

## 化學藥劑及荷爾蒙誘發‘台農十七號’鳳梨 葉片乙烯生成之研究

吳慈芳<sup>1)</sup> 林慧玲<sup>2)</sup>

關鍵字：鳳梨、乙烯、葉圓片、CuSO<sub>4</sub>、ACC

**摘要：**台灣鳳梨生產上常使用電石水催花，但電石水之催花效果不穩定，因此本試驗欲以鳳梨葉圓片系統找出可誘導產生乙烯之藥劑，並評估取代電石水之可行性。而鳳梨 D 葉中白綠及淡綠色產生的乙烯量最多，因此以此部分之葉圓片作化學藥劑及荷爾蒙測試誘發乙烯產生之能力。結果顯示磷酸二氫鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、0.1mM Kinetin、0.5 ppm IBA、磷酸一氫鉀(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)、氯化鈣(CaCl<sub>2</sub>)及硝酸鈣(Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)皆無法誘導乙烯產生。然而，益收及 CuSO<sub>4</sub> 處理後明顯刺激葉圓片產生乙烯，於 25°C 下 0.5mM CuSO<sub>4</sub> 處理有較多乙烯產生。CuSO<sub>4</sub> 誘導葉片產生乙烯主要是由於促進 ACC 合成酶之活性上升，合成較多之 ACC 所致。

### 前 言

鳳梨科植物可藉由乙烯來誘導開花(Trusov and Botella, 2006)，而鳳梨催花常用之電石水因含有乙炔氣體(乙烯類似物)而能誘導開花(Turnbull *et al.*, 1999)，但電石水處理後往往效果不穩定，尤其於高溫期催花，要施用兩次才有較高之開花率(小那霸, 2002)。而鳳梨植株中，葉片為主要感應乙烯之部位(Cooper and Reese, 1941)，其中 D 葉(鳳梨植株之最高直立葉，剛成熟葉)白色部分之乙烯產生量明顯較綠色部分多(Min and Bartholomew, 1993)。假若能刺激葉片本身產生大量乙烯，應可能誘導植株開花。而許多研究指出 Kinetin、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、Cu<sup>2+</sup>等物質可誘導植物體產生乙烯(林, 1998；Arteca and Arteca, 2007；Banno *et al.*, 1993；Lau and Yang, 1976；Pennazio and Roggero, 1989)，因此本試驗利用鳳梨葉圓片系統測試上述物質，觀察其誘導葉圓片產生乙烯之能力。

---

1) 國立中興大學園藝系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系副教授，通訊作者。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

選取‘台農十七號’鳳梨，植株種植於中興大學園藝系溫室內，栽培容器為 18L 黑色硬塑膠盆，栽培介質為泥炭土(由 Tref 公司出產，包裝規格為 45L/包)，給予適當的施肥及澆水以供植株正常生長發育，選取鳳梨成熟株作為供試 D 葉(剛成熟葉)之來源。

### 二、試驗方法

#### (一) 鳳梨葉乙烯生合成能力

採‘台農十七號’鳳梨成熟株之 D 葉，將其以自來水沖淨後，以孔徑 1.1 公分的打洞器取葉片白色至白綠色部分(由基部算起 0~8cm)之圓片 5 片，再用鑷子夾起圓片置入無菌純水中涮洗後以紙巾吸乾並稱重，圓片葉背朝下放入 25mL 之三角瓶中，分別加入 1mL 純水，加完後以血清塞密封並記錄時間，共五重複。將密封之三角瓶以 80~100 rpm 持續振盪，維持在 25°C 黑暗下。處理後 24 小時內為每 6 小時測量一次乙烯釋放率，共測四次，而處理 24 小時後則改每 12 小時測量一次，共測三次。測量時以 1mL 塑膠針筒抽氣，抽完後將血清塞打開，三角瓶內以幫浦通氣約 20 秒後再蓋上血清塞，待下一次測量。

#### (二) 鳳梨 D 葉不同部分之乙烯生合成能力

採‘台農十七號’鳳梨成熟株之 D 葉，將其以自來水沖淨後，以孔徑 1.1 公分的打洞器分別取葉片白色(W，從基部算起 0~3 公分)、白綠色(WG，從基部算起 3~8 公分)、淡綠色(LG，從基部算起 8~13 公分)及綠色(G，從基部算起 13~23 公分)部分之圓片 5 片，再用鑷子夾起圓片置入無菌純水中涮洗後以紙巾吸乾並稱重，圓片葉背朝下放入 25mL 之三角瓶中，分別加入 1mL 純水，每處理五重複。加完後記錄時間並將三角瓶以 80~100rpm 持續振盪，維持在 25°C 黑暗下。於處理後第 7 小時以血清塞密封三角瓶，密封至處理後 24 小時測量圓片之乙烯釋放率。

#### (三) 益收對鳳梨葉圓片之乙烯生合成之影響

採‘台農十七號’鳳梨成熟株之 D 葉，將其以自來水沖淨後，以孔徑 1.1 公分的打洞器分別取葉片白綠色至淡綠色(從基部算起 3~13 公分)部分之圓片 5 片，再用鑷子夾起圓片置入無菌純水中涮洗後以紙巾吸乾並稱重，圓片葉背朝下放入 25mL 之三角瓶中，加入 1mL 395ppm 益收(Ethephon，含 39.5%有效成分)，並以純水處理當對照組，每處理五重複。葉圓片培養之環境條件及測定方法同上述(二)。

#### (四) 荷爾蒙對鳳梨葉圓片乙烯生合成之影響

##### 1. Kinetin 誘導鳳梨葉圓片產生乙烯之能力

重複上述(三)之步驟取樣後，加入 1mL 0.1mM Kinetin[含 MES 培養液，MES 培養液含 50mM MES 緩衝液(pH6.2)、2%蔗糖、50µg/mL chloramphenicol]，並以 MES 培養液及純水之處理當對照組，每處理五重複。葉圓片培養之環境條件及測定方法同上述(二)。

##### 2. IBA 對葉圓片乙烯生合成之影響

採‘台農十七號’鳳梨成熟株之 D 葉，將其以自來水沖淨後，以孔徑 1.1 公分的打洞器取葉片白色部分之圓片 5 片，再用鑷子夾起圓片置入無菌純水中涮洗後以紙巾吸乾並秤重，圓片葉背朝下放入 25mL 之三角瓶中，分別加入 1mL 0.5ppm IBA，並以純水處理為 CK 組，每處理五重複，加完後以血清塞密封並記錄時間。將密封之三角瓶以 80~100rpm 持續振盪，維持在 25°C 約 700 lux 之光照下。密閉後 24、48、72 小時測一次乙烯釋放率，測量時以 1mL 塑膠針筒抽氣，抽完後將血清塞打開，三角瓶內以幫浦通氣約 20 秒後再蓋上血清塞，並記錄時間待下一次測量。

#### (五) 化學藥劑誘導鳳梨葉圓片乙烯生合成之能力

重複上述(三)之步驟取樣後，加入 1mL 不同濃度的磷酸二氫鉀( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )、磷酸一氫鉀( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )、氯化鈣( $\text{CaCl}_2$ )、硝酸鈣( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ )或硫酸銅( $\text{CuSO}_4$ )，每處理五重複。葉圓片培養之環境條件及測定方法同上述(二)。

#### (六) 硫酸銅誘導鳳梨葉圓片產生乙烯之持續性

重複上述(三)之步驟取樣後，加入 1mL 0.5mM 硫酸銅，以血清塞密封三角瓶，置於 25°C 黑暗下並以 80~100rpm 之轉速持續振盪，每 6 小時測一次乙烯釋放率，測量至乙烯量明顯下降為止。每次密封前，三角瓶以幫浦通氣約 20 秒後再蓋上血清塞，待下一次測量。

#### (七) 0.5mM 硫酸銅對鳳梨葉圓片 ACC 合成酶活性及 ACC 濃度之影響

重複上述(三)之步驟取樣後，加入 1mL 0.5mM 硫酸銅，並以純水處理作對照組，每處理五重複。葉圓片培養之環境條件同上述(二)。於處理後 12 及 24 小時分別將圓片夾出以無菌純水涮洗並將表面水分吸乾，分析圓片之 ACC 活性及 ACC 濃度。

### 三、分析項目及方法

#### (一) 乙烯釋放率測定

乙烯以氣相層析儀(gas chromatograph, Shimadzu. Model GC-8A-FID)測量濃度，再換算為乙烯生成速率，單位以  $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{Hr}^{-1}$  表示。

#### (二) ACC 氧化酶(ACC oxidase)活性測定

參考 Moya-leon 和 John(1994)之方法，將 5 片葉圓片秤重後放入 25mL 三角瓶中，依序加入 2.5mL 0.1M Tris-buffer (含 0.4M Mannitol)，0.1mL 0.9M ascorbic acid，0.1mL 3mM  $\text{FeSO}_4$ ，0.1mL 0.6M  $\text{NaHCO}_3$ ，0.1mL 30mM cycloheximide，0.1mL 30mM 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)後以血清塞密封，於 30°C 下 100rpm 振盪反應 1.5 小時後，以 1mL 塑膠針筒抽取三角瓶內之氣體，測定乙烯釋放率，再將其換算為 ACC 氧化酶活性，單位為  $\text{nL C}_2\text{H}_4 \cdot \text{G}^{-1} \cdot \text{Hr}^{-1}$ 。

#### (三) ACC 濃度分析

將葉肉切成小塊置於試管中並加入 5mL 之 80%乙醇，在 70°C 之熱水中水浴 20 分鐘後，收集酒精抽出液，剩下之殘渣再加入 5mL 之 80%乙醇重複抽取一次，將兩次之抽出液合而為一，進行減壓濃縮直到乙醇完全蒸發，然後加入少量純水將濃縮物質完全溶出，再將其吸出置入微量離心管並定量到 1mL。ACC 測定依 Lizada 及 Yang(1979)之方法，依

序加入 600 $\mu$ L 純水，200 $\mu$ L ACC 抽取液及 100  $\mu$ L 10mM HgCl<sub>2</sub> 於試管中，另取一支試管，除上述反應液外再加入 10  $\mu$ L 0.1mM ACC 當標準，以計算每個樣品 ACC 轉換率。反應液加完後以血清塞將試管塞住，置於冰浴上準備進行氧化反應。氧化反應為將冰冷之 NaOCl-NaOH 注入 0.1mL 於上述各試管中，藥劑混合均勻後放回冰浴中反應 2 分 30 秒後，取出試管均勻混合內部藥劑，以 1mL 之塑膠針筒抽取試管中之氣體 1mL，並以 GC-FID 測定乙烯濃度，單位以 nmole ACC/gFw.表示。

## 結 果

### 一、鳳梨 D 葉乙烯生成能力

鳳梨葉圓片白色至白綠色部分之乙烯釋放率於 6~12 小時最高，12~24 小時乙烯量維持於 2.5 至 4  $\mu$ L·Kg<sup>-1</sup>·Hr<sup>-1</sup> 之間(圖 1)，因此處理後 6~24 小時即作為後續實驗密封時間之依據。將鳳梨 D 葉分成白色、白綠色、淡綠色及綠色四部分，結果顯示白綠色及淡綠色之乙烯釋放率較高，但兩者無顯著差異，其次為綠色部分，白色部分乙烯釋放率最低，為 1.60  $\mu$ L·Kg<sup>-1</sup>·Hr<sup>-1</sup> (圖 2)，因此後續葉圓片實驗以 D 葉白綠色至淡綠色(由葉基部算起 3~13cm)部分作為主要之取樣部位。

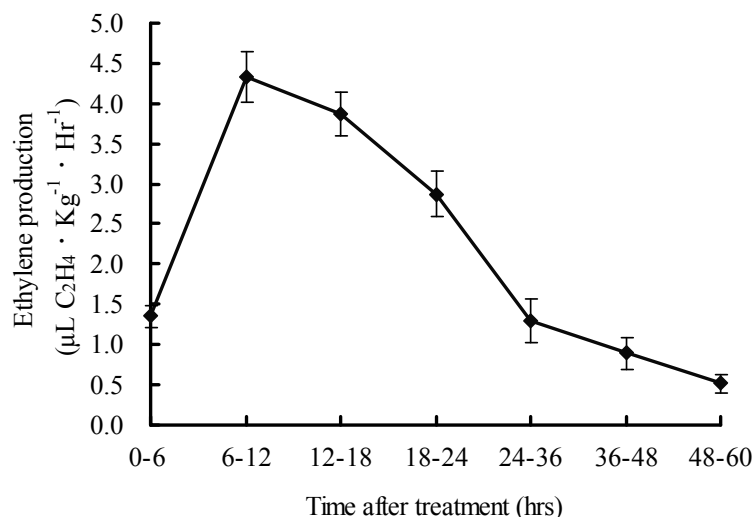


圖 1. ‘台農 17 號’鳳梨 D 葉白色至白綠色部分(由基部算起 0~8cm)圓片之乙烯釋放率變化。垂直線表示標準機差。

Fig. 1. The ethylene production of ‘Tainung No.17’ pineapple leaf discs in close system. Vertical bars represent standard errors (S.E.).

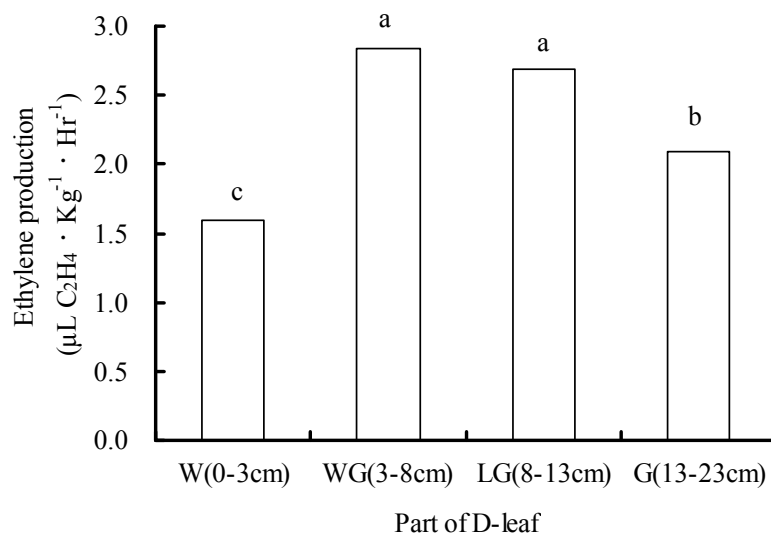


圖 2. '台農 17 號'鳳梨 D 葉不同部分圓片之乙烯釋放率。

Fig. 2. The ethylene production of different part of D-leaf discs of 'Tainung No.17' pineapple in close system. Statistical analysis use Duncan's multiple range test, significance differences at  $P < 0.05$ .

## 二、化學藥劑及荷爾蒙誘發鳳梨葉圓片產生乙烯之能力

多種藥劑對'台農十七號'鳳梨葉圓片乙烯釋放率有不同之影響。益收處理鳳梨葉圓片後可偵測到大量乙烯，約為對照組之 47 倍。荷爾蒙方面，處理 0.1mM Kinetin (含 MES 培養液)或 MES 培養液後，乙烯釋放率與對照組無顯著差異，另外處理 0.05ppm IBA 也無法誘導乙烯產生。不同濃度  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  處理葉圓片之乙烯產生隨濃度增加而降低，其中濃度 0.1M 以上則明顯降低乙烯釋放率，而  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  處理後之乙烯釋放率也有類似趨勢(表 1)。

不同濃度之  $\text{CaCl}_2$  及  $\text{CaNO}_3$  處理後，兩者之乙烯釋放率趨勢相似，乙烯釋放率隨處理濃度增加而降低，濃度增加至 1M 時，乙烯釋放率明顯受抑制。硫酸銅處理葉圓片後明顯誘導乙烯產生，其中 0.5 與 1mM  $\text{CuSO}_4$  誘導乙烯產生之量較多(表 1)。而於 25°C 黑暗下 0.5mM  $\text{CuSO}_4$  誘導葉圓片產生乙烯可持續兩天，於處理後 0~6 小時之乙烯即有明顯增加，而於 6~12 小時則有乙烯高峰，乙烯產生量約為對照組之 3.5 倍(圖 3)。

## 三、硫酸銅處理後 ACC 濃度及 ACO 活性變化

硫酸銅於處理後 12 小時已有明顯的 ACC 累積，約為對照組之 44.3 倍，而 ACC 氧化酶活性則與對照組無顯著差異；硫酸銅處理後 24 小時之 ACC 濃度則與處理後 12 小時相當，但 ACC 氧化酶活性則明顯降低，僅剩對照組的 1/3(圖 4 與圖 5)。

表 1. 化學藥劑及荷爾蒙對‘台農十七號’鳳梨葉圓片乙烯生成之影響

Table 1. Effect of chemicals and hormone on ethylene production of ‘Tainung No.17’ pineapple leaf discs in close system.

Treatments <sup>z</sup>	Ethylene production ( $\mu\text{L}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{Hr}^{-1}$ )	Treatments	Ethylene production ( $\mu\text{L}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{Hr}^{-1}$ )
Ethephon (6~24hrs) <sup>y</sup>		CaCl <sub>2</sub> (6~24hrs)	
control	2.36 b <sup>x</sup>	control	2.45 a
395ppm	111.45 a	0.001M	1.97 ab
		0.01M	1.75 b
Kinetin (6~24hrs)		0.1M	0.94 c
pure water	2.48 a	1M	0.03 d
MES culture solution	2.29 a		
0.1mM Kinetin in MES culture solution	2.52 a	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (6~24hrs)	
		control	2.27 a
IBA (0~24hrs)		0.001M	2.15 ab
control	0.82 a	0.01M	1.80 b
0.5ppm	1.12 a	0.1M	1.22 c
		1M	0.02 d
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (6~24hrs)		CuSO <sub>4</sub> (6~24hrs)	
control	2.57 a	control	1.94 d
0.001M	2.56 a	0.1mM	5.80 bc
0.01M	2.44 a	0.5mM	8.68 a
0.1M	1.78 b	1mM	6.27 ab
1M	0.38 c	5mM	3.96 bcd
		10mM	3.42 cd
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (6~24hrs)			
control	3.46 a		
0.001M	2.69 b		
0.01M	2.94 ab		
0.1M	1.66 c		
1M	0.02 d		

<sup>z</sup> Discs were incubated in more than 95% relative humidity and the temperature was maintained at 25°C in the dark except IBA treatment.

<sup>y</sup> Incubation period after treatment.

<sup>x</sup> Statistical analysis for each treatment used Duncan’s multiple range test, significance differences at  $P<0.05$ .

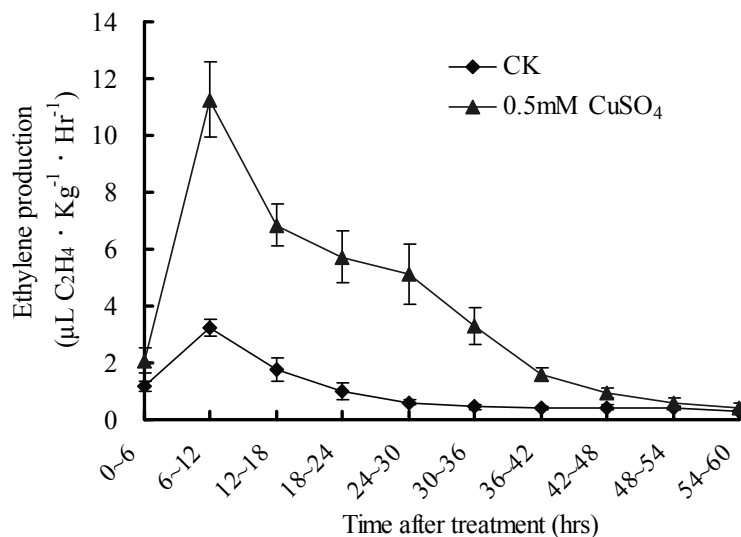


圖 3. 0.5mM  $\text{CuSO}_4$  處理‘台農 17 號’鳳梨葉片白綠色至淡綠色部分(由基部算起 3~13cm) 圓片之乙烯釋放率變化。垂直線表示標準機差。

Fig. 3. The ethylene production of white-green to light green parts of ‘Tainung No.17’ pineapple leaf discs after treating with 0.5mM  $\text{CuSO}_4$ . Vertical bars represent standard errors (S.E.).

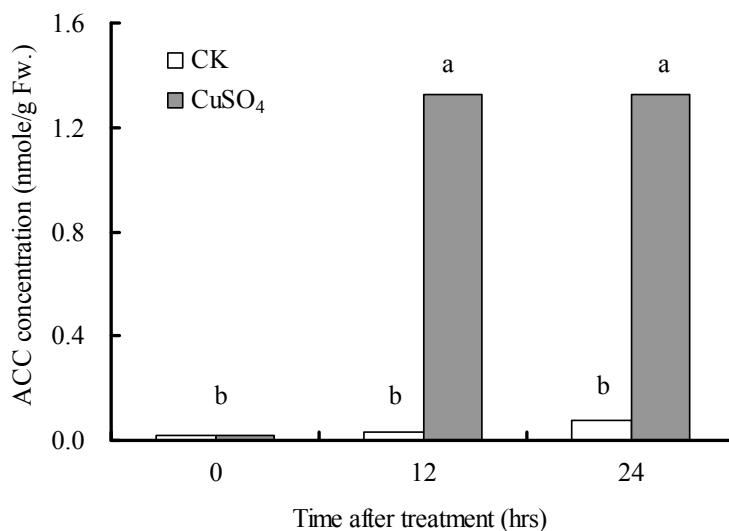


圖 4. 0.5mM  $\text{CuSO}_4$  處理‘台農 17 號’鳳梨葉片白綠色至淡綠色部分(由基部算起 3~13cm) 圓片之 ACC 濃度變化。

Fig. 4. The ACC concentration of white-green to light green parts of ‘Tainung No.17’ pineapple leaf discs after treating with 0.5mM  $\text{CuSO}_4$ . Statistical analysis use Duncan’s multiple range test, significance differences at  $P < 0.05$ .

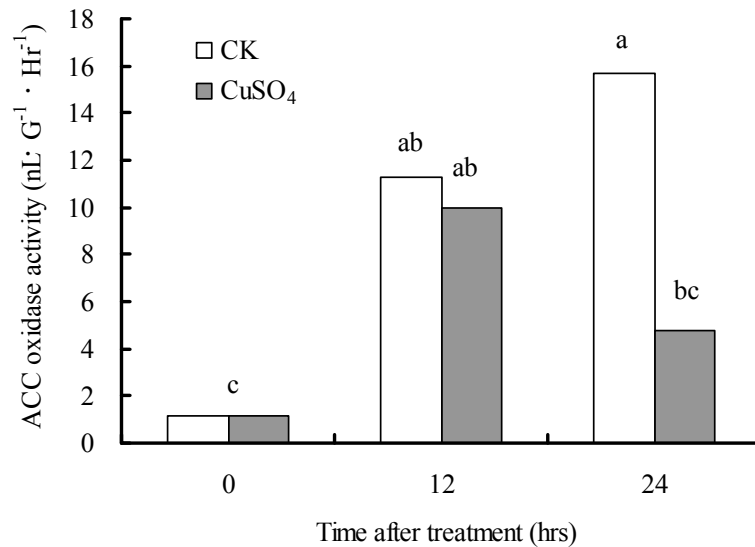


圖 5. 0.5mM CuSO<sub>4</sub>處理‘台農 17 號’鳳梨葉片白綠色至淡綠色部分(由基部算起 3~13cm)圓片之 ACC 活性變化。

Fig. 5. The ACC oxidase activity of white-green to light green parts of ‘Tainung No.17’ pineapple leaf discs after treating with 0.5mM CuSO<sub>4</sub>. Statistical analysis use Duncan’s multiple range test, significance differences at  $P<0.05$ .

## 討 論

### 一、葉圓片系統之建立

Riov 及 Yang(1982)以葡萄柚外果皮圓片實驗了解受傷乙烯產生與 ACC 含量之關係，結果顯示受傷乙烯隨 ACC 含量增加而增加，ACC 含量於 18 小時達到高峰，而乙烯生成也於受傷後 27 小時達高峰，Dupille 及 Zacarias (1996)指出富貴柑(Fortune mandarin)外果皮圓片之 ACC 氧化酶活性隨受傷後時間增加而增加，並於 24 小時有高峰。本試驗鳳梨 D 葉白色至白綠色部分圓片乙烯釋放率之結果(圖 1)與葡萄柚外果皮變化趨勢相似。

Min 和 Bartholomew(1993)將‘Smooth Cayenne’鳳梨之 D 葉分成白色、白綠色、綠色部分，結果白色部分有較高的乙烯產生，其次為白綠色，綠色部分則無乙烯產生，而本試驗葉圓片取樣將鳳梨 D 葉分成白色(由基部算起 0~3cm)、白綠色(由基部算起 3~8cm)、淡綠色(由基部算起 8~13cm)及綠色(由基部算起 13~23cm)四個部分，其中白色部分之乙烯釋放量最低(圖 2)，所得之結果與兩學者所呈現的結果有異，可能是使用之鳳梨品種及葉片區分部分不同而造成結果之差異。



## 二、不同化學藥劑處理後誘導葉圓片產生乙烯之能力

### (一) 益收

許多研究指出益收在酸性環境( $\text{pH} \leq 3$ )下十分穩定，但在中性至鹼性條件( $\text{pH} \geq 5$ )下會快速分解而釋放乙烯氣體(Warner and Leopold, 1969; Yang, 1969; Biddle *et al.*, 1976; Dass *et al.*, 1976; Olien and Bukovac, 1978)，根據 Warner 及 Leopold(1969)之試驗結果，益收溶液中若有豌豆上胚軸可見乙烯釋放，但若無植物組織則無乙烯釋放。而本實驗之鳳梨葉圓片處理益收後亦有相似之結果(表 1)。Min 及 Bartholomew(1993)以益收處理鳳梨莖部組織可明顯偵測到較未處理之對照組產生較多的乙烯，然而，若沒有碳原子標定是無法分辨組織產生之乙稀或益收分解所釋放之乙烯(Min and Bartholomew, 1993)，而 Foster 等學者(1992)以益收處理大麥之旗葉(flag leaf)和穗後可產生大量乙烯，而旗葉經益收處理後分析內部結合態及游離態 ACC 含量，結果 ACC 含量皆與對照組無顯著差異，表示益收處理後並不會改變植體內的乙烯生合成，顯示乙烯並非由植物體合成，因此更能確定植物組織處理益收後所偵測到之大量乙烯是由益收分解而來。

### (二) Kinetin 與 IBA

Lau 與 Yang(1976)以 Kinetin 處理綠豆下胚軸可誘導乙烯產生，林(1998)以 Kinetin 處理‘梨子拔’葉圓片亦可明顯誘導乙烯產生，但本試驗鳳梨葉圓片處理 Kinetin 後無明顯誘導乙烯產生(表 1)。而 Suttle(1986)以不同種類 Cytokinin 處理棉花葉片探討誘導乙烯之能力，結果 TDZ (thidiazuron)之效果最強，其次依序為 BA、iPA(isopentyladenine)、玉米素，Kinetin 之效果最差，而學者再利用 BA、TDZ 及 2-4D 處理棉花、向日葵、玉米及菜豆後產生乙烯之反應，結果棉花及向日葵對 cytokinin 及 auxin 皆有明顯之反應，菜豆對 auxin 的反應較大，對 cytokinin 的反應較小，而玉米對 auxin 及 cytokinin 的反應皆不大，顯示不同作物對荷爾蒙之反應不盡相同。Min 與 Bartholomew (1993)以 NAA 處理於鳳梨心部，可明顯刺激莖部組織大量生成乙烯，然而本試驗以 Kinetin 及 IBA 處理鳳梨葉圓片後的乙烯釋放率皆與對照組無顯著差異(表 1)，可能是處理的荷爾蒙種類或濃度無法誘導鳳梨葉圓片產生乙烯。

### (三) 磷酸二氫鉀( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )及磷酸一氫鉀( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )

范(2007)以  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  處理蓮霧葉圓片可誘導乙烯產生，且乙烯生成隨  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  之濃度增加而增加，其中 100mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  誘導最多乙烯產生。Banno(1993)之橄欖試驗也得到類似之結果，學者以  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  處理帶葉之橄欖枝條，可明顯誘導葉片產生乙烯。但 Sobolewska 及 Plich(1986)以綠熟期(mature green)、轉色期(breaker)及粉紅期(pink)三種成熟度的番茄以 0.2M 磷酸緩衝液( $\text{pH} 5.0$ )處理果肉圓片，發現磷酸鹽能明顯抑制粉紅期及轉色期番茄之乙烯形成。Fuchs 等人(1981)認為磷酸鹽抑制高等植物之乙烯生合成是由於調控 ACC 轉變成乙烯之過程，而本試驗鳳梨葉圓片不論處理  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  或  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  皆無法明顯誘導乙烯產生，且隨著處理濃度提高有抑制之情形，而 1M  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  抑制乙烯之情形較 1M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  明顯(表 1)，有可能是高濃度使組織死亡造成。

#### (四) 氯化鈣( $\text{CaCl}_2$ )及硝酸鈣( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ )

林氏(1998)以 10mM 氯化鈣處理‘梨子拔’葉片無法誘導乙烯產生，而本試驗以氯化鈣及硝酸鈣處理鳳梨葉圓片皆無法誘導乙烯產生，且有抑制乙烯之情形，乙烯釋放率隨著施用濃度增加而降低(表 1)。

#### (五) 硫酸銅( $\text{CuSO}_4$ )

銅為植物所必需之微量元素，許多文獻指出重金屬可誘導植物產生乙烯，如；銅(copper)、鎘(cadmium)可誘導阿拉伯芥、菸草、紫萍、綠豆、大豆等植物產生乙烯(Arteca and Arteca, 2007; Mattoo *et al.*, 1992; Pennazio and Roggero, 1991; Yu and Yang, 1980)，而本試驗以鳳梨葉圓片處理不同濃度之硫酸銅後，可誘導乙烯產生，其中 0.5mM 硫酸銅誘導最多乙烯產生(表 1)，Arteca 及 Arteca(2007)指出 400 $\mu\text{M}$   $\text{CuSO}_4$  與  $\text{CdSO}_4$  皆能誘導阿拉伯芥花梗產生最多乙烯，與本試驗結果類似。Lau 及 Yang(1976)以多種二價陽離子處理綠豆下胚軸，其中銅離子能最有效誘導乙烯產生，而不同濃度的銅離子處理中，濃度低於 1mM 時，乙烯無明顯變化，當濃度提高至 10mM 時，雖能誘導大量乙烯產生，但也造成組織嚴重的傷害。而本試驗處理鳳梨葉圓片所用之最高濃度為 10mM，其乙烯產生並未比 1mM 多(表 1)，可能高濃度硫酸銅處理後，使組織大量死亡。

Pennazio 及 Roggero(1991)將大豆莖部組織處理 5mM 氯化銅 1 小時後，換置於去離子水中培養，結果於 1 小時後乙烯開始增加並於第 2 小時有乙烯高峰，之後又漸下降，顯示氯化銅處理後可暫時刺激乙烯產生，但並未引起後續產生更多之乙烯。而本試驗以 0.5mM 硫酸銅處理鳳梨葉圓片後，乙烯釋放率於處理後 0~6 小時即有明顯增加，並於 6~12 小時達高峰，而 48~54 小時以後則與對照組無顯著差異(圖 3)，顯示硫酸銅刺激乙烯產生之效果可維持兩天，此與 Pennazio 及 Roggero(1991)之結果相符。

#### 三、0.5mM 硫酸銅誘導乙烯產生之原因

‘Hicks’與‘Xanthi’兩品種菸草以硫酸銅處理後皆能誘導乙烯生成，分析後發現硫酸銅誘導 ACC 合成酶大量轉錄，但未明顯誘導 ACO 轉錄(Avni *et al.*, 1994)，此與本試驗結果相似，0.5mM 硫酸銅處理後明顯刺激 ACC 生成，但無明顯增加 ACO 活性(圖 4 及圖 5)，因此推測銅誘導乙烯產生可能是刺激 ACC 合成酶合成，使 ACC 大量產生。硫酸銅處理後 18 小時乙烯明顯降低(圖 3)，且於處理後 24 小時之 ACO 活性明顯下降(圖 5)，Pennazio 及 Roggero(1991)指出銅離子會輕微抑制 EFE(ACO)活性，所以降低乙烯之產生。

本試驗中硫酸銅處理鳳梨葉圓片可明顯誘導大量乙烯產生。另外發現磷酸鹽類及鈣鹽皆可抑制乙烯之產生，此可能可應用於抑制鳳梨之自然開花方面，作為另一種調節鳳梨開花之方法。

## 參 考 文 獻

- 林慧玲。1998。番石榴果實後熟生理之研究。國立台灣大學園藝學研究所博士論文。台灣：台中。pp.255。
- 范俊傑。2007。撲滅松及磷酸二氫鉀對‘粉紅種’蓮霧開花之影響。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。台灣：台中。pp.94。
- 小那霸 安優。2002。パイナップルの生理生態に関する研究。沖繩県農業試験場研究報告 第25号:30-48。
- Arteca, R. N. and J. M. Arteca. 2007. Heavy-metal-induced ethylene production in *Arabidopsis thaliana*. J. Plant Physiol. 164:1480-1488.
- Avni, A., B. A. Bailey, A. K. Mattoo, and J. D. Anderson. 1994. Induction of ethylene biosynthesis in *Nicotiana tabacum* by a *Trichoderma viride* xylanase is correlated to the accumulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase transcripts. Plant Physiol. 106:1049-1055.
- Banno, K., G. C. Martin, and R. M. Carlson. 1993. The role of phosphorus as an abscission-inducing agent for olive leaves and fruit. J. Am. Soc. Hort. Sci. 118:599-604.
- Biddle, E., D. G. S. Kerfoot, Y. H. Kho, and K. E. Russell. 1976. Kinetic studies of the thermal decomposition of 2-chloroethylphosphonic acid in aqueous solution. Plant Physiol. 58:700-702.
- Cooper, W. C. and P. C. Reese. 1941. Induced flowering of pineapples under Florida conditions. Proc. Florida State Hort. Soc. 54:132-138.
- Dass, H. C., G. S. Randhawa, H. P. Singh, and K. M. Ganapathy. 1976. Effect of pH and urea on the efficacy of ethephon for induction of flowering in pineapple. Sci. Hort. 5:265-268.
- Dupille, E. and L. Zacarias. 1996. Extraction and biochemical characterization of wound-induced ACC oxidase from citrus peel. Plant Sci. 114:53-60.
- Foster, K. R., D. M. Reid, and R. P. Pharis. 1992. Ethylene biosynthesis and ethephon metabolism and transport in barley. Crop Sci. 32:1345-1352.
- Fuchs, Y., A. K. Mattoo, E. Chalutz, and I. Rot. 1981. Biosynthesis of ethylene in higher plants: the metabolic site of inhibition by phosphate. Plant Cell Environ. 4:291-295.
- Lau, O. L. and S. F. Yang. 1976. Stimulation of ethylene production in the mung bean hypocotyls by cupric ion, calcium ion, and kinetin. Plant Physiol. 57:88-92.
- Lizada, M. C. C. and S. F. Yang. 1979. A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Anal. Biochem. 100:140-145.
- Mattoo, A. K., R. A. Mehta, and J. E. Baker. 1992. Copper-induced ethylene biosynthesis in terrestrial (*Nicotiana tabacum*) and aquatic (*Spirodela oligorrhiza*) higher plants.

- Phytochemistry 31:405-409.
- Min, X. J. and D. P. Bartholomew. 1993. Effects of growth regulators on ethylene production and floral initiation of pineapple. *Acta Hort.* 334:101-112.
- Moya-León, M. A. and P. John. 1994. Activity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase (ethylene-forming enzyme) in the pulp and peel of ripening bananas. *J. Hort. Sci.* 69:243-250.
- Olien, W. C. and M. J. Bukovac. 1978. The effect of temperature on rate of ethylene evolution from ethephon and from ethephon-treated leaves of sour cherry. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 103:199-202.
- Pennazio, S. and P. Roggero. 1989. Stimulation of ethylene production by exogenous spermidine in detached tobacco leaves in the light. *Biol. Plant.* 31:58-66.
- Pennazio, S. and P. Roggero. 1991. Rapid ethylene production in soybean in response to the cupric ion. *Ann. Bot.* 67:247-249.
- Riov, J. and S. F. Yang. 1982. Autoinhibition of ethylene production in citrus peel discs: suppression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthesis. *Plant Physiol.* 69:687-690.
- Sobolewska, J. and H. Plich. 1986. The effect of inorganic phosphate on the ethylene production in tomato and apple fruits. *Biol. Plant.* 28:95-99.
- Suttle, J. C. 1986. Cytokinin-induced ethylene biosynthesis in nonsenescent cotton leaves. *Plant Physiol.* 82:930-935.
- Trusov, Y. and J. R. Botella. 2006. Silencing of the ACC synthase gene *ACACS2* causes delayed flowering in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *J. Exp. Bot.* 57:3953-3960.
- Turnbull, C. G. N., E. R. Sinclair, K. L. Anderson, R. J. Nissen, A. J. Shorter, and T. E. Lanham. 1999. Routes of ethephon uptake in pineapple (*Ananas comosus*) and reasons for failure of flower induction. *J. Plant Growth Regul.* 18:145-152.
- Warner, H. L. and A. C. Leopold. 1969. Ethylene evolution from 2-chloroethylphosphonic acid. *Plant Physiol.* 44:156-158.
- Yang, S. F. 1969. Ethylene evolution from 2-chloroethylphosphonic acid. *Plant Physiol.* 44:1203-1204.
- Yu, Y. B. and S. F. Yang. 1980. Biosynthesis of wound ethylene. *Plant Physiol.* 66:281-285.

## Effect of Chemicals and Hormones on Inducing Ethylene Production by 'Tainung No. 17' Pineapple Leaf

Tsz-Fang Wu <sup>1)</sup> Huey-Ling Lin <sup>2)</sup>

Key words: Pineapple 、 Ethylene 、 Leaf Disc 、 CuSO<sub>4</sub> 、 ACC

### Summary

The white-green and light green sections of D leaf in pineapple plants were found to produce the most ethylene. Leaf discs from these sections were examined for the ability to further produce ethylene by using chemicals and hormones. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1mM kinetin, 0.5ppm IBA, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, and Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> could not induce leaf discs to produce more ethylene. However, there was obvious ethylene production by leaf discs after treatment with ethephon and CuSO<sub>4</sub>, the highest ethylene production rate being from the concentration of 0.5mM CuSO<sub>4</sub> at 25°C. CuSO<sub>4</sub> ability to produce ethylene may be stimulated by ACC synthase activity.

---

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

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

Corresponding author.

