

韭蘭屬種間雜交種之微體繁殖

郭欣宜¹⁾ 朱建鏞²⁾

關鍵字：韭蘭屬、器官培養、增殖

摘要：本試驗取白蔥蘭及三種韭蘭屬之種間雜交種的鱗莖置於室溫陰乾2週後進行組織培養。白蔥蘭鱗莖、‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-1’及‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-2’以十字對切成4個帶基盤的培植體，培養於含1/2 MS，30 g/L蔗糖，4 g/L 洋菜，pH為5.7±0.1的培養基中，可得較多的芽體形成率及平均芽體數。出瓶移植網室栽培4週後的存活率為85.7 %-100 %。‘Z. citrine × Z. grandiflora 96-1’、則以1/2 MS、0.5 mg/L NAA及5 mg/L BA、4 g/L 洋菜、30g/L 蔗糖，pH值為5.7±0.1的培養基中，芽體形成率及平均芽體數表現較佳，出瓶移植網室栽培4週後的存活率皆達90 % 以上。

前 言

韭蘭屬(*Zephyranthes*)為石蒜科(*Amaryllidaceae*)多年生單子葉植物，分佈於西印度群島、熱帶美洲及美國中南部之沼澤及濕潤草地上(Guoyin *et al.*, 2006; Knox, 2009)。韭蘭屬植物(*Zephyranthes spp.*)多以分離球根或種子繁殖。Intakarn 等人(1997)和 Gilman (1999)分別指出 *Z. citrina* 不易形成子球，而 *Z. rosea* 及其雜交種利用子球或鱗片繁殖速度很慢，因此組織培養為快速繁殖重要技術。Gangopadhyay 等人(2010)利用組織培養於2個月後成功增殖 *Z. grandiflora*，1個月後將其發根小鱗莖移植溫室栽培於6個月後開花，大幅縮短韭蘭屬植物(*Zephyranthes spp.*)利用種子繁殖需2年才開花的時間。本研究室曾利用 *Z. citrina* 和 *Z. grandiflora* 進行種間雜交，獲得一些優良單株如‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’、‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-1’、‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-2’等(留, 2006)，唯大多數種間雜交種都具有親本 *Z. citrina* 相似的不易分球之特性。因此本研究目的，擬先以可以大量獲得材料的白蔥蘭建立蔥韭蘭組培量化方法，再利用建立的方法大量繁殖這些種間雜交的優良單株。

1) 國立中興大學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

材料與方法

一、試驗材料

(一) 試驗材料

本試驗材料為栽培於中興大學霧峰園藝試驗場的白蔥蘭(*Zephyranthes candida* (Lindl.) Herbert.)及韭蘭屬(*Zephyranthes*)之種間雜交種‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’ (粉紅條紋小花)、『(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1’ (粉紅色大花)、『(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2’ (磚紅色，黃色花心)(圖 1)(留，2006)。鱗莖自田間挖取，取直徑約 1.0 cm-1.5 cm 之種球，去除葉片，裝於塑膠籃中放在室內陰乾，2 週後作為培殖體來源。



圖 1. 韭蘭屬(*Zephyranthes*)之種間雜交種。

Fig. 1. The interspecific of *Zephyranthes* hybrids.

A. ‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’

B. ‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1’

C. ‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2’

(二) 基本培養基之配製及培養環境

培養基以 1/2 MS(Murashige and Skoog, 1962)鹽類為基本配方。培養基由每公升 2.2 g 的 MS 商用配方(Sigma, USA)配製而成。試驗添加的植物生長調節劑有萘乙酸(α -naphthaleneacetic acid, NAA)和 6-苯胺基嘌呤(6-benzylaminopurine, BA)。另外以 30 g/L 蔗糖(台糖精緻細砂)做為碳源，洋菜粉(Difco Bacto agar)為凝膠物質，pH 值調整為 5.7 ± 0.1 。每支玻璃試管(2.5 cm×10 cm)注入 10 ml 培養基，每瓶 500 ml 蘭花瓶注入 100 ml 培養基，以 121 °C 高溫，1.1 Kg/cm² 高壓滅菌 20 分鐘。培養室溫度維持在 25 ± 2 °C，以冷白螢光燈(FL40D/38，旭光，台灣)提供 3000 lux 光照，每日照光 16 小時。

二、試驗方法

(一) 初代培養

取已陰乾 2 週的白蔥蘭鱗莖，去除外層乾枯鱗皮及兩層白色鱗片後，再切除根部至鱗莖裸露出白色基盤。削整過的鱗莖再經 1 % NaOCl 消毒 5 分鐘，再以無菌水沖洗 3 次。鱗莖以十字對切成 4 個帶基盤培植體，進行以下試驗：

1. 洋菜濃度對鱗莖培養之影響

含 1/2 MS 培養基分別以 0 g/L、2 g/L、4 g/L、6 g/L 或 8 g/L 之洋菜固化，每試管接種 1 個培植體，每重複 8 個培植體。唯 0g/L 洋菜濃度屬液體培養，故將滅菌過的培養基裝入已滅菌之塑膠培養皿中，每 1 個培養皿接種 8 個培植體當作 1 個重複。培養 4 週後，調查其芽體形成數及芽體形成率。

2. 植物生長調節劑對鱗莖培養之影響

含 1/2 MS 的固體培養基中含 NAA 與 BA 濃度之組合分別有 NAA(0 mg/L、0.5 mg/L 或 1 mg/L)與 BA(0 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、15 mg/L 或 20 mg/L)共 15 種處理。每試管接種 1 個培植體，每重複 8 個培植體。培養 4 週後，調查其芽體形成數及芽體形成率。

3. 增殖培養

以韭蘭屬(*Zephyranthes*)之種間雜交種‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’、‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1’及‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2’依循前述白蔥蘭試驗中效果最好的處理進行初代培養。將初代培養所培養出的小鱗莖做為材料進行增殖。將小鱗莖去葉後以一刀對切(1/2, 2 個培植體)或十字對切(1/4, 4 個培植體)做為培植體之 2 種處理進行試驗，接種於 500 ml 之蘭花瓶。蘭花瓶內裝有 100 ml 之以下配方，其一配方為 1/2 MS(2.2 g/L)、4 g/L 洋菜、30g/L 蔗糖，pH 值為 5.7±0.1；另一配方為 1/2 MS(2.2 g/L)、0.5 mg/L NAA 及 5 mg/L BA、4 g/L 洋菜、30g/L 蔗糖，pH 值為 5.7±0.1。每個蘭花瓶接種 30 個培植體，培養 4 週後調查芽體形成數、芽體形成率及新鱗莖的直徑。

4. 出瓶栽培

最後將形成的發根小鱗莖去除根部後，種植於裝有由等體積的珍珠石和泥炭土混合成之培養土的 200 格穴盤中。栽培環境為中興大學園藝系的網室。每天澆水 1 次，培養 4 週後，調查其存活率。

5. 統計分析

試驗採用完全隨機設計(completely randomized design, CRD)，每一個容器視為 1 重複，每個處理總共 3 重複，使用 CoStat 6.1 (CoHort software, Minneapolis, USA)，白蔥蘭初代培養以 ANOVA 判別顯著差異性並進行鄧肯氏多變域分析(Duncan's multiple range)，韭蘭屬種間雜交種之增殖培養則以 ANOVA 判別顯著差異性並進行最小顯著差異分析(Least significant difference, LSD)，分析各處理間之顯著差異性($p \leq 0.05$)。

結 果

一、初代培養

(一) 洋菜對鱗莖培養之影響

將4等份培植體培養於含不同洋菜濃度的培養基中,4週後芽體形成率皆在75%以上。其中當洋菜濃度為4 g/L,芽體形成率(100%)及平均芽體數(4.04)皆高於其他處理(表1)。而液體培養下,只產生1.80個芽體,明顯低於其他處理,且此處理產生芽體之圓球狀部分,顏色較為透明,有水浸狀的情形發生,其他處理則無此情形發生。

表1. 洋菜對白蔥蘭鱗莖初代培養芽體生長之影響^z

Table 1. Effects of agar on shoot growth of *Zephyranthes candida* in initial culture^z.

Agar (g/L)	Shoot formation (%)	No. of shoots/explant
0	79.2 b ^y	1.8 c
2	87.5 ab	3.3 b
4	100.0 a	4.0 a
6	75.0 b	3.0 b
8	79.2 b	2.9 b

^z Explants cultured on half-strength MS medium for 4 weeks.

^y Means followed by the same letter within columns are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

(二) 植物生長調節劑對鱗莖培養之影響

將培植體接種於含BA 0 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、15 mg/L或20 mg/L及NAA 0 mg/L、0.5 mg/L或1 mg/L等組合之培養基中培養4週後芽體生長情形如表2。BA及NAA濃度皆為0 mg/L之處理下,芽體形成率高達95.83%,而在同樣未添加NAA的處理中,隨著BA濃度增加,芽體形成率及平均芽體數隨之下降。平均芽體數以BA及NAA濃度皆為0 mg/L及BA為5 mg/L加NAA濃度為0.5 mg/L此兩個處理表現較佳,分別為4.29及3.84。

二、增殖培養

將‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’、‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1’、‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2’3個雜交種初代小鱗莖去葉後,進行一刀

對切成 1/2 或十字對切成 1/4 大小為培植體分別接種於不含生長調節劑以及 BA 5 mg/L 及 NAA 0.5 mg/L 之兩種培養基中，培養 4 週後進行調查。‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’ 在不含生長調節劑或含有 BA 5 mg/L 及 NAA 0.5 mg/L 之培養基中，不論是切成 1/2 或 1/4 之培植體大小對芽體形成率、平均芽體數及芽體直徑皆無顯著差異。同為切成 1/2 的培植體或切成 1/4 大小的培植體處理下，以接種於含有 BA 5 mg/L 及 NAA 0.5 mg/L 之培養基中的芽體形成率及平均芽體數表現較佳，分別為 91.67 %、1.22 及 91.67 %、1.08(表 3)。*(Z. citrine* × *Z. grandiflora)* × *Z. grandiflora* 96-1’ 在不含生長調節劑之培養基處理中或含有 BA 5 mg/L 及 NAA 0.5 mg/L 之培養基中，切成 1/2 的培植體或是切成 1/4 之培植體大小對其芽體形成率、平均芽體數及芽體直徑皆無顯著差異。而在同為切成 1/2 的培植體或切成 1/4 大小培植體的處理下，以培養於不含生長調節劑之培養基中的芽體形成率、平均芽體數及芽體直徑表現較佳，分別為 91.67 %、1.14 及 2.90 mm 或 88.89 %、0.89 及 2.10 mm (表 3)。*(Z. citrine* × *Z. grandiflora)* × *Z. grandiflora* 96-2’ 不論是在不同生長調節劑組合的培養基處理或不同大小培植體之處理中，芽體形成率、平均芽體數及芽體直徑皆無顯著差異性(表 3)。

三、出瓶栽培

形成的發根小鱗莖去除根部移植到網室栽培 4 週後，‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’ 在 1/4 大小的培植體培養於不含生長調節劑之培養基中的瓶苗出瓶後存活率為 100 %，其餘皆在 90 % 以上。*(Z. citrine* × *Z. grandiflora)* × *Z. grandiflora* 96-1’ 之存活率約 90 %-96 %。*(Z. citrine* × *Z. grandiflora)* × *Z. grandiflora* 96-2’ 不論是在不同生長調節劑組合或培植體大小之處理，存活率略低於另外兩個種間雜交種約 85 %-94 % (表 3)。

表 2. BA 與 NAA 對白蔥蘭鱗莖初代培養芽體生長之影響^z

Table 2. Effects of the concentrations of BA and NAA on shoot growth of *Zephyranthes candida* in initial culture^z.

BA (mg/L)	NAA (mg/L)	Shoot formation (%)	No. of shoots/explant
0	0	95.8 a ^y	4.3 a
0	0.5	83.3 abc	3.4 ab
0	1	58.3 cde	2.1 bc
5	0	50.0 de	1.6 cde
5	0.5	87.5 ab	3.8 a
5	1	75.0 abcd	3.3 ab
10	0	37.5 ef	0.9 cde
10	0.5	75.0 abcd	2.0 bcd
10	1	75.0 abcd	2.1 bc
15	0	20.8 fg	0.4 de
15	0.5	58.3 cde	0.9 cde
15	1	54.2 de	1.2 cde
20	0	12.5 g	0.1 e
20	0.5	54.2 de	1.3 cde
20	1	66.7 bcd	0.8 cde

^z Explants cultured on half-MS medium supplemented with 4 g/L Agar for 4 weeks.

^y Means followed by the same letter within columns are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5 % level.

表 3. BA 與 NAA 及培植體大小對種間雜交種韭蘭芽體生長之影響^z

Table 3. Effects of BA and NAA and bulb size on shoot growth of *Zephyranthes* interspecific hybrids in the subculture^z.

Hybrid clone	BA (mg/L)	NAA (mg/L)	Bulb explants	Shoot formation (%)	No. of shoots/explant	New bulb diameter (mm)	<i>Ex vitro</i> survival (%)
' <i>Z. citrine</i> × <i>Z. grandiflora</i> 96-1'	0	0	1/2	69.4 b ^y	0.7 b	1.7 a	96.7
	0	0	1/4	75.0 ab	0.8 b	1.8 a	100.0
	5	0.5	1/2	91.7 a	1.2 a	1.8 a	90.0
	5	0.5	1/4	91.7 a	1.1 a	1.6 a	90.0
'(<i>Z. citrine</i> × <i>Z. grandiflora</i>) × <i>Z. grandiflora</i> 96-1'	0	0	1/2	91.7 a	1.1 a	2.9 a	92.3
	0	0	1/4	88.9 a	0.9 ab	2.1 ab	96.0
	5	0.5	1/2	77.8 ab	0.8 b	2.0 b	90.0
	5	0.5	1/4	58.3 b	0.8 b	2.0 b	90.0
'(<i>Z. citrine</i> × <i>Z. grandiflora</i>) × <i>Z. grandiflora</i> 96-2'	0	0	1/2	83.3 a	0.9 a	3.0 a	93.8
	0	0	1/4	75.0 a	0.9 a	2.4 a	93.1
	5	0.5	1/2	83.3 a	0.8 a	2.3 a	90.0
	5	0.5	1/4	62.5 a	0.8 a	2.0 a	85.7

^z Explants cultured on half-MS medium supplemented with 4 g/L agar for 4 weeks.

^y Means followed by the same letter within columns are not significantly different by least significant difference (LSD) test at 5 % level.

討 論

洋菜濃度會影響培養基之滲透壓進而影響培植體吸收養分的能力。由於韭蘭屬植物在夏季開花並形成子球，多雨過後可促進開花，因此推測水份濕度可能也會影響子球形成(De Hertogh and Le Nard, 1993; Gilman, 1999)。本試驗將白蔥蘭培植體進行液體培養，結果發現芽體形成率及平均芽體數表現皆不理想。但洋菜濃度調整為 4 g/L 時芽體形成率達 100%，平均芽體數為 4.0(表 1)。顯示此洋菜濃度所呈現的滲透壓讓白蔥蘭培植體吸收養分能力最好。

植物荷爾蒙調控著植物的生長與發育，在組織培養的過程中加入植物生長調節劑，來控制植物生長發育之效果。Pierik(1987)指出培植體除了受外源植物生長調節劑的調控外，內生生長素及細胞分裂素也會影響培植體的生長與發育。白蔥蘭培植體培養於不添加生長調節劑的培養基中，芽體形成率高達 95.83%(表 2)，代表其內生生長素及細胞分裂素足以讓白蔥蘭形成芽體。雖然培養於 BA 5 mg/L 和 NAA 0.5 mg/L 之培養基中其芽體形成率及平均芽體數表現也很好(表 2)，但進行種球組織培養量化試驗流程中，成本也是考量項目之一，故進行白蔥蘭種球量化，以不添加生長調節劑、1/2 MS、洋菜濃度為 4 g/L 培養基為最佳選擇。

然而由於不同的植物材料，如不同品種的晚香玉(蘇, 2010)或是不同品種的孤挺花(陳, 2000; 洪, 2007)培養在不同的生長調節劑的組合中會有不一樣的表現情形，因此由白蔥蘭初代培養基中，挑選出芽體形成率最高的2個培養基做為韭蘭屬三種種間雜交種進行組織培養的基本培養基，並以一刀對切(1/2, 2個培植體)或十字對切(1/4, 4個培植體)進行培養，‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’、‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1’及‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2’在切成1/2或1/4培植體之兩處理間，不論是芽體形成率、平均芽體數及芽體直徑都沒有顯著差異，如果就整個鱗莖切割後形成之總芽體數計算推論，一刀對切之總芽體數為處理所得之2倍芽數，‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’即為1.4-2.4個(表3)，‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1’為2.6-2.2個(表3)，‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2’為1.6-1.8個(表3)。十字對切之總芽體數為處理所得之4倍芽數，‘*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1’為3.2-4.4個(表3)，‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1’與‘(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2’為3.2-3.6個(表3)，故以十字對切(1/4, 4個培植體)可獲得較多的總芽體數。林和馬(1987)指出金花石蒜鱗片進行組織培養時，培植體的大小與褐化率有關，當培植體越小且越薄時，褐化率大幅上升進而影響芽體形成率。Langens-Gerrits等人(1997, 2000)以百合鱗莖進行組織培養時指出培植體大小也會有所影響，大的培植體比小的培植體容易形成小鱗莖，但因為培植體體積越大，越不容易消毒完全，汙染率因此提高。然而培植體因切割數增多相對體積變小，自身製造養份的能力與荷爾蒙供給不足，導致降低芽體形成率 (Pierik, 1987)，在本實驗中則發現芽體形成率及鱗莖直徑不受切割方式不同而有影響，因此十字對切(1/4, 4

個增殖體)為最佳切割方式。‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-1’及‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-2’以1/2 MS，30 g/L蔗糖，4 g/L 洋菜，pH為5.7±0.1培養基為最佳增殖培養基(表3)，‘Z. citrine × Z. grandiflora 96-1’、則以1/2 MS、0.5 mg/L NAA及5 mg/L BA、4 g/L 洋菜、30g/L 蔗糖，pH值為5.7±0.1最佳增殖培養基(表3)。

將增殖後的小鱗莖移至網室栽培4週後，‘Z. citrine × Z. grandiflora 96-1’存活率為90-100%，‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-1’存活率為90-92.3%，而‘(Z. citrine × Z. grandiflora) × Z. grandiflora 96-2’的存活率為85.7-93.7%(表3)。

參 考 文 獻

- 林純瑛、馬溯軒。1987。金花石蒜之鱗片組織培養繁殖。中國園藝 33(4): 255-264。
- 洪志忠。2007。孤挺花幼花序器內培養之體胚發生。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。台中。台灣。71 pp.
- 留欽培。2006。韭蘭屬物種之種間雜交。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。台中。台灣。72 pp.
- 陳采晴。2000。孤挺花經由雙鱗片之微體繁殖法。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。台中。台灣。87 pp.
- 蘇月環。2010。夜來香新品種選育及微體繁殖之研究。國立嘉義大學農學研究所碩士論文。嘉義。台灣。110 pp.
- De, Hertogh, A. A. and M. Le Nard. 1993. General chapter on summer flowering bulbs. In: A. De Hertogh and M. Le Nard. The Physiology of Flower bulbs. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. Netherlands. pp.770-771.
- Gangopadhyay, M., D. Chakraborty, S. Dewanjee, and S. Bhattacharya. 2010. Clonal propagation of *Zephyranthes grandiflora* using bulbs as explants. *Biologia plantarum*. 54 (4): 793-797.
- Gilman, E. F. 1999. *Zephyranthes* spp. University of Florida, Florida. Fact Sheet FPS-621. 1-3.
- Guoyin, K., Y. Lu, Z. Qian, Y. Luo, G. Zhou, and K. Tang. 2006. Molecular characterization and expression analysis of a gene encoding mannose-binding lectin from bulb of *Zephyranthes grandiflora*. *Biol. Bratisl. Sec. Cell. Mol. Biol.* 61(6): 671-677.
- Intakarn, P., L. Eksomtramage, and K. Kanchanapoom. 1997 Karyotyping of *Zephyranthes rosea* Lindl. *Plants Derived from Tissue Culture*. Suranaree J. Sci. Technol. 4(1): 7-13.
- Knox, G. W. 2009. Rainlily, *Zephyranthes and Habranthus* spp.; Low Maintenance Flowering Bulbs for Florida Gardens. University of Florida. IFAS extension.
- Langens-Gerrits, M., G. De Klerk, and A. Croes. 2000. How to produce lily bulblets *in vitro* that

perform optimally after planting. Acta Hort. 530: 289-296.

Langens-Gerrits, M., W. Miller, H. L. Kipnis, C. Kollöffel, T. Croes, and G. J. De Klerk. 1997.

Bulb growth in lily regenerated *in vitro*. Acta Hort. 430: 267-273.

Pierik, R. L. M. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers, The Netherlands. 344pp.

The Micropagation of *Zephyranthes* Interspecific Hybrids

Hsin-Yi Kuo ¹⁾ Chien-Young Chu ²⁾

Key words : *Zephyranthes*, Organ culture, Multiplication

Summary

The bulbs of *Zephyranthes candida*(Lindley) Herbert and three interspecific hybrids of *Zephyranthes* spp. were dried at room temperature for 4 weeks and cut into four explants with basal plate. *Zephyranthes candida*, '(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-1', and '(*Z. citrine* × *Z. grandiflora*) × *Z. grandiflora* 96-2' were cultured on the free hormone medium with half-MS supplemented with 4 g/L agar and 30 g/L sucrose and pH was 5.7±0.1 showed higher shoot formation rate and the number of shoots. However, the explants of '*Z. citrine* × *Z. grandiflora* 96-1' showed higher shoot formation rate and the number of shoots were cultured on the medium with half-MS supplemented with 0.5 mg/L NAA, 5 mg/L BA, 4 g/L agar and 30 g/L sucrose and pH was 5.7±0.1. *Ex vitro* plantlets were transplanted to the plug tray for four weeks, and the survival rate was up to 90 %.

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

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

