

中華民國第 57 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高級中等學校組 植物學科

最佳團隊合作獎

052106

透明葉窗型多肉植物繁殖與錦斑研究

學校名稱：雲林縣私立揚子高級中學

作者： 高二 張芸慈 高二 許沛君 高二 陳嘉君	指導老師： 陳尚民 劉家齊
---	-----------------------------

關鍵詞：萬象 (*Haworthia maughanii*)、

錦斑 (*Variegatus*)、組織培養 (*tissue culture*)

摘要

本研究以多肉植物百合科-萬象 (*Haworthia maughanii*) 為實驗植株，以生長激素 (Auxins & Cytokinins) 配比、花梗 (inflorescences node) 與不定根等組培技術，建立植株的再生系統，再運用組織培養技術 (tissue culture) 添加植物激素 (Plant hormone) 照射紫外線 (Ultraviolet)，提升植物變異藉以增加錦斑 (Variegatus) 的機率。研究結果顯示，不定根組培方式、生長激素他配紫外線照射，其誘發的錦斑效果皆優。

壹、研究動機

多肉植物在台灣屬於熱門與暢銷的觀賞植物，課堂上老師無意間介紹一款具透明葉窗且有錦斑的多肉植物供大家欣賞，喜歡植物的本人，被此款植物之美深深吸引，課後詢問老師才得知此植物其名為「萬象錦」，屬於萬象變異後的特殊色斑，滿心歡喜想購買一株，網路詢價結果才發覺「萬象錦」售價驚人，非學生所能購買，只好期盼老師能廉價割捨，吾師以天下沒有不勞而獲的道理，贈與本人 10 棵沒有錦斑的萬象，再授予一本組培 (tissue culture) 技術書籍，希望本人從組培實驗中做出屬於自己的萬象錦，這樣既能學到東西又有成就感，至此本人號招兩位植物同好，請老師當顧問，運用學校的組培實驗器材，展開萬象錦實驗序章。

貳、研究目的

本研究的研究目的有下列幾點：

- 一、研究植物錦斑成因，並應用在萬象 (*Haworthia maughanii*) 品系上。
- 二、建立萬象 (*Haworthia maughanii*) 組織培養 (tissue culture) 的再生系統。
- 三、以組培 (tissue culture) 搭配生長激素他配紫外線照射誘發萬象變異出錦斑。
- 四、建立萬象錦繁殖系統，並探討植物出錦斑的觀賞價值與農業經濟效益。

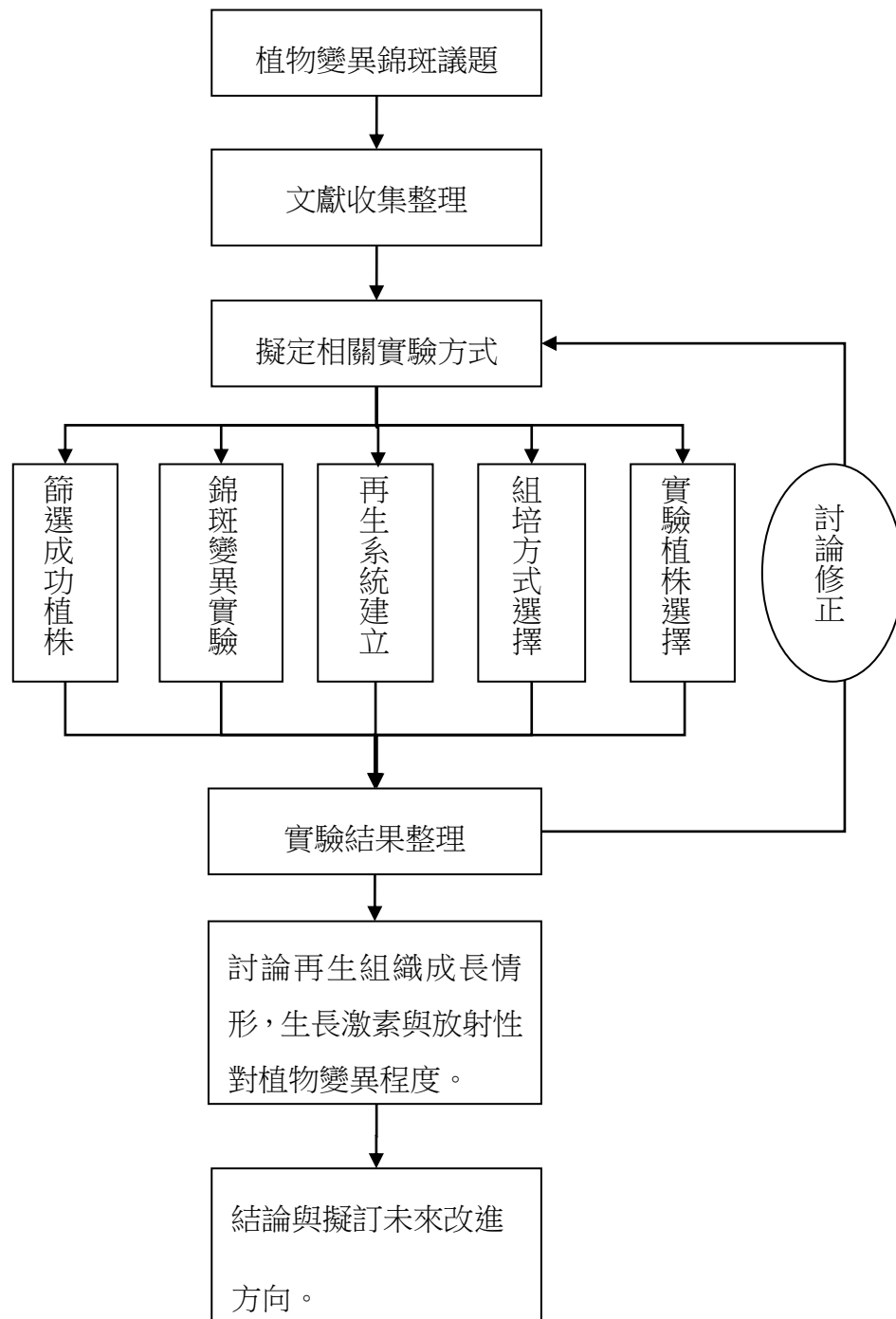
參、研究設備及器材

表一、研究設備及其用途

編號	物品	數量	用途與用量
一	筆記本、筆	1 本 2 支	實驗日記，紀錄觀察結果
二	數位相機	1 台	拍攝實驗植株成長過程
三	Auxins	2 瓶	植物生長激素
四	Cytokinins	2 瓶	植物生長激素
五	MS 基礎培養基	2 瓶	含 NAA 0.5 mg/L，Kinetin 1.0 mg/L
六	蔗糖	2 包	蔗糖濃度 30 g/L
七	ethanol(乙醇)	2 瓶(75%)	消毒實驗藥品
八	水晶洋菜粉 (Gelzan)	2 包	凝結劑
九	二次蒸餾水	50 公升	調配與稀釋實驗藥品
十	NaOH	2 瓶	實驗用藥
十一	畫筆	數支	繪製植株特徵
十二	解剖刀	10 組	分株與觀察
十三	酒精燈	1 盞	加熱與殺菌器材
十四	燒杯、培養皿、試管	20 組	組培用具
十五	離心機	1 台	組培用具
十六	無菌操作臺	1 台	組培用具
十七	高壓殺菌釜	1 台	組培用具
十八	超音波震盪器	1 台	組培用具
十九	植物生長箱	1 台	培養植物
二十	鑷子、夾具、塑膠袋	20 組	處理實驗廢棄物
二十一	萬象	10 棵	實驗植株
二十二	椰子水	5 瓶	調配培養基
二十二	溴化乙錠	1 瓶	組培染色
二十三	日亞化 UV-LED 紫外燈	1 盞	組培光照用

肆、研究過程與方法

一、研究流程圖



圖一、研究流程

二、文獻探討

(一)畸形變異種類

表二、常見植株變異種類

出錦	群生	綴化
		
錦斑變異是指植物體的莖、葉等部位因為外在因素(日照、溫度、藥物等)發生顏色上的改變	植物主體由多個生長點，生長出新的分枝與側芽，並且共同生長在一起的狀態	頂端的生長錐異常分生、加倍，形成許多小生長點，生長點橫向發展連成一條線，最終長成扁平的扇形或雞冠形帶狀體

常聽到養多肉植物的前輩們說出一些多肉植物變種的名詞:出錦、群生、綴化等.....，這些現象大部分都是因為外在因素或者個體受刺激產生的異變，但也因為顏色與形狀的千奇百怪，使得多肉植物變的更具價值性。

(二)錦斑與紅葉現象的比較

一般人都會把多肉植物的紅葉現象與錦斑搞混，紅葉現象是被子植物常見的一種伴隨環境變化而產生的顏色改變，錦是葉色病變，斑則是錦的分布狀態。

表三、錦斑與紅葉現象比較

	錦斑	紅葉現象
外觀變化	顏色改變	顏色改變
生成條件	葉綠素被紫外線破壞伴隨著其他有色體合成	外在環境發生變化而產生原發性的花色素甙生成
遺傳部位	細胞質	細胞核

(三)錦斑成因

錦斑植物成因主要是細胞和組織兩個層面關係，細胞層面會造成「錦化」，組織層面則指「嵌合」，兩者相互作用則形成錦斑植物。

1. 錦化

錦化作用有如人類的癌症，為植物細胞內的葉綠體或質體被干擾破壞，出現葉綠素等色素合成障礙過程。其過程可能與遺傳、環境、化學物質和病毒有關：

表四、錦化成因與影響

成因	結果	備註
亞種(遠源)雜交	導致基因缺陷	需 F1 播種，時間較久
生長激素	導致細胞過度分裂	須配合組織培養
化學物質	誘發基因變異	植物死亡率偏高
放射線	誘發基因變異	透過紫外線照射
病毒感染	引發細胞代謝紊亂	恐造成物種滅絕

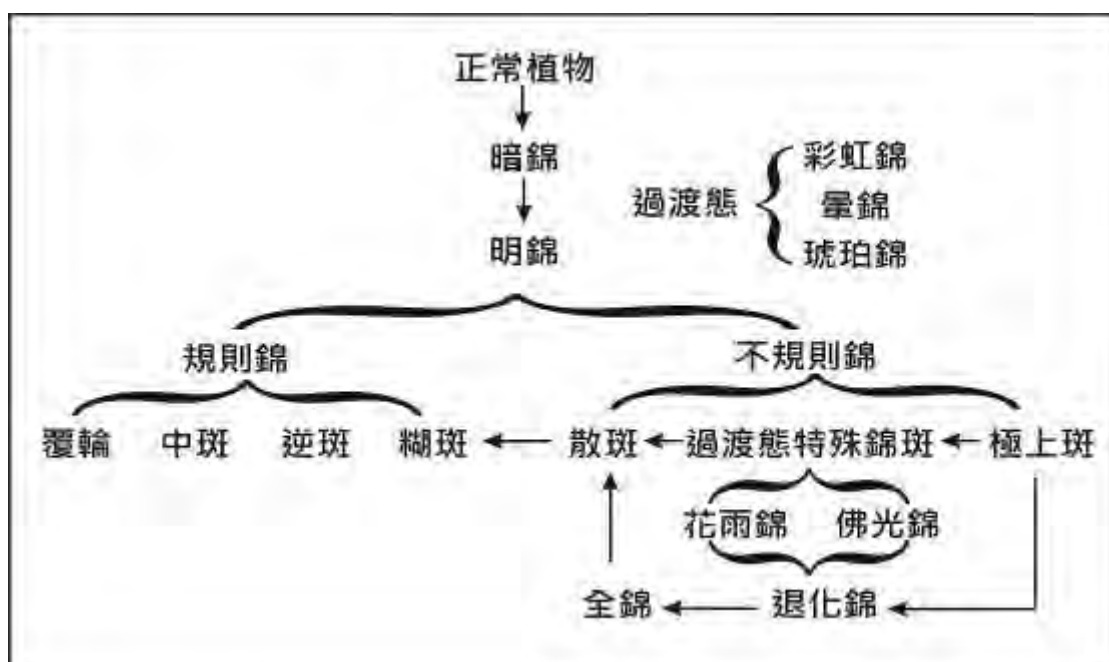
2. 嵌合

「嵌合」為異常錦化細胞與正常葉綠素細胞間的排列，正常細胞行光合作用提供養份給錦化細胞。「嵌合」所造成的錦斑排列方式極具觀賞價值，正常與錦細胞排布的和諧程度被稱作「嵌合度」。

(四)錦斑的種類

錦斑植物在錦化和嵌合的雙重作用下，斑著重於形狀，錦著重色調，若斑的形狀壓過錦，則末字以斑替代，如糊斑、逆斑；若錦的色彩繽紛，則會以錦為末字，如暈錦、彩虹錦。

正常植物轉變為斑錦植物的過程，大致如圖二所示：從正常植物—暗錦—明錦—斑錦分離或轉變為規則斑錦。



圖二、錦斑種類。(資料來源：修改 360doc 個人圖書館網站)

表五、不規則錦種類

名稱	內容
極上斑	嵌合度高條理之間清晰美麗，又稱為「山水斑」或「虎斑」
散斑	嵌合度低錦間條理不清，且線條極為鬆散
退化斑	錦斑偏向一方，稱「錦偏」，到此階段為栽培瓶頸，通常壽命不長
全錦	植物錦化到末期，大多數會進一步極化分離成全錦或全綠，全錦為病人膏肓，全綠則是大病痊癒的（恢復正常）

少部分植物，可以在錦斑演變時進入「穩定狀態」，這時錦斑變化的規律就趨於穩定，成為所謂的「規則錦」。常見的規則錦有下列幾種：

表六、規則錦種類

名稱	內容
覆輪	當錦細胞進入葉原基兩側，就形成覆輪
中斑	當錦細胞進入葉原基中間，就形成中斑
糊斑	錦化程度進入裡層細胞組織就形成糊斑
逆斑	錦化進入分蘖點之上就形成逆斑，又稱疣斑或內錦

(五)萬象錦斑

萬象屬於百合科(Haworthia)十二卷屬，這種多肉植物生長慢，自愈能力也差，很容易自發成「錦化」，若使用無性生殖方式，少數的規律嵌合(規則錦)植物很難靠葉插繁殖，葉插的新不定芽形成會打亂錦斑組合規律，形成極化分離的全錦或正常植株。以下為幾種特殊萬象錦簡介與照片：

表七、萬象錦種類

名稱	內容
暈錦	暗錦與明錦轉變過程中，植物修復錦化時呈現的激烈對抗過程，表現為顏色的遞變，猶如山水畫，遞變中間色就是植物修復的表現
彩虹錦	激烈對抗的表現，植物發現單靠修復葉綠素不夠，只好動員花色素甙或花青素來幫忙，所以呈現了多色斑錦或紅葉狀態
琥珀錦	常見於琥珀萬象和黃金龍爪槐，表現為新葉子病態，老葉子修復恢復的狀態，新葉子還不能表達葉綠素，隨著葉子變老逐步恢復表達葉綠素
花雨錦	錦細胞與綠細胞在穩定過程中，將葉窗下緣紋路當成激素波動，隨著紋路形成帶來的激素波動，錦細胞分佈在這些組織間隙，形成彩色的「花雨」



圖三、萬象錦種類照片(資料來源：本論文拍攝)

三、實驗植株選擇、錦斑繁殖方式與逆境機制

(一)實驗植株選擇

本研究實驗株為老師贈予，吾師卻希望本研究團隊能自行調查出萬象名稱，只提供購買植株的賣家資料，經本團隊聯繫後，決定前往賣家的多肉園區，自行比對出萬象名稱，所幸園區萬象約 8 種，經比對與老師確認得知實驗株為「**雪國萬象**」。



圖四、萬象名稱(資料來源：本論文拍攝於太陽愛多肉園)

(二)萬象錦的繁殖方式可分成：

1.有性繁殖

有性繁殖亦稱實生繁殖或種子繁殖，(Nishimura and Atsumi, 2007) 進行 *Haworthia* 植物自花授粉實驗，55 朵花中 48 朵子房無法膨大發育，僅 7 朵子房有膨大發育，自交成功率為 12.7 %且成熟後有效種子數量少。而異株授粉卻很容易，所以實生繁殖法多用於雜交育種時，雜交種的種類遠多於原生種，萬象錦可用兩株不同的萬象錦植株進行雜交。

2.無性繁殖法

無性繁殖是利用植物組織或器官之再生能力的繁殖方式，因為採用植物營養體（如根、莖、葉等）做為繁殖材料，又稱為**營養繁殖法**（朱，1995；沈，1997）。*Haworthia* 植物的無性繁殖方式有，扦插法、分株法和組織培養三種：

(1) 扦插法

取下錦斑植物體的一部分，插入介質中使其下方生根，上方發芽而成為一獨立個體，稱為扦插法（朱，1995；沈，1997）。Haworthia 植物可以利用葉片、肥大的儲藏根或者胴切後產生的不定芽作為的扦插繁殖的材料（目的為去除頂端生長點，誘導側芽的產生）



圖五、擷取萬象錦的葉片扦插

(2) 不定芽分株法

將具有根、莖、葉等完整構造的植物體自母本分離，稱為分株法（朱，1995）。Haworthia 屬植物多數種類成熟後，莖基會產生不定芽，待成長至適當大小，即可分離成為新植株；部份種類在開完花後，花梗下方未分化形成花苞的節位，會產生不定芽（或稱為高芽），待成長至適當大小，亦可分離而成新植株。



圖六、已生出不定芽的萬象錦

(3) 組織培養

組織培養又稱微體繁殖，是在無菌狀態下提供含無機鹽類、醣類和植物生長激素等成分構成之培養基，使植物的細胞、組織或器官再生的繁殖方式（馬和許，1992）。Haworthia 植物的組織培養可以應用於不易產生不定芽的種類和高單價的優良品系。此外，組織培養可以應用於瀕危物種的保育，減少過度的不當採集。



圖七、萬象組培增生組織

本研究鑒於使用的實驗株為雪國萬象正常株，非變異後的萬象，在繁殖過程中，需透過添加生長激素與紫外線照射，藉此增加變異度，達到出錦的效果，因此本研究採取組織培養方式，較能形成變異，而改變原有正常細胞，進而造成錦化現象，本研究在組培過程中，透過組織再生添加不同性質生長激素，光照則採用紫外燈混合白光方式實施。

(二)多肉植物在逆境環境的應變機制

(1)多肉植物對於環境逆境，具有生理型態上的抵抗能力，有關多肉植物的逆境機制說明如下(李梅華、劉耿豪，2003；柯勇，2002)

- 1.葉片表面水層，可以過濾產生熱能的紅外線射線，減少輻射能吸收。
- 2.葉片可以儲存水分於細胞中，以維持生命。
- 3.葉表面具厚角質層讓水分不易蒸散，可保持體內的水分。
- 4.體內有白色乳汁或無色的黏性物質，此一多醣物質能提高細胞液濃度，可保持大量的水分。
- 5.多具毛或刺，仙人掌類的葉為減少水分蒸發，葉片表面積縮減、演化為刺，此有刺種類多存在於龍樹科、蘿藦科與大戟科；而葉面上的細毛可禦寒、防禦強烈的紫外線、還有凝聚水氣，使其能順利流到土裡供根部吸收的功能。
- 6.行景天酸代謝(CAM)，白天為了避免水分的流失，將氣孔關閉，而夜晚低溫時氣孔開放以攝取 CO_2 ，但並非所有多肉植物都具有此景天酸代謝機制，像龍舌蘭科、仙人掌科、景天科、大戟科、百合科和葡萄科植物等都屬於這類植物，但並非所有多肉植物都屬於 CAM 型。

(2)多肉植物除了逆境機制外，還有其變色魅力，影響因素大致上來自於以下三種:

1.光照

用光照改變顏色是最常見，也是見效最快的，例如黑法師隨著日照增多會變黑色。

2.溫度

低溫時，植物為了獲取更多的熱量，提高自身的熱量，會減少葉片裡的葉綠素，合成新的花色素，讓顏色變深，以吸收光的能量。

3.溫差

在秋季與春季溫差變化大，多肉植物因為受凍顏色容易轉為紅色。

四、再生系統的建立

(一) 培植體之選擇

組織培養過程中，不同培植體的選擇，關係到再生分化的結果。具有分化能力的細胞、組織或器官皆可為培植體材料。

萬象為 *Haworthia* 科，可由花芽和花序組織萃取所得的原生質體，成功誘導成癒合組織，再經繼代培養而成小植株 (Suns et al., 1987); *Haworthia* 科可由子房壁組織成功誘導出不定芽、根和癒合組織 (Majumdar, 1970); *Haworthia* 科的葉片組織，可成功誘導出不定芽 (Rogers, 1993); *Haworthia arachnoidea* var. *setata* 的花莖 (inflorescence stem) 可成功誘導出癒合組織和不定芽 (Xu et al., 2007); *Haworthia truncata* var. *Truncata* Schoenland 的花莖 (scape) 可成功誘導出癒合組織 (Xu et al., 2006)。

(二) 培養基組成份對培植體再生之影響

培養基的成分主要是由無機鹽類、醣類和植物生長激素等構成，不同的成分、濃度和組合，對培植體再生有不同的影響。

1. 醣類濃度的影響

醣類是植物體組織培養生長及分化時，所需的主要碳源提供者，碳源是作為培植體生長所需能量來源，並能調節培養基中之滲透壓，一般常用之醣類有蔗糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇等 (Godo, 1996)，其中大多是以蔗糖為主。適當的醣類濃度，可促進其生長速率。

2. Auxins 和 Cytokinins 對培植體再生分化的影響

微體繁殖培養基的主要成分除了無機鹽類、醣類外；生長激素的添加有助於培植體 (Explant) 的再生，主要利用的植物生長激素是 Auxins 和 Cytokinins 兩大類；不同種類、濃度和組合的 Auxins 和 Cytokinins 對培植體 (Explant) 再生分化的影響各有不同。

3. 其他培養基添加物對培植體再生分化的影響

培養基中除 Auxins 和 Cytokinins 兩類植物生長激素外，其他種類植物生長激素或添加物的存在，亦有助於培植體的再生分化。

Haworthia 科微體繁殖時，以 White's basal medium 為基礎，添加 NAA 2.0 mg/L + K 0.5 mg/L、BA 0.5 mg/L、IAA 1.0 mg/L + K 0.5 mg/L 或 IAA 1.0 mg/L + K 0.5 mg/L + CH 1 or 2 g/L 等四種組合對培植體再生無效果。(Kaul and Sabharwal, 1972) 加入椰子汁 (10~20 %) 的五種組合下，則有癒合組織的生成和芽體的分化。(Pandey, 1979) Haworthia 科利用秋水仙素誘導與鈷 60 放射線照射，可促進癒合組織再生不定芽和不定根。

(三) 材料與方法

1. 試驗材料

本試驗利用 Haworthia 科植物的萬象 (Haworthia maughanii)。培植體的來源則採取春季及秋季所抽出的花序。



圖八、從母株上取下花梗



圖九、去除花梗兩端

2. 培養基成分

採用 MS (Murashige and Skoog, 1962) 商業配方全量 4.4 g/L 為基礎培養基添加 3 %蔗糖；另外 0.3 %水晶洋菜粉 (Gelzan) 為凝結劑；試驗所添加的植物生長激素有：indole-3-butyric acid (IBA)、 α -naphthaleneacetic acid (NAA)、6-benzylamino purine (BA)、6-furfurylaminopurine (Kinetin)，以上藥品皆為 Sigma 公司 (Sigma Chemical, Mo., U.S.A.) 之產品。其他添加劑有椰子水 (品牌為，鮮剖 100%純天然椰子汁)；蔗糖為台糖細粒特砂。

2. 培養基調配

採用固體培養基培養，每公升培養基混合液添加 3 公克水晶洋菜粉，以 1N NaOH 滴定，調整 PH 值至 5.8 ± 0.1 。將培養基混合液加熱至沸騰，利用分注器分裝，每一試管（15 cm × 2.5 cm）注入 10 ml，封蓋後，以殺菌釜 121 °C，1.05kg/cm² 高壓蒸氣滅菌 15 分鐘，殺菌釜壓力歸零後，取出冷卻待凝固備用。



圖十、高壓殺菌釜

4. 培養環境條件

植物生長箱型號 YIH-DER GC-539D，培養條件；光源為晝光色日光燈管（東亞-太陽神 FL20D-EX/18°）光強度約 40-50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ （2000-3000 LUX）與 Nichia 日亞化 UV-LED 紫外燈-波長 365nm-功率 60 瓦，混合照明時數 16 小時，溫度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 。



圖十一、植物培養箱



圖十二、點亮燈源的植物培養箱

（四）試驗方法

1. Auxins 和 Cytokinins 的組合試驗

取萬象（*Haworthia maughanii*）花序為培植體材料，最下端 3-5 朵花開始開放為適期，切取下端未分化為花苞之花梗。以 0.5 % NaOCl 溶液，震盪消毒 10 分鐘，再以無菌水清洗 5-6 次。以解剖刀切取 0.5-1 cm 帶有節的花梗組織作為培植體，培養於全量的 MS 商業配方加蔗糖 30 g/L 為基礎之固體培養基，植物生長

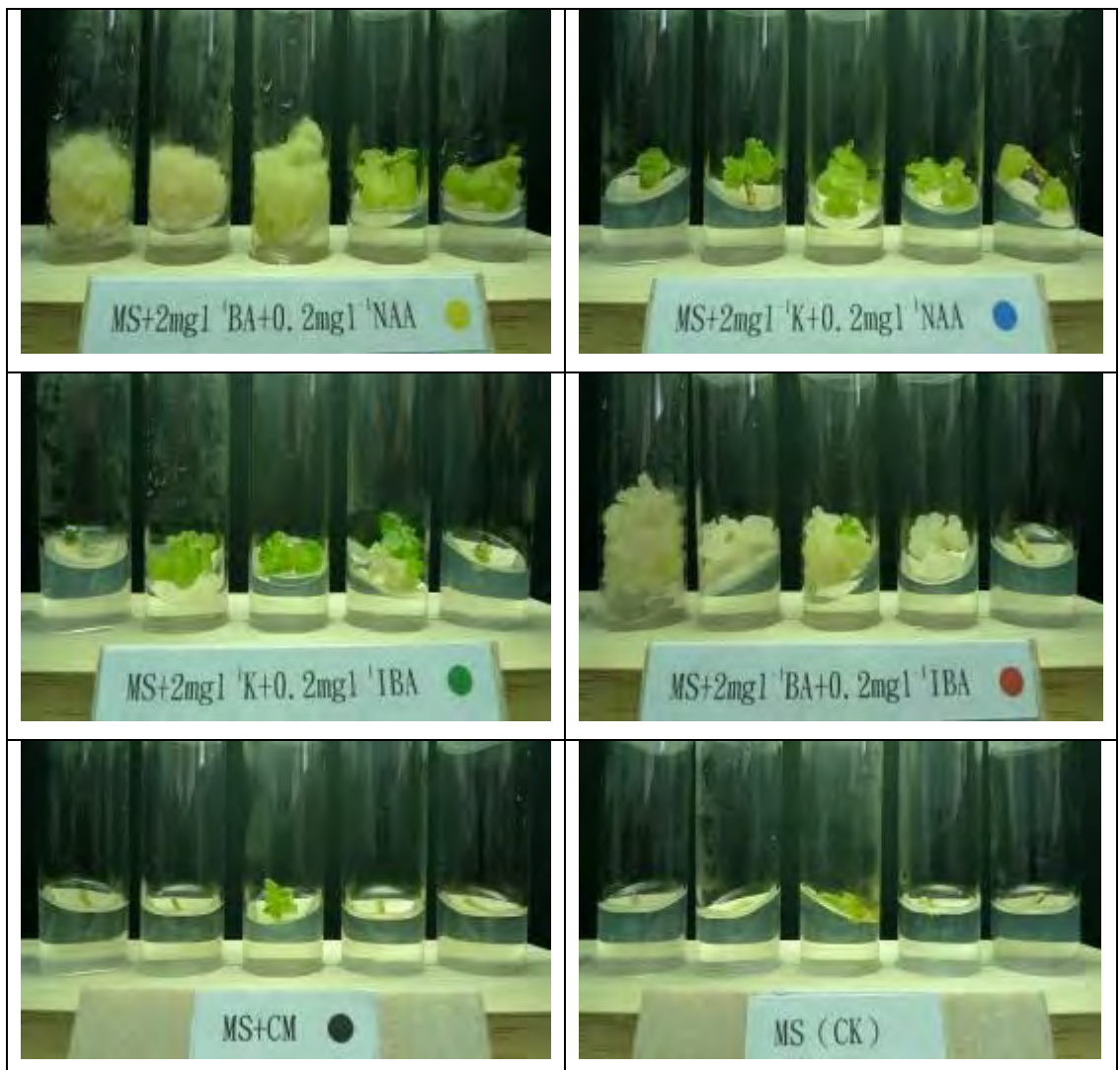
激素組合為，BA 2mg/L + NAA 0.2mg/L、BA 2mg/L + IBA 0.2mg/L、Kinetin 2mg/L + NAA 0.2mg/L、Kinetin 2mg/L + IBA 0.2mg/L 和 20 %椰子汁，含對照組（CK），共計六種組合試驗。每個試管培養 1 個培植體，每種處理 18 個培植體，培養 12 週後，觀察培植體生長情形。



圖十三、萬象花梗部位



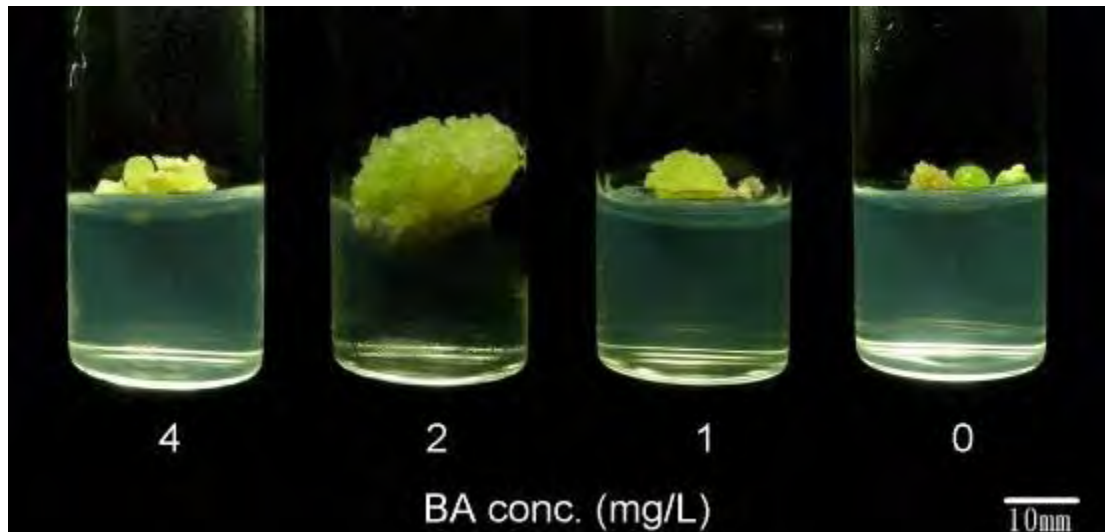
圖十四、萬象花梗部位



圖十五、萬象花梗組織在不同長調節劑組合培養 12 週後對癒合組織形成之影響

2. 初代培養

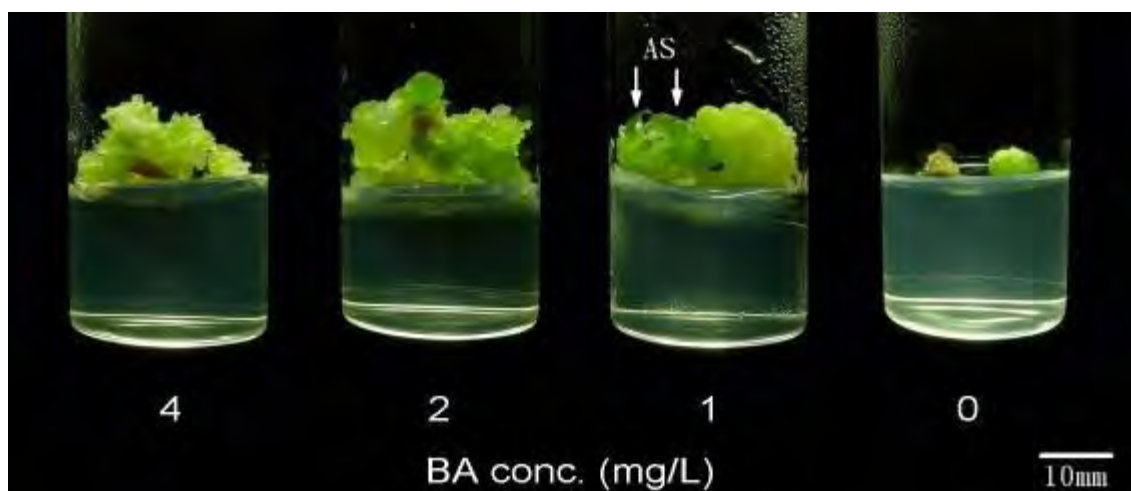
取萬象 (*Haworthia maughanii*) 花序為培植體材料，花序由下端算起，第 3-5 朵花已開放為適期。以 0.5 % NaOCl 溶液，震盪消毒 10 分鐘，再以無菌水清洗 5-6 次。以解剖刀切取 0.5-1 cm 花梗組織做為培植體，培植體分三種類型；未分化成花苞的帶節花梗 (inflorescences node)、已分化成花苞的帶節花梗 (inflorescences nodiflorus) 和花梗節間部位 (internode)。培養於全量的 MS 商業配方、蔗糖 30 g/L 之固體培養基，分別添加 BA (0、1、2、4 mg/L) 和 NAA 0.2 mg/L 四種組合試驗；和 BA (0、0.5、1、2 mg/L) 和 NAA 1 mg/L 四種組合試驗。每個試管培養 1 個培植體，每種處理 5 個培植體，培養 16 週後，調查培植體生長情形。



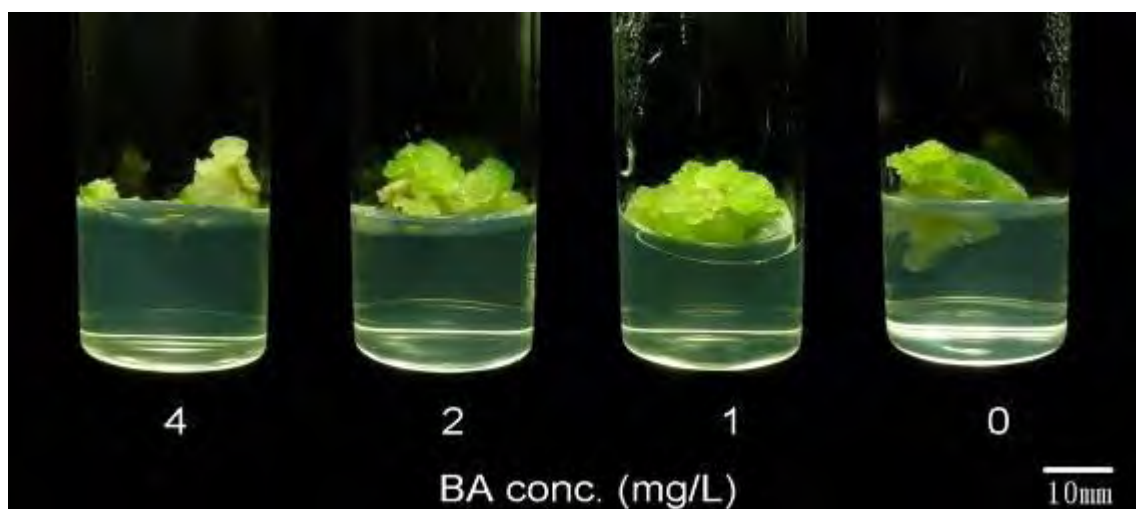
圖十六、萬象未分化花苞之花梗組織在不同 BA 濃度培養 16 週對癒合組織形成之影響

3. 誘導不定芽

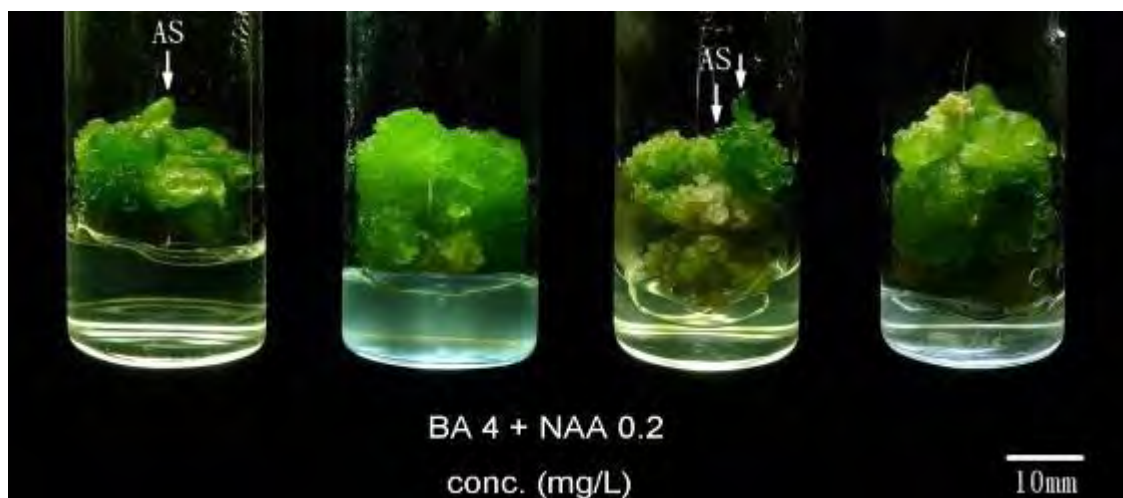
取萬象 (*Haworthia maughanii*) 初代培養誘導出的綠色癒合組織，以解剖刀切成約 0.5 cm × 0.5 cm 大小，做為繼代培養的培植體。培養於全量的 MS 商業配方、蔗糖 30 g/L 之固體培養基，分別添加 BA (0、0.5、1、2 mg/L) 和 NAA 1 mg/L 四種組合和 Kinetin 0.5 mg/L + BA 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的組合共計五種組合試驗。每個試管培養 1 個培植體，每種處理 5 個培植體，培養 16 週後，觀察培植體生長情形。



圖十七、萬象已分化花苞之花梗組織在不同 BA 濃度培養 16 週對癒合組織形成之影響



圖十八、萬象花梗節間組織在不同 BA 濃度培養 16 週對癒合組織形成之影響



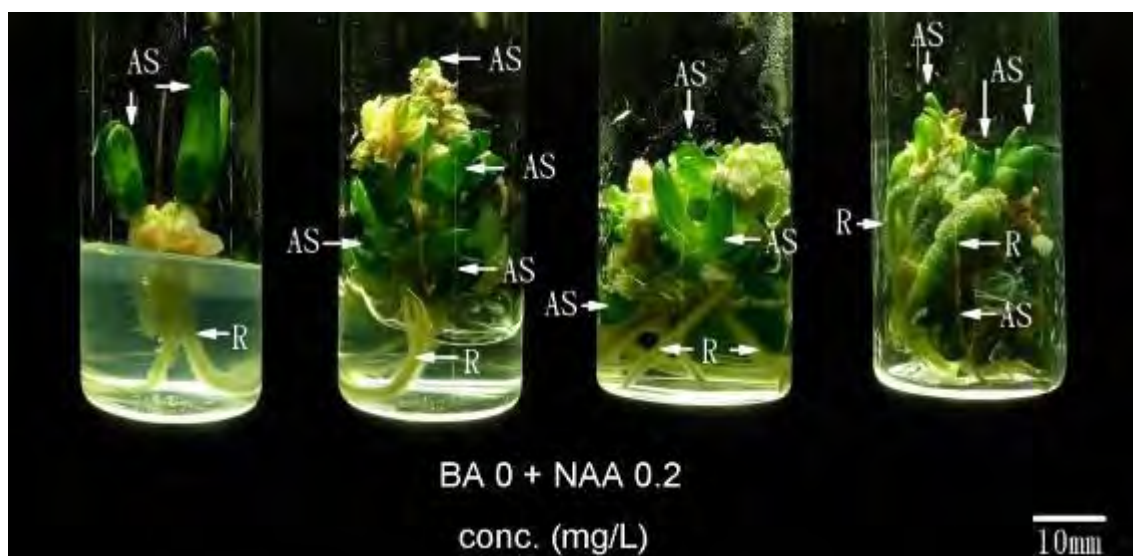
圖十九、不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織 16 週對芽體形成之影響



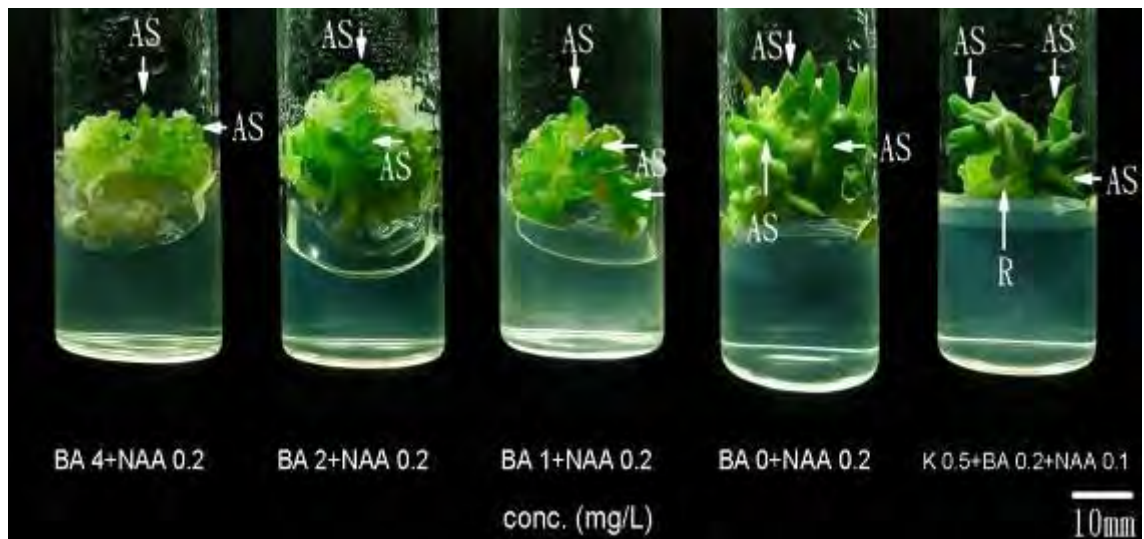
圖二十、不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織 16 週對芽體形成之影響



圖二十一、不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織 16 週對芽體形成之影響



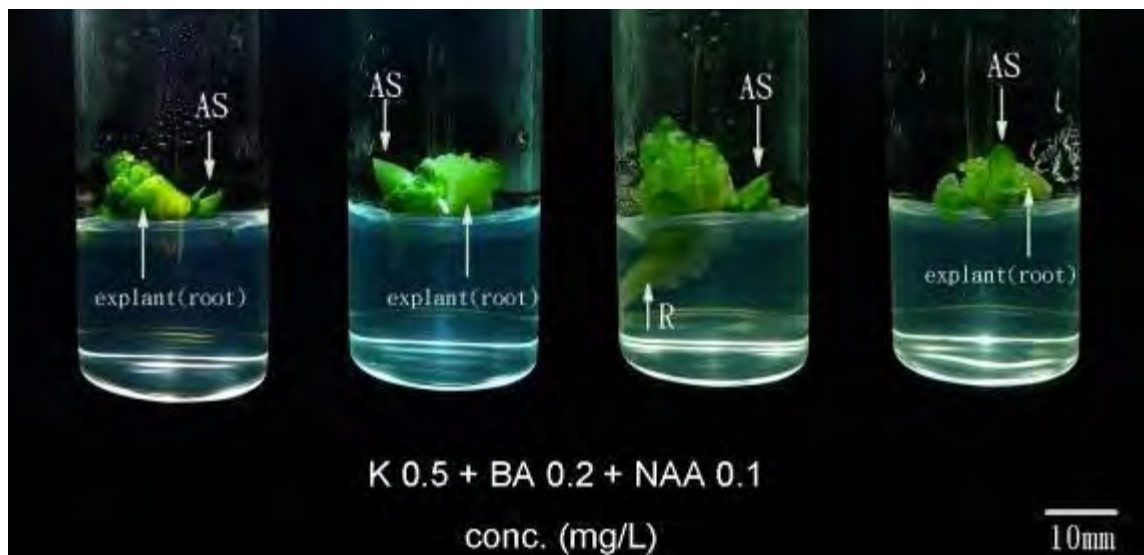
圖二十二、不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織 16 週對芽體形成之影響



圖二十三、不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織 16 週對芽體形成之影響

4. 不定根的再培養

取萬象 (*Haworthia maughanii*) 繼代培養誘導出來的不定芽，芽體外側葉片及粗大的不定根為次級培植體，以解剖刀切成長度約 0.5~1 cm 大小，培養於 MS + Kinetin 0.5 mg/L + BA 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的培養基中。每種處理 20 支試管，培養 12 週觀察培植體再生情形。



圖二十四、萬象不定根培植體培養 12 週對芽體形成之影響

伍、研究結果

一、組織培養

(一) Auxins 和 Cytokinins 的組合試驗

12 週觀察培植體再生情形。結果顯示，MS + BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L 和 MS + Kinetin 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L 兩組培植體的再生率最佳，達到 83.3 %；MS + Kinetin 2 mg/L + IBA 0.2 mg/L 的處理，培植體再生率為 61.1 %；MS + BA 2 mg/L + IBA 0.2 mg/L 的處理，培植體再生率為 50 %；MS + 20 %椰子水的處理，培植體再生率為 22.2 %；CK 組培植體再生率為 33.3 % (表 1)。觀察培植體再生情形，以 MS + BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L 的處理，癒合組織 (Callus) 的生成情形最佳，整體的體積和品質，皆優於其他處理。

表八、萬象花梗組織在不同長調節劑組合培養 12 週後對癒合組織形成之影響

Composition of Medium *	Explant formed callus (%)	Callus color
CK	33.3 bc ^z	white, light green
CM	22.7 c	light yellow, light green
Kinetin+IBA	61.1ab	light green
BA+IBA	50 bc	white, light yellow, light green
Kinetin+NAA	82.5 a	light green
BA+NAA	83.3 a	light yellow, light green

(二) 初代培養

初代培養結果顯示，BA (0、1、2、4mg/L) 和 NAA 0.2mg/L 的四種組合中，癒合組織的鮮重在 BA (1、2mg/L) 的濃度下表現較佳；BA 濃度增加到 4mg/L，癒合組織的鮮重有明顯的減少趨勢。此現象符合 Liao 等 (2004)、Rogers (1993) 和林

(1982) 的論點，BA 在適當濃度範圍下，培植體的再生情形較佳，隨著 BA 濃度的增加，反而會影響培植體的再生。比對不同培植體來源，以已分化成花苞的帶節花梗（*inflorescences nodiflorus*）培植體對癒合組織再生的鮮重表現最佳；但已分化花苞的帶節花梗（*inflorescences nodiflorus*）培植體在實驗過程中汙染率略高於未分化花苞的帶節花梗（*inflorescences node*）及花梗節間部位（*internode*）培植體，探究原因可能為，已分化花苞的帶節花梗（*inflorescences nodiflorus*）在進行消毒前，剝除節上苞片及花朵，所形成的傷口較大，而導致消毒較不完全；也有可能是汙染率高的百合屬（*Haworthia*）植物，含有較多引發汙染的內生菌所致。前者可以增加消毒時間等方式來改善，後者則可選擇利用次級培植體來避免。

表九、萬象未分化花苞之帶節花梗組織在不同 BA 濃度培養 16 週對癒合組織影響

BA	Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus (g)	Explant formed callus (%)	Responding type
BA	0	0.32az	100 a	Callus、bud
BA	1	0.55 a	100 a	Callus
BA	2	0.85 a	100a	Callus、bud
BA	4	0.26 a	100 a	Callus

表十、萬象已分化花苞之帶節花梗組織在不同 BA 濃度培養 16 週對癒合組織影響

BA	Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus (g)	Explant formed callus (%)	Responding type
BA	0	0.44 bz	100 a	Callus
BA	1	1.61 a	100 a	callus、bud
BA	2	1.84 a	100 a	callus、bud
BA	4	1.30 a	100 a	Callus

表十一、萬象花梗節間組織在不同 BA 濃度培養 16 週對癒合組織形成之影響

BA	Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus (g)	Explant formed callus (%)	Responding type
BA	0	0.30bz	100 a	Callus、bud、root
BA	1	1.23 a	100 a	Callus、bud
BA	2	0.81 ab	100 a	Callus
BA	4	0.24 b	100 a	Callus

表十二、萬象不同部位之花梗組織在不同 BA 濃度培養 16 週對癒合組織鮮重之影響

Explant type	BA	Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus (g)
未分化花苞的帶節花梗 Inflorescence node		BA 0	0.32 cz
		BA 1	0.55 c
		BA 2	0.85bc
		BA 4	0.26 c
已分化成花苞的帶節花梗 Inflorescence nodiflorus		BA 0	0.44 c
		BA 1	1.61 a
		BA 2	1.84a
		BA 4	1.30 ab
花苞的花梗節間部位 Inflorescence internode		BA 0	0.30 c
		BA 1	1.23 ab
		BA 2	0.81 bc
		BA 4	0.24 c

(三) 誘導不定芽

萬象 (*Haworthia maughanii*) 初代培養誘導出的綠色癒合組織，以解剖刀切成約 0.5 cm × 0.5 cm 大小，做為繼代培養的培植體。培養於全量的 MS 商業配方、蔗糖 30 g/L 之固體培養基，分別添加 BA (0、1、2、4 mg/L) 和 NAA 0.2 mg/L 四種組合，結果顯示，培養於 BA 4 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為 0.8 個，培養於 BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為 4.6 個，培養於 BA 1 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為 7.8 個，培養於 BA 0 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為 12.2 個。

表十三、不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織 16 週對芽體形成之影響

Composition of Medium (mg/L)		Shoots/explants	Shoots formation rate (%)
NAA 0.2	BA 0	12.2a ²	95a
NAA 0.2	BA 1	7.8ab	80ab
NAA 0.2	BA 2	4.6bc	100a
NAA 0.2	BA 4	0.8c	40b
NAA 0.1	K 0.5+BA 0.2	11.4a	100a

(四) 不定根的再培養

利用誘導不定芽試驗中，所生成不定芽的外側葉片及粗大不定根為次級培植體，分離另做芽體的誘導試驗。不定根誘導的不定芽，芽體再生率為 55%，再生的芽體中，45.4%有玻璃質化(Hyperhydricity)現象。葉片誘導的不定芽，芽體再生率為 65%，再生的芽體無明顯玻璃質化現象，單位試管的平均芽體數也

較不定根誘導的佳。

表十四、不同濃度 MS 和 NAA 培養萬象芽體 8 週對不定根形成之影響

Composition of Medium (mg/L)	Roots/plantlet	Roots formation rate (%)
MS + NAA 0.2	5.4 az	80 a
MS+ NAA 0.1	6.4a	100a
1/2MS+ NAA 0.2	4.5 a	90 a
1/2ME+ NAA 0.1	5.6 a	100 a

二、出錦斑機率

本研究將組培所產生的萬象苗作分析，計算其存活與出錦機率，得到以下結果：

表十五、萬象花梗組織在不同生長激素組合存活與出錦機率

Composition of Medium *	Callus survival (%)	Callus Variegatus (%)
CK	25.2bc ^z	17.4
CM	18.3c	22.7
Kinetin+IBA	54.5ab	2.8
BA+IBA	48.6bc	36.9
Kinetin+NAA	71.7a	1.3
BA+NAA	72.5a	27.2



圖二十五、本研究組培出現變異的萬象錦

陸、討論

一、Auxins 和 Cytokinins 的組合試驗

本研究選擇一般初級實驗室常用的植物生長激素，Auxins 類，為 NAA 和 IBA；Cytokinins 類，為 BA 和 Kinetin 做組合試驗，另以椰子汁做為添加物取代植物生長激素和對照組共六種組合。比較其癒合組織的再生情形，從癒合組織的再生率和外觀品質來判斷，後續實驗所要選擇的植物生長激素種類。添加 20%椰子汁和對照組癒合組織再生率偏低，且幾為白色的癒合組織，不適合做為繼代培養之利用；添加生長激素的四種組合，癒合組織再生率均達 50%以上，且癒合組織多呈黃綠色及綠色，適合做為繼代培養之利用。符合 Rogers（1993）所提出，綠色癒合組織對繼代培養，芽體的誘導有較佳的表現。

二、初代培養實驗

以花梗節間部位（internode）為培植體材料，因表面較平滑無死角，消毒時效果較佳，比其他兩類型培植體來的容易進行。結果顯示在 BA 0.5mg/L 和 NAA 1mg/L 的組合中，鮮重表現明顯優於其他組合。當 BA 濃度為 0mg/L，培植體會有不定根的發生。George（1993）指出，Auxins 和 Cytokinins 兩者間的濃度比，影響器官分化的方向。Auxins 濃度比高時，會促進不定根發生，兩者間具拮抗作用，此結論符合上述實驗。

三、誘導不定芽

在誘導不定芽的試驗中，以 BA（0、1、2、4mg/L）和 NAA 0.2mg/L 作組合試驗搭配 K 0.5mg/L + BA 0.2mg/L + NAA 0.1mg/L。結果顯示，隨著 BA 濃度增加，不定芽玻璃質化(Hyperhydricity)現象有增加趨勢，符合 Jin 等（2008），蘋果（*Malus zumi*）芽體增殖試驗的結果；Ivanova 等（2006），培養基以 Gelrite（水晶洋菜）為凝膠媒介（Gelling agent）相較於使用 Agar，玻璃質化(Hyperhydricity)比率較高，也可能是芽體玻璃質化的因素。

四、不定根的再培養

葉片培植體誘導的不定芽，芽體再生率為 65%，再生的芽體無明顯玻璃質化(Hyperhydricity)現象，單位試管的平均芽體數也較不定根誘導的佳。葉片培養可誘導不定芽發生，符合 Rogers（1993）提出 *Haworthia comptoniana* 的葉片組織，可成功誘導出不定芽；以及 Beyer and Sharma（1983）提出蘆薈科（Aloaceae）厚舌草屬（*Gasteria*）葉片組織可成功誘導出不定芽和不定根。

五、國外研究對照

以生長旺盛的地錦嫩莖為材料，進行了癒傷組織的誘導和分化、不定芽的分化及試管苗的生根、移栽、扦插和移植的研究，結果證明：MS+BA 0.4~0.6mg/L+2, 4-D 1.5~2.0mg/L 是誘導嫩莖形成具有分化能力癒傷組織的理想培養基；MS+AgNO₃

0.8mg/L+BA 0.6mg/L+NAA 0.1mg/L 是誘導癒傷組織分化培養的理想培養基；BS+BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L 是不定芽分化培養的理想培養基；B5+IAA0.2mg/L+NAA 0.1mg/L 是試管苗生根繼代培養的理想培養基；移植的試管苗具有生長旺盛整齊、根系發達、開發結果時間推遲 15d 左右的特点。

六、出錦斑機率

坊間的萬象錦常見的出錦方式為扦插，但須先有萬象錦的植株才能扦插出錦斑，且扦插錦斑較難控制出錦分布情況，若用不定芽(側芽繁殖)也需要先有萬象錦，再經過漫長時間才能長成；甚至有不肖商人使用化學物質破壞正常組織，形成植物傷斑，不但影響植物存活率其錦斑也無法遺傳。



圖二十六、萬象錦不定根繁殖出現不同錦斑(極上斑轉彩虹錦)

本研究採用組培添加生長激素配合光照，其錦斑有遺傳的可能性，考慮實驗安全性，使用光源為晝光日光燈管搭配 UV-LED 紫外燈(60W)，若增強光源或用放射性鈷 60，其出錦率可能會更高。

柒、結論

一、再生系統建立

本研究在 Auxins 和 Cytokinins 的組合、初代培養實驗、誘導不定芽與不定根的再培養皆有較佳成效，以下為組培個階段分析：

(一) Auxins 和 Cytokinins 的組合試驗

癒合組織最快的是 BA+NAA 有 83.8%，最差的是 CM 有 22.7%。

(二) 初代培養實驗

初代培養結果顯示，不同濃度 BA (0、1、2、4mg/L) 和 NAA 0.2mg/L 的四種組合中，癒合組織皆呈現 100%。再不同部位的花梗組培中鮮重出現明顯差異：

(1) 未分化花苞的帶節花梗

BA 2 mg/L 和 NAA 0.2mg/L 呈現的鮮重最大為 0.85g，BA 4 mg/L 和 NAA 0.2mg/L 鮮重最低為 0.26g。

(2) 已分化花苞的帶節花梗

BA 2 mg/L 和 NAA 0.2mg/L 呈現的鮮重最大為 1.84g，BA 0 mg/L 和 NAA 0.2mg/L 鮮重最低為 0.44g。

(3) 花苞的花梗節間部位

BA 1 mg/L 和 NAA 0.2mg/L 呈現的鮮重最大為 1.23g，BA 4 mg/L 和 NAA 0.2mg/L 鮮重最低為 0.24g。

(三) 誘導不定芽

添加 BA (0、1、2、4 mg/L) 和 NAA 0.2 mg/L，外加 K 0.5+BA 0.2 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 共五種組合，芽體形成影響中 BA 0 mg/L 實驗芽體最多平均 12.2 株，BA 4 mg/L 最少平均只有 0.8 株，出芽率 BA 2mg/L 與 K 0.5+BAmg/L 最高皆為 100%，出芽率最低則是 BA 4mg/L 為 40%。

(四) 不定根的再培養

本研究以不同濃度 MS 和 NAA 培養萬象芽體 8 週，濃度搭配 MS + NAA 0.2 mg/L、MS + NAA 0.1 mg/L、1/2MS + NAA 0.2 mg/L、1/2MS + NAA 0.1 mg/L 四種，結果顯示 MS + NAA 0.1 mg/L 無論是植株個體數 6.4 株與出芽率 100%皆最高，出

芽率最低的是 MS + NAA 0.2 mg/L，實驗株最少 4.5 株的是 1/2MS + NAA 0.2 mg/L。

二、組培錦斑出現機率

本研究用 CK、CM、Kinetin+IBA、BA+IBA、Kinetin+NAA、BA+NAA 六種不同的生長激素搭配下，結果顯示 BA+NAA 的存活率較高 72%，CM 最低 18.3%，出錦率則是 BA+IBA 最高 36.9%，最低則是 Kinetin+NAA 1.3%。

三、出錦方法的比較

表十六、出錦方法的比較

代號	方 法	遺傳可能性
A	通過一定劑量的輻射，誘導基因發生突變	可能遺傳
B	通過植物病毒，誘發植物基因突變	可能遺傳
C	將植株置於完全的暗室一周，突然在正午取出曝曬	可能遺傳
D	使用過氧化物藥類，破壞與誘發葉綠素細胞變異	不能遺傳
E	組培繁殖過程中，各種激素等誘發的基因突變	可能遺傳

本實驗是利用組織培養(表上代號 E)方式嘗試讓多肉植物出錦，但坊間或市面上還有其他方法讓植物基因或細胞變異，目前最常見且具遺傳性的方式就是方法 E，A 方法其誘導的變異通常是往壞的方向，B 與 C 有一定機率出現變異種，大多數是誘發得到某一片葉子變異，再利用扦插法得到全株變異，D 是讓植物出錦較快速的方法但無法遺傳。

四、出錦的優缺點

優點:多肉的欣賞性增加，可能帶來多肉的升值。缺點:葉片出錦後綠色部分減少，葉綠素的光合作用減弱，生命力和繁殖力都變得比較弱。

五、未來展望

本團隊位於台灣農業大縣-雲林縣，看著台灣農業生產力因學子不願意從事，而逐漸老化蕭條，基於此本團隊想對農業加入一股新的生命力，在未來想研究嘗試高價位的萬

象極上斑繁殖，並將其生產量化，期盼能做出品項穩定且價格昂貴之極品，為台灣農業開創新的契機，同時再創台灣的經濟奇蹟。

捌、參考文獻


(一)中文文獻：

- 1.上野洋一郎、柯俊良等(2004)。植物組織培養與技術。臺北：藝軒圖書出版社。
- 2.朱建鏞(1995)。園藝種苗生產。臺北：三民書局股份有限公司。
- 3.沈再木(1997)。觀賞植物（上）。臺北：東大圖書股份有限公司。
- 4.李赫(1992)。園藝作物組織培養實用技術。臺北：財團法人豐年社。
- 5.李梅華、劉耿豪(2003)。多肉植物仙人掌種植活用百科。臺北：城邦文化事業股份有限公司。
- 6.郭城孟(1995)。世界植物大觀 PLANTS OF THE WORLD。臺北：台灣聯合文化有限公司。
- 7.許繼勇、麥瑜玲等(2006)。瓦葺的組織培養與快速繁殖技術的研究。天津農業科學。12（2）：8-10。
- 8.黃清俊、丁雨龍、唐曉英(2007)。珍奇多肉植物萬象微型繁殖。北方園藝。5: 191-193。

(二)外文文獻：

- 1.平尾博、兒玉永吉。1999。サボテン・多肉植物ポケット事典。東京：NHK 日本出版協會。
2. 谷川 仁朗。1985。圖解 組織培養入門 花・野菜・果樹の増殖と無病苗育成。東京：誠文堂新光社。
3. 佐藤 勉。2004。世界の多肉植物 WORLD SUCCULENT PLANTS。東京：誠文堂新光社。
裕 美仁。2001。多肉植物ユニークな形と色を楽しむ。東京：NHK 日本放送出版協會。
4. Abrie, A. L. & J. van Staden. 2001. Micropropagation of the endangered *Aloe polyphylla*. Plant Growth Regulation. 33（1）：19-23.
5. Bairu, M. W., W. A. Stirk, K. Dolezal and J. Van Staden. 2007. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered aloe polyphylla: can meta-topolin and its derivative serve as replacement for benzyladenine and Zeatin?. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 90: 15-23.

玖、附錄

 <p>27-1. 加入生長激素、蔗糖與其他材料</p>	 <p>27-2. 加入 850C.C.清水，將上述材料充份攪拌備用</p>	 <p>27-3. 添加椰子水放入果汁機打碎</p>
 <p>27-4. 將打碎混合材料倒入鍋中煮沸</p>	 <p>27-5. 不時要攪拌均勻</p>	 <p>27-6. 加入水晶洋菜 10 克</p>
 <p>27-7. 加入 150C.C.水中攪拌均勻</p>	 <p>27-8. 倒入鍋中不停攪拌</p>	 <p>27-9. 等待沸騰後關火</p>
 <p>27-10. 將培養基倒入量杯</p>	 <p>27-11. 再將量杯培養基等份倒入三角瓶</p>	 <p>27-12. 放入殺菌釜中做做高溫高壓殺菌的動作</p>
 <p>27-13. 組培過程再生組織增生異常形成雜亂的植物組織</p>	 <p>27-14. 組培再生組織增生正常的組培苗</p>	 <p>27-15. 本研究未出錦斑的雪國萬象組培苗</p>

圖二十七、本研究組培配置過程與組培苗成長情形

【評語】 052106

1. 本研究以多肉植物百合科一萬象（*Haworthia maughanii*）為實驗植株，以研發其組培繁殖技術與其錦斑出現機率之探討。結果發展出成功之組培方式。
2. 本研究建立萬象繁殖系統及研發錦斑出現效率，所獲結果雖很初步，但對提升萬象錦斑的觀賞價值仍有所助益。
3. 對實驗背景及相關研究尚待加強。
4. 對實驗結果的說明有加強的空間，但團隊成員合作性佳。

多肉植物-萬象 (Haworthia maughanii)
組培繁殖技術與錦斑出現機率之研究

摘要

本研究以多肉植物百合科-萬象 (Haworthia maughanii) 為實驗植株，以生長素 (Auxins & Cytokinins) 配比、花梗 (inflorescences node) 與不定根等組培技術，建立植株的再生系統，再運用組織培養技術 (tissue culture) 添加植物激素 (Plant hormone) 照射紫外線 (Ultraviolet)，提升植株變異種以增加錦斑 (Variegatus) 的機率。研究結果顯示，不定根組培方式、生長素配他素外線照射，其誘發的錦斑效果皆佳。

壹、研究動機

多肉植物在台灣屬於熱門與暢銷的觀賞植物，課堂上老師無意間介紹一款透明葉面且有錦斑的多肉植物供大家欣賞，喜歡植物的本人，被此款植物之美深深吸引。課後詢問老師才得知此植物其名為「萬象錦」，屬於萬象變異後的特殊色斑，滿心歡喜想購買一株，網際查詢結果才發覺「萬象錦」售價驚人，非學生所能購買，只好期盼老師能廣為割捨，吾願以天下沒有不勞而獲的道理，贈與本人10株沒有錦斑的萬象，再授予一本組培 (tissue culture) 技術書籍，希望本人從組培實驗中做出屬於自己的萬象錦，這樣既能學到東西又有成就感，至此本人並招兩位植物同好，請老師顧問，運用學校的組培實驗器材，展開萬象錦實驗序章。

貳、研究目的

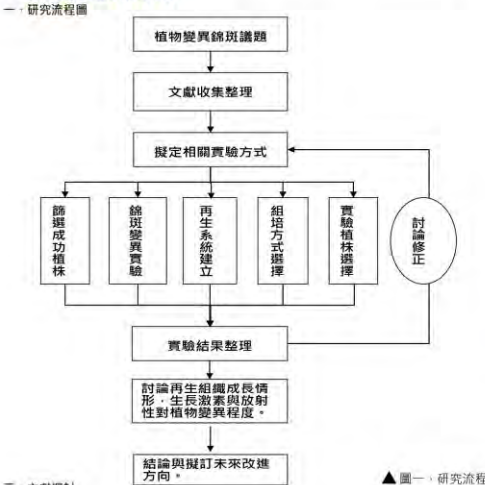
- 本研究的目的有下列幾點：
一、研究植物錦斑成因，並應用在萬象 (Haworthia maughanii) 品系上。
二、建立萬象 (Haworthia maughanii) 組織培養 (tissue cul ture) 的再生系統。
三、以組培 (tissue culture) 搭配生長素配他素外線照射誘發萬象變異出錦斑。

參、研究設備及器材

表一、研究設備及其用途

編號	物品	數量	用途與用量
一	筆記本、筆	1本 2支	實驗日記，紀錄觀察結果
二	數位相機	1台	拍攝實驗植株成長過程
三	Auxins	2瓶	植物生長素
四	Cytokinins	2瓶	植物生長素
五	MS 基礎培養基	2瓶	含 NAA 0.5 mg/L、Kinetin 1.0 mg/L
六	蔗糖	2包	蔗糖濃度 30 g/L
七	ethanol(乙醇)	2瓶	消毒實驗用品
八	水晶洋菜粉 (Gelzan)	2包	凝結劑
九	二次蒸餾水	50公升	調配與稀釋實驗藥品
十	NaOH	2瓶	實驗用藥
十一	畫筆	數支	繪製植株特徵
十二	解剖刀	10組	分株與觀察
十三	酒精燈	1盞	加熱與殺菌器材
十四	燒杯、培養皿、試管	20組	組培用皿
十五	離心機	1台	組培用皿
十六	無菌操作室	1台	組培用皿
十七	高壓滅菌釜	1台	組培用皿
十八	超音波震盪器	1台	組培用皿
十九	植物生長燈	1台	培養植物
二十	鏟子、夾具、塑膠袋	20組	處理實驗廢棄物
二十一	萬象	10株	實驗植株
二十二	椰子水	5瓶	調配培養基
二十三	濃化乙醚	1瓶	組培染色
二十四	日亞化 UV-LED 紫外燈	1盞	組培光照射

肆、研究過程與方法



圖一、研究流程

文獻探討

出錦	群生	錦化
錦斑變異是指植物體的莖、葉等部位因為外在因素(日照、溫度、藥物等)發生顏色上的改變	植物主體由多個生長點、生長出新的分枝與側芽，並且共同生長在一起的狀態	頂端生長維管束常增生、加倍，形成許多小生長點，生長點傾向發展成一條線，最終長成扁平的扇形或雞冠形帶狀體

常聽到許多多肉植物的前輩們說出一些多肉植物變種的名詞：出錦、群生、錦化等.....，這些現象大部分都是因為外在因素或個體受刺激產生的異變，但也因為顏色與形狀的千奇百怪，使得多肉植物變的更具價值性。

(二)錦斑與紅葉現象的比較

一般人都會把多肉植物的紅葉現象與錦斑搞混，紅葉現象是被子植物常見的，一種伴隨環境變化而產生的顏色改變，錦是葉色病變，斑則是錦的分布狀態。

	錦斑	紅葉現象
外觀變化	顏色改變	顏色改變
生成條件	葉緣素被紫外線破壞後，隨著其他有色體合成	葉緣素發生變化而產生原發性的花色素或生成
遺傳部位	細胞質	細胞核

表三、錦斑與紅葉現象比較

(三)錦斑成因

錦斑植物成因主要是細胞和組織兩層面而產生，細胞層面會造成「錦化」。組織層面則為「嵌合」，兩者相互作用的形成錦斑植株。

1.錦化

錦化作用有四大類的原因：(1)植物細胞內的葉綠體或葉綠體干擾破壞，出現葉綠素等色素合成障礙過程，其過程可能因遺傳、環境、化學物質和病毒有關。

成因	結果	備註
亞種(遠源)雜交	導致基因缺陷	需 F1 播種，時間較久
生長素	導致細胞過度分裂	須配合組織培養
化學物質	誘發基因變異	植物死亡率偏高
放射線	誘發基因變異	透過紫外線照射
病毒感染	引發細胞代謝紊亂	恐造成物種滅絕

表四、錦化成因與影響

2.嵌合

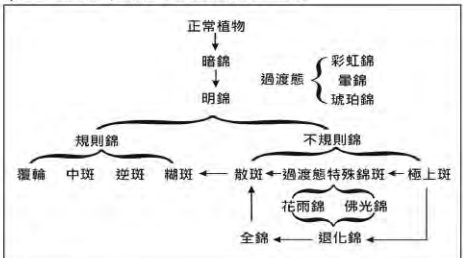
「嵌合」為異常錦化細胞與正常葉綠素細胞間的排列，斑著重於形狀，錦著重色調，若斑的形狀壓過錦，則未以字母代替，如褐斑、斑斑；若錦的色彩繽紛，則會以錦為末字，如墨錦、彩虹錦。

(四)錦斑的轉化

錦斑植物在錦化和嵌合的重疊作用下，斑著重於形狀，錦著重色調，若斑的形狀壓過錦，則未以字母代替，如褐斑、斑斑；若錦的色彩繽紛，則會以錦為末字，如墨錦、彩虹錦。

正常植物轉變為斑錦植物的過程，大致如圖二所示：從正常植物—暗錦—明錦—斑斑分離或轉變為規則錦斑。

圖二、錦斑種類 (資料來源：修改360doc個人圖書館網站)



名稱	內容
極上班	嵌合度高條理之間清晰美麗，又稱為「山水班」或「虎斑」
散斑	嵌合度低條理間條理不清，且線條極為鬆散
退化班	錦斑偏向一方，稱「錦偏」，到此階段為栽培瓶頸，通常壽命不長
全錦	植物錦化到末期，大多數會進一步極化分離成全錦或全綠，全錦為病入膏肓，全綠則是大苗產適的(恢復正常)

表五、不規則錦種類

名稱	內容
覆輪	當錦細胞進入葉原基側側，就形成覆輪
中斑	當錦細胞進入葉原基中間，就形成中斑
斑斑	錦化程度進入裡層細胞組織就形成斑斑
斑斑	錦化進入分蘗點之上就形成斑斑，又稱斑斑或內錦

表六、規則錦種類

(五)萬象錦斑

萬象屬於百合科 (Haworthia) 十二卷屬，這種多肉植物生長慢，自愈能力也差，消費易自發成「錦化」。若使用無性生殖方式，少數的規律嵌合(規則錦)植物很難靠葉插繁殖，葉插的新不定芽形成會打亂錦斑組合規律，形成極化分離的全錦或正常植株，以下為幾種特殊萬象錦斑介紹與照片：

名稱	內容
暈錦	暗錦與明錦轉變過程中，植物修復錦化時呈現的激烈對抗過程，表現為顏色的過渡，猶如山水畫，過渡中間色就是植物修復的表現
彩虹錦	激烈對抗的表現，植物發現單靠修復葉綠素不夠，只好動員花色素或花青素來幫忙，所以呈現了多色斑錦或紅葉狀態
琥珀錦	常見於琥珀萬象和黃金龍爪類，表現為新葉子病態，老葉子修復恢復的狀態，新葉子還不能表達葉綠素，隨著葉子變老逐步恢復表達葉綠素
花雨錦	錦細胞與綠細胞在穩定過程中，將葉面下緣紋路當成激素波動，隨著紋路形成帶來的激素波動，錦細胞分佈在這些組織間隙，形成彩色的「花雨」。

圖三、萬象錦種類照片(資料來源：本論文拍攝)



三、實驗植株選擇、錦斑繁殖方式與逆境機制

(一)實驗植株選擇

本研究實驗株為老師贈予，吾師卻希望本研究團隊能自行調查出萬象名稱，只提供購買植株的賣家資料，經本團隊聯繫後，決定前往賣家的多肉園區，自行比對出萬象名稱，所幸園區萬象的8種，經比對與老師確認得知實驗株為「雪國萬象」。

圖四、萬象名稱(資料來源：本論文拍攝於大隱家多肉園)



(二)萬象錦的繁殖方式可分成：

1.有性繁殖

有性繁殖亦稱實生繁殖或種子繁殖。(Nishimura & Atsumi, 2007) 進行 Haworthia 植物自花授粉實驗，55朵中48朵子房無法膨大發育，僅7朵子房有膨大發育，自交成功率為12.7 %且成熟後有效種子數量少，而異株授粉卻很容易，所以實生繁殖法多用於雜交育種時，雜交種的種類遠多於原生種，萬象錦可用兩株不同的萬象錦植株進行雜交。

2.無性繁殖

無性繁殖是利用植物組織或器官之再生能力的繁殖方式。因為採用植物營養體(如根、莖、葉等)做為繁殖材料，又稱為營養繁殖法(朱，1995；沈，1997)，Haworthia植物的無性繁殖方式有：扦插法、分株法和組織培養三種。

(1) 扦插法

取下甜錦植物體的一部分，插入介質中使其下方生根，上方發芽而成為一獨立個體，稱為扦插法(朱，1995)；沈，1997)。Haworthia植物可以利用葉片，肥大的儲藏根或莖切段所產生的不定芽作為的繁殖材料(目的為去除頂端生長點，該導則等

(2) 不定芽分株法

將具有根、莖、葉等完整構造的植物體自母本分離，稱為分株法(朱，1995)。Haworthia屬植物多數種類成熟後，並基莖產生不定芽，待成長至適當大小，即可分離成為新植株；部份種類在開花前後，花梗下方未分化形成花苞的節位，會產生不定芽(或稱為不定芽)，待成長至適當大小，亦可分離而成為新植株。

(3) 組織培養

組織培養又稱微體繁殖，是在無菌狀態下提供含無機鹽類、醣類和植物生長素等成分構成之培養基，使植物或器官再生的繁殖方式(馬和許，1992)。Haworthia植物的組織培養可以應用於不易產生不定芽的種類和高單價的優良品種。此外，組織培養可以應用於瀕危植物的保育，減少過度的不當採集。

(三) 多肉植物在環境環境的適應機制

1. 多肉植物對於環境環境，具有生理型態上的抵抗能力，有關多肉植物的環境機制說明如下(李梅嬌、劉啟豪，2003；何勇，2002)

- (1) 葉片表面水層，可以過濾產生熱能的紅外線射線，減少輻射能吸收。
- (2) 葉片可以儲存水分於細胞中，以維持生命。
- (3) 葉表面厚角質層讓水分不易蒸散，可保持體內的水分。
- (4) 體內有白色乳汁或無色的黏性物質，此多量物質能提高細胞液濃度，可保持大量的水分。
- (5) 多與毛或刺，仙人掌類的葉為減少水分蒸發，葉片表面積縮減，演化為刺，此有刺種類多存在於龍樹科、羅摩科與大戟科；而葉面上的細毛可禦寒，防禦強烈的紫外線，還有凝聚水氣，使其能順流到土壤供根部吸收的功能。
- (6) 行景天酸代謝(CAM)，白天為了避免水分的流失，將氣孔關閉，而夜晚低溫時氣孔開放以攝取CO₂，但並非所有多肉植物都具有此景天酸代謝機制，像龍舌蘭科、仙人掌科、景天科、大戟科、百合科和蘭科植物等都屬於這類植物。但並非所有多肉植物都屬於CAM型。

2. 多肉植物除了環境機制外，還具有變色能力，影響因素大致上來自於以下三種：

- (1) 光照
用光照改變顏色是最常見，也是見效最快的，例如黑法師隨著日照增多會變黑色。
- (2) 溫度
低溫時，植物為了獲取更多的熱量，提高自身的熱量，會減少葉片裡的葉綠素，合成新的花色素，讓顏色變深，以吸收光的能量。
- (3) 濕度
在秋季和春季溫差變化大，多肉植物因為受凍顏色容易轉為紅色。

四、再生系統的建立

(一) 培植體之選擇

組織培養過程中，不同培植體的選擇，關係到再生分化的結果，具有分化能力的細胞，組織或器官皆可為培植體材料。萬象為Haworthia 科，可由花芽和花序組織萃取所得的原生質體，成功誘導成癒合組織，再經繼代培養而成小植株(Suns et al., 1987)；Haworthia 科可由子房壁組織成功誘導出不定芽、根和癒合組織(Majumdar, 1970)；Haworthia 科的葉片組織，可成功誘導出不定芽(Rogers, 1993)；Haworthia arachnoidea var. setata的(Inflorescence stem)可成功誘導出癒合組織和不定芽(Xu et al., 2007)；Haworthia truncata var. truncata Schoenland的花莖(scape)可成功誘導出癒合組織(Xu et al., 2006)。

(二) 培養基組成對培植體再生之影響

培養基的成分主要是由無機鹽類、醣類和植物生長素等構成。不同的成分、濃度和組合，對培植體再生有不同的影響。

1. 醣類濃度的影響

醣類是植物組織培植生長及分化時，所需的主要碳源提供者，碳源是作為培植體生長所需能量來源，並能調節培養基中之滲透壓。一般常用之醣類有蔗糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇等(Godo, 1996)，其中大多是以蔗糖為主。適當的醣類濃度，可促進其生長速率。

2. Auxins和Cytokinins對培植體再生分化的影響

醣類是植物組織培植生長及分化時，所需的主要碳源提供者，碳源是作為培植體生長所需能量來源，並能調節培養基中之滲透壓。一般常用之醣類有蔗糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇等(Godo, 1996)，其中大多是以蔗糖為主。適當的醣類濃度，可促進其生長速率。

3. 其他培養基添加物對培植體再生分化的影響

培養基中除Auxins和Cytokinins兩類植物生長素外，其他種類植物生長素或添加物的存在，亦有助於培植體的再生分化。

Haworthia科培養基時，以White's basal medium為基礎，添加NAA 2.0 mg/L + K 0.5 mg/L、BA 0.5 mg/L、IAA 1.0 mg/L + K 0.5 mg/L或IAA 1.0 mg/L + K 0.5 mg/L + CH₁ or 2 g/L等四種組合對培植體再生無效果。(Kaul and Sabharwal, 1972)加入椰子汁(10~20%)的組合組合下，則有癒合組織的生成和芽的萌發。(Pandey, 1979) Haworthia 科利用秋水仙素誘導與60放射線照射，可促進癒合組織再生不定芽和不定根。

(三) 材料與方法

1. 試驗材料

本試驗利用Haworthia科植物的萬象(Haworthia maughanii)。培植體的來源則採取春季及秋季所抽出的花序。



2. 培養基成分

採用MS (Murashige and Skoog, 1962) 商業配方全量4.4 g/L為基礎培養基添加3%蔗糖；另外0.3%水晶洋菜粉(Gelzan)為凝結劑；試驗所添加的植物生長素：indole-3-butyric acid (IBA)、 α -naphthaleneacetic acid (NAA)、6-benzylamino purine (BA)、6-furfurylamino-purine (Kinetin)，以上藥品皆為Sigma公司(Sigma Chemical, MO, U.S.A.)之產品。其他添加劑有椰子水(品牌為：鮮那100%純天然椰子汁)；蔗糖為台灣經緯特砂。

3. 培養基調配

採用固體培養基培養，每公升培養基混合液添加3公克水晶洋菜粉，以1N NaOH滴定，調整pH值至5.8 ± 0.1，將培養基混合液加熱至沸騰，利用分注器分裝，每一試管(15 cm × 2.5 cm)注入10 mL，封蓋後，以鋸齒面121 °C、1.05 kg/cm²高壓蒸汽蒸餾15分鐘，殺菌並壓力歸零後，取出冷卻待凝固使用。



4. 培養環境條件

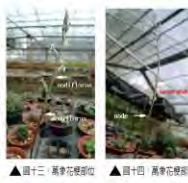
植物生長箱型號YIH-DEE GC-539D，培養條件：光源為晝光色日光燈管(東亞-太陽神FL20D-EX/18")光強度約40-50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot 1$ (2000-3000LUX)與Nichia日晝化UV-LED紫外燈-波長365nm-功率60瓦，混合照明時數16小時，溫度25 ± 1 °C。



(四) 試驗方法

1. Auxins和Cytokinins的組合試驗

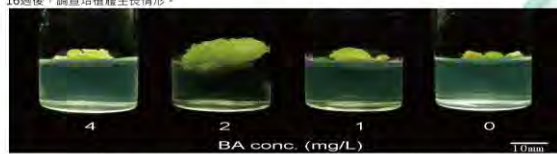
取萬象(Haworthia maughanii)花序為培植體材料，取下第3-5朵未開花開始為適期，切取下方未分化為花苞之花梗，以0.5% NaCl清洗，農藥消毒10分鐘，再以無菌水清洗5-6次，以解剖刀切取0.5-1 cm帶有節節的花梗組織作為培植體，培養於全量的MS商業配方添加蔗糖30 g/L為基礎之固體培養基，植物生長素組合為：BA 2mg/L + NAA 0.2mg/L - BA 2mg/L + IBA 0.2mg/L、Kinetin 2mg/L + NAA 0.2mg/L - Kinetin 2mg/L + IBA 0.2mg/L和20%椰子汁，含對照組(CK)，共計六種組合試驗，每個試管培養1個培植體，每種處理18個培植體，培養12週後，觀察培植體生長情形。



▲圖十五，萬象花梗組織在不同培養調劑組合培養12週後對癒合組織形成之影響

2. 初代培養

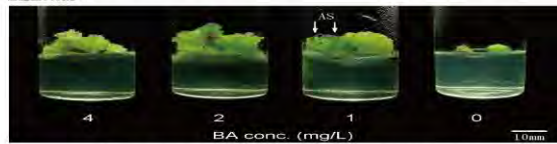
取萬象(Haworthia maughanii)花序為培植體材料，花序由下端剪起。第3-5朵花已開始為適期。以0.5% NaCl清洗，農藥消毒10分鐘，再以無菌水清洗5-6次，以解剖刀切取0.5-1 cm花梗組織做為培植體，並分化成花苞的節節花梗(inflorescences node)，已分化成花苞的節節花梗(inflorescences nodiflorus)和花梗節間部位(internode)。培養於全量的MS商業配方、蔗糖30 g/L之固體培養基，分別添加BA (0.1、2、4 mg/L)和NAA 0.2 mg/L四種組合試驗；和BA (0.1、0.5、1、2 mg/L)和NAA 1 mg/L四種組合試驗，每個試管培養1個培植體，每種處理5個培植體，培養16週後，調查培植體生長情形。



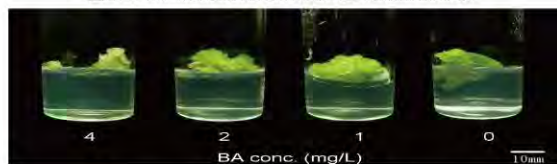
▲圖十六，萬象未分化花苞之花梗組織在不同BA濃度培養16週對癒合組織形成之影響

3. 誘導不定芽

取萬象(Haworthia maughanii)初代培養誘導出的綠色癒合組織，以解剖刀切取約0.5 cm × 0.5 cm大小，做為繼代培養的培植體，培養於全量的MS商業配方，蔗糖30 g/L之固體培養基，分別添加BA (0.1、0.5、1、2 mg/L)和NAA 1 mg/L四種組合與Kinetin 0.5 mg/L + BA 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L的組合共計五種組合試驗，每個試管培養1個培植體，每種處理5個培植體，培養16週後，觀察培植體生長情形。



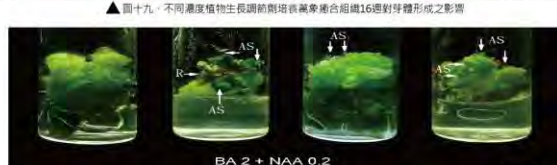
▲圖十七，萬象已分化花苞之花梗組織在不同BA濃度培養16週對癒合組織形成之影響



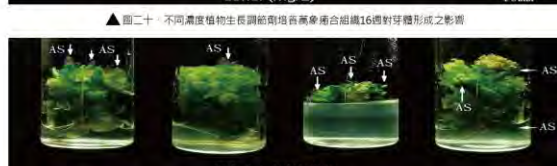
▲圖十八，萬象花梗節間組織在不同BA濃度培養16週對癒合組織形成之影響



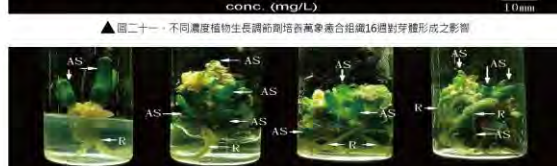
▲圖十九，不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織16週對芽體形成之影響



▲圖二十，不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織16週對芽體形成之影響



▲圖二十一，不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織16週對芽體形成之影響



▲圖二十二，不同濃度植物生長調節劑培養萬象癒合組織16週對芽體形成之影響

4. 不定根的再培養

取萬象(Haworthia maughanii)繼代培養誘導出來的不定芽，芽體外側葉片及相大的不定根為次級培植體，以解剖刀切成長度約0.5-1 cm大小，培養於MS + Kinetin 0.5 mg/L + BA 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L的培養基中，每種處理20試管，培養12週觀察培植體再生情形。



▲圖二十四，萬象不定根培植體培養12週對芽體形成之影響

伍、研究結果

一、組織培養

(一) Auxins和Cytokinins的組合試驗

12週觀察培植體再生情形，結果顯示，MS + BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L和MS + Kinetin 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L兩組培植體再生率皆佳，達到83.3%；MS + Kinetin 2 mg/L + IBA 0.2 mg/L的處理，培植體再生率為61.1%；MS + BA 2 mg/L + IBA 0.2 mg/L的處理，培植體再生率為50%；MS + 20%椰子汁的處理，培植體再生率為22.2%；CK組培植體再生率為33.3% (表1)。觀察培植體再生情形，以MS + BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L的處理，癒合組織(Callus)的生成情形最佳，體積和品質，皆優於其他處理。

▼表八 萬象花母組織在不同生長調節劑組合培養12週對聯合組織形成之影響

Composition of Medium ¹	Explant formed callus (%)	Callus color
CK	33.3 bc ²	white, light green
CM	22.7 c	light yellow, light green
Kinetin+IBA	61.1 ab	light green
BA+IBA	50 bc	white, light yellow, light green
Kinetin+NAA	82.5 a	light green
BA+NAA	83.3 a	light yellow, light green

(二) 初代培養

初代培養結果顯示，BA (0、1、2、4mg/L) 和NAA 0.2mg/L的四種組合中，適合組織的鮮重BA (1、2mg/L) 的濃度下表現較佳；BA 濃度增加到4mg/L，適合組織的鮮重有明顯的減少趨勢。此現象符合Liao等 (2004)、Rogers (1993) 和林 (1982) 的論點。BA在適當濃度範圍下，培植體的再生情形較佳。隨著BA濃度的增加，反而會影響培植體的再生，比對不同培植體來源，以已分化成花苞的節節花梗 (inflorescences nodiflorus) 培植體對聯合組織再生的鮮重表現最佳；但已分化花苞的節節花梗 (inflorescences nodiflorus) 培植體在實驗過程中污染率略高於未分化花苞的節節花梗 (inflorescences node) 及花梗節間部位 (internode) 培植體，探究原因可能為，已分化花苞的節節花梗 (inflorescences nodiflorus) 在進行消毒前，剷除節上苞片及花糸，所形成的傷口較大，而導致消毒較不完全；也有可能是污染率高的百合屬 (Haworthia) 植物，含有較多引發污染的生內菌所致，前者可以適當消毒時間等方式來改善，後者可選擇利用次級培植體來避免。

BA Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus (g)	Explant formed callus (%)	Responding type
BA 0	0.32az	100 a	Callus + bud
BA 1	0.55 a	100 a	Callus
BA 2	0.85 a	100a	Callus + bud
BA 4	0.26 a	100 a	Callus

▲表九 萬象未分化花苞之節節花梗組織在不同BA濃度培養16週對聯合組織影響

BA Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus (g)	Explant formed callus (%)	Responding type
BA 0	0.44 bz	100 a	Callus
BA 1	1.61 a	100 a	callus + bud
BA 2	1.84 a	100 a	callus + bud
BA 4	1.30 a	100 a	Callus

▲表十 萬象已分化花苞之節節花梗組織在不同BA濃度培養16週對聯合組織影響

BA Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus (g)	Explant formed callus (%)	Responding type
BA 0	0.30bz	100 a	Callus + bud + root
BA 1	1.23 a	100 a	Callus + bud
BA 2	0.81 ab	100 a	Callus
BA 4	0.24 b	100 a	Callus

▲表十一 萬象花梗節間部位在不同BA濃度培養16週對聯合組織形成之影響

Explant type	BA Conc. (mg/L) *	Fresh weight of callus
未分化花苞的節節花梗 Inflorescence node	BA 0	0.32 cz
	BA 1	0.55 c
	BA 2	0.85bc
	BA 4	0.26c
已分化成花苞的節節花梗 Inflorescence nodiflorus	BA 0	0.44 c
	BA 1	1.61 a
	BA 2	1.84a
	BA 4	1.30 ab
花苞的花梗節間部位 Inflorescence internode	BA 0	0.30 c
	BA 1	1.23 ab
	BA 2	0.81 bc
	BA 4	0.24 c

▲表十二 萬象不同部位之花梗組織在不同BA濃度培養16週對聯合組織形成之影響

(三) 誘導不定芽

萬象 (Haworthia maughanii) 初代培養誘導出的綠色愈組織，以解剖刀切成約0.5 cm × 0.5 cm大小。做為繼代培養的培植體。培養於全營養的MS培養配方、蔗糖30 g/L之固體培養基，分別添加BA (0、1、2、4 mg/L) 和NAA 0.2 mg/L四種組合，結果顯示，培養於BA 4 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為8個，培養於BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為4.6個，培養於BA 1 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為7.8個，培養於BA 0 mg/L + NAA 0.2 mg/L，平均每個培植體芽體數為12.2個。

Composition of Medium	Shoots/explants	Shoots formation rate
NAA 0.2	BA 0 12.2a ²	95a
NAA 0.2	BA 1 7.8ab	80ab
NAA 0.2	BA 2 4.6bc	100a
NAA 0.2	BA 4 0.8c	40b
NAA 0.1 K 0.5 BA 0.2	11.4a	100a

▲表十三 不同濃度植物生長調節劑培養萬象愈組織16週對芽體形成之影響

(四) 不定根的再培養

利用誘導不定芽試驗中，所生成不定芽的外側葉片及粗大不定根為次級培植體，分離另做芽體的誘導試驗。不定根誘導的不定芽，芽體再生率為55%，再生的芽體中，45.4%有玻璃質化(hyperhydricity)現象。葉片誘導的不定芽，芽體再生率為65%，再生的芽體無明顯玻璃質化現象。單位試管中的平均芽體數也較不定根誘導的佳。

Composition of Medium (mg/L)	Roots/plantlet	Roots formation rate
MS + NAA 0.2	5.4 az	80 a
MS + NAA 0.1	6.4a	100a
1/2MS + NAA 0.2	4.5 a	90 a
1/2ME + NAA 0.1	5.6 a	100 a

▲表十四 不同濃度MS和NAA培養萬象芽體8週對不定根形成之影響

二、出錯與再發生

本研究將組培所產生的萬象苗作分析，計算其存活與出錯率，得到以下結果：

Composition of Medium ¹	Callus survival (%)	Callus Variegatus (%)
CK	25.2bc ²	17.4
CM	18.3c	22.7
Kinetin+IBA	54.5ab	2.8
BA+IBA	48.6bc	36.9
Kinetin+NAA	71.7a	1.3
BA+NAA	72.5a	27.2

▲表十五 萬象花梗組織在不同生長素組合存活與出錯率



▲圖二十五 本研究組培出錯變異的萬象誘

陸、討論

一、Auxins和Cytokinins的組合試驗

本研究選擇一般初級實驗室常用的植物生長素：Auxins類，為NAA和IBA；Cytokinins類，為BA和Kinetin組組組試驗。另以椰子汁做為添加物取代植物生長素和對照組共六種組合，比較其愈組織的再生情形，從愈組織的再生率和外觀品質來判斷，後續實驗所選擇的植物生長素種類，添加20%椰子汁對組織再生率為低，且難為白色的愈組織，不適合做為繼代培養之利用；添加生長素的四種組合，適合組織再生率均達50%以上，且難為組織多呈黃綠色及綠色，適合做為繼代培養之利用，符合Rogers (1993) 所提出，綠色愈組織對繼代培養，芽體的誘導有較佳的表現。

二、初代培養實驗

以花梗節間部位 (internode) 為培植體材料，因表面較平滑無死角，消毒時效果較佳。比其他兩類型培植體來的容易進行。結果顯示在BA 0.5mg/L和NAA 1mg/L的組合中，鮮重表現明顯優於其他組合。當BA濃度為0mg/L，培植體無不定芽的發生。George (1993) 指出，Auxins和Cytokinins兩者間的濃度比，影響器官生長的方向。Auxins濃度提高時，會促進不定芽發生，兩者間具拮抗作用，此處符合上述實驗。

三、誘導不定芽

在誘導不定芽的試驗中，以BA (0、1、2、4mg/L) 和NAA 0.2mg/L作組合試驗配K 0.5mg/L + BA 0.2mg/L + NAA 0.1mg/L，結果顯示，隨著BA濃度增加，不定芽誘導質化(Hyperhydricity)現象有增加趨勢，符合Jin等 (2008)、葉美 (Malus zumi) 芽體再植試驗的結果；Ivanova等 (2006)，培養基以Gelrite (永晶洋行) 為凝膠劑 (Gelling agent) 相較於使用Agar，玻璃質化(Hyperhydricity)比率較高，也可能是芽體玻璃質化的因素。

四、不定根的再培養

葉片培植體誘導的不定芽，芽體再生率為65%，再生的芽體無明顯玻璃質化(Hyperhydricity)現象。單位試管的平均芽體數也較不定根誘導的佳。葉片培植可誘導不定芽發生。符合Rogers (1993) 提出Haworthia comptoniana的葉片組織，可成功誘導出不定芽；以及Beyal and Sharma (1983) 提出番杏科 (Aloaceae) 厚舌蘭屬 (Gasteria) 葉片組織可成功誘導出不定芽和不定根。

五、國外研究對照

以生長旺盛的地錦燈籠為材料，進行了愈組織的誘導和分化、不定芽的分化及試管苗的生根、移栽、扦插和移植的研究。結果顯示：MS+BA 0.4-0.6mg/L+2、4-D 1.5-2.0mg/L是誘導愈組織具有較高成功率癒植物組織的理想培養基；MS+AgNO₃ 0.8mg/L+BA 0.6mg/L+NAA 0.1mg/L是誘導愈組織分化培養的理想培養基；BS++BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L是不定芽分化培養的理想培養基；BS+IAA0.2mg/L+NAA 0.1mg/L是試管苗生根培養的理想培養基；移植的試管苗具有生根旺盛整齊、根系發達、開發生長時間達15d左右的特点。

六、出錯與再發生

坊間的萬象錦常見的出錯方式為扦插，但須先有萬象錦的植株才能扦插出錯呢，且扦插錯誤較難控制出錯分布情況，若用不定芽(側芽繁殖)也需要先有萬象錦，再經過漫長時間才能長成；甚至有不肖商人使用化學物質破壞正常組織，形成植物傷斑，不但影響植物存活率其錯誤也無法追補。
本研究採用組培添加生長素配合光照，其錯誤有遺傳的可能性。考慮實驗安全性，使用光源為晝光日光燈管或紫外LED紫外燈(60W)；若過強光源或使用放射性光源，其出錯率可能會更高。



▲表十六 出錯方法的比較

柒、結論

一、再生系統建立

本研究在Auxins和Cytokinins的組合，初代培養實驗，誘導不定芽與不定根的再培養皆有較佳成效，以下為組培階段分析：

(一) Auxins和Cytokinins的組合試驗

愈組織形成中的是BA+NAA有83.8%，最高的CM有27.2%。

(二) 初代培養實驗

初代培養結果顯示，不同濃度BA (0、1、2、4 mg/L) 和NAA 0.2mg/L的四種組合中，適合組織至達100%。再不同部位的花梗組織中鮮重出現明顯差異：
(1) 未分化花苞的節節花梗BA 0 mg/L和NAA 0.2mg/L呈現的鮮重最高為0.85g，BA 4 mg/L和NAA 0.2mg/L鮮重最低為0.26g
(2) 已分化花苞的節節花梗，BA 2 mg/L和NAA 0.2mg/L呈現的鮮重最高為1.84g，BA 0 mg/L和NAA 0.2mg/L鮮重最低為0.44g。
(3) 花苞的花梗節間部位BA 1 mg/L和NAA 0.2mg/L呈現的鮮重最高為1.23g，BA 4 mg/L和NAA 0.2mg/L鮮重最低為0.24g。

(三) 誘導不定芽

添加BA (0、1、2、4 mg/L) 和NAA 0.2 mg/L，外加0.5-BA 0.2 mg/L和NAA 0.1 mg/L共五種組合，芽體形成對中BA 0 mg/L芽體芽體數平均12.28，BA 4 mg/L最少芽均只有0.8株，出芽率BA 2mg/L與 K 0.5+BA 0.5mg/L兩者皆有100%出芽率最低則是BA 4mg/L為40%。

(四) 不定根的再培養

研究以不同濃度MS和NAA培養萬象芽體8週，濃度搭配MS + NAA 0.2 mg/L，MS + NAA 0.1 mg/L，1/2MS + NAA 0.2 mg/L，1/2MS + NAA 0.1 mg/L四種，結果顯示MS + NAA 0.1 mg/L，1/2MS + NAA 0.2 mg/L培養萬象芽體數4株與出芽率100%最高，出芽率最低則是MS + NAA 0.2 mg/L，出芽率最低是1/2MS + NAA 0.2 mg/L。

二、組培錯誤出現機率

本研究利用CK、Kinetin+IBA、BA+IBA、Kinetin+NAA、BA+NAA六種不同的生長素配方，結果顯示BA+NAA的芽發生率較72%，CM最低18.3%，出錯率則是BA+IBA最高36.9%，最低則是Kinetin+NAA 1.3%。

三、出錯方法的比較

代號	方法	遺傳可能性
A	通過一定劑量的辐射，誘導基因發生突變	可能遺傳
B	通過植物病毒，誘發植物基因突變	可能遺傳
C	將植株置於完全的暗室一周，突然在正午取出遮簾	可能遺傳
D	使用過氧化化劑藥劑，破壞葉肉誘發葉綠素超氧變異	不能遺傳
E	組培繁殖過程中，各種激素等誘發的基因突變	可能遺傳

▲表十六 出錯方法的比較

本實驗是利用組織培養(表上代號E)方式嘗試多種植物出錯，坊間或市面上還有其他方法讓植物基因或細胞突變，目前常見且具遺傳性的方式就是方法A，方法A誘導的變異變態是定向的，而B則有一定機率出變異種，大多數是誘發得到單一的新子變異。再利用扦插法得到全株變異，D則讓植物出錯較快速的方法但無法遺傳。

四、出錯的優缺點

優點：多目的突變性增加，可能帶來更多的升值。缺點：葉片出錯後體色部分減少，藥產率的光合作用減弱，生命力和繁殖力都會變低較難。

五、未來展望

本團隊位於台灣農業大創、雲林縣，看著台灣農業生產力因學子不願意從事，而逐漸萎縮化。基於此本團隊想對農業加入一部份新的生命力，在未來想研究高品質的萬象變上斑繁殖，並將再生產產化，期望能做出品質穩定且價格昂貴的極品，為台灣農業開拓新的契機，同時再將台灣的經濟貢獻。

捌、參考文獻

- (一)中文文獻
1.彭一，程一，何德生等(2004)，植物組織培養技術，臺北：華南圖書出版社。
2.陳國雄(1995)，組織培養技術，臺北：三民書局股份有限公司。
3.沈南平(1997)，組織培養(上)，臺北：農大圖書股份有限公司。
4.林(1982)，植物組織培養技術，臺北：農大圖書股份有限公司。
5.多明哥(2003)，多明哥植物組織培養技術，臺北：多明哥文化股份有限公司。
6.郭振宏(1995)，世界植物大綱 PLANTS OF THE WORLD，臺北：世界聯合文化有限公司。
7.郭振宏(2006)，主要植物組織培養技術，臺北：世界聯合文化有限公司。
8.羅漢達、丁爾，藥劑學(2007)，許多多植物組織培養技術，北京：人民教育出版社。
(二)英文文獻
1.郭振宏，沈南平，1999，多明哥植物組織培養技術，臺北：華南圖書股份有限公司。
2.劉仁，1985，國際植物組織培養技術，臺北：華南圖書股份有限公司。
3.沈南平，2004，世界的主要植物組織培養技術，臺北：世界聯合文化有限公司。
4.郭一，2001，多明哥植物組織培養技術，臺北：多明哥文化股份有限公司。
5. Aline, A. L. & I. van Staden, 2003. Micropropagation of the ending erd Aloe polyphylla. Plant Growth Regulation, 33 (1) : 139-23.
6. Baini, M. W., W. A. Sisk, K. Dolan and I. van Staden, 2007. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered alo polyphylla: can meta-topolin and its derivative serve as replacement for benyladenine and Zeatin? Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 90: 15-23.

玖、附錄

▲圖二十七 本研究組培配製過程與組培出錯後情形

