

ISSN 0255-5921

興大園藝

第三十四卷 第一期

- 番木瓜果皮生理性污斑與果皮礦物元素及褐化相關酵素活性之關係
.....劉芳芸 林慧玲..... 1
- 真空脫澀應用在'牛心柿'果實脫澀的可行性研究
.....朱峰震 謝慶昌.....17
- 四季蘭無菌播種之研究
.....張倍瑜 王才義.....29
- 芭菲爾鞋蘭無菌培養之建立
.....黃慧宜 朱建鏞.....37
- 化學藥劑處理對蝴蝶蘭 *Phalaenopsis I-Hsin Cream* 'KHM246'
裸根苗貯運後品質之影響
.....秦子媛 林瑞松.....47
- 篩選油菜不同耐淹水性品種低氧下之生理反應
.....林宛螢 宋 好.....63
- 遊客不參加人員解說原因之探討-以陽明山國家公園為例
.....蘇詩容 歐聖榮.....79

國立中興大學園藝學系編印

中華民國九十八年三月

番木瓜果皮生理性污斑與果皮礦物元素及 褐化相關酵素活性之關係

劉芳芸¹⁾ 林慧玲²⁾

關鍵字：鈣、生理性障礙

摘要：番木瓜果實於低溫之春、冬兩季果皮會出現大量生理性污斑(skin freckle)，嚴重影響果實外觀及商品價值。本試驗於污斑指數最高的季節，採收不同生長階段之果實，分別分析內外側果皮礦物營養成分及相關褐化酵素之變化。隨著果實逐漸成熟，果皮上污斑面積會大量增加，從幼果到成熟果，果皮磷、鈣、鎂濃度逐漸增加，鐵、錳濃度則遞減，但於不同成熟階段，內外側果皮礦物元素無顯著差異，僅鈣元素有明顯不同，在污斑出現較多之果皮外側鈣濃度高於內側，推測可能是較多鈣離子造成果皮細胞壁較為堅硬，外在環境逆境或果實發育後期階段，果實膨壓增加，引起表皮細胞崩裂而產生污斑。過氧化酵素、多酚氧化酵素活性及總酚類化合物含量隨果實成熟而增加，且外側果皮活性也明顯高於內側果皮，顯示污斑發生於外側較為明顯之原因，與逆境環境下所引起之果實褐化反應有關。

前 言

番木瓜(*Carica papaya* L.)為台灣重要經濟之熱帶果樹之一，由於番木瓜可周年生產，且產量豐富，加上近年來採後貯運技術漸趨成熟，因此被視為具外銷潛力水果之一。

然而，採前果實品質影響保鮮甚鉅，而採收前番木瓜污斑發生率甚高，嚴重影響番木瓜採後外觀品質，本試驗擬探討污斑發生之原因，期能供改善策略之參考。番木瓜果實於接近後熟時，果皮表面會出現輕微淺綠色之平面或突起呈木栓化之污斑(skin freckle)，且

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副教授，通訊作者。

污斑之發生隨季節氣候會有所變化，冬季時，於綠熟果上即會產生綠色凸起或木栓化之污斑；夏季時，果實需達後熟階段污斑之發生才會較為明顯。此外，亦發現污斑之發生於果實內外側分佈多寡有所差異，以果實外側(向陽面)較為明顯(Eloisa *et al.*, 1994)。污斑之發生雖然不會影響果肉食用品質，但影響果實外觀甚鉅，近年來番木瓜之外銷市場擴大，污斑之發生會降低商品價值，因此，如何降低及避免污斑之發生是為重要課題。

目前研究報告指出番木瓜污斑之發生並非由病蟲害所引起(Kaiser *et al.*, 1996)，可能造成之原因包括環境變動太大、表皮結構、營養元素不平衡、乳汁滲漏等(林, 2007; Eloisa *et al.*, 1994; Kaiser *et al.*, 1996; Campostrini *et al.*, 2005)，故本試驗目的以探討不同生長節位之果實其內外側果皮相關生理及組成分變化，期能釐清生理性污斑發生之關鍵原因，提供擬定有效改善方法之參考，減少污斑發生，以提高番木瓜果實品質，增加市場上之競爭力。

材 料 與 方 法

一、試驗材料與方法

本試驗材料取自雲林縣林內鄉高姓果園，以種植一年生之‘台農二號’(Tainung No.2)果實為材料，採樣時間於污斑指數最高之月份 2008 年 3 月 5 日進行採樣。

隨機選取果園中四株未經採收之植株，由植株最頂端開始往下採收不同生長節位之果實，不同生長節位即代表不同生長階段之果實，且於採樣時利用標籤紙標示於果實內外側表皮(外側即代表向陽面，內側即代表背陽面)。最頂端為第 1 節位，共採收 18 節位。將四株之果實沿長軸面剖半分為內外側果實，分別以水果刨刀削取厚度約 0.1-0.2 公分之內側果皮，切碎後以液態氮固定之，取約 2g 果皮做為酵素分析用。其餘樣品固定後進行冷凍乾燥約 4-5 天，使用磨粉機將其磨成粉末，置於夾鏈袋中保存於-20℃凍箱，供元素分析之用。

二、調查項目與方法

(一) 果實污斑發生面積百分比

計算每株不同生長節位之果實其表面污斑發生區域所佔面積，以百分比表示之。

(二) 果皮顏色之測定

以手持式色差儀(MiniScanBXE Plus, Model 4500S)於內外側果實赤道部份，取對稱兩點，測其內外側果皮之顏色 a^* 、 b^* 值變化。 a^* 值呈現正值時即代表偏向綠色，若呈現負值則為紅色； b^* 值呈現正值時為黃色，負值為藍色。

(三) 葉綠素螢光反應

將不同生長階段之果實先進行 30 分鐘暗適應(dark-adapting)處理，以攜帶式葉綠素螢光分析儀(Portable chlorophyll fluorometer, MiNi-PAM, Walz, Germany)選取果實赤道部位內外側果皮對稱兩點測定。所連接的探針利用特殊光線(Special Fiberoptic 2010-F)瞬間提供

測定光與飽和脈衝光，並由下列公式計算而得 PSII 活性。 F_0 為最小螢光釋放量， F_m 為螢光釋放量最大值， $F_v = F_m - F_0$ ，以 F_v/F_m 表示。

(四) 無機元素分析

稱取已冷凍乾燥之果皮粉末 0.5g 置於坩堝中，將坩堝放入灰化爐(muffle furnace)內進行灰化(ashing)，先以 200°C 加熱 2 小時，再持續以 400°C 加熱 1 小時，最後以 550°C 加熱 2 小時，使樣品完全灰化。將樣品從灰化爐中取出待冷卻後，加入 5ml 2N HCl (Merck)使樣品完全溶解，以無灰分(ashless)濾紙 Whatman#42 過濾，過濾時以去離子水將坩鍋中殘留之灰分洗入 25ml 定量瓶中，並以去離子水定量之，混合均勻後倒入 50ml PE 塑膠瓶中保存待測之。

在元素分析方面，鉀及鎂則吸取上述灰化濾液 0.1ml 加入 3.9ml 去離子水稀釋，再從稀釋液中吸取 1ml 加入 4ml 去離子水，共稀釋 200 倍；鈣的測定為吸取濾液 0.1ml 加入 3.9ml 去離子水及 1ml (w/v)氧化釷(lanthanum oxide)，稀釋 50 倍，震盪均勻後，以原子吸收儀(atomic absorption spectrophotometer, Hitachi, Model Z-2300)測定之。氧化釷之配製：58.65g La_2O_3 溶於 250ml HCl (Merck)，以去離子水定量至 1 升即完成配製。

磷元素之測定方法採用鉬黃法(vanadate-molybdate yellow method)，取濾液 1ml 加入 3ml 去離子水及 1ml 鉬黃試劑(vanadate-molybdate reagent)，稀釋 5 倍，混合均勻後靜置 10 分鐘，以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定 470nm 之吸收值。鉬黃試劑之配製：分別稱取 22.5g $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 溶於 400ml 去離子水中及 1.25g ammonium vanadate(NH_4VO_3)溶於 300ml 之溫水中，之後將後者倒入前者中，再加入 250ml 硝酸(HNO_3 , Merck)，最後以去離子水定量至 1 升即完成配製。

氮之分析方法採用 Micro-Kjeldahl 法，精稱 0.2g 已冷凍乾燥之果皮粉末，包於 Whatman#1 濾紙中，投入分解管中並加入 1g 凱氏氮催化劑(Merck 8030)及 4.5ml 濃硫酸(聯工)，立刻置於分解爐中加熱 2.5-3 個小時，加熱期間將分解管轉 2-3 次，避免殘留於分解管管壁上，當樣品分解至澄清或呈淡綠色時取出冷卻，加入 15ml 去離子水，再將樣品倒入 Micro-Kjeldahl 裝置的容器中，加入 20ml 12N NaOH，並以裝有 2%硼酸(boric acid) 20ml 指示劑(19 μ M bromocresol green 及 25 μ M methyl red)之塑膠燒杯收集蒸餾出之氨水，至燒杯內溶液體積達 50ml 時取出，以 1/14N H_2SO_4 標準酸滴定，計算氮含量之百分比。

(五) 過氧化酵素(Peroxidase；POD)活性之測定

採用 Guaiacol 之分析方法(Johnson and Cunningham, 1972)，稱取不同生長節位之內外側果皮 2g 置入冰浴研鉢中，加入少許海砂及 5 ml 之 0.1M 磷酸緩衝溶液 (pH7.0)研磨，待研磨均勻後倒入離心管中，於 4°C 下低溫高速離心 20000xg 20 分鐘，之後利用 Miracloth(Merck)過濾後，取上清液做活性測定。

分析方法為，取 2ml 含 3.6×10^{-3} M Guaiacol 之緩衝液(100ml 0.1M phosphate buffer pH6.0 加入 0.04ml guaiacol)，依序加入 0.2ml 0.0135M H_2O_2 、0.4ml 去離子水，再加入 0.1ml POD 萃取液，混合均勻後，立即放入分光光度計(Shimadzu UV-200S)，以記錄器(Recorder)

記錄在 470nm 下反應初期(0-60 秒)吸收值之變化，單位以 $\Delta A/\text{min/g.FW}$ 表示。

(六) 多酚氧化酵素(Polyphenol oxidase；PPO)活性之測定

參考 Lee 與 Smith(1979)之方法，稱取不同生長節位之內外側果皮 2g 置入冰浴研鉢中，加入少許海砂及 5 ml 之 0.1M 磷酸緩衝溶液 (pH 7.0，含 1% PVP 及 0.25% Triton)研磨，待研磨均勻後倒入離心管中，於 4℃ 下低溫高速離心 20000xg 20 分鐘，之後利用 Miracloth(Merck)過濾後，取上清液做活性測定。

分析方法為，取 1.9 ml 之 0.1M 磷酸緩衝液(pH 8.0)，加入 0.2ml 之 0.5M catechol，再加入 0.1 ml 萃取液，混合均勻後，立即放入分光光度計(Shimadzu UV-200S)，以記錄器(recorder)記錄在 420nm 下反應初期(0-60 秒)吸收值之變化，單位以 $\Delta A/\text{min/g.FW}$ 表示。

(七) 總酚類化合物(Total phenolic compound；TPC)含量測定

採用 Keith 等(1958)之方法，取過氧化酵素 POD 之上清液 0.1ml 稀釋至 1ml，加入 0.1ml 之 Folin-Ciocalteus phenol reagent (Merck)及 0.2ml 之 20% Na_2CO_3 與 8.7ml 去離子水震盪均勻後，利用沸水煮 3 分鐘後取出冷卻，以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定 660nm 波長之吸收值。標準曲線以 100ppm caffeic acid 配製。單位以 $\mu\text{g/g.FW}$ 表示。

三、統計分析

將試驗之結果使用 Costat 軟體(Cohort software, Minneapolis, MN)計算平均值，並利用 ANOVA 進行變方分析(analysis of variance)及鄧肯氏多變域檢定(Duncan's multiple range test)比較各處理間差異顯著性。

結 果

一、不同生長階段‘台農二號’番木瓜果實果皮顏色之變化

3 月份採收之不同成熟度果實，其果皮顏色隨果實逐漸發育，由暗綠色轉成黃色(圖 1)，外側果皮 a^* 值明顯低於內側果皮 a^* 值，顯示外側果皮呈深綠色，內側果皮顏色較淡，且隨果實成熟，內外側果皮 a^* 值皆明顯增加，代表果皮綠色逐漸轉淡； b^* 值部份，外側果皮高於內側果皮，此說明外側果皮較黃，且於果實發育期間 b^* 值變化不大，直到發育後期外側果皮 b^* 值才明顯增加，代表果實逐漸轉成黃色(圖 2-B, C)。

二、不同生長階段‘台農二號’番木瓜果皮污斑發生面積與葉綠素螢光之變化

圖 2-A 為 3 月份採收之不同生長節位果實其果皮污斑面積之變化，於第四節位果實即有污斑產生，此時果皮仍為深綠色，而隨果實逐漸成熟，表皮污斑愈來愈為明顯，至第 14 節位，污斑發生面積超過 80%。而在葉綠素螢光變化方面，螢光值 F_v/F_m 隨果實逐漸成熟從 0.75-0.80 降至 0.55-0.60。於果實生長後期之轉黃階段，外側果皮螢光值下降趨勢較內側果皮更為明顯(圖 2-D)。

三、不同生長階段‘台農二號’番木瓜果實其內外側果皮過氧化酵素、多酚氧化酵素活性與

總酚類化合物含量之變化

番木瓜內外側果皮之過氧化酵素活性隨果實生長會逐漸增加，外側果皮從 $7.56\Delta A/\text{min.g.FW}$ 增加至 $97.45\Delta A/\text{min.g.FW}$ ，內側果皮則從 $6.75\Delta A/\text{min.g.FW}$ 增加至 $53.43\Delta A/\text{min.g.FW}$ ，且於污斑出現的第 4 節位之後，果皮過氧化酵素會快速增加，而外側果皮遞增程度較內側果皮更為明顯(圖 3-A)。

果皮多酚氧化酵素活性變化與過氧化酵素活性變化相似，皆隨果實成熟逐漸增加，外側果皮從 $13.73\Delta A/\text{min.g.FW}$ 增加至 $77.57\Delta A/\text{min.g.FW}$ ，內側果皮則從 $15.86\Delta A/\text{min.g.FW}$ 增加至 $57.78\Delta A/\text{min.g.FW}$ 。而在第 10 節位之後的果實，其外側果皮多酚氧化酵素活性明顯高於內側果皮(圖 3-B)。

總酚類化合物變化方面，外側果皮之總酚類含量明顯高於內側果皮，外側果皮總酚類含量介於 $1500\text{--}2000\mu\text{g/g.FW}$ ，內側果皮則介於 $1000\text{--}1500\mu\text{g/g.FW}$ 。但在整個果實生長階段期間，酚類含量呈現不規則變化(圖 3-C)。



圖 1. 3 月份採收‘台農二號’不同生長節位番木瓜果實之果實外觀。

Fig. 1. The appearance of ‘Tainung No.2’ papaya fruits picked from different growth node on March.

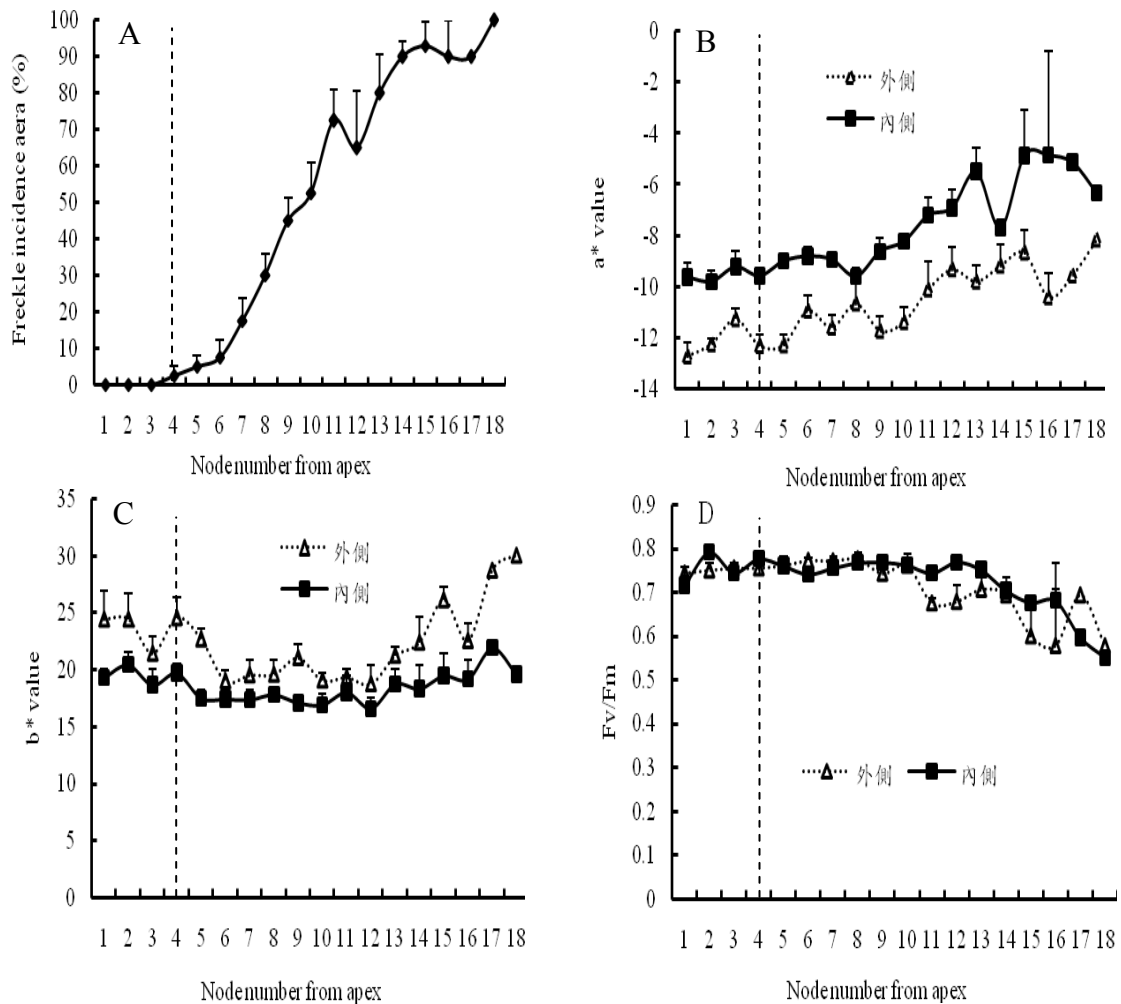


圖 2. '台農二號'番木瓜不同生長節位之果實 3 月污斑發生面積、內外側果皮之 a*、b*、葉綠素螢光 Fv/Fm 變化(虛線為果皮出現污斑之節位)。

Fig. 2. Changes in freckle incidence area, a*, b*, and Fv/Fm value of 'Tainung No.2' papaya fruits adaxial and abaxial peel picked from different growth node on March. Vertical bars represent $\pm$ SE (n=4). Dotted line indicates the onset of skin freckles.

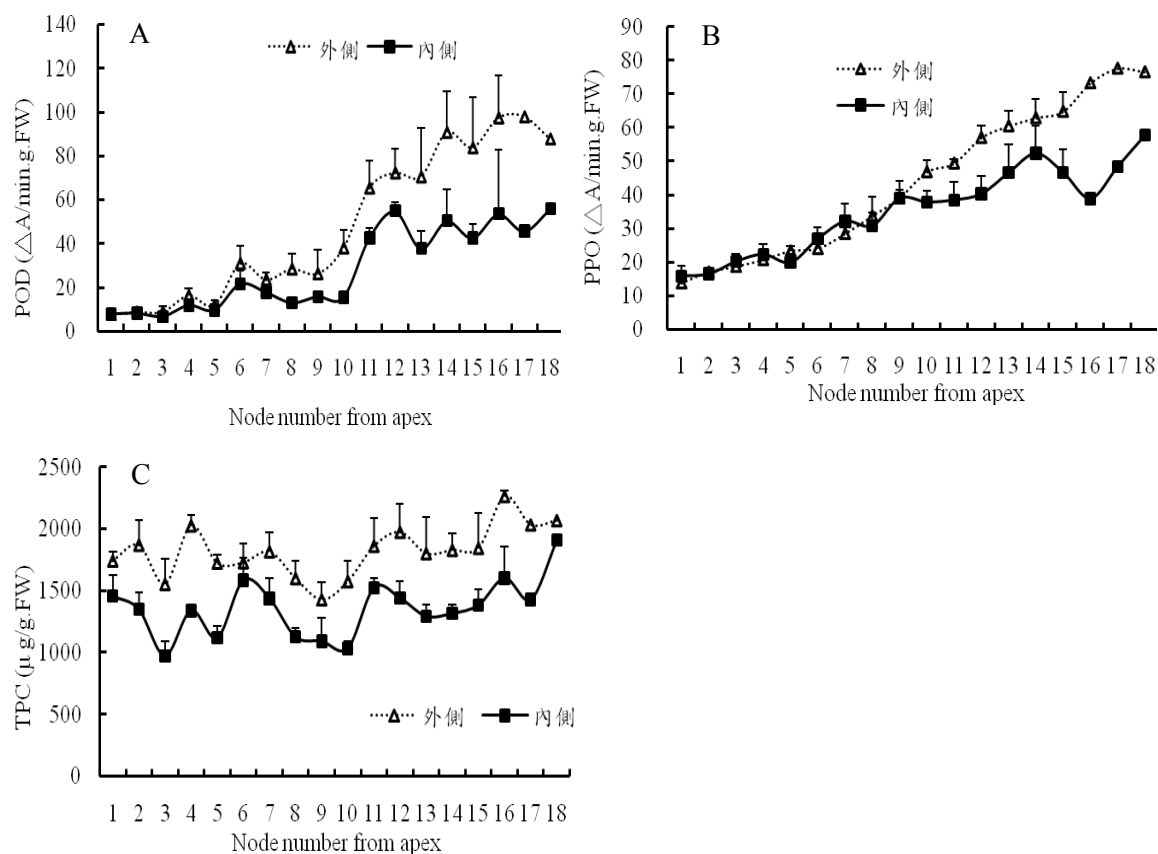


圖 3. '台農二號'番木瓜果實 3 月份不同生長節位內外側果皮之過氧化酶、多酚氧化酶活性及總酚類化合物含量變化。

Fig. 3. Changes in peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO) activity and total phenolic compound (TPC) content of adaxial and abaxial peel of 'Tainung No.2' papaya fruits picked from different growth node on March. Vertical bars represent $\pm$ SE (n=4). Dotted line indicates the onset of skin freckles.

四、不同生長階段'台農二號'番木瓜果實其內外側果皮無機元素之變化

果皮礦物元素部份，氮濃度隨果實生長皆維持於 4-5%之間，呈不規則變化，且內外側果皮無顯著差異。而在磷、鈣、鎂方面，內外側果皮變化趨勢相似，皆隨果實生長發育而逐漸增加，磷含量從 0.45-0.55%增加至 1.06-1.10%，鈣含量從 0.35-0.40%增加至 1.70-1.77%，鎂含量從 0.10-0.12%增加至 0.30-0.47%。鉀元素變化則在整個果實發育期間較為平緩，從 3.35-3.92%增加至 4.59-5.30%。而磷、鉀、鎂這些元素在內外側果皮間無明顯不同，僅鈣元素於污斑出現後(第四節位開始)，外側果皮鈣濃度會明顯高於內側果皮(圖 4)。

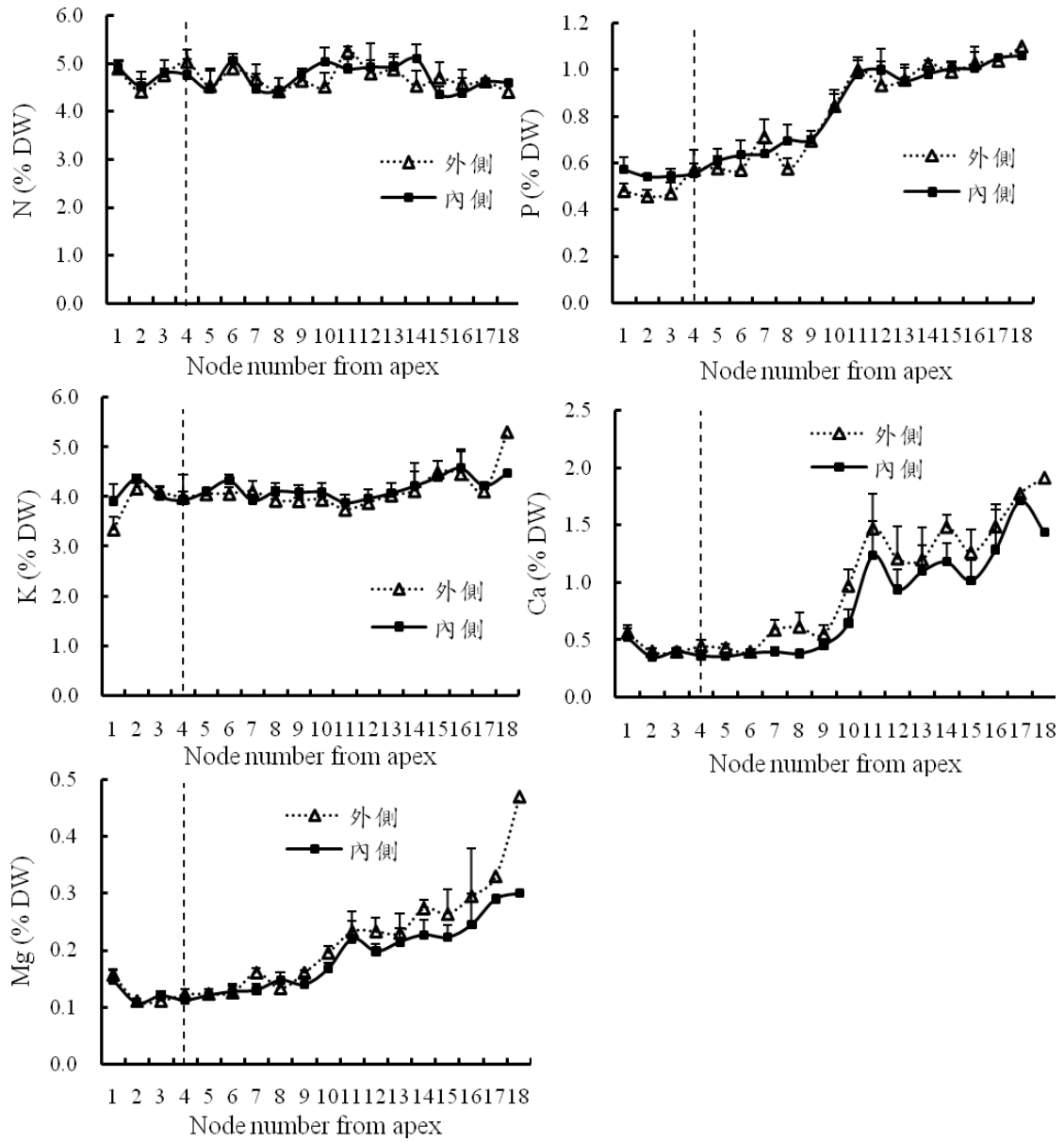


圖 4. '台農二號'番木瓜果實 3 月份不同生長節位內外側果皮大量元素之變化。

Fig. 4. Changes in macro elements of adaxial and abaxial peel of 'Tainung No.2' papaya fruits picked from different growth node on March. Vertical bars represent $\pm SE$ (n=4). Dotted line indicates the onset of skin freckles.

討 論

一、不同生長階段‘台農二號’番木瓜果實外觀之變化

番木瓜果實於不同發育階段，其果皮顏色於低節位時，會呈現亮綠或暗綠色，而隨果實逐漸成熟轉變為黃色(圖 1)，由內外側果皮顏色觀察結果顯示，外側果皮 a^* 值綠色較深，內側較淡(圖 2-B)，可能是因為外側果皮為向陽面，幼果期之果皮富含葉綠素，果皮於陽光照射下，光合作用較為旺盛使得果皮顏色較深。而在 b^* 值部分，外側果皮較內側果皮黃(圖 2-C)，因此污斑之發生於成熟果實外側果皮較為明顯。以不同生長階段來看， a^* 、 b^* 值皆會增加，代表果實逐漸成熟轉色，此結果與呂(2008)之結果相似，其於 9、11 月份採收之果實 L 值(亮度)、 a^* 、 b^* 及 C 值(彩度)皆會增加。

果皮污斑面積之變化，本試驗於 3 月份進行採果，試驗結果於第 4 節位之幼果果實上即有污斑產生，隨果實逐漸成熟，污斑涵蓋面積愈廣，至第 14 節位，污斑發生面積已達 80-90%(圖 2-A)，呂(2008)分別於 9 月、11 月調查番木瓜果實污斑發生面積，9 月份果實須達果皮轉色時才明顯出現污斑，污斑面積為 10-25%，11 月份果實則於第 10 節位果皮仍為綠色時，開始出現污斑，至第 17 節位，污斑面積為 50%。本試驗結果與呂(2008)結果不一致，主要是因為不同月份採收果實所致，生理性污斑之發生受環境氣候影響甚鉅，低溫或日夜溫差變動劇烈之季節，果實污斑指數及污斑直徑較高(Eloisa *et al.*, 1994)，導因於環境變動大會使得細胞膨壓增加，引起果實表皮之乳汁細胞破裂，造成乳汁分泌而引起污斑產生。台灣主要栽培品種‘台農二號’番木瓜果實，其生理性污斑周年皆會產生，而以 12-5 月低溫生長季節最為嚴重，7-9 月高溫季節最輕微(林，2007)。

葉綠素螢光變化， F_v/F_m 值隨果實成熟與轉色會逐漸降低，於第 11 節位即開始減少，且外側果皮螢光值下降趨勢比內側果皮更為明顯(圖 2-D)，顯示外側果皮污斑之發生較內側果皮嚴重，本試驗葉綠素螢光 F_v/F_m 變化與呂(2008)結果一致，皆於果實轉色時下降。番木瓜果實於成熟階段，主要是由於葉綠素降解或果實後熟與老化期間造成膜體系統受到傷害，而使 F_v/F_m 下降(Bron *et al.*, 2004)，螢光參數 F_v/F_m 為 PSII 於 dark-adapted 下之最高光效能，主要描述光合作用胞器之生理狀況，對健康植物而言， F_v/F_m 幾乎為常數 0.832，當植物受到傷害時，其值往往會下降(徐，2003)。葉綠素螢光用以評估果實組織變化時，可偵測因老化、環境逆境造成之可見症狀表現及細胞傷害(Smillie *et al.*, 1987; Sanxter *et al.*, 1992)，但葉綠素螢光能否作為番木瓜污斑發生之判定指標，須再進一步研究，蘋果果實表皮燙斑(superficial scald)發生前， F_v/F_m 已迅速降低(DeEll *et al.*, 1996; Beaudry *et al.*, 1995)，但番木瓜生理性污斑發生時， F_v/F_m 值並未明顯降低，需至果實發育後期才迅速降低，顯示造成番木瓜螢光值降低，主要原因為後熟老化而非污斑之發生所致。

二、不同生長階段‘台農二號’番木瓜果實內外側果皮過氧化酶、多酚氧化酶活性與總酚類化合物含量之變化

番木瓜內外側果皮過氧化酶活性隨果實發育逐漸增加，於污斑出現後，果皮過氧化酶

活性會大量增加，且外側果皮較內側果皮高(圖 3-A)，此結果與林(2007)相符，其發現含有污斑之果皮過氧化酶活性亦較高，而番木瓜果實發育期間，過氧化酶之變化與許(1984)一致，‘台農二號’與‘日陞’果實之果皮 POD 活性於花後 120 天會明顯增加，而更年性果實番茄、西洋梨 POD 同功異構酶隨果實發育漸趨明顯(Frenkel, 1972)。過氧化酶(Peroxidase；POD)為逆境下所誘導之酵素，與木質素合成、木栓化作用、酚類聚合作用及果實防禦機制有關(Biles *et al.*, 2000)，番木瓜污斑嚴重時會呈現木栓化情形，而導致果實生長後期過氧化酶活性增加，且外側果皮較內側果皮活性高，外側果皮污斑分布較多可能與 POD 活性增高具相關性。番木瓜果皮 POD 活性提高，顯示污斑之發生與環境逆境有關，而啟動植物防禦機制。另外，POD 活性亦可作為果實成熟老化之指標，因此，果實發育後期過氧化酶活性提升可能與果實成熟也有相關，蘋果、芒果於後熟階段 POD 皆會大增(Mattoo *et al.*, 1968；Gorin and Heidema, 1976)。而生理性污斑與 POD 活性增加之相關性於蘋果燙斑(superficial scald) (Trujillo *et al.*, 2003)、柑橘果皮凹陷(pitting) (Elhilali *et al.*, 2003)皆有類似結果。

番木瓜內外側果皮多酚氧化酶變化與過氧化酶變化相似，皆隨果實成熟逐漸增加，而在第 10 節位後的果實，其外側果皮多酚氧化酶活性明顯高於內側果皮(圖 3-B)，本試驗多酚氧化酶於果實生長過程中之變化與許(1984)結果雷同，過氧化酶及多酚氧化酶均與木質素代謝有關，較老化組織活性較高(林, 1983)，而果實不同發育時期，較成熟果實果皮分化較完全，或許可解釋多酚氧化酶活性增加之原因(許, 1984)，Pal 與 Selvaraj (1987)亦發現番木瓜果實後熟階段 PPO 活性會明顯增加。多酚氧化酶(Polyphenol oxidase；PPO)於有氧環境中會氧化酚類物質，造成細胞分室作用受到破壞，而位於細胞質中的酵素與液胞內基質結合，會形成褐化物質，引起褐化表現(Nguyen *et al.*, 2003；Saltveit, 2000)。林(2007)認為污斑之發生與褐化相似，本試驗結果更進一步說明此污斑之發生與褐化有關，茄子於低溫下之褐化、凹陷(Concellon *et al.*, 2004)及桃子褐化(Cheng and Crisosto, 1995)等生理變化亦與 PPO 活性增加有關。

總酚類化合物變化方面，於整個果實發育期間呈現不規則變化，但外側果皮之總酚類含量明顯高於內側果皮(圖 3-C)。酚類化合物為植物之次級代謝物，於植物受到逆境時含量會提高作為保護之用，此外，其含量變化受基因型、生長環境、栽培管理與成熟期等因子所影響，而果實之顏色、香味、苦澀味亦會改變其濃度(Andreotti *et al.*, 2008；Macheix *et al.*, 1990)。外側果皮酚類含量明顯高於內側果皮，顯示外側果皮遭受逆境程度高於內側果皮，引起內外側果皮污斑分佈多寡不一，而番木瓜果皮酚類含量於生育階段變化與呂(2008)結果一致，會隨果實生長稍微下降，在發育中期較為平穩，後期則會開始增加，可能是因為果實發育後期轉色、抗氧化物質與苦味物質累積，造成總酚類化合物增加，亦或是污斑之發生與褐化相關而造成後期酚類物質含量增加。葡萄(Doshi *et al.*, 2006)、枇杷(Ding *et al.*, 2001)、番石榴(Bulk *et al.*, 1997)果實酚類物質含量會隨果實成熟而降低，與本試驗結果不一致，推測可能是因為這些果實於後熟單寧會轉換成糖、酸等成分，但番木瓜於幼果時單

寧並不高，而無此現象發生(呂，2008)。

三、不同生長階段‘台農二號’番木瓜果實內外側果皮礦物元素之變化

番木瓜果皮於不同發育階段礦物元素之變化，氮濃度隨果實生長維持平穩，於 4-5% 之間，磷、鈣、鎂濃度皆隨果實生長發育而逐漸增加，鉀元素變化則於整個果實發育期間較為平緩。而氮、磷、鉀、鎂這些元素在內外側果皮間無明顯不同，僅鈣元素於污斑出現後(第四節位開始)，外側果皮鈣濃度會明顯高於內側果皮(圖 4)。此結果與許(1984)、呂(2008)相似，‘台農二號’果皮氮濃度於果實發育期間皆無明顯變化，磷、鉀、鎂皆會隨生長而遞增，主要是因為磷、鉀、鎂於果實發育中後期亦隨光合產物經韌皮部運移至果實內，使果實發育期間仍會持續吸收(Clark *et al.*, 1989)，導致這些元素於後期會逐漸增加，但本試驗鉀濃度變化並不明顯，推測可能原因為鉀、鈣具有拮抗作用(Qiu *et al.*, 1995)，本試驗鈣濃度於後期明顯增加，降低鉀濃度之增加趨勢。

鈣濃度於番木瓜果實發育期間之變化，於許(1984)結果中無顯著變化，而呂(2008)、Qiu(1995)結果與本試驗鈣濃度變化結果一致，皆於果實發育後期鈣濃度會增加，且於污斑出現後鈣濃度波動更為明顯，番木瓜生理性污斑與果皮鈣濃度之相關性為污斑愈為明顯，果皮鈣濃度愈高，且外側果皮鈣濃度高於內側果皮，說明了外側污斑徵狀較為嚴重，此結果與 Campostrini(2005)相符。大部分作物之生理性障礙與缺鈣有關，如番茄尻腐病、蘋果苦痘病、葉菜類頂燒病，皆因為局部缺鈣之組織細胞膜會受到破壞，而造成失去膨壓與細胞流動受到影響(Saure, 2005)，但番木瓜污斑與缺鈣似乎無直接關係，反而是鈣濃度增加，推測可能原因為，(1)鈣為穩定細胞壁結構及膜體系統之重要元素，細胞壁之果膠物質是由半乳糖醛酸基質彼此互相鍵結，再與鈣離子結合成更大之果膠物質，聚合度愈高，細胞結構也愈牢固，Campostrini 等(2005)學者認為較多的鈣，會誘導細胞壁變得較堅硬，缺少彈力，外在環境變動劇烈，會使細胞膨壓增加，膨壓一旦增加擠壓至表皮細胞，表皮細胞結構即發生分裂，造成乳汁管破裂，而誘導污斑產生。(2)污斑發生可能為環境變動或肥培管理不適，導致細胞膨壓提高，乳汁管破裂，造成表皮細胞產生堆疊而引起污斑，使得果實發育後期表皮內部份元素皆有增加趨勢，尤其鈣最為明顯。(3)與果實生長速率有關，冬季果實生長緩慢，夏季果實生長快，易產生稀釋作用，因此於低溫季節之果實鈣濃度較高，9 月、11 月果皮後期鈣濃度分別為 0.4%、0.65%左右(呂，2008)，但本試驗果皮鈣濃度於後期可達 1-1.5%，明顯高於前者，顯示果皮鈣濃度於冬季較高，林(2007)調查周年性果皮元素變化，亦有類似結果。(4)氮肥施用會影響鈣元素吸收(Saure, 2005)，但番木瓜果皮之鈣元素及污斑發生皆不受氮肥施用量所影響(呂，2008)，顯示污斑與鈣之相關性需更進一步研究。

參考文獻

- 呂姿儀。2008。氮肥施用量與果房包覆對‘台農二號’番木瓜果實品質及污斑之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。台灣:台中。109 pp.。
- 林玉茹。2007。‘台農二號’番木瓜果實品質、礦物營養與生理性污斑之周年性調查。國立中興大學園藝學系碩士論文。台灣:台中。99 pp.。
- 林深林。1983。木瓜過氧化物酶之研究及其與毒素病之關係。國立中興大學園藝學系碩士論文。台灣:台中。70 pp.。
- 徐邦達。2003。葉綠素螢光和 PAM 螢光儀：原理及測量。光合作用研討會。台灣:台中。pp. 1-9。
- 許淼淼。1984。毒素病對木瓜果實品質及生理之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。台灣:台中。81 pp.。
- Andreotti, C., D. Ravaglia, A. Ragaini, and G. Costa. 2008. Phenolic compounds in peach (*Prunus persica*) cultivars at harvest and during fruit maturation. *Ann. Appl. Biol.* 1-13.
- Beaudry, R. M., J. Song, and W. Deng. 1995. Using chloroplast fluorescence for prediction of scald development in ‘Red Delicious’ apple fruit. *Hort. Sci.* 30: 816 (Abstr.).
- Biles, C. L., B. D. Bruton, J. X. Zhang, and V. Russo. 2000. Characterization of muskmelon fruit peroxidases at different development stages. *Biol. Plant.* 43: 373-379.
- Bron, I. U., R. V. Ribeiro, M. Azzolini, A. P. Jacomino, and E. C. Machado. 2004. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of ‘Golden’ papaya fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 33: 163-173.
- Bulk, R. E. E., E. F. E. Babiker, and A. H. E. Tinay. 1997. Changes in chemical composition of guava during development and ripening. *Food Chem.* 59: 395-399.
- Campostrini, E., H. C. Lima, J. G. de Oliveira, P. H. Monnerat, and C. S. Marinho. 2005. Ca concentration and meteorological variables: Relationships with skin freckles in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. *Bragantia* 64: 601-613.
- Cheng, G. W. and C. H. Crisosto. 1995. Browning potential, phenolic composition, and polyphenol oxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120(5): 835-838.
- Clark, C. J., G. S. Smith, and I. M. Gravett. 1989. Seasonal accumulation of mineral nutrients by tamarillo. 2. fruit. *Sci. Hortic.* 40: 203-213.
- Concellon, A., M. C. Anon, and A. R. Chaves. 2004. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. *Food Chem.* 88: 17-24.
- DeEll, J. R., R. K. Prange, and D. P. Murr. 1996. Chlorophyll fluorescence of ‘Delicious’ apples

- at harvest as a potential predictor of superficial scald development during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 9: 1-6.
- Ding, C. K., K. Chachin, Y. Ueda, Y. Imahori, and C. Y. Wang. 2001. Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2883-2888.
- Doshi, P., P. Adsule, and K. Banerjee. 2006. Phenolic composition and antioxidant activity in grapevine parts and berries (*Vitis vinifera* L.) cv. Kishmish Chornyi (Sharad Seedless) during maturation. *J. Food Sci. Technol.* 41: 1-9.
- Elhilali, F., A. A. Oubahou, and A. R. O. Akhayat. 2003. Chilling injury and peroxidase activity changes in 'Fortune' mandarin fruit during low temperature storage. *Bulg. J. Plant Physiol.* 29: 44-54.
- Eloisa, M., Q. Reyes, and R. E. Paull. 1994. Skin freckles on 'Solo' Papaya fruit. *Sci. Hortic.* 58: 31-39.
- Frenkel, C. 1972. Involvement of peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase isozymes from pear, tomato and blueberry fruit in ripening. *Plant Physiol.* 49: 757-763.
- Gorin, N. and F. T. Heidema. 1976. Peroxidase activity in 'Golden Delicious' apples as a possible parameter of ripening and senescence. *J. Agric. Food Chem.* 24: 200.
- Macheix, J. J., A. Fleuriet, and J. Billot. 1990. Fruit Phenolics. pp. 149-221. CRC press, Boca Raton, Florida.
- Mattoo, A. K., V. V. Modi, and V. V. R. Reddy. 1968. Oxidation and carotenogenesis regulating factors in mangoes. *Indian J. Biochem.* 5: 111-114.
- Nguyen, T. B. T., S. Ketsa, and W. G. V. Doorn. 2003. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biol. Technol.* 30: 187-193.
- Pal, D. K. and Y. Selvaraj. 1987. Biochemistry of papaya (*Carica papaya* L.) fruit ripening: changes in RNA, DNA, protein and enzymes of mitochondrial, carbohydrate, respiratory and phosphate metabolism. *J. Hort. Sic.* 62: 117-124.
- Paull, R. E., W. Nishijima, M. Reyes, and C. Cavaletto. 1997. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 11: 165-179.
- Qiu, Y., M. S. Nishina, and R. E. Paull. 1995. Papaya fruit growth, calcium uptake, and fruit ripening. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120: 246-253.
- Saltveit, M. E. 2000. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biol. Technol.* 21: 61-69.
- Sanxter, S. S., H. Y. Yamamoto, D. G. Fisher, and H. T. Chan. 1992. Development and decline of chloroplasts in exocarp of *Carica papaya*. *Can. J. Bot.* 70: 364-373.
- Saure, M. C. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control.

Sci. Hort. 105: 65-89.

Smillie, R. M., S. E. Hetherington, R. Nott, G. R. Chaplin, and N. L. Wade. 1987. Applications of chlorophyll fluorescence to the postharvest physiology and storage of mango and banana fruit and the chilling tolerance of mango cultivars. *Asean Food J.* 3: 55-59.

Trujillo, J. P. F., J. F. Nock, E. M. Kupferman, S. K. Brown, and C. B. Watkins. 2003. Peroxidase activity and superficial scald development in apple fruit. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7182-7186.

Changes Mineral Nutrients, Peroxidase and Polyphenoloxidase Activity and Skin Freckle Development in Papaya (*Carica papaya* L.) Fruits

Fang-Yun Liu ¹⁾ Huey-Ling Lin ²⁾

Key words: Calcium, Physiological disorder

Summary

Skin freckles on papaya fruit is a physiological disorder which predominantly occurs on fruit developing through the cold season of winter and early spring. It seriously affects the skin appearance thus reduces the visual quality and the market value of the papaya fruits. The objective of this study was to harvest fruits of different developmental stages at the period of the highest incidence of freckles, in order to analyze content of mineral elements, and to measure the activity of related browning enzymes of the abaxial and the adaxial peel. As fruit went through developmental stages, the area of freckle incidence greatly increased. Mineral analysis showed that concentrations of phosphorus, calcium, and magnesium in the peel increased gradually with maturity, but microelements, such as iron and manganese decreased. Furthermore, except for calcium, there was no significant different in mineral contents on both abaxial and adaxial sides. The level of calcium was higher in the abaxial peel than the adaxial peel of the fruit. It was assumed that the higher calcium resulted in harder cell walls; external environmental stress or late growth stage increased turgor; the structure of epidermal cells cracked; and hence freckles occurred. The enzymatic activities of peroxidase, polyphenol oxidase and the content of total phenolic compounds of the abaxial and the adaxial peel increased progressively during the period of fruit maturation, and the activities of the abaxial peel were significantly higher compared to the adaxial peel. Finally, the obvious freckles that appeared on the abaxial portion of the fruit may have been associated with the browning of fruit under environmental stress.

1) Graduate Student in MS. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

真空脫澀應用在‘牛心柿’果實脫澀的可行性研究

朱 峰 震¹⁾ 謝 慶 昌²⁾

關鍵字：牛心柿、脫澀、真空包裝

摘要：本試驗主要探討真空包裝處理是否適用於‘牛心’澀柿之脫澀。在比較脫澀處理方法對柿果實品質之影響試驗中，不同脫澀處理的脫澀速度上，以真空方式脫澀最快，其次為二氧化碳脫澀及酒精脫澀，最遲則為石灰懸浮液。在脫澀處理之硬度及果皮色差值上，最高者為石灰懸浮液脫澀，可能因石灰懸浮液之脫澀效果較慢所造成。在真空脫澀處理‘牛心柿’果實上，脫澀速度為試驗中 fastest，在硬度及果皮色差表現上皆優於酒精及二氧化碳脫澀處理，故真空包裝脫澀為一可行之脫澀方式。

前 言

柿(*Dispyros kaki* L or *Dispyros kaki* Thunb)，為柿樹科(Ebenaceae)柿樹屬之多年生落葉性溫帶果樹。本省主要栽培品種為‘牛心柿’、‘四周柿’、‘富有柿’及‘次郎’。前兩者屬澀柿(astringent)品種，後兩者為甜柿(non-astringent)品種。澀柿果肉中因含大量的可溶性單寧(soluble tannin)，無法直接食用，須經脫澀(de-astringency)處理，將果肉中大量的可溶性單寧(soluble tannin)聚合成不可溶性之凝膠態，方可食用。

常見的脫澀處理有酒精脫澀法、二氧化碳脫澀法、石灰水脫澀法、後熟脫澀法及溫水脫澀法等。以不同的脫澀方式處理柿果，品質差異很大，櫥架壽命亦不同(Ito, 1971)。本試驗目的在於以真空脫澀法對柿果進行脫澀處理，用以探討真空脫澀法與其他脫澀方式對脫澀後果實品質之影響。藉以評估真空脫澀法能否實際應用於柿果的脫澀上。

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。

材料及方法

一、試驗材料

本試驗所使用的‘牛心柿’果實採自嘉義番路李姓果園，果皮呈黃綠色，果肉呈深黃色。果實採後即立刻運回實驗室，挑選大小及顏色一致且無外傷之果實為試驗材料。

二、試驗方法

牛心柿果實分別在 30℃ 的環境下，分別以石灰懸浮液、二氧化碳、酒精及真空包裝處理脫澀。進行脫澀處理時，將果實封入密閉之呼吸缸中，其中二氧化碳處理組以接近 100% 的二氧化碳處理；酒精處理組以每公斤 4ml 95% 酒精；石灰懸浮液處理組以氧化鈣 (CaO) 配製之石灰懸浮液；真空包裝處理組則以真空包裝機，將牛心柿果實 2 顆為一袋，利用真空包裝機(友圖實業有限公司 Model No.TH-350 桌上型真空包裝機)在真空時間 20 秒鐘(真空度 150 mmHg)、封口時間 3 秒鐘、冷卻時間 3 秒鐘，處理後每天後取出一組測量，每組 6 顆果實三重複，測定澀味指數、果皮及果肉顏色、果肉硬度及可溶性固形物。真空包裝袋材質為 83% 聚乙烯塑膠及 17% 尼龍，規格為 33.5 cm × 24.5 cm × 0.08 mm。

三、調查項目及分析方法

- (1) 可溶性固形物之測定：將待測柿果自果頂 1/3 處橫切後，於心室間之果肉壓搾出果汁，以手持折射計(Hand refractometer, Atage, Model N1)，測定果汁中全可溶性固形物(total soluble solid, TSS)的含量為代表。單位以 °Brix 表示之。
- (2) 硬度之測定：將待測柿果自果頂 1/3 處橫切後，以硬度計(Penetrometer F327)測定心室間穿刺果肉時，單位面積內所需最大之重量。單位以牛頓(N)表示之。
- (3) 果皮顏色之測定：果皮顏色測定於赤道部位之兩端，利用色差儀(Handy colorimeter, Nippon Denshoku, Model NR-3000)測定果皮顏色，分別測定 L、a*、b*、C、H。其中，L 表示明亮度，100 為白色，0 為黑色；+a 值表示偏紅色、-a 表示偏綠色；+b 值表示偏黃色、-b 值表示偏藍色；C 值為彩度(Chroma)，數值越高表示色彩濃度越濃；H 值為色相角度(Hue angle)，表示顏色色相之變化，0 度為紅色-紫色(red-purple)，90 度為黃色(yellow)，180 度為藍色-綠色(bluish-green)，270 度為藍色(blue)。
- (4) 澀味指數之調查：根據 Eaks(1967)之單寧印染法，以 5% FeCl₃ 浸染 Whatman NO.1 濾紙，予以陰乾製成單寧試紙備用。將預測定之柿果，自果頂 1/3 處橫切，再把切面印在單寧試紙上，濾紙上的 FeCl₃ 會與柿果中的可溶性單寧作用，產生黑色呈色反應。當柿果中可溶性單寧含量愈高，濾紙上所呈現之黑色面積愈多。本試驗依黑色呈色反應面積所佔百分比，區分為五級：1 代表 10% 以下、2 代表 10~30%、3 代表 30~50%、4 代表 50~75%，而 5 代表 75% 以上，一般指數在 2 以下即具商品價值。

結 果

1. 脫澀方法對牛心柿果實澀味之影響

圖 1 為柿果澀味調查時之單寧試紙反應，越黑代表單寧越多，一般脫澀指數低於 2 就具有商品價值，而在所有的脫澀處理中，以真空包裝處理脫澀效果最快(指數 2.5)，其次為二氧化碳脫澀(指數 3.0)，皆在處理後第一天就可以看到脫澀指數明顯下降，但是在石灰懸浮液及酒精處理指數分別為 4.5 及 5.0，在脫澀處理後第二天，真空處理脫澀已經完全脫澀(指數下降到 1)，而在酒精脫澀處理也有良好的效果(指數 1.67)，石灰懸浮液及二氧化碳處理指數分別為 2.6 及 2.33，在脫澀處理第三天後，各處理組皆已完全脫澀(表 1)。

2. 脫澀方法對牛心柿果實硬度之影響

在處理第一天硬度最高為石灰懸浮液及真空脫澀處理，皆為 49.6N，酒精及二氧化碳處理則有相近的硬度，分別為 42.53 及 42.33N。在處理第二天，以石灰懸浮液硬度(48.31N)最高，其次為酒精及真空處理為 44.39 及 44.00N，二氧化碳處理為最低 39.10N。在處理第三天，仍以石灰懸浮液 44.98 最高，其次為酒精處理 42.04N，最低為二氧化碳處理 39.36N。在脫澀處理後在第一、二、三天，硬度最高皆為石灰懸浮液處理(50.17、48.31 及 44.98N)，其次為真空處理(48.70、44.00N)及酒精處理(42.53、44.39 及 42.04 N)，最軟則為二氧化碳處理(42.33、39.10 及 39.69)(表 2)。

3. 脫澀方法對牛心柿果實全可溶性固形物之影響

在全可溶性固形物含量(TSS)上，除了在第一天酒精處理組含量較高外(14.38°Brix)，石灰懸浮液、二氧化碳及真空處理 TSS 皆在 11.15~11.68°Brix，在處理第二天及第三天，不同處理之間無顯著差異(表 3)。

4. 脫澀方法對牛心柿果皮顏色之影響

在果皮色差 L 值方面(表 4)，在處理後第一天各處理並無顯著差異；在處理後第二天，以石灰懸浮液處理 L 值最高(59.67)，其次為真空脫澀處理(56.07)，而酒精及二氧化碳處理則相差不多(54.31 及 53.54)；在處理後第三天，也是以石灰懸浮液處理 L 值最高(56.86)，其次為二氧化碳處理(55.37)，最低為酒精處理(53.23)。在果皮 a 值上(表 5)，在不同天數及各處理組無顯著差異。而在果皮 b 值上(表 6)，則只有石灰懸浮液處理在第二天時有顯著低於其他各組的 b 值(39.62)。

5. 脫澀方法對牛心柿果肉顏色之影響

在果皮色差 L 值方面(表 7)，在處理後第一天，以酒精處理有最高的色差 L 值(56.76)，而二氧化碳處理有最低的 L 值(53.87)；在處理後第二天，各組間並無顯著差異；在處理後第三天，也是以石灰懸浮液及酒精處理 L 值最高(55.41 及 57.59)，最低為二氧化碳處理(52.97)。在果皮色差 A 值上(表 8)，在處理後第一天，石灰懸浮液及酒精處理組有較佳的色差 A 值(6.95 及 7.43)，其他不同天數及各處理組無顯著差異。而在果皮色差 B 值上(表 9)，則不同天數及各處理組無顯著差異。而真空脫澀處理相較於二氧化碳處理在貯藏兩週後，果肉幾乎無褐化之情況產生(圖二)。

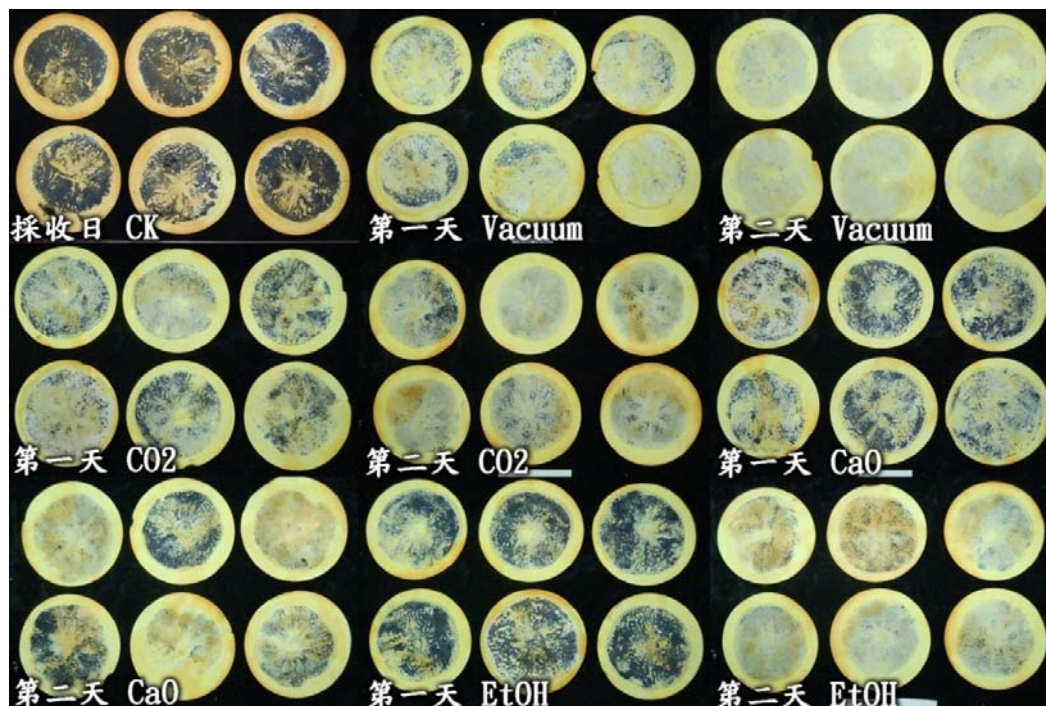


圖 1. 柿果不同脫澀方法處理時之單寧試紙反應

Fig. 1. Changes in tannin print of 'Bull Heart' persimmon fruit during astringency removing with different method.

表 1. 脫澀方法對牛心柿果實澀味之影響

Table 1. Changes in astringency index of 'Bull Heart' persimmon fruit during astringency removing with different method.

Treatments	Astringency index		
	1 ^z	2	3
CaOH	4.5 a ^y	2.7 a	1.3 a
EtOH	5.0 a	1.7 ab	1.0 a
CO ₂	3.0 b	2.3 ab	1.0 a
Vacuum	2.5 b	1.0 b	--

^zDays after treatment.

^y Mean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 2. 脫澀方法對牛心柿果實硬度之影響

Table 2. Changes in firmness of 'Bull Heart' persimmon fruit during astringency removing with different method.

Treatments	Firmness(N)		
	1 ^z	2	3
CaOH	49.6 a ^y	48.3 a	45.0 a
EtOH	40.7 b	44.4 a	42.0 ab
CO ₂	43.7 ab	39.1 b	39.7 b
Vacuum	49.6 a	44.0 a	--

^z Days after treatment.^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 3. 脫澀方法對牛心柿果實全可溶性固形物之影響

Table 3. Changes in total soluble solid of 'Bull Heart' persimmon fruit during astringency removing with different method.

Treatments	Total soluble solid(°Brix)		
	1 ^z	2	3
CaOH	11.4 b ^y	11.6 a	11.3 a
EtOH	14.4 a	11.9 a	11.6 a
CO ₂	11.7 b	11.3 a	11.2 a
Vacuum	11.2 b	11.2 a	--

^z Days after treatment.^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. 脫澀方法對牛心柿果皮 L 值之影響

Table 4. Effects of astringency removing method on L values of the peel color of 'Bull Heart' persimmon fruit.

Treatments	L values		
	1 ^z	2	3
CaOH	53.6 a ^y	59.7 a	56.9 a
EtOH	52.9 a	54.3 bc	53.2 b
CO ₂	54.7 a	53.5 c	55.6 ab
Vacuum	54.5 a	56.1 b	--

^zDays after treatment.^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 5. 脫澀方法對牛心柿果皮 a 值之影響

Table 5. Effects of astringency removing method on a values of the peel color of 'Bull Heart' persimmon fruit.

Treatments	a values		
	1 ^z	2	3
CaOH	10.8 a ^y	7.9 a	9.0 a
EtOH	10.8 a	11.1 a	10.1 a
CO ₂	8.7 a	10.5 a	9.2 a
Vacuum	7.7 a	8.6 a	--

^zDays after treatment.

^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 6. 脫澀方法對牛心柿果皮 b 值之影響

Table 6. Effects of astringency removing method on b values of the peel color of 'Bull Heart' persimmon fruit

Treatments	b values		
	1 ^z	2	3
CaOH	58.8 a ^y	39.6 b	48.1 a
EtOH	57.0 a	55.9 a	48.0 a
CO ₂	52.3 a	50.6 a	56.6 a
Vacuum	57.1 a	51.2 a	--

^zDays after treatment.

^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 7. 脫澀方法對牛心柿果肉 L 值之影響

Table 7. Effects of astringency removing methods on L values of the pulp color of 'Bull Heart' persimmon fruit.

Treatments	L values		
	1 ^z	2	3
CaOH	54.27 ab ^y	60.62 a	55.41 a
EtOH	56.76 a	60.61 a	57.59 a
CO ₂	53.87 b	59.93 a	52.97 b
Vacuum	55.80 ab	59.11 a	--

^zDays after treatment.

^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 8. 脫澀方法對牛心柿果肉 a 值之影響

Table 8. Effects of astringency removing method on a values of the pulp color of persimmon fruit.

Treatments	a values		
	1 ^z	2	3
CaOH	7.43 a ^y	6.22 a	6.22 a
EtOH	5.59 b	6.58 a	6.12 a
CO ₂	6.95 a	5.90 a	5.58 a
Vacuum	5.71 b	6.20 a	--

^zDays after treatment.

^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 9. 脫澀方法對牛心柿果肉 b 值之影響

Table 9. Effects of astringency removing method on b values of the pulp color of persimmon fruit.

Treatments	b values		
	1 ^z	2	3
CaOH	32.21 a ^y	30.67 a	31.26 a
EtOH	31.12 a	30.90 a	32.06 a
CO ₂	32.01 a	30.98 a	31.53 a
Vacuum	30.00 a	31.76 a	--

^zDays after treatment.

^yMean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

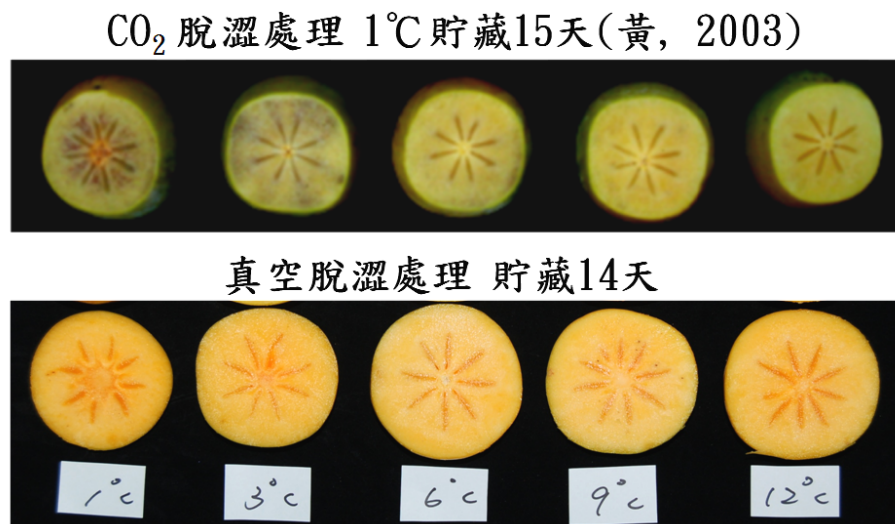


圖 2. 柿果不同脫澀方法處理時之褐化現象

Fig. 2. Changes in browning of 'Bull Heart' persimmon fruit during astringency removing with different method.

討 論

‘牛心柿’是本省主要澀柿的品種之一，採收後必須經過脫澀處理才具有商品價值，一般消費習慣將其製成「硬柿」或「脆柿」來進行販售。‘牛心柿’的產期集中在9月上旬至11月上旬，因此延長販售期是重要課題之一。未經脫澀的柿果在1°C下可貯藏3個月，果肉仍未發生異狀(鄭,2001)。

一般認為脫澀是將可溶性單寧聚合成不可溶性單寧，此現象可由可溶性單寧與單寧試紙中的鐵離子作用後所呈現黑色部分減少或測量果肉中可溶性單寧濃度下降得知(圖 1)。鄒氏(2002)指出，‘牛心柿’不同脫澀處理後第2日幾乎脫澀完成，並以二氧化碳脫澀處理之可溶性單寧含量下降速率最快；馮氏(2000)指出‘牛心柿’以酒精與石灰水脫澀處理後第2天已可食用；傅氏(1994)則指出二氧化碳脫澀處理可使柿果在1日內完成脫澀。本試驗中觀察不同脫澀方法期間可溶性單寧濃度下降速率可發現，以酒精、二氧化碳、石灰懸浮液浸漬及真空包裝脫澀處理，在所有的脫澀處理中，以真空包裝處理脫澀效果最快(脫澀指數 2.5)，其次為二氧化碳脫澀(脫澀指數 3.0)，皆在處理後第一天就可以看到脫澀指數下降，在脫澀處理後第二天，真空處理脫澀已經完全脫澀(指數下降到 1)，而在酒精脫澀處理也有良好的效果(指數 1.67)，在脫澀處理第三天後，各處理組皆完全脫澀。

柿果最佳的品質是在更年期前期(preclimacteric stage)，果肉橙黃色時，當更年期開始果實便會快速軟化，而失去商品價值(Harima *et al.*, 2003)；在不同溫度下，柿果的軟化速度

亦不同，當果實達某一生理成熟時，果實便會快速軟化(Kato, 1987)。而果實在脫澀處理後的硬度為一重要指標，因為脫澀後硬度過低之果實，對於商業運輸及販售有不力之影響，本試驗測量脫澀方法對牛心柿果實硬度之影響，在脫澀過程中，皆可測得果肉硬度下降現象，在脫澀處理後在第一、二、三天，硬度最高皆為石灰懸浮液處理(49.6、48.31 及 44.98N)，其次為真空處理(49.6N、44.00N)及酒精處理(42.53、44.39 及 42.04 N)，最軟則為二氧化碳處理(42.33、39.10 及 39.69)。Fukushima 等人(1991)以 35%酒精處理'平核無'柿果發現，在酒精脫澀期間果肉之結合水(bound water)及滲透壓(osmotic pressure)皆會增加，偵測酒精可能直接參與脫澀作用。其假說是酒精處理時，會造成細胞壁多醣類(polysaccharides)的斷裂，細胞間的自由水參與水解作用，且與親水性之斷裂成分結合，造成滲透壓上升使水分外移，造成細胞之脫水(osmotic dehydration)而達到脫澀。

本試驗中不同脫澀方法對牛心柿果實全可溶性固形物之影響，在全可全可溶性固形物含量上，除了在第一天酒精處理組含量較高外(14.38°Brix)，其餘各天數及處理無顯著差異。傅氏(1994)指出，柿果經二氧化碳脫澀處理之後，柿果所含糖度降低，主要可能來自於可溶性單寧的干擾，因其對糖度計亦有折射作用；經脫澀處理後的柿果，可溶性單寧轉變為不溶性，而減少糖度計的折射，使糖度降低。推測單寧形式的轉變，可能是促成可溶性固形物下降的主因。

脫澀方法對牛心柿果皮顏色之影響，在果皮色差 L 值方面，在處理後第一天各處理並無顯著差異；在處理後第二天，以石灰懸浮液處理 L 值最高(59.67)，其次為真空脫澀處理(56.07)，而酒精及二氧化碳處理則相差不多(54.31 及 53.54)；在處理後第三天，也是以石灰懸浮液處理 L 值最高(56.86)，其次為二氧化碳處理(55.37)，最低為酒精處理(53.23)。在果皮 a 值上，在不同天數及各處理組無顯著差異。而在果皮 b 值上，則只有石灰懸浮液處理在第二天時有顯著低於其他各組的 b 值(39.62)。

脫澀方法對牛心柿果肉顏色之影響，在果皮 L 值方面，在處理後第一天，以酒精處理有最高的色差 L 值(56.76)，而二氧化碳處理有最低的 L 值(53.87)；在處理後第二天，各組間並無顯著差異；在處理後第三天，也是以石灰懸浮液及酒精處理 L 值最高(55.41 及 57.59)，最低為二氧化碳處理 (52.97)。在果皮 a 值上，在處理後第一天，石灰懸浮液及酒精處理組有較佳的 a 值(6.95 及 7.43)，其他不同天數及各處理組無顯著差異。而在果皮 b 值上，則不同天數及各處理組無顯著差異。

真空脫澀之機制為真空包裝使柿果處於無氧之環境下，當氧氣濃度低於 5kPa 或二氧化碳濃度高於 5kPa 時，會促進園產品進行無氧呼吸，而產生揮發性氣體(Beaudry, 1999)。在低氧與高二氧化碳環境下可降低園產品的呼吸作用，而呼吸作用由糖解與 TCA 循環的一連串反應所構成，其中糖解作用的產物丙酮酸(pyruvate)，在氧氣充足的環境下會轉變為乙醯輔酶 A(Acetyl CoA)而進行 TCA 循環來產生園產品代謝時所需的能量，但在缺氧狀態時則會轉而進行發酵作用(無氧呼吸)，會產生乙醛或乙醇等揮發性物質(Mathooko, 1996)。柿果在進行脫澀時，大多處於低氧或無氧的狀態下，使果實進行無氧呼吸而產生

乙醛與乙醇等揮發性氣體，進而促進果實脫澀作用的進行。

在本試驗中，不同脫澀處理的脫澀速度上，以真空脫澀最快，其次為二氧化碳脫澀及酒精脫澀，最遲則為石灰懸浮液。在脫澀處理之硬度及果皮顏色上，最高者為石灰懸浮液脫澀，推測原因為石灰懸浮液之脫澀效果較慢所造成。在真空脫澀處理‘牛心柿’果實上，脫澀速度為試驗中最快，在硬度及果皮顏色表現上皆優於酒精及二氧化碳脫澀處理，且在真空脫澀處理後之果實貯藏後不易產生褐化之情形，故真空包裝脫澀為一可行之脫澀方式。

參 考 文 獻

- 傅琦嫻。1994。柿果二氧化碳脫澀之生理變化及微細構造。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。83p。
- 馮詩蘋。2000。牛心柿不同脫澀方法之脫澀機制。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。105p。
- 鄒采蘋。2002。脫澀處理及貯藏溫度對柿果組成分之影響。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。88p。
- 鄭雅凌。2001。柿果貯藏之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。126p。
- Beaudry, R. M. 1999. Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. *Postharvest Biol. Tech.* 15: 293-303.
- Fukushima, T., T. Kitamura, H. Murayama, and T. Yoshida. 1991. Mechanisms of astringency removal by ethanol treatment in ‘Hiratanenashi’ kaki fruits. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 60:685-694.
- Harima, S., R. Nakano, S. Yamauchi, Y. Kitano, Y. Yamamoto, A. Inaba and Y. Kubo. 2003. Extending shelf-life of astringent persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit by 1-MCP. *Postharvest Biol. Tech.* 29: 319-324
- Ito, S. 1971. The persimmon. pp.281-302. In: A. C. Hulme (eds.), *The biochemistry of fruits and their product*. Vol.2. Academic. Press. New York and London.
- Kato, K. 1987. Astringency removal and ripening as related to temperature during the de-astringency by ethanol in persimmon fruits. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 55:498-509.

Feasibility of Vacuum Packaging Destringency in Removal of 'Bull Heart' Persimmon(*Diospyros kaki* L.) Astringency.

Fong-Jhen Chu ¹⁾ Ching-Chang Shiesh ²⁾

Key words : 'Bull Heart' Persimmon, Removal of astringency, Vacuum packaging.

Summary

The objective of these experiments was to investigate whether vacuum packaging facilitates the destringency of 'Bull Heart' persimmons. Among the different treatments, vacuum method showed the fastest destringency rate, followed by carbon dioxide and alcohol. Destringency by calcium carbonate suspension was the slowest caused by the longer time CaCO_3 took to remove astringency. However, the fruits treated with vacuum packaging methods showed the highest fruit firmness and best peel color. In contrast, vacuum destringency not only had the highest destringency rate but also preserved the quality of persimmons better than the groups treated with carbon dioxide or alcohol. As a result, the vacuum method is the ideal way to remove astringency.

1) Graduate Student in MS. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

四季蘭無菌播種之研究

張倍瑜¹⁾ 王才義²⁾

關鍵字：種子發芽、預措處理

摘要：無菌播種是獲得實生苗之的過程，四季蘭種子培養於 1/6 MS 培養基，其發芽率達到 10.9%，於含有 20 g/l 蔗糖的培養基中發芽率可達到 5.3%，而未添加蔗糖者未有種子發芽。將授粉後 250 天的種子進行前處理，使用超音波震盪處理可有效的提升種子的發芽率，而使用 1% NaOCl 及 0.1 N NaOH 處理則會傷害到胚，而使發芽率下降，但是處理授粉後 380 天之種子 30 分鐘可提升種子的發芽率，其發芽率分別為 4.6 %和 4.2%。授粉後 380 天的種子進行液體培養，培養 4 週後，有較好的發芽率 10.6%，但是也有高的褐化率 8.7%。

前 言

四季蘭(*Cymbidium ensifolium* (L) Sw.)為台灣原生種，其株型較小，唇瓣上有斑點，萼片上之紅條紋並不明顯。開花期約在 4-10 月，可達半年之久。其生長速率快、成本低、產量高、香味濃郁、市場的需求量最高。常見的品系有觀音素心、鐵骨素心、馬耳、彩虹、金絲馬尾 (羅，2005)。目前台灣包含四季蘭在內的國蘭類的栽培面積約 100 公頃，年輸出數量約二千五百萬芽，外銷總值約八億至十億(魏，1999)，在台灣農業部門屬於極有競爭力的項目之一。但四季蘭種子之萌發過程緩慢，萌發百分率低，可能是由於種皮及胚表面細胞的外壁加厚，或附有角質層使得其通透性降低(田等，1985)。呂等(1992)認為素心蘭在播種後發芽率低，並非胚活力問題，於光學顯微鏡及掃描電子顯微鏡的觀察，認為於圓球胚發育後期，圓球胚外面覆一層厚膜。王(1981)認為溫帶性蕙蘭發芽困難原因可能是因為種皮阻礙水及空氣通過，種皮或胚內含有發芽抑制物，種子活力降低，胚活力衰弱，缺乏胚之發芽促進物質。於其他地生蘭中也常有種皮抑制物或種子內的發芽抑制物而導致

1) 國立中興大學園藝學系碩士班學生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

種子發芽受阻(Lee and Lee, 2005; Lee *et al.*, 2007; Yamazaki and Miyoshi, 2006)。本研究利用不同種子前處理及培養基成份增加發芽率及生長整齊，期可獲得大量的實生苗，並產生多樣不同的變異性植株，增加其觀賞價值。

材料及方法

一、試驗材料

中興大學園藝系精密溫室內所栽植的‘彩虹’四季蘭，於 2006、2007 年的 6-8 月盛花期進行人工自花授粉。每一花梗授粉 3 朵花，所結的蒴果作為試驗材料。

二、培養基製備

試驗培養基除了鹽類濃度、糖類濃度試驗外，基本培養基均為 1/6 量 MS (Murashige and Skoog, 1962) 巨量元素，全量的 MS 微量元素、鐵源、100 mg/l myo-inositol、0.5 mg/l nicotinic acid、0.1 mg/l glycine、0.5 mg/l pyridoxine HCl、0.1 mg/l thiamine HCl，再添加 20 g/l 蔗糖、7 g/l 洋菜及 2 g/l 活性碳，將 pH 值調整至 5.2 ± 0.02 ，每支試管(150 mm × 20 mm)注入 10 ml 培養基後，以 121°C、110kpa 滅菌 20 分鐘，製成斜面培養基。

三、培養環境條件

種子播種後皆置於暗室 1 個月，之後放置於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光強度為 1400 Lux，光週期皆為光期 16 小時，暗期 8 小時。

四、試驗方法

將採收的蒴果以 95% 酒精表面消毒後，再將其浸泡於含有 Tween-20 的 1% NaOCl 溶液中消毒 10 分鐘，在無菌操作台中以無菌水清洗 3 次，蒴果表面風乾後以利進行播種試驗。種子播於試管內的斜面培養基(150 mm × 20 mm)，每月調查其種子發芽率，當胚突破種皮視為發芽。發芽率 = 種子發芽數 / 總種子數 × 100%。

(一) MS 鹽類濃度試驗

以 2006 年授粉所結的蒴果作為試驗材料，取不同授粉後天數 250 天之已消毒蒴果各 2 個。將蒴果縱切，取出種子播於 1/2、1/4、1/6 MS 培養基。每 1 試管為 1 重覆。每處理為 10 支試管。

(二) 糖類濃度試驗

以 2007 年授粉所結的蒴果作為試驗材料，取 4 個授粉後 250 天的蒴果，依上述蒴果消毒方法處理後，將種子播種於蔗糖濃度為 0、20、30 和 40 g/l 的 1/6 MS 培養基中。每 1 試管為 1 重覆，每處理 8 支試管。

(三) 超音波震盪處理

於 2007 年授粉所形成的蒴果作為試驗材料，取 4 個授粉後 250 天蒴果，將其種子混合後置於含無菌水的血清瓶中並放入以滅菌過之磁石，以磁石攪拌器進行攪拌，將種子拌

入水中，再以超音波震盪處理 0、15、30 和 45 分鐘，震盪後種子懸浮液以無菌的濾紙過濾後，將種子播種於含 1/6 MS 培養基的斜面試管中。每 1 試管為 1 重覆，每處理 8 支試管。

(四) 化學藥劑處理

以 2007 年授粉所結的蒴果作為試驗材料，各取 4 個授粉後 250 及 380 天蒴果，內種子以 0.1N NaOH 和 1%次氯酸鈉(NaOCl)溶液進行預措處理。種子浸泡於含有處理溶液的血清瓶中，以磁石攪拌器攪拌，授粉 250 天蒴果種子的處理時間為 0、15、30、45 分鐘，授粉 380 天蒴果種子的處理時間為 0、5、15、30 分鐘，之後種子懸浮液以無菌的濾紙過濾，再以無菌水沖洗 2 次，將種子播種於含 1/6 MS 培養基的斜面試管中。每 1 試管為 1 重覆，每處理 8 支試管。

(五) 液體培養：

取四季蘭授粉後 380 天的蒴果內種子置於含 1/6MS 液體培養基的錐形瓶(125 ml)中，以超音波震盪處理 60 分鐘，放置於水平震盪器，以 110 rpm 速率震盪培養，分別培養 1、2、3、4 週，之後取出種子，使用無菌濾紙過濾後培養液後，將種子播種於含 1/6 MS 固體培養基的斜面試管中。每 1 試管為 1 重覆，每處理 8 支試管。

五、統計分析

試驗採完全隨機設計(Complete Randomized Design)，所得數據以變方分析(Analysis of Variance)測試顯著性，並進行最小顯著性差異測試(Least Significant Difference Test; LSD)，分析比較各處理之差異。

結 果

一、不同鹽類濃度對於四季蘭種子發芽之影響

授粉後 250 天的蒴果種子，在播種後 1 個月並未觀察到種子發芽，種子播於 1/6 MS 及 1/8 MS 培養基二個月後，其發芽率較 1/10 MS 培養基好，而在後續的培養仍以 1/6 MS 培養基的發芽率較好，發芽率達到 10.9%(表 1)。

二、蔗糖濃度對於四季蘭種子發芽之影響

培養基的蔗糖濃度對於種子發芽的影響，全部試驗中，播種的初期種子發芽率較低，各處理間則是無明顯的差異，但以 20 g/l 蔗糖濃度最適合種子發芽，其發芽率於播種後 7 個月為 5.3%，30 g/l、40 g/l 蔗糖濃度發芽率分別為 3.4%、3.3%(表 2)。

三、不同預措處理對於四季蘭種子發芽之影響

取授粉後 250 天的四季蘭蒴果未處理種子進行播種，播種後 1 個月尚未觀察到有種子發芽，但使用超音波震盪處理 45 分鐘後，其發芽率達到 3.1%，較其他處理高，在播種 7 個月後，不同處理時間則是無顯著差異，但都高於未處理的對照組(6.2%)高(表 3)，使用 0.1N NaOH 處理種子 15 分鐘後，其發芽率極低，於播種後 7 個月其發芽率只有 0.3%，而

隨著處理時間的增加，其發芽率降至 0%。1% NaOCl 處理種子 15 分鐘後，其發芽率為 9.2% 較未處理之對照組的發芽率 6.2% 佳，但隨著處理時間之拉長，發芽率則下降。

四、液體培養時間對四季蘭種子發芽之影響

液體培養試驗取自授粉後 380 天的種子進行試驗，種子在液體培養基培養 1 星期後移至 1/6 MS 固體培養基，過了 7 個月的培養發芽率為 3.8%，不過此時有較明顯的褐化現象出現，大多呈褐色現象出現在種子吸水膨大及突破種皮前後，就無下一生長階段的進行，組織後來就褐化壞死，而隨著液體培養週數的增加，移到 1/6 MS 固體培養基時，雖有高的發芽率，但是褐化的比例也增加，在液體培養四週後，移至 1/6 MS 固體培養基栽培 7 個月後，其發芽率為 10.6%，而褐化率達到 8.7%(表 4)。

表 1. 培養基中不同巨量元素濃度對四季蘭種子發芽之影響。

Table 1. The effect of major salt concentration of medium on seed germination of *Cymbidium ensifolium* (L) Sw.

Medium	Germination(%) ^y						
	Months after sowing						
	1	2	3	4	5	6	7
1/6MS	0 a ^z	2.9 a	5.3 a	8.5 a	10.5 a	11.4 a	10.9 a
1/8MS	0 a	1.9 ab	2.4 b	4.1 b	5.6 b	6.4 b	6.8 b
1/10MS	0 a	1.5 b	1.7 b	2.7 b	3.6 b	4.3 b	5.6 b

^z Means with the same letter in a column are not significantly different by LSD test at 5% level.

^y The seed maturity is 250 days after pollination, culture duration was 7 months culture.

表 2. 培養基中不同蔗糖濃度對四季蘭種子發芽之影響。

Table 2. The effect of sucrose concentration of medium on seed germination of *Cymbidium ensifolium* (L) Sw.

Sucrose(g/l)	Germination(%) ^y						
	Months after sowing						
	1	2	3	4	5	6	7
20	0.0 a ^z	0.5 a	1.0 a	2.1 a	2.8 a	3.9 a	5.3 a
30	0.1 a	0.5 a	0.7 a	1.4 a	1.9 a	2.3 b	3.4 b
40	0.1 a	0.1 b	0.7 a	1.4 a	2.2 a	2.6 b	3.3 b

^z Means with the same letter in a column are not significantly different by LSD test at 5% level.

^y The seed maturity is 250 days after pollination, culture duration was 7 months culture.

表 3. 不同預措處理對於四季蘭種子發芽之影響。

Table 3. Effect of various seed pretreatments on seed germination of *Cymbidium ensifolium* (L) Sw.

Treatment (min)	Germination(%) ^y		
	1% NaOCl	0.1N NaOH	Ultrasound
0	6.2b ^z	6.2 a	6.2 b
15	9.2 a	0.3 b	15.3 a
30	2.7 c	0 b	13.9 a
45	1.2 c	0 b	14.1 a

^z Means with the same letter in a column are not significantly different by LSD test at 5% level.

^y The seed maturity is 250 days after pollination, culture duration was 7 months culture.

表 4. 液體培養時間對四季蘭種子發芽之影響。

Table 4. Effect of different liquid culture time on seed germination of *Cymbidium ensifolium* (L) Sw.

Liquid culture period	Germination(%) ^y	Browning(%)
1 week	3.8 b ^z	1.7 b
2 weeks	3.8 b	2.8 b
3 weeks	3.3 b	2.7 b
4 weeks	10.6 a	8.7 a

^z Means with the same letter in a column are not significantly different by LSD test at 5% level.

^yThe seed maturity is 380 days after pollination, culture duration was 7 months culture.

討 論

試驗中基本培養基中添加了不同濃度的蔗糖，觀查不同蔗糖濃度對種子發芽的影響。當蔗糖濃度為 30、40 g/l 時，其發芽率較 20 g/l 蔗糖濃度低，分別只有 3.4%及 3.3%(表 3)，可能蔗糖濃度過高而影響到培養基的滲透壓，影響胚的吸水，使種子發芽過程中受到抑制。呂(1988)認為素心蘭種子添加 10 g/l 蔗糖時發芽率最好，當濃度過高時則種子發芽數明顯下降，與本實驗有相類似的結果。林 (2003)也認為播種時蔗糖濃度過高是因為滲透壓太高不利種子發芽。

取授粉後 250 天的蒴果種子，種子播於 1/6 MS 及 1/8 MS 培養基二個月後，其發芽率較 1/10MS 培養基好，而在後續的培養仍以 1/6 MS 培養基的發芽率較好，發芽率達到 10.9%(表 2)。試驗中四季蘭於較低巨量元素濃度對於種子的發芽發芽率較差，推測可能是因為種子發芽對於培養基中巨量元素的需求較高。而呂(1992)與王(1985)則認為素心蘭種子在低鹽濃度的 1/10 MS 及 1/8 MS 培養基就可發芽良好，與本試驗結果相反。

試驗中取授粉天數 250 天的種子進行試驗，觀查到未處理的種子在播種後一個月未觀察到有種子發芽，而使用超音波震盪處理 15 分鐘明顯可提升種子發芽率，在培養 7 個月後其發芽率達到 15.3%(表)，李(1991)與利(1992)使用超音波震盪處理種子，在電子顯微鏡下觀查到超音波震盪可將胚體外之膜狀構造震破，提高發芽率，而隨著震盪的時間愈久，種子則提早發芽，發芽率也較高，本試驗也有類似的結果。試驗中使用 0.1N NaOH 溶液處理種子 15 分鐘後，觀察到其發芽率極低，發芽率只有 0.3%，而隨著處理時間的增加，其發芽率降至 0%。使用 1% NaOCl 溶液處理種子 15 分鐘後，其發芽率為 9.21%較未處理之對照組的發芽率 6.2%佳(表 4)，但處理時間之增長，發芽率則急速下降，此現象推估可能是種子受到傷害。呂(1998)認為超音波是物理性的破壞種皮，而藥劑處理是化學性的，想必化學處理對胚的傷害要比物理處理嚴重得多。化學藥劑處理或是超音波震盪處理除了把種皮破壞之外，另可使種子內發芽抑制物流出，促進種子發芽(Lee *et al.*,2007)。

由於種子內所含的種子抑制物質，如 ABA 會影響種子的發芽，液體培養可以增加通氣性或促進培養液均勻分布或沖淡植物所釋放之有毒物(Arditti,1977)，取授粉後 380 天的蒴果種子以超音波震盪處理 60 分鐘將種子震裂，在液體培養基中培養 1-4 週，隨著液體培養的時間愈長，其發芽率則愈高，但相對的其褐化率也愈高(表 4)，此時，胚大部份為突破種皮不久死亡，或是胚膨大後未突破種皮即褐化。種子因長期浸於液體中使得種皮吸水軟化，胚較易吸水膨大進而突破種皮發芽，但可能是因為授粉後 380 天的種子種皮的抑制或胚外有包覆物使得發芽過程中受抑制而死亡，這可能是影響到種子發芽褐化率增加的原因。

參 考 文 獻

- 王博仁。1981。蕙蘭的無菌播種與器官分化。中央研究院植物研究所專刊第四號。
- 王博仁。1985。中國蕙蘭組織培養器官分化之研究。國科會計畫報告。
- 田梅生、王伏雄、錢南芬、孫安慈。1985。四季蘭種子離體萌發及器官建成的研究。植物學報 27(5): 455-459。
- 李志仁。1991。報歲蘭與素心蘭之開花與無菌播種之研究。國立台灣大學園藝學研究碩士論文。
- 呂依倫。1988。素心蘭與鳳蘭之無菌播種與器官分化。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- 呂依倫、李志仁、李晔。1992。培養基成分對素心蘭種子無菌發芽之影響。中國園藝 38(3): 161-169。
- 利幸貞。1992。一、素心蘭與四季蘭之無菌播種 二、溫度對四季蘭開花之研究。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- 林珈芝。2003。紫背脈葉蘭種子發育與發芽之研究。國立中興大學農藝系碩士論文。
- 魏芳明。1999。台灣地區國蘭產業概況與展望。高雄區農業專訊 27: 10-11。
- 羅英妃。2005。台灣農家要覽－農作篇（二）-增修訂三版 p909-914。財團法人豐年社。台北市。
- Arditti, J.1977.Clonal propagation of orchids by means of tissue culture,a manual. In *Orchid Biology Reviews and Perspectives I*,ed. J. Arditti, pp.202-293.Ithaca and London: Cornell University Press.
- Lee, Y. I.,and N. Lee.2005.Embryo development of *Cypripedium formosanum* in relation to seed germination in vitro.J.Amer. Soc. Hort.Sci. 130(5): 747-753.
- Lee, Y. I., C. F. Lu, M. C. Chung, E. C. Yeung,and N. Lee .2007. Developmental changes in endogenous abscisic acid concentrations and asymbiotic seed germination of terrestrial orchid ,*Calanthe tricarinata* Lindl. J. Amer. Soc.Hort. Sci. 132(2): 246-252.
- Yamazaki, J.,and K. Miyoshi.2006.*In vitro* asymbiotic germination of immature seed and formation of protocorm by *Cephalanthera falcata* (Orchidaceae).Ann.Bot. 98: 1197-1206.

Study on Asymbiotic Seed Germination of *Cymbidium ensifolium* (L) Sw.

Bei-Yu Chang¹⁾ Tsai-Yih Wang²⁾

Key words: Seed germination, Pretreatment

Summary

Asymbiotic seed germination for *Cymbidium ensifolium* (L)Sw. is programs to produce seedling. The seeds of *Cymbidium ensifolium* sowing on 1/6 MS medium, germination percentage of the seeds is 10.9%. The seeds sowing on 20 g/l sucrose medium, germination percentage were 5.3%, but seed germination percentage of medium without sucrose is 0%. The seed of 250 DAP pretreated with ultrasound 45 min. were effective in improving the germination percentage, but seeds pretreated with 1% NaOCl and 0.1 N NaOH may destroy the seeds and resulted in the decline of germination percentage. The seeds of 380 DAP on liquid culture with 4 weeks, germination percentage were 10.6%, but 8.7% seeds were browning.

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

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

芭菲爾鞋蘭無菌培養之建立

黃 慧 宜¹⁾ 朱 建 鏞²⁾

關鍵字: 芭菲爾鞋蘭、初代培養、存活率

摘要：本試驗以芭菲爾鞋蘭雜交種(*Paph. delenatii* × *Paph. armeniacum*)已開過花之分植株營養系苗株作為試驗材料，成功地培養去葉植株之短縮莖，並從腋芽發育小苗。試驗中將培養材料在滅菌前先預處理乾燥 2 週，可提高成功率。而以含 0.1% Tween 20 之 1% 次氯酸鈉溶液震盪滅菌 9 分鐘成活率較高。培養材料以選擇帶葉片 5 片者，成活率較高。另外培養基無生長調節劑者，初代培養之成功率可提高至 66.7%。

前 言

芭菲爾鞋蘭屬(*Paphiopedilum*)內蘭花為杓蘭亞科(Cypripedioideae)內最具經濟價值的作物。芭菲爾鞋蘭於 1989 年被列為華盛頓公約(CITES)附錄一內的物種後，進出口交易嚴格地受政府控制，全面禁止野生植株進行國際商業行為。台灣收集有大量的種源且育種經驗豐富，在芭菲爾鞋蘭市場中有極大的機會。民國 96 年台灣仙履蘭的出口產值約為 3,000 萬新台幣(蔡，2007)。目前商業上繁殖方法是以無菌播種為主。但由於芭菲爾鞋蘭實生苗不整齊，且營養系繁殖苗株的技術仍停留在分株方法，無法大量生產具有優良開花性狀的植株。因此，建立芭菲爾鞋蘭之分生繁殖系統是極迫切的課題。目前對於芭菲爾鞋蘭組織培養之研究大多使用瓶苗為材料(林，1998; 洪，2004; 陳，2000; Kawase, 1995a; Yasugi and Yagi, 1995; Tanaka *et al.*, 1995、1996)，少數採用成熟株的短縮莖與花梗芽做增殖的材料(Huang, 1988; Kawase, 1990、1994、1997; Stewart and Button, 1975)。但芭菲爾鞋蘭的初代培養過程中會面臨滅菌不易與褐化嚴重的問題，因此成功率低。

本文以芭菲爾鞋蘭已開過花之植株短縮莖為培養材料，探討組織培養中芭菲爾鞋蘭培植體污染與褐化的問題，期能建立芭菲爾鞋蘭快速繁殖的方法。

1) 國立中興大學園藝系研究生。

2) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

材 料 與 方 法

一、試驗材料

芭菲爾鞋蘭(*Paphiopedilum delenatii* × *Paphiopedilum armeniacum*)之實生苗，將已開過花的植株，分別以分株法繁殖成營養系，供作試驗材料植株。栽培於台中縣霧峰鄉國立中興大學園藝試驗場之水牆玻璃溫室中，夏天以風扇及水牆降低溫度。植株以 BVB (BVB Substrates, A18016 PEATMOSS 3 P0330168, the Netherlands) 商業介質，種植於 3 吋盆中，每週澆水 1-2 次，每月以含 200 ppm 氮的新百得肥二號(N 20- P₂O₅20- K₂O 20, J.R. Peters, INC., U.S.A.)澆灌 1 次，病蟲害防治則依發生之情形進行防治。

二、試驗方法

初代培養之基本培養基含 2.2 g/l MS 配方(Sigma, USA)、tryptone 5 g/l、馬鈴薯 34 g/l、椰子汁 150 ml/l、活性碳 2 g/l、蔗糖(台糖精緻細砂，台灣) 30 g/l 和 甲 苯 胺(Benzyadenine; BA) 5 mg/l。

馬鈴薯於賣場中購得，於購買當天去皮，切成小塊，秤取 340g 後，再加去離子水至 500 g，以果汁機打成泥狀，分裝成每 50 g 混合物為 1 包冷凍保存備用，即每包內共含有馬鈴薯 34 g。使用時每升培養基中添加 1 包馬鈴薯。椰子汁於賣場中選取數個綠色的新鮮椰子，剖開取汁後，混合所有液體，再分裝成每包 150 ml 冷凍保存備用。使用時每升培養基添加 1 包椰子汁。

上述培養基先調整 pH 值用至 5.3，再加入洋菜(Difco Bacto-agar) 6 g/l，最後培養基經融解後分裝於培養試管中，每試管裝填 10 ml，以 121°C (1.1 kg/cm²)滅菌 20 分鐘。

初代培養共有四個試驗，分別為：

1. 滅菌前處理：包括採樣前植株是否已停止澆水 2 週，以及植株滅菌前一天先除根或滅菌前才除根等共四個處理。植株經去根剝除葉片，再將短縮莖上不清潔的表皮削乾淨，然後置入含 0.1% Tween 20 之 1% 次氯酸鈉溶液中手搖震盪滅菌 9 分鐘，再以無菌水沖洗 10 次以上，至莖塊上無泡沫後，放入試管中培養。
2. 滅菌時間試驗：浸漬於含 0.1% Tween 20 之 1% 次氯酸鈉溶液的時間分別為 4.5、9 或 18 分鐘，計 3 個處理。
3. 培養基中 BA 的濃度：分別調整為 0 或 5 ppm，其餘成分同基本培養基。
4. 培養材料大小：培養的材料分別取自具有 5、6 和 7 片葉的植株之短縮莖塊。

上述初代培養的試驗選用長度大於 0.3 cm 且具有 3 個芽以上之莖塊培植體。培植體接種後，先放在暗處培養 3 週至芽體突出後，再置於以冷白螢光燈(FL40D/38，旭光，台灣)提供 1800 lux 的光照下，每日照光 16 小時的培養架上培養。培養室溫度為 25±2°C。培養 1 個月後，記錄其污染率、褐化率與存活率。

試驗採用完全隨機設計(completely randomized design)。每一容器視為 1 重複，每處理皆進行 3 重複，使用 CoStat 6.1 (CoHort software, Minneapolis, USA)軟體，以 ANOVA 判別顯著性並進行 Duncan 氏多變域分析(p=0.05)。

結 果

一、初代培養

(一) 滅菌前處理

在所有前處理試驗，汙染率皆有 60% 以上(圖 1)。前處理為未經乾燥 2 週且及去除根再乾燥一天者(R)，汙染率最高，達 85%。乾燥 2 週後且滅菌前一天先行去根者(DR)，存活率最高，可達 30%，汙染率降至 63.56%，為最佳的前處理方式。雖然，乾燥 2 週且滅菌前再去根者(D)的處理成功率有 23%，但相較於 DR 處理而言，汙染率仍高出約 14%。然而 D 處理的褐化率為 0%，為所有處理產生最低褐化率者。比較有或無乾燥 2 週之處理方式可發現，有乾燥 2 週者之存活率皆高於沒有乾燥的處理。而去根時間對於兩者之間未有明顯地差異。

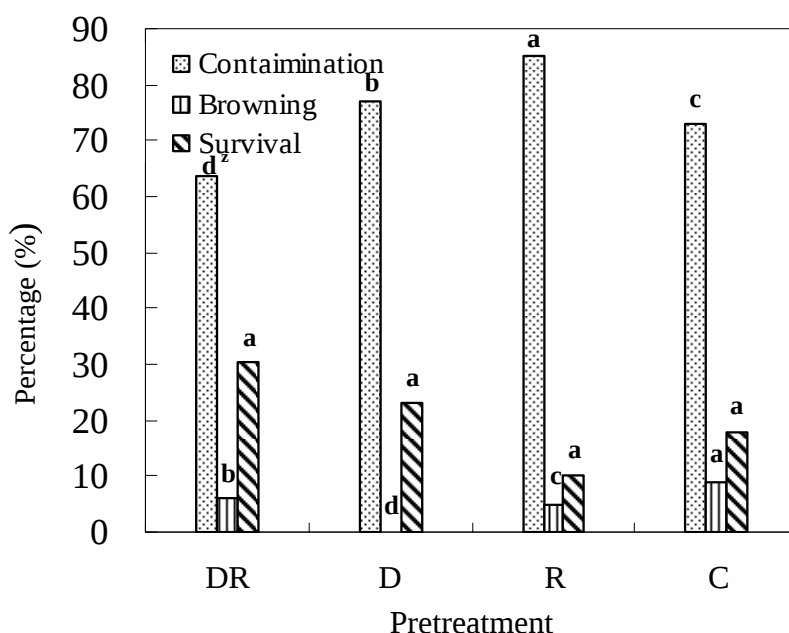


圖 1. 前處理對芭菲爾鞋蘭(*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*)初代培養的影響。

DR:乾燥 2 週後，去根後再乾燥 1 天。D:乾燥 2 週。

R:不乾燥，取下後去根再乾燥 1 天。C: 不乾燥。

z:相同字母者表示經 Duncan's 多變域分析後沒有顯著差異

Fig. 1. Effect of different pretreatments on explant survival rate, browning rate, and contamination rate in initial culture of *Paphiopedilum* (*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*).

DR:dry 2 weeks and exsiced root then day for 1 day. D: dry 2 weeks only.

R: exsiced root and dry for 1 day. C: without pretreatment.

z: Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple test at 5% level.

(二) 滅菌時間

以含有 0.01% Tween 20 之 1% NaOCl 分別滅菌 4.5、9 或 18 分鐘，發現滅菌 4.5 分鐘者污染率最高，達 70%，滅菌 18 分鐘者存活率為 20%(圖 2)。存活率最佳之處理為震盪滅菌 9 分鐘的處理，有 40%的成功率。至於褐化率則以震盪處理 18 分鐘，褐化率最高(70%)。隨著滅菌時間減少，褐化率也有減少的現象。震盪滅菌 4.5 分鐘後，褐化率更只有 20%。因此，整體看來芭菲爾鞋蘭短縮莖培植體最適合滅菌之時間應是以含有 0.01% Tween 20 之 1% NaOCl 震盪處理 9 分鐘。

(三) 培養材料的大小

以 5 片葉的植株作為培植體時，存活率可達 55%(圖 3)，為最佳處理，若用 6 片葉或 7 片葉時，存活率分別是 43%或 12%。在此顯示培養材料之大小對於初代培養之存活率有相關，隨著葉片數的增加，存活率會有減少的現象。材料來自 7 片葉的植株存活率皆會低於 6 片葉的植株。而從初代培養後所發生的褐化反應發現，使用 5 或 6 片葉的芭菲爾鞋蘭植株進行初代培養時，褐化率為 0%。但若選用 7 片葉的植株時，褐化率則有 37%。隨著葉片數之增加，褐化率亦會有增加的情形產生。至於 3 種處理之污染率間並無明顯地差異產生，約在 45%~60%之間。

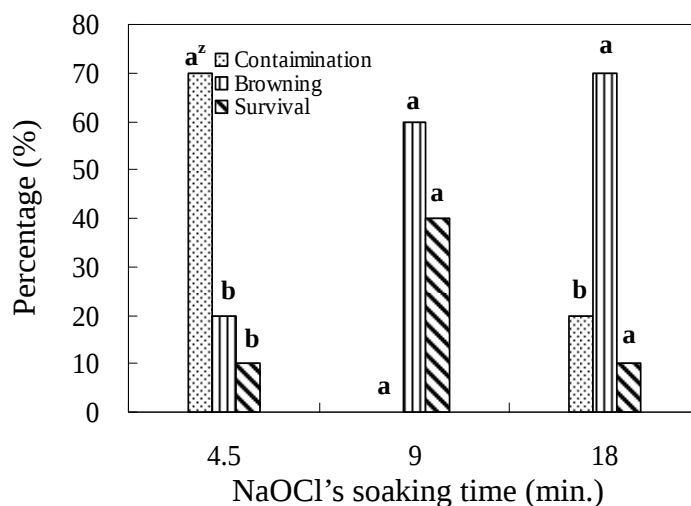


圖 2. 浸漬 1% NaOCl 對芭菲爾鞋蘭(*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*)初代培養的影響。

z:相同字母者表示經 Duncan's 多變域分析後沒有顯著差異

Fig. 2. Effect of time in 1% NaOCl on explant survival rate, browning rate, and contamination rate in initial culture of Paphiopedilum (*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*).

z: Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple test at 5% level.

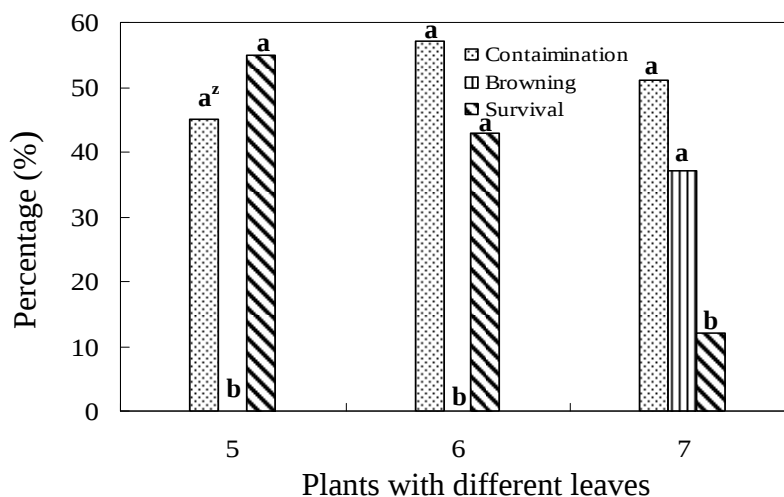


圖 3. 芭菲爾鞋蘭(*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*)植體大小對初代培養之影響。

z:相同字母者表示經 Duncan's 多變域分析後沒有顯著差異

Fig. 3. Effect of different number of leaf on explant survival rate, browning rate, and contamination rate in initial culture of Paphiopedilum (*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*).

z: Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple test at 5% level.

(四) BA 對初代培養的影響

初代培養中有無添加 5 ppm BA 對於選用 7 片葉植株的短縮莖培植體而言，有顯著性的差異。沒有添加 BA 者的成功率是 56.67% 比有添加者(12.33%)高。至於若選用 6 片葉植株之短縮莖培養，發現雖然培養基中有無添加 BA 對成功率而言沒有顯著性差異，但沒有添加 BA 的處理之成功率為 66.67%，仍比有添加者的成功率(43%)高，且沒有添加 5 ppm BA 的 6 片葉處理之成功率較高，為所有處理中較佳的處理(圖 4)。

在所有初代培養試驗中，暗室培養 3 週後，培植體才約有白色芽體突起(圖 5A)。待有芽體形成時，移出暗室照光培養約 1 個月後，才有淺綠色的展開葉形成(圖 5B)。芭菲爾鞋蘭植株之芽體存在於葉基部內側，且一葉基位置只會有一個腋芽，莖塊經培養之後，大部份腋芽只長一個新芽，僅少數腋芽有分化形成多芽的情形出現(圖 5C 和 D)。

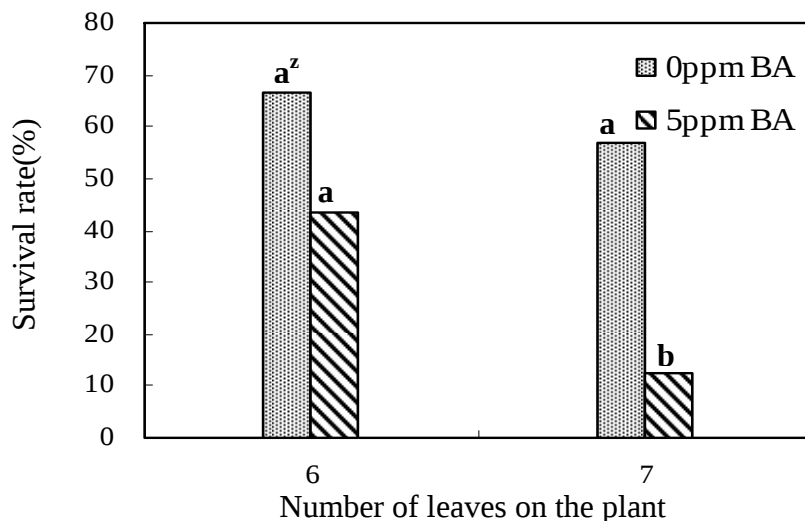


圖 4. BA 和植體大小對芭菲爾鞋蘭(*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*)初代培養的影響。

z:相同字母者表示經 Duncan's 多變域分析後沒有顯著差異

Fig. 4. Effect of BA and the numbe of leaves on explant survival rate in initial culture of Paphiopedilum (*Paph. delenatii*×*Paph. aremniacum*).

z: Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple test at 5% level.

討 論

對於芭菲爾鞋蘭組織培養而言，滅菌處理是重要的影響因子。Stewart and Button(1975)進行芭菲爾鞋蘭之組織培養時，初代培養的成功率為 23%。本試驗中先將材料斷水處理 2 週且又在滅菌前一天去除根者的成功率有 30%(圖 1)，即斷水處理可降低汙染率，此結果與蕭(2002)的研究相似。利用刀片削去不清潔的表面雖然可以提高成功率，但汙染率仍有 60%以上(圖 1)。

芭菲爾鞋蘭初代培養之褐化反應會因滅菌之時間與次數以及培養材料大小而有不同的影響。本試驗中，以含 0.1% Tween 20 之 1%次氯酸鈉溶液震盪滅菌 9 分鐘的效果最好，成功率有 40%，且沒有汙染產生，但褐化率則為滅菌 4.5 分鐘者之 3 倍。隨著滅菌時間之增加，褐化率也會隨之增加(圖 2)。此也與李(1995)試驗結果一致。即滅菌時間太長會造成銀葉桉培植體褐化死亡。

從結果中得知以 6 片葉植株作為培植體之成功率較 7 片葉植株者高(圖 4)。以具有 5、6 或 7 片葉之植株作為培植體之材料，則會發現 5 或 6 片葉的植株並不會產生褐化反應(圖 3)。Durand-Cresswell (1977)試驗結果顯示採用活性較佳的幼年培植體可以減少桉樹的

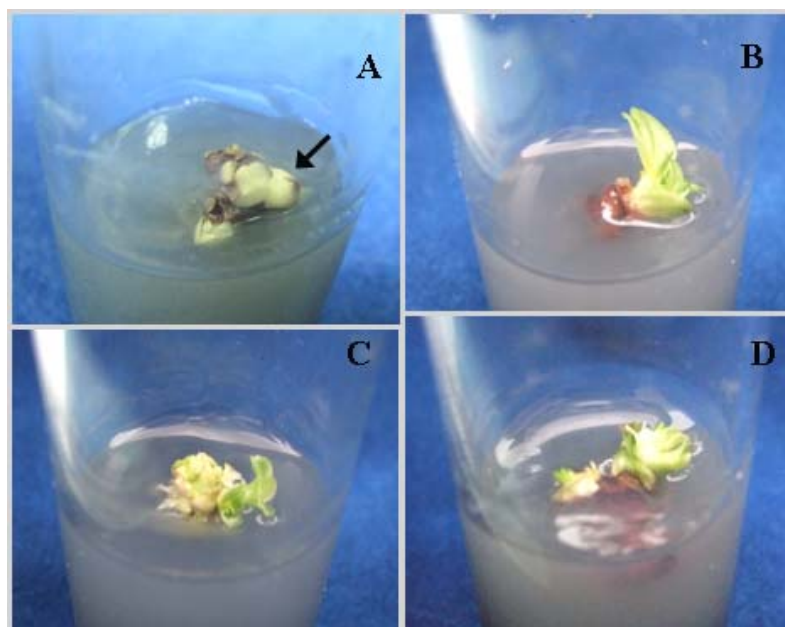


圖 5. 芭菲爾鞋蘭(*Paph. delenatii* × *Paph. aremniacum*)短縮莖初代培養在基本培養基之芽體生長狀況(A)白色芽體突起 (B)照光培養 1 個月 (C) (D)多芽之形成

Fig. 5. The growth of *Paphiopedilum* (*Paph. delenatii* × *Paph. aremniacum*) stem explant on the basic medium of initial culture.(A) Whiten bud sprouted.(B) Leaf growth after lighting for 1 month.(C) (D) Multiple shoots from explant.

褐化反應，然在本試驗中發現初代培養較佳的材料為發育有 5 片葉的植株。Warrag *et al.*(1990)將 *Eucalyptus grandis* hybrid 莖段培養在不含生長調節劑的培養基中，暗室培養 5 天後，可減少酚類化合物之形成且降低其對培植體生長之影響。當培植體培養在不含 BA 之初代培養基時，初代培養之成功率會優於培養在含 BA 5 mg/l 之培養基者(圖 3)。在初代培養的過程中發現，當培植體較小時，褐化情形會越嚴重。所以在進行初代培養預備試驗時，切取 2~5 mm 之莖頂培養皆有褐化之情形。此結果亦與 Yasgi and Yagi(1995)之研究相似。因此在進行芭菲爾鞋蘭之微體繁殖時，建議所選取的培植體體積越大越好，以避免嚴重的褐化反應產生。

參 考 文 獻

- 李秋梅. 1995. 銀葉桉微體繁殖之研究. 碩士論文. 國立中興大學園藝研究所. 107pp.
- 蔡瑜卿. 2007. 仙履蘭種苗出口現況. 仙履蘭產品發展座談會書面資料. p.8-15.
- 林永浩. 1998. 芭菲爾鞋蘭與石斛蘭之組織培養. 碩士論文. 中國文化大學生物科技研究所. p.20-30.
- 洪寶瑩. 2004. 芭菲爾鞋蘭、文心蘭、軛瓣蘭及堇蜘蛛蘭之微體繁殖. 碩士論文. 國立台灣大學園藝研究所. p.5-12
- 陳婷玉. 2000. 六種芭菲爾鞋蘭之組織培養. 碩士論文. 國立台灣大學園藝研究所. 55pp.
- 蕭伊芸. 2002. 乳羅黛粉葉誘變種之微體繁殖與再誘變. 碩士論文. 國立中興大學園藝所. 61pp.
- Duran-Cresswell, R. and C. Nitsch. 1977. Factors influcing the regeneration of *Eucalyptus grandis* by organ culture. Acta Hort. 78:149-155.
- Huang, L.C. 1988. A procedure for asexual multiplication of paphiopedilums in vitro. Amer. Orchid Soc. Bull. 57 : 274-278.
- Kawase, K. 1990. Clonal propagation of paphiopedilum by tissue culture.
3. Effect of flower age on PLB formation and vegetative growth of undeveloped buds. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 59(Suppl. 2):666-667.
- Kawase, K. 1994. Clonal propagation of paphiopedilum by tissue culture.
4. Formation and culture of knot-like-tissues and shoots from ovaries and flower stalks. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 63(Suppl. 2):514-515.
- Kawase, K. 1995a. Induction of embryoids in shoot apex culture of *Paphiopedilum*. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 64(Suppl. 2):52-53.
- Kawase, K. 1995. Inflorescence culture in species of *Paphiopedilum*. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 66(Suppl. 1):512-513.
- Kawase, K. 1997. Inflorescence culture in species of *Paphiopedilum*. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 66(Suppl. 1):512-513.
- Stewart, J. and J. Button. 1975. Tissue culture studies in paphiopedilum. Amer. Orchid Soc. Bull. 44:591-599.
- Tanaka, M., M. Tsutsui, E. Ohno, T.S. Zhou, and T. Takamura. 1995. Micropropagation of *Paphiopedilum*. 1. Plantlet formation in cultured transverse thin sections from seedlings grown in vitro. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 64(Suppl. 2):596-597.
- Tanaka, M., E. Ohno, T. Takamura, and T.S. Zhou. 1996. Micropropagation of *Paphiopedilum*. 2. Induction of plantlets as the TTS sources from cultured terminal buds of flower stalks. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 65(Suppl. 2):630-631.

- Warrag, E. I., M. S. Lesney, and D. L. Rockwood. 1990. Microproagation of field tested superior *Eucalyptus grandis* hybrid. *New Forests* 4:67-79.
- Yasugi, S. and N. Yagi. 1995. Mericlinal plantlet formation in *Paphiopedilum* by shoot tip culture. 1. Some effecting factors on shoot and root formation. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 64(Suppl. 1):516-517.

The Establishment of *Paphiopedilum in Vitro*.

Hui-I Huang¹⁾ Chien-Young Chu²⁾

Key words: *Paphiopedilum*, Initial culture, Survival rate

Summary

The clonal plants of blossomed *Paphiopedilum* (*Paph. delenatii* × *Paph. armeniacum*) hybrids propagated by division were used as materials for initial culture. It succeeded to develop lateral shoots from the stem explants. When the material drought for two weeks before culture, the survival rate increased. To sterile by 10% NaOCl with 0.1% Tween 20 for 9 minutes resulted in higher survival rate. Also, material with five leaves resulted in higher survival rate. Moreover, explants cultured on hormone free medium enhanced the survival rate to 66.7%.

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

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

化學藥劑處理對蝴蝶蘭 *Phalaenopsis* I-Hsin Cream ‘KHM246’裸根苗貯運後品質之影響

秦子媛¹⁾ 林瑞松²⁾

關鍵字：蝴蝶蘭、保溼劑、裸根貯運

摘要：本實驗目的主要探討蝴蝶蘭在裸根貯運過程中，根部失水造成之生理影響，嘗試使用目前廣泛應用在化妝品工業中三種不同類型之保濕物質，分別為乳化油、蔗糖酯及凝膠劑，於貯運前將根部浸漬處理，並搭配甘油、山梨糖醇兩種具調節組織滲透之化學藥劑，期減輕失水逆境，使貯運植株受損情形降低，到貨後迅速恢復根部生長活力。實驗結果顯示添加 2.0%甘油凝膠劑處理於復種 1 週、2 週之葉綠素維持狀況最佳。復種後 1.5%山梨糖醇凝膠劑及 2.0%甘油凝膠劑處理之根部活力與新根生長狀況較佳，並於復種後較早抽花梗，對照組無論在根部活力或下位葉黃化皆為最差，顯示施用保濕藥劑提高根部活力能減少葉片黃化並使植株提早恢復生育。但較高濃度之山梨糖醇與甘油處理可能對植株造成滲透逆境，造成負擔而無法達到保濕之效果。

前 言

自開放附帶介質之蝴蝶蘭植株輸美後，部份大宗外銷之業者已嘗試海運帶介質盆株獲得成功，但目前部分業者仍有交易量少、快速送達需求，急需利用空運時裸根蝴蝶蘭的商業貿易需要，因此在未能有更新的解決方法與研究之前，了解裸根後所造成之影響，降低逆境生理以提高復種後之活力與生育速率有其一定重要性。蝴蝶蘭的裸根運輸從集貨、運輸路程至領貨完成可長達 6~8 天，到達目的地後，開箱取出苗株必須重新以新介質種植，植株需經過一到二個月的適應期始能恢復生長，這些繁雜的處理手續不但增加了業者的成

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。

本，更影響苗株育成率、溫室周轉率及開花品質(陳，2005)。在途中由於蝴蝶蘭包裝貯運在黑暗環境約 3~4 天，對蝴蝶蘭植株已造成傷害。常因裸根使得根部失水，經種植後根部失去功能而敗壞，使生長勢減弱。並於外觀上明顯可見復水後下位葉有黃化現象(林，2004)。若於後續栽培不當，常使得花梗明顯細小、花朵數少以及開花延期等現象發生。

許多農產品使用各種不同類型的包裝或被膜方式來降低運輸過程中無法避免的損害，蔬菜種苗在貯運中也不乏使用抗蒸散劑等來保護幼苗，而花卉種苗如蝴蝶蘭等高經濟價值之作物也應具有開發商業型藥劑之必要性。

山梨糖醇是高等植物中發現的醣醛，和甘露醇及肌醇都屬於多元醇，因含多個羥基，親水性強，能有效的維持細胞膨壓(楊等，2006)。甘油在生物上扮演相當重要的胞質滲透壓調節物質，其特色是具有高度水溶性、不帶電荷且存在於細胞質中。研究指出藻類在高光、高鹽分、極端溫度等不適合生長的環境下會快速累積甘油來應對(Phadwal, 2003; Amotz, 1983)。

本實驗中欲由乳化油、蔗糖酯及凝膠劑三種類型保溼劑中篩選出適用於蝴蝶蘭苗根部之配方，其次搭配甘油、山梨糖醇兩種具調節組織滲透之化學藥劑，於貯運前以根部浸漬處理方式，了解根部保溼處理是否能減輕裸根貯運苗葉片黃化的發生，是否能維持根部活力，以利進苗株到貨後能早進行後續生育流程。

材 料 與 方 法

一、植物材料及栽培方式

試驗材料來源為一心生物科技公司(嘉義縣大林鎮)，蝴蝶蘭大白花系 *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream 'KHM 246'。植株選擇不帶花梗 10.6 公分軟盆外銷規格成株苗，具有 6-7 片葉，雙葉幅約 23 公分，以水苔為栽培介質。種植之植株每十天澆水一次，並使用 20 N-20 P₂O₅-20 K₂O 比例之 Peters (Scotts Fertilizer, Marysville, OH, USA) 肥料 1000 mg/L，每二十天配合澆水施肥一次。

植株放置於走入式冷藏庫進行模擬貯運 7 日，環境溫度控制在 18 ± 1 °C，相對溼度未加控制，全日無光照環境。

二、藥劑配方

(一)凝膠(Gel)：加入 2% 卡波姆粉劑溶於 940 ml 水中製成膠體基質，膠體基質佔凝膠之 5%，1 公斤膠體內含 50g 膠體基質，其餘為水及水相溶解物質(如：甘油、山梨糖醇等)。利用均質機以 6000rpm 將膠體基質與水相混合均勻，當中並加入 0.1% TEA (Triethanolamine, 三乙醇胺)中和劑調整為適當濃稠度。

(二)蔗糖酯(Sugar ester, RYOTO)：取 50g 蔗糖酯加熱攪拌溶解，再加入預先混合均勻之水相(水+水相溶解物)，利用均質機 3000rpm-4500rpm 混合均勻。

(三)乳化油(Emulsive oil)：取鯊烯(Squalen)50g、介面活性劑 Spin80 20g 為油相，乳化油中水相佔 80%，成份為 30g Tween80 溶液及水與水相溶解物，將油水兩相分開加熱至 80 度 C，之後以 3000rpm 速度將水相緩緩加入油相，混合均勻時呈半透明狀之乳白色液體。
(四)藥劑濃度：各藥劑之重量百分濃度分別為海藻糖 5%、山梨糖醇 3%及甘油 2%。將各組裸根之蝴蝶蘭根部完全浸漬於以上三種保濕基底物質 20 分鐘，對照組為浸漬蒸餾水 20 分鐘，置於室溫下晾乾 1~2 日後進行模擬貯運。

出庫後一半植株分析其外觀、上下位葉之葉綠素含量、根部活性、鮮重之變化。另一半植株出庫後復種七天、十四天後觀察葉片外觀並分析葉綠素、根部活性及鮮重變化。對照組為根部浸漬於蒸餾水中 20 分鐘，每處理組 4 重複，每重複 3 株。

三、分析方法

(一)葉綠素含量分析

1.破壞性調查

取自蝴蝶蘭植株由上數來第二片葉及下位葉避開葉脈中肋之中段部位樣本共六個葉圓片，葉圓片以直徑 1 公分之打洞器取下，稱重之後將葉圓片放入 10 ml 萃取液(80 % acetone 及 20 % methanol 混合液)中，置於室溫無光下 24 小時。將混合均勻之萃取液以分光光度計(Hitachi UV-2001) 以 645 nm、652 nm、663 nm 波長下測量吸收值，並利用下列公式計算單位葉重內葉綠素 a、b 及總葉素含量。

$$\text{Chl a(mg/g)} = (12.7A_{663} - 2.69A_{645}) \times V / 1000 / W$$

$$\text{Chl b(mg/g)} = (12.7A_{645} - 2.69A_{663}) \times V / 1000 / W$$

$$\text{Total Chl (mg/g)} = (A_{652} \times 1000 / 34.5) \times V / 1000 / W$$

V:葉綠素 80 % acetone 及 20 % methanol 萃取液之總體積(ml)

W:葉片組織鮮重量(g)

2.非破壞性調查

參考前人以葉綠素計(Chlorophyll Meter)之非破壞性方式偵測葉綠素變化(Madeira et al, 2003; 許等,2004; 簡等,2004)，並以葉綠素計測得之 SPAD(soil plant analysis Development)值來計算葉綠素之相對含量。實驗進行前先將 SPAD 值與比色定量分析法之葉綠素含量做線性迴歸，結果顯示總葉綠素含量及葉綠素 a 之回歸係數(R²)呈現相關。

(二) 根部活性

模擬貯運之蝴蝶蘭植株出庫後、復種 7 日及復種 14 日時進行取樣。取樣部位為植物根尖部分 1 公分之組織約 1g，秤重後將其完全浸於 0.6%之 TTC 試劑 (Triphenyl tetrazolium chloride、0.05M Na₂HPO₄、0.05M KH₂PO₄ buffer, pH7.4) 中，試管外以鋁箔紙完全覆蓋，於室溫無光環境下靜置 20 小時。之後以蒸餾水沖洗組織 3 次，洗淨並將多餘水分擦拭掉，將組織放入新試管中，並加入 20ml 95%酒精，以 78℃水浴槽熱浴 20 分鐘。將酒精定量至 20ml 待冷卻後，利用分光光度計 (U-2001, HITACHI, Japan) 測定萃取液於 480nm 波長下之吸光值，以計算單位鮮重之吸光值。

結 果

一、 裸根蝴蝶蘭使用不同保濕基底物質處理後對根部外觀之影響

凝膠劑呈透明稠狀(圖 1 左)能全面包覆於蝴蝶蘭根部，厚度約 0.2~0.3 公分，置於室溫下 1-2 日內乾燥完成，乾燥後根部表面即回復原狀。蔗糖酯之質地為較黏之乳狀物，浸漬後的蝴蝶蘭根部出現較不均勻的白色附著區塊，室溫下 1 日內可乾燥完成，但仍可見白色的蔗糖酯明顯附著於表面(圖 1 右)，新根及根尖在陰乾後仍維持原狀，但少部分浸漬部位出現發霉現象。乳化油為半透明液態質地(圖 2 左)，大白花蝴蝶蘭根部以乳化油浸漬後，室溫下約 1 日內即可完成陰乾，但根部表面出現許多縱紋，新分化的根尖也產生不可回復之脫水、皺縮現象(圖 2 右)。

二、 裸根蝴蝶蘭使用不同種類保濕藥劑處理後對外觀及生理之影響

依上述實驗結果選用凝膠(G)與蔗糖酯(SE)兩種基底，分別添加入 5%海藻糖(G-Tre、SE-Tre)、3%山梨糖醇(G-Sor、SE-Sor)及 2%甘油(G-Gly、SE-Gly)三種不同之保濕藥劑後，將裸根蝴蝶蘭‘KHM246’浸漬並待其陰乾後進行模擬貯運 7 日，出庫後復種於溫室一週。

(一)外觀變化

對照組出庫後大部分原具活力之根尖呈現輕微皺縮或木質化(圖 3 左)。G-Sor 組在出庫後根部出現嚴重的乾扁皺縮(圖 3 中)，可能是 3%山梨糖醇對根部造成了滲透逆境。G-Tre、SE-Tre 兩組於成熟且木質化程度高之根部區域，其外觀與入庫前相似，但部分新分化的根尖呈現微紅且輕微皺縮的現象(圖 3 右)。使用甘油處理之組別，根尖完整無失水或褐化跡象，木質部區段的根部也無皺縮情形。



圖 1. (左)為凝膠劑外觀，(中)為蝴蝶蘭種苗根部浸漬凝膠劑後待乾之情形，(右)為蔗糖酯陰乾後根部外觀。

Fig 1. Appearance of gel base used in this study (left). After soaking the root of *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ seedling into gel base (middle), Appearance of the root with sugar ester already dried. The plantlets will be placed in room and until it completely dry (right).



圖 2. (左)為乳化油外觀，(右)為蝴蝶蘭根部處理乳化油 1 日後根部外觀。

Fig 2. Appearance of emulsion oil base used in this study (left). Appearance of the root treated with emulsion oil after one day (right).



圖 3. 浸漬保溼劑之蝴蝶蘭 7 日模擬貯運後根部外觀 (左)對照組 (中) 山梨糖醇+凝膠組 (右) 海藻糖+蔗糖酯組。

Fig 3. Root appearance of control (left)、Gel-sorbitol (middle) and SE-Trehalose (right) treatment with *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream 'KHM 246' after 1 week simulated transportation.

(二)葉綠素含量之變化

以葉綠素計(SPAD)非破壞性方式調查各組下位葉之葉綠素變化(表 1)，出庫後各組之外觀及測量讀值並無顯著差異，但經過一週的復種後，對照組的下位葉產生明顯的黃化皺縮及掉葉，葉綠素讀值大幅下降至 2.87。其次是 SE-Tre 組(12.8)，G-Tre(16.57)，G-Sor(17.27)，等組別也出現部份植株下位葉黃化之情形。G-Gly(53.8)經過復種後下位葉葉綠素微幅上升。破壞性葉綠素調查結果也有相同趨勢(數據未顯示)。

表 1. *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ 蝴蝶蘭裸根苗處理不同保濕藥劑於貯運前、貯運後及復種一週後葉綠素計測得之下位葉讀值。

Table 1. Effect of different chemical treatments on SPAD values of the lowest leaf of *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ in pre-storage、after 7 days simulated transport and 1 week re-growth in the greenhouse.

Treatments	SPAD values		
	Pre-storage	Post-storage	Re-plant
CK	35.90 a ^z	36.37 a	2.87 c
Gel-Sor	33.10 a	35.77 a	17.27 bc
Gel-Tre	32.10 a	29.77 a	16.57 bc
Gel-Gly	39.80 a	49.57 a	53.80 a
SE-Sor	35.57 a	29.77 a	40.67 ab
SE-Tre	23.80 a	36.63 a	12.80 bc
SE-Gly	32.67 a	31.27 a	32.47 abc

z: Mean within columns by different lowercase letters were significantly by Duncan’s multiple range test, 5% level.

(三)根部活力變化

蝴蝶蘭種苗‘KHM246’處理不同保濕藥劑出庫後的根部活力的部份(圖 4)，以 G-Sor 最低(0.41 O.D/g)，SE-Tre 0.63 O.D/g 也略低於對照組的 0.83 O.D/g，處理甘油的組別根部活力最佳，分別是 SE-Gly 1.13 O.D/g 及 G-Gly 0.99 O.D/g。根部施用山梨糖醇在出庫後出現了皺縮情形，可能是對根部造成了傷害，在根部活性測定這部份數據也得到了印證。

經過一週的復種後對照組的根部活性並未上升，但其餘處理組皆有顯著的增加。添加山梨糖醇的組別出庫時活力雖然較低，卻在復種一週後快速恢復根部活力，G-Sor 組由 0.41 O.D/g 上升至 1.57 O.D/g，SE-Sor 組由 0.86 O.D/g 上升至 1.74 O.D/g。而 SE-Tre 自出庫時 0.63 O.D/g 增至 1.70 O.D/g，其餘組別經過復種一週後的根部活力介於 1.3 到 1.5 O.D/g 之間。

結果顯示無論是凝膠或酯類之基底物質，添加山梨糖醇與甘油的處理對於延緩下位葉之黃化均有幫助。基於衡量凝膠與蔗糖酯兩者在成本與使用上便利性之差異，選用凝膠添加山梨糖醇及甘油兩種藥劑來進行後續實驗。

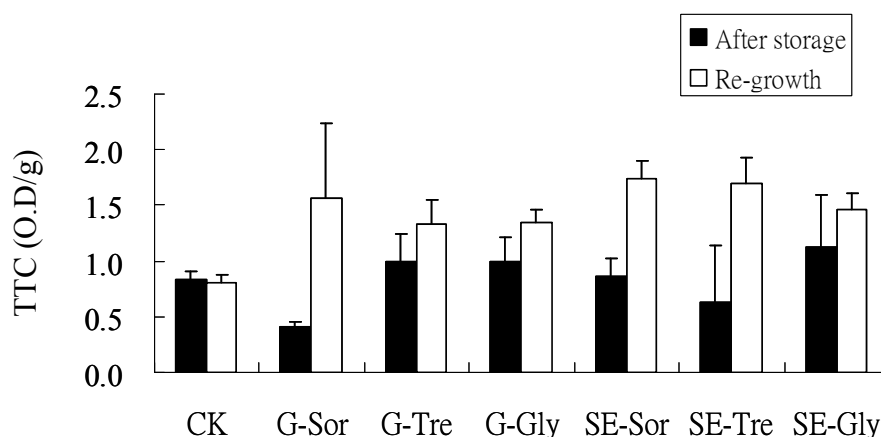


圖 4. 根部浸漬不同保濕藥劑之 *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream 'KHM 246' 進行模擬貯運，於出庫及復種一週後之根部 TTC 活力。

Fig 4. Effect of different chemical treatments on root activity (TTC) of bare-root *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream 'KHM 246' after 7 days simulated transportation and 1 week re-growth in the greenhouse.(CK,control ; G-Sor,gel+sorbitol ; G-Gly,gel+glycerol ; SE-Sor,sugar ester+sorbitol ; SE-Tre,sugar ester+trehalose ; SE-Gly,sugar ester+glycerol)

三、不同濃度保濕藥劑處理對裸根蝴蝶蘭生理之影響

蝴蝶蘭種苗 'KHM246' 裸根後浸漬以下不同濃度之保溼劑，1.5%山梨糖醇凝膠 (Gel-Sor 1.5%)、3.0%山梨糖醇凝膠 (Gel-Sor 3.0%)、2.0%甘油凝膠 (Gel-Gly 2.0%)、4% 甘油凝膠 (Gel-Gly 4.0%)。出庫後進行外觀調查，山梨糖醇濃度降至 1.5% 時根部外觀完整，顯示根部的皺縮為藥劑濃度所造成。而甘油處理組增加至 4%後仍未出現根部傷害的問題。

(一)葉綠素含量之變化

蝴蝶蘭種苗經裸根貯運後下位葉有明顯的黃化現象，以對照組最為嚴重，至復種 7 日後，下位葉皆已黃化掉落，其他組別也有觀察到部份落葉的現象，藥劑濃度較高的組別，如 G-Sor 3.0%及 G-Gly 4.0%發生黃化落葉的情形較多，顯示高濃度的藥劑未必能達到更好的保護效果。

蝴蝶蘭種苗經裸根貯運後下位葉有明顯的黃化現象，以對照組最為嚴重，至復種 7 日後，下位葉皆已黃化掉落，其他組別也有觀察到部份落葉的現象，藥劑濃度較高的組別，如 G-Sor 3.0%及 G-Gly 4.0%發生黃化落葉的情形較多，顯示高濃度的藥劑未必能達到更好的保護效果。

以葉綠素計測量出庫後各組下位葉之 SPAD 值(表 2)，G-Sor 3.0 (40.79) 略高於 G-Sor

1.5% (36.15)、G-Gly2.0%(32.78)。但高濃度甘油處理(G-Gly4.0%) 與對照組皆顯現下位葉快速黃化，由 SPAD 值(分別為 30.4 與 27.60)也可印證。復種一週時 G-Gly 2.0%與 G-Sor 1.5%兩低濃度組別下位葉呈現較快速的回復能力，G-Sor 3.0%則出現黃化，甘油 2.0%和山梨糖醇 3.0%的結果與試驗二破壞性葉綠素含量分析結果類似；而另外兩組因下位葉掉落株數多不列入採計。復種兩週後的下位葉葉綠素含量分析中，除了 G-Gly 2.0%為原採樣下位葉片外，其他組別原採樣葉片皆已黃化掉落，因此利用採樣植株仍存在於最下方之葉片來比較各組黃化情形是否繼續延伸(表 3)。結果顯示無論是葉綠素 a、b 或總葉綠素含量各組皆相同，可能植株貯運逆境後歷經兩週的復種已恢復生長活力，因此下位葉的黃化、掉葉之情形獲得改善。

上位葉片的葉綠素結果同試驗二(表 4)，在出庫及復種一週時各組無顯著差異，直至復種兩週後上位葉葉綠素含量分析才出現較明顯的變化，可能因上位在貯運逆境中並非直接受影響的部位，而是復種期間植株生育恢復狀況不佳而導致上位葉的生育受到阻礙。G-Gly 2.0% 總葉綠素含量 0.62 mg/g FW，葉綠素 a 含量 0.37 mg/g FW 是各處理組中最佳者，總葉綠素與葉綠素 a 的趨勢相同，G-Gly 4.0% (0.55 mg/g FW)次之，G-Sor 1.5% (0.41 mg/g FW)與 G-Sor 3.0%(0.38 mg/g FW) 差異不顯著，對照組 0.30 mg/g FW 最低。

表 2. *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’處理山梨糖醇或甘油對於出庫與復種一週後下位葉 SPAD 值之影響。

Table 2. Using sorbitol or glycerol gel on *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ affects SPAD values of the lowest leaf after simulated transport and 1week re-plant in the greenhouse.

Treatment	SPAD values		
	Pre-storage	Post-storage	Re-plant
G-Sor 1.5%	39.31 b ^z	36.15 ab	41.6 b
G-Sor 3.0%	43.49 a	40.79 a	27.9 c
G-Gly 2.0%	36.41 b	32.78 ab	47.1 a
G-Gly 4.0%	36.26 b	30.40 b	-- ^y
CK	35.56 b	27.60 b	--

z :Mean within columns by different lowercase letters were significantly by Duncan’s multiple range test,5% level.

^y: Samples are not sufficient because of dropping leaf.

表 3. *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’裸根苗處理山梨糖醇或甘油於復種兩週後下位葉葉綠素含量。

Table 3. Effect of sorbitol or glycerol treatments on chlorophyll content of the lowest leaf of *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ after 2 weeks re-growth in the greenhouse.

Treatment	Chl a. (mg/g FW)	Chl b. (mg/g FW)	Total Chl. (mg/g FW)
G-Sor 1.5%	0.16 a ^z	0.04 a	0.25 a
G-Sor 3.0%	0.29 a	0.08 a	0.47 a
G-Gly 2.0%	0.23 a	0.07 a	0.37 a
G-Gly4.0%	0.16 a	0.05 a	0.26 a
CK	0.20 a	0.04 a	0.33 a

z :Mean within columns by different lowercase letters were significantly by Duncan’s multiple range test,5% level.

表 4. *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’裸根苗處理山梨糖醇或甘油於復種兩週後上位葉葉綠素含量。

Table 4. Effect of sorbitol or glycerol treatments on chlorophyll content of the second leaf from upper of *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ after 2 weeks re-plant in the greenhouse.

Treatment	Chl a. (mg/g FW)	Chl b. (mg/g FW)	Total Chl. (mg/g FW)
G-Sor 1.5%	0.25 bc z	0.07 abc	0.41 bc
G-Sor 3.0%	0.23 bc	0.06 bc	0.38 bc
G-Gly 2.0%	0.37 a	0.11 a	0.62 a
G-Gly4.0%	0.34 ab	0.10 ab	0.55 ab
CK	0.19 c	0.05 c	0.30 c

z :Mean within columns by different lowercase letters were significantly by Duncan’s multiple range test,5% level.

(二) 根部活力

出庫時各處理組間的根部活力相近，由高至低分別為 G-Sor 3.0% (0.62 O.D/g)、G-Gly 4.0%(0.62 O.D/g)、G-Sor 1.5%(0.47 O.D/g)及 G-Gly 2.0%(0.46 O.D/g)，對照組根部活力較低為 0.44 O.D/g，且達統計顯著值(圖 5)。復種一週後 G-Gly 2.0% 根部活力上升最快，達 1.93 O.D/g，其次為 G-Gly 4.0%(1.57 O.D/g)、Gel-Sor 3.0%(1.48 O.D/g)及對照組(1.45 O.D/g)。1.5%的山梨糖醇對於復種後第一週的根部活力提升效果並不佳(1.30 O.D/g)，然而其復種第二週的根部活力分析結果卻快速增加了近 2.8 倍之多，3.0%山梨糖醇處理的植株根部與對照組相同(2.24 O.D/g)並無顯著優於其他處理。以不同濃度的甘油處理後，植株根部活力在第二週復種時期相似，分別為 G-Gly 2.0%的 2.89 O.D/g 及 G-Gly 4.0% 的 3.09 O.D/g，且兩者差異在統計上並不顯著。

(三) 生育調查

蝴蝶蘭植株復種 14 日後，生殖生長部份以 Gel-Gly 2.0%最早(表 5)，其次分別為 Gel-Sor 3.0%、Gel-sor 1.5%、對照組，最後為 Gel-Gly 4.0%。其中 Gel-Gly 2.0%之最長花梗長度可達 12.5 公分。地下部生長方面，生長出許多新且短之根，新根數目以 Gel-Sor 1.5%的 15.5 根與 Gel-Gly 2.0%的 13 根最為顯著。

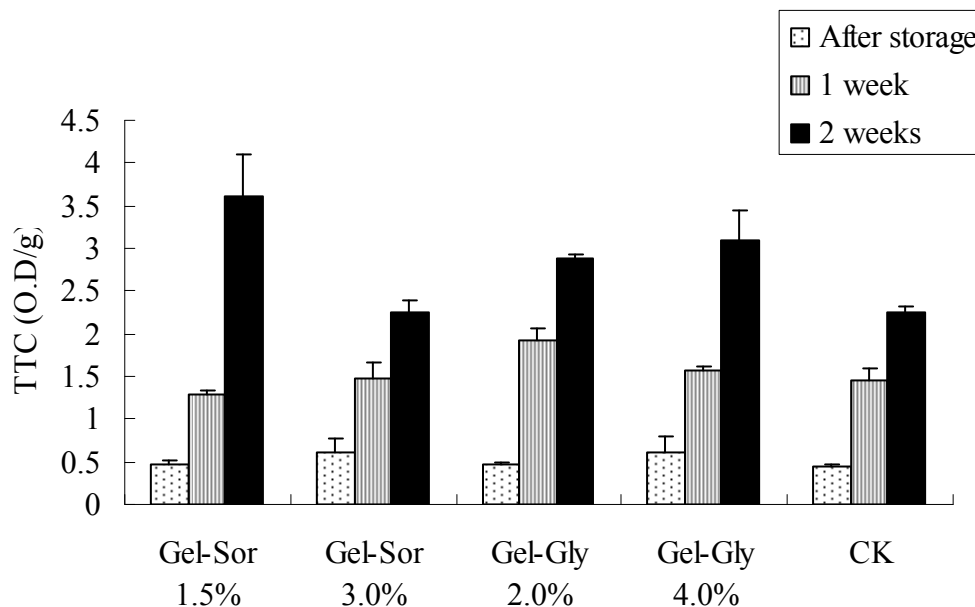


圖 5. 裸根蝴蝶蘭'KHM246'根部浸漬山梨糖醇或甘油保濕劑於出庫後、復種一週及復種兩週之根部活力。

Fig 5. Effect of different concentration of sorbitol or glycerol gel treatments on root activity (TTC) of bare-root *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream 'KHM 246' after storage.

表 5. *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ 以不同濃度保溼劑處理復種後一個半月之花梗長度與新根數量。

Table 5. Effect of sorbitol or glycerol gel treatments on flower stalk length and number of new roots after *Phalaenopsis*. I-Hsin Cream ‘KHM 246’ re-plant in the greenhouse one and half months.

Treatment	Flower stalk length (cm)	Number of new roots
Gel-Sor 1.5%	10	15.5 az
Gel-Sor 3.0%	10.5	9.0 ab
Gel-Gly 2.0%	12.5	13.0 a
Gel-Gly 4.0%	4.5	5.5 b
CK	8	10.5 ab

z: Mean within columns by different lowercase letters were significantly by Duncan's multiple range test, 5% level.

討 論

一、保溼物質的適用性與對蝴蝶蘭裸根貯運種苗外觀之影響

植物隨著組織的成熟化，部份會進行木質化與木栓化來防止水分或氣體的交換。木質化為細胞壁內填充和增加木質素的過程，木質素是一種高分子苯基丙烷衍生物之聚合物，可使細胞壁的硬度增加，細胞群的機械力增加；木栓化則是細胞壁中增加脂肪性化合物木栓質(suberin)的過程，木栓質是與角質相似的一種脂質，存於幼根、莖的卡氏帶中或木栓細胞的初生細胞壁，形成一保護層阻止水分通過。木栓化後的細胞，不易透氣，也不易透水，所以造成最後細胞內的原生質體完全消失。而屬 CAM 型植物的蝴蝶蘭其根的表皮即典型會形成木質化與木栓化之根被，以防止水分的散失(李和李, 1991)。因此可知蝴蝶蘭的根部其親水性較一般草本的植物根部小，若使用純水相之藥劑處理，保溼劑附著效果較不佳，因此試驗一採用化妝品工業中廣泛使用且兼具油水親和力之保溼物質。其中凝膠劑中 95% 主要成分為水，蔗糖酯 50% 為水相，乳化油約有 40% 水相成分，各代表了親水、中性及親油的三種性質。

蝴蝶蘭根部處理三種保溼基底物質經過 1~2 日的陰乾後，凝膠劑與蔗糖酯對於蝴蝶蘭的根部外觀並無顯著影響，然而乳化油處理過的根部呈現嚴重皺縮，根尖褐化，顯示分子較小的乳化油可能造成蝴蝶蘭根部細胞的水分大量流失，並未達到保溼的作用。因此試驗

二中選用凝膠劑與蔗糖酯搭配不同保濕藥劑，兩種配方的含水率相同約 95%，但質地差異大。由於凝膠本身親水性大於親脂性，因此屬於脂類的木栓層較無法吸收親水性凝膠，但根尖部位對親水性物質的吸收能力較佳。蔗糖酯本身為乳化劑的一種，是在蔗糖的烴基上由脂肪酸進行酯化結合的產物，HLB 值廣，具有提高脂類包水的能力，容易附著在蝴蝶蘭的根部，且酯類乾燥後仍以膏狀物的形式殘存在組織表面。處理後的效果而言，凝膠劑搭配 3%山梨糖醇的滲透壓過高，蔗糖酯添加 3%的山梨糖醇也有輕微造成根部失水的影響。由根尖的外觀比較三種藥劑之適用性，以甘油的效果最好，其次是海藻糖。

林(2004)的研究結果顯示蝴蝶蘭 *Phal.amabilis* 及大白花雜交品種 *Phal. hybrid* 'H89112'以裸根處理，經 20℃ 黑暗模擬貯運 3、4、5 天之後，上位葉無明顯改變，下位葉則因失水而呈現軟化、皺縮，並在復水後開始黃化，而根部多呈現乾癟、木栓化。下位葉片黃化的情形在本實驗中的確以對照組發生率最高，且試驗三出庫後至復種一週間，葉片掉落的情形相當嚴重。其它組別在出庫後也會開始發生葉鞘及葉片黃化，但比率並不如對照組高，且黃化進展的速度較慢，顯示保持根部的水分應能延緩黃化的速率。蝴蝶蘭海運帶盆苗根部包覆著介質，其葉片黃化的情形也較輕微(洪,1998)。復種後也觀察到對照組較容易產生根部腐爛的情形，可能是裸根貯運的傷害造成部分根部死亡。

二、裸根蝴蝶蘭使用不同保濕藥劑處理後對生理之影響

(一)葉綠素含量變化

本實驗中上位葉的葉綠素含量變化不如下位葉大，林(2004)的實驗結果也顯示蝴蝶蘭黑暗貯運 3 天即造成下位葉葉綠素含量減少，經復水後會導致葉片的黃化，說明在貯運時水分逆境對於下位葉的影響大於上位葉片。山梨糖醇、海藻糖與甘油對於復種後蝴蝶蘭下位葉葉綠素回復性部分，所有處理組都優於對照組，總葉綠素含量自出庫到復種一週之間各處理組分別有 2~22 倍的成長。凝膠態中以添加甘油的組別結果最佳，酯態配方則為添加山梨糖醇較佳，而海藻糖對於蝴蝶蘭下位葉延緩黃化的效果似乎並不如其他兩者理想。

(二)根部活力變化

根部活力降低是蝴蝶蘭種苗在裸根貯運後遇到的最大問題，林(2004)以掃描式電子顯微鏡觀察蝴蝶蘭裸根貯運後根尖表面情形，發現最初根尖布滿了類似鱗片狀物質，經裸根 2 天後即消失，呈現木栓化的外觀，原本的鱗片狀物質則退至第二層。植株因裸根產生硬實的外表可減少細胞的裸露，防止細胞的失水，否則根部將因快速喪失水分造成根部的乾癟。隨著貯運天數的增加，根部活力會漸漸降低，大白花蝴蝶蘭經過 5 天黑暗之後，活性即減少 4.29 O.D/g (林，2004)。雖然，根部的活性在出庫復種回溫室後會隨著出庫天數而逐漸恢復(胡，2006)，但站在生產者的角度上，能於到貨後快速讓植株恢復生育活力，方為重要關鍵(黃，2006)。

蝴蝶蘭 'KHM246'裸根種苗貯運後首先可明顯觀察到根尖的變化，由原先的綠色澎潤狀態轉為近白色之木栓化外觀，TTC 活力測定的結果顯示，維持較多綠色根部的組別活力也較高。施用保濕藥劑的植株在根部活力的表現上明顯比對照組好，出庫時期各處理組的

根部活力相差並不太多，但恢復供水一週後，施用藥劑的組別其根部活力均有所增加，而對照組仍停滯在出庫時的狀態。

實驗結果中另觀察到一個現象，出庫後的根部活力低者並不一定影響其復種後的表現，試驗二添加山梨糖醇的組別出庫時活力雖然較低，卻在復種一週後快速恢復根部活力，G-Sor 組由 0.41 O.D/g 上升至 1.57 O.D/g，SE-Sor 組由 0.86 O.D/g 上升至 1.74 O.D/g。試驗三中各組出庫時的根部活力相近，原本活力較低的 G-Gly 2.0% 第一週復種結果卻快速至各組最高；G-Sor 1.5% 於復種後第一週的根部活力提升效果並不佳(1.30 O.D/g)，然而第二週的分析結果卻快速增加了近 2.8 倍之多。這個現象說明了各種濃度的藥劑對於根部活力的恢復時程有所不同。經過一個半月的復種後，植株陸續進入生殖生長，最早抽花梗的是 2.0% 甘油處理者，1.5% 與 3% 山梨糖醇次之，最晚進入生殖生長的是 4.0% 甘油處理組。新根的生長數也與花梗出現早晚有關連，1.5% 山梨糖醇及 2.0% 甘油在新根生成數量上最佳。

CAM 植物遇到缺水時，葉位間會有由老葉運往幼葉的水分運移情形，而經水分馴化過的植株對水分利用效率較高，故能忍受貯運或其他長期缺水的狀況(林與李，2005)。陳(2006)模擬蝴蝶蘭帶介質貯運，其根部於模擬貯運 5 週後仍維持良好的外觀。蝴蝶蘭雖具有肥後葉片及較厚角質層，能減少水分散失，惟經貯運後葉片活性仍有下降情形。低頻度澆水可使植株產生健化的效果，故對缺水的適應性逐漸增強(Armitage and Kowalski, 1983)。而本試驗中貯運前的藥劑處理對植物根部來說也等同於輕微的水分逆境，在進入貯藏之前可以適當調整根部之水分狀態，使其在貯運過程中不因快速失水以及黑暗逆境的雙重因子之影響。但過高濃度的藥劑如 G-Sor 3.0% 或 G-Gly 4.0% 可能造成了植株根部的負擔，雖然各方面的實驗數據還是優於對照組，但無論是在根部外觀上或是根部活力的恢復性方面都不如低濃度的處理來的好。

滲透調節(osmo-regulation, osmotic regulation)指植物生長在滲透脅迫條件下，其細胞在滲透上有活性和無毒害的作用的主動淨增長過程。有活性溶質增加將使細胞濃度增大滲透勢降低，使其在低滲透勢生境中能夠吸收水分，此過程為滲透調節(osmotic adjustment)。胞質滲透壓調節物質具有高度水溶性、不帶電荷且最好位於細胞質中，本實驗即利用此類物質來達到對植株無毒害且能調整根部細胞滲透壓的方式，期望能幫助植物度過暫時性的水分逆境。

而綜合生理調查結果，保濕藥劑的處理確實對於減少裸根貯運後蝴蝶蘭下位葉黃化有助益，在復種後維持根部活力，且在日後恢復生育能力的時程上也較迅速。衡量保溼藥劑的成本與原料來源取得難易度，使用凝膠劑不但處理方便，且製程簡單，搭配低濃度的山梨糖醇或甘油，應可減輕裸根苗的貯運逆境發生。

參考文獻

- 李嘉慧、李咩. 1991. 台灣蝴蝶蘭根和葉的形態與解剖的特性. 中國園藝 37:237-248.
- 林忠逸. 2004. 蝴蝶蘭裸根及黑暗模擬貯運對蝴蝶蘭植株生長之影響. 國立中興大學園藝學研究所碩士論文. 113pp.
- 林文華、李咩. 2005. 貯運方式及輕微缺水逆境處理對蔓綠絨‘綠帝王’品種貯後品質之影響. 花蓮區農業改良場研究彙報 23:1-14.
- 洪惠娟. 1998. 貯運與貯運前後環境對蝴蝶蘭抽梗與開花品質的影響. 國立台灣大學園藝學研究所碩士論文. 93pp.
- 許謙信、Jeff G. Atherton, Peter G. Alderson. 2004. 利用葉綠素計量測菊花葉片之老化. 台中農業改良場研究彙報 83:39-51.
- 陳耀煌、林棟樑、王毓祥、王仕賢、沈再木、王裕權、張元聰. 2005. 蝴蝶蘭低溫貯運的寒害現象及其對開花品質的影響. 台南區農業專訊 54:13-17.
- 黃肇家. 2006. 蘭花病蟲害防治講習會-蝴蝶蘭海運外銷技術.
- 楊曉慧、蔣衛傑、魏璿、餘宏軍. 2006. 植物對鹽脅迫的反應及其抗鹽機理研究進展. 山東農業大學學報 37:302~305.
- 簡維佐. 2004. 蝴蝶蘭瓶苗馴化與出瓶苗貯運之研究. 國立嘉義大學園藝系碩士論文 109pp.
- Amotz, B. and A. M. Avron, 1983. On the factors which determine the massive β -carotene accumulation in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil*. Plant Physiol. 72, 593-597.
- Armitage, A. M. and T. Kowalski. 1983. Effect of irrigation frequency during greenhouse production on the postproduction quality of *Petunia Hybrid* Vilm. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108:118-121.
- Madeira, A. C., A. Ferreira, A. d. Varennes and M. I. Vieira. 2003. SPAD meter. versus Tristimulus colorimeter to estimate chlorophyll content and leaf color in sweet pepper. Communications in Soil Science and Plant Analysis 34: 2461-2470.
- Phadwal, K., and P. K. Singh. 2003. Effect of nutrient depletion on β -carotene and glycerol accumulation in two strains of *Dunaliella* sp. Bioresource Tech. 90:55-58.

Effect of Chemicals Treatment on Quality of Bare Root *Phalaenopsis* I-Hsin Cream ‘KHM246’ after Simulated Shipment.

Tsu-Yuan Chin ¹⁾ Ruey-Song Lin ²⁾

Key words: *Phalaenopsis*, Humectants, Bare root simulated shipment.

Summary

The aim of this study was focus on the *Pahleanopsis* I-Hsin Cream ‘KHM246’ physiology effect caused by water deficient of root during bare-root transportation, and expected using chemical pre-treatment to alleviate the effect of water stress and to reduce the injury, so that the plantlets could recover root vigor as soon as re-plant it . We selected these two moistrum bases and add chemicals which like trehalose 、glycerol and sorbitols that regulated osmotic potential of tissue, and soaking the roots into chemicals before simulated transportation.

Bare-root *Phalaenopsis* I-Hsin Cream ‘KHM246’ pre-treat with different moistrum as below in the first section , 3% sorbitol (Sor) 、2% glycerol(Gly) 、5% trehalose(Tre) each added into gel(G) and sugar ester(SE) respectively. The root activity result shows SE-Gly 1.13 O.D/g was the highest, and after re-plant the root activity was improved effectively in other treatment except for the control. G-Gly treatment has the highest total chlorophyll content (0.66 mg/g),and bottom leaf become yellowing in all control plant. The yellowing appears in basal leaf was improved within G-Gly 、SE-Sor and SE-Gly those treatments. The result shows that trehalose didn’t improve the growth vigor of *Phal.* root after transportation, and it seems that 3% sorbitol concentration was a osmotic stress toward the root.

Using 1.5% 、3.0% sorbitol and 2% 、4% glycerol in gel base as pre-treatment chemicals in section two. The result indicate all the chemical treatments could improve root activity and reduce yellowing situation better than the control treatment. Those result indicate that *Phalaenopsis* I-Hsin Cream ‘KHM246’ plantlet with well root activity produced more new roots and revealed the flower stalk earlier. Higher concentration of chemicals may lead osmotic stress in plant’s root.

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

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

篩選油菜不同耐淹水性品種及其於低氧下之生理反應

林宛螢¹⁾ 宋 妤²⁾

關鍵字：油菜、淹水、鮮乾重、碳水化合物、乳酸脫氫酵素、乙醇脫氫酵素

摘要：本實驗以七個油菜品種種植於田間進行淹水試驗，結果顯示‘夏霸王’和‘夏樂天’於淹水後葉片之垂葉率、黃化率低且無死亡率，鮮乾重減少 16.4-19.6%，於排水六天後植株生長復原情況佳，故為耐淹水品種；‘福祿甜’和‘さおり’生長明顯受淹水影響，鮮乾重顯著減少 26.5-42%，且死亡率高，於排水六天後未恢復生長，故為不耐淹水品種。水耕油菜於低氧下，不耐淹水品種地上部和地下部鮮乾重顯著減少，低於耐淹水品種。所有品種地下部，於缺氧處理後全可溶性糖皆增加，耐淹水品種含量顯著高於不耐淹水品種，澱粉含量於耐淹水品種顯著減少，不耐淹水品種則與對照組無顯著差異。在根之發酵作用酵素方面，LDH 和 ADH 活性均被提高，以‘さおり’之 ADH 活性顯著增加最多，‘夏樂天’於缺氧下二酵素活性同時被誘導提高，‘夏霸王’和‘福祿甜’皆為 LDH 活性先增加，下降後，ADH 活性增加；‘さおり’則是 ADH 活性先被提高，LDH 活性於其後被提高。

前 言

油菜為十字花科芸苔屬植物，依不同品種可作為葉用、綠肥及油料之功用。本試驗以葉用油菜為主，油菜於台灣全年皆可栽培(戴和郭，2002)，於夏季常有豪雨發生，造成田間淹水，葉菜類根系淺，短暫淹水易造成危害，導致產量減少影響收成。根於低氧情況下，抑制呼吸作用，能量生合成受阻，進而轉為無氧呼吸作用，路徑包括乳酸發酵為丙酮酸經丙酮

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。

酸脫羧酵素(pyruvate decarboxylase, PDC)和酒精脫氫酵素(alcohol dehydrogenase, ADH)生成乙醇(Perata and Apli, 1993; Roberts *et al.*, 1984; Thomson and Greenway, 1991)。發酵作用過程中將還原態 NADH 轉為氧化態 NAD^+ ，再生的 NAD^+ 使糖解作用得以繼續進行，產生能量維持生理代謝(Rivoal and Hanson, 1994)。發酵作用會誘導乳酸脫氫酵素(lactate dehydrogenase, LDH)和酒精脫氫酵素(alcohol dehydrogenase, ADH)活性的提高，於玉米、水稻、小麥和番茄等作物均已證實(Allen and Crosby, 1989; Cao and Cai, 1991; Mustroph and Albrecht, 2003)。本研究將篩選出耐淹水和不耐淹水之油菜品種，比較不同淹水耐受性油菜品種於低氧水耕栽培下，植株生長及碳水化合物代謝上之變化。

材 料 與 方 法

一、油菜於田間淹水下植株生長之表現

(一) 試驗材料

本試驗所選用之油菜為葉用油菜，小油菜品種為夏霸王、福祿甜和青龍，小松菜品種為夏樂天、さおり、美松菜和極樂天。

(二) 植株栽培

1. 育苗：將供試驗油菜種子播於 72 格 PE 圓孔穴盤，穴盤規格為長×寬×高= $54 \times 28 \times 4$ cm，穴格直徑為 43 mm，底部直徑為 28 mm，容積為 42 cm^3 ，每格穴盤播種兩粒種子。介質採用泥炭土 Bio-Mix potting substratum 110 B (Tref, The Netherlands)為主要栽培介質，泥炭土與南海 3 號蛭石及南海 3 號珍珠石以 8:1:1 混拌置於穴盤中，於中興大學蔬菜室網室內進行培育。幼苗期每週施用 1500 倍尿素(農友牌)，於達二片本葉時進行間拔留一株，育苗期間依照植物保護手冊管理病蟲害適時防治。
2. 定植及栽培：於 2008 年 4 月將達三片本葉之幼苗進行定植於蔬菜實驗田，定植前施用田樂一號(田樂牌)為基肥，試驗採逢機完全區集設計(RCBD)雙行植，畦大小為 $16 \times 1 \text{ m}$ ，行株距為 $15 \times 15 \text{ cm}$ ，三重複，每重複九株。每週施用 1000 倍尿素，栽培期間立支柱架覆以白色紗網，並定期施用藥劑防治病蟲害。

(三) 淹水處理

植株生長達八片成熟葉時進行淹水試驗，將畦之前後方以袋裝之廢棄土堵起，採淹灌方式淹至植株基部，每天上下午確認淹水情形並維持水面高度，淹水四天後於排水零天、三天分別調查植株生長情形，以未淹水處理為對照組，各組逢機取三重複，每重複三株。

(四) 植株性狀調查

1. 葉片垂葉率：葉片下垂與葉柄相交之角度小於 90 度視為下垂葉，單株植株之下垂葉數/總成熟葉數 $\times 100\%$ ，單位：%。
2. 葉片黃化率：葉片黃化面積超過全葉面積的 1/4 視為黃化葉，單株植株之黃化葉數/總成熟葉數 $\times 100\%$ ，單位：%。

- 3.死亡率：計算死亡株數/總株數×100%，單位：%。
- 4.地上部鮮重：取植株之地上部(子葉處以上)秤其重量，單位：g。
- 5.地上部乾重：將植株地上部放入牛皮紙袋中，置於 80℃ 烘箱經三天烘乾秤重，單位：g。

二、水耕栽培下油菜於低氧狀態下之發酵作用情形

(一) 試驗材料

油菜之品種為‘夏霸王’、‘夏樂天’、‘福祿甜’和‘さおり’。

(二) 水耕設備

採用非循環式水耕方式，以 42 × 32 × 11 cm 之藍色塑膠籃種植，每籃養液量為 15 公升，外圍以銀黑色塑膠布包裹，以隔絕光線及減少養液溫度的上升，上方覆蓋厚度 1.5 cm 之保麗龍板，保麗龍板正面以銀黑色塑膠布包裹，以避免青苔滋生。養液配方參考台中區農業改良場葉菜類水耕營養液基本配方，如附表 1。以 Digital 手提式 pH meter (PH-208) 測量養液中之 pH 值，以 6 N HCl 調整養液 pH 值介在 5.5~6.5 之範圍內，並以 Aquarium Jop-004 /AC 幫浦(250 L/min)給予打氣，每週定期更換養液一次。

附表 1：台中區農業改良場葉菜類水耕營養液基本配方

養液配方	藥劑	用量 (g/L)
巨量元素	硝酸鈣 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	354
	硝酸鉀 KNO_3	101
	硫酸鎂 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	184.5
	磷酸銨 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	85.5
微量元素	EDTA -Fe	20
	硼酸 HBO_3	1.2
	氯化錳 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.72
	硫酸銅 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.04
	硫酸鋅 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.09
	鉬酸鈉 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.01

(三) 育苗與定植

於 2008 年 9-10 月和 2009 年 5-6 月期間將試驗之油菜種子播於培養皿置於 25℃ 生長箱進行催芽一天，待胚根突破種皮後，再播於每格 3 × 3 × 3 cm 十字育苗海綿，每格播二粒種子，置於光照 12 小時之 25℃ 生長箱，生長達二片本葉時進行間拔，並移至網室健化，隔天在開始施予 1000 倍 Peters 化學肥料(N:P:K=20:20:20, Scotts-Sierra Horticultural Products Company, U.S.A.)，待四片本葉時即行定植於藍色塑膠籃中，植株固定於 1.5 cm 保麗龍板，每籃 6 株，採用三角種植，行株距為 15 × 15 cm。

(四) 缺氧處理

植株生長達六片本葉時進行處理，以不打氣為缺氧試驗，每日早上及下午以手提式溶氧度計(DO-24P)調查水中之溶氧量，當溶氧量低於 2 ppm 即處於缺氧環境，於連續五天後調查植株生長情形及生理現象。

(五) 調查項目

1. 地上部鮮乾重：同試驗一。
2. 地下部鮮乾重：洗淨根系並以紙巾拭乾表面水分，秤取地下部重量為鮮重。將地下部置於放入牛皮紙袋中，置於 80℃ 烘箱經三天烘乾秤重為乾重，單位：g。
3. 地下部碳水化合物之分析：

(1) 全可溶性糖含量

依據 Yoshida 等(1976)之測定方法加以小部分修改，取 0.1 g 乾燥樣品置於離心管中，加入 10 ml 蒸餾水，以 30℃ 恆溫水浴震盪 3 小時，再以 11000 rpm 室溫下離心 10 分鐘，取 5 ml 上清液，加入 1 ml 6 N HCl，放入 70℃ 水浴振盪 15 分鐘，取出後迅速以冰水浴冷卻。取 0.1 ml 萃取液加入去離子水 1.9 ml 混合振盪均勻，再加入 0.1 ml 液態石碳酸(liquid phenol)及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻。靜置 30 分鐘後，使其成桃橘色。利用分光光度計(U-2900, HITACHI) 測定 490 nm 波長下之吸光值。以 0.5 μM D-glucose 配製標準液，計算樣品全可溶性糖濃度，單位以 mg/g Dw.表示。每處理三重覆，每重複二株。

(2) 澱粉含量

將上述離心後且抽完上清液之底部殘渣樣品置於 80℃ 烘箱一天烘乾，將烘乾之粉末，加入 2 ml 去離子水，放入 100℃ 水浴 15 分鐘，取出後迅速以冰水浴冷卻。再加入 2 ml 9.2 N HClO₄ 連續振盪 15 分鐘後，加入 6 ml 去離子水，定量至 10 ml。於 25℃ 室溫 13000 rpm 離心 10 分鐘後，取上層液 0.1 ml 加入 1.9 ml 去離子水。將 2 ml 混合液加入 0.1 ml 液態石碳酸(liquid phenol)及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻。靜置 30 分鐘後，利用分光光度計測定 490 nm 波長下之吸光值。以 0.5 μM D-glucose 配製標準液，計算樣品澱粉濃度，單位以 mg/g Dw.表示。每處理三重覆，每重複二株。

4. 乳酸脫氫酵素活性(LDH)

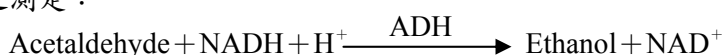
依據 Hoffman 等(1986)的方法部分修正，取新鮮根 1 g 置於預冷研鉢中，以液態氮急速冷凍，研磨均勻後加 5 ml extraction buffer 及 0.1 g PVPP 振盪均勻 10 秒，extraction buffer 包含 100 mM HEPES-NaOH (pH 7.4)、1 mM DTT、10 mM 2-mercaptoethanol、12.5 % (v/v) glycerol 及 10 mM MgCl₂，於 4℃ 下以 10000 g 離心 20 分鐘，取上清液作為活性測定用，全程於冰浴下進行。LDH 活性分析，為丙酮酸之還原方向之測定：



於石英管中加入 1 ml reaction buffer (pH 7.0)，包含 100 mM Triethanolamine (TEA)、0.15 mM NADH、3 mM 4-methylpyrazole 和 10 mM Na-pyruvate，加入 0.2 ml 萃取液，立即以分光光度計於波長 340nm 吸光值 1 分鐘變化之情形。

5. 乙醇脫氫酵素活性(ADH)

取新鮮根 1 g 置於預冷研鉢中，以液態氮急速冷凍，研磨均勻後加 5 ml extraction buffer 及 0.1 g PVPP 混合均勻後，extraction buffer 包含 100 mM HEPES-KOH (pH 7.4)、0.5 mM ZnCl_2 、1 mM DTT、10 mM 2-mercaptoethanol、12.5 % glycerol，於 4℃ 下以 12000 g 離心 20 分鐘，取上清液作活性測定用，全程於冰浴下進行。ADH 活性分析，為乙醛之還原方向之測定：



於石英管中加入 reaction buffer (pH 6.4)，事先分項配製於測定時當場混合，成分包含 90 mM Mes-KOH、1 mM DTT、3 mM MgCl_2 、0.2mM β -NADH，加入 0.1 ml 萃取液反應 72 秒後，再加入 0.1 ml 29.7 mM acetaldehyde 混合均勻後，立即以分光光度計於波長 340 nm 吸光值 1 分鐘變化之情形。

三、統計分析

以上試驗數據採用 SAS 套裝軟體(SAS Insbitue, Cary, NC)中的 PROC ANOVA (analysis of variance procedure) 進行變方分析($\alpha = 0.05$)，以 Fisher's LSD 進行各處理間平均值的比較。

結 果

一、油菜於田間淹水下植株生長之表現

由垂葉率、黃化率及死亡率如表 1 可知，‘夏霸王’、‘青龍’和‘夏樂天’為耐淹品種，其淹水後及排水三天後垂葉率分別為 3.7-26.4 % 和 4.6-17.7 %，黃化率分別為 9.7-15.9 % 和 11.1-14.7 %，死亡率分別為 0 % 和 0-11.1 %。‘福祿甜’、‘さおり’和‘美松菜’為不耐淹品種，其淹水後及排水三天後垂葉率分別為 41.7-77.8 % 和 31.7-82.1 %，黃化率分別為 17.9-32.8 % 和 14.1-41.7 %，死亡率分別為 0 % 和 11.1-74.4 %，顯示出淹水下對植株造成嚴重的傷害。

油菜於淹水後植株之鮮重情形如圖 1，淹水後鮮重之減少量、減少之百分率及淹水處理後相對生長速率之表現如表 2。在地上部之生長表現方面，所有品種於淹水下鮮重皆顯著較對照組減少，‘夏霸王’和‘青龍’於淹水後鮮重顯著減少最高者，分別減少 11.6 g (29.7 %) 和 14.6 g (30 %)，相對生長速率為 -7.4 和 -7.5 g/g/day，而‘夏樂天’鮮重減少 3.4 %，相對生長速率為 -1.1 g/g/day 為所有品種減少最低者，其他品種之間則無顯著差異。‘美松菜’和‘極樂天’於排水三天後鮮重分別減少 4.2 g (9.7 %) 和 8 g (16.7 %)，顯著低於‘夏霸王’減少 16.6 g (31.1 %)，其他品種間鮮重減少介於 19.2-27.3 % 彼此無顯著差異。‘夏霸王’、‘美松菜’和‘極樂天’相對生長速率分別為 11.1、12 和 10.6 g/g/day 顯著高於‘福祿甜’和‘さおり’。

表 1. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後之垂葉率、黃化率及植株死亡率

Table 1. Percentage of wilting, yellow leaf and dead plant of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days.

油菜品種	垂葉率 (%)		黃化率 (%)		死亡率 (%)	
	第零天	第三天	第零天	第三天	第零天	第三天
夏霸王	26.4 bc ^z	4.6 c	15.9 bc	14.7 b	0.0 a	0.0 b
福祿甜	77.8 a	31.7 bc	25.0 abc	14.1 b	0.0 a	47.2 a
青 龍	3.7 c	4.8 c	12.0 c	12.5 b	0.0 a	11.1 b
夏樂天	20.6 bc	17.7 bc	9.7 c	11.1 b	0.0 a	0.0 b
さおり	41.7 abc	44.4 b	17.9 bc	26.4 ab	0.0 a	74.4 a
美松菜	71.1 a	82.1 a	32.8 ab	41.7 a	0.0 a	11.1 b
極樂天	43.8 ab	31.3 bc	37.8 a	20.6 ab	0.0 a	11.1 b

^zMeans within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

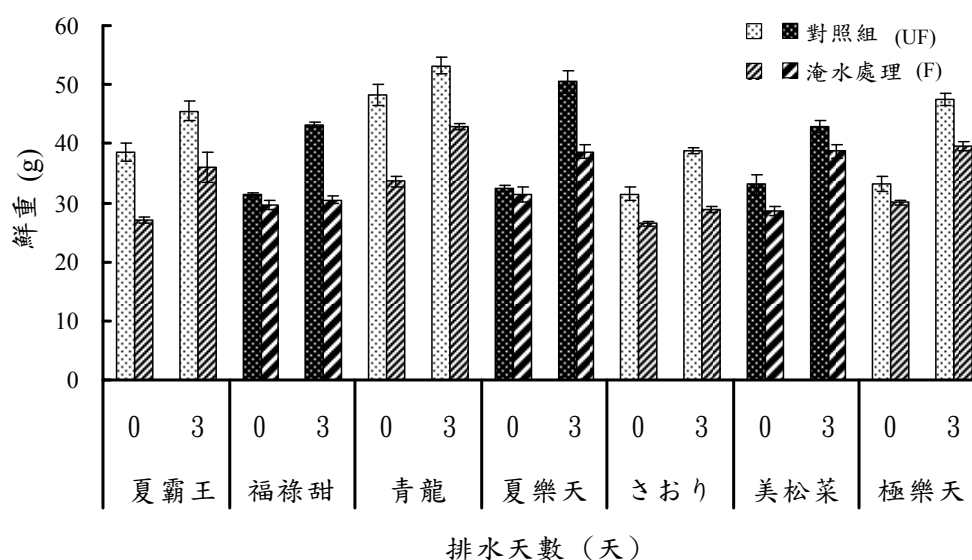


圖 1. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後地上部鮮重之情形。

Fig 1. The fresh weight of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days. Bars represent standard error of the mean of three replicates.

表 2. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後鮮重減少量、減少百分率和相對生長速率
Table 2. The decreased amount of fresh weight, decreased percentage and relative growth rate of rape to waterlogging in the field for 4 days following drainage for 3 days.

油菜品種	減少量 (g) UF-F		減少之百分率 (%) (UF-F)/UF×100 %		相對生長速率 ^z (g/g/day)	
	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天
夏霸王	11.6 a ^y	16.6 a	30.0 a	31.1 a	-7.4 c	11.1 a
福祿甜	1.7 b	11.8 ab	5.3 bc	27.3 ab	-1.3 ab	2.0 c
青 龍	14.6 a	10.3 ab	30.0 a	19.2 bc	-7.5 c	9.3 ab
夏樂天	1.4 b	11.8 ab	3.4 c	23.1 ab	-1.1 a	8.1 abc
さおり	5.1 b	10.0 ab	16.0 b	25.8 ab	-4.0 b	3.2 bc
美松菜	4.6 b	4.2 c	13.5 bc	9.7 c	-3.4 ab	12.0 a
極樂天	3.1 b	8.0 bc	9.1 bc	16.7 bc	-2.3 ab	10.6 a

^z 植株於淹水下排水零天相對生長速率=(F-UF)/UF/4×100%

排水三天相對生長速率=(F3-F0)/F0/3×100%

^y Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

油菜淹水後及排水三天植株地上部之乾重情形如圖 2 和表 3，在淹水處理及排水期間變化趨勢與鮮重的表現十分相近，‘夏樂天’於淹水後乾重減少 0.1 g (3.2%)，相對生長速率減少 0.8 g/g/day 與對照組無顯著差異，‘夏霸王’和‘青龍’則乾重減少量顯著高於其他品種，分別減少 1.1 g (27.6 %)和 1.4 g (29.9 %)，相對生長速率減少 6.9 和 7.5 g/g/day 為減少最多者。‘美松菜’於排水三天後乾重減少 9.3 %，與‘青龍’和‘極樂天’無顯著差異，顯著低於其他四個品種。‘福祿甜’於排水三天後乾重之相對生長速率為 0.5 g/g/day 和‘さおり’1.9 g/g/day 無顯著差異，但顯著低於其他五個品種，其相對生長速率介於 9.6-12.3 g/g/day。

二、水耕栽培下油菜於低氧狀態下之發酵作用情形

(一) 植株於低氧下地上部、地下部鮮乾重及根部碳水化合物含量

油菜植株於低氧五天後植株鮮乾重表現及地下部碳水化含量之情形如表 4，植株處理低氧下地上部及地下部之生長均受抑制，鮮乾重較對照組均顯著減少，‘福祿甜’和‘さおり’減少較多均顯著低於‘夏霸王’和‘夏樂天’，在地上部鮮重表現方面，‘福祿甜’和‘さおり’於低氧後分別顯著減少 14.1 (47.2 %)和 13.1 g (43.1 %)為顯著最低，‘夏霸王’和‘夏樂天’則分別減少 9.1 和 7.9 g，地下部鮮重表現方面所有品種在未淹水前介於 1.91-1.98 g，於低氧後‘福祿甜’和‘さおり’顯著減少降至 1.04 和 0.95 g 為顯著最低，‘夏霸王’和‘夏樂天’則分別減少 0.53 和 0.56 g。

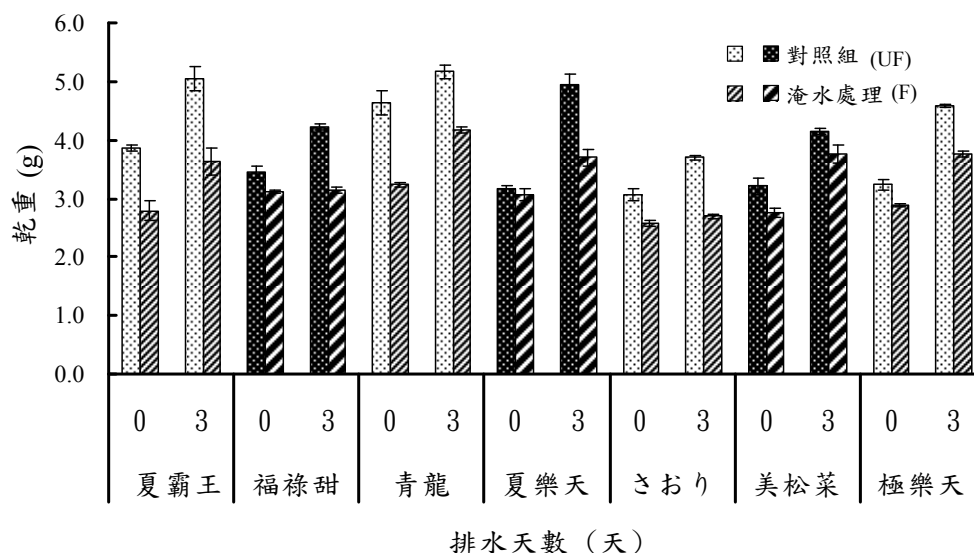


圖 2. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後地上部乾重之情形

Fig 2. The dry weight of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days. Bars represent standard error of the mean of three replicates.

表 3. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後乾重減少量、減少百分率和相對生長速率

Table 3. The decreased amount of dry weight, decreased percentage and relative growth rate of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days.

油菜品種	減少量 (g) UF-F		減少之百分率 (%) (UF-F)/UF×100 %		相對生長速率 ^z (g/g/day)	
	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天
夏霸王	1.1 a ^y	1.4 a	27.6 a	27.6 a	-6.9 c	10.0 a
福祿甜	0.3 b	1.1 ab	9.8 bc	25.4 a	-2.4 ab	0.5 c
青 龍	1.4 a	1.0 ab	29.9 a	19.4 ab	-7.5 c	9.6 a
夏樂天	0.1 b	1.3 ab	3.2 c	25.0 a	-0.8 a	7.1 ab
さおり	0.5 b	1.0 ab	15.9 b	27.0 a	-4.0 b	1.9 bc
美松菜	0.5 b	0.4 c	14.1 bc	9.3 b	-3.5 ab	12.3 a
極樂天	0.4 b	0.8 bc	10.8 bc	17.6 ab	-2.7 ab	10.3 a

^z 植株於淹水下排水零天相對生長速率=(F-UF)/UF/4×100%

排水三天相對生長速率=(F3-F0)/F0/3×100%

^y Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

表 4. 水耕油菜於低氧五天後植株地上部及地下部鮮乾重

Table 4. The fresh weight and dry weight of hydroponic rape under low oxygen condition for 5 days.

品種	處理	鮮重 (g)		乾重 (g)	
		地上部	地下部	地上部	地下部
夏霸王	對照組	32.3 a ^z	1.91 a	3.10 a	0.196 a
	缺氧	23.2 c	1.38 b	2.23 c	0.152 b
福祿甜	對照組	29.9 b	1.98 a	2.86 b	0.193 a
	缺氧	15.8 d	1.04 c	1.50 d	0.118 c
夏樂天	對照組	29.6 b	1.96 a	2.97 ab	0.194 a
	缺氧	21.7 c	1.40 b	2.11 c	0.129 b
さおり	對照組	30.4 b	1.94 a	2.98 ab	0.193 a
	缺氧	17.3 d	0.95 c	1.61 d	0.094 d
品種		**y	**	**	**
處理		**	**	**	**
品種 × 處理		**	**	**	**

^zMeans within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

^yn.s., *, ** indicated nonsignificant or significant at p=0.05 or 0.01, respectively.

植株之乾重表現如同鮮重，‘福祿甜’和‘さおり’於低氧後地上部乾重較對照組減少 47.5 和 45.9 % 顯著最低，二者間無顯著差異，而地下部乾重分別減少 39.1 和 51.3 %，‘さおり’顯著低於‘福祿甜’，‘夏霸王’和‘夏樂天’地上部及地下部乾重減少率介於 22.4-33.4 % 間，均顯著高於‘福祿甜’和‘さおり’，前二者間無顯著差異。

地下部之碳水化合物含量如表 5 於所有品種除‘さおり’外，於低氧下全可溶性糖於淹水下均顯著增加，‘夏霸王’和‘夏樂天’顯著增加高於‘福祿甜’和‘さおり’，前二者分別增加 0.06 和 0.09 mg/g DW，後二者則分別增加 0.03 和 0.02 mg/g DW。澱粉含量‘夏霸王’和‘夏樂天’於低氧下顯著減少，分別減少 0.04 和 0.06 mg/g DW 顯著最低，二者間無顯著差異，‘福祿甜’和‘さおり’於低氧下與對照組無顯著差異，澱粉含量分別為 0.31 和 0.32 mg/g DW，顯著高於‘夏霸王’和‘夏樂天’。

(二) 植株於低氧下對發酵作用酵素活性之影響

油菜植株於低氧五天情況下根之 LDH 活性表現如圖 3(A)，所有品種於缺氧下 LDH 活性皆較對照組顯著提高，其中以‘夏樂天’變化趨勢增加最多，‘さおり’則增加最少。‘夏霸王’於缺氧一天時 LDH 活性顯著較對照組提高 2.8 倍，於第三天時 LDH 活性降低與對照組無顯著差異，‘福祿甜’和‘夏樂天’LDH 變化趨勢相近，皆於缺氧二天時 LDH 活性顯

著提高，分別提高 1.8 和 3.4 倍，‘福祿甜’LDH 活性則於第三天顯著降低逐漸趨緩，仍較對照組高 1.6 $\mu\text{mol/g min FW}$ 左右，‘夏樂天’LDH 活性則於第三天仍持續增加 1.5 $\mu\text{mol/g min FW}$ 達到最高峰，於第四天後顯著降低 5.7 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，於第六天仍較對照組高 63.3 %。‘さおり’LDH 活性於缺氧三天內無顯著變化相近於對照組，於第四天後 LDH 較對照組顯著提高 1.7 倍，於第五天維持不變較對照組高出 2.6 $\mu\text{mol/g min FW}$ 。

在 ADH 活性表現情形如圖 3(B) 所有品種於低氧下 ADH 活性皆較對照組顯著提高，其中以‘さおり’變化趨勢增加最多，‘福祿甜’增加最少。‘福祿甜’於缺氧第一天 ADH 活性顯著較對照組增加 2.9 倍，隨之逐漸減少於第三天 ADH 活性 2.39 $\mu\text{mol/g min FW}$ 為最低，於第四天後 ADH 活性逐漸增加於第五天較對照組高出 3 倍。其他三品種則於低氧下變化趨勢相似，於缺氧時 ADH 活性逐漸達到高峰後又逐漸降低，‘夏霸王’於缺氧下 ADH 活性不斷提高，於第四天 ADH 活性較對照組高 4 倍，隨後第五天顯著降低 3.2 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，仍較對照組顯著高出 3.16 $\mu\text{mol/g min FW}$ 。‘夏樂天’則於缺氧三天 ADH 活性達到最高，較對照組增加 3.5 倍，於第四天顯著減少 2.3 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，於第五天逐漸恢復較對照組高 51 %。‘さおり’於缺氧第二天 ADH 活性顯著提高 10 倍達 13.6 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，隨後逐漸降低，於第五天時較對照組增加 85 %。

表 5. 水耕油菜於低氧五天後植株地下部碳水化合物含量之情形

Table 5. The carbohydrate content of rape under low oxygen condition for 5 days in hydroponic culture.

品種	處理	全可溶性糖含量 (mg/g DW)	澱粉含量 (mg/g DW)
夏霸王	對照組	19.57 bcd	0.30 c
	缺氧	25.74 a	0.26 d
福祿甜	對照組	18.77 cd	0.30 bc
	缺氧	21.35 b	0.31 abc
夏樂天	對照組	17.74 d	0.30 bc
	缺氧	26.42 a	0.24 d
さおり	對照組	18.88 cd	0.32 ab
	缺氧	20.63 bc	0.32 a
品種		**	**
處理		**	**
品種 × 處理		**	**

^z Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

^y n.s., *, ** indicated nonsignificant or significant at $p=0.05$ or 0.01 , respectively.

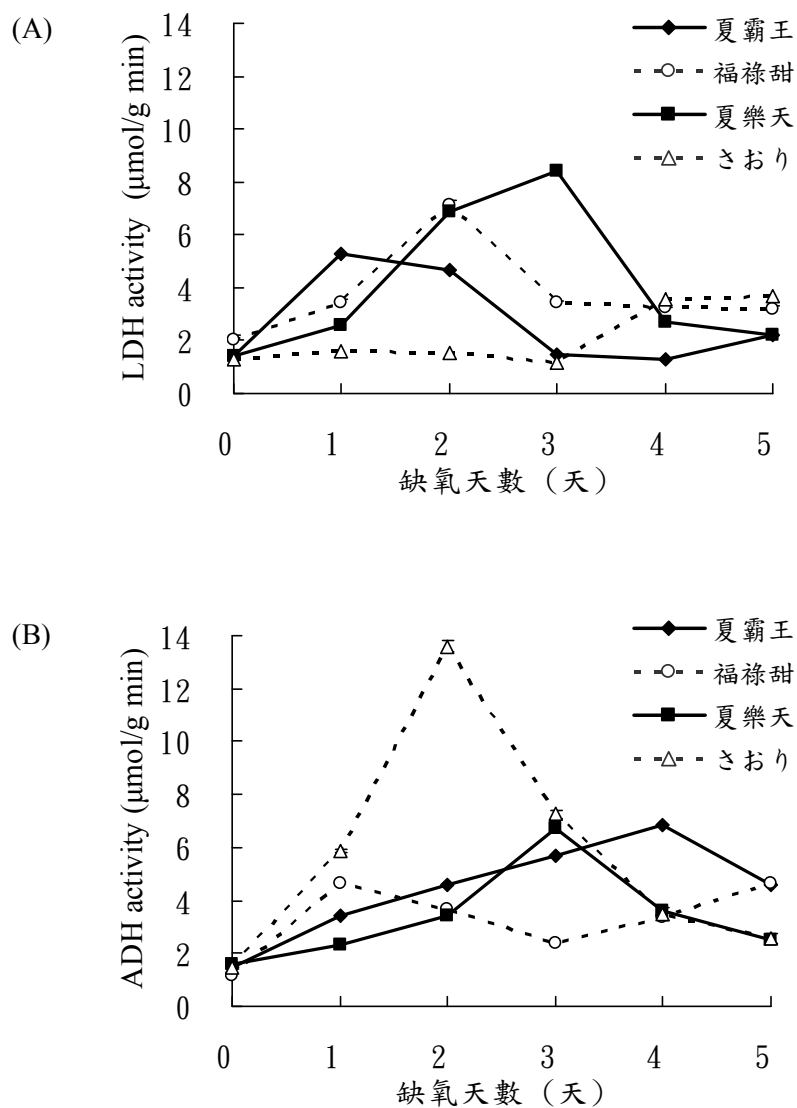


圖 3. 油菜植株於低氧下根之 LDH (A)和 ADH (B)活性之表現

Fig 3. The activity of LDH (A) and ADH (B) in root of rape under low oxygen condition for 5 days. Bars represent standard error of the mean of three replicates and are not visible if smaller than the symbol.

討 論

一、淹水對油菜植株生長之影響

植物於淹水下可看見的改變常發生於葉片的黃化，主要原因為淹水使根吸收水分能力降低，造成植株葉片的萎凋和老化。菸草於淹水十四天後下位葉出現黃化現象，嚴重則轉呈褐色而掉落(Jackson, 1956)。報告中指出油菜淹水3至30天造成顯著減產，可因其品種、發育階段及氣候不同而異(Gutierrez *et al.*, 1996)。Ashraf和Mehmood (1990)將四個油菜品種進行淹水處理，*B. juncea* L.於淹水下地上部的鮮乾重及葉面積相較於其他品種最高，*B. napus* L.則顯著減少顯示出不耐淹水。

二、水耕油菜於低氧下植株生理之反應

(一)低氧對植株生長及碳水化合物之影響

Daugherty和Musgrave(1994)之油菜試驗於淹水四天後，對淹水敏感品種的地上部及地下部之鮮乾重顯著減少，而耐淹品種則仍持續生長，與本試驗之油菜缺氧試驗結果一致，不耐淹的‘福祿甜’和‘さおり’植株鮮乾重較對照組顯著減少，亦顯著低於耐淹的‘夏霸王’和‘夏樂天’。不耐淹之番紅花於低氧下，地上部和地下部均無生長現象(Keyhani and Keyhani, 2004)。

本試驗耐淹之油菜品種全可溶性糖含量顯著高於不耐淹者(表5)，糖的含量高被視為適應上的改變，耐淹水的小麥品種根的糖含量顯著增加，可能與對淹水耐受性高有關(Huang and Johnson, 1995)。可促進離子吸收及能量的提供(Heides *et al.*, 1963)，碳水化合物適當的提供可能為植物組織於低氧下重要的存活關鍵(Setter *et al.*, 1987)，而Benjamin和Greenway (1979)則認為糖的累積是因為根生長的減少。

(二)低氧對發酵作用之影響

許多學者發現淹水逆境下根部因缺氧或低氧導致ADH和LDH活性增加的情形(Mustroph and Albrecht, 2003; 2007)，由本試驗油菜圖3數據得知耐淹水的‘夏樂天’於缺氧下LDH和ADH活性同時被誘導提高，耐淹水的‘夏霸王’和不耐淹水的‘福祿甜’趨勢接近，根之LDH活性先增加，接著ADH活性於LDH活性降低後而增加，不耐淹水的‘さおり’則相反，ADH活性先被提高，隨後LDH活性隨之提高。Kato-Noguchi和Morokuma (2007)水稻苗於無氧二天下，ADH活性均顯著提高，LDH則無顯著差異，ADH活性增加29-32倍之品種，其ATP濃度為正常情況下的46-48%，而ADH活性增加10-12倍之品種其ATP僅有原來的18-22%，顯示水稻於無氧情況下誘導ADH活性越高為耐受性高者。許多報告中指出酒精發酵途徑活化被視為植物生存於無氧環境下的策略之一(Drew, 1997; Ricard *et al.*, 1994; Tadege *et al.*, 1999)。Cao和Cai (1991)認為淹水下ADH活性迅速增加是植物耐淹水強而有力的適應機制，因氧氣缺少下抑制卡爾文循環，ATP藉由酒精無氧發酵生合成(Perata and Alpi, 1993)，且主要維持及刺激發酵作用來自於葡萄糖，葡萄糖可促進植物細胞於缺氧下存活之因子(Vartapetian, 1993)，許多報告指出於缺氧下若外加葡萄糖，可減緩水稻、南瓜及豌豆

豆於缺氧下對根結構的破壞，延長根尖死亡的時間(Vartapetian *et al.*, 1976; Webb and Armstrong, 1983)。

供試驗的四個油菜品種雖有耐與不耐淹水之差異，但所有品種根部在缺氧下均能誘導ADH及LDH活性，顯示於缺氧下皆進入發酵作用，進入ADH路徑生成產物為乙醇，進入LDH路徑生成產物為乳酸，二者產物在本試驗中曾進行分析，因其含量過低數據無法表達，可能取樣或技術上出現問題，無法得知是否有乙醇或乳酸的累積情形及其對細胞所造成的傷害。由油菜耐淹水生理特性的差異，推測原因可能為根的糖類含量多寡，耐淹者其含量顯著高於不耐淹者，糖類可提供無氧呼吸作用的基質，可提供能量，容忍缺氧之逆境。

參 考 文 獻

- 戴振洋、郭俊毅。2002。油菜“金寶-台中 3 號”之育成及栽培技術介紹。台中區農業改良場。
- Allen, G. G. and W. L. Crosby. 1989. Induction of alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase in hypoxically induced barley. *Plant Physiol.* 90: 860-866.
- Ashraf, M. and S. Mehmood. 1990. Effects of waterlogging on growth and some physiological parameters of four *Brassica* species. *Plant Soil* 121: 203-209.
- Benjamin, L. R. and H. Greenway. 1979. Effects of a range of O₂ concentrations on porosity of barley roots and on their sugar and protein concentrations. *Ann. Bot.* 43: 383-391.
- Cao, Y. and S. B. Cai. 1991. Some waterlogging tolerant wheat varieties. *Crop Genet. Res.* 2: 25-26.
- Daugherty, C. J. and M. E. Musgrave. 1994. Characterization of populations of rapid-cycling *Brassica rapa* L. selected for differential waterlogging tolerance. *J. Exp. Bot.* 45: 385-392.
- Drew, M. C. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism. Injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 223-250.
- Gutierrez, B. F. H., R. S. Lavado, and C. A. Porcelli. 1996. Note on the effects of winter and spring waterlogging on growth, chemical composition and yield of rapeseed. *Field Crops Res.* 47: 175-179.
- Heides, V. H., B. M. Boer-Bolt, and M. H. Raalte. 1963. The effect of a low oxygen content of the medium on the roots of barely seedlings. *Acta Bot. Neerl.* 12: 231-247.
- Huang, B. and J. W. Johnson. 1995. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Ann. Bot.* 75: 427-432.

- Jackson, W. T. 1956. Flooding injury studies by approach-graft and split root system techniques. *Amer. J. Bot.* 43: 496-501.
- Kato-Noguchi, H. and M. Morokuma. 2007. Ethanolic fermentation and anoxia tolerance in four rice cultivars. *J. Plant Physiol.* 164: 168-173.
- Keyhani, E. and J. Keyhani. 2004. Hypoxia/anoxia as signaling for increased alcohol dehydrogenase activity in saffron (*Crocus sativus* L.) *Corm. Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1030: 449-457.
- Mustroph, A. and G. Albrecht. 2003. Tolerance of crop plants to oxygen deficiency stress : fermentative activity and photosynthetic capacity of entire seedlings under hypoxia and anoxia. *Physiol. Plantarum* 117: 508-520.
- Mustroph, A. and G. Albrecht. 2007. Fermentation metabolism in roots of wheat seedlings after hypoxic pre-treatment in different anoxic incubation systems. *J. Plant Physiol.* 164: 394-407.
- Perata, P. and A. Alpi. 1993. Plant responses to anaerobiosis. *Plant Sci.* 93: 1-17.
- Ricard, B., I. Couee, P. Raymond, P. H. Saglio, V. Saint-Ges, and A. Pradet. 1994. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiol. Biochem.* 32: 1-10.
- Rivoal, J. and A. D. Hanson. 1994. Metabolic control of anaerobic glycolysis. Overexpression of lactate dehydrogenase in transgenic tomato roots supports the Davies-Roberts hypothesis and points to a critical role for lactate secretion. *Plant Physiol.* 106: 1179-1185.
- Roberts, J. K. M., J. Callis, D. Wemmer, V. Walbot, and M. Freeling. 1984. Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding intolerance in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 6029-6033.
- Setter, T. L., I. Waters, B. J. Atwell, T. Kupkanchanakul, and H. Greenway. 1987. Carbohydrate status of terrestrial plants during flooding. In Crawford, R. M. M., (ed.). *Plant life in aquatic and amphibious habitats.* Oxford : Blackwell Scientific. p. 411-443.
- Tadege, M., I. Dupuis, and C. Kuhlemeier. 1999. Ethanolic fermentation : new functions for an old pathway. *Trends Plant Sci.* 4: 320-325.
- Thomson, C. J. and Greenway. 1991. Metabolic evidence for stelar anoxia in maize roots exposed to low O₂ concentrations. *Plant Physiol.* 96: 1294-1301.
- Vartapetian, B. B. 1993. Plant physiological responses to anoxia. *Int. Crop Sci.* 1: 721-726.
- Vartapetian, B. B., I. N. Andreeva, and G. I. Kozlova. 1976. The resistance to anoxia and the mitochondrial fine structure of rice seedlings. *Protoplasma.* 88: 215-224.
- Webb, T. and W. Armstrong. 1983. The effects of anoxia and carbohydrates on the growth and viability of rice, pea and pumpkin roots. *J. Exp. Bot.* 34: 579-603.

Screen the Rape (*Brassica rapa* L.) Cultivars for Waterlogging Tolerant and Its Physiological Responses to Low Oxygen Condition

Wan-Ying Lin ¹⁾ Yu Sung ²⁾

Key words: Rape, Waterlogging, Fresh and dry weight, Carbohydrate content, LDH, ADH

Summary

Seven rape cultivars were planted at open filed and net house to conduct waterlogging study. Results showed that rape cv. 'His-ba-wang' and 'His-le-tian' had low wilting and yellow leaf as well as no dead plant. Plants fresh weight were reduced 16.4-19.6 % and all plants recovered after 6 days of drainage, then they were classified as waterlogging tolerant cultivars. Growth of rape cv. 'Fu-lu-tian' and 'Sa-ou-li' were significantly affected by waterlogging. Their fresh weight were significantly reduced 26.5-42 % and also with high fatal rate. Plants were not recovered after 6 days of drainage and then classified as waterlogging intolerant cultivars.

Hydroponic rape under low oxygen condition showed that the fresh and dry weight in leaf and root of waterlogging intolerant cultivars were significantly lower than waterlogging tolerant cultivars. The total soluble sugar content were increased in root of all cultivars after waterlogging. The waterlogging tolerant cultivars were significant higher than waterlogging intolerant cultivars. The starch content in waterlogging tolerant cultivars was significantly reduced, but it had no difference among the cultivars of waterlogging intolerant and control plants. The anaerobic fermentation enzymes in root showed LDH and ADH activity were increased, especially the ADH activity in rape cv. 'Sa-ou-li'. Both enzymes activity were induced simultaneously in rape cv. 'His-le-tian' under oxygen lacking condition. In cultivars 'His-ba-wang' and 'Fu-lu-tian', the LDH activity was increased firstly and then the ADH activity was increased after LDH activity decreased. The ADH activity was increased earlier than LDH, the LDH activity was increased in rape cv. 'Sa-ou-li'.

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

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

遊客不參加人員解說原因之探討 ——以陽明山國家公園為例

蘇詩容¹⁾ 歐聖榮²⁾

關鍵字：解說員、阻礙

摘要：近年來全球資源減少，自然林地、動植物、特殊物種等不可回覆的資源逐漸消失，台灣的生態環境也受全球化的影響而產生改變。環境的教育是最有效的保護環境方式之一，解說則是最直接的方式也最容易傳達的。前人研究發現國內遊客偏愛的解說媒介是解說員，加上解說員是可以傳遞環境保育最好的方式之一，又為遊憩區遊客偏好的主要選擇。然而從遊憩活動中發現，參加解說員的導覽活動人數偏少，是否有阻礙因素的存在之故，此乃為本研究所欲了解的重點。在過去許多關於阻礙的相關研究大都是以 Crawford 和 Godbey(1987)的三個構面為主，分別為個人內在阻礙(Intrapersonal Constraints)、人際間的阻礙 (Interpersonal Constraints)、結構性阻礙(Structural Constraints)。就解說的角色而言，遊客參與人員解說活動的阻礙因素是否與休閒阻礙面向有雷同？乃為本研究欲了解之處。

前言

本研究先針對國家公園遊客及國家公園解說志工以質性訪談方式，歸納分析遊客不參與解說的阻礙因素，再將之轉化成問卷方式進行量化研究。從歸納中可獲得 42 項阻礙因素，其中例如「我會因為沒有同伴而不去參與解說導覽活動」、「我會因為時間不足，而中途離開解說導覽活動」等。本研究以陽明山國家公園遊客為調查對象，共獲得 394 份有效問卷，經因素分析後，解說阻礙構面共可萃取出五個因素：「個人內在因素」、「時間機會因素」、「外部環境因素」、「同伴影響因素」、「解說員因素」。解說經營管理業者可以依據

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。

以上阻礙因素之重要程度，擬定適當的解說因應策略，以解決解說之困境，進而提升國人參加解說活動動機，達到環境維護及生態永續發展之目標。

許多研究結果皆顯示環境的教育是最有效的方式之一，它可以將環境保護的思維與地方自然資源結合，讓民眾可直接的體驗環境狀況；而解說是最直接的方式也最容易傳遞環境保育訊息及推動保護資源的方式之一。解說是多方面的綜合體，不論是人員解說或非人員解說，都可以提升遊客對環境的關注力，同時也是引領探索歷史背景文化意義的最好的方式。解說員是解說的靈魂人物，再好的解說告示牌、解說媒體，都不如解說員直接引導遊客進入大自然的世界(張明洵、林珮秀 1992)。解說員詳盡的解說，比較起其他解說牌或自導式步道來的生動活潑且更能啟發對於環境關心的熱忱。然而一般遊客在旅遊時多半是走馬看花，這樣的旅遊方式是不足以了解環境資源的變動，相信若是由解說員來帶領，將可以達到環境保育的傳達及對於自然環境有更深層的心靈體驗。

解說服務的使命在於遊憩區的經營管理與遊客之間的主要溝通橋樑。而目前已有許多具教育性質的遊憩地區，例如：博物館、動植物館、國家公園與森林遊樂區等皆已發展出解說系統與設備。對於這些遊憩區的管理而言，解說服務已經是不可或缺的工作之一(楊婷婷，1996)。解說的方式有很多，像是解說牌、解說摺頁、語音導覽系統、自導式步道或是人員解說皆可將環境保護意識傳達到遊客身上，如果正確的運用將可以有效地達到解說的主要目的。

在這些解說方式當中，李清峰(1987)與吳鳳珠(1994)研究發現國內遊客偏愛的解說媒介是解說員，其次是自導式步道。既然解說員是可以傳遞環境保育最好的方式之一，也是國內遊客偏好的主要選擇；但在實際的遊憩地區觀察中卻可發現，參加解說員的導覽活動人數偏少，甚至有些已經參與解說活動的遊客會中途的離開解說團隊，而其原因為何？是否有參與解說活動的阻礙因素之存在？在過去有許多關於阻礙的相關研究如 Proctor(1962)探討不參與戶外遊憩活動因素、Jackson & Dunn(1988)探討個體為何停止休閒行為、賴慧美(2008)探討國小高年級學童之休閒阻礙、Crawford 和 Godbey(1987)探討家庭內的休閒活動等。從這些休閒阻礙的相關研究中發現，每位學者分類阻礙因素是不相同的。在許多研究休閒阻礙的面向中皆是以 Crawford 和 Godbey(1987)的三個構面為主，分別為(一)個人內在阻礙(Intrapersonal Constraints)、(二)人際間的阻礙(Interpersonal Constraints)、(三)結構性阻礙(Structural Constraints)，就解說的角度而言，遊客參與人員解說活動的阻礙因素是否与休閒阻礙面向有雷同？故為本研究欲了解之處。

因此本研究將積極進行探討遊客不參與解說的阻礙因素，並且進一步地針對國家公園遊客及國家公園解說志工進行訪談，期望在解說志工與遊客訪談中，了解在解說過程中遊客不參與的因素，本研究之結果除了瞭解參與解說員的解說活動的阻礙因素之外，並希望可作為減少遊客參與人員解說之解說阻礙。

研究方法

一、研究架構

本研究主要目的為探討遊客參與人員解說之解說阻礙因素及其因應策略，根據文獻回顧可知阻礙因素及策略因素會因人口變項、個人背景所影響，因此本研究提出如下的架構與假設（如圖 1）。

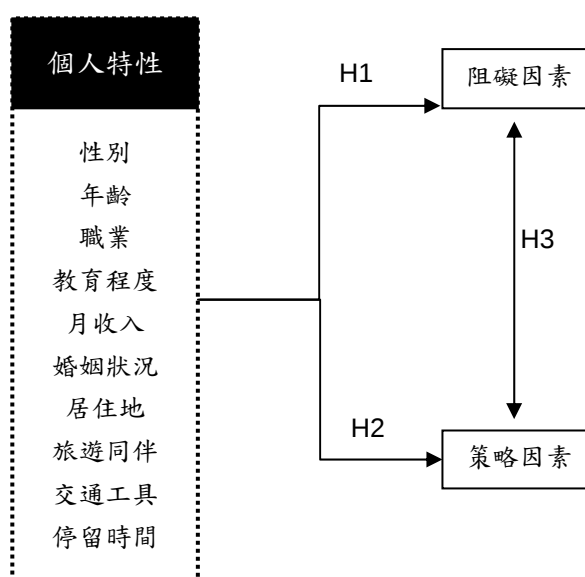


圖 1 研究架構圖

Fig. 1. Research framework of this study

二、問卷設計與抽樣調查

(一) 問卷設計及流程

根據文獻指出，若是想揭示個體對某個現象或經驗之內涵，質化研究是其中可能的方法，可被應用來揭開與了解那些未被深入探討現象之背後的原由與事實(Berg, 1998)。Yin(1994)指出質化資料可以加深對知覺與態度層面的了解。因此，本研究為了解解說員隊解說阻礙之看法，採用質性訪談之方式。

1. 解說志工訪談問項

根據研究目的之需要，擬定三個部份進行訪談，問項請參見表 1。本研究以立意抽樣法選取 8 位解說志工進行訪談，每位志工訪談的時間約為 30~50 分鐘，訪談內容大綱如下：

表 1. 訪談問項大綱

Table1. Interview a program

大綱	問項
1. 受訪者所看到的阻礙情況(EX：人事時地物)	1. 就你看到的情況，遊客可能會因為什麼原因會無法參與你的解說活動。
	2. 請問在你的解說經驗中，什麼狀況會無法把你想要的解說內容傳達給遊客？
2. 解決以上阻礙因素之相關方式	3. 是否有與其它解說員有共同討論過相關問題？以上那些狀況，如何解決，會比較有效果？
	4. 當解說效果不佳時？哪個部份是需要改善的？
3. 提供哪些方式可增加遊客參與解說活動。	5. 在你的經驗中是否有你認為最成功的解說經驗的分享？這些解說方式是否不同？以你認為這些解說因素的成功關鍵有哪些？
	6. 請問將來在解說導覽上你會用什麼解說的方式可以讓遊客再願意來到國家公園，喜歡國家公園及愛護國家公園？

2. 遊客之訪談問項

本研究將依據 Godbey(1985)階層性阻礙之架構，對陽明山遊客進行半結構之訪談詳見圖 3-4。本研究以立意抽樣法來選取到陽明山國家公園之遊客，進行直接訪談，共抽取了 32 位遊客以半結構式之訪談方式來讓遊客回答並了解其阻礙因素之內容，並請受訪者回答不參與之因素時，盡可能描述人、事、時、地、物之情況。

(二) 問卷量表

經由上述設計流程，問卷擬定四部份：(1) 阻礙因素；(2) 社經背景，其變項等級及內容分述如下：

(1) 主要針對國家公園解說志工及到訪陽明山國家公園之遊客進行訪談後，由內容分析法歸納出 42 個阻礙項目，其目的是了解陽明山國家公園遊客參與人員解說之阻礙因素為何？及了解哪些解說阻礙因素在陽明山國家公園佔了較大的比例。

(2) 個人基本資料問項，包含是否參加、性別、年齡、職業、教育程度、月收入、婚姻狀況、子女狀況、居住地、旅遊夥伴、本次交通工具、本次停留時間。

(三) 調查與抽樣方式

1. 抽樣地點

文獻指出解說服務最早是由國家公園開始成立，國家公園在解說的設施及解說員的訓練上有一定的水準(郭乃文、於幼華，1998)，因此選定國家公園為解說阻礙調查地點。陽

明山國家公園因地區位置，使得交通便利完善，是許多遊客選擇近郊的觀光景點之一。根據營建署陽明山國家公園歷年遊客人數統計資料顯示，陽明山國家公園近年來每年旅客人數平均約 450 萬人次，為六座國家公園之首。

考量時間、經濟、便利性等因素後，本研究乃依陽明山國家公園內人數較多的觀光遊憩景點，作為問卷測試之地點。依此，乃選定陽明公園及二子坪步道為本研究抽樣調查測試地點。

2. 抽樣日期及抽樣方式

本研究以方便抽樣法抽樣，問卷發放人員在調查時會先表明身分，說明調查原因與目的之後，調查員採一對一的方式進行施測，假使該名遊客拒訪，則立即選取下一位遊客進行填答。此外為了確保比較高的回收率與問卷填答的有效率，進行中若遊客對問項有不了解之處，本研究調查員會立即給予協助及說明。

三、資料分析方法

(一) 描述性統計(Descriptive statistics)

是一套用來整理、描述、解釋資料的系統與統計技術，針對研究樣本的社經背景的分佈狀況來作描述，依各變項資料的平均值、標準差、偏態與峰度來描述數據的分佈特性，藉以剔除極端值，建構良好的統計分析基礎。

本研究利用描述性統計說明「遊客個人基本資料」、「阻礙因素之認同度」中各變項內容之分配狀況與可能之關聯。

(二) 信度分析(Reliability Analysis)

本研究採李克特式五點量尺作答，Cronbach's α 係數是估計信度最適宜的方法，若需要針對單一觀察的變項加以檢驗。

(三) 因素分析(Factor Analysis)

因素分析能處理潛在變項的估計問題，協助進行效度的驗證，並可探究潛在變項的結構關係(邱皓政，2006)，將複雜的結構予以簡化以協助解說阻礙因素的構面形成。本研究有效問卷共計 390 份，達因素分析標準，並藉由分析結果促使阻礙因子的項目縮減。

結果與討論

一、樣本描述

受訪遊客中有參加過解說導覽活動有 167 位(48.8%)；未曾參加解說導覽活動有 175 位(51.2%)。性別分布男性有 226 位，佔樣本數(57.9%)；女性共計 164 位，佔樣本數(42.1%)。年齡分布以 21-30 歲者遊客為最多，共計 140 位(35.6%)；其次為 31-40 歲者，共 97 位(24.7%)；其餘依次為 41-50 歲者，共計 50 位(12.7%)；51-60 歲及以下者，共計 49 位(12.5%)；20 歲以下者，共計 48 位(12.2%)；61 歲以上者，共計 9 人(2.3%)。

遊客之職業，以從事工商業最多，共計 118 位(30.1%)；其次為學生，共計 92 位(23.5%)；再者為從事服務業之遊客，共計 71 位(18.1%)。受訪遊客中教育程度以專科、大學為最多，共計 228 位(61.0%)；其次為高中職，共計 73 位(19.5%)；再者為碩士學歷者(佔 15.2%)。遊客個人月收入多為 19,999 元以下，共計 95 位(25.8%)；其次為 30000-39999 元(19.8%)；再者為月收入 40000-49999 元者之遊客，共計 56 人(15.2%)。遊客婚姻狀況項目中，受訪遊客半數以上多為未婚，共 228 位(58.3%)，已婚者共 161 位(41.2%)。遊客子女狀況之調查項目中，受訪遊客多為無小孩，共 248 位(65.3%)；有小孩者共 132 位(34.7%)。受訪遊客以居住於北部地區的遊客為最多，共計 342 位(87.0%)；其次為居住於中部地區之遊客，共計 22 位(5.6%)；再者為居住於南部地區之遊客，共計 15 位(3.8%)。受訪者之旅遊夥伴以家人/親戚為最多，共計 168 位(43.1%)；其次為朋友，共計 145 位(37.2%)；再者為個人旅遊為 37 位(9.5%)。遊客本次使用之交通工具以汽車為最多，共計 145 位(37.0%)；其次為公車，共計 106 位(27.0%)；再者為機車及腳踏車，共計 60(18.3%)及 57(14.5%)。遊客本次停留時間以 1-3 小時為最多，共計 233 位(60.0%)；其次為 3-6 小時，共計 76 位(19.4%)；再者為 1 小時以內，共計 65 位(16.6%)。

二、解說阻礙因素認同度評值

解說阻礙因素的認同程度方面，其平均值高低排序如表 2。遊客認為的阻礙因素前五順位分別為「我會因為解說員講解的內容單調乏味而中途離開」、「我不清楚這個地點是否有提供解說員的解說導覽活動」、「解說團體人數太多會讓我不想參與解說導覽活動」、「我會因為解說員的專業不足而中途離開解說導覽活動」以及「我會因解說員的講解速度太慢、太冗長或太快而中途離開」。此評值的順序顯示遊客對解說員的解說方式、缺乏參與機會以及環境因素較為重視。而在遊客對解說阻礙因素的認同度最低的五順位排序分別為「我會因為與解說員不太熟，感到害羞而不去參與解說導覽活動」、「我會因為國家公園對我沒有神秘感而不想參與解說活動」、「我會因為地點的特有背景(如宗教歷史文化等)與我個人不符合而不去參與解說導覽活動」、「我因體力無法負荷等身體因素而無法參與解說導覽活動」、「我認為自己對國家公園很熟悉而不需要參與解說導覽活動」，有此可看出認同度較低面向係以個人認知為主。

表 2. 解說阻礙因素認同度

Table2. Factor analysis result of agreement level of interpretive constraints

問 項	同意百分比(%)					平均 值	標 準 差
	非常不 同意	不同意	普通	同意	非常 同意		
24 我會因為解說員講解的內容單調乏味而中途離開。	2.3	13.9	23.4	49.6	10.8	3.53	0.94
6 我不清楚這個地點是否有提供解說員的解說導覽活動。	1.5	18.2	21.3	46.4	12.6	3.5	0.98
10 解說團體人數太多會讓我不想參與解說導覽活動。	2.3	22.6	19	40.6	15.4	3.44	1.07
23 我會因為解說員的專業不足而中途離開解說導覽活動。	2.8	17.4	23.8	46.9	9.0	3.42	0.97
25 我會因解說員的講解速度太慢、太冗長或太快而中途離開。	2.6	13.9	30.8	44.2	8.5	3.42	0.92
9 我會因為時間不足，而中途離開解說導覽活動。	3.6	16.8	23.7	46.9	8.9	3.41	0.99
12 我會因為解說導覽的地點環境太吵雜、假日遊客過多被干擾，而中途離開。	4.1	16.8	24.5	43.6	11	3.41	1.02
11 我會因為我所參與的旅行團有時間限制，而無法參與解說導覽活動。	3.3	16.8	25.6	47.2	7.1	3.38	0.96
15 我會因為國家公園的接駁交通不便而無法參與解說導覽活動。	3.1	22.1	26.2	39.5	9.2	3.3	1.01
8 我會因為自己預計的參觀路線與解說活動的路線不同而不參與解說員的解說導覽活動。	2.3	23.9	25.6	41.1	7.1	3.27	0.98
22 我會因為解說員的解說導覽活動太制式化，而中途離開。	2.8	21.9	28.4	39.9	7.0	3.26	0.97
13 我會因為解說導覽停留的環境地點太狹小，而中途離開。	4.8	21.3	25.9	41.1	6.9	3.24	1.02
17 我的朋友通常沒有時間跟我一起參與解說導覽活動。	2.8	21.1	41.7	29.0	5.3	3.13	0.9
16 我會因為無法清楚看見解說員所介紹的物種(如：植物、昆蟲)而中途離開。	4.9	25.6	29.2	36.1	4.3	3.09	0.99
20 我的朋友通常沒有興趣能夠與我一起參與解說導覽活動。	2.6	24.4	39.2	28.7	5.1	3.09	0.91
7 我會因為解說活動行程固定無法更改而不參與解說導覽活動。	3.9	29.8	31.3	29.8	5.2	3.03	0.98

14	我會因為解說手冊或語音導覽已經提供足夠資訊,而不參與解說導覽活動。	4.6	26.8	34.9	28.8	4.8	3.03	0.97
18	我的朋友通常沒有交通工具可以和我一起去參與解說導覽活動。	5.3	23.9	38.8	28.9	3.0	3.01	0.93
21	我不喜歡解說員停留的地點而中途離開解說導覽活動。	4.2	31.7	31.2	28.8	4.2	2.97	0.97
19	我的朋友住得離我太遠,而不能和我一起去參與解說導覽活動。	4.6	28.3	39.5	25.8	1.8	2.92	0.89
27	我認為我已經瞭解國家公園的主要特色而不去參與解說導覽活動。	6.1	35.8	35.8	16.6	5.6	2.8	0.98
26	解說員與遊客互動太多會讓我中途離開解說導覽活動。	6.9	36.3	35.5	18.9	2.3	2.73	0.92
1	我認為自己對國家公園很熟悉而不需要參與解說導覽活動。	8.1	43.5	31.8	12.7	3.8	2.61	0.94
2	我因體力無法負荷等身體因素而無法參與解說導覽活動。	16.7	47.7	24.4	10.5	0.8	2.31	0.9
4	我會因為地點的特有背景(如宗教歷史文化等)與我個人不符合而不去參與解說導覽活動。	16.4	51.7	17.6	13	1.3	2.31	0.94
5	我會因為國家公園對我沒有神秘感而不想參與解說活動。	15	55.5	18.6	8.7	2.3	2.28	0.9
3	我會因為與解說員不太熟,感到害羞而不去參與解說導覽活動。	16.7	55.1	17.7	8.5	2.1	2.24	0.9

三、解說阻礙因素之驗證性因素分析

本研究經項目分析及整體模式已通過適配,各因素的題項也已確定,故開始針對各因素來加以命名;因素一的題項有:「q2 我因體力無法負荷等身體因素而無法參與解說導覽活動」、「q3 我會因為與解說員不太熟,感到害羞而不去參與解說導覽活動」、「q4 我會因為地點的特有背景(如宗教歷史文化等)與我個人不符合而不去參與解說導覽活動。」、「q5 我會因為國家公園對我沒有神秘感而不想參與解說活動」,共計四個題項,依題項題意將此因素命名為「個人內在阻礙因素」。因素二題項有「q6 我不清楚這個地點是否有提供解說員的解說導覽活動。」、「q7 我會因為解說活動行程固定無法更改而不參與解說導覽活動。」、「q8 我會因為自己預計的參觀路線與解說活動的路線不同而不參與解說員的解說導覽活動」、「q9 我會因為時間不足,而中途離開解說導覽活動」,共計四個題項,依題項題意將此因素命名為「時間機會阻礙因素」。因素三題項有「q11 我會因為我所參與的旅行團有時間限制,而無法參與解說導覽活動」、「q12 我會因為解說導覽的地點環境太吵雜、假日遊客過多被干擾,而中途離開」、「q13 我會因為解說導覽停留的環境地點太狹小,而

中途離開」，共計三個題項，依題項題意將此因素命名為「外部環境影響因素」。因素四題項有「q17 我的朋友通常沒有時間跟我一起參與解說導覽活動」、「q19 我的朋友住的離我太遠，而不能何我一起參加解說導覽活動」、「q20 我的朋友通常沒有興趣能夠與我一起參與解說導覽活動。」，共計三個題項，依題項題意將此因素命名為「同伴影響阻礙因素」。因素五題項有「q21 我不喜歡解說員停留的地點而中途離開解說導覽活動」、「q22 我會因為解說員的解說導覽活動太制式化，而中途離開」、「q23 我我會因為解說員的專業不足而中途離開解說導覽活動。」，共計三個題項，依題項題意將此因素命名為「解說員阻礙因素」，如圖 2。

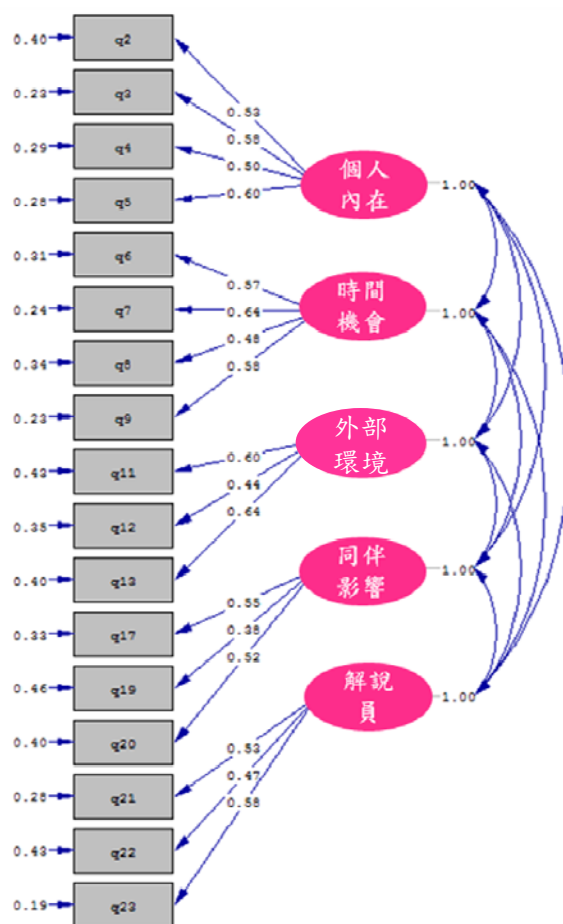


圖 2. 研究架構圖

Fig. 2. Research framework of this study

結果發現，解說阻礙涵蓋 42 個項目因子，依評值排序前五項為「我會因為解說員講解的內容單調乏味而中途離開」、「我不清楚這個地點是否有提供解說員的解說導覽活動」、「解說團體人數太多會讓我不想參與解說導覽活動」、「我會因為解說員的專業不足而中途離開解說導覽活動」、「我會因解說員的講解速度太慢、太冗長或太快而中途離開」。另外解說阻礙因子經探索式及驗證性因素分析後，萃取出五項構面，並將其命名為：「個人內在因素」、「機會時間因素」、「環境影響因素」、「同伴影響因素」、「解說員因素」。由解說阻礙因素構面與文獻中休閒阻礙因素相較之下，發現本研究結果與 Crowder & Godbey(1987)中的面向有符合之處。較為不同之處是在「解說員因素」因素構面上，因其屬於解說阻礙之一特殊的變項，因此本研究出現與休閒阻礙因素有不同之面向。再者，「機會時間因素」與「環境影響因素」在休閒阻礙之因素是列入同一構面，本研究則是因研究主題不同而區分成如圖 3。

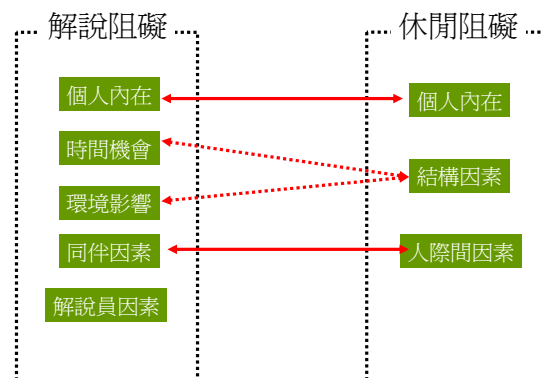


圖 3. 阻礙因素構面與休閒阻礙關係圖

Fig. 3. Interpretive constraint with leisure constraint relationship

結 論

一、解說阻礙因子的構面

研究結果發現，解說阻礙的因子可分為五個構面，分別為：「個人內在因素」、「機會時間因素」、「環境影響因素」、「同伴影響因素」、「解說員因素」，顯示在參與解說活動確實有阻礙因素的產生，經刪題後整體模式已達到良好配適。本研究的平均值顯示解說阻礙之構面以「解說員因素」最多，因此解說相關的經營管理業者若要解決目前遊客不參與解說員的阻礙因素，必須應在解說人員的訓練上或是個人特質上應再給予加強。

在休閒阻礙理論中，分為個人內在阻礙、人際間的阻礙、結構性的阻礙，三個構面。在本研究針對參與人員解說的阻礙因素時發現有別於休閒阻礙因素的是「時間機會阻礙因素」、「解說員阻礙因素」，因此我們可以了解，若休閒活動的不同，阻礙因素會因為休閒活動的內容而有不同的阻礙因素的出現。因此「時間機會阻礙因素」、「解說員阻礙因素」也與其它構面相同地被視為參與人員解說活動阻礙之重要構面。本研究的「解說員阻礙因素」包含三個因子，其中構面內的二個因子為 1.解說員的專業不足、2.解說員導覽太制式化。對應文獻發現解說員的“用語幽默”及“專業程度”是解說員成功的主要因素(徐蓉蓉 1995；黃光男 1991；鄧天德，1992；蘇振民 1994；Sharm 2002)。另外「解說員阻礙因素」構面中的第三個因子為“不喜歡解說員停留的地點而中途離開”因此，本建議相關的經營管理業者應針對遊客需求再進行解說服務路線之規劃。

二、解說阻礙的優先解決順序之參考

解說阻礙的因素構面中，其排序如下表 3：因子一「個人內在」因素構面中，遊客最重視的為「我會因為國家公園對我沒有神秘感而不想參與解說活動」，其次為「我會因為地點的特有背景(如宗教歷史文化等)與我個人不符合而不去參與解說導覽活動」；因子二「時間機會」，遊客最重視為「我不清楚這個地點是否有提供解說員的解說導覽活動」，而其次為「我會因為時間不足，而中途離開解說導覽活動」；因子三「環境影響」，遊客最重視的為「我會因為解說導覽的地點環境太吵雜、假日遊客過多被干擾，而中途離開」，其次為「我會因為我所參與的旅行團有時間限制，而無法參與解說導覽活動」；在「同伴因素」，遊客最重視的因素為「我的朋友通常沒有興趣能夠與我一起參與解說導覽活動」，其次為「我的朋友通常沒有時間跟我一起參與解說導覽活動」；在「解說員」之構面，遊客最重視的為「我會因為解說員的專業不足而中途離開解說導覽活動」，其次則是「我會因為解說員的解說導覽活動太制式化，而中途離開」。由此可知解說經營管理業者在未來推展解說發展的相關方式上，可將各構面的平均值較高的因子列為未來努力的目標如表 5。

表 3. 阻礙因素構面其阻礙因素因子排序

Table 3. The rank order of interpretive constraint management strategies in the dimensions of interpretive attraction.

構面		內 容	平均數
個人內在	1	我會因為國家公園對我沒有神秘感而不想參與解說活動。	2.3
	2	我會因為地點的特有背景(如宗教歷史文化等)與我個人不符合而不去參與解說導覽活動。	2.3
	3	我因體力無法負荷等身體因素而無法參與解說導覽活動。	2.3
	4	我會因為與解說員不太熟，感到害羞而不去參與解說導覽活動。	2.2
時間機會	1	我不清楚這個地點是否有提供解說員的解說導覽活動。	3.5
	2	我會因為時間不足，而中途離開解說導覽活動。	3.4
	3	我會因為自己預計的參觀路線與解說活動的路線不同而不參與解說員的解說導覽活動。	3.3
	4	我會因為解說活動行程固定無法更改而不參與解說導覽活動。	3.0
環境影響	1	我會因為解說導覽的地點環境太吵雜、假日遊客過多被干擾，而中途離開。	3.4
	2	我會因為我所參與的旅行團有時間限制，而無法參與解說導覽活動。	3.4
	3	我會因為解說導覽停留的環境地點太狹小，而中途離開。	3.2
同伴因素	1	我的朋友通常沒有興趣能夠與我一起參與解說導覽活動。	3.1
	2	我的朋友通常沒有時間跟我一起參與解說導覽活動。	3.1
	3	我的朋友住得離我太遠,而不能和我一起參與解說導覽活動。	2.9
解說員	1	我會因為解說員的專業不足而中途離開解說導覽活動。	3.4
	2	我會因為解說員的解說導覽活動太制式化，而中途離開。	3.3
	3	我不喜歡解說員停留的地點而中途離開解說導覽活動。	3.0

參考文獻

- 王秀蓮、李英弘。1999。SOHO 族的休閒型態及休閒活動之探討。休憩行為研究與管理。187-204。
- 王喜青。2002。國家公園解說員環境教育與環境解說專業發展需求之研究。碩士論文。台灣師範大學環境教育研究所。台北。
- 吳忠宏。2003。國立自然科學博物館解說成效之研究：以生命科學廳為例。環境教育學刊。67-91。
- 李青峰。1987。解說服務效果之研究。碩士論文。台灣大學森林研究所。台北。
- 李素馨。1997。都市女性休閒類型與阻礙。戶外遊憩研究。10(1)，43-62。
- 林佑瑾、李英弘、葉源鎰。2004。認真性休閒與休閒阻礙關係之研究：以高爾夫運動者為例。戶外遊憩研究。17(3)：51-79。
- 許健民、高俊雄。2000。以三類型阻礙模式探討都市六年級學童運動休閒參與阻礙與性別及自尊之關係。戶外遊憩研究。13(1)，41-61。
- 楊婷婷。1996。解說折頁解說效果之探討：以臺北市立動物園大鳥籠為例。碩士論文。國立台灣大學園藝研究所。台北。
- 歐聖榮。1984。遊客解說服務之研究—以墾丁國家公園之墾丁森林遊樂區、鵝鑾鼻公園、南仁山生態保護區為例。國立中興大學園藝研究所碩士論文。
- 賴家馨。2002。休閒阻礙量表之編製—以台北市大學生為例。國立體育學院體育研究所。碩士論文。台北。
- 簡婉莉。2005。解說人員特性差異對解說服務與解說效益影響之研究。碩士論文。銘傳大學觀光研究所。台北。
- Crawford, D.W. and G. C. Godbey. 1987. Reconceptualizing barriers to family leisure. Leisure Sciences, 9, 119-127.
- Crawford, D. W., E. L. Jackson, and G. Godbey. 1991. A hierarchical model of leisure.

Discussing Reasons Why Visitors not Participating Personnel Interpretation – A Case Study of Yangmingshan National Park

Shih- Jung Su ¹⁾ Sheng-Jung Ou ²⁾

Keywords: Interpretation, Constraint, Corresponding strategy, Interpreter

Summary

Environmental education is one of the most effective ways to protect environment that has dramatically been changed for last few decades because of overusing and decreasing resources. In the field of environmental education, it is said that interpretation plays a critical role in protecting the ecological environment of Taiwan. Among interpretative media, personnel interpretation has been proved as one of the most preferred media for its quick response, direct information provision, and vivid interaction with visitors. However, the frequency and number of visitors who participating in personnel interpretation is not as high as it is expected in reality. It is doubted if there exists constraints in participating the personnel interpretation and what specific constraints might be. Therefore, the purpose of this study is to find out reasons why visitor not participating personnel interpretation and its corresponding strategies.

The study used both qualitative and qualitative methods to obtain the required data. First of all, the study adopted depth interviews to explore factors why visitors did not participate in the personnel interpretation and strategies which interpretative volunteers might use to correspond with the interpretative constraints. Then, the study used questionnaire survey and convenient sampling method to obtain opinions from visitors in Yangmingshan National Park. The major findings are described as followings.

Based upon the research findings, the study proposed practical suggestions for using appropriate strategies to solve interpretive predicament and enhance visitors' participation in interpretive program in order to achieve the goal of sustainable environment. Moreover, the study also mentioned suggestions for future studies.

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

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

興大園藝

第三十四卷 第二期

- 低溫對'台農十七號'鳳梨植株發育之影響
.....曾顯皓 林慧玲..... 1
- 溫湯處理及冷藏對'台農 17 號'鳳梨果實有機酸代謝之影響
.....劉名旂 陳京城.....15
- 種子含水量、貯藏時間、發芽介質及化學處理對木瓜種子發芽的影響
.....阮氏暄 張武男 宋 妤 王秋雁.....29
- Response of Eggplant (*Solanum melongena* L.) as Rootstock for
Tomato (*Solanum lycopersicum* L.)
.....Suraj Raj Poudel Wen-Shann Lee.....39
- Kalanchoë Regeneration from Flower Buds and Leaves *in vitro*
.....Sujittra Tejakhod Chien-Young Chu.....53
- 磷肥濃度對文心蘭 *Oncidium* 'Gower Ramsey'生長與開花之影響
.....游婷媛 林瑞松.....63
- 運用省水耐旱植栽進行屋頂薄層綠化之熱效應研究
.....連祥萍 劉東啟.....73

國立中興大學園藝學系編印

中華民國九十八年六月

低溫對‘台農十七號’鳳梨植株發育之影響

曾顯皓¹⁾ 林慧玲²⁾

關鍵字：鳳梨、寒害、葉綠素螢光、離子滲漏率、乙烯

摘要：台灣地區鳳梨產業為達全年可生產果實之目的，常在秋末冬初進行人工催花以調節產期，台灣地區冬季偶有低於 10℃ 的低溫出現，本研究目的在探討‘台農 17 號’鳳梨催花後不同時間低溫處理對於植株的影響。利用低溫(日溫 12℃、夜溫 3℃)持續 3~5 天，處理催花後不同發育階段的‘台農 17 號’鳳梨植株。植株於低溫處理後，葉片綠色部分的離子滲漏率會高於對照組，且葉綠素螢光參數 Fv/Fo 比值下降。葉片綠色部分的乙烯釋放量與呼吸率於低溫處理後亦高於對照組。在葉片白色部分的全碳含量與碳氮比則明顯低於對照組。於催花後 0~17 天期間經低溫處理的植株，葉片出現嚴重褐斑、葉綠素螢光 Fv/Fm 值下降、乙烯釋放量及呼吸率上升，且碳含量下降。

前言

鳳梨(*Ananas comosus* L. Merr.)原產於南美洲，為世界上重要熱帶果樹之一，且廣泛種植於熱帶及亞熱帶無霜害地區(李, 1985)，鳳梨於台灣產值排名第三位，僅次於柑橘及檳榔，栽植面積約 12,225 公頃，產量高達 444,788 公噸，其中(農業統計年報, 2008)。鳳梨栽培品種非常多，如台農 4 號、台農 6 號、台農 11 號、台農 13 號、台農 16 號、台農 17 號、台農 18 號、台農 19 號、台農 20 號及台農 21 號等品種(農委會, 2006)，其中台農 17 號果實為圓筒形，果皮薄，果肉黃色或金黃色，肉質細緻，為目前台灣外銷的主力品種(張及官, 2001)。

台灣地區冬季的低溫常造成鳳梨出現自然開花的現象，果實於冬季低溫下發育後集中於三月至八月間盛產，導致價格大幅下降，為解決此問題，農民會進行人工催花，將產期

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副教授，通訊作者。

全年平均分配，但若催花期於晚秋之後(12~2月)，可能會遇冬季的低溫，台灣嘉義地區冬季夜間及凌晨的低溫最低可至 2~3℃，且持續時間約 6~7 小時，平均溫度會低於 10℃(王, 2007)。2009 年寒害影響農作物面積 613 公頃、損害程度 19%、換算無收穫面積 116 公頃，損失金額約 61,000,000 元(農委會, 2008)，對於鳳梨開花期間或果實發育期間造成莫大損傷，造成農民損失，為鳳梨產業發展面臨的問題之一(黃, 2004)。

本試驗研究目的即在調查，植株經人工催花後，在花芽與花序發育在不同階段經低溫(12℃/3℃，3-5 天)處理後，植株發育及生長點的損害情形，期能尋求催花後對低溫傷害較敏感之階段，提供產期調節催花時間之參考。

材 料 方 法

一、試驗材料與方法

具 10~12 片葉之‘台農十七號’鳳梨吸芽，將其最基部老葉剝除後陰乾 2 天，再將吸芽種植於 3 吋盆中，待其發根後再移至 18L 黑色硬塑膠盆中定植於玻璃溫室中，並以好康多做為基肥，定植後約六個月，植株長至 30~40 片葉片時進行處理。於 2008 年 8 月 4 日及 5 日進行人工催花兩次，每次利用 800ppm 益收+2%尿素，每株澆灌 100 cc 於植株心部。催花後分低溫處理與未低溫處理兩組。低溫處理為將植株移至生長箱中進行低溫處理，生長箱光週期明期從 8 時至 16 時，暗期從 16 時至隔天 8 時；明期溫度 12℃、暗期溫度 3℃。生長箱光度為 20~25 PAR，處理 3~5 天。低溫處理分別於催花後 0 天(8/8 未低溫處理)、6 天(8/8~8/14 低溫處理)、12 天(8/14~8/20 低溫處理)、17 天(8/21~8/25 低溫處理)、22 天(8/26~8/30 低溫處理)、36 天(9/10~9/13 低溫處理)及 50 天(9/24~9/27 低溫處理)進行，共 7 個處理，每次低溫處理 11 重覆，3 重覆進行破壞性分析，其餘 8 重覆於低溫處理後移回溫室中，觀察其後續生長，共 77 棵植株。未經低溫處理的植株一直放至於溫室中，於 8 月 5 日催花後 0、6、12、17、22、36 及 50 天進行採樣分析，前 4 次取樣 6 重覆，後 3 次取樣 4 重覆，共 36 棵進行破壞性分析。

二、調查項目與方法

(一) 葉綠素螢光反應

植株低溫處理前及低溫處理後第 0、1、2 及第 3 天進行測定，每次 8 重覆。植株取最高直立葉(D 葉)與次高直立葉(D+1 葉)之葉片中段進行測量，以攜帶式葉綠素螢光儀(protable chlorophyll fluorometer, MinNi-PAM, Walz Germany)測定。所連接的探針以(speciall fiberoptic 2010-F)瞬間提供測定光與飽合脈衝光，並由下列公式計算出 PSII 活性。 F_0 為螢光釋放最小量， F_m 為螢光釋放最大量， $F_v = F_m - F_0$ ，以 F_v/F_m 表示。

(二) 離子滲漏率

取植株 D 葉及其鄰近兩片葉(D+1 及 D-1 葉)，並將葉片分為上段綠色部份與下段白

色部位進行試驗，以直徑 1.1cm 打孔器打成葉圓片，每片葉每個部位分別取三片圓片，莖頂部份取植株心部以 1.1cm 取條狀，再切成每片 0.2 cm 厚的圓片。圓片放入 EC 瓶中，每瓶 3 片，再加入 5ml 純水，置於 25℃ 下，以 70rpm 振盪兩小時，再以 EC Meter(Suntex SC-120)測定液體之 EC 值，為 EC1，將測完的樣品放入 -20℃ 凍箱 24 小時後取出解凍，置於 25℃ 下，以 70rpm 振盪兩小時，測量樣品 EC 值，為 EC2。EC1/EC2×100% 及為滲漏率。

(三) 乙烯釋放率與呼吸率

同上述(二)取圓片，圓片稱重後依不同部位放入 25ml 三角瓶中，加入 1ml 純水後以血清塞封口，置於 25℃±2℃ 及 2500lux 環境下，密閉四小時，以 1ml 注射針筒抽氣測量乙烯及二氧化碳。二氧化碳測定採用紅外線二氧化碳分析儀(IR-analyzer, Maihak, UNOR610)，計算其呼吸率，單位為 ml CO₂/kg · hr。乙烯以氣相層析儀(gas chromatograph, Shimadzu. Model GC-8A)用火鎢離子檢出器(FID)測定，再換算為乙烯之生成速率，單位為 μl C₂H₄/ kg · hr。

(四) 全碳測定

取‘台農十七號’(D 葉)及(D+1 及 D-1 葉)並分為綠色及白色部份，與短縮莖部份，先以自來水沖洗，再以 1%HCl 快速清洗，然後用去離子水沖洗 3 次，瀝乾水分後裝置牛皮紙袋中，至於通風烘箱中，先以 100℃ 殺菁 1 小時，再將溫度調降至 70℃ 持續 3~4 天至樣品重量不再變化。將烘乾樣品以磨粉機磨成粉末，裝入硫酸紙袋內，放入盒中保存，於分析前一天再置於烘箱以 70℃ 烘一天。測定時精秤 0.01g 樣品粉末置於磁舟中，同時再加入適量 MnO₂ 為催化劑，再置入已預熱至 950℃ 之全碳分析儀之石英管中，以排水集氣法搜集 CO₂，液體為 0.1N 之 H₂SO₄，記錄排水體積，並以 1ml 注射針頭抽取氣體，以二氧化碳分析儀(IR-analyzer, Maihak, UNOR610)分析二氧化碳，精秤 0.0125g α-D(+)-glucose (sigma)作為標準品，及空白磁舟為對照組。利用 glucose 算出回收率 R。

$$(\text{樣品長度}-\text{BK 長度}) \div \text{CO}_2 \text{ 標準品長度} \times \text{CO}_2 \text{ 標準品濃度} = \text{CO}_2 \text{ 濃度}\%$$

$$\text{CO}_2 \text{ 濃度}\% \div 100 \times \text{樣品排開水量體積} = \text{CO}_2 \text{ 體積}$$

$$\text{CO}_2 \text{ 體積} \div 24.5 \times 12 = \text{CO}_2 \text{ 毫克數}$$

$$\text{CO}_2 \text{ 毫克數} \times 100 \div \text{回收率 R} = \text{全碳含量}$$

結 果

一、葉片葉綠素螢光 Fv/Fm 之變化

Fv/Fm 的值在低溫處理前約為 0.8，催花後第 6、12 及 17 天經低溫處理回溫後，葉綠素螢光參數 Fv/Fm 會下降至 0.6，而於回溫 1~2 天內葉綠素螢光參數 Fv/Fm 會漸漸回復；催花後 22 及 36 天經低溫處理後葉綠素螢光參數 Fv/Fm 變化不大(圖 1)。

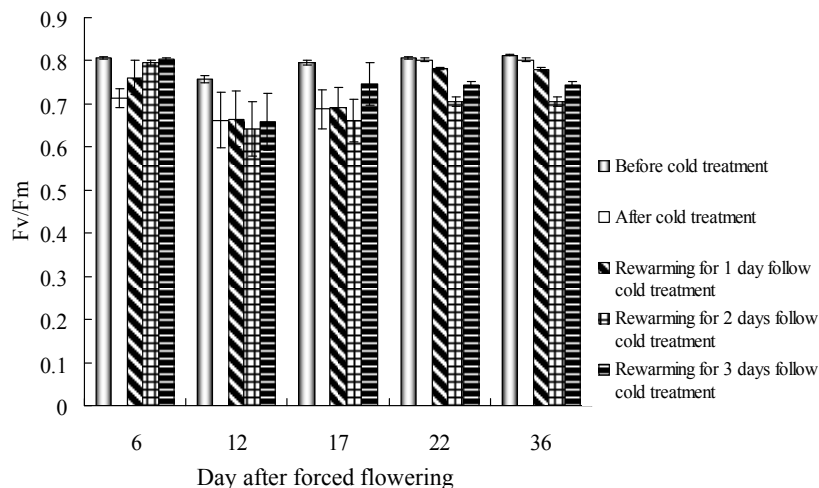


圖 1. ‘台農 17 號’鳳梨以 12℃ 日溫及 3℃ 夜溫處理 3~5 天及回溫後 1~3 天葉綠素螢光 (Fv/Fm) 變化。

Fig. 1. Effect of cold treatment(12℃/3℃, 3-5 days)and rewarming to ambient temperature at different days after forced flowering treatment on the Fv/Fm of ‘TN-17’ pineapple leaves.

二、葉片及莖頂離子滲漏率之變化

莖頂離子滲漏率最高，隨著催花後天數增加不論在低溫處理或未經低溫處理的植株都會呈一下降的趨勢。而莖頂部份，低溫處理的植株離子滲漏率較未處理的植株高，其中以催花後 12 與 22 天差異較大，而於 36 及 50 天植株，低溫處理者與對照組無顯著差異(圖 2C)。在葉片部分，綠色部份低溫處理後，離子滲漏率明顯高於未低溫處理的植株，以催花後 6 及 12 天葉片綠色部份滲漏值最高(圖 2A);白色部份則以催花第 6 及 12 天低溫處理組的離子滲漏率會略高於未低溫處理組，之後無顯著差異(圖 2B)

三、植株低溫前及回溫後外觀

低溫處理後葉片會在中段與尖端部分出現褐色塊斑，且大多出現於成熟展開葉(圖 3 A、B)，至回溫後 2 天褐斑中間部份開始轉為淡褐色(圖 3C、D)，回溫後 3 天褐斑中間部份轉為米白色，而外圍會呈較深的褐色(圖 3E、F)。

四、葉片及莖頂乙烯及呼吸率之變化

莖頂乙烯釋放量明顯高於葉片，在催花後，莖頂的乙烯釋放量約為 $25.25\mu\text{l} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ ，隨著催花天數的增加莖頂的乙烯釋放量呈下降趨勢，催花 50 天後莖頂的乙烯釋放量會降至 $0.25\mu\text{l} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ ，雖然低溫處理的植株乙烯釋放量會較未處理植株略高，但無顯著差異。葉片綠色部份的乙烯釋放量約為 $0.7\sim 1.0\mu\text{l} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ ；

低溫處理的植株在催花 36 天前乙烯釋放量約為 $1.1\sim 1.5\mu\text{l} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ ，比未處理組的釋放量高，但 36 天之後無顯著差異。葉片白色部分變化較大，催花後 6 天低溫處理 C_2H_4 生成量較對照組高，但隨催花後天數增加，乙烯釋放量會由 $1.0\mu\text{l} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ 降至 $0.3\mu\text{l} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ (圖 3)。

葉片綠色部份的呼吸率在催花後會由 $110 \text{ ml} \cdot \text{CO}_2/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ 漸漸上升，至催花後第 17 天呼吸率為 $190.17 \text{ ml} \cdot \text{CO}_2/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ ，隨後又下降，至催花後 50 天呼吸率為 $124.67 \text{ ml} \cdot \text{CO}_2/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ 。催花後 6 天低溫處理者顯著較對照組高，至催花後 12 天、22 天及 36 天，低溫處理與對照組差異不顯著。葉片白色部位的呼吸率為三部份中最低的，催花後呼吸率會由 $57.89 \text{ ml} \cdot \text{CO}_2/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ 漸漸下降至 $27.86 \text{ ml} \cdot \text{CO}_2/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ 。莖頂部份的呼吸率在催花後 6 天會上升至 $203.83 \text{ ml} \cdot \text{CO}_2/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ ，隨後下降至 $75.40 \text{ ml} \cdot \text{CO}_2/\text{Kg} \cdot \text{Hr}$ ，但莖頂呼吸率的波動較葉片白色部分大(圖 4)。

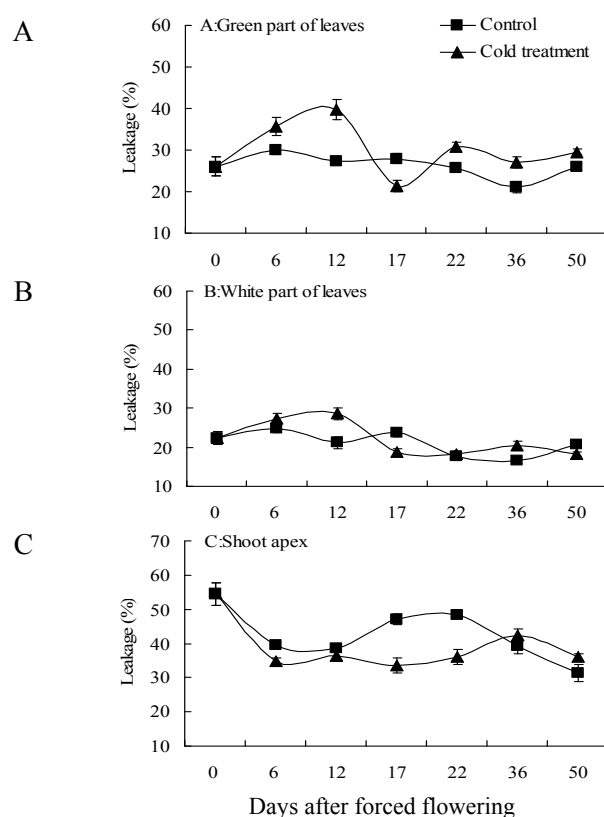


圖 2. '台農 17 號'鳳梨催花後於不同發育階段以 12°C 日溫及 3°C 夜溫低溫處理 3~5 天綠色葉片、白色葉片及莖頂滲漏率之變化。

Fig. 2. Effect of cold treatment ($12^{\circ}\text{C}/3^{\circ}\text{C}$, 3-5 days) at different days after forced flowering treatment on the leakage of 'TN-17' pineapple leaves and shoot apex.

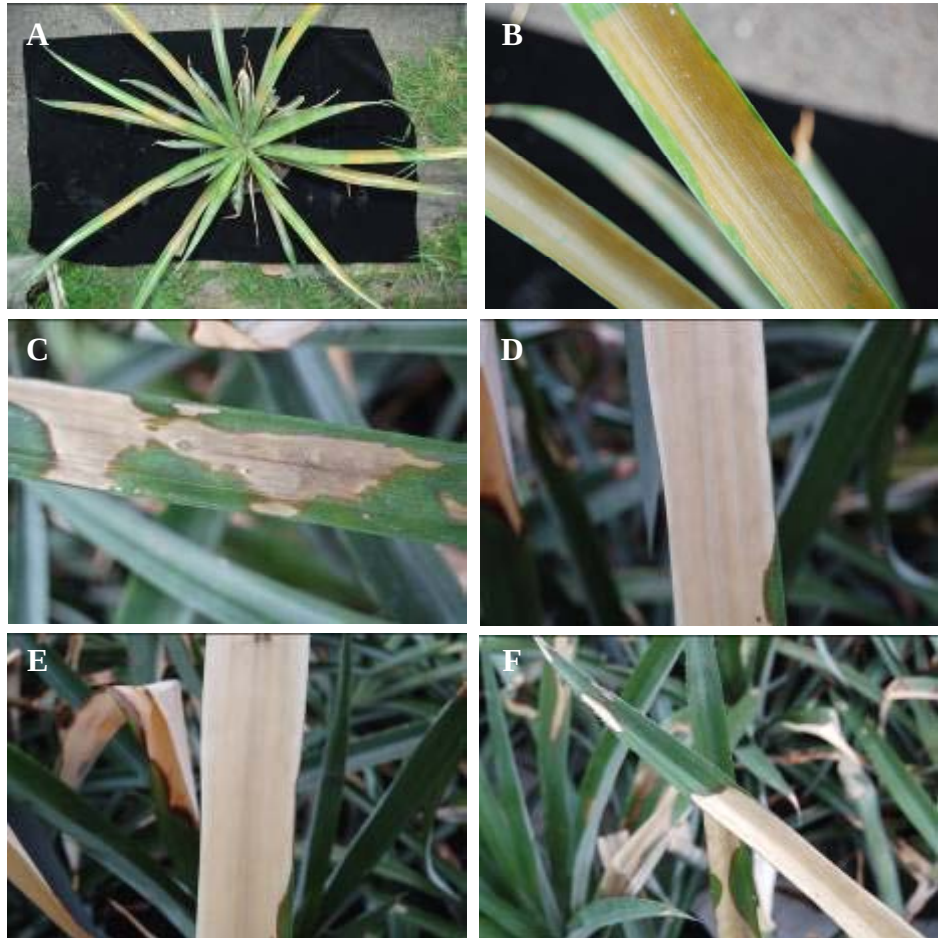


圖 3. '台農十七號'催花後 22 天植株經低溫處理 (日溫 12℃、夜溫 3℃) 3~5 天後植株葉片寒害情形。

Fig. 3. The symptom of chilling injury of 'TN-17' pineapple leaves after cold treatment (12℃/3℃ , 3-5 days).

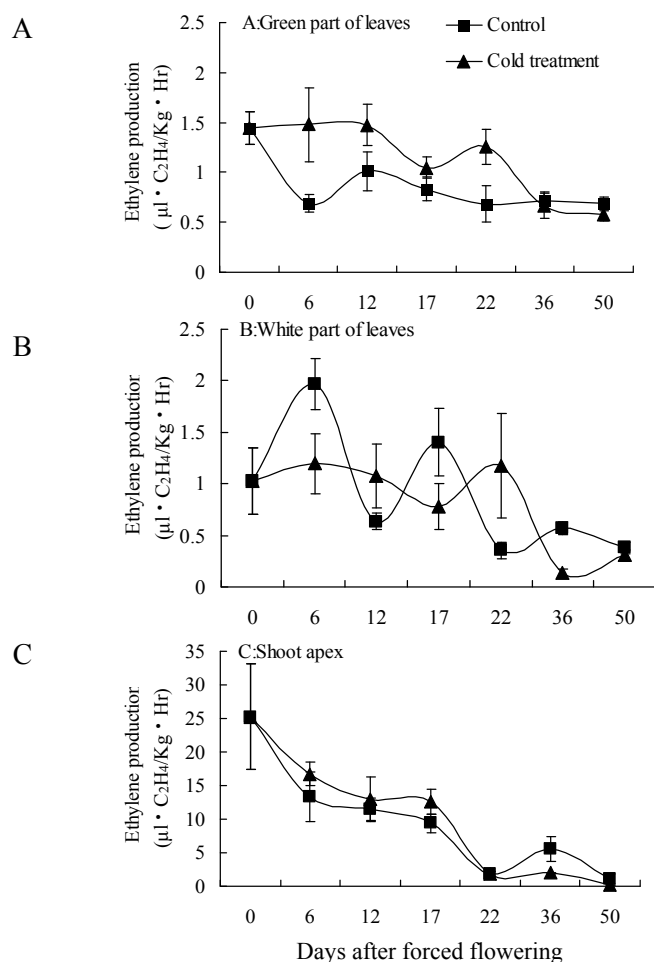


圖 4. ‘台農 17 號’鳳梨催花後於不同發育階段以 12℃ 日溫及 3℃ 夜溫低溫處理 3~5 天綠色葉片 (A)、白色葉片 (B) 及莖頂 (C) 乙烯釋放量之變化。

Fig. 4. Effect of cold treatment (12℃/3℃, 3-5 Days) and rewarming to ambient temperature at different days after forced flowering treatment on the ethylene production of ‘TN-17’ pineapple leaves (A、B) and shoot apex (C).

葉片綠色部分全碳含量在開花期間並無明顯變化，全碳含量大約在 60%-70%之間，於催花後第 6 天，低溫與未低溫處理者稍低。在葉片白色部份，未處理組碳含量於催花第 0 天為 54.79%，隨催花天數增加，碳含量也會漸漸上升，至催花後 50 天，葉片白色部分的碳含量為 73.21%；低溫後葉片白色部分碳含量會由 55.36%上升至 61.30%，比未經低溫處理的植株低。未處理低溫的莖頂部碳含量也會隨催花天數增加而增加，由 57.12%略微上升至 62.96%；催花後 6 及 12 天經低溫處理後，莖頂的碳含量會下降至 44.46%與 49.76%，而在 12 天之後碳含量，兩處理之間沒有明顯差異(圖 5)

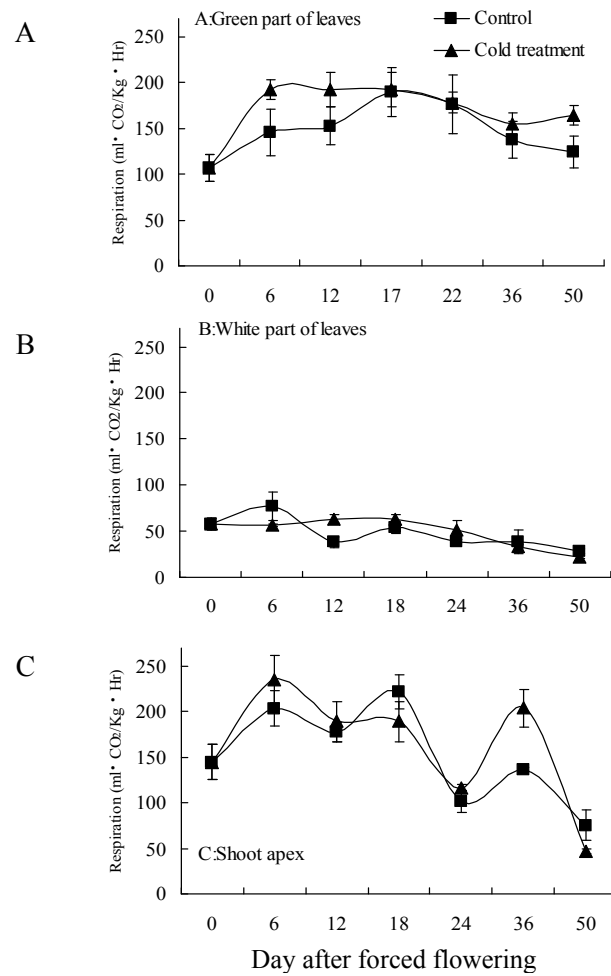


圖 5. '台農 17 號'鳳梨催花後於不同發育階段以 12℃ 日溫及 3℃ 夜溫低溫處理 3~5 天綠色葉片(A)、白色葉片(B)及莖頂(C)呼吸率之變化。

Fig. 5. Effect of cold treatment (12℃/3℃ , 3-5 days) and rewarming to ambient temperature at different days after forced flowering treatment on the respiration rate of 'TN-17' pineapple leaves (A、B) and shoot apex (C).

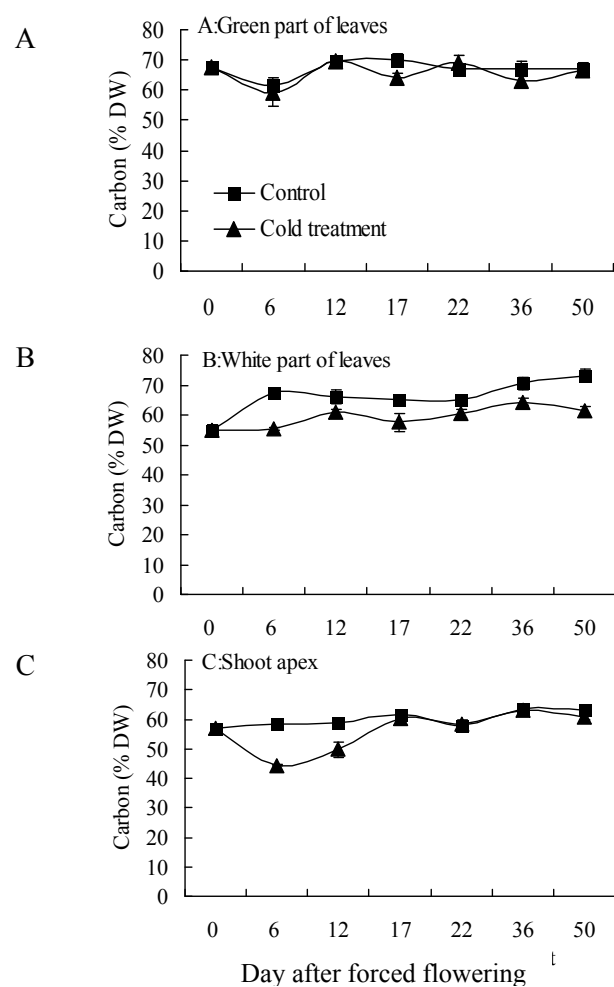


圖 6. ‘台農 17 號’鳳梨催花後於不同發育階段以 12℃ 日溫及 3℃ 夜溫低溫處理 3~5 天綠色葉片(A)、白色葉片(B)及莖頂(C)碳含量之變化。

Fig. 6. Effect of cold treatment(12℃/3℃ , 3-5 days)and rewarming to ambient temperature at different days after forced flowering treatment on the C concentration of ‘TN-17’ pineapple leaves (A 、 B) and shoot apex (C).

討 論

一、植株低溫前及回溫後葉綠素螢光變化

低溫對於熱帶及亞熱帶作物的 PSII 系統的光抑制研究已經有許多學者探討，低溫除了降低反應速率、限制二氧化碳的吸收與光呼吸外，也會破壞膜體系統的完整性，影響膜的流動速度與膜上蛋白的生合成(Martin *et al.*, 1981; Aro *et al.*, 1993; Flexas *et al.*, 1999; Melis 1999; Allen *et al.*, 2000)，膜體系統的受傷程度也會反應於葉綠素螢光參數上，本次試驗中測量‘台農 17 號’鳳梨葉片綠色部份葉綠素螢光，在催花處理後 6、12 及 17 天後經低溫處理回溫第 0 天，Fv/Fm 都有一明顯下降的趨勢，反應出膜體系統受低溫影響，許多關於低溫對 PSII 反應中心的傷害，焦點都集中於 D1 蛋白上。低溫下 PSII 的 D1 蛋白因為 P680 的傷害或者受到單線氧(O[•])的攻擊(Gong and Nilson, 1989)，低溫使膜的流動性降低也會造成 D1 蛋白轉換與運作速率下降(Gong and Nilson, 1989; Aro *et al.*, 1993)，此外 D1 蛋白的轉譯需要還原相等量的三磷酸腺苷，但在低溫下三磷酸腺苷的濃度很低，因此 D1 蛋白的重新合成在低溫下會被打斷(Kudoh and Sonoike, 2002)，影響 PSII 的量子效率，造成鳳梨葉片在低溫後葉綠素螢光參數 Fv/Fm 的值下降(圖 1)，在寒害嚴重的部份 Fv/Fm 值下降快速，葉片白化後 Fv/Fm 降至 0，而影響較輕微的部分葉綠素螢光 Fv/Fm 在回溫後 1~2 天內會漸漸回復，Fryer 等學者(1995)指出在受到光傷害的 D1 蛋白會進行修復的動作，進而利用聚丙烯胺電泳分析低溫後回溫的玉米類囊體膜上的蛋白質改變，在回溫後 12 小時後 D1 蛋白會大量生合成，受傷的 D1 蛋白會降解，而新合成的 D1 蛋白會取代受傷的 D1 蛋白(Ohad *et al.*, 1994)，PSII 反應中心修復後可進行穩定的電荷分離，而此修復動作也反應至 Fv/Fm 參數的增加上，由螢光參數顯示，催花初期經低溫處理對植株傷害較嚴重。

二、低溫下植株葉片寒害情形

葉綠素含量在低溫處理後會下降，低溫會傷害葉綠體，使其內部的葉綠餅排列混亂，造成葉綠體的崩解，葉綠素含量的下降可能也是導致光合產物降低的原因之一(Kratsh and Wise, 2000)。低溫使得膜體系統由液晶狀變為固膠狀，甚至使膜體系統破壞，造成細胞內胞器中內容物質流出，造成電解質的滲漏率增加(King and Ludford, 1983; Autio and Bramlage, 1986; Woods *et al.*, 1991)。鳳梨屬於簇生狀的葉片，葉片綠色部份直接曝露於低溫與光照下，造成低溫處理後葉片綠色部分的滲漏率明顯高於對照組(圖 4A)，在回溫後葉片會出現褐色塊斑(圖 3)，可能與褐化的酵素有關，其中影響褐化的酵素如 polyphenol oxidase (PPO) (位於 Chloplast 上)、Polyphenol (位於液泡內)，在自然狀態下兩者並不會結合，當膜破裂後兩者接觸後會產生褐化物質。另外 ascorbate peroxidase (AsPOD)、catalase (CAT)、peroxidase (POD)、phenylalanine (PAL)皆會釋出用來平衡過多的 reactive oxygen species (ROS)，清除過多的 H₂O₂。其中 PPO 又為褐化的關鍵酵素，PPO 為含銅的酵素，在許多高等植物中會催化單酚烴基與 o-二酚形成 o-醌，o-醌會繼續聚合並且與親核性的氨基酸共價結合形成黑色或褐色的化合物於細胞間隙中(Zhou *et al.*, 2003)。在自然環境下，

鳳梨葉片與根中就可以偵測到 PPO 的活性與相關基因的表達，而在受傷之後 PPO 的活性與相關基因的表現量都會大量增加(Stewart *et al.*, 2001)，當植株於低溫下時酵素活性較低，所以褐化情形較輕微，而將植株移至溫室回溫後，可能酵素活性上升，造成葉片褐化情形加劇(圖 3)。而在葉片白色部位與莖頂，在低溫下離子滲漏率並無較高的情形(圖 4B)，可能因白色部分與莖頂被包覆於簇生狀的植株中，低溫對其影響較小。在莖頂部份的滲漏率，未處理的組別反而會比低溫下的值來的高(圖 4C)，可能未經低溫處理的植株莖頂正進行花芽分化及花序發育階段，此時細胞正值快速發育期細胞因酸生長造成 H^+ 離子打出及其他正價離子之交換，而有較高滲漏值所致；而低溫處理因植株延遲發育尚未進入細胞快速生長期。

三、葉片及莖頂乙烯及呼吸率之變化

植株綠色葉片因直接曝露於低溫下，因此受低溫影響最嚴重。Wang 與 Adams 學者(1980)指出，對於低溫敏感的作物，低溫逆境後再回溫其乙烯釋放率會劇增，此種乙烯生合成途徑與一般果實後熟後引起之更年期自生乙烯生合成途徑相同。回溫後乙烯生合成的關鍵可能為 ACC synthase，低溫下 ACC 與 ACC oxidase 仍會持續累積，當植株回溫後 ACC synthase 活性升高，造成乙烯大量生合成(Wang and Adams, 1982)。低溫處理後綠色葉片的乙烯釋放量高於對照組(圖 4A)，而葉片基部與莖頂的差異並不明顯，可能因簇生生長的形態，保護葉片基部與莖頂避免低溫的傷害，而葉片綠色部份直接曝露於低溫下，造成綠色部分的寒害情形較嚴重；也可能是低溫下 ACC 經由蒸散流運輸至葉片綠色部分，回溫後酵素活性增加使的乙烯量上升，造成綠色葉片回溫後乙烯產生量高於對照組。

呼吸率的變化也與乙烯類似，在回溫後，葉片綠色部分的呼吸率會高於對照組(圖 5A)。Wang(1982)指出，低溫下可能會導致作物的粒腺體發生氧化磷酸化不偶合現象，導致細胞喪失完整性。低溫後膜的完整性被破壞，也會導致代謝受阻，使得代謝中間產物會累積，而造回溫後，代謝速度會異常加快，造成呼吸率提高(Lyons, 1973；Wang, 1982)。但葉片白色部份與莖頂部分在回溫後並無明顯差異(圖 5B、C)。

四、葉片及莖頂全碳之變化

亞熱帶與熱帶植物在遭遇低溫下第一個受影響的為光合作用速率的降低(Wise and Naylor, 1987)，在 15°C 下 Rubisco 的活性約只有 PEPC 的二分之一至三分之一，且在 20°C 下 Rubisco 與 PEPC 的活性約是 15°C 下的 3 倍左右(Kingston-Smith and Foyer 2000)，造成在低溫下植株淨光合作用能力受到影響，固定二氧化碳的量下降，造成低溫下植株的碳含量較低，尤其是在葉片白色部份的碳含量，會明顯低於對照組。葉片白色部份為植株碳水化合物儲藏及轉運之處，當葉片綠色所固定的碳不足時，葉片白色部份的碳水化合物來源減少，造成白色葉片碳含量下降。

參考文獻

- 王怡尹。2007。鳳梨田間寒害與採收過程受傷之研究。國立嘉義大學園藝學研究所碩士論文。pp. 56-61。
- 台灣農業統計年報。2008。行政院農委會編印。
- 行政院農業委員會。2006。鳳梨知識主題網。取自 <http://kmweb.coa.gov.tw/subject/mp.asp?mp=7>。
- 行政院農業委員會。2008。農業新聞 / 寒害災害資料。
- 李學勇。1985。鳳梨演進簡史。中國園藝 31：1-5。
- 張清勤、官青杉。2001。鳳梨品種改良及回顧及未來展望。台灣鳳梨品種改良。與病蟲害管理研討會專刊。pp. 1-14。
- 黃碧海。2004。台灣鳳梨產業銷售現況與發展。台灣鳳梨研究與發展研討會專刊。國立嘉義大學編印。pp. 1-12。
- Allen, D. J., K. Ratner, Y. E. Giller, E. E. Gussakovsky, Y. Shahak, and D. R. Ort. 2000. An overnight chill induces a delayed inhibition of photosynthesis at midday in mango (*Mangifera indica* L.). J. Exp. Bot. 51: 1893-1902
- Autio, W. R. and W. J. Bramlage. 1986. Chilling sensitivity of tomato fruit in relation to ripening and senescence. J. Am Soc Hortic. Sci. 111: 201-204.
- Aro, E. M., I. Virgin, and B. Andersson. 1993. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. Biochimica et biophysica acta. Bioenergetics. 1143: 113-134.
- Flexas, J., M. Badger, W. S. Chow, H. Medrano, and C. B. Osmond. 1999. Analysis of the relative increase in photosynthetic O₂ uptake when photosynthesis in grapevine leaves is inhibited following low night temperatures and/or water stress. Plant Physiol. 121: 675-684.
- Gong, H. and S. Nilson. 1989. Effect of temperature on photoinhibition of photosynthesis, recovery, and turnover of the 32 kD chloroplast protein in *Lemna gibba*. J. Plant Physiol. 135: 9-14.
- Kingston-Smith, A. H. and C. H. Foyer. 2000. Bundle sheath proteins are more sensitive to oxidative damage than those of the mesophyll in maize leaves exposed to paraquat or low temperatures. J. Experi. Bot. 51: 123-130.
- Kratsch, H. A. and R. R. Wise. 2000. The ultrastructure of chilling stress. Plant Cell Environ. 23: 337-350.
- Martin, B., D. R. Ort, and J. S. Boyer. 1981. Impairment of photosynthesis by chilling-temperatures in tomato. Plant Physiol. 68: 329-334.
- Melis, A. 1999. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? Elsevier Science 4: 130-135.

- Ohad, I., N. Keren, H. Zer, H. Gong, T. S. Mor, A. Gal, S. Tal, and Y. Domovich. 1994. Light-induced degradation of the photosystemII reaction centre D1 protein in vivo: an integrative approach. pp. 161-177. In: N. R. Baker, J. R. Bowyer, (eds.). Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field. Bios Scientific, Oxford, UK.
- Wang, C. Y. 1982. Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. HortScience17: 173-181.
- Wang, C. Y. and D. O. Adams. 1980. Ethylene production by chilled cucumber (*Cucumis sativus* L.) . Plant Physiol. 66: 841-843.
- Wang, C. Y. and D. O. Adams. 1982. Chilling-induced ethylene production in cucumbers (*Cucumis sativus* L.) . Plant Physiol. 69: 424-427.
- Wise, R. R., J. McWilliam, and A. W. Naylor. 1983. A comparative study of low-temperature-induced ultrastructural alterations of three species with differing chilling sensitivities. Plant Cell Environ. 6: 525-535.
- Woods, F. M., J. O. Garner, Jr, J. L. Silva, and C. Phromtong. 1991. Estimation of chilling sensitivity in leaves of sweet potato by chlorophyll fluorescence and electrolyte leakage. Phyton 52: 33-37.
- Zhou, Y., J. M. Dahler, S. J. R. Underhill, and R. B. H. Wills. 2002. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. Food Chem. 80: 565-572

Effect of Cold Treatment at Different Stage after Forced-flowering on the Development of ‘Tainung No.17’ Pineapple Plant.

Hsien-Hao Tseng¹⁾ Huey-Ling Lin²⁾

Key words: *Ananas comosus* L. Merr., Chilling injury, Chlorophyll fluorescence, Membrane leakage, Ethylene

Summary

In order to produce pineapple fruits year round in Taiwan, pineapple growers usually forced flowering in the late fall or winter to force the production of pineapple fruits by late spring or summer. The purpose of this study was to investigate the effects of low temperature upon the development of the ‘TN-17’ pineapple plants and fruits, during different time periods after forced flowering.

The ‘TN-17’ pineapple plants underwent an application of forced flowering. Next they were exposed to 12°C/8H, 3°C/16H for 3-5 day periods during different stages of their development, then they allowed to grow to maturity. On the 6th, 12th and 17th days after forced flowering, chlorophyll fluorescence parameter Fv/Fm decreased. However, in browning areas caused by chilling injury, Fv/Fm, chlorophyll fluorescence parameter and chlorophyll content decreased to almost 0. Additionally, the green part of leaves suffered high membrane leakage. Ethylene production and respiration rate increased slightly in the green part than control, but total carbon content decreased in the white part. In conclusion, forced flowering and low temperature treatments resulted in the following: browning spots on the green part of leaves, decreased Fv/Fm ratio, increased ethylene production, respiration rate, decreased total carbon content.

1) Graduate Student in MS. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

溫湯處理及冷藏對'台農 17 號'鳳梨果實 有機酸代謝之影響

劉 名 旂¹⁾ 陳 京 城²⁾

關鍵字：鳳梨、溫湯處理、冷藏、有機酸代謝

摘要：'台農 17 號'鳳梨果實之檸檬酸含量經貯藏後有降低之趨勢，而溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)與未經處理者比較，則有提高之趨勢。蘋果酸含量經常溫貯藏後上升，但經溫湯處理後其含量並無顯著之變化。經溫湯處理後(36-45°C)檸檬酸含量與處理前(blank)並無顯著差異，而之後再經冷藏(8°C)後則有較未經處理者高之趨勢。在酵素活性方面，經溫湯處理後之 CS、MDH、cIDH 及 cME 均有上升之情形，而 cACO 及 mME 則下降。經溫湯處理後冷藏之果實其 CS、MDH、mACO、cME、cIDH 及 PEPC 酵素活性均呈現上升之趨勢。CS 酵素活性的提高，可能增加檸檬酸之生合成；MDH、mACO、cIDH、cME 及 PEPC 酵素活性的提高，可能促使蘋果酸生合成，其可作為檸檬酸循環或其他生化合成之原料；cIDH 活性提高亦可將檸檬酸用作胺基酸生合成原料。檸檬酸含量與 cME 活性呈正相關，與 PEPC 活性呈負相關；蘋果酸含量則與 mACO 及 cME 活性呈負相關，與 PEPC 活性呈正相關。從上述結果推測溫湯處理造成之鳳梨果實有機酸含量下降，可能為呼吸作用速率提高所致，但也有可能有部份之有機酸被供作抗逆境蛋白生合成之用，因而造成其含量之下降。

前 言

園產品熱處理(heat treatment)指在園產品貯藏前，利用高溫(約 36°C~50°C)處理以達到防止果實腐敗、延緩後熟、殺死害蟲、維持品質及減輕低溫傷害等目的之處理方式(Lurie, 1998)。熱處理中的溫湯處理又被稱為熱水處理(hot water dipping treatment; HWT)，常被用

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助理教授，通訊作者。

於對病原菌的控制上，短時間的處理溫度可達 50-70℃，一般以果心溫度達 46-47℃後持續 20 分鐘為主要處理方式(官，2004)。除此之外，也可利用於防治鳳梨果實黑心病(蘇，2008)。

熱處理一般會降低果實的酸含量，而對果實的糖度影響較小，因此使果實變甜(Paull and Chen, 2000)。蘋果經熱處理後亦會使酸度降低(Klein and Lurie, 1992)。熱處理降低鳳梨果實的可滴定酸含量(Weerahewa and Adikaram, 2005)，而降低的有機酸種類則以檸檬酸及蘋果酸為主(官，2004)。

檸檬酸主要被用作糖的產生、胺基酸合成及 acetyl-CoA 的代謝(Katz *et al.*, 2007)。檸檬酸在粒線體中經 citrate synthase(CS)催化 oxaloacetate(OAA)及 acetyl-CoA 濃縮產生，而經 mitochondrion-aconitase(mACO)異構成異檸檬酸後，再經 mitochondrion-isocitrate dehydrogenase(mIDH)催化生成 2-oxoglutarate(2-OG)，用以繼續檸檬酸循環；在細胞質中則經 cytosolic-ACO(cACO)與 cytosolic-IDH(cIDH)作用代謝，而為氨基酸之生合成所用(Sadka *et al.*, 2000; Katz *et al.*, 2007)。因此，檸檬酸的合成受到 CS 活性所影響，降解則受到 ACO 及 IDH 的作用所調控。一般認為蘋果酸合成的關鍵酵素為 phosphoenolpyruvate carboxylase(PEPC)，其主要存在於細胞質中，可催化 phosphoenolpyruvate(PEP)羧化產生 OAA 的反應，OAA 則可經 malate dehydrogenase(MDH)催化產生蘋果酸，也可經糖質新生作用(gluconeogenesis)而還原成糖類(Beruter, 2004)。另外在粒線體中，蘋果酸可經檸檬酸循環為 fumarate 催化而產生，而為 MDH 催化而代謝成 OAA，但其亦可催化 OAA 產生蘋果酸(Katz *et al.*, 2007)。蘋果酸則可在細胞質或粒線體中經由 ME 或 MDH 催化而代謝(Katz *et al.*, 2007)。

果實酸度是決定鳳梨食用品質的主要因素之一，而有機酸的含量影響酸度的高低，故有機酸代謝相關酵素為影響果實酸度之重要因素。本試驗之目的為分析鳳梨果實經溫湯處理及冷藏後之有機酸含量變化與其相關代謝酵素活性之關係，尋找影響鳳梨果實酸度差異之主要關鍵酵素，以作為將來利用熱處理改善鳳梨果實黑心病及改良鳳梨果實品質時之參考。

材 料 與 方 法

一、試驗材料

試驗材料為台灣主要鳳梨栽培品種'台農 17 號'，來源為南投縣名間鄉陳姓農戶之鳳梨園，取樣於 2007 年 7 月上旬。採樣依果實成熟度判斷，以果皮顏色為基準，選取果實為綠熟期之鳳梨。

二、試驗方法

溫湯處理為果心溫度達到 36℃、39℃、42℃及 45℃後立即取出，取出後於室溫(25±2℃)待其陰乾，再予以調查，另有溫湯處理並陰乾後移至 8℃冷藏 14 天，再移出至室溫(25±2℃)7 天後調查。CK1 為於室溫(25±2℃)下儲藏 21 天之果實，CK2 為無溫湯處理並 8℃冷藏 14 天，再移出至室溫(25±2℃)儲藏 7 天之果實。每處理 6 顆果實。果實性狀調查於儲藏結束當天或隔日在實驗室中進行。酵素活性分析用之鳳梨果肉樣品為果實中段去除果心之果肉切成 1-2 cm³，用液態氮急速冷凍之，儲存於-20℃下備用。酵素分析時將 2 顆果實之果肉樣品混合作 1 重複，共 3 重複。

三、有機酸之分析

檸檬酸、蘋果酸及總有機酸含量：將冷凍之鳳梨果肉樣品以研鉢在液態氮中磨成粉末，取樣品 5 g 加入純水 20 ml，以均質機充分混合 2 分鐘，置於 40℃溫水浴 30 分鐘，再離心(10,000 ×g) 10 分鐘。取上層液 1.5 ml 後以 0.45 μm 過濾膜(Millex-HV, Millipore)除去雜質，再以高效能液相層析儀(high performance liquid chromatography, HPLC)[幫浦：Hitachi pump L-2130、檢測器：Hitachi UV detector L-2400、column：Waters KC-811]分析之，分析條件為：管柱溫度 60℃，移動相 0.1% phosphoric acid，流速 1 ml min⁻¹，紫外光檢測波長 210 nm，進樣量 20 μl，以百分比表示之。

四、有機酸代謝酵素(CS、MDH、ACO、IDH、ME、PEPC)活性之分析

1. 酵素萃取

酵素之萃取乃參照 Chen 及 Paull (2000)之方法修正。將冷凍之鳳梨果肉樣品以研鉢在液態氮中磨成粉末。依樣品:緩衝液=1:3 的比例，取果肉樣品 5g 加入 15 ml 緩衝液[100 mM 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid (MOPS，以 5 M NaOH 調整至 pH7.5)，1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)，2.5 mM DL-Dithiothreitol (DTT)，0.05% Triton X-100 (v/v)，1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)，20 μM trans-epoxysuccinyl-L-leucylamido-(4-guanidino) butane (E-64)，10 mg/ml polyvinyl polypyrrolidone (PVPP)]以均質機充分混合 2 分鐘，離心(13,000 ×g) 30 分鐘，其上層液為可溶性酵素萃取液，可測定蛋白質含量、MDH、CS 活性。另外取可溶性酵素萃取液 5 ml，使用去鹽過濾濃縮管(Amicon Ultra 30,000 MWCO, Millipore)純化酵素。以緩衝液[100 mM MOPS (pH 7.5)，2.5 mM DTT]稀釋鹽類濃度 500 倍以上。離心(3500 ×g)濃縮上層液至 1.5 ml，用於測定濃縮蛋白質含量、PEPC、ACO、ME、IDH 活性。全程樣品均置於 4℃下。萃取酵素之相關藥品購自 Sigma 及 USB 公司。

2. 蛋白質含量測定

參照 Bradford(1976)之方法修正，取 4 ml 反應試劑[0.01% (w/v) brilliant blue G-250, 4.7% (v/v) ethanol, 8.5% phosphoric acid]加入 0.1 ml 可溶性酵素萃取液，反應 2 分鐘後，以分光光度計(Thermo Spectronic, HeλIOSα)測定波長 595 nm 之 OD 值。標準曲線為牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA) 0-125 μg 之 OD 值。

3. 酵素活性之測定

(1) CS (citrate synthase)

本測定方法參考 Morgunov and Srere(1998)修正之。1 ml 反應溶液[100 mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.5 mM OAA, 0.2 mM Acetyl-CoA, 0.2 mM DTNB, 50 μ l 可溶性酵素萃取液]，混合均勻後測定延遲 3 秒，反應 15 秒後，波長 420 nm 之上升 OD 值。

(2) MDH(malate dehydrogenase)

本測定方法參考 Morgunov and Srere(1998)修正之。1 ml 反應溶液[100 mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.2 mM NADH, 0.5 mM OAA, 50 μ l 可溶性酵素萃取液]，混合均勻後測定延遲 5 秒，反應 30 秒後，波長 340 nm 之下降 OD 值。

(3) ACO(aconitase)

本測定方法參考 Jenner 等人(2001)修正之。

cACO(cytosolic-aconitase)測定：1 ml 反應溶液[80 mM HEPES-NaOH (pH 7.5), 0.05% Triton X-100, 0.5 mM NADP, 0.2 U NADP⁺-isocitrate dehydrogenase, 8 mM aconitate, 5 mM MnCl₂, 50 μ l 可溶性酵素濃縮萃取液]，混合均勻後測定延遲 10 秒，反應 1 分鐘後，波長 340 nm 之上升 OD 值。

mACO(mitochondrion-aconitase)測定：1 ml 反應溶液[80 mM HEPES-NaOH (pH 7.5), 0.05% Triton X-100, 0.5 mM NAD⁺, 0.2 U NADP⁺-isocitrate dehydrogenase, 8 mM aconitate, 5 mM MnCl₂, 50 μ l 可溶性酵素濃縮萃取液]，混合均勻後測定延遲 10 秒，反應 1 分鐘後，波長 340 nm 之上升 OD 值。

(4) IDH (isocitrate dehydrogenase)

本測定方法參考 Gallardo 等人 (1995)修正之。

cIDH(cytosolic-IDH)測定：1 ml 反應溶液[100 mM Tris-HCl (pH 7.5), 5 mM MgCl₂, 2 mM isocitrate, 0.5 mM NADP, 50 μ l 可溶性酵素濃縮萃取液]，混合均勻後測定延遲 10 秒，反應 1 分鐘後，波長 340 nm 之上升 OD 值。

mIDH(mitochondrion-IDH)測定：1 ml 反應溶液[100 mM Tris-HCl (pH 7.5), 5 mM MgCl₂, 2 mM isocitrate, 0.5 mM NAD⁺, 50 μ l 可溶性酵素濃縮萃取液]，混合均勻後測定延遲 10 秒，反應 1 分鐘後，波長 340 nm 之上升 OD 值。

(5) ME(malic enzyme)

本測定方法參考 Knee and Finger (1992)修正之。

cME(cytosolic-malic enzyme)測定：1 ml 反應溶液[100 mM MOPS (pH 7.0), 10 mM malate, 0.5 mM NADP, 5 mM MnCl₂, 50 μ l 可溶性酵素濃縮萃取液]，混合均勻後測定延遲 10 秒，反應 1 分鐘後，波長 340 nm 之上升 OD 值。

mME(mitochondrion-malic enzyme)測定：1 ml 反應溶液[100 mM MOPS (pH 7.0), 10 mM malate, 0.5 mM NAD⁺, 5 mM MnCl₂, 50 μ l 可溶性酵素濃縮萃取液]，混合均勻後測定延遲 10 秒，反應 1 分鐘後，波長 340 nm 之上升 OD 值。

(6) PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase)

本測定方法參考 Merlo 等人(1993)修正之。1 ml 反應溶液[100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 5 mM MgCl₂, 50 mM NaHCO₃, 3 U malate dehydrogenase, 0.2 mM NADH, 2 mM PEP, 100 µl 可溶性酵素濃縮萃取液]，混合均勻後測定延遲 10 秒，反應 1 分鐘後，波長 340 nm 之下降 OD 值。

(7) 活性換算

參照 Morgunov and Srere(1998)，以 DTNB 於 A₄₂₀ 下之 molar absorption coefficients 為 13,600 M⁻¹ cm⁻¹，NAD(P)於 A₃₄₀ 下之 molar absorption coefficients 為 6,300 M⁻¹ cm⁻¹ 換算之。

五、統計分析

本試驗之數據以 Microsoft Excel 整理並製作試算表及相關性分析，並以 SAS(Statistic Analysis System)套裝軟體進行 ANOVA 分析，以最小顯著差異法(Least Significant Difference method, LSD)做事後比較分析，顯著水準(significance level)為 5%。

結 果

'台農 17 號'鳳梨果實經溫湯處理及冷藏後之有機酸含量調查如表 1。未經溫湯處理前之檸檬酸含量為 0.63%，在常溫貯藏後(CK1)約下降 0.12%，經冷藏後(CK2)約下降 0.14%，具顯著差異；溫湯處理後(36-45°C)檸檬酸含量與處理前(blank)並無顯著差異，但有降低之趨勢，而之後再經冷藏除 45°C+8°C 之處理顯著較 CK1 及 CK2 高外，其他處理並無顯著差異，但有提高之趨勢。未經溫湯處理前之蘋果酸含量為 0.19%，在常溫貯藏後(CK1)顯著上升，約上升 0.17%，經冷藏後(CK2)則無顯著差異；溫湯處理後(36-45°C)蘋果酸含量與 blank 並無顯著差異，而之後再經冷藏者均顯著低於 CK1，但與 CK2 差異不顯著。未經溫湯處理前之總酸量為 0.82%，經冷藏後(CK2)顯著下降，約下降 0.09%；溫湯處理後(36-45°C)總酸量與 blank 並無顯著差異，而之後再經冷藏亦與 CK1 及 CK2 無顯著差異，但有降低之趨勢。

'台農 17 號'鳳梨果實於溫湯處理及冷藏後之有機酸相關代謝酵素活性及比活性變化如表 2 及表 3。CS 酵素活性於常溫貯藏(CK1)時活性可上升至 3.77 mmol min⁻¹ g⁻¹ Fw，而經冷藏處理者(CK2)較低，約 2.34 mmol min⁻¹ g⁻¹ Fw，但並未達顯著之差異；比活性變化有類似之情況。經溫湯處理而未貯藏(36-45°C)者，其 CS 酵素活性亦有上升之情形，其中以 36°C 及 42°C 溫湯處理之 CS 酵素活性顯著較 blank 高；比活性變化亦有類似結果，但僅有以 36°C 溫湯處理者具顯著差異。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之 CS 酵素活性與 CK2 並無顯著差異，但經溫湯處理後有活性較高之情形，且其活性於經 42°C+8°C 處理者與 CK1 較接近；比活性變化有類似情況。MDH 酵素活性於常溫貯藏(CK1)時活性可上升至 3.24 mmol min⁻¹ g⁻¹ Fw，而經過冷藏處理之 CK2 較低，約 2.81 mmol min⁻¹ g⁻¹ Fw，但仍有上升且具顯著差異；比活性變化有類似之趨勢。經溫湯處理而未貯藏(36-45°C)者，其 MDH 酵

素活性有上升之情形，且均顯著較 blank 高；比活性變化有類似結果。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之 MDH 酵素活性除 42°C+8°C 處理外，均顯著較 CK2 高，且其活性與 CK1 均無顯著差異；比活性則僅有 45°C+8°C 處理顯著較 CK2 高，且均與 CK1 無顯著差異。mACO 酵素活性於 blank、CK1 及 CK2 之間並無顯著差異，但於 CK2 有較高之情形；於比活性亦無顯著差異。經溫湯處理而未貯藏(36-45°C)者，其活性與 blank 間並無顯著差異，但於 39-45°C 有上升之情形；比活性變化有類似情況。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之酵素活性與 CK2 及 CK1 均無顯著差異，但有經溫湯處理後活性較高之情形，其中於經 36°C+8°C 處理者與 CK1 較接近，經 42°C+8°C 處理者與 CK2 較接近；比活性變化有類似情況。cACO 酵素活性及比活性經貯藏(CK1 及 CK2)後活性降低。經溫湯處理而未貯藏(36-45°C)者，除 39°C 處理者外，其餘處理均顯著較 blank 為低；比活性變化有類似情況，但均顯著較 blank 為低。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之活性僅有經 45°C+8°C 處理者顯著較 CK2 高，其餘處理與 CK2 並無顯著差異；比活性變化則與 CK2 均無顯著之差異。mIDH 酵素活性及比活性於各處理間並無顯著差異。cIDH 酵素活性貯藏於常溫(CK1)時顯著上升至 $45.3 \mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{Fw}$ ，而經溫湯處理(36-45°C)後其活性亦會顯著上升(除 39°C 處理之外)；比活性變化有類似之趨勢，其中經 39°C 及 42°C 溫湯處理者差異不顯著，但仍有上升之趨勢。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之酵素活性顯著較 CK2 為高，且與 CK1 較接近，其中僅 42°C+8°C 處理之活性顯著較 CK1 為低；比活性變化有類似情況，但經 36-45°C+8°C 處理之酵素比活性均較 CK1 為低。mME 酵素活性於常溫貯藏(CK1)時會降低，若經冷藏(CK2)可維持其活性；比活性則均有顯著的降低。經溫湯處理而未貯藏(36-45°C)者，其酵素活性與 blank 並無顯著之差異，但其活性有降低之趨勢；比活性變化則有顯著下降之情況。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之酵素活性與 CK2 並無顯著差異；比活性變化有類似情況。cME 酵素活性於 blank、CK1 及 CK2 之間並無顯著差異，但比活性於 CK1 及 CK2 顯著較低。經溫湯處理而未貯藏(36-45°C)者，其酵素活性有上升之情形，均顯著較 blank 為高；比活性則僅有 36°C 及 39°C 處理與 blank 無顯著差異，而 42°C 及 45°C 處理顯著較 blank 為低。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之酵素活性除 42°C+8°C 之外，均顯著較 CK2 為高；比活性與 CK2 並無顯著差異，但有比活性較高之趨勢。PEPC 酵素活性於常溫貯藏(CK1)時顯著上升，於冷藏(CK2)後會維持較低之活性，但經溫湯處理後(36-45°C)其活性變化差異不顯著；比活性有類似之趨勢。經溫湯處理後冷藏(36-45°C+8°C)之酵素活性除 42°C+8°C 處理外，均與 CK2 並無顯著差異，而 42°C+8°C 處理顯著較 CK2 為高，但各處理(36-45°C+8°C)之活性均有較 CK2 高之趨勢；比活性變化有類似情況。

'台農 17 號'鳳梨果實於溫湯處理及冷藏後之有機酸含量與其相關代謝酵素活性及比活性之相關性如表 4 所示。在活性方面，檸檬酸含量與 cME($r=0.8585$)($P \leq 0.01$)呈顯著正相關，與蘋果酸含量($r=-0.5525$)($P \leq 0.1$)及 PEPC($r=-0.5575$)($P \leq 0.1$)呈顯著負相關；蘋果酸含量與 PEPC($r=0.5560$)($P \leq 0.1$)呈顯著正相關，與 mACO($r=-0.5438$)($P \leq 0.1$)、mME(r

=-0.7104)($P \leq 0.05$)及 cME($r = -0.5953$)($P \leq 0.1$)呈顯著負相關。在比活性方面，檸檬酸含量與 cME($r = 0.8153$)($P \leq 0.01$)呈顯著正相關，與 PEPC($r = -0.5558$)($P \leq 0.1$)呈顯著負相關；蘋果酸含量與 cIDH($r = 0.6081$)($P \leq 0.05$)及 PEPC($r = 0.6774$)($P \leq 0.05$)呈顯著正相關，與 mACO($r = -0.5463$)($P \leq 0.1$)呈顯著負相關。

表 1. '台農 17 號'鳳梨果實經溫湯處理及冷藏後之有機酸含量

Table 1. The acid contents in 'TN17' pineapple fruit flesh after hot water dipping treatment and cold storage.

Treatment ^z	CA ^y (%)	MA(%)	TA(%)
Blank	0.63±0.07 a ^x	0.19±0.02 bcd	0.82±0.09 ab
CK1	0.51±0.00 c	0.36±0.00 a	0.87±0.00 a
CK2	0.49±0.06 c	0.21±0.02 bc	0.71±0.06 c
36°C	0.64±0.05 a	0.20±0.02 bcd	0.84±0.06 a
39°C	0.58±0.06 abc	0.18±0.02 bcd	0.76±0.07 abc
42°C	0.62±0.06 ab	0.19±0.02 bcd	0.81±0.07 abc
45°C	0.62±0.09 abc	0.18±0.02 d	0.80±0.10 abc
36°C+8°C	0.56±0.10 abc	0.22±0.05 b	0.77±0.13 abc
39°C+8°C	0.58±0.12 abc	0.19±0.02 bcd	0.77±0.13 abc
42°C+8°C	0.54±0.06 bc	0.19±0.04 bcd	0.73±0.07 bc
45°C+8°C	0.60±0.10 ab	0.18±0.03 cd	0.78±0.12 abc

^z Blank: No treatment and storage. CK1: No hot water treatment and stored at room temperature for 3 weeks. CK2: No hot water treatment, fruits were stored at 8°C for 2 weeks followed by at room temperature for 1 week. 36-45°C: After treated with hot water, no storage. 36-45°C+8°C: After treated with hot water, fruits were stored at 8°C for 2 weeks, followed by at room temperature for 1 week.

^y CA: Citric acid, MA: Malic acid, TA: Total acid.

^x Mean± Standard error. Mean separation within columns by Least Significant Difference (LSD) test, $P=0.05$.

表 2. '台農 17 號'鳳梨果實經溫湯處理及冷藏後之有機酸相關代謝酵素活性變化

Table 2. Changes in activities of organic acid metabolizing enzymes in 'TN17' pineapple fruit after hot water dipping treatment and cold storage.

Treatment ^z	Activity(mmol min ⁻¹ g ⁻¹ Fw)			Activity(μmol min ⁻¹ g ⁻¹ Fw)					
	CS	MDH	mACO	cACO	mIDH	cIDH	mME	cME	PEPC
Blank	1.60±0.08 b ^y	2.24±0.33 f	16.8± 7.4 abc	19.5±2.8 a	9.4±3.6 a	9.1± 2.1 e	54.0±6.5 a	119.8±10.6 c	10.9±1.8 de
CK1	3.77±1.42 ab	3.24±0.16 bcde	15.8± 3.7 c	10.1±1.1 e	8.9±2.9 a	45.3± 2.3 a	37.0±7.4 b	99.1±12.8 c	20.7±1.1 a
CK2	2.34±1.50 ab	2.81±0.31 e	19.4± 3.2 abc	11.5±0.4 de	9.6±3.0 a	21.7± 4.3 d	49.3±7.2 a	101.5±13.4 c	11.8±1.0 bcde
36°C	3.98±1.91 a	3.77±0.38 a	16.3± 4.1 bc	12.6±3.2 bcde	8.7±1.4 a	23.7± 5.1 cd	45.9±4.0 a	144.8±11.3 a	10.2±2.0 e
39°C	3.01±1.41 ab	2.83±0.35 e	25.8± 3.0 a	16.0±2.4 abc	8.6±2.0 a	14.6± 1.2 de	49.8±3.9 a	126.8± 4.9 ab	9.0±1.4 e
42°C	3.91±1.93 a	3.70±0.45 ab	23.9±10.9 abc	12.2±1.1 cde	10.7±3.4 a	20.1± 6.6 d	46.2±6.0 a	132.1± 8.4 ab	12.7±5.4 bcde
45°C	2.69±1.45 ab	3.02±0.25 de	25.4± 4.6 ab	11.9±0.8 de	10.5±2.2 a	21.8± 4.2 d	48.3±4.2 a	126.5± 4.2 ab	11.1±0.8 cde
36°C+8°C	2.89±0.58 ab	3.63±0.38 abc	15.6± 7.2 c	12.9±3.1 bcde	10.4±2.9 a	44.8± 0.6 a	54.1±6.6 a	125.4±13.9 ab	16.3±6.4 abc
39°C+8°C	2.71±1.42 ab	3.60±0.10 abc	23.2± 5.0 abc	14.6±1.5 bcd	9.8±1.9 a	40.9± 7.2 a	47.2±4.7 a	128.5±18.7 ab	16.8±2.1 ab
42°C+8°C	3.96±1.29 a	3.18±0.29 cde	19.5± 1.5 abc	11.8±2.7 de	11.5±4.9 a	31.5± 5.5 bc	45.3±2.5 ab	111.8±20.0 c	19.3±2.9 a
45°C+8°C	4.14±0.18 a	3.46±0.05 abc	24.6± 2.6 abc	16.2±3.4 ab	11.8±1.6 a	37.2±10.7 ab	50.0±1.2 a	130.6± 3.6 ab	15.7±3.4 abcd

^z Blank: No treatment and storage. CK1: No hot water treatment and stored at room temperature for 3 weeks. CK2:No hot water treatment, fruits were stored at 8°C for 2 weeks followed by at room temperature for 1 week. 36-45°C:After treated with hot water, no storage. 36-45°C+8°C: After treated with hot water, fruits were stored at 8°C for 2 weeks, followed by at room temperature for 1 week.

^y Mean± Standard error. Mean separation within columns by Least Significant Difference (LSD) test, P=0.05.

表 3. '台農 17 號'鳳梨果實經溫湯處理及冷藏後之有機酸相關代謝酵素比活性變化

Table 3. Changes in specific activities of organic acid metabolizing enzymes in 'TN17' pineapple fruit after hot water dipping treatment and cold storage.

Treatment ^z	Specific activity (mmol min ⁻¹ mg ⁻¹ protein)			Specific activity(μmol min ⁻¹ mg ⁻¹ protein)						
	CS	MDH	mACO	cACO	mIDH	cIDH	mME	cME	PEPC	
Blank	1.02±0.16 b ^y	1.42±0.12 d	27.9±12.5 abc	32.2±5.1 a	15.5±5.7 a	15.0±2.7 g	89.1±5.9 a	198.9±25.4 a	18.2±4.1 cd	
CK1	2.18±0.92 ab	1.86±0.13 bc	21.9±4.6 bc	14.0±1.0 d	12.5±4.4 a	62.7±2.9 a	51.0±8.5 d	136.9±15.2 d	28.7±2.5 a	
CK2	1.47±0.98 ab	1.73±0.23 cd	26.1±4.8 abc	15.4±0.3 cd	13.0±4.3 a	29.3±6.6 ef	66.0±8.4 bc	136.7±21.8 d	15.9±0.8 cd	
36°C	2.63±1.25 a	2.49±0.37 a	23.6±6.0 bc	18.3±4.2 bcd	12.6±2.1 a	34.4±7.6 de	66.7±6.3 bc	209.8±9.3 a	14.8±3.0 cd	
39°C	1.97±0.94 ab	1.85±0.19 bc	36.9±5.3 a	22.8±2.7 b	12.3±2.9 a	20.8±2.1 fg	70.9±4.1 b	180.9±7.3 ab	12.8±1.7 d	
42°C	2.10±0.99 ab	2.01±0.10 bc	30.8±14.4 abc	15.6±1.8 cd	13.8±5.0 a	25.5±7.9 efg	58.6±5.7 cd	168.1±9.8 bc	16.0±6.1 cd	
45°C	1.68±1.03 ab	1.85±0.12 bc	32.4±8.0 ab	15.2±2.3 cd	13.2±1.3 a	27.4±3.3 ef	61.8±11.3 bcd	161.2±19.7 bcd	14.1±0.6 cd	
36°C+8°C	1.58±0.38 ab	1.97±0.14 bc	19.2±8.0 c	16.2±3.4 cd	12.9±2.9 a	56.3±2.9 ab	68.1±9.1 bc	157.6±17.1 bcd	20.3±7.0 bc	
39°C+8°C	1.49±0.85 ab	1.94±0.18 bc	27.6±5.1 abc	17.4±1.5 cd	11.7±2.1 a	49.2±10.5 bc	56.4±4.2 cd	153.7±21.5 bcd	20.2±2.7 bc	
42°C+8°C	2.26±0.72 ab	1.82±0.16 bc	26.0±2.7 abc	15.7±3.7 cd	15.2±6.2 a	41.7±6.0 cd	60.3±5.0 bcd	148.1±21.9 cd	25.8±4.5 ab	
45°C+8°C	2.48±0.31 a	2.07±0.20 b	30.2±3.5 abc	19.9±3.4 bc	14.5±1.9 a	46.0±14.9 bcd	61.5±2.2 bcd	160.7±12.8 bcd	19.1±3.4 cd	

^z Blank: No treatment and storage. CK1: No hot water treatment and stored at room temperature for 3 weeks. CK2: No hot water treatment, fruits were stored at 8°C for 2 weeks followed by at room temperature for 1 week. 36-45°C: After treated with hot water, no storage. 36-45°C+8°C: After treated with hot water, fruits were stored at 8°C for 2 weeks, followed by at room temperature for 1 week.

^y Mean± Standard error. Mean separation within columns by Least Significant Difference (LSD) test, P=0.05.

表 4. '台農 17 號'鳳梨果實經溫湯處理及冷藏後之有機酸含量與其相關代謝酵素活性及比活性之相關性

Table 4. Correlations between organic acid contents and organic acid metabolizing enzyme activities and specific activities in 'TN17' pineapple fruit after hot water dipping treatment and cold storage.

	Acitvities			Specific activities		
	CA	MA	TA	CA	MA	TA
CA	—			—		
MA	-0.5525*	—		-0.5525*	—	
TA	0.4402	0.5052	—	0.4402	0.5052	—
CS	0.0004	0.1859	0.2006	0.0781	0.1315	0.2225
MDH	0.1208	0.0601	0.1898	0.2902	-0.0358	0.2619
mACO	0.2749	-0.5438*	-0.3012	0.3751	-0.5463*	-0.2002
cACO	0.4927	-0.4750	-0.0016	0.4503	-0.3174	0.1244
mIDH	0.0404	-0.3800	-0.3676	0.2059	-0.2977	-0.1075
cIDH	-0.4496	0.5029	0.0763	-0.4886	0.6081**	0.1492
mME	0.3504	-0.7104**	-0.4025	0.3758	-0.4121	-0.0548
cME	0.8585***	-0.5953*	0.2475	0.8153***	-0.4046	0.4083
PEPC	-0.5575*	0.5660*	0.0325	-0.5558*	0.6774**	0.1544

^z CA: Citric acid, MA: Malic acid, TA: Total acid, CS: Citrate synthase, MDH: Malate dehydrogenase, mACO: Mitochondria-aconitase, cACO: Soluble-aconitase, mIDH: Mitochondria-isocitrate dehydrogenase, cIDH: Soluble-isocitrate dehydrogenase, mME: Mitochondria-malic enzyme, cME: Soluble-malic enzyme, PEPC: Phosphoenolpyruvate carboxylase.

*, **, ***: Coefficient significant at $P \leq 0.1, 0.05, 0.01$, respectively.

討 論

鳳梨果實(Paull and Chen, 2000; 官, 2004)及蘋果果實(Klein and Lurie, 1992)經熱處理後均有酸度降低之情形。然本研究發現溫湯處理後(36-45°C)之'台農 17 號'鳳梨果實其檸檬酸及蘋果酸並沒有顯著之變化(表 1)。經溫湯處理後冷藏之檸檬酸含量有較未經處理者高之趨勢,可知溫湯處理後可減緩於貯藏期間對於檸檬酸的消耗,推測經溫湯處理後會產生熱休克蛋白以抵抗熱逆境,另本試驗中之溫湯處理有助於提升 CS 的活性(表 2 及表 3),而減緩了檸檬酸的消耗。蘋果酸含量經溫湯處理後顯著較未經處理且常溫貯藏之果實低,由於植物組織若暴露於高於生長溫度約 10°C 時,會誘導生成熱休克蛋白以抗熱逆境(蘇, 2008),因此推測蘋果酸有可能被供作抗逆境蛋白生合成之用,而造成其含量之下降。

在酵素活性方面,經溫湯處理後之 CS、MDH、cIDH 及 cME 有上升之情形, cACO 及 mME 則有下降之現象,而 mACO 在溫度較高時有上升之情形(表 2 及表 3)。其中 CS 酵素活性的提高,可能增加檸檬酸之生合成,但此時有機酸含量下降,推測其活性之上升可減緩因呼吸作用速率提高所造成的有機酸含量下降; MDH、cIDH 及 cME 酵素活性的提高,可促使 OAA 為 MDH 催化形成蘋果酸後再為 cME 催化產生 pyruvate,而 pyruvate 可以作為檸檬酸循環之原料被利用,亦可被用作於其他物質的合成;如蛋白質的生合成(Borsani *et al.*, 2009)。cIDH 活性提高亦可將檸檬酸用作胺基酸生合成原料,增加胺基酸的生合成(Sadka *et al.*, 2000; Katz *et al.*, 2007),推測可能與高溫逆境相關蛋白之生合成有關。mME 酵素活性的下降減少了蘋果酸於粒線體中被催化成 pyruvate 供作呼吸作用基質的機會,而增加蘋果酸被運送至細胞質內供 cME 作用催化成 pyruvate 用以其他生化合成的可能性,另外 mACO 酵素活性在溫度較高時的上升,可增加蘋果酸之生合成。因此有機酸在溫湯處理時可能被用作呼吸基質而消耗掉,亦有可能被作用其他生化合成之基質;如蛋白質及胺基酸之生合成。

溫湯處理後經冷藏之果實,其 CS、MDH、mACO 及 cIDH 酵素活性均呈現上升之趨勢,但與常溫貯藏者(CK1)較為接近, cME 及 PEPC 酵素活性亦呈現上升之趨勢(表 2 及表 3)。其中 CS 酵素活性提高,且溫湯溫度越高者活性越高,其可增加檸檬酸之生合成,且其有機酸含量較 CK2 為高,推測此時其較高之活性可減少檸檬酸於貯藏期間之消耗; MDH、cME 及 PEPC 酵素活性之提高有助於將糖酵解作用所得之 PEP 轉換成 OAA,並由 MDH 將其催化成蘋果酸,再經 cME 催化形成 pyruvate,其亦可催化貯藏於液胞之蘋果酸成為 pyruvate,而 pyruvate 可以作為檸檬酸循環之原料被利用,亦可被用作於其他的生化合成;如蛋白質的生合成(Borsani *et al.*, 2009)。溫湯處理後冷藏之果實,其蛋白質含量亦較 CK2 為高(data not showed)。另外 mACO 酵素活性的上升,亦可增加蘋果酸之生合成。cIDH 活性的提高則有助於代謝檸檬酸,並可促進胺基酸之生合成。另外可觀察到 mME 酵素活性之下降及 cME 酵素活性上升時,有機酸含量有下降之趨勢,此所產生之相關性與前述相同。

在本試驗中可發現檸檬酸含量與 cME 活性呈顯著正相關，與 PEPC 活性呈顯著負相關(表 4)，PEPC 活性提高可能導致 PEP 往生合成蘋果酸之方向移動，減少 PEP 往生合成檸檬酸之路徑的機會，因此呈現負相關。而 cME 可催化蘋果酸形成 pyruvate，用以進行 TCA cycle 或其他生化合成，因此可能有利檸檬酸之生合成，而呈現正相關。蘋果酸含量與 cME 及 mACO 活性呈顯著之負相關，而與 PEPC 活性呈顯著正相關(表 4)，PEPC 可將糖酵解得之 PEP 催化生成 OAA，並可進一步由 MDH 催化生成蘋果酸，而 cME 可直接利用蘋果酸(Borsani *et al.*, 2009)，將蘋果酸催化成 pyruvate 供利用，而 mACO 活性上升可使檸檬酸代謝，往蘋果酸生合成路徑前進，雖其有利蘋果酸生合成，但 cME 對蘋果酸的直接消耗較 mACO 的影響大，因此促使蘋果酸含量的下降，因此使 cME 及 mACO 均呈現負相關，在枇杷(Chen *et al.*, 2009)的研究中 cME 及 PEPC 也有同樣之相關性。

由酸含量與有機酸相關代謝酵素活性變化可知，經溫湯處理之鳳梨果實，其有機酸可能有機被供作呼吸作用基質或是其他生化合成所利用而消耗。有機酸之消耗，可能為鳳梨果實提供所需之能量或胺基酸(Sadka *et al.*, 2000; Katz *et al.*, 2007)及蛋白質之生合成(Borsani *et al.*, 2009)，於蛋白質含量方面，經溫湯處理者確有提升(data not showed)，其是否作為生合成抗逆境蛋白之用則有待進一步之研究。

誌 謝

本研究承蒙行政院農業委員會 95 農科-1,3,2-糧-Z1(10)計劃補助經費，謹致謝忱。

參 考 文 獻

- 官青杉。2004。降低冬果鳳梨酸度之研究。國立嘉義大學農學研究所碩士論文。p. 1-77。
- 蘇俊麟。2008。植物生長調節劑與溫湯處理對鳳梨黑心劣變發生之影響。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。p. 1-91。
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Beruter, J. 2004. Carbohydrate metabolism in two apple genotypes that differ in malate accumulation. *J. Plant Physiol.* 161: 1011-1029.
- Borsani, J., C. O. Buddle, L. Porrini, M. A. Lauxmann, V. A. Lombardo, R. Murray, C. S. Andreo, M. F. Drincovich, and M. V. Lara. 2009. Carbon metabolism of peach fruit after harvest: changes in enzymes involved in organic acid and sugar level modifications. *J. Exp. Bot.* 60: 1823-1837.

- Chen, C.-C. and R. E. Paull. 2000. Sugar metabolism and pineapple flesh translucency. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125: 558-562.
- Chen, F.-X., X.-H. Liu, and L.-S. Chen. 2009. Developmental changes in pulp organic acid concentration and activities of acid-metabolising enzymes during the fruit development of two loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars differing in fruit acidity. *Food Chem.* 114: 657-664.
- Gallardo, F., S. Gálvez, P. Gadal, and F. M. Cánovas. 1995. Changes in NADP⁺-linked isocitrate dehydrogenase during tomato fruit ripening. *Planta* 196: 148-154.
- Jenner, H. L., B. M. Winning, A. H. Millar, K. L. Tomlinson, C. J. Leaver, and S. A. Hill. 2001. NAD⁺ malic enzyme and the control of carbohydrate metabolism in potato tubers. *Plant Physiol.* 126: 1139-1149.
- Katz, E., M. Fon, Y. J. Lee, B. S. Phinney, A. Sadka, and E. Blumwald. 2007. The citrus fruit proteome: insights into citrus fruit metabolism. *Planta* 226: 989-1005.
- Klein, J. D. and S. Lurie. 1992. Prestorage heating of apple fruit for enhanced postharvest quality: interaction of time and temperature. *Hort Sci.* 27: 326-328.
- Knee, M. and F. L. Finger. 1992. NADP⁺-malic enzyme and organic acid levels in developing tomato fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117: 799-801.
- Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 14:257-269.
- Merlo, L., P. Geigenberger, M. Hajirezaei, and M. Stitt. 1993. Changes of carbohydrates, metabolites and enzyme activities in potato tubers during development, and within a single tuber along a Stolon-Apex gradient. *J. Plant Physiol.* 142: 392-402.
- Morgunov, I. and P. A. Srere. 1998. Interaction between citrate synthase and malate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 273: 29540-29544.
- Paull, R. E. and N. J. Chen. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 257-269.
- Sadka, A., E. Dahan, E. Or., and L. Cohen. 2000. NADP⁺-isocitrate dehydrogenase gene expression and isozyme activity during citrus fruit development. *Plant Sci.* 158: 173-181.
- Weerahewa, D. and N. K. B. Adikaram. 2005. Heat-induced tolerance to internal browning of pineapple (*Ananas comosus* cv. Mauritius) under cold storage. *J. Hort. Sci. Biotech.* 80: 503-509.

Effect of Hot Water Dipping Treatment and Cold Storage on Organic Acid Metabolism in 'Tainung-17' Pineapple Fruit

Ming-Chi Liu ¹⁾ Ching-Cheng Chen ²⁾

Key words: Pineapple, Hot water dipping treatment, Cold storage, Organic acid metabolism

Summary

Citric acid contents in 'Tainung-17' pineapple fruit decreased after room temperature storage or cold storage. After hot water dipping treatment and cold storage (36-45°C+8°C), citric acid contents increased. Malic acid contents increased after room temperature storage, but there were no significant changes after hot water dipping treatments. After hot water dipping treatment, citric acid contents was not significantly different from the blank, but was higher than non-treated fruits after cold storage. After hot water dipping treatments, CS, MDH, cIDH and cME activities increased, but cACO and mME decreased. After cold storage, CS, MDH, mACO, cME, cIDH and PEPC activities in heat treated fruits increased. Higher CS activity favored citric acid synthesis and higher activities of MDH, mACO, cIDH, cME and PEPC favored malic acid synthesis, which could be used in the TCA cycle or other biosynthesis pathways. An increase in cIDH activity might increase amino acid biosynthesis. Citric acid contents was positively correlated with cME activity and negatively correlated with PEPC activity. Malic acid contents was negatively correlated with mACO and cME activities and positively correlated with PEPC activity. The results suggested that organic acid contents in pineapple fruit decreased after hot water dipping treatment maybe due to an increase in respiration rate or be used for stress responsive protein biosynthesis.

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

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

Corresponding author.

果實成熟度、種子含水量、發芽介質及化學處理對番木瓜種子發芽的影響

阮氏暄¹⁾ 張武男²⁾ 宋好³⁾ 王秋雁⁴⁾

關鍵字：番木瓜、種子、發芽率

摘要：不同成熟度之木瓜果實，經貯藏後可以提高種子發芽率，以 35℃ 乾燥種子經 3 個月貯藏，發芽率為 45% 顯著高於 26℃ 下乾燥種子的 35%。‘台農二號’種子發芽最適溫度為 30℃，但 25/30℃ 與 25/35℃ 變溫下，以捲紙法進行者發芽率達 88.8 與 96.6%。種子以 GA₃ 與 KNO₃ 處理均可提高種子發芽率，但以 GA₃ 與 KNO₃ 混合藥劑處理較單一藥劑處理顯著提高發芽率。

前言

番木瓜為熱帶與亞熱帶地區重要栽培果樹，台灣地區栽培面積達 2,909 公頃，產量為 92,914 公噸(台灣農業年報，2008)。由於番木瓜雖有利用嫁接苗或組培苗的栽培，但一般栽培均以種子繁殖為主，其種子特性為介於正儲與異儲型之間的中間型種子(林，2009)，因此在種子乾燥過程中，種子含水量(Badek *et al.*, 2006)、乾燥溫度(曾，1992; Yahiro, 1979)，以及貯藏溫度(施，1995; 郭，1988)等，都會顯著影響種子活力。種子發芽易受發芽環境條件影響，如溫度、光線、介質種類等。新鮮木瓜種子又具有極高之休眠性，種子構造及休眠性的研究證明(林，2009; 陳，1994; Chow and Lin, 1991)，外種皮與種皮的去除，可以提高種子的發芽率。其他研究指出木瓜果實的成熟度與果實的後熟處理，亦可以提高種子活力(王，1971; 邱等，1997; 施和郭，2004; 曾，1991)。除了增加種子貯藏間可以有效增加種子發芽率，利用外加的藥劑與生長素(Furutani *et al.*, 1993; Furutani and Nagao, 1989)能顯著提高種子發芽率。試驗目的在研究(1)不同成熟度木瓜果實經不同種子乾燥溫度與貯藏期對種子發芽之影響，(2)最適種子發芽環境條件及(3)外加化學處理對種子活力提升之研究。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2, 3, 4) 國立中興大學園藝學系兼任教授、教授(通訊作者)及研究助理。

材 料 與 方 法

一、試驗材料

研究發芽條件及化學藥劑打破休眠方法之供試木瓜品種為‘台農二號’與‘日陞’二品種，種子購自農友種苗公司。分析果實成熟度與種子乾燥方法對種子品質影響的木瓜果實，為購自木瓜農戶栽培的‘台農二號’。

二、試驗方法

(一)、果實成熟度、種子含水量及發芽介質對種子發芽的影響

- 1.將‘台農二號’四個不同成熟度 L1 溝熟轉色、L2 溝熟、L3 綠熟轉色與 L4 綠熟果實的種子室溫乾燥至含水量為 8~12%，經 0、1、2 及 3 個月貯藏後，進行發芽試驗。
- 2.將‘台農二號’木瓜種子洗淨後，置於室溫(27℃)與 35℃ 乾燥箱，乾燥至種子含水量到 8% 與 12%時取出。再將種子置於鋁箔袋，經 0、1、2 及 3 個月的貯藏後，於 30℃ 下進行發芽試驗。
- 3.農友種苗公司的‘台農二號’及‘日陞’品種，種子分別以培養皿、捲紙法、砂土及泥炭土，於 20、25、30、35℃ 及 25/30、25/35℃ 的變溫下進行發芽試驗，調查其發芽率。
- 4.種子發芽試驗：將 30 粒處理種子，置於培養皿中，上下各置一張濾紙，種子置於二層濾紙中用蒸餾水浸溼，每日調查一次發芽數。以外種皮破裂，胚根露出為發芽，每二日並更換一次濾紙，進行調查至第 15 天止。共三重複，一重複三個培養皿。

(二)、化學處理對促進種子的影響

- 1.化學處理：將‘台農二號’30 粒種子
 - (a) 以 100、150、200、250 ppm GA₃ 200 ml 浸潤 24 小時後。
 - (b) 以 1、2、3、4%的 KNO₃ 200ml 浸潤 24 小時後，取出洗淨再進行發芽試驗。
- 2.混合化學溶液處理：將‘台農二號’木瓜種子 30 粒
 - (a) 以 200 ppm GA₃ 100ml + 1% KNO₃ 100ml 共 200ml 浸潤 2、4 與 24 小時
 - (b) 以 100 ppm GA₃ 100ml + 1% KNO₃ 100ml 共 200ml 浸潤 2、4 與 24 小時
 - (c) 以 50 ppm 6 BA 100ml + 1% KNO₃ 100ml 共 200ml 浸潤 1 小時
 - (d) 以 0.7% KNO₃ 100ml + 33.3 ppm GA₃ 100ml + 33.3 ppm 6-BA 100ml 共 300ml 浸潤 1 小時，將種子洗淨後進行發芽試驗。
- 3.種子發芽試驗，方法同試驗(一)。

三、統計分析

以上試驗數據採用 SAS 套裝軟體(SAS Insbitue, Cary, NC)中的 PROC ANOVA (analysis of variance procedure) 進行變方分析($\alpha = 0.05$)，以 Fisher's LSD 進行各處理間平均值的比較。

結 果

35°C 乾燥之番木瓜種子經 3 個月的貯藏後發芽率由 5.6 % 顯著提高至 45 %，26°C 乾燥者則由 2.8 % 顯著提高至 30 % (圖 1)，種子經三個月貯藏後，以 35°C 乾燥者之發芽率極顯著高於以 26°C 乾燥種子。

調查不同果實成熟度 L1 溝熟轉色、L2 溝熟、L3 綠熟轉色與 L4 綠熟經不同貯藏時間對種子發芽率的影響，結果如表一。不同成熟度果實，在 8°C 下貯藏，隨貯藏時間的增加發芽率亦可提高，唯至貯藏 3 個月後，不同成熟度果實種子發芽率呈顯著差異 (表 1)。

‘台農二號’及‘日陞’番木瓜的種子分別放置於培養皿、捲紙法、砂土及泥炭土，於 20、25、30、35°C 及 25/30、25/35°C 的變溫下進行發芽試驗，結果如表 2。二品種番木瓜種子發芽率均隨溫度的增加，種子的發芽率顯著提高，但溫度超過 35°C 下則會降低發芽率，番木瓜種子在溫度 30°C 下發芽率最佳為最適發芽溫度。‘台農二號’種子於 30°C 下捲紙法和培養皿的發芽率分別為 81.1 和 75.5 %，顯著高於砂土和泥炭土處理。‘日陞’種子則以捲紙法的發芽率 76.6 % 顯著高於培養皿 54.4 %，但與砂土和泥炭土處理間無顯著差異。二品種番木瓜種子於 25/30 和 25/35°C 變溫下都可提高發芽率，以‘台農二號’促進發芽率效果高於‘日陞’，所有處理的種子發芽率均達 50 % 以上，‘台農二號’在 25/35°C 變溫下置於培養皿發芽率可達 96.6 %。

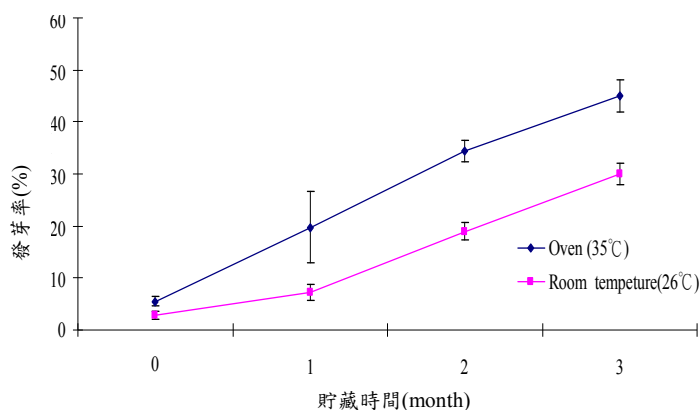


圖 1. 二種溫度乾燥之種子於貯藏期間之發芽率變化情形

Fig 1. Effect of seed storage time on germination of papaya seeds dried by oven (35°C) and room temperature (26°C). Bars represent standard error of the mean of three replicates.

表 1. 不同果實成熟度及貯藏時間對番木瓜種子發芽率的影響^z

Table 1. Effect of seed storage month and maturity on papaya seed germination.

成熟度	貯藏時間 (month)			
	0	1	2	3
L1 ^y	1.1 a ^x	3.7 b	18.4 a	28.8 a
L2	0.0 a	4.0 b	14.8 a	22.9 bc
L3	0.0 a	4.0 b	19.2 a	19.9 c
L4	1.1 a	6.9 a	15.9 a	28.1 ab
LSD	2.5	2.6	7.1	5.7

^z貯藏溫度為 8°C

^yL1 溝熟轉色、L2 溝熟、L3 綠熟轉色與 L4 綠熟

^xMeans within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

二、化學處理對種子活力的影響

利用不同 GA₃ 濃度處理番木瓜種子對種子發芽率的影響，結果如表 3，指出 GA₃ 濃度明顯影響種子發芽率，種子發芽率隨 GA₃ 濃度之增加即提高。種子以和 250 ppm GA₃ 處理後，可提高發芽率達到 50 %，並顯著高於 150 和 200 ppm GA₃ 處理之 14.4、16.6 與 27.7 %。

利用 1、2、3 和 4 % KNO₃ 濃度浸潤 24 小時番木瓜種子，調查不同濃度對種子發芽率的影響(表 4)，指出 KNO₃ 濃度有顯著影響，KNO₃ 濃度由 1 %提高至 4 %，可顯著將發芽率由 10 %提高至 17.8 %。

單用 GA₃ 或 KNO₃ 對番木瓜種子的發芽率效果不高，但利用混合 200 ppm GA₃ 加 1 % KNO₃ 及 100 ppm GA₃ 加 1 % KNO₃ 浸潤 2、4 及 24 小時發芽率都提高可以達到 71.1~83.3 % (表五)，並顯著較僅以 GA₃ 或 KNO₃ 處理者高。

表 2. 不同介質及溫度對番木瓜種子發芽率的影響

Table 2. Effect of media and temperature on germination of papaya seeds.

品種	介質	溫度 (°C)					
		20	25	30	35	25/30	25/35
台農二號	培養皿	18.8 ab ^z	31.1 bc	75.5 a	10.0a	78.8 ab	83.3 ab
	捲紙法	30.0 a	41.1 ab	81.1 a	11.1 a	88.8 a	96.6 a
	砂土	10.0 c	48.8 a	55.5 b	8.8 a	50.0 b	65.0 b
	泥炭土	11.1 bc	26.6 c	46.6 b	13.3 a	60.0 ab	73.3 ab
LSD		11.7	12.5	11.3	6.0	32.2	27.7
日陞	培養皿	26.6 b	30.0 b	54.4 b	7.7 b	58.8 b	60.0 b
	捲紙法	42.2 a	33.3 b	76.6 a	8.8 b	68.8 a	77.7 a
	砂土	28.8 b	30.0 b	58.8 ab	35.5 a	73.3 a	68.8 ab
	泥炭土	33.3 ab	61.1 a	66.6 ab	33.3 a	71.6 a	73.3 a
LSD		17.0	13.4	18.4	8.3	9.9	11.6
品種				* ^y			
介質				**			
溫度				**			
品種×介質				**			
品種×溫度				**			
介質×溫度				**			
品種×介質×溫度				**			

^zMeans within the same letters in a column are not significantly different by Fishers LSD test at 5% level.^yn.s.,*,** indicated nonsignificant or significant at p=0.05 or 0.01, respectively.表 3. 番木瓜種子浸於不同濃度 GA₃ 24 小時後對發芽率的影響Table 3. Germination of papaya seed after soaking 24 hours in different concentration of GA₃.

處理	濃度 (ppm)	發芽率 (%)
GA ₃	100	4.4 bc ^z
	150	16.6 bc
	200	27.7 b
	250	50.0 a
H ₂ O (CK)		1.0 c
LSD		18.3

^zMeans within the same letters in a column are not significantly different by Fishers LSD test at 5% level.

表 4. 番木瓜種子浸於不同濃度硝酸鉀 24 小時後對發芽率的影響

Table 4. Germination of papaya seed after soaking 24 hours in different concentration of KNO₃.

處理	濃度 (%)	發芽率(%)
KNO ₃	1	10.0 b ^z
	2	15.5 ab
	3	16.6 ab
	4	17.8 a
H ₂ O (CK)		1.0c
LSD		7.5

^z Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

表 5. 不同濃度藥劑結合處理與浸種時間對番木瓜種子發芽率的影響

Table 5. Effect of different combination chemical concentration and soaking time on germination of papaya seeds.

處理	浸種時間 (hours)	發芽率 (%)
200 ppm GA ₃ + 1% KNO ₃	2	76.6 a ^z
200 ppm GA ₃ + 1% KNO ₃	4	81.1 a
100 ppm GA ₃ + 1% KNO ₃	2	71.1 a
100 ppm GA ₃ + 1% KNO ₃	4	76.6 a
200 ppm GA ₃ + 1% KNO ₃	24	83.3 a
100 ppm GA ₃ + 1% KNO ₃	24	78.3 a
50 ppm 6-BA + 1% KNO ₃	1	32.2 b
50 ppm GA ₃ + 100 ppm 6-BA	1	61.1 a
0.7% KNO ₃ + 33.3 ppm GA ₃ + 33.3 ppm 6-BA	1	57.7 a
LSD		23.9

^z Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

討 論

一、種子成熟度、含水量及發芽介質對種子發芽的影響

試驗檢測‘台農二號’不同熟度果實之種子置放於 8℃ 低溫下貯藏之發芽率，綠熟至溝熟轉色之四種熟度果實間差異亦不顯著，但種子發芽率隨貯藏時間之增加而顯著提高，發芽率的提高主要受貯藏時間的影響較大。8-12%含水量應為適當之種子含水量新鮮種子，經水洗乾燥後，其休眠性仍較高，但隨貯藏時間的增加，種子休眠抑制物質的降低，而提高其發芽率。木瓜種子屬於中間性種子，乾燥溫度與種子含水量均會影響種子品質與發芽率，並較正貯型種子有較短的貯藏壽命。木瓜種子分別以 35℃ 乾燥箱及以 26℃ 室溫下乾燥種子至 8-12%含水量，經貯藏後，隨貯藏時間的增加，而提高其發芽率。種子含水量為 8%者與 12%者有略佳之發芽率，但經三個月貯藏後，二者間之差異則漸減，以 35℃ 乾燥之種子，經三個月貯藏後，種子含水量 12%者反有較高之發芽率，此一結果說明 35℃ 之溫度乾燥種子可以較在 26℃ 室溫乾燥者，較快達到 8-12%含水量，可較快降低種子之呼吸作用，並減少養分消耗，但是否為造成 35℃ 乾燥種子較 26℃ 者有較高發芽率之原因，仍需進一步証實。許多研究(曾，1992; Christopher *et al.*, 2000)指出熱處理可以打破許多種子的休眠性，試驗結果並指出較高溫度的浸潤，可以提高種子的發芽，因此木瓜以較高溫度與 35℃ 行乾燥，而有較高之發芽率。

種子發芽均有其最適溫度，曾探討木瓜最適發芽溫度，指出 19-29℃ 可得最佳胚根萌芽率，27-31℃ 為最短發芽日數，因此在 21-27℃ 可得最大發芽率。試驗利用培養皿、捲紙法、砂土與泥炭土不同介質在不同溫度下進行的發芽試驗，指出在單一溫度下‘台農二號’與‘日陞’二品種皆在 30℃ 有最高之發芽率，低於或高於 30℃ 發芽率均顯著降低。但以 25/30℃ 或 25/35℃ 變溫，則可得到最高之發芽率，尤以‘台農二號’以捲紙法在 25/35℃ 下進行之發芽試驗，其發芽率可達到 96.6%。因此變溫處理亦顯著提高木瓜種子發芽率。

二、化學處理對種子活力的影響

Nikolaeva (1977) 將種子休眠分為外在休眠(exogenous dormancy)、內在休眠(endogenous dormancy)與二者皆具的組合休眠(combined dormancy)。外在休眠屬於由種皮等外在結構形成之休眠，內在休眠則係由胚本身引起的休眠。其又可分為生理休眠、形態休眠與生理形態休眠。林氏(2009)將番木瓜種子去除外種皮其發芽率仍極低，但將外種皮其發芽率與內種皮合併去除後，發芽第 10 天，發芽率達 65 %。證明木瓜種子之種皮為影響種子發芽之原因，可能肇因於種子之構造影響水份之吸收或種皮上具有之休眠物質影響種子之發芽率。

GA₃ 為植物生長素廣泛分布在植物體並調控植物的生長發育與休眠，包括種子發育與種子發芽。GA₃ 在種子發芽之作用主要為增加胚的生長勢與誘導水解酵素的生成，進行種子代謝物的運轉及分解胚根外圍組織，促進胚根的伸長。試驗利用 250 ppm GA₃ 浸種處理，種子發芽率由未添加處理的 1 %提高到 50 %，證明外加 GA₃ 處理，可以提高種子發

芽率。但外加 GA_3 濃度的降低，其發芽率亦隨之降低，僅以 100 ppm 處理其效果不佳，發芽率僅及 4.4 %，顯示 GA_3 會增加細胞溶質濃度，誘導水解酵素的生成而提高種子發芽能力。提高 GA_3 濃度高於 250 ppm 是否能再提高種子之發芽率，仍可進一步探討(Yahiro and Oryoji, 1980)。

Furutari 等人(1993)與 Naguo 等人(1986)均指出以 KNO_3 處理可以提高種子之發芽率。試驗以 1~4 % KNO_3 濃度浸種 24 小時後，隨濃度之提高，發芽率亦可提高至 17.8 %， KNO_3 處理雖可解除番木瓜種子之休眠抑制物質，但其效果並不如 GA_3 處理者。將番木瓜種子以 GA_3 與 KNO_3 二種或 GA_3 、 KNO_3 與 6-BA 三種混合液浸潤 24 小時後，種子發芽率可顯著提高，以 200 ppm GA_3 加 1 % KNO_3 浸潤 4 小時即達 81.1 %，浸潤 24 小時處理者為 83.3 %。顯示經 GA_3 與 KNO_3 二者溶液混合後之浸種僅需 2 小時，可快速解除木瓜休眠機制，促進種子之發芽。至於添加 6-BA 其效果並不如 GA_3 與 KNO_3 混合處理。

參 考 文 獻

- 王德男。1971。木瓜果實成熟度及其後熟作用對於種子發芽之影響。中國園藝 17:320-322。
- 邱展台、廖公益、柯天雄、戴堃發。1997。木瓜不同採收成熟度與種子貯藏時期影響種子品質及產量之研究。提升果樹產業競爭力研討會專集Ⅲ。台灣省農林廳及行政院委員會編印。P. 39-44。
- 台灣農業年報。2008。行政院農業委員會農業統計刊物。
- 林亞萱。2009。番木瓜種子休眠機制與解除方法之探討。國立臺灣大學生物資源暨農學院園藝系。台北。
- 林美華。1998。木瓜種子活力測驗與儲藏行為再檢討。國立台灣大學農藝學研究所碩士論文。台北。
- 施佳宏。1995。木瓜種子休眠貯藏及活力測定法之探討。國立台灣大學農藝學研究所碩士論文。台北。
- 施佳宏、郭華仁。2004。番木瓜果實成熟度與種子發芽能力。植物種苗 6:43-53。
- 郭華仁。1988。木瓜種子的休眠、貯藏壽命與活力檢驗。園藝種苗產銷技術研討會專刊。種苗改良繁殖場。台中市。P. 31-40。
- 陳威臣。1994。木瓜種子微細構造及發芽試驗法之探討。國立台灣大學農藝學研究所碩士論文。台北。
- 曾美倉。1991。GA 濃度及處理時間對木瓜種子發芽促進之影響。國立台灣大學農學研究院報告 31:31-39。
- 曾美倉。1992。溫度對木瓜種子發芽之影響。中華農學會報 158:29-45。
- Badek, B., B. Duijn, and M. Grzesik. 2006. Effects of water supply methods and seed moisture

- content on germination of China aster (*Callistephus chinensis*) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. *Europ. J. Agronomy* 24 : 45-51.
- Christopher B. W., H. W. Pritchard, and D. Amritphale. 2000. Desiccation-induced dormancy in papaya (*Carica papaya* L.) seeds is alleviated by heat shock. *Seed Sci. Res.* 10: 135-145.
- Chow, Y. J. and C. H. Lin. 1991. p-Hydroxybenzoic acid as the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. *Seed Sci. Tech.* 19: 167-174.
- Furutani, S. C., M. A. Nagao, and F. Zee. 1993. Improvement of papaya seedling emergence by KNO₃ treatment and afterripening. *J. Haw. Pac. Agric.* 4: 57-61.
- Furutani, S. C. and M. A. Nagao. 1989. Influence of preconditioning temperatures on papaya seed germination. *J. Haw. Pac. Agric.* 2: 22-23.
- Nagao, M. A. and S. C. Furutani. 1986. Improving germination of papaya seed by density separation, potassium nitrate, and gibberellic acid. *Hort Sci.* 21: 1439-1440.
- Nikolaeva, M.G. 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern. p. 51-74. *In* A.A. Khan (ed.) *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*. North Holland Publishing, Amsterdam, The Netherlands.
- Roberts, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Sci. Tech.* 1: 499-514.
- Yahiro, M. 1979. Effects of seed-pretreatments on the promotion of germination in papaya, *Carica papaya* L.. *Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ.* 15 : 49-54.
- Yahiro, M. and Y. Oryoji. 1980. Effect of gibberellin and cytokinin treatments on the promotion of germination in papaya, *Carica papaya* L., seeds. *Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ.* 16: 45-51.

Effect of Fruit Maturity, Seed Moisture Content, Medium and Chemicals on Papaya (*Carica papaya* L.) Germination

Thi-Huyen Nguyen ¹⁾ Woo-Nang Chang ²⁾ Yu Sung ³⁾ Chiu-Yen Wang ⁴⁾

Key words: Papaya, Seed moisture content, Germination

Summary

The germination of papaya seed was significantly affected by fruit maturity and was significantly improved by increasing seed storage period. Seeds dried by 35°C with 3 months storage had 45% germination which was significant higher than 35% of seed dried by 26°C. However, the optimum temperature in seed germination was 30°C, the germination percentage of 'Tainong 2' could be raised to 88.8 and 96.6% at 25/30°C and 25/35°C, respectively. Seeds incubating at 37°C and using GA₃, KNO₃ could improve seed germination percentage. It showed that mixture of GA₃ and KNO₃ solution had great germination percentage compared to use GA₃ and KNO₃ alone.

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

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

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

4) Research assistant, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

Response of Eggplant (*Solanum melongena* L.) as Rootstock for Tomato (*Solanum lycopersicum* L.)

Suraj Raj Poudel¹⁾ Wen-Shann Lee²⁾

Key words: Grafting, Rootstock, Yield, Blossom end rot

Summary

With the aim of determining whether grafting could improve the agronomic behavior of tomato, an open field experiment was carried out to determine growth, yield and fruit quality of tomato cv. 'ASVEG10' either non-grafted, self grafted or grafted onto two eggplant rootstocks cvs. 'EG203' and 'VFR Takii'. Vegetative growth tended to be depressed, the incidence of blossom end rot (BER) and soluble solid concentration (Brix) of fruits were increased by grafting on eggplant rootstocks. Total yield and average fruit weight were significantly influenced by eggplant rootstock, whereas no significant difference was observed on fruit number per plant. The increment in the total fruit yield of the non-grafted plant resulted into 14.23% and 12.62% more fruit weight per plant than the 'VFR Takii' and 'EG203', respectively. Both the fresh weight and dry weight of leaves, stems and fruits were significantly higher in non-grafted control. Reduction in fruit yield and /or fruit quality of tomato grafted on eggplant rootstock may have been due to differences in the requirements for assimilates and mineral nutrients between tomato and eggplant.

Introduction

Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) is a crop of high importance in many countries; according to FAOSTAT 125 million tons of tomatoes were produced in the world in 2005. China, the largest producer, accounted for about one-fourth of the global output, followed by United States and Turkey.

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

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

Viewing recent data concerning the Mediterranean area by Leonardi and Romano (2004) it was reported that Spain is the most important country for the spreading of vegetable grafting with mainly tomato and watermelon, with 40 and 52% of the total of 154 million plants in 2004, respectively. They also indicated that in Italy an increasing dissemination of the grafting technique increased the number of the vegetable grafted plants from 4 million in 1997 to 14 million in 2000.

Although in the beginning, tomato grafting was adopted to limit the effects of Fusarium wilt (Lee, 1994), the reasons for grafting have increased dramatically over the years. For example, grafts have been used to induce resistance against low (Bulder *et al.*, 1990) and high (Rivero *et al.*, 2003) temperatures; to enhance nutrient uptake (Ruiz *et al.*, 1997); to improve yield when plants are cultivated in infected soils (Bersi, 2002); to increase the synthesis of endogenous hormones (Proebsting *et al.* 1992); to improve water use (Cohen and Naor, 2002); to increase flower and seed production (Lardizabal and Thompson, 1990); to enhance vegetable tolerance to drought, salinity and flooding (AVRDC, 2000; Estan *et al.*, 2005). Moreover, many researchers reported that an interaction between rootstocks and scions exists resulting in high vigor of the root system and greater water and mineral uptake leading to increased yield and fruit enhancement (Lee, 1994; Oda, 1995; Bersi, 2002). On the contrary, Romano and Paratore (2001) stated that vegetable grafting does not improve the yield when the selection of the rootstock is not suitable, for example the self-grafted plant 'Rita x Rita' had a lower yield than the non-grafted plants. Also there are some contradictory results about the fruit quality traits and how grafting affects them. For example Traka-Mavrona *et al.* (2000) report that the solutes associated with fruit quality are translocated in the scion through the xylem, whereas Lee (1994) states that quality traits e.g. fruit shape, skin colour, skin or rind smoothness, flesh texture and colour, soluble solids concentration etc. are influenced by the rootstock. However, other researchers showed that grafting did not affect fruit quality (Romano and Paratore, 2001).

The aim of this study was to evaluate a popular Taiwanese commercial tomato, 'ASVEG 10', self-grafted and grafted on two eggplant rootstocks ('EG203', and 'VFR Takii') for yield and fruit quality attributes.

Materials and Methods

Plant material

The commercial tomato (*Solanum lycopersicum* L.) hybrid cv. 'Taichung AVRDC No 10' (ASVEG 10) was used as self-grafted and non-grafted control, while two eggplants (*Solanum Melongena* L.) cvs. 'EG203' and 'VFR Takii' were used as rootstocks. To obtain equal stem

diameters at grafting, seeds of eggplant were sown earlier than those of tomato. When the plants of eggplants and tomato had 3 to 4 unfolded true leaves, tomato scions were grafted onto tomato and eggplant rootstocks at first internode of the rootstock and scion by tube grafting (Oda, 1995). The later, an elastic tube was mounted on the slant cut end of the rootstock in the tube. The grafted plug seedlings were sprayed with water, placed in healing tunnel covered with a black polyethylene film to keep the relative humidity above 95% and create darkness inside the tunnel. After acclimatization, the grafted plug seedlings were kept under full sunlight in the greenhouse for 7 days and transplanted 14 days after the grafting to the open-field at the National Chung Hsing University on Nov. 8, 2008. Normal cultural practices were followed for irrigation, fertilizer and pesticide application. A randomized complete block design was adopted with 4 replications, each consisting of 12 plants, spaced at 0.5x1.0 m.

Growth of grafted plants and Stem thickening at scion bottom

Stem length (cm) from graft interface, number of leaves, circumference (mm) at the thickest part of the stem (G) at the graft union, 3 cm above (S) and below the graft interface were measured on 12 grafted plants in each scion/rootstock combination at three different dates 26, 44 and 62 days after grafting. Index of stem thickening (IST) was calculated as follow: $IST = G/S$.

Fruit quality and yield

Fully-mature fruits were harvested on the same day and juice of sample fruits were used directly for the determination of total soluble solids (TSS) using refractometer (N-1, Atago Co. Ltd., Tokyo) and expressed as Brix%. Six fruits (first fruit of first cluster) were harvested from each replication and were used for determination of Brix percent before that the same fruits were used to determine the fruit firmness using Sun Rheo meter Compact-100 (Scientific Co., LTD.) and expressed as (Kg/cm^2).

For the determination of vitamin C the equipment RQflex Reflectometer was used. Fully-mature six fruits from each treatment from cluster 3 and 4 were randomly selected and sliced along the equator at 1 cm thickness. Twenty-four fruits from each treatment were used for the measurement of pericarp thickness with the used of instrument digital Vernier Caliper.

Fruits were harvested at the mature stage starting from Feb. 10 to 23 March, 2009. Yield was measured from the 12 plants from each treatment. The harvested fruits were counted and weighted to determine number of fruit per plant and fruit weight up to 140 days after grafting. BER percentage was measured on the harvested fruits from the 12 plants from each treatment. The infected fruits were counted to determine the percent BER per plant.

Fresh weight and Dry weight

The fresh weight was determined for plants that were harvested at graft union and separated into leaves, stem but in case of fruits immediately after harvest weight and took it to oven dry. Samples of 8 plants from each treatment were used for fresh and dry weight. For the dry weight determination the plant tissues were dried in a ventilated oven at 90 °C for 48h.

Inorganic mineral nutrient concentrations

From the eight plants, three sample leaves (just below the pinched portion after fifth cluster) of each of the graft combinations were collected together with final harvest 140 days after grafting.

Total nitrogen content of plant samples was determined by Kjeldahl method (Bremner et al., 1965). Total phosphorus contents of plant samples were estimated by perchloric acid digestion assay method (Yamakawa, 1992). Total K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn & Cu contents of plant samples were determined by Atomic Absorption Spectrophotometer digestion assay.

Statistical analysis

All data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and a mean separation test was carried out by using procedure of statistic Analysis System (SAS; SAS Institute, Cary, NC USA; version 9.1) followed by least significant difference (LSD) test ($P < 0.05$).

Results

Growth of grafted plants and Stem thickening at scion bottom

Both the Plant height and number of leaves of non-grafted were significantly greater than the eggplant rootstocks at three different dates 26, 44 and 62 days after grafting (Table 1). The maximum plant height 117.81 cm was gained by non-grafted plant and 'VFR Takii' gained lowest height 87.75 cm at 62 days after grafting. Furthermore, the non-grafted plant always showed the highest value of plant height than all other grafted plants in all above three days. The highest number 13.37 of leaves per plant was noted in non-grafted which were statistically identical with self-grafted 13.18 and the lowest number of leaves 12 was found in 'VFR Takii' at 62 DAG. Both eggplant rootstocks showed the statistically identical leaf number at 44 and 62 DAG (Table 1). At the beginning, 26 DAG the leaves number of no-graft and self-grafted tomato plants were statistically identical to 'VFR Takii' but that was different with 'EG203'.

Circumferences at the thickest part of the stem (G), at around graft interface, at 3 cm above (S) and below (R) the grafts interface, 26 and 80 days after grafting onto eggplant rootstocks are shown in Table 2. At the beginning (26 DAG) circumference at G was smallest 7.51 mm in VFR Takii rootstock and largest 9.41 mm in tomato rootstock. As increasing the days the

Table 1. Leaf number and plant height of tomato cv. 'ASVEG10' plants non-grafted, self-grafted and grafted on 2 eggplant rootstocks.

Rootstocks	Days After Grafting		
	26	44	62
	Leaf number		
Non-graft	5.2	9.9	13.4
Self-graft	5.4	9.1	13.2
EG 203	5.0	8.2	12.1
VFR Takii	5.4	8.0	12.0
LSD _{0.05}	0.4	0.7	0.7
	Plant height (cm)		
Non-graft	28.0	69.5	117.8
Self-graft	27.6	68.3	112.9
EG 203	21.4	51.7	91.3
VFR Takii	20.3	49.6	87.7
LSD _{0.05}	1.81	3.30	2.97

circumference at G was increasing on the two eggplant rootstocks. At 80 DAG circumference at G was significantly smallest 17.26 mm in self-grafted plants. Likewise those at S and R were also significantly different between tomato and two eggplant rootstocks in all cases. The ratio of S/R was almost one in self-grafted plant at 80 DAG onwards. But the ratio of S/R in eggplant rootstocks remains higher than selfgraft. The index of stem thickening (G/S) was smaller in tomato graft on tomato rootstock than both eggplant rootstocks. In comparison to eggplant rootstocks 'EG203' rootstock showed the higher G/S value in all consecutive days. These results show that stem thickening at the graft union differs, depending on rootstocks used. In plants grafted on eggplant rootstocks, stem diameter of the rootstocks was smaller than that of tomato scion.

Fruit yield

The number of fruits harvested per cluster was statistically not significant among the rootstocks. Maximum fruit numbers of 31.56 were harvested from non-grafted (Table 3). Present study showed that the number of fruits per plant was not significantly different among the rootstocks as shown in Table 3. The highest number of fruit of 31.56 was recorded in non-grafted and the lowest number of fruit of 28.9 was recorded in self-grafted. There were

Table 2. Circumference of stems, ratio of scion/rootstock and index of stem thickening in tomato cv. ASVEG10 plants 26 and 80 days after grafting onto 2 eggplant rootstocks.

Rootstock	Circumference of Stem (mm) ^x			Ratio of scion and rootstock (S/R)	Index of stem thickness (G/S)
	Root (R)	thickest (G)	scion (S)		
26 days after grafting					
Non-grafted	8.3	9.2	9.0	1.09	1.02
self-grafted	7.0	9.3	7.8	1.10	1.21
EG203	5.1	7.6	5.9	1.17	1.31
VFR Takii	4.5	7.5	5.9	1.31	1.28
LSD _{0.05}	0.6	0.8	0.8	0.10	0.08
80 days after grafting					
Non-grafted	14.4	14.5	14.5	1.01	1.00
self-grafted	13.4	17.1	13.6	1.02	1.27
EG203	11.5	20.7	13.6	1.23	1.53
VFR Takii	11.1	20.1	14.4	1.26	1.40
LSD _{0.05}	1.1	1.6	1.3	0.09	0.09

^x Measurement at the thickest part (G) immediately above the graft interface, at 3-cm above (S) and below (R) the graft interface.

significant differences between the tomato and eggplant rootstocks in respect of average fruit weight. Maximum fruit weight of 137.42 g was found in non-grafted tomato which was statistically identical to self-grafted of 135.9 g however, the tomato grafted on eggplant rootstock showed almost same weight of 128.2 g that was significantly difference with that non-graft and self-graft (Table 3).

Fruit yield records of tomato plants grafted on eggplant rootstocks revealed that yield on eggplant rootstocks was significantly lower than that on tomato rootstocks (Table 3). The highest yield of 4336 g/plant was recorded in non-grafted which is significantly higher than from two eggplant rootstocks. Interestingly, the lowest yield of 3719 g/plant was recorded in 'VFR Takii' and was statistically identical to self-grafted and 'EG203'. Rootstock did not significantly impact fruit per cluster and number of fruit harvested (Table 3). Yield differences were just because of small size fruit.

A negative effect of grafting was shown when eggplants were used as rootstock. The total fruit yield of non-grafted plants was significantly higher in comparison with that of the plants

Table 3. Total yield, number of fruit per plant, fruit per cluster and fruit weight of non grafted, self grafted of tomato cv. 'ASVEG10' plants and graft onto two eggplant rootstocks.

Rootstock	Total yield (g/plant)	Fruit no/plant	Fruit/cluster	Average fruit weight(g)
Non-grafted	4336	31.6	6.18	137.4
Self-grafted	3925	28.9	5.98	135.9
EG203	3789	29.6	5.91	128.2
VFR Takii	3719	29.0	6.00	128.2
LSD _{0.05}	385	3.1	0.62	8.6

grafted onto both rootstock cultivars. Finally, these increases in the total fruit yield of the non-grafted plant resulted into 14.23% and 12.62% more fruit weight per plant than the 'VFR Takii' and 'EG203', respectively, whereas self-grafted plants show not significantly different production to both eggplant rootstocks (Table 3).

Fruit quality

The fruit size (horizontal and vertical diameter) of tomato grafted on eggplant rootstock was significantly smaller in eggplant rootstocks than non-grafted and self-grafted. Both horizontal and vertical diameter of the fruits of nongrafted and selfgrafted possesses significantly higher value than tomato grafted on eggplant rootstock. The highest value of horizontal diameter was found in nongrafted of 6.33cm and vertical diameter was found on selfgrafted of 5.48 (Table 4).

The incidence of BER was increased significantly on eggplant rootstocks. With in eggplant rootstocks 'VFR Takii' showed the higher percent 22.03% BER than the rootstock 'EG203' which was recorded 17.29% BER. However, the incidence of BER was lowest 8.52% in non-grafted (Table 4). The incidences of BER on the fruit of tomato were quite different according to the harvesting season. At the early stage of the season (Feb 10 to 24) the incidence was quite lower than the BER incidence observed at the end of the season 29th March.

Analyses of fruits from tomato and eggplant rootstocks showed that soluble solid (⁰Brix) level was increased significantly on eggplant rootstocks (Table 5). The highest value of Brix was recorded on 'EG 203' of 6.04 which was identical to 'VFR Takii' of 5.90. Similarly, the lower value of brix was seen on nongrafted and selfgrafted which were 5.20% and 5.50 % respectively (Table 5). Vitamin C was increased significantly in 'VFR Takii' rootstock of 25.75 mg/100 g fresh weight but in the case of 'EG203' (21.70 %) was not significantly different to

Table 4. Fruit horizontal & vertical diameter (cm), Fruit diameter and percent blossom end rot of tomato cv. 'ASVEG10' non-grafted, self-grafted and grafted onto 2 eggplant rootstocks.

Rootstock	^y Horizontal diameter(a)	Vertical diameter(b)	Diameter index(b/a)	%BER ^z
Non grafted	6.33	5.46	0.87	8.52
Self grafted	6.24	5.48	0.88	12.83
EG203	6.04	5.17	0.86	17.29
VFR Takii	6.05	5.15	0.86	22.03
LSD _{0.05}	0.18	0.16	0.03	6.18

^yHorizontal and vertical diameter: 48 fruits per treatment randomly selected from 3 and 4 cluster.

^zBER (Blossom end rot) percentage: Average from 12 plants/ treatment.

both non-grafted and self-grafted plants of 22.00 and 23.14 % respectively. Fruit firmness and Pericarp thickness, both values were lowest tomato fruit grafted on eggplant rootstocks (Table 5).

Dry and Fresh weight

From the data presented in Table 6, it is seen that there were significant differences between the fresh and dry weights of leaves, stems and fruits 140 DAG. The non-grafted plants, which bear a significantly higher fresh and dry weight of all plant parts (leaves, stem and fruits) than other three treatments. This might be due to the depressed growth of grafted plants specially in tomato grafted on to eggplant rootstock.

Inorganic mineral nutrient concentrations

Major and trace elements concentration in grafted tomato plants at final harvest are presented in Table 7. Calcium (Ca) content varied from 2.11 % to 2.60 % and the highest concentration was found in non-grafted where as lowest was in eggplant rootstock cv. 'VFR Takii'. Self-grafted plant showed the moderate concentration of Ca and was not significantly different than others 3 rootstocks. The highest Phosphorus (P) concentration was found in 'VFR Takii', which was statistically different from self-grafted and non-grafted. Potassium (K) contents of the grafted tomato plant varied from 4.57 % in 'VFR Takii' to 4.07 % in 'EG203'. Manganese (Mn) concentrations were significantly lower in 'EG203' rootstock and the highest concentration was seen on self-grafted. The concentration of Zinc (Zn) and Cupper (Cu) were significantly higher in both eggplant rootstocks than non-grafted and self-grafted.

Table 5. Soluble solid (Brix), vitamin c, and fruit firmness of tomato cv.'ASVEG10' plants non-grafted, self-grafted and grafted onto 2 eggplant rootstocks.

Rootstock	Soluble solids (Brix %)	Vit. C (mg/100gm FW)	Firmness (Kg/cm ²)	Pericarp thickness (mm)
Non grafted	5.26	22.00	2.45	6.88
Self grafted	5.50	23.14	2.42	6.95
EG203	6.04	21.70	1.81	6.11
VFR Takii	5.90	25.75	2.13	6.10
LSD _{0.05}	0.28	2.41	0.18	0.30

Table 6. Fresh and dry weight of tomato cv. 'ASVEG10' non-grafted, self grafted and grafted onto 2 eggplant rootstocks at 140 days after grafting.

Rootstock	Leaves		Stem		Fruits		Total		
	FW(g)	DW(g)	FW(g)	DW(g)	FW(g)	DW(g)	FW(g)	DW(g)	DW/FW%
Nongrafted	933	131	630	86	4574	377	6137	594	9.70
Selfgrafted	855	119	572	77	3578	326	5005	523	10.46
EG203	569	82	414	65	3044	273	4027	421	10.53
VFR Takii	590	83	474	70	3055	240	4120	393	9.55
LSD _{0.05}	142	25	86	15	758	63	852	77	0.62

Table 7. Concentrations of inorganic mineral nutrients in the leaf of tomato cv. 'ASVEG10', non-grafted, self-grafted and grafted on 2 eggplant rootstocks 140 days after grafting.

Rootstock	Major elements (%)					Trace elements (ppm)			
	Ca	N	P	K	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
Non-grafted	2.60	2.17	0.28	4.08	0.65	165.11	101.08	16.59	7.00
Self-graft	2.29	2.24	0.28	4.36	0.62	184.55	110.26	18.91	6.55
EG203	2.16	2.41	0.31	4.07	0.59	149.44	70.18	29.61	21.10
VFR Takii	2.11	2.46	0.37	4.57	0.68	164.33	101.85	33.13	18.76
LSD _{0.05}	0.33	0.36	0.07	0.37	0.14	33.29	33.61	6.17	3.22

Discussion

Plant heights leaf number and maximum leaf length all were significantly smaller in eggplant root stocks. These results indicate that grafting tomato plants on eggplant rootstock depresses the growth of the plants. Tomato stem swelled immediately above the union. This overgrowth is a characteristic of graft incompatibility which is associated with poor connection of vascular bundles between the scion and rootstock (Hartmann and Kester, 1975). The small stem diameter of rootstocks may have resulted in poor development of the root system. Therefore, that water deficiency in plants on eggplant rootstocks was caused by poor connection of vascular bundles and/or a small root system. The growth of scions was depressed and that stems at the graft union thickened markedly 18 weeks after heterografting (Oda et al., 2000).

Numbers of fruit per plant in the tomato/eggplant grafts were as high as those of the tomato/tomato grafts; however, reduced fruit yields, smaller fruit, higher percentages of BER, and increased SSC values were observed in tomato fruit in the tomato/eggplant grafts, compared with the tomato/tomato grafts (Kawaguchi et al. 2008). Previous research conducted by Cheng and Chua (1976) also revealed reduced yields and smaller fruit sizes in tomato/eggplant grafts.

Soil conditions such as low moisture content (Mitchell et al., 1991b), salinity (Mizrahi and Pasternak, 1985;) and low osmopotentials (Ohta et al., 1991) generally increase soluble solids or sugar content of tomato fruits but retard vegetative growth of plant and thus fruit production. Water deficiency, salinity and water stress in plant did not reduce solute accumulation but impaired net water import into tomato fruit (Mitchell et al., 1991a). These findings indicate that water stress to plants generally increases soluble solids and sugar content of fruits but depresses growth and fruit yield.

Low Ca concentrations in tomato/eggplant scions might result in an increased incidence of BER in this graft combination, as BER is generally thought to be caused by Ca deficiency (Pilbeam and Morley, 2007). Deficiency (Otsuka, 1960b) and increasing concentration (Yamazaki et al., 2000) of Ca appeared in tomato scion depending on rootstock species. Increased concentrations of P (Otsuka, 1968) were also observed in heterograft combinations. In melon plants grafted on *Cucurbita* spp., low nitrate concentration with high nitrate reductase activity, low free amino acid and soluble proteins and high organic N were detected in their leaves (Ruiz and Romero, 1999).

The yield advantage of grafted plants has been shown to be clear when they are grown on infested soil (Poffley, 2003; Besri, 2002). In this experiment, there was no obvious advantage of grafted plants, because the plants were grown in pathogen-free soil. Thus, grafting with resistant rootstocks is recommended only when the risk of the disease is high, because the yield increase

might not be significant when disease pressure is low, as we observed in this study. During the field experiments, slower vegetative growth and changes of fruit quality, including smaller size, more blossom end rot, and higher soluble solids were observed when eggplant rootstock was used compared with tomato. When using scarlet eggplant (*Solanum integrifolium* Poir.) as rootstock for tomato, similar results were observed and attributed to poor connection of vascular bundles at the graft union or a poor root system making the plant water deficient (Oda et al., 1996). These results highlight the need for screening to identify the scion and rootstock combination with the least detrimental effect on fruit quality as well as the need to develop proper management practices for grafted tomato plants using eggplant rootstocks, such as maintaining higher soil moisture.

The fact that the grafted plants produce better results than non-grafted ones when grown on infested soils indicates the potential economic value for a grower of growing grafted plants (Bletsos, 2003). Since grafting gives increased disease tolerance (Besri, 2002, Poffley, 2003), it should be useful for low-input sustainable horticulture of the future.

References

- AVRDC, 2000. Grafting takes root in Taiwan. *Center point*, the quarterly Newsletter of the Asian Vegetable Research and Development Centre. Sept. 2000: 1-3.
- Bersi, M. 2002. Tomato grafting as an alternative to methyl bromide in Morocco. Institut Agronomie et Veterinaire Hasan II. Morocco.
- Black, L. L., Wu, D. L., Wang, J.-F., Kalb, T., Abbass, D., and Chen, J.-H. 2003. Grafting tomatoes for production in the hot-wet season. AVRDC International Cooperators' Guide. AVRDC Publ. no. 03-551.
- Bletsos, F., C. Thanassouloupoulos, and D. Roupakias. 2003. Effect of grafting on growth, yield, and verticillium wilt of eggplant. *HortScience*. 38, 2: 183-186.
- Bremner, J.M., 1965. Inorganic forms of nitrogen. In: *Methods of soil Analysis. Part-2: Chemical and microbial properties*. Black et al. eds. American Society of Agron; Monograph No. 9, Madison Wisconsin. USA.
- Bulder, H.A.M., P.R. van Hasselt, P. J. C. Kuiper., E. J. Speek, and A.P.M. Den Nijs, 1990. The effect of low root temperature in growth and lipid composition of low temperature tolerant rootstock genotypes for cucumber. *J. Plant Physiol*. 138: 661-666.
- Cohen, S. and A. Naor, 2002. The effect of three rootstocks on water use, canopy conductance and hydraulic parameters of apple trees and predicting canopy from hydraulic conductance. *Plant, Cell and Environ*. 25: 17-28.
- Estan, M. T., M. M. Martinez-Rodrigues, F. Perez-Alfoce, T. J. Flowers, and M.C. Bolarin, 2005. Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *J. Exp. Bot*. 56(412): 703-712.
- Hartmann, H. T. and D. E. Kester. 1975. *Plant propagation: principles and practice*. p. 337-347. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs.
- Lardizabal, R.D. and P.G. Thompson, 1990. Growth regulators combined with grafting increase flower number and seed production in sweet potato. *HortScience*. 25: 79-81.
- Lee, J. M. 1994. Cultivation of grafted vegetables I, current status, grafting methods and benefits. *HortScience*. 29: 235-239.
- Leonardi, C. and D. Romano, 2004. Recent issues on vegetable grafting. *Acta Hort*. 631: 163-174.
- Mitchell, J. P., C. Shennan, and S. R. Grattan. 1991 a. Developmental changes in tomato fruit composition in response to water deficit and salinity. *Physiol. Plant*. 83: 177-185.
- Mitchell, J. P., C. Shennan, S. R. Grattan, and D. M. May. 1991b. Tomato fruit yields and quality under water deficit and salinity. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*. 116: 215-221.

- Mizrahi, Y. and D. Pasternak. 1985. Effect of salinity on quality of various agricultural crops. *Plant and Soil* 89: 301-307.
- Oda, M. 1995. New grafting method for fruit-bearing vegetables in Japan. *Jap. Agri. Res. Quart.* 29: 187-194.
- Oda, M., M. Nagata, K. Tsuji, and H. Sasaki. 1996. Effects of scarlet eggplant rootstock on growth, yield and sugar content of grafted tomato fruits. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 65: 531-536.
- Ohta, K., N. Ito, T. Hosoki, and H. Higashimura. 1991. Influence of the concentrations of nutrient solution and salt supplement on quality and yield of cherry tomato grown hydroponically. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 60: 89-95. (In Japanese with English summary).
- Otsuka, K. 1960a. Studies on nutritional physiology of grafted plants. VII. Effects of nitrogen source on growth and on nitrogen metabolism of grafted plants, with special reference to molybdenum deficiency of tomato. *J. Sci. Soil and Manu. Jap.* 31:431-434 (in Japanese).
- Otsuka, K. 1960b. Studies on nutritional physiology of grafted plants. X. Cation absorption of grafted plants. (No. 2) Calcium deficiency and “acid-soil injury” to tomatoes. *J. Sci. Soil and Manu. Jap.* 32:41-45 (in Japanese).
- Otsuka, K. 1968. Studies on nutritional physiology of grafted plants. II. Influence of phosphorus and potassium and leaf composition for the same elements in the green house tomato. *J. Sci. Soil and Manu. Jap.* 39:479-483 (in Japanese).
- Passam, H.C., M. Stylianoy, and A. Kotsiras, 2005. Performance of Eggplant Grafted on Tomato and Eggplant Rootstocks. *Euro. J. Hort. Sci.*, 70(30): 130-134.
- Poffley, M. 2003. Grafting tomatoes for bacterial wilt control. *Agnote*, 603, No. B40.
- Pilbeam, D. J. and Morley, P. S. 2007. Calcium. In: *Handbook of Plant Nutrition*. (Barker, A. V. and Pilbeam, D. J., Eds.), CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA. 121–144.
- Proebsting, W.M.P., M. J. Hedden, S. J. Lewis, and L.N. Croker- Proebsting, 1992. Gibberellin concentration and transport in genetic lines of pea. *Plant Physiol.* 100: 1354-1360.
- Pulgar, G., R.M. Rivero, D.A. Moreno, L.R. Lopez-Lefebre, G. Villora, M. Baghour ,and L. Romero, 1998. Micronutrientes en hojas de sandía injertadas. In: *VII Simposio nacional-III Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas*. Gárate A. (Ed.), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. 255-260.
- Rivero, R.M., J.M. Ruiz, and L. Romero, 2003. Role of grafting in horticultural plants under stress conditions. *Food, Agri. & Environ.* 1(1): 70-74.
- Romano, D. and A. Paratore, 2001. Effects of grafting on tomato and eggplant. *Acta Hort.* 559: 149-153.

- Ruiz, J.M., L. Belakbir., J.M. Ragala, and L. Romero, 1997. Response of plant yield and leaf pigments to saline conditions: effectiveness of different rootstocks in melon plants (*Cucumis melo* L.). *Soil Sci. Plant Nutri.* 43: 855–862.
- Ruiz, J.M. and L. Romero. 1999. Nitrogen efficiency and metabolism in grafted melon plants. *Scientia Hort.* 81:113-123.
- Traka-Mavrona, E., M. Koutsika-Sotiriou, and T. Pritsa, 2000. Response of squash (*Cucurbita* Spp.) as rootstock for melon (*Cucumis melo* L.). *Sci. Hort.* 83: 353-362.
- Tsouvaltzis, P.I., A.S. Siomos, and K.C. Dogras, 2004. The effect of the two tomatoes grafting on the performance, earliness and fruit quality. *Proc. 21st Pan-Hellenic Congress of the Greek Soc. Hort. Sci.* Ioannina, Greece, 8-10 October 2003. 11: 51-55.
- Yamazaki, H., S. kikuchi, and T. Hoshina. 2000. Calcium uptake and resistance to bacterial wilt of mutually grafted tomato seedlings. *Soil Sci. Plant Nutri.* 46:529-534.

Kalanchoë Regeneration from Flower Buds and Leaves *in vitro*

Sujittra Tejakhod¹⁾ Chien-Young Chu²⁾

Key words: Shoot regeneration, Flower bud explant, Leaf explant

Summary

Flower buds from 2nd level of *Kalanchoë blossfeldiana* ‘Beacon’ and ‘Sunrise cyme inflorescence were used as explants. Explants cultured on medium containing half strength MS combined 1mg l⁻¹ BA and 0.5mg l⁻¹ NAA proliferated more shoots. Marginal leaf explants of ‘Beacon’ cultured on the foregoing medium as well as leaf vein explants of ‘Sunrise’ cultured on the ½ MS medium supplemented with 2 mg l⁻¹ BA and 0.5 mg l⁻¹ NAA regenerated more shoots. New shoots began to initiate roots within 2-3 week after transferring to the ½ medium without plant growth regulator. All rooted plantlets survived after transplanting.

Introduction

Kalanchoë blossfeldiana Poelln. is one of the most important potted plants because of their ease of propagation and low water requirement, moreover wide colour range of flowers and bright attractive green leaves (Hernández *et al.*, 2004; Hwang *et al.*, 2008). The micropropagation of Kalanchoe had been developed by using shoot tip, node, internode, and leaf as a source of explants (Smith and Nightingale, 1979; Dicken and van Staden, 1988; Frello *et al.*, 2002; Jaiswal and Sawhney, 2006; Sanikhani *et al.*, 2006).

Using floral organs as explants had been recognized as potent source for micropropagation. The advantages were ease of sterilization, low rate of contamination, and conservation of the mother plant which used in initiation culture (Tomsone *et al.* 2004; Tunjit, 2008). In addition, explants of floral organ exhibited efficient for shoot regeneration e.g. flower bud of carnation

1) Graduated Student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

(Miller *et al.*, 1991) and *Hylotelephium sieboldii* (Nakano *et al.*, 2005), flower of rhododendrons (Tomsone *et al.*, 2004), scape of gerbera (Chu *et al.*, 2006), florets with inflorescence of *Euphobia milli* (Tanjit, 2008) and *Ponerorchis graminifolia* Rchb. (Mitsukuri *et al.*, 2009), and branch of inflorescence of *Limonium* (Topoonyanont *et al.*, 2000).

Materials and Methods

Pot flowers of *K. blossfeldiana* cv. Beacon and cv. Sunrise were grown in the greenhouse of the National Chung Hsing University. The levels of double cymes inflorescences were described as Fig. 1a. While leaf explants were obtained from the 4th or 5th leaf pairs from shoot tip. Flower buds from levels of inflorescences or leaf pieces from various leaf positions (Fig. 1b) of both cultivars were used as explants.

All explants were harvested and surface sterilized with 0.5 % (w/v) sodium hypochlorite for 5 minutes for flower buds, or 8 minutes for leaf explants, respectively, then, rinsed three times with sterile water. Flower bud explants were placed vertically into the medium, while leaf explants from different parts were placed horizontally as well.

Shoot regeneration via flower bud explants

In order to determine the effect of explant position on the response to *in vitro* culture, only young flower buds at the level of 2nd, 3rd, 4th or 5th of “Beacon” were cultured in the medium consisted of 4.4g l⁻¹ MS salts (Sigma Ltd., Min. U.S.A.), 30g l⁻¹ sucrose, 7g l⁻¹ Bacto-agar, 1mg l⁻¹ BA and 1mg l⁻¹ NAA. The pH of medium was adjusted to 5.7 prior to sterilization at 121 °C for 15 minutes.

Flower buds of both cultivars, Beacon and Sunrise, at 2nd level were used as explants. The medium of MS salts at half strength supplemented with the combination of BA at 0, 0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mg l⁻¹ and NAA at 0, 0.5 or 1.0 mg l⁻¹, respectively.

Shoot regeneration via leaf explants

Leaf explants of lamina with midrib segment (P.1), margin part of the leaf (P.2), or leaf blade between vein and margin (P.3) were cut into 5 mm x5 mm pieces. The medium for leaf explants were the same as ½ MS basal media that described above, but supplemented with combinations of BA at 0, 1, 2 or 4 mg l⁻¹ and NAA at 0, 0.5 or 1 mg l⁻¹.

The culture environment was maintained at 25±2 °C, 35 µmol m⁻²s⁻¹ PPFD from cool white fluorescent lamps (East Asia, FL40D/38, Taiwan), 16-h photoperiod. After 2 months of culture, new shoots regenerated from each explant were counted. New shoots were cut and placed in test tube filled with 10 ml ½ MS salt medium for shoot elongation and rooting. After

3-4 weeks, plantlets with well developed roots were transplanted to 128 cell tray with BVB substrate (Bas Van Buuren No.4 medium, Visser Co., the Netherlands). Young plants were placed on mist bench with covered by saran sheet from directed sunlight for 2-3 weeks. The plants were shifted into 2 inch pots and then 3.5 inch pots until flowering.

Experiments were conducted according to completely randomized design (CRD), ten explants as ten replicates for each treatment and repeated 3 times. Data were analysed with SPSS version 16.0 using one way or two analyses of variance (2-ways ANOVA), according to Turkey's test, at $p \leq 0.05$.

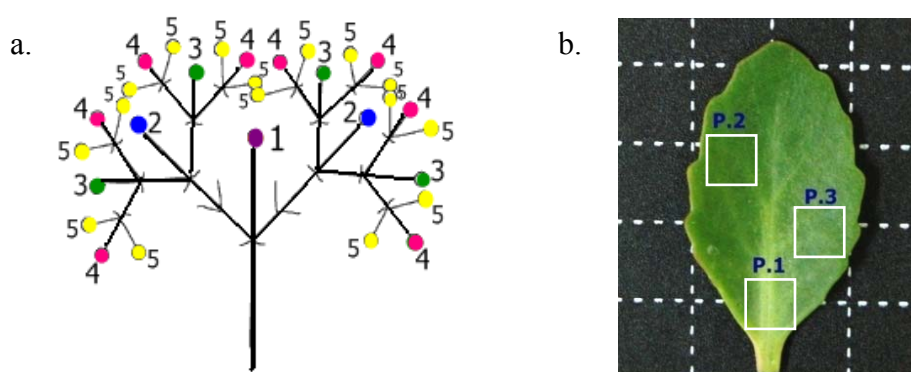


Fig. 1. The flower buds explants from different levels of a cyme inflorescence (a); leaf explants used in the experiments, midrib (P.1), leaf margin (P.2), and leaf blade between vein and margin (P.3) (b).

Results

Flower buds from different levels of *K. blossfeldiana* cv. 'Beacon' were found browning (data not shown) when cultured on MS medium supplemented with 1 mg l^{-1} BA and 1 mg l^{-1} NAA. There was no any significance between flower buds from different levels of cyme inflorescence (Table 1). The bud of *K. blossfeldiana* cv. 'Beacon' proliferated 1.6~3.4 shoots.

Unfolded flowers from 2nd level were cultured on 1/2 medium containing BA at 0, 0.5, 1, 2, or 4 mg l^{-1} , and NAA at 0, 0.5, 1, 2, or 4 mg l^{-1} , respectively. Flowers buds of 'Beacon' were no significant response to BA combined with NAA. There were some regenerated shoots from buds cultured on medium contained BA at 1 mg l^{-1} combined with NAA at 0.5 or 2 mg l^{-1} , or NAA at 1 mg l^{-1} supplemented with BA at 2 or 4 mg l^{-1} (Table 2). Flower buds explants of *K.*

blossfeldiana ‘Sunrise’ cultured on the medium containing BA at 1 mg l⁻¹ combined NAA at 0.5 mg l⁻¹ proliferated more shoots as 3.2 (Table 2).

There were few regenerated shoots from cv. Beacon leaf explant. The proliferation rate was not significant difference among treatments. Each explants regenerated 0~1.8 shoots only, and the highest was from marginal leaf explant cultured on media supplemented with 1 mg l⁻¹ BA combined 0.5 mg l⁻¹ NAA. In addition, leaf vein explant (P.1) did not regenerated while cultured on medium containing both BA and NAA at 1 mg l⁻¹. Leaf margin explants (P.2) did not regenerate when cultured on medium containing higher concentration of BA (Table 3). Also, explants from leaf blade between vein and margin (P.3) showed the same tendency. The increase of BA and NAA concentration resulted the lower regeneration rate (Table 3).

The treatment of ‘Sunrise’ leaf experiment indicated that supplement of higher concentration of BA or addition of NAA from 0.5 to 1 mg l⁻¹ in medium at the same BA concentration did not increase the number of regenerated shoots, except marginal leaf explants only. The maximum shoots amount as 5.3 was obtained from leaf vein explant cultured on media supplemented 2 mg l⁻¹ BA and 0.5 mg l⁻¹ NAA, however, only explants cultured on media containing 4 mg l⁻¹ BA combined 0.5 mg l⁻¹ NAA had significantly more shoots regeneration than leaf explants from other positions.

Most shoots began to initiate roots within 2-3 week of transfer to free from plant growth regulator medium. The rooted plantlets were successfully transplant to BVB substrate with a survival rate of 100%.

Table 1. Effect of floret levels of the cyme inflorescence on shoot regeneration

Level on inflorescence	Shoots/explant ¹
2 nd	3.4 a
3 rd	2.5 a
4 th	1.6 a
5 th	2.6 a

¹ Means in a column followed by the same letter are not significantly different according to ANOVA, Turkey’s test at 5% level.

Explants cultured on MS medium containing 1 mg l⁻¹ BA and 1 mg l⁻¹ NAA.

Table 2. Effect of BA and NAA on shoot regeneration from flower buds at 2nd level.

BA (mg/l)	NAA(mg/l)	'Beacon'	'Sunrise'
0	0	0 a ^z	0 b
0.5	1	0 a	0.5 ab
1	0.5	1.7 a	3.2 a
1	1	0 a	0 b
1	2	0.8 a	0.8 ab
1	4	0 a	0.8 ab
2	1	0.3 a	0.8 ab
4	1	1.5 a	0.5 ab

^z Mean separation within each column followed by Turkey's test at $P \leq 0.05$. Data collected after 2 months of culture.

^y Explants cultured on half-strength MS medium containing different BA and NAA concentration.

Table 3. Effect of BA and NAA on shoot regeneration of 'Beacon' leaf.

BA (mg/l) ^y	NAA(mg/l)	Leaf vein ^z	Leaf margin	Between leaf
0	0	0	0	0
1	0.5	0.4	1.8	0.8
1	1	0	0.1	0.2
2	0.5	0.8	0	0.3
2	1	0.2	0.1	0.2
4	0.5	0.2	0	0.1
4	1	0.2	0	0.1

^z NS: Non significant. Data collected after 2 months of culture.

^x Explants cultured on half-strength MS medium containing different BA and NAA concentration.

Table 4. Effect of BA and NAA on shoot regeneration of ‘Sunrise’ leaf.

BA (mg/l) ^x	NAA(mg/l)	Leaf vein ^z	Leaf margin	Between leaf
0	0	0 a ^z , A ^y	0 b, A	0 a, A
1	0.5	3.9 a, A	2.3 ab, A	3.1 a, A
1	1	3.8 a, A	3.5 a, A	2.8 a, A
2	0.5	5.3 a, A	1.4 ab, A	1.3 a, A
2	1	1.3 a, A	1.5 ab, A	1.8 a, A
4	0.5	3.0 a, A	0.5 ab, B	0.7 a, B
4	1	2.4 a, A	1.6 ab, A	2.4 a, A

^z Small letters mean separation within columns according to Turkey’s test at $P \leq 0.05$.

^y Capital letters mean separation within rows according to Turkey’s test at $P \leq 0.05$.

Data collected after 2 months of culture.

^x Explants cultured on half-strength MS medium containing different BA and NAA concentration.

Discussion

It was found that the regenerated shoots from the petiole or leaf explants increased greatly when NAA was added together with BA (Yang *et al.*, 1995; Modgil *et al.*, 1999; Kantia and Kothari, 2002; Guo *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2000). Furthermore, the combination of these plant growth regulators were also efficient for shoots regeneration from flower bud explants (Miller *et al.*, 1991; Nakano *et al.*, 2005; Mitsukuri *et al.*, 2005). In this study, whatever flower buds or leaf explants from *K. blossfeldiana* cv. Beacon or Sunrise were cultured on half strength MS medium without growth regulators were incapable of proliferation (Table 2, 3, and 4).

Miller *et al.* (1991) found that the adventitious shoots arisen from sub-epidermal cells of carnation petal base. Kakeni (1979) assumed that the regeneration area of flower bud explant was associated with the zone of cell elongation in that area. On *Kalanchoë*, shoots only proliferated at the proximal region near the receptacle (data not shown). Moreover, the floret culture of *Ponerorchis graminifolia* Rchb. (Mitsukuri *et al.*, 2009) and *Doritaenopsis* (Vendarme *et al.*, 2007) showed floret from the lower position had higher frequency of bud formation and promoted more survival rate than the lower level of floret explant. In this study,

flower from flower bud at 2nd level of inflorescence also had higher regeneration rate (Table 1 and 2).

In terms of using leaf as explant, shoot regeneration mainly occurred from the basal mid-vein explant. There were many researches about using lamina segment with petiole or midrib of leaf as explant induced higher frequency of shoot regeneration (Tiwari *et al.*, 1998; Modgil *et al.*, 1999; Kantia and Kothari, 2002; Papafotiou and Martini, 2009). Papafotiou and Martini (2009) expected that the explant with petiole or midrib from the basal part of leaf probably had more plant growth regulators and had sufficiency of nutrients through the mid vein. However, more shoots proliferated from leaf margin explant of 'Beacon' (Table3). Many species of *Kalanchoë* were known about their ability to produce new plants on the leaf margin via embryogenesis (Jaiswal and Sawhney, 2006; Garces *et al.*, 2007; Kulka, 2008). *In vitro*, the most factor associated with continuous proliferation of embryogenic cells was auxin (Merkle *et al.*, 1995). The global embryo formation required auxin, but it was transferred to medium without any plant growth regulator for further development. Early studies of Wetherell and Dougall (1979) on carrot embryogenic culture supported that the most normal differentiation to adventitious shoot was usually achieved through the complete removal of exogenous auxin from the medium. The margin of leaf had few of endogenous hormones compare to the vascular bundles tissue (Jaiswal and Sawhney, 2008). It was suggested that loosing of apical dominance of sufficient auxin induced shoot proliferation from leaf margin area.

References

- Chu, C. Y., C. Y. Chiang, T. H. Huang, and H. C. Chang. 2006. Application of plant tissue culture on ornamentals' breeding. (2006/3/8) Japan/Taiwan Symposium, Application of Biotechnology to Horticulture Industry. Saba University, Japan.
- Dickens, C.W.S. and J. van Staden. 1988. The *in vitro* flowering of *Kalanchöe blossfeldiana* Poellniz. Journal of Experimental Botany 39:61-471.
- Dole, J. M. and H. F. Wilkins. 1999. Floriculture : Principles and Species. Prentice Hall, NJ, U.S.A. P. 403-408.
- Frello, S., E. Venerus and M. Serek. 2002. Regeneration of various species of Crassulaceae, with special reference to *Kalanchoë*. J. Hortic. Sci. Biotech. 77: 204-208.
- Garcês, H. M. P., C. E. M. Champagne, B. T. Townsley, S. Park, R. Malho, M. C. Pedroso, J. J. Harada, and N. R. Sinha. 2007. Evolution of asexual reproduction in leaves of the genus *Kalanchoë*. PNAS 103: 15578-15583.

- Guo, D.P., Z.J. Zhu, X.X. Hu, and S.J. Zheng. 2005. Effect of cytokinins on shoot regeneration from cotyledon and leaf segment of stem mustard (*Brassica juncea* var. tsatsai). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 83:123-127.
- Hernández, J.R., M.C. Aime, and B. Newbry. 2004. *Aecidium kalanchoe* sp. nov., a new rust on *Kalanchoe blossfeldiana* (Crassulaceae). *Mycological Research* 108: 846-848.
- Hwang, S.G., M.Y. Lee, Y.H. Park, I. Sivanesan, and B.R. Jeong. 2008. Suppression of stem growth in pot kalanchoe 'Gold Strike' by recycled subirrigational supply of plant growth retardants. *African Journal of Biotechnology* 7:1487
- Jaiswal, S. and S. Sawhney. 2006. Correlation of epiphyllous bud differentiation with foliar senescence in crassulacean succulent *Kalanchoe pinnata* as revealed thidiazuron and ethrel application. *Journal of Plant Physiology* 163:717-722.
- Jaiswal, S. and S. Sawhney. 2008. Thidiazuron-induced hypertrophic growth from foliar disks of *Kalanchoe pinnata* leads to visualization of a bioactive auxin gradient across the leaf plane. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 44:65-68.
- Kakeni, M. 1979. Studies on the tissue culture of carnation V. Induction of redifferentiated plants from petal tissue. *Bulletin of the Hiroshima Agricultural Collage* 6: 159-166.
- Kantia, A. and S.L. Kothari. 2002. High efficiency adventitious shoot bud formation and plant regeneration from leaf explants of *Dianthus chinensis* L. *Scientia Hort.* 96:205-212.
- Kulka, R.G. 2008. Hormone control of root development on epiphyllous plantlets on *Bryophyllum (Kalanchoë) marnierianum*: role of auxin and ethylene. *Journal of Experimental Botany* 59:2361-2370.
- Merkle, S.A., W.A. Parrot, and B.S. Flinn. 1995. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: T.A. Thrope (eds.) *In vitro* embryogenesis in plants. Kluwer academic publishers., The Netherland. P.155-203.
- Miller, R., V. Kaul, J.F. Hutchinson, G. Maheswaran, and D. Richards. 1991. Shoot Regeneration from Fragmented Flower Buds of Carnation (*Dianthus caryophyllus*). *Annals of Botany* 68:563-568.
- Mitsukuri, K., G. Mori, M. Johkan, Y. Shimada, K.-I. Mishiba, T. Morikawa, and M. Oda. 2009. Effects of explant position and dark treatment on bud formation in floret culture of *Ponerorchis graminifolia* Rchb.f. *Scientia Hort.* 243-247.
- Modgil, M., R. Handa, and D.R. Sharma. 1999. Directshoot regeneration from excised leaves of *in vitro* raised shoots of clonal apple rootstock, MM106. *Curr. Sci.* 76:277-278.
- Nakano, M., M. Nagai, S. Tanaka, M. Nakata, and T. Godo. 2005. Adventitious shoot regeneration and micropropagation of the Japanese endangered *Hylotelephium sieboldii*

- (Sweet ex Hook.) H. Ohba and H. sieboldii var. ettyuense (Tomida) H. Ohba. Plant Biotechnology 22:221-224.
- Papafotiou, M., A. N. Martini. 2009. Effect of position and orientation of leaflet with respect to plant growth regulatios on micropropagation of *Zamioculcas zamiifolia* Engl. (ZZ). Scientia Hort. 120: 115-120.
- Sanikhani, M., S. Frello, and M. Serek. 2006. TDZ induces shoot regeneration in various *Kalanchoë blossfeldiana* Poelln. cultivars in the absence of auxin. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 85:75-82.
- Smith, R.H. and A.E., Nightingale. 1979. In vitro propagation of *Kalanchoë*. Hort Science 14: 20.
- Tiwari, V., B.D. Singh, and K.N. Tiwari. 1998. Shoot regeneration and somatic embryogenesis from different explants of Brahmi [*Bacopa monniera* (L.) Wettst.]. Plant Cell Reports 17:538-543.
- Tomsone, S., D. Gertnere, and D. Novikova. 2004. The influence of thidiazuron on shoot regeneration and proliferation of rhododendrons *in vitro*. Acta Universitatis Latviensis, Biology 676:239–242.
- Topoonyanont, N., R. Ampawan, and P. C. Debergh. 2000. Reversion of Limonium hybrid 'Misty Blue' inflorescence development and its applicability in micropropagation. Scientia Hort. 83:283-299.
- Tunjit, P. 2008. Micropropagation of *Euphorbia milii* Desmoul via cyathium explants. Ms Diss., Dept. of Hort., The National Chung Hsing Univ. Taichung, Taiwan. 66pp.
- Vendrame, W.A., I. Maguire, and V.S. Carvalho. 2007. In vitro propagation and plantlet regeneration from *Doritaenopsis* purple gem 'Ching Hua' flower explants, Hort. Sci 42:1256–1258.
- Wetherall, D.F. and D.K. Dougall. 1976. Sources of nitrogen supporting growth and embryogenesis in cultured wild carrot tissue. Physiol. Plant. 37: 97- 103
- Yang, L.J., M. Hidaka, H. Masaki, and T. Uozumi. 1995. *In vitro* plant regeneration from leaf and petiole explants of *Hibiscus syriacus* L. Plant Tissue Culture Letters 12:173-177.
- Zhang, L., Li, L., Ban, L., An, W., Liu, S., Li, X., Xue, B., Xu, Y., 2000. Effect of sodium azide on mitochondrial membrane potential in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao 22, 436–439.

長壽花花芽及葉芽瓶內再生

蘇 姬 泰¹⁾ 朱 建 鏞²⁾

關鍵字: 芽體再生、花芽培植體、葉培植體

摘要：本試驗以長壽花‘燈塔’和‘日出’兩品種的二級小花蕾為培植體，培養在 1/2 MS 鹽類濃度、添加 BA 1mg l⁻¹ 和 NAA 0.5mg l⁻¹ 的培養基中有較佳的芽體增殖率。以‘燈塔’的葉緣培植體培養在上述的培養基時有較佳的增殖率；而‘日出’的葉中肋培植體，培養在 1/2 MS 鹽類濃度、添加 2 mg l⁻¹ BA 和 NAA 0.5 mg l⁻¹ 培養基時，有較佳的增殖率。培植體移至不含植物生長調節劑的培養基，2~3 週後芽體開始發根，發根的小苗移出瓶外後皆可成活。

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。

磷肥濃度對文心蘭 *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ 生長與開花之影響

游 婷 媛¹⁾ 林 瑞 松²⁾

關鍵字：文心蘭、磷肥濃度、生長、開花

摘要：文心蘭 *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ 的植株以不同 160、240 及 320 ppm 磷肥濃度處理，在不同濃度下其假球莖的長、厚度及鮮重在各濃度間無顯著差異，僅寬度以 320 ppm 較低，4.8 cm。根部生長以 240 ppm 有較高之根部活性及跟部鮮重 17.4 g，320 ppm 之鮮重較低 9.47 g。而在開花方面，不論磷肥濃度高低，皆較對照組提早開花。且以 160 ppm 有較佳的花序品質，有較多的分叉數 11、小花數，95.7 朵及切花鮮重 35.8 g；240 ppm 次之。因此，施用磷肥可以縮短開花的天數及提高花序品質，但亦會隨著施用的濃度增高會對生長的不利。故以 160 ppm 及 240 ppm 為較之磷肥施用濃度。

前 言

文心蘭(*Oncidium* spp.)為複莖性蘭花，原生於熱帶美洲，其花朵的唇瓣特別發達，宛如飛舞中的女郎，因而有跳舞的女郎之稱(Dressler, 1990)。由於具有花莖細長且有分枝性佳、小花數多、花形豐富、優美及色彩多變等優良特性，故成為具高經濟價值的切花及盆花花卉。大部分的文心蘭都具有假球莖，故較耐旱(Dressler, 1990；Karasawa, 1989)；文心蘭的假球莖是由莖軸單節伸長肥大而得，在腫大開始前的 4-5 個腋芽是高度分化的。通常由最靠近假球莖的腋芽先發育形成花芽，花芽發育成熟後，下方的腋芽才發展成為新莖(Hew and Yong, 1996；Tanaka *et al.*, 1986；徐，1997；張，1996)。文心蘭開花品質與假球莖球數有明顯的相關性，因為植株本身所積貯之碳水化合物及水分會隨著假球莖的數量增

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。

加而提高，因此在一般種植上都建議至少留 2 個假球莖為佳，以提供較多養分供應開花所需(Hew and Yong, 1994)。假球莖發育期間礦物營養的有效累積，亦成為隨後花序與新芽形成的重要來源。

在台灣文心蘭的栽培主要產期集中在 9-11 月間，次要產期為 5-6 月，但由於產期過於集中，造成產期生產過盛，但在冬季切花產量不足且品質不穩定等問題。因此如何改善在生產上供需不平衡及提高花序的品質為一重要課題。

文心蘭 *Oncidium* 'Gower Ramsey' 及 'Volcano Queen' 以磷肥 180 ppm 及 240ppm 的植株生長狀況較佳且會提高切花品質(侯，2007)。本研究以不同磷肥濃度處理，更進一步的探討，在不同的濃度處理下對文心蘭生長與開花之影響，期望能更詳盡的找出最適合之施用濃度，以提達調節產期及提高品質之目的。

材 料 與 方 法

(一) 植物材料

以種植於中興大學葡萄中心簡易溫室內的一年生帶有 2 個成熟假球莖的文心蘭切花品種 *Onc.* 'Gower Ramsey' 培方式以碎石、木炭及樹皮以 1:1:1 之比例為介質，在於最上層鋪上一層約 1 公分厚的科技土保濕，以直徑 12 公分之黑色塑膠硬盆栽植。依天候狀況用清水澆灌，病蟲害之管理以實際需要為之。

(二) 試驗方法

將文心蘭切花品種 *Onc.* 'Gower Ramsey' 一年生的苗株，以不同的磷肥濃度 0(對照組)、160、240、320 ppm 進行試驗，磷肥配方為修改自許(2002)母液配方為 NH_4NO_3 39.1g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 48.6 g/L, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 60.6 g/L, KNO_3 67.4 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 68.3 g/L, H_3BO_3 2.86 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1.54 g/L, H_2MoO_4 0.017 g/L, 依濃度不同磷的用量分別為 P_2O_5 36.6, 55.04, 73.39 g/L 並以 RO 水稀釋後備用，養液之 PH 值調整至 6.0，每週施肥一次，每次施用 150 ml，其餘則依天候狀況用清水澆灌；並進行包括植株生育調查、花序品質、假球莖內之碳水化合物及元素含量等調查。每次進行破壞性調查為 4 重複，每重複 1 棵。

(三) 分析與調查方法

1. 植株生育調查：在植株進入假球莖期後採收進行調查，包括假球莖高、寬、厚、假球莖、葉片、根部鮮、乾重及葉、假球莖與根的乾物重比率。
2. 根部活性：依據 Steponkus and Lanphear (1967) 之方法，將採收回來的假球莖取根尖 2-3 cm 部份精稱到 0.1 g 置於 TTC 液(0.6% triphenyl tetrazolium chloride、0.05 mM Na_2HPO_4 -M KH_2PO_4 buffer pH 7.4)中，於室溫下黑暗處理 17 小時。然後將根部以蒸餾水沖洗並將水分吸乾，放入試管中，加入 20 ml 95 % 酒精後置於 78 °C 恆溫水浴

槽中震盪 20 分鐘，冷卻後再用 95%酒精定量至 20 ml。利用分光光度計測定在 480 nm 波長下之吸光值。

3. 葉綠素含量：將採收回來的葉片取 0.1 g 葉並切細碎，以丙酮和甲醇之混合藥劑(丙酮：甲醇=80：20) 10 ml 在黑暗中浸泡 24 小時後完全萃取葉綠素，使用光電比色計 (Hitachi, U-2001)測定於 645、652 及 663 nm 之吸光值。
4. 瓶花壽命：計算切花壽命長度。花序品質調查以小花開放約 70 % 為採收時期，將切花瓶插於蒸餾水中，溫度控制在 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光週期以人工控制在明/暗期為 12/12 小時，光源為室內自然光，光強度約為 $18\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，花序上開放小花朵數達 1/2 老化時，即切花壽命結束。

結 果

(一) 磷肥濃度處理對文心蘭植株生長之影響

文心蘭切花品種 *Onc.* 'Gower Ramsey' 在不同的磷肥濃度 0、160、240 及 320 ppm 處理下。在球莖生育狀況方面，假球莖的長、厚度及鮮重在各濃度間無顯著差異，僅寬度以 320 ppm 較低 4.8 cm，而長、厚度及鮮重各處理分別為約長 10.7-11.6、厚度 2.63-2.7 cm 及鮮重 50-56g 間(表 1)。在根部的鮮重部分，以 240 ppm 之磷肥處理有較高的鮮重 13.82 g，320 ppm 則為最低 9.73 g(表 2)。而在所有的磷肥處理中，施用 320 ppm 之磷肥處理不論在根部鮮重及假球莖的寬度皆較其他處理的表現較差。

在不同的磷肥濃度處理下，測量其葉綠素含量及其根部活性，植株葉綠素含量，上位葉以 240 ppm 較高，下位葉則以 160 ppm 之磷肥濃度處理較高。但總體而言，上位葉的含量皆較下位葉高(圖 1)。文心蘭切花品種 *Onc.* 'Gower Ramsey' 在不同的磷肥濃度處理 6 個月後根部活性方面，以 240 ppm 處理下有較高的活性 2.96 O.D /g(圖 2)。

(二) 磷肥濃度處理對文心蘭開花之影響

文心蘭切花品種 *Onc.* 'Gower Ramsey' 在不同的磷肥濃度 0、160、240 及 320 ppm 處理下，由抽梗到第一朵花開放之天數，以施用磷肥之處理皆較對照組提早開花(表 3)。且以 160 ppm 天數最短，僅 84 天(表 3)，於切花採收後調查在不同的磷肥濃度處理下其花序品質的變化，在不同的磷肥濃度處理下，以磷肥濃度 160 ppm 的花序品質較佳，有較多的分叉數、小花數及切花鮮重，分別為 11 叉、99.3 朵及 35.8 g。而花莖的長度和瓶插壽命在各濃度處理間無顯著差異，約介於 126-135.2 mm 及 8.8-9.5 天左右(表 4)。因此，綜合以上結果顯示，160 ppm 之磷肥濃度可能為較適宜之建議施用濃度。

表 1. 磷肥濃度處理 6 個月後對文心蘭‘Gower Ramsey’假球莖生長狀況之影響

Table 1. Effect of fertilizing phosphate treatment after 6 months on pseudobulb growth of *Oncidium* ‘Gower Ramsey’.

P conc. (ppm)	Height (cm)	Width (cm)	Thickness (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Water content (%)
CK	11.6a ^z	5.3a	2.6a	53.1a	3.4a	93.9a
160	11.1a	4.9ab	2.5a	50.6a	3.4a	92.7a
240	10.9a	4.9ab	2.7a	53.9a	3.8a	92.5a
320	10.7a	4.8b	2.6a	56.0a	4.4a	91.8a

^zMean separation within columns by Duncan’s new multiple range test at $P \leq 0.05$.

表 2. 磷肥濃度處理 6 個月後對文心蘭 ‘Gower Ramsey’根部乾重及鮮重之影響

Table 2. Effect of fertilizing phosphate after 6 months on root dry weight and fresh weight of *Oncidium* ‘Gower Ramsey’.

P conc. (ppm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Water content (%)
CK	13.8ab ^z	1.3 a	90.0a
160	10.4b	1.1 a	87.7a
240	17.4a	1.4 a	91.8a
320	9.74b	1.1 a	84.0a

^zMean separation within columns by Duncan’s new multiple range test at $P \leq 0.05$.

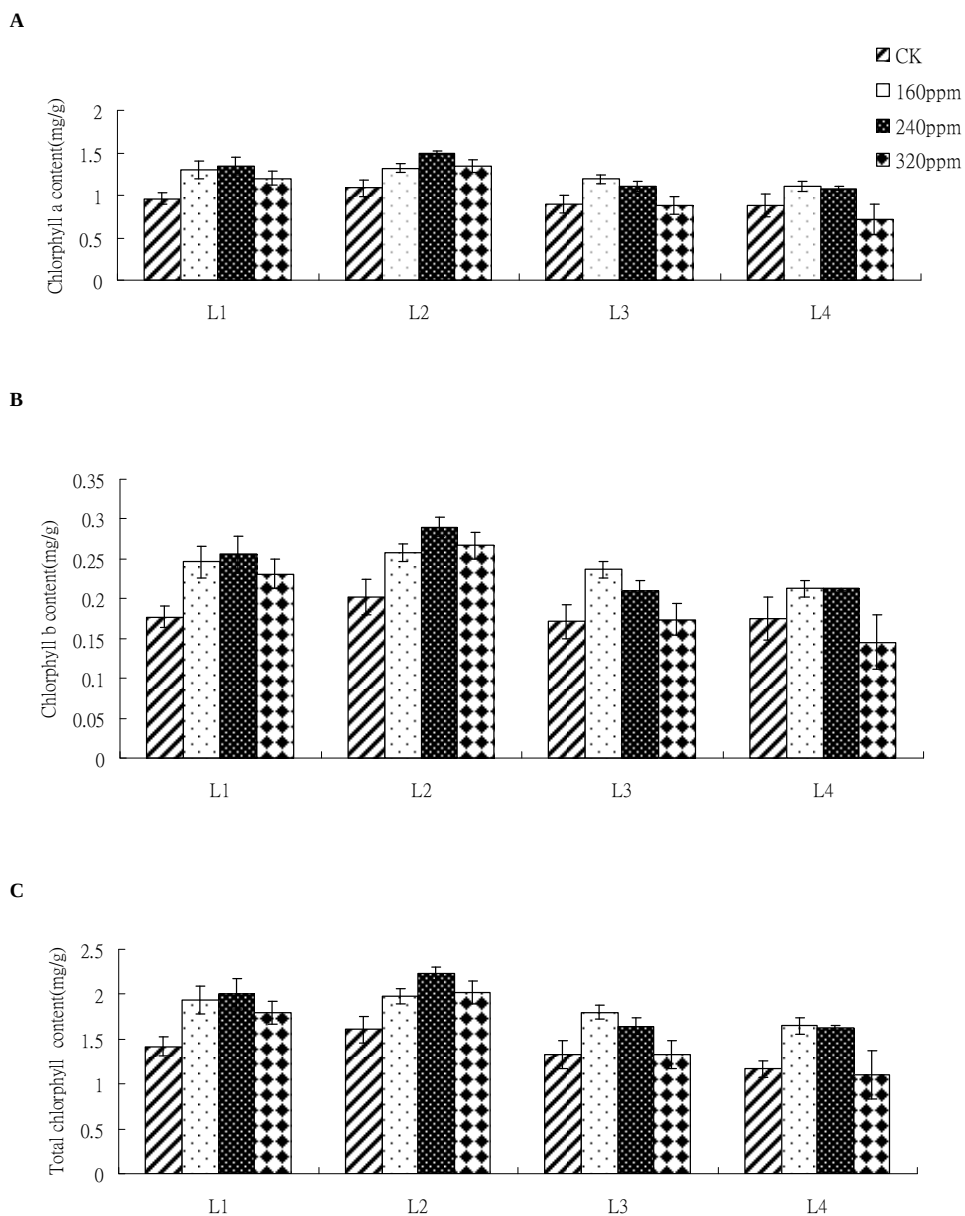


圖 1. 磷肥濃度處理 6 個月後對文心蘭 ‘Gower Ramsey’ 葉片內葉綠素含量之影響

Fig. 1 Effect of fertilizing phosphate treatment after 6 months on leaf. A. chlorophyll a , B. chlorophyll b, C. total chlorophyll content of *Oncidium* ‘Gower Ramsey’. L1&L2 : upper leaf ; L3&L4 : leaf-bearing

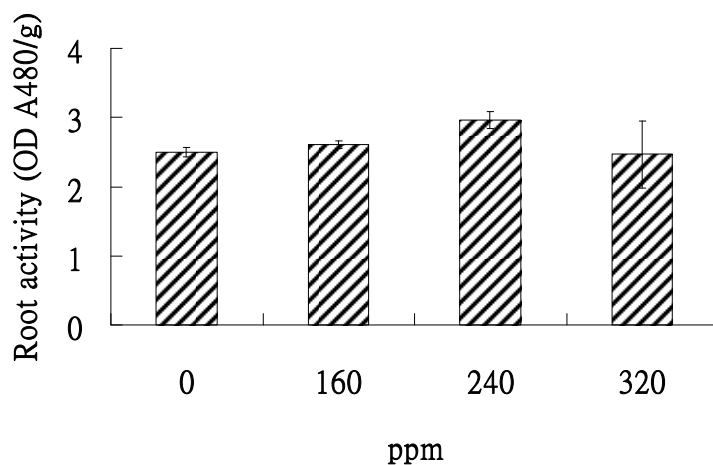


圖 2. 磷肥濃度處理 6 個月後對文心蘭 'Gower Ramsey' 根部活性之影響

Fig. 1 Effect of fertilizing phosphate treatment after 6 months on root activity of *Oncidium* 'Gower Ramsey'.

表 3. 磷肥濃度處理對文心蘭 'Gower Ramsey' 抽梗至第一朵小花開放時間之影響

Table 3. Effect of fertilizing phosphate treatment on the time to first flower open of *Oncidium* 'Gower Ramsey'.

P conc. (ppm)	the time to flower stalk emergence (days)
CK	103.7a ^z
160	84.25b
240	90.4b
320	91b

^zMean separation within columns by Duncan's new multiple range test at $P \leq 0.05$.

表 4. 磷肥濃度處理對文心蘭‘Gower Ramsey’花序品質之影響

Table 4. Effect of fertilizing phosphate treatment on cut flower quality of *Oncidium* ‘Gower Ramsey’.

P conc. (ppm)	Stalk length (cm)	Branch no.	Florets number	Vase life (day)	Flower fresh weight(g)
CK	133.5a ^z	8.0ab	62.1b	9.5a	24.8c
160	135.2a	11a	99.7a	9.1a	35.8a
240	131.0a	9.3ab	96.8a	9.1a	33.5ab
320	126.2a	10.5ab	100a	8.8a	29.5b

^zMean separation within columns by Duncan’s new multiple range test at $P \leq 0.05$.

討 論

文心蘭 *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ 在不同磷肥濃度的施用下，但在根部活性及鮮重方面皆以 320 ppm 之處理表現較差(表 2；圖 2)，所推測可能 320 ppm 的處理濃度對文心蘭植株的生長來說，為過高之濃度，會影響植株的生長，尤其是根的部分。這和侯(2007)指出，*Oncidium* ‘Gower Ramsey’ 及 *Oncidium* ‘Volcano Queen’ 出瓶一年半後進行岩棉耕種，栽培十個月之後，300 ppm 的處理中，根活性降低，在 240 ppm 及 180 ppm 的處理中，根活性較高。因此這可能表示的 300 ppm 以上的磷肥濃度對文心蘭來說可能過高。

分析其葉綠素的含量，發現有施用磷肥的處理皆較對照組多。因為磷在所有代謝的過程扮演如能量運輸、信號傳導、大分子的生合成、光合作用、呼吸作用等角色，且磷為構成核酸、核蛋白、磷脂質、原形質等重要元素，參與各種物質的合成分解(Joiner, 1983)。因此，磷的可直接利用性決定了植物的生長。因此可能增加磷肥施用提高了葉綠素的含量，而葉片為植物製造養分的主要器官，葉綠體為光合作用的場所，因此由葉綠素的多寡可決定光合作用的能力(Hill and Bendall, 1960)。故增加磷肥施用提高了提高光合效率，使營養生長期縮短(Bernier *et al.*, 1981)，所以在施用磷肥的處理中開花時間皆較對照組短(表 3)。

調查其切花的品質，相較於對照組，施用磷肥之處理，有較佳的花序品質，其中以磷肥濃度 160 ppm 的花序品質較佳。有較多的分叉數、小花數及切花鮮重(表 4)，240 ppm 次之，這和侯(2007)的結果相似，以 180 ppm 及 240 ppm 的處理會使切花有較好的表現。當濃度增加 320 ppm 時，雖亦具有較佳的小花數及切花鮮重，但其瓶插天數較低(表 4)。因此較為適宜施用之磷肥濃度應為 160 及 240 ppm。但因為磷在不同種類的植物所產生的反

應亦會因為物種或品種的不同而有所差別(Moody and Bolland, 1999)，如以 20 kg/ha 的低過磷酸鈣施用量仍可造成某些植物的幼苗死亡(Handreck, 1997)。而 *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ 及 ‘Volcano Queen’ 施用磷肥 180 ppm 及 240ppm 的植株生長狀況較佳且會提高切花品質(侯，2007)。但對一樣為蘭科植物的蝴蝶蘭而言，無論在抽梗、開花及花朵的大小皆無顯著之作用(Wang, 2000)。

參 考 文 獻

- 許榮華。2002。激動素及鈣肥處理對文心蘭生育及開花品質之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- 侯德瑩。2007。磷肥對文心蘭之生長與花序品質的影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- 徐懷恩。1997。不同光照、氨態氮源肥料及花莖修剪對文心蘭開花之影響。國立中興大學園藝研究所碩士論文。
- 張允瓊。1996。溫度、光度及肥料濃度對文心蘭生長與開花之影響。國立台灣大學園藝研究所碩士論文。
- Bernier, G., J. M. Kinet, and R. M. Sachs. 1981. The physiology of flowering. CRC Press. Boca Raton, Fla.
- Dressler, R. L. 1990. The orchids : natural history and classification. Harvard University Press paperback edition. U.S.A.
- Handreck K.A. 1997. Phosphorus requirements of Australian native plants. Australia of Journal Soil Research 35:241-289.
- Hew, C. S. and J. W. H. Yong. 1994. Growth and photosynthesis of *Oncidium* ‘Goldiana’. J. Hort. Sci. 69:809- 819.
- Hill, R. and F. Bendall. 1960. Function of the two cytochrome components in chloroplasts: A working hypothesis. Nature 186: 136-137.
- Joiner, J. N. 1983. Nutrition and fertilization of ornamental greenhouse crops. Horticultural Review 5:317- 403.
- Karasawa, K. 1989. *Oncidium* and *Odontoglossums*. Orchid Atlas vol. 7 Published by Orchid Atlas publishing Society, Tokyo, Japan.
- Moody, P. W. and M. D. A Bolland. 1999. Phosphorus. In Soil Analysis; an interpretive manual, Pererill et al. (Eds). CSIRO. 12:187-220.
- Tanaka, M., S. Yamada, and M. Goi. 1986. Morphological observation on vegetative growth and flower bud formation in *Oncidium* ‘Boissience’. Sci. Hort. 28:133-146.
- Wang, Y. T. 2000. Impact of a high phosphorus fertilizer and timing of termination of fertilization on flowering of a hybrid moth orchid. HortScience 35:60-62.

Effect of Phosphorous Supplement on Growth and Flowering of *Oncidium* 'Gower Ramsey'

Ting- Yuan You¹⁾ Ruei-Song Lin²⁾

Key word: *Oncidium*, Phosphorous, Growth, Flowering

Summary

Different level of 160 , 240 and 320 ppm phosphate supplement treatment on plant growth of *Onc.* 'Gower Ramsey' pseudobulb height, width and fresh weight did not effect much , only except in treatment of 320 ppm have lower thickness 4.8 cm of 320 ppm pseudobulb. The better root fresh weight and root activity investigated treatment 240 ppm , but the root fresh weigh 320 ppm treatment suffered harmful effect . As for flower cut flower quality except treatment of 160 ppm treatment shorten branch number , florets number and fresh weight is 11 , 95.7 and 35.8 g . Different level of phosphate on chlorophyll content of except treatment more than control. On cut flower quality phosphate supplement 160 ppm treatment has better effect. And phosphate supplement 160 , 240 and 320 ppm treatment the time to flower days is obviously shorter than control .Therefore, phosphate supplement in cut flower quality and the time to flower days is obviously shorten , but the higher level of phosphate supplement may damage plant growth . The 160 and 240 ppm phosphate supplement on growth and cut flower quality. Showed the better performance.

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

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

運用省水耐旱植栽進行屋頂薄層綠化之熱效應研究

連 祥 萍¹⁾ 劉 東 啟²⁾

關鍵字：屋頂薄層綠化、省水耐旱植栽、熱傳導係數

摘要：本研究目標在選拔適用於屋頂薄層綠化省水耐旱植栽，以進行不同植栽在不同土壤厚度的薄層綠化盤之熱傳導效益，做為尋找在台灣適用的薄層綠化技術之基礎。本實驗結果顯示，屋頂薄層綠化可降低建築屋頂之地板表面溫度，在土層厚 5cm 的薄層綠化盤可降低地板溫度 23.3℃。而且，薄層綠化盤會因土層厚度與植栽的不同，對地板表面降溫效果差異顯著。土層厚度越厚，熱流傳導少，溫度也越低。再者，藉由熱傳導係數瞭解薄層綠化盤導熱的速度及能力，得知土層厚 5cm 的鵝鑾鼻燈籠草綠化盤隔熱最好；其次是土層厚 5cm 的松葉景天綠化盤；最後是土層厚 5cm 的鋪地錦竹草綠化盤。因此，薄層綠化是對夏季酷熱的台灣建築物節能減碳有效的手法，及應推廣的重要綠化工作。

前 言

在許多建築綠化方法中，屋頂綠化能夠以最簡單的方法，增加綠化面積，並且增加綠蔽面積，形成隔熱效果。根據我國「建築技術規則建築構造篇第 17 條條文」規定：各類平屋頂建築物的屋頂活載重量為 150-450 kg/m²。在住宅屋頂方面，荷重為 150 kg/m²。然而一般的草皮，在土層濕潤時，土壤的厚度 10cm 就可能超過法定一般住宅屋頂活載重量為 150 kg/m² 的規定，有屋頂樓板載重過度的危險性。因此，對於都市中既有建築，事先都沒有考量做屋頂綠化，載重設計小，無法承受屋頂綠化之規劃。所以，安全的屋頂綠化，土層厚度必須在 10cm 以下，也才符合住宅屋頂活載重量之規定。同時花園式屋頂綠化種植一般的景觀植物，需靠人工進行灌溉，要耗費大量的水資源，也要大量人工管理，難以像建築材料一樣廣泛應用。於是，屋頂薄層綠化重點在降低植物種植土層與耗水量，以及

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助理教授，通訊作者。

低維護管理，並減少屋頂載重，對建築屋頂安全及架構不會造成影響。而且，屋頂薄層綠化能夠增加都市綠地面積，並達到改善都市環境的目的。

本研究針對台灣亞熱帶氣候環境，探討何種植栽可進行薄層綠化，並分析其熱效應。希望能做為尋找在台灣適用的薄層綠化技術之基礎。因此，本研究目標有二：1. 進行屋頂薄層綠化適用之省水耐旱植栽選拔；2. 實驗分析植栽在不同土壤厚度的薄層綠化盤之熱效應，確認土層的厚度與熱效應的關係。

文 獻 回 顧

一、省水耐旱植栽選拔相關文獻

(一) 屋頂薄層綠化選拔重點

屋頂薄層綠化的成功，植栽選擇極其重要。屋頂環境的特殊性決定了植物應用形式和種類選擇。植物種類篩選和適應性及維護管理是屋頂綠化的重要的一環。在植栽選拔重點方面，首重植栽對當地氣候的適應性、其次為植栽覆蓋。而在植栽材料選擇方面，依植物生長環境位置，可選擇生長在海岸邊、石灰岩地區等植栽，因其生長環境與屋頂氣候環境類似(Dunnett and Kingsbury, 2004)。依植物生理和外形特徵，以耐旱的多肉植物、草本植物及球根植物為優先考量(飯島健太郎, 1993; Getter and Rowe, 2006; 三輪隆, 2006)。

多肉植物中的景天科與當地原生植物，經常做為屋頂薄層綠化省水耐旱植栽的選拔。而植栽選拔的評估面向有氣候環境、耐旱性、覆蓋率、存活率、開花、根系、維護管理及生長狀態進行分析植栽的適應性。再者，屋頂薄層綠化介質的厚度影響植栽的生長，所以水分有無提供是很重要的(近藤三雄等, 1988; 飯島健太郎等, 1992; 小峰正之等, 2005; Durhman et al., 2007; Getter and Rowe, 2008)。

(二) 熱傳理論與機制

1. 熱傳理論

熱傳指的是包括各種形式熱能轉移現象的總稱，根據物理機制的不同，熱傳的基本方式分為傳導、對流和輻射三種，由高溫向低溫處傳遞。熱傳種類則分為熱傳導、熱傳遞、熱傳透。熱之移動有時依熱傳導、熱傳遞、熱傳透，其中之一單獨發生，有時由其中二者或三者同時發生，稱為綜合熱傳現象(江哲銘, 2007)。

2. 熱傳導係數

熱量之移動之特色是只要有溫度差，熱量就會從高溫處移向低溫處。此熱量流動現象是高溫處之溫度下降，而低溫處之溫度上昇，當兩者溫度相同時即停止。熱傳導係數的定義：當隔熱材料兩側溫度差 1°C (1K) 時，在單位時間裡通過單位面積的傳熱量(周鼎金, 1995)。熱傳導係數之計算公式如下：

$$Q = -\lambda \frac{(T_2 - T_1)}{\Delta h} \Rightarrow \lambda = -Q \frac{\Delta h}{(T_2 - T_1)}$$

式中

Q：熱流通量(heat flux)，單位為(W/m²)。 λ：熱傳導係數，單位為(W/m°C)。

Δh：單一實體材料厚度，單位為(m)。 T₁：高溫表面溫度，單位為(°C)。

T₂：低溫表面溫度，單位為(°C)。

熱傳導係數是物質材料的熱傳輸性質，可視為材料熱傳輸快慢的指標。熱傳導係數越小，表示導熱能力差，隔熱能力強。根據學者(垣鍔直，2004；森本文，2004；Sailor *et al.*, 2008)有關屋頂綠化研究，透過土壤水分、溫度、太陽輻射、熱流等等，實測分析土壤熱傳導率，了解植栽和土壤的熱特性對建築熱平衡的影響。於是，本研究以熱傳理論中穩態傳熱觀點，將選拔的省水耐旱植栽與土壤視為一個隔熱材料，探討薄層綠化對建築屋頂之熱效應。

材 料 與 方 法

本研究實驗內容分為兩階段，第一階段進行屋頂薄層綠化適用之省水耐旱植栽選拔。將收集的多肉植物及耐旱植物等植栽，分別以省水耐旱實驗、覆蓋率實驗及根系實驗，探討植栽在屋頂的生長狀況、覆蓋情形及根系發展。第二階段，選拔出三種適合屋頂薄層綠化之植栽，實驗分析省水耐旱植栽在不同土壤厚度的薄層綠化盤之熱效應。主要探討 1. 薄層綠化盤對屋頂隔熱之影響；2. 鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草在土層厚 1cm、3cm、5cm 的薄層綠化盤之熱傳差異；以及 3. 三種植栽的薄層綠化盤之熱傳導係數分析。以下將分別說明實驗流程。

一、屋頂薄層綠化適用之省水耐旱植栽選拔

(一) 實驗植栽

屋頂薄層綠化植栽研究中，常用多肉植物、Sedum 屬植物或耐旱植物作為屋頂薄層綠化植栽材料。其優點是植栽生理特性及外觀形態能夠耐熱、耐旱。故本研究收集市面上容易取得之多肉植物、景天科植物及海濱植物，共 24 種(表 1)，做為省水耐旱植栽選拔。

(二) 省水耐旱實驗

以番杏柳、松葉牡丹、吹雪之松、蕾絲姑娘、露娜蓮、花月夜、石蓮、長壽花、黃覆輪蝴蝶之舞、鵝鑾鼻燈籠草、不死鳥、千代田之松、小小連石、虹之玉錦、松葉景天、細葉萬年草、鋪地錦竹草等共 17 種植栽材料，做為省水耐旱實驗之植栽。以省水之觀點，將所收集的植栽種植於植栽盤上，定期澆水 2~3 個月，使植栽穩定生長。之後完全不澆水，讓植栽在自然環境下，任其自由生長、發展。每隔一個月拍照、紀錄植栽的生長狀況，並利用台中氣象站的氣象資料討論植栽的適應性。實驗時間：2007 年 03 月~2008 年 12 月。

表 1. 植栽名稱整理

Table 1. Finishing Plant name

植物名稱	科名、屬名	學 名
番杏柳	仙人掌科 Rhipsalis 屬	<i>Rhipsalis mesembryanthoides</i> Haw.
狗牙根	禾本科 Cynodon 屬	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.
松葉牡丹	馬齒莧科 Portulaca 屬	<i>Portulaca grandiflora</i> Hook.
馬齒牡丹	馬齒莧科 Portulaca 屬	<i>Portulaca oleracea</i> 'Wildfire'
毛馬齒莧	馬齒莧科 Portulaca 屬	<i>Portulaca pilosa</i> L.
吹雪之松	馬齒莧科 Anacampseros 屬	<i>Anacampseros rufescens</i>
落地生根	景天科 Bryophyllum 屬	<i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Kurz
蕾絲姑娘	景天科 Bryophyllum 屬	<i>Bryophyllum</i> 'Crenatodaigremontianum'
露娜蓮	景天科 Echeveria 屬	<i>Echeveria</i> 'Lola'
花月夜	景天科 Echeveria 屬	<i>Echeveria pulidonis</i> E.WALTH.
石蓮	景天科 Graptopetalum 屬	<i>Graptopetalum paraguayense</i>
長壽花	景天科 Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe blossfeldiana</i>
黃覆輪蝴蝶之舞	景天科 Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe fedtschenkoi</i> HAMET & PERR 'Marginata'
鵝鑾鼻燈籠草	景天科 Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe garambiensis</i> Kudo
不死鳥	景天科 Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe hybrida</i> Desf. ex Steud.
千代田之松	景天科 Pachyphytum 屬	<i>Pachyphytum compactum</i> Rose
小小連石	景天科 Pachyveria 屬	<i>Pachyveria clavata</i> 'Cristata'
白佛甲	景天科 Sedum 屬	<i>Sedum lineare</i> "Variegatum"
虹之玉錦	景天科 Sedum 屬	<i>Sedum rubrotinctum</i>
松葉景天	景天科 Sedum 屬	<i>Sedum mexicanum</i>
細葉萬年草	景天科 Sedum 屬	<i>Sedum pallidum</i> f. variegatum
玫瑰景天	景天科 Sedum 屬	<i>Sedum</i> spp.
滇瓦松	景天科 Sedum 屬	<i>Sedum multicaule</i>
鋪地錦竹草	鴨拓草科 Commelinaceae 屬	<i>Callisia repens</i> L.

(三) 覆蓋率實驗

以馬齒牡丹、落地生根、石蓮、黃覆輪蝴蝶之舞、鵝鑾鼻燈籠草、不死鳥、白佛甲、松葉景天、玫瑰景天、滇瓦松、鋪地錦竹草等 11 種植栽，進行植栽覆蓋率實驗。在植栽

盤上畫出 900cm² 的種植面積，將植栽扦插於植栽盤上。每隔 5 天進行拍照記錄，待某一種植物完全覆蓋植栽盤，即停止記錄。所拍攝的照片，利用 Definiens5.0 數化照片摘取植栽覆蓋面積，接著，使用 Arc View 9.0 計算所摘出的面積，最後使用 Microsoft excel 2003 將數據繪製成表格與圖表，進行分析與討論。實驗時間：2008 年 06 月 20 日~2008 年 08 月 30 日，進行為期 72 天植栽覆蓋拍照記錄。

(四) 根系實驗

1. 實驗步驟

將狗牙根、馬齒牡丹、毛馬齒莧、蕾絲姑娘、鵝鑾鼻燈籠草、不死鳥、松葉景天、鋪地錦竹草等 8 種植栽，進行植栽根部發展實驗。將採集的屋頂自生野草及耐旱植栽，分別種於直徑 11 公分，高 50 公分的圓形 PVC 水管內，種植半年後取出植栽，清除根部所附著的泥土，測量植栽根部長度，並拍照記錄。使用 Microsoft excel 2003 將數據繪製成表格與圖表，進行分析與討論。實驗時間：2008 年 01 月~2008 年 06 月。

二、屋頂薄層綠化之熱效應實驗

為了解太陽輻射熱對綠化盤的垂直影響，本實驗製作簡易保麗箱，將綠化盤放置保麗龍箱內，用以隔離綠化盤周圍的太陽輻射熱。量測薄層綠化盤的溫度和熱流，計算熱傳導係數，分析植栽在不同土壤厚度的薄層綠化盤對建築物的熱效應。量測位置如下述：

1. 溫度：分別在非綠化地板上方 50cm、非綠化地板表面，植生層上方 20cm 及綠化盤底放置 K type 熱偶線，量測溫度。
2. 熱流：在綠化盤底放置熱流板(厚：3.91 mm，直徑：38.2 mm，精準度：±5%)。

在薄層綠化盤土層乾燥下，進行量測。實驗時間為 97 年 7 月 16 日、8 月 26 日、8 月 29 日、9 月 20 日、9 月 22 日、9 月 25 日，共六天，每天上午 10:00 至下午 4:30。在溫度及熱流的量測，以 21X-Data logger(製造商：Campbell Scientific Co., 美國)每 1 分鐘紀錄一次。以 Microsoft excel 2003 擷取所量測溫度及熱流的數據，將所測得之溫度及熱流帶入熱傳導係數計算公式，以求得薄層綠化盤之熱傳導係數，接著進一步討論薄層綠化盤之熱效應。使用 SPSS10.0 進行敘述統計和單因子變異數分析。

結果與討論

一、屋頂薄層綠化適用之省水耐旱植栽選拔結果分析與討論

(一) 省水耐旱實驗結果

藉由省水耐旱實驗得知，對於屋頂氣候環境的變化，本實驗使用 17 種植物，生長良好之植栽有 8 種；瀕臨死亡或已死亡植栽有 9 種，參照表 2。

表 2. 植栽存活整理

Table 2. Finishing plant survival

生長良好之植栽			
植物名稱	科名、屬名		學名
番杏柳	仙人掌科	Rhipsalis 屬	<i>Rhipsalis mesembryanthoides</i> Haw.
蕾絲姑娘	景天科	Bryophyllum 屬	<i>Bryophyllum</i> ‘ <i>Crenatodaigremontianum</i> ’
石蓮	景天科	Graptopetalum 屬	<i>Graptopetalum paraguayense</i>
不死鳥	景天科	Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe hybrida</i> Desf. ex Steud.
黃覆輪蝴蝶之舞	景天科	Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe fedtschenkoi</i> HAMET & PERR ‘Marginata’
鵝鑾鼻燈籠草	景天科	Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe garambiensis</i> Kudo
松葉景天	景天科	Sedum 屬	<i>Sedum mexicanum</i>
鋪地錦竹草	鴨拓草科	Commelinaceae 屬	<i>Callisia repens</i> L.
瀕臨死亡或已死亡植栽			
植物名稱	科名、屬名		學名
松葉牡丹	馬齒莧科	Portulaca 屬	<i>Portulaca grandiflora</i> Hook.
吹雪之松	馬齒莧科	Anacampseros 屬	<i>Anacampseros rufescens</i>
露娜蓮	景天科	Echeveria 屬	<i>Echeveria</i> 'Lola'
花月夜	景天科	Echeveria 屬	<i>Echeveria pulidonis</i> E.WALTH.
長壽花	景天科	Kalanchoe 屬	<i>Kalanchoe blossfeldiana</i>
千代田之松	景天科	Pachyphytum 屬	<i>Pachyphytum compactum</i> Rose
小小連石	景天科	Pachyveria 屬	<i>Pachyveria clavata</i> 'Cristata'
虹之玉錦	景天科	Sedum 屬	<i>Sedum rubrotinctum</i>
細葉萬年草	景天科	Sedum 屬	<i>Sedum pallidum</i> f. variegatum

(二) 植栽覆蓋率實驗結果

在植栽生長覆蓋以鋪地錦竹草、松葉景天、滇瓦松、鵝鑾鼻燈籠草、不死鳥、馬齒牡丹以及落地生根等，覆蓋率都在 100%以上(圖 1)。顯示上述植栽能存活於屋頂的氣候環境。

(三) 植栽根系發展結果

由根系實驗瞭解，根系發展慢且生長較短的植栽為松葉景天、不死鳥、毛馬齒莧、鵝鑾鼻燈籠草、蕾絲姑娘與鋪地錦竹草(圖 2)。

根據省水耐旱實驗、覆蓋率實驗與根系實驗，將生長良好之植栽彙整為表 3。收集的 24 種植栽中，有 11 種植栽能適應屋頂環境。而本研究主要是以地被綠覆型式植栽在薄層綠化盤進行探討。於是，本研究選拔出適用於屋頂薄層綠化之簇生型的松葉景天、匍匐型的鋪地錦竹草和叢聚型的鵝鑾鼻燈籠草等三種植栽，進行屋頂薄層綠化熱效應之實驗。

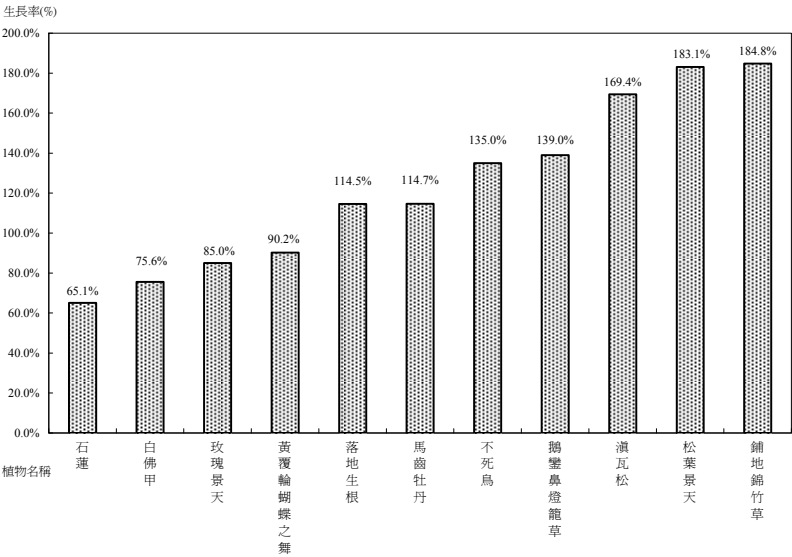


圖 1 植物覆蓋率圖
Fig. 1. Plant coverage map

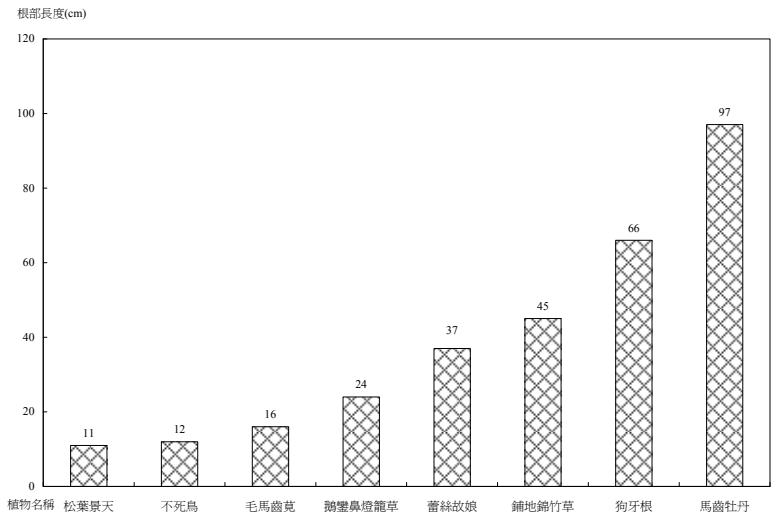


圖 2 植栽根部長度
Fig. 2. The length of plant roots

表 3. 適用之省水耐旱植栽表

Table 3. Applicable form of drought-tolerant plants

序號	植物名稱	原產地	生長型態	耐旱性	覆蓋率	根系	綜合性 評估
1	不死鳥	園藝種	簇生型	◎	◎	◎	9
2	石蓮	墨西哥	簇生型	◎	△	◎	7
3	松葉景天	墨西哥	簇生型	◎	◎	◎	9
4	馬齒牡丹	南美洲	叢聚型	○	◎	△	6
5	番杏柳	巴西	叢聚型	◎	○	○	7
6	黃覆輪蝴蝶之舞	園藝種	直立型	◎	○	△	6
7	滇瓦松	中國	簇生型	○	◎	○	7
8	落地生根	熱帶非洲	直立型	◎	◎	△	7
9	鋪地錦竹草	熱帶美洲	匍匐型	◎	◎	◎	9
10	蕾絲姑娘	馬達加斯加	直立型	○	○	○	6
11	鵝鑾鼻燈籠草	台灣	叢聚型	◎	◎	◎	9

◎：優，評等 3 分。在耐旱性表示植栽生長良好；覆蓋率表示存活率 >100%；根系淺。

○：良，評等 2 分。在耐旱性表示植栽生長良好；覆蓋率表示存活率 =100%。

△：不良，評等 1 分。在耐旱性表示植栽生長良好；覆蓋率表示存活率 <100%；根系深。

二、屋頂薄層綠化之熱效應分析與討論

(一) 薄層綠化盤對屋頂隔熱之影響

經由溫度分析結果得知，隨著當日氣溫的增加，地板表面溫度變化量最大，而鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草各自在土層厚 1cm、3cm、5cm 的薄層綠化盤盤底的溫度變化量皆在 6.2℃ 以下比地板溫度變化量小。且鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草各自在土層厚 3cm、5cm 的薄層綠化盤盤底的平均溫度皆低於地板表面平均溫度 7℃ 以上(表 4)。因此，薄層綠化盤可降低建築屋頂之地板表面溫度，改善屋頂熱環境。

(二) 鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草在土層厚 1cm、3cm、5cm 的薄層綠化盤之熱傳的差異

由 7 月 16 日、8 月 26 日、8 月 29 日三種植栽之薄層綠化盤盤底平均溫度經過變異數分析(表 5)，得知相同植栽在土層厚 1cm、3cm、5cm 的綠化盤盤底平均溫度皆有顯著差異($p < 0.05$)。薄層綠化盤平均熱流經過變異數分析，了解相同植栽在土層厚 1cm、3cm、5cm 的綠化盤所傳導的熱流皆有顯著差異($p < 0.05$)。因此，溫度與熱流的傳導有正相關。相同植栽在溫度和熱流變化，會隨土層厚 1cm、3cm、5cm 的綠化盤而改變。土層厚度越厚，

熱流傳導少，溫度也越低。所以，相同植栽在土層厚 1cm、3cm、5cm 的綠化盤的熱傳由高到低為：土層厚 1cm > 土層厚 3cm > 土層厚 5cm。

9 月 20 日、9 月 22 日、9 月 25 日三種植栽在相同土層厚之薄層綠化盤盤底平均溫度經過變異數分析(表 6)，可知不同植栽在相同土層厚的綠化盤盤底平均溫度皆有顯著差異($p < 0.05$)。薄層綠化盤平均熱流經過變異數分析，得知不同植栽在相同土層厚的綠化盤盤底平均熱流皆有顯著差異($p < 0.05$)。因此，不同植栽在相同厚度會因植栽的不同，熱傳也會有影響。所以，鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草在相同厚度的熱傳效應由高到低為：鋪地錦竹草 > 松葉景天 > 鵝鑾鼻燈籠草。

(三) 鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草在不同土層厚的薄層綠化之熱傳導係數分析

鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草的薄層綠化盤計算出熱傳導係數如表 7 所示。由表 7 發現大部分薄層綠化盤之平均熱傳導係數呈現負值，而在表 6 可看出平均熱流呈現負值。一般而言，熱量是從高處往低處流，而熱量逆流的狀況會產生熱導係數呈現負值的現象。也就是說，薄層綠化盤土層在乾燥情況下，其熱傳導的方向會因為地板的蓄積熱的影響，到最後薄層綠化盤的熱度也高過空氣裡的熱度。

表 4. 薄層綠化盤、當日溫度和地板溫度分析

Table 4. Thin-layer green plates, temperature and floor temperature analysis (單位：℃)

日期	溫度量測位置	最小值	最大值	平均值	與地板溫差
7 月 16 日	當日溫度	30.1	34.8	32.4	-6.5
	地板溫度	32.7	47.6	38.9	-
	1cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底溫度	34.6	40.8	38.2	-0.7
	3cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底溫度	30.3	32.5	31.4	-7.5
	5cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底溫度	30.2	32.2	31.2	-7.7
8 月 26 日	當日溫度	29.6	36.7	32.9	-20.0
	地板溫度	45.9	58.0	52.9	-
	1cm 土壤厚松葉景天盤底溫度	36.9	42.6	40.1	-12.8
	3cm 土壤厚松葉景天盤底溫度	33.4	37.3	35.7	-17.2
	5cm 土壤厚松葉景天盤底溫度	28.6	30.2	29.6	-23.3
8 月 29 日	當日溫度	29.1	33.7	31.0	-14.8
	地板溫度	41.0	49.9	45.8	-
	1cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底溫度	34.3	39.5	36.7	-9.1
	3cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底溫度	31.7	33.8	32.6	-13.1
	5cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底溫度	29.6	31.5	30.6	-15.2

所以，在此以只有正值熱傳導係數做討論。表 7 中，鋪地錦竹草的熱傳導係數在土層厚 1cm、3cm、5cm 的綠化盤差異小。松葉景天在土層厚 3cm 的平均熱傳導係數值為 0.151W/mK，和在土層厚 5cm 的平均熱傳導係數值為 0.061W/mK，有近兩倍的差異。而且，鵝鑾鼻燈籠草在土層厚 5cm 的綠化盤平均熱傳導係數是九組綠化盤中最小的，平均熱傳導係數值為 0.036W/mK。

由內政部營建署提供之建材之熱傳導係數表，瞭解土層厚 5cm 的鵝鑾鼻燈籠草綠化盤之熱傳導係數 0.036 W/mK，相當於合成樹脂板類的發泡聚苯乙烯(高密度保麗龍)之熱傳導係數 0.037W/mK。土層厚 5cm 的松葉景天綠化盤之熱傳導係數為 0.061W/mK，相當於纖維材料類的岩棉吸音板之熱傳導係數 0.064W/mK。土層厚 5cm 的鋪地錦竹草綠化盤之熱傳導係數為 0.250W/mK，近似於塑膠、紙類的岩棉吸音板的熱傳導係數 0.210W/mK。因此，藉由熱傳導係數了解薄層綠化盤導熱的速度及能力，可做為建築綠化隔熱材料及模擬建築省能的參考。

表 5. 鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草各自分別在土層厚 1cm、3cm、5cm 的綠化盤溫度及熱流差異分析

Table 5. *Callisia repens* L., *Sedum mexicanum*, *Kalanchoe garambiensis* Kudo in the soil layer thickness 1cm, 3cm, 5cm difference between the temperature and heat flow analysis

日期	植栽	平均溫度	顯著性 (P)	平均熱流	顯著性 (P)
7 月 16 日	1 cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底	38.2	0.000	25.691	0.000
	3 cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底	31.4		5.256	
	5 cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底	31.2		2.170	
8 月 26 日	1 cm 土壤厚松葉景天盤底	40.1	0.000	40.098	0.000
	3 cm 土壤厚松葉景天盤底	35.7		35.734	
	5 cm 土壤厚松葉景天盤底	29.6		29.591	
8 月 29 日	1 cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底	36.7	0.000	36.709	0.000
	3 cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底	32.6		32.649	
	5 cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底	30.6		30.572	

1. 溫度單位：℃；熱流單位：W/m²

2. p<0.05 表示差異達顯著水準。

表 6. 鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草在相同土層厚的綠化盤溫度及熱流差異分析
Table 6. *Callisia repens* L., *Sedum mexicanum*, *Kalanchoe garambiensis* Kudo in the same layer thickness difference between the temperature and heat flow analysis

日期	植栽	平均溫度	顯著性 (P)	平均熱流	顯著性 (P)
9 月 20 日	3cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底	33.1	0.000	0.422	0.000
	3cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底	34.2		7.165	
	3cm 土壤厚松葉景天盤底	32.9		0.487	
9 月 22 日	5cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底	34.3	0.000	-0.368	0.010
	5cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底	35.7		5.865	
	5cm 土壤厚松葉景天盤底	35.4		-0.328	
9 月 25 日	1cm 土壤厚鵝鑾鼻燈籠草盤底	37.7	0.010	12.370	0.000
	1cm 土壤厚鋪地錦竹草盤底	35.9		7.396	
	1cm 土壤厚松葉景天盤底	36.1		4.169	

1. 溫度單位：℃；熱流單位：W/m²

2. p<0.05 表示差異達顯著水準。

表 7. 土層厚 3cm、5cm 的薄層綠化盤之熱傳導係數

Table 7. Thin-layer plate in the layer thick green 3cm, 5cm of thermal conductivity

	土層厚 3cm 的鵝鑾鼻燈籠草綠化盤	土層厚 5cm 的鵝鑾鼻燈籠草綠化盤	土層厚 3cm 的鋪地錦竹草綠化盤	土層厚 5cm 的鋪地錦竹草綠化盤	土層厚 3cm 的松葉景天綠化盤	土層厚 5cm 的松葉景天綠化盤
所有熱傳導係數平均	-0.066	-0.036	-0.024	-0.018	-0.076	0.038
正值的熱傳導係數平均	0.130	0.036	0.250	0.240	0.151	0.061

結 論

一、屋頂薄層綠化可降低建築屋頂之地板表面溫度

隨著當日氣溫的增加，地板表面溫度變化量差異可高達 14.9°C ，鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草各自在土層厚 1cm、3cm、5cm 的薄層綠化盤盤底的溫度變化皆低於 7°C 。且薄層綠化盤各測點間溫度起伏的趨勢比地板表面溫度緩和。再者，松葉景天在土層厚 5cm 的薄層綠化盤可降低地板溫度 23.3°C ；鵝鑾鼻燈籠草在土層厚 5cm 的薄層綠化盤可降低地板溫度 15.2°C 。因此，薄層綠化盤可降低建築屋頂之地板表面溫度，改善屋頂熱環境。

二、薄層綠化盤會因土層厚度與植栽的不同，對地板表面降溫效果差異顯著

相同植栽在土層厚 1cm、3cm、5cm 的綠化盤盤底溫度和熱流，經由單因子變異數分析得知，皆有顯著差異。因此，溫度與熱流的傳導有正相關。相同植栽的溫度和熱流變化，會隨 1cm、3cm、5cm 的土層厚而改變。土層厚度越厚，熱流傳導少，溫度也越低。所以，相同植栽在土層厚 5cm 的綠化盤熱傳最低；其次是在土層厚 3cm 的綠化盤；在土層厚 1cm 的綠化盤的熱傳最高。而不同植栽在相同厚度，會因植栽的不同，生長形態的不同，熱傳也會有影響。所以，鋪地錦竹草、松葉景天、鵝鑾鼻燈籠草在相同厚度的熱傳效應實驗結果，鋪地錦竹草熱傳最高；其次為松葉景天；最後是鵝鑾鼻燈籠草熱傳最低。

三、藉由熱傳導係數瞭解薄層綠化盤導熱的速度及能力

熱傳導係數是物質材料的熱傳輸性質，可視為材料熱傳輸快慢的指標。熱傳導係數越小，導熱能力就差，則隔熱能力強。因此可知，相同植栽在土層厚 3cm 和 5cm 的綠化盤上，土層厚 5cm 的鵝鑾鼻燈籠草綠化盤與土層厚 5cm 的松葉景天綠化盤之隔熱能力皆比土層厚 3cm 的綠化盤之隔熱能力好。而土層厚 5cm 的鋪地錦竹草綠化盤與土層厚 3cm 的鋪地錦竹草綠化盤之隔熱能力只差 0.01 W/mK 。而不同植栽在相同土層厚的薄層綠化盤以土層厚 5cm 的鵝鑾鼻燈籠草綠化盤隔熱最好。因此，在薄層綠化的植栽設計上，選擇鵝鑾鼻燈籠草和松葉景天植栽，其理想土層為 5cm，隔熱最好。而選擇鋪地錦竹草植栽則可用土層厚 3cm。

四、薄層綠化在土層非含水率飽和狀態且薄層的情況下，會產生熱逆流傳導的問題

在本實驗的土層厚 1cm、3cm、5cm 的薄層綠化盤熱流的量測結果，產生熱逆流傳導的問題。也就是說過薄的土層，其土壤水份蒸散，造成土壤乾燥，對太陽輻射量的吸收會快速達到飽和，然後將熱釋放出來，以及實驗箱累積的蓄積熱，到最後會高過空氣的溫度。薄層綠化盤的溫度比空氣中的溫度還高時，產生熱逆流傳導現象。表示薄層綠化盤除了本身是個熱源以外，還會將地板的蓄積熱帶走，若非有機物質則無法將熱帶走。所以，在具有水份的有機物質其隔熱能力比其他隔熱磚等材質效果好。

也瞭解到建築物在每天日晒的情形下，其實蓄積了非常大的熱量，而這些熱量就是造成人們消耗冷氣能源的原因。因此，對於建築屋頂的熱環境，除了隔熱之外，最主要的是

不要讓建築蓄積太多的熱量。所以，不要讓熱量傳入建築內是非常重要的，而不是當熱量已經進入室內才進行降溫。

參 考 文 獻

- 江哲銘。2007。建築物理。三民書局股份有限公司。
- 周鼎金。1995。建築物理。茂榮圖書有限公司。
- 三輪隆。2006。屋上綠化（技術手帳）。土と基礎 54(10)：25-26。
- 小峰正之、森本淳子、勝野武彦。2005。海浜植物ハマボウフウによる屋上綠化を目的とした植栽実験。日緑工誌 31(1)：21-26。
- 近藤三雄、佐々木 辰夫、柳田友隆、小沢知雄。1988。薄層化・超輕量化した人工地盤条件下における綠化用植物の成育可能性について。造園雜誌 51(5)：186-191。
- 垣鍔直、溝口忠、雨海清一郎、石橋龍吉。2004。薄層屋上綠化ユニットの熱的性能に関する実験的研究。日本建築学会環境系論文集第 578 号：79-84。
- 森本文。2004。屋上綠化による建物内外への熱環境改善効果に関する実験的研究。大阪市立大学大学院都市系修士論文。
- 飯島健太郎、近藤三雄。1993。乾燥条件下におかれる都市綠化空間へ導入可能な多肉植物。造園雜誌 57(2)：129-134。
- Dunnett, N. and N. Kingsbury. 2004. Planting green roofs and living walls. Timber Press, Inc., Portland, Ore.
- Durhman, A.K., D.B. Rowe, and C.L. Rugh. 2007. Effect of substrate depth on initial growth, coverage, and survival of 25 succulent green roof plant taxa. HortScience. 42(3):588-595.
- Getter, K. and D.B. Rowe. 2006. The role of extensive green roofs in sustainable development. HortScience. 41(5):1276-1285.
- Getter, K.L. and D.B. Rowe. 2008. Media depth influences Sedum green roof establishment. Urban Ecosystems. 11:361-372.
- Sailor, D. J., D. Hutchinson, and L. Bokovoy. 2008 Thermal Property Measurements for Ecoroof Soils Common in the Western U.S. Energy and Buildings. 40:1246-1251.

Study of Thermal Effects of the Drought-enduring Plants on Thin-layer Green Roof

Hsiang-Ping Lien ¹⁾ Tung-Chi Liu ²⁾

Key words: Thin-layer green roof, Drought-enduring plants, Thermal conductivity

Summary

The purpose of this study is the selection of drought-tolerant plants suitable for thin-layer green roof, and different plants in different soil thickness of the thin-layer green plate of heat conduction efficiency. From this study to find in Taiwan as a thin layer applied on the basis of green technology. The results of this study showed that thin-layer green roof can reduce the roof surface temperature of the floor. In the soil thickness 5cm of the thin-layer green plate can reduce the temperature of 23.3°C. The thin-layer green plates because of different soil thickness and plants, so the floor surface of the cooling effect of the significant differences. Then, through the thermal conductivity to understand of the thin-layer green plate of heat transfer rate and capacity, that the soil thickness 1cm of the best insulation green plate is *Kalanchoe garambiensis* Kudo; followed by the soil thickness 5cm of the *Sedum mexicanum* green plate; finally, there is the soil thickness 5cm of the *Callisia repens* L. green plate. Therefore, the thin-layer green of summer heat energy conservation in buildings in Taiwan is an effective way to reduce carbon, and should promote the importance of greening.

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

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

Corresponding author.

興大園藝

第三十四卷 第三期

Studies on Initial Shoot Tip Culture of Guava (<i>Psidium guajava</i> L.)N. Saelew and Y. S. Yang.....	1
貯藏溫度對麻竹筍(<i>Dendrocalamus latiflorus</i> Munro)品質之影響劉惠菱 謝慶昌.....	15
植物生長阻礙劑對小白菜淹水耐受性之影響陳詩文 宋 好.....	29
重辦長壽花之育種鄭怡婷 朱建鏞.....	41
穴盤格式與苗齡對非洲鳳仙花生長及老化之影響廖文毅 林瑞松.....	55
富源森林遊樂區轉型經營模式與策略之研究林建堯 黃郁琇 顏宏旭 歐聖榮.....	69
台灣景觀工程教育現況之分析探討許哲瑜 歐聖榮.....	85

國立中興大學園藝學系編印

中華民國九十八年九月

Studies on Initial Shoot Tip Culture of Guava (*Psidium guajava* L.)

Naphaphorn Saelew¹⁾ Yau-Shiang Yang²⁾

Key words: *Psidium guajava*, Tissue culture

Summary

This study conducted to study the effects of pre-treatment, medium and hormones on shoot tips culture of guava (*Psidium guajava* L.) cvs. Jen-Ju, Li-Tzy, Pakistani, Shyh-Jii, and Huang.

Shoot tips about 2 cm in length were harvested from different season and were treated with 100 mg/l ascorbic acid and 150 mg/l citric acid for 20 minutes before disinfection, followed by surface sterilized with immersion in a solution of 1% sodium hypochloride for 10 minutes. Shoot apices with 2 leaf primordia in 0.2-0.3 mm length were excised under microscope and cultured in different media.

The results showed that the survival percentage of pre-treated explants was higher than non-pretreated. All of the cultivars cultured on the filter paper bridge liquid medium had higher survival percentage than on solid medium. Moreover, the survival percentage of medium supplemented with antioxidants, 100 mg/l ascorbic acid and 150 mg/l citric acid, was higher than the medium without antioxidants. Incubating explants under darkness condition for 15 days before moved to lightness condition increased survival percentage and fresh weight. Survival percentage and fresh weight were higher in treatments of using spring and autumn shoots than summer shoots. Optimum medium for initial culture was medium containing 0.1 mg/l IBA and 1 or 2 mg/l BA.

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

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

Introduction

Conventionally, guava is propagated through seeds; however, air layering, cuttings, stooling, and budding are also found to give appreciable success (Jaiswal and Amin, 1992) but the rate of multiplication by these methods is not very fast. Micropropagation method could assist in rapid and mass production of clonal stock of newly released improved cultivars of guava (Mishra *et al.*, 2007). Clonal propagation of guava through micropropagation has been demonstrated using shoot tip (Papadatou *et al.*, 1990; Lee and Yang, 1994), nodal segments (Amin and Jaiswal, 1987, 1988; Loh and Rao, 1989; Mohamed-Yasseen *et al.*, 1995) and shoot buds (Amin, 1986; Amin and Jaiswal, 1988; Papadatou *et al.*, 1990).

Of the several diseases affecting guava, wilt is the most important, as it occurs in endemic form and may wipe out entire orchards in a region (Singh, 2002). During the last two decades, this malady has been reported from several countries including India (Dwivedi *et al.*, 1990) and South Africa (Schoeman *et al.*, 1997). In this research, an efficient plant initiation *in vitro* from shoot tip of guava were studied for produced healthy plants and high quality plants.

Materials and Methods

Materials

Five years old trees of *Psidium guajava* L. cvs. Jen-Ju, Li-Tzy, Pakistani, Shyh-Jii, and Huang grown on the Horticultural Research Station, National Chung Hsing University, Wufeng, Taichung, Taiwan, were used as initial explants sources.

Culture medium

The basal medium contained half strength of MS salts (Murashige and Skoog, 1962), 30 g/l sucrose and 7 g/l agar (Bacto-agar) for solid medium or use paper bridge for liquid medium. The pH value of the medium was adjusted to 5.7 with 1N NaOH or 1N HCl and then autoclaved at 121°C, 1.25 kg/cm² for 20 min. The plant growth regulators (IBA and BA) were supplemented according to the experiments detailed below. Shoot tips were incubated at 25 ± 2°C under a 16 hours photoperiod and light intensity of 2,500 to 3,000 lux. The cultures were maintained for 45 days for shoot initial culture and 60 days for shoot multiplication and growth.

Methods

Active shoots were collected and leaves were removed. Shoots were cut with approximately 2 cm long and soaked into 100 mg/l ascorbic acid with 150 mg/l citric acid for 20 min to prevent accumulation of phenolic compounds. After that surface sterilization with a solution of 1% sodium hypochloride (NaOCl) plus 1 drop Tween 20 for 10 min, the shoots were

rinsed 5 times with sterilized distilled water under axenic condition in a laminar-flow cabinet. Shoot apices (0.2-0.3 mm long) containing the meristem with two leaf primordia were excised under a microscope and cultured into the medium incorporated with antioxidants (100 mg/l ascorbic acid and 150 mg/l citric acid). After culturing, shoot tips were incubated under dark condition for 15 days then move to light condition. Survival percentage and fresh weight were recorded. Survival percentage was counted from green shoot grown out.

1. Effects of antioxidants in the medium on initial shoot tip culture

In this experiment, 'Pakistani' guava was taken in spring season. Before surface sterilization, explants were pretreated by one of the following solutions for 20 min: 0.7% PVP (polyvinyl pyrrolidone) with 2% sucrose; 100 mg/l ascorbic acid; 150 mg/l citric acid; 100 mg/l ascorbic acid plus 150 mg/l citric acid; or 0.7% PVP with 2% sucrose for 20 min and 100 mg/l ascorbic acid plus 150 mg/l citric acid for 20 min. After surface sterilization, explants were cultured on mediums which were supplemented with or without 100 mg/l ascorbic acid and 150 mg/l citric acid after autoclaving. Ascorbic acid and citric acid solutions were added by filtration through a 0.22 μ m filter (Minisart, Sartorius). There were 2 treatments with 6 replications each with one treatment as one replicate. The cultures were maintained for once after 45 days of incubation. Survival percentage was recorded.

2. Effects of darkness and lightness treatment on initial shoot tip culture

In this experiment, shoot tips from different cultivars (Jen-Ju, Li-Tzy, Pakistani, Shyh-Jii and Huang) were taken in autumn and cultured on solid and liquid medium. Experiment was carried out under different environment of darkness and lightness treatments. The cultures were incubated in darkness for 15 days and then move to lightness and another one was incubated in lightness after cultured on medium. Experiment divided into 4 treatments for darkness and lightness, respectively, 5 replications each with one cultivar as one replicate. The cultures were maintained for once after 45 days of incubation. Survival percentage and fresh weight were recorded.

3. Initial shoot tip culture of guava in different growth season

In this experiment, shoot tips were taken in different seasons of 2007 (spring, summer, and autumn), five cultivars (Jen-Ju, Li-Tzy, Pakistani, Shyh-Jii and Huang) were cultured on $\frac{1}{2}$ MS liquid medium contained 30 g/l sucrose, 0.1 mg/l IBA, and 0.5 mg/l BA. There were 3 treatments and 5 replications each with one cultivar as one replicate. The cultures were maintained for once after 45 days of incubation. Survival percentage and fresh weight were recorded.

4. Effects of BA on initial shoot tip culture

In this experiment, shoot tips of 3 cultivars in 2008 (Li-Tzy, Jen-Ju and Shyh-Jii) were

cultured on ½ MS liquid medium contained 30 g/l sucrose and 0.1 mg/l IBA adding different concentrations of BA at 0, 0.1, 0.5, 1 and 2 mg/l. There were 5 treatments and 3 replications each with one cultivar as one replicate. The cultures were maintained for once after 45 days of incubation. Survival percentage and fresh weight were recorded.

5. Statistical analysis

Data were subjected to analysis of CRD (Completely Randomized Design) using general linear model (GLM) procedure (Statistical Analysis System; SAS, 2007). Significant differences among treatment means were measured by Least Significant Difference test (LSD) at $P < 0.05$.

Results

1. Effects of antioxidants in the medium on initial shoot tip culture

The data on the effects of antioxidants in the medium on initial shoot tip culture of 'Pakistani' guava has been presented in Table 1. There were significant different in survival percentage between medium with and without antioxidants. Survival percentage of medium with antioxidants (67.5%) was higher than medium without antioxidants (33.1%).

Table 1. Effects of antioxidants in the medium on initial shoot tip culture of 'Pakistani' guava

Pretreatment	Survival (%)	
	antioxidants	no antioxidants
Control	45.0	30.0
PVP	68.4	55.0
Ascorbic acid	80.0	57.9
Citric acid	78.9	25.0
Ascorbic acid + citric acid	87.5	10.5
PVP + ascorbic acid + citric acid	45.0	20.0
Mean	67.5 ± 18.4 a ^z	33.1 ± 19.2 b

^z Mean $\pm$ SE, in the same row followed by the same letter are not significantly different at $p=0.05$ by *t*-test.

2. Effects of darkness and lightness treatment on initial shoot tip culture

The effects of darkness and lightness treatment on initial shoot tip culture in different medium type were presented in Table 2. There were significant different in survival percentage and fresh weight of solid and liquid medium between darkness and lightness treatment. Shoot tips in liquid medium and incubated under darkness treatment were the highest of survival percentage and fresh weight (35.2% and 3.8 mg, respectively). Both of solid and liquid medium incubated under lightness treatment were recorded not significant different in survival percentage and fresh weight.

3. Initial shoot tip culture of guava in different growth season

Survival percentage and fresh weight in initial culture of shoot tip in spring, summer and autumn were recorded in Table 3. There were significant different in survival percentage among growth season. Survival percentage of shoot tip in spring season (64.6%) was higher than in autumn and summer season (50.9 and 34.7%, respectively). Fresh weight were recorded not significant different among growth season. Moreover, fresh weight in spring season (2.7 mg) was higher than in autumn and summer (2.4 and 2.3 mg, respectively). Comparison in different season to take shoot tip for culturing, it was found that survival percentage and fresh weight was more effective in spring and autumn than summer, in summer season had lower survival percentage and higher browning percentage.

4. Effects of BA on initial shoot tip culture

The effects of BA on initial shoot tip culture were presented in Table 4 and 5. There were significant different in survival percentage among different concentration of BA. The maximum in survival percentage was recorded in medium containing 2 mg/l BA (78.8%) followed by medium containing 1 mg/l BA (72.1%) and the minimum survival percentage was recorded in medium containing 0.1 mg/l BA (24.6%). The results recorded that there were not significant different in fresh weight among different concentration of BA. The maximum in fresh weight was recorded in medium containing 2 mg/l (2.2 mg) followed by medium containing 0.5 and 1 mg/l (2.1 mg) and the minimum fresh weight was recorded in medium containing 0.1 mg/l (1.7 mg).

Table 2. Effects of darkness and lightness treatment on initial shoot tip culture in different medium type

Treatment	Medium type	Cultivars	Survival (%)	Fresh weight (mg)
Darkness	Solid	Pakistani	23.1	3.4
		Li-Tzy	33.3	3.4
		Jen-Ju	12.5	2.0
		Huang	26.3	1.5
		Shyh-Jii	0	–
		Mean	19.0 ± 13.0 b ^z	2.6 ± 1.0 ab
	Liquid	Pakistani	25.0	4.9
		Li-Tzy	40.0	5.9
		Jen-Ju	40.0	2.9
		Huang	41.2	2.5
		Shyh-Jii	30.0	2.6
		Mean	35.2 ± 12.4 a	3.8 ± 1.5 a
Lightness	Solid	Pakistani	12.5	1.4
		Li-Tzy	28.6	1.7
		Jen-Ju	5.0	1.1
		Huang	25.0	1.1
		Shyh-Jii	0	–
		Mean	14.2 ± 7.3 b	1.3 ± 0.3 b
	Liquid	Pakistani	25.0	3.3
		Li-Tzy	11.1	3.1
		Jen-Ju	0	–
		Huang	20.0	1.2
		Shyh-Jii	5.3	1.5
		Mean	12.3 ± 10.3 b	2.3 ± 1.1 ab

^z Mean ± SE, in the same column followed by the same letter are not significantly different at p<0.05 by Least Significant Difference test (LSD).

Table 3. Initial shoot tip culture of guava in different growth season

Season	Cultivars	Survival (%)	Fresh weight (mg)
Spring	Pakistani	46.5	4.9
	Li-Tzy	56.1	1.8
	Jen-Ju	70.8	1.9
	Huang	76.3	2.2
	Shyh-Jii	73.2	2.6
	Mean	64.6 ± 12.7 a ^z	2.7 ± 1.3 a
Summer	Pakistani	11.1	4.3
	Li-Tzy	42.9	1.5
	Jen-Ju	48.8	1.5
	Huang	41.9	1.8
	Shyh-Jii	28.6	2.2
	Mean	34.7 ± 15.1 b	2.3 ± 1.2 a
Autumn	Pakistani	45.7	4.3
	Li-Tzy	43.9	1.7
	Jen-Ju	64.0	1.7
	Huang	48.6	1.9
	Shyh-Jii	52.4	2.3
	Mean	50.9 ± 8.0 ab	2.4 ± 1.1 a

^z Mean ± SE; in the same column followed by the same letter are not significantly different at p<0.05 by Least Significant Difference test (LSD).

Table 4. Effects of BA on survival percentage in initial shoot tip culture of guava

BA concentration (mg/l)	Survival (%)			
	Li-Tzy	Jen-Ju	Shyh-Jii	Mean
0	33.3	10.3	41.4	28.3 ± 16.1 b ^z
0.1	23.3	7.1	43.3	24.6 ± 18.1 b
0.5	43.3	30.0	26.7	33.3 ± 8.8 b
1	63.3	90.0	63.0	72.1 ± 15.5 a
2	93.1	80.0	63.3	78.8 ± 14.9 a

^z Mean ± SE; in the same column followed by the same letter are not significantly different at p<0.05 by Least Significant Difference test (LSD).

Table 5. Effects of BA on fresh weight in initial shoot tip culture of guava

BA concentration (mg/l)	Fresh weight (mg)			
	Li-Tzy	Jen-Ju	Shyh-Jii	Mean
0	1.4	2.4	1.8	1.9 ± 0.5 a ^z
0.1	2.9	0.0	2.2	1.7 ± 1.5 a
0.5	1.4	2.8	2.2	2.1 ± 0.7 a
1	2.3	1.7	2.2	2.1 ± 0.3 a
2	1.7	2.6	2.2	2.2 ± 0.5 a

^z Mean ± SE; in the same column followed by the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ by Least Significant Difference test (LSD).

Discussion

The reduction or elimination of phenolic oxidation during culture initiation is essential for successful and efficient establishment and culture of many woody species *in vitro*. Browning is generally considered to result from the oxidation of phenolic substances released from the cut ends of explants by polyphenol oxidases or peroxidase. The commonly employed to overcome the harmful effect of browning include the use of adsorbing agents such as activated charcoal or polyvinylpyrrolidone, inclusion of antioxidants in the medium or soaking the explants in antioxidant solution, transfer of explants to fresh medium at frequent intervals or sealing the cut ends of the explants with paraffin wax (Broome and Zimmerman, 1978; Weatherhead *et al.*, 1978; Lloyd and McCown, 1980; Amin and Jaiswal, 1988; Bhat and Chandel, 1991). In the present study, the browning problem was overcome by soaking the explants in ascorbic acid with citric acid before culturing, and including ascorbic acid with citric acid in the medium. Explants were pretreated by ascorbic acid with citric acid and cultured on medium containing antioxidants have been found to be more effective than those in the other pretreatment and medium without antioxidants, which is according to the methods by Murashige (1974) that use of ascorbic acid and citric acid as antioxidants in the establishment stage, furthermore, Lee and Yang (1994) used 0.7% PVP adding 2% sucrose to rinsed guava shoot tip for 20 min, and then rinsed with 150 mg/l citric acid and 100 mg/l ascorbic acid for 20 min before disinfection to culture for preventing browning.

Murashige and Skoog's (1962) medium had been used for micropropagation in several plants. Thomas and Ravindra (1997) reported that low strength medium or distilled water was

useful to initiate a primary culture. In the present study, shoot tips were cultured on $\frac{1}{2}$ MS medium, this is in agreement with results obtained by Lee and Yang (1994) who found that guava shoot tip explants had the highest survival percentage and fresh weight when cultured on $\frac{1}{2}$ MS medium compared with $\frac{1}{4}$ MS, MS, 2MS and WPM medium.

The liquid medium could enhance growth and multiplication rate of several plants more than solid medium in micropropagation. For example, chrysanthemum (Hahn and Paek, 2005), pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) (Escalona *et al.*, 1999), banana (Alvard *et al.*, 1993), and plantain (*Musa AAB*) (Roels *et al.*, 2005). In the present study, survival percentage of explants in liquid medium was higher than solid medium which is according to the results by Ichihashi and Kako (1977) investigated that *Cattleya* shoot tip explants survived better on a stationary liquid medium containing oxidase inhibitors than on a solidified medium of similar composition.

Although light is invariably essential for the growth of normal green shoots and plantlets, unorganized cell and tissue cultures can frequently be grown in its absence, and darkness may be beneficial to growth and morphogenesis. In the present study, survival percentage and fresh weight of explants in darkness treatment were higher than lightness treatment. When incubated explants in the dark after culturing for 15 days can help to prevent browning. Blackening is usually reduced or prevented by such dark treatment and sometimes subsequent growth is improved even though tissue discoloration is not observed. Applying a dark treatment *in vitro* was successful in lowering oxidation products and increasing growth in the epiphytic orchid *Phalaenopsis* (Pieper and Zimmer, 1976). The same treatment decreased the presence of oxidation products in both *Garrrya* and *Hamamelis*, but also lowered explant viability and new shoot growth in *Garrrya* (Marks and Simpson, 1990). Explants may be transferred to normal light after a dark treatment, although transfer to light of low irradiance may help to prevent browning. For instance, shoot cultures of *Carya illinoensis* were kept in the dark for an initial 2 weeks, therefore in a 16h photoperiod (Lazarte, 1984).

The success of shoot meristem cultures is affected by the growth condition of the stock plant and the season during which the explant is obtained. Lee and Yang (1994) had studied on shoot tip culture of guava but they did not study about season to take shoot tip, so in this study had studied about season to take shoot tip. Guava shoot tips were taken to culture in spring, summer and autumn season, however, survival percentage and fresh weight was more effective in spring and autumn than summer, which explants in summer had high browning percentage when culturing. Moreover, Göktürk Baydar *et al.* (2006) found the highest percentages of explant survival were seen in grapevine shoot tips collected in May, while explant survival gradually declined during the summer. It was found that explant survival, shoot number per

explant and shoot length were strongly related to the month of explant collection. Roussos and Pontikis (2001) also reported that explant collection date seemed to be a major factor influencing the relative concentrations of various phenolic compounds in olive explants. Moreover, Thomas and Ravindra (1997) reported that best response of explants in mango from shoot tip was collected during June and August, in addition, *Zizyphus nummularia* explants harvested during July and August were found to be the best for culture (Rathore *et al.*, 1992). Explants collected during other periods showed more medium discoloration, turned brown sooner and showed no growth response. Amin and Jaiswal (1993) reported November to January was the best season for initiation culture of jackfruit from field-grown trees.

The most important factor for successful tissue culture is plant growth regulators. Papadatou *et al.* (1990) had been reported, maximum proliferation of guava seedlings by *in vitro* shoot tip culture was achieved with 2 mg/l BA, and the optimal BA level for shoot tips of guava seedlings was 0.1 mg/l (Loh and Rao, 1989). Although some crops were observed that in addition to BA, but a low level of auxin was necessary for optimum growth. In shoot tip of 'B8' carambola was achieved when cultured on medium containing 0.1 mg/l BA in combination with 0.02 mg/l IBA (Lin and Yang, 2002). Moreover, Lee and Yang (1994) found that the best growth of 'Erse-Xizi-Pa' and 'Tai-Guo-Pa' guava shoot tip were cultured on medium containing 0.1 mg/l IBA supplemented with 0.5 mg/l BA. In the present study for autumn season, the best result was cultured on medium containing 0.1 mg/l IBA supplemented with 1 mg/l BA. In spring season, the best result was cultured on medium containing 0.1 mg/l IBA supplemented with 1 or 2 mg/l BA. Furthermore, Loh and Rao (1989) reported that guava shoot tip explants cultured with higher BA concentrations (5 and 10 mg/l) turned brown and did not grow further.

In conclusion, during shoot tip culture of guava *in vitro*, shoot tip were harvested about 2 cm long in spring or autumn, soaked with ascorbic acid plus citric acid for 20 min and surface sterilization with a solution of 1% Clorox for 10 min plus Tween 20. Shoot apices 0.2-0.3 mm long were excised under microscope and cultured on ½ MS liquid medium (paper bridge) containing 30g/l sucrose then incubated in dark condition for 15 days, after that move to light condition. The best of initial culture medium was medium containing 0.1 mg/l IBA supplemented with 1 or 2 mg/l BA. After cultured for 45 days, explants were transferred to solid medium of the same composition containing 30 g/l sucrose, 7 g/l agar and 0.01% activated charcoal.

References

- Alvard, D., F. Côte, and C. Teisson. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 32: 55–60.
- Amin, M.N. 1986. Micropropagation of a tropical fruit tree *Psidium guajava* L. *J. Indian Bot. Soc.* 65: 43-44.
- Amin, M.N. and V.S. Jaiswal. 1987. Rapid clonal propagation of guava through *in vitro* shoot proliferation in nodal explants of mature trees. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 9: 235-243.
- Amin, M.N. and V.S. Jaiswal. 1988. Micropropagation as an aid to rapid cloning of guava cultivars. *Sci. Hort.* 36: 89-95.
- Amin, M.N. and V.S. Jaiswal. 1993. *In vitro* response of apical bud explants from mature trees of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 33(1): 59-65.
- Bhat, S.R. and K.P.S. Chandel. 1991. A novel technique to overcome browning in tissue culture. *Plant Cell Rep.* 10: 358-361.
- Broome, O.C. and R.H. Zimmerman. 1978. *In vitro* propagation of blackberry. *HortScience.* 13: 151-153.
- Dwivedi, S.K., R.S. Dwivedi, and V.P. Tewari. 1990. Studies on pathogenic fungus including guava wilt in Varanasi. *Indian Phytopatol.* 43: 116-117.
- Escalona, M., J.C. Lorenzo, B. González, M. Daquinta, J.L. González, Y. Desjardins and C.G. Borroto. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Rep.* 18: 743-748.
- Göktürk Baydar, N., S. Ülger, and S. Çetin. 2006. Effect of endogenous phenolic compounds and hormones on *in vitro* shoot tip culture of grapevine. *J. Hort. Sci. Bio.* 81(3): 429-434.
- Hahn, E.J. and K.Y. Paek. 2005. Multiplication of *chrysanthemum* shoots in bioreactors as affected by culture method and inoculation density of single node stem. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 81: 301-306.
- Ichihashi, S. and S. Kako. 1977. Studies on clonal propagation of cattleya through tissue culture method: browning of cattleya. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 46: 325-330.
- Jaiswal, V.S. and M.N. Amin. 1992. Guava and Jack fruit. In: Hammerschlag, F.A., Litz, R.E. (Eds.). *Biotechnology of Perennial Fruit Crops*. CAB International, Wallingford, UK. pp. 421-432.
- Lazarte, J.E. 1984. Propagation pecan rootstock by tissue culture. *Am. Nurseryman.* 159(2): 79-82.
- Lee, M.Y. and Y.S. Yang. 1994. Studies on shoot tip culture of guava (*Psidium guajava* L.) in

- vitro*. Horticulture NCHU. 19: 47-59.
- Lin, T.Y. and Y.S. Yang. 2002. Studies on initial shoot tip culture of carambola (*Averrhoa carambola* L.) *in vitro*. Horticulture NCHU. 27(3): 13-24.
- Lloyd, G. and B.H. McCown. 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 30: 421-427.
- Loh, C.S. and A.N. Rao. 1989. Clonal propagation of Guava (*Psidium guajava* L.) from seedling and grafted plants and adventitious shoot formation *in vitro*. Sci. Hort. 39: 31-39.
- Marks, T.R. and S.E. Simpson. 1990. Reduced phenolic oxidation at culture initiation *in vitro* following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. J. Hort. Sci. 65(2): 103-111.
- Mishra, D.S., J.P. Tiwari, and S. Lal. 2007. *In vitro* cloning of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Pant Prabhat. Acta Hort. 735: 127-132.
- Mohamed-Yasseen, Y., S.A. Barrineger, R.J. Schnell, and W.E. Splittoesser. 1995. *In vitro* shoot proliferation and propagation of guava (*Psidium guajava* L.) from germinated seedlings. Plant Cell Rep. 14: 525-528.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 135-166.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Papadatou, P., C.A. Pontikis, E. Ephtimiadox, and M. Uydaki. 1990. Rapid multiplication of guava seedlings by *in vitro* shoot tip culture. Sci. Hort. 45: 99-103.
- Pieper, W. and K. Zimmer. 1976. Clonal propagation of *Phalaenopsis in vitro*. Acta Hort. 64: 21-23.
- Rathore, T.S., R.P. Singh, N.S. Deora, and N.S. Shekhawat. 1992. Clonal propagation of *Zizyphus* species through tissue culture. Sci. Hort. 51: 165-168.
- Roels, S., M. Escalona, I. Cejas, C. Noceda, R. Rodriguez, M.J. Canal, J. Sandoval, and P. Debergh. 2005. Optimization of plantain (*Musa AAB*) micropropagation by temporary immersion system. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 82: 57-66.
- Roussos, P.A. and C.A. Pontikis. 2001. Phenolic compounds in olive explants and their contribution to browning during the establishment stage *in vitro*. Gartenbauwissenschaft. 66: 298-303.
- Schoeman, M.N., E. Benade, and M.J. Wingfield. 1997. The symptoms and cause of guava wilt in South Africa. J. Phytopathol. 145: 37-41.
- Singh, S.K., P.R. Meghwal, H.C. Sharma, and S.P. Singh. 2002. Direct shoot organogenesis on hypocotyls explants from *in vitro* germinated seedlings of *Psidium guajava* L. cv. Allahabad

- Safeda. *Sci. Hort.* 95: 213-221.
- Thomas, P. and M.B. Ravindra. 1997. Shoot tip culture in mango: influence of medium, genotype, explant factors, season and decontamination treatments on phenolic exudation, explant survival and axenic culture establishment. *J. Hort. Sci.* 72(5): 713-722.
- Weatherhead, M.A., J. Burdon, and G.G. Henshaw. 1978. Some effects of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. *Z. Pflanzenphysiol.* 89: 141-147.
- Zimmerman, R.H. and O.C. Broome. 1980. Blueberry micropropagation. *In: Proc. Conf. Nursing production of fruit plants through tissue culture-applications and feasibility.* U.S. Dep. Agric., Sci. Educ. Adm., ARR-NE-11, pp. 44-47.

番石榴莖頂組織初代培養之研究

林玉洁¹⁾ 楊耀祥²⁾

關鍵字：番石榴、組織培養

摘要：以珍珠拔、梨拔、巴基斯坦、世紀拔及黃拔等五個番石榴 (*Psidium guajava* L.) 品種之莖頂做為培植材料，以探討培植體前處理、培養基組成及荷爾蒙對莖頂培養之影響。於植株生長期，採取長約 2 cm 之莖頂為培養材料。培植體於消毒前之前處理以 100mg/l 的抗壞血酸及 150mg/l 檸檬酸處理 20 分鐘後，再浸泡於 1% 次氯酸鈉中消毒 10 分鐘，完成消毒之培植體於解剖顯微鏡下切取長約 0.2-0.3 mm 帶 2 片葉原體大小之生長點，然後植於不同處理之培養基中。結果顯示培植體存活率以經過前處理者較無前處理者高，各品種存活率以植於濾紙橋上之液態培養基者較植於固態培養基者高。此外，培養基中添加 100mg/l 抗壞血酸及 150mg/l 檸檬酸較未添加者有較高的存活率。培植體先置於黑暗環境中 15 天後再移出至光照環境培養，其培植體存活率及鮮重皆較未經黑暗處理者高。春季及秋季採取之莖頂培養後的存活率與鮮重皆高於夏季。初代培養之培養基以 0.1 mg/l IBA 添加 1 或 2 mg/l BA 最合適。

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。

貯藏溫度對麻竹(*Dendrocalamus latiflorus* Munro) 品質之影響

劉惠菱¹⁾ 謝慶昌²⁾

關鍵字：麻竹筍、貯藏溫度、品質、PPO、POD、PAL、粗纖維

摘要：麻竹筍(*Dendrocalamus latiflorus* Munro)採收後在常溫下呼吸作用高、產生大量乙烯及品質劣變快速。本試驗中麻竹筍採收後呼吸率及乙烯產生量隨著貯藏溫度增加而有上升趨勢，並且以 1℃、3℃、6℃貯藏時外觀顏色的褐化面積較少、硬度較低、木質化及褐化相關酵素活性較低、粗纖維含量較少之結果，但在 1℃及 3℃貯藏 19 天時有寒害症狀的表現。因此麻竹筍貯藏溫度建議以 6℃較佳約有 19 天貯藏壽命。

前 言

麻竹筍(*Dendrocalamus latiflorus* Munro)屬於禾本科多年生常綠單子葉植物，依據台灣農業統計(2007)，全省竹筍栽培面積約在 27,993 公頃，其中麻竹筍約有 16,800 公頃，以台中縣、嘉義縣、台南縣、高雄縣低海拔丘陵區為主要栽培地區。麻竹筍為台灣夏季主要蔬菜之一，產期集中於 6~9 月，具有味道清新、鮮美，營養豐富等特色(吳和歐，2003)。

呼吸作用是園產品採收後為維持生命及提供能量的重要代謝作用，並且可以作為生理活性及貯藏壽命的指標之一(Mathooko, 1996)。Hardenburg 等人 (1986) 指出呼吸作用主要會受外在因子如光、化學、水分、貯藏溫度、外界氣體成分等或內在因素如發育階段、品種特性等之影響。一般而言，貯藏器官如堅果、塊莖具有較低的呼吸速率，營養組織附有生長點或是花菜類如蘆筍、竹筍、花椰菜具有較高呼吸率。

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副教授，通訊作者。

依據 Van.t Hoff 定率，當外界溫度在 0~30℃ 時，每提高 10℃ 會促進呼吸作用上升 2~3 倍，此溫度係數稱為 Q10。因此將綠竹筍貯藏在 20℃ 下時呼吸率會較貯藏在 2℃ 下高出了 8.5 倍(Kleinhenz *et al.*, 2000)；而由綠竹筍的呼吸率在採收後 4~6 小時為最高，並且隨著貯藏時間的延長，呼吸速率開始下降(余等，2007)，此類的園產品採收後品質迅速下降，櫥架壽命短。

貯藏溫度的高低也會影響乙烯的產生量，孟竹筍貯藏在 20℃ 下 24 小時後乙烯產生量開始增加，而以 1℃ 貯藏則是貯藏 9 天後乙烯產生量才有些微增加(Matsui *et al.*, 2005)。

除此之外在顏色的表現上也與溫度息息相關，蘆筍採收後未經任何處理貯藏在 2.5℃ 下 6 天再移至 25℃ 1 天，蘆筍尖端會有花青素的生合成，形成很深的紫羅蘭色(Anastasios *et al.*, 2005；Siomos *et al.*, 2001)。而竹筍在採收後極容易褐變(陳，2006)，特別是放置在 20℃ 下時，在貯藏 3 天後由於基部顏色褐化程度嚴重，會導致色相角值過低無法準確判斷顏色，而在 1℃ 貯藏可以延緩褐化表現達 9 天之久(Matsui *et al.*, 2005)。

而竹筍上質地是與其硬度的表現相關，質地包括口感中的軟硬、脆韌、粗細、多汁或乾粉、爽口程度等，是竹筍品質的重要依據之一。影響採收後硬度的變化因素有很多，貯藏溫度是其中一項因子，貯藏在 2℃ 下 30 天的竹筍硬度在貯藏後較原本增加了 17.4%，而以 20℃ 貯藏 12 天則是會較原本增加了 26.3%(Luo *et al.*, 2008a)。因此本試驗探討麻竹筍貯藏溫度與品質的關係及得到麻竹筍最適合之貯藏溫度。

材 料 與 方 法

一、材料來源與試驗方法

試驗材料取自台中縣太平市麻竹筍栽培區，並於當日早晨採收後未經清洗即裝箱迅速送達實驗室。

本試驗分成 2 次採樣，第一次為 97 年 5 月 21 日，第二次為 97 年 5 月 30 日。試驗所使用的材料先經過清洗及筍基切面(筍面)再次切除，並且挑選筍身及筍面無受傷之麻竹筍作為試驗材料；第一次試驗貯藏溫度為 1、5、10、15、20℃，將材料放置在容量 45L 的壓克力箱內，通入加濕的空氣使濕度維持近 100% RH，於貯藏後 1、3、5 天取出調查。第二次的貯藏溫度為 1、3、6℃，材料選擇及貯藏方式與第一次採樣相同，並於貯藏 5、10、19 天後取出調查。兩次試驗中每處理為 3 重複，每重複一支竹筍。

二、調查項目與方法

1. 基部切面顏色之測定

在待測麻竹筍基部以色差儀(Handy colorimeter, Nippon Denshoku 出品，Model NR-3000)測定 H 值，每一麻竹筍測定一點。H 值為以 $\tan^{-1}(b/a)$ 計算出的色相角度(Hue angle)，表示顏色色相之變化，色相角度 0 度為紅色-紫色(red-purple)，90 度為黃色(yellow)，

180 度為藍色-綠色(bluish-green)，270 度為藍色(blue)。

2. 硬度之測定

將麻竹筍由基部算起每隔 5cm 切段，每一麻竹筍切成三段，並將每段以硬度計 (Penetrometer, F327)測單位面積內穿刺麻竹筍所需最大重量，每段筍塊測量一點，將所測得之三點平均代表麻竹筍整體硬度。讀取單位為 kg/cm^2 ，並將讀值換算為牛頓力(N)，作為表示硬度之單位。

3. 呼吸率及乙烯產生量

將待測的麻竹筍稱重後，置入已知體積(8L)的呼吸缸中密閉 1 小時，再以塑膠針筒抽取缸內氣體約 25ml，並由此塑膠針筒中分別抽取 1ml 分析二氧化碳及乙烯濃度，二氧化碳以紅外線二氧化碳分析儀分析(IR-analysis, Maihak, UNOR610)，乙烯以氣相層析儀分析(gas chromatograph, Shimadzu. Model GC-8A-FID)，再換算為速率，單位分別以 $\text{ml CO}_2/\text{kg/hr}$ 及 $\mu\text{l C}_2\text{H}_4/\text{kg/hr}$ 表示。

4. 總酚類化合物之測定

依 Keith 等人(1958)之方法，先將麻竹筍由基部算起每隔 5cm 切段，每一麻竹筍取三段，並由每段取麻竹筍 1g 新鮮筍塊加少許海砂與 5ml 0.1M 磷酸緩衝液(pH 7.0)於研鉢內，冰浴研磨後倒入 12ml 高速離心管，在 4°C 下以 $20000\times g$ 離心 20 分鐘，過濾後取上清液加入去離子水稀釋至適當倍數取 1ml，加 0.1ml Folin-Cio-Calteu's phenol reagent(Merck)與 0.2ml 20% Na_2CO_3 及 8.7ml 去離子水，混和均勻後於沸水浴中加熱 3 分鐘，冷卻後以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U-2000)測在 600nm 之吸收值。標準曲線以 100ppm caffeic acid 配製，單位以 mg/gFW 表示。並將所測得的三個值平均代表整支麻竹筍總酚類化合物含量。

5. 多酚氧化酵素之測定

依 Lee 和 Smith(1979)之方法，先將麻竹筍由基部算起每隔 5cm 切段，每一麻竹筍取三段，並由每段取麻竹筍稱取 2g 之新鮮筍塊加少許海砂與 5ml 之 0.1M 磷酸緩衝溶液(pH 7.0，含 1% PVP 及 0.25% Triton)置於研鉢內，冰浴研磨後倒入 12ml 高速離心管中，在 4°C 下以 $20000\times g$ 離心 20 分鐘，過濾後取上清液在冰浴中備用。活性測定時取 1.9ml 之 0.1M 磷酸緩衝液(pH 8.0)，加入 0.2ml 之 0.5M Catechol，最後加入 0.1ml 之酵素抽出液，迅速混合均勻後，以分光光度計(Shimadzu UV-200S)及記錄器(Recorder)記錄在 420nm 波長下反應初期(0-60 秒)吸收值的變化。單位以 $\Delta A_{410}/\text{min/g.FW}$ 表示。並將所測得的三個值平均代表整支麻竹筍多酚氧化酵素活性。

6. 過氧化酵素之測定

依 Guaiacol(Johnson and Cunningham, 1972)之方法，先將麻竹筍由基部算起每隔 5cm 切段，每一麻竹筍取三段，並由每段取麻竹筍稱取 2g 之新鮮筍塊加少許海砂與 5ml 0.1M 磷酸緩衝液(pH 7.0)置於研鉢中，冰浴研磨後倒入 12ml 高速離心管，在 4°C 下以 $20000\times g$ 離心 20 分鐘，過濾後取上清液在冰浴中備用。分析時，依序取 2ml 含有 $3.6\times 10^{-3}\text{M}$ Guaiacol

緩衝液(100ml 0.1M 磷酸緩衝液加入 0.04ml 之 guaiacol, pH 6.0), 0.1ml 去離子水, 0.2ml 0.0135M H_2O_2 , 以及 0.1ml 酵素萃取液, 迅速混合後, 放入分光光度計(Shimadzu UV-200S)測在 470nm 波長下反應初期(0-60 秒)吸收值的變化。單位以 $\Delta A_{470}/\text{min/gFW}$ 表示。並將所測得的三個值平均代表整支麻竹筍過氧化酵素活性。

7. 苯丙胺酸脫氨裂解酶之測定

依 Cheng 及 Breen(1991)之分析方法, 先將麻竹筍由基部算起每隔 5cm 切段, 每一麻竹筍取三段, 並由每段取麻竹筍稱取 2g 加少許海砂與 5ml 0.1N 硼酸緩衝液(pH 8.8, 含 2mM EDTA 及 2-mercaptoethanol)置於研鉢中, 冰浴研磨後, 1°C 下以 100rpm 震盪 1 小時。再於 4°C 下以 20000xg 離心 20 分鐘, 過濾後取上清液加入 0.1N 硼酸緩衝液適當稀釋後取 0.1ml 加入 2.9ml 60mM L-phenylalanine 混合均勻後於 40°C 反應 1 小時, 反應後加入 0.1ml 6N 鹽酸終止反應, 以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定在 290nm 波長下吸收值之變化, 標準曲線以 10ppm t-cinnamic acid 配製, 單位以 mg t-cinnamic acid/hr/gFW 表示。並將所測得的三個值平均代表整支麻竹筍苯丙胺酸脫氨裂解酶活性。

8. 粗纖維之測定

依 Van Soest(1967)之分析方法, 秤取 5g 樣品以濾袋包裝, 並記錄單純濾袋重量(W_1), 加入樣品後紀錄濾袋與樣品的總和重量(W_2), 並將袋口封好放置在消化槽上, 並加入酸洗液藥劑, 使其蓋過樣品並攪拌及加熱至 100°C 1 小時。之後以 100°C 清洗樣品 3 次每次 5 分鐘, 再將濾袋擠乾放入燒杯中浸泡丙酮 3~5 分鐘, 並待丙酮揮發後放入 100°C 烘箱 4 小時後取出稱重(W_3)。

計算公式 = $(W_3 - W_1) / (W_2 - W_1) \times 100\%$

酸洗液配製: 取 CTAB (cetyl trimethylammonium bromide) 200 克與 96% 硫酸 280 ml 定量至 10 L。

9. 統計分析

數據分析採用 Duncan's 分析其信賴區間 5% 之顯著性。

結果與討論

一、貯藏溫度對麻竹筍呼吸率及乙烯產生量之影響

竹筍採收後隨著貯藏溫度提高乙烯產生量會增加(表 1), 所有處理組在貯藏 1 天時乙烯產生量為最高, 並且以 15 及 20°C 貯藏者在貯藏 1 天時乙烯產生量明顯高於其他組別, 之後乙烯產生量開始下降, 但在貯藏 5 天時 15 及 20°C 貯藏者乙烯產生量卻有上升的表現, 推測可能是因為此時麻竹筍有腐爛的產生, 因此造成乙烯產生量較貯藏 3 天時要高。而以 1、5、 10°C 貯藏者則是能減緩麻竹筍乙烯產生量。在呼吸率方面, 較高溫度貯藏者呼吸率較高, 並在貯藏 1 天時呼吸率為最高, 之後開始下降(表 2)。

園產品採收後溫度會影響產品各種生化反應的速率，在產品貯藏之適當溫度時，若溫度每增加 10°C，其生化反應即增加 2~3 倍，損壞率亦增加 2~3 倍，也會影響乙烯的效應，降低氧氣吸收及增加二氧化碳產生，影響呼吸率(Kader, 1987)。因此由結果可以得知，呼吸率在 15°C 貯藏 1 天時較 5°C 貯藏 1 天高出約 1.8 倍，貯藏 5 天時高出約 3.2 倍；乙烯產生量的結果更加明顯，15°C 貯藏 1 天時較 5°C 貯藏 1 天高出約 9.1 倍，貯藏 5 天時高出約 18 倍(表 1-2)。這樣的結果與孟竹筍貯藏在 20°C 時乙烯快速增加相同 (Matsui *et al.*, 2005)。

表 1. 貯藏溫度對麻竹筍乙烯產生量之影響

Table 1. Effect of storage temperature on the ethylene production of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Ethylene production ($\mu\text{l C}_2\text{H}_4/\text{kg-hr}$)		
	1 ^z	3	5
1°C	0.37	0.43	0.00
5°C	0.35	0.03	0.02
10°C	0.26	0.10	0.06
15°C	3.20	0.26	0.36
20°C	1.61	0.37	1.06

^z Storage time(day)

表 2. 貯藏溫度對麻竹筍呼吸率之影響

Table 2. Effect of storage temperature on the respiration rate of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Respiration rate ($\text{ml CO}_2/\text{kg-hr}$)		
	1 ^z	3	5
1°C	33.96	28.82	5.76
5°C	44.15	34.89	12.42
10°C	55.58	51.38	31.49
15°C	78.79	55.09	39.82
20°C	70.29	58.85	41.94

^zStorage time(day).

二、貯藏溫度對麻竹筍外觀及顏色之影響

麻竹筍採收時筍面色相角值為 96.7，顏色呈現淡黃色，在貯藏第 3 及第 5 天，隨著貯藏溫度的增加色相角值具有下降趨勢，15 及 20℃貯藏者在貯藏 3 天後色相角值皆低於 80，呈現紅褐色(表 3)。而以低溫貯藏者則可以維持色相角值達 19 天。並且乙烯產生量的增加較高的組別外觀及顏色的表現較差，以 15 及 20℃貯藏的組別在貯藏 5 天時色相角值屬於紅褐色的範圍(表 3、圖 1、2)。

在外觀上，以低溫貯藏者在貯藏 5 天後與入庫當天並無差異，但以 15 及 20℃貯藏者竹筍基部褐化嚴重(圖 1)。若以低溫貯藏至 19 天後，依然可以維持基部顏色，沒有褐化的產生(圖 2)。但以 1 及 3℃貯藏 19 天時，在脫去筍殼後可以發現在表面上有疑似寒害症狀的產生(圖 3)。

並且低溫(1、3、6℃)貯藏時，由於在貯藏期間呼吸率及乙烯產生量較低，因此外觀在貯藏 19 天後與採收時並無顯著差異(圖 2)。不過當貯藏 1、3℃會有寒害症狀的發生(圖 3)。這樣的結果與孟竹筍貯藏在 20℃時乙烯快速增加使得色相角下降、筍面褐化類似(Matsui *et al.*, 2005)。

表 3. 貯藏溫度對麻竹筍筍面切口顏色色相角值之影響

Table 3. Effect of storage temperature on the hue angle of cut surface of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Hue angle			
	At harvest	1 ^z	3	5
1℃	96.7	91.0 aA ^y	91.3 aA	92.8 aA
5℃	96.7	89.6 aA	89.7 aA	91.9 aA
10℃	96.7	79.1 aA	86.1 bA	85.4 bA
15℃	96.7	87.6 aA	79.9 cB	77.9 cC
20℃	96.7	84.1 aA	77.4 dA	72.5 dA

^z Storage time(day)

^y Mean separation within column (small letters) and within row (capital letters) was by Duncan's multiple range test at 5% level.

三、貯藏溫度對麻竹筍硬度之影響

在硬度上，貯藏第 1 天時各處理間並無顯著差異，然而在貯藏第 5 天時以較高溫度貯藏者(15、20℃)硬度較高，(表 4)。以低溫貯藏者則是可以減緩此現象，試驗二中貯藏 19 天的麻竹筍硬度與剛採收下的麻竹筍並無差異，並且不論是以 1、3、6℃貯藏，硬度表現均無差異(數據未列)。

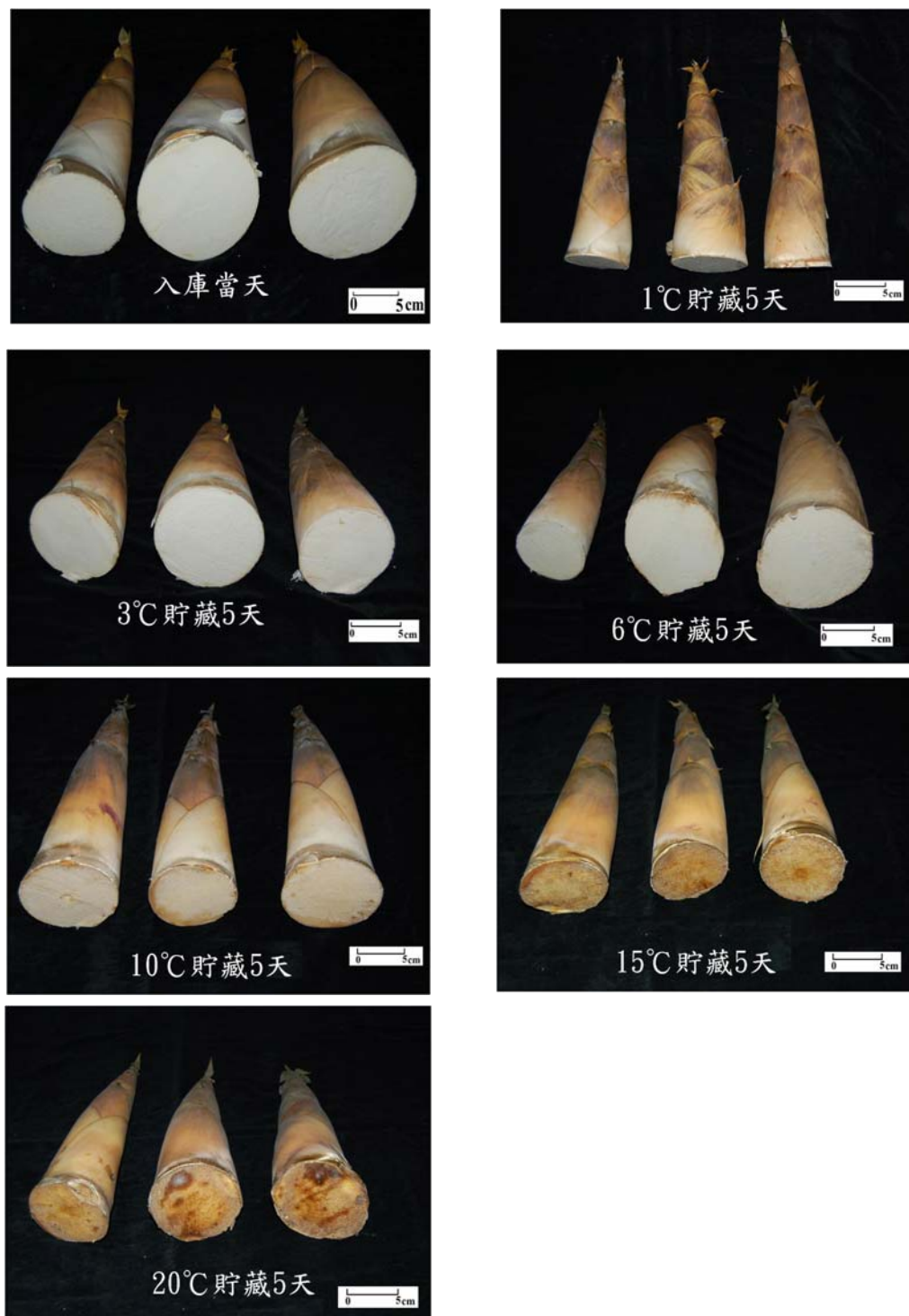


圖 1. 溫度對麻竹筍貯藏 5 天後外觀之影響

Fig. 1. Effect of storage temputure on the appearance of cut surface of bamboo shoot during storage.



圖 2. 溫度對麻竹筍貯藏 19 天後外觀之影響

Fig. 2. Effect of storage temperature on the appearance of cut surface of bamboo shoot after 19 days storage.

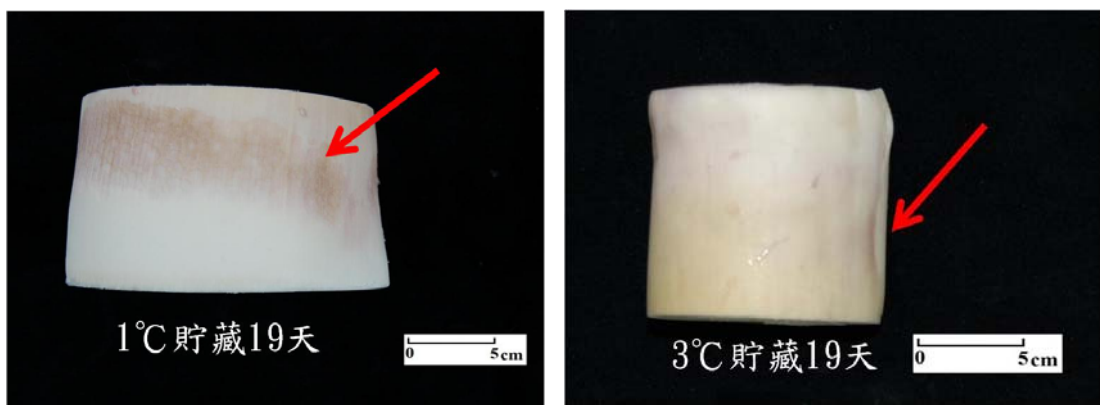


圖 3. 麻竹筍低溫貯藏後之寒害症狀(1°C 或 3°C , 19 天)

Fig. 3. The chilling injury of bamboo shoots accrues after stored at 1°C or 3°C for 19 days.

乙烯產生量的增加不但會影響麻竹筍的外觀及顏色，也會影響麻竹筍硬度，試驗中以 15 及 20℃ 貯藏的組別硬度高於其他組別(表 4)，這與竹筍上使用 500ppm 乙烯在 20℃ 下處理 8 小時後硬度在貯藏期間會較未處理組別上升的較快結果相同(Luo *et al.*, 2008b)，因此乙烯產生量的增加會使得麻竹筍硬度上升。

四、貯藏溫度對麻竹筍木質化及褐化相關酵素活性之影響

麻竹筍採收後多酚氧化酵素(polyphenol oxidase; PPO; EC 1.10.3.1)活性為 $2.5 \Delta A_{410}/\text{min/g-FW}$ ，以 20℃ 貯藏者在貯藏 1 天活性有上升現象，並隨著貯藏時間的增加活性越來越高，貯藏第 3 天 PPO 活性達到 $4.1 \Delta A_{410}/\text{min/g-FW}$ ；15℃ 貯藏者在貯藏 1 天時 PPO 活性雖然沒有太大改變，然而仍然會隨著貯藏時間的增加 PPO 活性跟著增加。以低溫貯藏者則無 PPO 活性上升的現象，以 1 及 5℃ 貯藏 5 天後 PPO 活性較原本少了一半；以 10℃ 貯藏者則是與原本無顯著差異(表 5)。

在過氧化酵素(peroxidase; POD; EC 1.11.1.7)活性方面，各溫度貯藏者在貯藏第 1 天活性達到最高，之後隨著貯藏時間的增加而活性下降；貯藏溫度較低的組別 POD 活性較高，15 及 20℃ 貯藏者活性次之(表 6)。

表 4. 貯藏溫度對麻竹筍硬度之影響

Table 4. Effect of storage temperature on the firmness of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Firmness (N)			
	At harvest	1 ^z	3	5
1℃	68.0	84.2 aA ^y	91.0 aA	83.3 abA
5℃	68.0	85.5 aA	74.1 bA	82.5 abA
10℃	68.0	82.1 aA	86.7 abA	74.5 bA
15℃	68.0	86.2 aA	103.1 aA	103.4 aA
20℃	68.0	89.4 aA	90.5 aA	89.3 abA

^{z, y} as described in table 3.

而在苯丙胺酸脫氨裂解酵素(phenylalanine ammonia lyase; PAL; EC 4.3.1.5)活性的表現上，隨著貯藏溫度的提高酵素活性跟著增加，在貯藏第 1 天及第 3 天時各處理之間有顯著差異，1℃ 及 5℃ 貯藏者活性最低，10、15 及 20℃ 貯藏者活性最高，然而到了貯藏第 5 天各處理間 PAL 活性並無顯著差異；貯藏天數也會影響 PAL 活性之變化，隨著貯藏時間的增加，PAL 活性也會提高(表 7)。

一般而言外觀及顏色的改變與褐化相關酵素 PAL、PPO、POD 活性相關，在竹筍上 PAL 活性較低的組別褐化指數也較低(陸和孔,2004)，豆薯貯藏在 20℃ 6 天時 POD 活性達

到高峰，並伴隨著表面褐化的表現(Aquion-Bolaños *et al.*, 2004)，萵苣受傷後 PPO 含量增加使得切面褐化(Degl'Innocenti *et al.*, 2005)。在本試驗中 15 及 20℃ 貯藏組別 PAL 及 PPO 活性較高，並且在總酚類化合物含量也較其他組別高。因此麻竹筍上外觀及顏色褐化的增加主要是採收後乙烯產生量增加促進 PAL、PPO 活性上升，使得總酚類化合物含量增加，進而影響顏色累積使得切面褐化(表 5-8)。

除此之外，硬度較高的組別在木質化相關酵素活性也較高，試驗中 PAL 活性皆是以 15℃、20℃ 貯藏組別較高(表 7)；在 POD 活性的結果上，以低溫貯藏特別是 1℃ 貯藏時 POD 活性會較高溫貯藏要高(表 6)。冷子番荔枝上以 2℃ 貯藏時 POD 活性會較 20℃ 貯藏時要高，並伴隨寒害症狀的表現(Guillermo *et al.*, 2001)，對照麻竹筍寒害症狀可以得知低溫延長貯藏容易造成麻竹筍筍殼軟化、皺縮的表現(圖 3)。

表 5. 貯藏溫度對麻竹筍多酚氧化酵素活性之影響

Table 5. Effect of storage temperature on the polyphenol oxidase activity of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Polyphenol oxidase activity ($\Delta A_{410}/\text{min/g-FW}$)			
	At harvest	1 ^z	3	5
1℃	2.5	1.4 bA ^y	1.3 cA	1.1 bA
5℃	2.5	2.2 abA	1.5 cB	0.9 bC
10℃	2.5	2.3 aA	1.7 cA	2.5 aA
15℃	2.5	2.2 abB	2.5 bB	3.2 aA
20℃	2.5	2.7 aA	4.1 aA	3.4 aA

^{z, y} as described in table 3.

表 6. 貯藏溫度對麻竹筍過氧化酵素活性之影響

Table 6. Effect of storage temperature on the peroxidase activity of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Peroxidase activity ($\Delta A_{470}/\text{min/g-FW}$)			
	At harvest	1 ^z	3	5
1℃	14.8	20.2 aA ^y	12.6 aA	15.3 abA
5℃	14.8	17.8 aA	15.1 aA	16.1 aA
10℃	14.8	19.3 aA	11.3 aB	11.4 bB
15℃	14.8	19.6 aA	12.0 aB	14.6 abB
20℃	14.8	19.1 aA	13.4 aA	14.3 abA

^{z, y} as described in table 5.

表 7. 貯藏溫度對麻竹筍苯丙胺酸脫氨裂解酵素活性之影響

Table 7. Effect of storage temperature on the phenylalanine-amino lyase activity of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Phenylalanine-amino lyase activity(mg t-cinnamic acid/hr.g-FW)			
	At harvest	1 ^z	3	5
1°C	3.9	3.8 bC ^y	5.3 bA	5.0 aB
5°C	3.9	4.0 abB	5.2 bA	5.3 aB
10°C	3.9	4.1 aC	5.5 aA	5.2 aB
15°C	3.9	4.1 aB	5.4 abA	5.3 aA
20°C	3.9	4.2 aB	5.3 bA	5.0 aA

^z, ^y as described in table 3.

五、貯藏溫度對麻竹筍總酚類化合物含量之影響

總酚類化合物含量在各溫度處理間並無顯著差異，但會隨著貯藏時間的增加，具有下降的趨勢，剛採收的麻竹筍總酚類化合物含量為 1.00 mg/g-FW，貯藏第 5 天其值約在 0.8~0.99 mg/g-FW(表 8)。

六、貯藏溫度對麻竹筍粗纖維含量

粗纖維含量隨著貯藏溫度的增加而增加，15 及 20°C 貯藏者貯藏 1 天後粗纖維含量較採收後高出 1 倍，其值為 13.6、13.3%，在達到最大值之後開始下降(表 9)；1、5、10°C 貯藏者只較採收後高出 0.5 倍，其值分別為 9.3、9.3、10.0%，並一直維持在此範圍達 5 天。

表 8. 貯藏溫度對麻竹筍總酚類化合物含量之影響

Table 8. Effect of storage temperature on the total phenolic compound of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Total phenolic compound (mg/g-FW)			
	At harvest	1 ^z	3	5
1°C	1.00	0.84 aA ^y	0.71 bA	0.90 aA
5°C	1.00	0.81 aA	0.86 abA	0.80 aA
10°C	1.00	0.99 aA	0.91 abA	0.99 aA
15°C	1.00	0.99 aA	0.95 aA	0.87 aA
20°C	1.00	0.99 aA	0.92 abA	0.96 aA

^z, ^y as described in table 3.

表 9. 貯藏溫度對麻竹筍粗纖維含量之影響

Table9. Effect of storage temperature on the crude fiber contents of bamboo shoot during storage.

Storage temperature	Crude fiber contents (%)			
	At harvest	1 ^z	3	5
1°C	6.1B	9.3bA ^y	8.6cA	6.8cB
5°C	6.1C	9.3bA	9.6bcA	8.9bB
10°C	6.1C	10.0bA	9.3bcAB	8.5bB
15°C	6.1C	13.6aA	10.4abB	11.7aAB
20°C	6.1C	13.3aA	11.1aB	12.1aAB

^{z, y} as described in table 3.

麻竹筍在 PAL 活性增加較高的處理組，粗纖維含量有較其他組別高的現象(表 9)，低溫貯藏組粗纖維含量在試驗期間維持一定，顯示低溫貯藏可降低 PAL 活性並減緩粗纖維的累積，進而使硬度較高溫貯藏者低。這樣結果與山竹果、枇杷採收後乙烯產生量增加所導致的 PAL 活性增加、木質素含量上升類似(Ketsa *et al.*,1998 ; Cai *et al.*,2006)。

綜合以上結果低溫貯藏雖然具有降低乙烯產生量及呼吸率的優點，然而此試驗中 1°C 及 3°C 由於貯藏溫度過低，容易造成寒害，較不適於麻竹筍之貯藏，以 5-6°C 貯藏可兼具降低乙烯產生量，減緩酵素活性，維持外觀及品質之優點，故麻竹筍的貯藏溫度以 6°C 較佳。

參 考 文 獻

- 吳景濤，歐陽燕。2003。素食第一名-竹筍。飲食科學 2: 25~25。
- 陳認。2006。竹筍貯藏過程中木質素變化以及調控之研究現狀。保鮮與加工。34:8-9。
- 陸勝民、孔凡春。2004。低氧氣調包裝對去殼雷筍褐變和木質化的影響。植物生理與分子生物學學報 30: 387-392。
- Aquion-Bolaños, E. N. and E. Mercado-Silva. 2004. Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. Postharvest Biol. Technol. 33:275-283.
- Anastasios, S. S., G. Dimitrios, and P. Tsouvaltzis. 2005. Prestorage hot water treatments inhibit postharvest anthocyanin synthesis and retain overall quality of white asparagus spears. Postharvest Biol. Technol. 38: 160-168.

- Cai, C., C. Xu, X. Li, I. Ferguson, and K. S. Chen. 2006. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. *Postharvest Biol. Technol.* 40:163-169.
- Degl'Innocenti, E., L. Guidi, A. Pardossi, and F. Tognoni. 2005. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Acephala*). *J. Agric. Food Chem.* 53: 9980–9984.
- Guillermo, O. P. A. S. Brenda, V. Irasema, O. B. Blanca, and A. M. Miguel. 2001. Effect of temperature on enzymatic and physiological factors related to chilling injury in carambola fruit (*Averrhoa carambola* L.). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 287: 846-851.
- Hardenburg, R. E., A. E. Watada, and C. Y.Wang. 1986. *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks* pp. 15-21.
- Kader, A. A. 1987. Respiration and gas exchange of vegetables. J. Weichmann (ed). *Postharvest physiology of vegetables*. pp. 25-43. In: Marcel Dekker. New York and Basel.
- Ketsa, S. and S. Atantee. 1998. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged of mangosteen fruit after impact. *Postharvest Biol. Technol.* 14:117-124.
- Luo, Z., X. Xu ,and B. Yan. 2008a. Accumulation of lignin and involvement of enzymes in bamboo shoot during storage. *Eur. Food Res. Technol.* 226: 635-640.
- Luo, Z., X. Xu, and B. Yan. 2008b. Use of 1-methylcyclopropene for alleviating chilling injury and lignifications of bamboo shoot (*Phyllostachys praecox* f. *prevernalis*) during cold storage. *J. Sci. Food Agric.* 88: 151-157.
- Mathooko, M. F. 1996. Regulation of respiratory metabolism in fruits and vegetables by carbon dioxide. *Postharvest Biol. Technol.* 9: 247-264.
- Matsui, T., K.Yusuke, and M. Eizou. 2005. Postharvest changes in activities of GS, ACC synthase, ACC oxidase, and PAL in bamboo shoots at different storage temperatures. *Food Preservation Sci.* 31:303-308.
- Siomos, A. S., C. C. Dogras, and E. M. Sfakiotakis. 2001. Color development in harvested white asparagus spears in relation to carbon dioxide and oxygen concentration. *Postharvest Biol. Technol.* 23: 209-214.

Effect of Storage Temperature on Quality of Bamboo Shoot (*Dendrocalamus latiflorus* Munro)

Huey-Ling Liu ¹⁾ Ching-Chang Shiesh ²⁾

Key words: Bamboo shoot, Storage temperature, Quality, PPO, POD, PAL, Crude fiber contents

Summary

Postharvest bamboo shoots (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) are characterized by an increase in respiration and ethylene production, thus resulting in the rapid deterioration of bamboo shoots. After harvest, respiration and ethylene production in bamboo shoots increased with temperature. However, bamboo shoots stored at 1°C, 3°C, and 6°C resulted in the following: good appearance; lower firmness; decreased PPO, POD, and PAL activity; and decreased fibre content. On the other hand, storage at 1°C and 3°C caused chilling injury after 19 days. The results showed that 6°C is optimum storage temperature of bamboo shoots and the storage life could be extend to 19 days.

1) Graduate Student in MS. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

植物生長阻礙劑對小白菜淹水耐受性之影響

陳詩文¹⁾ 宋 妤²⁾

關鍵字：小白菜、植物生長阻礙劑、存活率

摘要：為解決夏季小白菜生產上所遭遇淹水傷害問題，研究適合於小白菜生產的植物生長阻礙劑種類、濃度及施用方式，以期能提高小白菜淹水耐性，降低在淹水下的傷害及於排水後能快速恢復，達到穩定生產的目的。以 PP-333 及 CCC 處理四品種小白菜，小白菜植株生長被抑制，鮮乾重的累積減少。淹水下可減少小白菜鮮重的損失 16.9-27.5 %，排水復原五天後以 PP-333 於'鳳山'、CCC 於'阿鳳'對減少鮮重損失效果最佳。

前 言

小白菜(*Brassica campestris* L. *Chinensis* group)屬十字花科芸薹屬不結球葉菜類，植株具短縮莖而大葉片為主要食用部分。小白菜於露地栽培時，不論是產量或品質皆受氣象因子所影響(翁等，1999)。臺灣地區夏季高溫、多雨常導致葉菜類蔬菜發育不良，且田區常有積水現象，使葉片黃化與脫落，根部變黑腐爛，植株無法恢復生長，甚至腐爛死亡，造成蔬菜生產上的損失。

植物生長阻礙劑(Plant Growth Retardants, PGRs)，指具有在不影響植株器官分化與形成的條件下，可以抑制植物節間的伸長，使葉色加深、增加花朵數，同時也能加強植物抵抗環境逆境的能力(Krug *et al.*, 2007)。大多數種類的植物生長調節劑主要是促進或抑制植物荷爾蒙活性、濃度之生理作用，以達到影響植物生長的效果。植物經生長阻礙劑處理後，其營養生長會受到影響，生殖生長及抗逆境的能力可獲得改善(Wang and Lin, 1992)。適合各類作物的生長阻礙劑種類與濃度往往有所差異，且栽培環境的不同也會造成不同的效

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。

果，過低則效果不顯現，過高則過度抑制，易出現減產之情形，對黑鳶尾施用巴克素 1000 ppm 時，其株高、葉片數及鮮乾重都明顯受到影響(Al-Khassawneh *et al.*, 2006)。錦葵株高的矮化，克美素(chlormequat, CCC)的效果明顯優於巴克素，而 ancymidol 則對其沒有影響(Hilgers *et al.*, 2005)。本研究經藉由合理的施用植物生長阻礙劑，以期能提高小白菜淹水耐性，降低在淹水下的傷害及於排水後能快速恢復，達到穩定生產的目的。

材 料 與 方 法

一、供試驗品種

本試驗採用'阿鳳'、'鳳山'、'鳳京'及'鳳珍'四品種小白菜(*Brassica campestris* L. *Chinensis* group)為材料，'鳳京'種子為時田(Tokita)種苗有限公司之品種，其餘三品種購自農友種苗股份有限公司。

二、植株栽培及淹水處理

試驗於 2008 年 9-10 月，地點為中興大學溫網室，將小白菜種子播於 72 格穴盤，發芽後幼苗達本葉二片時定植於 3.5 吋塑膠盆中，每週以 1000 倍尿素進行葉面施肥。植株生長達六片葉時，將塑膠盆放置於塑膠盒內進行淹水處理，水淹至植株葉柄基部二天，排水五天後，分別進行植株鮮乾重調查，並計算鮮乾重減少百分率，各處理逢機取三重複，每重覆三株。

三、植物生長阻礙劑處理

定植後一週植株分別以植物生長阻礙劑 PP-333 及 CCC 進行處理，所使用之植物生長阻礙劑成分、來源及處理方法簡介如下：

PP-333(Paclobutrazol; $C_{15}H_{20}ClN_3O$, SIGMA)：以濃度 40 ppm 於兩片本葉時行葉面噴施一次。

CCC(Chlormequat; $C_5H_{13}ClN$, SIGMA)：以濃度 400 ppm 於兩片本葉時行葉面噴施一次。

四、試驗設計及統計

以上試驗設計採隨機完全區集設計(Randomized Complete Block Design; RCBD)，調查所得數據統計採用 SAS 套裝軟體(SAS Institute)中的 PROC ANOVA (analysis of variance procedure)進行變方分析($\alpha=0.05$)，以 Fishers' s LSD 進行各處理間平均值之比較。

結 果

四品種小白菜施用生長阻礙劑(PP-333)後進行淹水及排水後之地上部鮮重如表 1，處理 PP-333 減少小白菜之鮮重情形依品種而異，'阿鳳'、'鳳京'經處理者淹水前之鮮重與其

對照組無顯著差異，'鳳山'、'鳳珍'經處理者則顯著低於其對照組。淹水二天時，'鳳珍'經 PP-333 處理者之鮮重與未處理者無顯著差異，其餘三品種經 PP-333 處理者鮮重均顯著高於未處理者，其中'阿鳳'及'鳳京'較淹水前鮮重分別增加 5.0、10.4%，此二品種施用生長阻礙劑對減輕淹水傷害效果最佳。小白菜受淹水傷害後恢復生長情形不佳，復原五天時除'鳳山'經生長阻礙劑處理者鮮重顯著高於未處理者，較淹水後增加 4.9%，未處理者則較淹水後減少 18.0%，其餘三品種經生長阻礙劑處理者鮮重與未處理者無顯著差異，復原情形並未改善。

施用 PP-333 對四品種小白菜淹水及排水後之地上部乾重之影響如表 2，除'阿鳳'經處理者淹水前之乾重與其對照組無顯著差異，其餘三品種經處理者則顯著低於其對照組。淹水二天時，'鳳珍'經 PP-333 處理者之乾重與未處理者無顯著差異，其餘三品種經 PP-333 處理者乾重均顯著高於未處理者，經生長阻礙劑處理者較淹水前減少 0.3-10.7%，未處理者減少 15.1-38.0%。復原五天時'鳳山'、'鳳京'經 PP-333 處理者乾重顯著高於未處理者，'阿鳳'及'鳳珍'經 PP-333 處理者鮮重與未處理者無顯著差異。

四品種小白菜施用生長阻礙劑(CCC)淹水及排水後之地上部鮮重如表 3，施用 CCC 減少小白菜鮮重，除'阿鳳'經 CCC 處理者淹水前之鮮重與其對照組無顯著差異，其餘三品種經 CCC 處理者則顯著低於其對照組。淹水二天時，除'鳳京'經 CCC 處理者之鮮重顯著高於未處理者，其餘三品種經 CCC 處理者鮮重與未處理者均無顯著差異，其中'鳳京'及'鳳珍'較淹水前鮮重分別增加 1.5、1.4%，此二品種施用 CCC 對減輕淹水傷害效果最佳。小白菜受淹水傷害後恢復生長情形不佳，復原五天時除'阿鳳'、'鳳山'經 CCC 處理者鮮重顯著高於未處理者，'鳳京'、'鳳珍'經 CCC 處理者則與未處理者無顯著差異。

施用 CCC 對四品種小白菜淹水及排水後之地上部乾重影響如表 4，四品種經 CCC 處理者淹水前之乾重均顯著低於其對照組。淹水二天時，'阿鳳'及'鳳京'經 CCC 處理者之乾重顯著高於未處理者，'鳳山'及'鳳珍'經 CCC 處理者則與未處理者無顯著差異。復原五天時四品種經 CCC 處理者乾重均顯著高於未處理者。

生長阻礙劑處理四品種小白菜淹水及排水後鮮乾重較對照組增加百分率如圖 1，PP-333 處理於淹水下及排水後以'鳳山'處理效果最佳，其餘三品種復原情形均較對照組差。CCC 處理於淹水下以'鳳京'處理效果最佳，復原情形則以'阿鳳'處理效果較佳，'鳳京'復原情形最差。

表 1. 生長阻礙劑 PP-333 處理之小白菜'阿鳳'、'鳳山'、'鳳京'及'鳳珍'淹水及排水後之地上部鮮重。

Table 1. The shoot fresh weight after water logging and recovery of 'A-Feng', 'Feng-Shan', 'Feng-Jing' and 'Feng-Jen' Pakchoi treated with PP-333.

品種	處理 濃度	淹水 0 天 (F0)	淹水 2 天 (F2)	F2-F0/F0 ×100% (%)	復原 5 天 (R5)	R5-F2/F2 ×100% (%)
		鮮重(g)	鮮重(g)		鮮重(g)	
阿鳳	CK	32.33 a ^z	25.04 b	-22.5±1.0 ^y	16.86 a	-32.7±1.3
	PP-333	29.92 a	31.42 a	5.0±1.3	19.01 a	-39.5±1.4
鳳山	CK	32.25 a	22.69 b	-29.6±0.9	18.61 b	-18.0±1.1
	PP-333	26.89 b	26.11 a	-2.9±1.1	27.40 a	4.9±1.5
鳳京	CK	35.99 a	30.13 b	-16.3±1.0	25.13 a	-16.6±1.4
	PP-333	32.54 a	35.91 a	10.4±0.8	28.81 a	-19.8±1.4
鳳珍	CK	37.29 a	30.00 a	-19.5±1.2	23.04 a	-23.2±1.8
	PP-333	31.98 b	30.70 a	-4.0±0.9	20.13 a	-34.4±1.6

^z：同欄內相同英文字母表示以 Fisher's LSD test 未達 $P \leq 0.05$ 的顯著水準

^y：standard error

表 2. 生長阻礙劑 PP-333 處理之小白菜'阿鳳'、'鳳山'、'鳳京'及'鳳珍'淹水及排水後之地上部乾重。

Table 2. The shoot dry weight after water logging and recovery of 'A-Feng', 'Feng-Shan', 'Feng-Jing' and 'Feng-Jen' Pakchoi treated with PP-333.

品種	處理 濃度	淹水 0 天 (F0) 乾重(g)	淹水 2 天 (F2) 乾重(g)	F2-F0/F0 ×100% (%)	復原 5 天 (R5) 乾重(g)	R5-F2/F2 ×100% (%)
阿鳳	CK	3.17 a ^z	2.40 b	-24.3±1.0 ^y	1.54 a	-35.8±1.1
	PP-333	3.19 a	2.85 a	-10.7±1.0	1.63 a	-42.8±1.2
鳳山	CK	3.21 a	1.99 b	-38.0±0.9	1.90 b	-4.5±1.2
	PP-333	2.75 b	2.79 a	-1.5±0.8	2.86 a	2.5±1.5
鳳京	CK	3.71 a	3.15 b	-15.1±1.1	2.22 b	-29.5±1.4
	PP-333	3.29 b	3.33 a	-1.2±0.6	3.06 a	-8.1±1.6
鳳珍	CK	3.66 a	3.04 a	-16.9±0.8	2.39 a	-21.4±1.8
	PP-333	3.10 b	3.09 a	-0.3±0.9	2.20 a	-28.8±1.6

^z：同欄內相同英文字母表示以 Fisher's LSD test 未達 $P \leq 0.05$ 的顯著水準

^y：standard error

表 3. 生長阻礙劑 CCC 處理之小白菜'阿鳳'、'鳳山'、'鳳京'及'鳳珍'淹水及排水後之地上部鮮重。

Table 3. The shoot fresh weight after water logging and recovery of 'A-Feng', 'Feng-Shan', 'Feng-Jing' and 'Feng-Jen' Pakchoi treated with CCC.

品種	處理 濃度	淹水 0 天 (F0)	淹水 2 天 (F2)	F2-F0/F0 ×100% (%)	復原 5 天 (R5)	R5-F2/F2 ×100% (%)
		鮮重(g)			鮮重(g)	
阿鳳	CK	35.53 a ^z	27.03 a	-23.9±1.0 ^y	20.09 b	-25.7±1.1
	CCC	32.05 a	30.15 a	-5.9±0.9	29.81 a	-1.1±1.2
鳳山	CK	37.86 a	22.27 a	-41.2±1.1	10.31 b	-53.7±1.2
	CCC	29.07 b	23.01 a	-20.8±1.0	14.37 a	-37.5±1.0
鳳京	CK	35.08 a	26.29 b	-25.1±0.8	14.56 a	-44.6±1.5
	CCC	30.08 b	30.52 a	1.5±0.9	12.94 a	-57.6±1.2
鳳珍	CK	37.46 a	31.65 a	-15.5±1.0	15.11 a	-52.3±1.8
	CCC	31.83 b	32.29 a	1.4±0.9	16.55 a	-48.7±1.2

^z：同欄內相同英文字母表示以 Fisher's LSD test 未達 $P \leq 0.05$ 的顯著水準

^y：standard error

表 4. 生長阻礙劑 CCC 處理之小白菜'阿鳳'、'鳳山'、'鳳京'及'鳳珍'淹水及排水後之地上部乾重。

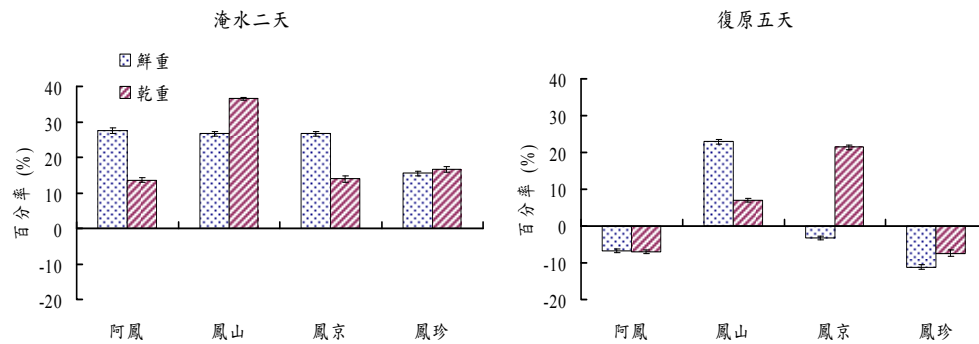
Table 4. The shoot dry weight after water logging and recovery of 'A-Feng', 'Feng-Shan', 'Feng-Jing' and 'Feng-Jen' Pakchoi treated with CCC.

品種	處理 濃度	淹水 0 天 (F0)	淹水 2 天 (F2)	F2-F0/F0 ×100% (%)	復原 5 天 (R5)	R5-F2/F2 ×100% (%)
		乾重(g)			乾重(g)	
阿鳳	CK	3.99 a ^z	2.95 b	-26.1±1.0 ^y	1.99 b	-32.5±1.2
	CCC	3.10 b	3.36 a	8.4±0.9	2.74 a	-18.5±1.5
鳳山	CK	3.69 a	2.56 a	-30.6±1.0	1.27 b	-50.4±1.6
	CCC	2.66 b	2.45 a	-7.9±0.8	1.52 a	-38.0±1.3
鳳京	CK	3.63 a	2.54 b	-30.0±0.9	1.27 b	-50.0±1.9
	CCC	2.61 b	3.13 a	19.9±0.6	1.68 a	-46.3±1.6
鳳珍	CK	3.69 a	3.18 a	-13.8±0.8	1.71 b	-46.2±1.8
	CCC	3.16 b	3.19 a	0.9±0.8	2.07 a	-35.1±1.4

^z：同欄內相同英文字母表示以 Fisher's LSD test 未達 $P \leq 0.05$ 的顯著水準

^y：standard error

(A)PP-333



(B)CCC

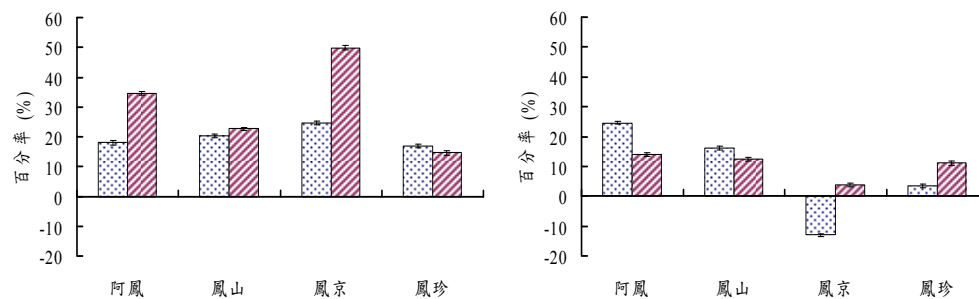


圖 1. PP-333(A)及 CCC(B)處理四品種小白菜淹水二天及復原五天後鮮乾重較對照組增加百分率。

Fig. 1. The increased percentage between treated with plant growth retardants and control of four cultivars Pakchoi after waterlogging for 2 days and recovery for 5 days.

討 論

於四品種小白菜施用矮化劑 PP-333 及 CCC 會影響其生長速度，植株有明顯矮化情形，鮮乾重均較未施用者低。淹水二天後植株鮮乾重與未施用者無顯著差異甚至超過，顯示經施用矮化劑可以減輕逆境下小白菜所受傷害，復原五天後情形則依矮化劑種類及品種而有差異，PP-333 於'鳳山'、CCC 則於'阿鳳'效果最佳。PP-333 及 CCC 所施用濃度於預備試驗中分別為 30、40、50 ppm 及 300、400、500 ppm，其結果因小白菜品種而異，本研究以最適濃度處理結果加以討論。

施用烯效唑(uniconazole)於油菜，可減少激動素及生長激素類的合成，增加細胞分裂

素、離層酸及乙烯的合成，使植物株高降低、葉綠素含量提高、根活性及可溶性糖的累積增加(Haque *et al.*, 2007；Leul and Zhou, 1999)。於玉米施用多效唑，葉片寬度增加、莖桿增粗、根冠比增加，單株生物量提高(曹等，2009)。以生長阻礙劑浸種處理能顯著抑制大白菜幼苗的生長，減少徒長苗的發生，提高壯苗指數，待抑制效果解除後有增產效果(王等，2008)。

油菜淹水下施用矮化劑可提高抗氧化酵素超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、過氧化酶(peroxidase, POD)及過氧化氫酶(Catase, CAT)的活性，減少丙二醛(malondialdehyde, MDA)的產生，使其提高對逆境的容忍性(Qiu *et al.*, 2005)。施用生長阻礙劑烯效唑(uniconazole)可使大豆在缺水逆境下，顯著提升抗氧化酵素過氧化酶及超氧化物歧化酶的活性，有效減少丙二醛的產生，保持細胞膜的完整性，以減少缺水傷害進而提高生物量及產量(Zhang *et al.*, 2007)。所以於小白菜上對減少淹水傷害或促進排水後復原情形可能與提高抗植株氧化能力有關，但仍須進一步實驗證實。

參 考 文 獻

- 王國華、伊慶珍、張云平、鄧森、孫玉青。2008。矮化劑浸種處理對大白菜幼苗生長的影響。河北農業科學 12(5)：21-22。
- 翁仁憲、許苑培、郭孚耀、林文助。1999。氣象因子對小白菜生長速率之影響。中華農業氣象 6：7-14。
- 曹翠玲、楊力、胡景江。2009。多效唑提高玉米幼苗抗旱性的生理機制研究。乾旱地區農業研究 27(2)：153-158。
- Al-Khassawneh, N. M., N. S. Karam, and R. A. Shibli. 2006. Growth and flowering of black iris (*Iris nigricans* Dinsm.) following treatment with plant growth regulators. *Sci. Hort.* 107: 187-193.
- Haque, S., A. H. A. Farooqi, M. M. Gupta, R. S. Sangwan, and A. Khan. 2007. Effect of ethrel, chlormequat chloride and paclobutrazol on growth and pyrethrins accumulation in *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. *Plant Growth Regul.* 51: 263-269.
- Hilgers, K. R., C. Haynes, and W. R. Graves. 2005. Chemical height control of containerized seashore mallow. *HortTechnol.* 15(2): 330-332.
- Krug, B. A., B. E. Whipker, and I. McCall. 2007. Caladium growth control with flurprimidol, paclobutrazol, and uniconazole. *HortTechnol.* 17(3): 368-370.
- Leul, M. and W. J. Zhou. 1999. Alleviation of waterlogging damage in winter rape by uniconazole. Application: effects on enzyme activity, lipid peroxidation, and membrane integrity. *J. Plant Growth Regul.* 18: 9-14.

- Qiu, J., R. Wang, J. Yan, and J. Hu. 2005. Seed coating with uniconazole improves rape seedling growth in relation to physiological changes under waterlogging stress. *Plant Growth Regul.* 47: 75–81.
- Wang, L. W. and C. H. Lin. 1992. The effect of GA-biosynthesis inhibitors on plant physiology. *Weed Sci. Bull.* 13(1): 31-39.
- Zhang, M., L. Duan, X. Tian, Z. He, J. Li, B. Wang, and Z. Li. 2007. Uniconazole induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system. *J. Plant Physiol.* 164: 709-717.

The Influences of Plant Growth Retardants on Pakchoi Plants (*Brassica rapa* L. chinensis Group.) to Flooding Tolerance

Shih-Wen Chen¹⁾ Yu Sung²⁾

Key words: Pakchoi, Plants growth retardants, Survival rate

Summary

The aim of this research was to solve the problem of flooding in the production of Pakchoi plants in summer. The plant growth retardants (pp-333 and CCC) were tested in order to assess the effect of their use on the flooding tolerance of Pakchoi plants. The fresh and dry weight of Pakchoi plants treated with PP-333 and CCC were reduced. The loss of fresh weight was reduced to 16.9–27.5 % under waterlogging. Furthermore, the growth of plants recovered was increased after flooding 5 days, especially when Pakchoi 'Feng-Shan' treated with PP-333 and 'A-Feng' treated with CCC.

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

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

重瓣長壽花之育種

鄭怡婷¹⁾ 朱建鏞²⁾

關鍵字：花粉發芽率、種子發芽率、單株選拔

摘要：本試驗以重瓣長壽花和單瓣長壽花品種為材料，進行花粉活力檢定、品種間雜交，期能選育出優良之重瓣長壽花。長壽花重瓣品種以'Mona'花粉發芽率在含5%蔗糖的BK培養基，在25℃下培養兩小時，最高可達到20.7%；其次是'Kelly'18.2%。單瓣品種'Gimi'花粉發芽率較高可達30.8%，而'日出'則沒有任何花粉發芽。除了'La Douce'外，'Hayworth'、'Leonardo'、'Kelly'、'Gabrielle'、'Yazmin'以及'Mona'之自交皆能結種，其中以'Kelly'的結種率最高達75.8%，但'Gabrielle'、'Mona'雖也獲得種子但種子不發芽。以'Isabella'為母本與'Hayworth'、'Leonardo'或'La Douce'雜交時，結種率分別為11.5%、5.8%或5.9%，種子發芽率分別為45.7%、44.2%或10.6%。在反交的部分以'Isabella'為父本與'Hayworth'或'Leonardo'雜交結種率分別為2.5%或5.2%。種子發芽率為42.3%或50.8%。以'La Douce'為母本與'Isabella'雜交則沒有種子。本試驗共選拔出共六株株型緊密，分枝性良好，葉片厚度較厚，花序整齊、花筒長度較短、且花梗及小花數量多之優良單株。

前 言

重瓣的長壽花單朵小花花朵大且花期比其他單瓣品種長，因此已成為市場的主流。目前市面所見重瓣長壽花品種多由歐洲國家育成，例如：丹麥的公司Kund Jepsen A/S育種公司的Queen® RoseFlowers®系列(<http://www.group-unique.com/queen/en/frontpage>)，以及荷蘭Fide Straathof公司的Calandiva®系列等(<http://www.calandiva.com>)。在台灣，重瓣長壽花品種分別由綠欣公司及福埠公司代理進口，每年必需支付巨額權利金才能生產。由於歐洲

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。

氣候較為涼爽，與台灣濕熱的氣候有明顯差異，雖然長壽花是多肉植物，對逆境耐受性強，但歐洲的重瓣長壽花品種在台灣夏季，常見生長勢差和繁殖率低的問題。有些品種必需在冷涼的中高海拔地區栽培繁殖。此外有些品種在濕熱的氣候下，真菌性病害頗為嚴重。本試驗擬利用歐洲品種之重瓣長壽花與單瓣品種雜交，選拔出具有特色且適合台灣栽培環境之優良品種。

材 料 與 方 法

一、植物材料

試驗材料有荷蘭重瓣長壽花 Calandiva[®]系列之品種:'Hayworth'(Hay)、'La Douce'(LaD)、'Leonardo'(Leo)、'Bardot'(Bar)、'Bassey'(Bas)、'Loren'(Lo)、'Cher'、'Sorvino'(Sor)、'Cardinale'(Car)。丹麥重瓣長壽花 Queen[®] RoseFlowers[®]系列: 'Gabrielle'(Ga)、'Mona'、'Karen'(Ka)、'Jodie'(Jo)、'Kelly'(Ke)、'Yazmin'(Ya)、'Lea'。單瓣與重瓣種間雜交所選出的重瓣系'Gi x Hay 95-1'、'Gi x Hay 95-2'、'Gi x Hay 95-3'、'Gi x Hay 95-7'、'Gi x Hay 95-12'、'Gi x Hay 95-17'等。以及單瓣品種'Isabella'(Isa)、'Simon'(S)、'Gimi'(Gi)、'Bee'、'燈塔'(Be)、'日出'(Sun)。

材料皆栽培於台中縣霧峰鄉之中興大學園藝試驗場。於民國 96 年 7 月下旬，摘取具 2 對葉之新梢作為插穗，扦插於裝有介質之兩吋黑軟盆(盆徑 5 cm)中。介質是由泥炭土(Hochmoortorf für jeden Garten zersetzt H2-H5, karl wolpe, Garmen)和 4 號珍珠石(好成特選珍珠岩 4-9mm, Hopes Int'l Floriculture & Horticulture Co.)以體積比 2:1 混合而成。一個月後將已發根插穗移植至 3 吋塑膠盆(盆徑 7.5 cm)中，使用介質與扦插介質相同。所有植株置於高床上。栽培初期每次澆水以 Peters 2 號(20N-8.7P-16.6K)(Scotts-Sierra Horticultural Products Co., Marysville, OH, USA)水溶性肥料 4000 倍液澆灌。換盆後改以每週施用一次含上述肥料之 2000 倍水溶液。病蟲害則根據發生的情形予以防治。在花期 10 月至隔年 2 月的開花期間左右進行花粉活力檢定、雜交授粉試驗、以及單株選拔。

二、花粉活力之測定

花粉發芽培養基以 Brewbaker 和 Kwack(1963)的基本配方(含 100 mg/l 硼酸、200mg/l 硫酸鎂、300 mg/l 硝酸鈣、100 mg/l 硝酸鉀)加入 5% 蔗糖後，將培養基之 pH 值調整到 6.0。配製之培養基滴於雙凹槽載玻片中，將當日開花採集之新鮮花粉，均勻散佈於培養基上，再將載玻片置入底部鋪有沾濕的紙巾保鮮盒中。保鮮盒放置於 25℃ 黑暗之生長箱(RI80, Firstek Scientific, Taiwan)中培養，經 2 小時後取出以光學顯微鏡觀察，並計算花粉發芽率。當花粉管長度超過花粉直徑 2 倍時即視為發芽。試驗每重覆 200 粒花粉，每處理 6 重複。

三、重瓣長壽花自交或與單瓣長壽花雜交對結實率、結種率及種子發芽率之影響

分別將'Hayworth'、'Leonardo'、'La Douce'、'Mona'、'Gabrielle'、'Kelly'、'Yazmin'等重瓣品種及95年雜交出之重瓣後代'Gi x Hay 95-1'、'Gi x Hay 95-2'、'Gi x Hay 95-3'、'Gi x Hay 95-7'、'Gi x Hay 95-12'、'Gi x Hay 95-17'自交。另以重瓣長壽花為親本與單瓣長壽花相互雜交。單瓣品種於開花前一天除去花瓣及雄蕊。而重瓣品種則是在開花當天雄蕊未開裂前除去雄蕊僅保留部分花瓣。花朵除雄後套上吸管以避免昆蟲授粉。授粉在上午8點至下午4點間進行。待柱頭開始產生分泌液時，取新鮮的花粉進行授粉，並連續授粉2天。授粉後經1至2個月可採收蒴果，並計算結果率。蒴果乾燥後於解剖顯微鏡下計算實心種子數，以實心種子數除以總種子數(胚珠數)即為結種率。所獲得之種子於每年4月或5月播種於水稻育苗盤中，盤中裝有以泥炭土(Hochmoortorf für jeden Garten zersetzt H2-H5, karl wolpe, German)和砂(2/1; v/v)混合之介質，介質上先鋪一層濕衛生紙後，再將種子撒播其上。種子數少的授粉組合種子全部播種，而種子量多者，則取100~200粒種子播種。最後將育苗盤放置於噴霧扦插床，約2~3個星期待苗之本葉長出後，調查各控制授粉所收穫之種子發芽率。

四、雜交後代之選拔

播種2個月後，將發芽之實生苗假植至128格之穴盤(54.5 cm×28.5 cm×4.0 cm)中，穴盤之介質為荷蘭BVB培養土(A18014 peatmoss 7H P0351941, BVB substrates, 荷蘭)。假植苗經生長2個月後，再移植至有由泥炭土(Hochmoortorf für jeden Garten zersetzt H2-H5, karl wolpe, German)與4號珍珠石混合而成(2/1; v/v)的介質之2吋黑軟盆內，按前述栽培管理方法栽培。實生苗未經摘心，待10月至隔年2月植株開花時，選拔分枝數多、開花枝多、花大等優良特性之雜交後代。

五、統計分析

試驗全部採完全隨機設計(completely randomized design)，試驗數據利用CoStat 6.1軟體(CoHort software, Minneapolis, USA)以LSD比較5%差異顯著性。

結 果

一、花粉活力之測定

長壽花重瓣品種以'Mona'花粉發芽率最高可達到20.7%，其次為'Kelly' 18.2%，其餘依次為'Sorvino' 10.2%、'Loren' 8%、'La Douce' 5.2%、'Bardot' 4.9%、'Yazmin' 4.7%、'Leonardo' 4.5%、'Bassey' 4.1%、'Gabrielle' 3.5%、'Hayworth' 2.5%、'Lea' 2.9%、'Jodie' 1.2%。而單瓣品種'Gimi'品種花粉發芽率較高可達30.8%、其餘依次為'Isabella' 2.3%、'燈塔' 0.4%、'Bee' 0.3%，而'日出'則沒有任何花粉發芽(圖1)。

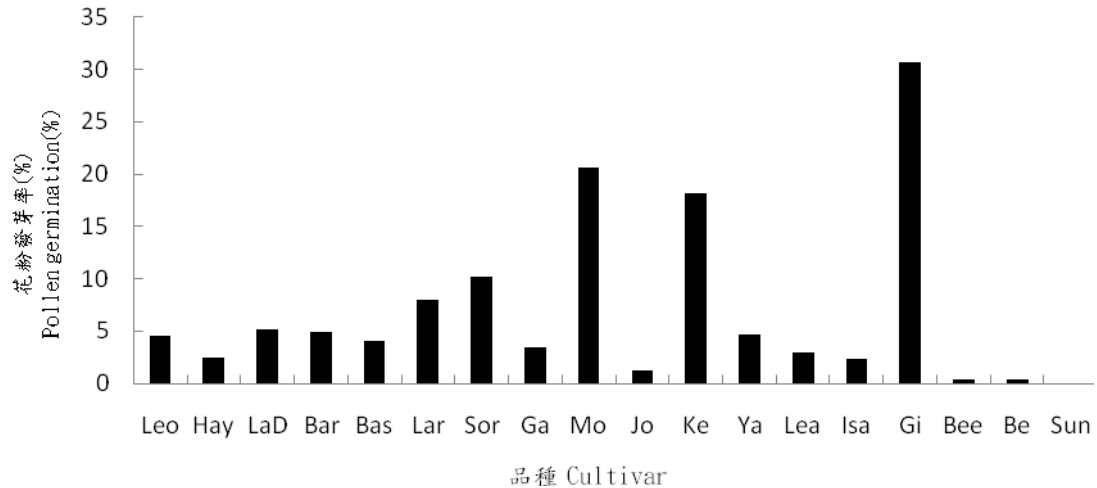


圖 1.長壽花品種的花粉發芽率，培養在 25℃ 下兩小時

Fig1. Pollen germination of Kalanchoe cultivars, incubated at 25℃ for 2 hours. Leo: 'Leonardo', Hay: 'Hayworth', LaD: 'La Douce', Bar: 'Bardot', Bas: 'Bassey', Lor: 'Loren', Sor: 'Sorvino', Ga: 'Gabrielle', Mo: 'Mona', Jo: 'Jodie', Ke: 'Kelly', Ya: 'Yazmin', Lea: 'Lea', Isa: 'Isabella', Gi: 'Gimi', Bee: 'Bee', Be: '燈塔', Sun: '日出'

二、重瓣長壽花自交或與單瓣雜交對結實率之影響

重瓣品種的自交除了 'Mona' 自交結實率較低，為 90% 以外，其餘品種結實率皆為 100%。'Hayworth' 自交一代所選出的植株，如 'Hay 96-2' 和 'Hay 96-4' 其自交之結實率分別為 100% 或 10%，而 95 年選出的單、重瓣雜交系 'Gi x Hay 95-1'、'Gi x Hay 95-2' 的自交以及其相互之間正反交結實率分別為：60%、40%、100% 或 50%。'Gi' x 'Hay 95-3' 或 'Gi x Hay 95-7' 之自交結實率分別為 70% 或 20%。'Gi x Hay 95-12' 和 'Gi x Hay 95-17' 自交之結實率都是 100% (表 1)。在重瓣與單瓣長壽花之雜交組合中，所有的雜交組合結實率都是 100% (表 2)。

三、單、重瓣品種自交及相互雜交之結種率與發芽率

'Hayworth' 自交的結種率為 5%，播種後 116 粒種子發芽，種子發芽率為 24.5%。'Leonardo' 自交的結種率為 2.2%，播種後有 5 粒種子發芽，種子發芽率為 4.2%。'Kelly' 自交的結種率為 75.8%，但播種後只有 6 個種子發芽，種子發芽率只有 0.6%。'Gabrielle' 自交的結種率為 32.7%，種子不發芽。'Yazmin' 的自交結種率為 0.4%，且播種後只有 3 粒種子發芽，種子發芽率為 12.5%。'La Douce' 自交的結種率為 0.0%。'Mona' 自交的結種率有

表 1. 重瓣長壽花自交之結實率、結種率以及發芽率

Table 1. The rates of fruit set, seeds harvested and seed germination of double kalanchoe selfing.

品種/品系 Cultivars/lines	結實率 (結實數/授 粉數) Fruit set (%)	總種子數 Total seeds harvested	平均胚 珠數 Ovary/ capsule	平均種子數 Seeds/ capsule	結種率 Seed formation (%)	播種數 Sowing seeds	發芽率 Germination (%)
'Hayworth' (Hay)	100(20/20)	528	337.1	16.8	5.0	472	24.5
'Hayworth' 96-2	100(20/20)	591	341.3	29.5	8.6	591	48.5
'Hayworth' 96-4	10(1/10)	2	293.0	0.2	0.1	-	-
'Leonardo'	100(24/24)	72	231.9	5.1	2.2	119	4.2
'Kelly'	100(10/10)	1732	228.5	173.2	75.8	900	0.6
'Gabrielle'	100(16/16)	311	158.4	51.8	32.7	311	0.0
'Yazmin'	100(20/20)	24	243.2	1.2	0.4	24	12.5
'La Douce'	100(10/10)	0	258.3	0.0	0.0	-	-
'Mona'	90(9/10)	3	134.8	3.0	2.2	3	0.0
'Gi x Hay 95-1'	60(6/10)	96	233.2	9.6	4.1	96	0.0
'Gi x Hay 95-2'	40(4/10)	0	233.8	0.0	0.0	-	-
'Gi x Hay 95-3'	70(7/10)	0	258.3	0.0	0.0	-	-
'Gi x Hay 95-7'	20(2/10)	0	233.2	0.0	0.0	-	-
'Gi x Hay 95-12'	100(10/10)	88	262.1	8.8	3.3	88	11.3
'Gi x Hay 95-17'	100(10/10)	149	211.1	14.9	7.0	149	29.5
'Gi x Hay 95-1' x 'Gi x Hay 95-2'	100(10/10)	144	233.2	14.4	6.1	144	16.6
'Gi x Hay 95-2'x 'Gi x Hay 95-1'	50(5/10)	13	331.0	1.3	0.3	13	0.0

表 2. 長壽花單瓣品種與重瓣品種雜交之結實率、結種率以及種子發芽率

Table 2. The fruit set, seeds harvested and germination of double Kalanchoe crossed with single kalanchoe.

雜交組合 Cross combination	結實率 Fruit set (%)(結實數/ 授粉數)	總種子數 Total seeds harvested	平均胚珠數 Ovary/ capsule	平均種子數 Seeds/ capsule	結種率 Seed formation (%)	播種數 Sowing seeds	發芽率 Germination (%)
'Isabella' x 'Hayworth'	100(10/10)	343	297.0	34.3	11.5	343	45.7
'Hayworth' x 'Isabella'	100(10/10)	85	337.1	8.5	2.5	85	42.3
'Isabella' x 'Leonardo'	100(10/10)	174	297.0	17.4	5.8	174	44.2
'Leonardo' x 'Isabella'	100(10/10)	122	231.9	12.2	5.2	122	50.8
'Isabella' x 'La Douce'	100(10/10)	178	297.0	17.8	5.9	178	10.6
'La Douce' x 'Isabella'	100(10/10)	0	258.3	0.0	0.0	-	-
'Gimi' x 'Leonardo'	100(10/10)	35	291.2	3.5	1.2	35	14.2
'Leonardo' x 'Gimi'	100(10/10)	121	231.9	12.1	5.2	121	9.9
'Gimi' x 'Cardinal'	100(10/10)	3	291.2	0.3	0.1	3	0.0
'Cardinal' x 'Gimi'	100(10/10)	60	182.8	6	3.3	60	33.3

Single flower: 'Isabella', 'Gimi'

Double flower: 'Hayworth', 'Leonardo', 'La Douce', 'Cardinal'

表 2.(續)

Table 2. (continue)

雜交組合 Cross combination	結實率(結 實數/授粉 數) Fruit set(%)	總種子數 Total seeds harvested	平均胚珠 數 Ovary/ capsule	平均種子數 Seeds/ capsule	結種率 Seed formation (%)	播種數 Sowing seeds	發芽率 Germination (%)
'Mona' x 'Gimi'	100(10/10)	44	134.8	4.4	3.2	44	72.7
'Cher' x 'Gimi'	100(10/10)	37	153.3	3.7	2.4	37	67.5
'Gimi' x 'Bass'	100(10/10)	124	291.2	12.4	4.2	124	12.1
'Gimi' x 'Sorvino'	100(10/10)	540	291.2	54.0	18.5	196	47.4
'Gimi' x 'Loren'	100(10/10)	17	291.2	1.7	0.5	17	17.6
'Gimi' x 'Bardo'	100(10/10)	40	291.2	4.0	1.3	40	25.0
'Leonardo' x 'Bee'	100(10/10)	113	231.9	11.3	4.8	133	6.1
'Bee' x 'Leonardo'	100(10/10)	15	-	1.5	-	15	0.0

Single flower: 'Gimi', 'Bee'

Double flower: 'Mona', 'Cher', 'Bass', 'Sorvino', 'Loren', 'Bardo'

2.2%，但是種子也不發芽。'Hayworth'的自交系'96-2'或'96-4'自交結種率分別為 8.6%或 0.1%，前者播種後有 287 粒種子發芽，種子發芽率為 48.5%，後者之種子不發芽。在'Gi x Hayworth'選出的重瓣株：'95-2'、'95-3'、'95-7'自交皆無法結種，但'95-1'、'95-12'或'95-17'結種率為 4.1%、3.3%或 7.0%，而播種後分別有 0、10 或 44 粒種子發芽，種子發芽率分別為 0%、11.3%或 29.5%。'Gi x Hay 95-1'、'Gi x Hay 95-2'相互正反交結種率分別為 6.1%或 0.3%，前者播種後有 24 粒種子發芽，種子發芽率為 16.6% (表 1)。

以 'Isabella'分別與'Hayworth'、'Leonardo'或'La Douce'做正反交，以'Isabella'為母本時結種率分別為 11.5%、5.8%或 5.9%，分別得到 343、174、178 粒種子，種子發芽率為 45.7%、44.2%或 10.6%。在反交的部分以'Hayworth'或'Leonardo'為母本結種率分別為 2.5%或 5.2%。分別得到 85 或 122 粒種子，種子發芽率為 42.3%或 50.8%。以'La Douce'為母本則沒有種子。

以'Gimi'分別與'Leonardo'或'Cardinal'正反雜交，以'Gimi'為母本時結種率分別為 1.2%或 0.1%，分別得到 35 或 3 粒種子，種子發芽率為 14.2%或 0%。反交時結種率為 5.2%或 3.2%。分別得到 121 或 60 粒種子，種子發芽率為 9.9%或 33.3%。

以'Gimi'為父本與'Mona'及'Cher'雜交結種率分別為 3.2%與 2.4%，分別得到 44 及 37 粒種子，種子發芽率為 72.7%和 67.5%。

以'Gimi'為母本與'Bass'、'Sorvino'、'Loren'或'Bardo'雜交結種率分別為 4.2%、18.5%、0.5%或 1.3%，分別得到 124、540、17、40 粒種子，種子發芽率為 12.1%、47.4%、17.6%或 25.0% (表 2)。

四、長壽花不同重瓣品種及優良重瓣單株性狀之比較

與 'Hayworth'花色相近的紅色營養系有以與'ISA × Hay 96-2'，'ISA × Hay 96-3'以及'ISA × Leo 96-3'，經比較其營養性狀與'Hayworth'的差異，三營養系的株高皆比'Hayworth'低。展幅除了'ISA × Hay 96-2'之外，其餘兩株皆比'Hayworth'寬。節間長度則沒有明顯的差異。在葉子的特徵，葉子較長的為'ISA × Leo 96-3'為 145.1mm，其次為'ISA × Hay 96-3' 123.9mm，葉長最短的則是'ISA × Hay 96-2'。葉寬最寬的也是'Leo × ISA 96-2'有 72.2mm，其次仍為'ISA × Hay 96-3'有 64.9mm。'ISA × Hay 96-2'與'Hayworth'葉較短，分別是 45.8 和 50.5。葉片厚度'Hayworth'則是較薄的，其與'ISA × Hay 96-2'沒有明顯的差異，'ISA × Hay 96-3'、'ISA × Leo 96-3'皆比'Hayworth'厚，最厚的為'ISA × Leo 96-3'可達 1.4mm。葉柄的長度'ISA × Hay 96-3'較長可達到 30.5mm，'ISA × Leo 96-3'次之為 25.9mm，'Hayworth'則是最短的為 17.3mm，但其與'ISA × Hay 96-2'沒有明顯的差異(表 3)。

與'Cher'花色相近的桃紅色營養系中，有'ISA × Leo 96-2'、'Leo × ISA 96-2'。經比較其營養性狀與'Cher'的差異，株高皆沒有明顯的差異，但兩營養系的展幅皆比'Cher'還要小，節間長度'Leo × ISA 96-2'較短為 8.4mm，'ISA × Leo 96-2'較長為 12.4mm。在葉長和葉柄長的部分都較對照品種長。'ISA × Leo 96-2' 的葉寬較'Cher'寬，'Leo × ISA 96-2'則介於兩者之

間。葉厚則是'Leo × ISA 96-2'較厚，'ISA × Leo 96-2'與'Cher'相同。與'Jodie'花色相近的粉紅色營養系中，'(S × KG) × Hay96-1'株高、葉長、葉寬、葉厚之數值皆比'Jodie'大，而展幅及節間長則與'Jodie'沒有明顯的差異，葉柄長度則是'Jodie'較長，為 25.6mm (表 3)。

在生殖特徵方面，花筒的長度選拔單株皆比'Hayworth'短。花梗的長度只有'ISA × Hay 96-3'較'Hayworth'短，其餘沒有顯著差異。小花梗的長度，'ISA × Leo 96-3'較'Hayworth'長，為 9.1mm，'ISA × Hay 96-2'則比'Hayworth'短為 5.1mm、'ISA × Hay 96-3'則與'Hayworth'沒有明顯的差異。在小花徑方面，'ISA × Hay 96-3'和'ISA × Leo 96-3'比'Hayworth'長，而'ISA × Hay 96-3'則與'Hayworth'沒有明顯的差異。'ISA × Leo 96-3'的花瓣數比'Hayworth'多，可達 18.4 瓣，'ISA × Hay 96-2'則比'Hayworth'少，'ISA × Hay 96-3'則與'Hayworth'沒有明顯的差異。最內圈的花瓣長選拔單株皆比'Hayworth'短，而最外圈'ISA × Hay 96-2'與'Hayworth'沒有明顯差異外，其餘兩者皆較'Hayworth'短。在花瓣的寬度方面，不管最內圈還是最外圈，'ISA × Hay 96-3'比'Hayworth'寬，'ISA × Hay 96-2'則較'Hayworth'窄，'ISA × Leo 96-3'則與'Hayworth'沒有明顯的差異(表 4)。

在桃紅色系方面，花筒長度選拔單株皆比'Cher'短，其中花梗長度則是皆比'Cher'長，在小花梗長、花瓣長度(內外)與花瓣寬度(內)選拔單株皆與對照株沒有明顯之差異。在小花徑、平均花瓣數以及花瓣寬度(外)選拔單株皆比'Cher'數值小(表 4)。

在粉紅色系，'(S × KG) × Hay96-1'與'Jodie'花筒長度、最內圈花瓣長度沒有明顯的差異，花梗長度及小花梗長度皆比對照品種長，小花徑及平均花瓣數，皆比對照品種小，分別為 19.7mm 及 16.1 瓣，在花瓣最外圈長度，以及花瓣的寬度(內外)'(S × KG) × Hay96-1'皆比'Jodie'數值大(表 4)。

表 3. 長壽花優良營養系營養性狀之比較

Table 3. Comparison of vegetative characteristics between Kalanchoe cultivars and offspring lines.

品種/品系 Cultivars/Lines	株高 (cm)	展幅 (cm)	節間長度 (mm)	葉長(含葉柄) (mm)	葉寬 (mm)	葉厚 (mm)	葉柄長度 (mm)
'Hayworth'	42.3 ^{az}	14.7 ^b	17.3 ^a	99.6 ^c	50.5 ^c	1.07 ^c	17.3 ^c
'ISA x Hay 96-2'	31.2 ^b	16.8 ^b	14.9 ^a	80.0 ^d	45.8 ^c	1.08 ^{bc}	19.1 ^c
'ISA x Hay 96-3'	29.7 ^b	20.1 ^a	13.8 ^a	123.9 ^b	64.9 ^b	1.28 ^{ab}	30.5 ^a
'ISA x Leo96-3'	29.7 ^b	20.6 ^a	17.3 ^a	145.1 ^a	72.2 ^a	1.46 ^a	25.9 ^b
'Cher'	26.8 ^{abz}	18.0 ^a	9.1 ^{ab}	94.7 ^b	56.8 ^b	1.5 ^b	15.3 ^c
'ISA x Leo 96-2'	26.0 ^b	14.2 ^b	12.4 ^a	110.6 ^a	62.8 ^a	1.5 ^b	19.9 ^b
'Leo x ISA 96-2'	30.8 ^a	13.1 ^b	8.4 ^b	104.4 ^a	58.4 ^{ab}	2.0 ^a	27.8 ^a
'(S x KG) x Hay 96-1'	29.4 ^{az}	16.2 ^a	14.3 ^a	123.4 ^a	67.7 ^a	1.8 ^a	17.7 ^b
'Jodie'	27.4 ^b	16.8 ^a	13.3 ^a	103.2 ^b	57.3 ^b	1.1 ^b	25.6 ^a

^y : Hay: 'Hayworth'、Leo: 'Leonardo'、(SxKG): 95 年'Simon'與鵝鑾鼻燈籠草雜交實生單株

^z : 同行字母相同者表示經 LSD 分析後沒有顯著差異。

^z : Means with the same letter in a column are not significantly different by LSD test at 5% level.

表 4. 長壽花優良營養系生殖性狀之比較

Table 4. Comparison of productive characteristics between Kalanchoe cultivars and offspring lines.

品種/品系 Cultivars/Lines	花筒 長度 (mm)	花梗 長度 (mm)	小花梗 長度 (mm)	小花 直徑 (mm)	平均花 瓣數 (mm)	內花瓣 長度 (mm)	外花瓣 長度 (mm)	內花瓣 寬度 (mm)	外花瓣 寬度 (mm)
'Hayworth'	12.4 ^a	157.1 ^a	7.3 ^b	17.7 ^b	13.8 ^b	8.5 ^a	8.6 ^a	4.9 ^b	5.5 ^b
'ISA x Hay 96-2'	9.1 ^b	129.2 ^{ab}	5.1 ^c	17.4 ^b	11.6 ^c	7.5 ^b	8.6 ^a	6.0 ^c	4.8 ^c
'ISA x Hay 96-3'	9.8 ^b	101.1 ^b	5.7 ^{bc}	19.3 ^a	14.5 ^b	7.0 ^b	7.7 ^b	5.9 ^a	6.0 ^a
'ISA x Leo 96-3'	10.0 ^b	142.6 ^a	9.1 ^a	18.8 ^a	18.4 ^a	6.8 ^b	7.9 ^b	4.9 ^b	5.4 ^b
'Cher'	12.2 ^a	55.1 ^c	7.2 ^a	24.2 ^a	27.5 ^a	7.4 ^a	9.4 ^a	5.4 ^a	6.7 ^a
'ISA x Leo 96-2'	10.8 ^b	66.6 ^b	6.6 ^a	19.7 ^b	21.6 ^b	7.3 ^a	8.6 ^a	5.7 ^a	5.7 ^b
'Leo x ISA 96-2'	9.7 ^c	131.5 ^a	7.4 ^a	19.6 ^b	14.5 ^c	7.2 ^a	8.5 ^a	5.6 ^a	5.8 ^b
'(S x KG) x Hay96-1'	10.5 ^a	117 ^a	10.7 ^a	9.7 ^b	16.1 ^b	7.4 ^a	9.3 ^a	6.7 ^a	7.9 ^a
'Jodie'	10.4 ^a	89.7 ^b	6.0 ^b	23.7 ^a	24.6 ^a	7.2 ^a	8.4 ^b	5.4 ^b	6.1 ^b

^y : Hay: 'Hayworth'、Leo: 'Leonardo'、(SxKG): 'Simon' crossed with *K. garambiensis*.^z : 同行字母相同者表示經 LSD 分析後沒有顯著差異。^z : Means with the same letter in a column are not significantly different by LSD test at 5% level.

討 論

原生台灣的鵝鑾鼻燈籠草綠葉型、紫葉型、倒吊蓮及大還魂等物種的花粉發芽率在50%至60%之間。掌上珠及蝴蝶之舞的花粉發芽率較低是由於兩者皆含有大小不同的花粉粒，其中僅大花粉粒有活力，導致平均發芽率降低(黃, 2007)。在本試驗中，發現重瓣品種花粉粒之大小不同，且發現重瓣種的花粉發芽率比起其他單瓣種低(圖1)。

雜交之著果率會受親和性的影響，親和性大者結果率較高(楊, 1998; Bletsos *et al.*, 2004)。燈籠草屬7個不同親本相互雜交，除了蝴蝶之舞為親本的雜交組合外，大多數正反交的結果率皆為100%，並沒有結果率的差異。但正反交的稔實率並不相同，尤其開花向上型物種相互雜交的稔實率比向上型與垂鐘型物種的雜交組合高，顯示出親本稔實性的差異(黃, 2007)。在本試驗中，除了少數重瓣品種之自交外，其餘結實率皆為100%，組合之親和性良好，但正反交之結種率也有明顯的差異(表2)。

在鵝鑾鼻燈籠草與長壽花'Isabella'的雜交試驗中，反交所得的種子數較正交減少4倍(侯和朱, 2004)。本試驗中以'Isabella'與重瓣品種'Hayworth'、'Leonardo'或'La Douce'雜交時，其正交種子量皆大於反交之種子量，而以'Gimi'與'Leonardo'、'Cardinal'正反交時卻是反交種子量大於正交(表2)，是由於'Gimi'花粉發芽力較佳，而'Isabella'較差所造成(圖1)。另一方面'Gimi'為斑葉品種，因此生長勢較差，因此母本營養狀態較差，也可能是導致低結實率原因。

種間雜交是將優良特性之基因型藉由雜交導入另一個基因型中，以改良親本原本的性狀(Horn, 2002)。在玫瑰花、菊花、鳶尾、番紅花，其原始物種已無法溯源，起源大多來自於種間雜交，且因為經過種間雜交後代偶而會發生自發性多倍體，使得品種發展更加快速，顯示種間雜交是發展新品種的重要途徑之一(Van Tuyl *et al.*, 2002)。Chung(1998a、b)等人以商業品種'Maya'及'Pennis'進行雜交，選育出生長速快和株型緊密的'Dahong'及'Hwahong'品種。黃(2007)利用鵝鑾鼻燈籠草綠葉型及'Rako'的種間雜交，選育出株型緊密、節間短且花瓣飽滿的後代'日出'以及雙色花瓣且小花數多的植株'燈塔'(黃, 2007)。Kroon等人(1989)進行22種不同類型的雜交組合，其中*K. lateritia*及雜交種與*K. aubrevillei*進行種間雜交，後代皆表現出雜種優勢的效果。在*K. blossfeldiana*與親緣關係較遠的*K. flammea*雜交，會有不稔的情形發生。雖然雜交種的數量不多，但可以獲得性狀變異較大的雜交組合(Kroon *et al.*, 1989)。種間雜交種與原親本形態特性的比較，通常雜交植株的外表形介於兩親本之間或者比親本更具優勢(Nomura *et al.*, 2002)。雜交過程由於不親和性會阻礙基因的結合，而限制異交的作用(Takada *et al.*, 2005)。在長壽花'Isabella'與鵝鑾鼻燈籠草的雜交結果中，反交產生的種子數較正交減少30%(侯與朱, 2003)。在本試驗中，少數品種具有單向雜交不親和的現象。而以鵝鑾鼻燈籠草之自交系與重瓣雜交組合在發芽到開花之期間會陸續死亡，可能因為是遺傳質的不親合而導致死亡。反之本試驗中所獲得的'(S x KG) x Hay96-1'，其母本(S x KG)即為商業品種'Simone'與鵝鑾鼻燈籠草(KG)雜交之後

代。具有分枝性良好，小花枝數多，且開花期長之鵝鑾鼻燈籠草的優點。因此鵝鑾鼻燈籠草先與歐洲單瓣品種雜交，再與重瓣品種互交可能是較可行的方法。

參 考 文 獻

- 侯宇龍、朱建鏞。2003。燈籠草屬植物花器發育與授粉方法對結實之影響。興大園藝 28：91-101
- 侯宇龍、朱建鏞。2004。鵝鑾鼻燈籠草和長壽花之花粉發芽及其種間雜交之研究。中國園藝 50：187-196。
- 黃倉海。2007。台灣原生燈籠草屬物種開花生理、種間雜交與 ISSR 分子標誌分析之研究。國立中興大學園藝系研究所博士論文。190 pp。
- 楊梨玲。1998。聖誕紅實生育種之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文100pp。
- Bletsos, F., D. Roupakias, M. Tsaktsira and A. Scaltsoyannes. 2004. Production and characterization of interspecific hybrids between three eggplant (*Solanum melongena* L.) cultivars and *Solanum macrocarpon* L. Sci. Hort. 101:11-21.
- Brewbaker, J. L. and B. H. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. J. Bot. 50:747-858.
- Chung, B. N., M. I. Joung, J. Y. Kim, B. H. Kim, and S. K. Chung. 1998a. Newly bred *Kalanchoe blossfeldiana* 'Dohong' with short plant height and mutiflorous. RDA. J. Hort. Sci. 40:127-129.
- Chung, B. N., M. I. Joung, J. Y. Kim, B. H. Kim, and S. K. Chung. 1998b. Breeding of a new *Kalanchoe blossfeldiana* 'Hwahong' for summer cultivation. RDA. J. Hort. Sci. 40:109-111.
- Horn, W. 2002. Breeding methods and breeding research. p.47-83 In: Vainstein, A. (Eds.), Breeding for Ornamental: Classical and Molecular Approaches. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Kroon, G. H., J. DE Jong and L. W. D. Van Raamsdonk. 1989. Evaluation of the genus *Kalanchoe* for breeding of new cutflowers and potplants. Acta Hort. 252:111-116.
- Nomura, Y., T. Kazuma, K. Makara and T. Nagai. 2002. Interspecific hybridization of autumn-flowering *Allium* species with ornamental *Alliums* and the characteristics of the hybrid plants. Sci. Horti. 95:223-237.
- Takada, Y., T. Nakanowatari, J. Sato, K. Hatakeyama, T. Kakizaki, A. I. G. Suzuki, H. Shiba, S. Takayama, A. Isogai and M. Watanabe. 2005. Genetic analysis of novel intra-species unilateral incompatibility in *Brassica rapa* (syn. *Campestris*) L. Sex Plant Reprod. 17:211-217.
- Van Tuyl, J. M., K. B. Lim and M. S. Ramanna. 2002. Interspecific hybridization and introgression. In: Vainstein, A. (Eds.), Breeding for Ornamental: Classical and Molecular Approaches. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp.47-83.

The Breeding of Double Flower Kalanchoe

Yi-Ting Cheng ¹⁾ Chien-Young Chu ²⁾

Key words: Pollen germination, Seeds germination, Plant selection.

Summary

In this research, double type and single type kalanchoes were used for pollen viability test, crossing between cultivars and breeding good lines of double kalanchoes.

At 25°C, double-type kalanchoe 'Mona' pollenia cultured on the medium containing 5% sucrose, the germination rate was higher to 20.7%, the 'Kelly' was 18.2%. The pollen germination of single kalanchoe 'Gimi' was 30.8%. However, 'Sunrise' pollen did not germinate.

Besides 'La Douce', 'Hayworth', 'Leonardo', 'Kelly', 'Gabrielle', 'Yazmin' and 'Mona' got seeds after selfing. But seeds from 'Gabrielle' and 'Mona' selfing did not germinate. 'Isabella' crossed with 'Hayworth', 'Leonardo' or 'La Douce' seeding rate was 11.5%、5.8% or 5.9%, respectively. As well as seed germination was 45.7%、44.2% or 10.67%, respectively. 'Hayworth' or 'Leonardo' crossed with 'Isabella' the seeding rate was 2.5% or 5.2%, respectively. The seed germination was 42.3% or 50.8%, respectively. However, 'La Douce' crossed 'Isabella' did not get seed.

In this research, six compact and branching plants with thick leaves and more flowers were selected.

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

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

穴盤格式與苗齡對非洲鳳仙花生長及老化之影響

廖文毅¹⁾ 林瑞松²⁾

關鍵字：非洲鳳仙花、穴盤格式、根活性、老化

摘要：本試驗主要研究非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 穴盤苗於不同構型穴格內與育苗時間對其生長之影響。穴盤苗於不同穴格型式，在初期生長第 4 周及第 5 周時株高、地上部及地下部鮮、乾重於圓方型穴格有較佳的生長趨勢；但至第 7 週各穴格間生長表現並無明顯差異。穴盤苗苗壯指數於第 4 週、第 5 週無明顯變化，在第 6 周快速增加並與第 7 周時相差甚少。根活性隨著生育週數的增加而降低，不同穴格型式處理間根活性無明顯差異。

前 言

近年來由於經濟發展迅速，國人生活品質大幅改善，對精神層次之昇華日益重視；再加上政府公部門及民間大力推廣環境綠美化工作，花壇植物被廣泛運用在都市景觀佈置及家庭點綴。根據統計資料顯示，國內花壇植物年產量約 6000 萬株以上，主要集中於桃園地區。其中非洲鳳仙花全台產量每年約為 680 萬株，佔花壇植物全年生產量的 11%，更佔秋冬播種冬春種植種類的 38%，為花壇植物生產量中之首位(林，2002；周，2007)。

穴盤育苗係指利用溫室設施、格式化穴盤、無土栽培介質，結合種子發芽、種苗扦插技術與水分、養分管理技術所發展出來之一套種苗育苗技術。穴盤育苗技術源於歐美國家，自 70 年代研發後，即因穴盤苗具有利用機械播種、省工、節省種子，種苗生長整齊、生長勢強、整齊度高、品質穩定、移植成活率高及可提早採收等優點，使國內由傳統土播育苗方式，逐漸轉型為穴盤育苗的方式來生產(黃，1996)。

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。

穴盤育苗發展至今已大幅應用在國內各種花壇植物及蔬菜苗的培育上，而影響穴盤育苗成敗的主要因素包括：1.穴盤型式與育苗介質，2.種子品質，3.育苗管理，三者共同影響穴盤苗生產作物種類、生產數量、育苗期長短、運輸及育苗成本與品質，且彼此間有相互影響效應(陳和薛，2004)。不同穴盤型式、大小、穴格深淺等常影響介質理化性的表現及種苗生長。因此，如何選擇適當之穴盤並兼顧生產效能與種苗品質，為穴盤育苗生產之一大課題。

本試驗之主要目的為探討非洲鳳仙花穴盤苗於不同構型穴格內與育苗時間對其生長之影響。

材料及方法

一、試驗材料

(一) 供試植物

植物材料選用非洲鳳仙花愛神系列之'珊瑚紅' (*Impatiens walleriana* 'Accent Coral')，種子購自農友種苗股份有限公司。

(二) 穴盤型式

採用市售 128 格 PE 塑膠材質方型、圓方型及圓型穴格穴盤三種。

1. 方型穴格穴盤：

穴盤長×寬×高=54.5×28.3×4.3cm，每個穴格之上寬 2.9×下寬 1.7×高 4.3cm，容積約為 22cm³。

2. 圓方型穴格穴盤：

穴盤長×寬×高=54×27.8×4.1cm，每個穴格之上寬 2.9×下寬 1.7×高 4.1cm，容積約為 20cm³。

3. 圓型穴格穴盤：

穴盤長×寬×高=59.8×29.7×3.5cm，每個穴格之上寬 3.3×下寬 2.2×高 3.5cm，容積約為 19cm³。

(三) 育苗與栽培環境

供試種子於 2008 年 11 月 25 日先播於以根基旺 2 號(根基旺綠化園藝股份有限公司生產)為栽培介質之秧盤內，俟種子發芽後具有二片子葉時，於 2008 年 12 月 9 日將發芽之幼苗移入 128 格圓型、圓方型及方型三種不同型式之穴格內進行試驗。栽培地點位於台中市崇倫苗圃力霸型玻璃溫室內，試驗期間日平均溫度為 13℃~23℃，相對溼度為 60%~98%之間。

二、試驗方法

非洲鳳仙花(*Impatiens walleriana* 'Accent Coral')種子發芽俟二子葉長出後，移植於 128

格方型、圓方型及圓型三種不同穴格型式之穴盤內，穴格內充填 Potgrond H 泥炭土(德國 Klasmann-Deilmann 公司氮、磷、鉀三要素的比例為 210 N-270 P₂O₅-310 K₂O mg/l)為栽培介質，小苗移植於裝有上述介質的穴盤後，每隔一週施用花寶原液(美國 Hyponex Corporation 公司 氮、磷、鉀三要素的比例為 5 N-10 P₂O₅-5 K₂O)稀釋 1000 倍，於 4 周、5 周、6 周、7 周分別調查地上部及地下部鮮重及乾重、株高、莖直徑、根長、根部活性、葉面積、狀苗指數等生育狀態。每處理 3 株，共 4 重複。

三、調查項目及分析法

(一)株高：由介質表面至植株最高點之距。

(二)地上部鮮重：將植株由莖基部切離，取其地上部全株以微量天平稱重。

(三)地上部乾重：取其地上部全株放入牛皮紙袋中，置於 80℃ 烘箱內，烘乾至重量不再變化後以微量天平稱量之。

(四)地下部鮮重：將根部介質分離後，以漂水方式洗除根部殘留介質，並以擦手紙將根部水份略為吸乾後，以微量天平稱量之。

(五)地下部乾重：根部介質完全洗除後，將根部放入牛皮紙袋中，置於 80℃ 烘箱內，烘乾至重量不再變化後以微量天平稱量之。

(六)莖直徑：以游標卡尺量測莖基部處直徑。

(七)根長：將根部介質完全洗除後，由莖基部量取根部長度。

(八)狀苗指數：「(莖徑/莖長)+(地下部鮮重/地上部鮮重)」×全株乾重。

(九)葉面積：以 LI3000 葉面積偵測儀(LI-COR, Lincoln, Nebraska)測量主莖上全部展開葉片之葉面積。

(十)根部活性：依據 Steponkus and Lanphear(1967)之方法，將根部介質洗除後取根尖 2-3 cm 部份精稱到 0.05 g 置於 TTC 液(0.6% triphenyl tetrazolium chloride、0.05 mM Na₂HPO₄-M KH₂PO₄ buffer pH 7.4)中，於室溫下黑暗處理 17 小時。然後將根部以蒸餾水沖洗並將水分吸乾，放入試管中，加入 20 ml 95%酒精後置於 78 °C 恆溫水浴槽中震盪 20 分鐘，冷卻後再用 95%酒精定量至 20 ml。利用分光光度計測定在 480 nm 波長下之吸光值，並計算單位鮮重之吸光值。

四、統計分析

試驗數據以 ANOVA 測其顯著性，並以 SPSS 軟體進行鄧肯氏多變域分析(Duncan's Multiple Range Test)檢測各處理間 5%的差異顯著性。

結 果

一、不同穴格型式及周數對地上部生長之影響

非洲鳳仙花小苗經移植於 128 格穴盤方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格後，第 4 周植株生長表現上如表 1 所示：株高在 2.6 cm~3.1cm 之間，以圓方型穴格表現較佳為 3.1 cm，圓型穴格表現較差為 2.6cm。莖直徑為 3.04 mm~2.95 mm，以圓方型穴格有較佳的莖直徑 (3.04 mm)，方型穴格及圓型穴格同樣為 2.95 mm，三種不同穴格形型式間並無顯著性差異。植株鮮重 0.76 g~0.61 g 之間，以圓方型穴格 0.76 g 為最高，方型穴格及圓形穴格則無差異；植株乾重仍以圓方型穴格的 59.10 mg 為最高，方型穴格及圓形穴格為 52.88 mg、46.74 mg 同樣無差異。葉面積在方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格分別為 11.05 cm²、11.94 cm²、10.97 cm²，三種不同穴格型式間並無明顯差異。壯苗指數則以方型穴格 0.13 和圓方型 0.14 表現較佳，圓型穴格 0.11 最差(圖 1)。

第 5 週生長表現上，莖直徑及壯苗指數在方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格分別為 2.49 mm、2.50 mm、2.52 mm 及 0.14、0.14、0.14，三種不同穴格型式間並無明顯差異。第 5 周株高在 4.34 cm~3.76 cm 之間，鮮重及乾重分別在 1.36 g~1.13 g 及 99.90 mg~86.56 mg 之間。株高、鮮重及乾重三者相較於三種不同穴格型式，皆以圓方型穴格有較佳表現分別為 4.34 cm、1.36 g 及 99.90 mg。葉面積表現上則以方型穴格 14.05 cm² 及圓型穴格 14.15 cm² 相較圓方型穴格 11.13 cm² 為佳(表 2)。

株高在第 6 周生長仍以圓方型穴格最高為 5.09 cm，方型穴格最低為 4.66 cm，圓型穴格 4.78 cm 則介於兩者之間。莖直徑、鮮重、葉面積在方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格分別為 4.64 mm、4.57 mm、4.86mm 及 1.87 g、1.91 g、2.19 g 和 20.01 cm²、19.48 cm²、21.31 cm²，各彼此間並無顯著差異。植株乾重表現以圓型穴格 156 mg 最重，方型穴格 132 mg 次之，圓方型穴格 128 mg 最輕(表 3)。壯苗指數類似於乾重表現，以圓型穴格 0.28 最高，方型穴格 0.24 次之，圓方型穴格 0.22 最低(圖 1)。

地上部第 7 週株高在 6.41cm~6.01cm，以圓方型穴格最高為 6.41cm，方型穴格次之為 6.11cm，圓型穴格最低為 6.01cm。莖直徑表現似株高，以圓方型穴格最粗為 5.21mm，方型穴格次之為 5.11mm，圓型穴格最細為 5.01mm。植株鮮重及乾重於方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格分別為 2.75 g、2.67 g、2.86 g 及 171 mg、167 mg、176 mg。葉面積在 23.60 cm²~23.45 cm² 以圓型穴格 23.60 cm² 最高，方型穴格 23.56 cm² 次之，圓方型穴格 23.45 cm² 最低。壯苗指數則在 0.29~0.26 之間，以方型穴格 0.29 最高，圓型穴格 0.26 次之，圓方型穴格 0.25 最低。地上部第 7 周生育，不論在株高、莖直徑、鮮重、乾重、葉面積及壯苗指數於三種不同穴格型式下皆無顯著差異性(表 4、圖 1)。

表 1. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral'移植於不同穴格型式 4 周後對地上部生長之影響。

Table 1. Effect of plug cell type on the shoot growth of the 4 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)	Leaf area (cm ²)
square	2.60c ^z	2.9a	0.65b	52.8ab	11.05a
round-square	3.10a	3.0a	0.76a	59.1a	11.94a
round	2.82b	2.9a	0.61b	46.7b	10.97a

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple range test.

表 2. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral'移植於不同穴格型式 5 周後對地上部生長之影響。

Table 2. Effect of different plug cell on the shoot growth of the 5 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)	Leaf area (cm ²)
square	3.93b ^z	2.4a	1.13b	86.5b	14.05a
round-square	4.34a	2.5a	1.36a	99.9a	11.13b
round	3.76b	2.5a	1.32a	96.4ab	14.15a

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple range test.

表 3. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 移植於不同穴格型式 6 周後對地上部生長之影響。

Table 3. Effect of different plug cell on the shoot growth of the 6 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)	Leaf area (cm ²)
square	4.66b ^z	4.6a	1.87a	132ab	20.01a
round-square	5.09a	4.5a	1.91a	128b	19.48a
round	4.78ab	4.8a	2.19a	156a	21.31a

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple range test.

表 4. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 移植於不同穴格型式 7 周後對地上部生長之影響。

Table 4. Effect of different plug cell on the shoot growth of the 7 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)	Leaf area (cm ²)
square	6.11a ^z	5.1a	2.75a	171a	23.56a
round-square	6.41a	5.2a	2.67a	167a	23.45a
round	6.01a	5.1a	2.86a	176a	23.60a

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple range test.

二、不同穴格型式及周數對地下部生長之影響

第 4 周根部生長表現，根長及根活性於三種不同穴格型式間並無明顯差異，方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格依序為 10.75cm、11.60cm、12.14cm 及 2.90 O.D./g、2.50 O.D./g、2.54 O.D./g，根長以圓型穴格最長為 12.14 cm，方型穴格 10.75 cm 最短。但根部活性則以方型穴格 2.90 O.D./g 最佳，圓型穴格 2.54 次之 O.D./g，其次為圓方型穴格 2.50 O.D./g。根鮮重在 0.35 g~0.43 g 之間；根乾重則在 22.48 mg~28.60 mg 之間，二者重量皆以圓方型

穴格的 0.43 g 及 28.60 mg 最重。根鮮重於方型穴格為 0.36 g，圓型穴格為 0.35 g，二者之間無明顯差異。根乾重於方型穴格表現上為 23.43 mg，圓型穴格為 22.48 mg，二者之間亦無明顯差異(表 5、圖 2)。

第 5 周根部生長表現，根長在 12.76cm~10.63cm 之間，以方型穴格 12.76cm 最長，圓型穴格 10.15cm 最短，圓方型穴格 10.63cm 則介於二者之間。根乾重在 37.8 mg~32.7 mg 之間，以圓方型穴格 37.8 mg 最重，方型穴格 32.7 mg 及圓型穴格 31.86 mg 次之，二者之間無明顯差異。根鮮重及根活性於方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格表現上分別為 0.57 g、0.60 g、0.56 g 及 2.45 O.D./g、2.15 O.D./g、2.30 O.D./g，彼此間並無明顯差異(表 6、圖 2)。

根部於第 6 周生長，不論根長、鮮重、乾重及根活性在三種不同穴格型式下，並無顯著差異。根長在 14.46 cm~12.99 cm 之間，以圓型穴格最長為 14.46 cm，方型穴格 13.9 cm 次之，圓方型穴格 12.99cm 最短。根鮮重及乾重分別為 0.82 g~0.73 g 及 44 mg~39 mg，仍以圓型穴格最重為 0.82 g 及 44 mg。根活性以方型穴格 2.21 O.D./g 最高、圓型穴格 2.01 O.D./g 次之，圓方型穴格 1.96 O.D./g 最低(表 7、圖 2)。

第 7 周根長、根鮮重、根活性在方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格分別為 15.17cm、14.67cm、13.84cm 及 0.95 g、0.82 g、0.82 g 和 2.01 O.D./g、1.70 O.D./g、1.78 O.D./g，皆以方型穴格生長表現較佳，但各穴格間並無明顯差異。根乾重在 69 mg~54 mg 之間，以方型穴格 69 mg 最重，圓方型穴格 55 mg 及圓型穴格 54 mg 次之(表 8、圖 2)。

表 5. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 移植於不同穴格型式 4 周後地下部生長之變化。

Table 5. Effect of different plug cell on the root growth of the 4 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Root length (cm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)
square	10.75a ^z	0.36b	23.4b
round-square	11.60a	0.43a	28.6a
round	12.14a	0.35b	22.4b

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple Range Test.

表 6. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 移植於不同穴格型式 5 周後地下部生長之變化。

Table 6. Effect of different plug cell on the root growth of the 5 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Root length (cm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)
square	12.76a ^z	0.57a	32.7b
round-square	10.63ab	0.60a	37.8a
round	10.15b	0.56a	31.8b

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple range test.

表 7. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 移植於不同穴格型式 6 周後對地下部生長之影響。

Table 7. Effect of different plug cell on the root growth of the 6 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Root length (cm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)
square	13.9a ^z	0.75a	39a
round-square	12.99a	0.73a	39a
round	14.46a	0.82a	44a

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple range test.

表 8. 非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 移植於不同穴格型式 7 周後對地下部生長之影響。

Table 8. Effect of different plug cell on the root growth of the 7 week old *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Cell type	Root length (cm)	Fresh wt. (g)	Dry wt. (mg)
square	15.17a ^z	0.95a	69a
round-square	14.67a	0.82a	55b
round	13.84a	0.82a	54b

^zMean in each column followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple range test.

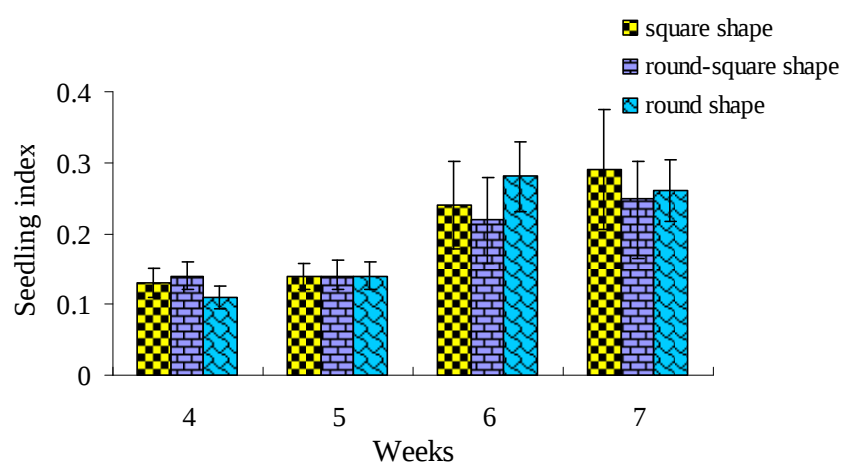


圖 1. 不同穴格型式與生長週數對非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 苗壯指數之影響。

Fig. 1. Effect of different plug cell and growth weeks on seedling index of *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

Seedling index: 「(Stem diameter/ Plant height)+(Root fresh weight/ Shoot fresh weight)」×Plant dry weight.

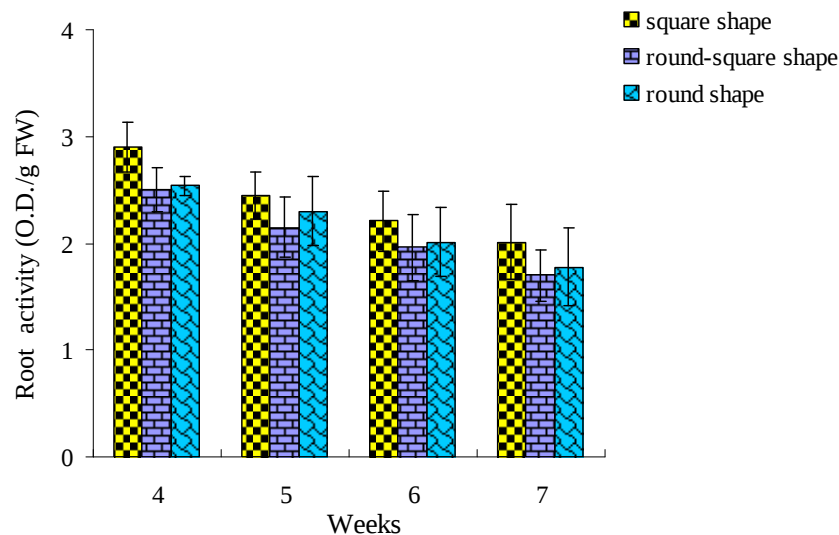


圖 2. 不同穴格型式與生長週數對非洲鳳仙花 *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' 根部活性之影響。

Fig 2. Effect of different plug cell and growth weeks on root activity of *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' seedling.

討 論

一般而言使用較大容器育苗會增加幼苗葉面積、地上部及根生物量(NeSmith and Duval, 1998)。Leskovar 與Vavrina(1999)認為大的穴格培育出較大的苗株，而較小的穴格則培育出較小的苗株，主要是因為根之生長受容器的限制所致。較大的穴格容積其介質有較穩定的含水量、養分、介質通氣性、較少的根限制及生長阻礙，以致苗的大小會隨著穴格容積增加而有增加的趨勢(Kratky *et al.*, 1982; Ruff *et al.*, 1987)。而穴格尺寸愈大，則植株葉面積及莖部、根部質量亦會增加。葉菜類之萵苣(*Lactuca sativa* L.)以'South Bay'品種於 1.9 cm^3 、 10.9 cm^3 、 19.3 cm^3 及 39.7 cm^3 四種穴格容積育苗，不論春、秋或冬季栽培，其葉片數、葉長、葉面積及乾重均顯著影響(Nicola and Cantliffe, 1996)。番茄(*Lycopersicon esculentum* L. Mill)以以'Jet Star'品種使用 1.3 cm^3 、 3 cm^3 及 9 cm^3 三種穴格容積育苗6周，同樣隨容積增大，其株高、莖粗及乾重顯著增加(Marr and Jirak, 1990)。

本試驗非洲鳳仙花小苗經移植於 128 格穴盤方型穴格、圓方型穴格及圓形穴格後，不同穴格型式與移植週數在非洲鳳仙花地上部生長表現上，初期生長不論在植株高度、莖直徑、植株鮮重、植株乾重、葉面積、壯苗指數相較於較小容積的圓型穴格，皆以圓方型穴

格有較佳的生長表現，且有顯著的差異性(表 1)。之後，隨著生長周數的增加，不同穴格型式間植株性狀生長各有不同差異表現。第 5 周時圓方型穴格仍有較佳的株高、植株鮮重及植株乾重；圓型穴格則在莖直徑及葉面積則表現較佳(表 2)。第 6 周時則以圓型穴格在莖直徑、植株鮮重、植株乾重、葉面積及壯苗指數表現較佳，但僅以植株乾重和壯苗指數有顯著差異(表 3、圖 1)。直至第 7 周時，圓方型穴格在株高及莖直徑表現較佳，圓型穴格在植株鮮重、植株乾重及葉面積表現較佳，壯苗指數則以方型穴格表現較佳，但依統計結果，於不同穴格型式間並無顯著差異性(表 4、圖 1)。

隨著育苗時間增加因穴格容積愈大可裝載較多的介質，其保水力和通氣性較佳，結果使大穴格容積具較大環境緩衝力，結果使植株能吸收較多水分及養分，植株生長與發育較小穴格佳(Vavrina, 1997)。Kuack(1989)亦研究指出，方型穴格比圓型穴格好，因為相同穴格數的穴盤(273 格)中方型穴格較圓型穴格可多裝載 40%的介質，保水量及通氣性皆較佳。但 NeSimth(1993)、Peterson and Krized(1992)認為植株生長在不同容積的容器內，植物初期的外部型態指標並不受容積大小影響，生長後期，大容器內的植株有較佳的外部型態。本試驗中選用三種同樣為 128 格之穴盤，但分別有不同容積(方型 22cm³、圓方型 20cm³、圓型 19cm³)，雖然非洲鳳仙花穴盤苗於初期生長第 4 周及第 5 周於圓方型穴格在植株高度、莖直徑、植株鮮重、植株乾重、葉面積、壯苗指數、根部鮮重及根部乾重有較佳的表現，但到第 6 周及第 7 周時，地上部生長表現及地下部生長表現於三種不同穴格型式間並無明顯差異性，推測因三種不同穴格容積間並無較大的容積差距，使的穴盤苗後期生長並無像前述學者研究結果有明顯差異。

穴盤苗如葉片數、葉面積、莖長度、莖直徑、地上部及地下部乾、鮮重等數量性狀指標皆可做為評估穴盤苗優劣的方式(Bilderback *et al.*, 1982; Fonteno, 1990)，其中以莖徑、葉面積、地上部乾、鮮重等具質量性的指標較具代表性(Fonteno, 1990)，但這類單項性狀的簡單指標，只可做為基礎性指標，若要得到較適當的壯苗指標，就必須利用適當的相對指標(如：地上部乾重/莖長)或複合指標(如：「(莖徑/莖長)+(地下部鮮重/地上部鮮重)」×全株乾重)，才能比較穴盤苗的優劣。其中相對指標較不能顯示出穴盤苗的真正質量，複合性指標則有較高的穩定性與可靠性(葛，1995；望，1994)。本試驗結果得知，壯苗指數在第 4 周、第 5 周時指數差異不大，但在第 6 周時指數快速增加，並與第 7 周指數相差甚少，推測在第 6 周時穴盤苗已開始進入最大生長期，且不同穴格型式處理間指數值差異不大而無顯著差異性(圖 1)。

穴盤育苗因穴格限制了根系發長的空間，尤其是利用小容積的穴格更容易產生限制根群的效應，使植株外部型態如葉數、葉面積、根長、根表面積及根、莖分枝數減少、植株矮化等現象，以及根部褐化或形成盤根(Ruff *et al.*, 1987; Dubik *et al.*, 1989)。本試驗非洲鳳仙花在不同穴格型式根部活性的表現，皆隨著生長周數的增加而有明顯下降的趨勢，較大容積之方型穴格，亦有較高的根活性表現(圖 2)。Gasim and Hurd(1986)認為維持根之活力極為重要，根之活力影響根的生長速度、根呼吸作用、水份吸收、養份吸收及影響植株

生長。穴盤內因容積有限，使得根部生長受到限制，苗株如果長時間在容器內生長，在根群無處伸展的情況下，常造成盤根現象(circling root)。Marr 和 Jirak(1990)亦觀察到，利用小穴格長苗根系容易互相纏繞，根毛生長減少，根生長停頓、老化。盤根使容器邊緣及底部根群密度提高造成供氧量不足，促使根系活力降低，根生長停頓、老化等現象。番茄幼苗在根系受限的情形下，根部乙烯濃度隨著呼吸率的下降而增加，使得根毛生長減緩、停頓，進而造成老化而產生老化苗(Marr and Jirak 1990; Peterson *et. al.*, 1991)。因此建議，非洲鳳仙花利用 128 格穴盤育苗，應於苗齡 5-6 周壯苗指數開始增加而根部尚未老化時將穴盤苗移出定植。

參考文獻

- 林壽如。2002。台灣花壇植物之種類與產業現況。花卉產業現況與未來發展方向研討會專輯。財團法人台灣區花卉發展協會主編。p.215-227。
- 周慶安。2007。溫度對非洲鳳仙花生長及光合作用之影響。國立台灣大學園藝研究所博士論文。
- 望作文。1994。蔬菜育苗 p.34-36。蔬菜栽培學。中國農業出版社。
- 黃泮宮。1996。園藝作物穴盤育苗生產技術。種苗技術研習會專刊。台灣省政府農林廳編印。p.41-46。
- 陳駿季、薛佑光。2004。設施園藝學。6.5 種苗生產之設施栽培。p.333-352。財團法人台北市七星農田水利發展基金會編印。台北市。
- 葛曉光。1995。壯苗指標的研究與運用。p.15-20。蔬菜育苗大全。中國農業出版社。
- Bilderback, T. E., W. C. Fonteno, and D. R. Johnson. 1982. Physical properties of media composed of peanut hulls, pine bark, and peatmoss and their effects on *Azalea* growth. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107: 522-525.
- Dubik, S. P., D. T. Krizek, and D. P. Stimart. 1989. Influence of root zone restriction on morphogenetic responses of spreading euonymus(*E. Kiautschovica* Loes. 'sieboldiana'). J. Plant Nutr. 12: 1021-1044.
- Fonteno, W. C. 1990. Know your media. pp.84-92. Growertalks on plugs. Growertalks magazine.
- Gasim, A. A. and R. G. Hurd. 1986. The root activity of fruiting tomato plant. Acta Hort. 190: 267-279.
- Kuack, D.A. 1989. Squaring off over trays. In greenhouse Grower's plug Guide/Fall. 1989. p.43-46.
- Kratky, B. A., J. K. Wang, and K. Kubojiri. 1982. Effect of container size, transplant age, and

- plant spacing on Chinese cabbage. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114: 57-61.
- Leskovar, D. I. and C. S. Vavrina. 1999. Onion growth and yield are influenced by transplant tray cell size and age. Scientia Hort. 80:133-143.
- Marr, C.W. and D. L. Jirak. 1990. Holding tomato transplants in plug trays. HortScience 25: 173-176.
- NeSmith D. S. 1993. Summer squash response to root restriction under different light regimes. J. Plant Nutr. 16:765-780.
- NeSmith D. S. and J. R. Duval. 1998. The effect of container size. HortTechnology . 8: 495-498.
- Nicola, S. and D. J. Cantliffe. 1996. Increasing cell size and reducing medium compression enhance lettuce transplant quality and field production. HortScience 31: 184-189.
- Peterson, T. A., M. D. Reinsel, and D. T. Krizek. 1991. Tomato(*Lycopersicon esculentum* Mill., cv. 'Better Bush')plant respon to root restriction. II .Root respiration and ethylene generation. J. Exp. Bot. 42: 1241-1249.
- Peterson, T. A. and Krized, D. T. 1992. A flow-through hydroponic system for the study of root restriction. J. Plant. Nutr. 15: 893-911.
- Ruff, M., D. T. Krizek, R. M. Mirecki, and D. W. Inouye. 1987. Restricted root zone volume: influence on growth and development of tomoto. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112: 763-769.
- Vavrina, C. S. 1997. Bigger is actually better. Amer. Veg. Grower 45:36-37.

Effect of Plug Cell and Seedling Age on Growth and Senescence of *Impatiens*

Wen-Yi Liao ¹⁾ Ruey-Song Lin ²⁾

Key word: *Impatiens* , Plug cell , Root activity, Senescence

Summary

This experiment mainly researches in the influences of growth of *Impatiens walleriana* 'Accent Coral' on the different plug cell and seedling age .plug seedling in the early growth of week four and five, the plant height, the weights of fresh and dry of both the shoot and roots growth better in round-square shape, but in week seven, the growth has no obvious difference among each plug cells. The seedling index of plug seedling has no significant change in week four and five, but it increases quickly in week six and has little difference from week seven. The root activity decreases along with the increase of the growth weeks; There is no obvious variation among the different plug cells.

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

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

富源森林遊樂區轉型經營模式與策略之研究

林建堯¹⁾ 黃郁琇²⁾ 顏宏旭³⁾ 歐聖榮⁴⁾

關鍵字：森林遊樂區、經營模式、經營策略

摘要：台灣目前開放的 18 個國家森林遊樂區分佈在不同海拔地區，其林相景觀資源有顯著的不同，從市場行銷與經營管理的理論來看，每個森林遊樂區應依其核心資源之特色發展出獨特的經營管理模式。本研究利用 AHP 問卷將 18 個國家森林遊樂區分為大眾旅遊型、自然體驗型、中間生態型、深度生態型四大類型。而本次研究目的則是針對屬於自然體驗型的富源森林遊樂區研擬出最適之經營模式與策略。研究首先透過訪談與文獻回顧的方式，提出富源森林遊樂區最適之經營模式與策略，接著於遊樂區內進行遊客問卷調查，以瞭解遊客對富源森林遊樂區經營現況的認同度及經營模式改變的接受度，最後根據問卷結果再次修正策略。研究總計回收了 258 份有效問卷。根據結果本研究修正之經營策略共分為三大面向包括：資源環境經營管理面向(5 項指標)、設施服務管理面向(7 項指標)及遊客管理面向(4 項指標)，期望能作為後續經營管理模式與參考之依據。

前 言

台灣地區的多數的森林遊樂區有經營模式同質化的現象。雖然此一同質化的現象可能是肇因於遊客的需求或是市場競和的影響，但是森林遊樂區之經營管理原本就是動態的，其經營模式應符合社會的動態變遷，如森林遊樂區生態旅遊發展之新趨勢。有鑑於此，本研究擬對富源國家森林遊樂區的各項基本條件作一調查，瞭解富源在各森林遊樂區中的定位以及其適合發展的經營模式，同時提出經營管理策略，以提供國人及後代子孫永續經營與利用。

-
- 1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。中州技術學院景觀設計系講師。
 - 2) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。中州技術學院景觀設計系講師。
 - 3) 國立虎尾科技大學休閒遊憩系助理教授。
 - 4) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

文 獻 回 顧

一、森林遊樂區經營模式與策略

(一) 森林遊樂區之定義

「森林遊樂區設置管理辦法」第二條規定：「森林遊樂區，指在森林區域內，為景觀保護、森林生態保育與提供遊客從事生態旅遊、休閒、育樂活動、環境教育及自然體驗等，經中央主管機關核定而設置之育樂區。所稱育樂設施，指在森林遊樂區內，經主管機關核准，為提供遊客育樂活動、食宿及服務而設置之設施。」(全國法規資料庫，2005)。

(二) 森林遊樂區管理概念

根據前述定義，森林遊樂區應同時兼顧保育與遊樂、教育等目的，因此其管理上應符合下列原則(羅紹麟，1983)：1. 森林遊樂區內之森林或其不可分割之地物景觀應與絕對維持並應進行保育工作。2. 為保全林地與林相及其中動植物之完整，在管理上應可配合一般保安林之管理方法。3. 森林遊樂區內各種設施應實施計畫性之維護，並特別重視其安全程度以保障遊客之安全。

(三) 經營方式

1. 森林遊樂區經營模式區隔方式

(1) 景觀資源

依據景觀資源、設施現況、遊客人數與公共設施等，可將森林遊樂區分為大型、小型。大型森林遊樂區包括太平山、合歡山、阿里山、墾丁；小型森林遊樂區則有內洞、武陵、藤枝、知本、富源(林朝欽，1984)。

(2) 資源類型

陳昭明(1980)建議森林遊樂資源可分為三類：近利用者型(第一類)、中間型(第二類)與資源型(第三類)。其分類所依據之因素為海拔高度及其與大都會距離兩因素加以判定。

(四) 可能之評估因子

Medlik 認為觀光目的地的各種觀光吸引事物及其設備均為觀光產物言，組成森林遊樂區觀光產物要項包括自然資源、人為設施及管理人員三類(楊宏志，1985)。針對各學者的論點綜合後並參考管理概念與法令規定，本研究提出四個可能評估因子的層面，分別為：管理層面、森林遊樂區現況、遊客屬性與遊憩活動類型。

二、遊憩機會序列 (Recreation Opportunity Spectrum, ROS)

遊憩機會係指一位使用者在其偏好的環境中，真正選擇一項所偏好之遊憩活動予以參與，以獲得其所需求之滿意體驗，若將不同使用者偏好的這些環境、活動、體驗類型加以組合，便能構成一序列或一連續性的遊憩機會，即遊憩機會序列(ROS)(李銘輝，2000；林晏州，2002)。ROS 中的環境機會，涵蓋了極現代化到極原始性之一序列的遊憩機會，為能更適切定義各類不同層級的環境機會，每類型地區再分別描述環境資源特徵(setting)、遊憩體驗品質(experience)、及適宜活動型態(activities)。

三、生態旅遊

(一) 生態旅遊的定義

有關生態旅遊的定義，國內外學者有多樣的觀點；The Ecotourism Society 定義生態旅遊為「有目的的到自然區域(natural areas)旅遊以瞭解其環境的文化及本土歷史；小心的不去改變生態系統的完整性；產生經濟上的機會，以保護本土資源並有利於地區人民」(Epler Wood *et al.*, 1991)；The World Conservation Union's (IUCN) Commission on National Parks and Protected Areas (CNPPA)定義生態旅遊為「相關於環境方面的有責任旅遊及參訪相對未受干擾的自然區域，為了享受及欣賞自然(多伴隨著文化特色)，並且可以提升保護之作用；有著低旅遊衝擊；改善當地人口的社會經濟困境。」(Ceballos-Lascurain., 1996)。

(二) 生態旅遊之內涵

Blamey(2001) 精鍊出生態旅遊的三個重要核心標準，分別為自然基礎的元素、教育或學習的成分、永續的原則；Weaver (2001)認為除了上述三個核心標準外，尚包括一個十分重要的基礎觀點。綜合上述，生態旅遊可以說是一種以環境倫理為出發點的旅遊，藉由生態旅遊的進行，將自然環境導向保育與發展共存的永續經營之總體目標，而在這過程中使自然環境、當地居民、及遊客可以獲得保育/保護、發展、教育/學習、休閒/假期之獲得等利益。

(三) 生態旅遊經營管理架構

生態旅遊的成功與失敗往往建立於其所依賴的目標，故建立一個有效性及可利用性的架構來評估及定義生態旅遊在環境上的機能與地位，較容易達成生態旅遊經營管理層級的目標(Bottrill & Pearce, 1995)。綜言之，生態旅遊可從資源吸引力、使用者及管理三個向度觀之；就整體經營管理架構而言，可歸納出生態旅遊之經營管理主要係針對環境、遊客及社區三層面所組成。

(四) 生態旅遊經營管理策略擬定

Masberg & Morales (1999)以 Ziffer (1989)提出的 5 項永續發展成功因子為指標，將各研究案例中之生態旅遊策略加以歸類。本研究先集結各文獻並擬定基本的指標架構，再參酌上述相關研究及案例，研擬符合森林遊樂區永續發展指標的各項經營管理行動策略。

(五) 生態旅遊分級

不同自然環境與遊憩活動的配合可提供不同的遊憩體驗，於是在概念上與管理上的結合形成 ROS(Recreation Opportunity Spectrum)，區分出原始荒漠到高密度都市的六個遊憩機會等級。Boyd and Bulter(1996)則根據 ROS 的概念提出生態旅遊機會序列 ECOS (Ecotourism Opportunity Spectrum)區分出不同環境所承受不同遊憩使用的等級。

四、森林經營策略評估(Strategy Evaluation)

經營策略的制定為引導企業中長程發展的最高指導原則，然而策略執行後是否達到其所預期的成效，亦或是其成果和經營目標與政策是否相吻合則必須透過評估與監測來加以檢視。

(一) 評估模式概念之分析與應用

評估模式是多元且複雜的，在此不多加贅述，但一個重要的概念即是：沒有適合所有公司組織與政策計畫之評估方法。故森林遊樂區經營策略之評估方法架構亦應針對森林遊樂區經營之特色，選擇適當評估模式之概念與方法，依據評估原則，研擬適當的評估架構共分為：1.目標評估模式的概念 2.專家意見模式之概念 3.協同評估之概念 4.評估指標之概念 5.財務資料分析之概念

(二) 評估之原則

Kravchuk & Schack (1996)提到 10 項有效測量系統之設計原理，以應廣泛地蒐集足夠之資料。

五、 管理策略 (Management Strategy)

Jubenville 和 Twight (1993) 將管理分為三大向度：遊客管理、資源管理、服務管理。以下將說明各向度所包含之面向：遊客管理可分為：需求階層、參與類型、遊客認知、遊客動機、使用分布、公共安全、誘因活動、訊息活動等八個面向。資源管理可分為：基地管理、植栽管理、草坪管理、視覺資源管理、生態系管理、衝擊評估、土壤、水、空氣、植物相、動物相等十一個面向。服務管理可分為：容忍管理、特別服務、維護管理、災害管理、區域規劃、基地規劃、立法、組織目標、活動協調、專業能力、使用者態度等十一個面向。於管理策略方面本研究整理出 Manning(1979)及 Cole, Petersen 和 Lucas(1987)等學者所提出之遊憩區管理策略以供參考：

(一) Manning(1979)之管理策略

Manning(1979)提出四個基本管理戶外遊憩的策略 (Manning, 1986; 楊志義、劉偉宗, 1988)，這四個基本策略可做為森林遊樂區經營管理策略的參考，這四大策略分別為：1. 增加遊憩區的供應；2. 限制遊客的使用；3. 限制遊客使用造成之負面衝擊(社會或環境之衝擊)；4. 增加遊憩資源的耐久性。

(二) Cole, Petersen 和 Lucas(1987)之管理策略

Cole, Petersen and Lucas(1987)在研究原野地與遊憩使用有關之問題時，針對這些問題及造成這些問題的基本原因，歸納出八個策略 (Strategies)，而在這八個策略之下再針對問題細分為不同的子問題研擬出其相對應的戰略(tactics)，總計共提出三十七個戰略。

材 料 方 法

本研究主要目的為針對富源國家森林遊樂區目前經營模式進行診斷；首先透過文獻資料的蒐集整理，瞭解台灣國家森林遊樂區的歷史沿革、資源特色，與國外森林經營的寶貴經驗，並回顧經營策略評估、多屬性決策、生態旅遊、遊憩機會序列等學理依據。再來對全台灣 18 個國家森林遊樂區的經營者，透過深度訪談，蒐集有關森林遊樂區目前經營模

式及未來之展望等資料，接著運用質性分析軟體，釐出屬於國家森林遊樂區發展模式之評估指標。確立評估指標後，委請國內相關森林經營之專家學者，確定指標層級與權重，研擬出富源國家森林遊樂區之最適經營模式與發展策略。最後再透過遊客的意向調查來適度地修正，確立其最適經營模式與發展策略。

一、 研究概念

本研究概念如圖 1 所示：

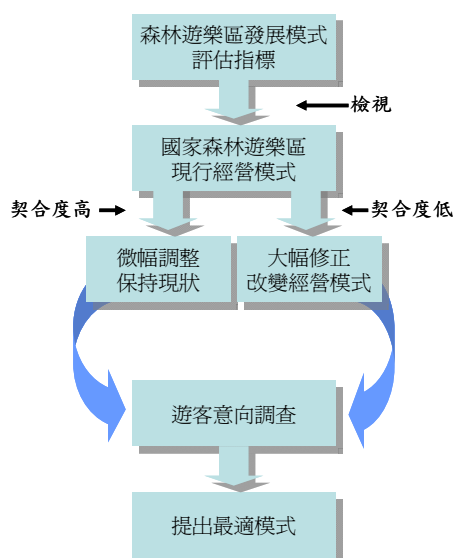


圖 1. 研究概念圖

Fig. 1. Research concept plan

二、 研究母體界定

本研究的母體界定為林務局所屬之 18 個國家森林遊樂區，第一階段所訪談的對象為管轄 18 個森林遊樂區的八個林管處育樂課，透過與經營者的訪談，達到更深一層的瞭解。第二階段的遊客意向調查係針對已區分出來不同發展型態之森林遊樂區，以隨機的方式，選取出進行遊客調查的森林遊樂區。

三、 抽樣方法及樣本大小

第一階段的抽樣方法是採用普查法與方便性抽樣法，所調查的樣本為一個林管處的處長、八個林管處育樂課課長或主管森林遊樂區業務的技正以及專家學者，共得到 14 份深度訪談的資料。第二階段採用簡單隨機抽樣的方式，針對到訪富源國家森林遊樂區的遊客進行問調查，遊客問卷調查地點有兩處，分別是入口處的停車場及 SPA 區下方的備用停

車場。調查時間從 2006 年 3 月 25 日至 4 月 22 日止的假日時段，從上午十點至下午四點為止，共得到 258 份有效問卷。

表 1. 森林遊樂區經營模式評估指標及其階層結構表

Table1. Evaluation indicator and hierarchy structure of forest recreation area's management model

面向	指標	評分標準
管理層面	遊客量	森林遊樂區每年進入的遊客數量，遊客量少者設為 1，遊客量多者設為 10
	人員編制比	森林遊樂區固定之人員編制與森林遊樂區面積比，比值小者設為 1，比值大者設為 10
	開發面積比	意指森林遊樂區中育樂設施區佔總面積的比率(供遊客活動面積與育樂設施區面積比率)，比率低者設為 1，比率高者設為 10
森林遊樂區現況	交通可及性	指到達森林遊樂區的交通狀況，最難到達的設為 1，最易到達的設為 10
	海拔高度	海拔高度高者設定為 1，低者設定為 10
	住宿設施數量	數量由少至多分別設定為 1-10
	人為設施數量比	意指森林遊樂區中人為設施數量與總面積的比率，比率低者設為 1，比率高者設為 10
	天然災害發生頻率	意指森林遊樂區內或主要連外動線發生天然災害的頻率，最容易發生的設為 1，不易發生的設為 10
	自然資源獨特性	包含地形、地質、氣候、水文、化石、動物、植物等自然資源特色，獨特性高者設為 1，低者設為 10
	人文資源獨特性	包含原住民文化、聚落、歷史文化等有關人文的資源，獨特性高者設為 1，低者設為 10
遊客屬性與遊憩活動類型	遊客活動型態	依照目前遊客在森林遊樂區中進行的活動來區分，偏向生態旅遊者為 1，偏向大眾旅遊者為 10
	活動舉辦類型	各個森林遊樂區每年所舉辦之活動來區分，偏向生態層面的為 1，偏向大眾層面者為 10

結果與討論

一、 國家森林遊樂區的分類

(一) 確認經營模式分類評估指標及其階層結構之建立

森林遊樂區經營模式評估指標之產生方式，是在與各個林管處育樂課的訪談中，將各個受訪者所談到的資料轉變成文字型式，再透過質性分析從訪談資料中，尋找受訪者曾經提到有關評估指標的部分，將這些資料間的關係階層予以分類歸屬。這些由專家訪談得到之評估指標，加上文獻中所得之前人所提出關於森林遊樂區經營模式評估指標後，確立國家森林遊樂區評估指標共有 12 項。除此之外，本研究再將分類評估指標區分為三個面向，並建構出其階層結構以因應 AHP 之分析(表 1)。

(二) 經營模式分類評估指標權重之決定

配合上述發展之經營模式分類評估層級結構，運用成對比較之方式研擬問卷，總共回收了 16 份專家問卷；透過邏輯一致性檢定，得到國家森林遊樂區經營模式分類各評估指標之相對權重。

表 2. 評估指標重要性排序表

Table 2. Importance order of evaluation indicator

評估指標	平均權重	排序	評估指標	平均權重	排序
遊客量	0.1823	1	人文資源獨特性	0.0538	7
遊客活動型態	0.1683	2	人員編制比	0.0534	8
開發面積比	0.1202	3	交通可及性	0.0386	9
活動舉辦類型	0.1174	4	住宿設施數量	0.0277	10
自然資源獨特性	0.1102	5	人為設施數量比	0.0236	11
天然災害發生頻率	0.0872	6	海拔高度	0.0174	12

(三) 評估指標給分及加權總分之計算

在完成了各指標的相對權重後，針對熟悉森林遊憩的專家及各林區管理處同仁發出評估問卷。隨後將各評估指標分數乘上其相對應之權重並予以累加起來即可得其最終之加權評值。依照加權評值將評值在 5.5 以上之森林遊樂區命名為大眾旅遊型、評值介於 5.0~5.49 之間之森林遊樂區稱為自然體驗型、評值介於 4.5~4.99 之森林遊樂區稱為中間生態型、評值 4.5 以下之森林遊樂區稱為深度生態型。

表 3. 森林遊樂區類型分類表

Table 3. Table of forest recreation area type

區分準則	類型	森林遊樂區	分數值
評值 4.5 以下	深度生態型	觀霧等四座森林遊樂區	3.401
評值介於 4.5~4.99	中間生態型	池南等六座森林遊樂區	4.548
評值介於 5.0~5.49	自然體驗型	富源等四座森林遊樂區	5.080
評值 5.5 以上	大眾旅遊型	阿里山等三座森林遊樂區	6.485

二、國家森林遊樂區經營模式策略擬定

(一) 國家森林遊樂區經營模式

根據本研究所進行的國家森林遊樂區 AHP 調查計算之結果，台灣國家森林遊樂區適合之經營模式大致可分為四型；再以遊憩機會序列(ROS)中，原始與都市的變化尺度為基礎，根據過去專家學者所提出來的森林遊樂區發展類型做為參考，發展出生態旅遊與大眾旅遊的變化尺度，最後配合台灣目前各森林遊樂區的基本條件、發展現狀，綜合歸納出四種類型的發展模式(圖 2)，並分別將其命名為深度生態型(類型 A)、中間生態型(類型 B)、自然體驗型(類型 C)以及大眾旅遊型(類型 D)。

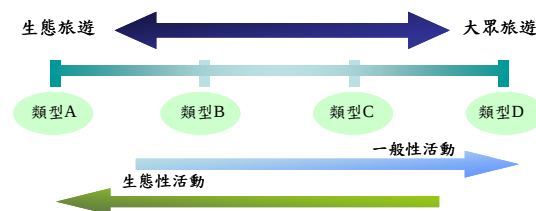


圖 2. 發展模式圖

Fig. 2. Development Model

(二) 國家森林遊樂區經營策略

根據專家評估所得之評值，富源國家森林遊樂區應當屬於自然體驗型之國家森林遊樂區，主要以欣賞自然面貌為主的環境，可及性較高，開發面積較大，具方便的住宿設施，遊客在此活動限制較少，建議的活動為森林自然環境體驗活動。

根據本研究對國內外文獻蒐集整理分析後，提出適合各類型國家森林遊樂區的經營策

略，其中包含策略面向、一般策略及行動策略，及 30 項具體的經營策略。

四、遊客問卷調查結果分析與討論

(一) 遊客特性概述

本森林遊樂區共回收了 258 份有效問卷，樣本數特性如下(表 4)：

表 4. 個人社經背景資料頻度分析表

Table4. Management strategy for nature-experienced type national forest recreation area

問項	內容	次數	百分比	問項	內容	次數	百分比
性別	男	109	42.9		宜蘭縣(東部)	16	6.5
	女	145	57		台北縣(北部)	40	16.3
年齡	15-19 歲	15	5.9		台北市(北部)	42	17.1
	20-24 歲	38	15.0		桃園縣(北部)	13	5.3
	25-29 歲	53	20.9		新竹縣(北部)	8	3.3
	30-34 歲	56	22.0		苗栗縣(中部)	4	1.6
	35-39 歲	28	11.0		台中縣(中部)	3	1.2
	40-49 歲	53	20.9		南投縣(中部)	2	0.8
	50-59 歲	9	3.5	居住地 點	彰化縣(中部)	1	0.4
	60-69 歲	2	0.8		雲林縣(中部)	1	0.4
	70 歲以上	0	0		嘉義縣(南部)	0	0
教育程 度	國(初)中以下	5	2.0		台南縣(南部)	5	2.0
	高(中)職	44	17.3		高雄市(南部)	8	3.3
	大專院校	161	63.1		高雄縣(南部)	5	2.0
	研究所(含)以上	45	17.6		屏東縣(南部)	3	1.2
個人月 收入	20,000 元以下	49	19.8		花蓮縣(東部)	87	35.5
	20,001-40,000 元	95	38.3		台東縣(東部)	7	2.9
	40,001-60,000 元	57	23.0		金門馬祖(離)	0	0
	60,001-80,000 元	30	12.1	家庭狀 況	未婚	147	56.9
	80,001-100,000 元	7	2.8		未婚(有小孩)	3	1.1
	100,000 元以上	10	4.0		已婚(無小孩)	14	5.4
					已婚(有小孩)	92	35.9

(二) 旅遊型態

表 5. 富源森林遊樂區旅遊型態頻度分析表

Table5. Frequency analysis table of individual's social and economic background data

問項	內容	次數	百分比	問項	內容	次數	百分比
參加團體	個人旅行	63	24.6	旅遊動機 (複選)	生理動機	184	71.3
	家庭親戚旅行	83	32.4		心理動機	63	24.4
	旅行社	4	1.6		社會互動動機	52	20.2
	學校團體	1	0.4		自然體驗動機	165	64.0
	公司行號	14	5.5		文化體驗動機	25	9.7
	社會團體	13	5.1		學習動機	26	10.1
	朋友	75	29.3	到訪次數	第一次	175	68.4
	其他	3	1.2		第二次	48	18.8
停留時間	半日	156	61.2		第三次	10	3.9
	一日	74	29.0		第四次	6	2.3
	二日及兩日以上(過夜)	25	9.8		第五次及五次以上	17	6.6

(三) 遊客對於經營現況認同度

根據本次問卷調查的結果，遊客對富源國家森林遊樂區的入園收費覺得合理，但對園區中的其他設施之收費則是認為不合理；本次問卷調查的期間正好包括 3、4 月間，若不是園區於 3 月份的泡湯活動有優惠，相信遊客認為收費不合理的比率會更高。此外，園區內的服務人員親切的態度雖然獲得認同，但遊客仍然認為服務人員的數量有些不足；至於開發程度部分，遊客則普遍不認為富源有過度開發的情形。

本次受訪的遊客認為富源國家森林遊樂區中的設施物數量充足，各項服務設施也不會太過豪華，且可及性高、天然災害少，自然資源比人文資源要來的豐富；再加上遊客間的活動彼此沒有太大衝突，由此可知，富源目前的現況是相當為遊客所接受的。

在國家森林遊樂區經營模式改變部分，有六成遊客認為富源國家森林遊樂區供遊客使用的面積不宜過大，將此結果回饋修正「自然體驗型國家森林遊樂區經營策略」，將其中的行動策略「增加遊憩活動據點」予以刪除。有超過八成的遊客認為「應利用節能設備來替代能源損耗」，所以在「制訂全區設施材質部分」，加入「轉換天然能源，減少能源消耗」此一行動策略。

表 6. 富源國家森林遊樂區經營策略表

Table 6. Frequency analysis table of Fu-Yuan forest recreation area's travel format

策略面向	一般策略	行動策略
環境資源經營管理	增加育樂設施區的開發	改善設施有效利用
	管理林業副產品	販售森林副產品
		林業副產品 DIY
	監測環境資源	在不影響自然景緻的狀況下，滿足遊客需求
	落實環境教育	推廣林業的同時，加入相關的自然環境教育
	增加遊憩資源的耐久性	針對易受衝擊之區域進行監測，以維持資源品質
		以自然的方式來強化資源本身的強度，以承受使用
設施服務管理		以人工的方式，改善或復原受衝擊的地區
	建構符合需求之設施物	採用天然材質設置解說立牌或互動式解說設施
	設置遊憩設施	於必要之據點設置符合自然環境之遊憩設施
	設置安全設施	於各具潛在危險之據點設置安全防護設施
	提供餐飲住宿設施	設置滿足遊客基本需求的簡易餐旅設施
	制訂全區設施材質	以天然或仿天然的材質做為設施物之材料
		專換天然能源，減少能源消耗
遊客管理	安排解說及維護人員	解說、維護人員之數量，以提供遊客基本需求及環境基本維護
	管理遊樂區資訊	運用即時資訊改變遊客使用地點或使用時間
	導入活動聚集人潮	運用設施的設計與資訊的提供，集中基地內的遊客
		劃定各項使用分區，區分各種使用型態
		舉辦以自然環境為主的林業體驗活動
	現有區域有效利用	增加自然體驗設施數量
		提高各區域間的可及性
	降低遊客使用所造成的負面衝擊	改變遊客使用資源之形式
		改變遊客使用地點或時間
		以時間劃分不同遊憩活動
		提供資訊調整遊客到訪時間，抒解尖峰時段人潮
		劃定各項使用分區，區分各種使用型態
		運用設施的設計與資訊的提供，集中基地內的遊客
	限制遊客的使用	遊客破壞行為之限制
		鼓勵或要求正確的行為、技巧及裝備
		規定進入團體人數，以維持區內之自然體驗

遊客管理部分，大約七成遊客同意「限制遊客活動範圍，避免資源被破壞」，所以關於降低遊客衝擊及限制遊客使用的策略是可行的，要注意的是，遊客對於尖端時段加收費用比較不認同，應避免制訂此類策略。

依據遊客問卷結果，修正富源國家森林遊樂區經營策略如表 6 所示。

結 論 與 建 議

一、研究結果

(一) 國家森林遊樂區評估指標

本研究針對台灣地區國家森林遊樂區經營方向與發展現況，做全面性的資料蒐集與瞭解；完成基本資料的建構後，回顧國內外森林發展相關文獻，來作為研究的學理依據。接下來針對台灣八個林管處主管之國家森林遊樂區的經營者進行深度訪談，並將訪談資料用質性研究分析軟體加以彙整、比較後，釐出屬於國家森林遊樂區發展模式的三大面向、12 項評估指標；最後透過階層分析法得到各項評估指標的權重。

(二) 國家森林遊樂區經營模式

評估指標確立後，委請專家學者針對各項評估指標給予相對權重；接著以評估指標為基礎，發展出國家森林遊樂區評估表，針對各個國家森林遊樂區個各項指標予以評分，並配合權重計算出各國家森林遊樂區之類型分數值；再依據這些相對分數值的分佈，分為四類型，分別命名為大眾旅遊型、自然體驗型、中間生態型、深度生態型。富源國家森林遊樂區的分數值位於自然體驗型，故建議未來應當朝自然體驗型的模式去發展。

(三) 富源國家森林遊樂區經營策略

依據文獻資料蒐集及彙整，擬定出富源國家森林遊樂區經營策略，並透過問卷調查來瞭解遊客對於策略改變的接受度。問卷結果分析後建議可朝下列各面向加以修正。

1. 資源環境經營管理

資源環境經營管理面向之經營策略包括：改善設施有效利用、販售森林副產品、林業副產品 DIY、在不影響自然景緻的狀況下滿足遊客需求、推廣林業的同時加入相關的自然環境教育、針對易受衝擊之區域進行監測以維持資源品質、以自然的方式來強化資源本身的強度以承受使用、以人工的方式改善或復原受衝擊的地區。

2. 設施服務管理

在設施服務管理面向之經營策略包括：採用天然材質設置解說立牌或互動式解說設施、於必要之據點設置符合自然環境之遊憩設施、於各具潛在危險之據點設置安全防護設施、設置滿足遊客基本需求的簡易餐旅設施、以天然或仿天然的材質做為設施物之材料、專換天然能源減少能源消耗、解說維護人員之數量以能提供遊客基本需求及環境基本維護、運用即時資訊改變遊客使用地點或使用時間。

3. 遊客管理

在遊客管理面向之經營策略包括：運用設施的設計與資訊的提供並集中基地內的遊客、劃定各項使用分區以區分各種使用型態、舉辦以自然環境為主的林業體驗活動、增加自然體驗設施數量、提高各區域間的可及性、改變遊客使用資源之形式、改變遊客使用地點或時間、以時間劃分不同遊憩活動、提供資訊調整遊客到訪時間以抒解尖峰時段人潮、劃定各項使用分區以區分各種使用型態、遊客破壞行為之限制、鼓勵或要求正確的行為與技巧及裝備、規定進入團體人數以維持區內之自然體驗。

二、 後續研究建議

本研究所提出之評估指標，是依據與各林區管理處訪談內容，經過質性分析軟體分析所得，其目的在於將質化之概念轉變為可量化的評估值；中央政策與預算決策對於國家森林遊樂區的經營是相當重要的，政策與預算大多處在指導經營方向的角色，故認為中央政策、預算決策等屬於上位指導政策，不適合在此納入考量。後續研究可進行政策面的趨勢研究，與本研究相互對照後，可以增加更多實際執行時之參考價值；此外，亦可針對不同類型森林由課區進行研究，以建構完成各個國家森林遊樂區的經營策略。

參 考 文 獻

- 李銘輝、郭建興。2000。觀光遊憩資源規劃。揚智文化事業股份有限公司。台灣：台北。
- 林晏州。2002。玉山國家公園高山步道遊憩承載量調查研究。內政部營建署。台灣：台北。
- 林朝欽。1984。本省森林遊樂區經營管理之現況探討。台灣林業 10(7)：40-42。
- 黃永桀。2000。法正林概念的檢討。台灣林業 26(3)：3-5。
- 楊宏志。1985。遊客重遊意願與森林遊樂區經營。台灣林業 11(11)：57-62。
- 楊宏志。1989。藉市場區隔觀念—談森林遊樂區經營。台灣林業 15(8)：32-35。
- 楊志義、劉偉宗。1988。遊憩資源經營對策與釐訂程序之探討。台灣林業 14(5)：31-35。
- 羅紹麟。1983。談森林遊樂區如何管理與收入之分配。台灣林業 9(7)：1-3。
- Blamey, R. K. (2001). Principles of Ecotourism. In Weaver, D. B. (Ed.). The encyclopedia of ecotourism. Oxon, UK ; New York, NY: CABI, pp. 5-22.
- Bottrill, C., and Pearce, D. (1995). Ecotourism: Towards a key elements approach to operationalising the concept. Journal of Sustainable Tourism, 3(1): 45-54.
- Boyd, S. W., and Butler, R.W. (1996). Managing ecotourism: an opportunity spectrum approach. Tourism Management, 17(8): 557-566
- Brandon, P.R.(1998). Stakeholder Participation for the Purpose of Helping Ensure Evaluation Validity: Bridging the Gap Between Collaborative and Non-collaborative Evaluations. American Journal of Evaluation. 19(3): 325-337.

- Ceballos-Lascurain, H. (1996). *Tourism, Ecotourism and Protected Areas*. Gland, Switzerland: IUCN.
- Cole, D.N., Petersen, M.E., and Lucas, R.C. (1987). *Managing Wilderness Recreation Use: Common Problems and Potential Solutions*. U.S.D.A. Forest Service Intermountain Research Station, General Technical Report INT-230.
- Epler Wood, M., Gatz, F., and Lindberg, K. (1991). *The Ecotourism Society: An action agenda*. In: Kusler, J. (Ed.). *Ecotourism and resource conservation*, pp.75-79.
- Jubenville, A. & Twight, B. W. (1993). *Outdoor recreation management: Theory and application*. State College, Venture.
- Kravchuk, R.S. and Schack, R.W. (1996). *Designing Effective Performance Measurement Systems under the Government Performance and Results Act 1993*, *Public Administration Review* 56(4): 348-358
- Manning, R. E. (1979). *Impacts of recreation on riparian soils and vegetation*. *Water resources bulletin* 15:30-43.
- Manning, R.E. (1986). *Studies in Outdoor Recreation - A Review and Synthesis of the Social Science Literature in Outdoor Recreation*. Oregon State University Press.
- Masberg, B. A., and Morales, N. (1999). *A case analysis of strategies in ecotourism development*. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 2: 289-300.
- Oñate, J.J., Andersen, E., Peco, B. & Primdahl, J. (2000). *Agri-environmental schemes and the European agricultural landscape: the role of indicators as valuing tools for evaluation*. *Landscape Ecology* 15: 271-280.
- Pedersen, A. (1991). *Issues, problems, and lessons learned from ecotourism planning projects*. In J. Kusler (ed.) *Ecotourism and Resource Conservation: A Selection of Papers* (pp.61-74). Second international Symposium on Ecotourism and Resource Conservation. Madison: Omnipress.
- Ross, S., and Wall, G. (1999). *Ecotourism : towards congruence between theory and practice*. *Tourism Management*. 21: 123-132.
- Shanteau, J. (1988). *Psychological characteristics of expert decision maker*. *Acta Psychologica*, 91: 203-215.
- Stankey, G. H. (1979). *Use Rationing in Two Southern California Wildernesses*. *Journal of Forestry*. 6: 347-352.
- Weaver, D. B. (2001). *Ecotourism*. Qld., Australia: John Wiley & Sons Australia.
- Ziffer, K. (1989). *Ecotourism: The Uneasy Alliance*. Washington DC: Conservation International Ernst & Young.
- 全國法規資料庫。2005。http://law.moj.gov.tw/。

Adjusting Strategies of Management for Fu-Yuan Forest Recreation Area

Chien-Yau Lin¹⁾ Yu-Hsiu Huang²⁾ Hung-Hsu Yen³⁾ Sheng-Jung Ou⁴⁾

Key words: Forest recreation area, Management models, Management strategies

Summary

There are 18 national forest recreation areas in Taiwan. Each national forest recreation area is located in a different altitude level; therefore, the resources of each forest recreation area is different. From the marketing and management point of views, each forest recreation area should develop its own strategies of management instead of adopting the universal guidelines from the Bureau of Forest. Fu-Yuan forest recreation area is specially selected to discuss the strategies of management for future development. The in depth interviews were conducted to propose the most suitable strategies of management for future development. Three major managerial dimensions (dimension of resources and the environment, dimension of facilities and services, and dimension of tourists) were revealed after the in depth interviews in this study. Moreover, the on-site visitor survey (258 valid questionnaires) also provided the valuable information about visitors' perceptions and the acceptances of future changes about the management.

-
- 1) Ph.D. student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Lecturer, Department of Landscape Architecture, Chungchou Institute of Technology.
 - 2) Ph.D. student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Lecturer, Department of Landscape Architecture, Chungchou Institute of Technology.
 - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.
 - 4) National Formosa University, Department of Leisure and Recreation. Assistant Professor.

台灣景觀工程教育現況之分析探討

許哲瑜¹⁾ 歐聖榮²⁾

關鍵字：景觀工程、景觀教育、質性研究

摘要：本研究之主要目的在於探討國內景觀工程教育的現況，藉由訪談景觀專家學者、相關資料收集，以及台中高農老師和學生的協助示範，讓中興大學園藝系學生透過動手做了解景觀造園技巧及建構造園施工操作程序，再經由問卷施測，將所獲得之資料加以分析。問卷統計發現，學生大都認為透過高農學生的示範以及教師講解後，對於造園施工方面的學習會更加了解，「示範實作」之學習成效優於其他授課方式。研究結果指出課程宜每年修正，由學界、業界、有實務經驗者共同參與課程之修正，並建立產學合作，以實際案例建立思考，讓學生了解施工概念、預算、構思等。研究更建議學生在踏入職場前要具備丙級造園技士證照，此外也要求學生要懂得基本實務、測量、材料估算等技能。

前言

「景觀工程」是一門涉及到美學、結構技術、風景建設、景園建築、環境設計、工程規劃、水景工程的學科(吳為廉，2000)，其在大學景觀教育階段，均列為景觀系所必修之課程，也列為景觀高考六項專業考試科目(景觀學概論、景觀行政與法規、景觀工程、景觀植物學與景觀生態學、景觀規劃、景觀與都市計畫)之一，由此可見「景觀工程」為景觀專業養成之關鍵課程。

景觀工程教育需要廣泛的知識以及跨領域的學習訓練，目前各級學校的授課大都朝向基礎理論、工程材料估算、工程技術、工程實作等四大面向，但由於各校教育理論與實務未能兼顧，與專業實際需求落差不小，造成畢業學生就業的問題(歐聖榮，2008)。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班學生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

由於政府積極推動城鄉風貌改造運動，此一運動使景觀業務大量成長，景觀人才需求激增，各大學也廣設景觀設計相關系所，但其訓練課程面臨結構性限制，包括師資無法有效的提昇及聘用、基礎專業技能不夠堅實，學院訓練與實務之間有落差(郭瓊瑩，2005)。

因此「景觀工程」這門課程由於各造園景觀系所之教學訴求差異與課程安排之限制，或由於任課老師對景觀工程課程之範圍界定與教學目標之不同，也或由於景觀工程相關聯課程間之內容重疊之故，使得「景觀工程」究應包含何種架構內容與教學目標無法得到一致的結論。

依據現有景觀就業狀況來看，國內每年都培育相當多的景觀專業人才，但是景觀專業人才在從事施工部份的比例卻偏低，其往往是由建築師引領國內各大大小小景觀工程的進行。因此為何景觀工程實務能有景觀專業人員的涉入，有關問題，如各層級學校之景觀工程教育課程的架構與定位？學界與業界的接合等問題？都值得深入去探討。故本研究以混合性研究法透過半結構式訪談，同步進行資料收集與資料分析，又為了彌補園藝系學生在造園實習課程實作上的不足，洽請台中高農老師和學生的協助示範，讓學生透過動手了解景觀造園技巧及建構造園施工操作程序，再經由問卷施測，測試學生對於景觀工程(植栽施工、石材鋪面施工、磚材鋪面施工、磚材路緣施工、砌磚花台施工)實作步驟的了解程度，將所獲得之資料加以歸納分析，來探討國內景觀工程教育的現況，了解台灣造園景觀工程教育的缺失與不足，進而提供學界和業界做為參考。

文 獻 回 顧

一、國內外景觀教育

國外的文獻資料中，有關景觀教育的研究資料較為缺乏，由網路搜尋英國大學的景觀教育是以培養知識與實務並重為目的，其大學部的課程安排主要分為設計習作(Design Project Work)、講授課程(Lecture Course)及論文(Dissertation)三部份。法國整體景觀園林教育，有凡爾賽國家高等景觀學院、波爾多國家高等景觀建築學院、里爾國家高等景觀建築學院。凡爾賽國家景觀高等學院，注重景觀生態，以四個學科範疇為支撐：造型藝術，景觀技術，景觀生態，人文科學。波爾多國家高等景觀建築學院為建築學與景觀專業並存。而里爾國家高等景觀建築學院，也是與建築學並存。在南斯拉夫，景觀規劃教育系統和實踐，起因於社會必要的規劃觀點(Ogrin, 1986)，而德國的景觀規劃教育，是以強大實習的需要為基礎，要求與建築學和建築術連貫在一起，其教育的原則是傳授知識和培養能力，以及施工圖的應用(Linke, 1986)。

台灣的造園景觀專業和其他先進國家一樣是從園藝發展出來的，早期支配了景觀研究與實務的論述乃是從造園的觀點出發(凌德麟，1998)，而最早對國內景觀教育提出系統性分析的文獻為王小璘，其在比較了東海大學、台灣大學、輔仁大學、中華大學等校大學部

之景觀科系之課程，以及東海大學、台灣大學、中興大學、成功大學、逢甲大學等校研究所之課程之後，認為國內景觀教育的缺失包括了各校系課程特色尚未彰顯、教學上缺乏自明性、基礎訓練不夠紮實、設計課程有待加強等四項(王小璘，1998)。郭瓊瑩(1999)曾建議國內的景觀教育應同時包含了工程、生態、與人文的關懷。接著又提出景觀專業應以永續景觀教育作為核心課程，再配合相關專業課程，例如，敷地計畫、電腦技巧與其他先進的科技、結構材料、方法、技巧與應用、植栽與生態系統等(郭瓊瑩，2004)。蔡厚男與江中信(2004)的研究則認為台灣景觀教育所面臨的結構性困境在於市場化對於大學教學品質的衝擊，以及景觀專業教育理念與實務的失衡。他們綜合歸納台灣景觀建築專業教育的諸多問題包括科系定位、師資素質、社會互動、基礎訓練、學院與實務的落差、專業證照制度、國際合作與國際觀等。由以上專家學者之研究，可了解國內的景觀教育確實存在許多缺失，這也是本研究所要探討之處。

二、景觀工程課程關聯系統

景觀工程課程與景觀專業課程間存在密切而複雜的關聯；不僅在教學進程上存在先後順序的上下游關係，在橫向上也存在旁系課程間的相互支援關係。與景觀工程形成上下游統屬關係之課程包括基地分析、敷地計畫、景觀設計、施工圖與施工管理等課程。與景觀工程形成橫向支援之課程，包括以生態概念與植栽專長養成之景觀生態、景觀植物、植栽設計與植栽維護等課程，以及以景觀工程實踐為目標的輔助理論，如結構力學、水文學、土壤力學與營建材料與方法等課程。林鑑澄(2006)認為造園景觀系所可依教學目標，就上述縱向關聯課程明確劃分教學內容外，並依學分分配與教師專長酌加開補充課程，以順暢上下游課程關聯，如於基地分析先期加開基地調查與理論；於景觀設計先期加開設計方法；於景觀工程後期加開工程估算等。

三、影響教育之因素

「教育」是指導學生學習的一種活動，是依據學習原理，運用適當的教學方法技術、刺激、指導和達成教育目的的活動。說文解字記載「教—上所施、下所效；學則為效也、受人之效而效之。」，即教師的指導示範以及學生的遵循仿效。因此教學是教師與學生共同完成有計畫有目的有價值符合認知性與學習者發展狀況的一種歷程與結果。

本研究以郭為藩與高強華(1994)所提出，教學相關因素至少應涵蓋課程教材、技術方法、社會環境、制度等項目，改編成影響景觀工程教學的因素，亦即景觀工程教育目的是所有教學應以景觀相關學系學生為中心，以培養景觀相關學系學生養成就業所需之知識、技能、習慣及態度為依歸，景觀工程教學目標是教學結果的指針，教師在進行教學活動時，應先對教學目標有所瞭解後，再按學生的程度，訂定逐步達成教學目標的各種教學方法，課程教材、技術方法是實現教育目標的手段，行政制度和社會環境是支援教學、導引教學。

研究方法

本研究目的是在探討國內景觀工程教育現況，故以文獻回顧法、訪談法、問卷調查法的研究方法，其分述如下：

一、文獻回顧法

蒐集整理景觀工程、景觀教育等相關文獻資料，以確立研究內容與範疇。經由文獻回顧與相關資料歸納整理後，釐清景觀工程教育影響因子，作為訪談問項。

二、訪談法

以主題分析法透過半結構式訪談，同步進行資料收集與資料分析。

(一) 本研究共計訪談 7 位景觀專家學者。

(二) 樣本選取：科技大學教師 2 位、綜合大學教師 3 位、業界專家 2 位。

(三) 訪談方式：本研究依照事前所擬定的訪談問項，利用較寬廣的研究問題作為訪談的依據，導引訪談的進行。優點是它可以提供受訪者認知感受較真實的面貌呈現。

(四) 訪談大綱：

1. 問項一：請問您在「景觀工程相關課程」這門課程的授課內容與授課方式為何？

(課程材料)

2. 問項二：為了使學生更有效率地學習，您在教學時會運用哪些方法加以協助學習？學生實際吸收的效果為何？(技術方法)

3. 問項三：面對政府機關尚未重視景觀工程產業整體配套的政策與措施的隱憂。您認為在景觀工程教育培訓上，要如何強化實務技術，以因應劣勢？(行政制度)

4. 問項四：2008 年 2 月 16 日在嘉義大學舉行的「景觀工程實務與教育系列座談會」談及學校授課內容，在業界無法落實，教育方向過於理想，應調整課程，請問您的看法為何？學生未來生涯規劃方面鼓勵朝向哪個方面發展？(社會環境)

三、問卷調查法

本研究以中興大學園藝系學生為對象，課程內容以丙級造園景觀技術士技能檢定規範為主。透過問卷加以檢測學生所喜愛的授課方式。

(一) 問卷設計

依據影響教學之因子，提出本研究的問卷，其共分為二部份。

1. 第一部份為個人特質的基本資料：

(1) 性別：指受測者為男性、女性。

(2) 年齡：年齡分為 20 歲以下、20~23 歲、23 歲以上等三個等級。

(3) 年級：年級則分為一、二、三、四年級與研究所以上等五個等級。

(4) 科系：指受測者就讀的系別，共分為園藝系、農藝系等二個類別。

2. 第二部份為測試學生對於景觀工程(植栽施工、石材鋪面施工、磚材鋪面施工、磚材路緣施工、砌磚花台施工)的了解程度。

- (1) 在未上過造園實習之前，您對實作課程的步驟之了解程度？
- (2) 在閱讀完文字教材後，您對實作課程的步驟是否了解？
- (3) 在看完圖片簡報後，您對實作課程的步驟是否了解？
- (4) 在看完圖片簡報並配合教師講解後，您對實作課程的步驟是否了解？
- (5) 在看完示範實作後，您對實作課程的步驟是否了解？
- (6) 關於以上 5 種教學方式，哪幾項教學方式讓您對於實作課程學習更加有幫助？

(二) 問卷調查

問卷調查日期為 2008 年 5 月 24 日和 5 月 27 日於中興大學和台中高農進行。測試前由測試者說明本研究測試的目的，並簡述測試內容、問卷填寫方式及測試注意事項等等，共計獲得 55 份問卷，其中有效問卷 51 份。

(三) 資料分析

經由問卷調查完成，以 SPSS 統計分析軟體，針對本研究目的以描述性統計、次數分配等統計方法進行分析。

結果與討論

一、國內外景觀工程教育課程分析

簡予貞於 2008 年 2 月 16 日在嘉義大學舉辦的「景觀工程實務與教育系列座會」中，談及美國景觀教育的結構，研究所以培養思考型的學生為主，主要是規劃設計。景觀建築系分屬於農學院、設計學院、環境設計學院，是從建築、園藝發展出來的，其共同的目標是取得景觀建築師證照。而美國景觀工程施作分成工程、營造。工程包括排水、施工、整地、暴雨管理、道路系統；營造包括水泥、木構、鐵構之施工方法與構造。又郭瓊瑩在景觀法立法與景觀高考對景觀教育影響一文中論及美國景觀師證照的取得係建立在「3E」—學歷(Education)、工作(Experience)、考試(Examine)—的條件基礎上，很多州對於「工作經驗」的評量權重，常優先於「學歷」，只有學歷而沒有實務工作經驗的人，是不可以考景觀師證照，景觀建築師主要執業範疇幾乎涵蓋有關生態或遊憩等專業知識開發之計畫。本研究搜尋美國幾個知名大學網站有關美國景觀工程教育課程，由資料顯示美國知名大學的景觀工程課程特別重視景觀工程(Site Engineering)及景觀營造(Landscape Construction)。

二、日本景觀工程教育

日本的園林專業教育，主要設在農學部，亦有設在林學科者(如東京大學、京都大學)，較為特殊的是千葉大學，其專門設有園藝學部。日本園林專業的課題和教育方向大致分六個方面，一是園林史及理論，二是傳統的造園工學，，三是園林規劃設計的方向，四是城市與區域劃，五是景觀生態，六是情報處理、知覺認識(章俊華，2006)。本研究搜尋日本各大學網站有關日本景觀教育課程，顯示日本各大學之景觀工程課程著重在庭園設計學及

設計施工。

三、台灣景觀工程教育

在國內科技大學景觀工程之相關課程，從國立勤益科技大學景觀設計與管理系、朝陽科技大學都市計畫與景觀建築系、中州技術學院景觀設計系等網站之課程介紹，是以基礎理論為基礎，配合景觀材料估價教導，課程為景觀工程、景觀材料與估價、景觀工程實習等所示。

綜合大學景觀學系所規劃的施工課程係朝向四大領域，以景觀工程之基礎理論為主，其次是工程材料估算課程。工程實作只有少數學校編排，由此可知實際操作，工程耗大，花費時間又長，並不是在學校就可操作完成者，訪談資料亦顯示，景觀工程實作若能洽請廠商配合將較為可行。綜合大學方面以投影片導引基礎專題報告及考試增進學習，施工實作及參觀加強職場體驗，並鼓勵學生繼續升學、出國深造、參加公職考試、投入景觀造園職場所示。

綜合以上文獻資料，本研究歸納出下列幾點說明：

(一) 課程內容

各校規劃之課程不盡相同，技職體系以製圖設計為主，大學體系則偏向基礎理論，普遍缺乏實地工地操作的機會，課程中含有兩個以上不同的面向，例如包括工程圖說計畫、整地與排水系統及構造之細部設計三方面教學，會造成授課時間或深度之不足。

(二) 授課方式

大學體系往往以考試加強學生學習。校外參觀訪問，有交通方面的困擾。實作方面：配合現有案例施工，有時間上的限制。學生的技術不熟練，常會造成廠商的困擾。

(三) 師資

缺乏具景觀背景的人才。有關景觀施工方面的課程包括整地、土方、邊坡、排水、灌溉、測量、道路工程、結構理論等等，大多由非本科系教師擔任，且有些課程更橫跨四大主題，而老師的背景卻以土木、建築為主。

四、教師訪談結果與專家實務工作者意見彙整分析

本研究依照事先所擬定之四大問項，共計訪談了 7 位景觀專家學者，包括科技大學教師 2 位、綜合大學教師 3 位、業界專家 2 位，將所獲得之意見資料彙整分析如下：

問項一：請問您在「景觀工程相關課程」這門課程的授課內容與授課方式為何？

景觀工程的授課內容是在教導學生認識景觀材料、了解工程契約之規定及工地的管理、如何整地、暴雨管理及排水、生態工程觀念、土方工程、道路定線、基地放樣、鋪面，以及水泥、木構、鐵構的施工方法與構造等等。授課方式，科大教師以 power point 為主，講義為輔。大學教師則以課堂講授為主，課間習作與課後作業為輔。把書上資料轉成 ppt 檔來教授，有作業，並配合模型教學。所以科技大學及綜合大學授課方式多著重於理論紮根與觀念釐清，未達業界偏重實作之要求。

問項二：為了使學生更有效率地學習，您在教學時會運用哪些方法加以協助學習？學生實

際吸收的效果為何?

科大教師會以實例建立思考,例如以中庭設計圖,讓學生了解使用的材料、施工概念、預算、構思,並要求學生訪談相關業者,了解執行景觀工程的方式步驟,以及透過隨堂作業講授理論與操作重點。大學教師是運用「課間練習及講解」讓學生動手操作,收集各種設施物施工時之監造相片,加上幻燈投影說明,使學生加深印象,以及儘量採用實作。這些教學方法,如果在課堂中會動手練習,課後作業有親自動手操作的學生,吸收效果比在課堂上講半天來得有效,但因為實作量大,學生做作業的時間不多,吸收的效果差。

問項三:面對政府機關尚未重視景觀工程產業整體配套的政策與措施的隱憂。您認為在景觀工程教育培訓上,要如何強化實務技術,以因應劣勢?

在強化實務技術方面,科大教師認為要多講授實務上的事例,在實務上所遭遇的困難,要讓學生懂得如何解決問題。師資應建立與業界互動的機制,加強教學的方向,調整授課的實務性,安排學生至業界觀摩,結合專業師資與實務講師之資源,建立產學雙師。大學教師則認為課程設計上,至少達到「土木系」、「建築系」的工程基本要求,且設計題目不在多,要讓學生有充份的時間思考創意與實務的解決方案,能夠漸進的「完整思考」。訂定產學合作模式,加強與業界的互動,落實學校教育與產業界資源的整合,由業界提供建教合作,給學生實習的機會。

問項四:2008年2月16日在嘉義大學舉行的「景觀工程實務與教育系列座談會」談及學校授課內容,在業界無法落實,教育方向過於理想,應調整課程,請問您的看法為何?學生未來生涯規劃方面鼓勵朝向哪個方面發展?

有關學界和業界之間的落差,如何調整課程,教師們認為學界應有實務參與之機會,才能認知業界之需求重點及明白與學界之落差,業界應有理論進修之機會,才能開發改進新工法,學制能延長為5年,學校教育要分組,要專精,清楚彼此的定位。政府也要辦理一些職業訓練,配合產業界的需求。加強施工圖之繪製、工程預算。業者建議學生之實習刻苦耐勞精神缺乏,因此應找回正確價值觀,使學生要懂得基本實務、測量、材料估算等,方能降低學界和業界落差問題。對於學生未來的生涯規劃,教師們朝向鼓勵學生往電腦模擬、房地產、規劃設計、行銷方面發展,也鼓勵學生考取證照或以土木研究所為進階研究之考量,依自己喜好選擇「施工」組,或「學理及行政」,提早做職場的準備,也鼓勵升學、推甄、公職考試。而業者則建議年輕人要有溝通、協調、整合的能力。多看、多聽、多走、多做、多交友,學生可經由建構完成的虛擬環境熟悉實務操作,配合就業學程的教育訓練及實習計畫,達到學以致用的目標。

五、景觀工程授課方法有效性分析

(一) 個人基本特質之統計表:

受測者基本資料內容包括性別、年齡、系別、級別。在性別上,女性人數37人,占72.5%,男性人數14人,占27.5%,女性多於男性;在年齡方面受測樣本中以20歲以下的學生占最多,有44人,占86.3%,其次是20~23歲有7人,占13.7%;在系別方面是

以園藝系占最多，有 50 人，占 98.0%，農藝系有 1 人，占 2.0%；在級別方面是以就讀一年級的人數最多，有 45 人，占 88.2%，其次四年級，有 3 人，占 5.9%，三年級有 2 人，占 3.9%，二年級有 1 人，占 2.0%，綜合上述得知，受測者樣本中以女性居多；年齡的分佈以 20 歲以下最多；系別的分佈以園藝系最多；而級別的分佈情況以一年級居多。

表1. 個人基本特質之統計表

Table 1. The basic characteristics of the individual

問項	內容	人數	百分比	問項	內容	人數	百分比
性別	男	14	27.5	系別	園藝系	50	98.0
	女	37	72.5		農藝系	1	2.0
年齡	20歲以下	44	86.3	級別	一年級	45	88.2
	20~23歲	7	13.7		二年級	1	2.0
	23歲以上	0	0		三年級	2	3.9
					四年級	3	5.9

(二) 學生對於植栽施工實作課程授課方式了解程度之統計分析

由下表 2 顯示，學生在未上過造園實習之前，對於植栽施工步驟幾乎不了解。以「文字教材」的授課方式，學生不了解的程度亦高達 56.9.9%，顯示以文字教材教學，學生的學習成效不彰。以「圖片簡報」教學就有 72.5%的學生了解。可見「圖片簡報」教學優於「文字教材」的授課方式。以「圖片簡報+教師講解」的授課方式，只有 2.0%不了解，其顯示「圖片簡報+教師講解」的教學方式優於「圖片簡報」和「文字教材」。以「示範實作」的授課方式，學生非常了解的程度高達 52.9%，顯示「示範實作」的授課方式有達到教學成效。綜合上述得知，學生對於植栽施工實作課程授課方式，在「示範實作」的授課方面，有 27 人覺得非常了解，表示「示範實作」的授課方式有達到教學成效。

(三) 學生對於石材鋪面施工實作課程授課方式了解程度之統計分析

由下表 3 的統計結果可知，學生在未上過造園實習之前，對於石材鋪面施工步驟，不了解的程度高達 56.9%，顯見學生對石材鋪面施工幾乎不了解。以「文字教材」的授課方式，學生不了解的程度亦高達 60.8%，顯示以文字教材教學，學生的學習成效不彰。以「圖片簡報」教學就有 68.6%的學生了解。顯見「圖片簡報」教學優於「文字教材」的授課方式。以「圖片簡報+教師講解」的授課方式，只有 7.8%不了解，其顯示「圖片簡報+教師講解」的教學方式優於「圖片簡報」和「文字教材」。以「示範實作」的授課方式，學生非常了解的程度高達 52.9%，很了解占 27.5%，了解占 19.6%，顯示此種授課方式，學生都達了解程度。綜合上述得知，以「示範實作」的授課方式，有 27 人非常了解，占 52.9%，表示有一半以上的學生喜愛這種授課方式。

表 2. 學生對於植栽施工實作課程授課方式了解程度之統計表

Table 2. The student regarding plants constructs really understanding degree of the curriculum teaching way

項目	非常了解		很了解		了解		不了解		非常不了解	
	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比
未上課前	-	-	-	-	9	17.6	32	62.7	10	19.6
文字教材	-	-	1	2.0	14	27.5	29	56.9	7	13.7
圖片簡報	-	-	12	23.0	37	72.5	2	3.9	-	-
圖片簡報+ 教師講解	3	5.9	21	41.2	26	51.2	1	2.0	-	-
示範實作	27	52.9	13	25.5	11	21.6	-	-	-	-

表 3. 學生對於石材鋪面施工實作課程授課方式了解程度之統計表

Table 3. The student regarding Construction of the stone pavement really understanding degree of the teaching way

項目	非常了解		很了解		了解		不了解		非常不了解	
	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比
未上課前	-	-	-	-	2	3.9	29	56.9	26	39.2
文字教材	-	-	1	2.0	14	27.5	31	60.8	5	9.8
圖片簡報	-	-	9	2.0	35	68.6	5	9.8	2	3.9
圖片簡報+ 教師講解	4	7.8	13	25.5	30	58.8	4	7.8	-	-
示範實作	27	52.9	14	27.5	10	19.6	-	-	-	-

(四) 學生對於磚材鋪面施工實作課程授課方式了解程度之統計分析

由下表 4 的統計結果可知，學生在未上過造園實習之前，對於磚材鋪面施工步驟，不了解的程度高達 60.8%，非常不了解的程度亦達 37.3%，顯見學生對磚材鋪面施工幾乎不了解。以「文字教材」的授課方式，學生不了解的程度亦高達 72.5%，顯示以文字教材教學，學生的學習成效不彰。以「圖片簡報」教學就有 76.5% 的學生了解；不了解只占 11.8%，顯見「圖片簡報」教學優於「文字教材」的授課方式。以「圖片簡報+教師講解」的授課方式，只有 5.9% 不了解，了解的人數占 49%，其顯示「圖片簡報+教師講解」的教學方

式優於「圖片簡報」和「文字教材」。以「示範實作」的授課方式，學生非常了解的程度高達 62.7%，很了解占 19.6%，了解占 17.6%，顯示此種授課方式，學生都達了解程度。綜合上述得知，以「示範實作」的授課方式，有 32 人非常了解，占 62.7%，顯示有一半以上的學生非常了解這種授課方式。

(五) 學生對於磚材路緣施工實作課程授課方式了解程度之統計分析

由下表 5 顯示，學生在未上過造園實習之前，對於磚材路緣施工步驟，不了解的程度高達 56.9%，顯見學生對磚材路緣施工幾乎不了解。以「文字教材」的授課方式，學生不了解的程度亦高達 64.7%，以「圖片簡報」教學就有 76.5% 的學生了解；不了解占 13.7%。顯見「圖片簡報」教學優於「文字教材」的授課方式。以「圖片簡報+教師講解」的授課方式，只有 3.9% 不了解，其顯示「圖片簡報+教師講解」的教學方式優於「圖片簡報」和「文字教材」。以「示範實作」的授課方式，學生非常了解的程度高達 60.8%，很了解占 21.6%，了解占 17.6%，顯示此種授課方式，學生都已達了解程度。綜合上述得知，以「示範實作」的授課方式，有 31 人非常了解，占 60.8%，顯示有一半以上的學生非常了解這種授課方式。綜合上述得知，以「示範實作」的授課方式，有 32 人非常了解，占 62.7%，顯示有一半以上的學生非常了解這種授課方式。

(六) 學生對於砌磚花台施工實作課程授課方式了解程度之統計分析

由下表 6 的統計結果可知，學生在未上過造園實習之前，對於砌磚花台施工步驟不甚了解。以「文字教材」的授課方式，學生不了解的程度占 47.1%，顯示以文字教材教學，學生的學習成效不彰。以「圖片簡報」教學就有 76.5% 的學生了解；不了解占 9.8%，顯見「圖片簡報」教學優於「文字教材」的授課方式。以「圖片簡報+教師講解」的授課方式，只有 2.0% 不了解。顯示「圖片簡報+教師講解」的教學方式更優於「圖片簡報」和「文字教材」。以「示範實作」的授課方式，學生非常了解的程度高達 56.9%，很了解占 23.5%，了解占 10.6%，顯示此種授課方式，學生的學習已達了解程度。綜合上述得知，以「示範實作」的授課方式，有 29 人非常了解，占 56.9%，顯示有一半以上的學生非常了解這種授課方式。

(七) 學生對於造園施工哪幾項教學方式在學習上更加有幫助

由下表 7 顯示，無論是植栽施工、石材鋪面施工、磚材鋪面施工、磚材路緣施工、砌磚花台施工，有超過 84.3% 的學生認為，經由高農學生的示範以及教師講解後，對學習上會更加有幫助。以「示範實作」的授課方式，在植栽施工方面有 44 人(86.3%)，表示非常了解；在石材鋪面施工方面有 43 人(84.3%)，表示非常了解；在磚材鋪面施工方面有 44 人(86.3%)，表示非常了解；在磚材路緣施工方面有 43 人(84.3%)，表示非常了解；而在砌磚花台方面有 44 人(86.3%)，表示非常了解，顯示有八成六以上的學生都認為經由高農學生的示範以及教師講解後，對學習造園施工課程會更加有幫助，對這種授課方式表示非常了解，由此可知「示範實作」是一種最佳授課方式。

表 4. 學生對於磚材鋪面施工實作課程授課方式了解程度之統計表

Table 4. The student regarding brick material surface construction really understanding degree of the teaching way

項目	非常了解		很了解		了解		不了解		非常不了解	
	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比
未上課前	-	-	1	2	-	-	31	60.8	19	37.3
文字教材	-	-	-	-	7	13.7	37	72.5	7	13.7
圖片簡報	-	-	6	11.8	39	76.5	6	11.8		
圖片簡報+ 教師講解	3	5.9	20	39.2	25	49.0	3	5.9	-	-
示範實作	32	62.7	10	19.6	9	17.6	-	-	-	-

表 5. 學生對於磚材路緣施工實作課程授課方式了解程度之統計表

Table 5. The student regarding Brick material curb construction really understanding degree of the teaching way

項目	非常了解		很了解		了解		不了解		非常不了解	
	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比
未上課前	-	-	-	-	-	-	29	56.9	22	43.1
文字教材	-	-	-	-	9	17.6	33	64.7	9	17.6
圖片簡報	-	-	3	5.9	39	76.5	7	13.7	2	3.9
圖片簡報+ 教師講解	2	3.9	14	27.5	32	62.9	2	3.9	1	2
示範實作	31	60.8	11	21.6	9	17.6	-	-	-	-

表 6 學生對於砌磚花台施工實作課程授課方式了解程度之統計表

Table 6. The student regarding Brick flower bed construction really understanding degree of the teaching way

項目	非常了解		很了解		了解		不了解		非常不了解	
	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比
未上課前	-	-	1	2	3	5.9	26	51.0	21	41.2
文字教材	-	-	1	2	9	37.3	24	47.1	7	13.7
圖片簡報	-	-	6	11.8	39	76.5	5	9.8	1	2
圖片簡報+ 教師講解	3	5.9	20	39.2	27	52.9	1	2	-	-
示範實作	29	56.9	12	23.5	10	19.6	-	-	-	-

表 7 學生對於造園施工哪幾項教學方式在學習上更加有幫助統計表

Table 7. Which several teaching way does the student construct regarding the landscape gardening even more to have the help in the study

項目	未上課前		文字教材		圖片簡報		圖片簡報+教師 講解		示範實作	
	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比	人數	百分比
植栽施工	-	-	-	-	-	-	7	13.7	44	86.3
石材鋪面	-	-	-	-	-	-	8	15.7	43	84.3
磚材鋪面	-	-	-	-	-	-	7	13.7	44	86.3
磚材路緣	-	-	-	-	-	-	8	15.7	43	84.3
砌磚花台	-	-	-	-	-	-	7	13.7	44	86.3

結論與建議

一、研究結論

本研究主要在探討國內景觀工程教育的現況，經過訪談景觀專家學者、相關資料收集，以及台中高農老師和學生的協助示範，讓中興大學園藝系學生透過動手做了解景觀造園技巧及建構造園施工操作程序，再經由問卷施測，獲得以下結論。

(一) 課程教材方面

課程要每年修正，由學界、業界、有實務經驗者共同參與課程修正，也要隨著潮流而改變，景觀工程涉及之課程內容繁多，無法在二或三學分之時數下完整傳授，應充分運用其他相關科系之師資及課程，或學制延長，加強產學資源合作，以補課程及師資之不足。課程設計上，至少達到「土木系」、「建築系」的工程基本要求，且設計題目不在多，要讓學生有充份的時間思考創意與實務的解決方案，能夠漸進的「完整思考」。

(二) 技術方法方面

以實際案例建立思考，讓學生了解使用的材料、施工概念、預算、構思。安排學生至業界觀摩。建立產學雙師，結合專業師資與實務講師之資源。全國景觀公會有辦培訓課程，可彌補學校授課之不足。

(三) 政策制度方面

建議學生踏入職場前要具備丙級造園技士證照。建立產學合作，提供教學參觀，增進學生對實務的了解。業界能在寒、暑假提供學生打工的資訊或機會。希望政府要辦理一些職業訓練，配合產業界的需求。

(四) 社會環境方面

業界要求學生要懂得基本實務、測量、及材料估算。學生實習時刻苦耐勞精神缺乏，應找回正確價值觀。業界也要做一個定位，需要什麼樣的專才，包括課程的修定，提供學生實習的機會等等。

(五) 景觀工程授課方法有效性方面

分析景觀工程授課方法有效性，發現學生對於以「示範實作」的授課方式，在植栽施工方面有 44 人(86.3%)，表示非常了解；在石材鋪面施工方面有 43 人(84.3%)，表示非常了解；在磚材鋪面施工方面有 44 人(86.3 %)，表示非常了解；在磚材路緣施工方面有 43 人(84.3%)，表示非常了解；而在砌磚花台方面有 44 人(86.3%)，表示非常了解，顯示有八成六以上的學生都認為經由高農學生的示範以及教師講解後，對學習造園施工課程會更加有幫助，對這種授課方式表示非常了解，由此可知「示範實作」是一種最佳授課方式。

二、建議

針對本研究結論，提出以下之建議：

- (一) 有些學校在一個課程中包含兩個以上不同的主題，甚至包含四大主題—基礎理論、工程材料估算、工程技術、工程實作，建議應盡可能細分為一個主題來授課，如此不僅學生容易吸收，教學品質也會提升。
- (二) 學校應落實實習課程，結合專業師資與實務講師之資源，並讓學生多到產業界實習磨練。
- (三) 案例操作執行，多以實例鍛鍊，學界應有實務參與之機會，才能認知業界之需求重點及明白學界之落差。

- (四) 業界應有理論進修之機會，才能開發改進新工法，還有師資部份應建立與業界互動的機制，加強教學的方向，調整授課的實務性。
- (五) 在課程設計上，至少達到「土木系」、「建築系」的工程基本要求。
- (六) 學制能延長為5年，學校教育要分組，要專精，清楚彼此的定位。
- (七) 期望景觀法立法能盡速通過，使相關專業技師考照與執業體制能有所依據，一方面對我國環境景觀的改善是一大助力，一方面也讓公共工程品質得以控管。
- (八) 最後建議學校無論科技大學、綜合大學，實習課程儘量能維持3個學分，給學生有更多的實習機會，才能達成景觀工程教育目標。

參考文獻

- 王小璘。1998。景觀專業教育課程發展方向的淺見。造園季刊。29：12-22。
- 吳為廉。2000。圖解景觀工程細部設計。台北。地景企業股份有限公司。
- 林鑑澄。2006。景觀工程課程定位與架構說明。造園季刊。59：29-34。
- 凌德麟。1998。論台灣造園景觀教育的過去與未來。造園季刊。29：5-11。
- 章俊華。2006。東瀛如何打造園林人才。2006年中國風景園林教育大會。中國風景園林學會。
- 郭瓊瑩。1999。挑戰與省思－跨越世紀環境變遷景觀教育應有的思潮。造園季刊。33：55-57。
- 郭為藩、高強華。1994。教育學新論。台北。正中書局。
- 郭瓊瑩。2004。自永續景觀發展趨勢談台灣景觀教育應有之向度與厚度。2004景觀論壇－永續景觀研討會。中華民國景觀學會。
- 郭瓊瑩。2005。景觀法立法與景觀高考對景觀教育之影響。2005景觀論壇－永續景觀研討會。中華民國景觀學會。
- 歐聖榮。2008。工程實務教學課題。景觀工程實務與教育系列座會。台灣造園景觀學會。
- 蔡厚男、江中信。2004。全球化與景觀建築專業教育改革之困境與發展策略。2004景觀論壇－永續景觀研討會。中華民國景觀學會。
- 簡予貞。2008。美國康乃爾大學景觀工程課程。景觀工程實務與教育系列座談會。台灣造園景觀學會。
- Linke, H. 1986. Landscape planning education in European socialist Countries. Landscape and Urban Planning. 13: 359-366.
- Ogrin, D. 1986. Landscape planning education as a reflection of social and spatial conditions: a model of Ljubljana university. Landscape and Urban Planning. 13: 411-417.

The Study of the Domestic Landscape Engineering Education

Che-Yu Shu ¹⁾ Sheng-Junng Ou ²⁾

Key words: Landscape engineering, Landscape engineering education, Qualitative research

Summary

The purpose of this study was to explore the current domestic landscape engineering education, by interview Landscape experts and scholars, the collection of relevant information, as well as the Taichung Agricultural Senior High School teachers and students to assist the model, let Department of Horticulture, National Chung Hsing University, students learn through hands-landscape gardening skills and building structure construction operations Park-way Sequence, and then testing the questionnaire, the information obtained will be analyzed. Statistics survey found that students. That through the demonstration of high agricultural students and teachers on the following aspects of the construction of gardening study. A better understanding, " model implementation" study the effectiveness of the medium of instruction is superior to other methods. The study concluded that the course should be amended annually, from academia, industry, and practical experience to participate in courses of the amendment, and the establishment of Industry-university cooperation to establish the actual case thinking, so that students understand the concept of construction, budget, and other ideas. Research has also suggested that students enter the job market before gardening with technician license, also requires students to understand the basic practices, measurement, material estimates skills.

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

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

興大園藝

第三十四卷 第四期

- 植物生長調節劑對'巨峰'及'蜜紅'葡萄果實生長及品質之影響
.....林瑞家 陳秉訓 楊耀祥..... 1
- 貯運溫度與低溫檢疫對椪柑果實品質之影響
.....柏明禮 謝慶昌.....13
- 油菜素內酯(Brassinolide)在小白菜栽培之利用
.....郭濰如 宋 妤 張武男.....25
- D 型胺基酸氧化酵素基因(*daao*)作為甘藍之
農桿菌基因轉殖法的篩選標誌基因之研究
.....李易輯 楊明德 曾夢蛟.....37
- 麒麟花種間雜交之胚拯救
.....吳俊瑤 朱建鏞.....51
- 種子預措處理對報歲蘭'達摩'種子發芽之影響
.....黃瓊慧 王才義.....63
- 台中市大坑風景區裸露地綠覆變遷之研究
.....莊子嫻 劉東啟.....73

國立中興大學園藝學系編印

中華民國九十八年十二月

植物生長調節劑對'巨峰'及'蜜紅'葡萄 果實生長及品質之影響

林 瑞 家¹⁾ 陳 秉 訓²⁾ 楊 耀 祥³⁾

關鍵字：果實大小、果實細胞

摘要：本研究探討植物生長調節劑 BA、Cytex 及 GA₃ 對'巨峰'及'蜜紅'葡萄夏果果實生長與品質之影響。'巨峰'葡萄在不同處理組合中，以開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex 並於滿花後 15 日處理 12.5 ppm GA₃、滿花後 25 日處理 25 ppm GA₃ 之果粒最重達 17.1g，為對照組的 1.5 倍大。在同日採收時，其可溶性固形物較低，可滴定酸較高，果色較差。'蜜紅'與'巨峰'相同處理者之果粒最重達 14.7g，為對照組的 1.2 倍大，但可溶性物形物及果色較對照組低，酸度則無顯著差異。開花前處理 BA 添加 Cytex 皆可促進兩品種果粒之細胞分裂，使果肉級果皮的細胞層數增加 28~36%，滿花後處理 GA₃ 兩次可使果肉細胞厚度增加 19~27%。

前 言

'巨峰'及'蜜紅'皆為四倍體歐美雜交品種，果粒大為其主要特徵，在台灣一年兩收的栽培模式下，依據黃(1984)、王及楊(1984)及陳及楊(1990)之調查顯示台灣夏季葡萄單果粒重僅約 8~10g，較不符合國人逐漸偏好大型果的消費習慣，亦影響其商品價值。目前國內外已有許多研究成果顯示植物生長調節劑能有效提高葡萄果實果粒重(陳及楊，1990；歐，1985；石川等人，2003；Halbrooks and Mortensen, 1988)。本試驗之目的為探討植物生長調節劑處理對'巨峰'及'蜜紅'葡萄夏收果實生長及品質之影響，期以其結果供作栽培管理之參考。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班學生。

2) 國立中興大學園藝學系講師。

3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

材 料 與 方 法

一、試驗材料

試驗材料為位於台中縣霧峰鄉國立中興大學葡萄中心栽種嫁接於 8B Teleki 之 15 年生 '巨峰'樹(*Vitis venifera* L. × *Vitis labruscana* Bailey cv. Kyoho)及 21 年生 '蜜紅' (*Vitis vinifera* L. × *Vitis labrusca* L. cv. Honey Red)，其以水平棚架行 X 型整枝。

試驗進行前選擇樹勢相近之植株，並於開花前選定有 2 花穗且生長勢中等之結果枝，並以第一穗花穗做為處理材料。一般栽培管理方面，開花前 5 日整穗，滿花後 25 日前完成疏果及套袋，每一果穗留 25~30 粒果實，其栽培管理方法比照慣行模式進行。

二、試驗方法

2008 年夏季葡萄生產時，分別於開花前 3 日以 BA(Sigma chemical company)添加 Cytex(含 0.01 % zeatin, Atlantic & Pacific Research Inc.)及滿花後 15 日及 25 日間以 GA₃ (Sigma chemical company)於下午 5 時後以浸漬方式處理，每處理使用 20 花(果)穗，各生長調節劑處理方式如表 1 所示。'巨峰'開花日期為 4 月 17 日，採收日期為 7 月 16 日。'蜜紅'開花日期為 4 月 10 日，採收日為 7 月 1 日。

表 1. 處理生長調節劑之方式

Table 1. Treatment of plant growth regulators.

Treatment	3 DBF ^z	15 DAF ^z	25 DAF
	BA 100 ppm+ Cytex 4000 ppm	GA ₃ 12.5 ppm	GA ₃ 25 ppm
B+C→GA ₃ →Non	+ ^y	+	—
B+C→GA ₃ →GA ₃	+	+	+
Non →GA ₃ →Non	—	+	—
Non →GA ₃ →GA ₃	—	+	+
Control	—	—	—

z:DBF means days before flowering, DAF means days after full bloom

y: + treated, — non-treat

三、調查項目

(一) 果實生長調查

自滿花後 30 日果實發育期間每 10 天由各處理 10 重複中，每一重複由果穗中段各取一粒，共 10 粒，測量其單粒重。

(二) 果實品質調查

在成熟期由各處理分別採收 10 穗，以電子天秤秤取果穗重量，接著剪去果粒之穗梗以電子天秤秤其重量。'巨峰'果色以果色板(日本色研專業株式會社製)測定，果色分為 1~12 級，級數高者表示越黑，'蜜紅'果色以中興大學園藝學系葡萄研究室所制定之果色板測定(劉，1994)，果色分為 0~8 級，級數高表示越接近紫紅色。果實硬度利用果實硬度計(日本木屋製)穿刺果粒赤道部位，以 kg 為單位。榨汁後以 ATAGO 手持式曲折計(Hand refractometer) 測定果汁之可溶性固形物，以 $^{\circ}\text{Brix}$ 表示。果汁酸度以 ATAGO FS-2 果汁酸度計測定，以 1%之酒石酸校正後，將果汁取 1ml 加入 9ml 蒸餾水，0.1%酚酞作為指示劑，並以 0.1N NaOH 滴定至溶液呈現粉紅色後記錄數值，計算可滴定酸含量，單位以 g/100ml 表示。

(三) 果實切片觀察

在果實成熟期，分別將不同處理之果實橫切面以石蠟切片法觀察果皮及果肉細胞層數及細胞厚度。每處理取 5 粒果實共 5 切片。果肉細胞厚度以果肉厚度除以細胞層數而得。

結 果

一、果實生長

植物生長調節劑處理後，'巨峰'及'蜜紅'果粒之生長如圖 1 所示。'巨峰'滿花後處理 GA_3 兩次，不論開花前 3 日有無處理 BA 添加 Cytex 者，其果粒生長於滿花後 30 日差異不顯著，滿花後 40~50 日期間較明顯，開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex 者果粒重量由 9.2g，增加至 14.7g，未處理者則由 8.5 增加至 10.3g。滿花後處理一次及兩次 GA_3 其果粒重以處理兩次 GA_3 者於滿花後 30~40 日有明顯差異，滿花後 40 日果粒重以處理兩次者的 8.5g 較處理一次的 7.6g 高，顯示處理兩次 GA_3 對促進果實生長效果較明顯。 GA_3 處理配合開花前 BA 添加 Cytex 的處理其結果亦相類似；對照組於滿花後 60 日其果粒重不再增加，而各處理組織果實生長仍繼續生長。

'蜜紅'果粒生長之變化於開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex 與未處理者，其果粒生長之重量變化曲線相類似，無明顯差異，顯示開花前 BA 添加 Cytex 的處理對果實生長差異不大，兩者皆於滿花後 50~60 日其果粒重快速增加，之後生長趨緩至採收。而滿花後處理一次及兩次 GA_3 其果粒生長變化，皆以處理兩次 GA_3 者有較明顯促進的效果。處理兩次 GA_3 之果粒重於滿花後 30~40 日期間，由 4.2g 增加至 8.0g，處理一次者則由 4.3g 增加至 6.0g，為兩者主要差異時期，顯示滿花後 30~40 日期間處理兩次 GA_3 者有較明顯促進生長的現象。不影響 GA_3 之處理效果。各處理組與對照組相較，以滿花後處理一次 GA_3 者其生長曲線與對照組相類似，而處理兩次 GA_3 者果粒重有明顯增加的現象。

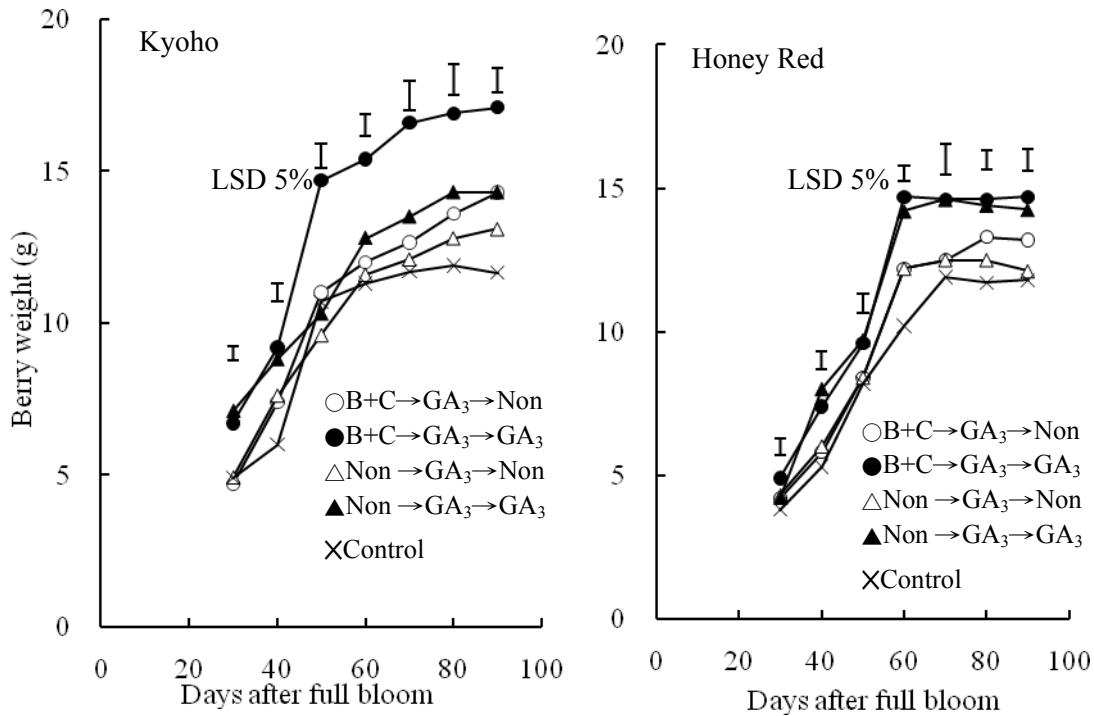


圖 1. 生長調節劑對'巨峰'及'蜜紅'葡萄果粒生長之影響

Fig. 1. Effects of plant growth regulators on berry growth of 'Kyoho' and 'Hony Red'.

二、果實品質

植物生長調節劑處理對'巨峰'果實品質之影響如表 2 所示，各處理與對照組之果粒重 11.7g 相較，均有促進果粒重增加的效果。開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex，配合滿花後處理兩次 GA₃ 者，相較於相同處理但開花前未處理 BA 添加 Cytex 者，以開花前處理 BA 添加 Cytex 之處理果粒較重，分別為 14.3g 及 17.1g，未處理者則為 13.1g 及 14.3g，顯示開花前處理 BA 添加 Cytex 配合滿花後處理一次或兩次 GA₃ 可進一步提高果粒重約 1.2 或 2.8g。穗軸重於開花前有處理者有增加之趨勢，而在果色、硬度及可溶性固形物部分，開花前處理 BA 添加 Cytex 與未處理者間則無顯著差異，酸度則以處理 BA 添加 Cytex 者較未處理者高 0.2~0.21g/100ml。在滿花後處理 GA₃ 部分，其能促進果粒重增加，其中果粒重以處理兩次較處理一次者有明顯促進的效果，處理兩次 GA₃ 者其果粒重為 14.3g，較處理一次者增加 1.2g。滿花後處理一次及兩次 GA₃ 其穗軸重可由 5.6g 增加至 7.2g，以處理 GA₃ 較多次者有較重之現象。硬度、可溶性固形物及酸度於滿花後處理一次及兩次 GA₃ 之間則無明顯差異，果色級數則以處理兩次者較低。對照組相較於各處理，果粒重及穗軸重最低，果色級數則有較高的趨勢，酸度為降低之趨勢。

表 2. 生長調節劑對'巨峰'葡萄果實品質之影響

Table 2. Effects of plant growth regulators on quality of 'Kyoho' grapes.

處理 Treatment ^z	單粒重 Berry weight(g)	穗軸重 Rachis weight(g)	果色 Color index	硬度 Firmness (kg)	可溶性 固形物 TSS (° Brix)	酸度 Acidity (g/100ml)
B+C→GA ₃ →Non	14.3b ^y	6.1b	8.2ab	0.28a	17.9ab	0.74a
B+C→GA ₃ →GA ₃	17.1a	7.4a	7.1c	0.21b	16.8c	0.67a
Non →GA ₃ →Non	13.1c	5.6c	7.9b	0.21b	17.6b	0.53b
Non →GA ₃ →GA ₃	14.3b	7.2ab	7.1c	0.23ab	17.2bc	0.47b
Control	11.7d	5.1c	8.7a	0.20b	18.4a	0.54b

z: Treatment shows in Table 1.

y: Mean separation within column by Tukey's studentized range test (P= 0.05)

植物生長調節劑處理對'蜜紅'品質之影響如表 3 所示。開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex，配合滿花後處理一次或兩次 GA₃ 者，相較於相同處理但開花前未處理者，其果粒重以開花前有處理 BA 添加 Cytex 者較高，分別為 13.0g 及 14.7g，未處理者為 12.1g 及 14.3g，增加 0.4g~0.9g，顯示開花前處理 BA 添加 Cytex 配合滿花後處理 GA₃ 有促進果粒重增加的效果。穗軸重於開花前處理者增加較明顯，其果色、可溶性固形物方面則較低，硬度以開花前處理者介於 0.15~0.16kg 間，較未處理者略高，酸度同樣以開花前處理 BA 添加 Cytex 較未處理者高。在滿花後處理 GA₃ 部分，其果粒重以處理兩次 GA₃ 者有較明顯促進的效果，其果粒重為 14.3g，較處理一次者的 12.1g，約增加 2.2g。若配合開花前處理 BA 添加 Cytex 其果粒重有較重的趨勢。由此顯示滿花後處理 GA₃ 可明顯促進果粒重增加，且以處理兩次者效果最明顯。穗軸重雖未達顯著差異，但以處理兩次 GA₃ 較處理一次者有增加之情形。果色、硬度及可溶性固形物，其滿花後處理一次或兩次 GA₃ 並未有顯著差異，與對照組間差異也不明顯，而酸度則以處理一次 GA₃ 者較高。對照組相較其他處理組，果粒重、穗軸重皆有較低的現象，硬度亦有類似的趨勢，而果色級數及可溶性固形物則較高。整體而言，'蜜紅'於開花前處理 BA 添加 Cytex 獲配合滿花後 GA₃ 的使用皆有促進果粒重增加效果，而開花前處理 BA 添加 Cytex 對於果實品質影響明顯。

由上述結果可知，開花前處理 BA 添加 Cytex 可促進兩品種果粒重增加，其中'巨峰'增加較顯著，而穗軸重有增加現象，果色級數及可溶性固形物則有下降趨勢。滿花後處理一次及兩次 GA₃ 同樣具有促進兩品種果粒重增加的效果，以處理兩次之效果較明顯，穗軸重增加同樣以處理兩次者較明顯，而'巨峰'果色及可溶性固形物部分則有較明顯下降的現象。

表 3. 生長調節劑對'蜜紅'葡萄果實品質之影響

Table 3. Effects of plant growth regulators on quality of 'Honey Red' grapes.

處理 Treatment ^z	單粒重 Berry weight(g)	穗軸重 Rachis weight(g)	果色 Color index	硬度 Firmness (kg)	可溶性 固形物 TSS (° Brix)	酸度 Acidity (g/100ml)
B+C→GA ₃ →Non	13.0b ^y	7.6ab	4.4b	0.16a	16.9a	0.8a
B+C→GA ₃ →GA ₃	14.7a	10.1a	4.3b	0.15a	15.3b	0.5b
Non →GA ₃ →Non	12.1c	6.1b	5.4a	0.13b	17.5a	0.7ab
Non →GA ₃ →GA ₃	14.3ab	8.2ab	5.6a	0.12b	17.4a	0.5b
Control	11.8c	4.6b	5.8a	0.10c	17.5a	0.6b

z: Treatment shows in Table 1.

y: Separation within column by Tukey's studentized range test (P= 0.05)

三、果實細胞

植物生長調節劑處理對'巨峰'果實細胞層數及細胞厚度之影響如表 4 所示。表 4 顯示開花前 3 日以 BA 添加 Cytex 處理者，其果實之果肉、果皮細胞層數皆有增加的現象，較未處理者之果肉細胞層數增加 6.7~9 層，果皮部分則增加 4.3~4.6 層；處理 BA 添加 Cytex 與未處理者，果肉細胞厚度差異不大，未達顯著差異。顯示開花前處理 BA 添加 Cytex 可促進果肉及果皮細胞層數的增加，但未促進果肉細胞厚度的增加。滿花後處理一次或兩次 GA₃，果肉及果皮細胞層數差異較小，兩者皆未達顯著差異，與對照組相較亦無顯著差異。果肉細胞厚度部分則以滿花後處理兩次 GA₃ 較厚，達 358.7μm，較處理一次 GA₃ 者厚。

植物生長調節劑對'蜜紅'果實細胞層數及細胞厚度之影響如表 5。結果顯示'蜜紅'果實之果皮及果肉細胞層數以開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex，其果實之果肉、果皮細胞層數有較明顯增加的現象。開花前處理 BA 添加 Cytex 較未處理者之果肉細胞層數可增加 4.8~6.9 層，果皮細胞層數則可增加 5.6~6.3 層，果肉細胞厚度則未達顯著差異，其細胞厚度介於 297.3~341.6μm 之間。而相同處理相較'巨峰'，'蜜紅'果肉細胞厚度皆較少，顯示 BA 添加 Cytex 對於促進'巨峰'果實細胞分裂較明顯。滿花後處理一次或兩次 GA₃，果肉及果皮細胞層數差異較小，處理一次或兩次 GA₃ 無明顯促進細胞層數增加的效果，兩者未達顯著差異，此結果與'巨峰'相同類似。而在細胞厚度部分仍以處理兩次 GA₃ 者其細胞厚度增加較明顯，與未處理者相較達顯著差異，果肉細胞厚度約可增加 14%。由結果可知，開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex 對於'巨峰'果實細胞層數增加效果較'蜜紅'明顯，果肉細胞厚度兩者則同樣無顯著差異。而滿花後處理兩次 GA₃ 對於細胞厚度增加的效果兩品種相類似，但若配合開花前處理 BA 添加 Cytex 則以'巨峰'的果肉細胞厚度增加較顯著。

表 4. 生長調節劑對'巨峰'葡萄果粒細胞層數及厚度之影響

Table 4. Effects of plant growth regulators on cell layer and cell thickness of berry in 'Kyoho' grapes.

處理 ^z Treatment	細胞層數 Cell layers		果肉細胞厚度 Pulp cell thickness(μm)
	果肉 Pulp	果皮 Skin	
B+C→GA ₃ →Non	34.5a ^y	26.4a	321.4b
B+C→GA ₃ →GA ₃	35.3a	26.7a	367.4a
Non →GA ₃ →Non	25.3bc	22.1b	320.1b
Non →GA ₃ →GA ₃	28.6b	22.1b	358.7ab
Control	24.1c	22.4b	304.4b

z: Treatment shows in Table 1.

y: Mean separation within column by Tukey's studentized range test (P= 0.05)

表 5. 生長調節劑對'蜜紅'葡萄果粒細胞層數及厚度之影響

Table 5. Effects of plant growth regulators on cell layer and cell thickness of berry in 'Honey Red' grapes.

處理 ^z Treatment	細胞層數 Cell layers		果肉細胞厚度 Pulp cell thickness(μm)
	果肉 Pulp	果皮 Skin	
B+C→GA ₃ →Non	31.3a ^y	28.4a	315.3ab
B+C→GA ₃ →GA ₃	32.0a	28.7a	333.3ab
Non →GA ₃ →Non	24.4b	22.1b	297.3b
Non →GA ₃ →GA ₃	27.2bc	23.1b	341.6a
Control	25.4b	21.7b	264.8c

z: Treatment shows in Table 1.

y: Mean separation within column by Tukey's studentized range test (P= 0.05)

討 論

一、植物生長調節劑對果實生長之影響

Cytokinin 類物質有很多種，而 BA 及 Cytex 在葡萄的栽培上已被利用來促進著果，Cytex 的處理具有促進花穗伸長、增加果粒數及穗重的效果(陳等人，1992)。而在花穗發育中有停止生長而發生退化現象時，提早處理 BA 可助於花穗的發育良好(張及楊，1994、

1993)。本研究以 BA 及 Cytex 混合的方式處理'巨峰'及'蜜紅'花穗，兩品種細胞層數皆有增加的現象。可知 BA 添加 Cytex 有促進兩品種果實細胞分裂的效果。在郭等人(1997)以 cytokinins 處理'蜜紅'試驗中，調查果實細胞層數發現 BA 及 Cytex 皆有促進細胞分裂，增加果肉細胞層數之效果，其結果與本試驗中兩者混合使用之效果相類似。Naito 與 Matsuda (1974)於開花前處理 BA 後觀察花穗生長及著果皆有明顯促進的效果，推測亦可能與 BA 有關。故本試驗中細胞層數增加的現象可能為處理 BA 及 Cytex 促進細胞分裂所致。GA₃ 施用影響果實生長的效果已被肯定(陳及楊，1990; Lim, 2004; Ikeda *et al.*, 2000; Perez and Gome, 2000)，本試驗結果顯示滿花後處理兩次 GA₃ 之果粒重較對照組重，在陳及楊(1990)報告中亦有類似結果。由切片觀察'巨峰'果肉細胞層數增加，而細胞厚度增加的現象，此結果與陳及楊(1990)、Perez and Gomez (2000)於葡萄處理 GA₃ 後之結果相類似，果肉細胞皆有肥大的現象，顯示 GA₃ 處理能藉此促進果實肥大。若開花前處理 BA 及 Cytex 配合滿花後處理兩次 GA₃ 於'巨峰'有進一步促進肥大效果，於'蜜紅'則與滿花後處理兩次 GA₃ 之結果相類似，可能與'巨峰'細胞層數較多有關(孫及楊，1996)。

二、植物生長調節劑對果實品質之影響

影響葡萄果實品質因素很多，品種、環境及植株生長狀態都會影響果實品質(Coombe, 1973; Buttrose, 1974; Hale and Buttrose, 1974)。本試驗以植物生長調節劑處理夏季'巨峰'及'蜜紅'葡萄，結果顯示兩品種以開花前處理 BA 添加 Cytex 配合滿花兩次 GA₃ 處理有最高的果粒重，在果實可溶性固形物部分皆有較低的現象，果實可溶性固形物可能因果實肥大而較低，此外果實的增大亦可能延遲果實成熟而影響可溶性固形物累積，透過延後採收的方式是否可提高各處理組可溶性固形物以及延長採收的時間與生長調節劑處理間的關係皆須進一步探討。果實硬度以'巨峰'高於'蜜紅'，此可能與'蜜紅'果皮原始的細胞層數較少以至果實硬度較低。加上夏果果實成熟期間溫度較高促進果實的代謝，加速果實內含物分解進而降低果實硬度(吳等人，1994)。穗梗重方面兩品種皆以處理兩次 GA₃ 有較重的現象。此結果與陳及楊(1990)、中田(1976)之結果類似，主要可能由於 GA₃ 處理所影響(Nakamura and Hori, 1981; Nakamura *et al.*, 1973)。中田(1976)認為較低濃度的 GA₃ 可減輕穗梗粗大及硬化，陳及楊(1990)認為滿花後日數延後 GA₃ 的處理可減輕穗梗粗硬而減少脫粒的現象，在本試驗中發現果粒變大亦必須藉由穗梗變粗，但需注意其是否過於硬化而致易脫粒。果粒變大之處理者，其果色級數較對照組差，顯示植物生長調節劑處理可能對果實值著色有所影響(北村等人，2005)，其著色不良的可能因果實肥大而延緩果實的成熟。若延長採收期或許能減少果色不佳的現象，此結果與林(1988)在開花前以 GA₃ 處理'巨峰'葡萄後，於果實生長後期之果色較差相似。本研究之結果顯示利用植物生長調節劑促進果實肥大普遍會降低果實品質，相類似的結果在陳及楊(1990)、石川等人(2003)亦可發現。

綜合以上之結果，可知 GA₃ 可促進'巨峰'及'蜜紅'葡萄果實肥大，滿花後 15 日及 25 日處理兩次之促進效果比處理一次者大，開花前 3 日處理 BA 添加 Cytex 更能提升 GA₃ 之

效果。然而果色級數及可溶性固形物則有下降的趨勢，且須注意穗軸粗大而過度硬化造成脫粒之影響。

參 考 文 獻

- 王乃霖、楊耀祥。1984。夏季及冬季'巨峰'葡萄之種子數。興大園藝 9: 17-22。
- 吳奕儒、郭銀港、楊耀祥。1994。'蜜紅'葡萄果實軟化與果膠質及鈣離子之關係。興大園藝 19: 23-45。
- 林嘉興。1988。植物生長調節劑在葡萄栽培上之應用。台中區農業改良場特刊 12: 203-214。
- 郭銀港、吳奕儒、楊耀祥。1997。Cytokinin 類物質及鈣施用對'蜜紅'葡萄果實硬度之影響。提昇果樹產業競爭力研討會專集 II 38: 151-168。
- 孫慧慈、楊耀祥。1996。'蜜紅'葡萄果實生長之研究。興大園藝 21:13-28。
- 陳秉訓、張林仁、林嘉興、楊耀祥。1992。Cytex 對'巨峰'葡萄花穗伸長之影響。興大園藝 17:19-26。
- 陳秉訓、楊耀祥。1990。GA3 及 KT-30 對冬季'巨峰'葡萄果實生長之影響。興大園藝 14: 5-30。
- 張致盛、楊耀祥。1993。GA3 及 Fulmet 對'巨峰'葡萄花穗發育之影響。興大園藝 18: 45-59。
- 張致盛、楊耀祥。1994。GA3 與 Fulmet 對'黑后'葡萄花穗發育之影響。台中區農業改良場研究彙報 44: 35-44。
- 黃子彬、李金龍、楊耀祥。1984。巨峰葡萄一年多收對果實品質之影響。中國園藝。30(2): 111-119。
- 劉孟哲。1994。套袋對蜜紅葡萄著色之影響。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。
- 歐錫坤。1985。植物生長調節劑誘發無子'巨峰'葡萄之研究。中華農業研究 34(1): 33-44。
- 中田隆人。1976。無核巨峰に對するジベレリン處理の影響。農業および園芸 51(3):89-90。
- 石川一憲、馬場正、谷澤貞幸、高橋久光、池田富喜夫。2003。ストレプトマイシンにより無核化したブドウ'藤稔'の果粒肥大と品質に及ぼすジベレリンおよび CPPU 處理の影響。園学研 2(3): 209-213。
- 北村八祥、中山真義、近藤宏哉、西川豊、腰岡政二、平塚伸。2005。ブドウ'安芸クイーン'における果皮の深色化に及ぼす著果量の影響。園学研 4(3): 343-346。
- Buttrose, M. S. 1974. Climatic factors and fruitfulness in grapevines. Hort. Abstr. 44: 319-325.
- Coombe, B. G. 1973. The regulation of set and development in the grape berry. Acta Hort. 34: 261-273.
- Halbrooks M. C. and J. A. Mortensen 1988. Effects of gibberellic acid on berry and seed development in 'Orlando Seedless' grape. HortScience. 23: 409.

- Hale, C. R. and M. S. Buttrose. 1974. Effect of temperature on ontogeny of berries of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99(5): 390-394.
- Ikeda, F., K. Ishikawa, S. Yazawa, and T. Baba. 2000. Induction of compact clusters with larger seedless berries in the grape cultivar 'Fujiminori' by the use of streptomycin, gibberellins and CPPU. Acta Hort. 361-368.
- Lim, S.C., Y. H. Kim, C. K. Youn, and T. Yoon. 2004. Vine growth and fruit quality of 'Kyoho' grape as affected by Mepiquat Chloride and GA. Acta Hort. 653: 145-149.
- Naito, R., K. Miura, and K. Matsuda. 1974. Effect of the probloom application of GA combined with BA and urea on the set and growth of seedless berries in Delaware grapes. J. Japan Soc. Hort. Sci. 43(3): 215-223.
- Nakamura, M., and Y. Hori. 1981. Postharvest berry drop of seedless berries produced by GA treatment in grape cultivar 'Kyoho' I. Relationship between postharvest berry drop and rachis hardness. Tohoku J. Agr. Res. 32(1): 1-30.
- Nakamura, M., E. Takahashi, and T. Noda. 1973. Rachis lignification and seedless berry production in seeded grape 'Kyoho' as influenced by gibberellin and Queroetin. Tech. Bull. Fac. Hort. Chiba Univ. 22: 7-12.
- Perez, F. J. and M. Gomez. 2000. Possible role of soluble invertase in the gibberellic acid berry-sizing effect in 'Sultana' grape. Plant Growth Regul. 30: 111-116.

Effects of Plant Growth Regulators on Fruit Growth and Quality of 'Kyoho' and 'Honey Red' Grapes

Ruei-Jia Lin ¹⁾ Bing-Shiunn Chen ²⁾ Yau-Shiang Yang ³⁾

Key words: Fruit size, Fruit cell

Summary

The objective of this study was to evaluate the influences of plant growth regulators including BA, Cytex, and GA₃ on fruit growth and qualities of 'Kyoho' and 'Honey Red' grapes in summer.

In various treatments of plant growth regulators on 'Kyoho', the treatment of 100 ppm BA contained 4000 ppm Cytex on 3 days before flowering and treated with 12.5 ppm GA₃ and GA₃ 25 ppm on the 15th and 25th day after full bloom, respectively, it was found that the most heavy berry weight was up to 17.1g and more than control 1.5 fold. However, this treatment showed the decrease in total soluble solids, the higher of acidity and lower skin coloration.

In various treatments of plant growth regulators on 'Honny Red', the same treatment with 'Kyoho' showed the most heavy berry weight was up to 14.7g and the control treatment only have 11.8g; but had lower total soluble solids and lighter skin coloration than the control and no significant differences in acidity.

Treatments of BA and Cytex before flowing promoted the number of cell layers in 28~36% of the flesh and skin, treatments of GA₃ after full bloom could enlarge 19~27% of the plup cell thickness.

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

2) Instructor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

貯運溫度與低溫檢疫對極柑果實品質之影響

柏明禮¹⁾ 謝慶昌²⁾

關鍵字：極柑、低溫檢疫、貯運溫度

摘要：極柑果實於低溫檢疫(1°C, 14 天)後，以貯藏於 12、15 和 18°C 下 14 天之果實具有較佳的轉色效率，a 與 a/b 值在模擬貯運結束後均轉為正，L 值、b 值與葉綠素螢光參數的變化也明顯高於其他組，而 6°C 以下的組別於貯運結束後並無顯著的變化，顯示可能受到了低溫的阻礙因而影響了轉色。回溫後各組果實仍持續進行轉色，結果仍以 12°C 以上的組別表現較好，18°C 組果實的色澤較深且偏向橘紅色。各組在全可溶性固形物、可滴定酸含量與糖酸比之間的差異不大，與處理溫度也無明顯的關聯。貯藏於 12、15 與 18°C 的組別具有硬度較低，果蒂脫落率較高的情形。

前 言

極柑(*Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan)為台灣銷往日本販售的主要鮮果之一。由於台灣為東方果實蠅(*Bactrocera dorsalis* Hendel)疫區而日本則否，果實在輸出之前必須經過檢疫處理。日本目前所允許使用的檢疫處理為將果實貯藏在冷藏庫中，使果實中心溫度降至 1°C 且持續貯藏 14 天(劉興韓，2002)。在日本，聖誕節至元旦為水果銷售旺季，台灣外銷之極柑多於半轉色時期採收，此時的果實外觀呈現半黃半綠的顏色，雖然有較佳的風味，外觀上仍然不如外皮完全轉為橙黃色的果實受歡迎(劉等人，2007)。果實在貯藏後仍會持續轉色，因此檢疫結束至產品送達目的地的這段期間，如何使果實擁有最佳的外觀表現，並減少低溫貯藏對其造成的傷害是鮮果外銷的目標。

本研究之目的在於觀察極柑果實於低溫檢疫後，模擬運輸至目的地時，應貯藏於何種溫度下具有最佳的轉色效率和良好的品質。

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。

材料及方法

一、試驗材料與方法

本試驗材料為嘉義縣梅山鄉所生產之極柑，於 11/13 採收後以紙箱裝載送入實驗室，選取大小一致、無外傷之果實進行試驗。果實送回實驗室後，貯藏於 1℃ 冷藏庫中 14 天進行低溫檢疫處理，處理結束後將果實分別放入 1、3、6、9、12、15、18℃ 等 7 個溫度中貯藏 14 天，模擬貯運時的溫度。貯藏結束後取出置於室溫(約 25℃)回溫三天，分別於採收時、檢疫處理、模擬貯運及回溫結束後進行品質測定。每處理 20 重複，每重複一顆果實。

二、調查項目及分析方法

(一) 果皮轉色率

果實以肉眼進行轉色率之判定，分別以 1 至 4 分為標準。1=整顆果實全為深綠色或少部分呈淡黃色，轉色面積 < 25%；2=果實呈現淡綠色或淡黃色，轉色面積 25-50%；3=果實為橙黃色或部份轉為橙紅色，轉色面積 50-75%；4=果實為橙黃或橙紅色，轉色面積 > 75%。

(二) 果實顏色之測定

在果實赤道部位取對稱之兩點，以手持式色差儀(MiniScan® XE Plus, Model 4500S)測定其色澤，所得之值包括 L、a* 和 b* 值。L(明度)代表明暗程度的變化，L 值=100 為白色，0 則為黑色，數值的變化代表其明度的增減；a* 為負值表示顏色偏綠，為正值表示顏色偏紅；b* 為負值表示顏色偏藍，為正值表示顏色偏黃。將 a* 除以 b* 即得 a*/b* 值，用以表示極柑果皮顏色由綠色轉為橙黃或橙紅之程度。

(三) 硬度之測定

果實硬度是以 SUN SCIENTIFIC 公司的 COMPAC-100 綜合物性測定儀進行測量。將果實放置於載物台上，測量位置於果肩對稱的兩點，以壓縮、彈性的非穿刺性感壓軸下壓所需的力道代表果實硬度。測量前模式(MODE)設定為 20，擠壓深度為 10mm，載物台速度為 50cm/min，最大承受重量為 10kg。開始時放置果實的載物台向上移動，直到果實接觸到感應軸時開始計算 10mm，當感應軸下壓達 10mm 便會自動停止，此時的壓力值以 Kg 表示，作為果實硬度的判定。

(四) 全可溶性固形物

將果實切對半後，以手擠取果汁於燒杯中，並以 ATAGO 公司的 PR-32 糖度計測量果汁內全可溶性固形物的含量，單位以 °Brix 表示。

(五) 可滴定酸及糖酸比

將前(四)所述燒杯中的果汁靜置數分鐘，以定量吸管吸取 4ml 並加入 36ml 的純水，以 0.1N 之 NaOH 滴定至 pH 值 8.1 到 8.2 之間，由 NaOH 的滴定量來推算果實中檸檬酸的含量，單位以 g/100ml 表示。將糖度除以酸度所得之比值為糖酸比。

(六) 果實葉綠素螢光測定

測定前果實先進行暗馴化處理(dark adapted)，將果實以不透光的黑布覆蓋 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。連接的探針利用特殊光纖(special fiberoptic 2010-F)瞬間提供飽和脈衝光，並由下列公式計算而得 PS II (photosynthesis system II)活性。 F_o 為最小螢光釋放量， F_m 為螢光釋放最大值， $F_v = F_m - F_o$ ，螢光反應以 F_v/F_m 之值表示。

(七) 果蒂脫落率

以手輕撫果蒂，觀察其脫落與否，並紀錄果蒂脫落的果實占各處理間的比率。

結 果

模擬貯運後， 15°C 的所有果實在外觀上已轉為橙黃色；回溫後以肉眼判斷的結果， 18°C 的組別色澤有偏暗的趨勢。貯藏於 6°C 以上的組別在外觀轉色方面都有明顯轉色，其中 12°C 、 15°C 和 18°C 的 3 個處理，轉色率將近 75%。回溫之後除了 1°C 者變化不大之外，各組別在轉色上也有明顯的增進。結果顯示檢疫後將檳柑果實貯藏於 9°C 以上將有助於轉色，以 12°C 、 15°C 和 18°C 具有最佳的效率(表 1)。模擬貯運後，各組 L 值的部分在檢疫處理期間持續增加，模擬運輸貯藏後以 12°C 以上的組別增加的幅度最大；回溫後以 9°C 者上升最為明顯。其餘組別分作兩部分， 12°C 、 15°C 和 18°C 者較高， 1°C 、 3°C 和 6°C 者較低(表 2)。

果實在檢疫處理前後 a 值的部分變化不明顯，模擬運輸貯藏後， 15°C 和 18°C 的上升幅度最大，而 12°C 、 15°C 和 18°C 已由負轉正，而 1°C 至 6°C 的組別雖然有所上升，但仍為負值，顯示果實轉色受到了抑制(表 3)。b 值部分在模擬運輸貯藏後， 9°C 以上的組別有明顯的上升，代表低溫檢疫後將檳柑果實貯藏於 9°C 以上的溫度具有促進轉色的作用，回溫後則以 12°C 以上的組別上升的值最高(表 4)。在 a/b 方面，以 15°C 和 18°C 上升的幅度最大，回溫後 12°C 以上的組別均轉為正值，顯示 12°C 以上的處理組別其果皮顏色已逐漸褪去綠色(表 5)。各組螢光值均隨著貯藏時間的增加而降低，而模擬運輸貯藏時下降的幅度，除了 1°C 至 6°C 外各組間都有顯著差異，而以 3°C 為最高的組別。回溫後 1°C 至 6°C 仍維持 0.7 以上， 15°C 和 18°C 最低(表 6)。

全可溶性固形物方面在模擬運輸貯藏後，各組間的差異無明顯趨勢，以 1°C 最高(9.3)。回溫後以 1°C 、 3°C 、 6°C 、 9°C 和 15°C 處理者較低， 12°C 者最高，顯示貯藏溫度並不會影響檢疫後檳柑果實之全可溶性固形物含量(表 7)。在可滴定酸含量方面，低溫檢疫前後並無明顯的差異，在模擬貯運期間，除了 1°C 與 15°C 組別外，各組均有下降的情形，但之間的變化趨勢並不明顯。回溫後各組含量均有下降，除了 1°C 組別以外，檢疫後檳柑果實貯藏在高於 9°C 下，可滴定酸含量似乎有較低的趨勢。糖酸比部分，低溫檢疫前後與模擬貯運期間的變化並不明顯。回溫後各組別都有上升的情形，以 1°C 和 12°C 的組別變化最大(表 8、9)。

在檢疫處理後果實硬度有明顯下降的情形，以 15℃ 的幅度最大，其餘組別之間則無顯著差異。回溫後所有組別都有上升的現象，以 6℃ 和 9℃ 者為最高(表 10)。在檢疫處理後少數果實有果蒂脫落的現象，模擬運輸貯藏後 1 至 9℃ 沒有果蒂脫落的現象，12℃ 以上的組別果蒂脫落率均大於 50%，以 18℃ 的組別最高。回溫後所有組別都有果蒂脫落的情形，1 到 9℃ 的組別低於 50%，其餘 3 組仍然較高，但以 12℃ 的表現較好(60%)(表 11)。試驗期間並無發生果實腐爛的情形，因此無數據的呈現。

表 1. 貯運溫度與低溫檢疫對椪柑果實轉色率之影響

Table 1. Effect of transportation temperature on the peel yellow index of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	Yellow rate ^y			
	At harvest	1°C -14 days	14 days transport	25°C -3 days
1	3.0	2.0	2.3 c ^z	2.4 d
3	3.0	2.0	1.9 d	2.3 d
6	3.0	2.0	2.4 c	2.9 c
9	3.0	2.0	3.1 b	3.5 b
12	3.0	2.0	3.9 a	4.0 a
15	3.0	2.0	4.0 a	4.0 a
18	3.0	2.0	4.0 a	4.0 a

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

^yYellow index: 1= yellowing area from 0 to 25%; 2= 25 to 50%; 3= 50 to 75%; 4= 75 to 100%.

表 2. 貯運溫度與低溫檢疫對椪柑果皮 L 值之影響

Table 2. Effect of transportation temperature on the peel L value of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	L value			
	At harvest	1°C -14 days	14 days transport	25°C -3 days
1	40.2	42.7	43.0 cd ^z	45.7 c
3	40.2	42.7	41.6 d	45.1 c
6	40.2	42.7	44.7 c	46.1 c
9	40.2	42.7	49.8 b	53.8 b
12	40.2	42.7	57.2 a	57.9 a
15	40.2	42.7	58.7 a	58.9 a
18	40.2	42.7	58.4 a	59.5 a

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 3. 貯運溫度與低溫檢疫對極柑果皮 a*值之影響

Table 3. Effect of transportation temperature on the peel a* value of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	a* value			
	At harvest	1°C-14 days	14 days transport	25°C-3 days
1	-8.9	-8.8	-6.8 d ^z	-4.8 d
3	-8.9	-8.8	-8.5 d	-6.2 d
6	-8.9	-8.8	-6.9 d	-5.1 d
9	-8.9	-8.8	-3.4 c	3.8 c
12	-8.9	-8.8	6.2 b	14.3 b
15	-8.9	-8.8	12.3 a	15.7 ab
18	-8.9	-8.8	11.4 a	16.3 a

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. 貯運溫度與低溫檢疫對極柑果皮 b*值之影響

Table 4. Effect of transportation temperature on the peel b* value of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	b* value			
	At harvest	1°C-14 days	14 days transport	25°C-3 days
1	43.1	46.2	46.9 d ^z	47.6 c
3	43.1	46.2	43.2 e	47.2 c
6	43.1	46.2	47.3 d	47.9 c
9	43.1	46.2	53.5 c	59.2 b
12	43.1	46.2	64.0 b	66.7 a
15	43.1	46.2	67.9 a	65.9 a
18	43.1	46.2	64.8 b	67.3 a

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 5. 貯運溫度與低溫檢疫對椪柑果皮 a/b 值之影響

Table 5. Effect of transportation temperature on the peel a/b value of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	a/b ratio			
	At harvest	1°C -14 days	14 days transport	25°C -3 days
1	-0.22	-0.20	-0.16 d ^z	-0.11 c
3	-0.22	-0.20	-0.20 e	-0.14 c
6	-0.22	-0.20	-0.16 d	-0.12 c
9	-0.22	-0.20	-0.08 c	0.05 b
12	-0.22	-0.20	0.09 b	0.21 a
15	-0.22	-0.20	0.18 a	0.24 a
18	-0.22	-0.20	0.18 a	0.24 a

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 6. 貯運溫度與低溫檢疫對椪柑果實葉綠素螢光參數之影響

Table 6. Effect of transportation temperature on the peel Fv/Fm value of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	Fv/Fm			
	At harvest	1°C -14 days	14 days transport	25°C -3 days
1	0.784	0.771	0.732 a ^z	0.703 a
3	0.784	0.771	0.750 a	0.726 a
6	0.784	0.771	0.739 a	0.704 a
9	0.784	0.771	0.704 b	0.626 b
12	0.784	0.771	0.669 c	0.586 c
15	0.784	0.771	0.619 d	0.530 d
18	0.784	0.771	0.567 e	0.550 d

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 7. 貯運溫度與低溫檢疫對椪柑果實全可溶性固形物之影響

Table 7. Effect of transportation temperature on the total soluble solid of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	Total soluble solid (° Brix)			
	At harvest	1°C -14 days	14 days transport	25°C -3 days
1	9.4	9.0	9.3 a ^z	8.8 abc
3	9.4	9.0	9.1 a	8.9 abc
6	9.4	9.0	8.9 a	8.8 abc
9	9.4	9.0	8.8 a	8.6 bc
12	9.4	9.0	9.0 a	9.5 a
15	9.4	9.0	9.2 a	8.3 c
18	9.4	9.0	8.9 a	9.1 ab

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 8. 貯運溫度與低溫檢疫對椪柑果實可滴定酸之影響

Table 8. Effect of transportation temperature on the titratable acidity of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	Titratable acidity(%)			
	At harvest	1°C -14 days	14 days transport	25°C -3 days
1	0.69	0.67	0.67	0.52
3	0.69	0.67	0.65	0.60
6	0.69	0.67	0.61	0.59
9	0.69	0.67	0.60	0.55
12	0.69	0.67	0.65	0.53
15	0.69	0.67	0.67	0.55
18	0.69	0.67	0.62	0.58

表 9. 貯運溫度與低溫檢疫對極柑果實糖酸比之影響

Table 9. Effect of transportation temperature on the TSS/TA of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	TSS/TA			
	At harvest	1°C-14 days	14 days transport	25°C-3 days
1	13.67	13.52	13.79	16.80
3	13.67	13.52	13.99	14.83
6	13.67	13.52	14.66	14.83
9	13.67	13.52	14.75	15.57
12	13.67	13.52	13.86	17.82
15	13.67	13.52	13.69	15.26
18	13.67	13.52	14.29	15.89

表 10. 貯運溫度與低溫檢疫對極柑果實硬度之影響

Table 10. Effect of transportation temperature on the firmness of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	Firmness (kg)			
	At harvest	1°C-14 days	14 days transport	25°C-3 days
1	7.53	5.65	4.73 a ^z	4.83 b
3	7.53	5.65	4.86 a	4.99 ab
6	7.53	5.65	4.88 a	5.43 a
9	7.53	5.65	4.74 a	5.32 a
12	7.53	5.65	4.79 a	4.81 b
15	7.53	5.65	3.99 b	4.53 b
18	7.53	5.65	4.58 a	4.65 b

^zMean separation within columns is by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 11. 貯運溫度與低溫檢疫對極柑果實果蒂脫落率之影響

Table 11. Effect of transportation temperature on the button abscission rate of 'Pokan' fruit.

Transporting Temperature (°C)	Button abscission rate(%)			
	At harvest	1°C -14 days	14 days transport	25°C -3 days
1	0	10	0	25
3	0	0	0	25
6	0	0	0	35
9	0	0	0	45
12	0	0	60	60
15	0	0	65	85
18	0	0	85	85

討 論

Hasegawa 和 Iba(1983)認為極柑果實在 15 到 20°C 下貯藏是最適合果實轉色的溫度，劉等人(1998a)也指出極柑果實在 15°C 下長期貯藏能最快轉為橙黃色。試驗結果顯示各組別轉色的速率在模擬運輸以及回溫後大約可分為 3 部分，以 15 及 18°C 組別最快，亮度與色澤的表現也較佳。黃與劉(2007)指出不同成熟度之極柑果實，達到轉色速率最快的貯藏溫度也不同，其中又以 12°C 組別轉色速率最快。劉等人(1998a, 1998b, 2001)指出貯藏溫度對極柑果皮的色澤有影響，在 20°C 長期貯藏的極柑果皮偏淡黃而缺乏橙紅色素，在 15°C、12.5°C 及 10°C 下貯藏均能形成深橙黃(帶紅)色，其中又以 15°C 最佳。由以上結果認為檢疫處理後，極柑果實放置在 12 至 18°C 下均能達到快速轉色的目的，其中置於 18°C 下的果實顏色較深，外觀呈色傾向橘紅色。

在全可溶性固形物、可滴定酸、糖酸比與硬度部分，各組的結果與貯藏的溫度並沒有明顯的相關性，試驗中也無果實腐爛的情形。學者認為極柑貯藏於 12.5°C 下過久，部分果實會有異味產生。只要在可容許的範圍內，貯藏於 12.5 到 15°C 甚至更低溫對於風味而言是較佳的貯藏溫度(劉等，2001)。學者認為果蒂老化變褐色甚至脫落容易增加蒂腐病所引起的腐爛(Grierson *et al.*, 1986)，劉等人認為(1998, 1998a, 2001)20°C 的高溫貯藏會造成極柑果實腐爛率及失重率過高、綠蒂率也較低的情形。試驗中發現極柑果蒂脫落率以 18°C 最嚴重，可推測這些果實若經過回溫，脫落率可能比其他組別來得更高，由此可知檢疫處理可能對果實產生了影響，在回溫後導致果蒂快速老化或失水引起脫落的現象。柑橘果實主要以轉色程度作為民眾挑選的主要考量，因此考慮以上結果後，12 到 15°C 之間似乎為較佳的選擇。另外果蒂脫落的傷害，可於貯藏前使用 2,4-D 於果蒂，以維持顏色並防止脫落

的情形(劉等，2007)。

椪柑果實若欲提早採收或外銷，經低溫檢疫後可貯藏於 12 至 15℃作為運輸時的溫度，不但能達到良好轉色的效果，也可減少乙烯在催色的使用，增加使用上的便利性以及減少成本的消耗。

參 考 文 獻

- 劉富文、韓青秀。2002。低溫檢疫處理引起之椪柑果皮傷害。中國園藝 48: 107-115。
- 劉富文、黃祐慈、梁穎芝。2007。椪柑用乙烯催色之效果與方法。臺灣園藝 53: 395-407。
- 劉富文、王自存、潘靜慧。1998a。椪柑、桶柑及柳橙在採收季節之成熟特性。中國園藝 44: 265-273。
- 劉富文、潘靜慧、薛淑滿、洪紫馨。1998b。採收成熟度及貯藏溫度對椪柑貯藏壽命之影響。中國園藝 44: 239-253。
- 劉富文、薛淑滿、洪紫馨。2001。貯藏溫度與套袋方式對椪柑、桶柑貯藏損失及貯藏後品質之影響。中國園藝 47: 388-390。
- Grierson, W., E. Cohen, and H. Kitagawa. 1986. Degreening. p. 253-274. In: Wardowski, W. F. S. Nagy and W. Grierson (eds.). Fresh citrus fruits. AVI, Van Nostrand Co. New York.
- Hasegawa, Y. and Y. Iba. 1983. The effects of storage temperature on the quality of citrus fruit. I : Color change of the citrus peel during storing. Bull. Fruit Tree Res. Stn. B. 10: 119-128.

Effects of Transportation Temperature and Cold Quarantine on the Quality of 'Ponkan' (*Citrus reticulata* Blanco) Fruits.

Ming-Li Bo ¹⁾ Ching-Chang Shiesh ²⁾

Key words: *Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan, Cold quarantine, Transportation temperature

Summary

After the cold quarantine treatment at 1°C for 14 days, the coloration was enhanced when the fruits were stored at 12°C, 15°C, and 18°C. Also, the changes of the L, a, b, a/b, and Fv/Fm were obviously after stimulating transportation storage and rewarming, while the fruits stored at 1°C, 3°C and 6°C showed a poor coloration on the peel. It might be inhibited under low temperature circumstances. The best result indicated on the fruits stored at 12°C, and the color of the ones stored at 18°C was darker and approaching orange after rewarming. Total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA) and TSS/TA were not affected significantly by different temperature storage, however, the results showed lower firmness and higher button abscission rate on the fruits stored at 18°C. Therefore, storing ponkan fruits at 12°C to 15°C showed better coloration and effects.

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

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

油菜素內酯(Brassinolide)在小白菜栽培之利用

郭 濰 如¹⁾ 宋 妤²⁾ 張 武 男³⁾

關鍵字：小白菜、油菜素內酯、水分逆境、地上部鮮重

摘要：苗齡 15 天小白菜定植前 3 天以 0.1-0.05 mg L⁻¹ 油菜素內酯處理，對小白菜定植後生育有顯著之影響，在十月施用，定植後 7 和 14 天，無藥劑處理之對照組地上部鮮重均顯著較低，而 0.1 和 0.05 mg L⁻¹ 處理濃度無差異，到定植後 21 天，2 個處理組與對照組單株鮮重差異不顯著。在十一月使用，自定植苗與至定植後 21 天，處理組與對照組之地上部鮮重差異均不顯著。十二月份油菜素內酯處理對小白菜定植後生育影響與十月份試驗結果相反，定植後 21 天，處理濃度間差異不顯著，但地上部鮮重均顯著低於對照組。土壤水分潛勢維持在 -0.04 至 -0.02 MPa 中栽培，處理組與對照組間地上部鮮重和乾重差異均不顯著，但濃度 0.1 mg L⁻¹ 處理者有稍高地上部鮮重之趨勢。水分潛勢維持在 -1.38 至 -0.86 MPa 之乾燥土壤中栽培，處理組與對照組間地上部鮮重和乾重均顯著高於對照組，處理間無顯著差異，但以濃度 0.05 mg L⁻¹ 處理者地上部鮮重有稍高之趨勢。

前 言

小白菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*)，原產於中國華南地區，因生育期短，栽培容易，為本省重要葉菜類蔬菜之一，葉片薄且面積大，根部纖細，分佈於土壤淺層，因此不耐旱，亦不耐淹水(陳和沈，1995)。

油菜素內酯(brassinolide, BR)是芸苔甾類(Brassinosteroides, BRs)中具有非常高生物活性之化合物(Yang *et al.*, 1999)，為一種甾醇類物質(Grove *et al.*, 1979)，由日本學者九茂晉吾於 1968 年首次由蚊母樹(*Distylium racemosum* Sieb. & Zucc.)葉中提取，廣泛的存在於植物中(侯和李，2001)，為植物正常生長發育中不可或缺的物質，因此被列為植物的第六大類激素(Miklos *et al.*, 1996)。

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生(通訊作者)。

2, 3) 國立中興大學園藝學系教授、兼任教授。

油菜素內酯對植物具有促進生長、提高逆境抗性功能(丁等, 1995)。對促使甜椒(Martine *et al.*, 1998)、大豆(Clouse *et al.*, 1992)之上胚軸, 與油菜幼苗下胚軸(何等, 1995)之伸長均有顯著效果, 亦可促進芹菜(王等, 1988)和菠菜(梁等, 1998)之生長, 提高黃瓜(劉等, 1996)、西瓜(王等, 1994)、番茄(唐等, 1996)之結果率與產量。許多研究指出, 油菜素內酯在減輕或克服逆境有顯著效果, 例如小麥經 22S- 和 23S- 高油菜素內酯(homobrassinolide)處理, 可提高在高溫下之蛋白質合成 (Kulaeva *et al.*, 1991), 番茄以 24-表油菜素內酯(24-Epibrassinolide)處理, 能提高對高溫之耐性與產量 (Singh and Shono, 2005); 24-表油菜素內酯可減輕低溫逆境對茄子、胡瓜和玉米之影響(Mandava, 1988; He *et al.* 1991), 降低低溫下水稻之丙二醛(MDA)含量、減緩超氧歧化酶(SOD)活性降低、增加脯氨酸(proline)含量, 提高水稻對寒害之抗性(Wang and Zeng, 1993), 並提高水稻之高度、根長、根量和生物量(Hirai *et al.*, 1991)。在鹽分逆境下, 24-表油菜素內酯可預防小麥核酸和葉綠素之降解(Kulaeva *et al.*, 1991)和促進水稻種子發芽, 提高高度、鮮乾重和可溶性蛋白質含量(Anuradha and Rao, 2001), 也可促進赤桉(*Eucalyptus camaldulensis*)種子在鹽分逆境下之發芽(Sasse *et al.*, 1995)。植物在水分逆境下, 油菜素內酯可提高根甜菜在乾旱下之軸根重、蔗糖含量和產量(Schilling *et al.*, 1991), 顯著提高在淹水逆境下小麥葉片之相對水分含量、葉綠素A含量、光合作用速率、葉面積和生物量(Sairam, 1994)。由於油菜素內酯可增強植物根系的吸水性能, 穩定膜系統的結構功能, 維持較高的能量代謝, 調節細胞內生長環境, 促進正常的生理生化代謝, 從而增強植物的抗逆性, 所以也被稱為逆境條件下的緩衝劑(韓等, 2007)。

現許多適應不同氣候之小白菜品系可供周年栽培利用, 但耐熱性強品系之生育適溫仍為 20-25℃(陳和沈, 1995), 雖可於本省之夏季前後播種栽培, 但本省夏季之高溫常在 30℃以上, 致使品質與產量下降, 且偶有連續陰雨或豪雨之侵襲, 造成極大之損耗, 影響市場之供應。本試驗以油菜素內酯處理小白菜穴盤苗後, 在不同月份與土壤水分中栽培, 比較定植後生育之差異, 探討油菜素內酯對小白菜對抗逆境能力之影響。

材 料 與 方 法

一、不同月份栽培

試驗分別於 2007 年 10 月 10 日、11 月 21 日與 12 月 26 日播種, 以'三鳳二號'小白菜(農友種苗公司, 台灣)為供試材料, 以 128 格 PE 穴盤育苗, 1 穴 1 株。於播種後第 12 天, 以含油菜素內酯濃度 0.1 與 0.05 mg L⁻¹ 之 2 g/L Peters 20-10-20 養液, 以葉面噴施方式處理, 對照組噴施不含油菜素內酯養液, 每穴盤噴灑 500 ml。於播種後第 15 天移植, 定植於以砂質壤土為介質之 5 吋黑色軟盆, 一盆一株。

分別於定植日和定植後 7、14、21 天調查，以單株為重複，每處理 8 株，數據以 ANOVA (Analysis of Variance) 進行變方分析，平均值以最小顯著差異法(The least significant difference method)分析，檢測其在 5% 差異水準下之顯著性。

二、不同土壤水分

試驗於 2007 年 10 月 10 日開始播種進行，供試材料、育苗方法、定植苗齡與油菜素內酯處理方法同上之試驗。定植栽培容器為內底部有網孔襯墊之白色塑膠栽植槽 (60×17×15 cm)，每槽定植 5 株。

槽內土壤水分之管理為於定植前 3 天，將微乾之沙質壤土裝入至約 9 分滿，輕微震動使土壤適當密實，並開啟底部排水孔。介質裝填後移置於具遮雨功能之網室培育植床，開始土壤水分含量控制，依試驗之設計，以槽為單位，分別給予每天 200、400、600 ml 之 3 種不同灌溉水量，供水時間於每日傍晚進行，以手持噴霧器將設計之水量均勻噴施於槽內土壤表面。土壤水分狀態調查分別於定植日與定植後 7、14 日澆水前進行，採取土面下 2-3 cm 處之土壤，採樣時避免傷及根系，含水量測定為土壤濕重秤量後，再以 105℃ 烘乾 72 hr 後測定土壤乾重換算之，土壤水分潛勢以 WP-4T (Bioschrom Ltd. U.K.) 露點水分潛勢儀測定，每處理 5 重複，試驗期間介質水分狀態如表 1。

植株生育情形調查為定植後 14 天採收地上部，測量鮮重後，以 70℃ 烘乾 72hr 後測定乾重。

表 1 灌溉水量與土壤水分狀態之關係

Table 1 Relationship between irrigation amount and soil water in pot.

Amount of irrigation (ml/pot/day)	Days after transplanting		
	0	7	14
water capacity (%)			
600	36.32 a*	35.42 a	35.10 a
400	28.78 b	30.50 a	29.20 b
200	17.36 c	15.18 b	16.80 c
water potential (MPa)			
600	0.00 a	0.00 a	0.00 a
400	-0.02 a	-0.04 a	-0.04 a
200	-0.86 b	-1.38 b	-1.30 b

*同項目內為鄧肯氏多變域顯著性測驗 $p=0.05$ ，英文字母相同表無顯著差異。

*Means in column of item followed by the same letter are not significantly different by Duncans's multiple range test at 0.05 level.

結 果

一、栽培月份

試驗結果顯示，油菜素內酯處理對小白菜生育之影響會因栽培氣候而有差異，而在濃度 0.1 與 0.05 mg L⁻¹ 處理間，不同栽培月份施用，對小白菜之地上部生育與相對生長率差異均不顯著(圖 1 和圖 2)。

十月試驗中，定植後 7 天，油菜素內酯濃度 0.1 和 0.05 mg L⁻¹ 之處理與對照組單株鮮重分別為 6.20、5.69、5.23g，以對照組顯著較低，且相對生長速率與油菜素內酯施用濃度成正相關，以 0.1 mg L⁻¹ 處理者為最高，0.05 mg L⁻¹ 處理者次之，對照組最低，分別為 0.58、0.53 和 0.45 g g⁻¹day⁻¹；至定植後 14 天，對照組因相對生長素率明顯低於處理組，地上部鮮重也顯著最低，而二個濃度處理之定植株間差異極不顯著，定植後 14 天之油菜素內酯處理濃度 0.1 和 0.05 mg L⁻¹ 與對照組單株鮮重和相對生長速率分別為 21.56、21.48、15.08g 和 2.19、2.26、1.41 g g⁻¹day⁻¹；定植後 14 到 21 天，對照組之相對生長速率顯著提高，並高於 2 個處理組，在定植後 21 天，油菜素內酯濃度 0.1、0.05 mg L⁻¹ 處理與對照組單株鮮重分別達 50.33、49.05、47.05 g，差異不顯著。

十一月栽培時，處理組與對照組之穴盤苗與至定植後 14 天植株，地上部鮮重與相對生長素率差異均不顯著，定植後 14 到 21 天，相對生長速率與油菜素內酯施用濃度成正相關之趨勢，在定植後 21 天，油菜素內酯濃度 0.1、0.05 mg L⁻¹ 處理與對照組之單株鮮重分別為 50.05、47.00 與 46.33 g，差異也未達顯著水準。

十二月份試驗與十月份試驗之油菜素內酯處理對小白菜定植後生育影響成相反之結果，除定植時穴盤苗之地上部鮮重，以油菜素內酯濃度 0.1 mg L⁻¹ 處理顯著，外；定植後 7 至 21 天調查結果，對照組之地上部鮮重與相對生長速率均顯著高於二個油菜素內酯濃度處理之植株，至定植後 21 天，對照組之地上部鮮重達 50.58 g，不同濃度之油菜素內酯處理間無顯著差異，濃度 0.1 和 0.05 mg L⁻¹ 處理之單株地上部鮮重分別為 33.15、33.57 g。

二、土壤水分

小白菜穴盤苗以濃度 0.1 和 0.05 mg L⁻¹ 油菜素內酯處理後，在不同水分條件之土壤中定植，14 日後調查地上部鮮重和乾重之結果如圖 3 和圖 4。

在栽培槽每天供應 400 ml 水量之水分條件下栽培，穴盤苗以 0.1 mg L⁻¹ 油菜素內酯處理之小白菜，於定植後 14 天，地上部鮮重和乾重均有較高之趨勢，但不同濃度和對照組 3 者間差異不顯著，處理濃度 0.1、0.05 mg L⁻¹ 和對照組之地上部鮮重與乾重分別為 40.03、34.22、35.75g 與 1.6792、1.4738、1.4733 g；在每天灌溉 600 ml 之含水維持飽和土壤中栽培，油菜素內酯處理者有顯著較高之地上部鮮重，以 0.1 和 0.05 mg L⁻¹ 處理分別為 48.84 和 45.11 g，濃度處理間無顯著差異，對照組顯著較低，為 35.46 g，地上部乾重也與處理之油菜素內酯濃度成正相關，分別為 1.6958、1.5482、1.4781 g，但統計上無顯著差異；

在每日以 200 ml 較低灌溉量之栽培植株，定植後 14 日，油菜素內酯處理植株之地上部鮮重和乾重均顯著高於對照組，處理濃度 0.1、0.05 mg L⁻¹ 與對照組三者之地上部之鮮重與乾重分別為 22.37、27.87、13.27 與 13.71、13.29、0.90 g。

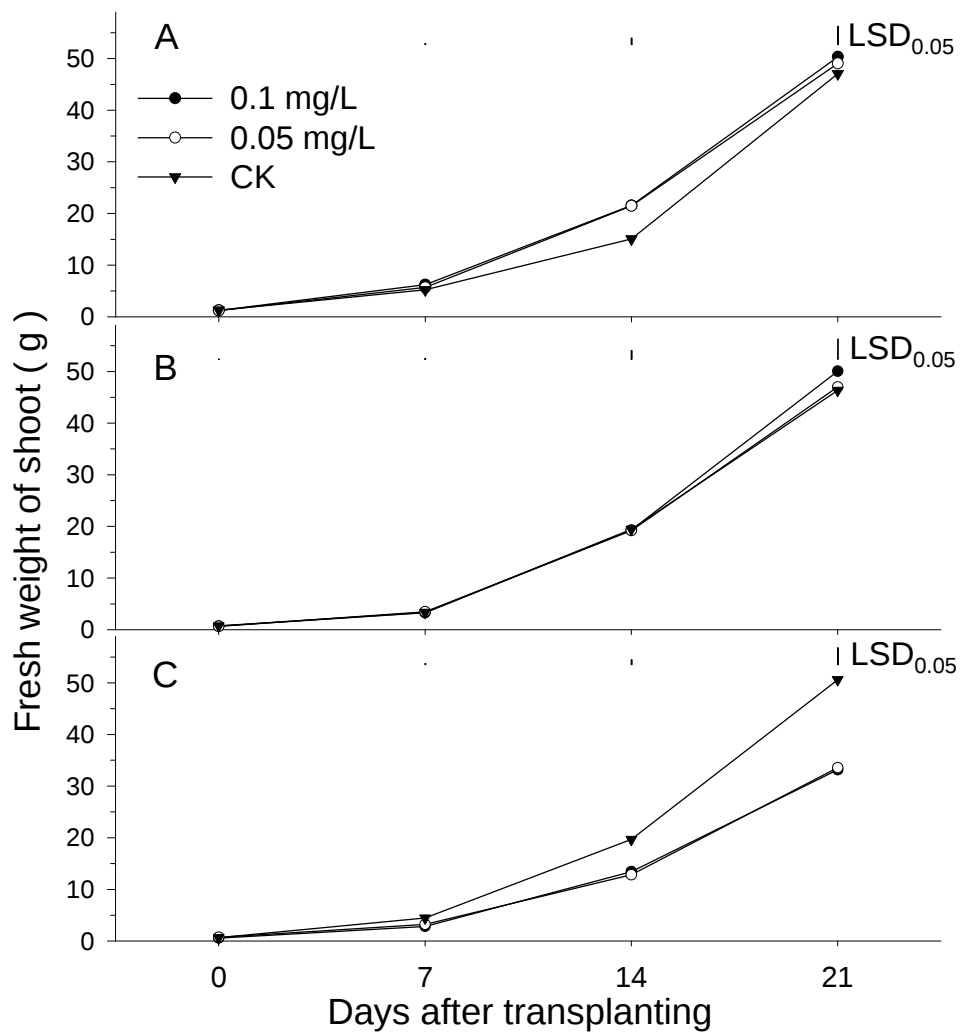


圖 1. 油菜素內脂對不同時期栽培小白菜生育之影響

A：十月栽培; B：十一月栽培; C：十二月栽培

Fig. 1. Effect of brassinolide on the growth of 'Pak-Choi' in three different months.

A: October crops; B: November crops; C: December crops

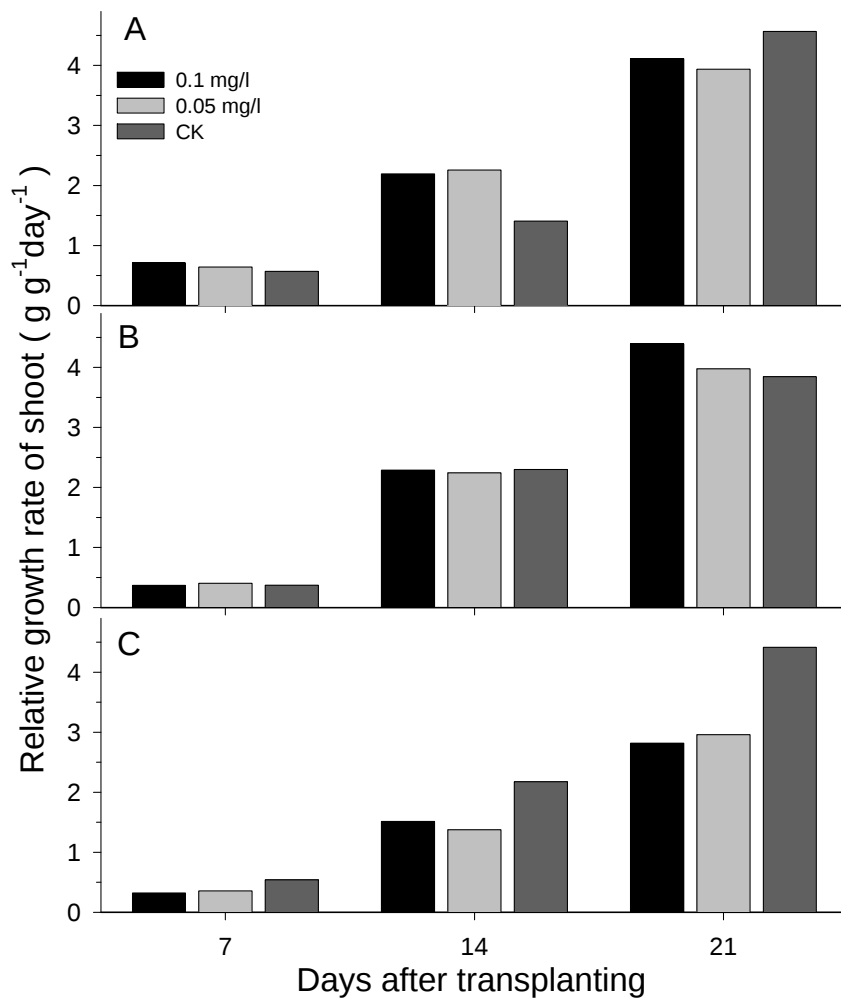


圖 2. 油菜素內脂對不同時期栽培小白菜地上相對生長速率之影響

A：十月栽培;B：十一月栽培;C：十二月栽培

Fig. 2. Effect of brassinolide on the relative growth rate of shoot of 'Pak-Choi' in three different months.

A: October crops; B: November crops; C: December crops

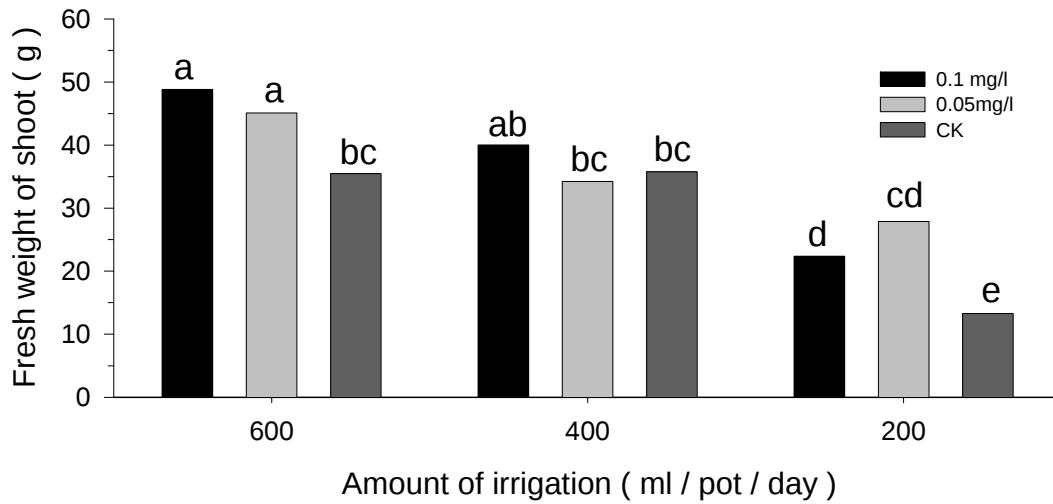


圖 3. 油菜素內酯對小白菜在不同土壤水分狀態栽培 14 天地上部鮮重之影響

Fig. 3. Effect of brassinolide on the fresh weight of shoot of 'Pak-Choi' after transplant 14 days in varied soil water status.

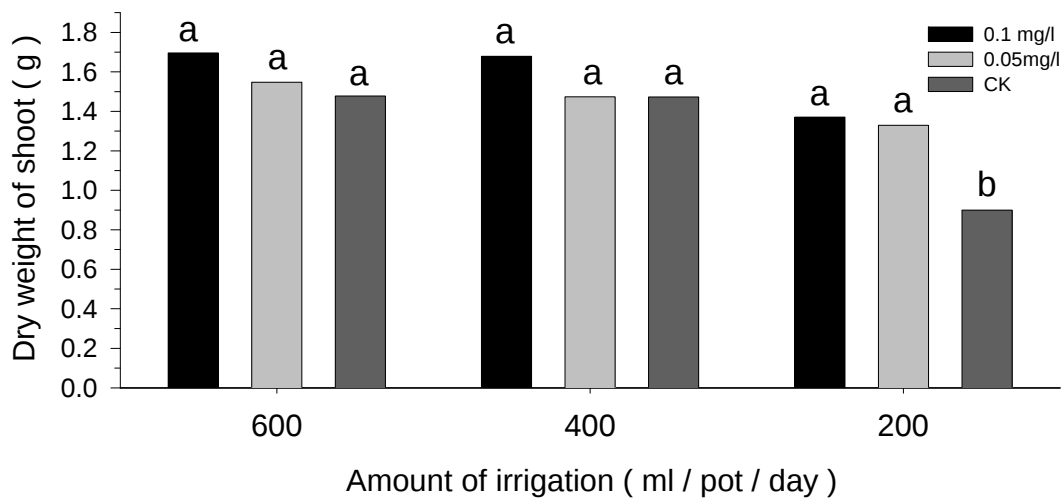


圖 4. 油菜素內酯對小白菜在不同土壤水分狀態栽培 14 天地上部乾重之影響

Fig. 4. Effect of brassinolide on the dry weight of shoot of 'Pak-choi' after transplant 14 days in varied soil water status.

討 論

一、栽培季節

從 10、11、12 月之三次試驗結果知，對照組之地上部生育以 12 月播種栽培者最高，顯示'鳳京'小白菜之生育受到氣溫影響極大，並以在較冷涼之季節栽培為佳。'鳳京'小白菜在 10 月穴盤育苗後栽培時，在定植前三天以濃度 0.1 和 0.05 mg L⁻¹ 之油菜素內酯行葉面噴佈處理，可促進定植後之生育，並顯著優於對照組，且使在 10 月栽培之生育與 12 月未處理之栽培相近；11 月之相同試驗中，結果處理組與對照組間無差異，12 月之栽培，以無藥劑處理之對照組生育顯著較佳，由此可知，小白菜定植前 3 天，以濃度 0.05 mg L⁻¹ 或 0.01 mg L⁻¹ 之油菜素內酯處理，在較高溫時期有顯著促進生育效果，地上部生育與低溫時之對照組相近；但在低溫期施用，顯著抑制小白菜之生育，而在 0.05 mg L⁻¹ 與 0.1 mg L⁻¹ 處理濃度間差異均不顯著。

二、土壤水分

學者侯和李(2001)指出，油菜素內酯促進植物的生長之機制在於促使細胞壁鬆弛，擴大細胞體積，並能促進光合作用，提高核酸、蛋白質的代謝，以作為細胞伸長之基質，還可促進細胞的分裂，以攝入更多之水分和養分，而 Wang 和 Zeng (1993)指出，油菜素內酯之能提高水稻對低溫之抗性，歸因於可促使膜系穩定和滲透勢調控。

土壤水分逆境下，油菜素內酯濃度 0.05-0.1 mg L⁻¹ 處理，具有促進小白菜生育之顯著效果，小白菜以 128 格穴盤育苗 15 天中，在播種後第 12 天，處理 0.05-0.1 mg L⁻¹ 之油菜素內酯，在水分潛勢為 0 MPa，維持飽和含水狀態之土壤中栽培，定植後 14 天，地上部鮮重顯著高於對照組，地上部乾重差異不顯著，在土壤維持濕潤狀態，水分潛勢為-0.2 至 -0.4 MPa 下，處理組與對照組間地上部鮮、乾重差異均不顯著，定植於水分潛勢為-0.86 至-1.38 MPa 之維持乾燥土壤，處理組與對照組地上部鮮、乾重均低於土壤維持濕潤或飽和含水之植株，其中以油菜素內酯 0.05 mg L⁻¹ 處理者與土壤維持濕潤下之對照組差異不顯著，對照組顯著最低，定植後 14 天，鮮重只達 13.27 g。

試驗結果顯示，油菜素內酯對高溫期或土壤水分過高或乾旱時，小白菜之生育有顯著促進效果，由不同栽培時期和不同土壤水分條件之試驗結果得知，0.05 與 0.1 mg L⁻¹ 間差異均不顯著，在低水分潛勢下栽培，0.05 mg L⁻¹ 處理有較佳之表現，故在小白菜栽培時，推薦使用油菜素內酯濃度為 0.05 mg L⁻¹，且低溫期應避免使用，在使用時機，試驗方式為穴盤育苗，於定植前 3 天處理，故實際栽培時，於高溫期或水分逆境來臨前施用油菜素內酯可降低逆境造成之損失，惟油菜素內酯其作用機制與安全性，有待進一步探討。

參考文獻

- 丁景新、馮國瑞、黃素青、葉孟兆。1995。表油菜素內酯對黃瓜的生理效應。浙江農業大學學報。21: 615-621。
- 王玉琴、羅文華、趙毓橘。1988。表油菜素內酯對芹菜生長的影響。植物生理學通訊。1: 29-31。
- 王玉琴、羅文華、徐如娟、趙毓橘。1994。表油菜素內酯對西瓜生長和產量性狀的影響。植物生理學通訊。6: 423-425。
- 何宇炯、徐如涓、趙毓橘。1995。表油菜素內酯對油菜幼苗生長及其可溶性糖和蛋白質含量的影響。植物生理學通訊。31: 37-39。
- 侯雷平、李梅蘭。2001。油菜素內脂(BR)促進植物生長機理研究進展。植物學通報。18: 560-566。
- 唐嘉義、楊美林、聞壽、李宗全。1996。BR-120 在番茄上的應用效果。長江蔬菜。2: 30-32。
- 陳甘澍、沈再發。1995。小白菜-台灣農家要覽 農作篇(二)。pp.317-322。豐年社。台北。
- 梁廣堅、李芸瑛、邵玲。1998。DA-6和BR+GA₃對菠菜生長和光合速率的影響。園藝學報。25: 356-360。
- 劉永正、黃海祥、孫釗磊。1996。表油菜素內酯對黃瓜營養生長和產量的影響。植物生理學通訊。3: 2-12。
- 韓剛、孫楠、李凱榮。2007。油菜素內酯對沙棘和紫穗槐苗木水分生理的效應。西北農林大學學報(自然科學版)。35: 95-100。
- Anuradha, S. and S. S. R. Rao. 2001. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedlings growth of rice (*Oryza sativa* L). Plant Growth Reg. 33:151-153.
- Clouse, S. D., M. Z. Daniel, and M. E. Baker. 1992. Effect of brassinolide on gene expression in elongating soybean epicotyls. Plant Physiol. 100: 1377-1383.
- Grove, M. D., G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. B. Mandava, J. F. Worley Jr., J. D. Warthen, G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anderson, and J. C. Cook Jr. 1979. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* L. pollen. Nature 281:216-217.
- He, R.Y., G. J. Wang, and X. S. Wang. 1991. Effects of brassinolide on growth and chilling resistance of maize seedlings. In: Cultler HG, Yokota T, Adam G (eds) Brassinosteroids—chemistry, bioactivity and application. ACS Symp Ser American Chemical Society, Washington, p. 220-230.
- Hirai, K., S. Fujii, and K. Honjo. 1991. The effect of brassinolide on ripening of rice plants under low temperature condition. Jap. J. Crop Sci. 60(1):29-35.

- Kulaeva, O. N., E. A. Burkhanova, and A. B. Fedina. 1991. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plantcell ultrastructure under stress conditions. In: Cultler HG, Yokota T, Adam G (eds) Brassinosteroids—chemistry, bioactivity and application. ACS Symp Ser American Chemical Society, Washington. p. 141–157.
- Mandava, N. B. 1988. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39:23–52.
- Martine, F. D., Q. Y. Wang, B. T. Sofia, and R. N. Beachy. 1998. In vitro stem elongation of sweet pepper in media containing 24-epi-brassinolide. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 53: 79-84.
- Miklos, S., N. Kinga, K. K. Zsuzsanna, and J. Mathur. 1996. Brassinosteriod rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in *Arabidopsis*. *Cell.* 85: 171-182.
- Sairam, R. K. 1994. Effect of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regul.* 14: 173–181.
- Sasse, J.M., R. Smith, and I. Hudson. 1995. Effect of 24-epibrassinolide on germination of seeds of *Eucalyptus camaldulensis* in saline conditions. *Proc. Plant Growth Reg. Soc. Amer.* 22: 136–141.
- Schilling, G., C. Schiller, and S. Otto. 1991. Influence of brassinosteroids on organ relation and enzyme activities of sugar beet plants. In: Cultler HG, Yokota T, Adam G (eds) Brassinosteroids—chemistry, bioactivity and application. ACS Symp Ser American Chemical Society, Washington. p. 208–219.
- Singh, I. and M. Shono. 2005. Physiological and molecular effects of 24-epibrassinolide, a brassinosteroid on thermotolerance of tomato. *Plant Growth Reg.* 47:111–119.
- Wang, B. and G. Zeng. 1993. Effect of epibrassinolide on the resistance of rice seedlings to chilling injury. *J. Plant Physiol.* 19:53–60.
- Yang, Y. H. , H. Zhang, and R. Q. Cao. 1999. Effect of brassinolide on growth and shikonin formation in cultured *Onosma paniculatum* cells. *J. Plant Growth Reg.* 18:89–92.

Utilization of Brassinolide on 'Pak-Choi' (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*) Crops

Wei-Ru Kuo¹⁾ Yu Sung²⁾ Woo-Nang Chang³⁾

Key words: 'Pak-Choi', Brassinolide, Water stress, Shoot fresh weight

Summary

The 'Pak-Choi' seedling grows for 15 days in 128 cells tray. The seedling was treated with the 0.1-0.05 mg L⁻¹ of brassinolide before transplanting 3 days.

In October crops, the fresh shoot weight of control was significantly reduce, there was has not significant difference between 0.1-0.05 mg L⁻¹ of brassinolide treatment after transplanting 7 or 14 days. But the fresh shoot weight of 2 treatments and control was not significantly difference after transplanting 21 days. In November crops, the growth of 21days transplants of two brassinolide concentration treatments was not significantly difference compared to control. In December crops, the fresh shoot weight of control was the heaviest, but has not differently significantly between two brassinolide concentration treatments after growth 21 days..

The dry shoot weight of two brassinolide concentration treatments and control different was not significance both. When soil water potential maintain at -0.04 to -0.02 MPa, the two brassinolide concentration treatments was not significantly different on the fresh and dry shoot weight respectively, although 0.1 mg L⁻¹ of brassinolide treated transplant had high fresh weight. In the dry soil of water potential maintain at -1.38 to -0.86 MPa, the fresh weight and the dry weight of the two treatments are higher than control significantly. The fresh weight of 0.05 mg L⁻¹ was high.

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

Corresponding author.

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

3) Adjunct professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

D 型胺基酸氧化酵素基因(*daao*)作為甘藍之農桿菌 基因轉殖法的篩選標誌基因之研究

李 易 輯¹⁾ 楊 明 德²⁾ 曾 夢 蛟³⁾

關鍵字：D 型胺基酸氧化酵素、篩選標誌基因、甘藍

摘要：大部份 D 型組態的胺基酸不能被植物所代謝，且對植物產生毒害。D 型胺基酸氧化酵素(D-amino acid oxidase, DAAO)可以催化 D 型胺基酸的脫氨氧化反應(oxidative deamination)。本研究探討利用 *daao* 基因作為轉殖植物篩選標誌基因之應用潛力。本研究將篩選自三角酵母(*Trigonopsis variabilis*)中的 *daao* 基因及 *nptII* 基因為標誌基因，以 *gus* 及 *egfp* 為目標基因，利用農桿菌轉移法將攜帶上述基因之質體 pCaPDAO-*gus*、pCaPDAO-*egfp*、pRPDAO-*gus*、pRPDAO-*egfp* 等，轉移到 '初秋'甘藍下胚軸。經 D-alanine 或 kanamycin 篩選並誘導、再生成植株。轉殖植株以 PCR 分析之結果顯示，*daao* 及 *nptII* 等篩選標誌基因已存在於轉殖甘藍之基因組中。GFP 綠色螢光及 GUS 活性染色分析的結果顯示 *egfp* 及 *gus* 等目標基因可在轉殖甘藍中分別表現綠色螢光及藍色反應。本研究顯示 D-alanine 的篩選系統在農桿菌介導的甘藍轉殖是可行的，並已初步完成建立甘藍之 D-alanine 篩選系統。由於甘藍培植體對 kanamycin 之忍受毒害濃度的高敏感性，因此發展 D-alanine 的篩選系統，在植株外觀的篩選比 kanamycin 篩選的優點更顯而易見。

前 言

植物基因轉殖技術包含三個過程：(1)基因轉移進入植物基因組中，(2)篩選轉殖細胞，(3)轉植株再生。而篩選標誌基因(selectable marker gene)有助於可能的轉植株 (putative transformants)或細胞於轉殖後，快速被篩選出來。目前至少有 50 種標誌基因被利用於轉

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。
2) 國立中興大學分子生物學研究所副教授。
3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

殖植物的學術研究中，或是進行作物生技的改良。目前常用的篩選標誌基因主要有兩大類：抗抗生素基因和抗除草劑基因。常用的抗抗生素基因包括 neomycin phosphotransferase II (*nptII*) 基因與 hygromycin phosphotransferase (*hpt*) 基因等；而常用的除草劑抗性酵素基因有 phosphinothricin acetyltransferase (*bar*) 基因以及 5-enol- pyruvyl shikimate-3-phosphate synthase (*epsps*) 基因等。基因產品開發至今一直存在著爭議，目前被廣泛應用於轉殖作物篩選上的抗抗生素及抗除草劑標誌基因，會因環境生態及生物安全性的考量，將面臨減少或無法使用的命運，因此尋找新的轉殖作物標誌基因，已成為刻不容緩的重要課題。

除了 glycine 外，胺基酸具有 D 型和 L 型兩種光學異構物。L 型組態的胺基酸被發現與動植物組織內的胺基酸同型，L 型組態的胺基酸被認為與動植物生化反應較相容，且構成蛋白質的胺基酸都屬於 L 型(除苯丙氨酸可以 DL-苯丙氨酸形式出現)，而 L 型胺基酸氧化酵素只能氧化 L 型胺基酸；D 型胺基酸氧化酵素(D-amino acid oxidase)只能氧化 D 型胺基酸。D 型胺基酸氧化酵素 (D-amino acid oxidase, 簡稱 DAAO, E.C. 1.4.3.3) 能催化 D 型胺基酸的脫胺氧化反應 (oxidative deamination)，產生胺及 β 型酮酸 (β -keto acid)，並同時把氧還原為過氧化氫 (Konno and Yasumura, 1992)。DAAO 廣泛存在於各種生物體內，如：動物組織、細菌、酵母菌及真菌。其中三角酵母菌 *Trigonopsis variabilis* 是於 1962 年首次發現具有 DAAO 活性的微生物 (Sentheshanmuganathan and Nickerson, 1962)。

Erikson 等人(2004)研究發現，以 DAAO 為篩選標誌，對阿拉伯芥轉植株處理 D 型胺基酸進行篩選，相較於目前最常使用的 kanamycin 篩選法，以 *dao1* 為篩選標誌基因之阿拉伯芥，可於發芽後即進行視覺篩選且無中間型的出現，但以 kanamycin 篩選則有中間型的產生。若將轉殖 *dao1* 篩選標誌基因之植物，以 50 mM 的液體 D-amino acid 作為篩選藥劑，直接噴施於植體上，同樣有具篩選的功效。若能將 *daao* 基因作為篩選標誌基因與目標基因共同轉殖，然後將轉殖後的細胞培養在含有 D 型胺基酸的培養基上，轉殖細胞能夠存活並生長，而非轉殖細胞不能生長而最終死亡。如此，*daao* 可作為具安全性及便捷的植物轉殖的篩選標誌基因(Erikson *et al.*, 2004)。

本研究室的試驗結果顯示 15~20 mM 的 D-alanine 會抑制甘藍及水稻等作物的發芽及導致幼苗與癒傷組織死亡。中興大學分子生物研究所分生所楊明德博士的實驗室已自三角酵母菌中篩選出 *daao* 基因。本研究因此以甘藍為材料，探討利用 *daao* 基因作為轉殖植物之篩選標誌基因之應用潛力。本研究之目的為：本研究之目的為：(一)、建立以 *daao* 基因作為甘藍之農桿菌基因轉殖法的篩選標誌基因系統，(二)、比較 *daao* 基因及 *nptII* 基因作為甘藍之農桿菌基因轉殖法的篩選標誌基因之優劣。

材 料 與 方 法

一、 供試材料

(一)、基因轉殖之植物材料

本試驗以'初秋'(K-Y cross)品種之甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)做為基因轉殖之材料。將其種子以 70%酒精清洗 30 秒，再以 2.5%次氯酸鈉表面滅菌 15 分鐘後無菌水清洗三次，無菌播種於含有 3%蔗糖與 0.8%洋菜膠(agar)的 MS 基本培養基。培養條件為 25/20°C (D/N)，光強度 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{sec}$ ，16 小時光週期，培養 5 天後，取其下胚軸做為農桿菌基因轉殖之材料。

(二)、轉殖之基因及載體

本試驗轉移的 D 型胺基酸氧化酵素基因(*daao*)篩選自三角酵母菌 *Trigonopsis variabilis*，*daao* 基因及轉殖載體均由中興大學分子生物學研究所楊明德老師的實驗室所選殖及構築，*daao* 基因。四種轉移載體分別為：1. pCaPDAO-gus：同時具有以 CaMV 35S 啟動子及 *nos* 終結子的 *daao* 與 *gus*(β -glucuronidase)基因、2. pRPDAO-gus：同時具有以 *rbcS* (Rubisco small subunit) 啟動子及 *nos* 終結子的 *daao* 與 *gus* 基因、3. pCaPDAO-egfp：同時具有以 CaMV 35S 啟動子及 *nos* 終結子的 *daao* 與 *egfp* (enhanced green fluorescent protein) 基因、4. pRPDAO-egfp：同時具有以 *rbcS* (Rubisco small subunit)啟動子及 *nos* 終結子的 *daao* 與 *egfp* 基因。

二、方法

(一)、甘藍之農桿菌基因轉殖及篩選

切取無菌播種後 5 天之甘藍下胚軸(0.3-0.5 公分)置於感染液(MS 培養基含有 3% sucrose、0.4 g/L 之 MES、0.5 mg/L 之 BA、0.05 mg/L 之 picloram 與 0.5 mg/L 之 AgNO_3 、pH 5.8)中，加入 70-90 μl 三親交配後的農桿菌液(培養於 28°C 約 18-24 小時，OD600 之值為 0.8-1.0)，於 28°C 共同避光培養 48-72 小時。經感染後的下胚軸以含有 500-1000 mg/L carbenicillin 的感染液清洗 20 分鐘 3-5 次，以殺死植物材料表面的農桿菌。再將植物材料置於濾紙上吸乾殘液，最後將感染後的植物材料培養於含有 500 mg/L carbenicillin 的甘藍再生培養基(MS 培養基含有 3% sucrose、0.4 g/L 之 MES、0.5 mg/L BA、0.05 mg/L picloram、0.5 mg/L AgNO_3 、0.7-0.8% agar, pH 5.7-5.8)，培養條件為 25/20°C (D/N)，光強度為 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{sec}$ ，16 小時光週期，每隔 30 天繼代培養一次，待芽體長出後將其切下並去除下胚軸，移至含有 250 mg/L carbenicillin 的發根培養基(MS 培養基含 1.5% sucrose、0.7-0.8% agar, pH 5.7-5.8)，待植株高度至 3-5 公分並發根後進行篩選試驗。

(二)、植物總 DNA 萃取

根據 Muttler (1987) 的方法予以改良，秤取 2.5~4 g 的甘藍葉片組織，以液態氮急速冷凍組織後，迅速研磨成粉末狀，加入 10 ml 萃取液 (0.7 M NaCl, 1% CTAB, 10 mM EDTA, 2% β -mercaptoethanol, 50 mM Tris-HCl pH8.0) 振盪混合均勻後，置於 60~65°C 水浴 1-1.5 小時。經回溫後加入等體積 phenol：chloroform：isoamylalcohol (25:24:1, pH 8.0)混合均勻，以 4°C，12,000 rpm (Sigma 2K15, rotor 12139) 離心 15 分鐘，取上清液至新離心管。加入等體積異丙醇(isopropanol)混合均勻，靜置於-20°C 沉澱 2-3 小時。再以 10,000 rpm 於 4°C

離心 15 分鐘後去除上清液，70%酒精清洗沉澱物後，自然風乾 DNA，以 TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)緩衝液回溶 DNA。萃取完成的植物 DNA，經分光光譜吸收儀定量，貯存於-20℃中以供之後的試驗。

(三)、轉基因植物之聚合酵素鏈鎖反應分析

利用 PCR 技術增幅目標基因片段以檢測再生植物是否帶有目標基因。以植物葉片 DNA(200 ng)為模板，PCR 總反應體積為 25 µl，包含有 1 倍 reaction buffer、dNTPs (0.2 mM each)、引子(1 µM)及 0.5U ExtagTM DNA polymerase(Toyobo, Japan)，反應時置於 DNA 聚合酵素鏈鎖反應器(Peltier Thermal cycler, PTC-200; MJ Research, INC)中。

偵測 *npt II* 基因之引子為 5'-TCAGAAGAACACGTCAAGAAGAAGG-3' (*NPTII* R)及 5'-ATGATTGAACAAGATTGCCAC-3' (*NPTII* F)，可增幅 795 bp 之 *npt II* 基因片段。反應流程為 94℃ 5 分鐘; 94℃ 30 秒; 58℃ 30 秒; 72℃ 90 秒，共進行 35 個 cycles，最後再進行 72℃ 10 分鐘 1 個 cycle。

偵測 *daao* 基因之引子為 5'-ATGGCTAAAATCGTTGTTATTGGTGCC-3' (*DAAO*-1)及 5'-CTAAAGGTTTGGACGAGTAAGAGCCTC-3' (*DAAO*-2)，可增幅 1,071 bp 之 *daao* 基因片段。反應流程為 94℃ 5 分鐘; 94℃ 30 秒; 58℃ 30 秒; 72℃ 90 秒，共進行 35 個 cycles，最後再進行 72℃ 10 分鐘 1 個 cycle。

(四) GFP 綠色螢光及 GUS 活性染色分析

選取 CaDAO-egf 及 RDAO-egfp 轉殖甘藍葉片，利用冷光螢光數位影像系統(Kodak Image Station 4000MM)，經藍光 430~500 nm 照射並曝光 20 秒後，偵測 GFP 綠色螢光發散的情形。

選取 CaDAO-gus 及 RDAO-gus 轉殖甘藍，進行 GUS 活性染色分析。將欲分析之材料浸漬於 GUS 分析緩衝液中 [2mM XGluc (5-bromo-4-Chloro-3-indoylglucuronid); 100mM sodium phosphate (pH 7.0); 10mM EDTA; 0.5mM K₃Fe(CN)₆ (Potassium ferrocyanide); 0.5mM K₄Fe(CN)₆ (Potassium ferrocyanide); 0.1% Tritone X-100]，真空抽氣 30 分鐘後，靜置於 37℃ 黑暗處理 12-16 小時，再以 70%酒精褪去組織葉綠素數次，並觀察 GUS 活性之藍色反應。

結 果

一、pCaPDAO-gus、pCaPDAO-egfp、pRPDAO-gus、pRPDAO-egfp 質體轉殖到`初秋`甘藍

(一)、以未發根再生芽梢進行`初秋`甘藍轉植株之篩選

統計轉殖四種質體之未發根再生芽梢培養在含有 20 ppm kanamycin 的再生培養基，生長 30 天後，芽梢成活的百分率為 12~25%，平均為 20.6% (表 1)；而培養在含有 5 mM D-alanine 者，則平均為 48.8%。若以 25ppm kanamycin 來篩選，則所有再生芽梢均死亡；

以 6 mM D-alanine 來篩選，則芽梢成活的百分率為 24~53%，平均為 30.6%。此結果顯示 kanamycin 及 D-alanine 對殺死甘藍再生芽梢的絕對濃度是在極狹窄的範圍，特別是 kanamycin，增加少量濃度，甘藍培植體極可能完全被它殺死；而甘藍培植體對 D-alanine 之忍受殺傷濃度則不是那麼敏感。但也可能獲得耐 D-alanine 之甘藍再生芽梢未有轉殖目標基因的機率也增加 (escape plants)。

表 1. 經農桿菌轉殖 pCaPDAO-egfp、pRPDAO-egfp、pCaPDAO-gus、pRPDAO-gus 等質體之'初秋'甘藍下胚軸的未發根再生芽梢，培養在含有 20 及 25 ppm kanamycin 或 5 及 6 mM D-alanine 的再生培養基，生長 30 天後，芽梢成活的百分率。

Table 1. Survival percentages of regenerated shoots without rooting of 'K-Y cross' cabbage via *Agrobacterium*-mediated transformation grown on the regeneration medium containing 20 and 25 ppm kanamycin or 5 and 6 mM D-alanine for 30 days. The transferred plasmids included pCaPDAO-egfp, pRPDAO-egfp, pCaPDAO-gus, and pRPDAO-gus.

Plasmids	20 ppm kanamycin			25 ppm kanamycin		
	篩選 總數	死亡 數目	芽梢成 活率(%)	篩選 總數	死亡 數目	芽梢成 活率(%)
pCaPDAO-egfp	35	27	22.9	15	15	0
pCaPDAO- gus	77	65	11.6	10	10	0
pRPDAO-egfp	67	50	25.4	9	9	0
pRPDAO-gus	73	58	20.6	9	9	0
總計	252	200	20.6	43	43	0

Plasmids	5 mM D-alanine			6 mM D-alanine		
	篩選 總數	死亡 株數	芽梢成 活率(%)	篩選 總數	死亡 株數	芽梢成 活率(%)
pCaPDAO-egfp	41	21	48.8	36	25	30.6
pCaPDAO- gus	16	6	62.5	17	8	52.9
pRPDAO-egfp	71	28	60.6	55	42	23.6
pRPDAO-gus	96	38	60.4	99	46	53.5
總計	41	21	48.8	36	25	30.6

(二)、以發根之再生芽梢進行'初秋'甘藍轉殖株之篩選

由於以稍微較 5 mM D-alanine 或 20 ppm kanamycin 濃度高所篩選成活之之未發根再生芽梢的後續誘導發根及植株生長甚不易，因此本研究也進行農桿菌感染下胚軸，誘導芽梢再生及發根後，再進行 kanamycin 或 D-alanine 之篩選。

由於在先前的測試適當的 D-alanine 濃度，作為篩選 *daao* 轉殖芽梢之用的試驗中發現，篩選 *daao* 轉殖芽梢的適當 D-alanine 濃度介於 5 mM 及 10 mM 之間。因此本部份的試驗採用 7.5mM D-alanine 來篩選 *daao* 轉殖芽梢。意外的也發現以 kanamycin 篩選發根再生甘藍芽梢，其濃度要達 100 ppm 才出現新葉白化的現象。以 100 ppm kanamycin、7.5 mM D-alanine 及未經藥劑篩選(CK)之 30 天的過程中，培植體外觀呈現六種典型的變化 (表 2)。1. 未經藥劑篩選之發根再生芽梢，100%的參試芽梢均有持續生長的情形，且新葉不會有白化現象；2. 以 100 ppm kanamycin 篩選者，所有植物皆持續生長，但有 40.8%的新葉不白化；3. 以 100 ppm kanamycin 篩選者，59.2%的新生芽梢則逐漸白化；4. 以 7.5 mM D-alanine 篩選，有 54.4%的芽梢生長受到抑制但也不死亡；5. 29.1%的甘藍有明顯逐漸凋亡的情形，在 30 日時生長點仍存活不死亡；6. 另外 16.46%則明顯凋亡且褐化致死。本試驗將第二至第五型的培植體的成活再生植株馴化，移出瓶外定植，進行基因檢測與分析。

表2. 經農桿菌轉殖pCaPDAO-egfp、pRPDAO-egfp、pCaPDAO-gus、pRPDAO-gus等質體之'初秋'甘藍下胚軸的再生芽梢發根後，培養在含有100 ppm kanamycin、7.5 mM D-alanine的再生培養基，生長30天後之情形的統計分析。CK：未添加篩選藥物之對照組。

Table 2. Analysis of regenerated shoots with roots of 'K-Y cross' cabbage via *Agrobacterium*-mediated transformation grown on the regeneration medium containing 100 ppm kanamycin and 7.5 mM D-alanine for 1, 10, 20, and 30 days. The transfer plasmids included pCaPDAO-egfp, pRPDAO-egfp, pCaPDAO-gus, and pRPDAO-gus. CK: without addition of screening chemicals into the culture medium.

培植體生長情形	CK	Kanamycin 100 ppm	D-alanine 7.5 mM
	株數/總株數 (%)		
持續生長、新葉未白化	19/19 (100.0)	20/49 (40.8)	0
持續生長、新葉白化	0	29/49 (59.2)	0
生長受抑制	0	0	43/79 (54.4)
逐漸凋亡、但未死亡	0	0	23/79 (29.1)
逐漸凋亡死亡	0	0	13/79 (16.5)

二、轉殖甘藍植株之基因及表現分析

(一) 聚合酶連鎖反應分析轉殖植株

因為四種轉殖載體上均帶有 *nptII* 基因，因此 PCR 分析轉殖植株是否含有 *nptII* 基因，以輔助轉殖植株的篩選。圖 1 為以 PCR 分析轉殖 pCaPDAO-egfp 與 pRPDAO-gus 等質體之‘初秋’甘藍葉片之 *nptII* 基因的一個代表性例子，圖中顯示經電泳膠片分離 PCR 產物後，CaDAO-egfp-27、30 及 RDAO-gus-3、30 等轉殖植株可獲得預期的約 0.8 kb 之 *nptII* 片段，雖然有些轉殖植株的條帶則較淡，未轉殖植株則無條帶 (CK)。

萃取轉殖甘藍植株葉片之 DNA，以 *daao* 基因特定設計之引子(DAAO-1 及 DAAO-2)，進行 PCR 反應。若再生植株有轉殖之 *daao* 基因，則可在電泳膠片上顯現出約 1.08 kb 之條帶，而對照組及未轉移成功之植株則無此條帶產生。圖 2 為以 PCR 分析轉殖 *daao* 基因甘藍之一代表性例子。試驗結果顯示四種轉殖組合之再生植株均可偵測到預期之 1.08 kb 的 *daao* 基因片段。經 PCR 初步篩選轉殖植株，共獲得 1 株 CaDAO-gus 轉殖甘藍(3)、2 株 RDAO-gus 轉殖甘藍(26、39)、4 株 CaDAO-egfp 轉殖甘藍(27、40、41、42)、1 株 RDAO-egfp (70)轉殖甘藍，共 8 株。其中 RDAO-gus-26、RDAO-gus-39 及 CaDAO-egfp-41 等轉殖甘藍為源自以未發根再生芽梢進行篩選成活的轉殖植株。

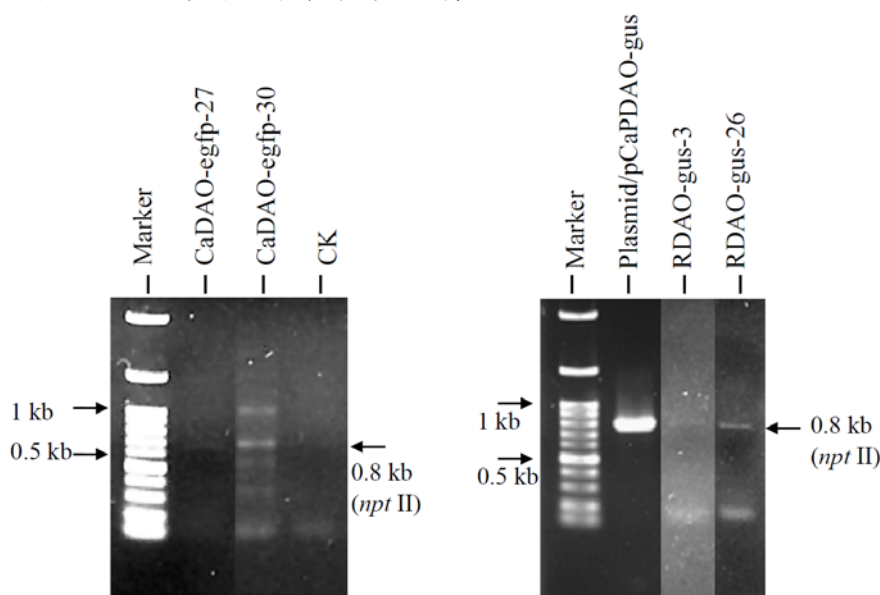


圖 1. 經農桿菌轉殖 pCaPDAO-egfp 與 pRPDAO-gus 等質體之‘初秋’甘藍葉片，以 *NPTII*-R 及 *NPTII*-F 為引子，經 PCR 反應分析 *npt II* 基因之情形。CK：未轉殖‘初秋’甘藍。

Fig. 1. PCR analysis of *npt II* gene in regenerated 'K-Y cross' cabbage after transformation with pCaPDAO-egfp and pRPDAO-gus plasmids via *Agrobacterium tumefaciens*. DNA fragment of *npt II* (0.8 kb) was amplified from a leaf DNA of regenerated cabbage using primers *NPTII*-R and *NPTII*-F and analyzed with electrophoresis on agarose gel. CK: nontransformed cabbage.

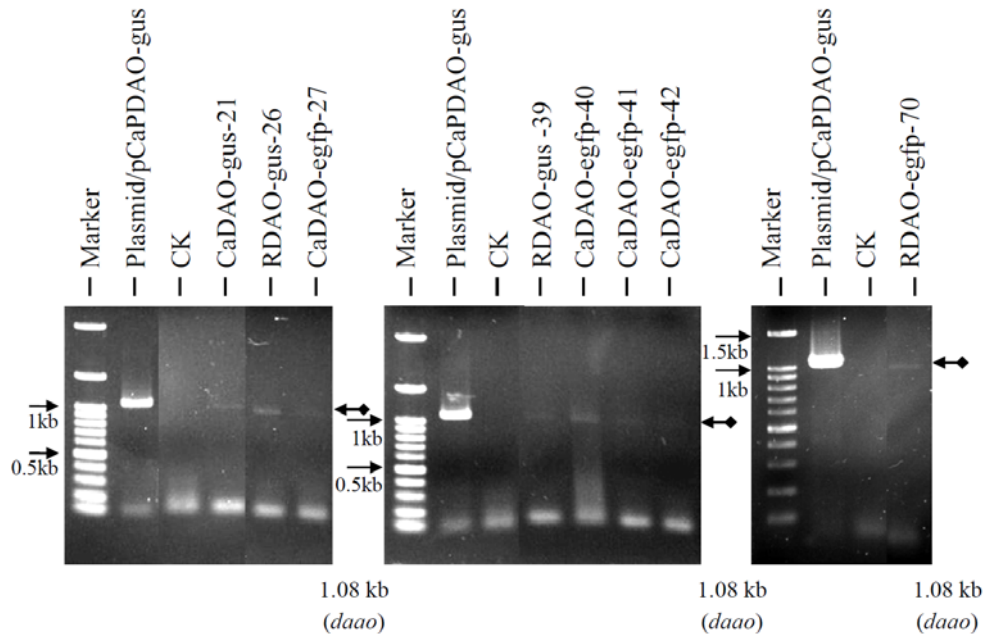


圖 2. 經農桿菌轉殖 pCaPDAO-egfp、pRPDAO-egfp、pCaPDAO-gus、pRPDAO-gus 等質體之'初秋'甘藍葉片，以 DAAO-1 及 DAAO-2 為引子，經 PCR 反應分析 *daao* 基因(1.08 kb)之情形。CK：未轉殖'初秋'甘藍。

Fig. 2. PCR analysis of *npt II* gene in regenerated 'K-Y cross' cabbage after transformation with pCaPDAO-egfp, pRPDAO-egfp, pCaPDAO-gus, and pRPDAO-gus plasmids via *Agrobacterium tumefaciens*. DNA fragment of *daao* (1.08 kb) was amplified from a leaf DNA of regenerated cabbage using primers DAAO-1 and DAAO-2 and analyzed with electrophoresis on agarose gel. CK: nontransformed cabbage.

(二) GFP 綠色螢光及 GUS 活性染色分析

選取 43 株 CaDAO-egf 及 RDAO-egfp 轉殖甘藍葉片，以冷光螢光數位影像系統(Kodak Image Station 4000MM)偵測 GFP 綠色螢光發散的情形。試驗結果顯示有 7 株轉殖甘藍，照射藍光(430-500 nm)後可看到發散綠色螢光(圖 3)，以 2 株 RDAO-egfp (82、74) 及 2 株 CaDAO-egfp 轉殖甘藍(69、58)的綠色螢光發散為最強烈，而對照組(CK)則無發散綠色螢光。選取 41 株 CaDAO-gus 及 RDAO-gus 轉殖甘藍，進行 GUS 活性染色分析。其代表性之 GUS 活性的藍色反應及未能偵測到其反應之結果如圖 4 所示。大致上可分為三種類型，具強 GUS 活性的藍色反應者佔 22%，中等至弱反應者佔 34%，無 GUS 活性的藍色反應者佔 44%。

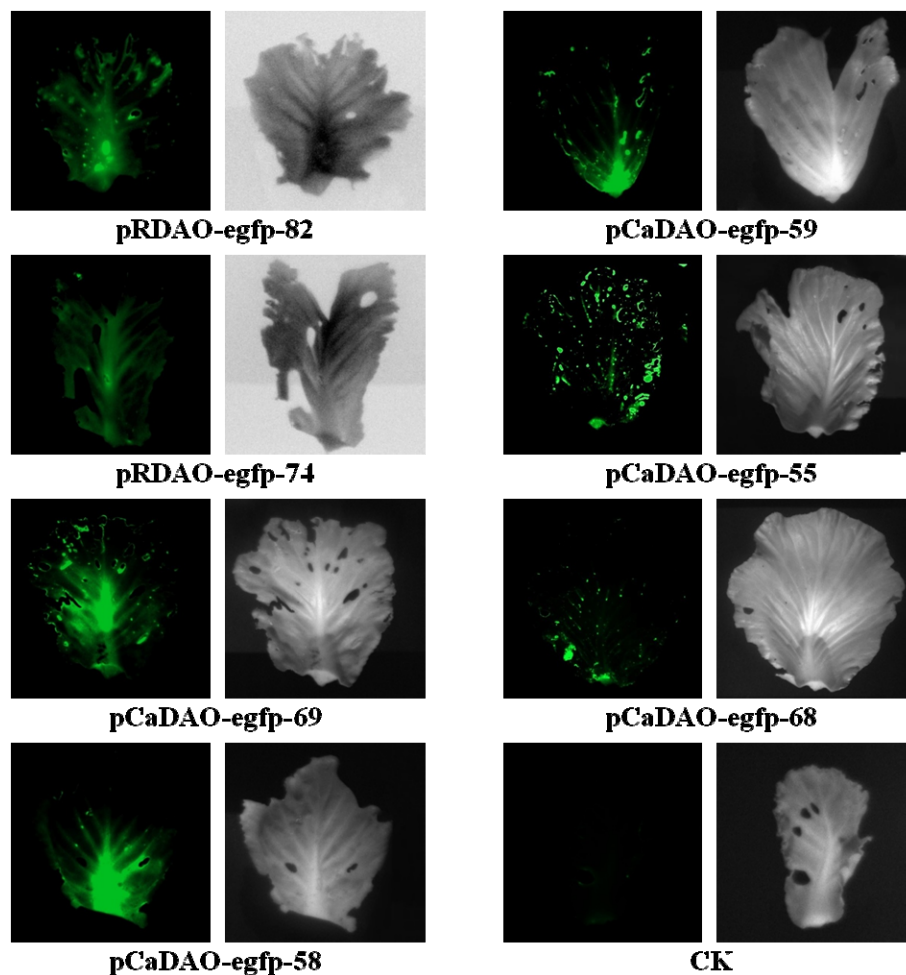


圖 3. 以冷光螢光數位影像系統 (Kodak Image Station 4000MM) 檢測經農桿菌轉殖 pCaPDAO-egfp 及 pRPDAO-egfp 質體之'初秋'甘藍葉片。轉殖甘藍照射藍光發散綠色螢光(左)及照射一般白光(右)之比較，對照組(CK)則無發散綠色螢光。

Fig. 3. Comparison of fluorescence (left) and brightfield (right) images of regenerated 'K-Y cross' cabbage after transformation with pCaPDAO-egfp, and pRPDAO-egfp plasmids via *Agrobacterium tumefaciens*. CK: nontransformed cabbage.

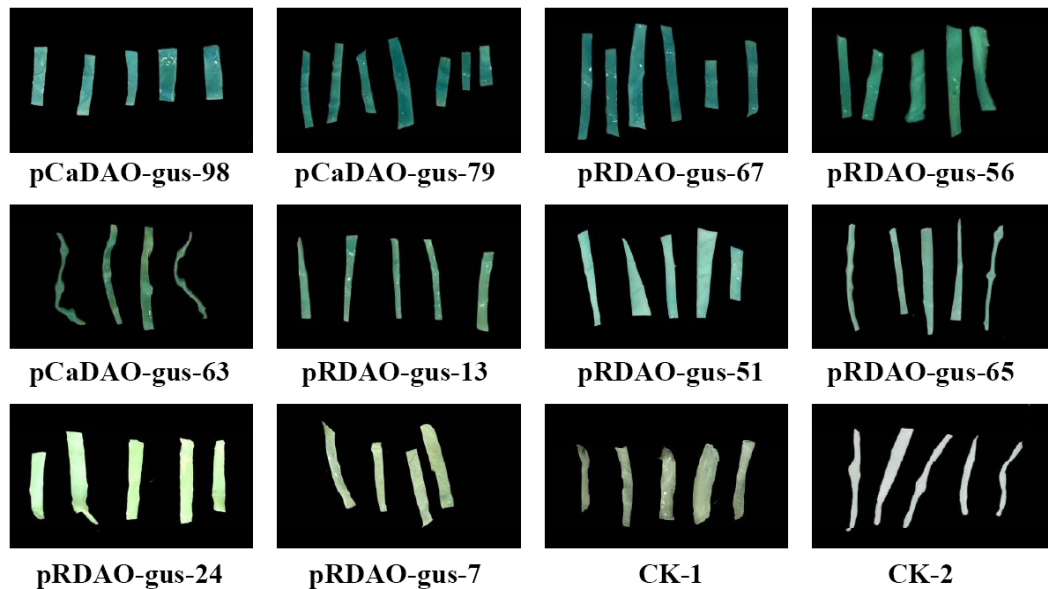


圖 4. 農桿菌轉殖 pCaPDAO-gus 及 pRPDAO-gus 質體之'初秋'甘藍葉片，進行 GUS 活性染色分析之情形。CK：未轉殖'初秋'甘藍。

Fig. 4. Gus histochemical staining of the regenerated 'K-Y cross' cabbage after transformation with pCaPDAO-gus, and pRPDAO-gus plasmids via *Agrobacterium tumefaciens*. CK: nontransformed cabbage.

討 論

一、Kanamycin 及 D-alanine 應用在篩選轉殖甘藍

Npt II 基因產物經由 neomycin phosphotransferase 發生磷酸化反應使氨基糖苷類抗生素(例如 kanamycin)失去作用，因而解除毒性。因為 kanamycin 能阻礙一般植物細胞葉綠體及線粒體的蛋白質合成，引起植物綠色器官的黃化，最終導致植物細胞的死亡。而轉基因植物由於含有抗 kanamycin 的基因 (*npt II*)，因而抑制了 kanamycin 的作用，所以經由 kanamycin 轉殖體就很容易從非轉殖體中篩選出來。一般說來，單子葉植物對 kanamycin 的敏感程度較雙子葉低，因此對單子葉植物在篩選過程中的篩選濃度要較雙子葉高。例如水稻癒傷組織的篩選濃度為 500 ppm，由於 kanamycin 毒性太高會對轉殖細胞造成傷害，所以 kanamycin 一般在單子葉植物中應用較少，而雙子葉植物中要相對較多。大豆的子葉做基因轉殖的材料使用濃度為 200 ppm、馬鈴薯使用 75 ppm、番茄使用 100 ppm 等都有報導成功獲得抗 kanamycin 的轉基因植株。

在甘藍轉殖時，依受體組織的不同，使用kanamycin來篩選轉殖體從10 ppm至200 ppm等都有報導。本研究使用20 ppm來篩選未長根的甘藍芽梢，100 ppm來篩選已長根的甘藍芽梢，都有許多'逃脫芽梢'的出現。25 ppm則造成未長根的甘藍芽梢全數死亡，顯示kanamycin對甘藍未長根的培植體的敏感度是很高，可是發根後的培植體則大大降低其敏感性。未來有必要建立不同甘藍組織為受體對kanamycin的敏感性的比較，將有助於瞭解'有無根系影響敏感kanamycin'的原因。

大部份 D 型組態的胺基酸，不能被植物代謝，且對植物產生毒害。Erikson 是以 3 mM D-alanine 或 3 mM D-serine 來篩選 *daao* 之轉殖阿拉伯芥種子，但對其他植物培植體為基因轉殖受體，則未有報導。本研究結果顯示篩選 *daao* 轉殖甘藍之未發根芽梢的適當 D-alanine 濃度介於 5 mM 及 10 mM 之間，然而高濃度的 D-alanine 影響再生芽梢後續的發根及生育甚鉅。以 7.5 mM D-alanine 來篩選 *daao* 轉殖已發根芽梢，則以芽梢生長受到抑制但也不死亡及芽梢明顯逐漸凋亡，但在 30 日時生長點仍存活不死亡為主要成活的培植體。顯示甘藍培植體對 D-alanine 之忍受殺傷濃度可能不是那麼敏感，因此會獲得耐 D-alanine 之甘藍再生芽梢未有轉殖目標基因的機率也增加(escape plants)。

二、甘藍之再生過程

本實驗室已建立了穩定的甘藍下胚軸再生，以播種後五天大之甘藍下胚軸作為培植體進行農桿菌液體基因轉殖，感染30日後就能以肉眼觀察到芽體再生，感染後45天至60天可將甘藍再生芽體單株分離，再使其發根或進行篩選試驗。

轉移 D-胺基酸氧化酵素基因 (pCaPDAO-gus、pCaPDAO-egfp、pRPDAO-gus、pRPDAO-egfp) 至甘藍細胞中，感染後的甘藍培植體移至含有 carbenicillin 之再生培養基防止農桿菌再生，1週後於切口處開始形成癒傷組織，顯示五天大之下胚軸細胞有旺盛的分化能力。1個月後芽體被誘導發生，經觀察絕大部分的再生芽體皆行器官分化的方式發生，相對於體胚發生，器官分化雖能快速獲得許多再生苗，但卻容易造成嵌合(chimera)的轉基因植物。當芽體可以肉眼辨識後，以解剖刀取下單一芽體個別培養，此作法雖繁複但有利於篩選時的判別。待芽體長至一定大小 (1-1.5 cm) 後，可移至發根培養基進行發根之誘導，待根系延展可見即可進行篩選試驗。試驗進行20日後，未篩選者有明顯生長之情形。以 7.5 mM D-alanine 篩選者，由下位葉開始有明顯凋亡之現象發生，且其根系皆無明顯延伸與分化。選取存活並帶有根系者出瓶健化，建議先浸泡稀釋10倍之抗菌劑或市售農藥15分鐘，沾取發根粉再種植於土壤，套袋健化。健化完成後定植於溫室栽培，以秋冬兩季的生長情形最好，且病蟲害較少。

三、轉殖甘藍植株之基因及表現分析

以 PCR 分析轉殖 pCaPDAO-egfp 與 pRPDAO-gus 等質體之'初秋'甘藍葉片之 *nptII* 基因的結果顯示可獲得預期的約 0.8 kb 之 *nptII* 片段，雖然有些轉殖植株的條帶較淡，未轉殖植株則無條帶。以 PCR 分析轉殖 *daao* 基因之試驗結果顯示四種轉殖組合之再生植株均可偵測到預期之 1.08 kb 的 *daao* 基因片段。本研究也嘗試分析 *gus* 及 *egfp* 基因的 PCR 檢

測，初步並不能偵測到預期條帶的出現。此有待進一步探討其原因及技術的改進。

然而偵測 GFP 綠色螢光發散的情形果顯示有 7 株轉殖甘藍，照射藍光(430-500 nm)後可看到發散綠色螢光，約佔 16%的 CaDAO-egfp 及 RDAO-egfp 轉殖甘藍植株。進行 CaDAO-gus 及 RDAO-gus 轉殖甘藍之 GUS 活性染色分析，有 56%的轉殖植株具 GUS 活性的藍色反應。

本研究初步建立以 D-alanine 篩選未發根再生芽梢及已發根再生芽梢甘藍的篩選系統。在 *nptII* 及 *daao* 基因之 PCR 分析結果，已確認其基因已插到甘藍植株染色體，明顯的 GFP 綠色螢光及 GUS 活性的藍色反應，顯示 D-alanine 的篩選系統在農桿菌介導的甘藍轉殖是可行的，雖然還有一些證據及精細的實施方法有待去完成及實現。即使 D-alanine 和 kanamycin 的篩選，雖得到相似的甘藍轉殖頻率，然而因為甘藍培植體對 kanamycin 之忍受殺傷濃度是很敏感，因此發展 D-alanine 的篩選系統，在植株外觀上卻比 kanamycin 篩選更顯而易見。

參 考 文 獻

- Erikson, O., M. Hertzberg, and T. Nasholm. 2004. A conditional marker gene allowing both positive and negative selection in plants. *Nat. Biotechnology* 22: 455-458
- Konno, R. and Yasumura, Y. 1992. D-Amino acid oxidase and its physiological function. *Int. J. Biochem.* 24:519-524
- Mettler, Irvin J. 1987. A simple and rapid method for miniprep of DNA from tissue cultured plant cells. *Plant Mol. Biol. Reporter* 5:346-349
- Sentheshanmuganathan, S. and W. J. Nickerson. 1962. Transaminase and D-amino acid oxidase of *Trigonopsis variabilis*. *J. gen. Microbiol.* 27:465-471
- Serizawa, N., K. Nakagawa, T. Haneishi, S. Kamimura, and A. Naito. 1980. Enzymatic conversion of cephamycin C by D-amino acid oxidase from *Trigonopsis variabilis*. *J. Antibiot.* 33(6):585-90
- Szwajcer-Dey, E., J. R. Miller, S. Kovacevic and K. Mosbach. 1990. Characterization of a D-amino acid oxidase with high activity against cephalosporin C from the yeast from *Trigonopsis variabilis*. *Biochem. International.* 20: 1169-1178.

Using D-Amino Acid Oxidase Gene (*daao*) as the Selectable Marker Gene for Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) via *Agrobacterium* Mediated Transformation

I-Chi Lee ¹⁾ Ming-Te Yang ²⁾ Menq-Jiau Tseng ²⁾

Keywords: D-amino acid oxidase, Selectable marker gene, Cabbage

Summary

The *daao* gene was separated from the yeast *Trigonopsis variabilis*, encode D-amino acid oxidase (DAAO). The *daao* was transferred into cabbage and *Arabidopsis thaliana* as a selectable marker substituted for resistance gene when genes recombination. The purpose of this research is (1) using D-amino acid oxidase gene (*daao*) as the selectable marker gene for cabbage via *agrobacterium* mediated transformation. (2) Pros and cons of the two methods with *daao* and *nptII* gene as the selectable marker gene for cabbage via *agrobacterium* mediated transformation.

Cabbage explants were selected with kanamycin antibiotic or D-alanine agent by tissue culture, some of plantlets harbored the selectable marker gene which is *daao* or *nptII* gene confirmed by PCR analysis. The *egfp* or *gus* target gene displayed in cabbage plantlet were confirmed by *gfp* fluorescence assay and *gus* histochemical stain.

These results show that D-alanine selectable system is a feasible scheme for cabbage transformation via *agrobacterium* mediated.

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

2) Associate Professor, Institute of Molecular Biology, National Chung Hsing University.

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

麒麟花種間雜交之胚拯救

吳俊瑤¹⁾ 朱建鏞²⁾

關鍵字：胚培養、授粉後天數、培養基、癒傷組織

摘要：本試驗以麒麟花 *Euphorbia milii* 'Olympus'和'Supo Roek'兩品種與 *E. geroldii* 原生種進行種間雜交，期能選出無刺且開花性佳之麒麟花。

'Olympus'或'Supo Roek'和 *E. geroldii* 的雜交易早期落果。從胚培養試驗發現，以授粉後第 7 天的胚，培養在含 1/4 MS 鹽類濃度之培養基中有較佳的胚根伸長率。'Olympus'和 *E. geroldii* 以授粉後第 3 天的胚，培養在全量 MS 培養基有較佳的癒傷組織率。'Supo Roek'和 *E. geroldii* 以授粉後第 6 天的胚，培養在 1/4 MS 鹽類濃度之培養基，或以授粉後第 8 天的胚，培養在 1/2 MS 鹽類濃度之培養基有較佳的癒傷組織率。

本試驗在'Olympus'和 *E. geroldii* 胚培養實驗中，透過胚直接萌發成植株的方式共獲得 24 株後代，而在'Supo Roek'和 *E. geroldii* 胚培養實驗中，共獲得 32 株後代，其中 29 株是透過胚直接萌發成植株，另外 3 株是透過癒傷組織誘導再生出的植株。

前 言

麒麟花(*E. milii* Des Moulins)多刺且生性強健極為耐旱，花期長且具觀賞價值。近年盆花市場由泰國引進許多大花麒麟花品種，也逐漸受到消費者喜愛。麒麟花色彩豐富且容易栽培，深具做為盆花潛力，但是多刺的特性也讓國人難以普遍接受。但以麒麟花之無刺近緣種進行種間雜交時，因早期落果而無法得到後代，所以本文藉由胚拯救的方式進行育種，希望開發新的無刺品種，以提高麒麟花在市場的接受度。

1) 國立中興大學園藝系碩士班學生。

2) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

材 料 與 方 法

一、育種材料

試驗材料為*Euphorbia milii* 'Olympus'和*Euphorbia milii* 'Supo Roek'兩品種以及原生種*E. geroldii*。所有材料均栽培於台中縣霧峰鄉中興大學園藝試驗場之遮雨棚下。

二、花器發育與植株形態之觀察

自 2007 年 6 月起至 2008 年 6 月，在台中縣霧峰地區自然日長下，調查'Olympus'、'Supo Roek'和 *E. geroldii* 的花期與植株性狀。

三、胚培養

取 *E. geroldii* 當日成熟之新鮮花粉分別授於麒麟花'Olympus'與'Supo Roek'當日成熟之柱頭上授粉。授粉後分別在第 3 到第 8 天期間，每天將子房取下，以 1%次氯酸鈉溶液震盪消毒 3 分鐘，再以無菌水沖洗 3 次，然後在無菌操作台裡將未熟種子取下，培養於裝有 10ml 培養基的試管中(2.5cm×15cm；直徑×長度)。培養基含全量、1/2 或 1/4 之 MS 配方(Murashige and Skoog Basal Medium, Sigma Chemical, Mo., U. S. A.)，30 g/l 之蔗糖(台糖細粒特砂)以及 9 g/l 之 Difco Bacto-agar。培養基經 0.1 N 之 NaOH 或 HCl 調整 pH 值為 5.7 ± 0.1 後，置入殺菌釜中以 121°C ，蒸氣壓 1.1 kg/cm^2 ，滅菌 15 分鐘。

取下培養的未熟種子先進行暗培養，約兩個星期後未熟種子會陸續發芽，當胚根伸出達 1 mm 長後，移至光照環境(旭光 FL40D/38，提供光子流密度 $5 \pm 2 \mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$)。光週期為明期 16 小時，暗期 8 小時，培養室溫度 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

經 1 個月培養後，調查胚萌發或產生癒傷組織的情形。癒傷組織另再繼代於誘導培養基以誘導芽體再生，誘導培養基成分為 1/4 MS 配方、8 mg/l 之 BA(6-benzylamino purine)、30 g/l 之蔗糖、2 g/l 之活性炭(Carcoal, Sigma)、9 g/l 之 Difco Bacto-agar、pH 值 5.7 ± 0.1 。待植株長至 1 cm 高後，移出瓶外種植於 2 吋黑軟盆，初期栽培於遮蔭 50%的環境下，待小苗再長出新葉後移至正常光照環境栽培。

除性狀調查分離比外，試驗設計採完全隨機設計(completely randomized design)，試驗數據利用 CoStat 6.1 軟體(CoHort software, Minneapolis, USA)以鄧肯氏多變域分析(Duncan's multiple range test)比較 5%差異顯著性。

結 果

一、花器發育與植株形態之觀察

所有材料在台中縣霧峰地區自然日長下均全年開花。開花時雌蕊先端成束隨著成熟而逐漸分離。此時柱頭膨大並產生黏液，而苞葉的顏色也會隨著開花後逐漸加深，腺體也會開始分泌蜜液。柱頭約有三天可以接受花粉，而後便褐化萎縮。雄蕊隨即從次苞(bracteole)

抽出。雄蕊頂端二裂，各具一個花藥，花藥乾燥後會開裂，花粉附著於花藥上。雌蕊在接受花粉後會再集結成束，約一週後可以觀察到子房撐開次苞(圖 1)。



圖 1. (A)*E. milii* 'Olympus'花序之發育階段和相對階段。(B)雌花柱頭和雄花的形態。[I] 苞葉未開。[II] 苞葉初開。[III] 苞葉開始著色。[IV] 雌蕊成熟。[V] 柱頭萎縮。[VI] 雄花(M)盛開。柱頭隨著時間會逐漸膨大並分泌黏液，直到 IV達到成熟，此時花柱會轉變成紅色。

Fig. 1. (A)The development of *E. milii* 'Olympus' cyathium and relatively. (B)Different development stage of stigmas and male flowwes. (I)bracts closed (II)bracts just opened(III) bracts color visible (IV) pistil matured (V) stigmas withered(VI) male flowers(M) anthesis. Stigmas excrete mucilage with time. At stage IV, stigmas matured and style turned red color.

二、胚培養

E. milii 'Olympus' 為母本與 *E. geroldii* 雜交後，分別於授粉後第三天到授粉後第八天取胚，並培養在全量 MS 培養基。經胚培養後一個月後，胚根伸長的比例分別為 0%、9.1%、36.4%、9.1%、16.7% 或 25%；而癒傷組織形成率分別為 37.5%、9.1%、27.3%、9.1%、8.3% 或 25%。培養於 1/2MS 鹽類濃度的培養基，經胚培養後一個月後，胚根伸長的比例分別為 11.1%、11.1%、10%、15.4%、33.3% 或 50%；而授粉後第三天或授粉後六天取胚，其癒傷組織形成率分別為 11.1% 或 15.4%，而其餘處理均沒有生成癒傷組織。培養在 1/4MS 鹽類濃度的培養基，經胚培養後一個月後，胚根伸長的比例分別為 0%、12.5%、23.1%、33.3%、56.5% 或 26.3%；而於授粉後第五天到第八天取胚，其癒傷組織形成率分別為 23.1%、25%、8.7% 或 15.8%，而其餘處理均沒有產生癒傷組織(圖 2、圖 3、圖 4.A)。在 'Olympus' 和 *E. geroldii* 胚培養實驗中，透過胚直接萌發成植株的方式獲得 24 株後代。

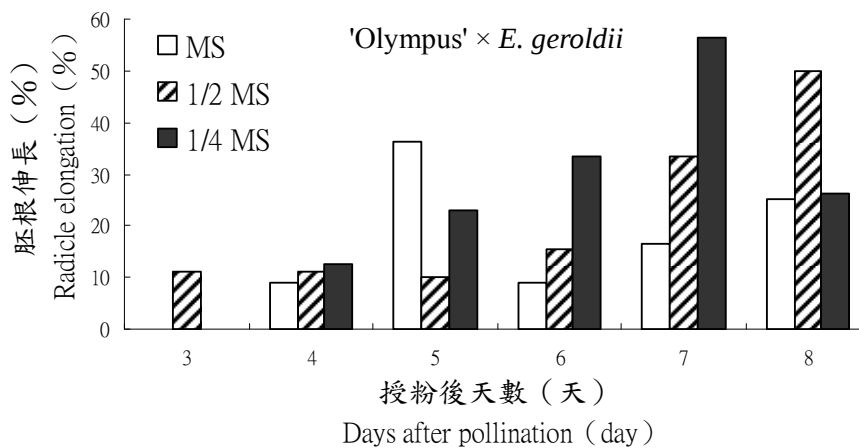


圖 2. MS 配方濃度與授粉後天數對麒麟花 'Olympus' × *E. geroldii* 胚培養之胚根伸長的影響。
Fig. 2. The effect of MS strength and days after pollination to radicle elongation in embryo culture of *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii*

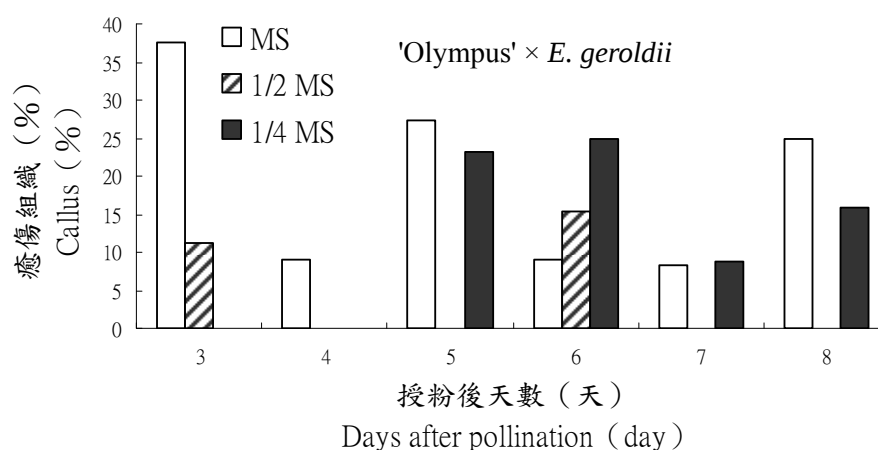


圖 3. MS 配方濃度與授粉後天數對麒麟花'Olympus' × *E. geroldii* 胚培養之癒傷組織形成的影響。

Fig. 3. Effect of MS strength and days after pollination on callus formation in embryo culture of *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii*

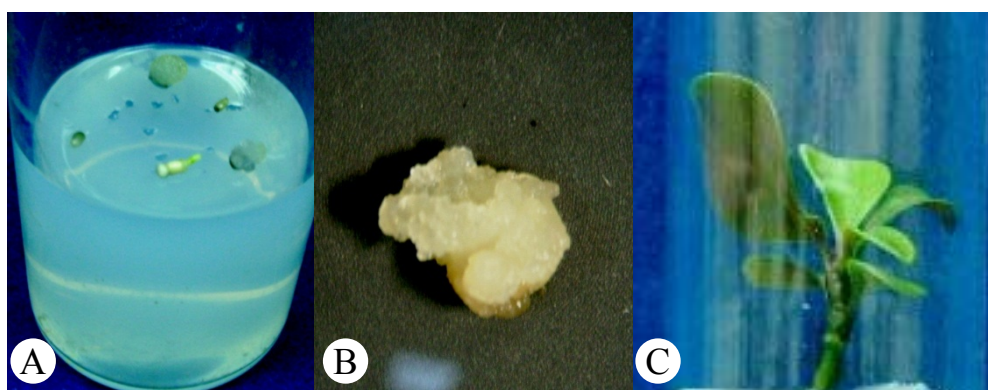


圖 4. *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii* 之胚培養。(A)培養後 1 個月後，胚萌發與生成癒傷組織(B)白色鬆散之癒傷組織(C)即將移出的幼苗。

Fig. 4. Embryo culture of *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii*. (A)embryos germinated and formed callus after one month. (B)white and loose callus. (C)plantlet ready for *ex vitro* culture.

E. milii 'Supo Roek' 為母本與 *E. geroldii* 雜交後，分別取授粉後第三天到第八天的胚，培養在全量 MS 培養基，經胚培養後一個月後，在授粉後第三天、第七天或第八天取胚的處理，其胚根伸長的比例分別為 11.8%、25.0% 或 16.7%，其餘處理則沒有胚根伸長的現象；而在授粉後第七天或第八天取胚，其癒傷組織形成率分別為 8.3% 或 16.6%，其餘處理均沒有生成癒傷組織。另外分別於授粉後第三天、第四天、第六天或第七天取胚，培養於 1/2MS 鹽類濃度的培養基，經胚培養後一個月後，其胚根伸長的比例分別為 5.9%、5.9%、8.3% 或 5.38%，而在授粉後第五天及第六天均沒有胚根伸長的現象；授粉後第三天、第五天、第六天或第八天取胚，其癒傷組織形成率分別為 11.8%、19.1%、16.7% 或 30.8%，其餘處理均沒有生成癒傷組織。將授粉後第三天、第七天或第八天的胚，培養在 1/4MS 鹽類濃度的培養基，經胚培養後一個月後，胚根伸長的比例分別為 9.4%、27.8% 或 54.5%，而在授粉後第四天、第五天及第六天均沒有胚根伸長的現象；而授粉後第三天、第五天、第六天、第七天或第八天取胚，其癒傷組織形成率分別為 18.1%、22.2%、30.8%、5.6% 或 9.1%，其餘處理沒有產生癒傷組織(圖 5、圖 6、圖 7A)。

在 'Supo Roek' 和 *E. geroldii* 胚培養實驗中共獲得 32 株後代，其中 29 株是透過胚直接萌發成植株，另外 3 株是透過癒傷組織誘導再生出的植株。

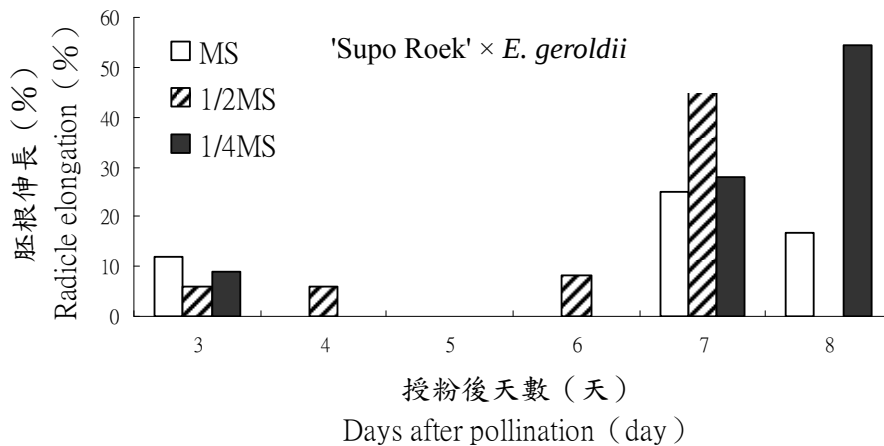


圖 5. MS 配方濃度與授粉後天數對麒麟花 'Supo Roek' $\times$ *E. geroldii* 胚培養之胚根伸長的影響。

Fig. 5. Effect of MS strength and days after pollination to radicle elongation on embryo culture of *E. milii* 'Supo Roek' $\times$ *E. geroldii*

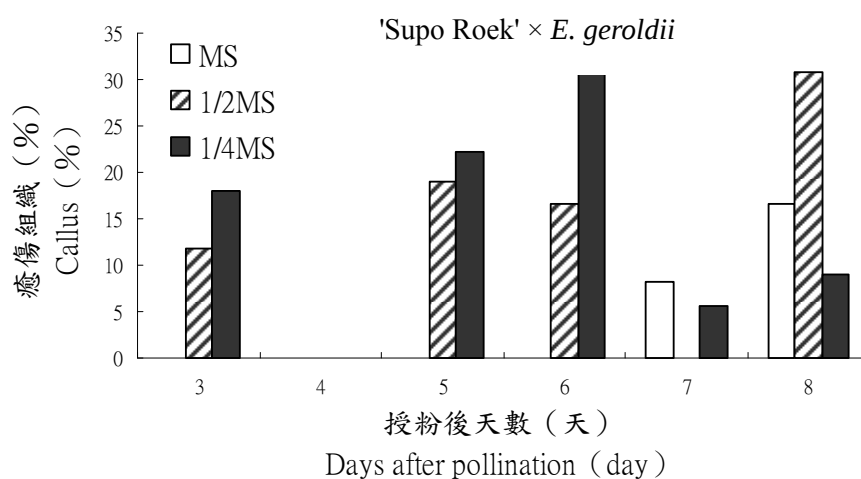


圖 6. MS 配方濃度與授粉後天數對麒麟花'Supo Roek' × *E. geroldii* 胚培養之癒傷組織形成的影響。

Fig. 6. The effect of MS strength and days after pollination to callus formation in embryo culture of *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii*

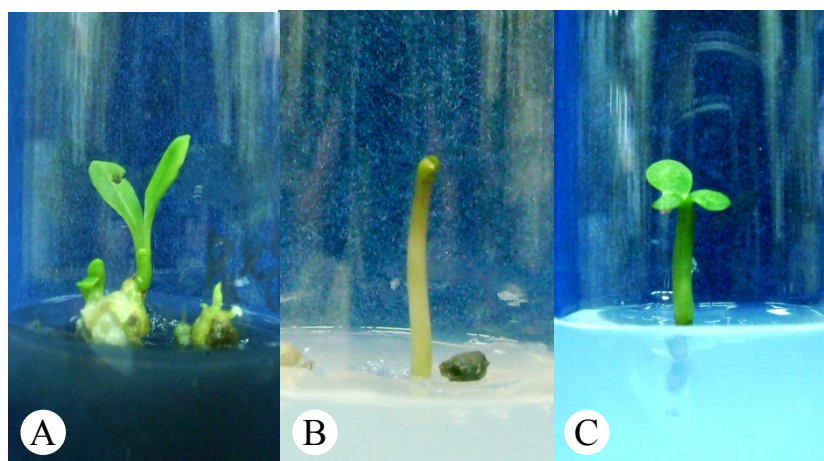


圖 7. *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii*。(A)將癒傷組織培養於誘導培養基後芽體再生 (B)子葉正常開展 (C)子葉受到胚乳限制。

Fig. 7. Embryo culture of *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii*. (A)shoots generation from callus. (B)expansion of cotyledons. (C)cotyledons limited by endosperm.

討 論

胚的發育依形態可分為球胚期、心形期、魚雷期與子葉期，從球形期到心形期中期。胚的發育所需的生長調節物質仰賴母體提供，但從心形期晚期開始，胚開始製造生長所需的生長調節物質，而不依賴母體的生長調節物質(Raghavan and Torrey, 1963)。因此胚培養以簡單的培養基培養即可成活。而在胚培養的培養中，胚的成活率通常隨著胚的成熟度增加而提高(Bridgen, 1994; Carimi *et al.*, 1998)，而以受精後剛發育的胚為材料，培養在合適的環境和培養基中，也可以得到高比率的成苗率(Tukey, 1933)。本試驗 *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii* 雜交組合的胚培養中，在授粉後第三天或第四天胚根伸長率均低於 15%，而授粉後五天的胚，其胚根伸長率開始有明顯的增加；而授粉後第七天或第八天胚根伸長率最高(圖 2)。另外 *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii* 雜交組合的胚，在授粉後第三天到第六天的胚根伸長率均低於 15%，授粉後第七天及第八天胚根伸長率可超過 15%(圖 5)。本試驗的結果與 Bridgen(1994)和 Carimi *et al.*(1998)的結果相同。在 *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii* 雜交組合的胚培養中，必須要到授粉後第五天起始有較佳的胚成活率，而果實在授粉後第 14 天時掉落，表示延遲取胚的時機也許可以再提高胚的成活率；在 *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii* 雜交組合的胚培養中，必須到了第七天胚的成活率才有明顯的提升，但是果實在授粉後第 10 天時落果，所以應該尋求合適的培養基配方與培養環境，才有助於提高胚的成活率。在 *Leucadendron* 種間雜交胚拯救實驗中發現，較幼小的胚比較容易生成癒傷組織而非萌芽(Liu *et al.*, 2006)，但在本實驗中並沒有發現這樣的趨勢，可能是 *Leucadendron* 的植物種子發育緩慢，需要數月到一年的時間，而麒麟花則僅需 30 天左右便成熟，因此本試驗的胚較為成熟，所以癒傷組織的形成主要還是受到操作傷害的影響較大。

在百合胚培養實驗中，授粉後三天的胚在低鹽類濃度的培養基中有較佳的胚萌發率，學者表示可能與 NH_4 和 NO_3 濃度有關(Ikeda *et al.*, 2003)；文心蘭成熟度 158 日的種子，培養於 1/4、1/3、1/2MS 鹽類濃度培養基，發芽率皆高於培養在全量 MS 鹽類濃度培養基(易, 2001)。本試驗兩個雜交組合均以 1/4MS 鹽類濃度的培養基有較高的胚根伸長率，而全量 MS 鹽類濃度的培養基則有最低的胚根伸長率。

樟子松的胚培養實驗中，較高的鹽類濃度較易使胚產生癒傷組織(董、彭, 2005)。而培養麒麟花(*E. milli* 'Olympus')花序在全量 MS 培養基可以產生最多的癒傷組織(卜, 2008)。在本試驗中 *E. milli* 'Olympus' × *E. geroldii* 雜交組合，在全量 MS 鹽類濃度培養基有最高的癒傷組織形成率，這顯示較高的鹽類濃度會促進產生癒傷組織(圖 3)。但是在 *E. milli* 'Supo Roek' × *E. geroldii* 雜交組合中，反而以 1/2MS 及 1/4MS 鹽類濃度的培養基有最高的癒傷組織形成率(圖 6)，顯示不同雜交組合胚培養，有其最合適的癒傷組織形成鹽類濃度，不一定在較高濃度的鹽類培養基有較佳的癒傷組織形成。

培植體褐化的發生可分為兩種形式，一是由於細胞因環境逆境造成細胞程式化死亡或自然壞死，二是酚類物質氧化後所產生的醌對細胞造成毒害(徐等, 1997)。本試驗誘導出

的癒傷組織為鬆散的細胞團，當生長到一定程度後會開始褐化並有分化出根的趨勢，若將癒傷組織繼代於不含生長調節劑的培養基，可以得到相同白色鬆散的癒傷組織，所以應該是細胞產生的有毒物質導致癒傷組織褐化。細胞分裂素常被使用在植物組織培養，它可以促進地上部地形成(Tomsone, 2007)。活性炭可以吸附植物產生的有害物質，在丁香屬(*Syringa*)植物胚拯救的培養基中，添加活性炭可以促進胚的萌發與生長，而添加低濃度的細胞分裂素可以提高胚的萌發率(周等, 2003)。本實驗癒傷組織有分化出根的趨勢，推測是由於細胞產生過多的 auxin 所致，而將癒傷組織培養於含有活性炭與細胞分裂素的培養基中，癒傷組織會轉變成產生綠色且結實的細胞團(圖 4D)，但只有少數的癒傷組織可以成功誘導出芽體(圖 7D)。尋找較合適的培養基配方，應該可以提高癒傷組織再生芽體的比例，但經由癒傷組織得到雜種後代需花費較久的時間，應該還是以提高胚萌發率較能有效的得到雜交後代。

參 考 文 獻

- 卜莎蒂。2008。麒麟花利用花序培植體之微體繁殖。中興大學碩士論文。p.26。
- 周莉、羅鳳霞、代力民。2003。丁香(*Syringa* L.)種間雜交幼胚離體培養研究。應用生態學報 14: 382-386。
- 易美秀。2001。蘭科植物無菌發芽之研究。試驗研究暨推展論文發表會論文摘要。台中區農業改良場特刊第 49 號。行政院農委會台中區農業改良場 編印。p.65-66。
- 徐振彪、傅作申、原亞萍、杜娟、張新生、田立國、賈玉峰和母秋華。1997。植物組織培養過程中的褐化現象。雜糧作物 1: 55-56。
- 董麗芬、彭麗萍。2005。培养基對樟子松胚不定芽增殖影響的研究。西北林學院學報 20 (2): 93-95。
- Bridgen, M.P.1994. A review of plant embryo culture. Hortscience. 29: 1243-1246.
- Carimi, F., F. Pasquale, A.M. Puglia,. 1998. In vitro rescue of zygotic embryos of sour orange, *Citrus aurantium* L., and their detection based on RFLP analysis. Plant Breeding 117: 261-266.
- Ikeda, N., Y. Niimi, and D. S. Han. 2003. Production of seedlings from ovules excised at the zygote stage in *Lilium* spp. Plant Tiss. Cult. Lett. 73: 159-166.
- Liu, H., G. Yan and R. Sedgley. 2006. Interspecific hybridization in the genus *Leucadendron* through embryo rescue. Sou. Afr. J. Bot. 72: 416-420.
- Raghavan, V. and J. G. Torrey . 1963. Growth and morphogenesis of globular and older embryos of *Capsella* in culture. Am. J. Bot. 50: 540-551.

- Tomsone, S., A. Galeniece, A. Akere, G. Priede, and L. Zira. 2007. In vitro propagation of *Syringa vulgaris* L. cultivars. *Biologija* 53: 28-31.
- Tukery, H. B. 1933. Artificial culture of sweet cherry embryos. *J. Hered.* 24: 7-12.

Embryo Rescue of Interspecific Hybrids in 'Crown of Thorns'

Gi-Iau Wu¹⁾ Chien-Young Chu²⁾

Key words: Embryo culture, Days after pollination, Medium, callus

Summary

Euphorbia milii 'Olympus' and 'Supo Roek' and *E. geroldii* were crossed for developing thornless 'crown of thorns'. In the crossing of *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii* and *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii*, we found the fruits dropped before maturing. The immature embryos of *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii* and *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii* were taken from ovaries after 7 days of crossing and could be rescued on the medium containing 1/4 MS formula. The radical elongation was better. The immature embryos of *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii* were taken from ovaries after 3 days of crossing and could be rescued on the medium containing MS formula. The callus developed better. The immature embryos of *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii* were taken from ovaries after 6 or 8 days of crossing and could be rescued on the medium containing 1/4MS or 1/2MS formula. The callus developed better.

Twenty four progenies of *E. milii* 'Olympus' × *E. geroldii* were got through embryo developed directly. In *E. milii* 'Supo Roek' × *E. geroldii*, 32 progenies grew up. There were 29 progenies developed from embryo directly and there were 3 progenies from callus regeneration.

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

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

種子預措處理對報歲蘭'達摩'種子發芽之影響

黃瓊慧¹⁾ 王才義²⁾

關鍵字：達摩報歲蘭、無菌發芽、前處理

摘要：達摩報歲蘭(*Cymbidium sinense* 'Da-mo')種子以超音波震盪處理 60 和 90 分鐘、0.5%次氯酸鈉溶液處理 20 分鐘或以液體振盪處理 30 天可明顯增加種子發芽率，其發芽率皆有 60%以上，較未經處理者高出 2 倍。以 0.01N NaOH 溶液處理者，促進種子發芽的效果較不顯著。而以 0.01N KOH 溶液或低溫進行預措處理，可能是胚受到傷害，有抑制種子發芽的現象產生。

前 言

報歲蘭(*Cymbidium sinense*)為地生性蕙蘭，屬於東洋蘭和國蘭，原產於台灣和中國大陸。報歲蘭除了可欣賞其高雅的花形、花色外，也強調葉形與生長的彎曲弧度。此外，部分缺乏葉綠素或突變的藝蘭，其線藝色彩更是受人矚目，即使在非開花期的植株也具有觀賞價值(羅，2006)。目前商業上栽培報歲蘭仍以分株繁殖為主，繁殖速率緩慢，且變異產生較少。利用種子繁殖，不僅繁殖快速，且產生變異的機率也相對提高。但報歲蘭'達摩'(*Cymbidium sinense* 'Da-mo')屬於地生蘭類，地生蘭類種子發芽較困難，可能是因種子於成熟期間種皮不通透性的阻礙(Lee *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2006; Yamazaki and Miyoshi, 2006)，或是在種子發育期間內生抑制物質的產生(Lee *et al.*, 2007)。因此，利用種子預措處理使種子發芽率提高，縮短實生繁殖時間，提高繁殖速率，並期望所生產的實生苗具有多樣的葉藝及花藝，增加其觀賞價值。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班學生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

材料及方法

一、試驗材料

選取國立中興大學精密溫室內容器栽培之生長整齊、健壯的達摩報歲蘭「十公」(Da Mo orchid 'Ten persons')植株，於植株開花期間進行標示及人工自花授粉，每一花梗限制授粉3朵花，以免過量的著果而抑制蒴果的發育。無菌播種時，蒴果分別取自不同的達摩報歲蘭植株，蒴果自植株取下後於當日進行播種。所有蒴果於採收後先以75%(v/v)酒精擦拭表面及溝紋，再浸泡於含有1滴Tween-20的次氯酸鈉(NaOCl)(有效氯1%)溶液中表面消毒10分鐘，在無菌操作台內以無菌去離子水清洗5次至無泡沫。蒴果風乾後，在無菌培養皿上將其剖開，挖取內部種子，將全數種子浸泡於100 ml無菌水中製成種子懸浮液後進行試驗。

二、培養基製備

培養基的基本鹽類均以半量的MS(1/2MS; Murashige and Skoog, 1962)巨量元素，全量的MS微量元素、鐵源及維生素，另添加20 g/L蔗糖，以0.1N NaOH和HCl將pH值調整至 5.7 ± 0.01 ，再加入8 g/L洋菜(Bacto™ Agar, France)及2 g/L活性炭作為基本培養基，並於121°C、110 kpa高溫高壓20分鐘。滅菌後將培養基倒入無菌塑膠培養皿(Petri Dish, Alpha Plus Scientific corp, Taiwan)(55 mm×15 mm)中備用，每個培養皿內含10 ml的上述固體培養基。

三、培養環境條件

所有試驗的種子於播種後皆置於暗環境下培養4週後，再移至由旭光牌冷白螢光燈(FL40D/38)提供1400 lux，每日16小時光期、8小時暗期，溫度 $25\pm2^{\circ}\text{C}$ 環境下培養。

四、試驗方法

(一) 超音波震盪處理

取授粉後150天的蒴果各3個，種子分別混合後進行超音波震盪處理。種子懸浮液(100 ml)以超音波震盪器處理0、15、30、45、60、75或90分鐘，震盪後以無菌的定量吸管吸取1 ml種子懸浮液，直接播種於含固體培養基的無菌塑膠培養皿中，並以2層石蠟膜密封。每一培養皿為1重複，每處理共10重複。

(二) 化學藥劑處理

取授粉後150天的蒴果3個，混合種子後進行NaOH、KOH和NaOCl溶液處理。種子分別以0.01N NaOH或KOH處理0、5、10、20或40分鐘，或以有效氯0.5% NaOCl溶液處理0、10、20或30分鐘。種子於化學藥劑處理後以無菌的濾紙(110 mm, Advantec, Japan)過濾，再以無菌水沖洗5次，每一預措處理的種子加入20 ml無菌水中製成種子懸浮液後，再以無菌的定量吸管吸取1 ml種子懸浮液，播種於含固體培養基的無菌塑膠培養皿中，並以2層石蠟膜密封。每一培養皿為1重複，每處理共10重複。

(三) 低溫貯藏處理

取授粉後 170 天的蒴果 3 個，混合種子後進行低溫貯藏。將 100 ml 種子懸浮液置於 4℃ 的冰箱中冷藏 10、20 和 30 天。低溫貯藏後以無菌的定量吸管吸取 1 ml 種子懸浮液，播種於含固體培養基的無菌塑膠培養皿中，並以 2 層石蠟膜密封。每一培養皿為 1 重複，每處理共 10 重複。

(四) 液體振盪處理

取授粉後 130 天的蒴果 3 個，混合種子後倒入 100 ml 無菌水進行液體振盪處理。將種子懸浮液置於迴轉式振盪器上，於轉速 110 rpm 下振盪處理 10、20、30、40、50 和 60 天。振盪處理後以無菌的定量吸管吸取 1 ml 種子懸浮液，播種於含固體培養基的無菌塑膠培養皿中，並以 2 層石蠟膜密封。每一培養皿為 1 重複，每處理共 10 重複。

五、調查項目

以解剖顯微鏡(Nikon SMZ645, Japan)觀察並調查種子發芽率。於播種後 28 週觀察並記錄，含胚種子率=(有胚種子數/總種子數)×100%；當種子胚膨大至兩倍以上且突破種皮時視為發芽，種子發芽率=(發芽種子數/有胚種子數)×100%；若原球體和根莖呈現橙紅或鐵銹色即視為褐化，褐化率=(褐化數/發芽種子數)×100%。計算發芽率後以數位相機(Olympus E-330, Japan)進行拍照記錄。

六、統計分析

試驗採完全隨機設計(Complete randomized design; CRD)，試驗結果以 SAS 統計軟體進行一般線性模型(General linear model; GLM)測試顯著性，再以最小顯著性差異測試(Least significance difference test; LSD)比較各處理間 5%差異顯著性。

結 果

一、超音波震盪處理對種子發芽率之影響

授粉後 150 天的達摩報歲蘭種子進行超音波震盪處理可有效的提高種子發芽率，經處理者種子發芽率皆較未經處理者(發芽率 19.5%)高出二倍以上，且隨著處理時間的延長，其種子發芽率亦會隨之提高，其中以超音波震盪處理 60 和 90 分鐘時，其種子發芽率分別為 62.1 和 65.5%，較其他處理時間佳(表 1)。

二、化學藥劑處理對種子發芽率之影響

以 0.01N NaOH 溶液處理授粉後 150 天的達摩報歲蘭種子，可觀察到經 NaOH 溶液處理者可些微促進種子發芽，但與未處理者無顯著性差異，其種子發芽率皆有 19%以上，處理者以 40 分鐘處理時較佳，其種子發芽率為 22.2%(表 2)。種子經 0.01N KOH 溶液處理，其種子發芽率會明顯下降，隨著處理時間延長至 20 分鐘以上，其種子發芽率則快速降低，從未經處理的 19.5%下降至 7.3%，且經 KOH 溶液處理後，會增加原球體和根莖的褐化率，以處理 40 分鐘時較高，達 60.5%(表 2)。以有效氯 0.5%的次氯酸鈉溶液進行預措處理，可

明顯提高其種子發芽率，不論其處理時間為何其發芽率皆較未處理者(19.5%)佳，且種子發芽率隨著處理時間的延長而逐漸增加，以處理 20 分鐘時較高，其種子發芽率為 64.0%，然而，當處理時間延長至 30 分鐘時，則發芽率些微下降至 54.6%。在褐化率方面，亦以處理 20 分鐘時達 63.3%，最為嚴重，而將處理時間延長至 30 分鐘，則褐化率下降至 31.6% (表 3)。

表 1. 超音波震盪處理時間對授粉後 150 天之'達摩'報歲蘭種子總發芽率之影響^z

Table 1. Effects of ultrasonic treatment on seed germination *in vitro* of *Cymbidium sinense* 'Da-mo'^z.

Duration	Embryoed seed (%)	Seed germination (%)	Browning (%)
0	52.5	19.5 e ^y	29.1 bc
15	53.5	42.8 d	41.4 b
30	50.9	43.7 cd	28.8 bc
45	50.7	42.1 d	18.3 c
60	44.3	62.1 ab	62.9 a
75	41.3	53.7 bc	16.2 c
90	30.3	65.5 a	68.8 a

z: Data were collected after 28 weeks of culture.

y: Means in column with the same letters are not significantly different by LSD test at 5% level.

表 2. 鹼液處理時間對授粉後 150 天之報歲蘭'達摩'種子發芽率之影響^z

Table 2. Effects of soaking duration in alkali solution on *in vitro* seed germination of *Cymbidium sinense* 'Da-mo'^z.

Duration (min.)	0.01N NaOH			0.01N KOH		
	Embryoed seed (%)	Seed germination (%)	Browning (%)	Embryoed seed (%)	Seed germination (%)	Browning (%)
0 ^y	52.5	19.5 a ^x	29.1 b	52.5	19.5 a	29.1 b
5	57.4	19.3 a	38.9 ab	56.4	11.4 ab	51.2 a
10	54.6	21.6 a	41.5 a	57.3	16.1 a	27.8 b
20	55.3	21.5 a	37.3 ab	57.4	7.7 b	55.5 a
40	56.1	22.2 a	38.5 ab	57.5	7.3 b	60.5 a

z, y: The same as Table 1.

三、低溫貯藏處理對種子發芽率之影響

授粉後 170 天的達摩報歲蘭種子先經 4℃ 的低溫處理一段時間後再進行無菌播種，其種子發芽率會隨著處理時間的延長而逐漸下降，其中以處理 30 天者最差，播種後 28 週其種子發芽率自對照組(未處理者)29.0%下降至 10.2%。然而，低溫處理卻可減緩褐化的發生情形，原球體和根莖的褐化數在長時間的低溫貯藏(處理 30 天)下，其褐化率可下降至 16.8% (表 4)。

表 3. 次氯酸鈉溶液處理對授粉後 150 天之'達摩'報歲蘭種子發芽率之影響^z

Table 3. Effects of soaking duration in NaOCl solution on *in vitro* seed germination of *Cymbidium sinense* 'Da-mo'^z.

NaOCl soaking (min.)	Embryoed seed (%)	Seed germination (%)	Browning (%)
0 ^y	52.5	19.5 b ^x	29.1 b
10	51.6	51.8 a	52.1 a
20	46.0	64.0 a	63.3 a
30	51.9	54.6 a	31.6 b

z: Data were collected after 28 weeks of culture.

y: In the control, seeds were soaked only in water.

x: Means in column with the same letters are not significantly different by LSD test at 5% level.

表 4. 低溫(4℃)貯藏對授粉後 170 天之'達摩'報歲蘭種子發芽率之影響^z

Table 4. Effects of low temperature storage on *in vitro* seed germination of *Cymbidium sinense* 'Da-mo'^z.

Duration (days)	Embryoed seed (%)	Seed germination (%)	Browning (%)
0	64.3	29.0 a ^y	42.3 a
10	67.8	27.6 ab	23.9 b
20	60.3	16.0 bc	21.7 b
30	60.5	10.2 c	16.8 b

z: Data were collected after 28 weeks of culture.

y: Means in column with the same letters are not significantly different by LSD test at 5% level.

四、液體振盪處理對種子發芽率之影響

將授粉後 130 天的種子浸泡於無菌水中，再置於迴轉式振盪器上進行液體振盪處理，此處理可有效的促進種子發芽，播種後 28 週其種子發芽率皆可提升至 50% 以上，其中以液體振盪處理 30 天，可促進種子發芽率達 60.5%。在褐化率方面，則以液體振盪處理 10 天者，其褐化率有 73.5% 最高，以振盪處理 40 和 50 天者較低，其褐化率有 24.6% 和 26.5% (表 5)。

表 5. 液體振盪處理對授粉後 130 天之'達摩'報歲蘭種子發芽率之影響^z

Table 5. Effects of liquid treatment on *in vitro* seed germination of *Cymbidium sinense* 'Da-mo'^z.

Duration (days)	Embryoed seed (%)	Seed germination (%)	Browning (%)
0	49.4	32.2 c ^y	48.3 b
10	31.3	55.3 ab	73.5 a
20	29.2	58.1 a	32.3 cd
30	26.5	60.5 a	37.4 c
40	23.9	49.5 b	24.6 d
50	20.8	49.4 b	26.5 d
60	19.8	56.2 ab	55.8 b

z: Data were collected after 28 weeks of culture.

y: Means in column with the same letters are not significantly different by LSD test at 5% level.

討 論

達摩報歲蘭授粉後 150 天的種子進行超音波震盪處理可有效的提高種子發芽率，經處理者種子發芽率皆較未經處理者高出二倍。Lee *et al.*(2007)指出繡邊根節蘭(*Calanthe tricarinata*)其種子經超音波震盪處理後內生 ABA 濃度由 11.6 ng mg⁻¹ FW 下降至 6.6 ng mg⁻¹ FW。而菲律賓拖鞋蘭(*Paphiopedilum phieippinense*)種子經超音波震盪處理 90 分鐘後，可觀察到種皮破裂之情形(李和陳，1997)。因此，超音波震盪處理可能是由於降低或除去達摩報歲蘭種子的抑制物質，或因震裂種皮，促進胚吸收水分和養分，進而使種子發芽率提高。達摩報歲蘭種子以超音波震盪處理 60 和 90 分鐘時發芽率(62.1%和 65.5%)較高(表 1)，繡邊根節蘭以超音波震盪處理 45 分鐘，其種子發芽率較短時間處理者(30 分鐘以

內)佳,但長時間的超音波震盪處理(60 分鐘)可能會造成胚或原表皮細胞受傷,使發芽率下降(Lee *et al.*, 2007),由此結果得知,達摩報歲蘭種子較繡邊根節蘭種子耐超音波震盪。

鳳蘭(*Cymbidium dayanum*)種子非常脆弱,授粉後 8 個月的種子以 0.1M KOH 浸泡 5 分鐘皆完全不發芽(呂和李, 1990),此結果與本研究結果相似,授粉後 150 天的達摩報歲蘭種子經 0.01N NaOH 和 0.01N KOH 溶液處理者,其促進種子發芽的效果不明顯,且 KOH 溶液處理會抑制種子發芽(表 2),可能種子已受到消毒液的傷害。根據 Van Waes and Debergh(1986a)的結果,以次氯酸鹽類溶液處理,種皮經鹼化和氧化而被剝蝕,可增加水分的擴散和滲透。達摩報歲蘭種子以有效氯 0.5%的次氯酸鈉(NaOCl)溶液處理,則可明顯提高種子發芽率,且種子發芽率隨著處理時間的延長而逐漸增加(表 3),此研究結果與吳和李(1991)報告結果相似,紅花鶴頂蘭以 0.5% NaOCl 溶液消毒 15 分鐘,可促進其種子發芽率提高至 60%以上。繡邊根節蘭種子以 1% NaOCl 或 1N NaOH 溶液處理,可使發芽率提高至 30%以上,且其種子內生 ABA 濃度會隨著處理時間延長濃度就越低(Lee *et al.*, 2007)。而奇萊喜普鞋蘭(*Cypripedium macranthos*)以 0.5% NaOCl 溶液處理 60 分鐘,在播種後 3 個月發芽率可達到 72%,而以 1% NaOCl 溶液處理 60 分鐘,則種子發芽率下降到 0%(Miyoshi and Mii, 1998)。上述結果之預措處理後的差異可能與不同物種間種皮的厚度和滲透性有關(Lee *et al.*, 2007; Van Waes and Debergh, 1986a)。

奇萊喜普鞋蘭(*Cypripedium macranthos*)(Miyoshi and Mii, 1998)和芭菲爾鞋蘭(*Paphiopedilum purpuratum*)(劉黃, 1995)種子先於 4°C 下低溫培養一段時間,可打破種子休眠,促進種子發芽,但在本研究中,先經 4°C 的低溫處理一段時間後再進行無菌播種,達摩報歲蘭種子發芽率會隨著處理時間的延長而逐漸下降(表 4),此結果反而與 Van Waes and Debergh(1986b)結果相同,西歐蘭花於播種前先以低溫(6°C)處理一段時間,對種子發芽有抑制的作用,此原因可能與物種本身的生育環境有關。

Van Waes and Debergh(1986a)觀察到根爪蘭(*Dactylorhiza maculata*)種子以無菌去離子水浸泡時間愈久,以 TTC 溶液測定的胚染色率就愈高。達摩報歲蘭授粉後 130 天的種子浸於無菌水中,再置於迴轉式振盪器上進行液體振盪處理 30 天,可促進有胚種子發芽率達 60.5%(表 5),可能是種子浸泡於水中一段時間後,其種皮的滲透性增加的緣故。

參 考 文 獻

- 呂依倫、李晔。1990。鳳蘭之無菌發芽。中國園藝 36: 198-209。
- 李晔、陳美惠。1997。拖鞋蘭之果莢成熟度和種子前處理對無菌發芽之影響。p.630-644。
- 園藝種苗科技研究成果發表會專集。
- 吳新棋、李晔。1991。紅花鶴頂蘭之無菌發芽。中國園藝 37: 183-198。
- 劉黃碧圓。1995。芭菲爾鞋蘭無菌播種之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。

- 羅英妃。2006。蕙蘭類栽培管理要點。p.43-55。蕙蘭栽培管理手冊。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。台北市。
- Lee, Y. I., C. F. Lu, M. C. Chung, E. C. Yeung, and N. Lee. 2007. Developmental changes in endogenous abscisic acid concentrations and asymbiotic seed germination of a terrestrial orchid, *Calanthe tricarinata* Lindl. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 132: 246-252.
- Lee, Y. I., E. C. Yeung, N. Lee, and M. C. Chung. 2006. Embryo development in the lady's slipper orchid, *Paphiopedilum delenatii*, with emphasis on the ultrastructure of the suspensor. Annals of Botany 98: 1311-1319.
- Lee, Y. I., N. Lee, E. C. Yeung, and M. C. Chung. 2005. Embryo development of *Cypripedium formosanum* in relation to seed germination *in vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 130: 747-753.
- Miyoshi, K. and M. Mii. 1998. Stimulatory effects of sodium and calcium hypochlorite, pre-chilling and cytokinins on the germination of *Cypripedium macranthos* seed in vitro. Physiol. Plant. 102: 481-486.
- Van Waes, J. M. and P. C. Debergh. 1986a. Adaptation of the tetrazolium method for testing the seed viability, and scanning electron microscopy study of some Western European orchids. Physiol. Plant. 66: 435-442.
- Van Waes, J. M. and P. C. Debergh. 1986b. In vitro germination of some Western European orchids. Physiol. Plant. 67: 253-261.
- Yamazaki, J. and K. Miyoshi. 2006. *In vitro* asymbiotic germination of immature seed and formation of protocorm by *Cephalanthera falcate* (Orchidaceae). Annals of Botany 98: 1197-1206.

Effects of Seed Pretreatment on Seed Germination *in vitro* of *Cymbidium sinense* 'Da-mo'

Chiung-Hui Huang¹⁾ Tsai-Yih Wang²⁾

Key words: *Cymbidium sinense* 'Da-mo', Asymbiotic germination, Pretreatment

Summary

Seeds of *Cymbidium sinense* 'Da-mo' with ultrasonic treatment for 60 min. and 90 min., 0.5% NaOCl solution for 20 min. or liquid treatment for 30 days could increase the seed germination percentage to 62.1% and 65.5%, 64.0% or 60.5%, double higher than control. No significant improvement on germination was found in 0.01N NaOH solution. Seed germination was inhibited, when seeds pretreatment with 0.01N KOH solution and low temperature treatment.

-
- 1) Graduate student in MS. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
 - 2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
Corresponding author.

台中市大坑風景區裸露地綠覆變遷之研究

莊子嫻¹⁾ 劉東啟²⁾

關鍵字：遙感探測、綠覆變遷

摘要：台中市大坑風景特定區，是台中市重要的自然風景遊憩區。但歷經九二一大地震、納莉颱風和七二水災等嚴重天災後，風景區的山坡地崩塌、流失，景觀重要資源的植生受到嚴重的損害。本研究的目的在於對風景區之裸露地進行歷年的綠覆變遷比較。因此，利用空間物件摘出技術，由 1994 年、1999 年、2002 年、2006 年的航空影像進行綠覆比對，判釋歷次天災後崩塌裸露區域，探討裸露地分布和地形因子，對歷年受災區域的災後綠覆變遷進行比對，瞭解災後綠覆面積的回復情況。研究結果發現如下：

1. 大坑風景區在 1994 年至 2006 年間，裸露地面積逐年減少；而裸露數量逐年增加，且裸露地有往低海拔分布的趨勢。
2. 根據 1994 年至 2006 年間的裸露地的地形因子分析結果，發覺位於海拔高 550 公尺至 750 公尺區間，以及坡度達 55% 以上，對裸露地影響比較大。但是陡坡地形對於植生恢復不易，因此有探討其綠覆情況之必要性。
3. 探討各樣區的裸露地和綠覆變遷分析，結果顯示大坑風景區在海拔 650 公尺以上的裸露地和林地面積已逐年回復。

前 言

大坑風景區位於台中市東側頭嵙山區，為台中市最重要的自然風景區。經歷 921 大地震、納莉颱風及桃芝颱風天然災害(見表 1)，而造成山坡地崩塌裸露、土石鬆動和植被變遷等破壞。

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。

表 1. 天然災害統計表(1996~2004)

Table 1. Tables of natural disasters. (1996 ~ 2004)

年份	災害名稱	災害規模
1996	賀伯颱風	強烈颱風
1999	921 大地震	芮氏規模 7.3 級
2001	納莉颱風	中度颱風
2001	桃芝颱風	中度颱風
2004	敏督利颱風	中度颱風

邊坡崩壞之因素繁多，植生復育密度之多寡亦是影響邊坡穩定之重要因子之一，由於良好植被覆蓋可以阻截減緩地表或坡面逕流而發揮植生等護坡功效(潘國樑，1996)。大坑風景區的山坡地的植生在天然災害發生時，具有水土保持、穩定坡面等功能，同時植生在風景區也是重要構成條件之一，因此山坡地植生的維護是非常重要的。

顏正平(1997)與陳文福(2002)調查分析於台中市大坑風景區之崩塌地，其地層走向大致呈南北向，傾角與坡度大致相同，向東偏南傾斜，傾角 20~30 度，唯一典型的單斜結構地區，局部坡度較陡處則形成順向坡滑動條件。崩塌地發生區位以山腹為主，坡度以 15°~30°最多。地滑為台灣最主要的崩坍形式，本區的地形與地質潛因，為順向坡與鬆散的砂岩夾雜頁岩，而降雨與地下水則是造成本區地滑的主要原因。

大坑風景區的礫岩地質及陡峭地形，在遭受天然災害干擾後，易造成裸露坡面土石滑落，增加植生恢復難度，當地居民亦受到崩塌和土石流等災害的威脅。

近幾年，大坑風景區成為台中市的主要自然遊憩區，台中市政府直到 2009 年止，共規劃建設 10 條登山步道，其中 1 至 5 號步道分布於高海拔的頭嵙山，坡度分級在四級坡以上，亦有沿著稜線建造的登山步道。因此 921 大地震後，大坑風景區步道周邊植生景觀也受到破壞，台中市政府於 89 年及 91 年在大坑風景區步道兩側進行坡地植生復育工程，另外，位在陡峭地形不易施工的區域，運用植生自然恢復的能力來達到坡面穩定的效益。大坑風景區位於頭嵙山系，具有自然景觀的特質，但人為植生復育受到地質及坡度環境因子影響，植生復育受到限制，因此自然的回復能力對於大坑風景區的景觀構成有其探討的必要性。

大坑風景區經歷地震及颱風等天然災害後，造成坡面裸露，且植生復育困難，但是，前人文獻針對大坑風景區有關裸露地綠覆變遷的相關研究極少，本研究以遙感探測技術探討大坑風景區在 1994 年至 2006 年間裸露地分布現況及地形因子，並劃設 100 公尺*100 公尺的研究樣區共 35 個，將樣區地景類型分為 7 類，分析各樣區不同時期的綠覆面積和回復速率，以瞭解受到歷次天然災害後，1994 年至 2006 年間各樣區的綠覆變遷之實際情

況。而本研究目的有兩點，首先，探討大坑風景區在 1994 年至 2006 年間的裸露地分布狀況，並探討樣區的歷年綠覆變遷及回復速率；其次，以大坑風景區裸露地於災後的綠覆變遷，了解易崩塌的裸露區域，自然回復情況，作為提供後續相關研究之基礎資料。

材料與方法

一、研究材料：

(一) 數位航空影像資料

申購農林航空測量所在 1994 年、1999 年及 2002 年，所拍攝的航空影像資料，TIFF 格式，空間解析度 0.5M。而 2006 年的航空影像購買自群立科技股份有限公司，TIFF 格式，空間解析度 0.1M。其中 1994 年及 1999 年為黑白航空影像資料，2002 年及 2006 年為彩色航空影像。將四個時期數位航空影像資料整理如下(見表 2)：

表 2. 1994 年、1999 年、2002 年及 2006 年數位航空影像資料表

Table 2. 1994, 1999, 2002 and 2006 digital aerial image data table.

年代	影像名稱	比例	空間解析度	拍攝日期
1994	台灣地區像片基本圖	1:5000	0.5M	83/12/16
1999	台灣地區像片基本圖	1:5000	0.5M	88/12/10
2002	彩色正射航空影像	1:5000	0.5M	91/07/26
2006	彩色正射航空影像	1:1000	0.1M	96/02/02

(二) 數值地形模型(Digital Terrain Model, DTM)

以 Arc View GIS 9.0，運用地形分析模組製作 40M*40M 的數值地形模型，並轉換成海拔高、坡度和坡向等環境資訊的網格式資料(Raster Data)。

二、研究方法

(一) 物件導向判釋軟體(Definiens Professional 5)摘出裸露地說明

本研究使用 1994 年、1999 年、2002 年與 2006 年數位航空影像，以物件導向判釋軟體摘出裸露地，其中 1994 年和 1999 年為黑白航空影像，2002 年和 2006 年為彩色航空影像。

因此，在影像分割設定時，對於黑白航空影像和彩色航空影像的影像差異性，影像分割設定值須有所調整。其影像分割設定詳述如下：

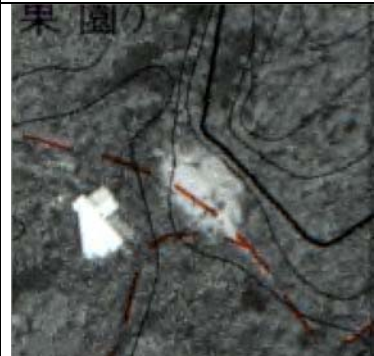
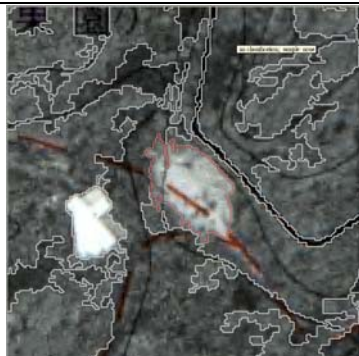
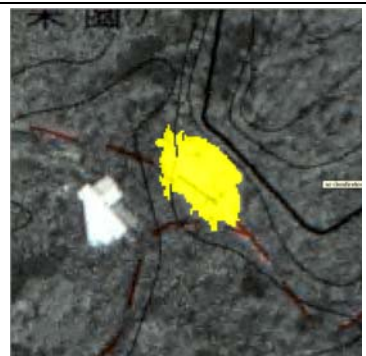
1.黑白航空影像：

1994 年和 1999 年航空影像資料為台灣地區像片基本圖，經影像數位處理，影像解析度 0.5M，經過本研究數次分割結果，認為黑白航空影像在影像分割最為理想的尺度設定為 150；顏色/形狀參數 0.9-0.1；平滑/緊密參數 0.5-0.5。

黑白航空影像分割以顏色為主要，因裸露地的顏色為白色，森林為黑或灰色，只是對於道路、溪流、建物比較容易混淆，所以影像分割之後，摘出設定須加入形狀和紋理等分類準則，增加裸露地摘出的準確度(見表 3)。

表 3. 黑白航空影像分割步驟與結果

Table 3. Black and white aerial image of steps and the results of segmentation.

步驟 1-黑白航空影像	步驟 2-影像分割	步驟 3-裸露地摘出結果
		

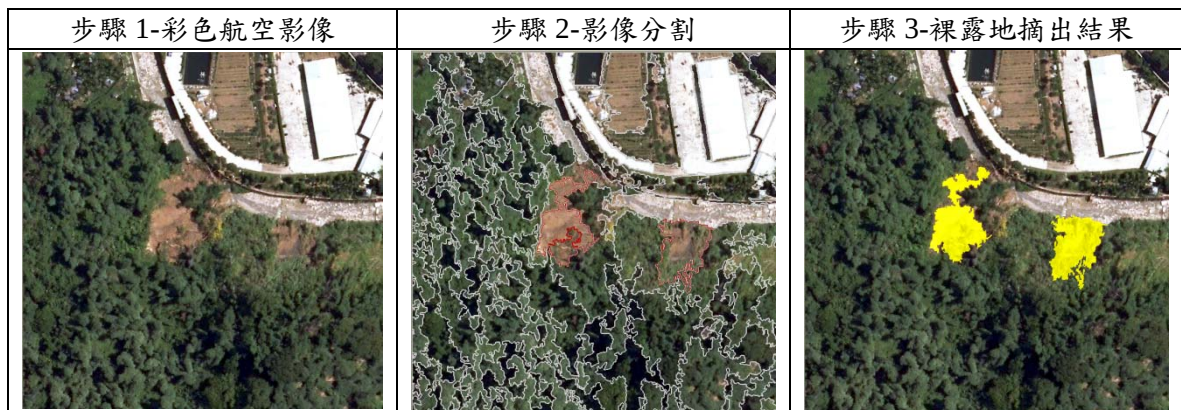
2.彩色航空影像：

2002 年和 2006 年航空影像資料為數位正射彩色航空影像，影像解析度分別 0.5M 和 0.1M，RGB 波譜。彩色航空影像在影像分割最為理想的尺度設定為 100；顏色/形狀參數 0.2-0.8；平滑/緊密參數 0.4-0.6。

彩色航空影像由於顏色波譜較為複雜，影像分割以形狀為主要。而裸露地容易與道路、溪流、建物混淆，因此分割設定時可選擇形狀因子的平滑和緊密參數，區分出形狀較為規則的道路與建物。在分類準則設定仍須以形狀和紋理等模式，來增加裸露地摘出的準確度(見表 4)。

表 4. 彩色航空影像分割步驟與結果

Table 4. Color Aerial Image Segmentation steps and results.



(二) Arc View GIS 9.0 分析圖層套疊及地景變遷

運用物件導向判釋軟體匯出的崩塌地的向量式資料，於 Arc View GIS 9.0 探討各時期裸露地的分布情形，接著製作 40M*40M 的數值地形模型，轉換成網格式資料，將海拔網格資料分成 8 級；坡度網格資料分成 7 級；坡向網格資料分成 8 級，經網格資料重新分級後，以網格計算機運算不同時期裸露地與環境因子的影響分析。

本研究共設置 35 個 100M*100M 的研究樣區，其設置條件為不同時期的裸地，有二個時期以上出現裸露地。並依各樣區海拔分布位置，分成 7 區(見表 5)。其中 A 區、B 區、C 區分布於低海拔人為開發區域較多，而 D 區、E 區和 F 區包含人為開發及自然區域，G 區為自然程度最高的區域。

表 5. 研究樣區分類表

Table 5. Research type area sorting table.

樣區	海拔(m)	數量
A	150-250	5
B	250-350	5
C	350-450	5
D	450-550	5
E	550-650	5
F	650-750	5
G	750-860	5
總數量		35

將 35 個研究樣區套疊至歷年航空影像上，於各樣區地景分類準則以大坑風景區在 1994 年的台灣相片基本圖上的土地利用型，共分類出 7 種地景類型：裸地、草生地、林地、果園、道路、建物及水域等類型。因航空影像在地上物判釋，對於植生類型較難區分，本研究的植生判釋方法，將植生類型分為林地與草生地，而林地即包括闊葉林、針葉林及竹類。

結 果

一、歷年裸露地判釋結果

本研究將探討 1994 年至 2006 年間天然災害造成大坑風景區裸露崩塌影響情形，運用 1994 年、1999 年、2002 年和 2006 年的數位航空影像資料判釋摘出裸露地，並以 Arc View GIS 9.0 做圖層套疊分析，探討歷年裸露地分布情形及環境地形因子。

表 6. 裸露地面積比較表(1994~2006)

Table 6. Bare area comparison table. (1994~2006)

大坑風景區總面積(m ²)		46552817			
裸露地	1994	1999	2002	2006	
數量		438	303	1211	1286
面積(m ²)	872908.7	599943.9	555551.1	506341.6	
面積(ha)	87.2	59.9	55.5	50.6	
裸露面積比(%)	1.8	1.2	1.1	1.0	
最小面積(m ²)	3.1	0.7	0.5	3.8	
最大面積(m ²)	141742	85808.3	15063.3	15649.8	
平均值(m ²)	1869.1	1954.2	454.9	393.7	
標準差(m ²)	7695.9	5641.1	1183.4	946.2	

經不同時期裸露地面積套疊分析(見圖 1)，1994 年的裸露面積為 87.2 公頃，裸露面積比 1.8%，裸露數 467 處，其最大裸露面積有 141742 平方公尺，最小裸露面積有 3.1 平方公尺，裸露面積平均值 1869.1 平方公尺，標準差為 7695.9 平方公尺，1999 年的裸露面積為 59.9 公頃，裸露數 307 處，裸露面積比 1.2%，其最大裸露面積有 85808.3 平方公尺，

最小裸露面積有 0.7 平方公尺，裸露面積平均值 1954.2 平方公尺，標準差為 5641.1 平方公尺；2002 年的裸露面積為 55.5 公頃，裸露數 1221 處，裸露面積比 1.1%，其最大裸露面積有 15063.3 平方公尺，最小裸露面積有 0.5 平方公尺，裸露面積平均值 454.9 平方公尺，標準差為 1183.4 平方公尺；2006 年的裸露面積為 50.6 公頃，裸露數 1286 處，裸露比 1%，其最大裸露面積有 15649.8 平方公尺，最小裸露面積有 3.8 平方公尺，裸露面積平均值 393.7 平方公尺，標準差為 946.2 平方公尺(見表 6)。其裸露面積比計算公式如下：

$$\text{裸露面積比}(\%) = \frac{\text{裸露地面積}(\text{m}^2)}{\text{大坑風景區總面積}(\text{m}^2)} \times 100$$

裸露面積分析結果顯示裸露面積比以 1994 年的 1.8% 最高，2006 年的 1% 最低，1994 年至 2006 年的裸露面積是呈現逐年減少的趨勢。裸露面積的標準差以 1994 年的 7695.9 平方公尺為最大值，而 2006 年的 946.2 平方公尺為最小值，其標準差表示出 1994 年的裸露面積差距大，反之，2006 年的裸露面積差距小，多屬於小規模裸露。

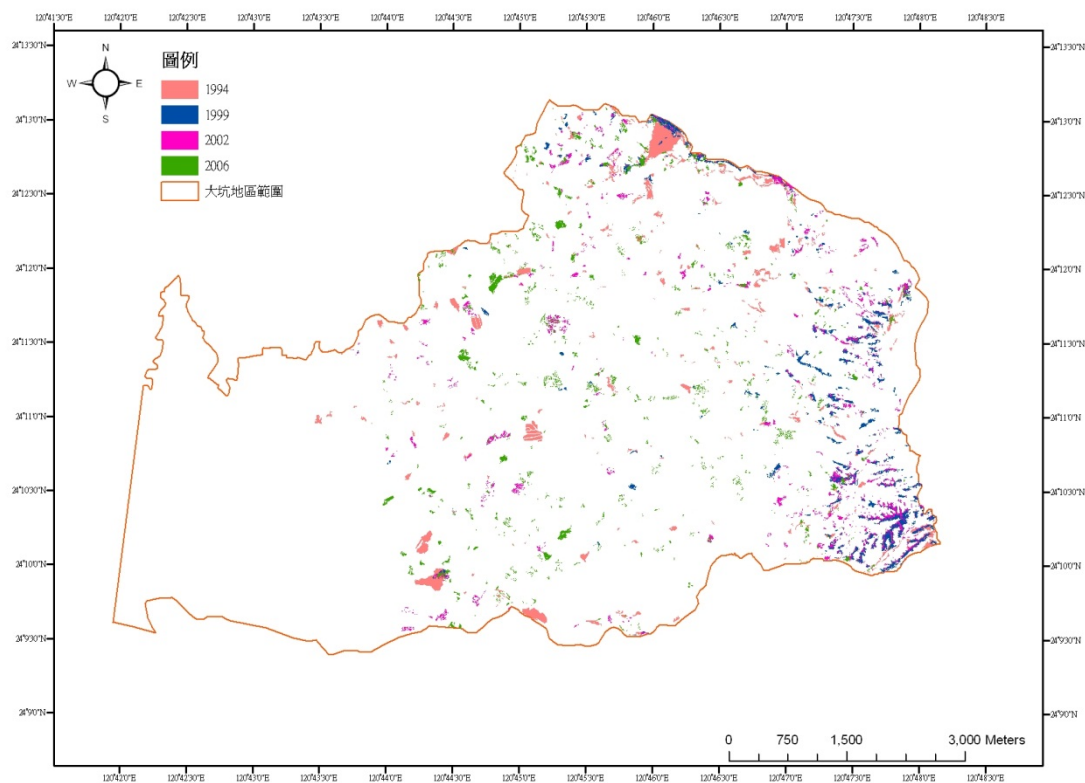


圖 1. 裸露地套疊分析(1994~2006)

Fig 1. Bare area telescope analysis. (1994~2006)

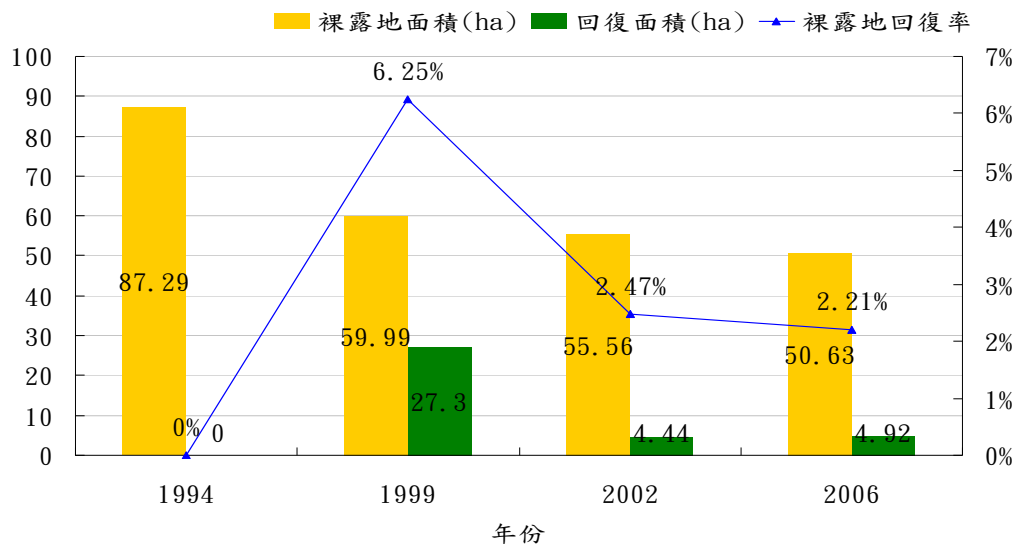


圖 2. 裸露地面積及回復率(1994~2006)

Fig 2. Bare area and reply rate. (1994~2006)

歷年裸露地面積回復情形，以 1994 年至 1999 年間的回復率 6.25% 為最高，回復面積約 27.3 公頃，而各時期的每年平均裸露地回復率為 3.5%(見圖 2)。

依上述不同時期的裸露地分布分析結果，1994 年至 2006 年的裸露面積逐年減少，每年平均裸露地回復率有 3.5%。而 1994 年需考量人為開發裸地影響，1999 年裸露地分布在高海拔陡坡地形，2002 年與 2006 年裸露數量遽增，屬於小規模裸露。其 1994 年裸露情形有大規模裸露，直至 2006 年的裸露情形，已轉變成小規模裸露。

二、歷年裸露地的地形因子分析

本研究參考前人文獻，選擇以地形因子分析各時期裸露地面積所佔比例，地形因子分別為海拔、坡度和坡向等，探討不同時期裸露地於地形因子。

(一) 裸露地向量式及網格式資料誤差比較

先將裸露地的向量式資料轉換成網格式資料，藉以分析地形影響因子。而向量式資料轉換成 40M*40M 網格式資料時，會產生面積計算誤差。因此，先針對其誤差率做討論，以大坑風景區為例，向量式資料為 4655 公頃，網格式資料為 4642 公頃，兩種資料的差異有 13 公頃，誤差率 0.29%。

(二) 1994 年至 2006 年裸露地的地形因子分析

探討裸露地於大坑風景區之地形因子分析。各地形分區的分布面積不相同，因此裸露地於各地形分區間所佔比例越大，對此地形分區間裸露地的影響越大。

1. 裸露地的海拔因子分析：

依海拔因子分析，發現 1994 年至 2006 年間，裸露地於海拔 550 公尺至 750 公尺所佔比例最大(見表 7)。

2. 裸露地的坡度因子分析：

1994 年至 2006 年間，裸露地於六級坡，坡度 55% 至 100%，所佔比例最大，屬於宜林地(見表 8)。

3. 裸露地的坡向因子分析：

大坑風景區山脈呈東西走向，因此南北坡向多屬於地勢陡峭的河谷，1994 年裸露地於坡向因子所佔比最大為東向坡，佔 2.6%。1999 年裸露地以東北向坡的佔比最大，佔 3.1%。2002 年裸露地以東向坡佔比最大，佔 2%。2006 年裸露地為西向坡的佔比最大，佔 1.3%(見表 9)。

4. 裸露地的地形因子分析：

根據 1994 年至 2006 年間的裸露地於海拔、坡度和坡向等地形因子分析結果如下：

(1) 裸露地分布在高海拔區域，位於海拔 550 公尺至 750 公尺間。

(2) 坡度在六級坡(55%-100%)，坡度達 55% 以上，植生恢復不易，因此有探討其綠覆情況之必要性。

(3) 大坑風景區山脈呈東西走向，而裸露地主要位於東西坡向，亦表示其分布於山稜線。

表 7. 1994-2006 年裸露地海拔統計表(單位：ha)

Table 7. 1994-2006 years of bare area elevation tables. (Unit : ha)

		海拔分區						
分區面積		1027	1204	626	389	243	213	84
年份	項目	150-250	250-350	350-450	450-550	550-650	650-750	750-860
1994	裸露面積	19.5	13.0	11.4	11.5	18.4	6.1	0.8
	分區比	1.9%	1.1%	1.8%	3.0%	7.6%	2.9%	1.0%
	全區比	0.5%	0.3%	0.3%	0.3%	0.5%	0.2%	0.0%
1999	裸露面積	1.1	1.1	3.2	5.6	14.7	23.4	6.6
	分區比	0.1%	0.1%	0.5%	1.4%	6.1%	11%	7.8%
	全區比	0.0%	0.0%	0.1%	0.1%	0.4%	0.6%	0.2%
2002	裸露面積	6.7	6.2	4.2	8.5	6.4	9.1	3.4
	分區比	0.7%	0.5%	0.7%	2.2%	2.6%	4.3%	4.0%
	全區比	0.2%	0.2%	0.1%	0.2%	0.2%	0.2%	0.1%
2006	裸露面積	11.2	18.9	7.0	5.4	4.5	2.2	0.6
	分區比	1.1%	1.6%	1.1%	1.4%	1.8%	1.1%	0.8%
	全區比	0.3%	0.5%	0.2%	0.1%	0.1%	0.1%	0.0%

表 8. 1994-2006 年裸露地坡度統計表(單位：ha)

Table 8. 1994-2006 years of bare area slop tables. (Unit : ha)

		坡度分區(%)						
分區面積		916	744	1489	825	540	128	0
年份	項目	一級坡	二級坡	三級坡	四級坡	五級坡	六級坡	七級坡
		0 - 5	5 -15	15 - 30	30 - 40	40 - 55	55 - 100	100 -
1994	裸露面積	7.5	12.6	18.6	16.0	13.0	13.6	0.0
	分區比	0.8%	1.7%	1.2%	1.9%	2.4%	10.6%	0.0%
	全區比	0.2%	0.3%	0.4%	0.3%	0.3%	0.3%	0.0%
1999	裸露面積	2.1	6.7	9.4	8.6	13.1	16.6	0.0
	分區比	0.2%	0.9%	0.6%	1.0%	2.4%	13.0%	0.0%
	全區比	0.0%	0.1%	0.2%	0.2%	0.3%	0.4%	0.0%
2002	裸露面積	1.4	8.3	10.9	7.0	10.1	7.0	0.0
	分區比	0.2%	1.1%	0.7%	0.9%	1.9%	5.5%	0.0%
	全區比	0.0%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.0%
2006	裸露面積	1.4	6.2	14.9	8.8	9.4	9.1	0.0
	分區比	0.2%	0.8%	1.0%	1.1%	1.7%	7.1%	0.0%
	全區比	0.0%	0.1%	0.3%	0.2%	0.2%	0.2%	0.0%

表 9. 1994-2006 年裸露地坡向統計表(單位：ha)

Table 9. 1994-2006 years of bare area aspect tables. (Unit : ha)

		坡向分區							
分區面積		544	270	224	460	872	915	754	602
年份	項目	北	東北	東	東南	南	西南	西	西北
1994	裸露面積	6.7	6.9	5.8	6.9	17.4	14.7	13.9	8.3
	分區比	1.2%	2.5%	2.6%	1.5%	2.0%	1.6%	1.8%	1.4%
	全區比	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.4%	0.3%	0.3%	0.2%
1999	裸露面積	6.6	8.5	6.2	7.0	6.9	5.9	9.6	5.0
	分區比	1.2%	3.1%	2.8%	1.5%	0.8%	0.6%	1.3%	0.8%
	全區比	0.1%	0.2%	0.1%	0.2%	0.1%	0.1%	0.2%	0.1%
2002	裸露面積	6.4	5.0	4.5	5.6	5.6	5.9	5.6	5.9
	分區比	1.2%	1.8%	2.0%	1.2%	0.6%	0.6%	0.7%	1.0%
	全區比	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
2006	裸露面積	6.7	3.2	2.2	5.0	10.1	7.7	9.9	5.1
	分區比	1.2%	1.2%	1.0%	1.1%	1.2%	0.8%	1.3%	0.9%
	全區比	0.1%	0.1%	0.0%	0.1%	0.2%	0.2%	0.2%	0.1%

表 10. 綠覆變遷結果整理表(1994~2006)

Table 10. Green cover change the results table. (1994~2006)

樣區	海拔(M)	1994 年至 2006 年綠覆變遷結果
A	150-250	1994 年至 2006 年間，A 區以 A-1 與 A-2 綠覆回復情形最佳，平均綠覆回復率皆為 8.3%，其原因在 A-1 與 A-2 的裸露面積大，綠覆率低於 50%，裸露地及綠覆面積差異值大，因此回復狀況明顯。而 A-3 至 A-5，綠覆率均達 60%以上，綠覆回復狀況逐年小幅度增減，其中以 A-5 綠覆回復率最低，為-2.6%。
B	250-350	1994 年至 2006 年間，B 區以 B-1 綠覆回復情形最佳，平均綠覆回復率為 5.56%，B-3 的平均綠覆回復率最差為-6.32%。至 2006 年止，B 區僅 B-1 綠覆面積逐年回復。
C	350-450	1994 年至 2006 年間，C 區以 C-4 綠覆回復情形最佳，平均綠覆回復率為 0.97%，C-2 平均綠覆回復率最差，為-7.77%，C-2 綠覆回復逐年減少的情形最明顯，而 C-4 的歷年綠覆面積變遷最少，為 C 區內唯一綠覆面積有回復情形。C 區綠覆以林地居多，因此綠覆面積變化小，在 1999 年受災情形以 C-1 最明顯，1999 年後以 C-2 最明顯。
D	450-550	1994 年至 2006 年間，D 區綠覆面積減少，以 D-5 綠覆回復情形最佳，平均綠覆回復率為 1.42%，D-3 平均綠覆回復率最差，為-3.99%。D 區在 1999 年綠覆面積減少，2002 年綠覆面積增加，至 2006 年，綠覆面積回復情形趨緩。
E	550-650	1994 年至 2006 年間，E 區以 E-5 綠覆回復情形最佳，平均綠覆回復率為 3.58%，E-4 平均綠覆回復率最差，為-3.2%。
F	650-750	1994 年至 2006 年間，F 區以 E-1 綠覆回復情形最佳，平均綠覆回復率為 5.39%，F-2 平均綠覆回復率最差，為-1.6%。
G	750-860	1994 年至 2006 年間，G 區以 G-3 綠覆回復情形最佳，平均綠覆回復率為-0.91%，G-4 平均綠覆回復率最差，為-5.76%，其原因在 1999 年裸露面積達 4342.8 平方公尺，因此至 2006 年止，綠覆面積仍未回復至 1994 年的狀況，導致 G 區回覆率為負值。

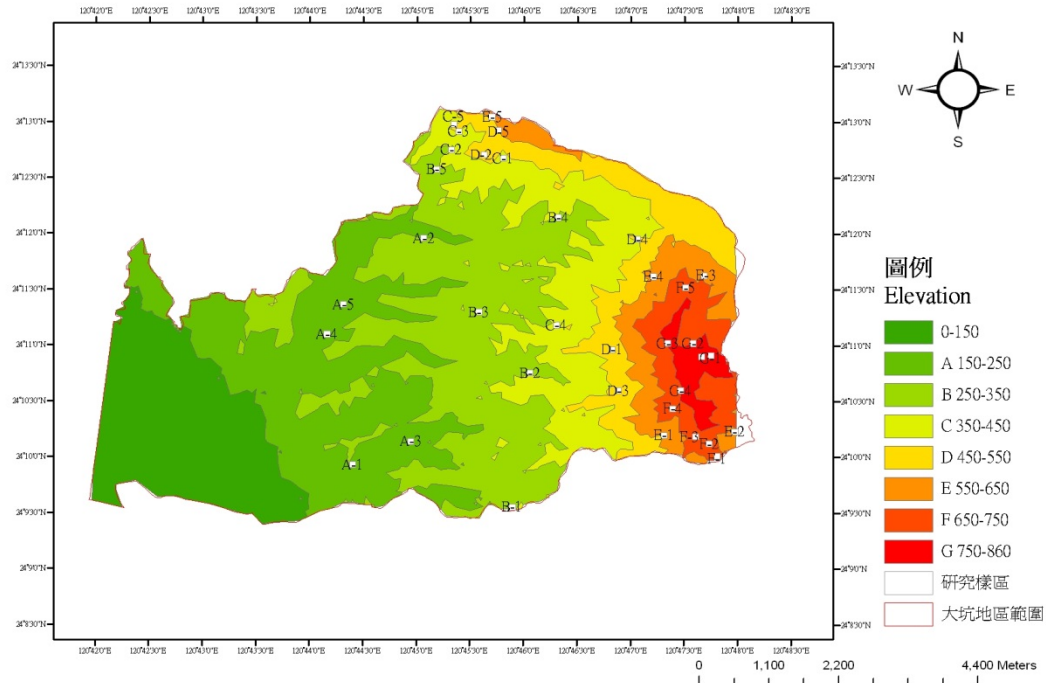


圖 3. 研究樣區分布

Fig 3. Distribution of study sample

三、裸露地與綠覆變遷分析

本研究依樣區的海拔分布位置，區分為 A 區、B 區、C 區、D 區、E 區、F 區和 G 區 (見圖 3)。

於各海拔分區以隨機取樣方法，共設置 35 個 100M*100M 樣區，運用 1994 年台灣相片基本圖的土地利用型為分類準則，於各分區以人工判釋方式，分為以下 7 種地景，並統計各時期地景面積變化，藉以探討各樣區不同時期的綠覆回復面積，及分析 A 至 G 樣區的綠覆回復率。其綠覆面積的回復速率計算公式如下：

$$\text{回復速率(\%)} = \frac{(\text{後年綠覆面積} - \text{前年綠覆面積})}{\text{後年綠覆面積}} \div \text{年距}$$

註：綠覆面積(m²) = 林地

探討裸露地與綠覆變遷現況時，其綠覆面積計算僅以林地面積為主。而各時期航照皆在災後期間所拍攝，將排除其他影響因素，主要是以地震和颱風災害造成的影響作討論。

各樣區裸露地變遷分析結果，1994 年至 1999 年間，A 區和 B 區分布於 350 公尺以下，裸露面積皆減少，表示受到影響小；C 區至 G 區分布於 350 公尺以上，其裸露面積有增加的情形，亦表示地震主要影響分布在高海拔地形。至 2006 年止，A 區至 D 區的裸露地面積仍增加，而 E 區至 G 區的裸露地面積已逐年減少。

各樣區綠覆變遷分析結果，1994 年至 2006 年間，A 區的綠覆面積回復明顯；B 區至 E 區的綠覆面積逐年減少；F 區至 G 區的綠覆面積呈現逐年回復，而 G 區因在 1999 年的裸露地面積大，至 2006 年止，仍未回復至 1994 年的綠覆狀況(見表 10)。

討 論

民國 65 年台中市劃定東側頭嵙山區為大坑風景特定區，近幾年，因其登山步道規劃完善，此區已成為熱門登山景點。因此，大坑風景區在歷經 921 大地震、納莉颱風及桃芝颱風等天然災害後，因頭嵙山系的礫岩地質及陡峭地形，易造成坡面崩塌裸露，對於當地居民及登山遊客的生命安全造成威脅，所以，歷年坡面裸露地的綠覆變遷情形，有其探討的必要性。本研究範圍位於大坑風景區，運用遙感探測技術及物件導向分類軟體判釋摘出 1994 年、1999 年、2002 年和 2006 年的裸露地，探討裸露地在不同時期的分布情況，並運用 Arc View GIS 9.0 於各期裸露地圖層套疊及地形因子分析，了解各時期裸露地的地形因子，且設置 35 個 100M×100M 的研究樣區，分別討論各區裸露地和綠覆變遷情形。而研究整理 1994 年至 2006 年的裸露地分布及地形因子分析、研究樣區裸露地和綠覆變遷分析，並得到以下結果：

1. 1994 年至 2006 年間，裸露地面積亦逐年遞減。而裸露地以 1994 年裸露面積最大，裸露地面積逐年遞減；裸露數量以 2006 年最多，裸露數共 1286 處，裸露地數量逐年遞增。1999 年地震造成的裸露地，發生在陡坡地形，分布在高海拔的稜線；2002 年與 2006 年裸露地面積減少，但裸露數量遽增，且裸露地位置有往低海拔散狀分布的趨勢。
2. 發現裸露地位於高海拔 550 公尺至 750 公尺間，坡度達 55% 以上，且分布在山稜線。此地形條件對於植生恢復較困難，因此有探討其綠覆情況之必要性。
3. 1994 年至 2006 年間，裸露地逐年減少，但綠覆面積變化，未必受到裸露地影響，因裸露面積減少區域，形成草生地，並未計算入綠覆面積，本研究探討的綠覆面積為林地，其植被類型可穩定大坑風景區的坡地，防止土石流失。因此整理各樣區的綠覆回復率，顯示 F 區和 G 區的綠覆率高，綠覆面積逐年回復，亦表示海拔 650 公尺以上的綠覆有回復的趨勢。

參 考 文 獻

- 陳文福、葉光福、謝豪榮。2002。大坑光西巷地滑地之研究。水土保持學報。34(3):177-188。
- 潘國樑。1996。山坡地地質分析。科技圖書科技股份有限公司。台北。
- 顏正平、林致遠。1997。台灣都市周邊山坡地潛在崩坍區劃定準則之研究-以台中市大坑地區山坡地為案例。第二屆海峽兩岸水土保持學術研討會論文集。p.437-488。

Study of Green Cover Change for the Bare Area in Taichung's Ta-Keng Scenic Zone

Tzu-Hsien Chuang¹⁾ Tung-Chi Liu²⁾

Keywords: Remote Sensing, Green Cover Change

Summary

Ta-Keng Scenic Area is a important natural scenery rest area for Taichung City. Go through 921 heavy earthquakes, NARI typhoon and 72 floods, etc, Hillside of scenic area collapsed, and lots of important landscape resource plant impaired after those serious natural calamities. The purpose of this research is comparing green cover transition over the years of those bare areas of Ta-Keng Scenic Area. So utilized Definiens software to clear the bare area up from aviation image which are during the years 1994, 1999, 2002, 2006. Than compared previous green cover zone with those bare area, and probed into distribution and topographical factor of bare areas. After compare the green cover transition of every disaster areas of each years after calamity and find out about the recovery situation of green cover area. The result of study is found as follows: 1. During 1994 to 2006, the bare areas of Ta-Keng Scenic Area reduced year by year; and bare quantity increased. Bare areas were tendency to distribute into low-elevation. 2. Factor analysis which accordance with bare areas dates between 1994 to 2006 exhibit that bare area distributed over high ridge between 550 to 750 meters, and slope more than 55%. This topographical condition is hard to vegetation recovery. 3. Probe into various kinds of district bare areas and green cover transition analysis. The result shows Ta-Keng Scenic Area, elevation above 650 metres, bare areas and forest areas had already been replied year by year.

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

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