薑花組織培養之大量繁殖[1]

許家言[2]　葉常青[2]　蔡新聲[3]

摘要：利用組織培養技術，進行薑花大量繁殖的研究，以期在短時間內獲得較多的栽培苗供推廣是本試驗之目的。結果顯示，液體培養的效果比固體培養好，保留頂芽處理的分蘗芽數較切除頂芽者爲多，基本培養基則以全量 MS（Murashige and Skoog, 1962）基本鹽類配合 4 mg/l BA 所得的分蘗芽數最多，在培養六星期後每一個芽可繁殖4.78個芽體，若以液體培養配合保留頂芽處理的繁殖法，試管苗在培養二星期後即可全部發根。利用本試驗推薦的方法繁殖薑花，一個芽可在一年中產生8×10^5株幼苗。

關鍵詞：薑花，大量繁殖

薑花（學名：*Zingiber zerumbet* Smith, 英名：Ginger flower）是一種薑荷科（*Zingberaceae*）多年生宿根性植物[1]，在本省低海拔山區或郊外有許多野生的植株，夏季開白花，花朵香氣馥郁，目前正有許多優良的栽培品種育出，花色很多，是花色香味俱佳的草本花卉，可做切花用。本省傳統薑花的繁殖方式是以根莖（rhizome）繁殖[1]或採分株方式，繁殖速度較慢，且因種薑貯藏不當常易腐爛或遭蟲害，嚴重的影響萌芽率，加以薑花生長期中易感染軟腐病，即使在栽植前以殺菌劑浸種薑亦不易根除，故成爲栽培上的一大損失。若能使用組織培養技術繁殖，將可避免病蟲的危害及氣候、土壤等外界環境的影響，而達到短時間大量繁殖的目的。

材料與方法

本試驗之薑花材料取材自高雄區農業改良場所育成的 J—7品系。切取成株約5—10公分長之分蘗幼苗，使用10% Clorox 溶液（約等於0.525% NaOCl），加數滴展著劑 Tween 20，置於超音波振盪器中表面消毒10分鐘，再以無菌水洗滌三次後，逐層剝離外葉，切取莖頂分生組織及附近側芽的頂端，長度約0.1公分左右，培養於含有2mg/l BA（benzyladenine）、0.05mg/l NAA（α—naphthaleneacetic acid）、40mg/l adenine sulfate、170mg/l $NaH_2PO_4\cdot H_2O$、3% sucrose 及 1% Sigma agar 的 MS（Murashige and Skoog, 1962）[10]基本鹽類培養基上，於溫度25±1°C，光強1,500 lux, 每日16小時之光照下培養，待長出分蘗幼株，約2～3片本葉時，進行以下的試驗。

一、固態、液態培養基對繁殖速率的影響：

切取薑花的分蘗幼株，以每一幼株爲單位，將頂芽切除，僅保留莖基部側芽培養於含有2mg/l BA、0.05mg/l NAA、40mg/l adenine sulfate、170mg/l $NaH_2PO_4\cdot H_2O$、3% sucrose及1% Sigma agar 的 MS 基本鹽類固體培養基（pH＝5.7），或不含 agar 的液體培養基（pH＝5.2）上。固態或液態培養基的用量，均爲10ml，每處理20個重複，每個重複培養1株幼芽。固體培養置於25±1°C的恆溫，1,500 lux 光強度的條件下靜止培養；液體培養的溫度與光強度同固體培養，並置於100 rpm之水平迴旋振盪器（gyrotary shaker）上培養。培養後每星期分別統計繁殖的分蘗芽數與發根頻度。

1. 臺灣省農業試驗所研究報告第 1568 號。本文承高雄區農業改良場提供材料，文稿英文部份承本系劉大江博士斧正，特此申謝。

2. 3. 分別爲本所農藝系助理及研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

二、切除頂芽與否對繁殖速率的影響：

兩種處理的培養基均使用液體培養基（pH＝5.2），培養基成分及培養條件與試驗一之液體振盪培養相同。切取薑花分蘗幼株，以每一幼株爲單位，將培植體分爲切除頂芽（即僅保留莖基部側芽）及保留頂芽（將分蘗幼株整株培養）兩種處理，每個處理10個重複，每個重複培養1株幼芽。培養後每星期分別統計繁殖的分蘗芽數與發根頻度。

三、培養基中不同濃度的 BA 對繁殖速率的影響：

將不切除頂芽之薑花分蘗幼株，培養於含有0.05mg/l NAA、40mg/l adenine sulfate、170 mg/l $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$及3% sucrose, pH＝5.2的液體 MS 基本鹽類培養基上，並配合0，0.5，1，2，4及8mg/l 六種不同濃度的 BA 處理，每處理15個重複，每個重複培養2株幼芽。培養條件爲25±1°C的恆溫，1,500 lux 光強度，每日16小時之光照，並置於100 rpm 的迴旋振盪器上培養，每星期分別統計繁殖的分蘗芽數。

四、培養基中不同基本鹽類濃度對繁殖速率的影響：

將不切除頂芽之薑花分蘗幼株，培養於含有2mg/l BA、0.05mg/l NAA、40mg/l adenine sulfate、170mg/l $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$、3% sucrose 及 pH＝5.2的液體培養基，並配合1，½及¼ MS 的基本鹽類濃度處理。每處理20個重複，每重複培養1幼株。培養條件同試驗三，培養後每星期分別統計繁殖的分蘗芽數。

結果與討論

一、固態及液態培養基對薑花繁殖速率的影響

圖 1 顯示，液體培養基繁殖的分蘗芽數較固體培養基爲多，在培養四星期後，液體培養平均可使 1

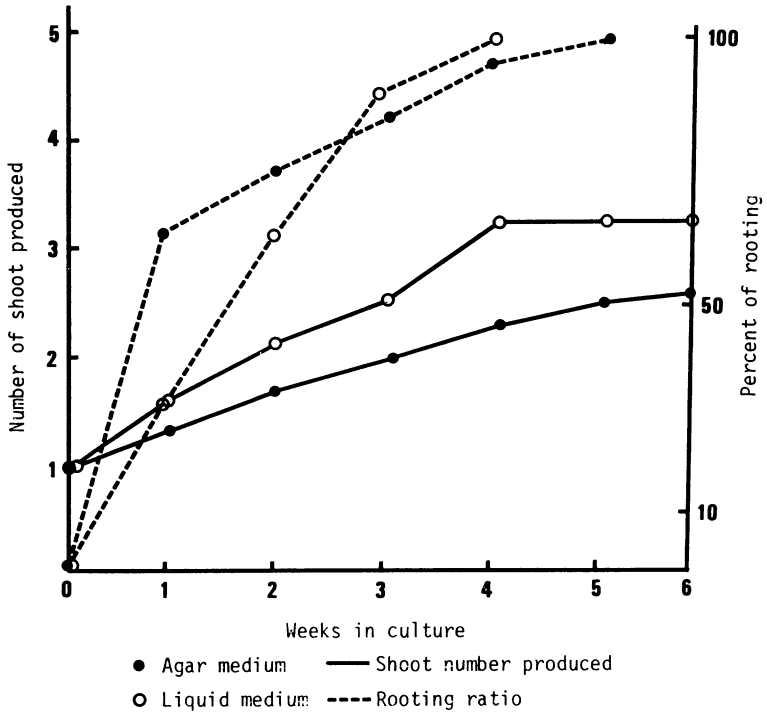


圖1. 固態及液態培養基對薑花繁殖速率與發根的影響。

Fig 1. Effect of medium phase on shoot formation and rooting ratio from ginger flower subculture.

個芽體繁殖3.21個芽；而固體培養基中爲2.42個芽。此結果與 Bennett & Davies 報導液體培養 *Quercus shumardii* 比固體培養效果好相同[2]。以往作物組織培養之大量繁殖以使用固體培養基較爲普遍；液體培養基的使用是近幾年來的事，唯尚未普遍化，以前多置入濾紙或其它物質以支持培植體[5]，目前則以振盪培養的方式爲多。

液體培養繁殖速率較固體培養快速的原因，可能係因培植體較易吸收液體培養基的營養成分，而且液體培養基採用振盪培養，可使培植體打破極性，且可增加培養環境中 CO_2 與 O_2 交換率，以充分供應光合作用的基質，而使繁殖速率加快所致。但液體培養至第四個星期以後，芽數的增加，呈現停滯的現象，而固體培養卻一直呈緩慢增加的趨勢，是故採用液體培養需1個月繼代培養一次，以達迅速繁殖的目的。在誘導培植體的發根上，則以固體培養基較早，約在培養後1—2星期即可見多量發根，但需至培養五星期後方可達100%發根；而液體培養基的發根雖較晚，約在培養後第三星期才開始，但只需經一星期（即培養後第四星期）即可全部發根。所以在培植體的發根效果上，液體培養基仍優於固體培養基。

二、切除莖頂與否對繁殖速率的影響：

圖2顯示，切除頂芽的處理平均1株幼株可繁殖3.2個芽，而保留頂芽的處理可繁殖4.4個芽。其原因可能爲切除頂芽後的一段時期，植株的生長勢受到抑制，而呈現生長停滯的現象，經兩三星期後方可恢復萌發分蘗芽的潛勢。保留頂芽的處理方式，在發根的時間及數量上亦明顯的優於切除頂芽之處理。

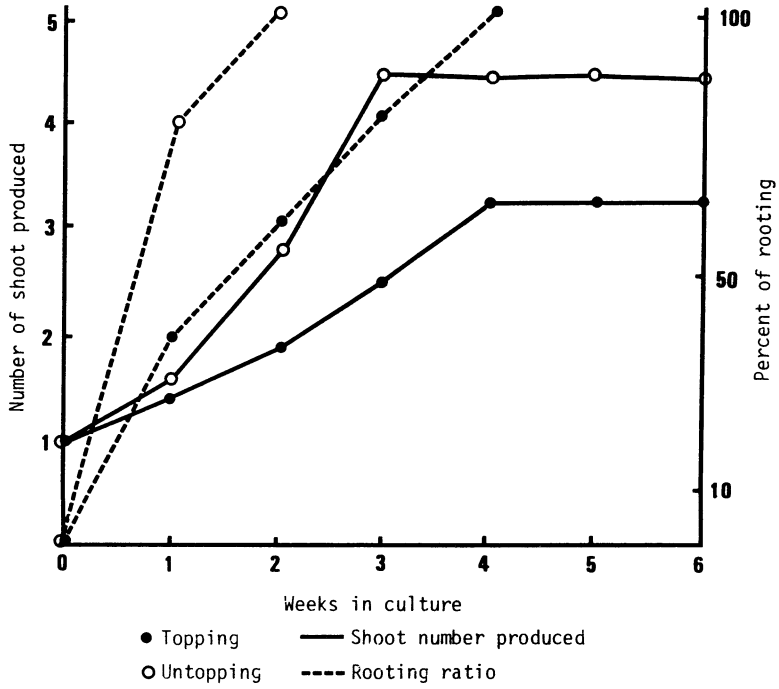


圖2. 去頂與否對薑花繁殖速率與發根的影響。

Fig 2. Effect of topping or untopping on shoot formation and rooting ratio from ginger flower subculture.

三、培養基中不同濃度的 BA 對繁殖速率的影響：

圖 3 顯示，六個處理中除不含 BA（CK）的處理在培養六個星期後，平均繁殖的分蘗芽數在2.0以下，其它含 BA 五個處理的分蘗芽數，在培養後第三個星期即達2.0以上，BA 濃度在4mg/1 以內者，分蘗芽數隨著 BA 濃度的增高而增加。4mg/1 BA 的處理，培養六個星期所得的平均分蘗芽數爲3.25。而 BA濃度升高至8mg/1，培養六個星期之分蘗芽數反降爲2.64個。由以上結果可知大量繁殖薑花的適當 BA 濃度爲4mg/1。此結果與 Stapfer & Heuser 報導 *Heuchera sanguinea* Engelm. 的繁殖以4～8mg/1 BA 最適當[13]，及 Sugiura *et al.* 指出日本柿子繁殖所需 BA 之適當濃度爲5mg/1的結果相近。許多文獻指出，高濃度的 cytokinin 可誘導培植體產生不定芽[2,8,9,12,13]。在許多 cytokinin 種類中，以 BA 對腋芽（axillary bud）[13] 與不定芽（adventitious bud）[2,8,9,12,14] 的生成促進效果最佳，比 kinetin 或2ip 的效果高出一倍以上[2,13,14]。培養基中加入適當的 BA，可誘導不定芽的產生，芽體可充分伸長，植株的生長成爲叢生狀（rosette type）[14]，且會分蘗許多小芽體，這些小芽體可行分切與繼代培養而達到大量繁殖的目的[2]。但若 BA 濃度過高，會導致幼芽發育短小畸形[4,11]，且植株有矮小（stunted）、腫大（swollen）及不正常發育（abnormalities）的現象[2]。在薑花的大量繁殖上，培養基中加入8mg/1 BA，有分蘗芽體減少及每一分蘗植株生長較小的現象，但並無以上數種畸形的徵狀。

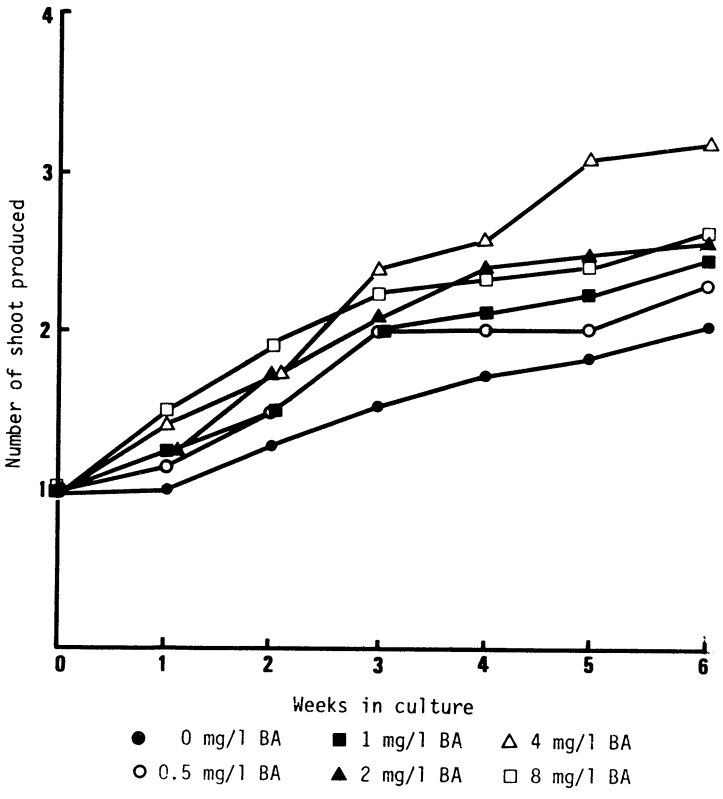


圖3. 不同濃度的 BA 對薑花繁殖速率的影響。

Fig 3. Effect of 6-benzyladenine concentration supplemented to MS basal medium on shoot formation from ginger flower subculture.

四、培養基中不同鹽類濃度對繁殖速率的影響：

圖 4 顯示，三個處理中以全量 MS 基本鹽類濃度者，所繁殖的分蘗芽數最多，培養六星期可達4.78個芽，½ MS 處理者有3.0個芽，而¼ MS 處理者僅有2.34個芽。全量 MS 的繁殖速率最快的原因，可能係培養基中無機與有機成分供應充分之故。此結果與 Torres & Carlisi 報導茶花以½MS 培養基生長最快[15]，Cockrel *et al.* 認爲 *Cineraria* 以½MS培養基對芽的繁殖速度最快[3]，及 Wainwright & Marsh 宣稱 Watercress 以¼ MS 培養基的繁殖速率最快[16]結果有所不同，但 Hovanesian & Torres 則以爲 *Uriola paniculata* L. 以全量 MS 誘導的芽體最多[7]；Gertsson 指出 *Senecio* 以高濃度的大量元素鹽類培養比低濃度者有較多的芽體產生[6]；Sugiura *et al.*也報導日本柿芽之產生以全量 MS 鹽類最多[14]。所以 MS 基本鹽類的最適濃度隨作物的種類不同而異。

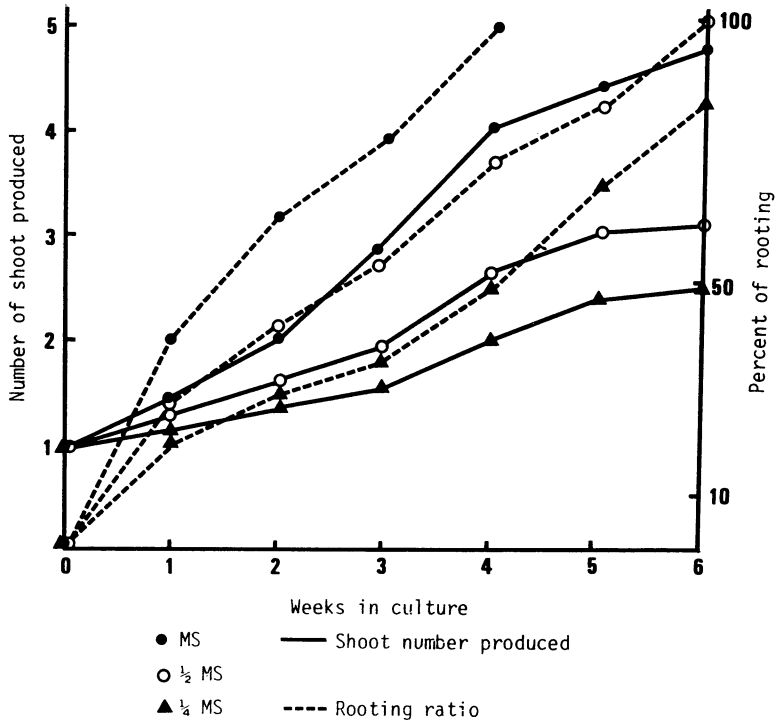


圖4. 不同基本鹽類濃度對薑花繁殖速率與發根的影響。

Fig 4. Effect of strength of MS basal salts on shoot formation and rooting ratio from ginger flower subculture.

結　論

綜合以上的結果可知，薑花的莖頂培養大量繁殖方法爲切取約5～10公分長成株的分蘗幼苗，經表面消毒後，取下約0.1公分左右的莖頂分生組織或側芽頂端，培養於含有2mg/1 BA、0.05mg/1 NAA 、40mg/1 adenine sulfate、170mg/1 $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 及3% sucrose 之 MS 固體培養基上，待長出許多分蘗芽，每個芽體出現 2 — 3 片本葉時，以一個幼芽爲單位，保留頂芽繼代培養於含有4mg/ 1 BA 、0.05mg/1 NAA 的全量 MS 改良液體培養基上，以100 rpm 振盪培養，每4—6個星期繼代培養一次，此種方法繁殖，一個芽體每42天可形成4.78個芽體（圖5），估計一年約可繁殖8×10^5株幼苗。

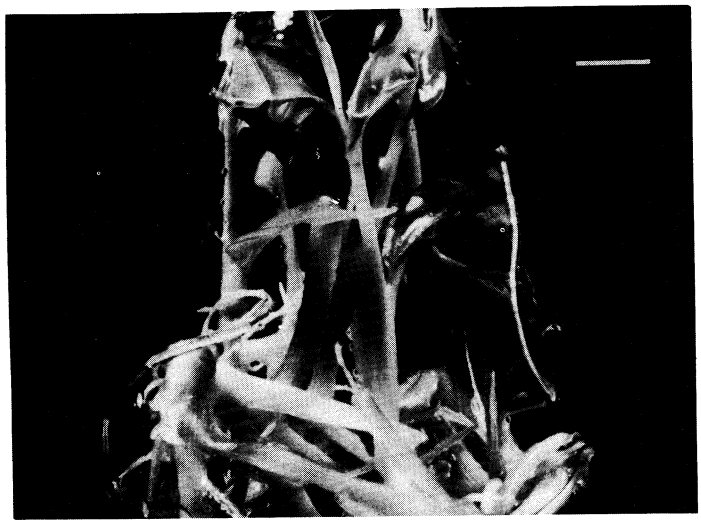


圖5. 薑花莖頂或芽體培養之大量繁殖。(圖中白線標示1cm)
Fig 5. Mass propagation of ginger flower through shoot tip or bud culture. (bar=1 cm)

引用文獻

1. Bailey, L. H. 1948. Manual of cultivated plants. Revised edition, pp.287—288. The Bailey Hortorium, Cornell University, Ithaca, N. Y., U. S. A.
2. Bennett, L. K. and F. T. Davies. 1986. In vitro propagation of *Quercus shumardii* seedlings. HortScience 21(4) : 1045—1047.
3. Cockrel, A. D., G. L. McDaniel and E. T. Graham. 1986. In vitro propagation of *Florists cineraria.* HortScience 21(1) : 139—140.
4. Favre, J. M. and B. Juncker. 1987. In vitro growth of buds taken from seedlings and adult plant material in *Quercus robur* L. Plant Cell Tissue Organ Culture 8 : 49—60.
5. George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue cultre. Chap. 6. Tissue culture media-support systems. pp. 236—240. Printed in Great Britain by Eastern Press, England.
6. Gertsson, U. E. 1986. Influence of explant orientation and media composition on organ formation, growth and nitrogen content in petiole explants of *Senecio hybridus* Hyl. J. Horti. Sci. 61(1) : 121—128.
7. Hovanesian, J. C. and K. C. Torres. 1986. Micropropagation of *Uniola paniculata* L. Plant Cell Reports 5 : 385—386.
8. Liu, L. and D. W. Burger. 1986. In vitro propagation of Easter Lily from pedicels. Hortscience 21(6) : 1437—1438.
9. Mudge, K. W. 1986. Micropropagation of Mugo pine from embryonic and seedlings explants. HortScience 21(2) : 298—299.
10. Murashige, T. and F. Skoog. 1962 A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15 : 473—497.
11. Nieuwkerk, J. P., R. H. Zimmerman and I. Fordham. 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation in vitro. HortScience 21(3) : 516—518.
12. Robert, M. L., J. L. Herrera, F. Contreras and N. S. Keith. 1987. In vitro propagation of *Agave fourcroydes* Lem. (Henequen). Plant Cell Tissue Organ Culture 8 : 37—48.

13. Stapfer, R. E. and C. W. Heuser. 1986. Rapid multiplication of *Heuchera sanguinea* Engelm. "Rosamundi" propagated in vitro. HortScience 21(4) : 1043—1044.
14. Sugiura. A., R. Tao, H. Murayama and T. Tomana. 1986. In vitro propagation of Japanese persimmon. HortScience 21(5) : 1205—1207.
15. Torres, K. C. and J. A. Carlisi. 1986. Shoot and root organogenesis of *Camellia sasanqua*. Plant Cell Reports 5 : 381—384.
16. Wainwright, H. and J. Marsh. 1986. The micropropagation of watercress (*Rorippa nasturtium-aquaticum* L.). J. Horti. Sci. 61(2) : 251—256.

In Vitro Propagation of *Zingiber Zerumbet* Smith[1]

J. Y. Hsu[2], C. C. Yeh[2] and H. S. Tsay[3]

SUMMARY

The purpose of this experiment was to develop effective in vitro method to mass-propagate ginger flower in a short period of time as required for commercial cultivation. Shoot tips (1 mm in size) were cultured on MS medium containing 2 mg/1 of 6-benzyladenine, 0.05 mg/1 of NAA, 40 mg/1 of adenine sulfate, 170 mg/1 of $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ and 3 % of sucrose for 1 month. The adventitious buds produced from these cultures were used to evaluate the effect of topping and the composition of culture medium on the production of secondary adventitious buds. The results are summarized as follows :

1. Full strength of MS basic salts supplemented with 4 mg/1 of 6-benzyladenine was able to produce an average of 4.78 new shoots per cultured adventitious bud within 6 weeks. Rooting rate was as high as 100 % after 4 weeks in culture.
2. Propagation rate was faster for liquid medium than for agar medium. Number of shoots produced per cultured adventitious bud was higher from untopping treatment than from topping treatment, and rooting ratio of the newly produced shoots was as high as 100 % after 2 weeks in culture.

According to the propagation method developed in this study, 8×10^5 seedlings could be produced from one shoot tip explant in a year.

Key Words : Ginger flower, mass propagation

---

1. Contribution No. 1568 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2.3. Research Assistants and Senior Agronomist, respectively. Department of Agronomy, TARI. Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 413, ROC.