

氮肥型態對楊桃葉片及果實草酸含量之影響

林榕華¹⁾ 林佳樺²⁾ 林慧玲³⁾ 謝慶昌⁴⁾

關鍵字：'馬來種'楊桃、有機酸、銨態氮、硝酸態氮、乙醇酸氧化酶

摘要：楊桃果實含高量草酸，腎臟病患者攝食後，可能產生腎衰竭甚至死亡，經媒體報導後，消費者喪失購買意願，造成楊桃產業危機。不同施肥模式可降低楊桃果實中之可溶性草酸，本實驗以盆栽'馬來種'楊桃為材料，於生長期間施用五種不同型態氮肥，評估其對降低葉片及果實草酸含量之效果。結果顯示，不同型態氮肥對楊桃葉片之有機酸與總氮含量皆無顯著影響。混合施用硝酸態氮與銨態氮之處理組，其幼果草酸濃度較單一氮源施用組別為低，草酸生成相關酵素乙醇酸氧化酶活性亦降低。草酸濃度隨果實成長而呈下降趨勢，其中成熟果草酸以銨態氮:硝酸態氮=1:1之處理最低。銨態氮與硝酸態氮混合施用處理組亦有降低幼果總氮含量之情形。

前 言

楊桃(*Averrhoa carambola* L.)為酢醬草科五欵子屬植物，台灣本地種植已有近百年之歷史，其周年供果期可達八個月，果實貯藏壽命長達 42 日以上(楊和王，1994)且外型特殊受人喜愛，深具外銷潛力，為廣受歡迎的水果之一(王，1991)。楊桃含高量草酸(oxalic acid)，腎臟病患不當攝食後，易產生草酸鈣(calcium oxalate)腎結石、甚至引起急性腎衰竭之可能性(Chang *et al.*, 2002; Neto *et al.*, 2003; Shen *et al.*, 2005)。動物實驗亦證明以楊桃汁餵飼大鼠可能影響腎臟過濾功能(Fang *et al.*, 2008)，經媒體多次報導後，消費者對食用楊桃之安全性產生疑慮，進而拒絕購買楊桃及其製品，使楊桃產業蒙受損失。

隨植物體內中乙醇酸氧化酶(glycolate oxidase)的發現和光呼吸途徑的闡明，證明草酸可經由與光合作用相聯繫的光呼吸途徑產生。但以同位素標定得知，光合碳途徑並非草酸

-
- 1) 國立中興大學生物科技發展中心副研究員。
 - 2) 國立中興大學園藝學系研究生。
 - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。
 - 4) 國立中興大學園藝學系副教授。

合成的唯一途徑(彭和李, 1992)。草酸的累積與許多碳水化合物代謝亦有關, 可經由TCA循環、乙醇酸(glycolate)代謝與丙酮酸循環的中間產物產生, 異檸檬酸(erythorbic acid)、乙醛酸(glyoxylate)與草醯乙酸(oxaloacetate)皆可作為草酸代謝之前驅物(Yang and Loewus, 1975)。葡萄糖與果糖可利用己糖磷酸異構酶(hexose phosphate isomerase)互相轉換, 後續代謝為抗壞血酸(Wheeler *et al.*, 1998), 以碳 14 標定抗壞血酸的第一個碳得知其會轉換為草酸(Nuss and Loewus, 1978)。植物體內草酸代謝的路徑與催化機制尚未完全明瞭, 在單子葉植物中已發現草酸氧化酶(oxalate oxidase)可降解草酸(Lane, 2000), 但雙子葉植物則尚未有相關研究出現。

許多文獻報導以肥培管理可降低作物植株內草酸累積量。在植物中大部分的草酸都以草酸鈣的形式存在。盆植大豆生長期間施用鈣肥並不影響大豆種子草酸的累積, 鈣並非控制草酸累積的主要因子(Streeter, 2005)。利用養液栽培四葉期的水稻植株, 供應總氮含量皆相同, 以銨態氮肥供給的處理組, 在各部位的草酸累積皆有所降低, 該組果糖、蔗糖和總可溶性糖累積量顯著較高(Ji and Peng, 2005)。以菠菜作為模式植物進行養液栽培, 總氮肥施用量維持 8 mM時, 供給硝酸態氮/銨態氮的比例在 75/25 和 50/50 的情形下, 菠菜生長情形最佳。葉片與芽的草酸累積量皆隨供給的銨態氮量增加而有顯著下降的趨勢, 但葉柄的草酸鹽含量在硝酸態氮/銨態氮在 50/50 時達到最低。縱觀結果來看, 總氮供應量 8 mM時, 而硝酸態氮/銨態氮比例在 75/25 與 50/50 的混合供應情形下植株生長情形較佳, 也比單一供給硝酸態氮時累積草酸的量更少(Zhang *et al.*, 2005)。銨態氮肥的施用對降低作物草酸累積量有顯著效果, 但各作物的利用率有所差異。本研究之目的為探討施用不同的氮肥型態與比例之肥培管理對降低楊桃草酸之效果。

材料與方法

一、試驗材料與取樣：

以國立嘉義大學校內種植之盆植'馬來種'楊桃為試驗材料, 生長期間分別施用 5 種不同型態之等量氮肥, 各處理組 4 重複, 每週施用 1 次, 連續 8 週, 每株施用總氮量皆為 20g。採集未成熟之幼果與已轉色之成熟果, 葉片則採集成熟葉, 每處理組 4 重複。樣品採集後帶回國立中興大學實驗室, 立即以液態氮固定, 儲存在-20°C 進行後續分析測定。各處理組施用之氮肥種類與營養成分比例如表 1 所示。

二、調查項目與分析方法：

1. 有機酸含量分析：

稱取液態氮固定之葉片或果實樣品 1 g 加上 10 ml 純水, 冰浴均質後以 20,000 xg、4°C 離心 10 分鐘, 取上清液以 0.45 μ m 尼龍濾膜(Millipore Co. U.S.A.)過濾去除大分子, 濾液稀釋至適當濃度以HPLC測定有機酸含量。標準品為 0.1% 草酸、0.1% 酒石酸、0.1% 蘋果酸、

表 1. 各處理組施用之氮肥種類與營養成分比例

Table 1. Nitrogen forms fertilizers and proportion of various nutritional compounds in different treatments.

Treatment	Fertilizer	Components	Amount (g/tree)
A	$(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$	N=10% P=50% TN#=15.4%	200
B	$\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 10:1^*$	$\text{NH}_4^+ = 14.1\%$ $\text{NO}_3^- = 1.3\%$ B=0.3% TN=27%	130
C	$\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 1:1^{**}$	$\text{NH}_4^+ = 13.5\%$ $\text{NO}_3^- = 13.5\%$ Ca=12%	74
D	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	N=21%	95
E	Urea	N=46%	44

*使用Yara硝酸銨鈣。Application of Yara's calcium ammonium nitrate.

**使用BASF硝酸銨鈣。Application of BASF's calcium ammonium nitrate.

#總氮含量。Total nitrogen content.

0.01%抗壞血酸與 0.1%檸檬酸混合液，以積分儀紀錄標準品之停滯時間與積分面積，藉此標準品定量換算樣品有機酸成分與濃度。

HPLC設備與條件如下：

- (1). Pump：Hitachi pump L-7100。
- (2). 檢出器：Hitachi UV Detector L-7400。
- (3). 積分儀：Hitachi D-2000 Chromato Integrator。
- (4). 分離管柱：Mightysil RP-18 GP 250-4.6, 5 μm (Cica reagent, Japan)。
- (5). 移動相：2% KH_2PO_4 pH2.4，流速 0.8 ml/min。
- (6). 溫度：室溫 25°C。

2. 總氮含量測定：

葉片樣品經自來水、1%鹽酸與去離子水快速沖洗三次後，置於 100°C烘箱殺菁一小時，再以 70°C烘至完全乾燥，以磨粉機磨碎均質後保存於乾燥環境中待測。果實樣品經液態氮固定後，以冷凍乾燥機乾燥，於研鉢內以液態氮研磨均質後保存於-20°C待測。

氮元素測定以micro-Kjeldahl法。精秤 0.2 g 乾燥磨粉樣品並以Whatman#1 濾紙包裹置入分解管底部，加入 1 g 凱氏氮催化劑(Merck 8030)與 4.5 ml濃硫酸，置於分解爐 400°C加熱 2.5~3 小時，加熱期間將分解管轉動 2-3 次，避免殘留於分解管管壁上，當樣品分解至澄清或呈淡綠色時取出，冷卻至室溫後加入 15 ml 純水。倒入micro-Kjeldahl裝置中，加入 20 ml之 12 N NaOH，以 20 ml 2% 硼酸指示劑(含 19 μ M bromocresol green與 25 μ M methyl red)收集蒸餾出的氨水至體積為 50 ml為止，以 1/14N H₂SO₄滴定，計算含氮之百分比。

3. 銨態氮(NH₄⁺)含量測定：

精秤上述前處理之 0.5 g 乾燥磨粉葉片與果實樣品，加 5ml 0.1M磷酸緩衝液(pH 7.0)冰浴研磨，於 2°C、20,000 xg 離心 10 分鐘，過濾取上層液作後續分析。

取上述萃取液 1 ml 加入 1ml 20% TCA (Trichloro-acetic acid)於室溫下 20,000 xg 離心 10 分鐘，取上層液 0.5 ml 加入 0.5 ml Nessler's Reagent (Merck A:B = 1:1 v/v)，定量至 10 ml 靜置 20 分鐘，以分光光度計(Hitachi U-2000)測定 420 nm下之吸收值。標準曲線以 (NH₄)₂SO₄配置含氮量 10 ppm，單位以 ppm表示。

4. 硝酸態氮(NO₃⁻)含量測定：

樣品製備如 1.所述，濾液稀釋至適當濃度後過濾以EC Detector測定。標準品以F - 10 ppm、Cl - 10 ppm、NO₂ - 40 ppm、Br - 100 ppm、NO₃ - 100 ppm與SO₂- 10 ppm混合而成。

EC detector設備與條件如下：

- (1). Pump：Hitachi pump L-7100。
- (2). 檢出器：Shodex CD-5。
- (3). 積分儀：Hitachi D-2000 Chromato Integrator。
- (4). 分離管柱：IC-I524A。
- (5). 移動相：2.5 mM phthalic acid (pH 4.0)，流速 1.5 ml/min。
- (6). 溫度：oven 40°C，cell 45°C。

5. 碳水化合物含量分析：

精秤 2.所述前處理之 0.1 g 乾燥磨粉葉片與果實乾燥磨粉樣品，加入 10 ml 純水，置於 30°C水浴中震盪 3 小時，取出於室溫下 1,000 xg 離心 10 分鐘，過濾後取上層液測定總可溶性糖含量，殘渣置於 70°C烘箱烘乾，完全乾燥後取出測定澱粉含量。

(1) 總可溶性糖含量測定

上述過濾液稀釋至適當倍數後，取 2 ml稀釋液加入 0.1 ml liquid phenol與 6 ml濃硫酸混合均勻，靜置 30 分鐘後以分光光度計(spectrophotometer, Shimadzu UV-200S)測定波長 490nm下的吸收值。標準曲線以 0.5 μ mole/ml glucose配置，單位換算為%。

(2) 澱粉含量測定

上述烘乾之殘渣加入 2 ml 純水放入沸水中煮 15 分鐘，取出後迅速放入冷水中冷卻，加入 2 ml 9.2N HClO₄震盪 15 分鐘，加入 6 ml純水後於室溫下 1,000 xg離心 10 分鐘，過濾

後取上層液 0.1 ml 加入 1.9 ml 與 0.1 ml liquid phenol，迅速加入 6 ml 濃硫酸混合均勻，靜置 30 分鐘後以分光光度計(Shimadzu UV-200S)測定波長 490 nm 下的吸收值。標準曲線以 0.5 μ mole/ml glucose 配置，單位換算為%。

6. 乙醇酸氧化酶(Glycolate oxidase)含量測定：

秤取新鮮楊桃葉片或果實樣本 3 g，加入 3 ml 0.01 M 2-mercapto ethanol 與 9 ml 2 M Tris-HCl (pH9.0)，以研鉢冰浴研磨均質，於 4°C 下以 15,000 rpm 離心 5 分鐘後得上清液為酵素粗萃取液。取酵素粗萃取液 1.5 ml 加上 3 ml 200 μ M Tris-HCl (pH 8.0) 與 1.5 ml 400 μ M glycolic acid，密封管口震盪均勻後於 37°C 水浴反應 60 分鐘。水浴後立即冰浴以中止反應，酵素液經 0.45 μ m 尼龍濾膜(Millipore Co. U.S.A.)過濾去除大分子，以 HPLC 測定反應前後之草酸含量差異，計算得乙醇酸氧化酶活性。HPLC 條件與標準品配製與 1. 同。

三、統計分析

將試驗之結果使用 Costat 軟體(Cohort software, Minneapolis, MN)計算平均值，並利用 ANOVA 進行變方分析(analysis of variance)及鄧肯氏多變域檢定(Duncan's multiple range test)比較各處理間差異顯著性。

結 果

盆植馬來種楊桃經五種不同型態氮肥施用，葉片的有機酸含量顯示於表 2，其中草酸、蘋果酸含量在各處理組間無顯著差異，施用硫酸銨之組別則無測得蘋果酸，另施用 Yara 硝酸銨鈣之處理組抗壞血酸含量高於其他組(表 2)。葉片各處理組之總氮含量並無顯著差異，銨態氮含量於施用磷酸銨處理組較高、施用硫酸銨處理組較低。施用含有硝酸態氮之 Yara 硝酸銨鈣與 BASF 硝酸銨鈣組別，其硝酸根含量皆顯著高於他組。葉片碳水化合物含量變化顯示，五處理組間的總可溶性糖與澱粉含量皆無顯著差異(表 3)。測定葉片與草酸生成相關之乙醇酸氧化酶活性(表 4)，各處理組間無顯著差異，與葉片草酸含量趨勢相同。

施用不同型態氮肥對楊桃果實草酸含量之影響如圖 1A 所示，施用含有硝酸態氮之 Yara 硝酸銨鈣與 BASF 硝酸銨鈣組別果實草酸含量皆顯著低於他組(圖 1A)；蘋果酸含量於幼果期累積量亦較低(圖 1B)。總可溶性糖含量方面(圖 2A)，於不同成長階段，施用含有硝酸態氮之 Yara 硝酸銨鈣與 BASF 硝酸銨鈣組別累積量高於其他組別，特別是幼果期累積量顯著較高。各處理組不同階段果實澱粉含量(圖 2B)，隨成熟度增加澱粉含量有下降之趨勢。施用含有硝酸態氮之 Yara 硝酸銨鈣與 BASF 硝酸銨鈣有降低總氮含量之效果，此趨勢在幼果期特別明(圖 3A)；但對果實銨態氮累積量無顯著影響(圖 3B)。氮肥型態對不同生長階段果實與草酸生成相關之乙醇酸氧化酶活性影響(圖 4)，施用含有硝酸態氮之 Yara 硝酸銨鈣與 BASF 硝酸銨鈣組別果實乙醇酸氧化酶活性較他組低，活性較低與草酸含量較低有雷同之處。

歸納結果，於'馬來種'楊桃生長期間施用含有硝酸態氮之Yara硝酸銨鈣與BASF硝酸銨鈣，確實可降低楊桃果實的草酸累積量，尤其以幼果期最為明顯。除了降低草酸累積量與相關酵素乙醇酸氧化酶活性外，混合施用硝酸態與銨態氮肥亦可增加楊桃果實可溶性糖的累積。由肥培管理降低楊桃草酸累積量有其效果，未來可針對硝酸態氮與銨態氮肥混合施用之適當比例進行研究。

表 2. 不同氮肥型態對'馬來種'楊桃葉片氮含量及有機酸含量之影響

Table 2. Effects of nitrogen form on the nitrogen and organic acid contents in leaf of 'Malaysia' carambola.

Treatment	N (%)	NH ₄ ⁺ -N (%)	NO ₃ ⁻ -N (μmole/DWg)	Oxalic Acid (%)	Malic Acid (%)	Ascorbate Acid (%)
(NH ₄) ₂ PO ₄	2.75a ^z	0.21a	14.96bc	1.15a	0.79a	0.13b
NH ₄ ⁺ :NO ₃ ⁻ =10:1	2.60a	0.16ab	37.47a	0.95a	1.01a	0.21a
NH ₄ ⁺ :NO ₃ ⁻ =1:1	2.48a	0.19ab	24.29b	1.03a	0.70a	0.13b
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.85a	0.15b	8.32c	0.93a	ND ^y	0.14b
Urea	2.54a	0.16ab	9.54c	1.09a	0.82a	0.11b

^z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

^y ND = not detected

表 3. 不同氮肥型態對'馬來種'楊桃葉片碳水化合物含量之影響

Table 3. Effects of nitrogen form on the carbohydrates contents in leaf of 'Malaysia' carambola.

Treatment	Total soluble sugar (%)	Starch (%)
(NH ₄) ₂ PO ₄	11.265a ^z	8.226a
NH ₄ ⁺ :NO ₃ ⁻ =10:1	13.006a	6.814a
NH ₄ ⁺ :NO ₃ ⁻ =1:1	12.691a	6.935a
(NH ₄) ₂ SO ₄	12.155a	7.414a
Urea	11.318a	8.390a

^z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. 不同氮肥型態對'馬來種'楊桃葉片乙醇酸氧化酶活性之影響

Table 4. Effects of nitrogen form on the glycolate oxidase activity in leaf of 'Malaysia' carambola.

Treatment	Oxalic acid production ($\mu\text{mole}/\text{min} \cdot \text{gFW}$)
$(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$	0.0552a ^z
$\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 10:1$	0.0924a
$\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 1:1$	0.0204a
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.1767a
Urea	0.0780a

^z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

討 論

除了低草酸品種的育種外，試圖改變肥料施用以降低楊桃的草酸累積量為本研究之目標，許多文獻指出施用硝酸態氮會導致草酸的累積，水稻作物尤為顯著(Ji and Peng, 2005)。供給不同型態氮肥影響草酸累積的可能因素：(1)因硝酸還原反應使pH值上升，成為引發有機酸代謝(包括草酸在內)加速的訊號，以達維持細胞間酸鹼平衡的目的(Raven and Smith, 1976)。但另有報告指出，供給氮肥並不顯著影響細胞間的pH值(Blingy *et al.*, 1997)，後續研究更指出，硝酸鹽本身即為引發有機酸代謝的訊號，並非其代謝衍生物或pH值改變(Scheible *et al.*, 1997)，故此理論難以成立；(2)環境中的銨態氮對很多植物來說是有毒性的，因銨態氮毒害破壞植株中代謝而抑制草酸累積(Britto *et al.*, 2001)，但此因素可被排除，因為水稻是偏好利用銨態氮的植物，通常不會有銨態氮毒害的問題(Magalhaes and Huber, 1991; Britto *et al.*, 2001)。影響草酸代謝、調控草酸累積的關鍵步驟，受到矚目的焦點，到底硝酸根或其相關代謝產物在調控草酸累積扮演什麼角色依然是難以釐清的。

Dijkshoorn(1962)文獻中指出，植物培養液中提供硝酸根離子，因硝酸根同化作用提高，陰離子價數會增加，植物體內有機陰離子累積，OH⁻會流至養液中而導致過多的陰離子遠超過陽離子的吸收。Kirkby和Knight(1977)以水耕液供給番茄不同比例的硝酸態氮，增加硝酸態氮養分會累積有機陰離子，尤以蘋果酸最為顯著；有機陰離子的累積伴隨著陽離子(鉀、鈣、鎂、鈉)的增加；而陰離子(硝酸根、硫酸根、磷酸根、氯)濃度相對穩定。增加番茄的硝酸態氮養分有助於植株吸收與轉運陽離子養分，因地上部為硝酸根離子還原的主要部位(Kirkby and Knight, 1977)。本實驗結果與前述番茄建立的模式並不相符，不同氮肥處理組的葉片氮含量、氮根、硝酸根濃度(表 2) 變化趨勢與草酸和蘋果酸的累積無顯

著相關性，故無法利用硝酸還原作用解釋施用硝酸態氮肥對促進楊桃草酸累積之作用。

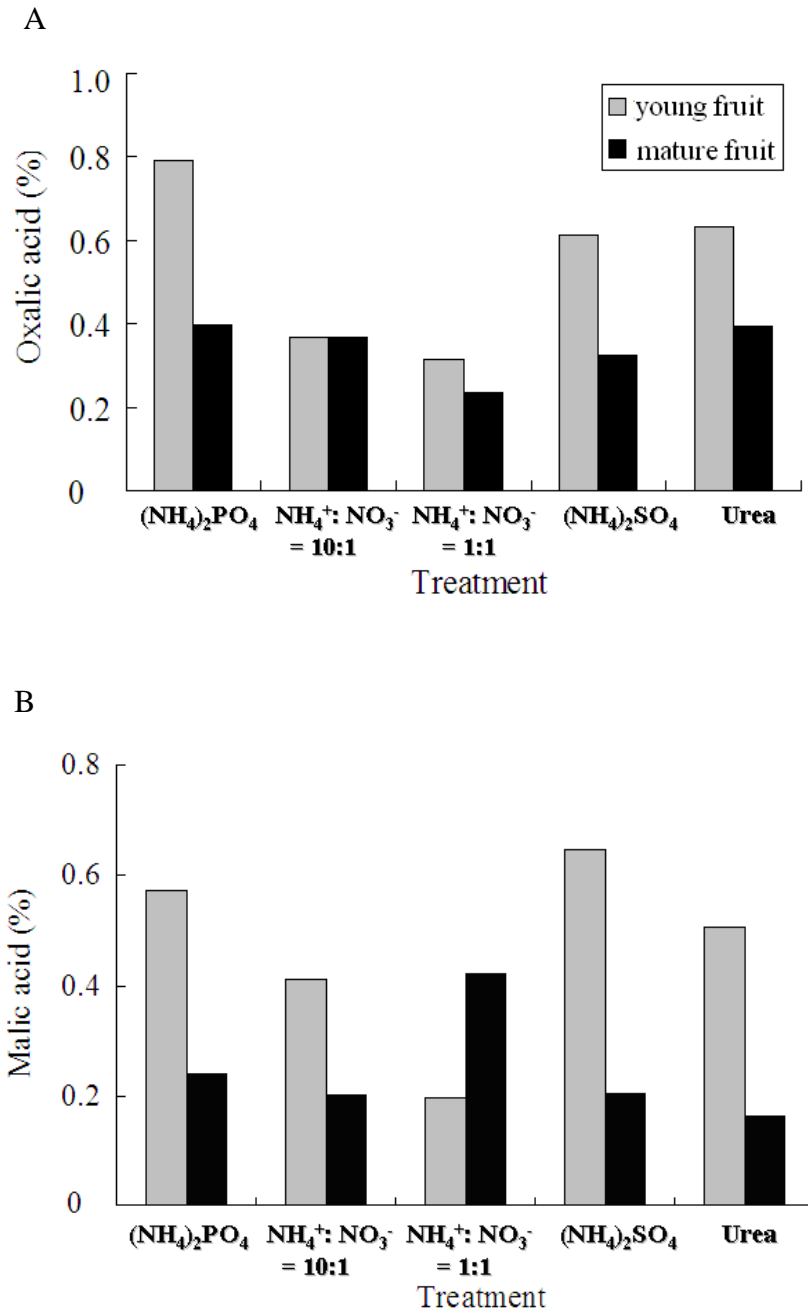


圖 1. 不同氮肥型對'馬來種'楊桃果實有機酸含量之影響。A. 草酸含量；B. 蘋果酸含量
Fig. 1. Effects of nitrogen form on the content of organic acids in fruit of 'Malaysia' carambola.
A. the content of oxalic acid; B. the content of malic acid.

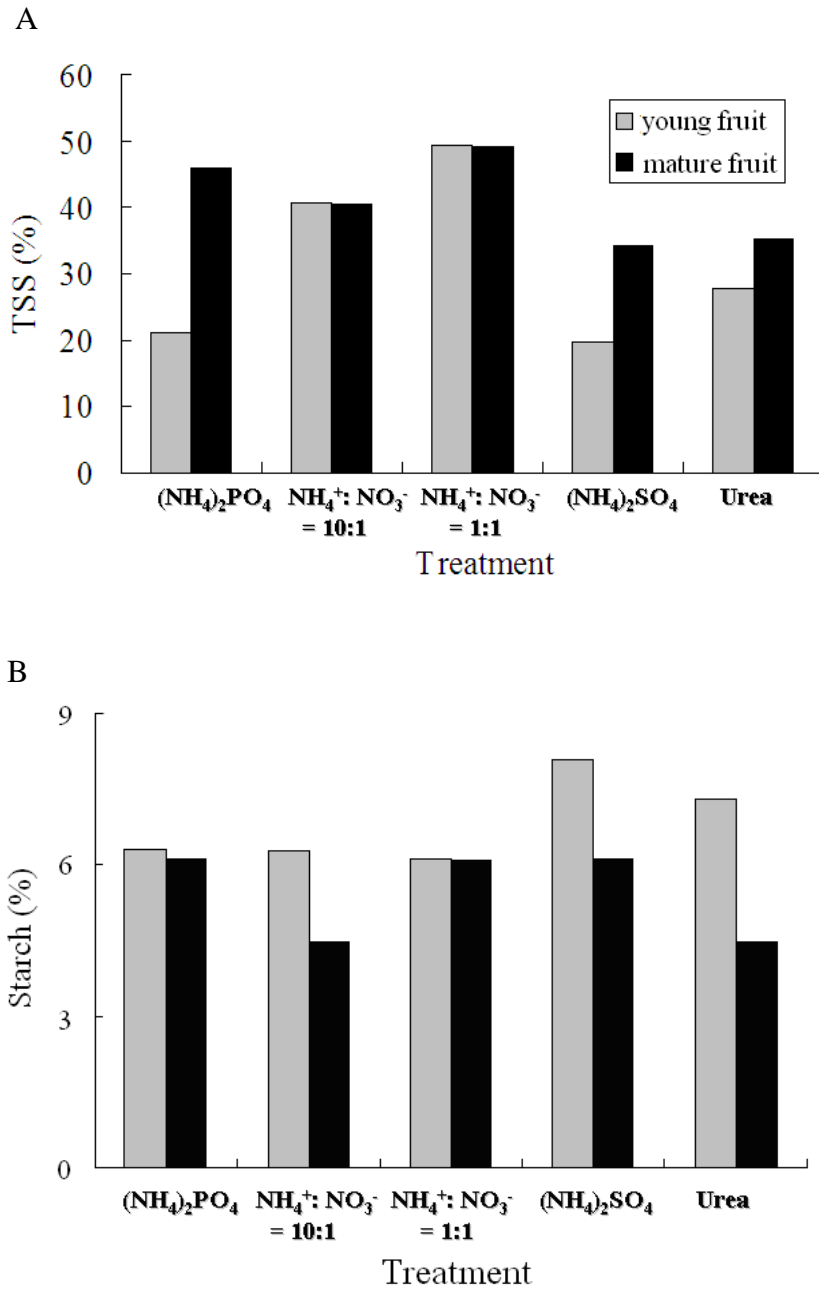


圖 2. 不同氮肥型對'馬來種'楊桃果實碳水化合物含量之影響。A. 總可溶糖含量；B. 澱粉含量

Fig. 2. Effects of nitrogen form on the content of nitrogen in fruit of 'Malaysia' carambola. A. the content of total soluble sugar; B. the content of starch.

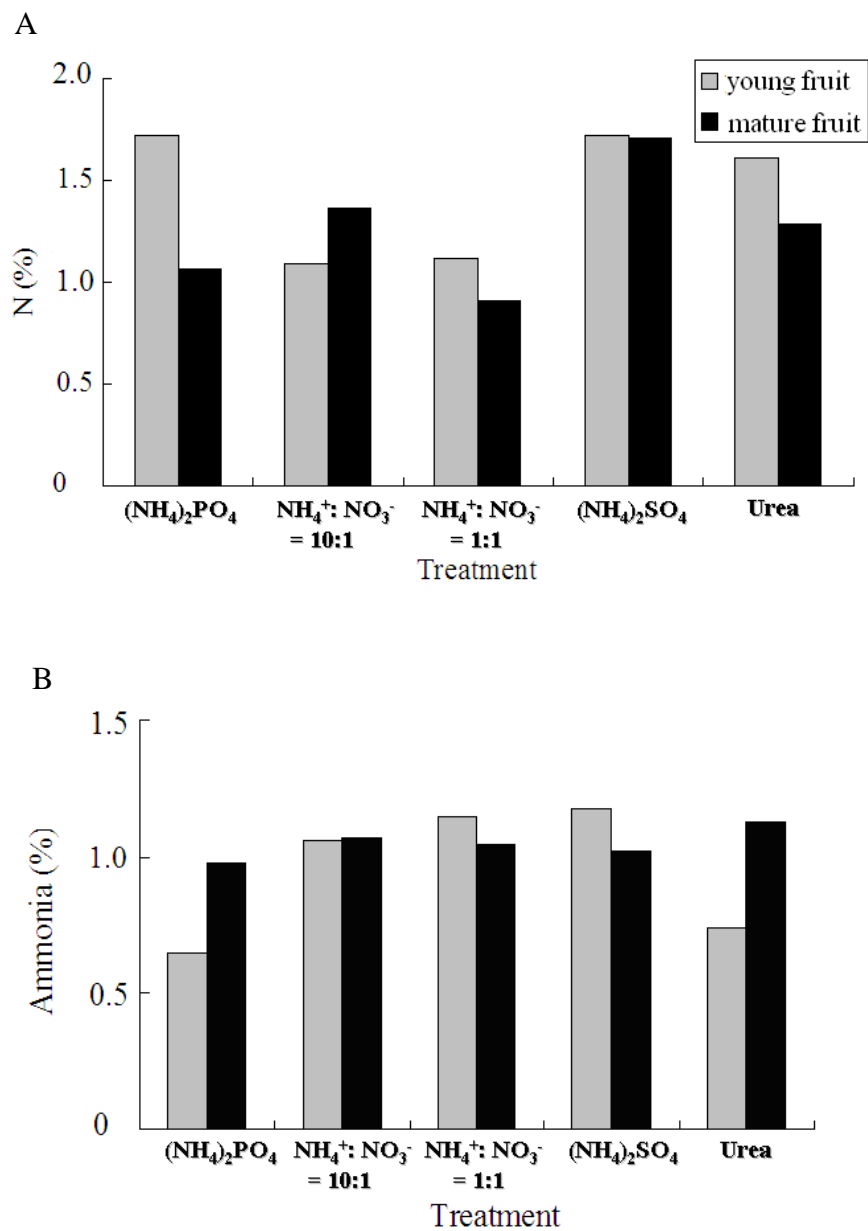


圖 3. 不同氮肥型對'馬來種'楊桃果實氮含量之影響。A. 總氮含量；B. 銨態氮含量
Fig. 3. Effects of nitrogen form on the content of nitrogen in fruit of 'Malaysia' carambola. A. the content of total nitrogen; B. the content of ammonia-form nitrogen

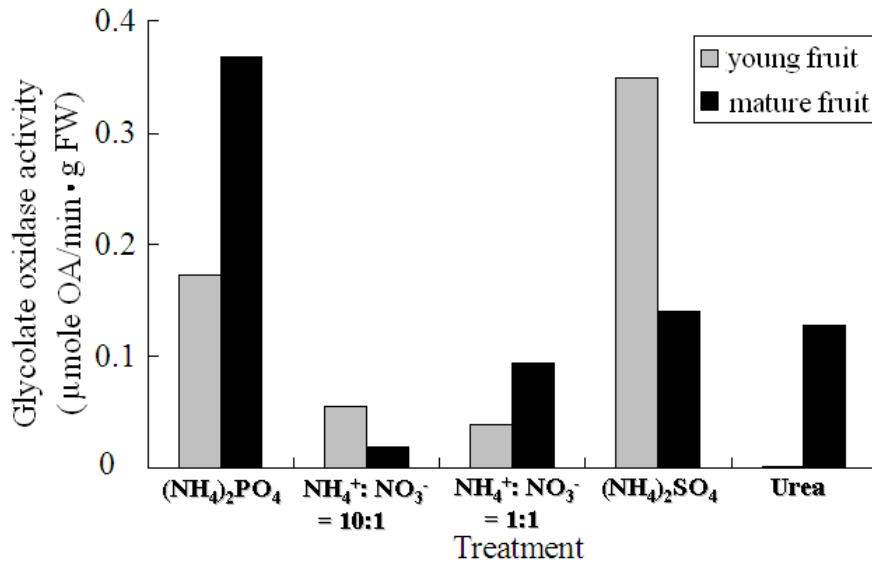


圖 4. 不同氮肥型對'馬來種'楊桃果實乙醇酸氧化酶活性之影響

Fig. 4. Effects of nitrogen form on the total glycolate oxidase activity in fruit of 'Malaysia' carambola. OA= oxalic acid.

不同植物葉綠體對碳與氮利用的比率有所差異，連帶影響葉肉細胞內產生有機酸的效率(Scheible *et al.*, 1997)。利用具低硝酸還原酶活性的菸草突變株來探討受硝酸態氮調控的碳氮利用交互關係，可排除受硝酸鹽同化作用速度或下游代謝產物的影響因子，結果顯示硝酸態氮可作為引發碳氮代謝的訊號，可累積較高的有機酸，如檸檬酸、蘋果酸， α -酮戊二酸，並抑制澱粉的累積量(Scheible *et al.*, 1997)。另外，供給適當比例的銨態氮，亦可減少菠菜與水稻植株的草酸累積量(Ji and Peng, 2005; Zhang *et al.*, 2005)。但本次實驗中，不同形態氮肥處理對'馬來種'楊桃的葉片有機酸量(表 3)未產生顯著影響，供給含有硝酸態氮的組別果實草酸含量有顯著降低的效果(圖 1A)，此結果與前人研究中，銨態氮肥供應可降低有機酸累積量有所出入。乙醇酸氧化酶(glycolate oxidase)與抗壞血酸氧化酶(ascorbate oxidase)兩個與草酸生合成相關的酵素，其活性會隨著楊桃葉與果實不同成熟階段有改變(Kaneta *et al.*, 2004)，本實驗中不同肥培處理並不會影響楊桃葉片乙醇酸氧化酶的活性(表 4)，但混合硝酸態氮則會降低果實乙醇酸氧化酶的活性，無論幼果或成熟果皆然，幼果效果尤為顯著(圖 4)。楊桃是否為喜好利用硝酸態氮肥的作物、其容忍濃度範圍如何，以及供給硝酸態氮為何可降低楊桃果實之草酸累積量，仍應進行後續研究。

TCA為植物製造能量的重要循環，銨根離子的存在可抑制粒線體中丙酮酸去氫酶複合體(pyruvate dehydrogenase complex)的作用，此酵素可開啟TCA循環。測定光合作用與呼吸

率等，可觀察銨態氮肥的施用是否會影響植物能量轉換的過程。施用硝酸態與銨態氮肥對於稻米的光合作用率並無影響，光合作用的產物葡萄糖累積也無顯著差異，但施用硝酸態氮的果糖、蔗糖，總可溶性糖含量比施用銨態氮低(Ji and Peng, 2005)。本次實驗中，因各肥料對水的溶解性不同而有差異，硫酸銨對水的溶解性較佳，故處理組之果實總氮含量與銨態氮含量都為 5 處理組中最高(圖 3)。供給硝酸態氮肥組別的楊桃果實，除了有機酸累積量下降外，總可溶性糖的累積量皆有顯著增加(圖 2A)，和上述前人研究不同。不同型態氮肥施用為何影響楊桃果實內草酸與糖類累積，還需要進一步探討。

有效降低楊桃果實之草酸累積量，可降低食用楊桃對腎臟病患者健康的負擔，加強社會大眾購買楊桃之信心，避免楊桃產業損失。於楊桃植株生長期間混合施用硝酸態氮與銨態氮，找出最適當的施用比例將果實內草酸累積量降到最低，同時達到促進生長的最大效益，仍有值得深入研究之處。針對不同品種的楊桃進行試驗，探討混合不同型態氮肥降低草酸累積量之差異性，以期建立降低楊桃果實草酸累積量之肥培管理模式，針對此點進行研究與推廣，不但能增加消費者食用楊桃之安全性，亦可促進楊桃產業發展，期可創造雙贏之局面。

參 考 文 獻

- 王武彰。1991。楊桃「臺農一號」之育成。中華農業研究 40: 396-406。
- 彭新湘、李明啟。1992。植物中的草酸及其代謝。植物生理學通訊 28(2): 93-96。
- 楊淑惠、王武彰。1994。秤錘種楊桃的貯藏品質。中華農業研究 42: 387-395。
- Blingy, R., E. Gout, U. Heber, D. Walker, and R. Douce. 1997. pH regulation in acid-stressed leaves of pea plants grown in the presence of nitrate or ammonia salts: Studies involving ³¹P NMR spectroscopy and chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta.* 1320: 142-152.
- Britto, D. T., M. Y. Siddiqi, A. D. M. Glass, and H. J. Kronzucker. 2001. Futile transmembrane NH₄⁺ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 4255-4258.
- Chang, C. T., Y. C. Chen, J. T. Fang, and C. C. Huang. 2002. Star fruit (*Averrhoa carambola*) intoxication: An important cause of consciousness disturbance in patients with renal failure. *Ren. Fail.* 24(3): 379-382.
- Dijlshoorn, W. 1962. Metabolic regulation of the alkaline effect of nitrate utilization in plants. *Nature* 194: 165-167.
- Fang, H. C., C. L. Chen, P. T. Lee, C. Y. Hsu, C. J. Tseng, P. J. Lu, S. L. Lai, H. M. Chung, and K. J. Chou. 2008. Mechanisms of star fruit-induced acute renal failure. *Food Chem. Toxicol.* 46: 1744-1752.

- Ji, X. M. and X. X. Peng. 2005. Oxalate accumulation as regulated by nitrogen forms and its relationship to photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Integ. Plant Biol.* 47(7): 831-838.
- Kaneta, T., T. Bada, T. Ohtsubo, and F. Ikeda. 2004. Varietal differences in oxalic acid concentration and enzyme activity related to oxalic acid biosynthesis in carambola (*Averrhoa carambola* L.). *Hort. Res. (Japan)* 3(4): 415-419.
- Kirkby, E A. and A. H. Knight. 1977. Influence of the level of nitrate nutrition on ion uptake and assimilation, organic acid accumulation, and cation-anion balance in whole tomato plants. *Plant Physiol.* 60: 349-35.
- Lane, B. G. 2000. Oxalate oxidases and differentiating surface structure in wheat: germins. *Biochem. J.* 349: 309-321.
- Magalhaes J. R. and D. M. Huber. 1991. Response of ammonium assimilation enzymes to nitrogen form treatments in different plant species. *J. Plant Nutr.* 14: 175-185.
- Neto, M. M., J. A. C. Costa, N. Garcia-Cairasco, J. C. Netto, B. Nakagawa, and M. Dantas. 2003. Intoxication by star fruit (*Averrhoa carambola*) in 32 uraemic patients: Treatment and outcome. *Nephrol. Dial. Transplant.* 18: 120-125.
- Nuss, R. F. and F. A. Loewus. 1978. Further studies on oxalic acid biosynthesis in oxalate-accumulating plants. *Plant Physiol.* 61: 590-592.
- Raven, J. A. and F. A. Smith. 1976. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytol.* 76: 415-431.
- Scheible, W. R., A. González-Fontes, M. Lauerer, B. Müller-Rober, M. Caboche, and M. Stitt. 1997. Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *Plant Cell* 9: 783-798.
- Shen, T. C., Y. Yang, S. R. Hsu, C. F. Chang, and C. C. Chou. 2005. Star fruit intoxication in uremic patients: Potential pitfalls in the emergency department. *J. Emerg. Crit. Care Med.* 16(1): 37-42.
- Streeter, J. G. 2005. Effects of nitrogen and calcium supply on the accumulation of oxalate in soybean seeds. *Crop Sci.* 45: 1464-1468.
- Wheeler, G. L., M. A. Jones, and N. Smirnoff. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature* 393: 365-369.
- Yang, J. C. and F. A. Loewus. 1975. Metabolic conversion of L-ascorbic acid to oxalic acid in oxalate-accumulating plants. *Plant Physiol.* 56: 283-285.
- Zhang, Y., X. Lin, Y. Zhang, S. J. Zheng, and S. Du. 2005. Effects of nitrogen levels and nitrate/ammonium ratios on oxalate concentrations of different forms in edible parts of spinach. *J. Plant Nutr.* 28: 2011-2025.

Effects of Nitrogen Fertilizers on the Content of Oxalic Acid in Carambola (*Averrhoa carambola* L.) Leaf and Fruits.

Rong-Hwa Lin ¹⁾ Chia-Hwa Lin ²⁾ Huey-Ling Lin ³⁾ Ching-Chung Shiesh ⁴⁾

Key words: 'Malaysia' carambola, organic acids, ammonia-form nitrogen, nitrate-form nitrogen, glycolate oxidase.

Summary

High content of oxalic acid in carambola fruit may cause renal failure or even death of patients with kidney diseases after ingesting carambola. After media reported, consumers lost will to buy carambola, and this became a crisis of carambola industry. According the former research, that optimal fertilizer applied could decrease the soluble oxalic acid in carambola fruit. The purpose of this study was to evaluate the effect of different nitrogen form applied during the growth of bolt-plant 'Malaysia' carambola to lower the content of oxalic acid. Result showed that, it had no effect on the content of organic acids and total nitrogen content in carambola leaf by applying different nitrogen fertilizers. Compared with serving only ammonia, the mixture of nitrate and ammonia had the effect of decreasing the content of oxalic acid in young carambola fruit, and the activity of glycolate oxidase, which was associated with oxalic acid synthesis, also decreased. The content of oxalic acid decreased as the fruit growing. The lowest content of oxalic acid in mature fruits was the treatment with ammonia:nitrate = 1:1. The treatments of applying the mixture of nitrate and ammonia also decreased the content of total nitrogen in young fruits. Chlorophyll fluorescence could be a screening indicator.

1) Associate Researcher, Biotechnology Center, National Chung Hsing University.

2) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

4) Associate Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.