

# 百香果‘台農一號’經由側芽培養—組織培養大量繁殖

## Mass propagation system of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) 'Tainung No. 1' via nodal segments

文紀鑾<sup>1</sup>、莊佳茹<sup>2</sup>

### 一、前言

百香果分布於熱帶與亞熱帶地區重要水果，包括泰國、澳洲、美國(夏威夷)、巴西、巴拉圭、阿根廷、南非，因生長快速可取代部分低價值的作物，大部分栽培品種易受病害影響，紫皮果 (purple-skinned *Passiflora edulis*) 市場性較廣，可內外銷，為果汁工業中較受歡迎的品種；黃皮果 (yellow-skinned *P. edulis* f. *flavicarpa*) 因可耐植物病原真菌鐮胞菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*) 引起的萎凋 (Amugune et al., 1993; Nakasone and Paull, 1998)，可作為百香果嫁接苗的根砧材料。

### 二、以葉片、頂芽與側芽作為組織培養材料

Desai 與 Mehta 氏 (1985) 研究報告指出，以葉片作為組織培養材料時，多胺 (polyamines) 可影響芽、根、癒合組織的形

成。Kantharajah 與 Dodd 在 1990 年以培養基 (MS+sucrose2g/L +BAP(6-benzylaminopurine) 2mg/L) 的培養條件下，增殖倍率每月可達 4.5 倍，但有葉片黃化及芽體死亡問題。利用葉片培養 (leaf disc *in vitro* culture) 的培養基 (MS+0.6mg/L BA(6-benzyladenine)) 再生芽體，爾後在發根培養基中移除生長調節劑，即可順利發根，每芽平均可長出 5 根/芽 (Otaholo, 2000)。百香果 (*P. edulis*) 組織切除葉片，在培養基 (MS+3% sucrose) 加上生長調節劑 (BA 與 IBA((indole-3-butyric acid))) 誘導叢生芽體原基 (primordia)，再轉至高濃度 BA，繼代週期為 3 周，大量增殖原基，再轉至低濃度 BA，促使芽體形成，如此循環繼代培養可超過三年，最後以 MS 培養基去除生長調節劑可順利發根，可成功轉至溫室穴盤中栽培，依據此方法完成組織培養繁殖方法，並觀察苗株

<sup>1</sup> 種苗改良繁殖場種苗檢驗科 副研究員

<sup>2</sup> 種苗改良繁殖場種苗檢驗科 臨時人員

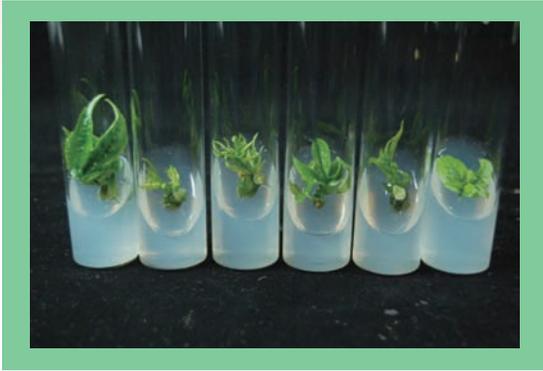


圖 1. 單節初代培養



圖 2. 單節繼代芽體增殖培養



圖 3. 芽體大量增殖 (全緣之幼年性葉及無捲鬚)

葉片形態呈單葉無裂葉，即為回復幼年性 (rejuvenation) 葉 (Kawata 氏等人，1995)。Pinto 等人 (2010) 在 MS 培養基中添加 BA、TDZ(thidiazuron)、AgNO<sub>3</sub>，作葉片 (leaf segments) 培養，可培養出芽體，在培養基 (MSM(modification of MS medium based)+ GA3) 可促使種子無菌播種之下胚軸之芽體伸長與發育。Trevisan 等人 (2006) 建議可採用基因轉殖株 (transgenic plants)，但基因轉殖株必須採用選擇性培養基，且該培養基造成芽體伸長及繁殖芽體倍率低。Pacheco 等人 (2012) 以巴西一種甜百香果 (*P. alata* Curtis)，該種除食用外可做觀賞用

，採用節、節間、葉等三種材料作為培植體，培養基中添加椰子汁及 BA，其中以節間 (培養後可形成  $9.9 \pm 1.3$  個芽)、葉 (培養後可形成  $9.9 \pm 2.0$  個芽) 為培植體，可直接或間接器官形成 (organogenesis)，培養基 (MSM+ 10% 椰子汁) 可促使芽體伸長，發根培養 30 天後，發根率達 100%，而藥劑 PIC(picloram) 可誘導節間、葉形成鬆散的癒合組織，建立懸浮培養系統。Prammanee 氏等人 (2011) 以紫皮百香果的 2mm 頂端分生組織 (apical meristem) 為培植體，以培養基 (MS+BA(1.0-1.5mg/L)) 誘導芽體最佳，起初先培養於 BA(1.5mg/L) 中比 BA(1.0mg/L) 中生長快，可得到較短的芽，若培養於 BA(1.0mg/L) 中可得到較長的芽，培養基中加入 NAA(0.2-2.0mg/L)，將不會產生芽體，培養基中添加 IBA(0.4-0.6mg/L) 誘導發根後經酵素免疫分析法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 檢測，可生產無特定病毒之健康種苗。

### 三、生長調節劑的應用

Shekhawat 等人 (2015) 以印度南部一種

# 研究成果

百香果(*P. foetida* L.)，採用節、為培植體，在培養基(MS+2.0mg/L BAP)誘導叢生芽生成，平均每一培植體可產生 $6.13 \pm 0.22$ 芽，在培養基(MS+0.5mg/L BAP+Kinetin)下，每一培植體可產生 $16.45 \pm 0.44$ 芽，在培養基(1/2MS+2.5mg/L IBA)下，誘導67%芽體發根，採用瓶外發根，芽體以300 mg/L IBA處理5分鐘，可達97%發根率，每一芽體可產生 $8.33 \pm 0.29$ 根，瓶內發根經溫室健化到田間成活率達100%。Antoniazzi等人(2018)以*P. edulis*為測試品種，在MS下添加BA、TDZ、kinetin，以胚乳培養三倍體，其中TDZ可誘導芽體生成，經流式細胞儀及染色體分析，建立多倍體培養系統。Chen等人(2020)以百香果‘台農一號’(*P. edulis* Sims cv. Tainung No. 1)，發現mTR(meta-topolin riboside)與BA在芽體增殖倍率上沒有差異，但mTR可促進芽體伸長，若培養在BA上僅能產生簇生狀芽體，培養基去除生長調節劑，培養8周，可誘導發根，培養中採用Red LED(紅光發光二極體)可經由促進芽體葉綠素(2.71mg/g)含量，而促進芽體品質。

## 四、瓶內與瓶外發根

Isutsa 氏(2004)以黃皮果(*P. edulis* f. *flavicarpa*) and 紫皮果(*P. edulis* f. *edulis*)為品種比較組培方式，於芽體增殖後採用瓶內與瓶外發根差別發現，利用6-benzylaminopurine(BAP)加GA3誘導瓶內芽體增殖瓶外發根方式繁殖百香果苗，其中黃皮果和紫皮果芽體溫室培養30天後，紫皮果發根率達96%，成活率達92%，黃皮果發根率

達66%，成活率達60%，若紫皮果採用IBA瓶內發根，發根率僅達62%，成活率達50%，若黃皮果採用NAA(naphthalene acetic acid)瓶內發根，發根率僅達47%，成活率達32%，故建議百香果瓶外發根優於瓶內發根。

## 五、體胚形成與再生

Phong 等人(2023)採用紫皮果(*P. edulis* f. *edulis*)為品種，以瓶內的根(0.1 × 1 cm)及瓶外發根之葉(1 × 1 cm)為培植體，並於培養基中添加生長調節劑及奈米銀粒子(silver nanoparticles (AgNPs))探討有利於體胚形成(somatic embryogenesis)及發育成苗。其中培養基中添加2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)(1-4mg/L)以葉為培植體可誘導體胚形成，以根為培植體僅能誘導形成癒合組織，NAA與TDZ組合(2.0mg/LNAA+1.5mg/LTDZ)可誘導以葉為培植體直接形成體胚，體胚形成率達81.48%，平均每一培植體可產生26.67個體胚，在2,4-D與奈米銀粒子組合(2.0 mg/L 2,4-D+ 2.0 mg/L AgNPs)，體胚形成率達92.59%，平均每一培植體可產生31.67



圖 4. 發根培養

個體胚，體胚形成的苗在溫室成活率達90%，田間開花與結果正常，故百香果利用奈米銀粒子促進體胚形成誘導植株，為其繁殖方法之一。

## 六、組培單節芽體培養 (single nodal culture)

### (一) 鹽類濃度試驗

培養基的鹽類濃度會影響培植體的再生能力及分化能力，百香果為木質藤本植物，本研究為在芽體初代培養基中，分別採用WPM、MS、1/2MS等3種不同鹽類濃度進行試驗，結果顯示培養於全量WPM培養基存活率最高80%(圖1、2)，培養8周後除部分芽體褐化外，可見節上芽體伸長多節，且為單葉全緣無缺刻(幼年葉)無捲鬚為其特徵(圖3)。而培養於1/2MS培養基之芽體存活率較高73.3%。且也發現伸長芽體，其葉亦黃，葉脈綠色。Rodriguez等人(2007)在WPM培養基中添加BA，做節培養(nodal culture)可培養出芽體，若葉片培養，僅能培養出癒合組織。

### (二) 植物生長調節劑對芽體增殖試驗

不同濃度(0.1, 0.5, 1, 2, mg/L)的生



圖 5. 組培苗溫室健化栽培 60 天

長調節劑 kinetin、BA 和 NAA 對單節培養芽體形成之影響。台農一號單節培植體培養於含有不同濃度(0.1, 0.5, 1, 2, mg/L) BA 培養基中，其中 auxin 採用 NAA，濃度固定採用 0.01 mg/L，結果顯示 0.5-1 mg/L BA 下培養 8 周可從節上發育形成單一伸長的芽體。0.1 mg/L BA 濃度處理會形成癒傷組織，2mg/L BA 產生簇生芽團且部分芽體褐化。培養於 0.1mg/L BA 處理之癒傷組織外觀呈白色淡綠硬質濕潤狀。若 cytokinin 採用 BA+kinetin 不同組合，其中以 0.5-1 mg/L kinetin 配合 1-2mg/L BA，更有利於芽體伸長。單節培養於添加不同濃度 NAA (0.1, 0.5, 1 mg/L) 的培養基中，芽體皆以培養於 0.1 mg/L NAA 之培養基的芽體生長指數較高，高於其他各濃度處理。0.5-1 mg/L NAA 易形成癒傷組織，鮮重卻分別以 0.5mg/L NAA 之 1.28 mg、1mg/LNAA 之 1.5 mg 較重。培養基中若 kinetin 改為 zeatin，與含有 kinetin 之培養基中的相比，培養於添加不同濃度 zeatin 之培養基形成的癒傷組織鮮重較多且易形成，而培養於含有 NAA 之培養基，雖然亦有癒傷組織形成，但除培養於含有 0.5-1 mg/L NAA 培養基之癒傷組織鮮重較重外，其於各濃度產生癒傷組織之鮮重皆低(0.10~0.15mg)。單節培養於含有 0.5-1mg/L BA 之培養基，於 4 個月後所有處理皆無觀察到任何癒傷組織形成。

### (三) 芽體繼代培養

芽體繼代培養以添加 0.5-1 mg/L kinetin+1-2mg/L BA+0.1 mg/L NAA 之

# 研究成果

WPM 培養基的芽體鮮重高於僅添加 0.5-2 mg/L BA+0.1 mg/L NAA 之 WPM 培養基，也高於培養於 0.5-1 mg/L kinetin+1-2mg/L BA+0.1 mg/L NAA 之 1/2MS 培養基，在添加 kinetin+ BA 之 WPM 培養基中，每芽鮮重最重可達 21.13mg，高於培養於添加 zeatin+ BA 之 WPM 培養基及 kinetin+ BA 之 1/2MS 培養基中。繼代周期約 6-8 周，芽體繼代時採用單節扦插入培養基，母瓶芽體 (shoot) 約可產生 4-6 節，因此繁殖倍率可達 4-6 倍，雖然 6-8 周後芽體基部會產生淡綠色硬質癒傷組織，因每芽直接來自節上側芽長出，芽體生成不經癒傷組織，也非叢生芽，因此變異機率低，可保留原母本遺傳特性。

## (四) 發根培養

以單節為單位培養於不添加生長調節劑之 WPM 培養基中，加入活性碳 2g/L(圖 4)，6-8 周後可誘導發根 1-3 條/芽，根長

3-8cm，此時節上側芽亦長出 3-5 節，移入溫室穴盤栽培(圖 5)，成活率達 100%。發根培養基，採用 1/2MS 基本鹽類影響芽體生長與發根無明顯差異，WPM(或 1/2MS)+1-2 mg/L IBA，培養 4 周後，可促進發根，部分基部有癒傷組織，根可從癒傷組織或直接從芽體基部長出，芽高 6-8cm。

## 七、結論

百香果為世界與本國重要水果產業之一，果實可作鮮食或加工作成果汁，本研究中發現百香果雖為藤本，但與木本植物類似不易在組培條件下進行芽體增殖。為減少變異，增加苗株穩定性，改善培養基成分下，百香果芽體可不經癒傷組織誘導再生形成，類似蘭花以芽長芽增殖，未來仍需經過病毒檢測，生產無特定病毒苗，進而在田間種植確認果實產量及品質無變異，達到組培生產繁殖目標。