

# 甘藷健康種苗培育

羅淑芳 廖嘉信

台灣省農業試驗所嘉義農業試驗分所

## 摘 要

甘藷感染病毒之病株，以38—42°C熱處理4週以上切取0.3-0.6mm大小之莖頂，培養於含MS基本無機鹽類，每公升添加0.4mg thiamine-HCl、100mg myoinositol，4mg BAP，1mg IAA及30g sucrose之改良式固體MS培養基上，4週後移植於不含生長素之相同培養基，再經10週，可得完整的培養苗。以指示植物 *Ipomoea setosa* 嫁接檢定，剔除病毒殘存株。其餘健康苗，以單莖節培養於改良式MS培養基，每3—4週可繼代培養一次，每次增殖5—6倍，每一莖頂一年約可繁殖40萬苗，對加速健康種苗繁殖，極具功效。

比較健株與罹病株結果發現；具黃斑型及紫斑型病徵之病株，其塊根減產約10%，具捲葉型病徵之病株，嚴重減產30%以上，健株初期生長快，收穫時塊根表皮光滑細緻，肉色亮麗，質量俱佳。

(關鍵詞：甘藷、病毒、組織培養、種苗培育)

## 前 言

甘藷為本省重要輔助糧食作物，據台灣農業年報統計，民國82年全年栽培面積約一萬二千公頃，單位面積平均產量每公頃僅16公噸<sup>(1)</sup>，但歷年各育種場所育成推廣的甘藷品種，據試驗記載塊根平均產量每公頃均在30公噸以上，差異懸殊。其塊根產量銳減的原因，除未能適地適種及氣候環境條件不適當等因素外，根據嘉義分所多年來研究結果顯示，病毒等系統性病害感染可能是重要影響因子之一<sup>(9)</sup>。

甘藷為無性繁殖作物，一旦感染病毒則難以根除，且逐漸蔓延於各產區，由於病毒的感染不但使甘藷塊根品質受影響<sup>(19)</sup>，且其產量損失高達10-87%<sup>(17,21,23)</sup>欲獲得無病毒植物體的方法有：1.熱處理法(heat therapy)：kobus(1890)報導以50-52°C溫湯處理蔗莖30分鐘，藉以除去甘蔗sereh disease獲得健株<sup>(25)</sup>，2.化學療法(chemotherapy)：Raychaudhuri et al(1970)發現培養基中添加1ppm GA或2,4-D能減低CHMV(Chilli mosaic virus)病毒的感染<sup>(28)</sup>，Fraser及Whenbam(1978)報導菸草以MBC(methyl benzimidazol-2-yl-carbamate)處理，可抑制TMV在生長旺盛的組織部分累積，並可防止病毒阻礙葉的生長<sup>(12)</sup>，Green等報導甘藷頂芽培養於添加50ppm ribavirin之培養基中可獲得86%無捲葉病植株<sup>(12)</sup>，3.莖頂培養法(meristem-tip culture)；Morel及Martin(1950)，首次成功的由感染病毒的大理花(dahlia)生長點分離培養，獲得無病毒植株後，以莖頂培養法獲得無病毒苗的成功事例很多，甘藷以此培養技術獲得無病毒健康種苗者有美國(Nielsen 1960)<sup>(25)</sup>。日本(Mori 1971)<sup>(22)</sup>

波多黎各(Alconero et al 1975)<sup>(19)</sup>台灣(廖 1979, 1982, Green1992)<sup>(4,5,15)</sup>及奈及利亞(Frison & Ng 1981)<sup>(13)</sup>等。

## 內 容

### 一、甘藷病毒病害發生概況：

本省甘藷感染病毒所引起的病徵有黃斑(yellow spot)、紫環(purple ring)、捲葉(leaf curl)、羽狀鑲嵌(feathery mottle)及嵌紋(mosaic)等，且多數以數種病毒複合感染，據嘉義分所調查全省13縣，73鄉鎮，152個甘藷園，發現病毒感染率高達75%以上(表1)，其中黃斑及潛伏染病毒單獨或混合感染者佔51.4%，普遍發生於各甘藷園中，其次為嚴重型病毒檢出率亦達17.1%，且北部地區罹病率較南部地區高，捲葉病的檢出率佔9.8%，另有4.5%在牽牛花(*Ipomoea nil*)上出現葉片黃化，矮化等系統性病徵之未知病因。由各供試取樣園罹病率顯示病毒檢出率50% 以上者共有127處，達取樣甘藷園的83.5%<sup>(9)</sup>。本省甘藷病毒已分離得三種，並暫定名為SPV-A、SPV-N及SPV-B<sup>(3,8)</sup>，其主要區別為：

SPV-A：在甘藷上產生黃斑或紫斑型病徵，可經由機械傳播及蚜蟲以非永續性方式傳染，病毒為長絲狀。

SPV-N：在甘藷上產生輕微鑲嵌(mottle)的不明顯病斑，病毒可經由機械傳播感染甘藷及菸草，病毒為長絲狀。

SPV-B：在甘藷上產生捲葉型病徵，可經由菸草粉蝨傳播感染，病毒顆粒為子彈型。

表1：七十四年度台灣主要甘藷產區病毒罹病率調查

Table1: The percentage of viruses infected sweet potato at main planting region in Taiwan in 1985.

Planting region	% of viruses infected plant						Healthy plant
	Severe type	Latent	Yellow spot and latent	Yellow spot latent and Leaf curl	Leaf curl	Unknow	
Taipei	21.74	2.17	43.48	23.92	4.35	—	4.35
Taoyuan	18.18	4.55	54.55	—	—	—	22.73
Hsinchu	32.60	10.87	17.39	36.96	—	—	2.17
Miaoli	21.54	8.46	34.62	0.77	1.54	0.77	32.31
Changhua	34.47	5.83	32.03	—	—	4.37	23.30
Yunlin	11.03	2.94	36.03	5.15	3.68	2.94	38.24
Chiayi	17.47	1.20	40.97	10.24	—	10.24	19.88
Tainan	16.05	2.60	48.37	1.52	0.65	2.60	28.20
Kaohsiung	5.88	2.94	67.65	—	—	5.88	17.65
Pingtung	5.31	7.08	35.40	3.54	3.54	5.31	39.82
Taitung	1.90	2.53	27.85	12.03	10.76	10.13	34.81
Hualian	5.36	5.36	29.02	2.23	6.92	13.17	37.95
Ilan	30.95	—	48.81	—	—	3.57	16.67
Mean	17.11	4.35	39.71	7.41	2.42	4.54	24.46

## 二、無病毒甘藷種苗培育與繁殖：

植物經由熱處理配合莖頂培養以去除病毒之例子頗多，雖然熱處理溫度越高，處理所需時間越短，但甘藷在45°C以上處理時成活率大幅下降，50°C以上則無法忍受<sup>(2)</sup>。近年來以適當高溫之熱處理配合莖頂培養，以獲得無病毒株的方法，使多數不易去除的病毒得以根除，Kassanis假設高溫可去除病毒的原因為罹病株代謝系統轉變，使病毒合成與分裂失去平衡或失去繁殖能力所致<sup>(20)</sup>。甘藷為無性繁殖作物，在田間易經由媒介昆蟲及農機具等傳染而複合感染多種病毒，據筆者等試驗結果；甘藷罹病毒株塊根，經清洗置25°C之濕潤環境下催芽，新芽長出後，改置於38~42°C植物生長箱，熱療4週以上，切取莖頂0.3~0.6mm，培養於含4mg/l 6-benzylaminopurine(BAP)，1mg/l indol-3-acetic acid(IAA)之改良式Murashige and Skoog培養基<sup>(24)</sup>，在光度1500~3000lux，光期16小時，溫度25±1°C之環境下培養65~120天，可長成一完全小苗。且其健株獲得率在60%以上<sup>(4,5,15)</sup>。

甘藷病毒種類頗為複雜，以血清法鑑定不易。利用供試株莖段嫁接於指示植物為可行的病毒檢定法，以指示植物巴西牽牛(*Ipomoea setosa*)嫁接檢定，可測定黃斑型(SPV-A)，潛伏型(SPV-N)及捲葉型(SPV-B)病毒及萎縮型(yellow drawf)系統性病害之病原殘存<sup>(4)</sup>。

健康種苗在田間無性繁殖，易經由綠桃蚜或粉蝨等病毒媒介昆蟲再傳播感染<sup>(3,8,15)</sup>，試管中增殖為安全可行的繁殖方式之一，以單莖節繁殖法，配合提高培養基中蔗糖濃度為6%，可加速試管苗生長(表2)<sup>(10)</sup>，每20~30天可增殖5倍以上，估計單一莖頂一年可增殖約40萬苗。

表2：不同濃度之蔗糖對甘藷莖生長及成活率之影響

Table 2. Effect of sucrose concentration on the growth, development and in vitro survival rate of sweet potato shoot segments cultured for one month on modified MS medium.

Sucrose conc. (%)	Fresh wt. (mg/shoot)		Stem diameter (mm)		Plant height (cm)		Number of expanded leaves		In Vitro survival rate (%)	
	TNG 57 <sup>1</sup>	TNG 66 <sup>1</sup>	TNG 57	TNG 66	TNG 57	TNG 66	TNG 57	TNG 66	TNG 57	TNG 66
0	13 <sup>e2</sup>	97 <sup>e</sup>	0.1 <sup>e</sup>	0.7 <sup>c</sup>	1.6 <sup>c</sup>	1.7 <sup>d</sup>	0.1 <sup>e</sup>	0.3 <sup>d</sup>	12.5	56.7
3	538 <sup>c</sup>	766 <sup>c</sup>	1.4 <sup>c</sup>	1.8 <sup>b</sup>	6.6 <sup>b</sup>	5.4 <sup>b</sup>	6.1 <sup>b</sup>	4.1 <sup>a</sup>	100.0	100.0
6	1,110 <sup>a</sup>	1,177 <sup>ab</sup>	1.6 <sup>b</sup>	2.3 <sup>a</sup>	9.2 <sup>a</sup>	6.6 <sup>a</sup>	7.0 <sup>a</sup>	3.4 <sup>b</sup>	100.0	100.0
9	956 <sup>b</sup>	1,309 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>	6.3 <sup>b</sup>	5.4 <sup>b</sup>	5.0 <sup>c</sup>	2.5 <sup>c</sup>	100.0	100.0
12	252 <sup>d</sup>	1,148 <sup>b</sup>	0.8 <sup>d</sup>	2.4 <sup>a</sup>	2.1 <sup>c</sup>	3.8 <sup>c</sup>	1.1 <sup>d</sup>	2.4 <sup>c</sup>	50.0	100.0
15	38 <sup>e</sup>	255 <sup>d</sup>	0.2 <sup>e</sup>	1.0 <sup>c</sup>	1.6 <sup>c</sup>	1.8 <sup>d</sup>	0.1 <sup>e</sup>	0.6 <sup>d</sup>	22.5	56.7

1.TNG57: Tainung 57; TNG 66: Tainung 66.

2.Meas with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 40 replications.

若為種原保存的目的以mannose, lactose及glucose取代sucrose可有效的抑制甘藷試管苗生長(表3), 延緩培植體的繼代培養週期達6個月以上<sup>(10)</sup>, 或以monitol取代sucrose並配合19°C低溫培養, 則可延長繼代培養週期達12月以上<sup>(13)</sup>, 對培植體移植至正常培養環境下其生長勢不受影響, 減少種原試管中保存之移植次數, 可節省人力、物力及人為的疏失引起的種原遺失。

表3: 不同碳源對甘藷莖生長及發育之影響

Table 3: Effect of sugar source on the growth and development of sweet potato shoot segments cultured for two months on modified MS medium.

Sugar <sup>1</sup>	Fresh wt. (mg/shoot)		Plant height (cm)		Number of expanded leaves		Dry weight (mg/shoot)	
	TNG 57 <sup>2</sup>	TNG 66 <sup>2</sup>	TNG 57	TNG 66	TNG 57	TNG 66	TNG 57	TNG 66
Lactose	101 <sup>de3</sup>	84 <sup>ef</sup>	2.2 <sup>d</sup>	1.5 <sup>d</sup>	2.6 <sup>d</sup>	0.3 <sup>e</sup>	8.2 <sup>de</sup>	8.1 <sup>e</sup>
Maltose	354 <sup>c</sup>	637 <sup>b</sup>	5.1 <sup>c</sup>	10.7 <sup>b</sup>	7.2 <sup>c</sup>	6.6 <sup>c</sup>	25.1 <sup>c</sup>	45.6 <sup>b</sup>
Fructose	596 <sup>b</sup>	527 <sup>c</sup>	7.3 <sup>b</sup>	9.1 <sup>c</sup>	12.1 <sup>b</sup>	7.6 <sup>b</sup>	42.0 <sup>b</sup>	43.1 <sup>b</sup>
Mannose	84 <sup>de</sup>	201 <sup>d</sup>	1.9 <sup>d</sup>	2.4 <sup>d</sup>	2.6 <sup>d</sup>	2.2 <sup>d</sup>	10.0 <sup>d</sup>	24.0 <sup>c</sup>
Galactose	0 <sup>ef</sup>	0 <sup>f</sup>	0.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>f</sup>
Glucose	202 <sup>d</sup>	158 <sup>de</sup>	2.6 <sup>d</sup>	2.2 <sup>d</sup>	4.5 <sup>d</sup>	2.1 <sup>d</sup>	16.9 <sup>cd</sup>	16.5 <sup>d</sup>
Arabinose	0 <sup>ef</sup>	0 <sup>f</sup>	0.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>f</sup>
Sucrose	877 <sup>a</sup>	1024 <sup>a</sup>	9.4 <sup>a</sup>	13.8 <sup>a</sup>	14.8 <sup>a</sup>	8.8 <sup>a</sup>	67.7 <sup>a</sup>	77.5 <sup>a</sup>

1. Concentration of all sugars was 3%.

2. TNG57: Tainung 57; TNG 66: Tainung 66.

3. Means with the same letter of a column are not significantly different at 5% level by Duncan's Multiple Range Test. Each data represents the mean of 20 replications.

4. Explants did not survive under the experimental conditions.

### 三、健株與病株生長比較：

作物被病毒感染後的產量損失變異很大, 通常可見罹病株的產量遠較健株為低<sup>(14)</sup>, Mukiibi報導甘藷植後5個月感染病毒減產約11%, 而插植初期感染減產達57%<sup>(23)</sup>, 其具SPVD病徵者減收達78%<sup>(17)</sup>, 產量損失受病毒種類與strain的影響<sup>(18)</sup>, 病毒不僅減少作物的

產量且引起品質的劣化，Kantack及Martin(1958)發現甘藷感染栓化病毒(internal cork virus)雖對產量的影響不大，但卻明顯地改變其食味而失去其經濟價值<sup>(19)</sup>。本省甘藷無病毒健康種苗在田間種植後，其地上部生長遠較病毒感染株快速，塊根產量亦較複合感染多種病毒的病株，顯著增數20%以上<sup>(6,7)</sup>，較SPV-A及SPV-N病毒感染株的塊根產量稍高，但差異不顯著<sup>(6)</sup>。歷年來在各主要產區試作結果，台農57號株平均減產30%以上(表4)，而且塊根水分含量較少肉質較粗糙，健株之塊根表皮光滑細緻、肉色鮮黃帶橙，適口性亦較佳，充分表露優良品種原有的特性，也彰顯出病毒感染為本省甘藷優良栽培品種劣變的原因之一。

表 4：甘藷台農57號無病毒苗與罹病株塊根產量比較

Table 4: Comparison of fleshy root production between virus-free and viruses complex infected sweet potato "Tainung 57"

Year	Location	Crop season	Fleshy root yield(ton/ha)		% of yield reduced of viruses infected plant
			Healthy plant	Viruses infected plant	
1978	Chiayi, (Chiayi AES)	Fall	28.10	21.20	24.50
1980	Taichung, (TARI)	Fall	32.40	21.70	33.00
1983	Yunlin, (Shuilin)	Fall	54.40	27.50	49.40
1984	Taipei, (Sanchih)	Spring	29.25	20.50	29.90
1985	Yunlin, (Yuanchang)	Fall	37.00	31.00	16.20
1987	Yulin, (Yuanchang)	Fall	50.70	31.00	38.90
Mean			38.64	25.48	34.06

## 結 論

甘藷為無性繁殖作物，植株感染病毒等系統性病害後即成為傳染源，根除系統性病害的蔓延，除積極進行抗病育種外，藉熱療、化學藥劑處理及莖頂組織培養法等亦暫時可得健康植株。其中以莖頂組織培養較廣泛被利用。莖頂切取之大小與培植體病毒之去除及試管苗的成活率有關，甘藷莖頂切取長度小於0.2mm時，易誘得癒傷組織而難以獲得完整植株，而大於0.7mm時，無病毒苗獲得比率則偏低，以0.3~0.6mm為最適合之切離體大小，無病毒健康苗獲得率約在40%以上。培養基中蔗糖濃度對培植體的生長與健化關係密切，蔗糖以含3~6%為最適宜，太高太低均易造成培植體的生長弱勢，此可能受培養基滲透壓差異的影響。以3% glucose取代蔗糖可抑制培植體生長，延緩繼代培養週期達6個月以上，對種原保存，裨益大。

甘藷健康苗的培育除可促進植株正長生長，提高塊根產量外，對塊根品質亦深具影響。

## 參考文獻

1. 農林廳，1993. 台灣農業年報 (八十二年版) p, 54-55。
2. 楊一郎，1969. 甘藷簇葉病之研究(1)。農業研究 18：50-60。
3. 廖嘉信，簡義忠，鐘美麗，邱人璋，韓又新，1979. 台灣甘藷病毒病之研究 I. 甘藷黃斑型病毒病。中華農業研究，28(3)：127-138。
4. 廖嘉信，鐘美麗，1979. 甘藷無病毒苗之培育及病毒檢定。中華農業研究，28：139-144。
5. 廖嘉信，蔡新聲，盧英權，1982. 甘藷病毒SPV-A及SPV-N消除法之研究。中華農業研究，31(3)：239-245。
6. 廖嘉信，鐘美麗，蔡新聲，1982. 病毒對甘藷農藝性狀的影響。中華農業研究，32(3)：228-232。
7. 鐘美麗，廖嘉信，李良，1981. 毒素病對甘藷產量及品質之影響。植保會刊23：137-141。
8. 鐘美麗，廖嘉信，陳脈紀，邱人璋，1985. 甘藷捲葉病病原的分離傳播及寄主範圍。植保會刊，27：333-341。
9. 鐘美麗，廖嘉信，賴秋恩，1986. 台灣甘藷病毒病種類、分佈及罹病率調查(未發表)。
10. 羅淑芳，廖嘉信，1993. 甘藷種原試管中保存技術之研究，I. 碳素源對增殖體生長之影響。中華農業研究，42(1)：30-36。
11. Alconero, R., A. G. Santiago, F. Morales & F. Rodriguez. 1975. Meristem-tip culture and virus indexing of sweet potatoes. *Phytopathology* 65 : 767-773.
12. Fraser, R. S. S. & R. J. Whenham. 1978. Chemotherapy of plant virus disease with methyl benzimidazol-2-yl-carbamate; effects on plant growth and multiplication of tobacco mosaic virus. *Physiological Plant Pathology* 13 : 51-64.
13. Frison, E. A. & S. Y. Ng, 1981. Elimination of sweet potato virus disease agents by meristem tip culture. *Trop. Pest. Manage.* 27 : 452-454.
14. Gibbs, A. and B. Harrison, 1976. Ways of preventing crop losses. In *Plant Virology* P, 217-231. Edward Arnold Ltd., London.
15. Green, S. K., C. Y. Luo and S. F. Wu, 1992. Elimination of leaf curl virus of sweet potato by meristem tip culture, heat and ribavirin. *Plant Protection Bulletin* 34 : 1-7.
16. Green, S. K., S. C. S. Tsou and S. F. Wu, 1992. The effect of meristem tip culture on yield, quality and on virus reinfection of sweet potato. *Plant Protection Bulletin* 34 : 192-201.
17. Hahn, S. K. 1979. Effects of viruses (SPVD) on growth and yield of sweet potato. *Expl. Agri.* 15 : 253-256.

18. Hampton, R. O. 1975. The nature of bean yield reduction by bean yellow and bean common mosaic viruses. *Phytopathology* 65 : 1342-1346.
19. Kantack, E. J. & W. J. Martin, 1985. Effect of internal cork on yield and grade of sweet potato roots. *Phytopathology*. 48 : 521-522.
20. Kassanis, B. 1965. Therapy of virus-infected plants. In : *Plant Cell Tissue and Organ Culture* (Reubert, J. and Y. P. S. Bajaj ed. 1977). Chapter 5, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
21. Lobenstein, C. & I. Harpaz. 1960. Virus diseases of sweet potatoes in Israel. *Phytopathology*, 50 : 100-104.
22. Mori, K. 1971. Production of virus-free plants by means of meristem culture. *Jpn. Agric. Res. Q.*, 6 : 1-7.
23. Mukiibi, J. 1976. Effect of mosaic on the yield of sweet potatoes in Uganda. *Proc. 4th Sym. of the International Soc. for Tropical Root Crop*, P. 169-170.
24. Murashige, T and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15 : 473- 479.
25. Nielsen, L. W. 1960. Elimination of internal cork virus by culturing apical meristems of infected sweet potatoes. *Phytopathology*, 50 : 840-841.
26. Nyland, G. & A. C. Goheen. 1969. Heat therapy of virus diseases of perennial plant. *Ann. Rev. Phytopath.* 7 : 331-354.
27. Quak, F. 1977. Meristem culture and virus-free plant. In : *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (Reubert, J. & Y. P. S. Bajaj ed.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York. P. 598-615.
28. Raychaudhuri, S. P. 1970. Plant viruses in tissue culture. In : *Plant Tissue Culture* (Stree, H. E. & G. G. Henshaw ed.) P. 429-460.

## 討 論

問：1.甘藷經組織培養之健康種苗是否已經實用？

2.培養基中用BAP是何物？有何效用？

侯清利(嘉義農專農藝科)

答：1.甘藷健康種苗的培育已實際使用在優良品種的繁殖與推廣工作上。嘉義農試分所每年供應近十萬苗，主要推廣地區為台北縣金山地區，雲林縣元長、水林及台南縣新化等地區。

2.BAP (benzyl aminopurine) 為Cytokinin的一種，在組織培養中有抑制頂芽優勢及延緩細胞老化的效用。

## Propagation of Virus-free Sweet Potatoes through Shoot-tip Culture

S. F. Lo and C. H. Liao

Chiayi Agricultural Experiment Station, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, Republic of China.

### ABSTRACT

The procedure for producing virus-free sweet potato seedlings by the *in vitro* shoot-tip culture techniques has been established. Shoot tips about 0.3-0.6 mm in length, are excised from the plants previously exposed to high temperature (38~42°C) environment for 28 days. They are cultured for 4 weeks on the medium containing inorganic salts of Murashige and Skoog (MS) formulation supplemented with 0.4mg/l thiamine-HCl, 4 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP), 1 mg/l indole -3-acetic acid (IAA), 100 mg/l myo-inositol, 30 g/l sucrose, and 8 g/l Difco Bactoagar. The cultures are then transferred to medium containing no plant growth regulator, and intact plantlets could be produced within 10 weeks. More than 60% of the produced plantlets are free of virus contamination as proved by mechanical transmission and/or grafting with indicator plants *Ipomoea setosa* or *I. nil*. Single-node cuttings of these virus-free plantlets cultured *in vitro* could develop into intact plants within 20 to 30 days. A 5-time multiplication rate can be achieved after each subculture. A comparison between virus-free and virus-infected plants indicated that the fresh tuber yield was decreased by 30% if the plants were infected with leaf curl virus (SPV-B) and by 10% if infected with yellow spot symptom virus (SPV-A) and/or mild mottle symptom virus (SPV-N). The virus-free plants were also characterized by higher growth rate at early growth phase and better tuber quality.

(Key words : Sweet potato, virus, tissue culture, seedling propagation)