

蝴蝶蘭增殖階段之氮需求

吳毓紜¹⁾ 張正²⁾

關鍵字: 蝴蝶蘭、氮、增殖

摘要: 在蝴蝶蘭增殖培養基中添加不同的氮源與氮濃度，並分析植體及培養基中營養含量，以瞭解蝴蝶蘭增殖芽對氮源的偏好與需求量，探討氮對磷、鉀及碳水化合物間之交互作用，試驗結果顯示蝴蝶蘭營養芽增殖階段，偏好以硝酸態氮為氮源，培養基中磷及蔗糖的減少量也會隨硝酸態氮濃度增加而增加。培養基中不添加氮時，蝴蝶蘭芽體在兩個月培養期內並無缺氮現象，且其植體之乾鮮中及芽體增值數量皆高於銨態氮與尿素處理組，當氮濃度高於 15 mM 後植株生長量便不會有顯著性的增加，尿素經高溫高壓滅菌後，可能會轉變成銨態氮，來影響鉀離子的吸收，並不適合做為蝴蝶蘭培養基之主要氮源。

前 言

蝴蝶蘭以花梗芽為繁殖材料，由腋芽分生組織發育成營養芽，已成為蝴蝶蘭種苗大量繁殖的方法(吳和陳，2008；曹等，2008；曹等，2011)，在瓶苗階段因增殖及發根等目的不同，培養基配方也有所不同，因此該時期多分成 2-3 個階段；母瓶階段以增殖為主，多添加苯基腺嘌呤(6-benzyladenine, BA)2-4 mg·L⁻¹ 使增殖倍率提升，中母瓶及子瓶階段會降低細胞分裂素的濃度，以誘導營養芽發根(吳和陳，2008；曹等，2008；曹等，2011)，並促其營養生長，使植株生長茁壯。蝴蝶蘭肥培管理研究，著重於大苗及開花階段(彭，2008；彭等，2010；楊等，1995；雷，2007；Poole and Sheehan, 1974; Wang and Tsai, 2006; Wang, 2007)，少部分中小苗階段(王等，2008；張等，2008)，於瓶內之培養基相關研究甚為缺乏。植物氮含量平均占乾重約 1%~5%之間(Buchanan *et al.*, 2000)，蛋白質中有 16%為氮(Frink *et al.*, 1999)。蝴蝶蘭葉片中氮濃度僅次於鉀，根部的氮濃度則高於其他礦物元素(Poole and Sheehan, 1974)，因此氮為蝴蝶蘭組織中重要之營養元素。

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。

蝴蝶蘭白花雜交種(*Phal. Terri Cook* × *Phal. Winter Maiden*)子瓶內小苗根部乾重，會隨氮濃度提高而下降；當培養基氮濃度高於 45.30 mM 時即氮供應過量，植株生長量下降，而氮濃度為 7.55 mM 達臨界濃度，再增加培養基氮濃度，蝴蝶蘭植株生長量也不會有顯著的提升(涂和李，1988)。氮供應量不足(5.35-7.14mM)時會使臺灣白花蝴蝶蘭(*Phal. amabilis* var. *formosana*)中苗的生長量減少，進而降低其對氮的吸收率，而在栽培後期增加氮肥的施用量，比增加磷及鉀肥，更能有效促進蝴蝶蘭植株營養生長(王等，2008)。

在本試驗中，利用不同氮源與氮濃度，篩選檢測蝴蝶蘭瓶內增殖階段對氮源的偏好及需求量，以建立適當的營養用量，節約生產成本，並避免浪費與環境污染。

材料方法

一、植物材料與培養基

Phalaenopsis Sogo Yukidian 'V3' 增殖階段之分生苗母瓶，培植體密度每瓶 10-15 株，每 2 個月繼代 1 次，增殖培養基組成如下：1/2MS 培養基(Murashige and Skoog, 1962)，大量及微量元素為半量，Fe-EDTA 及維生素為全量，並添加 Myo-inositol 100 mg·L⁻¹、NaH₂PO₄ 170 mg·L⁻¹、Adenine 80 mg·L⁻¹、NAA 0.2 mg·L⁻¹、BA 4 mg·L⁻¹、Kinetin 1 mg·L⁻¹、Sucrose 30 g·L⁻¹ 及 Agar 8 g·L⁻¹，pH 值滴定至 5.7 後，分裝置每瓶培養基 100 mL，以 121°C 滅菌 20 分鐘後備用，增殖母瓶培養條件如下：光週期每日 12 小時，溫度 25°C，光強度 2.7 μmol·m⁻²·s⁻¹。

二、試驗方法

以上述培養基為基礎，將其氮源改以不同濃度之碳酸銨[(NH₄)₂CO₃]、硝酸鈉(NaNO₃)、硝酸銨(NH₄NO₃)及尿素[(NH₂)₂CO]來進行試驗，並另外添加氯化鉀(KCl) 20mM 以補足鉀元素(表 1)，共 15 種培養基進行試驗，每瓶培養基 100 mL，20 個芽，每 2 瓶為 1 重複，共 3 重複。培養兩個月後調查其植體之株高、株重、單瓶芽體之數量、重量、乾重、增殖芽數；植株及培養基氮、磷、鉀、總可溶性糖及澱粉含量。並調查以下數據：

1. 增殖芽數(Shoot number per explant): (單瓶芽體數-20)/20。
2. 相對生長速率(relative growth rate, RGR, mg·g⁻¹·d⁻¹): (處理前鮮重-處理後鮮重)/ 處理後鮮重/ 培養天數
3. 植體中營養元素含量(nutrient content per flask or plantlet, mg): 營養占乾重百分比 × 植體乾重。
4. 培養基養元素減少量(nutrient per flask decrease quantity, mg·dL⁻¹): 各營養原始添加量-培養基中剩餘的營養量(原始添加量，磷約 5.54 mg, 鉀約 80.65 mg)。

表 1. 各試驗培養基中氮源及氮濃度含量一欄表。

Table 1. Nitrogen source and concentrations in the medium of each treatment.

Major nitrogen	Concentrations (mM)					Nitrogen content per flask (mg·dL ⁻¹)
	(NH ₄) ₂ CO ₃	NaNO ₃	(NH ₂) ₂ CO	NH ₄ NO ₃	Total N	
NH ₄ ⁺	0	0	0	0	0	0.00
	2.5	0	0	0	5	7.01
	5	5	0	0	15	21.02
	10	5	0	0	25	35.03
	20	5	0	0	45	63.05
NO ₃ ⁻	0	5	0	0	5	7.01
	2.5	10	0	0	15	21.02
	2.5	20	0	0	25	35.03
	2.5	40	0	0	45	63.05
Urea	0	0	5	0	10	14.01
	0	0	10	0	20	28.02
	0	0	15	0	30	42.03

三、礦物營養與碳水化合物分析

1. 氮- Micro-Kjeldahl Method (AOAC, 1995)，將乾粉精秤 0.2 g 樣品至於氮分解管中並加入 1 g 之凱氏氮催化劑(Merk) (K₂SO₄: CuSO₄: Se=100: 10: 1, w/v)及 4.5 mL 之濃硫酸(聯工)，放置分解爐中以 410°C 加熱分解，管中液體呈清綠色後，繼續加熱直至沒有白煙冒出。取出約冷卻 10 分鐘後加入 15 mL 蒸餾水。將樣品移至 Micro-Kjeldahl 裝置，加入 20 mL 12N NaOH(聯工)，通蒸氣使其氨化，並以 20 mL 含 2% 指示劑之 Boric acid(林純藥)接收氨氣、氨水，至總體積達 50 mL。
2. 磷-鉬黃法 Vanadate-molybdate yellow method (AOAC, 1995)，取 1 mL 乾灰化液(植株乾粉 0.5 g, 培養基鮮重 0.5-2 g 放入坩堝進行高溫灰化，灰化完成後加入 5mL 2N HCl(Merk)，以 whatman # 42(無灰分)濾紙過濾，並定量至 25 mL)，加入 3 mL 去離子水和 1 mL 鉬黃試劑，混合均勻靜置 10 分鐘後，以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U2000)測定溶液在 470 nm 之吸光值。
3. 鉀(AOAC, 1995)，將乾灰化濾液稀釋 300 倍，以原子吸收光譜儀(Varian 20A Techtron atomic absorption spectrophotometer)測定。

4. 碳水化合物(DuBois *et al.*, 1956), 乾粉精秤 0.1 g, 蝴蝶蘭培養基精秤 0.5 g, 放入離心管中後, 加入 10 mL 純水, 在 30 °C 水浴震盪 3 小時, 取出後於室溫下以 4000 rpm 離心 10 分鐘, 取上層液做醣類分析, 殘渣烘乾作澱粉分析; 全可溶性糖(total soluble sugar, TSS), 上清液取 2 mL 加入 0.1 mL 90% 石碳酸(liquid phenol)及 6 mL 濃硫酸均勻混合, 靜置 30 分鐘後以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U2000) 測定 490nm 之吸光值。澱粉(starch), 將上述殘渣烘乾, 加入 2mL 純水, 並放入沸水煮 15 分鐘後, 加入 2 mL 9.2N 過氯酸(HClO₄)震盪, 加水至 10 mL, 以 4000 rpm 在室溫下離心 10 分鐘, 取離心後上清液 0.1 mL, 加入 1.9 mL 純水、0.1 mL liquid phenol()和 6 mL 濃硫酸, 均勻震盪, 靜置 30 分鐘後, 測定 490 nm 吸光值。

四、數據統計與分析

試驗數據採用完全逢機設計, 使用 SPSS 17.0 軟體(Statistical Product and Service Solutions 17.0, IBM, U.S.A)進行 ANOVA 單因子與雙因子變方分析, 以最小顯著差異法(Least Significant Difference Procedure, LSD)比較各處理數值之 1%與 5%的顯著差異。

結 果

氮源種類對株高並無顯著性的影響, 對芽體的增殖數量、乾鮮重及相對生長速率氮源種類對株高並無顯著性的影響, 對芽體的增殖數量、乾鮮重及相對生長速率(RGR)有顯著性的影響, 培養基中初始添加的氮濃度對株高與 RGR 沒有顯著性的影響, 對芽體的增殖數量與乾鮮重有顯著性的影響, 而氮源與濃度間的交互作用對乾鮮重比沒有顯著性的影響(表 2)。銨態氮(NH₄⁺)為主要氮源時, 培植體會有褐化的現象, 植株鮮重隨濃度增加而下降, 當銨濃度為 40 mM 平均單瓶芽體數為 17.33 個, 每個培植體含有的營養芽數量呈現負值(表 2)。主要氮源為硝酸態氮時, 硝酸態氮濃度高於 10 mM 時, 芽體增殖數量便不再顯著隨氮濃度上升而增加, 而當硝酸態氮濃度達 40 mM, 芽體數量略微下降(表 2); 當以尿素為單一氮源時, 培植體與以銨態氮處理相同有褐化的現象, 當培養基尿素濃達 20 mM 時, 有 40%的芽體會褐化死亡, 而未添加任何氮源的培養基, 植體乾重、鮮重及芽體增殖數量皆高於以銨態氮及尿素之處理組(表 2)。

氮源種類與培養基中初始添加的氮濃度對植體乾重中氮、磷、鉀、TSS 及澱粉的濃度及含量皆有顯著性的影響, 而兩者間的交互作用只對植體中的澱粉濃度無顯著性影響(表 3、4)。植株培養 2 個月後培養基中剩餘的氮、磷、鉀及 TSS 之含量與減少量顯著受氮源種類影響, 而初始添加的氮濃度對培養基中剩餘之磷與澱粉含量沒有顯著性的影響, 但會顯著影響培養基中氮、鉀及 TSS 之含量(表 5、6)。以不含氮之培養基在芽體增殖階段培養兩個月後, 芽體內的氮濃度較其他處理低為 3.39%(表 3), 以銨態氮為主要氮源之芽體整體氮濃度偏高, 達 6.25%~7.00%(表 3), 而植體中的氮濃度會隨銨的濃度增加而略微上升,

但氮含量則是呈現下降之趨勢；以硝酸態氮處理之營養芽，氮濃度較銨處理低，總氮濃度約為 5.03%~5.66%(表 3)，培養基中氮的減少量，隨初始培養基氮濃度增加而提高(表 5)。

表 2. 不同氮源對蝴蝶蘭 *Phal. Sogo Yukidan 'V3'* 母瓶培養 2 個月之殖體增殖與生長之影響。

Table 2. The effect of ammonium, nitrate and urea on shoot growth and proliferation rate of *Phal. Sogo Yukidan 'V3'* duration the multiplication stage *in vitro*.

trogen	Conc. (mM)	Shoot height (cm)	Shoot number per flask	Shoot number per explant	Fresh weight /flask (g)	Dry weight /flask (g)	DW/FW rate (%)	RGR(FW) (mg·g ⁻¹ ·d ⁻¹)
NH ₄ ⁺	0	2.3 bc ^z	28.3 ab	0.4 ab	14.8 b	0.9 b	6.1 ef	9.7 cd
	05	1.7 de	21.7 c	0.1 c	10.9 c	0.8 bc	7.4 a	7.7 e
	10	2.6 ab	22.5 c	0.1 c	9.1 cd	0.6 e	6.5 cde	7.7 e
	20	2.3 bcd	23.0 c	0.2 c	9.2 cd	0.6 ed	6.2 ef	8.8 de
	40	2.0 cde	17.3 d	-0.1 d	8.3 cd	0.6 e	6.7 abc	7.7 e
NO ₃ ⁻	05	3.0a	27.7 b	0.7 b	10.4 cd	0.7 cd	7.4 bcd	9.2 d
	10	2.2 bcd	32.7 a	0.8 a	13.7 b	0.8 b	6.1 ef	11.0 abc
	20	2.4 bc	32.8 ab	0.9 ab	15.2 b	0.9 b	5.9 f	11.5 ab
	40	2.2 bcde	28.2 b	1.1 ab	17.7 a	1.1 a	6.0 ef	11.7 ab
Urea	10	2.2 bcde	20.3 cd	0.0 cd	8.7 cd	0.6 e	6.7 abcd	12.0 a
	20	2.1 cde	12.0 e	-0.4 e	8.8 cd	0.6 e	6.9 abc	10.4 abcd
	30	1.8 e	10.8 e	-0.5 e	8.4 d	0.6 e	7.3 ab	10.1 bcd
Nitrogen(A)		*	**	**	**	**	**	**
Concentration(B)		ns	**	**	**	**	**	ns
A×B		**	**	**	**	**	ns	**

^z : Values within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

* : significant difference at the 5% level. **, significant difference at the 1% level. ns, not significant

表 3. 在芽體增殖階段以不同濃度的氮處理 2 個月後之 *Phal. Sogo Yukidan* 'V3' 植體乾重中營養元素含量

Table 3. Macro element concentrations of *Phal. Sogo Yukidan* 'V3' in different nitrogen concentrations during the multiplication stage after 2 months.

Nitrogen	Conc. (mM)	Concentration (% DW)			Content per flask ^y (mg DW)		
		N	P	K	N	P	K
NH ₄ ⁺	0	3.4 f ^z	0.4 e	4.8 c	28.1 c	3.2 d	40.2 cd
	05	6.3 b	0.6 bc	4.4 c	56.5 a	5.5 a	38.8 cde
	10	6.8 a	0.7 a	2.0 e	40.1 b	4.1 bc	11.7 g
	20	6.9 a	0.6 bc	5.1 c	37.0 b	3.3 cd	28.1ef
NO ₃ ⁻	40	7.0 a	0.6 d	2.9 d	38.5 b	3.0 d	16.2 g
	05	5.0 de	0.7 ab	2.0 e	36.6 b	4.9 ab	14.2 g
	10	5.4 cd	0.7 a	6.2 ab	44.1 b	5.4 ab	52.4 b
	20	5.1 de	0.6 cd	5.2 c	44.4 b	5.1 ab	47.3 bc
Urea	40	5.3 d	0.5 d	7.0 a	54.4 a	5.6 a	74.1 a
	10	4.6 e	0.4 e	5.2 bc	28.0 c	2.5 d	32.1 def
	20	5.8 bc	0.4 e	3.1 d	38.7 b	2.6 d	20.6 fg
	30	7.0 a	0.4 e	3.2 d	43.8 b	2.5 d	20.6 fg
Nitrogen(A)		**	**	**	*	**	**
Concentration(B)		**	**	**	**	**	**
A×B		**	**	**	**	**	**

^zValues within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

^yPer flask shoot number see table 4-2*, significant difference at the 5% level.

**significant difference at the 1% level. ns, not significant.

以銨及硝酸態氮為氮源的植體磷濃度會隨培養基氮濃度的增加而下降(表 3)；另從培養基中剩餘的磷的含量，推測其吸收量，結果顯示當銨濃度高於 10 mM 培養基中的磷幾乎無法被蝴蝶蘭芽體吸收(表 5)，硝酸態氮處理則相反，NaNO₃ 濃度越高，磷的吸收效率越好(表 5)，尿素則不影響蝴蝶蘭芽體對磷的吸收及利用(表 5)，其植體磷約 0.40%(表 3)。以銨態氮為主要氮源時，植體中全可溶性糖約為 7.45%~7.90%，澱粉濃度約為 3.43%~4.34%，但若只以 5 mM NH₄⁺的氮源，芽體中全可溶性糖會上升至 9.28%，澱粉也

會增加 1.19%(表 4)，而培養基中蔗糖減少 1978.01 mg·dL⁻¹ 也較其他濃度高；以硝酸態氮處理之植株，各氮濃度間植體中全可溶性糖及澱粉濃度無顯著差異，分別為 8.36%~9.12% 及 4.45%~4.58%(表 4)；蝴蝶蘭營養芽在硝酸鈉培養基中培養兩個月後，培養基中蔗糖濃度從 30 g·L⁻¹ 降至 13.28~14.86 g·L⁻¹，當硝酸鈉為 40 mM 時，更降至 9.06 g·L⁻¹(表 6)。

表 4. 在芽體增殖階段以不同濃度的氮處理 2 個月後之 *Phal. Sogo Yukidan 'V3'* 植體乾重中全可溶性糖及澱粉濃度

Table 4. Total soluble sugar and starch concentration of *Phal. Sogo Yukidan 'V3'* in different nitrogen source and concentrations during the multiplication stage after 2 months.

Nitrogen	Conc. (mM)	Concentration (% DW)		Content per flask ^y (mg DW)	
		Total soluble sugar	Starch	Total soluble sugar	Starch
NH ₄ ⁺	0	9.3 a ^z	8.2 a	77.1 abc	67.3 a
	05	9.3 a	5.5 bc	83.9 ab	50.0 b
	10	7.5 cd	3.4 d	43.8 d	19.0 f
	20	7.9 bc	3.7 d	42.7 de	19.7 f
	40	7.5 cd	4.3 cd	41.5 de	23.8 ef
NO ₃ ⁻	05	9.1 ab	4.5 cd	66.9 c	32.3 def
	10	8.7 ab	4.5 cd	71.1 bc	41.1 bcd
	20	8.4 ab	4.6 cd	73.0 bc	39.5 bcd
	40	8.7 ab	4.6 cd	90.7 a	46.5 bc
Urea	10	6.5 d	6.8 ab	39.6 de	41.8 bcd
	20	4.4 e	5.2 cd	29.8 e	34.6 cde
	30	4.3 e	4.6 cd	26.6 e	28.9 def
Nitrogen(A)		**	**	**	**
Concentration(B)		**	**	**	**
A×B		**	ns	**	**

^zValues within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

^yPer flask shoot number see table 4-2*, significant difference at the 5% level. **, significant difference at the 1% level. ns, not significant.

表 5. 不同氮源及濃度對蝴蝶蘭 *Phal. Sogo Yukidan*'V3' 母瓶芽體增殖階段 2 個月培養期後培養基中營養元素氮磷鉀含量的影響

Table 5. The effects of different nitrogen source and concentration on macro element concentrations during the multiplication stage of *Phal. Sogo Yukidan* 'V3'

Nitrogen	Conc. (mM)	Content per flask ^z (mg·dL ⁻¹)			Decrease quantity (mg·dL ⁻¹)		
		N	P	K	N	P	K
NH ₄ ⁺	0	0.0 g ^z	2.2 def	34.5 cd	0.0 h	3.4 bc	46.2 a
	05	1.5 fg	3.2 cd	103.7 a	5.5 g	2.4 cd	-23.0 d
	10	0.6 fg	5.8 b	51.8 c	13.4 e	-0.2 e	28.9 a
	20	3.2 ef	6.2 ab	101.3 a	24.8 c	-0.7 ef	-20.6 d
	40	19.5 b	7.2 a	75.4 b	36.6 b	-1.6 f	5.3 b
NO ₃ ⁻	05	0.5 fg	4.4 c	50.6 c	6.6 g	1.2 d	30.0 a
	10	3.3 ef	2.6 de	35.4 cd	10.7 ef	3.0 bc	45.2 ab
	20	4.9 e	1.4 efg	30.8 cd	23.1 c	4.2 ab	49.9 ab
	40	14.2 c	0.9 g	76.1 b	41.9 a	4.6 a	4.5 c
Urea	10	6.2 e	1.9 efg	25.9 d	7.8 f	3.7 ab	54.8 b
	20	10.1 d	0.8 g	27.0 d	17.9 d	4.7 a	53.7 b
	30	24.3 a	1.5 efg	35.1 cd	17.8 d	4.1 ab	45.6 ab
Nitrogen(A)		**	**	**	**	**	**
Concentration(B)		**	ns	**	**	ns	**
A×B		**	**	**	*	**	**

^zValues within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

^yPer flask shoot number see table 4-2 *, significant difference at the 5% level.

**significant difference at the 1% level. ns, not significant.

討 論

培養基中不添加氮培養 2 個月，芽體生長狀況與增殖倍率皆較 NH₄⁺及尿素處理組好，顯示這兩種氮為並不適合作為蝴蝶蘭芽體增殖階段的主要氮源，也指出植株在處理前所貯存在植體內的氮足夠營養芽利用，表示蝴蝶蘭對氮有奢侈消費的現象，張等(2008)的研究中也有類似的結果。當銨態氮與尿素為主要氮源時，芽體皆會有褐化及植株鮮重下降的現

表 6. 在芽體增殖階段不同濃度的氮處理 2 個月後之培養基中全可溶性糖及澱粉濃度。
Table 6. Total soluble sugar and starch concentration in different nitrogen source and concentrations medium used for *in vitro* multiplication of *Phal.* Sogo Yukidan 'V3' after 2 months.

Nitrogen	Conc. (mM)	Content per flask ^z (mg·dL ⁻¹)		Decrease quantity (mg·dL ⁻¹)
		Total soluble sugar	Starch	Total soluble sugar
NH ₄ ⁺	0	548.3 g ^y	752.3 cde	2451.7 a
	05	1022.0 de	745.4 de	1978.0 cd
	10	1486.2 c	896.2 abcd	1513.8 e
	20	2588.7 a	931.1 abc	411.3 g
	40	1921.4 b	1047.1 a	1078.6 f
NO ₃ ⁻	05	1328.1 cd	1000.7 ab	1671.9 de
	10	1370.2 c	757.0 cde	1629.8 e
	20	1486.2 c	896.2 abcd	1513.8 e
	40	905.9 ef	826.6 bcde	2094.1 c
Urea	10	524.3 g	707.0 ef	2475.7 a
	20	510.9 g	646.3 f	2489.1 a
	30	622.9 fg	719.1 de	2377.1 ab
Nitrogen(A)		**	ns	**
Concentration(B)		**	ns	**
A×B		**	**	**

^zPer flask medium about 100 mL.

^yValues within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

*significant difference at the 5% level. **, significant difference at the 1% level. ns, not significant.

象，可能是因為高比例的 NH₄⁺會使陽離子的吸收會受到抑制，使蝴蝶蘭植體中鈣、鎂濃度下降，造成植物生長停滯、葉片黃化(彭等，2010)。另一方面從酵素活性來探討，在短時間內(40 小時)NH₃ 濃度增加時，與蝴蝶蘭增殖階段同樣沒有根的空氣鳳梨(*Tillandsia pohliana*)其麩醯胺酸合成酶(glutamine synthetase, GS)活性會顯著上升來加

速氮同化作用進行來避免銨毒害並增加氮的利用效率(Tamaki and Mercier, 2001), Pool and Sheehan(1982)中則指出蘭科植物因根結構的物理障礙及硝酸還原酶(nitrate reductase; NR)、GS 活性較低,對氮的吸收效率較低,因此蝴蝶蘭可能是全株 GS 活性偏低,而無法有效利用銨態氮。在培養基中的尿素經高溫高壓滅菌後,其培養基 pH 值會顯著上升至 7.21~7.45(資料未呈現),可能是因為溫度及壓力過高使尿素水解成 NH_3 後溶於水,轉變成 NH_4OH ,解離出 OH^- 使 pH 值提高,氮源也轉換成銨態氮造成銨毒害現象,但這需要再進一步確認。主要氮源為硝酸態氮時,培養基總氮濃度高於 15 mM 時,植株乾重及芽體增殖數量便不再隨氮濃度上升而有顯著性的增加,顯示此 15 mM 已達氮的臨界濃度(adequate zone),植物之生長量不會再隨著氮的供應量增加而增加,因此在該濃度下培養 2 個月後,培養基約減少 10.72 mg 的氮,在 Wang(2008)及彭等(2010)進行蝴蝶蘭試驗時,其總氮濃度用量約為 $21.0 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ (15mM),因此若以 $21.0 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 為參考用量,剛好高於培養基總減少量,也不會因濃度過高而影響增殖的芽體數量。

氮源種類對培養基中磷的減少量有顯著的影響,以硝酸態氮為主要氮源可促進磷的吸收(表 4),但硝酸態氮處理之植體磷含量卻未較其他處理高(表 3),因此推測可能是因為硝酸態氮需要較多的能量進行還原反應(Xu *et al.*, 2012; Orsel and Miller, 2010),才能被植物體吸收利用,而需要較多的磷轉化為能量,因此其對蔗糖的需求量也會略高於銨態氮處理組(表 6),王等(2008)中也指出提高氮肥的濃度可以促進磷的利用,另外彭等(2010)的研究中指出銨態氮能促進蝴蝶蘭大苗對磷的吸收,但在本試驗中表 5 中顯示增加銨態氮濃度會顯著降低磷的吸收,可能是因為吸收 NH_4^+ 時會釋放 H^+ ,使培養基的 pH 值下降(Argo and Biernbaum, 1997; Findenegg, 1987; Hopkins and Hüner, 2003),當 pH 值不在 6.0-6.5 的範圍內時,磷的有效性會顯著降低(張, 2011),測定銨態氮使用過 2 個月後剩餘培養基,也顯示其 pH 值從最初校正的 5.7,下降至 3.78~3.97(資料未呈現),銨原始濃度越高, pH 值越低,培養基的 pH 值隨著銨態氮的利用而下降。 NH_4^+ 對鉀的吸收有強烈的抑制效果(Allen and Raven, 1987; Marschner, 1995; Britto and Kronzucker, 2002),此現象在尿素試驗中有類似的結果,當初始尿素濃度越高,培養基中剩餘的鉀含量就越多。而 Lu 等(2005)將氮源中的 NO_3^- 換成 NH_4^+ 後,菸草(*Nicotianatabacum* L. 'K 326')對 K^+ 的吸收大幅度下降,但也觀察到 NH_4^+ 處理的植株, K^+ 在韌皮部的轉運能力高於另外兩種,即在 NH_4^+ 的刺激下,植物對鉀的回收再利用效率會提高。

參 考 文 獻

- 王斐能、張耿衡、謝廷芳、鍾仁賜。2008。三種不同配方之肥料對臺灣白花蝴蝶蘭營養生長與養分吸收之影響。臺灣園藝 54(3): 231-246。
- 吳宣萱、陳福旗。2008。蝴蝶蘭與朵麗蝶蘭花梗芽之誘導與刻傷處理對芽體增殖之影響。

- 臺灣園藝 54(1): 67-74。
- 涂美智、李晔。1988。氮素、蔗糖濃度及光強度對蝴蝶蘭種子發芽及幼苗生長之影響。中國園藝 34(4): 293-302。
- 張則周。2011。植物營養學。五南圖書出版股份有限公司。533pp。
- 張耿衡、王斐能、謝庭芳、鍾仁賜。2008。三種不同配方之肥料對蝴蝶蘭小苗營養生長與養分吸收之影響。臺灣農業化學與食品科學 46(2): 57-69。
- 曹進義、陳威臣、吳明哲、夏奇鈺。2008。花梗發育時期、花梗節位及 6-benzyladenine 濃度對蝴蝶蘭花梗芽微體繁殖芽體誘導之影響。臺灣園藝 54(3): 199-209。
- 曹進義、陳威臣、夏奇鈺。2011。由花梗培養切取之培植體種類及 6-Benzyladenine 濃度對蝴蝶蘭芽體分化之影響。臺灣園藝 57(1): 31-42。
- 彭穎君、鍾仁賜、何聖賓、張耀乾。2010。銨態與硝酸態氮比例影響大白花蝴蝶蘭營養與生殖生長。臺灣園藝 56(1): 45-56。
- 彭穎君。2008。大白花蝴蝶蘭 'V3' 對氮素之吸收、運移及利用。國立臺灣大學園藝學系碩士論文。131pp。
- 楊光盛、孫華慰、葉德銘、林學正。1995。數種高經濟花卉作物肥料之開發應用研究(二)—即溶花卉肥料。中國園藝 41(1): 41-53。
- 雷欣怡。2007。蝴蝶蘭花期礦物元素組成變化與肥料需求。國立臺灣大學園藝學系碩士論文。126pp。
- Allen, S. and J. A. Raven. 1987. Intracellular pH regulation in *Ricinus communis* grown with ammonium or nitrate as N Source: The Role of Long Distance Transport J. Expt. Bot. 38(4): 580-596.
- Argo, W. R. and J. A. Biernbaum. 1997. Lime, water sources, and fertilizer nitrogen form affect medium pH and nitrogen accumulation and uptake. HortScience 32: 71-74.
- Association of Analytical Chemist (AOAC). 1995. Metal in plants 975.03. In: Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Arlington, Virginia.
- Britto, D. T. and H. J. Kronzucker. 2002. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. J. Plant Physiol. 159(6): 567-584.
- Buchanan, B. B., W. Gruissem, and R. L. Jones. 2000. Nitrogen and sulfur. Biochem. Mol. Biol.
- DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal. Chem. 28(3): 350-356.
- Findenegg, G.R. 1987. A comparative study of ammonium toxicity at different constant pH of the nutrient solution. Plant Soil 103: 239-243.
- Frink, C. R., P. E. Waggoner, and J. H. Ausubel. 1999. Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. PNAS. 96(4): 1175-1180.
- Hopkins, W. G. and N. P. A. Hüner. 2003. Nitrogen assimilation, p. 167-185. In: W.G. Hopkins

- and N.P.A. Hüner (eds.). Introduction to plant physiology. Wiley. London, U.K.
- Lu, Y. X., C. J. Li, and F. S. Zhang. 2005. Transpiration, Potassium Uptake and Flow in Tobacco as Affected by Nitrogen Forms and Nutrient Levels. *Ann. Bot.* 95(6): 991-998.
- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants, 2nd edn. London: Academic Press.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant.* 15(3): 473-497.
- Orsel, M. and A. J. Miller. 2010. Transport Systems for NO_3^- and NH_4^+ . *Annual Plant Reviews Volume 42.* Wiley-Blackwell. pp.83-102.
- Poole, H. A. and T. J. Sheehan. 1974 Chemical composition of plant parts of *Phalaenopsis* orchid. *Amer. Orchid Soc. Bul.* 43(3): 242-247
- Poole, H. A. and T. J. Sheehan. 1982. Mineral nutrition of orchid roots, In: J. Arditti(ed.). *Orchid biology: Reviews and Perspectives, Vol II.* Cornell University Press. Ithaca. New York. pp.195-212.
- Tamaki, V. and H. Mercier. 2001. Effects of different ammoniacal nitrogen sources on N-metabolism of the atmospheric bromeliad *Tillandsiapohliana* Mez. *Brazilian J. Bot.* 24: 407-413.
- Wang, Y. T. 2007. Potassium Nutrition Affects *Phalaenopsis* Growth and Flowering. *HortScience* 42(7): 1563-1567.
- Wang, Y. T. 2008. High $\text{NO}_3\text{-N}$ to $\text{NH}_4\text{-N}$ Ratios Promote Growth and Flowering of a Hybrid *Phalaenopsis* Grown in Two Root Substrates. *HortScience* 43(2): 350-353.
- Wang, Y. T. and A. C. J. Tsai. 2006. Effect of Potassium Concentration on a Hybrid *Phalaenopsis* Grown in a Bark Mix or Sphagnum Moss. *HortScience* 41(4): 980.
- Xu, G., X. Fan and A. J. Miller. 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63(1): 153-182.

Nitrogen Requirements of *In Vitro* Multiplication Stage in *Phalaenopsis* Sogo Yukidan 'V3'

Yu-Yun Wu ¹⁾ Chen Chang ²⁾

Key word: *Phalaenopsis*, nitrogen, multiplication

Summary

In this study, we added different nitrogen into medium to screen the optimal concentration which nitrogen suitable *Phalaenopsis* grow well in the multiplication stage. These treatments showed that *Phalaenopsis* preferred nitrate in the multiplication stage. Therefore, P and sucrose requirements were be more when nitrate concentration increase in medium. *Phalaenopsis* buds were no significant growth when N concentration higher than 15 mM. When major nitrogen in medium were ammonium or urea *Phalaenopsis* buds were bad then no nitrogen treatment. After high temperature and pressure sterilization, urea may change to ammonium to affect K absorbability. Urea is not suitable to be the major N source in *Phalaenopsis*at multiplication stage.

1) Student in M.S. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University .

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

Corresponding author.

