

## 藍莓組織培養之研究

### Study on micropropagation of blueberry

文紀鑾<sup>1</sup>、紀姻如<sup>2</sup>、王春蘭<sup>3</sup>、張珈綺<sup>4</sup>、簡怡文<sup>4</sup>

#### 一、前言

藍莓屬於小型漿果，植株型態為灌木，高度可從10公分到4公尺，加拿大、美國、墨西哥至南美洲智利均有經濟栽培且大量外銷，為重要經濟栽培果樹。臺灣市場販售的藍莓以進口為多，由於藍莓營養豐富，富含花青素及其他抗氧化等活性成分具有生理功能，消費市場接受度逐漸提高。近十年來，臺灣引進較耐熱品種零星栽培，果實產期為4-10月，屬於新興栽培果樹之一，因此國內有藍莓種苗繁殖需求，故本文整理國際上研究植物生長調節劑TDZ(thidiazuron)及zeatin對藍莓芽體增殖影響的報告，以及介紹本場開發藍莓組織培養繁殖技術之相關研究。

#### 二、TDZ 對芽體增殖影響

Zimmerman 和 Broome (1980)報告 IAA( 0-8 mg L<sup>-1</sup>)影響藍莓芽體增殖與伸長。其它使用高濃度IAA促進漿果果樹組織培養芽體增殖研究，包括藍莓( 0.53 mg L<sup>-1</sup> IAA)、蔓越莓( 1 mg L<sup>-1</sup> IAA)、越橘( 1 mg L<sup>-1</sup> IAA)、藍莓(4 mg L<sup>-1</sup> IAA)。Debnath(2011)以三個加拿大矮叢藍莓品種

在固體培養基中添加 0.5–1.0 mg L<sup>-1</sup> TDZ 培養四周後，移轉至相同培養基中加入 0.26–0.5 mg L<sup>-1</sup> TDZ之生物反應器培養四周，接續於黑暗下培養二周誘導癒合組織及不定芽再生，之後培養基加入0.22 mg L<sup>-1</sup> zeatin可促進芽體伸長和發根。藍莓根砧品種 *V. arboretum*不易扦插繁殖，可用單節葉芽 (axillary shoots)為培植體進行組織培養大量繁殖，減少癒合組織誘導之體細胞變異(somaclonal variation)，初代培養基採用DKW培養基(Driver and Kuniyaki walnut medium)，繼代則以LP培養基(Preece medium)添加 0.5 mg L<sup>-1</sup> ZT和 0.01 mg L<sup>-1</sup> IBA對芽體增殖效果最佳，出瓶種植時芽體基部浸泡生長素(auxin)促進發根，植株成活率較高。

兔眼藍莓‘Delite’品種組織培養繁殖以葉片的頂部或基部片段為培植體，在添加不同濃度TDZ的WPM 培養基中試驗葉片正面或反面接觸培養基，觀察其不定芽再生情形，結果顯示 WPM 培養基添加 0.11 mg L<sup>-1</sup> TDZ，以頂部葉片上表皮接觸培養基之不定芽再生率達100%，基部葉片上表皮接觸培養基之不定芽再生率為97%。

<sup>1</sup> 種苗改良繁殖場 生物技術課 副研究員

<sup>2</sup> 種苗改良繁殖場 繁殖技術課 臨時人員

<sup>3</sup> 種苗改良繁殖場 繁殖技術課 技工

<sup>4</sup> 種苗改良繁殖場 繁殖技術課 助理研究員

### 三、zeatin 對芽體增殖影響

藍莓組織培養商業繁殖使用之細胞分裂素(cytokinin)多為zeatin 和6-benzylaminopurine (BA) (Tirone *et al.*, 2011)。Liu等人(2010)以四個高叢藍莓品種‘Jewel’、‘Emerald’、‘Jubilee’和‘Biloxi’為材料，取六周大的葉片為培植體，在WPM培養基中添加1或2 mg L<sup>-1</sup> TDZ、4 mg L<sup>-1</sup> zeatin、2或4 mg L<sup>-1</sup> zeatin riboside，並添加不同濃度naphthalene acetic acid (NAA)，芽體生成率為‘Jewel’ (88.9%)、‘Emerald’ (87.8%)、‘Jubilee’ (53.3%) and ‘Biloxi’ (87.8%)。

Cappelletti等人(2016)以WPM培養基為基礎，探討 2ip、TDZ和zeatin處理對高叢藍莓芽體增殖之影響，結果顯示 0.2-0.5 mg L<sup>-1</sup> TDZ有利於癒合組織形成，添加15mg L<sup>-1</sup> 2ip促進莖伸長、抑制癒合組織形成；zeatin可直接促進莖再生，以添加 0.55mg L<sup>-1</sup> zeatin誘導芽體生成最多。

Fan等人(2017)以高叢藍莓‘Bluejay’和兔眼藍莓‘Pink Lemonade’雙節(two node)芽體為材料，於Anderson 培養基中添加 4 mg L<sup>-1</sup> zeatin及 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA可促進‘Bluejay’腋芽生長；添加 2 mg L<sup>-1</sup> zeatin及 0.01 mg L<sup>-1</sup> NAA可促進‘Pink Lemonade’芽體增殖，瓶內微體扦插繁殖以1/2 Anderson培養基中添加 0.1 mg L<sup>-1</sup> IBA培養2個月可促使‘Bluejay’和‘Pink Lemonade’發根，發根率分別為75%和65%，若採用瓶外發根(*ex vitro*) 以 1 mg L<sup>-1</sup> IBA處理，發根率提高為89%和97%；經溫室馴化3個月再移到田間種植。

### 四、藍莓組織培養繁殖試驗

本場以藍莓側芽(lateral bud)為培植體進行組織培養芽體增殖研究，以MS培養基添加2 mg L<sup>-1</sup> BA及0.1 mg L<sup>-1</sup> kinetin培養基生成芽體最多、乾重最重，生長指數最高，而培養於添加 0.1 mg L<sup>-1</sup> BA及 0.1 mg L<sup>-1</sup> kinetin培養基的芽體最少、乾重最輕，生長指數最低。MS培養基添加不同濃度NAA處理中，以添加 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA 的芽體生長指數較高。綜合試驗結果藍莓組織培養以kinetin及BA二種生長調節劑組合之增殖倍率達3.5-4.0倍，效果最佳，後續採單節(single node)微體扦插增殖培養(圖1)。



圖 1. 藍莓組織培養苗瓶內生長情形

### 五、藍莓組織培養芽體發根培養試驗

本研究將組織培養繁殖的藍莓芽體培養於MS、1/2MS、WPM三種培養基，進行不同生長調節劑處理之發根培養試驗，以利日後移出瓶外栽培。結果顯示三種基礎培養基以0.01 mg L<sup>-1</sup> BA、2 mg L<sup>-1</sup> NAA處理的芽體發根率最高，其中以MS培養基添加 2 mg L<sup>-1</sup> NAA處理之發根率達98%效果最好；1/2 MS培養基中添加 1 mg L<sup>-1</sup> NAA時，發根率75%；WPM培養基中添加 2 mg L<sup>-1</sup> NAA時，發根率70%。因此，藍莓芽體

# 研究成果

發根最適培養基為MS培養基添加  $0.01 \text{ L}^{-1}$  BA  $\text{mg L}^{-1}$  +  $2 \text{ mg L}^{-1}$  NAA。藍莓芽體發根後出瓶移植於溫室馴化栽培60天，再移植於溫室土壤中採作畦栽培，三年後藍莓植株正常開花結果(圖3)。



圖 2. 藍莓組織培養苗出瓶在溫室中馴化生長情形

## 六、結語

屬於亞熱帶氣候的臺灣欲栽培藍莓應選擇適宜的品種、海拔高度及土壤pH值，種苗繁殖可採用扦插繁殖法，或利用組織培養快速繁殖大量一致性種苗。藍莓組織培養苗種植初期生長緩慢，通常於移植後3-4年才大量生產果實。而商業性組織培養苗生產多避免經由癒合組織再生芽體方式繁殖，以減少發生種苗變異情形，並且繁殖過程多使用較低濃度的生長調節劑。



圖 3. 藍莓組織培養苗在溫室栽培三年的結果情形