

## 溫度及光度處理對離體培養葡萄著色之影響

李 慧 津<sup>1)</sup> 楊 耀 祥<sup>2)</sup>

關鍵字：葡萄果實、花青素、類黃素

**摘要：**本試驗研究，以影響花青素蓄積的光照及溫度條件，利用離體培養對照戶外環境。本研究以'紅'及'巨峰'葡萄果粒為材料，利用離體培養以溫度 30°C、25°C、20°C 及光度 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、黑暗等共 6 種處理進行調查，探討各因子對於類黃素及花青素組成的變化影響。結果得知，25°C、20°C 及強光 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  處理均具有促進類黃素、花青素之蓄積效果。

### 前 言

果色之表現除了內部遺傳因子及生理機制有所影響之外，外在環境因素在輔助作用上也佔極重要的地位。影響果色表現的環境因素例如外在之溫度因素影響花青素含量與果皮之呈色，尤其在葡萄果實成熟時溫度影響著色(Buttrose *et al.*, 1971; 小林, 1972; Kliewer, 1966, 1970, 1972, 1977; 呂名等, 1979)等之報告早已證實，果實的著色比較低溫者著色效果較佳，高溫則會抑制著色(Winkler *et al.*, 1974)。片岡(1984)亦指出，於果穗周邊設定 20°C 及 30°C 溫度，'巨峰'品種於採收期花青素的生成，20°C 比 30°C 為佳。花青素的含量在'巨峰'、'Delaware'及'Muscat Bailey A'三種品種皆以 20°C 的蓄積量較高。溫度差異的試驗方面'黑王'品種葡萄，溫度條件控制在日夜 25°C 及恆溫區及日溫 25°C 的夜溫 15°C 的變溫區。轉色期後 10 日開始測定花青素含量，轉色期後變溫區的果實花青素含量較高，成熟期時恆溫區的含量比變溫區高。如此結果，推測因為恆溫區內的溫度一直保持在 25°C 左右，冷涼氣候的恆溫對花青素的生合成比溫度高低變化的變溫促進的效果更有利(森等, 2001)。溫度對品種間花青素的蓄積也有所差異，'Muscat Bailey A'果實在 30°C 區，花青素的蓄積量與'Delaware'、'巨峰'相比較，明顯地高。Kliewer(1972)根據溫度環境與果實著色的關係

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

作比較。其試驗結果，'Cabernet Sauvignon'及'Pinot noir'兩品種在高溫下仍生合成一定量的花青素，而將這兩品種列為花青素含量的高品種，高溫下花青素含量少的品種有'Tokay'。品種間花青素生成量的差異與溫度關係密切。由以上的試驗結果可知，溫度環境對著色有明顯之影響。

光照也是影響果色呈色之重要因子，光照與果色的呈色關係密切。轉色期開始遮光處理者明顯著色不良，在低光度下會抑制果皮內花青素的形成，所以光度對花青素的組成有嚴重的影響。遮光處理後的'Muscat Baily A'含有率最低的花青素於低光度下被抑制形成，而其他的組成成份變動不大。因此，遮光處理對整體著色的促進或抑制，應該是果皮花青素量的變化，而不是質的變化(內藤, 1965)。「Super Hamburg」及「Campbell Early」是黑色系的品種，低光度下對其影響小，「甲州」、「Red Millennium」的紅色系葡萄著色會因遮光而受影響，遮光也會因品種間對低光度的感受性差異而不同(片岡, 1984)。「Aki Queen」為紅色葡萄品種轉色期前 10 日到轉色期後 10 日套袋的遮光處理，著色開始較緩慢但除袋後著色進行快速，對於成熟果實的著色有正面的幫助。黑色種'Muscat Baily A'果實的發育期中遮光處理，果色的變化及花青素的形成，除了光度的影響之外，糖濃度的影響應有其間接作用(陳等, 1991)。遮光與糖度的變化，完全遮光區的所有品種都比對照區低 2~5%，遮光 25% 區的品種糖度比其他區低，紅色品種'甲州'尤其顯著(村谷等, 1999)。因此本研究利用離體培養以溫度與光度處理進行調查，來探討各因子對於葉綠素、類黃素及花青素組成的變化，以瞭解影響果皮呈色因素。

## 材料與方法

本試驗使用的材料為中興大學葡萄中心之 9 年生'蜜紅'及 9 年生'巨峰'品種，採樣時間為 2003 年 4 月起夏果第一收滿花後第 37 日、45 日及 52 日，三個轉色期前後不同發育時期的果實。

### 一、果粒離體培養

選擇大小相似的果穗 16 果穗，採樣日每穗採上中下各 1 粒，共 3 粒，每個測定為 48 粒果粒，離體培養為果實採收後先以沙拉脫洗淨，在無菌操作台上以 75% 酒精消毒後用無菌水清洗三次，將果粒縱剖為二，放置於 Agripot 內之培養基上，每個培養基為 2 粒縱切為 4，總共 24 瓶，測定 6 瓶為一樣品，共 4 重複。培養基的基本配方為：1/2 MS，蔗糖 30% 及 Agar 10 g 的培養基。

試驗分為 6 個處理：1、不同溫度處理，分別為日夜溫 20°C、25°C 及 30°C 三組，共同光度為 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。2、不同光度處理，分別為黑暗組(利用鋁箔紙封包)，照光組 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  及 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，共同日夜溫度控制在 25°C。共 6 種組合，培養一週後取出進行類黃素、花青素，葉綠素的測定。

## 二、果皮葉綠素含量之測定

以 1 g 之果皮，加海砂及 80% 丙酮磨碎萃取，經過濾定量至 10 ml，再以光電比色計 (MILTON ROY SPECTRONIC 20DU-2000) 測定波長 645、663 nm 下之吸光度，並換算成總葉綠素含量 (Arnon, 1954)。葉綠素含量以下列公式計算：葉綠素含量  $a(\mu\text{g/g}) = [12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})] \times 10$ ， $b(\mu\text{g/g}) = [22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})] \times 10$ ，葉綠素總含量 =  $a + b$ 。

## 三、果皮花青素、類黃素含量之分析

以 1 g 之果皮，加 0.1% HCl 性 MeOH 萃取色素，經過濾定量至 2 ml，再以分光光度計 (HITACHI U-2001) 進行 200~700 nm 波長範圍的光譜掃描，紀錄 530 nm 與 350 nm 的吸光度。

## 四、果皮類黃素、花青素組成之分析

果皮色素組成分析以 HPLC 進行之。將各果皮樣品 (6 粒，約 4.5 g) 以 2 ml 之 1.5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  萃取其色素，Teflon Syringe Filter (0.45  $\mu\text{m}$ ) 過濾後，進行 HPLC 定性分析，藉由積分儀得到 HPLC 圖譜，依據滯留時間 (retention time) 之差異對不同色素成份進行區分判讀。HPLC 之裝置，包括 HITACHI L-7100 溶媒運輸幫浦、L-7420 紫外可視光檢測器、L-7300 分離管恆溫箱及 D-7500 資料處理積分儀等。

HPLC 分析條件如下：以  $S_1$  液 (1.5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ) 及  $S_2$  液 (1.5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 20% HOAc, 25% MeCN in  $\text{H}_2\text{O}$ ) 為移動相，配合分析型 Mightysil RP-18 column (Kanto Chemical Co., 4.6×250 mm)，加上移動相的濃度梯度變化 ( $S_2$  液在  $S_1$  液中的濃度比例，於 30 分鐘內，由 40% 直線爬升至 85%)，於檢測波長 530 nm 測定花青素色素，波長 350 nm 測定類黃素色素，以流速 1 ml/min 進行分析，最後由 D-7500 積分儀自動計算並列印出各樣品之色素組成及其相對濃度百分率。

# 結 果

## 一、果皮總葉綠素之含量

'蜜紅' 葡萄夏果果皮總葉綠素之含量隨著滿花後日數的增加而減少，滿花後 37 日培養果實之果皮總葉綠素含量為 400~600  $\mu\text{g/g}$ ，其中 25°C 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  的含量最高，達 620  $\mu\text{g/g}$ 。滿花後 45 日總葉綠素含量全部降至 400  $\mu\text{g/g}$  左右，各組間差異不明顯。滿花後 52 日培養果實之果皮含量降低至 200~300  $\mu\text{g/g}$  左右，以 25°C 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  及 25°C 不見光黑暗的試驗組最低 (圖 1)。「巨峰」葡萄夏果果皮總葉綠素之含量，隨著滿花後日數而減少。滿花後 37 日培養果實之果皮總葉綠素含量以 25°C 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  的含量最高達將近 550  $\mu\text{g/g}$ ，滿花後 45 日總葉綠素含量並無明顯降低含量為 320~400  $\mu\text{g/g}$  之間。滿花後 52 日培養果實之果皮含量降低至 200~300  $\mu\text{g/g}$  左右，以 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  25°C 的試驗組最低。三個不同時期的含量約為 250~400  $\mu\text{g/g}$  之間 (圖 2)。

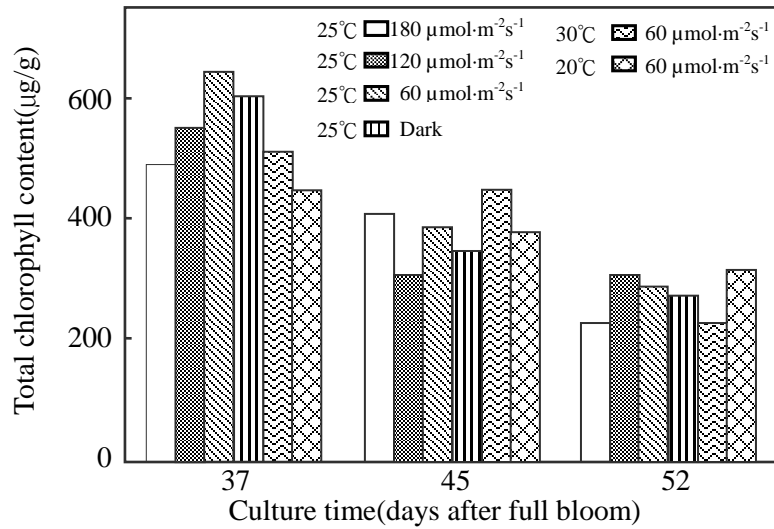


圖 1. 光度及溫度對離體培養'蜜紅'葡萄夏果果皮總葉綠素含量之影響

Fig. 1. Effect of light intensity and temperature treatment on the chlorophyll content of 'Honey Red' summer grape skin *in vitro*, Fruits cultured on the 37<sup>th</sup>, 45<sup>th</sup>, 52<sup>th</sup> day after full bloom *in vitro* and measured on the 7<sup>th</sup> day after culture, respectively.

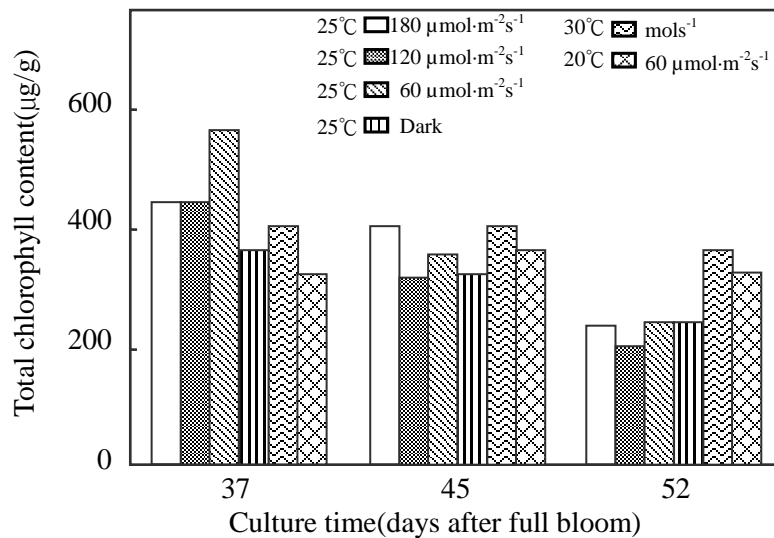


圖 2. 光度及溫度對離體培養'巨峰'葡萄夏果果皮總葉綠素含量之影響

Fig. 2. Effect of light intensity and temperature treatment on the chlorophyll content of 'Kyoho' summer grape skin *in vitro*, Fruits cultured on the 37<sup>th</sup>, 45<sup>th</sup>, 52<sup>th</sup> day after full bloom *in vitro* and measured on the 7<sup>th</sup> day after culture, respectively.

## 二、果皮花青素之組成比率

探討'蜜紅'葡萄夏果離體培養，不同處理對果皮花青素變化之影響，結果發現溫度以及光照因素均可促進花青素之生成。O.D 值以培養環境為光度  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  溫度  $25^\circ\text{C}$  的處理組生成量最高(圖 3)。

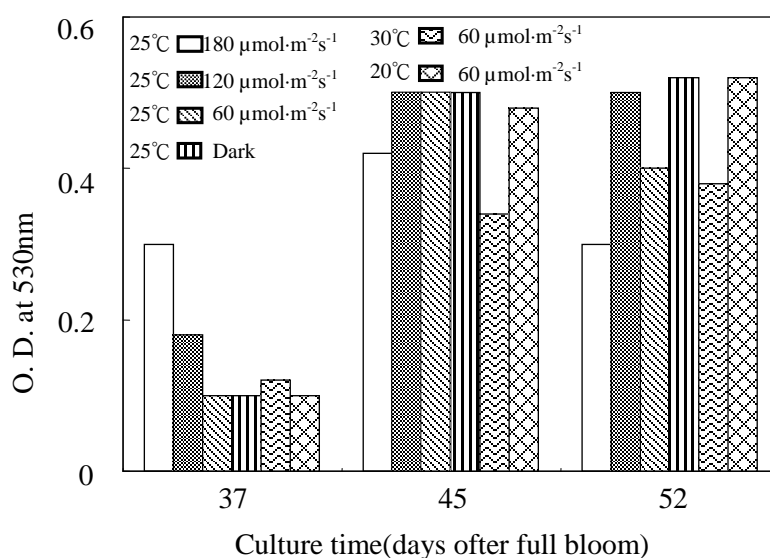


圖 3. 光度及溫度對離體培養'蜜紅'葡萄夏果果皮花青素含量之影響

Fig. 3. Effect of light intensity and temperature treatment on the anthocyanin O.D. at 530nm in 'Honey Red' summer grape skin *in vitro*, Fruits cultured on the 37<sup>th</sup>, 45<sup>th</sup>, 52<sup>th</sup> day after full bloom *in vitro* and measured on the 3<sup>rd</sup> day after culture, respectively.

在花青素組成上，果皮花青素之 A0 及 A1 由微量隨日數增加而有逐漸增加的趨勢，至開始進入著色期之滿花後 52 日培養，無論溫度或光照的變化，A2、A3 等其他色素皆未顯現，其中滿花後 52 日培養  $20^\circ\text{C}$  的組成比率最高(表 1)。

表 1. 溫度對離體培養'蜜紅'葡萄夏果果皮花青素組成比率之影響

Table 1. Effect of cultured temperature on the change of anthocyanin component in 'Honey Red' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Color degree	Anthocyanin component <sup>z</sup>						
			A0	A1	A2	A3	A4	Others	Total <sup>x</sup>
37/C→44/M <sup>w</sup>	30°C	0	tr	tr	0	0	0	0	0.7c
	25°C	0	tr	tr	0	0	0	0	0.8c
	20°C	0	tr	tr	0	0	0	0	0.7c
45/C→52/M	30°C	1	18.7	81.3	tr	tr	tr	tr	3.1b
	20°C	1	17.8	82.2	tr	tr	tr	tr	5.3ab
	30°C	1	17.5	83.0	tr	tr	tr	tr	4.3b
52/C→59/M	25°C	1	17.0	83.0	tr	tr	tr	tr	5.0b
	20°C	1	17.8	82.2	tr	tr	tr	tr	8.0a

<sup>z</sup>: Anthocyanins percentage in concentration at 530 nm in HPLC analysis. tr: trace.

<sup>y</sup>: Light intensity: 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Honey Red' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.

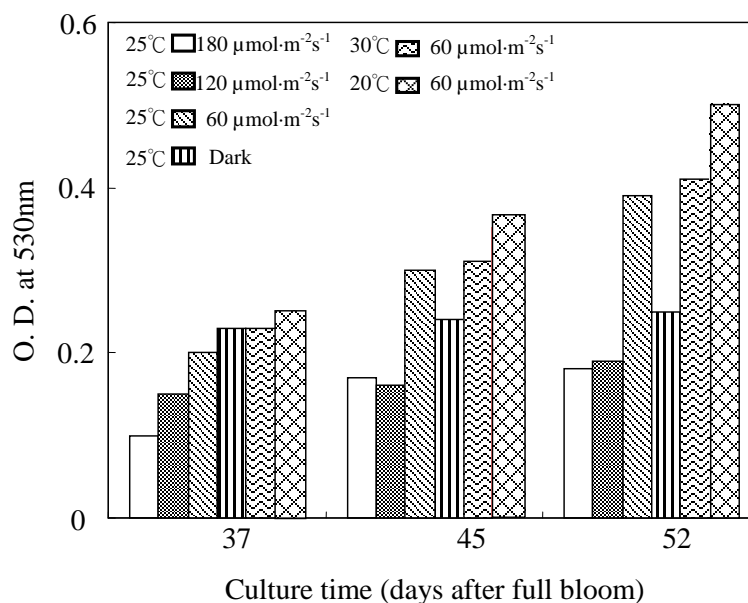


圖 4. 光度及溫度對離體培養'巨峰'葡萄夏果果皮花青素含量之影響

Fig. 4. Effect of light intensity and temperature treatment on the anthocyanin O.D. at 530nm in 'Kyoho' summer grape skin *in vitro*, Fruits cultured on the 37<sup>th</sup>, 45<sup>th</sup>, 52<sup>th</sup> day after full bloom *in vitro* and measured on the 3<sup>rd</sup> day after culture, respectively.

光照處理比較以  $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  處理組的組成比率最高，各處理組成差異不明顯，花青素含量尤以黑暗處理組最低僅為  $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  最高組的 0.1~0.4 倍而已(表 2)。「巨峰」葡萄夏果離體培養，不同處理對果皮花青素含量之影響，結果與「蜜紅」葡萄相似，溫度以及光照均可促進花青素之生成，O.D 值尤以培養環境為光度  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  溫度  $25^\circ\text{C}$  的處理組生成量最高(圖 4)。在花青素組成比率上，「巨峰」於滿花後 45 日已有一定量 A0、A1 的產生，隨日數增加而有逐漸增加的趨勢。本離體培養滿花後 52 日採收培養並未顯現 A0、A1 以外之其他色素(表 3)，同樣地  $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  處理組的花青素總含量較高，各處理組成比率與含量差異不明顯。其中無論滿花後 37 日、45 日及 52 日培養皆以黑暗處理組最低僅 0.3~0.5 倍而已(表 4)。

表 2. 光照對離體培養「蜜紅」葡萄夏果果皮花青素組成比率之影響

Table 2. Effect of cultured light on the change of anthocyanin component in 'Honey Red' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Color degree	Anthocyanin component <sup>z</sup>						
			A0	A1	A2	A3	A4	Others	Total <sup>x</sup>
37/C→44/M <sup>w</sup>	$180 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0	tr	tr	0	0	0	0	0.8de
	$120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0	tr	tr	0	0	0	0	0.6de
	$60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0	tr	tr	0	0	0	0	0.5de
	Dark	0	tr	tr	0	0	0	0	0.1e
45/C→52/M	$180 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	17.4	82.6	tr	tr	tr	tr	5.1abc
	$120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	17.3	82.9	tr	tr	tr	tr	3.6bcd
	$60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	17.7	84.2	tr	tr	tr	tr	3.1cde
	Dark	1	17.2	80.5	tr	tr	tr	tr	2.0de
52/C→59/M	$180 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	16.5	83.5	tr	tr	tr	tr	7.5a
	$120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	15.5	84.5	tr	tr	tr	tr	6.5ab
	$60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	16.6	83.4	tr	tr	tr	tr	6.3ab
	Dark	1	16.8	83.2	tr	tr	tr	tr	3.0cde

<sup>z</sup>: Anthocyanins percentage in concentration at 530 nm in HPLC analysis. tr: trace.

<sup>y</sup>: Light intensity:  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Honey Red' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.

表 3. 溫度對離體培養'巨峰'葡萄夏果果皮花青素組成比率之影響

Table 3. Effect of cultured temperature on the change of anthocyanin component in 'Kyoho' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Color degree	Anthocyanin component <sup>z</sup>									Total <sup>x</sup>
			A0	A1	a1	a2	a3	a4	a5	a6	Others	
37/C→44/M <sup>w</sup>	30°C	0	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0	0.4c
	25°C	0	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0	0.4c
	20°C	0	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0	0.8c
45/C→52/M	30°C	1	16.3	83.7	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	3.8b
	25°C	1	16.3	83.7	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	4.5b
	20°C	1	17.0	83.0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	6.2b
52/C→59/M	30°C	1	15.5	84.5	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	5.0b
	25°C	1	15.7	84.3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	6.6b
	20°C	2	16.3	83.7	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	16.7a

<sup>z</sup>: Anthocyanins percentage in concentration at 530 nm in HPLC analysis. tr: trace.

<sup>y</sup>: Light intensity: 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Kyoho' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level..

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.

表 4. 光照對離體培養'巨峰'葡萄夏果果皮花青素組成比率之影響

Table 4. Effect of cultured light on the change of anthocyanin component in 'Kyoho' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Color degree	Anthocyanin component <sup>z</sup>									Total <sup>x</sup>
			A0	A1	a1	a2	a3	a4	a5	a6	Others	
37/C→44/M <sup>w</sup>	180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0	0.8b
	120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0	0.6b
	60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0	0.5b
	Dark	0	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0	0.4b
45/C→52/M	180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	16.8	83.2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	7.0a
	120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	17.1	82.9	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	6.4a
	60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	15.8	84.2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	6.1a
	Dark	1	19.5	80.5	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	2.3b
52/C→59/M	180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	16.1	83.9	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	8.7a
	120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	16.2	83.8	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	7.6a
	60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1	14.9	85.1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	7.1a
	Dark	1	19.6	80.4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	3.2b

<sup>z</sup>: Anthocyanins percentage in concentration at 530 nm in HPLC analysis. tr: trace.

<sup>y</sup>: Light intensity: 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Kyoho' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.



### 三、果皮類黃素之組成比率

無論'蜜紅'或'巨峰'不同處理之類黃素皆以 F2 含量最多，組成比率分別約為 57.1%~94.1%(表 5、6)，與 54%~91.5%(表 7、8)，各處理間生成總含量具明顯差異，尤以低溫、高光照處理組的總含量較高。

本離體培養試驗的結果得知，光照以及溫度均影響色素之生成，溫度條件 20~25°C 左右，光照條件 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  類黃素、花青素之生成量均有較高之趨勢。無論是'蜜紅'或'巨峰'品種，至滿花後 45 日採收培養皆只有生成 A0 及 A1 兩種色素，其他色素並未測出。

表 5. 溫度對離體培養'蜜紅'葡萄夏果果皮類黃素組成比率之影響

Table 5. Effect of cultured temperature on the change of flavonoid component in 'Honey Red' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Flavonoid component <sup>z</sup>							Total <sup>x</sup>
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	Others	
37/C→44/M <sup>w</sup>	30°C	4.0	80.1	3.2	2.0	4.7	1.9	4.1	63.4e
	25°C	3.1	94.1	2.1	0.2	0.1	0.1	0.3	84.5c
	20°C	2.7	85.7	2.8	1.3	3.1	1.4	3.0	85.1c
45/C→52/M	30°C	2.5	85.7	3.9	2.9	1.8	0.1	3.1	70.6d
	25°C	8.8	59.5	9.5	13.2	5.9	2.4	0.7	85.9bc
	20°C	2.5	85.0	4.1	2.2	2.9	1.2	2.1	89.2ab
52/C→59/M	30°C	3.5	65.2	11.9	13.9	1.9	0.1	3.5	72.7d
	25°C	2.2	86.9	3.7	2.0	2.1	1.0	2.1	86.9abc
	20°C	3.5	87.4	2.7	1.0	3.9	0.3	1.2	90.1a

<sup>z</sup>: Flavonoids percentage in concentration at 350 nm in HPLC analysis.

<sup>y</sup>: Light intensity: 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Honey Red' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.

表 6. 光照對離體培養'蜜紅'葡萄夏果果皮類黃素組成比率之影響

Table 6. Effect of cultured light on the change of flavonoid component in 'Honey Red' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Flavonoid component <sup>z</sup>							
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	Others	Total <sup>x</sup>
37/C→44/M <sup>w</sup>	180 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	3.6	85.6	3.6	1.7	3.7	1.2	0.6	83.6a
	120 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	2.3	86.7	2.3	3.4	1.6	3.6	0.1	77.2b
	60 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	2.8	85.4	2.7	5.7	3.2	0.1	0.1	71.3c
	Dark	2.1	87.1	3.4	1.7	3.5	0.3	1.9	68.6c
45/C→52/M	180 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	2.6	72.9	10.1	10.7	1.8	1.2	0.7	78.8b
	120 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	8.2	57.1	8.7	15.1	6.8	3.2	0.9	76.5b
	60 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	2.8	85.4	3.7	2.5	2.1	0.2	3.3	70.5c
	Dark	1.6	90.0	2.2	1.3	1.8	0.3	2.8	69.1c
52/C→59/M	180 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	3.4	64.4	11.9	14.1	2.3	1.0	2.9	76.0b
	120 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	4.2	64.8	11.4	14.1	1.8	0.1	3.6	62.7d
	60 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	4.2	82.2	3.7	2.6	2.6	1.2	3.5	57.4e
	Dark	3.6	87.8	3.0	1.3	2.1	1.0	1.2	50.8f

<sup>z</sup>: Flavonoids percentage in concentration at 350 nm in HPLC analysis.

<sup>y</sup>: Light indensity: 60 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>.

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Honey Red' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.

表 7. 溫度對離體培養'巨峰'葡萄夏果果皮類黃素組成比率之影響

Table 7. Effect of cultured temperature on the change of flavonoid component in 'Kyoho' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Flavonoid component <sup>z</sup>							
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	Others	Total <sup>x</sup>
37/C→44/M <sup>w</sup>	30°C	1.0	69.8	13.3	11.3	1.9	0.1	2.6	50.2f
	25°C	3.4	63.1	13.4	15.7	1.6	0.2	2.6	73.1c
	20°C	4.9	66.9	12.2	12.9	2.1	0.3	0.7	80.5b
45/C→52/M	30°C	3.6	65.4	12.1	10.2	1.3	0.1	7.3	63.4e
	25°C	5.6	64.2	11.9	10.1	1.2	0.2	6.8	78.7b
	20°C	3.6	64.2	12.2	12.9	2.1	0.3	4.7	87.4a
52/C→59/M	30°C	5.1	65.7	13.5	13.9	0.1	0.1	1.6	67.1d
	25°C	5.2	66.3	12.1	13.3	1.0	0.2	1.5	87.7a
	20°C	6.7	64.5	12.3	13.2	0.3	0.3	2.7	89.5a

<sup>z</sup>: Flavonoids percentage in concentration at 350 nm in HPLC analysis.

<sup>y</sup>: Light indensity: 60 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>.

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Kyoho' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.

表 8. 光照對離體培養'巨峰'葡萄夏果果皮類黃素組成比率之影響

Table 8. Effect of cultured light on the change of flavonoid component in 'Kyoho' summer grape skin *in vitro*.

Culture time (Days after full bloom)	Treatment <sup>y</sup>	Flavonoid component <sup>z</sup>							
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	Others	Total <sup>x</sup>
37/C→44/M <sup>w</sup>	180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1.2	91.4	1.9	0.1	0.1	0.1	5.2	73.2cd
	120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1.1	91.5	2.1	0.2	0.3	0.1	4.7	72.1de
	60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1.3	91.0	1.3	0.1	0.2	0.2	5.9	64.2f
	Dark	3.3	61.7	13.6	16.2	1.8	0.3	3.1	62.0f
45/C→52/M	180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	3.4	66.4	11.7	10.0	1.3	0.2	7.0	77.9b
	120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	3.6	91.5	2.1	0.2	0.3	0.1	2.2	77.4b
	60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	3.6	64.1	11.8	10.5	2.8	0.2	7.0	76.1bc
	Dark	3.5	65.2	12.3	10.4	1.9	0.3	6.4	68.8e
52/C→59/M	180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	3.4	65.8	12.7	14.8	1.0	1.0	1.3	82.9a
	120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	7.0	64.4	12.6	13.8	1.0	0.1	1.1	79.0b
	60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	4.3	66.4	11.8	14.8	0.9	0.2	1.6	77.1b
	Dark	4.7	65.5	13.0	13.7	1.6	0.3	1.2	70.9e

<sup>z</sup>: Flavonoids percentage in concentration at 350 nm in HPLC analysis.

<sup>y</sup>: Light intensity: 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

<sup>x</sup>: Total value was compared with no bagging summer 'Kyoho' grape skin on 85<sup>th</sup> day after full bloom. Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>w</sup>: C means culture and M means measured.

## 討 論

本試驗研究主要是利用離體培養，對應戶外栽培結果是否相同。本離體培養的結果發現，涼溫 25°C、20°C 及強光 180  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  處理均具有促進類黃素、花青素之蓄積效果，與戶外有利於花青素蓄積的環境條件類似。如同片岡(1984)指出，葡萄果實的花青素生成對光的要求有程度性，品種間對低光度的感受性亦有差異。在溫度的比較方面，'蜜紅'夏果於滿花後 45 日進行離體培養，52 日測定組，才有花青素生成，滿花 45 日之前，37 日進行離體培養，僅得微量花青素。無論那一日培養，皆以 20°C 的花青素含量最高，'巨峰'也有類似結果。離體培養光度的比較，以 180  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的花青素蓄積最高。於低溫與強光照處理中'巨峰'也有類似促進效果。

以上結果證實低溫、強光照處理確實有促進葡萄果實著色之效果。黑色種的'巨峰'花

青素組成份較紅色種的'蜜紅'為多且複雜，但於離體培養之下只形成兩種色素，因此，有利於色素形成的環境因子必須具備，方可易於促進葉綠素之分解退除，類黃酮及花色素之生成，顯然瓶內環境因子有所限制，阻礙其他色素的生成。'巨峰'葡萄遮光處理，其色素組成成份無影響，但成份內的組成與對照組比較，有增加與減少的差異性，遮光處理後其色素組成成份的 peak No.1 減少，peak No.4、No.6 明顯增加，所以遮光處理其組成份影響顯著(Ban *et al.*, 1998)。本試驗無論是'蜜紅'或'巨峰'品種，至滿花後 37 日、45 日及 52 日採收培養皆只有生成 A0 及 A1 兩種色素，其他色素並未測出，此點與自然環境栽培之色素組成略有不同，推測是培養基的配方及環境因子的差異，造成其他色素的生成阻斷之故，有進一步探討的空間。

## 參 考 文 獻

- 陳京城、陳秉訓、楊耀祥。1991。氮素及蔗糖對離體培養巨峰葡萄果皮著色之影響。興大園藝 16: 9-14。
- 小林章、行永壽二郎、新居直佑、杉浦明。1972。果樹の溫度環境に関する研究。京都大學農學部果樹園藝學研究室研究報告。
- 內藤隆次、許唱範、角利昭。1965。ブドウ果実の著色に関する研究(第6報)マスカット・ベリー-A種の果皮の著色ならびに色素形成に及ぼす光の影響。園學雜 1-7。
- 內藤隆次。1966。ブドウ果実の著色に関する研究—とくに光度との關係について。京都大學學位論文。
- 片岡郁雄。1984。ブドウ果実の著色に関する研究—とくにアブジ酸に関する著色の制御について。京都大學學位論文。
- 村谷恵子、小野俊朗、依田征四。1999。果房への遮光処理がブドウ安芸クーンの著色に及ぼす影響。園學雜 68(別2): 193。
- 苫名孝、宇都宮直樹、片岡郁雄。1979。樹上果實の成熟に及ぼす溫度環境の影響。(第2報)ブドウ巨峰果實の著色に及ぼす樹体及び果實の環境溫度の影響。園學雜 48: 261-266。
- 森健太郎。2001。異なる溫度環境お生育したブドウ果実の著色および関連酵素活性の差異。園學雜 70(別1): 106-107。
- Ban, T., M. Yamaguchi, R. Mochioka, S. Shiozaki, T. Ogata, and S. Horiuchi. 1998. Effects of abscisic acid and shading treatments on anthocyanin components in skins of Kyoho grapes. *Jour. Japan. Soc. Hort. Sci.* 67(Suppl. 1): 74.
- Buttrose, M. S., C. R. Hale, and W. M. Kliewer. 1971. Effect of temperature on the composition of Cabernet Sauvignon berries. *Amer. J. Enol. Vitic.* 22: 71-75.

- Kliewer, W. M. 1966. Sugers and organic acids of *Vitis vinifera*. Plant Physiol. 41: 923-931.
- Kliewer, W. M. 1970. Effect of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* L. grapes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95: 693-697.
- Kliewer, W. M. and R. E. Torres. 1972. Effect of controlled day and night temperatures on grape coloration. Amer. J. Enol. Vitic. 23: 71-77.
- Kliewer, W. M. 1977. Influence of temperature, solar radiation and nitrogen on coloration and composition of Emperor grapes. Amer. J. Enol. Vitic. 28: 96-103.
- Winkler, A. J., J. A. Cook, W. M. Kliewer, and L. A. Lider. 1974. General viticulture. Univ. California Berkeley Press: Los Angeles.

## Effects of Temperature and Light Intensity on Coloration of Grapeberry Cultured *in Vitro*

Hui-Chin Lee <sup>1)</sup>    Yau-Shiang Yang <sup>2)</sup>

Key word: Grapeberry, Anthocyanin, Flavonoid

### Summary

This study used the 'Honey Red' and 'Kyoho' grapeberry, exploring the light and temperature factors that influence the composition of anthocyanin. Grapeberry was tested with six treatments to investigate the effects of the composition change of anthocyanin and flavonoid. Using cultivating *in vitro*, the temperature was controlled to 30°C, 25°C, and 20°C and the light was controlled to 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , and 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , as well as the darkness treatment. The findings indicated that there were effects of increasing accumulation of flavonoid and anthocyanin *via* the treatment of 25°C, 20°C, and intensive light, 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . The above treatments were consistent with the results that cultivated outdoors.

---

1) Graduate Student in Ph.D. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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