

培養基檸檬酸添加對蝴蝶蘭瓶苗生長及瓶內 氣體組成之影響¹⁾

高雯琪²⁾ 林瑞松³⁾

關鍵字：蝴蝶蘭、檸檬酸、氣體、組織培養、二氧化碳、乙烯

摘要：本試驗主要探討培養基中添加不同濃度檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗生長及氣體組成成分的影響。瓶苗經繼代培養第 70 天，以 60 mg/l 檸檬酸處理表現較佳，根長及根寬分別較對照組增加 17.8% 及 5.5%，根部乾、鮮重較對照組增加 27.8% 及 37.9%。瓶苗在暗期具有蘋果酸的累積，隨著培養時間增加，呈現緩慢下降的趨勢。在氣體組成上，瓶內二氧化碳含量隨檸檬酸濃度及培養天數增加而降低；而瓶內乙烯濃度在繼代培養初期較高，隨著培養時間的增加，呈現下降趨勢。

前 言

瓶苗生長狀態會受到瓶內培養基及氣體成分的影響(邱，2002；楊，2003)，瓶苗在養分供給下的生長多呈現異營性生長(heterotrophy)或光混營性生長(photomixotrophy)，而瓶苗的光合作用能力會受限於瓶內二氧化碳濃度，若長期處於二氧化碳缺乏環境下，其光合作用能力會下降(Kozai, 1991)。蝴蝶蘭隨葉齡增加而發育成為 CAM 代謝類型(Ota *et al.*, 1991)，在黑暗情況下進行二氧化碳固定作用並於液胞內蓄積大量蘋果酸(賴，1978)，白天從液胞輸出進行去羧化作用釋放二氧化碳擴散至葉綠體中，經由光合碳還原循環(photosynthetic carbon reduction cycle；PCR cycle)進行有機碳的還原(Borland and Taybi, 2004)。檸檬酸為三羧酸循環(Tricarboxylic acid cycle；TCA cycle)中三碳及四碳前驅物質，因此對於蝴蝶蘭瓶苗生長可能具有影響。本試驗目的主要探討檸檬酸的添加對蝴蝶蘭瓶苗

-
- 1) 本文承蒙農委會研究經費補助，計畫編號：95 農科 6.1.3 糧-Z2(16)特表謝忱。
 - 2) 國立中興大學園藝系碩士班研究生。
 - 3) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

品質的影響，調查培養基中檸檬酸的添加對於瓶內氣體變化的影響以及培養過程中對瓶苗生長發育的影響，並尋求最適當的使用濃度。

材料與方法

一、試驗材料及栽培管理方法

材料自嘉義大林鎮一心蘭園的蝴蝶蘭分生苗，品種代號為 *Phalaenopsis* I-Hsin Cream 'KHM246'。實驗選擇葉片數 2-3 片、葉長寬分別為 15.2-22.5 mm 及 6.5-8.5 mm、根數 2-3 條、每株 0.3-0.5 克，苗齡約為第一次繼代移植後瓶內培養 100 天。

將蝴蝶蘭 *Phalaenopsis* I-Hsin Cream 'KHM246' 繼代於蘭花瓶中，每瓶含有 120 ml 的培養基。培養基配方為 1/2 MS、蔗糖 20 g/l、活性碳 1 g/l、洋菜 8 g/l (Difco Bacto)，此外添加不同濃度之檸檬酸(0, 30, 60, 90, 120 mg/l)，pH 調整為 5.6±0.1。蘭花玻璃瓶以橡膠塞(中間打孔塞入 0.25 g 棉花)封好並套上透明塑膠套，每瓶 20 株培植體。培養環境條件為溫度 25±1 °C、光強度 45 μmol m⁻² s⁻¹、光週期設定為明暗期各 12 小時。

於繼代後第 28、42、56、70 天偵測瓶內二氧化碳及乙烯含量的變化，氣體分析採三重複，每重複一瓶，明期每隔四小時測量一次，同時並調查分析植株生長速率、蘋果酸含量、碳水化合物含量、氯化三苯四唑氮(triphenyl tetrazolium chloride；TTC)根部活性。

二、分析方法

(一) 二氧化碳、乙烯濃度偵測

明期每 4 小時以 1 ml 玻璃針筒(SGE, Australia)自瓶內抽取氣體，利用氣體分析儀測定二氧化碳與乙烯的含量，每處理作三重複。二氧化碳濃度以氣相層析儀(Shimadzu, GC-8A)分析，其偵測器為熱傳導式偵測器(thermal conductivity detector；TCD)，層析管為 2.5 公尺長之不鏽鋼管，內部充填 activated charcoal 60/80 mesh。偵測器及注射孔溫度設為 180°C，層析管為 100°C，載體為氮氣。

乙烯生成量以氣相層析儀分析(Shimadzu, GC-14B)，其偵測器為火焰離子式偵測器(flame ionization detector；FID)，層析管為玻璃管內填充 Squalane 60/80 mesh。偵測器及注射孔溫度設為 115°C，層析管溫度為 65°C，載體為氮氣。

(二) 蘋果酸含量之分析

分別於暗期前 30 分(pre-dark)及明期前 30 分(pre-dawn)，取莖頂下第二片完全展開葉 0.5 g，立即以液態氮固定，保存於-70°C 之低溫冷凍櫃。參照 Kubota 等人(1997)之方法，分析時將 0.5 g 之葉片置於 2 ml 的蒸餾水中，以微波爐(SUNPENTOWN, SM-129, Thailand) 400 w 微波 2 分鐘，再以蒸餾水定量至 20 ml，然後將上層液以 Zip-Pak (VARIAN, C18, USA) 過濾，此濾液供高效液相層析儀(high performance liquid chromatography；HPLC) 分析蘋果酸含量，每處理作三重複。

HPLC 分析系統包含 Pump (SHIMADZU, LC-10AT, Japan)、UV detector (ECOM SPOL.S.R.O., LCD-2083 210 nm, Germany)、Column (ANSYS, Polaris 5u C18-A 250 x 4.6 mm, USA)、Mobile phase 為 0.1% H_3PO_4 。並以蘋果酸做標準品檢量線，由積分儀 (SHIMADZU, C-R6A, Japan)紀錄標準品停滯的時間與積算面積，以算出樣品之蘋果酸相對含量，每處理作三重複。

(三) 葉片及根部碳水化合物之分析

1. 全可溶性糖

精秤 0.1 g 地上部或地下部烘乾後之磨碎樣品粉末，加 10 ml 蒸餾水，於 30°C 水浴振盪 3 小時後，於室溫下以高速離心機 (KUBOTA, KN-70, Japan) 於 3500 rpm 離心 30 分鐘。取 0.2 ml 上清液加蒸餾水稀釋 (稀釋倍數依樣品而異)，再由稀釋液中取出 2 ml 加入 0.1 ml liquid phenol 和 6 ml 濃硫酸，振盪均勻後，靜置 30 分鐘，以分光光度計 (HITACHI, U-2001, Japan) 測定 490 nm 之吸收值，每處理作三重複。

2. 澱粉

將上述離心後之殘渣烘乾，加 2 ml 蒸餾水，放入沸水中 15 分鐘，取出後迅速冷卻。加 2 ml 9.2 N $HClO_4$ 振盪，其後 15 分鐘不時攪拌，然後加水至 10 ml，於室溫下以高速離心機 (KUBOTA, KN-70, Japan) 於 3500 rpm 離心 30 分鐘。取 0.1 ml 上清液加蒸餾水稀釋 (稀釋倍數依樣品而異)。再由稀釋液中取出 2 ml 加入 0.1 ml liquid phenol 和 6 ml 濃硫酸，振盪均勻後，靜置 30 分鐘，以分光光度計 (HITACHI, U-2001, Japan) 測定 490 nm 之吸收值，每處理作三重複。

(四) 根部 TTC 活性之分析

依據 Steponkus and Lanphear (1967) 之方法，取 0.1 g 未革質化根尖約 0.5 cm，置於 TTC 液 (0.6% triphenyl tetrazolium chloride、0.05 M Na_2HPO_4 或 KH_2PO_4 buffer pH 7.4)，於室溫下黑暗處理 20 小時，然後將根部用蒸餾水沖洗並將水分吸乾，放入試管中，加入 20 ml 95% 酒精後置於 78°C 恆溫水浴槽中水浴 20 分鐘，冷卻後再用 95% 酒精定量至 20 ml。利用分光光度計 (Hitachi, U-2001, Japan) 測定在 480 nm 波長下之吸收值，並計算單位鮮重之吸光值，每處理作三重複。

結 果

一、培養基檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream 'KHM246' 葉片、根部生長及乾鮮重之影響
蝴蝶蘭瓶苗繼代於不同濃度檸檬酸培養基中，培養 28 天後，瓶苗葉片及根部生長以 60 mg/l 檸檬酸處理者表現較佳，瓶苗葉片數及根數分別為 3.5 片葉及 3.3 條根，葉長、葉寬分別為 27.0 及 10.6 mm，根長達 15.0 mm。隨著培養天數的增加 (表 1)，繼代培養至 56 天時，以 90 mg/l 檸檬酸處理者表現較佳，對於瓶苗根部生長有促進效果，根數達 4.0 條，根長及根寬分別為 16.8 及 2.9 mm (表 1)。

表 1. 培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 葉片與根部生長之影響
Table 1. Effect of citric acid on shoot and root growth of *Phal.* I-Hsin Cream ‘KHM246’ plantlets *in vitro*.

Day	Citric acid Conc. (mg/l)	Shoot						Root					
		number		length (mm)		width (mm)		number		length (mm)		diameter (mm)	
28	0	3.1	c ^z	23.1	c	8.8	c	3.0	c	11.7	c	2.7	a
	30	3.4	ab	23.5	c	9.0	bc	3.3	b	13.2	b	2.7	a
	60	3.5	a	27.0	a	10.6	a	3.3	b	15.0	a	2.8	a
	90	3.4	ab	24.3	bc	9.2	bc	3.7	a	14.9	a	2.8	a
	120	3.2	bc	25.7	ab	9.4	b	3.5	ab	13.1	b	2.5	b
42	0	3.4	b	23.7	b	9.8	c	2.7	c	13.6	c	2.8	b
	30	3.6	b	27.0	a	10.6	ab	3.5	b	13.8	c	2.8	b
	60	3.9	a	23.4	b	11.1	a	3.7	ab	15.1	b	2.9	a
	90	3.6	b	27.0	a	10.4	abc	3.8	a	17.6	a	2.9	a
	120	3.4	b	25.3	ab	10.1	bc	3.5	b	14.1	bc	2.7	b
56	0	3.4	c	25.1	b	10.3	bc	3.0	c	13.4	c	2.7	b
	30	3.6	bc	27.6	a	10.7	b	3.1	c	14.0	bc	2.7	b
	60	4.0	a	24.5	bc	11.8	a	3.7	b	15.0	b	2.6	b
	90	3.8	b	22.9	c	9.8	c	4.0	a	16.8	a	2.9	a
	120	3.7	b	28.4	a	11.8	a	3.6	b	15.1	b	2.9	a
70	0	3.9	c	24.6	b	11.1	b	3.4	c	13.2	a	2.8	b
	30	4.1	bc	23.4	b	12.6	a	3.8	b	14.8	a	2.8	ab
	60	4.5	a	19.6	c	12.3	a	4.3	a	16.0	a	2.9	a
	90	4.2	b	23.0	b	11.1	b	4.2	a	14.9	a	2.7	b
	120	3.9	c	27.6	a	12.5	a	4.3	a	15.5	a	2.8	ab

^z Means in each column followed by the same letter were not significantly different (P = 0.05) according to Duncan’s multiple range test.

培養基中檸檬酸濃度對蝴蝶蘭瓶苗乾、鮮重影響方面，隨著培養天數及株齡的增加，瓶苗地上部及根部乾、鮮重有增加的趨勢(表 2)，繼代培養至 70 天時，根部乾、鮮重以 60 mg/l 檸檬酸處理表現較佳，根部乾、鮮重分別為 18 mg/株及 0.29 g/株(表 2)。

二、培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 根部活性的影響

培養基中檸檬酸對根部活性影響在繼代培養 28 天時差異不大，隨著株齡及培養天數的增加，繼代培養至 70 天時，瓶苗的根部活性上升(圖 1)。

表 2. 培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 鮮重和乾重之影響。

Table 2. Effect of citric acid on fresh weight and dry weight of *Phal.* I-Hsin Cream ‘KHM246’ plantlets *in vitro*.

Day	Citric acid Conc. (mg/l)	Shoot				Root			
		Fresh weight (g/plantlet)		Dry weight (mg/plantlet)		Fresh weight (g/plantlet)		Dry weight (mg/plantlet)	
28	0	0.26	b ^z	12	d	0.17	a	11	a
	30	0.29	b	13	c	0.19	a	13	a
	60	0.33	a	16	a	0.19	a	13	a
	90	0.28	b	15	b	0.20	a	14	a
	120	0.29	b	16	ab	0.19	a	13	a
42	0	0.30	c	14	b	0.17	c	13	b
	30	0.37	a	16	a	0.20	bc	13	b
	60	0.37	a	17	a	0.22	ab	14	b
	90	0.35	ab	17	a	0.26	a	18	a
	120	0.32	bc	16	a	0.20	b	14	b
56	0	0.32	d	16	b	0.19	c	13	c
	30	0.37	bc	18	b	0.22	bc	14	bc
	60	0.40	b	20	a	0.21	bc	16	a
	90	0.33	cd	16	b	0.24	ab	16	a
	120	0.45	a	21	a	0.26	a	15	ab
70	0	0.38	c	18	b	0.18	c	13	b
	30	0.45	a	20	ab	0.23	b	16	ab
	60	0.45	ab	21	a	0.29	a	18	a
	90	0.40	bc	21	a	0.22	bc	17	ab
	120	0.50	a	23	a	0.26	ab	16	ab

^z Means in each column followed by the same letter were not significantly different (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

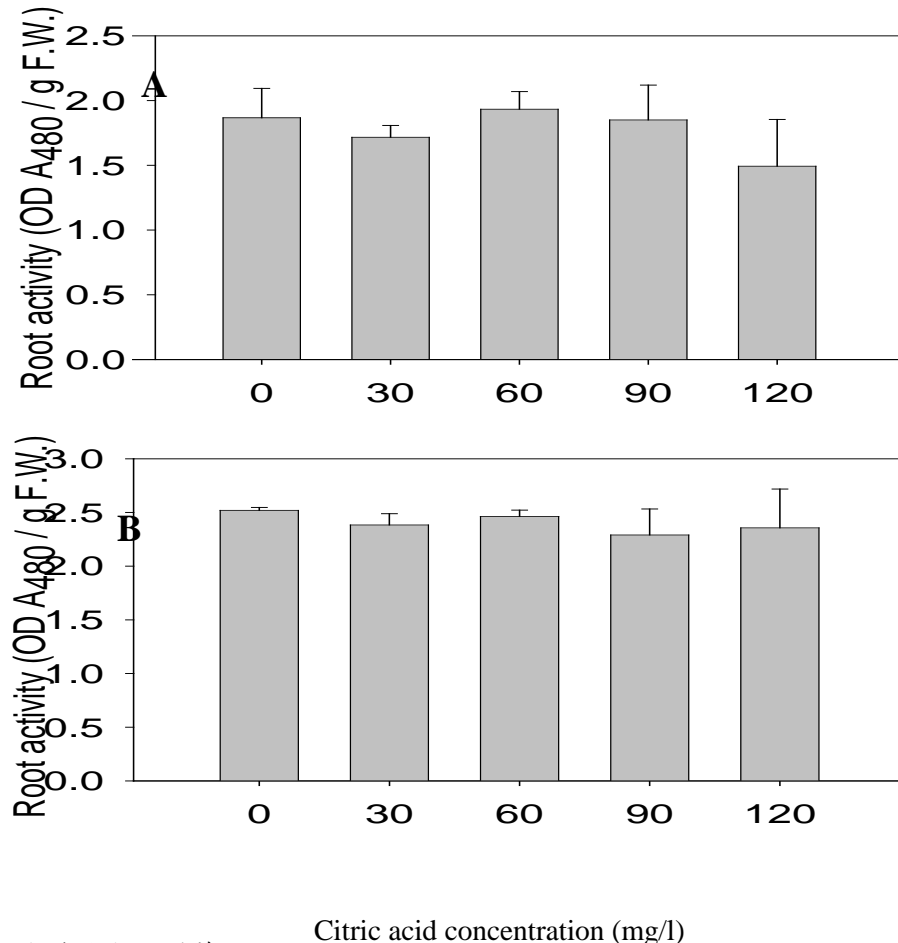


圖 1. 不同檸檬酸在蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 於 28、70 天之根部活性。A 為 28 天、B 為 70 天

Fig. 1. Root activity of *Phal.* I-Hsin Cream ‘KHM246’ at different citric acid at 28、70 days *in vitro*. A: 28 days, B: 70 days.

三、培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 碳水化合物之影響

培養基中不同濃度檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗碳水化合物含量的影響，隨著培養天數及株齡的增加，瓶苗澱粉含量上升，且地下部含量明顯高於地上部，在繼代培養 70 天時，以 60 mg/l 檸檬酸處理表現最佳，達 5.11%，根部澱粉含量則以 90 mg/l 檸檬酸處理表現最好，澱粉含量達 11.54%(表 3)。

四、培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 葉片蘋果酸含量的影響

瓶苗葉片於暗期時具有蘋果酸的累積，明期則下降，顯示瓶苗已具有 CAM 植物之光合特性，瓶苗葉片蘋果酸含量隨著培養時間的增加，呈現一緩慢下降的趨勢(圖 2)，繼代

培養至 56 及 70 天時，培養基中添加 120 mg/l 檸檬酸處理者，其蘋果酸含量分別為 0.37 及 0.21 nmol/g F.W.，較其他處理表現佳(圖 2)。

表 3. 培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 碳水化合物之影響

Table 3. Effect of citric acid on total soluble sugar and starch content of *Phal.* I-Hsin Cream ‘KHM246’ plantlets *in vitro*.

Day	Citric acid Conc. (mg/l)	Total soluble sugar (%)				Starch (%)			
		Shoot		Root		Shoot		Root	
28	0	3.58	ab ^z	4.34	a	2.92	b	7.15	ab
	30	2.95	bc	2.85	b	4.38	a	7.49	ab
	60	2.80	c	4.70	a	4.34	a	7.10	ab
	90	3.17	abc	2.87	b	4.88	a	8.41	a
	120	3.66	a	4.23	a	4.83	a	6.65	b
42	0	2.67	b	2.88	c	2.97	b	6.75	a
	30	2.82	b	2.70	c	4.76	a	5.72	b
	60	2.56	b	5.02	b	5.35	a	5.60	b
	90	2.90	b	3.81	bc	5.12	a	5.50	b
	120	4.05	a	6.47	a	4.60	a	4.27	c
56	0	2.88	a	2.70	a	5.56	b	6.28	c
	30	2.73	a	2.61	a	4.42	c	6.22	c
	60	2.48	a	3.05	a	6.63	a	6.89	bc
	90	2.68	a	2.90	a	4.50	c	8.31	a
	120	2.85	a	2.49	a	6.54	a	7.64	ab
70	0	2.14	b	2.58	b	4.08	b	7.11	c
	30	2.68	ab	3.30	a	5.08	a	6.97	c
	60	2.60	ab	2.72	ab	5.11	a	8.86	b
	90	3.33	a	2.93	ab	5.00	a	11.54	a
	120	2.90	ab	3.10	ab	3.75	b	7.60	c

^z Means in each column followed by the same letter were not significantly different (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

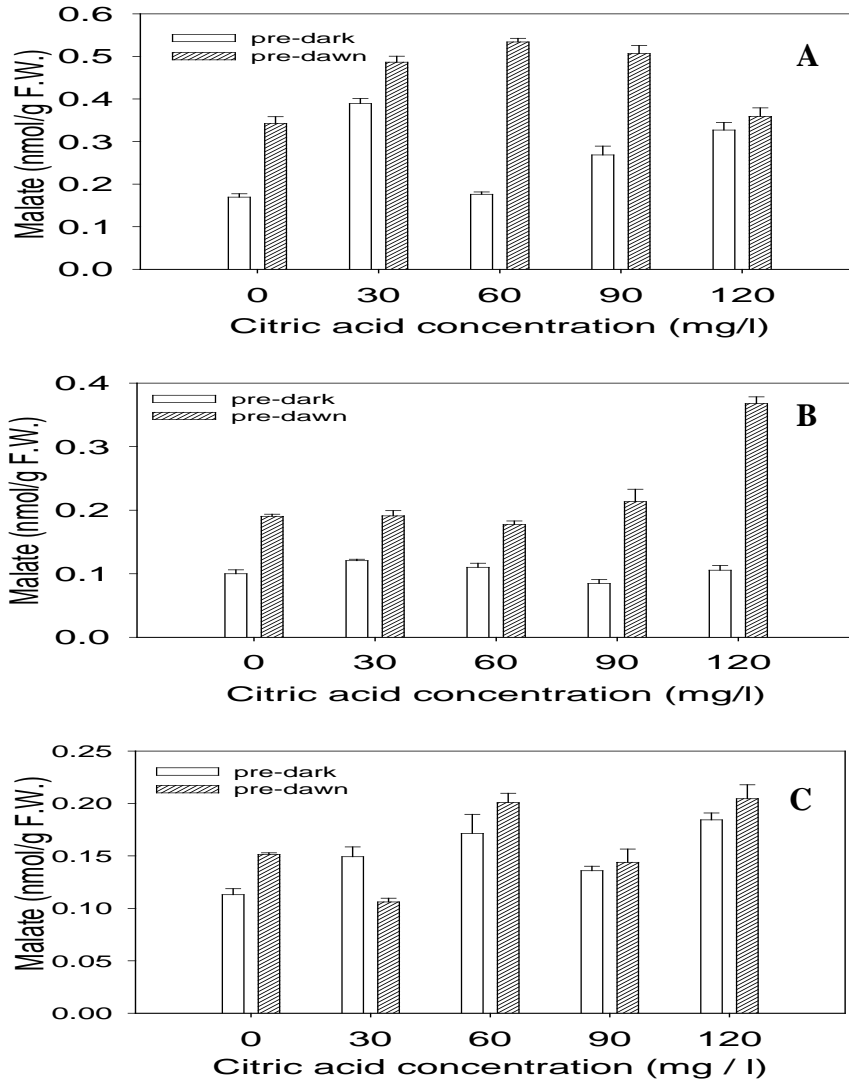


圖 2. 蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 以不同檸檬酸處理後第 42、56、70 天之蘋果酸含量。A 為 42 天、B56 為天、C70 為天

Fig. 2. Malic acid content of *Phal.* I-Hsin Cream ‘KHM246’ at different citric acid at 28、42、56、70 days after subculture. A: 42 days, B: 56 days, C: 70 days.

五、培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭 I-Hsin Cream ‘KHM246’ 瓶內二氧化碳及乙烯濃度的變化

蝴蝶蘭瓶苗生長於不同濃度檸檬酸培養基培養期間，除對照組外，所有處理別隨著培養時間的增加有略微下降的趨勢，在繼代培養 28 天時，瓶內二氧化碳濃度變化差異不大，約在 0.3 至 0.55% 之間，繼代培養至 42 天時，對照組二氧化碳濃度在明期 8 小時為 0.48

%，皆較其他處理別高，繼代培養至 70 天時，仍呈現相同的趨勢(圖 3)。

瓶內乙烯濃度在繼代培養初期較高，隨著培養時間的增加，呈現一下降趨勢(圖 4)，繼代培養至 28 天時，瓶內乙烯濃度以 90 mg/l 檸檬酸處理者最高，末期結束時達 0.029 ppm，繼代培養至 70 天時，以 120 mg/l 檸檬酸處理者最高，末期結束時達 0.009 ppm (圖 4)。

討 論

組織培養中常添加的檸檬酸可以與金屬離子結合，可有效穩定 pH 值(George and Sherrington, 1984)，並可促進枳殼(*Citrus*)癒合組織生長(Erner and Reuveni, 1981)。檸檬酸為三羧酸循環中第一個產物。三羧酸循環是糖、脂肪及蛋白質最終氧化分解和相互轉變的

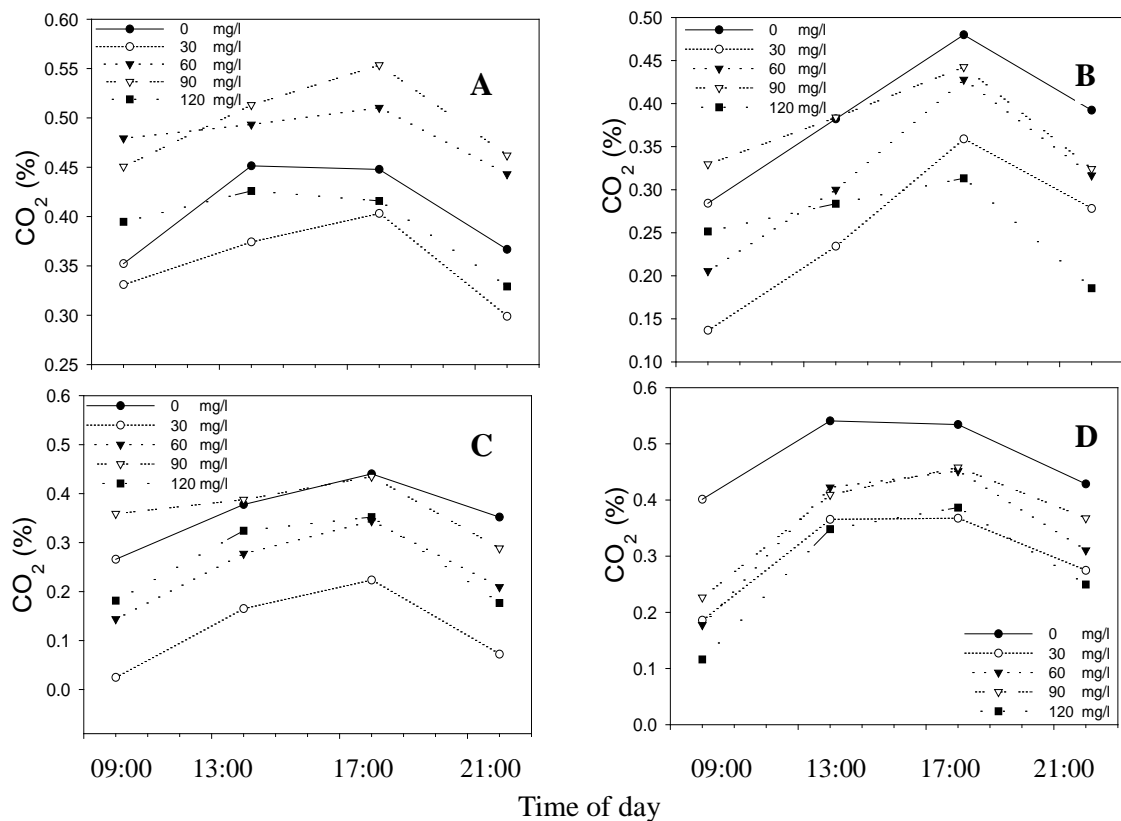


圖 3. 培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream 'KHM246' 繼代後第 28、42、56、70 天瓶內二氧化碳濃度之影響。A 為 28 天、B 為 42 天、C 為 56 天、D 為 70 天

Fig 3. Effect of citric acid on CO₂ content of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' at 28、42、56、70 days after subculture *in vitro*. A: 28 days, B: 42 days, C: 56 days, D: 70 days.

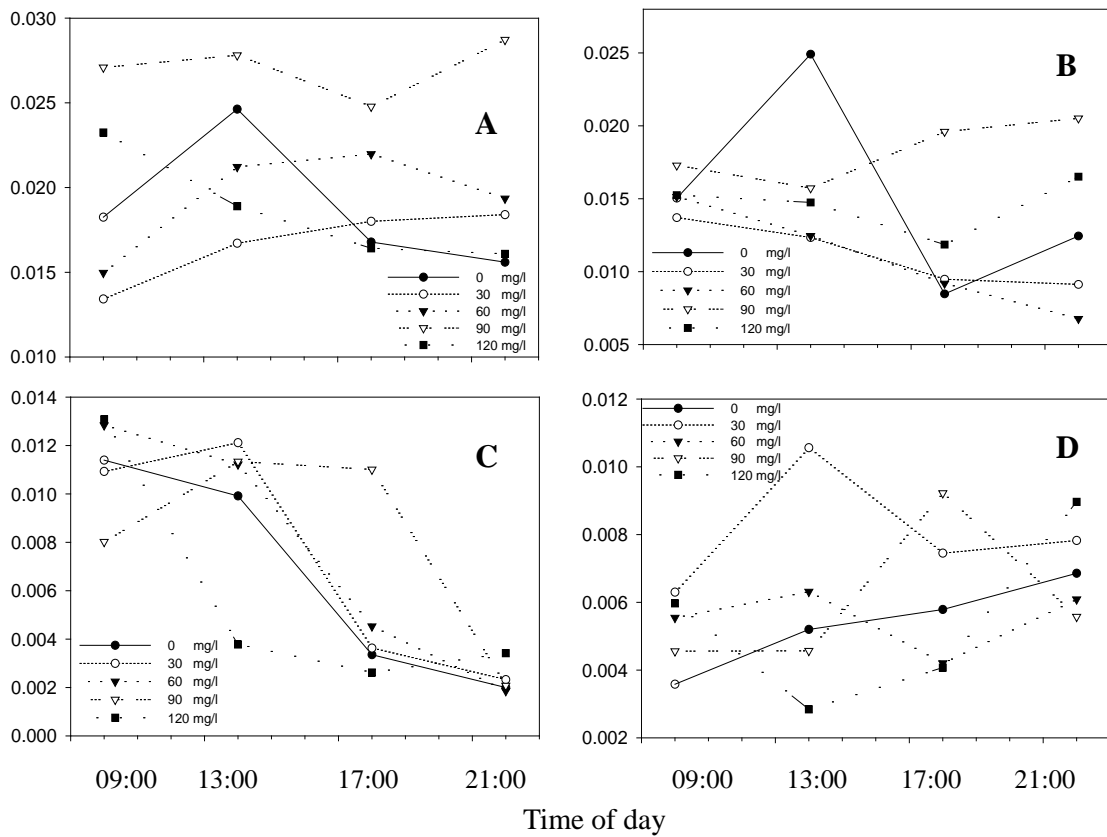


圖 4. 培養基中檸檬酸對蝴蝶蘭瓶苗 I-Hsin Cream 'KHM246' 繼代後第 28、42、56、70 天瓶內乙烯濃度之影響。A 為 28 天、B 為 42 天、C 為 56 天、D 為 70 天

Fig 4. Effect of citric acid on C_2H_4 content of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' at 28、42、56、70 days after subculture *in vitro*. A: 28 days, B: 42 days, C: 56 days, D: 70 days.

共同途徑，也是生物體產生 CO_2 和能量的主要途徑，更是許多物質生合成提供原料和互相代謝轉變的連絡途徑。CAM 植物中檸檬酸在夜間的累積與蘋果酸相比，生化上的影響及生態生理上的重要性較少被重視，檸檬酸的累積被認為不能提供夜間二氧化碳的貯存，然而檸檬酸可藉由內部再循環以提供碳的維持，並維持水分含量以提供滲透勢(Lüttge, 1988)。試驗中培養基添加檸檬酸可促進瓶苗葉片乾、鮮重增加(表 2)，根部生長有促進的效果，根數、根長及根寬均較對照組表現佳(表 1)，根部澱粉含量顯著提升，以 90 mg/l 檸檬酸處理表現最佳(表 3)。關(1989)以培養基添加有機物質香蕉泥對蝴蝶蘭瓶苗生長影響的試驗中發現，額外添加 0.25 mM 檸檬酸或蘋果酸，更能增進香蕉泥的促進效果，在維他命、香蕉泥 100 g/l 及綜合果汁之基本配方中，添加檸檬酸或蘋果酸者，均較對照組有較高的莖葉/根比值，使幼苗生長健壯、葉色濃綠，此結果與本研究檸檬酸及蘋果酸添加

培養基對蝴蝶蘭瓶苗生長促進的結果相符合(關, 1989)。

瓶內氣體方面, 試驗結果顯示蝴蝶蘭瓶苗於不同濃度檸檬酸培養基培養期間, 瓶內二氧化碳濃度在明期 8 小時達到最高峰, 之後開始下降, 此結果與蘋果酸試驗有所差異, 而且除對照組外, 添加檸檬酸的處理別隨著培養時間的增加, 二氧化碳濃度呈現略微下降的趨勢(圖 3)。Maxwell 等人(1998)指出長壽花的葉片發生二氧化碳量釋放減少是由於氣孔導度增加的作用所導致, 大氣中氧、二氧化碳使 Rubisco 之氧化酶活性增加。CAM 植物夜間二氧化碳固定被認為是有機酸累積最重要的功能, 二分子的二氧化碳貯存成一分子的六碳糖(hexose)轉變成蘋果酸是經由暗期 PEPC 羧化酶固定二氧化碳而來, 而檸檬酸的淨碳獲得是零, 顯示檸檬酸累積是無益的(Lüttge, 1988)。檸檬酸的合成是藉由檸檬酸合成酶(citric acid synthase)將乙醯輔酶 A(acetyl-CoA)的乙醯基轉移到四個碳的草醯乙酸(oxaloacetate; OAA)上, 形成六個碳具有三個羧基的檸檬酸。檸檬酸貯存可能只有在夜間碳獲得時發生, 例如脂肪酸經 β -氧化反應(β -oxidation)形成乙醯輔酶 A。蘋果酸合成是經由糖解作用和 PEPC 羧化酶固定二氧化碳而來; 檸檬酸合成則是經由糖解作用而來, 檸檬酸碳的再循環及滲透壓維持似乎比蘋果酸更有利(Lüttge, 1988)。

乙烯濃度方面, 瓶內乙烯濃度在繼代培養初期較高, 隨著培養時間的增加, 呈現一逐漸下降趨勢(圖 4)。Kwa 等人(1995)指出南洋蘆角蕨(*Platycerium coronarium*)培養於添加 STS 或 HgClO_4 之培養基中會增加其孢子體再生率, 施用 AVG 並未造成乙烯生成量減少, 施用 ACC 也未造成乙烯生成量增加, 這代表有些植物不是經由 $\text{methionine} \rightarrow \text{SAM} \rightarrow \text{ACC} \rightarrow \text{C}_2\text{H}_4$ 此路徑產生乙烯, 可能經由三羧酸循環的中間產物或其他路徑(Kwa *et al.*, 1995)。

瓶苗葉片於暗期時具有蘋果酸的累積, 明期時則下降(圖 2), 顯示瓶苗已具有 CAM 植物之光合特性, 瓶苗葉片蘋果酸含量隨著培養時間的增加, 呈現一緩慢下降的趨勢, 由於瓶內二氧化碳濃度呈現下降的趨勢(圖 2), 因此瓶苗葉片對於二氧化碳的固定量減少, 進而減少蘋果酸的蓄積。*Clusia minor* L. 是一種熱帶樹, 主要進行 CAM 型代謝, 對於環境的改變具有驚人的適應力, 當其生長在水分較少的環境下, 會由 CAM 模式轉變進行 C_3 -like 光合作用, 夜間蘋果酸及檸檬酸累積逐漸減少, 以限制夜間液胞有機酸蓄積的貯藏能力, 可知植物會改變光合作用模式, 克服液胞夜間有機酸累積之貯藏能力的限制, 以改善每日的碳平衡(Mattos and Lüttge, 2001)。

參 考 文 獻

- 邱雯卉。2002。環境因子、乙烯與培養基添加物對蝴蝶蘭瓶苗品質的影響。中興大學園藝所碩士論文。143pp。
- 楊于萱。2003。培養基成分、IBA 及香蕉成熟度對朵麗蝶蘭瓶苗生長的影響。中興大學園藝所碩士論文。116pp。
- 賴宏輝。1978。CAM 植物的二氧化碳固定作用。中央研究院植物研究所專刊。2: 14-28。
- 關淑卿。1989。有機添加物對蝴蝶蘭幼苗生長的影響及原球體增殖之探討。台灣大學園藝所碩士論文。143pp。
- Borland, A. M. and T. Taybi. 2004. Synchronization of metabolic processes in plants with Crassulacean acid metabolism. *J. Exp. Bot.* 55: 1255-1265
- Erner, Y. and O. Reuveni. 1981. Promotion of citrus tissue culture by citric acid. *Plant Physiol.* 67(Suppl.). 27(Abst. 146). P27.
- George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. Tissue culture media. *Plant propagation by tissue culture.* p.184-244
- Kwa, S. H., Y. C. Wee and P. P. Kumar. 1995. Role of ethylene in production of sporophytes from *Platycerium coronarium* (Koenig) Desv. Frond and rhizome pieces cultured *in vitro*. *J. Plant Growth Regul.* 14: 183-189
- Lüttge, U., T. H. Darmstadt and Schnittspahnstraße. 1988. Day-night changes of citric-acid levels in crassulacean acid metabolism: phenomenon and ecophysiological significance. *Plant Cell Environ.* 11: 445-451
- Mattos, E. A. D. and U. Lüttge. 2001. Chlorophyll fluorescence and organic acid oscillations during transition from CAM to C₃-photosynthesis in *Clusia minor* L. (Clusiaceae). *Ann. Bot.* 88: 457-463
- Maxwell, K., M. R. Badger and C. B. Osmond. 1998. A comparison of CO₂ and O₂ exchange patterns and the relationship in C₃ and CAM plants. *Austral. J. Plant Physiol.* 25: 45-52
- Kozai, T. 1991. Photoautotrophic micropropagation. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 279: 47-51
- Kubota, S., T. Hisamatsu and M. Koshioka. 1997. Estimation of malic acid metabolism by measuring pH of hot water extracts of *Phalaenopsis* leaves. *Sci. Hortic.* 71: 251-255
- Ota, K., K. Morioka and Y. Yamamoto. 1991. Effects of leaf age, inflorescence, temperature, light intensity and moisture conditions on CAM photosynthesis in *Phalaenopsis*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 60(1): 125-132
- Steponkus, P. L. and F. O. Lanphear. 1967. Refinement of the triphenyltetrazolium chloride method of determining cold injury. *Plant Physiol.* 42: 1423-1426

Effects of Citric Acid Supplement on Plantlet Growth of *Phalaenopsis* and Components of the Gaseous Environment *in vitro*¹⁾

Wen-Chi Kao²⁾ Ruey-Song Lin³⁾

Key word : *Phalaenopsis* 、 citric acid 、 gas 、 tissue culture 、 carbon dioxide 、 ethylene

Summary

The study was to seek effects of citric acid on *Phalaenopsis* I-Hsin Cream 'KHM246' plantlet growth and components of the gaseous environment *in vitro*. Plantlet had different growth rate at 70 days after subculture. The finest performance for root length and root diameter which gave 17.8% and 5.5% increment, and fresh weight and dry weight of root which gave 27.8% and 37.9% increment were found in citric acid 60 mg/l supplement in medium. The plantlet has malic acid accumulation in the dark period. Adding different citric acid concentration in medium, carbon dioxide content in flask decreased depending on citric acid concentration increase and growing days. Ethylene content was higher in initial stage of subculture and decreased slowly along with increase of growing days.

-
- 1) This research was supported by Council of Agriculture, R. O. C. at project No. AS 6.1.3-FD-Z2(16).
 - 2) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
 - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

