

組培技術在香蕉黃葉病防治上之應用

黃新川

屏東縣九如鄉 台灣香蕉研究所

電子郵件: schwangtbri@seed.net.tw ; 傳真: 08-7393647

接受日期: 中華民國91年4月15日

摘要

黃新川, 2002. 組培技術在香蕉黃葉病防治上之應用. 植病會刊 11:57-61.

香蕉黃葉病(病原菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, race 4) 為台灣香蕉生產之瓶頸, 因無有效防治方法, 本病曾於中南美洲摧毀數個國家的香蕉產業。近年來, 台灣香蕉生產不但仍可供應國內市場需要, 還有相當數量持續不斷外銷到日本市場, 實與有效應用組培技術有密切關係。其應用在防治黃葉病有兩項重大成就, 一為利用組培技術大量生產健康蕉苗, 供應農民種植, 有效抑制黃葉病菌經由種苗擴大蔓延。自民國七十二年迄今共計繁殖組培苗 2,800 多萬株, 累計推廣種植面積達 14,459 公頃。二為利用組培變異(somaclonal variation) 特性, 從「北蕉」之組培植株中選育成功抗病品種。兩個抗病品種「台蕉一號」、「台蕉三號」已分別於民國八十一和九十年推廣。最新選育成功之「寶島蕉」則預定於九十一年推廣, 「寶島蕉」具有抗病、豐產優點, 種植「寶島蕉」取代傳統「北蕉」將可提高產量 50%, 對振興台蕉產業將有重大作用。

關鍵詞: 香蕉、香蕉黃葉病、組織培養、抗病育種

緒言

香蕉為本省重要經濟果樹, 外銷到日本市場已有近百年歷史, 民國五〇年代最高峰時植蕉面積超過五萬公頃, 外銷金額達六千四百多萬美元, 居農產品外銷之首位, 對國家經濟發展、促進農村繁榮有很大的貢獻。及至六〇年代數家跨國公司開始在菲律賓大量植蕉, 傾銷日本, 致使台蕉外銷事業逐年衰退。近二十年來, 復因黃葉病肆虐蔓延, 造成嚴重減產。目前在中南部約七千多公頃蕉園, 受黃葉病波及者達四千多公頃。香蕉黃葉病係由土壤真菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, race 4 感染根部引起⁽¹⁴⁾, 屬系統性病害, 種苗(吸芽) 為其主要傳播媒介之一⁽¹⁵⁾, 為遏止本病經由種苗傳播, 香蕉研究所於七〇年代初期研發利用香蕉組培技術大量生產健康種苗^(2,8), 自七十二年起每年培育 200 多萬株供應農民種植, 對抑制病原菌傳播發揮很大的功效。

防治黃葉病, 最根本方法為選育抗病品種。唯外銷香蕉品種 Cavendish, 屬三倍體, 因具不稔性, 過去七十年來利用傳統雜交育種尚未育得商業化的栽培品種⁽¹²⁾。從大量種植組培苗發現約有 3% 蕉株在外觀上出現變異⁽³⁾, 稱之體細胞變異(somaclonal variation)⁽¹³⁾。自七十三年本所乃利用組培苗為材料, 在田間進行抗病選種, 迄今已獲得 13 個抗病品系^(4,6,9), 其中兩個抗病品系分別於八十一

和九十年推廣^(7,9)。最近育成之抗病品種「寶島蕉」, 兼具抗病和豐產優點, 預定於九十一年推廣, 對提高台蕉產量品質, 降低生產成本將啓重大作用。

本文介紹香蕉健康種苗培育方法、蕉苗病毒檢疫、健康蕉苗推廣情形、及抗病品種之育成及推廣。

香蕉健康種苗培育方法

以組培技術大量生產健康種苗須經過誘發不定芽、不定芽增殖、小植株再生、及苗圃馴化等四級階段, 全程約需時一年。

誘發不定芽: 採用 Ma & Shii (1972) 報告的方法⁽¹¹⁾, 在無菌操作下, 從吸芽中心生長點部位取一約 1 立方公分大小分生組織, 置於添加有 0.5 mg/l BAP (6-benzyl-aminopurine) Murashige & Skoog 培養基, 在 24°C、每日 12 小時光照 (2,000 lux) 下培養 4-5 週後, 即可誘發長出 3 至 7 個不定芽。

不定芽增殖: 將上述誘發之不定芽團取出, 用解剖刀分開成單芽, 剝除葉鞘裸露生長點部位, 接種到 MS 培養基培養⁽¹¹⁾, 如此繼代培養 6-7 次後即可得到大量不定芽體, 每繼代培養需時 3-4 週, 視不同香蕉品種而異, 每次繼代不定芽之增殖率在 2-5 倍之間, 本省傳統栽培品種「北蕉」之平均增殖率達 4 倍左右, 而「呂宋蕉」最低,

僅2倍左右。經6次繼代培養後，從每一吸芽取得之分生組織約可增殖5,000個不定芽。以此增殖倍數，歷年來田間調查結果顯示，蕉株發生變異機率約3%⁽³⁾。

小植株再生：經最後一次繼代培養之不定芽，可將之分為單芽後接種到固體培養基，發育成小植株，但此法費時效率差，平均每人每天僅可生產2,000株苗。目前本所採用之改進方法為將液體培養基直接倒入繼代培養瓶內(瓶高10.5公分、寬7.5公分)，每瓶倒入50ml，移至室外遮蔭處培養一個月，小植株再生階段遂告完成。液體培養基配方為每公升蒸餾水含有糖10g、花寶一號5g、活性炭1.6g。改進後，平均每人每天可生產9,000株苗。

苗圃馴化：小植株自瓶內取出，經洗滌去除培養基殘留物，假植於裝填介質之盆鉢，介質由鋸木屑與有機肥混合而成(體積比4:1)。假植後立即施用緩效性肥料(仙肥丹, N:P:K=12:12:12)，每株施用20粒。初期10天須用透明塑膠布覆蓋，具保濕保溫效果，可提高蕉苗成活率達95%以上。蕉苗馴化在高溫期需時6週，在低溫期延長至8週，即可供應農民種植。馴化期前半段在遮光率60%之黑網下進行，後半段須將黑網移開，增強日照避免蕉株徒長。

為確保蕉苗健康品質，馴化苗圃的設施和管理在苗圃四周及上方使用白色紗網(32網目)，進出口則裝設雙層門，以達防蟲效果。在管理方面須嚴防非工作人員進入，工作人員進入須換穿經消毒過之鞋子。馴化期間每星期噴藥一次(殺菌劑大生M-45，及殺蟲劑萬靈等)。蕉苗發放前必須淘汰變異株或發育不良株，以確保品質。

蕉苗病毒檢疫

利用組培技術繁殖之種苗，雖然可以達到去除真菌、細菌、線蟲、和各種害蟲的效果，但病毒仍可經由組培繁衍和傳播。因此，建立嚴謹有效的病毒檢疫制度成為生產健康種苗最重要的工作。

至目前，經鑑定危害香蕉的病毒有5個：Abaca Mosaic Virus (AbMV)、Banana Bract Mosaic Virus (BBMV)、Banana Bunchy Top Virus (BBTV)、Cucumber Mosaic Virus (CMV)、和Banana Streak Virus (BSV)。其中AbMV僅感染馬尼拉麻(Manila hemp)，主要分佈於菲律賓，其餘四個病毒則分佈於各國對食用香蕉造成嚴重的損失。

在本省蕉園，萎縮病(BBTV)和嵌紋病(CMV)為常見的兩種毒素病，分佈於中南部各蕉區。另外，近年在香蕉研究所、嘉義分所設置之香蕉種原保存園中曾發現到香蕉條紋病毒(BSV)⁽¹⁶⁾，主要感染帶有B基因群的品種如Mysore (AAB)、Pisang Awak (ABB)、Ney Poovan (AB)、Latundan (AAB)等。保存園中經鑑定被BSV感染的所有蕉株雖已全部砍除銷毀，但感染品種Latundan長久以來零

星種植在中南部各蕉區，是否已被感染，值得探究。對於以上三種病毒，台灣大學植病系蘇鴻基教授已研發成功直接酵素連結抗體免疫分析法(ELISA)和聚合酵素連鎖反應(PCR)兩種病毒偵測方法^(1,17,18)，前者應用於偵測BBTV、CMV，後者偵測BBTV、BSV，對生產無毒化健康種苗有很大的貢獻。

由於商業化繁殖蕉苗每年需要大量的吸芽供做組培材料，若直接從田間挖取吸芽則有帶毒的風險，所有的吸芽必須經過病毒檢測更是耗時。最好的方法是設置無毒原種保存園(virus-free foundation stock)，本所已於八十七年設立一個450坪的網室，保存主要香蕉栽培品種⁽⁸⁾，其設置方法為：(一)從田間選取樹型良好、發育旺盛、果形整齊之母株，取其吸芽，經鑑定為無毒者，移至防蟲網室內種植保存，每品種保存100個株系。(二)在網室內，蕉株發育期間，每三個月進行一次病毒檢疫，遇有陽性反應者予以淘汰。(三)供組培用之再生吸芽苗，從每株系抽樣做最後一次病毒檢疫，經確認無毒者始可供做組培母材。

香蕉健康種苗推廣情形

以組培技術生產健康蕉苗始於七十二年，至九十年已生產蕉苗共計2,800多萬株，累計推廣面積達14,459公頃(表一)，繁殖品種包括「北蕉」、「台蕉一號」、「台蕉二號」、「台蕉三號」等四種，以北蕉最多，佔70%。

種植組培苗不但可以達到預防病蟲、病毒經由種苗傳播的效果，據田間調查種植組培苗亦有下列好處⁽²⁾：(一)成活率高，傳統吸芽苗之成活率約85%，組織苗高達95%以上。(二)節省田間管理工資，每公頃減少約20,000元。(三)節省病蟲害防治費用達50%。(四)蕉株發育整齊，縮短採收期，便利產期調節。(五)果形整齊，香蕉品質提高。

由於組培苗有這些優點，近年來廣受農民歡迎。在推廣上由蕉研所與青果社合作，蕉研所負責組培操作至小植株階段，青果社負責馴化苗圃管理及辦理農民申購與蕉苗發放。農民必須每年七、八月間向青果社登記申購之品種和株數，並繳交每株3元訂金。為便利農民取苗，青果社於中南部、東部主要香蕉產區設有馴化苗圃15處。

隨著組培苗的推廣，在香蕉栽培管理上也帶來新的問

表一、組培苗培育數量及推廣面積(72-90年)

Table 1. Production and extension program of banana tissue cultured seedlings during 1983-2001

品 種	培育株數(x1,000)	推廣面積(公頃)
北蕉	20,193	10,096
台蕉一號	5,475	2,737
台蕉二號	3,133	1,566
台蕉三號	120	60
合計	28,921	14,459

題。其一，組培苗在植後初期容易發生殺草劑藥害，改進辦法為輔導農民採用塑膠布覆蓋植畦、或間作綠肥控制雜草，俾減少施用殺草劑；其二，組培苗植後初期容易罹患嵌紋病 (CMV)⁽⁸⁾，CMV 經由棉蚜 (*Aphis gossypii*) 傳播，寄主很多，包括常見毗鄰蕉園之茄科、豆科、瓜類蔬菜。綜合防治措施包括砍除病株、蕉園有效控制雜草避免蚜蟲棲息、組培苗勿與其他寄主作物間作、選擇在雨季來臨季節種植、植畦覆蓋銀灰色塑膠布忌避蚜蟲、及選用較高苗齡之組培苗種植提高抗病性等。此外，組培苗在種植三、四個月後，在少數蕉園出現枯心病⁽¹⁰⁾，罹病蕉株之心葉枯萎，剝開塊莖可見乾腐洞穴，種植吸芽苗未見此病發生。經試驗證明土壤缺乏鈣、硼為其病因，一般蕉園長年施用單一四號複合肥料，導致土壤酸化，施加石灰中和酸性及補充硼等微量元素，可有效預防枯心病，亦有促進蕉株發育提高產量效果。

組培技術應用於抗病育種

調查種植組培苗之蕉園發現約有 3% 蕉株發生變異，變異性狀顯現於株高佔 2.03%，葉形 0.71%，植株顏色 0.06%，假莖性狀 0.15% 和果房性狀 0.09%⁽³⁾。試驗證明大部份的變異性狀可以穩定地繼代相傳。此種變異稱之為體細胞變異 (somaclonal variation)⁽¹³⁾。

因為組培苗具有變異特性，從中或許可以選到抗病品種的機會。因此，香蕉研究所自七十三年開始選用「北蕉」組培苗進行黃葉病選種工作，選種方法為在添加有病組織之抗病檢定園中密植大量組培苗，種植三、四月後剝開塊莖檢查內部病徵，塊莖組織褐化者為感病，予以淘汰；塊莖組織未出現褐化者表示未被感染，取其生長點繁殖組培苗，供進一步抗病測定試驗。七十三年至七十五年期間，共計篩選 30,000 株，鑑定 10 個株系具有中度或高度抗病性⁽⁴⁾ (表二)。另外，選種工作亦與農民合作進行，到七十九年組培苗之推廣已普及大部分蕉園，其中有不少蕉園淪

為黃葉病疫區，本所特別請求農民在嚴重發病區域若發現少數健康蕉株被病株包圍，立即通知本所前往鑑定，取其吸芽繁殖組培苗進行抗病測定。有三個抗病品種 GCTCV-216、GCTCV-217、和 GCTCV-218 即由此法從農民蕉園選得⁽⁹⁾。

從抗病檢定園選得之 10 個抗病品系，經試種發現均有農藝性狀的缺陷，包括葉片狹長下垂、生長期太長、果房太小等而不具商業化栽培價值。但在其後代組培苗中發現改良型植株，植株性狀和果房大小均優於其原母本抗病品系⁽⁵⁾。試驗結果發現大部分改良型株系仍維持原有抗病程度⁽⁵⁾。GCTCV-215-1 選自 GCTCV-215，雖其產量仍較「北蕉」低約一成，但因具有香蕉品質上的優點，面臨黃葉病緊急情況下乃於八十一年命名「台蕉一號」推廣，目前在高屏疫區種植一千公頃左右⁽⁷⁾。TC1-229 選自「台蕉一號」，因具矮化、省工栽培優點⁽⁹⁾，於九十年命名「台蕉三號」推廣種植約 100 公頃。

在黃葉病肆虐蔓延，台蕉產業岌岌可危情況下，由於推廣種植「台蕉一號」和「台蕉三號」抗病品種，使得許多廢耕病園得以恢復植蕉，對確保台蕉生產有相當的幫助。唯兩個品種的抗病程度僅屬中等，產量不及「北蕉」，對逆境適應力差，故推廣面積受到限制，無法完全取代「北蕉」。

最新選育之抗病品系 GCTCV-218，屬高抗品種，假莖粗狀、果形整齊、單株果重比「北蕉」增加 8.9 公斤 (增產 42%)，經試種兩年深受蕉農喜愛。已於九十年九月通過命名為「寶島蕉」，預定於九十一年元月至三月期間推廣一千公頃。從以往試種結果研判，在黃葉病園種植「寶島蕉」取代「北蕉」，每公頃產量將可由 32.4 公噸提高為 51.6 公噸，增產 59%；在健康蕉園則可由 38.4 公噸提高為 54.5 公噸，增產 42%。預料未來二、三年內「寶島蕉」，將會取代「北蕉」成為台灣的主要栽培品種。

結 論

種植任何作物，欲達理想的產量和品質，首要條件為種植健康種苗；否則不但會增加病蟲害防治成本的負擔，抑且有引發新病蟲害之虞。對台灣香蕉而言，生產健康種苗之原動力來自黃葉病。本病自民國五十七年於本省南部蕉園首被發現以來，因無有效防治對策，迅速擴大蔓延，又無抗病品種可以取代傳統感病品種「北蕉」，危及台蕉產業的生存。本病屬系統性病害，病菌可藉種苗傳播，為預防病菌擴散至無病地區，必須種植健康種苗。本省香蕉栽培採每年更新種植，每年需要大量蕉苗，要直接從田間獲得大量健康吸芽苗實有困難，因此，乃朝組培技術方向發展。近二十年來，組培技術應用於香蕉黃葉病防治，各項研究從組培苗成功取代吸芽苗，開發組培量產技術、建立病毒檢疫技術，到黃葉病抗病品種之育成與推廣，成效

表二、從「北蕉」組培苗選獲之黃葉病抗病品系

Table 2. Fusarium wilt-resistant clones selected from tissue cultured seedlings of 'Giant Cavendish'

高抗品系 ¹	中抗品系
GCTCV-40 ²	GCTCV-46
GCTCV-44	GCTCV-53
GCTCV-104	GCTCV-62
GCTCV-105	GCTCV-201
GCTCV-119	GCTCV-215
GCTCV-217	GCTCV-216
GCTCV-218	

¹ 高抗，發病率低於 10%；中抗，發病率 10-30%；對照感病「北蕉」發病率超過 70%。

² GCTCV: Giant Cavendish tissue cultured variant.

斐然，紓解了台蕉產業被黃葉病摧毀的危機。

自七十二年開發成功組培苗量產技術以來，迄今培育二千八百多萬株，累計推廣面積達一萬四千多公頃，對抑制黃葉病蔓延，確保香蕉產量有很大的助益。近二十年來組培苗推廣工作得以進行順利，歸因於1. 因有病毒偵測技術的發展，設置無毒化香蕉原種保存園，提供育苗母材；2. 組培苗量產技術的不斷改進，提高蕉苗品質，降低育苗成本；3. 完善的苗圃設施，確保蕉苗健康品質，便利農民取苗；4. 蕉研所與青果社合作，建構一個健全的健康種苗推廣系統。

種植組培苗，除了有不帶病、不帶毒之好處之外，亦具有價格便宜、便利搬運、田間定植成活率高、發育整齊、採收期縮短、香蕉品質提高等優點，故普獲農民採用。但以組培苗取代吸芽苗亦帶來若干新的問題，包括殺草劑藥害、嵌紋病、及土壤缺乏鈣、硼引起之枯心病等，必須注意預防。

解決黃葉病的最佳途徑為發展抗病品種。屬於三倍體的華蕉品種因授粉不產生種子，育種相當困難，過去七十多年尚無育種成功的報告。抗病品種「台蕉一號」的推廣，首創作物利用組培技術育種成功之先例，備受國際矚目。尤其最新育成之「寶島蕉」，兼具抗病、高產、果形整齊優點，據筆者所知，當前世界各國栽培之華蕉品種無出其右者，為香蕉育種史上之一大突破。「寶島蕉」即將於明(九十一)年推廣，對台蕉產業的正面影響包括：1. 每年黃葉病損失可由15%降到5%以下；2. 公頃產量提高50%，大幅降低生產成本；3. 有效解決青丹問題；4. 達對外銷品種純化、品質一致目標；5. 由於香蕉品質提高和生產成本大幅降低，台蕉在國際市場之競爭力將大為提昇。

謝辭

本文係作者於行政院農委會農試所舉行“健康種苗在植物病害防治上之應用研討會”的部份演講內容。

引用文獻

1. Fan, L. Y., 1988. Causal virus and transmission ecology of banana streak. Master thesis, Dept. of Plant Pathol. National Taiwan Univ. 66 pp.
2. Hwang, S. C., Chen C. L., Lin J. C. and Lin H. L. 1984. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. HortScience. 19:213-233.
3. Hwang, S. C. 1986. Variation in banana plants propagated through tissue culture. J. the Chinese Soc. Hort. Sci. 32:117-125.
4. Hwang, S. C., and Ko, W. H. 1988. Mutants of Cavendish banana resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Plant Prot. Bull. 30:386-392.
5. Hwang, S. C., and Ko, W. H. 1989. Improvement of fruit quality of Cavendish banana mutants resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Plant Prot. Bull. 31:131-138.
6. Hwang, S. C., and Ko, W. H. 1991. Somaclonal resistance in Cavendish banana to fusarium wilt.. Plant Prot. Bull. 33:124-132.
7. Hwang, S. C., Ko, W. H., and Chao, C.P. 1994. GCTCV-215-1: A promising Cavendish clone resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Plant Prot. Bull. 36:281-291.
8. Hwang, S. C., and Su, H. J. 1998. Production of virus-free banana plantlets in Taiwan. FFTC Extension Bull. No.460, 7 pp.
9. Hwang, S. C., and Tang, C. Y. 2000. Unconventional banana breeding in Taiwan. In '*Disease of Banana, Abaca and Enset*' CABI Publishing, CAB International, UK. pp. 449-464.
10. Ko, W. H., Chen, S. P., Chao, C. P., and Hwang, S.C., 1997. Etiology and control of heart rot of banana tissue culture plantlets. Plant Pathol. Bull 6:31-36.
11. Ma, S. S., and Shii, C. T. 1972. *In vitro* formation of adventitious buds in banana shoot apex following decapitation. J. Chinese Soc. Hort. Sci. 18:135-142.
12. Stover, R. H., and Buddenhagen, I. W. 1986. Banana breeding polyploidy:disease resistance and productivity. Fruits 41:175-191.
13. Snowcroft, W. R., and Larkin, P. J., 1982. Somaclonal variation: a new option for plant improvement In: *Plant Improvement and Somatic Cell Genetics*, p. 159-178. Eds. Vasil I. K., Snowcroft, W. R., and Frey, J. J. Academic Press.
14. Su, H. J., Chuang, T. Y., and Kong, W. S. 1977. Physiological race of fusarial wilt fungus attacking Cavendish of Taiwan. Taiwan Banana Res. Inst. Spec. Publ. 2:21 pp.
15. Su, H. J., Hwang, S. C., and Ko, W. H. 1986. Fusarial wilt of Cavendish banana in Taiwan. Plant Dis. 70:814-818.
16. Sun, H. J., Hung, T. H., and Wu, M. L. 1997. First report of banana streak infecting banana cultivars (*Musa* spp.) in Taiwan. Plant Dis. 81:550.
17. Wu, R. Y., and Su, H. J., 1990. Production of monoclonal antibodies against banana bunchy top virus and their use in enzyme-linked immunosorbent assay. J. Phtopathol. 128:203-208.
18. Wu, M. L. Hung, T. H., and Su, H. J., 1997. Strain differentiation of cucumber mosaic virus associated with banana mosaic disease in Taiwan. Ann. Phtopathol. Soc. Jpn 63:175-178.

ABSTRACT

Hwang, S. C. 2002. Application of tissue culture technology for controlling Fusarium wilt of banana. Plant Pathol. Bull. 11:57-61. (Department of Plant Protection, Taiwan Banana Research Institute, Chiuju, Pingtung 904, Taiwan, R.O.C., E-mail:schwngtbri@seed.net.tw , Fax No: 08-7393647)

Fusarium wilt of Cavendish banana caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4 has been the major constraint for banana production in Taiwan. Previously, the disease had destroyed the banana industries of many countries in Central America despite many attempts to control the disease. Continued banana production in Taiwan in recent years to supply both local and the Japanese market was attributed to the successful development of tissue culture technology for controlling Fusarium wilt. There have been two major achievements based on tissue culture technology leading to the success of controlling Fusarium wilt. *Firstly*, the technology was employed for mass propagation of disease-free plantlets for commercial planting. During 1983-2001, the tissue culture program has produced a total of 28 million plantlets for planting over 14,459 ha, very useful to check the spread of wilt pathogen via infected suckers traditionally used by farmers. *Secondly*, because propagation of banana by tissue culture has shown the potential of producing substantial genetic variability, a mass screening program using tissue culture plants to detect Fusarium wilt resistance was taken. Two resistant varieties, *Tai-Chiao No.1* and *Tai-Chiao No.3*, developed by this breeding program were released for controlling Fusarium wilt in 1992 and 2001, respectively. Another new, higher yielding, resistant variety *Formosana* selected most recently is scheduled for release in 2002. It is estimated that planting *Formosana* to replace *Giant Cavendish* would have the potential to increase yield by over 50%, thus boosting banana production considerably.

Key words: banana, Fusarium wilt, tissue culture, resistance breeding