

培養基質及植物生長調節劑對草莓微體繁殖之影響

丁昭伶*、何超然

行政院農業委員會苗栗區農業改良場

摘 要

本試驗以草莓‘桃園一號’走莖為培植體，比較培養基中添加不同濃度 6-benzylaminopurine (BA) 對芽體增殖及不同生長素和培養基質對芽體發根之影響。結果顯示每重複平均芽體增殖數以 1/4 量 MS (Murashige and Skoog) 添加 0.5 或 1 mg L⁻¹ BA 之處理最高，芽體數分別為 2.6 及 2.7，但添加 BA 較不利根之發生。芽體培養於不添加生長素之洋菜培養基或分別以珍珠石、蛭石和粗砂為培養基質之發根率均可達 90% 以上，且處理間差異不顯著，每株平均根數亦以不添加生長素之洋菜、珍珠石及粗砂處理最高，分別為 6.5、6.0 及 5.6，添加 Indole-3-butyric acid (IBA) 及 1-naphthylacetic acid (NAA) 生長素之發根率及根數則顯著較低且芽體基部及根呈現肥厚現象。

關鍵詞：生長素、芽、增殖、發根

前 言

草莓 (*Fragaria x ananassa* Duch.) 為薔薇科 (Rosaceae) 草莓屬 (*Fragaria*) 多年生草本，原生歐洲及南美洲 (蕭等, 2014)，在很多國家皆有商業化栽培，其果實為一普及的水果，可用於鮮食及加工製成果汁、甜點、果醬和酒等

(Biswas *et al.*, 2007)。根據 2016 年臺灣農業統計年報資料，該年全臺草莓總栽培面積 550 公頃，產量 7,487 公噸，苗栗地區 500 公頃占 91% 強，主要栽培品種為‘桃園一號’。

草莓是苗栗地區重要的地方特色作物，亦是重要的觀光休閒產業，每年草

*論文聯繫人
e-mail: ding@mdais.gov.tw

莓季觀光採果遊客高達百萬人次，為周邊產業帶來無限商機。健康種苗是草莓成功栽培的重要條件，傳統栽培法係利用走莖苗無性繁殖為主，惟走莖苗有帶病原菌及散播病蟲害之風險，據本場 104 年調查炭疽病發生嚴重者，其補植率高達 30% 以上，雖然炭疽病非屬系統性病害，但健康種苗可避免帶菌種苗成為田間之感染源及傳播，為降低病害發生的有效途徑之一。草莓經由莖頂癒傷組織誘導產生之芽體可得到無病毒株 (Nishi and Ohsawa, 1973)，而以熱空氣 38°C，2~4 週處理，不僅可有效去除病蟲害，同時可增加芽數、獲得較優越的生長勢及提早發根 (蔡及鄭, 1995)，另利用微體繁殖得到之草莓植株在莖冠大小、走莖數、開花時間及果實產量等特性好於傳統走莖繁殖之植株 (Sakila *et al.*, 2007)。植物生長調節劑之應用有利於微體繁殖，以 BA、Kinetin 及 N6-(γ, γ dimethylallylamino) purine (2-ip) 等 3 種細胞分裂素進行 3 種不同品種草莓之芽體增殖，結果以 BA 之增殖表現最佳 (盧及侯, 2012)；另以無菌播種之草莓莖節片段培養於含 BA 0.1 mg L⁻¹ 及 Kinetin 0.2 mg L⁻¹ 之培養基可得到 100% 之再生率，而以 BAP 0.1 mg L⁻¹ 加 IBA 0.2 mg L⁻¹ 可得到最高的發根率 (Moradi *et al.*, 2011)。文獻指出 MS (1962) 為適合草莓再生誘導之培養基 (Mahmoud and Kosar, 2014)，而 BA 為草莓微體繁殖重要之細胞分裂素。依前人研究結果本試驗選用 MS 為基礎培養基，並添加 BA 探討其對國內栽培最普及之‘桃園一號’芽體增殖之影響，另

依試驗觀察，草莓組培苗於出瓶清洗洋菜時易造成根部之傷口，因此本研究除了以洋菜為培養基質外，嘗試以容易取得且可直接出瓶種植不需清洗根部之栽培介質 (珍珠石、蛭石及粗砂) 為培養基質取代洋菜，前人研究亦有利用珍珠石 (盧及侯, 2012) 及蔗渣 (Badr-Elden, 2013) 成功繁殖草莓之例子。

材料及方法

一、材料來源

試驗材料取自大湖地區草莓農田間栽培之‘桃園一號’ (*Fragaria × ananassa* ‘Taoyuan No. 1’) 走莖。

二、試驗方法

(一) 初代培養

草莓走莖以清水洗淨後切取芽體置於 70% 酒精浸漬 30 秒，之後以 1% 次氯酸鈉且利用超音波消毒 15 分鐘，再於無菌操作臺中以無菌水沖洗 3~4 次，接著取出芽體剝除外芽苞葉，切取含有分生組織之莖頂，培養於 1/4 量 MS (Murashige and Skoog, 1962) 添加 20 g L⁻¹ sucrose (Sigma)、8 g L⁻¹ agar (Difco Bacto-agar) 及 0.5 mg L⁻¹ BA (Sigma) 之培養基，pH 調至 5.7，以 121°C 高溫滅菌 20 分鐘。培養環境之光週明期為 16 小時，暗期為 8 小時，溫度 24 ± 2°C。待芽體增殖後進行下列試驗。

(二) BA 濃度對草莓‘桃園一號’芽增殖之影響

取初代培養，高約 1.5 cm 的芽，分

別培養於含有 0.5、1 及 3 mg L⁻¹ BA 之培養基（基本組成同初代培養基），以不添加 BA 為對照，每一處理 5 重複，每重複 5 個培植體進行增殖試驗，培養環境之光照及溫度條件同初代培養。每月調查芽體生育情形（包括芽體數、株高、葉片數及根數）。

(三) 不同培養基質及生長素對草莓

‘桃園一號’生育及發根之影響

取培養於含有 0.5 mg L⁻¹ BA 之 MS 培養基，高約 1.5 cm 的芽，作為發根試驗的材料。以 1/4 量 MS (Murashige and Skoog, 1962) 添加 20 g L⁻¹ sucrose，pH 5.7 之鹽基養液添加於不同培養基質進行發根試驗。處理組合共 6 種分別為：(1) 以 8 g/L agar 為培養基質，不添加生長素（對照組）；(2) 以 8 g/L agar 為培養基質並添加 0.5 g L⁻¹ 之 IBA；(3) 以 8 g/L agar 為培養基質並添加 0.5 g L⁻¹ 之 NAA；(4) 以 2 號珍珠石取代洋菜為培養基質，不添加生長素；(5) 以蛭石取代洋菜為培養基質，不添加生長素；(6) 以粗砂取代洋菜為培養基質，不添加生長素。每一處理 5 重複，每重複 9 個培植體，培養環境之光照及溫度同初代培養。培養 30 天後，調查各處理之株高、葉片數、根數、根長及發根率（%）。

三、統計分析

試驗採完全隨機設計，統計軟體為 SAS，以最小顯著差異（LSD, least significant difference) 分析處理間有無顯著差異性 ($P < 0.05$)。

結果與討論

一、BA 濃度對草莓‘桃園一號’芽增殖之影響

草莓‘桃園一號’分生芽體培養於分別添加 0.5、1 及 3 mg L⁻¹ BA 之 1/4 MS 培養基，以不添加 BA 為對照。經 1 個月培養，結果顯示培養於含有 0.5 或 1 mg L⁻¹ BA 其每重複平均芽體數分別為 2.6 及 2.7 個，顯著高於含有 3 mg L⁻¹ BA 及不添加 BA 之對照。草莓不同基因型對 BA 的增殖反應具差異性，適宜之 BA 濃度為 1-8 μM (Simpson and Bell, 1989)，本研究亦顯示 BA 濃度在 0.5 及 1 mg L⁻¹ 時適宜草莓‘桃園一號’芽體之增殖，而過高之 BA (3 mg L⁻¹) 反而不利芽體增殖。芽梢之平均高度以不添加 BA 之對照 (3.1 cm) 顯著高於添加 BA 之處理，而不同濃度 BA 不具差異，顯示添加適宜之 BA 雖有利芽體增殖卻不利芽體之伸長，前人研究亦指出芽體的長度和 BA 濃度呈現負相關 (Goel *et al.*, 2009)，另培養基中添加高濃度 BA (5 mg L⁻¹ 以上) 亦會造成 *Gymnema sylvestre* R. Br. 培植體產生矮化之叢生芽且葉片小 (Reddy *et al.*, 1998)，顯示 BA 可促進芽體增殖但不利伸長之作用，可表現於其他作物。根數亦以不添加 BA 之對照最多，每重複之平均根數為 5.8，顯著高於添加 BA 之處理，且較高濃度之 BA 比低濃度 BA 更不利根之發生。盧等 (2012) 以不同細胞分裂素進行不同草莓品種之芽體增殖，結果以 BA 培養之培植體節間短，

植株呈叢生狀，發根率低，與本試驗結果相似。另每重複之平均葉片數以添加 0.5 mg L⁻¹ BA 及不添加 BA 之對照顯著高於添加 1 或 3 mg L⁻¹ BA 之處理，添加 0.5 mg L⁻¹ BA 之葉片數為 4.0，不添加 BA 之對照為 4.7（表一）。

二、不同培養基質及生長素對草莓‘桃園一號’生育及發根之影響

比較洋菜、珍珠石、蛭石及粗砂等不同培養基質和不同生長素（IBA、NAA）對草莓‘桃園一號’培植體生育及發根之影響。結果顯示，每重複之平均根數以不添加生長素之洋菜、珍珠石及粗砂處理顯著高於其他處理，根數分別為 6.5、6.0 及 5.6，次為蛭石之 3.2，而添加 IBA 及 NAA 生長素之根數顯著低於其他處理（表二）。根據 Ara 等人（2012）以不同濃度（0~2 mg L⁻¹）IBA 及 NAA 進行草莓發根試驗顯示，芽體根數以不添加生長素之處理較多，而且添加生長素會使培植體基部切面產生癒傷組織而影響田間建置。本研究草莓‘桃園一號’之發根情形亦於不含生長素之表現較佳，添加生長素之發根率較差且芽體基部易膨大產生癒傷組織，推論‘桃園一號’草莓培植體本身即具有發根能力不必藉由外加生長素之刺激。根長以珍珠石之 3.59 cm 顯著高於其他處理但和洋菜不添加生長素之對照差異不顯著，另蛭石與對照和粗砂處理之差異亦不顯著，而添加 IBA 及 NAA 之根最短，呈粗短、肥厚狀態且易產生癒傷組織。盧及侯（2012）亦指出 NAA 培養下之根系短肥，易生癒傷組織，若以根數及根長為評估指標，‘桃園一號’以洋菜

添加 IBA 之表現較佳。本研究 IBA 處理之數值表現亦較 NAA 處理高但差異不顯著；不添加生長素之洋菜培養基和不同培養基質之發根率均達 90% 以上，其中珍珠石達 100%，但各處理間不具顯著差異，而添加 IBA 及 NAA 之發根率則顯著較低，分別為 53.3% 及 42.2%（表二）。生長素中之 IBA 及 NAA 為應用普遍的發根劑，可促進多數作物之發根，但發根效益會因作物種類及施用濃度而不同，培養基中添加 AgNO₃ 4 mg L⁻¹、BA 0.5 mg L⁻¹ 及 kinetin 0.2 mg L⁻¹ 對草莓再生芽體之發根效果比 IBA 好（Mahmoud and Moradi, 2014），本研究亦以不添加 IBA 及 NAA 生長素之發根情形較佳。另培養基之 IBA 濃度由 1 μM 增加到 5 μM 時會降低草莓之發根率且會促進癒傷組織之誘導（Haddadi and Aziz, 2010）。株高以粗砂處理組顯著最高，次為珍珠石及對照組；每重複平均葉片數則以珍珠石及粗砂最高，但珍珠石和對照組差異不顯著，添加生長素及蛭石處理之葉片數最少（表二）。本試驗添加 IBA 或 NAA 對草莓芽體發根效果差，培植體基部膨大增生且根系短肥。本試驗以不同培養基質取代洋菜可成功繁殖草莓‘桃園一號’，其中以珍珠石為培養基質經 2 個月培養後植株生育情形良好（圖一，C 之左側為珍珠石，右側為洋菜基質），且根系未出現褐化現象（圖一，A）而洋菜處理之植株根系會隨著培養時間而呈現褐化及盤根現象（圖一，B）；另取粗砂處理組之分生苗，經馴化、種植之生育情形良好（圖一，D），存活率達 90% 以上。

近來草莓產業常因遭受環境逆境及病害問題而造成苗株不健康或供苗不足之窘境。利用微體繁殖技術可有效且大量建立草莓健康種苗，以穩定種苗供應及降低植株帶菌風險。本研究利用不同 BA 濃度、生長素及培養基質探討草莓‘桃園一號’適宜之芽體增殖及發根條

件，初步得到低濃度 BA (0.5 及 1 mg L^{-1}) 有利草莓‘桃園一號’芽體增殖；另以珍珠石或粗砂為培養基質之根數及發根率表現與傳統洋菜基質不具差異，苗株出瓶後可直接種植以保持根系完整性，且可免去清洗根系附著之洋菜所需之程序及避免清洗時造成根系傷害，可供洋菜替代培養基質之參考。

表一 不同 6- benzylaminopurine (BA) 濃度對草莓 ‘桃園一號’ 芽體增殖之影響
 Table 1. Effects of 6- benzylaminopurine on micropagation of *Fragaria × ananassa* ‘Taoyuan No. 1’

BA (mg L ⁻¹)	Number of bud	Height (cm)	Number of leaf	Number of root
0.0	1.2 ± 0.60 c ^z	3.1 ± 1.6 a	4.7 ± 2.3 a	5.8 ± 3.8 a
0.5	2.6 ± 1.1 a	1.3 ± 0.7 b	4.0 ± 2.5 a	1.4 ± 1.8 b
1.0	2.7 ± 1.3 a	1.0 ± 0.5 b	2.4 ± 1.0 b	0.1 ± 0.3 c
3.0	2.0 ± 0.9 b	0.8 ± 0.4 b	1.7 ± 0.7 b	0.1 ± 0.3 c

^z Mean and standard error (n = 5) within each column followed the different letter are significantly different at P ≤ 0.05 by Fisher’s protected LSD test.

表二 不同生長素及培養基質對草莓 ‘桃園一號’ 芽體生育及根發生之影響
 Table 2. Effects of auxin and medium on rooting of *Fragaria × ananassa* ‘Taoyuan No. 1’

Treatment	Height (cm)	Root length (cm)	Number of leaf	Number of root	Rooting (%)
Agar (Control)	3.45 ± 0.22 b ^z	3.12 ± 0.27 ab	4.7 ± 0.4 b	6.5 ± 1.1 a	93.3 ± 2.7 a
Agar + 0.5 mg/L IBA	1.50 ± 0.16 d	0.59 ± 0.12 d	2.4 ± 0.3 c	1.4 ± 0.3 c	53.3 ± 4.2 b
Agar + 0.5 mg/L NAA	1.70 ± 0.17 d	0.30 ± 0.07 d	2.6 ± 0.2 c	0.9 ± 0.3 c	42.2 ± 4.2 c
Perlite	3.87 ± 0.26 b	3.59 ± 0.22 a	4.9 ± 0.3 ab	6.0 ± 0.5 a	100.0 ± 0.0 a
Vermiculite	2.46 ± 0.14 c	2.90 ± 0.23 bc	3.1 ± 0.2 c	3.2 ± 0.4 b	97.8 ± 2.2 a
Sand	5.29 ± 0.14 a	2.34 ± 0.27 c	5.6 ± 0.2 a	5.6 ± 0.2 a	97.8 ± 2.2 a

^z Mean and standard error (n = 5) within each column followed the different letter are significantly different at P ≤ 0.05 by Fisher’s protected LSD test.



圖一 草莓‘桃園一號’分生芽體以不同培養基質繁殖之生育情形。A、B：分別為以珍珠石及洋菜培養2個月後根系之生育情形，洋菜處理之根系出現褐化現象，C：植株生育情形，左側為珍珠石基質，右側為洋菜基質，D：粗砂培養基質之植株出瓶馴化培養經3個星期之生育情形。

Fig. 1. Growth of strawberry explants ‘Taoyuan No.1’ culture on different medium. A: root growth on perlite medium, B: agar medium, C: explants growth on perlite culture and agar medium on right and left picture, and D: explants that culture on sand grow well after 3 weeks taken out of the vessel.

誌 謝

本試驗蒙本場陳慶旺先生及大湖草莓農許明興先生提供草莓‘桃園一號’植株，謹致謝忱。

引用文獻

- 蔡幸玲、鄭正勇。1995。熱處理對草莓植株生長與生理變化之影響。中國園藝 41：86-98。
- 盧美君、侯鳳舞。2012。培養基中添加植物生長調節劑對草莓微體繁殖效果的影響。臺灣園藝 58：1-9。
- 蕭翌柱、陳冠文。2014。未經冷馴化之草莓莖頂超低溫冷凍保存研究。臺灣農業研究 63：57-67。
- Art, T., R. Karim, M. R. Karim, S. Ahmad, R. Islam, and M. Hossain.** 2012. Effect of different hormones on *in vitro* regeneration of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). Int. J. Biosci. 2: 86-92.
- Badr-Elden, A. M.** 2013. An effective protocol for *in vitro* storage and *ex vitro* re-growth of strawberry capsules. Atlas Journal of Chemistry & Biochemistry 1: 30-38.
- Biswas, M. K., M. Hossain, M. B. Ahmed, U. K. Roy, R. Karim, M. A. Razvy, M. Salahin, and R. Islam.** 2007. Multiple shoots regeneration for strawberry under various colour illuminations. American- Eurasian Journal of Scientific Research 2:133-135.
- Haddadi, F. and M. A. Ziz.** 2010. Micropropagation of strawberry cv. camarosa: prolific shoot regeneration from *in vitro* shoot tips using Thidiazuron with N6-benzylamino-purine. HorScience 45: 453-456.
- Goel, N., N. Singh, and R. Saini.** 2009. Efficient *in vitro* multiplication of Syrian Rue (*Peganum harmala* L.) using 6-benzylaminopurine preconditioned seeding explants. Nature and Science 7: 129-134.
- Mahmoud, O. and M. Kosar.** 2014. *In vitro* achievement of strawberry roots formation using Ag (NO₃). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 14: 1281-1286.
- Moradi, K., M. Otroshy, and M. R. Azimi.** 2011. Micropropagation of strawberry by multiple shoots regeneration tissue cultures. J. Agri Tech. 7: 1755-1763.
- Nishi, S. and K. Ohsawa.** 1973. Mass production method of virus-free strawberry plants through meristem callus. JARQ 7: 189-194.
- Reddy, P. S., G. R. Gopal, and G. L. Sita.** 1998. *In vitro* multiplication of *Gymnema sylvestre* R. Br.- An important medicinal plant. Curr. Sci. 75: 843-845.
- Sakila, S., M. B. Ahmed, U. K. Roy, and M. K. Biswas.** 2007. Micropropagation of strawberry (*Fragaria* ×

ananassa Duch.) a newly introduced crop in Bangladesh. American-Eurasian Journal of Scientific Research 2: 151-154.

Simpson, D. M. and J. A. Bell. 1898. The response of different genotypes of *Fragaria* × *ananassa* and their

seedling progenies to in vitro micropropagation and the effects of varying the concentration of 6-benzyaminopurine in the proliferation medium. Plant cell. Tissue Organ Culture 17: 225-234.

Effect of culture medium and plant growth regulators on strawberry micropropagation

Chao-Ling Ting* and Chao-Jan Ho

Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, Miaoli, Taiwan, R. O. C.

ABSTRACT

To compare the effect of bud proliferation on different 6-BA concentration medium and effect of bud rooting under different plant growth regulators (PGR) and culture media by using strawberry 'Taoyuan No.1' running stalk as explants in this study. Results showed that a single bud culture on 1/4MS with 0.5 or 1 mgL⁻¹ BA added has the highest proliferation average bud number of 2.6 and 2.7, respectively, however, BA added was unfavorable to rooting. Bud rooting could reached above 90% when explants was culture on PGR-free medium of agar, perlite, vermiculate, and sand with non-significant difference. The average root number per shoot on no PGR medium of agar, perlite, and sand was 6.5, 6.0 and 5.6, respectively. Medium with IBA and NAA added, the rooting incidence rate and number was obviously low and the base of bud and root was hypertrophy.

Keywords: auxin, bud, proliferation, rooting

*Corresponding author, e-mail: ding@mdais.gov.tw