

## 研究報告

# Cytokinin 處理及培植體截段方式對誘導濕地松 (*Pinus elliottii* Engelm.) 側芽生長之效應

廖宇賡<sup>1</sup> 陳俐萍<sup>2</sup> 江逸琦<sup>2</sup>

**【摘要】**取濕地松 60~80 天苗齡之實生苗作為培植體，使用 cytokinin 以浸泡或添加在培養基中的方式誘導其側芽抽長進行微體繁殖。不論採用的是何種誘導方式，培植體維持全株完整、不要截成多段比較能產生多量的芽體。以短暫浸泡作為誘導處理時，6-benzylaminopurine(BAP)和 kinetin(KT) 彼此間無法區分出何者較佳。但是高濃度 BAP(100 mg/l) 會抑制芽體抽長。在 GD-1 培養基中添加 1mg/l BAP 作為誘導側芽生長之環境時，以處理 30~45 天即能達到最佳之誘導效應。在本研究中芽體產出情形最佳的處理，為不截段的培植體以 1.0 mg/l BAP、添加在培養基中的方式誘導四週，再移往含活性碳的培養基中四週。平均一株實生苗在經過八週的誘導與繼代培養之後，可產生 3.31 個大芽（長度 > 3.0 mm），4.19 個小芽（長度 ≤ 3.0mm）。

**【關鍵字】**組織培養、側芽（腋芽）、細胞分裂素、濕地松

Research paper

## The Effects of Cytokinin Treatments and Explant Segmentation on Slash Pine (*Pinus elliottii* Engelm.) Axillary Bud Induction and Growth

Yue Ken Liao<sup>2</sup> Li Ping Chen<sup>2</sup> Yi Chi Chiang<sup>2</sup>

**【Abstract】**Slash pine seedlings grown 60-80 days after germination were collected as explants in this study. Cytokinin application was carried either by temporary immersion or by medium addition in order to stimulate the axillary bud elongation. No matter what kind of stimulation the seedling explants received, they would produce more axillary bud from intact or less segmented specimens. 6-benzylaminopurine(BAP) and kinetin(KT) were equally effective to induce bud production when using immersion method. But BAP at a higher concentration (100 mg/l) inhibited bud elongation. When using medium addition method (BAP 1 mg/l in GD-1 medium), the better treatment duration was determined at about 30-45 days. We have had a best bud induction treatment in this study that a seedling explant would

1. 國立嘉義大學森林學系副教授、通訊作者

Associate Professor, Department of Forestry, National Chiayi University, Corresponding author.

2. 國立嘉義大學森林學系(二技)畢業學生

Graduated student, Department of Forestry, National Chiayi University.

well response to the BAP (1.0 mg/l) treatment through a 4-week medium addition method, and then cultured with charcoal (minus BAP) for 4 more weeks. This procedure produced 3.31 elongated large buds (> 3.0 mm) and 4.19 non-elongated small buds ( $\leq$  3.0 mm) per explant.

**【Key words】** Tissue Culture, Axillary Bud, Cytokinin, *Pinus elliottii*.

## 一、前言

在發展植物組織培養技術時，所謂微體繁殖 (micropropagation) 是以誘導植物側芽 (axillary bud) 生長作為繁殖方法的一種過程。在種子材料缺乏或不可多得的時候，直接從植株上取材可克服培植體供應的問題。應用在林木的組織培養時，為確認培植體材料具有優良的生長性狀，更可以利用成熟植株之側芽進行繁殖，乃因成熟植株表現型 (phenotype) 已趨穩定，可在取材之前先期篩選之故。

以針葉樹種進行微體繁殖的研究，兼有使用幼年材料 (Burns *et al.*, 1991; Sul and Korban, 1994) 及成熟材料者 (Gupta and Durzan, 1985; Abdullah *et al.*, 1987; Pullman and Timmis, 1992; Brassard *et al.*, 1996)。但是在側芽被誘導生長之後，並不是每一個芽體都能伸長到可利用之程度 (王亞男等, 1992a; Baxter *et al.*, 1989; Brassard *et al.*, 1996)，沒有伸長或是芽體抽長程度不足的側芽通常在後續誘導發根的過程中，大致都會被剔除而無法利用，是組織培養在尋求提昇產量時的一個不利因素。

本研究使用濕地松微體繁殖系統 (Liao, 1993) 作為基礎流程，嘗試了解不同的 cytokinin 誘導處理、合併對培植體做不同的截段切割，對誘導濕地松之側芽及其後繼生長情形會有何種程度的影響。

## 二、材料與方法

### (一) 實生苗培植體之準備

成熟之濕地松種子採自台灣北部新竹一帶，是委由種苗商自林地中開放授粉之母樹混合採收而來，種子以玻璃瓶儲放並冷藏 (4 °C)

於冰箱中備用。播種前以紗布包裹種子，給予足量之水分充分濕潤後置於 4°C 黑暗中 48 小時。播種介質採用等量體積之泥炭土、4 號蛭石、4 號珍珠石混合而成，種子種入介質後僅以清水澆灌。生長 60~80 天後，自子葉下方約 1 cm 處截斷，收集實生苗地上部全株作為培植體。

### (二) 表面殺菌

將實生苗培植體以清潔劑 (每 100 ml 清水滴入 2~3 滴家用清潔劑) 洗滌 2~3 分鐘，移入無菌操作箱後，復以安期消毒液 (0.2 % v/v) 浸泡 5 分鐘，再以 20 % (v/v) 之漂白水洗滌 3 分鐘，以 70 % 酒精洗滌 30 秒，最後以無菌水清洗 3 次，每次 3~5 分鐘。

### (三) Cytokinin 浸泡處理 (試驗一)

以 70 % 之酒精作為溶劑，個別將 BAP 或 KT 溶解並配製成 50 及 100 mg/l 二種濃度之溶液。配製溶液時每 1000 ml 另加入 2 滴的 Tween 20 及 0.1 % (v/v) 的 DMSO (dimethyl sulfoxide)。將完成表面殺菌後之培植體浸泡在前述溶液中 90 秒，另外有一組對照組，培植體只浸泡 70 % 酒精。完成浸泡處理之培植體在無菌操作箱中將附著之酒精吹乾，同時切去頂芽並在子葉與第一片針狀葉間進行切割，將子葉及下胚軸部分去除，如此在培植體基部製造一個新的切口以接觸培養基。培植體採直立狀態植入培養基中八週。本試驗採用簡單逢機設計。

本試驗階段使用 GD-1 培養基 (Sommer *et al.*, 1975) 作為基礎培養基，添加 2 % (w/v) 蔗糖及 0.5 % (w/v) 之活性炭，以 0.7 % (w/v)

Difco Bacto 洋菜固化。培養基先在微波爐中加熱至沸騰使洋菜溶解，分裝到試管中（15 ml/tube）之後再加蓋封口，以高溫高壓蒸煮滅菌、冷卻凝固後使用。

#### （四）培植體浸泡 cytokinin 後並截段處理（試驗二）

本試驗對培植體之浸泡處理是重複使用試驗一中較佳的二個 cytokinin 濃度（50 及 100 mg/l BAP），在培植體浸泡過 BAP-70 % 酒精溶液並切除頂芽及子葉之後，又將其作成 4 種不同方式的截段，分別為完全不截段（處理 A）、培植體平均切成二小段（處理 B）、切成三段（處理 C）、切成四段（處理 D）。截成不同數目莖段之培植體植入與試驗一中相同之培養基中八週，之後計算芽體數目與大小作為比較依據。本試驗測試二種 BAP 浸泡濃度及四種截段處理，是完全逢機複因子（2x4）設計。另外對各莖節產生芽體的數目則以百分比計算後比較之。

#### （五）以培養基添加方式施給 cytokinin 並截段處理（試驗三）

本試驗如同前述將培植體完成表面殺菌之後，依照試驗二之描述，將培植體作成 4 種截段處理，將切段或不切段（控制組）之培植體平放培養在 GD-1 培養基中。cytokinin 之施給不再以浸泡方式為之，而改以在培養基中添加 1 mg/l 之 BAP。四週後將培植體移出此誘導側芽生長之培養基，改換成 GD-1 添加 0.5 % 活性碳，培養基中不含任何植物生長調節劑，如此培養四週後調查芽體數目及大小。

#### （六）以培養基添加方式施給 cytokinin 的時間效應（試驗四）

本試驗採用從培養基中添加 BAP 的方式施給 cytokinin 處理，重複試驗三中較佳的二個處理作為準備培植體的方法（培植體完全不截斷及切成二小段）、平放在 GD-1 添加 1.0 mg/l BAP 的培養基中 15、30、45、60

天，測試在固定 BAP 濃度之下，培植體截段後、不同誘導時間對側芽生長抽長的影響。

本試驗為測試截段及不同誘導時間之效應，為一完全逢機複因子（2x4）設計。培植體從含有 BAP 的培養基移出後，接著培養在 GD-1 添加 0.5 % 活性碳之培養基，四週後調查芽體數目及大小。

#### （七）培養條件

本報告中各階段之培養，均在  $21 \pm 1$  °C 之培養室中進行，以混合之冷白螢光燈及 100 W 之白熱燈泡提供 2100 lux 之光度，並維持 16/8 h 之光週期。試驗 1 及 2 之培植體是單獨培養在玻璃試管中，試驗 3 及 4 之培植材料則培養在直徑 9 公分的無菌培養皿中，每一培養皿容納二株培植體。

#### （八）統計分析

本報告中所進行之各項試驗，每一個別處理均使用 15 株培植體，然因為污染之故，並非所有培植體均能在無菌環境中長久維持。唯試驗結束時，單一處理之樣本大小均能控制在 10~15 株之間。

各試驗結束時，將培植體置於解剖顯微鏡下計數被誘導發生芽體的數目及大小，芽體長度超過 3.0 mm 者歸類為大芽，小於或等於 3.0 mm 者稱為小芽。大小芽的數目分別以變異數分析（ANOVA）進行比較，如遇顯著差異時再進一步以鄧肯氏新多變域檢定分析處理均數間之差異。

### 三、結果與討論

#### （一）Cytokinin 浸泡對側芽誘導之效應

##### （試驗一）

濕地松實生苗培植體在經過 cytokinin 酒精溶液浸泡之後，於培養基中培養約 14~20 天即可看見葉腋部份開始隆起，接著側芽開始從隆起處發育，一次針狀葉呈集束狀向外伸展。這些側芽部份會持續抽長，明顯可以看到莖的延伸。但也有側芽生長停滯，在整

個試驗過程中僅維持微小隆起或抽出部份針狀葉而已 (圖 1)。

本試驗中，兩種 cytokinin 在 50 mg/l 及 100 mg/l 濃度之下，其誘導培植體產生側芽的效應並無明顯差別。在第一次的試驗中 (表 1)，各個處理間、包括只浸泡酒精的對照組，其產出大芽的結果差異不明顯。只有在計算總芽體數時，BAP 二個濃度的處理顯然優於 KT 或對照組。而這個效果是因為 BAP 的處理產生許多小芽之故，其中又以浸泡 100 mg/l BAP 者 (平均收穫 2.00 個) 比浸泡 50 mg/l (平均收穫 1.35 個) 之效果較佳 ( $P < 0.05$ )。但是在實際應用上，小芽因為後續的生長有嚴重遲滯現象，因此這種差異在操作過程中並無利用價值。本試驗在重覆實施

第二次時，有稍微不同之結果出現，大芽產出的數目在處理間出現差異性 (表 1)，所有受測的處理依照鄧肯氏新多變域分析大概分成二組，而實施浸泡 BAP 的二個處理對大芽的產出乃屬於低產量的一群 (低於 KT 處理者)。其中高濃度 BAP (100 mg/l) 的浸泡明顯出現抑制芽體抽長的效果，使得這個處理中大芽產出量最低。在小芽的數目上，仍以浸泡二種 BAP 濃度者有顯著的增加，這也使得在計算總芽體數目時，雖然總芽體數目在統計上無顯著差異，但 BAP 的處理 (依平均數來考量) 仍有其優勢地位 (表 1)。因此我們認為二個濃度的 BAP 浸泡處理對誘導濕地松實生苗產生側芽，是比 KT 或對照組有較強且直接的效果 (以二次試驗之總芽體數目評

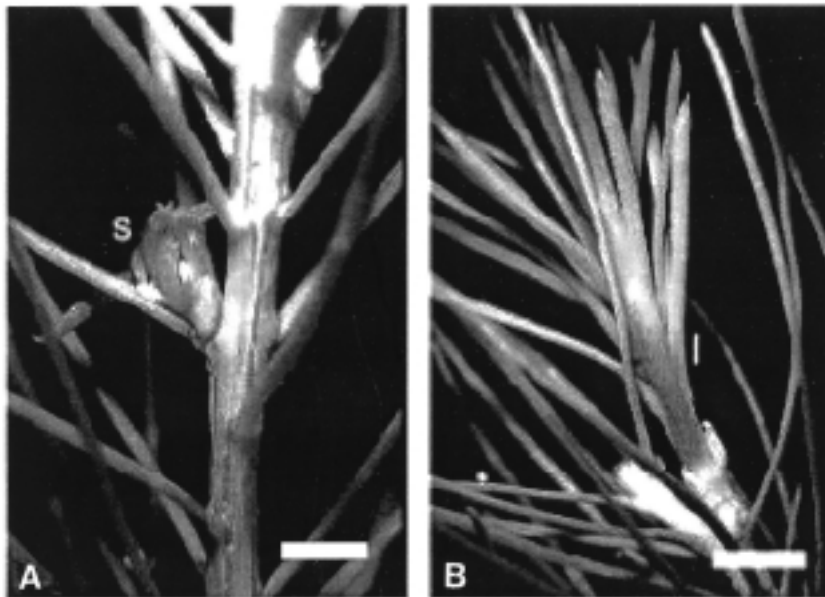


圖 1. 濕地松實生苗誘導側芽生長情形

(A) 側芽被誘導後生長停滯，形成長度不及 3.0 mm 的小芽(s)。

(B) 快速生長的大芽(l)、長度超過 3.0 mm。比例尺刻度(A)中= 2.0 mm，(B)中= 1.0 mm。

Fig. 1. Induction of axillary bud growth from slash pine seedlings.

(A) A small bud with no further development; in a size less than 3.0 mm. Bar = 2.0 mm.

(B) A large elongated bud in a size greater than 3.0 mm. Bar = 1.0 mm.

表 1. 不同 cytokinin 種類及浸泡濃度對誘導濕地松實生苗側芽發生之影響  
Table 1. The effect of using two different cytokinins and two pulse concentrations on induction of axillary bud growth from slash pine seedling explants.

浸泡處理 (mg/l)	第一次試驗			第二次試驗		
	大芽	小芽	平均芽體總數	大芽	小芽	平均芽體總數
酒精浸泡對照組	1.03±0.48	0.97±0.50 <sup>bc</sup>	1.27±0.54 <sup>c</sup>	1.05±0.47 <sup>a</sup>	1.15±0.57 <sup>bc</sup>	1.40±0.68
BAP 50	1.23±0.70	1.35±1.20 <sup>b</sup>	1.72±1.28 <sup>b</sup>	0.88±0.47 <sup>ab</sup>	1.28±0.79 <sup>ab</sup>	1.40±0.83
BAP 100	1.24±0.83	2.00±2.36 <sup>a</sup>	2.31±2.84 <sup>a</sup>	0.76±0.30 <sup>b</sup>	1.49±0.98 <sup>a</sup>	1.52±0.94
KT 50	1.16±0.33	0.84±0.43 <sup>c</sup>	1.27±0.54 <sup>c</sup>	1.11±0.42 <sup>a</sup>	0.99±0.50 <sup>bc</sup>	1.34±0.47
KT 100	1.20±0.50	0.90±0.48 <sup>c</sup>	1.35±0.83 <sup>c</sup>	1.10±0.43 <sup>a</sup>	0.97±0.50 <sup>c</sup>	1.27±0.83

註：均數後方不同之英文小寫字母是表示依 Duncan 氏新多變域檢定而呈現顯著差異 (P<0.05)

估)。但是在考慮受刺激芽體是否能持續生長時，本試驗中所有 cytokinin 浸泡處理卻無法區分出何者較佳，因為大芽的產出，在受測幾個處理之間，差距都非常小。

Sul and Korban (1994) 的研究顯示，cytokinin 的浸泡處理會和培植體不同的基因型發生交感效應，其誘導芽體增殖的效果要視基因型而定。但是在芽體誘導之後，BAP 在受測的三個基因型之中，都沒有能使培植體長出長度大於 1 cm 的側芽，而在 KT 的處理之下就有較大芽體形成。其結果與本研究有部分相似。  
(二) 培植體浸泡 cytokinin 後並截段處理的效應 (試驗二)

使用 BAP 浸泡處理並結合培植體截段的試驗中，我們觀察到 BAP 的濃度因子同時在大芽及小芽的產出方面都形成顯著的差異 (P<0.05)，這使得芽體總產出結果也出現相同結果 (表 2)，而且高濃度 (100 mg/l) 較低濃度 (50 mg/l) 的誘導效果要佳。但是將培植體截成多段的處理並不能促進芽體的增殖，相反的隨著培植體截段次數越多，側芽被誘導生長及抽長的情形越差 (表 2)。以截成四段的處理為例，不僅大芽產生的數目隨截段數目遞增而趨向最少，小芽及總芽體數目也是如此。在這

個試驗中，培植體以全株不截段或僅截成二段對側芽誘導可以有較佳的效果，其中又以完全不截段之培植體其側芽生成數量最多。截成多段的培植體不僅芽體數目降低，更偶有褐化死亡的現象發生，顯示出截段並不利於培植體側芽的誘導。

Baxter *et al.* (1989) 的研究中將若干種熱帶松類的幼苗分別切成頂芽及剩餘之莖節二部分進行相似的誘導試驗，他們發現莖節部分的長度留的越長 (15~20 cm)，獲得的大芽也越多，這是因為越接近根部，芽體被誘導發生的反應越差，因此當莖節長度只只剩 5 cm 時，這個部分已幾乎是完全對側芽誘導無反應的部分。在本研究中我們也觀察到不論培植體截成幾段，最靠近根部的莖節產生芽體的比例都是最低的 (圖 2)。

王亞男等 (1992a; 1994) 在台灣杉 (*Taiwania cryptomerioides* Hay.) 所做的研究，培植體均經切割成數小段或縱向相對剖開，如此可獲最佳處理效果。本試驗亦假設在全株的培植體上，當有大芽開始生長時，有可能因為形成頂芽優勢之故，會抑制整株培植體上其他小芽之抽長。因此如果將培植體個別截段之後，會有較多的機會使小芽生長。但是試驗數

表 2. 浸泡BAP(50 vs. 100 mg/l)合併將培植體截段處理對濕地松實生苗側芽誘導發生之效應  
Table 2. The effects of BAP immersion (50 vs. 100 mg/l) followed by explant segmentation on induction of axillary bud development from slash pine seedling material.

試驗處理	大芽產出結果			小芽產出結果			芽體總產出結果		
	均數	處理主效應平均 ±SE		均數	處理主效應平均 ±SE		均數	處理主效應平均 ±SE	
	±SE	BAP濃度	截段	±SE	BAP濃度	截段	±SE	BAP濃度	截段
BAP 50 (mg/l)		0.77±0.12 <sup>a</sup>			1.53±0.22 <sup>a</sup>			2.54±0.28 <sup>a</sup>	
A (全株)	1.50±0.19	1.67±0.13 <sup>a</sup>		1.83±0.32	3.25±0.46 <sup>a</sup>		3.33±0.42	4.92±0.49 <sup>a</sup>	
B(截2段)	1.33±0.22	1.38±0.17 <sup>ab</sup>		2.67±0.43	2.83±0.27 <sup>ab</sup>		4.00±0.52	4.17±0.34 <sup>ab</sup>	
C(截3段)	0.08±0.08	1.13±0.28 <sup>b</sup>		2.00±0.54	2.35±0.31 <sup>b</sup>		2.08±0.57	3.48±0.47 <sup>b</sup>	
D(截4段)	0.17±0.11	0.17±0.08 <sup>c</sup>		0.58±0.23	0.79±0.17 <sup>c</sup>		0.75±0.22	0.96±0.17 <sup>c</sup>	
BAP 100 (mg/l)		1.39±0.16 <sup>b</sup>			1.92±0.28 <sup>b</sup>			4.23±0.37 <sup>b</sup>	
A (全株)	1.83±0.17			4.67±0.66			6.50±0.62		
B(截2段)	1.36±0.28			3.00±0.33			4.36±0.45		
C(截3段)	2.27±0.30			2.73±0.27			5.00±0.45		
D(截4段)	0.17±0.11			1.00±0.25			1.17±0.24		

註：處理主效應平均數後方不同之英文小寫字母，是依鄧肯氏新多變域檢定而呈現顯著差異(P<0.05)

據並不支持這種推論，一方面是因為在各莖節上側芽受誘導抽長的反應並不一致（圖 2），另一方面可能是切割所造成之傷害更會影響芽體之生長。

### （三）培養基中施給 BAP 及截段處理的效應（試驗三）

本試驗施給 BAP（1.0 mg/l）時，改採添加在培養基中之方式進行，並且處理時間由短暫浸泡延長至四週，試驗結果與試驗二有相似之趨勢。截段處理對芽體的發生有顯著的負面影響，這個影響在培植體截成三或四段時越趨明顯（表 3）。

本處理最不易實施之過程為保持培植體平敷在培養基上，一般在培養一週之後，因為培植體針狀葉的伸展發育，實生苗體本身的捲曲，都會使培植體僅能局部接觸培養基，其中又以完全不截段之實生苗為最。但是側芽受誘導發生的效應並不依賴培植體與

培養基一直保持完全接觸。因為本試驗中受誘導發生的總芽體數，會隨著截段次數的增加而顯著減少（表 3）。也就是說，雖然培植體在培養一週後會只有局部接觸培養基（不截段處理），但是它產生側芽的數目卻高於培植體完全接觸培養基者（截成多段處理）。因此我們推論在本試驗中，這種減少培植體接觸培養基範圍的情形，並不會阻止其吸收或接受 BAP 的誘導刺激。同理、表 3 中顯示不截段處理產生的芽體有較佳的生長情形，也就不能歸因於是因為該處理接受 BAP 刺激較少，而避開了 cytokinin 濃度過高所帶來的生長抑制作用。

### （四）培養基中添加 BAP 的處理時間效應（試驗四）

經過前述試驗之後，我們選擇截段處理中對芽體抽長影響最小之二個處理（不截段及截成二段），結合在培養基中添加 1.0 mg/l

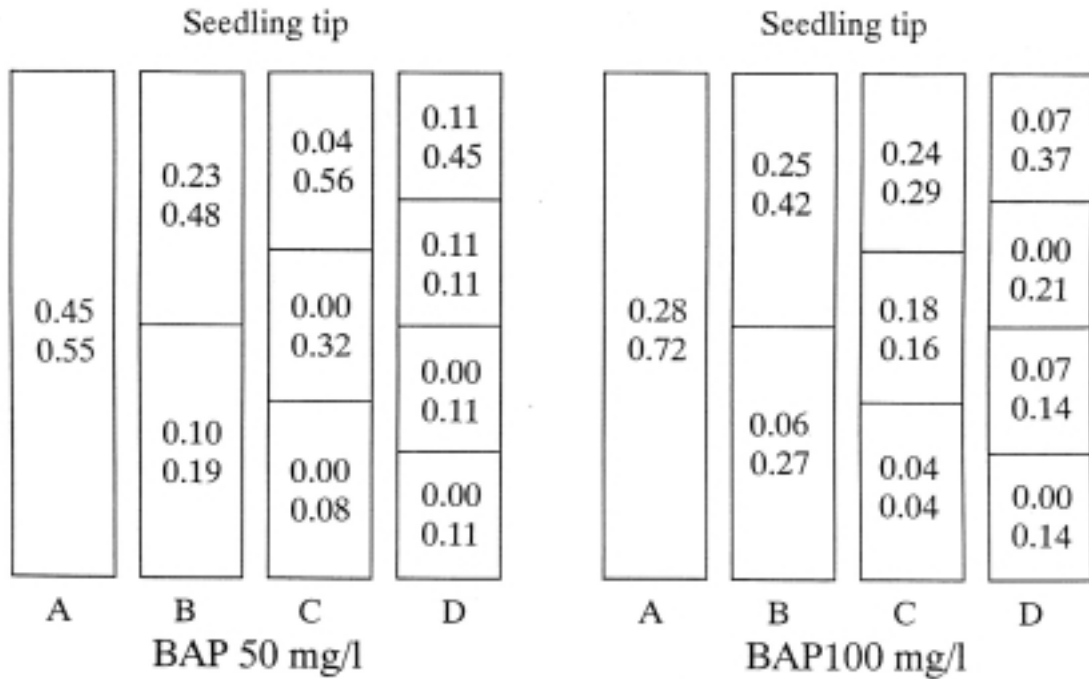


圖 2. 濕地松實生苗在二種濃度 BAP 浸泡後並經過不同截段處理 (A=全株未截段, B=截 2 段, C=截 3 段, D=截 4 段), 各莖節產生側芽數量的百分比。每一莖節中一組數字, 居上者為大芽、居下者為小芽所佔比例。

Fig. 2. The percentage of axillary bud production on each stem segment derived from slash pine seedling explants. Such explants were treated with BAP immersion followed by cutting into several pieces (A=intact, B=2 pieces, C=3 pieces and D=4 pieces). The upper number stands for the production percentage of elongated large buds, and lower number for the non-elongated small buds.

表 3. 不同截段處理之培植體於含 1mg/l BAP 之培養基中側芽誘導發生之情形

Table 3. Induction of axillary bud from slash pine seedling using segmented explants cultured on BAP (1 mg/l) containing medium.

截段處理	大芽均數	小芽均數	平均芽體總數
不截段	3.31±0.17 <sup>a</sup>	4.19±0.18 <sup>a</sup>	7.50±0.24a
截成二段	2.00±0.18 <sup>b</sup>	2.17±0.19 <sup>b</sup>	4.21±0.25b
截成三段	1.07±0.17 <sup>c</sup>	1.04±0.18 <sup>c</sup>	2.07±0.23c
截成四段	0.91±0.19 <sup>c</sup>	0.73±0.20 <sup>c</sup>	1.64±0.26c

註：均數後方之不同小寫英文字母是依 Duncan 氏新多變域檢定而呈現顯著差異 (P<0.05)

BAP來測試處理時間所造成的影響，希望能在誘導時間上尋求一個較佳之組合。培植體莖節在本試驗之 BAP 誘導初期會逐漸膨脹腫大，葉腋部分冒出側芽，但是此時所誘導出的側芽數量偏低。經繼代移轉到含活性碳的培養基後，側芽抽長的情況明顯增多。我們觀察到將培植體截段確實是一種不好的處理方式，在本試驗僅將培植體截成二段就足以減低大芽及總芽數之產出(表 4)。

省產針葉樹中巒大杉 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) var. *konishii*) (廖淑貞等, 1996) 及杉木 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) var. *lanceolata*) (王亞男等, 1992b) 曾有使用 1.0 mg/l BAP 並添加 0.01 或 0.05 mg/l NAA (naphthaleneacetic acid) 成功誘導側芽行微體繁殖之記錄。在巒大杉的例子

中，濃度過高之 BAP 易使培植體發生癒合組織或出現玻璃質化現象。Baxter *et al.* (1989) 使用 0.5  $\mu$ m (相當於 0.11 mg/l) BAP 時亦稱出現抑制芽體抽長現象。因此以添加在培養基中的方式施給 cytokinin 處理，應該保持在相當低濃度，如此則誘導之時間必須要有適當的控制。本試驗雖使用 1.0 mg/l 劑量之 BAP，但是此低劑量之處理卻需使用較長之處理時間才能達到誘導效果。觀察處理天數的效應得知，誘導 30 天會比誘導 15 天顯著增加芽體增殖與抽長(表 4)，但是從 30 增加到 45 或 60 天時，其效果即趨和緩。45 天的誘導對芽體的產出雖有小幅之增加，但是在統計上沒有形成顯著差異。考慮到長期誘導所需耗費之大量資源並需防範培植體污染的不便，30 或 45 天的誘導期間應該已足夠產出最適量之側芽。

表 4. 濕地松實生苗以 BAP 1.0 mg/l 添加在培養基中合併截段(全株vs.截成二段)處理測試最佳誘導時間之結果

Table 4. Treatment duration determination on slash pine seedling explants applied with BAP (1.0 mg/l) through medium addition method and stem segmentation.

試驗處理	大芽產出結果			小芽產出結果			芽體總產出結果		
	均數	處理主效應平均 $\pm$ SE		均數	處理主效應平均 $\pm$ SE		均數	處理主效應平均 $\pm$ SE	
	$\pm$ SE	是否截段	處理天數	$\pm$ SE	是否截段	處理天數	$\pm$ SE	是否截段	處理天數
實生苗不截段		1.78 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>		1.54 $\pm$ 0.08		3.32 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>			
處理15天	0.81 $\pm$ 0.09		0.78 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.44 $\pm$ 0.14		1.20 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	2.26 $\pm$ 0.17		1.98 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
處理30天	1.85 $\pm$ 0.20		1.62 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	2.15 $\pm$ 0.14		1.96 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	4.00 $\pm$ 0.25		3.58 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>
處理45天	2.33 $\pm$ 0.17		1.96 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	1.56 $\pm$ 0.18		1.53 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	3.89 $\pm$ 0.26		3.47 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>
處理60天	2.11 $\pm$ 0.21		1.93 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	1.04 $\pm$ 0.11		1.22 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	3.15 $\pm$ 0.21		3.15 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>
實生苗截成二段		1.38 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>		1.41 $\pm$ 0.09		2.78 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>			
處理15天	0.75 $\pm$ 0.12			0.96 $\pm$ 0.16			1.71 $\pm$ 0.20		
處理30天	1.39 $\pm$ 0.18			1.79 $\pm$ 0.18			3.18 $\pm$ 0.26		
處理45天	1.61 $\pm$ 0.17			1.50 $\pm$ 0.17			3.07 $\pm$ 0.24		
處理60天	1.75 $\pm$ 0.19			1.39 $\pm$ 0.19			3.14 $\pm$ 0.23		

註：處理主效應平均數後方不同之小寫英文字母，是依鄧肯氏新多變域檢定而呈現顯著差異 (P < 0.05)



## 五、結論

濕地松 60~80 天苗齡之實生苗可用作組織培養微體繁殖之材料，以浸泡或添加在培養基中的方式施給 cytokinin 處理均可誘導其側芽抽長。而本研究中所用之 BAP 與 KT，二者效果接近，唯高濃度 BAP (100 mg/l) 浸泡處理會使芽體抽長受到抑制。培殖體接受誘導處理之後，不宜截成小段，如此不利芽體之發生。以 1.0 mg/l BAP 添加在培養基中的方式誘導側芽生長，以 30~45 天為較佳處理時間。

## 六、引用文獻

- 王亞男、姜家華、余金益 (1994) 五年生及二十五年生台灣杉之微體繁殖。台灣大學農學院實驗林研究報告。8(2):53-70。
- 王亞男、姜家華、吳淑華 (1992a) 台灣杉之組織培養。台灣大學農學院實驗林研究報告。6(4):89-108。
- 王亞男、姜家華、胡文菁 (1992b) 杉木之微體繁殖。台灣大學農學院實驗林研究報告。6(4):131-148。
- 廖淑貞、王亞男、姜家華 (1996) 巒大杉之微體繁殖及體胚誘導。台灣大學農學院實驗林研究報告。10(1):105-127。
- Abdullah, A. A., M. M. Yeoman and J. Grace (1987) Micropropagation of mature Calabrian pine (*Pinus brutia* Ten.) from fascicular buds. *Tree Physiology* 3:123-136.
- Baxter, R., S. N. Brown, N. F. England, C. H. M. Ludlow, S. L. Taylor and R. W. Womack (1989) Production of clonal plantlets of tropical pine in tissue culture via axillary shoot activation. *Canadian Journal of Forest Research* 19:1338-1342.
- Brassard, N., L. Brissette, D. Lord and S. Laliberte (1996) Elongation, rooting and acclimatization of micropropagated shoots from mature material of hybrid larch. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 44:37-44.
- Burns, J. A., O. J. Schwarz and S. E. Schlarbaum (1991) Multiple shoot production from seedling explants of slash pine (*Pinus elliottii* Engelm.). *Plant Cell Reports* 10:439-443.
- Gupta, P. K. and D. J. Durzan (1985) Shoot multiplication from mature trees of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). *Plant Cell Reports* 4:177-179.
- Liao, Y. K. (1993) *In vitro* propagation of slash pine (*Pinus elliottii* Engelm.). Ph.D. Thesis. N.C. State University, Raleigh, NC, USA, 151 pp.
- Pullman, G. S. and R. Timmis (1992) Establishment of juvenile-like shoot cultures and plantlets from 4-16 year-old Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 29:187-198.
- Sommer, H.E., C. L. Brown and P. D. Kormanik (1975) Differentiation of plantlets in longleaf pine (*Pinus palustris* Mill.) tissue cultured *in vitro*. *Botanical Gazette* 136(2):196-200.
- Sul, I.-W. and S. S. Korban (1994) Effect of different cytokinin on axillary shoot proliferation and elongation of several genotypes of *Sequoia sempervirens*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 30P:131-135.

