

ISSN 0255-5921

# 興大園藝

第三十九卷 第一期

- 插穗長度及季節對番木瓜扦插成活之影響  
.....王浩宇 謝慶昌..... 1
- Effects of Streptomycin Sulfate on Seedlessness in Oval Kumquat  
(*Fortunella margarita* Swingle)  
.....N. Promtong, C. L. Lee, and Y. S. Yang.....17
- '台農 2 號'冬瓜種子發育過程中貯藏物質之含量與其休眠性  
.....葉虹伶 宋好 林子凱.....29
- 光源對喜樹組織培養培植體生長的影響  
.....張本懋 林瑞松.....45
- 馬祖東引鄉原生換錦花(石蒜科)生態之研究  
.....彭俊翰 曹爾元 張 正.....51
- 文化資產作為文化觀光資源評估之研究—以中臺灣文化資產為例  
.....周欣怡 許哲瑜 呂文博 周先捷 歐聖榮.....69
- 雲林地區農塘價值之探討  
.....胡申瑜 歐聖榮.....87

國立中興大學園藝學系編印

中華民國一〇三年三月

## 插穗長度及季節對番木瓜扦插成活之影響

王浩宇<sup>1)</sup> 謝慶昌<sup>2)</sup>

關鍵字：插穗長度、成活率、腐爛率、不定根形成

**摘要：**番木瓜扦插成活率與插穗內在因子及外界環境因子息息相關，因此本試驗以3個月大之'ML×PPI'番木瓜實生苗為採穗株，採取15-20公分插穗進行扦插。結果發現4月發根最為容易，僅需15-21天；10月較晚，約需32-36天。且隨著插穗長度縮短(12公分以下)，插穗發根率和成活率皆有降低之趨勢，而較長之30公分插穗發根數較20公分插穗少。也發現較短的插穗(10公分以下)明顯有較高的腐爛率(20%)。因此適宜扦插之番木瓜插穗長度為12-24公分之間。

### 前 言

番木瓜繁殖可採用種子有性繁殖或扦插、嫁接和組織培養等無性繁殖。番木瓜不同株性結果的果型和品質不同，以種子繁殖產生的後代株性會產生分離，因此很難達到優良、高產、高效的生產目標(黃等，2009；Fitch *et al.*, 2005；Rimberia *et al.*, 2007)。雖可利用隨機擴增片段多形性(RAPD)技術來識別番木瓜植株性別，但此技術操作難度高且成本也高，實非一般農民所能負擔，甚少實際應用(李，2010)。為了解決實生苗所衍生的問題，Allan (1964, 1993)最早建立利用番木瓜成熟株的側芽扦插模式。Allan (1981)由'Sunrise'番木瓜選優良單株而成優良營養系'Honey Glod'，依賴無性繁殖維持其優良性狀，因採自成年植株所萌發側芽，因此幼年性低，開花結果較實生苗早1-2個月，開花及結果位低可達矮化效果。因此可利用無性繁殖方式來確保植株為優良母株性狀，扦插方法簡易、快速及成本較低，惟缺點根系不若實生苗完整，易倒伏(張，1994；黃等，2009)。

一般在春夏季節高溫扦插存活率高，如'日陞'番木瓜在6月扦插時發根率達到100%，發根時間僅21天，發根率為85-100% (Reuveni and Shlesinger, 1990)；然而在秋冬季節則

---

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系副教授，通訊作者。

且發根速度快，僅需 19 天(張及廖，1994)；在夏威夷瓦湖島(Oahu)夏天，'Rainbow'番木瓜因低溫而導致發根慢且發根率低，如'日陞'番木瓜在 9 月和 11 月扦插發根率分別為 9 和 22%，發根時間亦較長，分別為 26 和 50 天(張及廖，1994)。由此可見扦插成活與否，與插穗內部因子及外界環境因子息息相關。然插穗發根率及存活率受環境因子影響，導致各季節扦插苗根系生長品質不一。

插穗長度對插穗本身營養和植物生長賀爾蒙含量，也與插穗不定根形成及生長關係密切，假如插穗過短，節間短少時，易因為營養不足或者植物生長賀爾蒙的缺乏導致插穗不易發根成活(Hartmann *et al.*, 2011)；例如'日陞'番木瓜側枝長度在 30~40 公分發根時間較短為 19 天且發根率高達 100%，但插穗長度在 8-18 公分時發根時間晚 7 天，在 19-29 公分時發根時間晚 5 天且發根率為 80%，而超過 41 公分無顯著影響(張及廖，1994)。而插穗長度較長時，易因地上部組織爭奪養分以及生長素不易運移至基部，反而使得發根時間較晚，例如阿利桑那柏(*Cupressus arizonica* var. *glabra*)插穗在 15 公分時發根率較 30 公分佳(Stubbs *et al.*, 1997)；李(*Prunus salicina*)'花螺'半硬木枝插穗長度在 15-55 公分皆可發根良好，但長度越長發根越慢(王，1992)。因此插穗長度除了選擇適宜的長度扦插外，也要符合成本效益以便爭取插穗之最大限度之利用。

因此本試驗利用番木瓜品種'ML x PPI'作為採穗母株，藉此探討插穗長度與季節對扦插成活率及不定根形成之影響。

## 材料及方法

### 一、試驗材料

本試驗所用番木瓜品種為'ML x PPI'，利用種子播種發育而得的實生苗為採穗株。定植在 5 吋盆中，待植株長至 20-30 公分時，開始採穗供試驗用。然採穗之母株經過截頂後，即長出 1-2 枝側枝，待側枝長成後重複採取。苗株施好康多(S101)肥料，每 3 個月施肥一次（每盆一小匙約 10 克）。4 月及 10 月採穗皆用同一批母株。

試驗地點為中興大學試驗溫室內的扦插床，架上附蓋遮陰網（70%）阻擋部分直射陽光。自動定時噴霧器設定為每 30 分鐘噴霧 5 秒鐘(整天)。扦插用介質為泥炭土、蛭石和珍珠石以 1：1：1 比例調配而成。環境相對濕度平均維持 95%以上。

### 二、試驗方法

本試驗進行 2 次，第 1 次為 2012 年 4 月 16 日，以 70%酒精消毒過之整枝剪採取帶頂芽之 10、20、30 公分插穗(6-7 片葉)各 20 枝共 60 枝，分別扦插於 3 吋黑軟盆的介質土中，扦插前以自來水濕潤介質，再移至扦插床持續 5 週。

第 2 次為 2012 年 10 月 28 日，以 70%酒精消毒過之整枝剪採取帶頂芽之 3、6、9、12、16、20 和 24 公分之插穗(5-7 片葉)各 12 支共 84 枝，扦插於 3 吋黑軟盆的介質土中，

扦插前以自來水濕潤介質，再移至扦插床持續 7 週。

### 三、調查項目及方法

- (一) 插穗成活率：是指具有不定根的插穗，以下列公式計算： $[(總插穗數 - (腐爛數 + 未發根數))] / 總插穗數 * 100\%$ 。
- (二) 插穗腐爛率： $插穗腐爛數 / 總插穗數 * 100\%$ 。
- (三) 插穗伸長量：扦插前及扦插後量取插穗的長度，以下列公式計算： $插穗伸長量 = \Sigma(扦插後長度 - 扦插前長度) / 總插穗數$ ，單位為公分。
- (四) 不定根數： $\Sigma(不定根數 / 發根的插穗數)$ 。
- (五) 發根率： $(發根的插穗數 / 總插穗數 - 腐爛數) * 100\%$ 。
- (六) 根毛百分比： $(長根毛的不定根數 / 總不定根數) * 100\%$ 。
- (七) 總不定根長： $不定根總長 / 發根的插穗數$ ，單位為公分。
- (八) 平均不定根長： $\Sigma(不定根總長 / 不定根數) / 發根的插穗數$ ，單位為公分。

### 四、統計分析

將試驗結果使用 SAS 軟體進行最小差異數分析(Least Significant Difference Test, LSD)，比較各處理之間差異顯著性。

## 結 果

### (一) 插穗長度對插穗發根率及成活率之影響

4 月份扦插的所有插穗於第 16-21 天時發根，第 21 天時 30 公分插穗發根率為 45%，分別為 20 公分插穗的 1.5 倍，10 公分插穗的 1.8 倍；然而扦插後 30 天，20 公分插穗發根率為 100%，分別為 30 公分插穗的 1.3 倍，10 公分插穗的 1.6 倍；至 37 天，10 和 20 公分插穗發根率為 100%，30 公分插穗為 94.7% (圖 1)。10 公分插穗有 20% 的插穗腐爛，而 30 公分插穗尚有 5.3% 未發根和 5% 的插穗腐爛 (圖 2)。

10 月份扦插的 16、20 和 24 公分插穗於扦插後 36 天開始發根，其中 16 公分插穗發根率為 16.7%，為 20 和 24 公分插穗的 2 倍；第 40 天，9 和 12 公分插穗開始發根，16、20 和 24 公分插穗發根率為 25%，為 9 和 12 公分插穗的 1.5 倍；第 46 天，3 和 6 公分插穗開始發根，24 公分插穗發根率為 66.7% 分別為 20 公分的 1.1 倍，12 公分的 2 倍，16 公分的 2.7 倍，6 和 9 公分的 3.3 倍，3 公分的 6.7 倍；第 56 天，20 和 24 公分發根率最高為 75%，分別為 16 公分的 1.1 倍，12 和 9 公分的 1.5 倍，6 公分的 2.1 倍，3 公分的 6 倍，其中 3、6 和 9 公分插穗腐爛率皆為 20%，而 12、16、20 和 24 公分插穗則無腐爛的情況 (圖 3、4)。

由以上結果可知，4 月份扦插發根時間較早，如 20 公分插穗約 2-3 週(16-21 天)即可發根，而 10 月份扦插之 20 公分插穗發根時間為 36 天，4 月份扦插較 10 月份扦插發根提

早約 1-2 週，且發根率也較高。但在較短之插穗如 9 和 12 公分，則是 40 天發根，4 月份扦插之 10 公分插穗較 10 月份扦插發根提早約 2 週，顯示較高的平均溫度有利於不定根形成，插穗長度較短時(12 公分以下)，發根較晚，在低溫季節越明顯，且較短的插穗(10 公分以下)腐爛率較高，較長的插穗(12 公分以上)則較低。

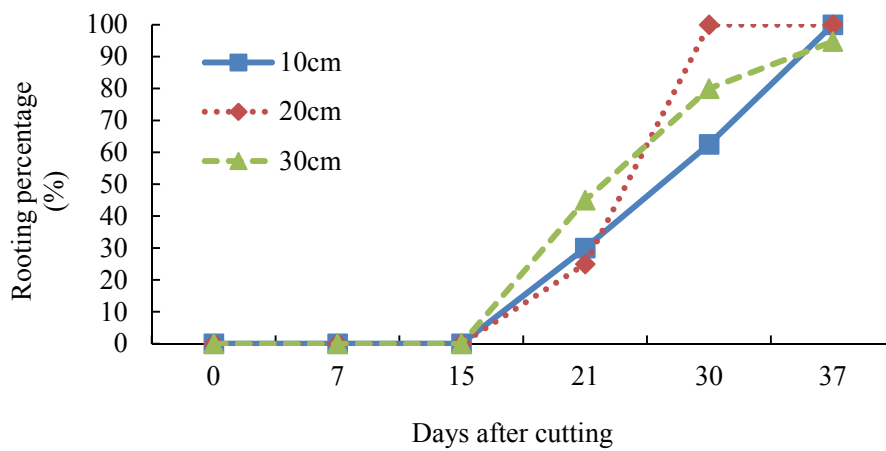


圖 1. 扦插 37 天期間，插穗長度之發根率變化。(2012.04.16- 2012.05.21)

Fig. 1. Changes in rooting percentage of various papaya cutting length during cutting.

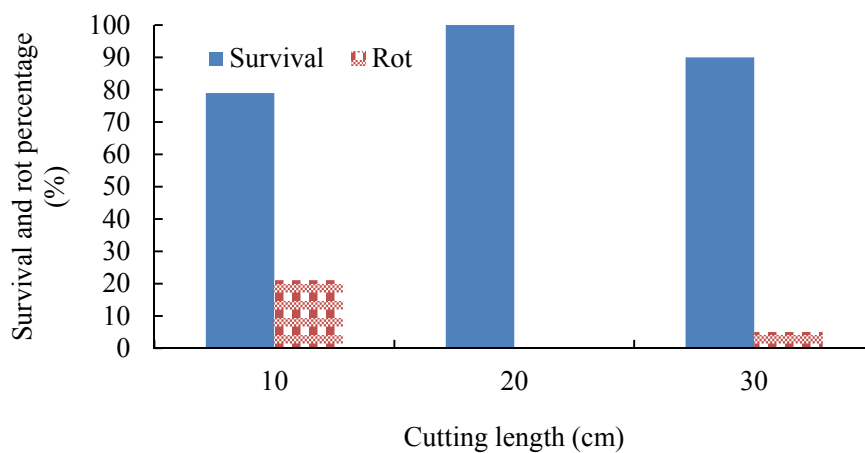


圖 2. 4 月插穗長度對扦插後 37 天之插穗成活率和腐爛率之影響。

Fig. 2. Effects of various papaya cutting length on the percentage of survival and rot after cutting for 37 days. (April)

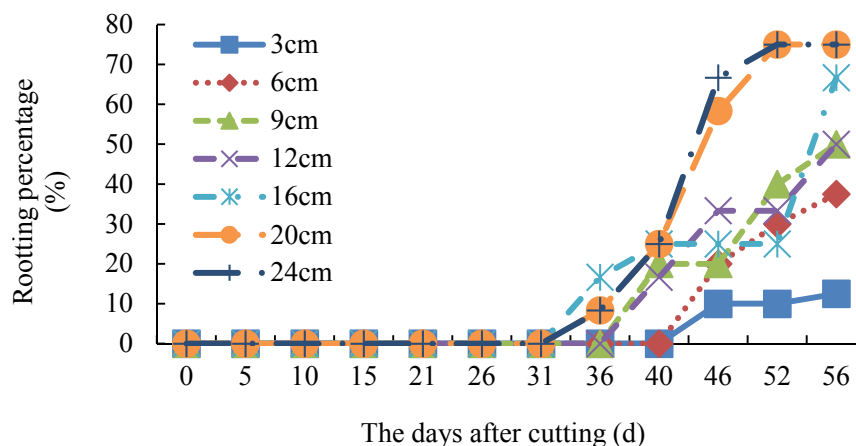


圖 3. 扦插 56 天期間，插穗長度之發根率變化。(2012.10.28-2012.21.28)

Fig. 3. Changes in rooting percentage of various length of papaya cuttings during cutting.

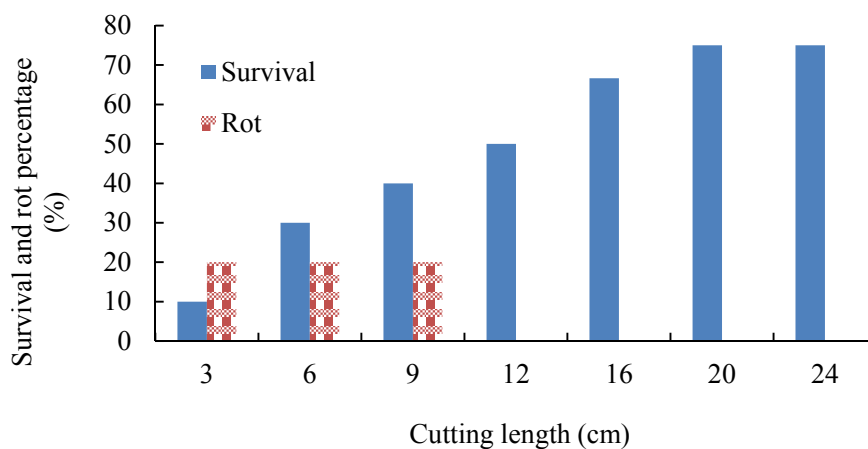


圖 4. 10 月插穗長度對扦插後 56 天之插穗成活率和腐爛率之影響。

Fig. 4. Effects of various length of papaya cuttings on the percentage of survival and rot after cutting for 56 days. (October)

#### (二) 插穗長度對插穗不定根生長之影響

4 月份扦插之 20 和 30 公分插穗不定根數於發根後 9 和 14 天(扦插後 30 和 35 天)皆顯著增加，而 10 公分插僅於發根後 14 天(扦插後 35 天)顯著增加；各處理相互比較結果得知，發根後(扦插後 21 天)，20 和 30 公分插穗不定根數分別為 10 公分插穗 2.9 和 1.5 倍；發根後 14 天(扦插後 35 天)，20 公分插穗不定根數為 30 公分插穗的 1.4 倍(圖 5A)。20 和

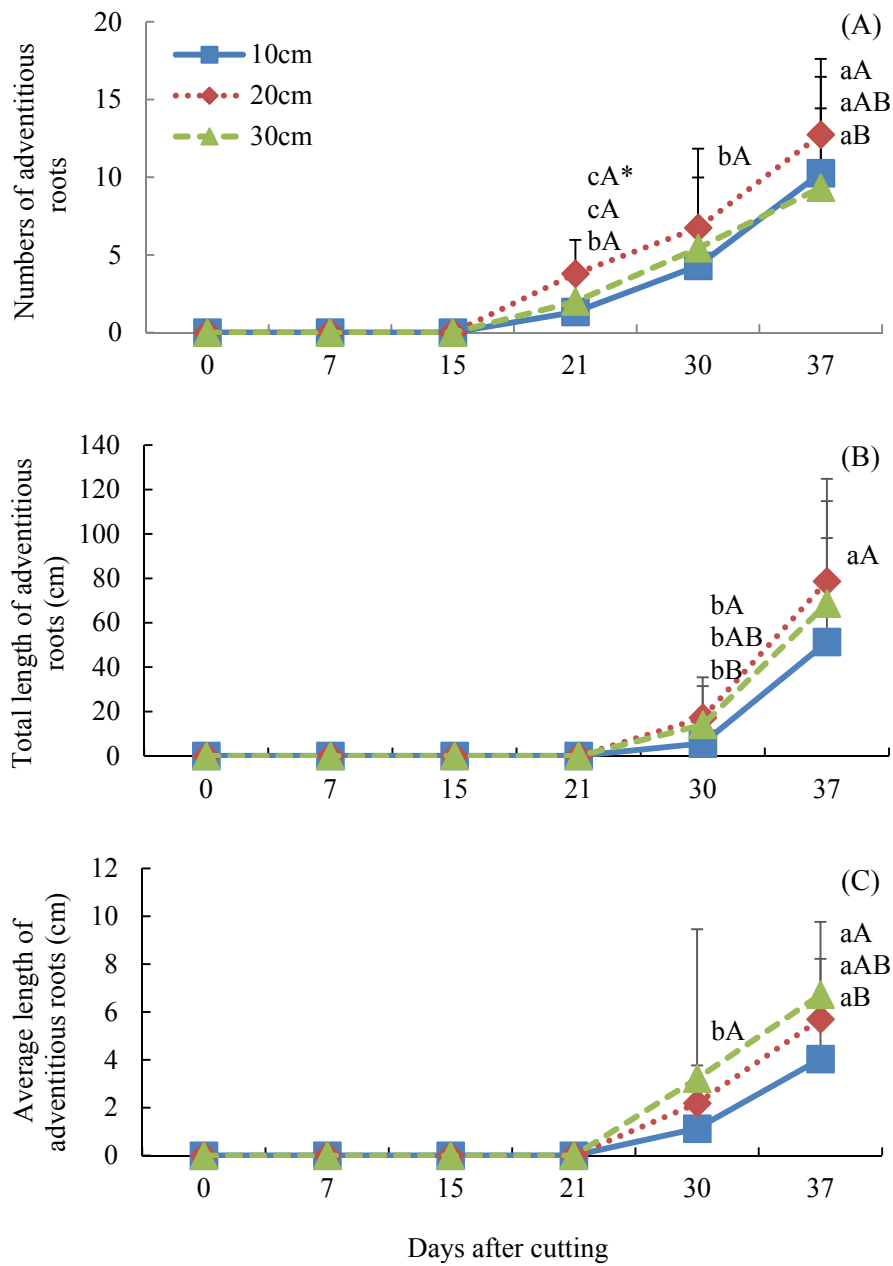


圖 5. 扦插 37 天期間，插穗長度之不定根數(A)、總不定根長度(B)和平均不定根長度(C)之變化。(2012-04.16-2012.05.21)

Fig. 5. Changes in the numbers of adventitious roots (A), total length of adventitious roots (B), and average length of adventitious roots (C) of various length of papaya cuttings during cutting. Vertical bars indicate  $\pm$  standard errors (n=20). \*Mean separation within rows (small letter) and within columns (capital letter) was by t test (L.S.D) at 5% level.

30 公分的根毛百分比在發根後 14 天顯著增加，其中 30 公分插穗較 10 公分插穗高 1.9 倍，各插穗伸長量差異不顯著(表 1)。所有插穗總不定根長度和平均不定根長度皆於發根後 14 天顯著增加，其中 20 公分插穗總不定根長於發根後 9 天較 10 公分插穗長 1.3 倍，30 公分插穗平均不定根長於發根後 14 天較 10 公分插穗長 1.7 倍 (圖 5B、C)。

10 月份扦插的 3 公分插穗的發根率太低，因此無法比較。除了 9 公分插穗不定根數於發根後 12 天(扦插後 52 天)顯著增加 2 倍外，所有長度之插穗不定根數皆無顯著增加；各插穗相比較，扦插後 40 及 46 天，24 公分插穗不定根數明顯較 9 和 12 公分插穗多；至 52 天，所有插穗皆無顯著性差異(表 2)。扦插後 40 天，16 公分插穗的總不定根長度和平均不定根長度皆明顯較其他插穗長，至 52 天，除了 24 公分插穗外，16 公分插穗的總不定根長度明顯較其他插穗長，平均不定根長度明顯較 6、9 和 12 公分插穗長(表 3、4)。

4 月的高溫有助於不定根生長，尤其是隨著插穗長度增加，在不定根數目、不定根側根比和平均根長皆有增加的趨勢，與 10 公分插穗相比起來，20 和 30 公分插穗形成的不定根團大且密度較高(圖 6)。然而 10 月份的低溫則不利於不定根生長，7 種長度插穗在發根期間不定根生長無顯著增加，且扦插時間後期氣溫越低，越不利於根系生長(圖 7)。

表 1. 4 月插穗長度對發根之插穗根毛百分比和插穗伸長量之影響。

Table 1. Effects of various length of papaya cuttings on root hairs percentage and cuttings elongation. (April)

Days after cutting root formation	Root hairs percentage <sup>y</sup>			Cuttings elongation <sup>y</sup>		
	10 <sup>x</sup>	20	30	10	20	30
7	12.5 aA <sup>w</sup>	8.5 bA	13.1 bA	2.5 bA	3.2 aA	3.2 aA
14	26.9 abB	40.4 aAB	51.2 aA	2.9 aA	3.6 aA	3.5 aA

<sup>z</sup>Root hairs percentage =  $\Sigma$  (number of adventitious roots with root hairs / number of adventitious root) / sum of root cuttings \* 100%.

<sup>y</sup>Cutting elongation =  $\Sigma$  (length of cutting before cutting – length of cutting after cutting) / sum of cuttings (cm).<sup>y</sup> Length of cutting (cm).

<sup>x</sup> Length of cutting (cm).

<sup>w</sup> Mean separation within columns (small letter) and within rows (capital letter) was by t test (L.S.D) at 5% level.

<sup>t</sup>No data.

表 2. 10 月插穗長度對發根之插穗不定根數之影響。

Table 2. Effects of various length of papaya cuttings on numbers of adventitious roots.(October

Days after cutting	Numbers of adventitious roots <sup>z</sup>						
	3 <sup>y</sup>	6	9	12	16	20	24
36	- <sup>x</sup>	-	-	-	2.0 aA <sup>w</sup>	2.0 aA	2.0 aA
40	-	-	1.0 bB	1.0 aB	1.5 aAB	1.5 aAB	2.0 aA
46	1.0	1.5 aAB	1.0 bB	1.0 aB	2.3 aAB	1.9 aAB	2.5 aA
52	1.0	2.3 aA	2.0 aA	2.0 aA	2.0 aA	1.8 aA	2.8 aA

<sup>z</sup> Numbers of adventitious roots = sum of adventitious roots / sum of root cuttings.

<sup>y</sup> Length of cutting (cm).

<sup>x</sup> No root formation.

<sup>w</sup>Mean separation within columns (small letter) and within rows (capital letter) was by t test (L.S.D) at 5% level.

表 3. 10 月插穗長度對發根之插穗總不定根長度之影響。

Table 3. Effects of various length of papaya cuttings on total length of adventitious roots.  
(October)

Days after cutting	Total adventitious roots length <sup>z</sup>						
	3 <sup>y</sup>	6	9	12	16	20	24
36	- <sup>x</sup>	-	-	-	0.2 a	0.2 a	0.2 b
40	-	-	0.1 aA <sup>w</sup>	0.1 aA	0.3 aA	1.0 aA	0.2 bA
46	0.5	0.2 aB	0.1 aB	0.2 aB	1.5 aA	0.5 aB	0.5 bB
52	2.0	0.4 aB	0.5 aB	0.3 aB	2.8 aA	1.1 aB	1.4 aAB

<sup>z</sup> Total length of adventitious roots = sum of adventitious roots length / sum of adventitious root (cm).

<sup>y</sup> Length of cutting (cm).

<sup>x</sup> No root formation.

<sup>w</sup> Mean separation within columns (small letter) and within rows (capital letter) was by t test (L.S.D) at 5% level.

表 4. 10 月插穗長度對發根之插穗平均不定根長度之影響。

Table 4. Effects of various length of papaya cuttings on average length of adventitious roots. (October)

Days after cutting	Average length of adventitious roots <sup>z</sup>						
	3 <sup>y</sup>	6	9	12	16	20	24
36	- <sup>x</sup>	-	-	-	0.1 aA <sup>w</sup>	0.2 a	0.2 ab
40	-	-	0.1 aA	0.1 aA	0.2 aA	0.6 aA	0.1 bA
46	0.5	0.1 aB	0.1 aB	0.1 aB	0.5 aA	0.2 aB	0.2 bB
52	2.0	0.1 aB	0.4 aB	0.2 aB	1.4 aA	0.6 aAB	0.7 bAB

<sup>z</sup> Average length of adventitious roots = Total adventitious roots length / Average of adventitious roots (cm).

<sup>y</sup> Length of cutting (cm).

<sup>x</sup> No root formation.

<sup>w</sup> Mean separation within columns (small letter) and within rows (capital letter) was by t test (L.S.D) at 5% level.

## 討 論

### 一、季節與扦插成活率及不定根形成之影響

扦插季節對插穗扦插發根快慢有很大的影響，在適宜的氣候扦插比較容易發根，若是在不適宜的季節扦插，則發根時間較晚且根系品質較差(Gary, 1988)。玫瑰在春夏季扦插發根時間普遍較早，較秋冬季扦插提早約 14-21 天，且發根率也較高。其中春季因氣候不穩定，陰雨天頻繁(梅雨季節)，往往需要 21-28 天才發根，較夏季約晚 7 天左右(陳，1995；賴，1994)。「日陞」番木瓜扦插 30-40 公分插穗在 4 月份扦插發根率為 16%，插穗在 4 月份扦插發根率為 16%，發根時間為 38 天；6 月份扦插的發根率為 100%，發根時間為 19-26 天；8 月份扦插發根率為 100%，發根時間為 33 天；9 月份扦插發根率為 9%，發根時間為 26 天；11 月扦插發根率為 22%，發根時間為 50 天(張，1994)。顯示番木瓜扦插在本省氣候溫度在夏季發根率可達 100%，且發根時間普遍較早，在冬季扦插發根率則僅有 15%。

本試驗 15-20 公分之'ML x PPI'插穗在 4 月扦插發根率為 100%，發根時間是 16-21 天；5 月扦插發根率為 100%，發根時間是 15-23 天；10 月份扦插之插穗發根率為 66.7%，發根時間為 32-36 天(資料未顯示)。試驗結果顯示番木瓜在春季扦插或秋冬季節扦插發根率與張及廖(1994)試驗相似，在夏季適逢高溫，發根時間較早且發根率最高可達 100%，根系生長品質也最佳；然而，冬季節適逢低溫發根時間較晚發且根率較低，根系品質較差；春秋則介於兩者之間。以上結果皆顯示夏季較高的溫度利於番木瓜不定根形成及生長。



圖 6. 4 月不同插穗長度於扦插後 37 天之發根情形。

Fig. 6. The adventitious roots formation of various length of papaya cuttings after cutting for 37 days. (April) (Bar = 15cm)



圖 7. 10 月不同插穗長度於扦插後 56 天之發根情形。

Fig. 7. The adventitious roots formation of various length of papaya cuttings after cutting for 35 days. (October) (Bar = 15cm)

## 二、插穗長度與扦插成活率及不定根形成之影響

插穗長度對扦插成活率影響很大(Stubbs *et al.*, 1997; 王, 1992), 張及廖(1994)使用'日陞'番木瓜插穗處理 2000 ppm IBA 及不同穗長度扦插試驗, 其結果顯示在 8 月扦插之 8-18 公分插穗發根率為 95%, 19-29 公分為 80%, 30-40 公分為 100%, 41-50 公分為 100%, 在 8-50 公分範圍內隨著插穗長度增加, 發根時間越快, 尤其是 30-50 公分插穗比 8-18 公分之插穗提早約 7 天發根。然本試驗所使用 10、20 和 30 公分插穗在 4 月扦插, 結果插穗發根時間皆相近, 與插穗長度無明顯之相關性。然而在 10 月使用 3、6、9、12、16、20 和 24 公分插穗扦插, 結果 24、20 和 16 公分插穗於 32-36 天發根, 9 和 12 公分插穗於 37-40 天發根, 6 和 3 公分插穗於 41-46 天發根。由此可見冬季扦插之插穗越長, 發根時間越早, 尤其是 24、20 和 16 公分插穗比 6 和 3 公分插穗提早約 14 天發根。可知番木瓜插穗長度低於 12 公分時, 會導致插穗的發根時間延遲, 插穗越短越久。

一般商業用番木瓜扦插所用之長度為 10-25 公分之間 (Fitch *et al.*, 2005), 但張及廖(1994)試驗用插穗長度為此長度之 2 倍之多, 顯示番木瓜以較長之插穗長度扦插發根效果最好, 然若實際應用 30-40 公分插穗扦插稍嫌太長, 而且側枝生長至 30-40 公分需耗費不少時間, 因此本試驗使用 3-30 公分長之插穗來比較。結果顯示, 番木瓜插穗低於 12 公分時, 隨著插穗長度縮短, 發根率 and 不定根之形成有越來越低之趨勢, 尤其是 3-10 公分的插穗腐爛率高達 20%。在 4 月扦插之 10 和 20 公分插穗在扦插後 37 天發根率皆可達到 100%, 但 30 公分插穗的發根率只有 90%, 其中 20 公分插穗在 不定根數目和不定根總長度在皆較 30 公分插穗佳。由此可見低於 12 公分之番木瓜插穗自身營養和植物生長賀爾蒙缺少導致插穗切口不易癒合, 易導致插穗腐爛; 然而插穗過長, 易因地上部組織競爭養分而導致不定根形成數較少(Hartmann *et al.*, 2011)。

結果顯示'ML x PPI'番木瓜插穗低於 12 公分時易腐爛; 而插穗過長時(30 公分), 易因地上部組織競爭養分, 或生長素不易運移至莖基部, 導致較長枝插穗不定根形成數較少, 而且過長的插穗不易操作(張及廖, 1994; Hartmann *et al.*, 2011)。因此適宜之番木瓜插穗長度應介於 12-24 公分之間, 尤其是較長之插穗發根時間比較早。

## 三、植株幼年性與扦插成活率及不定根形成之影響

木本植物之插穗幼年性和成熟性有很大之差異。幼年性高之插穗營養生長旺盛, 幼年性隨著插穗逐漸生理成熟而降低, 由營養生長期轉而進入生殖生長期, 兩者生長活力皆不同, 一般不定根形成能力隨生理年齡增加(幼年性降低)而逐漸下降(Borchert, 1976)。

本試驗所用'ML x PPI'插穗枝條在植株生長至 20-30 公分大小後採穗, 此時植株(兩性或雌性株)為約三個月大之未開花植株, 張及廖(1994)選擇'日陞'番木瓜植株為 7 個月以上已開花之兩性株和雌性株, 可知兩者之植株之生長勢和幼年性皆不同。在'台農 2 號'番木瓜不同節位所取的插穗發根率亦不同, 上節位所萌發的側枝幼年性低, 存活率和發根率分別為 79.2 和 57.3%; 取自下節位所萌發的側枝幼年性高, 存活率和發根率分別為 88.5 和 74.4%, 顯示幼年性高的插穗發根數較多(邱等, 2004)。

由此可見番木瓜插穗幼年性對插穗發根率及存活率成正比。而且已開花之植株，枝條幼年性低且為生殖生長期，生長速度較慢，且 30-40 公分側枝做為插穗來說，夏季需花費 1-2 個月培養側枝，然本試驗用植株是未開花之植株，幼年性較高，營養生長較為旺盛，若採 15 公分之插穗所需時間較短，因此可採較多次之插穗，與張及廖(1994)一年一植株僅能採 4 次相比可獲得較多之插穗)，且插穗幼年性低比較容易發根。

### 參考文獻

- 王國欽。1992。李與梅週年扦插繁殖及超密植下李扦插苗生長與開花之初步調查。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。62pp。
- 李文立。2010。生物技術在果樹品種選育之應用-番木瓜性別檢測。植物種苗生技 NO.21。pp.23-27。
- 邱禮弘、陳京城、楊耀祥。2004。番木瓜節齡與幼年性之關係。興大園藝 29(3): 13-23。
- 陳昌岑。1995。迷你玫瑰盆花繁殖與修剪。國立中興大學園藝學系碩士學位論文。129pp。
- 張明聰。1994。談番木瓜實生苗與扦插苗。台南區農業專訊第 8 期: 13-14。
- 張明聰、廖松淵。1994。番木瓜扦插繁殖及生長結實特性之研究。中國園藝 40(1): 11-28。
- 黃士晃、張錦興、林棟樑。2009。農業新知與技術。番木瓜種苗及繁殖方式簡介。台南區農業專訊 70: 3-6。
- 賴建旗。1994。玫瑰花單節扦插繁殖之研究。國立中興大學園藝學系碩士學位論文。93pp。
- Allan, P. 1964. Papaws grown from cutting. *Farming in S. A.* 39(11): 35-40.
- Allan, P. 1981. Clonal 'Honey Gold' pawpaws. A horticultural and commercial success. *Citrus and Subtrop. Fruit J.* 575: 19-23.
- Allan, P. 1993. Propagation of 'Honey Glod' papayas by cuttings. *Acta Hort.* 370: 99-102.
- Borchert, R. 1976. The concept of juvenility in woody plants. *Acta Hort.* 56: 21-36.
- Fitch, M. M. M., P. H. Moore, T. C. W., Leong, L. A. Y. Akashi, A. K. F. Yeh, S. A. White, A. S. Dela Cruz, L. T. Santo, S. A. Ferreira, and L. J. Poland. 2005. Clonally Propagated and Seed-derived Papaya Orchards: I. plant production and field growth. *HortScience* 40(5): 1283-1290.
- Gary, A. C. 1988. Rooting responses to different treatments. *Acta Hort.* 227: 187-195.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies, and L. G. Robert. 2011. *Hartmann & Kester's plant propagation principles and practices* (eighth edition), Pearson Education, Inc., Publishing as Prentice Hall.
- Reuveni, O. and D. R. Shlesinger. 1990. Rapid vegetative propagation of papaya plants by cuttings. *Acta Hort.* 275: 301-306.

- Rimberia, F. K., S. Adaniya, Y. Ishimine, and T. Etoh. 2007. Morphology of papaya plants derived via anther culture. *Sci. Hort.* 111: 213-219.
- Stubbs, H. S., F. A. Blazich, T. G. Ranney, and S. L. Warren. 1997. Propagation of 'Carolina Sapphire' smooth Arizona cypress by stem cutting: effects of growth stage, type of cutting, and IBA treatment. *J. Environ. Hort.* 15(2): 61-64.

## Effects of Cuttings Length and Climate on Papaya Cutting Survival

Hao-Yu Wang <sup>1)</sup> Ching-Chang Shiesh <sup>2)</sup>

Key words: Cutting length, Survival rate, Rot rate, Root formation

### Summary

The papaya cutting survival rate was effect by internal factors and external environmental factors. Therefore, this experiment used from 15 to 20 cm of softwood cuttings, which were taken from 3-month-old 'ML × PPI' papaya seedlings. Papaya cuttings were rooting early in April about 15-21 days. Papaya cutting was difficult to rooting between 32 and 36 days in October. Shorter cutting length between 3-12 cm had lower survival rate and root development. However, above 30 cm had less root than 20 cm cutting. Shorter cutting length (less than 10 cm) had high decay rate about 20%. It was appropriate for the papaya cuttings length between 12 to 24 cm.

---

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

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

Corresponding author.



## Effects of Streptomycin Sulfate on Seedlessness in Oval Kumquat (*Fortunella margarita* Swingle)

Nimmannoradee Promtong<sup>1)</sup> Ching-Lung Lee<sup>2)</sup> Yau-Shiang Yang<sup>3)</sup>

Keywords: seedless fruit, seed number, pollination, fruit quality

### Summary

Ten years old potted kumquat plants were sprayed with 120, 240 and 480 ppm streptomycin sulfate 7 days before flowering. The viability, number and germination rate of pollen, growth of pollen tube, seed number and fruit quality were investigated to clarify the effect of streptomycin sulfate on seedlessness of fruits. Results were shown that both viable pollen percentage and normal pollen number were lower in streptomycin sulfate treatments than control. However, no significant difference was found among streptomycin sulfate treatments of different concentrations. Streptomycin sulfate treatments had more abnormal pollen, consequently pollen germination rate was low and pollen tube was short. Pollen tube of streptomycin sulfate treatments appeared abnormal in wavy wall and swollen tips may due to callose deposition. The normal seed number per fruit was 0.4~0.6 in streptomycin sulfate treatments comparing to 2.7 of control. Abnormal seed numbers were higher as 1.2 ~ 1.3 in streptomycin sulfate treatments compared to 0.5 of control contrarily, and there was no significant difference among streptomycin sulfate treatments. High percentage of 2-3 seeds was found in control whereas lots of seedless and 1 seed fruits in streptomycin sulfate treatments. The seedless fruit percentage in streptomycin sulfate treatments were 70.3-76.6% comparing to 16.8% in control. There was no significant difference on the percentage of seedless fruit among different concentrations of the streptomycin sulfate treatments. In addition, streptomycin sulfate treatments resulted in small fruit size, but no effect on fruit quality.

---

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

2) Chair professor, National Chung Hsing University.

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

## Introduction

Kumquat (*Fortunella* spp.) is an evergreen shrub or small tree, originated in Southeast China. It was cultivated very popular in tropical Malaysia and Thailand, also in subtropical regions of China, Japan and other countries. Kumquat is closely related to *Citrus* and *Poncirus* in subfamily Aurantiodideae (Citroideae) of the family Rutaceae (Swingle and Reece, 1967). Normally kumquat fruits have relatively thick, fleshy, sweet, edible peel, and can be processed to make wine, jam, marmalade and candy. They also can be preserved in syrups or put into alcoholic beverages such as gin, rum and brandy to make cocktail. Some varieties can be used as ornamentals also. Seedless and small seeds are applicable by consumers for fresh consumption, e.g. citrus, grape, wax apple, litchi, watermelon and tomato. Each kumquat fruit has 2 ~ 5 seeds usually, which cause the inconvenience of taste or utilization, and it will be easier to eat or process if fruits have few seeds only or all seedless.

Seedlessness can be induced by many methods, includes plant hormones or biochemical treatments and genetic factors. Breeding is the best way to create a seedless cultivar. The applications of plant growth regulators or off-season fruit production are good methods to produce seedless fruits. Seedlessness induction in grapeberry by application of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) before full bloom was reported in many previous research. However, the effect was incomplete and the berries were not absolutely seedless (Kimura et al., 1996; Pommer *et al.*, 1996). In some cases, GAs can improve the quality of grapeberry also, such as the Sharad seedless (Ramtake *et al.*, 2011). Streptomycin sulfate, a sort of antibiotic, was successfully used to induce seedlessness of 'TosaBuntan' pummelo (Kitajima *et al.*, 2004) and several grape cultivars such as 'Kyoho' (Fukunaga and Kurooka, 1988; Ishikawa *et al.* 1996-1998), 'Muscat Bailey A' (Ogasawara, 1986), 'Fijiminori' and 'Italia IP65' (Pommer *et al.*, 1996). However, the mechanism of seedlessness in kumquat was not sufficiently studied yet, and cultivar variation, climate factors and environment effects might also occur. The objectives of this experiment were to clarify the effects of streptomycin sulfate on seedlessness in kumquat, figure out the optimum concentration and establish seedless fruits production technique in Taiwan.

## Material and Methods

### Plant materials

This experiment was conducted at the Grape Center of Horticulture Experiment Station, National Chung Hsing University, located at Wufeng, Taichung, Taiwan. Ten-year-old healthy kumquat plants grafted on sour orange collected from Lan Yan Branch Station of Hualian District

Agriculture Experiment and Extension Station were planted in plastic containers (36 cm in diameter) with artificial media of 3:1 mixture of soil and peat moss. Moderate vigor plants (90 cm in height) were selected for experiments. These plants were pruned to nature type on January 15, 2010, irrigated three times a week and applied composite fertilizer (15N-15P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-15K<sub>2</sub>O) twice at 1 week after pruning and 1 month after fruit set, respectively. After new shoots growing up and matured, healthy and uniform shoots were selected for streptomycin sulfate treatments.

#### Methods of experiment

##### 1. Streptomycin sulfate treatment

The completely randomized design (CRD) was used in this experiment with 4 treatments and 5 replications (potted plants). Three shoots were selected for each treatment and each plant composed of 4 treatments. Totally 60 shoots with 10 uniform flower buds on each were used in this research. Streptomycin sulfate (USB Corporation Company) of 3 concentrations consisted of 120 ppm, 240 ppm and 480 ppm were applied to flower buds 7 days before flowering (April 1, 2010). The flower buds sprayed with distilled water only were used as the control. All applications of streptomycin sulfate were mixed with 0.1% Tween-20 as surfactant.

##### 2. Pollen viability test

Flowers on streptomycin sulfate treated and control plants were harvest at full bloom stage. Three flowers were investigated for each treatment and 12 flowers were picked on each plant totally. Pollens were collected from flowers at 7:30-9:00 am when flower were just opened. All pollens were strained with 1, 2, 3- triphenyltetrazolium chloride (TTC) for viability test (Mulugeta *et al.*, 1994). Pollens were scattered onto a microscope slide and a drop of TTC was added first, then the slide was covered with a cover slide and the edges was sealed with nail varnish. Viability observation started 15 minutes after pollens were strained. The percentage of viable pollen was counted on 5 point per slide and each treatment consisted of 4 replications (slides). The strained pollens were considered as viable, and the diameter of both viable and non-viable pollen was measured.

##### 3. Pollen germination and pollen tube growth

Pollens for germination and pollen tube growth experiments *in vitro* were collected the same way as viability test. Put pollens into beaker with 10 ml of distilled water and mixed appropriately. Took 1 ml of the pollen solution with pipette, placed on a glass slide containing B&K medium [100 ppm boric acid (99%, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), 200 ppm magnesium sulfate (99%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), 300 ppm calcium nitrate (98%, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O), 100 ppm potassium nitrate (99%, KNO<sub>3</sub>) (Brewbaker and Kwack, 1963)] supplemented with 1% agar and 15% sucrose, and incubated at 25°C for 4 hrs. Germinated pollens were counted and germination rate was calculated. Subsequently, pollen tube

length were measured and recorded on those pollens incubated continuously for 24 hrs (Buyukkartal, 2003).

#### 4. Fruits quality analysis

Fruits were harvested 150 days after 50% flower blooming. Ten fruits were picked randomly from each treatment for quality analysis.

##### 1) Fresh weight

Electronic weighing scales was used to weigh the fruits and expressed in g unit.

##### 2) Fruit size

Fruit length and width were measured by using Mitutoyo Tesa Mahr Digital Vernier Caliper and expressed in mm unit.

##### 3) Total soluble solids (TSS)

Total soluble solids was determined by handheld tortuous account (Hand refractometer, ATAGO) and exposed in °Brix.

##### 4) Titratable acid (TA)

ATAGO FS-2 was used for the measurement of juice acidity. Fruit juice was diluted by adding 9 ml distilled water into 1ml sampled juice, and 0.1% phenolphthalein was dropped into the solution as the indicator. Juice was titrated by using 0.1N NaOH until the solution changed to pink, then calculated as tartaric acid content and expressed in the unit of mg/100ml.

##### 5) Seed distribution

Seeds were counted from 40 fruits per treatment and calculate the percentage of seed distribution inside each fruit.

#### 5. Statistical analysis

Data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) to determine whether differences existed among treatments. Duncan's Multiple Range Test (DMRT) was used (Statistical Analysis System; SAS 9.2) and a value of  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

Results showed that the effect of streptomycin sulfate on pollen viability and number were different on various treatments. Table 1 showed that the highest percentage of viable pollen was found in control (53.5%), while all streptomycin sulfate treatments (39.1-43.3%) were significantly lower than the control. No significant difference was found among streptomycin treatments of different concentrations. The number of normal pollen was  $63.9/400 \mu\text{m}^2$  in control, significantly higher than streptomycin sulfate treatments. On contrary, abnormal pollen in all

streptomycin sulfate treatments were 35.8-43.3/400  $\mu\text{m}^2$  which were higher than 23.4/400  $\mu\text{m}^2$  of the control. However, no significant difference was found on total pollen number among all treatments.

Table 1. Effects of streptomycin sulfate on viable pollen percentage and pollen number in oval kumquat.

Treatments <sup>z</sup>	Viable pollen (%)	Number of pollen/ 400 $\mu\text{m}^2$		
		Normal	Abnormal	Total
Control	53.5a <sup>y</sup>	63.9a	23.4b	87.3a
SM 120 ppm	43.3b	41.3b	43.3a	84.6a
SM 240 ppm	41.2b	35.4b	35.8ab	71.2a
SM 480 ppm	39.1b	41.9b	42.1a	84.0a

<sup>z</sup> Streptomycin sulfate were treated on the 7th day before flowering.

<sup>y</sup> Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

The effect of streptomycin sulfate on pollen diameter, pollen germination rate and pollen tube length were shown in Table 2. Pollen diameters of all treatments were between 20.3 to 21.7  $\mu\text{m}$ , and no significant difference was found among them. In contrast, pollen germination rate and pollen tube length of control were 35.3% and 278.7  $\mu\text{m}$ , respectively, significantly higher than all streptomycin sulfate treatments. Abnormal pollen tube appeared more frequently in streptomycin sulfate treatments. Some wavy wall structure and swollen tip were observed in abnormal pollen tube (Fig. 1).

Total seed number per fruit of the control was 3.2, significantly higher than all streptomycin sulfate treatments which were 1.6-1.9. Similarly, the normal seed number of control (2.7) was significantly higher than streptomycin sulfate treatments (0.4-0.6). On contrary, abnormal seed number of control was 0.5 per fruit only, whereas streptomycin sulfate treatments were much more up to 1.2-1.3 per fruit. All concentrations of streptomycin sulfate induced the formation of abnormal seeds and diminished total seed number. Therefore the percentages of seedless fruit on streptomycin sulfate treatments were more than 70%, highly different from the control which was 16.8%. The effect of streptomycin sulfate on seed number per fruit and seedless fruit percentage were shown in Table 3.

Table 2. Effects of streptomycin sulfate on germination of normal pollen in oval kumquat.

Treatments <sup>z</sup>	Pollen diameter ( $\mu\text{m}$ )	Pollen germination rate <sup>y</sup> (%)	Pollen tube length <sup>x</sup> ( $\mu\text{m}$ )
Control	21.7a <sup>w</sup>	35.3a	278.7a
SM 120 ppm	20.7a	19.5b	217.5b
SM 240 ppm	20.3a	19.2b	223.7b
SM 480 ppm	21.4a	20.3b	215.0b

<sup>z</sup> Streptomycin sulfate were treated on the 7th day before flowering.

<sup>y</sup> 4hrs after culture on medium.

<sup>x</sup> 24hrs after culture on medium.

<sup>w</sup> Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

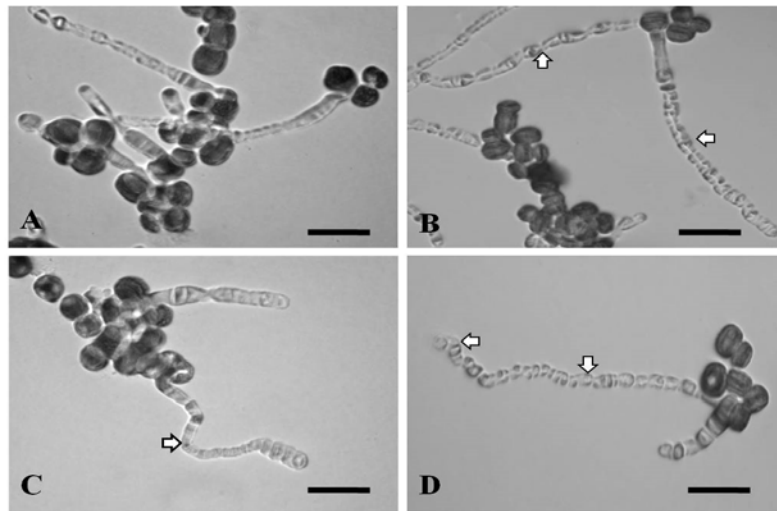


Fig. 1. Pollen tube growth in B&K medium with 1% agar and 15% glucose at 25° C for 24 hrs under microscope.

A: Control, B: Streptomycin sulfate 120 ppm, C: Streptomycin sulfate 240 ppm and D: Streptomycin sulfate 480 ppm. The abnormal pollen tubes were wavy and swollen in the tip (arrows in B, C and D). Bar = 50 $\mu\text{m}$ .

Table 3. Effects of streptomycin sulfate on seed number in oval kumquat.

Treatments <sup>z</sup>	Seed number/ fruit			Seedless fruit (%)
	Normal	Abnormal	Total	
Control	2.7a <sup>y</sup>	0.5b	3.2a	16.8b
SM 120 ppm	0.6b	1.3a	1.9b	70.3a
SM 240 ppm	0.4b	1.2a	1.6b	76.6a
SM 480 ppm	0.4b	1.2a	1.6b	73.8a

<sup>z</sup> Streptomycin sulfate were treated on the 7th day before flowering.

<sup>y</sup> Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

Regarding the distribution of seed number, Figure 2 showed that all streptomycin sulfate treatments of different concentration had very high percentages of seedless and 1 seed fruits, and significantly different from the control. The peak of seedless fruits percentage was found on 240 ppm streptomycin sulfate treatment. The treatment of 480 ppm streptomycin sulfate did not increase seedless fruits percentage any more. In contrast, the control had more 2-3 seeds fruit obviously, and the percentage of 2-3 seeds fruit was significantly higher than all streptomycin sulfate treatments.

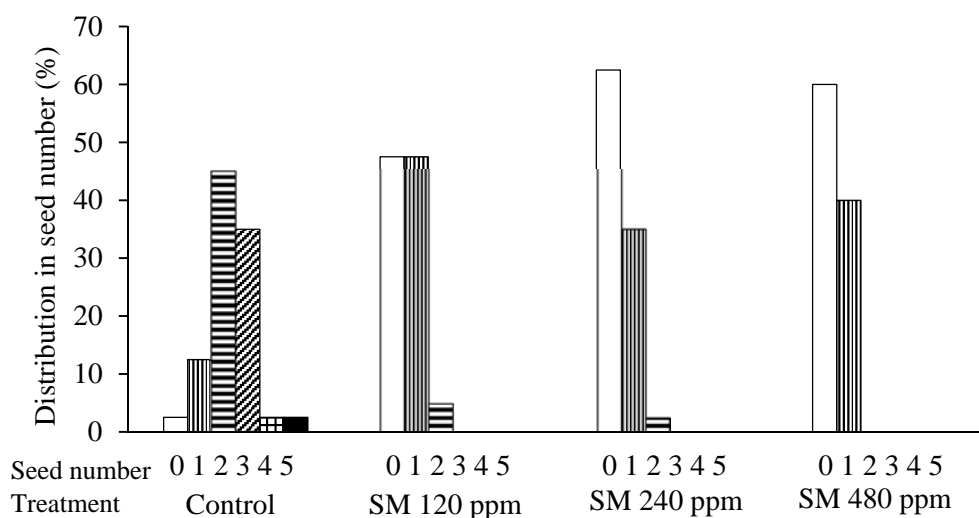


Fig. 2. Effects of streptomycin sulfate on distribution of seed number in oval kumquat fruits.

For the fruit quality (Table 4), fruit weights of streptomycin sulfate treatments were significantly lower than the control. The fruit weight of 3 streptomycin sulfate treatments were 6.8 g, 6.6 g and 6.4 g, respectively, markedly declined with the increase of streptomycin sulfate concentration. Fruit sizes in all streptomycin sulfate treatments were smaller than the control definitely. Fruit length and width of control were 30.4 mm and 22 mm, respectively, and streptomycin sulfate treatments were approximately 28 mm and 21 mm. No significant difference was found on fruit shape of 120 ppm, 240 ppm streptomycin sulfate treatments and control, while the fruits of 480 ppm streptomycin sulfate treatment showed a lower fruit shape index, i.e. the fruit shape tended to be round instead of oval. In terms of fruit quality, the total soluble solids and acidity were not significantly different among all treatments. Total soluble solids and acidity of all treatments were 7.4-7.9 °Brix and 1.7-1.9 mg/ 100 ml, respectively.

Table 4. Effects of streptomycin sulfate on fruit quality in oval kumquat.

Treatments <sup>z</sup>	Fresh weight (g)	Size		Fruit shape index (length/ width)	TSS (°Brix)	Titratable acidity (mg/ 100 ml)
		Length (mm)	Width (mm)			
Control	7.7a <sup>y</sup>	30.4a	22.0a	1.4a	7.9a	1.8a
SM 120 ppm	6.8b	28.7b	20.9b	1.4a	7.8a	1.9a
SM 240 ppm	6.6bc	28.5b	20.8b	1.4a	7.6a	1.7a
SM 480 ppm	6.4c	28.2b	20.9b	1.3b	7.4a	1.8a

<sup>z</sup> Streptomycin sulfate were treated on the 7th day before flowering.

<sup>y</sup> Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

## Discussion

Pollens from streptomycin sulfate treated plants had less normal pollen, lower viability and germination rate, and shorter pollen tube. Streptomycin sulfate can inhibit pollen development and induce seedlessness of oval kumquat obviously. Results of this research are the same as the conclusions of Thanarut *et al.* (2010) on 'Kyoho' and 'Honey Red' grapes. Polito *et al.* (2002)

reported that although streptomycin sulfate inhibited pollen growth of walnut strongly *in vivo*, but no effect on pollen germination and pollen tube growth *in vitro*. The inhibition effect of streptomycin sulfate occurred in the style. Only few pollen tubes of streptomycin sulfate treated plants can grow and reach the ovary, whereas pollen tubes of control can grow through to the base of style at bloom period. The result of the present research showed that the inhibition effect of streptomycin sulfate on kumquat occurred *in vitro*, which was different from the result of Polito *et al.*(2002). Different species of fruit crops may have different response to the same biochemical treatment. Some previous research indicated that callose formation in incompatible pollen was higher than normal growth pollen (Tupy, 1959), and incompatible pollens of tomato had thick wall and callose deposition at the tip of pollen tube (De Nettancourt, 1973). The wavy wall structure and swollen tip found in abnormal pollen tube of this research were probably due to dense callose deposition also. Advanced observation and research need to be carried out to clarify the reason and mechanism.

Kimura *et al.* (1996) pointed out pollen germination and tube growth were not affected by streptomycin sulfate treatment alone. However, when plants were treated with streptomycin sulfate combined with GA<sub>3</sub> at 1-2 weeks before anthesis could inhibit pollen tube growth in pistil and pollen germination in agar medium on 'Muscast Bailey A' grape cultivar. Pollen germination and pollen tube growth were inhibited apparently by streptomycin sulfate treatment alone in this experiment. The effect of streptomycin sulfate on pollen germination and pollen tube growth may differ in various fruit crops.

Seedlessness is one of the most important attributes for concern as far as the quality of all fruits for fresh consumption or juice production. For some seedless citrus cultivars, when grown close to sexually compatible varieties, cross pollination may occur and fruits with seed are produced. During pollination phase, the natural mechanism of self-incompatibility occurred *in vitro* and *vivo* on mandarin orange, due to pollen tube growth was inhibited by some substance produced during pollen germination. Mesejo *et al.* (2006) reported that foliar spray of CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O at full bloom stage could reduce the number of seeded fruit and number of seeds per fruit under cross pollination conditions. Results of this experiment showed that streptomycin sulfate applied prior to pollination reduced pollen germination and pollen development *in vitro*. Streptomycin sulfate clearly inhibited pollen development as in the presence of abnormal pollen grains.

Pollens treated with streptomycin sulfate had a lower germination rate and wavy wall of pollen tube as well. Lo *et al.* (2007) reported that pollen tube growth and reaching the ovule were usually due to an accumulation of cells. Mesejo *et al.* (2006) indicated that CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O prevented pollen tubes from reaching the embryo sac only at the period 24 hours after application,

and no difference was found after pollination *in vivo* comparing to control. More advanced research need to be done to figure out the phenomena and physiological mechanism of seedless fruits formation in kumquat, other citrus fruits or some important tropical and subtropical fruits in Taiwan and Thailand.

### References

- 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.
- Buyukkartal, H. N. 2003. *In vitro* pollen germination and pollen tube characteristics in tetraploid red clover (*Trifolium pratense* L.). *Turk. J. Bot.* 27 : 57-61.
- De Nettancourt, D., M. Devreux, A. Bozzini, M. Cresti, E. Padni, and G. Sarfatti. 1973. Ultrastructural aspects of the self-incompatibility mechanism in *Lycopersicon peruvianum* Mill. *J. Cell Sci.* 12: 403-419.
- Fukunaga, S. and H. Kurooka. 1988. Studies on seedlessness of 'Kyoho' grapes induced by gibberellins in combination with streptomycin. *Bull. Univ. Osaka Prefect. Ser. B: Agri. Biol.* 40: 1-10.
- Ishikawa, K. H., H. Takahashi, H. Kata, and F. Ekeda 1996. Effect of streptomycin on seedlessness of 'Fujiminori' and 'Kyoho' grapes. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 65:240-241.
- Kimura, P. H., G. Okamoto, and K. Hirano. 1996. Effect of gibberellic acid and streptomycin on pollen germination on ovule and seed development in 'Muscat Bailey A'. *Amer. J. Enol. Vitic.* 47: 152-155.
- Kitajima, A., A. Yamasaki, and K. Hasegawa. 2004. Seedless fruit production in 'TosaBuntan' pummelo. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 20 : 469-475.
- Lo, K. H., I. Z. Chen, and T. L. Chang. 2007. Pollen tube growth behavior in 'Chanee' and 'Montong' durians (*Duriozibethinus* L.) after selfing and reciprocal crossing. *J. Hort. Sci. Biotech.* 82 : 824-828.
- Mesejo, C., A. Martínez-Fuentes, C. Reig, F. Rivas, and M. Agustí. 2006. The inhibitory effect of CuSO<sub>4</sub> on pollen germination and pollen tube growth and its application for the production of seedless fruit. *Plant Sci.* 170: 37-43.
- Mugeta, D., B. D. Maxwell, P. K. Fay, and W. E. Dyer. 1994. Kochia (*Kochiascoparia*) pollen dispersion, viability and germination. *Weed Sci.* 42: 548-552.
- Ogasawara, S. 1986. Establishment of seedless berry production technique in grape by use of Streptomycin preparation. (In Japanese). *Bull Fruit Tree Exp. Sta. Hiroshima Prefecture*

11:39-40.

- Polito, V. S., K. Pinney, R. Buchner, and W. Olson. 2002. Streptomycin application to control walnut blight disease can prevent fertilization and increase fruit drop. *Hort. Sci* 37: 940-942.
- Pommer, C. C., E. J. Pires, M. M. Terra, and I. R. S. Passor. 1996. Streptomycin induced seedlessness in the grape cultivar Rubi (Italia Red). *Amer. J. Enol. Vitic.* 47 : 340-342.
- Ramtake, S. D., R. G. Somkuwar and P. G. Adsule. 2011. Use of bioregulators to improve the quality of Sharad Seedless grapes. *Acta Hort.* 785:225-228.
- Swingle, W. T. and P. C. Reece. 1967. The botany of citrus and its wild relatives. In: Reuther, W., Webber, and H. J., Batchelor, L. D. (Eds.), *The Citrus Industry*, vol. 1. University of California Press, Berkeley, CA, USA, pp. 389 - 390.
- Tanarut, C., C. C. Chen, and Y. S. Yang. 2010. Effect of streptomycin, GA<sub>3</sub> and CPPU treatments on induction of seedless berry in 'Kyoho' and 'Honey Red' grapes. *Horticulture NCHU* 35 : 1-11.
- Tupy, J. 1959. Callose formation in pollen tube and incompatibility. *Biol. Plant.* 1:192-198.

## 鏈黴素對長實金柑(*Fortunella margarita* Swingle) 無子化之影響

石 巧 月<sup>1)</sup> 李 金 龍<sup>2)</sup> 楊 耀 祥<sup>3)</sup>

關鍵字：無子果實、種子數、授粉、果實品質

**摘要：**為探討鏈黴素(streptomycin sulfate)誘導長實金柑之無子化，本研究以 10 年生盆栽植株為供試材料，在開花前 7 日分別以 120、240 及 480 ppm 之鏈黴素噴施枝梢後，調查花粉活力、花粉管生長、種子數及果實品質。由結果可知，鏈黴素處理會誘使正常花粉數減少、花粉發芽率降低，同時花粉管會變短、波狀且硬化而呈節腫之異狀。該情形在不同濃度鏈黴素處理者之間並未見明顯的差異。每個果實之正常種子數，對照組為 2.7 個種子，鏈黴素處理者相對較少，只有 0.4~0.6 個種子。相反地，鏈黴素處理者之異常種子數為 1.2~1.3，較對照組的 0.5 個高，但是並未發現不同濃度鏈黴素處理後呈現明顯的差異。另外，對照組有高比率的果實有 2~3 個種子，而鏈黴素處理者大部分的果實為無子或只有 1 個種子。至於無子率，對照組為 16.8%，鏈黴素處理者為 70.3~76.6%，不同濃度鏈黴素處理後並未呈顯著差異。除此之外，鏈黴素處理後，發現其果實較小之外，其他品質並未受到影響。

- 
- 1) 國立中興大學園藝學系博士班學生。
  - 2) 國立中興大學講座教授。
  - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

## '台農 2 號'冬瓜種子發育過程中貯藏物質之 含量與其休眠性

葉 虹 伶<sup>1)</sup> 宋 妤<sup>2)</sup> 林 子 凱<sup>3)</sup>

關鍵字：冬瓜、種子、休眠、發芽

**摘要：**'台農 2 號'冬瓜種子發育初期水分含量高，貯藏物質較少，授粉 35 天種子含水量約 86.52 %，授粉 45 天之蛋白質及全可溶性糖類含量最高，分別為 45.07 mg/g FW 及 60.48 mg/g FW，其後含水量逐漸下降，授粉 65 天時種子含水量降為 67.87 %，此時澱粉含量最高，約 78.74 mg/g FW，最終授粉 75 天種子含水量為 70.24 %，澱粉約 87.26 mg/g FW，全可溶性醣類約為 41.73 mg/g FW，蛋白質約 30 mg/g FW，且授粉 25 天~65 天種子發芽率皆為 0 %，由 TTC 活力測定結果可知，授粉 35 天種子完全不具發芽活力，授粉 45 天之種子部分胚已具活力，多數子葉及胚柄卻無活力，授粉 55 天及授粉 65 天已有 30~40 %種子完全具發芽活力，授粉 75 天種子以 TTC 判斷活力已達 100 %，發芽率最高約 30~33.3 %，由於休眠性未解除，因此發芽率低。

### 前言

冬瓜(*Benincasa hispida* Cogn.)以種子繁殖，授粉 10 天起種子快速吸收養分和水分，體積及質量迅速增大(林學詩, 1995)，種子主要貯藏物質為碳水化合物、蛋白質及脂質等，並將養分貯存於子葉及胚(Bewley and Black, 1997; Desai *et al.*, 2004; Justice and Bass, 1978)，授粉 55 天種子內乾物質迅速上升，水分含量逐漸下降，乾物質量在授粉 55 天左右達到最高值，通常於授粉 45~55 天即可採收(林學詩, 1995)，授粉 55~85 天期間種子含水量稍有

- 
- 1) 國立中興大學園藝系博士班研究生。
  - 2) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。
  - 3) 行政院農業委員會農業試驗所作物組助理研究員。

下降，乾物質於授粉 60 天稍微下降之後不再累積，於此成熟乾燥過程中種子生長達最大值後逐漸脫水而趨於成熟，種子水分漸少，鮮重降低，乾重則達到一個較穩定狀態，種子發育完成時，內部生理代謝轉為發芽階段。在冬瓜種子成熟乾燥階段，由於種子於水分含量極高之果肉組織中成熟，因而成熟乾燥階段種子含水量下降並不明顯(黃，2006)。

新鮮採收之冬瓜種子具休眠性，休眠性受遺傳基因決定，不同冬瓜品種之種子具有不同深淺休眠性。因休眠種子不發芽，若以發芽試驗檢測，常無法區分無活力及休眠種子而低估具活力種子數。利用 Tetrazolium test (TTC)為輔助檢驗種子活力(ISTA, 1999)，此法為利用活細胞內脫氫酵素之特性將無色之氯化四唑(tetrazolium chloride)還原成不溶於水的紅色沉澱化合物(formazan)且不滲出細胞外，因此具活力之細胞呈鮮紅色，死亡之細胞則維持無色，依據胚及胚乳或子葉染色分布情形及顏色深淺判定種子存活率，此法不受休眠性影響，且可於短時間內判斷出種子活力。本試驗針對冬瓜具種子休眠性品種'台農 2 號'，分析果實及種子發育充實過程，種子活力與休眠性之獲得，藉以了解影響冬瓜種子休眠之行為。

## 材料與方法

### (一)、試驗材料

'台農 2 號'冬瓜種子(由行政院農委會霧峰農業試驗所作物組提供)。

### (二)、試驗方法

#### 一、'台農 2 號'冬瓜果實性狀調查

'台農 2 號'冬瓜於採收後進行性狀調查，分別測量果長、果寬及果重等項目，每採收日數之處理三重複。

#### 二、種子含水量

取 0.5 g 洗淨後未風乾前(鮮重)、洗淨並風乾後(乾重)之冬瓜種子，依照國際種子檢查手冊(ISTA, 2009)規範，將種子剪碎並以烘箱 130°C 2 小時烘乾種子後，測定種子水分含量，另測種皮與胚重量，藉以了解發育過程中及果實內貯藏後熟期間種子含水量變化情形。含水量之計算為： $(M1-M2/ M1- M3) \times 100\%$ ，M1:容器重+烘乾前種子重，M2:容器重+烘乾後種子重，M3:容器重，每處理三重複。另外於風乾後測定種子之單粒重、種皮重及種仁重，計算不同部位佔種子重量比例，每處理三重複。

#### 三、發育過程及果實內貯藏後熟期間種子內容物含量測定

以授粉 25、35、45、55、65、75 天採收之種子及授粉 75 天果實內貯藏後熟 10 天、20 天、30 天、40 天、50 天及 50 天以上種子，分別以完整種子、種皮、子葉及胚為材料，藉以了解發育過程中及果實內貯藏後熟期間種子蛋白質、澱粉、全可溶性糖類及單糖變化情形。

### 1. 可溶性蛋白質含量

將 Lowry(1951)之方法加以修改，取 0.5 種子以液態氮研磨，加入 5 ml 萃取液[40 mM Tris-HCl、1 mM EDTA、0.5 mM DTT(1,4-Dithiothreitol)、100 mM MgCl<sub>2</sub>、0.02 M β-Mercaptoethanol、0.2 % PVP-40，混合後以 NaOH 調整 pH 值至 7.8]研磨均勻。於 4°C 下 14,000 g 離心 20 分鐘，取 50μl 上清液加 5 ml 蛋白質染劑(以 Bio-Rad 蛋白質染劑與去離子水比例 1:4 稀釋使用)，振盪均勻後靜置 20 分鐘，以分光光度計(U-2900, HITACHI)測量 595 nm 波長下之吸光值。標準曲線以 Bovine Serum Albumin (BSA)配製，單位以 mg/g FW 表示，每處理三重複。

### 2. 全可溶性糖類含量

取樣品 0.5g 加 10ml 去離子水(置於 50 ml 離心管中)，於 30°C 水浴振盪 3 小時，以 10,000 rpm 在室溫下離心 10 分鐘，取上澄清液做糖類分析，殘渣烘乾作澱粉分析用。取前述之上層液 5 ml，加入 1 ml 6 N HCl，放入 70 °C 水浴振盪 15 分鐘，取出後迅速冷卻，取 0.2 ml 上層液後再加 4.8 ml 去離子水振盪均勻，取出 2 ml 混合液加入 0.1 ml liquid phenol 及 6 ml 濃硫酸振盪均勻，靜置 30 分鐘後，以分光光度計(U-2900, HITACHI)測 490 nm 之吸光值，標準曲線以 D-glucose 配製，每處理三重複(Yoshida *et al.*, 1976)。

### 3. 澱粉含量

取去除可溶性糖分析用上清液後之殘渣以 80°C 烘乾 8 小時，加入 2 ml 去離子水，放入沸水中煮 15 分鐘，取出後迅速冷卻，加 2 ml 9.2 N HClO<sub>4</sub> 振盪，其後 15 分鐘內不時攪拌，加水至 10 ml，以 10,000 rpm 在室溫下離心 10 分鐘，取離心後之上層液 0.1 ml，加入 1.9 ml 去離子水、0.1 ml liquid phenol 及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻，靜置 30 分鐘後，以分光光度計(U-2900, HITACHI)測 490 nm 之吸光值，標準曲線以 D-glucose 配製，每處理三重複(Yoshida *et al.*, 1976)。

### 4. 以 HPLC 測定發育過程及果實內貯藏後熟期間種子單糖含量

取 0.5 g 樣品以 5 ml 純酒精萃取，於 80°C 水浴 20 分鐘，13,000 rpm 離心 10 分鐘，將上清液置於 15 ml 試管中，置於 50°C 烘箱烘乾(約需 3 天，溫度不宜過高，易焦糖化)，以 1 ml 去離子水回溶，再以 0.45 μm 過濾頭過濾備用。利用 HPLC 之分析方法，將 20 μl 樣品注入 HITACHI L-2130 Intelligent Pump 中，以乙腈 Acetonitrile: 去離子水=75:25 (v/v) 混合均勻，經孔隙 0.45 μm (HV, Millipore)過濾器過濾後作為流動相，流速 0.5 ml/min，每樣品流動時間為 30 分鐘。經 LiChrospher 100 NH<sub>2</sub> column 5 μm (Merck KGaA, Darmstadt, Germany.)管柱後以 HITACHI RI Detector L-2490 測定。以鼠李糖(Rhamnose)、木糖(Xylose)、阿拉伯糖(Arabinose)、葡萄糖(Glucose)、果糖(Fructose)、蔗糖(Sucrose)、半乳糖(Galactose)、麥芽糖(Maltose)、海藻糖(Trehalose)、乳糖(Lactose)及棉子糖(Raffinose) (Sigma)為標準品，作迴歸曲線並計算樣品中醣類含量(Bailey *et al.*, 2001)。

### 5. 發育過程及果實內貯藏後熟期間種子貯藏發芽情形及以 2,3,5-氯化三苯基四氮唑染色法(2,3,5-Triphenyltertrazolium hydrochloride;TTC)測定種子活力

以'台農 2 號'冬瓜授粉 25、35、45、55、65、75 天採收之種子及授粉 75 天果實內貯藏後熟 10 天、20 天、30 天、40 天、50 天及 50 天以上採收之種子為材料，藉以調查種子成熟度及果實內貯藏後熟程度與貯藏發芽率及平均發芽天數間關係。由於國際種子檢查手冊未有對冬瓜種子發芽條件之規定，參考葫蘆科種子發芽條件，取貯藏含水量約 6~8 % 之種子，放置於封口袋密封置於 8°C 密封貯藏 0、50、100、150、200、250、300、350 天，進行貯藏發芽試驗。發芽方法為取 30 粒冬瓜種子於直徑 90 mm 玻璃培養皿以紙間法進行發芽試驗，並置於 30°C 生長箱。試驗期間保持濾紙濕潤，播種後每日計算其發芽數(胚根為種子兩倍長時視為發芽)直至 14 天。計算最終發芽百分率及平均發芽天數，每處理三重複。種子於 20°C 生長箱內浸種 24 小時後，以解剖刀由子葉端向下 1/3 橫切子葉並去除種皮，處理過程保持濕潤，處理完成後將種子置於 10 ml 之 0.5 % TTC(將 9.078 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 及 9.472 g NaHPO<sub>4</sub> 分別溶於 1 L，以 2:3 比例混合成 1 L 緩衝液，將 5 g 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (Sigma)加入緩衝液中，為 0.5% TTC 溶液)，於 30 °C 恆溫箱黑暗中染色 60 小時，取出種子後以去離子水清洗，並參考 ISTA 手冊(International Rules for Seed Testing, 1999)之規定，判斷染色結果，將染色型式歸納分級，每處理 30 粒種子，每處理三重複。

#### 四、統計分析

以上試驗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

### 1. '台農 2 號'冬瓜果實性狀表現

'台農 2 號'冬瓜果實雖於授粉 35 天開始長度已接近成熟果實，介於 71.0~83.5 公分，授粉 75 天之果實長度達最大值 83 公分(圖 1)，果實寬度皆介於 16~17 公分之間(圖 1)，授粉 35 天後之果重約 12.5 公斤左右，授粉 55 天時果重達 14.2 公斤，授粉 65 天達最大值 16.7 公斤(圖 1)。

### 2. 種子發育期間貯藏物質變化

'台農 2 號'冬瓜種子授粉 35 天新鮮種子含水量為 86.52 %，授粉 45 天種子含水量開始下降至 80.23 % (圖 2)，授粉 55 天含水量持續下降至 75.70 %，授粉 65 天種子含水量降至 67.87 %，授粉 75 天時種子含水量略升回 70.24 % (圖 2)。由蛋白質含量測定結果可知，授粉 35 天時蛋白質含量約 8.43 mg/g FW (圖 2)，授粉 45 天時達最大值，約 45.07 mg/g FW (圖 2)，授粉 55 天~75 天蛋白質含量逐漸降低且趨於穩定，總量由 36.74 mg/gFW 降至 29.36 mg/gFW，由澱粉含量測定結果可知，授粉 45 天~55 天種子澱粉含量較低，分別為 74.08 及 72.22 mg/g FW (圖 2)，授粉 65 天時澱粉含量較高，總量為 78.74 mg/gFW (圖 2)，授粉

75 天仍維持高澱粉含量，總量為 87.26 mg/g FW，由全可溶性糖類含量結果可知，授粉不同天數採收種子中，授粉 35 天~45 天時全可溶性糖類含量最高，為 60.48~62.09 mg/g FW，授粉 55 天~75 天下降至 31.89~41.73 mg/g FW。

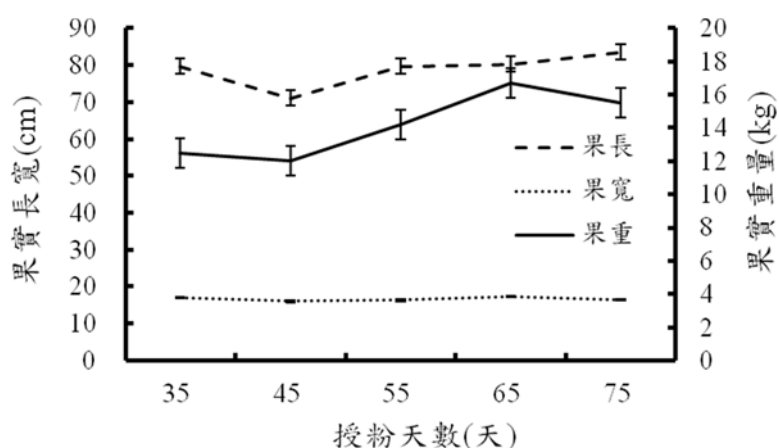


圖 1.'台農 2 號'果實性狀調查。

Fig.1. Investigation of fruit characteristics of 'Tainung 2' wax gourd.

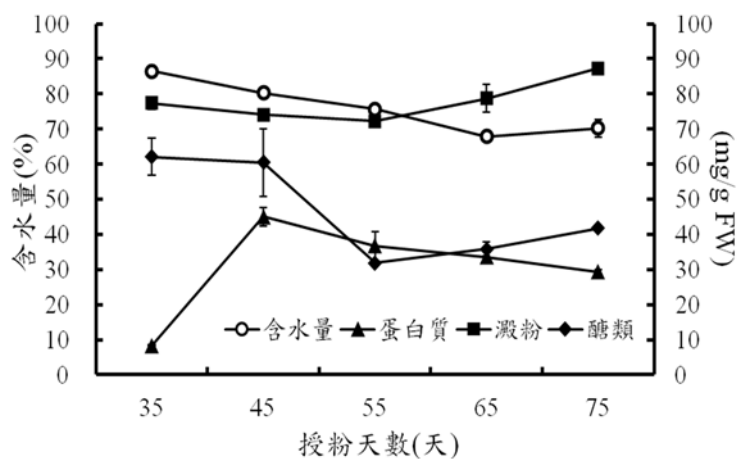


圖 2.'台農 2 號'冬瓜種子發育過程種子水分及貯藏物質變化情形。

Fig.2. Water content and storage substance content of 'Tainung 2' wax gourd seed during post-pollination development.

### 3. '台農 2 號' 冬瓜種子發育期間單糖含量變化

以高效液相色譜法(HPLC)測定種子各單糖含量，分別測定葡萄糖(Glucose)、果糖(Fructose)、半乳糖(Galactose)、麥芽糖(Maltose)及棉子糖(Raffinose)等，其他糖類如鼠李糖、戊醛糖、阿拉伯糖、海藻糖及蔗糖因含量過低數據不顯示。種子發育過程中主要醣類以葡萄糖、果糖及麥芽糖為主，授粉 35 天起累積大量葡萄糖及果糖，分別為 180.9 及 172.5mg/g FW，授粉 45 天時葡萄糖及果糖達最大量，分別為 242.5 mg/g FW 及 332.8 mg/g FW，授粉 55 天時葡萄糖及果糖含量仍高，授粉 65~75 天迅速下降，授粉 75 天時各部位測得含量均不超過 10 mg/g FW(圖 3)。麥芽糖於種子發育早期出現，隨成熟度增加而由 24.7 mg/g FW 降至 4.9 mg/g FW。半乳糖隨種子成熟度增加而累積，授粉 55~75 天期間總量由 12.8 mg/g FW 增加至 39.9 mg/g FW，其他糖類於種子發育過程中變化較不明顯。值得注意的是，授粉 75 天種子中單糖總含量雖為所有處理種子中最低，授粉 75 天之胚中卻有少量糖類累積，且種類較多，主要累積之糖類依含量多寡依序為棉子糖及半乳糖，分別為 32.1 mg/g FW 及 39.9 mg/g FW，其他糖類含量均少於 10 mg/g FW。

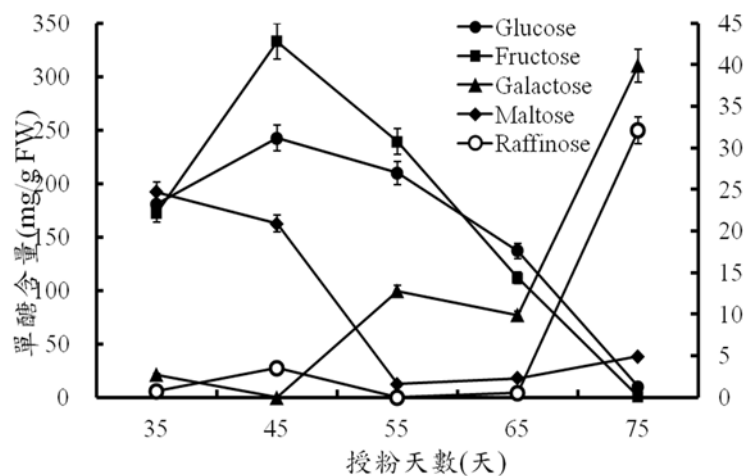


圖 3.以高效液相色譜法測定'台農 2 號'冬瓜種子發育期間內單糖含量變化(mg/g FW)。半乳糖、麥芽糖及棉子糖單位刻度以右側 y 軸為主。

Fig.3. Analysis of monosaccharides in 'Tainung 2' wax gourd seed during post-pollination development by high performance liquid chromatography (HPLC).Galactose, maltose and raffinose content data followed right y-axis scale.

#### 4. 種子發育期間之活力與休眠性

TTC 之判定標準為種子染色後呈現完整的鮮紅色，胚、子葉及兩者連接處皆均勻染色，若顏色為淺粉紅或有斑駁情形皆視為不具活力之種子，TTC 活力根據冬瓜種子 TTC 染色類型判斷(圖 4)。由於‘台農 2 號’冬瓜種子授粉 25 天種子種仁尚未成形，不適合做為活力測定材料，因此種子 TTC 活力測定試驗材料以授粉 35 天以上種子為主，由種子 TTC 活力測定結果可看出，授粉後 35 天種子染色結果呈現不具活性之淺紅色，且發芽率為 0% (圖 5(A)、表 1)。授粉 45 天之種子部分胚已具活力，但發芽率結果仍為 0% (圖 5(B)、表 1)。授粉 55 天種子 TTC 活力判斷平均約為 10%，實際發芽率為 0% (圖 5(C)、表 1)。授粉 65 天 TTC 活力判斷平均約為 30%，但發芽率仍為 0% (圖 5(D)、表 1)。授粉 75 天種子，TTC 活力判斷已達 100%，卻仍維持低發芽率，約 33.3% (表 1)。

表 1. 以 2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑染色法(2.3.5-Triphenyltertrazolium hydrochloride; TTC) 鑑定‘台農 2 號’冬瓜授粉不同天數種子活力。

Table 1. Assessment of 'Tainung 2' wax gourd seed viability by 2.3.5-Triphenyltertrazolium hydrochloride (TTC) test at different days after pollination.

授粉 天數	發芽率 (%)	TTC 存活率 (%)
25 天	0.0b <sup>z</sup>	0.0c
35 天	0.0b	0.0c
45 天	0.0b	0.0c
55 天	0.0b	40b
65 天	0.0b	30b
75 天	33.3a	100a

<sup>z</sup>: Values within columns followed by different letters are significant different at 5 % level by LSD test (P=0.05).

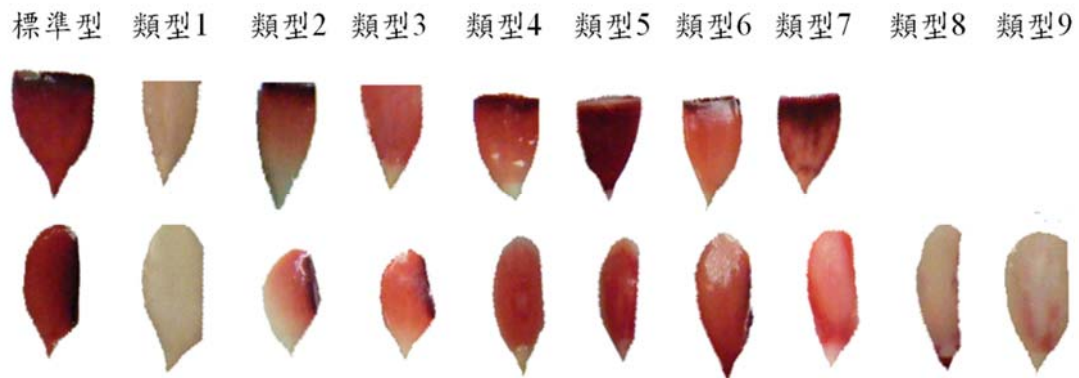


圖 4.冬瓜種子 TTC 染色類型(葉與宋，2008)。

Fig . 4. Tetrazolium staining patterns of wax gourd seeds.

標準型：種子染色均勻並呈鮮紅色，表示種子具發芽活性。

類型 1：種子完全無染色，表示種子死亡。

類型 2：種子由胚尖計算 1/2 未染色，表示胚無活性，無法發芽。

類型 3：種子胚尖約 2/3 未染色，表示胚無活性，無法發芽。

類型 4：種子胚尖約 1/3 未染色，表示胚無活性，無法發芽。

類型 5：種子胚尖約 1/4 未染色，表示胚無活性，無法發芽。

類型 6：種子染色呈粉紅或接近膚色，表種子死亡。

類型 7：子葉斑駁或與胚連結處染色不全，表種子死亡。

類型 8：胚尖 1/4 處染色，但其餘胚與子葉未染色，表種子死亡。

類型 9：種子少部份染色，表種子死亡。

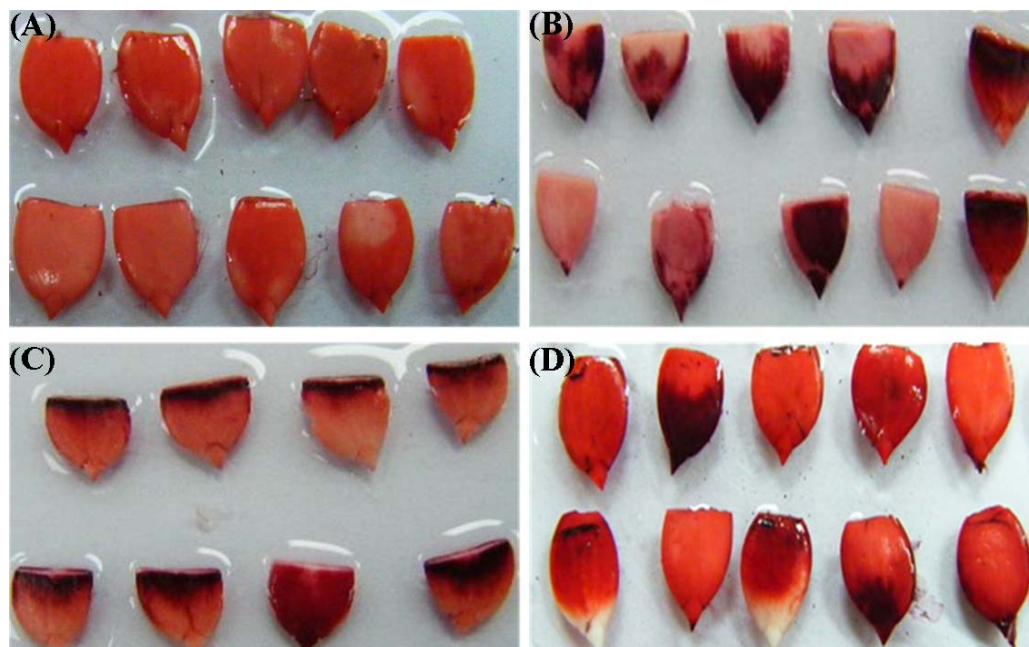


圖 5.以 2,3,5-氯化三苯基四氮唑染色法(2,3,5-Triphenyltertrazolium hydrochloride; TTC) 鑑定'台農 2 號'冬瓜種子授粉後不同採收天數種子活力，分別為授粉後 35 天(A)、45 天(B)、55 天(C)及 65 天(D)。

Fig.5. Evaluation of 'Tainung 2' wax gourd seed viability at different days after pollination by tetrazolium test. 35 days (A), 45 days (B), 55 days (C), and 65 days (D) after pollination (scale=10 mm).

## 討論

### 一、'台農 2 號'冬瓜果實性狀表現及種子發育期間含水量及貯藏物質含量變化

'台農 2 號'冬瓜果實於授粉 35 天開始長度已接近成熟果實，介於 71.0~83.5 公分，授粉 75 天之果實長度達最大值 83 公分，果實寬度皆介於 16~17 公分之間。果重變化較明顯，隨著果實成熟度增加，授粉 65 天達最大值 16.7 公斤，以果實性狀而言，授粉 55 天後果實性狀如果長、果寬及果重皆已達最大值，且授粉 55 天~75 天期間無顯著差異。

### 二、'台農 2 號'冬瓜種子發育期間貯藏物質變化

種子發育階段分為發育初期、生理成熟期及採收成熟期三個階段，發育初期含水量高達 80% 以上，隨後養分逐漸累積，並進入生理成熟之種子達最大乾物質量及最佳品質，生理成熟後便進入採收成熟時期(Copeland and McDonald, 2001)。於果實中發育之種子其種子水分含量及種子水分潛勢在成熟時略有降低(Bewley *et al.*, 2012)，如網紋甜瓜種子含水量(以鮮重為主)於授粉 10 天至授粉 35 天期間迅速降低，由 91% 降至 42%，此時種子達最大乾物重，授粉 35 天至授粉 50 天期間減少緩慢，逐漸降至 35%，授粉 50 天至授粉 65 天之間再度增加至 43%，種子萌芽前含水量約 46%。本試驗中，'台農二號'冬瓜種子授粉 35 天時新鮮種子含水量最高，為 86.52%，授粉 45 天種子含水量開始下降至約 80.23%，授粉 55 天含水量持續下降至授粉 65 天種子含水量已降至 67.87%，授粉 75 天時種子含水量略升。顯示'台農二號'冬瓜種子含水量隨種子成熟度增加逐漸降低。

種子發育期間累積之貯藏物質包括碳水化合物、蛋白質及脂質等，內部醣類之累積情形及速率均接近(McDonald and Copeland, 1997)。冬瓜種子主要貯藏物質部位為胚及子葉，本試驗藉由分析兩者總含量觀察種子貯藏物質變化情形，由蛋白質含量測定結果可知，授粉 45 天時達最大值，約 45.07 mg/gFW，授粉 55 天~75 天蛋白質含量逐漸降低且趨於穩定，總量由 36.74 mg/gFW 降至 29.36 mg/gFW，由結果可知'台農二號'冬瓜種子於發育過程中全可溶性蛋白質含量逐漸累積，授粉 35 天發育初期已有蛋白質累積，授粉 45 天累積達到最大值，達 45.07 mg/gFW，而進入授粉 65~75 天之成熟期時，部分全可溶性蛋白質供給合成利用，因此總量逐漸平穩，約為 30 mg/gFW，冬瓜種子中蛋白質與胺基酸含量均高，分別約 57.14 及 2.64 mg/g FW (Zaini *et al.*, 2011)。本試驗'台農二號'冬瓜種子於發育過程中全可溶性蛋白質含量逐漸累積，蛋白質於授粉 45~55 天左右累積達到最大值，授粉 65~75 天之成熟期時，部分全可溶性蛋白質供給合成利用，因此總量逐漸平穩，顯示'台農二號'冬瓜種子蛋白質累積隨成熟度增加而增加。

種子中貯藏碳水化合物包括澱粉及醣類，澱粉於種子成熟期間逐漸累積，隨著成熟度增加，授粉 65 天時澱粉含量達一高點，總量約 78.74 mg/gFW，授粉 75 天仍維持高澱粉含量，由此可見澱粉之累積受種子成熟度影響甚鉅，因碳水化合物貯藏型態轉變，醣類逐漸同化為澱粉，至授粉 75 天碳水化合物累積達最大值。授粉 35 天~45 天時全可溶性糖類

含量最高，約為 60.48~62.09 mg/gFW，隨著成熟度增加，全可溶性糖類含量逐漸降低，授粉 55 天~75 天下降至 31.89~41.73 mg/gFW，含量隨成熟度增加而降低。胡瓜種子成熟期間澱粉增加，但於成熟後期略有下降(Handley *et al.*, 1983)。本試驗‘台農二號’冬瓜種子隨成熟度增加澱粉含量增加，授粉 65 天澱粉含量達一高點，授粉 75 天時全可溶性糖類則較低，同時授粉後 45~55 天開始種子內累積大量醣類，授粉 45 天種子全可溶性糖類含量最高，而於授粉後 55~75 天含量較低，顯示‘台農二號’冬瓜種子澱粉含量隨著成熟度增加而增加，達一定成熟度後漸趨穩定，全可溶性糖含量則隨著成熟度增加而減少。由此可知全可溶性糖類含量於發育初期含量高，且隨著成熟度增加逐漸降低，並受同化作用影響稍有隨後熟程度增加而降低之趨勢。

### 三、種子發育期間單糖含量變化

發育過程中，分布及含量最高之單糖依序為葡萄糖、果糖、麥芽糖及半乳糖，且隨成熟度增加，種子內單糖之種類亦增加，授粉 45~55 天葡萄糖及果糖達最大值，接著授粉 65~75 天由於醣類同化形成澱粉，因此單糖逐漸減少。前人研究中指出葫蘆科種子內含棉子糖類(RFOs, raffinose family oligosaccharides)且以其為貯藏物質，種子發育期間葡萄糖及果糖含量逐漸降低，但蔗糖、棉子糖及水蘇糖於種子成熟後期階段累積增加，如胡瓜種子成熟時葡萄糖及果糖減少，棉子糖則於成熟過程中增加，甜瓜種子進入成熟階段時棉子糖增加至 3.5 mg/g FW(Bozena and Schmitz, 1997; Handley *et al.*, 1983)，蔗糖及棉子糖族醣類貯藏於種子組織中有助於維持種子膜系運作及於種子乾燥階段減少乾燥損失，避免細胞膜受失水傷害(Bewley *et al.*, 2012; Madore, 2011)。本試驗中，隨著發育過程進行，授粉 45~55 天葡萄糖及果糖達最大值，接著授粉 65~75 天由於醣類同化形成澱粉，因此單糖逐漸減少，最終甚至低於 10 mg/g FW，值得注意的是，最適成熟度授粉 75 天種子內，單糖含量雖然最少，但其中包括葡萄糖、果糖、半乳糖、麥芽糖及棉子糖等皆可測得。另外，所有處理種子各部位均可測得半乳糖，證實半乳糖為碳源貯藏方式之一。發育過程中，分布及含量最高之單糖依序為葡萄糖、果糖、麥芽糖及半乳糖，且隨成熟度增加，種子內單糖之種類亦增加，此現象除印證單糖於種子內重新合成外，同時可確定種子於授粉後 75 天時其可利用之貯藏物質較為充裕。

### 四、‘台農 2 號’冬瓜種子發育期間種子活力與休眠性之獲得

由種子 TTC 活力測定結果可看出授粉後 35 天種子染色結果呈現不具活性之淺紅色，授粉 45 天之種子部分胚已具活力，但大多數子葉染色斑駁甚至淺紅，某些胚柄處染色不均，顯示此發育階段之胚雖然已開始具有活力，但發育程度不均，子葉之功能尚未完備，具運輸功能之胚柄也有缺陷，因此仍不具有發芽活力，且發芽率結果亦為 0%。授粉 55 天之部分種子已具備發芽能力，整體染色均勻或子葉稍有不均勻但不至於影響活力，此時之 TTC 活力判斷平均約為 10%，實際發芽率為 0%。授粉 65 天時 TTC 活力判斷平均約為 30%，但發芽率仍為 0%。授粉 75 天種子 TTC 活力判斷已達 100%，卻仍維持低發芽率，約 33.3%。本試驗中，以 TTC 種子活力測定‘台農 2 號’冬瓜種子授粉後不同天數種子之活

力，其原理為利用原本無色之 2, 3, 5 -triphenyltetrazolium chloride 經種子內活細胞中參與呼吸作用之脫氫酵素進行氧化作用使化合物變成紅色結晶，由於呼吸作用為種子發芽過程中關鍵之作用，因此可藉由呼吸作用之進行與否判斷種子之活力(Desai *et al.*, 2004)，唯此藉由顯色結果判斷不易客觀，且對冬瓜種子而言，仍有不足及問題所在。

本研究為調查‘台農 2 號’冬瓜種子發育過程及休眠性之表現背景資料以提供後續研究。由研究結果可知，‘台農 2 號’冬瓜種子於授粉 35 天起種子內貯藏物質累積，授粉後 45 天蛋白質及糖類達最大量，授粉 65 天後則由於同化作用，全可溶性糖類減少而澱粉達最大量。授粉 45 天開始種子逐漸獲得活力，授粉 55~65 天種子活力增加而實際發芽率並為伴隨增加，顯示其休眠性之顯現，授粉 75 天種子已完全具發芽能力，但由於其具深休眠性，導致種子發芽率僅 30~33.3%，由前人研究已知，部分葫蘆科種子之休眠屬於物理性休眠，於種子完全成熟胚發育完成狀態下發生，部分葫蘆科種子則同時具物理性休眠及生理性休眠(Baskin *et al.*, 2000)。由本研究結果推測‘台農 2 號’冬瓜之休眠性較深，而其休眠之解除仍需進一步研究。

### 誌謝

本研究感謝行政院農業委員會霧峰農業試驗所作物組提供試驗材料及興台計畫經費協助。

## 參考文獻

- 林學詩。1995。台灣農家要覽-農作三 p. 487-490。豐年社。台北。
- 黃如葵。2006。冬瓜種子質量在其發育過程及採後處理中的變化。中國蔬菜 9: 16-18。
- Baskin, J. M., C. C. Baskin, and X. Li. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Spec. Biol.* 15: 139-152.
- Bewley, J. D. and M. Black. 1997. *Seed physiology of development and germination* 2nd edition. Plenum Press. New York. p. 36-39, 117-119.
- Bewley, J. D., K. J. Bradford, H. W. M. Hilhorst, and H. Nonogaki. 2012. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*, 3rd Edition. p. 27-83. Springer. New York Heidelberg Dordrecht London.
- Bozena, C. and K. Schmitz. 1997. Changes in soluble sugar and activity of  $\alpha$ -galactosidases and acid invertase during muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit development. *J. Plant Physiol.* 151: 41-50.
- Copeland, L. O. and McDonald M. B. 2001. *Principles of seed science and technology* 4th edition. USA. p. 24, 27, 201-203.
- Desai, B. B., P. M. Kotecha, and D. K. Salunkhe. 2004. *Seeds Handbook: Biology, Production, Processing and Storage (Books in Soils, Plants, and the Environment)*. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 7, 15-19, 73-74, 78-79, 118, 121.
- Handley, L. W., D. M. Pharr, and R. F. McFeeters. 1983. Carbohydrate changes during maturation of cucumber fruit. *Plant Physiol.* 72: 498-502.
- International Seed Testing Association. 1999. *International Rules for Seed Testing*.
- Justice, O. L. and L. N. Bass. 1978. *Principles and practices of seed storage*. U. S. Department of Agriculture handbooks. p. 506.
- Madore, M. A. 2011. Biosynthesis and degradation of galactosyloligosaccharides. *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology* I-III Chapter 5.4.
- McDonald, M. B. and L. O. Copeland. 1997. *Seed production*. p. 19-28. Chapman & Hall. New York.
- Nerson, H. 2007. Seed production and germinability of cucurbit crops. *Seed science and biotechnology* 1: 1-10.
- Welbaum, G. E. 1993. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) VIII. Development of osmotically distended seeds. *J. Exp. Bot.* 44: 1245-1252.
- Welbaum, G. E. and K. J. Bradford. 1991. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) VII. Influence of after-ripening and ageing on

germination responses to temperature and water potential. J. Exp. Bot. 42: 1137-1145.

Zaini, N. A. M., A. Farooq, A. A. Hamid, S. Nazamid. 2011. Kundur [*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.]: A potential source for valuable nutrients and functional foods. Food Res. Int. 44: 2368-2376.

## Seed Storage Reserves during Post-Pollination Development and Seed Dormancy of 'Tainung 2' Wax Gourd (*Benincasa hispida* Cogn.)

Hong-Ling Yeh<sup>1)</sup> Yu Sung<sup>2)</sup> Tzu-Kai Lin<sup>3)</sup>

Key words: Wax gourd, Seed, Dormancy, Germination

### Summary

'Tainung 2' wax gourd seeds contain high water content and low storage substance during early phase of development, seed water content was 89.76% after 25 days of pollination, soluble protein content and total soluble sugar content reach maximum value at 45 days after pollination, 40 mg/gFW and 79.91 mg/gFW, respectively. Water content decreased rapidly after 45 days of pollination, and reach 67.87% after 65 days of pollination, while starch content reach maximum value 78.7 mg/gFW, after 75 days of pollination, water content, starch, total soluble sugar and soluble protein reached 70.24%, 100 mg/g FW, 70 mg/g FW and 30 mg/g FW, separately. Seed germination percentage maintain 0% during 25~65 days of pollination, seed vigor test result reveal 'Tainung 2' wax gourd seeds embryo gain viability till 45 days of pollination, seeds vigor reach 30~40% after 55~65 days of pollination, seeds vigor reach 100% after 75 days of pollination, but the seed germination percentage still low between 30~33.3%, this might indicate that 'Tainung 2' wax gourd seeds obtain dormancy after seed maturation.

---

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

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

3) Assistant Researcher, Crop Science Division-Vegetable crops Laboratory, Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.



## 光源對喜樹組織培養培植體生長的影响

張本懋<sup>1)</sup> 林瑞松<sup>2)</sup>

關鍵字：喜樹、組織培養、發光二極體(LED)

**摘要：**喜樹(*Camptotheca acuminata* Decne.)內的喜樹鹼(camptothecin, CPT)被使用做為抗癌藥物，為了原料採集，進行高產量品系的無性繁殖是能夠確保產量穩定之途徑之一。光可調控植物光合作用與光型態發生等現象，為組織培養過程中關鍵條件之一。本試驗使用不同色光的發光二極體(Light-Emitting Diode, LED)作為光源供應來源，進行現象觀察與結果探討。光源試驗使用不同色光的發光二極體(LED)分別為白光(W)、紅光(R)、藍光(B)和混合光(P)光源下進行試驗，葉長與葉寬為白光下生長最佳，分別為 1.367cm 與 0.575cm，藍光下葉型偏狹長型，葉長較長，而混合光葉面積稍大於紅光下生長之喜樹葉面積。在葉綠素 a、b 與葉綠素總量上白光與混合光多於紅光及藍光下生長的喜樹組培苗，元素分析發現藍光下生長的喜樹組培苗除 Ca、Mg 之外，營養元素含量皆明顯高於其他色光下生長的喜樹組培苗。

### 前言

喜樹為喜樹科(Nyssaceae)喜樹屬(*Camptotheca acuminata* Decne.)，落葉喬木植物，原產於中國大陸長江流域及南方各省區。最早於 1966 年由 Wall 等人在喜樹的木材分離出喜樹鹼(camptothecin, 簡稱 CPT)(張等, 2006)。

該樹種因具有抗癌和抗逆轉錄病毒的生物鹼：喜樹鹼、10-羥基喜樹鹼等(王, 2008)，因此植物學界和醫藥學界開始重視其發展與重要性。有別於大多數已在臨床上所使用的抗癌藥物均是以 Topoisomerase II 為作用標的物，喜樹鹼具有獨特性質，是以 Topoisomerase I 為作用標的物(楊等, 2009)。近年來其相關研究著重於在產地差異(張, 2002; 王等, 2005)、

---

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。

實生苗繁殖(陳等, 2004)、組織培養(張等, 2006)、細胞懸浮培養(高等, 2003)、結構剖析(Monacelli et al., 2005)、喜樹鹼含量測定(黃等, 2008; 閻等, 2002)等。

光品質對外觀和生產力有重要的作用(Massa et al., 2008)。光原使用發光二極體(LED)控制光譜(Morrow, 2008)。可與作物極度接近, 耗電量小、衰減少且使用壽命通常為螢光燈管的 10 倍以上。可做為組培苗人工光源的另一選擇(饒等, 2003)。

## 材料與方法

### 一、植物材料與培養環境

本研究培植體材料(*Camptotheca acuminata* Decne.)取自康拜爾公司提供之喜樹插穗, 扦插於台灣國立中興大學園藝試驗場。成活之扦插苗木, 取 4±1 公分之芽梢作為培植體進行組織培養繁殖(圖一), 組織培養試驗地點在台灣國立中興大學作物科學大樓園藝學系 7 樓組織培養室

初代培養創始取自枝條腋芽, 首先誘導培植體分化多芽, 將單一芽體切下繼代培養於黑暗環境下一個月, 再移至各光源環境進行光照處理一個月後記錄結果。本試驗使用 WPM 培養基添加 IBA (0.5 mg/L)和 BA (0.5 mg/L)。培養基定量後使用 KOH 與 HCl 調整 pH 至 5.5, 再添加 Difco Bacto-Agar  $6\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ , 加熱至培養基澄清無懸浮, 分裝於蘭花瓶中, 每瓶填充 100ml 培養基, 以 121°C 高壓滅菌 20 分鐘, 滅菌完冷凝靜置 3~5 天使用。

光源條件: 培養於冷白光 W(型號: NBL-T84-K, 50W, 色溫: 5000~5500L, 17W/110V, 400-700nm)、紅光 R(型號: NBL-T84-R, 50W, 9R/12W/110V, 650nm)、藍光 B(型號: NBL-T84-B, 9B/17W/110V, 450nm)與混和光 P(紅+藍)(型號: NBL-T84-6R3B, 6R3B/14W/110V), 光度 700-1000 lux( $8.54-12.2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )光週期設定明暗期為 12/12 小時(光茵生物科技股份有限公司)。每次試驗各色光一蘭花瓶, 每瓶內 4 株, 共四重複。

### 二、植株調查與分析方法

#### (一) 葉片葉綠素含量之分析

將瓶苗葉片秤重 0.025g 後切成細碎, 浸泡於 10ml 的混合液(80%丙酮及 20%甲醇), 於室溫下黑暗處理 24 小時候完全萃取葉綠素, 再以分光光度計(Hitachi U-2001, Hitachi Co. Japan)測定在 645、652 及 663nm 波長下之吸光值, 並利用下列公式計算單位葉種之葉綠素 a、b 及總葉綠素含量。

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

$$\text{Chl b. (mg/g)} = (22.9 \times \text{O.D.}_{A_{645}} - 4.68 \times \text{O.D.}_{A_{663}}) \times V / 1000W$$

$$\text{Total Chl. (mg/g)} = (12.7 \times \text{O.D.}_{A_{652}} \times 1000 / 34.5) \times V / 1000W$$

V: 萃取液之總體積(ml)

W: 葉片鮮重(g)

## (二) 灰份成分分析樣品前處理

試驗材料於採樣後 1 分鐘內洗滌，先以自來水洗除附著於葉面上之塵土污物，再以 1% HCl 涮洗，最後以去離子水快速沖洗三次，洗畢後放入牛皮紙袋。將牛皮紙袋置於可通風之烘箱中以 100°C 烘 1 小時以上殺菁，停止其生化作用；後置於 70°C 烘 48 小時以上，以減少自身之分解作用。之後以磨粉機磨碎，樣品以 20~40 mesh 過篩。將粉碎的樣品裝入硫酸紙袋中保存於乾冷處。

乾灰化法：將磨成粉之樣品置入 70°C 烘箱中烘乾 12 小時，稱取 0.5 g 樣品置於坩鍋中，放入灰化爐內。先以 200°C 加溫兩小時，繼以 400°C 一小時，最後以 550°C 烘兩小時使之完全灰化，等樣品取出冷卻後，加入 5 ml 2N HCl (Merck) 將灰分溶解，以去離子水將坩鍋內之樣品完全洗下，經 Whatman #42 濾紙過濾並定量至 25 ml，裝入 PE 瓶(AA 瓶)內保存。

## (三) 元素分析 - AA 測定金屬元素

儀器使用 Varian Spectra AA - 10/20 System，銅、錳、鋅、鐵、鎘、鉬可直接用灰化所得之濾液(50x)，鉀、鎂取 0.1 ml 濾液，加 4.9 ml 去離子水稀釋 50 倍後測定。鈣取 0.1 ml 濾液，加 3.9 ml 去離子水及 1 ml 之 5% 氧化釷混合後測定(此間之稀釋倍率為 50 倍)。

## (四) 氮元素分析

將磨碎之樣品於 70°C oven 烘乾一夜，精稱 0.2g 樣品包於 Toyo NO.1 濾紙，置入分解管中。加入 1 g 之催化劑( $K_2SO_4$  :  $CuSO_4$  : Se = 100 : 10 : 1, w/v)。加入 4.5 ml 之濃硫酸，放至分解爐中以 410°C 加熱分解。至管中液體呈澄清之綠色後，繼續直至沒有白煙冒出(約 30 mins - 1 hr)。取出冷卻約 10 分鐘後加入 15 ml 蒸餾水，如為澄清淺藍，表示分解完全。完全分解之樣品移至 micro - Kjeldahl 裝置，加入 20 ml 之 12 N NaOH，通蒸氣使氮化，丙用含指示劑之 2% Boric acid 20 ml 接收氮氣及氨水，至總體積達 50 ml 時為止。

## 結果

試驗使用繼代所得新芽，挑選生長情形相似之植株，進行培養試驗一個月後測量數據。結果顯示，喜樹組織培養苗培養在白光下葉長 1.3 cm，葉寬 0.5 cm，培養在紅光下葉長 0.9 cm，葉寬 0.4 cm，在白光下生長之喜樹其葉較在紅光下為大，在藍光下生長的喜樹組培苗其葉長 1.1 cm，葉寬 0.4 cm，葉形比白光及紅光下生長之喜樹組培苗為細長；混合光下生長之喜樹組培苗其葉長 1.0 cm，葉寬 0.4 cm，葉部形態與白光相較之下無明顯差異，平均葉長與葉寬介於白光與紅光下生長之喜樹組培苗之間(表 1、圖 1)。

在白光下其總葉綠素含量為 255.8 mg/g，葉綠素 a 含量為 2.0 mg/g，葉綠素 b 含量為 7.7 mg/g；在紅光下生長之組培苗葉綠素較少，其總葉綠素含量為 132.4 mg/g，葉綠素 a 含量為 1.2 mg/g，葉綠素 b 含量為 4.4 mg/g；而在藍光下其總葉綠素含量為 204.3 mg/g，

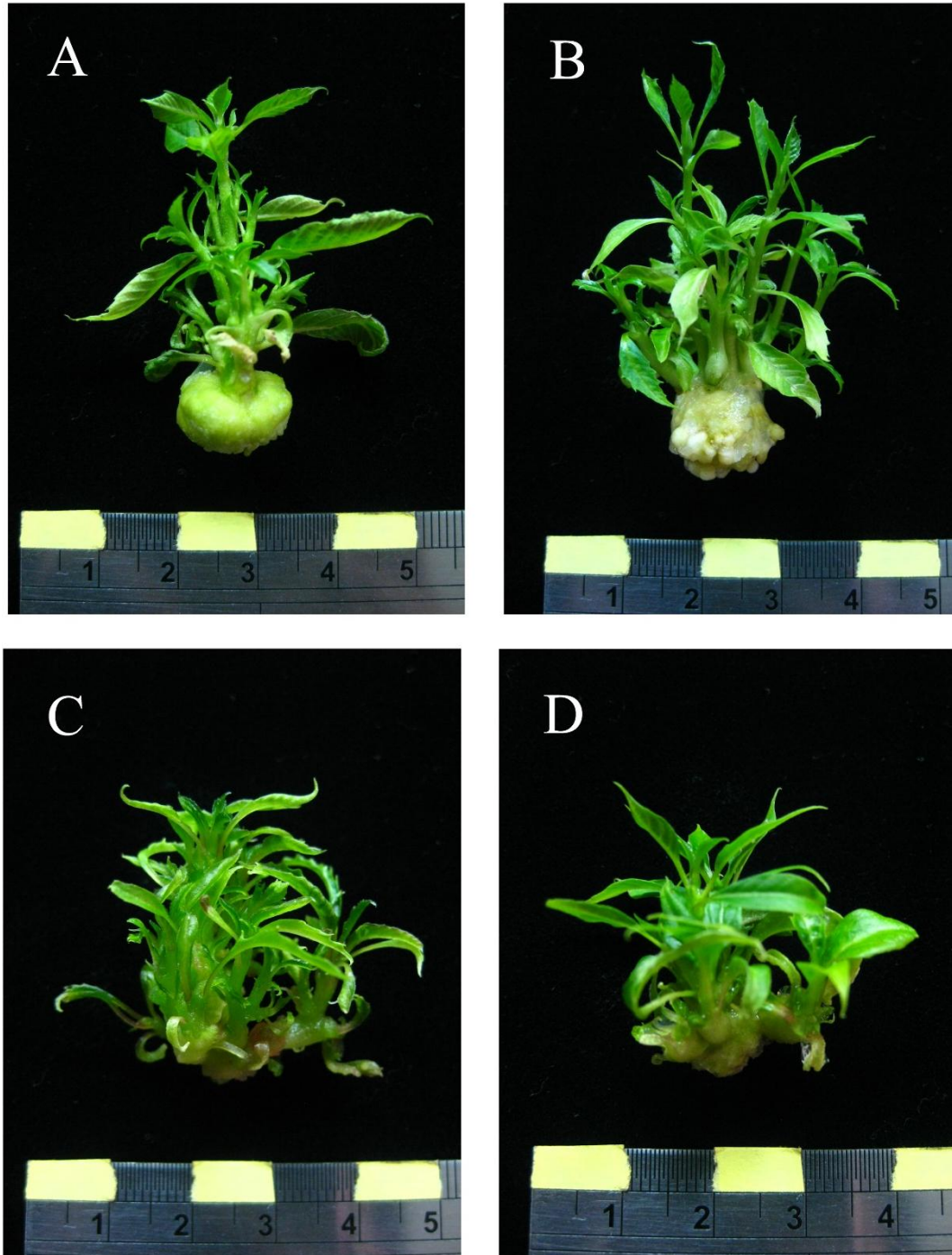


圖 1. 不同色光(A)白光(B)紅光(C)藍光(D)混合光下喜樹組培苗的生長比較  
Fig.1. The effect of (A) white light, (B) red light, (C) blue light, and (D) P(6R3B) on the plant growth *in vitro* *Camptotheca acuminata* Decne.

葉綠素 a 含量為 1.6 mg/g，葉綠素 b 含量為 6.2 mg/g；在混合光下與葉長寬結果相似，與紅、藍光下培養的結果相比，混合光與白光下培養的結果較為接近，其總葉綠素含量為 222.8 mg/g，葉綠素 a 含量為 2.1 mg/g，葉綠素 b 含量為 7.3 mg/g(表 1)。

四個不同光質下進行營養元素分析，N 含量在單色光紅、藍光下相較於白光與混合光含量較高，分別為 4.1%與 4.5%。藍光下營養元素 P、K、Fe 相較於其他色光下數值較高，尤其是 K 含量尤為明顯達 5.0 ppm，其他色光下元素則較為接近(表 2)。

表 1. 不同色光下喜樹培植體葉長寬與葉綠素含量

Table1. The effect of light source on *Camptotheca acuminata* Decne. leaf length, leaf width and chlorophyll content.

Light source <sup>z</sup>	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Chl. a (mg/g)	Chl. b (mg/g)	Total Chl (mg/g)
W	1.3a <sup>y</sup>	0.5a	2.0a	7.7a	255.8a
R	0.9a	0.4b	1.2a	4.4b	132.4b
B	1.1a	0.4b	1.6ab	6.2a	204.3a
P(6R3B)	1.0a	0.4b	2.1a	7.3a	222.8a

<sup>z</sup> : W=White light ; R=Red light ; B=Blue light ; P=6R3B mixed

<sup>y</sup> : mean separation within columns by LSD test at  $P \leq 0.05$

表 2. 不同色光下喜樹培植體營養元素分析

Table2. The effect of light source on *Camptotheca acuminata* Decne. nutrient elements analysis.

Light source <sup>z</sup>	N(%)	P(ppm)	K(ppm)	Ca(ppm)	Mg(ppm)	Fe(ppm)	Mn(ppm)	Zn(ppm)	Cu(ppm)
W	2.7	16.9	0.9	0.3	0.1	1.0	2.0	1.9	0.1
R	4.1	15.8	0.8	0.2	0.0	1.1	1.9	2.0	0.1
B	4.5	18.1	5.0	0.2	0.0	1.6	2.0	2.2	0.1
P(6R3B)	3.0	16.6	0.3	0.2	0.0	1.0	1.9	1.9	0.1

<sup>z</sup> : W=White light ; R=Red light ; B=Blue light ; P=6R3B mixed

## 討論

葉綠素含量會直接影響其光合作用的能力，當光波長在吸收峰值範圍內時，光質能被吸收並提高活性態光敏色素的量，從而引起酶活性、激素水準的變化，進一步影響植物形態形成(劉等, 2009)。邢等人(2012)的試驗中，也同樣是在白光下不論葉綠素a、b或總量皆高於單色光，但在於紅光與藍光之間的比較則與本試驗結果相反，是紅光葉綠素含量數倍於藍光，可是岳等人(2013)在木本植物杜鵑花上的試驗指出，葉綠素a含量藍光最高，葉綠素b含量則是紅光下生長之杜鵑花較高，因此考慮單色光造成的葉綠素含量差異，容易因不同植物如草本、木本甚至樹種差異而有變化。單色光下之葉綠素含量低於複合光的現象，在早期Kennedy太空中心試驗過小麥幼苗給予 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 紅色LED光，卻未能產生葉綠素，直到補充 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的藍色LED光或是將紅色LED光降低至 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 才有葉綠素產生(Massa et al., 2008)，而且光合作用速率則隨著藍光量上升而增加。白光有利於葉綠素的合成，而且與單色光相比，複合光在葉綠素的生成上明顯較為突出，所以仍然以適當的複合光培養才能達到最佳的葉綠素合成與作用。

本試驗進行LED白光、紅光、藍光與混合光對喜樹組織培養苗的影響，在培養一個月後可以看到從葉部的外表型態已有差異。生長量與型態上以白光最佳，混合光其次，與單色光的紅光與藍光相比，複合型光在喜樹的組織培養中作為培養優良瓶苗會比單色光來的合適，但其生長速度與白光相比仍遲緩且矮小；紅光下生長之喜樹有些微徒長，雖然不適合做為後期馴化發根的色光選擇，但紅光較其他光質更有利於試管苗的增殖(劉等, 2009)，作為優質瓶苗而言其馴化過程中容易死亡；而藍光下生長之喜樹其葉形變為狹長，相較之下紅光下的葉長寬比例與白光相比沒有明顯變化，只是葉長寬稍微縮減；此結果與蘇等人(2012)結果相似，造成此結果的原因可能是紅光促進伸長生長，藍光抑制縱向生長，IAA氧化酶的活性接受藍光而提高，進而降低植物體內的IAA，因此抑制了植物伸長生長(劉等, 2009)。

營養元素方面，N含量在單色光紅、藍光下相較於白光與混合光含量較高，而且在藍光下生長之喜樹組培苗，除了Ca、Mg元素之外，其他營養元素吸收量明顯大於其他試驗組，其原因據俞(2009)的報告中指出，利用擬南芥在藍光受體隱花色素的缺失，觀察到元素吸收出現明顯的差異。

整體狀況評估仍然以白光下生長之喜樹組培苗較佳，其在生長量，外表健壯程度，葉綠素含量都有優於其他光質下生長之喜樹組培苗數據。

## 參考文獻

王自芬、劉文哲。2005。不同產地喜樹果實中喜樹鹼及 10-羥基喜樹鹼的差異。中草藥 Chinese Traditional and Herbal Drugs。36(5):762-764。

- 王玲麗。2008。喜樹的研究進展。安徽農學通報。4(1):156-157。
- 邢澤南、張丹、李薇、張歡、章麗麗、崔瑾。2012。光質對油葵芽苗菜生長和品質的影響。南京農業大學學報。35(3):47-51。
- 岳靜、潘遠智、鮮小林、陳睿。2013。光質和 B9 對杜鵑花觀賞性狀及生理特性的影響。林業科學。49(1):77-84。
- 俞竟。2009。隱花色素對礦質元素吸收的影響。湖南大學碩士論文。65pp。
- 高桂珍、周吉源。2003。喜樹細胞懸浮培養中生理生化指標的測定。武漢植物學研究。21(3):259-261。
- 陳舜英、黃玲瓏、簡慶德、許原瑞。2004。層積濕藏對喜樹果皮構造及種子發芽儲藏的影響。台灣林業科學。19(4):287-295。
- 張玉紅。2002。喜樹果實中喜樹鹼含量的產地差異及季節變化。東北林業大學學報。30(6):44-46。
- 張淑華、蔡錦瑩、何政坤、黃芷雲。2006。喜樹癒合組織之培養與喜樹鹼含量分析。台灣林業科學。21(4):513-521。
- 黃寶美、姚程煒、邊清泉、王秀峰、莫金垣。2008。喜樹果中喜樹鹼含量的高效毛細管電泳培養法測定。分析測試學報。27(3):319-321。
- 楊士平、李慶國。2009。喜樹鹼及其衍生物的歷史回顧及展望。化學。67(1):45-60。
- 閻秀峰、王洋、于濤、張玉紅、殷麗君。2002。喜樹葉中喜樹鹼含量的高效液相色譜分析。分析測試學報。21(2): 15-17。
- 劉媛、李勝、馬紹英、張真、張青松、羅麗媛、薛沖、裴曉利。2009。不同光質對葡萄試管苗離體培養生長發育的影響。園藝學報。36(8):1105-1112。
- 饒瑞佶、方煒、蔡田龍。2003。超高亮度紅、藍光 LED 應用於蝴蝶蘭組培苗栽培之研究。農業機械學刊。12(4):93-100。
- 蘇建榮、臧傳富、劉萬德、李帥鋒、張志鈞。2012。光質對雲南紅豆杉生長及紫杉烷含量影響的研究。林業科學研究。25(4):419-424。
- Massa G. D., H. H. Kim, R. M. Wheeler, and C. A. Mitchell. 2008. Plant Productivity in Response to LED Lighting. Hort. Sci. 43(7):1951-1956.
- Monacelli B., A. Valletta, N. Rascio, I. Moro, and G. Pasqua. 2005. Laticifers in *Camptotheca acuminata* Decne: distribution and structure. Protoplasma 226:155-161.
- Morrow R. C. 2008. LED Lighting in Horticulture. Hort. Sci. 43(7):1947-1950.

## The Effect of Light Source on the *in vitro* Plant Growth of *Camptotheca acuminata* Decne.

Pen-Mao Chang<sup>1)</sup> Ruey-Song Lin<sup>2)</sup>

Key word: *Camptotheca acuminata* Decne., *in vitro*, Light-Emitting Diode(LED)

### Summary

In present year, extract of camptothecin from *Camptotheca acuminata* Decne have been used as anticancer medicine. The important way were used clone to product *Camptotheca acuminata* Decne. In primary knowledge light not only participate photosynthesis but also affect photomorphogenesis, and it's a key factor for tissue culture. The aim of this study were investigated Light-Emitting Diode(LED), on *Camptotheca acuminata* Decne plantlet growth and development in vitro. Result indicated that under the white light had better length and width of leaf, it is 1.3 cm and 0.5 cm respectively. The leaf morphogenesis made more long and narrow under the blue light, It had better leaf area under combination light than under red light. In terms of chlorophyll a, b and total chlorophyll content of plantlets which under the white and combination light showed more chlorophyll content than others light source on *Camptotheca acuminata* Decne plantlet. In terms of nutrient elements analysis that under the blue light showed higher content than others light source, excluded calcium and magnesium of *Camptotheca acuminata* Decne plantlet.

---

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

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

## 馬祖東引鄉原生換錦花(石蒜科)生態之研究

彭俊翰<sup>1)</sup> 曹爾元<sup>2)</sup> 張正<sup>3)</sup>

關鍵字：石蒜、換錦花、氣候、伴生植物、土壤

**摘要：**換錦花(*Lycoris sprngeri* Comes ex Baker)為於石蒜科(Amaryllidaceae)石蒜屬鱗皮鱗莖(tunicate bulb)類球根植物。季節性生長習性鮮明，具有花後生葉(hysteranthous flowering)的特徵。本研究分別於馬祖東引島小紫澳、紫澳與西引島東澳、后澳、清水澳 5 個棲地中設立樣區進行週年性換錦花調查。葉期 2-5 月，屬春出葉型石蒜。花期 7-9 月，筒狀花，花色粉紅，花被末端常帶藍色。換錦花伴生植物超過 29 種，皆為低矮草本與藤本植物，季節性演替鮮明。東引鄉氣溫四季變化分明，1-2 月均溫 10°C，極端低溫 3.7°C，7-8 月均溫 29°C，極端高溫 44.6°C。換錦花棲地土壤質地屬沙質黏土，內部夾雜礫石岩塊，排水良好，土壤 pH 值介於 5.8-6.6 之間，屬弱酸性土壤；交換性鈉高達 100-270 mg·kg<sup>-1</sup>，全氮含量低至中，有效磷含量很低，有機質、鉀鈣鎂等營養元素含量豐富，但交換性鈣、鎂比例很低，平均比值為 1.3。馬祖東引鄉北海岸保有原始植被，留存大面積換錦花族群，建議設立自然保留區，有利馬祖東引鄉原生換錦花生態保育與生態旅遊的發展。

### 前 言

東引鄉位於福建省羅源灣與三都澳外海，由東、西引兩島組成。面積僅 4.3 平方公里，為馬祖四鄉中面積最小者，地形以丘陵為主，植被分為人工林、山坡原生灌叢、海崖峭壁原生灌叢與海岸山坡草本植物群落，草生地分為五節芒草生地與紅花石蒜草生地兩型。後者為東引鄉最具特色的植群，原生植物資源豐富，主要分布於北海岸地區，多為草本或藤本植物(劉與邱，2002；郭，2004)。

- 
- 1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。
  - 2) 連江縣政府建設局局長。
  - 3) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

換錦花原產於中國大陸安徽、江蘇、浙江、湖北與臺灣馬祖的東引(斐和丁, 1985; 杜與陳, 1997; 郭, 2004)。張與曹(2012)指出馬祖東引鄉換錦花天然資源豐富, 盛花期與海景結合, 可發展生態旅遊。東引鄉原生換錦花相關資料稀少, 本研究之項目及目的有:

- (一). 周年觀察換錦花生育習性, 建立東引鄉原生換錦花的生育周期基礎資料。
- (二). 蒐集換錦花棲地周年溫度數據, 了解溫度與換錦花生育周期關聯性。
- (三). 調查換錦花伴生植物, 有利未來原地或異地生態景觀復育。
- (四). 調查並探討換錦花棲地土壤肥力與換錦花生育與伴生植物分布的關係。

## 材料與方法

### 一、原生換錦花棲地與氣候調查

於換錦花開花期 (2011 年 9 月 3 日; 2012 年 8 月 10-20 日)、結實期 (2012 年 9 月 13 日)、出葉期 (2012 年 3 月 16 日; 2013 年 2 月 23 日)及落葉期 (2012 年 6 月 22; 2013 年 5 月 18 日)前往馬祖東引鄉調查原生石蒜與伴生植物種類, 使用 Google Earth 5.0 (Google Inc., USA)標定原生石蒜棲地, 並於 2012 年 3 月 17 日於清水澳石蒜棲地放置 Data logger (HOBO Pendant Temp/Light, Onset Co., USA) 記錄原生地溫度的變化, 並於 2013 年 2 月 23 日取回。以 GeoKLIMA 2.1c.軟體進行繪製馬祖生態氣候圖的繪製 (Hanisch, 2008), 氣候數據取自於中央氣象局網站, 為 2004-2012 年由馬祖氣象站觀測雨量與氣溫之數值。

### 二、樣區設立與伴生植物調查

於 2012 年 8 月 10-20 日於東引鄉的小紫澳、紫澳、清水澳、后澳、與東澳五個棲地, 各別設立  $4\text{ m}^2$  -  $24\text{ m}^2$  方形或長方形樣區, 並記錄樣區內的換錦花總花莖數、總花朵數, 於 9 月 13 日記錄總結果花莖數、總結果數、總有效種子數與自然結實率, 於 2013 年 2 月 23 日調查換錦花出葉植株數與伴生植物。

於小紫澳、東澳與后澳的樣區中進行伴生植物種類調查, 伴生植物數量的量化, 依在樣區內分布的面積分為三類: (一)主要伴生植物(I)佔樣區面積的  $1/3$  以上, 是該棲地優勢植物, (二)次要伴生植物(II)佔樣區面積  $1/3$ - $1/5$ , (三)偶發性伴生植物(III)則是零星分布於樣區中, 分布面積低於  $1/5$ 。使用數字 1-5 來量化伴生植物的發育期, 1 代表萌芽期, 2 為營養生長期, 3 為開花期, 4 代表結實期, 5 為落葉期(枯萎期)。

### 三、各棲地土壤肥力測定

於 2013 年 5 月 18 日(落葉期)於東引島小紫澳、發電廠、紫澳與西引島東澳、后澳、清水澳樣區內收集換錦花鱗莖下方與周邊土壤, 送國立中興大學土壤調查中心委託分析土壤肥力, 測定項目為: pH 值、有機質含量、全氮、有效磷、交換性鈣、交換性鎂、交換性鉀與交換性鈉。

## 結 果

### 一、馬祖東引鄉氣候概況

東引為亞熱帶低地海島，氣候受東北季風、濃霧與颱風影響，屬亞熱帶季風型氣候，乾溼季分明，因緯度較高且位處中國華南地理區，受大陸型氣候影響，冬季低溫遠較台灣平地來的低。

2月時東引鄉東北季風強勁，於2012年清水澳測得月均溫10.4℃最低溫3.7℃3月時常濃霧壟罩，月均溫14.2℃4月均溫18.5℃，最低溫16℃6月以後氣溫明顯升高，月均溫25.4℃極端高溫39.6℃最低溫20.9℃風向改吹溫暖濕熱南風；7、8月氣溫轉為炎熱，月均溫29.5℃，極端高溫44.6℃；9、10與11月氣溫開始轉涼，月均溫18-26℃，進入東引鄉旱季；12月至隔年1月以後氣溫一路下滑，月均溫10-13℃最低溫3.9℃(圖1)。

4月起進入盛水期，一年中又以4-6月的梅雨季為主要雨量來源；7月以後較為乾旱，此時颱風常帶來短時間內較多的降雨量；冬季氣溫低，蒸散量不高，因而導致整年無明顯之缺水期，但10月以後雨量明顯減少，進入旱季(圖2)。

### 二、馬祖東引鄉原生換錦花棲地分布

如表1所示，2011年9月5日在東引鄉調查調查5個換錦花棲地：分別是東引紫澳、小紫澳；西引的東澳、清水澳、后澳。植群多以草生地為主，多位於北向澳口，海拔高度21-78m。

而換錦花生態調查樣區基本資料如同表2，小紫澳3×3m的樣區中，2012年8月抽出70枝花莖，9月時樣區內並無花莖結實，2013年2月底估算約有471株；紫澳2.2×2m的樣區中，2012年8月抽出83枝花莖，9月時樣區內有37枝花莖結實，總結果數94顆，獲得390顆有效種子，自然結實率44.6%，2013年2月底估算約有601株；東澳2.5×2m樣區中，2012年8月抽出45枝花莖，9月時樣區內有31枝花莖結實，總結果數77顆，獲得372顆有效種子，自然結實率68.9%，2013年2月底估算約有299株；清水澳4.3×3.3m的樣區中，2012年8月抽出206枝花莖，9月時樣區內有7枝花莖結實，總結果數10顆，獲得36顆有效種子，自然結實率3.4%，2013年2月底估算約有1000株；后澳6×3.5m的樣區中，2012年8月抽出204枝花莖，9月時樣區內有10枝花莖結實，總結果數16顆，獲得72顆有效種子，自然結實率4.9%，2013年2月底估算約有1079株。

#### (一).小紫澳

小紫澳為位於東引島北方、恩愛山東方的朝北澳口，澳口西方為陡峭花岡岩地形，東方邊坡較為平緩，是換錦花主要生長地區，換錦花多密集連續分佈於斜坡淺溝，也會集中在大石塊群邊緣。2月植被整片枯黃，於邊坡上的兩條石溝處有出葉的換錦花族群，通往邊坡的道路上兩側也有為數眾多的小株換錦花，左側延伸至海岸邊坡，雖較陡峭但也有不少數量。此處換錦花多成叢生狀，部分地區有整片族群，分布相當密集，主要群聚於邊坡

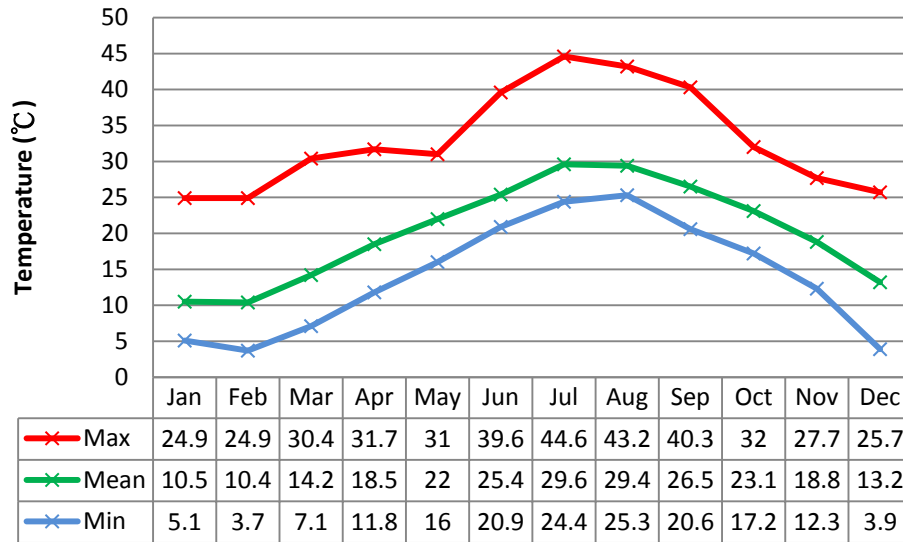


圖 1. 2012/3-2013/2 馬祖東引鄉清水澳溫度周年變化

Fig. 1. Temperature variation from March 2012 to February 2013 at Qingshuiao, Dongyin township, Lienchiang county

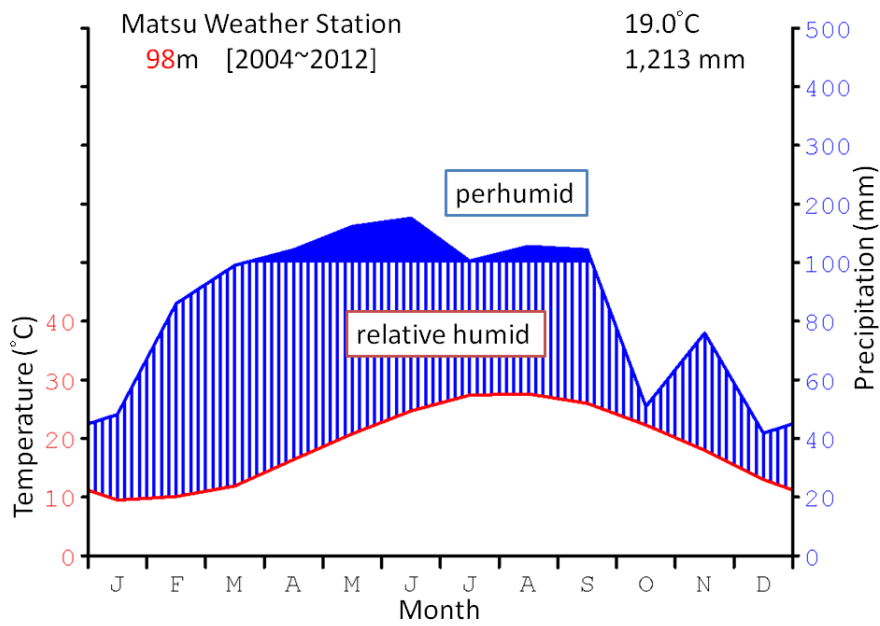


圖 2. 馬祖生態氣候圖。(數據來源：中央氣象局)

Fig. 2. Climatic diagrams of Matsu. (Data Source: Central Weather Bureau)

表 1. 馬祖東引鄉原生換錦花棲地基本資料

Table 1. Basic information of habitat of *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker native to Dongyin township, Matsu

Location	North latitude	East Longitude	Elevation(m)	Hillside	Ecosystem
Xiaoziao 小紫澳	26°22'18.57"	120°29'58.29"	26-45	Northwest	Grassland
Ziao 紫澳	26°22'11.35"	120°30'14.79"	50-74	Northwest	Grassland
Dongao 東澳	26°22'33.30"	120°28'53.55"	35-78	East	Grassland
Qingshuiao 清水澳	26°22'45.44"	120°28'39.11"	35	Southwest	Grassland
Houao 后澳	26°22'51.08"	120°28'38.47"	21-73	West	Grassland

表 2. 馬祖東引鄉換錦花生態調查樣區基本資料

Table 2. Basic information of experimental plot of *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker native to Dongyin township, Matsu

Location	Size(m)	Hillside	No. of plants <sup>z</sup>	No. of flowering stem <sup>y</sup>	No. of floret <sup>y</sup>	No. of fruit-setting stalk <sup>x</sup>	No. of fruit <sup>x</sup>	No. of seed <sup>x</sup>	Nature percentage of fruit set
Xiaoziao 小紫澳	3×3	Northwest	471	70	320	0	0	0	0
Ziao 紫澳	2.2×2	West	601	83	346	37	94	390	27.2
Dongao 東澳	2.5×2	Northeast	299	45	195	31	77	372	39.5
Qingshuiao 清水澳	4.3×3.3	West	1000	206	1030	7	10	36	0.97
Houao 后澳	6×3.5	West	1079	204	898	10	16	72	1.78

<sup>z</sup>Plant number of *Lycoris sprengeri* and investigation in February 2013.<sup>y</sup>Investigation in August 2012.<sup>x</sup>Investigation in September 2012.

凹陷處。小紫澳的換錦花葉片有捲曲現象。葉色多為灰綠色。

#### (二).紫澳

紫澳位於東引島北方朝北澳口，海岸線較為崎嶇，換錦花也是分布於東側邊坡，單位面積內擁有最多的數量，極其壯觀。此區換錦花葉片多直立叢生，沒有觀察捲曲葉片。另外有玫瑰紅色花被片單株數量較多，具有較長雄蕊。

#### (三).東澳

西引東澳水庫棲地分佈廣且分散，沿著低窪地分布。

#### (四).清水澳

清水澳為西引朝南的澳口，是調查樣區中唯一朝西南的換錦花棲地，是從后澳延伸過來。本區單位面積內數量多，但較為集中，葉無捲曲，較直立，型態單一，葉色灰綠。

#### (五).后澳

后澳位於西引，為一朝北澳口，換錦花主要分布於東側往國之北疆步道兩側與西側大面積的山坡(后澳邊坡)，后澳邊坡的換錦花族群分布較廣，但分散，有捲葉情況，2、3月植被也是大面積乾枯。

### 三、馬祖東引鄉原生換錦花生長習性

東引鄉原生換錦花花季在在7月底至9月初，抽出花莖後約兩周內即會開花(圖3 a-d)，2012年8月初觀察，西引島花季略早於東引島，花期約維持2-3週，零星開花可延續到9月中。花後一個月果實膨大，花莖倒伏(圖3 e)；爾後花莖皺縮，果皮開裂，露出黑色種子(圖3 f)。接著進入休眠期(圖3 g)，直至隔年1月底至2月中開始出葉(圖3 h)，棲地間出葉的時間點有所差異，目前觀察到小紫澳出葉較慢。3月中時，整體葉片均已抽出(圖3 i)。5月以後葉片枯黃萎凋(圖3 j)，6月底地上部完全消失，由濃密植被取而代之。

### 四、季節性的伴生植物種類與消長

換錦花的棲地多位於北方的北向及西向坡地迎風面，多為濱海草生地，伴生植物有紅花石蒜(*Lycoris radiata* (L'Her.) Herb.)、綿囊兒(*Scilla sinensis* (Lour.) Merr.)、薤白(*Allium macrostemon* Bunge)、南國小薊(*Cirsium japonicum* DC. var. *australis* Kitamura)、白花小薊(*Cirsium japonicum* DC. var. *takaoense* Kitamura)、狗娃花(*Aster hispidus* Thunb.)、茵陳蒿(*Artemisia capillaris* Thunb.)、蟛蜞菊(*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr.)、天蓬草舅(*Wedelia prostrata* (Hook. Et Arn.) Hemsl.)、油菊(*Dendranthema indicum* (L.) Des Moul.)、濱當歸(*Angelica hirsutiflora* Liu Chao & Chuang)、日本前胡(*Peucedanum japonicum* Thunb.)、雷公根(*Centella asiatica* (L.) Urban)、酢醬草(*Oxalis comiculata* L.)、平原菟絲子(*Cuscuta campestris* Yunck.)、漢氏山葡萄(*Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Traut.)、細本葡萄(*Vitis thunbergii* Sieb. & Zucc.)、耳葉鴨跖草(*Commelina auriculata* Blume)、鴨嚙草(*Paspalum scrobiculatum* L.)、金色狗尾草(*Setaria glauca* (L.) P. Beauv.)、長萼瞿麥(*Dianthus superbus* L. var. *longicalycinus* (Maxim.) Will.)、刺蓼(*Polygonum senticosum* (Meisn.) Fr. & Sav.)、茅毛珍珠菜(*Lysimachia mauritiana* Lam.)、石菘蓉(*Limonium sinense* (Girard) Kuntze)、海埔姜

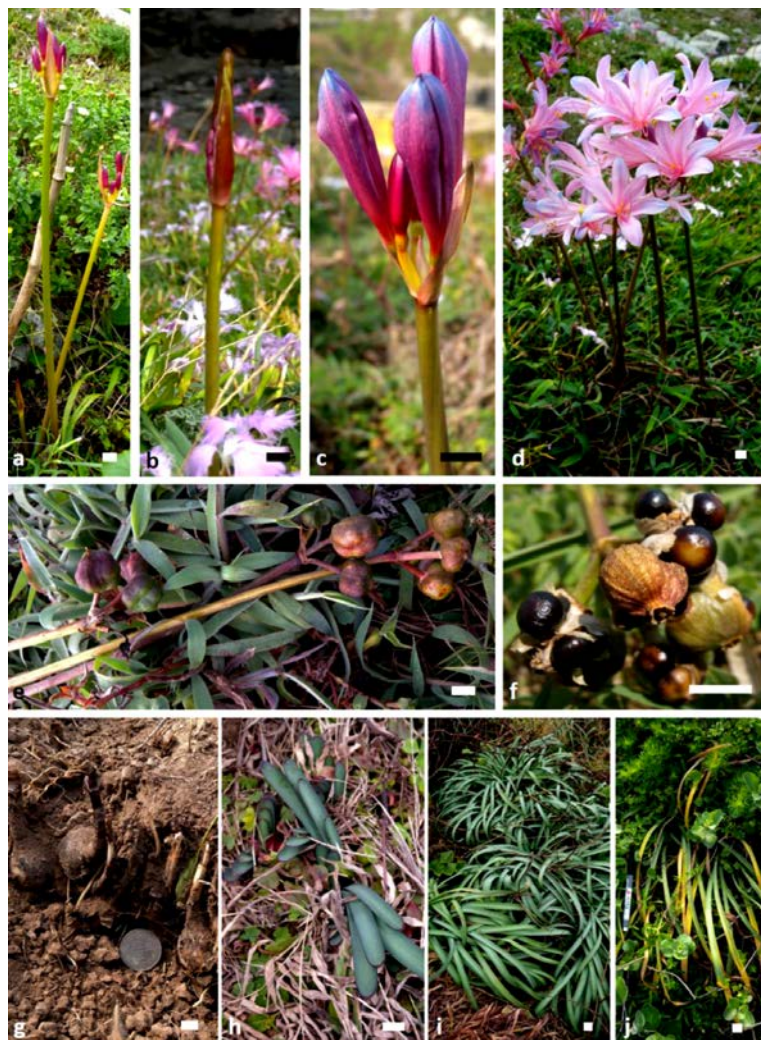


圖 3. 換錦花週年生長習性。(a)換錦花花苔(2012/8)。(b)換錦花抽苔(2012/8)。(c)花蕾從總苞露出，並著色(2012/8)。(d)開花(2012/8)。(e)著果(2012/9)。(f)果皮開裂，露出完熟的黑色種子(2012/9)。(g)休眠的鱗莖(2012/9)。(h)出葉(2013/2)。(i)營養(綠株)期(2012/3)。(j)落葉(2013/5)。(bar=1 cm)

Fig. 3. Annual growth of *Lycoris sprengeri*. (a) Stalk of *Lycoris sprengeri* in August, 2012. (b) *Lycoris sprengeri* bolting in August, 2012. (c) Coloring flower bud and revealed from involucre in August, 2012. (d) Flowering of *Lycoris sprengeri* in August, 2012. (e) Fruit-setting of *Lycoris sprengeri* in September, 2012. (f) Pericarp was cracking and revealed black ripe seeds in September, 2012. (g) Dormant tunicated bulb of *Lycoris sprengeri* in September, 2012. (h) Leaves appeared in February, 2013. (i)Vegetative period in March, 2013. (j) Defoliation of *Lycoris sprengeri* in May, 2013. (bar=1 cm)

(*Vitex rotundifolia* L. f.)、爵床(*Justicia procumbens* L.)、細葉假黃鸝菜(*Crepidiastrum lanceolatum* (Houtt.) Nakai)、銳葉牽牛(*Ipomoea indica* (Burm. f.) Merr.)與槭葉牽牛花(*Ipomoea cairica* (L.) Sweet)等 29 種，皆為低矮一年生及多根生宿根草本、球根植物或藤本植物，幾無高大的伴生植物。

不同季節間換錦花的伴生植物種類與數量呈現明顯消長。2、3 月換錦花出葉期，植被呈現大面積枯黃，局部乾枯植被厚達 30 公分，一些低矮草本植物開始復甦，如濱當歸、石板菜、長萼瞿麥與狗娃花皆在此時萌發新稍。3 月主要伴生植物為南國小薊，出葉的換錦花與為數眾多且抽苔的南國小薊混生，綿囊兒於此時出葉，薤白處綠株期。整體而言，各樣區皆無主要伴生植物且種類少，平均 4-5 種(表 3)。

從 5 月起進入梅雨季，換錦花葉片開始枯黃萎凋，原生植物生長繁茂，多處綠株期，南國小薊於此時抽長開花。薔薇科植物紅梅消、琉球野薔薇與光葉薔薇生長繁茂。綿囊兒則大量出葉，並有捲葉，薤白於花序上形成珠芽。

在 6 月時換錦花棲地已被一層綠色植被覆蓋，完全不見換錦花。持續茂盛生長的有全緣貫眾蕨、石板菜、長萼瞿麥與狗娃花等。本季新生的植物則有雷公根、黃花酢醬草、平原菟絲子、漢氏山葡萄、細本葡萄、鴨跖草、刺蓼、日本前胡、茅毛珍珠菜、黃花磯礫、海埔姜、爵床、細葉假黃鸝菜、蟛蜞菊、茵陳蒿、銳葉牽牛與槭葉牽牛花等。

在 8 月份時調查小紫澳的伴生植物，在 3×3 m 的樣區中有 14 種(表 4)，缺乏主要伴生植物，無較優勢植物分布，生長在低溼的換錦花多與耳葉鴨跖草混生。后澳因地形較為開闊，風速較強，以低矮匍匐生長的長萼瞿麥與蟛蜞菊最多，東澳主要伴生植物以狗娃花與長萼瞿麥為主，紫澳的換錦花主要的伴生植物為槭葉牽牛花與油菊，族群旁多有高大的五節芒，植被相對濃密且較厚，而各棲地間可看到許多綿囊兒盛開，詳細情況可見表 4。

到 12 月入冬後換錦花進入休眠期，東引鄉月均溫只有 10 ℃左右，植被大面積枯黃，只有少數草本植物在此時仍生長良好，如油菊與細葉假黃鸝菜於此時開花。

##### 五、馬祖東引鄉換錦花原生棲地土壤肥力

東引鄉各個換錦花棲地調查樣區間土壤肥力結果如表 5，pH 值介於 5.8-6.6 之間；有機質含量個棲地間差異不大，多位在 3.81%-5.19%之間，其中最高的為發電廠的 5.19%，最低為小紫澳的 3.81%；全氮含量各棲地間差異不大，多為 0.2%左右，其中最高的為發電廠的 0.22%，最低為小紫澳的 0.185%；有效磷介於 2-8 mg·kg<sup>-1</sup>之間，其中最高的為后澳的 7.7 mg·kg<sup>-1</sup>，最低為小紫澳的 2.23 mg·kg<sup>-1</sup>；交換性鈣位在 200-800 mg·kg<sup>-1</sup>之間，其中最高的為發電廠的 827 mg·kg<sup>-1</sup>，最低為紫澳的 240 mg·kg<sup>-1</sup>；交換性鉀位在 180-350 mg·kg<sup>-1</sup>之間，其中最高的為發電廠的 353 mg·kg<sup>-1</sup>，最低為小紫澳的 181 mg·kg<sup>-1</sup>；交換性鎂位在 200-400 mg·kg<sup>-1</sup>之間，其中最高的為清水澳的 407 mg·kg<sup>-1</sup>，最低為紫澳的 221 mg·kg<sup>-1</sup>；交換性鈉位在 100-270 mg·kg<sup>-1</sup>之間，其中最高的為東澳的 268 mg·kg<sup>-1</sup>，最低為紫澳的 91 mg·kg<sup>-1</sup>。

總體而言，換錦花棲地土壤質地屬沙質黏土，內部夾雜礫石岩塊，排水良好，土壤

表 3. 2013 年二月換錦花樣區內伴生植物種類、分布與生育

Table 3. Species, distribution and growth of associated plants in experimental plot of *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker in February 2013

Species of associated plants	Feb. 2013					
	Houao		Dongao		Xiaoziao	
	D.G. <sup>z</sup>	G.G. <sup>y</sup>	D.G.	G.G.	D.G.	G.G.
<i>Oxalis comiculata</i> 酢醬草			III	1		
<i>Dianthus superbus</i> var. <i>longicalycinus</i> 長萼瞿麥	II	1	III	1	III	1
<i>Polygonum senticosum</i> 刺蓼						
<i>Vitis thunbergii</i> 細本葡萄						
<i>Ampelopsis brevipedunculata</i> 漢氏山葡萄						
<i>Artemisia capillaries</i> 茵陳蒿					III	5
<i>Aster hispidus</i> 狗娃花	III	1	III	1	III	1
<i>Crepidiastrum lanceolatum</i> 細葉假黃鸝菜	III	1				
<i>Wedelia chinensis</i> 蟛蜞菊	III	1				
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>australis</i> 南國小薊					III	2
<i>Dendranthema indicum</i> 油菊	II	1/5				
<i>Paederia scandens</i> 雞屎藤						
<i>Rhaphiolepis indica</i> 厚葉石斑木						
<i>Justicia procumbens</i> 爵床						
<i>Centella asiatica</i> 雷公根						
<i>Peucedanum japonicum</i> 日本前胡			III	1		
<i>Ipomoea cairica</i> 槭葉牽牛花						
<i>Paspalum scrobiculatum</i> 鴨嚙草	III	5	II	5	III	5
<i>Commelina auriculata</i> 耳葉鴨跖草						
<i>Allium macrostemon</i> 薤白						
<i>Scilla sinensis</i> 綿棗兒						
<i>Cyrtomium falcatum</i> 全緣貫眾蕨						
No.of species	6		5		5	

<sup>z</sup> Distribution grade of associated plants (D.G.): I = main associated plants, II = secondary associated plants, III = sporadic associated plants.

<sup>y</sup> Growth grade of associated plants (G.G.): 1=infancy, 2=vegetative, 3=flowering, 4=fruit setting, 5=defoliation.

表 4. 在 2013 年八月換錦花樣區內伴生植物種類、分布與生育

Table 4. Species, distribution and growth of associated plants in experimental plot of *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker in August 2012

Species of associated plants	Aug. 2012					
	Houao		Dongao		Xiaoziao	
	D.G. <sup>z</sup>	G.G. <sup>y</sup>	D.G.	G.G.	D.G.	G.G.
<i>Oxalis comiculata</i> 酢醬草	III	3	III	3	II	3
<i>Dianthus superbus</i> var. <i>longicalycinus</i> 長萼瞿麥	I	3	I	3	II	3
<i>Polygonum senticosum</i> 刺蓼					III	3/4
<i>Vitis thunbergii</i> 細本葡萄					II	2
<i>Ampelopsis brevipedunculata</i> 漢氏山葡萄					II	3
<i>Artemisia capillaries</i> 茵陳蒿	III	3	III	3	III	2
<i>Aster hispidus</i> 狗娃花			I	3/4	III	2
<i>Crepidiastrum lanceolatum</i> 細葉假黃鸝菜	III	3	III	3	III	3
<i>Wedelia chinensis</i> 蟛蜞菊	II	3				
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>australis</i> 南國小薊					III	1
<i>Dendranthema indicum</i> 油菊	II	2				
<i>Paederia scandens</i> 雞屎藤						
<i>Rhaphiolepis indica</i> 厚葉石斑木						
<i>Justicia procumbens</i> 爵床	III	3			III	3
<i>Centella asiatica</i> 雷公根			III	2		
<i>Peucedanum japonicum</i> 日本前胡			III	4/5		
<i>Ipomoea cairica</i> 槭葉牽牛花						
<i>Paspalum scrobiculatum</i> 鴨乸草	III	3	II	3	II	3
<i>Commelina auriculata</i> 耳葉鴨跖草	III	3	II	3	II	3
<i>Allium macrostemon</i> 薤白						
<i>Scilla sinensis</i> 綿棗兒	III	3			II	3
<i>Cyrtomium falcatum</i> 全緣貫眾蕨					III	2
No.of species	10		9		14	

<sup>z</sup> Distribution grade of associated plants (D.G.): I = main associated plants, II = secondary associated plants, III = sporadic associated plants.

<sup>y</sup> Growth grade of associated plants (G.G.): 1=infancy, 2=vegetative, 3=flowering, 4=fruit setting, 5=defoliation.

pH 值介在 5.8-6.6 之間，屬弱酸性土壤；交換性鈉高達 100-270  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ；全氮含量低至中，平均 0.203%；有效磷含量很低，平均 3.87  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ；有機質、鉀鈣鎂等營養元素含量豐富，但交換性鈣、鎂比例很低，平均比值為 1.3，非常不適合作物生長。

表 5. 馬祖東引鄉換錦花樣區內土壤肥力分析

Table 5. Analysis the fertility of soil sampling plot of *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker in Dongyin township, Lienchiang county

Analysis item	Xiaoziao 小紫澳	Power station 發電廠	Ziao 紫澳	Dongao 東澳	Houao 后澳	Qingshuiiao 清水澳
pH	5.92	6.34	5.84	6.55	6.62	5.9
Organic matter(%)	3.81	5.19	3.88	4.25	4.39	4.75
Total nitrogen(%)	0.185	0.22	0.191	0.2	0.205	0.216
Effective Phosphate( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	2.23	4.61	4.38	2.34	7.7	2.6
Exchangeable Calcium( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	269	827	240	413	281	462
Exchangeable Potassium( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	181	353	209	230	239	256
Exchangeable Magnesium( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	268	307	221	401	319	407
Exchangeable Sodium( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	221	121	91	268	226	212

## 討 論

### 一、換錦花族群特性與棲地分布

中國換錦花分布於長江中下游諸省與出海口以南沿岸島嶼，已發表的產地有安徽省滁州市琅琊山南天門(張等，1999；殷等，2008)、馬鞍市采石磯(張等，1999)、湖北省襄陽市(丁與斐，1985)、浙江省舟山群島、台州市玉環海島與溫州市南麂島國家自然保護區三盤尾風景區(姚等，2010)。時等(2011)指出因園林生產應用與藥用的濫採濫挖，現已嚴重影響中國換錦花野生分布。馬祖因過去為戰地政務，東引鄉換錦花族群保存完整，形成大面積群落，為東引鄉重要生態及植物資源(郭，2004)。殷等(2008)描述安徽琅琊山換錦花棲

地，在氣候上屬於亞熱帶季風氣候，四季分明，年平均氣溫 15°C，年均降水量 1050 mm。東引鄉屬亞熱帶季風氣候，四季分明，但因緯度較低，冬季氣溫略高於安徽省，年平均溫度為攝氏 18.7°C，年平均雨量僅約 1000 mm (劉與邱，2002)。

東引鄉換錦花為其地理分布的最南端，往南馬祖諸島也無分布，有重要的生態地理意義，其分布途徑推論有二：(一)郭(2004)指出馬祖在九千萬年形成，經歷無數次的冰河期，地理區域位於全世界最大的生物避難所，包含從喜馬拉雅山東邊經中國大陸南邊到台灣的緯度，冰河期期間，馬祖、中國大陸及台灣相連在一起，物種可以在這個帶上移動，當溫度變暖，有些物種會回到北方，有些物種會死亡。王(1990)認為中國華東安徽省為石蒜屬的演化中心，換錦花可能於冰河期從安徽往南方分布，後來氣候回暖，僅東引鄉保留與安徽省類似的氣候，而止於此。(二)換錦花只分布於東引鄉的北向澳口，如東引島小紫澳、紫澳，與西引后澳；中國主要分布於長江中下游與東南地區省份。可能為換錦花結實期剛好盛行東北季風，因而順著表面洋流，從長江出海口，擴散至馬祖東引鄉北岸。

## 二、棲地氣候環境與東引鄉原生換錦花生長習性的關係

石蒜屬植物的發育有溫週期(thermoperiodicity)的需求，即「涼溫-低溫-高溫-再進入涼溫」之變溫需求(呂等，2002)，石蒜屬生長發育習性深受四季溫度變化影響。冬春季的低溫對石蒜屬物種花芽創始與鱗莖肥大相當重要，且春出葉型石蒜鹿蔥比秋出葉型紅花石蒜花芽創始的低溫需求量更高(Mori *et al.*, 1988)。王等(2012)於南京進行換錦花花芽發育切片觀察，換錦花於四月下旬進行花芽創始，六月上旬開始分化雄蕊，七月分化雌蕊。

東引鄉屬亞熱帶季風型氣候，四季分明，因緯度較高且位處中國華南地理區，受大陸型氣候影響，冬季低溫遠較台灣來得低，推論東引鄉 1-3 月之均溫 10-13 °C 最低溫 3.7 °C (圖 1)，有利於花芽創始。而出葉期 2-4 月，均溫 10-18°C (圖 1)，有助於養分蓄積。而 5-6 月之後氣溫漸升，高溫可誘導石蒜葉片老化(Boonyariththongchai *et al.*, 2008)。東引鄉 5-6 月的極端高溫可達 35°C 左右(圖 1)，氣候逐漸轉於炎熱，可能誘導換錦花葉片老化。春出葉型的中國石蒜葉片在 3 月底開始分化葉片，每片帶狀葉形成後，於背軸面基部分化葉鞘，9 月分化結束，11 月幼葉生長停止，並於翌年 2-3 月露出地面(李等，2005)。換錦花今年抽出的葉片，推測於去年夏秋季即分化完成。

日本原生的血紅石蒜(*Lycoris sanguine* Maxim.)曾進行傳粉與著果研究，血紅石蒜於七到八月開花，藉由青帶花蜂(*Amegilla florac*)、豹弄蝶(*Thymelicus leoninus*)與黑豹弄蝶(*Thymelicus sylvaticus*)傳粉結實，是典型昆蟲傳粉植物(Kawano, 2009)。換錦花棲地間自然結實率差異極大，而自然結實率通常與棲地環境、氣候與授粉昆蟲有關。而西引島后澳與清水澳自然結實率普遍低於東澳與東引島各棲地，僅 1-2%，當年后澳與清水澳花期早於其他棲地一週，巧遇蘇拉颱風有關。另外后澳因地形開闊，較無遮蔽物，因而導致授粉昆蟲數量較少；而東澳與紫澳屬內凹型棲地，族群周圍有大面積的五節芒，較不受強風影響，因而導致授粉昆蟲數量較多，提高自然結實率。

## 三、季節性伴生植物消長與換錦花的生育習性

日本的血紅石蒜(*Lycoris sanguine Maxim.*)原生於日本本州及四國，棲地位於落葉林底層地被，血紅石蒜出葉期在3月底4月初，帶葉生長期只有數週，在4月底5月初，當林木的新葉形成，發育成蔭蔽濃密的樹冠，血紅石蒜即落葉，進入休眠期，到了7月中下旬，血紅石蒜的花莖萌發進而開花(Kawano, 2009)。

東引鄉換錦花和日本血紅石蒜同樣是屬春季出葉的石蒜，但棲地不同，東引鄉換錦花位於濱海草坡，日本血紅石蒜為於落葉林底層。2月時東引鄉植被大面積枯黃，伴生植物種類少，換錦花此時出葉，並蓄積養分。5月起進入梅雨季，伴生植物生長繁茂，蓋過換錦花原本生長的空間。而換錦花落葉時棲地環境與日本血紅石蒜有異曲同工之妙，這兩種石蒜落葉時都有遭遇低光，是否有關連需要再經進一步的調查研究。

#### 四、棲地土壤肥力與換錦花、伴生植物的關係

東引鄉地質屬花崗岩，不易風化，土壤化育較差，土層厚度只有0-4 m，屬於中塑性土壤，而這樣的土壤層正是影響東引鄉植被及植物的生長狀況主要原因(劉與邱，2002；郭，2004)。換錦花伴生植物社會多為低矮草本層，種類為一年生草本、多年生宿根草本植物、球根植物或為在地上攀爬的草本本爬藤植物，其原因可能是換錦花棲地位於北部濱海地區，為東北季風迎風面，強勁海風、低氮磷與高鹽份：交換性鈉含量 $100-270 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，因而限制了植物高度及種類。而東引鄉換錦花各棲地間有機質含量豐富，可能與季節性伴生植物消長有關，每年冬季伴生植物大量死亡，有機物回饋於土壤之中。酸性岩(如花崗岩)風化而成的土壤，多數鈣含量偏低，且鎂含量過多時，會影響植物對鈣的吸收(陳等，1993)。而東引鄉土壤pH值位於5.8-6.6之間，屬弱酸性土壤。本試驗中交換性鈣含量平均高達 $415.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，交換性鎂含量亦高達 $200-400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，交換性鈣、鎂比值界於1-2.7。陳等(1993)指出鈣鎂具有拮抗作用，交換性鈣、鎂比例低於3時，磷吸收可能受抑制，且鈣有效性降低，比值小於1.5時非常不適合作物生長。

結論：獨特的花崗岩地形與豐富的自然植物種類，為馬祖東引鄉特有景觀資源，花卉種原與藥用植物比比皆是，其中換錦花尤具特色。但換錦花季節性的生長習性特殊，一年當中包括花期，露出土表的時間僅不到4個月，容易因人為開發，整個族群遭到滅絕，建議相關單位於東引鄉設立換錦花自然保留區，有利馬祖東引鄉原生換錦花生態保育與生態旅遊的發展。

## 致 謝

本試驗承連江縣政府提供研究經費，謹此致謝。感謝連江縣建設局前技佐蔡錫鍊先生、東引鄉苗圃主任陳國浚先生與東引鄉禮拜堂牧師陳耿信先生於試驗期間協助。感謝中興大學森林系邱清安博士協助生態氣候圖的繪製。感謝中興大學土壤科學系陳仁炫教授提供土壤肥力分級資訊。

## 參 考 文 獻

- 王仁師。1990。關於石蒜屬的生態地理。西南林學院學報 10(1): 41-48。
- 王忠、李瑩、鄭玉紅、何樹蘭、彭峰、束曉春。2012。石蒜屬植物花芽分化進程的解剖學觀察。江蘇農業科學 40(7): 155-157。
- 呂美麗、林定勇、李晔。2002。實用花卉栽培技術—金花石蒜。財團法人台灣區花卉發展學會。台北。21-24pp。
- 李愛榮、周堅。2005。中國石蒜葉片的生長周期及其發育過程的研究。植物學通報 22(6): 680-686。
- 杜惠敏、陳財利。1997。馬祖石蒜之生態調查。馬祖農業改良場年報。115pp。
- 姚麗娟、楊燕萍、徐曉薇、錢仁卷、林霞、張旭樂。2010。換錦花繁殖技術研究。北方園藝 12: 83-85。
- 時劍、童再康、劉志高、高燕會、姜小鳳、黃華宏。2011。換錦花種胚和葉片的組織培養研究。江西農業大學學報 33(4): 665-669。
- 殷培峰、汪美英。2008。安徽琅琊山石蒜屬植物分布及開發應用。資源開發與市場 24(9): 823-824。
- 張正、曹爾元。2012。人工輔助授粉促進換錦花著果及採種量。台灣園藝 58(4): 327-333。
- 張定成、孫葉根、鄭艷、邵建章。1999。三倍體換錦花在安徽發現。植物分類學報 37(1): 35-39。
- 郭城孟 編。2004。馬祖植物誌。福建省馬祖政府印。833pp。
- 陳仁炫、林正銬、郭惠千。1993。土壤肥力因子之分級標準彙集。國立中興大學土壤環境科學系編印。行政院農業委員會。2-23pp。
- 斐鑒、丁志遵。1985。中國植物誌 Tomus 16 (1)。科學出版社。16-27pp。
- 劉家國、邱新福 編撰。2002。東引鄉誌。馬祖東引鄉公所出版。
- Boonyaritthongchai, P., S. Manuwong, S. Kanlayanarat, Y Nakamura, S. Okamoto, and T. Matsuo. 2008. Acceleration of senescence by high temperature treatment in *Lycoris* (*L. traubii* × *L. sanguinea*) leaf sections. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 77 (4): 431–439.
- Hanisch, W. 2008. GeoKLIMA 2.1c. <http://www.w-hanisch.de/geoklima/index.html>.
- Kawano, S. 2009. Life-history monographs of Japanese plants.13:*Lycoris sanguine* Maxim (Amaryllidaceae). Plant Spec. Biol. 24: 139-144.
- Mori, G. and Y. Sakanishi. 1988. Effects of temperature on flower initiation and leaf emergence in *Lycoris radiata* and *L. squamigera*. Bull. Univ. Osaka Pref. 40: 11–17.

## Study of Ecology of *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker (Amaryllidaceae) Native to Dongyin, Matsu

Chun-Han Peng <sup>1)</sup> Er-Yan Tsao <sup>2)</sup> Chen Chang <sup>3)</sup>

Key word: *Lycoris*, *Lycoris sprengeri*, climate, associated plant, soil

### Summary

*Lycoris sprengeri* Comes ex Baker is a member of Amaryllidaceae. It is a hysteranthous flowering perennial with tunicate bulb. Five sampling plots were Xiaoziao and Ziao in Dongyin island, Dongao, Houao and Qingshuiao in Xiyin island. The growth of *Lycoris sprengeri* and its associated plants was invested year-round. Leaf of *L. sprengeri* appears in early spring. Vegetative growth period is from February to May. The flower is tubular flower; perianth pink but apically blue. Flowering period is from July to September. Associated plant of *Lycoris sprengeri*, are more than 29 species, are mostly short herbaceous plant and liana. And the seasonal succession of associated plants are obvious. Temperatures of Dongyin is distinct in seasons, average temperature from January to February is about 10°C, extreme low temperature is 3.7°C; average temperature in July to August is about 29°C, extreme high temperature is 44.6°C. The soil texture of habitat of *Lycoris sprengeri* is sandy clay. The soil contains gravels and rocks and has good drainage capacity. The pH value of soil is 5.8-6.6, which belongs to weak acidic soil. There is high salt in soil of its habitat, the exchangeable sodium is 100-270 mg·kg<sup>-1</sup>. Content of nitrogen and phosphate are low. The soil is rich in organic matter, calcium, magnesium and potassium, but Ca/Mg ratio (=1.3) is very low. Dongyin's north coast retains original vegetation landscape. Thus, Dongyin preserves a large area for *Lycoris sprengeri* population. Recommended the establishment of nature reserves, it's conducive to development of ecological conservation and eco-tourism.

---

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

2) Director, Construction Bureau, Lien Chiang County.

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

Corresponding author.



# 文化資產作為文化觀光資源評估之研究 —以中臺灣文化資產為例

周欣宜<sup>1)</sup> 許哲瑜<sup>1)</sup> 呂文博<sup>1)</sup>

周先捷<sup>1)</sup> 歐聖榮<sup>2)</sup>

關鍵字：文化資產、文化觀光、資源評估

**摘要：**本研究之研究目的在探討做為文化觀光主體之文化資產與觀光資源調查與評估分析方法，並針對臺中市、南投縣、彰化縣中臺灣三縣市經文化資產保存法、文化資產保存法施行細則指定及行政院文化部文化資產局登錄之文化資產進行評估，以作為中臺灣地區推動文化觀光示範點選點之參考指標。

本研究首先針對文化資產之定義、分類及指定或登錄條件、評定原則等進行文獻回顧，再針對中臺灣已指定或登錄之文化資產清單進行彙整及資料庫建置。其次，針對文化觀光資源進行分級與評估，參考重要觀光資源評估分級分類概念，以文化資產法定分級、觀光化所需條件以及 UNESCO 所訂定之世界遺產六項文化遺產登錄等項目進行評估。研究結果首先建立文化資產與觀光資源評估分析項目包含：文化資產級別、所有權、開放程度、文化資產現況、開放時程、活動豐富度、世界文化遺產評判原則等七項目，另依據此評定原則，分別選定三縣市前 20 名具文化觀光潛力之文化資產，再依各縣市排序結果分為區域型文化觀光資源及潛力型文化觀光資源。

## 前 言

文化觀光已成為近年各國重要的觀光發展趨勢，80 年代以後，文化遺產更成為世界各地區重要的生財工具(Urry,1990；顏亮一，2005)，其中尤以聯合國教科文組織(United

---

1) 國立中興大學園藝系博士班研究生。  
2) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, 以下簡稱 UNESCO)所指定世界遺產(World Heritage), 於指定後所衍生文化觀光旅遊及觀光效益更是明顯可見。然而在臺灣目前有文化資產保存法及文化資產保存法施行細則, 針對不同類別文化資產進行分類及相關登錄規定, 但這些已依據臺灣目前相關法規及條件被指定或登錄之文化資產, 是否足以作為文化觀光資源? 如何針對文化資產轉型觀光進行評級? 此等皆是值得探討的問題。本研究目的在探討做為文化觀光主體之文化資產與觀光資源調查與評估分析方法, 並將評估分析方法套用於中臺灣文化資產, 以作為中臺灣推動文化觀光示範點選點參考指標。

## 文 獻 回 顧

### 一、文化資產之定義與分類

文化資產一詞依據臺灣的文化資產保存法(以下簡稱文資法)第三條之定義「本法所稱文化資產, 指具有歷史、文化、藝術、科學等價值, 並經指定或登錄之下列資產: (1)古蹟、歷史建築、聚落; (2)遺址; (3)文化景觀; (4)傳統藝術; (5)民俗及有關文物; (6)古物; (7)自然地景。」另依據文資法第四條關於文化資產之主管機關, 第 1 款至第 6 款屬行政院文化建設委員會(現為行政院文化部), 第 7 款中央主管機關為行政院農業委員會(全國法規資料庫, 2013)。檢視文資法所定義之文化資產包含有形文化資產與無形文化資產, 另依據行政院文化部文化資產局(以下簡稱文資局)2013 年 3 月 14 日公佈之統計資料, 目前臺灣文化資產概況包含: 古蹟 765 筆、歷史建築 1069 筆、聚落 12 筆、遺址 43 筆、文化景觀 38 筆、傳統藝術 166 筆、民俗文物 102 筆、古物 668 筆(文化部文化資產局, 2013)。

### 二、世界遺產及世界文化遺產登錄標準

所謂的世界遺產就是一種超越國家、民族、人種及宗教, 以國際合作的方式保護、保存人類共同資產的觀念(文資局, 2013)。世界遺產是由 UNESCO 簽署世界遺產公約(The World Heritage Convention)的締約國提出, 經下轄之世界遺產委員會(The World Heritage Committee)列名, 具有符合傑出普世價值(Outstanding Universal Value)、真實性(Authenticity)、完整性(Integrity), 並具備適切的經營管理法規體制等條件的實體資產, 才有機會列入世界遺產名錄(World Heritage List)。自 1972 年世界文化和自然遺產保護公約(Convention Concerning the Protection of the World Cultural and Natural Heritage)問世, 1978 年產出第一批名錄, 截至 2012 年 3 月為止, 世界遺產名錄中共有 962 項世界遺產, 包括 745 個文化遺產、188 個自然遺產以及 29 個複合遺產, 皆屬實體有形遺產, 不包括無形遺產。而世界遺產又分為文化遺產(Cultural Heritage)、自然遺產(Natural Heritage)及同時具備文化遺產與自然遺產條件的複合式遺產(Mixed Cultural and Natural Heritage)等三項。其中, 利用世界文化遺產作為文化觀光主體的屬文化遺產及複合遺產。

文化遺產是指在歷史、藝術、以及學術等方面具有顯著普世價值之紀念物、建築物、具紀念性質的雕刻及繪畫、以及具考古學性質的物品及構造物、金石文、洞穴居等人類遺跡。因此，文化遺產就被定義為在歷史、藝術上及學術上具顯著普世價值之人類遺跡。複合式遺產除同時具備自然遺產與文化遺產兩種條件外，部分遺產先被登錄為自然遺產或文化遺產，再被評價為另一種遺產，因而成為複合式遺產。

依據世界遺產公約操作指南世界遺產之文化遺產共計有六項登錄標準：(1)人類創造力之傑作；(2)經過一段時間或是在一個文化區中所體現的重要人類價值改變，包含建築或科技發展、紀念性藝術、城鄉規劃，或是景觀設計；(3)對於現存或已消失的傳統文化或文明具有獨特證明的價值；(4)其營造或建築形式、科技或景觀，在人類歷史上可體現為重大歷史階段的例子；(5)代表人類傳統聚居、土地或海洋使用上，人類與環境互動之重要案例，尤其是當環境受到不可逆轉的衝擊威脅時；(6)與事件、生活傳統、信念、信仰、藝術、文學創作，直接有關的普世獨特價值範例(世界遺產公約操作指南，2013)。

### 三、文化資產的保存與文化資產觀光化之趨勢

根據顏亮一 2005 年針對在地歷史的再現論及世界之在地文化資產保存運動自 60 年代開始，在地遺產(local heritage)的想法在先進資本主義國家中日漸受到重視，而這支保存取向的第一個特點，它把保存運動對地方性的定義從抽象的國族層次解放出來，試圖在面對面(face-to-face)的地理範圍內建立地方認同。第二個特點是，它整合了營造環境保存與社會保存，古蹟保存的對象不再只限於實質空間或建築物，而是包括整個社區的文化傳統、生活方式與社會網絡。顏亮一同時論及古蹟保存的概念與實踐可以說古蹟保存運動是結構性和現在性的三個重要面向緊密結合在一起：亦即族國主義(nationalism)、在地主義(localism)及旅遊業(tourism)(顏亮一，2005)。而在旅遊業，可從近年觀光旅遊市場紛紛推出世界遺產旅行團看出，文化資產觀光化之趨勢。

### 四、文化觀光

UNESCO 明確將文化觀光定義為：「一種與文化環境，包括景觀、視覺和表演藝術與其他特殊地區生活型態、價值傳統、事件活動、其他具創造及文化交流過程的一種旅遊活動。」世界觀光組織(WTO)則界定為：文化觀光是指為特定的文化動機，而從事觀光的行為，滿足人類對多樣性的需求，並誦圖藉由新知識、經驗與體驗中深化文化素養(張育銓，2010)。通常對從事具文化歷史或教育研究及觀賞遊樂價值之觀光資源加以開發所形之觀光產業便可稱為文化觀光(林慧雯，2003)。而孫武彥提出文化與觀光實已有其密切與互動之關係，所謂「文化導引觀光，觀光充實文化」(孫武彥，1995)。而唐學斌則提出文化觀光與一般走馬看花或刺激性的觀光休閒型態不同，應具備獨特性、教育性、傳統性、整體性、考古性及觀察性等六項特性(唐學斌，1987)。

綜合以上可知，不論是 UNESCO 或臺灣，針對文化資產皆有其分類、認定、登錄及

評定標準，而以在地的文化環境為資源條件，從事具由文化歷史教育、觀察、休憩等性質之觀光旅遊活動，可稱為文化觀光，而利用文化資產做為文化觀光場域已成世界各國旅遊之趨勢。

## 研究方法

文化資產作為文化觀光之資源評估總體來說包含文化資產內容確認、文化觀光資源分級與評估，各階段研究方法說明如後，研究流程詳圖 1。

### 一、研究範圍與對象

文化資產範圍界定與內容確認，因文化資產在不同地區、不同領域皆有各自的定義與範圍，為減少對於文化資產內容之誤解，本研究對於文化資產的定義將以 2012 年 12 月 31 日前臺中市、彰化縣及南投縣已經過文資法等相關法規指定或登錄於行政院文化部文化資產局(以下簡稱文資局)之文化資產，作為本研究文化資產與資源觀光評估分析對象。

### 二、文化資產彙整與確認

經由文資局網站之文化資產資料庫，收集中臺灣已指定或登錄文化資產清單並彙整及建置資料庫，彙整項目包括：文資編號、個案名稱、文資類別、管理單位、文資級別、登錄原因簡述、所有權、開放程度、開放時程、活動豐富度、週邊觀光景點、交通便利性、世界文化遺產評定原則等項目。另，雖臺中市及臺中縣於 2010 年 12 月合併升格為直轄市，原文化資產登錄及管理單位分屬兩縣市之文化資產負責單位，且於文化資產登錄級別各有不同，因此於資料建檔之文資編號將合併前臺中市及合併前臺中縣分別標註，以利後續資料分析。

### 三、文化觀光資源分級與評估

文化觀光資源評估第二階段內容為文化資產與其作為文化觀光資源的分級與評估，主要目的是將文化資產作為文化觀光場域之資源分級及未來經營管理方向之參考。因此本研究參考重要觀光景點建設中程計畫中「分級分類」的概念進行資產的評估與分析，分析方式首先將依據文資法、文化資產保存法施行細則與文資局網站所公布的文化資產類別、資產使用情形(包含所有權、現況、開放程度、開放時程、活動豐富度)進行彙整，同時加入 UNESCO 所訂定的世界遺產六項文化遺產評判原則進行評分。最後依據評估結果將文化資產分成「區域型」與「潛力型」二種文化資產的發展方向，作為未來發展主軸擬定與遊憩景點串連方式的依據。

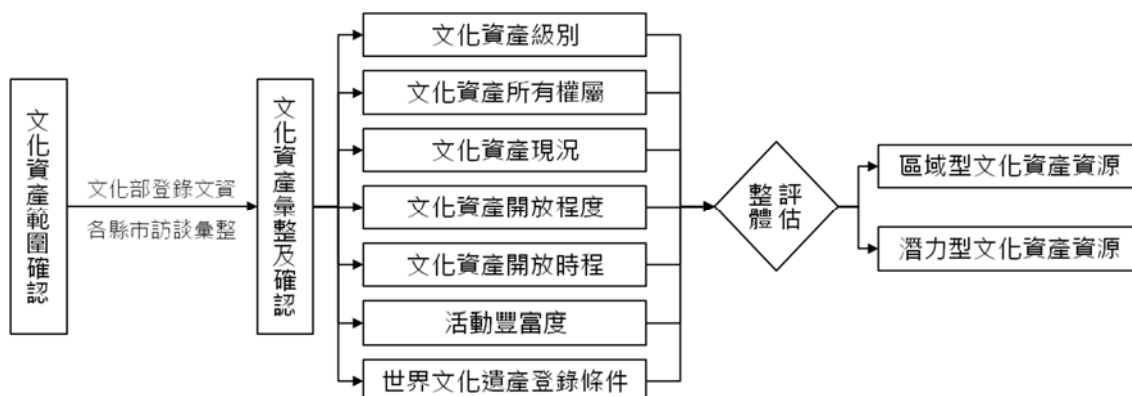


圖 1. 研究流程圖

Fig. 1. The study flowchart

#### (一) 文化資產級別

文化資產之身分影響著其價值，其評估目的在確認其價值分級。依據現行文資法所規定之文化資產項目包括：(1)古蹟、歷史建築、聚落；(2)遺址；(3)文化景觀；(4)傳統藝術；(5)民俗及有關文物；(6)古物；(7)自然地景等。依據不同文化資產級別給予不同評定等級，並在評估表中以分數計算：(1)4分：國定、一級；(2)3分：直轄市定、二級；(3)2分：縣(市)定、三級；(4)1分：歷史建築、遺址、文化景觀、傳統藝術、民俗及有關文物、古物、自然地景。

#### (二) 所有權

文化資產所有權的意義在於所有權人對文化資產之處份權利，影響著推動文化觀光之可行性，因此將所有權分為公有文化資產及私有文化資產兩項，評估目的在於對文化資產之處分與經營管理之難易度。公有文化資產，具有易協調、可即時開放之優點，且無徵收、產權管理或捐贈之事宜，因此公有文化資產之分數為1分，私有文化資產為0分。

#### (三) 文化資產現況

文化資產現況表示文化資產之維護狀況，其評估目的在於其作為推動未來文化觀光所需投注之經費及經營方向之規劃；文化資產中許多歷史建築或古蹟、遺址尚待整修，若以未來推動文化觀光方向評定，現況良好者，未來投注焦點在於軟體面的文化觀光行銷或經營管理；部分尚待整修或需全面整修者，則需關注於分年分期分區進行整建計畫並挹注硬體整修經費。在文化資產現況之等級評定上：(1)2分：現況良好；(2)1分：部分待整修；(3)0分：需全面整修。

#### (四) 開放程度

評估文化資產開放程度的意義在於其作為文化觀光主體之可親近及可及性。由於部分文化資產已全面開放民眾參觀，並有文化觀光服務設施，可直接提供民眾參與文化觀光活動；而部分文化資產則需預約、仍在整修或因產權尚未移交等僅開放部分區域或供部分參

觀，影響文化觀光之可及性，因此將開放程度列入評估項目。在開放程度的等級評定上，(1) 2分：完全開放；(2) 1分：部分開放；(3) 0分：未開放。

#### (五) 開放時程

文化資產之開放時程意義在於是否可立即作為文化觀光場域，評估目的在於作為文化觀光遊程安排與開放時程的規劃。目前許多已具身分之文化資產開放民眾參觀或宗教場所等完全開放供信徒參拜，但仍有部分文化資產目前為整修狀態，或為私人所有，或為公部門管理使用之辦公廳舍，因此未來若為推動文化觀光，則須確認是否在短期或即時開放，或仍須協調其未來之開放時程。在開放時程的等級評定上：(1) 2分：可立即開放；(2) 1分：短期可開放；(3) 0分：需協調開放時程。

#### (六) 活動豐富度

文化資產活動豐富度的意義在於提供文化觀光的體驗，評估目的在於確認文化資產所能提供文化觀光體驗程度。推動文化觀光不僅須有文化資產之場域，亦須提供文化資產相關的體驗活動，以增加文化觀光之深度，因此將活動豐富度列入評定等級。在活動豐富度之等級評定方面，依據文化資產所在場所所能提供多數遊客體驗多樣文化觀光活動為標準：(1) 2分：可提供多樣活動體驗，如：深度導覽、靜態展示、體驗式活動等；(2) 1分：提供特定活動，如：祭祀等；(3) 0分：沒有提供相關活動。

#### (七) 世界文化遺產登錄條件

世界文化遺產登錄條件的意義在於未來作為選定世界文化潛力點之評定標準。目前 UNESCO 所推動之世界遺產登錄之目的為保留全世界對人類有重要意義之自然或文化遺產以永留後世，臺灣雖非聯合國會員國，仍以推動世界遺產為目標，並已選定十二處世界遺產潛力點，文化部選定十二處世界遺產潛力點，中臺灣地區卻付之闕如，因此為找尋並推定中臺灣世界文化遺產之潛力點，建議列入世界遺產中之六項文化遺產登錄標準作為評判原則：(1)人類創造力之傑作；(2)經過一段時間或是在一個文化區中所體現的重要人類價值改變，包含建築或科技發展、紀念性藝術、城鄉規劃，或是景觀設計；(3)對於現存或已消失的傳統文化或文明具有獨特證明的價值；(4)其營造或建築形式、科技或景觀，在人類歷史上可體現為重大歷史階段的例子；(5)代表人類傳統聚居、土地或海洋使用上，人類與環境互動之重要案例，尤其是當環境受到不可逆轉的衝擊威脅時；(6)與事件、生活傳統、信念、信仰、藝術、文學創作，直接有關的普世獨特價值範例。其評分方式，針對中臺灣文化資產資料庫中各項文化資產，每具其中一項評定指標為 1 分。

### 文化資產彙整與文化觀光資源評估結果

依據以上文化資產彙整至 2012 年 12 月 31 日，中臺灣三縣市文化資產登錄案件包含臺中市(含合併前臺中縣)131 筆，彰化縣 135 筆，南投縣 72 筆，共計 338 筆，另根據以上評估標準，選定中臺灣各縣市文化資產等級評定前二十名，分述其排序結果：

### 一、臺中市文化資產之文化觀光資源評估等級評定

臺中市文化資產之文化觀光資源評估等級評定結果如下表(詳表 1)，以文化資產種類而言，臺中市具有眾多古蹟及歷史建築，而進一步探究其分佈區域可發現，臺中市文化資產評定等級較高者，包含評級分數最高前三名為臺中火車站、中山公園湖心亭及臺中州廳，多集中於合併前臺中市，且以市中心區為主，主要分布於臺中市雙十路延伸至臺中公園，轉至臺中過去行政中心臺中州廳(合併前臺中市政府)週邊，再延伸至臺中火車站，直到公賣局第五酒廠(復興路)，具有集中帶狀分布之特性，且佔了前 20 名中的 10 名。其他非屬合併前臺中市中心區則以寺廟或家廟為主，包括萬和宮、張廖家廟、文昌廟、張家祖廟、樂成宮等。

表 1. 臺中市文化資產之文化觀光資源等級評定表

Table 1. The assessment results of levels of cultural tourism resource in Taichung city.

排序	編號	個案名稱	文資級別	所有權	開放程度	現況	開放時程	活動豐富度	世界文化遺產	分數
1	中市-007	臺中火車站	2	1	2	2	2	2	3	14
1	中市-008	中山公園湖心亭	2	1	2	2	2	2	3	14
1	中市-011	臺中州廳	2	1	2	2	2	2	3	14
4	中市-002	萬和宮	2	1	2	2	2	1	3	13
4	中市-004	臺中西屯張廖家廟	2	1	2	2	2	1	3	13
4	中市-056	臺中市市長公館	1	1	2	2	2	2	3	13
4	中市-061	公賣局第五酒廠	1	1	2	2	2	3	2	13
4	中市-062	惠來遺址	1	1	2	2	2	2	3	13
4	中縣-010	縱貫鐵路追分車站	2	1	2	1	2	2	3	13
4	中縣-011	縱貫鐵路日南車站	2	1	2	1	2	2	3	13
11	中市-001	臺中文昌廟	2	1	2	2	2	1	2	12
11	中市-003	臺中張家祖廟	2	1	2	2	2	1	2	12
11	中市-005	臺中樂成宮	2	1	2	2	2	1	2	12
11	中市-009	積善樓	2	1	2	2	2	1	2	12
11	中市-042	放送電臺擴音臺	1	1	2	2	2	2	2	12
11	中市-046	原刑務所演武場	1	1	2	2	2	2	2	12
11	中市-054	臺中市役所	1	1	2	2	2	1	3	12
11	中市-059	文英館	1	1	2	2	2	2	2	12
11	中縣-009	舊山線-泰安車站	2	1	1	1	2	2	3	12
11	中縣-038	七家灣遺址	1	1	2	1	2	2	3	12

另，依據臺中市評定結果可知，前 20 名屬合併前臺中縣僅縱貫鐵路海線之追分車站、日南車站、縱貫鐵路舊山縣泰安車站及七家灣遺址等四處，且其中三處屬鐵道類型之文化資產。然而合併前兩縣市之文化資產管理單位分屬原兩縣市之文化局，其中合併前臺中市政府文化局另設有臺中市文化資產管處，專責管理合併前臺中市轄區內文化資產管理工作，因合併前臺中市及臺中縣所轄區域之文化、地理條件差異甚大，為探究合併前後臺中市之文化觀光資源評分是否有所差異，且考量文化觀光資源之多樣性，因此分別就合併前之臺中市及臺中縣之文化觀光資源評級前 20 名重新列表，結果如下表 2 及下表 3：

表 2. 合併前臺中市文化資產之文化觀光資源等級評定表

Table 2. The assessment results of levels of cultural tourism resource in Taichung city (Before Integration).

排序	編號	個案名稱	文資級別	所有權	開放程度	現況	開放時程	活動豐富度	世界文化遺產	分數
1	中市-007	臺中火車站	2	1	2	2	2	2	3	14
1	中市-008	中山公園湖心亭	2	1	2	2	2	2	3	14
1	中市-011	臺中州廳	2	1	2	2	2	2	3	14
4	中市-002	萬和宮	2	1	2	2	2	1	3	13
4	中市-004	臺中西屯張廖家廟	2	1	2	2	2	1	3	13
4	中市-056	臺中市市長公館	1	1	2	2	2	2	3	13
4	中市-062	惠來遺址	1	1	2	2	2	2	3	13
4	中市-061	公賣局第五酒廠	1	1	2	2	2	3	2	13
9	中市-001	臺中文昌廟	2	1	2	2	2	1	2	12
9	中市-003	臺中張家祖廟	2	1	2	2	2	1	2	12
9	中市-005	臺中樂成宮	2	1	2	2	2	1	2	12
9	中市-009	積善樓	2	1	2	2	2	1	2	12
9	中市-042	放送電臺擴音臺	1	1	2	2	2	2	2	12
9	中市-054	臺中市役所	1	1	2	2	2	1	3	12
9	中市-059	文英館	1	1	2	2	2	2	2	12
9	中市-046	原刑務所演武場	1	1	2	2	2	2	2	12
17	中市-045	臺中市後火車站	1	1	2	2	2	1	2	11
17	中市-055	臺中放送局	1	1	1	2	2	2	2	11
19	中市-028	臺中州廳附屬建築群	1	1	2	1	1	2	2	10
19	中市-058	柳原教會	1	1	2	1	2	1	2	10

由表 2 得知合併前臺中市未列入合併後前 20 名文化資產為臺中後火車站、臺中放送局、臺中州廳附屬建築群及柳原教會，其中臺中後車站與臺中火車站，同屬現臺中火車站範圍，而臺中州廳附屬建築群則分布於臺中州廳週邊，另臺中放送局則與文英館、市長公館同為沿雙十路之文化資產，可見合併前臺中市文化資產有集中且呈帶狀分布關係。由北到南依序為：臺中放送局市長公館、文英館、柳原教會、放送電台擴音台、中山公園湖心亭、臺中州廳、臺中州廳附屬建築群、臺中市役所、臺中火車站、臺中後火車站、原刑務所演武場及公賣局第五酒廠，儼然已為成形臺中市帶狀文化觀光路線(詳圖 2)。

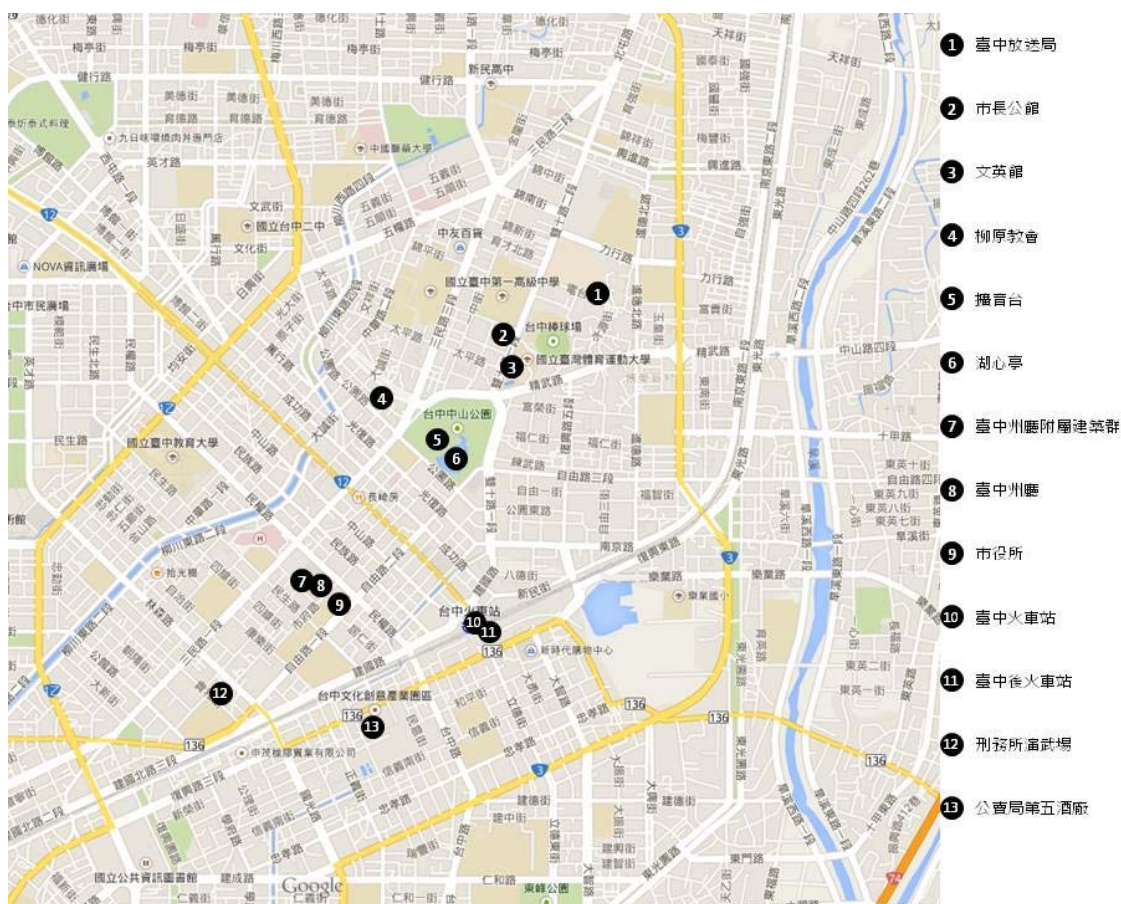


圖 2. 台中市文化觀光帶(底圖取自 googlemap)

Fig. 2. The cultural tourism zone of Taichung city.

另由表 3 可知合併前臺中縣文化資產資源雖較分散，但仍以鐵道、古蹟車站為其特色，包括海線追分車站、日南車站、清水車站，舊山線泰安車站等，可串聯出鐵道文化觀光路線，另依據評估結果顯示臺中海線沿著大肚山西麓與縱貫鐵路海線車站已形成臺中海線文化觀光帶，由北而南依序為：日南車站、大甲文昌廟、林氏貞孝坊、牛罵頭遺址、清水車

站、清水公學校、梧棲真武宮、磺溪書院、追分車站。而霧峰林宅因範圍內古蹟及歷史建築群完整，且被指定為國定古蹟，至 2012 年底前仍未整修完成，無法對外開放，因此僅排名第 13，但於 2014 年 7 月 1 日整修完成重新開放，並採入園團進團出方式管理，提升其作為文化觀光資源之評級。另，牛罵頭遺址為中臺灣少數具有三層文化層遺址，因區位較偏遠，且前往參觀採預約制，建議未來與周邊文化資產如清水車站、清水公學校共共同串連、行銷，並提出交通串聯與維護管理方案，以提升其作為文化觀光之潛力。

表 3. 合併縣臺中市文化資產之文化觀光資源等級評定表

Table 3. The assessment results of levels of cultural tourism resource in Taichung county (Before Integration).

排序	編號	個案名稱	文資級別	所有權	開放程度	現況	開放時程	活動豐富度	世界文化遺產	分數
1	中縣-010	縱貫鐵路追分車站	2	1	2	1	2	2	3	13
1	中縣-011	縱貫鐵路日南車站	2	1	2	1	2	2	3	13
3	中縣-009	舊山線-泰安車站	2	1	1	1	2	2	3	12
3	中縣-038	七家灣遺址	1	1	2	1	2	2	3	12
5	中縣-003	大甲文昌廟	2	1	2	1	2	1	2	11
5	中縣-005	林氏貞孝坊	2	1	2	1	2	0	3	11
5	中縣-013	內埔庄役場	2	1	2	1	2	0	3	11
5	中縣-014	梧棲真武宮	2	0	2	1	2	1	3	11
5	中縣-015	清水公學校	2	1	2	1	2	1	2	11
10	中縣-012	神岡呂家頂瓦厝	2	0	2	1	2	0	3	10
10	中縣-017	原臺灣省議會議事大樓、朝琴館、議員會館	2	1	1	1	1	2	2	10
10	中縣-026	縱貫鐵路清水車站	1	1	2	1	2	2	1	10
13	中縣-040	牛罵頭遺址	1	1	2	1	1	1	2	9
13	中縣-001	霧峰林宅	4	0	0	0	0	2	3	9
13	中縣-002	社口林宅	2	0	2	1	0	0	4	9
13	中縣-004	磺溪書院	2	0	2	0	2	1	2	9
13	中縣-027	豐榮水利紀念碑	1	1	2	1	2	0	2	9
13	中縣-036	月恆門	1	1	2	1	2	0	2	9
19	中縣-007	摘星山莊	2	1	0	0	0	1	3	7
19	中縣-018	后里張天機宅	2	0	0	1	0	1	3	7

研究發現原合併前臺中縣文化資產於合併後統一由臺中市文化資產管理處統一管理，可將原分散文化資產及文化觀光資源重新彙整，並針對不同區域，研擬不同主題路線。

## 二、彰化縣文化資產之文化觀光資源評估等級評定

彰化縣文化資產文化觀光資源評估等級評定結果如下表(詳表 4)，以文化資產種類而言，彰化縣排序等級較高者多為國定古蹟，而再探究其區域可發現，評定等級較高者，多集中於彰化市及鹿港鎮，且鹿港鎮之文化資產評級分數相近，顯見彰化縣鹿港鎮已形成中臺灣重要文化資產區域(詳圖 3)，而鹿港鎮評分最高則為國定古蹟--鹿港龍山寺。

表 4. 彰化縣文化資產之文化觀光資源等級評定結果

Table 4. The assessment results of levels of cultural tourism resource in Changhua county.

排序	編號	個案名稱	文資級別	所有權	開放程度	現況	開放時程	活動豐富度	世界文化遺產	分數
1	彰縣-002	鹿港龍山寺	4	0	2	2	2	2	2	14
2	彰縣-001	彰化孔子廟	4	1	2	1	2	1	2	13
2	彰縣-004	元清觀	4	1	2	1	2	1	2	13
2	彰縣-005	聖王廟	4	1	2	1	2	1	2	13
5	彰縣-048	北斗紅磚市場	1	1	2	2	2	2	2	12
5	彰縣-050	北斗中正堂	1	1	2	2	2	2	2	12
5	彰縣-062	鹿港玉珍齋	1	0	2	2	2	2	3	12
8	彰縣-031	彰化扇形車庫	2	1	1	1	2	2	2	11
8	彰縣-066	田尾公學校宿舍	1	0	2	2	2	2	2	11
8	彰縣-008	彰化關帝廟	2	1	2	1	2	1	2	11
8	彰縣-009	鹿港天后宮	2	0	2	1	2	2	2	11
8	彰縣-010	鹿港文武廟	2	1	2	1	2	1	2	11
8	彰縣-012	鹿港城隍廟	2	0	2	1	2	1	3	11
8	彰縣-013	鹿港三山國王廟	2	0	2	1	2	1	3	11
8	彰縣-024	南瑤宮	2	1	2	1	2	1	2	11
8	彰縣-028	鹿港公會堂	2	1	2	1	2	1	2	11
8	彰縣-029	鹿港隘門	2	1	2	1	2	1	2	11
8	彰縣-055	八堡圳取水口	1	1	2	2	2	0	3	11
19	彰縣-006	道東書院	4	1	0	1	0	1	3	10
19	彰縣-061	員林神社遺跡	1	1	0	2	2	1	3	10

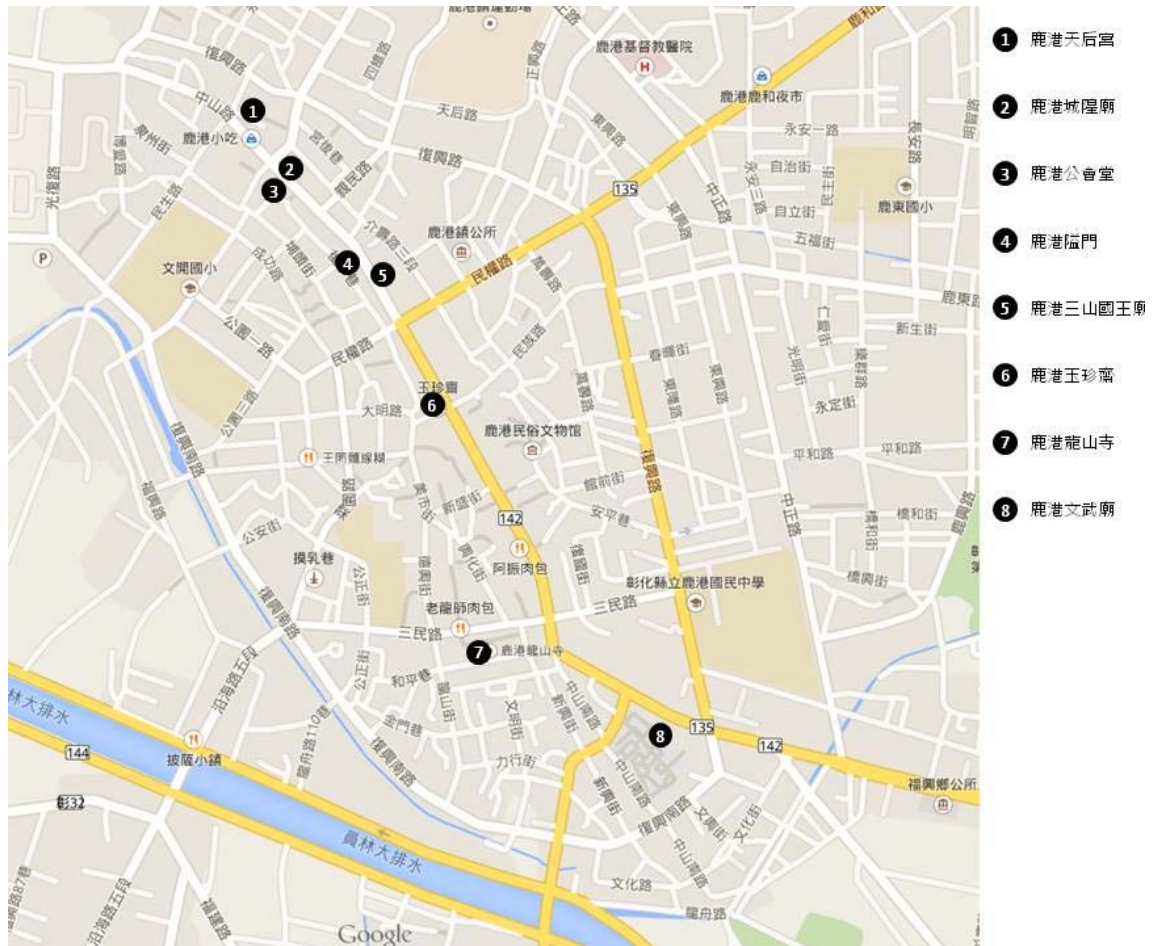


圖 3. 鹿港文化觀光帶(底圖取自 googlemap)

Fig. 3. The cultural tourism zone of Lukang.

### 三、南投縣文化資產之文化觀光資源評估等級評定

南投縣已指定或登錄文化資產共計 52 項，評定結果排名第一為八通關古道，且為中臺灣評估等級得分最高者，因為其符合世界文化遺產條件最多。南投縣文化資產雖分布于縣內各區，但竹山鎮即包含社寮敬聖亭、隆恩圳隧渠、社寮紫南宮借金、連興宮及臺中菸葉場竹山輔導站。其中臺中菸葉場竹山輔導站，位於竹山鎮中心，且為公有歷史建築，目前已完成測繪，但需整修改善，短期無法開放，建議列為未來文化觀光示範點(詳表 5)。

表 5. 南投縣文化資產之文化觀光資源等級評定結果

Table 5. The assessment results of levels of cultural tourism resource in Nantou county.

排序	編號	個案名稱	文資級別	所有權	開放程度	現況	開放時程	活動豐富度	世界文化遺產	分數
1	投縣-006	八通關古道	4	1	2	1	2	1	4	15
2	投縣-025	集集火車站	1	1	2	2	2	2	3	13
3	投縣-032	行政院農委會茶業改良場魚池分場	1	1	1	2	2	2	3	12
3	投縣-002	明新書院	2	0	2	1	2	1	4	12
3	投縣-014	武德殿	1	1	2	2	2	1	3	12
3	投縣-034	竹山社寮敬聖亭	2	1	2	1	2	1	3	12
3	投縣-035	鹿谷聖蹟亭	2	1	2	1	2	1	3	12
3	投縣-004	藍田書院	2	1	2	1	2	1	3	12
9	投縣-047	竹山紫南宮吃丁酒	1	0	2	2	2	1	3	11
9	投縣-036	竹山隆恩圳隧渠	2	1	1	1	2	1	3	11
9	投縣-001	月眉厝龍德廟	2	0	2	1	2	1	3	11
9	投縣-009	國姓鄉北港溪石橋	2	1	2	1	2	0	3	11
9	投縣-044	竹山紫南宮借金	1	0	2	2	2	1	3	11
14	投縣-010	竹山連興宮	2	0	2	1	2	1	2	10
14	投縣-003	登瀛書院	2	0	2	1	2	1	2	10
16	投縣-046	添興窯及附屬設施	1	0	2	1	2	1	2	9
16	投縣-039	邵族年祭	1	1	1	1	1	1	3	9
18	投縣-005	林鳳池舉人墓	2	0	1	1	1	1	2	8
19	投縣-030	臺中菸葉場竹山輔導站	1	1	0	0	0	1	4	7
19	投縣-031	社寮農會穀倉	1	1	0	1	0	1	3	7

#### 四、中臺灣三縣市區域型與潛力型文化觀光資源評估

依據中臺灣文化資產文化觀光資源評估等級評定結果，以分數加總後排序，可看出各縣市文化資產等級之排名，再依據排序結果，加計以下區域型文化觀光資源及潛力型文化資源之等級評定，其等級評定結果詳如下表(詳表 6)。

表 6. 中臺灣區域型及潛力型文化觀光資源類型評定結果

Table 6. The assessment results of cultural tourism resource in central Taiwan.

類型	縣市	編號	個案名稱	分數	編號	個案名稱	分數	
區域型文化觀光資源	臺中市	中市-007	臺中火車站	14	中市-046	原刑務所演武場	12	
		中市-008	中山公園湖心亭	14	中市-054	臺中市役所	12	
		中市-011	臺中州廳	14	中市-059	文英館	12	
		中市-056	臺中市市長公館	13	中市-045	臺中市後火車站	11	
		中市-061	公賣局第五酒廠	13	中市-055	臺中放送局	11	
		中市-042	放送電臺擴音臺	12	中市-028	臺中州廳附屬建築群	10	
	彰化縣	彰縣-002	鹿港龍山寺	14	彰縣-009	鹿港天后宮	11	
		彰縣-001	彰化孔子廟	13	彰縣-010	鹿港文武廟	11	
		彰縣-004	元清觀	13	彰縣-012	鹿港城隍廟	11	
		彰縣-005	聖王廟	13	彰縣-013	鹿港三山國王廟	11	
		彰縣-062	鹿港玉珍齋	11	彰縣-024	南瑤宮	11	
		彰縣-031	彰化扇形車庫	11	彰縣-028	鹿港公會堂	11	
		彰縣-008	彰化關帝廟	11	彰縣-029	鹿港隘門	11	
	南投縣	投縣-006	八通關古道	15	投縣-047	竹山社寮紫南宮吃丁酒	11	
		投縣-025	集集火車站	13	投縣-036	竹山隆恩圳隧渠	11	
		投縣-002	明新書院	12	投縣-044	竹山社寮紫南宮借金	11	
		投縣-014	武德殿	12	投縣-010	竹山連興宮	10	
		投縣-034	竹山社寮敬聖亭	12	投縣-046	添興窯及其附屬設施	9	
	潛力型文化觀光資源	臺中市	中縣-010	縱貫鐵路追分車站	13	中縣-009	縱貫鐵路舊山線泰安車站	12
			中縣-011	縱貫鐵路日南車站	13	中縣-026	縱貫鐵路清水車站	10
彰化縣		彰縣-048	北斗紅磚市場	12	彰縣-050	北斗中正堂	12	
南投縣		投縣-030	臺中菸葉場竹山輔導站	7	投縣-031	社寮農會穀倉	7	

(一) 區域型文化觀光資源

將中臺灣文化資產等級評定結果其中所有權屬公有、開放程度較高、現況使用良好或修繕較為完善之文化資產，且可立即開放使用並串連周邊文化資產與其他遊憩據點，以為提供大多數遊客體驗多樣文化觀光活動場域之類別，同時具備多項世界文化遺產登錄條件，則分類為「區域型」的文化觀光資源。

## (二) 潛力型文化觀光資源

經評定，將所有權屬於私人、開放程度較低，尚須進行整修或需全面整修，且須協調開放時間文化資產列為「潛力型」文化觀光資源。然而區域型或潛力型文化觀光資源，並非固定分類，潛力型文化觀光資源，屬文化資產且有文化觀光資源潛力，但未能進行大型觀光活動，因此在短期可供部分開放條件下，以預約式深度文化觀光旅遊為主，再依據其整修進度、開放程度等條件改變，待文化觀光支援設施配套措施完整，並經週邊文化觀光資源串聯及帶動下，提升其文化觀光服務強度後，則可考慮提升為區域型文化觀光資源。

## 結 論

在現代化過程中推動古蹟保存的第三支作用力是不斷擴大中的全球旅遊市場，藉由遙遠歷史或其他真實的(authentic)空間場景與社會生活，古蹟保存可以創造各種旅遊景點來滿足現代人對真實的社會關係與公共生活的渴望(顏亮一，2005)。然而文化資產不只是古蹟，文化觀光也不僅僅是古蹟參訪，陳以超(1997)認為文化觀光為人基於各種原因，對當地文化產生興趣，並於當地從事各類關於文化資源之休閒遊憩行為的短暫旅遊移動現象，並闡述遊客參與文化觀光的動機，主要為「增廣見聞」、「提高人文素養」、「體驗不同文化」、「參與文化活動」等四種。本研究針對中臺灣文化資產進行文化觀光資源等級評定，目的在於文化資產轉型為以文化資產為主體，作為文化觀光場域，進行文化教育、體驗及教育之文化觀光資源評定依據。同時針對中臺灣三縣市文化資產進行區域型及潛力型文化觀光資源評估，評估結果如下：

### 一、中臺灣區域型文化觀光資源

- (一) 臺中市：臺中市行政中心所發展出之中臺灣區域型政治文化觀光軸線
- (二) 彰化縣：鹿港鎮、彰化市所形塑之中臺灣區域型古蹟歷史文化觀光軸線
- (三) 南投縣：集集鎮、竹山鎮雙軸線所形塑出中臺灣區域型產業運輸文化觀光軸線

### 二、中臺灣潛力型文化觀光資源

- (一) 臺中市：海線、山線縱貫鐵路所衍生出之中臺灣潛力型鐵道文化觀光軸
- (二) 彰化縣：北斗鎮公有建築群所發展出之潛力型公眾建築文化觀光軸
- (三) 南投縣：在地菸葉、農業所發展出之中臺灣潛力型產業集散文化觀光軸

以中臺灣文化資產評級結果可知，已登錄之文化資產間，如具備區域及位置相鄰、集中，類型、年代相似，且具帶狀發展軸線特性者，較利其統整為區域型文化觀光資源，因其具有相互帶動及互補效益，如同郭瓊瑩(2000)所說文化觀光因具多元性，在經營上往往很難明確切割專屬權則，若能結合鄰近鄉鎮之觀光產業資源，將可提升各地區之環境品質與文化觀光效益。此依經營模式可簡約人力、經費，也有互補之功能。在政府精簡人事政策下，地方自治並非完全建立單一系統，如能互相支援地方將會有多贏之局面(郭瓊瑩，2000；蘇進長，2005)。

## 參 考 文 獻

- 文化部文化資產局。http://www.boch.gov.tw/boch/。
- 世界遺產公約操作指南。The Operational Guidelines for the Implementation of the World Heritage Convention.http://whc.unesco.org/en/guidelines/
- 全國法規資料庫。http://law.moj.gov.tw/。
- 張育銓。2010。文化創意產業與文化觀光的關連性探討。區域與社會發展研究。1:249-265。
- 孫武彥。1995。文化觀光-文化與觀光之研究。台北：三民書局。
- 唐學斌。1987。觀光學。中國文化大學觀光叢書。台北。
- 林慧雯。2003。推展文化觀光策略之研究--以阿罩霧地區再開發為例。朝陽科技大學碩士論文。
- 郭瓊瑩。2000。評河川環境及社區營造。河川與社區研討會論文集。時報文化。
- 蘇進長。2005。遊客對文化觀光認知之研究-以台南孔廟文化園區為例。南華大學旅遊事業管理研究所碩士論文。
- 陳以超。1997。文化與觀光。觀光教育。15(1): 13-17。
- 顏亮一。2005。全球化時代的文化遺產-古蹟保存理論之批判性回顧。地理學報。42:1-24。
- Urry, J. 1990. The Tourist Gaze: Leisure and travel in contemporary societies, Newbury Park: Sage Publications.

## The Study of the Resources Assessment of Cultural Heritages for Cultural Tourism in Central Taiwan

Hsin-Yi Chou <sup>1)</sup>   Che -Yu Hsu <sup>1)</sup>   Wen-Bor Lu <sup>1)</sup>  
Hsien-Chieh Chou <sup>1)</sup>   Sheng-Jung Ou <sup>2)</sup>

Key words: Cultural Heritage, Cultural Tourism, Resource Assessment.

### Summary

The purpose of this study is to explore the method to survey and assess the cultural heritages as the tourism resources for the cultural tourism. It is expect that the study results could be the indicators of the demonstration cases to promote the cultural tourism. The study subjects are the cultural heritages, according to Cultural Heritage Preservation Act and Enforcement Rules of the Cultural Heritage Preservation Act, in central Taiwan, including Taichung City, Chughua County, and Nantou County.

First, the study reviewed the literature of the cultural heritages' definition, classification, designation, and assessing principles, and built a database of cultural heritages in central Taiwan. Second, the study classified and assessed the cultural heritages by the level of cultural heritages, ownership, degree of openness, the status of cultural heritages, opening schedule, richness of activities, and six assessing principles of the Operational Guidelines for the Implementation of the World Heritage Convention by The World Heritage Committee of UNESCO.

Following the assessing guidelines, 20 cultural heritages in each city and county had been chosen. The results showed that cultural heritages in the study areas could be divided into two types of cultural tourism resource, regional type and potential type. Finally, the study suggested that the results could be used as guidelines for making tourism development axis and integrating tourism spots.

---

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

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



## 雲林地區農塘價值之探討

胡 申 瑜<sup>1)</sup> 歐 聖 榮<sup>2)</sup>

關鍵字：“農塘”、“價值”、“半結構式訪談”

**摘要：**農塘對臺灣而言是重要不可取代的，但因社會變遷，此景觀正逐漸消失，而雲林地區農塘雖富特色，卻也面臨相同命運。因此，本研究之目的為探討：(一)雲林地區農塘用途的變遷；(二)當地居民認為的農塘價值；(三)當地居民對農塘所持的態度；(四)雲林地區農塘的歷史意義。本研究以訪談方式進行。研究結果發現，農塘於今昔功能中皆包含農業生產、文化地景、救災防洪及休閒遊憩四種類別，但細目不盡相同。另外，於農塘價值的結果中得知，居民所認為的農塘價值具實質功能及心理情感層面，而大多數農塘價值集中於實質功能層面。再者，對農塘往後的使用大致分成兩群，第一群為非擁有者，其通常抱持較為負面的態度如將農塘填平；第二群為擁有者，此些人較有意願保存農塘，但保存方式上不盡相同。

### 前 言

「埤」指低下潮濕之地，而「塘」則為水池，故埤塘實為池塘之意。於以前農業社會，因農業生產量節節上升，為了因應灌溉需求，公立或私人建造的埤塘因而形成，用以應付龐大的灌溉水量。為了顯示埤塘對農業之重要性，為農業生產重要元素，又可稱「農塘」(許睿翔，2006)。本研究選擇農塘為主要研究對象，且無論人工、自然或面積大小。

透過農塘的發展史，可了解其為依附臺灣農業發展而推演變化，而臺灣農業的發展則代表部分臺灣歷史，因此，於農塘變遷中，除了可窺視臺灣農業的變遷外，也可看出臺灣整體的歷史脈絡(陳桓郭等人，2008；王志文，2003)。此外，與當地居民息息相關的農塘，更忠實反映出當地的生活文化，我們可從地名的形成、史料的保存、民間信仰活動的塑造以及生活文化的融入等中看出，農塘與當地居民間是互相影響且多面向的。根據陳其澎

---

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。

(2003)指出，農塘除了具有上述農業生產的相關功能外，也身負生態保育以及環境維護的重要作用，舉凡作為生物的棲地、淨化水質、蓄洪等等。另外，因社會變遷的影響，許多農塘漸漸轉型，休閒遊憩的功能亦日益重要。

綜合上述發現，農塘的重要性是有目共睹且部分是無可取代的。其中包含了臺灣農業的歷史及相關特有文化，而在此文化下生活的我們，有義務保存，並傳承給後代子孫；在生態的方面，更不應該給予此穩定的自然環境破壞及毀滅。然因社會變遷，造成農業沒落或地產上漲，農塘的農業功能逐漸喪失，導致填平或移作他用的情況發生，於生態方面也遭受直接的破壞，保存因此成了急迫的問題。雲林地區的農塘與聚落緊密結合，衍伸出許多不同的形態，富有特色，卻也面臨了相同的命運。因此，此研究以雲林地區農塘聚落裡的當地居民為研究對象，希望藉由深入訪談的方式，了解其對農塘的看法，並在未來推動保存的相關策略中，供作參考，以期能對農塘的保存有所貢獻。

基於以上的背景及動機，本研究想要了解雲林當地居民對農塘的看法，以及農塘的變遷，因此，本研究的研究目的如下：

- 一、探討雲林地區農塘功能的變遷。
- 二、探討當地居民認為的農塘價值(value)。
- 三、探討當地居民對農塘所持態度(attitude)。
- 四、了解雲林地區農塘的歷史意義。

## 文 獻 回 顧

### 一、農塘的變遷

#### 1. 臺灣的農塘發展

在漢人大量移入臺灣前，原住民以狩獵為主要產業活動，此時並無任何農塘等水利設施的出現。十七世紀荷蘭佔據臺灣後期時，為糧食自足，開始鼓勵稻作，而農耕需求增加的結果，促成了農業水利設施開發的端緒，也就是「井」以及「埤」等蓄水設施的出現。此時期的水利設施，以灌溉用的「井」及「埤」為主。而著名的「荷蘭式草埤」也由此出現。土地開發至後期後，農地的開發已具可觀的面積。(陳武雄，2004 陳鴻圖，2009；蔡志展，1999；臺灣省政府水利處，1998 陳鴻圖，1996；吳田泉，1993；謝堡丁，1972；張炳楠等人，1971)

鄭成功領臺之初，為鞏固在臺政治及解決播遷來臺軍民的糧食需求，開始實施屯田政策，即不論何人，皆投入農田的開墾並進行生產，同時鼓勵民間開墾。而主要作物由甘蔗轉為稻米，灌溉需水量大增，因而直接促進了水利設施的開發及興建，但因資金、勞力的不足以及技術的不成熟等多因素，水利設施仍以小型的埤為多。就加總的數量而言，此時的埤等水利設施相較於荷據時期增加不少，但灌溉的區域仍相當有限。清領時期以後，灌溉面積的擴大使灌溉需求不斷增加，各種形式興建的水利建設也日漸出現。原本主要作物

甘蔗因需水量少，水利設施以截流蓄水的埤為主，而後因作物漸換為水田，需水量擴增，灌溉範圍擴大，因此在往後水利設施的建設，埤與圳慢慢成為一體，甚至圳的發展漸漸超過埤。(陳武雄，2009；陳鴻圖，2009；蔡志展，1999；臺灣省政府水利處，1997；陳鴻圖，1996；吳田泉，1993；謝堡丁，1972；張炳楠等人，1971)

日治時期時，管理灌溉事業可分為公共埤圳時期、官設埤圳時期，以及水利組合時期，此時期民眾雖可參與水利組合事務的處理，但主要人員仍是官方指定，因此，日本政府對水利事業的掌控仍然愈漸擴大。臺灣光復後，由於二次世界大戰的關係，臺灣地區農田水利設施受到不同程度的破壞，農業發展衰退，臺灣光復後，須儘速生產糧食以恢復國力，因此，光復後政府全力吸收最新設計技術並貫徹之，期能徹底汰舊換新。晚期由於社會體制的變遷，工商業發達，農業不再是發展重心，而耕地減少使埤圳等水利設施逐漸荒廢或移作他用。但近年來因政府大力推動文化資產(cultural property)的保存，以及地方意識(local ideology)、永續發展(sustainable development)等觀念的抬頭，埤圳等水利設施漸漸再度受到重視，不同於以往的灌溉功能，因應現代社會的環境，埤圳等水利設施開始展現出多角化發展，政府也推行了如灌溉埤圳綠美化等政策，期望保留埤圳的同時，也能保存臺灣獨特的農業文化。(陳武雄，2009；陳鴻圖，2009；蔡志展，1999；臺灣省政府水利處，1997；陳鴻圖，1996；吳田泉，1993；謝堡丁，1972；張炳楠等人，1971)

## 2. 雲林地區的農塘發展

雲林平原北起濁水溪，南至北港溪與石龜溪，地形相對平坦，東側因有一些丘陵地，地勢為東向西傾斜。因河川上游陡峭，一遇豪雨，水流較急不易保存，雨停後又因氣溫較高迅速蒸散，再加上本區雨量特別集中於夏季，整體來說供水極為不足且不平均，水利開發在雲林頗為急迫，因此，從以前到現在的水利開發一直相當發達。雲林平原遼闊平坦，土壤肥沃，有濁水溪可供灌溉，又因離已開發之臺南高雄地區較近，清領後漢人大量移墾來此，而十八世紀中後期，至此漢人在雲林平原的拓墾接近完成。由於雲林平原農業條件不錯，清領時期即出現幾處大規模的埤圳，而埤圳開發型態以莊民合築類型最多。日治時期時，嘉南大圳完工，帶動了嘉南地區農業進一步的發展，但對於雲林地區並無直接受惠，因此此期灌溉仍以傳統的埤圳設施為主，但多數埤圳因納為公共用，許多損毀部分經過更新改善，並固定管理維護，使用上方便許多。光復以後，斗六大圳竣工，雖然水量不穩，一日內水量變化頻率大，但仍與濁水溪系統及嘉南大圳系統產生聯網，水圳系統也愈趨完整，另因雲林地區地下水的規模大，供水量多且利用便利，相較之下埤塘的重要性的確略微降低。至今雲林雖為農業之都，但也受產業轉移的影響，使得區域內的埤塘逐漸荒廢消失(陳武雄，2009；陳鴻圖，2009；蔡志展，1999；臺灣省政府水利處，1997；陳鴻圖，1996；吳田泉，1993；謝堡丁，1972；張炳楠等人，1971)。

## 二、價值之探討

### 1. 基本概念

價值原是經濟學上的一個名詞，是指物品的用途或交換的數值(王臣瑞，1980)。價值

一詞隨著使用的情境與習慣各具不同含意，它可做名詞也可做動詞，做動詞時有評價、估價、計價之意，當名詞用則具有價格、重要性及社會準則或價值觀等意義(余一鳴，2005)。因此價值具有多面向意義。不同學派的學者，因鑽研部分不同，價值所看到的面向也不同。綜合各學者對價值的定義，本研究得知價值所具內涵，包含了以人為主體，因人的喜好來評定價值的高低，當它成為一種持久、內在的概念時，則會成為判斷事物的標準或一種信念，並引導我們的行動等概念(廖平一，2009；郭育彰，2006；李慈梅，2002)。

探討價值的構成時，應先了解主體與客體的意義。主體具有主詞意思，客體則具受詞意思。主體是能夠自主的活動者，客體則是主體的活動對象(王海明，2009)。主體是實踐和認識活動的發動者，即主動地進行某種實踐和認識活動的人們。客體則是主體活動的對象，是主體活動的承受者(王玉樑，1989)。因為立場不同，許多學者對構成價值的內涵具許多爭議，因而演變出三種不同的派系，其中情境價值論為最多學者認同且相較完整。價值情境論學說重要的發展者為方迪啟，另外國內的陳信木及陳秉璋等學者也提出了相關的重要理論。該學派認為所謂的價值泛指主體之欲求或需求，經由外在客體的互動，而獲得了滿足的主觀效果認定(陳秉璋、陳信木，1990)。方迪啟(1988)認為，如果情境一詞用來指稱個人的、社會的、文化的，以及歷史的因素和情況等的綜合體，那麼，價值情境論派主張價值只有在特定的情境中才存在並具有意義。由此得知，價值主體、客體是必要的，唯有此兩個元素落在一定的情境基礎上，價值本體才可呈現，若少了其中之一的話，價值就不復存在。例如，人因而飢餓對食物有需求，而食物也具解飢的能力，吃了食物後而感到滿足，解飢的價值由此而生。

價值情境論為發展最晚但最完全之學派，且較符合實際情況，故本研究以情境價值論為主要之研究依據。

## 2. 文化價值(Cultural values)

文化價值產生於持續發展的文化和價值，被視為社群和社區所認同的價值觀(林智惠，2011)。因此，價值本身即為一個集體的概念，它反映了文化特色，而一套文化價值體系通常包括公認的標準及對事物的信念(林智惠，2011)，即在文化建構的世界中，價值是一個社會中思想及行為的指導概念和原則(Rokeach, 1973)，而文化價值為日常生活中一種持有的信念、行為表現的方式或存在的最終狀態(陳怡靜，2005)。當然，每個國家皆有文化價值系統，此系統是由一文化或次文化群體所公認的信念態度及行為所構(林旻慧，2009；Rokeach, 1973)。

由上述可知價值為一集體之概念，相同的，文化價值應可以多面向探討之，Throsby 學者因此拆解文化價值為六大項，分別為美學價值、精神價值、社會價值、歷史價值、象徵價值及真實價值，其中美學價值為美學特徵價值，精神價值為該物獨有內涵之價值，社會價值為能夠產生地方凝聚力以促進地方認同(place identification)的價值，歷史價值為其所具有的歷史內涵，象徵價值為能夠傳達意念之價值，真實價值為表現獨特性之價值(劉得臣，2008；洪一平，2008；Throsby, 2001)。

無論對於社會抑或人民，文化價值均為重要的。Graeme 認為，文化價值上的重要性是提供對過去、現在、未來的族群而言，所具有的美學、歷史、社會或科學的價值(劉藍玉譯，2005)。文化資產是文化的具體象徵，是文化的見證，這些具有民族文化價值的文化資產，也包含了相同於文化價值的意涵(陳淑君，2004；洪泉湖，1985)。本研究將以雲林農塘價值與文化價值各面向進行比較。

## 研究方法

本次研究以質性訪談方式，調查雲林縣褒忠鄉、大埤鄉以及荊桐鄉居民對農塘的相關看法，訪談完成後將訪談內容打成逐字稿，再進行內容分析，並針對訪談內容做後續討論。

### 一、訪談時間及地點

調查時間為民國一百零一年三月至四月期間。訪談地點為雲林縣褒忠鄉、大埤鄉以及荊桐鄉的農塘。其中大埤鄉調查三口農塘，荊桐鄉調查一口農塘，褒忠鄉調查三口農塘，共計七口農塘，此七口農塘皆選擇鄰近村里、住家者。

### 二、訪談對象

訪談對象採立意方式抽樣，以距離農塘最近的第一排的住家居民、或是現場待在農塘邊的居民為主。大埤鄉共訪談六人；荊桐鄉因只訪談了一口農塘，訪談人數為一人；褒忠鄉訪談人數為六人，其中大埤鄉為編號 001 至 006 受訪者，荊桐鄉為編號 007 受訪者，褒忠鄉為編號 008 至 013 受訪者。

### 三、訪談大綱

#### 1. 農塘以前及現在具有的功能為何？

因訪談的對象皆住農塘附近，與農塘關係非常密切，因此本研究希望受訪者能夠形容今昔農塘的情形，並間接得知不同時代的社會情況及相關的變遷。

#### 2. 農塘的價值有哪些？

使用了農塘各種不同形式的功能，對農塘也應會產生相對應的價值認知，因此本研究希望受測者能夠敘述農塘的價值，並從中得知居民特別重視的價值類目。

#### 3. 農塘往後如何處理？

農塘往後的續存或消失，除了政府的政策以外，還是以居民保存意願的高低為主要決定因素，因此本研究希望藉由調查居民對農塘往後的使用形式得知其對農塘的保存態度及影響因素，或是農塘後續用途等相關問題

### 四、分析方法

將錄音筆錄下的訪談內容整理成逐字稿後進行內容分析，並利用開放性編碼的方式，即將每一句訪談資料分別編號，並分解檢視，將相似的概念統整，後進行討論。此外，將每位受訪者訪談內容之分析結果進行比較。

## 結果與討論

### 一、農塘以前及現在所具有的功能

圖 1 為訪談內容相似概念統整後示意圖，各功能下標示之數目為提及該概念之受訪者數。由圖 1 得知，農塘以前及現在均包含了「農業生產」功能，即與農業生產行為相關之功能、「文化地景」功能，即與當地文化或人們生活相關之功能、「救災防洪」功能，即與環境安全維護相關之功能，以及「休閒遊憩」功能，即與休閒活動或行為相關之功能等四種類別。

早期農業生產						早期文化地景					早期救災防洪		早期休閒遊憩		
養魚 12	釣魚 3	灌溉 3	種菜 2	養鴨 2	養豬 2	洗衣 3	飲水 2	洗手 2	排泄 2	廣場 2	滅火 2	滯洪 2	玩水 4	游泳 2	釣魚 2
現今農業生產				現今文化地景		現今救災防洪		現今休閒遊憩							
養魚 7	養鴨 2	養鵝 2	種菜 2	景觀 8	廣場 3	滅火 2	滯洪 2	釣魚 6	觀光 3	種花 2					

圖 1. 農塘早期及現今所具有的功能示意圖

Fig. 1. The previous and present functions of agricultural ponds in Yunlin.

本研究發現，無論過去還是現在的農塘，雖然均包含了「農業生產」、「文化地景」、「救災防洪」以及「休閒遊憩」四種類別的功能，但每種類別所包含的功能不盡相同，以下針對不同的分類做進一步的分析及討論。

#### 1. 農業生產類別之功能

由圖 1 得知，無論是過去或現在，農業生產類別的功能的確因應了農塘產生的原因，即為了農作的需求而產生。而養魚、種菜及養鴨等功能，雖仍維持至現在，但相較於以前，生產的規模則具變小的趨勢，顯示農業生產的功能漸漸不重要或被取代。而灌溉不包含在現在所具有的功能裡，可能的原因為現今灌溉的方式有所改變，例如以地下水來替代引農塘的水來灌溉。另外也可由受訪者的一些訪談內容得知，受訪者認為現今的農業生產無論是種稻或養魚都較不合乎成本、不太賺錢，雖然並非指全部的農業產業，但由此透露出了

農業社會的轉型及變遷，並間接地影響農塘所具備的功能，使得原本所具有的功能逐漸變得不重要或是消失。

養魚也賺不了錢啦！阿當地種田也賺不了錢拉！啊種田要用的資材都貴！像農藥跟肥料都很貴的！買來種田不合成本啦！……啊就種田賺不了錢才沒人耍種啊！年輕人也都不要種……沒價值！種田賺不了錢！（008-28、30、34、36）

以前算是，有人養魚，養魚來賣，不過養了好幾次都賠錢……魚的價格低啊！……賠錢就沒有人要養了，養魚不好賺哪，現在哪有甚麼好賺的。（009-27、28）

## 2.文化地景類別之功能

由圖 1 可得知，農塘以前所具有的功能，均與居民的日常生活有關，例如飲水、洗衣、洗手等，由此可推測出當地居民與農塘的關係的確十分密切，因此許多與生活有關的行為都在農塘邊發生，或是與農塘有所連結。反觀現在所具有的農塘功能，則以廣場及景觀功能為主，有關人們日常生活的功能不復存在，原因可由受訪者的訪談內容中發現，因社會的進步，方便性的增加，人們不再需要農塘提供與日常生活有關的功能，因此，此類功能便逐漸喪失。

因為地下水啊！……因為抽地下水，抽起來就可以啦！……對啊，地下水比較方便啦！又多！……對啊都被填平了阿……拿去種田蓋房子啦！（003-32、33、34、35）

沒有，應該有，應該全村的人很早的時候都在這邊洗……啊現在沒有了！現在這邊不方便了！（004-12、13）

另外，本研究也發現，現今文化景觀類別裡的功能與以前功能相比，其重要性及所代表的意義有所改變，以前與日常生活有關的功能具必要性，而現今則做為廣場之用或景觀綠化功能為主，其相對重要性不復以往。

……好看！放在那好看！樹啊！花啊！……只有看漂亮看風景而已，哪有其他甚麼用的？……大家也會來聊天啊，泡茶啊！不然要做甚麼？（006-10、11、70）

## 3.救災防洪類別之功能

在救災防洪類別裡的農塘功能不變，其推測的可能原因為，無論是以前或是現在，環境的安全與保護對居民而言均非常重要，且有些地區因位於鄉間，消防車無法駛入，因此農塘仍為當地主要的消防設施。

……庄裡有個水池也比較好啊如果發生火災的話！！……發生火災的話也可以用喔！！……像我們這一次，從這邊接過去（滅火）也比較快啊！！（001-3、4）

## 4.休閒遊憩類別之功能

由休閒遊憩類別之功能方面顯示無論今昔，農塘均存有休閒遊憩類別的功能，但種類卻有所改變，如農塘以前所具有的功能為玩水、釣魚、游泳，其中又以玩水為主，而現今則為釣魚、觀光以及種花等，並以釣魚為主，可由受訪者的訪談內容發現，因農業生產的功能不再那麼重要或消失，休閒遊憩的功能因而相對提升，生產取向的功能也轉型為休閒取向如釣魚等。另外，針對一些休閒遊憩如玩水、游泳等功能的消失，則因人們思想的改

變，例如以前居民們可能不介意，但現在則開始考慮發生意外時責任的歸屬等問題，而限制了農塘的使用。此外，因環境的惡化、農塘水質的改變，而使得玩水等功能逐漸消失。整體而言無論是人的思想或是環境的改變，皆影響了農塘所具的功能。

對啦！以前沒有現在這麼進步啊！現在也不養豬啦！也不抽地下水啦！這裡只剩消遣的而已就是了……對啦還有種荷花，種種花而以呀！叫朋友來玩啊！（007-28、29）

以前有，但後來怕…算是有一次很多國中生他……整個就是走到池塘裡面去了……後來就管制都不讓人家釣魚什麼通通都不要了…怕發生意外，發生意外的話…算是…假如外面沒有圍起來的話我們也要負責任阿！（009-14、15）

以前有，現在沒有了。以前我們當小孩的時候，如果日頭下山都會去池子玩水，以前的水很乾淨……現在的水質髒，不同了啦，現在都沒人在玩水了。（012-24、25）

農塘本因農業的需求而生，以前所具有的功能皆以農業生產為主，而人們的生活總離不開水，因此農塘也發展出與人們生活有關的文化地景功能、休閒遊憩功能以及能保護居住環境的救災防洪等重要功能。但後因生活型態及產業的變遷，農塘的功能漸漸轉型，有些功能雖然持續保留，但本質稍有改變，如原本的釣魚功能是為了經濟行為，現今的釣魚則偏向休閒遊憩取向。而休閒遊憩以及文化地景中的景觀雖成為當地居民認知中較為主要的功能，但相較之下，這些功能似乎又不比之前的灌溉，或是飲水等相關於生活機能來的必要。

根據陳其澎(2003)指出，農塘具有農業生產、生態保育、沈澱淨化、文化地景、休閒遊憩、防災保全，以及其他特定目的的功能，而本研究結果其農塘所具有的功能為農業生產、文化地景、救災防洪以及休閒遊憩的部分，並無與自然環境相關之功能。推測其原因為，此類型知識較為專業，居民們不一定具備相關知識。或自然環境功能對居民而言，並無重要的實質功能性，不能直接受惠於居民，居民無法明顯感受到此類功能的存在。又或環境一直改變，有些農塘可能已利用人工方式重建或修補，因而失去了生態保育的功能，因此在本研究裡，未顯現出自然環境相關的功能。

## 二、農塘所具有的價值

圖 2 為訪談內容相似概念統整後示意圖，各價值下標示之數目為提及該概念之受訪者數。由圖 2 得知，農塘所具有的價值可分類為實質功能層面的價值及心理情感層面的價值，而實質功能層面的價值多於心理情感層面的價值，也就是說，在居民的想法裡，其農塘主要的價值以實質功能層面者居多。此結果可由情境價值論及文化價值兩方面探討之。

實質功能層面											心理情感層面		
生活機能				產業經濟		休閒遊憩		環境保護		教育	防災保全	身體健康 2	放鬆心情 2
景觀 4	整潔清潔 2	社交場所 2	地下水 2	地下水 2	營利 2	觀光 3	釣魚 3	空氣清新 2	自然保存 2	教育 2	防災 2		

圖 2. 農塘所具有的價值分類示意圖

Fig. 2. The value classification of agricultural pond in Yunlin.

依據情境價值論，價值的產生乃因行為主體之需求，經由外在客體之互動，加上當下的情境，而獲得滿足的主觀效果認定（陳信木、陳秉璋，1990），同樣，過去農塘因提供居民相關的需求，其相對應的價值因而產生。經由社會變遷的影響，一些農塘原本具有的重要功能逐漸消失，對居民而言，相對應的價值也不再重要。

經由長時間的互動，人們在日常生活中所得到的體驗，經過時間的累積，對於地方會產生情感的認知，且由親密性的記憶累積過程，如意象、情感、觀念及符號等給予價值與意義（呂怡儒，2001）。據此，農塘與聚落居民的生活應是密切相關，在心理情感層面，應認同農塘是具有特殊價值，但由訪談內容顯示，心理感情層面價值，卻只包含兩類。推測其可能的原因為，因社會變遷，農塘的功能逐漸轉變或被取代，且由前述農塘功能研究結果中發現，農業生產的功能趨近式微，居民們對農塘的使用不再頻繁，然現今較主要的休閒遊憩及景觀美質功能，也不若以前的功能必要，因此在互動時間減少的情況下，心理感情層面的價值也相對減少。

若依 Throsby (2001)所發表之文化價值進行探討，比較文化價值體系與本研究結果後發現，此次結果並無社會價值，以及真實價值的部分，社會認同價值為能夠產生地方凝聚力以促進地方認同的價值，真實價值為可以具體呈現人類文化且具不可取代性等的價值，即當地居民並不認為農塘可凝聚地方方向心力，且不足以代表當地文化。

推測農塘無社會認同價值的可能原因為，生活型態及產業轉變，農塘原有的許多功能漸漸被取代，重要性降低導致農塘荒廢或消失，因此難藉由此類較不受重視的場域，提高居民的凝聚力。且現今農村聚落裡，不乏廟宇或鄉民活動中心，比起農塘，居民或許更能

在此感受到社會認同的價值。廟宇及鄰里活動中心為對外開放的廣場，又廟宇具宗教意義，是居民信仰中心（陳秋瑩，2006）。相較之下農塘因灌溉等功能性而生，且多為私人不對外開放，即使生活在周圍，亦缺少與農塘互動，故不會產生此類文化價值。推測農塘較無真實價值的原因，可能類似於較無社會認同價值的因素。歸因於居民生活的轉變，相較於其他互動頻繁的集會場所如廟宇、活動中心等，與農塘的關係不如以往緊密。因此，居民認為農塘無法完全代表現今居民的生活文化，也因此較不具真實價值。另外，由農塘的現況可觀察到，以前主要功能漸漸喪失後，一些農塘變成了一般池塘或荒廢，更有擁有者將其填為平地。因此，真實價值如不可取代性等，對居民而言，這部分的價值是較沒有的。

### 三、居民對農塘後續使用所保持的態度

表 1 為每個受訪者對農塘未來使用方式的計畫及所抱持的態度，其中包含了填平、建設、繼續保留並持續維護、繼續保留但不做維護及不在意等等使用形式及態度。

表 1. 雲林農塘未來的使用方式

Table 1. The future usages of agricultural ponds in Yunlin.

受訪者編號	未來使用方式
001	繼續保留並持續維護
002	填平
003	填平
004	建造涼亭
005	建造涼亭、橋
006	建造涼亭
007	繼續保留但不做維護
008	不在意
009	本欲利用但不適合，只好繼續保留
010	不在意
011	交由政府處理
012	不在意
013	繼續保留並持續維護

每一位受訪者所期望的農塘後續使用方式皆不盡相同，未來使用方式大致可分為兩部分，第一部分為非擁有者，他們通常抱持著較為負面的態度，例如將農塘填平或不在意未來農塘的消失與否，因農塘與他們並不存在直接的利益關係。與擁有者比起來，非擁有者與農塘的互動程度低，且對照這些非擁有者所提及的農塘價值中可發現，他們所提及的價值類目，比較屬於景觀、休閒遊憩等相關的價值，而此類價值具取代性，因此對於未來農塘的續存，他們的態度是不介意甚至是贊成廢除的。

那個我們不知道啦！那是別人家不知道的事啦！對吧！要是我會填起來嘿！沒甚麼用嘛！都荒廢了！是吧！（002-67）

不可能啦！現在他們家的人都不在這裡啦！……都沒管理啊！……也不可能留下來啦！填平去啦！（003-61、62、63）

第二部分為擁有者，他們幾乎都贊成持續保留農塘，但保留的方式卻不盡相同，其一為繼續保留並持續維護，對照此些居民所提及的價值類目可得知，他們是基於心理情感層面的價值而持續保留維持農塘，其二為繼續保留但對其建設，如建造涼亭座椅等，這些居民則希望藉由建設的手法，來增加實質功能層面的價值，其三為本來欲利用但因環境條件不適合且須投入金費而作罷、其四則為繼續保留但不做維護，不想花時間於農塘上，此類居民農塘保存的態度可能就不如第一與第二類居民來的強烈，而是有種姑且保留感。

怎麼要填平，這是祖先留的啊，填平不好……看風景好啊！填平不就沒有好看了……每天看心情很好，很高興啊！在這喝茶啊！很歡喜啊！（013-20、36、81）

對我來說，把涼亭給它弄起來最好！……啊像現在也是沒有甚麼用處，就是請縣政府請錢做個涼亭，看看美美的這樣。啊不然以前是沒有啦！（004-40、42）

因為你要把他填補的話也要花一筆錢……這一塊…本來想說池塘要利用的啦！啊建商是說土太軟了不適合建築，所以那還是會留下來！對池塘還是會留下來。（009-25、26）

## 結論與建議

此次調查的農塘皆具一定年代，與當地居民的連結持續至今，因此可以訪談的方式，了解農業社會的變遷、當地居民的生活文化，並藉由這些訊息，更加清楚了解居民對農塘價值的認知以及態度。

基於社會的變遷，現今農塘的功能逐漸轉型，帶來的影響是居民對農塘價值的認知多偏重實質功能層面。農塘後續使用的方式，亦受到這些實質功能層面價值的影響，多數居民認為農塘需具有實質的功能，才有相對應價值的存在，對心理情感層面的價值，則較不重視或忽略。但心理情感層面的價值，也是在保存文化資產時很重要的一部份，因為此類價值包含文化思想的傳遞。於推動政策時，應針對這部分的現象詳加考慮。

另外，於此次調查中發現，除了兩口農塘的居民對農塘的發展較為熱衷外，多數的居

民對農塘的看法或態度較為消極或不在意。近年來，政府部門大力推動臺灣文化資產的保存，但文化資產是一個地方或民族之歷史性證物，是當地居民生活環境的一部份。因此，文化資產的保存維護，不僅是政府的職責，更與地方居民息息相關，倘若文化資產所在地的居民沒有正確的觀念與熱切的保存態度，單憑藉政府立法保存和維護其成效將是有限的(陳宗玄、陳淑君、高珮如，2008)。因此，若要對雲林地區的農塘作保存，是否應喚起大家對農塘的重視，並提升凝聚力？例如由政府從旁協助或以社區營造的方式，尋找適合現今社會的農塘使用方式，以強化居民與農塘間的關係，並再次喚起居民對農塘的記憶，提升居民對農塘保存的意願及重視。

在實務建議的部分，居民較為重視的是實質層面價值，因此可藉由相關設施如涼亭的設計，滿足居民的實質需求，或將農業文化象徵性的元素融入設施之中，藉此活化居民與農塘間的關係，喚起居民們的記憶，引發對心靈情感層面價值的重視。另外，本研究雖發現居民對生態功能的部分較不重視，但此仍屬保存的重點，因此可運用教育的方式加以推廣，例如將相關課程融入社區大學裡，或是假日舉辦相關的活動，提升居民對農塘生態價值的重視。

## 參 考 文 獻

- 王玉樑。1989。價值哲學。陝西人民出版社。407pp。
- 王臣瑞。1980。倫理學。臺灣學生書局。380pp。
- 王志文。2003。桃園臺地龍潭地區埤塘消長的地理意義—以納莉颱風水患為例。華岡地理學報 16：133-155。
- 王海明。2009。倫理學原理。北京大學出版社。426pp。
- 方迪啟著、李普英譯、黃藎譯。1988。價值是什麼：價值學導論。聯經出版社。163pp。
- 余一鳴。2005。我國軍人核心價值之研究：理論建構與實證分析。國防大學政治研究所博士論文。270pp。
- 林智惠。2011。從文化觀光觀點探究文化遺產之價值。虎尾科技大學休閒遊憩研究所碩士論文。177pp。
- 呂怡儒。2001。臺北近郊森林地方感之研究。國立臺灣大學森林環境暨資源學系研究所碩士論文。113pp。
- 吳田泉。1993。台灣農業史。自立晚報社文化出版部。564pp。
- 李慈梅。2002。我國報紙運動新聞之運動價值分析研究--以民生報、中國時報為例。國立臺灣師範大學大眾傳播研究所碩士論文。94pp。
- 林旻慧。2009。建案名稱的文化區位特徵分析—以民國六十年代至八十年代臺北縣房地產廣告為例。淡江大學漢語文化暨文獻資源研究所碩士論文。178pp。

- 洪一平。2008。王功地區蚵田文化景觀及產業發展之研究。大葉大學設計研究所碩士論文。183pp。
- 洪泉湖。1985。我國文化資產保存政策之研究。文史哲出版社。205pp。
- 張炳楠、李汝和、徐世大、廖漢臣。1971。臺灣省通誌卷四經濟志水利篇。臺灣省文獻委員會編印。pp.178-210。
- 許睿翔。2006。水田埤塘之系統動力模式。國立中央大學土木工程研究所碩士論文。100pp。
- 郭育彰。2006。高屏地區國小學童環境經驗與環境價值觀之研究。國立高雄師範大學環境教育研究所碩士論文。158pp。
- 陳其澎。2003。桃園大圳及光復圳系統埤塘調查研究。行政院客家委員會。937pp。
- 陳宗玄、陳淑君、高珮茹。2008。居民對文化資產保存認知與願付價格之研究—以鹿港鎮與臺南安平地區，朝陽學報 12：271-291。
- 陳怡靜。2005。產品文化價值與創意對顧客基礎品牌權益之探討。國立高雄第一科技大學行銷與流通管理所碩士論文。121pp。
- 陳秋瑩。2006。傳統寺廟裝飾意涵之探索——以楊梅鎮四座廟宇為例。國立新竹教育大學人資處語文教學碩士論文。303pp。
- 陳武雄。2004。跨越農業分水嶺。聯經總經銷。382pp。
- 陳信木、陳秉璋。1990。價值社會學。桂冠圖書股份有限公司。395pp。
- 陳桓郭、鍾政偉、蔡進祥、王維民。2008。桃園地區埤塘永續觀光發展策略之研究，休閒暨觀光產業研究 3(2)：105-122。
- 陳淑君。2004。居民對文化資產保存認知與願付價格之研究。朝陽科技大學休閒事業管理系碩士論文。105pp。
- 陳鴻圖。1996。水利開發與清代嘉南平原的發展。國史館。297pp。
- 陳鴻圖。2009。臺灣水利史。五南出版股份有限公司。463pp。
- 廖平一。2009。臺灣運動類型電視劇之價值呈現。國立臺灣體育大學休閒經營研究所碩士論文。119pp。
- 臺灣省政府水利處。1998。臺灣的水利。臺灣省水利處。pp.20-38。
- 劉得臣。2008。地方文化產業全球化：以霹靂布袋戲為例。南華大學出版與文化事業管理研究所碩士論文。331pp。
- 蔡志展。1999。明清臺灣水利開發研究。臺灣省文獻委員會。190pp。
- 謝堡丁。1972。臺灣灌溉的組織經營與技術。中山學術文化基金會。893pp。
- Graeme, A. 著、劉藍玉譯。2005。文化遺產：鑑定、保存與管理。五觀出版社。547pp。
- Rokeach, M. 1973. The Nature of Human Values. Free Press, New York. pp. 399-401.
- Throsby, D. 2001. Economics and Culture. Cambridge University, London. 228pp.

## A Study on the Value of Agricultural Pond in Yunlin Area

Shen-Yu Hu <sup>1)</sup> Sheng-Jung Ou <sup>2)</sup>

Keyword : Agricultural Pond, Value, Semi-structured Interview

### Summary

For Taiwan, agricultural pond is very important and irreplaceable. However, because of the changing society, this landscape is gradually disappearing. Although in Yunlin County, agricultural pond is distinctive to this area, but still this area confronts with the same fate. For this reason, the research tried to understand the followings: (1) how the use of Yunlin County' s agricultural pond has been changed, (2) how local residents think of the value of Yunlin County' s agricultural pond, (3) how are the attitudes of local residents on agricultural pond, and (4) what are the historical significances of agricultural ponds in Yunlin County. The study used the depth interview method to obtain the required data, and hoped that through this research, we can make contribution for conserving the agricultural pond. The results showed that both in the previous and present functions of agricultural pond all included four categories which are (1) agricultural production, (2) landscape cultural, (3) relieving from a disaster and flood control, and (4) leisure and recreation. However, the detailed items had few differences. In addition, the results of the value of agricultural pond showed that residents believed that the value of agricultural pond contains physical function and psychological level, and most of the values focused on physical function. Furthermore, the usage of agricultural pond in the future can be divided into two groups. The first group is non-owner whose attitude is usually negative, such as filling and leveling up the ponds. The second group is the owners who are more willing to conserve the ponds in different ways.

---

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

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

# 興大園藝

## 第三十九卷 第二期

Growth and Development of 'Tainung NO.1' Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims) in Taiwan

- .....S. Srikanya, C. C. Sheish, H. L. Lin, and I. P. Julius..... 1  
蓮霧 (*Syzygium samarangense* Merri. et Perry)之落蕾及生理落果)  
.....黃基倬 李金龍 楊耀祥.....13  
由種子內基因及蛋白質表現看種子休眠行為與發芽過程  
.....葉虹伶 宋 妤.....25  
不同栽培介質對文心蘭假球莖養分及開花之影響  
.....許榮華 林瑞松.....37  
探討具恢復力環境對受測者生心理反應影響之研究  
.....葉婉柔 歐聖榮.....49  
水仙花香對受測者生心理反應影響之探討研究  
.....張愷倫 歐聖榮.....67  
應用地理資訊系統與景觀結構指數分析得子口河流域景觀變遷之研究  
.....許哲瑜 歐聖榮.....83

國立中興大學園藝學系編印

中華民國一〇三年六月

## Growth and Development of 'Tainung No.1' Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims) in Taiwan

Suwimon Srikanya<sup>1)</sup> Ching-Chang Sheish<sup>2)</sup> Huey-Ling Lin<sup>3)</sup>  
Irvan Prawira Julius<sup>4)</sup>

Keywords: Fruit size, total soluble solid, titratable acidity, organic acid, respiration rate,  
ethylene production

### Summary

'Tainung No.1' is the major passion fruit cultivar in Taiwan. The fruit growth pattern was investigated after anthesis and hand pollination, the fruit was sampled at one-week intervals. The fruit size increased rapidly and reached a maximum size within 2 weeks. The fruit became juicy at 4 weeks after anthesis and the fruit skin color turned from green to purple at 8 weeks after anthesis. During fruit development, the total soluble solid increased in all developmental stages. On the other hand, the titratable acidity reached the highest peak at 6 weeks then began to decrease. As day after harvest increased, ethylene production gradually increased when harvested at week 6 to 8 after anthesis. However, the fruit harvested at week 9 and 10 after anthesis showed a decline in both ethylene production and respiration rate was probably due to the fruit has been ripened. In summary, the best harvest time for 'Tainung No.1' passion fruit was approximately at 8 weeks after anthesis.

- 
- 1) Graduate student in MS program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
  - 2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
  - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.
  - 4) Graduate Student in Ph. D. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

## Introduction

The purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) belongs to Passifloraceae family (Kishore *et al.*, 2010) and is a native of Brazil. It is widely grown in tropical and subtropical countries (Chandler, 1958; Pruthi, 1963; Chan *et al.*, 1980). The plant starts to produce fruit within-one year after planting, with a short productive life, varying from 3 to 5 years. The highest yield is obtained on the second and third year after planting and decreased thereafter. On average, 60–70 days are required from pollination to maturation of the fruit (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2004). Juice of the purple passion fruit is deeper orange in color and is said to be somewhat more aromatic and less acidic than the yellow passion fruit (Chan *et al.*, 1972; Pruthi, 1963). According to Chan *et al.* (1980), the purple passion fruit could be harvested at light to deep purple skin color and could be consumed right after harvesting. However, light purple fruit is the most desirable fruit for distant transport.

The purple passion fruit exhibits a climacteric respiratory pattern with considerable amount of ethylene production (Akamine *et al.*, 1957). In addition, the highest climacteric peak in passion fruits occurs while the fruit is still attached to the plant (Biale, 1975). Ethylene is a gaseous plant hormone which plays an important regulatory role in various plants growth and development processes include fruit ripening (Yang and Hoffman, 1984). In Taiwan, passion fruit usually harvested after naturally drop to the ground (ground-harvest) which may lead to high possibility of soil-born infection. In addition, some rumors said that ground-harvest has less sour than tree-harvest. Therefore, the purpose of this study is to investigate the quality of passion fruit in different development stages and established the harvest maturity index of passion fruit.

## Material and Methods

### 1. Fruit sampling

'Tainung No.1' passion fruit growth pattern of was investigated in Puli county, Taiwan. During flowering season, 200 flowers were labeled, the fruit size (length, width, and weight) was measured and the pictures of the fruit appearance (inner and outer) were taken at one-week intervals with 10 fruits per replicates.

### 2. Quality analysis

The fruit was cut into halves and the juice was taken by squeezing the pulp using two-layered cotton gauze. Total soluble solid (TSS) of the juice was measured by using hand-held refractometer. Tritatable acidity (TA) was determined by using titration method to pH 8.2 with 0.1N NaOH. Organic acid composition was determined by using high performance liquid

chromatography (HPLC) with Mightysil RP-180 P 250-4.6, 5  $\mu\text{m}$  column (Cica reagent Japan). Mobile phase pH was adjusted into pH 2.4 using 2 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , flow rate 0.8 ml/min, measured at 220 nm and detected using Hitachi L-7400 UV detector and signal was recorded by Hitachi D-200 Chromato integrator. Standards include 0.1% malic acid, 0.1% tartaric acid, 0.1% oxalic acid, 0.01% ascorbic acid and 0.1% citric acid. Ten replicates were performed for each measurement.

### 3. Ethylene production and respiration rate

Ethylene production was measured everyday by using continuous flow rate system. Two passion fruits were put into a 1 L chamber with an air flow rate of 1 L/hr. From each chamber, 1 ml of air was collected and analyzed by Gas Chromatograph, Shimadzu Model GC-8A with temperatures of injection port, column, and detector were set at 130, 90, and 130 $^{\circ}\text{C}$ , respectively. Respiration rate was determined by using IR-analyzer, Maihak, Model UNOR610.

### 4. Statistical analysis

The data of the experiment underwent statistical analysis using SAS 9.2 (Institute Inc, 2002) and was subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) for a completely randomized design (CRD) statistical model. Mean values among treatments, when significant, were compared by least significant difference tests at the 5% ( $P \leq 0.05$ ) level of significance.

## Results

The fruits were picked up randomly every week after anthesis and measured. Figure 1 showed the skin color was green at weeks 1-7 after anthesis and began to change into purple at weeks 8 after anthesis. Furthermore, the pulps' color was white at second weeks and began to change into light yellow to dark yellow or orange at third weeks. The seed's color started to change from white to black color and the fruit became juicy at four weeks after anthesis. The peel thickness enlarged from weeks 2-7 after anthesis then became thinner during ripening at weeks 9-10 after anthesis (Fig. 1). The fruits' size (width, height and weight) increased rapidly and reached a maximum value within 2 weeks after anthesis and then remained constant till ripening (Fig. 2). During maturation, the total soluble solid constantly increased till the end of observation (weeks 10) (Fig. 3). The titratable acidity reached a peak value at 6 weeks after anthesis and then decreased rapidly till ripening (Fig. 3).

When harvested at six weeks after anthesis, the fruit began to produce ethylene at 5 days after harvest and reached the highest peak at 10 days. In 7 week-old fruit, ethylene production started at 6 days after harvest and increased gradually. The 8-week-old fruit produced ethylene at 4 days after harvest and slightly increased in the following days. The 9- and 10-week-old fruits



Fig. 1. Changes in the external and pulp appearance of 'Tainung No.1 ' passion fruit during growth and development.

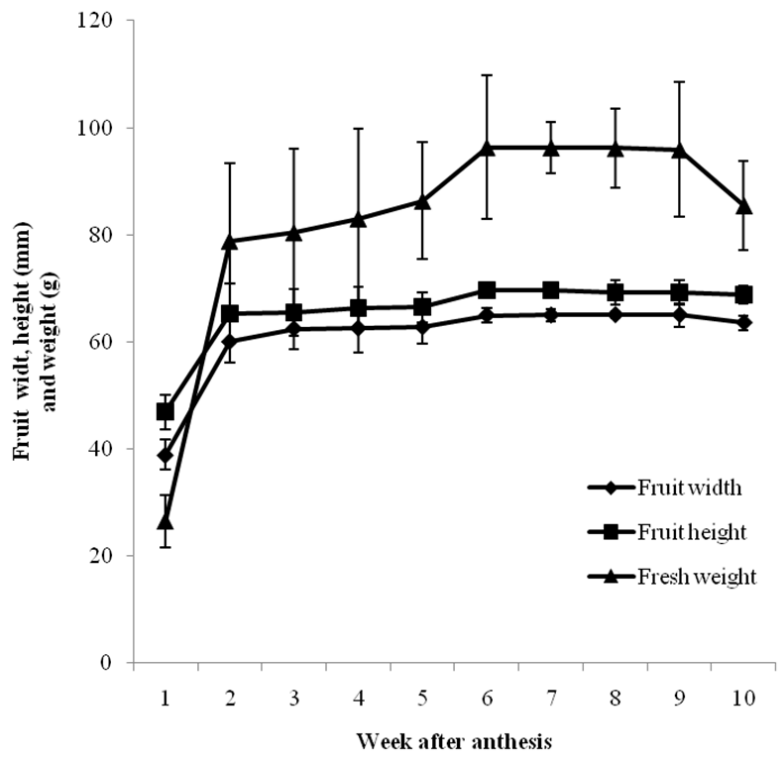


Fig. 2. Changes in fruit width (mm), height (mm) and fresh weight (g) of 'Tainung No.1' passion fruit during growth and development.

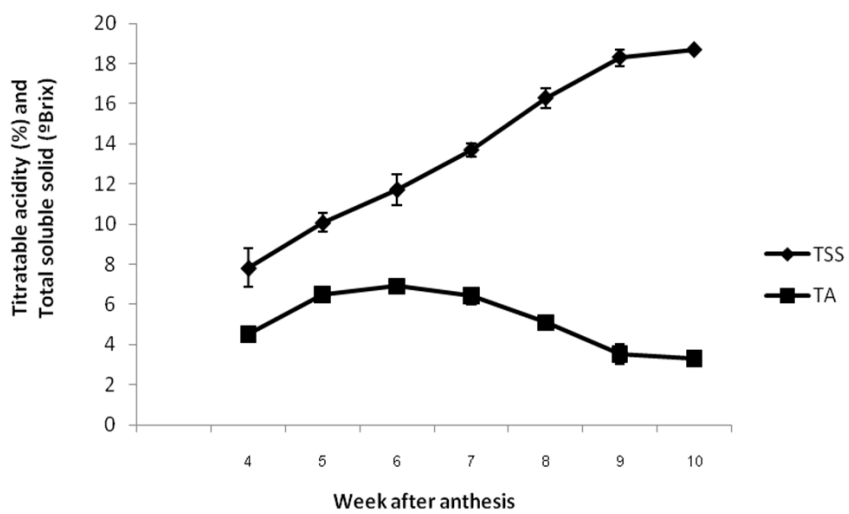


Fig. 3. Changes in titratable acidity (TA) and total soluble solid (TSS) of 'Tainung No.1' passion fruit during growth and development.

showed the highest ethylene production at the first day after harvest and began to decrease for the following days. Comparison of the ethylene production rate among fruits at different stage of maturity showed that fruit harvested at weeks 6, 9 and 10 after anthesis had higher ethylene production. The 6-week-old fruit has a respiration rate of about 42 mlCO<sub>2</sub>/ kg hr at the first day after harvest and decreased to 22 mlCO<sub>2</sub>/ kg hr at 11 days after harvest. The 7 week-old fruit reached a peak respiration rate at 7-9 days after harvest. The 8 week-old fruit showed a respiration peak at day 7 after harvest (38 mlCO<sub>2</sub>/ kg hr) then decreased drastically in the next day and remained constant (14-15 mlCO<sub>2</sub>/ kg hr) thereafter. The 9-week-old fruit had the highest respiration rate at day 2 and 3 after harvest then decreased gradually until day 11 (39 to 21 mlCO<sub>2</sub>/ kg hr). The 10-week-old fruit had the highest respiration rate at day 1 and began to decrease until day 11 after harvest (Fig. 4).

In passion fruit, citric acid was the main organic acid followed by oxalic acid. The contents of citric acid gradually increased from week 4 and reached the highest peak at week 7 (5.688%) after anthesis then decreased during late developmental stages. The reverse result was found in malic acid content where its content gradually decreased at early developmental stages and increased at late developmental stages.

## Discussion

The cumulative growth curves of passion fruit have the characteristic of a single sigmoid growth (Fig. 3). A similar pattern of purple and yellow passion fruit was also reported by Ildo and Gazit (1993); Shiomi *et al.*, (1996a), and Enamorado *et al.*, (1995). Moreover, passion fruit had grown faster (Akamine *et al.*, 1957; Gacchanja and Gurnah, 1981) within 2 weeks after anthesis (Fig. 2) suggested that the cell division and expansion was completed within 2 weeks after anthesis as indicated by the complete seed formation and maturation (Fig. 1). A similar pattern also could be found in tomato by using cross section observation (Gillaspy *et al.*, 1993). In addition, auxin and gibberellins (GAs) played an important role in cell expansion and could be found in surrounding cell and seeds (Gillaspy *et al.*, 1993). These hormones regulated several enzymes related to cell/organ growth such as endo-1, 4- $\beta$ -glucanase (EGases) or expansin for cell wall conformation during fruit development in tomato and grape berry (Brummell *et al.*, 1997; Ishimaru *et al.*, 2007).

The total soluble solid gradually increased till week 9 after anthesis (Fig. 4). Similarly, Enamorado *et al.* (1995) reported that total soluble solid peaked at 63 days after flowering in yellow passion fruit. The fruit juice began to accumulate at 4 weeks after anthesis and the fruit

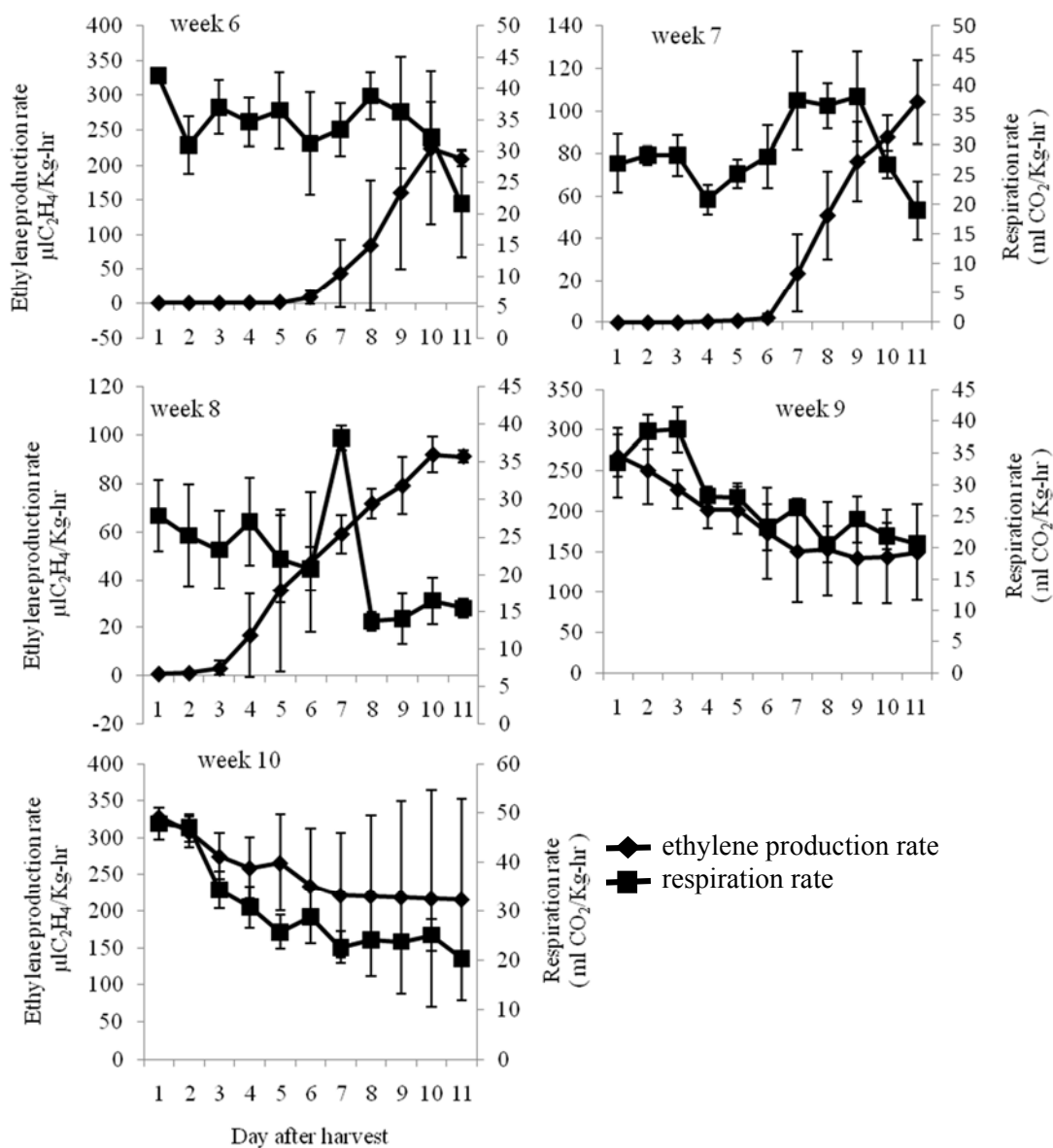


Fig. 4. Changes in ethylene production rate and respiration rate of 'TainungNo.1' passion fruit after harvested at various stages of maturity.

pulp color changed from yellow to orange at 8 weeks after anthesis (Fig. 1). Shiomi *et al.* (1996a) reported that the fruit juice began to accumulate 30 days after anthesis and fruit skin color changed from green to purple at about 60 days after flowering while specific aroma appeared as fruit matured. Titratable acidity reached a peak 6 weeks after anthesis followed by a rapid decrease (Fig. 4). This result showed a concomitant pattern that had been reported by Shiomi *et al.* (1996a) in purple passion fruit. Organic acid measurement using HPLC showed that major organic acids include oxalic acid, malic acid, ascorbic acid and citric acid (Table 1). Chan *et al.* (1972) studied organic acid in passion fruit also found that malic acid, ascorbic acid and citric acid were present in passion fruits. Moreover, among these organic acids, citric acid was the most abundant in passion fruit similar to what Shiomi *et al.* (1996b) has reported. Comparison of titratable acidity and total organic acid content (Fig. 2 and Table 1) showed that they were unequal suggesting the presence of other organic acids in it, though the contents were relatively less. During late developmental stages, malic acid decreased drastically within 1 weeks (from week 7 to 8 after anthesis) indicating that fruit began to enter the ripening stage.

In contrast, the ethylene production and respiration rate determined among various developmental stages showed that fruits harvested at 6-8 weeks after anthesis still required several days (about 2 to 5 days) to enter the climacteric peak, whereas those harvested at 9 and 10 weeks after anthesis had decreased trend of ethylene production after harvesting (Fig. 4). Interestingly, the ethylene production rate reached the highest when the fruit was ripened (9 and 10 weeks after anthesis) on the vine (Fig. 4) which might be related to different maturation in various parts of fruit tissue. According to Shiomi *et al.* (1996b), studies of observation in ethylene production at different stages of fruit maturity showed that all fruit tissues (seed, aril and peel) were able to produce ethylene. However, the ethylene production in different tissues did not happen at the same time (Shiomi *et al.*, 1996b) which may explain why different amount of ethylene was produced at different harvest date. For harvest maturity selection, it is not recommended to harvest at week 6 and 7 due to high percentage of titratable acidity (Fig. 3) which might affect the consumers' acceptance (Harker *et al.*, 2002; Marsh *et al.*, 2004). Overall, the best harvest time for 'Tainung No.1' passion fruit was at 8 weeks after anthesis.

Table 1. Changes in organic acid content of 'Tainung No.1 ' passion fruit during growth and development. Means within a column followed by the same letter are not significantly different by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

Weeks after anthesis	Organic acid (%)			
	Oxalic acid	Malic acid	Ascorbic acid	Citric acid
4	0.097 a	0.848 a	0.025 b	1.658 c
5	0.079 c	0.742 b	0.045 a	1.746 c
6	0.075 c	0.474 c	0.022 b	1.995 b
7	0.084 b	0.447 c	0.018 c	5.688 a
8	0.045 e	0.414 c	0.017 c	2.086 b
9	0.054 d	0.796 b	0.026 b	2.103 b
10	0.044 e	0.964 a	0.028 b	1.287 d

### Reference

- Akamine, E. K., R. E. Young, and J. B. Biale. 1957. Respiration and ethylene production in the purple passion fruit. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 69: 221-225.
- Biale, J. B. 1975. Synthetic and degrading process in fruit ripening. In: N. F. Haard and D. K. Salunkhe (eds) *Postharvest. Biol. Handling. Fruits Veg. Symp.*, AVI Pub., Westport CT, pp. 5-18.
- Brummell, D. A., Bird, C. R., Schuch, W., and Bennett, A. B. 1997. An endo-1,4- $\beta$ -glucanase expressed at high levels in rapidly expanding tissues. *Plant Mol. Biol.* 33: 87-95.
- Chan, H. T., S. Nagy and P. E. Shaw. 1980. Passion fruit. In *Tropical and Subtropical Fruits*. AVI, Westport, Corm. pp. 300-315.
- Chan, H. T. Jr., T. S. K. Chang, and E. Chenchin. 1972. Nonvolatile acids of passion fruit juice. *J. Agr. Food and Chem.* 20: 110-112
- Chandler, W. H. 1958. *Evergreen orchards. The papaya and the passion fruit*. Lea and Febiger, Philadelphia U.S.A. pp. 292-310
- Enamorado, H. E., P. Finger, F. L. Barros, R. S., and R. Pushmann, 1995. Development and ripening of yellow passion fruit. *J. Hort. Sci.* 70:573-576.
- Gachanja, S. P. and A. M. Gurnah. 1978. Flowering and fruiting of purple passion fruit at Thika. *East Afr. Agric. For. J.* 44: 47-51.

- Gillaspy, G., H. Ben-David, and W. Gruissem. 1993. Fruits: A developmental perspective. *Plant Cell*. 5: 1439-1451.
- Harker, F. R., K. B. Marsh, H. Young, S. H. Murray, F. A. Gunson, and S. B. Walker. 2002. Sensory interpretation of instrumental measurement 2: sweet and acid taste of apple fruit. *Postharvest Biol Technol*. 24: 241-250.
- Ildo, E. and S. Gazit. 1993. Growth development and maturation of the purple (*passiflora edulis* Sims.) the whole fruit. *Pesq. agropec. bras., Brasillia*. 28:1195-1199.
- Ishimaru, M., D. L. Smith, K. C. Gross, and S. Kibayashi. 2007. Expression of three expansin genes during development and maturation of Kyoho grape berries. *J. Plant Physiol* .164: 1675-1682.
- Kishore, K. K., A. Pathak, and R. Shukla. 2011. Effect of storage temperature on physic-chemical and sensory attributes of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *J. Food Sci. Technol*. 48: 484-488.
- Marsh, K., S. Attanayake, S. Walker, A. Gunson, H. Boldingh, and E MacRae. 2004. Acidity and taste in kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol*. 32: 159-168.
- Pruthi, J. S. 1963. Physiology, chemistry and technology of passion fruit. *Adv. Food Res*. 12: 203-282
- Rodriguez-Amaya, D. B. and M. Kimura. 2004. Harvest plus handbook for carotenoid analysis. Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT). pp. 1-56.
- Shiomi, S., L. S. Wamocho, and S. G. Agong, 1996a. Ripening characteristics of purple passion fruit on and off the vine. *Postharvest Biol. Technol*. 7: 161-170.
- Shiomi, S., Y. Kubo, L. S. Wamocho, H. Koaze, R. Nakamura, and A. Inaba. 1996b. Postharvest ripening and ethylene biosynthesis in purple passion fruit. *Postharvest Biol. and Technol*. 8: 199-207.
- Yang, S. and N. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol*. 35:155-189.

## '台農 1 號'百香果果實(*Passiflora edulis* Sims)之 生長與發育

舒 瓊 冰<sup>1)</sup> 謝 慶 昌<sup>2)</sup> 林 慧 玲<sup>3)</sup> 尤 澤 森<sup>4)</sup>

關鍵字：果實大小，總可溶性固形物、可滴定酸、有機酸、呼吸率、乙烯釋放率

**摘要：**'台農 1 號'是台灣主要的百香果品種。本實驗在百香果人工授粉後，每週調查生長發育情形。果實在兩週內快速生長，並達到最大的果實大小；授粉後四週果實呈現多汁狀態，且在授粉八週後果皮開始轉色。在發育期間，總可溶性固形物逐漸上升。另外，授粉後第六週，可滴定酸達到最高峰，然後逐漸下降；授粉後六到八週採收，此時百香果的乙烯釋放率和呼吸率有上升的趨勢，並出現更年期高峰。然而，授粉後九到十週採收的百香果，呼吸率和乙烯釋放速率會下降，推測應是這個期間果實已經完熟進入更年期後期。綜合上述結果，'台農 1 號'百香果在授粉後八週為最適採收成熟度，具有良好的採收後品質。

- 
- 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。
  - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。
  - 4) 國立中興大學園藝學系博士班學生。



## 蓮霧(*Syzygium samarangense* Merr. et Perry)之 落蕾及生理落果

黃基倬<sup>1)</sup> 李金龍<sup>2)</sup> 楊耀祥<sup>3)</sup>

關鍵字：催芽、萌芽、樹冠、花蕾

**摘要：**本研究調查粉紅種蓮霧之落蕾及生理落果，發現其花芽在催芽後 5 日萌發，樹冠上層花芽之萌發較中、下層早 2~3 日，樹冠外部則較內部早 5 日。樹冠下層內部之落蕾率為 26.5%，較其他部位落蕾率高。萌芽後 6 週內有 42% 落蕾，其中第 3 週之週落蕾率最高，有 12.5%；花穗基部之落蕾率於萌芽後 1.4 週即達 49%，中層於 3.6 週為 13.6%，頂層於 6 週為 2.5%，早期大量落蕾多為基部的花蕾。在生理落果方面，盛花後第 2 週之落果率為 11%，此為第一次落果高峰，多為果穗基部之幼果，第二次落果高峰則發生於第 5 週，其落果率為 5%，此時落果多為果穗中段及頂部。

### 前 言

蓮霧(*Syzygium samarangense* Merr. et Perry)為台灣重要的熱帶果樹，自從產期調節技術建立後，盛產期可由 5~7 月提早或延後至 12~4 月間(王, 1983; 1991; Shü *et al.*, 2006)，由於生產期改變，常見落蕾、生理落果之現象，降低其產量與品質。同屬常綠果樹之酪梨(Garner and Lovatt, 2008)、芒果(Malik and Singh, 2006)、柑橘(Ruiz *et al.*, 2001)、荔枝(Mitra *et al.*, 2005)及橄欖(Rapoport and Rallo, 1991)亦常見落花及落果之現象，除造成減產外，更增加隔年結果及樹勢衰弱等問題(Misra and Uniyal, 2012)。在國內蓮霧落果上之研究，多以成熟果之落果為主(Lai *et al.*, 2001; 黃等, 2005)；在國外研究上，馬來西亞 Khandaker 等人(2011; 2012)曾以環剝、噴施勃激素(GA<sub>3</sub>)或過氧化氫(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)探討其對當地品種'Madu'之

- 
- 1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。
  - 2) 國立中興大學講座教授。
  - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

落花及成熟期落果之影響，但並未調查落蕾及生理落果。本研究係以台灣主要蓮霧品種粉紅種為材料，調查花果生育期間之落蕾及生理落果，期以該結果作為栽培管理之參考。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

利用屏東縣東港鄉莊姓農友之粉紅種蓮霧園為調查果園，其行株距為 6m×6m，樹形為多幹自然形，修剪方式採輕度修剪，栽培以慣行方法管理。在 2008 年選擇樹勢中等之 15 年生自根樹 12 株，5 月底完成修剪，修剪後 21 日，以 95% 遮光網覆蓋樹冠 35 日，再於 7 月 26 日以 200 倍速滅松乳劑噴施全樹催芽，催芽後調查其落蕾及生理落果。

### 二、調查項目及方法

#### (一) 落蕾

##### 1. 樹冠不同位置之落蕾

選用 6 株供試，依樹冠高度及內外部予以區分，樹冠高度區分為上層 (>2.5m)、中層 (1.5~2.5m) 及下層 (地面~1.5m)；樹幹為中心四周 1.5m 內為樹冠內部，樹幹 1.5m 外為外部；將其區分為上層外部、上層內部、中層外部、中層內部、下層外部及下層內部等六個樹冠位置 (圖 1)。在不同位置內各選擇 60 個生長勢相近之芽體，先調查芽體萌發為花芽所需時間，以目視可辨別為花芽時，記錄花芽所佔比例達 50% 時之時間。之後於不同位置上各標定 30 個花穗，每花穗具有 5 個花蕾，調查萌芽後第 6 週時之花蕾脫落總量，計算其落蕾率。

##### 2. 花穗上不同位置花蕾之脫落

在萌芽後 1 週，於樹冠下層外部，選取 40 串生長相近的花穗為材料，每串花穗上有 5 個花蕾，將其區分為花穗頂部、中段及基部三種部位 (圖 2 左)。在萌芽後第 1 週至第 6 週，調查不同位置花蕾之脫落率及脫落時間。

#### (二) 生理落果

##### 1. 生理落果率

選用 6 株供試，於盛花期間，在其下層外部選取 40 串開花期相近的果穗為材料，以其花穗達 60% 開花之日期為盛花日，每個果穗上具有 5 個果實，調查盛花後 6 週內之每週落果情形。

##### 2. 果穗上不同位置之果實脫落

利用中等樹勢樹冠下層外部果穗為材料，選取 40 串生長相近的果穗為材料，每串果穗具有 5 個果實，將其區分為頂部、中段及基部三個部位 (圖 2 右)。調查不同果位果實之落果率及脫落時間。

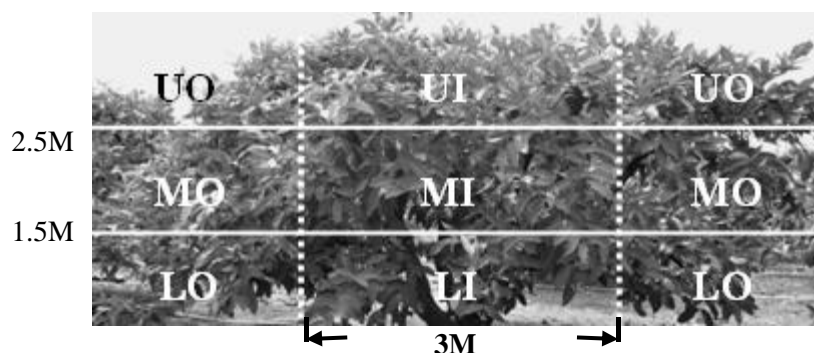


圖 1. 粉紅種蓮霧樹冠位置之區分。UO：上層外部，UI：上層內部，MO：中層外部，MI：中層內部，LO：下層外部，LI：下層內部。

Fig. 1. Canopy parts of wax-apple cv. Pink. UO: Upper outside, UI: Upper inside, MO: Middle outside, MI: Middle inside, LO: Lower outside, LI: Lower inside.

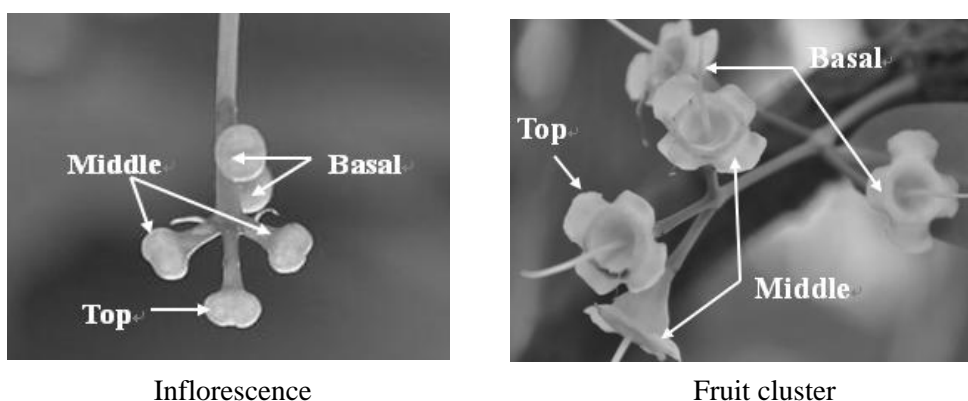


圖 2. 粉紅種蓮霧花蕾(左)及幼果(右)位置之區分。

Fig. 2. Flower bud (left) and young fruit (right) position of wax-apple cv. Pink.

## 結 果

### 一、花蕾發育與落蕾

#### (一)花芽萌發與花蕾發育

蓮霧樹經催芽後，樹冠上層外部之花芽於 5.7 日時萌發，內部為 10.5 日；中層外部為 8.5 日，內部為 12.5 日；下層外部之花芽於 9 日時萌發，內部則需 14.5 日萌發(圖 3)。催芽後上層花芽較中、下層早 2~3 日萌發，外部則較內部早。由於下層外部之花芽萌發時間

為中間值，其後以該部位花芽為樣品，作為花芽生育、花蕾發育、落蕾與生理落果調查之取樣部位。在花芽發育過程中，其花梗伸長外，花蕾寬度亦逐漸增大，在萌芽後 21 日(催芽後 26 日)，花軸長可達 2cm 以上，花蕾寬度可達 0.3cm 以上。

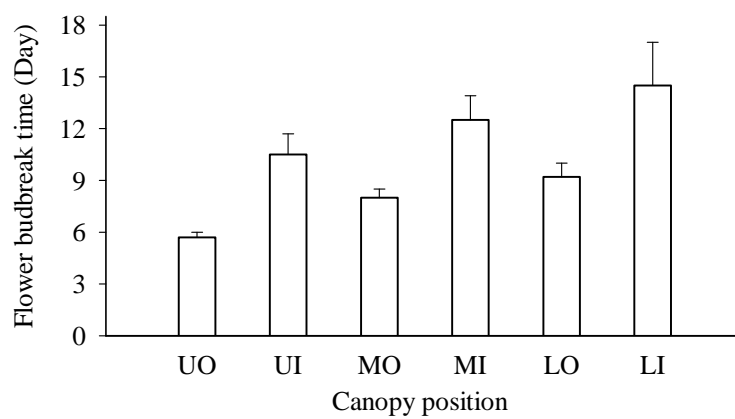


圖 3. 粉紅種蓮霧催芽後之花芽萌發時間。I：標準誤差。

Fig. 3. Flower bud break time after bud forcing in different position of canopy in wax-apple cv. Pink. Bar shows standard error.

## (二)落蕾

萌芽後第 6 週時，樹冠下層內部之落蕾率為 26.5%，較其外部之落蕾率 11% 為高，中層內部為 18%，外部為 8%，上層內部 12.5%，上層外部為 3%；下層之落蕾率亦較中層及上層為高(圖 4)。樹冠下層外部之落蕾經調查結果發現，其累積落蕾率在萌芽後第 1 週為 9%，第 2 週則增為 18%，第 3 週為 29%，第 4 週達 39%，第 5 週及第 6 週分別為 42% 及 43%(圖 5)。至於每週之落蕾率，在萌芽後第 1 週為 9%，第 2 週為 8%，第 3 週增加至 13% 為最高，第 4 週為 11%，第 5 週則降為 4.5%，第 6 週為 1.8%(圖 6)。由以上結果可知，不同樹冠位置之落蕾與其花芽萌發時間早晚有關，晚萌發之花芽常有較高之落蕾率。

花穗上不同位置落蕾之調查結果發現，頂部之花蕾不易脫落，其在第 6 週之落蕾率僅有 2.5%，中段之落蕾率於萌芽後第 3.6 週為 13.6%，而基部之花蕾則易脫落，其於萌芽後 1.4 週之落蕾率即達 49%(表 1)，明顯較其他位置之花蕾早脫落。

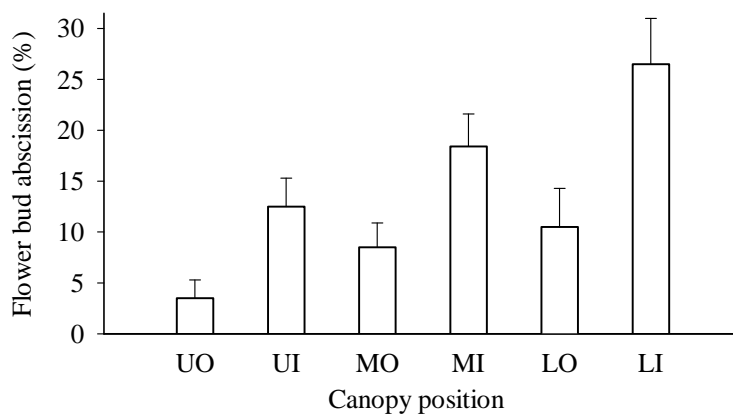


圖 4. 粉紅種蓮霧萌芽後第 6 週不同樹冠位置之落蕾率。I：標準誤差。

Fig. 4. Percentage of flower bud abscission at the 6th week after budbreak in different position of canopy in wax-apple cv. Pink. Bar shows standard error.

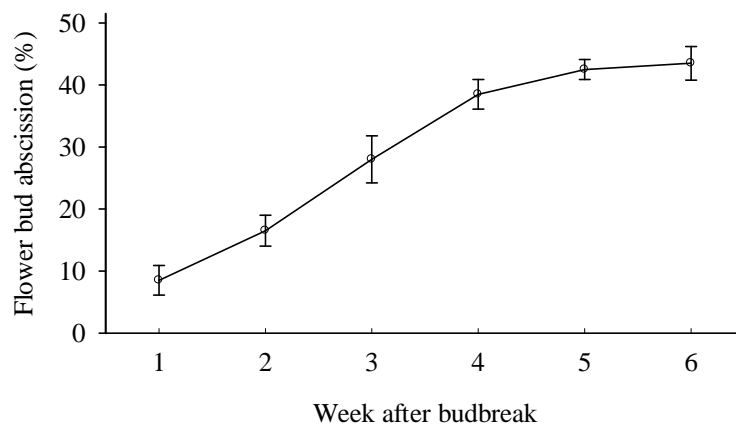


圖 5. 粉紅種蓮霧萌芽後累積落蕾率之變化。I：標準誤差。

Fig. 5. Accumulate percentage of flower bud abscission after budbreak in wax-apple cv. Pink. Bar shows standard error.

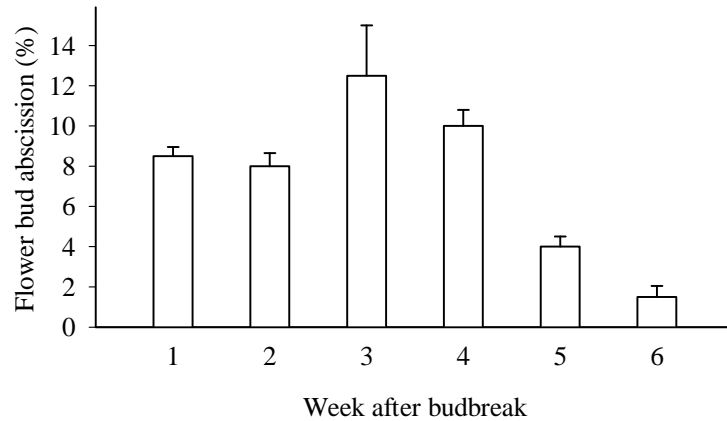


圖 6. 粉紅種蓮霧催芽後每週落蕾率之變化。I：標準誤差。

Fig. 6. Weekly percentage of flower bud abscission after budbreak in wax-apple cv. Pink.

Bar shows standard error.

表 1. 粉紅種蓮霧不同花穗部位之落蕾率及脫落時間。

Table 1. Percentage and time of flower bud abscission in different position of inflorescence in wax-apple cv. Pink.

Flower bud position in inflorescence	Flower bud abscission (%)	Flower bud abscission time (Weeks after bud break)
Top	2.5a <sup>z</sup>	6.0 b
Middle	13.6b	3.6 a
Basal	49.0c	1.4 a

z: Means in each column followed by the same letter do not differ significantly by LSD test at the 0.05 levels.

## 二、生理落果

### (一)生理落果率之變化

盛花後生理落果率之調查結果發現，盛花期並無落果之現象，在盛花後 1 週之落果率為 6%，第 2 週則突增加至 17%，第 3~4 週則為 23%，第 6 週則微增至 28%(圖 7)。另由每週落果率調查結果可知，落果具有 2 個高峰，第一次為盛花後第 2 週，落果率為 11%；第二次則在盛花後第 5 週，落果為 5%(圖 8)。

(二)果穗上不同位置果實之脫落

由調查結果發現頂端之幼果較不易脫落，生理落果率為 12.5%，幼果脫落之時間為盛花後 5.6 週；至於中段之落果率，則增加至 26.9%，脫落之時間提早在盛花後 3.2 週發生；至於基部之幼果，為最近於葉片或結果主枝條者，其落果率為最高的 39.3%，且脫落時間提早在盛花後第 2 週(表 2)。

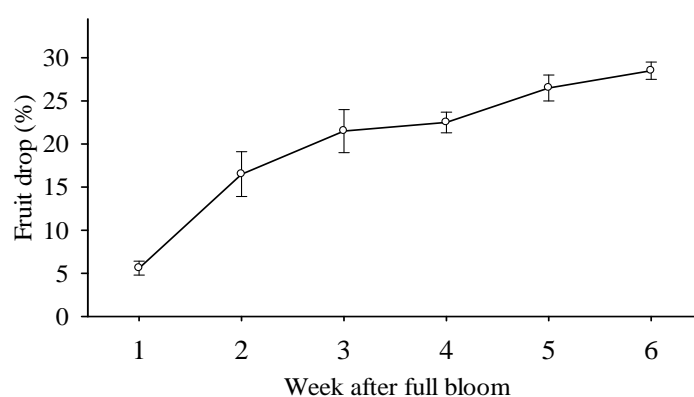


圖 7. 粉紅種蓮霧盛花後累積生理落果之變化。I：標準誤差。

Fig. 7. Accumulate percentage of physiological fruit drop after full bloom in wax-apple cv. Pink. Bar shows standard error.

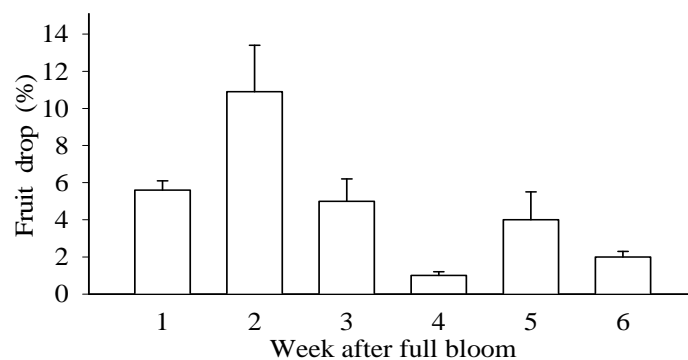


圖 8. 粉紅種蓮霧盛花後週生理落果變化。I：標準誤差。

Fig. 8. Weekly percentage of physiological fruit drop after full bloom in wax-apple cv. Pink. Bar shows standard error.

表 2. 粉紅種蓮霧不同果穗部位之生理落果率及脫落時間

Table 2. Percentage and time of physiological fruit drop in different position of cluster in wax-apple cv. Pink.

Fruit position in cluster	Physiological fruit drop (%)	Physiological fruit drop time (Weeks after full bloom)
Top	12.5 a <sup>z</sup>	5.6 c
Middle	26.9 b	4.5 b
Basal	39.3 c	2.0 a

z: Means in each column followed by the same letter do not differ significantly by LSD test at the 0.05 levels.

## 討 論

### 一、花芽萌發與落蕾

本試驗之供試樹，經修剪後以促進其枝梢之更新，但因該果園為自然多幹形管理模式，修剪後之新梢，多在樹冠之外部，其經遮光及催芽後發現，花芽主要萌發自 2 個月之新梢，尤以頂芽為主要位置，該結果與賴及楊(2009)之試驗結果相近。在花芽萌發上，樹冠上層花芽之萌發速度較中、下層之花芽為早，樹冠外部花芽之萌發速度又較內部快。花芽約於催芽後 5 日，可目視頂芽或頂側芽萌發。有關外部較內部具有較快萌發之原因，係修剪後促成外部有較多之新梢生長有關，再者樹冠外部光線充足及藥劑噴佈均勻，促進或刺激花芽較易萌發。至於樹冠上層花芽之萌發亦較中層及下層快速，也可能為同上之理。至於落蕾率之調查結果，發現萌芽後 6 週有高達 43% 之落蕾率，意為落蕾係為降低蓮霧產量之重要因素之一，催芽後第 2~4 週間有明顯落蕾，其中第 3 週之落蕾率達 12.5% 為最高，此時期花蕾外觀狀如綠豆，花穗穗軸總長達 3cm，花蕾寬達 0.3cm 以上。

酪梨及柑橘等常綠果樹，落花與落果之行為常發生於盛花期之後(Garner and Lovatt, 2008; Ruiz, 2001)。蓮霧之落蕾則發生於萌芽後 2~3 週期間，此時為花芽發育之初期即發生脫落行為，與上述果樹於盛花後之產生脫落不同，推測蓮霧經產期調節後，因花芽容易先後持續大量萌發，造成花芽之間互相競爭營養，而容易發生落蕾。另由樹冠下層外部之累積落蕾率及花穗上不同位置之落蕾，亦發現花穗基部的花蕾為最易脫落者，位於中段之花蕾脫落速度次之，頂部花蕾則不易脫落，此與頂端位置具有優勢有關(Bangerth, 2000; Bangerth *et al.*, 2000)。另就花芽分化過程而論，以單花穗具有 5 個花蕾之聚繖花序特性者，整體花穗由基部往上分化，但就中間部分則為一小單位花原體，其分化則由頂部向基部分化(楊等, 1989)，因此頂部之花蕾較不易脫落。

### 二、生理落果

蓮霧在盛花後，花托部逐漸發育為果實(楊等，1989)，但也非全數均能正常發育，其在盛花後常有未熟果發生脫落現象，稱之為生理落果，本試驗調查發現，盛花期間之花托並無落果之現象，生理落果於盛花後較為明顯，由每週生理落果率可知其具有兩個落果高峰，第一次發生於盛花後第2~4週，其中第3週生理落果率最高；至於第二次落果高峰，則發生於第5週。該發生生理落果的波相在荔枝(Mirta *et al.*, 2005)、芒果(詹，2000)、柑橘(Rui *et al.*, 2001)及酪梨(Garner and Lovatt, 2008)雖呈相似之現象，但其原因並不相同，因蓮霧係由花托肥大而成，其果肉之細胞分裂在盛花前一週已完成(羅，2008)，亦無授粉及受精之問題，可能與蘋果之中央果具有較強營養競爭力(Bukovac *et al.*, 2008)相似，因此造成中段及基部果容易脫落；另外蓮霧在此時又值催芽後第二次梢之萌發與伸長，而造成果實與新梢競爭營養，或果實附近因新梢大增而導致光照減弱，影響葉片之光合成。

## 參 考 文 獻

- 王德男。1983。促進蓮霧提早開花調節產期之研究-2.化學藥劑及耕作處理對蓮霧催花效果之研究。中華農業研究 32: 129-138。
- 王德男。1991。台灣蓮霧栽培之過去與前瞻。台灣果樹之生產及研究發展研討會專刊。農業試驗所嘉義分所 pp. 339-355。
- 黃基倬、王德男、劉政道。2005。利用修剪及覆蓋處理降低與防範蓮霧之寒害。作物、環境與生物資訊 2(1): 73-80。
- 楊儒民、林宗賢、王德男、李金龍。1989。蓮霧芽體形態發育之研究。中國園藝 35(4): 247-260。
- 詹瑞福。2000。椪果著果、果實生育與生理劣變。國立台灣大學碩士論文。19 pp.。
- 賴榮茂、楊耀祥。2009。遮光對蓮霧催花之影響。興大園藝 22(2): 1-15。
- 羅慧萍。2008。蓮霧果實發育及裂果之研究。國立中興大學博士論文。35 pp.。
- Bangerth, F. 2000. Abscission and thinning of young fruit and their regulation by plant hormones and bioregulators. *Plant Growth Regulation* 31: 43-59.
- Bangerth, F., C. J. Li, and J. Gruber. 2000. Mutual interaction of auxin and cytokinins in regulating correlative dominance. *Plant Growth Regulation* 32: 205-217.
- Bukovac, M. J., P. Sabbatini, P. G. Schwallier, and M. Schroeder. 2008. Characterizing the interaction between NAA and BA on apple fruit abscission and development. *HortScience* 43(6): 1794-1801.
- Garner, L. C. and C. J. Lovatt. 2008. The relationship between flower and fruit abscission and alternate bearing of 'Hass' avocado. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133(1): 3-10.
- Khandaker, M. M., A. N. Boyce, O. Normaniza, and A. Hossain. 2011. Growth, yield and quality

- responses to gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) of wax apple *Syzygium samarangense* var. Jambu air madu fruits grown under field conditions. *Afr. J. Biotechnol.* 10(56): 11911-11918.
- Khandaker, M. M., A. S. Hossain, N. Osman, and A. N. Boyce. 2011. Application of girdling for improved fruit retention, yield and fruit quality in *Syzygium samarangense* under field conditions. *Int. J. Agric. Biol.* 13: 18-24.
- Khandaker, M. M., A. N. Boyce, and N. Osman. 2012. The influence of hydrogen peroxide on the growth, development and quality of wax apple (*Syzygium samarangense*, [Blume] Merrill & L. M. Perry var. *Jambu Madu*) fruits. *Plant Physiol. Biochem.* 53: 101-110.
- Lai, R. R., S. P. Yo, Y. M. Hsu, and C. C. Lin. 2001. Hydrogen peroxide application reduced fruit abscission on chilling-stressed *Syzygium samarangense* Merr. et Perry. *Gartenbauwissenschaft* 66(6): 289-292.
- Malik, A. U. and Z. Singh. 2006. Improved fruit retention, yield and fruit quality in mango with exogenous application of polyamines. *Sci. Hort.* 110: 167-174.
- Misra, K. K. and S. Uniyal. 2012. Causes and control of fruit drop in fruit crops. *Environment & Ecology* 30(3): 537-543.
- Mitra, S. K., L. S. Pereira, P. K. Pthak, and D. Majumdar. 2005. Fruit abscission pattern of lychee cultivars. *Acta Hort.* 665: 215-218.
- Rapport, H. F. and L. Rallo. 1991. Postanthesis flower and fruit abscission in 'Manzanillo' olive. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(4): 720-723.
- Ruiz, R., A. Garcia-Luis, C. Monerri, and J. L. Guardiola. 2001. Carbohydrate availability in relation to fruitlet abscission in *Cirus*. *Ann. Bot.* 87: 805-812.
- Shü, Z. H., Z. Menon, R. Tirtawinata, and C. Thanarut. 2006. Wax-apple production in selected tropical Asian countries. *Acta Hort.* 773: 161-164.

## Flower Bud Abscission and Physiological Fruit Drop in Wax-apple(*Syzygium samarangense* Merr. et Perry)

Chi-Cho Huang<sup>1)</sup> Ching-Lung Lee<sup>2)</sup> Yau-Shiang Yang<sup>3)</sup>

Key words: bud forcing, budbreak, canopy, flower bud

### Summary

Flower bud abscission and physiological fruit drop of wax-apple cv. Pink were investigated in this study. The result was show that the flower bud break in upper canopy was 2~4 days earlier than in middle and lower layer. Additionally, the flower bud break in outside part was 5 days earlier than inside. The percentage of flower bud abscission in lower layer of inside canopy was 26.5%, which was higher than other position.

After flower bud break, the total flower bud abscission reached 42% during 6 week, and highest percentage of weekly flower bud abscission was 12.5% in the 3rd week. Furthermore, the flower bud abscission in basal reached 49% in 1.4 weeks, and it also appeared earlier and had higher percentage than that in middle (13.6% within 3.6weeks) and top one (2.5% within 6 weeks).

For the percentage of physiological fruit drop , it was found that the first peak was 11% in the 2nd week after full bloom, mostly in the basal part of cluster; the second peak was 5% in the 5th week, of which were in middle and top parts of cluster.

---

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

2) Chair Professor, National Chung Hsing University.

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



## 由種子內基因及蛋白質表現看種子休眠 行為與發芽過程

葉虹伶<sup>1)</sup> 宋好<sup>2)</sup>

關鍵字：種子、休眠、發芽、蛋白質體學

**摘要：**參與種子休眠之因素複雜，目前已知許多不同功能之蛋白質皆於種子休眠及休眠解除過程中扮演重要角色，這些蛋白質同時受到調節種子休眠作用荷爾蒙 ABA 及 GA 之調控，休眠解除伴隨著種子內 ABA 含量及對 ABA 敏感性降低，同時種子內 GA 含量及對 GA 敏感性提升之過程，參與休眠作用蛋白質之功能包括貯藏性、構造成、參與能量利用、代謝作用、生長發育之蛋白，及參與訊息傳導甚至逆境反應之蛋白質，扮演調節及信息傳遞角色，過去十五年內對於種子休眠蛋白質體學上之研究進步快速，本文獻回顧藉由整理前人研究結果，試歸納種子休眠調控與發芽作用於基因及蛋白質層次之表現。

### 一、前言

種子休眠依作物不同可分為生理性休眠、型態性休眠、型態生理性休眠、物理性休眠及組合型休眠等(Baskin and Baskin, 2004; Savage and Metzger, 2006)，休眠為種子發芽現象受抑制，呈現發芽率低或發芽不穩定、不整齊等現象。以分子層次研究種子休眠包括轉錄體學、蛋白質體學及荷爾蒙調控等均牽涉其中，包括研究休眠及不休眠種子中轉錄子及蛋白質之表現，轉錄體學研究之對象為組織中所有轉錄子之表現，蛋白質體學研究之對象則為組織中所有蛋白質之表現(Finkelstein *et al.*, 2008)。近年來研究對於影響種子休眠之因素包括休眠相關基因、染色質及非酵素作用等有進一步了解，休眠作用之特徵為低代謝活性及對生長促進信號之暫時性不敏感(Graeber *et al.*, 2012)，調節種子休眠之基因可分為四類，種子成熟作用調節因子、荷爾蒙調節因子、種子休眠調節因子及染色質層次調節因子

---

1) 國立中興大學園藝系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

(Graeber *et al.*, 2012)。

種子成熟作用調節因子參與種子休眠作用之誘導，此作用於種子成熟階段完成，此時貯藏蛋白質累積，乾燥耐受性獲得，同時代謝作用活性進入靜止狀態，種子成熟作用期間參與調節之轉錄因子為 *ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3)*、*FUSCA 3 (FUS3)*、*LEAFY COTYLEDON 1 (LEC1)*及 *LEC2*，*ABI3* 目前已於燕麥及小麥測得類似基因(Jones *et al.*, 1997; Nakamura and Toyama, 2001)，某些調節因子藉由調節上述四種轉錄因子控制種子休眠作用(Graeber *et al.*, 2012)。

GA 及 ABA 對種子休眠及發芽調控扮演重要角色，其中參與調控之激酶 SNF1-related protein kinase (SnRK)家族中 SnRK2.2 及 SnRK2.3 對休眠作用、發芽時種子對 ABA 敏感度及相關基因表現具正向調節作用(Fujii *et al.*, 2007)，阿拉伯芥種子發育期間及種子休眠誘導時，SnRK2 家族中 SnRK2.2, SnRK2.3 及 SnRK2.6 具有傳導 ABA 訊息之功能(Nambara *et al.* 2010)，這些激酶的作用目標為 bZIP-type 轉錄因子，包括 *ABI5* 及 *ABSCISIC ACID RESPONSIVE ELEMENTSBINDING PROTEIN 3 (AREB3)*。

參與休眠作用調節之因子中，DELLA 蛋白參與種子休眠作用之調控，DELLA 蛋白為參與荷爾蒙調節種子休眠中，與 GA 及 ABA 拮抗作用產生交互影響之蛋白質(Achard and Genschik, 2009)，其為種子對 GA 反應之負調節因子，即具抑制 GA 作用之功能，相反地，GA 則藉由解除 DELLA 蛋白之限制促進發芽，GA 使其產生向下調節，ABA 則使其向上調節(Achard and Genschik, 2009)，目前已於水稻、大麥及阿拉伯芥中得知 *DELLA* 基因存在，其與 *RGA*, *GAI*,及 *RGL1* 共同影響種子發芽(Cao *et al.*, 2005)。DELLA 可能藉由限制水解酵素及細胞壁修飾酵素影響種子發芽，GA 則藉由促進水解作用解除其表現，阿拉伯芥休眠種子中具有與 ABA 合成、GA 分解作用及逆境反應相關之蛋白質，如胚發生晚期累積蛋白質及熱休克蛋白，同時轉譯能力受限制，休眠種子及不休眠種子於參與代謝作用及轉錄調節作用之基因表現有所不同，不休眠種子中表現之基因多為參與細胞組織化作用、生合成及水解作用之基因，有助於胚根萌發作用進行，且荷爾蒙代謝作用也轉換為以 ABA 分解(*CYP707A2*)及 GA 合成(*GA3ox2*)為主之基因表現(Finkelstein *et al.*, 2008)。

## 二、引起種子休眠作用之基因

已有許多研究證實種子內調節 ABA 或 GA 之生化合成使影響其敏感性，導致種子休眠現象之基因，目前已有部分種子休眠相關基因受證實，最初由阿拉伯芥種子選殖出的休眠數量性狀基因座(quantitative trait loci, QTL)為 *DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1)*，其編碼之蛋白質功能未明(Bentsink *et al.*, 2006)，阿拉伯芥以 *DOG1* 為誘導種子休眠之關鍵，水稻則以 *Seed dormancy 4 (Sdr4)*為休眠主要決定因素，*Sdr4* 位於細胞核中並影響 *DOG1-LIKE genes* 表現，相當於阿拉伯芥中 *DOG1* 之角色(Sugimoto *et al.*, 2010)，環境因子藉由影響基因表現如 *DOG1*，控制 ABA/GA 含量，進而影響種子休眠。單子葉植物與雙子葉植物休眠基因表現不盡相同(Graeber *et al.*, 2012)，阿拉伯芥種子中 *DOG1* 基因被認為是主要

影響種子休眠作用之基因，在獨行菜及油菜種子中亦發現類似基因，且兩者之啟動子均具有 RY repeat，與 *ABI3/VPI* 參與之休眠基因表現有關(Bentsink *et al.* 2006；Graeber *et al.* 2010；Nambara *et al.* 2010)，水稻中啟動子同樣具有 RY repeat 的基因為 *Sdr4*，同樣與休眠作用相關(Sugimoto *et al.* 2010)。

另一個與休眠作用相關之基因 *MFT* 則與 ABA 訊息傳遞及休眠誘導有關，可於小麥及阿拉伯芥中測得(Footitt *et al.*, 2011；Nakamura *et al.*, 2011)。利用高效定量 RT-PCR (high-throughput quantitative) 於阿拉伯芥種子測得兩個種子休眠調節因子，即屬於 C3HC4 環指蛋白(RING zinc finger protein)之 *DESPIERTO (DEP)*與 HDZip gene *ATHB20* (Barrero *et al.*, 2010)。

*AtNCED* (9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase)家族(*NCED6* 及 *NCED9*)於種子休眠誘導期間影響胚及胚乳中 ABA 之合成作用，目前已知與休眠維持作用相關之基因為 *NCED6*, *NCED9*, 及 *ZEP* (zeaxanthin epoxidase)，與 ABA 分解及休眠解除相關之基因則為 *CYP707A2*, GA 藉由轉換胚之發育狀態促進發芽作用進行，其媒介為染色質修飾因子 PICKLE (PKL)(Finkelstein *et al.*, 2008)。大麥種子中發現 *NCED* 基因表現與 ABA 引起之休眠作用有關(Leymarie *et al.* 2008)，二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)休眠種子內 ABA 含量較高，經後熟作用後 *NCED1* 基因表現增加，同時 ABA 含量減少(Barrero *et al.* 2012)。由 ABA 引起之種子休眠中，煙草種子之休眠性與參與 ABA 合成之內生玉米黃質環氧化酶(Zeaxanthin epoxidase)編碼基因之過量表現有關(Frey *et al.* 1999)，在菜豆及番茄種子中則發現 *NCED* 基因之過量表現增強種子休眠作用及提升 ABA 含量(Qin and Zeevaart, 2002; Thompson *et al.* 2000)。

### 三、種子休眠解除時基因表現

受環境及荷爾蒙影響所產生之活化氧族具切斷細胞壁多糖體之功能，同時與 ABA 訊息傳遞路徑交互作用，並參與種子休眠解除及後熟作用(Graeber *et al.*, 2012)，種子後熟作用期間蛋白質發生轉譯後修飾，如羧基化作用及活化氧族之累積，向日葵種子及阿拉伯芥種子內特殊蛋白質羧基化作用之發生均與活化氧族累積相關(Job *et al.*, 2005；Oracz *et al.*, 2007)。發芽作用進行時貯藏蛋白質之羧基化作用有助於蛋白質重新分配與水解作用之進行(Graeber *et al.*, 2012)，阿拉伯芥種子後熟後活化氧族促進 NADPH 氧化酵素 *AtrbohB* 之產生(Müller *et al.* 2009a)，阿拉伯芥種子經過後熟作用後種子內 GA 生合成基因 *GA3ox2 (GIBBERELLIN 3 OXIDASE)*轉錄子強度增加至休眠種子之 40 倍，相對地，深度休眠種子中則以 GA 去活化酵素編碼基因 *GA2ox1 (GIBBERELLIN 2 OXIDASE)*表現較高(Savage *et al.*, 2007)，層積處理誘導阿拉伯芥種子中 GA 生合成基因 *GA20ox1*, *GA20ox2*, 及 *GA3ox1*表現增加，並減少了 GA 分解基因 *GA2ox2* 之表現(Yamauchi *et al.*, 2004)。顯示種子休眠與 GA 去活化基因表現相關，同時打破休眠處理藉由誘導 GA 生合成解除種子休眠。

小麥種子具休眠性且程度深淺不一，活化氧族於減輕小麥種子休眠扮演重要角色，浸

種後種子內活化氧族含量增加有助於種子休眠解除，活化氧族過多則導致蛋白質羰基化作用而失活，因此需藉由抗氧化系統調節種子內活化氧族之平衡，浸種前，休眠種子內可測得蛋白質包括參與糖解作用/糖質新生、檸檬酸循環、澱粉代謝作用、胺基酸代謝作用及抗氧化反應之酵素，與蛋白質結構、運輸、訊息傳導相關蛋白及貯藏蛋白等，不休眠種子中則以 phospho-glycerate kinase、succinyl-CoA ligase  $\beta$ -鏈、 $\beta$ -amylase isoforms、enolase、pyruvate orthophosphate dikinase 1、ADP-glucose pyrophosphorylase small subunit、UDP-D-glucuronate decarboxylase、cytosolic malate DH、alanine aminotransferase、aspartate aminotransferase、serpin-Z1A、serpin-Z2B、serpin-Z1C、cell division control protein、27 K thioredoxin family protein 及 aldehyde DH 等蛋白表現較高，上述蛋白質與碳水化合物代謝、二次代謝、胺基酸代謝、細胞分裂及抗氧化反應等相關。浸種後，休眠種子內超氧化歧化酶、small Ran-related GTP-binding protein 及  $\beta$ -amylase isoforms、NADP-malic enzyme、serpin Z1B、proteinase subunit 20S proteasome alpha type-7-A、脫氫抗壞血酸還原酵素、醛去氫酶及 globulin 等蛋白表現增強，不休眠種子內表現較高之蛋白質為參與糖解作用/糖質新生作用之蛋白質，亦包括 triosephosphate isomerase、phosphofructokinase、phosphoglucomutase、alcohol dehydrogenase (DH)、cytosolic phosphoglyceratekinase、 $\alpha$ -amylase inhibitors、glucose and ribitol DH、formate DH、glyceraldehyde-3-phosphate DH、NADP-specific isocitrate DH、serpin Z1C 及 globulins 等蛋白(Espín *et al.*, 2011)。

#### 四、乾燥後熟解除休眠之基因表現

種子乾燥貯藏後熟有助於休眠解除，阿拉伯芥種子發芽約需 4 天，阿拉伯芥浸種後休眠種子內貯藏蛋白質、伴侶蛋白及與胺基酸代謝與轉譯作用相關之蛋白質累積量較不休眠種子高，不休眠種子內累積較多之蛋白質為 cruciferin precursors、HSP70(Heat Shock Protein 70)及 isocitrate lyase，僅於不休眠種子中表現之蛋白質為 CRA1 gene precursor，阿拉伯芥種子中主要貯藏蛋白質為 Cruciferins，為球蛋白的一種，此蛋白質由酸性  $\alpha$  亞單元與鹼性  $\beta$  亞單元共同組成，於貯藏期間逐漸累積，並與休眠解除有關，浸種後，不休眠種子內 Cruciferins 蛋白表現迅速減少，阿拉伯芥種子休眠解除時，種子內與逆境反應相關之基因有所表現，顯示其休眠性之解除與種子自我保護機制有關，編碼脫水素之基因於休眠種子內表現較高，該蛋白屬於胚發生晚期累積蛋白質家族，並與乾燥耐受性有關，雖然最初含量以休眠種子較高，但不休眠種子具有重新合成脫水素之能力，休眠種子則否，HSP70 於不休眠乾燥種子內表現較高，此蛋白質於逆境下受誘導表現，休眠種子蛋白質重新合成能力並不較不休眠種子低，但其中重新合成之蛋白質間表現與合成模式不同，休眠解除後，種子內蛋白質合成之模式改變，並具有完成發芽作用之能力，不休眠種子轉譯特定一組基因，並貯存與成熟作用及種子內重新合成作用相關之 mRNA，這些因素為種子成功發芽之關鍵，不休眠種子中 tubulin 之重新合成與累積影響發芽作用完成甚鉅，阿拉伯芥種子乾燥貯藏後休眠解除與特定蛋白質之累積與重新合成有關如，cruciferin precursors (Chibani

*et al.*, 2006)。

向日葵種子發育過程中，獲得休眠性時種子脫水素及胚發生晚期累積蛋白質多肽鏈出現，浸種後，這些多肽鏈於 24 小時內消失，這些與休眠相關之蛋白質僅於休眠種子胚中表現，不休眠種子胚中並未表現，浸種初期向日葵休眠及不休眠種子中特定蛋白質之表現與維持種子休眠作用之基因表現有關，且受 ABA 誘導之蛋白質有所表現，如胚發生晚期累積蛋白質(Garello *et al.*, 2000)。向日葵種子之休眠性由種皮限制及胚引起，乾燥貯藏處理可解除種子休眠，前人研究中曾提出，以氰化氫處理有助於向日葵種子解除休眠，其機制與活化氧族及蛋白質氧化作用有關，活化氧族及脂質氧化作用發生後，種子內蛋白質進行氧化修飾作用，有助於休眠解除，向日葵種子休眠解除與種子內過氧化氫與超氧自由基之作用增強有關，種子乾燥貯藏期間丙二醛(malondialdehyde; MDA)含量顯著增加，顯示脂質過氧化作用之進行，脂質過氧化作用即羰基化作用(carbonylation)，乾燥貯藏後熟期間 elongation factor 2 (EF2)及 pyruvate orthophosphate dikinase (PPDK)等蛋白質羰基化作用增加。向日葵種子乾燥貯藏後休眠解除與某些蛋白質羰基化作用減少有關，如 20S proteasome  $\alpha$ -subunit，另外一些蛋白質羰基化作用維持不變，如 81 及 70 kDa heat shock proteins 及 enolase，向日葵不休眠種子胚軸內蛋白質氧化作用較高，這些蛋白質分子量約介於 15~40 kDa，乾燥後熟後種子內擁有之蛋白質中，於浸種期間發生羰基化作用之蛋白質為 EF2、PPDK、HSP、enolase 及 7S globulin，globulin-like protein 亦於浸種後胚軸中發生羰基化作用，但其氧化程度以浸種後由胚軸較高，向日葵休眠種子經乾燥貯藏後熟再以氰化氫及 methylviologen 處理後，休眠種子內測得發生羰基化作用之蛋白質為 11S storage protein 及 epoxide hydrolase，不休眠種子胚軸中則未測得，向日葵種子休眠性由種皮及胚引起，methylviologen 之功能為於植物體中引起氧化壓力。向日葵種子之休眠可藉由乾燥貯藏或以氰化氫或 methylviologen 處理解除，其機制與蛋白質之羰基化膜式有關，乾燥貯藏期間，EF2, PPDK 及 7S globulin 等蛋白質羰基化作用增加。EF2 功能為蛋白質轉譯中延長階段催化 peptidyl-tRNA 於運移核糖體之作用，種子乾燥貯藏期間 EF2 之羰基化會終止與發育過程相關蛋白質之合成作用。貯藏蛋白質之羰基化與其重新分配作用相關，熱休克蛋白之羰基化作用顯示其抵抗氧化逆境，globulin precursor isoform 4 及 basic 2S albumin 之氧化模式與酒精脫氫酵素相同，顯示種子發芽作用需要特定蛋白質進行氧化，以氰化氫及 methylviologen 處理後，休眠種子胚軸中 putative epoxide hydrolase 進行羰基化作用，epoxide hydrolase 催化 epoxide 為 diols，此作用與外生物質去毒作用有關，如藥物代謝及氧化逆境反應等，向日葵種子休眠解除與貯藏期間種子內活化氧族累積及蛋白質氧化作用有關 (Oracz *et al.*, 2007)。

種子發芽時子葉中參與能量提供、逆境反應、蛋白質修飾、轉錄作用及貯藏作用等新陳代謝之蛋白質活化，隨之進行包括澱粉及蔗糖代謝、糖解作用及檸檬酸循環等作用，抗氧化酵素活性也受活化，綠豆種子內貯藏物質之型態轉化與發芽作用相關，綠豆發芽過程中蛋白質表現之變化可分為四類，第一類為表現無顯著改變之蛋白質，第二類為浸種 24

小時至 48 小時期間表現改變之蛋白質，包括表現增強及表現減少，第三類為僅於浸種 48 小時表現之蛋白質，第四類為浸種 24 小時表現，浸種 48 小時後消失之蛋白質。澱粉水解作用進行時，starch degrading enzyme、starch phosphorylase、 $\beta$ -amylase、sucrose degrading enzymes invertase、sucrose synthase、fructose biphosphate aldolase、enolase 及 glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase 等蛋白質表現增加，綠豆種子浸種 24 小時後  $\beta$ -amylase 參與澱粉水解作用，隨後由 starch phosphorylase 取代，同時 invertase 將蔗糖轉化為葡萄糖及果糖，浸種 48 小時後，子葉中 ADP glucose pyrophosphorylase 及澱粉合成酶等蛋白質消失，可能由於澱粉降解，形成葡萄糖，此時則可測得參與乙醛酸循環(glyoxylate cycle)的 glyoxysomal malate dehydrogenase 及粒線體中參與檸檬酸循環的 malate dehydrogenase，貯藏蛋白質中，可測得蛋白素於浸種 48 小時後表現減少，顯示貯藏蛋白質已降解利用，浸種 24 小時後，可於發芽中綠豆種子內測得半胱氨酸蛋白酶，其於蛋白質水解初期作用，並於浸種 48 小時減少表現，隨後僅於浸種 48 小時出現之 endopeptidase 及 carboxypeptidase 蛋白質表現，顯示蛋白質水解活性再現，此外，同樣與蛋白質水解作用相關之 cathepsin B cysteine protease 可於浸種 24 小時測得，並於浸種 48 小時表現增強，浸種 24 小時出現，浸種 48 小時消失之蛋白質如參與莽草酸途徑之 shikimate kinase，以碳水化合物中間代謝產物為基質，進行芳香族化和物胺基酸、木質素、植物抗毒素及生物鹼等二次代謝物之合成，醛還原酶為醛酮還原酶家族，並於浸種 48 小時利用醛縮酶及醛類為基質將其轉化為乙醇。還原酵素中，葡糖脫氫酶及核糖醇脫氫酶利用葡萄糖為基質，並於胚發生時參與碳水化合物代謝，且與種子乾燥耐受性相關。轉錄因子中，bZIP 轉錄於浸種 48 小時表現減少，顯示由 ABA 調控之種子休眠作用解除並進行發芽作用，與種子成熟作用相關之蛋白質如熱休克蛋白及脫水素於種子發芽期間表現逐漸減少，與蛋白質修飾作用相關之蛋白質，如胰蛋白酶抑制因子，於浸種 48 小時表現減少，這類蛋白酶與子葉中貯藏蛋白質重新分配供給胚生長利用有關，與逆境相關之蛋白質中，可測得 1-Cys peroxiredoxin 蛋白之表現，與種子發芽時活化氧族之清除相關，參與細胞壁分解作用之  $\beta$ -1,3-glucans 則於浸種 48 小時後消失(Ghosh and Pal, 2012)。

種子內貯藏蛋白及與乾燥作用相關之蛋白質與種子經過發育、成熟及乾燥作用後是否成活至關重要，種子進行發芽作用後便逐漸降解，發芽進行期間，細胞訊息傳導路徑、細胞壁生合成、核苷酸糖代謝作用及胺基酸生合成作用相關蛋白質迅速累積，同時其代謝及調節網絡重新作用，水稻種子約於浸種 48 小時後發芽，浸種後貯藏蛋白質如穀蛋白、球蛋白及 seed allergen 等蛋白質表現逐漸減少，貯藏蛋白質中部份蛋白質亦再度累積，如球蛋白，與種子乾燥作用相關之蛋白質如 early embryogenesis abundant protein、late embryogenesis abundant protein (LEA)及 ABA 誘導之蛋白質表現亦減少，相對地，參與貯藏物質水解作用及生理作用之蛋白質表現增加，如  $\alpha$ -amylase 於浸種 24 小時後表現迅速增加，參與糖解作用之 pyruvate orthophosphate dikinase、fructokinase 及 phosphoglycerate kinase 亦於浸種後表現增加，此外，逆境反應相關蛋白質表現亦增加，發芽作用除消耗貯

藏物質外，同時賦予植物抵抗逆境之能力及重組其形態，此類蛋白質如 Allergenic proteins，有助於種子抵抗病蟲害(He *et al.*, 2011)。

浸種後種子氧氣吸收迅速，氧化磷酸化作用進行並供給種子能量，此時活化氧族亦增加，細胞中氧化還原之平衡由抗氧化酵素及抗壞血酸-穀胱甘肽循環系統維持，抗壞血酸-穀胱甘肽循環系統中參與酵素包括抗壞血酸過氧化酵素(ascorbate peroxidase; APX)，單去氫抗壞血酸還原酶(monodehydroascorbate; MDHA)，去氫抗壞血酸(dehydroascorbate; DHA)，氧化型穀胱甘肽(GSSG)，還原型穀胱甘肽(GSH)，單脫氫抗壞血酸還原酶(monodehydroascorbate reductase; MDHAR)，脫氫抗壞血酸還原酵素(dehydroascorbate reductase; DHAR)，穀胱甘肽還原酵素(glutathione reductase; GR)。大麥種子於浸種 24 小時後發芽，浸種初期胚中可測得脫氫抗壞血酸還原酵素、單脫氫抗壞血酸還原酶及穀胱甘肽還原酵素活性，脫氫抗壞血酸還原酵素活性於浸種期間先減少後增加，單脫氫抗壞血酸還原酶及穀胱甘肽還原酵素活性於浸種後期大幅增加，抗壞血酸過氧化酵素蛋白質於發芽時間胚中測得，直到發芽完成為止，顯示抗壞血酸-穀胱甘肽循環影響種子胚根突出作用(Bonsager *et al.*, 2010)。

## 五、種子休眠調控與發芽作用

由不同作物蛋白質表現結果可知，在蛋白質層次表現上休眠種子中熱休克蛋白、胚發生晚期累積蛋白及與逆境反應相關之蛋白質表現均較高，同時受 ABA 誘導表現之蛋白質亦較高。休眠解除後，種子內蛋白質經由特定模式轉換為發芽型態，種子發芽進行期間，與蛋白質訊息傳導、細胞壁修飾、轉錄轉譯、貯藏物質水解及能量代謝相關蛋白質表現增加，另外如二次代謝、逆境反應及抗氧化反應相關蛋白表現亦增加。顯示種子內調控種子休眠及發芽作用之基因及蛋白質運作模式為一網絡，種子發芽作用之進行有賴於特定功能蛋白質本身構造完整，同時新陳代謝功能健全，休眠種子可能由於這些蛋白質功能構造不全或缺乏因此無法正常進行發芽作用。

## 參考文獻

- 林學詩。1995。台灣農家要覽-農作三。豐年社。台北。pp. 487-490。
- 黃如葵。2006。冬瓜種子質量在其發育過程及採後處理中的變化。中國蔬菜 9: 16-18。
- Achard, P. and P. Genschik. 2009. Releasing the brakes of plant growth: how GAs shutdown DELLA proteins. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/ern301.
- Barba-Espín, G., P. Diaz-Vivancosi, D. Job, M. Belghazi, C. Job, and J. A. Hernández. 2011. Understanding the role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. *Plant Cell Environ.* 34: 1907-1919.
- Barrero, J. M., A. A. Millar, J. Griffiths, T. Czechowski, W. R. Scheible, M. Udvardi, J. B. Reid,

- J. J. Ross, J. V. Jacobsen, and F. Gubler. 2010. Gene expression profiling identifies two regulatory genes controlling dormancy and ABA sensitivity in *Arabidopsis* seeds. *Plant J.* 61: 611-622.
- Barrero. J. M., J. V. Jacobsen, M. J. Talbot, R. G. White, S. M. Swain, D. F. Garvin, and F. Gubler. 2012. Grain dormancy and light quality effects on germination in the model grass *Brachypodium distachyon*. *New Phytol.* 193: 376-386.
- Baskin, J. M., C. C. Baskin, and X. Li. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Spec. Biol.* 15: 139-152.
- Bentsink, L., J. Jowett, C. J. Hanhart, and M. Koornneef. 2006. Cloning of *DOG1*, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1036: 17042-17047.
- Bewley, J. D. and M. Black. 1997. *Seed physiology of development and germination* 2nd edition. Plenum Press. New York. pp. 36-39, 117-119.
- Bewley, J. D., K. J. Bradford, H. W. M. Hilhorst, H. Nonogaki. 2012. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*, 3rd Edition. Springer. New York Heidelberg Dordrecht London. pp. 27-83.
- Bonsager, B. C., A. Shahpiri, C. Finnie, and B. Svensson. 2010. Proteomic and activity profiles of ascorbate-glutathione cycle enzymes in germinating barley embryo. *Phytochemistry* 71: 1650-1656.
- Bozena, C. and K. Schmitz. 1997. Changes in soluble sugar and activity of  $\alpha$ -galactosidases and acid invertase during muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit development. *J Plant Physiol.* 151: 41-50.
- Cao, D. N., A. Hussain, H. Cheng, and J. R. Peng. 2005. Loss of function of four *DELLA* genes leads to light- and gibberellin-independent seed germination in *Arabidopsis*. *Planta* 223: 105-13.
- Chibani, K., S. Ali-Rachedi, C. Job, D. Job, M. Jullien, and P. Grappin. 2006. Proteomic analysis of seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 142: 1493-1510.
- Copeland, L. O. and M. B. McDonald. 2001. *Principles of seed science and technology* 4th edition. USA. pp. 24, 27, 201-203.
- Desai, B. B., P. M. Kotecha, and D. K. Salunkhe. 2004. *Seeds Handbook: Biology, Production, Processing and Storage (Books in Soils, Plants, and the Environment)*. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 7, 15-19, 73-74, 78-79, 118, 121.
- Finkelstein, R., W. Reedves, T. Ariizumi, and C. Steber. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 387-415.
- Footitt, S., I. Douterelo-Soler, H. Clay, and W. E. Finch-Savage. 2011. Dormancy cycling in

- Arabidopsis* seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signaling pathways. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 108: 20236-20241.
- Frey, A., C. Audran, E. Marin, B. Sotta, and A. Marion-Poll. 1999. Engineering seed dormancy by the modification of zeaxanthin epoxidase gene expression. Plant Mol. Bio. 39: 1267-1274.
- Fujii, H., P. E. Verslues, and J. K. Zhu. 2007. Identification of two protein kinases required for abscisic acid regulation of seed germination, root growth, and gene expression in *Arabidopsis*. Plant Cell 19: 485-94.
- Garello, G., P. Barthe, M. Bonelli, J. Bianco-Trinchant, J. Bianco, and M. Le Page-Degivry. 2000. Abscisic acid-regulated responses of dormant and non-dormant embryos of *Helianthus annuus*: Role of ABA-inducible proteins. Plant Physiol. Biochem. 38: 473-482.
- Ghosh, S. and A. Pal. 2012. Identification of differential proteins of mungbean cotyledons during seed germination: a proteomic approach. Acta Physiol. Plant 34: 2379-2391.
- Graeber, K., A. Linkies, K. Müller, A. Wunchova, A. Rott, and G. Leubner-Metzger. 2010. Cross-species approaches to seed dormancy and germination: conservation and biodiversity of ABA-regulated mechanisms and the *Brassicaceae DOG1* genes. Plant Mol. Biol. 73: 67-87.
- Graeber, K., K. Nakabayashi, E. Miatton., G. Leubner-Metzger, and W. J. J. Soppe. 2012. Molecular mechanisms of seed dormancy. Plant Cell Environ. 35: 1769-1786.
- Handley, L. W., D. M. Pharr, and R. F. McFeeters. 1983. Carbohydrate changes during maturation of cucumber fruit. Plant Physiol. 72: 498-502.
- He, D. L., C. Han, and P. F. Yang. 2011. Gene expression profile changes in germinating rice. J. Integr. Plant Biol. 53: 835-844.
- Job, C., L. Rajjou, Y. Lovigny, M. Belghazi, and D. Job. 2005. Patterns of protein oxidation in *Arabidopsis* seeds and during germination. Plant Physiol. 138: 790-802.
- Jones, H. D., N. C. B. Peters, and M. J. Holdsworth. 1997. Genotype and environment interact to control dormancy and differential expression of the *VIVIPAROUS 1* homologue in embryos of *Avena fatua*. Plant J. 12: 911-20.
- Justice, O. L. and L. N. Bass. 1978. Principles and practices of seed storage. U. S. Department of Agriculture handbooks. pp. 506.
- Leymarie, J., M. E. Robayo-Romero, E. Gendreau, R. L. Benech-Arnold, and F. Corbineau. 2008. Involvement of ABA in induction of secondary dormancy in barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds. Plant Cell Physiol. 49: 1830-1838.
- Madore, M. A. 2011. Biosynthesis and degradation of galactosyloligosaccharides. Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology I-III Chapter 5.4.
- McDonald, M. B. and L. O. Copeland. 1997. Seed production. Chapman & Hall. New York. pp. 19-28.

- Müller, K., A. C. Carstens, A. Linkies, M. A. Torres, and G. Leubner- Metzger. 2009a. The NADPH-Oxidase *AtrbohB* plays a role in *Arabidopsis* seed after-ripening. *New Phytol.* 184: 885-897.
- Nakamura, S. and T. Toyama. 2001. Isolation of a *VPI* homologue from wheat and analysis of its expression in embryos of dormant and nondormant cultivars. *J. Exp. Bot.* 52: 875-76.
- Nakamura, S., F. Abe, H. Kawahigashi, K. Nakazono, A. Tagiri, T. Matsumoto, S. Utsugi, T. Ogawa, H. Handa, H. Ishida, M. Mori, K. Kawaura, Y. Ogihara, and H. Miura. 2011. A wheat homolog of *MOTHER OF FTANDTFLI* acts in the regulation of germination. *The Plant Cell* 23: 3215–3229.
- Nerson, H. 2007. Seed production and germinability of cucurbit crops. *Seed science and biotechnology* 1: 1-10.
- Orazc, K., H. E. M. Bouteau, J. M. Farrant, K. Cooper, M. Belghazi, C. Job, D. Job, F. Corbineau, and C. Bailly. 2007. ROS production and protein oxidation as a novel mechanism for seed dormancy alleviation. *Plant J.* 50: 452-465.
- Qin, X. and J. A. D. Zeevaart. 2002. Overexpression of a *9-cisepoxycarotenoid dioxygenase* gene in *Nicotiana plumbaginifolia* increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance. *Plant Physiol.* 128: 544-551.
- Sugimoto, K., Y. Takeuchi, and K. Ebana. 2010. Molecular cloning of *Sdr4*, a regulator involved in seed dormancy and domestication of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 5792-5797.
- Thompson. A. J., A. C. Jackson, R. C. Symonds, B. J. Mulholland, A. R. Dadswell, P. S. Blake, A. Burbidge, and I. B. Taylor. 2000. Ectopic expression of a tomato *9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase* gene causes over-production of abscisic acid. *Plant J.* 23: 363-374.
- Welbaum, G. E. 1993. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) VIII. Development of osmotically distended seeds. *J. Exp. Bot.* 44: 1245-1252.
- Welbaum, G. E. and K. J. Bradford. 1991. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) VII. Influence of after-ripening and ageing on germination responses to temperature and water potential. *J. Exp. Bot.* 42: 1137-1145.
- Yamauchi, Y., M. Ogawa, A. Kuwahara, A. Hanada, Y. Kamiya, and S. Yamaguchi. 2004. Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibitions of *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Cell* 16: 367-78.
- Zaini, N. A. M., A. Farooq, A. A. Hamid, and S. Nazamid. 2011. Kundur (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.): A potential source for valuable nutrients and functional foods. *Food Res. Int.* 44: 2368-2376.

## Investigation of Seed Dormancy and Germination Process in Genetic and Proteomic Level

Hong-Ling Yeh<sup>1)</sup> Yu Sung<sup>2)</sup>

Key words: Seed, Dormancy, Germination, Proteomic

### Summary

Seed dormancy is a complicated process. In recent studies, some clue indicated that functional proteins involved in seed dormancy and dormancy release regulation. Those functional proteins regulated by GA and ABA. Seed dormancy release accompany with seed ABA content and ABA sensitivity decreased. While seed GA content and GA sensitivity increased. Functional proteins that regulate seed dormancy include proteins involved in storage, structural, energy utilization, seed growth and development, signal transduction, and stress response. Proteins play an important role in regulation and signal transduction. In the past one and a half decades, seed dormancy proteomic research improved rapidly. This review focus on generalized past studies and comprehend seed dormancy regulation and germination process in genetic and proteomic level.

---

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

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



## 不同栽培介質對文心蘭假球莖養分及開花之影響

許 榮 華<sup>1)</sup> 林 瑞 松<sup>2)</sup>

關鍵字：栽培介質、岩綿、水苔、花泉、混合介質

**摘要：**不同文心蘭品種栽植於4種栽培介質中，栽培介質分別為岩綿(Rock-wool)、水苔(Sphagnum moss)、花泉(Oasis)、混合介質(Mixed media)，試驗結果顯示於植株成熟時，在當代假球莖養分累積上，文心蘭 Gower Ramsey '427'栽植於 Oasis 之成熟植株當代假球莖有較高全可溶性糖含量(48.5%)和較高的澱粉含量(17.8%)；Gower Ramsey 'Volcano Queen'以栽植於岩綿中，植株當代假球莖內有較高的全可溶性糖含量(45.1%)和較高的澱粉含量(35.5%)；Gower Ramsey 'Honey Angel'以栽植於岩綿中，植株當代假球莖內有較高的全可溶性糖含量(55.4%)和較高的澱粉含量(23.7%)。在開花品質上，Gower Ramsey '427'栽植於 Oasis 中時，有較好的開花品質，包括花序分叉數與小花朵的數量較多，分別為 7.2 與 88.9；Gower Ramsey 'Volcano Queen'栽植於岩綿中，會有較佳的開花品質，花序分叉數達 10.2，小花朵數量達 128.7，花莖長度達 76.0 cm；Gower Ramsey 'Honey Angel'是以栽植於 Oasis 中，有較佳的開花品質表現，花序分叉數達 9.3，小花朵數量達 117.4，花莖長度達 93.7 cm。

### 前 言

文心蘭(*Oncidium* spp.)為氣生性著生蘭，原生於熱帶美洲，自 1986 年引進臺灣栽培便多以木炭、碎石、樹皮等介質混合後進行栽培，以保持根部良好之通氣性，然而此混合介質在栽培上卻對水分及養分無法有效的利用，造成水分及肥料流失，不僅在環境上造成污染傷害，亦提高了栽培成本；栽培介質亦會影響植株生長與發育與開花品質，一般在氣生性蘭花的栽培上多選擇通氣性佳的栽培介質為主，以減少植株根部缺氧，造成腐爛或生育不良的情形，然在栽培介質之選擇上，除了滿足通氣性佳的條件外，許多的研究指出利用

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

保水性較佳的介質，如：水苔、岩綿等對作物的養分及水分的供應上可以更有效率，因此文心蘭若能選擇適當保水性與通氣性的栽培介質，促進根部對水分及養分之吸收，提高水分養分之利用率，以增進植株生育品質，將有助於栽培技術上的提昇；本研究擬探討不同栽培介質對文心蘭當代成熟假球莖之養分及開花品質之影響，以提供文心蘭各品種之適合栽培介質的選擇。

## 材料與方法

### 一、試驗植株材料與栽培介質

試驗之植物材料以文心蘭切花品種 *Oncidium* Gower Ramsey '427'、*Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen'(火山皇后)及 *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'(檸檬綠)等三品種之二年生植株(具二個假球莖及一新芽，新芽大小約 15 cm)為植物材料進行試驗栽培；栽培介質之使用分別以岩棉(Rock-wool, 公司: Grodan, 產地: 丹麥)、水苔(Sphagnum moss, 公司: Platinum, 產地: 智利)、花泉(Oasis, 公司: OASIS Floral Products, 產地: 英國)及混合介質(Mixed media, 三分碎石: 3 號樹皮: 木炭=1: 1: 1 v/v; 木炭之粒徑為 2~4 cm)等。

### 二、栽培環境及試驗方法

將上述植物材料之植株新芽大小達 15cm 左右且帶二個前代假球莖的文心蘭分別以岩棉、水苔、Oasis 及混合介質進行栽植於黑色六寸盆中(容器體積為 2750 ml)，每處理三重覆，每重覆 10 株；植株之水分供應，採用自動噴灌系統供水，每天噴施 1 次，每次噴施 15 分鐘，每星期以 Peters 20-20-20(Scotts Fertilizer, Marysville, OH, USA)之肥料稀釋為 1000 mg/L 後噴施一次，病蟲害管理視實際需要行之。栽培試驗環境為臺中區農業改良場之栽培溫室，栽培溫室之月平均溫度，最高為 30.3°C，最低為 16.5°C，月平均濕度，最高為 RH 91.2%，最低為 RH 75.8%；於植株生育達假球莖成熟以及植株花序發育達 70%之採收成熟度時期分別進行採收調查，調查項目包括：栽培介質使用前後之物化性測定、當代假球莖之全可溶性糖含量以及澱粉含量、碳氮比，並調查其開花品質，如：分枝數、小花朵數、花莖長度等。

#### (一)介質之物理性分析

參考 Bragg and Chambers 之方法，進行總體密度(Bulk Density, BD)、充氣孔隙度(Air-Filled Porosity, AFP)、容器含水量(Container Capacity, CC)、總孔隙度(Total Porosity, TP)之物理性測定。

#### (二)介質之化學性分析

於試驗植株在澆水施肥結束靜置一個小時，使其介質處於飽和水狀態，且重力水已排除，接著將介質放入塑膠桶中從盆面緩慢倒入介質體積 1.5 倍量之去離子水，使其完全浸

泡 8 小時後，並於盆底放置承接之水盤，將清水於飽和介質內所置換下來的滲漏液承接並倒入塑膠瓶內，由田間攜帶回實驗室進行進行 pH 值與 EC 值之測定；使用 IQ180 防水級晶片式酸鹼度計(IQ180,IQ Scientific Instruments, Inc, USA)將 pH sensor 完全插入滲漏液中測定飽和介質環境之酸鹼度，並將 EC sensor 完全插入滲漏液中測定飽和介質環境之電導度。介質酸鹼度(potential of hydrogen, pH 值)與電導度(electrical conductivity, EC 值)測定。

#### (三)全可溶性糖(Total Soluble Sugar; TSS)之測定

將採收之植物樣本先以自來水洗淨其表面灰塵、雜物，再用 1%之 HCl 漂洗數秒，然後以去離子水快速沖洗三次，沖洗時間不超過一分鐘，最後分別裝入牛皮紙袋中，並放置於烘箱中先以 100°C 烘乾 1 小時，再以 70°C 連續烘乾 48 小時以上，直至樣品之乾重不再變動，烘乾之樣品利用磨粉機磨碎成粉後，將其粉末裝入硫酸紙袋中保存待測，精稱乾燥之待測樣品粉末 0.1 克，置於 15×125 mm 之試管中，加入 10 ml 去離子水，放置於水浴振盪機中以 30°C 振盪 3 小時，之後以離心機於 2500 rpm 之轉速在室溫下離心 30 分鐘，取上層澄清液 0.2 ml，加入 4.8 ml 去離子水稀釋並振盪均勻後，取該稀釋液 2 ml，加入 0.1 ml 石炭酸(liquid phenol)和 6 ml 濃硫酸後混合均勻，靜置 30 分鐘後以光電比色計(Hitachi, U-2001)測定其在 490 nm 之吸光值，即可計算其全可溶性糖含量。標準曲線以 100 mg/L 葡萄糖、去離子水、0.1 ml 石炭酸和 6 ml 濃硫酸配製。

#### (四)澱粉(Starch)之測定

將上述全可溶性糖測定之前處理步驟，以離心機於 2500 rpm 離心 30 分鐘後之殘渣置於 80°C 之烘箱中烘乾 8 小時以上，加入 2 ml 去離子水後置於沸水中煮 15 分鐘後取出冷卻，加入 2 ml 之 9.2 N HClO<sub>4</sub> 混合振盪均勻，其後 15 分鐘內不時攪拌，再加入 6 ml 去離子水混合均勻，以離心機於 2500 rpm 之轉速在室溫下離心 30 分鐘，取其上層澄清液 0.1 ml，加入 1.9 ml 去離子水、0.1 ml 石炭酸(liquid phenol)及 6 ml 濃硫酸振盪均勻，於靜置 30 分鐘後，以光電比色計(U-2001)測定其在 490 nm 之吸光值。標準曲線配製與測全可溶性糖之方法相同。

#### (五)碳/氮比(C/N ratio)之測定

總碳與總氮含量是以元素分析儀(Elemental analyzer, EA, Thermo Finnigan NA1500, Bremen Germany)進行測定，先精稱經烘乾磨碎之乾燥待測樣品粉末，並使用微量天平稱取 2.00 mg 之樣品，再以元素分析儀專用錫箔紙將樣品緊密包裹後，置入元素分析儀自動進樣器，以乾燒法進行總氮及總碳之分析，分析完成後，計算樣品碳/氮比值。

#### (六)開花品質調查：

花序採收後，計算花序上全部之分叉數(包括主叉)及花序上全部之小花朵數目，並以布尺測量其花梗長度。

#### (七)統計分析：

試驗資料以 CoStat 6.1 軟體(CoHort software, Monterey, CA, USA)進行比較分析，處理值比較以鄧肯氏多變域分析法(Duncan's multiple rang test)進行比較分析(P=0.05)。

## 結 果

試驗結果顯示，在栽培介質之物化性檢測上，4種不同栽培介質於栽培前，是以混合介質之總體密度較高為 0.63 g/ml，充氣孔隙度(AFP)亦較高為 68.21%，相反的其容器容水率(CC)則較低為 13.15%，總孔隙度亦較其他三種介質低；而在水苔的栽培介質物化性資料指出，其充氣孔隙度較其他三種栽培介質低，僅 14.82%，然容器容水率則明顯高於其他 3 種介質，達 76.19%，而在總孔隙度上的資料指出，岩綿、水苔和 Oasis 的介質總孔隙度皆高於 91%，岩綿和 Oasis 的充氣孔隙度亦分別為 30.89%和 38.63%，在容器容水率上則分別為 65.24%和 55.59%(表 1)。在 pH 值之檢測結果指出，水苔栽培介質偏微酸性，其 pH 值為 5.13，岩綿、Oasis 和混合介質則偏向中性，pH 分別為 7.14、6.39 以及 6.36；EC 值的檢測，則以混合介質之 EC 值高於其他 3 種介質為  $0.25 dSm^{-1}$ ，其次為水苔之 EC 值為  $0.14 dSm^{-1}$ (表 2)。栽植 Gower Ramsey '427' 於不同栽培介質下載培 5 個月後之物理性質變化上，其 4 種介質之總體密度皆略有增加，充氣孔隙度則稍微下降，容器容水率及總孔隙度稍微增加(表 3)，在 pH 值則以岩綿和水苔的 pH 值有下降的趨勢，分別為 5.43 和 3.91；在 EC 值的測定上，則以水苔有增加的趨勢，達  $0.68 dSm^{-1}$ ，而岩綿、Oasis 和混合介質這三者的 EC 值分為 0.46、0.41 和  $0.45 dSm^{-1}$ (表 4)。在 *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen' 和 *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel' 的 4 種栽培介質的物理性質變化上亦與 Gower Ramsey '427' 之栽培介質一般，有著相類似的趨勢。

表 1、栽培介質栽培前之物理性質

Table 1. Physical properties nature of tested media before use.

Growing media	Bulk density (g/ml)	Air-filled porosity (%)	Container capacity (%)	Total porosity (%)
Rock-wool	0.07 b <sup>z</sup>	30.89 b	65.24 b	96.13 a
Sphagnum moss	0.06 b	14.82 c	76.19 a	91.01 a
Oasis	0.04 b	38.63 b	55.59 c	94.68 a
Mixed medium	0.63 a	68.21 a	13.15 d	81.36 b

<sup>z</sup> Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P \leq 0.05$ .

表 2. 栽培介質栽培前之化學性質

Table 2. Chemical properties nature of tested media before use.

Growing media	pH	EC ( $dSm^{-1}$ )
Rock-wool	7.14 a <sup>z</sup>	0.04 c
Sphagnum moss	5.13 c	0.14 b
Oasis	6.39 b	0.02 c
Mixed medium	6.36 b	0.25 a

<sup>z</sup> Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P \leq 0.05$ .

表 3. *Oncidium* Gower Ramsey '427'於不同栽培介質栽培 5 個月後之物理性質變化Table 3. Change of physical properties of various growth medium after 5 months of culturing *Oncidium* Gower Ramsey '427'.

Growing media	Bulk density (g/ml)	Air-filled porosity (%)	Container capacity (%)	Total porosity (%)
Rock-wool	0.09 b <sup>z</sup>	30.23 b	66.67 b	96.90 a
Sphagnum moss	0.10 b	13.50 c	82.29 a	95.79 a
Oasis	0.07 b	37.99 b	57.71c	95.70 a
Mixed medium	0.77 a	68.15 a	13.87 d	82.02 b

<sup>z</sup> Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P \leq 0.05$ .

表 4. *Oncidium* Gower Ramsey'427'於不同栽培介質栽培 5 個月後之化學性質變化Table 4. Change of chemical properties of various growth medium after 5 months of culturing *Oncidium* Gower Ramsey'427'.

Growing media	pH	EC ( $dSm^{-1}$ )
Rock-wool	5.43 b <sup>z</sup>	0.46 b
Sphagnum moss	3.91 c	0.68 a
Oasis	5.92 a	0.41 b
Mixed medium	6.01 a	0.45 b

<sup>z</sup> Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P \leq 0.05$ .

於假球莖之糖類分析上，Gower Ramsey '427'栽植於 Oasis 中，當植株成熟時其假球莖有較高的全可溶性糖及澱粉含量，全可溶性糖含量達 48.5%，澱粉含量達 17.8%，與混合介質栽培時相比較，並無顯著差異，然以水苔做為栽培介質時則有著明顯較低的全可溶性糖及澱粉含量，全可溶性糖含量僅 28.6%，澱粉含量達 12.9% (圖 1 和 2)，這結果顯示 Gower Ramsey '427'以保水性佳之介質如：水苔進行栽培時，對植株養分累積並無助益。另使用岩綿、水苔或 Oasis 做為介質進行 Gower Ramsey 'Volcano Queen'之栽植時，當植株成熟時其假球莖內之全可溶性糖含量分別為 45.1%、36.7%及 30.9%，以及澱粉含量分別為 35.5%、32.0%及 24.9%，皆明顯高於以混合介質進行栽植之假球莖內全可溶性糖含量為 11.3%及澱粉含量為 19.4%(圖 1 和 2)，這結果顯示 Gower Ramsey 'Volcano Queen'以保水性佳之介質進行栽培，有助於植株對養分的累積，使用排水性佳之介質進行栽培時，如：混合介質，對植株養分累積並無助益。*Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'在全可溶性糖與澱粉含量的累積上與 Gower Ramsey 'Volcano Queen'相似，使用岩綿、水苔做為介質進行栽培，當植株成熟時其假球莖內之全可溶性糖含量分別為 55.4%、51.9%及 48.9%，以及澱粉含量分別為 23.7%、21.4%及 16.6%，皆明顯高於以混合介質進行栽培之假球莖內全可溶性糖含量為 19.4%及澱粉含量為 13.0%(圖 1 和 2)，這結果亦顯示 *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'以保水性佳之介質進行栽培時，有助於植株對養分的累積。

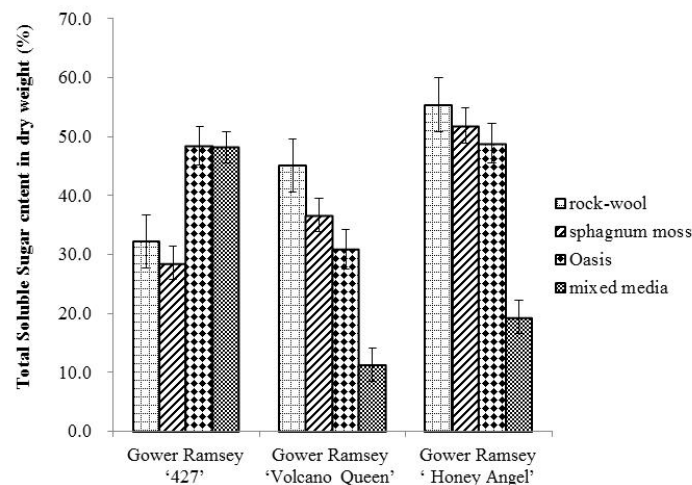


圖 1. 不同栽培介質對 *Oncidium* Gower Ramsey '427', *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen' and *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'假球莖全可溶性糖含量之影響。

Fig. 1. Effects of various culture medium on total soluble sugar content of pseudobulb of *Oncidium* Gower Ramsey '427', *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen' and *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'.

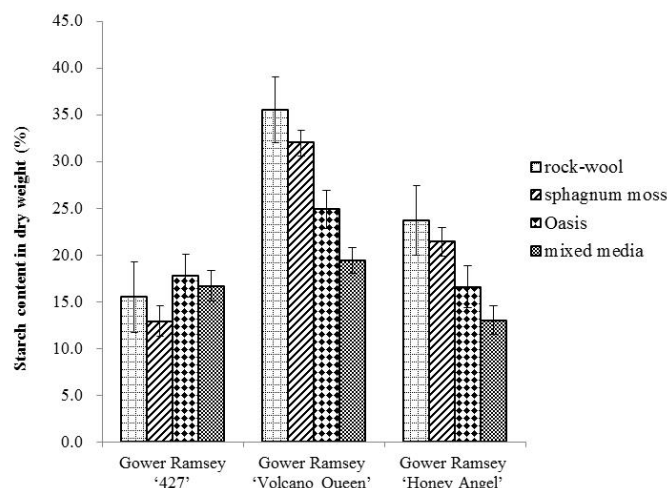


圖 2. 不同栽培介質對 *Oncidium* Gower Ramsey '427', *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen' and *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel' 澱粉含量之影響。

Fig. 2. Effects of various culture medium on starch content of pseudobulb of *Oncidium* Gower Ramsey '427', *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen' and *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'.

分析成熟假球莖之碳/氮比(C/N ratio)結果顯示 Gower Ramsey '427'使用 Oasis 及混合介質進行栽培，當植株成熟時其假球莖內之碳氮比分別為 37.9 和 37.1，明顯高於使用水苔進行栽培之植株假球莖內碳氮比為 30.3(圖 3)；Gower Ramsey 'Volcano Queen' 使用岩綿為介質進行栽培，當植株成熟時假球莖內之碳氮比較高，達 37.7，而以混合介質進行栽培者較低，僅 20.9(圖 3)，顯見使用混合介質作為 Gower Ramsey 'Volcano Queen'之栽培介質，對提高假球莖之碳氮比並無助益。Gower Ramsey 'Honey Angel' 使用岩綿、水苔及 Oasis 做為栽培介質進行栽培，當植株成熟時其假球莖內之碳氮比分別為 41.4、39.1 及 39.7，相較於使用混合介質栽培下其假球莖內之碳氮比僅為 27.2 之植株，明顯較高(圖 3)，顯見使用混合介質作為 Gower Ramsey 'Honey Angel'之栽培介質，對提高假球莖之碳氮比並無助益。

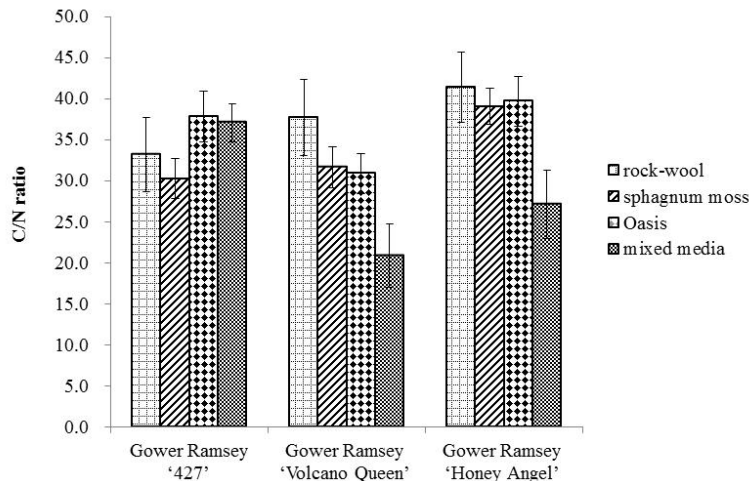


圖 3. 不同栽培介質對 *Oncidium* Gower Ramsey '427', *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen' and *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel' 碳氮比之影響

Fig. 3. Effects of various culture medium on C/N ratio of pseudobulb of *Oncidium* Gower Ramsey '427', *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen' and *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'.

在花序品質調查上，Gower Ramsey '427'使用 Oasis 為栽培介質進行栽培，於花序採收後調查其分叉數為 7.2、小花朵數量為 88.9 及花莖長度為 115.2 cm，在花序分叉數及小花朵數量上明顯較高於使用岩綿及水苔為介質進行栽培者(表 5)，保水性佳之栽培介質對 Gower Ramsey '427'花序品質之提高並沒有幫助；Gower Ramsey 'Volcano Queen'使用岩綿、水苔、Oasis 為介質進行栽培，其花序品質明顯優於使用混合介質栽培者，在花序上之分叉數量分別為 10.2、10.0、9.5，較混合介質栽培之 8.0 為多，且使用岩綿、水苔進行栽培者，其花序上之小花朵數量及花莖長度亦較混合介質栽培者為優，使用岩綿進行栽培時，其小花朵數量達 128.7，花莖長度達 76.0 cm，使用水苔進行栽培時，其小花朵數量達 129.7，花莖長度達 73.8 cm，而使用混合介質進行栽培時，其小花朵數量僅為 97.7，花莖長度僅為 68.2 cm(表 6)，試驗結果顯示保水性佳之栽培介質對 Gower Ramsey 'Volcano Queen'花序品質之提高有所助益，而使用排水性過於良好之栽培介質，不利於該品種花序品質之提高。*Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'使用岩綿及 Oasis 為介質進行栽培，其花序品質高於使用混合介質栽培者，使用岩綿進行栽培時，其花序分叉數達 8.7，小花朵數量達 113.7，花莖長度達 95.5 cm，使用 Oasis 進行栽培時，其花序分叉數達 9.3，小花朵數量達 117.4，花莖長度達 93.7 cm，而使用混合介質進行栽培時，其花序分叉數僅為 6.8，小花朵數量僅為 75.9，花莖長度僅為 79.3 cm(表 7)，試驗結果顯示保水性、通氣性佳之栽培介質對 *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'花序品質之提高有所助益，而使用排水性過於良好之栽培介質，並不於該品種花序品質之提高。

表 5. 不同栽培介質對文心蘭 Gower Ramsey '427' 花序品質之影響

Table 5. Effect of various culture medium on inflorescence quality of *Oncidium* Gower Ramsey '427'

Growing media	Branching no. of flower stalk (no./stalk)	Floret number (no./stalk)	Flower stalk length (cm)
Rock-wool	5.8 b <sup>z</sup>	66.6 b	104.8 a
Sphagnum moss	5.3 b	63.4 b	102.3 a
Oasis	7.2 a	88.9 a	115.2 a
Mixed media	6.5 ab	72.2 ab	113.3 a

<sup>z</sup> Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P \leq 0.05$ .

表 6. 不同栽培介質對文心蘭 Gower Ramsey 'Volcano Queen' 花序品質之影響

Table 6. Effect of various culture medium on inflorescence quality of *Oncidium* Gower Ramsey 'Volcano Queen'

Growing media	Branching no. of flower stalk (no./stalk)	Floret number (no./stalk)	Flower stalk length (cm)
Rock-wool	10.2 a <sup>z</sup>	128.7 a	76.0 a
Sphagnum moss	10.0 a	129.7 a	73.8 a
Oasis	9.5 a	114.8 ab	70.8 ab
Mixed media	8.0 b	97.7 b	68.2 b

<sup>z</sup> Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P \leq 0.05$ .

表 7. 不同栽培介質對文心蘭 Gower Ramsey 'Honey Angel' 花序品質之影響

Table 7. Effect of various culture medium on inflorescence quality of *Oncidium* Gower Ramsey 'Honey Angel'.

Growing media	Branching no. of flower stalk (no./stalk)	Floret number (no./stalk)	Flower stalk length (cm)
Rock-wool	8.7 a <sup>z</sup>	113.7 a	95.5 a
Sphagnum moss	8.1 a	96.6 ab	88.7 ab
Oasis	9.3 a	117.4 a	93.7 a
Mixed media	6.8 b	75.9 b	79.3 b

<sup>z</sup> Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P \leq 0.05$ .

## 討 論

一般著生蘭種植適合生長於通氣性排水性較佳的栽培介質中，以免根部缺氧而影響生育(Hew and Yong, 1996)；試驗中著生性的文心蘭各品種栽植於不同栽培介質中，有些品種生長情況良好，有些品種則生育較差，不同栽培介質應用於文心蘭切花栽培生產之評估試驗結果顯示，各栽培介質在栽培前之物化性上是以混合介質有著較佳較高的充氣孔隙度，然其容器容水率亦較其他三種栽培介質為低，混合介質有著良好的排水通氣性，而水苔則相反有著較高的容器容水率與較低的充氣孔隙度，屬於保水性較佳，排水通氣性較差之栽培介質，此調查結果與王(2006)等人的結果相似；沈(1992)指出岩綿有較佳的容器容水率，試驗結果其充氣孔隙度亦高於水苔介質；文心蘭 Gower Ramsey '427'使用保水性佳之介質進行栽培時，對植株養分累積亦無助益，反而使假球莖內的全可溶性糖含量上的累積較低；反之使用排水性或通氣性較佳的栽培介質時，成熟假球莖內的全可溶性糖含量及碳氮比皆較高，假球莖為文心蘭的貯藏器官，植株所製造的養分及水分会轉運至假球莖，以貯藏或轉運至植株各部分提供生長，假球莖的數量3個以上或假球莖內的養分含量較高時，可有較佳的開花品質(Hew and Ng, 1996；Yong and Hew, 1995)；試驗中文心蘭 Gower Ramsey '427'栽植於排水通氣性較佳之栽培介質時有著較佳的開花品質，包括其分叉數與小花朵的數量較多，因此文心蘭 Gower Ramsey '427'植株適合之栽培介質係以通氣性良好排水性佳之混合介質為較理想。而文心蘭 Gower Ramsey 'Volcano Queen'與文心蘭 Gower Ramsey 'Honey Angel'使用保水性佳之介質進行栽培時，有助於成熟假球莖內的養分含量，包括全可溶性糖和澱粉含量的提高，碳氮比增加，有助於植株對養分的累積，以及花序品質亦有所提昇。使用保水性較佳的介質，如岩綿、水苔或 Oasis 等，可有效利用水分及養分，使其假球莖內所蓄積之碳水化合物有顯著增加的情形，碳水化合物之多寡與開花品質相關，增加假球莖內的碳水化合物累積，可有效提高開花品質(Yong and Hew, 1995)，然而使用排水通氣性佳之混合介質則其全可溶性糖及澱粉含量等碳水化合物之累積較低，開花品質之表現也較為不佳。文心蘭 Gower Ramsey 'Volcano Queen'在栽培上建議使用岩綿為介質進行栽培時，可有較佳的開花品質，而文心蘭 Gower Ramsey 'Honey Angel'與 Gower Ramsey 'Volcano Queen'相似，以保水性較佳之栽培介質進行栽培時可有較佳之開花品質，但以保水性佳之水苔進行栽培時，其植株生育與開花品質不若以岩綿或 Oasis 佳，顯見文心蘭 Gower Ramsey 'Honey Angel'在保水性與通氣性俱佳的岩綿及 Oasis 的栽培介質中，其花序的開花品質較佳，因此建議文心蘭 Gower Ramsey 'Honey Angel'在栽培介質選擇上，可使用岩綿或 Oasis 進行栽培時可有較佳之開花品質。

## 參 考 文 獻

王瑞章、孫文章、胡文若、陳俊仁、江汶錦. 2006. 栽培介質對盆栽文心蘭生育與開花品

- 質之影響. 台南區農業改良場研究彙報 47:9-16.
- 沈再發、林俊彥譯. 1992. 岩綿園藝作物栽培上之利用. 台北市七星農田水利研究發展基金會發行. 194 pp.。
- 林瑞松。2002。文心蘭栽培技術。文心蘭專刊。財團法人台灣區花卉發展協會出版。pp. 54-64.。
- 林瑞松。2006。文心蘭栽培生理與產品處理。國立中大學農業暨自然資源學院農業推廣中心編印。104pp.。
- 徐懷恩、林瑞松。1997。文心蘭生育習性之研究。興大園藝 22(2): 123-134。
- 張朝晏。2009。文心蘭之健康管理。2009 花卉健康管理研討會專刊。農業試驗所特刊第 143 號。pp. 195-202。
- 蔡佩芬。2000。溫度、光度、栽培介質及肥料濃度對文心蘭苗生育之影響。國立台灣大學園藝研究所碩士論文。141pp.。
- Bragg, N. C. and B. J. Chambers. 1988. Interpretation and advisory applications of compost air-filled porosity (AFP) measurements. Acta Hort. 221: 35-44.
- Clark, C. J. and G. S. Smith. 1990. Seasonal changes in the composition, distribution and accumulation of mineral nutrients in persimmon fruit. Sci. Hort. 42: 99-111.
- Hew, C. S., and C. K. Y. Ng. 1996. Changes in mineral and carbohydrate content in pseudobulbs of the C<sub>3</sub> epiphytic orchid hybrid *Oncidium* Goldiana at different growth stage. Lindleyana 11(3): 125-134.
- Hew, C. S., and J. W. H. Yong. 1996. Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, Singapore. 331pp.
- Hew, C. S., W. P. Soh. and C. K. Y. Ng. 1998. Variation in photosynthetic characteristics along the leaf blade of *Oncidium* Goldiana, a C<sub>3</sub> tropical epiphytic orchid hybrid. Int. J. Plant Sci. 159(1): 116-120.
- 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.
- Yong, J. W. H. and C. S. Hew. 1995. The importance of photoassimilate contribution from the current shoot and connect back shoots to inflorescence size in the thin-leaved sympodial orchid *Oncidium* 'Goldiana'. Int. J. Plant. Sci. 156(4): 450-459.

## Effects of Various Growth Medium on Pseudobulb Nutrition and Flowering Quality of *Oncidium*

Jung-Hua Hsu <sup>1)</sup> Ruey-Song Lin <sup>2)</sup>

Keyword: Growth medium, Rock-wool, Sphagnum moss, Oasis, Mixed media

### Summary

Different cultivars of *Oncidium* had cultured in 4 various growth medium, which were rock-wool, sphagnum moss, Oasis, and mixed media. The results showed that mature plants had more nutrient accumulation in cluding total soluble sugar content 48.5% and starch content 17.8% on current pseudobulb of *Oncidium* Gower Ramsey '427', which cultured in Oasis. The current mature pseudobulb of Gower Ramsey 'Volcano Queen' which cultured in rock-wool had higher total soluble sugar content 45.1% and higher starch content 35.5%. The current mature pseudobulb of Honey Angle which cultured in rock-wool had higher total soluble sugar content 55.4% and higher starch content 23.7%. On flowering quality aspect, the plants of Gower Ramsey '427' which cultured in Oasis had better flowering quality including inflorescence branches 7.2 and florets 88.9, respectively. The plants of Gower Ramsey 'Volcano Queen' which cultured in rock-wool had better flowering quality including inflorescence branches 10.2, florets number 128.7 and stalk length 76.0 cm, respectively. The plants of *Oncidium* Honey Angle which cultured in Oasis had better flowering quality including inflorescence branches 9.3, florets 117.4 and stalk length 93.7 cm, respectively.

---

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

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

## 探討具恢復力環境對受測者生心理反應影響之研究

葉婉柔<sup>1)</sup> 歐聖榮<sup>2)</sup>

關鍵字：注意力恢復理論、恢復性環境特徵、生心理效益

**摘要：**本研究主要目的乃在了解具不同恢復性特質之景觀對於注意力恢復效益之影響。本研究之主要刺激源為視覺刺激，其乃被用於探索心理諮商師的生心理反應以及驗證圖片屬性間之相關性。本研究根據過去相關研究，利用注意力恢復理論提出「具有注意力恢復效益」的景觀環境之四項特質，包含遠離日常生活、延展性、魅力性及相容性之原則去挑選受測圖片。研究結果發現透過前後測試數據結果可發現產生的差異，並能夠觀測到測試過程中對生心理產生一定恢復之效果。研究證實不同恢復性之環境特質經由視覺上之刺激，不但可以使注意力達到恢復，亦能造成生理表徵之轉變，因此可以藉由這樣的研究方法對具不同恢復效益的景觀做一客觀的評估。

### 前 言

回顧過去注意力恢復之研究，發現受測者於自然景觀中之恢復效益高。然因現代人處在室內工作環境之時間增長，以及受到室內空間感之影響，其工作壓力有漸增之趨勢(洪，2009)。為能改善此現象，學者提議進行使用者注意力及心理效益評估相對顯得重要(沈，2009；張等，2010)。由於心理治療工作屬於具高度壓力之職業(李，2009)，且在此工作場域中，諮商的空間大多屬於小坪數之房間。而在與個案諮商時，更需高度注意力去觀察個案於過程中之情緒及行為上的變化，因此本研究認為以諮商心理師為研究對象並進行測試，將可提出空間設計上的建議，以協助其減緩工作的壓力。

過去研究指出，自然環境能提升正向的生理狀況、認知和健康情形(彭，2007)。Kaplan(1995)在注意力恢復理論(attention restoration theory, ART)研究中提及，自然環境可被賦予所有恢復經驗的必要功能，提及之恢復性環境特徵元素，包含有遠離日常生活、魅

---

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。

力性、延展性與相容性四大重要特質，是達到恢復效益的必要條件，因此本研究中之測試媒材以上述特質做為依據。人們對於環境知覺之接收過程，是當個體受視覺景觀環境刺激後，由客觀性的心理層面感受，擴及至個人的情感、壓力、知覺及行為之生理反應，此現象顯示出人們多半依靠視覺感官來體驗自然所賦予之恢復效果(Kaplan, 1995)。因此具有恢復力之環境可透過直接注意力(directed attention)達到恢復，亦可藉由心理的改善而導致生理負荷之降低。然在一般條件下，個體極少或是根本沒有意識到這些受了環境刺激而引起的軀體反應，因此本研究欲透過生心理測量儀器之測量方式，以便客觀了解受測者接受刺激時的生理反應狀況，生心理測量方式之使用指標(EMG、BVP)提供了客觀的反應結果，使研究者能夠深入了解受測者接收環境刺激時所產生的認知情緒反應以及生理的變化，例如臉部前額肌肉的放鬆或是心跳快慢等，因此本研究可藉由前述之觀察方式作為景觀評估的一項客觀的審視標準。

綜合上述說明，本研究主要目的乃在了解具不同恢復性特質之景觀對於注意力恢復效益之影響。經由過去研究之專家分析，以注意力恢復理論之四大核心特質作為測試圖片之挑選原則，探討其不同恢復性特徵的環境條件(1)對心理治療師之生理心理反應之恢復力效果及(2)分析出環境特徵圖片與研究工具搭配的適當性，以及驗證圖片屬性間之相關性。

## 文 獻 回 顧

### 一、景觀知覺

#### (一) 景觀知覺之定義

Zube、Sell 和 Taylor(1982)於景觀知覺(landscape perception)的研究中，說明人與景觀間之景觀知覺互動函數，其中包含四大部分：人(human)、景觀(landscape)、交互作用(interaction)與生成結果(outcome)。其交互作用受到「人」的經驗、文化與社會背景等層面，以及「景觀」之組成結構、區域性背景等因子的影響，使交互作用之生成結果分別產生目的性的、獨特性和習慣性等不同形式的作用，進而使研究者由生成結果中分析出資訊、價值甚至顯著的景觀元素等因子，回饋至人與景觀而形成所謂環境系統之重要體驗。

Zube(1984)提出景觀知覺為個人於環境系統的重要體驗，觀賞者透過視覺及其他的知覺器官，於物理環境中探索環境訊息，接受景觀所發出的訊息程度，經由一連串的心理反應(如認知、情感、意義、評價等)，並受其個人特性(如社經背景、文化、期望等)的差異所影響，而產生個人環境系統的重要體驗(林，2007)。

環境知覺依賴兩種不同形式的訊息：環境訊息及知覺者自身的經驗，觀賞者會使用視覺、聽覺、味覺、嗅覺、觸覺來接收環境訊息。楊(1985)於研究中提出，知覺者 87%透過眼睛接收刺激，而其中 75~90%之人體活動亦由視覺所主導。Korpela 和 Hartig(1996)指出經由視覺接觸具有特殊特徵的風景可產生恢復力。其運作過程經由三個步驟：感官從外界

接收訊息、從訊息中辨識出特徵、知覺對象的前後關係及背景參與而後形成人們的知覺，換句話說即是將感官接收訊息激起的同時，能夠誘發情感上的連結及反應(徐和陽，2005)。

## (二)景觀知覺之相關研究

Ulrich(1981)評估視覺與自然環境之間的效益，結果說明受測者之生心理狀態對具有水體之水體景觀有較好的影響，且生理方面之大腦 $\alpha$ 波振幅顯著增加(說明越清醒或放鬆)。

Ulrich(1983)於相關心理研究中探討某些環境之視覺感知，提出美學與情感反應和視覺感知三者之間存在有關連性，視覺品質會影響美學之偏好，而品質則受到視覺所接收到的結構、威脅性、水體等因素所影響。

Ulrich(1993)藉由加護病房剛動完心臟手術之病患，於病房內觀看自然景觀、抽象以及空白三種圖片，之後進行病人自我陳述個人之心理健康恢復狀況，研究結果得出病患觀賞自然景觀的圖片能夠緩和手術後的焦慮程度，尤其又以廣闊的水體自然圖片最為顯著。

Korpela 和 Hartig(1996)指出經由視覺接觸具有特殊特徵的風景可產生恢復力，例如自然風景或是具視覺焦點之風景等，透過知覺接觸前述具有特殊象徵之自然風景可使生理系統產生一連串反應，像是使人專注、減少產生負面情緒等。

## 二、注意力恢復理論

### (一) 注意力恢復理論發展

James (1892)最早提出關於注意力恢復理論，可分為兩種概念模式。其中自主性/自願性注意力(voluntary attention)為注意力的性質需受到自主意識的控制，所面對的事物無法吸引自己的注意力，但儘管如此，依舊須強迫自己努力去注意它，此種注意力便稱之。而非自主性/非自願性注意力(involuntary attention)則不需特別努力去強迫自己專注在事物上，便可得到的注意力稱之。

Kaplan 和 Kaplan (1989)為避免與 William James 所用之專有名詞相混淆，將自主性/自願性注意力(voluntary attention)改成直接性注意力(directed attention)，其源由依據早期臨床神經科醫師在研究中發現，大腦前額葉扮演心智功能抗化劑的重要角色，因此大腦前額葉皮質受傷與注意力不足相關，並定義出一顯著類似的機制，稱其為“直接性注意力”。因此，Kaplan(1995) 於戶外挑戰活動之研究中得知，參與受訪者在體驗中心理疲勞得到恢復，得到寧適感以及被治癒的感覺，因此將此具有恢復體驗的環境稱為恢復性環境，並提出注意力恢復理論。恢復力的效果是在幫助直接注意力疲勞的恢復。為了停止使用直接注意力，有必要找出一些可維持注意力集中的基礎。

### (二) 注意力恢復理論之定義

Kaplan(1995)延伸 James 注意力恢復力之分析流程，針對自主性和非自主性的注意力比較，說明後者是一種不需要努力專注的注意力形式，甚至可以抵抗疲勞產生；個體處在非自主性的模式時，直接注意力可以達到恢復的效果。Kaplan 以「魅力」取代非自主性/

非自願性注意力，並明確說明其注意力本質上是引人注目的。然而，魅力性的存在，並不保證能使直接注意力得到恢復。因此 Kaplan 於 1995 年提出注意力恢復理論，是目前最廣泛被探討的，內容中說明另外三個恢復性環境特徵(遠離日常生活、延展性與相容性)之結合便形成所謂恢復性環境的組成性質。

### 三、恢復性環境

#### (一) 恢復性環境之定義

包含 Kaplan(1995)所提出之注意力恢復理論中四個恢復環境特徵(遠離日常生活、延展性、魅力性和相容性)的環境即可稱為「具恢復力的環境(restorative environments)」(Berto, 2005; 周, 2005; 黃, 2007), 且具恢復力的環境可以是真實的或是想像的, 即恢復體驗可以發生自實質的環境或是虛幻的環境, 又或是這兩種環境的結合(Kaplan, 2001)。

#### (二) 恢復性環境四大構成要素

##### 1、遠離日常生活：

自然景觀是提高恢復機會的重要介質，像是海邊、山景、湖泊、河流、森林和綠地等如田園詩般的環境背景；然而居住在都市背景中的人，無法決定遠離現有環境的機會。因此，對於遠離日常生活的意義，表示出恢復性環境不需要設置在遙遠的地方，自然的環境是能夠容易營造出來的，且它也是提供直接注意力恢復的重要來源。

##### 2、魅力性：

具有魅力性的事物皆擁有自然的特質，過程中可使人全神貫注的注意它並同時提振注意力。魅力可分成柔性魅力和剛性魅力，例如：柔性魅力就像步行在大自然環境中，剛性魅力則像是觀看賽車；柔性魅力具有自然環境的特徵和擁有特殊的優勢，自然的柔性魅力包含落日、雪花和葉子在微風中飄落等，這些自然元素除了可觸及的植物和水體等具體物件，陽光、微風等非具像的因子似乎也隱藏著另一層意義，說明接觸的過程中能夠經歷思考、行動以及遐想等層面(Kaplan, 1995)，提供反省(reflection)的機會，可進一步提高注意力疲勞恢復的效益(Kaplan, 1993)。

##### 3、延展性：

寬廣的曠野容易達到延展性，即便是相對較小的土地亦可表現出延展性的特質，像是步道和路徑的設計可使區域小的地方看起來變得較為寬大。小型化是另一種延展性的表現手法，例如日式庭園利用此方式使人可感受空間的連結性。延展性可分為有型的範圍(Scope)與無形的一致性(Coherence)。一個具有恢復力效果的環境必須擁有充足的範圍來穩定心智，使能夠盡情的體驗觀賞與思考等，說明環境必須是一個實體又容易到達的空間(Kaplan, 1995)。

##### 4、相容性：

自然環境具有相當高的相容性，且自然環境與人的生活有特殊的共鳴。對許多人而言，在自然環境中需要努力的程度比在“文明”環境中要少，即使人們和都市環境較親密(Cawte, 1967; Sacks, 1987)。人們時常接近自然環境的目的，是因為產生使自己印象深刻的行為模

式而增加相容性。許多環境模式皆與自然的環境有關。有捕食者作用(如狩獵和捕魚)，運動(遠足，划船)的作用，野生馴化作用(園藝，照顧寵物)，觀察其他動物(觀鳥，參觀動物園)，生存技能(消防建設，建設住房)。

#### 四、恢復性環境之測量方式

經由上述四種特徵，Laumann、Gärting 和 Stormark(2001)提出一套適用於自然環境和都市環境之恢復性組成量表(Restorative Components Scale, 簡稱為 RCS)。其建構過程是根據 Hartig(1996, 1997)之知覺恢復性量表(Perceived Restorative Scale, 簡稱為 PRS)的缺點進行修正，Laumann(2001)認為 Hartig(1996, 1997)所提出的 PRS 結果與恢復性環境四項特徵之影響要素不盡相符，其中「一致性」特徵的題項是 PRS 量表中唯一負向的概念，因此說明 Hartig(1996, 1997)的研究結果並未明確界定出四項特徵的影響要素。Laumann(2001)等人所建構之恢復性組成量表，依據 Kaplan 和 Kaplan(1989, 1995)之注意力恢復理論將四項特徵因子再分類為五種，包含「遠離日常生活」分析為新奇(Novelty)與逃離(Escape)，以及原有的延展性(Extent)、魅力性(Fascination)和相容性(Compatibility)。新奇為心理上的感覺，像是接觸一件新的事物或是位處在一個新的環境中，而逃離則是心理上的狀態，像是想遠離日常生活的焦慮、事務或是責任。

Laumann(2001)於研究中顯示，恢復性組成量表因適用在自然環境和都市環境，因此可強調出不同強度之恢復性環境，如預測出自然環境為強恢復性環境，相較下，都市環境屬於低恢復性環境。以外，恢復性環境之組成特徵中，「魅力性」與「相容性」可以預測環境偏好，而逃離以及相容性則可做為預測放鬆的自我判斷依據(彭，2007)。

#### 五、生心理反應測量方式

##### (一) 生心理測量方式來源介紹

心理生理學(Psychophysiology)研究人類一系列不同反應的交互作用，包括主觀的經驗、注意力、認知行為、和生理狀況(Ulrich *et al.*, 1991)。Lacey 和 Lacey(1970)依據心血管功能來證實知覺吸收(Sensory intake)和環境抗拒(Environmental rejection)的不同進行研究。個體對於刺激的性質、周圍環境的知覺亦會產生刺激感覺知覺、生理反應和感受的情緒反應。因此外部刺激所導致的知覺吸收和心跳的減速有關(呈現放鬆)，此與 Kaplan 和 Kaplan(1989)提出的非自主注意力(Involuntary attention)概念相當接近，使受測者接受「恢復」的可能性；而環境抗拒是指個體過濾掉會干擾內部認知的不恰當刺激的過程，與 Kaplan 和 Kaplan(1989)提出的直接注意力(Directed attention)概念一致，受測者亦可能因「抗拒」而產生所謂的疲勞，環境抗拒通常會伴隨著心跳的加速(呈現緊繃)。

##### (二) 生心理測量方式之使用指標

在一般條件下，個體極少或是根本沒有意識到這些受了環境刺激而引起的軀體反應。因此我們必須透過監視裝置提供之訊息，才能了解受測者接受刺激時的反應方向及強度，並且客觀地觀察到其體內的反應狀況。以下介紹常見之生理指標以及實際應用情形：

### 1、肌電值(Electromyogram, EMG)

當接收不同型態的視覺和聽覺刺激時，會引發不同的臉部肌肉活動，由肌肉收縮時所產生的肌電值，便是作為描述前額肌肉肌電訊號的方式。當人們面對正面的影響時會增加前額肌肉活動(如微笑)，當面對負面的影響時會增加肌肉的皺縮(如皺眉)，因此肌電值亦能夠監測前額肌肉是否達到放鬆的效果。

### 2、末梢血液流量(Blood Volume Pulse, BVP)

血流脈動(Blood Volume Pulse)常測量的部位為指尖，研究指出，血流量在生氣或壓力的狀態下將會提高，而在悲傷或是放鬆的情況下則會降低。

## 研究方法

### 一、研究時間、地點及樣本

本研究測量時間及地點為 2012 年 4 月 16 日至 4 月 26 日，於國立中興大學諮商中心進行。本研究因受測對象為諮商心理師(共 7 人)，受測時間皆與每位心理治療師配合，當心理治療師與個案諮商完後並緊接著進行實驗測試。

### 二、刺激源之篩選

#### 1、測試片與量表選擇之依據

本研究透過文獻回顧中，Kaplan & Kaplan (1989)、Kaplan (1995)所提出「具有注意力恢復效益」的景觀環境之四項特質要素，與Kaplan、Kaplan和Ryan(1998)建議具恢復力之環境特徵中應該包含之原則，進行受測媒體之挑選。且根據Laumann等人(2001)所建立的恢復性組成量表(RCS)進行測量，此量表包含四大恢復性環境之特質要素，由注意力恢復理論中的離開日常生活環境(Being Away)、延展性(Extent)、魅力性(Fascination)與相容性(Compatibility)四項環境特徵，且改善過去PRS量表的負面問項，所構成22個問句來測量注意力恢復的能力。由於本研究將量表與生理指標一同測量，為了避免整個實驗過程花費過多時間，造成受測者情緒煩躁，引用自江彥政和張俊彥(2009)研究中使用之量表作為本研究之注意力恢復測量工具，將性質類似之問項進行合併，最後以12個問項進行心理評值(參見表一)，項目以Likert五點尺度針對描述的同意程度進行勾選，每張圖片以最高5分最低1分進行評值，分述如表1及表2。

生理反應部份之數據包括有肌電反應和末梢血液流量，觀賞時由生理回饋組BioGraph Infiniti/ MULTIMEDIA BIOFEEDBACK SOFTWARE進行監測及一台個人電腦紀錄收集；求取每一位受試者在實驗中前測與後測的肌電值，其計算方式因考量每位受測者因生理反應的敏感度不同，因此將肌電值進行標準化，每位受測者在每個階段的受試過程中，肌電值最高值為最大值，而最低值為最小值，最大值減最小值為分母，分子則為平均值減掉最小值；末梢血液流量之紀錄值，則直接求取其平均值。

表 1. 受測照片介紹

Table 1. Introduction of photos used in this study

遠離日常生活特質	說明：此環境位於海邊，符合離開日常生活環境的原則，由沙灘、椰子樹與涼椅所形成的空間可給人離開日常生活的環境。		魅力性特質	說明：此環境是在傍晚湖岸邊的落日，符合魅力性環境的原則。	
	說明：此環境位於海邊，符合離開日常生活環境的原則，藉由大尺度開闊的沙灘，可提供作為離開日常生活的環境。			說明：此環境為飄動壯觀的雲海，符合魅力性環境的原則。	
	說明：此環境位於高山上的草原，符合離開日常生活環境的原則，同時給人粗獷壯闊的感覺，可給人離開日常生活的環境。			說明：此環境為傍晚日落的湖畔，符合魅力性環境的原則。	
延展性特質	說明：此環境藉由窗戶與窗外自然植栽的設置，符合延展性環境的原則，提供視野延伸的機會。		相容性特徵	說明：此環境為森林中宣洩而下的清澈瀑布，符合相容性環境的原則。	
	說明：此環境藉由窗戶與窗外自然植栽的設置，符合延展性環境的原則，提供視野延伸的機會。			說明：此環境為具有關闊的視野以及地形變化的草坡，符合相容性環境的原則。	
	說明：此環境由日本庭園式的植栽配置與設計方式所構成，符合延展性環境的原則。			說明：此環境為符合台灣優美海岸的沿岸景色，符合相容性環境的原則。	

表 2. 修正後恢復性組成量表問項

Table 2. Revised restoration components scale

變項	英文問項	中文問項
遠離 日常 生活	In this setting I do something different than I usually do.	在這裡我可以做一些平常不做的事。
	I am in a different setting than usual.	這是一個跟平日生活不同的環境。
	When I am here I do not need to think of my responsibility.	當我在這裡，我可以不去想我的職責。
	I am away from my obligations.	在這裡可以不去想我的責任。
延展性	All the elements constitute a larger whole.	在這裡所有元素結合成一體。
	The surroundings are coherent.	在這裡周遭的事物很協調。
魅力性	There is plenty to discover here.	這裡有很多事物可以去發現。
	There are many objects here that attract my attention.	在這裡有很多事物吸引我的注意。
相容性	I can handle the kinds of problems that arise here.	在這裡發生的問題我都有把握處理。
	I am capable of meeting the challenge of this setting.	我有能力處理在這裡發生的挑戰性問題。
	When I am here I feel relax.	在這裡我覺得輕鬆。
	I prefer this kind of setting.	我喜歡這樣的環境。

### 三、實驗操作

#### (一) 操作流程

首先在測試操作前研究人員先行向受試者說明測試目的以及測試儀器的操作方式，避免造成受試者情緒緊張，並且配戴生理儀器；開始播放相片時，便同時記錄生理反應數值。首先以心理諮商師與個案諮商後所記錄的生理反應數值作為本研究前測的部分，後測值則是觀賞具恢復力環境特質之圖片的過程所記錄之生理數值，並輔以填寫注意力恢復量表即為本研究之實驗操作。流程如圖 1 所示。

## (二) 實驗刺激媒材

本研究根據過去相關人與景觀之間的反應研究，以圖片(相片)作為刺激媒材。在刺激(景觀呈現)時間方面，以 15 秒作為測試片之呈現時間的單位。在測試操作前由操作人員向受測者解說研究的測試目的，減少由受測者對於測試儀器及操作上產生之疑慮所造成的緊張外，並對問項填寫的注意事項加以說明。測試內容中讓受測者觀賞 12 張「具有注意力恢復效益」的景觀環境圖片，同時進行生理回饋資料的收集，並請受測者觀看測試片後所產生的心理感受，勾填注意力恢復之量表問項。

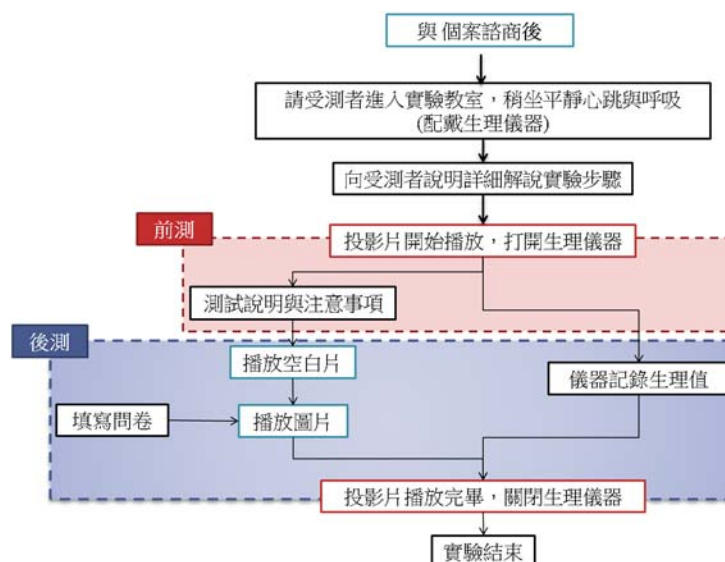


圖 1. 實驗流程。

Fig. 1. Experimental procedure.

## 研究結果

### 一、受測者對具有恢復力之環境圖片其能力值之分析

經由受測者的注意力恢復評值，來分析所使用的恢復力特質之環境圖片，是否有達到它所代表的特質。由分析結果得知「遠離日常生活特質」(平均值 4.33)是符合的(如表 3)。最不符合的是為「延展性」(平均值 3.05)，其結果與過去文獻相同，說明延展性特徵可表現在視覺的延伸與空間的連結性，常見於窗景或是步道路徑等庭園景觀的環境中(Kaplan,

1995; 陳炳錕, 2001), 推測可能為量表中「延展性」問項的影響, 例如量表提到的元素結合成一體與協調等名詞, 使受測者對於「延展性」字面上意思產生差異。「魅力性」與「相容性」特質在恢復力評值上, 皆次之於「遠離日常生活特質」, 因此可根據文獻理論得知提出相容性特徵是指一個能夠支持個人喜好或意圖的環境, 在自然環境中具有特別高的相容性(陳, 2001), 因此「相容性環境特質」在自然環境中特別高, 且易受各人喜好影響, 具有「魅力性」的事物皆擁有自然的特質。由於本研究使用之測試片皆為自然景觀圖片, 可能因此導致測試片同意程度上之差異。本研究推測, 過去相關研究之受測對象是為景觀園藝相關背景之師生, 因此挑選出來的照片可清楚根據特質去做選擇; 若受測者為一般民眾, 則照片之評估上可能會產生差異, 此也顯示出本研究所選取具恢復力之照片實際可帶來的恢復能力。

## 二、具恢復力特質之環境圖片屬性適合度分析

本研究依據 12 張具恢復力特質之照片, 在其相對應恢復力特質的量表問項給予評值。比較出四種恢復力特質之照片屬性是否符合其特質, 研究結果顯示「遠離日常生活」之照片群確實符合其所屬之特質; 亦可看出在「遠離日常生活特質」與「相容性特質」的圖片, 其平均數之差異不大(如表 4), 說明照片有特質上的重疊, 顯示其同意程度差異不大, 並由過去相關研究中提出之理論(Kaplan, 1995; 陳炳錕, 2001)中得知, 「相容性環境特質」於文獻中提出人們時常接近自然環境的目的, 是因為產生使自己印象深刻的行為模式而增加相容性(Kaplan, 1995), 導致測試片同意程度上之差異。因此當照片的心理感受評值顯示出其確實符合其特質, 且在生心理反應也產生效果, 則說明此特質照片是可作為恢復力特質測量的媒介。

## 三、具恢復力特質之圖片對肌電值之平均數差異

本研究透過肌電值的前後測數值來了解照片恢復力之效果。與前測數值(平均數 6.11)比較下, 數值越低表示肌肉放鬆效果越好, 結果可看出受測者觀看整體「遠離日常生活特質」之圖片時, 受測者肌肉放鬆效果最好(平均數 5.45), 而在「延展性特質」之過程中, 肌肉出現較為緊繃的現象(平均數 6.55)。由於前面心理感受結果同樣是為「遠離日常生活特質」恢復力能力最好(如表 5), 因此本研究可推測受測者在觀看「遠離日常生活特質」圖片的過程中, 注意力與生理反應皆有恢復放鬆的效果。

## 四、具恢復力特質之圖片對末梢血液流量之平均數差異

本研究透過前測與後測之末梢血液流量值差異, 了解照片恢復力之效果。雖從結果分析中可看出末梢血液流量前後測之差異性, 但從每張圖片測得的數據中發現其之間的數值相近, 差異平均小於 0.1(如表 6)。本研究推論在末梢血液流量的生理反應上較無法看出其效果, 因此此類相關測量需進行使用上之調整評估。

表 3. 恢復性環境特質圖片之恢復力評值

Table 3. The restorative valuation of restorative environment characteristics of photos

具恢復力之特質	注意力恢復能力值	平均值(Mean)	排序
	離開日常生活	4.33	1
離開日常生活 (Being Away)	延展性	3.05	4
	魅力性	3.64	3
	相容性	3.80	2
	離開日常生活	3.90	2
延展性 (Extent)	延展性	3.38	4
	魅力性	3.79	3
	相容性	3.95	1
	離開日常生活	3.95	1
魅力性 (Fascination)	延展性	2.95	4
	魅力性	3.33	2
	相容性	3.05	3
	離開日常生活	3.45	1
相容性 (Compatibility)	延展性	3.21	3
	魅力性	3.15	4
	相容性	3.37	2

(項目以 Likert 五點尺度針對描述的同意程度進行勾選，每張圖片以最高 5 分最低 1 分進行評值)

表 4. 具恢復性環境特質之相片其對應之能力值分析

Table 4. The corresponding valuation of restorative environment characteristics of photos

遠離日常生活特質												
	遠離日 常生活 照片 1	遠離日 常生活 照片 2	遠離日 常生活 照片 3	延展 性 照片 1	延展 性 照片 2	延展 性 照片 3	魅力 性 照片 1	魅力 性 照片 2	魅力 性 照片 3	相容 性 照片 1	相容 性 照片 2	相容 性 照片 3
Mean	4.46	4.25	4.29	3.14	2.89	3.11	3.96	3.86	3.11	4.04	3.54	3.82
Std.	0.39	0.35	0.70	0.83	0.64	0.80	0.86	1.02	0.81	0.70	0.68	0.70
延展性特質												
	遠離日 常生活 照片 1	遠離日 常生活 照片 2	遠離日 常生活 照片 3	延展 性 照片 1	延展 性 照片 2	延展 性 照片 3	魅力 性 照片 1	魅力 性 照片 2	魅力 性 照片 3	相容 性 照片 1	相容 性 照片 2	相容 性 照片 3
Mean	3.93	3.64	4.14	3.64	2.57	3.93	4.29	3.71	3.36	4.07	3.93	3.86
Std.	0.53	0.80	0.69	0.38	1.06	0.35	0.70	0.81	0.69	0.67	0.61	0.85
魅力性特質												
	遠離日 常生活 照片 1	遠離日 常生活 照片 2	遠離日 常生活 照片 3	延展 性 照片 1	延展 性 照片 2	延展 性 照片 3	魅力 性 照片 1	魅力 性 照片 2	魅力 性 照片 3	相容 性 照片 1	相容 性 照片 2	相容 性 照片 3
Mean	4.21	3.21	4.43	3.14	2.29	3.43	3.79	3.36	2.86	3.36	3.07	2.71
Std.	0.64	0.64	0.73	1.18	0.86	0.93	0.76	1.07	0.90	0.80	1.24	0.86
相容性特質												
	遠離日 常生活 照片 1	遠離日 常生活 照片 2	遠離日 常生活 照片 3	延展 性 照片 1	延展 性 照片 2	延展 性 照片 3	魅力 性 照片 1	魅力 性 照片 2	魅力 性 照片 3	相容 性 照片 1	相容 性 照片 2	相容 性 照片 3
Mean	3.75	3.54	3.07	3.46	2.64	3.54	3.50	3.14	2.82	3.54	3.46	3.11
Std.	0.48	0.51	0.51	0.39	0.66	0.44	0.46	0.83	0.73	0.68	0.49	0.48

(項目以 Likert 五點尺度針對描述的同意程度進行勾選，每張圖片以最高 5 分最低 1 分進行評值)

表 5. 受測者之肌電值(EMG)於前後測之差異

Table 5. Differences of respondents' electromyogram between pretest and posttest

肌電值 (EMG) Mean	前測 (諮商後) 6.11	觀看具恢復力之特質圖片後	遠離日常生活 5.45	遠離日常生活 照片 1	遠離日常生活 照片 2	遠離日常生活 照片 3
				5.07	5.62	5.67
			延展性 6.55	延展性 照片 1	延展性 照片 2	延展性 照片 3
				7.01	6.10	6.54
			魅力性 5.74	魅力性 照片 1	魅力性 照片 2	魅力性 照片 3
				5.62	5.95	5.66
			相容性 6.14	相容性 照片 1	相容性 照片 2	相容性 照片 3
				6.15	6.53	5.73

表 6. 受測者之末梢血液流量(BVP)於前後測之差異

Table 6. Differences of respondents' blood volume pulse between pretest and posttest

末梢血液流量 值(BVP) Mean	前測 (諮商後) 32.14	觀看具恢復力之特質圖片後	遠離日常生活 32.10	遠離日常生活 照片 1	遠離日常生活 照片 2	遠離日常生活 照片 3
				32.27	32.06	31.95
			延展性 32.09	延展性 照片 1	延展性 照片 2	延展性 照片 3
				32.16	32.10	32.01
			魅力性 32.17	魅力性 照片 1	魅力性 照片 2	魅力性 照片 3
				32.12	32.03	32.35
			相容性 32.14	相容性 照片 1	相容性 照片 2	相容性 照片 3
				32.42	32.07	31.93

## 結論與建議

根據本研究之分析結果，得知恢復力特質照片之注意力評值中，一般人與相關學術背景之受測對象，對於評估景觀圖片之判斷上產生之差異，亦可看出恢復力照片特質之最適適合度。針對實驗設計，根據注意力恢復能力值與生理指標(前後測)之分析結果，可推測受測者觀看具恢復力特質之圖片後，雖心理感受與生理反應相關性不顯著，但其前後測試之數據產生差異，說明測試過程中仍對生心理具有恢復之效果。不同之測量工具，根據注意力恢復力量表之評值結果，「延展性特質」之圖片適宜性最低，推測本研究注意力恢復力量表中，延展性之問項內容所造成之影響。生心理儀器之BVP生理回饋數據中，雖可比較出其前後測之差異，但各圖片之間之數據差異不大，說明後續生理指標工具上可朝心跳速率(Heart Rate, HR)測量為考量。

本研究與過去研究(Kaplan and Kaplan, 1989；Kaplan, 1995；Hartig, *et al.*, 2003)進行差異比較(如表 7)，同樣利用經專家分析所得到之具恢復力的測試媒材(景觀圖片)，但在受測對象、實驗設計以及測量工具等層面，探討其結果以及適宜性。

表 7. 研究結果與過去相關研究之比較

Table 7. Comparing the current results with the previous studies

	本研究	過去相關研究
受測對象	以特定對象(心理治療師)進行測試	以學生、教職人員為主
	比較不同壓力族群其研究結果產生差異，受測者對於圖片特質屬性上的認知有不同；園藝景觀背景之受測者可清楚判別照片所屬之特質，但本研究一般背景之受測者之結果較為客觀。	
實驗設計	實驗時間設定在心理治療師與個案諮商後緊接著進行	未將實驗前之情況納入考量
	受測者在諮商後的情況下進行測試，比較後續之實驗是否使其心理感受與生心理效益產生差異。其結果差異雖不明顯，但綜合生理及心理上之測量結果可發現，測量數據值減少(恢復力程度增加)，表示注意力恢復的效果依舊具其可觀性。	
測量工具	使用 Laumann 等(2001)恢復性組成量表(restorative components scale, RCS)	使用 Hartig(1997)知覺恢復性量表(perceived restorativeness scale, PRS)
	根據測量工具之應用(負面問項的改善)，探討不同量表類型其分析結果之差異。其結果產生差異，由於量表問項的合併，受測者在填寫量表過程中可避免疲勞。	

因此後續研究將可依據上述之結果討論，提出下列三點建議，針對注意力恢復議題進行相關的研究：

- (一) 探討量表之適宜性以及此特質圖片是否需重新進行挑選。
- (二) 未來試以反向角度切入，探討不相容性特質與其注意力恢復(心理疲勞)之關聯性。
- (三) 探討不同景觀類型對注意力恢復及焦慮感之改善，作為後續空間上之意象營造依據。

### 參 考 文 獻

- 江彥政、張俊彥。2009。鄉村環境景觀生態結構對生心理反應之影響。建築學報 67: 131-148。
- 李琇婷。2009。諮商師的悲傷剝奪經驗研究—以協助企圖自殺者為例。淡江大學教育心理與諮商研究所碩士論文。175pp。
- 沈桂鳳。2009。經由視覺與嗅覺雙重感官刺激評估室內植物之紓壓效果。台灣大學園藝學研究所碩士論文。78pp。
- 周先捷。2005。環境偏好與環境恢復性知覺關係之研究—以山景景觀為例。靜宜大學觀光事業學研究所碩士論文。131pp。
- 林佩蓉。2007。現地與非現地自然情境之偏好、注意力恢復力及心理生理反應之比較。台灣大學園藝學研究所碩士論文。98pp。
- 洪筱梅。2009。室內工作環境的綠化程度對心理復癒效益之研究。逢甲大學景觀與遊憩碩士學位學程碩士論文。72pp。
- 徐磊青、陽公俠。2005。環境心理學-環境、知覺和行為。五南圖書出版股份有限公司。台北。
- 黃孝璋。2007。景觀偏好、注意力恢復力及心理生理反應之相關性研究。台灣大學園藝學研究所碩士論文。125pp。
- 張元毓、蘇瑋佳、張俊彥。2010。學生從事園藝操作之表現與其提升注意力及獲得成就感多少之關係。臺灣園藝 56(1): 57-65。
- 陳炳錕。2001。以腦電波、肌電值與末梢血液流量值探討具恢復力之環境對生心理反應影響之研究。中興大學園藝學研究所碩士論文。61pp。
- 彭淑芳。2007。自然景觀對人之心理生理反應及偏好和注意力恢復、反省能力之研究。台灣大學園藝學研究所碩士論文。90pp。
- 楊公俠。1985。視覺與視覺環境。同濟大學出版社。上海。
- Berto, R. 2005. Exposure to restorative environments helps restore attentional capacity. *Env. Psychol.* 25: 249-259.
- Cawte, J. E. 1967. Flight into the wilderness as a psychiatric syndrome. *Psychiatry.* 30: 149-161.

- Hartig, T., F. Kaiser, and P. A. Bowler. 1997. Further development of a measure of perceived environment restorativeness (Working Paper No. 5). Gavel, Sweden: Uppsala University, Institute for Housing Research.
- Hartig, T., G. W. Evans, L. D. Jamner, D. S. Davis, and T. Gärling. 2003. Tracking restoration in natural and urban field settings. *Env. Psychol.* 23: 109-123.
- James, W. 1892. *Psychology: The briefer course*. Holt, New York.
- Kaplan, R. and S. Kaplan. 1989. *The Experience of Nature: A psychological perspective*. Cambridge, New York.
- Kaplan, S. 1993. The role of natural environment aesthetics in the restorative experience. In: P. H. Gobster, Ed., *Managing Urban and High-use Recreation Settings*. St. Paul, MN: Forest Service, USDA. General Technical Report NC-163. pp.4649.
- Kaplan, S. 1995. The restoration benefits of nature: toward an integrative framework. *Env. Psychol.* 15: 169-182.
- Korpela, K. and Hartig, T. 1996. Restorative qualities of favorites places. *Journal of Environmental Psychology* 16(3): 221-233.
- Kaplan, S., S. Kaplan, and R. L. Ryan. 1998. *With people in mind. Design and management of everyday nature*. Island Press, Washington, DC.
- Kaplan, S. 2001. Meditation, restoration, and the management of mental fatigue. *Environ. Behav.* 33: 480-506.
- Korpela, K. and T. Hartig. 1996. Restorative qualities of favorite places. *Env. Psychol.* 16(3): 221-233.
- Lacey, L. I. and B. C. Lacey. 1970. Some autonomic-central nervous system interrelationship. In: P. Black (Ed.), *Physiological correlates of emotion*. Academic Press, New York. p. 205-207.
- Laumann, K., T. Gärling, and K. M. Stormark. 2001. Rating scale measures of restorative components of environments. *Env. Psychol.* 21: 31-44.
- Sacks, O. 1987. *The Man who Mistook his Wife for a Hat and Other Clinical Tales*. Harper, New York.
- Ulrich, R. S. 1981. Natural versus urban Scenes: Some psychophysiological effects. *Environment and Behavior* 13(5): 523-556.
- Ulrich, R. S. 1983. Aesthetic and affective response to natural environment. In I. Altman, & J. F. Wohlwill (Eds.), *Behavior and the natural environment*. Plenum Press, New York. p. 85-125.
- Ulrich, R. S., R. Simons, B. D. Losito, E. Fiorito, M. A. Miles, and M. Zelson. 1991. Stress recovery during exposure to natural and urban environments. *Env. Psychol.* 11: 201-230.
- Zube, E. H. 1984. Themes in Landscape Assessment Theory. *Landsc. J.* 3: 23-44.
- Zube, E. H., J.L. Sell, and J.G. Taylor. 1982. Landscape perception: research, application and theory. *Landsc. Plan.* 9: 1-33.

## The Influences of Restorative Environment on Respondents' Psychophysiological Responses

Wan-Jou Yeh <sup>1)</sup> Sheng-Jung Ou <sup>2)</sup>

Keyword: Attention Restoration Theory (ART), Features of Restorative Environment,  
Psychophysiological Benefits

### Summary

The purpose of this research is to understand the effect of different restorative landscapes on the benefits of attention restoration. Visual stimulus is used in this study to explore the counselors' psychophysiological responses and to verify the relationships between the characteristics of therapeutic pictures. The study adopts the Attention Restoration Theory (ART) which includes four major characteristics such as being away, extent, fascination, and compatibility to select the therapeutic pictures. The results showed that the therapeutic pictures have certain effects on psychophysiological benefits between the pretest and the posttest. Therefore, the study confirms that the attention restoration and the psychophysiological benefits can be improved when subjects watch the therapeutic pictures which have different kinds of features of restorative environment. It not only can restore the subjects' attention, but also change their physiological responses. The study suggests that we objectively inspect if the different landscapes have different restorative benefits by using the research method used in this study.

---

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

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



## 水仙花香對受測者生心理反應影響之探討

張 愷 倫<sup>1)</sup> 歐 聖 榮<sup>2)</sup>

關鍵字：嗅覺、視覺、情緒、生心理反應

**摘要：**本研究旨在討論「花香所造成的生心理反應」，除了自嗅覺層面深入探討「花香」對「情緒」及「生理」的影響外，也自過往研究主力——視覺層面探討。藉由「嗅覺單一刺激」與「嗅覺和視覺雙重刺激」討論兩者於「生心理」值上的實驗結果是否有所差異。再以兩個不同背景的群組——臺灣學生與外籍學生做比較。並用常見香花植物——「水仙花」為素材，以 ProComp Infiniti™ 生理回饋儀，記錄受測者在嗅聞時間當下的肌電值(EMG)、末端血液流量(BVP)和心跳速率(HR)三項生理指標，以及問卷分析受測者的「愉悅(Pleasure)」、「喚起(Arousal)」與「支配性(Dominance)」三個情緒向度。研究結果顯示，雙重刺激時所得的平均數值多較單一刺激時高。由此可證實，增加「視覺」刺激，有助於增進情緒的強度。

### 前 言

許多研究者已證實，植物在人的生心理層面具有減輕壓力、降低焦慮、感到愉悅等的正向影響(Lehrner *et al.*, 2005; Relf, 2005; Hartig and Marcus, 2006; Lewis and Sturgill, 2007; 沈, 2009; 李, 2010; Thompson, 2011)。在對人類的作用上，有單就感官上刺激引發直接且正面的生心理反應者、有因其美感的刺激而利於身心狀況者等(沈, 2009)。

然而，在景觀設計上，一般較重視視覺的效果，往往忽略嗅覺上的效益。但是人對氣味的感受常受到相關經驗與情緒的影響，即氣味能夠喚起強烈的情緒反應(王, 2006)。再者，嗅覺與情緒間的神經聯結相當緊密，氣味訊息能直接傳達至腦中掌管學習、記憶與情緒的「邊緣系統(Limbic system)」內，並進一步引起情緒反應(王, 2006; 李, 2009; 蔡, 2011)。另一方面，由於「視覺」和環境間互動密切，所以對人類而言，它不僅幫助我們看

---

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。

到世界的樣貌，更左右對外在事物的看法，是最具影響力的器官。因此過往植物效益的相關討論多以視覺為重心，且研究指出，視覺刺激所引發的美感經驗能對人產生正向的影響，這是因為它提高該環境的吸引力，並使觀賞者的壓力得到舒緩所致(林，2004；沈，2009；謝，2009；洪，2009)。由此可知，對情緒的作用而言，嗅覺與視覺同時扮演著重要的角色。

不過目前在「嗅覺與情緒」的相關研究中，少有人專就「真實植物氣味」深入探討，因此本研究以香花植物為研究素材，探討「花香」對人「生理」與「心理」上的「情緒」反應。再者，考慮到「視覺」感官的介入對情緒的影響，將就「嗅覺單一刺激」與「嗅覺和視覺雙重刺激」兩部分的實驗結果比較之間是否具有差異。另一方面，除了探討花香對「臺灣學生」的生心理反應的影響外，本研究亦將「外籍學生」納入研究的對象，藉此比較花香對兩個不同學生群體所引發情緒反應的差異。

經由上述的闡述，本研究目的為探討「水仙花香」對受測者「生心理反應」的影響；比較受測者在「嗅覺單一刺激」與「嗅覺和視覺雙重刺激」兩實驗中，其「生心理」值上的差異；以及比較「臺灣學生」與「外籍學生」之間的生心理值是否具有差異。

## 文 獻 回 顧

### 一、嗅覺

「嗅覺」即辨別空氣中氣味的感覺(李，2003)。當我們察覺到某個氣味時，相應的「氣味受體」會將該味道轉成電子訊號，沿嗅神經先傳至嗅球，於此處整合訊息後，再彙整至大腦中進行更高級的分析，而後形成情感、認知及記憶等的生理反應(劉，2005；王，2006；蔡，2011；Nobelprize.org, 2004)

「嗅覺」能影響「情緒」的原因是氣味受體會將氣味的訊息直接傳至掌管學習、記憶與情緒的「邊緣系統」中，而該系統主管情緒反應，是通往大腦情緒中心的快速道路，能夠引起強烈的情緒記憶(王，2006；林，2009；蔡，2011)。另外，在嗅覺的喜好上，往往與情緒有相當密切的關聯性(王，2006)。當我們吸入氣味後，所聞到的味道隨即在腦中與情緒結合，並表現在行為上(蔡等，1997)。

另一方面，國內外關於嗅覺與情緒的研究上，無論生理或心理皆有相關的討論。在生理上，Hwang(2006)就薰衣草、香水樹、佛手柑複方精油來探討其嗅聞後的功效，結果顯示此精油具有降低血壓、心跳速率及焦慮的效果；彭(2007)則在探討吸入佛手柑精油噴霧後的功效後發現，其具有降低血壓、心跳速率、交感神經活性，提升副交感神經活性、達到心理放鬆的效果(彭，2007)。在心理上，Lehrner 等(2000)先針對甜橙精油對牙醫診所候診病人的效用深入研究，結果發現，甜橙精油能讓人放鬆，且以女性的情境焦慮較男性下降程度明顯、心情也較佳、平靜；而 Lehrner 等(2005)再次以牙醫診所的病患為對象，並探討薰衣草精油與橙精油在降低焦慮、改善心情上的功效是否一致。結果顯示，精油組的受

測者在降低焦慮、冷靜與改善心情上均較沒有嗅聞精油組的效果佳，且研究結果並不因性別的差異而變動(Lehrner *et al.*, 2000; 2005; 沈, 2009)。

綜合上述，人們在情緒與知覺感受氣味上相當容易受到嗅覺的影響(林, 2009)。再者，我們體驗及表達情緒的能力，實直接源自大腦中處理氣味的能力(李, 2009)。

## 二、視覺

「視覺」的產生即外界的光經由瞳孔進入眼球內，形成映像，之後再將視網膜上的映像藉由視神經傳至大腦，到達腦中的視覺區，並在此與腦細胞連結，建立映像，產生知覺(謝, 2009)。而在五感接受機能中，視覺就占接收外在刺激的 87%，由此可知，它實為相當具有影響力的器官(林, 1998; 廖, 2006)。

生理上，視覺為使用眼球內光接受器偵測外界的光線、顏色、運動狀態後，再經由視神經將其傳至腦中視覺區所產生的知覺(謝, 2009; 周, 2010)。而大腦經此訊息處理後，即能感知該個體的形狀、顏色、活動方式與空間相對位置等等(陳, 2006)。而心理上，當人的眼睛一感應到外在的刺激，大腦會將該刺激記憶、整理、辨別與判斷，並儲存視覺經驗，以便於在接觸某一對象時，能喚起過去的視覺記憶來比較、類推與判斷(黃, 2010)。

而過往於視覺與情緒生理及心理方面的相關研究，也有許多論述。生理上，Ulrich (1984); Diette 等(2003); Lohr 和 Pearson-Mims (2000)以及 Park 等(2004)等學者探討植物於室內視覺環境的效用證實，植物具有正向的影響。前兩個研究的受測患者有使用的麻醉劑劑量減少、心情變好的情形；後兩者則發現受測者於觀看植物時能延長其忍受疼痛的時間(Ulrich, 1984; Lohr 和 Pearson-Mims, 2000; Diette *et al.*, 2003; Hartig 和 Marcus, 2006; 沈, 2009)。心理上，Ulrich (1981)於觀看自然景觀中的綠色植栽與水體效用的研究中得出，綠色植栽與水體所造成的視覺效益能引發正向的情緒反應且女性較男性明顯；而 Larsen 等(1998)以及 Shibata 和 Suzuki (2002)在探討工作環境中擺放觀葉植物的效用中皆發現，觀葉植物具有提高受測者工作效率、改善心情等效果(Larsen *et al.*, 1998; Shibata and Suzuki, 2002; 沈, 2009)。

我們自眼睛接收、感知外在訊息，再引發知覺上的反應。且當訊息傳入腦中後，經由進一步類推、判斷等的運作過程，能進一步影響情緒上的狀態(陳, 2006; 黃, 2010)。

## 三、生心理值量測

於心理值的量測上，PAD 量表為 Mehrabian 與 Russell 依據 1974 年所提出的三向度情緒模式製成。其中，「P」代表「pleasure(愉悅)」，反映出個人感到快樂與滿足的程度；「A」代表「arousal(喚起)」，表示對環境刺激所反映出的活動力與警覺力；「D」代表「dominance(支配性)」，則表示對環境的控制力，反映個人認為自我是否於所處的情境中具有控制力，自由而不感到被他人限制、威脅和控制的能力(陳, 2006; 林, 2009; 謝, 2009)。該量表本是為了「環境心理學(environmental psychology)」所用，並將每個向度劃分成 6 組相對的語彙，以囊括個人對環境刺激的反應(陳, 2006; 林, 2009)。後來，Schifferstein 和 Tanudjaja 於 2004 年調整 Mehrabian 和 Russell(1974)兩位學者的 PAD 量表，使之能針對「色彩與香

味」評定，更動後的每一向度具 5 組相對概念(林，2009)。表 1 整理自 1974 年 Mehrabian 與 Russell 以及 2004 年 Schifferstein 與 Tanudjaja 之 PAD 量表採用的所有語彙(見表 1)。

表 1. PAD 量表語彙

Table 1. The vocabularies of the PAD emotion scale.

愉悅	快樂	愉悅	滿意	滿足	希望
	(happy)	(pleased)	(satisfied)	(contented)	(hopeful)
	不快樂	不愉悅	不滿意	沮喪	絕望
	(unhappy)	(annoyed)	(unsatisfied)	(melancholic)	(despairing)
	驚奇	開朗			
	(surprised)	(cheerful)			
	無趣	憂鬱			
	(bored)	(melancholic)			
情緒 測量 構面	刺激	活躍	激動	瘋狂	
	(stimulated)	(active)	(excited)	(frenzied)	
	冷淡	放鬆	鎮靜	懶散	
	(indifferent)	(relaxed)	(calm)	(sluggish)	
	緊張	清醒	喚起	瘋狂	興奮
(jittery)	(awake)	(aroused)	(wild)	(nervous)	
枯燥	睏倦	未被喚起	懶散	無生氣	
(dull)	(sleepy)	(unaroused)	(lazy)	(lethargic)	
支配性	控制	有影響力	不擁擠	地位高的	支配
	(controlling)	(influential)	(uncrowded)	(important)	(dominant)
	受控制	受影響	擁擠	敬畏	服從
	(controlled)	(influenced)	(crowded)	(awed)	(submissive)
	自由	強大	印象深刻	獨立	勇於面對
(free)	(powerful)	(impressive)	(independent)	(brave)	
受限制	軟弱	謙卑	依賴	謹慎	
(restricted)	(powerless)	(humble)	(dependent)	(careful)	

(本研究整理)

在生理上，則是以肌電值、末梢血液流量、心跳速率做為情緒反應的量測。其中，肌電值(Electromyography，簡稱 EMG)為肌肉潛能的測量；前額肌肌電值測量眉頭肌肉的收縮狀況，為一種痛苦與憂傷的指標，故被用來判斷受測者的情緒狀態；而 Bradley 等學者(2001)於研究中發現，前額肌活動狀態與愉悅程度呈現高度相關性，亦即放鬆前額的肌肉則能讓身體的其他部位放鬆，故當處於焦慮、緊張的狀態時，肌電值增高，而在放鬆的情況下，肌電值則降低(Bradley *et al.*, 2001；周，2005；徐，2008)。

末梢血液流量(Blood Volume Pulse, 簡稱 BVP)多就指尖來測量,而流量大小因心臟的跳動而異,由於血管的收縮為交感神經所控制,所以血液流量會在痛苦、肌餓、害怕或憤怒時增加;反之,在悲傷或是放鬆的情況下減少(楊, 2002; 徐, 2008; Katsis *et al.*, 2011)。

心跳速率(Heart Rate, 簡稱 HR)為心肌收縮的頻率(Katsis *et al.*, 2011)。我們可自其頻率的改變來得知情緒的反應,而且它是心理壓力刺激、焦慮反應、情緒變化重要且客觀的生理喚起指標,受到交感神經與副交感神經的影響,會因不同刺激而改變,如放鬆或愉快的刺激時心跳速率較慢;而焦慮、害怕或興奮等較大的情緒刺激時,心跳速率會升高(林, 2003; 徐, 2008; Katsis *et al.*, 2011)。不過根據 1967 年 Lacey 所提出的「刺激特定論(Stimulus specificity)」說明特定心理反應模式的引發會與刺激或是任務相關,故心跳速率的快慢與情緒關係上的判讀還須就刺激物的特性來釐清(沈, 2009)。

## 研究方法

### 一、研究與實驗設計

本研究進行的時間為 2013 年 1 月 30 日至 1 月 31 日、3 月 4 日至 3 月 8 日,於國立中興大學園藝學系 H108 教室中進行。此外,研究對象不管是臺灣學生或是外籍學生,皆就學於國立中興大學。

在植物的挑選上,主要以常用的香花植物進行實驗,且因應每個人對嗅覺的敏感度不同,所以在種類的選擇則偏向於花香較濃郁者。不過由於花季與實驗時間的限制,最後以水仙花進行實驗的操作。而在生理值的量測上,採用美國製的生理回饋儀——ProComp Infiniti™,用來記錄受測者的肌電值(EMG)、末端血液流量(BVP)與心跳速率(HR)。

本研究採「嗅覺單一刺激」與「嗅覺與視覺雙重刺激」的方式進行。此外,為了進一步了解不同特性的受測者對生心理情緒反應的影響,在實驗中將「外籍學生」納入研究對象,以比較兩個不同學生群體對人生理及心理的情緒反應上是否具有顯著差異,因此在實驗的操作順序上,受測者會先進行「嗅覺單一刺激」,再進行「嗅覺和視覺雙重刺激」。並考量到嗅覺易疲勞特性,於兩部份的實驗間以咖啡豆的嗅聞做為氣味的轉換。於嗅聞時間的安排上,基於可能產生的嗅覺疲勞,並依據吳和謝(2009)的研究,將時間訂為 1 分鐘。且以此時間所記錄的數據做為生理值(肌電值、末梢血液流量、心跳速率)的樣本。

在問卷的設計上,本研究的問卷以 PAD 量表中所採用的語彙為基礎,再根據林(2009)使用的問卷調整用辭,經前測後取各情緒構面的排名前四的情緒因子以 Likert 的 9 點尺度測量,所測的 12 個辭彙如下——「愉悅」向度:愉悅、幸福、美好、喜愛;「喚起」向度:放鬆、清醒、有活力、引起注意;「支配性」向度:有影響力、柔和、印象深刻、保守。

### 二、測量與資料分析

此次使用的問卷分析方法是將「單一刺激」與「雙重刺激」兩部分各依 PAD 量表的

「愉悅」、「喚起」、「支配性」三個構面加以分群，並使用 SPSS 分析生心理反應(肌電值、末梢血液流量、心跳速率、PAD 量表)的數值，探討受測者在「嗅覺單一刺激」與「嗅覺和視覺雙重刺激」兩部份的生心理值以及兩個學生群體間是否具有差異。

## 結果與討論

### 一、水仙花對臺灣學生生心理反應之影響

#### 1. 受測者基本資料分析

本實驗共取得臺灣學生樣本 33 份，刪去 1 份無效樣本，計有效樣本 32 份。其中在受測者性別的分布上，女性(n=20)比男性(n=12)為多；且年齡主要分布於 21 至 30 歲(見表 2)。

此外，受測者對水仙花的認識程度可從表 3 得知，在嗅覺單一刺激時，多數的臺灣學生難以辨認所測的是何種植物的香味；但是當加入視覺的刺激後，由於看到實際的開花植株，大部份的人即能辨識出植物的名稱。

表 2. 個人資料描述性統計分析

Table 2. The descriptive statistics of the study samples.

	基本資料	樣本數(n)
性別	男	12
	女	20
年齡	20 歲以下	1
	21~30 歲	25
	31~40 歲	4
	41~50 歲	2
	總計	n=32

表 3. 臺灣學生對水仙花的認識程度

Table 3. Taiwanese students' level of cognition on the Chinese Narcissus.

	題項	認識與否	樣本數(n)
嗅覺 單一刺激	請問您知道這是何種植物的氣味嗎？	知道	12
		不知道	20
嗅覺與視覺 雙重刺激	請問您認得這種植物嗎？	認得	21
		不認得	11

## 2. 嗅覺單一刺激和嗅覺視覺雙重刺激各情緒構面及其因子描述分析

自表 4 可得知，12 個情緒因子中，除了愉悅、美好、喜愛、有影響力、印象深刻等五個因子外，其餘情緒因子的平均數值皆因見到植株而增加，可見在嗅覺與視覺雙重刺激情況下的情緒反應較單一刺激時強烈。再者，探討三個情緒構面後發現，「愉悅」的數值皆最高，而「支配性」、「喚起」兩構面分別在單一刺激、雙重刺激時高於對方。從增減幅度來看，儘管「愉悅」的情緒構面在雙重刺激時稍有降低的情形，但是其平均值仍高於其他兩構面，顯示受測者皆以愉悅的感受為最強。就變動最大的前三個情緒因子而言，分別為支配性的「柔和」(反向題)、喚起的「放鬆」(反向題)與「清醒」，因此當受測者處於有水仙花香加上可見水仙開花植株時，具有較清醒的效果，且對於柔和(反向題)與放鬆(反向題)的感受上較低。

表 4. 臺灣學生各情緒構面及其因子描述分析摘要

Table 4. The summary of Taiwanese students' emotional dimensions and factors.

		平均數				平均數				平均數		
		單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度		單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度		單一 刺激	雙重 刺激	增 減 幅 度
情緒 構面	愉悅	6.65	6.62	- 0.03	喚起	5.35	5.63	0.28	支配性	5.44	5.52	0.08
	愉悅	6.62	6.56	- 0.06	#放鬆	3.19	3.72	0.53	有影 響力	6.62	6.44	- 0.18
情緒 因子	幸福	6.47	6.53	0.06	清醒	5.63	6.09	0.46	#柔和	3.28	3.97	0.69
	美好	6.72	6.69	- 0.03	有活力	5.77	5.78	0.01	印象 深刻	6.75	6.50	- 0.25
	喜愛	6.78	6.69	- 0.09	引起 注意	6.81	6.94	0.13	#保守	5.09	5.19	0.1

註：粗體字為雙重刺激平均數低於單一刺激的情緒因子  
#表示反向題

## 3. 嗅覺單一刺激和嗅覺視覺雙重刺激對受測者之心理情緒改變效應

表 5 顯示，在愉悅的構面中，成對樣本的檢定 t 值為 0.91，未達 0.05 顯著水準。此外，喚起構面的成對樣本的檢定 t 值為 0.15，考驗效果亦未達顯著。而對支配性的情緒構面而言，成對樣本的檢定 t 值為 0.59，未達 0.05 的顯著水準。顯示個體聞到花香後，再看到植株時，對愉悅、喚起、支配性三種心理情緒構面的改變並不顯著。

表 5. 臺灣學生情緒構面之成對樣本 t 檢定摘要

Table 5. The summary of paired sample t-test for Taiwanese students' emotional dimensions.

	平均數		成對樣本 T 檢定		
	嗅覺 單一刺激	嗅覺與視覺 雙重刺激	成對變數差異		顯著性 (雙尾)
			標準差	t	
愉悅	6.65	6.62	1.57	.11	.91
喚起	5.35	5.63	1.09	-1.49	.15
支配性	5.44	5.52	.89	-.55	.59

## 4. 嗅覺單一刺激和嗅覺視覺雙重刺激對受測者之生理改變效應

自表 6 可得知，肌電值成對樣本的檢定 t 值為 0.47，未達 0.05 的顯著差異水準。另外，末梢血液流量的成對樣本的檢定 t 值亦未達顯著水準(0.98)。而在心跳速率上，其成對樣本的檢定 t 值達顯著性差異(0.02\*)，且雙重刺激時的心跳速率較快，即顯示受測者在雙重刺激時的情緒反應較為強烈。

由此可知，臺灣學生在聞到花香後再看到水仙花時，能使情緒較高昂，並立即產生生理反應，表現在心跳速率的明顯加快上，但在肌電值及末梢血液流量上卻無顯著性的變化。

表 6. 臺灣學生生理反應之成對樣本 t 檢定摘要表

Table 6. The summary of paired sample t-test for Taiwanese students' physiological responses.

	平均數		成對樣本 T 檢定		
	嗅覺 單一刺激	嗅覺與視覺 雙重刺激	成對變數差異		顯著性 (雙尾)
			標準差	t	
肌電值(EMG)	17.64	19.50	14.28	-.74	.47
末梢血液流量(BVP)	32.19	32.18	.34	.03	.98
心跳速率(HR)	77.72	80.20	5.58	-2.51	.02*

註：\*表示  $p \leq 0.05$

## 二、香花植物對外籍學生生理心理反應之影響

## 1. 受測者基本資料分析

本實驗共取得外籍學生樣本 34 份，除去 3 份無效樣本，總計 31 份有效樣本。其中在受測者性別的人數上，女性(n=16)較男性(n=15)稍多，且年齡多集中於 21 至 30 歲間(見表 7)。

表 7. 個人資料描述性統計分析

Table 7. The descriptive statistics of the study samples.

	基本資料	樣本數(n)
性別	男	15
	女	16
年齡	20 歲以下	3
	21~30 歲	25
	31~40 歲	3
	41~50 歲	0
	總計	n=31

表 8. 外籍學生對水仙花的認識程度

Table 8. International students' level of cognition on the Chinese Narcissus.

	題項	認識與否	樣本數(n)
嗅覺 單一刺激	請問您知道這是何種植物的氣味嗎？	知道	1
		不知道	30
嗅覺與視覺 雙重刺激	請問您認得這種植物嗎？	認得	3
		不認得	28

另一方面，受測者對水仙花的認識程度可從表 8 得知，在嗅覺單一刺激時，大部份的人辨認不出何種花香；不過儘管加入視覺的刺激，能辨識出水仙的人數增加，但多數的外籍學生仍無法辨認所測的香花植物。

## 2. 嗅覺單一刺激和嗅覺視覺雙重刺激各情緒構面及其因子描述分析

表 9 顯示，12 個情緒因子中，除了放鬆、柔和、保守等三個因子外，其餘情緒因子的平均數值皆因見到水仙花而增加，可見在嗅覺與視覺雙重刺激下的情緒反應較大。再者，探討三個情緒構面後發現，「愉悅」的數值均最高，而「支配性」、「喚起」兩構面分別在單一刺激、雙重刺激時高於對方。表示受測者不管在單一刺激或雙重刺激下，皆最能引發愉悅的感受。就變動最大的前三個情緒因子而言，「清醒」、「有活力」與「引起注意」皆位於喚起構面，由此可知，當受測者處於有水仙花香加上開花植株時，除了能引起他們的注意外，亦具有較清醒且感到較有活力的效果。

表 9. 外籍學生各情緒構面及其因子描述分析摘要

Table 9. The summary of international students' emotional dimensions and factors.

		平均數				平均數				平均數		
		單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度		單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度		單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度
情 緒 構 面	愉悅	5.92	6.1	0.18	喚起	4.65	5.27	0.62	支配性	5.25	5.26	0.01
	愉悅	5.9	6.06	0.16	#放鬆	3.29	3.23	-0.06	有影 響力	5.33	5.68	0.35
情 緒 因 子	幸福	5.81	5.94	0.13	清醒	5.23	6.23	1	#柔和	4.97	4.94	-0.03
	美好	5.9	6.16	0.26	有活力	5.1	5.94	0.84	印象 深刻	5.87	5.9	0.03
	喜愛	6.06	6.23	0.17	引起 注意	4.97	5.71	0.74	#保守	4.87	4.52	-0.35

註：粗體字為雙重刺激平均數低於單一刺激的情緒因子  
#表示反向題

### 3. 嗅覺單一刺激和嗅覺視覺雙重刺激對受測者之心理情緒改變效應

表 10 顯示，在愉悅構面中，成對樣本的檢定 t 值為 0.53，未達 0.05 顯著水準。此外，喚起的構面成對樣本的檢定 t 值達顯著水準(0.01\*\*)。對支配性構面而言，其成對樣本的檢定 t 值為 0.95，未達 0.05 的顯著水準。而水仙花的嗅覺單一刺激與後續加入視覺的雙重刺激，僅管「愉悅」與「支配性」二個情緒構面，在加入視覺效果後平均數增高(5.92 至 6.10 以及 5.25 至 5.26)，但皆未達顯著差異(0.53 與 0.95)。相對的，「喚起」構面則具顯著性的差異。且該構面的情緒因子，以「清醒」、「有活力」與「引起注意」三者在看見花卉時的增加幅度最大。代表對外籍學生而言，由於水仙花開的數量眾多，因此僅管多數人不認識該花，亦能引起他們的注意力，使情緒的「喚起」構面分數增高。

### 4. 嗅覺單一刺激和嗅覺視覺雙重刺激對受測者之生理改變效應

表 11 顯示，肌電值的成對樣本的檢定 t 值為 0.80，未達 0.05 的顯著差異水準。另外，末梢血液流量成對樣本的檢定 t 值亦未達顯著水準(0.25)。而在心跳速率上，此成對樣本的檢定 t 值為 0.62，未達 0.05 的顯著差異水準。顯示受測者在聞到花香後，再看到水仙植株時，對肌電值、末梢血液流量、心跳速率等三種生理情緒構面的改變並不顯著。

表 10. 外籍學生情緒構面之成對樣本 t 檢定摘要

Table 10. The summary of paired sample t-test for international students' emotional dimensions.

	平均數		成對樣本 T 檢定		
	嗅覺 單一刺激	嗅覺與視覺 雙重刺激	成對變數差異 標準差	t	顯著性 (雙尾)
愉悅	5.92	6.10	1.55	-.64	.53
喚起	4.65	5.27	1.35	-2.59	.01**
支配性	5.25	5.26	.86	-.07	.95

註：\*\*表示  $p \leq 0.01$ 

表 11. 外籍學生生理反應之成對樣本 t 檢定摘要

Table 11. The summary of paired sample t-test for international students' physiological responses.

	平均數		成對樣本 T 檢定		
	嗅覺 單一刺激	嗅覺與視覺 雙重刺激	成對變數差異 標準差	t	顯著性 (雙尾)
肌電值(EMG)	17.17	17.64	10.08	-.26	.80
末梢血液流量(BVP)	32.22	32.15	.32	1.17	.25
心跳速率(HR)	76.70	77.18	5.49	-.50	.62

註：\*表示  $p \leq 0.05$ 

## 二、臺灣學生與外籍學生的生心理反應之差異

自表 12 可得知，不管是嗅覺單一刺激或是嗅覺視覺雙重刺激，「愉悅」構面的平均數皆最高。造成這樣的結果可能是因為植物具有讓人感到愉悅的功效，故而產生此情況。另外，本研究亦發現，不論是臺灣學生或是外籍學生，當他們看到水仙花後，均以「喚起」增減的幅度為最大。再者，有關兩學生群組的比較可從表 13 得知，臺灣學生與外籍學生在嗅覺單一刺激時的「愉悅」、「喚起」兩個情緒構面上，具有顯著性的差異(0.04\*與 0.00\*\*\*)。

表 12. 臺灣學生與外籍學生情緒構面描述分析摘要

Table 12. The summary of Taiwanese and international students' emotional dimensions .

	愉悅(平均數)			喚起(平均數)			支配性(平均數)		
	單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度	單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度	單一 刺激	雙重 刺激	增減 幅度
臺灣學生	6.65	6.62	-0.03	5.35	5.63	0.28	5.44	5.52	0.08
外籍學生	5.92	6.1	0.18	4.65	5.27	0.62	5.25	5.26	0.01

表 13. 臺灣學生與外籍學生的心理值獨立樣本 t 檢定摘要

Table 13. The summary of independent samples t-test for Taiwanese and international students' psychological responses .

情緒構面	臺灣學生/外籍學生	平均數	標準差	平均數相等的 t 檢定	
				t	顯著性(雙尾)
愉悅	臺灣學生	6.65	1.51	2.15	.04*
	外籍學生	5.92	1.15		
嗅覺單一刺激 喚起	臺灣學生	5.35	1.02	2.93	.00***
	外籍學生	4.65	.87		
支配性	臺灣學生	5.44	1.07	.86	.39
	外籍學生	5.25	.65		

## 結 論 與 建 議

經比較「嗅覺單一刺激」與「嗅覺視覺雙重刺激」兩者發現，在心理上，不管是臺灣學生或是外籍學生，皆於情緒構面「愉悅」的得分最高。且大多數的情緒因子平均數在增添視覺上的刺激後，有上升的情形。由此可印證增加「視覺」上的刺激，有助於增加「情緒」上的強度。不過在生理上，臺灣學生僅「心跳速率」有達到顯著性的差異，而外籍學生的三項生理值皆不具顯著性差異，此結果可能因為受測群體背景的不同所致。

另一方面，過去的研究指出，植物對人的生心理層面具有減輕壓力、降低焦慮、感到愉悅等正向的影響(Lehrner *et al.*, 2005; Relf, 2005; Hartig and Marcus, 2006; Lewis and Sturgill, 2007; 沈, 2009; 李, 2010; Thompson, 2011)，而本研究同樣得到不管是否為台灣學生，情緒構面皆以「愉悅」的得分最高。沈(2009)提出單一感官與雙重感官刺激於生理層面的肌電值及心跳速率上，沒有明顯的差異；不過本研究除卻外籍學生，臺灣學生的心跳速率在單一刺激與雙重刺激中，具有顯著差異。而肌電值則均未達到顯著性的差異。最後，林(2009)的研究得出，色彩與氣味的組合中，以「愉悅」構面最容易引發情緒，而「喚起」與「支配性」則較難引發；本次實驗同樣以「愉悅」的平均數最高，「喚起」與「支配性」則較低。

本研究著重於探討「花香」對人的「情緒」是否會造成「生理」及「心理」的反應，因此並沒有討論水仙花朵數與其濃度相關的問題，僅讓花香能夠充斥在該空間即可，所以未來操作相關的實驗時，若能進一步檢測、控管研究當下的氣味，也許就能夠較精確掌握嗅覺刺激的濃度。再者，礙於室內原空間味道的干擾，以及每人嗅覺靈敏度和產生嗅覺疲勞的時間不同，可能會對實驗的結果造成或多或少的影響，這也是未來後續研究時需要考慮的問題。

而經本次的實驗中可得：嗅覺與視覺雙重刺激多具有情緒增強的效果。所以，在景觀

設計時，植栽的挑選除了須因應場所特性與需求做通盤性的規劃外，也能以適合在該環境下生長且具香氣的植物為考量之因素。如此，則能讓置身其中的人得到比單純嗅覺刺激更多的情緒感受以及更多元的感官經驗。

## 參 考 文 獻

- 王子豪。2006。奇妙的嗅覺與費洛蒙。元氣齋。224pp。
- 吳佳玲、謝盛發。2009。芳香精油香氣體驗情感意象之研究。台南科技大學通識教育學刊 8：273-295。
- 李采薇。2010。療養院綠美化對病人之生心理效益研究。國立臺灣大學園藝學研究所碩士論文。109pp。
- 李曉筠譯，Herz, R.著。2009。氣味之謎：主宰人類現在與未來生存的神奇感官。方言文化。272pp。
- 李麗娟。2003。造型與嗅覺意象之關連性研究—以香水為例。大同大學工業設計學系碩士論文。108pp。
- 沈桂鳳。2009。經由視覺與嗅覺雙重感官刺激評估室內植物之舒壓效果。國立台灣大學生物資源暨農學院園藝學系碩士論文。78pp。
- 周光儀等譯，M. McKinley, & V. D. O'Loughlin.著。2010。人體解剖學。藝軒。1030pp。
- 周孟慈。2005。自然旅遊環境之遊憩體驗與生心理效益之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。71pp。
- 林宏銘。1998。色彩與味覺、嗅覺之共感覺研究。國立雲林科技大學視覺傳達設計研究所碩士論文。180pp。
- 林金盾。2004。生理心理學—神經與行為。藝軒。471pp。
- 林建得。2003。心理壓力刺激對生理心理反應相關研究。國立屏東師範學院體育學系碩士論文。136pp。
- 林泰利。2009。色彩與香味的情緒作用與關連性。國立台灣科技大學設計研究所碩士論文。106pp。
- 洪蘭譯，J. Medina 著。2009。大腦當家——靈活用腦 12 原則，學習工作更上層樓。遠流。312pp。
- 徐世平。2008。生理訊號監控應用於智慧生活環境之研究。國立政治大學資訊科學系碩士論文。83pp。
- 陳宏洋。2006。應用音樂的共感覺概念於景觀路徑設計之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。109pp。
- 彭淑敏。2007。聆聽舒緩音樂與佛手柑精油噴霧吸入在心率變異分析之比較。南華大學自

- 然醫學研究所碩士論文。94pp.。
- 黃惠詩。2010。國小學童對盆栽花色與香味之偏好。私立東海大學景觀學系碩士論文。86pp.。
- 楊勝巖。2002。人體末梢血流量波形之量測、分析與應用。國立成功大學電機工程學系碩士論文。56pp.。
- 廖汝文。2006。視覺與嗅覺之關聯性研究——以香水包裝為例。中原大學商業設計學系碩士論文。161pp.。
- 劉淑瓊。2005。諾貝爾的榮耀—生理醫學桂冠(近5年得獎論文簡介)。科學新天地 11: 55-56。
- 蔡承志譯, Brewer, S. 著。2011。3D人體大透視。聯經。175pp.。
- 蔡東湖、馬克麗、陳介甫。1997。芳香療法, 中醫藥雜誌 8(1): 23-32。
- 謝燕芬。2009。都市中聽覺與視覺對景觀偏好與情緒體驗之影響。逢甲大學景觀與遊憩學位學程碩士論文。127pp.。
- Bradley, M. M., M. Codispoti, B. N. Cuthbert, and P. J. Lang. 2001. Emotion and motivation I: Defensive and appetitive reactions in picture processing. *APA*. 1(3): 276-298.
- Diette, G. B., N. Lechtzin, E. Haponik, A. Devrotes, and H. R. Rubin. 2003. Distraction therapy with nature sights and sounds reduces pain during flexible bronchoscopy. *Chest*. 123(3): 941-948.
- Hartig, T. and C. C. Marcus. 2006. Essay healing garden - places for nature in health care. *Lancet*. 368: 36-37.
- Katsis, C. D., N. S. Katersidis, and D. I. Fotiadis. 2011. An integrated system based on physiological signals for the assessment of affective states in patients with anxiety disorders. *Biomed. Signal Process. Control*. 6(3): 261-268.
- Larsen, L., J. Adams, B. Deal, B. S. Kweon, and E. Tyler. 1998. Plants in the Workplace : The effects of plant density on productivity, attitudes, and perceptions. *Environ Behav*. 30(3): 261-281.
- Lehrner, J., C. Eckersberger, P. Walla, G. Potsch, and L. Deecke. 2000. Ambient odors of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. *Physiol Behav*. 71(1-2): 83-86
- Lehrner, J., G. Marwinski, S. Lehr, P. Jöhren, and L. Deecke. 2005. Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. *Physiol Behav*. 86(1-2): 92-95
- Lewis, C. A. and S. Sturgill. 2007. Comment: Healing in the urban environment- A person / plant viewpoint. *J. Am. Plann. Assoc*. 45(3): 330-338.
- Lohr, V. I. and C. H. Pearson-Mims. 2000. Physical discomfort may be reduced in the presence of interior plants. *HortTechnology*. 10(1): 53-58.

- Relf, P. D. 2005. The therapeutic values of plants. *Pediatr Rehabil.* 8(3): 235-237.
- Shibata, S. and N. Suzuki. 2002. Effect of the foliage plant on task performance and mood. *J. Environ. Psychol.* 22(3): 265-272.
- Ulrich, R. S. 1984. View through a window may influence recovery from surgery. *Science.* 224(4647): 420-421.
- Thompson, W. C. 2011. Linking landscape and health: The recurring theme. *Landsc. Urban Plan.* 99(3-4): 187-195.
- The Nobel Committee for Physiology or Medicine. 2004. Retrieved September 8, 2011, from [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2004/illpres/index.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2004/illpres/index.html)

## Influences of Chinese Narcissus Scent on Respondents' Physiopsychological Responses

Kai-Luen Chang <sup>1)</sup>    Sheng-Jung Ou <sup>2)</sup>

Keyword: Olfaction, Vision, Emotion, Physiopsychological response

### **Summary**

The purpose of this study is to discuss the physiopsychological responses generated from the flower scent. The research included not only the influence of flower scent to emotion and physiology, but also discussed if there were significant differences of physiopsychological responses between the olfactory single sensory stimulus and the olfactory-visual dual sensory stimuli. Besides, the research also compared two different groups— Taiwanese students and International students. The study chose the Chinese Narcissus as the study material. Through using ProComp Infiniti™ the physiological measurement equipment, electromyography (EMG), blood volume pulse (BVP) and heart rate (HR) were recorded. On the other hand, three basic emotional states— pleasure, arousal and dominance were included in the questionnaire. Comparing the data, the results showed that most of the scores were higher in the double stimuli. These evidences proved that when the visual stimulus was introduced, the level of the emotional response would be elevated.

---

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

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

## 應用地理資訊系統與景觀結構指數分析 得子口溪流流域景觀變遷之研究

許 哲 瑜<sup>1)</sup> 歐 聖 榮<sup>2)</sup>

關鍵字：景觀生態學、地理資訊系統、景觀指標、得子口溪流流域

**摘要：**近年來得子口溪流流域因遊憩人口的增加，導致該地區因人為開發而對地景環境的穩定性造成衝擊，因此如何有效的監測得子口溪流流域的景觀變遷，及探討景觀上改變可能造成之影響，對維持得子口溪流流域的永續發展就顯得非常重要。本研究利用地理資訊系統等空間技術，建立得子口溪地區 2009 - 2012 年共四年之景觀變遷的資料，透過 Fragstats 軟體進行各種景觀結構指數之量化計算，然後再以所得的指數配合現地調查，再分析得子口溪流流域在景觀上的改變及其所可能造成之影響。結果顯示得子口溪流流域上下游之景觀格局受到少數幾種(如：vegetation、water)優勢的景觀類別所支配，塊區分布相對也不均勻，往往導致生態功能未能發揮。且 vegetation 塊區形狀複雜程度不大，邊緣曲折度不高，缺少陸生、兩棲物種喜愛的邊緣棲地。在研究方法方面，我們發現景觀指數可為分析得子口溪流流域景觀變遷的良好工具。

### 前 言

宜蘭縣在發展觀光立縣的策略主導下，近年來政府與民間大力推廣觀光，尤以得子口溪流經的主體 - 礁溪鄉，被認定為極具區域性觀光發展潛力，自從實施週休二日，每逢假日期間為此區帶來大量人潮，雖然為地方觀光發展帶來商機，卻也造成鄰近土地，有農地轉用為商業用地的壓力或是原本養殖魚池朝向休閒農業發展而大興土木，造成原有生態棲地更形減少。此外，大量的觀光人潮對於原本寧靜的鄉村生活，其實暗藏著文化同質化與生活空間品質異變的影響。

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

得子口溪流域之上游區以種植柑橘及金棗聞名，農會更積極推廣休閒農業，設置觀光果園，下游區(竹安)因地勢低窪形成許多濕地、養殖魚池與養鴨人家。得子口溪流域西接山林地，東臨沿海濕地，中間為廣大的農地平原，涵蓋地表種類包含山林、瀑布、溪流、水圳、竹園、農田、養殖魚池、濕地與聚落都市等複雜多變環境，因此本流域得以孕育不同之植物群落與動物族群。近年來因農業開發與人民「地盡其利」的耕作習慣，許多河岸皆被農民開闢為菜園，農藥化肥直接進入河川，也使河岸植被結構單調均質化，減少生物棲地。得子口溪流域其地景本身具有重要的景觀生態特徵(農田 - 基質；竹園、果園 - 區塊；溪流、水圳、道路 - 廊道)，故選定為本研究範圍。

得子口溪為地勢低窪區，中下游經常發生淹水情形，從民國 72 年到 100 年已完成 8 期的整治工程，經過長期且大量工程改變過之後的得子口溪，水泥化、溝渠化，其生態棲地已單一化。本區是被環保署列管為嚴重污染河川，不僅是全縣唯一，也是東部唯一被列管的河川，雖經政府多年整治，河川仍屬污染。因此，本研究以此一開創風氣的地區作為環境景觀變遷的研究區，具有實質上的重要性以及研究性。本研究利用地理資訊系統等空間技術，建立得子口溪地區 2009 - 2012 年之景觀變遷的資料，並透過 Fragstats 軟體進行各種景觀結構指數之量化計算，然後再以所得的指數配合現地調查，再分析得子口溪流域在景觀上的改變及其所可能造成之影響。

## 文 獻 回 顧

### 一、景觀生態學(Landscape Ecology)

景觀生態學主要是研究景觀在不同尺度的空間變化，考慮空間格局的尺度與影響，並可用來探討空間異質性的發展。景觀生態學主要的研究主題在於景觀結構、功能及變遷。鄔(2003)指出景觀生態學是研究景觀單元的類型組成、空間配置及其與生態學過程相互作用的綜合性學科，強調空間格局、生態學過程與尺度之間的相互作用是景觀生態學研究的核心所在。目前在景觀方面的研究多以景觀生態學為理基礎，如劉(2004)以景觀生態學為理論基礎，利用歸納法從相關文獻中篩選出都市道路生態之生態評估因子；羅(2002)則結合景觀生態學與地理資訊系統對臺灣區域農地生態保育的最適生態策略區與具體的農地生態廊道建構之模式。

### 二、景觀變遷與景觀指標

景觀變遷(或譯為景觀改變、景觀變化)係指景觀內部各種矛盾與外部作用力相互作用的結果與表現，是景觀從一種狀態到另一種狀態的轉變過程。因而從某種角度來說，景觀的任何一種狀態都是景觀變化過程之中的一個片段。景觀的這種動態過程決定於景觀的內部結構和作用於景觀之上的各種力，研究景觀的變遷就是要研究景觀在時間和空間上的結構與量上的變化以及景觀變化的趨勢。因此，通過對幾個不同的時段的景觀間的變化分析，

就可以探究景觀變遷的動因和機制，從而為合理利用景觀，調整人類活動的力度和方式提供依據(賴和薛，2000)。楊(2001)說明景觀變遷通常指的是構成景觀的各種社經與環境因子，在一定時間範圍內可以觀察與測量其變化者。

景觀指數是一個重要景觀空間評估方法，經過景觀指數加以量化後可表達出景觀中空間分佈之關係，藉以了解景觀空間型態、生態功能及空間變化過程之作用機制。景觀指數特別適合當作景觀變遷的指標，台灣地區之河流常因人為或自然干擾導致土地利用變遷，此變遷又因干擾之種類及大小不同而異，其影響流域區之土地利用及生態系統穩定，以及增加其土地利用及其管理之困難度。唐(2009)以蘭陽溪流域為研究範圍，利用景觀指數分析方法，估計蘭陽溪流域地景變遷模式，實證影響地景變遷之主要因素，以瞭解人為活動與開發行為對地景變遷之影響。林(2011)研究指出高雄市政府持續大力整治愛河，並刻意營造河岸周邊親水設施與景觀再造，整治後的愛河景緻丕變，再度成為高雄市民與旅遊民眾的新景點。盧等(2008)利用景觀指數探討宜蘭冬山河河川整治與土地利用變遷，得知1982年至1988年變化趨勢最大為農牧用地；第二為建築用地，第三為水利設施用地，第四為其他用地；最後為交通用地。透過上述所言，景觀指數恰能描繪並反映出景觀的組成與分布，能有效彰顯景觀變遷的實質程度。

### 三、地理資訊系統(Geographic Information Systems, GIS)

地理資訊系統是一門結合多領域的綜合性學科，利用電腦系統及軟體的科技技術，提供需要做出空間分析之各專業領域之間的一個操作平台。為了能夠有效的了解得子口流域的景觀變遷，本研究以地理資訊系統這門新興學科作為研究工具，更利用正射影像及實地調查來進行研究場地景觀變化之資料蒐集分析，可較清楚地顯示變遷的情況，而非一般以地籍圖套疊的方式僅獲得字面或圖型上的改變。本研究即利用地理資訊系統等空間技術，以及景觀指數分析探討得子口流域在景觀上的改變及其所可能造成之影響。

## 研究方法

為確實客觀了解基地環境之狀況，透過相關文獻資料之分析與整理，以農林航空測量所製得子口流域彩色正射影像為底圖，進行影像接合與定位校正。並多次前往研究場域進行田野調查，針對得子口流域上下游相關因子進行現地勘查、GPS定位、拍照與紀錄，且應用地理資訊系統ESRI ArcGIS 10.1軟體，並對照都市計畫圖與實地調查進行正射影像數化、空間分析、緩衝區分析，再透過Fragstats 4.2軟體進行景觀結構指數計算。

### 一、景觀指數之選取

近年有許多研究採用景觀指數作為分析景觀格局變遷的工具，李(2008)提出13種景觀指數是較常被相關研究援用分析，包含景觀面積百分比指數、塊區數目、塊區密度、平均幾何最近鄰指數、蔓延度指數、Shannon 均勻度指數、Shannon 多樣性指數等。劉黎明

在「景觀空間格局評估」一文中指出較常用的景觀格局指數包括：塊區密度、景觀豐富度指數、景觀均勻度指數、景觀聚集度指數、碎形維度等。游(2008)選取 8 個常用的景觀指數(塊區數目、景觀面積百分比指數、總邊緣長度、碎形維度、景觀形狀指數、Shannon 多樣性指數、Shannon 均勻度指數、蔓延度指數)，分析景觀指數的空間尺度效應。而林(2008)也採用塊區數目、塊區密度、平均塊區大小、總邊緣長度、景觀形狀指數、平均碎形維度、平均鄰近距離等指數對集水區整體景觀進行時空間型態變遷探討。又依據 McGahgal and Marks(1994)所提出的景觀結構量化之方法選擇相關的量化景觀結構指數，作為探討景觀變遷之指標，包括景觀多樣性指數、均勻度指數、碎形維度指數、相鄰性指數、散佈性指數、景觀面積百分比指數、最大塊區指數、平均形狀指數、以及面積加權後的平均形狀指數等。

本研究景觀指標之選擇原則以較具代表性與廣泛使用為主，使用文獻回顧法及深度專家訪談之方式，將上述相關研究常用指標歸納整理後，透過德爾菲法的專家問卷調查，重複進行問卷調查，直到所有指標皆能達到收斂來求出共識重要程度值排序，以選擇出適當的景觀生態指標作為研究分析之用。綜合上述，本研究使用下列六項景觀指標(詳見表 1)。

#### (一) Shannon 均勻度指數(Shannon's Evenness Index, SHEI)

Shannon 均勻度指數用來描述景觀層級中，不同塊區類型的分配均勻程度。取值範圍介於 0 與 1 之間。SHEI 值較低時，優勢度相對較高，反映出景觀格局受到少數幾種優勢的景觀類別所支配、塊區分布相對不均勻。SHEI 趨近 1 時，說明景觀格局中沒有明顯的優勢類別，且各景觀類別均勻分布(李，2008)。SHEI 有助於探討得子口河流域，vegetation、bare soil、build、road、water 五個土地使用塊區分布狀態。

#### (二) 平均幾何最鄰近距離(Mean Euclidian Nearest Neighbor, ENN-MN)

平均幾何最鄰近指數是指類別層級中，每一個 vegetation 塊區與其最鄰近體距離的總和除以具有鄰體的塊區總數，其數值越小，代表物種容易進行遷徙或繁殖的機率增加(Whitcom *et al.*, 1981)。ENN 有助於評估得子口河流域可能的功能，此功能同時考慮到人和野生動物的移動，以及各種在相同土地覆蓋類型的塊區移動的任何現象或過程，這也是本研究採用此指標來評估河流的空間景觀變化的理由。

#### (三) 塊區密度(Patch Density, PD)

塊區密度指數值(PD)，是指景觀層級中擁有的塊區數量除以景觀總面積，其值越大，代表擁有更多的塊區重復出現，棲地呈現破碎化(Saunders, Hobbs, & Margugical, 1991)，這樣的結果往往造成棲地區塊間生物不容易互相補充，單一生物族群比較容易絕種。因此，整體性的棲地破碎化會導致生物物種減少。塊區為景觀生態研究上的焦點，因為塊區常為物種之棲地，而其大小、數量、形狀皆容易影響生物過程。PD 有助於了解得子口河流域的景觀構型 (Landscape Configuration)，塊區數目所形成的結構，則可能影響生態過程的變化。

表 1. 景觀指數

Table 1. Landscape Indices.

景觀指數	描述	數值涵義
Shannon 均勻度指數 (Shannon's. Evenness Index, SHEI)	$SHEI = \frac{\sum_{i=1}^m (P_i \cdot \ln P_i)}{\ln m}$ $P_i$ : $i$ 類別塊區占全景觀塊區的比例 $m$ : 景觀中出現的塊區類別數 單位 : 無 數值範圍 : $0 \leq SHEI \leq 1$	用來描述景觀層級中，不同塊區類型的分配均勻程度。其值較高時，景觀格局中沒有明顯的優勢類別，且各景觀類別均勻分布，生態功能較容易發揮。
平均幾何 最鄰近距離指數 (Euclidean nearest-neighbor distance_MN, ENN_MN)	$ENN\_MN = \frac{\sum_{i=1}^{n'} h_{ij}}{n'_i}$ $h$ : 塊區 $ij$ 到最鄰近相同塊區的距離 $N$ : 各類別塊區總數 $a_{ij}$ : 塊區 $ij$ 的面積 單位 : 公尺或英尺 數值範圍 : 0 - 最大網格數	指類別層級中，每一個 vegetation 塊區與其最近鄰體距離的總和除以具有鄰體的塊區總數，其數值越小，代表植物群體、陸生物種容易進行繁殖或遷徙的機率增加。
塊區密度指數 (Patch Density)	$PN = \sum_{i=1}^n P_i$ $P_i$ : 第 $i$ 類土地利用類型的塊區數 $PD = \frac{PN}{A} \times (10,000)^{m^2/b_a} \times 100$ $A$ : 所有塊區面積 ( $m^2$ ) 單位 : 1/公頃 數值範圍 : 0 - 最大網格數	指景觀層級中有更多相同土地覆蓋類型的塊區數量，呈現破碎化孤立效應，限制物種活動範圍，加重物種移動障礙，使塊區間物種不容易互相補充，單一生物族群更加容易滅絕。
蔓延度指數 Contagion (CONTAG)	$CONTAG = \left( 1 + \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{k=1}^m [(P_i)(P_{ik})] \cdot \ln [(P_i)(P_{ik})]}{C_{max}} \right) \cdot 100$ $P_i$ : 由 $i$ 類土地利用類型組成的機率 $P_{ik}$ : $i$ 類 $j$ 類土地利用類型的塊區數 單位 : % 數值範圍 : $0 < CONTAG < 100$	指景觀層級中，每種塊區類型不同比例成積的總和越大，代表塊區類型呈現大幅度的聚合，空間複雜度降低，能有效過濾暴雨逕流，為一個高度有序的景觀。

<p>標準化 景觀形狀指數 (Normalize Landscape shape Index, nLSI)</p>	$nLSI = \frac{e_i - \min e_i}{\max e_i - \min e_i}$ <p><math>e_i</math> : <math>i</math> 類別的周長和 (<math>\max / \min e_i</math> : <math>i</math> 類別最大 / 最小周長 單位 : 無 數值範圍 : <math>0 \leq nLSI \leq 1</math></p>	<p>指類別層級中該類別的周長減去該類別的最小周長, 除以該類別最大周長減最小周長之差。值越大, 表示該 vegetation 類別形狀複雜度高, 且具備邊緣效應, 能大幅增加陸生、兩棲物種遷移接觸率。</p>
<p>平均碎形維度 (Mean Fractal Dimension_MN FRAC_MN)</p>	$FRAC\_MN = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \left[ \frac{2 \ln P_{ij}}{\ln a_{ij}} \right]}{N}$ <p><math>P_{ij}</math> : 表示第 <math>i</math> 類第 <math>j</math> 個塊區之周長 <math>a_{ij}</math> : 示第 <math>i</math> 類 <math>j</math> 個嵌塊體之面積 單位 : 無 數值範圍 : <math>1 \leq nLSI \leq 2</math></p>	<p>指景觀層級中, 河流棲地塊區的複雜程度, 其值越大, 表示該具備多樣性與邊界複雜性, 較少人為干擾所造成景觀的單一化。</p>

資料來源：本研究整理

(四) 蔓延度(CONTAG)

蔓延度(CONTAG)是指景觀層級中, 每種塊區類型不同比例成積的總和, 其值越大代表塊區類型呈現大幅度的聚合, 空間複雜度降低, 能有效過濾暴雨逕流, 為一個高度有序的景觀, 具景觀美質 (Hunziker et al., 1999)。它能用來描述景觀格局中, 不同景觀類別塊區的團聚程度或延展趨勢。其值介於 0-100 之間, 可以檢測各類別塊區的離散程度。其值越小, 代表得子口溪流流域景觀格局由許多分散的小塊區組成, 破碎化程度較高; 值越大代表景觀格局由少數團聚的大塊區組成; 當 CONTAG 值越趨近於 100 時, 代表景觀格局中有連接度極佳的優勢景觀類別存在。

(五) 標準化景觀形狀指數(Normalize Landscape shape Index, nLSI)

標準化景觀形狀指數(nLSI)值, 是指類別層級中該類別的周長減去該類別的最小周長, 除以該類別最大周長減最小周長之差, 其值越大, 表示該 vegetation 類別形狀複雜度高, 趨於長型的塊區, 且具備邊緣效應, 能大幅增加物種遷移接觸率, 如: 攔截植物種子或是動物掠食機率增加(Guzwiller et al., 1992), 其值介於 0-1 之間, 能檢視得子口溪流流域塊區邊緣的複雜程度。當地景中只有單一或高度集中的塊區時, nLSI=0, 當該類塊區趨向離散時, nLSI 越趨近於 1。

(六) 平均碎形維度(Mean Fractal Dimension FRAC\_MN)

平均碎形維度指數(FRAC\_MN), 是指景觀層級中, 河流棲地塊區的複雜程度, 其值越

大，表示該具備多樣性與邊界複雜性。平均碎形維度為同類塊區所有塊區的碎形維度加總除以同類塊區的個數。其值為  $1 \leq \text{FRAC\_MN} \leq 2$ ，能了解得子口溪流域塊區邊緣的複雜程度。當  $\text{FRAC\_MN}$  趨近 1 時，塊區形狀較為簡單，為人為干擾所造成景觀的單一化；當  $\text{FRAC\_MN}$  趨近 2 時，塊區形狀越來越複雜，生態機能較容易保持。

## 二、景觀指數分析

蒐集 2009 年至 2012 年農林航空測量所製的得子口溪流域之豐水期彩色正射影像，減少判圖之誤差，並配合都市計畫圖、數值高程模型(DEM)與實地田野調查相互查閱，進行數化、數據建模、空間分析與緩衝區分析。河川水系劃定利用 40x40 公尺數值高程模型(DEM)，並應用 WinGrid 地形分析模組分析定序。數化分類的方式參考 Knaapen 1992 年提出之景觀類型分類，考量得子口溪沿岸景觀類型單純，故將土地利用類型分為 5 大類，分別為 vegetation、bare soil、build、road、water (詳見表 2)。

濱水緩衝區的劃定，USACE(1991)與 Schueler(1995)認為研究都市型河川河畔緩衝帶時範圍應介於 100 - 200 英尺，而賓州淨水組織(The Pennsylvania Campaign for Clean Water)以「緩衝 100」為名，向美國賓州環保部提出建議案，要求賓州所有河川溪流周邊的開發案都需要保護水岸旁 100 英尺的林地。因此劃定調查範圍為得子口溪流域沿岸的 200 英尺(相當於 60.96 公尺)，並將疊圖之結果匯入 Fragstats 4.2 景觀結構指數軟體，進行 Shannon 均勻度指數、平均幾何最鄰近距離指數、區塊密度、蔓延度指數、標準化景觀形狀指數及平均碎形維度之計算。

表 2. 土地利用類型

Table 2. Land use types.

景觀類型	類別
vegetation	稻作、旱作、果樹、廢耕地、天然林、人工林、溼地、草生地、灌木荒地、公園綠地等，長期具有植體覆蓋之地。
bare soil	灘地、崩塌地、裸露空地、災害地、營建剩餘土石方。
build	政府機關、學校、醫院、公用設備、畜禽舍、牧場、農業附帶設施、博物館、演藝廳、音樂廳、文化中心、美術館、文物陳列館、工藝陳列館、圖書館、博物館。
road	道路、鐵路、機場、防汛道路。
water	河川、溝渠、水庫、湖泊、人工湖。

資料來源：參考自內政部國土測繪中心及 Knaapen (1992)提出之景觀類型分類

## 二、研究樣區- 得子口溪流域

得子口溪是宜蘭縣北部的河流，長度為 19.30 公里，流域面積為 98.35 平方公里，在頭城鎮竹安溪口出海匯入太平洋。本流域東西長及南北寬約 12 公里，流域形狀似扇形，地勢呈西高東低，從流域最高點約為 1,100 公尺降至出海口零公尺，流域分區為山地與平地兩部分。上游地區坡度極陡，平均坡度約為 1/4，下游鐵路以東地區地勢較為低窪，坡度平緩約為 1/1500，部份地區高程甚至在海平面或零公尺以下。全區屬亞熱帶季風氣候，全年平均溫度約 23.8°C、相對濕度為 86%、年平均雨量 2,537 公厘，每年八至十月為颱風季節加上強烈東北季風影響，降雨集中且雨量強度大，時而釀成淹水災害，造成生命財產嚴重威脅。

得子口溪沿途大小瀑布頗多，溪谷植物生態盎然豐富，著名的景點除了五峰旗瀑布、月眉坑瀑布、金面瀑布、新峰瀑布、猴硐瀑布與金盈瀑布等諸多瀑布之外，沿著得子口溪溪谷建造的林美石磐步道亦是宜蘭著名觀光景點。出海口是賞鳥者賞鳥的去處。本研究樣區上游為美慶山莊、七結橋，下游包括時潮橋和竹安橋。歷史上因河道變遷，得子口溪經常被蘭陽溪與宜蘭河等河流搶水或襲奪。在過去水利建設未發達的時候，這樣的情形每到大雨洪水即時常發生。今日因水利建設而使各河安於現今河道。

## 結果與討論

景觀變遷指標，直接反映了最近地景的變化。在這項研究中，所有的分析方法都是透過地理資訊系統來執行，結合 2009 年至 2012 年共四年之正射影圖，以 Arc GIS 10.1 辨識、分類，以及空間數化後，進行空間圖檔的轉檔，接著利用 Fragstats 4.2 軟體進行景觀結構指數計算，各個指標計算結果，詳見表 3。

### 一、Shannon 均勻度指數分析

Shannon 均勻度指數(SHEI)是用來描述得子口溪流域景觀層級中，vegetation、bare soil、build、road、water 不同塊區類型的分配均勻程度。其值範圍介於 0 與 1 之間。SHEI 值較低時，優勢度相對較高，反映出景觀格局受到少數幾種優勢的景觀類別所支配，塊區分布相對不均勻。SHEI 趨近 1 時，說明景觀格局中沒有明顯的優勢類別，且各景觀類別均勻分布。由表 4 之計算結果顯示四年來景觀指數 Shannon 均勻度指數值，上游為 0.44、0.42、0.38、0.36；下游的指數值為 0.23、0.21、0.20、0.21，變化幅度不大，其 SHEI 值皆較低，顯示得子口溪流域上游及下游之景觀格局受到少數幾種 (如：vegetation、water) 優勢的景觀類別所支配，塊區分布相對也不均勻，往往導致生態功能未能發揮。

### 二、平均幾何最鄰近距離指數分析

平均幾何最鄰近指數(ENN\_MN)是指得子口溪流域類別層級中，vegetation、bare soil、build、road、water 每一個 vegetation 塊區與其最近鄰體距離的總和除以具有鄰體的

表 3. 2009 年至 2012 年得子口溪流域景觀結構指數值

Table 3. 2009-2012 landscape structure index value.

年分	2009 年		2010 年		2011 年		2012 年	
	上游	下游	上游	下游	上游	下游	上游	下游
景觀結構指數								
Shannon 均勻度指數	0.44	0.23	0.42	0.21	0.38	0.20	0.36	0.21
平均幾何 最鄰近距離指數	6.04	7.01	6.07	7.12	5.77	7.40	5.86	7.42
塊區密度指數	212.71	397.31	222.10	416.19	238.40	415.55	242.96	420.13
蔓延度指數	64.53	56.59	63.18	56.34	62.06	57.19	61.88	56.48
標準化 景觀形狀指數	0.04	0.05	0.04	0.07	0.04	0.05	0.04	0.05
平均碎形維度指 數	1.26	1.19	1.26	1.19	1.27	1.19	1.27	1.19

資料來源：本研究整理

塊區總數，其數值越小，代表植物群體、陸生動物容易進行繁殖或遷徙的機率增加。這四年來，得子口溪流域上游之指數值分別為 6.04、6.07、5.77、5.86；下游之指數值分別為 7.01、7.12、7.40、7.42，顯示得子口溪流域上下游之塊區分布集中，其生態系之植物群體容易藉由所在的塊區進行穿越景觀的播種。

### 三、塊區密度指數分析

塊區密度指數值(PD)，是指得子口溪流域景觀層級中擁有的塊區數量除以景觀總面積，其值越大，代表擁有更多的塊區重複出現，棲地呈現破碎化(Saunders *et al.*, 1991)，這樣的結果往往造成棲地區塊間生物不容易互相補充，單一生物族群比較容易絕種。因此，整體性的棲地破碎化會導致生物物種減少。從 2009 年至 2012 年得子口溪流域上游之指數值分別為 212.71、222.10、238.40、242.96；而下游之指數值分別為 397.309、416.192、415.553、420.126，這說明得子口溪下游之塊區密度比上游之塊區密度大，有較多破碎的小塊區，呈現破碎化孤立效應，限制物種活動範圍，加重物種移動障礙，使得塊區間物種不容易互相補充，單一生物族群更加容易滅絕。這樣的結果往往由於人為開發，造成生態功能下游比上游較差。

### 四、蔓延度指數分析

蔓延度指數值(CONTAG)，是指得子口溪流域景觀層級中，vegetation、bare soil、build、

road、water 每種塊區類型不同比例乘積的總和，其值越大代表塊區類型呈現大幅度的聚合，空間複雜度降低，能有效過濾暴雨逕流，為一個高度有序的景觀，具景觀美質(Hunziker *et al.*, 1999)。從 2009 年至 2012 年得子口溪流域上游之指數值為 64.53、63.18、62.06、61.88；而下游之指數值分別為 56.59、56.34、57.19、56.44，這顯示四年間變化幅度都不是太明顯，但上游比下游的景觀格局由少數團聚的大塊區組成，能有效過濾暴雨逕流。

#### 五、標準化景觀形狀指數分析

標準化景觀形狀指數(nLSI)值，是指得子口溪流域類別層級中 vegetation 類別的周長減去該類別的最小周長，除以該類別最大周長減最小周長之差，其值越大，表示該 vegetation 類別形狀複雜度高，趨於長型的塊區，且具備邊緣效應，能大幅增加物種遷移接觸率，如：攔截植物種子或是動物掠食機率增加(Guzwiller *et al.*, 1992)。從 2009 年至 2012 年得子口溪流域上游之指數值為 0.04、0.04、0.04、0.04，而下游之指數值分別為 0.05、0.07、0.05、0.05，這代表得子口溪流域 vegetation 塊區形狀複雜程度不大，邊緣曲折度不高，缺少陸生、兩棲物種喜歡的邊緣棲地。

#### 六、平均碎形維度指數分析

平均碎形維度指數(FRAC\_MN)，是指得子口溪流域景觀層級中，河流棲地塊區的複雜程度，其值越大，表示該具備多樣性與邊界複雜性。從 2009 年至 2012 年得子口溪流域上游之指數值為 1.26、1.26、1.27、1.27；而下游之指數值分別為 1.19、1.19、1.19、1.19，顯示得子口溪流域整體塊區形狀呈現單調化，係由於人為干擾造成的景觀單一化。

## 結論與建議

本研究應用景觀結構指數結合地理資訊系統及正射影圖像分析得子口溪 2009 年至 2012 年之景觀變遷，獲得之結論歸納如下：

### 一、結論

河流具有水源地、水路運輸、旅遊娛樂、物質迴圈與生態保護、減弱城市熱島效應及調節局部氣候等功能。但河流也是最易受人類活動影響的生態系統之一。在過去的半個世紀中，人類對水資源的需求大量增加，大量排入河流，再加上河岸植被帶破壞、外來物種入侵、水土流失及築壩、分流、裁彎取直、堵塞、河岸固化等物理性建設活動，已造成全球範圍內的河流生態系統的破壞(Karr, 2000)。

得子口溪流域的自然生態景觀結構單一化，降低了環境的自淨能力；又由於風景區的設立以及城市化過程導致的人類活動加劇，破壞了原本的景觀格局，致使塊區破碎化程度加深，人口過度密集也給城市發展帶來了壓力，導致了景觀類型的高度聚集，城市熱島效應嚴重。由景觀指數計算發現，在景觀層級有破碎化趨勢，空間分佈越來越不均勻。同類型的塊區距離越來越近。對於外力干擾和外來物種入侵，蔓延速度增加，地景多樣性逐年

下降，地景的異質性降低。

得子口溪流域上下游之景觀格局受到少數幾種(如：vegetation、water)優勢的景觀類別所支配，塊區分布相對也不均勻，往往導致生態功能未能發揮。而 vegetation 塊區形狀因農業開發與人民的耕作養殖習慣，許多河岸皆被農民開闢為菜田、養殖魚池，使得河岸景觀結構單調均質化，減少生物棲地，對河川生態極為不利。

田野調查結果，首先是景觀環境的改變，因為大量遊客進入所產生之環境衝擊，以及為遊客旅遊所需因應而生之各種硬體建設，均改變原本得子口溪流域的景觀；再者由於環境改變對當地生態之影響，草地、林地消失，意味著生物棲地遭到破壞，生物之生存受到嚴重影響；其餘因人為活動所帶來之影響，如噪音、空氣污染等問題，均間接或直接影響當地之生態。再則得子口溪流域的溯溪活動以及其依水而生的濱溪自行車道、休閒農業等休憩場域，若能透過置入環境教育的溝通手法，可低成本，產生更多融入機會，讓更多遊客發現過去與水相處的軌跡案例，及水環境服務的價值。

## 二、建議

目前得子口溪流域所面臨的兩項生態保育壓力，主要可分為棲地破壞與遊憩壓力兩類。

### (一) 棲地破壞

開路、河川水泥化、農業與家庭廢水的污染，以及外來種入侵，都是造成得子口溪流域棲地破壞，這也是河流生態保育規劃所首要解決的問題，如能透過使用天然資材，就地取材結合現有整流工程結構物，營造多孔隙河岸，以提供物種棲息及植物生長之棲地，進而提供兼顧防災與生態之河川保育。

### (二) 遊憩壓力

遊憩行為所帶來的問題有二，其一是在因要遊憩需要所進行的工程，如道路拓寬與溪流水利工程，都是因應遊憩壓力而生。其次則是遊客所來的行為壓力，諸如遊客增加所產生的垃圾量增加、旅館興建、用水量增加、污水排放增加等，都會對當地溪流環境造成壓力。遊客人數固然可為當地帶來周邊利益，但遊憩設施及設施承載量之規劃設置，除了考量遊客人數外，仍需以生態保育為前提。如能號招業者組織河川志工巡守隊，帶領遊客進行河岸巡守、水質監測、生態觀察等環境教育實際體驗，推廣河川保育的重要，以達育教於民之成效。

## 參 考 文 獻

- 朱子豪。1993。墾丁國家公園地理資訊系統建立(一)。內政部營建署墾丁國家管理處委託計畫。台北。
- 李盈潔。2008。景觀指數在都市土地使用變遷上的分析應用。黎明學報。20(1): 71-81。
- 李曉文、胡遠滿、肖篤甯。1999。景觀生態學與生物多樣性保護。生態學報。19(3): 399-

407。

- 林士強。2006。利用景觀生態指數分析墾丁國家公園土地利用變遷之研究。逢甲大學土地管理所碩士論文。台中。
- 林裕彬、曾正輝、鄧東波。2002。景觀生態指數於集水區整體景觀時空間型態變遷探討。農業工程學報。48(1): 64-81
- 林綱偉。2011。愛河流域的景觀形塑與變遷。國立高雄師範大學地理學系博士論文。高雄。
- 唐克敏。2009。蘭陽溪流地景變遷及驅動力之研究。文化大學景觀學系碩士論文。台北。
- 游麗平、林廣發、楊陳照、林巧鶯、楊麗萍。2008。景觀指數的空間尺度效應分析—以廈門島土地利用格局為例。地球資訊科學學報。10 (1): 74-79
- 黃炫國。2011。海岸地區土地利用變遷對生態環境影響之分析。國立中山大學海洋環境及工程學系研究所碩士論文。高雄。
- 鄔建國。2003。景觀生態學 - 格局、過程、尺度與等級。五南圖書出版股份有限公司。台北。
- 鄧東波。2000。從景觀生態學觀點探討都市綠地-以台北市信義計畫區為例。中國文化大學地學研究所碩士論文。台北。
- 楊沛儒。2001。地景生態城市規劃-基隆河流域 1980-2000 的都市發展、地景變遷及水文效應。國立臺灣大學建築與城鄉研究所博士論文。台北。
- 廖亞禎。2002。校園土地利用之地景變遷-以中興大學台中校區為例，國立中興大學園藝學系研究所碩士論文。台中。
- 劉保廷。2004。以景觀生態學廊道理論探討都市道路生態評估因子之研究 - 以台中市西區為例。朝陽科技大學建築及都市設計研究所碩士論文。台中。
- 盧光輝、林佳欣、葉惠中。2008。宜蘭冬山河河川整治與土地利用變遷。中國地理學會會刊。40: 41-57
- 賴明洲、薛怡珍。2002。陳有蘭溪流地景變遷之分析。中華林學季刊。35(4): 375-386。
- 羅宏銘。2002。農地景觀生態廊道建構之研究--以得子口溪流平原農地為例。國立臺灣大學園藝學研究所碩士論文。台北。
- Craig, M. R. 1999. Landscape Patterns Along the Upper Mississippi River, USGS Project Status Report. pp. 99-108.
- Guzman, M. D. C. 2003. Landscape dynamics of a coastal lagoonal system: Southern Sonora Mexico, Ph.D. Dissertation, Texas A&M University, College Station.
- Heggen, D. T., A. C. Neal, C. Edmonds, L. Brice, and K. B. Jones. 1998. Tensas River Basin – A landscape approach to community - based environmental protection, EPA - Las Vegas Research Expo, Las Vegas.
- Hunziker, G., R. Paiella, K. J. Vahala, and U. Koren. 1998. Four-wave mixing mediated by the capture of carriers in semiconductor quantum-well amplifiers. In: CLEO '98: Technical

- Digest: Summaries of papers presented at the Conference on Lasers and Electro-optics. pp. 440-441.
- Karr J. R. and Chu E. W. 2000. Sustaining living rivers, *Hydrobiologia* 4: 1-14.
- Saunders, D. A., R. Hobbs, and Margules, C. R. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review, *Conservation Biology* 5(1): 18-32.
- Weng, Y. C. 2007. Spatiotemporal changes of landscape pattern in response to urbanization, *Landscape and Urban Planning* 81: 341-353.
- Whitcomb, R. F., C. S. Robbins, and L. F. Lynch. 1981. Effects of forest fragmentation on avifauna of eastern deciduous forest. In: *Forest island dynamics in man-dominated landscapes*, R. L. Burgess and D.M Sharpe (eds.), Springer-Verlag, New York. pp. 125-205.

## Applying the Geographic Information Systems and the Landscape Metrics to Analyze the Influences of the Landscape Change in Dezikou River

Che-Yu Hsu <sup>1)</sup> Sheng-Jung Ou <sup>2)</sup>

Key Words: Landscape Ecology, Geographic Information Systems, Landscape Metrics, Dezikou River

### Summary

In recent years, due to the increase of tourists in the Dezikou River, the stability of its landscape environment has been influenced by human activities. For the purpose of sustainable development of the Dezikou River, it is very important to effectively monitor the transition of study area, and effectively explore the influences on the changes of landscape. To achieve the above objective, this research first utilized geographic information system and spatial technologies to gather data of the changes of the Dezikou River in the 2009-2012 years. The FRAGSTATS software was then employed to calculate the indices of landscape change. The resultant indices and corresponding field work were finally used to analyze the changes of landscape ecology and their impacts on the Dezikou River. The results show there was on the Dezikou River watershed landscape pattern of being a few advantage dominated the landscape category (e.g., vegetation, water) , the relative distribution of the block area is not uniform, often leading to ecological function failed to play. The shape of vegetation is not complexity, the degree of Zigzag edge is not high, there lacked of terrestrial, amphibious species favorite the edge habitat. Based on the conclusion in methodology, we find that landscape metrics significantly characterize spatiotemporal land use mosaic in landscape.

---

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

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

# 興大園藝

第三十九卷 第三期

- '玉荷包'荔枝種子形態與果實品質關係之評估  
.....李昱錡、張哲嘉..... 1
- Initial Culture of Shoot Tip in 'Sweet Calabash' Passionfruit (*Passiflora maliformis* L.)  
.....P. Aroonpong, J. C. Chang, and Y. S. Yang.....15
- Physiology of Mango (*Mangifera indica* L.) Flowering  
.....R. Nampila, J. Chumpookam, and H. L. Lin.....27
- 評估葉綠素螢光作為荔枝對高溫逆境忍受性指標之研究  
.....蔡宜君、謝慶昌.....39
- 環剝、噴施硫酸鎂對'珍珠'番石榴果實品質之影響  
.....許晉嘉、林慧玲.....49
- 轉殖溶菌酶及穿孔素基因至甘藍葉綠體之研究  
.....林筆庭、馮潔雯、楊明德、尤進欽、曾夢蛟.....63
- 蝴蝶蘭增殖階段之氮需求  
.....吳毓紘、張正.....79
- 熱適應於景觀環境研究之趨勢分析與展望  
.....謝燕芬、吳振發、歐聖榮.....93

國立中興大學園藝學系編印

中華民國一〇三年九月

## '玉荷包'荔枝種子形態與果實品質關係之評估<sup>1)</sup>

李 昱 錡<sup>2)</sup> 張 哲 嘉<sup>3)</sup>

關鍵字：荔枝、'玉荷包'、種子形態、大核、小核、焦核、果肉率、相關性分析

**摘要：**為探討'玉荷包'荔枝(*Litchi chinensis* Sonn. cv. 'Yu Her Pau')不同種子形態與果實品質之關係，調查彰化縣芬園鄉 11 年生植株果實採收時之果重、果皮重、果肉重、種子重、果肉率(pulp percentage)與總可溶性固形物(total soluble solid, TSS)含量，並進行相關性分析(correlation analysis)。果實成熟時之果重、果皮重、果肉重、種子重、果肉率與 TSS 含量，分別為 28.4、5.5、21.9、1.1 g 與 76.8%、17.7° brix。果實依種子重與胚之有無，區分為大核(normal seed)、小核(small seed)與焦核(shriveled seed)果三種。小核與焦核率為 24.7%與 17.3%。大核果之果實、果皮與種子重高於小核與焦核果，然焦核果有最高之果肉率與 TSS 含量。焦核果之種子重與其果重、果皮重、果肉重及 TSS 含量呈正相關，而與果肉率呈負相關。試驗結果顯示，'玉荷包'焦核果之果重雖較大核與小核果為低，但因較小之種子與較高之果肉率及 TSS 含量，其鮮食品質較優。

### 前 言

荔枝(Sapindaceae, *Litchi chinensis* Sonn.)為亞熱帶常綠果樹，原生於廣東與越南北部，主要栽培於南北緯 20 至 30 度間，產區包含中國華南地區、臺灣、澳洲及以色列等地(張，2004; 顏等，1984; Stern and Gazit, 2003)。迄 2013 年止，台灣栽培面積為 11,388 公頃，產量逾 93,221 公噸，為國內重要經濟果樹之一，栽培規模僅次於柑橘、芒果與香蕉(農業統計年報，2013)。「玉荷包」荔枝屬早生品種，產期自 5 月下旬迄至 6 月上旬(顏等，1984)，具有大果、小核(small seed)、糖度高及風味佳等優良性狀，與「黑葉」及糯米糍'73-S-20'品系

---

1) 本文為第一作者碩士論文之部分。

2) 國立中興大學園藝系研究生。

3) 國立中興大學園藝系助理教授，通訊作者。

同為台灣三大主力品種(Chang *et al.*, 2009),其栽培面積迄今已佔 20~25%,達 3,000 公頃(張哲嘉未發表資料)。

'玉荷包'容易開花,且花序龐大,然除有產量不穩之外(張,1999;顏等,1984;Menzel,1983),亦有焦核率(shriveled-seeded ratio)變動(張和李,2005;黃,1966;鄧,1988)等現象。

Stern *et al.* (1993)與 Stern and Gazit (2003)將荔枝果實依種子重與胚的存在區分大核(normal seed)、小核與焦核果等三種。'玉荷包'之焦核率為 12%-52%(黃,1966;鄧,1988;Chang *et al.*, 2009),高於大核品種'黑葉'之 0%-1.8%(黃,1966;Yen, 1983),然與糯米糍'73-S-20'(朱,2008;張,2004)、'桂味'(黃,1966)和'沙坑'(Yen, 1983)之 26%-80%相似,皆存有焦核率變動的情況,而其與果實品質直接相關(朱,2008;Huang and Xu, 1983;Yen, 1983, 1984)。然張和李(2005)調查'玉荷包'果實生長曲線後,認為種子大小對果實品質似無顯著影響,惟'玉荷包'之種子形態與不同果實組織間的相關性(correlation)仍尚未瞭解,不同種子形態對果實品質之影響亦須進一步釐清。

有鑑於此,本試驗以中部地區 11 年生'玉荷包'荔枝之成熟果實為材料,於採收後分析果實性狀,藉以區分三種果實種子形態,比較三者之果實品質差異,並探討種子形態與果實品質之相關性,俾以瞭解種子形態對果實品質之影響,期釐清肇因與改善生產問題。

## 材料與方法

試驗於彰化縣芬園鄉簡氏 11 年生'玉荷包'荔枝果園(24° 01'N, 120° 64'E)進行,植株為開心型整枝,具 4-6 支主枝。該果園栽培管理良好,除了種植'玉荷包'外,亦有'糯米糍'、'台農二號'與'台農四號'荔枝,行株距為 5 × 5 m。植株於 2013 年底具成熟之連續三次梢(three succession flushes),11 月底進行植株主枝基部環狀剝皮(girdling),強制控梢以避免萌生營養梢,並促進花芽分化,刻傷寬度約 5 mm。偏雌花於 2014 年 3 月 20-27 日盛花(anthesis)。於 2014 年 5 月下旬以完全隨機試驗(completely randomized design)方式,選取園區內位置與生長勢相近之植株五株,每株選取六串(cluster)成熟度相近之果穗,共計 30 串。於 6 月 5 日早晨採收,並於採收後一小時內,帶回國立中興大學園藝系果樹生理實驗室。每果串隨機選取五顆果實,共計 150 顆,調查果實品質與相關性分析,茲詳述如下:

### 一、果實性狀調查:

1. 果實橫縱徑:以游標卡尺(500-196-20, Mitutoyo Crop., Kanagawa, Japan)測量果實橫縱徑。
  - (a). 果實縱徑(length)。
  - (b). 果實橫徑(width)。
  - (c). 果形指數(fruit shape index) = 縱徑/橫徑。
2. 果重:以電子天平(XT220A, Precisa Gravimetrics AG, Dietikon, Switzerland)秤量果實、

果皮、果肉與種子之鮮重(fresh weight, FW)。

(a). 果肉率(pulp percentage, %) = (FW<sub>果肉</sub> / FW<sub>果實</sub>) × 100。

(b). 小核(焦核)率 = [ 小核(焦核)果數 / 總果實數 ] × 100。

上述方法係參考 Stern et al. (1993)與 Stern and Gazit (2003)之分類方法，依種子重與胚的存在，區分果實為含胚種子大於 1 g 之大核果、含胚種子小於 1 g 之小核果，與種子缺乏胚之焦核果等三種。

3. 總可溶性固形物(TSS)含量：以電子式糖度計(PAL-1, Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan)測量果肉果汁。以純水校正歸零，測量單位為° brix。

二、種子形態與果實品質之相關性：

將前項之果實於性狀調查後，依種子形態區分大核、小核與焦核三種，比較其與果實、果皮、果肉重之相關性，亦調查種子與果實橫徑、果肉率與 TSS 含量之相關性。

三、統計分析：

果實品質分析以 SAS 9.0 (SAS Institute Inc., North Carolina, USA)進行，使用 GLM 程式進行單因子變異數分析(one-way ANOVA)，並以單果為基準，經最小顯著差異(Least Significance Difference, LSD,  $P \leq 0.05$ )進行比較。相關性分析則以 SAS 9.0 (SAS Institute Inc., North Carolina, USA)進行 PROC CORR，計算 Pearson 相關係數與顯著性差異。

## 結 果

'玉荷包'荔枝之果穗特性、果實品質與種子形態比率於五棵植株間差異甚大(表 1)，果串鮮重與果實數分別為 264.6 g 與 9 顆，果串內之果實橫、縱徑相似，分別為 37.5 與 38.6mm，呈球形。果重、果皮重、果肉重、種子重與果肉率、TSS 含量則分別為 28.4、5.5、21.9、1.1 g 與 76.8%、17.7° brix。果實依種子形態區分為大核果、小核果與焦核果等三種果實(圖 1)，其比率分別為 40.0%-73.3%、6.7%-40.0%與 6.7%-36.7%，平均為 58.0%、24.7%與 17.3° brix(表 1、2)。

'玉荷包'三種果實之果實橫徑、果形指數與果肉鮮重差異不顯著，其平均分別為 37.5 mm、1.0 與 21.7 g；而以大核果之果實、果皮與種子鮮重高於小核果與焦核果( $P \leq 0.05$ )，分別為 29.1、5.7 與 1.4g(表 2)。焦核果之種子鮮重最低( $P \leq 0.05$ )，然其果肉率與 TSS 含量則最高，三者分別為 0.6 g、79.0%與 18.0° brix。

大核果、小核果與焦核果之果重與果皮、果肉重呈正相關( $P \leq 0.0001$ )，r 值分別為 0.83-0.88 與 0.97-0.98(表 3)。三種果實之果皮與果肉重亦呈正相關( $P \leq 0.0001$ )，r 值為 0.68-0.80。種子重則與果重呈正相關( $P \leq 0.05$ )，尤與果皮重更甚( $P \leq 0.01$ )，r 值分別為 0.26-0.57 與 0.35-0.64，而以焦核果表現最高。大核果與小核果之果皮重與果肉率呈負相關，r 值分別為-0.43( $P \leq 0.0001$ )與-0.34( $P \leq 0.05$ )，惟焦核果無差異。三種果實之種子重與果

肉率呈負相關， $r$  值介於-0.41~-0.61( $P \leq 0.05$ )，惟與果徑無相關。小核果與焦核果之種子重與果肉重均呈正相關， $r$  值分別為 0.35 與 0.49( $P \leq 0.05$ )，焦核果種子重與 TSS 含量亦呈正相關， $r$  值為 0.55( $P \leq 0.01$ )。

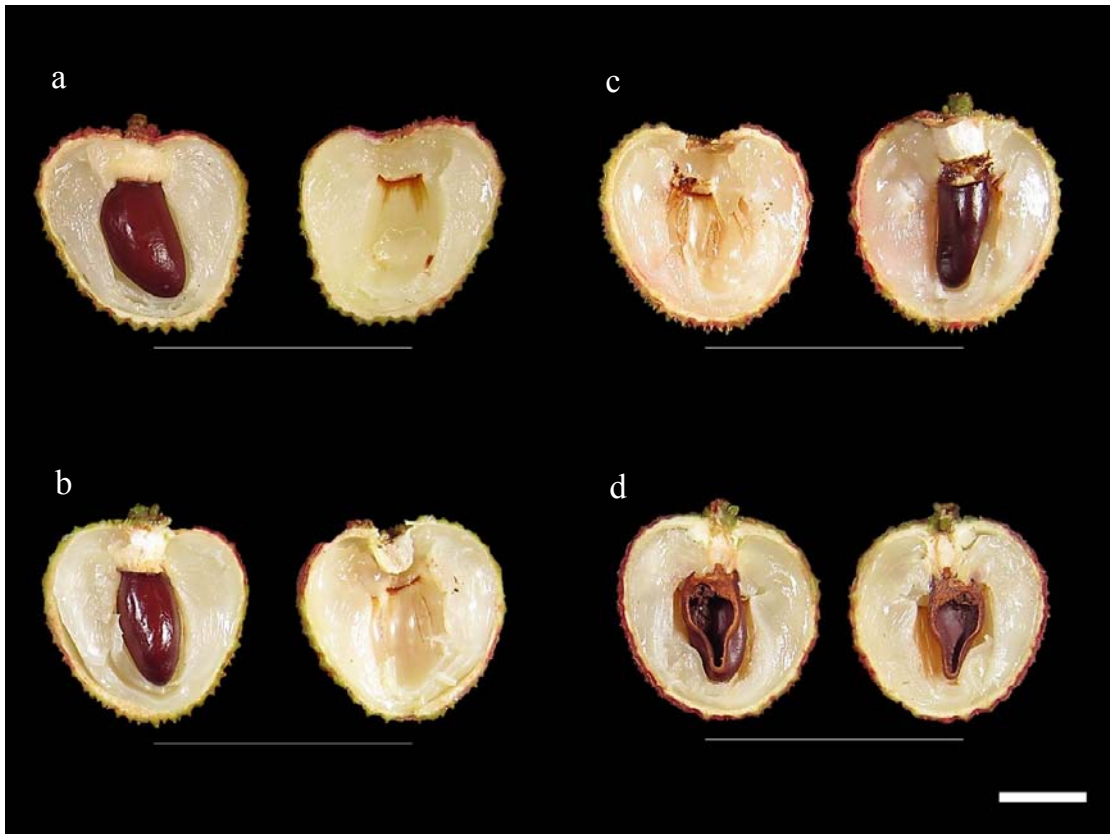


圖 1. '玉荷包'荔枝果實與種子形態。a: 大核果；b: 小核果；c: 焦核果；d: 焦核果之胚(子葉)敗育。橫線=2 cm。

Fig. 1. Fruit and seed morphology in 'Yu Her Pau' litchi. a. normal-seeded fruit; b. small-seeded fruit; c. shriveled-seeded fruit; and d. shriveled-seeded fruit with embryo (cotyledon) abortion. Bar = 2 cm.

表 1. '玉荷包'荔枝果穗特性、果實品質與三種種子形態之比率

Table 1. Cluster yield, fruit quality and types of seed morphology ratio in 'Yu Her Pau litchi.

Tree replica- tions	Cluster quality at harvest per tree		Fruit quality at harvest per cluster						Seed morphology ratio (%) <sup>w</sup>				
	Fresh weight (g)	Fruit number (no.)	Length (mm)	Width (mm)	Fresh weight (g)		Pulp percentage (FW %)		TSS (%)	Normal seed	Small seed	Shriveled seed	
1	207.6c <sup>yz</sup>	8.2b	38.5a	37.3b	28.3ab	5.5a	21.6ab	1.2a	75.9bc	17.2cd	73.3a	20.0ab	13.3ab
2	259.0bc	9.3b	38.8a	37.7ab	28.5ab	5.6a	21.9ab	1.0c	76.7bc	18.6a	40.0c	40.0a	20.0ab
3	224.6c	8.0b	38.2a	37.3b	28.0b	5.6a	21.2b	1.2ab	75.7c	17.6bc	70.0ab	20.0ab	10.0b
4	351.6a	13.2a	38.5a	37.0b	27.3b	4.9a	21.6b	1.0bc	78.3a	16.7d	50.0bc	36.7a	6.7b
5	285.0b	9.5b	39.2a	38.5a	30.0a	5.8a	23.2a	1.0c	77.3ab	18.2ab	56.7abc	6.7b	36.7a
Average( n=5)	264.6	9.5	38.6	37.5	28.4	5.5	21.9	1.1	76.8	17.7	58.0	24.7	17.3
LSD ( $P \leq 0.05$ )	55.2	1.9	NS <sup>x</sup>	1.1	2.0	0.5	1.7	0.1	1.5	0.7	20.8	23.4	23.8

<sup>z</sup> Clusters average within each of tree replications, n=6.

<sup>y</sup> Means followed by different letters within the same column are significantly different at  $P \leq 0.05$  by LSD test.

<sup>x</sup> NS indicate non-significant difference at  $P \leq 0.05$  by LSD test.

<sup>w</sup> Classification of fruits according to seed weight and the presence of embryo: 1) Embryo-containing seeds weighing >1 g, normal seed; 2) embryo-containing seeds weighing <1 g, small seed; and 3) shriveled seeds, without discernible embryos (Stern *et al.*, 1993 and Stern and Gazit, 2003).

表 2. '玉荷包'荔枝大核、小核與焦核果之果實橫徑、果形指數、鮮重及總可溶性固形物含量

Table 2. Fruit width, shape index, flesh weight (FW), and total soluble solid (TSS) content of pulp in normal-, small- and shriveled-seeded fruit of 'Yu Her Pau' litchi'.

Fruit types <sup>z</sup>	Ratio (%)	Fruit width (mm)	Fruit shape index	Fruit fresh weight (g)			Pulp percentage (FW %) <sup>x</sup>	TSS (° brix)	
				Fruit	Peel	Pulp			Seed
Normal seeded (FW >1 g)	58.0	37.7	1.0	29.1 a <sup>y</sup>	5.7 a	22.0	1.4 a	75.5 b	17.5 b
Small seeded (FW <1 g)	24.7	37.5	1.0	26.9 b	5.0 b	21.2	0.7 b	78.5 a	17.8 ab
Shriveled seeded	17.3	37.2	1.0	27.7 b	5.2 b	21.9	0.6 c	79.0 a	18.0 a
LSD ( $P \leq 0.05$ )	--	NS <sup>w</sup>	NS	1.4	0.3	NS	0.1	0.8	0.4

<sup>z</sup> Classification of fruits according to seed weight and the presence of embryo: 1) Embryo-containing seeds weighing >1 g, normal seed (n=87); 2) embryo-containing seeds weighing <1 g, small seed (n=37); and 3) shriveled seeds, without discernible embryos (n=26). Mean ± S.E.

<sup>y</sup> Means followed by different letters within the same column are significantly different at  $P \leq 0.05$  by LSD test.

<sup>x</sup> Pulp percentage (FW%) = pulp fresh weight / fruit fresh weight × 100.

<sup>w</sup> NS indicate non-significant difference at  $P \leq 0.05$  by LSD test.

表 3. '玉荷包'荔枝大核、小核與焦核果之種子重與果實橫徑、鮮重及總可溶性固形物含量之相關性

Table 3. Correlation of seed weight and fruit width, flesh weight (FW), and total soluble solid content in normal-, small- and shriveled-seeded fruit of 'Yu Her Pau' litchi.

Types of seeded fruits	Fresh weight (g)			Pulp percentage(FW%) <sup>y</sup>	Total soluble solid (° brix)	Fruit width (mm)
	Fruit	Peel	Pulp			
Normal seed (n=87)						
Fruit FW (g)	--	0.8304****	0.9711****	0.0689	0.1189	0.4751****
Peel FW (g)	0.8304**** <sup>z</sup>	--	0.6888****	- 0.4354****	0.2512*	0.3450**
Seed FW (g)	0.2623*	0.3536****	0.0994	- 0.6171****	- 0.0321	- 0.0101
Small seed (n=37)						
Fruit FW (g)	--	0.8837****	0.9877****	0.0742	- 0.1458	0.5875****
Peel FW (g)	0.8837****	--	0.8069****	- 0.3497*	0.0580	0.4231**
Seed FW (g)	0.4398**	0.4609**	0.3520*	- 0.4914**	- 0.0675	0.1373
Shriveled seed (n=26)						
Fruit FW (g)	--	0.8577****	0.9887****	0.1138	0.3427	0.3904
Peel FW (g)	0.8577****	--	0.7731****	- 0.3936	0.3453	0.4286*
Seed FW (g)	0.5723**	0.6485****	0.4946*	- 0.4186*	0.5530**	0.2311

<sup>z</sup> \*, \*\*, \*\*\*, and \*\*\*\* indicate significantly level at  $P \leq 0.05, 0.01, 0.001, \text{ and } 0.0001$  by LSD test, respectively.

<sup>y</sup> Pulp percentage (FW%)= pulp fresh weight / fruit fresh weight  $\times 100$ .

## 討 論

試驗採收時之果串果實數為 9 顆，與 Chang and Lin (2006) 之結果相仿，具商業生產價值。果實之橫縱徑略高於 Chang and Lin (2006) 之 33-34 mm；果重亦高於前人之 22.3-23.3 g (張和李，2005；張和林，2003；鄧，1988；顏等，1984；Chang and Lin, 2006)，但與 'Feizixiao' (Huang, 2005) 相似，上述品質差異大，應與栽培技術與氣候環境等因素有關。Chen *et al.* (2014) 之研究指出，2008 與 2009 年之 '玉荷包' 果重分別為 21.9 與 29.4 g，顯示採收年份影響果重甚劇，植株栽培管理亦可能為其導因。本試驗樣本為疏花序之果穗，可顯著提高果實平均重量 (張和林，2003)，如外施 auxin (Stern and Gazit, 1999；Stern *et al.*, 1995) 與 gibberellic acid (GA) (Chang and Lin, 2006；Chen *et al.*, 2014) 物質或可增加荔枝產量，惟須注意施用時機與濃度，避免發生落果。

'玉荷包' 採收時之果皮重、果肉重、果肉率與 TSS 含量變動甚大，分別介於 3.8-5.4、16.2-22.5 g、72.4%-80.8% 與 18.0-21.7° brix (張和林，2003；鄧，1988；Chang and Lin, 2006；Chen *et al.*, 2014)。本試驗結果與之相近，惟以 TSS 含量之 17.7° brix 略低，株間亦具 16.7° brix 之表現。Yen (1983) 認為植株內果實品質的差異小於植株間、栽培地間與品種間之差異，未來可提高株間重複數，俾以減少試驗誤差。荔枝果實之 TSS 含量隨發育時間增加而攀升 (張和李，2005；張和林，2004；Huang and Xu, 1983)，試驗結果略低推測與採收時間略早，或與植株間差異 (Yen, 1983) 有關。大核果、小核果與焦核果之種子重與果肉率呈負相關；大核果及小核果之果皮重亦與果肉率呈負相關，尤以前者之相關係數與顯著水準高於後者，惟三果實之果肉重無差異，亦指出果重因果皮及種子重增加而提高，卻因其減少果肉率表現，致使焦核果有較高之果肉率。

大核果、小核果與焦核果之果寬與果形指數差異不顯著，然以大核果之果實、果皮與種子鮮重高於後兩者 ( $P \leq 0.05$ )，三種果實之果皮重亦與果肉重、果重呈正相關 ( $P \leq 0.0001$ )，指出大核果重高於小核與焦核果，乃因於果皮重增加造成；三果實之果肉重無差異，則與 '沙坑' 及糯米糍 '73-S-20' 品系之特性 (朱，2008；Yen, 1984) 相同。荔枝果實發育可分為果皮與種皮發育，子葉與果肉發育，及果肉快速發育等三個階段 (李，2009；李等，2003；張，2004；Huang and Xu, 1983)。Huang and Xu (1983) 與 Huang and Qiu (1987) 認為荔枝果皮發育可提供果肉生長所需之空間，而胚敗育 (abortion) 不影響果皮生長，卻促進果肉發育，指出果肉重受果皮與種子發育所影響。

惟小核與焦核果之種子重與果肉重均呈正相關， $r$  值分別為 0.35 與 0.49 ( $P \leq 0.05$ )，與 'Gui Wei' (Huang and Qiu, 1987) 相近，然低於 'Nuo Mi Ci'、'Huai Zhi'、'Gui Wei' 與 'Xiang Li' 之 0.49-0.72 (Huang and Xu, 1983)，惟於大核果二者無相關性存在。胚乳為提供胚發育之營養組織 (胡，1990)，Huang and Qiu (1987) 認為荔枝液態胚乳 (liquid endosperm) 提早消失，會使果肉提早與胚競爭營養，出現種子與果肉未發育，或發育提早終止的現象。Yen (1984) 認為 '沙坑' 焦核果種子發育提早停止為降低果實大小的主因，此亦發現於糯米糍 '73-S-20' 品系 (朱，2008；張，2004) 之結果。Ji *et al.* 1992 (引自 Huang, 2005) 與 Liu, 1986 (引自 Yuan and

Huang, 1988)則指出液態胚乳發育與果實高含量之 auxin 及 cytokinins 有關，外施 6-BA 與 GA<sub>3</sub> 可增加焦核之'H-1224'果實與果肉重量(Huang, 2005)。焦核果受種子內液態胚乳發育時間長短，影響其果重、果實大小與果肉重量；種子飽滿程度提高，則增加果重與果皮重(Yen, 1983)，促使焦核果果肉重與大核果相似，惟胚重與果肉重呈負相關(Huang and Qiu, 1987)，或許為本試驗相關係數較低之導因。而液態胚乳存在時間短亦可能為胚敗育的原因，惟相關試驗亟待探討，俾以瞭解誘使荔枝種子焦核之因素，冀提高果實食用比率及品質。

焦核果之種子鮮重雖最低( $P \leq 0.05$ )，然其果肉率與 TSS 含量最高，分別為 0.6 g、79.0% 與 18.0° brix，與糯米糍'73-S-20'品系之特性(朱，2008)相符；然張和李(2005)與鄧(1988)認為'玉荷包'種子大小對果重、TSS 含量與果肉率無顯著影響。Mustard *et al.* (1953)則認為焦核果之品質低於大核果，推測與品種差異(Yen, 1984)有關，惟本試驗與前人之試驗品種相同，是否為栽培地氣候差異，抑或植株樹齡影響仍待探討。Huang and Xu (1983)認為種子敗育可顯著提高'Gui Wei'與'Huai Zhi'之 TSS 含量，乃因於焦核提早果實成熟，與'Seedless No.1'之品質(Chadha and Rajpoot, 1969)相仿。已知離層酸(abscisic acid, ABA)含量於'Nou Mi Ci'荔枝果實成熟時急遽攀升(Huang, 2005)，而 ABA 與乙烯為老化之關鍵賀爾蒙(Taylor and Whitelaw, 2001)，影響果實成熟、老化與離層，荔枝焦核種子不具成熟胚(子葉)，缺乏 auxin(Huang, 2005)，推測 auxin 與 ABA、乙烯拮抗能力減少，使果實提早成熟而提高 TSS 含量。

荔枝焦核常見於'玉荷包'(黃，1966; 鄧，1988; 顏等，1984; Chang *et al.*, 2009)、'桂味'(黃，1966)、糯米糍'73-S-20'品系(朱，2008; 張，2004)、'Groff'、'沙坑'(Yen, 1983)等品種，受植株、栽培環境、年份與授粉受精影響，焦核率表現 25%-90%，高於大核品種'黑葉'之 0%-1.8%(黃，1966; Yen, 1983)。Stern *et al.* (1993)則將果實依種子重量與胚的有無再細分為大核、小核與焦核果等三種。本試驗'玉荷包'小核與焦核率為 24.7%與 17.3%，低於黃(1966)與鄧(1988)之 31.4%與 52%，亦低於'沙坑'之 36%、'港尾晚生'之 26%(Yen, 1983)與'糯米糍'73-S-20'品系之 26.6%-84.2%(朱，2008; 張，2004)，惟其株間具 6.7%-36.7%之焦核率變動，小核與焦核率合計達 42%，實為影響'玉荷包'果實品質之關鍵因子。荔枝具略精結實(stenospermocarpy)之特性(Huang, 2001)，部分原因與胚囊發育異常或延滯(Mustard, 1960; Mustard *et al.*, 1953)，造成授粉受精不良有關，為產業待克服之問題。

黃(1966)認為荔枝焦核肇因於自交或雜交不親合(self- or hybrid-incompatibility)；Stern *et al.* (1993)亦指出'Mauritius'、'Floridian'花粉源(pollen parent)與兩親本距離，影響偏雌花雜交與果實焦核表現，親本距離小於 6 公尺，增加雜交率與果實品質，卻降低焦核率，認為焦核為自交弱勢(inbreeding)之表現。朱(2008)以'黑葉'花粉授與糯米糍'73-S-20'品系之偏雌花，則焦核率自 34.7%降低至 0%。上述焦核之表現可推測與花粉質(xenia)有關(歐，1991; Denney, 1992)，即花粉源直接種子與果實之特定性狀與品質。本試驗園種植糯米糍'73-S-20'、'台農二號'與'台農四號'荔枝品種，不排除與花粉親(pollen parent effect)差異造成

焦核果表現。

'玉荷包'之小核與焦核率為 24.7%與 17.3%，低於其他荔枝品種，可能與栽培技術、授粉源或氣候影響所致，未來可先進行人工授粉試驗，以茲釐清。大核果之果重、果皮重與種子重高於小核與焦核果，然焦核果之果肉率與 TSS 含量高於其餘兩者。由果實性狀之相關性分析可知，焦核果之種子影響其果重、果實大小與果肉重，而其果皮與種子重較小，為果肉率較高之導因。三種果實之果實品質以焦核果為冠，惟其果重較輕，未來如以疏果、噴施 auxin 與 GA 物質，或能增加產量與提高收益，惟須注意施用時機與濃度，避免發生落果。

## 致 謝

本研究承財團法人中正農業科技社會公益基金會【102-中基-農-6】計畫之補助，謹致謝忱。

## 參 考 文 獻

- 朱堉君。2008。'糯米糍(73-S-20)'荔枝之種子發育與環刻促進著果。國立臺灣大學園藝學研究所碩士論文。78pp。
- 李建国。2009。荔枝果實個體發育與果實大小的研究進展。海峽兩岸荔枝學術研討會專刊。國立屏東科技大學。pp. 71-79。
- 李建国、黃輝白、黃旭明。2003。荔枝果實發育時期的新劃分。園藝學報 30(3): 307-310。
- 胡適宜。1990。被子植物胚胎學。曉園出版社。307pp。
- 張哲璋。1999。荔枝開花之調控。國立臺灣大學園藝學研究所博士論文。136pp。
- 張哲嘉。2004。玉荷包與糯米糍(73-S-20)荔枝結實之研究。國立臺灣大學園藝學研究所博士論文。318pp。
- 張哲嘉、李雪如。2005。玉荷包荔枝大核與焦核果實之生育。中國園藝 51(4): 414(摘要)。
- 張哲嘉、林宗賢。2003。疏花序對玉荷包荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)花性、著果與果實品質的影響。中華農學會報 4(5): 418-428。
- 張哲嘉、林宗賢。2004。糯米糍荔枝果實之生育。中華農學會報 5(6): 535-550。
- 黃弼臣。1966。荔枝。廣益書店。160pp。
- 農業統計年報。2013。行政院農業委員會。
- 歐錫坤。1991。果樹花粉的立即效應。中國園藝 37(2): 63-71。
- 鄧永興。1988。玉荷包荔枝穩定生產方法之探討。國立臺灣大學園藝學研究所碩士論文。70pp。

- 顏昌瑞、廖玉琬、田永柔。1984。臺灣荔枝品種及其改良。中國園藝 30(4): 210-222。
- Chadha, K. L. and M. S. Rajpoot. 1969. Studies on floral biology, fruit set, and its retention and quality of some litchi varieties. *Indian J. Hort.* 26(3-4): 124-129.
- Chang, J. C. and T. S. Lin. 2006. GA<sub>3</sub> increases fruit weight in 'Yu Her Pau' litchi. *Scientia Hort.* 108(4): 442-443.
- Chang, J. C., T. S. Lin, C. R. Yen, J. W. Chang, and W. L. Lee. 2009. Litchi production and improvement in Taiwan. *J. Agric. Assoc. Taiwan.* 10(1): 63-76.
- Chen, P. A., C. L. Lee, S. F. Roan, and I. Z. Chen. 2014. Effects of GA<sub>3</sub> application on the inflorescence and yield of 'Yu Her Pau' litchi. *Scientia Hort.* 171: 45-50.
- Denney, J. O. 1992. Xenia includes metaxenia. *HortScience* 27(7): 722-728.
- Huang, H. and J. Xu. 1983. The developmental patterns of fruit tissues and their correlative relationships in *Litchi chinensis* Sonn. *Scientia Hort.* 19(3-4): 335-342.
- Huang, H. and Y. Qiu. 1987. Growth correlations and assimilate partitioning in the arillate fruit of *Litchi chinensis* Sonn. *Aust. J. Plant Physiol.* 14(2): 181-188.
- Huang, H. B. 2001. Towards a better insight into the development of the arillate fruit of litchi and longan. *Acta Hort.* 558: 185-192.
- Huang, H. B. 2005. Fruit set, development and maturation. In: *Litchi and Longan: Botany, Production, and Uses*, Menzel and Waite (eds.), CABI. pp. 115-137.
- Menzel, C. M. 1983. The control of floral initiation in lychee: a review. *Scientia Hort.* 21(3):201-215.
- Mustard, M. J., S. Y. Liu, and R. O. Nelson. 1953. Observations of floral biology and fruit-setting in lychee varieties. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 66: 212-220.
- Mustard, M. J. 1960. Megagametophytes of the lychee (*Litchi chinensis* Sonn. ). *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 75: 292-304.
- Stern, R. A., S. Gazit, R. El-Batsri, and C. Degani. 1993. Pollen parent effect on outcrossing rate, yield, and fruit characteristics of 'Floridian' and 'Mauritius' lychee. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118 (1): 109-114.
- Stern, R. A., J. Kigel, E. Tomer, and S. Gazit. 1995. 'Mauritius' lychee fruit development and reduced abscission after treatment with the auxin 2,4,5-TP. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120 (1): 65-70.
- Stern, R. A. and S. Gazit. 1999. The synthetic auxin 3,5,6-TPA reduces fruit drop and increases yield in 'Kaimana' litchi. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 74(2): 203-205.
- Stern, R. A. and S. Gazit. 2003. The reproductive biology of the lychee. *Hort. Rev.* 28: 393-453.
- Taylor, J. E. and C. A. Whitelaw. 2001. Signals in abscission. *New Phytol.* 151(2): 323-340.
- Yen, C. R. 1983. Variation in fruit characters between normal-and shrivelled-seeded lychee

varieties. J. Agric. Res. China. 32(1):39-49.

Yen, C. R. 1984. Seeded and seedless fruits growth of 'Sah Keng' litchi. J. Agric. Res. China 33(3): 257-264.

Yuan, R. and H. Huang. 1988. Litchi fruit abscission: its patterns, effect of shading and relation to endogenous abscisic acid. Scientia Hort. 36(3-4): 281-292.

## Assessing the Relationship between Seed Morphology and Fruit Quality in 'Yu Her Pau' Litchi <sup>1)</sup>

Yu-Chi Lee <sup>2)</sup> Jer-Chia Chang <sup>3)</sup>

Keyword: Litchi, 'Yu Her Pau', Seed morphology, Normal seed, Small seed, Shriveled seed, Pulp percentage, Correlation analysis

### Summery

In order to understand whether the seed morphology does affect the fruit characteristics and quality at harvest in 'Yu Her Pau' litchi (*Litchi chinensis* Sonn.), the effects of seed morphology on fruit quality, e.g. fruit weight, peel weight, pulp weight, seed weight, pulp percentage and total soluble solid (TSS) content of fruit were examined from 11-year old field-grown 'Yu Her Pau' (*Litchi chinensis* Sonn.) trees in Fenyuan, Changhua. In addition, the correlation of seed morphology and fruit characteristics was estimated. Fruit, peel, pulp (aril), and seed weight, were 28.4, 5.5, 21.9 and 1.1 g, while pulp percentage and TSS content were 76.8% and 17.7% at harvest, respectively. According to seed weight and the presence of embryo, fruits were classified into three groups as followed: normal-seeded fruit, small-seeded fruit and shriveled-seeded fruit. In this study, small-seeded and shriveled-seeded ratio of fruit were 24.7% and 17.3%, respectively. The weight of fruit, peel and seed of normal-seeded fruit were significantly heavier than those of small-seeded and shriveled-seeded fruit; however, the pulp percentage and TSS content of fruit were the highest in shriveled-seeded fruit. There was significantly positive correlation between seed weight and fruit, peel, pulp weight, as well as TSS content of shriveled-seeded fruit, but negative in pulp percentage. In conclusion, the quality of shriveled-seeded fruit is superior to normal-seeded and small-seeded fruit due to its greatest sweetness and edible portion.

---

1) This paper is a part of MS thesis of the first author.

2) Graduate student in MS Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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



## Initial Culture of Shoot Tip in 'Sweet Calabash' Passionfruit (*Passiflora maliformis*L.)

Piyathida Aroonpong <sup>1)</sup> Jer-Chia Chang <sup>2)</sup> Yau-Shiang Yang <sup>3)</sup>

Keywords: rootstock, micropropagation, tissue culture, plant growth regulators

### Summary

The purpose of this study was to develop a micropropagation protocol for 'Sweet Calabash' passionfruit, a potential rootstock for commercial cultivation. The primary new shoot tips with 0.3~0.5 mm in length from 3-year-old net house-grown were cultured *in vitro* combinations of different PGRs, MS levels, and types of medium to investigate their survival percentage and size of explants. Twenty days after the initial culture, the survival percentages reached over 70% in all of medium. When shoot tips cultured on paper bridge with different MS level, the length of explants was higher in MS and 1/2MS, but callus formation easily. When PGRs was added, the growth of explants was improved in mediums containing 0.2 mg/l BA, 0.02 mg/l IBA with 0.5 mg/l GA<sub>3</sub>, or only 0.5 mg/l GA<sub>3</sub>. These treatments also caused the formation of calluses. Thus, there was unhealthy of shoots which cultured on paper bridge medium. Furthermore, it was found that in experiment of medium types combined with different PGRs shoot tips cultured on paper bridge induced callus easily. Liquid and solid mediums contained 0.02 mg/l NAA also showed callus formation but there was less callus formation in medium with 0.2 mg/l BA supplementation. Moreover, the length and fresh weight with no callus formation of explants shoot tips cultured on the solid medium and supplemented with BA and GA<sub>3</sub> by deep culture into the medium. The initial culture in 'Sweet Calabash' passionfruit was achieved when shoot tips were cultured on solid medium with half-strength of MS.

- 
- 1) Graduate student in MS program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
  - 2) Assistant Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
  - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Corresponding author.

## Introduction

Passionfruit is in the genus *Passiflora* belongs to the Passifloraceae family. It is popular subtropical and tropical countries in the world (Hickey and King, 1988; Isutsa *et al.*, 2004) and is grown in Asia, Africa, Australia and Brazil (Drew, 1997; Dhawan *et al.*, 2004). Passionfruit has great commercial value, especially for edible fruits for cooking and juice industry (McGuire, 1999; Prammanee *et al.*, 2011).

Passionfruit general propagated by seeding cutting air layering and grafting but there are low and susceptible to a range of fungal and viral pathogens disease (Martin and Nakasone, 1970; Drew, 1997; Isutsa, 2004). 'Sweet Calabash' passionfruit which origin from Latin America (Vieira and Carneiro, 2005) which is well known its light-yellow and hard shell which less commercial significant the local market but of growing importance for breeding purpose. Grows and has a pleasing aromatic flavor. Additionally, it is very resistant to pest, diseases and tolerant to most passionfruit pathogens (Morton, 1987; Nyanzi *et al.*, 2004; Yockteng *et al.*, 2011). However, the cultivar was difficult to seeds and hard to propagation by seeding. Developing a valid tissue culture technique is important for improving the propagation for 'Sweet Calabash' passionfruit.

During the early years, the initial shoot tip culture was successfully been used in many fruit trees, such as the hybrid cultivar Tainong No. 1 passionfruit (Yu *et al.*, 1993), *P. edulis* F. *Flavicarpa* Deg (Faria and Segura, 1997), *P. edulis* Sims., (Isutsa, 2004; Prammanee *et al.*, 2011), *P. foetida*L. (Komathi *et al.*, 2011; Ragavendran *et al.*, 2012), and other species as loquat (*Eriobotya japonica* Lindl.) (Wang and Yang, 1999), carambola (*Averrhoa carambola* L.) (Lin and Yang, 2002). In this present study, 'Sweet Calabash' passionfruit was applied to the initial culture as the first step of micropropagation.

The current research investigated the initial culture of shoot tip in 'Sweet Calabash' passionfruit on the modified medium according to Yu *et al.* (1993) who successfully established the tissue culture of Tainong No.1 passionfruit by using the 1/2MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with 0.2 mg/l BA, 0.02 mg/l IBA and 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> on paper bridge medium. The purpose of present study was therefore to establish an efficient, high survival and callus formation decreasing on the initial shoot tip culture.

## Materials and Methods

### Plant materials

Three-years old tree of 'Sweet Calabash' passionfruit were grown in a net house at the Horticultural Research Station, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, and were used as explants sources.

### Methods

Shoot tips in 5 cm length from vigorous growing primary new shoots were harvested to the tissue culture laboratory in October 2012. The leaves of explants were removed and then the shoot without leaves were surface-disinfected 1 cm in length with 1% Clorox and 1-2 drops of Tween 20 for 15 min. The surface-sterilized explants were rinsed 4 to 5 times in autoclaved double-distilled water under aseptic conditions in a laminar air flow cabinet; each rinse was 5 min in duration. Subsequently, 0.5 mm in length of shoot tips were cultured on medium containing various MS levels and PGRs (Table 1). Six replications of each treatment were cultured under aseptic conditions in a laminar air-flow cabinet. Fresh weight and shoots length were measured on the 20th day after culture. The amount of callus formation were account by the size with abound (+++), moderate (++) , less (+) and no callus formation (-). These cultures were incubated in the culture room at  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  and 70-80% relative humidity with 16/8-h light/dark photoperiod. Light was provided by cool white fluorescent lamp (Philips FL320, Taiwan) and agro lamps (Synvania Gro-Lux, 40W, USA) at  $56\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  of photon flux density

Table 1. The medium establishments

Experiments <sup>z</sup>	Type of medium <sup>y</sup>			MS levels				PGRs <sup>x</sup>			
	PB	LQ	SL	1	1/2	1/4	1/8	BA	IBA	NAA	GA <sub>3</sub>
1	o	x	x	o	o	o	o	o	o	x	o
2	o	x	x	x	o	x	x	o	o	x	o
3	o	o	o	x	o	x	x	o	x	o	x
4	x	x	o	x	o	x	x	o	x	x	o

<sup>z</sup> The experiments were examined on the 20th day after culture.

<sup>y</sup> PB: Paper bridge medium, LQ: Liquid medium, SL: Solid medium (agar 8 g/l). All of the medium in each experiment contained 30 g/l sucrose, pH was adjusted at 6.2.

<sup>x</sup> BA: 0.2 mg/l, IBA: 0.02 mg/l, NAA: 0.02 mg/l, GA<sub>3</sub>: 0.5 mg/l.

## Results

### Experiment 1. Effects of MS levels in paper bridge medium

The modified medium by using different levels of MS medium supplemented with PGRs included 0.2 mg/l BA, 0.02 mg/l IBA and 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> in paper bridge medium. On the 20th day after initial culture, all of treatments exhibited a high survival percentage (100%). Although 1/8MS showed the lowest callus formation but explants were too small. The results showed greatest in explants size and fresh weight in MS (8.5 mm, 28.4 mg) and 1/2MS (9.2 mm, 22.0 mg). However, the 1/2MS medium exhibited callus formation less than MS medium (Table 2). Thus, this result was shown that 1/2MS was better concentration for initial culture but explants which produced from this experiment were inappropriate to use for subculture because it was induced high callus formation developed from the base of explants which was difficult to culture to new medium.

Table 2. Effects of MS levels in paper bridge medium on initial culture of shoot tips in ' Sweet Calabash' passionfruit.

MS levels <sup>z</sup>	Survival (%)	Explants length (mm)	Fresh weight <sup>y</sup> (mg)	Callus amount
MS	100	8.5 a <sup>x</sup>	28.4 a	<sup>w</sup> +++
1/2MS	100	9.2 a	22.0 b	++
1/4MS	100	4.9 b	11.3 c	+++
1/8MS	100	2.7 c	5.1 c	+

<sup>z</sup> Medium contained BA 0.2 mg/l, IBA 0.02mg/l and GA<sub>3</sub> 0.5 mg/l.

<sup>y</sup> Fresh weight included callus.

<sup>x</sup> Means in the column with the same letter are not significantly different by the LSD test at  $P=0.05$ .

<sup>w</sup> +++, ++, +, - : Abound, moderate, less and no callus formation.

### Experiment 2. Effects of 1/2MS medium supplement with PGRs in paper bridge medium

Twenty days after initial culture, explants in each treatment had high survival percentage (100%). There was a significant difference on PGRs on explants growth (Table 3). Although the maximum length of explants were induced by contained PGRs (BA, IBA and GA<sub>3</sub>) was 9.2 mm

and only GA<sub>3</sub> supplementation produced length of 11.2 mm. However, these regenerated explants had a high callus formation. Thus, the results suggested that IBA supplementation was unnecessary for regeneration in the initial culture. Although longer explants produced by the medium which supplement with GA<sub>3</sub> or PGRs (included GA<sub>3</sub> supplement) than another treatments, a higher amount of callus when compared to the control (non PGR) and IBA treatment.

Table 3. Effects of 1/2 MS medium in paper bridge medium on initial culture of shoot tips in 'Sweet Calabash' passionfruit.

PGRs	Survival (%)	Explant length (mm)	Fresh weight <sup>y</sup> (mg)	Callus amount
No PGR	100	5.1b <sup>x</sup>	6.2 d	<sup>w</sup> +
PGRs <sup>z</sup>	100	9.2 a	29.5 a	+++
BA	100	5.9 b	12.6 c	+++
IBA	100	5.3 b	13.7 c	+
GA <sub>3</sub>	100	11.2 a	18.6 b	++

<sup>z</sup> PGR contained BA 0.2 mg/l, IBA 0.02 mg/l and GA<sub>3</sub> 0.5 mg/l.

<sup>y</sup> Fresh weight included callus.

<sup>x</sup> Means in the column with the same letter are not significantly different by the LSD test at  $P=0.05$ .

<sup>w</sup> +++, ++, +, - : Abound, moderate, less and no callus formation.

### Experiment 3. Effects of medium types supplementation with PGRs

The survival percentage was 70-90% showed in the experiments and significant difference in length of explants (Table 4). Paper bridge medium produced a higher callus formation than that in liquid and solid mediums. Liquid and solid mediums decreased callus formation when supplemented with BA 0.2 mg/l. Supplementation of NAA can be promoted callus formation in each type of the medium. Explant growth induced by solid medium supplement with BA was better than liquid medium (Fig. 1). This result demonstrated that solid medium was better than other medium types for initial culture.

Table 4. Effects of medium types supplementation with PGRs on initial culture of shoot tips in 'Sweet Calabash' passionfruit.

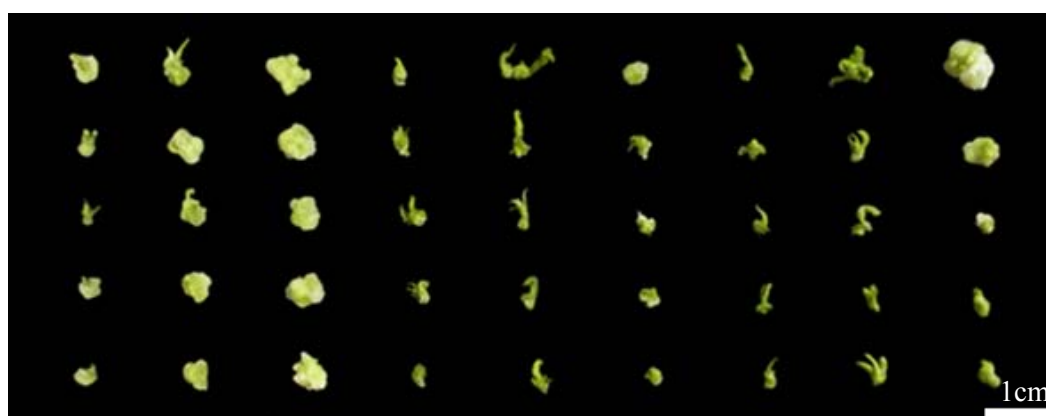
Medium types <sup>z</sup> PGRs <sup>y</sup>		Survival (%)	Explant length (mm)	Fresh weight <sup>x</sup> (mg)	Callus formation <sup>v</sup>
Paper bridge	No PGR	90	3.1 bc <sup>w</sup>	7.5 b	++
	BA	80	3.6ab	15.6ab	+++
	NAA	90	4.5 a	27.0 a	+++
Liquid	No PGR	90	2.6 bc	5.9 b	--
	BA	80	3.5 abc	6.3 b	++
	NAA	80	2.5 c	6.1 b	--
Solid	No PGR	90	3.6ab	5.4 b	--
	BA	70	3.7ab	9.2 b	++
	NAA	90	3.3 bc	31.0 a	--

<sup>z</sup>Medium included 1/2MS. <sup>y</sup> BA; 0.2mg/l, NAA; 0.02 mg/l.

<sup>x</sup> Fresh weight included callus.

<sup>w</sup> Means in the column with the same letter are not significantly different by the LSD test at  $P=0.05$ .

<sup>v</sup> +++, ++, +, --: Abundant, moderate, less and no callus formation, respectively.



No PGR BA NAA No PGR BA NAA No PGR BA NAA  
 Paper bridge medium Liquid medium Solid medium

Fig. 1. Explants with callus formation from different types of medium supplemented with various PGRs.

#### Experiment 4. Effects of PGRs in 1/2MS solid medium

From the experiment 3 shown that solid medium with BA could induced normal shoots with a little callus formation, however we found that when placed the explants to the medium more deep can decreased callus formation. Thus, the survival percentage in each of medium reached 100%, the highest length and fresh weight of explants was induced by BA and GA<sub>3</sub> (Table 5). Moreover, there was no callus formation in the treatments (Fig. 2.) which indicated that explants can be easily to the subculture.

Table 5. Effects of half-strength MS solid medium supplement with various PGRs on initial culture of shoot tips in 'Sweet Calabash' passionfruit.

PGRs <sup>z</sup>	Survival (%)	Explant length (mm)	Fresh weight (mg)	Callus formation <sup>x</sup>
No PGR	100	3.1 c <sup>y</sup>	8.6 c	--
BA	100	5.3 b	20.2 b	--
GA <sub>3</sub>	100	5.2 b	12.2 c	--
BA + GA <sub>3</sub>	100	7.6 a	26.5 a	--

<sup>z</sup> PGRs included 1/2MS, BA 0.2 mg/l or/and GA<sub>3</sub> 0.5 mg/l.

<sup>y</sup> Means in the column with the same letter are not significantly different by the LSD test at  $P=0.05$ .

<sup>x</sup> +++, ++, +, -: Abundant, moderate, less and no callus formation, respectively.

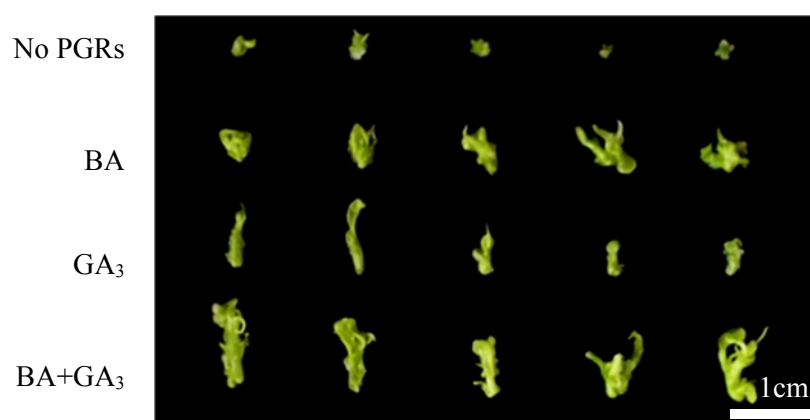


Fig. 2. Explants regeneration without callus formation in the initial shoot tip culture on 1/2MS solid medium supplemented with various PGRs.

## Discussions

The aim of this study was to establish an *in vitro* culture method for 'Sweet Calabash' passionfruit. Effects of medium composition included levels of MS medium, types of medium and supplement of PGRs on explant growth were investigated.

In the present study, there were 70-100% of survival in the treatments. Similar to the findings of shoot tip culture in Tainong No. 1 passionfruit (Yu *et al.*, 1993) and also resulted in high survival percentage such as loquat (Wang and Yang, 1999), Wutai persimmon (Hwang and Yang, 1998), and carambola (Lin and Yang, 2002). While some plants species have low survival percentage because of shoot tip browning on guava (Lee and Yang, 1994), Indian jujube (Yeh and Yang, 1999) and custard apple (Panchal *et al.* 2012). Results were showed that the rootstock cultivar 'Sweet Calabash' was easy to develop without the browning problem on micropropagation by shoot tip culture with high survival percentage.

In addition of culture medium, half-strength MS solid medium induced explant development greater than paper bridge medium for shoot tip culture. Moreover, auxins supplement also showed to be unappropriated for explants development. These results were similar to those reported in yellow passionfruit (Faria and Segura, 1997; Isutsa, 2004), purple passionfruit (Isutsa, 2004; Prammanee *et al.*, 2011) and *P. foetida* L. (Ragavendran *et al.*, 2012). The current study suggested that the culture medium for initial culture of 'Sweet Calabash' passionfruit were different from Tainong No.1 passionfruit, thereby the suitable of medium type and supplementations may be dependent on species of plants.

Callus formation exhibited on the medium was inappropriate on explants developed and difficult to subculture. Callus is defined as an unorganized tissue mass forms as a result of injury (Fuller and Gibor, 1987), which grows and forms on plants in response to explants type, genotype of plants, wounding, infestations and plant hormones (Sutan *et al.* 2012; Ikeuchi *et al.*, 2013). However, it was unclear in the mechanism and effects of the paper bridge culture medium on callus formation.

A high survival rate with high efficiency of explants growth was found in this study when cultured on half-strength MS solid medium supplemented with BA and GA<sub>3</sub> for the initial shoot tip culture of 'Sweet Calabash' passionfruit, which can be used for subculture of micropropagation.

## References

- Dhawan, K., S. Dhawan, and A. Sharma. 2004. *Passiflora*: a review update. J. Ethnopharmacol. 94: 1-23.
- Drew, R.A. 1997. Micropropagation of *Passiflora* species (passionfruit). Biotechnol. Agric. For. 39: 135-149.
- Faria, J.L.C. and J. Segura. 1997. Micropropagation of yellow passionfruit by axillary bud proliferation. HortScience 32: 1276-1277.
- Fuller, M.P. and A. Gibor. 1987. Calluses and callus-like growth in seaweeds: Induction and culture. Hydrobiologia 151/152: 131-138.
- Hickey, M. and C. King. 1988. 100 Families of flowering plants. Cambridge University Press, Cambridge, 130-133.
- Hwang, H.M. and Y.S. Yang. 1998. Studies on shoot tip culture of Wutai persimmon (*Diospyros japonica* Sieb. et Zucc.) *in vitro*. Horticulture NCHU 23(1): 1-15.
- Ikeuchi, M., K. Sugimoto, and A. Iwase. 2013. Plant callus: mechanism of induction and repression. Amer. Soc. Plant Biol. 25: 3159-3173.
- Isutsa, D.K. 2004. Rapid micropropagation of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) varieties. Sci. Hort. 99: 395-400.
- Komathi, S., G. Rajalakshmi, S. Savetha, and M.P. Ayyappadas. 2011. *In vitro* regeneration of *Passiflora foetida* L.. J. Res. Biol. 1: 653-659.
- 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.
- Liao, M.F. and Y.S. Yang. 2005. Effects of growth regulators on shoot tip culture of '755' avocado rootstock. Horticulture NCHU 7(4): 33-40.
- Lin, T.S. and Y.S. Yang. 2002. Studies on initial shoot tip culture of carambola (*Averrhoa carambola* L.) *in vitro*. Horticulture NCHU 27(3): 13-24.
- Martin, F.W. and H.Y. Nakasone. 1970. The edible species of *Passiflora*. Econ. Bot. 24: 333-343.
- McGuire, C.M. 1999. *P. incarnate* (Passifloraceae): a new fruit crop. Economic Botany 53: 161-176.
- Morton, J.F. 1987. Sweet Calabash in fruit of warm climates, Edited by J.F. Morton, Morton Publishers, Miami. pp. 334-335.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473-497.
- Nyanzi, S.A., B. Carstensen, and W. Schwack. 2004. A comparative study of fatty acid profiles

- of *Passiflora* seed oils from Uganda. *JAOCs*. 82: 41-44.
- Panchal, R.K., R.M. Patel, K.P. Suthar, and S.S. Kale. 2012. Effect of physiological factors of explants on degree of browning and *in vitro* establishment of explants in custard apple (*Annona squamosa* L.) cv. Balanagar. *Proceedings of ISMF&MP*. 20-23.
- Prammanee, S., S. Thumjamras, P. Chiemsombat, and N. Pipattanawong. 2011. Efficient shoot regeneration from direct apical meristem tissue to produce virus-free purple passion fruit plants. *Crop Protection*. 10(11): 1425-1429.
- Ragavendran, C., D. Kamalanathan, G. Reena, and D. Natarajan. 2012. *In vitro* propagation of nodal and shoot tip explants of *Passiflora foetida* L. An exotic medicinal plant. *Asian J. Plant Sci. Res.* 2: 707-711.
- Sutan, A.N., A. Popescu, and V. Isac. 2012. The effect of the *in vitro* environmental condition on organogenetic potential of two intergeneric hybrids *Fragaria X Potentilla*. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie* 1: 48-54.
- Vieira, M.L.C. and M.S. Carneiro. 2005. '*Passiflora* spp. Passionfruit' in R.E. Litz (Ed.), *Biotechnology of fruit and nut crops*, CAB International. Wallingford UK 29: 436-453.
- Wang, C.J. and Y.S. Yang. 1999. Studies on shoot tip culture of loquat (*Eriobotya japonica* Lindl.) *in vitro*. *Horticulture NCHU* 24(3): 1-14.
- Yeh, J.Y. and Y.S. Yang. 1999. Studies on shoot tip culture of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lam.) *in vitro*. *Horticulture NCHU* 24(3): 15-28.
- Yockteng, R., G.C. d'Eeckenbrugge, and T.T. Souza-Chies. 2011. *Passiflora* in Kole, C. (ed). *Wild crop relative; Genomic and Breeding Resources - Tropical and Subtropical fruits*. 129-171.
- Yu, T.A., S.W. Weng, and Y.S. Yang. 1993. Studies on shoot tip culture of passionfruit *in vitro*. *Horticulture NCHU* 18: 29-44.

## 'Sweet Calabash' 百香果(*P. maliformis* L.)之莖頂初代培養

彭美嘉<sup>1)</sup> 張哲嘉<sup>2)</sup> 楊耀祥<sup>3)</sup>

關鍵字: 砧木、微體繁殖、組織培養、植物生長調節劑

**摘要:** 為建立百香果砧木 'Sweet Calabash' 之微體繁殖方法, 本研究以 3 年生植株主梢 0.3-0.5mm 之莖頂為材料, 探討其培植於不同的植物生長調節劑、MS 濃度及培養基形態後的成活率與培植體大小。由試驗結果發現, 各種不同組合培養後 20 日的培植體成活率均可高達 70% 以上。以濾紙橋配合不同 MS 濃度培養後, 以 MS 或 1/2MS 培養者之培植體呈現較的生長, 但不論 MS 濃度的高低, 培植體均易形成癒傷組織。當莖頂於 1/2MS 的濾紙橋添加不同植物生長調節劑培養後發現以添加 0.02 mg/l IBA、0.2 mg/l BA 及 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> 者或單添加 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> 者之培植體長度增加較多、因此以濾紙橋培養者皆會形成不健康的枝條。另外, 以不同形態培養基添加不同植物生長調節劑培養莖頂的結果可知, 以濾紙橋培養者皆會形成癒傷組織, 液態或固態培養基若添加 0.02 mg/l NAA 亦會產生癒傷組織, 而單添加 0.2 mg/l BA 者的培植體、但是還出現一些癒傷組織且生長。其中固態培養基添加 BA 者, 若再添加 0.5 mg/l GA<sub>3</sub>, 將培植體放到培養基進行深層培養, 則不僅未有癒傷組織且生長較佳、培植體之長度及鮮重皆可達最高。

- 
- 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。
  - 3) 國立中興大學園藝學系教授, 通訊作者。



## Physiology of Mango (*Mangifera indica* L.) Flowering

Rumpai Nampila<sup>1)</sup> Jenjira Chumpookam<sup>2)</sup> Huey-Ling Lin<sup>3)</sup>

Key words: Floral initiation, Floral induction, Florigenic promoter, Mango flowering

### Summary

Mango flowering (*Mangifera indica* L.) is the first of several events that set the stage for mango fruit production on each year. The mangoes were takes place for mango bud to flower determined until after shoot initiation. Contemporary with shoot initiation, induction occurs based on the conditions present at the time of initiation. Floral induction of mango shoots under subtropical conditions strongly influenced by cool temperatures, although a period of low temperature (<18 °C) during the pre-flowering period. Studies with mango trees favour the survival of a florigenic promoter that is continuously induces mango flowering and synthesized in leaves. The studies of translocation propose that the florigenic promoter is movement from leaves in phloem facilitates transport to buds to induce flowering. Floral induction appears to be governed by the interaction of the vegetative and reproductive promoters. Under subtropical conditions, 1/4 leaf per stem caused 95% flowering of lateral shoots in 'Keitt' trees exposed to cool temperatures, and 1/2 or more of leaf per stem resulted in 100% reproductive shoots. In the tropical temperature conditions, floral induction occurs in stems that have achieved adequate time in rest since the previous shoot.

---

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

2) Lecturer, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

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

## **Introduction**

Mango (*Mangifera indica* L.), member of family Anacardiaceae, is amongst the most important tropical fruit of the world. It is also called as king of the fruits. Mango flowering is the first of several events that stage for mango production on each year. Flowering is an important physiological event that sets the start of mango fruit production. Mango flower thought to be determined by number of leaves, age of the last vegetative flush, environment or climatic factor. The flowering model conceptual has been described to explain the interaction of internal and external factors regulating vegetative and reproductive shoot initiation and induction in mango trees growing in tropical and subtropical environments. The model have been published elsewhere (Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Davenport, 2000) and an updated account will soon be available (Davenport, 2007). Mango flowering can be operated in order to obtain off-season fruits and improve mango productivity. The purpose of this review is focus on the minimum number of leaves, translocation distance of the florigenic promoter and temperature on flowering.

## **Mango Phenology**

Phenology is generally described as observation of the life-cycle phases of plants and relationship with the environment, especially climate. It involves invest irrigation of the response of living organisms to seasonal and climatic changes in the environment (Lamberset *al.*, 1998). Mango passes through different phonological stages that start with cell division of apical and lateral meristems. Individual stems are dormant most of the time. Dormancy periods are short in young plants but can last more than 8 months between flowering and vegetative shoot episodes in mature trees (Davenport, 2000). Mango trees produce basically 3 types of shoots as a consequence of cell division such as vegetative shoots bear only leaves, generative shoots produce inflorescences, and mixed shoots produce both leaves and inflorescences within the same nodes (Fig. 1) (Davenport, 2007, 2009; Ramirez and Davenport, 2010). The frequencies of shoots that occur depend on cultivar, size of tree, and growing conditions (Davenport, 2000). The vegetative shoot development from initiation of growth to full elongation requires 3-6 weeks, depending on the cultivar and climatic conditions (Whiley *et. al.*, 1991; Davenport, 2009). Vegetative shoots undergo distinct changes from early shoot development to maturation of leaves (Davenport *et al.*, 2001). Nunez-Elisea *et al.* (1996) reported that the vegetative growth flushes occur during warm temperatures, around 25 °C under subtropical conditions. Flushes occurring during low temperatures of 5-15 °C usually produce flowering. Reproductive flushes generally occur after extended periods of stem rest in

the low-latitude tropics often following a period of mild water stress or during cool inductive temperatures in the higher latitude tropics and subtropics (Davenport, 2000, 2003). Growth and development of mangoes is determined by climatic conditions (Galan-Sauco, 1999). In subtropical conditions with well-defined seasons, growth of mango canopy is typically synchronous with a time-gap between vegetative, rest and reproductive stages (Galan-Sauco, 1999; Davenport, 2009). Under tropical conditions growth and developments of mango is asynchronous sometimes displaying flowers, fruits and resting stems at the same time in different portions of the tree canopy (Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Galan-Sauco, 1999; Davenport, 2009). Ramirez *et al.* (2010) indicated that reproductive and vegetative shoots occur synchronously throughout the canopy two times per year in the tropics of Colombia, South of America.



Fig. 1. Stylized display of shoot types found in mango.

### **Floral Initiation and Induction**

The mango flowering is a key reproductive shoots incidence for the mango production. Shoots initiation in mango is the first event that takes place for mangoes to flower (Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Davenport, 2000, 2003, 2009). Initiation is the onset of shoot development, regardless of the type of shoot evoked. It involves in cell division and elongation of dormant cells in leaf primordial (vegetative shoots), lateral meristems (generative shoots) or both (mixed shoots) in the nodes of the resting buds, and is followed by cell divisions in the

apical meristem to form more nodes (Davenport, 2007; 2009). In contrast, Davenport (2009) considered that shoot initiation is stimulated by environmental factors, such as the change from dry to rainy season in the tropics and a shift from cool to warm temperatures. Initiation also can be stimulated by anthropogenic factors such as pruning, irrigation, application of nitrogen substances fertilizers and exposure to ethylene. Mango is a terminal bearing species and the factors which determine changing from vegetative to reproductive mode are poorly understood, although a period of low temperature (<18 °C) during the pre-flowering period is thought to be involved (Davenport and Nunez-Elisea, 1997). Shoot initiation in mango such as initiation of bud break, must happen before induction can determine the type of shoot to be evoked in those buds. They are different physiological events that lead to the formation of reproductive, vegetative, or mixed shoots (Davenport, 2007, 2009). Wilkie *et al.* (2008) indicated that many herbaceous plants are photoperiodic, that is they flower in response to day length. Photoperiod is sensed in the leaves, with long-day and short-day plants flowering in response to the change in the dark period, requiring short and long dark periods, respectively. Whereas, Nunez-Elisea and Davenport (1995) suggested a container-grown mango trees were exposed to photoperiods of 11, 12 or 13 h found that photoperiod had no effect on the vegetative or reproductive state of axillary buds in mango, and cool temperatures 18 °C day/10 °C night caused floral initiation.

The floral induction in mango is the temporary commitment of buds to evoke a particular developmental pathway (i.e. vegetative shoot, generative shoot or mixed shoot) when growth is initiated (Davenport, 2007; 2009). Coincident with shoot initiation, induction occurs based on the conditions present at the time of initiation (Davenport, 2000). Although conditions suitable for floral induction may be present before shoot initiation in tropical fruit trees, determination of the inductive conditions in buds is not made until initiation occurs (Batten and McConchie, 1995; Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Nunez-Elisea *et al.*, 1993; 1996). Mango floral inductive may be present prior to bud initiation, it must be present at the time of initiation for flowering to occur (Kulkarni, 1988; Nunez-Elisea and Davenport, 1995; Nunez-Elisea *et al.*, 1996; Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Davenport *et al.*, 2006). Floral inductive can be shifted from floral (F) to vegetative (V) or to vegetative to floral, F/V or V/F transition shoots, by altering temperatures during early shoot development (Fig. 1) (Batten and McConchie, 1995; Nunez-Elisea *et al.*, 1996; Davenport, 2009).

### **Florigenic and Vegetative Promoter**

Florigenic promoters, induced by flowering stimuli and produces in the leaf are translocated to bud to stimulate floral initiation. The experiments explain how leaves are the site

of synthesis of an unknown substance called 'florigen' or 'florigenic promoter' (FP) for more than 70 years (Aksenova *et al.*, 2006; Zeevaart, 2006). The FP protein has been shown induce flowering in woody angiosperms (Bohlenius *et al.*, 2006; Davenport, 2007; 2009). The existence of a FP that induces flowering such as citrus (Davenport, 1990), litchi (Davenport *et al.*, 1999), mango (Davenport, 2009; Ramirez *et al.*, 2010) and poplar (Bohlenius *et al.*, 2006). The experiments of mango support the survival of a florigenic promoter which is continuously synthesized in leaves of mango at levels governed by temperature (Davenport and Nunez-Elisea, 1990, 1997; Davenport *et al.*, 1995; Davenport, 2007; 2009). The mango found that a FP is synthesized in leaves during exposure to cool, floral inductive temperatures and moves to buds to induce flowering (Davenport and Nunez-Elisea, 1990; Davenport *et al.*, 1995, 2006). The experiments of girdling indicated that the FP is translocated via phloem to apical buds (Nunez-Elisea and Davenport, 1991; Nunez-Elisea *et al.*, 1996; Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Kulkarni, 1991; Davenport *et al.*, 2006; Davenport, 2009). Studies with mango of shoots that were girdled to isolate them from the rest of the tree and completely defoliated produced only vegetative shoots, indicating that the FP is produced in leaves (Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Nunez-Elisea *et al.*, 1996; Ramirez *et al.*, 2010).

Induction of reproductive or vegetative shoots from axillary or apical buds of mature shoots appears to be governed by the interaction of an age-dependent vegetative promoter and a temperature-dependent florigenic promoter (Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Davenport, 2000; 2003; 2007; 2009). Under subtropical conditions, cool temperature not only triggers bud break but also favours higher ratios of florigenic promoter to vegetative promoter in developing buds (Nunez-Elisea and Davenport, 1995; Ramirez and Davenport, 2010). Induction in mango trees controlling the type of shoots that are evoked upon initiation, appears to be governed by the interaction of a temperature regulated florigenic promoter (FP) and an age dependent vegetative promoter (VP) (Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Davenport, 2000; 2003; 2007; 2009). Irrespective of the endogenous levels of the individual components perceived in buds at the time of shoot initiation, floral and vegetative inductive responses can be effectively explained by the ratio of the FP and VP (Davenport, 2000; 2007; 2009). When the putative ratio of the FP and VP increases to a critical threshold level due to high FP as a result of low temperatures in the subtropics, or decreased VP levels in stems of advanced age compared with the basal level of FP in the tropics, it results in floral induction when shoots are initiated in stems. Overall, low FP/VP ratios may be conducive to induction of vegetative shoots, whereas high ratios when shoot initiation occurs may be conducive to induction of generative shoots, and at intermediate levels, mixed shoots are induced. The FP appears to be up regulated during exposure to cool temperatures below 18 °C in subtropical conditions; however, there appears to

be a basal level present at all times regardless of temperature in order to regulate flowering during warm temperature conditions of the tropics (Davenport, 2000). In the tropical conditions, floral induction of initiating shoots usually occurs in terminal stems that have attained sufficient time in rest since the previous shoot of at least 4 or 5 months depending on the cultivar (Nunez-Elisea and Davenport, 1995; Davenport, 2003; Ramirez *et al.*, 2010). Under warm conditions, the age of the last shoot of stems is the primary factor regulating floral induction. The older age of the last vegetative shoot and greater stem maturity, the more likely it is to flower when the next shoot occurs (Davenport, 2003). Ramirez *et al.* (2010) reported that cumulative stem maturity is conducive to induction of reproductive shoots in Colombia, South of America.

The putative VP stimulates vegetative shoots counteracting the influence of the florigenic promoter. The VP may be a gibberellin or closely associated with the gibberellin synthesis pathway as indicated by enhanced flowering responses of trees to plant growth retardants (Davenport, 2009). The GA biosynthesis in higher plants can be divided into three stages as (1) biosynthesis of ent-kaurene in proplastids (2) conversion of ent-kaurene to GAs 12 via microsomal cytochrome P450 mono oxygenase and (3) formation of C 20- and C 19-GAs in the cytoplasm (Olszewski *et al.*, 2002). Some enzymes for example, ent-kaurene oxidase (KO) and ent-kaurenoic acid oxidase are of major importance in these events and are the site of and of gibberellins biosynthesis by triazoles (Dalziel and Lawrence, 1984; Henry, 1985). Because triazoles inhibit the biosynthesis of gibberellins, they could reduce the influence of gibberellins rather than amplify the action of the putative florigenic stimulus in order to achieve the flowering response (Davenport and Nunez-Elisea, 1997). The putative VP appears to be most active in leaves of young stems and slowly dissipates over time to allow expression of the FP when shoots are initiated to grow in warm conditions (Davenport, 2009). Davenport (2007) indicated that the VP should be viewed as age dependent evidently decreasing mango mature leaves. The presence of an age-regulated VP in stems of mango interacting with the temperature-regulated FP best explains the induction of specific receptors by this promoter in leaf primordia of buds to cause development of leaves in vegetative or mixed shoots.

### **Temperature and Flowering**

Mango flowering appears to be determined by a temperature conditions. Floral morphogenesis is initiated during cool weather in the subtropical and in the high altitude tropics region. Cool temperatures around 15 °C or lower promote inflorescence morphogenesis, whereas temperatures of around 20 °C or higher induce vegetative morphogenesis (Nunez-Elisea and Davenport, 1994; Nunez-Elisea *et al.*, 1996). The effect of temperature is more

evident under subtropical conditions where flower formation occurs during exposure to floral inductive cool temperatures (Davenport, 2009). Temperature is the most important factor where shoots are initiated. Nunez-Elisea and Davenport (1991) suggested that temperature below 20 °C day/15 °C night will induce inflorescence development (Davenport and Nunez-Elisea, 1997; Robbertse *et al.*, 2001). Floral or vegetative induction occurs when production of reproductive shoots requires initiation of growth during exposure to cool condition. The resting buds of plants, which had been exposed to cool temperatures (18°C day/10°C night) for more 3 weeks and then transferred to a warm temperature regime (30°C day/25°C night) before initiation occurred produce only vegetative growth. Yeshitela *et al.*, (2004) found that 'Keitt' mango cultivar was more sensitive towards low temperature floral induction than the 'Tommy Atkins'. The reproductive and vegetative growth responses of several monoembryonic and polyembryonic cultivars to three temperature regimes ranging from vegetatively inductive (25 °C day/20 °C night) and (30 °C day/25 °C night) to flower inductive (15 °C day/10 °C night) (Whiley *et al.*, 1989, 1991). Mango trees develop vegetative shoots when shoot initiation occurs in warm temperatures (30 °C day/25 °C night), whereas inflorescences develop when shoots initiate growth in cool temperature conditions (18 °C day/10 °C night; or 15 °C day/10 °C night) (Whiley *et al.*, 1989; Nunez-Elisea and Davenport, 1995; Nunez-Elisea *et al.*, 1993, 1996). Nunez-Elisea and Davenport (1995) reported that time of exposure to low temperature (18 °C day/10 °C night) and the minimum leaf age required by stems for floral induction was examined. The flowering response to temperature occurs in mangoes grown in the low latitude tropics rely less on low temperature for floral induction than trees grown in the high latitude tropics and subtropics (Davenport, 2009).

### **The Minimum Number of Leaves and Translocation of the Florigenic Promoter for Floral Induction**

The minimum number of leaves necessary for mango flowering. Davenport *et al.* (2006) report that the number of leaves necessary to induce flowering in cool, subtropical conditions. Davenport *et al.* (2006) reported that during cool conditions, the requirement of leaves for floral induction and demonstrated that only 1/4 leaf per stem provided adequate FP to induce reproductive shoots in 95% of lateral initiating shoots in 'Keitt' mango stems floral inductive conditions. They also estimated the basal production levels of this putative FP in the warm tropics compared to up-regulated levels during the cool temperatures of the companion experiment conducted in South Florida. Davenport *et al.* (2006) suggested that 1/4 leaf per stem induced of 95% flowering of lateral shoots in 'Keitt' mango trees exposed to cool temperatures

(night temperatures  $<13$  °C), and 1/2 or more of leaf per stem resulted in 100% reproductive shoots. Ramirez *et al.* (2010) found that 1/4 or 1/8 leaves per stem, caused up to 11% flowering of lateral shoots in 'Keitt' mango trees in warm conditions (max-min temperatures are 26.6 and 18.1 °C, respectively) in La Mesa, Cundinamarca State, and 4-leaf per stem resulted in 22% reproductive shoots. Branches bearing 4 leaves per stem in 'Tommy Atkins' mango trees produced the maximum flowering with 45% reproductive shoots. The beginning level of FP in tropical conditions in Colombia vs. subtropical conditions in South Florida was calculated based on data obtained (Ramirez *et al.*, 2010; Davenport *et al.*, 2006). Ramirez and Davenport (2010) report that at La Mesa, have an estimated 3% of FP per leaf in 'Keitt' mango trees exposed to warm compared to cool temperatures. Such comparisons provide direct evidence supporting the theory that the FP is produced at substantially lower percentage in warm temperatures than in cold temperatures. FP is synthesized in leaves under cool temperature conditions than during warm tropical conditions with a lower basal level of FP (Davenport, 2000). The mango experiments have long supported the existence of a florigenic promoter in leaves of mango and moves to buds to induce flowering during exposure to cool temperature (Davenport *et al.*, 1995, 2006; Davenport, 2009; Ramirez *et al.*, 2010). The FP has been shown to be synthesized in leaves and transported to buds via phloem based on the observed requirement of leaves for mango flowering (Davenport *et al.*, 2006; Davenport, 2009). Davenport *et al.* (2006) result indicated that during periods in cool condition, floral inductive at night temperatures ( $<13$  °C), proved movement of the florigenic promoter from donor stems bearing 1-5 leaves to induce flowering in initiating buds, receiver stems borne on two limbs of bifurcated branches. The branches with designated donor stems bearing no leaves produced only vegetative shoots on the donor and in all receiver stems. The branches with donor stem bearing five leaves consistently initiated 100% flowering shoots in the donor and receivers stem. Davenport *et al.* (2006) reported that the leaves numbers on the donor stems illustrated a pattern of decreasing proportions of reproductive shoots and with increasing distance of receiver stems from the donor stems. This movement was determined to reach more than 100 cm from one stem to another along branches under cool, floral inductive subtropical conditions. Subtropical conditions in Florida, results of experiments in warm tropical conditions in Colombia (Ramirez *et al.*, 2010) provided supporting evidence that the mango florigenic promoter can move considerable distances in 'Tommy Atkins' branches even during warm, tropical conditions. Floral induction occurred in initiating shoots on stems located up to 52 cm from the 5-leaf donor stem, but the amount of the FP was not adequate to induce reproductive shoots in the fourth and fifth receivers, which were induced to be vegetative and located as much as 67 and 87 cm from the donor respectively. Davenport *et al.* (2006) reported that five leaves on the donor stems

induced an average of 38% reproductive shoots among all of the donors and receiver stems in 'Tommy Atkins' mango trees under subtropical condition.

### **Conclusion**

Mango flowering is an important physiological event that sets the star of fruit production. Mango under subtropical and high-latitude tropical conditions induce flowering by cool temperatures. Mango is a terminal bearing species and the factors which determine switching from vegetative to reproductive shoots are poorly understood, although a period of low temperature (<18 °C) during the pre-flowering period is thought to be involved. FP production depend on leaves, they are essential for mango flowering. One quarter of leaf per stem provided sufficient FP to induce flowering in 95% of initiating lateral shoots and 1/2 or more of leaf per stem resulted in 100% reproductive shoots in under subtropical conditions. In tropical conditions, the 1/4 or 1/8 of leaf surface only induced flowering in an average of up to 11% of initiating lateral shoots. Translocation of the FP was greater, due to larger per leaf numbers, in subtropical condition compared to tropical condition.

### **References**

- Aksenova, N. P., E. L. Milyaeva, and G.A. Romanov. 2006. Florigen goes molecular: seventy years of the hormonal theory of flowering regulation. *Russian J. Plant Physiol.* 53: 401-406.
- Batten, D. and C.A. McConchie. 1995. Floral induction in growing buds of lychee (*Litchi chinensis*) and mango (*Mangifera indica*). *Aus. J. Plant Physiol.* 22: 783-791.
- Bohlenius, H., T. Huang, L. Charbonnel-Campaa, A.M. Brunner, S. Jansson, S.H. Strauss, and O. Nilsson. 2006. CO/FT regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees. *Science* 312: 1040-1043.
- Dalziel, J. and D.K. Lawrence. 1984. Biochemical and biological effects of kaurene oxidase inhibitors, such as paclobutrazol. *British Plant Growth Regulator Group, Monograph.* 4: 1-14.
- Davenport, T.L., 1990. Citrus flowering. *Hortic. Rev.* 12: 349-408.
- Davenport, T.L. 2000. Processes influencing floral initiation and bloom: the role of phytohormones in a conceptual flowering model. *Hort. Technol.* 10: 733-739.
- Davenport, T.L. 2003. Management of flowering in three tropical and subtropical fruit tree species. *HortScience* 38: 1331-1335.
- Davenport, T.L. 2007. Reproductive physiology of mango. *Braz. J. Plant Physiol.* 19: 363-376.

- Davenport, T.L. 2009. Reproductive physiology. In: Litz, R.E. (Ed.), *The Mango: Botany Production and Uses*, 2nd edition. CAB International, Wallingford, UK, pp. 97-169.
- Davenport, T.L. and R. Nunez-Elisea. 1990. Ethylene and other endogenous factors possibly involved in mango flowering. *Acta Hort.* 275: 441-448.
- Davenport, T.L. and R. Nunez-Elisea. 1997. Reproductive physiology. In: Litz, R.E. (Ed.), *The Mango: Botany, Production and Uses*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 69-146.
- Davenport, T.L., L. Ramo, and A. Alani. 1995. Evidence for a transmissible florigenic promoter in mango. In: *Proceedings of the 22nd Annual Meeting of the Plant Growth Regulation Society of America*, p. 159.
- Davenport, T.L., Y.C. Li, and Q. Zheng. 1999. Towards reliable flowering of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) in south Florida. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 112: 182-184.
- Davenport, T.L., D.W. Pearce, and S.B. Rood. 2001. Correlation of endogenous gibberellic acid with initiation of mango shoot growth. *J. Plant Gr. Reg.* 20: 308-315.
- Davenport, T.L., Z. Ying, V. Kulkarni, and T.L. White. 2006. Evidence for a translocatable florigenic promoter in mango. *Scientia Hort.* 110: 150-159.
- Galán Saúco, V. (1999). *El cultivo del mango*. Madrid, Barcelona, México: Gobierno de Canarias (Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación) e Ediciones Mundi-Prensa.
- Henry, M.J. 1985. Plant growth regulating activity of sterol and gibberellin biosynthesis inhibitors. *Bull Plant Growth Reg. Soc. Amer.* 13: 9-11.
- Kulkarni, V.J. 1991. Physiology of flowering in mango studied by grafting. *Acta Hort.* 291: 95-104.
- Kulkarni, V.J. 1988. Chemical control of tree vigour and the promotion of flowering and fruiting in mango (*Mangifera indica* L.) using paclobutrazol. *J. Hort. Sci.* 63:557-566.
- Lambers, H., F.S. Chapin III, and T.L. Pons. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, New York.
- Nunez-Elisea, R. and T.L. Davenport. 1991. Requirement for mature leaves during floral induction and floral transition in developing shoots of mango. *Acta Hort.* 296: 33-37.
- Nunez-Elisea, R. and T.L. Davenport. 1994. Flowering of mango trees in containers as influenced by seasonal temperature and water stress. *Scientia Hort.* 58: 57-66.
- Nunez-Elisea, R. and T.L. Davenport. 1995. Effect of leaf age, duration of cool temperature treatment, and photoperiod on bud dormancy release and floral initiation in mango. *Scientia Hort.* 62: 63-73.
- Nunez-Elisea, R., T.L. Davenport, and M.L. Caldeira. 1993. Bud initiation and morphogenesis in 'Tommy Atkins' mango as affected by temperature and triazole growth retardants. *Acta*

- Hort. 341: 192-198.
- Nunez-Elisea, R., T.L. Davenport, and M.L. Caldeira. 1996. Control of bud morphogenesis in mango (*Mangifera indica* L.) by girdling, defoliation and temperature modification. J. Hort. Sci. 71: 25-40.
- Olszewski, N., S. Tai-Ping, and F. Gubler. 2002. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. Plant Cell. Suppl., S61-S80.
- Ramirez, F. and T.L. Davenport. 2010. Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology. Scientia Hort. 126: 65-72.
- Ramirez, F., T.L. Davenport, and G. Fischer. 2010. The number of leaves required for floral induction and translocation of the florigenic promoter in mango (*Mangifera indica* L.) in a tropical climate. Scientia Hort. 123: 443-453.
- Robbertse, P.J., J.P. Joubert, and L.A. Coetzer. 2001. Floral induction in mango. S. A. Mango Growers Assoc. Yearbook 21: 32-38.
- Whiley, A.W., T.S. Rasmussen, J.B. Saranah, and B.N. Wolstenholme. 1989. Effect of temperature on growth, dry matter production and starch accumulation in ten mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. J. Hort. Sci. 64: 753-765.
- Whiley, A.W., T.S. Rasmussen, B.N. Wolstenholme, J.B. Saranah, and B.W. Cull. 1991. Interpretation of growth responses of some mango cultivars grown under controlled temperatures. Acta Hort. 291: 22-31.
- Wilkie, J.D., M. Sedgley, and T. Olesen. 2008. Regulation of floral initiation in horticultural trees. J. Exp. Bot. 59:3215-3228.
- Yeshitela, T., P.J. Robbertese, and P.J. Strassen. 2004. Effects of various inductive periods and chemicals on flowering and vegetative growth of 'Tommy Atkins' and 'Keitt' mango (*Mangifera indica*) cultivars. New Zealand J. Crop Hort. Sci. 32: 209-215.
- Zeevaart, J.A.D. 2006. Florigen coming of age after 70 years. Plant Cell 18: 1783-1789.

## 芒果(*Mangifera indica* L.)開花生理之研究

藍碧蘭<sup>1)</sup>

陳湄禎<sup>2)</sup>

林慧玲<sup>3)</sup>

關鍵字：花芽分化、花芽誘導、開花基因啟動子、芒果開花

**摘要：**芒果開花是每年果實產生的重要過程。芒果的芽變成花取決於芽的分化，在花芽分化的同時，花芽誘導也隨著發生。在亞熱帶氣候下，芒果花芽的誘導受低溫影響，特別是開花前需經過一段低溫(<18°C)，前人研究指出，芒果有開花基因啟動子的存在，在葉片中合成會持續的誘導芒果開花，轉錄學說指出，開花基因啟動子會經由葉片移動到韌皮部，並運送到芽以誘導開花，花芽誘導受營養生長和生殖生長之間啟動子相互作用所控制。在亞熱帶氣候下，'凱特'芒果經低溫，每個莖留1/4片葉子即可促使95%側芽開花，而1/2或更多的葉片導致100%的開花。在熱帶地區，發育充實且具充足休眠之前一季枝條才可成功誘導花芽。

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 泰國農業大學(Kasetsart University)曼谷校區(Bangkhen campus)農學院講師。

3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

## 評估葉綠素螢光作為荔枝對高溫逆境 忍受性指標之研究

蔡宜君<sup>1)</sup> 謝慶昌<sup>2)</sup>

關鍵字：荔枝、高溫逆境、葉綠素螢光

**摘要：**近年來全球氣候異常且極端氣象發生的頻率與強度也有增加的現象，對於農業生產與作物栽培產生了莫大的衝擊與影響，為因應這些異常的氣候，選育出具有耐熱潛力的作物基因型是相當重要的，而在果樹育種的過程中，如可建立一快速且簡單的篩選方法，對於育種工作將會有很大的幫助。葉綠素螢光測定的方法簡單、快速、靈敏、機動性高且為非破壞性，故本試驗便以葉綠素螢光做為一篩選指標，針對荔枝包含'台農1號'、'台農3號'、'台農5號'、'台農7號'、'玉荷芭'、'糯米糍(73-S-20)'、'桂味'、'黑葉'及'三月紅'共9個荔枝品種成熟離體葉片，進行高溫50°C處理，初步篩選出較耐熱品種'糯米糍'及較不耐熱品種'台農1號'，進行後續的試驗。高溫處理的結果顯示荔枝葉片電解質滲漏率大多呈現不規則的變化，推測可能與葉片質地有關，但若與未處理葉片相比計算電解質滲漏指數，則皆以耐熱品種低於不耐熱品種，說明高溫逆境對於不耐熱品種仍會造成其電解質滲漏的現象加劇。乙烯生合成會受到高溫抑制，且耐熱品種乙烯生合成速率下降較不耐熱品種來得慢；在丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的部分，不耐熱品種其含量會隨處理時間顯著下降，耐熱品種則會先升後降。綜合各生理指標的表現，與葉綠素螢光的篩選結果大致相符，因此葉綠素螢光確實可做為荔枝在高溫逆境下的生理指標。

---

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。

## 前 言

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)屬於無患子科之亞熱帶常綠果樹(鄧等, 2005), 原產於中國華南, 主要產區分布於南北緯 20-30 度之間, 約有 95% 的主要商業栽培集中於東南亞及亞洲地區, 在台灣荔枝的栽培早在 300 年前就開始發展(鄧等, 2005), 至今荔枝已成為台灣重要的經濟果樹之一。但根據近藤和盧(2009)指出, 台灣過去百年來氣溫上升的速率遠大於全球平均值, 顯示台灣長期以來暖化的趨勢較全球平均值來得高, 更需重視暖化以及氣候異常的問題。作物感受到逆境傷害時, 會啟動相對應的生理機制以抵抗逆境, 栽培者或育種家若能查知此變化, 以提早做出因應或是品種的篩選, 相信將有助於作物品種的改良與栽培。葉綠素螢光可有效的偵測植物光合作用性能(Maxwell and Johnson, 2000), 使用簡單、快速且為非破壞性, 無論是於實驗室或是田間都可使用, 具相當高的方便性(Baker and Rosenqvist, 2004; Ogaya et al., 2011), 本試驗便以葉綠素螢光評估高溫逆境對荔枝葉片的影響, 藉此尋求一理想的評估逆境傷害程度的方法, 以期將此技術應用在生理與植物育種上, 加速荔枝耐高溫逆境品種之選育。

## 材 料 與 方 法

### 一、試驗材料

本試驗材料係採自嘉義農業試驗所所栽培之荔枝離體成熟葉片共 9 種品種, 分別為 '台農 1 號'、'台農 3 號'、'台農 5 號'、'台農 7 號'、'玉荷苞'、'糯米糍'、'桂味'、'黑葉' 及 '三月紅'。

### 二、試驗方法

先用自來水清洗殘留於葉片上之髒汙或蟲卵後, 以純水再漂洗一次。隨後以紙巾輕拭葉片表面上的水分, 剪去葉尖與葉基, 留下面積約 5×5 cm<sup>2</sup> 的大小, 將裁剪後的葉片放置鋪有兩張紙巾且加入 3 ml 純水的塑膠培養皿中, 以 50°C 做為篩選溫度進行高溫處理。

### 三、調查項目及方法

#### (一) 葉綠素螢光之測定

以麥克筆於葉脈兩側畫上直徑約 1.5 cm 的圓形, 做為後續測定葉綠素螢光之部位。待葉片皆清洗與裁剪置於培養皿後, 以黑色絨布完全覆蓋, 進行暗適應(dark-adapted) 30 分鐘後, 使用攜帶式葉綠素螢光分析儀(portable chlorophyll fluorometer, MiNi-PAM, Walz, Germany)於事前標記之葉片表面進行葉綠素螢光值之測定。其探針可藉由特殊光纖(special fiberoptic 2010-F)提供測定光及飽和脈衝光, 並計算光系統 II 之活性, 以 Fv/Fm 表示之。

#### (二) 電解質滲漏率之測定

高溫處理過程中每 1 小時取出適量葉片以直徑 1 cm 之打孔器取 5 片葉圓片置入 EC

瓶中，加入 5 ml 純水後將 5 片葉圓片調整為相疊狀態，以玻璃棒壓住使葉圓片沉於瓶底，置入真空抽氣裝置(aspirator, A-3S. Tokyo Rikakikai Co., LTD. Japan)抽氣 30 秒後，以 100 rpm 震盪 3 小時，隨後以電導度計(electrical conductivity meter, SUNTEX, Taiwan)測定初始電導度(initial electrical conductivity, EC0)，再將 EC 瓶冰存於-20℃至少 1 天，目的是為了以冰晶破壞其膜體系統。取出直接震盪 3 小時同時進行解凍動作，再度測定其最大電導度(maximum electrical conductivity, EC1)。計算公式：Electrolyte leakage (%) = (EC0/EC1)×100%。另以處理前之電解質滲漏率為分母，每次調查之電解質滲漏率為分子，計算處理後荔枝離體葉片電解質滲漏率與未處理葉片之差異，稱為電解質滲漏率指數(Index of electrolyte leakage)，以% of control 為單位。

### (三) 乙烯釋放率之測定

高溫處理過程中每 1 小時取出適量葉片以直徑 1 cm 之打孔器取 5 片葉圓片，秤重後置於體積已知的 25 ml 三角瓶中，於常溫環境下以血清塞密閉 2 小時後，抽取 1 ml 瓶內氣體，以氣相層析儀(gas chromatograph, Shimadzu. Model GC-8A-FID)測定其乙烯濃度，計算乙烯釋放率。公式為： $\{[(\text{樣品 peak 長度} \times \text{衰減倍率}) - (\text{空氣 peak 長度} \times \text{衰減倍率})] \div \text{標準品長度} \times \text{衰減倍率}\} \times \text{標準品濃度}(\text{ppm}) \times 10 \div \text{三角瓶體積}(\text{L}) \div \text{葉圓片總重}(\text{g}) \div \text{密封時間}(\text{hr})$ 。單位以  $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$  表示之。

### (四) 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量之測定

高溫處理過程中每 2 小時取出適量葉片剪取 0.2 g 之葉片，以液態氮立即固定樣品，貯放於-20℃之環境下以備後續測定所需。根據 Heath 和 Packer(1968)的方法做些微的調整，高溫處理後的葉片取 0.2 g，加入 5 ml 5% (w/v) trichloroacetic acid (TCA)溶液於冰浴下研磨，於 4℃下 12000 g 離心 10 分鐘。取 1 ml 上清液加入 4 ml 0.5% (w/v) thiobarbituric acid (TBA)溶液(將 0.5% thiobarbituric acid 溶於 20% (w/v)之 TCA 溶液中)，於 100℃沸水中水浴 15 分鐘後，立即移入冰水中冷卻以終止反應，隨後以分光光度計(HITACHI U-2000)測定在波長 532 和 600 nm 下之吸收值，單位以  $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW})$ 表示之，每品種 3 重複。另以處理前之丙二醛含量為分母，每次調查之丙二醛含量為分子，計算處理後荔枝離體葉片丙二醛含量與未處理葉片之差異，稱為丙二醛指數(index of MDA)，以% of control 為單位。

### (五) 統計分析

將試驗結果以 SAS 套裝軟體(Statistical Analysis System, Institute Inc.)計算平均值，並利用 ANOVA 進行變方分析(analysis of variance)及最小顯著差異檢定(least significant difference test, LSD)，比較各品種間之差異顯著性。

## 結 果

'台農1號'、'台農3號'、'台農5號'、'台農7號'、'玉荷苞'、'糯米糍'、'桂味'、'黑葉'及'三月紅'共9個荔枝品種成熟離體葉片之耐熱性，未處理之葉片葉綠素螢光值(Fv/Fm)皆在0.7-0.8之間。從圖1可知'台農1號'為高溫處理後葉綠素螢光值下降程度最嚴重的品種，在高溫處理1小時後約減少70%；而'糯米糍'為最高，在高溫處理2小時時，'糯米糍'仍維持在0.6左右；故推測'糯米糍'為較耐熱品種，而'台農1號'為較不耐熱品種，而後對這兩品種進行其他試驗，藉以了解高溫對'糯米糍'與'台農1號'荔枝離體葉片的影響。'糯米糍'與'台農1號'在50°C處理下電解質滲漏率呈現一不規則的變化(圖2)。若與未處理的葉片進行比較，以未處理的葉片電解質滲漏率為分母，計算電解質滲漏率指數，則可發現在各個高溫處理時間下，幾乎都是以'台農1號'的電解質滲漏率變化率高於'糯米糍'，或者為兩者相似的情況(圖3)。表1顯示在高溫處理的情況下'糯米糍'與'台農1號'兩品種之荔枝離體葉片其乙烯釋放率皆會受到抑制，50°C高溫處理第1個小時即分別下降至0.43與0.19 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ ，而'台農1號'隨後無偵測到乙烯的生合成，'糯米糍'則至處理第3個小時起無偵測到乙烯的生合成。在丙二醛含量的部分未處理高溫的情況下'糯米糍'與'台農1號'分別為1.00及0.301 $\mu\text{mol/g}$ 。'糯米糍'的丙二醛含量呈現一先升後降的趨勢；'台農1號'的丙二醛含量則完全呈現下降的趨勢，至高溫處理第6小時，含量已下降到0.18 $\mu\text{mol/g}$ (圖4)。若將每次調查之丙二醛含量與未處理的葉片進行比較，以未處理的葉片丙二醛含量為分母，計算丙二醛指數，則顯示'糯米糍'的丙二醛含量在高溫處理第2小時增加了63%，隨後持續下降，至第6小時丙二醛含量下降了51%之多；而在'台農1號'其丙二醛指數持續減少，在高溫處理第6小時丙二醛含量下降了42%(表2)。

## 討 論

圖1為利用葉綠素螢光參數Fv/Fm篩選9個荔枝品種成熟葉片之耐熱性，9個荔枝品種成熟葉片的Fv/Fm皆會隨著高溫處理的時間增加而下降，與Molina-Bravo等人(2011)將懸鉤子屬不同品種之覆盆子成熟葉片以45°C處理，其Fv/Fm也會隨著處理時間的增加而下降的結果一致，而其他果樹作物如番荔枝、龍眼與芒果也有相同的結果(Yamada et al., 1996)。'糯米糍'葉綠素螢光值下降的速度顯著比'台農1號'來得慢，初步認定'糯米糍'為較耐熱品種，'台農1號'為較不耐熱品種。而根據Du等人(2013)針對禾本科牧草及草坪作物——肯塔基藍草耐熱品種'Midnight'及不耐熱品種'Brilliant'進行葉綠素螢光的測定顯示，以不耐熱品種'Brilliant'葉綠素螢光值下降速率較快，與本試驗結果相符。

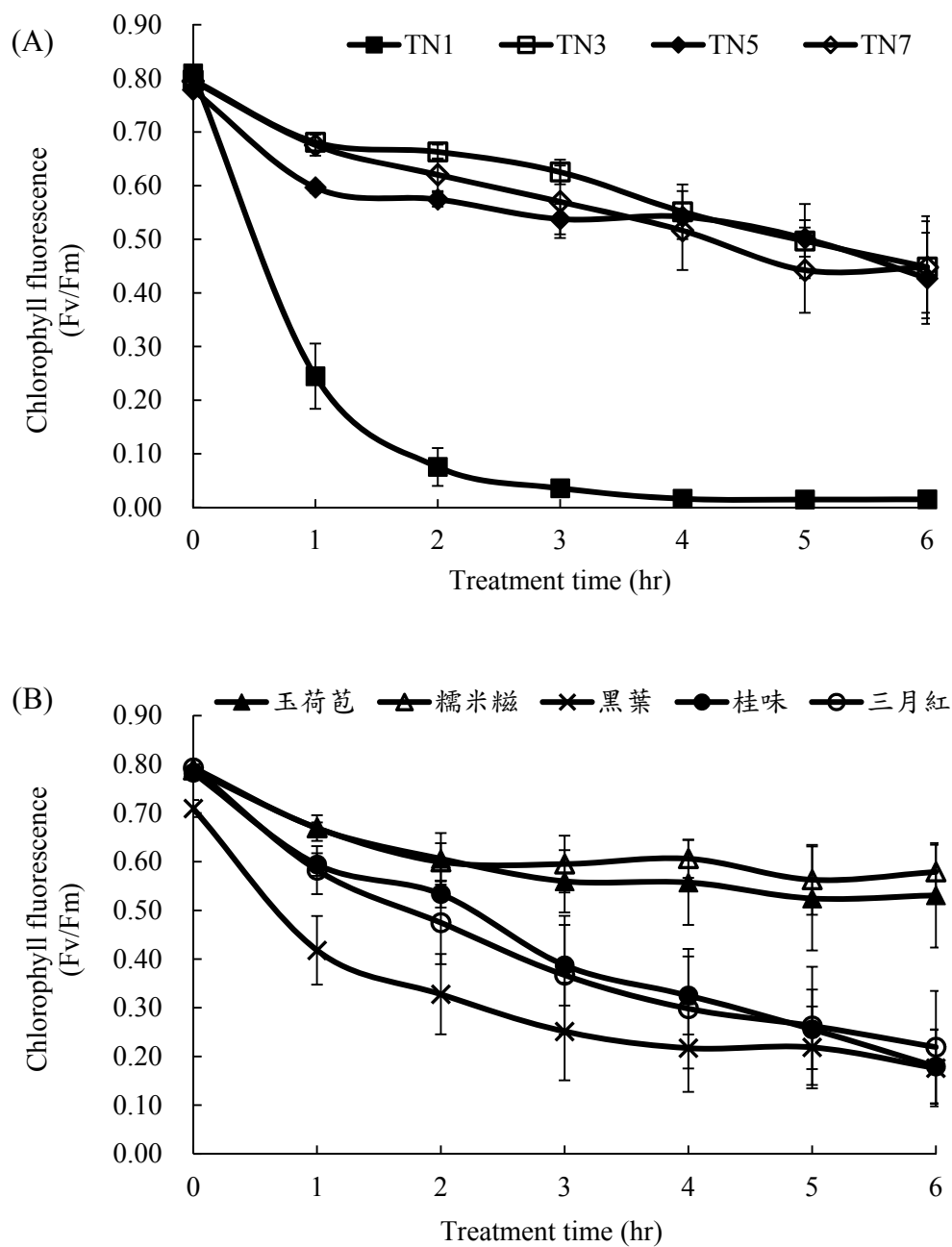


圖 1. 不同品種之荔枝離體葉片在 50°C 下葉綠素螢光的變化。(A)和(B)為試驗中 9 種荔枝品種。

Fig. 1. Change in chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) of litchi detached leaves excised from different cultivars during incubated at 50°C. (A) and (B) are the cultivars of this experiment.

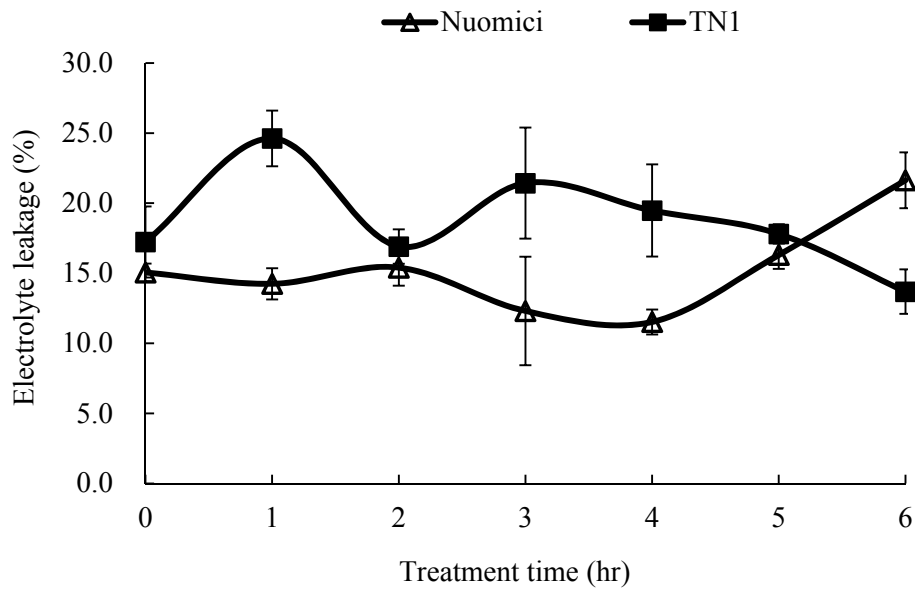


圖 2. 'TN1' 和 '糯米糍' 荔枝離體葉片在 50°C 下電解質滲漏的變化。

Fig. 2. Change in electrolyte leakage of litchi detached leaves excised from 'TN1' and 'Nuomici' during incubated at 50°C.

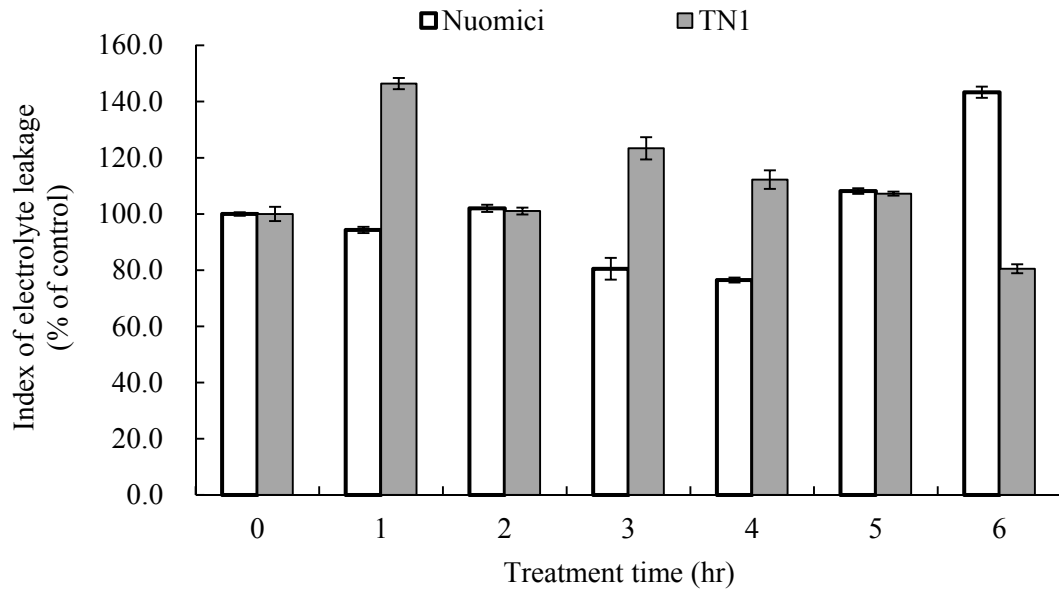


圖 3. 'TN1' 和 '糯米糍' 荔枝離體葉片在 50°C 下其電解質滲漏率指數的比較。

Fig. 3. Change in the index of electrolyte leakage (% of control) of litchi detached leaves excised from 'TN1' and 'Nuomici' during incubated at 50°C.

表 1. 'TN1' 和 '糯米糍' 荔枝離體葉片在 50°C 下其乙烯釋放率的比較。

Table 1. The ethylene production rate of litchi detached leaves excised from 'TN1' and 'Nuomici' during incubated at 50°C.

Treatment time (hr)	Ethylene production rate ( $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ )	
	TN1	Nuomici
0	17.32 bA <sup>x</sup>	50.06 aA
1	0.19 aB	0.43 aB
2	0.00 aB	0.07 aB
3	0.00 aB	0.00 aB
4	0.00 aB	0.00 aB
5	0.00 aB	0.00 aB
6	0.00 aB	0.00 aB

<sup>x</sup> Mean separation within columns (small letter) and within rows (capital letter) was by Duncan's multiple range test at 5% level.

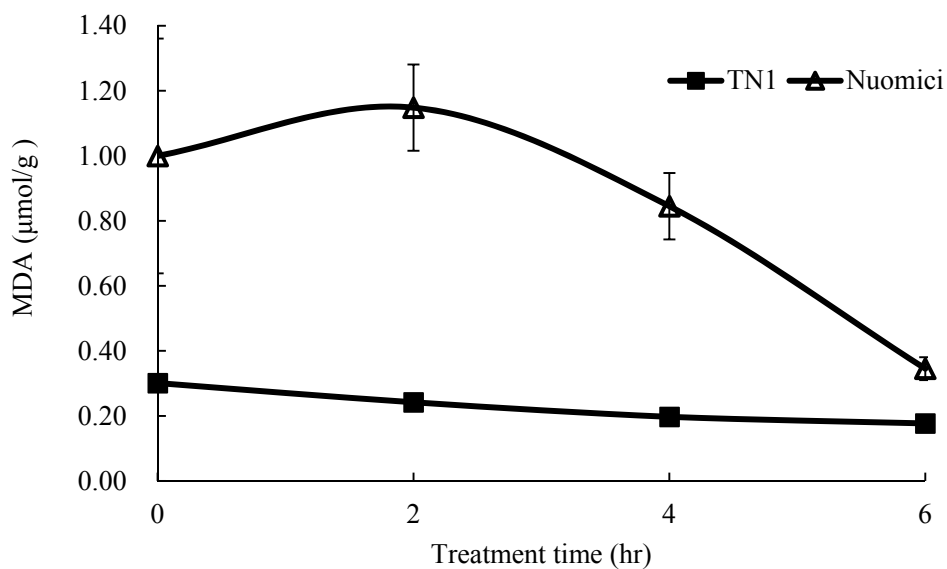


圖 4. 'TN1' 和 '糯米糍' 荔枝離體葉片在 50°C 下丙二醛含量之變化。

Fig. 4. Change in MDA content of litchi detached leaves excised from 'TN1' and 'Nuomici' during incubated at 50°C..

表 2. 'TN1' 和 '糯米糍' 荔枝離體葉片在 50°C 下其丙二醛指數的比較。

Table 2. The index of MDA of litchi detached leaves excised from 'TN1' and 'Nuomici' during incubated at 50°C.

Treatment time (hr)	Index of MDA <sup>x</sup> (% of control)	
	TN1	Nuomici
0	100.00 aA <sup>y</sup>	100.00 abA
2	80.86 bB	163.21 aA
4	65.79 cB	96.85 abA
6	58.68 cA	49.24 cA

<sup>x</sup> Mean separation within columns (small letter) and within rows (capital letter) was by Duncan's multiple range test at 5% level.

圖 2 為 '糯米糍' 與 '台農 1 號' 在 50°C 高溫處理下電解質滲漏率的變化，兩品種皆無一定的變化趨勢，推測可能是因荔枝葉片本身略呈革質化(coriaceous)，使得冰存於 -20°C 以冰晶破壞其膜體系統再解凍時，對其內容物的流出產生阻礙，故無法測得準確的最大電導度(maximum electrical conductivity; EC1)，導致電解質滲漏率並未隨處理時間增加而上升。但若計算電解質滲漏率指數，則可發現在各個高溫處理時間下，幾乎都是以較不耐熱品種 '台農 1 號' 的電解質滲漏指數高於較耐熱品種 '糯米糍'，代表較不耐熱品種其電解質滲漏的情形整體而言還是比較耐熱品種來得嚴重，推測在高溫處理後其膜體完整性應劣於較耐熱品種。

乙烯為植物賀爾蒙的一種，被認為與植物老化生理有一定的關係，而當植物遭遇逆境時會加快其老化生理的進程，如溫度、水分或重金屬毒害等逆境，因此乙烯也可做為判定植物遭受逆境所產生的受傷程度之指標(Hamber and Fuchigami, 2000)。高溫對於乙烯的合成不利，推測可能是因乙烯生合成途徑中的 ACO 活性會受到高溫抑制所致(Arteca and Arteca, 2007)，若以 43°C 處理阿拉伯芥 15、30 及 60 分鐘，則隨著熱處理時間的增加，植株的乙烯生成量有減少的趨勢，在番茄果實中也有相同結果(Biggs et al., 1988)。表 3 為 '糯米糍' 與 '台農 1 號' 在 50°C 高溫處理下乙烯釋放率的變化，高溫處理顯著的抑制乙烯的產生，在木瓜葉片上也有相同的結果(李, 2012)，與前人研究相符。

試驗中 '糯米糍' 與 '台農 1 號' 在 50°C 處理下，較不耐熱品種 '台農 1 號' 的丙二醛含量隨處理時間增加而持續下降；較耐熱品種 '糯米糍' 則先升後降(圖 6)，推測 50°C 對於 '台農 1 號' 會造成其酵素活性失活，故來不及表現出脂質過氧化反應就呈下降的趨勢；而較耐熱品種 '糯米糍' 在高溫處理第 2 小時 MDA 含量便增為原來的 1.6 倍(表 2)，充分表現出植體在遭受溫度逆境時所導致 MDA 累積的生理現象，推測可忍受高溫直到處理第 4

小時開始，才失去生理活性而使含量下降。

結果顯示在這四種逆境指標中，以葉綠素螢光測定方法最為快速方便且為非破壞性，其餘四種指標皆為破壞性，且其表現可能受到作物本身的特性影響而不一致。

## 參 考 文 獻

- 李芸媽。2012。葉綠素螢光作為評估番木瓜溫度逆境之指標。國立中興大學園藝學系碩士論文。台中。pp. 69。
- 鄧永興、張哲璋、王怡玓。2005。荔枝。p. 39-52。黃美華等編著。台灣農家要覽增訂(三版)——農作二。行政院農業委員會。台北。
- 近藤始彦、盧虎生。2009。台湾の稲作における気象変動の影響と研究の現状。農業および園芸 84: 36-41。
- Arteca, R. N. and J. M. Arteca. 2007. Heavy-metal-induced ethylene production in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Physiol.* 164(11): 1480-1488.
- Baker, N. R. and E. Rosenqvist. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.* 55: 1607-1621.
- Biggs, M., W. R. Woodson, and A. K. Handa. 1988. Biochemical basis of high- temperature inhibition of ethylene biosynthesis in ripening tomato fruits. *Physiol. Plant.* 72(3): 572-578.
- Du, H. M., P. Zhou, B. G. Huang. 2013. Antioxidant enzymatic activities and gene expression associated with heat tolerance in a cool-season perennial grass species. *Environ. Expt. Bot.* 87: 159-166.
- Hamber, R. M. and L. H. Fuchigami. 2000. Ethylene-induced stress resistance. pp. 81-89. In: H. L. Paul (ed.). *Low temperature stress physiology in crop*. CRC Press Inc., Florida.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.* 345: 659-668.
- Molina-Bravo, R., C. Arellano, B. R. Sosinski, and G. E. Fernandez. 2011. A protocol to assess heat tolerance in a segregating population of raspberry using chlorophyll fluorescence. *Scientia Hort.* 130: 524-530.
- Ogaya, R., J. Penuelas, D. Asensio, and J. Llusià. 2011. Chlorophyll fluorescence responses to temperature and water availability in two co-dominant Mediterranean shrub and tree species in a long-term field experiment simulating climate change. *Environ. Expt. Bot.* 73: 89-93.
- Yamada, M., T. Hidaka, and H. Fukamachi. 1996. Heat tolerance in leaves of tropical fruit crops as measured by chlorophyll fluorescence. *Scientia Hort.* 67: 39-48.

## Studies of Chlorophyll Fluorescence as an Indicator to Evaluate the Tolerance to Heat Stress of Litchi (*Litchi chinensis*)

Yi-Chung Tsai <sup>1)</sup> Ching-Chang Shiesh <sup>2)</sup>

Key words: Litchi, heat stress, Chlorophyll fluorescence

### Summery

In recently years global weather conditions are becoming abnormal. The frequency and intensity of extreme weathers also increase, impacting on agricultural productivity and crop cultivation. For adapting to unusual weathers, it is important to breed crops with heat tolerance genotypes. In the breeding process of fruit trees, if we can establish a quick and simple way to screen, that will be helpful for breeding work. Chlorophyll fluorescence determination method is simple, rapid, sensitive, high-mobility and non-destructive. In this experiment, we used chlorophyll fluorescence as a screening indicator to test several mature leaves of litchi cultivars: 'Tai-Nong No.1', 'Tai-Nong No.3', 'Tai-Nong No.5', 'Tai-Nong No.7', 'Yuh-Her-Bau', 'No-Mai-Tsz(73-S-20)', 'Gui-Wei', 'Hei-Yeh', and 'San-Yueh-Hnug' with heat (50°C) treatment. Using the chlorophyll fluorescence method, we selected 2 cultivars for further screening: the more heat-tolerant cultivar 'Nuomici' and the more heat-sensitive cultivar 'Tai-Nong No.1'. The results indicated that when litchi leaves underwent heat stress, electrolyte leakage varied irregularly. It might be the influence of leaf texture. Comparing with untreatment leaves and calculating the index of electrolyte leakage, the value of sensitive cultivars were higher than tolerance cultivars. Heat stress increases electrolyte leakage of sensitive cultivars. Ethylene production was inhibited by high temperature. Ethylene production rate of heat tolerance cultivar decreased slower than heat sensitive cultivar. Malondialdehyde (MDA) content declined with heat treatment in heat sensitive cultivar while in heat tolerance cultivar, the content increased followed by descent. To sum up the manifestation of physiologies above, they conformed to the result of chlorophyll fluorescence mostly. Chlorophyll fluorescence could be a screening indicator.

- 
- 1) Graduated student in MS program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
  - 2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Corresponding author.

## 環剝、噴施硫酸鎂對'珍珠'番石榴果實品質之影響

許 晉 嘉<sup>1)</sup> 林 慧 玲<sup>2)</sup>

關鍵字：番石榴、環剝、硫酸鎂、果實品質

**摘要：**本實驗擬利用環剝與葉面噴施硫酸鎂，抑制'珍珠'番石榴過盛的營養生長，增加葉片葉綠素生成量，期能提升葉片光合產物含量，以促進生殖生長並提升果實品質。結果顯示，環剝後 97 天營養生長抑制最顯著，花與果實增加情形最多，葉片全可溶性糖較高，且果實果重、硬度、抗壞血酸、全可溶性糖及澱粉均較對照組高。葉面噴施硫酸鎂後，葉片鎂含量、葉綠素與碳水化合物含量提升，果實長寬徑、果重、硬度、可溶性固形物、抗壞血酸與全可溶性糖較對照組果實高，因此，利用環剝及噴施硫酸鎂，均可增加葉片光合產物進而提升果實品質。

### 前 言

番石榴(*Psidium guajava* L.)為桃金娘科(Myrtaceae)番石榴屬(*Psidium*)之常綠灌木果樹，原生地從墨西哥南部至中美洲均有分布，1526 年至今，西印度群島、熱帶美洲、亞洲與非洲等地均分布番石榴(Morton, 1987)。

臺灣番石榴早期自中國大陸引進，光復後以'梨子拔'、'中山月拔'等更年性番石榴為主要栽培品種，民國 70 年代以泰國拔與二十世紀拔等品種為栽培主力，民國 80 年代後，'珍珠'、'水晶'等與近年的臺農一號'帝王'等品種則是近年主要栽培品種。因為優良品種出現與栽培技術的進步，使番石榴產業蒸蒸日上，番石榴成為台灣中南部重要之經濟果樹(謝，2005)。

'珍珠'番石榴自然產季集中於夏季(6-9 月)，此時氣候高溫多雨，果實生長快，且植株營養生長競爭果實養分，造成果實品質不佳且不耐貯運，如何使果實累積較多光合產物，並抑制植株營養生長過盛為提升果實品質之重要關鍵技術。

---

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。

硫酸鎂(Magnesium sulfate)在生物、醫學與農業上常廣泛使用(Merck index, 1976)，葉綠體生合成由鎂螯合酶啟動，將  $Mg^{2+}$  鑲入原紫質 IX (protoporphyrin IX)，形成鎂原紫質 (Mg-protoporphyrin IX) (Braumann *et al.*, 2014)，因此缺鎂將使葉綠素生合成失常(Taiz and Zeiger., 2010)，且硫酸鎂可維持核醣體結構穩定，並是許多酵素的必須輔酶(廖，2005)。

環剝為諸多抑制植物營養生長過盛方法之一，目的在於透過植株基部或枝條環狀剝除樹皮，使葉片光合產物無法輸送至根部，阻斷葉片與根之間的上下運輸關係，降低根部的碳水化合物含量(Yamane and Shibayama., 2006)。藉此將葉片生成之光合產物分配至果實，使果實發育期間得以有充足的碳源供應，進而提昇果實內容物含量。例如柑橘(Cohen., 1984)、葡萄(Williams and Ayars., 2005)及枇杷(Agusti *et al.*, 2005)，經環剝處理可增加果重及品質。

本試驗以噴施硫酸鎂與環剝處理等方式調查'珍珠'番石榴果實品質與營養生長速率，試圖改善'珍珠'番石榴果實品質。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

試驗材料取自台中市果園，品種為 10 年生之'珍珠'番石榴(*Psidium guajava* L.)，處理組與對照組，以每株為一重複，各 3 重複。

### 二、試驗方法

環剝：於園中逢機取樣 6 株健康'珍珠'番石榴，實驗方式為一株番石榴植株自基部取 2 個主幹分枝，一進行環剝處理，於植株基部上方 15cm 環剝 1 公分，另一主幹分之為對照組不環剝，而後植株進行修剪，於環剝後第 0 天、41 天、97 天、116 天與 168 天調查植株葉片、枝條、花朵與果實數量，並於果實成熟採收後調查果實品質。

硫酸鎂：逢機選取番石榴植株，番石榴植株經過修剪，誘導新生枝芽和花苞萌發，修剪後噴施 0.5%硫酸鎂(99.8%, Choneye pure chemical)，每週噴施一次，共四週，採集葉片比較葉綠素含量差異，採收至果實套袋止，對照組為未噴施硫酸鎂，7 月 2 日(修剪後 30 天)進行果實套袋，套袋材質為打孔聚乙烯(polyethylene, PE 袋，長 30 cm 寬：21.2 cm，厚 0.01 mm)，內襯為白色舒果網(expanded polystyrene net sleeve, EPNS)，採收果實，比較其糖度、硬度等果實品質性狀。

### 三、調查項目與分析方法

#### (一) 葉片、枝條、花與果實數量調查

調查方式為嫩葉以外之營養器官皆調查，並計算其成長率，成長率計算方式為(調查當日生成數-前次調查生成數/總生成數)\*100%。

#### (二) 葉片及果實取樣方法

葉片取樣為頂芽往下 3-4 對葉，取樣後以 1%HCl 漂洗，再以三次純水依序洗淨，擦

拭乾淨後放置入烘箱 100°C 1 小時殺菁，而後再降溫為 70°C 烘烤至葉片完全乾燥。乾燥後以磨粉機研磨。

果實取樣方法為將果實樣品經果心去除，將果肉切丁均質後以液態氮急速冷凍，之後裝入封口袋進行冷凍乾燥，完全乾燥後以研鉢研磨成粉，置於-20°C 凍箱備用。

#### (1) 礦物元素分析

將葉片與果實乾粉分別秤取 0.5 與 1 克後，置入灰化坩鍋，以灰化爐(muffle furnace)進行高溫灰化，升溫過程為 200°C，再升溫到 400°C 加熱 1 小時，最後再以 550°C 加熱 2 小時始樣品完全灰化，之後取出冷卻，加入 5 毫升 2N HCl 使之溶解，再以濾紙(Whatman # 42)過濾灰化液，隨之定量至 25 毫升，最後將樣品裝入去除離子之 PE 瓶。

大量元素鉀、鎂與微量元素鐵、錳、鋅、銅等測定以適當稀釋濃度灰化液，經偏光茲曼原子吸收光譜儀(Series polarized Zeeman atomic absorption spectrophotometer, Model Z-2300, Hitachi Japna)測量吸光值，各元素皆測定以之濃度標準品，在與樣品比對吸光值換算元素含量，大量元素等以百分比(%)為單位，微量元素等則以 ppm 表示。

#### (2) 氮分析

氮分析採用 Micro-Kjeldahl Method，將乾燥樣品以濾紙(Whatman# 1)包裹置入分解管，加入 1 克凱氏氮催化劑(selenium reagent mixture) (Merck 8030)與 4.5 毫升濃硫酸(95%)，置於 410°C 高溫分解爐加熱 2.5 小時，結束後取出，待其冷卻加入 15 毫升純水。再者為 Micro-Kjeldahl 裝置氮分解，將樣品倒入燒氮瓶，並以蒸餾水加至半滿，爾後加入 20 毫升 12N 的 NaOH，並以裝有 20 毫升凱氏氮指示劑(含 19 $\mu$ M Bromocresol green 和 25 $\mu$ M Methyl Red 的 2% Boric acid solution)之塑膠杯裝取蒸餾冷凝氨水，塑膠杯內溶液達 50 毫升時取出，以 1/14N 硫酸作為標準酸滴定，再以滴定量計算氮含量，單位為百分比(%)。

#### (3) 磷分析

磷測定方法為鉬黃法(vanadate-molybdate yellow method)，取 1 毫升灰化液加上 3 毫升純水與 1 毫升鉬黃試劑，混合均勻後靜置 15 分鐘，以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U2000)波長 470 nm 下測定樣品吸光值，單位為百分比(%)

### (三) 葉綠素含量

使用打孔器在葉片上取 1 片直徑 1cm 圓片，將葉圓片置入玻璃管，加入 5 ml N,N-Dimethylformamide (DMF)，使葉圓片完全浸泡，置於黑暗中 10 天，待組織呈半透明或白色時，葉綠素被溶出便可測量，再以分光光度計(Spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定波長 664.5 nm 及 647 nm 之吸光值，利用下列公式計算葉綠素 a、b 和總葉綠素含量，單位為  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

$$\text{Chl a}(\mu\text{g}/\text{cm}^2) : (12.7\text{A}664.5 - 2.76\text{A}647) \mu\text{g}/\text{ml} \times 5\text{ml}/\text{葉圓片面積}$$

$$\text{Chl b}(\mu\text{g}/\text{cm}^2) : (20.7\text{A}647 - 4.62\text{A}664.5) \mu\text{g}/\text{ml} \times 5\text{ml}/\text{葉圓片面積}$$

$$\text{Chl a+b}(\mu\text{g}/\text{cm}^2) : (17.9\text{A}647 + 8.08\text{A}667.5) \mu\text{g}/\text{ml} \times 5\text{ml}/\text{葉圓片面積}$$

$$\text{葉圓片總面積}(\text{cm}^2) : 3.1416 \times (0.5)^2 \times \text{葉圓片數目}$$

#### (四) 碳水化合物

##### (1) 全可溶性固形物測定

全可溶性糖與澱粉測定方法參考自 Dubois (1956)，做法為取乾燥樣品 0.1 克置入離心管，加入 10 毫升純水於 30°C 中水浴震盪 3 小時，水浴結束後於室溫以轉速 4000xg 離心 10 分鐘，以濾棉濾出上清液，待測全可溶性糖。上清液稀釋後，取稀釋液 2 毫升加入 0.1 毫升石碳酸(90% liquid phenol)與 6 毫升濃硫酸，均勻混合後靜置 30 分鐘以分光光度計(spectrophotometer, Shimadzu UV-200S)波長 490 nm 吸光值。單位為%DW。

##### (2) 澱粉測定

取上述離心後之樣品殘渣，加入 10 毫升純水再次以轉速 4000xg 離心 10 分鐘，將糖液完全抽乾後之殘渣放入 70°C 烘箱烘乾。之後取出加入 2 毫升純水以沸水水煮 15 分鐘，冷卻後加入 2 毫升 9.2N HClO<sub>4</sub>，靜置 15 分鐘後再加 6 毫升水並以 4000xg 離心 10 分鐘。離心後抽取上清液稀釋，再以稀釋液 2 毫升加入加入 0.1 毫升石碳酸(90% liquid phenol)與 6 毫升濃硫酸，均勻混合後靜置 30 分鐘以分光光度計(spectrophotometer, Shimadzu UV-200S)波長 490 nm 吸光值。單位為%DW。

#### (五) 果實品質測定

果實重量以電子式天平秤重，以公克(g)表示單位，可溶性固形物則以電子式糖度計(ATAGO PR-32)測定果肉果汁之可溶性固形物，每顆果實之可溶性固形物含量以赤道兩端點為測量位置之讀值平均表示，單位為°Brix。

果皮顏色測定方法為將果實採樣後清洗擦拭乾淨，以攜帶型分光色差儀(Mini Scan XE Plus, Model 4500S)測定果實赤道相對應兩端點之 L\*、a\*、b\* 值，換算出 C\* 與 h° 值，每顆果實之色差值以赤道兩端點數值平均表示。色座標(color scale)以 CILAB 表示；L\* 表示明亮度(lightness)，100 為白色，0 為黑色；a\* 表示紅綠程度，正值偏紅、負值偏向綠色；b\* 值表示黃藍程度，正值偏黃、負值偏藍；C\* 值為彩度(chroma)，以  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  計算而來，數值越高代表色彩越濃豔；h° 值為色相角(Hue angle)，以  $h^{\circ} = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ ，0° 為紫紅色，90° 為黃綠色，180° 為綠藍色，270° 為藍紫色，表示顏色色相範圍變化。果實硬度測定方法為以手持式硬度計(penetrometer FT-327)測定果實單位面積(0.49cm<sup>2</sup>)內刺穿果肉所需之力量，每顆果實測量赤道對應兩端點，數值以兩端點平均表示，單位為牛頓(N/cm<sup>2</sup>)。

#### (六) 抗壞血酸含量

將採收並清洗過後的果實切丁均質後秤取鮮重 1 克，然後添加 9 毫升偏磷酸抽取液(內含 6% metaphosphoric acid 之 2N acetic acid)於研鉢中研磨，以抗壞血酸試紙 (Reflectoquact<sup>®</sup> ascorbic acid test strip, Merck)沾拭之後置入 RQ-flex (RQ-flex 10, Merck, Germany)讀取抗壞血酸濃度(mg/l)，換算濃度單位為 mg/100g。

#### (七) 統計分析

將試驗結果以 SAS 套裝軟體(Statistical Analysis System, Institute Inc.)計算平均值，並

利用 ANOVA 進行變方分析(analysis of variance)及最小顯著差異檢定(least significant difference test, LSD)，比較各品種間之差異顯著性。

## 結 果

### 一、環剝處理期間'珍珠'番石榴營養生長之變化

環剝前，處理組之枝條與葉片高於對照組(表 1)，環剝後 41 天，處理組與對照組營養生長增加率為調查期間最高，隨後生長增加速率驟降。環剝後 97 天內，可看出環剝處理之植株葉片與枝條增加率較對照組低，環剝後 116 天至 168 天，環剝處理之植株營養生長率高於對照組。

從環剝調查期間來看，環剝 0 天至 41 天之間，環剝處理之葉片增加率與枝條生長率為 41.38%和 63.24%，低於對照組；環剝後 97 天，處理組之葉片生長率與枝條生長率為 3.18%與 0%，低於對照組 9-12%，此階段為環剝影響最顯著時期，環剝後 168 天，處理組之營養生長率高於對照組(葉片增加率：10.78%、枝條成長率：2.98%)。整體來說，環剝處理營養生長抑制最嚴重時期為環剝後 97 天，之後生長速率漸漸恢復，且於環剝後 116 天傷口癒合。

### 二、環剝處理期間'珍珠'番石榴生殖生長之變化

環剝後第 41 天(表 2)，環剝處理之花與果實數目平均大於對照組，花朵總數以處理組較高，且此時處理組已有 3 顆果實，表示處理組在環剝 41 天調查前，已有花朵出現，環剝後 97 天，處理組平均花朵數 1.3 朵，對照組無花朵生成，隨後只有果實生長。

至環剝後 168 天，處理組總花數為 22 朵，對照組 10 朵，處理組果實總數 62 顆，對照組 55 顆；開花速率方面，環剝後 97 天，處理組花朵生長率提高 18%，之後調查皆無來花；果實生長率方面，環剝後 97 天，處理組果實成長率達 87%，為整個調查期間最高者，環剝後 116 天，對照組果實成長率 50%，處理組只有 44%，環剝後 168 天成長率約為 34-35%之間，無顯著差異。可看出環剝後 97 天內花朵出現與果實大量著果期，環剝 97 天後果實主要進行生長，開花情形減少。

### 三、環剝處理後'珍珠'番石榴葉片碳水化合物之變化

葉片碳水化合物方面(表 3)，第 0 天處理間無顯著差異，環剝後 97 天，處理組全可溶性糖(9.26%)高於對照組，但澱粉兩處理間無顯著差異，環剝後 168 天，處理組之全可溶性糖(7.14%)高於對照組(6.4%)；碳水化合物以處理前最高，爾後隨生長日數增加而下降，環剝處理 97 天及 168 天全可溶性糖較對照組高，而澱粉則無顯著差異。

### 四、環剝處理對'珍珠'番石榴果實品質之影響

環剝處理之果實重量(294.82 克)、硬度(145.7N/cm<sup>2</sup>)與抗壞血酸(193.34mg/100g)含量高於對照組(表 4)，果實長、寬徑與可溶性固形物無顯著差異。

表 1. 環剝處理期間之 '珍珠' 番石榴葉片與枝條之生長數目與成長增加率。

Table 1. Effect of girdling treatment on leaf, branch quantity and increase percentage of 'Jen-Ju' guava.

Days after girdling	Treatment	No. of leaf /per tree	No. of Branch/per tree	Increase percentage of leaves	Increase percentage of branches
0	Control	329.7b <sup>z</sup>	34.3b	- <sup>x</sup>	-
	Girdling	392.0a	50.0a		
41	Control	627.3b	96.3b	47.44%	64.38%
	Girdling	668.7a	136.0a	41.38%	63.24%
97	Control	717.7a	110.0b	12.59%	12.45%
	Girdling	690.7b	130.0a	3.18%	0.00%
116	Control	723.7a	111.3b	0.83%	1.20%
	Girdling	703.7a	134.3a	1.85%	3.23%
168	Control	734.0b	109.7b	1.41%	0.00%
	Girdling	788.7a	138.3a	10.78%	2.89%

<sup>z</sup>Means separation within column in the same day by LSD test at 5 % level. <sup>x</sup>Means no data.

表 2. 環剝處理期間之 '珍珠' 番石榴花朵與果實之生長數目、生長總數與生長增加率。

Table 2. Effect of girdling treatment on the number of flower and fruit and increase percentage of 'Jen-Ju' guava.

Days after girdling	Treatment	No. of Flower/per tree	No. of Fruit/per tree	Total number of flowers	Total number of fruits	Increase percentage of flowers	Increase percentage of fruits
0	Control	0a <sup>z</sup>	0a	- <sup>x</sup>	-	-	-
	Girdling	0a	0a				
41	Control	3.3b	0b	10b	0b	-	-
	Girdling	6.0a	1a	18a	3a		
97	Control	0.0b	6.0b	10.0b	18.0b	0%	-
	Girdling	1.3a	6.7a	22.0a	23.0a	18%	87%
116	Control	0.0a	6.0a	10.0b	36.0b	0%	50%
	Girdling	0.0a	6.0a	22.0a	41.0a	0%	44%
168	Control	0.0a	6.3b	10.0b	55.0b	0%	35%
	Girdling	0.0a	7.0a	22.0a	62.0a	0%	34%

<sup>z</sup>Means separation within column in the same day by LSD test at 5 % level. <sup>x</sup>Means no data.

#### 五、環剝處理對'珍珠'番石榴果實碳水化合物含量之影響

處理組之果實全可溶性糖(57.06%)含量高於對照組(43.32%)，澱粉以處理組較高(8.13%)(表 5)。

#### 六、硫酸鎂處理對'珍珠'番石榴葉片葉綠素含量及鎂濃度之影響

處理前，硫酸鎂處理之葉綠素 a ( $21.38 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )、b ( $11.43 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )與總葉綠素( $32.76 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )含量高於對照組。噴施後 65 天無顯著差異，噴施硫酸鎂後 99 天之葉綠素含量較高，顯示單純葉面施用硫酸鎂 1 個月，並無法於短期大量提升'珍珠'番石榴葉片之葉綠素含量。分析鎂元素之差異顯示，噴施後 65 天，葉片鎂濃度顯著提升，噴施後 99 天則無顯著差異(表 6)。

#### 七、硫酸鎂處理對'珍珠'番石榴葉片碳水化合物組成之影響

碳水化合物方面(表 7)，硫酸鎂噴施後 65 天，處理組之全可溶性糖(8.63%)與澱粉(6.33%)均高於對照組，噴施後 99 天，處理間無顯著差異。整體看來，葉片碳水化合物隨生長日數增加而上升，但以硫酸鎂噴施後 65 天之碳水化合物含量差異較顯著。

#### 八、噴施硫酸鎂對'珍珠'番石榴果實品質與碳水化合物含量之影響

噴施硫酸鎂之果重(503.93 克)、可溶性固形物(10.5°Brix)與抗壞血酸含量(205.69mg/100g)均高於對照組，果實長、寬徑亦較大，果實硬度則是對照組較高( $145.8\text{N}/\text{cm}^2$ )(表 8)。碳水化合物方面(表 9)，處理組全可溶性糖較對照組高(52.55%)，澱粉無顯著差異。

表 3. 環剝處理期間之'珍珠'番石榴葉片碳水化合物含量變化。

Table 3. Effect of girdling treatment on leaf carbohydrate content of 'Jen-Ju' guava.

Days after girdling	Treatment	Total soluble sugar (%)	Starch (%)
0	Control	9.06a <sup>z</sup>	6.27a
	Girdling	9.40a	6.78a
97	Control	7.44b	1.49a
	Girdling	9.26a	1.70a
168	Control	6.40b	1.83a
	Girdling	7.14a	2.30a

<sup>z</sup>Means separation within column in the same day by LSD test at 5 % level.

表 4. 環剝處理後 '珍珠' 番石榴果實採收後品質。

Table 4. Effect of girdling treatment on fruit quality of 'Jen-Ju' guava.

Treatment	Fresh weight(g)	Length (cm)	Width (cm)	Firmness (N/cm <sup>2</sup> )	TSS (°Brix)	Ascorbic acid (mg/100g)
Control	249.55b <sup>z</sup>	8.22a	7.22a	105.0b	12.03a	174.08b
Girdling	294.82a	8.60a	7.59a	145.7a	11.4a	193.34a

<sup>z</sup>Means separation within column by LSD test at 5 % level.

表 5. 環剝處理後 '珍珠' 番石榴果實之碳水化合物含量。

Table 5. Effect of girdling treatment on fruit carbohydrate content of 'Jen-Ju' guava.

Treatment	Total soluble sugar (%)	Starch (%)
Control	43.32b <sup>z</sup>	4.61b
Girdling	57.06a	8.13a

<sup>z</sup>Means separation within column by LSD test at 5 % level.

表 6. 噴施硫酸鎂對 '珍珠' 番石榴葉片葉綠素含量及鎂濃度之影響。

Table 6. Effect of magnesium sulfate spraying on leaf Chlorophyll and magnesium content of 'Jen-Ju' guava.

Days after spraying	Treatment	Chlorophyll (µg/ cm <sup>2</sup> )			Mg(%)
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Chlorophyll a+b	
0 day	Control <sup>y</sup>	18.40b <sup>z</sup>	9.33a	27.69b	0.27a
	MgSO <sub>4</sub>	21.38a	11.43a	32.76a	0.27a
65 days	Control	22.50a	10.56a	33.02a	0.27b
	MgSO <sub>4</sub>	21.63a	10.42a	32.01a	0.38a
99 days	Control	11.81b	5.51b	17.30b	0.31a
	MgSO <sub>4</sub>	15.05a	7.51a	22.53a	0.32a

<sup>y</sup> Control : without spraying magnesium sulfate ; MgSO<sub>4</sub>: spraying magnesium sulfate.

<sup>z</sup>Means separation within column in the same day by LSD test at 5 % level.

表 7. 噴施硫酸鎂對 '珍珠' 番石榴葉片碳水化合物含量之影響。

Table 7. Effect of magnesium sulfate spraying on carbohydrate content of 'Jen-Ju' guava leaf.

Days after spraying	Treatment	Total soluble sugar (%)	Starch (%)
0	Control <sup>y</sup>	7.82a <sup>z</sup>	4.47b
	MgSO <sub>4</sub>	8.40a	5.43a
65	Control	8.01b	4.00b
	MgSO <sub>4</sub>	8.63a	6.33a
99	Control	9.11a	7.77a
	MgSO <sub>4</sub>	9.02a	7.50a

<sup>y</sup> Control: without spraying magnesium sulfate ; MgSO<sub>4</sub>: spraying magnesium sulfate.

<sup>z</sup>Means separation within column in the same day by LSD test at 5 % level.

表 8. 噴施硫酸鎂對 '珍珠' 番石榴果實品質之影響。

Table 8. Effect of magnesium sulfate spraying on quality of 'Jen-Ju' guava fruit.

Treatment	Fresh weight(g)	Length (cm)	Width (cm)	Firmness (N/cm <sup>2</sup> )	TSS <sup>x</sup> (°Brix)	Ascorbic acid (mg/100g)
Control <sup>y</sup>	421.82b <sup>z</sup>	9.1b	8.3b	145.8a	8.16b	140.98b
MgSO <sub>4</sub>	503.93a	9.9a	10.0a	109.4b	10.50a	205.69a

<sup>y</sup> Control: without spraying magnesium sulfate ; MgSO<sub>4</sub>: spraying magnesium sulfate.

<sup>z</sup>Means separation within column in the same day by LSD test at 5 % level.

<sup>x</sup>TSS=total soluble solid.

表 9. 噴施硫酸鎂對 '珍珠' 番石榴果實碳水化合物含量之影響

Table 9. Effect of magnesium sulfate spraying on carbohydrate content of 'Jen-Ju' guava fruit.

Treatment	Total soluble sugar (%)	Starch (%)
Control <sup>y</sup>	47.99b <sup>z</sup>	1.77a
MgSO <sub>4</sub>	52.55a	1.97a

<sup>y</sup> Control: without spraying magnesium sulfate ; MgSO<sub>4</sub>: spraying magnesium sulfate.

<sup>z</sup>Means separation within column in the same day by LSD test at 5 % level.

## 討 論

### 一、環剝處理對作物營養生長與生殖生長之影響

環刻與環剝對於開花、果實生長與品質有促進效果，據 Goldschmidt(1985)之結果，環刻之'Murcott'茂谷柑，花朵數量增加，枝條與葉片澱粉含量無增加，本次環剝實驗花朵數量增加，與 Goldschmidt 之結果相似。蘋果(*Malus domestica* Borkh.)枝條環刻，果實具較高乾重與內容物濃度，葉面積增加等優點，但葉片光合作用能力與氣孔導度降低，胞間二氧化碳濃度提高(Schechter *et al.*, 1994; Black *et al.*, 2012)；另外，櫻桃(*Prunus avium*)環刻之葉片全可溶性糖濃度較高，果實著果率較高(Quentin *et al.*, 2013)。環剝 97 天時，環刻處理碳水化合物含量較高(表 3)，對照組較低，這是因為環剝使光合產物往根部運移路線阻斷，因此可蓄積於地上部，至環剝 168 天時，處理組與對照組碳水化合物含量皆下降，因為此時果實發育，碳水化合物往積貯部位(sink)運送所致，因為果實碳水化合物以處理組含量較高，因此作此推測(表 5)，蔡(2008)在蓮霧環刻與遮陰實驗中，環刻處理葉片碳水化合物含量較高。'珍珠'番石榴果實重量、硬度與抗壞血酸等果實品質也因環刻，而有提升效果。

環刻與環剝過於嚴重將使隔年開花與著果率下降(Smith and Samach, 2013)，且環刻處理並非全然幫助植物生長或生殖生長進行，如 'Kordia' 櫻桃環刻後，著果率未提升且果實落果現象無改善(Quentin *et al.*, 2013)。王(2008)試圖以環刻方式改善夏季葡萄轉色不佳之現象，結果顯示環刻雖對轉色有幫助，但對果實橫徑、鮮、乾重、可溶性固形物與酸度無顯著影響，且環刻使植株光合作用降至 60-80%，王認為是環刻傷口過快癒合，導致營養生長受抑制時期較短所致。環刻處理之刻傷深度、位置、植物特性與季節等因素均會影響結果呈現，荔枝秋冬控梢多於 11 月與植株環剝 0.3 公分，作用時期可達 3-4 個月(李, 2012)，而本次環剝寬度 1 公分，可抑制夏季 '珍珠' 番石榴過度營養生長，環剝後 116 至 168 天，樹體傷口癒合，生長恢復，並可累積較多之光合產物於地上部，進而使果實光合產物分配比例提高，提升果實品質。

### 二、硫酸鎂處理對 '珍珠' 番石榴葉片葉綠素含量與果實品質之影響

前人透過各種方式，想提高葉片葉綠素含量，如 Diwaker (2011)曾嘗試噴施不同濃度磷酸與過磷酸鈣，以提高 'Allahabad Safeda' 番石榴葉片葉綠素含量，但對於葉綠素 a 與總葉綠素含量並無促進作用，反而降低葉綠素 b 含量。而本次實驗結果，單純施用 0.5% 硫酸鎂，葉片之鎂含量，在噴施後 65 天，含量提升；噴施後 99 天，葉綠素 a ( $15.05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )、b ( $7.51 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) 與總葉綠素 ( $22.53 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) 含量提高(表 6)，果實大小、重量與抗壞血酸含量提高(表 8)，顯示噴施硫酸鎂有助於葉片鎂含量與果實品質提升。'Trust' 品種番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 給予 0.02% 鎂進行水耕栽培時，八周後中、下位葉萎黃，鎂缺乏症產生，光合作用能力下降 50%，但給予 0.05-0.08% 的硫酸鎂時無缺鎂症狀，葉片生長正常，並提升植株生長速度與果實硬度(Hao *et al.*, 2003)，綜合上述葉片噴施硫酸鎂之

結果或水耕液添加均可明顯促進果實品質。

而本次試驗硫酸鎂噴施前，先進行修剪，刺激'珍珠'番石榴新葉與花苞生成，鎂為易移動之元素(廖，2005)，在營養生長創始期給予鎂元素，使其發育期間得以充分吸收，使葉片生長、葉綠素含量充足、光合作用能力提升，這些因素幫助整體營養生長發育，提升葉片製造光合產物之能力，並運送至果實，因而幫助果實品質提升，而噴施硫酸鎂之果實抗壞血酸平均含量為 205mg/100g，對照組抗壞血酸含量只有其 69%左右，除了提升夏果品質，對於抗壞血酸含量提升也有幫助。

### 參 考 文 獻

- 王李廉。2008。環刻對巨峰葡萄果實品質及光合作用之影響。國立臺灣大學園藝學系碩士論文。臺灣：臺北。70 pp.。
- 王亞勤。2012。套袋材質與網室栽培對'珍珠'番石榴果實品質及貯藏能力之影響暨評估溫度逆境指標之研究。國立中興大學園藝系碩士論文。臺灣：臺中。98 pp.。
- 白桂芳、林金樹、柯文華、葉士財、廖君達。2008。中部地區番石榴病蟲及害物圖說。p. 1-3。
- 李雪如。2012。玉荷包荔枝之環刻技術。豐年 62(4)：33-36.。
- 林月金、高德錚。2005。台灣番石榴產業分析。台中區農業專訊 51：4-6.。
- 張林仁。2010。外銷番石榴貯運保鮮試驗。臺中區農業改良場特刊。p. 159-167.。
- 葉文彬、張林仁。2011。番石榴外銷貯運技術。番石榴栽培技術與經營管理研討會論文輯特刊 108：63-74.。
- 廖乾華。2005。台灣農家要覽-植物之必要元素。行政院農業委員會臺灣農家要覽增修訂三版策劃委員。臺灣：臺北。p. 499-506.。
- 蔡宜君。2011。修剪、套袋及網室栽培與低溫貯藏前熱處理對番石榴品質之影響。國立中興大學園藝系碩士論文。臺灣：臺中。98 pp.。
- 蔡美芳。2008。遮光及環刻處理對蓮霧開花和碳氮比之影響。國立屏東科技大學農園生產系碩士論文。臺灣：屏東。97 pp.。
- 謝鴻業。2005。台灣農家要覽-番石榴。行政院農業委員會臺灣農家要覽增修訂三版策劃委員。臺灣：臺北。p. 61-68.。
- 魏梓訓。2013。改善番石榴果實貯藏品質之研究。國立中興大學園藝系碩士論文。臺灣：臺中。116 pp.。
- Agusti, M., N. Gariglio, M. Juan, V. Almela, C. Mesejo, and A. Martinez-Fuentes. 2005. Effect of branch scoring on fruit development in loquat. J. Hort. Sci. Biotech. 80: 370-374.
- Black, M. Z., K. J. Patterson, K. S. Gould, and M. J. Clearwater. 2012. Physiological

- responses of kiwifruit vines (*Actinidia chinensis* Planch. var. *chinensis*) to trunk girdling and root pruning. *New Zealand J. Crop Hort. Sci.* 40(1): 31-41.
- Braumann, I., N. Stein, and M. Hansson. 2014. Reduced chlorophyll biosynthesis in heterozygous barley magnesium chelatase mutants. *Plant Physiol. Biochem.* 78:10-14.
- Cohen, A. 1984. Citrus fruit enlargement by means of summer girdling. *J. Hort. Sci.* 59: 119-125.
- Diwaker, S. 2011. Chlorophyll content of guava leaves as influenced by phosphorus. *Progressive Hort.* 43(1): 168-171.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28(3): 350-356.
- Goldschmidt, E. E., N. Aschkenazi, Y. Herzano, A. A. Schaffer, and S. P. Monselise. 1985. A role for carbohydrate levels in the control of flowering in citrus. *Sci. Hort.* 26 :159-166.
- Hao, X., and A. P. Papadopoulos. 2003. Effects of calcium and magnesium on growth, fruit yield and quality in a fall greenhouse tomato crop grown on rockwool. *Canadian J. Plant Sci.* 83(4): 903-912.
- Martha, W., S. Budavari, L. Y. Stroumtsos, and M. N. Fertig. 1976. Merck index 9th edition. pp. 5525.
- Morton, J. F. 1987. Fruits of warm climate. Creative Resource System, Winterville, N. C. Miami, FL. pp. 356–363.
- Quentin, A. G., D. C. Close, L. M. H. P. Hennen, and E. A. Pinkar. 2013. Down-regulation of photosynthesis following girdling, but contrasting effects on fruit set and retention, in two sweet cherry cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* 73: 359-367.
- Schechter, I., J. T. A. Proctor, and D. C. Elfving. 1994. Apple fruit removal and limb girdling affect fruit and leaf characteristics. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(2): 157-162.
- Smith, H. M. and A. Samach. 2013. Constraints to obtaining consistent annual yields in perennial tree crops. I: Heavy fruit load dominates over vegetative growth. *Plant Sci.* 207: 158-167.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. Plant physiology (Fourth edition). Sinauer associates Inc. publisher. 637 pp.
- Williams, L. E. and J. E. Ayars. 2005. Water use of Thompson seedless grapevines as affected by the application of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) and trunk girdling- practices to increase berry size. *Agri. Forest Meteorology* 129: 85-94.
- Yamane, T. and K. Shibayama. 2006. Effects of trunk girdling and crop load levels on fruit quality and root elongation in 'Aki Queen' grapevine. *J. Jpn. Society Hort. Sci.* 75: 439-444.

## Effects of Girdling and Magnesium Sulfate Treatment on Fruit Quality of 'Jen-Ju' Guava (*Psidium guajava* L. cv. Jen-Ju)

Jin-Jia Xu <sup>1)</sup> Huey-Ling Lin <sup>2)</sup>

Key words: guava, girdling, magnesium sulfate, fruit quality

### Summary

The purpose of this study was using girdling and spraying magnesium sulfate to inhibit excessive vegetative growth, increasing chlorophyll contents in leaf of 'Jen-Ju' guava that increasing carbohydrate contents. The results showed that after girdling 97 days had the most significant vegetative growth inhibition. The increasing number of flowers and fruits were up to maximum. Girdling treatment had great total soluble sugar content in leaves. And fruits with girdling treatment had great fruit weight, firmness, ascorbic acid, total soluble sugar, and starch than control. After spraying magnesium sulfate on leaves, the content of magnesium, chlorophyll, and carbohydrate were increased. Fruits with magnesium sulfate treatment had higher fruit length and width, fruit weight, firmness, total soluble solid, ascorbic acid, and total soluble sugar than control. Therefore, using girdling and magnesium sulfate can increase carbohydrates in leaves, promoting the fruit quality of guava.

---

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

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



## 轉殖溶菌酶及穿孔素基因至甘藍葉綠體之研究

林葦庭<sup>1)</sup> 馮潔雯<sup>2)</sup> 楊明德<sup>3)</sup> 尤進欽<sup>4)</sup> 曾夢蛟<sup>5)</sup>

關鍵字：溶菌酶、穿孔素、甘藍

**摘要：**溶菌酶(lysozyme, lys)使細菌的細胞壁中肽聚糖網狀結構崩壞，進而破壞細菌的細胞壁，使細胞膜因內部透壓過大而破滅死亡。穿孔素(holin, hol)形成的孔道可使溶菌酶通過到達細胞壁肽聚糖層發揮裂菌功能。因此在作物抗菌方面有相當大的應用價值。本研究將分離自 *Xanthomonas fragariae* (草莓角斑病菌) 菌株的類似噬菌體(phage XF)的溶菌酶(lys)及穿孔素(hol)基因，構築到甘藍葉綠體基因轉殖之四種載體(pMT91-GHD、pMT91-GHsD、pMT91F-GL-sD、pMT91F-ELsD)，利用基因槍轟擊法轉殖到'初秋'甘藍下胚軸的葉綠體。培植體以 100~400 ppm 之 D-alanine 持續篩選，已獲得四種轉殖系的再生植株(GHD、GH-sD、GL-sD 及 EL-sD)。再生植株以 PCR、RT-PCR 分析結果顯示 hol 與 lys 目標基因、gus 與 egfp 報導基因等已存在甘藍葉綠體基因組中並表現其 mRNA；部份轉殖植株之 daao 篩選基因已經被剔除。接種十字花科黑腐病菌後，部份轉殖植株呈現明顯的具抗病特性。本研究初步結果顯示，利用葉綠體基因轉殖系統，轉殖溶菌酶基因(lys)及穿孔素基因(hol)，培育出抗病甘藍是可行的。

### 前 言

基因改造作物的優劣一直有不斷的爭論，其可能對環境衝擊、食品安全、資源永續及全球糧食安全的考量是主要被關注的議題。廣泛應用於轉殖作物篩選上的抗抗生素及抗除草劑之篩選標誌基因，可能對人類健康及永續環境的衝擊，也是基因改造作物經常被質疑及詬病的爭議事項。

- 
- 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博士班研究生。
  - 3) 國立中興大學分子生物學研究所副教授。
  - 4) 國立宜蘭大學園藝學系教授。
  - 5) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

雖然部份葉綠體基因轉殖之篩選標誌基因並不是耐抗生素及抗除草劑標誌基因，例如：*BADH*，*daao*、*alaR*，但一些研究報導指出轉殖後殘留的篩選標誌基因和它們的調節元件均可能增加轉譯和轉譯後的目標基因靜默(gene silencing)之概率及干擾目標蛋白的蓄積 (Que and Jorgensen, 1998)。此外，為了為消弭社會大眾對篩選標誌基因之疑慮，近代植物基因轉殖研究，均以剔除篩選標誌基因為最終目標(Kraus, 2010)。本研究利用所建立的以 *daao* 基因作為葉綠體篩選標誌基因為基礎，及葉綠體 DNA 具有同源重組(Homologous recombination)的特性，轉殖在同源序列之間構築有目標基因，之外構築有篩選標誌基因的載體，到甘藍之葉綠體。在首次的葉綠體 DNA 同源重組，會整併整個載體，以篩選藥劑(D-alanine) 篩選擬轉殖培植體；再接續的 DNA 同源重組，則只會在葉綠體基因組內保留同源序列之間的目標基因，而刪除篩選標誌基因及殘存載體之 DNA 序列，達到獲得剔除篩選標誌基因之葉綠體基因轉殖甘藍。

甘藍，學名 *Brassica oleracea* var. *capitata*，英名 cabbage，俗稱高麗菜，為台灣重要蔬菜之一，於 2013 年農業統計年報報導栽培面積約七千多公頃，是種植面積最廣的葉菜類蔬菜，有其重要的民生及經濟地位，因此改善其品質及增加生產，一直是蔬菜專家努力的目標。台灣夏季高溫多雨，造成病蟲害的快速蔓延，使得農民噴施農藥的次數及劑量增加，造成農藥殘留量上升，病蟲產生抗藥性，甚至破壞生態平衡的情形。確保全球糧食的不虞匱乏及促進人類的健康，要如何使健康糧食作物增產，是目前農業科學家重要課題之一。

穿孔素(holin)為噬菌體編碼的小分子膜蛋白，可在細胞膜形成通道，在裂解性噬菌體中扮演著重要的角色，裂解酶(lyase) 是噬菌體增殖晚期合成的一類細胞壁水解酶(例如：核酸酶、溶菌酶和羧肽酶等)，是裂解宿主菌的重要功能蛋白，穿孔素形成的孔道可使裂解酶通過到達細胞壁肽聚醣層發揮裂菌功能(史和孫, 2012)。溶菌酶(lysozyme)為水解酶的一種，又稱為胞壁質酶或 N-乙酰胞壁質肽聚醣水解酶(N-acetylmuramidoglycanohydrlase)，溶菌酶可作用於  $\beta(1-4)$  glycosidic bond 進行水解，使細菌的細胞壁中肽聚糖網狀結構崩壞，進而破壞細菌的細胞壁，使細胞膜因內部透壓過大而破滅死亡(Park *et al.*, 2006)。

細菌素(bacteriocin) 是一種由細菌分泌之具有活性的蛋白質，可抑制或殺死親緣性相近的菌屬或菌種。楊明德老師之研究室選殖與分析類似噬菌體尾部細菌素(XF phage tail-like bacteriocin)的基因組，發現由 lysozyme (溶菌酶, lys)及 holin (穿孔素, hol)協同作用下裂解病原菌(廖珮鑾, 2006)。

本研究乃結合所建立的 *daao* 基因作為葉綠體篩選標誌基因系統，及剔除篩選標誌基因之無篩選標誌基因的葉綠體基因轉殖系統，分別將穿孔素基因(*hol*)及溶菌酶基因(*lys*)轉殖到'初秋'甘藍葉綠體基因組中，探討利用基因工程育成抗病甘藍的可行性。

## 材料方法

### 一、試驗材料

#### 1. 基因轉殖植物材料

本試驗以十字花科芸苔屬蔬菜之甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)品種'初秋'(K-Y cross)作為葉綠體基因轉殖材料。無菌播種流程如下，種子盛裝於小玻璃罐中，加入適量的 70%酒精洗滌上下搖晃混勻 1 分鐘後，去除酒精再以無菌水洗滌 3 次，除去無菌水後加入現配混勻之 1.5%的 Clorox 漂白水與少許的 Tween 20 混勻後，以 vortex 震盪 15 分鐘，去除液體再以無菌水洗滌 5 次以上直到沒有泡沫。滅菌完畢後播種於 MS (Murashige and Skoog, 1962)含 20 g/L sucrose 培養基中，放置 24°C 光週期為 16 小時的生長箱中，培養 4 到 5 天取其下胚軸做為基因轉殖之材料。

#### 2. 葉綠體基因轉殖載體 DNA

本研究所轉殖之溶菌酶(*lysozyme, lys*)及穿孔素(*holin, hol*) 由中興大學分子生物學研究所楊明德老師之研究室分離自 *Xanthomonas fragariae*(草莓角斑病菌)菌株的類似噬菌體(phage XF)尾部細菌素的基因組(phage tail-like bacteriocin)中所獲得的。

轉殖載體攜帶有：(1). *hol* 基因：由類噬菌體 XF 篩選出的穿孔素基因(*holin, hol*)、(2). *lys* 基因：由類噬菌體 XF 篩選出的溶菌酶基因(*lysozyme, lys*)、(3). *daao* 基因：由三角酵母菌(*T. variabilis*)篩選出的 D-amino acid oxidase 基因(*daao*)、(4). *gus* 基因：由大腸桿菌(*E. coli*)篩選出  $\beta$ -glucuronidase 基因(*gus*)、(5). *egfp* 基因：水母(*A. victoria*)綠色螢光蛋白改造的加強型綠色螢光蛋白基因(*enhanced green fluorescence protein, egfp*)。

各基因或操縱子(operon)分別以 16S ribosomal RNA 啟動子基因(*prrrn*)為啟動子；以光系統 II 反應中心 D1 蛋白基因(*psbA*)的 3'核酸序列為終結子，並將目標基因 *hol*、*lys* 基因及報導基因 *gus*、*egfp* 基因構築到甘藍葉綠體轉殖載體 pASCC201 之 16S ribosomal RNA 基因序列片段及 23S ribosomal RNA 基因序列片段之間，篩選基因 *daao* 則是構築在 16S rRNA 基因序列片段及 23S rRNA 基因序列片段之內側或外側。轉殖載體命名為 pMT91-GHD(圖 1A)、pMT91F-GH-sD(圖 1B)、pMT91F-GL-sD(圖 1C)及 pMT91F-EL-sD(圖 1D)，共計四種轉殖載體(由中興大學分子生物學研究所楊明德老師的研究室構築)。

### 二、試驗方法

#### 1. 基因槍基因轉殖方法(Tseng *et al.*, 2014)

##### (1). 金粒子洗滌與滅菌

取 1.5 ml 的離心管裝有直徑 0.6  $\mu$ m 重量 50 mg 之金粉，加入 1 ml 的 70%酒精，vortex 震盪 2 分鐘使金粉充分懸浮。再以 600xg 低速離心 30 秒後去除上清液體，添加 1 ml 的無菌水 vortex 震盪 2 分鐘使金粉再懸浮。隨後以 600xg 低速離心 30 秒去除上清液體，再重複以 1 ml 無菌水洗滌一次。完全去除上清液體後，加入 834  $\mu$ l 無菌之 50% glycerol，使金粉終濃度為 60 mg/ml，分裝成每一管 50  $\mu$ l 於 1.5 ml 離心管，儲存於 -20°C 備用。

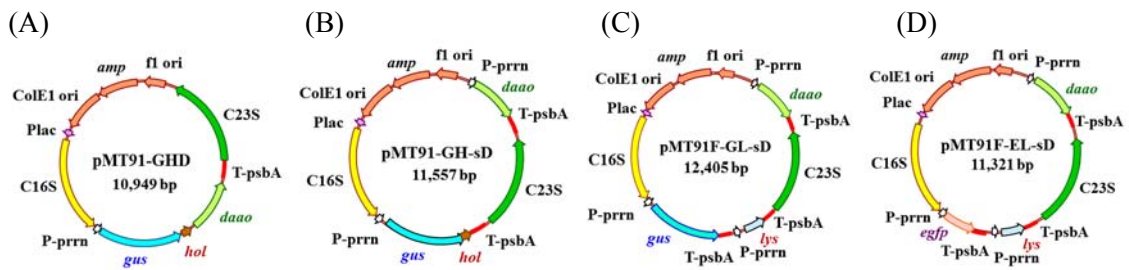


圖 1. 甘藍葉綠體轉殖載體 pMT91-GHD(A)、pMT91-GH-sD(B)、pMT91F-GL-sD(C)及 pMT91F-EL-sD(D)之基因圖譜。

Fig. 1. Genetic maps of cabbage chloroplast transformation vectors pMT91-GHD(A), pMT91-GH-sD(B), pMT91F-GL-sD(C), and pMT91F-EL-sD(D).

## (2). DNA coating gold particles

取一管 50  $\mu$ l 清洗過的金粉溶液，以 vortex 震盪使金粉充分懸浮 1 分鐘後，加入 5~10  $\mu$ l 之 plasmid DNA(1  $\mu$ g/ $\mu$ l)，低速 vortex 溫和混勻，加入無菌之 50  $\mu$ l 2.5 M CaCl<sub>2</sub> 低速 vortex 混勻，加入 20  $\mu$ l 無菌 0.1 M 之 spermidine(SIGMA)，低速 vortex 混勻後，靜置室溫中 10 分鐘，600xg 低速離心 10 秒，去除上清液體，加入 150  $\mu$ l 無水酒精低速 vortex 混勻，600xg 低速離心 10 秒，去除上清液體，加入 50  $\mu$ l 無水酒精以 pipette 混勻後放至入冰桶內備用，每管可轟擊 5~6 發。並於 2 小時內進行轟擊使用完畢。

## (3). 基因槍轟擊

本實驗以型號 Biolistic® PDS-1000/He Particle Delivery System 進行基因槍轟擊。首先以 70%酒精擦操作台面與拭基因槍室內面進行表面消毒，將 macrocarrier、rupture disks (900 psi)、stopping screens 等基因槍耗材以 70%之藥用酒精浸泡 5 分鐘後，置於無菌擦手紙上，將 spacer rings 與 stopping screen support 組裝至 Stainless Steel Fixed Nest 中，另外將 macrocarrier 取出以 95% 藥用酒精潤濕後與 macrocarrier holder 組裝完成置於無菌擦手紙上備用，開啟 UV 燈照射 30 分鐘。將氮氣瓶開啟升壓高至 900 psi 以上後開啟真空幫浦，開啟基因槍開關備用。將 8-10  $\mu$ l DNA-coated gold particles 均勻塗抹在組裝好的 macrocarrier-macrocarrier Holder 同心圓中，待金粉內酒精揮發乾後，立即將所有基因槍零件組裝至基因槍室內，再將實驗前準備之甘藍下胚軸，置於槍口正下方的塑膠盤上，調整與 macrocarrier 之間 3 公分之距離準備轟擊。轟擊時將按下抽真空按鈕使基因槍室內達到 28~29 in Hg，再按下加壓開關引入氮氣累積至 900 psi 時便會使 Rupture disks 爆破，將 macrocarrier 上帶有 DNA 之金粉擊發至甘藍培植體當中。轟擊後，卸除真空壓力，取出培植體，待所有培植體轟擊完後，關閉氮氣瓶關，抽真空進行空槍轟擊，待壓力表皆為 0 時，鬆開壓力閥，關閉馬達與基因槍。

## 2. 植株再生與抗生素篩選(Liu *et al.*, 2007; 2008)

轟擊後之甘藍下胚軸，將其平躺置於下胚軸再生培養基三天後，再移至篩選再生培養基[含 4.4 g/L Murashige and Skoog medium(Duchefa)、0.4 g/L MES hydrate (SIGMA)、30 g/L sucrose(MERCK)、0.5 mg/L 6-Benzylaminopurine(SIGMA)、0.05 mg/L picloram(SIGMA)、0.1 mg/L putrescine(SIGMA)、0.5 mg/L silver nitrate(SIGMA)、100 mg/L D-alanine 8 g/L agar(USB)、pH 值 5.8]，每兩週繼代一次直到誘導出芽體後，再逐漸提高 D-alanine 濃度至 400 ppm，多次篩選後存活的芽體，再將其與下胚軸分開移入發根培養基[含有 4.4 g/L Murashige and Skoog medium (Duchefa Biochemie)、0.4 g/L MES hydrate(SIGMA)、20 g/L sucrose(Biochemie MERCK)、0.3 mg/L 1-naphthylacetic acid(MERCK)、8 g/L agar(USB)、pH 值 5.8]，進行誘導發根，約一週半至兩週誘導出根部後移出瓶外定植於混合介質(泥炭土：珍珠石：蛭石=8：1：1)，先套上塑膠袋保濕，直到植物健化後移除塑膠袋，放置溫室或 18 °C 光週期為 16 小時的生長箱中。

## 3. 聚合酵素連鎖反應(ploymerase chain reaction, PCR)

用 PCR 技術增幅目標基因片段以檢測擬轉殖植株是否帶有目標基因。以葉片 DNA 為模板，PCR 總反應體積為 25 µl，包含 1 倍的 Blend Taq buffer、0.2 mM each dNTP、0.1 µM 核酸引子、0.625 U Blend Taq® -Plus- DNA polymerase(TOYOBO)，再以去離子水補滿。置於 DNA 聚合酵素連鎖反應器中進行 PCR 反應。各基因偵測方式分述如下：

偵測 *hol* 基因 1、2 引子，分別為 5'-CCATGGAAAAATCAGTTCTCT-3' 及 5'-GCGG TCTGGCTCAAAGTTAA-3'，可增幅出 223 bp 片段。反應流程為 94°C、2 分鐘，94 °C、30 秒，52.5°C、30 秒，72°C、30 秒，共進行 35 個 cycles，最後再進行 72°C、10 分鐘 1 個 cycle，取 5 µl 終產物於 1%之洋菜膠上進行電泳分析。

偵測 *lys* 基因 3、4 引子，分別為 5'-TAAACACCACGCCATTTTCGC-3' 及 5'-CCGCAC CTCGCCCTATCAGT-3'，可增幅出 369 bp 片段。反應流程為 94°C、2 分鐘，94°C、30 秒，58°C、30 秒，72°C、30 秒，共進行 35 個 cycles，最後再進行 72°C、10 分鐘 1 個 cycle，取 5 µl 終產物於 1%之洋菜膠上進行電泳分析。

偵測 *daao* 基因 5、6 引子，分別為 5'- ATGGCTAAAATCGTTGTTATTG GTGCC-3' 及 5'-CTAAAGGTTTGGACGAGTAAGAGCTCT-3'，可增幅出 1070 bp 片段。反應流程為 94 °C、2 分鐘，94°C、30 秒，61°C、60 秒，72°C、60 秒，共進行 35 個 cycles，最後再進行 72°C、10 分鐘 1 個 cycle，取 5 µl 終產物於 1%之洋菜膠上進行電泳分析。

偵測 *egfp* 基因 7、8 引子，分別為 5'-CTTGTACAGCTCGTCCATGCCG-3' 及 5'-ATCTG CACCACCGCAAGCT-3'，可增幅出 575 bp 片段。反應流程為 94°C、2 分鐘，94°C、30 秒，61°C、60 秒，72°C、30 秒，共進行 35 個 cycles，最後再進行 72°C、10 分鐘 1 個 cycle，取 5 µl 終產物於 1%之洋菜膠上進行電泳分析。

偵測 *gus* 基因 9、10 引子，分別為 5'-CGTGGTGATGTGGAGTATTG-3' 及 5'-GATCC CTTTCTTGTTACCGC -3'，可增幅出 498 bp 片段。反應流程為 94°C、2 分鐘，94°C、30

秒，55°C、30 秒，72°C、30 秒，共進行 35 個 cycles，最後再進行 72°C、10 分鐘 1 個 cycle，取 5 µl 終產物於 1%之洋菜膠上進行電泳分析。

#### 4. 反轉錄聚合酶連鎖反應(RT-PCR)

以 RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit(Thermo Scientific)，以植物葉片 total RNA 為模板，使其終濃度為 1 ~5 µg 之間，加入 1 µl Oligo(dT)<sub>18</sub> primer，再以太離子水補滿至反應體積為 12 µl，移至 65°C 處理 5 分鐘，移至冰上依序加入 1 倍的 Reaction Buffer、20 U RiboLock RNase Inhibitor、1 mM dNTP Mix、200 U RevertAid M-MuLV reverse transcriptase。置於聚合酶連鎖反應器中進行反應。反應流程為，42°C、60 分鐘，緊接著 72°C、10 分鐘，反應合成 cDNA，長期儲存於-70°C 備用。進行 RT-PCR 時以 cDNA 作為模板進行 PCR 工作。

#### 5. 病原菌接種測試

將 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 菌系 Xc17、Xc11 與 Xc88 及大腸桿菌 DH5α 分別培養於 LB 培養液，以 100 rpm 轉速 28°C 下培養 24~48 小時。取一甘藍葉片將其以解剖刀劃三至四刻痕，再以 pipette 吸取 200 µl 菌液，塗抹至葉片傷口上，放置含有水濕潤濾紙覆蓋的培養皿中，培養數天觀察及拍照記錄葉片的變化。

## 結 果

### 一、甘藍葉綠體基因轉殖、培植體篩選及誘導再生

本研究轉殖 pMT91-GHD(圖 2A~E)、pMT91-GH-sD(圖 2F~J)、pMT91F-GL-sD(圖 2K~O)及 pMT91F-EL-sD(圖 2P~T)等四個葉綠體轉殖載體到甘藍下胚軸，培植體篩選及誘導再生的情形，如圖 2 所示。本試驗使用甘藍實生苗無菌播種後五天，取其下胚軸直立排列於培養基中間 2 公分的圓周內(圖 2A、F、K、P)，進行基因槍轟擊。之後將其平躺至 MS 培養基 24~48 小時後，再以 100 ppm 的 D-alanine 培養基進行第一次的篩選。篩選兩週後下胚軸末端會形成較肥大的翠綠色癒傷組織，以及沒完全去除生長點下胚軸末端，會由 Y 字形中間會長出芽體出來(圖 2B、G、L、Q)，剔除此時 Y 字形長出芽體的培植體後，移至新的含 100 ppm 的篩選再生培養基中。持續篩選後下胚軸末端癒傷組織會形成小芽體(圖 2C、H、M、R)。再將其移至含 200~400 ppm 的 D-alanine 篩選再生培養基中，多次篩選後存活芽體與下胚軸分離，移至不含 D-alanine 的發根培養基誘導發根(圖 2D、I、N、S)。約一週半至兩週誘導出根部後，移出瓶外定植於混合介質(泥炭土：珍珠石：蛭石=8：1：1)，先套上塑膠袋保濕，植物健化後移除塑膠袋，放置溫室或 18°C 光週期為 16 小時的生長箱中(圖 2E、J、D、T)。

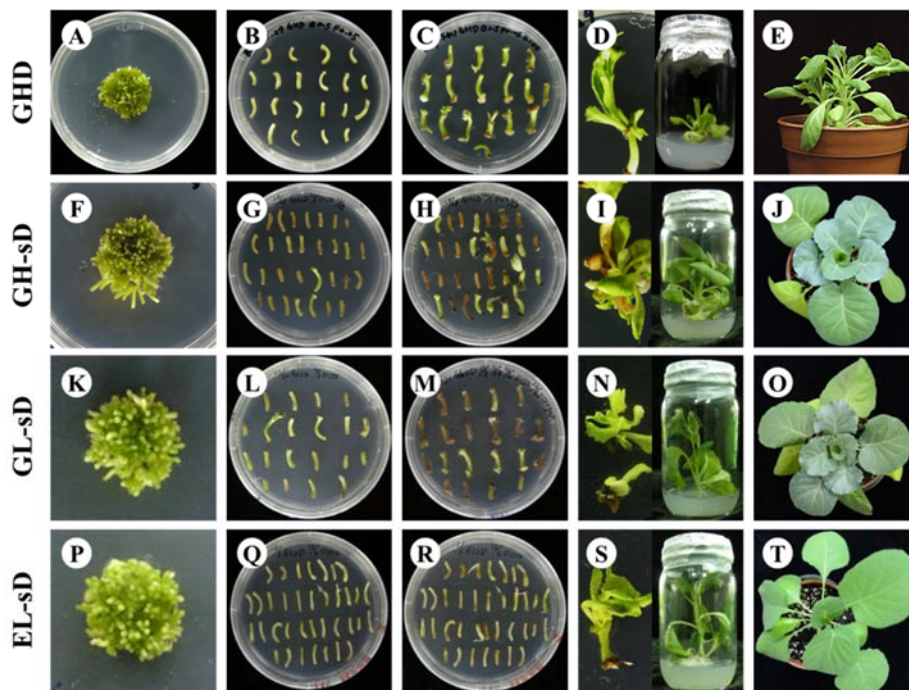


圖 2.甘藍下胚軸經葉綠體基因轉殖 pMT91-GHD(A~E)、pMT91-GH-sD(F~J)、pMT91F-GL-sD(K~O)及 pMT91F-EL-sD(P~T)之植株再生情形。將無菌播種 5 天後之甘藍下胚軸排列在 2 cm 的圓周內準備轟擊(A、F、K、P)；轟擊後以 100 ppm D-alanine 進行第一次篩選(B、G、L、Q)，再經由 200 ppm D-alanine 進行第二次篩選(C、H、M、R)；篩選後存活之再生芽體移至發根培養基內進行誘導發根(D、I、N、S)；再生植株出瓶馴化，定植於溫室植株(E、J、O、T)。

Fig. 2. Regeneration of transplastomic cabbage from hypocotyl transformed with pMT91-GHD (A~E), pMT91-GH-sD(F~J), pMT91F-GL-sD(K~O), and pMT91F-EL-sD(P~T). Cabbage seeds were germinated *in vitro* for 5 days, and then hypocotyls were excised from 5-day-old seedlings. Hypocotyls were placed in the circle within a 2 cm radius for biolistic bombardment (A, F, K, P). Transformed explants were selected by 100 ppm D-alanine(B, G, L, Q), and followed by 200 ppm D-alanine(C, H, M, R). Survival regenerated shoots were transferred to root induction medium(D, I, N, S). Transplastomic plants were transferred to pots and acclimated for ambient environment (E, J, O, T).

## 二、轉殖甘藍植株基因表現、GUS 活性分析、病原菌接種測試

### (一) 聚合酵素連鎖反應(PCR)分析轉殖再生植株

培植體由基因槍轟擊、篩選、共再生成 30 株擬轉殖株，其中 GHD 轉殖系有六株、

GHsD 轉殖系有十二株、GLsD 轉殖系有八株、ELsD 轉殖系有四株。選取其葉片萃取 genomic DNA 後，分別以核酸引子 1 與 2、3 與 4、5 與 6、7 與 8、9 與 10，偵測是否帶有目標基因 *hol* 或 *lys*、篩選基因 *daao*、報導基因 *egfp* 或 *gus*。

試驗結果顯示，經電泳膠片分離 *hol*-PCR 產物後，GHD 轉殖系共有 2 株(GHD-1-1、GHD-2-2)、GH-sD 轉殖系共有 9 株(GH-sD-1、GH-sD-2、GH-sD-3、GH-sD-5、GH-sD-6、GH-sD-12-1、GH-sD-12-2、GH-sD-16、GH-sD-19)轉殖植株可檢測到 *hol* 基因之約 0.22 kb 的預期條帶(圖 3A)。

經電泳膠片分離 *lys*-PCR 產物後，GL-sD 轉殖系共有 8 株(GL-sD 7、GL-sD 8、GL-sD 9、GL-sD 10-1、GL-sD 10-2、GL-sD 11-1、GL-sD 11-2、GL-sD-17)、EL-sD 轉殖系共有 4 株(EL-sD-13、EL-sD-14、EL-sD-15-1、EL-sD-15-2)轉殖植株可檢測到 *lys* 基因之約 0.37 kb 的預期條帶(圖 3B)。

經電泳膠片分離 *gus*-PCR 產物後，GHD 轉殖系共有 2 株(GHD-1-1、GHD-2-2)、GH-sD 轉殖系共有 10 株(GH-sD-1、GH-sD-3、GH-sD-4、GH-sD-5、GH-sD-6、GH-sD-12-1、GH-sD-12-2、GH-sD-18-1、GH-sD-18-2、GH-sD-19)、GL-sD 轉殖系共有 7 株(GL-sD-7、GL-sD-8、GL-sD-9、GL-sD-10-1、GL-sD-10-2、GL-sD-11-1、GL-sD-11-2) 轉殖植株可檢測到 *gus* 基因之約 0.5 kb 的預期條帶(圖 3C)。

經電泳膠片分離 *egfp*-PCR 產物後，EL-sD 轉殖系共有 4 株(EL-sD-13、EL-sD-14、EL-sD-15-1、EL-sD-15-2)轉殖植株可檢測到 *egfp* 基因之約 0.57 kb 的預期條帶(圖 3D)。

經電泳膠片分離 *daao*-PCR 產物後，GHD 轉殖系共有 6 株(GHD-1-1、GHD-1-2、GHD-2-1、GHD-2-2、GHD-2-3、GHD-2-4)、GH-sD 轉殖系共有 1 株(GH-sD-5)、GL-sD 轉殖系共有 5 株(GL-sD-7、GL-sD-9、GL-sD-10-1、GLsD-10-2、GLsD-11-2)、EL-sD 轉殖系則無轉殖植株可檢測到 *daao* 基因之約 1.0 kb 的預期條帶(圖 3E)。

## (二) 反轉錄聚合酵素連鎖反應(RT-PCR)分析轉殖再生植株

為進一步確認轉殖基因是否有成功轉錄為 RNA，將擬轉殖株萃取 total RNA 之後反轉錄合成 cDNA，再進行 PCR 增幅，檢測轉殖植物表現轉殖目標基因之 *hol* 或 *lys*、篩選基因之 *daao*、報導基因之 *egfp* 或 *gus* 的 mRNA 情形。

以核酸引子 1 與 2 進行 RT-PCR 偵測 *hol* mRNA，經電泳膠片分離 *hol*-RT-PCR 產物後，GHD 轉殖系共有 2 株(GHD-2-2、GHD-2-3)、GH-sD 轉殖系共有 6 株(GH-sD-1、GH-sD-2、GH-sD-4、GH-sD-12-1、GH-sD-16、GH-sD-18-2)轉殖植株可檢測到 *hol* mRNA(圖 4A)。

以核酸引子 3 與 4 進行 RT-PCR 偵測 *lys* mRNA，經電泳膠片分離 *lys*-RT-PCR 產物後，GL-sD 轉殖系共有 8 株(GL-sD 7、GL-sD 8、GL-sD 9、GL-sD 10-1、GL-sD 10-2、GL-sD 11-1、GL-sD 11-2、GL-sD-17)、EL-sD 轉殖系共有 4 株(EL-sD-13、EL-sD-14、EL-sD-15-1、EL-sD-15-2)轉殖植株可檢測到 *lys* mRNA(圖 4B)。

以核酸引子 9 與 10 進行 RT-PCR 偵測 *gus* mRNA，經電泳膠片分離 *gus*-RT-PCR 產物

後，GHD 轉殖系共有 4 株(GHD-1-2、GHD-2-1、GHD-2-3、GHD-2-4)、GH-sD 轉殖系共有 2 株(GH-sD-3、GH-sD-19)、GL-sD 轉殖系共有 7 株(GL-sD-8、GL-sD-9、GL-sD-10-1、GL-sD-10-2、GL-sD-11-1、GL-sD-11-2、GL-sD-17)轉殖植株可檢測到 *gus* mRNA(圖 4C)。

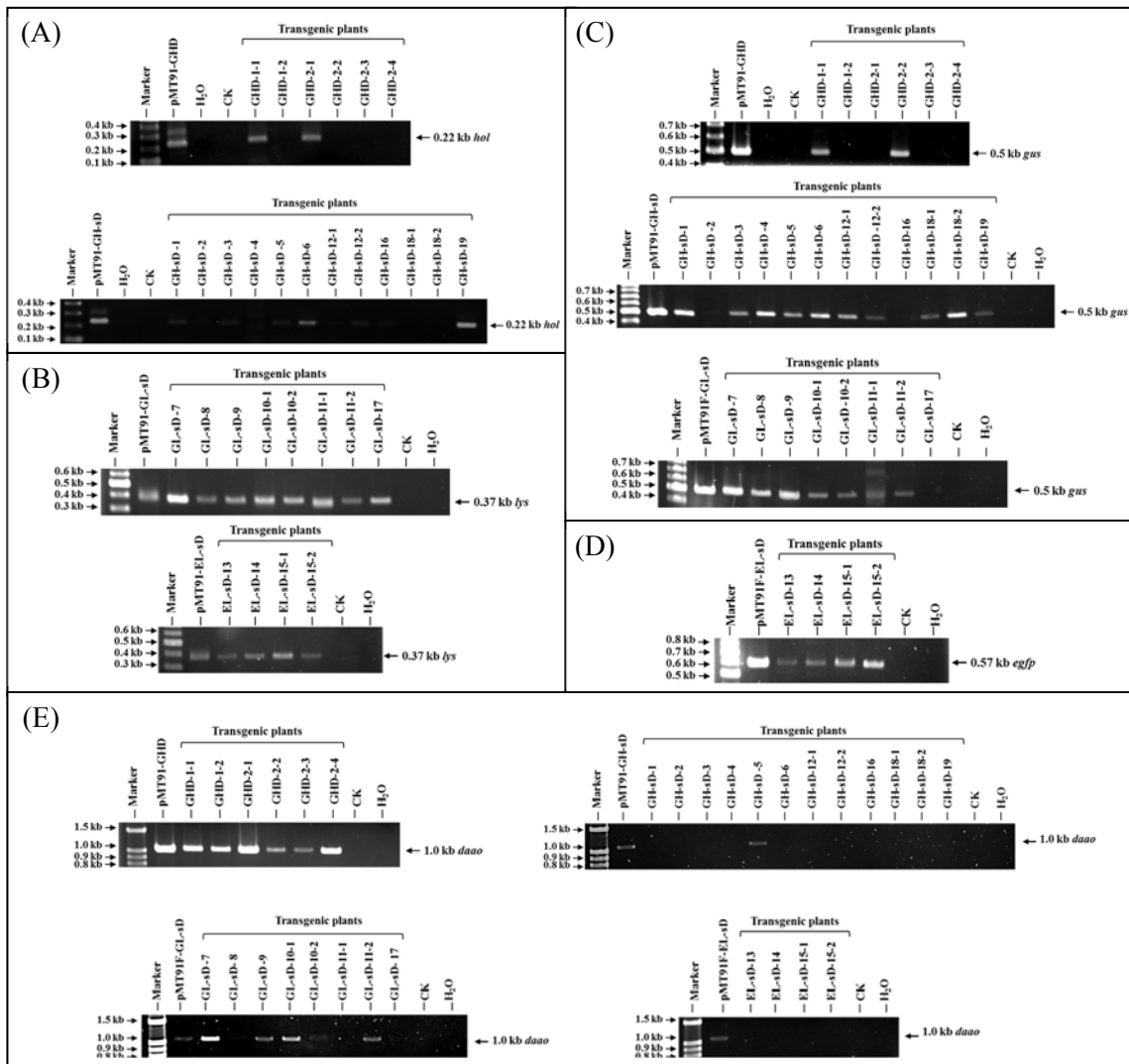


圖 3. 以擬轉殖甘藍的葉片 DNA 為模板，使用獨特核酸引子進行聚合酵素鏈鎖反應之產物，以電泳膠片分析 *hol*(A)、*lyso*(B)、*gus*(C)、*egfp*(D)、*daao*(E)基因的情形。CK：未轉殖甘藍。

Fig. 3. PCR analysis of *hol*(A), *lyso*(B), *gus*(C), *egfp*(D), and *daao*(E) genes in putative transplastomic cabbage line GHD, GH-sD, GL-sD, and ELsD. CK: untransformed cabbage.

以核酸引子 7 與 8 進行 RT-PCR 偵測 *egfp* mRNA，經電泳膠片分離 *egfp*-RT-PCR 產物後，EL-sD 轉殖系共有 3 株(EL-sD-13、EL-sD-14、EL-sD-15-1) 轉殖植株可檢測到 *egfp* mRNA(圖 4D)。

以核酸引子 5 與 6 進行 RT-PCR 偵測 *daao* mRNA，經電泳膠片分離 *daao*-RT-PCR 產物後，GHD、GH-sD、GL-sD、EL-sD 轉殖系均無轉殖植株可檢測到 *daao* mRNA(圖 4E)。

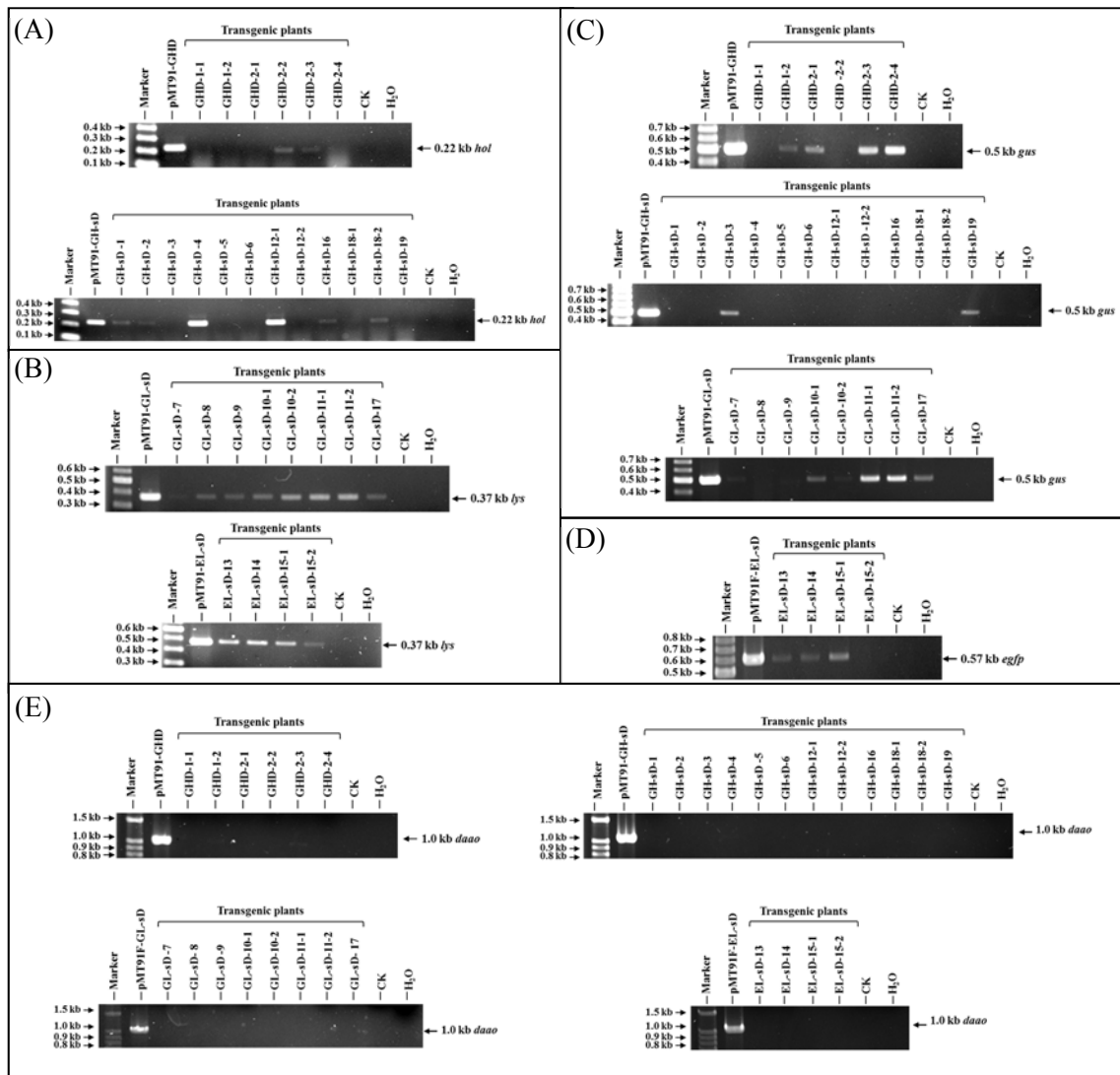


圖 4. 以擬轉殖甘藍的葉片 cDNA 為模板，使用獨特核酸引子進行聚合酶鏈鎖反應 (RT-PCR) 之產物，以電泳膠片分析 *hol*(A)、*lyso*(B)、*gus*(C)、*egfp*(D)、*daao*(E) 基因的情形。CK：未轉殖甘藍。

Fig. 4. RT-PCR analysis of *hol*(A), *lyso*(B), *gus*(C), *egfp*(D), and *daao*(E) genes in putative transplastomic cabbage line GHD, GH-sD, GL-sD, and ELsD. CK: untransformed cabbage.

### (三)、GUS 活性分析

選取部份 GHD、GH-sD 及 GL-sD 轉殖系之擬轉殖甘藍的葉片，進行 GUS 活性染色分析，其結果如圖 5 所示。其中以 GHD-1-2、GH-sD-12-1、GH-sD-16、GH-sD-18-1、GH-sD-18-2 等 5 株轉殖植株的 GUS 活性的藍色反應較強，GH-sD-3、GH-sD-12-2 等 2 株轉殖植株的 GUS 活性的藍色反應次之，GH-sD-1、GH-sD-2、GL-sD-11-1、GL-sD-11-2 等 4 株轉殖植株則較弱，但還是比未轉殖對照組的樣品呈現較藍色的 GUS 反應。

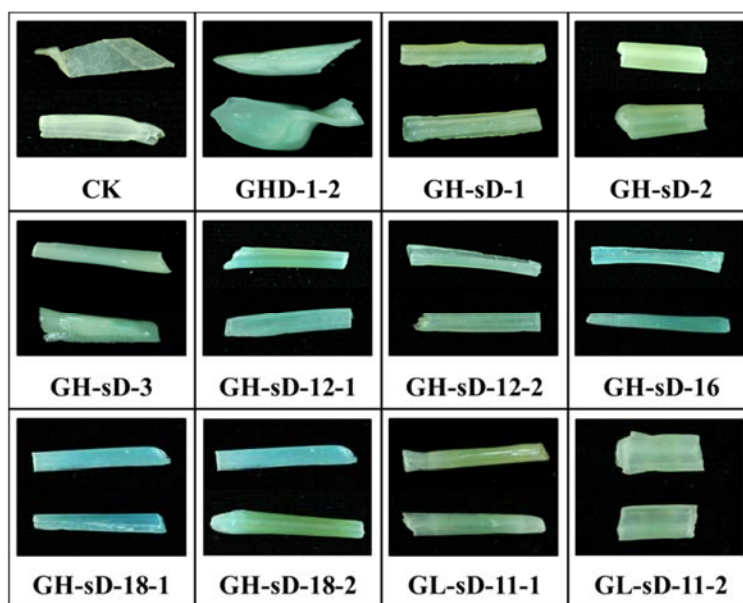


圖 5. GHD、GH-sD 及 GL-sD 轉殖系之擬轉殖甘藍的葉片，進行 GUS 活性染色分析之情形。CK：未轉殖甘藍。

Fig. 5. Gus histochemical staining assay of putative transplastomic cabbage leaves in GHD, GH-sD, and GL-sD lines. CK: untransformed cabbage.

### (四) 十字花科黑腐病菌接種測試

選取 GHD、GH-sD、GL-sD 及 EL-sD 品系之擬轉殖甘藍的葉片，共 26 個，進行接種十字花科黑腐病菌 Xc 11(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 11, Xc11)的測試，其 14 天後，葉片外觀之情形，如圖 6 所示。試驗結果顯示，經接種十字花科黑腐病菌菌株(Xc11)14 天後，對照組葉片在甘藍剪葉傷口處部份嚴重受到病菌危害，蔓延到整個葉片呈現黃化。但有些轉殖甘藍葉片依然保持翠綠葉片(GHD-1-1、GHD-1-2、GHD-2-2、GHD-2-3、GHD-2-3、GH-sD-2、GH-sD-4、GH-sD-5、GH-sD-6、GH-sD-12-2、GH-sD-19、GL-sD-7、GL-sD-8、EL-sD-14、EL-sD-15-2 等，共 15 株)，有些呈現部份至全部葉片黃化現象(GHD-2-

1、GHD-2-4、GH-sD-1、GH-sD-3、GH-sD-12-1、GH-sD-18-2、GL-sD-9、GL-sD-10-2、GL-sD-11-2、GL-sD-17、EL-sD-13 等，共 11 株)。同一轉殖植株的不同葉片接種不同菌系(Xc 17、Xc 88)的十字花科黑腐病菌，抗病或感病的趨勢是相同的(資料未顯示)。本研究結果顯示轉殖穿孔素基因(*hol*)及溶菌酶基因(*lys*)的甘藍，具有抗十字花科黑腐病菌之特性。

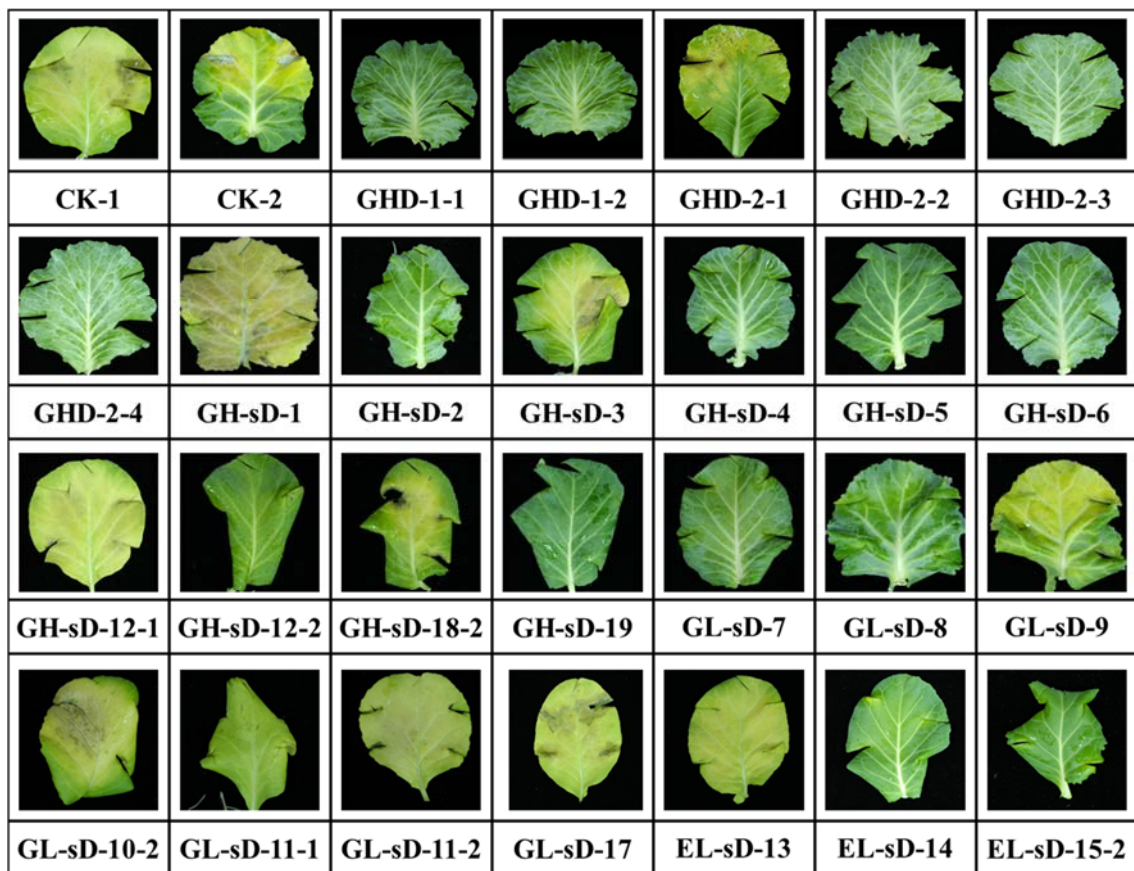


圖 6. GHD、GH-sD、GL-sD 及 EL-sD 轉殖系之擬轉殖甘藍的葉片，接種十字花科黑腐病菌 Xc 11 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 11, Xc11) 14 天後，葉片外觀之情形。CK：未轉殖甘藍。

Fig. 6. Appearances of of putative transplastomic cabbage leaves in GHD, GH-sD, GL-sD and EL-sD lines after 14 days of inoculation with *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 11 (Xc11). CK: untransformed cabbage.

## 討 論

依據劉和白於 2006 年報導中提到，莖莖屬基因轉殖使用的培植體選擇有無菌播種本葉、子葉、帶柄子葉、下胚軸；而一般下胚軸的上部再生出芽的能力強，下部再生能力弱，在本試驗也得出類似的結論。在圖 2 可觀察到下胚軸主要都由末端再生成癒傷組織再形成芽體，而下胚軸培植體有兩末端，靠近生長點之頂端與靠近基部的末端，其中以頂端的再生能力較好，故本實驗基因槍轟擊時，將下胚軸頂端朝上使金粒子轟擊此處，藉以提高轉殖率得到較多的再生芽體。本研究同時發現，當 D-alanine 篩選成活的芽體在移入含有 300 ppm D-alanine 的發根培養基後，會因無法誘導長根而死亡，故後續實驗誘導發根培養不再添加 D-alanine。

聚合酵素連鎖反應(PCR)分析轉殖再生植株的結果顯示，6 株 GHD 轉殖植株中，偵測到 *gus-hol-daa0* 3 個基因有 1 株 (GHD-1-1)、*hol-daa0* 有 1 株(GHD-2-1)、*gus-daa0* 有 1 株 (GHD-2-2)、*daa0* 有 3 株(GHD-1-2、GHD-2-3、GHD-2-4)(圖 3)。本研究以 D-alanine 篩選獲得此 6 株轉殖植株，6 株都能偵測到 *daa0* 基因，符合預期的設定。然而除了 1 株偵測到 *gus-hol-daa0* 3 個基因，其它轉殖植株都只偵測到 2 個或 1 個基因。反轉錄聚合酵素連鎖反應(RT-PCR)分析的結果可偵測到 *gus* mRNA 的 4 株(GHD-1-2、GHD-2-1、GHD-2-3、GHD-2-4)及 *hol* mRNA 的 2 株(GHD-2-2、GHD-2-3)(圖 4)，但都無法在其對應轉殖植株偵測到其 DNA；而 6 株都能偵測到 *daa0* 基因的轉殖植株也都不能偵測到 *daa0* mRNA。目前無法臆測其發生原因，迨 GHD 轉殖植株之轉殖葉綠體高同質化程度趨於穩定後，再分析其後裔植株的基因表現，可能會揭露造成此現象的原因。

PCR 分析結果顯示，12 株 GH-sD 轉殖植株中，偵測到 *gus-hol-daa0* 3 個基因有 1 株 (GH-sD-5)、*gus-hol* 有 6 株(GH-sD-1、GH-sD-3、GH-sD-6、GH-sD-12-1、GH-sD-12-2、GH-sD-19)、*hol* 有 2 株(GH-sD-2、GH-sD-16)、*gus* 有 3 株(GH-sD-4、GH-sD-18-1、GH-sD-18-2)(圖 3)。6 株 *gus-hol* 轉殖植株，沒有偵測到 *daa0* 基因，可能是 *daa0* 基因已被剔除(剔除率 50%)；1 株偵測到 *gus-hol-daa0* 3 個基因的轉殖植株上的 *daa0* 基因，則尚未被剔除。6 株 *gus-hol* 轉殖植株中有 2 株能偵測到 *hol* mRNA；2 株 *hol* 轉殖植株中均能偵測到 *hol* mRNA(圖 4)。此 4 株植物(GH-sD-1、GH-sD-12-1、GH-sD-2、GH-sD-16)將可進一步深入探討轉殖 *hol* 基因對葉綠體生理代謝之影響及農業上的應用。

PCR 分析結果顯示，8 株 GL-sD 品系轉殖植株中，偵測到 *gus-lys-daa0* 3 個基因有 5 株(GL-sD-7、GL-sD-9、GL-sD-10-1、GL-sD-10-2、GL-sD-11-2)、*gus-lys* 有 2 株(GL-sD-8、GL-sD-11-1)、*lys* 有 1 株(GL-sD-17)(圖 3)。2 株 *gus-lys* 轉殖植株，沒有偵測到 *daa0* 基因，可能是 *daa0* 基因已被剔除(剔除率 25%)；5 株偵測到 *gus-lys-daa0* 3 個基因的轉殖植株上的 *daa0* 基因，則尚未被剔除。8 株 GL-sD 品系轉殖植株，除了 GL-sD-8、GLsD9(*gus-lys-daa0*)無法偵測到 *gus* mRNA，其它 6 株都能偵測到 *gus* mRNA 及 *lys* mRNA(圖 4)。GL-sD 品系轉殖植株之 DNA 及 RNA 的分析頗能符合預期。

PCR 分析結果顯示，4 株 EL-sD 轉殖植株中，均能偵測到 *egfp-lys* 2 個基因(EL-sD-13、EL-sD-14、EL-sD-15-1、EL-sD-15-2)，沒有偵測到 *daao* 基因，顯示 *daao* 基因已被剔除(剔除率 100%)(圖 3)。4 株 EL-sD 轉殖植株，除了 EL-sD-15-2 無法偵測到 *egfp* mRNA，其它 3 株都能偵測到 *egfp* mRNA 及 *lys* mRNA(圖 4)。EL-sD 轉殖植株之 DNA 及 RNA 的分析也符合預期。

比起阿拉伯芥，甘藍是相對較難染出典型的 GUS 藍色反應(廖等，2011)，圖 5 中的 11 個轉殖植株的代表性樣品中，有 5 個具有較強的 GUS 活性的藍色反應，其它樣品也能分辨出 GUS 活性的藍色反應，與對照組樣品可區別出來。GUS 活性分析結果顯示，*gus* 基因已成功轉殖進甘藍葉綠體基因，且可順利轉錄、轉譯，形成蛋白表現。

轉殖甘藍葉片(GHD、GH-sD、GL-sD 及 EL-sD)及未轉殖對照組葉片，接種 Xc 11 之十字花科黑腐病菌 14 天後，明顯的在對照組葉片呈現黃化、枯萎，而部份 *hol* 及 *lys* 基因轉殖的甘藍葉片則保持綠色外觀。本研究初步結果顯示，利用葉綠體基因轉殖系統，轉殖溶菌酶基因(*lys*)及穿孔素基因(*hol*)，培育出抗病甘藍是可行的。這些轉殖甘藍之轉殖基因的穩定性、剔除篩選基因的終極效果、抗病性的穩定性、抗十字花科黑腐病菌不同品系的廣譜性、對其它病原菌的抗性等問題，都有待繁殖與分析大量葉綠體轉殖甘藍之後裔，選育穩定及大量表現 *lys* 及 *hol* 基因的轉殖甘藍品系，進行深入研究，才能對上述問題有進一步的瞭解。

## 參 考 文 獻

- 史一博、孫建和。2012。微生物學報 52:141-145。
- 農業統計年報。2012。行政院農業農委會。
- 廖珮君、楊明德、許文輝、曾夢蛟。2011。丙胺酸消旋酵素基因(*alaR*)作為甘藍之葉綠體基因轉殖的篩選標誌基因之研究。興大園藝 36: 33-50。
- 廖珮鑾。2006。Xanthomonas 細菌素基因的篩選及在 *E. coli* 中表現。國立中興大學分子生物學研究所碩士論文。
- 劉樂承、白遠國。2006。蕓苔屬植物器官離體再生影響因素研究進展。長江大學學報 3: 175-178。
- Kraus, J. 2010. Concepts of marker genes for plants. In: F. Kempken and C. Jung (eds.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 64: Genetic Modification of Plants. pp. 39-60. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Liu, C-W., C-C. Lin, J. J. W. Chen, and M-J. Tseng. 2007. Stable chloroplast transformation in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) by particle bombardment. Plant Cell Rep. 26(10): 1733-1744

- Liu, C-W., C-C. Lin, J-C. Yiu, J. J. W. Chen, and M-J. Tseng. 2008. Expression of a *Bacillus thuringiensis* toxin (*cry1Ab*) gene in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) chloroplasts confers high insecticidal efficacy against *Plutella xylostella*. *Theor. Appl. Genet.* 117(1): 75–88.
- Park, T., D. K. Struck, J. F. Deaton, and R. Young. 2006. Topological dynamics of holins in programmed bacterial lysis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 19713-19718.
- Que, Q., and R. A. Jorgensen. 1998. Homology-based control of gene expression patterns in transgenic petunia flowers. *Dev. Genet.* 22: 100-109.
- Tseng, M.-J., M.-T. Yang, W.-R. Chu, C.-W. Liu. 2014. Plastid transformation in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) by the biolistic process. In: P. Maliga (ed.), *Methods in Molecular Biology (Chloroplast Biotechnology)* Vol. 1132, p. 355-366. Humana Press.

## Transformation of Lysozyme and Holin Genes into Cabbage Chloroplasts

Wei-Ting Lin <sup>1)</sup> Kit-Man Fung <sup>2)</sup> Ming-Te Yang <sup>3)</sup>

Jinn-Chi Yiu <sup>4)</sup> Menq-Jiau Tseng <sup>5)</sup>

Key words: Lysozyme, Holin, Cabbage

### Summary

A two-component cell lysis cassette composed of holin and lysozyme genes have been isolated and characterized from phytopathogenic bacteria *Xanthomonas* from Dr. Ming-Te Yang's laboratory. We attempt to engineering the phage *lysozyme* (*lys*) and *holin* (*hol*) genes into the cabbage chloroplasts. The objective of this study is to engineer transplastomic cabbage with a high level of resistance against plant disease using the approach of the marker gene-free technology. In this study, four chloroplast transformation vectors (pMT91-GHD, pMT91-GHsD, pMT91F-GL-sD, pMT91F-EL-sD) harboring the *daao* as selectable marker genes and *lys* or *hol* as target genes were transferred into cabbage chloroplast *via* biolistic bombardment. The regenerated plants were primarily selected by 100-200 ppm D-alanine and further confirmed by PCR and RT-PCR. The results of PCR and RT-PCR analysis indicated that transformed genes (*hol*, *lys*, *gus*, and *egfp*) were integrated into the plastid genome of transplastomic plants, and its mRNA was expressed. The selectable marker gene *daao* had been eliminated in several transgenic plants. Preliminary results showed that disease resistance existed in the *lys* or *hol* gene transplastomic plants after inoculation with *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 11 (Xc 11).

---

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

2) Student in Ph.D. Program, Institute of Molecular Biology, National Chung Hsing University.

3) Associate Professor, Institute of Molecular Biology, National Chung Hsing University.

4) Professor, Department of Horticulture, National Ilan University.

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

## 蝴蝶蘭增殖階段之氮需求

吳毓紜<sup>1)</sup> 張正<sup>2)</sup>

關鍵字: 蝴蝶蘭、氮、增殖

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

### 前 言

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

---

1) 國立中興大學園藝系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系副教授，通訊作者。

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

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

## 材料方法

### 一、植物材料與培養基

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

### 二、試驗方法

以上述培養基為基礎，將其氮源改以不同濃度之碳酸銨[(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>]、硝酸鈉(NaNO<sub>3</sub>)、硝酸銨(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)及尿素[(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO]來進行試驗，並另外添加氯化鉀(KCl) 20mM 以補足鉀元素(表 1)，共 15 種培養基進行試驗，每瓶培養基 100 mL，20 個芽，每 2 瓶為 1 重複，共 3 重複。培養兩個月後調查其植體之株高、株重、單瓶芽體之數量、重量、乾重、增殖芽數；植株及培養基氮、磷、鉀、總可溶性糖及澱粉含量。並調查以下數據：

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

表 1. 各試驗培養基中氮源及氮濃度含量一欄表。

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

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

### 三、礦物營養與碳水化合物分析

1. 氮- Micro-Kjeldahl Method (AOAC, 1995)，將乾粉精秤 0.2 g 樣品至於氮分解管中並加入 1 g 之凱氏氮催化劑(Merk) (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: CuSO<sub>4</sub>: Se=100: 10: 1, w/v)及 4.5 mL 之濃硫酸(聯工)，放置分解爐中以 410°C 加熱分解，管中液體呈清綠色後，繼續加熱直至沒有白煙冒出。取出約冷卻 10 分鐘後加入 15 mL 蒸餾水。將樣品移至 Micro-Kjeldahl 裝置，加入 20 mL 12N NaOH(聯工)，通蒸氣使其氨化，並以 20 mL 含 2% 指示劑之 Boric acid(林純藥)接收氨氣、氨水，至總體積達 50 mL。
2. 磷-鉬黃法 Vanadate-molybdate yellow method (AOAC, 1995)，取 1 mL 乾灰化液(植株乾粉 0.5 g, 培養基鮮重 0.5-2 g 放入坩堝進行高溫灰化，灰化完成後加入 5mL 2N HCl(Merk)，以 whatman # 42(無灰分)濾紙過濾，並定量至 25 mL)，加入 3 mL 去離子水和 1 mL 鉬黃試劑，混合均勻靜置 10 分鐘後，以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U2000)測定溶液在 470 nm 之吸光值。
3. 鉀(AOAC, 1995)，將乾灰化濾液稀釋 300 倍，以原子吸收光譜儀(Varian 20A Techtron atomic absorption spectrophotometer)測定。

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

#### 四、數據統計與分析

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

## 結 果

氮源種類對株高並無顯著性的影響, 對芽體的增殖數量、乾鮮重及相對生長速率氮源種類對株高並無顯著性的影響, 對芽體的增殖數量、乾鮮重及相對生長速率(RGR)有顯著性的影響, 培養基中初始添加的氮濃度對株高與 RGR 沒有顯著性的影響, 對芽體的增殖數量與乾鮮重有顯著性的影響, 而氮源與濃度間的交互作用對乾鮮重比沒有顯著性的影響(表 2)。銨態氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)為主要氮源時, 培植體會有褐化的現象, 植株鮮重隨濃度增加而下降, 當銨濃度為 40 mM 平均單瓶芽體數為 17.33 個, 每個培植體含有的營養芽數量呈現負值(表 2)。主要氮源為硝酸態氮時, 硝酸態氮濃度高於 10 mM 時, 芽體增殖數量便不再顯著隨氮濃度上升而增加, 而當硝酸態氮濃度達 40 mM, 芽體數量略微下降(表 2); 當以尿素為單一氮源時, 培植體與以銨態氮處理相同有褐化的現象, 當培養基尿素濃達 20 mM 時, 有 40%的芽體會褐化死亡, 而未添加任何氮源的培養基, 植體乾重、鮮重及芽體增殖數量皆高於以銨態氮及尿素之處理組(表 2)。

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

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

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

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

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

<sup>z</sup> : Values within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

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

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

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

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

<sup>z</sup>Values within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

<sup>y</sup>Per flask shoot number see table 4-2\*, significant difference at the 5% level.

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

以銨及硝酸態氮為氮源的植體磷濃度會隨培養基氮濃度的增加而下降(表 3)；另從培養基中剩餘的磷的含量，推測其吸收量，結果顯示當銨濃度高於 10 mM 培養基中的磷幾乎無法被蝴蝶蘭芽體吸收(表 5)，硝酸態氮處理則相反，NaNO<sub>3</sub> 濃度越高，磷的吸收效率越好(表 5)，尿素則不影響蝴蝶蘭芽體對磷的吸收及利用(表 5)，其植體磷約 0.40%(表 3)。以銨態氮為主要氮源時，植體中全可溶性糖約為 7.45%~7.90%，澱粉濃度約為 3.43%~4.34%，但若只以 5 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>的氮源，芽體中全可溶性糖會上升至 9.28%，澱粉也

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

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

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

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

<sup>z</sup>Values within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

<sup>y</sup>Per flask shoot number see table 4-2\*, significant difference at the 5% level. \*\*, significant difference at the 1% level. ns, not significant.

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

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

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

<sup>z</sup>Values within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

<sup>y</sup>Per flask shoot number see table 4-2 \*, significant difference at the 5% level.

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

## 討 論

培養基中不添加氮培養 2 個月，芽體生長狀況與增殖倍率皆較 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>及尿素處理組好，顯示這兩種氮為並不適合作為蝴蝶蘭芽體增殖階段的主要氮源，也指出植株在處理前所貯存在植體內的氮足夠營養芽利用，表示蝴蝶蘭對氮有奢侈消費的現象，張等(2008)的研究中也有類似的結果。當銨態氮與尿素為主要氮源時，芽體皆會有褐化及植株鮮重下降的現

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

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

<sup>z</sup>Per flask medium about 100 mL.

<sup>y</sup>Values within columns followed by different letters are significant difference at the 5% level.

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

象，可能是因為高比例的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>會使陽離子的吸收會受到抑制，使蝴蝶蘭植體中鈣、鎂濃度下降，造成植物生長停滯、葉片黃化(彭等，2010)。另一方面從酵素活性來探討，在短時間內(40 小時)NH<sub>3</sub> 濃度增加時，與蝴蝶蘭增殖階段同樣沒有根的空氣鳳梨(*Tillandsiapohliana*)其麩醯胺酸合成酶(glutamine synthetase, GS)活性會顯著上升來加

速氮同化作用進行來避免銨毒害並增加氮的利用效率(Tamaki and Mercier, 2001), Pool and Sheehan(1982)中則指出蘭科植物因根結構的物理障礙及硝酸還原酶(nitrate reductase; NR)、GS 活性較低,對氮的吸收效率較低,因此蝴蝶蘭可能是全株 GS 活性偏低,而無法有效利用銨態氮。在培養基中的尿素經高溫高壓滅菌後,其培養基 pH 值會顯著上升至 7.21~7.45(資料未呈現),可能是因為溫度及壓力過高使尿素水解成  $\text{NH}_3$  後溶於水,轉變成  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,解離出  $\text{OH}^-$  使 pH 值提高,氮源也轉換成銨態氮造成銨毒害現象,但這需要再進一步確認。主要氮源為硝酸態氮時,培養基總氮濃度高於 15 mM 時,植株乾重及芽體增殖數量便不再隨氮濃度上升而有顯著性的增加,顯示此 15 mM 已達氮的臨界濃度(adequate zone),植物之生長量不會再隨著氮的供應量增加而增加,因此在該濃度下培養 2 個月後,培養基約減少 10.72 mg 的氮,在 Wang(2008)及彭等(2010)進行蝴蝶蘭試驗時,其總氮濃度用量約為  $21.0 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$  (15mM),因此若以  $21.0 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$  為參考用量,剛好高於培養基總減少量,也不會因濃度過高而影響增殖的芽體數量。

氮源種類對培養基中磷的減少量有顯著的影響,以硝酸態氮為主要氮源可促進磷的吸收(表 4),但硝酸態氮處理之植體磷含量卻未較其他處理高(表 3),因此推測可能是因為硝酸態氮需要較多的能量進行還原反應(Xu *et al.*, 2012; Orsel and Miller, 2010),才能被植物體吸收利用,而需要較多的磷轉化為能量,因此其對蔗糖的需求量也會略高於銨態氮處理組(表 6),王等(2008)中也指出提高氮肥的濃度可以促進磷的利用,另外彭等(2010)的研究中指出銨態氮能促進蝴蝶蘭大苗對磷的吸收,但在本試驗中表 5 中顯示增加銨態氮濃度會顯著降低磷的吸收,可能是因為吸收  $\text{NH}_4^+$  時會釋放  $\text{H}^+$ ,使培養基的 pH 值下降(Argo and Biernbaum, 1997; Findenegg, 1987; Hopkins and Hüner, 2003),當 pH 值不在 6.0-6.5 的範圍內時,磷的有效性會顯著降低(張, 2011),測定銨態氮使用過 2 個月後剩餘培養基,也顯示其 pH 值從最初校正的 5.7,下降至 3.78~3.97(資料未呈現),銨原始濃度越高, pH 值越低,培養基的 pH 值隨著銨態氮的利用而下降。 $\text{NH}_4^+$  對鉀的吸收有強烈的抑制效果(Allen and Raven, 1987; Marschner, 1995; Britto and Kronzucker, 2002),此現象在尿素試驗中有類似的結果,當初始尿素濃度越高,培養基中剩餘的鉀含量就越多。而 Lu 等(2005)將氮源中的  $\text{NO}_3^-$  換成  $\text{NH}_4^+$  後,菸草(*Nicotianatabacum* L. 'K 326')對  $\text{K}^+$  的吸收大幅度下降,但也觀察到  $\text{NH}_4^+$  處理的植株,  $\text{K}^+$  在韌皮部的轉運能力高於另外兩種,即在  $\text{NH}_4^+$  的刺激下,植物對鉀的回收再利用效率會提高。

## 參 考 文 獻

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

- 臺灣園藝 54(1): 67-74。
- 涂美智、李晔。1988。氮素、蔗糖濃度及光強度對蝴蝶蘭種子發芽及幼苗生長之影響。中國園藝 34(4): 293-302。
- 張則周。2011。植物營養學。五南圖書出版股份有限公司。533pp。
- 張耿衡、王斐能、謝庭芳、鍾仁賜。2008。三種不同配方之肥料對蝴蝶蘭小苗營養生長與養分吸收之影響。臺灣農業化學與食品科學 46(2): 57-69。
- 曹進義、陳威臣、吳明哲、夏奇鈺。2008。花梗發育時期、花梗節位及 6-benzyladenine 濃度對蝴蝶蘭花梗芽微體繁殖芽體誘導之影響。臺灣園藝 54(3): 199-209。
- 曹進義、陳威臣、夏奇鈺。2011。由花梗培養切取之培植體種類及 6-Benzyladenine 濃度對蝴蝶蘭芽體分化之影響。臺灣園藝 57(1): 31-42。
- 彭穎君、鍾仁賜、何聖賓、張耀乾。2010。銨態與硝酸態氮比例影響大白花蝴蝶蘭營養與生殖生長。臺灣園藝 56(1): 45-56。
- 彭穎君。2008。大白花蝴蝶蘭 'V3' 對氮素之吸收、運移及利用。國立臺灣大學園藝學系碩士論文。131pp。
- 楊光盛、孫華慰、葉德銘、林學正。1995。數種高經濟花卉作物肥料之開發應用研究(二)—即溶花卉肥料。中國園藝 41(1): 41-53。
- 雷欣怡。2007。蝴蝶蘭花期礦物元素組成變化與肥料需求。國立臺灣大學園藝學系碩士論文。126pp。
- Allen, S. and J. A. Raven. 1987. Intracellular pH regulation in *Ricinus communis* grown with ammonium or nitrate as N Source: The Role of Long Distance Transport J. Expt. Bot. 38(4): 580-596.
- Argo, W. R. and J. A. Biernbaum. 1997. Lime, water sources, and fertilizer nitrogen form affect medium pH and nitrogen accumulation and uptake. HortScience 32: 71-74.
- Association of Analytical Chemist (AOAC). 1995. Metal in plants 975.03. In: Official methods of analysis of AOAC International. 18<sup>th</sup> ed. Arlington, Virginia.
- Britto, D. T. and H. J. Kronzucker. 2002.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: a critical review. J. Plant Physiol. 159(6): 567-584.
- Buchanan, B. B., W. Gruissem, and R. L. Jones. 2000. Nitrogen and sulfur. Biochem. Mol. Biol.
- DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal. Chem. 28(3): 350-356.
- Findenegg, G.R. 1987. A comparative study of ammonium toxicity at different constant pH of the nutrient solution. Plant Soil 103: 239-243.
- Frink, C. R., P. E. Waggoner, and J. H. Ausubel. 1999. Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. PNAS. 96(4): 1175-1180.
- Hopkins, W. G. and N. P. A. Hüner. 2003. Nitrogen assimilation, p. 167-185. In: W.G. Hopkins

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

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

Yu-Yun Wu <sup>1)</sup>    Chen Chang <sup>2)</sup>

Key word: *Phalaenopsis*, nitrogen, multiplication

### Summary

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

---

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

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

Corresponding author.



## 熱適應於景觀環境研究之趨勢分析與展望

謝 燕 芬<sup>1)</sup> 吳 振 發<sup>2)</sup> 歐 聖 榮<sup>3)</sup>

關鍵字：熱環境、熱舒適、調適行為

**摘要：**20 世紀中期以後，受到全球暖化與氣候變遷影響，全球平均氣溫逐漸升高，極端氣候事件發生比率亦相對提升，使得熱適應對人類的影響越趨重要。然而目前熱適應的研究對於研究的趨勢、未來可能的研究方向，仍然十分模糊。本研究目的為釐清不同熱適應分類間的關係及熱適應和熱舒適間的關係，並提出熱適應研究的趨勢及未來可能的研究方向，作為未來在景觀環境領域相關研究發展的參考。本研究應用文獻回顧法，回顧 35 篇熱適應相關文獻，論述熱適應之重要性及目前熱舒適相關研究，分別進行理論定義、調查方法、熱適應研究重要結果、熱適應分類、熱適應理論模型等五個主題進行探討，以深入了解熱適應理論。研究結果顯示生理、心理及行為適應各有優缺點、相同與相異處，行為適應為民眾最常使用之熱適應方式，但心理適應對熱舒適感受影響也很大。而熱不適會產生壓力，影響保護動機，再影響熱適應。並可發現未來於景觀領域的熱適應相關研究，戶外熱環境、心理適應及各種影響因子對熱舒適與熱適應的影響為重要探討領域，而嚴寒與濕熱地區則為全球重要探討區域。

### 前 言

20 世紀中期以後，受到全球暖化與氣候變遷影響，全球平均氣溫逐漸升高，極端氣候事件發生比率亦相對提升（中央氣象局，2014；李思瑩、盧孟明，2010），氣溫變化加劇，使得熱環境不舒適機率相對提高。Lin 與 Matzarakis (2008)、Spagnolo 與 de Dear (2003) 的研究皆提及熱環境 (thermal environment) 是一項重要的研究領域，熱環境的變化時常影響人

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

3) 國立中興大學園藝學系教授。

們的生活，會讓人們產生熱、冷、濕黏或乾燥等生理上的不舒適，並且會影響人們的心情 (Keller *et al.*, 2005)。於熱環境感到不舒適時，熱適應 (thermal adaptation) 便隨之產生，熱適應調查可以讓研究者更了解人們在熱不適 (thermal discomfort) 狀態下的反應，對於提升人們在都市戶外空間的熱舒適 (thermal comfort) 是很重要的。過去許多學者皆提及熱適應的重要性，Rohles (1980) 在炎熱的夏天，於都市街道與公園草地上的測試，熱舒適指標PMV呈現+3 (熱)，但同時民眾表示他們覺得相當舒適，此過程熱適應便扮演了重要的角色，Hensel (1981) 亦提及熱舒適會受到身體的自主調適及行為調整的影響，Lin (2009) 及Lin、de Dear與Hwang (2010a) 提及根據能量平衡所得之熱指數不能完全解釋戶外熱環境的偏好，戶外熱環境偏好還受到經驗、期望及知覺控制等心理調適因素及行為調適因素的影響，Nikolopoulou與Steenackers (2003) 亦曾提及心理適應的重要性，它能用來解釋客觀和主觀舒適評價之間的巨大差異，補充單純使用微氣候參數解釋熱舒適度的不足，因此探討熱適應議題對人們在熱環境中產生不舒適感的改善十分重要。

熱適應理論自70年代中期開始，針對石油衝擊便陸續有研究進行探討 (Brager and de Dear, 1998)，過去研究者探討各式熱適應方式，來了解其對人體熱舒適感受的影響，然而目前熱適應的研究尚處於啟蒙階段，尤其在戶外熱環境，對於熱適應的內涵、研究的趨勢、未來可能的研究方向，仍然十分模糊。本研究應用文獻回顧法，回顧熱適應相關文獻，論述熱適應之重要性及其在熱舒適相關研究上的應用，並以理論定義、調查方法、熱適應研究重要結果、熱適應分類、熱適應理論模型等五個主題進行探討，以深入了解熱適應理論。依據上述之研究背景動機及重要性的陳述，本研究主要的研究目的乃在了解熱適應的理論內涵，過去室內外研究主要調查方式，有哪些重要結果，並比較生理、心理和行為適應的異同及優缺點，以釐清不同熱適應分類間的關係及熱適應和熱舒適間的關係，並提出熱適應研究的趨勢及未來在景觀環境領域可能的研究方向，作為未來熱舒適與熱適應相關研究發展的參考。

## 文 獻 回 顧

### 一、理論定義

人類在熱環境不舒適時的因應方式，過去有許多文獻進行調查及研究，回顧相關研究可以發現過去研究多使用「熱適應」及「調適行為」進行名詞定義，由相關研究可發現，熱適應及調適行為在針對熱環境的調適都有研究使用，其中調適行為 (Coping behavior) 源起於心理學研究領域，早期研究多提出心理調適方式，如壓抑、合理化、投射 (James and Norman, 1992)，調適行為之研究包含豐富主題，在遊憩衝突調適、商業管理調適、災難調適、壓力調適、疾病調適等不同領域皆有相關研究，應用到熱環境領域後則為心理和行為調適並用，探討包含產品轉移、合理化、移置、直接行動等調適行為 (高珮詩, 2007)。

於熱舒適研究領域較常將對熱環境的調適以熱適應稱之，熱適應早期研究多提出生理或行為的調適，如馴化、服裝調整 (Brager and de Dear, 1998)，而後發現心理調適亦有很大的影響，漸漸有研究探討心理適應，如期望、經驗 (Lin *et al.*, 2010a)。而過去的熱適應相關研究與熱舒適有密不可分的關係，熱舒適理論起源於 60 年代，美國冷凍空調協會 (ASHRAE) 在美國堪薩斯州立大學環境實驗室中，進行大量的實驗研究，得到了熱舒適條件的數據。Fanger (1972a) 提出影響熱舒適的因子，包括物理環境因子的溫度、濕度、風速、輻射，以及人體的代謝量和衣著量，之後開始有許多研究針對熱舒適進行探討。以下針對調適行為、熱適應及熱舒適加以定義。

#### (一) 調適行為 (Coping behavior)

調適行為是單一或整體的心理過程，提出策略去對抗環境的適應要求，當這樣的要求使他受到壓力或超過個人的調節能力 (Stewart, 2009)。Lazarus 與 Folkman 在 1984 年所提出的壓力/調適理論 (transactional stress/coping theory) 提出個人和情境因子會影響認知評估，產生壓力時，會出現調適反應進而影響長時間和短時間的結果，此調適反應即為調適行為，為當壓力產生時個體會產生調適的行為 (高珮詩, 2007)。

#### (二) 熱適應 (Thermal adaptation)

American Psychological Association [APA] (2007) 提及適應為調整心理過程 (認知、情感和行為)，使他們反應環境需求，作出回應。熱適應早期研究多在室內環境，早期研究將之定義為逐漸減少對重覆環境刺激的生物反應，並納入建築居住者為了改進「適合」室內氣候，以符合個人或共同需求的經歷 (Brager and de Dear, 1998)。後續研究將研究範圍擴展至室內外環境，熱適應定義便不單指在改進室內氣候，其定義也變更為室內外環境皆適用，為人們自發的採取行動，讓自己感覺熱舒適 (Lin *et al.*, 2010a)，Nikolopoulou (2004) 提及熱適應為人們經歷改變適合的環境及需求的所有過程。並經由反覆接觸刺激，逐步減少對環境的反應，包括使他們適合在這樣的環境中生存的所有行動 (Nikolopoulou and Steemers, 2003)。為人透過與環境相互影響、更改自己的行為、逐漸使自己的期望與熱環境相平衡，創造偏好的舒適環境 (Brager and de Dear, 1998)。由彙整結果可歸納熱適應之定義為人調整心理過程 (認知、情感和行為) 或採取行動，以反應對熱環境的需求，創造偏好的舒適環境的所有過程。

#### (三) 熱舒適 (Thermal comfort)

Hensen (1991) 提出熱舒適為不會驅使人以行為去修正環境的狀態；ASHRAE (1992) 指出熱舒適的具體條件為 80% 以上的使用者表示當下氣候條件為可接受之熱環境；ISO 7730 (1994) 表示熱舒適為人體對當下所處的熱環境表示滿意時的狀況，需經由詢問當下熱環境使用者的舒適與否而得知；Nikolopoulou 與 Steemers (2003) 認為熱舒適是一種對於熱環境之調適過程，為了達到心理與生理之平衡；ASHRAE (2004) 提出，熱舒適為心中對熱環境表示滿意的情況；Djongyang、Tchinda 與 Njomo (2010) 描述，熱舒適為心理或滿意度的情況，其強調舒適的看法是認知的過程，涉及許多身體、生理、心理和其他因

素的影響。綜合以上可得出，「熱舒適」被表示為人對所處的熱環境表示滿意時的狀況，為 80% 以上的使用者表示當下氣候條件為可接受，受許多身體、生理、心理和其他因素的影響，是一動態的認知調適過程。

## 二、調查方法

熱適應的調查方法在實驗型研究與室內外熱適應研究中，可以發現研究者有幾項不同的做法。

### (一) 實驗型研究：

在實驗型研究中，研究者多利用請受測者到實驗室，在固定溫度、衣著、姿勢、及停留時間的情況下進行熱感覺調查，主要用以分析馴化的影響 (Chung and Tong, 1990; de Dear *et al.*, 1991; Fanger, 1972b; Fanger *et al.*, 1977; Fanger and Langkilde, 1975; Gonzalez, 1979; Humphreys, 1994b)。

### (二) 室內外熱適應研究：

在室內外熱適應調查的研究中，研究者則有不同的調查方法，包含：1. 利用熱環境物理因子及人體生理因子測量，搭配詢問熱舒適度，調查人體自主調適 (Black and Milroy, 1996; Rowe *et al.*, 1995)；2. 搭配主觀因子及社經背景問卷，分析心理適應的間接影響 (林子平、林彥廷, 2007; Cena *et al.*, 1986; Hwang *et al.*, 2010; Lin, 2009; Lin *et al.*, 2010a)；3. 搭配穿著服裝等行為調整的觀察，分析熱適應與熱環境狀態的關係 (黃靜宜, 2005; de Dear and Brager, 1998; Fishman and Pimbert, 1982; Humphrey, 1994a; Hwang *et al.*, 2010; Nakano and Tanabe, 2004; Nicol and Raja, 1996; Nicol *et al.*, 1994)；4. 搭配熱適應策略問卷調查，分析熱適應策略與熱環境狀態及熱感覺的關係 (李建鋒, 2008; 林子平、林彥廷, 2007; 吳芋菁, 2011; 高珮詩, 2007; 鄭明仁等人, 2009; Baker and Standeven, 1994, 1996; Benton and Brager, 1994; Hwang and Chen, 2010; Indraganti, 2010; Leaman and Bordass, 1993; Lin, 2009; Lin *et al.*, 2010b)。

在熱環境物理因子及人體生理因子的測量方法則可依研究用途不同分為三大類，第一類調查內容較為詳細嚴謹，第三類較為簡單，第二類則介於兩者之間，詳如表 1 所示。調查時則須注意以下四項較易影響熱環境物理因子及人體生理因子測量結果的因素，包含：1. 衣服或整體的絕緣值難以評估精準；2. 椅子的絕緣效果易被忽略；3. 活動型態及代謝率連結的程度；4. 物理測量結果較難精準 (Brager and de Dear, 1998)。

調查中使用的熱適應策略調查問卷則可被分為非結構與結構式兩種問卷結構，非結構式問卷主要是使用開放式選項詢問民眾會採取什麼措施回應熱的感覺，來收集受測者會採用的熱適應策略 (Baker and Standeven, 1994, 1996; Lin *et al.*, 2010b)，使用非結構式問卷調查能得到較多資訊，但較難整理分析；而結構式問卷則是用來評估熱適應的認知強度或同意程度，常被使用的方式為提供熱適應選項讓受測者進行勾選。常被使用的熱適應調查問項則包括尋求遮蔽、到樹蔭下、穿脫衣服、撐傘、戴帽子、喝飲料等行為適應方式 (林子平、林彥廷, 2007; 李建鋒, 2008; 鄭明仁等人, 2009; Lin, 2009)，較少數研究使用心

表 1. 熱環境物理因子及人體生理因子測量

Table. 1. The methods of the thermal environmental and physiological factors survey.

	第一類 (實地實驗)	第二類 (實地實驗)	第三類 (實地研究)
測量內容	1. 物理因子：測量氣溫 (Ta)、相對濕度 (RH)、氣壓 (VP)、球輻射 (G)、風速 (V)、輻射溫度 (Tg)、clo (衣服絕緣值) <sup>1</sup> 、met (代謝率) <sup>2</sup> 2. 主觀因子：熱問卷 (熱感覺、熱舒適、可接受性、衣著量、活動量)	1. 物理因子：Ta (氣溫)、Tr、V (風速)、Rh (相對溼度)、clo (衣服絕緣值)、met (代謝率) 2. 主觀因子：熱問卷	1. 物理因子：溫度、溼度 2. 主觀因子：等級尺度問卷
分析內容	PMV <sup>3</sup> /PPD <sup>4</sup> 或 SET* <sup>5</sup> 、PET <sup>6</sup> 、Tn <sup>7</sup> 、首選溫度 <sup>8</sup> 、Tmrt <sup>9</sup> 、可接受範圍	PMV/PPD 或 SET*、Tn	Tn
程序	同一時間及地點	同一時間及地點	非同期或非連續
離地高度	0.1m、0.6m、1.2m	同一高度	無特殊規範
用途	得到精準的數據，用以仔細調查熱環境物理因子細微的影響。	用以評估行為調適對主觀反應的影響。	提供簡單的熱反應，發表數據最廣泛。

註 1：Iclo (clothing 衣服絕緣值)：在輻射溫度=21.2°C，相對濕度=50%，風速=0.1m/s 之靜坐條件下，人體感覺到舒服的衣著量 (陳啟中, 1996)，ASHRAE (2004) 定義：夏季衣服為 0.35~0.6 clo、冬季衣服為 0.8~1.2 clo。

註 2：I<sub>met</sub> (metabolic 新陳代謝) 為 58.2W/m<sup>2</sup>(陳啟中, 1996)，吸入氧氣及呼出二氧化碳量會影響 met (Djongyang *et al.*, 2010)。

註 3：PMV (預料平均投票)：考量環境參數及受訪者的衣著和代謝率計算而得 (Nikolopoulou, 2004)。

註 4：PPD (預測不滿意百分比)：感覺太冷或太熱的百分比，即抱怨環境的百分比 (Djongyang *et al.*, 2010)。

註 5：SET\* (標準有效溫度)：考量氣溫=平均輻射溫度，相對濕度為 50%，風速=0.15 m/s，個人穿戴 0.6 clo，新陳代謝率 1.2 mets，相同的皮膚溫度和溼度的環境氣溫計算而得 (Lin, 2009)。

註 6：PET (生理等效溫度)：考量氣溫=平均輻射溫度，水蒸汽壓力 = 12 hPa，風速 = 0.1 m/s 的氣溫，人體的核心和皮膚溫度平衡的狀況，並轉換成空氣溫度來表示 (Lin, 2009)。

註 7：Tn (中立溫度)：溫度感覺剛好或熱感覺等於 0，人們感覺不冷也不熱 (Fanger, 1972a)。

註 8：首選溫度 (preferred temperature)：個人比較喜歡溫暖或稍涼的溫度 (Fanger, 1973)。

註 9：Tmrt (平均輻射溫度)：Ta (氣溫)+V (風速)+Tg (輻射溫度) (Lin *et al.*, 2010a)。

資料來源：Brager and de Dear, 1998，本研究整理

理適應問項，如產品轉移、合理化（吳芋菁，2011；高珮詩，2007）等，使用結構式調查問卷的優點是能快速了解民眾欲採取之調適策略，缺點則是得到的資訊較為局限。

### 三、熱適應研究重要結果

熱適應依研究類型的不同可分為室內研究、室外研究、實驗型研究與理論型研究，過去熱適應的研究，早期大多都著重於室內熱適應與實驗型研究的探討，室外熱適應及理論型研究則發展得較晚，討論也相對較少，本研究將不同類型的重要結果整理如下。

#### (一) 室內研究

過去室內熱適應的相關研究，主要探討空調建築和通風建築的熱適應差異、常用的熱適應行為及服裝調整與溫度的關係，研究結果可發現在自然通風建築與空調建築的熱舒適有很大的差異，而人們對熱環境之熱適應，於心理及行為部份包含許多面向，其中在建築內可以找到多種行為適應方式，而休息、喝冷熱飲、開窗、服裝調整、新陳代謝調整、使用風扇、空調等為較常被使用的行為適應方式，也有研究提及期望、預期、過去經驗等心理適應的存在，在服裝調整的研究最多，它被發現與戶外溫有的強烈關係，而熱適應的選擇可能為造成熱舒適差異的關鍵（Baker and Standeven, 1994, 1996; Benton and Brager, 1994; Black and Milroy, 1996; Brager and de Dear, 1998; Fishman and Pimbert, 1982; Hwang and Chen, 2010; Indraganti, 2010; Nicol and Raja, 1996）。

#### (二) 室外研究

室外熱適應的相關研究，則主要探討戶外環境常用之熱適應方式、遮蔭的影響及服裝調整與溫度的關係，研究結果可發現，區內移置至遮蔭處為戶外環境最主要的熱適應方式，並証實過去經驗、期望、知覺控制等心理適應的存在，還有服裝與氣溫的強烈關係，及其在不同季節、年齡有差異（李建鋒，2008；林子平、林彥廷，2007；黃靜宜，2005；吳芋菁，2011；鄭明仁等人，2009；Hwang *et al.*, 2010; Lin, 2009; Lin *et al.*, 2010a）。

#### (三) 實驗型研究

實驗型研究則主要探討馴化等生理適應，而研究結果多無法證明熱馴化的存在（Chung and Tong, 1990; de Dear *et al.*, 1991; Fanger, 1972b; Fanger *et al.*, 1977; Fanger and Langkilde, 1975; Gonzalez, 1979），僅有 Humphreys (1994b) 研究發現馬來西亞 (28.7°C) 的溫度偏好較倫敦 (25.7°C) 高三度。

#### (四) 理論型研究

理論型研究主要為蒐集分析過去建築環境熱適應、心理適應研究，整合提出熱適應概念或發展趨勢，重要結果為發現熱知覺受到熱的歷史、非熱因素和熱預期的影響，且適應行為只能部份解釋對熱舒適的影響，預期等心理調適有重要的影響，而心理適應的不同變項之間有強大的相互影響力，可預期未來心理適應的研究可能較為重要（Brager and de Dear, 1998；Nikolopoulou and Steemers, 2003；Stewart, 2009）。

### 四、熱適應方式分類

Stewart (2009) 提及，人們會以不同的看法、計畫和行為來適應相同的熱環境，顯示

熱適應方式應該有多重分類，本研究整理熱適應相關研究，發現熱適應方式主要可區分為生理適應、心理適應及行為適應三大類。以下針對不同分類詳述之。

表 2. 熱適應分類表

Table. 2. Thermal adaptation classification.

熱適應類別	生理適應	心理適應	行為適應
熱適應方式	遺傳適應。	個人的選擇、預期、習慣、知覺控制、過去經驗、抱怨、自然、暴露時間、環境刺激、產品轉移、合理化。	個人調整：調整衣著（服裝、頭髮、帽子、傘）、調整活動、調整姿勢、調整飲食（吃/喝、熱/冷的食物或飲料）、區內移置（到樹下、到陰涼處）、區外移置（回室內、快速通過）、時間移置、離開及搧風。
	環境適應：長期適應、短期適應。		技術或環境調整：打開 / 關閉窗戶或窗簾、打開風扇或暖氣、阻塞風口、打開遮陽傘、以其他空調控制、種植樹木、加花架涼亭、更改鋪面材質、增加牆面。

資料來源：Brager and de Dear, 1998; Carver *et al.*, 1989; Djongyang *et al.*, 2010; Givoni, 1992; Humphreys, 1975; Nikolopoulou, 2004; Nikolopoulou and Steemers, 2003; 林子平、林彥廷，2007；李建鋒，2008；吳芊菁，2011；高珮詩，2007，本研究整理

### (一) 生理適應

生理適應為人體熱平衡的自主調適，意指當熱擾動發生，身體的溫度控制系統會嘗試維持在37°C的現象 (Djongyang *et al.*, 2010)。杜月香 (1991) 將過去熱舒適領域常提及的人體熱平衡方程式轉化為： $S = M \pm R \pm C - E$ ，解釋此一生理適應現象，此方程式表示人的體內蓄熱與人體生熱、人體由周圍輻射和對流所接受或散失之熱和由蒸發所散失之熱，會達成平衡，其中S指體內蓄熱；M指人體生熱；R指人體由周圍輻射所接受或散失之熱；C指人體依對流所接受或散失之熱；E指人體由蒸發所散失之熱。

Brager與de Dear (1998) 則指出生理適應指反覆暴露於刺激中，導致壓力逐步下降，造成生理變化，包含「遺傳適應」及「環境適應」兩大面向：1. 遺傳適應 (Genetic adaptation) 指改變個人或一群人部分的遺傳。2. 環境適應 (acclimation or acclimatization) 指改變人體在環境中的體溫調節系統。環境適應又可區分為長期適應與短期適應，其中長期適應相關研究主要探討處於不同氣候或不同環境，首選溫度是否有差異，研究結果主要得出不論在何種環境，首選溫度均無顯著差異 (Fanger, 1972b; Fanger and Langkilde, 1975; Fanger *et al.*,

1977; de Dear *et al.*, 1991; Chung and Tong, 1990)；而短期適應相關研究則主要探討短期天氣變化，首選溫度是否有差異，研究結果主要得出，短期炎熱天氣後，發現首選溫度明顯增加，但統計上沒有顯著差異 (Gonzalez, 1979)。

Nikolopoulou與Stemmers (2003) 指出生理適應較常見於極端環境的調適，於一般環境較不易顯著發生，Brager與de Dear (1998) 亦指出遺傳適應發展時間尺度超出個人的一生，因此過去研究較少提及，而環境適應的時間在幾天或幾週以上，過去研究多以室內實驗進行，針對暴露於單一或組合的熱環境壓力進行實驗。

## (二) 心理適應

心理適應指利用情緒調整的方式來減緩壓力，改變對熱環境的感覺和反應，造成人的熱經驗和期望 (Brager and de Dear, 1998; Nikolopoulou and Stemmers, 2003)，包含多項熱適應方式詳見表2。

## (三) 行為適應

行為適應指利用實際的行為來減緩壓力，包含「個人調整」及「技術或環境調整」兩大面向。

1. 個人調整：指以各種適應活動或改變個人可變因素以適應周圍環境，包含多項熱適應方式詳見表2。
2. 技術或環境調整：指當環境可以控制時，改變環境本身，包含多項熱適應方式詳見表2。

## 五、熱適應理論模型

過去熱適應相關研究提出各種模型討論人對熱環境的感受與熱適應之間的關係，本研究將過去各研究提出的理論模型整理如下，並比較各模型的異同處及提出未來應用方向，如表3所示。

### (一) 人類體溫調節模式

Hensel 於 1981 年提出人類體溫調節模式 (圖 1)，說明身體的回饋控制。該模型提及人類的體溫調節系統如一複雜的高度非線性數學，包含多個傳感器，多重反饋迴路和多個輸出。受控制變量是身體內部溫度和皮膚溫度。該控制系統受內部和外部的熱擾動影響，體溫調節系統會透過自主調整與行為調整進行控制行動。採取控制行動每一次不一定是相同，也不會互相依賴。

### (二) 環境行為折衷模式—天氣對人的影響

聶筱秋等人譯 (2003) 將環境行為折衷模式運用於天氣 (圖 2)，該模式提出不同之天氣狀態以及個人差異會形成對天氣的知覺，於知覺不適時會產生壓力，針對壓力人會產生調適因應，調適因應的成效會回饋到天氣知覺和影響個人的差異。此模式將壓力視為天氣與調適的中介變項。

### (三) 保護動機理論 (Protection Motivation Theory) 及風險感覺 (risk-as-feelings) 觀點

保護動機論 (Protection Motivation Theory) (圖3) 最早是作為病害防治和健康提升的模型，Stewart於2009年將保護動機理論運用於氣候變化的適應，此架構的理論表示，人的

適應受到人類自我保護動機的影響。理論內容提及環境和人之間及人的內心所提出的資訊會導致威脅評估和調適評估，威脅評估會被內在獎勵（如：內心的興奮感）和外在獎勵（如：朋友的鼓勵）及天氣的嚴苛程度和人的脆弱度影響，調適評估會被自我效能（個人完成行為的能力）和反應效能（適應行為的效果）及反應成本（完成行為的成本）影響，它們會和恐懼共同影響保護動機，再影響人的適應。Kahneman與Tversky於2000年提出風險感覺觀點（圖4）挑戰保護動機理論，認為人的調適並非來自客觀的評估，預期和主觀情緒才是調適的主要影響。

(四) 心理適應相互關係

Nikolopoulou 與 Steemers 於 2003 年提出心理適應的相互關係圖（圖 5），顯示戶外空間的熱評定，心理調適有重要的影響，且不同變項之間有強大的相互影響力。關係圖顯示自然、預期、過去經驗、曝露時間、知覺控制和環境刺激之間有相互的影響關係，且有些關係是相互影響的，如知覺控制和預期，而其中自然會影響其他變量，但沒有受到任何參數影響。

表 3. 熱適應理論模型比較表

Table. 3. Thermal adaptation theoretical model comparison table.

理論模型	人類體溫調節模式	環境行為折衷模式-天氣對人的影響	保護動機理論及風險感覺觀點	心理適應相互關係	aPMV熱舒適模型
異同處	與其他模型差異較大，著重於生理適應的過程。	與aPMV熱舒適模型較接近，著重於熱適應與環境刺激和熱感覺間的關係，但將熱不適視為壓力源。	與其他模型差異較大，著重於接收到熱環境資訊後的心理傳導過程。	與其他模型差異較大，著重於各個心理適應間的相互影響關係。	與環境行為折衷模式較接近，著重於熱適應與環境刺激和熱感覺間的關係。
未來應用	未來主要可以應用於說明熱適應對人體內部生理反應的影響，並著重於說明生理適應的影響。	未來主要可以應用於說明天氣對人影響的過程。	未來主要可以應用於心理反應過程的釐清。	未來主要可以應用於心理適應的探討。	未來主要可以應用於心理與行為適應間關係的探討。

資料來源：Hensel, 1981; Stewart, 2009; Nikolopoulou and Steemers, 2003; Yao *et al.*, 2009; 聶筱秋等人譯，2003，本研究整理

(五) aPMV 熱舒適模型

Yao、Li與Liu等學者於2009年提出自適應預測平均投票 (adaptive predicted mean vote, aPMV) 熱舒適機制 (圖6)，該模型討論了影響熱舒適的因子，同時考慮到氣候、文化、社會、心理和行為適應等因素，該模型顯示環境物理刺激和熱感覺之間會受到適應影響，包括社經背景與經驗，會共同影響熱預期，再影響心理適應和行為適應。

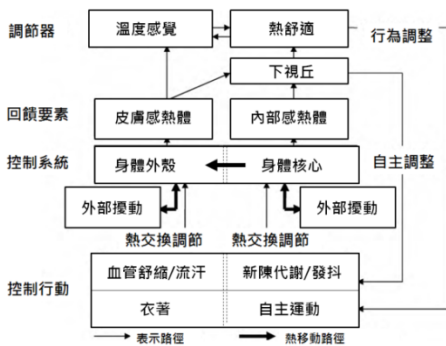


圖 1. 人類體溫調節模式

Fig. 1. Autonomic and behavioural human temperature regulation.

資料來源：Hensel, 1981

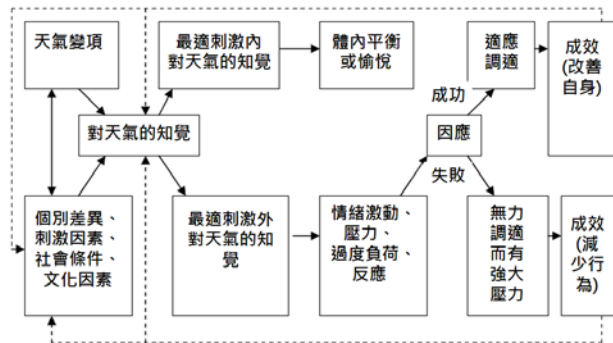


圖 2. 環境行為折衷模式-天氣對人的影響

Fig. 2. Model of environmental behavior caused by weather.

資料來源：聶筱秋等人譯，2003

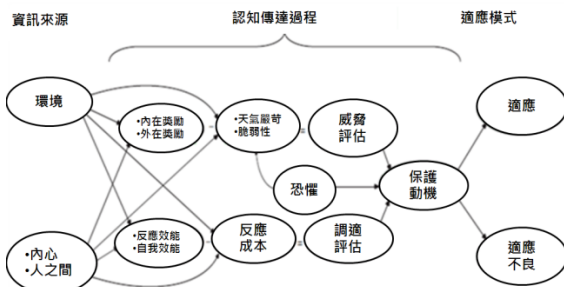


圖 3. 應用保護動機理論於天氣和氣候變化適應

Fig. 3. Protection motivation theory applies to adaptation to weather and climate changes

資料來源：Floyd, Prentice-Dunn and Rogers, 2000，引自 Stewart, 2009

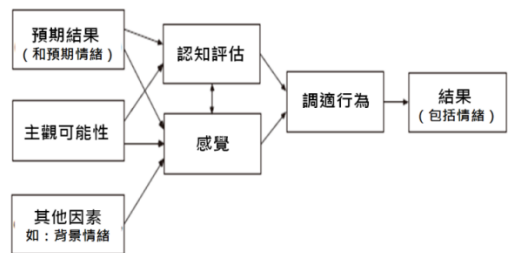


圖 4. 風險感覺觀點

Fig. 4. Risk-as-feelings perspective.

資料來源：Loewenstein, Weber et al., 2001，引自 Stewart, 2009

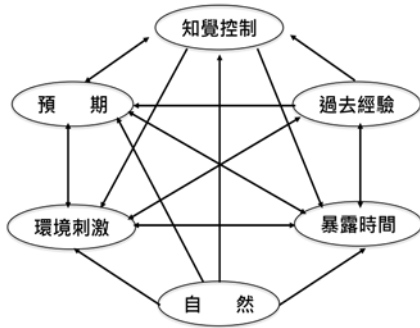


圖 5. 心理適應各變數間相互關係

Fig. 5. Lines of influence between the different parameters of psychological adaptation.

資料來源：Nikolopoulou and Steemers, 2003

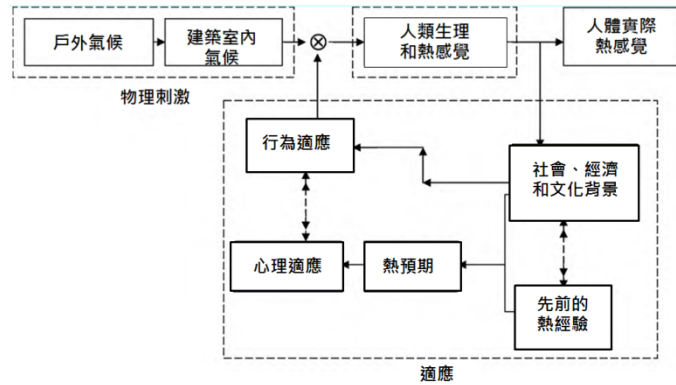


圖 6. 熱舒適自適應模型機制

Fig. 6. The thermal comfort adaptive model mechanism.

資料來源：Yao et al., 2009

### 結果與討論

#### 一、不同熱適應分類間的關係

回顧過去研究可發現，熱適應方式大致可區分為生理適應、心理適應及行為適應，不同熱適應方式各有其優缺點，而各種熱適應方式間，可發現存在相同處與相異處，以下針對不同熱適應分類間的關係整理如下表 4。其中生理適應由於牽涉生理狀況的調整，並且達成的時間需花費較長，因此在研究上橫斷式的研究方法較難獲取有用的資訊，於未來研究可利用縱貫研究設計或透過跨國性的研究於不同緯度國家間進行比較，亦可藉由生理測量儀器輔助可使研究進行更加順利；心理適應則由於心理的感受瞬息萬變，在研究上研究者較難掌握受測者的感受，受測者亦可能無法很精確的表達做過哪些心理適應，因此於未來研究可以使用提供受測者量表的方式，以引導受測者提供較完整的資訊，並且應盡量縮減調查時間，以利獲得當下的感受；行為適應由於研究限制較少，在研究上資料相對容易取得，但此熱適應方式受限於可控制的資源多寡，未來研究應多著墨於後續整體環境或配套設施可達成的改變，利用環境的改變來引導及滿足行為適應的發生。

表 4. 熱適應分類比較分析

Table. 4. Comparative analysis of thermal adaptation.

熱適應	生理適應	心理適應	行為適應
優點	熱適應達成後，可維持的時間較長。	熱適應方式的使用，不受時間地點的限制。	熱適應方式使用後，能達成良好的效果。
缺點	熱適應達成的時間需花費較長。	熱適應達成的效果因人而異，效果穩定性較低。	熱適應方式的使用，受限於對環境的可控制程度。
相同處	1. 都適用於減緩熱環境帶來的壓力。 2. 調查方法皆以問卷調查受測者的熱反應為主。		
相異處	1. 熱適應方式本質上有差異，生理適應主要為調整人類本身的生理狀況，心理適應主要為調整人內心的想法，行為適應則針對外在條件進行改變調整。 2. 熱適應完成的時間上有差異，生理適應的達成需要幾天到幾週的時間才能完成，而心理及行為適應則常是一個觀念的改變或一個行動就可以達成。 3. 常用的研究方法有差異，生理適應主要研究方法為實驗，心理及行為適應則大多為實地調查。 4. 熱適應效果易達成的程度行為適應>心理適應>生理適應。		

資料來源：Brager and de Dear, 1998; Djongyang *et al.*, 2010; Nikolopoulou, 2004; Nikolopoulou and Steemers, 2003; 林子平、林彥廷, 2007; 李建鋒, 2008; 吳芋菁, 2011; 高珮詩, 2007, 本研究整理

## 二、熱適應和熱舒適間的關係

Nikolopoulou與Steemers (2003) 針對熱舒適與熱適應的關係提出說明，表示熱舒適是一種對於熱環境之調適過程，為了達到心理與生理之平衡，進而在心理及行為上產生適應或調適行為。本研究綜合過去熱適應相關研究，將熱適應與熱舒適間的關係，整理提出熱舒適與適應關係架構(圖7)，此架構將環境物理因子至熱適應發生的循環釐清，由此架構顯示，環境物理因子會影響熱感覺、熱舒適、產生壓力影響保護動機，再影響調適行為。社經背景和預期會與環境物理因子共同影響熱感覺，生理回饋控制會影響熱舒適和自主控制，威脅評估影響因子和調適評估影響因子會共同影響保護動機，調適行為和自主控制會共同影響適應及產生成效，調適行為會回饋到環境的熱感覺，成效則會回饋到熱感覺和社經背景。此架構有助於釐清熱舒適與熱適應間的關係，提供未來熱適應與景觀環境調整相關研究一個更明確的思考架構，使得熱適應有更明確的定位。

## 三、熱適應研究的趨勢及未來在景觀環境領域可能的研究方向

### (一) 戶外熱環境為重要探討領域

回顧過去熱適應相關研究可發現，熱適應過去研究於室內熱適應及實驗型研究探討較多，主要的研究主題圍繞於建築物與服裝之間，室外熱適應及理論型研究則發展得較晚，討論也相對較少，目前多圍繞於都市空間和遮蔭效果為主，討論的熱適應方式則集中於少數行為適應方式 (Lin, 2009; 李建鋒, 2008; 林子平、林彥廷, 2007; 鄭明仁等人, 2009)。因此未來在景觀環境領域的研究發展方向，可針對戶外熱環境的熱舒適與熱適應進行探討，全面的了解戶外熱環境不舒適時，民眾會採取的熱適應策略，找出適合用於戶外熱環境之熱適應方式，並可提出適合戶外熱環境研究的量表，做為未來瞭解戶外環境熱適應之測量依據。另可針對民眾於戶外環境的熱適應需求，設計合適的景觀環境，以輔助民眾更容易達到熱舒適。

(二) 心理適應為重要探討領域

由過去研究趨勢可看出過去研究已發現心理適應的重要性，Nikolopoulou與Stemmers (2003) 及Lin *et al.*, (2010a) 皆提及心理適應為一重要的研究領域，而心理適應的探討過去研究相對較分散 (Brager and de Dear, 1998; Lin, 2009; Lin *et al.*, 2010a; Nikolopoulou and Stemmers, 2003; 高珮詩, 2007)，顯示心理適應尚有較多探討空間，因此未來在景觀環境領域的研究可針對心理適應領域進行深入探討，探討民眾於不同環境會採取哪些心理適應方式，有哪些使用方式，及其和其他適應方式的關係。並可透過景觀環境設計，使民眾更容易達成心理適應的轉換。

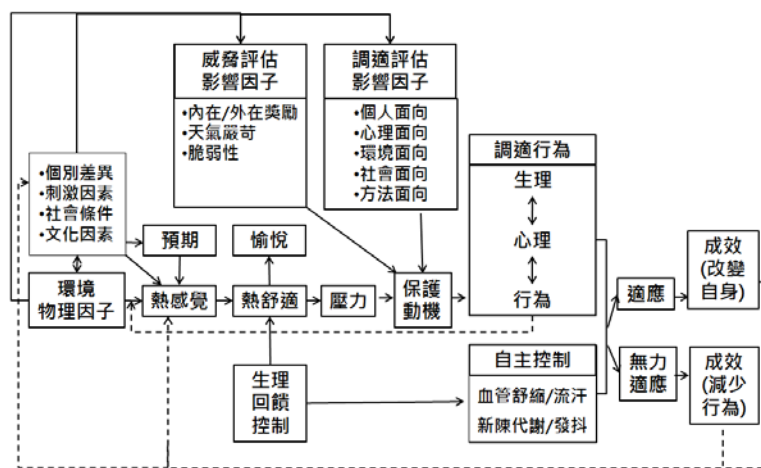


圖 7. 熱舒適與適應關係架構圖

Fig. 7. Relationship between thermal comfort and adaptation relationship chart.

資料來源：本研究繪製

(三) 各種影響因子對熱舒適與熱適應的影響為重要探討領域

目前之熱適應研究主要針對人類因應熱環境的不舒適狀況，所產生的熱舒適與熱適應進行探討，針對其他影響因子對熱舒適與熱適應的影響探討較少，但由過去研究可看出除了溫度、濕度、平均輻射溫度、風速、太陽輻射等環境物理因子，尚有其他影響熱舒適與熱適應的因素存在，因此未來在景觀環境領域的研究，可針對其他景觀、園藝的影響因子或各種人體感官知覺對熱舒適與熱適應的影響進行探討，以釐清各種影響因子對熱舒適與熱適應的影響因素。

(四) 嚴寒與濕熱地區為重要探討區域

針對過去熱適應研究的全球發展區域，可發現氣候較為嚴寒的北歐區域與氣候較為濕熱的東南亞及亞洲地區，由於有較不舒適的天氣，使得熱適應相關研究更為重要，因此未來在景觀環境領域可多發展嚴寒與濕熱地區的熱適應研究，針對嚴寒與濕熱地區的熱適應方式進行深入探討，全面的了解熱環境不舒適時，使用者會採取的熱適應策略，以提高這些環境的舒適度。

## 參 考 文 獻

- 中央氣象局。2014年4月23日。氣候話題：全球暖化與氣候變遷【網站文字資料】。取自 [http://www.cwb.gov.tw/V7/climate/climate\\_info/backgrounds/backgrounds\\_2.html](http://www.cwb.gov.tw/V7/climate/climate_info/backgrounds/backgrounds_2.html)
- 杜月香。1991。建築物理環境。逢甲電腦打字印刷行。
- 李思瑩、盧孟明。2010。近五十年台灣極端高溫之分析。2010台北災害管理研討會論文集：5-6。
- 李建鋒。2008。校園戶外環境熱舒適之研究-以大學、小學為例。逢甲大學建築學系研究所碩士論文。
- 林子平、林彥廷。2007。熱舒適性對戶外遊憩行為及熱適應之影響-以台灣美術館前廣場夏季為例。中華民國戶外遊憩學會主編。第九屆休閒、遊憩、觀光學術研討會論文集第VI篇：358-365。
- 吳芊菁。2011。都市綠園道環境熱舒適與使用者調適行為之研究-以台中市經國綠園道為例。國立中興大學園藝學系研究所碩士論文。170pp。
- 高珮詩。2007。天氣造成遊客壓力與調適行為之研究-以阿里山國家森林遊樂區為例。國立中興大學森林學系研究所碩士論文。69pp。
- 陳啟中。1996。建築物理概論。詹氏書局。
- 黃靜宜。2005。新竹地區居民體感溫度的識覺與衣著調適行為之研究。國立臺灣師範大學地理學系研究所碩士論文。69pp。
- 鄭明仁、羅仁豪、李建鋒。2009。大學校園戶外環境熱舒適性之實測調查研究。建築學報

69 : 1-16 。

- 聶筱秋、胡中凡、唐筱雯、葉冠伶譯。2003。Bell, P.A., T. C. Greene, J. D. Fisher, and A. Baum 著。環境心理學。新加坡商亞洲湯姆生國際出版有限公司。708 pp. 。
- American Psychological Association. 2007. APA dictionary of psychology. APA Press, Washington. DC. 1008 pp.
- ASHRAE. 1992. Standard 55 Thermal Environmental Conditions for Human occupancy. American Society of heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Atlanta.
- ASHRAE. 2004. ASHRAE Standard 55: Thermal Environmental Conditions for Human Occupancy. Atlanta: American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers. Inc.
- Baker, N. and M. Standeven. 1994. Renewable Energy 5 (5-8): 977-984.
- Baker, N. and M. Standeven. 1996. Energy Buildings 24: 175-182.
- Benton, C. C. and G. S. Brager. 1994. Sunset Building: A study of occupant thermal comfort in support of PG&E's advanced customrrtechnology test (ACT2) for Maximum Energy Efficiency. Final Report. CEDR-06-94, Center for Environmental Design Resarch. University of California. Berkeley.
- Black, F. A. and E. A. Milroy.1996. J. Inst. Heat. Vent. Engrs. 34: 188-196.
- Brager, G. S. and R. J. de Dear. 1998. Thermal adaptation in the built environment: a literature review. Energy and Buildings 27: 83-96.
- Carver, C. S., M. F. Scheier, and J. K. Weintraub. 1989. Assessing coping strategies: a theoretically based approach. Journal of Personality and Social Psychology 56: 267-283.
- Cena, K. M., J. R. Spotila, and H. W. Avery. 1986. ASHRAE Trans. 92(2): 329-342.
- Chung, T. M. and W. C. Tong. 1990. Building Environ. 25(4): 317-328.
- de Dear, R. and G. Brager. 1998. Developing an adaptive model of thermal comfort and preference. ASHRAE Trans. 104(1): 27-49.
- de Dear, R. J., K. G. Leow, and A. Ameen. 1991. ASHRAE Trans. 97(1): 880-886.
- Djongyang, N., R. Tchinda, and D. Njomo. 2010. Thermal comfort: A review paper. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14: 2626-2640.
- Fanger, P. O. 1972a. Thermal Comfort. McGraw Hill: New York.
- Fanger, P. O. 1972b. Biometeorology 2: 31-41.
- Fanger, P. O. 1973. Conditions for thermal comfort-a review. In the Symposium on Thermal Comfort and Moderate Heat Stress (CIBW45). Garston.
- Fanger, P. O. and G. Langkilde. 1975. ASHRAE Trans. 81(2): 140-147.
- Fanger, P. O., J. H. Hohjene, and J. O. B. Thomsen. 1977. Int. J. Biometeorol. 21(1): 44-50.
- Fishman, D. S. and S. L. Pimhcrt. 1982. Energy Buildings 5(2): 109-116.

- Givoni, B. 1992. *Energy Buildings*. 18(1): 11-23.
- Gonzalez, R. R. 1979. Role of natural acclimatization (cold and heat) and temperature: effect on health and acceptability in the built environment. In: *Indoor Climate Danish Building Research Institute*, Fanger and Valborn (eds.), Copenhagen. pp. 737-751.
- Hensel, H. 1981. Thermoreception and temperature regulation. In: *Monographs of the physiological society* 38. Academic Press. London.
- Hensen, J. L. M. 1991. On the thermal interaction of building structure and heating and ventilating system. Unpublished doctoral dissertation, Technische Universiteit Eindhoven.
- Humphreys, M. A. 1975. Field studies of thermal comfort compared and applied. U.K. Department of Environmental Building Research Establishment. Current Paper.
- Humphreys, M. A. 1994a. *Renewable Energy* 5 (ii): 985-992.
- Humphreys, M. A. 1994b. Field Studies and climate chamber experiments in thermal comfort research. In: *Thermal Comfort: Past, Present and Future*. Oseland and Humphreys (eds.), BRE, UK.
- Hwang, R. L. and C. P. Chen. 2010. Field study on behaviors and adaptation of elderly people and their thermal comfort requirements in residential environments. *Indoor Air* 20(3): 235-245.
- Hwang, R. L., T. P. Lin, M. J. Cheng, and J. H. Lo. 2010. Adaptive comfort model for tree-shaded outdoors in Taiwan. *Building and Environment* 45(8): 1873-1879.
- Indraganti, M. 2010. Behavioural adaptation and the use of environmental controls in summer for thermal comfort in apartments in India. *Energy and Buildings* 42(7): 1019-1025.
- ISO 7730. 1994. Moderate thermal environments-determination of the PMV and PPD indices and specification of the conditions for thermal comfort. International Standard Organization. Geneva.
- James, D. A. P. and S. E. Norman. 1992. Coping with coping assessment: a critical review. *European Journal of Personality* 6: 321-344.
- Kahneman, D. and A. Tversky. Eds. 2000. *Choices, values, and frames*. Cambridge University Press, New York. 840pp.
- Keller, M. C., B. L. Fredrickson, O. Ybarra, S. Cote, K. Johnson, and J. Mikels. 2005. A warm heart and a clear head – the contingent effects of weather on mood and cognition. *Psychological Science* 16: 724–31.
- Leaman, A. and B. Bordass. 1993. Building design, complexity and manageability. *Facilities* 11 (9): 16-27.
- Lin, T. P. 2009. Thermal perception, adaptation and attendance in a public square in hot and humid regions. *Building and Environment* 44(10): 2017-2026.

- Lin, T. P., R. J. de Dear, and R. L. Hwang. 2010a. Effect of thermal adaptation on seasonal outdoor thermal comfort. *Int. J. Climatol.* (in press, DOI: 10.1002/joc.2120).
- Lin, T. P., R. L. Hwang, K. T. Huang, C. Y. Sun, and Y. C. Huang. 2010b. Passenger thermal perceptions, thermal comfort requirements, and adaptations in short- and long-haul vehicles, *International Journal of Biometeorology*. *Int. J. Biometeorol.* 54: 221–230. DOI 10.1007/s00484-009-0273-9
- Lin, T. P. and A. Matzarakis. 2008. Tourism climate and thermal comfort in Sun Moon Lake. *Int. J. Biometeorol.* 52: 281-290.
- Nakano, J. and S. Tanabe. 2004. Thermal comfort and adaptation in semi-outdoor environments. *ASHRAE Trans.* 110(2): 543-553.
- Nicol, J. F., G. N. Jamy, O. Sykes, M. A. Humphreys, S. Roaf, and M. Hancock. 1994. A survey of comfort temperatures in Pakistan: towards new indoor temperature standards, School of Architecture. Oxford Brookes Univ., England.
- Nicol, J. F. and I. A. Raja. 1996. Thermal comfort, time and posture: exploratory studies in the nature of adaptive thermal comfort. School of Architecture, Oxford Brookes Univ.. England.
- Nikolopoulou, M. 2004. Designing open spaces in the urban environment: a bioclimatic approach. Greece: C.R.E.S..
- Nikolopoulou, M. and Steemers, K. 2003. Thermal comfort and psychological adaptation as a guide for designing urban spaces. *Energy Build.* 35: 95-101.
- Rohles, H. 1980. Temperature or temperament: a psychologist looks at thermal comfort. *ASHRAE Transactions* 86(1): 5-13.
- Rowe, D. M., W. G. Lambert., and S. E. Wilke. 1995. Pale green, simple and user friendly: occupant perceptions of thermal comfort in office buildings. In: *Standards for Thermal Comfort*. Nicol, Humphreys, Sykes, and Roaf (eds), E and FN Spon. London. pp. 59-69.
- Spagnolo, J. and R. J. de Dear. 2003. A field study of thermal comfort in outdoor and semioutdoor environments in subtropical Sydney Australia. *Build. Environ.* 38: 721-738.
- Stewart, A. E. 2009. Psychological Perspectives on Adaptation to Weather and Climate. In *Biometeorology for Adaptation to Climate Variability and Change*, Ebi, Burton, and McGregor (eds.), Germany: springer pp. 211-232.
- Yao, R., B. Li, and J. Liu. 2009. A theoretical adaptive model of thermal comfort adaptive predicted mean vote (aPMV). *Build. Environ.* 44: 2089–2096.

## Development and Perspective on Thermal Adaptation of Landscape Environmental Research

Yen-Fen Hsieh <sup>1)</sup>    Chen-Fa Wu <sup>2)</sup>    Sheng-Jung Ou <sup>3)</sup>

Key words: Thermal environment, thermal comfort, coping behavior

### Summary

After the mid-20th century, by the impact of global warming and climate change, the global average temperature is gradually increased, the ratio of extreme weather events is also relatively increased. This makes thermal adaptation issues become important. However, thermal adaptation of trend and future directions are still very vague. The purpose of this study is to clarify the relationship between the different thermal adaptation method, and the relationship between the thermal adaptation method and thermal comfort in order to propose thermal adaptation research and possible future trends in research used and as a reference for future landscape research development. In this study, using literature review method was 35 thermal adaptation researches were reviewed. In discussing the importance of thermal adaptation and thermal comfort studies, the study identified five topics: theoretical definitions, survey methodology, the important results of thermal adaptation research, thermal adaptation classification, thermal adaptation model, to better understand the thermal adaptation theory. The results showed the advantages and disadvantages, similarities and differences each physiological, psychological and behavior adaptation. People most commonly used behavioral adaptation, but the psychological adaptation had also great effects on thermal comfort. Thermal discomfort would generate pressure to influence the protection motivation, then influence thermal adaptation. The study suggested that the important research field include the outdoor thermal environment, psychological adaptation, and various factors on the thermal comfort and thermal adaptation. Furthermore, the cold and damp-hot areas are the important areas to be researched in the future.

---

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

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

Corresponding author.

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

# 興大園藝

第三十九卷 第四期

Mulberry Production and Research in Taiwan: from Sericulture to Horticulture and Human Health

- ...L. Y. Chang, W. L. Wu, P. Aroonpong, C. Y. Chung, and J. C. Chang..... 1  
疏花序對'糯米糍'(73-S-20)荔枝花性、著果與果實品質之影響  
.....王藝翰、張哲嘉.....13  
'台農4號'鳳梨誘變育種之研究  
.....陳瑀芳、陳京城.....29

Effects of GA3 and CPPU on Fruit Quality in Seedlessness

Oval Kumquat (*Fortunella margarita* Swingle)

- .....N. Promtong, C. L. Lee, and Y. S. Yang.....41

The Effect of Inflorescence Removal on the Formation and Flowering of Lateral Bud in 'Irwin' Mango (*Mangifera indica* L.)

- .....Rumpai Nampila, and H. L. Lin.....51

春石斛蘭品種(系)之親緣關係的研究

- .....林育聖、董怡君、王昭月、陳俊麟、曾夢蛟.....67

吡啶丁酸對不同成熟度喜樹插穗於十二月扦插萌芽與發根之影響

- .....陳義宏、林瑞松.....83

Seed Germination *In Vitro* and Plantlet Establishment of *Dendrobium*

*victoria-reginae* Loher. var. *miyakei* (Schltr.) Liu & Su

- .....F. Yunita, Y. T. Chiu, S. W. Chung, and C. Chang.....95

國立中興大學園藝學系編印

中華民國一〇三年十二月

## Mulberry Production and Research in Taiwan: from Sericulture to Horticulture and Human Health <sup>1)</sup>

Lan-Yen Chang <sup>2)</sup> Wan-Ling Wu <sup>3)</sup> Piyathida Aroonpong <sup>4)</sup>

Chen-Yu Chung <sup>4)</sup> Jer-Chia Chang <sup>5)</sup>

Keyword: multiple utility, classification, breeding, introduction

### Summary

Mulberry (*Morus* spp.) production has contributed to the development of the sericulture industry in Taiwan for 300 years, but peaking during the 1970s. Since the 1990s, mulberry has been raised the issues concerning on horticultural, food industry and human health due to its multiple uses and functional components. For promoting industrial development through a breeding program to improve the existed varieties, studies focusing on reevaluation of taxonomical and genetic relationship, pest/disease resistance, cytogenetics, distant hybridization, marker-assisted selection (MAS) of genes linked to known phenotypic traits, the mapping of quantitative trait loci (QTL) and even functional genomic are being or soon to be undertaken. In addition, aspects in cultivation physiology and postharvest techniques are also being exploited to increase productivity and to extend the shelf-life of mulberries for fresh markets.

- 
- 1) This manuscript has been oral presented in the 23rd International Congress on Sericultural and Silk Industry, 24-27 November, 2014, Bangalore, India, which was sponsored by Ministry of Science and Technology, Executive Yuan, Taiwan, ROC.
  - 2) Assistant researcher, Tainan District Agricultural Research and Extension Station.
  - 3) Assistant researcher, Taipei Branch Station, Taoyuan District Agricultural Research and Extension Station.
  - 4) Graduate Student in Master Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
  - 5) Assistant Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.  
Corresponding author.

## **Introduction**

Mulberry (*Morus* spp.) is an economically important perennial plant. It was probably originated in western south China and the Himalaya foothills (Sánchez, 2000; Vijanyan *et al.*, 2004). The domestication of the mulberry began thousands of years ago, and the worldwide spread of the plant began in 419 AD. Mulberry is now distributed at altitudes from 0 to 4000 m, and from between 50°N to 10°S, with large diversified populations in China, India, Japan and Turkey. Three main mulberry species, white (*Morus alba*), black (*M. nigra*) and red (*M. rubra*), are extensively cultivated (Minamizawa, 1976). The mulberry has been developed for various uses, such as the sole feeding food for silkworms in sericulture, the berry production for fresh/processing market, as the medical substitutes of drugs for diabetes (Asano *et al.*, 1994) and as a sedative (Machii, 1990). Some varieties with fascinating canopies are also attractive for landscaping (Chang, 2006; Chang *et al.*, 2014; Lin and Lu, 2001; Yamanouchi *et al.*, 2009). This charming plant is likely soon to catch everyone's eye once more.

## **Industrial history of the mulberry in Taiwan**

In Taiwan, indigenous mulberry species grew wildly but they were not utilized until the 17th century. In AD 1661, people from China brought silkworm eggs to Taiwan and tried to produce silk. The first 'Alien' mulberry species was introduced from China in 1683 (Lien, 2009). However, successful cultivation of the plant was begun to feed silkworms in 1896 when Taiwan was ruled by the Japan. Due to its warm climate, Taiwan was a base for silk production and in the 1900s, the Taiwanese people were encouraged to feed the silkworms and plant the mulberry. The plantation area reached 700 hectares (Fig. 1).

Some wild mulberries were collected for their superior leaf yield and quality, such as 'Sakuma' ('Taisang No. 1'), a variety that was selected for foliage (Table 1). Some varieties were introduced from Japan for further breeding. However, the production was suspended in 1941 because of the Pacific War (Lin and Lu, 2001; Compilation Committee of Sericulture and Apiculture Experiment Station, 1997).

After the war, the government of Taiwan, the Republic of China took over the reconstruction of mulberry farms and the silk industry as part of its program of economic recovery. From 1963 to 1973, the increasing international demand for silk caused many people to enter the industry. The economical mulberry production area grew to 3000 ha and the amount of dried cocoons exports reached 466 tons a year (Fig. 1). Currently, the germplasm of mulberry in Taiwan includes 176 accessions for foliage and 62 for berry usages. Nowadays, there are 11

commercial cultivars for foliage, berry production and ornamental purposes are available, which were 3, 6 (Fig. 2) and 2 for each use mentioned above, respectively (Table 1). Potential cultivars for breeding were introduced from Japan, Australia, South Asia and Central America. Practices of orchard management have been improved and a breeding program to increase the efficiency of production has been established. However, owing to increasing labor costs and technical barriers to trade of Japan market in the 1980s, the production of both silk and leaf mulberry was limited (Lin and Lu, 2001; Compilation Committee of Sericulture and Apiculture Experiment Station, 1997). Fortunately, the industry has been moving toward more to versatile horticultural, food and human healthy purpose since 1995 (Chang, 2006). The area of mulberry production is now 100 hectares, but the demand for berry, processing products, and related functional healthy food is rising. To meet the need of nowadays leisure life, the ecological tourism and pick-your-own farm have also arisen from old mulberry farms. The rising of online shopping and home delivery services also accelerated the stream of ready-to-eat fresh mulberry products from farmers to custom (Fig. 3).

Some varieties were introduced from Japan for further breeding. However, the production was suspended in 1941 because of the Pacific War (Lin and Lu, 2001; Compilation Committee of Sericulture and Apiculture Experiment Station, 1997). Some varieties of mulberry with special canopies are used in landscaping and gardening. Functional compounds that found in mulberry fruits, leaves and even the whole tree are characterized to be involved in various bioactive pathways in human health and some of them are of great value in developing a potential therapy for diabetes, cardiovascular disease and cancer (Asano *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 2006; Machii, 1990) The mulberry industry in Taiwan is entering a new era.

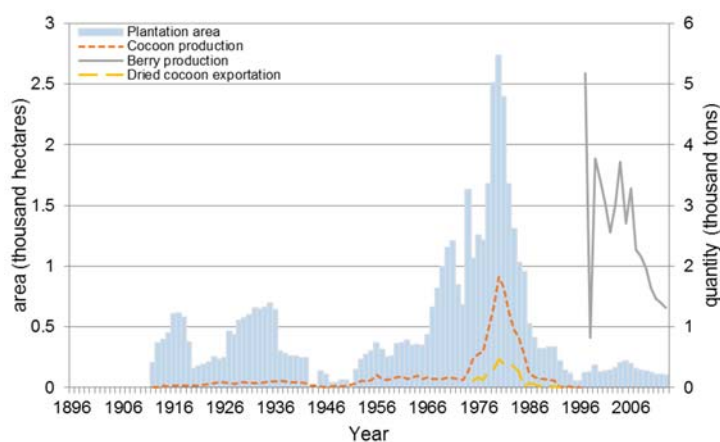


Fig. 1. Mulberry plantation area, the amount of cocoon production, dried cocoon exportation and berry production in 1896 to 2013.

Table 1. Origin and traits of main cultivated mulberry varieties in Taiwan

Variety name	Use*	Origin (year/originator)	sex	Yield / tree	Traits	Year of release
'Taisang No. 1' (Sakuma')	F	1919/selected from wild	male	815 g	evergreen	renamed as 'Taisang No. 1' since 1945
'Taisang No. 2'	F	1967/bred by Chung-Chih Hsieh 44C005×46C022	female	1667 g	evergreen	1978
'Taisang No. 3'	F	1967/bred by Chung-Chih Hsieh 44C005×46C020	male	1492 g	evergreen	1978
'Taisang No. 19'	B	1957/selected in Taipei	female	18.9 Kg	Fruit with purple black, weight: 5g; soluble solids 5°Brix, acidity: 0.9%	Commercially available
'Miaoli No. 1'	B	1983/selected in Dahu, Miaoli by Ming-Wen Chang/bred by Jer-Chia Chang	female	21.4 Kg	Fruit with purple black, weight: 6.1 g; 7.7 °Brix, acidity: 0.8 %	2006
'Elongated fruit No. 1'	B	1981/indirectly introduced from south Africa by Deng-Jen Wu	female	5.6 Kg	Fruit with purple red, weight: 6.5 g; 20.3 °Brix, acidity: 0.7%	Commercially available
'Shiaying'	B	2004/Selected in Shiaying, Tainan by Jer-Chia Chang	female	19.5 Kg	Fruit with purple black, weight: 5.8 g; 14 °Brix, acidity: 0.7%	Commercially available
'Miaoli No. 2'	B	1985/ bred by Jinn-Tsair Lin Taisang No. 19×Taisang No. 3	female	High yield	Fruit with purple black, weight: 5.1g; 10.9 °Brix, acidity: 0.6%	2012
'Black diamond'	B	2000/Selected by Jeng-Yuan Huang in Shuilin, Yunlin	female	High yield	Fruit with purple black, weight: 6.7 g; 8 °Brix, acidity: 0.6%	Commercially available
'Shidareguwa'	L	1980/ from Japan	female	-	Small fruit (2-3g); soft and weeping canopy	Commercially available
'Unryuu'	L	1985/ from Japan	male	-	z-bending canopy	Commercially available

\*Eleven commercialized accessions and their uses in Taiwan were specifically indicated according to Chang (2006, 2008); Chang *et al.* (2008); Chang and Chang (2010); Chang *et al.* (2014). Note: F, Foliage; B, berry; L, Landscaping and gardening.



Fig. 2. Commercial available accessions for berry production in Taiwan: 'Elongated fruit No. 1', 'Taisang No. 19', 'Miaoli No. 1', 'Shiaying' (Left) and 'Black Diamond' (right).



Fig. 3. The package and storage procedures for berries after harvest.

## Research advances in mulberry

Mulberry is a wind-pollinated and highly heterozygous plant that evolved a complex population and has easily been domesticated to suit various environments. Over 68 species have been identified, but confusions of nomenclature and classification have occurred, thus resulting in an impact on breeding programs. Carl von Linné (1753) started the study of scientific classification and scholars worked hard to make the system morphologically (Koidzume, 1917; Hotta, 1954; Chang, 2006) and molecularly (Hirano, 1982; Sharma *et al.*, 2000; Vijayan *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2007) consistent. Recently, a breakthrough in classification using vegetative traits and chilling requirements has helped to construct a new unbiased key for identifying different sexual patterns of mulberry in Taiwan (Table 2; Chang *et al.*, 2014).

Table 2. A key for indentifying *Morus* spp. in Taiwan using vegetative characters and chilling requirement as identification traits. (Chang *et al.*, 2014)

---

A. Ovate acute-like bud during the dormant period, arrow-like bud during vegetative growth; wider petiole, leaf length/width ratio greater than 1.4, densely acute margin, dark green leaf, higher chilling requirement.	..... <i>M. laevigata</i>
AA. Longideltoid bud during the dormant period, arrow-like bud during vegetative growth, leaf length/width ratio greater than 1.4, longer leaf blade.	
B. Light green leaf with serrate margin, acuminate apex; medium chilling requirement.	..... <i>M. atropurpurea</i>
BB. Dark green leaf with serrate margin, caudate to long caudate apex.	
C. Higher chilling requirement.	..... <i>M. bombycis</i>
CC. No chilling requirement, evergreen.	
D. Green growing bud.	..... <i>M. australis</i>
DD. Red to purple growing bud.	..... <i>M. formosensis</i>
AAA. Orthodeltoid bud during dormant period, rosette bud during vegetative growth; leaf length/width ratio less than 1.4; round leaf blade, acute or obtuse apex; higher chilling requirement.	
E. Thin leaf blade, obtuse margin, shallowly or deeply cordate base.	..... <i>M. alba</i>
EE. Thick leaf blade, crenate margin, deeply cordate base.	..... <i>M. latifolia</i>

---

Nowadays, mulberry species in Taiwan are classified to (1) *Morus laevigata*; (2) *M. atropurpurea*, *M. bombycis*, *M. australis* and *M. formosensis*; (3) *M. alba* and *M. latifolia*. The result were supported by previous studies that have used traditional classification system (Lin and Lu, 2001; Chang, 2006) and the genetic diversity analysis using RAPD and ISSR marker (Lu *et al.*, 2008). However, the diversity of mulberry species in Taiwan is relatively low.

Researches into cytogenetics, micropropagation, and the modification of sexual expression have been performed to increase the efficiency of breeding. Chang *et al.* (2008) demonstrated that most mulberry accessions in Taiwan are diploids, but 'Elongated fruit No. 1' (*M. laevigata*) is a triploidy. Tissue culture systems of *Morus latifolia* and *M. laevigata* were established from axillary buds (Lu, 2002; Lu, 2003), and later the progress in *M. alba* var 'Shidareguwa' showed preliminary results (Aroonpong, 2014). In the research of functional components, berry of mulberry contains high levels of anthocyanins and has the greatest capacity of antioxidation among the fruits in Taiwan (Chen *et al.*, 2004). The alkaloid in leaves, 1-deoxyjirimycin (1-DNJ), showed its potential in diabetes control (Asano *et al.*, 1994) and skin-whitening (Vijayan *et al.*, 2011).

Other researches have focused on solving problems in the production, such as, (1) the lack of excellent varieties for fresh market and long shelf-life of berries; (2) the need for integrated pest and disease management, especially for mulberry longhorn beetle (*Apriona* spp.) and popcorn disease (*Ciboria shirana*); (3) the need for low cost labor to solve the problem of grower aging and (4) the need for the postharvest techniques that prolong shelf-life of table berries, such as 'Shiaying' and 'Elongated fruit No. 1'. Mulberry is the fruit with high respiration rate and moderate ethylene production rate after harvest. Lower the storage temperature helps to extend the fruit quality. Decay was also the major factor of the yield loss after harvest. Fruits radiated ultraviolet-C (UV-C) with 2.40 kJ·m<sup>-2</sup> reduced postharvest decay (Tseng *et al.*, 2013). We hope the research results are helpful to boost the development of mulberry into a promising condition and to attract young people to the industry in the future.

## Future Prospects

In Taiwan, 11 cultivars are now commercially cultivated for the berry, foliage, and landscaping purposes (Table 1). An outstanding variety that produces superior berries with high yield or has a high resistance to popcorn disease and mulberry longhorn beetles is still needed. Owing to the limited gene pool, we attempt to introduce legally promising species to satisfy various breeding purposes. In addition, advances in breeding program, such as distant

hybridization, mutation, quantitative trait loci (QTL) mapping, marker-assisted selection (MAS) and even the functional genomic of superior horticultural traits, pest/disease resistance, and high level of functional compounds, are also being made. Other research is dedicated to the improvement of cultivation and postharvest techniques for production of high-quality berries. We are looking forward to preceding an international cooperation project for a better future for the mulberry industry.

### Reference

- Asano, N., E. Oseki, E. Tomioka, H. Kizu, and K. Matsui. 1994. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydr. Res.* 259: 243-255.
- Aroonpong, P. 2014. Studies on propagation of tissue culture seedlings in mulberry (*Morus alba* var. Shidareguwa). Master dissertation, National Chung Hsing University.
- Chang L. Y., K. T. Li, W. J. Yang, J. C. Chang, and M. W. Chang. 2014. Phenotypic classification of mulberry (*Morus*) species in Taiwan using numerical taxonomic analysis through the characterization of vegetative traits and chilling requirements. *Sci. Hort.* 176: 208-217.
- Chang, L. Y., J. C. Chang, M. C. Chung, W. J. Yang, K. T. Li, and M. W. Chang. 2008. Determining genome size and ploidy in *Morus* by flow cytometry, The first Asian Horticultural Congress, abstract pp.56., Dec. 10-13, Seoul, Korea.
- Chang, J. C. 2006. Taxonomy and cultivar improvement of mulberry in Taiwan. *J. Taiwan Soc. Hort. Sci.* 52: 377-392. (in Chinese with English summary)
- Chang, J. C. 2008. 'Miaoli No. 1' mulberry: a new cultivar for berry production. *HortScience* 43: 1594-1595.
- Chang, J. C. and M. W. Chang. 2010. 'Elongated fruit No. 1' mulberry: an elite cultivar for fresh consumption. *J. Am. Pomol. Soc.* 64: 101-105.
- Chang, J. C., M. W. Chang, and L. Y. Chang. 2014. 'Shiaying' mulberry: a promising cultivar for fresh consumption and processing. *J. Am. Pomol. Soc.* 68: 33-39.
- Chen, P. N., S. C. Chu, H. L. Chiou, W. H. Kuo, C. L. Chiang, and Y. S. Hsieh. 2006. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer Letters* 235: 248-259.
- Chen, T. Y., N. S. Shaw, W. J. Yang, and T. S. Lin. 2004. Research on the antioxidant activity of fruits produced in Taiwan. *J. Chinese Soc. Hort. Sci.* 50: 592 (Abstract).

- Compilation committee of sericulture and apiculture experiment station. 1997. The history of sericulture and apiculture experiment station. p.89-90. Sericulture and apiculture experiment station, Gongguan, Miaoli.
- Hirano, H. 1982. Varietal difference of leaf protein profiles in mulberry. *Phytochemistry* 21: 1513-1518.
- Lien, H. 2009. General history of Taiwan. (5th edition) Department of Economic Research (ed.), Jong Wen Books Co., Taipei.
- Linné, C. 1753. *Morus*. In: C. Linné (ed.), *Species plantarum*. Vol. 2. Stockholm, Sweden. pp. 968.
- Lin J. T. and H. S. Lu. 2001. Study on mulberry production in Taiwan. *Sci. Agri.* 49: 281-287. (Chinese)
- Lu, M. J. 2002. Micropropagation of *Morus latifolia* Poilet using axillary buds from mature trees. *Sci. Hort.* 96: 329-341.
- Lu, M. J. 2003. Tissue culture of *Morus laevigata* Wall using axillary buds. *J. Taiwan Soc. Hort. Sci.* 49: 251-258. (with English abstract)
- Lu, M. J., X. M. Lin, Y. B. Wang, and T. E. Dai. 2008. Identification of genus relationship of mulberry by using RAPD and ISSR analysis, p.11, 2008 AgBio exhibition, Taipei, Taiwan. (abstract)
- Machii, H., A. Koyama, and H. Yamanouchi. 2000. FAO electronic conference: Mulberry for animal production. <<http://www.fao.org/livestock/agap/frg/mulberry>>
- Minamizawa, K. 1976. *Moriculture: Basic and application*. Houmeishia publishing, Tokyo, Japan. pp. 127-129.
- Sánchez M. D. 2000. World distribution and utilization of mulberry, potential for animal feeding. FAO Electronic conference on mulberry for animal production. 21 Sep. 2014. <<http://www.fao.org/livestock/agap/frg/mulberry/Papers/HTML/Intro.htm>>
- Sharma, A., R. Sharma, and H. Machii. 2000. Assessment of genetic in a *Morus* germplasm collection using fluorescence-based AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1049-1055.
- Tseng, W. B., T. T. Wang, Y. T. Liou, and C.T. Wu. 2013. Ultraviolet-C radiation elicits trans-resveratrol accumulation and reduces postharvest decay in 'Miaoli No. 1' mulberry fruit. *J. Taiwan Soc. Hort. Sci.* 59: 29-42. (with English abstract)
- Vijayan K., P. P. Srivastava, and A. K. Awathi. 2004. Analysis of phylogenetic relationship among five mulberry (*Morus*) species using molecular markers. *Genome* 47: 439-448.
- Vijayan, K., T. A. Tikader, W. Zhao, C. V. Nair, S. Ercisli, and C. H. Tsou. 2011. *Morus*. In: Kole, C. (ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Tropical and Subtropical Fruits*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg. pp. 75-95.

Yamanouchi, H., A. Koyama, H. Machii, T. Takyu, and N. Muramatsu. 2009. Inheritance of a weeping character and the low frequency of rooting from cuttings of the mulberry variety 'Shidareguwa'. *Plant Breed.* 128: 321-323.

Zhao, W., Y. Wang, T. Chen, G. Jia, X. Wang, J. Qi, Y. Pan, S. Wang, Z. Li, Y. Huang, Y. Pan, and Y. H. Yang. 2007. Genetic structure of mulberry from different ecotypes revealed by ISSRs in China: An implications for conservation of local mulberry varieties. *Sci. Hort.* 115: 47-55.

## 臺灣桑業發展歷程:從蠶桑、園藝到人體健康<sup>1)</sup>

張 嵐 雁<sup>2)</sup> 吳 婉 苓<sup>3)</sup> 彭 美 嘉<sup>4)</sup>  
鍾 鎮 宇<sup>4)</sup> 張 哲 嘉<sup>5)</sup>

關鍵字：蠶桑、種原、分類、育種、品種

**摘要：**臺灣桑樹(*Morus* spp.)產業隨蠶業而起逾 300 年，於 1970 年代達到巔峰，惟 1990 年代起因政策及市場供需失衡之雙重壓力下而面臨轉型。桑樹全株皆可利用，並具多樣機能性物質，產業可朝向園藝(果用、觀賞用)、食品加工及機能性功能(藥用、養生及美白)等用途發展。為提昇產業競爭力，並達抗病蟲害、高機能性成份、多元用途、穩產及質優之育種目標，種原親緣分析、細胞遺傳、遠緣雜交、與優良性狀連鎖的分子標誌進行輔助育種(Marker-assisted Selection, MAS)，甚至探討數量性狀基因座定位(quantitative trait loci mapping, QTL mapping)等相關研究已陸續展開。此外，為提高鮮果品質、產量及延長貯架壽命，相關栽培生理及採後處理技術之試驗亦分別進行中。

- 
- 1) 本文曾於第 23 屆國際蠶業研討會口頭宣讀 (2014 年 11 月，班加羅爾，印度)，並獲科技部經費之資助。
  - 2) 行政院農業委員會臺南區農業改良場助理研究員。
  - 3) 行政院農業委員會桃園區農業改良場台北分場助理研究員。
  - 4) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。
  - 5) 國立中興大學園藝學系助理教授，通訊作者。



## 疏花序對 '糯米糍' (73-S-20) 荔枝花性、著果 與果實品質之影響<sup>1)</sup>

王 藝 翰<sup>2)</sup> 張 哲 嘉<sup>3)</sup>

關鍵字：荔枝、疏花序、花性、著果、果實品質

**摘要：**為評估疏花序能否改善 '糯米糍' (73-S-20) 荔枝之果實生產，以彰化縣芬園鄉簡氏果園(民國 101 年)與南投縣集集鎮簡氏果園(102 年)之 11 年生以上植株為材料，分別於偏雌花盛開前 1 週(101 年)及前 3 週(102 年)將花序修剪(疏)至僅 2-3 主枝(約疏去 40%-50%小花)，調查對花性、著果、葉果比、結實期萌梢率及果實性狀之影響，並以未修剪花序者為對照組。於芬園試區，疏花序未影響植株最終之著果數(2 /cluster)、著果率(3% /cluster)、採收時葉果比 (8)、果實生育期間之萌梢率(95%)與採收時之果實品質。於集集試區，疏花序之總花數雖少於對照組(837 vs 1805/ inflorescence)，但偏雌花比例高於對照組(8.2% vs 4.6%/ inflorescence)。此外，疏花序者其採收時之著果數、著果率、葉果比及結果枝萌梢率分為 5、2%、6、及 37%，均與對照組無差異；果實性狀除果皮重較對照組為輕(2.1g vs 2.5g)外，其餘包括單果重(13.2g)、果肉重(10.3g)、種子重(0.8g)及糖度(20.5°Brix)皆無差異。結果顯示，除盛花前 3 週疏花序可改變花性比例之外，此處理未影響 '糯米糍' (73-S-20) 荔枝之著果與果實品質。

### 前 言

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)為原產中國華南之亞熱帶常綠果樹，在台約有 200 餘年栽培歷史，至 2012 年止其栽培面積約達 11,638 公頃(農業統計年報，2013)，為我國重要經

- 
- 1) 本文為第一作者碩士論文之部份。
  - 2) 國立中興大學園藝學系研究生。
  - 3) 國立中興大學園藝學系助理教授，通訊作者。

濟果樹之一。多年來國內荔枝產業因栽培品種單一(以'黑葉'為主,約佔80%以上),造成產期過於集中、產銷失衡,導致價格低落的情形時有所聞,成為產業問題,故推廣與'黑葉'產期相異且品質優良之品種,以達分散產期之目的,成為產業努力方向目標(Chang *et al.*, 2009)。「糯米糍」(73-S-20)為近年台灣備受矚目之晚熟荔枝品種,具有果皮色澤艷紅、果肉清甜細緻及焦核之優點(顏等, 1995)。深受業界期待及消費者歡迎,但因結實不良、生產力偏低等現象,影響該品種之推展,成為產業發展的瓶頸(Chang *et al.*, 2009)。

荔枝具有小果期大量落果、生產力偏低之問題,多數國家每公頃年產量僅約3-5公噸,遠低於其它果樹,此現象除授粉、受精不良之外,一般亦認為與小花數、偏雌花比例與花序間、內之同化物競爭有關(Stern and Gazit, 2003; Davenport and Stern, 2005)。荔枝小花數量隨品種而異,每花序自數千到上萬朵不等,其花性可分為雄花(male flower;  $M_1$ )、偏雌花(hermaphrodite function as female flower; F)及偏雄花(hermaphrodite function as male flower;  $M_2$ ),其中僅偏雌花具結實能力,因此偏雌花之多寡可能影響荔枝著果潛力(Mustard, 1960; Robbertse *et al.*, 1995)。

花序大小被認為與花性比例表現有關,長花序具有較高雄花率,短花序則具有較高雌花率(Wang and Qiu, 1997; 李, 2007)。除了張和林(2003)以樹勢強健之'玉荷包'植株為材料、並於盛花前1週疏花序,未能提升荔枝偏雌花比例或著果外,多數研究之結果與之相反(Wu *et al.*, 2001; 李, 2007; 黃, 2003),顯示疏花序可能有利於果實生產。此外,鄧(1988)認為'玉荷包'具有長花序特徵,可能因大量雄花消耗過多養分,而導致幼果期大量落果。Chen *et al.* (2013)觀察不同花序長度對'玉荷包'著果之影響,認為較長之花序不利於著果。Jiang 等人(2012)調查大型花序'Feizixiao'及小型花序之'Baitangying'之著果與碳水化合物消耗,發現於開花期間前者較後者消耗更多的碳水化合物,著果率遠低於後者。

同為台灣荔枝主力品種的'玉荷包'亦具有產量不穩定之特性,近年來該品種已發展出疏花序技術用以增加著果(顏, 1995、鄧等, 2005)。「糯米糍」(73-S-20)雖然屬中小型花序,小花數僅'玉荷包'之 $1/2 \sim 1/3$ ,但相較於'玉荷包',其葉片淨光合成能力低下甚多( $6.5-8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  vs  $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ),小果間的對於光合產物之競爭可能更為明顯(張, 2004b)。此外,荔枝偏雌花比例被認為和著果率成正比(Stern and Gazit, 2003),故過多或不必要的花序可能於花芽發育及開花初期消耗樹體較多的養分,疏花序可能有助於同化合物分配至偏雌花、增加偏雌花比例、減緩小果間的競爭,進而達到改善著果及果實品質的效果。因此,中部果農於最近數年,亦開始對本品系進行疏花處理,但效果不一、所費不貲而且機制不明,遂成為學界與業界關注的焦點(張哲嘉, 未發表資料)。

朱(2008)雖曾報導疏花序並不影響'糯米糍'(73-S-20)最終之著果率,但該研究疏花序之方法係比照'玉荷包'之方式-將整個龐大叢生花序除至剩下單支、再將單支上的小花除去約 $1/2$ 至 $2/3$ (張和林, 2003),也未調查花性比例與果實發育期間著果率之變化,況且疏花序之效果可能受樹體條件影響,在樹勢較弱之植株可能具有較明顯之效益(張和林, 2003)。而'糯米糍'(73-S-20)目前業界之疏花方式是將叢生之花序自基部除去(thinning out)

約 40-50%，未再對所餘花序上之小花進行除花(圖 1)。本試驗擬探討疏花序能否影響該品系之果實生產及釐清其可能原因，試驗之結果除可增加對荔枝結實生理的瞭解外，並供發展保果策略及果園栽培管理之參考。



圖 1. '糯米糍' (73-S-20) 荔枝疏花序示意圖。

Fig. 1. Inflorescences thinning in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi.

## 材料與方法

試驗分別假彰化縣芬園鄉簡氏之 11 年生果園(民國 101 年 3 月至 6 月)與南投縣集集鎮簡氏之 20 年生果園(民國 102 年 3 月至 6 月)進行。各以完全隨機方式(CRD)選擇供試植株 4 及 3 株，每株標定生長一致之花序 20 枝。分別於偏雌花盛開前 1 週(101 年 3 月 22 日；芬園)及前 3 週(102 年 3 月 1 日；集集)隨機各擇 5 花序修剪至僅留 2-3 主枝(疏去約 40-50% 小花)，同時各以 5 未疏花序者為對照組(圖 1)。調查項目如下：

### 1. 疏花序對花性之影響(集集)

分別於雄花(M)、偏雌花(F)盛開時進行計算，偏雄花(M<sub>2</sub>)因其數量較多，故待偏雌花柱頭褐化後，方以絹紗網罩住整個花序 1 週，蒐集絹紗網中掉落及掛樹之小花計算之。並以總花數為分母，分別統計各花性所佔比例。

### 2. 疏花序對著果及果實品質(芬園及集集)

#### 1) 著果數

芬園果園自偏雌花盛開當週起(101 年 3 月 29 日)，每週計算各選定花序的殘留果數迄採收為止(101 年 6 月 15 日)。集集果園自盛花當週起(102 年 3 月 22 日)，每週計算各選定花序的留果數迄採收為止(102 年 6 月 25 日)。

2). 著果率

著果率%=(著果數/每花序偏雌花數)×100。

3). 果實品質

果實採收後依處理別分別以電子秤測量全果、果肉、種子之鮮重，在榨取果汁後，以數位式糖度計(Plate 101, Atago, Japan)測其糖度。

3. 果實生育期之葉果比及結果枝萌梢率之影響(芬園及集集)

於盛花時計算該結果枝當年生枝梢葉片數做為葉果比計算基礎，另紀錄果實生育期間結果枝萌梢之情形，計算公式如下：

1). 葉果比

當年生枝梢葉片數/該週小花或小果數=該週葉果比。

2). 結果枝萌梢率

(萌梢之結果枝數/總結果枝數)\*100=結果枝萌梢率(%)。

## 結 果

1. 疏花序對花性之影響

集集果園疏花序處理每花序總花數低於對照組，兩者均以偏雄花所佔比例最高，雄花次之，偏雌花最低；處理組偏雌花之比例顯著提高(表1)。

2. 疏花序對著果數之影響

芬園果園(101年)之處理組每花序的著果數自盛花後第0週至第3週間，由65個降至8個(減少87.7%)；至第7週降至4個，採收時減為2個。對照組每花序之著果數自盛花後第0週至第3週間，由107個降至46個(減少57.1%)；至第7週降至4個，採收時減為2個。除盛花後3週內對照組著果數顯著高於處理組外，兩者無顯著差異(圖2)。

表1. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20)荔枝花性之影響(集集)<sup>z</sup>

Table 1. Effects of inflorescence thinning on number and sex ratio of flower 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi (Jiji) <sup>z</sup>.

處理	每花序 總花數	雄花		偏雌花		偏雄花	
		No. of florets (%)		No. of florets (%)		No. of florets (%)	
疏花序	837.2b <sup>y</sup>	285.9b	34.2a	68.4a	8.2a	483.0b	57.6b
對照組	1804.5a	492.8a	27.4b	82.7a	4.6b	1229.0a	68.0a

<sup>z</sup> 試驗植株於2013年3月1日疏花序，3月22日偏雌花盛開

<sup>y</sup> 同一列中相同字母表示差異不顯著，(LSD test;  $\alpha=0.05$ )

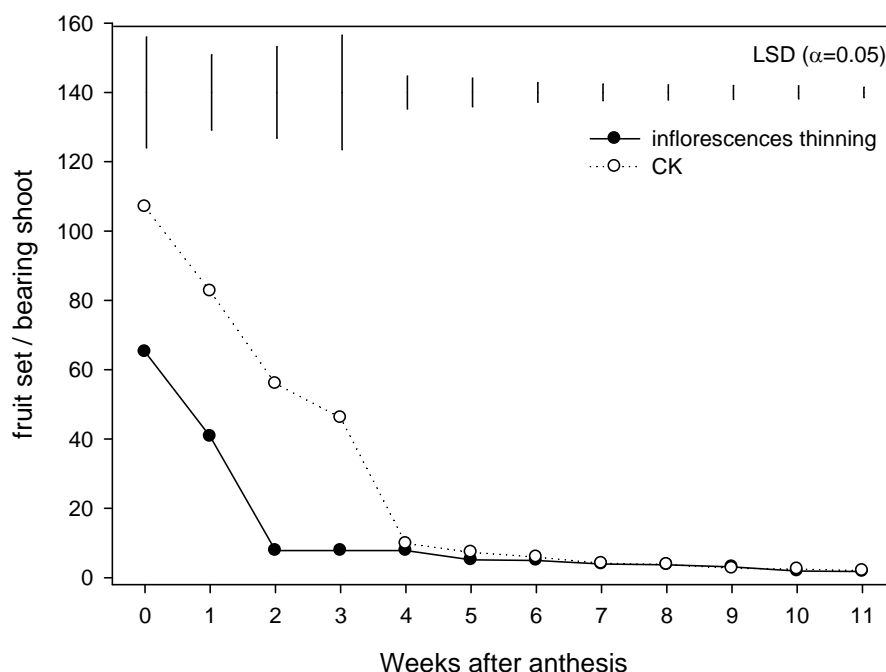


圖 2. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20)荔枝著果數之影響(芬園)。於 101 年 3 月 22 日疏花，3 月 29 日偏雌花盛開。

Fig. 2. Effect of inflorescence thinning on fruit set per cluster in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi (Fenyuan). Inflorescence thinning performed on March 22, 2012. Anthesis on March 29, 2012. Vertical bars represent LSD 5%.

集集果園(102 年)之處理組每花序的著果數自盛花後第 0 週至第 4 週間，由 68 個降至 7 個(減少 89.7%)；至第 7 週降至 2 個以迄採收採收。對照組每花序之著果數自盛花後第 0 週至第 4 週間，由 83 個降至 9 個(減少 89.2%)；至第 7 週降至 3 個，採收時減為 2 個，期間兩者無顯著差異(圖 3)。

### 3. 疏花序對著果率之影響

芬園果園(101 年)之處理組著果率在第 3 週自 100%降至 19%，迄第 7 週降至 9%；採收時為 5%。對照組著果率在第 3 週自 100%降至 38%，迄第 7 週降至 5%；採收時為 2%。除盛花後第 2 週對照組著果率高於處理組外，試驗期間兩者均無顯著差異(圖 4)。

集集果園(102 年)之處理組著果率在第 4 週自 100%降至 11%，迄第 7 週降至 4%；採收時為 2%。對照組著果率在第 3 週自 100%降至 13%，迄第 7 週降至 4%；採收時為 2%。試驗期間兩者無顯著差異(圖 5)。

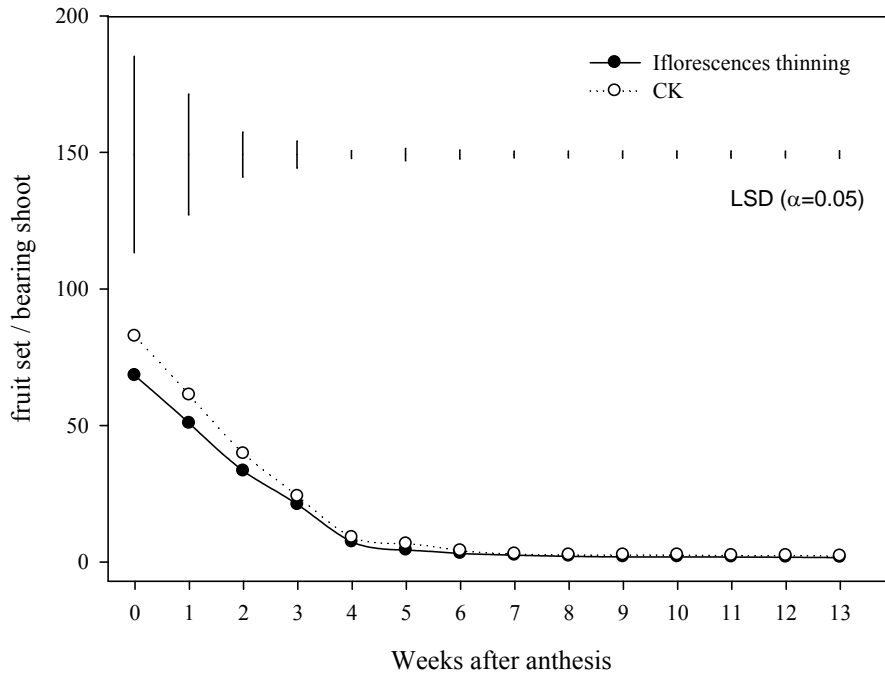


圖 3. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20)荔枝著果數之影響(集集)。於 102 年 3 月 1 日疏花序，3 月 22 日偏雌花盛開。

Fig. 3. Effect of inflorescence thinning on fruit per cluster of 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi (Jiji). Inflorescence thinning performed on March 1, 2013. Anthesis on March 22, 2013. Vertical bars represent LSD 5%.

#### 4. 果實生育期間葉果比之變化

芬園(101)處理組之葉果比自盛花後第 0 週至第 4 週間，由 0.4 升高至 4.0，採收時為 7.6，對照組之葉果比自盛花後第 0 週至第 4 週間，則由 0.2 提升至 4.5，採收時為 7.2，盛花後 3 週迄採收為止，兩者均無顯著差異。

集集(102)處理組之葉果比於盛花時為 0.1，盛花後 4 週增為 1.2，採收時為 5.5。對照組之葉果比於盛花時為 0.1，盛花後 4 週增為 1.1，採收時為 7.2。試驗期間兩者均無差異(圖未顯示)。

#### 5. 果實生育期間結果枝萌梢率之變化

芬園(101)處理組及對照組之枝條於盛花後 6 週內，皆未萌梢，處理組之萌梢率於花後第 7 週為 49%，採收時達 73%。對照組之萌梢率於第 7 週為 74%，採收時達 95%。但兩者並無顯著差異(圖 6)。

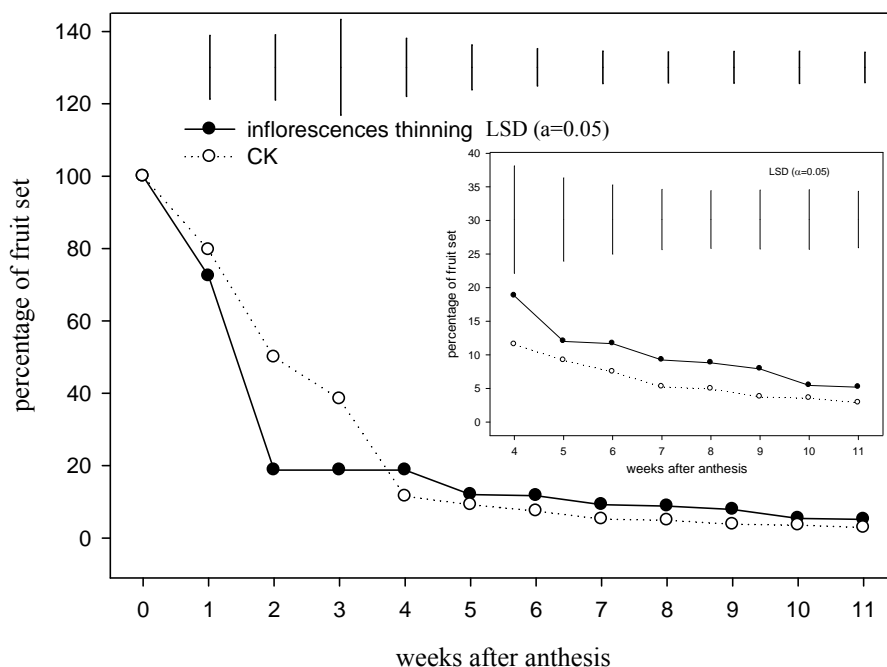


圖 4. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20) 荔枝著果率之影響(芬園)。於 101 年 3 月 22 日疏花，3 月 29 日偏雌花盛開。

Fig. 4. Effect of inflorescence thinning on percentage of fruit set in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi (Fenyuan). Inflorescence thinning performed on March 22, 2012. Anthesis on March 29, 2012. Vertical bars represent LSD 5%.

集集(102)處理組之結果枝於盛花後 10 週內均無萌梢情形發生，迄盛花後 11 週為 28.3%，採收時為 36.7%。對照組萌梢情形與處理組相似，於盛花後 10 週內均無萌梢，迄盛花後 11 週之萌梢率為 26.7%，採收時為 33.3%。試驗期間兩者均無差異(圖 7)。

#### 6. 疏花序對果實品質之影響

芬園果園(101 年)之處理組平均單果鮮重 13.4g，果肉糖度為 17.8°Brix，對照組之平均單果鮮重 14.3g，果肉糖度為 17.9°Brix，兩者無顯著差異(表 2)。

集集果園(102 年)之平均單果鮮重 13.2g，果肉糖度為 20.5°Brix，對照組之平均單果鮮重 14.8g，果肉糖度為 20.7°Brix，除處理組之果皮重較對照組為輕(2.1g v.s 2.5g)外，兩者均無顯著差異(表 3)。

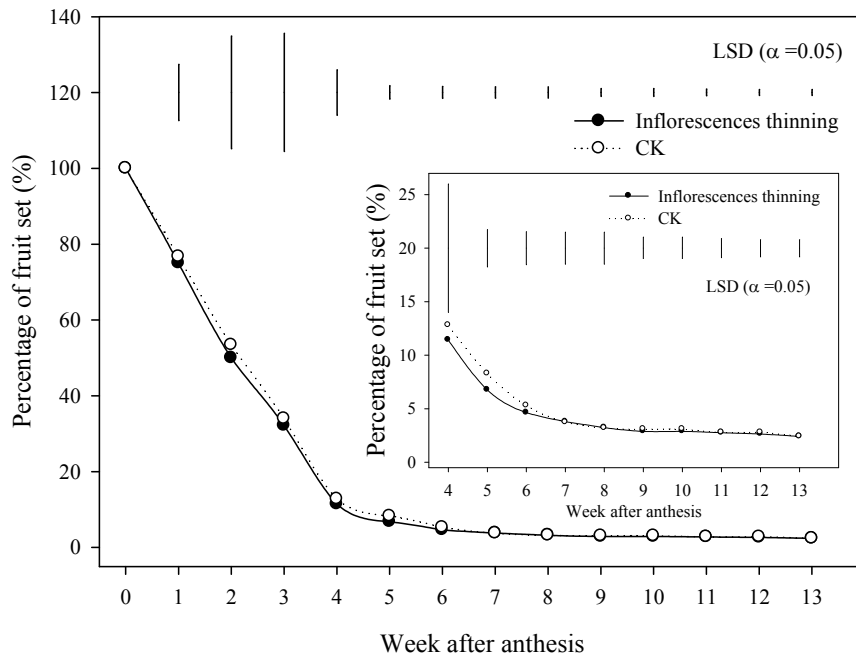


圖 5. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20) 荔枝著果率之影響(集集)。於 102 年 3 月 1 日疏花序，3 月 22 日偏雌花盛開。

Fig. 5. Effect of inflorescence thinning on percentage of fruit set per cluster of 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi (Jiji). Inflorescence thinning performed on March 1, 2013. Anthesis on March 22, 2013. Vertical bars represent LSD 5%.

## 討 論

荔枝小花數量隨品種而異，每花序自數千到上萬朵不等，其花性可分為雄花(M<sub>1</sub>)、偏雌花(F)及偏雄花(M<sub>2</sub>)，其中僅偏雌花具結實能力，花性比例隨品種與環境而有所差異 (Davenport and Stern, 2005；Mustard, 1960；Robbertse *et al.*, 1995；Stern and Gazit, 2003)。本試驗對照組每花序之總花數為 1804，處理組為 837，約為對照組之 46%。兩者均以偏雄花佔大多數，約佔總花數之 58-68%，雄花次之，約佔 27-34%，兩者合計即佔八成以上；而偏雌花比例最低，約僅佔 4.6-8.2%，與張氏(2004a)調查結果 7.0% 至 10.4%及'玉荷包'之比例相近，但低於'三月紅'、'Tai So'、'Bengal'、'Kwai May Pink'、'Souey Tung'及'Wai Chee'等品種 (Menzel and Simpson, 1991；周等, 2010)。雖然處理組之總花數少於對照組，但兩者之偏雌花數無差異，此為其偏雌花之比例顯著高於對照組之原因。

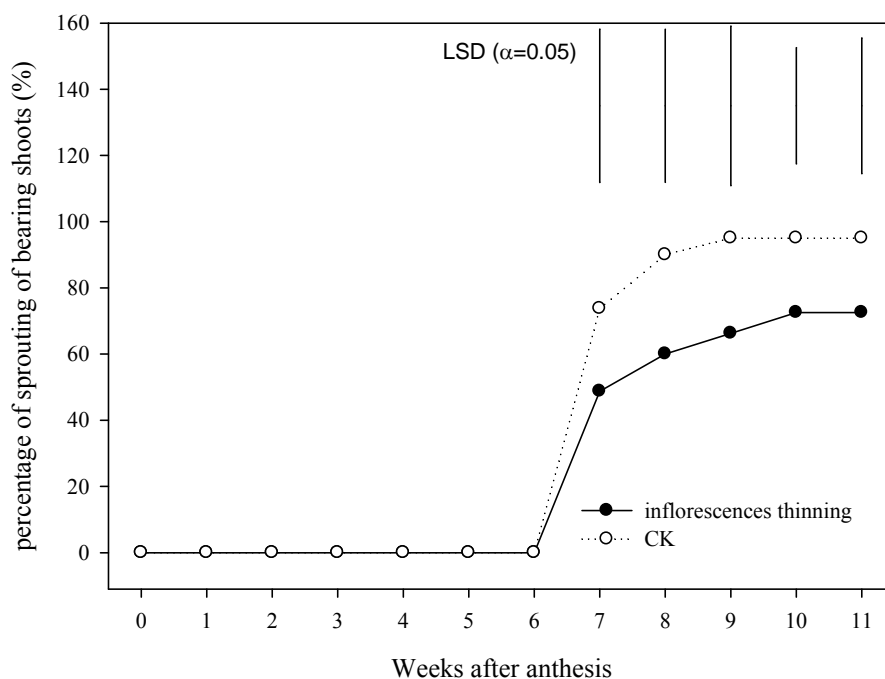


圖 6. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20)荔枝果實生育期間枝梢萌梢率之影響(芬園)。於 101 年 3 月 22 日疏花，3 月 29 日偏雌花盛開。

Fig. 6. Effect of inflorescence thinning on sprouting rate of bearing shoot in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi (Fenyuan). Inflorescence thinning performed on March 22, 2012. Anthesis on March 29, 2012. Vertical bars represent LSD 5%.

荔枝花性比例與其花序大小相關，較大花序具有較高雄花率，而較小花序則具有較高偏雌花率(Jiang *et al.*, 2012; 李, 2007)。本試驗於盛花前 3 週疏花序可達到提升偏雌花比例之效果，與黃(2003)和 Wu *et al.* (2001)於盛花前約 4-6 週修剪之結果相似。黃(2003)推論花序修剪後可能產生傷害型乙烯，且疏去部分花序可能減少 auxin 含量而利於雌蕊發育，進而提高偏雌花比例。張和林(2003)之報告則推論，國內'玉荷包'慣行於第一波小花(雄花)綻放時疏花，因此時二出聚繖花序上之偏雌花之花性已分化，而無法提升偏雌花之比例及偏雌花之質量，顯示疏花序時間早晚為能否改變花性的關鍵因子之一，愈早疏花序可能因碳能的累積而有利於偏雌花花性的表現。

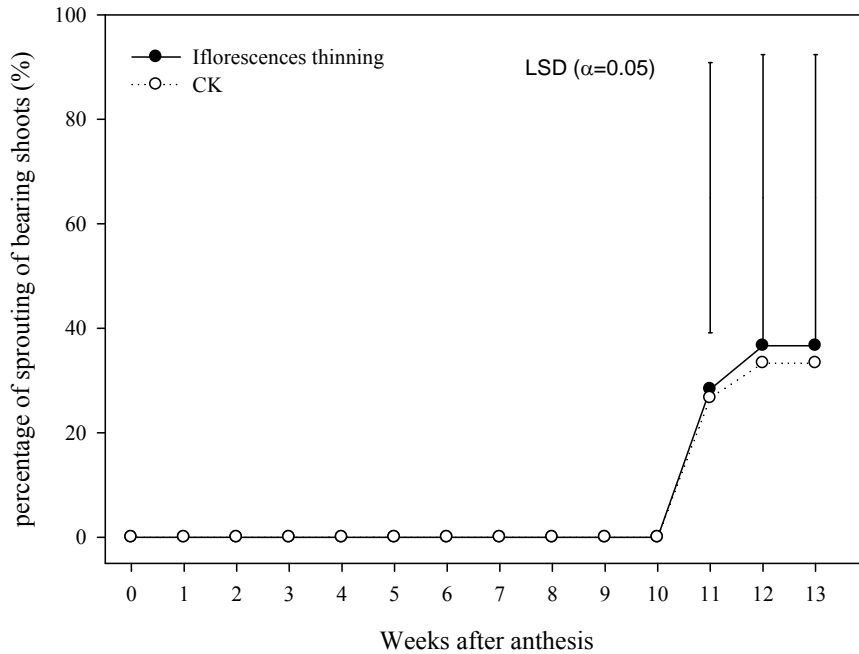


圖 7. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20)荔枝結果枝萌梢率之影響(集集)。於 102 年 3 月 1 日疏花序，3 月 22 日偏雌花盛開。

Fig. 7. Effect of inflorescence thinning on sprouting rate of bearing shoot of 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi in Jiji. Inflorescence thinning performed on March 1, 2013. Anthesis on March 22, 2013. Vertical bars represent LSD 5%.

表 2. 疏花序對'糯米糍'(73-S-20)荔枝果實產量與品質之影響(芬園)<sup>z</sup>

Table 2. Effect of inflorescence thinning on fruit yield and quality in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi (Fenyuan).

處理	果實數	果穗重 (g)	單果重 (g)	橫徑 (mm)	縱徑 (mm)	種子重 (g)	果皮重 (g)	糖度 (°Brix)
疏花序	1.7 a <sup>y</sup>	25.8 a	13.4 a	24.8 a	24.5 a	0.8 a	1.7 a	17.8 a
對照組	1.5 a	18.1 a	14.3 a	25.5 a	25.1 a	0.8 a	2.0 a	17.9 a

<sup>z</sup> 試驗植株於 2013 年 3 月 27 日疏花序，3 月 29 日偏雌花盛開

<sup>y</sup> 同一列中相同字母表示差異不顯著(LSD test ;  $\alpha=0.05$ )

表 3. 疏花序對 '糯米糍' (73-S-20) 荔枝果實品質之影響(集集)<sup>z</sup>Table 3. Effect of inflorescence thinning on fruit quality in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi in Jiji <sup>z</sup>.

處理	單果重 (g)	果皮重 (g)	果肉重 (g)	種子重 (g)	糖度 (° brix)
疏花序	13.2a <sup>y</sup>	2.1a	10.3a	0.8a	20.5a
對照組	14.8a	2.5b	11.4a	0.9a	20.7a

<sup>z</sup> 試驗植株於 2013 年 3 月 1 日疏花序，3 月 22 日偏雌花盛開

<sup>y</sup> 同一列中相同字母表示差異不顯著(LSD test ;  $\alpha=0.05$ )

近年之研究亦顯示同化物供需在荔枝著果上扮演關鍵角色。Yuan 和 Huang (1988)於盛花時，進行遮陰或 DCMU(光合作用抑制劑)處理，導致明顯落果。Roe *et al.* (1997)利用環剝調節結果枝之葉片數，亦發現荔枝之每果穗留果數均隨葉片數之增加而顯著增加。荔枝主要之同化物供源為當年生新梢之葉片 (Hieke *et al.*, 2002)或當年生之三次梢葉片 (Chang and Lin, 2008)。因此當供源(Source)受限時，積貯(Sink)間之養分競爭及分配不當將影響荔枝之生產。Jiang 等人(2012)調查具大型花序之 'Feizixiao' 於開花期間較小型花序之 'Baitangying' 消耗更多的碳水化合物，前者著果率 1.4%遠低於後者之 10.9%，即可見一斑。

本試驗連續兩年結果顯示，不論疏花序與否，著果數及著果率僅呈現一次明顯的落果高峰，80%以上的小果在盛花後 4 週內掉落；盛花後 7 週後著果率即呈現相對穩定，至採收前僅略為下降。此趨勢與 'Mauritius'、'Floridian' (Stern and Gazit, 1999)、'糯米糍' (73-S-20) (張，2004)及 '玉荷包' (張和林，2003)類似。處理組採收時每花序平均著果數約 2 個且與對照組無差異，與張(2004a)之調查結果 1 至 4 個相近，但遜於 '玉荷包' 著果數 6 至 8 個(張和林，2003)。著果率約 2.4%高於 '玉荷包' 之 0.7 至 0.9% (張，2004a)，除對照組果皮重較處理組重外，疏花序並未能顯著提升果實大小及果實品質。

理論上疏花序應能透過減緩碳水化合物競爭進而改善著果，但本試驗疏花序並未反應出較佳的著果及果實品質，其原因可能與盛花期授粉、受精不良而產生早期大量落果及於果實生育期中後期間萌生大量新梢(遭逢數次大雨，資料未顯示)與果實競爭養份，而造成第二次小幅落果有關。

張(2004)在假設無其他積貯器官與果實競爭碳同化的的前提下，經由碳帳(carbon budget)，估計出供給一顆成熟時鮮重 18.5 克、糖度 19.2°Brix 之中型 '糯米糍' (73-S-20) 果實生長所需枝葉片數有兩個高峰期，第一次自盛花後 3 週的 0.1 枚增至第 5 週的 0.3 枚，第二次自第 8 週的 0.5 枚增至第 11 週的 1.8 枚，顯示理論上所需最大之葉果比為 1.8; Chang and Lin (2008)以控梢及環刻方式，推論具 15 片以上當年生複葉之結果母枝為穩產(葉果比為 1-1.5)之關鍵。本試驗兩年之結果顯示不論處理組或對照組，盛花後 4 週內及第 5 週起

之葉果比均遠超過上述之預估，應無供源受限之疑慮，然而盛花後 5 週內仍發生大量之早期落果，或與該等年度授粉、受精不良有關，致使疏花序之效應不明顯。

荔枝新梢抽出後，新葉萌發後 30 天或葉片已有一半開展後，其光合作用速率才會提高至正值(Hieke *et al.*, 2002)，故新梢的萌發在初期為積儲(sink)的角色，因此盛花前後抽出的新梢會與花序及小果競爭光合產物。集集(102)盛花後 10 週時，不論有無疏花序其著果率約為 3%，盛花後 11 週枝條開始萌發新梢，而著果率亦逐週下降。芬園試區(101)更於盛花後 6 週起，出現大量萌梢之現象。著果率由盛花後 6 週之 12%及 7%逐週下降至盛花後 9 週之 8%及 4%，迄採時收為 5%及 2%，著果數僅為 2，此除天候、授粉受精不佳外，著果期萌梢亦應為其著果數遠較 Chang and Lin (2008) 調查 '糯米糍' (73-S-20)荔枝之採收時著果數(17-18)為低之原因。Chang and Lin (2008)亦調查 '糯米糍' (73-S-20)荔枝之果實生育曲線，發現於盛花後 8-10 週為果實累積糖度及絕對生長高峰期，顯示此時果實對於碳水化合物需求旺盛，如供源受限或新的積貯加入競爭可能會導致大量落果。Yuan and Huang (1993)及朱(2008)亦指出 '糯米糍' 荔枝未環刻植株於果實生育期新梢或新根生長量均大於環刻植株，且落果情形較嚴重，顯示果實生育期間仍會因發生養分競爭而造成第二次小幅落果，呼應本研究於果實發育中後期所面臨的問題。

## 結 論

連續兩年試驗不論對照組或處理組，其著果數均甚低，而於盛花前 3 週進行疏花序雖能有效提升 '糯米糍' (73-S-20)之偏雌花比例，但不論盛花前 1 週或 3 週疏花序，其最終之果實產量及品質均無顯著差異。此原因可能與盛花期授粉、受精不良而產生早期大量落果及於果實生育期中後期間萌生大量新梢(遭逢數次大雨，資料未顯示)與果實競爭養份，而造成第二次小幅落果有關。未來仍應廣續相關之試驗，並搭配環刻之研究。

## 致 謝

本研究承蒙農糧署『101 農科-9.2.2-糧-Z1(8)』、『102 農科-9.2.2-糧-Z1(7)』計畫之補助，謹致謝忱。

## 參 考 文 獻

- 朱堉君。2008。'糯米糍'(73-S-20)荔枝之種子發育與環刻促進著果。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。台北。
- 李雪如。2007。玉荷包荔枝開花及著果習性之研究。高雄區農業改良場研究彙報。17(1):9-19。
- 周碧燕、陳厚彬、向熾華、劉偉強、李寧、胡志群、黃旭明、張思。2010。'三月紅'荔枝不同溫度處理的成花效應。園藝學報。37(7):1041-1046。
- 張哲嘉、林宗賢。2003。疏花序對玉荷包荔枝花性、著果與果實品質之影響。中華農學會報。4(5): 418-428。
- 張哲嘉。2004a。'玉荷包'與'糯米糍'(73-S-20)荔枝結實之研究。國立台灣大學園藝學研究所博士論文。台北。
- 張哲嘉。2004b。糯米糍(南投集糯)荔枝穩產技術之進展與探討。農業世界。256: 68-77。
- 黃志樑。2003。玉荷包荔枝花性及結實之研究。國立中興大學園藝研究所碩士論文。台中。
- 鄧永興。1988。玉荷包荔枝穩定生產方法之探討。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。台北。
- 鄧永興、張哲璋、王怡玗。2005。台灣農家要覽。農作篇(二)。豐年出版社。台北。pp.39-52。
- 顏昌瑞。1995。荔枝。台灣農家要覽。豐年出版社。台北。pp.33-42。
- 農業統計年報。2013。行政院農委會。
- Chang, J. C. and T. S. Lin. 2008. Fruit yield and quality as related to flushes of bearing shoots in litchi. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 133(2): 284-289.
- Chang, J. C., T. S. Lin, C. R. Yen, J. W. Chang and W. L. Lee. 2009. Litchi production and improvement in Taiwan. J. Agri. Assoc. Sci. Taiwan 10(1): 63-76.
- Chen, B. A., S. F. Roan, C.L. Lee, and I. Z. Chen. 2013. The effect of temperature during inflorescence development to flowering and inflorescence length on yield of 'Yu Her Pau ' litchi. Sci. Hort. 159: 186-189.
- Davenport, T. L. and R. A. Stern. 2005. Flowering. pp.87-113. In: Menzel, C. M., and Waite, G. K. (eds). Litchi and Longan: Botany, Production and Uses. CABI Publishing, London, UK.
- Hieke, S., C. M. Menzel, and P. Lüdders. 2002. Effect of leaf, shoot and fruit development on photosynthesis of lychee tree (*Litchi chinensis* Sonn.). Tree Physiol. 22:955-961.
- Hieke, S., C.M. Menzel, V.J. Doogan, and P. Ludders. 2002. The relationship between yield and assimilate supply in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). J. Hort. Sci. Biotechnol. 77:326-332.
- Jiang, S.Y., H.Y. Xu., H.C. Wang, G.B. Hu, J.G. Li, and H.B. Chen, X.H. Huang. 2012. A comparison of the costs of flowering in 'Feizixiao' and 'Baitangying' litchi. Sci. Hort. 148:118-125.
- Menzel, C.M. and D.R. Simpson. 1991. Effect of temperature and leaf water stress on panicle

- and flower development of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). J. Hort. Sci. 66(3):335-344.
- Mustard, M.J. 1960. Megametophytes of litchi (*Litchi chinensis* Sonn). J. Amer. Soc. Hort. Sci. 75: 292-304.
- Robbertse, H., J. Fivaz, and C. M. Menzel. 1995. A reevaluation of tree model, inflorescence morphology, and sex ratio in lychee. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120(6): 914-920.
- Roe, D. J., C. M. Menzel, J. H. Oosthuizen and V. J. Doogan. 1997. Effect of current CO<sub>2</sub> assimilation and stored reserves on lychee fruit growth. J. Hort. Sci. 72(3): 397-405.
- Stern, R.A. and S. Gazit. 2003. The reproductive biology of lychee. Hort. Rev. 28:393-453.
- Stern, R.A., and S. Gazit. 1999. The synthetic auxin 3,5,6-TPA reduces fruit drop and increases yield in 'Kaimana' litchi. J. Hort. Sci. Biotechnol. 74(2): 203-205.
- Wang, B. and Y. Qiu. 1997. Growth, and fruiting. pp.66-88. In: Z. W. Zhang, P. Y. Yuan, B. Q. Wang, Y. P. Qiu, and J. S. Li.(eds.). Litchi, pictorial narration of cultivation. Pomology Research Insitiute Guangdong Acad. Agr. Sci.
- Wu, D., X. Lin, Q. Ye and W. Wang. 2001. Improvement of fruit set in secondary panicle of 'Feizixiao' litchi by removal of the primary panicles. 1<sup>st</sup> Intl. Symp. Lichi, and Lomgan. Guangzho, China. pp. 42 (Abstr. C-11).
- Yuan, R. C. and H. B. Huang. 1988. Lithci fruit abscission: its patterns, effect of shading and relation to endogenous abscisic acid. Sci. Hort. 36: 281-292.
- Yuan, R. C. and H. B. Huang. 1993. Regulation of root and shoot growth and fruit drop of young litchi trees by trunk girdling in view of source-sink relationships. J. Fruit Sci. Sci. 10: 195-198.

## Assessing the Effect of Inflorescence Thinning on Floral Sex Ratio, Fruiting and Fruit Quality of 'No Mai Tsz' (73-S-20) Litchi <sup>1)</sup>

Yi-Han Wang <sup>2)</sup> Jer-Chia Chang <sup>3)</sup>

Key words: Litchi, inflorescences thinning, flower sex, fruit set, fruit quality

### Summary

The objective of this study was aimed at the effect of inflorescences thinning on fruit production in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi. The experiment were conducted on 11-year-old field-grown trees in Fenyuan, Changhua, central Taiwan and 20-year-old field-grown trees in Jiji, Nantou, central Taiwan in 2012 and 2013, respectively. Forty to 50% of flowers per inflorescences were removed by hand right before 1 and 3 weeks of anthesis (full blooming for female flower), respectively. Un-thinning inflorescences were served as the control. Flower sex ratio was examined during flowering stage (in 2013), fruit retention was determined throughout fruit growing period and fruit characteristic was measured at harvest. In 2012, there were no differences in final fruit retention, fruit set rate, leaf to fruit ratio, flushing rate per bearing shoot and fruit quality at harvest between the treatment and the control. In 2013, total flower numbers of the treatment were less than that of the control, while sex ratio of female flower was greater. No differences were obtained in fruit retained, leaf to fruit ratio and flushing rate per bearing shoot at harvest between the treatment and control. In addition, except the light pericarp weight, fruit quality parameters of the treatment were similar to those of the control. We concluded that inflorescence thinning prior to 3 weeks of anthesis could increase sex ratio of female flower. However, it did not improve fruit set and fruit quality in 'No Mai Tsz' (73-S-20) litchi.

---

1) This paper is a part of MS thesis of the first author.

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

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



## '台農 4 號'鳳梨誘變育種之研究

陳 瑀 芳<sup>1)</sup>      陳 京 城<sup>2)</sup>

關鍵字：甲基磺酸乙酯、白化苗、離體培養

**摘要：**本研究以'台農 4 號'鳳梨組培苗為材料，探討甲基磺酸乙酯(ethyl methanesulphonate; EMS)誘變處理之最適條件。以組培小苗(5-8 mm)為誘變材料，0.6% EMS 處理 12、14、16 小時，存活率分別為 96.7%、76.7%、63.3%，然而若浸泡 18 小時，其存活率則僅有 20%，半致死率(LD<sub>50</sub>)之處理時間應界於 16 至 18 小時。發根率方面，顯示出誘變處理時間愈長，植株恢復生長勢所需時間愈長。以組培大苗(4-5 cm)為誘變材料，經 EMS 處理後，進行暗期處理誘導白化苗，植株存活率隨著 EMS 濃度與處理時間增加而降低。組培白化苗方面，以 0.01%之 EMS 溶液，浸泡 1 小時植株存活率為 20.0%；對照組為 36.7%，具顯著差異。整體而言，經誘變處理後之各種培植體存活率均隨著 EMS 濃度與處理時間增加而降低。

### 前 言

鳳梨屬鳳梨科(Bromeliaceae)鳳梨屬(*Ananas*)之多年生草本單子葉植物，原產於南美洲，包括巴西中南部、阿根廷北部以及巴拉圭等地區(Hassan and Othman, 2011)，鳳梨為僅次於香蕉與芒果之全世界第三大熱帶果樹(FAO, 2012)。

鳳梨葉緣形態，主要可分為整片葉葉緣皆有刺之“spiny”、葉緣前端小部分有刺，而葉緣中段及基部均無刺之“spiny tip”，以及整片葉子葉緣均無刺、葉形狹長、葉背具有一層銀白色厚蠟粉，且葉緣由下往上捲曲之“piping”(Collins and Kerns, 1946; Collins 1960)。鳳梨葉緣之刺使農民於田間工作時必須身著厚實衣物以避免刺傷，影響田間操作，造成管理上的不便，故選育果實品質優良且葉緣無刺之鳳梨新品種，是鳳梨育種之一重要目標(Loison-cabot and Lacoecilhe, 1990; Chan, 1993; Suneerat, 2009)。台灣早年主要生產品種

---

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。

之一'台農 4 號'鳳梨，因其果肉纖維細緻、耐貯運、食用時可以手剝食，免削果皮之品種特性，曾經為外銷之主力品種(程等人，2002)。但因其整片葉緣皆有刺造成栽培管理上不便，降低果農栽培意願，致使栽培面積減少且逐漸被其他新育成如僅葉緣前端有刺之'台農 17 號'及整片葉均無刺之'台農 20 號'所取代(程等人，2002；林，2004)。若能利用育種方法選育出無刺之'台農 4 號'鳳梨，其栽培管理方便性與管理效率皆能提高，應可提升農民栽種意願。

誘變育種為使用物理或化學誘變劑以誘導植物染色體 DNA 產生變異，再於變異株之中篩選符合選拔目標之突變體(mutant)，進而得到新品種(李，1972；林及蔡，2005)。陳氏(2012)以台農 17 號鳳梨為材料，利用 EMS 誘變處理，選育出耐低溫之後代。本研究參考陳氏(2012)之方法，以'台農 4 號'鳳梨組培苗為材料，經 EMS 誘變劑處理，測試 EMS 濃度與處理時間之最適條件，以及誘變出少刺或無刺植株之可行性。

## 材料與方法

### 一、材料

#### (一)'台農 4 號'鳳梨初代培養

以'台農 4 號'鳳梨冠芽上之休眠芽進行初代培養。將冠芽上之葉片由基部至頂端依序剝除，露出短縮莖，然後以 1% 次氯酸鈉(Sodium hypochlorite)溶液添加 0.05% Tween 20，置入超音波震盪器震盪滅菌 15 分鐘。然後於無菌操作台上以無菌水清洗 3 次後，將冠芽上之休眠腋芽切下，放入生長培養基中培養；生長培養基：1/2 MS、3% (w/v) sucrose、0.8% (w/v) agar，pH 調整至 5.8。培養條件為光強度 2500-3000 Lux、溫度  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光周期為 16/8 (明/暗)小時。

#### (二)'台農 4 號'鳳梨繼代培養

培養於生長培養基之休眠芽萌芽後並生長至約 1 cm 長時轉移至增殖培養基進行芽體增殖培養；增殖培養基：1/2 MS、3% (w/v) sucrose、0.8% (w/v) agar、0.2 ppm NAA (naphthaleneacetic acid)(Sigma)、2 ppm BA (6-benzylaminopurine)(Sigma)，pH 調整至 5.8。待培植體基部增生小芽且小芽長約 2 mm 時即視為一增殖新苗。將新苗切下並移入生長培養基中培養，待其生長至約 1 cm 長時再移至增殖培養基培養。利用上述重複循環增殖方式可培育出大量之'台農 4 號'組培苗，以供後續實驗之用。

#### (三) 試驗材料

##### 1. '台農 4 號'鳳梨組培小苗

種植於生長培養基之'台農 4 號'鳳梨組培小苗植株生長至 5-8 mm 長時，將其根部及基部黃化葉片切除後，即可進行誘變處理。

##### 2. '台農 4 號'鳳梨組培大苗

種植於生長培養基之'台農 4 號'鳳梨組培苗生長至 4-5 cm 長之大苗時，將根部切除，接著由基部最外層之葉片開始將葉片一片片剝除，而短縮莖中心處 1-2 片嫩葉則將其切短與短縮莖齊高，即可進行誘變處理。

### 3. '台農 4 號'鳳梨組培白化苗

種植於生長培養基之'台農 4 號'鳳梨組培苗生長至 4-5 cm 長時，將根部切除，接著由基部最外層之葉片開始將葉片一片片剝除，而短縮莖中心處 1-2 片嫩葉則將其切短與短縮莖齊高。將處理後之'台農 4 號'鳳梨組培大苗種植於指形瓶白化苗培養基且予以暗期培養，溫度  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，以誘導出'台農 4 號'鳳梨組培白化苗，然後將白化苗每 2 個節位切成一段，進行誘變處理。

## 二、試驗方法

### (一)'台農 4 號'鳳梨組培小苗

取'台農 4 號'鳳梨組培小苗，浸泡於濃度為 0.4% (v/v) 之甲基磺酸乙酯(ethyl methanesulphonate; EMS)(Sigma)溶液中，處理時間為 20、22、24 小時；0.6% (v/v) 之 EMS 溶液，處理時間為 12、14、16、18 小時。對照組以無菌水取代 EMS，處理時間為 12 小時。浸泡時皆行震盪培養，速度為 100 rpm、溫度  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。處理後於無菌操作台上以無菌水清洗 3 次後，種植於生長培養基中培養，培養條件同初代培養。每 10 株小苗為一重複，每處理 3 重複。

### (二)'台農 4 號'鳳梨組培大苗

取'台農 4 號'鳳梨組培大苗，浸泡於濃度為 0.2% (v/v) 之 EMS 溶液中，處理時間為 3、6、9、12、18、24 小時；0.3% (v/v) 之 EMS 溶液，處理時間為 4、6、8、12、16 小時；0.4% (v/v) 之 EMS 溶液，處理時間為 1、3、5、6、7、9、12 小時；0.6% (v/v) 之 EMS 溶液，處理時間為 1、2、4、6、8 小時。對照組以無菌水浸泡 1 小時。浸泡時皆行震盪培養，速度為 100 rpm、溫度  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。處理後於無菌操作台上以無菌水清洗 3 次，種植於指形瓶白化苗培養基中；白化苗培養基：MS、3% (w/v) sucrose、0.8% (w/v) agar、5  $\mu\text{M}$  NAA，pH 調整至 5.8 並予以暗期培養 6 週，溫度  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。每 7 株大苗為一重複，每處理 3 重複。

### (三)'台農 4 號'鳳梨組培白化苗

#### 1. 第一次試驗：

取'台農 4 號'鳳梨組培白化苗，浸泡於濃度為 0.001% (v/v)、0.005% (v/v)、0.01% (v/v) 之 EMS 溶液中，處理時間 1 小時。對照組以無菌水浸泡 1 小時。浸泡時皆行震盪培養，速度為 100 rpm、溫度  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。處理後於無菌操作台上以無菌水清洗 3 次，種植於全量生長培養基中；全量生長培養基：MS、3% (w/v) sucrose、0.8% (w/v) agar，pH 調整至 5.8。培養條件同初代培養。每 10 段為一重複，每處理 3 重複。

#### 2. 第二次試驗：

取'台農 4 號'鳳梨組培白化苗，浸泡於濃度為 0.005% (v/v)、0.01% (v/v)、0.015% (v/v) 之 EMS 溶液中，處理時間為 1、2 小時。對照組以無菌水浸泡 1 小時。浸泡時皆行震盪培

養，速度為 100 rpm、溫度  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。處理後於無菌操作台上以無菌水清洗 3 次，種植於全量生長培養基中，培養條件同初代培養。每 10 段為一重複，每處理 3 重複。

### 三、調查項目與方法

#### (一)'台農 4 號'鳳梨組培小苗

##### 1. 誘變處理後存活率調查：

誘變處理後 4 週進行植株存活率調查，當植株全株面積超過 80% 褐化、白化且不再生長即視為死亡。

##### 2. 誘變處理後發根率調查：

誘變處理後分別於第 2 週、第 3 週及第 4 週進行植株發根率調查，當植株基部根長超過 1 mm 即視為發根。

#### (二)'台農 4 號'鳳梨組培大苗

##### 誘變處理後存活率調查：

誘變處理後 6 週進行存活率調查，當節間抽出超過 3 節即視為存活。

#### (三)'台農 4 號'鳳梨組培白化苗

##### 誘變處理後萌芽率調查：

誘變處理後 6 週進行萌芽率調查，當一莖段中其一側芽萌芽且生長出約 3 mm 的芽體時即視為萌芽。

## 結 果

'台農 4 號'鳳梨組培小苗經過不同濃度 EMS 溶液與處理時間之誘變處理後，其植株存活率情形如表 1 所示。EMS 0.4%，浸泡時間 20、22 小時，其存活率皆為 93.3%，而 EMS 0.6%，浸泡時間 12 小時其存活率為 96.7%，皆與對照組之間無顯著差異，而 EMS 0.4% 浸泡時間 24 小時、EMS 0.6%，浸泡時間 14 小時與 16 小時之處理組合存活率降至 83.3%、76.6%、63.3%，低於對照組，若 EMS 0.6%，浸泡時間增至 18 小時，存活率更降至 20.0%。'台農 4 號'鳳梨組培小苗經過不同濃度 EMS 溶液與浸泡時間之誘變處理後，其植株發根率情形如表 2 所示。處理後 2 週時，EMS 0.6%，浸泡時間 12 小時之處理其發根率高於其他處理組合，為 30.0%；對照組則全部發根。而 EMS 0.4%，浸泡時間 20 小時，發根率 6.7%，其他處理組合皆未發根。處理後 3 週之發根率，以 EMS 0.6%，浸泡時間 12 小時最高，為 90.0%；EMS 0.6%，浸泡時間 16、18 小時之發根率最低，分別為 6.7% 與 0%。而 EMS 0.4%，浸泡時間 20、22、24 小時之發根率分別為 43.3%、40.0% 與 40.0%。EMS 0.6%，浸泡時間為 14 小時之發根率為 53.3%。處理後 4 週時，EMS 0.4%，浸泡時間 20、22、24 小時之發根率為 70.0%、80.0%、70.0%；EMS 0.6%，浸泡時間 12、14 小時之發根率為 96.7%、76.7%。而 EMS 0.6%，浸泡時間 16、18 小時之發根率較其他處理組合為低，降至為 40.0% 與 10.0%。

表 1. 不同 EMS 濃度及處理時間對'台農 4 號'鳳梨組培小苗存活率之影響

Table 1. Effects of different EMS concentrations and treatment durations on the survival percentage of 'Tainung No.4' pineapple plantlets cultured *in vitro*.

EMS (%)	Duration (hr)	Survival (%) <sup>z</sup>		
H <sub>2</sub> O (CK)	12	100.0	± 0.0 <sup>y</sup>	a <sup>x</sup>
0.4	20	93.3	± 11.5	ab
0.4	22	93.3	± 5.8	ab
0.4	24	83.3	± 11.5	b
0.6	12	96.7	± 5.8	ab
0.6	14	76.7	± 5.8	bc
0.6	16	63.3	± 5.8	c
0.6	18	20.0	± 10.0	d

<sup>z</sup>The percentage of survival = (the number of survived explants / the total number of explants) × 100%. Ten plantlets per replicates, 3 replicates per treatment. Plantlets were cultured for 4 weeks before evaluation.

<sup>y</sup>Mean ± standard deviation.

<sup>x</sup>Mean separation by Least Significant Difference (LSD) test, P=0.05.

表 2. 不同 EMS 濃度及處理時間對'台農 4 號'鳳梨組培小苗發根率之影響

Table 2. Effects of different EMS concentrations and treatment durations on the rooting percentage of 'Tainung No.4' pineapple plantlets cultured *in vitro*.

EMS (%)	Duration (hr)	Rooting (%) <sup>z</sup>								
		2 weeks		3 weeks		4 weeks				
H <sub>2</sub> O (CK)	12	100.0	± 0.0	a	100.0	± 0.0	a	100.0	± 0.0 <sup>y</sup>	a <sup>x</sup>
0.4	20	6.7	± 11.5	c	43.3	± 25.2	b	70.0	± 17.3	b
0.4	22	0.0	± 0.0	c	40.0	± 10.0	b	80.0	± 17.3	ab
0.4	24	0.0	± 0.0	c	40.0	± 10.0	b	70.0	± 17.3	b
0.6	12	30.0	± 17.3	b	90.0	± 10.0	a	96.7	± 5.8	ab
0.6	14	0.0	± 0.0	c	53.3	± 5.8	b	76.7	± 5.8	b
0.6	16	0.0	± 0.0	c	6.7	± 11.5	c	40.0	± 10.0	c
0.6	18	0.0	± 0.0	c	0.0	± 0.0	c	10.0	± 10.0	d

<sup>z</sup>The percentage of rooting = (the number of rooted explants / the total number of explants) × 100%. Ten plantlets per replicates, 3 replicates per treatment. Plantlets were cultured for 4 weeks before evaluation.

<sup>y</sup>Mean ± standard deviation.

<sup>x</sup>Mean separation within columns by Least Significant Difference (LSD) test, P=0.05.

'台農 4 號'鳳梨組培大苗經過不同濃度 EMS 溶液與浸泡時間之誘變處理後，其植株存活率情形如表 3 所示。對照組存活率為 100%，而 EMS 0.2%，浸泡時間 3、6、9 小時，植株存活率分別為 85.7%、61.9%、52.4%；而浸泡時間達 12 小時以上，植株全部死亡。

表 3. 不同 EMS 濃度及處理時間對'台農 4 號'鳳梨組培大苗存活率之影響

Table 3. Effects of different EMS concentrations and treatment durations on the survival percentage of 'Tainung No.4' pineapple large plantlets cultured *in vitro*.

EMS (%)	Duration (hr)	Survival (%) <sup>z</sup>		
H <sub>2</sub> O (CK)	1	100.0	± 0.0 <sup>y</sup>	a <sup>x</sup>
0.2	3	85.7	± 14.3	b
0.2	6	61.9	± 21.8	cd
0.2	9	52.4	± 16.5	d
0.2	12	0.0	± 0.0	g
0.2	18	0.0	± 0.0	g
0.2	24	0.0	± 0.0	g
0.3	4	38.1	± 8.3	e
0.3	6	9.5	± 16.5	fg
0.3	8	0.0	± 0.0	g
0.3	12	0.0	± 0.0	g
0.3	16	0.0	± 0.0	g
0.4	1	61.9	± 8.3	cd
0.4	3	14.3	± 0.0	f
0.4	5	0.0	± 0.0	g
0.4	6	0.0	± 0.0	g
0.4	7	0.0	± 0.0	g
0.4	9	0.0	± 0.0	g
0.4	12	0.0	± 0.0	g
0.6	1	71.4	± 14.3	c
0.6	2	28.6	± 0.0	e
0.6	4	0.0	± 0.0	g
0.6	6	0.0	± 0.0	g
0.6	8	0.0	± 0.0	g

<sup>z</sup>The percentage of survival = (the number of survived explants / the total number of explants) × 100%. Seven plantlets per replicates, 3 replicates per treatment. Plantlets were cultured for 6 weeks before evaluation.

<sup>y</sup> Mean ± standard deviation.

<sup>x</sup> Mean separation by Least Significant Difference (LSD) test, P=0.05.

EMS 0.3%，浸泡時間 4、6 小時，植株存活率為 38.1%、9.5%；浸泡時間至 8 小時以上，植株全部死亡。EMS 0.4%，浸泡時間 1、3 小時，植株存活率為 61.9%、14.3%；浸泡時間至 5 小時以上，植株全部死亡。EMS 0.6%，浸泡時間 1、2 小時，植株存活率為 71.4%、28.6%；浸泡時間至 4 小時以上，植株全部死亡。

'台農 4 號'鳳梨組培白化苗經過不同濃度 EMS 溶液與不同浸泡時間之誘變處理後，其植株萌芽率情形如表 4 及表 5 所示。第一次試驗使用培養 6 週之白化苗，EMS 濃度分別為 0.001%、0.005%，浸泡時間為 1 小時，植株萌芽率為 33.3%、36.7%與對照組之 36.7%無顯著差異，而 EMS 0.01% 處理 1 小時萌芽率降至 20.0%。第二次試驗使用培養 10 週之白化苗，EMS 濃度為 0.005%、0.01%、0.015%，浸泡時間 1 小時，植株萌芽率分別為 50.0%、50.0%、36.7%；而浸泡時間 2 小時，植株萌芽率為 53.3%、50.0%、53.3%，對照組為 73.3%。除了以 EMS 0.015% 浸泡 1 小時之處理其萌芽率較低外，其他處理組合與對照組間無顯著差異。

表 4. 不同 EMS 濃度及處理時間對'台農 4 號'鳳梨組培白化苗萌芽率之影響

Table 4. Effects of different EMS concentrations and treatment durations on the regeneration percentage of 'Tainung No.4' pineapple etiolated plantlets cultured *in vitro*.

EMS (%)	Duration (hr)	Regeneration (%) <sup>z</sup>
H <sub>2</sub> O (CK)	1	36.7 ± 15.3 <sup>y</sup> a <sup>x</sup>
0.001	1	33.3 ± 5.8 ab
0.005	1	36.7 ± 5.8 a
0.01	1	20.0 ± 0.0 b

<sup>z</sup>The percentage of regeneration = (the number of regenerated explants / the total number of explants) × 100%. Ten plantlets per replicates, 3 replicates per treatment. Plantlets were cultured for 6 weeks before evaluation.

<sup>y</sup>Mean ± standard deviation.

<sup>x</sup>Mean separation by Least Significant Difference (LSD) test, P=0.05.

## 討 論

EMS 為最常被使用的化學誘變劑之一，其可造成單一點突變(point mutation)，使得鹼基配對改變，進而改變基因序列(李，1972；范及盧，1981)。以 EMS 誘變植株其存活率與 EMS 溶液之濃度與浸泡時間相關，一般隨著 EMS 濃度與浸泡時間增加，植株存活率隨之降低(Bhagwat and Duncan, 1998；Latado *et al.*, 2004；Fang and Traore, 2011)。

表 5. 不同 EMS 濃度及處理時間對'台農 4 號'鳳梨組培白化苗萌芽率之影響

Table 5. Effects of different EMS concentrations and treatment durations on the regeneration percentage of 'Tainung No.4' pineapple etiolated plantlets cultured *in vitro*.

EMS (%)	Duration (hr)	Regeneration (%) <sup>z</sup>
H <sub>2</sub> O (CK)	1	73.3 ± 15.3 <sup>y</sup> a <sup>x</sup>
0.005	1	50.0 ± 26.5 ab
0.005	2	53.3 ± 15.3 ab
0.01	1	50.0 ± 20.0 ab
0.01	2	50.0 ± 20.0 ab
0.015	1	36.7 ± 15.3 b
0.015	2	53.3 ± 15.3 ab

<sup>z</sup>The percentage of regeneration = (the number of regenerated explants / the total number of explants) × 100%. Ten plantlets per replicates, 3 replicates per treatment. Plantlets were cultured for 6 weeks before evaluation.

<sup>y</sup>Mean ± standard deviation.

<sup>x</sup> Mean separation by Least Significant Difference (LSD) test, P=0.05.

本研究以 0.4%、0.6%之 EMS 溶液處理'台農 4 號'組培小苗，得出即使以 EMS 濃度 0.4%、浸泡 24 小時處理植株，其存活率依然高達 83.3%，但 0.6%之 EMS 處理則隨著時間增長，植株存活率逐漸下降(表 1)。小苗誘變後之發根率方面，植株經誘變後 3 週可看出不同處理發根率之差異，且相同 EMS 濃度處理，浸泡時間愈長，植株發根愈晚(表 2、表 7)，顯示處理時間愈長，植株恢復生長勢所需時間愈長，而經誘變處理後 4 週，存活植株皆已恢復生長勢。在選擇適當之 EMS 濃度與處理時間，一般可選擇接近對照組存活率一半之處理組合，即半致死率(LD<sub>50</sub>) (Latado *et al.*, 2004; Benjavad Talebi *et al.*, 2012; Bidabadi *et al.*, 2012; Aslam *et al.*, 2013)。本研究顯示'台農 4 號'組培小苗誘變試驗，接近半致死率之處理組合為 EMS 濃度 0.6%，浸泡時間 16 至 18 小時(表 1)。

以不同濃度之 EMS 誘變'台農 4 號'鳳梨組培大苗，其植株存活率亦與處理濃度與時間相關。以 0.2% EMS 浸泡 12 小時以上，0.3% EMS 浸泡 8 小時以上，0.4% EMS 浸泡 5 小時以上，及 0.4% EMS 浸泡 4 小時以上，其植株全部死亡(表 3)。因此，可利用濃度(C)與時間(T)之乘積(CT)以推估'台農 4 號'組培大苗存活之臨界處理條件。本研究中，EMS 濃度與時間之 CT 值 2.4 為'台農 4 號'組培大苗存活率之臨界處理條件，CT 值超過 2.4 之處理組合，植株存活率為 0 (表 3)，因此，臨界 CT 值可作為後續試驗設計處理濃度與時間時之參考。

利用不同濃度之 EMS 誘變'台農 4 號'鳳梨組培白化苗，濃度分別為 0.001%、0.005%、

0.01%之 EMS 溶液，僅 0.01%浸泡 1 小時植株萌芽率降至 20.0%，其餘處理萌芽率約在 33.3%至 36.7%之間(表 4)。以 0.005%、0.01%、0.015%之 EMS 溶液浸泡處理 1 及 2 小時，僅 EMS 0.015%浸泡 1 小時之萌芽率為 36.7%，其他組合則在 50.0%至 53.3%之間(表 5)，推測出半致死率(LD<sub>50</sub>)之處理濃度可選擇 EMS 濃度 0.015%以上，浸泡時間 2 小時以上之處理組合。而比較不同培養週數之白化苗做為試驗材料，以培養 10 週之白化苗其對照組之萌芽率為 73.3%(表 5)，而培養 6 週之白化苗其對照組萌芽率為 36.7%(表 4)，顯示出培養時間愈長，使得植株生長茁壯，白化苗之萌芽率亦較高，未來試驗之處理條件可選擇培養 10 週之白化苗，EMS 濃度為 0.015%以上，浸泡時間可在 2 小時以上。

若以相同濃度 EMS 進行誘變處理，如 0.4% EMS 組培小苗浸泡時間達 24 小時，其存活率仍為 83.3%，而相同濃度下，組培大苗則浸泡時間 3 小時，其存活率僅剩 14.3%。0.6% EMS 組培小苗浸泡時間為 18 小時，其存活率仍有 20.0%，組培大苗只要浸泡 4 小時以上，植株全部死亡(表 1、表 3)。本研究試驗之白化苗 EMS 誘變濃度又較小苗、大苗為低，顯示出三種型態之誘變材料以小苗之生長勢較強，不易受 EMS 影響造成死亡，大苗植株雖大，但因須拔除葉片露出短縮莖，且處理後加以暗期處理致使存活率較低，而白化苗較其它材料又更為幼嫩。以'台農 4 號'組培小苗做為誘變材料，雖可在鳳梨組培初代利用生長培養基、增殖培養基快速得到符合誘變標準之組培小苗做為材料，但因小苗繁殖方式是以切口處體細胞直接誘導器官發生之方式增殖，經誘變後，若要增殖經誘變選拔出的小苗，以增殖培養基培養出之後代若為從切口處體細胞直接器官發生而來，無法正確分辨後代來源是從經誘變後的細胞而來或是由未誘變之細胞而來。另外，若於誘變後當代即產生變異，因變異細胞為莖頂分生細胞誘變而來，亦無法利用植株切口處之體細胞直接器官發生增殖出具誘變之後代。為改善因後代不易追溯或不易繁殖之問題，發展出組培大苗之誘變方式，以鳳梨短縮莖之莖頂分生細胞做為誘變目標，誘變處理後再以遮光方式讓莖頂伸長，誘導出白化苗(Kiss *et al.*, 1995; Barboza and Caldas, 2001)。且白化苗上之新梢皆為原本短縮莖上莖頂分生細胞發育而來，相較於小苗誘變材料更易追蹤後代，可將新梢切下再以照光培養後，即可長成正常之鳳梨植株。直接使用誘導出之白化苗做為誘變材料，因材料取得需要更長時間、須選擇苗體粗細一致，且因白化苗較其他材料更為幼嫩，在 EMS 濃度選擇與浸泡間上需更為謹慎。誘變試驗直接以白化苗做為誘變材料，具有芽體清楚可直接誘變到目標之優點，但因材料製備上準備時間較長且 EMS 濃度與處理時間尚未找到植株之半致死率(LD<sub>50</sub>)，若能克服材料準備與選擇上之障礙，則可多嘗試各種不同濃度與處理時間之組合，以白化苗做為誘變材料應是最易追溯誘變來源之方法。

本研究利用'台農 4 號'鳳梨組培苗為誘變材料進行之誘變試驗中，已獲得具有葉緣部分有刺及葉緣少刺之植株(圖 1)，將來擴大誘變處理之樣品數，應可獲得更多葉緣少刺，甚至完全無刺之植株。



圖 1. 經 EMS 誘變出之部分有刺(左)及少刺(右)'台農 4 號'小苗。

Fig. 1. Scallop spines (left) and few spines (right) of 'Tainung No. 4' pineapple plantlets derived from EMS mutation induction.

### 參 考 文 獻

- 李文權。1972。烷類誘變劑(Alkylating agents)的作用及其誘變效果。科學農業 20: 229-242。
- 林榮貴。2004。鳳梨新品種台農 20 號(牛奶鳳梨)之介紹。農業試驗所技術服務 60: 20-22。
- 林學詩、蔡月夏。2005。結合組織培養與放射線照射誘導鳳梨變異之研究。中國園藝 51: 241-248。
- 范基南、盧英權。1981。Sodium Azide 與 EMS 對大麥誘變效果之比較。科學農業 29:61-65。
- 程永雄、黃子彬、徐信次、鄭清煥、呂明雄。2002。農業推廣教材—鳳梨栽培管理技術。行政院農業委員會農業試驗所嘉義農業試驗分所。嘉義，臺灣。
- 陳家慧。2012。台農 17 號鳳梨甲基磺酸乙酯誘變育種之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- Aslam, U., A. A. Khan, H. M. N. Cheema, F. Imtiaz, and W. Malik. 2013. Kill curve analysis and response of ethyl methanesulfonate and  $\gamma$ -rays in diploid and tetraploid cotton. Int. J. Agric. Biol. 15: 11-18.
- Barboza, S. B. S. C. and L. S. Caldas. 2001. Etiolation and regeneration in the *in vitro* multiplication of hybrid PE  $\times$  SC-52 pineapple. Pesq. Agropec. Bras. 36: 417-423.
- Bhagwat, B. and E. J. Duncan. 1998. Mutation breeding of banana cv. Highgate (*Musa* spp., AAA group) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using chemical mutagens. Sci. Hort. 73: 11-22.
- Bidabadi, S. S., S. Meon, Z. Wahab, S. Subramaniam, and M. Mahmood. 2012. Induced

- mutations for enhancing variability of banana (*Musa* spp.) shoot tip cultures using ethyl methanesulphonate (EMS). *AJCS* 6: 391-401.
- Chan, Y. K. 1993. Recent advancements in hybridization and selection of pineapple in Malaysia. *Acta Hort.* 334: 33-45.
- Collins, J. L. 1960. The pineapple botany, cultivation, and utilization. Interscience. New York.
- Collins, J. L. and K. R. Kerns. 1946. Inheritance of three leaf types in the pineapple. *J. Hered.* 37: 123-128.
- Fang, J. Y. and S. Traore. 2011. In vitro mutation induction of *Saintpaulia* using ethyl methanesulfonate. *HortScience* 46: 981-984.
- FAO. 2012. World pineapple production quantity. <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>
- Hassan, A. and Z. Othman. 2011. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.), p. 194-217. In: E.M. Yahia (ed.). Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. vol 4. Woodhead. Cambridge.
- Kiss, E., J. Kiss, G. Gyulai, and L. E. Heszky. 1995. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. *HortScience* 30: 127-129.
- Latado, R. R., A. H. Adames, and A. Tulmann Neto. 2004. *In vitro* mutation of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) with ethylmethanesulphonate (EMS) in immature floral pedicels. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 77: 103-106.
- Loison-Cabot, C. and J. J. Lacoeyuilhe. 1990. A genetic hybridization programme for improving pineapple quality. *Acta Hort.* 275: 395-401.
- Suneerat, S. 2009. Pineapple hybridization and selection in Thailand. *Acta Hort.* 822: 57-62.
- Talebi, A. B., A. B. Talebi, and B. Shahrokhifar. 2012. Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenesis in Malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination. *Amer. J. Plant Sci.* 3: 1661-1665.

## Studies on Mutation Breeding of 'Tainung No. 4' Pineapple

Yu-Fang Chen <sup>1)</sup> Ching-Cheng Chen <sup>2)</sup>

Key words: EMS (ethyl methanesulphonate), etiolated plantlets, *in vitro* culture

### Summary

The effects of using EMS (ethyl methanesulphonate) as a mutagen on the survival rate of 'Tainung No. 4' pineapple plantlets cultured *in vitro* were examined. The survival rate of plantlets (5-8 mm) in the treatments of 0.6% EMS 12hr, 14 hr and 16 hr were 96.7%, 76.7% and 63.3%, respectively. However, in the treatment of 0.6% EMS 18 hr, the survival rate decreased to 20%. The LD<sub>50</sub> treatment should be 0.6% EMS and duration between 16 hr and 18 hr. The growth vigor recovered slowly with increased treatment duration by evaluating the rooting rate of plantlets. Large plantlets (4-5 cm) were treated with EMS followed by dark treatment to induce etiolated plantlets. The survival rate of large plantlets decreased with increased EMS concentration and treatment duration. The survival rate of etiolated plantlets in the treatment of 0.01% EMS 1hr was 20.0%, and that of the control was 36.7%. There were significant difference between two treatments. In summary, the survival rate of different plantlets decreased when EMS concentration and treatment duration increased.

---

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

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

## Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU on Fruit Quality in Seedlessness Oval Kumquat (*Fortunella margarita* Swingle)

Nimmannoradee Promtong <sup>1)</sup> Ching-Lung Lee <sup>2)</sup> Yau-Shiang Yang <sup>3)</sup>

Keywords: streptomycin sulfate, seed number, fruit size

### Summary

Ten years old potted kumquat plants were sprayed 240 ppm streptomycin sulfate 7 days before flowering and then followed by GA<sub>3</sub> 20 ppm or CPPU 10 ppm treatment 7 days after flowering. Their fruit quality were investigated in beginning of mature stage in normal and off seasons. It was found that the percentage of seedlessness fruit reached 79-85% in both seasons and significantly higher than 11-22% of untreated control. In the distribution of seed number, it was shown that 65-66% fruits with 2 and 3 seeds, 8-21% fruits with 1 and 4 seed in untreated control. Whereas only 11-21% fruits with 1 seed was found in treatments of GA<sub>3</sub> and CPPU in both seasons. For fruit quality, GA<sub>3</sub> and CPPU improved fresh weight 2.5-3 g (23-25%) and 3 - 4.1g (28-35%) respectively. GA<sub>3</sub> enhanced higher TSS than CPPU and untreated control in both seasons. Titrable acidity was lower in fruits of GA<sub>3</sub> and CPPU treatments in normal season.

### Introduction

Streptomycin was successfully used for seedlessness in grape (Fukunaga and Kurooka, 1988; Pommer *et al.*, 1996; Ishikawa *et al.*, 1996; Tanarut *et al.*, 2010) and pummelo (Kitajima *et al.*, 2004). In the previous experiment (Promtong *et al.*, 2014), it was found that streptomycin sulfate 240 ppm could induced 76% seedless fruits in oval kumquat, but fruit became smaller in 14%.

- 
- 1) Graduate student in Ph.D. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
  - 2) Chair Professor, National Chung Hsing University.
  - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

Application of plant growth regulators for fruit enlargement was reported by many researchers, such as application of NAA in grape (Rizk-Alla *et al.*, 2011) and mandarin (Greenberg *et al.*, 2006; Stover *et al.*, 2006), GA<sub>3</sub> in sweet cherry (Silvija *et al.*, 2012) and grape (Chen and Yang, 1989; Lin *et al.*, 2009; Nampila *et al.*, 2010), CPPU in pear (Shargal *et al.*, 2006), persimmon (Hasegawa *et al.*, 1991), kiwifruit (Kim *et al.*, 2006), blueberry (NeSmith, 2002) and grape (Chen and Yang, 1989; Zabadal and Bukovac, 2006; Nampila *et al.*, 2010), but it was fewer reports in oval kumquat.

The purpose of this experiment tried to use GA<sub>3</sub> and CPPU to improve fruit size and quality in seedlessness fruits after streptomycin sulfate pretreatment and to compare the difference between normal season and off season fruits.

## **Material and Methods**

### Plant materials

This experiment was carried out at the Grape Center of Horticulture Experiment Station, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan. Ten-year-old healthy oval kumquat plants (grafted on sour orange) were grown in plastic containers (36 cm in diameter) with a 3 : 1 mixture of soil and peat moss media and strong vigor plants (110 cm in height) were selected for experiments. For normal season, shoot pruning was carried out on January 15, 2010. After having new shoots matured in late March, healthy and uniform shoots were selected for treatments. The off season experiment was conducted at Department of Horticulture in National Chung Hsing University. 11-year-old oval kumquat plants were used for experiment and shoot pruning was carried out on July 15, 2011. After new shoots matured in late August, healthy and uniform shoots were selected for treatments.

### Methods of experiment

#### 1. Streptomycin sulfate and PGRs treatments

The completely randomized design (CRD) was used in this experiment with 2 treatments and 5 replications (potted plants). Twelve shoots with 10 uniform flower buds on each plant for this experiment. Streptomycin sulfate 240 ppm was applied to flower buds on April 1 of 2010 and September 15 of 2011 (7 days before flowering) for normal season and off season, respectively. Flower buds sprayed distilled water only was used as the untreated control. Following treatment of GA<sub>3</sub> 20 ppm or CPPU 10 ppm was carried out on April 15 and September 15 (7 days after flowering) for normal season and off season, respectively. In both seasons, young fruits were thinning to remain 10 fruits in treatment of each plant on the 37th

days after flowering. All fruits were harvested 150 days after flowering.

## 2. Investigation of seed number

Seed number was counted from 8 fruits per treatment in each plant (totally 40 fruits) and calculated the percentage of seedless fruit and seed number distribution.

## 3. Fruit quality analysis

### 1) Fresh weight of fruit

Electronic weighing scale was used to weigh each fruit.

### 2) Total soluble solids (TSS) of juice

Determined by handheld tortuous account (Hand refractometer, ATAGO).

### 3) Titratable acid (TA) of juice

Eight fruits of same plant were mixed it's juice for TA measurement. ATAGO FS-2 was used for the measurement of acidity. Juice was diluted by adding 9 ml distilled water into 1ml sampled juice, and titrated by using 0.1N NaOH, then calculated as citric acid content.

## Results

### 1. Normal season

Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on seed number, it was found their normal and total seed number of fruit were significantly less than the untreated control, whereas more empty seed number was found in fruits of treatments. For the percentage of seedless fruit, it was shown that 79-84% was obtained in treatments of streptomycin sulfate and GA<sub>3</sub> or CPPU, which was significantly higher than 11% of untreated control (Table 1).

Table 1. Effects GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on seed number and percentage of seedless fruit in oval kumquat in normal season.

Treatments <sup>z</sup>	Seed number / fruit			Seedless fruit (%)
	Normal	Empty	Total	
Untreated control	3.2a <sup>y</sup>	0.5b	3.7a	11.5b
SM 240 ppm → GA <sub>3</sub> 20 ppm	0.2b	1.1a	1.3b	84.6a
SM 240 ppm → CPPU 10 ppm	0.5b	1.9a	2.4b	79.2a

<sup>z</sup>Streptomycin sulfate was treated on the 7th day before flowering, GA<sub>3</sub> and CPPU were treated on the 7th day after flowering. Flowering time was April 8, 2010.

<sup>y</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

In the distribution of seed number, result showed there were 65% fruits with 2 and 3 seeds, 21% fruits with 1 and 4 seeds in untreated control, whereas only 15-21% fruits with 1 seed and 79-84% seedless fruits was found in treatment of streptomycin and GA<sub>3</sub>, CPPU (Fig. 1).

For effects of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on fruit quality, it was found that GA<sub>3</sub> and CPPU improved fruit weight 2.5 g and 3 g, respectively. It increased 23-28% in relative ratio as compared with untreated control. The total soluble solids of juice in fruits of GA<sub>3</sub> treatment were significantly higher than that in CPPU treatment and untreated control. For the titrable acidity, it was lower in fruits of GA<sub>3</sub> and CPPU treatments (Table 2).

## 2. Off season

Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on normal seed and total seed number of fruit were similar to normal season. They were less than the untreated control, and had more empty seed in fruits. For the percentage of seedless fruit, it was found that 81-85% was also obtained in treatments of GA<sub>3</sub> and CPPU. Although it had higher percentage in 22% as compared with normal season in untreated control, but it showed significantly lower percentage than that of treatments (Table 3).

For the distribution of seed number in off season, it was found that 22% fruits was seedless in untreated control which was 11% higher, but 1 and 4 seeds was 13% lower than that in normal season. Fruit with 2 and 3 seeds was 66% which showed the same percentage as normal season. Whereas there was no fruit has more than 1 seed and only 15-19% fruits with 1 seed was found in treatments of GA<sub>3</sub> and CPPU (Fig. 2).

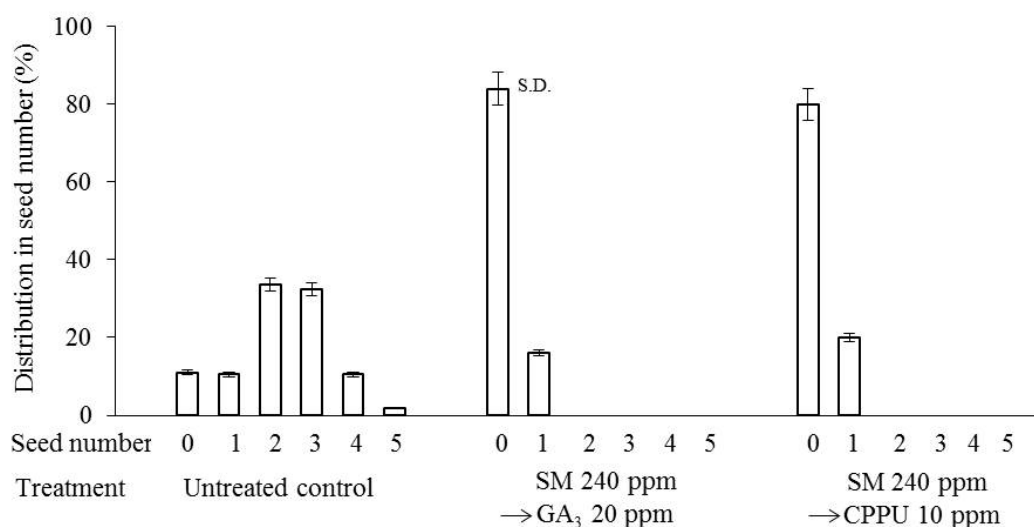


Fig. 1. Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on distribution of seed number in oval kumquat fruits in normal season.

Table 2. Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on fruit quality of oval kumquat in normal season.

Treatments <sup>z</sup>	Fresh weight of fruit (g)	Total soluble solids (°Brix)	Titrateable acidity (mg/ 100 ml)
Untreated control	10.6b <sup>y</sup> (100) <sup>x</sup>	7.5b	1.8a
SM 240 ppm → GA <sub>3</sub> 20 ppm	13.1a (123)	8.2a	1.6b
SM 240 ppm → CPPU 10 ppm	13.6a (128)	7.7b	1.5b

<sup>z</sup>Streptomycin sulfate was treated on the 7th day before flowering, GA<sub>3</sub> and CPPU were treated on the 7th day after flowering. Flowering time was April 8, 2010.

<sup>y</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

<sup>x</sup>Relative ratio to the untreated control.

Table 3. Effects GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on seed number and percentage of seedless fruit in oval kumquat in off season.

Treatments <sup>z</sup>	Seed number / fruit			Seedless fruit (%)
	Normal	Empty	Total	
Untreated control	3.0a <sup>y</sup>	0.9b	3.7a	22.4b
SM 240 ppm → GA <sub>3</sub> 20 ppm	0.3b	1.7a	2.0b	85.0a
SM 240 ppm → CPPU 10 ppm	0.4b	1.7a	2.1b	81.0a

<sup>z</sup>Streptomycin sulfate was treated on the 7th day before flowering, GA<sub>3</sub> and CPPU were treated on the 7th day after flowering. Flowering time was September 22, 2011.

<sup>y</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

For the distribution of seed number in off season, it was found that 22% fruits was seedless in untreated control which was 11% higher, but 1 and 4 seeds was 13% lower than that in normal season. Fruit with 2 and 3 seeds was 66% which showed the same percentage as normal season. Whereas there was no fruit has more than 1 seed and only 15-19% fruits with 1 seed was found in treatments of GA<sub>3</sub> and CPPU (Fig. 2).

For the effect of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on fruit quality, results were shown a similar trend as in normal season. GA<sub>3</sub> and CPPU increased fruit weight

3g and 4.1g respectively, it increased 25-35% in relative ratio as compared with untreated control. The total soluble solids of juice in GA<sub>3</sub> treatment was also significantly higher than that in CPPU treatment and untreated control. However, there was no significant difference in titratable acidity between GA<sub>3</sub>, CPPU treatments and untreated control (Table 4).

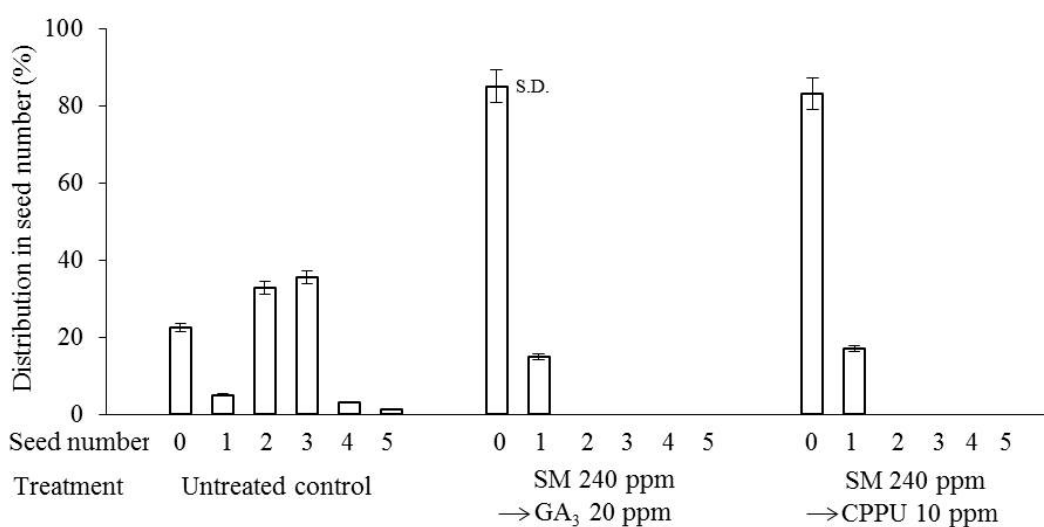


Fig. 2. Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on distribution of seed number in oval kumquat fruits in off season.

Table 4. Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU after streptomycin sulfate pretreatment on fruit quality of oval kumquat in off season.

Treatments <sup>z</sup>	Fresh weight of fruit (g)	Total soluble solids (°Brix)	Titratable acidity (mg/ 100 ml)
Untreated control	11.6b <sup>y</sup> (100) <sup>x</sup>	7.6b	1.6a
SM 240 ppm → GA <sub>3</sub> 20 ppm	14.6a (125)	8.6a	1.7a
SM 240 ppm → CPPU 10 ppm	15.7a (135)	7.7b	1.5a

<sup>z</sup>Streptomycin sulfate was treated on the 7th day before flowering, GA<sub>3</sub> and CPPU were treated on the 7th day after flowering. Flowering time was September 22, 2011.

<sup>y</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's MRT at  $p \leq 0.05$ .

<sup>x</sup>Relative ratio to the untreated control.

## Discussion

Streptomycin sulfate induced about 100% seedless fruit in grapes (Fukunaga and Kurooka, 1988; Pommer *et al.*, 1996; Tanarut *et al.*, 2010) and 'Tosa Buntan' pomelo (Kitajima *et al.*, 2004). In this experiment, streptomycin sulfate pretreatment and follow applied with GA<sub>3</sub> or CPPU in oval kumquat resulted in producing a lower percentage of seedless fruit in 79-85%, but most of seeded fruits contained only 1 small seed. It was considered that there were high percentages in viable pollen and pollen germination after streptomycin sulfate treatment (Promtong *et al.*, 2014). For the distribution of seed number in fruit, it was shown that the distribution of untreated control was different between normal season and off season (Wang and Yang, 1984). Whereas no difference was found in the distribution of seed number between GA<sub>3</sub> and CPPU treatment after streptomycin sulfate pretreatment in both seasons. This result implied that climatic change does not affect its distribution of seed number.

For the fruit size, it was found that fresh weight decreased 15% after streptomycin sulfate 240 ppm treatment in the previous experiment (Promtong *et al.*, 2014). In this experiment, the following treatment of GA<sub>3</sub> and CPPU improved 23-25% and 28-35% in normal season and off season, respectively. The enhancing effect of GA<sub>3</sub> in cell enlargement was due to the increase in sink strength for accumulating nutrients (Lu *et al.*, 1995; Taleb and Zahra, 2010; Zhenming *et al.*, 2008). CPPU showed more effect in cell division and enlargement (Hamada *et al.*, 2008).

For the total soluble solids, GA<sub>3</sub> treatment improved 0.5-1° Brix as compared with CPPU treatment and untreated control in both seasons because the sink strength of GA<sub>3</sub> treated fruit became higher (Sarkar and Ghosh, 2005; Taleb and Zahra, 2010). For the titrable acidity, it was no significant difference between GA<sub>3</sub>, CPPU treatments and untreated control in off season, but the titrable acidity became lower after treatment of GA<sub>3</sub> and CPPU in normal season. It seemed that GA<sub>3</sub> and CPPU improved fruit maturity easily under warmer climate (Nkansah *et al.*, 2012).

## Acknowledgements

The authors would like to express thanks to Dr. Zi-Bing Huang, Department of Horticulture and Biotechnology, Chinese Culture University for suggestions. Also thanks to Lan Yan Branch Station of Hualian District Agriculture Experiment and Extension Station supported healthy seedlings.

## References

- Chen, B. S. and Y. S. Yang. 1989. Effect of GA<sub>3</sub> and KT-30 on berry growth of winter 'Kyoho' grapes. Horticulture NCHU. 14: 15-30.
- Fukunaga, S. and H. Kurooka. 1988. Studies on seedlessness of 'Kyoho' grapes induced by gibberellins in combination with streptomycin. Bull. Univ. Osaka Prefect. Ser. B: Agri. Biol. 40: 1-10
- Greenberg, J., I. Kaplan, M. Fainzack, Y. Egozi, and B. Giladi. 2006. Effects of auxin sprays on yield, fruit size, splitting and the incidence of creasing of 'Nova' mandarin. Acta Hort. 727: 249-254.
- Hamada, K., K. Haegawa, and T. Ogata. 2008. Effects of CPPU and strapping on fruit size and maturity in 'Hiratanenashi' Japanese persimmon. J. Hort. Sci. Biol. 83:477-480.
- Hasegawa K, N. Kuge, T. Mimura, and Y. Nakajima. 1991. Effects of KT-30 and GA<sub>3</sub> on the fruit set and the fruit growth of persimmon cvs. Saijo and Hiratanenashi. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 60: 19-29.
- Ishikawa, K. H., H. Takahashi, H. Kata, and F. Ekedo. 1996. Effect of streptomycin on seedless of 'Fujiminori' and 'Kyoho' grapes. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65: 240-241.
- Kim, J. G., Y. Takami, T. Mizugami, K. Beppu, T. Fukuda, and I. Kataoka. 2006. CPPU application on size and quality of hardy kiwifruit. Sci. Hort.110: 219-222.
- Kitajima, A., A. Yamasaki, and K. Hasegawa. 2004. Seedless fruit production in Tosa Buntan pummelo. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 20: 469-475.
- Lin, R. J., B. S. Chen, and Y. S. Yang. 2009. Effects of plant growth regulators on fruit growth and quality of 'Kyoho' and 'Honey Red' grapes. Horticulture NCHU. 34: 1-11.
- Lu, J., O. Lamikanra, and S. Leong. 1995. Effects of gibberellic acid on Muscadine grape production. Proc. Fla. State Hort. Soc., 108: 360-361.
- Nampila, R., B. S. Chen, C. C. Chen, and Y. S. Yang. 2010. Effects of GA<sub>3</sub> and CPPU on berry size of seedless grapes. Horticulture NCHU 35(3): 53-64.
- NeSmith, D. S. 2002. Response of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) to the growth regulators CPPU and gibberellic acid. Hort. Sci. 37:666-668.
- Nkansah, G. O., J. Ofosu- Anim, and A. Mawuli. 2012. Gibberellic acid and naphthalene acetic acid affect fruit retention, yield and quality of Keitt mangoes in Coastal Savanna ecological zone of Ghana. Amer. J. Plant Physiol. 7: 243-251.
- Pommer, C. C., E. J. Pires, M. M. Terra, and I. R. S. Passor. 1996. Streptomycin induced seedlessness in the grape cultivar Rubi (Italia Red). Amer. J. Enol. Vitic.47: 340-342.
- Promptong, N., C. L. Lee, and Y. S. Yang. 2014. Effects of streptomycin sulfate on seedlessness

- in oval kumquat (*Fortunella margarita* Swingle). Horticulture NCHU 39(2): 1-12.
- Rizk-Alla, M. S., M. A. Abd El-Wahab, and O. M. Fekry. 2011. Application of GA<sub>3</sub> and NAA as a means for improving yield, fruit quality and storability of cv. Black Monukka grape. Nature and Sci. 9:1-19.
- Sakar, S. and B. Ghosh. 2005. GA<sub>3</sub> application increased fruit weight, volume and length of fruit and also increased soluble sugar content in mango cv. Amrapali. Environ. Ecol. 23: 379-380.
- Shargal, A., S. Golobovich, Z. Yablovich, L. A. Shlizerman, R. A. Stern, G. Grafi, S. Lev-Yadun, and M. A. Flaishman. 2006. Synthetic cytokinins extend the phase of division of parenchyma cells in developing pear (*Pyrus communis* L.) fruits. J. Hort. Sci. Biotech. 81: 915-920.
- Silvija, Z., C. Zlatko, and J. Tomislav. 2012. Size and weight of sweet cherry (*Prunus avium* L. 'Regina') fruit treated with 3,5,6-TPA and GA<sub>3</sub>. Agri. Conspectus Sci. 77: 45-47.
- Stover, E., S. Ciliento, M. Myers, and B. Boman. 2006. Fruit size and yield of mandarins as influenced by spray volume and surfactant use in NAA thinning. Hort. Sci. 41: 1435-1439.
- Taleb, R. and A. Zahra. 2010. Berry size of Thompson Seedless as influenced by the application of gibberellic acid and cane girdling. Pak. J. Bot. 42:1755-1760.
- Tanarut, C., C. C. Chen, and Y. S. Yang. 2010. Effects of streptomycin, GA<sub>3</sub> and CPPU treatments on induction of seedless berry in 'Kyoho' and 'Honey Red' grapes. Horticulture NCHU 35(3): 1-11.
- Wang, N. L. and Y. S. Yang. 1984. Seed number of summer and winter 'Kyoho' grapes. Horticulture NCHU 9: 17-22.
- Zabadal, T. J. and M. J. Bukovac. 2006. Effect of CPPU on fruit development of selected seedless and seeded grape cultivars. Hort. Sci. 41:154-157.
- Zhenming, N., X. Xuefeng, W. Yi, L. Tianzhong, K. Jin, and H. Zhenhai. 2008. Effects of leaf applied potassium, gibberellin and source-sink ratio on potassium absorption and distribution in grape fruits. Sci. Hort. 115: 164-167.

## GA<sub>3</sub> 及 CPPU 對無子長實金柑 (*Fortunella margarita* Swingle) 果實品質之影響

石 巧 月<sup>1)</sup> 李 金 龍<sup>2)</sup> 楊 耀 祥<sup>3)</sup>

關鍵字：鏈黴素、種子數、果實大小

**摘要：**本研究以 10 年生盆栽長實金柑植株為試驗材料，分別在正產期及非正產期之開花前 7 日先以鏈黴素 (streptomycin sulfate) 240ppm 噴施花蕾誘導無子化，再於花後 7 日以 GA<sub>3</sub>20ppm 或 CPPU10ppm 處理幼果後，在果實開始成熟時調查其對果實品質之影響。

由試驗之結果發現，兩產期經鏈黴素及 GA<sub>3</sub> 或 CPPU 處理者的無子率可達 79-85%，顯著高於未處理對照組的 11-22%。在種子數的分布率，可知未處理的對照組 65-66% 的果實含有 2 個及 3 個種子，8-21% 含有 1 個及 4 個種子。相對地在 GA<sub>3</sub> 或 CPPU 處理者則僅有 11-21% 的果實含有 1 個種子，其他為無子。在果實的品質，GA<sub>3</sub> 促進果實的鮮重增加 2.5-3g(23-25%)，CPPU 則促進 3-4.1g(28-35%)。GA<sub>3</sub> 在兩產期皆增加果實糖度，GA<sub>3</sub> 及 CPPU 在正產期會促使果實酸度降低。

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 國立中興大學講座教授。

3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

## The Effect of Inflorescence Removal on the Formation and Flowering of Lateral Bud in 'Irwin' Mango (*Mangifera indica* L.)

Rumpai Nampila <sup>1)</sup> Huey-Ling Lin <sup>2)</sup>

Key words: *Mangifera indica* L., inflorescence removal, flower initiation

### Summary

In this study, the 'Irwin' (*Mangifera indica* L.) shoots were encouraged to flower out of season by removal of terminal inflorescences. Flower initiation date and readiness of the lateral bud to flower were studied through a collection of shoot samples which were carried out starting the day of inflorescence removal (February 11, 2013) and continuing every two days for 30 days. Microscopy of cross-sections of paraffin-embedded buds showed multi-lobed development of primary inflorescence occurring 4 days after inflorescence removal. These bud meristems, the precursors of the secondary inflorescence axes, bore flowers 12 days after inflorescence removal. Biochemical factors associated with inflorescence removal revealed that the total soluble sugar and C:N ratio increased during the process of inflorescence removal. These results suggest that increased total soluble sugar and C:N ratio may have a positive effect on flower formation in 'Irwin' mango during the initiation periods. Cross-sectioning and nutritional analysis confirmed that the changes within the bud were associated with flower initiation.

### Introduction

Mango (*Mangifera indica* L.) is one of the most important tropical fruits of the world. In Taiwan 2011, the area of mango plantation was 16,695 hectares and yield production was 169,380 tons (COA, Taiwan, 2011). The main harvest season for mango in Taiwan is summer.

---

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

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

Mango is a highly perishable fruit. However, the oversupply during June and July causes prices drop dramatically and making it a marginally profitable crop in Taiwan. The production of more profitable off-season mango may be possible by modifying the date of flowering which normally is in February and March.

Off-season fruit production depends on the ability to induce flowering out of season. Davenport (2009) reported that flower initiation can be stimulated by environmental factors, such as the change from dry to rainy season or a shift from cool to warm temperatures in the tropics. On the other hand, experiments have shown several methods that attempt to delay flowering and fruit development. One of which is tip pruning. Tip pruning is defined as pruning terminal stems anywhere from near the terminal apex to a point down the stem that is no larger than 1 cm in diameter (Davenport, 2006). Tip pruning causes a uniform flush of growth throughout the canopy, it removes growth and flower-inhibiting factors in stems derived from the previous flowering seasons and fruiting panicles (Davenport, 2000, 2006, 2009; Davenport and Nunez-Elisea, 1997). In order to delay flowering, other researchers have demonstrated that paradormancy exerted on axillary buds can be successfully removed by defoliation as soon as the new leaves emerge. Shoot tipping is, nonetheless, needed for the achievement of this intervention (Cautin and Razeto, 1999; Soler and Cuevas, 2008).

Removal of apical buds by pruning stimulates initiation of axillary shoots (Davenport *et al.*, 2006). Soler and Cuevas (2009) confirmed that leaf removal and tipping the new growth shoots delayed production of perfect flowers on cherimoya bud. This study theorized that by applying this methodology to inflorescence removal, the production of flowers on 'Irwin' mango buds could be delayed. The objectives of this study were 1) to document a reliable new technique for delay-season areas based on inflorescence removal to induce a secondary flower to produce out-of-season mango fruit; and 2) to confirm by a combination of microscopic observations of flower buds and by lab analyses of leaves response of flower buds by inflorescence removal.

## **Materials and Methods**

### **Plant Materials**

The experiments were carried out in February, 2013 using 25 year old 'Irwin' mango trees at the Grape Center, National Chung Hsing University, Wufong, Taichung, Taiwan (lat. 24° 4' 39.51N, long. 120° 43' 21.22E). All the mango trees were uniformly fertilized and received other recommended cultural practices such as shoot tipping, girdling, defoliation, irrigation and low temperature.

### Flower initiation and development

To determine flower initiation date in mango, 190 shoots from the flower inflorescence of the 2013 season's growth were collected from 'Irwin' mango trees. Inflorescence removal was carried out on February 11<sup>th</sup> the day flower bud had just unfolded. This date is hereafter referred to as day 0. Successive bud samples were taken after 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 and 30 days. These samples were used for light microscopy observations. For light microscopy, the mango buds detached every 2 days were fixed in FAA (formalin: acetic acid: 50% ethanol at 5:5:90 ratio), dehydrated through a graded ethanol series and embedded in Paraplast. The samples were cut at either a 10  $\mu$ M thick sections using a Leica RM2125RT rotary microtome (Leica Microsystems), mounted on slides and stained with Gerlach solution (Tsai, 2000) before observation.

### Bud readiness to complete flower development after de-inflorescence

The experiments were carried out to confirm the capacity of the young buds to produce flowers and used a completely randomized block design (CRD). The treatment was inflorescence removal. In the experiment, inflorescence removal was made on February 10<sup>th</sup> 2013 in 190 shoots that were blossoming (Fig. 1 inflorescences removal). Bud sprouting and flowering percentages were recorded for 30 days after inflorescence removal and compared with control shoots. Leaf samples were also collected every 2 days after treatment until re-flowering for the determination of total soluble sugar, starch, total nitrogen and mineral elements. Meteorological data were recorded every day after treatment until re-flowering. The minimum temperature was below 16°C for the months of November to February during the experiment (Fig. 2).

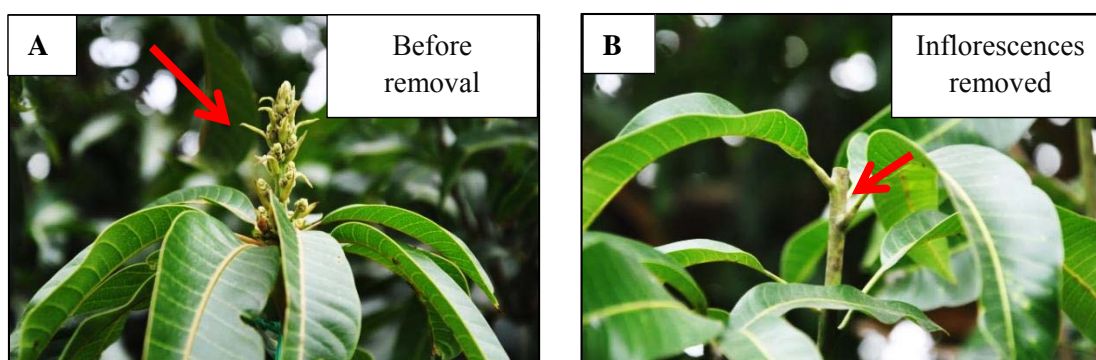


Fig. 1. The inflorescences of 'Irwin' mango. (A) Before removal. (B) Inflorescences removal.

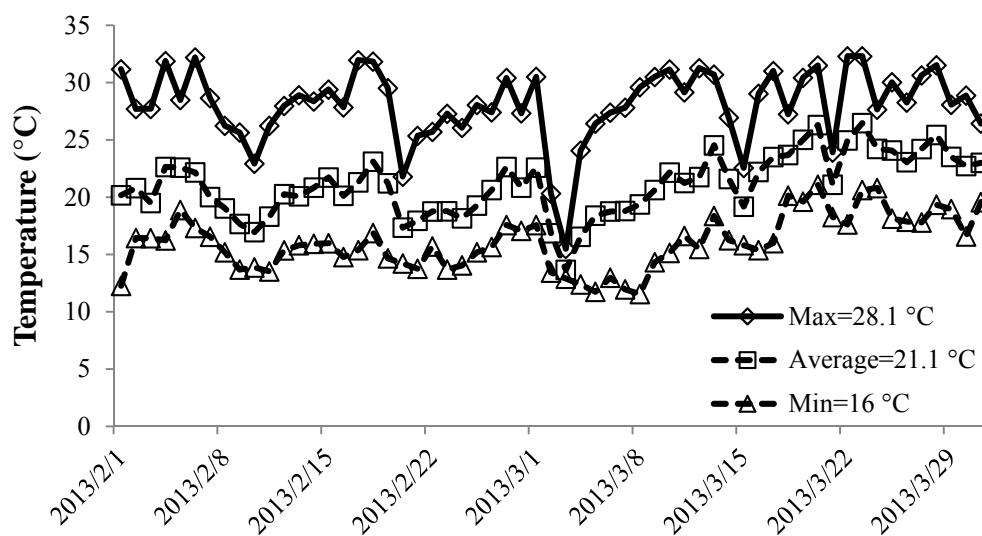


Fig. 2. Mean maximum, average and minimum temperature during the 2012-2013 winter season at the experimental orchard in Taichung, Taiwan.

#### **Analysis of total soluble sugar and starch**

The 'Irwin' mango leaves from 1 cm deep from removed inflorescences were collected and washed under tap water, rinsed with 1% HCl, and then thoroughly rinsed three times in distilled water. Samples were dried to constant weight in a hot air oven at 100 °C for 1 hour before the temperature was reduced to 70 °C for drying. The dried leaves were milled to a fine powder with an electric blender and subsequently stored until analysis. For the analysis, 10 mL distilled water was added to 0.1 g dried leaf samples in plastic test tubes. Samples were set in 30 °C water bath and shaken for 3 hours. After samples dissolved, they were centrifuged at 4,000 rpm for 10 min. The supernatants were removed and filtered through micro membrane cloth (Manufacturer) so that the supernatant could be used for total soluble sugar analyses while the residues were used in starch analysis.

#### **Determination of total soluble sugar**

A 2 mL aliquot of a 0.2 mL leaf suspension in 4.8 mL distilled water was pipetted into a new glass tube. Then 0.1 mL liquid phenol and 6 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (conc.) was added and the solution was suspended for 30 min. After 30 min, the absorbance value of sample solutions were measured by a spectrophotometer at a wavelength of 490 nm. Standard curve was made with various concentrations of glucose solutions. These standards were prepared by mixing solution of 2 mL distilled water, 0.1 mL liquid phenol and 6 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (conc.) with 2 mL of glucose solutions at

various concentrations from 0.05 to 0.25  $\mu\text{mole/mL}$  are these the final concentrations. The total soluble sugar content in the sample was calculated as percent of dry weight (Dubios, 1956).

#### **Determination of starch concentrations**

The residue was oven-dried overnight. Then, 2 mL of distilled water was added and incubated in water bath at 100 °C for 15 min. After incubation, 2 mL  $\text{HClO}_4$  (9.2 N) was added and incubated for 15 min, and finally, 6 mL distilled water was added. The subsequent solutions were centrifuged at 4,000 rpm for 10 min and filtered through membrane cloth (pore size). The 0.1 mL of solution was transferred into a new glass tube with the addition of 1.9 mL distilled water, 0.1 mL liquid phenol, and 6 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and put aside for 30 min. The glucose standard was prepared the same way as the total soluble sugars to generate a standard curve. The absorbance values of sample solutions were measured at a wavelength of 490 nm by spectrophotometer. The starch content was calculated as in percentages dry weight.

#### **Determination of total nitrogen (Micro-Kjeldahl method)**

Using the same method to prepare a dry sample powder of each mango leaf (see Analysis of total soluble sugar and starch), 0.2 g was weighed out and packed in Whatman No.1 filter paper then placed in digestion tube. One g Se mixture powder (Merck 8030) and 4.5 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  were added to the tube. The digestion tubes were placed in the digestion apparatus, then heated at 410 °C for about 3 hours until solution turned light blue. The digestion tubes were cooled down and 15 mL distilled water was added. Next, 20 mL of 12 N NaOH was added and the sample solution was placed into a Micro-Kjeldahl apparatus and measured into a 20 mL solution of 2% boric acid, which contained 9  $\mu\text{M}$  bromocresol and 25  $\mu\text{M}$  methyl red indicator solution. When total volume increased to 25 mL, 1/14 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  was titrated and volumes recorded. The nitrogen (%) was calculated (AOAC, 1995).

#### **Statistical analysis**

The data of the experiment underwent statistical analysis using SAS 9.2 (Institute Inc, 2002) and was subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) for a completely randomized design (CRD) statistical model. Mean values among treatments, when significant, were compared by least significant difference tests at the 5% ( $P \leq 0.05$ ) level of significance.

## **Results**

### **Flower initiation and development**

The date of inflorescence removal of 'Irwin' mango (*Mangifera indica* L.) is referred to as day 0 for flower initiation. Successive samples were taken after 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20,

22, 24, 26, 28 and 30 days. Dormant lateral flower buds developed from 24 days until 30 days after inflorescence removal. At 30 days after inflorescence removal, the elongation and loosening of scales made these lateral buds enter the flower bud sprouting stage (Fig. 3).

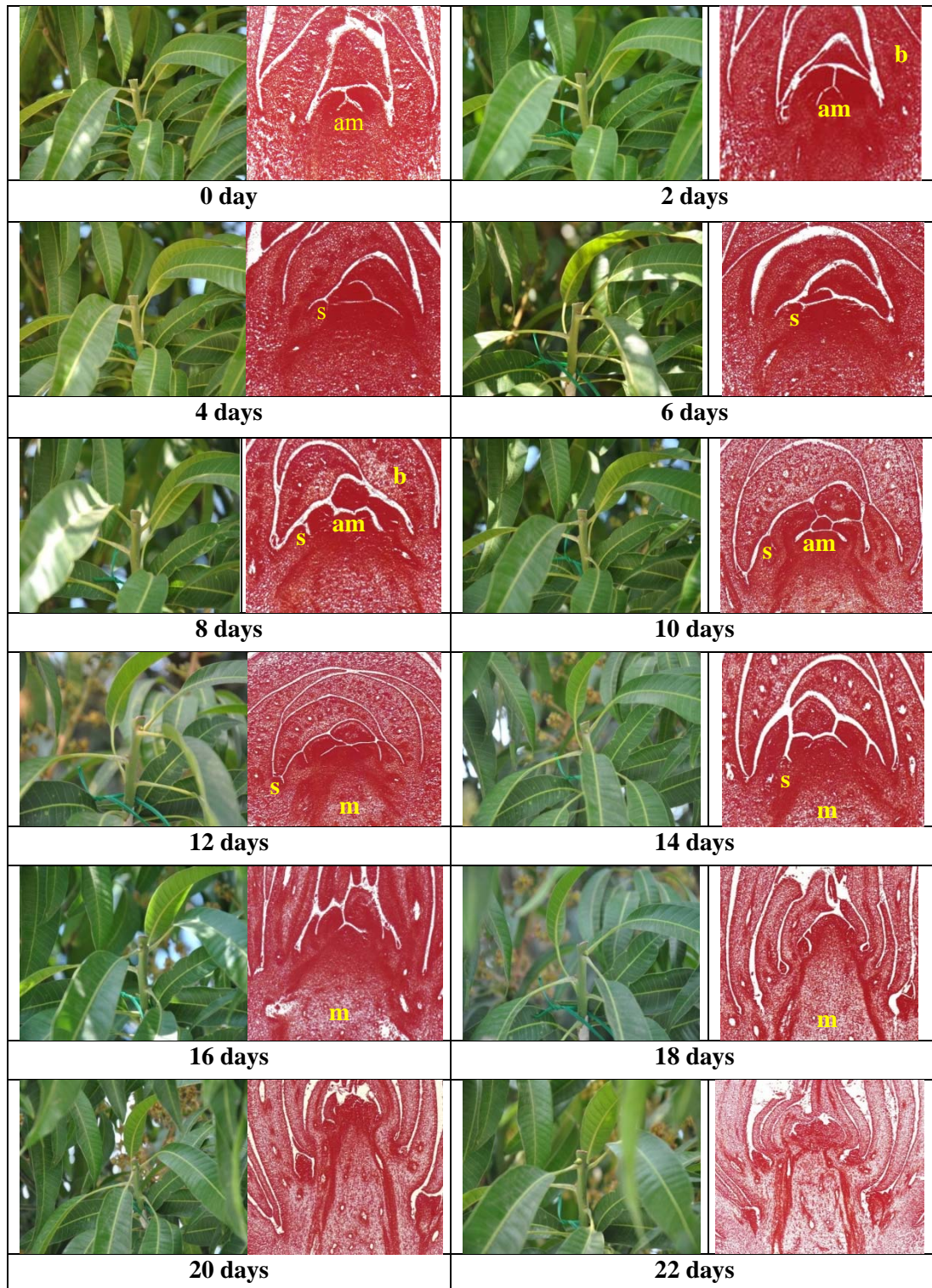
Longitudinal cross sections of the mango bud after inflorescence removal are illustrated in Fig. 4. Starting at day 0, axillary bud showed no prominent conical shaped bud meristems (Fig. 4A). From day 4 to 14 the bract axial elongated slightly and rounded off assuming a dome shape. As early as day 4, the terminal bud axis (primary inflorescence axis) elongated which is the first microscopic sign of bud activation and continued until day 14 with the appearance of bud meristems in which the axis elongated and became multi-lobed due to development of primary inflorescence of flower panicle (Fig. 2C, D, E and F). Finally day 16 to 30, these bud meristems continued to elongate and develop secondary inflorescence including lobes which is necessary to form flower cluster (Fig. 2G, H, I, J, K, L and M).

#### **Source composition of mango leaves**

Inflorescence removal affected nutritional composition of 'Irwin' leaves mango flower bud. A nitrogen levels in leaves were higher 20 days after inflorescence removal at 1.93%. At 22 days after inflorescence removal, nitrogen levels slowly decreased to 1.52% (Fig. 4). However, the total soluble sugar concentrations in leaves on the day of inflorescence removal (day 0) was 9.29%. It increased gradually and reached a peak of total soluble sugar of 10.91% at 16 days after inflorescence removal (Fig. 5). The starch level in leaves was lower at the beginning of inflorescence removal but thereafter, its content was slightly increased. At 22 days after inflorescence removal, starch concentrations increased and spiked at 4.89% and slightly decreased to 3.84% at 24 days after inflorescence removal. On 28 to 30 days after inflorescence removal, starch concentrations increased again (Fig. 6).

The changes in the ratio of the C:N ratio in 'Irwin' leaves fluctuate after inflorescence removal. The C:N ratio was higher from 6 to 12 days after inflorescence removal with a mean value of 10.16. Thereafter, its concentrations slightly decreased until 20 days after inflorescence removal. At day 22, C:N ratio increased again (Fig. 7).

The changes in total soluble sugar to starch ratio in 'Irwin' was significantly different during the study period (Fig. 7). The minimum total soluble sugar to starch ratio (1.76) was found 28 days after inflorescence removal whereas, the maximum total soluble sugar to starch ratio (3.83) as found on the day of inflorescence removal (day 0).



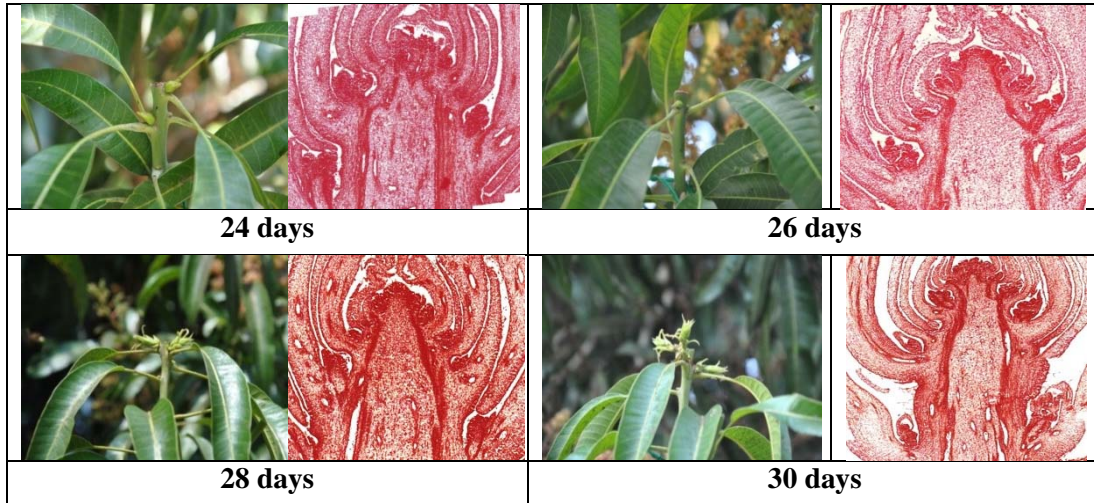


Fig. 3. During blossom, the inflorescences of 'Irwin' mango trees were detached on the same trees. The lateral buds beneath the terminal inflorescence were sampled every 2 days. Longitudinal sections of buds under light microscopy every 2 days after inflorescence removal. Ten buds were removed for each of the 16 time points for a total of 160 buds examined. Apical meristem (am), youngest leaf primordia (p), scars of outer bud scales (o), inner bract scars (b), elongating primary inflorescence axis (m). Scale bars: 100x.

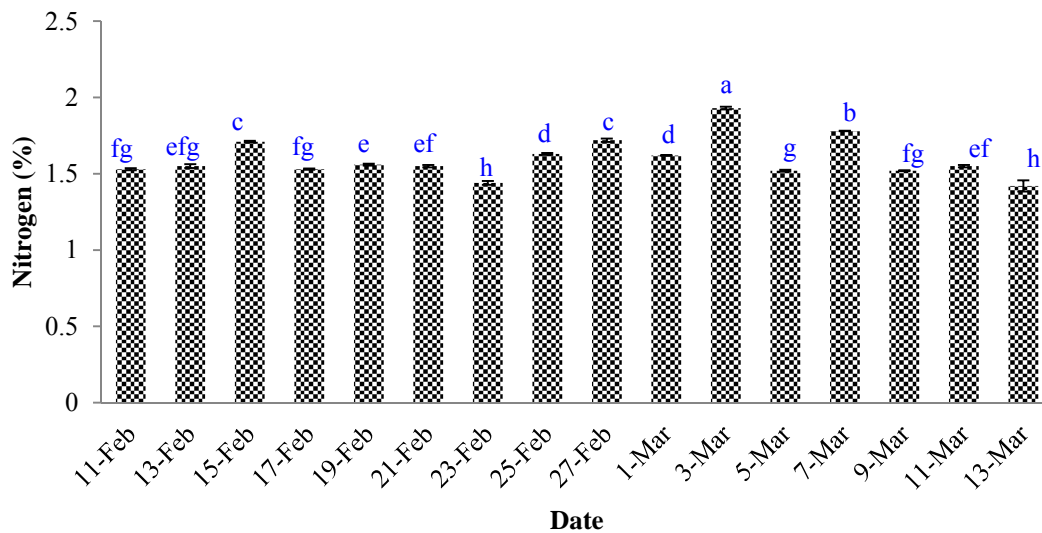


Fig. 4. Effect of inflorescence removal on total nitrogen in leaves of 'Irwin' mango trees. (Date of inflorescence removal: February 11<sup>th</sup>, 2013) Means at a time point followed by the same letter are not significantly different by LSD test at  $P \leq 0.05$ . at 1 cm position on branch are each of these leaves, moving down the branch as sample.

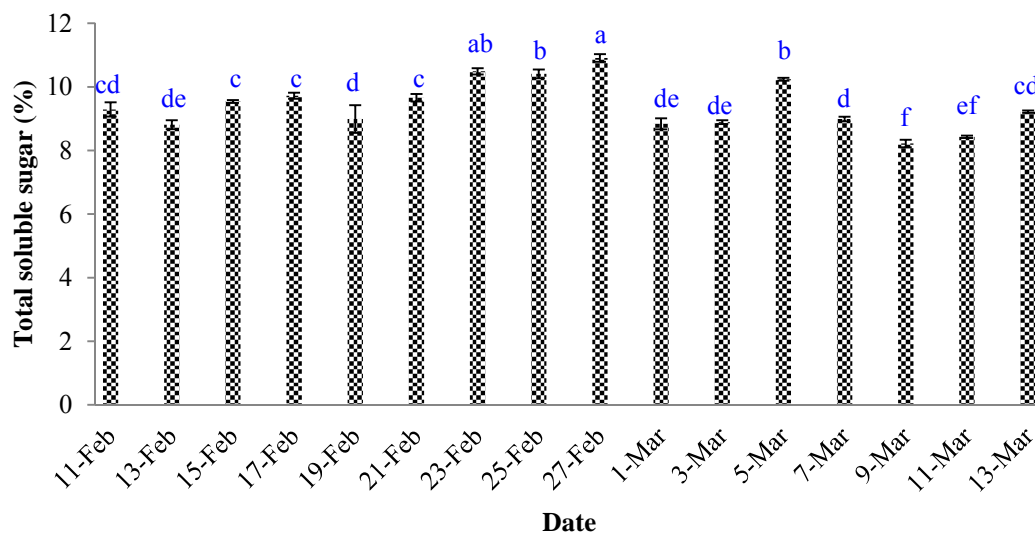


Fig. 5. Effect of inflorescence removal on total soluble sugar in leaves of 'Irwin' mango trees. (Date of inflorescence removal: February 11<sup>th</sup>, 2013) Means within a column followed by the same letter are not significantly different by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

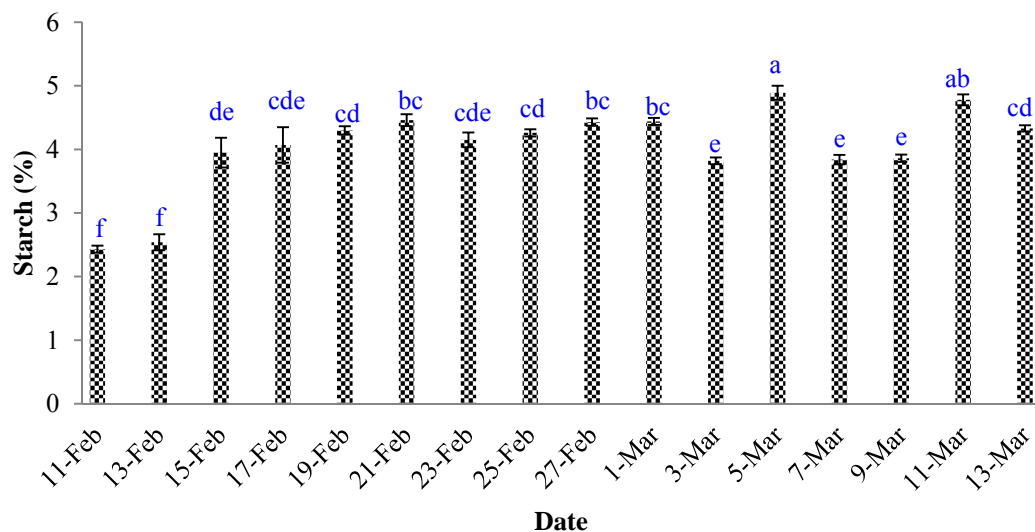


Fig. 6. Effect of inflorescence removal on starch content in leaves of 'Irwin' mango trees. (Date of inflorescence removal: February 11<sup>th</sup>, 2013) Means from 10 samples, within a column followed by the same letter are not significantly different by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

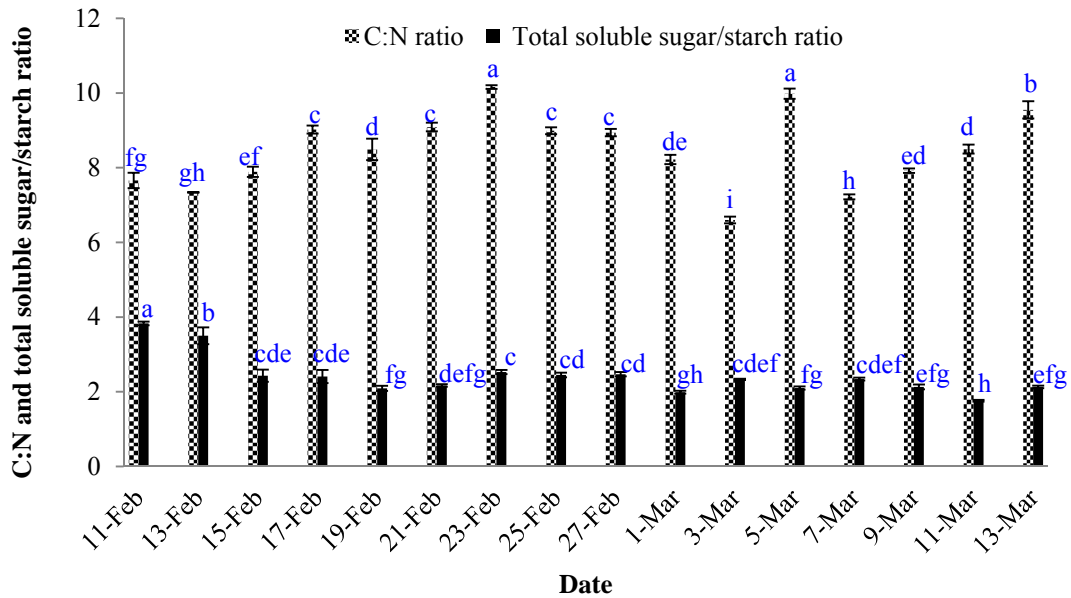


Fig. 7. Changes in the organic C:N ratio and total soluble sugar/starch ratio in leaves of 'Irwin' mango trees. (Date of inflorescence removal: February 11<sup>th</sup>, 2013) Means are from 10 samples within a column followed by the same letter are not significantly different by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

### Discussion

The physiological and biochemical changes indicate that flower initiation could be enhanced by de-inflorescence in 'Irwin' mango shoots. The date of inflorescence removal is referred to as day 0 for flower initiation. Paraffin sectioning observation showed the complex nature of the mango bud. At 0 day, axillary bud showed no prominent conical shaped bud meristems. Four days after inflorescence removal, the primary inflorescence axis has enlarged and three sepals could be distinguished in the primary bud of the axillary bud complex. From 12 days after inflorescence removal, the bud meristem continued to elongate and develop secondary inflorescence including lobing which is necessary to form flower cluster (Fig. 3). Flower initiation could have occurred even when it is delayed, since non-systematic observations of younger buds showed floral dome swelling in the primary bud. This result coincides with Soler and Cuevas's (2009) findings that axillary buds of cherimoya have already formed the sepals when the subtending leaf has just begun unfolding (0 week), while the petals are clearly visible in 1-week-old of cherimoya buds. At 24 days after inflorescence removal, bud sprouting appeared and the bud meristem elongated and developed secondary inflorescence including lobes which is necessary to form flower cluster.

Soler and Cuevas (2009) also observed the development of the floral organs before bud break and sepals, petals and stamen initiation before sprouting, although the individual carpels could not be recognized in 32-week-old 'Fino de Jete' buds.

The days following inflorescence removal showed that it affected the nutritional composition of mango flower bud. Although total nitrogen concentrations in leaves were higher 2 days after inflorescence removal, at 4 days after inflorescence removal, total nitrogen concentration slowly decreased. At 6 to 14 days after inflorescence removal, total nitrogen was increased again (Fig. 4). In agreement with Urban *et al.* (2004), leaf nitrogen concentration per unit mass was lower in leaves close to developing inflorescences than in vegetative shoot leaves. The leaf nitrogen content per unit mass during the floral period was more evidently decreased in vegetative shoot leaves than in leaves close to inflorescences indicating that nitrogen was mobilized from leaves distant from the developing inflorescences, possibly to meet the increased demand for nitrogen during panicle development.

The total soluble sugar content in leaf on the day of inflorescence removal (day 0) and thereafter increased gradually and reached a peak at 24 days after inflorescence removal. Total soluble sugar content was increased on 0 to 4 days after inflorescence removal thereafter its content was slightly decreased from 6 until 14 days after inflorescence removal. At 16 to 24 days after inflorescence removal, total soluble sugar was increased again (Fig. 5). This coincides with Perilleux and Bernier (1997), who reported that sucrose in leaf exudates of *Lolium temulentum* L. increased when flowering was induced. Sucrose levels were increased during the flower induction period in mango (Adil *et al.*, 2011). In short, although sucrose concentrations increased during floral transition, it did not suffice to trigger the complete sequence of floral evocation (Houssa *et al.*, 1991; Ulger *et al.*, 2004).

The starch content in leaves showed higher levels at the beginning of inflorescence removal thereafter its content slightly decreased. At 2 days after inflorescence removal, starch content showed increase and slowly decreased at 16 days after inflorescence removal. On day 18 to day 24, starch content increased again (Fig. 6). In agreement with Urban *et al.* (2004), leaf starch concentration was lowest in leaves close to inflorescences. However, leaf starch was globally higher during the floral period. Starch concentrations are higher in all parts of flowering lychee trees than in nonflowering but vegetative flushing trees (Menzel *et al.*, 1995). Similarly, starch is present in excess in avocado leaves during flower development (Thorp *et al.*, 1993). The observed increase in starch may be the result of a regulatory process linked to floral initiation (Eimert *et al.*, 1995).

The carbohydrate to nitrogen ratio (C:N) is considered as an important factor in the regulation of flowering in fruit crops. The change in the ratio of C:N in leaves starting the day

after inflorescence removal was significantly different. C:N ratio was higher on the day on de-inflorescence (day 0) until 4 days after inflorescence removal thereafter its content was slightly decreased from 6 to 14 days after inflorescence removal. At 16 to 24 days after inflorescence removal, C:N ratio was increased again (Fig. 7). In agreement with Ito et al. (2004), the increase in C:N ratio is ascribed to the consequence of increased carbohydrate availability as suggested, which is necessary for the induction of flowering. A high C:N ratio has been postulated promotory to flowering whereas opposite beneficial for vegetative growth (Corbesier *et al.*, 2002).

### Conclusion

Inflorescence removal of 'Irwin' mango shoots delayed its fruit season and reproductive cycle: flower initiation, development of lateral flower buds, sprouting of flower buds, first flowering, and full bloom. Light microscopy recorded the changes (elongation and formation of dome shape) in the primary inflorescence axis determining that flower initiation occurred 4 days after inflorescence removal. Microscopy also confirmed the development of a normal bud meristem changed into a secondary inflorescence axis (elongation, multi-lobed lateral buds, bearing of flowers) 12-24 days inflorescence removal). Lab analysis of leaf found the total soluble sugar and C:N ratio increased during the days after inflorescence removal, which is necessary for the induction of mango flowering. Inflorescence removal successfully delayed the flowering season of 'Irwin' mango shoots by 30 days (March 16).

### References

- Adil, O.S., A. Rahim, O.M. Elamin, and F.K. Bangerth. 2011. Effects of paclobutrazol on floral induction and associated hormonal and metabolic changes of biennially bearing mango (*Mangifera indica* L.) cultivars during off year. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 6: 55-67.
- AOAC. 1995. Official Method 975.03: Metals in Plants. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- Cautin, R. and B. Razeto. 1999. Evaluacion del comportamiento de yemas de chirimoyo sometidos a tratamientos de floracion forzada. In: *II Congreso Internacional de Anonaceas*, Chiapas, pp. 127-133.
- Corbesier, L., G. Bernier, and C. Perilleux. 2002. C: N ratio increases in the phloem sap during floral transition of the long-day plants *Sinapis alba* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*

- Physiol. 43: 684-688.
- Council of Agriculture Statistics Year Book. Taiwan. 2012.
- Davenport, T.L. 2000. Processes influencing floral initiation and bloom: the role of phytohormones in a conceptual flowering model. HortTechnology 10: 733-739.
- Davenport, T.L. 2006. Pruning strategies to maximize tropical mango production from the time of planting to restoration of old orchards. HortScience 41: 544-548.
- Davenport, T.L. 2007. Reproductive physiology of mango. Braz. J. Plant Physiol. 19: 363-376.
- Davenport, T.L. 2009. Reproductive physiology. In: Litz, R.E. (Ed.), The Mango: Botany, Production and Uses, 2nd edition. CAB International, Wallingford, UK, pp. 97-169.
- Davenport, T.L. and R. Nunez-Elisea. 1997. Reproductive physiology. In: Litz, R.E. (Ed.), The Mango: Botany, Production and Uses. CAB International, Wallingford, UK, pp. 69-146.
- Dubois, M, K.A. Gilles, J. K. Hamilton, P. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28(3):350-356.
- Eimert, K., S.-M. Wang, W. Lue, and J. Chen. 1995. Monogenic recessive mutations causing both late floral initiation and excess starch accumulation in Arabidopsis. Plant Cell. 7: 1703-1712.
- Gerlach, D. 1969. A rapid safranin-crystal violet-light green staining sequence for paraffin sections of plant material. Stain Technol. 44: 210-211.
- Houssa, P., G. Bernier, and J.M. Kinet. 1991. Qualitative and quantitative analysis of carbohydrates in leaf exudate of the short-day plant, *Xanthium strumarium* L. during floral transition. J. Plant Physiol. 138: 24-28.
- Ito, A., H. Hayama, and Y. Kashimura. 2004. Possible roles of sugar concentration and its metabolism in the regulation of flower bud formation in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). Acta Hort. 636: 365-373.
- Menzel, C.M., T.S. Rasmussen, and D.R. Simpson. 1995. Carbohydrates in lychee trees (*Litchi chinensis* Sonn.). J. Hortic. Sci. 70: 245-255.
- Perilleux, C. and G. Bernier. 1997. Leaf carbohydrate status in *Lolium temulentum* during the induction of flowering. New Phytol. 135: 59-66.
- Ramirez, F. and T.L. Davenport. 2010. Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology. Sci. Hortic. 126: 65-72.
- Reece, P.C., J.R. Furr and W.C. Cooper, 1946. The inhibiting effect of terminal bud on flower formation in the axillary buds of the 'Haden' mango. Amer. J. Bot., 33: 209-210.
- Soler, L. and J. Cuevas. 2008. Development of a new technique to produce winter cherimoyas. HortTech 18: 24-28.
- Soler, L. and J. Cuevas. 2009. Early flower initiation allows ample manipulation of flowering time in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). Sci. Hortic. 121: 327-332.

- Thorp, T.G., D. Aspinall, and M. Sedgley. 1993. Influence of shoot age on floral development and early fruit set in avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass. *J. Hortic. Sci.* 68: 645-651.
- Tsai, S.H. 2000. The technology of plant microscopic section. Mao-chang book company. Taipei, Taiwan.
- Ulger, S., S. Sonmez, M. Karkacier, N. Ertoy, O. Akdesi, and M. Aksu. 2004. Determination of endogenous hormones, sugars and mineral nutrition levels during the induction, initiation and differentiation stage and their effects on flower formation in olive. *Plant Growth Regul.* 42: 89-95.
- Urban L., P. Lu, and R. Thibaud. 2004. Inhibitory effect of flowering and early fruit growth on leaf photosynthesis in mango. *Tree Physiol.* 24: 387-399.
- Yeshitela, L., P.J. Robbertse and P.J.C. Stassen. 2003. The impact of panicle and shoot pruning on inflorescence and yield related developments in some Mango cultivars. *J. Appl. Hort.*, 69-75.

# '愛文'芒果(*Mangifera indica* L.)除花穗對 側芽花芽分化及開花之影響

藍 碧 蘭<sup>1)</sup> 林 慧 玲<sup>2)</sup>

關鍵字：芒果(*Mangifera indica*)、移除花序、花芽創始

**摘要：**本研究目的為探討剪除頂端花序對促使'愛文'芒果在非產季開花之效果。為調查花芽創始日期與側芽完成花芽前期分化的時間，在花期剪除花穗(2013年2月11日)後，每隔2天採集側芽加以固定，並持續調查30天。以顯微鏡觀察石蠟切片之芽體，在花穗移除後4天，有多數初生花序發育，顯示這些側芽的分生組織是次級花序軸的前身，並且於花穗移除12天後開花。與花穗移除相關的生化因素顯示，花穗移除後側芽活化的期間，全可溶性糖和碳氮比增加，全可溶性糖和碳氮比增加對花芽的形成有正面的效果。由切片和營養分析結果證實：芽體內部的生化因子改變與花芽的創始與開花有關。

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。



## 春石斛蘭品種(系)之親緣關係的研究

林育聖<sup>1)</sup> 董怡君<sup>2)</sup> 王昭月<sup>3)</sup> 陳俊麟<sup>4)</sup> 曾夢蛟<sup>5)</sup>

關鍵字：春石斛蘭、親緣關係、逢機增幅多型性 DNA、主成分分析

**摘要：**春石斛蘭為台灣蘭花產業的明日之星，瞭解春石斛蘭商業品種的親緣關係將有助於其產業的永續發展。本研究以逢機增幅多型性 DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) 技術，分析 20 個春石斛品種(系)之親緣關係。本研究篩選出 24 組具多型性的 RAPD 引子，可產生 327 個具多型性的 DNA 片段 (Polymorphism: 96.2%)。經 Jaccard 係數計算分析成對品種(系)間的遺傳相似係數，顯示 20 個春石斛品種(系)介於 0.200 至 0.650 之間。利用 UPGMA 群聚分析(Cluster analysis)可大略將其分為 4 個群組，與主成分分析(Principal component analysis, PCA)分群結果相似。

### 前 言

春石斛 (Nobile-type *Dendrobium*) 屬於蘭科 (Orchidaceae)、石斛蘭屬石斛蘭節 (*Dendrobium* section *Dendrobium*) 內之原種群，以金釵石斛 (*Dendrobium nobile*) 為基本種所雜交選育出之品種群總稱。其花型優美、色彩瑰麗繽紛，主要用於贈禮用盆花，目前春石斛的主要生產國為日本、荷蘭、泰國及美國等，在臺灣雖已有數十年栽培歷史，惟商用品種多由國外引進，種苗成本高且品種特性不易掌握；同時自然花期多在年節之後且品種間親緣分辨不易等問題，確有加強相關研究之必要性(許，2014；魏，2010；魏等，2011)。

隨著分子生物學的進展，有關運用分子標誌技術鑑定植物親緣及偵測族群遺傳關係等研究，已有許多文獻報導。由於 DNA 為遺傳基礎物質，無論是否出現表現型 (phenotype)

- 
- 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研究助理。
  - 3) 行政院農業委員會農業試驗所生物技術組助理研究員。
  - 4) 中州科技大學景觀系助理教授。
  - 5) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

變異或植株外型受環境等其他因素影響，皆能夠穩定地表現，因此能藉由 DNA 分子標誌作為遺傳鑑定為最直接的依據。以分子標誌技術分析作物 DNA 所表現的分子證據，進行品種及品系鑑定，為現今作物遺傳研究相當重要的一環。而分子標誌於春石斛上之應用，已有一些報導，不論是逢機增幅多型性 DNA (RAPD) (李，2002；Khosravi *et al.*, 2009；Zha *et al.*, 2009；Xue *et al.*, 2010；Lu *et al.*, 2012)、限制片段長度多型性 (RFLP) (Peyachok-nagul *et al.*, 2014) 及其他分子標誌工具，皆有相關文獻探討。但仍集中於原種或藥用品種，僅少部分研究觀賞型栽培品種的差異。

本研究以逢機增幅多型性 DNA 方法 (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)，將 20 個市場上流通的春石斛品種(系) DNA 逢機增幅，並將所得之多型性 DNA 條帶進行親緣分析，藉以鑑定 20 個春石斛品種(系)之親緣關係。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

本研究材料來源由行政院農業委員會農業試驗所花卉研究中心、行政院農業委員會種苗改良繁殖場、行政院農業委員會台中區農業改良場埔里分場及彰化縣「花草空間蘭園」提供。共計 20 個春石斛品種(系)，其相關代碼、名稱及來源資料如表 1 所示，其花朵、植株型態及學名，詳如圖 1 所示。

### 二、春石斛葉片基因組 DNA 萃取

取 0.1g 的葉片加入液態氮研磨，再加入 700  $\mu$ l 的 DNA 萃取緩衝溶液 [DNA extraction buffer: 2% CTAB、1.4 M NaCl、0.2%  $\beta$ -mercaptoethanol、100 mM Tris-HCl (pH 8.0)、20 mM Fe-EDTA (pH 8.0)]，而後置入離心管並在 65°C 水浴放置 15 分鐘，取出後置於室溫 5 分鐘，隨後加入 700  $\mu$ l 之 phenol/chloroform，搖動至均勻混和。經 4°C、12,000 rpm 離心 5 分鐘，取上清液再重複一次 phenol/chloroform 萃取。吸取前步驟產生之上清液，加入 700  $\mu$ l 冰冷 isopropanol，輕搖混和後可見 DNA 沉澱物(絲狀)的產生，再置於 4°C、20 分鐘使其沉澱。沉澱物出現後，置於 4°C、13,000 rpm 離心 5 分鐘。除去上清液，留下核酸沉澱物，加入 95% 酒精 500  $\mu$ l 漂洗，再以 4°C、13,000 rpm 離心 5 分鐘。倒除上清液，將核酸沉澱物以 20  $\mu$ l 之 TE 緩衝溶液(10 mM Tris-HCl, pH 7.4, 1 mM EDTA)溶解。取適量的 DNA 稀釋後，以 UV spectrophotometer 測定 DNA 濃度(OD<sub>260/280</sub>)，DNA 純度設定比值介於 1.6 至 1.9，並稀釋 DNA 濃度至 50 ng/ $\mu$ l，提供作為 RAPD 分析之聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)用的模板 DNA，並放入 -20°C 冰箱中貯存備用 (Khosravi *et al.*, 2009；鄒等，2011)。

### 三、逢機增幅多型性 DNA 分析 (Random amplified polymorphic DNA, RAPD)

RAPD 引子來源為 Operon Technologies Inc, USA 公司之 Operon kit(A、AB、AC、AD、

表 1. 20 個供試春石斛品種(系)之代碼、名稱及來源。

Table. 1. Code, name, and source of 20 tested varieties (lines) of nobile type dendrobium.

代碼 Code	英文名稱或學名 English Name or Scientific Name	中文名稱或俗名 Chinese Name or Common Name	來源 Source
A	<i>Den.</i> <sup>X</sup> Lantan Beauty	蘭潭美人	農業試驗所花卉研究中心
B	<i>Den.</i> Lucky Girl	幸運女孩	農業試驗所花卉研究中心
C	<i>Den.</i> White No. 1	白花 1 號	農業試驗所花卉研究中心
D	<i>Den.</i> Sakura 'Hime'	櫻姬	農業試驗所花卉研究中心
E	<i>Den.</i> Mount Fuji	富士山春	農業試驗所花卉研究中心
F	<i>Den.</i> Golden Blossom 'Kogane'	黃皇帝'黑金'	農業試驗所花卉研究中心
G	<i>Den.</i> Fairy Flake 'Karumen'	精靈片'卡門'	農業試驗所花卉研究中心
H	<i>Den. nobile</i>	金釵石斛	種苗改良繁殖場
I	<i>Den.</i> Red Emperor 'Prince'	紅皇帝'王子'	台中區農業改良場埔里分場
J	<i>Den.</i> To My Kids 'Smile'	給我的孩子'微笑'	台中區農業改良場埔里分場
K	<i>Den.</i> Red Emperor-1	紅皇帝-1	花草空間蘭園 <sup>Y</sup>
L	<i>Den.</i> Polka 'Orange Tower'	黃帝/波爾卡舞曲'桔子塔'	花草空間蘭園
M	<i>Den. moniliforme</i>	白石斛/細莖石斛	花草空間蘭園
N	<i>Den.</i> Angel baby × <i>Den. moniliforme</i>	天使寶貝 × 白石斛	花草空間蘭園
O	<i>Den.</i> Hamana Lake 'Dream'-1	紅夢幻-1	花草空間蘭園
P	<i>Den.</i> Red Emperor-2	紅皇帝-2	花草空間蘭園
Q	<i>Den.</i> Sakura	櫻花	花草空間蘭園
R	<i>Den.</i> Hamana Lake 'Dream'-2	紅夢幻-2	花草空間蘭園
S	<i>Den.</i> Lucky Angel 'Smash'	幸運天使'一鳴驚人'	花草空間蘭園
T	<i>Den.</i> Lucky Angel	幸運天使	花草空間蘭園

<sup>X</sup> *Den.* : *Dendrobium*<sup>Y</sup> 彰化縣溪頭村彰南路一段 150 號。

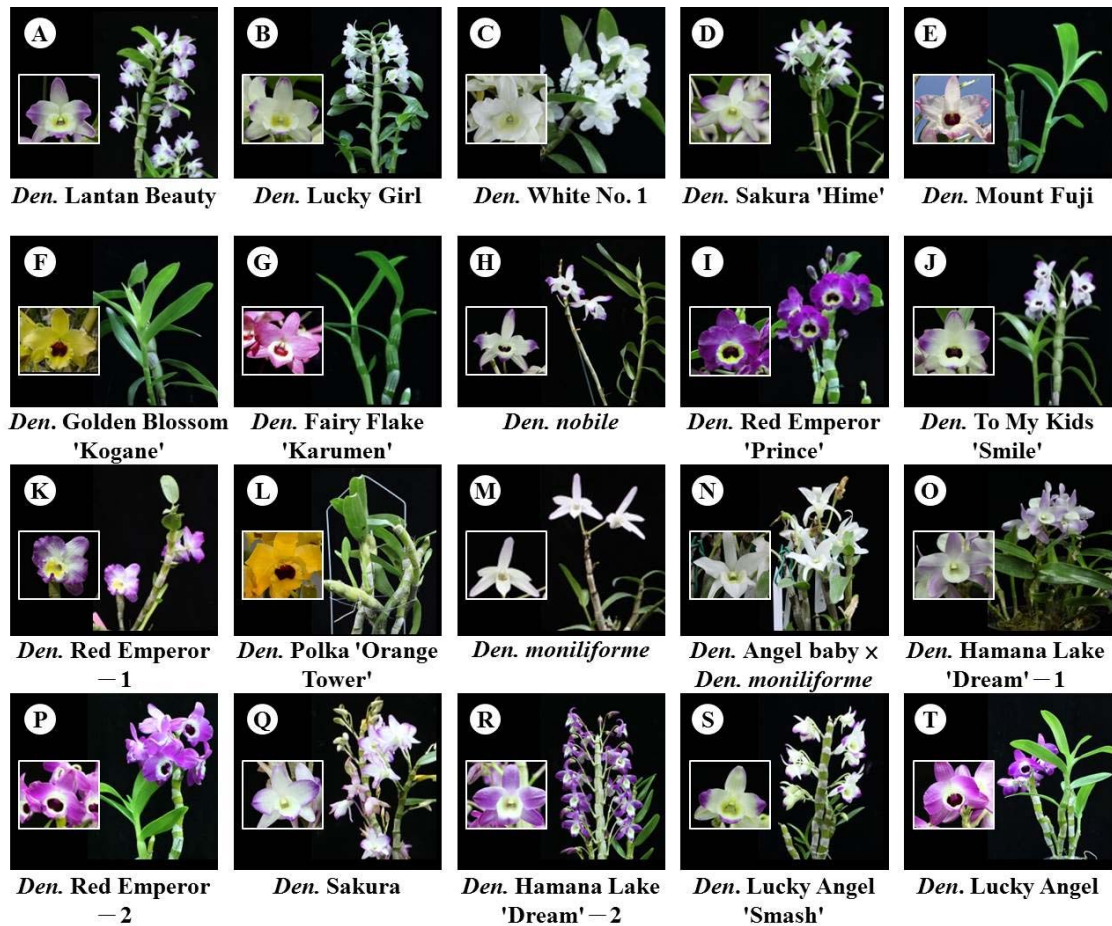


圖 1. 20 個供試春石斛品種(系)之外表形態及花朵樣式。A~T：植物代碼如表一所示。

Fig. 1. Appearances and flowers of 20 tested varieties (lines) of nobile type *Dendrobium*. Plant codes are the same as indicated in the Table. 1.

AE、AF、AG、AI、AJ、AN、AU、B、D、E、M、P、R、T、U、V、Z)及 UBC (University of British Columbia) RAPD Primer Oligonucleotide Set 100/4 等，引子長度為 10 個核苷酸序列，反應儀器為 Thermo Hybaid Px2 Thermal Cycler。PCR 反應液總體積為 25  $\mu$ l，其內含有 1X Taq polymerase buffer (2.5  $\mu$ l)、2.5 mM dNTP (2  $\mu$ l)、0.2  $\mu$ M primer (1  $\mu$ l)、Taq DNA polymerase (0.5  $\mu$ l)及 100 ng template DNA，補水至 25  $\mu$ l，在循環式溫度控制器中，選用的逢機引子與模板 DNA 進行逢機增幅。反應溫度條件設定如下：第 1 階段為 95 $^{\circ}$ C、5 min (1 循環)，第 2 階段進行 95 $^{\circ}$ C、45 sec，40 $^{\circ}$ C、1 min，72 $^{\circ}$ C、1.5 min (40 循環)，最後(第 3 階段)進行 72 $^{\circ}$ C、10 min (1 循環)。反應完成後將樣品放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱中，供電泳分析。

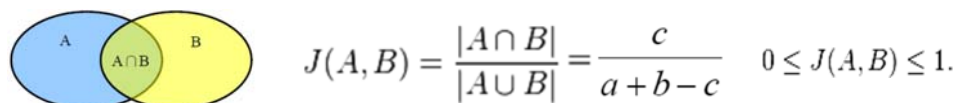
#### 四、電泳分析與 DNA 多型性片段檢視

PCR 反應完成產物，分別取 8  $\mu$ l 加入微量染劑，以 1.5 % 的 UltraPure™ agarose (Invitrogen™) gel，放置於 1X TAE buffer (40 mM Tris acetate, pH 8.0、1 mM EDTA) 中，進行 DNA 電泳分離。電泳槽使用 Mupid-2plus，電壓設定 100 伏特，電泳時間約 30 分鐘，完成後放入 0.5 mg/ml 之溴化乙錠(ethidium bromide, EtBr)溶液中染色 5~10 分鐘，再置於 UV 光箱(Gel Logic 200 Imaging System)檢視膠體上的 DNA 多型性片段，並照相及貯存影像於 IS 2000 Digital Imaging System (Alpha Innotech Corporation)，提供作為資料分析。

#### 五、相似度分析與樹狀圖(Dendrogram)、二維遺傳相似性座標圖建立

將前段獲得之電泳膠片資訊，依據其多型性條帶呈現情形加以分析、判讀，選擇清晰可辨認的條帶，作為各品種(系)的分類指標，記錄各品種(系)多型性條帶的有無，同時將其數字化(有條帶者以 1 表示、無條帶者以 0 表示)，再將不同引子於不同品種(系)中產生條帶的數目及其分子量大小分布範圍等資訊製作成表，以利後續軟體分析。

PCR 產物係以 Gen-KB DNA Ladder (0.2 kb-14.0 kb)作為估算 DNA 片段分子量的標準，經由 PAST (Palaeontological Statistics)統計軟體，運用 Jaccard 相似性係數公式，計算遺傳相似性係數值(simple matching coefficient)，計算公式為  $J(\text{Jaccard 係數}) = \frac{\text{同時為顯性條帶的位置數}}{\text{出現顯性條帶的位置數}}$ ，相關說明如下：



$$J(A, B) = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} = \frac{c}{a + b - c} \quad 0 \leq J(A, B) \leq 1.$$

( $J$ : 相似係數;  $a$ : A 群中顯性條帶的位置數;  $b$ : B 群中顯性條帶的位置數;  $c$ : A、B 群中皆為顯性條帶的位置數)，計算遺傳相似性係數(許等, 2010; 呂與呂, 2013)。再以非加權配對算術平均法(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean, UPGMA)進行群聚(cluster analysis)分析，估算樣品之間的遺傳相似度，並據此繪製親緣關係樹狀圖，探討春石斛品種(系)間的親緣關係；同時運用主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)，製作出二維遺傳相似性座標圖，藉以釐清品種(系)間的相對親緣遠近關係，且能與群聚分析結果進行比對。

## 結 果

### 一、逢機引子的篩選

本研究初步試驗共選用 224 個 RAPD 引子。並萃取 *Den. White No. 1* (白花 1 號, C)、*Den. nobile* (金釵石斛, H)、*Den. Red Emperor-1* (紅皇帝-1, K)及 *Den. Polka 'Orange Tower'* (黃帝/波爾卡舞曲'桔子塔', L)，4 品種的葉片 DNA 與引子進行反應，選出條帶再現性佳且可清楚辨認的逢機引子，計 45 個。而後將前階段篩選出的 45 個引子，與本試驗選用之 20 個春石斛品種(系)進行測試，此階段至少重複 1 次，必須 2 次以上均出現穩定條帶表現者

才列入紀錄，以確認其穩定性。經由兩階段測試後，自初始 224 個受試引子中，篩選出重複性佳、相對穩定且可清楚辨認的 24 個優良多型性引子(表 2)。

表 2. RAPD 分析選用之 24 個引子序列。

Table. 2. List of selected 24 primers and base sequence used for RAPD analysis.

Primer name	Sequence (5' to 3')
OPAB04	GGCACGCGTT
OPAB07	GTAAACCGCC
OPAC10	AGCAGCGAGG
OPAF11	ACTGGGCCTC
OPAI11	ACGGCGATGA
OPAJ11	GAACGCTGCC
OPAU14	CACCTCGACC
OPM02	ACAACGCCTC
OPP08	ACATCGCCCA
OPR02	CACAGCTGCC
OPR08	CCCGTTGCCT
OPT01	GGGCCACTCA
OPT07	GGCAGGCTGT
OPT08	AACGGCGACA
UBC04	CCTGGGCTGG
UBC17	CCTGGGCCTC
UBC31	CCGGCCTTCC
UBC34	CCGGCCCAA
UBC60	TTGGCCGAGC
UBC81	GAGCACGGGG
UBC83	GGGCTCGTGG
UBC89	GGGGGCTTGG
UBC91	GGGTGGTTGC
UBC96	GGCGGCATGG

## 二、RAPD 親緣性分析

經上述步驟篩選出 24 個具重複性、穩定表現並可清楚辨認的優良多型性引子，其 PCR 產物經電泳膠片分離結果彙整如表 3。本試驗共獲得 336 個條帶，其中 327 個條帶具多型性，平均多型性達 96.2%，每個引子平均可產生 14 個條帶及 13.6 個多型性條帶，24 組多型性引子之 PCR 產物大小範圍約介於 218 至 6,012 bp 之間。計有 9 個引子可鑑別多型性條帶數達 15 個以上，其中 OPAF11(圖 2)及 UBC17(圖 3)引子，可分辨的多型性條帶更高達 21 個，顯示多型性條帶表現相當豐富。

依據電泳圖譜中條帶之有無，以 1 和 0 進行登記。經數據轉換，並以 Jaccard 相似性係數公式，計算不同品種(系)間成對遺傳相似係數(如表 4)。由表 4 可觀察到 20 個春石斛成對品種(系)間遺傳相似係數介於 0.200 至 0.650。其中以 *Den. Lucky Girl* (幸運女孩, B) 與 *Den. Golden Blossom 'Kogane'* (黃皇帝'黑金', F) 兩品種之遺傳相似係數最低，僅有 0.200；而 *Den. Red Emperor-2* (紅皇帝-2, P) 與 *Den. Lucky Angel* (幸運天使, T) 兩品種的遺傳相似係數最高，達 0.650；輔以不同品種(系)外表形態及花朵樣式(圖 1)資訊相比較，可觀察到 *Den. Golden Blossom 'Kogane'* 為本研究探討的 20 個品種(系)中，少數黃色花的品種之一；而遺傳相似係數最大的 *Den. Red Emperor-2* 與 *Den. Lucky Angel* 兩品種之花朵顏色、型態等特徵，則具有相當程度的相似性。

進一步以 UPGMA 法進行群聚分析，建立本研究 20 個春石斛品種(系)的親緣關係樹狀圖(圖 4)。結果顯示，試驗中春石斛品種(系)間遺傳相似率(genetic similarity, GS)介於 23.2 至 63.8%，並根據樹狀圖可大致分為 4 個群組，第一群組內有 9 個品種(系)，分別為 *Den. Fairy Flake 'Karumen'* (精靈片'卡門', G)、*Den. Red Emperor-2* (紅皇帝-2, P)、*Den. Lucky Angel* (幸運天使, T)、*Den. Lucky Angel 'Smash'* (幸運天使'一鳴驚人', S)、*Den. Lucky Girl* (幸運女孩, B)、*Den. Lantan Beauty* (蘭潭美人, A)、*Den. Hamana Lake 'Dream'-1* (紅夢幻-1, O)、*Den. Hamana Lake 'Dream'-2* (紅夢幻-2, R) 及 *Den. nobile* (金釵石斛, H)；第二群組包括有 *Den. Sakura 'Hime'* (櫻姬, D)、*Den. Sakura* (櫻花, Q)、*Den. moniliforme* (白石斛/細莖石斛, M) 及 *Den. Angel baby* × *Den. moniliforme* (天使寶貝 × 白石斛, N)，共 4 個品種(系)；第三群組則為 *Den. Mount Fuji* (富士山春, E)、*Den. Red Emperor 'Prince'* (紅皇帝'王子', I)、*Den. To My Kids 'Smile'* (給我的孩子'微笑', J)、*Den. Red Emperor-1* (紅皇帝-1, K)、*Den. White No. 1* (白花 1 號, C) 及 *Den. Polka 'Orange Tower'* (黃帝/波爾卡舞曲'桔子塔', L)，共 6 個品種(系)；第四群組內只有單獨 1 個黃色花品種 *Den. Golden Blossom 'Kogane'* (黃皇帝'黑金', F)。

另將 RAPD 分析資訊，進行二維主成分分析(2-D principal component analysis, 2-D PCA)，可繪製出 20 個春石斛品種(系)間的二維遺傳相似性座標圖(圖 5)，此關係模式圖呈現品種(系)間相對親緣關係；由圖中可觀察到，二維主成分分析與群聚分析(圖 4)之分群結果極為相似。

表 3. 20 個春石斛品種(系)間具多型性條帶的 24 個 RAPD 引子及其增幅 DNA 片段特性。  
Table. 3. Characteristics of 24 RAPD primers selected from 20 varieties (lines) of nobile type Dendrobium.

Primer	Products size (bp)	NO. of amplification	NO. of polymorphism	Polymorphism (%)	NO. of unique genotypes
OPAB04	500~1834	8	8	100.0	1
OPAB07	501~2289	15	15	100.0	0
OPAC10	314~2788	14	13	92.9	2
OPAF11	225~3455	21	21	100.0	3
OPAI11	339~3008	17	17	100.0	2
OPAJ11	460~2234	18	18	100.0	4
OPAU14	476~2499	16	16	100.0	0
OPM02	234~2390	19	19	100.0	2
OPP08	388~1679	14	13	92.9	2
OPR02	476~1725	12	12	100.0	2
OPR08	292~1496	13	12	92.3	2
OPT01	443~1676	13	12	92.3	3
OPT07	297~1683	12	11	91.7	1
OPT08	226~1724	17	17	100.0	4
UBC04	511~2782	12	12	100.0	1
UBC17	218~2596	21	21	100.0	4
UBC31	545~2001	13	13	100.0	2
UBC34	511~1599	8	7	87.5	1
UBC60	769~6012	17	17	100.0	3
UBC81	299~1521	14	14	100.0	1
UBC83	302~2013	10	9	90.0	3
UBC89	458~1207	4	3	75.0	1
UBC91	404~2507	14	13	92.9	1
UBC96	505~2032	14	14	100.0	2
Total	218~6012	336	327		
Mean		14	13.6	96.2	

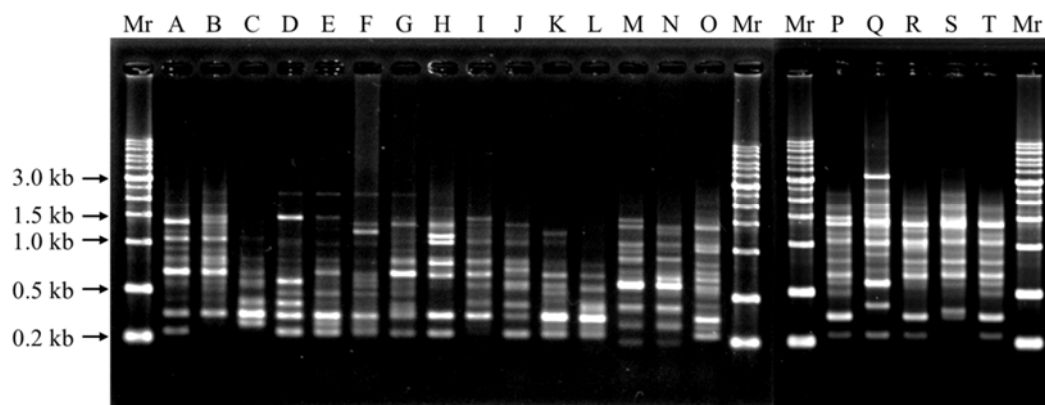


圖 2. 20 個春石斛品種(系)以 RAPD 引子 OPAF11 進行 PCR 增幅之分析圖譜。Mr：Gen-KB DNA 分子量標誌；A~T：石斛品種(系)代號，如表 1 所示。

Fig. 2. Amplification profiles obtained with RAPD primer of OPAF11 from 20 varieties (lines) of *Dendrobium*. Mr: Gen-KB DNA marker. A~T: Varieties (lines) codes of *Dendrobium* as indicated in Table 1.

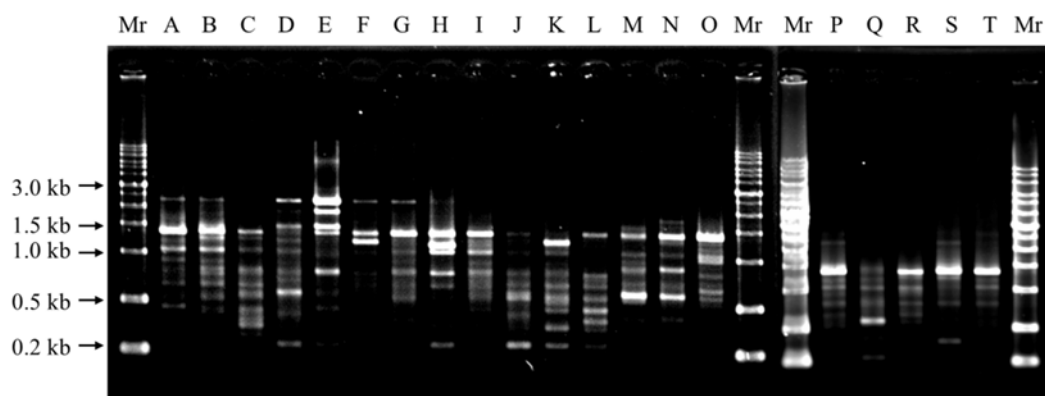


圖 3. 20 個春石斛品種(系)以 RAPD 引子 UBC17 進行 PCR 增幅之分析圖譜。Mr：Gen-KB DNA 分子量標誌；A~T：石斛品種(系)代號，如表 1 所示。

Fig. 3. Amplification profiles obtained with RAPD primer of UBC17 from 20 varieties (lines) of *Dendrobium*. Mr: Gen-KB DNA marker. A~T: Varieties (lines) codes of *Dendrobium* as indicated in Table 1.

表 4. 20 個春石斛品種(系)之 RAPD 資訊，經 Jaccard 係數計算分析成對品種(系)間的遺傳相似係數。

Table 4. Matrix of pair-wise genetic similarity coefficient between 20 varieties (lines) of nobile type Dendrobium based on Jaccard coefficients of RAPD data.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
A	1	0.569	0.306	0.312	0.306	0.230	0.415	0.431	0.413	0.358	0.313	0.232	0.295	0.293	0.407	0.508	0.329	0.394	0.383	0.385
B	0.569	1	0.328	0.333	0.259	0.200	0.429	0.353	0.420	0.381	0.315	0.223	0.350	0.289	0.386	0.497	0.376	0.358	0.430	0.378
C	0.306	0.328	1	0.316	0.348	0.246	0.369	0.266	0.392	0.371	0.459	0.461	0.267	0.302	0.369	0.304	0.292	0.352	0.268	0.309
D	0.312	0.333	0.316	1	0.401	0.266	0.366	0.301	0.356	0.342	0.364	0.265	0.441	0.412	0.390	0.376	0.434	0.358	0.261	0.315
E	0.306	0.259	0.348	0.401	1	0.330	0.351	0.294	0.331	0.341	0.338	0.331	0.255	0.293	0.316	0.305	0.260	0.303	0.247	0.329
F	0.230	0.200	0.246	0.266	0.330	1	0.231	0.219	0.255	0.274	0.237	0.302	0.208	0.254	0.248	0.224	0.218	0.277	0.206	0.244
G	0.415	0.429	0.369	0.366	0.351	0.231	1	0.342	0.433	0.399	0.369	0.288	0.339	0.331	0.427	0.468	0.325	0.396	0.401	0.421
H	0.431	0.353	0.266	0.301	0.294	0.219	0.342	1	0.355	0.349	0.280	0.214	0.250	0.224	0.395	0.397	0.326	0.381	0.337	0.339
I	0.413	0.420	0.392	0.356	0.331	0.255	0.433	0.355	1	0.470	0.444	0.303	0.322	0.298	0.384	0.409	0.316	0.361	0.357	0.428
J	0.358	0.381	0.371	0.342	0.341	0.274	0.399	0.349	0.470	1	0.489	0.348	0.305	0.347	0.390	0.359	0.361	0.364	0.378	0.390
K	0.313	0.315	0.459	0.364	0.338	0.237	0.369	0.280	0.444	0.489	1	0.385	0.260	0.294	0.345	0.379	0.299	0.335	0.291	0.404
L	0.232	0.223	0.461	0.265	0.331	0.302	0.288	0.214	0.303	0.348	0.385	1	0.228	0.309	0.297	0.234	0.235	0.301	0.243	0.253
M	0.295	0.350	0.267	0.441	0.255	0.208	0.339	0.250	0.322	0.305	0.260	0.228	1	0.551	0.445	0.365	0.430	0.379	0.287	0.288
N	0.293	0.289	0.302	0.412	0.293	0.254	0.331	0.224	0.298	0.347	0.294	0.309	0.551	1	0.399	0.343	0.386	0.364	0.308	0.327
O	0.407	0.386	0.369	0.390	0.316	0.248	0.427	0.395	0.384	0.390	0.345	0.297	0.445	0.399	1	0.419	0.429	0.547	0.335	0.378
P	0.508	0.497	0.304	0.376	0.305	0.224	0.468	0.397	0.409	0.359	0.379	0.234	0.365	0.343	0.419	1	0.384	0.440	0.472	0.650
Q	0.329	0.376	0.292	0.434	0.260	0.218	0.325	0.326	0.316	0.361	0.299	0.235	0.430	0.386	0.429	0.384	1	0.384	0.311	0.335
R	0.394	0.358	0.352	0.358	0.303	0.277	0.396	0.381	0.361	0.364	0.335	0.301	0.379	0.364	0.547	0.440	0.384	1	0.386	0.435
S	0.383	0.430	0.268	0.261	0.247	0.206	0.401	0.337	0.357	0.378	0.291	0.243	0.287	0.308	0.335	0.472	0.311	0.386	1	0.472
T	0.385	0.378	0.309	0.315	0.329	0.244	0.421	0.339	0.428	0.390	0.404	0.253	0.288	0.327	0.378	0.650	0.335	0.435	0.472	1

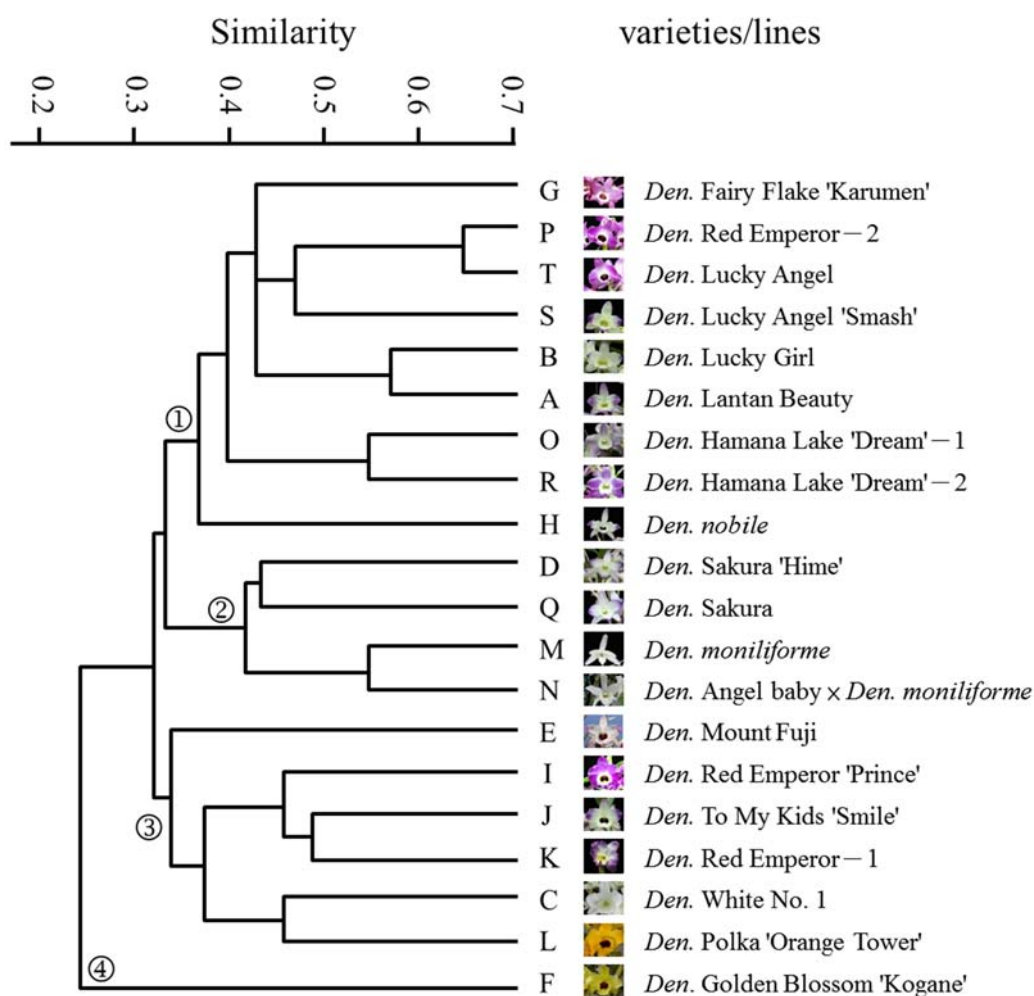


圖 4. 20 個春石斛品種(系)之 RAPD 分析資訊，經 UPGMA 法以 Jaccard 係數計算之遺傳關係樹狀圖。

Fig. 4. Dendrogram illustrating genetic relationships among 20 varieties (lines) of nobile type *Dendrobium* that generated by UPGMA cluster analysis calculated from 336 RAPD markers produces by 24 primers.(The scale on the top is Jaccard coefficient of genetic similarity)

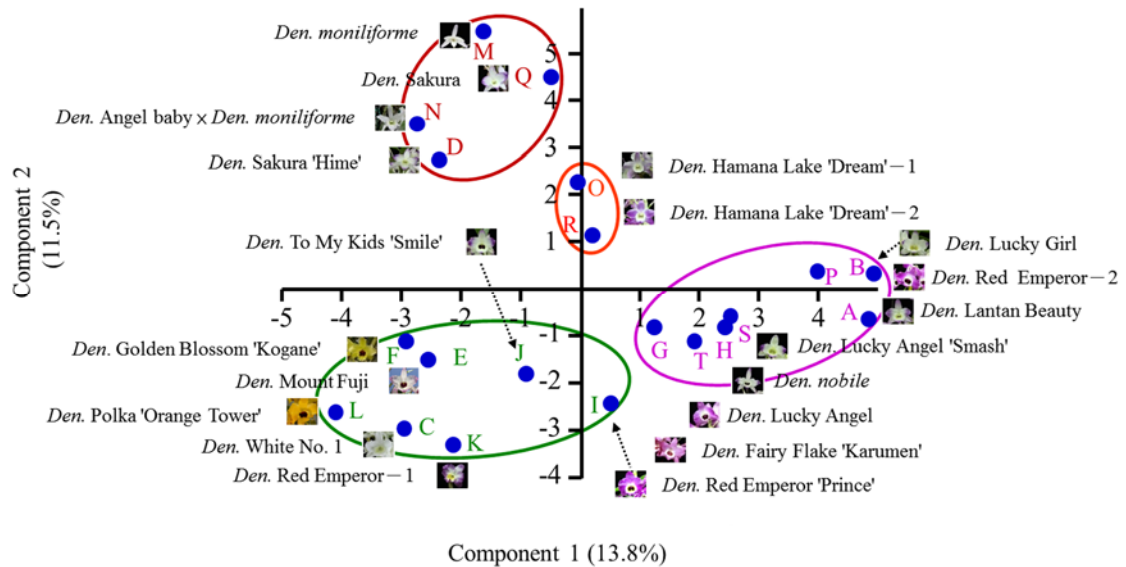


圖 5. 20 個春石斛品種(系)之 RAPD 資訊，經二維主成分分析(2-D PCA)之關係模式圖。  
Fig. 5. Pattern of relationships among 20 varieties (lines) of nobile type Dendrobium revealed by the 2-D principle component analysis(2-D PCA) based on RAPD analysis.

### 討 論

由表 4 中可知，本試驗 20 個春石斛品種(系)之成對遺傳相似係數範圍介於 0.200 至 0.650 之間。其中最低者為 0.200，來源為 *Den. Lucky Girl* (幸運女孩, B)與 *Den. Golden Blossom 'Kogane'* (黃皇帝'黑金', F)兩品種，而 *Den. Golden Blossom 'Kogane'* 為本次試驗中唯二的黃色花品種之一，該品種與其他品種(系)間的遺傳相似係數僅介於 0.200 至 0.330 之間，顯示其與另 19 個品種(系)之親緣距離較遠；而 *Den. Red Emperor-2* (紅皇帝-2, P)與 *Den. Lucky Angel* (幸運天使, T)兩品種的成對遺傳相似係數最大，高達 0.650，觀察花朵顏色與型態等特徵，具有相當程度的相似性。

運用 UPGMA 法進行群聚分析，並以樹狀圖方式呈現如圖 4，由樹狀圖可將供試的 20 個品種(系)大略區分為 4 個群組。在第 1 群組中包括：第一亞群 G. *Den. Fairy Flake 'Karumen'* (精靈片'卡門)；第二亞群 P. *Den. Red Emperor-2* (紅皇帝-2)、T. *Den. Lucky Angel* (幸運天使)、S. *Den. Lucky Angel 'Smash'* (幸運天使'一鳴驚人)；第三亞群 B. *Den. Lucky Girl* (幸運女孩)、A. *Den. Lantan Beauty* (蘭潭美人)；第四亞群 O. *Den. Hamana Lake 'Dream'-1* (紅夢幻-1)、R. *Den. Hamana Lake 'Dream'-2* (紅夢幻-2)；第五亞群 H. *Den. nobile* (金釵石斛)，共 9 個品種(系)。都稱為“幸運天使”的 T.(粉紅花為主)及 S.(白花為主外緣粉紅)品種(系)雖屬同一群，但分屬第二及第三亞群，花色也稍有不同。市面上俗稱的“幸運天使”的春石斛，花瓣粉紅區域大小確有區別，而 S. *Den. Lucky Angel 'Smash'* (幸運天使'一鳴驚人)的特徵

是白花為主外緣粉紅，本研究之 RAPD 分析結果也把此二個品種(系)區分屬不同亞群。二個“紅夢幻”的 O. (白底、淺紫粉紅花)及 R. (白底、粉紅花)品種(系)屬同一亞群，但遺傳相似性只有 54.7%。二維主成分分析也呈現出 O. 及 R. 品種(系)座落在同一區域，而其它 7 個品種(系)座落在同一區域(圖 5)。春石斛(nobile type Dendrobium)是以金釵石斛(*Den. nobile*)為基本種所雜交選育出之品種群的總稱。而 H. *Den. nobile* (金釵石斛)屬第 1 群組，與 O. 及 R. 品種(系)之外的其他 6 個品種(系)座落在同一區域，顯示此 6 個品種(系)與金釵石斛(*Den. nobile*)之遺傳背景較為接近，其中包括台灣市場非常喜愛的“幸運天使”及“幸運女孩”系列。

第 2 群組包括：第一亞群 D. *Den. Sakura 'Hime'* (櫻姬)與 Q. *Den. Sakura* (櫻花)；第二亞群 M. *Den. moniliforme* (白石斛/細莖石斛)與 N. *Den. Angel baby* × *Den. moniliforme* (天使寶貝×白石斛)，共 4 個品種(系)。此 4 個品種(系)於二維主成分分析也座落在同一區域(圖三)。“D. 櫻姬”與“Q. 櫻花”的花朵極為相似，N. 品種(系)是以 M. 品種(系)(白石斛)為父本，本研究之 RAPD 分析結果也正確的將此四個品種(系)區分出分屬二個不同的亞群，顯示本研究結果的可信度。

第 3 群組包括：第一亞群 E. *Den. Mount Fuji* (富士山春)；第二亞群 I. *Den. Red Emperor 'Prince'* (紅皇帝'王子')、J. *Den. To My Kids 'Smile'* (給我的孩子'微笑')、K. *Den. Red Emperor -1* (紅皇帝-1)；第三亞群 C. *Den. White No. 1* (白花 1 號)及 L. *Den. Polka 'Orange Tower'* (黃帝/波爾卡舞曲'桔子塔')，共 6 個品種(系)。此 6 個品種(系)在二維主成分分析結果於座標圖上較分散，但也座落在同一區域(圖三)。有趣的是俗稱“紅皇帝”的 I., K., P. 3 個品種(系)，其中 I. *Den. Red Emperor 'Prince'* (紅皇帝'王子')及 K. *Den. Red Emperor -1* (紅皇帝-1)品種屬同一亞群，而 P. *Den. Red Emperor -2* (紅皇帝-2) 屬第 1 群組的第二亞群。知名的 *Den. Red Emperor 'Prince'* (紅皇帝'王子')是由 *Den. New Comet* × *Den. Benikujyaku* 雜交選育，1990 年由 J. Yamamoto 於 RHS 登錄。I. 品種(系)具有典型 *Den. Red Emperor 'Prince'* (紅皇帝'王子')的鮮豔紅紫色萼片及側瓣，在唇瓣上有紅褐色的眼，周圍鑲著一圈深黃色的邊，圓形花瓣。P. *Den. Red Emperor -2* (紅皇帝-2)的萼片及側瓣為淺紅紫色，在唇瓣上有紅褐色的眼，但周圍並無一圈深黃色的邊，與同屬一亞群的 T. *Den. Lucky Angel* (幸運天使)之唇瓣顏色相似。K. *Den. Red Emperor -1* (紅皇帝-1)品種的唇瓣則無紅褐色的眼，但周圍仍鑲著一圈深黃色的邊，花型也與傳統“紅皇帝”不同，推測此品系可能是業者自行雜交的後代。結果顯示台灣市面上的春石斛品種(系)的“俗稱”，可能經由生產者自行雜交選育，但仍沿用舊品種的名稱。

第四群組內只有單獨 1 個黃色花品種 F. *Den. Golden Blossom 'Kogane'* (黃皇帝'黑金')，由 *Den. Golden Eagle* × *Den. Dream* 雜交選育，俗稱黃皇帝，在台灣也極受喜愛。

另將 RAPD 分子標誌資訊，以二維主成分分析(PCA)彙成品種(系)間之二維遺傳相似性座標圖(圖 5)，大致可將 20 個春石斛品種(系)分為 4 個區域；將其與群聚分析樹狀圖(圖 4)相比較，除 O. *Den. Hamana Lake 'Dream'-1* (紅夢幻-1)與 R. *Den. Hamana Lake 'Dream'-2*

(紅夢幻-2)兩品種(系)由群聚分析中的第 1 群組獨立出來以及 F. *Den. Golden Blossom* 'Kogane'(黃皇帝'黑金')可歸類至群聚分析中的第 3 群組外，其他部分則具有相當高程度的相似性。

本試驗選用之春石斛多為市場上的商業品種(系)，其自身遺傳複雜性較高，實驗結果也顯示品種(系)間遺傳相似係數偏低，差異性較大。本研究篩選出 24 組優良多型性引子，平均可產生 13.6 個多型性條帶，所得之 RAPD 分子資訊經多種分析方式處理，可區分 20 個春石斛品種(系)間的親緣關係。本研究之分類群組及亞群的結果顯示可信度高，建議可嘗試應用於其它春石斛品種(系)的遺傳背景研究及鑑定。

## 參 考 文 獻

- 呂椿棠、呂秀英。2013。PAST 統計軟體於 DNA 分子標誌多樣性分析之應用。農業試驗所技術服務 95: 8-12。
- 李碩朋。2002。以 RAPD 標誌鑑別原生石斛蘭之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- 許永洲、莊凱喬、何佳勳。2010。協同式標記在教學評量的應用策略研究。2010 電腦與網路科技在教育上的應用研討會。10pp.
- 許嘉錦。2014。春石斛蘭產業發展與育種方向。臺中區農業專訊 84: 4-7。
- 魏芳明、洪惠娟、楊旻憲。2011。春石斛蘭栽培管理技術。臺中區農業專訊 74: 4-6。
- 魏芳明。2010。春石斛蘭研究現況與展望。2010 花卉研究團隊研究現況與展望研討會專刊: 63-69。
- 鄒永達、紀銘坤、陳俊麟、曾夢蛟。2011。文心蘭品種(系)之親緣關係研究。興大園藝 36 (3): 69-80。
- Khosravi, A. R., M. A. Kadir, S. B. Kadzemin, F. Q. Zaman, and A. E. De Silva. 2009. RAPD analysis of colchicine induced variation of the *Dendrobium* Serdang beauty. Afr. J. Biotechnol. 8: 1455-1465.
- Lu, J. J., H. Y. Zhao, N. N. Suo, S. Wang, B. Shen, H. Z. Wang, and J. J. Liu. 2012. Genetic linkage maps of *Dendrobium moniliforme* and *D. officinale* based on EST-SSR, SRAP, ISSR and RAPD markers. Sci. Hort. 137: 1-10.
- Peyachoknagul, S., C. Mongkolsiriwatana, S. Wannapinpong, P. S. Huehne, and K. Srikulnath. 2014. Identification of native *Dendrobium* species in Thailand by PCR-RFLP of rDNA-ITS and chloroplast DNA. Sci. Asia 40: 113-120.
- Su, Y., C. Lin, J. Mao, X. Mo, and M. Yang. 2004. RAPD Identification of Different Carnation Cultivars. Acta. Hort. Sinica 31(1): 109-111.
- Xue, D., S. Feng, H. Zhao, H. Jiang, B. Shen, N. Shi, J. Lu, J. Liu, and H. Wang. 2010. The linkage maps of *Dendrobium* species based on RAPD and SRAP markers. J. Genet. Genom. 37: 197-204.
- Zha, X., J. Luo, J. Wang, Z. Wei, and S. Jiang. 2009. Genetic characterization of the nine medicinal *Dendrobium* species using RAPD. Afr. J. Biotechnol. 8: 2064-2068.

## Phylogenetic Relationships of Nobile Type Dendrobium

Yu-Sheng Lin <sup>1)</sup> Yi-jun Dong <sup>2)</sup> Jau-Yueh Wang <sup>3)</sup>

Chun-Lin Chen <sup>4)</sup> Menq-Jiau Tseng <sup>5)</sup>

Key words: Nobile type Dendrobium, RAPD, Genetic similarity, Principal component analysis

### Summary

Nobile type dendrobium is a new orchid crop to be promoted in Taiwan due to its potentials in economic cultivation. Although Taiwan has the potential to promote this orchid, several problems need to be solved, including limited own varieties, and lacking the genetic information of Taiwan's commercial varieties. RAPD (random amplified polymorphic DNA) technique was used to identify the relationship among twenty commercial varieties (lines) of nobile type dendrobium. Twenty-four RAPD primers were selected based on polymorphism of amplified fragments. Out of the total amplified fragments, 327 fragments (96.2%) exhibited polymorphism among 20 varieties (lines) of nobile type dendrobium. The matrix of pair-wise genetic similarity coefficient based on Jaccard coefficients, ranged between 0.200 to 0.650 among twenty varieties (lines) of nobile type dendrobium. The results of genetic traits of twenty nobile type dendrobium varieties (lines) were clustered into four groups by UPGMA cluster analysis. Similar clustering results were obtained from principal component analysis (PCA).

---

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

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

3) Assistant Researcher, Biotechnology Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

4) Assistant Professor, Department of Landscape Architecture, Chung Chou University of Science and Technology.

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

## 吲哚丁酸對不同成熟度喜樹插穗於十二月 扦插萌芽與發根之影響

陳 義 宏<sup>1)</sup> 林 瑞 松<sup>2)</sup>

關鍵字：喜樹、扦插、發根、吲哚丁酸、成熟度

**摘要：**本試驗使用喜樹(*Camptotheca acuminata* Decaisne)來探討吲哚丁酸(indole-3-butyric acid, IBA)濃度對於三種不同成熟度喜樹插穗在 12 月份扦插於扦插海綿之影響。在不同 IBA 濃度處理下，*Camptotheca acuminata* Decaisne 的三種成熟度插穗中以半硬枝插處理 IBA 1500ppm 有最佳的發根率 83%，根系品質則以半硬枝插處理 IBA 2000 ppm 最佳；處理 IBA 濃度以 1000-2000 ppm 有較佳發根率，提升 IBA 濃度超過 5000 ppm 會導致發根率下降。發根活力以硬枝插最佳，其次是半硬枝插，綠枝插最差，隨 IBA 濃度提升可以縮短發根時間。

### 前 言

喜樹 *Camptotheca acuminata* Decaisne，屬於喜樹科(Nyssaceae)喜樹屬(*Camptotheca*)，主要分布於中國，由於喜樹的根、枝、皮、葉與種子之中含有喜樹鹼的成分，因而引起諸多學者的研究。喜樹鹼(Camptothecin, CPT)，是一種不溶於水的單烯吲哚生物鹼，最初是由學者在中國的喜樹中分離得到(Wall *et al.* 1966)，因為它能透過阻礙 DNA topoisomerase I 作用而廣泛的抑制腫瘤細胞活性，以及對抗人類免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)(Li and Adair, 1994)；因此學者致力於開發喜樹鹼類藥物，目前美國藥物食品管理局已經核准兩種藥物拓撲替康(Topotecan)與依諾替康(Irinotecan)可以作為抗腫瘤藥物在臨床上使用。喜樹鹼類藥物主要的來源大部分是半合成而來，由於喜樹鹼類藥物在醫療上的需求日益增加，作為半合成原料的喜樹鹼需求量也勢必要增加，因而需要使用植物繁殖技術來增加其生產，如：種子繁殖、組織培養，扦插繁殖等，加速喜樹之大量繁殖、提供

---

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。

萃取之植物材料，以期能開發出在最短的時間內獲得最高含量喜樹鹼的方法。從喜樹植株的不同部位進行喜樹鹼含量的諸多研究顯示(Li *et al.* 2002)，葉片與果實或種子所含的喜樹鹼相較於其他部位來得高，且以葉片與果實或種子作為喜樹鹼的來源，可避免植株因採收其他維持生命部位，如根部或樹皮作為喜樹鹼來源而導致植物體死亡所引發的種種生態爭議。學者(張 等, 2005)的報告曾指出喜樹種子發芽不易，扦插苗的發根亦不理想，但在中國有喜樹扦插成功的例子。喜樹為多年生落葉喬木，在其週年生長中，於 2 月天氣回溫時，樹液便開始流動，於 3 月抽葉芽，4 月旺盛生長，5 月開花，9、10 月果實成熟，11 月初則開始落葉進入休眠。在蘋果樹的報告中提到(Bassuk *et al.*, 1981)，對於落葉樹種的扦插，應當選擇其休眼前或休眠後的時節來進行扦插，可以有較好的存活率，類似的報告在李樹上也有提出(Szecska *et al.*, 2004)。

因此本試驗以 4 年生喜樹作為材料，對喜樹三種不同成熟度插穗使用 IBA 處理，扦插於扦插海綿，以繁殖相同優良的營養系、縮短成苗時間、提高存活率，以期建立有效益、快速而大量的生產體系。

## 材 料 與 方 法

### 一、植物材料

本研究之喜樹扦插試驗材料為取自康拜爾公司種植於高雄市高樹區的喜樹田，株齡為 4 年生，取其頂梢、當年抽出之側枝與前一年的枝條做為材料來進行喜樹之扦插繁殖。

### 二、試驗方法：

(一) 試驗地點：國立中興大學園藝系葡萄試驗中心，精密溫室內架設之噴霧保濕塑膠布隧道棚。

(二) 插穗成熟度：

1. 綠枝：選擇位於頂梢下方約 20 cm 處部位之枝條作為綠枝插材料，剪除芽點、葉片多的頂梢部位，減少枝條間的差異性；喜樹葉片較大，且傷口褐化快速，不利於度過發根前所需時間，因此予以去除。
2. 半硬枝：選取位於綠枝枝條下段，抽出生長約 3 個月以上、9 個月內較為硬實之半木質化枝條。
3. 硬枝：為枝齡一年以上且已完全木質化之枝條。

(三) 材料之處理：

試驗於 2010 年 12 月 3 日進行，當天早上採收含有頂梢與當年抽出之側枝枝條，並浸泡於水桶中，載運至中興大學園藝系葡萄中心，全程耗時約 4 小時。剪取枝條時，於水面下剪去枝條底部 20 cm，避免因失水或有氣栓容易導致枝條活力的下降，餘下的部分依每插穗長度 10 cm 為原則，剪取所適用的枝條；剪取時，依枝條頂端平剪、底部斜剪，避免

因判斷錯誤出現的倒插情形；枝條剪下後即泡於水中。剪下的枝條依枝條木質化程度分出綠枝、半硬枝、硬枝，先行扦插綠枝，半硬枝與硬枝泡水一小時後再扦插；扦插時依不同成熟度插穗沾裹以不同濃度 IBA 混合之滑石粉製作之發根粉，IBA 處理濃度 500、1000、1500、2000 ppm 等，扦插於扦插海綿塊介質中。

#### (四) 試驗處理：

採到之枝條依各成熟度剪下區分後，分別依處理別以對照組：無沾裹發根粉、以及沾裹發根粉 IBA 500、1000、1500、2000、5000 ppm 進行處理，並對插穗有餘裕的半硬之處理追加 IBA10000、15000、20000 ppm 處理，扦插於扦插海綿介質中。所有試驗每處理 6 重複，每重複 1 支。

#### 三、扦插床管理：

每日清理插床中掉落的葉片，乾枯、失活的插穗連同介質一起移出，每月洗刷 1 次扦插棚內塑膠布上水漬、雜垢；塑膠扦插棚的保濕力極佳，休眠期扦插一月後每週給予補水，混合介質用灑水器澆濕，扦插海綿組使用底部浸水 10 分鐘方式補水。高壓噴霧：由上午 9 時開始，每 10 分鐘 1 次，每次 20 秒，至下午 5 時，改為每 4 小時 1 次，每次 20 秒，視扦插床內溫溼度情況加以調整。扦插棚上緣裝置小風扇，於棚內積熱過高時啟動，抽出內部溼熱空氣，由 11 時開始，每 2 小時 1 次，每次 15 分鐘，至下午 3 時，改為每 4 小時 1 次，每次 15 分鐘。扦插 5 週後需噴施依普同藥劑避免高濕造成葉部病害蔓延。

#### 四、調查項目：

##### (一) 插穗萌芽率與葉部活力：

扦插後每月調查頂芽與節間萌動的葉芽數，以及調查葉片長度大於 1 cm 之葉片數量，並記錄其葉片長度與寬度。

##### (二) 插穗發根率與發根品質：

扦插 5 週後每週隨機抽樣檢查是否有發根情形；調查插穗發根日期，發根插穗之主根數量、長度，側根數量、長度。

#### 五、統計分析

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, Monterey, CA, USA)進行變方分析(analysis of variance, ANOVA)，並以費雪氏 LSD 法(Fisher's Least Significant Difference test)比較 5% 差異顯著性。

## 結 果

### 一、不同 IBA 濃度使用扦插介質扦插海綿對喜樹綠枝萌芽與發根之影響

喜樹綠枝插穗使用扦插海綿扦插，葉芽萌動率以 IBA 1000 ppm 與 2000 ppm 83.3% 為最高，而在提高 IBA 濃度到 5000 ppm 則會有下降的趨勢(表 1)；葉片數與葉長及葉寬均

以 IBA 1000 ppm 為佳，對照組與 IBA 5000 ppm 處理組次之 (表 1)。但是綠枝的發根率普遍較低落，最高值 33.3% 出現在 IBA 500 ppm 與 1000 ppm，顯示 IBA 效果在扦插海綿處理較差，這也可能是較旺盛的葉芽搶佔碳水化合物積貯的關係(表 2)；而 IBA 5000 ppm 處理，初生根數 5.5 根數較多、總初生根長也以 IBA 5000 ppm 處理之 34.1 cm 及平均初生根長 5.9 cm 較長，側根數則以對照組的 17 根數最多，IBA 5000 ppm 處理的 5 條其次(表 2)。

二、不同 IBA 濃度使用扦插介質扦插海綿對喜樹半硬枝插穗萌芽與發根之影響

扦插海綿插的葉萌發率較為散亂，其中以對照組、IBA 1500 ppm 處理組萌芽率 83% 最高，IBA 5000 ppm 有次高的 66.7%；葉品質則以 IBA 1000 ppm 最高，具有最佳葉長與

表 1. 不同 IBA 濃度對喜樹綠枝插穗於海綿介質萌芽之影響

Table 1. The effect of different IBA concentration on soft-wood cutting sprouting of *Camptotheca acuminata* Decne. in cubic flock.

IBA treatment (ppm)	Rate of sprouting (%)	No. of sprout	No. of leave	leave length (cm)	leave width (cm)
CK	66.7%	1.7a	2.0a	3.0a	1.7a
500	50.0%	0.8a	1.2a	2.5a	1.5a
1000	83.3%	1.2a	2.8a	3.4a	1.9a
2000	83.3%	0.8a	1.2a	2.3a	1.4a
5000	66.7%	1.0a	1.7a	3.0a	1.4a

表 2. 不同 IBA 濃度對喜樹綠枝插穗於海綿介質發根之影響

Table 2. The effect of different IBA concentration on soft-wood cutting rooting of *Camptotheca acuminata* Decne. in cubic flock.

IBA treatment (ppm)	Rooting percentage (%)	No. of primary roots	Length of primary root (cm)	Average length of primary root (cm)	No. of lateral roots
CK	16.7%	2.0a	10.2a	5.1a	17.0a
500	33.3%	1.5a	5.5a	3.4a	2.0a
1000	33.3%	2.5a	6.6a	2.5a	2.0a
2000	16.7%	1.0a	1.8a	1.8a	0a
5000	16.7%	5.5a	34.1a	5.9a	5.0a

葉寬、葉數 2.7，其次為 IBA 2000 ppm 的葉數 2.7 與葉長與葉寬次佳(表 3；表 4)。發根率方面，除 IBA 1500 ppm 處理組有最高的發根率 83.3%，其次為 IBA 2000 ppm 處理的 50%，半硬枝方面，平均發根率較綠枝為高；根系品質以 IBA 5000 ppm 為佳，具有較多的初生根數 4.5、初生根長 17.75 cm、側根數 10.0，其次為 IBA 2000 ppm，次高的初生根總長 17.53 cm、側根數 8.7 與最高的初生根平均長 6.95 cm，但兩者發根率皆低於 IBA 1500 ppm 處理組，初生根總長明顯依 IBA 處理濃度上升而提升(表 4；圖 1)。

表 3. 不同 IBA 濃度對喜樹半硬枝插穗於海綿介質萌芽之影響

Table 3. The effect of different IBA concentration on semi-hard-wood cutting sprouting of *Camptotheca acuminata* Decne. in cubic flock.

IBA treatment (ppm)	Rate of sprouting (%)	No. of sprout	No. of leave	leave length (cm)	leave width (cm)
CK	83.3%	1.5a	2.2a	2.7a	1.5a
500	33.3%	1.3a	1.8a	2.9a	1.4a
1000	50.0%	1.0a	2.7a	3.8a	2.1a
1500	83.3%	1.3a	1.8a	3.0a	1.6a
2000	50.0%	1.0a	2.7a	3.2a	1.9a
5000	66.7%	1.5a	2.5a	3.3a	1.8a

表 4. 不同 IBA 濃度對喜樹半硬枝插穗於海綿介質發根之影響

Table 4. The effect of different IBA concentration on semi-hard-wood cutting rooting of *Camptotheca acuminata* Decne. in cubic flock.

IBA treatment (ppm)	Rooting percentage (%)	No. of primary roots	Length of primary root (cm)	Average length of primary root (cm)	No. of lateral roots
CK	33.3%	2.0a	6.3a	3.2a	4.5a
500	33.3%	1.0a	1.4a	1.4a	0a
1000	33.3%	2.5a	8.1a	2.8a	1.5a
1500	83.3%	2.0a	11.5a	5.5a	2.0a
2000	50.0%	2.3a	17.5a	7.0a	8.7a
5000	33.3%	4.5a	17.8a	4.9a	10.0a

### 三、不同 IBA 濃度使用扦插介質扦插海綿對喜樹硬枝插萌芽發根影響

扦插海綿硬枝插方面，以對照組與 IBA 2000 ppm 處理組萌芽率最高 100%，其他處理依 IBA 濃度提升而下降，最低為 IBA 5000 ppm 的 66.7%；葉品質最佳者為 IBA 2000 ppm，有最高葉數 5.8 與最大葉長與葉寬，其次為 IBA 1000 ppm，有最大葉芽數 2，次高葉片數 5、葉長與葉寬(表 5)。在發根率方面，有最高萌芽率的對照組卻有最低的發根率 0%，最高發根率出現在 IBA 1000 ppm 與 2000 ppm 的處理上，和半硬枝同樣，但值較低(67%)，整體發根趨勢相若；發根品質最佳為 IBA 1000 ppm 處理，有最大初生根數 2、初生根總長 8.8 cm、初生根平均長 4.8 cm 與側根數 6.8 (表 6)。

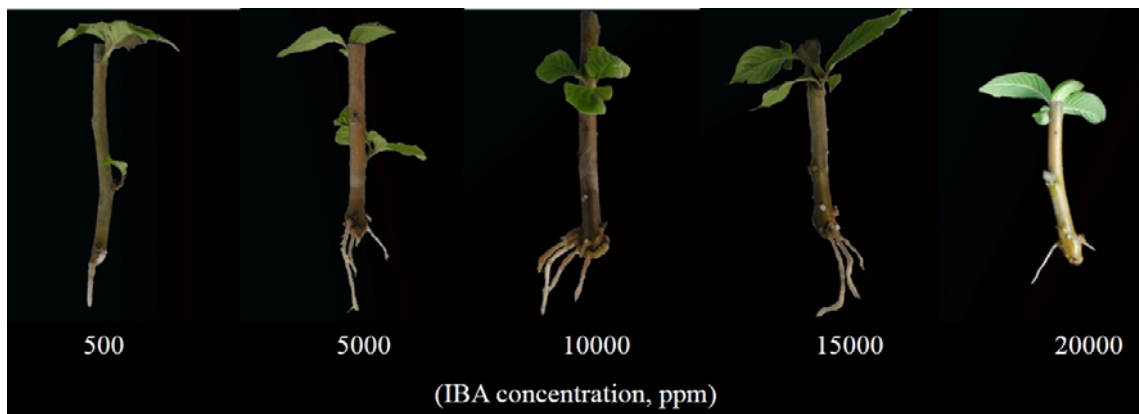


圖 1. 不同 IBA 濃度對喜樹半硬枝插扦插海綿介質發根之影響

Fig. 1. The effect of different IBA concentration on semi-hard-wood cutting rooting of *Camptotheca acuminata* Decne. in cubic flock.

The exam start at December 3<sup>rd</sup>, 2010.(bar=10 cm)

表 5. 不同 IBA 濃度對喜樹硬枝插穗於海綿介質萌芽之影響

Table 5. The effect of different IBA concentration on hardwood cutting sprouting of *Camptotheca acuminata* Decne. in cubic flock.

IBA treatment (ppm)	Rate of sprouting (%)	No. of sprout	No. of leave	leave length (cm)	leave width (cm)
CK	100.0%	2.2a	4.5ab	3.5a	2.0a
500	83.3%	1.8a	2.5b	3.0a	1.8a
1000	83.3%	2.0a	5.0a	3.7a	2.1a
2000	100.0%	2.0a	5.8a	3.4a	2.1a
5000	66.7%	1.5a	3.8ab	3.1a	1.6a

表 6. 不同 IBA 濃度對喜樹硬枝插穗於海綿介質發根之影響

Table 6. The effect of different IBA concentration on hardwood cutting rooting of *Camptotheca acuminata* Decne. in cubic flock.

IBA treatment (ppm)	Rooting percentage (%)	No. of primary roots	Length of primary root (cm)	Average length of primary root (cm)	No. of lateral roots
CK	0.0%	0	0	0	0
500	50.0%	2.0a	6.5a	3.1a	3.3a
1000	66.7%	2.0a	8.8a	4.8a	6.8a
2000	66.7%	1.3a	2.8a	2.1a	0a
5000	33.3%	1.5a	4.6a	2.9a	0a

#### 四、不同 IBA 濃度對喜樹不同成熟度插穗扦插於扦插海綿發根活力影響

本試驗中發現，在 12 月份對喜樹不同成熟度進行扦插，以硬枝插可以有最大比例達到 50% 以上發根，而半硬枝插其次，最差的是綠枝插，沒有任何處理發根達到 50%。顯示在此季節進行扦插，必須選擇枝條碳水化合物蓄積較多的插穗來進行。除了硬枝插對照組上沒有發根的，其他處理雖然發根率較低，但還是有發根者，顯示硬枝插至少要 IBA 500 ppm 處理才能促進其發根；而提高 IBA 濃度似乎是對硬枝插可以有促進發根而使發根時間縮短的現象，但隨著 IBA 濃度上升還會有發根率下降的趨勢(表 7)。

## 討 論

在本試驗中，不同成熟度的插穗發根適合的時節不同，在綠枝插穗方面，由於低溫的關係，發根延遲到 2 月底後才開始，因此漫長的時間對其內部碳水化合物消耗的影響，導致後來回溫後，插穗發根力低落，此現象在 12 月份的處理上可以明顯看出；硬枝插穗方面，雖然有最長的發根需求時間(表 7)，但達到 50% 發根率者也較多，顯示硬枝插穗具有較大的發根障礙，需求時間較長來打破；木本植物利用硬木插穗來進行無性繁殖的好處是貯存運輸上較便利，且操作容易，但硬枝插穗須選擇適當節氣來進行，受季節影響較大，在蘋果樹(Bassuk *et al.*, 1981)與李樹(Szecske *et al.*, 1981)上發現在休眠前後的硬枝插穗發根率較高。陳(2007)在黃連木上的研究發現，冬天進行硬枝插確實對芽萌發是有幫助的，但是還是經常出現發根障礙的現象，這情形的改善還要透過機械傷害插穗基部，使根得以突破。

表 7. 不同 IBA 濃度對喜樹不同成熟度扦插於扦插海綿發根活力之影響

Table 7. The effect of different IBA concentration on different maturity of *Camptotheca acuminata* Decne. cutting rooting ability<sup>x</sup> in cubic flock.

Rooting Time IBA (ppm)	Time for rooting (day)		
	soft-wood cutting	semi-hard-wood cutting	hardwood cutting
CK	_y	-	-
500	-	-	146 a
1000	-	-	133 a
1500	-	131a	X
2000	-	131a	120 a
5000	-	-	-
10000	x <sup>z</sup>	-	x
15000	x	-	x
20000	x	-	x

x: rooting ability = Average of the date for first 50% rooting cutting.

y: rooting percentage less than 50%

z: have no treatment.

席(2006)也指出,喜樹枝條打破休眠後,3月開始芽萌動,形成層也開始平周分裂,4、5月形成層帶細胞數達到全年高峰,因而造成大量貯藏的澱粉消耗,直到11月初以後才又開始重新累積澱粉。11月上旬立冬之後澱粉消失轉換成可溶性糖,學者將之解釋為抗寒性的提升,直到1月份才又開始發現澱粉累積,而3月又開始消耗(席,2006)。對照本試驗的結果,這應當可以解釋為在低溫下降低了插穗養分的消耗,隨後在芽體萌動、累積的澱粉消耗時開始進入發根,得到葉芽產生的內生生長素與充足的能量供應,使半硬枝插穗與硬枝插穗有較綠枝插穗為佳的結果。在大部分植物中,經歷過充足光照,非適溫將降低葉光合作用。但比起低溫降低的呼吸作用所減少的消耗,低溫下光合作用反而有碳水化合物淨收益(Welander and Hellgren, 1988)。天竺葵插穗在發根時,10°C比20°C明顯增加組織碳水化合物的濃度(Druege and Kadner, 2008),在大多數的植物中,葉光合作用率在充足光照下和較高的溫度達到一個最佳的平衡。當光強度足夠低時,溫度曲線的反應較平緩,淨光合作用增加、溫度降低,此時呼吸作用的CO<sub>2</sub>比總光合作用重要(Berry and Björkman, 1980),而低溫不僅改變了插穗的碳水化合物分布,還提高了碳水化合物獲得或降低在整個插穗上碳水化合物損耗;低溫抑制葉片損傷亦可用天竺葵莖中維持的高蔗糖濃度表示。

在低溫的高存活率和糖濃度有高相關，而插穗的發根率與不定根的形成數目，也和插穗組織的糖濃度有關聯(Druege and Kadner, 2008)。

生長素可以刺激分化周皮細胞外組織的橫向誘導以及誘導側根(Scott and Norris, 1970)。周皮是接近維管束組織和側根的維管束組織，最終可分化出主根。不定根和側根是由形成層附近薄壁細胞聚合後分化出；而在本試驗的資料顯示，對發根最好的 IBA 濃度為 1000-2000 ppm 之間，較高的 IBA 濃度反而發根率會下降。而隨著 IBA 濃度提升，較高濃度 IBA 對初始根長影響較側根為大，大量的處理都出現初始根長度延長，明顯較側根的生長為強，如前人研究指出，生長素可以刺激扦插時不定根的形成(Liu and Reid, 1992)，且這種植物荷爾蒙若太高濃度在根形成的階段反而會抑制根形成，與在本試驗中提高 IBA 濃度有較強勢的根生長，但持續提高卻有較低發根率相符。

## 參 考 文 獻

- 王戈戎、袁曉穎。2007。喜樹莖解剖構造及插條不定根的形成。東北林業大學學報 35(3) 2pp。
- 席夢利、施季森、包少康。2006。喜樹形成層的發育及週年活動。浙江林學院學報 23(3) p275-279。
- 張淑華、蔡錦瑩、許原瑞、何政坤。2005。喜樹之微體繁殖與喜樹鹼含量分析。台灣林業科學。20(4):331-340。
- 陳書婷。2007。黃連木之扦插繁殖。國立中興大學園藝研究所碩士論文。68pp。
- 楊士平、李慶國。2009。喜樹鹼及其衍生物的歷史回顧及展望。化學67(1): 45-60。
- 譚克終 譯。1995。園藝植物營養繁殖之最新技術。台灣商務印書館。p31-127。
- Bassuk, N. L. and B. H. Howard. 1981. A positive correlation between endogenous root-inducing cofactor activity in vacuum-extracted sap and seasonal changes in rooting of M.26 winter apple cuttings. *Journal of Horticultural Science* 55(4): 301-312.
- Berry, J., and O. Björkman. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31: 491-543.
- Druege, U. and R. Kadner. 2008. Response of post-storage carbohydrate levels in pelargonium cuttings to reduced air temperature during rooting and the relationship with leaf senescence and adventitious root formation. *Postharvest Biology and Technology* 47: 126-135.
- Li, S. and K. T. Adair. 1994. *Camptotheca acuminata* Decaisne XI SHU (Chinese Happy tree) a promising anti-tumor and anti-viral tree for the 21st century. Tucker Center, College of Forestry, Stephen F. Austin State University, Nacogdoches, Texas
- Li, S., Y. Yi, Y. Wang, Z. Zhang, and R. S. Beasley. 2002. Camptothecin accumulation and

- variations in *Camptotheca*. *Planta Med* 68(11): 1010-1016.
- Liu, J., and D.M. Reid, 1992. Adventitious rooting in hypocotyls of sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. VI. The role of changes in endogenous free and conjugated indole-3-acetic acid. *Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 455–496.
- Norris, R. M., D. E. Caughey, L. W. Deeming, C. J. Mercer, and P. J. Scott. 1970. Coronary prognostic index for predicting survival after recovery from acute myocardial infarction. *Lancet*.2:485.
- Szecska, V., K. Hortko and E. Stefanovits-Banyai. 2004. Phenolic compounds, bud dormancy, and rooting ability of plum hardwood cuttings. *Acta Hort.* 658: 679-687.
- Welander, N. T., and O. Hellgren. 1988. Growth, development, net photosynthesis and dark respiration in *Pelargonium×hortorum* cv. Celeste in relation to temperature, quantum flux density and absorbed quanta. *J. Hort. Sci.* 63: 659–666.
- Wall, M. E., M. C. Wani, C. E. Cook, and K. H. Palmer. 1966. Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of camptothecin—a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J Amer Chem Soc* 88(16): 3888-3890.

## The Effect of Indole Butyric Acid on Different Maturity of *Camptotheca acuminata* Decaisne Cutted in Cubic Flock on December

Yi-Hung Chen <sup>1)</sup> Ruey-Song Lin <sup>2)</sup>

Key words: *Camptotheca acuminata*, cutting, rooting, IBA, maturity

### Summary

*Camptotheca acuminata* Decaisne were used in this study to investigate the effect of indole-3- butyric acid on three different maturity *Camptotheca acuminata* cutting rooting in cubic flock on December. In the different IBA concentration treatment for the three different maturity cutted of *Camptotheca acuminata* Decaisne, semi-hard-wood treated with IBA 1500 ppm had the best rooting at 83%, and semi-hard-wood cutting with IBA 2000 ppm had the best root quality. Treated IBA concentration with 1000 to 2000 ppm had the best rooting percentage. When IBA concentration over 5000 ppm would cause rooting percentage down. The hard-wood cutting had the best rooting ability, the second were semi-hard-wood cutting, and the worst were soft wood cutting. When IBA concentration increased could shorten time of rooting.

---

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

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



## Seed Germination *In Vitro* and Plantlet Establishment of *Dendrobium victoria-reginae* Loher. var. *miyakei* (Schltr.)

Liu & Su

Fitri Yunita <sup>1)</sup> Yi-Tien Chiu <sup>2)</sup> Shin-Wen Chung <sup>3)</sup> Chen Chang <sup>4)</sup>

Key words: seed germination, activated charcoal, seedling growth

### Summary

The seeds of *Dendrobium victoria-reginae* Loher var. *miyakei* was sown on six basal media such as, ¼ MS, ½ MS, ½ VW, VW, or Hyponex-1 *in vitro*. One quarter of MS supported the higher percentage of seed germination. ¼ MS Liquid medium gave the higher percentage for seed germinate than that of seeds on solid medium. ½ MS medium supplemented with activated charcoal (0, 0.1, 0.5, 1, and 2 g L<sup>-1</sup>) further more. 2 g L<sup>-1</sup> enhanced plantlet growth, in response height of plantlets, number of leaves, and number of roots. The seedlings were successfully transplanted to pots in the green house and gave the better response of the stem growth and width leaves.

### Introduction

*Dendrobium* is one of the largest genus in *Orchidaceae* (Zhu *et al.*, 2009). It was established by Olof Swartz in 1799 (Lavarack *et al.*, 2000) distributed from Himalayas, Asia, Australia, Tasmania and the Pacific island (Kamemoto *et al.*, 1999). There are 900 to over 1400 species in *Dendrobium* (Stewart and Griffiths, 1995). Nowadays, over exploitation of *Dendrobium* due to

- 
- 1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C.
  - 2) Assistant, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C.
  - 3) Division of Botanical Garden, Taiwan Forestry Research Institute, Taipei, Taiwan, R.O.C.
  - 4) Associate Professor and Corresponding author: chenchang@dragon.nchu.edu.tw., Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C

various factors caused some species of this genus started to become scarce. Moreover, the low seed germination in nature makes the production of *Dendrobium* becomes less anyway.

One of those species is *Dendrobium victoriae-reginae* Loher. var. *miyakei* (Schltr). It's native to Taiwan at the thickets of Island Lanyu (Botel Tobago), Taiwan (Su, 2000). It has small flowers with beautiful color. Since *Dendrobium victoriae-reginae* Loher. var. *miyakei* started to become scarce in Taiwan as a native species. Seed germination in *in vitro* is an appropriate solution for rapid multiplication.

The availability of the qualified planting materials *in vitro* is an important aspect to support the plantlet propagation of this species for breeding purposes. One of the important aspect is using activated charcoal in appropriate concentrations. Charcoal is able to create an environment within the planting medium *in vitro* getting darker. Pan and Staden (1998) reported that charcoal is any form of carbon characterized by a high adsorptive capacity for gases, vapors and colloidal solids prevented discoloration by adsorbing phenolics and rendered polyphenol oxidase and peroxidase inactive.

From tissue culture environment to the green house causes tissue stress and have slow growth. The seedling requires a phase of adjustment to new environmental stress after move out to the green house. These plantlets might easily be impaired by sudden change in environmental conditions (Pospisilova *et al.*, 1999). One of the factors that need attention during seedling growth is fertilization. Provision of appropriate frequency, required to get the optimum seedling growth. Spraying foliar fertilizer that too often can lead to poisoning of orchid plant so that the plant will be dry, but if it is not given then the orchid growth will slow (Dwiyani, 2012). Therefore, needed to do research to know the exact concentration of application Hyponex-2.

## **Materials and Methods**

### **1. Seed germination**

#### **Materials**

The *Dendrobium victoria-riginae* Loher. var. *miyakei* (Schltr) seed harvested (collected) from Lanyu Island (Taiwan) were used for seeds germination *in vitro* experiments. The capsules harvested on 2012 and July 24<sup>th</sup>, 2013, and were stored in a centrifuge tube containing silica gel and were used for germination test after 6 months. In laminar flow the seeds were sterilized in sodium hypochlorite (NaOCl, 0.5% w/v) solution with two drop Tween 20 and were shaken for 15 minutes, and then were washed with autoclaved distilled water three times by using a sieve with a filter paper inside to hold the seeds.

### Different basal media for seed germination

Six basal media were used (Table 1) as a first treatment and each media with medium volume 8 ml in test tube (Pyrex no. 9820). The seeds were sown in test tubes for each medium and then were wrapped with aluminium foil as a cover.

#### *Solid or liquid medium*

In this treatments the PA3 medium were used for seed germination. In test tubes (Pyrex no. 9820) the seeds were sown on 8 ml solid medium or 5 ml liquid medium in a plastic petri dish (Alpha Plus Scientific Corp. 90 x 15 mm, Taoyuan, Taiwan). The test tube was covered with one layer aluminium foil. The petri dishes were sealed with two layers of parafilm (American National Can Co., Menasha, WI).

Table 1. The composition of six basal media

Media	Composition
PA1	1/4 MS salt(1962), 170 mg L <sup>-1</sup> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 20 g L <sup>-1</sup> sucrose, 150 ml L <sup>-1</sup> coconut water, 100 mg L <sup>-1</sup> myo-inositol, 1 g L <sup>-1</sup> Activated Charcoal, 1 g L <sup>-1</sup> peptone, 6 g L <sup>-1</sup> potato powder, 8 g L <sup>-1</sup> agar
PA2	1/2 MS salt, other additives as PA1 media
PA3	1/4 MS salt, other additives as PA1 media, and remove Activated Charcoal
VW	VW (1949), other additives as PA1 media
1/2 VW	1/2VW, other additives as PA1 media
Hyponex1	Hyponex 1 g L <sup>-1</sup> + 4 g L <sup>-1</sup> gerlite

#### *Percent seed germination*

After 2, 4, 6, 8 or 10 weeks of sown in test tubes and plastic petri dishes, it was observed under light microscope. Seed germination percentage was calculated employing following formula:

$$\frac{\text{No. of seed showing swelling of the embryo} \times 100}{\text{Total No. of seeds}}$$

#### 2. Plantlet culture *in vitro*

Eleven-months-old *in vitro* grown donor plantlets were obtained from seeds germination. The plantlets were selected from mother flask and cultured on PA2 medium (Table 1) with different concentration of activated charcoal (0, 0.1, 0.5, 1, and 2 g L<sup>-1</sup>). After 16 weeks the plantlet were moved to green house.

### 3. Culture conditions

The pH of all media was adjusted to 5.2 with 0.1 N NaOH or HCl before autoclaving at 121°C for 20 minutes. The condition in environmental culture room was 25±2°C, and 12-h/d photoperiod was supplied by a cool white fluorescent lamp (FL 40D/ 38 ; China Electric Mfg. Co., Taipei, Taiwan) at 400 lux for germination and 5000 lux for plantlets growth. Each treatments of organic nitrogen and organic additives have 5 flask whereas activated charcoal treatments has 10 flask. All of treatments have 20 plantlets/ flask and were repeated three times to observed. Observations were made every four weeks after cultured. The plants growth (height (from base to leaf top), leaves and roots number) were determined for each trial.

### 4. Seedling growth in green house

A donor seedlings derived from plantlets cultured of activated charcoal treatments after moving out at 16<sup>th</sup> week to the greenhouse and were applied Hyponex-2 after two months later. In this treatments have 4 concentration of hyponex-2 (0, 0.5, 1, and 2 g L<sup>-1</sup>) that were applied to seedlings. Those plants were planted in the pot with size 1.5 inch and sphagnum moss as a potted media. Each pot planted 3 plants and the total pots in each treatments where Hyponex-2 applied were 10 pots. This treatments were repeated two times. Watering once a week with a method of alternating between hyponex-2 and water (50 ml/ pot). After 10 weeks. The plants growth height (from base to leaf top), leaves number, length of leaves, width of leaves, diameter of stem (in the middle of stem), roots number, and length of roots) were determined for each trial.

### 5. Statistical analysis

The experiments were conducted in a complete randomized design. The average values were analyzed by Costat (CoHort Software, Minneapolis, MN), and the differences were compared by analysis of variance and Duncan's multiple range test at  $P \geq 0.05$ .

## **Results**

### 1. Seed germination

#### Effects of basal media on seed germination

PA1 medium gave the higher seed germination percentage (45.42%) after 10 weeks but it was not significantly different to PA3 and VW (44.09% and 43.19%). And PA2 medium with the higher concentration of inorganic salts, ½ VW medium, and Hyponex medium, the seed germination percentage respectively was 37.44%, 33.59%, and 27.24%, all significantly lower than PA1 medium. The hyponex still got the lower seed germination percentage until 10 week (Table 2).

Table 2. Effect different media on seed germination of *Dendrobium victoria-reginae* Loher var. *miyakei*

Culture period (Weeks)	Seed germination (%) <sup>Z</sup>					
	PA1	PA2	PA3	VW	1/2 VW	Hyponex 1
2	13.86 a <sup>Y</sup>	7.68 c	11.54 ab	11.91 ab	9.18 bc	8.53 bc
4	25.35 ab	28.64 a	24.82 ab	25.57 ab	19.17 bc	13.86 c
6	30.43 ab	31.90 ab	32.99 a	31.91 ab	26.29 b	18.67 c
8	38.92 a	34.74 ab	39.8 a	39.11 a	29.82 b	22.85 c
10	45.42 a	37.44 bc	44.09 ab	43.19 ab	33.59 cd	27.24 d

<sup>Z</sup> The values represent the mean ( $\pm$  SE) of 5 replicates

<sup>Y</sup>In row, mean values followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ( $P \geq 0.05$ )

#### Effect of solid or *liquid* medium

The seed germination in liquid medium had the higher percentage than solid medium. Table 3 showed that after 2 weeks the seed germination percentage was increase to 56.28% and significantly different to solid medium (35.18%) in 10 weeks. It also can be seen in Fig. 1b about different both of protocorms growth in liquid and solid medium.

Table 3. Effect of media phase on seed germination(%) *in vitro* of *Dendrobium victoria-reginae* Loher var. *miyakei*

Media phase	Culture period (weeks)				
	2	4	6	8	10
Liquid	8.42 a <sup>Y</sup>	27.27 a	35.5 a	46.02 a	56.28 a
Solid	8.38 a	18.16 b	23.27 b	29.83 b	35.18 b

<sup>Z</sup> The values represent of 5 replicates, basal medium was PA3

<sup>Y</sup>In column, mean values followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ( $P \geq 0.05$ )

#### 2. Plantlet culture *in vitro*

The increasing of concentration activated charcoal made the affect to height of plantlets and roots number were increased. On the other hand, the reducing of concentration activated charcoal

has made the lower of height and number of roots. It can be seen in Table 4 where is the concentration activated charcoal at 2 g L<sup>-1</sup> has the highest number of height and roots number also made significantly different compared to the other concentration (Fig. 1c). On the part of leaves, the effect of different concentrations activated charcoal more varied.

### 3. Effect of Hyponex-2 on potted plantlets

The concentration of 0.5 g L<sup>-1</sup> Hyponex-2 give the better result for length of leave and diameter of stem, 1 g L<sup>-1</sup> have a better response for width of leave and length of root, whereas 2 g L<sup>-1</sup> can increase the plant height and roots number particularly seedlings growth in hight activated charcoal *in vitro* (Table 5 and Fig 1d).

Table 4. Effects of activated charcoal (AC) on the growth of *Dendrobium victoria-reginae* Loher var. *miyakei*

AC (g.L <sup>-1</sup> )	4 w			8 w		
	Height (cm)	NO. of leaves	NO. of roots	Height (cm)	NO. of leaves	NO. of roots
0	1.0 e <sup>z</sup>	4.0 bc	1.9 ab	1.1 e	4.3 a	2.6 b
0.1	1.1 d	4.4 a	2.5 a	1.4 d	5.4 a	3.0 b
0.5	1.4 c	3.8 c	1.7 b	1.6 c	4.7 a	2.8 b
1	1.7 b	3.8 c	2.0 ab	2.0 b	4.6 a	2.7 b
2	2.0 a	4.3 ab	2.5 a	2.3 a	5.0 a	3.5 a

AC (g.L <sup>-1</sup> )	12 w			16 w		
	Height (cm)	NO. of leaves	NO. of roots	Height (cm)	NO. of leaves	NO. of roots
0	1.4 e	4.6 d	4.0 d	1.6 e	5.3 b	4.7 c
0.1	1.6 d	5.0 c	4.4 c	1.7 d	5.0 c	4.9 c
0.5	1.8 c	5.1 bc	4.6 b	2.0 c	5.4 b	5.6 b
1	2.1 b	5.2 b	4.6 b	2.2 b	5.8 a	5.4 b
2	2.7 a	5.4 a	5 a	3.1 a	5.9 a	6.1 a

The values represent the mean of 3 replicates (each replicates has 20 plants/flask).

<sup>z</sup>In column, mean values followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test (P ≥ 0.05)

AC = Activated Charcoal

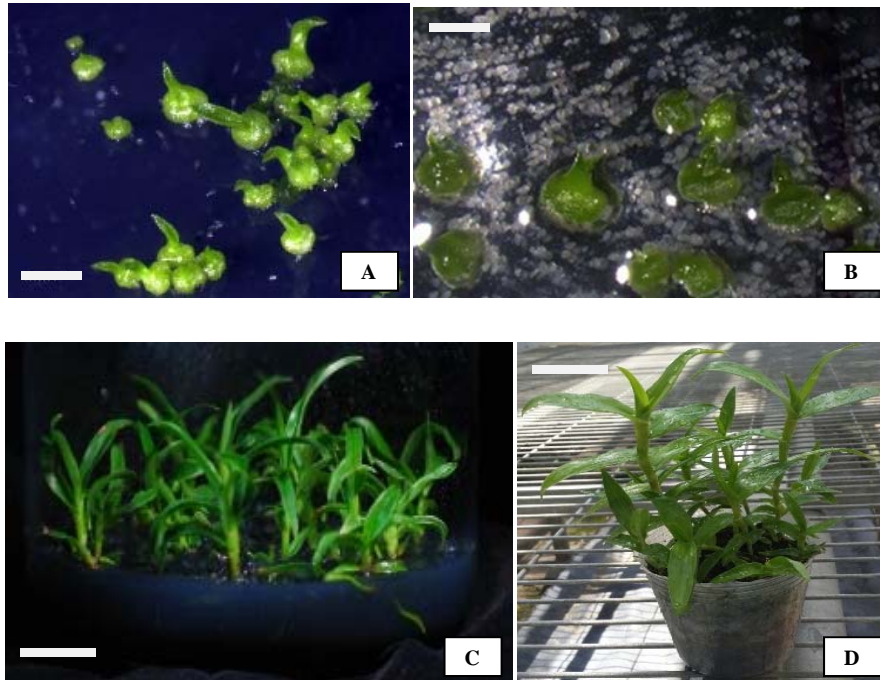


Fig. 1. The plant growth of *Den. victoria-reginae* Loher var. *miyakei*. Protocorms in PA1 solid medium and liquid (phase) medium (A and B) *in vitro* after 10 weeks, plantlet in PA2 medium at 2 g L<sup>-1</sup> activated charcoal *in vitro* after 16 weeks (C), seedling growth in greenhouse (D). (bar a and b = 0.8 cm, c and d = 1 cm)

## Discussion

Fig 1a showed that the protocorms in PA1 medium had highest percentage. PA1 was used a quarter MS that had been reported by Tarek (2004) who explained that reducing the salt concentration of MS-medium to the a quarter strength may have accelerated the biochemical activity. A quarter MS-medium produced the longest shootlet of *Aspidistra elatior* (Tarek, 2004), enhanced shoots number of *Cassava* (Mushiyimana *et al.*, 2011).

In this treatments the liquid medium is the best medium because besides has the higher percentage in germination, it also germinated faster than solid medium. It was explained by Yoder *et al.* (2000) that the delay of germination in asymbiotic sowing was induced by the lack of rapid increase of water acquisition. It the reason of the solid media had lower percentage of seed germination. Tsai and Chu (2008) reported that the liquid culture can improve the growth of *Doritaenopsis*. They said that the seed of *Doritaenopsis* not only germinated but also grew

Table 5. Effect different concentration of Hyponex-2 on plant growth of *Dendrobium victoria-riginae* Loher var. *miyakei* in greenhouse after 10 weeks

Conc. of AC (g.L <sup>-1</sup> )	Conc. of Hyponex 2 (g.L <sup>-1</sup> )	Height	Leaf number	Length of leaf (cm)	Width of leaf (cm)	Diameter of stem (mm)	Root number	length of root (cm)
0	0	4.45abc <sup>Z</sup>	6.17a	3.08abc	0.75de	1.35bc	8.83bcd	4.35abc
	0.5	4.17bc	6.17a	3.03abc	0.78cde	0.85efgh	7.67cd	3.62bcd
	1	4.38bc	5.5a	2.9bc	0.75de	0.83efgh	8.83bcd	3.37cd
	2	3.13c	4b	2.45c	0.63e	0.61gh	6.67d	2.72d
0.1	0	5.4ab	6a	3.12abc	0.97abcd	1.38bc	7.5cd	4.23abc
	0.5	5.62ab	7a	3.85a	1.12a	1.65ab	10.17bcd	4.45abc
	1	5.62ab	6.17a	3.73ab	1abcd	0.92efg	8.67bcd	5.07a
	2	4.53abc	6a	3.37ab	0.95abcd	0.80efgh	8.33bcd	3.92abcd
0.5	0	5.27ab	6.83a	3.32ab	0.98abcd	1.04def	9.17bcd	4.78ab
	0.5	5.17ab	6.5a	3.1abc	0.88abcde	1.63ab	10.83bc	3.65bcd
	1	5.1ab	6.5a	3.1abc	0.98abcd	0.86efgh	11.83b	3.95abcd
	2	5.87a	6.5a	3.67ab	1.07abc	0.75fgh	11.67b	3.32cd
1	0	4.22bc	5.67a	2.97bc	0.8bcde	1.10cde	8.83bcd	4.05abc
	0.5	4.65ab	6a	3.22abc	0.93abcd	1.79a	9.33bcd	3.92abcd
	1	5.22ab	6.17a	3.47ab	1.08ab	0.91efg	10.5bc	3.97abcd
	2	4.53abc	6a	3.43ab	0.98abcd	0.78efgh	10.5bc	3.9abcd
2	0	5.38ab	6.5a	3.55ab	0.97abcd	0.95ef	8.83bcd	3.62bcd
	0.5	4.15bc	5.83a	3.07abc	0.88abcde	1.32cd	8.67bcd	4.18abc
	1	5.32ab	6.67a	3.73ab	1.1a	0.88efg	9.83bcd	3.9abcd
	2	4.97ab	6.67a	3.13abc	1.08ab	0.55h	15.67a	3.15cd
AC		***	**	**	***	***	***	*
Hyponex2		ns	ns	ns	ns	***	*	**
AC x Hyponex2		ns	ns	ns	ns	***	**	ns

The values represent the mean of 6 replicates

<sup>Z</sup> In column, mean values followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test (P ≥ 0.05)

faster in liquid media. It was supported the result in this study where is the higher percentage of seed germination is in liquid medium. The liquid medium provides better aeration and optimum conditions for nutrient uptake (Puchooa, 2004).

Based on this study concentration 2 g L<sup>-1</sup> activated charcoal (AC) give the best result for plant growth of *Den. victoria-reginae* var. *miyakei* (Table 4 and Fig. 1b) that were observed. Pan and Staden (1998) concluded that the structure of activated charcoal is an important factor which intimately affects its adsorptive capacity. Martin *et al.* (2005) had been reported that the shoots of *Dendrobium* hybrids Sonia 17 and 18 were rooted well upon transfer to half-strength MS medium supplemented with 2 g L<sup>-1</sup> AC. It's due to activated charcoal has a very fine pores with large inner surface area on which many substances can be adsorbed (Gnasekaran *et al.*, 2012).

Hyponex-2 with concentration 2 g L<sup>-1</sup> give the better response to plant hight and root number. It supported by Dwiyani (2012) who reported that Hyponex fertilizer can increase the plant height and leave number of *Dendrobium* and Thepsithar *et al.* (2009) also reported that Hyponex with (20N-20P-20K) could enhanced number of seedlings. Table 5 showed that the highest on diameter of stem and length of leaves were used 0.5 g L<sup>-1</sup> Hyponex-2. It supported by Pospisilova *et al* (1999) who said that after transfer of plantlets from *in vitro* cultures to the green house, substantial changes in leaf morphology, leaf thickness.

Therefore, this species for breeding practice, application of a quarter MS in liquid medium were enhanced percentage of seed germination to grown up being plantlets after moved to a half MS solid medium. Application of 0.5 g L<sup>-1</sup> Hyponex to in green house for seedling growth gave the best response for stem growth and width of leaves.

## References

- Dwiyani, R. 2012. The growth of seedlings of *Dendrobium* sp. at acclimatization in response to application of foliar fertilizer in various frequency. *Agr. Trop.* 2(2): 171-175.
- Gnasekaran, P., R. Poobathy., M. Mahmood., M. R. Samian., and S. Subramaniam. 2012. Effects of complex organic additives on improving the growth of PLBs of *Vanda* Kasem's delight. *Austral. J. Crop Sci. AJCS* 6(8):1245-1248.
- Kamemoto H, Amore TD, Kuehnle AR. 1999. Breeding *Dendrobium* orchids in Hawaii. University of Hawaii Press, Honolulu.
- Lavarack, P., G. Stocker., and W. Harris. 2000. *Dendrobium* orchids. Periplus Editions, Singapore, pp. 17-237.

- Martin, K. P., J. Geevarghese., and D. J. Madassery. 2005. *In vitro* propagation of *Dendrobium* hybrids using flower stalk node explants. Indian J. Expt. Biol. 43: 280-285.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 472-497.
- Mushiyimana, I., E. Hakizimana., G. Gashaka., P. Y. K. Sallah., S. Kalisa., F. Gatunzi., T. Asimwe., J. Kahia, D. Gahakwa. 2011. Micro propagation of disease resistant *Cassava* variety in Rwanda. Rwanda J. Agric. Sci. 24: 49-57.
- Pan, M. J., and J. V. Staden. 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture – A review. Plant Growth Regulat. 26: 155–163.
- Pospisilova, J., I. Ticha., P. Kadlec., D. Haisel., and S. Plzakova. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. Biol. Plant. 42(4): 481-497.
- Puchooa, D. 2004. Comparison of different culture media for the *in vitro* culture of *Dendrobium* (Orchidaceae). Int. J. Agr. Biol. 6(5): 884-888.
- Su, H. J. 2000. *Dendrobium miyakei*. In: Flora of Taiwan second Edition. Volume five, Editorial committee of the flora of Taiwan, Haung, T. C. eds. Dept. Bot., National Taiwan University, p. 845
- Stewart, J. and M, Griffiths. 1995. *Dendrobium* Sw. In: The new royal horticultural society dictionary manual of orchids. Timber Press, USA, p. 97.
- Tarek, A. M. Abou-Dahab. 2004. Effect of some natural culture media on *in vitro* shootlet proliferation of *Ruscus hypoglossum* L. and *Aspidistra elatior* Blume. Arab J. Biotech. 7(2): 239-250.
- Thepsithar, C., A. Thongpukdee, and K. Kukieatdetsakul. 2009. Enhancement of organic supplements and local fertilizers in culture medium on growth and development of *Phalaenopsis* Silky Moon protocorm. Afr. J. Biotechnol. 8 (18): 4433-4440.
- Tsai, W. T., and C. Y. Chu. 2008. Static liquid culture of *Doritaenopsis* seedlings. Hort. Sci. 43(1): 206-210.
- Vacin, E., and F. W. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Bot. Gaz. 110: 605-613.
- Yoder, J. A., L. W. Zettler, and S. L Stewart. 2000. Water requirements of terrestrial and epiphytic orchid seeds and seedlings, and evidence for water uptake by means of mycotrophy. Plant Sci. 156: 145-150.
- Zhu, G.H., Z. H. Ji., J. J. Wood., and H. P. Wood. 2009. *Dendrobium*. In: Chen, S.L., Q. M. Hu., D. Z. Li., J. Y. Peng., B. Xia., and X. C. Zhang. (Eds.), Flora of China. Sci. Press, Beijing, pp. 367–397.

## 紅花石斛無菌播種與幼苗生長

游 菲 莉<sup>1)</sup> 邱 翊 恬<sup>2)</sup> 鍾 詩 文<sup>3)</sup> 張 正<sup>4)</sup>

關鍵字: 無菌播種、活性炭、幼苗生長

**摘要：**紅花石斛為產於臺灣蘭嶼的原生蘭科植物，本文建立其種子發芽的無菌培育條件，篩檢活性炭促進瓶內小苗發育的合適濃度，以及溫室育苗的施肥濃度。紅花石斛的種子在靜置液體培養基中發芽比固體培養基更快，在另一實驗中 1/4 MS 固體培養基得到了最高比例的種子發芽率。紅花石斛種子發芽後 1 cm 高幼苗，培養在含為 2 g L<sup>-1</sup> 活性炭 16 週後可增加小苗的株高、葉數及根長。紅花石斛的瓶苗的移植到溫室栽培後，每二週於葉面噴施 50 ml 的 0.5 g L<sup>-1</sup> 花寶 2 號液體肥料，有助於增加小苗的莖粗及葉片寬度。

- 
- 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研究助理。
  - 3) 行政院農委會林業試驗所植物園組。
  - 4) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。