

具抗病性野生種木瓜組織培養保存之研究¹

黃柄龍² 廖麗貞³ 萬雄⁴

摘 要

野生種木瓜 *Carica goudotiana* 的葉柄培植體在含 1.0mg/l NAA、0.5mg/l kinetin 及 1.0mg/l GA₃ 的 1/2 MS 培養基上，可經由誘導的癒合組織直接產生體胚，其體胚形成能力約為 50%；且所長出的根，亦可於此 D1 培養基中誘得癒合組織及 25% 的體胚形成，此癒合組織並可於 WL (White's) 之固態分化培養基中誘得體胚分化。所得似胚軸組織於添加 0.5mg/l IBA 之 MS 培養基中，可促進癒合組織及體胚形成。

Carica pubescens 經以 D1 誘導培養基所得之葉柄癒合組織，其體胚分化能力僅發生於 EL4 及 WL 之固態分化培養基中(5~6.7%)。所形成的未萌芽體胚，可在含 0.001ppm BA 之 EM (embryo mature) 培養基中成熟、萌發。萌芽的體胚不需經由任何的誘根處理，即能長成具有健全根系的植株。

關鍵語：木瓜、野生種、組織培養

前 言

栽培種木瓜 *Carica papaya* L.，生長快速，為栽植一年內就能收成的半草本多年生果樹，若是不感染任何病害，整個生活期中可連續採收，是為熱帶和亞熱帶的重要經濟性作物。然木瓜輪點病毒(papaya ringspot virus, PRSV)的肆虐，致使現今木瓜需栽培於網室內才能確保品質與產量^(1,2)，為目前木瓜最嚴重的病害⁽²⁴⁾。同時，木瓜輪點病感病株病徵型會因季節交替、溫度變化而有輕重不同的不穩定表現⁽⁷⁾，造成果實品質低下，失去商品價值。由於 PRSV 病害無法以藥劑防治，只能以育成抗 PRSV 或耐 PRSV 品系來解決此病害。目前雖然已可以遺傳工程的方式，利用農桿菌(*Agrobacterium*)媒介感染，將 PRSV 鞘蛋白基因轉移至木瓜擬胚化組織，並成功獲得轉殖植株⁽⁵⁾；不過，木瓜畸葉嵌紋病毒(papaya leaf-distortion mosaic virus, PLDMV)的發現，似乎有將

¹ 本文為第一作者碩士論文之一部分。

² 行政院農業委員會高雄區農業改良場助理。

³ 國立高雄師範大學生物科學研究所副教授。

⁴ 前中國文化大學生物科技研究所教授。

⁵ 審查委員：陳文孝教授，國立中山大學生物科學系。

基因轉殖木瓜擊倒的情形發生⁽⁶⁾，所以問題仍尚未完全解決。目前數種栽培種木瓜中，未發現帶有抗 PRSV 的基因者⁽²⁴⁾，檢視野生種木瓜如 *C. cauliflora*，*C. pubescens*，*C. goudotiana*，*C. stipulata*，以及 *C. quercifolia* 等則具有極強之 PRSV 抗病性^(8,14,26)。Mekako 和 Nakasone⁽²⁶⁾對具有抗 PRSV 之野生種木瓜雜交後代的遺傳分析得知，PRSV 的抗性是由單一顯性因子所控制，此結果亦見於其他報告^(14,26,28)。所以，利用含有抗木瓜輪點病毒基因的野生種木瓜，經由傳統的雜交育種程序，將此抗性基因轉移至栽培種木瓜，為另一可行的途徑。不過，這些野生種木瓜的栽培，常受氣候影響及颱風為害，且有些不易開花結實，保存上頗為困難。因此，本研究希望應用組織培養技術，建立一理想的繁殖系統，以保存這些極具育種價值之野生種木瓜種原。

材料與方法

一、試驗材料：

1. 野生種木瓜 *C. goudotiana*(Tr. & Pl.)Solms

C. goudotiana 是一種典型的雌雄異株物種；其莖幹直立，沒有分支，顏色呈淡紫色至棕色；植株高度通常為 6 至 7 呎，若土壤肥沃有時更可長至 10 呎以上。葉柄長且呈紫色，葉片通常 3 至 5 裂。雄花開花較早，花序長，呈圓錐花序；雌花 1~4 朵，著生在短花梗上。果實小，外表有時隆起，成熟後轉為黃色；果肉富含纖維質；氣味芳香。種子表面粗糙有突起，每一果實約含 50~80 粒種子⁽³¹⁾。當與其他不同物種之木瓜雜交後，容易落果，例如與 *C. monoica* 雜交，僅可以得到少數具有發芽能力的種子⁽²⁷⁾。

2. 野生種木瓜 *C. pubescens* Lenn et Koch

C. pubescens 具有雌株及兩性株兩種樹型^(14,15)；其植株矮小，幹直、大多沒有分支；葉柄短，葉片背面長滿細短的絨毛狀物；植株頂端部位具有白色霉狀斑點，同時也佈滿細毛。其耐寒性較強⁽²⁵⁾，具抗 PRSV 的特性^(8,14,26)；與 *C. papaya* 雜交後，*C. papaya* 的花粉管在 6 天之內就可以伸展到母本親的子房中，不像其他野生物種有難以克服子房過小及多室的結構障礙(structural barrier)，故能產生生長勢旺盛的雜種⁽²⁵⁾。

二、試驗方法：

切取野生種木瓜 *C. goudotiana*、*C. pubescens* 葉寬約 4 公分，葉柄直徑約 0.3~0.5 公分，長約 2 公分的幼葉為材料。先以 70%酒精溶液擦拭表面後，置於含 2~3 滴 Tween 20 之 1%次氯酸鈉(NaOCl)溶液中，利用超音波洗淨器震盪消毒 12 分鐘，再以無菌水充分沖洗 3 次，每次 3 分

鐘。將葉柄、葉柄與葉片交接處組織，與葉脈橫切成厚約 2 mm 之薄片做為培植體之用。

1.癒合組織之誘導培養

將 *C. goudotiana* 與 *C. pubescens* 兩種野生型木瓜之葉柄、葉柄與葉片交接部位組織，及葉脈三種不同部位的培植體，接種於 C1、C2 及 D1(表 1)等誘導癒合組織的固態培養基中，觀察不同物種之木瓜在不同培養基中，不同的培植體，其癒合組織形成情形。另一方面將葉柄培植體經 D1 培養基培養形成之癒合組織上所長出的根做為培植體，再接種於原誘導培養基 D1 中，研究其形成癒合組織的能力及其分化潛能。在各種試驗組合中，其培植體來源葉柄、葉脈、根段各為 15~20 個，葉柄與葉片交接部位組織為 2~4 個。另外，將上述所得的癒合組織切成直徑 5mm 左右之小塊，再接種於原誘導癒合組織之固態及液態 C1，C2，D1 培養基中，黑暗培養，探討經由癒合組織誘導再生癒合組織之可能。

2.體胚之分化

將誘導所得之癒合組織接種在固態及液態之原誘導培養基中或含有不同生長調節劑的分化培養基 WL 及 EL4(表 1)中，探討以一個步驟(one-step)直接誘導體胚形成，或經由誘導產生體胚分化的可能性。

3.體胚的萌芽與發根

將球狀未萌芽的體胚挑出，接種於萌芽培養基 EM 及 CC 中(表 1)，觀察體胚萌發的情形。並利用不含生長調節劑的 MS 培養基，或含有 0.5mg/l IBA 或 1.0mg/l NAA 的發根培養基處理 7~10 天，以尋求一理想的發根條件。當根系發育完全，並具有至少二片綠色展開葉時，經 5~7 天健化處理，即可出瓶假植，注意保濕，防止失水凋萎，待七、八片完全展開葉後，移植至溫室中。

表 1. 野生種木瓜組織培養保存之培養基組成份

Table 1. Composition of media for tissue culture in wild species papaya

Components (per liter)	Medium						
	C1	C2	D1	WL	EL4	EM	CC
Inorganic salts	1/2MS	1/2MS	1/2MS	White	MS	1/2MS	1/2MS
Organic substances							
Myo-Inositol(mg)	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0
Thiamine•HCl(mg)	10.0	10.0	0.5		10.0	10.0	10.0
Pyridoxine•HCl(mg)	1.0	1.0	1.0		1.0	1.0	1.0
Nicotinic acid(mg)	1.0	1.0	5.0		1.0	1.0	1.0
Glycine(mg)	2.0	2.0	2.0		2.0	2.0	2.0
Casein hydrolysate(g)		1.0	1.0			1.0	0.5
Adenine sulfate(mg)		160.0	160.0				160.0
Glutamine (mg)				400.0			
Coconut milk (ml)							200.0
Sucrose(g)	30.0	30.0	30.0	60.0	30.0	20.0	30.0
Plant growth regulators(mg)							
NAA	0.2	1.0	1.0				
2,4-D					1.5		
BA	2.0					0.001	
Kinetin		0.5	0.5				
GA ₃			1.0				
Agar(g)	9.0	9.0	8.0	9.0	9.0	6.0	9.0
pH	5.7	5.7	5.8	5.7	5.8	5.7	5.7

結 果

1.癒合組織之誘導培養

由 *C. goudotiana* 與 *C. pubescens* 二種野生型木瓜的葉柄、葉柄與葉片交接部位組織、及葉脈三部分培植體在 C1 固態培養基中，各培植體皆可誘導癒合組織，大部分的培植體培養 2~3 週後，在切口處形成直徑約 5~20 mm 的癒合組織，其結果如表 2 所示。將不同來源的培植體加以比較，其中以葉柄誘導癒合組織的效果最好(分別為 71.4%及 55.6%)，所誘導的癒合組織體積也較大；其次為葉柄與葉片交接部位組織(約為 50%)，其所誘導產生的癒合組織大小和由葉柄誘導產生的具有同樣的體積；葉脈的誘導能力最差，約只有 14.3~16.7%的培植體可以在切口處的一端或兩端形成癒合組織，其體

積亦只有前者之 1/3~1/4 而已。雖然利用 C1 固態培養基可以快速誘導產生大量的癒合組織，但質地鬆軟，顏色呈淡黃色至黃色，而且表層容易產生白色的霜狀物，影響其後續的發育。

利用 C2 固態培養基誘導癒合組織時，其效果明顯地較 C1 培養基為差，僅在葉柄及部分葉脈培植體之切口處產生直徑僅約 5 mm 的癒合組織；葉柄培植體之癒合組織誘導率約分別為 43.8% 及 35.3%，而葉脈培植體之誘導率約僅有 10~7%(表 2)，且所產生的癒合組織與原培植體在培養基上，很快地就褐化，形成一團褐色緻密、堅實的組織團而已。此外，葉柄與葉片交接部位組織，幾乎無法於此 C2 培養基上誘得癒合組織，僅見少數的組織膨大。同樣地，其褐化情形亦相當地嚴重。

利用 D1 固態培養基培養時，其誘導產生癒合組織的能力，遠較 C1 培養基為差(表 2)，所誘導產生的體積也較小，僅有部分葉柄培植體能夠產生質地緊密，顏色較深略呈鵝黃色之癒合組織，此癒合組織之表層沒有白色霜狀物；以葉柄誘導癒合組織的培養反應，兩不同物種間略有差異，*C. goudotiana* 為 50%，*C. pubescens* 為 30%，顯示 *C. goudotiana* 比 *C. pubescens* 較易得到癒合組織(表 2)。在 *C. goudotiana* 葉柄培植體中，有時由誘得的癒合組織上長出根，切取此長出的根，截成每段約 3~5 mm 大小作為培植體，接種於原誘導培養基 D1，約 3 週後，60% 的根培植體也能形成癒合組織；而 *C. pubescens* 的葉柄癒合組織並不產生根。除了葉柄之外，其餘培植體均不易在 D1 誘導培養基中形成癒合組織，部分培植體僅僅組織膨大，甚至褐化死亡。

表 2. 二種野生種木瓜培植體癒傷組織誘導之結果

Table 2. Results of different explants from 2 wild species papaya on callus induction

固態培養基	葉柄			葉柄與葉片交接 部位組織			葉脈			根
	C1	C2	D1	C1	C2	D1	C1	C2	D1	D1
<i>C. goudotiana</i>	71.4	43.8	50	50	0	0	14.3	10	0	60
<i>C. pubescens</i>	55.6	35.3	30	50	0	0	16.7	7	0	--

將上述各部分培植體在 C1、C2、D1 培養基中所誘得之癒合組織切成直徑約 0.5cm 大小，接種於固態或液態原誘導癒合組織培養基中黑暗培養，期望能使癒合組織增生。其中，液態誘導培養基所表現的效果並不理想，切碎的組織在液態震盪培養下，所有癒合組織均呈鬆散浸潤狀，並且組織也無明顯增大。而在固態誘導培養基方面，除了葉柄、葉脈癒合組織於 C2 培養基培養時已呈褐化現象，無法再次誘導癒合組織的再生之外，*C. goudotiana* 之葉柄、葉柄與葉片交接部位組織、根，及 *C. pubescens* 之葉柄、葉柄與葉片交接部位組織切碎後，於固態原誘導培養基中，均能再次生成直徑約 10 mm 大的

癒合組織，並且這種癒合組織的誘導再生現象可以持續誘導發生。培養反應如表 3 所示。

表 3. 二種野生種木瓜培植體癒傷組織誘導再生癒傷組織之結果

Table 3. Results of different explants from 2 wild species papaya on re-callus induction from callus

培養基	葉柄	葉柄與葉片交接 部位組織	葉脈	根
<i>C. goudotiana</i> / <i>C. pubescens</i>				
C1(s)	+ / +	+ / +	- / -	0
C2(s)	- / -	0	- / -	0
D1(s)	+ / +	0	0	+ / 0
C1(l)	- / -	- / -	- / -	0
C2(l)	- / -	0	- / -	0
D1(l)	- / -	0	0	- / 0

“+”：表示可以誘導再生癒傷組織；“-”：表示無法誘導再生癒傷組織

“0”：表示無法處理；(s)：表示固態培養基；(l)：表示液態培養基

2. 體胚之分化

表 4 所示，野生種木瓜 *C. goudotiana* 以葉柄為培植體，D1 為培養基，所誘導產生的癒合組織，以及由此癒合組織所長出的根，同樣在 D1 中誘得的癒合組織，在相同培養基，不經繼代培養約 10 週後，可以在癒合組織的表層形成體胚分化(embryogenesis)(圖 1A)。將體胚與癒合組織繼代培養於同一種培養基，癒合組織及體胚可繼續產生，約有 50% 的葉柄癒合組織具體胚分化能力；產生的根再誘導的癒合組織也有 25% 可以分化成體胚。同時，此二種癒合組織也都能於 WL 固態分化培養基中分化；不過此一現象並無法於 EL4 分化培養基中發生。另外，在這種具體胚分化能力的癒合組織上亦會長出形狀類似胚軸之組織，將其切下移至添加 0.5mg/l IBA 之 MS 培養基中，亦可誘導癒合組織及體胚分化，其產生的方式與葉柄培植體於 D1 培養基中所產生的方式相似。所形成的體胚包括球型胚、心臟型胚、魚雷型胚、及子葉胚等各種不同發育階段(圖 1B)；體胚大小及型態的差異也很大，同樣大小體胚的發育階段並不一致，因此體胚分化的程度無法由其大小判定。

而以 *C. pubescens* 為材料時，經由 D1 誘導培養基所誘導產生之癒合組織，體胚分化能力較差，而且具有此種分化能力的癒合組織數目也較少，其體胚分化能力只發生於 EL4 及 WL 之固態分化培養基中，繼代培養 6~8 週後，5~6.7% 的癒合組織具有分化體胚的能力(圖 2A,B)。

表 4. 二種野生種木瓜各種癒傷組織體胚之分化

Table 4. Effects of different callus on the formation of somatic embryo in 2 wild species papaya

培養基	葉柄	葉柄與葉片交 接部位組織	葉脈	根	胚軸
<i>C. goudotiana / C. pubescens</i>					
C1(s)	—/—	—/—	—/—	0	0
(l)	—/—	—/—	—/—	0	0
C2(s)	—/—	0	—/—	0	0
(l)	—/—	0	—/—	0	0
D1(s)	+(50%)/—	0	0	+(25%)/0	0
(l)	—/—	0	0	—/0	0
WL(s)	+ / +(6.7%)	—/—	—/—	+ / 0	0
(l)	—/—	—/—	—/—	—/0	0
EL4(s)	— / +(5%)	—/—	—/—	—/0	0
(l)	—/—	—/—	—/—	—/0	0
IBA(s)	0	0	0	0	+ / 0

(s)：表示固態培養基；(l)：表示液態培養基

“+”：表示可以形成體胚；“—”：表示無法形成體胚；“0”：表示無此處理

3.體胚的萌芽與發根

前項誘導產生未萌芽的體胚，可在 EM 萌芽培養基中，促使體胚成熟，並進而萌發(圖 1C,圖 2C)。然而這種萌芽現象卻無法於 CC 培養基中發生，只造成幼嫩體胚體積長大，最後卻褐化死亡。挑出原先於癒合組織上已萌芽的體胚，或利用 EM 萌芽培養基所促使萌發的體胚，接種於不含任何生長調節劑的 MS 培養基中，2~3 週後，可由胚芽伸出挺立，新葉完全展開及發根(圖 2D)；二個月即可長成具根、莖、葉的完整植株，並可移植於試管外(圖 1D)。另外，以含 IBA 0.5mg/l 或 NAA 1.0mg/l 之 MS 培養基處理 7~10 天促進發根，其結果易使發展中的植株產生不正常的外型，也容易使植株基部再生一團癒合組織。

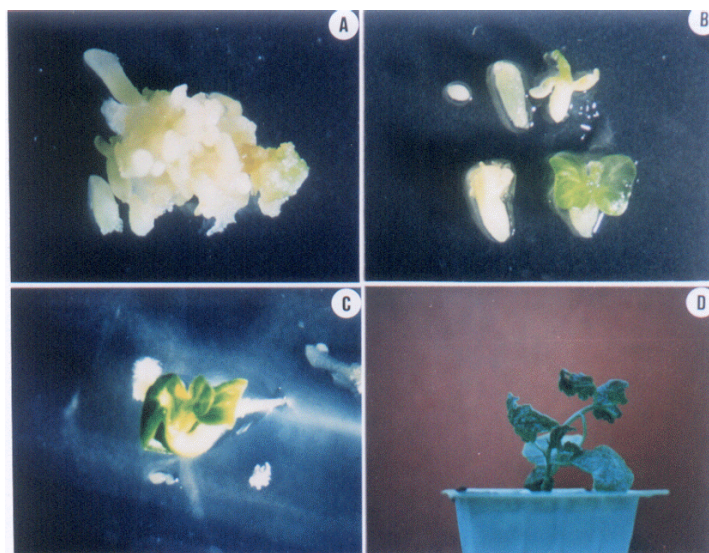


圖 1. 野生種木瓜 *C. goudotiana* 之組織培養繁殖

(A)葉柄癒合組織之體胚分化 (B)體胚 (C)體胚萌芽 (D)再生植株

Fig 1. The propagation of wild species *C. goudotiana* papaya plants using tissue culture

(A)Embryogenesis from the callus of petiole explants, (B)somatic embryos, (C)germinated embryo, (D)plantlet

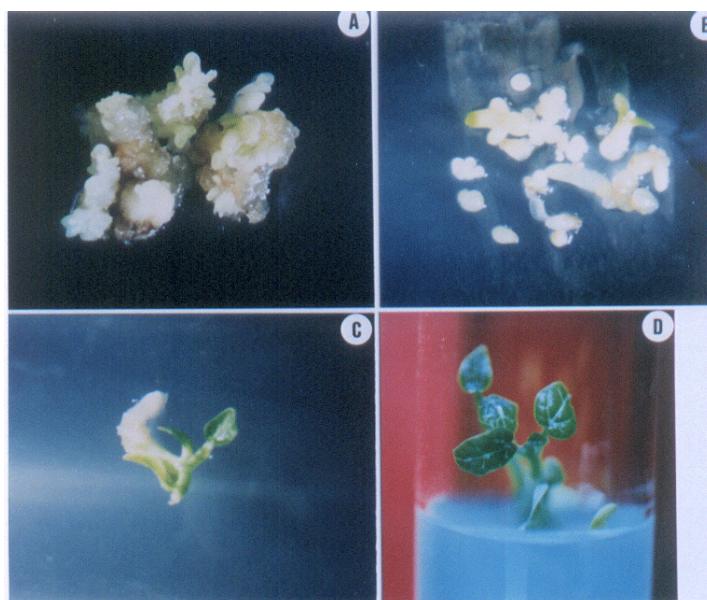


圖 2. 野生種木瓜 *C. pubescens* 之組織培養繁殖

(A)葉柄癒合組織之體胚分化 (B)體胚 (C)體胚萌芽 (D)再生植株

Fig 2. The propagation of wild species *C. pubescens* papaya plants using tissue culture

(A)Embryogenesis from the callus of petiole explants, (B)somatic embryos, (C)germinated embryo, (D)plantlet

討 論

1.癒合組織之誘導培養

栽培種木瓜利用不同的組織或器官，來誘導癒合組織及其植株再分化之能力，已有許多報告^(3,4,9,11,12,13,17,18,20,22,23,28,29,30,32,33)；關於野生種木瓜的組織培養研究則不多。由 *C. goudotiana* 與 *C. pubescens* 二種野生型木瓜的葉柄、葉柄與葉片交接部位組織、及葉脈三部分培植體在誘導癒合組織方面，雖然物種間有差異，但一般仍以葉柄的效果最佳，其次為葉柄與葉片交接部位組織，而以葉脈的效果最差；Chen 等人⁽⁹⁾亦指出，利用栽培種木瓜”日陞”(Sunrise)及”蘇魯”(Solo)為試驗材料誘導癒合組織時，葉片屬於較不易誘得之培植體。

誘導培養基方面，以 C1 培養基之誘導能力最佳，其次為 C2，而以 D1 培養基之誘導率最低；Litz 和 Conover⁽¹⁹⁾認為 NAA 與 BA 等植物生長調節劑的組合，較 NAA 與 kinetin 的組合易於形成癒合組織；Litz 等⁽²³⁾亦說明低濃度的 NAA 配合高濃度 BA 時，較適合誘導癒合組織的產生，且可以造成此癒合組織的快速增殖；Chen 等人⁽⁹⁾也指出，利用 1/2MS 添加 1.0mg/l NAA 及 0.5mg/l kinetin 的 C2 培養基作為誘導癒合組織培養基時，其效果明顯地較添加有 1.0mg/l NAA、0.5mg/l kinetin 及 1.0mg/l GA₃ 的 D1 培養基為佳，並可作為大量癒合組織之誘導，不過其並未進行進一步的試驗；同時 Chen 等亦未比較 NAA 與 BA 的組合，其誘導能力是否較 NAA 與 kinetin 的組合為佳？

另外，由 *C. goudotiana* 葉柄癒合組織上所長出的根，在 D1 誘導培養基中具有 60%的誘導率，此點與 Chen 等⁽⁹⁾認為根段培植體較不易誘得癒合組織的論點稍有出入，推測其差異的原因可能為：(1)物種的不同：因為 Chen 等人所利用之材料為一般栽培種木瓜”日陞種”及”蘇魯種”，而本研究則使用野生種木瓜，由於品種間差異大，因此有不同的結果；(2)培植體材料的來源不同：Chen 等所接種的根培植體來源為無菌播種之試管苗，而我們則是切取癒合組織上新長出的根，由於材料來源的不同，其性質可能亦具有差異，導致不同的誘導結果；(3)其並未指出根段與其他不同部位在誘導效果上之詳細數字，因此無法就其與野生種木瓜 *C. goudotiana* 做進一步的比較。由此可知，癒合組織的誘導除了與培養基成分有關外，並和所使用的培植體有相當大的關連。

2.體胚之分化

由 *C. goudotiana* 與 *C. pubescens* 之葉柄或根培植體，於 D1 培養基中所誘得之癒合組織，或可直接於其上產生體胚，或可經由不同分化培養基 WL 或 EL4 的培養而形成體胚分化，此結果與 Chen 等人⁽⁹⁾由根段培植體於 D1

培養基中所誘得的癒合組織上可直接產生體胚的分化，Litz 和 Conover^(20,22)認為 WL 培養基可以促使由胚珠誘得之癒合組織產生大量的體胚，以及添加 2,4-D 之 EL4 培養基可以促進栽培種木瓜胚培養所誘得之癒合組織形成體胚分化⁽¹³⁾等論點，有類似的結果。不過，此二種野生種木瓜癒合組織形成體胚分化的能力，只發生於由 D1 培養基所誘得之癒合組織上而已。

3.體胚的萌芽與發根

未萌芽的體胚，可在含有 0.001ppm BA 之 EM 培養基中萌發，此與 Chen 等人⁽¹⁰⁾挑取 *C. papaya* × *C. cauliflora* 未成熟之雜交胚培養結果相符。已萌芽之體胚，其器官分化潛力強，不需經由任何生長調節劑之處理，即可發育成一具有完整根、莖、葉之植株，此亦與 Chen 等⁽¹⁰⁾之培養結果一致。而 Lai 等人⁽¹⁶⁾認為增加培養容器透氣性，可促進木瓜叢生芽莖、葉生長之論點，或許可作為成苗生長培養之參考。

參考文獻

- 1.王惠亮、王金池、邱人璋、孫明賢. 1978. 臺灣木瓜輪點病研究初報. 植保會刊 20: 133-140.
- 2.王德男. 1991. 臺灣番木瓜栽培之回顧與展望. 臺灣果樹之生產及研究發展研討會專刊. 臺灣省農業試驗所嘉義分所印行. P.357-371.
- 3.陳福旗、郭美蕙. 1988. 木瓜的胚珠及子房培養和體胚發生. 園藝作物組織培養之應用研究研討會專集 P.50-61. 國立台灣大學農學院園藝系編印.
- 4.楊居成. 1988. 木瓜及蕃茄幼莖組織培養再生植株. 中興理工學報 25: 93-108.
- 5.鄭櫻慧. 1994. 木瓜輪點病毒台灣分離株系鞘蛋白轉基因木瓜之構築及其抗病評估. 國立中興大學植物病理學研究所博士論文.
- 6.葉錫東. 2002. 轉基因植物在抗病毒之應用. 農業生物技術應用研討會 P.13-15. 台中.
- 7.蔡文惠、張龍生. 2001. 木瓜輪點病毒株系之不穩定性與其在不同日夜溫下對木瓜品種間的影響. 中國園藝 47(4): 341-350.
- 8.Conover, R. A. 1964. Distortion ringspot, a severe virus disease of papaya in Florida. Fla. State Hort. Soc. 77: 440-444.
- 9.Chen, M. H., P. J. Wang and E. Maeda. 1987. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Carica papaya* L. tissue culture derived from root explants. Plant Cell Reports 6: 348-351.

- 10.Chen, M. H., C. C. Chen, D. N. Wang and F. C. Chen. 1991. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo of *Carica papaya* × *Carica cauliflora* cultured in vitro. Can. J. Bot. 69: 1913-1918.
- 11.Drew, R. A. and N. G. Smith. 1986. Growth of apical and lateral buds of papaw(*Carica papaya* L.)as affected by nutritional and hormonal. Jour. Hort. Sci. 61: 535-543.
- 12.Drew, K. A. 1988. Rapid clonal propagation of papaya in vitro from mature field-grown trees. HortScience 23: 609-611.
- 13.Fitch, M. M. M., R. M. Manshardt, D. Gonsalves, J. L. Slightom and J. C. Sanford. 1990. Stable transformation of papaya via microprojectile bombardment. Plant Cell Reports 9: 189-194.
- 14.Horovitz, S. and H. Jimenez. 1967. Cruzamientos interespecíficos intergenéricos en *Caricaceas* sus implicaciones fitotécnicas. Agron. Trop.(Maracay)17: 323-343.
- 15.Horovitz, S. and H. Jimenez. 1972. The ambisexual from of *Carica pubescens* Lunne et Koch analized in interspecific crosses(a). Agron. Trop.(Maracay)22: 475-482.
- 16.Lai, C. C., T. A. Yu, S. D. Yeh and J. S. Yang. 1998. Enhancement of in vitro growth of papaya multishoots by aeration. Plant Cell Tissue & Organ Culture 53: 221-225.
- 17.Litz, R. E. and R. A. Conover. 1977. Tissue culture propagation of papaya. Proc. Fla. State Hort. Soc. 90: 245-246.
- 18.Litz, R. E. and R. A. Conover. 1978a. In Vitro propagation of papaya. HortScience 13: 241-242.
- 19.Litz, R. E. and R. A. Conover. 1978b. Recent advances in papaya tissue culture. Proc. Fla. State Hort. Soc. 91: 180-192.
- 20.Litz, R. E. and R. A. Conover. 1981a. Effect of sex type, season, and other factors on in vitro establishment and culture of *Carica papaya* L. explants. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106: 792-794.
- 21.Litz, R. E. and R. A. Conover. 1981b. In vitro polyembryony in *Carica papaya* L. ovules. Z. Pflanzenphysiol. Bd. 104: 285-288.
- 22.Litz, R. E. and R. A. Conover. 1982. In vitro somatic embryogenesis and plant regeneration from *Carica papaya* L. ovular callus. Plant Sci. Letters 26: 153-158.

- 23.Litz, R. E., K. O. Sephen and R. A. Conover. 1983. In vitro growth of *Carica papaya* L. cotyledons. Sci. Hort. 19: 287-293.
- 24.Litz, R. E. 1984. Papaya. In Handbook of Plant Cell Culture. Vol 2. Edited by D. A., Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato, and Y. Yamada. Macmillan Publishing Co., New York, P.349-368.
- 25.Manshardt, R. M. and T. F. Wenslaff. 1989b. Interspecific hybridization of papaya with other *Carica* species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114: 689-694.
- 26.Mekako, H. U. and H. Y. Nakasone. 1975. Interspecific hybridization among 6 *Carica* species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100: 237-242.
- 27.Mekako, H. U. and H. Y. Nakasone. 1977. Sex inheritance in some *Carica* species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102: 42-45.
- 28.Moore, G. A. and R. E. Litz. 1984. Biochemical marker for *Carica papaya*, *C. cauliflora*, and plants from somatic embryos of their hybrid. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109: 213-218.
- 29.Rajeevan, M. S. and R. M. Pandey. 1983. Propagation of papaya through tissue culture. Acta Hort. 131: 131-139.
- 30.Rajeevan, M. S. and R. M. Pandey. 1986. Lateral bud culture of papaya(*Carica papaya* L.)for clonal propagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6: 181-188.
- 31.Sawant, A. C. 1958. Crossing relationships in the genus *Carica*. Evolution 12: 263-266.
- 32.Tsay, H. S. and C. Y. Su. 1985. Anther culture of papaya(*Carica papaya* L.). Plant Cell Reports 4: 28-30.
- 33.Yie, S. T. and S. I. Liaw. 1977. Plant regeneration from shoot tips and callus of papaya. In Vitro 13: 564-568.

Studies on the preservation using tissue culture of PRSV-resistant wild species of papaya¹

Ping-Lung Huang², Li-Jen Liao³ and Hsiung Wan⁴

Abstract

The petiole explant of wild species *Carica goudotiana* cultured in 1/2MS medium containing 1.0mg/l NAA, 0.5mg/l kinetin and 1.0mg/l GA₃ could produce somatic embryo directly through the induced callus. The frequency of somatic embryo formation was about 50%. The root tissue from somatic embryo could also produce callus and induce embryogenesis with a frequency of 25% in D1 medium. These calli could further differentiate into somatic embryo on solid differentiation medium of WL (White's). Upon transferring the hypocotyl-like tissue obtained from D1 medium to MS medium containing 0.5mg/l IBA, induction of callus and somatic embryo was also recorded.

The callus produced from petiole explant of *Carica pubescens* cultured in D1 medium was low in embryogenesis capability. However, embryogenesis percentage was increased by 5~6.7% when callus was cultured on EL4 or WL solid differentiation media. The somatic embryos obtained from EL4 and WL media could mature and germinate after transferring to EM (embryo mature) medium containing 0.001mg/l BA. The germinated somatic embryos could develop into intact plants with vigorous root system.

Key words: *C. papaya*, Wild species, Tissue culture

¹The paper is a part of M.S. thesis of senior author.

²Assistant, Kaohsiung District Agricultural Improvement Station, Council of Agriculture, Pingtung, Taiwan, R.O.C.

³Associate professor, Institute of Life Sciences, National Kaohsiung Normal University, Kaohsiung City, Taiwan, R.O.C.

⁴Former Professor, Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Taipei, Taiwan, R.O.C.