

## 生物刺激素增加甘藷葉對低溫逆境之耐受性

廖冠琳<sup>1)</sup> 宋好<sup>2)</sup>

關鍵字：生物刺激素、甘藷葉、低溫逆境、低溫耐受性

**摘要：**本試驗施用生物刺激素 (biostimulants)來瞭解其抗寒效果。低溫前 1 小時噴施抗寒藥劑於‘日本種’葉片，置於黑暗 6 °C 生長箱下 9 小時，以腐植酸稀釋 50 倍的處理有顯著較對照組和大部分處理組低的電解質滲漏率-0.7 %，且 Fv/Fm 之變化率上升 2.07%。‘日本種’以甲殼素 50 倍處理則是有最低 SPAD 值變化率 6.75%。田間低溫下甲殼素 50 倍可顯著提高‘日本種’和‘台農 71 號’葉片之 CAT 和 SOD 活性，腐植酸 50 倍則可降低‘台農 71 號’葉片之 MDA 含量。經自然界的冷馴化後，複方藥劑(海藻精 1000 倍、腐植酸 200 倍和甲殼素 200 倍)有加成的抗寒效果，表現在‘日本種’和‘台農 71 號’葉片之 Fv/Fm 值和 MDA 含量上，Fv/Fm 值分別為 0.848 與 0.853，MDA 含量分別為 16.77 與 13.76  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW。

### 前 言

甘藷 (*Ipomoea batatas* L., Sweet potato)，旋花科牽牛花屬，原產於中南美洲，於台灣冬季栽培時易發生寒害，造成產量和品質下降 (辛等, 1999)。在大面積的田間露天栽培中，為了防止低溫造成的傷害，預處理抗寒藥劑是一個可行的方式，例如：海藻精、腐植酸、黃腐酸和甲殼素。本試驗使用之抗寒藥劑屬於生物刺激素的範疇 (但不含有微生物)，功能為增加植物在逆境下的抗性、促進植物的代謝與根部的吸收效率、提高土壤中肥料的有效性、提升產量和品質 (例如：甜度、色澤、著果率等) (Calvo *et al.*, 2014)。生物刺激素與肥料不同的是，不需要大量施用即可達到效果，有些具有植物荷爾蒙的成分，近年來於作物上之應用廣泛，但是其於甘藷葉抗低溫逆境中的研究仍然不多，故了解其抗寒潛力是有意義之研究方向，本研究旨在找到最佳之抗寒藥劑以應用在田間冬季之生產。

---

(1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

(2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

## 材料與方法

### 一、試驗材料及植株栽培

甘藷葉於中興大學園藝系蔬菜室之溫網室內栽培槽進行繁殖。取母本頂端 15~20 公分生長健壯之頂芽，扦插於 7 吋橘紅色塑膠花盆中，使用栽培介質為泥炭土 (peat moss, Bio-Mix Potting substratum 003B, Tref, Norway)：真珠石 (perlite, 購自振詠興業有限公司)：蛭石 (vermiculite, 購自振詠興業有限公司)以 8:1:1 混合，自扦插後的第三週每週以葉綠精 (N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O = 15:10:15, 獅馬牌肥料)稀釋 1000 倍噴施。至植株長出 8~12 片成熟葉時進行處理。

(一)於低溫 6°C 生長箱下處理抗寒藥劑為'日本種'。

(二)甘藷葉於田間寒流中處理抗寒藥劑為'日本種'與'台農 71 號'。

### 二、試驗方法

#### (一)甘藷葉於低溫 6°C 生長箱下處理抗寒藥劑

於扦插四~五週後，植株長出 8~12 片成熟葉時進行抗寒藥劑處理。試驗於 2016 年 10 月進行。低溫處理前 1 小時，將不同倍數、濃度之抗寒藥劑 (如表 1)噴施於甘藷葉'日本種'之葉片，每盆噴施 20 mL，對照組為未噴施。放入 6°C 黑暗生長箱 9 hr，每盆 3 株，每重複 1 盆，共三重複。調查寒害指數、復原指數、葉綠素讀值、葉綠素螢光參數與電解質滲漏率。

#### (二)甘藷葉於田間寒流中處理抗寒藥劑

於 2017 年 12 月進行扦插，於中興大學園藝系蔬菜室之溫網室中生長。每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。田間寒流試驗日期分別為，第一次於 2018 年 1 月 9 日至 2018 年 1 月 14 日進行，第二次於 2018 年 2 月 2 日至 2018 年 2 月 9 日進行，參考氣象預報後於 1 月 9 日下午 4 點、2 月 2 日下午 4 點噴施抗寒藥劑，1 月 9 日噴施腐植酸 50 倍、寒冬寶 300 倍與甲殼素 50 倍，2 月 2 日噴施複方之藥劑 (海藻精 1000 倍、腐植酸 200 倍、甲殼素 200 倍)。

兩次寒流試驗皆以'日本種'和'台農 71 號'進行處理，每盆噴施 20 mL 的抗寒藥劑，對照組為未噴施。第一次寒流試驗之植株於寒流前一天早上 9 點由溫室內移出，寒流過後，植株持續放置於溫室外，待第二次寒流試驗使用。於田間寒流結束後調查植株生理生化性狀。取樣葉片以液態氮固定並保存在-20°C 之冷凍庫內供分析之用。

表 1. 甘藷葉施用之抗寒藥劑。

Table 1. Different types of chilling-tolerance induced agents using on sweet potato leaves.

名稱 Types	登記成分 Contents	稀釋倍數 Diluted concentration
1. 海藻精 (Seaweed extract) (進口商：特欣股份有限公司 商品名：特欣海藻特精)	Total Nitrogen 0.3% (Nitrate Nitrogen 0.2%、Ammoniacal Nitrogen 0.1%)、Total Phosphorus 0.5%、Total Potassium 3.3%	1000 倍、2000 倍
2. 腐植酸 (Humic acid) (進口商：益欣股份有限公司 商品名：收寶富一號)	Humic acid 11.5 %	50 倍、100 倍
3. 黃腐酸 (Fulvic acid) (進口商：微綠有限公司 商品名：尚蓋補)	生化黃腐酸 (Biochemical fulvic acid, BFA) 25%、有機鈣 (Biochemical fulvic acid calcium, BFACa) 5%	50 倍、100 倍
4. 甲殼素 (Chitosan) (製照商：禾康肥料股份有限公司 商品名：禾康甲殼素)	免登記資材，由木醋液溶製而成	50 倍、100 倍
5. 寒冬寶 (Han Dong Bao) (製照商：安吉生技股份有限公司 商品名：頂吉 A 旺-寒冬寶)	Total Nitrogen 1%、Total Phosphorus 1.6%、Organic matter 7%	300 倍
6. 複方之藥劑(Multiple biostimulant)： 海藻精 (Seaweed extract)、腐植酸 (Humic acid)、甲殼素 (Chitosan)	As mentioned above	海藻精 1000 倍 腐植酸 200 倍 甲殼素 200 倍

### 三、調查項目

#### (一)葉綠素讀值 (SPAD)

以葉綠素計 (SPAD 502 Plus Chlorophyll Meter, Spectrum)測量植物葉綠素的相對含量，若 SPAD 值越高，則代表葉綠素之含量越高。由儀器夾取避開葉脈與中肋之葉片，進行非破壞性的測量。每株測定頂芽下第 4 片~第 6 片成熟葉，每片葉夾取兩點，每株取平均。

每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。

(二)葉綠素螢光值 (chlorophyll fluorescence)

待測植株先進行 30 分鐘暗適應(dark-adapted)處理 30 分鐘，接著利用可攜式葉綠素螢光測定儀 (Chlorophyll fluorometer, MINI-PAM, WALZ, Effeltrich, Germany)進行測定，儀器藉由光纖先給予測定光，而後再瞬間給予飽和脈衝光，分別可得到最低螢光值  $F_0$  (minimum fluorescence)及最高螢光值  $F_m$  (maximum fluorescence)，再經由系統計算得葉綠素螢光參數  $F_v/F_m$  (maximum quantum efficiency of PSII photochemistry)，代表光系統 II 在暗適應下之最大光化學效能，是一種常用來評估植物遭受逆境程度的指標。公式如下： $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ 。每株測定頂芽下第 4 片~第 6 片成熟葉，每片葉測量兩點，每株取平均。每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。

(三)電解質滲漏率 (electrolyte leakage)

每株取頂芽下第 4 片成熟葉之避開中肋的葉圓片 (直徑為 1 cm)，先用去離子水清洗兩次，再以紙巾吸乾水分後放入試管中，加入 10 mL 之純水，以 100 rpm 震盪 3 小時後，以電導度計 (electrical conductivity meter, SUNTEX, Taiwan)測定初始電導度 (initial electrical conductivity,  $EC_0$ )，之後將試管置於 95°C 熱水浴 2 小時，破壞細胞膜，接著移出水浴槽待回復至室溫後，測定最大電導度 (maximum electrical conductivity,  $EC_1$ )。每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。

計算公式： $EC (\%) = (EC_0 / EC_1) \times 100\%$ 。

(四)丙二醛 (malondialdehyde, MDA)含量

依據 Heath and Packer (1968)之方法經部分調整。每株取第 4 片~第 6 片成熟葉 0.1 g，加入 4 mL 之 5% (w/v) TCA (trichloroacetic acid)於冰浴中研磨，之後於 4°C 下以 10,000 g 離心 5 分鐘，取出 1 mL 上清液，加入 4 mL 之 0.5% (w/v) TBA (thiobarbituric acid) [溶於 20% (w/v) TCA] 混和均勻。之後將試管置於 95 °C 熱水浴 30 分鐘，之後立刻放入冰中終止反應，最後以分光光度計 (U-2900, HITACHI)測定在 532 nm 及 600 nm 波長下之吸光值，產物消光係數為  $155 (\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1})$ ，空白試驗以 1 mL 之 5% TCA 取代酵素萃取液進行反應。每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。

(五)超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)活性

依據 Beyer and Fridovich (1987)之方法經部分調整。每株取第 4 片~第 6 片成熟葉 0.5 g，加入 5 mL 之磷酸緩衝溶液 (50 mM, pH 7.8)於冰浴下研磨均質，之後於 4°C 下 12,000 g 離心 5 分鐘，取出 0.05 mL 上清液，加入 1.5 mL 磷酸緩衝溶液 (50 mM, pH 7.8)、0.3 mL 甲硫胺酸 (Methionine, 130 mM)、0.3 mL 硝基四氮唑藍 (nitro blue tetrazolium, NBT, 750  $\mu\text{M}$ )、0.3 mL EDTA- $\text{Na}_2$  (100  $\mu\text{M}$ )、0.3 mL 核黃素 (riboflavin, 20  $\mu\text{M}$ )、0.25 mL 去離子水。於 4000 lux 光照下反應 20 分鐘，最後以分光光度計測定在 560 nm 下之吸光值，空白試驗以 0.05 mL 之磷酸緩衝溶液取代酵素萃取液進行反應。每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。

(六)過氧化氫酶 (catalase, CAT)活性

依據 Aebi (1974) 之方法經部分調整。每株取第 4 片~第 6 片成熟葉 0.05 g，加入 4 mL 之磷酸緩衝溶液 (50 mM, pH 6.8) 於冰浴下研磨均質，之後於 4°C 下 12,000 g 離心 20 分鐘，取出 0.2 mL 上清液，加入 2.7 mL 磷酸緩衝溶液 (100 mM, pH 7)，0.1 mL 過氧化氫 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 0.1M)、之後迅速放入分光光度計中，測定 240 nm 下 1 分鐘之吸光值變化，產物之消光係數為  $40 (\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1})$ ，空白試驗以 0.2 mL 之磷酸緩衝溶液取代酵素萃取液進行反應。每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。

(七)總可溶性糖 (total soluble sugar) 濃度與澱粉 (starch) 濃度

依據 Yoshida 等人 (1976) 之方法經部分調整。每株取第 7 片~第 8 片成熟葉，進行烘乾、磨粉，每盆 3 株，每重複 1 盆，共 3 重複。精稱乾燥磨粉之樣品 0.1 g 至於離心管，加 10 mL 去離子水，放入 30°C 水浴槽震盪 3 小時，以 4,000 rpm 在室溫下離心 10 分鐘。取上層液作醣類分析，殘渣烘乾作澱粉分析使用。取 0.2 ml 上層液加 4.8 mL 去離子水震盪均勻。在從中取出 2 mL 混和液加入 0.1 mL 液態石碳酸 (liquid phenol) 及 6 mL 濃硫酸，震盪均勻。靜置 30 分鐘後利用分光光度計測定 490 nm 之吸收值。以 0.5  $\mu\text{mol/mL}$  D-glucose 配置標準品。單位為 mg/g DW。

將前述離心之殘渣以 80°C 烘乾 8 小時以上，加入 2 mL 去離子水，放於沸水浴中 15 分鐘，取出後迅速冷卻。加入 2 mL 9.2N  $\text{HClO}_4$  震盪，其後 15 分鐘內不時攪拌。加去離子水至定量到 10 mL，以 4000 rpm 在室溫下離心 10 分鐘。取離心後之上層液 0.1 mL，加入 1.9 mL 去離子水、0.1 mL 液態石碳酸 (liquid phenol) 及 6 mL 濃硫酸，震盪均勻。靜置 30 分鐘後利用分光光度計測定 490 nm 之吸收值。以 0.5  $\mu\text{mol/mL}$  D-glucose 配置標準品。單位為 mg/g DW。

#### 四、統計分析

試驗結果以 SAS 套裝軟體 6.4 版中  $t$  檢定 ( $t$  test) 進行分析 ( $p < 0.05$ )，以 ANOVA (Analysis of variance) 進行變方分析 ( $\alpha = 0.05$ )，以 Fisher's LSD 比較各處理間平均値之差異顯著性分析。

## 結 果

### 一、於低溫 6 °C 下抗寒藥劑處理對甘藷葉之電解質滲漏率、SPAD 值與葉綠素螢光値之影響

於電解質滲漏率之表現 (圖 1)，海藻精 1000 倍和 2000 倍、腐植酸 50 倍和 100 倍、黃腐酸 50 倍的處理顯著低於對照組之 40.81%，分別為 33.09、31.81、24.64、30.13、31.88%，且以上 5 個處理的變化百分率亦顯著低於對照組 (表 2)，分別為 34.18%、28.85%、-0.7%、21.97%、28.5%。其中腐植酸 50 倍在所有的處理中的電解質滲漏率顯著最低 (圖 1)，且較處理前顯著降低 (表 2)。

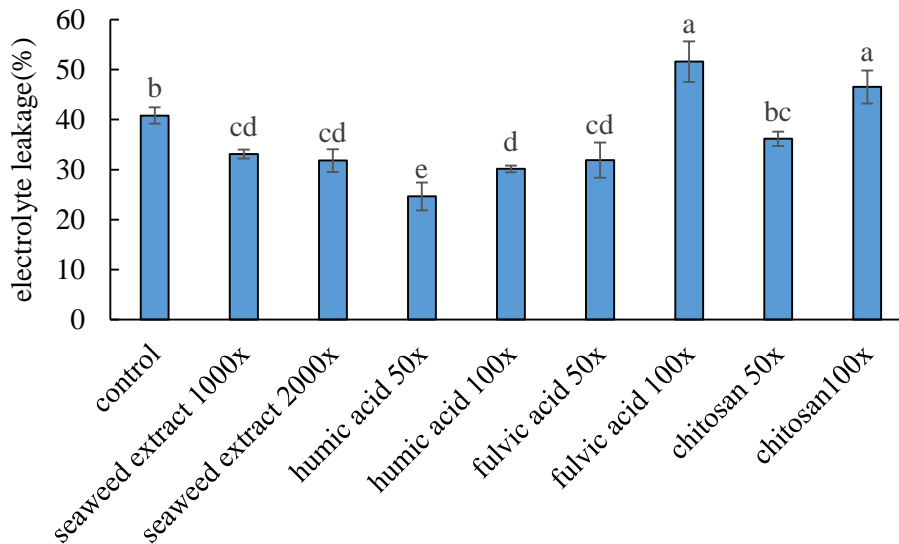


圖 1. 不同抗寒藥劑處理'日本種'甘藷葉於 6°C 下 9 小時之電解質滲漏率。

Fig. 1. Effects of various biostimulants treatment on electrolyte leakages in leaves of sweet potato 'Japanese' under 6°C. Means followed by the same letter(s) are not significantly different by Fisher's LSD test at 5%. I: represents standard error bar.

在 SPAD 值方面結果如圖 2(A)，除了對照組和甲殼素 50 倍以外，其他的藥劑處理在低溫 6°C 下 9 小時後，SPAD 值顯著高於低溫處理前，其中腐植酸 100 倍和黃腐酸 100 倍的值皆超過 50，分別為 51.18 和 51.89，且葉片萎凋的情形較明顯，亦產生輕微的水浸狀，至於變化百分率 (表 2)，除了腐植酸 50 倍和甲殼素 50 倍的處理與對照組無顯著差異之外，其他的藥劑處理皆顯著高於對照組。

在葉綠素螢光值結果如圖 2(B)，海藻精 1000 倍和 2000 倍、腐植酸 50 倍的處理可以顯著提高低溫 6°C 下 9 小時的葉綠素螢光值，分別為 0.8139、0.8190、0.8324，較低溫前之植株提高 6.39%、7.79%、2.07% (表 2)，而對照組、腐植酸 100 倍和甲殼素 100 倍處理的植株之葉綠素螢光值在低溫 6°C 下 9 小時皆低於 0.8，分別為 0.7817、0.7936、0.7975。

二、甘藷葉於田間寒流中處理抗寒藥劑對電解質滲漏率、MDA 含量、CAT 活性、SOD 活性與葉綠素螢光之影響

#### (一) 第一次寒流試驗

寒流期間為七天 (2018/1/8~2018/1/14)，於最後一天 (1/14) 進行調查，外觀上並無明顯之寒害症狀，結果如表 3 所示。藥劑處理'台農 71 號'於電解質滲漏率之效果，以腐植酸 50 倍與甲殼素 50 倍，分別為 21.48% 和 25.27%，顯著較對照組 15.73% 增加。電解質滲漏率受到處理因子之影響具顯著性，兩因子間之交感效應顯著。比較藥劑處理於 MDA 之效果，

'台農 71 號'以腐植酸 50 倍較對照組顯著下降，分別為 28.06 U/min·g FW 與 40.97  $\mu\text{mol/g}$  FW。MDA 含量受到品種之影響顯著，兩因子間不具交感效應。

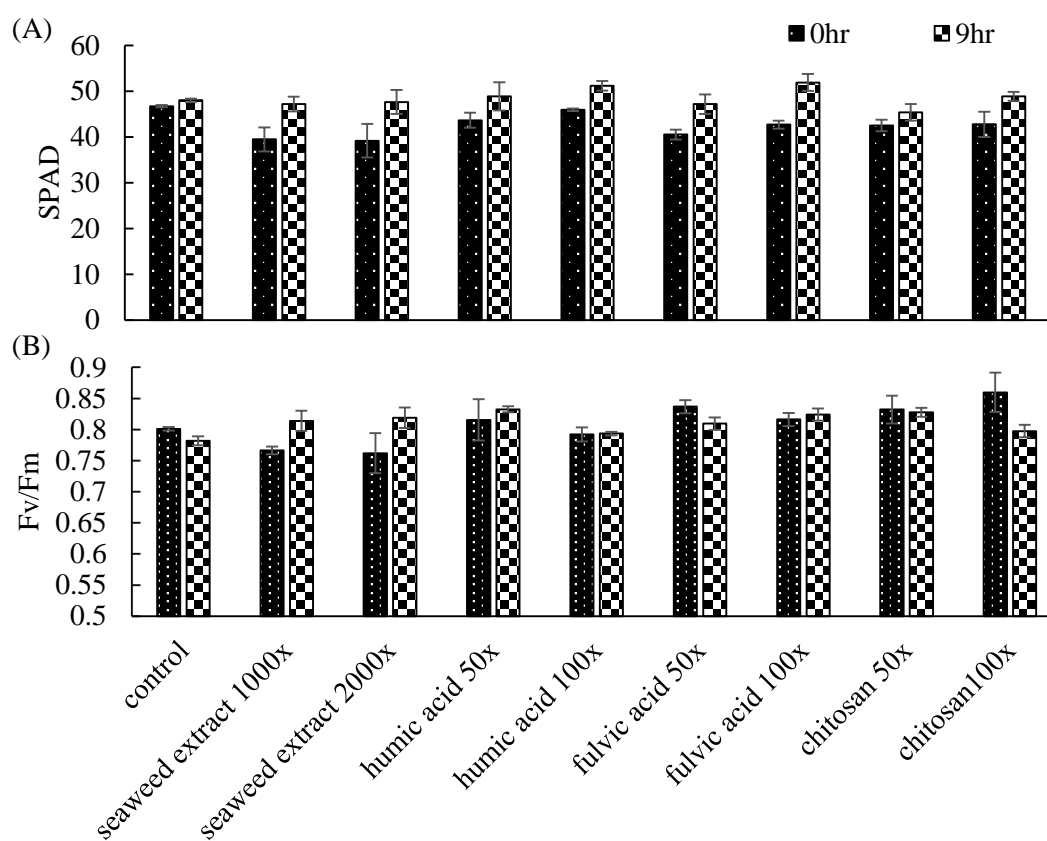


圖 2. 不同抗寒藥劑處理'日本種'甘藷葉於 6 °C 下 9 小時後之 SPAD 值 (A)與 Fv/Fm (B)。  
Fig. 2. Effects of various biostimulants treatment on SPAD values (A) and Fv/Fm (B) in leaves of sweet potato 'Japanese' under 6°C. I: represents standard error bar.

表 2. 抗寒藥劑處理'日本種'甘藷葉於 6 °C 下 9 小時後之電解質滲漏率、SPAD 值及 Fv/Fm 變化百分率。

Table 2. Effects of various biostimulants treatment on the percentage changes of electrolyte leakages (EL), SPAD values and Fv/Fm in leaves of sweet potato 'Japanese' under 6°C.

Treatment	percentage changes of EL (%)	percentage changes of SPAD (%)	percentage changes of Fv/Fm (%)
control	65.7 bc <sup>z</sup>	2.81 c	-2.42 cd
seaweed extract 1000x	34.2 de	21.57 a	6.39 a
seaweed extract 2000x	28.9 de	21.56 a	7.77 a
humic acid 50x	-0.7 f	7.86 c	2.07 b
humic acid 100x	22.0 ef	11.49 b	0.15 bc
fulvic acid 50x	28.5 de	21.52 a	-3.69 de
fulvic acid 100x	108.0 a	21.55 a	1.01 bc
chitosan 50x	46.8 cd	6.75 bc	-0.51 bcd
chitosan100x	87.7 ab	14.34 ab	-6.14 e

<sup>z</sup>: Means followed by the same letter(s) are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

在抗氧化酵素的表現上，比較藥劑處理'台農 71 號'於 CAT 表現之效果，以甲殼素 50 倍顯著較對照組高，分別為 0.24 與 0.10 U/min·g FW；'日本種'的表現與'台農 71 號'一樣，甲殼素 50 倍顯著較對照組高，分別為 0.56 與 0.18 U/min·g FW。CAT 活性受到品種及藥劑處理之影響顯著。藥劑處理'台農 71 號'於 SOD 之效果，以腐植酸 50 倍與甲殼素 50 倍之活性，分別為 185.87 與 181.55 U/g FW，顯著高於對照組 126.95 U/g FW；'日本種'中所有藥劑處理的表現皆顯著高於對照組，分別為 189.38、188.37、189.52 與 156.65 (對照組) U/g FW。SOD 的活性顯著受藥劑處理的影響。

藥劑處理對葉綠素螢光之影響，1 月 14 日為寒流之最後一天，1 月 16 日為寒流結束後的第二天。如圖 3 所示，1 月 14 日當天不同藥劑處理在'台農 71 號'的效果，甲殼素 50 倍顯著低於對照組，分別為 0.758 和 0.786，'日本種'中所有的處理皆與對照組無顯著差異。寒流結束後，1 月 16 日當天所有的藥劑處理和對照組之葉綠素螢光值皆上升到 0.8 以上，'台農 71 號'以寒冬寶 300 倍處理的植株顯著較對照組低，'日本種'中處理皆與對照組無顯著差異。



表 3. 甘藷葉'台農 71 號'與'日本種'於田間寒流期間 (2018/1/8~2018/1/14)處理抗寒藥劑在寒流結束後 (2018/1/14)之電解質滲漏率、MDA 含量、CAT 活性與 SOD 活性。

Table 3. Effects of various biostimulants treatment on electrolyte leakages (EL), MDA content, CAT activity and SOD activity in leaves of sweet potato 'Tainung 71' and 'Japanese' after cold current (2018/1/8~2018/1/14).

Cultivar	treatment	EL (%)	MDA content ( $\mu\text{mol/g}$ FW)	CAT activity (U/min·g FW)	SOD activity (U/g FW)
'Tainung 71'	control	15.73 c <sup>z</sup>	40.97 ab	0.10 b	126.95 b
	humic acid 50x	21.48 ab	28.06 c	0.11 b	185.87 a
	Han Dong Bao 300x	17.04 bc	42.90 a	0.08 b	158.54 ab
	chitosan 50x	25.27 a	32.90 bc	0.24 a	181.55 a
'Japanese'	control	19.45 a	48.06 a	0.18 b	156.65 b
	humic acid 50x	19.66 a	51.94 a	0.35 ab	189.38 a
	Han Dong Bao 300x	21.20 a	57.42 a	0.30 b	188.37 a
	chitosan 50x	17.63 a	59.68 a	0.56 a	189.52 a
	Cultivar	ns <sup>y</sup>	***	***	ns
	treatment	*	ns	*	*
	Cultivar × treatment	**	ns	ns	ns

<sup>z</sup>: Means in the cultivar followed by the same latter(s) are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

<sup>y</sup>: NS, \*, \*\*, \*\*\* means nonsignificant or significant at P = 0.05, 0.01 or 0.001, respectively.

## 2. 第二次寒流試驗

寒流期間為九天 (2018/2/1~2018/2/9)，於寒流最後一天 (2018/2/9)進行調查，外觀上並無明顯之寒害症狀，其結果如表 4 所示。在葉綠素螢光值方面，抗寒藥劑的效果以含有海藻精 1000 倍、腐植酸 200 倍和甲殼素 200 倍之複方處理的'台農 71 號'和'日本種'，分別為 0.853 與 0.848，顯著高於對照組，0.801 與 0.812，葉綠素螢光受到處理的影響，且兩因子間具有顯著之交感效應。在 MDA 的表現上，抗寒藥劑複方處理的'台農 71 號'和'日本種'皆顯著較對照組低，分別為 13.76 與 16.77  $\mu\text{mol/g}$  FW，其值受到處理的影響。

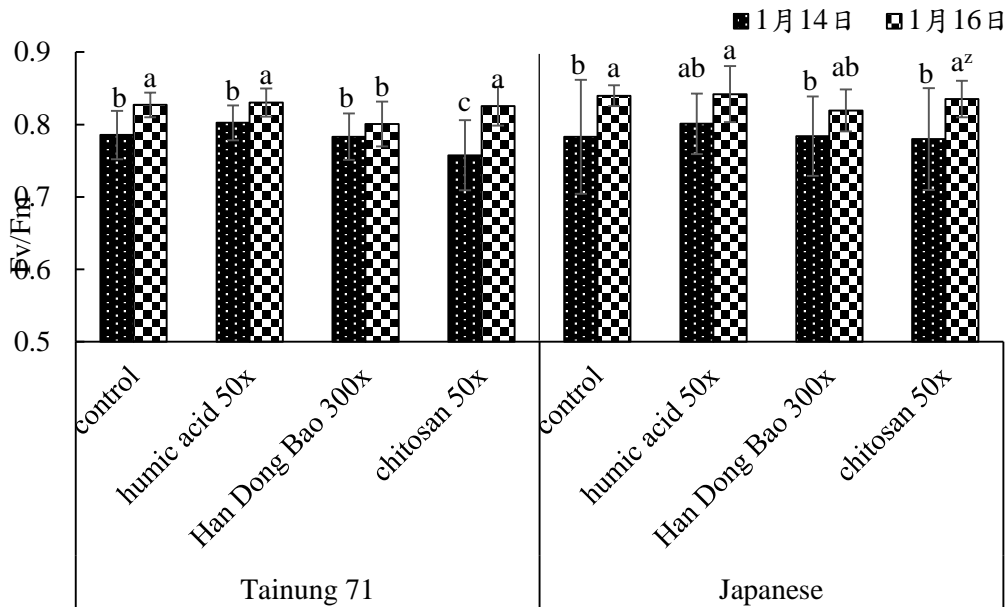


圖 3. 甘藷葉'台農 71 號'與'日本種'於田間寒流 (2018/1/8 ~ 2018/1/14)最後一天 (1/14)與寒流過後第三天 (1/16)之葉綠素螢光 Fv/Fm。

Fig. 3. Effects of various biostimulants treatment on Fv/Fm in leaves of sweet potato 'Tainung 71' and 'Japanese' on the last day of cold current (1/14) and the third day (1/16) after cold current (2018/1/8 ~ 2018/1/14).

<sup>z</sup>: Means in the cultivar followed by the same latter(s) are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level. I: represents standard error bar.

抗氧化酵素表現如下，在 CAT 的活性上，兩品種之複方處理與對照組相比並無顯著差異，其值受到品種的影響，但是不受到處理的影響，兩因子間無交感效應。在 SOD 活性的活性上，兩品種之複方處理與對照組相比亦皆無顯著差異。

在醣類的表現方面，總可溶性醣 (TSS)於兩品種之複方處理，與對照組無顯著差異，且不受到品種和處理的影響，兩因子間無交感效應。澱粉的趨勢與總可溶性醣類似，於兩品種之複方處理，與對照組無顯著差異，受到品種因子的影響。

表 4. 甘藷葉'台農 71 號'與'日本種'於田間寒流期間 (2018/2/1~2018/2/9)處理抗寒藥劑在寒流最後一天 (2/9)之生理情形。

Table 4. Effects of multi biostimulants treatment on physiological activities in leaves of sweet potato 'Tainung 71' and 'Japanese' on the last day (2/9) of cold current (2018/2/1~2018/2/9).

Cultivar	treatment	Fv/Fm	MDA content ( $\mu\text{mol/g}$ FW)	CAT activity (U/min·g FW)	SOD activity (U/g FW)	TSS (mg/g DW)	Starch (mg/g DW)
'Tainung 71'	Control <sup>x</sup>	0.801 b <sup>z</sup>	30.97 a	0.42 a	188.1 a	4.33 a	15.10 a
	multiple biostimulant	0.853 a	13.76 b	0.43 a	186.1 a	3.14 a	13.87 a
'Japanese'	Control <sup>x</sup>	0.812 b	38.71 a	0.88 a	200.8 a	3.82 a	18.48 a
	multiple biostimulant	0.848 a	16.77 b	0.95 a	176.1 a	5.45 a	18.16 a
Cultivar		ns <sup>y</sup>	ns	*	ns	ns	*
treatment		*	*	ns	ns	ns	ns
Cultivar × treatment		**	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>z</sup>: Means in the cultivar followed by the same latter(s) are not significantly different by *t* test at  $p < 0.05$ .

<sup>y</sup>: NS, \*, \*\*, \*\*\* means nonsignificant or significant at  $P = 0.05, 0.01$  or  $0.001$ , respectively.

<sup>x</sup>: multiple biostimulant was the mixture of seaweed extract 100x, humic acid 1000x and chitosan 200x.

## 討 論

一、甘藷葉於低溫 6°C 生長箱下抗寒藥劑處理對寒害指數、電解質滲漏率、SPAD 值與葉綠素螢光值之影響

葉面施肥是一個經濟且有效率的施肥方式，相較於土壤施肥，葉面肥的施用濃度和總量較低，且能迅速補充植物營養 (Fageria *et al.*, 2009)。低溫會降低根部活性以及對營養的吸收，因此需要藉由葉面施肥來及時補充養分，因此本試驗利用葉面噴施不同生物刺激素抗寒藥劑來提高作物的抗逆境能力。

低溫下施用不同抗寒藥劑於甘藷葉'日本種'，其電解質滲漏率如圖 1，腐植酸、黃腐酸和甲殼素的高濃度(稀釋倍數較低)表現較佳，有顯著較低的電解質滲漏率，由表 2 可見，

腐植酸 50 倍較對照組和其他的藥劑處理有顯著最低的變化百分率。較高的電解質滲漏率除了反應出膜體的受損程度，亦代表葉片中可能殘留了過多的溶質，在短時間的低溫處理中，吸收、轉運及代謝地較慢。SPAD 值的表現如圖 2 (A)，對照組及所有的處理組在低溫下的 SPAD 值皆上升，推測是因為葉片輕微萎凋造成的，雖然對照組與處理組的上升幅度皆在 22% 以內 (表 2)，但只有腐植酸 50 倍和甲殼素 50 倍的變化在 10% 以內。Delfine 等人 (2005) 的研究指出葉面噴施腐植酸可以提高作物對逆境的抗性，在乾旱逆境下藉由增加 rubisco 的活性來提高光和作用的活性。將葡萄的莖蔓插條浸 1.0% (w/v) 的甲殼素中，可誘導其對乾旱逆境的抗性，並且維持葉綠素的含量 (Górnik *et al.*, 2008)。

葉綠素螢光的表現如圖 2 (B)，只有海藻精 1000 倍、2000 倍和腐植酸 50 倍的處理，其葉綠素螢光在低溫下上升，且變化百分率比對照組顯著上升。噴施腐植酸、海藻萃取物或腐植酸加海藻萃取物於匍匐翦股穎 (為草坪作物) 上，可顯著提高其 Fv/Fm 值，分別為 11%、9% 和 12% (Zhang *et al.*, 2003)。整體而言，由生長箱的試驗得出較佳的抗寒藥劑及倍數為腐植酸 50 倍，其次為甲殼素 50 倍，再來是海藻精 1000 倍、2000 倍與腐植酸 100 倍，因此選出腐植酸 50 倍與甲殼素 50 倍進一步實施田間低溫試驗，觀察其抗寒效果。

二、甘藷葉於田間低溫處理抗寒藥劑對電解質滲漏率、MDA 含量、CAT 活性、SOD 活性與葉綠素螢光之影響

#### (一) 第一次寒流試驗

為了解抗寒藥劑預措在自然界低溫下的效果，於寒流來臨前噴施，並在寒流最後一天調查作物之生理。在電解質的表現上，處理組在兩品種的表現並無顯著低於對照組 (表 3)，可能是自然界中施用抗寒藥劑到葉片後，於寒流來臨時經過一段時間的代謝轉運，在寒流後調查之葉片上不會殘留抗寒藥劑之鹽分與溶質。'台農 71 號' 的 MDA 含量以腐植酸 50 倍處理顯著較低，在'日本種' 當中所有的處理組與對照組無顯著差異。

比較抗寒藥劑於兩品種的效果，抗氧化酵素活性方面，以腐植酸 50 倍顯著提高'台農 71 號' 的 SOD 活性，甲殼素 50 倍對 CAT 和 SOD 活性皆有顯著提升。'日本種' 則是三種藥劑處理皆可提高其 SOD 活性，可是只有甲殼素 50 倍能提高 CAT 活性。在玉米的試驗中，利用 0.50% 之甲殼素進行滲調處理的種子，能提高不耐寒品系在發芽後對低溫的抗性，其 MDA 含量下降、可溶性糖和脯胺酸的濃度增加、抗氧化酵素 CAT 和 POD 的活性提高 (Guan *et al.*, 2009)。噴施腐植酸和腐植酸加海藻萃取物於匍匐翦股穎 (為草坪作物) 上，在兩年的試驗中皆可顯著提高其 SOD 活性 (Zhang *et al.*, 2003)。寒冬寶的抗寒效果在此次實驗中呈現在'台農 71 號' 的電解質滲漏率和'日本種' 的 SOD 活性上。寒冬寶為富含多醣類的有機液態肥料，亦有研究指出噴施蔗糖溶液可提升胡瓜幼苗的抗寒能力 (Cao *et al.*, 2014)。

田間低溫下，抗寒藥劑的處理在兩品種光合系統活性的維持上幫助不大 (圖 3)，所有的 Fv/Fm 值皆在 0.75 以上，代表光合作用系統並沒有受到很嚴重的破壞，且在寒流後第 3 天 Fv/Fm 值皆復原到 0.8 以上。整體而言，在第一次田間低溫中，兩品種甘藷葉中以甲殼素 50 倍的表現較佳，藉由增加抗氧化酵素的活性來提高其低溫抗性。然而腐植酸在此

次試驗中，發現葉片有褐色沉澱，恐影響其經濟價值，需格外注意。

## (二)第二次寒流試驗

本試驗嘗試混和腐植酸、甲殼素和海藻精的施用，稀釋倍數分別為 200 倍、200 倍與 1000 倍，每盆噴施 20 mL，觀察其抗寒效果。Yan 等人 (1997) 的研究指出，海藻萃取物可以提高膜體脂肪酸的不飽和作用，使多年生的黑麥草在乾旱逆境下有較佳的葉片水分潛勢。在海藻萃取液的抗逆境效果中，具有保護的物質 (例如抗氧化劑)，亦可調節作物內生的逆境反應基因 (Calvo *et al.*, 2014)。

結果顯示複方處理只對葉綠素螢光和 MDA 含量有顯著影響，抗氧化酵素與醣類濃度皆無顯著差異 (表 7)，趨勢與第一次寒流試驗相反，且兩品種對照組的 MDA 含量皆小於第一次寒流試驗的對照組，因此推論可能是兩次寒流間甘藷葉產生了由自然環境誘導的馴化作用。馴化作用是一個能提高作物抗寒性的方法，過程中會改變生理生化反應，例如醣類、可溶性蛋白和無機酸等物質的濃度，以及調整膜體脂質的組成，和新合成蛋白質 (Petrov *et al.*, 2016)。

由當月之氣溫資訊可知，第一與第二次寒流中間共 17 天，其平均溫度為 19.34°C，10~20°C 的溫度共累積 240 小時，平均每日累積 13.34 小時。再者比較兩次寒流的強度，第一次寒流期間，6 天下來的平均溫度為 13.77°C，10°C 以下的溫度累積共 22 小時，第二次寒流期間，8 天下來的平均溫度為 12.84°C，10°C 以下的溫度累積共 40 小時，其中有連續 32 小時在 10°C 以下，可見第二次寒流的強度高於第一次的寒流。

比較兩品種的複方處理與第一次田間低溫的生理表現，在 MDA 含量上較低、Fv/Fm 值和 CAT 活性皆較高，顯示兩次寒流中間的馴化提高了作物抗寒性，再加上複方處理有加成的抗寒效果。低溫會直接降低細胞膜的流動性，馴化可以增加膜體脂肪酸的不飽和作用，使細胞膜維持一定的功能與流動性 (Los and Murata, 2004)。其中 MDA 含量上，複方處理的兩品種比第一次寒流低，顯示抗寒藥劑增加細胞膜對低溫的抗性，也有可能是抗寒藥劑維持了光合作用的活性後，降低活性氧化物的產生，故膜體的過氧化程度便隨之降低。在抗氧化酵素的表現上，兩品種中雖然處理組與對照組無顯著差異，但是 CAT 的活性大於第一次寒流試驗，約為其兩倍 (表 4)，因此推測可能由於馴化作用的影響，使其抗氧化活性提高，品種間又以 '日本種' 的 CAT 活性提升較高。Anderson 等人 (1995) 的研究指出未馴化的玉米幼苗因為活性氧化物的累積，在低溫下產生寒害，然而經過冷馴化的幼苗其抗氧化系統活性提高，因此對低溫產生抗性。

兩次田間低溫試驗並無在甘藷葉外觀產生嚴重的劣變，葉片仍維持綠色且有商品價值。比較其生理表現，未經過馴化處理在面臨低溫逆境時，抗寒藥劑於提升抗氧化酵素之活性上十分重要，但是經過馴化處理後觀察到抗寒藥劑對光合作用和膜體有加成保護效果。兩次寒流的低溫高峰皆出現在清晨 5~7 點的時段，若此時能保護光合作用的系統免於低溫傷害，及降低日出後的光抑制情形，便能有效降低活性氧化物質的產生，再者提高其抗氧化系統活性、清除活性氧化物質，便是施用抗寒藥劑的主要目的。

## 參考文獻

- 王安祥、龔楚嫻、吳宜昭、于宜強。2016。2016年1月臺灣地區寒害事件彙整與分析。國家災害防救科技中心災害防救電子報 128: 1-15。
- 李良。1994。甘藷。雜糧作物各論 III 根及莖類。財團法人臺灣區雜糧發展基金會。臺灣。pp. 1329-1465
- 辛仲文、姜金龍、林維和。1999。葉菜甘藷。少量多樣化雜糧作物栽培手冊。臺灣省政府農林廳。
- 行政院農委會。2016。農情調查資訊查詢。農情報告資源網。  
<[http://agr.afa.gov.tw/afa/afa\\_frame.jsp](http://agr.afa.gov.tw/afa/afa_frame.jsp)>。
- Aebi, H. 1974. Catalases. In: H.U. Bergmeyer (ed). *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, New York. pp. 673-684
- Anderson, M. D., T. K. Prasad, and C. R. Stewart. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol.* 109: 1247-1257.
- Beyer Jr., W. F. and I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 161(2): 559-566.
- Calvo, P., L. Nelson, and J.W. Kloepper. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383: 3-41.
- Cao, Y. Y., M. T. Yang, X. Li, Z. Q. Zhou, X. J. Wang, and J. G. Bai. 2014. Exogenous sucrose increases chilling tolerance in cucumber seedlings by modulating antioxidant enzyme activity and regulating proline and soluble sugar contents. *Sci. Hort.* 179: 67-77.
- Delfine, S., R. Tognetti, E. Desiderio, and A. Alvino. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. *Agron. Sustain. Dev.* 25(2): 183-191.
- Fageria, N. K., M. B. Filho, A. Moreira, and C. M. Guimarães. 2009. Foliar fertilization of crop plants. *J. Plant Nutr.* 32(6): 1044-1064.
- Górnik, K., M. Grzesik, and B. Romanowska-Duda. 2008. The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 16: 333-343.
- Guan, Y. J., J. Hu, X. J. Wang, and C. X. Shao. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 10(6): 427-433.
- Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125(1): 189-198.
- Los, D. A. and N. Murata. 2004. Membrane fluidity and its roles in the perception of

- environmental signals. *Biochim. Biophys. Acta* 1666: 142-157.
- Mahajan, S. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch. Biochem. Biophys.* 444(2): 139-158.
- Petrov, K. A., L. V. Dudareva, V. V. Nokhsorov, A. A. Perk, V. A. Chepalov, V. E. Sophronova, V. K. Voinikov, I. S. Zulfugarov, and C. H. Lee. 2016. The role of plant fatty acids in regulation of the adaptation of organisms to the cold climate in cryolithic zone of Yakutia. *J. Life Sci.* 26: 519-530.
- Yan, J., R. E. Schmidt, and D. M. Orcutt. 1997. Influence of fortified seaweed extract and drought stress on cell membrane lipids and sterols of ryegrass leaves. *Intl. Turfgrass Soc. Res. J.* 8: 1356-1362.
- Yoshida, S., D. A. Forno, J. H. Cock, and K. A. Gomez. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice research Institute, Los Banos, Philippines. pp. 46-49.
- Zhang, X., E. H. Ervin, and R. E. Schmidt. 2003. Physiological effects of liquid applications of a seaweed extract and a humic acid on creeping bentgrass. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128(4): 492-496.
- Zhang, X., E. H. Ervin, and R. E. Schmidt. 2003. Seaweed extract humic acid, and propiconazole improve tall fescue sod heat tolerance and posttransplant quality. *HortScience* 38: 440-443.

## Biostimulants Enhance Chilling Tolerance of Sweet Potato Leaves (*Ipomoea batatas* L.) in Chilling Stress

Kuan-Lin Liao<sup>1)</sup> Yu Sung<sup>2)</sup>

Key words : biostimulants, sweet potato leaves, chilling stress, chilling tolerance

### Summary

To examine the efficiency of chilling-tolerance induced agents, kinds of biostimulants were used in this study. The agents were sprayed on leaves of 'Japanese' sweet potato one hour before placing under 6°C for 9 hours. Leaves treated with 1/50 diluted humic acid showed a significant change of -0.7% in electrolyte leakage, in addition to a significant increase of 2.07% in Fv/Fm as compared with control. The effect of humic acid on electrolyte leakage was not only significantly lower than control, but also lower than other agents treatment in this study. Leaves treated with 1/50 diluted chitosan had the smallest changes in SPAD value percentage 6.75%. Leaves of 'Japanese' and 'Tainung 71' in the field were treated with 1/50 diluted chitosan before cold current, which significantly increased the CAT and SOD activities under low temperature stress. Leaves of 'Tainung 71' treated with 1/50 diluted humic acid exhibited significant decrease on MDA contents. After cold acclimation, the mixture of multiple chilling-tolerance induced agents had a synergetic effect on inducing chilling tolerance in leaves of sweet potato 'Japanese' and 'Tainung 71', the Fv/Fm values were increased to 0.848 and 0.853, respectively, while the MDA contents were lowered to 16.77 and 13.76  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW, respectively.

---

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

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