

薑 (*Zingiber officinale*, Roscoc.)之莖頂培養

韓青梅¹

摘 要

本試驗之主要目的為利用組織培養方法，以薑之莖頂培養，繁殖健康種苗，不僅供應薑農之需，且避免薑供需失調，穩定市場之價格。試驗材料為“廣東種”薑之莖頂0.3 0.5mm 培養在MS、VW、W及B5四種培養基中，以固體方式進行培養，結果顯示以B5培養基培養最適宜，不但存活率高，且產生之芽梢數較多，當培養基中添加NAA 0.1 mg/l、BA 2 mg/l時，可促進芽梢數，一個莖頂平均可產生5.5個芽梢。薑莖頂苗最適發根培養基為MS基本配方添加1 mg/l NAA。

關鍵語：薑、莖頂培養、健康種苗、石蠟切片

前 言

薑(*Zingiber officinale*, Roscoc.)屬薑科(*Zingibera case*)，原產於西南亞洲，性喜溫暖之氣候，為主要香辛類佐料蔬菜^(1,2)。據農林廳統計民國54年本省栽培面積為1,630公頃⁽⁴⁾，以生產嫩薑及粉薑為主，除供本省市場周年之需外，亦有相當數量之粉薑外銷香港及日本等地⁽⁵⁾。

因國民生活水準的提昇，薑之消費量增加，民國69年本省薑之栽培面積高達4,600公頃。近年來由於農村勞力缺乏，薑之栽培面積逐漸減少，民國79年僅1,770公頃⁽⁴⁾，因而導致薑之價格上揚，曾創下嫩薑每公斤150元之高批發價格。

由於本省四周環海，魚產豐富，每日均需相當數量之嫩薑供作佐料，因此市場之需求殷切，民國81年本省薑之栽培面積又增加至2,082公頃，主要產地為高雄、南投及台中等地區⁽⁵⁾。本省薑之栽培經長期無性繁殖後，種薑易感染軟腐病(*Pythium myriophyllum*)及根瘤線蟲等之為害，尤其軟腐病是一種細菌性病害，病原菌棲息於土壤中，種薑種植後極易經由切口或傷口侵入，嚴重影響日後之生長發育，進而影響產量及品質⁽³⁾。又因種薑之貯存不易，導致種薑苗極度之缺乏，薑農需苗殷切。

台東區農業改良場曾於民國70年至71年進行薑組織培養之技術研究，以期望

¹高雄區農業改良場副研究員兼澎湖分場主任

²審查委員：曾夢蛟教授，服務機關：國立中興大學園藝系系主任兼研究所所長

獲得健康之薑苗，供薑農種植，但未成功。本計畫之目的，期望利用組織培養方法，以薑之莖頂培養，繁殖不含軟腐病及根瘤線蟲之健康種苗，供應薑農種植，以避免薑供需失調，穩定市場之價格。

材料與方法

一、試驗材料：“廣東種”薑

二、試驗方法：

(一)薑莖頂構造之觀察：

薑塊莖長出約2公分左右之苗，切取莖頂利用石蠟切片觀察其發育情形，石蠟切片之步驟如下：(1)採取樣品，放入FAA液中固定4小時(配合抽氣1小時)。(2)利用50%乙醇洗3次。(3)進行TBA - 系列脫水。(4)滲蠟：於60-65℃烘箱內操作，將小蠟塊以3-5次加入，最後一次加入蠟塊經2小時後打開瓶蓋，令瓶內第三級丁醇全部蒸發。(5)埋蠟：將瓶內之材料和液狀蠟倒入模型內，置於冷水中快速冷卻凝固成蠟塊。(6)切片：利用切片機進行切片，切片厚度 10μ 。(7)展片：將切好之蠟帶放於載玻片上展開於46℃之hot plate上乾燥1-3天。(8)染色和脫水：經一系列之染色和脫水。(9)滴巴爾森液覆上蓋玻片。(10)鏡檢之。

(二)薑莖頂培養基本培養基之篩選：

選擇MS、VW、W及B5等四種固體培養基，調整其pH值，分別為 5.8 ± 0.1 、 5.2 ± 0.1 、 5.5 ± 0.1 及 5.5 ± 0.1 。切取薑之莖頂 $0.3-0.5\text{mm}$ 培養於其上，每處理培養40個培植體，培植體置於 $25^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ ，光照 1600lux ，16小時光期，8小時暗期之培養室中培養，並調查薑莖頂培植體之存活率及形成芽梢(shoot)之比率。

(三)培養基添加Cytokinin，Auxin，對薑莖頂培養之影響：

由上列試驗篩選出之最適培養基進行下列試驗：以含Sucrose 30g/l、Coconut Water 150ml/l、Agar 8g/l 之固體培養基分別添加0與1mg/l之NAA及1、2、4 mg/l 之BA共計6種處理，分別接種40個培植體。培養60日後，調查培植體之存活率，培養90日後調查產生芽梢(shoot)數目。

(四)發根培養基之篩選：

選擇MS、VW及B5等三種培養基以固體培養方式，並添加0.1、1、2 mg/l 之NAA等共計九種處理，每種處理分別接種40個培植體，觀察其發根情形。

結果與討論

(一) 薑莖頂構造之觀察:

圖1.所示為“廣東種”薑塊莖長出約2公分左右之苗，切取莖頂製成石蠟永久切片，在顯微鏡下觀察之結果。圖中顯示生長點及鄰近之細胞，小而整齊，排列緊密，此部份之組織分生能力強，經fast green 染劑處理後著色極深。因此本試驗之莖頂培養時，取含有1~2片葉原體，長約0.3-0.5 mm進行培養。

由於植物細胞均具有全能性(Totipotency)，故各部份器官理論上皆可做為組織培養之材料⁽⁹⁾。在各類之培植體中，一般研究顯示以莖頂為培植體者，不但大量繁殖之效果遠較其它組織佳，且可繁殖成無病毒之健康種苗^(12,14)。病毒在植物體內的分佈不均，通常可在感染株上發現莖頂及根尖部份不含病毒或含量極低。利用莖頂培養，大量獲得無病毒種苗之園藝作物很多，據Wang (1980)指出由莖頂或生長點培育獲得無病毒之苗已多達78屬⁽²⁸⁾。目前最成功且已商業化的例子即為馬鈴薯⁽²²⁾。利用莖頂培養除可獲得無病毒苗外，尚可避免其他系統性病菌之危害。Langhans (1977) 取菊花莖頂0.3 0.6 mm大小進行培養，不但生長快速且可免除菊花真菌性和細菌性之病害⁽¹⁵⁾。薑之莖頂培植體切取之大小為影響薑之莖頂培養之存活與否及育成之小苗是否帶有病毒之重要因子，試驗顯示，維管束尚未形成之薑切取0.3-0.5mm莖頂為培植體進行培養較宜，因利用維管束尚未形成莖頂為培植體，所培植出之小苗均不帶病毒⁽⁹⁾。

(二) 薑莖頂培養基本培養基之篩選:

利用MS、VW、W及B5等四種培養基以固體方式培養，當薑莖頂初植入MS、VW、W及B5等固體培養基時呈乳白色，培養約30日後許多培植體開始腫大，培養60日調查其存活率如表1，四種培養基培養之結果差異非常大，達極顯著水準，存活率最高者為B5培養基，平均達90%，VW培養基次優平均存活率70%，MS第三為60%，W培養基最差僅50%。培養90日後調查其芽梢形成之情形，由表1之結果得知B5培養基最好，在無添加任何植物生長素的狀態下，平均能發兩個芽梢，其他培養基均只有一個芽梢。綜合本試驗之結果得知薑莖頂培養之最適培養基為B5培養基。

表1. 不同培養基對薑莖頂培養之影響

Table 1. Effect of media on the shoot tip culture of ginger

Medium	No. of explant	Survival rate* (%)	No. of shoot ^z
MS	40	70a ^x	1a ^x
VW	40	75a	1a
W	40	50b	1a
B5	40	90c	2a

*Date were taken after 60 days of culture; Survival rate(%)=survival shoot / explant x100%.

^zDate were taken after 90 days of culture.

^xMean in each column followed by the same letter are not significantly different ($p=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

不同作物之莖頂培養，對培養基種類的需求各不相同。George與Sherrington (1984)將培養基歸納為九種成份：大量無機鹽類、微量無機鹽類、維生素、氨基酸與氨基化合物、醣類、生長調節劑、緩衝劑、支持固定劑及其他之添加物等⁽⁹⁾。許多研究指出，早期莖頂培養時，White's(1963)培養基曾被廣泛地使用，後來則大多採用Murashige與Skoog(1962)所配製成之MS培養基，其中N,P,K 三種元素含量比 White's培養基高，且加入EDTA，使鐵離子與EDTA螯合形成錯合物防止鐵離子在高pH下產生沉澱，對促進植物之再生有良好之效果^(9,18)。近年來B5培養基亦常被應用且效果良好，尤其在豆類作物培養中效果更好⁽²⁵⁾。本試驗結果發現薑之莖頂培養亦以B5培養基效果最好。

(三)基本培養基添加Cytokinin，Auxin，對薑莖頂培養之影響

由上列試驗結果，顯示薑莖頂培養最適培養基為B5培養基，本研究嘗試誘發大量之芽梢，因此添加植物生長調節劑，調查對薑莖頂培養之影響。由表二中得知，薑莖頂培養在B5培養基中，當添加NAA 0.01mg/l、BA 2mg/l時，芽梢形成之能力最強，平均5.5個左右，當BA 濃度降低為1mg/l時，可能因量少，促生作用不大，僅產生2個芽梢，如增高為4 mg/l時，又因濃度過高反而抑制芽梢之形成，故BA濃度以2mg/l為宜。又NAA之濃度提高至1 mg/l時，無論添加 BA 1、2、4 mg/l 均無法產生芽梢，僅產生根。

表2. 不同植物生長調節劑對薑莖頂培養之影響

Table 2. Effect of plant growth regulator on the shoot tip culture of ginger

Medium	Treatment		Average no. of shoot*
	NAA	BA	
B5	0.1	1	2.0 a ^x
		2	5.5 b
		4	3.0 c
	1.0	1	only root formation
		2	only root formation
		4	only root formation

*Date were taken after 90 days of culture; ^xSame as the table 1.

植物生長調節劑一般可分為 Auxin、Cytokinin、Gibberellin、Ethylene及 Abscisin等⁽⁹⁾，對植物生長與分化影響最大者為Auxin和Cytokinin⁽¹⁹⁾。Auxin在組織培養之利用，其主要目的為促進芽體之生長及誘導癒合組織之產生。一般加入培養基中之濃度由 10^{-8} 到 10^{-5} g/ml⁽²¹⁾。常用之Auxin類為IAA、NAA及2,4-D。IAA 極易受強光、高溫及過氧化酵素之分解，故常以Millipore Filter方式消毒⁽²⁰⁾。2,4-D誘導癒合組織之效果顯著，但因易引起染色體之變異，故莖頂培養時大多利用NAA⁽⁹⁾。Cytokinins具有抑制植物頂芽優勢，促進側芽生長及不定芽形成之能力⁽¹¹⁾。Koda(1980)研究蘆筍之莖頂及根尖培養，發現Cytokinin主要由根尖產生，莖頂產生之量非常之少⁽¹³⁾。故莖頂培養時須外加Cytokinin，以利芽梢之形成，一般常用之Cytokinin。為2ip及BA，因2ip較昂貴，故常用BA⁽¹⁹⁾。Skoog和Miller (1957)指出，Cytokinin和Auxin之比率可決定癒合組織形成器官的能力⁽²³⁾，Murashige(1977)綜合前人之研究推論出，Auxin/Cytokinin之比，高時產生根，低時產生芽梢，相等時則產生癒合組織⁽²⁰⁾。許多作物進行莖頂培養時，BA 一定要和 NAA共同使用，才能形成大量之芽梢。本試驗中薑之莖頂培養發現以B5培養基添加BA2mg/l 及低濃度之NAA 0.01mg/l共同使用形成芽條之數量最多。

(四)不同培養基對薑幼苗生根之影響

由薑莖頂培養產生之芽梢無法生根及長成小苗，因此又進行發根培養基之篩選。將芽條分別培養在MS、VW、B5培養基中培養，期望尋出最適之培養基，誘導發根，長成小苗，以利日後移出瓶外生長。由表三結果發現，NAA無論添加在任何培養基中，均以1 mg/l 發根率最高，比較不同之培養基，又以MS培養基為最好，其添加NAA 0.1 mg/l時，發根率88%；添加 NAA 1mg/l時，發根率95%；添加NAA 2 mg/l時，發根率80%。VW培養基中添加 NAA1 mg/l時，發根率65%；添加NAA 1 mg/l時，發根率70%；添加 NAA 2 mg/l時，發根率55%。B5培養基中添加NAA1mg/l時，發根率48%；培養基中添加

NAA1mg/l時，發根率50%；培養基中添加 NAA2 mg/l時，發根率45%。故由此得知，薑之莖頂苗發根最適培養基為MS基本配方添加1mg/l NAA為最適宜。此與台東區農業改良場所作之薑莖頂培養在MS + 1 ppmNAA中可長根之結果相同⁽⁵⁾。

表3. 不同培養基對薑莖頂培養苗發根之影響

Table 1. Effect of media on the rooting of ginger plantlet

Medium	Treatment NAA(mg/l)	No. of explant	root formation* (%)
MS	0.1	40	88a ^x
	1.0	40	95a
	2.0	40	80a
VW	0.1	40	65b
	1.0	40	70b
	2.0	40	55c
B 5	0.1	40	48c
	2.0	40	50c
	2.0	40	45c

*Date were taken after 90 days of culture;

^xSame as the table 1.

(五)薑莖頂培養健康種苗之繁殖途徑

切取0.3—0.5mm薑之莖頂，培養在固體培養基(B5基本配方添加0.1mg/l NAA, 2 mg/l BA)中，經培養30日後，培植體腫大，培養90日後產生shoots，經移入發根培養基(MS基本配方添加 1 mg/l NAA)一個月後，長成小苗，再經過馴化，即可移出瓶外(圖1—圖4)。

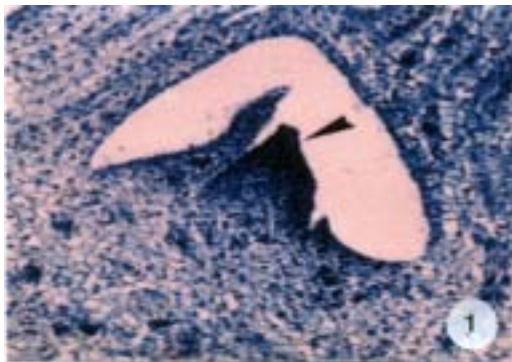


圖1. 薑莖頂石蠟切片觀察(400倍)
Fig 1. The paraffin thin section of a ginger shoot tip observation.(400X)



圖2. 薑莖頂培養在B5基本培養基中產生2個芽梢(60倍)
Fig 2. The shoot tip of ginger formation 2 shoots by B5 basic medium culture (60X)



圖3. 薑莖頂培養在含NAA0.1mg/l, BA2mg/l 之B5培養基中產生5個芽梢 (60倍)

Fig 3. The per tip of ginger formation 5.5 shoots when culture on B5 medium With NAA 0.1 mg/l and BA 2 mg/l (60X)



圖4. 薑之小苗瓶內發根情形(70倍) Fig 4. Plantlet of ginger root formation in vitro(70X)

誌 謝

本試驗研究經費承中正基金會補助，謹致謝忱。試驗期間，承本場前同仁莊仁豪先生、曾富英小姐等協助調查，特此一併誌謝。

參考文獻

- 1.胡南輝 1978 薑莖菜栽培 pp.196 204 豐年社 台北台灣。
- 2.郁宗雄 1983 薑專業栽培蔬菜30種 pp.87 89 豐年社 台北台灣。
- 3.黃德昌 1987 薑軟腐病之研究 台東區農業改良場研究彙報 (1): 97-109.
- 4.臺灣農業年報 1945 1992 臺灣省政府農林廳。
- 5.韓青梅 許文章 1995 芋及薑作物產業現況與展望 台灣蔬菜產業改進研討會專集 p.227-248.
- 6.Earle, E. D. and R. W. Langhans. 1974 Propagation of chrysanthemum in vitro. I. Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue cultures. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99(2): 128 132.
- 7.Earle, E. D. and R. W. Langhans. 1975. Carnation propagation from shoot tips cultured in liquid medium. HortScience 10(6): 608 610.
- 8.Fonnesbech, A. and M. Fonnesbech. 1980. In vitro propagation of Monstera deliciosa. HortScience 15(6): 740 741.
- 9.George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture:

- Handbook and directory of commercial laboratories. Eastern Press. Reading, Berks. England.
10. Hollings, M. and O. M. Stone. 1968. Techniques and problems in the production of virus-tested material. *Sci. Hort.* 20: 57-72.
 11. Hussey, G. 1976. In vitro release of axillary shoot from apical dominance in monocotyledonous plantlets. *Ann. Bot.* 40: 1323-1325.
 12. Kassanis, B. 1957. The use of tissue cultures to produce virus-free clones from infected potato varieties. *Ann. Appl. Biol.* 45: 422-427.
 13. Koda, Y. and Y. Okazawa. 1980. Cytokinin production by asparagus shoot apex cultured in vitro. *Physiol. Plant.* 49: 193-197.
 14. Lai, P. C., L. J. Chen, M. M. Hsu, and H. S. Tsay. 1983. Studies on shoot tip culture of asparagus. *J. Agric. Res. China* 32(1): 23-31.
 15. Langhans, R. W., K. Korst and E. D. Earle. 1977. Disease free plants via tissue culture propagation. *HortScience* 12(2): 25-26.
 16. Matsubara, S. and D. Chen. 1989. In vitro production of garlic plants and field acclimatization. *HortScience* 24(4): 677-679.
 17. More, G. 1966. Clonal propagation of orchids by meristem culture. *Cymbidium Soc. News.* 20: 3-11.
 18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant. Physiol.* 15: 473-497.
 19. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 135-166.
 20. Murashige, T. 1977. Plant cell and organ culture as horticultural practices. *Acta Horticulturae.* 78: 17-30.
 21. Posthumus, A. C. 1971. Auxins P.125-128. In: J. V. Bragt, D. A. A. Mossel, R. L. M. Pierik and H. veldstra. (eds.) Effects of sterilization on components in nutrient.
 22. Roca, W. M., N. O. Espinoza, M. R. Roca and J. E. Btyan. 1978. A tissue culture method for the rapid propagation of potatoes. *Amer. Potato J.* 55: 691-701.
 23. Skoog, F. and C. O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11: 118-130.
 24. Tamura, Y., S. Nakamura, H. Fukui and M. Tabata. 1984. Clonal propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni by stem-tip culture. *Plant Cell Rep.* 3: 183-185.
 25. Tai, G. S. and Chang. S. H. 1990. Tissue Culture of cultivar soybean. *Agricultural Association of China. New* 149: 42-45.

26. Wang, P. j. and L. C. Huang. 1975. Shoot tip culture of strawberry Fragaria chiloensis Duch var. Ananassa Bailey. J. Chinese Soc. HortSci. 21: 239-241.
27. Walkey, D. G. A, H. A. Neely and P. Crisp. 1980. Rapid propagation of white cabbage by tissue culture. Scientia Horticulturae 12: 99-100.
28. Wang, P.J. and C.Y. Hu. 1980. Regeneration of virus-free plants through in vitro culture. Advances in Biochemical Engineering 18: 61-99.

Study on The Shoot Tip Culture of Ginger

C. M. Han¹

Abstract

For the purpose of rapid propagation health plantlets of ginger, shoot tips culture were studied in “Kuntun” cultivar. Shoot tips of 0.3 to 0.5 mm in size were cultured in MS, VW, W and B5 medium under solid form culture. Results showed that B5 medium was the best among the media tested in terms of survival rate and shoots formation. Shoots can be increased when BA was added in the rate of 2 mg/l and 5.5 shoots per tip can be obtained. The suitable medium for rooting of ginger plantlet was MS basic medium supplement with 1 mg/l NAA.

Key words: Ginger, Shoot tip culture, Health plantlet, Paraffin section.

¹Associate Horticulturist and Head of Penhu Branch Station, Kaohsiung District Agricultural Improvement Station.