

接穗處理對牛樟割接的影響及組織學觀察¹⁾

楊旻憲²⁾ 王才義³⁾

關鍵字：接穗修剪、割接、殺菌劑的處理、成活率、組織學觀察

摘要：本研究在探討不同接穗處理及殺菌劑處理與否對牛樟 (*Cinnamomum kanehirae* Hay.) 割接苗木的影響。接穗葉片處理行割接處理，以葉片剪半處理者成活率 26.6% 較高，而葉片未處理者(全葉)成活率只有 13.3%，在統計上並無顯著性差異。不同接穗長度(3、6、9cm)行割接處理，以 9cm 接穗的 40% 成活率最高。免賴得[®]殺菌劑對不同接穗長度割接處理並無差異，各處理之成活率皆為 6.7%；然而後續生育以未處理者為佳。觀察嫁接成活六個月後的癒合處組織發育情形，生長勢強健的植株之癒合處之組織建構橫切面，較虛弱植株者為佳。

前 言

牛樟屬樟科樟屬為台灣特有常綠闊葉大喬木，樹幹通直、樹體高聳及初生葉顏色多變，深具觀賞價值，是本土極具發展潛力的庭園景觀樹木。目前牛樟天然林因往昔過度開發及人為盜伐，僅分布在交通不便的地區，且多為高齡老樹，結實量少，採種也屬困難工作，即便獲得種子其發芽率也不高。如採扞插繁殖，插穗易因所取為成熟老樹(14 年生)，導致發根率低，採穗株須經截幹取其根蘖或由基部所萌蘖之枝梢為插穗才有較高成苗數，但其生長勢並不強健且有橫向生長習性，在苗木出栽時，易有苗木折損現象，撫育工作繁密(高和黃，1993)。嫁接研究上，蘇(2003)指出，只有二月至四月採切接法嫁接有成活，但其成活率並不高。本研究的目的，希望藉由接穗修剪、接穗長度及殺菌劑等處理，來改善嫁接不易成活的問題。

1) 本試驗承蒙行政院農委會農糧署科技計劃經費補助 (95 農科-1.3.2-糧-Z4)。

2) 國立中興大學園藝學系碩士班學生。

3) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

材料與方法

一、植物材料

砧木材料(樟樹)為購自彰化田尾在興種苗園的一年生苗，種在 9 cm 黑軟盆。試驗所用之一年生苗木在購回之後，換成黑長筒軟盆(13.6×18 cm;直徑×高度)栽培。牛樟(採穗株)則購自彰化田尾詹姓苗圃商，為 2-3 年生苗木。購回之後，採穗株換植於美植袋(30 cm；新型專利第 74180 號)種植，並挖洞將其埋入土裡，栽培在國立中興大學園藝學系苗圃，栽培介質皆使用泥炭土:砂:土(2:1:1;v/v/v)；砧木放置在精密溫室(具水牆和風扇)栽培管理，溫室內部上方覆有 60%銀黑色遮蔭網，嫁接試驗在精密溫室進行。

二、接穗修剪對牛樟割接的影響

以黑長筒軟盆(13.6×18 cm;直徑×高度)栽培的一年生樟樹苗為砧木，分別嫁接帶 2-3 片全葉或葉剪半的接穗，穗長 3 cm，嫁接高度 15 cm，嫁接方法採用割接法(cleft graft)。割接方法，在砧木截斷面，通過髓部割一刀，深約 2 cm，再將接穗下端削一長切面，反面也削一長切面，露出形成層，然後插入砧木切縫中，使接穗形成層對齊砧木一邊的形成層即可。嫁接後以石蠟(PARAFILM[®] 4 in.×125 FT. Roll,PM-996)纏緊切口和接穗，套上塑膠袋後，再套上一層報紙。嫁接之後放置在精密溫室床架上管理。嫁接後 3 週隨機觀察其存活情形，第 4 週後如有抽梢者，則將報紙除去，並將塑膠袋的兩角剪一小洞。待接穗葉子達袋頂時，才將塑膠袋除去。此外在管理砧木時有砧芽生長隨時將其摘除。試驗設計採用完全隨機設計(Complete Randomized Design)，每處理 5 重複，每重複 3 株，共 15 株。試驗在 2006 年 1 月進行，並在 9 月調查。調查項目成活率並測量接穗、癒合處和砧木直徑(以數位式游標卡尺；Mitutoyo Corporation)及樹冠直徑(以布尺測量樹冠最外緣相對 2 點間的距離，及垂直方向另外 2 點間的距離，2 數值之平均值為樹冠直徑)與株高(使用捲尺測量由盆土面至植株莖頂間的距離)。

三、接穗長度對牛樟割接的影響

分別取長度 3、6、9 cm 接穗，接穗上葉片剪半，嫁接高度 10 cm，於 2006 年 4 月 30 日進行割接，並於 2006 年 9 月調查，其餘如試驗一。

四、殺菌劑處理接穗對牛樟割接的影響

接穗浸泡殺菌劑有無，對照組為接穗採集後隨即嫁接，及接穗泡水和浸泡億力[®]殺菌劑 1000 ppm(免賴得 50%可濕性粉劑；台灣杜邦股份有限公司)處理各 12 h，接穗每片葉子去除 1/2，長度 3 cm，嫁接高度 5 cm，試驗在 2006 年 5 月進行割接，其餘如試驗一，確定成活之後再統計成活率。

五、統計分析

成活率所得數據經反正弦(arcsine)轉換後，以變方分析(Analysis of Variance)測試顯著性，並進行最小顯著性差異測試(Least Significant Difference Test; LSD)分析處理差異顯著性。

六、組織學觀察

嫁接成活 6 個月後的牛樟嫁接苗，各取一株生長勢強健和虛弱的植株，用整枝剪取下嫁接癒合處的枝條，維持在潮溼條件下，使用滑走式切片機(sliding microtome)切取組織橫切片，切片厚度約 20-30 μm ；以蘇木紫(Delafield's Hematoxylin)染色 10 min，再以 30%和 50%酒精浸泡各 5 min，接著以蕃紅(safranin)染色 1 h，隨後酒精脫水系列(50、70、85、95、100%)各濃度 3 min，接續快速綠(Fast Green)染色 10 dips，再 100%酒精及二甲苯處理各 3 min，將切片以加拿大膠封片，製成永久切片(蔡, 1995)，在光學顯微鏡(OLYMPUS® BX50F4)下觀察並以數位照相機(OLYMPUS® C-3040ZOOM)照像存檔。

結 果

一、接穗修剪對牛樟割接的影響

在 2006 年 1 月以割接法，接穗處理剪葉 1/2 的成活率 26.6%較未處理者 13.3%高，但在統計學上並未達顯著性差異(表 1)。未處理及修剪葉片的嫁接苗生育 7 個月後株高則各為 33 及 33.25 cm，樹冠直徑各為 32.75 及 38.87 cm，接穗直徑分別為 0.55 及 0.62 cm，癒合直徑則分別為 0.95 及 1.02 cm，砧木直徑相同為 0.8 cm (表 1)。兩種接穗處理法對後續生長並沒有影響，僅在成活率上有差異。

表 1. 接穗修剪對牛樟割接生育的影響。

Table 1. Effect of trimming scion on the growth to cleft grafting of stout camphor .

Scion treatment	Survival rate (%)	Plant height (cm)	Canopy diameter (cm)	Scion diameter (cm)	Union diameter (cm)	Rootstock diameter (cm)
Retention leaf	13.3a ^y	33 ± 1	32.75 ± 0.62	0.55 ± 0.02	0.95 ± 0.02	0.80 ± 0
Cut leaf	26.6a	33.25 ± 1.51	38.87 ± 2.88	0.62 ± 0.05	1.02 ± 0.04	0.82 ± 0.04

嫁接日期 2006/1；調查時間 2006/9；對照組為接穗保留完整的葉片，修剪葉片為將接穗葉片剪半。

^z: Percentage data have been transformed by arcsine factor before LSD test.

^y: Values within the column followed by the same letter are not significantly at 5% level by LSD test.

二、接穗長度對牛樟割接的影響

在 2006 年 4 月份進行嫁接，接穗長度 9 cm 成活率為 40%，而 3 及 6 cm 的接穗成活率皆為 33.3% (圖 1)，在統計上並無差異。而以 6 cm 接穗(株高 32 cm)的生育較 3 及 9 cm 接穗(株高未達 30 cm)的處理好。

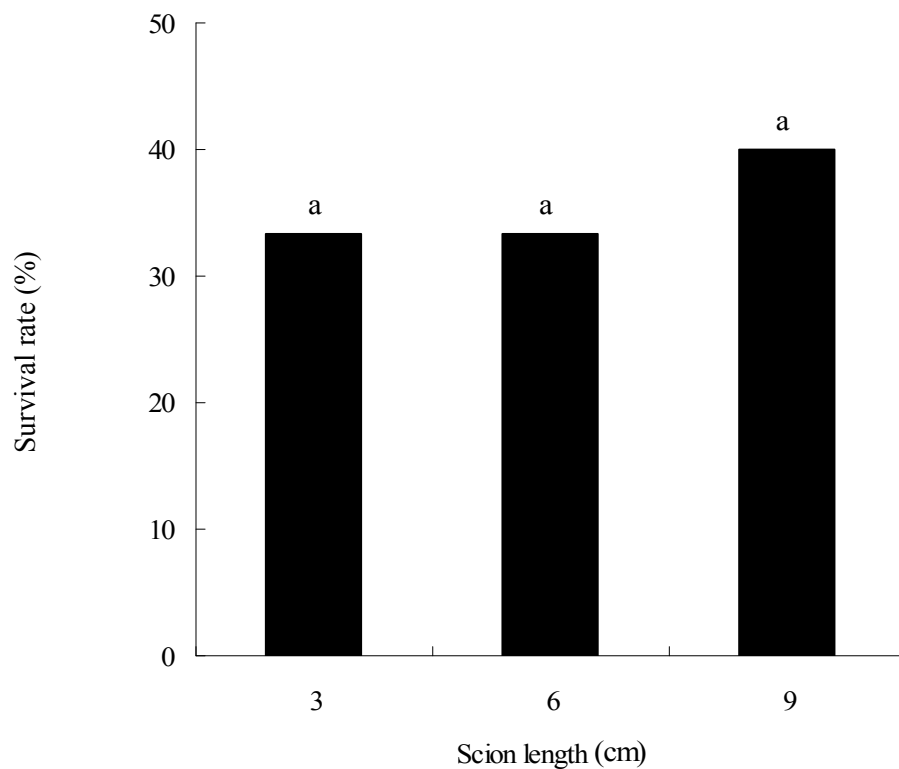


圖 1. 接穗長度對牛樟割接的影響。

Fig. 1. Effect of scion length on the cleft grafting of stout camphor.

Values by the same letter are not significantly at 5% level by LSD test.

三、殺菌劑處理接穗對牛樟割接的影響

在 2006 年 5 月份進行試驗，此處理結果並不如預期中理想，任何處理只有 6.7% 的成活率(圖 2)。嫁接苗的生育只有對照組(未處理)的苗木較為理想，泡水處理的苗木在拍照前死亡，殺菌劑處理的苗木生育亦不理想，最終只有對照組成活。

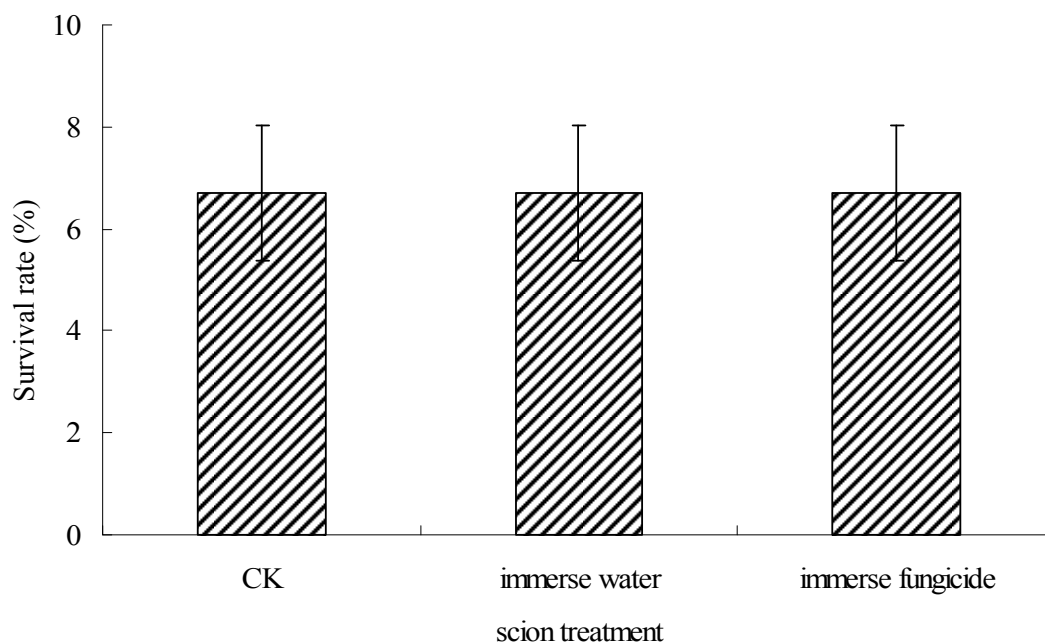


圖 2. 殺菌劑處理接穗對牛樟割接的影響。

Fig. 2. Effect of scion treatment fungicide on the cleft grafting of stout camphor. means±se.

四、組織學觀察

生長勢強壯的植株於切片觀察上，砧木與接穗的癒合情形較為良好，形成層靠在一起的部份，組織已融合在一起，但接觸面尚未建構成新的輸導組織，且仍然有癒傷組織持續在接觸面發育，在癒傷組織外圍仍包覆著壞疽細胞，在癒傷組織和壞疽細胞間有木栓形成層存在(圖 3A)。

在虛弱植株的切片觀察上，砧木和接穗的表皮創傷已修復完成且密合在一起，但內部仍然只有部份接合在一起，而接穗和砧木之間仍存在壞疽區，尚未消失。接穗形成大量癒傷組織，而自身內部的壞疽層尚未消失，接穗與砧木在木質部接觸的部份有很長的壞疽層，但內部有木栓形成層存在，表示仍可持續分化(圖 3B)。

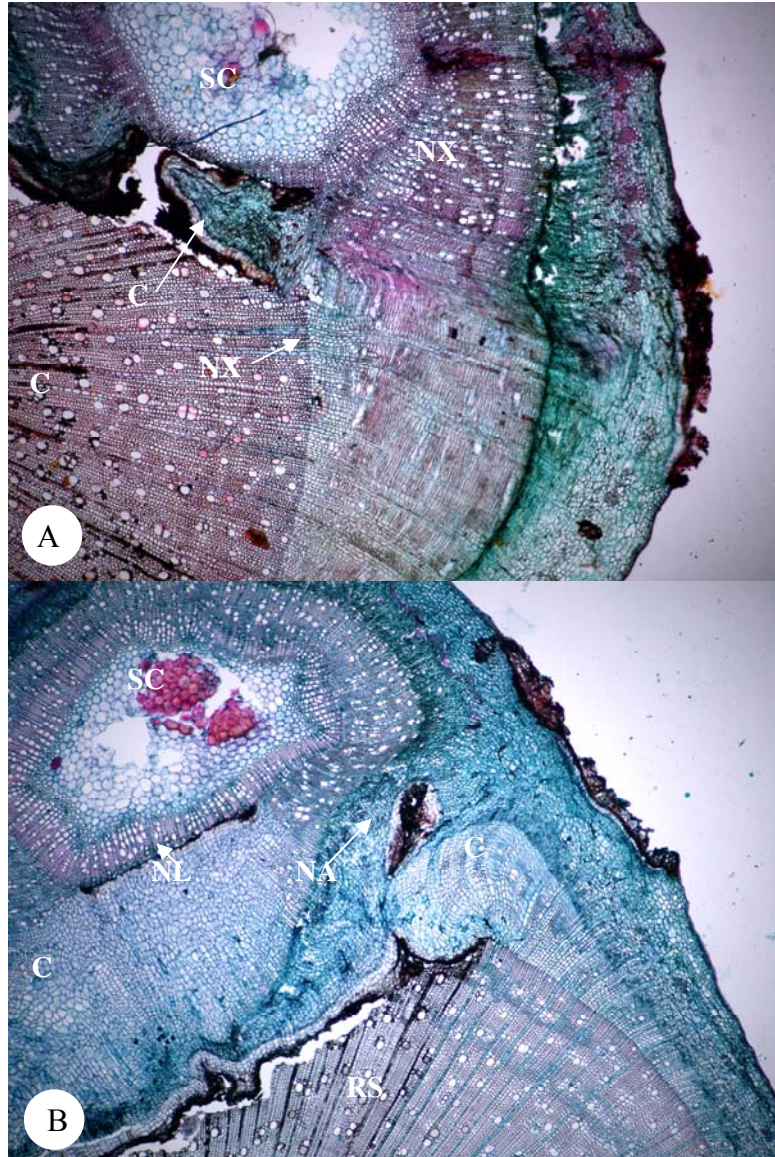


圖 3. 牛樟以劈接法嫁接成活 6 個月後的癒合處橫切面。A. 生長勢強健。B. 生長勢虛弱。
Fig. 3. Cross sections of healing place between stout camphor survival six months after cleft grafting. A. Growth trend is strong. B. Growth trend is weak. C: callus; NA: necrotic areas; NL: necrotic layer; NX: new xylem; RS: rootstock; SC: scion.

討 論

一、接穗處理對牛樟嫁接成活的影響

接穗葉片經修剪與否對成活率的影響方面，在嫁接繁殖時，一般認為將葉片修剪 1/2 有利嫁接的成活，因可避免蒸散過大，導致接穗萎凋活力下降。本試驗的結果也有相同趨勢，以有修剪葉片者，成活率較高，但在統計上處理之間並沒有顯著性差異(表 1)。然而有處理者在嫁接操作時較順手，且套袋較方便，除非使用牛皮紙袋整個套住，就沒有這方面的困擾。此外尚須考慮病害的問題，病菌是否會由創傷處入侵，尤其對於帶葉嫁接者。另一方面，接穗採集後似乎不適合再浸泡水(包括含殺菌劑的處理液)，可能是導致嫁接失敗率提高成因之一。因在接穗處理殺菌劑與否的試驗上，成活率也相當低，各處理皆只有 6.7% 的成活率(圖 2)，但後續的生長仍是以未處理者最理想。然而，在牛樟的扦插繁殖上，插穗處理殺菌劑是個良好的流程，其中所牽涉的機制有何不同，並不是很清楚，也許只差異在處理手法或流程而已。林 (1997) 指出椪果嫩梢採頂接法時，接穗經 1000 倍億力浸泡 40 min，可將成活率提高至 56.3%。王 (1985) 敘述容易嫁接的果樹，接穗可處理好後，投入水中或濕布包裹，或以塑膠袋貯存，待砧木處理後，取之逐一嫁接，如柑桔類及落葉樹種；然而嫁接困難的果樹，須將單一接穗處理後，及砧木處理好，即將其接合，一般常綠樹以此法操作，嫁接才易成活。

二、牛樟嫁接的癒合

嫁接是砧木與接穗形成層密合，使兩者形成層之新細胞分化相癒合而成，嫁接面的間隙愈小，砧木與接穗的形成層愈能完全連結，而形成木質部與韌皮部使養分與水分互相流通，且上下能共同連絡而成活(蔡，1998)。

在組織學觀察上，蘇 (2003) 以掃描式電子顯微鏡觀察發現嫁接 6 個月後嫁接苗的癒合處組織仍然存在壞疽層，本試驗亦發現嫁接 6 個月後生育不良的嫁接苗，其癒合處組織橫切片亦存在壞疽層，且組織分化較慢(圖 3B)，而生育良好的嫁接則無此情形或不明顯，組織分化較生育不良的嫁接苗快(圖 3A)與前人研究的觀察是一致的。但整體而言，組織癒合建構速度並不如 Copes (1969) 描述花旗松(*Pseudotsuga menziesii* [Mirb.] Franco) 在嫁接 35 天後完成所有組織系統的成功癒合，其亦指出不良的嫁接技術會延遲組織的建構 3 個月或更久。但蔡 (1998) 指出在柿樹嫁接的組織解剖學觀察上，柿樹嫁接後經 50 天時癒合組織完全形成，第 90 天後其組織可完全連接癒合。顯示樹種間或品種間嫁接仍會因基因型而異。然而說回頭嫁接要成活率高，就是要在最短的時間內，完成組織分化與建構，因嫁接是與許多逆境競賽的繁殖方法，愈晚完成組織建構，外在因子愈容易左右嫁接成功。

參考文獻

- 王勝鴻。1985。接木技術。王家出版社。288pp.。
- 林昭謀。1983。台灣的樟樹經營。宏昌打字行。115pp.。
- 林瑩達。1997。椽果嫩梢頂接法及其應用。台灣省農業試驗所技術服務。29:12-15。
- 邱响鈞。2006。土肉桂與山肉桂種間嫁接之研究。國立臺灣大學森林環境暨資源學系碩士論文。101pp.。
- 洪西洲、李明仁。2003。烏心石嫁接之研究。台灣林業。29(3):27-31。
- 高銓弘。1999。割接應用在聖誕紅盆花生產之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。114pp.。
- 高毓斌、黃松根。1993。牛樟之扦插繁殖。林業試驗所研究報告季刊。8(4):371-388。
- 郭耀綸、陳佐治、鄭鈞騰。2004。牛樟扦插苗的生長及光合作用對光量的反應。台灣林業科學。19(3):215-224。
- 游漢明。1995。樟樹。台灣農家要覽 林業篇 財團法人豐年社。21-24pp.。
- 黃松根、高毓斌。1997。牛樟採穗園之枝穗產量。牛樟生物學及育林技術研討會論文集。台灣省林業試驗所。79-83pp.。
- 葉育哲。2003。以實生苗生產樹型聖誕紅之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。88pp.。
- 蔡巨才。1998。柿嫁接不親合性對生長之影響。中國園藝。44(1):11-28。
- 蔡東明、王才義。1997。聖誕紅嫁接方法之研究。興大園藝。22(2):101-112。
- 蔡淑華。1995。植物組織切片技術綱要。茂昌圖書有限公司。72pp.。
- 蔡惠文。2002。柿樹嫁接不親和性及耐寒性之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。98pp.。
- 劉業經、呂福原、歐辰雄。1994。台灣樹木誌。國立中興大學農學院。104-131pp.。
- 藍來成。1992。牛樟採種、採穗園之設置。臺灣林業。18(2):21-24。
- 蘇碧華。2003。牛樟與樟樹嫁接親和性之研究。國立嘉義大學農學院林業研究所碩士論文。76pp.。
- 顧懿仁、蔡麗杏、王榮春、馮金松。1984。牛樟在本省之生長情形及其繁殖試驗效果初步報告。臺灣林業。10(5):4-9。
- Copes, D. 1969. Graft union formation in Douglas-fir. Amer. J. Bot. 56:285-289.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies, J., and R. L. Geneve. 2002. Plant Propagation: Principles and Practices. 7th eds. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 411-538 pp.
- Pina, A. and P. Errea. 2005. A review of new advances in mechanism of graft compatibility-incompatibility. Sci. Hortic. 106:1-11.
- Serdar, U., B. Kose, and F. Yilmaz. 2005. The structure of graft unions in European chestnut using different grafting methods. HortScience. 40:1474-1477.

The Effect and Anatomical Observation of Cleft Grafting Scion Treatment on Stout Camphor¹⁾

Min-Xian Yang²⁾ Tsai-Yih Wang³⁾

Key word: Scion trimming, Cleft grafting, Fungicide treatment, Survival rate, Anatomical observation

Summary

The objective of this study is to understand the effect of different scion treatments and fungicide presidency at cleft grafting on growth of Stout Camphor (*Cinnamomum kanehirae* Hay.). The survival rate of leaf treatment, which is 1/2 leaf scion is better than that of other treatments with survival rate of 26.6% and the survival rate of the intact leaf scion was only 13.3%, however, no statistical difference between them. In different scion length treatments, 9 cm scion has the highest survival rate. In fungicide Benomyl treatment, the survival rate of each group was the same, 6.67%. However, the check group performed better than the others. When anatomical observing the survival cleft grafting plants, the healing callus construction structure of healthy one was better than that of the weakness one.

-
- 1) This research was supported by the Agriculture & Food Agency Council of Agriculture, Executive Yuan (95AS-1.3.2-FD-Z4).
 - 2) Graduate student in MS program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
 - 3) Associate Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

