

ABA、Fluridone 及 Sucrose 對鐵炮型及群間雜交種百合鱗片葉發育形態影響之研究¹

戴廷恩^{1,4} 許圳塗²

摘 要

戴廷恩、許圳塗。2009。ABA、Fluridone 及 Sucrose 對鐵炮型及群間雜交種百合鱗片葉發育形態影響之研究。台灣農業研究 58:234–242。

為研究 ABA 對於百合鱗片葉發育形態之影響，以台灣百合 (F)、鐵炮百合 (L)、東方型百合栽培種‘Casa Blanca’ (CA) 及群間雜交種 F × CA 及 L × CA 為材料，利用 ABA、Fluridone 及糖於試管內進行研究。外加 ABA 及 Fluridone 培養 4 週及 8 週，鱗片葉生長調查結果顯示鱗片葉生長均明顯受到 ABA 的抑制及 Fluridone 的促進，ABA 會抵銷 Fluridone 的效應。ABA 濃度變化結果顯示 CA 有最高內生 ABA 濃度，F 及 L 最低，雜交種則介於兩親本間，外加 ABA 促使鱗片 ABA 濃度增加，Fluridone 處理使鱗片 ABA 內含量濃度減少。糖對鱗片葉形態發育的調查數據顯示高濃度糖抑制鱗片葉的發生，但抑制效果不如外加 ABA，依然有一定程度的鱗片葉發生。

關鍵詞：百合、離層酸、離層酸合成抑制劑、蔗糖、鱗片葉。

前 言

一般植物的葉片大多為扁平狀，多數葉片可以區分為三個部分，托葉 (stipule)、葉柄 (petiole or rachis) 及葉身 (blade or lamina)，有些葉片並無法清楚區分出這三個部分，不同植物會有不同變形，甚至於同一株植物葉片也會出現多樣性的變化 (Poethig 1997)。百合的鱗片就是變形葉的一種，由葉基部肥大而成 (Kim *et al.* 1994)，兼具營養儲藏及繁殖的功能。百合由實生苗或不定芽之莖頂分生組織 (apical meristem) 分化出葉原體，可生長分化為莖生葉

或變形生長為鱗片 (Jin 1995)。鱗片發育同樣具有形態發育可塑性，可發育為鱗片 (scale)、劍形鱗片葉 (sword scale leaf) 及鱗片葉 (scale leaf)。具有異形葉的水生植物，相關研究指出 ABA 與葉片形態有一定程度的關係，可以誘導沉水枝產挺水葉 (Goliber & Feldman 1989; Smith & Hake 1992)。百合培養基加入 ABA，再生株變成只有鱗片之形成，完全沒有鱗片葉之形成 (Kim *et al.* 1994)。百合鱗片葉的形成受到 ABA 的抑制 (Wu 2001; Chen 2003; Gerrits *et al.* 1992)，ABA 內含量高易造成無葉身鱗片發生 (Wu 2001; Chen 2003)。葉片生長由遺傳所

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2368 號。接受日期：98 年 9 月 9 日。
2. 本所花卉研究中心副研究員兼系主任。台灣 雲林縣。
3. 國立台灣大學園藝系教授。台灣 台北市。
4. 通訊作者，電子郵件：tedai@tari.gov.tw；傳真機：(05)5820834。

決定的葉型變異存在於許多屬或種植物，可以藉由雜交，觀察後代變化，了解葉型變異上之遺傳關係或行爲 (McLellan 1990)。因爲 ABA 對百合鱗片葉形態發育影響的相關研究，缺乏不同基因型間 ABA 濃度變化與葉片形態發育之關係，本研究以鐵炮型百合、東方型百合及其相關群間雜交種，定量濃度變化，以研究 ABA 與百合鱗片葉形態發育間之關係。

參試 5 個百合品種，包括台灣百合 (*L. formosanum*，以下簡稱 F)、鐵炮百合 (*L. longiflorum*，以下簡稱 L)，東方型百合 (Casa Blanca，以下簡稱 CA)，群間 L/O 雜交種 *L. formosanum* × Casa Blanca (F × CA) 及 *L. longiflorum* × Casa Blanca (L × CA)。以組織培養鱗片繁殖，選取已發育具有 2 至 3 片葉 (除 CA 外) 之植株，移植培養於直型瓶 (高約 10 cm、直徑約 3 cm)，MS 培養基爲對照組，MS 培養基分別添加 ABA 1 mg/L、Fluridone 0.1 mg/L (Fluka, Riedel-de Haën, Germany)、ABA 1 mg/L + Fluridone 0.1 mg/L、sucrose 120 g/L 及 sucrose 120 g/L + Fluridone 0.1 mg/L 爲處理組。培養基定量每瓶 20 mL，25°C ± 2°C，光照 16 小時，每瓶 1 株爲 1 重複，共 6 重複。培養時間 4 及 8 週，每隔 1 週紀錄鱗片葉數，每隔 4 週，逢機取樣 5 株測定鱗片 ABA 含量。ABA 之定量方法主要參考 Chen *et al.* (2001) 及 Walker-Simmons (1987)，材料秤重後，加入 1 mL 之萃取液 (80% MeOH with 2% glacial acetic acid)，研磨後於 4°C 黑暗下靜置 24 小時以上。5000 rpm (1500 g) 離心 10 分鐘，取上清液以離心真空濃縮機 (centrifugal evaporator, EYELA CVE-3100) 抽乾，加入 0.5 mL 100% MeOH 及 0.5 mL 0.2 M NH₄H₂PO₄ (pH 6.8)，於 4°C 下，靜置 10 分鐘，再以 polyvinylpyrrolidone (PVP) 管柱過濾，加入 6 mL 雙重蒸餾水沖洗管柱，收集濾液。濾液加入 100 μL glacial acetic acid，緩慢通過 C₁₈ 管柱 (C₁₈ column, Sep-Pak

Cartridges, Waters, USA)，再分別以 4 mL 含 2% glacial acetic acid 之 20% MeOH 及 4 mL 含 2% glacial acetic acid 之 55% MeOH 沖洗管柱收集濾液。取 1 mL 濾液利用 ABA 試劑組 (Phytodetek ABA Kit, agdia®, USA) 反應後，以酵素免疫分析儀 (ELISA reader, BioRad 550) 測定波長 405 nm 的吸光值。利用 SAS 軟體計算標準偏差，進行變方分析 (analysis of variance) 後，並以最小顯著差異測驗 (least significant difference test, LSD) 分析各項處理對百合鱗片葉型發育之差異性。

ABA 與 Fluridone 處理，對於百合小鱗莖鱗片葉生長之影響，結果如表 1，對照組培養 4 週後，F 及 L 鱗片葉數發生最多，平均鱗片葉數分別達約 4.33 及 4.00 片；CA 呈現慢速生長，平均鱗片葉數不到 1 片，只有 0.50 片；而 L/O 雜交種則呈現中間型表現，4 週內分別有 2 片及 0.83 片的鱗片葉生長。加入 ABA 1 mg/L 後，供試基因型鱗片葉生長均明顯受到抑制，呈現近乎停滯的狀態，其中以 F 及 L 受到抑制程度最大，L/O 雜交種以 F × CA 受到影響較大。與 ABA 反應相反，加入 Fluridone 0.1 mg/L 後，鱗片葉生長明顯受到促進，CA 及 L × CA 增加約 4 倍，其餘基因型增加幅度較小。ABA 與 Fluridone 同時加入培養基，結果顯示鱗片葉生長明顯受到抑制，發育葉數與單獨加入 ABA 處理相近。相同處理培養 8 週，鱗片葉生長變化趨勢大致相同 (表 1)，對照組中，快速生長習性的 F 及 L 已具有鱗片葉 9 片及 8 片，而慢速生長的 CA 大約只有 1.5 片鱗片葉，L/O 雜交種依然呈現中間型表現，F × CA 及 L × CA 分別具有 4.17 及 3.50 片鱗片葉。培養 8 週後，ABA 的抑制效果依然明顯，各基因型於 8 週內均無法生長出 1 片鱗片葉，與對照組處理相比較，鐵炮型百合成長鱗片葉數相差約 16 倍，L/O 雜交種則減少約 6–7 倍。Fluridone 處理在 CA 及 L/O 雜交種依然呈現明顯促進鱗片葉生

表 1. ABA 及 Fluridone 處理對台灣百合 (F)、鐵炮百合 (L)、東方型百合 (CA) 及群間雜交種 (F × CA、L × CA) 鱗片葉生長之影響 (處理後 4 週及 8 週)

Table 1. The effect of ABA and Fluridone on the scale leaves formation of *L. formosanum* (F), *L. longiflorum* (L), Casa Blanca (CA) and L/O (F × CA, L × CA) hybrid lilies at 4 and 8 weeks often treatment

Weeks	Treatment	Scale leaf no. ^z				
		F	L	CA	F × CA	L × CA
4	CK (MS medium)	4.33 ± 0.33 a	4.00 ± 0.37 b	0.50 ± 0.34 b	2.00 ± 0.37 b	0.83 ± 0.11 b
	A (ABA 1 mg/L)	0.00 ± 0.00 c	0.17 ± 0.17 c	0.00 ± 0.00 c	0.33 ± 0.21 c	0.50 ± 0.22 b
	F (Fluridone 0.1 mg/L)	4.67 ± 0.49 a	5.50 ± 0.56 a	2.17 ± 0.31 a	3.67 ± 0.33 a	3.33 ± 0.49 a
	AF (A + F)	0.50 ± 0.22 b	0.50 ± 0.34 c	0.00 ± 0.00 c	0.83 ± 0.40 c	0.83 ± 0.31 b
8	CK (MS medium)	9.00 ± 0.26 b	8.00 ± 0.52 a	1.50 ± 0.50 b	4.17 ± 0.40 b	3.50 ± 0.34 b
	A (ABA 1 mg/L)	0.50 ± 0.22 c	0.50 ± 0.22 b	0.00 ± 0.00 c	0.67 ± 0.21 c	0.50 ± 0.21 c
	F (Fluridone 0.1 mg/L)	10.00 ± 0.45 a	9.00 ± 0.58 a	3.83 ± 0.31 a	6.83 ± 0.87 a	6.33 ± 0.49 a
	AF (A + F)	0.50 ± 0.22 c	1.50 ± 0.43 b	1.17 ± 0.31 b	1.08 ± 0.20 c	1.00 ± 0.22 c

^z Values are the mean ± SE of six replicates after 4 and 8 weeks culturing time. Means within columns for each post-treatment time followed by different letters are significantly different at 5% level by LSD test.

長的效應，生育葉片數增加約 2 倍，但同時再加入 ABA 處理，Fluridone 的促進效果被抵銷，鱗片葉數目又受到抑制而減少。大致上外加 ABA 及 Fluridone 的處理，培養 4 週及 8 週的結果均顯示供試基因型的鱗片葉生長均明顯受到 ABA 的抑制及 Fluridone 的促進，ABA 會抵銷 Fluridone 的效應，所有的處理，L/O 雜交種鱗片葉生長均呈現中間型表現。

分析定量鱗片 ABA 濃度，以了解外加 ABA 及 Fluridone 等處理，對於內生 ABA 濃度的影響，結果如圖 1 所示。對照組鱗片內生 ABA 濃度，CA 最高約 3 nmol/FW (g)，F 及 L 最低約 1.5 nmol/FW (g)，F × CA 及 L × CA 的 ABA 濃度則在兩親本間。外加 ABA 1 mg/L 培養 4 週，促使鱗片內生 ABA 濃度大幅增加，F 及 L 濃度超過 20 nmol/FW (g)，F × CA 濃度也增加為約 15 nmol/FW (g)，而 CA 及 L × CA 濃度接近 10 nmol/FW (g)。培養 8 週後，F、L 及 CA 增加幅度降低，F × CA 及 L × CA 則仍然有 8 倍左右的增加幅度 (圖 1)。Fluridone 0.1 mg/L 處理，明顯抑制 ABA 合成使鱗片內生 ABA 濃度減少約 1/2 以上，但是 F × CA 則不降反昇，

尤其是培養 8 週時，鱗片內生 ABA 濃度明顯高出對照組 (圖 1)。同時處理 ABA 及 Fluridone，外加 ABA 抑制 Fluridone 的效果，使鱗片內生 ABA 濃度明顯增加。比較各處理之效果，F 及 L 以單獨外加 ABA 處理時的鱗片內生 ABA 濃度最高，CA、F × CA 及 L × CA 則以同時處理 ABA 及 Fluridone 時有最高的鱗片內生 ABA 濃度 (圖 1)。由以上歸納結果，CA 有最高鱗片內生 ABA 濃度，F 及 L 最低，L/O 雜交種則介於兩親本間；外加 ABA 促使鱗片 ABA 濃度增加，Fluridone 處理使鱗片 ABA 濃度減少，同時外加 ABA 會抵銷 Fluridone 的作用，促使鱗片 ABA 內含量濃度增加。

培養基中加入高濃度 Sucrose (120 g/L) 造成滲透壓逆境，由葉片生長觀察及 Fluridone 的加入，比較高濃度糖滲透壓逆境與 ABA 間之關係，相關結果如表 2。由數據顯示，高糖濃度培養 4 週的鱗片葉生長受到一定程度的抑制，與直接外加 ABA 結果相比較，鱗片葉雖然受到高濃度糖的抑制，但程度不如 ABA，依然有少數葉片發生，並未停止生長，F 及 L 於 4 週內仍分別約長出 3 及 1.5 片葉，CA 則不到

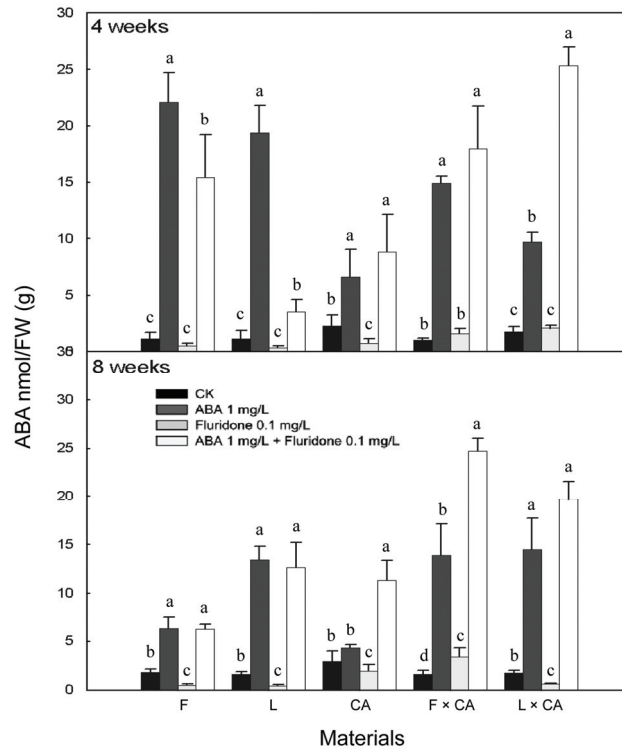


圖 1. ABA 及 Fluridone 處理對百合鱗片內生 ABA 濃度之影響。

Fig 1. The effect of ABA and Fluridone on the endogenous ABA concentration of *L. formosanum* (F), *L. longiflorum* (L), Casa Blanca (CA), and L/O (F × CA, L × CA) hybrid lilies. Values are the mean ± SE of five replicates. Means with the different letters for each line are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 2. 糖及 Fluridone 處理對台灣百合 (F)、鐵炮百合 (L)、東方型百合 (CA) 及群間雜交種 (F × CA、L × CA) 鱗片葉生長之影響 (處理後 4 週及 8 週)

Table 2. The effect of Sucrose and Fluridone on the scale leaves number of *L. formosanum* (F), *L. longiflorum* (L), Casa Blanca (CA) and L/O (F × CA, L × CA) hybrid lilies at 4 and 8 weeks often treatment

Weeks	Treatment	Scale leaf no. ^z				
		F	L	CA	F × CA	L × CA
4	CK (MS medium)	4.67 ± 0.21 a	4.33 ± 0.21 a	0.50 ± 0.34 a	2.17 ± 0.31 a	0.75 ± 0.11 b
	A (ABA 1 mg/L)	0.33 ± 0.21 c	0.00 ± 0.00 d	0.00 ± 0.00 a	0.17 ± 0.17 c	0.42 ± 0.20 b
	S (sucrose 120g/L)	3.00 ± 0.86 b	1.50 ± 0.56 c	0.17 ± 0.17 a	1.00 ± 0.37 b	0.67 ± 0.21 b
	SF (S + F)	2.83 ± 0.17 b	3.33 ± 0.33 b	0.33 ± 0.21 a	1.83 ± 0.17 a	1.83 ± 0.54 a
8	CK (MS medium)	8.83 ± 0.31 a	8.17 ± 0.40 a	1.33 ± 0.42 a	4.33 ± 0.42 a	3.50 ± 0.22 a
	A (ABA 1 mg/L)	0.67 ± 0.21 c	0.50 ± 0.22 c	0.00 ± 0.00 b	0.58 ± 0.20 b	0.67 ± 0.21 b
	S (sucrose 120g/L)	5.33 ± 1.12 b	4.17 ± 0.70 b	0.33 ± 0.21 b	1.00 ± 0.37 b	0.67 ± 0.33 b
	SF (S + F)	5.17 ± 0.17 b	4.33 ± 0.33 b	1.33 ± 0.61 a	4.33 ± 0.61 a	2.67 ± 0.84 a

^z Values are the mean ± SE of six replicates after 4 and 8 weeks culturing time. Means within columns for each post-treatment time followed by different letters are significantly different at 5% level by LSD test.

1 片葉的生長量， $F \times CA$ 及 $L \times CA$ 生長量介於兩親本間， CA 及 $L \times CA$ 在外加 ABA 與高濃度糖環境下之葉片生長並未有明顯差異。培養到 8 週，與對照組處理比較，高濃度糖依然對鱗片葉的生長造成抑制，葉片生長量數據顯示抑制效果並未因為培養時間增加而降低。

高濃度糖同時再外加 Fluridone 培養 4 週後，與外加 ABA 或單獨高糖濃度比較， L 、 $F \times CA$ 及 $L \times CA$ 的葉片生長量有增加， F 反而有減少的趨勢，而 CA 則無明顯差異；處理培養 8 週後， F 及 L 並未有明顯差異，其餘則有明顯增加的葉片生長量，恢復到與對照組相同的生長勢 (表 2)。總結糖對鱗片葉形態發育影響的數據，結果顯示高濃度糖抑制鱗片葉的發生，但抑制效果不如此外加 ABA，依然有一定程

度的鱗片葉發生；高濃度糖同時外加 Fluridone 的栽培環境，對鱗片葉發生有促進的趨勢。

進一步分析處理高濃度糖的處理對鱗片內生 ABA 造成的影響，結果顯示高濃度糖處理有促使鱗片內生 ABA 濃度增加的趨勢 (圖 2)。除 L 及 CA 之外，與對照組比較，高糖濃度造成鱗片內生 ABA 的濃度明顯增加， L/O 雜交種增加幅度甚至超過外加 ABA 的處理組。高濃度糖外加 Fluridone 處理，相對於單獨高濃度糖處理，鱗片內生 ABA 濃度有下降的趨勢 (圖 2)。由高濃度糖處理的鱗片內生 ABA 濃度變化歸納結果顯示，高濃度糖的培養環境使鱗片內生 ABA 濃度有增加的趨勢，但幅度不及外加 ABA 處理；除 L/O 之外，外加 Fluridone 處理則會抵消此增加趨勢。

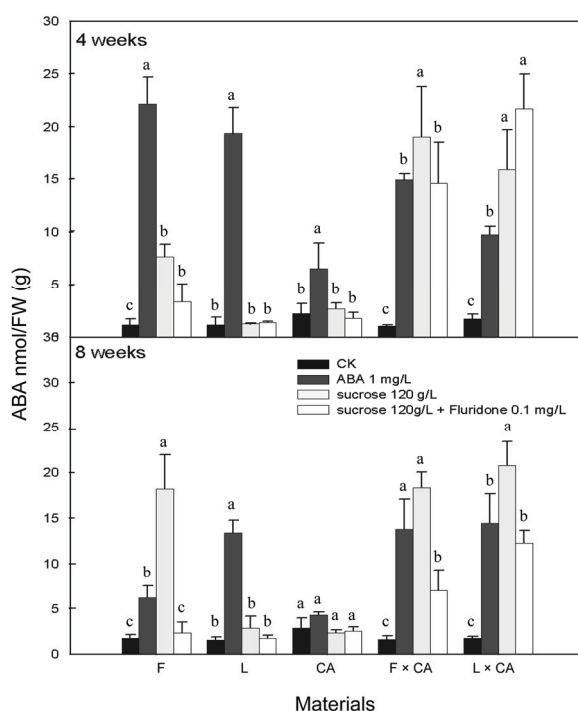


圖 2. 糖及 Fluridone 對鱗片內生 ABA 含量之影響。

Fig 2. The effect of Sucrose and Fluridone on the endogenous ABA concentration of *L. formosanum* (F), *L. longiflorum* (L), Casa Blanca (CA) and L/O ($F \times CA$, $L \times CA$) hybrid lilies. Values are the mean \pm SE of five replicates. Means with the different letters for each line one not significantly different at 5% level by LSD test.

鱗片葉的生長調查數據顯示，鐵炮型百合 (F, L) 鱗片葉數發生最多，東方型百合 (CA) 呈現慢速生長，而 L/O 雜交種則呈現中間型表現。分析定量 ABA 濃度，顯示鐵炮型百合鱗片內生 ABA 濃度最低，Casa Blanca (CA) 最高，L/O 群間雜交種介於兩親本間。本實驗中另以 1 mg/L ABA 添加培養，所有供試基因型百合參試材料的鱗片葉生長均受到明顯抑制，呈現近乎停止狀態。百合培養基加入 ABA，再生株變成只有鱗片之形成，完全沒有鱗片葉之形成 (Kim *et al.* 1994)，百合鱗片葉的形成受到 ABA 的抑制 (Wu 2001; Chen 2003; Gerrits *et al.* 1992)。對照鱗片葉生長數據及鱗片內生 ABA 濃度分析結果，似乎可以推論 ABA 與百合鱗片葉的發生有一定程度的關聯性。ABA 在球根花卉中的研究，大多與種球休眠 (Matsubara & Kimura 1991; Kim *et al.* 1994; Suttle & Hultstrand 1994; Yamazaki *et al.* 1995; Yamazaki *et al.* 1999) 或種球發育 (Matsubara & Kimura 1991; Yamazaki *et al.* 1995; Kim *et al.* 2003) 等有關，較少研究與葉片形態發育之關係，ABA 與葉片形態發育之相關研究，大多與具有異形葉 (heterophylly) 的水生植物有關，因為具有異形葉的水生植物葉形變化大而且極易觀察 (Goliber & Feldman 1989)。ABA 主要誘使水生植物沉水之條產生挺水葉，同時抑制沉水葉之發生 (Anderson Lars 1978; Deschamp & Cooke 1983; Goliber & Feldman 1989; Kane & Albert 1987; Mphan Ram & Rao 1982; Young *et al.* 1987)，同時也改變葉片構造及乾鮮重 (Young & Horton 1985)。Fluridone 主要透過抑制類胡蘿蔔素的合成途徑，進而抑制 ABA 的合成 (Suttle & Hultstrand 1994; Kim *et al.* 1994; Klicova *et al.* 2002; Hsu *et al.* 2003)，所以利用 Fluridone 來研究 ABA 所扮演的角色，本實驗利用組織培養，於試管內利用外加 Fluridone 進一步研究 ABA 與鱗片葉形態發生的相關性。

與 ABA 反應相反，加入 Fluridone 0.1 mg/L 後，鱗片葉生長明顯受到促進 (表 1)，但有白化現象，Kim *et al.* (1994)、Wu (2001) 及 Chen (2003) 有相同研究結果。Shimasaki & Fukumoto (2000) 研究顯示 1 μ M Fluridone 可以減少 80% 的百合鱗片 ABA 合成，許多其它物種的研究也都有類似結論 (Harvey *et al.* 1994; Suttle & Hultstrand 1994; Yamazaki *et al.* 1999; Klicova *et al.* 2002; Hsu *et al.* 2003)。實驗中也觀察到隨著培養時間增加，在未繼代培養的情況下，白化現象會逐漸減少，顯示 Fluridone 的反應是可逆的，並未對葉綠素構造或葉綠素，類胡蘿蔔素的合成機制造成永久損害。Fluridone 培養油菜 (*Brassica napus*) 產生玻璃質化 (vitrification) 現象，經過一次不含 Fluridone 培養基繼代後，葉片重新有類胡蘿蔔素及葉綠素的合成而恢復正常 (Ragolsky & Thorpe 1989)。ABA 與 Fluridone 同時加入培養基，鱗片葉生長明顯再受到抑制 (表 1)，鱗片 ABA 濃度明顯增加 (圖 1)，顯示 Fluridone 只能抑制內生 ABA 的合成，無法抑制外加 ABA 所造成的反應，Shimasaki & Fukumoto (2000) 有相同研究結果。

培養基中加入高濃度 Sucrose (120 g/L) 造成滲透壓逆境 (Chen *et al.* 2001)，鱗片葉生長受到一定程度的抑制，與直接外加 ABA 結果相比較，顯示鱗片葉雖然受到高濃度糖的抑制，但程度不如 ABA，依然有少數葉片發生，並未停止生長 (表 2)，顯示除了滲透壓的影響之外，碳源的供應也影響葉片的生長。適當提供碳源有助於百合鱗片葉的生長，低濃度糖促進百合鱗片葉生長，高濃度則產生抑制效果 (Takayama & Misawa 1980; Aguetaz *et al.* 1990; De Klerk *et al.* 1992)。高濃度糖形成滲透壓逆境，植物遭遇水分逆境時，促使高濃度 ABA 合成 (Bianco-Trichant *et al.* 1993; Cummins 1973; Gomes *et al.* 2003; Milborrow & Robinson

1973; Pospíšilová *et al.* 2000; Quarrie & Jones 1977; Yamazaki *et al.* 1995)。高濃度糖的處理促使鱗片內生 ABA 濃度增加 (圖 2)，因此高濃度糖環境下，百合鱗片葉的生長抑制與 ABA 有關聯性。但 F 及 L 並未因高濃度糖的培養環境而使鱗片內生 ABA 濃度出現明顯變化，似乎鐵炮型百合因為生長快速，對於碳源的需求較大，因此對糖濃度的變化有較大的緩衝。不同培植體或發育時期對於碳源需求不同，造成對糖濃度的變化有不同的耐受力，也因此影響 ABA 的作用 (Barthe & Bulard 1982; Garciarubio *et al.* 1997)。

引用文獻 (Literature cited)

- Aguettaz, P., A. Paffen, I. Delvallee, P. Van Der Linde, and G. J. De Klerk. 1990. The development of dormancy in bulblets of *Lilium speciosum* generated *in vitro*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 22:167–172.
- Anderson Lars, W. J. 1978. Abscisic acid induces formation of floating leaves in heterophyllous aquatic angiosperm *Potamogeton nodosus*. *Science* 201: 1135–1138.
- Barthe, P. H. and C. Bulard. 1982. Influence of agar and sucrose on the behavior of dormant apple embryos cultured *in vitro*. *New Phytol.* 91:517–529.
- Bianco-Trichant, J., J. M. Guignonis, and M. T. Le Page-Degivay. 1993. Early release of ABA from cell walls during rose petal protoplast isolation. *J. Exp. Bot.* 44:957–962.
- Chen, C. T., L. M. Chen, C. C. Lin, and C. H. Kao. 2001. Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Sci.* 160: 283–290.
- Chen, S. M. 2003. Effects of Exogenous Abscisic Acid, Osmotica and Fluridone on Developmental Pattern of Lily Leaves (*Lilium spp.*) Cultured *in Vitro*. Master Dissertation, Graduate Institute of Horticulture National Taiwan University. 70 pp.
- Cummins, W. R. 1973. The metabolism of abscisic acid in relation to its reversible action on stomata in leaves of *Hordeum vulgare* L. *Planta* 114:159–167.
- De Klerk, G. J., K. S. Kim, M. Van Schadewijk, and M. Gerrits. 1992. Growth of bulblets of *Lilium speciosum* *in vitro* and in soil. *Acta Hort.* 325:513–520.
- Deschamp, P. A. and T. J. Cooke. 1983. Leaf dimorphism in aquatic angiosperms: Significance of turgor pressure and cell expansion. *Science* 219:505–507.
- Garciarubio, A., J. P. Legaria, and A. A. Covarrubias. 1997. Abscisic acid inhibits germination of mature *Arabidopsis* seeds by limiting the availability of energy and nutrients. *Planta* 203:182–187.
- Gerrits, M. M., K. S. Kim, and G. J. De Klerk. 1992. Hormonal control of dormancy in bulblets of *Lilium speciosum* cultured *in vitro*. *Acta Hort.* 325:521–527.
- Goliber, T. E. and L. J. Feldman. 1989. Osmotic stress, endogenous abscisic acid and the control of leaf morphology in *Hippuris vulgaris* L. *Plant Cell Environ.* 12:163–171.
- Gomes, M. M. A., A. M. M. A. Lagôa, E. C. Machado, and C. L. Medina. 2003. Abscisic acid and indole-3-acetic acid contents in orange trees infected by *Xylella fastidiosa* and submitted to cycles of water stress. *Plant Growth Regul.* 39:263–270.
- Harvey, B. M. R., G. Bowden, C. Reavey, and C. Selby. 1994. Stimulation of *in vitro* root and shoot growth of potato by increasing sucrose concentration in the presence of fluridone, an inhibitor of abscisic acid synthesis. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 37:271–276.
- Hsu, S. Y., Y. T. Hsu, and C. H. Kao. 2003. Ammonium ion, ethylene, and abscisic acid in polyethylene glycol-treated rice leaves. *Biol. Plant.* 46:239–242.
- Jin, S. W. 1995. Genetic Variability, Conservation and Utilization of *Lilium* Germplasm. Ph. D. Dissertation, Graduate Institute of Horticulture National Taiwan University. 145 pp.
- Kane, M. E. and L. S. Albert. 1987. Abscisic acid induces aerial leaf morphology and vasculature in submerged *Hippuris Vulgaris* L. *Aquatic Bot.* 28:81–88.
- Kim, E. K., E. J. Hahn, H. N. Murthy, and K. Y. Pack. 2003. High frequency of shoot multiplication and bulblet formation of garlic in liquid cultures. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 73:231–236.
- Kim, K. S., E. Davelaar, and G. J. De Klerk. 1994. Abscisic acid controls dormancy development and bulb formation in lily plantlets regenerated *in vitro*. *Physiol. Plant.* 90:59–64.
- Klicova, S., J. Sebanek, M. Hudeova, H. Vitkova, and H. Vlasinova. 2002. The effect of fluridone and flurochloridone on the incidence of albinism in pea (*Pisum sativum*) and on the abscission of leaves of privet (*Ligustrum vulgare*). *Rostlinná Výroba* 48: 255–260.

- Matsubara, S. and I. Kimura. 1991. Changes of ABA content during bulbing and dormancy and *in vitro* bulbing in onion plant. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 59:757–762.
- McLellan, T. 1990. Development of differences in leaf shape in *Begonia dregei* (*Begoniaceae*). *Am. J. Bot.* 77: 323–327.
- Milborrow, B. V. and D. R. Robinson. 1973. Factors affecting the biosynthesis of abscisic acid. *J. Exp. Bot.* 24: 537–548.
- Mphan Ram, H. Y. and S. Rao. 1982. *In vitro* induction of aerial leaves and of precocious flowering in submerged shoots of *Limnophila indica* by abscisic acid. *Planta* 155:521–523.
- Poethig, R. S. 1997. Leaf morphogenesis in flowering plants. *The Plant Cell*. 9:1077–1087.
- Pospíšilová, J., D. Haisel, H. Synková, J. Čatský, N. Wilhelmová, S. Plzáková, D. Procházková, and F. Šrámek. 2000. Photosynthesis pigment and gas exchange during *ex vitro* acclimation of tobacco plants as affected by CO₂ supply and abscisic acid. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 61:125–133.
- Quarrie, S. A. and H. G. Jones. 1977. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *J. Exp. Bot.* 28:192–203.
- Ragolsky, E. and T. A. Thorpe. 1989. Physiological effects of fluridone on shoot cultures of *Brassica napus* L. and *Beta vulgaris* L. *J. Plant Physiol.* 134:613–618.
- Shimasaki, K. and Y. Fukumoto. 2000. *In vitro* bulbing in *Lilium* × *Formolongi* hort seedlings. *Acta Hort.* 520: 61–65.
- Smith, L. G. and S. Hake. 1992. The initiation and determination of leaves. *The Plant Cell* 4:1017–1027.
- Suttle, J. C. and J. F. Hultstrand. 1994. Role of endogenous abscisic acid in potato microtuber dormancy. *Plant Physiol.* 105:891–896.
- Takayama, S. and M. Misawa. 1980. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*. Effects of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentration on differentiation and scale leaf formation *in vitro*. *Physiol. Plant.* 48:121–125.
- Walker-Simmons, M. 1987. ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of sprouting resistant and susceptible cultivars. *Plant Physiol.* 84:61–66.
- Wu, S. H. 2001. Effects of Genotypes, Osmoticums, ABA and Fluridone on Leaf Development Pattern of Lilies Cultured *in vitro*. Master Dissertation, Graduate Institute of Horticulture National Taiwan University. 72 pp.
- Yamazaki, H., T. Nishijima, and M. Koshioka. 1995. Changes in abscisic acid content and water status in bulbs of *Allium wakegi* Araki throughout the year. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 64:589–598.
- Yamazaki, H., T. Nishihima, Y. Yamato, K. Koshioka, and H. Miura. 1999. Involvement of abscisic acid (ABA) in bulb dormancy of *Allium wakegi* Araki I. Endogenous levels of ABA in relation to bulb dormancy and effects of exogenous ABA and Fluridone. *Plant Growth Regul.* 29:189–194.
- Young, J. P. and R. F. Horton. 1985. Heterophylly in *Ranunculus flabellaris* Raf: The effect of abscisic acid. *Ann. Bot.* 55:899–902.
- Young, J. P., N. G. Dengler, and R. F. Horton. 1987. Heterophylly in *Ranunculus flabellaris*: The effect of abscisic acid on leaf anatomy. *Ann. Bot.* 60:117–125.

The Effects of ABA, Fluridone and Sucrose on the Scale Leaves Morphogenesis of Longiflorum Type and Intra-hybrid Lilies¹

Ting-En Dai^{1,4} and Chou-Tou Shii²

Abstract

Dai, T. E. and C. T. Shii. 2009. The effects of ABA, Fluridone and sucrose on the scale leaves morphogenesis of longiflorum and intra-hybrid lilies. J. Taiwan Agric. Res. 58:234–242.

To investigate the effects of exogenous ABA on the development of scale leaf, four different clones of *L. formosanum* (F), *L. longiflorum* (L), oriental hybrid ‘Casa Blanca’ and related distant hybrids (F × CA, L × CA) were *in vitro* cultured under different ABA, Fluridone and sugar concentration. Four and eight weeks after culture, it showed that the growth of scale leaves among all genotypes were promoted by ABA but inhibited by Fluridone, ABA can diminish the effects of Fluridone, and Fluridone treatment increases the number of scale leaves but somewhere bleaching in leaf blade. In applied ABA or Fluridone, L/O hybrids showed intermediate performance as compared with F and L populations. Four weeks after culture, un supplement both ABA and Fluridone, L/O hybrids had better scale leaf growth than their parents. Based on the analysis of ABA concentration, it showed that the endogenous of ABA concentration was the highest in CA, lowest in F and L, and L/O hybrids were intermediate, exogenous ABA stimulates endogenous ABA synthesise in the scale, Fluridone inhibits endogenous ABA concentration in the scale, and exogenous ABA can diminished the effects of Fluridone. The effects of sucrose on the scale leaf morphogenesis showed that higher sucrose concentration inhibits the development of scale leaves. However, this effect of inhibition was less than exogenous ABA, since scale leaf emergence was still observed in sucrose treatment. In additionally, high concentration sucrose combined with Fluridone can promote the scale leaf development. Whatever supplement Fluridone or not in the medium, the effects of high concentration sucrose showed no significant change on endogenous ABA in scale of F, L and CA but increase in L/O hybrids.

Key words: Lily, ABA, Fluridone, Sucrose, Scale leaf.

1. Contribution No.2368 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: September 9, 2009.

2. Associate Researcher and Chairman, Floriculture Research Center, TARI, Gukeng, Yulin, Taiwan, ROC.

3. Professor, Department of Horticulture, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC.

4. Corresponding author, e-mail: tedai@tari.gov.tw; Fax: (05)5820834.