

印度棗莖頂組織培養之研究

葉如毓¹⁾ 楊耀祥²⁾

關鍵字：印度棗、莖頂培養

摘要：本研究採用台灣栽培印度棗 (*Zizyphus mauritiana* Lam.) 主要品種高朗 1 號為試驗材料，探討培養基組成及培養方法對莖頂培養之影響。在新梢長旺盛期，採取長約 5cm 頂部，切取長約 0.5mm 大小帶 4 個葉原體的生長點，植入 1/2MS 添加 0.1mg/l BA、0.5mg/l IBA 之固態培養基進行初代培養，經 30 日後移植於相同配方之固態培養基，可以促進培植體生長。培植體經初代培養後移至增殖培養基中培養，以 1/2MS 添加 0.5mg/l kinetin 及 0.05mg/l IBA 之培養基培養枝梢 30 日後可獲得增殖之枝梢。經增殖培養所得長 10mm 之莖頂扦插於含 IBA 2.5mg/l 之 1/2MS 培養基中暗處理培養 7 日後，移至 auxin-free 之培養基培養 23 日，可獲發根小苗。

前 言

印度棗的繁殖方法主要有實生及嫁接，利用實生法易產生變異，不易維持優良特性，故僅用於砧木之培育；而扦插繁殖有發根不易之問題，嫁接法則為傳統的苗木繁殖法，生產苗木之速度慢，耗費人工，可獲株數少，且受限於季節性，無法有效大量生產。因此利用植物組織培養技術，以莖頂組織培養方法，建立一套可快速、大量繁殖健康果樹種苗的模式，進而應用在新育成優良品種之繁殖及種源的保存與交換上。有關印度棗之組織培養報告並不多，其皆為國外所發表之研究，且多以單節培養為培植體進行大量繁殖及發根之初步成果 (Goyal and Arya, 1985; Rathore *et al.*, 1992; Mathur *et al.*, 1995)，而在國內尚未有相關報告發表，因此本研究採用台灣栽培印度棗之主要品種高朗 1 號，主要目的在探討不同階段適合的培養方法，以期能藉此建立印度棗莖頂培養技術，以供作

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。

未來印度棗大量生產健康優良種苗與種源保存等之參考。

材料及方法

一、試驗材料及培養方法

(一)、植物材料

本研究使用材料為雲林縣斗六市陳信志先生所栽培之 6-7 年生高朗 1 號印度棗，供試植株栽培於田間，依一般果園管理，採芽前未進行任何預措處理，僅採取生長旺盛時期之莖頂為試驗材料。

(二)、培養環境

基本培養基以 MS (Murashige and Skoog 1962) 培養基為主，其成分包括大量元素 (macronutrients)、鐵源 (iron source)、微量元素 (micronutrients) 及有機酸與維生素 (organic acid and vitamins) 等四部份，分別配製成不同濃度之母液備用。初代、增殖及發根培養時，培養基中添加蔗糖 30 g/l。在初代及增殖試驗時，固態培養基以洋菜 (Bacto-agar) 每公升添加 8g，液態培養基則以濾紙橋供培養介質用，而發根培養基則以洋菜 (Bacto-agar) 每公升添加 6g；培養基之 pH 值皆在加入洋菜前以 1N 之 KOH 或 1N 之 HCl 將 pH 值調整為 5.7-5.8。初代培養階段以 50ml 指形瓶分裝，每瓶裝 10ml 之培養基，增殖培養以 500ml 三角瓶培養，每瓶裝 100ml 之培養基，各型瓶口以雙層鋁箔紙加封。發根培養以 Agripot 培養，每瓶分裝 80ml 之培養基，其通氣口以棉花塞住。最後置於殺菌釜內以 1.25kg/cm² 之壓力，121°C 高溫殺菌 15 分鐘後，取出冷卻待用。培養室溫度為 25±1°C，光強度為 69 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，每日光照 16 小時。

二、試驗方法

(一)、初代培養

民國 87 年 4 月起，採取生長中的高朗 1 號新梢，長約 5cm，除去葉片後，以 1% 之 NaOCl 震盪消毒 10 分鐘，在無菌操作台內用無菌水淋洗 5 次，於解剖顯微鏡下切取長約 0.5mm 含 4 個葉原體之莖頂生長點，做為培植體。

1. 基本鹽類及培養基形態對初代培養之影響

為探討培養基之鹽類濃度及形態對莖頂生長點培植體成活之影響，以 4 種不同濃度，包括 1/4MS、1/2MS、MS 及 2MS 之培養基培養，每一處理除添加蔗糖 30 g/l 之外，並不添加任何生長調節物質。各濃度之培養方式分為固態培養及濾紙液態培養 2 種，共 8 種處理，每處理 10 瓶，每瓶各植入 1 個莖頂，重複 2 次。培養 30 日之後調查其成活率及鮮重。

2. 生長調節物質對初代培養之影響

(1) 不同濃度 IBA 對初代培養之影響

將莖頂植入含不同濃度 IBA (0、0.05、0.1、0.25、0.5、1 及 2 mg/l) 之 1/2MS 基本培養基並添加 30 g/l 蔗糖，每處理取植 10 個莖頂，培植體植入後 30 日調查其成活率、鮮重及癒傷組織量。

(2) 不同濃度 BA 對初代培養之影響

將莖頂植入含不同濃度 BA (0、0.05、0.1、0.25、0.5、1 及 2 mg/l) 之 1/2MS 並添加蔗糖 30 g/l 之固態培養基上，每處理取植 10 個莖頂，培植體植入後 30 日調查其成活率、鮮重及癒傷組織量。

(3) BA 及 IBA 相互效應對初代培養之影響

為探討 cytokinin 與 auxin 相互組合是否對促進培植體鮮重有正面之影響，本試驗以前二項所得最佳之 cytokinin 與 auxin 濃度相互組合進行試驗。分別以三種不同濃度之 BA (0、0.05、0.1 mg/l) 與 IBA (0、0.25、0.5 mg/l) 相互組合進行試驗，每處理取植 10 個培植體，培養 30 日後調查其成活率、鮮重及癒傷組織量。

(二)、增殖培養

1. Kinetin 與 IBA 相互效應對芽體增殖之影響

將初代培養所得之芽體以 BA 0.1 mg/l、IBA 0.5 mg/l 繼代 3 次後植於含四種不同濃度 kinetin (0、0.5、1、2 mg/l) 與四種不同濃度 IBA (0、0.05、0.5、1 mg/l) 相互組合之 1/2MS 培養基，每個處理取植 3 個芽體，重複 2 次。培植體植入 30 日後進行調查。

2. 不同繼代次數對芽體增殖之影響

在增殖試驗中發現，經繼代 3 次之芽體其增殖倍數仍不理想，故取經由增殖試驗所得約 5mm 大小之第 1 代、5 代及 10 代枝梢為芽體進行增殖試驗，增殖培養每 30 日進行一次，每增殖一次，代數增加一代。培養基以 0.5 mg/l kinetin 及 0.05 mg/l IBA 之 1/2MS 並添加 30 g/l 蔗糖及 7 g/l 洋菜之固態培養基為主，每個處理取 3 個芽體，2 重複。芽體植入 30 日後調查其增殖倍數及鮮重。

(三)、發根培養

1. 不同濃度 IBA 前處理培養基對發根之影響

供試驗枝梢以添加 0.5 mg/l kinetin 及 0.05 mg/l IBA 之 1/2MS 培養基約 10 次以上繼代培養後，取長約 1 cm 之枝梢先植於含 IBA 0、2.5、5、10 或 20 mg/l 之 1/2MS 前處理培養基，每處理取植 10 支枝梢，經 7 日暗處理後，移至基本發根培養基中，再經 23 日後調查各處理之發根率、平均根數及根長。

2. 暗處理對發根之影響

供試驗枝梢經 0.5 mg/l kinetin 及 0.05 mg/l IBA 之 1/2MS 培養基約 10 次以上繼代培養後，取長約 1 cm 之枝梢先植於含 IBA 2.5 mg/l 之 1/2MS 前處理培養基中培養 7 日後，移至基本發根培養基中。又枝梢分別經 1、4、7 及 10 日之暗處理或無暗處理(光處理)後，

移出光照，光強度為 $69 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 之光照條件。每處理取植 10 支枝梢。暗處理之方式為將整支培養瓶，置於暗箱內；無暗處理之方式則直接將培養瓶置於 $69 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 之光照條件下。調查各處理之發根率、平均根數及根長之時間為前處理開始後 30 日進行。

3. 暗處理期間不同日數 IBA 前處理對發根之影響

本試驗與前項試驗同時進行，供試枝梢取自添加 0.5 mg/l kinetin 及 0.05 mg/l IBA 之 1/2MS 培養基約 10 次以上繼代培養後，取長約 1 cm 之枝梢植於含 IBA 2.5 mg/l 之 1/2MS 前處理培養基中，經 0、1、4、7 及 10 日之處理，每處理取植 10 支枝梢，枝梢在培養初期經 7 日暗處理後，移出至 $69 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光照下見光並植入基本發根培養基中，於前處理開始後 30 日調查各處理之發根率、平均根數及根長。

結 果

一、初代培養

在鹽類濃度及培養基形態對初代培養之影響方面，其結果如表 1 所示。由結果發現以固態培養基及低鹽類濃度培養者之成活率有較高之趨勢，皆達 100%。培植體之鮮重，在固態培養基以 1/2MS 者為最重，達 1.5 mg，2MS 者最差，僅為 0.7 mg。在濾紙液態培養時，培植體鮮重以 2MS 為最重，達 1.7 mg，1/4MS 最輕僅有 0.9 mg。其中雖然 2MS 為最重，但大部份培植體均有水化及黃化現象，故無利用價值；此外，其他各處理亦有水化及黃化現象。

表 1. 不同形態及濃度之 MS 培養基對印度棗初代培養之影響^z

Table 1. Effects of medium types and different concentration MS on shoot tip culture of Indian jujube *in vitro*^z

培養基 Medium	固態培養基 Solid agar medium		液態培養基 Paper bridge medium	
	成活率 Survival percentage (%)	鮮重 Fresh weight (mg)	成活率 Survival percentage (%)	鮮重 Fresh weight (mg)
2MS	50	0.7±0.3 ^y	40	1.7±1.3 ^y
MS	70	1.2±0.2	50	1.2±0.4
1/2 MS	100	1.5±0.3	70	1.3±0.3
1/4 MS	100	1.4±0.2	70	0.9±0.2

^z：培養基添加 30g/l 蔗糖，培養後 30 日調查。

^z：Medium contain 30 g/l sucrose. Investigated on the 30th day after culture.

^y：平均值±標準誤差。 ^y：Average ± standard error.

在生長調節物質對莖頂生長點培養之影響方面，培養基添加 IBA 之結果如表 2 所示。由結果發現各處理之成活率皆為 100%，在鮮重方面則隨 IBA 濃度增加而有增加之趨勢，但 IBA 濃度過高(1 mg/l 以上)，培植體之表現有參差不齊之現象且基部產生較多之硬化癒傷組織。

培養基添加不同濃度 BA 對初代培養影響之結果如表 3 所示。由結果發現各處理之成活率皆為 100%。在正常培植體方面，以培養基中含 BA 0.1 mg/l 之鮮重較重為 1.6 mg；隨 BA 濃度增加雖可提高鮮重但培植體基部產生大量癒傷組織，使芽體無法生長；不利後續的培養。不添加 BA 時，芽體亦能生長且與低濃度 BA 處理者(0.05、0.1 mg/l) 之間差異不大。

在 BA 與 IBA 相互效應對初代培養之影響方面，其結果如表 4 所示。全部處理之成活率皆可達 100%；培植體可順利展葉。在 BA 0.1 mg/l 添加 IBA 0.5 mg/l 時，培植體鮮重最重可達 3.1 mg，當 BA 與 IBA 相互組合時，培植體基部皆會形成少量之癒傷組織。

表 2. 不同濃度 IBA 對印度棗初代培養之影響^z

Table 2. The effect of different concentration IBA on shoot tip culture of Indian jujube *in vitro*^z

IBA (mg/l)	培植數 No. of Explant	成活率 Survival percentage (%)	鮮重 Fresh weight (mg)	癒傷組織量 ^y Amount of callus ^y
0	10	100	1.5±0.3 ^x	-
0.05	10	100	1.5±0.2	-
0.1	10	100	1.7±0.1	+
0.25	10	100	1.7±0.2	+
0.5	10	100	1.9±0.1	+
1	10	100	2.0±1.0	++
2	10	100	2.0±0.5	++

^z: 培養基為 1/2MS 添加 30g/l 蔗糖及 8g/l 洋菜，培養後 30 日調查。

^z: Medium contain 30 g/l sucrose and 8 g/l agar. Investigated on the 30th after culture.

^y: 癒傷組織量: - : 無癒傷組織, + : 癒傷組織少量(<2mg), ++ : 癒傷組織量(>2mg), +++ : 癒傷組織大量(>5mg)。

^y: Amount of callus: - : no callus, + : small callus (<2 mg), ++ : middle callus (>2 mg) +++ : large callus (>5 mg).

^x: 平均值±標準誤差。

^x: Average ± standard error.

表 3. 不同濃度 BA 對印度棗初代培養之影響^z

Table 3. The effect of different concentration BA on shoot tip culture of Indian jujube *in vitro*^z

BA (mg/l)	培植數 No. of Explant	成活率 Survival percentage (%)	鮮重 Fresh weight (mg)	癒傷組織量 ^y Amount of callus ^y
0	10	100	1.5±0.2 ^x	-
0.05	10	100	1.5±0.2	-
0.1	10	100	1.6±0.3	+
0.25	10	100	3.1±0.8	+
0.5	10	100	2.0±0.5	+
1	10	100	2.2±0.9	++
2	10	100	2.0±2.5	+++

^z：培養基為 1/2MS 添加 30g/l 蔗糖及 8g/l 洋菜，培養後 30 日調查。

^z：Medium contain 30 g/l sucrose and 8 g/l agar. Investigated on the 30th after culture.

^y：癒傷組織量：-：無癒傷組織，+：癒傷組織少量(<2mg)，++：癒傷組織量(>2mg)，+++：癒傷組織大量(>5mg)。

^y：Amount of callus：-：no callus，+：small callus (<2 mg)，++：middle callus (>2 mg) +++：large callus (>5 mg).

^x：平均值±標準誤差。

^x：Average ± standard error.

二、增殖培養

在 kinetin 與 IBA 相互效應對芽體增殖之影響方面，其結果如表 5 所示。培養基中僅添加 kinetin 或 IBA 者對芽體不具增殖效果。在 kinetin 0.5 mg/l 添加 IBA 0.05 mg/l 之組合可獲最佳之增殖倍數，不但不產生癒傷組織而且芽體生長正常，有利於後續培養。另外在 kinetin / IBA 濃度為 1 / 1 及 2 / 1 mg/l 者，培植體葉片呈水化現象。

在不同繼代數對芽體增殖之影響方面，結果如表 6 所示。由結果發現第 1 代芽體之增殖情形較其他代數為差，僅維持 1 個芽體。隨繼代數之增加芽體增殖倍數有提高之情形，繼代第 10 代之芽體，可獲得 3.7 倍之增殖。在鮮重方面亦有隨繼代數增加而增加的現象。在增殖過程中，代數少之芽體培養形成新枝梢的時間較其他代數為緩慢，繼代 10 次之芽體於培養二週後即開始有明顯之多芽體產生，但其主梢具很強的頂端優勢，導致其他側芽生長不整齊，較為短小。

表 4. BA 及 IBA 對印度棗初代培養之影響^zTable 4. Effects of BA and IBA on shoot tip culture of Indian jujube *in vitro*^z

BA (mg/l)	IBA (mg/l)	培植數 No. of Explant	成活率 Survival percentage (%)	鮮重 Fresh weight (mg)	癒傷組織量 ^y Amount of callus ^y
0	0	10	100	1.5±0.1 ^x	-
	0.25	10	100	1.7±0.2	-
	0.5	10	100	1.9±0.1	-
0.05	0	10	100	1.6±0.6	-
	0.25	10	100	3.0±0.5	+
	0.5	10	100	2.3±0.6	+
0.1	0	10	100	1.6±0.2	+
	0.25	10	100	3.0±0.5	+
	0.5	10	100	3.1±0.7	+

^z: 培養基為 1/2MS 添加 30g/l 蔗糖及 8g/l 洋菜，培養後 30 日調查。

^z: Medium contain 30 g/l sucrose and 8 g/l agar. Investigated on the 30th after culture.

^y: 癒傷組織量：-：無癒傷組織，+：癒傷組織少量(<2mg)，++：癒傷組織量(>2mg)，+++：癒傷組織大量(>5mg)。

^y: Amount of callus：-：no callus，+：small callus (<2 mg)，++：middle callus (>2 mg)，+++：large callus (>5 mg).

^x: 平均值±標準誤差。

^x: Average ± standard error.

三、發根培養

在 IBA 前處理培養基對發根之影響方面，其結果如表 7 所示。由結果發現培養於 IBA 5 mg/l 者發根率最好，達 80 %。其中又以 IBA 2.5 mg/l 前處理者可獲得較佳之根數及根長。當 IBA 濃度過高則側根數少、根亦愈短。而 IBA 濃度在 5 mg/l 以上者枝梢基部產生少量癒傷組織，且隨濃度之提高而有愈嚴重之趨勢。

暗處理對發根影響之結果如表 8 所示。由結果發現經 10 日暗處理者發根率達 80 %，其次為經 7 日暗處理者可達 70 %。在平均根數及根長方面則以經 7 日暗處理者表現最佳。

表 5. Kinetin 及 IBA 對印度棗芽體增殖之影響^z

Table 5. Effect of Kinetin and IBA on shoot proliferation of Indian jujube *in vitro*^z

Kinetin (mg/l)	IBA (mg/l)	增殖倍數 Multiplication rate	鮮重 Fresh weight (mg)	長度 Length (mm)	癒傷組織量 ^y Amount of callus ^y
0	0	1	2.6	11.6	-
	0.05	1	2.7	9.3	-
	0.5	1	3.5	11.9	-
	1	1	2.3	6.9	+
0.5	0	1	2	13	-
	0.05	2	3.8	11.9	-
	0.5	1.3	3.1	7.3	+
	1	1	2.2	9.1	-
1	0	1	1.8	9.2	-
	0.05	1.3	2.8	9	+
	0.1	1	1.5	8.2	+
	1	1	2.2	6.4	-
2	0	1	2.6	11.4	-
	0.05	1.3	2.9	11.6	+
	0.1	1.3	2.4	10.6	-
	1	1	2.3	7.4	+

^z: 培養基為 1/2MS 添加 30g/l 蔗糖及 8g/l 洋菜，培養後 30 日調查。

^z: Medium contain 30 g/l sucrose and 8 g/l agar. Investigated on the 30th after culture.

^y: 癒傷組織量: - : 無癒傷組織, + : 癒傷組織少量 (<2mg), ++ : 癒傷組織量 (>2mg), +++ : 癒傷組織大量 (>5mg)。

^y: Amount of callus: - : no callus, + : small callus (<2 mg), ++ : middle callus (>2 mg), +++ : large callus (>5 mg).

表 6. 不同繼代次數對印度棗芽體增殖之影響^z

Table 6. The effect of subculture number on shoot proliferation of Indian jujube *in vitro*^z

繼代數 No. of subculture	增殖倍數 Multiplication rate	鮮重 Fresh weight (mg)
1	1	3.5
5	2.6	4.8
10	3.7	8.4

^z: 培養基為 1/2MS 添加 Kinetin 0.5mg/l、IBA 0.05mg/l、30g/l 蔗糖及 8g/l 洋菜，培養後 30 日調查。

^z: Medium contain Kinetin 0.5mg/l, IBA 0.05mg/l, 30 g/l sucrose and 8 g/l agar. Investigated on the 30th after culture.

表 7. 不同濃度 IBA 處理對印度棗枝梢發根之影響^zTable 7. The effect of IBA pretreatment on shoot rooting of Indian jujube *in vitro*^z

IBA (mg/l)	發根率 Rooting percentage (%)	根數 No. of roots	平均根長 Ave.length of root (cm)
0	0	0	0
2.5	70	3.5	4.1
5	80	2.2	3.9
10	30	2	1.3
20	30	1.6	0.3

^z: 前處理為 1/2MS 基本培養基，暗處理 7 日後移至 auxin-free 之基本發根培養基，23 日後調查。

^z: Shoots were placed on 1/2MS medium and kept in darkness for 7 days, then transplanted to auxin-free 1/2MS medium for 23 days.

表 8. 不同日數暗處理對印度棗枝梢發根之影響^zTable 8. The effect of dark treatment days on shoot rooting of Indian jujube *in vitro*^z

暗處理日數 Dark treatment (days)	發根率 Rooting percentage (%)	根數 No. of roots	平均根長 Ave.length of root (cm)
0	30	1.3	3.2
1	30	1.3	3.5
4	30	2.6	3.3
7	70	3.4	4.5
10	80	2	3.9

^z: 前處理為 1/2MS 添加 IBA 2.5mg/l，枝梢在前處理 7 日後移至 auxin-free 之基本發根培養基，23 日後調查。

^z: Shoot were placed on 1/2MS medium containing IBA 2.5 mg/l for 7 days pretreatment, then transplanted to auxin-free 1/2MS medium for 23days.

暗處理期間不同日數 IBA 前處理對發根影響之結果如表 9 所示。由結果發現無論在發根率、平均根數及根長部分均以經 7 日 IBA 前處理者最佳，經 10 日 IBA 前處理者雖可達 80 % 發根率，但根數僅 1.3 支。未經 IBA 前處理者發根率為 0，其餘發根率皆低。

表 9. 暗處理期間之不同日數 IBA 前處理對印度棗枝梢發根之影響^z

Table 9. The effect of IBA Pretreatment days on shoot rooting of Indian jujube and kept indarkness *in vitro*^z

IBA 前處理日數 IBA pretreatment (days)	發根率 Rooting percentage (%)	根數 No. of roots	平均根長 Ave.length of root (cm)
0	0	0	0
1	20	2	2.5
4	30	2	3.8
7	80	4	4.1
10	80	1.3	3.5

^z：前處理為 1/2MS 添加 IBA2.5 mg/l，經 7 日暗處理，23 日後調查。

^z：Shoot were placed on 1/2MS medium containing IBA 2.5 mg/l and kept darkness for 7 days.

討 論

一、初代培養

在培養基形態及鹽類濃度之影響上，許多果樹如芒果以半固態 (Thomas and Ravindra, 1997)、柿 (黃及楊, 1998) 及鳳梨釋迦與冷子番荔枝 (蔡黃, 1998) 皆以固態培養可獲較佳成活率。本研究以固態培養可獲最高之成活率及鮮重。另外，培養基中適當的鹽類濃度對初代培養成活亦有很大之影響，大部分木本植物進行培養時，宜使用鹽類濃度較低之培養基；本試驗結果發現當鹽類濃度太高時，成活率及鮮重降低，可能為高鹽類濃度對培植體造成毒害。Sul 及 Koeban (1998) 亦指出液態培養基缺乏穩定之緩衝作用，若以高濃度 NH₄⁺ 及 NO₃⁻ 之培養基培養時，游離銨基酸會產生毒性物質抑制培植體生長或造成水化現象。然而培養基中之氮與碳除了會影響組織或細胞的滲透潛勢外，也會降低 rubisco 的活性。在液態培養時易產生黃化及水化之現象；推測其可能原因與培養基水分潛勢較高及營養源不足有關。在培養時添加生長調節物質，亦為影響初代培養之重要因子。莖頂為 auxin 物質之主要合成部位，因此在初代培養時生長素的使用並非必要；但是為提

高初代培養培植體的存活率與生長，通常會將 auxin 及 cytokinin 混合使用。本研究在印度棗中發現在 1/2MS 添加 BA 0.1mg/l、IBA 0.5mg/l、sucrose 30g/l 及 agar 8g/l 之固態培養基中，每日光照 16 小時下持續培養，可獲得較佳之效果。

二、增殖培養

Goyal 及 Arya (1985) 認為印度棗以 BA 1mg/l 及 NAA 0.05mg/l 之組合可誘導多數側芽產生。Rathore 等人 (1992) 指出印度棗以 BA 7.5mg/l 及 IAA 0.1mg/l 之組合可誘導 4~5 個芽體。Mathur 等人 (1995) 認為以 11 μ M BA 及 0.5 μ M IAA 之組合可促進枝梢增殖。本研究發現印度棗培養於 kinetin 0.5mg/l 與 IBA 0.05 mg/l 者可獲較高的增殖倍數，當不添加生長調節物質或僅添加 kinetin 時有利於枝梢抽長，因此推測可能為 GAs 之釋放而刺激枝梢生長。木本植物組織培養成功，通常與植株的幼年狀況有直接的關係。幼年期較成熟期的組織容易再生，生長旺盛之部位較休眠之部位再生能力強，因此木本植物常利用強剪提高幼年性以利培養。Jorden 等人 (1998)、Smagula 及 Harker (1997) 均指出增加繼代數及添加 cytokinin 可回復幼年性並提高芽體的增殖倍數。蔡 (1993) 亦指出培植體來源對澳洲胡桃枝梢增殖有影響，不同代數枝梢培養結果中，代數較高之枝梢，增殖倍數較高且增殖速率亦提高。在印度棗增殖方面亦發現繼代數少之芽體培養形成新梢的時間較其他代數為緩慢，隨繼代數增加可提高芽體的增殖倍數，推測可能與幼年性之回復有關。此外印度棗之主梢生長時，容易導致其他側芽生長不整齊，較為短小，可能為印度棗枝梢具較強之頂端優勢。

三、發根培養

部分果樹枝梢以組織培養方式進行瓶內扦插繁殖時，常受品種本身特性，再分化能力及植株年齡等影響而面臨不易發根的問題，無法達到繁殖的目的。因此為了增進瓶苗發根，通常會利用多次繼代培養使培植體回復幼年性 (Pierik *et al.*, 1997)、降低鹽類濃度 (Naik *et al.*, 1998; Pirela Fuenmay and Mogllon Montero, 1997)、採用適當生長調節物質種類及濃度 (Purohit and Singhvi, 1998)、發根前處理、暗處理及適當糖類等。Rathore 等人 (1992) 利 White's 液體培養基添加 25mg/l IBA，經 48 小時前處理誘導發根後，移至 auxin-free 之基本培養基中，可獲 40-50% 之發根率。本研究在預備試驗階段曾參照 Rathore 等人 (1992) 之發根方法進行試驗，發現在培植體基部會產生大量癒傷組織，不利根的形成，因此本研究採用 1/2MS 固態培養基進行低濃度長時間處理 IBA 之方式誘導發根。試驗中以 IBA 2.5mg/l 添加於 1/2MS 培養基，經 7 日浸漬及暗處理誘導發根後，移至 auxin-free 之基本培養基中，7 日後可見瓶苗發根。由試驗過程中發現，繼代數少之枝梢發根率較低，因此利用 10 代左右之枝梢進行發根試驗，可獲得較佳發根率及較多根數之帶根苗。

綜合本研究各項試驗結果顯示，在新梢生長旺盛期取長約 5cm 莖頂，於解剖顯微鏡

下，切取長 0.5mm 含 2 組葉原體之生長點，植入 1/2MS 添加 0.1mg/l BA 及 0.5mg/l IBA 之固態培養基進行初代培養，經 30 日後移植於相同培養基中繼續培養，經 10 次繼代培養之後，即可移入含 0.5mg/l kinetin 及 0.05mg/l IBA 之 1/2MS 培養基進行增殖培養，每 30 日可繼代培養一次。在發根培養時，可將枝梢培養於含 IBA 2.5 mg/l 之培養基中，經 7 日之前處理及暗處理之後，移入 auxin-free 之 1/2MS 基本培養基中，經 30 日培養後可獲得約 70 % 以上之發根小苗。已發根幼苗經健化後，可於瓶外成活。本研究雖已成功利用高朗 1 號品種建立印度棗莖頂組織培養技術，但目尚有許多問題待解決，如增殖培養時，需經多次繼代培養後始有多芽體產生，並且印度棗之頂端優勢強，容易抑制其側芽的萌發，因此在增殖培養上之問題仍待更進一步的探討以尋求解決的方法。此外有關組織培養苗之生育性狀及田間表現則需進行長期評估以建立一套可行的商業生產微體繁殖苗的模式。

謝 辭

本研究承陳信志先生提供試驗材料，葛齊家小姐及羅惠萍同學協助採取莖頂及試驗調查，謹此一併致謝。

參 考 文 獻

- 黃慧美、楊耀祥。1998。霧台柿莖頂組織培養之研究。興大園藝。23 (1)：1-16。
- 蔡佩君。1993。澳洲胡桃莖頂組織培養之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。
- 蔡黃敏。1998。鳳梨釋迦及冷子番荔枝莖頂組織培養之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- Goyal, Y. and H. C. Arya. 1985. Tissue culture of desert tress II. Clonal multiplication of *Zizyphus in vitro*. J. Plant Physiol. 119: 399-404.
- Jordan, A. M., M. C. Calvo, and J. Segura. 1998. Micropropagation of adult *Lavandula dentata* plants. J. Hort. Sci. 73(1): 93-96.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15: 473-479.
- Naik, S. K., S. Pattnaik, and P. K. Chand. 1999. In vitro propagation of pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Ganesh) through axillary shoot proliferation from nodal segments of mature tree. Scientia Hort. 79: 175-183.
- Pierik, R. L. M., J. Ooster Kamp, and M. A. C. Ebbing. 1997. Factors controlling adventitious root formation of explants from juvenil and adult *Quercus robur* 'Fastigiata'. Scientia Hort.

71: 81-82.

- Pirela Fuenmay, M. E. and N. J. Mogllon Montero. 1997. In vitro clonal propagation of guava (*Psidium guajava* L.) from stem shoot of cv. Mara-7. *Acta Hort.* 452: 47-52.
- Purohit, S. D. and A. Singhvi. 1998. Micropropagation of *Achras sapota* through enhanced axillary branching. *Scientia Hort.* 76: 219-229.
- Rathore, T. S., R. P. Singh, N. S. Deora, and N.S. Shekhawat. 1992. Clonal propagation of *Zizyphus* species through tissue culture. *Scientia Hort.* 51: 165-168.
- Smagula, J. M. and J. Harker. 1997. Cranberry micropropagation using a lowbush blueberry medium. *Acta Hort.* 447: 343-347.
- Sul, I. W. and S. S. Koeban. 1998. Effects of media, carbon sources and cytokinins on shoot organogenesis in the christmas tree Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *J. Hort. Sci.* 73(6): 822-827.
- Thomas, P. and M. B. Ravindra. 1997. Shoot tip culture in mango: Influence on medium, genotype, explant factors, and decontamination treatments on phenolic exudation, explant survival and axenic culture establishment. *J. Hort. Sci.* 72(5): 713-722.

Studies on Shoot Tip Culture of Indian Jujube (*Zizyphus mauritiana* Lam.) *In Vitro*

Ju-Yu Yeh ¹⁾ Yau-Shiang Yang ²⁾

Key words: Indian Jujube, Shoot tip culture

Summary

Shoot tip culture of the Kaung Laang No.1 Indian Jujube (*Zizyphus mauritiana* Lam.) was studied, optimal micropropagation, shoot rooting and acclimatization were investigated.

Shoot tip were harvested about 5cm in length from actively field grown trees and shoot apices were excised 0.5mm for initial culture. The best grown were achieved when shoot apices culture on solid medium with 1/2MS strength of Murashige and Skoog (MS) containing BA 0.1mg/l and IBA 0.5mg/l, sucrose 30g/l and agar 8g/l and incubated in darkness for 1 days, then incubated in lightness for 29 days. These explants were transferred to the same component solid medium for further growth.

Multiple shoots were induced by 1/2MS medium containing sucrose 30g/l and agar 8g/l plus kinetin 0.05mg/l and IBA 0.05mg/l for 30 days.

For rooting, the shoots grew above 10 mm in height, were placed on 1/2MS medium IBA 2.5mg/l, sucrose 30g/l and agar 6g/l and incubated in darkness for 7 days, then transplanted to an auxin-free 1/2MS medium for 23 days.

1) Graduate Student in MS Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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