

## 葉萵苣光合作用特性及遮蔭處理 對其生長及硝酸根離子含量之影響

黃敬凱<sup>1)</sup> 宋好<sup>2)</sup>

關鍵字：硝酸根離子、葉萵苣、光合作用特性、遮蔭

**摘要：**葉萵苣(*Lactuca sativa* L.)為台灣秋冬季重要的短期蔬菜之一，蔬菜溫網室栽培常因光度不足，導致蔬菜硝酸根離子含量累積，本試驗選擇葉萵苣兩品種'三號萵苣'及'尖葉種'為材料，調查其光合能力特性。於採收前以不同遮蔭網進行不遮蔭( $900 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )、25%遮蔭( $675 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )、50%遮蔭( $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )及75%遮蔭( $225 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )共五天。由光合作用曲線得知葉萵苣'三號萵苣'、'尖葉種'之光飽和點約為  $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，光補償點分別為  $38.62$  及  $25.6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。葉萵苣栽培期間光強度與硝酸還原酶活性、光合作用能力及總可溶性糖含量呈正相關，與葉片硝酸根離子含量呈負相關，與葉柄硝酸根離子含量相關性低，硝酸還原酶活性隨著光強度減少而下降，其光合作用能力於光強度  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下降，進而導致碳水化合物的減少，50%以上遮蔭處理 3 天即造成硝酸根離子的累積及產量的減少，75%遮蔭處理第 5 天時硝酸根離子含量可達  $2500\sim 3200 \text{ mg/kg}$ ，產量減少了 25~33%，'尖葉種'的光補償點較低，遮蔭處理的影響較小。

### 前 言

近年來因消費者對食物的安全要求越來越高，飲食中有 87%硝酸根離子來自蔬菜(Nigel, 2000)，又以葉菜類為主。硝酸根離子在被人體攝入後，其後續代謝物有會對人體造成健康影響的疑慮，如腸胃道的癌症、藍嬰症(Hill, 1991)。根據聯合國世界衛生組織之建議，人體硝酸根離子日允許量(Acceptable Daily Intake, ADI)為  $3.7 \text{ mg/kg}$  (JECFA, 1996)。栽培期間的光強度為影響蔬菜硝酸根離子含量的重要因子之一(Bottex *et al.* 2008)，植體於

---

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。

光強度不足下硝酸還原酶活性及光合作用能力會下降，進而造成植體硝酸根離子的累積。葉萵苣為台灣秋冬季重要的葉菜類，在台灣栽培上部分業者以溫網室進行栽培，可能因為透光問題或採收前期間遭遇陰天導致光強度不足，造成植體硝酸根離子的累積。本研究於設施內栽培，使用葉萵苣為研究材料，研究葉萵苣之光合作用特性及採收前陰天對其硝酸根離子含量之影響，以建立葉萵苣品質安全之栽培臨界光強度。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

- (一) 供試作物：葉萵苣'三號萵苣'(明豐種子行)及'尖葉種'(農友種苗公司)為試驗材料。  
(二) 栽培地點：栽培於中興大學園藝學系園藝試驗場蔬菜簡易網室內。

### 二、試驗方法

#### (一) 栽培管理

- (1) 試驗日期：葉萵苣試驗期間為 2013 年 2 月 18 日至 3 月 17 日，栽培時期日均溫為 20.7 °C，栽培最高溫及最低溫分別為 31.1°C 及 14.7°C。  
(2) 施肥管理：本試驗所有處理均以田樂牌田樂一號為栽培用肥料，肥料施用量每作為 2 kg/m<sup>2</sup>，其有效成分 N(2.34%)、P(0.19%)、K(1.46%)。  
(3) 播種及育苗方式：葉萵苣採穴盤育苗，將種子播於 128 格穴盤(2013.01.30)，在育苗 21 天後 2 片本葉於葡萄中心試驗田進行定植(2013.02.18)，行株距為 15 cm×15 cm，每區為 1 m×4.2 m，共 4.2 m<sup>2</sup>。  
(4) 水分管理：栽培期間水分管理以噴灌系統控制，並依據不同氣候及田間狀況進行調整。

#### (二) 遮蔭處理

葉萵苣定植後 22 天，以 25%、50%、75% 不同遮蔭程度之遮蔭網進行處理五天，並以不遮蔭為對照組，於處理後第 0、3、5 天進行採收調查，每處理採取三株調查植株生育性狀，三重複。試驗期間平均日長為 13 小時，遮蔭前一個禮拜平均光強度葉萵苣為 541  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，其遮蔭期間平均光強度如表 1 所示，各處理平均光強度分別約為 900、675、450 及 225  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

表 1. 葉萵苣遮蔭處理期間平均光強度

Table 1. Mean of light intensity during shading treatment of leaf lettuce.

處理	平均光強度( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
control	878±78
25% shading	660±55
50% shading	455±36
75% shading	238±40

### 三、調查項目及方法

#### (一) 植株生育性狀調查

1. 植株鮮重：將採樣的植株稱重，單位為公克(g)，每處理三重複，每重複3株。
2. 植株乾重：將採樣的植株裝入樣品紙袋，以 100°C 殺菁 1 小時，再以 70°C 烘乾至重量不再變化為止，所得重量為其乾物重，單位為公克(g)。
3. 葉片數：計算已展開之葉片數。

#### (二) 植株光合作用特性調查

本試驗以遮蔭前1天的上午9點~12點進行光合作用特性調查，使用可攜式光合作用測定儀(LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE, USA),光強度控制乃利用附加可拆卸式人工光源(6400-02B LED light source)，其為雙波長，分別是665 nm的紅光及470 nm的藍光，提供0~2,000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光度光度控制。光度測定時定光強度0、20、50、70、100、200、350、500、700、1000、1200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，二氧化碳濃度設定為400 ppm，夾取植株成熟展開葉，測定其光合作用速率(A)、氣孔導度(Gs)、蒸散作用(E)、細胞空隙 $\text{CO}_2$ (Ci)，測定時每個光度測定3株，共三重複，並依據參數繪成光合作用曲線，計算出光補償點及光飽和點。葉莖莖於定植第22天(2013.03.12)進行光合作用調查，平均葉溫為 $31.7\pm 1.25^\circ\text{C}$ ，蒸氣壓差為 $0.89\pm 0.21\text{ kPa}$ 。

#### (三) 硝酸還原酶活性分析

採用 Jawoski(1971)之方法，取植株之成熟葉片，避開主脈取 0.1 g 切碎置於試管中，加入 5 ml 萃取液並置於黑暗中以 150 rpm 震盪 30 分鐘後，添加 1 ml 1% sulfamic acid(1 g sulfamic acid 溶於 99 ml 的 3 M HCl)來中止反應，再添加 1 ml 的 0.02 % N-(1-naphthyl ethylene) diamide HCl(SIGMA N5889)呈色劑，振盪後靜置 30 分鐘使其均勻呈色。以分光光度計(U-2900, HITACHI)測量 540 nm 波長下之吸光值。每處理三重複，每重複兩株。以  $\text{KNO}_2$  配製標準液，單位： $\mu\text{mole NO}_2^- / \text{hr} / \text{g Fw}$ 。

萃取液配製：5 ml 萃取液包含 2.5 ml 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  buffer pH 7.5、0.25 ml 100 % n-propanol、1.15 ml 去離子水、0.1 ml 0.05% Chloramphenicol 及 1 ml 0.1M  $\text{KNO}_3$ ，對照組以去離子水取代  $\text{KNO}_3$ 。

#### (四) 氮代謝產物分析

##### 1. 植體硝酸根離子含量分析

採用 Cataldo 等學者(1975)的方法，取其新鮮植株 2 g 之葉片、莖部添加 20 ml 去離子水，以均質機攪碎均勻後，於  $4^\circ\text{C}$  下以轉速 15000 rpm 高速離心 20 分鐘，取其 0.1 ml 上清液添加 0.4 ml 5% Salicylic acid (5 g Salicylic acid 溶於 95 ml 濃硫酸)震盪均勻，於室溫下靜置 20 分鐘後，再加入 4.5 ml 的 4.2 N NaOH 震盪均勻，靜置 30 分鐘後，呈黃色溶液，以分光光度計(U-2900, HITACHI)測量波長 410 nm 下之吸光值，每處理三重複，每重複三株。標準液以  $\text{KNO}_3$  配製，單位為 mg/kg FW。

##### 2. 植體銨根離子含量分析

採用 Weatherburn (1967) 之方法，取 2 g 新鮮植株之葉片、葉柄及莖部，添加 20 ml 0.3 mM  $H_2SO_4$  (pH 3.5) 以均質機攪碎均勻，於 4°C 以 15000 rpm 之轉速高速離心 20 分鐘，取 0.2 ml 上清液添加 3.8 ml 0.3 mM  $H_2SO_4$ ，依序添加呈色劑 A 液及 B 液各 0.5 ml，並於 37°C 水浴震盪 20 分鐘，以分光光度計 (U-2900, HITACHI) 測量 625 nm 波長下之吸光值，每處理三重複，每重複三株。標準液以  $(NH_4)_2SO_4$  配製，單位為 mg/kg FW。呈色劑 A 液：秤取 0.5 g phenol 及 25 mg Sodium nitroprusside，加去離子水溶解後定量至 100 ml。B 液：秤取 2.5 g NaOH，加入 40 ml 5% Sodium hypochlorite，以去離子水定量至 100 ml。

### 3. 總可溶性蛋白含量測定

將採收的植株樣品乾燥磨粉後，精稱 0.05 g 置於離心管中，加入 0.1 M 磷酸鈉緩衝溶液 (pH 7.0)，以 30°C 水浴震盪 2 小時，隨後於 25°C 下以 15000 rpm 之轉速高速離心 20 分鐘，之後利用 Miracloth (Merck) 過濾。其後採用 Lowry (1951) 之方法，取 0.2 ml 濾液添加 1.8 ml 去離子水震盪均勻，加入 5 ml 反應液 A 震盪均勻，靜置 10 分鐘後再加入 0.5 ml 反應液 B 震盪均勻，靜置 30 分鐘後，以分光光度計 (U-2900, HITACHI) 測定 660 nm 波長之吸光值。標準曲線以 0.25 mg/ml BSA 配製，單位為 mg/g DW。反應液 A：取 2 g  $Na_2CO_3$  並溶於 1 ml  $K_2C_4H_4O_6$  (2% potassium tartarate)、1 ml  $CuSO_4$  (1%  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )、10 ml 1 N NaOH 及 90 ml  $H_2O$  之混合液中。反應液 B，將 Folin reagent 及  $H_2O$  以 1:1 混合而成。

### 4. 游離胺基酸含量測定

採用 Rosen (1957) 之方法，以測定總可溶性蛋白之濾液取 0.2 ml 加入 0.8 ml 純水稀釋混合後，再加入 1 ml Ninhydrin reagent (5 g ninhydrin, 95 g  $KH_2PO_4$ , 43 g  $KHPO_4$ , 3 g fructose 溶於 600 ml 去離子水中，再定量至 1L)，於沸水中煮 10 分鐘，取出後迅速冷卻，再加入 5 ml colorediluent (取 2 g  $KIO_3$  溶於 600 ml 去離子水中，再以 95% 酒精定量至 1 L) 並震盪均勻，以分光光度計 (U-2900, HITACHI) 測定 570 nm 波長之吸光值。標準曲線以 1 mM  $\alpha$ -alanine 配製，單位以  $\mu$ mol/g DW 表示。

## (五) 碳水化合物分析

### 1. 全可溶性糖含量測定

採用 Yoshida (1976) 之方法，將採收的植株樣品乾燥磨粉後，精稱 0.1 g 置於 30 ml 離心管中，添加 10 ml 去離子水，以 30°C 水浴震盪 3 小時，隨後於 25°C 下以 15000 rpm 之轉速高速離心 10 分鐘。取 5 ml 上層液，添加 1 ml 6 N HCl，放入 70°C 水浴振盪 15 分鐘，取出後迅速冷卻。取 0.1 ml 溶液加入 1.9 ml 去離子水振盪均勻，液加 0.1 ml liquid phenol 及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻後，靜置 30 分鐘，以分光光度計 (U-2900, HITACHI) 測定 490 nm 波長之吸光值。標準液以 D-glucose 配製，單位為 mg/g DW。

### 2. 澱粉含量測定

將全可溶性糖離心後之殘渣烘乾，添加 2 ml 去離子水並震盪均勻，於沸水中煮 15 分鐘，取出後迅速冷卻。加入 2 ml 9.2 N  $HClO_4$  震盪 15 分鐘，添加 6 ml 去離子水，隨後於 25°C 下以 15000 rpm 之轉速高速離心 10 分鐘。取 0.1 ml 溶液加入 1.9 ml 去離子水，加 0.1

ml liquid phenol 及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻後，靜置 30 分鐘，以分光光度計(U-2900, HITACHI) 測定 490 nm 波長之吸光值。標準液以 D-glucose 配製，單位為 mg/g DW。

#### 四、統計分析

本試驗採裂區試驗設計(splitplot design, SPD)，主區為遮蔭程度處理，每處理三重複，調查之數據採用 SAS 9.2 版套裝軟體(SAS. Institute, Cary NC)中之 ANOVA(Analysis of Variance)( $\alpha=0.05$ )進行變方分析，以 Fisher's LSD 進行試驗中各處理平均值之顯著差異性比較。

## 結 果

### 一、葉萵苣光合作用特性及遮蔭處理對葉片光合作用及植株生育之影響

葉萵苣'三號萵苣'及'尖葉種'栽培至適收期，進行光合作用特性之測量，從光反應曲線看出，植株光合作用速率和光度呈二次曲線關係，'三號萵苣'及'尖葉種'之暗呼吸率分別為 2.82 及 0.94  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，光補償點分別為 38.62 及 25.6  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，淨光合速率於 0~400  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  之間隨著光強度增強呈直線快速上升，400~800  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  之間光合作用速率上升趨勢逐漸減緩，最後於 1000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  光合作用速率達到飽合(圖 1A)，當光度超過光飽和點後，淨光合作用速率不再上升，此時淨光合作用速率分別約為 21.04、20.72  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。於光度 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  至光飽和點之間，氣孔導度及蒸散速率則隨著光度增加而遞增至光飽和點，其中'尖葉種'之氣孔導度及蒸散速率大於'三號萵苣'(圖 1B、1C)，葉肉細胞間隙二氧化碳濃度則隨淨光合作用速率之增加而遞減，最終於 800~1000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  之間趨於穩定，介於 300 及 310 ppm 之間(圖 1D)。

'三號萵苣'及'尖葉種'栽培至適收期後以 25%、50%及 75%遮蔭網進行遮蔭處理 5 天，不同遮蔭程度對'三號萵苣'生育性狀影響如表 2 所示，其植株生育性狀如鮮乾重、乾物率、本葉數、株高及葉面積皆於對照組表現最佳，其後隨著遮蔭程度的提升而有所下降。鮮乾重分別於 50%遮蔭及 75%遮蔭處理時有顯著的下降，其中鮮乾重於 75%遮蔭相較於對照組下降了 33%及 42%，各處理鮮重分別為 68.9、66.8、59.及 45.9 g，乾重則分別為 3.56、3.22、2.71 及 2.05 g，乾物率則分別於 25%及 75%遮蔭處理時有顯著的下降。其餘性狀，本葉數、葉面積及株高分別於 25~50%及 75%遮蔭處理有顯著的下降，本葉數於各處理間為 7.3~5.7 片，葉面積為 1819~1249  $\text{cm}^2$ ，株高為 43.0~36.3 cm。'尖葉種'部分，其植株生育性狀皆於對照組表現最佳，其後隨著遮蔭程度的提升而有所下降。鮮乾重於 50%遮蔭處理顯著低於對照組，75%遮蔭處理顯著低於 25%遮蔭，其中鮮乾重於 75%遮蔭處理時相較於對照組減少了 25%及 37%，各處理鮮重分別為 80.7、76.7、67.0 及 60.3 g，乾重則分別為 3.51、3.05、2.53 及 2.20 g。乾物率部分，'尖葉種'於 50%以上遮蔭處理時開始有顯著性的減少。本葉數及葉面積部分於 50%以上遮蔭處理中開始有顯著性的下降，本葉數於各處

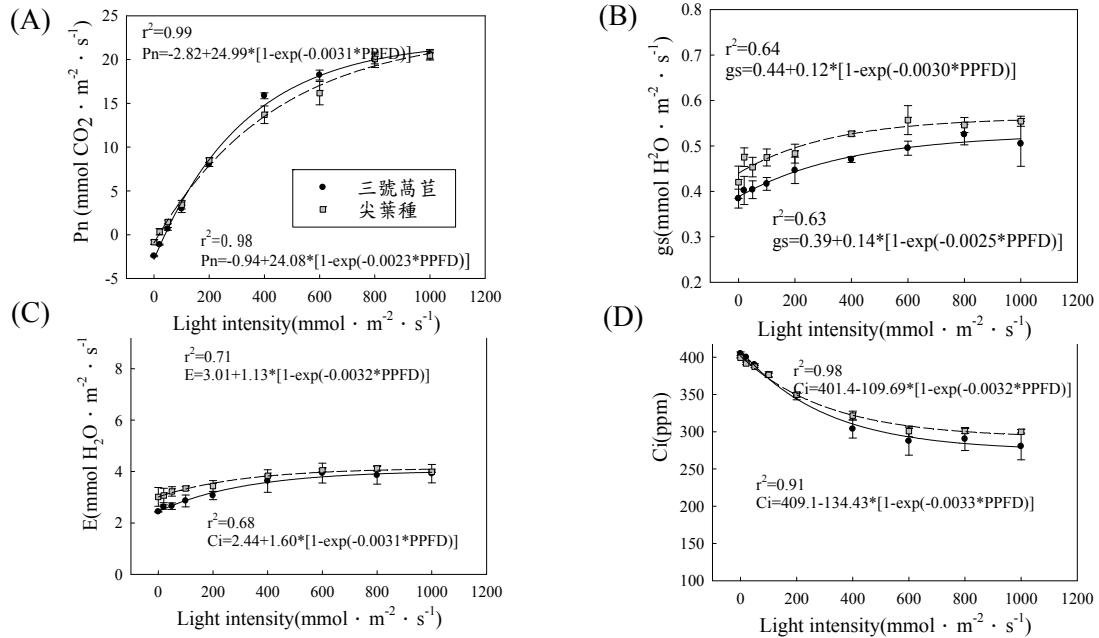


圖 1. 光強度對葉萵苣'三號萵苣'及'尖葉種'葉片(A)淨光合作用、(B)氣孔導度、(C)蒸散速率及(D)細胞間隙二氧化碳濃度之影響

Fig. 1. Effect of light intensity on net photosynthetic rate, Pn (A), stomatal conductance, gs (B), transpiration rate, E (C), and intercellular CO<sub>2</sub> concentration, Ci (D) of leaf lettuce 'Ming-Feng No.3' and 'Pointed Leaf' leaf.

表 2. 不同光強度處理 5 天對葉萵苣'三號萵苣'及'尖葉種'植株生育性狀之影響

Table 2. Effect of shading levels for 5 days on the horticulture characteristic of leaf lettuce 'Ming-Feng No.3' and 'Pointed Leaf'.

品種	處理	鮮重 (g)	乾重 (g)	乾物率 (%)	本葉數 (片)	株高 (cm)	葉面積 (cm <sup>2</sup> )
三號萵苣	control	68.9 a <sup>z</sup>	3.56 a	5.17 a	7.3 a	43.0 a	1819.0 a
	25%	66.8 ab	3.22 a	4.82 b	6.7 ab	39.3 b	1747.0 ab
	50%	59.1 b	2.71 b	4.59 bc	5.8 bc	38.7 bc	1590.7 b
	75%	45.9 c	2.05 c	4.47 c	5.7 c	36.3 c	1249.7 c
尖葉種	control	80.7 a	3.51 a	4.36 a	9.3 a	41.0 a	1649.0 a
	25%	76.7 ab	3.05 ab	3.98 ab	9.0 ab	40.7 a	1477.0 ab
	50%	67.0 bc	2.53 bc	3.78 b	7.8 bc	39.7 a	1381.7 b
	75%	60.3 c	2.20 c	3.65 b	7.3 c	39.0 a	1163.0 c

<sup>z</sup>means within the same letters in a column for each cultivar are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

理中分別為 9.3~7.3 片，葉面積於各處理中分別為 1649~1163 cm<sup>2</sup>。株高部分，'尖葉種'隨著遮蔭程度的提高而有下降，不過各處理間沒有顯著性的差異。

## 二、遮蔭處理對葉莖碳水化合物含量之影響

不同程度遮蔭處理時間對'三號莖'可溶性糖及澱粉含量之影響如圖 2 所示，在處理第 0 天時，其可溶性糖及澱粉分別為 38.4 及 12.1 mg/g DW。在處理第 3 天時'三號莖'隨著遮蔭程度的增加，可溶性糖及澱粉含量越低，可溶性糖及澱粉於 75%遮蔭處理中顯著低於其他處理。處理第 5 天時，可溶性糖之變化如第 3 天相似，澱粉之影響效果更加明顯，澱粉分別於 50 及 75%處理時有顯著性的下降，可溶性糖及澱粉含量於 75%遮蔭處理第 5 天時相較於對照組減少了 33%及 42%。處理時間方面，各處理第 0 天之可溶性糖含量顯著高於其他處理天數，對照組、25%及 50%遮蔭處理組於第 3 天及第 5 天之間沒有顯著變化，在 75%遮蔭處理組中，在第 3 天及第 5 天時分別有顯著的下降，第 5 天相較於第 0 天減少了 49%。澱粉方面，在對照組中會隨著處理時間的增加而上升，25~50%遮蔭處理則無隨處理時間而有明顯改變，75%遮蔭處理則隨著處理時間而有所下降，第 5 天相較於第 0 天減少了 32%。'尖葉種'方面，在處理第 0 天時，其可溶性糖及澱粉分別為 38.4 及 12.1 mg/g DW。處理第 3 天時，'尖葉種'之可溶性糖及澱粉含量隨著遮蔭程度增加而有所減少，其中於可溶性糖及澱粉於 75%遮蔭處理中顯著低於其他處理。處理第 5 天時，各處理變化如第 3 天相似，效果更加明顯，澱粉於 50%遮蔭處理顯著低於對照組，75%遮蔭處理顯著低於 25%遮蔭處理，其中 75%遮蔭處理之可溶性糖及澱粉相較於對照組分別減少了 24%及 24%。處理時間方面，可溶性糖於對照組及 25%於遮蔭第 5 天時顯著低於第 0 天，50%及 75%下降的趨勢較明顯，於第 3 天即顯著低於第 0 天；澱粉方面對照組及 25%遮蔭處理隨著處理時間而有所增加，而 50%及 75%遮蔭處理則不隨著處理時間有明顯差異。整體而言可溶性糖與澱粉在葉莖中，不同程度遮蔭處理時間的變化趨勢皆相似，但澱粉相較於可溶性糖敏感，會在較低遮蔭程度的處理中即有顯著差異。

## 三、遮蔭處理對葉莖硝酸還原酶活性及各部位硝酸根離子含量之影響

不同程度遮蔭處理對葉莖'三號莖'及'尖葉種'硝酸還原酶活性之影響如圖 3 所示，當天測量光強度為 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，各品種硝酸還原酶活性以'尖葉種'較高，'三號莖'較低，但彼此間沒有明顯差異，分別為 24.04 及 22.79  $\mu\text{mol NO}_2^-/\text{hr/g FW}$ ；葉莖兩品種的對照組之硝酸還原酶活性均顯著高於 25%、50%及 75%遮蔭處理組，其活性隨著遮蔭程度的增加而降低，'三號莖'分別於 25%及 75%遮蔭處理中有顯著的下降，於各處理中依序減少了 20、29 及 40%，'尖葉種'分別於 50%及 75%遮蔭處理中有顯著的下降，於各處理中依序減少了 14、26 及 40%。

不同程度遮蔭處理時間對葉莖'三號莖'葉片、葉柄及全株硝酸根離子含量之影響如圖 4 所示，'三號莖'於處理第 0 天時，各部位分別為 1514、3202 及 2180 mg/kg。處理第 3 天時，各項目隨著遮蔭程度提升而有所增加，葉片於 50%遮蔭處理有顯著提升，葉柄較葉片頓感，於 75%遮蔭處理時有顯著提升，全株硝酸根離子是以葉片及葉柄硝酸根離子

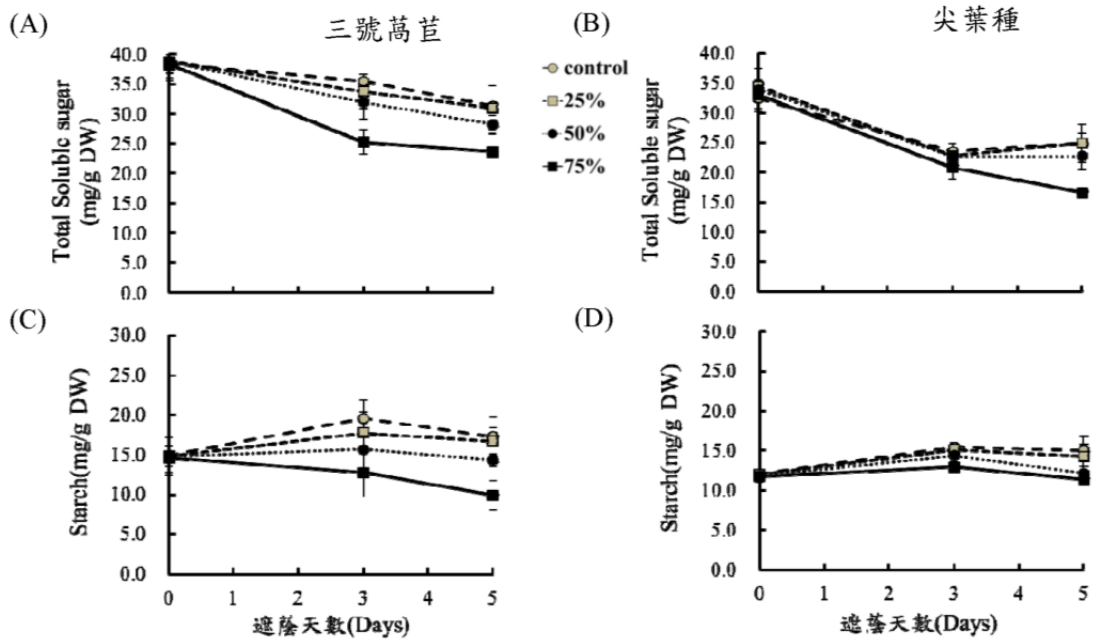


圖 2. 不同程度遮蔭處理時間對葉萵苣'三號萵苣'及'尖葉種'可溶性糖(A、B)及澱粉(C、D)含量之影響

Fig. 2. Effect of shading levels and duration on the total soluble sugar (A、B) and starch (C、D) content of leaf lettuce 'Ming-Feng No.3' and 'Pointed Leaf'.

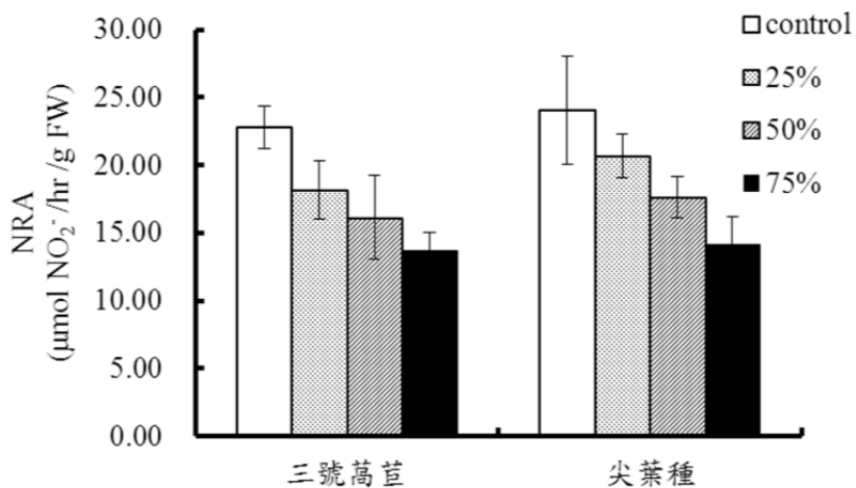


圖 3. 不同光強度處理 4 天對葉萵苣'三號萵苣'及'尖葉種'硝酸還原酶活性之影響

Fig. 3. Effect of shading levels for 4 days on nitrate reductase activity of leaf lettuce 'Ming-Feng No.3' and 'Pointed Leaf'.



含量及重量比例換算而成，於50%遮蔭處理顯著高於對照組，75%遮蔭處理顯著高於25%。處理第5天時，各項目之趨勢更加明顯，葉片分別於50%及75%遮蔭處理時有顯著提升，各處理依序為1212、1569、1829及2428 mg/kg；葉柄之硝酸根離子為葉片的2~3倍高，於50%遮蔭處理有顯著的增加，各處理依序為3541、3640、4012及4180 mg/kg；全株方面則以50%遮蔭處理顯著高於對照組，而75%遮蔭處理顯著高於25%遮蔭處理組，75%遮蔭處理組相較於對照組增加了35%，各處理依序為2410、2623、2884及3251 mg/kg。處理時間方面，葉片在75%遮蔭處理組隨著時間而有所增加，其中於第5天時顯著高於第0天，而其餘處理則沒隨著時間而有顯著變化；葉柄方面50%及75%遮蔭處理組於處理第3天顯著高於第0天，其餘處理在各處理天數無顯著變化；全株方面於25~75%遮蔭處理中隨著時間而有所增加，並於處理第3天顯著高於第0天，各處理於第5天相對於第0天增加了11%、21%、31%及46%。'尖葉種'於不同程度遮蔭處理時間下的各部位硝酸根離子之影響如圖4所示，'三號萬苣'於處理第0天時，各部位硝酸根離子分別為876、1847及1353 mg/kg。在處理第3天時各部位隨著遮蔭程度而有所增加，其中葉片及全株於遮蔭50%處理時有顯著提升，葉柄在統計上則無顯著差異。處理第5天相較於第3天，葉片趨勢相似，各處理依序為796、848、1186及1452 mg/kg；葉柄的遮蔭效果更加顯著，於75%遮蔭處理顯著高於其他處理組，各處理依序為2085、2497、2733及3217 mg/kg；全株則分別於50%及75%遮蔭處理時有顯著增加，相較於對照組分別增加了30%及59%，各處理依序為1586、1752、2067及2522 mg/kg。處理時間方面，葉片在50%及75%遮蔭處理組隨著時間而有所增加，其中50%遮蔭處理於第5天時顯著高於第0天，75%遮蔭處理於第3天即有顯著增加；葉柄方面，各處理隨著處理時間而有所增加，其中25~75%於處理第3天即顯著高於第0天；全株方面於25~75%遮蔭處理中隨著時間而有所增加，並於處理第3天顯著高於第0天，各處理於第5天相對於第0天增加了11%、21%、31%及46%。

#### 四、遮蔭處理天數對葉萬苣氮代謝產物含量之影響

不同程度遮蔭處理時間對葉萬苣'三號萬苣'後續氮代謝產物銨根離子、游離胺基酸及可溶性蛋白含量影響如圖5所示，第0天時各氮代謝產物不同處理間均無顯著差異，銨根離子、游離胺基酸及可溶性蛋白含量分別為42.2  $\mu\text{g/g}$  FW、43.4  $\mu\text{mol/g}$  DW及186.2 mg/g DW。處理第3天時，銨根離子在50%以上遮蔭處理組開始有顯著的減低，游離胺基酸及可溶性蛋白於75%處理有顯著的減少。處理第5天時，各氮代謝產物與變化趨勢與第3天相似，其中於75%遮蔭處理時各產物依序減少了39%、19%及9%。'尖葉種'於不同程度遮蔭處理時間下的氮代謝產物如圖6所示，第0天時各氮代謝產物不同處理間均無顯著差異，銨根離子、游離胺基酸及可溶性蛋白含量分別為28.1  $\mu\text{g/g}$  FW、53.1  $\mu\text{mol/g}$  DW及209.6 mg/g DW。在處理第3天時，各產物隨著遮蔭程度增加而有所減少，其中銨根離子及可溶性蛋白含量於75%遮蔭有顯著的降低，游離胺基酸在各處理則無顯著差異。在處理第5天時，銨根離子及游離胺基酸效果更加顯著，分別於50%及75%遮蔭處理開始有顯著的減少，其中於75%遮蔭處理時各產物依序減少了40%、13%及11%。

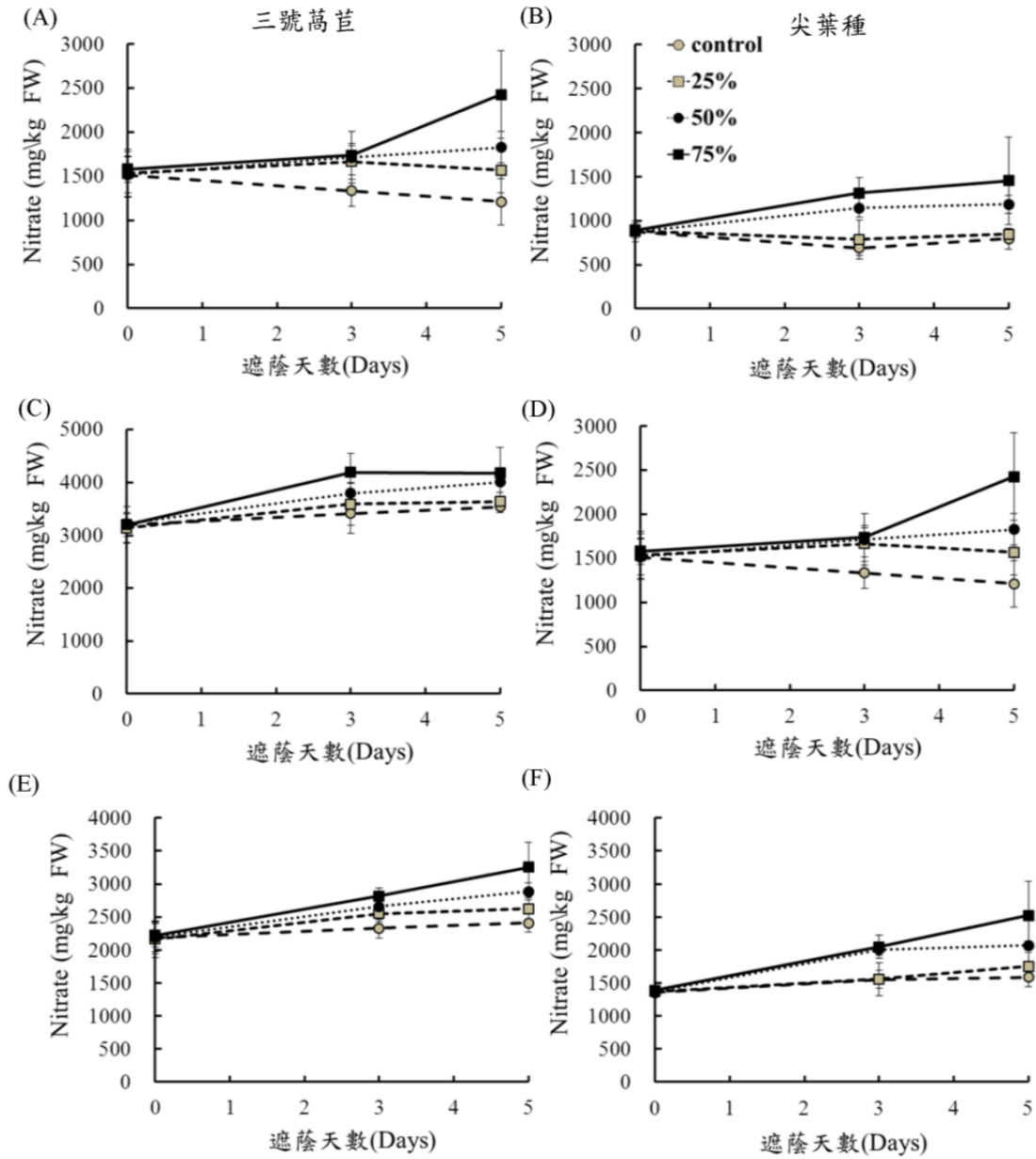


圖 4. 不同程度遮蔭處理時間對葉萵苣'三號高苣'及'尖葉種'葉片(A、B)、葉柄(C、D)及全株(E、F)硝酸根離子含量之影響

Fig. 4. Effect of shading levels and duration on the nitrate content of leaf lettuce 'Ming-Feng No.3' and 'Pointed Leaf' leaf (A and B), petiole (C and D) and whole plant(E and F).

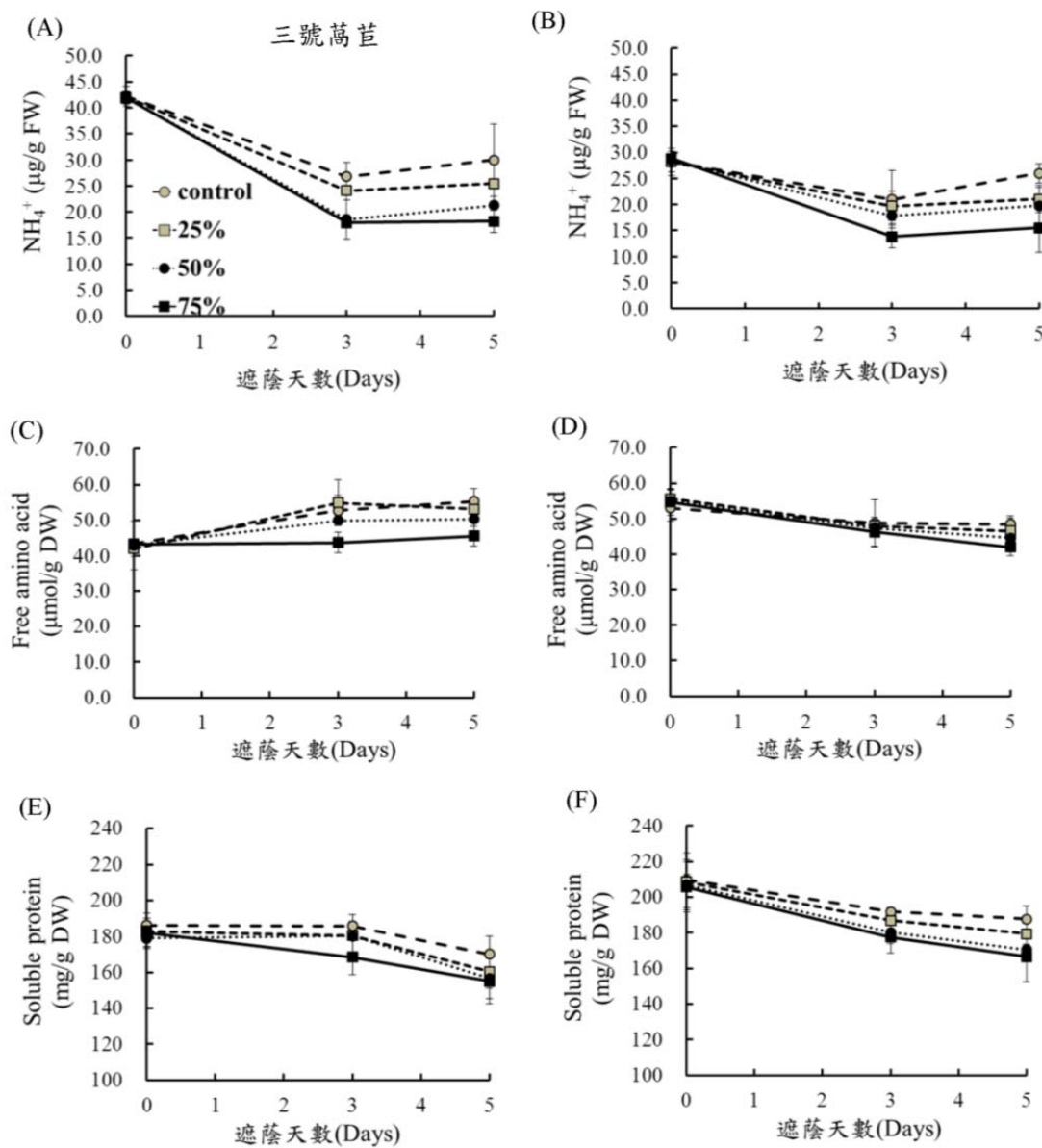


圖 5. 不同程度遮蔭處理時間對葉萵苣'三號萵苣'及'尖葉種'銨根離子(A、B)、游離胺基酸(C、D)及可溶性蛋白含量(E、F)之影響

Fig. 5. Effect of shading levels and duration on the nitrite (A and B), free amino acid (C and D) and total soluble protein (E and F) content of leaf lettuce 'Ming-Feng No.3' and 'Pointed Leaf'.

## 討 論

### 一、葉萵苣光合作用特性及不同光強度對其之葉片光合作用、碳水化合物及產量之影響

光合作用能力提供了植物生長發育必需的養分及能量，當植物處於光強度過高或過低等不合適的環境皆不利於植物生長(Taiz and Zeiger, 2010)。前人研究中，葉萵苣根據品種不同，其光補償點約為  $45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，光飽和點則於  $520\sim 932 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  不等，其合適的栽培光強度為  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  至其光飽和點為止(Demšar *et al.*, 2004; Fu *et al.*, 2012; Glenn *et al.*, 1984; Zhou *et al.*, 2009)。在葉萵苣的光反應曲線中，'三號萵苣'及'尖葉種'之光補償點分別為  $38.6$  及  $25.6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，光飽和點為  $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (圖 1)，結果與前人研究相符，葉萵苣兩品種光合作用特性差異並不顯著。

Fu 等學者(2012)以光飽和點為  $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的皺葉萵苣在  $400\sim 600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  光強度環境下擁有最佳的產量，長期栽培至  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下及  $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以上的環境中，會因為光強度不足及光抑制的光關係導致光合作用能力下降，進而影響其產量。而作物在栽培期間常遭遇短暫的陰天，植株的葉片光合作用能力隨著光強度的減少而迅速下降，造成碳水化合物的供給少於植物的需求，植物的碳素利用效率(carbon use efficiency, CUE)隨之減少，此時植物會減低生長性呼吸作用的能量消耗(Van Iersel, 2003)，並改變葉片中的色素比例，如減少 Chl a/b 並增加葉綠素含量，使其葉片捕捉光子的能力增加，以提高光合作用效率(Lambers *et al.*, 1998)，藉由增加碳收入以及減少碳支出，使其碳素利用效率恢復並適應環境，以減少陰天的影響並確保植物正常生長(Frantz *et al.*, 2005)。

本試驗中，葉萵苣採收前平均光強度約  $900 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，並使用 25%、50%及 75%遮蔭網處理 5 天以模擬短暫的陰天，其光強度分別約為  $900$ 、 $675$ 、 $450$  及  $225 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。在葉萵苣的碳水化合物含量方面，在處理第 0 天之可溶性糖含量較高，推測為葉萵苣在進入快速生長期前會先累積碳水化合物，以提供快速生長期時之碳骨架及能量。各品種在約  $225 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的處理中，可溶性糖含量會有顯著的下降，並隨著處理時間的增加效果更顯著，澱粉部分在平均光強度約  $675 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以上的處理中隨著時間有累積的情形，而在平均光強度約  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下的處理中有逐漸減少的情形(圖 2)；葉萵苣之植株性狀部分在  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下的環境即隨著光強度減少有顯著的降低，下降的程度依品種而異(表 1)，顯示葉萵苣於位於光合作用第一階段的光強度中，即會影響到碳水化合物及乾物量的累積，進而影響產量。

### 二、不同光強度對葉萵苣硝酸根離子及氮代謝產物含量之影響

光合作用提供了植物體生長所需，亦提供酵素作用所需能量及氮代謝物合成時之碳骨架，以幫助氮代謝順利進行。植物在光強度較低的環境下，光合作用所提供之碳骨架減少、硝酸還原酶活性降低(Appenroth *et al.*, 2000)，影響氮同化代謝的進行。當植物生長速度減緩時，植物的胺基酸會因需求降低而有所累積，並造成氮代謝的負回饋，使葉肉細胞有大量的硝酸根離子累積(Marschner, 1995)。

在本試驗的結果中，葉萵苣硝酸還原酶活性隨著光強度的減少而有所下降(圖 3)，葉片之硝酸根離子含量隨著光強度的減少有顯著的上升，葉柄之硝酸根離子含量受到光強度影響較小。全株部分，葉萵苣兩品種在 50%以上遮蔭處理組隨著遮蔭時間而顯著增加，其中在第三天即顯著高於對照組(圖 4)，後續氮代謝物含量則有所下降，但在游離胺基酸及可溶性含量則較不顯著(圖 5)。Fu 等學者(2012)指出，皺葉萵苣之硝酸根離子含量在  $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下的光環境中開始有顯著的上升，可溶性蛋白質影響較硝酸根離子不敏感彼此之間沒有明顯差異，本試驗遮蔭 50%之光強度為  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，與前人研究相符。有學者指出葉萵苣於遮蔭 85%處理 24~48 小時之下沒有顯著影響(Weightman *et al.*, 2006)，若 10~14 天則有顯著影響(Burns, 2000)，顯示葉萵苣之硝酸離子含量在低光環境下會達到一定天數即會有所累積。本試驗的結果中，葉萵苣之硝酸根離子在遮蔭處理第 3 天 50%遮蔭處理( $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )即有所影響，其硝酸根離子在 50%以上的遮蔭處理會隨著處理時間而上升(圖 5)，75%遮蔭處理第 5 天時葉萵苣硝酸根離子含量可達 2500~3200 mg/kg。Liu 等學者(2012)的研究結果指出葉萵苣在光強度為  $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，與本次試驗光強度相近，處理 5 天後植體硝酸根離子含量會有所上升，本次試驗所使用的葉萵苣品種則較為敏感，在處理 3 天後植體硝酸根離子即有所累積，'尖葉種'光補償點較低，遮蔭處理的影響較小。

綜合本次試驗結果，葉萵苣之硝酸還原酶活性隨著光強度的減少而有所下降，各光強度處理之間的活性下降程度相似，碳水化合物則在 75%遮蔭處理之下有顯著的減少。故推測葉萵苣之硝酸根離子在平均光強度  $900\sim 450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  之間的變化受到硝酸還原酶活性的影響，在平均光強度  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下因為同時受到硝酸還原酶活性下降及碳水化合物不足的影響，導致後續氮代謝物合成受阻而累積並產生負回饋，硝酸根離子含量因而大量累積。'三號萵苣'及'尖葉種'之硝酸根離子含量在  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下的光強度環境中 3 天即顯著的累積，並隨著天數的增加而更明顯，故建議葉萵苣應避免在前 3 天光強度低於  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  時採收，以生產安全低硝酸根離子含量之葉萵苣。

## 參考文獻

- Appenroth, K. J., R. Meco, V. Jourdan, and K. Lillo. 2000. Phytochrome and post-translational regulation of nitrate reductase in higher plants. *Plant Sci.* 159:51-56.
- Bottex, B., J. L. C. M. Dorne, D. Carlander, D. Benford, H. Przyrembel, C. Heppner, J. Kleiner, and A. Cockburn. 2008. Risk-benefit health assessment of food – food fortification and nitrate in vegetables. *Trends Food Sci. Tech.* 19:113-119.
- Cataldo, D. A., M. Haroon, L. E. Schrader, and V. L. Youngs. 1975. Rapid colorimetric of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 6: 71-80.
- Demšar, J., J. Osvald, and D. Vodnik. 2004. The effect of light-dependent application of nitrate

- on the growth of aeroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L.). J. Am. Soc. Hortic. Sci. 129(4):570-575.
- Fu, W., P. Li, and Y. Wu. 2012. Effects of different light intensities on chlorophyll fluorescence characteristics and yield in lettuce. Sci. Hortic. 135:45-51.
- Glenn, E. P., P. Cardran, and T. L. Thompson. 1984. Seasonal effects of shading on growth of greenhouse lettuce and spinach. Sci. Hortic. 24: 231-239.
- Hill, M. J. 1999. Nitrate toxicity: myth or reality? Br. J. Nutr. 81:343-344.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). 1996. Nitrate. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants in Food. WHO Food Additives Series 35:325-360.
- Lambers, H., F. S. Chapin III, and T. L. Pons. 1998. Plant physiological ecology. Springer-Verlag, New York. 540pp.
- Liu, K. W. and Q. C. Yang. 2012. Effects of short-term treatment with various light intensities and hydroponic solutions on nitrate concentration of lettuce. Acta. Agr. Scand. B-S. P. 62(2):109-113.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Ed. Academic, London. 889pp.
- Nigel, B. 2000. Nitrates in the human diet- good or bad? Ann. Zootech. 49:207-216.
- Rosen, H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acid. Arch. Biochem. Biophys. 67: 10-15.
- Yoshida, S., F. Dpuglosa, C. Janosh, and G. Gwaachai. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Phillippines. p. 46-49.
- Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. J. Sci. Food Agric. 86: 10-17.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. Plant Physiology. 5th ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA. 782pp.
- Weatherburn, M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Anal. Chem. 39: 971-974.
- Weightman, R., C. Dyer, J. Buxton, and D. Farrington. 2006. Effects of light level, time of harvest and position within field on variability of tissue nitrate concentration in commercial crops of lettuce (*Lactuca sativa*) and endive (*Cichorium endiva*). Food Addit. Contam. 23(5):462-469.
- Zhou, Y., Y. Zhang, X. Zhao, H. Yu, K. Shi, and J. Yu. 2009. Impact of light variation on development of photoprotection, antioxidants, and nutritional value in *Lactuca sativa* L. J. Agric. Food Chem. 59:5494-5500.

## Effect of Shading on the Growth and Nitrate Contents in Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

Jing-Kai Huang <sup>1)</sup> Yu Sung <sup>2)</sup>

Key words: nitrate, photosynthetic characteristics, leaf lettuce, shading

### Summary

The production and nitrate content of two cultivars of leaf lettuce ('Ming-Feng No.3' and 'Pointed Leaf') in the shading levels and duration under greenhouse cultivation were studied. The effects of shading (full sunlight, 25%, 50% and 75% attenuated light; with an average photosynthetic photon flux (PPF) of 900, 675, 450 and 225  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectively) on the photosynthetic characteristics of leaf lettuce were investigated. Light saturation point of leaf lettuce of two cultivars was both 1000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . The results showed that nitrate reductase activity reduced as the decrease of light intensity, and photosynthetic rate of leaf lettuce was reduced below 450  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , leading to the decrease of carbohydrate content. Three days after treatment at 50-75% attenuated light, the nitrate content was enhanced and yield was curtailed. Five days after treatment at 50% attenuated light, nitrate content of leaf lettuce was 2500~3200 mg/kg, and yield reduced 25~33%. The shading influence of shade-tolerance cultivars r influence such as leaf lettuce 'Point leaf' was lower.

---

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

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

