

斑葉月桃之微體繁殖¹

陳俊仁 謝桑煙 胡文若²

摘 要

陳俊仁、謝桑煙、胡文若。2004。斑葉月桃之微體繁殖。台南區農業改良場研究彙報 43：11~17。

斑葉月桃利用莖頂培養在含 MS 添加 BA 2mg/L 和 NAA 0.05mg/L 的培養基中，能成功培養出具斑葉的新梢。利用定芽繼代培養建議每一培育體有 2 或 3 芽。BA 濃度控制在 2 或 4 mg/L，大約 1.5 個月可繼代一次，每次可獲得 3 倍新梢。在液體比固體培養芽體長得大且快速。

發根以添加 NAA 4 mg/L 根數 7.34 條最多，根長 0.76 公分最適合移植。所有瓶苗後代皆能保持斑葉特性。

關鍵字：斑葉月桃、微體繁殖、嵌合體

接受日期：92 年 10 月 20 日

前 言

月桃(*Alpinia speciosa* K. Schum)別名良姜(薑)、虎子花、玉桃，屬薑科(Zingiberaceae)多年草本植物，其種子和根可入藥，葉片可當棕葉或蒸紅龜粿的底襯，是台灣著名的民俗植物。斑葉月桃為月桃的園藝栽培種(英名：Shellflower)，株型較小，但葉片具亮麗黃色斑紋，極具觀賞價值，是很好的葉材，且植株適合當作庭園造景的種植材料或作為室內盆栽⁽²⁾。斑葉月桃可用種子繁殖，但因種子少且實生植株斑葉比率低。其與薑花^(3,5)、粉紅薑⁽⁹⁾一樣，以無性繁殖或分株法為主。

斑葉月桃利用分株法繁殖因植株高大，分蘖性差，枝葉不茂盛，無法供作小型盆栽。組織培養應用在園藝作物上除了可大量繁殖種苗外^(4,6)，其組培苗因微體化和分蘖性增加，常用於小型盆栽。本試驗的目的就是利用組織培養方式來繁殖斑葉月桃，期望能成為新興觀葉盆栽。

1.行政院農業委員會台南區農業改良場研究報告第 295 號。

2.行政院農業委員會台南區農業改良場雲林分場助理研究員、前研究員兼主任、助理研究員。雲林縣斗南鎮石溪里復興路 1-15 號

材料方法

以雲林分場種原圃中的斑葉月桃為材料，植株從地上挖起，將多餘的根剪掉，並以清水將附著在地下部的泥土沖掉，種於裝有真珠石和泥炭土混合介質的花槽內，每月定期噴施殺菌劑億力。

斑葉月桃待新葉抽出後挖出地下莖，並切取其葉片尚未展開的新芽。在實驗室內先將新芽葉片由外而內小心剝除，切取包含 4-5 片葉原體的頂芽 2 公分，先用 70-75% 的酒精浸泡 25-30 秒，再以 1% 的次氯酸鈉振盪消毒 15 分鐘，移入無菌操作台，經無菌水清洗 3 次。將消毒過的頂芽置於無菌紙上，切取其莖頂分生組織 2-3mm 植入培養基中。初代的培養基是以 MS 配方⁽¹⁴⁾為基本培養基，添加蔗糖(台糖精製細砂)30g/L、BA 2mg/L 和 NAA 0.05mg/L，培養基的 pH 值調整為 5.7±0.1，再加入 6.8g/L 的洋菜(Difco Bacto-agar)固化培養基。將配好的培養基煮沸後裝入 15cm×2.5cm 的試管，每支 10ml，用雙層鋁箔封口後，以殺菌釜 (autoclave)121 高溫蒸汽滅菌 15 分鐘。

培養室的溫度控制在 25±3，並以冷白日光燈(旭光 FL40D/38)提供光合作用光子流 (Photosynthetic Photon Flux, PPF)35±5μmol/sm²，光周期設定為明期 16 小時，暗期 8 小時。培植體每個月換一次與初代相同的培養基，每星期觀察其生長分化的情形。

待三個月後才長出較完整的芽體，然後將已長出完整葉片之植株利用分切的方式進行繼代培養。培養基配方為 MS 添加 BA 2mg/L 和 NAA 0.05mg/L，切取單芽，每瓶蘭花瓶種 6-8 株，每 1.5 個月繼代一次，以繁殖更多的芽體得以進行以下的試驗。

一、培養芽數對繁殖速率之影響

將繼代培養所增殖的斑葉月桃叢生芽，分別切取一芽、二芽或三芽為繼代用培植體，即三種處理，接種在含 MS 添加 BA 2mg/L 和 NAA 0.05mg/L 培養基的蘭花瓶，每瓶培養 3 個培植體，此試驗共四重覆，每重覆 6 瓶，培養一個月和二個月後調查所增殖的芽數。

二、BA 濃度試驗

切取斑葉月桃以二芽為一培植體，分別培養於含 MS+NAA 0.05mg/L+BA 0、1、2、4 和 8mg/L 的蘭花瓶內。每瓶種四培植體，每處理四重覆，每重覆四瓶，二個月後調查增殖的芽數。

三、除葉固體/液體培養試驗

將斑葉月桃切成單芽，把上半部葉片切掉一半，培養基為固體培養基或液體培養基，且分別添加 BA 2 或 4mg/L。每瓶種三株，每處理三重覆，每重覆 20 株，培養一個月後分別調查所增殖的芽數。

四、發根試驗

將斑葉月桃切成單芽，種在 GA-7(Magenta)容器內，每瓶種四芽，每處理三重覆，每重覆 12 株，培養基以 MS 添加 IBA 和 NAA 各 1、2 或 4mg/L，一個月後調查各處理和對照組的平均根數、根長。

五、瓶苗移出育苗介質試驗

將已發根的斑葉月桃瓶苗先移置溫室馴化 2 星期後，小心將已長根的斑葉月桃單株種植在 35 格穴盤內，介質分別為沙土、蛭石和沙土+蛭石+珍珠石+泥炭土，每處理四重覆，每

重覆 35 株，經一個月後調查成活率。

本試驗全部採用完全隨機設計(Complete Randomized Design)，試驗結果進行鄧肯氏多變域分析(Duncan's Multiple Range Test)，比較其 5% 的差異顯著性。

結 果

本試驗材料重新種植在乾淨的介質作預措處理，初代培養的污染率很低。斑葉月桃之莖頂培養在一個月後生長點逐漸長大，側芽也會開始長出，待三個月後才長成較完整的芽體，然後將每個芽體切離繼續增殖，約 1.5-2 個月可繼代一次。斑葉月桃在增殖過程皆以定芽方式繁殖，癒傷組織形成不多，且其斑葉特性在增殖過程中能保存下來。

斑葉月桃在相同培養基以不同芽數為增殖單位，培養二個月後，繁殖速率隨著培養芽數的增加而增加，以 1 芽為單位可增殖 1.44 芽，以 2 芽為單位可增殖 2.11 芽，以 3 芽為單位可增殖 3.15 芽(表 1)。BA 濃度試驗方面，斑葉月桃增殖芽數隨著 BA 濃度的增加而增加，以 BA 濃度為 8 mg/L 所增殖芽數最多有 4.61 芽，其次為 2 或 4mg/L 每芽分別可增殖 2.87 和 3.65 芽(表 2)，BA 濃度 8 mg/L 芽體雖多但芽體短縮較不正常。

斑葉月桃單芽除葉進行固體和液體培養試驗方面，在液體培養長得快且芽長得多，約一個月就需繼代一次，一個月後調查在含 BA 4 mg/L 的液體培養增加 3.07 芽最多，其次為含 BA 2 mg/L 液體培養，可增加 2.39 芽，固體培養無論 BA 濃度為 2 或 4 mg/L 其芽體最少(表 3)。芽體型態方面，固體培養芽體型態正常，而液體培養芽體長得大，水分多近似水化。

斑葉月桃發根試驗的結果，根數以 NAA 4 mg/L 7.7 條最多，而其他處理與對照組皆無顯著差異(表 4)。在根長方面，對照組根長 1 公分最長，明顯比 NAA 處理和 IBA 2 和 4 mg/L 長，但與 IBA 1 mg/L 沒有顯著差異(表 4)。斑葉月桃移出種植在含不同栽培介質的穴盤中，以純蛭石、沙土和沙土+蛭石+珍珠石+泥炭土為介質的成活率分別為 87%、66%和 65%，皆無顯著差異(表 5)。

表 1. 斑葉月桃不同培養芽數對繁殖速率之影響

Table 1. Effects of shoot number on proliferating rate of *Alpinia speciosa*.

培養芽數 shoot number	1 芽 1 shoot	2 芽 2 shoots	3 芽 3shoots
增殖芽數(一個月後) No. of shoot proliferated(after 1 month)	0.75b ^z	0.87b	1.46a
增殖芽數(二個月後) No. of shoot proliferated(after 2 month)	1.44c	2.11b	3.15a

培養基配方：MS 全量+BA 2mg/L+NAA0.05mg/L

^z:Means with the same letters in a line are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 2. Benzyladenine 濃度對斑葉月桃繁殖速率之影響

Table 2. Effects of Benzyladenine concentration on shoot proliferation of *Alpinia speciosa*.

BA 濃度 BA conc. (mg/L)	0	1	2	4	8
增殖芽數 No. of shoot proliferated	0.88d ^z	1.88c	2.87b	3.65b	4.61a

^z: Means with the same letters in a line are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 3. 斑葉月桃固體/液體培養及 BA 濃度對其芽體增殖的影響

Table 3. Effects of medium phase and Benzyladenine concentration on shoot proliferation of *Alpinia speciosa* subculture

培養基相態 Medium phase	固 體 Solid		液 體 Liquid	
BA 濃度 BA conc. (mg/L)	2	4	2	4
增殖芽數 No. of shoot proliferated	1.37c ^z	1.43c	2.39b	3.07a

^z: Means with the same letters in a line are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. NAA 和 IBA 對斑葉月桃發根之影響

Table 4. Effects of NAA and IBA on the rooting of *Alpinia speciosa*.

生長素(mg/L) Auxin	0	NAA				IBA	
		1	2	4	1	2	4
根數 No. of root	1.64b ^z	2.03b	2.78b	7.70a	1.67b	1.79b	2.68b
平均根長(cm) Length of root	1.00a	0.58c	0.60bc	0.71bc	0.82ab	0.71bc	0.54c

^z: Means with the same letters in a line are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 5. 不同栽培介質對斑葉月桃瓶苗移出成活率之影響

Table 5. Effects of culture medium on shoots acclimation of *Alpinia speciosa*

介質 medium	沙土 sand	蛭石 vermiculite	混合 mixes
成活率(%) survival rate	66.2a ^z	86.9a	64.6a

^z: Means with the same letters in a line are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

討 論

初代培養材料若有經前處理可增加培養成功的機會⁽¹⁰⁾，斑葉月桃和其他的薑科植物一樣皆可在瓶內利用莖頂培養並以定芽方式來增殖^(3,5,9)，本試驗斑葉月桃在相同培養基以不同芽數為增殖單位，培養二個月後，繁殖速率隨著培養芽數的增加而增加，但增殖分切時因生長點皆在基部，故要切單芽不容易，常切不到生長點，建議以2或3芽為增殖單位較佳。

植物組織培養常用 auxin 和 cytokinin 兩者混合使用以控制增殖體的分化方向^(7,15)，較高濃的 cytokinin 可誘導增殖體產不定芽^(8,13,16)，其中以 BA 促進側芽或不定芽的效果最好^(12,16,17)，但若 BA 濃度太高，則會有芽體短小畸形不正常的發育^(8,11)。本試驗斑葉月桃增殖芽數隨著 BA 濃度的增加而增加，雖然 BA 8 mg/L 所增殖的芽數最多，但芽體叢生且短，不利將來分切且白化苗多，而 BA 2 或 4 mg/L 芽體比對照組多且型態正常，故斑葉月桃繼代培養較佳的 BA 濃度為 2-4 mg/L。此結果與薑花⁽⁵⁾一樣，BA 濃度在 4 mg/L 以內最佳，而 BA 濃度 8 mg/L 反而造成分蘖芽減少、芽體小，但無畸形芽體產生，此點和本試驗斑葉月桃不同。

一般液體培養比固體培養長得快，粉紅薑⁽⁹⁾ (*Alpinia purpurata*(Veill.)K.Schum.)初代培養液體培養比固體培養快，許氏等(1991)認為薑花⁽⁵⁾ (*Zingiber zerumbet* Smith.)繼代培養四星期後液體培養可由 1 芽繁殖 3.21 芽，而固體培養繁殖 2.42 芽，但四星期後液體培養芽體增加呈停滯現象，而固體培養仍呈緩慢增加，建議薑花液體培養需一個月繼代一次。本試驗斑葉月桃在液體培養長得快，約一個月就需繼代一次，在含 BA 4 mg/L 培養基可增加 3.07 芽。而在固體培養長得慢，尤其去掉葉片後在含 BA 4 mg/L 固體培養只增加 1.43 芽。斑葉月桃液體培養芽體長得大且快速，但近似水化，建議不要連續液體培養二次。

斑葉月桃發根試驗的結果，以 NAA 4 mg/L 根數最多，且根不長，只有 0.76 公分最適合移植。斑葉月桃移出種植在含不同栽培介質的穴盤，成活率都沒有顯著差異，影響成活率主要因素可能是組培苗是否強壯或型態正常，白化苗、未長根苗或較水化的苗成活率都不高。

植物的斑葉發生，主要是突變造成的，斑葉植株由植物組織培養的方式繁殖，若經誘導其頂芽或側芽之生長或增殖的途徑，仍會維持斑葉的嵌合體(chimera)，若繁殖的途徑經產生癒傷組織、不定芽或體胚發生而繁殖植株，則常不能維持斑葉形式^(1,15)。本試驗斑葉月桃在瓶外其斑葉就很穩定，而在瓶內初代和繼代培養的過程中皆以定芽繁殖，所有瓶苗移出瓶外種植都具斑葉，故斑葉月桃可依此方法大量繁殖，並使植株縮小、分蘖性增加，成為小型觀葉盆栽的新選擇。

引用文獻

1. 沈再木 郭濶如 1993 觀葉植物之選育 觀葉植物產業及生產技術研討會專刊 p.145-157.
2. 呂秋菊 1985 觀葉植物的應用 台灣花藝月刊 4:23-27.
3. 黃柄龍 2001 蝴蝶薑之組織培養 高雄區農業專訊 第 30 期 p.22-23
4. 馬溯軒等著 1992 園藝作物組織培養實用技術 豐年社。

5. 許家言 葉常青 蔡新聲 1991 薑花組織培養之大量繁殖 中華農業研究 40(2):171~177.
6. 陳威成 蔡新聲 1997 植物組織培養大量繁殖技術(上) 中華盆花(11):3~6.
7. 陳威成 蔡新聲 1997 植物組織培養大量繁殖技術(下) 中華盆花(12):8~11.
8. Bennett, L. K. and F. T. Daves. 1986 In vitro propagation of *Quercus shumardii* seedling. HortScience 21(4):1045-1047.
9. Brian K. W. and R. A. Criley 1993 Clonal propagation of Pink Ginger in vitro. HortScience.28: 1203
10. Debergh, P. C. and L. J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Scientia Hort.,14:335-345.
11. 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.
12. Lin, L. and D. W. Burger. 1986 In vitro propagation of Easter Lily from pedicels. HortScience 21(2):298-299.
13. Mudge, K. W. 1986 Micropropagation of Mugo pine from embryonic and seedling explants. HortScience 21(2):298-299.
14. Murashige, T. and F. Skoog. 1962 A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.
15. Pierik, R. L. M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
16. Stapfer, R. E. and C.W. Heuser. 1986 Rapid multiplication of *Heuchera sanguinea* Engelm."Rosamundi" propagated in vitro HortScience 21(4):1043-1044.
17. Sugiura, A., R. Tao, H. Murayama and T. Tomana. 1986 In vitro propagation of Japanese persimmon. HortScience 21(5):1205-1207.

The Micropropagation of Shellflower (*Alpinia speciosa* K. Schum)¹

Chen, C. J., S. Y. Hsieh, and W. J. Hu²

Summary

The shoots of *Alpinia speciosa* K. Schum were induced successfully from the shoot tips cultured on MS medium containing BA 2mg/L and NAA 0.05mg/L. Each explant including two or three buds was suggested to subculture for multiplication. Every 1.5 months each explant proliferated 3 times when the medium containing BA 2 or 4 mg/L. The explants cultured in liquid grow bigger and faster than on solid medium.

The NAA 4 mg/L treatment has the highest root number 7.34, with the root length of 0.76cm that is suitable for transplant and all the offspring remain their variegated characters.

Key word : *Alpinia speciosa.*, micropropagation, chimera

Accepted for publication : 20 October, 2003.

1. Contribution No.295 from Tainan District Agricultural Improvement Station, Council of Agriculture.

2. Assistant Researcher, former Agronomist and Head and Assistant Researcher, respectively, Yulin Branch of Tainan, DAR & E, 1-15, Fushing Road, Tounan, Yulin, Taiwan, R. O. C.