

生長素對再生彩葉芋葉色變異之影響

尤進欽* 朱玉 郭純德 王俊雅 賴宛君

國立宜蘭大學園藝學系

摘要

本研究是以彩葉芋‘White Queen’、‘White Christmas’及‘Green Giant White’的葉脈為材料，培養於含三種生長素(NAA、IAA及2,4-D)與細胞分裂素(BA)的MS培養基。NAA處理下會造成‘White Queen’及‘White Christmas’試管內繁殖產生最多的變異，而0.1-1 ppm IAA僅致使‘Green Giant White’9%-14%的葉色變異。所有再生植株於0.1 ppm 2, 4-D培養基中皆沒有出現變異。然而，無植物生長調節劑的培養基，只有0%-5%的葉色變異情形。試驗結果顯示，以0.1-0.5 ppm各式生長素搭配1 ppm BA是最適合彩葉芋試管內繁殖產生最少變異的配方。

關鍵詞：彩葉芋、生長素、變異、微體繁殖、植物生長調節劑

Effects of Auxin on Leaf-colour Variants of Regenerated *Caladium*

Jinn-Chin Yiu* Yu Zhu Chun-Teh Kuo Juan-Ya Wang

Wan-Jun Lai

Department of Horticulture, National Ilan University

Abstract

Vein explants of *Caladium* ‘White Queen’, ‘White Christmas’, and ‘Green Giant White’ were cultured *in vitro* on MS medium containing various auxins (NAA, IAA, and 2, 4-D) in combination with cytokinin (BA). NAA treatments had the most variant of ‘White Queen’ and ‘White Christmas’, as compared to only 9%-14% of ‘Green Giant White’ variants on the medium containing 0.1-1 ppm IAA. Leaf colour variation was not observed in all plants regenerated on the medium containing 2, 4-D at 0.1 ppm. However, only a few leaf-colour variants (0%-5%) occurred in medium without the addition of plant growth regulator.

The results indicated that application of 0.1-0.5 ppm IAA, NAA or 2, 4-D together with 1 ppm BA exhibited the most appropriate for *in vitro* propagation of *Caladium* with only a few leaf-colour variants.

Key words: *Caladium*, auxin; variant, micropropagation, plant growth regulator

*Corresponding author E-mail: jcyiu@niu.edu.tw

前 言

彩葉芋(*Caladium bicolor* Ait.)是一觀賞類天南星科植物及全世界著名的盆花。彩葉芋的繁殖是靠塊莖的分株，此舉耗時且價格高。Sahavacharin (1982)利用葉片進行組織培養繁殖，使得生產彩葉芋變得容易又快速。Tanaka 及 Ikada (1983)報導指出，以纖細單胞菊(*Haplopappus gracilis*)枝梢頂端進行試管內培養是快速繁殖的最佳方式，且可得到穩定基因型的再生植株。然而，彩葉芋栽培種‘Pink Cloud’以試管內再生經常會出現變異體，且這些變異不具觀賞價值。Zhu 等人(1993a)研究指出，再生的‘Pink Cloud’的葉脈會由原先的白色轉為綠色。這些改變對於需大量一致性的商業生產是不利的。雖然彩葉芋利用組織進行試管內繁殖已有 20 年(Sahavacharin, 1982)，但過程中產生變異與品種有關已有報告，尤以栽培種‘Pink Cloud’的頻率最高(Zhu *et al.*, 1993a)。

體細胞變異是現今組織培養主要的問題。在微體繁殖發生變異已在秋海棠及非洲堇中報導(Jain, 1993)。而影響體細胞變異的因素，例如：基因型、培植體種類、培養基成分及培養環境均曾經被注意。在紫露草(*Tradescantia*)雄蕊纖毛顏色誘變效應的分析中指出，培養基的組成成分，包括 2,4-D 並不是致突變劑(Dolezel and Novark, 1984)。因此，發生變異有可能是組織培養過程本身就具有致突變性(mutagenic)。另外，在一些植物種類中，發生變異葉片與培養基中植物生長調節劑的濃度有關(Vajrabhaya, 1977; George and Sherrington, 1984)。非洲菊的微體繁殖數量可由於培養基中細胞分裂素(cytokinin)的含量增加而提高產量。這可能符合快

速繁殖的需求，但會導致叢生化(bushiness)的不正常生長，反而使產量降低了 30%以上(Topoonyanont *et al.*, 1999)。

植物生長調節劑於培養基中會影響細胞核型改變的頻率，並進一步地發生變異體。於再生植物中，變異會出現在植物外觀、葉型及葉片顏色(Bayliss, 1975; Skirvin, 1978)。Zhu 等人(1993b)的研究指出，彩葉芋‘Pink Cloud’的展開葉培養於修改過的 MS 培養基(含 5 $\mu\text{mol/L}$ NAA 及 4.5 $\mu\text{mol/L}$ BA)中，其再生植株會發生葉片顏色變異的植物。因此，本研究目的是要比較不同生長素於不同品種彩葉芋再生的穩定性，以期作為商業生產的參考。

材料與方法

一、植物材料

本試驗選取 3 種彩葉芋栽培種，分別是具有紅色葉脈的*Caladium bicolor* cv. White Queen、綠色葉脈的*Caladium bicolor* cv. White Christmas及白色葉脈的*Caladium bicolor* cv. Green Giant White。一片展開葉之彩葉芋種於直徑 15 cm 塑膠盆中，每週每盆施 2~3 g N-P-K (10-10-10) 肥料(達牌好顧標 10-10-10，臺灣) 1 次，並視狀況噴灑殺蟲劑。植株於夏季時栽種在溫室中(25%遮陰)，日溫 25~35°C。經 3~4 月後，即長成具有 6~7 片展開葉的成熟植株。之後，切取年輕展開葉片(自上方算起第 3、4 片葉)置於自來水沖洗 10 分鐘，小心取其葉脈(紅、白、綠色)使不切割到其它顏色之組織。將每段 5×0.5 cm²培植體置於 0.5%次氯酸鈉(含 0.1% Tween-20)中 10 分鐘，然後於無菌水中漂洗 3 次。培養前，在將培植體切成 1×0.5 cm²數段。培植體來自 3 種葉脈的植株，每一種葉脈取 10 片葉片，分別來自獨立的植株。接著將此葉脈培植體培養於含 Fe-EDTA

之MS培養基 (M5524, sigma)，並外加維他命 (M0404, sigma)； 20 gL^{-1} 蔗糖及 8 gL^{-1} 洋菜。

二、各種生長素的效應

於MS培養基中完全無任何植物生長調節劑與分別添加0.1、0.5及1 ppm的3種生長素及1 ppm 6-苄基腺嘌呤(6-benzyladenine, BA)。生長素種類有：1-萘乙酸(1-Naphth aleneacetic acid, NAA)、3-吲哚乙酸(3-indoleacetic acid, IAA)及2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)。培植體被置於含20 mL培養基的100 mL試管中。然後放於 25°C ，連續冷白光照射($25\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) 90天。當培植體長出眾多枝梢後，將其移植至無生長調節劑的MS培養基中，每4週換一次培養基，共3次。

再生的幼小植株約1~2 cm高時，將其移至含蛭石介質的穴盤中，穴格大小 $5\times 5\times 7\text{ cm}^3$ ，每盤72格。種植後置於噴霧溫室健化1個月。迨植株高2~3 cm，再移至直徑12 cm塑膠盆中生長，介質為泥炭土：蛭石：珍珠石=1:1:1。於玻璃溫室生長3個月，氣溫維持在 $18\text{--}25^{\circ}\text{C}$ ，最高溫在 30°C 以下，光強度在20000-30000 LUX。具有2~3片展開葉後評估葉脈顏色。葉脈變異的評定是自60-72株再生的植株與母本植株相比。

三、統計分析

所有試驗結果皆以變方分析法分析樣品平均值，以最小顯著差異測驗法(LSD) (CoStat 軟體，CoHort Software, Minneapolis, MN)測定樣品平均值間是否有顯著的差異。

結 果

一、紅色葉脈彩葉芋的再生變異模式

本試驗再生的植株具有與母本相同的外型(圖1A)或葉脈變異株，包括：綠色葉脈(圖1B)或綠色葉肉(圖1C)。葉脈變異株在3種生長素培養下皆有發生，且隨濃度越高越嚴重(表1)。經微體繁殖後的變異株百分比以NAA處理者最高，在1 ppm NAA的環境下有32%的變異出現，且在較低濃度

亦有13~17%的變異出現。IAA或2,4-D的處理下，1 ppm時才有15%的變異株，甚至在低濃度可有效降低變異的出現(0~7%)。無植物生長調節劑的培養基再生此種彩葉芋，變異率約5%。

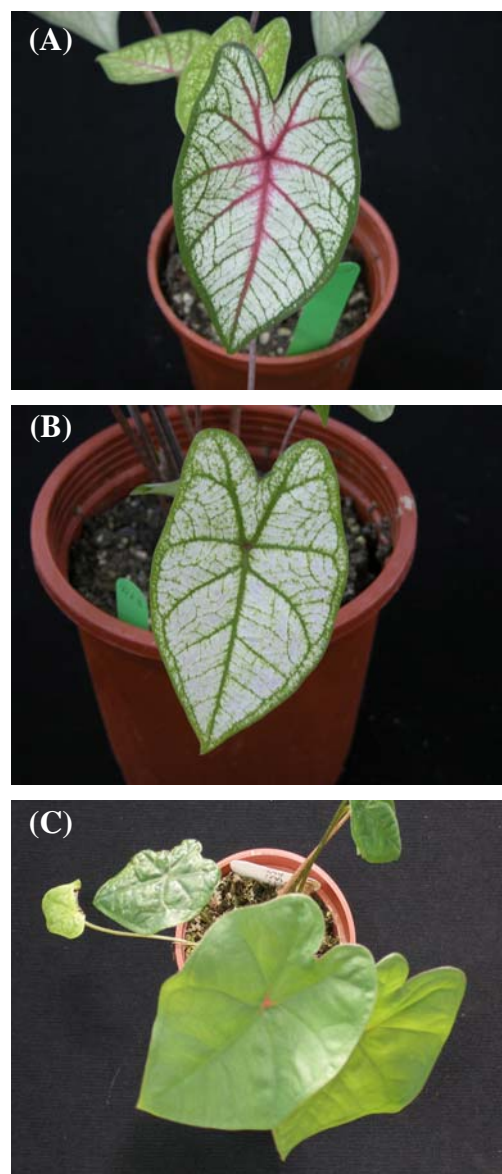


圖 1 彩葉芋'White Queen'葉脈培植體再生植株的變異型式。(A)正常葉片、(B)綠色葉脈的變異及(C)綠色葉肉的變異。

Fig. 1 Types of variation observed in plants regenerated from *Caladium* 'White Queen' vein explants. (A) Normal leaf, (B) variant with green vein and (c) variant with green lamina.

二、綠色葉脈彩葉芋的再生變異模式

本試驗以綠色葉脈彩葉芋為母本，經組織培養再生後具有與母本相同外表型(圖 2A)或全綠色外型(圖 2B)。在沒有植物生長調節劑的環境下，約有 3%的變異率。變異百分率在 NAA 環境者下最高(30%)，2, 4-D 次之(18%)，而 IAA 最低(10%)。濃度越高變異也有越高的趨勢(表 2)。變異株佔最多的是綠色葉肉，其中只有 0.1 ppm IAA 及 2, 4-D 培養基中無此類變異。但即使 NAA 含量在 0.1-0.5 ppm，仍有 8-17%的變異率。

表1 彩葉芋‘White Queen’的葉脈培植體培養於含不同生長素與1 ppm BA中，再生植株的情形

Table 1 Plants of *Caladium* ‘White Queen’ regenerated from vein explants cultured on medium containing different auxins and 1 ppm BA^a.

生長素種類 Auxin type	濃度 Concentration (ppm)	評估植株數 Total evaluated plants	變異數 ^y No. of variants
NAA	0 ^z	60	3(5) a
	0.1	62	8(13) bc
	0.5	64	10(17) c
	1.0	68	22(32) d
IAA	0.1	60	4(7) ab
	0.5	65	7(11) b
	1.0	67	10(15) bc
2, 4-D	0.1	64	0 a
	0.5	63	2(3) a
	1.0	67	10(15) bc

^a 每種處理評估60-68棵植株。括號內數值代表百分比。

^a 60-68 plants per treatment. Values in parentheses indicate the percentage of variant plants.

^z 此處理為無植物生長調節劑之培養基。

^z Hormone-free medium.

^y 以5%水準之最小顯著差異測驗法進行顯著差異分析。

^y Mean within column by LSD at P ≤ 0.05.

三、白色葉脈彩葉芋的再生變異模式

白色葉脈彩葉芋經微體繁殖後出現的變異較少，除與母本相同外(圖 3A)，僅有全綠色外型變異株(圖 3B)。在 IAA 處理下，變異率最高為 14%，且在低濃度 IAA 環境亦有 1 成的突變率(表 3)。而 2, 4-D 環境下，只有 1 ppm 時才有較多的綠色葉脈變異株(8%)。一般而言，含 NAA 培養基中，白色

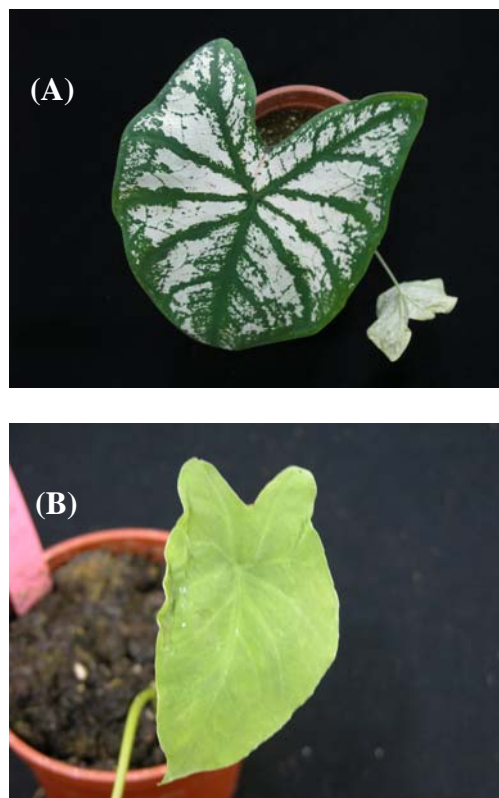


圖 2 彩葉芋‘White Christmas’葉脈培植體再生植株的變異型式。(A)正常葉片及(B)綠色葉肉的變異。

Fig. 2 Types of variation observed in plants regenerated from *Caladium* ‘White Christmas’ vein explants. (A) Normal leaf and (B) variant with green lamina.

葉脈彩葉芋的變異不高，僅 3-6%。無植物生長調節劑的培養基並沒有異型株出現。

討 論

組織培養對於觀賞植物在商業上大量生產提供了一個具有潛力的方式。但繁殖過程多少都會產生體細胞變異的情況，此將造成不小的損失及糾紛。探究造成突變的原因，首先是基因型及所使用培植體的種類。本試驗使用的 3 種葉脈(紅、綠、白色)為不同品種的彩葉芋，因此基因型可能不同。Deng與Harbaugh (2006)的研究指出，紅、白及綠色葉脈是由單一基因座不同等位基因所控制，依其顯

性的相對程度，以紅色最高(V^r)，接著是白(V^w)及綠色(V^g)。紅色葉脈大多為異型接合(V^rV^g)，而白

**表 2 彩葉芋‘White Christmas’的葉脈培植體
培養於含不同生長素與 1 ppm BA 中，再
生植株的情形**

**Table 2 Plants of *Caladium* ‘WhiteChristmas’
regenerated from vein explants
cultured on medium containing
different auxins and 1 ppm BA ^a.**

生長素 種類 Auxin type	濃度 Concen- tration (ppm)	評估植株數 Total evaluated plants	變異數 ^y No. of variants
NAA	0 ^z	60	2(3) a
	0.1	66	5(8) b
	0.5	64	11(17) c
	1.0	67	20(30) d
IAA	0.1	65	0 a
	0.5	68	2(3) a
	1.0	70	7(10) b
2, 4-D	0.1	64	0 a
	0.5	68	5(7) b
	1.0	67	12(18) c

^a 每種處理評估60-70棵植株。括號內數值代表百分比。

^a 60-70 plants per treatment. Values in parentheses indicate the percentage of variant plants.

^z 此處理為無植物生長調節劑之培養基。

^z Hormone-free medium.

^y 以5%水準之最小顯著差異測驗法進行顯著差異分析。

^y Mean within column by LSD at P ≤ 0.05.

色葉脈同型接合的情況較普遍。經微體繁殖後，紅及綠色葉脈的再生彩葉芋變異率相似，最高約為30%左右(表 1、2)，而白色葉脈再生的植株變異的情況較低，最高約 14%(表 3)，且大多轉為綠色葉脈或葉肉。所以，基因型不同可能與變異的程度有些許的關連，這與 Cote 等人(1993)微體繁殖香蕉的結果相似。在培植體種類的使用上，本試驗是以年輕展開葉片的葉脈，且盡量不取到葉肉其它顏色部份，變異的百分率最高為 30%左右，亦有完全無變異者(表 1、2、3)。對照 Ahmed 等人(2002)的研究可得一些有趣結果：作者們以白色葉脈(Pink Cloud)的彩葉芋進行培養，分別以幼嫩組織及成熟組織為培植體，在 1 ppm NAA 與 1 ppm BA 的培養基下再

生植株。幼嫩組織中葉片尖端與幼嫩葉片的再生變異率為 14 及 24%，而成熟組織中未展開葉、展開葉及葉柄的再生變異率為 41、53 及 70%。本試驗以 1 ppm NAA 及 BA 再生紅及綠色葉脈植株，變異率為 30%左右(表 1、2)，雖然培植體為成熟組織，但變異率和 Ahmed 等人(2002)結果中的幼嫩葉片為培植體的變異差不多，而低於未展開葉、展開葉及葉柄為培植體者。若比較本試驗白色葉脈再生變異情形，僅有 14%，則差異更明顯。顯然，以葉脈為培植體的再生變異率較低。不過 Bouman 及 De Klerk (1997)的研究指出，避免體細胞變異除利用分生及幼嫩組織當培植體外，穩定的基因型亦是決定的要素。本試驗利用的 3 個品種變異率較‘Pink Cloud’低也可能是基因型較為穩定的原因。

報導指出，不同生長調節劑對香蕉微體繁殖的變異具有影響 (Bairu *et al.*, 2006)。變異率以 IBA 處理最高，約 55%，IAA 次之，NAA 最低，分別為 40%及 30%。究其原因是，3 種生長素所造成的再生速度不同所致，以 IBA 造成的生長速度最快。但本試驗在不同生長素環境中並沒有明顯的生長速率差異。因此，初步排除因再生快速造成突變率高的推測。

本試驗以無植物生長調節劑的培養基再生 3 種彩葉芋，發現變異率很低(0-5%)，但植株的再生率也非常低(數據未顯示)。此結果與 Ahmed 等人(2004)的結果相似。而 Jain (1993)及 Bouman 與 De Klerk (1996)的研究顯示，植物生長調節劑的濃度對於變異具有顯著的效應。本試驗結果亦顯示，隨著生長素濃度越高，變異的情況也越嚴重(表 1、2、3)。此結果亦符合 Ahmed 等人(2004)的研究，在彩葉芋‘Pink Cloud’品種的再生變異，也是隨著生長素的濃度增加而增加。作者以低濃度 0.001-0.1 ppm NAA 處理，再生的彩葉芋變異率較低，但在 10 ppm NAA 環境下，突變率則高達 60-70%左右。

本試驗 3 個品種的彩葉芋於 2, 4-D 培養基中變異率均最低。紅及綠色葉脈的再生變異率以 NAA 大於 IAA 的效力，而白色葉脈則是 IAA 致使突變的比率較 NAA 高。此結果與 Ahmed 等人(2004)的

結果不大相同，造成彩葉芋‘Pink Cloud’變異最多的依次是 2, 4-D, IAA 及 NAA。2, 4-D 致使所有的再生植株都發生全部葉肉葉色的變異，IAA 亦造成 70~90%的高變異情況，僅有 0.1 ppm NAA 環境下，變異才在 15%左右。

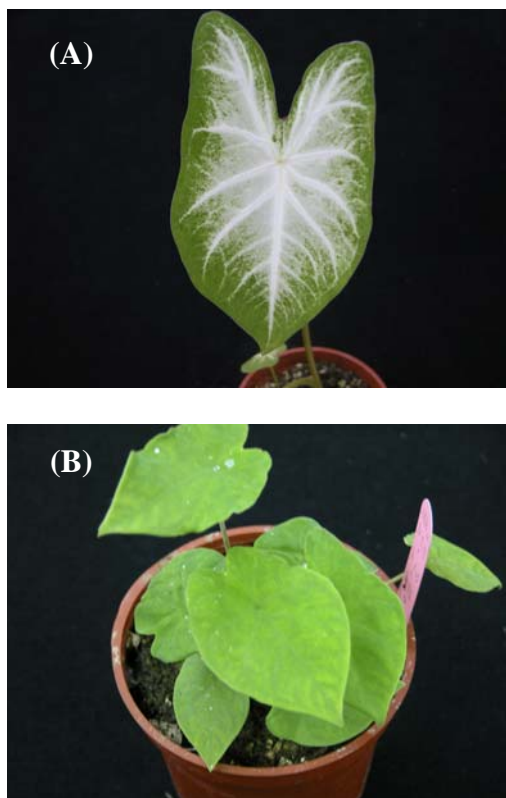


圖 3 彩葉芋‘Green Giant White’葉脈培植體再生植株的變異型式。(A)正常葉片及(B)綠色葉肉的變異。

Fig. 3 Types of variation observed in plants regenerated from *Caladium* ‘Green Giant White’ vein explants. (A) Normal leaf and (B) variant with green lamina.

綜合以上的探討，本試驗除品種不同外，利用葉脈當作培植體減少因取用葉肉組織參雜不同顏色所可能造成的變異，或許可作為組織培養大量生產的培植體。另外，以 0.5 ppm 以下的 2, 4-D 及 0.1-0.5 ppm 的 IAA 或 NAA 作為微體繁殖的生長素能有效抑制變異，將對商業生產有所助益，但是否

適用於其它彩葉芋品種則需更進一步研究。

表 3 彩葉芋‘Green Giant White’的葉脈培植體培養於含不同生長素與 1 ppm BA 中，再生植株的情形

Table 3 Plants of *Caladium* ‘Green Giant White’ regenerated from vein explants cultured on medium containing different auxins and 1 ppm BA^a.

生長素種類 Auxin type	濃度 Concentration (ppm)	評估植株數 Total evaluated plants	變異數 ^y No. of variants
NAA	0 ^z	60	0 a
	0.1	62	2(3) a
	0.5	68	2(3) a
	1.0	62	4(6) ab
IAA	0.1	66	6(9) b
	0.5	65	8(12) bc
	1.0	63	9(14) c
2, 4-D	0.1	65	0 a
	0.5	70	1(1) a
	1.0	72	6(8) b

^a 每種處理評估60-72棵植株。括號內數值代表百分比。

^a 60-72 plants per treatment. Values in parentheses indicate the percentage of variant plants.

^z 此處理為無植物生長調節劑之培養基。

^z Hormone-free medium.

^y 以5%水準之最小顯著差異測驗法進行顯著差異分析。

^y Mean within column by LSD at $P \leq 0.05$.

參考文獻

- Ahmed, E. U., T. Hayashi, and S. Yazawa. 2004. Auxins increase the occurrence of leaf-colour variants in *Caladium* regenerated from leaf explants. *Scientia Hort.* 100: 153-159.
- Ahmed, E. U., T. Hayashi, Y. Zhu, M. Hosokawa, and S. Yazawa. 2002. Lower incidence of variants in *Caladium bicolor* Ait. plants propagated by culture of explants from younger tissue. *Scientia Hort.* 96: 187-194.
- Bairu, M. W., C. W. Fennell, and J. van Staden. 2006. The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (*Musa* AAA cv.

- 'Zelig'). *Scientia Hort.* 108: 347-351
- Bayliss, M. W. 1975. The effects of growth *in vitro* on the chromosome complement of *Daucus carota* (L.) suspension cultures. *Chromosoma* 51: 401-411.
- Bouman, H. and G. J. De Klerk. 1996. Somaclonal variation in biotechnology of ornamental plants. In: Geneve, R., J. Preece, and S. Merkle. (Eds.), *Biotechnology of Ornamental Plants*. CAB International, Wallingford, pp. 165-183.
- Cote, F. X., J. A. Sandoval, Ph. Marie, and E. Auboiron. 1993. Variations in micropropagated bananas and plantains: literature survey. *Fruits* 48: 15-22.
- Deng, Z. and B. K. Harbaugh. 2006. Independent inheritance of leaf shape and main vein color in *Caladium*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 131(1): 53-58.
- Dolezel, J. and F. J. Novak. 1984. Effect of plant tissue culture media on the frequency of somatic mutations in *Tradescantia* stamen hairs. *Zeitschrift für pflanzenphysiol.* 114: 48-51.
- George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics, Eversley.
- Jain, S. M. 1993. Growth hormonal influence on somaclonal variation in ornamental plants. In: *Proceedings of the XVII Eucarpia Symposium on Creating Genomic Variation in Ornamentals*. pp. 93-103.
- Sahavacharin, O. 1982. Rapid propagation of *Caladium* through tissue culture. In: *Plant Tissue Culture. Proceedings of the Fifth International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*. pp. 699-700.
- Skirvin, R. M. 1978. Natural and induced variation in tissue culture. *Euphytica* 27: 241-266.
- Tanaka, R. and H. Ikeda. 1983. Perennial maintenance of annual *Haplopappus gracilis* (2n=4) by shoot tip cloning. *Jpn. J. Genet.* 58: 65-70.
- Topoonyanont, N., R. Ampawan, and P. C. Debergh. 1999. Bushiness in *Gerbera jamesonii*: abnormal shoot development during micro-propagation. *J. Hort. Sci. Biotech.* 74: 675-679.
- Vajrabhaya, T. 1977. Variation in clonal propagation. In: Orditti, J. (Ed.), *Orchid Biology*. Cornell University Press, Ithaca, pp. 179-201.
- Zhu, Y., S. Yazawa, and T. Asahira. 1993a. Varietal differences in leaf color variation of plants regenerated from *in vitro* culture of leaf blade in *Caladium* cultivars. *Jpn. Soc. Hort. Sci.* 62: 431-435.
- Zhu, Y., T. Takemoto, and S. Yazawa. 1993b. Leaf color of plants regenerated through *in vitro* culture from variegated leaf segments of *Caladium*. *Jpn. Soc. Hort. Sci.* 62: 619-624.

95年07月19日投稿

95年09月01日接受