann. Physiol. Veg.* 11 : 95—112.
30. Marx, J. L. 1987. Rice plants regenerated from protoplasts. *Science* 235 : 31—32.
31. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15 : 473—497.
32. Nitsch, C. and J. P. Nisch. 1967. The incubation of flowering in vitro in stem segments of *Plumbago indica* L. I. the production of vegetative buds. *Planta* 72 : 355—370.
33. Noboru, H., T. Kodama and Y. Tomita. 1983. In vitro propagation of *Bupleurum falcatum*. *Shoyakugaku Zasshi.* 37(1) : 62—67.
34. Shoyama, Y., K. Hatano and I. Nishioka. 1983. Clonal multiplication of *Pinellia ternata* by tissue culture. *Planta Medica* 49 : 14—16.

35. Syono, Y. 1965. Changes in organ forming capacity of carrot root calluses during subcultures. *Plant and Cell Physiol.* 6 : 403-416.
36. Tamura, Y., S. Nakamura, H. Fukui and M. Tabata. 1984. Clonal propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni by stem-tip culture. *Plant Cell Reports* 3 : 183-185.
37. Thompson, J. A., R. Abdullah and E. C. Cocking. 1986. Protoplast culture of rice (*Oryza sativa* L.) using media solidified with agarose. *Plant Science* 47 : 123-133.
38. Thompson, J. A., R. Abdullah, W. H. Chen and K. M. A. Gartland. 1987. Enhanced protoplast division in rice (*Oryza sativa* L.) following heat shock treatment. *J. Plant. Physiol.* 127 : 367-370.
39. Thorpe, T. A. and K. R. Patel. 1984. Clonal propagation: Adventitious buds. In *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol. I. Laboratory procedures and their applications* (ed. by I. K. Vasil). pp. 49-60. Academic Press, Inc. New York.
40. Tsay, H. S., P. C. Lai and L. J. Chen. 1982. Organ differentiation from callus derived from anther, stem and tuber of sweet potato. *J. Agric. Res. China* 31(3) : 191-198.
41. Tsay, H. S. and L. J. Chen. 1984. The effects of cold shock and liquid medium on callus formation in rice anther culture. *J. Agric. Res. China* 33(1) : 24-29.
42. Vanstaden, J., N. Zieslin, H. Spiegelstein and A. H. Halervy. 1981. The effect of light on the cytokinin content of developing rose shoots. *Ann. Bot.* 47 : 155-157.
43. Vasil, V. and I. K. Vasil. 1980. Isolation and culture of protoplasts. 2. Embryogenesis and plantlet formation from protoplasts of *Penisetum americanum*. *Theor. Appl. Genet.* 56 : 97-99.
44. Wang, D. Y. and K. Yan. 1974. Somatic embryogenesis in *Echinochloa crusgalli*. *Plant Cell Reports* 3 : 88-90.

## Studies on the Callus Formation and Plant Regeneration of *Pinellia Ternata*<sup>1</sup>

Chung-Chuan Chen, Tzong-Guey Gau and Hsin-Sheng Tsay<sup>2</sup>

### Summary

*Pinellia ternata* was first recorded in Shen-Nung-Pentsao-Ching (神農本草經) under third category and was also recorded in the successive Pentsao or the descending dynasties. It has been widely used to prevent vomiting with analgesic and sedative effects for thousands of years in China. The tubers collected from plants naturally grown in the mountain or propagated by traditional method are far from enough for medicinal use. The tissue culture method was therefore studied in attempt to mass-propagate this medicinal crop. The results are summarized as follows :

1. Callus was successfully induced on medium containing MS salts with 4–8mg/l 2, 4-D. Bulbil was the best organ for inducing callus among four tested tissue organs (bulbil, root tip, leaf blade and immature seed).

2. Pretreatment of bulbils at 9°C for 14–22 days enhanced the percentage of callus formation. Dark culture of bulbils also shown positive effect in inducing callus.

3. Adventitious buds could be regenerated from either callus or the excised explant directly. Difference in the ability of regeneration was observed among different plant organs with bulbil showing the highest regeneration ability followed by root tip, immature seed and leaf blade.

---

1. Contribution No. 1446 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Professor and assistant of China Medical College and senior tissue culturist of Taiwan Agricultural Research Institute, Taicung, Taiwan, ROC.