

## 外施水楊酸及過氧化氫對椪柑在乾旱逆境下之影響

余 承 翰<sup>1)</sup> 謝 慶 昌<sup>2)</sup> 林 慧 玲<sup>3)</sup>

關鍵字：葉綠素螢光、離子滲漏率、抽梢

**摘要：**乾旱逆境影響作物的生長和生產，易造成植株葉片萎凋及大量落葉，嚴重時導致植株死亡。本試驗在乾旱處理前以 1.0 mM 水楊酸溶液及 1.5 mM 過氧化氫溶液葉面噴施於椪柑盆栽植株，在施用後一週，水楊酸處理的澱粉含量顯著高於施用自來水處理。經七週乾旱處理，盆栽土壤體積含水量由 32% 降至 0-0.47%，且葉片相對含水量約為 41.3%-58.2%，與對照組具有顯著差異。結果顯示，乾旱前的藥劑處理以水楊酸處理組植株其抗旱效果較過氧化氫處理佳，水楊酸處理在乾旱後七週的葉片相對含水量、葉綠素螢光值較高，而離子滲漏率及葉片過氧化氫含量較低。在復水後三週，乾旱前施用過氧化氫處理的椪柑植株可發現抽梢情形，於正期花結束後形成不時花。

### 前 言

低溫、乾旱下可誘導柑橘花芽分化(Southwick and Davenport, 1986)，但若欲應用低溫誘導不時花進行田間產期調節，則操作上較為困難，而以斷水處理導致土壤乾和使柑橘植株進入水分逆境誘導不時花之方法較易達成。然而，以水分限制處理時可能會導致植物發生氧化逆境，產生活性氧族物質，包括超氧陰離子(superoxide anion radical;  $O_2^-$ )、過氧化氫(hydrogen peroxide;  $H_2O_2$ )、氫氧自由基(hydroxyl radical; OH)、單一態氧(single oxygen;  $^1O_2$ )等對細胞產生不利影響，如造成脂質過氧化、細胞膜破壞、蛋白質變性、DNA 損傷 (Dat et al., 2000; Creissen and Mullineaux, 2002)。目前已知水楊酸可以調節植物代謝及生理反應的功能(Bandurska, 2013)，而過氧化氫可在植物於逆境期間扮演訊號傳遞的角色(Habibi, 2014)，兩者皆可扮演幫助植物抵抗逆境的角色。

- 
- 1) 國立中興大學園藝學系研究生。
  - 2) 國立中興大學園藝學系副教授。
  - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

極柑(*Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan)為台灣重要的寬皮柑品種之一，且產期集中於每年的 10 月至隔年的 2 月，具有產期調節的潛力。本試驗目的為在乾旱處理誘導極柑形成不時花前，葉面施用水楊酸及過氧化氫溶液，比較其施用後對極柑於乾旱逆境下植株損傷的減緩效果，並探討其對不時花誘導能力的影響。

## 材料與方法

### 一、試驗材料與取樣方法

本次試驗材料為極柑 2 年生嫁接苗，以酸桔為砧木，種植於八吋栽植盆內(盆徑 24 cm)，使用之介質為泥炭土與珍珠石混合(4:1)，試驗地點於國立中興大學園藝學系溫室內進行(試驗期間：2017 年 2 月-2017 年 4 月)。在充分澆水之後，將植株分成水楊酸處理組及過氧化氫處理組(每處理三重複，每重複一株)，水楊酸溶液濃度為 1.0 mM，過氧化氫溶液濃度為 1.5 mM，每天以葉面施用方式連續七天，每株施用量為 100 mL，並以施用自來水作為對照組。施用後將植株分為正常灌溉組及乾旱處理組，依附表 1 共六種處理。在施用水楊酸及過氧化氫後的前四週乾旱期，乾旱處理組每週供水量為正常灌溉組的 50%，供水量為每週水分散失量，依盆栽重量計算。在乾旱處理的五至七週，處理組則完全不供水。試驗期間以土壤水分之感測器 WaterScout SM100 (SM100, Spectrum Technologies Inc, Illinois, USA)測量土壤體積含水量，搭配 WatchDog 資料記錄器(WatchDog 1000 Series Data Loggers, Spectrum Technologies Inc, Illinois, USA)連續記錄。

在施用藥劑前及施用藥劑後，以及乾旱後第四及第七週採集極柑成熟葉片，進行全可溶性糖、澱粉、全氮、過氧化氫含量等之分析。在施用藥劑前及施用藥劑後於極柑植株的第 4-5 片完全展開葉進行非破壞性的葉綠素螢光調查，此外在乾旱後第五週調查葉片相對含水量、葉綠素計讀值、枝條長度、離子滲漏率、葉綠素螢光，每週調查一次，調查至第七週。

### 二、調查項目與分析方法

#### (一)土壤體積含水量(Soil Volumetric water content)

將土壤體積含水量測定計-Water Scout SM100 (Spectrum technologies, Inc, Illinois, USA)插入土表下 10 公分進行調查，量測之單位為體積含水量(%) (Volumetric Water Content; VWC)。

#### (二)抽梢調查與枝條長度

於復水後三週調查每株所標記 10 枝結果母枝所萌發之營養枝數及結果枝數，並將結果枝分成單花帶葉梢、單花無葉梢、多花帶葉梢、多花無葉梢，並計算全株開花數。取上述所標記的 10 枝結果母枝，於乾旱處理後第五週及第七週調查枝長長度，並計算相對生長量(Relative growth rate)，公式如下： $Relative\ growth\ rate\ (\%) = (Week7\ length - Week5$

length) / Week5 length \*100。

### (三)、葉片相對含水量

在水分限制處理後第六週及第七週每株分別採取成熟葉片，先以微量天平秤得葉片鮮重，並將葉片插入裝有去離子水的燒杯中於室溫低光環境下吸水 24 小時後秤得葉片膨潤重，最後將葉片放入 70 烘箱中 24 小時以上再秤得葉片乾重，計算葉片相對含水量(Relative water content)，公式如下：Relative water content (%) = (濕重-乾重)/(膨潤重-乾重)\*100。

### (四)葉綠素計讀值與葉綠素螢光

利用非破壞性調查方式，選取植株成熟葉片，以可攜帶式葉綠素計(Chlorophyll Content Meter, CL-01, Hansatech, England)葉夾夾住葉片後以雙波長 620 nm 及 940 nm 之光源吸收值，估算相對葉綠素含量，可偵測 0~2000 單位之葉綠素含量。

葉綠素螢光以非破壞性調查方式，直接於田間以自製葉夾夾住枝條上第 4-5 片葉片後進行暗適應 30 分鐘，再以攜帶式葉綠素螢光分析儀(Portable chlorophyll fluorometer, MiNi-PAM, Walz, Germany)測定。其探針可藉由特殊光纖(Special Fiberoptic 2010-F)提供測定光及飽和脈衝光，並計算其光系統 II 之活性，以 Fv/Fm 表示之。最小螢光值(The minimal fluorescence in dark; Fo)，最大螢光釋放量(The maximum fluorescence in dark; Fm)，最低至最高螢光量間的差值為 Fv (variable fluorescence)，計算公式為 Fv = Fm-Fo。Fv/Fm 的比值可表示為光化反應過程的螢光潛在產量(potential yield, ΦF)。

### (五)離子滲漏率(Electrolyte leakage percentage)

取成熟葉片經去離子水清洗後吸乾表面水分，以直徑 1.1 公分打孔器取 3 片葉圓片，置於含有 5 mL 之去離子水的 EC 瓶中。在 25°C 下用震盪器以 100 rpm 搖速震盪 3 小時，接著以電導度測定儀(Suntex, conductivity meter, SC-170)測定初始電導度(EC1)，再將樣品冷置於-20°C 冷凍三天，取出後於室溫下回溫並以 100 rpm 搖速震盪 3 小時，測定解凍後之電導度(EC2)。離子滲漏率計算：離子滲漏率(%) = (EC1÷EC2)× 100%。

### (六)過氧化氫含量

參考吳(2013)之方法。葉片採下後秤重並以液態氮冷凍固定，取 0.1g 固定樣品加入 3 mL 之 50 mM 磷酸緩衝溶液(pH 6.8) (含 1 mM hydroxylamine)及適量海砂於冰浴中研磨，隨後於 4°C 以 12000xg 離心 20 分鐘，之後利用 Miracloth (Merck)過濾後，取上清液備用。

分析時取 1 mL 萃取液加入 1 mL 之 TiSO<sub>4</sub> [ titanium dioxide (0.1%, v/v)溶於 20% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ]混勻，於 25°C 下以 4000 rpm 離心 15 分鐘，隨後以 ELISA Reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany) 測定在 410 nm 波長下之吸光值，空白試驗以 2 mL 之 50 mM 磷酸緩衝溶液(pH 6.8)代替樣品之上清液進行反應，標準曲線以 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 配製。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量計算公式：讀值(μM)· 2(稀釋倍數)· 1000<sup>-1</sup>· g<sup>-1</sup>FW，單位為 μmol· g<sup>-1</sup>FW。

### (七)碳水化合物與全氮測定

採集每枝條由頂端算起第四至六片成熟葉，回實驗室後葉片先以自來水清洗表面灰塵，接著快速浸泡在 1% HCl 溶液內，再的去離子水潤洗三次。清洗完成後放入牛皮紙袋，

進入烘箱先以 100°C 殺菁一小時，接著調至 70°C 烘乾。烘乾後之葉片用磨粉機磨成粉末，以硫酸紙袋保存。

(1) 全可溶性糖含量

精秤 0.1 g 樣品粉末，置於 50 mL 離心管中，加入 10 mL 去離子水，用水浴振盪機以 30 °C、70 rpm 振盪 3 小時，振盪期間每小時以攪拌棒攪拌離心管內之液體防止樣品粉末沉澱。接著於室溫以 4000 rpm 離心 10 分鐘，用 Miracloth (CALBIOCHEM) 過濾上清液。取濾液 0.2 mL 加 4.8 mL 的去離子水均勻振盪，取 2 mL 混合液加入 0.1 mL 石碳酸(liquid phenol)和 6 mL 濃硫酸後均勻振盪。靜置 30 分鐘後，以 ELISA Reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany) 測定波長 490 nm 吸光值。標準品曲線以 0.5 μmole/mL D-glucose 配置，測得到數值經過換算後單位以 % 表示。

(2) 澱粉含量

將上述過濾後所剩之殘渣加入 10 mL 去離子水，於室溫再以 4000 rpm 離心 10 分鐘，將上清液倒掉留樣品殘渣後，以 70°C 烘乾。接著加入 2 mL 去離子水，以沸水煮 15 分鐘後迅速冷卻，加入 2 mL 9.2 N HClO<sub>4</sub> 後振盪，15 分鐘後加 6 mL 去離子水，於室溫以 4000 rpm 離心 10 分鐘，過濾取上清液 0.1 mL 加入 1.9 mL 去離子水、0.1 mL liquid phenol 和 6 mL 濃硫酸，均勻振盪後靜置 30 分鐘，以 ELISA Reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany) 測定波長 490 nm 吸光值。標準品曲線以 0.5 μmole/mL D-glucose 配置，測得到數值經過換算後單位以 % 表示。

(3) 全氮濃度

採用 Micro-Kjeldahl 法，精秤 0.2g 乾燥粉末樣品包於濾紙(Whatman #1)中，置入分解管中，加入 1 g 之凱氏氮催化劑(Merck 8030, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : CuSO<sub>4</sub> : Se = 100:10:1, W/V)，再加入 4.5 mL 之濃硫酸(聯工)，放置分解爐中以 410°C 加熱分解約 2.5 小時。加熱期間須將分解管轉兩次，避免樣品殘留於管壁上，待樣品分解變澄清或淡綠色後，自分解爐取出冷卻約 10 分鐘後加入 15 mL 去離子水待測。完全分解之樣品移至 Micro-Kjeldahl 裝置，加入 20mL 之 12N NaOH，通蒸氣使其氨化，並用含 2% Boric acid 20 ml 之指示劑(含 19 μM bromocresol green 及 25 μM methyl red)之塑膠燒杯接收氨氣及氨水，至總體積達 50 ml 時終止，最後以 1/14 N 之 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 滴定，並計算氮之百分比。

(4) 碳氮比

以全可溶性糖含量及澱粉含量相加視為葉片總碳水化合物含量，並將碳水化合物含量除以全氮濃度，獲得碳氮比。

附表 1. 處理種類說明

處理種類	處理方式
CK+H <sub>2</sub> O	葉面施用自來水七天後，正常灌溉
CK+SA	葉面施用水楊酸溶液七天後，正常灌溉
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	葉面施用過氧化氫溶液七天後，正常灌溉
DS+H <sub>2</sub> O	葉面施用自來水七天後，乾旱處理七週
DS+SA	葉面施用水楊酸溶液七天後，乾旱處理七週
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	葉面施用過氧化氫溶液七天後，乾旱處理七週

## 結 果

### 一、外施水楊酸及過氧化氫後乾旱處理對椪柑生長勢之影響

#### (一)土壤體積含水量與葉片相對含水量

在土壤體積含水量的部分，對照組及乾旱處理組在第 0 週時水分含量皆在 32% 左右，在處理後第 1-4 週，乾旱處理每週澆水量為對照組之 50%，在處理後第 1-3 週時水分含量皆在 24-29% 之間，對照組為 25-34%，但自處理後兩週可看出土壤體積含水量出現差異(圖 1)。處理後第四週開始乾旱處理植株完全不給予水分，土壤體積含水量從處理後第四週 10.7%，到第七週時已下降至 1.6%，而對照組則維持在 18-27% 之間。在處理後第七週開始乾旱處理植株恢復供水，在處理後第八週時水分含量略上升至 5.1%，對照組則為 22.9% (圖 1)。自處理後第五週至第七週，乾旱處理組的土壤體積含水量均顯著低於對照組(表 1)。在處理後第五週，即完全不供水後的第一週，乾旱處理組的土壤體積含水量介於 0.4-4.6%，對照組則為 21.8-27.5%；到了處理後第七週，即完全不供水後的第三週，乾旱處理組的土壤體積含水量介於 0-0.47%，對照組則為 12.9-17.4%。

葉片相對含水量的部分，乾旱處理後第六週其乾旱處理組之葉片相對含水量介於 54.7-72.5%，對照組則介於 94.3-98.6%，乾旱處理組及對照組間具有顯著差異(表 2)。在處理後第七週對照組葉片相對含水量變化不大，介於 86.6-98% 間，但乾旱處理處葉片相對含水量持續下降，其中以乾早前施用水楊酸處理其葉片相對含水量較高為 58.2%，與乾早前施用過氧化氫處理 41.3% 相比具有顯著差異。

#### (二)葉綠素計讀值及枝條長度

在施用藥劑及乾旱處理後第五週，以對照組並施用水楊酸其葉綠素計讀值最高，為 126.2，其次為對照組並施用自來水處理組其葉綠素計讀值為 117.7，兩者與乾旱並處理水楊酸植株葉綠素計讀值 74.1 相比具有顯著差異(表 3)。在處理後第六週，以對照組並施用過氧化氫其葉綠素計讀值 114.5 最高，其次為對照組並施用水楊酸其葉綠素計讀值為

107.5，兩者與乾旱並處理自來水及水楊酸植株相比具有顯著差異，其中乾旱並處理自來水其葉綠素計讀值為處理間最低，僅 41.6。在處理後第七週，對照組葉綠素計讀值均顯著高於乾旱處理組，乾旱處理組中以乾早前施用自來水其葉綠素計讀值最低為 33.1，且與乾旱處理前施用過氧化氫具有顯著差異，其葉綠素計讀值較高為 74.2 (表 3)。

在枝條長度的部分，調查乾旱處理後第五週及第七週枝條長度，並計算第五週至第七週其相對生長量。對照組並施用水楊酸處理其相對生長量為 16.1%，與乾早前施用水楊酸及乾早前施用自來水處理組相比具有顯著差異，兩者相對生長量為-1.7%及-2.9% (表 4)。乾早前施用過氧化氫處理生長量為-0.3%，與對照組並施用水楊酸處理不具有顯著差異，且在所有乾旱處理間的相對生長量亦無顯著差異(表 4)。但由於生長量理論上不會減少，所以負的相對生長量可能是量測上的誤差及因乾旱處理後枝條尖端焦枯部分忽略不計所導致。

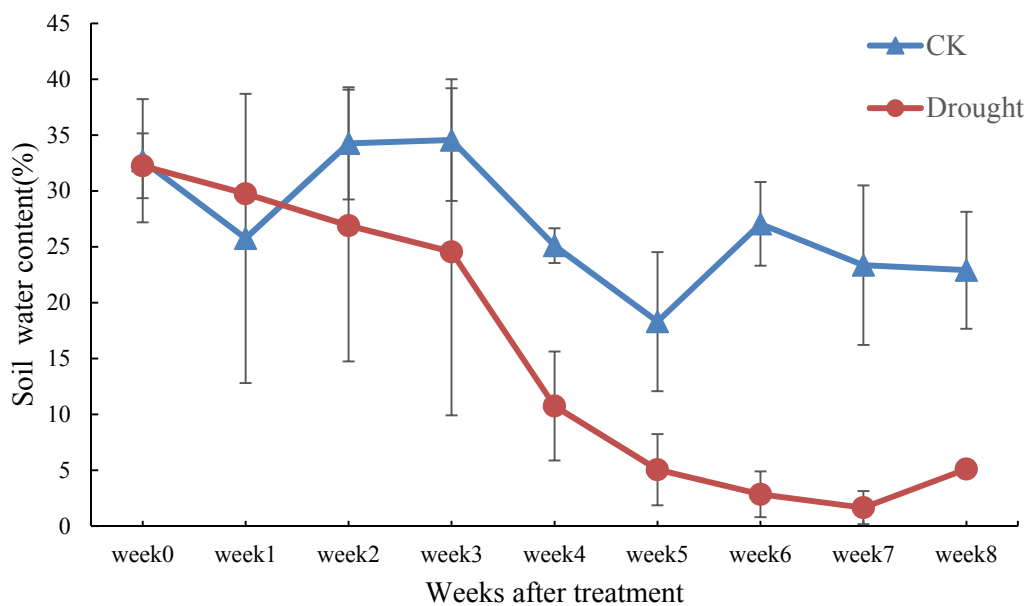


圖 1. 乾旱處理後 0 至 8 週之土壤體積含水量。

Fig. 1. The soil volumetric water content after 0 to 8 weeks of drought stress.

表 1. 外施水楊酸及過氧化氫之椏柑盆栽在乾旱處理後對土壤體積含水量之影響。

Table 1. The effect of drought stress to soil volume water content on 'Ponkan' by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	Soil Volumetric water content (%)		
	week5 <sup>y</sup>	week6	week7
CK+H <sub>2</sub> O	21.88 a <sup>x</sup>	17.13 a	17.47 a
CK+SA	27.50 a	10.93 b	12.97 a
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25.48 a	14.00 ab	15.53 a
DS+H <sub>2</sub> O	0.40 b	0.78 c	0.42 b
DS+SA	4.60 b	1.73 c	0.47 b
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.73 b	0.40 c	0.00 b

<sup>z</sup> DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup> Weeks after drought stress

<sup>x</sup> Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at  $P < 0.05$  by LSD test

表 2. 外施水楊酸及過氧化氫後乾旱處理對椏柑葉片相對含水量之影響。

Table 2. The effect of drought stress to leaf relative water content on 'Ponkan' by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	Relative water content (%)	
	Week6 <sup>y</sup>	Week7
CK+H <sub>2</sub> O	94.3 a <sup>x</sup>	96.7 a
CK+SA	98.6 a	86.6 a
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	95.5 a	98.0 a
DS+H <sub>2</sub> O	55.8 b	46.0 bc
DS+SA	72.5 b	58.2 b
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	54.7 b	41.3 c

<sup>z</sup> DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup> Weeks after drought stress

<sup>x</sup> Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at  $P < 0.05$  by LSD test

表 3. 外施水楊酸及過氧化氫後進行乾旱處理對椪柑葉片葉綠素計讀值之影響。  
 Table 3. The effect of drought stress to leaf chlorophyll value on 'Ponkan' by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	Chlorophyll value		
	Week5 <sup>y</sup>	Week6	Week7
CK+H <sub>2</sub> O	117.7 a <sup>x</sup>	86.9 ab	117.5 a
CK+SA	126.2 a	107.5 a	119.8 a
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	106.4 ab	114.5 a	118.6 a
DS+H <sub>2</sub> O	94.5 ab	41.6 c	33.1 c
DS+SA	74.1 b	62.7 bc	68.3 bc
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	110.1 ab	82.9 ab	74.2 b

<sup>z</sup>DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup>Weeks after drought stress

<sup>x</sup> Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at P < 0.05 by LSD test

表 4. 外施水楊酸及過氧化氫後乾旱處理對椪柑枝條長度之影響。

Table 4. The effect of drought stress to shoot length on 'Ponkan' by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	Shoot length (cm)		Relative growth percentage (%)
	Week5 <sup>y</sup>	Week7	
CK+H <sub>2</sub> O	15.7 a <sup>x</sup>	17.2 a	10.3 ab
CK+SA	13.7 a	15.9 ab	16.1 a
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	13.0 a	13.1 b	0.2 ab
DS+H <sub>2</sub> O	14.6 a	14.2 ab	-2.9 b
DS+SA	13.6 a	13.4 b	-1.7 b
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	14.4 a	14.3 ab	-0.3 ab

<sup>z</sup>DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup>Weeks after drought stress

<sup>x</sup> Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at P < 0.05 by LSD test



## 二、外施水楊酸及過氧化氫對極柑抗旱能力之比較

### (一)葉綠素螢光

在未施用藥劑前，未施用水楊酸且尚未乾早處理水楊酸植株其葉綠素螢光值  $F_v/F_m$  在處理間較低為 0.7，且與另外兩處理組處理前具有顯著差異(表 5)。但在施用藥劑後，六個處理組間葉綠素螢光值均無顯著差異，至乾早處理後四週其葉綠素螢光值餘處理間亦無顯著差異，約在 0.78-0.81。在乾早處理後五週即完全不供水後一週，乾早前施用過氧化氫處理組其葉綠素螢光值驟降為 0.53，與其他處理具有顯著差異，其他五個處理葉綠素螢光值約在 0.78-0.82；在乾早處理後六週，乾早前施用過氧化氫及乾早前施用自來水處理組其  $F_v/F_m$  較低為 0.69，與其他處理具有顯著差異，其他四個處理葉綠素螢光值約在 0.78-0.82；在乾早處理後七週，乾早前施用過氧化氫及乾早前施用自來水處理組其  $F_v/F_m$  較低，分別為 0.31 及 0.42，與對照組及乾早前施用水楊酸處理具有顯著差異，其他四個處理的葉綠素螢光值約在 0.74-0.82。

### (二)離子滲漏率

在乾早處理後五週，乾早前施用過氧化氫處理其平均離子滲漏率為 22.9%，其他處理約 8.9%-12.3%，但因重複間差異大，故經統計後無顯著差異(表 6)。但於乾早處理後六週時，乾早前施用過氧化氫及乾早前施用自來水處理組其離子滲漏率分別為 12.5 及 12.1%，顯著高於對照組且施用過氧化氫及自來水組，兩者的離子滲漏率分別為 8.1% 及 6.8%。於乾早處理後七週即完全不供水第三週時，乾早前施用過氧化氫及乾早前施用自來水處理組其離子滲漏率分別上升至 22.98% 及 24.64%，顯著高於對照組，其離子滲漏率約在 5.42-7.77%，且亦顯著高於乾早前施用水楊酸處理組的離子滲漏率(表 6)。

### (三)過氧化氫含量

葉片內過氧化氫含量在未施用藥劑前，處理間無顯著差異，過氧化氫含量約在 18.5-31.2  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  FW，而在施用水楊酸、過氧化氫及自來水後乾早處理第 0 週時，過氧化氫含量略為升高，約在 29.4-42.2  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  FW，但處理間無顯著差異(表 7)。在乾早處理後七週，乾早前施用過氧化氫及乾早前施用自來水處理組其過氧化氫含量顯著較高為 39.4 及 44.3  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  FW，三個對照組的過氧化氫含量約在 21.9-27.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  FW，而乾早前施用水楊酸處理組過氧化氫含量為 29.2  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  FW 與對照組間無顯著差異。

## 三、外施水楊酸及過氧化氫對乾早誘導極柑不時花形成之比較

在復水後兩週發現植株有再度萌發新梢情形，於 2017 年 5 月 16 日此時為復水後三週調查萌梢數量及新梢種類。乾早處理前施用過氧化氫及乾早處理前施用自來水處理具有萌梢情形，另外四種處理包括乾早前施用水楊酸處理均無萌發營養枝及花朵。乾早處理前施用過氧化氫及乾早處理前施用自來水處理平均每株形成 57.7 及 13.7 朵花，以乾早前施用過氧化氫其開花量與對照組和乾早前施用水楊酸處理具有顯著差異，其營養枝新梢數量分別為 1.07 枝，與其他處理無顯著差異(表 8)。乾早前施用過氧化氫所萌發之結果枝種類以單花帶葉梢為主，其次為單花無葉梢，平均每枝結果母枝形成量分別為 1.53 及 0.87 枝。

在前期試驗以 50%供水量作為乾旱處理時，處理後四週其椪柑葉片內全可溶性糖含量、澱粉含量、全碳濃度及碳氮比處理間並無顯著差異(表 9)。在完全不供水後三週，即乾旱處理後七週時，無論是乾旱處理組或者是無乾旱處理，其全可溶性糖含量均下降，但處理間無顯著差異，澱粉含量、全氮濃度及碳氮比在處理後七週亦無顯著差異(表 9)。

表 5. 外施水楊酸及過氧化氫後乾旱處理對椪柑葉片葉綠素螢光值之影響。

Table 5. The effect of drought stress to leaf chlorophyll fluorescence Fv/Fm ratio on 'Ponkan' by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	Chlorophyll fluorescence (Fv/Fm)					
	Before drought stress		After drought stress			
	No Applied	Applied	week4 <sup>y</sup>	week5	week6	week7
CK+H <sub>2</sub> O	0.73 ab <sup>x</sup>	0.70 a	0.80 a	0.82 a	0.82 a	0.80 a
CK+SA	0.75 ab	0.78 a	0.81 a	0.82 a	0.82 a	0.82 a
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.81 a	0.69 a	0.80 a	0.82 a	0.81 a	0.81 a
DS+H <sub>2</sub> O	0.80 a	0.79 a	0.78 a	0.79 a	0.69 b	0.42 b
DS+SA	0.70 b	0.78 a	0.79 a	0.78 a	0.78 a	0.74 a
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.73 ab	0.73 a	0.81 a	0.53 b	0.69 b	0.31 b

<sup>z</sup> DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup> Weeks after drought stress

<sup>x</sup> Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at P < 0.05 by LSD test

## 討 論

### 一、外施水楊酸及過氧化氫對椪柑之抗旱反應

乾旱逆境是影響作物生長及產量最主要的因素，因為水分不足嚴重影響植物的蒸散作用及光合作用(Larcher, 2003；Posch and Bennett, 2009)，而植物對乾旱逆境的反應，主要途徑是透過促進根系對深層土壤水分的吸收和滲透物質等生理指標以維持植株水勢，葉片相對含水量為評估植株抗旱性的重要指標(楊等, 2012)。葉綠素減少為葉片老化的現象之一，葉片老化常伴隨著葉綠素的降解、蛋白質的分解、光合作用能力下降及抗氧化系統的

作用等現象，許多因子都會促使葉片開始進入老化，包括內在的因子葉齡、無機元素及荷爾蒙，而乙烯是造成葉片老化的重要原因；外在的環境因子如黑暗環境、與母株分離、乾旱、病菌侵害關(Ferrante and Francini, 2006；Shippers, 2015)。本次乾旱處理後，有抑制植株的營養生長，在枝長部分處理後七週與處理後五週無明顯變化。然而從植株外觀來看，葉片相對含水量與葉片萎凋程度有關，乾旱前施用過氧化氫處理其葉片相對含量較乾旱前施用水楊酸處理低。葉片葉綠素計讀值由乾旱後五週至乾旱後七週，施用自來水處理葉綠素計讀值下降最多，約下降 65%，其次為施用過氧化氫處理，約下降 32%，而乾旱前施用水楊酸處理雖隨土壤水分含量降低，葉綠素計讀值至處理後七週僅下降約 8%。經葉綠素螢光值、離子滲漏率、過氧化氫含量等三種常用逆境評估指標分析，在乾旱後七週，乾旱前施用水楊酸處理植株其內在生理損傷較乾旱前施用過氧化氫處理低，且與對照組無顯著差異，顯示水楊酸處理的抗旱效果較過氧化氫處理佳。

## 二、外施水楊酸及過氧化氫對椪柑之乾旱後抽梢情形

本次試驗進行時在 3 月中時萌發正期花，而於乾旱後五週植株尚有正期花，至乾旱後七週時已無開花，但在復水後三週，乾旱且有施用過氧化氫或自來水處理均再次抽梢，包括營養枝及結果枝。乾旱前施用水楊酸，乾旱後復水三週其植株抽梢量不多，與對照組無顯著差異。在乾旱後七週時，處理間的碳氮比並無顯著差異，且除了對照組施用自來水處理，其餘處理在乾旱後七週時植株內碳氮比皆較乾旱後四週時下降。陳(1994)使椪柑經過六週乾旱處理，樹體內各部位澱粉含量下降，並指出缺水環境下，澱粉分解酵素活性增加，蔗糖轉化活性降低(朱，1990)。黃(1987)指出長時間(兩個月)的水分逆境可使葉片中可溶性糖大量形成，而短時間(一個月)乾旱處理則略有增加，但本試驗經七週乾旱處理可溶性糖含量均下降，可能與乾旱處理時間或施用藥劑所致。陳(1994)認為水分逆境促使花芽分化之非自然現象與一般自然花芽分化之營養生理可能並不相同。

表 61. 外施水楊酸及過氧化氫後進行乾旱處理對椪柑葉片離子滲漏率之影響。

Table 6. The effect of drought stress to leaf electrolyte leakage percentage on 'Ponkan' by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	Electrolyte leakage percentage (%)		
	week5 <sup>y</sup>	week6	week7
CK+H <sub>2</sub> O	9.2 a <sup>x</sup>	6.8 b	5.93 b
CK+SA	8.9 a	9.6 ab	5.42 b
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	9.3 a	8.1 b	7.77 b
DS+H <sub>2</sub> O	9.8 a	12.1 a	24.64 a
DS+SA	12.3 a	10.2 ab	9.37 b
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	22.9 a	12.5 a	22.98 a

<sup>z</sup> DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup> Weeks after drought stress

<sup>x</sup> Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at P < 0.05 by LSD test

表 7. 外施水楊酸及過氧化氫後進行乾旱處理對椪柑葉片過氧化氫含量之影響。

Table 7. The effect of drought stress to the hydrogen peroxide contents on 'Ponkan' leaves by exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol·g <sup>-1</sup> FW)		
	Before Spray	Week0 <sup>y</sup>	Week7
CK+H <sub>2</sub> O	31.2 a	42.2 a	21.9 b
CK+SA	18.5 a	29.4 a	27.1 b
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25.8 a	33.3 a	22.6 b
DS+H <sub>2</sub> O	—	—	44.3 a
DS+SA	—	—	29.2 b
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	—	—	39.4 a

<sup>z</sup> DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup> Weeks after drought stress

<sup>x</sup> Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at P < 0.05 by LSD test

表 2. 外施水楊酸及過氧化氫經乾旱處理後復水三週對極柑花朵及營養枝萌發之影響。

Table 8. The effect of re-watering three weeks to flowers and vegetative shoot numbers on 'Ponkan' by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before drought stress.

Treatment <sup>z</sup>	Leafy with one flower per shoot	Leafless with one flower per shoot	Leafy with several flowers per shoot	Leafless with several flowers per shoot	Vegetative shoot per shoot	Number of flowers per plant
CK+H <sub>2</sub> O	0.00 b <sup>y</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 b
CK+SA	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 b
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 b
DS+H <sub>2</sub> O	0.47 ab	0.53 a	0.00 a	0.20 a	1.47 a	13.67 ab
DS+SA	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.13 a	0.00 b
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1.53 a	0.87 a	0.00 a	0.27 a	1.07 a	57.67 a

<sup>z</sup>DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup>Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at  $P < 0.05$  by LSD test.

表 9. 外施用水楊酸及過氧化氫經乾旱七週後對椪柑葉片碳水化合物含量及全氮濃度之影響。

Table 9. The content of total soluble sugar, starch and total nitrogen in leaves on 'Ponkan' after seven weeks drought stress by exogenous application of salicylic acid and hydrogen peroxide before stress.

Treatment <sup>z</sup>	TSS(%) <sup>y</sup>		SC(%) <sup>y</sup>		N(%)		C:N	
	Week4 <sup>x</sup>	Week7	Week4	Week7	Week4	Week7	Week4	Week7
CK+H <sub>2</sub> O	4.30 a <sup>w</sup>	3.32 a	3.76 a	6.74 a	2.37 a	3.05 a	2.68 a	5.10 a
CK+SA	3.55 a	1.66 a	4.94 a	1.89 a	2.29 a	2.75 a	3.16 a	1.31 a
CK+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	4.03 a	3.58 a	4.52 a	2.12 a	3.44 a	2.57 a	2.70 a	2.61 a
DS+H <sub>2</sub> O	4.68 a	3.96 a	6.28 a	3.68 a	2.98 a	2.19 a	5.84 a	2.51 a
DS+SA	4.22 a	3.13 a	5.07 a	3.84 a	2.69 a	3.17 a	4.41 a	2.86 a
DS+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	4.62 a	2.68 a	2.88 a	3.28 a	3.06 a	2.24 a	2.54 a	2.44 a

<sup>z</sup>DS: drought stress; CK: control group

<sup>y</sup>TSS is total soluble sugar, SC is starch content, C is total of TSS and SC.

<sup>x</sup>Weeks after drought stress

<sup>w</sup>Means within each column followed by the different letter(s) are significantly different at  $P < 0.05$  by LSD test.

## 結 論

本試驗以水楊酸處理可提升椪柑的抗旱力，過氧化氫處理則無顯著效果，不過以水楊酸處理後雖降低乾旱下對植株造成的傷害，但也使植株無法在復水後形成不時花，反而過氧化氫處理且經乾旱後的植株不時花形成能力較佳。所以，當以乾旱誘導柑橘形成不時花，同時以減低乾旱對植株的傷害時作為目的而在乾旱前施用水楊酸時，會導致後續不時花的誘導效果不明顯。

## 參 考 文 獻

- 朱德民。1995。植物與環境逆境。國立編譯館。380pp。
- 楊義伶、黃春輝、辜青青、曲雪豔、劉善軍、徐小彪。2012。不同抗旱性柑橘砧木相關生理指標及基因表達差異分析。江西農業大學學報 34: 1118-1123。
- 陳崇禮。1994。水分逆境對椪柑樹體碳、氮含量之影響。國立中興大學園藝研究所碩士論文。115pp。
- 黃阿賢。1987。乾旱對柑桔生理的影響。國立臺灣大學園藝學系碩士論文。
- Bandurska, H. 2013. Salicylic Acid: An update on biosynthesis and action in plant response to water deficit and performance under drought. In: Salicylic acid, Hayat, S., A. A. Mohammed, and N. Alyemeni (eds.), Springer Science + Business Media Dordrecht. pp. 1-14.
- Creissen, G. P. and P. M. Mullineaux. 2002. The molecular biology of the ascorbate-glutathione cycle in higher plants. In: Oxidative Stress in Plants, Inze' and Van Montagu (eds.), Taylor & Francis. pp. 247-270.
- Dat, J., S. Vandenabeele, E. Vranova, M. Van Montagu, D. Inze', and F. van Breusegem. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cell Mol. Life Sci. 57: 779-795.
- Ferrante A. and A. Francini. 2006. Ethylene and leaf senescence. In: Ethylene Action in Plants, Khan N. A. (ed.). Springer-Verlag, Berlin. pp. 51-67.
- Habibi, G. 2014. Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) generation, scavenging and signaling in plants. In: Oxidative damage to plants-antioxidant networks and signaling, P. Ahmad (ed.). Elsevier. pp. 557-584.
- Larcher, W. 2003. Physiological Plant Ecology. 4th ed. Springer-Verlag, Berlin. 514pp.
- Posch, S. and L.T. Bennett. 2009. Photosynthesis, photochemistry and antioxidative defence in response to two drought varieties and with re-watering in *Allocasuarina luehmannii*. Plant Biol. 11: 83-93.
- Southwick, S. M. and T. L. Davenport. 1986. Characterization of drought stress and low temperature effects on flower induction in citrus. Plant Physiol. 81: 26-29.
- Schippers, J. H. 2015. Transcriptional networks in leaf senescence. Curr. Opin. Plant Biol. 27: 77-83.

## The Effect of Exogenous Application of Salicylic Acid and Hydrogen Peroxide on 'Ponkan' Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) under Drought Stress

Cheng-Han Yu<sup>1)</sup> Ching-Chang Shiesh<sup>2)</sup> Huey-Ling Lin<sup>3)</sup>

Key words: Chlorophyll fluorescence, Electrolyte leakage percentage, Shoot spurting

### Summary

The drought stress often affected crop growth and yield by causing leaf wilting and falling, and the crops may even die under severe drought conditions. Results from the foliar application of 1.0 mM salicylic acid and 1.5 mM hydrogen peroxide to potting 'Ponkan' trees indicated that salicylic acid treatment can increase leaf starch content in leaves to a level significantly higher than that of water treatment one week after water treatment. After seven weeks of drought treatment, the soil volumetric water content decreased from 32% to 0-0.47% and relative water content in leaves was 41.3-58.2% with values significantly lower than those of control group. Trees receiving salicylic acid treatment had higher drought tolerance than those receiving hydrogen peroxide treatment. The leaf relative water content and chlorophyll fluorescence were higher in salicylic acid treated trees but the electrolyte leakage percentage and hydrogen peroxide content were lower in leaves when treated with salicylic acid. Three weeks after re-watering, those trees treated with hydrogen peroxide sprouted and developed flowers after on-season flowering period.

---

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

2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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