



組織培養與病害防治

台灣香蕉研究所/黃新川



利用香蕉莖芽頂分生組織經培養誘發之不定芽，可繼代培養大量增殖。



從香蕉組織培養變異篩選得到之抗黃葉病品系之一，右為抗病品系，左為一般台蕉。





植物組織培養之發展，迄今已有五十多年的歷史，對改良作物方面的研究發揮很大的功效，其直接利用於作物病害防治主要有兩個方向：培育健康種苗與抗病育種；前者已被廣泛應用，後者尚在研究階段，但已有少數成功的實例。

以組織培養培育健康種苗，預防系統性病害

系統性植物病害如毒素病、維管束病害等，因病原菌在植物體內成系統性分佈，甚至可以達到種子，故可經由種苗傳播。此類病害目前尚無有效防治方法，預防根本之道，必須採用健康種苗，以遏止病害蔓延猖獗。在培育健康種苗方面，由於組織培養操作可以達到去除病原、純化品種、及大量培育之效果，故已被廣泛採用，尤其在無性繁殖作物利用得最多。國內在馬鈴薯無病毒種舊的供應體系最早建立，爾後如草莓、柑桔之無毒種苗，亦均用組織培養方法育成，其它如百香果、大蒜等，亦因田間病毒危害嚴重，健康種苗取得不易，其以組織培養育苗之技術已在研究發展中。本省香蕉黃葉病（*Fusarium oxysporum* f.sp.cubenserace 4）發生極為嚴重，農民自病區採苗（吸芽）為本病主要傳播方式之，為減緩蔓延，必須大量培育健康蕉苗供應農民種植。傳統之香蕉繁殖方法需時甚久且成本高昂，乃於1982年發展以生長點分生組織（meristem culture）大量培育香蕉健康種苗技術。

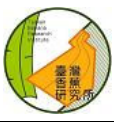
一個成功的實例

可經由種苗傳播之重要香蕉病害包括黃葉病、萎縮病及嵌紋病。為達到去除病原，以組織培養方法培育健康蕉苗之過程包括：

- 1.「自田間選取產量高、果型整齊之優良母株，取其吸芽種植於網室內保存和觀察，取其上方第一展開葉片經萎縮病、嵌紋病檢疫，確認無病毒潛伏感染（Virus-free），始可供做繁殖材料。
- 2.按馬溯軒、許圳塗（1972）之方法，取吸芽莖頂分生組織，置於MS培養基誘發不定芽，不定芽增殖成叢後，再經數次分切，增加芽數。
- 3.將不定芽移至添加有活性炭之MS培養基中，培育成小植株（Plantlets）。
- 4.小植株移出試管，假植於裝有砂土之盆鉢，置於網室生長2~3個月，待苗高15公分即可移至田間定植。

由於種植組織培養蕉苗，具有成活率高、生育整齊便利採收、病蟲害發生減輕、生產成本降低、以及香蕉品質提高等優點（表一），自1983年開始推廣以來，共計培育六百餘萬株，推廣面積達三十多公頃（表二），對減輕黃葉病危害，穩定台蕉生產，功效極為顯著。

以組織培養大量繁殖苗，一般均有變異的問題發生，劣變植株出現之頻率，依作物種類、操作過程不同，可高達30~40%，以現階段技術而言，香蕉組織培養苗之變異率約2~3%。引起組織培養變異之原因未明。

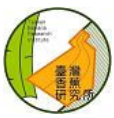


組織培養在抗病育種之應用

自 Carlson 首於 1973 年報告利用組織培養方法，可篩選得到抗病菌毒素 (toxin) 之細胞或原生質體，進而再生具有抗病能力之植體以來，組織培養應用於抗病育種，立即成為熱門之研究課題，其根據的理論，在於植物的細胞、組織經培養後，可出現較多的變異體，故獲得抗病植株的機會較大。與傳統的雜交育種方法比較，組織培養抗病育種較為快速經濟。廣義言之，組織培養應用在抗病育種之技術，包含分生組織培養 (meristem culture)、癒合組織培養 (callus culture)、細胞培養 (cell culture)、細胞及原生質體融合 (cell and protoplast fusion)、胚珠及胚培養 (ovule and embryo culture)、花藥培養 (anther culture)、以及抗病基因轉移生物遺傳工程技術等。抗病篩選之方法，有試管培養階段接種病原或添加病原毒素、代謝物者，或育成小植株後在田間接種篩選等。利用上述方法至目前至少已在若干作物如番茄、馬鈴薯、甘蔗、煙草、苜蓿等獲得抗病品系的報告，並證實所獲得的抗病因子具有遺傳特性，惟至目前為止，研究均仍停留在實驗室或溫室階段，能夠取代罹病品種而達到經濟栽培的抗病變異體者，僅有甘蔗 (抗 Fiji disease) 一個成功的例子，顯示利用組織培養所得到的抗病品系，可能有農藝性狀的缺陷、或田間抗病力不高。在國內組織培養利用在香蕉抗病篩選則已有顯著成果。

香蕉屬無性繁殖草本植物，發生自然突變微乎其微。在種植傳統吸芽苗之蕉園調查 40,000 棵蕉株，未發現到外觀異常者，但是在種植組織培養苗之蕉園，卻發現外觀呈現異常者高達 3%，變異性狀包括植株大小、假莖和葉片顏色、以及葉片和果房性狀等。利用其高變異率的特點，自七十三年起，開始以組織培養蕉苗做抗病篩選的材料，以期提高獲得抗病株系的機會。抗病測定於溫室內的病土或自然發病園進行，種植前將帶有大量病菌的病組織加入病土，並用耕耘機打碎攪拌均勻，以提高發病率，組織培養蕉苗移出試管後，先移植到假植鉢生長兩個月，待苗高約 15 公分左右，才定植到抗病檢定園，種植四個月後檢查塊莖內部病徵，淘汰被感染者，塊莖內部無褐化跡象者，則保留繼續觀察。兩年中共測定 17,979 株，獲得 6 個株系呈抗病性 (表三)。為進一步觀察其抗病性之穩定程度，第三年將抗病株系分別以吸芽苗和組織培養苗種植於 8 筆病園，至採收期之發病調查結果顯示 GCTCV-40、44、46、53、119 等 5 個株系之發病率仍維持在 0~2%，GCTCV-62 之發病率 9.1~11.1%，均顯著低於一般北蕉對照蕉株之發病率 39.5~59.7%。從本試驗結果亦可看出抗病株系之組織培養苗和吸芽苗具有相同的抗病程度，以 GCTCV-40 株系為例，吸芽苗之發病率為 1.4%，組織培養苗為 0.3%。

六個抗病品系均屬變異株，植株外觀農藝性狀不良、產量偏低，然進一步研究發現，在其後代植株中，發現少數農藝性狀較好、產量提高的植株，目前已選其中三個品系在高屏病區試種七十公頃，未來之研究著重於從大批試種蕉株中，繼續尋找農藝性狀及產量品質均合乎理想的抗病植株，以達成全面推廣徹底防治香蕉黃葉病之目標。



表一 組織培養蕉苗與傳統吸芽苗之比較

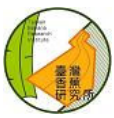
比較項目	組織培養苗	吸芽苗
田間成活率	>95%	70~80%
定植工資/公頃	2,000	8,000
病蟲害防治費用/公頃	5,000	10,000
產量/公頃	30~40 噸	30~40 噸
外銷合格率	>90%	70~80%
變異率	2~3%	0%

表二 組織培養蕉苗推廣情形

年	培育株數	推廣面積 (公頃)
1983	540,000	270
1984	600,000	300
1985	280,000	140
1986	920,000	460
1987	2,000,000	1,000
1988	1,850,000	925
合計	6,190,000	3,095



育成之香蕉組織培養苗

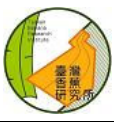


表三 抗病株系之抗病性測定 (第三年)

株系代號	種苗類別	種植株數	病株數	*發病率 (%)
**GCTCV-40	TC 苗	965	3	0.3
	吸芽	291	4	1.4
GCTCV-44	TC 苗	50	0	0
	吸芽	98	1	1.0
GCTCV-46	TC 苗	593	3	0.5
	吸芽	216	1	0.5
GCTCV-53	TC 苗	467	6	1.3
	吸芽	173	1	0.6
GCTCV-62	TC 苗	45	5	11.1
	吸芽	33	3	9.1
GCTCV-119	TC 苗	18	0	0
	吸芽	72	0	0
一般北蕉	TC 苗	863	515	59.7
	吸芽	271	107	39.5



種植組織培養苗之蕉園，植株生育整齊，病蟲害發生輕微。



香蕉黃葉病抗病育種研究展望

從前在中南美洲曾發生嚴重的香蕉黃葉病，數十年間摧毀了大約四萬公頃蕉園，使許多產蕉國家經濟陷於危機，當時栽植的香蕉品種是Gros Michel，病原菌屬生理小種第一型，雖經長期廣泛深入的研究，並未找到經濟有效的防治方法，至一九六〇年代被迫改種抗病品種~華蕉 (Cavendish)，黃葉病隨即銷聲匿跡，也挽救了中南美洲的香蕉產業。台灣種植的北蕉、仙人蕉亦屬華蕉系統，對生理小種第一型具有高度抗病性，但由於在本省出現新的生理小種 (第四型)，致使台蕉也發生嚴重的黃葉病，自民國五十六年本病首被發現以來，已陸續傳遍全高屏蕉區，蕉農的損失每年高達新台幣二億元左右，對台蕉產業構成相當大的威脅。本病之最佳防治方法為改種抗病品種，但從世界各地收集諸經濟栽培品種，在南部病園種植結果對生理小種第四型皆呈感病性。從南部病區選種也未找到抗病株，而過去六十年在國外雜交育成的幾個優良四倍體如Hybrid 972、I.C. 2、SH 2742、SH3436等經測定結果對生理小種第一型呈抗病性，但對生理小種第四型則不抗病。

自從以組織培養方法大量繁殖蕉苗之技術開發成功後，改用組織培養苗做抗病篩選的材料，在短短約三年中，已從將近二萬株中找到六個抗病株系，證實這是一條可行的捷徑，雖然在其它作物已不乏從組織培養變異中發現抗病株的例子，但在香蕉黃葉病則屬首創。最初發現到的抗病株系均屬劣變株，產量偏低，不具經濟價值，但最近在其後代蕉株中又找到回復變異株，有較良好的農藝性狀，產量較其母系顯著提高，更珍貴的是它們仍維持原母系的抗病性，此項研究進展令人鼓舞。為進一步瞭解回復變異株系之抗病穩定程度及產量品質，本年度已在各疫區擴大試種七十餘公頃，希望能從這些回復變異株系中，找到具有經濟價值的抗病蕉株。即使農藝性狀仍有缺陷，今後仍可利用回復變異途徑予以改良。

即使從以上的研究途徑無法獲得具有經濟價值的抗病品種，但在研究過程中，可以鑑定出與抗病性相關之農藝性狀，目前利用原生質體融合，或基因轉化而達成體細胞雜交之生物科技日新月異，這些與抗病性有關之因子將可被利用於基因遺傳工程，而發展出兼具有經濟價值和抗病性之香蕉新品種。



結 語

從組織培養應用在改良香蕉之成果觀之，吾人相信此技術將被更廣泛應用於其他作物的研究。在育苗方面，特別適合於無性繁殖植物，其優點是可以達到去除病原、純化品種及快速經濟的效果。惟在組織培養過程中，變異問題普遍發生，變異者均屬劣變居多，降低作物產量與品質，今後有關導致組織培養變異之原因，必須做有系統的研究，從培育材料、培養基配方、繼代培養長短及培養條件等，瞭解其與變異之相關程度。站在病害防治立場，為達到真正無菌無毒之植體，在組織培育植體之系統中，則必須建立健康種苗檢疫技術與制度，近年來利用融合瘤技術（Hybridoma technology）製備單元抗體之研究，成績斐然，今後對於各類病毒的檢疫，將不再是一個複雜而困難的問題。

從組織培養途徑抗病育種，在香蕉黃葉病方面的研究進展，令人感到樂觀，但仍有太多的瓶頸有待突破，始可發揮其潛在價值。譬如目前尚有許多作物無法用組織培養培育。而捨棄傳統的雜交育種，改採組織培養育種途徑，必須慎重考慮各項條件，否則事倍功半，抗病育種遙遠無期。例如在考慮作物病害種類時，假若在過去利用傳統雜交育種方法，長期無法獲得抗病品種，或者現有育種材料缺乏抗病基因、或者有抗病基因，但與不良的農藝性狀基因相連接等情形下，則採用組織培養抗病育種值得一試。香蕉是一個很好的例子，栽培品種屬三倍體，很少產生種子，過去六十多年的雜交育種進展非常有限；利用組織培養方法育種，是一個正確的方向。同時現階段我們對於植物組織或細胞在培養時所發生的生化、遺傳變化，所知不多，限制了組織培養應用在抗病育種研究的發展，這些障礙有賴園藝、農藝、生化、遺傳、植病專家整體合作去克服，使抗病育種邁入新的里程。

本文摘錄自農藥世界第66期