

興大園藝

第三十卷 第一期

Citrus Response to SalinityNguyen Trinh Nhat Hang.....	1
高接梨果實發育期間礦物元素含量之變化許松田 陳秉訓 陳京城.....	15
甘藍葉綠體基因轉殖載體開發之建立劉程煒 曾夢蛟.....	27
利用形態性狀及 RAPD 分子誌標分析 <i>Xanthosoma</i> 種原遺傳歧異度鄭思敏 宋 好.....	39
PEG 水分逆境處理對 '奇雅' 辣椒植株、果實生長及果實辣味成分之影響丁妮倫 宋 好.....	51
朱槿之扦插和種子繁殖丁川翊 朱建鏞.....	65
蓮霧果實寒害時乙烯釋放率及呼吸率之變化姜 姍 謝慶昌.....	75
不同植栽對建築物隔熱效果影響之研究謝維芳 歐聖榮.....	89

國立中興大學園藝學系

中華民國九十四年三月編印

Citrus Response to Salinity

Nguyen Trinh Nhat Hang ¹⁾

Keys words: Citrus, Salinity, Rootstock, Chloride, Sodium, Physiological

Summary

Citrus is among the most salt sensitive of horticulture crops. Growth and yield of citrus are seriously limited by salinity in many areas worldwide. Salt damage usually manifests as trees physiological disturbances and growth reduction. Factor affecting citrus response to salinity included salinity levels for onset and rate of yield decline in mature trees. The salinity is concerned with the regulation of chloride and sodium concentration in the leaves, stems and roots. The factors underlying changes in leaf gas exchanges parameters, reduction in growth and foliage damage at increasing salinity levels depended on scion-rootstock combination. Foliage damage as leaf burn and defoliation associated with accumulation of excess toxic levels of sodium and chloride in leaf cells. However, this problem can be minimized by using rootstocks that restrict the uptake of these ions. Genetic transformation methods have been applied in citrus to improvement salt-tolerance mechanism.

Introduction

Salinisation of agriculture land is occurring throughout the world especially in regions where water irrigation has high salt concentration and water evaporates rapidly from the surface soil. Citrus is grown commercially in over fifty countries and ranks first in world production of fruit crops. Salinity is already an important problem in citrus production and is threatened by increase salinity due to the use poor quality irrigation water (García *et al.*, 2002).

Citrus are among the most salt sensitive of horticulture crops (Mass, 1990). However, the ability of citrus trees tolerance to salinity varies among different species in these genera and depends on the rootstocks (Maas, 1993). High concentrations of chloride and/or sodium in the

1) Graduate student in Ph.D. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Assistant Researcher, Southern Fruit Research Institute, Vietnam.

leaves of citrus trees have been frequently related to disturbances in nutrition, gas exchange and water relation (Ruiz et al., 1999). Citrus commonly grown in regions where the salinity of irrigation water is relatively low, typically $< 0.5 \text{ dSm}^{-1}$, it is also growing in the regions where the salinity of irrigation water is significantly higher e.g. 1.4 dSm^{-1} (Bielorai et al., 1978). Depending on soil type, method of irrigation and frequency of irrigation, the soil solution salinity might also increase several fold between irrigations (Marschner, 1995). Tree growth and fruit yield of citrus species are impaired at soil salinity of about 2 dSm^{-1} soil saturation extract without the concomitant expression of leaf symptoms (Bingham et al., 1974; Cerdá et al., 1990). Continual improvement of rootstock and scion will be necessary to sustain irrigated citrus in increasingly salinity environments. Screening technique to reliably predict the performance of scion rootstock combination as mature trees under salinity conditions and identify good donor of salt tolerance for rootstock breeding programs (García et al., 2002). The greater rootstock salt tolerance such as Rangpur lime and Cleopatra mandarin, is associated with their capacity to limit the accumulation of Cl^- in leaves. Other rootstocks, like trifoliolate orange, demonstrated a capacity to restrict Na^+ transport to the shoot at low salinity. A high concentration of salts in root zone substantially decreases leaf water potential and photosynthesis (Bañuls et al., 1997). Plant physiology responses to stress are modulated by hormones such as abscisic acid (ABA), ethylene. Citrus plant rapidly response to water deficit or salinity by increasing endogenous ABA level (Gómez-Cadenas et al., 1996, 1998). In salinity citrus leaves, the increase in chloride levels has been correlated with the accumulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) and its subsequent oxidation to ethylene (Gómez-Cadenas et al., 1998). The capacity of citrus trees tolerate salinity varies among different species and depends upon the rootstocks. García- Agustin and Primo-Millo (1992 and 1995) reported that mutagenesis technique have shown some promise for induction of salt resistance in citrus. Another approach is the isolation and transference of genes directly implicated in salt tolerance mechanisms. The over expression of HAL2 genes were demonstrated to improve growth and yeast under salt stress (Gaxiola, 1992; Gläser et al., 1993). The research have successfully transformed plant of Carrizo citrange via *Agrobacterium tumefaciens* with the halotolerance gene HAL2, originally isolated from yeast and implicated in salt tolerance mechanisms. In an attempt to improve the behavior of this important genotype under salt stress (Cervera et al., 2000).

This paper reviewed these research reports to summarize the state of understanding about the response and tolerance of citrus trees to salinity.

Salinity effect on citrus

I. Growth and yield

The critical salinity level (where plants are adversely affected) varies with the buffering capacity of the soil (soil type, organic matter) climatic conditions and the soil moisture statutes (Boman and Solver, 2002). Salt damage induced symptoms such as reduced root growth, decreased flowering, small leaf size and impaired shoot growth are often difficult to assess. Leaf injury result from the accumulation of toxic ion chloride and sodium from salt induced nutritional deficiencies (Bernstein, 1965; Boman and Solver, 2002). As salinity increased the leaf size will be decrease, begin to shed and thinning of the canopy (Syvertsen et al., 1988; Lloyd and Howie, 1989a). The relationship between salinity and yield may be expressed negative linear response function at salinity above a critical threshold (Maas and Hoffman, 1977). The research reported that reduction in fruit yield occur without excessive accumulation of Cl^- or Na^+ and without any apparent toxicity symptoms indicate that the dominant effect in osmotic (Bigham et al., 1974; Bielorai et al., 1978, 1988; Levy et al., 1979; Cerda et al., 1990; Dasberg et al., 1991). Lemon trees on Citrus Macrophylla rootstock, orange trees were reduced fruit yield with applied water salinity. The reduction due to a decrease in number of fruit per tree (Bielorai et al., 1978; Dasberg et al., 1991; García- Sánchez et al., 2003). The increase of lemon fruit yield was observed by increasing the quantity of water. Salinity and among of water apply affected fruit quality (Gracia- Sánchez et al., 2003).

II. Rootstock varieties and scion –rootstock combination

The performance of citrus rootstock have been evaluated using rootstock seedlings and grafted plants. One way of improving the salt tolerance of citrus is to graft scions onto salt tolerance rootstocks. Rootstocks differ in their salinity tolerance as estimated by the ability to inhibit the accumulation of Cl^- and /or Na^+ in leaf of the scion (Storey and Walker, 1999). Salt tolerance in citrus is intimately linked to rootstock characteristics (Levy et al. 1999; Levy and Syvertsen, 2003; Moya et al., 2003). Story and Walker (1999) compiled the numerous studies have reported in which large number of rootstock, hybrid and scion have been screened (Peynado and Young, 1969; Wutscher et al., 1974; Ream and Furr, 1976; Peynado and Sluis, 1979; Grieve and Walker, 1983; Sykes, 1985a, 1985b; Gallasch and Dalton, 1989; Chen, 1992). The results of several earlier studies and ranked the rootstocks in order of their relative elemental concentrations (Embleton et al., 1973; Wutscher et al., 1974; Ream and Furr, 1976; Creda et al., 1977; Joolka and Singh, 1979; Peynado and Sluis, 1979; Grieve and Walker, 1983; Walker et al., 1983; Behboudian et al., 1986; Syvertsen et al., 1988; Vardi et al., 1988; Banuls et al., 1990; Zekri, 1991). Maas (1993) noted that there is considerable diversity in salt resistance

within the citrus genus and between closely related species but there are also examples of consistencies in the ranking of rootstock. Screening large number of scion- rootstock combinations for yield in a range of environment, although a desirable goal is not feasible. Since then, there is a need for a screening technique to reliably predict the performance of scion-rootstock combinations as a mature tree under saline conditions and identify good donors of salt tolerance by Cleopatra mandarin when used as rootstock for citrus rootstock breeding program (García et al., 2002).

III. Effect of different salt

Several studies indicated that the concentration of Ca^{2+} in the soil solution is an important factor controlling the severity of specific ion toxicities (Maas, 1993). Zekri and Parson (1990a) were studied on four months old sour orange seedling growth in NaCl on the addition of CaSO_4 ameliorated the some effects of salinity in citrus. Similar results was reported by Bañuls et al., (1991) supplement Ca^{2+} as CaSO_4 and $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ to saline root solution partially reversed growth inhibition and reduced defoliation of two years old Navel orange scion. The addition of Ca^{2+} greatly reduced the transport of Na^+ and Cl^- to the leaves of scions budded to either Cleopatra mandarin or Troyer citrange rootstocks. Calcium uptake by leaves increased concomitantly with increasing Ca^{2+} concentrations in the external solution (Maas, 1993). Bañuls et al. (1997) studied on growth and gas exchange of Valencia orange scion grafted on Cleopatra mandarin or Poncirus trifoliata rootstock which expose to different salts NaCl, KCl and NaNO_3 . The result showed that both chloride salts caused a similar reduction in photosynthesis and stomata conductance, whereas NaNO_3 had no detectable effects on these parameters. Salem and El-Khorieby (1989) found that different types of salts applied in concentrations reduced growth of four rootstocks in the order $\text{NaCl} > \text{KCl} > \text{CaCl}_2$. Potassium nitrate supplementation improved the performance of salinity plants base on the increase in total biomass and significant reduction in leaf abscission. In addition, increasing leaves nitrogen, chlorophyll concentrations and photosynthesis of salt- treated Navelina orange grafted into either Carrizo citrange, Citrus macrophylla or Cleopatra mandarin (Iglesias et al., 2004). Cerezo et al. (1999) and Tyerman and Skerrett (1999) indicated that chloride was reduced in the nitrate-supplemented trees through an antagonism between chloride and nitrate uptake at the fibrous root–soil interface.

IV. Sodium and Chloride accumulation

Under saline conditions, growth of Citrus species may be reduced as a result of the accumulation of Na^+ or Cl^- or both. Various differences among Citrus species in their ability to regulate root uptake and transport of Na^+ and Cl^- from roots to shoots have been reported (Grieve and Walker, 1983; Behboudian et al., 1986; Storey and Walker, 1987; Storey 1995,

Storey and Walker, 1999). The accumulation of Na⁺ and Cl⁻ in leaves may be influenced by rootstock, scion or both depending on the scion-rootstock combination (Storey and Walker 1999). Grafting of lemon scion varieties on sour orange and *Citrus macrophylla* produced variable effects of leaf Na⁺ and Cl⁻ concentrations (Nieves et al., 1992). Maas (1993) reported that chloride was accumulated sooner and much higher concentrations in leaves than sodium. The relative capability of rough lemon and sweet orange rootstocks to exclude Cl⁻ from the scion showed the contradictory. Grieve and Walker (1983) indicated that rough lemon accumulated Cl⁻ more readily than sweet orange, whereas Cooper (1962) indicated in contrast. Levy and Shalhevet (1990) reported that sour orange was much more effective than rough lemon in excluding Cl⁻ from leaves of mature 'Marsh Seedless' grapefruit and 'Washington' navel orange trees. Ranked the best Cl⁻ excluders as Sunki mandarin, grape-fruit, Cleopatra mandarin, Chinese Box orange and Rangpur lime. The same author ranked the best Na⁺ excluders as sour orange, Cleopatra mandarin, Rusk citrange, rough lemon and Rangpur lime. Walker and Douglas (1983) reported a limit to the accumulation of Cl⁻ in the root that was independent of NaCl concentration in three self-rooted plants (*Citrus reticulata* var., *Citrus karma* Raf., *Citrus media* L.) that had differing Cl⁻ accumulation rates in the leaves. However, Bañuls et al. (1990) observed that the upper limit of root Cl⁻ concentration differed for each scion-rootstock combination assayed. Scions on Cleopatra mandarin accumulated less Cl⁻ in their leaves than did scions on Troyer citrange. In addition, leaf Cl⁻ levels in Clementine scions were lower than in Navel orange when both were grafted on the same rootstock, whereas sodium concentration was lower in scions on Troyer citrange than in Cleopatra mandarin (Bañuls and Primo-Millo, 1995). Fernández-Ballester (2003) indicated the genotypic differences among rootstocks, root capacity for Cl⁻ accumulation also depends on the scion-rootstock combination. It is also closely related to juice Cl⁻ as 'Marsh Seedless' grapefruit and 'Washington' navel orange scions on three rootstocks (Levy and Shalhevet, 1990) and with yield of 'Marsh Seedless' grapefruit grafted on rough lemon rootstock (Levy et al., 1992).

Photosynthesis

Several studies have determined the effect of salt stress on water relations and gas exchange of citrus plants. Under high concentration of Na⁺ and Cl⁻ in citrus leaves also caused substantial reductions in CO₂ assimilation rate and stomata conductance. (Walker et al., 1982; Behboudian et al., 1986; Lloyd et al., 1990; Bañuls and Primo-Millo, 1995; Bañuls et al., 1997; Gómez-Cadenas et al., 1998; García-Sánchez et al., 2002). Lloyd et al. (1987b) examined the

effects of salinity on the relationship between CO₂ assimilation and stomata conductance and concluded that the reduction in CO₂ assimilation also due to direct biochemical inhibition of photosynthesis capacity. The factors responsible for the different effects of salinity on photosynthesis in citrus are complex. Plant response varies with season, tree and leaf age, various soil and environmental condition (Syvertsen et al., 1988). The reductions in leaf gas exchange of citrus influenced by rootstock (Lloyd et al., 1987b; 1990) and the scion (Behboudian et al., 1986; Lloyd et al., 1990; Bañuls and Primo-Millo, 1995; García-Sánchez et al., 2002).

Hormones

Several of physiological effects are modulated by hormonal intermediates, such as abscisic acid (Zeevaart and Creelman, 1998) or ethylene (Gómez-Cadenas et al., 1996). However, hormonal signals are likely to be secondary responses caused by primary effects of salinity are osmotic and accumulation of toxic ions (Munns, 1993).

Salinity promotes senescence of plant tissue by increasing the production of ethylene (Kefu et al., 1991; Zhao et al., 1992). ABA is known to play an important role in the efficiency of water use in plants under environment stresses. Citrus plants rapidly response to a water deficit or salinity by increasing endogenous ABA levels. In addition, ethylene modulates leaf abscission in citrus plants under salt stress (Gómez-Cadenas et al., 1996, 1998). The effect of ABA treatment on citrus response to salinity was studied by Gómez-Cadenas et al. (2003) using grafted citrus plants Salustiana scion on Carrizo citrange rootstock growth in the salt stress. It is shown that ABA regularly added to the watering solution reduces the damaging effects that a high NaCl concentration causes in citrus plants. The salt induced defoliation was delayed by ABA treatment probably through mechanism that slow down plant metabolism, chloride uptake and accumulation in leaves, that is initial reduction of stomata aperture and transpiration. ABA appears to improve tolerance to salinity in citrus. In salinity citrus leaves, the increase in chloride levels has been correlated with the accumulation of 1- aminocyclopropane-1 carboxylic acid (ACC) and its subsequent oxidation to ethylene (Bar et al., 1998)

Introduction of salt tolerance

I. In vitro mutagenesis

Mutagenesis techniques have shown some promise for induction of salt tolerance in citrus (Storey and Walker, 1999). Since the nucellar tissue readily undergoes embryogenesis when culture in vitro with suitable medium (Button and Bornman 1971, Kochba et al., 1972). Garcia-Agustin and Primo-Millo (1995) using unfertilized ovule of Troyer citrange treated with a mutagen to induce genetic variability. Screening for salt tolerance was accomplished on complete plant regenerated from ovule culture, the selected plant grown well, less leaf damage and lower concentration of Cl^- and Na^+ in leaves than original clone.

II. Gene transformation

Increasing interest has been shown in stress- induced changes in gene expression and gene production. The majority of studies have been conducted on NaCl adapted cultured cells (Ben-Hayyim et al., 1989, 1993; Naot et al., 1995), with a focus on genes encoding proteins that increase in salt-adapted cells (Ben-Hayyim et al., 1993). This study approach is yet to be translated into increased resistance of whole citrus plants in either the glasshouse or field. The capacity of citrus trees to tolerance salinity varies among different species and depends upon the rootstock. Carrizo citrange is nowadays the most extensively used citrus rootstock due to its general good agronomic behavior. Genetic transformation of Carrizo citrange was attempted by Moore et al. (1992) and Gutiérrez et al. (1997), but difficulties with rooting of transgenic plants. Currently, the study have successfully transformed plants of Carrizo cirange via *Agrobacterium tumefaciens* with the halotolerance HAL2, originally isolated from yeast and implicated in salt tolerance mechanism (Cervera et al., 2000).

Conclusion

The salt tolerant of citrus plants is associated with the restriction of Na^+ or Cl^- transport from the root to shoot. This exclusion trait for both Na^+ and Cl^- is heritable (Sykes, 1992), suggesting that breeding and selection for Cl^- and Na^+ excluding genotypes will continue to be a potential rewarding area of research. Improve understanding of membrane transporter system for Na^+ , Cl^- and salinity impacts on citrus growth regulator levels and effects on growth. With the recent advent of gene transformation technologies for citrus, the way is open to manipulate citrus salt tolerance by insertion of specific tolerance genes. The immediate challenge, However, is to further understand the primary physiological processes involved in uptake and root to shoot transport of Na^+ and Cl^- (Storey and Walker, 1999).

References

- Bañuls, J., F. Legaz, and E. Primo-Millo. 1990. Effect of salinity on uptake and distribution of chloride and sodium in some citrus scion-rootstock combinations. *J. Hort. Sci.* 65: 715-724.
- Bañuls, J., F. Legaz, and E. Primo-Millo. 1991. Salinity-Calcium interactions on growth and ionic concentration of citrus plants. *Plant Soil* 133: 39-46.
- Bañuls, J. and E. Primo-Millo. 1995. Effect of salinity on some citrus scion-rootstock combinations. *Ann. Bot.* 76: 97-102.
- Bañuls, J., M. D. Serna, M. Legaz, and E. Primo-Millo. 1997. Growth and gas exchange parameters of citrus plants stressed with difference salts. *J. Plant Physiol.* 144: 74-79.
- Bar, Y., A. Apelbaum, U. Kafkafi, and R. Goren. 1998. Ethylene association with chloride stress in citrus plants. *Scientia Hort.* 73: 99-109.
- Behboudian, M. H., E. Torokfalvy, and R. R. Walker. 1986. Effects of salinity on ionic content, water relations and gas exchange parameters in some citrus scion-rootstock combinations. *Scientia Hort.* 28: 105-116.
- Ben-Hayyim, G., Z. Faltin, S. Gepstein, L. Camoin, A. D. Strosberg, and Y. Eshdat. 1993. Isolation and characterization of salt-associated protein in citrus. *Plant Sci. Limerick* 88: 129-140.
- Ben-Hayyim, G., Y. Vaadia, and B. G. Williams. 1989. Proteins associated with salt adaptation in citrus and tomato cells: involvement of 26 kDa polypeptides. *Physiol. Plant.* 77: 332-340.
- Bernstein, L. 1965. Salt tolerance of fruit crops. U. S. Dep. Agric., Agric. Inf. Bull., No. 292, 8pp.
- Bielorai, H., S. Dasberg, Y. Erner, and M. Brum. 1988. The effect of saline irrigation water on Shamouti orange production. *Proc. Intl. Citrus Cong.* 6: 707-715.
- Bielorai, H., J. Shalhevet, and Y. Levy. 1978. Grapefruit response to variable salinity in irrigation water and soil. *Irrig. Sci.*, 1:61-70.
- Bingham, E. T., R. J. Mahler, J. Parra, and L. H. Stolzy. 1974. Long-term effects of irrigation-salinity management on a Valencia orange orchard. *Soil Sci.* 117: 369-377.
- Boman, B. J. and E. W. Stover. 2002. Managing salinity in Florida citrus. Circular 1411. <http://edis.ifas.ufl.edu/AE171>.
- Button, J. and C. H. Bornman. 1971. The Citrus grower subtropical fruit. 453: 11-14.
- Cerdá, A., M. F. Caro, G. Fernandez, and M. G. Guillen. 1977. Foliar contents of sodium and chloride on citrus rootstocks irrigated with saline waters. P.155-164. In: managing saline water for irrigation. Ed. Dregne, H. E. Proc. Int. Salinity Conf., Texas Tech. Univ. Lubbock, TX.

- Cerdá, A., M. Nieves, and M. G. Guillen. 1990. Salt tolerance of lemon trees as affected by rootstocks. *Irrig. Sci.* 11:245-249.
- Cerezo, M., P. García-Agustín, and E. Primo-Millo. 1999. Influence of chloride and transpiration on net 15NO_3 uptake rate by citrus roots. *Ann. Bot.* 84: 117-120.
- Cervera, M., C. Ortega, A. Navarro, L. Navarro, and L. Pena. 2000. Generation of transgenic citrus plants with the tolerance to salinity gene HAL2 from yeast. *J. Hort. Sci. and Biotech.* 75(1): 26-30.
- Chen, Z. S. 1992. Identification of salt-tolerance of citrus germplasm. *Acta Hort. Sin.* 19: 289-295.
- Cooper, W. C. 1962. Toxicity and accumulation of salts in citrus trees on various rootstocks in Texas. *Citrus Ind.* 43: 5-7, 9-10, 18-19.
- Dasberg, S., H. Bielora, A. Haimowitz, and Y. Erner. 1991. The effect of saline irrigation water on Shamouti orange trees. *Irrig. Sci.* 12: 205-211.
- Embleton, T. W., W. W. Jones, C. K. Labanauskas, and W. Reuther. 1973. Leaf analysis as a diagnostic tool and guide to fertilization. *Citrus Ind.* 3: 183-210, and Appendix I, pp 448-495.
- Fernández-Ballester, G., F. García-Sánchez, A. Cerdá, and V. Martínez. 2003. Tolerance of citrus rootstock seedling to saline stress based on their ability to regulate ion uptake and transport. *Tree Physiol.* 23: 265-271.
- Gallasch, P. T. and G. S. Dalton. 1989. Selecting salt-tolerant citrus rootstocks. *Aust J. Agric. Res.* 40: 137-144.
- García, M. R., J. Bernet, E. A. Gomez, Carbonell, and M. J. Asins. 2002. Reliable and easy screening technique for salt tolerance of citrus rootstocks under controlled environments. *Aust. J. Agric. Res.* 53:653-662.
- García-Agustín, P. and E. Primo-Millo. 1992. Selection for NaCl tolerance of Troyer citrange. In: *Proc. Int. Soc. Citriculture, Acireale, Italy*, pp. 400-404.
- García-Agustín, P. and E. Primo-Millo. 1995. Selection of a NaCl tolerant citrus plants. *Plant Cell Rep.* 4: 314-318.
- García-Sánchez, F., J. L. Jifon, M. Carvajal, and J. P. Syvertsen. 2002. Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na^+ and Cl^- accumulation in Sunburst mandarin grafted on different rootstocks. *Plant Sci.* 162: 705-712.
- Gaxiola, R., I. F. De Larrinoa, J. M. Villalba, and R. Serrano. 1992. A novel and conserved salt induced protein is an important determinant of salt tolerance in yeast. *EMBO J.* 11: 3157-3164.

- Gläser, H. U., D. Thomas, R. Gaxiola, F. Montrichar, Y. Surdin- Kerian, and R. Serrano. 1993. Salt tolerance and methionine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* involve a putative phosphatase gene. *EMBO J.* 12: 3105-3110.
- Gómez-Cadenas, A., V. Arbona, J. Jacas, E. Primo- Millo, and M. Talon. 2003. *J. Plant Growth Regul.* 21: 234-240.
- Gómez-Cadenas, A., F. R. Tadeo, E. Primo-Millo, and M. Talon. 1998. Involvement of abscisic acid and ethylene in the response of citrus seedlings to salt shock. *Physiol. Plant.* 103:475-484.
- Gómez-Cadenas, A, F. R. Tadeo, M. Talon, and E. Primo-Millo. 1996. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of Cleopatra mandarin requires previous abscisic acid accumulation in roots. *Plant Physiol.* 112:401-408.
- Grieve, A. M. and R. R. Walker.1983. Uptake and distribution of chloride, sodium and potassium ions in salt-treated citrus plants. *Aust. J. Agric. Res.* 34: 133-143.
- Gutiérrez M. A., D. E. Luth, and G. A. Moore. 1997. Factors affecting *Agrobacterium*-mediated transformation in Citrus and production of sour orange (*Citrus aurantium* L.) plants expressing the coat protein gene of citrus tristeza virus. *Plant Cell Rep.* 16: 745- 753.
- Iglesias, D. J., Y. Levy, A. Gómez-Cadenas, F. R. Tadeo, E. Primo-Millo, and M. Talon. 2004. Nitrate improves growth in salt-stressed in citrus seedlings through effect on photosynthetic activity and chloride accumulation. *Tree Physiol.* 24:199-204.
- Joolka, N. K. and J. P. Singh. 1979. Effect of soil salinity on the growth of citrus rootstocks. *Indian J. Agric. Sci.* 49: 858-861.
- Kefu, Z., R. Munns, and R. W. King. 1991. Abscisic acid levels in NaCl- treated barley, cotton, and saltbush. *Aust. J. Plant Physiol.* 18: 17-24.
- Kochba, J., P. Speipel-Roy, and H. Safra. 1972. Adventise plants from ovules and nucelli in Citrus. *Planta* 106: 237-245.
- Levy, Y., J. Lifshitz, Y. De Malach, and Y. Davi. 1999. The response of several citrus genotypes to high salinity irrigation water. *HortScience* 34: 878-881.
- Levy, Y. and J. Shalhevet, 1990. Ranking the salt tolerance of citrus rootstocks by juice analysis. *Sci. Hort.* 45: 89-98.
- Levy, Y., J. Shalhevet, and H. Bielorai. 1979. Effect of irrigation regime and water salinity on grapefruit quality. *J. Amer. Sot. Hort. Sci.* 104:356-359.
- Levy, Y. and J. Syvertsen. 2003. Irrigation water quality and salinity effects in citrus trees. In: *Hort. Rev.* Vol. 30. Ed. Janick, J. W. London, 544 P.

- Lloyd, J., J.P. Syvertsen, and P. E. Kriedemann. 1987b. Salinity effects on leaf water relations and gas exchange of 'Valencia' orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, on rootstocks with different salt exclusion characteristics. *Aust. J. Plant Physiol.* 14: 605-617.
- Lloyd, J. and H., Howie. 1989a. Salinity, stomatal responses and whole-tree hydraulic conductivity of orchard Washington navel orange, *Citrus sinensis* (L.). *Aust. J. Plant Physiol.* 16: 169-179.
- Lloyd, J., P. E. Kriedemann, and Aspinal, D. 1990. Contrasts between Citrus species in response to salinisation: An analysis of photosynthesis and water relations for different rootstock-scion combinations. *Physiol. Plant.* 78: 236-246.
- Maas, E. V. 1990. Crop salt tolerance. In: *Agriculture salinity assessment and management*. Ed. Tanji, K.K. Amer. Soc. Civil Eng. Manuals and Reports on Engineering No.71, ASCE, New York, pp 262-304.
- Maas, E. V. 1993. Salinity and citriculture. *Tree Physiol.* 12: 195-216.
- Maas, E. V. and G. J. Hoffman. 1977. Crop salt tolerance - current assessment. *J. Irrig.* 103: 115-134.
- Marschner, H. 1995. *Mineral nutrient of higher plants*. Academic Press, London, p889.
- Moore, G. A., C. C. Jacono, J. L. Neidigh, S. D. Lawrence, and K. Cline. 1992. Agrobacterium-mediated transformation of citrus stem segments and regeneration of transgenic plants. *Plant Cell Rep.* 11:2 38-242.
- Moya, J. L., A. Gómez-Cadenas, E. Primo- Millo, and M. Talon. 2003. Chloride absorption in salt-sensitive Carizo citrange and salt-tolerant Cleopatra mandarin citrus rootstock is linked to water use. *J. Exp. Bot.* 54 (383): 825-833.
- Munns, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell and Environ.* 16:15-24.
- Naot, D., G. Ben-Hayyim, Y. Eshdat, D. Holland. 1995. Drought, heat and salt stress induce the expression of a citrus homologue of an atypical late-embryogenesis *Lea5* gene. *Plant Mol. Biol.* 27: 619-622.
- Nieves, M., D. Ruiz, and A. Cerdá. 1992. Influence of rootstock-scion combination in lemon trees salt tolerance. In: *Proc. Int. Soc. Citriculture, Acireale, Italy*, pp. 387-390.
- Peynado, A. and N. J. Sluis. 1979. Chloride and boron tolerance of young 'ruby red' grapefruit trees affected by rootstock and irrigation method. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104: 133-136.
- Peynado, A. and R. Young. 1969. Relation of salt tolerance to cold hardiness of 'Redblush' grapefruit and 'Valencia' orange trees on various rootstocks. *Proc. First Int. Citrus Symp.* 3: 1793-1802.

- Ream, C. L. and J. R. Furr. 1976. Salt tolerance of some Citrus species, relatives, and hybrids tested as rootstocks. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101:265-267.
- Rokba, A. M., M. N. Abdel-Messih, and M. A. Mohamed. 1979. Breeding and screening some citrus rootstocks for salt tolerance in Egypt. *Egypt. J. Hort.* 6: 69--79.
- Ruiz, D., V. Martinez, and A. Cerda. 1999. Demarcating specific ion (NaCl, Cl⁻, Na⁺) and osmotic effects in the response of two citrus rootstocks to salinity. *Scientia Hort.* 80: 213-224.
- Salem, A. T. and M. K. El-Khorieby. 1989. Response of some citrus rootstocks to different types of chloride salt treatments. *Ann. Agric. Sci. (Cairo)* 34: 1123-1137.
- Storey, R. 1995. Salt tolerance, ion relations and the effect of root medium on the response of citrus to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 101-114.
- Storey, R. and R. R. Walker. 1987. Some effects of root anatomy on K, Na, Cl loading of citrus roots and leaves. *J. Exp. Bot.* 38: 1769-1780.
- Storey, R. and R. R. Walker. 1999. Citrus and salinity. *Scientia Hort.* 78: 39-81.
- Sykes, S. R. 1985a. Effects of seedling age and size on chloride accumulation by juvenile citrus seedlings treated with sodium chloride under glasshouse conditions. *Aust. J. Exp. Agric.* 25: 943-953.
- Sykes, S. R. 1985b. A glasshouse screening procedure for identifying citrus hybrids which restrict chloride accumulation in shoot tissues. *Aust. J. Agric. Res.* 36:779-789.
- Sykes, S. R. 1992. The inheritance of salt exclusion in woody perennial fruit species. *Plant Soil* 146: 123-129.
- Syvertsen, J. P., J. Lloyd, and P. E. Kriedemann. 1988. Salinity and drought stress effects on foliar ion concentration, water relations and photosynthetic characteristics of orchard citrus. *Aust. J. Agric. Res.* 39: 619-627.
- Tyerman, S. D. and I. M. Skerrett. 1999. Root ion channels and salinity. *Scientia Hort.* 78:175–235.
- Walker, R. R. and T. J. Douglas. 1983. Effect of salinity level on uptake and distribution of chloride, sodium and potassium ions in citrus plants. *Aust. J. Agric. Res.* 34: 145-153.
- Walker, R. R., E. Törökfalvy, and W. J. S. Downton. 1982. Photosynthetic responses of citrus varieties Rangpur lime and Etrog citron to salt treatment. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 783-790.
- Walker, R. R., E. Törökfalvy, A. M. Grieve, and L. D. Prior. 1983. Water relations and ion concentrations of leaves on salt-stressed citrus plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 267-277.
- Vardi, A., P. Spiegel-Roy, G. Ben-Hayyim, H. Neumann, and J. Shalhevet. 1988. Response of Shamouti orange and Minneola tangelo on six rootstocks to salt stress. *Proc. Intl. Citrus Cong.* 6: 75-82.

- Wutscher, H. K., A. Peynado, W. C. Cooper, and H. Hill. 1974. Method of irrigation and salt tolerance of citrus rootstocks. Proc. II Int. Citrus Congress, Murcia-Valencia, Spain 1: 299-306.
- Zeevaart, J. A. and R. A. Creelman, R. A. 1988. Metabolism and physiology of abscisic acid. Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol. 39: 439-473.
- Zekri, M. 1991. Effects of NaCl on growth and physiology of sour orange and Cleopatra mandarin seedlings. Scientia Hort. 47: 305-315.
- Zekri, M. and L. R. Parsons. 1990a. Calcium influences growth and leaf mineral concentration of citrus under saline conditions. HortScience 25: 784-786.
- Zhao, K. F., A. Littlewood, and P. J. C. Harris, 1992. Responses of *Gleditsia triacanthos* seedlings to salt stress. Int. Tree Crops J. 7: 149-153.

柑桔之鹽害反應

阮一月¹⁾

關鍵字:柑桔、鹽害、砧木、氯、鈉、生理

摘要：柑桔是對鹽分敏感的園藝作物之一，在世界上有許多地區之柑桔生長及產量因鹽害而受到嚴重的限制。一般柑桔發生鹽害時常出現生理失調及生長遲緩的現象，其受害程度及降低之產量與鹽分濃度高低有關。植體的根、莖及葉內鹽害之發生與 Na^+ 及 Cl^- 的調節及水分變化有關，利用適當接穗及砧木組合，可減緩鹽害所造成葉片氣體交換係數之改變、葉片生長遲緩及葉傷等現象。而葉傷的症狀，如葉燒及落葉之原因為葉片細胞累積過量的 Na^+ 及 Cl^- 。不過該問題可藉由砧木的應用而限制離子之吸收加以改善，目前已有利用基因轉殖的方法促進柑桔對鹽害之忍受機制。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。現職越南南方果樹研究所助理研究員

高接梨果實發育期間礦物元素含量之變化

許松田¹⁾ 陳秉訓²⁾ 陳京城³⁾

關鍵字：高接梨、果實發育、礦物元素

摘要：本試驗調查高接梨果實發育期間礦物元素含量之變化。結果顯示，`新世紀`梨果實發育期間果皮之磷、鉀、鐵、鋅含量及果肉之磷、鈣、鎂、鐵及鋅含量均呈下降之趨勢。`新興`梨果實發育期間果皮之氮、磷、鉀、鋅、銅含量及果皮之氮、鋅及銅含量呈下降之趨勢。`新興`梨果實發育初期其果皮及果肉之鐵含量呈上升之趨勢與`新世紀`梨不同。另外，`新興`梨果皮及果肉之鈣含量變化與錳元素相似。`新世紀`及`新興`梨果實發育期間，果肉磷含量皆比果皮高，自花後8週後，鉀含量也較果皮高。

前 言

梨屬於薔薇科(Rosaceae)梨亞科(Pomoideae)梨屬(*Pyrus*)植物。台灣位於亞熱帶地區，亞洲梨在低緯度地區生產，低溫不足為其栽培上之限制。而利用橫山梨徒長枝高接已滿足低溫需求之花芽的技術，使低海拔地區成功經濟栽培溫帶梨(張, 1979)。目前台灣地區梨之栽培面積有8779公頃，年產量達122,138公噸。主要產地有台中縣、苗栗縣、新竹縣、南投縣及宜蘭縣等(農業統計年報, 2003)。主要品種為高需冷性之`新世紀`、`新興`、`豐水`、`秋水`及低需冷性之`橫山`梨(廖, 1995)。果實內礦物元素含量多寡與果實品質有密切關係，例如缺鈣之蘋果果實會引起皮孔突起及褐化，並且造成裂果的症狀發生，而高氮更加重缺鈣所引起的果實劣變(Shear, 1971)。另外，缺鈣之蘋果果實也較易引起苦痘病(bitter pit)之發生(Chiu and Bould, 1977)。蘋果果實有較高之鉀及鈣含量其硬度較高，較高之錳及銅含量其果實較易軟化(Li *et al.*, 1995)。蘋果增加氮肥的施用會提高果實氮含量，導致果實

-
- 1) 國立中興大學園藝學系碩士研究生。
 - 2) 國立中興大學園藝學系講師。
 - 3) 國立中興大學園藝學系助理教授，通訊作者。

著色不良(Fallahi *et al.*, 2001)，Raese and Drake (1997)亦指出果實著色程度與氮含量呈負相關。本研究之目的為調查高接`新世紀`及`新興`梨果實發育期間礦物元素含量變化，以提供經濟栽培上之參考。

材料與方法

試驗材料

田間試驗材料為`新世紀`(Shinseiki)及`新興`(Shinkou)品種接穗，於2004年1月在國立中興大學葡萄中心之梨試驗園進行嫁接。砧木品種為15年生之台灣野梨(*Pyrus koehnei*)。植株行株距為4m×4m，採水平棚架整枝。選擇生長勢相近且滿花日(滿開3朵)一致之植株4株，並於花後45-55日，經疏果及噴施農藥後以不透光四層牛皮紙袋(外層牛皮紙，中間兩層黑色紙，內層為白色吸水紙)進行套袋。

試驗方法

`新世紀`及`新興`梨之滿花日皆為2004年2月21日，第一次採樣為花後2週上午10時，隨後每2週採樣一次。花後2週之樣品數為35個果實，花後4週為30個果實，花後6週為20個果實，花後8週為15個果實，花後10週至18週樣品數均為10個果實。採集之果實經測量果實鮮重後，再的去離子水沖洗乾淨，並將果實分切成果皮及果肉(花後2週之樣品除外)，各5重複。樣品以液態氮冷凍，再經冷凍乾燥後磨粉備用。

礦物元素分析

將備用之乾燥粉末材料精秤1g置於坩堝中，放入灰化爐(muffle furnace)內，先以200°C加熱兩小時，再持續以400°C加熱1小時，最後再以550°C加熱2小時使樣品完全灰化。待樣品冷卻後由灰化爐內取出，加入5ml 2N HCl使灰分充分溶解後，再以Whatman No.42濾紙過濾，濾液定量至25ml後，裝入塑膠瓶中保存備用。該濾液直接測定鐵、錳、鋅、及銅4種元素；鉀與鎂之測定則取0.1ml濾液以去離子水稀釋40倍；鈣之測定則取1ml濾液加3ml去離子水及1ml 5%氧化鑷(Lanthanum oxide)稀釋5倍。試管中之待測溶液經震盪均勻後，以原子吸收儀(Varian 20 Techtron atomic absorption spectrophotometer)測定之。

磷之測定則採用鉬黃法(Vanadate-molybdate yellow method)。取1ml濾液加3ml去離子水及1ml鉬黃試劑(HNO₃ Vanadate-Molybdate reagent)於試管中，經震盪均勻後，靜置10-30分鐘，再以分光光度計(Spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定波長470nm之吸光值。標準曲線以磷濃度50ppm配置。鉬黃試劑之配置分別為稱取22.9g (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O溶於400ml去離子水及1.25g Ammonium vanadate溶於300ml之溫水中，之後將後者倒入前者中，再加入250ml硝酸(HNO₃)，最後再以去離子水定量至1000ml即完成配置。

全氮之測定是採用Micro-Kjeldahl法。精秤0.2g乾燥粉末樣品，以濾紙Whatman No.1

包裹樣品粉末，至入分解管中，並加入 1 g 催化劑(K_2SO_4 : $CuSO_4$: Se= 100: 10: 1)，然後加入 4.5 ml 濃硫酸後立刻置於 $410^\circ C$ 分解爐上加熱分解 2 小時，直至樣品分解至澄清之淡綠色溶液，取出待其冷卻後再加入 15 ml 蒸餾水，然後將樣品倒入 Micro-Kjeldahl 裝置之燒瓶中，加入 20 ml 12 N NaOH，並以裝有 20 ml 含指示劑(19 μM Bromocresol Green 及 25 μM Methyl Red)之 2% 硼酸溶液之塑膠燒杯收集經蒸餾之氨水至接收杯內溶液體積為 50 ml 止，再以 1/14 N H_2SO_4 標準酸滴定，計算氮之百分比含量。指試劑配置為取 20 g 硼酸加入去離子水定量至 1 L，再加入 20 ml 指示劑母液(0.33 g Bromocresol green 及 0.165 g Methyl red 溶於 500 ml 乙醇中)均勻混合，並調整 pH 值至 5，即完成配置。

結 果

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉氮元素含量之變化如圖 1 所示。‘新世紀’梨果皮氮元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 12 週，之後則略為增加至花後 18 週，而果肉氮元素含量除了於花後 10 週有顯著上升之外，其它發育階段均呈逐漸下降之趨勢。‘新興’梨果皮及果肉氮含量均隨果實發育逐漸下降。兩品種之果皮氮元素含量於果實發育初期均較果肉高，而花後 14 週至 18 週則無顯著差異。

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉磷元素含量之變化如圖 2 所示。‘新世紀’梨果皮磷元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 12 週，之後則於花後 14 週及花後 18 週略為增加，而果肉磷元素含量除了於花後 12 週有略為上升之外，其它發育階段均呈逐漸下降之趨勢。‘新興’梨果皮及果肉磷含量均隨果實發育逐漸下降。在果實發育期間兩品種之果肉磷含量均較果皮高。

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉鉀元素含量之變化如圖 3 所示。‘新世紀’梨果皮鉀元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 16 週，之後於花後 18 週略為增加，而果肉鉀元素含量則呈現較不規律的變化，除了於花後 6 週、10 週及 12 週有上升之外，其它發育階段則呈逐漸下降之趨勢。‘新興’梨果皮鉀元素含量於花 6 週略為增加，之後隨果實發育逐漸下降至花後 16 週，而於花後 18 週再略為增加，而果肉鉀元素含量自花後 4 週上升至花後 12 週，其後之發育階段則呈下降之趨勢。自花後 8 週至 18 週，兩品種之果肉鉀元素含量均較果皮高。

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉鈣元素含量之變化如圖 4 所示。‘新世紀’梨果皮鈣元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 6 週，於花後 8 週顯著增加，隨後鈣含量則無太大的變動至花後 18 週，而果肉鈣元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 6 週，於花後 8 週顯著增加，隨後鈣含量則呈現逐漸下降之趨勢。新興梨果皮及果肉鈣元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 6 週，於花後 8 週略為增加，隨後鈣含量則呈現下降之趨勢。此外，果實發育期間，兩品種之果皮鈣元素含量均較果肉高。

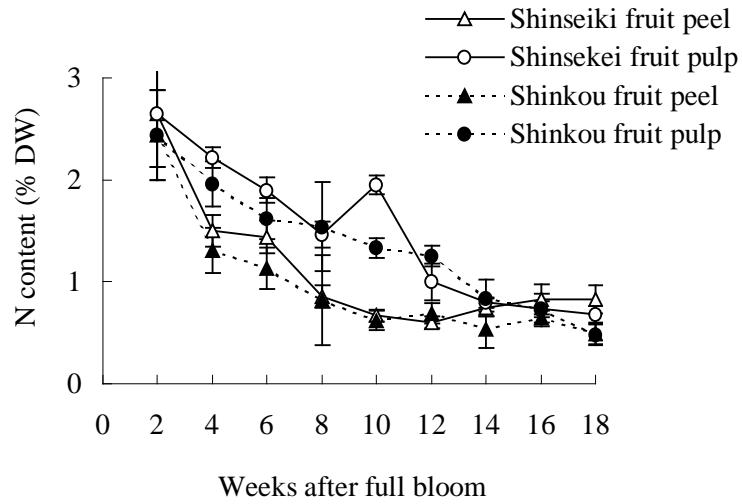


圖 1. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉氮含量之變化

Fig. 1. Changes in nitrogen element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

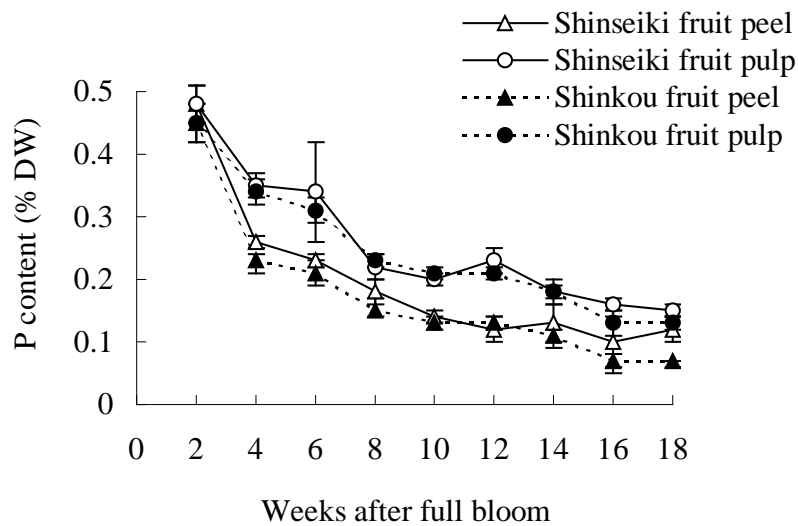


圖 2. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉磷含量之變化

Fig. 2. Changes in phosphorus element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

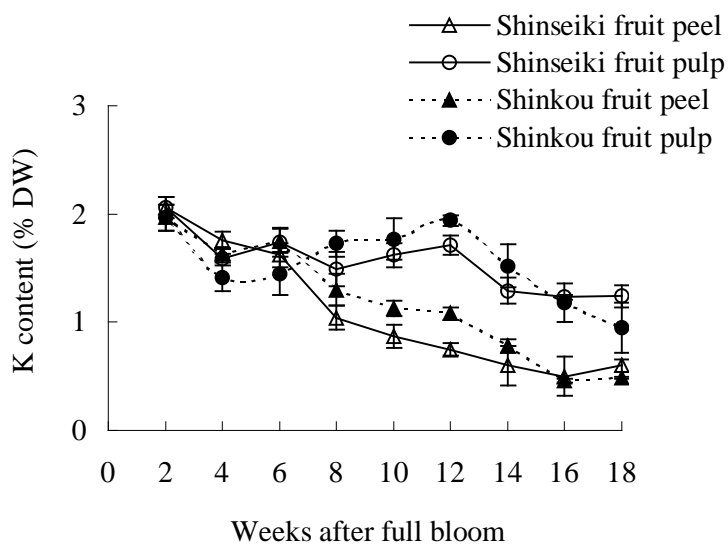


圖 3. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉鉀含量之變化

Fig. 3. Changes in potassium element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

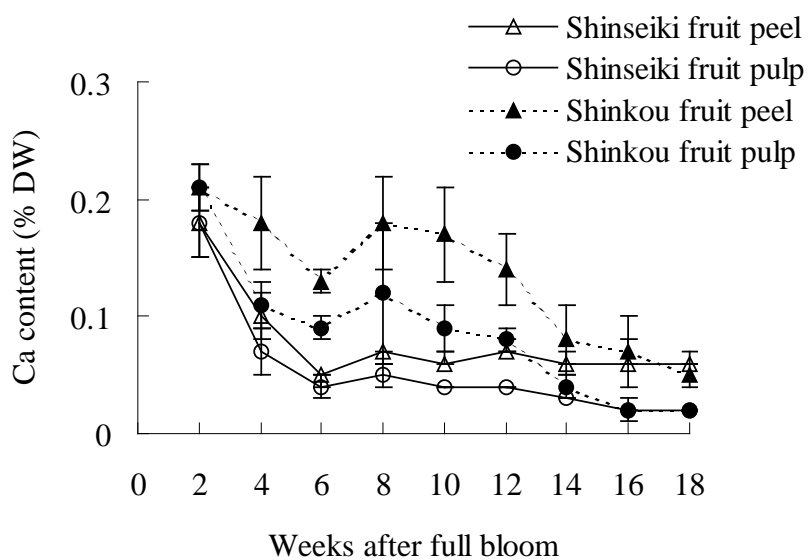


圖 4. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉鈣含量之變化

Fig. 4. Changes in calcium element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉鎂元素含量之變化如圖 5 所示。‘新世紀’梨果皮鎂元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 8 週，隨後鎂含量則無太大的變動，之後於花後 18 週則略為增加，而果肉鎂元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 10 週，於花後 12 週呈現上升後，隨後之階段則呈逐漸下降之趨勢。‘新興’梨果皮鎂元素含量隨果實發育呈和緩下降之趨勢至花後 14 週，於花後 16 週略為增加，隨後則再度下降。而果肉鎂元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 6 週，於花後 8 週顯著增加，隨後之階段則呈逐漸下降之趨勢。此外，果實發育期間，‘新世紀’梨之果皮鎂元素含量均較果肉高，而‘新興’梨除了花後 8、10 及 12 週其果肉鎂元素含量較果皮高外，其它發育階段果皮鎂元素含量均較果肉高。

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉鐵元素含量之變化如圖 6 所示。‘新世紀’梨果皮鐵元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 14 週，之後則略為增加至花後 18 週，而果肉鐵元素含量均呈逐漸下降之趨勢。‘新興’梨果皮鐵元素含量於花 6 週顯著增加，其後之發育階段則隨果實發育呈逐漸下降之趨勢，而果肉鐵元素含量於果實發育初期呈上升之趨勢至花後 8 週，隨後之發育階段則呈下降之趨勢至花後 16 週，而於花後 18 週再略為增加。‘新世紀’梨果肉之鐵元素含量於果實發育初期均較果皮高，於花後 12 及 14 週則無顯著差異，而花後 16 及 18 週則果皮鐵含量較果肉高。另外，在‘新興’梨果實發育期間其果肉鐵含量均較果皮高。

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉鋅元素含量之變化如圖 7 所示。‘新世紀’梨果皮鋅元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 16 週，之後則於花後 18 週略為增加，而果肉鋅元素含量除了於花後 12 週有略為上升之外，其它發育階段均呈逐漸下降之趨勢。‘新興’梨果皮鋅元素含量除了於花後 12 週有略為上升之外，其它發育階段均呈逐漸下降之趨勢，而果肉鋅含量均隨果實發育逐漸下降。‘新世紀’果實發育期間其果皮鋅含量均較果肉高，而‘新興’梨果肉鋅元素含量於果實發育初期均較果肉高，而花後 16 週至 18 週則無顯著差異。

‘新世紀’及‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉銅元素含量之變化如圖 8 所示。‘新世紀’果皮銅元素含量除了於花後 6 週有顯著上升之外，其後隨果實發育逐漸下降至花後 16 週，於花後 18 週再略為增加，而果肉銅元素含量除了於花後 6 週及 12 週有上升之外，其它之發育階段皆呈下降之趨勢。‘新興’梨果皮銅元素含量隨果實發育呈逐漸下降之趨勢，而果肉銅元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 12 週，之後於花後 14 及 18 週有略為增加。‘新世紀’果皮銅含量除了花後 12 週之外，其它之發育階段均較果肉高，而‘新興’梨果實發育期間其果皮及果肉銅含量無顯著差異。

‘新興’梨果實發育期間果皮及果肉錳元素含量之變化如圖 9 所示。‘新興’梨果皮及果肉錳元素含量隨果實發育逐漸下降至花後 6 週，於花後 8 週顯著增加，隨後錳含量則呈現下降之趨勢。在果實發育期間其果皮之錳濃度均顯著比果肉高。而‘新世紀’梨果實組織錳濃度過低未測得。

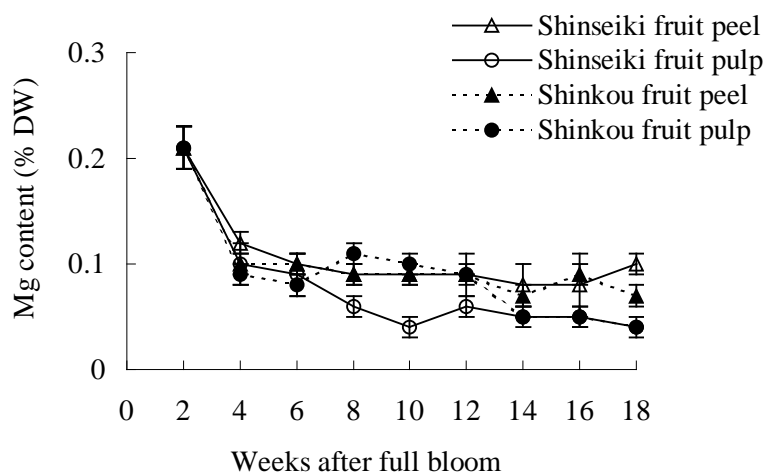


圖 5. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉鎂含量之變化

Fig. 5. Changes in magnesium element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

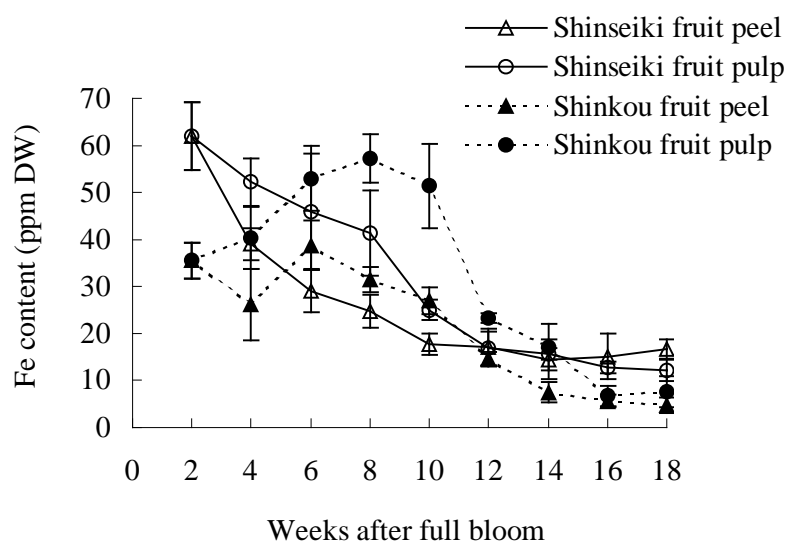


圖 6. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉鐵含量之變化

Fig. 6. Changes in iron element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

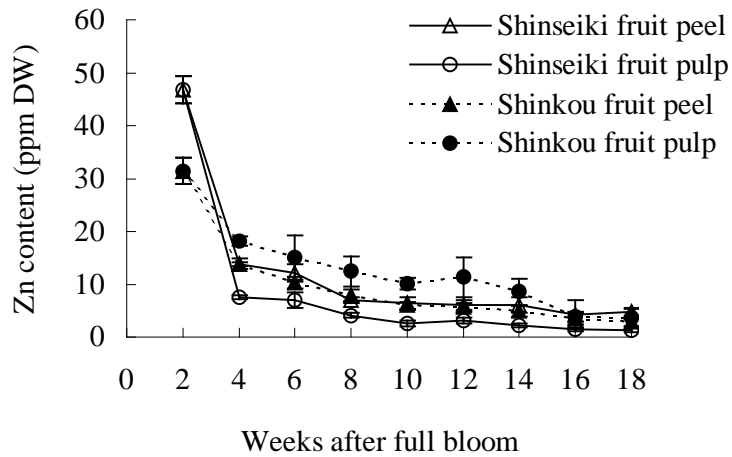


圖 7. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉鋅含量之變化

Fig. 7. Changes in zinc element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

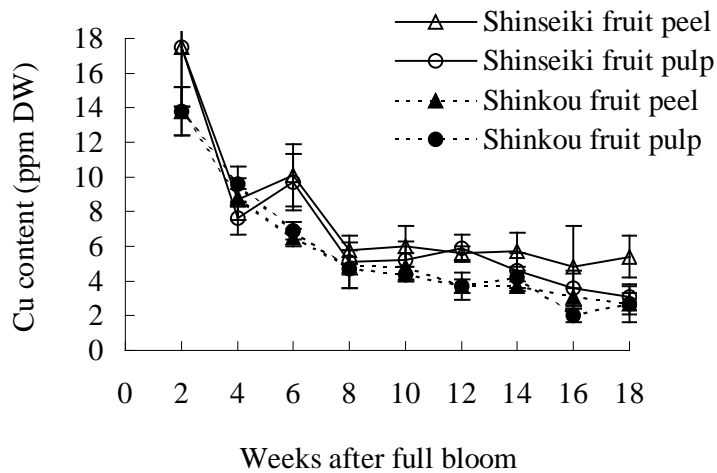


圖 8. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉銅含量之變化

Fig. 8. Changes in copper element contents in fruit peel and pulp of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development.

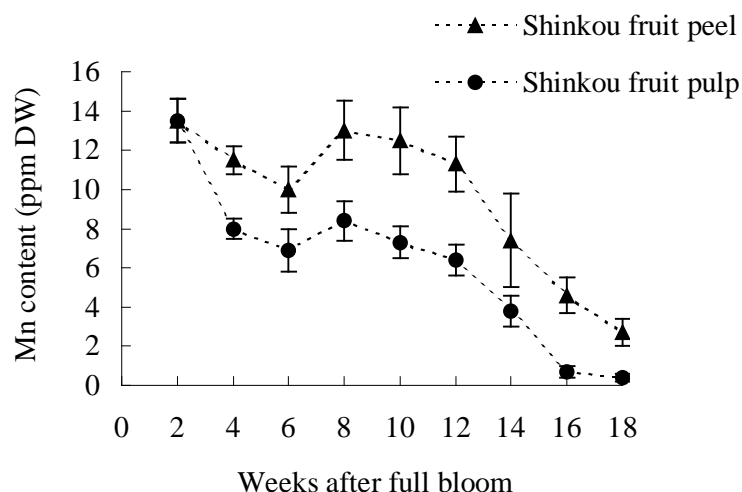


圖 9. 新世紀及新興梨果實發育期間果皮及果肉錳含量之變化

Fig. 9. Changes in manganese element contents in fruit peel and pulp of 'Shinkou' pear during fruit development.

討 論

Buwalda 及 Meekings (1990)指出日本梨果實發育期間，果實礦物元素含量一般呈現下降的趨勢。本試驗也發現類似結果。梨植株生育期間，果實對磷、鉀、銅及硼表現較大的 sink 強度，而鈣及錳元素則以葉片表現較大的 sink 強度(Buwalda and Meekings, 1990)，可能是影響梨果實礦物元素分配的因素之一。另外，在 'Pacific Rose' 蘋果也發現果實鈣含量隨著果實發育呈現下降的趨勢(Opara and Tadesse, 2000b)，Jones 等人(1983)指出蘋果果實之鈣元素主要在果實發育初期累積，而發育後期只有少量增加(Oberely, 1973)，果實發育後期乾物質快速累積可能稀釋了鈣元素的含量，因而促使鈣含量隨著果實發育呈現下降的趨勢。本試驗之新世紀及新興梨於花後 2 週至花後 6 週期間，其果皮及果肉鈣元素含量均呈現快速下降的現象，但於花後 8 週時略再升高，顯示這兩種梨品種在花後 8 週時對鈣的吸收能力仍然很強。

Fallahi 等人(2001)發現採收期之 '富士' 蘋果，其果皮氮、鉀、鈣、鎂、鐵、鋅、錳及銅含量均顯著比果肉高。而本試驗發現 '新世紀' 及 '新興' 梨果實發育期間，其果肉之磷含量均高於果皮。另外，'新世紀' 及 '新興' 梨果肉之鉀含量自花後 8 週起至採收也顯著高於果皮。此結果顯示亞洲梨果皮及果肉礦物元素的分配與富士蘋果並不相同。

參 考 文 獻

- 張榕生。1979。橫山梨寄接新世紀梨之初步觀察。科學農業 27:52-55。
農業統計年報。2003。行政院農業委員會。
- 廖萬正。1995。梨。台灣農家要覽農作篇(II)。Pp.169-175。農年社編印。
- Buwalda, J. G. and J. S. Meekings. 1990. Seasonal accumulation of mineral nutrients in leaves and fruit of Japanese pear. *Sci. Hort.* 41: 209-222.
- Chiu, T. F. and C. Bould. 1977. Sand-culture studies on the calcium nutrition of young apple trees with particular reference to bitter pit. *J. Hort. Sci.* 52: 19-28.
- Fallahi, E., W. M. Colt, C. R. Baird, B. Fallahi, and I. J. Chun. 2001. Influence of nitrogen and bagging on fruit quality and mineral concentrations of `BC-2 Fuji` apple. *HortTechnology* 11: 462-466.
- Jones, H. G. and T. J. Samuelson. 1983. Calcium uptake by developing apple fruits . II. The role of spur leaves. *J. Hort. Sci.* 58: 183-190.
- Li, B., G. Lin, and F. Liu. 1995. Relationship between fruit quality, storability and mineral composition of apples. *J. Fruit Sci.* 12: 141-145.
- Oberely, G. H. 1973. Effect of 2, 3, 5-triiodobenzoic acid on bitter pit and calcium accumulation in Northern Spy apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 98: 2169-2171.
- Raese, J. T. and S. R. Drake. 1997. Nitrogen fertilization and elemental composition affects fruit quality of `Fuji` apple. *J. plant Nutri.* 20: 1797-1809.
- Shear, C. B. 1971. Symptoms of calcium deficiency on leaves and fruit of `York Imperial` apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 96: 415-417.

Changes in Fruit Mineral Element Contents of Top-Grafting Pear During Fruit Development

Sung-Tian Shih ¹⁾ Bing-Shiunn Chen ²⁾ Ching-Cheng Chen ³⁾

Key words: Top-grafting pear, Fruit development, Mineral element

Summary

Changes in fruit mineral element contents of top-grafting pear were examined. The results showed that the contents of P, K, Fe and Zn in fruit peel and the contents of P, Ca, Mg, Fe and Zn in fruit pulp of 'Shinseiki' pear declined during fruit development. The contents of N, P, K, Zn and Cu in fruit peel and the contents of N, Zn and Cu in fruit pulp of 'Shinkou' pear also declined during fruit development. Content of Fe in fruit peel and pulp of 'Shinkou' pear risen during the early stage fruit development, that showed different with 'Shinseiki' pear. Changes in Ca and Mn element contents in fruit peel and pulp of 'Shinkou' pear were consistent. P contents in the pulp were higher than in the peel of 'Shinseiki' and 'Shinkou' pears during fruit development, and K contents were also higher in the pulp than in the peel from 8 weeks after full bloom till harvest.

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

2) Lecturer, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

Corresponding author.

甘藍葉綠體基因轉殖載體開發之建立

劉程煒¹⁾ 曾夢蛟²⁾

關鍵字：甘藍、葉綠體基因轉移、GUS 基因

摘要：葉綠體的基因屬母系遺傳，不會隨著花粉散播，且植物細胞含多套的葉綠體基因組，有助於外來基因大量表現，因此開發葉綠體基因轉殖技術將可避免基因轉殖作物造成的基因汙染及破壞生物平衡。本研究利用 PCR 的方式，大量增幅並分離出'初秋'甘藍葉綠體基因組中 invert repeat (IR)區域中 *trnV* 到 *rrn23S* 約 4.1 kb 的核酸序列片段，經核酸定序與 NCBI 核酸資料庫比對之結果顯示所分離片段之基因序列與已發表的阿拉伯芥等葉綠體基因組序列有 99 % 的相似性，包括有 IR 中完整的 *trnV*、16S ribosomal RNA、*trnI*、*trnA* 以及部分 23S ribosomal RNA 的基因序列片段。將此基因片段均分為二個部分，同時構築到 pBlueScript II(SK-)載體上成為莖苔屬葉綠體之通用轉殖載體(universal vector)—pASCC201。此載體攜帶有莖苔屬葉綠體之 IR_A 區域之 *trnV-rrn16S*(左)及 *trnI-trnA-rrn23S*(右)核酸序列，作為葉綠體基因轉移之重組位置，並含有以 *prn* 為啟動子的 *aadA* 基因作為抗生素篩選基因。

前 言

葉綠體基因轉移的開發是植物生物技術上的重大突破，對於如何克服一些來自於細胞核基因轉移技術所造成環境生態上的考量，是十分成功的(Bogorad, 2000)。一般常見的環境上的考量是來自於轉殖作物的外來基因逃脫到相似雜草作物中，經由花粉或種子的傳播，進而創造出超級雜草造成其他物種的遺傳汙染(Daniell, 1999)。葉綠體為植物光合作用的樞紐，具有雙層膜的結構，與細胞核相同有自己的基因組與遺傳密碼。高等植物的葉

1) 國立中興大學園藝學研究所博士後研究員。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

綠體 DNA 的量大約佔總體細胞質 DNA 10~20%之高 (Bendich, 1987)。這是因為雙子葉植物的細胞核基因組僅有二套，但是質體基因組卻有高達數千套，一個葉片細胞包含有十數個甚至上百個葉綠體。在每一個豌豆葉片細胞中可以發現 10,000 套相同的葉綠體 DNA，而在小麥葉片細胞中，葉綠體 DNA 更可以高達 50,000 套(Bendich, 1987)。

Boynton 等(1988)首先以微體注射的方式將葉綠體基因轉移技術成功的應用在轉殖單胞藻(*Chlamydomonas*)上。Ishikura 等人(1999)則利用基因槍的方式將 *aadA* 及 *uidA*(*GUS*) 轉移到單胞藻中。緊接者有許多學者開始將抗抗生素篩選基因如 *aadA* 及 *nptII* 轉移到高等植物中(Svab and Maliga, 1993; Carrer and Maliga, 1995; Zoubenko *et al.*, 1994)。或是將 *uidA* (Staub and Maliga, 1993; Bock and Maliga, 1995)、*gfp* (Khan and Maliga, 1999; Sidorov *et al.*, 1999)等報導基因利用葉綠體基因轉移技術成功的轉移到菸草或馬鈴薯中。而接下來更有許多專家研究將有用的基因如 Bt 毒蛋白晶體基因 (Kota *et al.*, 1999; De Cosa *et al.*, 2001) 或 *codA* (Serino and Maliga, 1997)基因、抗殺草劑基因—EPSPS (Daniell *et al.*, 1998)或 EPSPS (Daniell *et al.*, 1998)、人類生長調節基因—*hST* (Staub *et al.*, 2000)、B 型肝炎疫苗 (Daniell *et al.*, 2001)等，以葉綠體基因轉移技術成功的將目標基因導入葉綠體內大量表現，其結果都較以細胞核基因轉移高出數百倍。

莖苔屬蔬菜為台灣最大宗的葉菜類蔬菜。由於葉綠體的轉殖基因屬母系遺傳，並不會隨著花粉散播，且植物細胞含多套的葉綠體基因組，有助於外來基因大量表現，且所轉殖基因較細胞核基因轉移穩定，不會有基因靜默及基因位置效應，因此開發葉綠體基因轉殖技術將可增加基因大量表現、避免基因轉殖作物造成的基因汙染及破壞生物平衡 (Bock, 2001; Daniell *et al.*, 2001c)。目前對於莖苔屬植物葉綠體基因組的研究僅限於阿拉伯芥(Sato *et al.*, 1999)，本研究首先根據目前已發表的高等植物葉綠體基因組設計引子，利用 PCR 的方式，嘗試分離出甘藍葉綠體基因組中 invert repeat (IR)中 *trnV* 到 *rrn 23S* 之片段(約 4 kb)，構築成適合莖苔屬蔬菜葉綠體基因轉殖的通用載體。

材料與方法

一、試驗材料：

本試驗以十字花科莖苔屬蔬菜中之'初秋'(K-Y cross)及'高峰'(Summer Summit)等品種之甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)為基因轉移的植物材料。將甘藍種子無菌播種於 1/2MS 基本培養基中，7 天後移到較大之培養瓶內繼續培養，培養條件為全日照，2 週後繼代培養一次以供基因轉殖之用。實驗時取其無菌播種 7 天之子葉及下胚軸及培養 1 或 2 個月之完全展開本葉為實驗材料。

二、試驗方法：

(一) 葉綠體基因選殖

由於目前尚未有完整的甘藍葉綠體基因組序列發表，因此以同屬於十字花科之阿拉伯芥的已發表完整之葉綠體基因組序列(AP000423)中，選擇葉綠體基因組 IR_A 及 IR_B 中皆有的序列，設計引子，期望利用 PCR 的方式選殖出 IR 區域之 *rrn 16S* 至 *rrn23S* 間的核酸片段。

以分離出自'初秋'甘藍之葉綠體基因組的 DNA 為模板，引子為 5'-GGTAATTCTCTTTC TCGAGGGGACGGGAAGGG-3'(C16S-1)及 5'-CAGCCCATGGCACAACGACGCAATTA TCAGGGG-3'(C16S-2)或 5'-GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAAAGCG3'(C16S-1) 及 C16S-2，預期合成甘藍葉綠體基因組 IR_A 中的 *trnV*、16S ribosomal RNA 及 *trnI* 的基因序列片段，PCR 反應條件為 94°C 1 分鐘、64°C 40 秒、72°C 2 分鐘共 30 個循環。另一組引子為 5'-CCAAGGTCAACATTAGCATGGCGTACTCCTCC-3'(C23S-1)及引子 5'-GGCA GTTCAAAGGTTGACCTATTTGGG-3'(C23S-2)，預期合成甘藍葉綠體基因組 IR_A 中的 *trnI*、*trnA* 及部分 23S ribosomal RNA 的基因序列片段。將經 PCR 反應完成後的產物，以瓊膠電泳分離出可能的片段大小，再以 Gene Clean III kit(BIO 101 Inc.)回收預定大小的 DNA 片段，構築於 pGEM-T Easy Vector System (Promega Inc.)中，進行 DNA 定序的工作。

(二) 葉綠體基因轉殖系統載體構築

將定序完成，並經與 NCBI 核酸資料庫比對，確認基因正確性的 pGEMC16S 及 pGEMC23S 質體，將其中的甘藍葉綠體基因片段分別構築到 pAS201 上(由中興大學分子生物學研究所陳良築老師所提供的 pZS197 基因中的完整 *aadA* 基因(*prrn:aada:pasA*)，構築到 pBluescript II SK(-)載體上成為 pAS201)，成為含有以 *prrn* 為啟動子的 *aadA* 基因，以及二段甘藍葉綠體基因的 pASCC201 質體，以供基因轉移及外源基因構築之用。

(三) 葉綠體分離

參考 Bock (2001)的方法，將欲處理之植株材料置於黑暗中 1~3 天，選取年輕及新鮮的葉片 100~200 克，以無菌水清洗 2 次，加入 Isolation buffer (5 倍 Isolation buffer (pH6.8): 1.65 M sorbital, 5mM sodium pyrophosphate, 250mM Hepes, 10mM EDTA pH8.0, 5mM MgCl₂, 5mM 2-mercaptoethanol)，再以細胞均質機充分均勻打碎，直到破碎組織小於 1mm²，所有步驟皆須於 4°C 之冷房內操作，藥品需保持在冰上。再將 1 公升的 1 倍 Grinding buffer (100ml 的 5 倍 isolation buffer, 5mL 的 Isoascorbate buffer 加水到 500ml)加入組織中，均勻攪拌 3~5 分鐘，以 2 層 Miracloth (Cal-biochem)所構成的濾網過濾收集，離心 10 分鐘 (4000 rpm)，去除上清液，加入 2~5 毫升的 1 倍 Grinding buffer 回溶，在維持冰浴的情況下小心加入 Percoll(預先將 9ml 的 80% Percoll 與 16ml 40% Percoll 混合均勻)，離心 10 分鐘(6000 rpm)。甘藍組織所分出的 2 個可見的綠色液面中，上層為破碎葉綠體層(40% Percoll)，下層為完整葉綠體層(40%~80% Percoll)，先將上層液體吸除到離下層綠色液面 0.5~1 公分時，小心吸取下層液體到另一新離心管，再加入 2 倍體積的 1 倍 Grinding buffer，離心 1 分鐘(5000 rpm)後除去上清液，沉澱物即為完整葉綠體，再以液態氮急速冷卻後，置於-70°C 冰箱可儲藏數週備用。欲再分離 DNA 或 RNA 需先處理 RNase A 或 DNase

I，再參考 Bock(2001)的方法處理。

結 果

一、轉殖基因載體之構築篩選與分析

本實驗以十字花科芸苔屬蔬菜中之'初秋'甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)為材料，依據Sato等 (1999)所發表之完整阿拉伯芥葉綠體基因組(AP000423)為藍圖，並與水稻完整葉綠體基因(X15901)比對分析(Hiratsuka *et al.*, 1989)設計出二組引子，C16S-1及C16S-2，C23S-1及C23S-2，以甘藍葉綠體基因組DNA為模版，進行PCR反應，所得之產物以瓊膠電泳分析之結果，如圖1所示。引子C16S-1及C16S-2是設計用來複製出甘藍葉綠體基因組IR_A區域中的A中的

二、核酸序列定序與分析

將 pGEM-C16S、pGEM-C23S 及 pGEM-C18S 的定序結果，經組合構成完整的片段，全長為 4101 個核酸的序列。將此完整片段與 SeqWeb 網路軟體分析比對之結果顯示，與水稻、玉米、阿拉伯芥、煙草、菠菜、豌豆等之部分葉綠體和酸序列有極高的相似性，更進一步以各種作物的葉綠體組序列相比，有高達 94~99%的相似性。因此結果可以推斷第 1~47 序列為部分 *trnV* 基因序列，第 279~1770 序列為 16S ribosomal RNA 基因序列，第 2086~2121 為 *trnI* 5' exon 基因序列，第 2843~2875 為 *trnI* 3' exon 基因序列，第 2940~2977 為 *trnA* 5' exon 基因序列，第 3779~3813 為 *trnA* 3' exon 基因序列，第 3965~4103 為部分 23S ribosomal RNA 基因序列。

三、轉殖載體pASCC201之構築、基因槍法轉移、篩選與分析

將分別帶有甘藍葉綠體部分基因的pGEM-C16S及pGEM-C23S質體，以限制酵素作用，將其中的甘藍葉綠體基因片段分別構築到pAS201載體上(圖2)，將其命名為pASCC201，成為一個通用載體(Universal Vector)，並帶有抗spectinomycin/streptomycin的

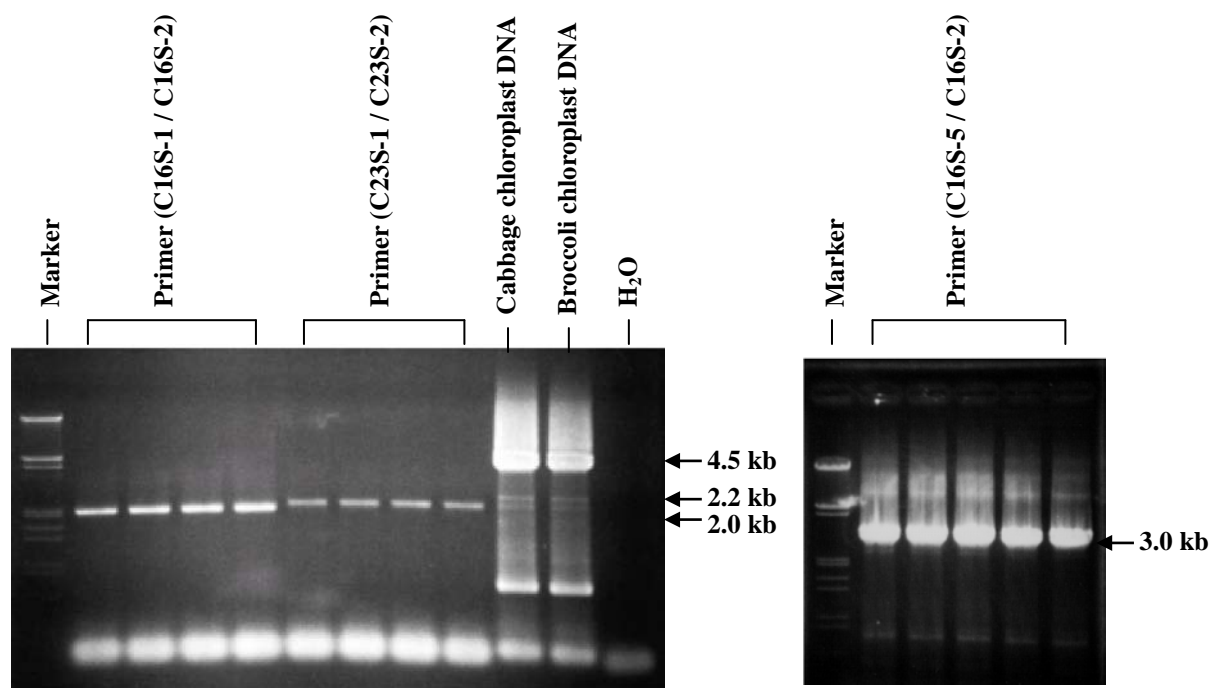


圖1. 以'初秋'甘藍葉綠體基因組DNA為模板，利用引子C16S-1/C16S-2、C23S-1/ C23S-2、C16S-5/C16S-2 進行PCR反應，增幅葉綠體rrn16S及rrn23S區域之核酸片段的情形。

Fig. 1. Amplification of DNA fragments in the region of chloroplast rrn16S and rrn23S gene of cabbage ('K-Y cross') by PCR. The C16S-1/C16S-2, C23S-1/C23S-2, and C16S-5/C16S-2 were used as primer.

pASCC201質體上同時帶有甘藍葉綠體rrn16S部分與rrn23S部分的基因。為了證實所分離出的甘藍葉綠體基因是否位於IR區域內，因此分別萃取甘藍葉片的總DNA與葉綠體DNA，以不同限制酵素作用並經電泳分離後，利用南方墨點雜交分析的方式分別以pGEMC16S與pGEMC23S的基因片段為探針雜交，結果如圖4所示，在rrn16S(圖4A)的部分，分別以Hind III及BamH I作用後的DNA各有二個雜交訊號出現，再對照水稻與阿拉伯芥的限制圖譜，其結果正確無誤。而以rrn23S為探針的部分(圖4B)，僅有以Bgl II作用後出現二個雜交訊號，由於目前並無切確的證據加以證實，僅能推論可能有二個copy。

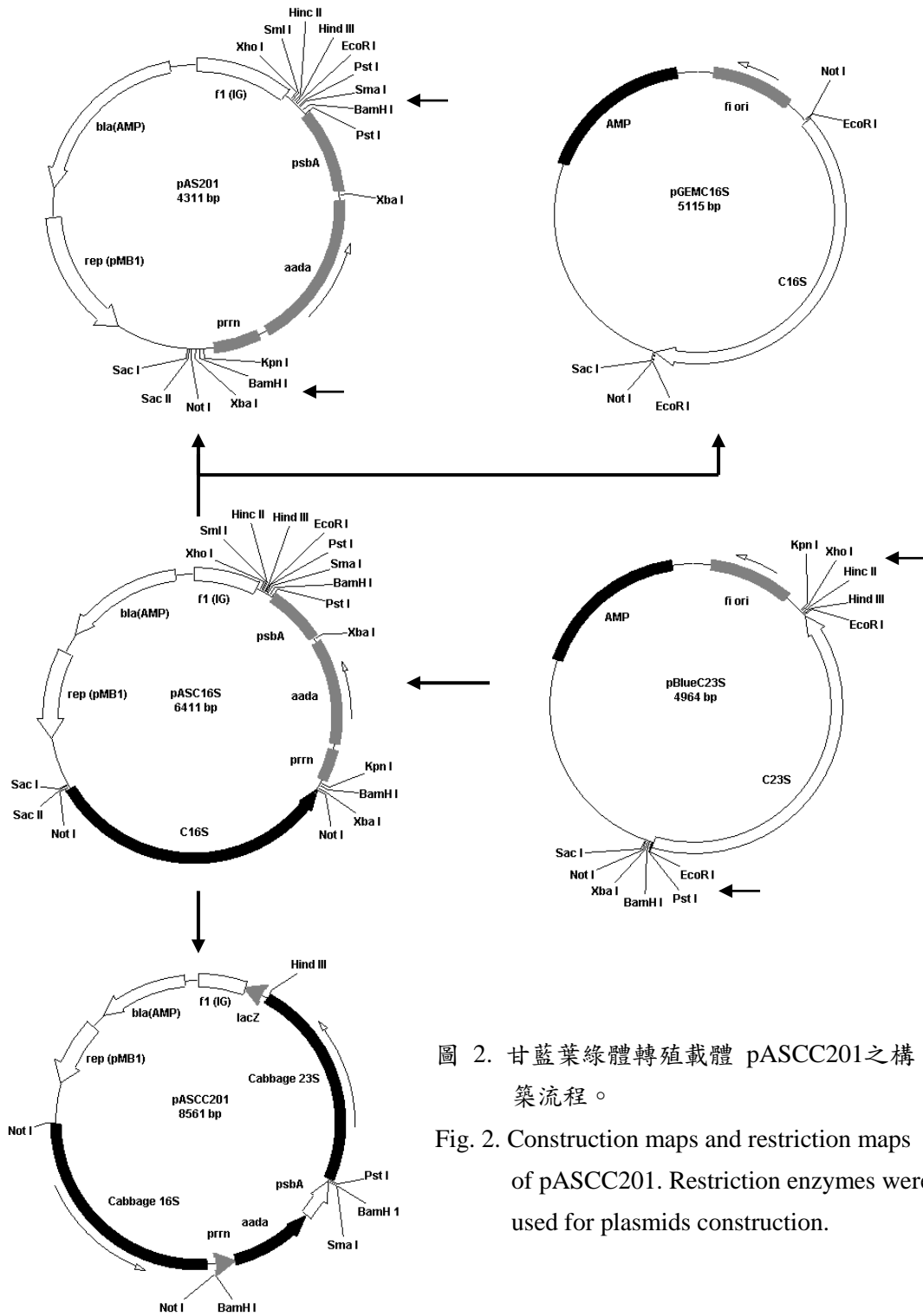


圖 2. 甘藍葉綠體轉殖載體 pASCC201之構築流程。

Fig. 2. Construction maps and restriction maps of pASCC201. Restriction enzymes were used for plasmids construction.

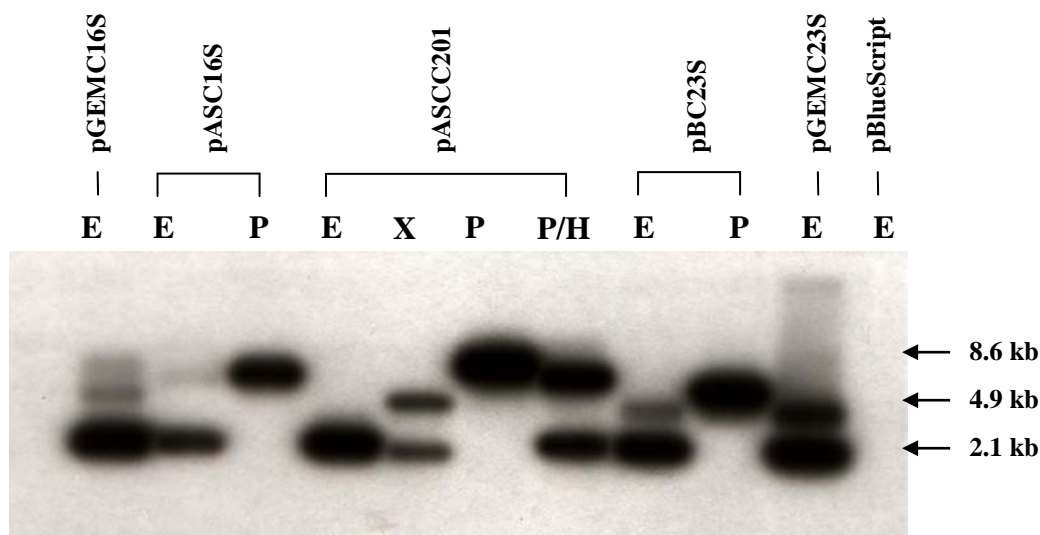


圖3. 以南方墨點雜交分析甘藍葉綠體轉殖載體 pASCC201之正確性。

Fig. 3. Southern-blots hybridization of plasmid pGEMC16S, pASC16S, pASCC202, pBC23S, pGEMC23S and pBluescript. Plasmid DNAs were extracted and digested with *Eco*R I(E), *Pst* I(P), *Xho* I(X), *Pst* I and *Hind* III(P/H). The DNA was resolved on 1.5 % agarose gel, and then transferred onto a nylon membrane and probe with *rrn*16S and *rrn*23S fragments simultaneously.

選取經基因槍法轉殖pASCC201質體於溫室內再生的'初秋與'高峰'甘藍植株，萃取其基因組DNA，而後以*aadA*基因特定的引子進行PCR反應分析，結果顯示除對照組外，轉殖植株皆有0.8 kb的條帶顯現。再以所構築之甘藍葉綠體基因組特有之引子C16S-7及C23S-6進行PCR反應分析之結果，顯示轉殖再生之初秋甘藍皆可於2.1 kb的位置發現有PCR的產物，而對照組植株則是在0.7 kb的位置產生條帶，此結果確認了目標基因*aadA*確實存在於葉綠體基因組中。以*aadA*基因片段為探針進行之南方墨點及北方墨點雜交分析之結果，亦顯示*aadA*基因已轉移到甘藍葉綠體，且表現*aadA* mRNA，因此這些轉殖甘藍均呈現高度耐spectinomycin/streptomycin等抗生素的特性（數據未呈現）。

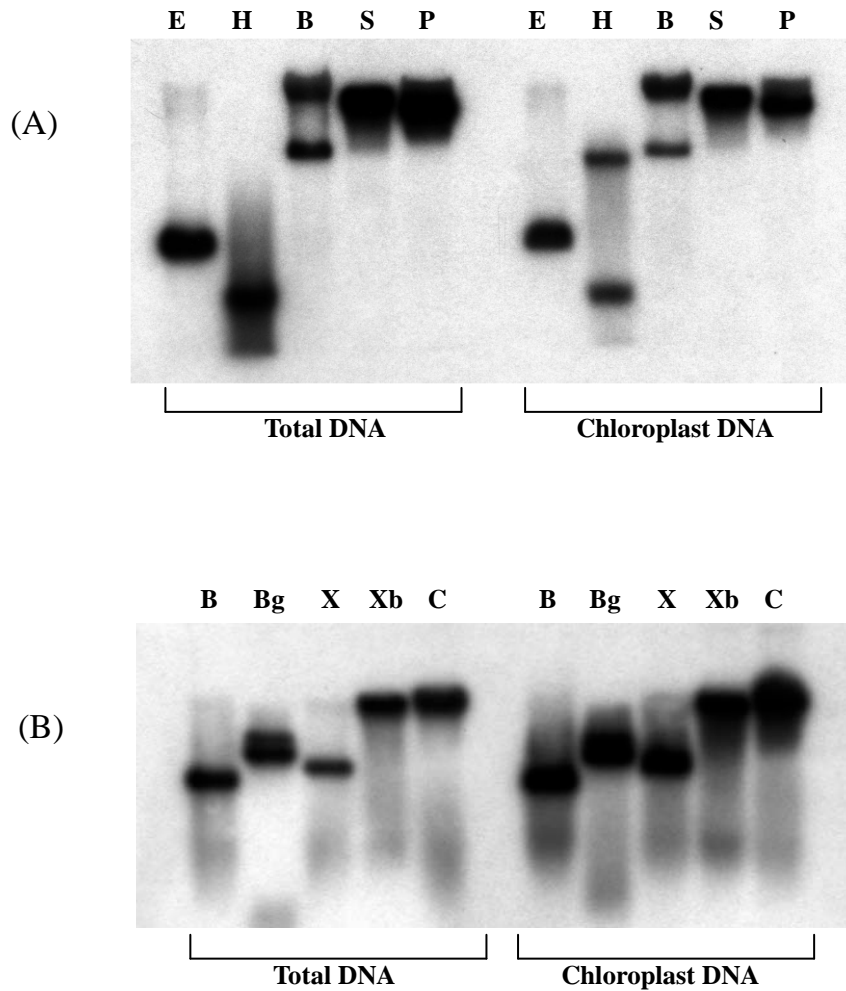


圖 4. 甘藍總DNA或葉綠體DNA以不同限制酵素作用後，以rrn16S (A) 及 rrn23S (B) 部分片段為探針，經南方墨點雜交分析之結果。

Fig. 4. Southern-blot hybridization of genomic and chloroplast DNA of cabbage ('K-Y cross'). The DNAs of cabbage were extracted and digested with *EcoR* I(E), *Hind* III(H), *Bam*H I(B), *Sac* I(S), *Pst* I(P), *Bgl* II(Bg), *Xho* I(X), *Xba* I(Xb), and *Cla* I(C). The DNA was resolved on 1.5 % agarose gel, and then transferred onto a nylon membrane and probe with rrn16S (A) and rrn23S (B) fragment. Twenty micro-grams genomic and ten micro-grams chloroplast DNA of each sample.

討 論

本試驗之材料為十字花科莖苔屬蔬菜中之甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)，由於目前尚未有相關的研究報告可供參考，於是依據 Sato 等學者(1999)所發表之完整阿拉伯芥葉綠體基因組(GenBank accession number AP000423)為藍圖，並與水稻完整葉綠體基因比對分析(X15901; Hiratsuka *et al.*, 1989)設計引子，分離甘藍葉綠體 DNA 為模板，以 PCR 的方式複製出甘藍葉綠體基因組中包括 IR_A 中的 *trnV*、16S ribosomal RNA、*trnI*、*trnA*、及部分 23S ribosomal RNA 的基因序列片段。試驗結果顯示 PCR 所合成的 3 個片段分別為 2.0 kb(pGEM-C16S)、2.2 kb(pGEM-C23S)與 3 kb(pGEM-C18S)與阿拉伯芥(Sato *et al.*, 1999)及菸草(Shinozaki and Ohyama, 1986)的葉綠體基因片段類似(圖 1)。

將 pGEM-C16S、pGEM-C23S 與 pGEM-C18S 3 個殖系分別完成定序，發現所合成的部分甘藍葉綠體基因片段為 4,103 個鹼基，GC 含量為 52.2%，與水稻(Hiratsuka *et al.*, 1989)、菸草(Shinozaki and Ohyama, 1986)、阿拉伯芥(Sato *et al.*, 1999)，甚至地錢(Ohyama *et al.*, 1986)的報導相似，但與菸草及水稻完整的葉綠體基因序列 GC content 為 38.9%(Sato *et al.*, 1999)差距很大。序列中常見的限制酵素有限制酶有 *ApaI*、*BamHI*、*BglII*、*EcoRI*、*HincII*、*HindIII*、*NcoI*、*SacI*、*SacII*、*SmaI*、*XhoI* 等，將完整核酸序列片段經 NCBI 核酸資料庫比對，結果顯示與水稻、玉米、阿拉伯芥、煙草、菠菜、豌豆等作物之葉綠體基因組有很高的相似性，核酸序列的相似度介於 94~99% 之間。再經 SeqWeb 網路軟體比對分析結果顯示，4,103 個鹼基可分為 6 大部分：第 1~47 序列為部分 *trnV* 基因序列；第 279~1,770 序列為 16S ribosomal RNA 基因序列；第 2,086~2,121 為 *trnI* 5' exon 基因序列；第 2,843~2,875 為 *trnI* 3' exon 基因序列；第 2,940~2,977 為 *trnA* 5' exon 基因序列；第 3,779~3,813 為 *trnA* 3' exon 基因序列；第 3,965~4,103 為部分 23S ribosomal RNA 基因序列。

參 考 文 獻

- Bendich, A. J. 1987. Why do chloroplasts and mitochondria contain so many copies of their genome? *BioEssays*. 6: 279-282.
- Bock, R. 2001. Sense from nonsense: How the genetic information of chloroplasts is altered by RNA editing. *Biochimie* 82: 549-557.
- Bock, R. and P. Maliga. 1995. Correct splicing of a group II intron from a chimeric reporter gene transcript in tobacco plastids. *Nucleic Acid Res* 23: 2544-2547.
- Bogorad, L. 2000. Engineering chloroplasts: An alternative site for foreign genes, proteins, reactions and products. *Trends Biotechnol* 18: 257-263.
- Boynton, J. E., N. W. Gillham, E. H. Harris, J. P. Hosler, A. M. Johnson, A. R. Jones, and J. C. Sanford. 1988. Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high velocity

- microprojectiles. *Science* 240: 1534-1538.
- Carrer, H. and P. Maliga. 1995. Targeted insertion of foreign genes into the tobacco plastid genome without physical linkage to the selectable marker gene. *Biotechnology* 13: 791-794.
- Daniell, H. 1999b. Environmentally friendly approaches to genetic engineering. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 35: 361-368.
- Daniell, H., S. B. Lee, T. Panchal, and P. O. Wiebe. 2001. Expression of the native cholera toxin B subunit gene and assembly as functional oligomers in transgenic tobacco chloroplasts. *J. Mol. Biol.* 311: 1001-1009.
- De Cosa, B., W. Moar, S. B. Lee, M. Miller, and H. Daniell. 2001. Hyper-expression of Bt Cry2Aa2 operon in chloroplast leads to formation of insecticidal crystals. *Nat Biotechnol* 19: 71-74.
- Hiratsuka, J., H. Shimada, R. Whittier, T. Ishibashi, M. Sakamoto, M. Mori, C. Kondo, Y. Honji, C.R. Sun, B.Y. Meng, Y.Q. Li, A. Kanno, Y. Nishizawa, A. Hirai, K. Shinozaki and M. Sugiura. 1989. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa*) chloroplast genome: Intermolecular recombination between distinct tRNA genes accounts for a major plastid DNA inversion during the evolution of the cereals. *Mol. Gen. Genet.* 217:185-194.
- Ishikura, K., Y. Takaoka, K. Kato, M. Sekine, K. Yoshida, and A. Shinmyo. 1999. Expression of a foreign gene in *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast. *J. of Bioscience and Bioengineering.* 87(3): 307-314.
- Ohyama, K., H. Fukuzawa, T. Kohchi, H. Shirai, T. Sano, S. Sano, K. Umesono, Y. Shiki, M. Takeuchi, Z. Chang, S. Aota, H. Inokuchi, and H. Ozeki. 1986. Chloroplast gene organization deduced from complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA. *Nature*, 322: 572-574.
- Sato, S., Y. Nakamura, T. Kaneko, E. Asamizu, and S. Tabata. 1999. Complete Structure of the Chloroplast Genome of *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res.* 6: 283-290.
- Shinozaki, K., M. Ohme, M. Tanaka, *et al.* 1986. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. *EMBO J.* 5: 2043-2049.
- Staub, J. M. and P. Maliga. 1993. Accumulation of D1 polypeptide in tobacco plastids is regulated via the untranslated region of the *psbA* mRNA. *EMBO J* 12: 601-606.
- Staub, J., B. Garcia, J. Graves, P. T. J. Hajdukiewicz, P. Hunter, N. Nehra, V. Paradkar, M. Schlittler, J. A. Carroll, L. Spatola, D. Ward, G. Ye and D. A. Russwll. 2000. High yield production of a human therapeutic protein in tobacco chloroplasts. *Nat Biotechnol* 18: 333-338.
- Svab, Z. and P. Maliga. 1993. High frequency plastid transformation in tobacco by selection for a chimeric *aada* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 90: 913-917.
- Zoubenko, O. V., L. A. Allison, Z. Svab, and P. Maliga. 1994. Efficient targeting of foreign genes into the tobacco plastid genome. *Nucleic Acids Res* 22: 3819-3824.

Development and Establishment of Plastid Transformation Vector for Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)

Cheng-Wei Liu ¹⁾ Menq-Jiau Tseng ²⁾

Key words: Cabbage, Chloroplast transformation, GUS gene

Summary

Expression of foreign genes *via* plastid genomes not only dramatically enhances the level of expression (5,000-10,000 copies of prokaryotic chloroplasts per plant cell), but also prevents out cross of the introduced foreign genes *via* pollen grains (their maternal inheritance in most crops). The objectives of the current research are to isolate plastid gene sequences from cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.), and to construct a universal transplastomic vector for the gene transformation of *Brassica* vegetables. A 4.1 kb of DNA fragment of cabbage chloroplast between *trnV* and *rrn 23S* of invert repeat (IR) was amplified with PCR. This fragment contains *trnV*, *rrn 16S*, *trnI*, *trnA*, and a part of *rrn23S*. A universal transformation vector (pASC201) for *Brassica* chloroplast was constructed with *trnV*—*rrn16S* (left) and *trnI*—*trnA*—*rrn 23S* (right) of IR_A region as recombination site for the insertion of transgene, and a chimeric *aadA* marker gene (spectinomycin resistance) was also inserted between *rrn16S* and *rrn23S* plastid gene sequences.

1) Postdoctor Fellow, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

利用形態性狀及 RAPD 分子誌標分析 *Xanthosoma* 遺傳歧異度之研究

鄭思敏¹⁾ 宋好²⁾

關鍵字：芋、種原、逢機增殖多型性、遺傳相似度

摘要：本實驗利用形態性狀及 RAPD 分子標誌鑑定 14 個 *Xanthosoma* 收集系之遺傳歧異度分析，形態性狀調查結果，除 KCX001 及 002 葉面、葉脈中心點顏色、葉脈及葉柄，KCX001 之母芋形狀、芽眼色及肉色性狀外，其他 13 個收集系之外觀無法以肉眼進行區分。進行群叢分析結果，KCX002 因生育後期種原遺失，其餘 13 個收集系之遺傳相似度為 0.70~0.87 之 3 群組，以 KCX001 獨立成 0.70 之第三群組，KCX003、005、006、007 及 013 以 0.79 之相似度組成第二群組，餘者組成 0.87 相似度之第一群組。自 88 個逢機引子選出 29 個具多型性之引子，平均每個引子可產生 6.5 個增幅條帶，具多型性者有 2.8 個，多型性為 42.3%。群叢分析結果共分成 3 群組，第一群組由 KCX002 以 0.64 之遺傳相似度獨立組成，KCX001 則以 0.86 之遺傳相似度組成第三群，其餘收集系以 0.99 以上之相似度組成第二群組。本研究結果顯示受測之 *Xanthosoma* 收集系於基因型上有高度重複的情形，

前 言

芋為一年或多年生之天南星科作物，可食用者分為二類五屬，其中以 *Xanthosoma* 及 *Colocasia* 二屬為目前全球最廣泛被栽培者(O'Hair and Asokan, 1986)。 *Xanthosoma* 原產熱帶美洲，大約有 40 餘種，但目前於分類上仍甚混雜(黃與韓，1994；)，其中 *Xanthosoma brasiliense* (Desf.) Engl 僅供葉用； *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott 則為母芋用，乃太平洋地區居民之重要糧食作物，亦為本屬最重要而常見的一種，中文為牙芋(胡，1971)或千

1) 國立中興大學園藝學系研究生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

年芋(郭等, 1996), 其他用途包括作為動物飼料或工業用途如製作酒精(Sakai, 1979)。

芋主要以無性方法繁殖後代, 經長時間自然與人為栽培已產生許多品種與地方種, 但於外觀形態無法辨識而影響種原收集及育種工作之進行, 需要有效之分析方法作為輔助。自 1984 年多聚醣素連鎖反應技術被創立後, 分子生物分析技術迅速發展, 使得直接測量遺傳基本物質的差異以進行種原鑑定的目標得以實現。Welsh 及 William 於 1990 提出之 RAPD 分析技術具有快速、經濟、簡單及方便等優點, 被廣泛應用在各種作物之遺傳分析上(王等, 2001; Welsh and McClelland, 1990; William *et al.*, 1990)。本實驗主要目的為利用此技術分析現有 *Xanthosoma* 屬之種原遺傳歧異度以利種原之收集及保存。

材料與方法

一、實驗材料

由高雄區農業改良場旗南分場提供 12 個 *Xanthosoma* 屬(KCX)之收集系(accessions), 另自苗栗縣公館鄉取得一個收集系, 共計 13 個收集系(表 1)。

表 1. 供試芋(*Xanthosoma* 屬)種原代碼與收集地點。

Table 1. The *Xanthosoma* accessions and their origins in the study.

代碼	收集地點	代碼	收集地點
KCX01	烏拉圭	KCX08	宜蘭縣
KCX02	台東縣蘭嶼鄉	KCX09	屏東縣佳冬鄉
KCX03	屏東縣來義鄉	KCX10	台北市
KCX04	台東縣太麻里鄉	KCX11	屏東縣三地門鄉
KCX05	南投縣鹿谷鄉	KCX12	屏東縣霧台鄉
KCX06	高雄縣甲仙鄉	KCX13	台東縣蘭嶼鄉
KCX07	嘉義縣	CHX01	苗栗縣公館鄉

二、形態性狀於 *Xanthosoma* 之鑑別

(一)、形態性狀調查

主要依據「國家作物種原中心」所訂定之「芋品種特性調查項目」進行各收集系 s 之形態性狀調查, 部份項目參考 IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute)之訂定標準。所調查之形態性狀中 27 項地上部性狀於 2004 年 4 月 11 日進行, 每個收集系共測

3 株，每株取 2 片完全展開葉(IPGRI, 1999)。另 24 項地下部性狀於 2004 年 7 月 14 日進行，每個收集系共取 3 株調查。

(二)、性狀統計分析及性狀群叢分析

形態性狀調查所得之定量性狀以 COSTAT 軟體進行 Student-Newman-Keuls Test (顯著水準 5%) 分析，以求得各收集系間的差異度。

形態性狀調查所得之定性性狀，依 Gower 之相似度公式計算收集系間之遺傳相似度(Dunn, 1982)，其計算公式如下：

$$S_{ij} = \sum C_{ij} / n$$

S_{ij} 為 i 及 j 兩收集系間之相似度；n 為調查性狀之項目數，則 C_{ij} 為兩收集系間差異不顯著 ($\alpha=0.05$) 的性狀之項目。凡兩收集系間調查項目差異不顯著以 '1' 表，差異顯著者為 '0'，累計相同項目除以總項目數為兩收集系間之相似度。利用 NT-SYS 2.1 (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) 套裝軟體計算各收集系兩兩間之遺傳相似度。再依平均連鎖法 (unweighted pair group arithmetic average, UPGMA) 進行群叢分析 (cluster analysis)，以構築 13 個收集系之遺傳相似度樹狀圖 (Sneath and Sokal, 1973)。

三、RAPD 分子標誌於 Xanthosoma 之鑑別

(一)、植物體基因組 DNA 萃取

依據 Junghans 和 Metzlauff (1990) 之 DNA 萃取方法加以修飾，稱取 0.1 g 新鮮嫩葉，置於 1.5 ml 之微離心管中，以液態氮磨碎。加入 500 μ l 之 60 $^{\circ}$ C 萃取緩衝液 (extraction buffer，含 100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2 % CTAB, 0.2 % β -mercaptoethanol)，將磨碎之收集系混均後置於 65 $^{\circ}$ C 水浴 30 分鐘，置於室溫 1 分鐘後加入 500 μ l 之 chloroform/isoamyl alcohol (v:v=24:1)，輕輕搖動 20 分鐘至均勻混合，以 1600 X g 離心 10 分鐘。取上清液，加入 340 μ l 之異丙醇 (isopropanol)。靜置於 4 $^{\circ}$ C，待沉澱物出現，以 1600 X g 離心 10 分鐘。除去上清液，留下核酸沉澱物 (pellet)，加入 200 μ l 沖洗緩衝液 (washing buffer，含 76 % EtOH 和 10 mM ammonium acetate)，漂洗 2 小時，再以 1600 X g 離心 10 分鐘。倒除上清液，將核酸沉澱物以 50 μ l 之 TE 緩衝液 (10 mM Tris-HCl, pH 7.4, 1 mM EDTA) 加入以溶解之，加入 3 μ l 10 μ g/ml 之 Rnase A (Ribonuclease, Sigma Chemicals R4876 Type 1.A)，在 37 $^{\circ}$ C 下靜置 1 小時，存於 -20 $^{\circ}$ C 備用。DNA 濃度利用 UV spectrophotometer (OD_{260}) 測定。

(二)、聚合酵素連鎖反應

將萃取之基因組 DNA 溶液的濃度稀釋成 25 ng/ μ l，置於 4 $^{\circ}$ C 備用，作為進行聚合酵素連鎖反應時的模版 DNA。本試驗共使用 88 個引子進行反應。以芋基因組 DNA 50 ng 當模版 (取濃度 25 ng/ μ l 的 DNA 溶液 2 μ l，在總體積 25 μ l 反應液中進行反應，其中含 1 X Ex Taq polymerase buffer、各 100 μ M 之 dNTP、0.2 μ M 之引子及 0.75 U 之 Taq DNA polymerase (Super-Therm)，在循環式溫度控制器中 (Applied Biosystems Gene Amp PCR

System 2700, ABI)進行 PCR 增殖反應。反應條件為 94 °C 5 分鐘(1 循環)→[94 °C 1 分鐘→36 °C 1 分鐘→72 °C 2 分鐘](40 循環)→72 °C 5 分鐘(1 循環)。反應完成後自動保存在 4 °C 下。

(三)、電泳分析與 DNA 多型性片段檢視

經聚合酶反應增殖之 DNA 片段，取 12 μ l 反應液加入染劑(6 X loading dye:10 mM Tris-HCl (pH 7.6), 0.30% Bromophenol blue, 0.30 % Xylene cyanol FF, 60 % glycerol and 60 mM EDTA)，注入 2 % 電泳瓊脂膠體(Agarose I, Amersco)，以約 900 ml 0.5 X TAE 緩衝液在電泳槽(Agaro-Power A7020, Bioneer)中經電壓 100 V 進行電泳約 90~95 分鐘。結束後將膠體置入 5 μ l/100ml 溴化乙錠(ethidium bromide, EtBr)溶液中染色 10 分鐘，並在去離子水中退染 30 分鐘，再置於 UV 燈箱上檢視膠體內的 DNA 條帶。

(四)、資料分析

依據 Wilde 等人(1992)使用之方法，以每一條帶的出現為一個特徵，有條帶出現者以 '1' 代表，無條帶者為 '0' 建立 DNA 條帶圖譜，利用 NT-SYS 2.1 軟體進行 UPGMA 群叢分析，以求得各收集系間的 RAPD 標誌遺傳相似性樹狀圖。

結 果

一、形態性狀於 *Xanthosoma* 屬種原之鑑別

依據「國家作物種原中心」所訂定之「芋品種特性調查項目」進行收集系之 48 項形態性狀調查，項目中，所有收集系地上部形態之葉緣形狀為全緣、葉緣色為綠、葉脈中心點屬大、葉片缺口大小屬小、汁液顏色亂白色、葉脈中心點至缺口距離皆短、葉柄無斑紋、葉柄基部橫切面形狀為閉並皆無走莖。KCX01 及 KCX02 之其他地上部性狀與其他 12 個收集系有所不同(表 2.)，如葉面顏色上只有 KCX02 為淺紫色，其餘者皆綠；葉脈中心點顏色以 KCX01 為淺綠，KCX02 為淺紫，餘者皆綠；葉脈顏色以 KCX01 為綠色，KCX02 者為淺紫，餘者皆為淺綠色；葉柄上端及下端顏色只有 KCX02 為淺紫色，其餘皆為綠色等。球莖形態上，由於 KCX02 於生育後期種原遺失而無法調查，其餘者在母芋之表面色、肉質、絨毛、皮層色、縱切面肉紋及肉紋色亦有相同特性，唯 KCX01 之芽眼顏色淺紅色，餘者皆白；其肉色為粉紅，餘者皆為淺白黃。十三個收集系之母芋形狀以中紡錘形者最普遍，共有 5 個，其次依序為中倒卵形 3 個，長紡錘形 2 個，只有 KCX01 之母芋為短倒卵形、KCX07 者短紡錘形及 KCX09 者為中圓筒形。

經分析結果，13 個收集系間之遺傳相似度最高為 0.97(KCX08 與 KCX11)，最低為 0.64(KCX01 與 KCX12 及 CHX01)(表 3)。於樹狀圖中，KCX04、08、009、10、11、12 及 CHX01 等 7 個收集系則組成相似度為 0.87 之第一群，KCX03、005、006、007 及 013 以 0.79 之遺傳相似度組成第二群，兩群間之相似度 0.77，KCX01 以 0.70 以遺傳相似度獨立成為第三群(圖 1)。

二、RAPD 分子標誌於 *Xanthosoma* 收集系之鑑別

以 88 個隨機引子進行收集系之 RAPD 分析，結果所有引子均有放大產物出現，大小介於 300~3000 bp(表 4.)，其中 29 個引子具有多型性。廿九個引子中最少可產生 3 個條帶(引子 OP-AM19、OP-A01 及 OP-A07)，最多為 13 個(引子 OP-E01)，於產生的 189 個增幅條帶中，80 個為多型性者。平均每個引子可產生 6.5 條，具多型性之條帶平均為 2.8 條，多型性比率為 42.3%。

經 UPGMA 群叢分析結果，14 個收集系可分成 3 群(圖 2)，KCX02 以最低之遺傳相似度 0.65 獨立成第一群，KCX01 則以 0.86 之遺傳相似度組成第三群，其餘收集系之相似度在 0.99 以上，並以 KCX03、04、05、06、07、11、12、13 及 CHX01 之遺傳歧異度為 0。

表 2. 14 個 *Xanthosoma* 收集系之形態性狀。

Table 2. Morphological traits of 14 *Xanthosoma* accessions.

品系	葉面 顏色	葉脈中心 點顏色	葉脈 顏色	葉柄		母芋		
				上端色	下端色	形狀	芽眼顏	肉色
KCX01	綠	淺綠	綠	綠色	綠色	短倒卵形	淺紅色	粉紅
KCX02	淺紫	淺紫	淺紫	淺紫	淺紫	-	-	-
KCX03	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中倒卵形	白色	淺白黃
KCX04	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中倒卵形	白色	淺白黃
KCX05	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中紡錘形	白色	淺白黃
KCX06	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	長紡錘形	白色	淺白黃
KCX07	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	短紡錘形	白色	淺白黃
KCX08	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中紡錘形	白色	淺白黃
KCX09	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中圓筒形	白色	淺白黃
KCX10	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中紡錘形	白色	淺白黃
KCX11	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中紡錘形	白色	淺白黃
KCX12	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中紡錘形	白色	淺白黃
KCX13	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	中倒卵形	白色	淺白黃
CHX01	綠	綠	淺綠	綠色	綠色	長紡錘形	白色	淺白黃

表 3. 13 個 *Xanthosoma* 收集系之遺傳相似係數矩陣。

Table 3. Matrix of similarity coefficient among 13 *Xanthosoma* accessions.

	01	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	CHX01
KCX01	1.00												
KCX03	0.69	1.00											
KCX04	0.72	0.82	1.00										
KCX05	0.80	0.80	0.77	1.00									
KCX06	0.77	0.80	0.82	0.85	1.00								
KCX07	0.72	0.80	0.80	0.85	0.77	1.00							
KCX08	0.69	0.72	0.85	0.82	0.80	0.82	1.00						
KCX09	0.69	0.72	0.90	0.77	0.80	0.82	0.92	1.00					
KCX10	0.67	0.80	0.92	0.80	0.77	0.77	0.92	0.90	1.00				
KCX11	0.72	0.77	0.87	0.85	0.82	0.80	0.97	0.90	0.95	1.00			
KCX12	0.64	0.74	0.85	0.82	0.74	0.80	0.95	0.87	0.92	0.92	1.00		
KCX13	0.69	0.80	0.80	0.77	0.82	0.80	0.74	0.77	0.72	0.74	0.69	1.00	
CHX01	0.64	0.80	0.85	0.74	0.77	0.80	0.90	0.87	0.90	0.87	0.90	0.72	1.00

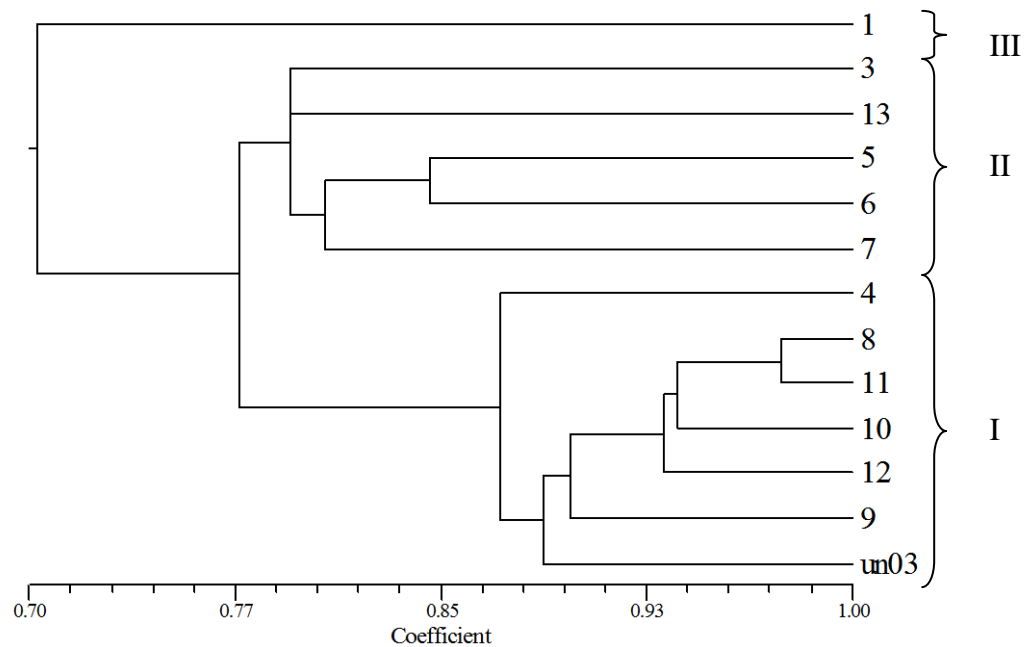


圖 1. 利用 39 項園藝性狀分析 13 個 *Xanthosoma* 收集系之遺傳相似度樹狀圖。

Fig. 1. Dendrogram illustrating genetic similarity among 13 *Xanthosoma* accessions calculated from morphological traits.

表 4. RAPD 分析中 13 個 *Xanthosoma* 收集系具多型性之引子及其多型性特性。

Table 4. Summary of total numbers of amplified DNA fragments and numbers of polymorphic band for each primer used in RAPD analysis of 14 *Xanthosoma* accessions.

Operon primers	Sequence (5' to 3')	Total Bands	No. of Polymorphic bands	Operon primers	Sequence (5' to 3')	Total Bands	No. of Polymorphic bands
OP-A01	CAGGCCCTTC	3	1	OP-D02	GGACCCAACC	8	5
OP-A05	AGGGGTCTTG	5	2	OP-D05	TGAGCGGACA	6	3
OP-A07	GAAACGGGTG	3	1	OP-D08	GTGTGCCCCA	8	5
OP-A09	GGGTAACGCC	10	5	OP-E01	CCCAAGGTCC	13	5
OP-A11	CAATCGCCGT	5	3	OP-E06	AAGACCCCTC	7	3
OP-A20	GTTGCGATCC	6	4	OP-E19	ACGGCGTATG	8	3
OP-B05	TGCGCCCTTC	5	2	OP-F08	GGGATATCGG	5	4
OP-B06	TGCTCTGCCC	8	3	OP-F11	TTGGTACCCC	10	5
OP-B07	GGTGACGCAG	5	1	OP-F17	AACCCGGGAA	5	3
OP-B11	GTAGACCCGT	5	1	OP-G06	GTGCCTAACC	6	3
OP-B13	TTCCCCCGCT	11	7	OP-G09	CTGACGTACAC	6	3
OP-C01	TTCGAGCCAG	4	2	OP-AM03	CTTCCCTGTG	11	3
OP-C07	GTCCCGACGA	7	3	OP-AM18	ACGGGACTCT	5	1
OP-C11	AAAGCTGCGG	7	1	OP-AM19	CCAGGTCTTC	3	1
OP-C19	GTTGCCAGCC	4	1				
Total						189	80
Average						6.5	2.8

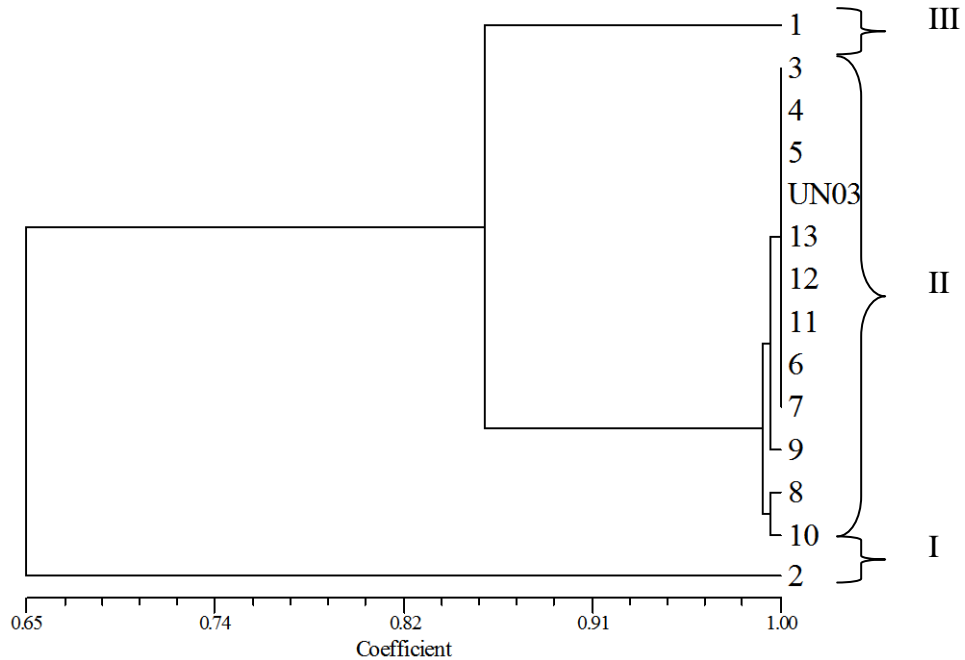


圖 2. 利用 29 組 RAPD 引子分析 14 個 *Xanthosoma* 收集系之遺傳相似度樹狀圖。
Fig 2. Dendrogram illustrating genetic similarity among 14 accessions of *Xanthosoma* accessions calculated from RAPD markers.

討 論

高雄區農業改良場進行芋育種工作多年，並持續自台灣各地收集芋種原，但對所蒐集之收集系祇有重要外部形態之調查，加上芋開花結實率低(Irwin *et al.*, 1998)，須行營養體繁殖，收集系間之形態性狀因相似而無法進行區分，於田間保存時造成人力、物力及財力上之耗損，並造成育種上之困擾。要有效提高種原管理的首要工作就是辨別種原的多態性並排除重複的收集系(Greene and Pederson, 1996)。本實驗對所提供之收集系進行較細部之形態調查，期能建立各收集系之形態相關資料作為參考。

所有調查性狀中，除 KCX001 及 002 於葉面顏色、葉脈中心點顏色、葉顏色、葉柄上端及下端顏色、KCX001 之母芋形狀、芽眼色及肉色與其他收集系不同外，其他性狀無法以肉眼區分。由於球莖性狀易受栽培及生長環境影響，生育後期逢遇颱風吹襲，地下部在調查期間已呈腐爛現象，定量性狀之變化差異極大，故僅以其中 39 項地上部性狀及地下部之定性性狀進行 13 個收集系之群叢分析。

由表二可知 13 個收集系之相似度分佈在 0.64~0.97，於圖中可分為 3 群，但因第一與

第二群於定質性狀上無差異，其分群可能是定量性狀上之差異結果。然有些外表性狀之表現與評估易受環境及生長期之限制(陳，1993)，欲用來作為品種鑑別形態特性須是具高度遺傳且不受株齡影響者(Bradbury *et al.*, 1988)，故對於田間管理粗放之種原，須佐以更詳盡的分析方法作為輔助。

於獲選之 29 個多型性引子中，除 OP-B13 可於 KCX008、009 及 010 產生多型性條帶外，其他引子產生之多型性條帶皆表現於 KCX001 及 002，平均每引子產生的條帶數與 Schnell 等人(1999)得到的平均 5.7 條類似。進行群叢分析之結果，除外觀形態特殊之 KCX002 以其他收集系之遺傳相似度最遠(0.65)外，引自烏拉圭之 KCX001 也以 0.86 之較低相似度獨立成群。其他自台灣各地取得之收集系，相似度高達 0.99，可視為基因型上發生重複情形，可能是由於 *Xanthosoma* 非台灣主要之食用屬，栽培量較少而不易發生變異，且較少有人為選育的進行。

本研究中遺傳相似僅 0.65 之 KCX002，於葉片、葉脈及葉柄均呈紫色，在分類上可能屬於 *Xanthosoma violeceum* Schott。Schnell 等人(1999)以 7 個多型性引子對 18 個屬內收集系進行 RAPD 分析的結果，分類上為 *Xanthosoma caracu* Kock and Bouche 和 *Xanthosoma violeceum* Schott 的收集系之相似度為 0.87，其值較低的原因可能是所使用的引子數太少。該實驗中其中收集系經分析之結果皆顯示屬內的高遺傳相似度，其中 15 個栽培種在被分成 3 群後，相似度為 1.00，其推測 *Xanthosoma* 因花器有雌蕊先熟之特性而嚴重影響結籽率及基因型之變異，但因乃非洲地區之重要糧食，於人民的遷徙過程中在不同環境下被賦以新名而發生同物異名的情況。由本研究結果可知，除受測之收集系有重複收集之可能性，本實驗使用之性狀仍可將不同表現型之收集系進行初步分群。

參 考 文 獻

- 王昭月、莊耿彰、范明仁。2001。以 ISSR 與 RAPD 分子標誌分析火鶴花栽培種間遺傳相似性。中華農業研究 50(1):54-67。
- 胡昌熾。1971。園藝植物分類學。台灣中華書局 p.417-418。
- 黃賢喜、韓青梅。1994。芋。雜糧作物各論 III 根及莖類。財團法人台灣區雜糧發展基金會。台北。p.1665-1735。
- 陳榮芳。1993。種苗品種純度鑑定技術。園藝種苗產銷技術研討會專集 II p.45-58。
- 郭寶萇、耿宣、P. N. Avadhani。1996。天南星科。常見蔬菜手冊 p.14-17。符淑秋編輯。新加坡科學館。
- Bradbury, J. H. and W. D. Holloway. 1988. Chemistry of tropical root crops: significance for nutrition and agriculture in the Pacific. Australian Centre for International Agriculture Research, Canberra.

- Dunn, G. 1982. A introduction to mathematical taxonmy. Cambrige Uiniversity Press.
- Greene, S. L. and G. A. Pederson. 1996. Eliminating duplicates in germplasm collections: a white clover example. *Crop Sci.* 36: 1398-1400
- IPGRI. 1999. Descriptors for Taro (*Colocasia esculenta*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Irwin, S. V., P. Kaufusi, K. Banks, R. de la Peña and J. J. Cho. 1998. Molecular characterization of taro (*Colocasia esculenta*) using RAPD markers. *Euphytica* 99: 183-189.
- Junghans, H. and M. Metzloff. 1990. A simple and rapid method for the preparation of total plant DNA. *Bio. Techniques.* 8: 176-182.
- O' Hair, S. K. and M. P. Asokan. 1986. Edible aroids: botany and horticulture. *Horticultural reviews* 8:43-99.
- Sakai, W. S. 1979. Aroid root crops, acidity and raphides. In: *Tropical foods: chemistry and nutrition*. Vol. 1. p. 265-278. Academic Press. Inc. New York.
- Schnell, R. J., R. Goenaga, and C. T. Olano. 1999. Genetic similarities among cocoyam cultivars based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Sci. Hort.* 80: 267-276.
- Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal. 1973. *Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. W. H. Freeman and Co., San Francisco. CA.
- Welsh, J. and M. McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Res.* 18: 7213-7218.
- Wilde, J., R. Waugh, and W. Powell. 1992. Genetic fingerprinting of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 83(6/7): 871-877.
- Williams, J. G. K., A. G. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Fafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acid Res.* 18: 6531-6535.

Genetic Diversity in *Xanthosoma* Based on Morphological Traits, RAPD and SSR

See-Min Tee ¹⁾ Yu-Sung ²⁾

Key words: *Xanthosoma*, germplasm, RAPD, genetic diversity

Summary

The genetic diversity of 14 *Xanthosoma* accessions were evaluated by morphological traits and RAPD (randomly amplified polymorphic DNA). The morphologies among accessions were indistinguishable except colors of leaf blades, leaf centre, leaf veins, petioles corm shape, colors of buds and flesh of KCX001 and 002 accessions. The KCX002 accession was lost during plantation. The rest were clustered into 3 groups by UPGMA cluster analysis with genetic similarity 0.70~0.87. KCX001 was the only accessions in 3rd group with similarity 0.70. The 2nd group included KCX003, 005,006,007 and 013 with similarity 0.79. The 1st group included other 7 accessions with similarity 0.87.

Twenty-nine out of 88 primers that amplified reproducible polymorphic band were selected for RAPD analysis. The polymorphism was 42.3% with an average of 2.8 polymorphic bands per primer. The cluster analysis result 3 groups with KCX002 comprised the first with genetic similarity 0.64. KCX001 was the only accessions in 3rd group. The other accessions had high genetic similarity values of 0.99 and comprise 3rd the 2nd group. The result reflected that many of the *Xanthosoma* accessions in this study were actually duplicates.

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

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

PEG 水分逆境處理對`奇雅`辣椒植株、果實生長 及果實辣味成分之影響

丁妮倫¹⁾ 宋好²⁾

關鍵字：番椒、PEG、水分逆境、辣味

摘要：`奇雅`辣椒植株以盆栽方式進行 PEG 缺水處理，2%及 4% PEG 處理之植株重量減少、葉綠素含量低及葉片水分潛勢下降，果實長寬比低且果實鮮重輕。2% PEG 處理顯著增加果實單位乾重辣椒素及二氫辣椒素。`奇雅`辣椒種植於水耕養液中，於果實生長期間開花後 35、40 及 45 天以 0.5% PEG 水分逆境處理，PEG 處理時間愈久果實愈小且重量愈輕，PEG 處理之胎座比例差異不顯著，開花後 45 天果實胎座之 C4H 活性及 capsaicin 含量最高，但與對照組差異不顯著。

前 言

番椒(*Capsicum annuum* L.)為茄科(Solanaceae)番椒屬(*Capsicum*)一年或多年生作物，原產地分布於中美洲墨西哥及南美洲祕魯(韓，1991)。於番椒屬中主要栽培種有五種，目前於台灣栽培具有經濟價值的番椒大部分屬 *C. annuum*，依辣味表現可分為甜椒與辣椒(洪和陳，1988; 韓，1991; Bosland and Votava, 2000)。辣椒在許多國家為重要作物，2004 年辣椒於全世界產量高達 2367 萬公噸，亞洲地區之產量為 1544 萬公噸，約佔全球 65 % (FAO, 2004)。辣椒果實具獨特辛辣香味，可供市場新鮮消費、藥用及觀賞用，尚可將其烘乾磨粉或加工製醬以供調味，增添食物之風味、顏色及維生素 A、C(蔡，1976; 李，1992)。辣椒果實辣味主要由 capsaicinoids 組成，果實內辣味程度於 1979 年合成過程即被研究，辣味含量高低受遺傳因子與外在環境因子如溫度、水分、日照及氮肥濃度等影響，因此辣椒辣味表現不穩定(Johnson *et al.*, 1996; Iwai *et al.*, 1979)。辣味與環境間相互關係已被探討

1) 國立中興大學園藝學系碩士研究生。

2) 國立中興大學園藝學教授，通訊作者。

多年，瞭解影響辣味之環境條件及影響程度，對於辣椒辣味品質之促進更有幫助。辣味生合成途徑中參與反應之酵素如 PAL(phenylalanine ammonia lyase)活性受逆境誘導之現象早已被證實(Dixon and Paiva, 1995)，C4H(cinnamic acid-4-hydroxylase)與環境之關係也開始被探討。

水分為構成植物體主要成分之一，植物體內物質之運移、生理及生化反應皆於水溶液中進行，因此植物缺乏水分將影響植株之生長及發育(Taiz and Zeiger, 2002)。果實中的辣味程度可受缺水逆境所影響，在缺水逆境下果實內的 capsaicin 及 dihydrocapsaicin 含量皆較對照組者高(Estrada *et al.*, 1999; 張, 2002)。本試驗利用 PEG 處理辣椒植株，使植株及果實生長處於缺水狀態，觀察短期缺水處理對辣椒植株生長、果實生長及辣椒素含量與其生合成相關酵素之活性。

材 料 與 方 法

一、2%及 4% PEG 水分處理對辣椒植株、果實生長及果實辣味之影響

(一)育苗及定植

以「奇雅」(Hungariana)辣椒品種為試驗材料(生生種子公司)。將種子裝在網袋中，置於自來水下以流水浸種一個晚上，取出種子播於 72 格的穴盤進行育苗，所用的栽培介質為泥炭苔：珍珠石：蛭石=2：0.5：1。約每天澆水一次，保持介質溼潤，隔 3-4 天施 1,000 倍葉綠精(N:P:K=3:2:3，獅馬牌)二次。約四週後，將五片本葉之苗定植於六吋紅色塑膠盆中，以砂：發泡煉石=1:1(v/v)為栽培介質。

(二)水分處理

植株出現第一分岔，開第一朵花後，將花苞摘除，開始進行水分處理，盆外放置一方形塑膠盒(長 24 cm × 寬 15 cm × 高 8 cm)，於 1 L Hoagland 養液(Epstein, 1972)中分別加入 20 g 及 40 g PEG 6000，調配成 2% 及 4% PEG 養液溶液作為缺水處理，以不添加 PEG 6000 之 Hoagland 養液為對照組。盒中每天添加養液，保持盒中有 500 ml 養液，每二星期重新更換全部養液，植株長到第 7 分叉時將生長點摘除。試驗於 2003 年 7 月，於中興大學園藝學系溫室內進行，試驗採完全隨機設計(Complete Randomized Design; CRD)，每處理三株，三重覆。

(三)植株生育性狀調查

於第六節果實完全採收後，分別測量下列項目，每處理調查三株，三重覆：

1. 莖基部至第一分叉之距離：植株莖第一分叉與介質表面之距離(cm)。
2. 莖直徑：第一分叉下方之莖徑(mm)。
3. 地上部鮮乾重：將植株自基部切離，秤取地上部鮮重(g)。將地上部裝入牛皮紙袋，置於 70 °C 之烘箱 48 小時後秤乾重(g)。

4. 地下部鮮乾重：洗淨根系並以紙巾拭乾表面水分，秤取地下部鮮重(g)。將地下部裝入牛皮紙袋，置於 70 °C 之烘箱 48 小時後秤乾重(g)。

5. 地下部鮮重/地上部鮮重比。

(四) 葉綠素含量

依 Zhang 與 Kirkham(1996)方式測定，取新鮮成熟葉片 0.4 克加入 8 ml 之 80 % acetone 與少量海砂研磨，置於 30 ml 離心管中以 2,700 xg 離心 10 分鐘，稀釋 4 倍後取其上清液分別測定 663.2 nm、646.8 nm 及 470 nm 之吸光值。以 80 % acetone 為空白組及清洗液，每處理三株，每株取三葉片，三重覆。葉綠素 a 及葉綠素 b 之含量計算公式如下：

葉綠素 a： $Cha=12.25 \times A_{663.2} - 2.79 \times A_{646.8}$

葉綠素 b： $Chb=21.5 \times A_{646.8} - 5.1 \times A_{663.2}$

(五) 葉片水分潛勢(leaf water potential (LWP), ϕ)

參考 Kameli 等(1995)及金(1995)的水勢測定法以 dew point hydrometer/ psychrometer (Wescor Co.) 測定葉片水分潛勢。方法為以打孔器取二片葉圓片置於樣品槽內(Wescor C-52 sample chamber)內，平衡一小時後利用露點微電壓計(dew point microvoltmeter, Wescor HR-33T)，測定露點之微電壓(μV)及樣品槽之溫度。

所測得之電壓計讀值需經溫度校正

corrected $\mu V = \mu V \text{ reading} / (0.325 + 0.027 \times T)$ ，T= 樣品槽溫度(°C)

(六) 果實生育性狀調查

採收開花後 40 天之綠熟果實，每處理調查三株，每株三果，三重覆。調查項目如下：

1. 果長：由果萼至果頂之長度(cm)。
2. 果寬：果萼下方果實之最大寬度(cm)。
3. 果實鮮重及乾重：新鮮採收果實稱重所得之重量為鮮重(g)，經 70°C 烘乾 2 天後，所測得重量為乾重(g)。
4. 胎座重量及其於果實中之重量百分比：將新鮮辣椒果實行縱切，取出胎座部位秤取鮮重(g)，並計算其於果實鮮重中之重量百分比，去除胎座、種子與果梗後之果實部位稱為果皮。

(七) 果實辣味成分測定

1. Capsaicin 及 dihydrocapsaicin 之萃取

將採收辣椒果實置於烘箱中 2-5 天完全烘乾後磨粉過篩，取 0.04 克樣品粉末，加入 1 ml 丙酮於密封瓶中，以 250 rpm 於室溫下搖動 4 小時後，用孔隙 0.45 μm 直徑 13 mm PVDF(polyvinylidene fluoride)之 millipore 過濾，澄清液置於 2 ml 小瓶中，取 10 μl 供 HPLC 分析 capsaicinoid(capsaicin 及 dihydrocapsaicin)。每處理三株，三重覆(Tsou *et al.*, 1997)。

2. Capsaicin 及 dihydrocapsaicin 之定量分析

HPLC 分析方法以 HITACHI Autosample L-7200 每樣品吸取 10 μl 注入 Intelligent Pump (HITACHI L-6200)中，經一 RP-18 column (MERCK Lichrosorb)，置 guard column 於其前

方，其後以紫外光接受器(HITACHI UV-VIS Detector L-7420)測定 229 nm 下之吸光值，以 Chromato-Integrator (HITACHI D-2500)記錄。

以甲醇(merck):去離子水= 65:35(v/v)混合均勻，經孔隙 0.45 μm (Whatman filter, No. 41)過濾後作為流動相，流速 1.0 ml/min，每樣品流動時間為 30 分鐘。

Capsaicin (M2028, Sigma)與 dihydrocapsaicin(M1022, Sigma)溶於 100% 乙醇中，分別以 50 ppm 與 100 ppm 為標準溶液，約經 6.83 分鐘可得 capsaicin，9.88 分鐘則為 dihydrocapsaicin 之波峰出現，測量及比較波峰之高度計算樣品中 capsaicin 與 dihydrocapsaicin 含量(AVRDC, 1989)。

二、果實生長時期 PEG 水分逆境處理對辣椒果實生長、辣椒素含量及相關酵素之影響

(一)育苗及定植

以`奇雅`辣椒品種為試驗材料，育苗方法同實驗一。將五片本葉之苗定植於 3.5 L 水耕筒，添加約 3 L 之 Hoagland 養液，以馬達給予打氣處理，覆蓋 3 公分厚保麗龍板，黑色塑膠布包裹於桶外，避免陽光照射。

(二)水分處理

植株於第四節及第五節分叉花朵開花後 35、40 及 45 天分別開始進行水分處理，採收 50 天果實，即分別處理 15、10 及 5 天。以 0.5 % PEG 6000 養液溶液作為缺水處理，以不添加 PEG 6000 為對照組。試驗於 2004 年 1 月於中興大學園藝學系溫室內進行，試驗採完全隨機設計(Complete Randomized Design; CRD)，每處理三株，三重覆。

(三)果實生育性狀調查

調查開花後 50 天果實，每處理調查三果，三重覆，調查項目同試驗一。

(四)果實胎座中辣椒素及其相關酵素活性測定

1. Capsaicin 之萃取及定量分析：取胎座部位，方法同試驗一。

2. Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)活性

萃取：新鮮採收之辣椒果實，取 0.5 克胎座，置於研鉢中，加入 3 ml 萃取液(50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.8, 1 mM EDTA, 15 mM β -mercaptoethanol, 50 mM ascorbic acid)於 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰浴中研磨均勻，倒入離心管，4 $^{\circ}\text{C}$ 下以 20,000 g 離心 30 分鐘。取上清液以萃取液定量至 5 ml(Ochoa-Alejo and Salgado-Garciglia, 1992)，每處理三株各取一果，三重覆。

分析：取 0.1 ml 萃取液與 1 ml 100 mM Tris-HCl buffer (pH 8.8)、0.5 ml 10 mM L-phenylalanine (Sigma)及 0.4 ml 去離子水混合，於 37 $^{\circ}\text{C}$ 生長箱中反應 1 小時後加入 0.5 ml 6 M HCl 溶液結束反應。此酸性混合液加入 7.5 ml diethylether 後，經 20 $^{\circ}\text{C}$ 恆溫真空乾燥機乾燥，將殘餘之萃取液以 3 ml 50 mM NaOH 溶解後測其 290 nm 波長之吸光值，cinnamic acid 溶液為標準曲線計算產物量。以 HCl 溶液取代萃取液為空白組。

3. Cinnamic acid-4-hydroxylase(C4H)活性之測定

萃取：新鮮採收之辣椒果實，取 0.5 克胎座，於 4 $^{\circ}\text{C}$ 中以液態氮研磨均勻，添加 6 ml 100 mM Tris-HCl buffer, pH7.5 均勻溶解，以 4 $^{\circ}\text{C}$ 12,850 xg，離心 20 分鐘(Ochoa-Alejo and

Gómez-Peralta, 1993), 每處理三株各取一果, 三重覆。

分析: 取 0.5 ml 上清液與 1.5 ml 100 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5)、0.05 ml 20 mM D-glucose-6-phosphate、0.05 ml 12 mM β -mercaptoethanol、0.05 ml 8 mM cinnamic acid、0.05 ml 8 mM NADP、0.05 ml D-glucose 6-phosphate dehydrogenase (1000 units/12.5 ml)加入石英管, 利用分光光度計(UV-1201, SHIMADZU)以 time-course 的方式測量 340 nm 波長下 15 分鐘的吸光值變化。

4. Capsaicinoid synthetase(CS)活性

萃取: 新鮮採收之辣椒果實, 取 0.5 克胎座, 以液態氮研磨後, 添加 6 ml 100 mM Tris-HCl(pH 6.8), 之後以 12,850 \times g, 於 4 °C 離心 30 分鐘, 每處理三株各取一果, 三重覆。

分析: 取 0.3 ml 上清液、0.1 ml 0.4 M Tris-HCl(pH6.8)、10 μ l 0.2 M vanillyanine、5 μ l 40 mM ATP、5 μ l 40 mM $MgCl_2$ 、5 μ l 40 mM 8-methyl-6-nonenic acid 混合, 37 °C 下反應一個小時, 添加 0.1 ml 1M HCl 終止反應, 再加 0.5 ml chloroform 放置 50 °C 下真空乾燥到只剩粉末, 再添加 1 ml acetone 震盪 1 小時後, 用孔隙 0.45 μ m 直徑 13 mm PVDF(polyvinylidene fluoride)之 millipore 過濾, 澄清液置於 2 ml 小瓶中, 封上石蠟膜, 取 10 μ l 供 HPLC 分析 capsaicin(Ochoa-Alejo and Gómez-Peralta, 1993)。每處理三株各取一果, 三重覆。

5. Peroxidase 活性

萃取: 新鮮採收之辣椒果實, 取 0.5 克胎座, 加入 -20 °C 預冷的 acetone 5 ml, 以研鉢磨勻, 將濾紙(Whatman filter No. 40)置於漏斗篩中利用真空抽氣加速過濾, 並以 -20 °C 之 acetone 淋洗濾紙去除樣品色素。持續抽氣乾燥去除殘留於樣品中之 acetone, 將濾紙上殘留物以 2.5 ml 萃取液(50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1 M KCl)均勻溶解, 於 4 °C 低溫環境下振盪, 1 小時後以 10,000 \times g 離心 30 分鐘, 每處理三果, 三重覆。

分析: 取 100 μ l 上清液, 加入總體積 2.9 ml (0.6 ml 5 mM capsaicin、0.3 ml 1 mM H_2O_2 、2 ml 0.15 M Tris-acetate pH 6.0)之反應溶液, 反應 15 分鐘後測定 262 nm 下吸光值之變化, 以不含 H_2O_2 者為空白組, 校正之(Bernal *et al.*, 1995)。所測得吸光值以 $E_{262}/5.3 \times 10^{-3}$ 計算生成產物含量(mmole)。

(五)統計分析: 調查所得數據採用 SAS 套裝軟體(SAS Inst., Inc., Cary, N.C.)中之 ANOVA(analysis of variance)進行變方分析, 其平均值以鄧肯氏多變域分析(Duncan's Multiple Range Test)進行其差異顯著性(P=0.05)。

結 果

一、2%及 4% PEG 全期水分逆境處理對`奇雅`辣椒植株、果實生長及果實辣味之影響

(一)、植株之生長情形

`奇雅`辣椒分別以 2%及 4% PEG 處理, 各處理間植株之營養生長情形如表 1 所示, 其主

莖長於處理間無顯著差異，莖徑最粗者為對照組，分別比2%及4% PEG處理顯著寬6.03mm及6.58mm。對照組之地上部鮮重、根部鮮重、地上部乾重及根部鮮重比2%及4% PEG處理重，植株地下部/地上部鮮重比最高為2% PEG處理者，與對照組及4% PEG處理間差異顯著，於2%及4% PEG處理地上部鮮重分別比對照組少177.54g及180.39g，根部鮮重分別少30.89g及35.18g，地上部乾重分別少36.45g及37.04g，根部鮮重則分別少7.7g及8.26g。`奇雅`植株地下部/地上部鮮重比最高為2% PEG處理與對照組及4% PEG處理皆有顯著性差異，分別增加0.11及0.14。

PEG水分處理對`奇雅`辣椒葉片葉綠素含量及水分潛勢的影響(表2)，葉片葉綠素a以對照組者含量為最高，與PEG4%水分處理者則有顯著性差異，與2%PEG水分處理者則差異不顯著。對照組之葉綠素b、總葉綠素含量與葉片水分潛勢為最高，2%PEG水分處理者次之，表現量最低的為PEG4%水分處理者，且於處理間呈顯著差異。

(二)、果實之生長情形

水分處理下開花後40天果實性狀如表3所示，對照組落花率為52%，顯著低於PEG2%及PEG4%水分處理者，其分別為85%及90%。果實性狀除胎座比例外對照組者皆顯著較PEG水分處理者高，二水分處理間則無顯著差異。以對照組之果長分別比PEG2%及4%二處理長6.6cm及5.93cm，果寬則分別寬0.43cm及0.58cm。而果長/果寬值最高的為對照組，PEG4%水分處理者次之，PEG2%水分處理者最低，分別比對照組少1.71及1.18，果實鮮重二處理分別比對照組少18.7g及21.21g，果皮鮮重分別少16.11g及18.2g，

表1. `奇雅`辣椒植株於PEG2%及4%水分逆境處理下之生長情形

Table 1. The plant growth of the `Hungariana` pepper plants grown under 2% and 4% PEG treatments.

PEG 處理	主莖長	莖徑	地上部 鮮重	地下部 鮮重	地上部 乾重	地下部 乾重	地下部鮮重/ 地上部鮮重
PEG treatment (%)	stem length (cm)	stem diameter (mm)	fresh wt. of shoot (g/plant)	fresh wt. of root (g/plant)	dry wt. of shoot (g/plant)	dry wt. of root (g/plant)	root fresh weight / shoot fresh weight
Control	23.0a ^z	13.05a	203a	38.76a	41.50a	9.43a	0.19b
2	23.4a	7.02b	26b	7.87b	5.05b	1.73b	0.30a
4	25.0a	6.47b	23b	3.58b	4.46b	1.17b	0.16b

^zMeans in each column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 2. `奇雅` 辣椒植株於 2% 及 4% PEG 水分逆境處理下對葉片葉綠素含量及水分潛勢的影響

Table 2. The leaf chlorophyll content and water potential of the `Hungariana` pepper plants grown under 2% and 4% PEG treatments.

PEG 處理 PEG treatment (%)	葉綠素 a Chlorophyll a (mg/ leaf g FW)	葉綠素 b Chlorophyll b (mg/ leaf g FW)	總葉綠素 Total Chlorophyll (mg/ leaf g FW)	水分潛勢 water potential (MPa)
Control	11.43a ^z	8.11a	19.54a	-0.50a
2	9.01a	4.57b	13.58b	-0.76b
4	5.48b	2.65c	8.13c	-0.87c

^z Means in each column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 3. `奇雅` 辣椒植株於 PEG 2% 及 4% 水分逆境處理下開花後 40 天果實之生長情形

Table 3. The fruit growth of the `Hungariana` pepper plants grown under 2% and 4% PEG treatments after flowering 40 days.

PEG 處理 PEG treatment (%)	落花率 rate of abortion flowers (%)	果長 fruit length (cm)	果寬 fruit width (cm)	果長/ 果寬 fruit length/ width	果實 鮮重 wt. of fruit (g)	果皮 鮮重 wt. of pericarp (g)	胎座 鮮重 wt. of placenta (g)	胎座 比例 ^y ratio of placenta (%)
Control	52.0b ^z	16.03a	2.98a	5.43a	38.87a	33.51a	2.31a	5.86a
2	85.0a	9.43b	2.55b	3.72b	20.17b	17.40b	1.22b	6.00a
4	90.0a	10.10b	2.40b	4.25b	17.66b	15.31b	0.88b	4.91a

^z Means in each column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

^y (胎座鮮重/果實鮮重)×100%

胎座鮮重則分別低 1.09g 及 1.43g。胎座比例則以 PEG 2% 水分處理者最高，但與 4% 水分處理及對照組間無顯著性差異。

(三)、果實辣味成分之變化

開花後 40 天果實之辣味如表 4，果實之 capsaicin、dihydrocapsaicin、total capsaicinoids 含量及 SHU 表現以對照組及 PEG 4% 水分處理者較低，二者無顯著差異，PEG 2% 水分處理者含量則顯著最高。Capsaicin 含量於 PEG 2% 水分處理者分別比對照組及 PEG 4% 水分處理者高出 0.62mg 及 0.26mg，dihydrocapsaicin 含量分別多 0.82mg 及 0.23mg，單位重量 total capsaicinoids 含量則高出 1.44mg 及 0.41mg，單位重量 SHU 感官品評辣味程度分別多 23062 及 6478。全果 total capsaicinoids 及 SHU 於 PEG 4% 處理者顯著低於 PEG 2% 者，與對照組差異不顯著。

二、果實生長期間 PEG 水分逆境處理對`奇雅`辣椒果實生長、辣椒素含量及相關酵素之影響

開花後 35、40 及 45 天以 0.5% PEG 處理`奇雅`辣椒植株，開花後 50 天果實之生育情形如表 5，果長以開花後 35 天處理者顯著比對照組減少 3 cm，果寬以開花後 45 天處理者最寬，與對照組差異不顯著，果長/果寬以開花後 35 及 45 天顯著比對照組低。果實鮮重以開花後 45 天處理者顯著比開花後 35 及 40 天處理者重，與對照組差異不顯著，果皮鮮重以開花後 35 天處理者顯著比對照組及開花後 45 天處理者輕，胎座鮮重以開花後 45 天處理者顯著最重，胎座比例 PEG 處理差異不顯著。

表 4. `奇雅`辣椒植株於 2% 及 4% PEG 水分逆境處理下開花後 40 天果實之辣味

Table 4. The fruit pungency of the `Hungariana` pepper plants grown under 2% and 4% PEG treatments after flowering 40 days.

PEG 處理	辣椒素	二氫辣椒素	總辣椒素類 物質	總辣椒素類 物質	辣味 程度	辣味 程度
PEG treatment (%)	Capsaicin (mg/g DW)	Dihydrocapsaicin (mg/g DW)	Total capsaicinoids (mg/g DW)	Total capsaicinoids (mg/fruit)	SHU ^y (g/DW)	SHU (fruit)
Control	0.51b ^z	0.58b	1.09b	4.24ab	17440b	67840ab
2	1.13a	1.40a	2.53a	5.10a	40480a	81600a
4	0.87ab	1.17ab	2.12ab	3.74b	33920ab	59840b

^z Means in each column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

^y SHU=(capsaicin + dihydrocapsaicin)/g DW×16000000

表 5. `奇雅` 辣椒水耕植株於 0.5% PEG 水分逆境處理下開花後 50 天果實之生長情形
 Table 5. The fruit growth of the `Hungariana` pepper plants grown under 0.5% PEG treatments with hydroponic culture after flowering 50 days.

開花後天數	果長	果寬	果長/ 果寬	果實 鮮重	果皮 鮮重	胎座 鮮重	胎座 比例 ^y
Days after flowering	fruit length (cm)	fruit width (mm)	fruit length/ fruit width	fresh wt. of fruit (g)	fresh wt. of pericarp (g)	fresh wt. of placenta (g)	ratio of placenta (%)
Control	13.7a ^z	2.84ab	4.83a	35.2ab	29.8a	2.25b	6.48a
35	10.7b	3.01ab	3.54b	30.1b	24.2b	2.19b	7.29a
40	11.0ab	2.59b	4.32ab	30.6b	24.7ab	2.25b	7.41a
45	11.7ab	3.22a	3.63b	37.1a	29.8a	2.86a	7.68a

^y (果實胎座重/果實鮮重)×100%

^z Means in each column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

`奇雅` 辣椒植株於 0.5% PEG 水分逆境處理下，開花後 50 天果實胎座 capsaicin 含量與其合成及分解相關酵素之活性(表 6)，PAL 活性以開花後 45 天處理者顯著最低，C4H 活性以開花後 45 天處理者顯著高於開花後 35 天及 40 天處理者，與對照組差異不顯著，CS 活性以開花後 40 天處理者顯著最高，peroxidase 活性於處理間差異不顯著，capsaicin 含量以開花後 45 天處理者顯著比開花後 40 天處理者高，但與對照組沒有顯著差異。

討 論

於養液中添加 PEG，造成介質中水分潛勢下降，於本實驗 2% 及 4% PEG 使 `奇雅` 之葉片水分潛勢分別為 -0.76 MPa 及 -0.87MPa，較對照組低，可見使植株處於缺水逆境下。以養液栽培並加入 Polyethylene glycol(PEG) 進行缺水逆境處理(Krizek, 1985)，PEG 使用之優點為依添加 PEG 的含量可快速且明確的限定養液中的水分潛勢減少程度。本研究 `奇雅` 以 2% 及 4% PEG 於第一分叉花苞摘除後進行全期水分處理，地上部鮮乾重及地下部鮮乾重以對照組顯著比二濃度 PEG 處理者重，植株鮮重與對照組比較減少 87~89%。在缺水下番椒葉面積減少，使葉寬明顯較小，導致莖和葉乾物量皆比對照組顯著減少(Delfine *et al.*, 2000; Wullschleger and Oosterhuis, 1991)。

表 6. `奇雅`辣椒水耕植株於 0.5% PEG 水分逆境處理下開花後 50 天果實胎座 capsaicin 含量與其合成及分解相關酵素之活性。

Table 6. The amount of capsaicin, activity of PAL, C4H, CS and peroxidase in the placenta of the `Hungariana` pepper plants grown under 0.5% PEG treatments with hydroponic culture after flowering 50 days.

Days after flowering	PAL ^y (nmole/ min/ mg protein)	C4H	CS (mmole/ min/ mg protein)	Peroxidase	Capsaicin (mg/g DW)
Control	6.28a ^z	107ab	3.16b	48.3a	4.37ab
DAF35	6.08a	99b	3.78b	37.9a	3.62b
DAF40	6.88a	98b	7.93a	53.0a	4.57ab
DAF45	3.69b	119a	3.59b	42.7a	4.82a

^y PAL : Phenylalanine ammonia-lyase , C4H : Cinnamic acid-4-hydroxylase ,
CS : capsaicinoid synthetase

^z Means in each column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

`奇雅`之地下部與地上部鮮重比分別為 4% 及 2% PEG 處理者較對照組高，代表植株在水分吸收受到限制時，為了維持水分的吸收，會使其地下部伸長及增加根密度，以延緩乾旱的傷害，可能為適應逆境的一種機制，有學者提出其涉及荷爾蒙的控制，例如 ABA(朱,1985; Aloni *et al.*, 1991; Hoffman *et al.*, 1980; Hsiao, 1973; Watts *et al.*, 1981)。葉綠素 a、b、總葉綠素含量及葉片水分潛勢，以對照組值最高，2% PEG 處理者次之，4% PEG 處理者最低，皆隨 PEG 處理濃度上升使水分逆境程度增加而下降，推測因缺水環境下 ABA 含量增加而促使葉片老化，造成葉綠素含量明顯下降，進而影響光合作用(Bray, 1997; Leskovar *et al.*, 1992; Taiz and Zeiger, 2002)。本實驗以 4% PEG 處理者落花率最高，2% PEG 處理者次之，分別比對照組顯著高出 33%~38%。辣椒產量下降乃因植株之落花率、結果數等受水分供應影響，落花率在缺水組較對照組增加約 10 至 20%，因此結果數目相對地減少，導致植株單株產量降低(張, 2002; Delfine *et al.*, 2001; Pellitero *et al.*, 1993)。

於預備實驗中調查`奇雅`果實生長情形，果實長度、寬度、果實鮮重及胎座重量於花後 40 天至 50 天果實生長仍持續增加，果色由黃綠色轉為橘紅。本實驗`奇雅`辣椒植株於第四及第五節開花後 35、40 及 45 天進行 PEG 水分處理，50 天之辣椒果實性狀以 PEG 處理愈久影響愈大，至少處理 15 天，使果實大小及果實重量顯著減少。栽培番椒供給水量分別為全量之 40%、50%、60%、80%，於著果早期限制水分顯著使番椒果實之果皮厚度、果長及平均重量減少，連續全期的水分逆境亦顯著減少番椒果實總鮮重，唯於果實生長後

期遭受乾旱產量則不受影響(Costa and Gianquinto, 2002)。

辣味受遺傳因子及環境因子影響，本實驗中`奇雅`植株於 2% 及 4% PEG 處理下，果實內單位乾重之 capsaicin、dihydrocapsaicin 及 capsaicinoid 含量皆比對照組增加。`奇雅`果實辣味以 2% PEG 處理者顯著較對照組高，4% PEG 處理者與對照組則無顯著差異。`Padron`辣椒植株於土壤或 PEG 缺水處理，缺水處理使果實中辣味物質含量顯著較對照組者及較多的水分灌溉者增加(Estrada *et al.*, 1999)。

番椒果實內辣椒素合成途徑，以 PAL 為首要關鍵酵素。本實驗`奇雅`果實胎座中以花後 45 天 PEG 缺水處理者 PAL 活性最低，推測由於此時處理的果實中可能已經進入辣椒素後段合成過程，代謝產物的回饋抑制造成活性較低。一些研究證實 PAL 活性下降原因可能是產物的回饋抑制或 PAL 活性誘導情形下降。當 C4H 活性遭抑制時，cinnamic acid 大量累積，造成 PAL 活性的下降。直接外加 cinnamic acid 可抑制 PAL 活性、PAL 基因轉錄與誘導 PAL 蛋白質抑制者的合成(Blount *et al.*, 2000)。C4H 活性以花後 45 天 PEG 缺水處理者較高，若以低養分之 Long Ashton 養液處理可增加 C4H 活性，促使 capsaicin 生成(李, 2004)。CS 為 capsaicin 生合成最後關鍵酵素，花後 40 天 PEG 處理者 CS 活性顯著最高，於缺氮處理 40 天`麗香`果實中 CS 活性達最高後下降，以含低養分之 Long Ashton 養液處理及 6 mM 低氮處理 CS 活性較高，但處理結果不穩定(李, 2004)，推測可能 CS 活性被誘發的階段為果實發育後期且可誘發時間短。

本實驗果實胎座以花後 40 天 PEG 處理者 peroxidase 活性較高。於`麗香`及`萬家香`土壤缺水處理下果實胎座內之 peroxidase 活性比對照組低，peroxidase 活性與 capsaicin 含量呈現負相關而影響 capsaicin 於果實胎座內之含量(張, 2002)。因此推測缺水處理促 capsaicin 含量增加的原因，除生合成酵素的活性高或上升較快，peroxidase 活性較低，使 capsaicin 被分解較慢也是造成缺水處理者 capsaicin 含量較高的影響因子。本實驗結果顯示於花後 45 天 PEG 處理者水分逆境誘導 C4H 活性表現，且過氧化酵素活性較花後 40 天 PEG 處理者低，因此促使 capsaicin 累積量增加，但是由於酵素活性與對照組差異不顯著，因此其 capsaicin 含量增加不顯著。

參 考 文 獻

- 朱德民。1985。缺水與作物關係。科學農業 33(1-2): 37-43。
- 李偉立。2004。養液栽培及氮濃度對`麗香`與`奇雅`辣椒植株生長及果實辣味之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- 李碩朋。1992。辣椒栽培。花蓮區農業推廣簡訊 9(2): 9-12。
- 金淑芬。1995。大豆植株及癒傷組織對鹽分逆境之生理反應。國立中興大學植物學研究所碩士論文。
- 蔡平里。1976。番椒果實辣味成分之研究(四)番椒品質及生產之關係。中國園藝 22(1):

34-38。

- 洪進雄、陳士略編譯。1988。番椒屬之起源及其分佈。中國園藝 34(3): 168-176。
- 張玉雲。2002。水分處理對`萬家香`與`麗香`辣椒植株生育及果實辣味之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。
- 韓建國。1991。番椒的辣味(上)。食品工業 23(2): 35-43。
- Aloni, B., T. Pashkar, and L. Karni. 1991. Nitrogen supply influences carbohydrate partitioning of pepper seedling and transplant development. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(6): 995-999.
- AVRDC. 1989. Report. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan, Taiwan. (ROC). pp. 298-301.
- Bernal, M. A., A. A. Calderón, M. A. Ferrer, F. M. Cáceres, and A. R. Barcelo. 1995. Oxidation of capsaicin and capsaicin phenolic precursors by the basic peroxidase isoenzyme B6 form hot pepper. *J. Agric. Food Chem.* 43: 352-355.
- Blount, J. W., K. L. Korth, S. A. Masoud, S. Rasmussen, C. Lamb, and R. A. Dixon. 2000. Altering expression of cinnamic acid 4-hydroxylase in transgenic plants provides evidence for a feedback loop at the entry point into the phenylpropanoid pathway. *Plant Physiol.* 122:107-116.
- Bosland, P. W. and E. J. Votava. 2000. *Pepper: Vegetable and Spice Capsicums*. CABI Publishing, New York.
- Bray, E. A. 1997. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci.* 2(2): 48-54.
- Costa, L. D. and G. Gianquinto. 2002. Water stress and watertable depth influence yield, water use efficiency, and nitrogen recovery in bell pepper: lysimeter studies. *Aust. J. Agric. Res.* 53: 201-210.
- Delfine, S., F. Loreto, and A. Alvino. 2001. Drought-stress effects on physiology, growth and biomass production of rainfed and irrigated bell pepper plants in the mediterranean region. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126(3): 297-304.
- Delfine, S., F. Loreto, A. Alvino, M. Centritto, and G. Santarelli. 2000. Effects of water stress on the yield and photosynthesis of field-grown sweet pepper. *Acta Hort.* 537: 223-229.
- Epstein, E. 1972. *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*. Wiley. New York.
- Estrada, B., F. Pomar, J. Diaz, F. Merino, and M. A. Bernal. 1999. Pungency level in fruits of the Padron pepper with different water supply. *Sci. Hort.* 81: 385-396.
- FAO. 2004. FAOSTAT database result for chilies and peppers. Download from <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture> on 1/12/05.
- Hoffman, G. J., J. Shalhevet, and A. Meiri. Leaf age and salinity influence water relations of pepper leaves. 1980. *Physiol. Plant* 48: 463-469.
- Hsiao, T. C. 1973. Plant response to water stress. *Ann. Rev. Plant Chem.* 43: 2493-2498.
- Iwai, K., K. R. Lee, M. Kobashi, T. Suzuki, and S. Oka. 1978. Intracellular localization of the

- capsaicinoid-synthesizing enzyme in sweet pepper fruits. *Agric. Biol. Chem.* 42(1): 201-202.
- Iwai, K., T. Suzuki, and H. Fujiwake. 1979. Formation and accumulation of pungent principle of hot pepper fruits, capsaicin and its analogues, in *Capsicum annuum* var. *annuum* cv. *Karayatsubusa* at different growth stages after flowering. *Agric. Biol. Chem.* 43(12): 2493-2498.
- Johnson, T. S., G. A. Ravishankar, and L. V. Venkataraman. 1996. Biotransformation of ferulic acid and vanillyamine to capsaicin and vanillin in immobilized cell cultures of *Capsicum frutescens*. *Plant Cell, Tiss. Org.* 44: 117-121.
- Kameli, A. and D. M. Lösel. 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J. Plant Physiol.* 145: 363-366.
- Krizek, D. T. 1985. Methods of inducing water stress in plants. *Hort. Sci.* 20(6): 1028-1037.
- Leskovar, D. I. and D. J. Cantliffe. 1992. Pepper seedling growth response to drought stress and exogenous abscisic acid. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117(3):389-393.
- Ochoa-Alejo, N. and J. E. Gómez-Peralta. 1993. Activity of enzymes involved in capsaicin biosynthesis in callus tissue and fruits of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Plant Physiol.* 141: 147-152.
- Ochoa-Alejo, N. and R. Salgado-Garciglia. 1992. Phenylalanine ammonia-lyase activity and capsaicin-precursor compounds in ρ -fluorophenylalanine-resistant and -sensitive variant cells of chili pepper (*Capsicum annuum*). *Physiol. Plant* 85: 173-179.
- Pellitero, M., A. Pardo, A. Simón, M. L. Suso, A. Cerrolaza. 1993. Effect of irrigation regimes on yield and fruit composition of processing pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Hort.* 335: 257-263.
- SAS Institute. 1996. SAS software release 6.12. SAS Inst., Cary, N. C.
- Tsou, S. C. S., T. L. Hong, and T. Berke. 1997. Use of near infrared reflectance to measure capsaicinoids in pepper (*Capsicum* spp.). *Capsicum and Eggplant Newsletter* 16: 56-59.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*, 3rd ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts. pp. 726-734.
- Watts, S., J. L. Rodriguez, and S. E. Evans. 1981. Root and shoot growth of plants treated with ABA. *Ann. of Bot.* 47: 595-602.
- Wullschlegel, S. D. and D. M. Oosterhuis. 1991. Osmotic adjustment and the growth response of seven vegetable crops following water-deficit stress. *HortScience* 26(9): 1210-1212.
- Zhang, J. and M. B. Kirkham. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedling. *New Phytol.* 132: 61-373.

Influence of PEG Treatment on the Plant Growth and Fruit Pungency of `Hungariana´ Pepper (*Capsicum annuum* L. var. *annuum*)

Ni-Lun Ting ¹⁾ Yu Sung ²⁾

Key words: Pepper, PEG, water stress, pungency

Summary

`Hungariana´ pepper plants (*Capsicum annuum* L. var. *annuum*) were grown under 2% and 4% PEG treatments. The effect of water on the growth of plant and fruit, pungency content in fruits were determined under drought condition after flowering 40 days. The plants in the PEG treatment displayed less plant weight, lower chlorophyll content and less leaf water potential. The fruits in the PEG treatment displayed less fruit ratio of length to width and fruit fresh weight decrease. The fruits capsaicin and dihydrocapsaicin of dry weight were increased by PEG treatment, except 4% PEG treatment.

`Hungariana´ pepper plants were grown under hydroponic culture, using 0.5% PEG treatments after flowering 35, 40 and 45 days. The effect of water on the growth of fruit, capsaicin content and related enzymes in placenta were determined. The fruit was getting small and decreasing weight under longer PEG treatment, but placenta ratio did not significantly different under PEG treatment. The activity of C4H and capsaicin content were increased after flowing 45 days, but not significantly different compared to those of control.

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

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

朱槿之扦插和種子繁殖

丁川翊¹⁾ 朱建鏞²⁾

關鍵字：朱槿、NAA、發根、浸種、發芽

摘要：朱槿夏季扦插時以頂梢插穗的發根率較高。'Como'品種以頂梢插穗處理 NAA 粉劑濃度 2 g/kg 時最高之發根率為 77.8 %。'0112'品種發根率較差，以頂梢插穗處理 NAA 濃度 2 g/kg 時最高之發根率僅 16.7 %。'京都'品種則以頂梢插穗處理 NAA 濃度 0.5-2 g/kg 時有較高之發根率為 83.3-87.5 %。播種前種子以常溫或 50 °C 溫水浸種 15 小時處理，發芽率無顯著差異。發芽勢則以常溫浸種處理較優於 50 °C 溫水浸種處理。不同雜交組合獲得之種子，發芽率介於 27.7 % 至 44.3 % 之間。

前 言

朱槿(*Hibiscus rosa-sinensis* L.)，屬於錦葵科(Malvaceae)木槿屬(*Hibiscus*)之常綠小喬木。原生於中國、印度及太平洋島嶼。生長適溫為 10-27°C，於適合的栽培環境下可週年開花，素有「熱帶花卉之后」的美名。目前世界上已經有超過 10000 個朱槿品種(Walker, 2001)，主要栽培地為美國的加州、佛羅里達州、夏威夷州以及南太平洋的澳洲等地。最近幾年歐洲國家將朱槿培育成室內盆花作物，為一個極具發展潛力的新興熱帶花卉作物。

台灣近二十年來也引進了許多品種的朱槿，但多作為綠籬或庭園花木栽培，較少見到優良的盆花品種。花卉作物之品種大多以無性繁殖方法生產種苗。朱槿的許多大花園藝品種，因扦插成活率低常以靠接、切接或高壓的方式繁殖種苗。然前述繁殖方法生產成本較高，且植株較高大不適用於生產盆花。若要發展朱槿盆花，勢必先解決扦插成活率低的問題。此外，實生苗之獲得為雜交育種流程之重要步驟。然朱槿種子有一堅硬的外種皮且覆有絨毛，導致播種時不僅發芽率低且發芽非常不整齊，影響到育種工作之進行。本試驗即探討提高朱槿扦插和播種繁殖效率的方法，以供發展朱槿盆花產業之參考。

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教授，通訊作者。

材料與方法

一、試驗材料

試驗中所用的材料，為中興大學園藝系花卉研究室所收集，栽培於花卉研究室栽培網室之 3 個朱槿品種，其中'Como'為荷蘭 Sunny Cities 公司的盆花品種，另外'0112'是日本華金剛集團試作的品系，而'京都'則為日本已登錄之盆花品種。種子來源則是以日本華金剛集團提供的種源，經由人工雜交授粉後所得之種子。

二、試驗方法

(一)扦插試驗

於民國 91 年 7 月 13 日與 92 年 2 月 5 日，取 5-7 公分的頂梢或帶三片完全展開葉之嫩枝(包含頂梢或頂梢以下幼嫩的枝條)、半成熟枝(枝條表皮木栓化漸明顯處)及成熟枝(枝條表皮完全木栓化)的插穗。除去最下方的一片葉以及花蕾後，將插穗基部分別沾上濃度為 0.5、1、2 與 3 g/kg 之萘乙酸(α -naphthalene acetic acid, NAA)粉劑，再扦插於裝有由相同體積比之泥炭土(TKS-2，德國進口)和珍珠石(南海 4 號，南海工業股份有限公司)混和而成的無土介質之 2 吋黑色塑膠軟盆中。扦插後放置於設有天秤式自動控制的噴霧扦插床上待其發根，扦插期間所長出的花蕾皆隨時去除。

(二)播種試驗

於民國 92 年 4 月 23 日將 91 年雜交後所得到的種子，以 50°C 溫水浸種、砂紙磨傷+常溫浸種以及砂紙磨傷+50°C 溫水浸種等三種處理進行試驗，浸種時間為 15 小時。處理後的種子直接播於裝有上述介質之 144 格黑色塑膠穴盤中。

另外於民國 93 年 4 月 14 日將 92 年雜交後所得到的飽滿種子，先以 0.5 % 的次氯酸鈉 (NaOCl) 震盪消毒 10 分鐘，接著分別以常溫浸種與 50°C 溫水浸種 15 小時後，將種子播種於穴盤中。

三、調查項目

(一)扦插試驗

扦插 4 週後調查每個處理之插穗發根率，另外調查頂梢插穗之發根率。每個處理至少 6 個插穗，試驗重覆三次。

(二)播種試驗

種子萌芽後每天記錄種子發芽數，並於播種 1 個月後調查種子總發芽率。並以下列公式計算種子發芽勢(朱, 1995)，記錄時間至播種後 1 個月為止。

$$\text{發芽勢(平均天數)} = \frac{(N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_nT_n)}{\text{所有發芽的種子}}$$

(N 為發芽的種子數，T 為從播種到調查時的天數)

(三)統計分析

試驗設計採用完全隨機設計(Complete Randomized Design, CRD)，試驗結果利用 Costat 軟體以鄧肯氏多變域分析(Duncan's multiple range test)比較 5% 差異顯著性。

結 果

一、扦插試驗

於夏季(民國 91 年 7 月)進行朱槿之扦插試驗發現，不論品種或 NAA 的濃度為何，頂梢插穗發根率普遍較高，其次為不帶莖頂之嫩梢插穗，再其次為半熟枝插穗，最差的則為成熟枝插穗(表 1、表 2、表 3)。

較適合朱槿'Como'插穗發根的 NAA 粉劑濃度為 2 g/kg，其不同插穗之發根率分別為頂梢 77.8 %、嫩梢 55.6 %、半熟枝 44.4 %或成熟枝插穗的 33.3 %；其次為濃度 1 g/kg，不同插穗之發根率分別為頂梢 74.5 %、嫩梢 51.7 %、半熟枝 34.8 %或成熟枝 12.5 %，此濃度下半熟枝與成熟枝插穗之發根率有較明顯之降低；再其次為濃度 0.5 g/kg 之處理，四種插穗之發根率分別為頂梢 66.7 %、嫩梢 45.5 %、半熟枝 22.2 %或成熟枝 7.7 %；較差的為濃度 3 g/kg 之處理，發根率分別為頂梢 33.3 %、嫩梢 25 %、半熟枝 16.7 %或成熟枝 5.6 %，四種插穗在此濃度處理下發根率皆顯著降低(表 1)。

朱槿'0112'之插穗發根率較差，除了以 NAA 粉劑 2 g/kg 處理時其頂梢及嫩梢插穗發根率達 16.7 %；0.5 g/kg 處理時頂梢及嫩梢插穗發根率達 12.5 %或 11.1 %；以及以濃度 1 g/kg 處理下頂梢插穗發根率達 12.5 %之外，其他處理下之插穗發根率皆低於 10 %，且於高濃度 3 g/kg 處理下，四種插穗之發根率皆降至 0%(表 2)。

朱槿'京都'頂梢插穗以 NAA 粉劑濃度為 0.5、1 或 2 g/kg 處理其發根率皆很高，分別為 87.5 %、85.2 %或 83.3 %，以濃度 3 g/kg 處理者則發根率明顯降低為 22.2 %；嫩梢插穗發根率則稍差，以濃度為 0.5、1 或 2 g/kg 處理者之發根率分別為 44.4 %、50 %或 55.6 %，以濃度 3 g/kg 處理者發根率也明顯降低為 16.7 %；半熟枝插穗則經濃度 2 g/kg 處理者有較高之發根率 33.3 %，其次為以 1 g/kg 處理者之發根率為 20.4 %，以濃度為 0.5 g/kg 處理者則為 11.1 %，NAA 濃度提高至 3 g/kg 插穗之發根率降為 0 %。成熟枝插穗則除了以 2 g/kg 處理者有 11.1 %之發根率以外，其餘濃度處理下發根率皆為 0 % (表 3)。

另外於冬季(民國 92 年 2 月)扦插之朱槿插穗，不論品種、插穗種類與 NAA 粉劑處理濃度為何，於扦插 4 週後調查時發根率皆為 0 %，且於扦插 7 週後才觀察到少數發根之插穗，此時有超過一半之插穗已萎凋(數據未顯示)。

二、播種試驗

以民國 92 年所獲得之種子分別做 50°C 溫水浸種、磨傷 + 常溫浸種與磨傷 + 50°C 溫水

浸種三個播種前處理。由於以'京都'作為雌親之雜交組合所獲得之種子數較少，因此只進行 50°C 溫水浸種與磨傷+50°C 溫水浸種兩種處理，其中'京都'×'Como'組合之種子經兩種處理後其種子發芽率並無明顯差異，分別為 83.3 % 及 85.7 %；而'京都'×'0146'之組合只有經 50°C 溫水浸種處理才有種子發芽，發芽率為 33.3 %，磨傷+50°C 溫水浸種處理則無種子萌發(表 4)。另外'伊豆'×'Como'之組合則以磨傷+常溫浸種與磨傷+50°C 溫水浸種兩種處理的種子發芽率較高為 71.4 %，50°C 溫水浸種處理種子發芽率則只有 42.9 %。而'長崎'×

表 1. NAA 或插穗成熟度對朱槿'Como'發根率之影響

Table 1. Effect of NAA or cutting's maturity on the rooting rate of *H. rosa-sinensis* 'Como' cuttings.

NAA 濃度 NAA concentration (g/kg)	發根率(%) Rooting rate (%)			
	頂梢 ^z	嫩梢	半熟枝	成熟枝
	Top shoot	Green shoot	Semi-woody shoot	Woody shoot
0.5	66.7 b ^y A ^x	45.5 b B	22.2 c C	7.7 bc D
1	74.5 ab A	51.7 ab B	34.8 b C	12.5 b D
2	77.8 a A	55.6 a B	44.4 a BC	33.3 a C
3	33.3 c A	25.0 c AB	16.7 d BC	5.6 c C

^z 頂梢：帶頂芽之 5-7 公分插穗

嫩梢：頂梢或頂梢下帶三片完全展開葉之綠枝插穗

半熟枝：帶三片完全展開葉之表皮逐漸木栓化插穗

成熟枝：帶三片完全展開葉之表皮完全木栓化插穗

^y 同一行之小寫英文字母相同者，表示經 Duncan's 5% 水準統計分析無顯著差異性

^x 同一列之大寫英文字母相同者，表示經 Duncan's 5% 水準統計分析無顯著差異性

^z Top shoot: 5-7 cm cuttings with top shoot.

Green shoot: include top shoot or the green cuttings with three nodes.

Semi-woody shoot: semi-woody cuttings with three nodes.

Woody shoot: woody cuttings with three nodes.

^y Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5 % level.

^x Means with the same letters in a row are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5 % level.

表 2. NAA 或插穗成熟度對朱槿'0112'發根率之影響

Table 2. Effect of NAA or cutting's maturity on the rooting rate of *H. rosa-sinensis* '0112' cuttings.

NAA 濃度 NAA concentration (g/kg)	發根率(%) Rooting rate (%)			
	頂梢 ^z Top shoot	嫩梢 Green shoot	半熟枝 Semi-woody shoot	成熟枝 Woody shoot
0.5	12.5 b ^y A ^x	11.1 b A	0 b B	0 b B
1	12.5 b A	9.1 b AB	6.5 ab B	0 b C
2	16.7 a A	16.7 a A	8.3 a B	5.6 a B
3	0 c A	0 c A	0 b A	0 b A

^z、^y、^x敘述如表 1^z、^y、^x as the same as table 1.

表 3. NAA 或插穗成熟度對朱槿'京都'發根率之影響

Table 3. Effect of NAA or cutting's maturity on the rooting rate of *H. rosa-sinensis* '京都' cuttings.

NAA 濃度 NAA concentration (g/kg)	發根率(%) Rooting rate (%)			
	頂梢 ^z Top shoot	嫩梢 Green shoot	半熟枝 Semi-woody shoot	成熟枝 Woody shoot
0.5	87.5 a ^y A ^x	44.4 b B	11.1 c C	0 b D
1	85.2 a A	50.0 ab B	20.4 b C	0 b D
2	83.3 a A	55.6 a B	33.3 a C	11.1 a D
3	22.2 b A	16.7 c B	0 d C	0 b C

^z、^y、^x敘述如表 1^z、^y、^x as the same as table 1.

表 4. 種子處理對發芽率之影響(92 年獲得之種子)

Table 4. Effect of treatment on the seed (harvested in 2003) germination.

雜交組合 Cross combination	發芽率(%) Germination rate (%)		
	50°C 溫水浸種 50°C soaking	磨傷+常溫浸種 Rubbing and soaking	磨傷+50°C 溫水浸種 Rubbing and 50°C soaking
	'京都' × 'Como'	83.3 (5/6) ^z	— ^y
'京都' × '0146'	33.3 (1/3)	—	0 (0/4)
'伊豆' × 'Como'	42.9 (3/7)	71.4 (5/7)	71.4 (5/7)
'長崎' × 'Como'	6.7 (1/15)	85.7 (6/7)	17.6 (3/17)

^z 括號裡的數字分別表示發芽及播種種子數

^y—表示未處理

^z The number in parenthesis means the numbers of germinant and sowed seeds.

^y—means no treatment.

'Como'組合之種子發芽率則明顯以磨傷+常溫浸種處理者較高為 85.7%，磨傷+50°C 溫水浸種與 50°C 溫水浸種處理則種子發芽率分別只有 17.6% 及 6.7% (表 4)。

民國 93 所獲得之種子，僅分別進行常溫浸種與 50°C 溫水浸種兩種處理。種子最快於播種 5 天後長出胚根，第 7 天子葉伸出，第 9 天子葉完全展開，至第 14 天時第一片本葉長出。調查結果顯示'京都' × 'Cadace'、'京都' × 'Como'與'京都' × '0112'三種雜交組合之種子經兩種處理後，以常溫浸種處理之發芽率與 50°C 溫水浸種者並無顯著之差異，發芽率分別為 42.1% 與 44.3%，27.7% 與 29.7%，以及 34.4% 與 37.8% (表 5)。另外調查此三個雜交組合在不同處理下之種子發芽勢，發現朱槿種子之發芽勢非常不整齊，種子發芽時間差異性很大。其中'京都' × 'Como'雜交組合的種子於常溫浸種處理下之發芽勢為 16.4 天，顯著少於經 50°C 溫水浸種處理的 19.6 天。其餘 2 種雜交組合的種子，經兩不同浸種溫度處理後並未有顯著差異(表 5)。

表 5. 浸種溫度對種子發芽率之影響(93 年獲得之種子)

Table 5. Effect of different soaking temperature on the seed (harvested in 2004) germination.

雜交組合 Cross combination	發芽率(%) Germination rate (%)		發芽勢(天) Germination strength (day)	
	常溫浸種 Soaking	50°C 溫水浸種 50°C soaking	常溫浸種 Soaking	50°C 溫水浸種 50°C soaking
	'京都' × 'Cadace'	42.1 a ^z	44.3 a	17.3 a
'京都' × 'Como'	27.7 a	29.7 a	16.4 b	19.6 a
'京都' × '0112'	34.4 a	37.8 a	15.2 a	14.8 a

^z 同一列之小寫英文字母相同者，表示經 Duncan's 5% 水準統計分析無顯著差異性

^z Means with the same letters in a row are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

討 論

不定根之形成可分為根原體誘導分化期、根原體分化期與新根出現及發育期等三個階段(黃, 1990; Nemeth, 1986)。前兩個階段被認為是插穗對植物生長素較敏感階段，也是誘導發根之有效時期(Mohammed and Eriken, 1974)；而第三階段又稱為根之伸長期，外加植物生長素不僅沒有促進之效果，反而會抑制根之伸長，或使插穗基部產生癒傷組織，降低插穗之發根能力(Nemeth, 1986)。插穗若處理植物生長素之時間太久或處理濃度太高，會導致插穗的根和新梢相互競爭養分，或形成抑制物質阻礙根之發育(Barghchi and Derson, 1983)。此外植物因種類、品種之不同，扦插時所適用之植物生長素(auxin)種類和濃度也會有差異(Hartmann *et al.*, 1990)。

Moe(1973)指出低溫會使組織細胞分裂降低，並發現'Roswytha'品種玫瑰在低溫時根部發育狀況比高溫時差。另有報告指出插穗之發根能力與插穗內碳水化合物的含量有關(Reuveni and Adato, 1974; Van de Pol and Breukellar, 1982)。Hambrick 等人(1991)於玫瑰扦插的試驗中發現，插穗之發根率與插穗內之糖類及澱粉含量成正相關，與氮素(nitrogen)則成負相關。本試驗在冬季扦插期間，氣溫低且日照量普遍偏低，造成採穗母株及扦插時葉片之光合能力降低，導致澱粉及糖類蓄積不足，使插穗之發根能力降低(數據未顯示)。而夏季溫度較高且日照充足，故發根率較高。

扦插時插穗節位通常也會影響發根率。例如山茶花以枝條中段的插穗發根率最好(陳

等人, 1993)。又鵝掌藤則是以靠近枝條基部的插穗發根率較佳(Hansen, 1986)。常春藤(Poulsen and Andersen, 1980)、藍莓(Lyrene, 1981)或薜荔(Davies *et al.*, 1982)等作物, 則以植株幼年部位的插穗發根能力較好。本試驗中朱槿的三個品種以'Como'及'8106'的發根能力較好, 最佳發根率分別為 77.8 % (表 1)與 87.5 % (表 3); '0112'發根能力則較差, 最佳發根率為 16.7 % (表 2)。朱槿'Como'品種扦插時以頂梢插穗處理 NAA 2 g/kg 之發根率達 77.8 % 最佳, 其次同樣為頂梢插穗以 NAA 濃度 1 g/kg 處理者發根率達 74.5 % (表 1); '0112'品種扦插時以頂梢插穗處理 NAA 濃度 2 g/kg 之發根率最佳可達 16.7 %, 其次同樣為頂梢插穗以 NAA 濃度 0.5-1 g/kg 處理者發根率達 12.5 % (表 2)。「京都」品種扦插時以頂梢插穗處理 NAA 濃度 0.5-2 g/kg 皆可獲得最佳之發根率達 83.3-87.5 %, 其次為嫩梢插穗以 NAA 濃度 2 g/kg 處理者發根率達 55.6 % (表 3)。以扦插發根率最佳之'8106'品種為例, 可發現頂梢插穗之發根能力明顯高於一般常用之半熟枝插穗, 其餘兩個品種也有相同之情形。此結果顯示, 目前商業上以半熟枝插穗作為朱槿扦插繁殖之生產方式, 實有待進一步的修正與釐清。此外, 不論品種為何當 NAA 粉劑濃度提高至 3 g/kg 時, 反而會抑制根之伸長, 減低插穗之發根率。

種子休眠(dormancy)主要可分成外在及內在休眠二類。外在休眠是指由胚外因子所引起之休眠, 包括不透水之種皮、果實限制胚根生長、果實上有抑制種子發芽之物質; 內在休眠則是由胚本身所引起之休眠, 包括胚發育不完全、種子未完成後熟、胚內抑制物質、以及上胚軸休眠等。朱槿之種子有一堅硬的外種皮, 且種皮外附有許多絨毛影響水分之吸收, 若無任何處理直接播種則幾乎不發芽(數據未顯示), 推測朱槿之種子可能為種皮不透水所引起之休眠。利用砂紙去除絨毛或磨傷種皮, 可促進種子之吸水及透氣性, 提高種子發芽率。然不同雜交組合所獲得之種子, 其播種前處理對種子之發芽率也有不同之差異。「京都」×'Como'組合之種子不論是否進行砂紙磨傷處理, 於 50°C 溫水浸種下皆有很高之發芽率達 83.5-85.7 %; 而'伊豆'×'Como'及'長崎'×'Como'兩種雜交組合之種子則需經過砂紙磨傷配合一般浸種處理, 才会有較佳之發芽率分別為 71.4 % 與 85.7 %; 另外'京都'×'0146'組合之種子則在 50°C 溫水浸種處理下有最佳之發芽率 33.3 %, 砂紙磨傷處理反而會使其發芽率下降至 0 % (表 4)。又若是僅有浸種處理時, 則以常溫浸種處理之種子有較高之發芽勢, 種子發芽的速率較快(表 5)。

參考文獻

- 朱建鏞。1995。有性繁殖種苗之生產技術。園藝種苗生產。p. 9-36。東大圖書股份有限公司。台北。
- 高景輝。1999。植物之休眠。國立編譯館。台北。p. 365-391。
- 陳玉波、梁萬喜、劉泳紅、黃永勝。1993。山茶花不同枝段繁殖研究。園藝學報 20:407-408。
- 黃敏展。1990。營養繁殖。花卉園藝栽培技術。行政院青年輔導委員會編印。p. 70-83。
- Barghchi, M. and P. G. A. Derson. 1983. In vitro propagation of *Pistacia vera* L. from seedling. J. Hort. Sci. 58: 435-445.
- Davies jr., F. T., J. E. Lazarte, and J. E. Joiner. 1982. Initiation and development of roots in juvenile and mature leaf bud cuttings of *Ficus pumila* L. Amer. J. Bot. 69: 804-811.
- Hambrick, C. E., F. T. Davies, and H. B. Pemberton. 1991. Seasonal changes in carbohydrate nitrogen levels during field rooting of *Rosa multiflora* 'Brooks 56' hardwood cuttings. Scientia Hort. 46: 137-146.
- Hansen, J. 1986. Influence of cutting position and stem length on rooting of leaf-bud cutting of *Schefflera arboricola*. Sci. Hort. 28: 177-186.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, and F. T. Davies. 1990. Plant Propagation, Principles and Practices. Fifth Edition. pp.647. Prentice-Hall Englewood Cliffs, New Jersey.
- Lyrene, P. M. 1981. Juvenility and production of fast rooting cutting from blueberry shoot cultures. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106: 396-398.
- Moe, R. 1973. Propagation, growth and flowering of potted rose. Acta Hort. 31: 35-50.
- Mohammed, S. and E. N. Eriken. 1974. Root formation in pea cutting IV: Further studies on the influence of indole-3-acetic acid at different developmental stage physiology. Plant. 32: 94-96.
- Nemeth, G. 1986. Induction of rooting. Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. I. Edited by Y. P. S. Bajaj, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Poulsen, A. and A. S. Andersen. 1980. Propagation of *Hedera helix*: Influence of irradiance to stock plants, length of internode and topophysis of cutting. Physiol. Plantarum. 49: 359-365.
- Reuveni, O. and I. Adato. 1974. Endogenous carbohydrates, promoters, and root inhibitors in easy and difficult-to-root date palm (*Phoenix dactylifera* L.) offshoot. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99(4): 361-363.
- Van de Pol, P. A. and A. Breukellar. 1982. Stenting of rose; a method for quick propagation by simultaneously cutting and grafting. Sci. Hort. 17: 187-196.
- Walker, J. 2001. Hibiscus Firefly Books INC. (USA) 96pp.

The Propagation of *Hibiscus rosa-sinensis* L. via Cutting and Seedling.

Chuan-Yi Ting ¹⁾ Chien-Young Chu ²⁾

Key words: *Hibiscus rosa-sinensis* L., NAA, rooting, seed soaking, germination

Summary

The rooting rate of *H. rosa-sinensis* L. terminal cuttings was better than woody cuttings in the summer. The optimum NAA concentration for terminal cuttings of 'Como' was 2 g/kg, with the rooting rate was 77.8 %. The rooting rate of '0112' terminal cuttings powered with NAA 2 g/kg was 16.7 %. The rooting rate of 'Kyoto' terminal cuttings powered with NAA 0.5 to 2 g/kg was 83.3-85.2 %. Seed germination rate was not different between soaked 15 hours in water at room temperature or in 50°C warm water, and the germination rate of hybrid seeds was 22.7-44.3 %. The germination strength of seeds soaked in water at room temperature was better than those in 50°C warm water.

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

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

蓮霧果實寒害時乙烯釋放率及呼吸率之變化

姜 姍¹⁾ 謝 慶 昌²⁾

關鍵字：蓮霧、寒害、乙烯釋放率、呼吸率、凹陷斑點

摘要：本試驗為探討黑鑽石蓮霧果實經低溫貯藏後乙烯釋放率、呼吸速率及果皮外觀顏色之變化。黑鑽石蓮霧經 1°C 貯藏 2 天即可能發生寒害，且隨貯藏天數增加，果皮寒害徵狀由小點凹陷發展為大塊陷斑且褪色情形愈趨嚴重，並且果皮凹陷之發生較果皮褪色為早。蓮霧果實經 1°C 貯藏 3 天回溫後即有乙烯釋放異常現象產生，貯藏 4 天後更為明顯，並且乙烯釋放高峰隨貯藏天數增加而有逐漸上升的現象。蓮霧果實於 1 及 15°C 低溫貯藏期間呼吸率皆低量，且較 25°C 為低，經 1°C 貯藏 3 天回溫後即有呼吸高峰異常現象產生，貯藏 4 天回溫後呼吸率則無法降至正常範圍，並且最大呼吸峰於貯藏 7 天後出現，隨天數增加呼吸峰反為下降。因此乙烯釋放率及呼吸率之異常現象皆出現於寒害徵狀之後。

前 言

蓮霧(wax-apple, *Syzygium samarangense* Merr.et Perry)又名輦霧、璉霧、爪哇蒲桃，屬桃金娘科(Myrtaceae)赤楠屬(王, 1991)。蓮霧為常綠熱帶果樹，適宜生長溫度範圍為 25~30°C(賴, 2000)，主要產地為屏東縣、高雄縣、嘉義縣、宜蘭縣等地，根據九十二年農業統計年報記載，台灣地區蓮霧生產面積共為 7,795 公頃，產量有 92,658 公噸。一般而言，熱帶水果貯藏於 12.5°C 以下低溫就有可能發生寒害。蓮霧屬於對低溫敏感之園產品，貯藏適溫為 12°C~15°C，以 15°C 貯藏 14 天之後即有病害或黴菌發生(黃等人, 2001)。

蓮霧寒害發生時其呼吸率及乙烯釋放率會有異常變化，並且果皮發生凹陷斑點、顏色褪去等現象(洪, 1988)。黑鑽石蓮霧為高雄六龜鄉所生產‘粉紅種’蓮霧的商品名，主要

1) 國立中興大學園藝學系碩士研究生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

產期集中於冬季，其低溫貯藏性是否和一般‘粉紅種’蓮霧相似不得而知，故本試驗以低溫 1°C 貯藏 1~10 天後觀察黑鑽石蓮霧寒害徵狀之變化，調查黑鑽石蓮霧之耐寒能力。

材 料 與 方 法

一、試驗材料及方法

本試驗以高雄縣六龜鄉‘粉紅種’蓮霧(商品名：黑鑽石)為材料，果實採收後即運至實驗室，之後挑選大小、顏色一致，外觀無病蟲害之果實進行試驗調查。蓮霧果實以 1°C、15°C 配合加濕通氣處理貯藏 1 至 10 天，每天自兩溫度中各取出 10 顆果實，取出前先於低溫下進行密閉式氣體分析，之後再移至室溫下進行流通式氣體分析及果實外觀調查。本實驗有 20 個處理組，每組 10 顆果實。另外取 10 顆果實不經低溫貯藏，直接放置 25°C 下測定，作為對照組。

二、調查項目及方法

1、果實呼吸率及乙烯釋放率

在自貯藏溫度取出後，先將蓮霧果實放入 4 公升壓克力製呼吸缸內密封，每缸 10 顆果實，一小時後抽取呼吸缸內氣體分析二氧化碳及乙烯濃度之變化，之後取出移至 25°C 下以流通式通入空氣，利用水位及毛細管控制連接在每一呼吸缸之空氣流速。空氣流速以每小時交換呼吸缸容積大小的氣體一次為原則，流經呼吸缸的空氣係引自室外的新鮮空氣，先經高錳酸鉀的淨氣瓶再通入裝有蒸餾水之空氣濕化瓶，再通入呼吸缸中。測定時使用塑膠針筒抽取 1ml 氣體，以紅外線二氧化碳分析儀(IR-analyzer, Maihak, UNOR610)測量二氧化碳濃度，計算其呼吸率，呼吸率單位以 ml/kg/hr 表示。乙烯釋放率之測定如上述，以氣相層析儀(Gas chromatograph, Shimadzu)測量乙烯濃度，計算乙烯釋放量，乙烯釋放率單位以 $\mu\text{l/kg/hr}$ 表示。

2、外觀調查

於貯藏及回溫後調查各貯藏溫度果實腐爛之發生率及果皮陷斑點、褪色之發生率。每處理 10 重複，每重複 1 個果實。

結 果

黑鑽石蓮霧果實以 1°C 及 15°C 恆溫貯藏 1~10 天，並以靜態密閉式方法調查低溫貯藏時氣體釋放率之變化，結果第 0 天時 1°C 貯藏者乙烯釋放率為 0.02 $\mu\text{l/kg/hr}$ ，15°C 為 0 $\mu\text{l/kg/hr}$ ，25°C 為 0.25 $\mu\text{l/kg/hr}$ ，而後蓮霧果實於低溫 1°C 貯藏下乙烯生成皆很微量，如在貯藏第 1、6、7、10 天分別為 0.04、0.03、0.04、0.04 $\mu\text{l/kg/hr}$ ，其餘天數調查結果皆為 0 $\mu\text{l/kg/hr}$ ；15°C 貯藏者乙釋放率隨貯藏天數增加呈緩慢上升的趨勢，第 9 天時乙烯釋放率達

0.38 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ ，第 10 天下降至 0.14 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ ；果實置於 25 $^{\circ}\text{C}$ 下自第 0 天起乙烯釋放率緩慢下降至第 2 天，隨後上升，並於第 3 天後急速上升，第 4 天達到乙烯高峰隨之下降(圖 1)。

果實呼吸率之變化，蓮霧果實貯藏第 0 天時 1 $^{\circ}\text{C}$ 者為 18.19ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ，15 $^{\circ}\text{C}$ 為 22.68 ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ，25 $^{\circ}\text{C}$ 為 85.75ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ，之後蓮霧果實於 1 $^{\circ}\text{C}$ 下之呼吸率範圍為 0.77~6.91ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ，持續維持在較低量狀態；15 $^{\circ}\text{C}$ 貯藏者呼吸率亦無明顯變動，僅於第 4 天時下降至 6.23ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ，第 5、9 天上升為 25.09、20.02ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ，其餘天數呼吸率範圍為 12.68~14.11ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ；果實置於 25 $^{\circ}\text{C}$ 下自第 1 天起呼吸率急速下降至 33.66ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ ，之後緩慢上升，第 4 天後急速上升，第 5 天達到 111.40ml $\text{CO}_2/\text{kg}/\text{hr}$ (圖 2)。

黑鑽石蓮霧果實經低溫貯藏 1~10 天分別移至 25 $^{\circ}\text{C}$ 後乙烯釋放率之結果(圖 3-1, 圖 3-2)，1 $^{\circ}\text{C}$ 貯藏 1 天後乙烯釋放率近乎 0 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ ，無明顯變化，釋放率最高為回溫第 50 小時達 0.05 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ ；15 $^{\circ}\text{C}$ 者釋放率自回溫後緩慢上升，回溫第 50 小時達 0.37 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ 。1 $^{\circ}\text{C}$ 貯藏 2 天後乙烯釋放率無明顯變化，回溫第 47 小時達 0.06 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ ；15 $^{\circ}\text{C}$ 者自回溫 4 小時後釋放率上升，第 7 小時達 0.26 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ 。1 $^{\circ}\text{C}$ 貯藏 3 天後乙烯釋放率有明顯變化，自回溫後乙烯釋放率持續上升，至第 13 小時達到高峰 0.28 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ 隨後下降趨近為 0 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ ；15 $^{\circ}\text{C}$ 者自回溫後亦有上升現象，第 11 小時達 0.16 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ 。1 $^{\circ}\text{C}$ 貯藏 4 天後乙烯釋放率變化更為明顯，第 16 小時達乙烯高峰 0.5 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ 隨之下降；15 $^{\circ}\text{C}$ 者回溫後釋放率急速上升，於第 5 小時達 0.4 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{hr}$ 隨之緩慢下降。1 $^{\circ}\text{C}$ 貯藏 5 天後於回溫第 14 小時達乙烯高峰

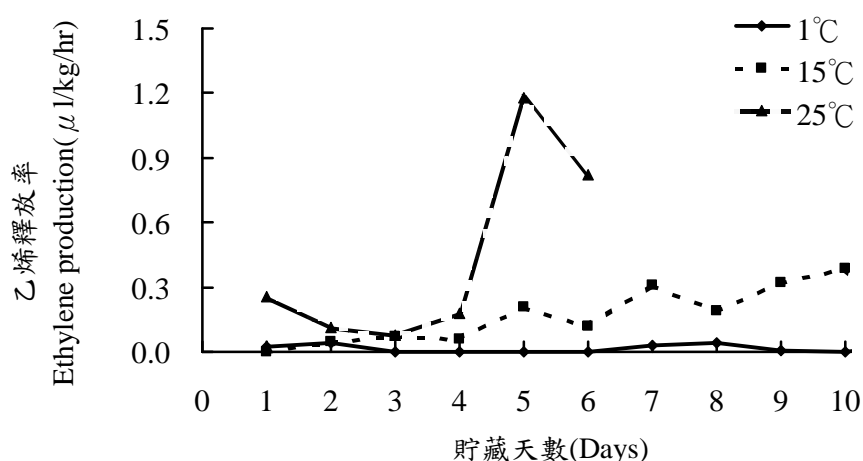


圖 1. 黑鑽石蓮霧果實於 1 $^{\circ}\text{C}$ 、15 及 25 $^{\circ}\text{C}$ 下乙烯釋放率之變化

Fig. 1. Changes in ethylene production of wax-apple fruits stored at 1 $^{\circ}\text{C}$, 15 and 25 $^{\circ}\text{C}$.

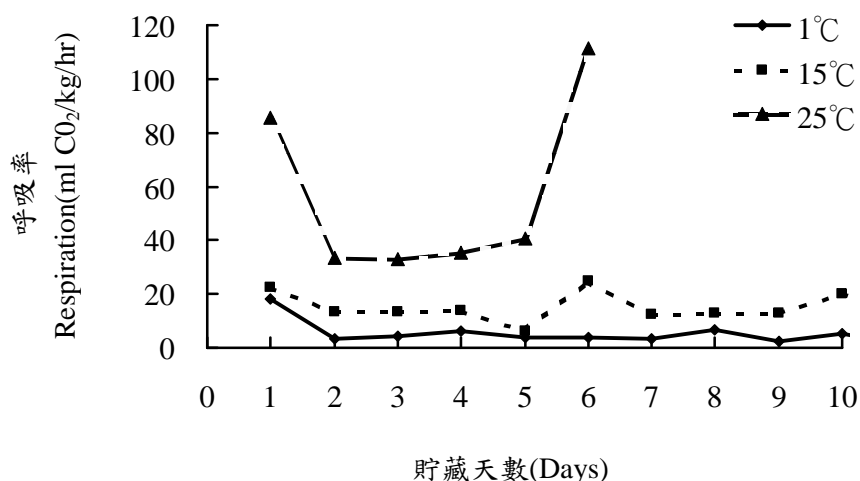


圖 2. 黑鑽石蓮霧果實於 1°C、15 及 25°C 下呼吸速率之變化。

Fig. 2. Changes in respiration of wax-apple fruits stored at 1°C, 15 and 25 °C.

0.72 μ l/kg/hr；15°C者於回溫 3~7 小時間乙烯釋放率維持在 0.25 μ l/kg/hr 左右，第 7 小時後緩慢下降。1°C貯藏 6 天後釋放率於回溫 14 小時後急速上升，第 16 小時達高峰 0.7 μ l/kg/hr；15°C者於回溫 6 小時後達最大量 0.32 μ l/kg/hr。1°C貯藏 7 天後於回溫 15 小時後達乙烯高峰 0.82 μ l/kg/hr；15°C者無明顯變化，於回溫初期 4~7 小時間釋放率為 0.16 μ l/kg/hr，隨之下降近乎於 0 μ l/kg/hr，46 小時後上升至 0.2 μ l/kg/hr。1°C貯藏 9 天後於回溫第 16 小時出現乙烯高峰 1.18 μ l/kg/hr；15°C回溫第 7 小時出現最大量 0.95 μ l/kg/hr。1°C貯藏 10 天後於回溫第 19 小時達高峰 0.75 μ l/kg/hr；15°C者乙烯釋放率呈持續上升現象回溫第 47 小時達 0.39 μ l/kg/hr。1~3 天之短期低溫貯藏回溫後蓮霧果實乙烯釋放速率無明顯變化。1°C貯藏者，隨貯藏時間增加乙烯高峰隨之上升，乙烯高峰出現後釋放率皆會下降至低量(圖 5)。

黑鑽石蓮霧經低溫貯藏移至 25°C 後果時呼吸速率變化之結果(圖 4-1, 圖 4-2)，1°C貯藏 1 天回溫後呼吸率呈上升現象，至第 9 小時達 21.24ml CO₂/kg/hr，之後無明顯變動；15°C者自回溫後呼吸率緩慢上升，至第 50 小時達 20.1ml CO₂/kg/hr。1°C貯藏 2 天後回溫呼吸率呈上升現象，至第 9 小時達 24.17ml CO₂/kg/hr，隨後無明顯變動；15°C者回溫後呼吸率呈上升現象，於第 9 小時呼吸率達 24.68ml CO₂/kg/hr，之後維持於 20ml CO₂/kg/hr 左右。1°C貯藏 3 天後於回溫第 15 小時達最大速率 38.42ml CO₂/kg/hr，隨之下降；15°C者回溫後緩慢上升，至第 21 小時達 30.59ml CO₂/kg/hr。1°C貯藏 4 天後於回溫第 17 小時有最大呼吸率 44.08ml/kg/hr 出現；15°C者自回溫後緩慢上升，於第 38 小時達 42.02ml CO₂/kg/hr。1°C貯藏 5 天回溫後呼吸率明顯上升，第 15 小時達呼吸高峰 60.46ml CO₂/kg/hr，隨之下降；

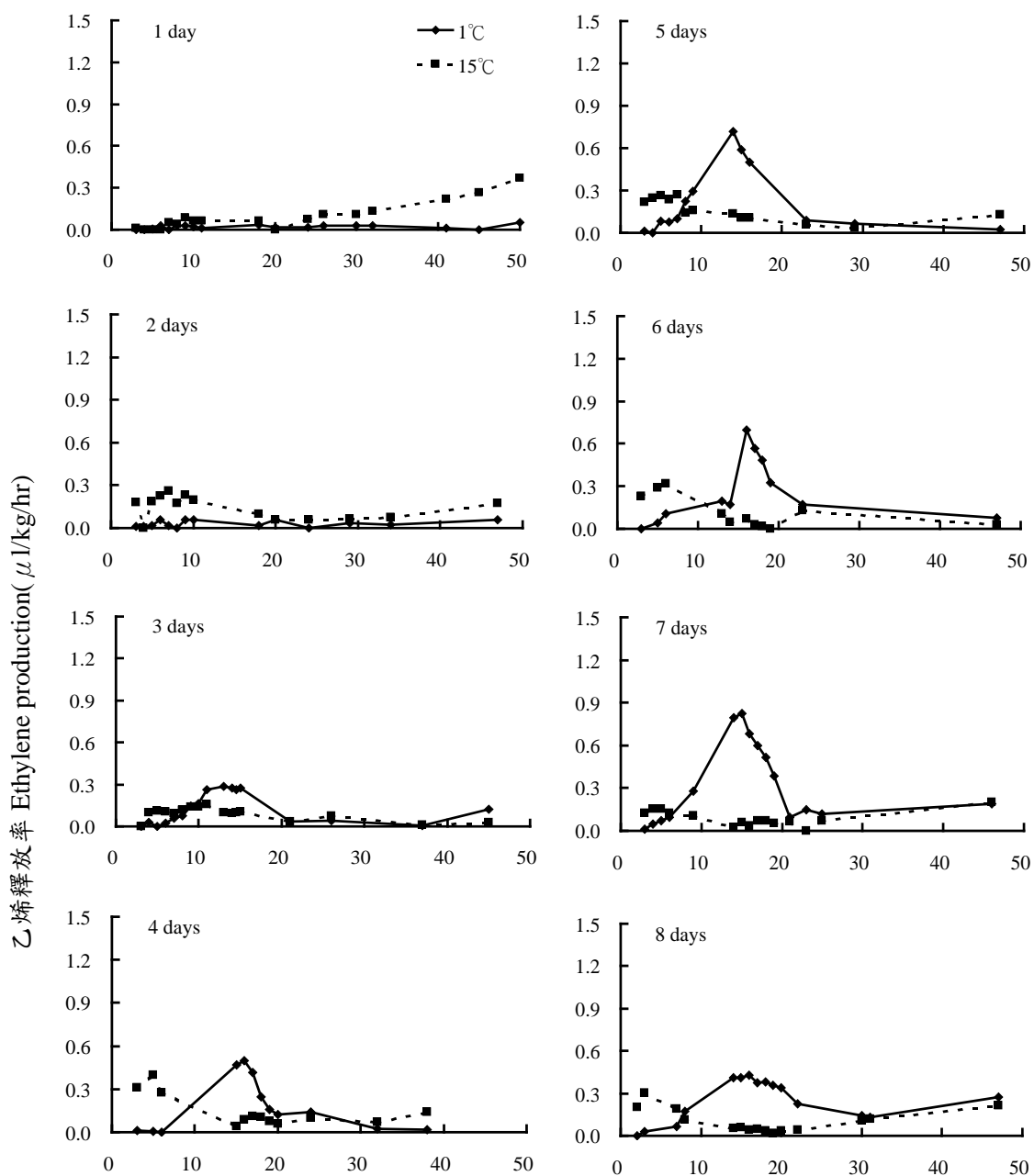


圖 3-1. 黑鑽石蓮霧果實在 1°C 及 15°C 貯藏 1 至 8 天後移至 25°C 下乙烯釋放率之變化。
Fig. 3-1. Changes in ethylene production of wax-apple fruits at 25°C after storage at 1°C and 15°C for one to eight days.

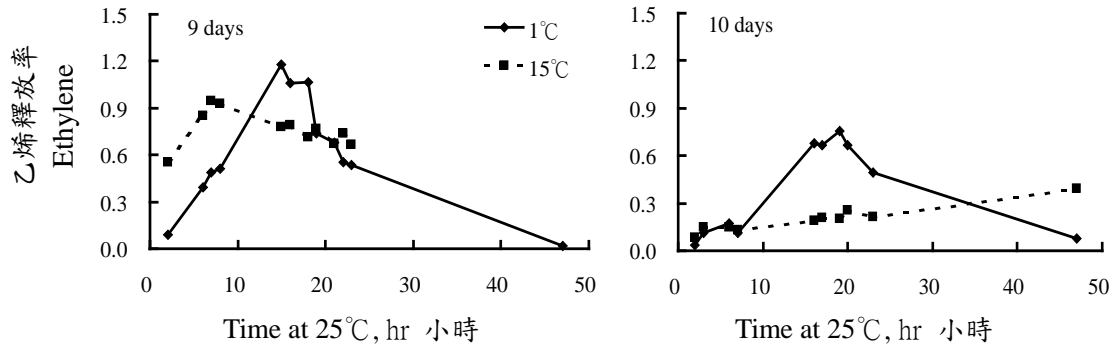


圖 3-2. 黑鑽石蓮霧果實在 1°C 及 15°C 貯藏 9 至 10 天後移至 25°C 下乙烯釋放率之變化。
Fig. 3-2. Changes in ethylene production of wax-apple fruits at 25°C after storage at 1°C and 15°C for nine to ten days.

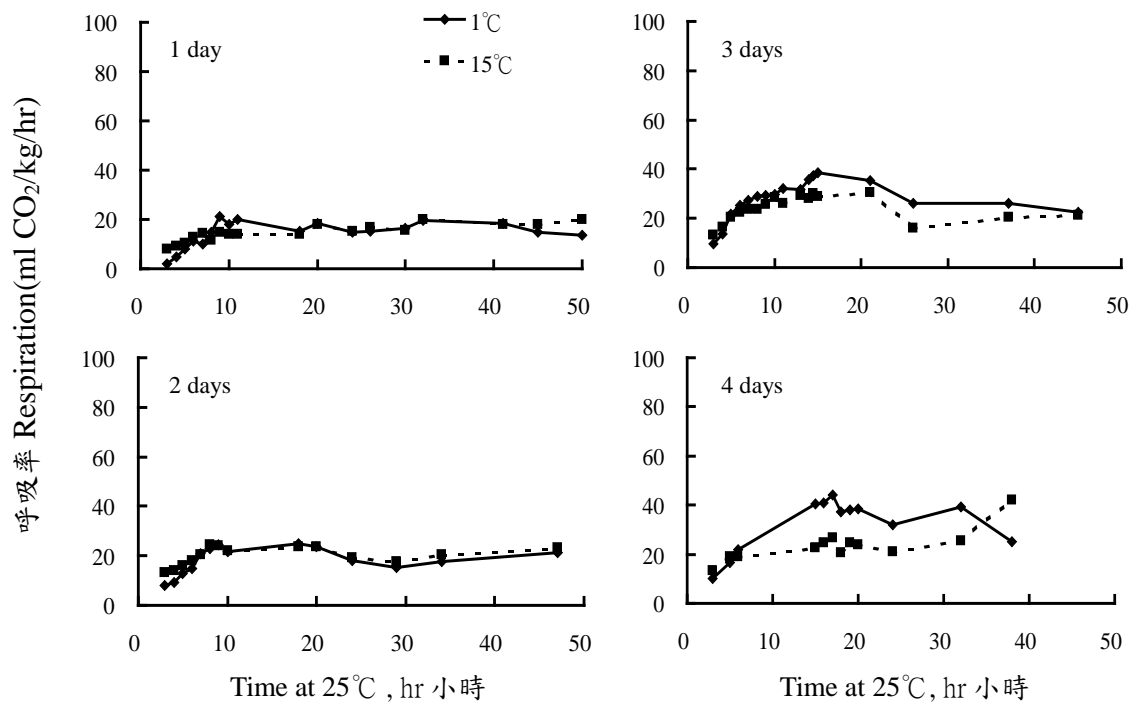


圖 4-1. 黑鑽石蓮霧果實在 1°C 及 15°C 貯藏 1 至 4 天後移至 25°C 下呼吸速率之變化。
Fig. 4-1. Changes in respiration of wax-apple fruits at 25°C after storage at 1°C and 15°C for one to four days.

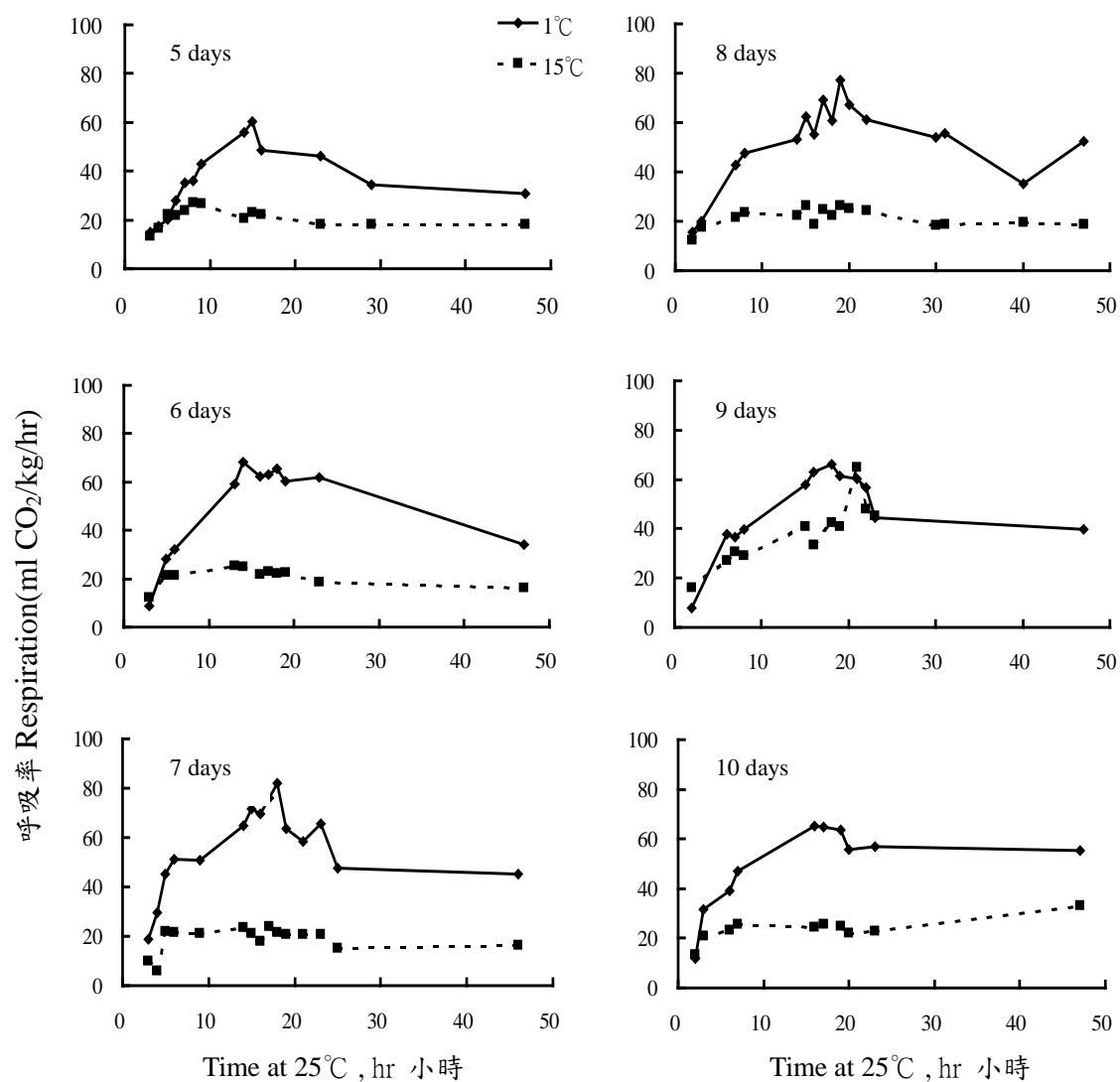


圖 4-2. 黑鑽石蓮霧果實在 1°C 及 15°C 貯藏 5 至 10 天後移至 25°C 下呼吸速率之變化。
Fig. 4-2. Changes in respiration of wax-apple fruits at 25°C after storage at 1°C and 15°C for five to ten days.

15°C者變化較不明顯，回溫第 8 小時有最大速率 27.21ml CO₂/kg/hr，隨後維持於 20 ml CO₂/kg/hr 左右。1°C貯藏 6 天後於回溫第 14 小時達高峰 68.11ml CO₂/kg/hr；15°C者緩慢上升至第 13 小時為 25.53 ml CO₂/kg/hr，隨之些微下降。1°C貯藏 7 天後於回溫初期呼吸率迅速上升，第 18 小時出現高峰 82.14ml CO₂/kg/hr；15°C於回溫後迅速上升，第 5 小時達 21.84ml CO₂/kg/hr，隨後呼吸率維持於 20ml CO₂/kg/hr 左右。1°C貯藏 8 天後於回溫第 19 小時達高峰 77.27ml CO₂/kg/hr；15°C者於回溫初期些微上升，隨之維持於 22ml CO₂/kg/hr 左右。1°C貯藏 9 天後於回溫初期呼吸率上升較迅速，第 18 小時出現高峰 66.04ml CO₂/kg/hr；15°C者於回溫後呼吸率持續上升，第 21 小時達最大速率 64.8ml CO₂/kg/hr。1°C貯藏 10 天後於回溫初期呼吸率迅速上升，第 16 小時達最大速率 65.39ml CO₂/kg/hr，並且回溫後期仍呈現較高之呼吸率；15°C者回溫前期維持於 25 ml CO₂/kg/hr 左右，後期呈上升現象，第 47 小時達 33.27ml CO₂/kg/hr。1~3 天較短期低溫貯藏後蓮霧果實於 25°C 下之呼吸率較無明顯變化，回溫較長時間後呼吸率維持於 20~30ml CO₂/kg/hr。低溫貯藏時間增長至 4~6 天時，1°C貯藏者回溫後有較明顯之呼吸峰出現，回溫較長時間後呼吸率維持於 30~40ml CO₂/kg/hr；7~10 天長時間低溫貯藏，1°C貯藏者回溫後呼吸率變化更為明顯，回溫較長時間後呼吸率仍高於 40ml CO₂/kg/hr(圖 6)。

果實外觀觀察結果，以 1°C貯藏 1 天回溫後，果實除皮孔較明顯外無其他異狀發生；貯藏 2 或 3 天者，於回溫 2 天後即有 50%果實有果皮凹陷及光澤度降低徵狀發生；貯藏 4 天者於回溫 1 天後即出現果皮凹陷徵狀，回溫 2 天後果皮褪色；貯藏 5 天者於回溫 1 天後出現大塊聚合陷斑並且褪色；貯藏 6 天者於貯藏後果實立即有凹陷斑點徵狀；貯藏 7 天後果皮發生陷斑且褪色；貯藏 8 天者於貯藏後甚至有 10%果實果肉呈水浸狀；隨貯藏天數增加果實寒害徵狀出現時間愈為提前。以 15°C貯藏短時間 1~4 天之黑鑽石蓮霧皆無寒害徵狀發生；貯藏 5 天回溫 1 天後有 10%果實出現凹陷斑點；貯藏 6~10 天者皆於回溫 1 天後 20%果實出現果皮凹陷斑點，回溫 2 天後果皮光澤度降低；隨貯藏天數增加，果實寒害發生率無明顯增加。果實發霉情形，1°C貯藏之果實無腐爛發生，但回溫後果皮大塊陷斑點出現時則易從病斑處開始發霉；15°C貯藏 1~6 天後無腐爛發生，但隨回溫後之天數增加腐爛率愈為上升；15°C貯藏 7 天後果實即有發霉情況(以上數據未以圖表顯示)。

討 論

蓮霧果實容易遭受寒害(洪、彭, 1983)，洪(1988)指出，依 Arrhenius plot 可得知蓮霧果實之寒害臨界溫度為 12.6°C，低於此溫度果實即會發生寒害，蓮霧果實寒害徵狀首先是果皮表面發生小凹陷斑點，接著陷點處外表顏色退淡成無色陷點，之後多個陷點逐漸擴大相連成更大病斑，最後果皮顏色全面褪失。本試驗結果，黑鑽石蓮霧以 1°C貯藏 1 天回溫後無異狀發生；貯藏 2 天回溫後即有果皮凹陷及褪色情形；貯藏 5 天回溫後即有大塊聚合

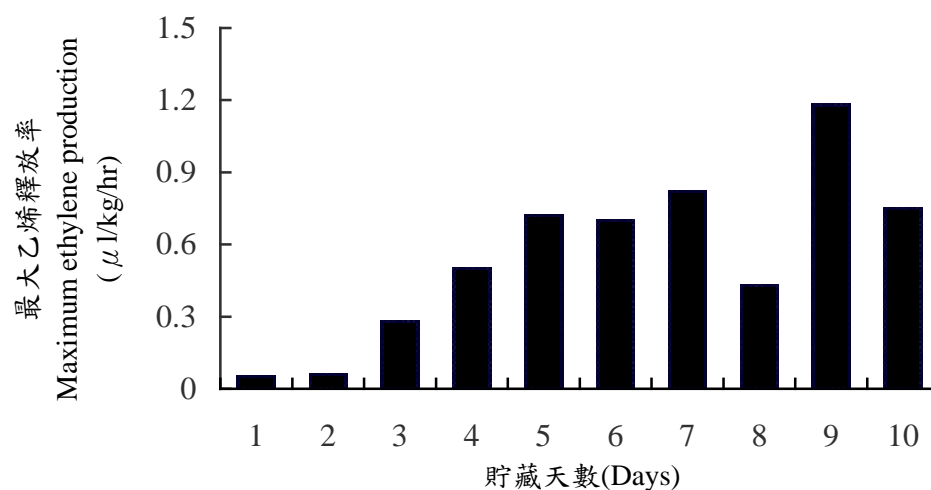


圖 5. 黑鑽石蓮霧果實 1°C 貯藏 1 至 10 天後移至 25°C 下最大乙烯釋放率。
Fig. 5. Changes in the maximum ethylene production of wax-apple fruits at 25°C after storage at 1°C and 15°C for one to ten days.

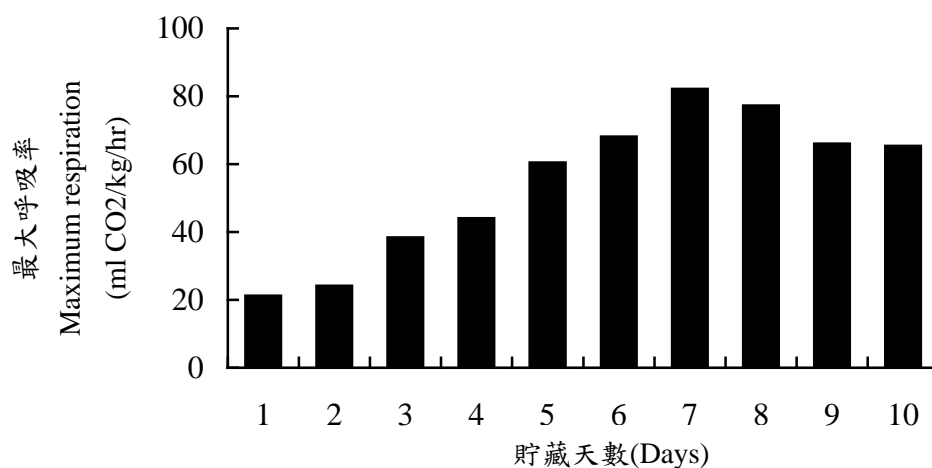


圖 6. 黑鑽石蓮霧果實 1°C 貯藏 1 至 10 天後移至 25°C 下最大呼吸率。
Fig. 6. Changes in the maximum respiration of wax-apple fruits at 25°C after storage at 1°C and 15°C for one to ten days.

陷斑並且褪色；貯藏 6 天者於貯藏後即有凹陷斑點徵狀，隨貯藏天數增加果實寒害徵狀出現時間愈為提前，且果肉出現水浸狀。以 15°C 貯藏 5 天回溫後亦有果實出現凹陷斑點，但隨貯藏天數增加果實外觀無明顯增加。由結果亦可發現果皮凹陷發生較褪色為早，果皮凹陷及褪色順序根據洪(1988)推測，蓮霧果實遭受寒害時首先靠近表皮組織處數層果肉薄壁細胞發生內容物流失，使組織下陷形成陷點病斑，接著表皮組織之液胞膜發生色素流失，而使得表皮顏色褪失。

降低園產品貯藏溫度可降低產品各種生理及生化反應，如呼吸速率及乙烯釋放率(Isenberg, 1979)，故許多作物處於寒害低溫時其呼吸率及乙烯釋放率皆無明顯變化，但當移至較高溫度後兩氣體則呈現大幅增加之異常現象(Eaks, 1980; McCollum and McDonald, 1991; Wang, 1982)。對低溫敏感之作物於低溫逆境再回溫後其乙烯釋放率會劇增，此種乙烯合成途徑與一般果實後熟引起之更年期自生乙烯合成途徑相同(Wang and Adams, 1980)。蓮霧為非更年性果實，故正常情況下果實於室溫時其乙烯釋放率應為極低。黑鑽石蓮霧置於 1、15 及 25°C 時乙烯釋放率皆很低(圖 1)，其中 25°C 者最高，次為 15°C，1°C 者最低，幾乎無乙烯生成，25°C 者較高原因可能是果實發霉所致。1°C 貯藏 3 天回溫後乙烯釋放率有些微變化，貯藏 4 天回溫後則明顯有呼吸高峰出現，隨貯藏天數增加乙烯高峰愈為升高(圖 3)。低溫時果實無乙烯生成及回溫後乙烯高峰產生之關鍵原因目前被推斷為 ACC synthase，因低溫環境中 ACC synthase 之活性很低，但 ACC 及 ACC oxidase 持續累積，因此恢復正常溫度後乙烯快速且大量合成(Wang and Adams, 1982)，酪梨(Pesis et al., 1994)、胡瓜(Wang and Adams, 1982; Kuo and Parkin, 1989)、絲瓜(洪, 2003)等亦有相似結果。

呼吸速率方面，黑鑽石蓮霧以 1°C 貯藏 10 天，低溫貯藏期中果實呼吸率皆呈甚低現象，15°C 者較 1°C 微高，但且皆明顯低於 25°C 之呼吸率(圖 2)。1°C 貯藏 3 天後回溫即可發現蓮霧果實呼吸率有輕微上升現象，貯藏 5 天回溫後即有呼吸高峰出現，並且隨貯藏天數增加回溫後呼吸高峰愈高(圖 4)。Wang(1982)指出果實呼吸速率異常變化，可能原因是寒害低溫使得果實粒腺體發生氧化磷酸化不偶合現象，導致細胞喪失完整性，另有學者認為低溫造成細胞完整性喪失，導致正常代謝受阻，並且代謝中間產物發生累積，故溫度恢復後代謝速度異常加快(Lyons, 1973; Wang, 1982)，此外亦有可能是溫度效應結果，溫度愈高細胞進行代謝之速率愈快(Lin et al., 1993)，此現象於酪梨(Eaks, 1983)、胡瓜(Wang and Adams, 1982)、葡萄柚(Purvis, 1980)、蓮霧(洪, 1988)等試驗中亦得發現。蓮霧果實以 1°C 貯藏 7 天，回溫後其呼吸高峰出現，但之後呼吸率卻無法降至正常範圍(圖 4)。原因為當果實處於過低溫度或低溫貯藏時間過長而造成寒害過分嚴重，故當果實移至常溫下，呼吸率仍無法下降，此時低溫已造成不可挽救之傷害(Eaks, 1980)。果實因寒害造成呼吸作用異常，當呼吸率無法下降至正常範圍時可能表示果實已遭受不可逆之代謝失衡，造成有毒物質累積(Eaks, 1980; Wang, 1982)。

洪(1988)及黃(1998)分別以嘉義梅山及屏東地區產之‘粉紅種’蓮霧為材料，皆指出

夏果較冬果不耐低溫，寒害較嚴重，以冬果為例，在 0°C 下 3 天即有 20% 果實出現寒害徵狀，而下果在 0.5°C 下 2 天即達 90% 黃(1998)。本試驗所用之黑鑽石蓮霧在 1°C 下 2 天回溫後亦有近 50% 的果實會出現寒害徵狀，所以除季節外栽植地區對蓮霧果實低溫忍受性可能影響不大，另外黑鑽石蓮霧寒害徵狀於低溫貯藏 2 天後即已出現，而乙烯被誘導合成卻在第 3 天才漸明顯(圖 3)，而回溫後呼吸率無法回到正常值的現象是發生在貯藏 4 天後的果實(圖 4)。因此，黑鑽石的寒害指標仍以觀察果皮症狀為佳，而乙烯釋放率及呼吸率異常之變化僅供參考。

參 考 文 獻

- 王德男。1991。台灣蓮霧栽培之過去與前瞻。台灣果樹生產及研究發展研討會專刊。339-355。
- 洪明德。2003。絲瓜果實生長發育及貯藏溫度之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。pp.5-16。
- 洪登村、彭昌祐。1983。蓮物果實包裝貯運技術之改進試驗。興大園藝。8:31-39。
- 洪登村。1988。蓮霧果實寒害乙烯合成行為之研究。國立台灣大學園藝學研究所博士論文。153 p。
- 黃博雅。1998。蓮霧果實採收後寒害及處理技術之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。105p。
- 黃基倬、王德男、翁一司。2001。蓮霧選購與貯放要領。農業世界。220:82-88。
- 賴榮茂。2000。蓮霧寒害的預防及災後復育。高雄區農業專訊。31:12-15。
- Eaks, I. L. 1980. Effect of chilling on respiration and volatiles of California lemon fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:865-869.
- Eaks, I. L. 1983. Effect of chilling on respiration and ethylene production of 'Hass' avocado fruit at 20°C. *HortScience* 18:235-237.
- Isenberg, F. M. R. 1979. Controlled atmosphere storage of vegetable. *Hort. Rev.* 1:337-394.
- Kuo, S. and K. L. Parkin. 1989. Chilling injury in cucumbers (*Cucumis sativus* L.) associated with lipid peroxidation as measured by ethane evolution. *J. Food Sci.* 54:1488-1491.
- Lin, W. C., J. W. Hall, and M. E. Saltveit, Jr. 1993. Ripening stage affects the chilling sensitivity of greenhouse-grown peppers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118:791-795.
- Lyons, J. M. 1973. Chilling injury in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24:455-466.
- McCollum, T. G. and R. E. McDonald. 1991. Electrolyte leakage, respiration, and ethylene production as indices of chilling injury in grapefruit. *HortScience* 26:1191-1192.
- Pesis, E. R. Marinansky, G. Zauberman, and Y. Fuchs. 1994. Prestorage low-oxygen atmosphere

- treatment reduces chilling injury symptoms in 'Fuerte' avocado fruit. *HortScience* 29:1042-1046.
- Purvis, A. C. 1980. Respiration of grapefruit and orange flavedo tissue in relation to chilling and non-chilling temperature and respiratory inhibitors. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:209-213.
- Wang, C. Y. 1982. Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. *HortScience* 17:173-181.
- Wang, C. Y. and D. O. Adams. 1980. Ethylene production by chilled cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiol.* 66:841-843.
- Wang, C. Y. and D. O. Adams. 1982. Chilling-induced ethylene production in cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiol.* 69:424-427.

Changes in Respiration and Ethylene Production of Chilled Wax-apple (*Syzygium samarangenes* Merr.et Perry) Fruits

Shan Chiang ¹⁾ Ching-Chang Shiesh ²⁾

Key word : wax-apple 、 chilling injury 、 ethylene production 、 respiration rate 、 pitting

Summary

The objectives of this study were to investigate the symptoms and index of chilling injury of wax-apple when it was subjected to low temperature. Black Diamond^R wax-apple suffered chilling injury while it was stored at 1°C for two days. Symptoms of injury were first appeared as small pitting on the pericarp, then developed into large sunken areas and became discolored as the day of storage increased. Sinking of the skin happened earlier than the development of discoloration. The abnormal ethylene production had been found after stored at 1°C for 3 days then back to room temperature. The ethylene peak was more apparent after storage for four days, and it was more and more increased with storage days. The respiration rate of wax-apple stored at 1 and 15°C was low than of at 25°C. But showed an abnormal respiration peak after stored at 1°C for 3 days. The peak remained abnormally high after storing for 4 days at 1°C and then back to room temperature. The results showed that the abnormal ethylene production and respiration are not suitable indices of chilling injury in Black Diamond^R wax-apple.

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

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

不同植栽對建築物隔熱效果影響之研究

謝維芳¹⁾ 歐聖榮²⁾

關鍵字：建築物綠化、屋頂綠化、壁面綠化、攀緣植物、綠化方式

摘要：本研究之主要目的在探討不同綠化方式及植栽對建築物隔熱效果之影響。藉由模擬建築物之方式，測量植物特性對建築物內部溫度、外牆溫度之影響，以作為未來利用植物進行建築物綠化時之參考。不同綠化方式對建築物內部溫度的影響之試驗，為比較「屋頂綠化」及「壁面綠化」兩種綠化方式，對建築物內部溫、溼度之影響。而在攀緣植物特性對建築物內部溫、溼度之影響試驗中，是測量「植栽覆蓋率」、「植栽層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」等變項對建築物內部溫度的影響。研究得到的主要結論如下：

1. 在本研究所使用的試驗方法測量下，壁面綠化較屋頂綠化之隔熱效果佳。
2. 由壁面綠化對外牆表面溫度及室內溫度影響的兩組試驗結果，得知植栽特性中影響隔熱效果最大的因子為「植栽層厚度」，其次是「植栽覆蓋率」，再者是「蒸散速率」，而「葉色」對隔熱效果則沒有顯著的影響。
3. 試驗結果發現綠化植栽的「葉片密度」會影響建築物之隔熱效果。

前 言

台灣相較於其他國家，不僅是國內綠建築研究起步較晚，加上台灣的氣候及環境條件並不同於其他地區，且至目前為止國內研究綠建築之文獻多數以建築外殼材料為主(徐忠慶, 1976; 嚴定萍, 1997; 廖志中, 1998; 廖鴻一, 1999; 谷家恆, 2000; 陳昶源, 2000; 楊秉純, 2000; 吳協勳, 2001; 王家珍, 2002)，較缺乏對綠化植物效能方面的研究，基於上述原因，本研究希望提供從綠化的角度來探討建築物內部高溫之改善，以降低空調設備的耗電量，達到永續環境的目標。

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教授，通訊作者。

綠化可減輕結構物受溫度變化之影響，係因綠化植栽的表面溫度變化較一般的牆面穩定，早在 1900 年於日本的研究中已實證室外的人工地基綠化中，用草皮綠化屋頂，可以將傳到平面的熱量抑制在 1/4 以下(園原芳信、池田英男, 1990)，降低平面的表面溫度 12(近藤等, 1987)~15°C(園原芳信、池田英男, 1990)。屋頂做綠化，屋頂下面一層房間的室溫可降低 2.0~2.4°C(近藤等, 1987)。透過綠化減輕夏季的溫度上升、冬季保暖，可以達到減少使用冷氣、暖氣的省能效果。Eumorfopoulou and Aravantinos(1998)在希臘屋頂栽植植物對建築物熱防護的貢獻之研究中指出裸露的屋頂之溫度變化為 25°C，而綠化的屋頂，因為具屋頂花園的因素，其溫度變化則是 15°C，影響因素取決於建築技術、顏色、形式及建築材料。在 Legnano 一個接近米蘭的大型都市地區中，Ferrante and Mihalalalou(2001)利用兩個閒置空間再利用的工業建築進行試驗，結果顯示開放中庭通風可以使室內溫度下降約 10°C，但屋頂綠化則可以下降約 11°C，兩個措施皆使用則可以下降約 13°C。

屋頂栽植的熱傳遞不同於裸露的屋頂，在同樣的外部氣候因素下，包括受到太陽輻射、外部氣溫、空中的相對溼度而影響，並藉由穿過覆蓋屋頂的葉子而減少。太陽輻射部分是由植物生物的功能所吸收，像是光合作用、呼吸、蒸散及蒸發，當剩下的太陽輻射穿過屋頂時才影響內部的溫度(Eumorfopoulou and Aravantinos, 1998; Krusche *et al.*, 1982)。也就是說綠化植物的光合作用、呼吸、蒸散及蒸發等，都會影響太陽輻射對建築物的影響。

國內利用紅外線熱像技術觀測環境綠化之減溫效果，研究結果顯示在所有時段實牆與立面綠化的表面溫差值，立面綠化之溫度均較實牆立面之溫度低，並依朝向不同而有差異，受陽最多南面之溫度差高達 3.8°C(高國峰, 2000)。

在爬藤立面熱傳分析上，可發現在受陽面、陰面及疏密分布不同的條件下，熱傳透率的數值均有所不同。實測結果顯示，攀緣植物密度高的受陽牆面，其熱傳率的值為 4.48(w/m²K)，換算熱阻為 0.223，以隔熱效果而言，等效於 1B 磚牆之構造(高國峰, 2000)。

宋苾璇(2002)於壁面綠化隔熱效能之研究結果得知，在全覆蓋的情形下，透過葉片與資材層後熱量衰減量佔垂直外日射量之 85.7%，空氣層衰減量佔其 11.9%，進入壁面之熱流量僅佔其 2.4%；在半覆蓋情形下，透過葉片與資材層後，熱量衰減量佔垂直外日射量之 63.7%，空氣層衰減量佔其 20.1%，進入壁面之熱流量佔其 16.2%。覆蓋率與壁面熱流佔其垂直日照輻射之百分比之關係式如下：

$$\text{百分比} = -0.435X + 43.25 \quad (X \text{ 為覆蓋率}) \quad (\text{宋苾璇, 2002})$$

黃菘苗(2003)於牆面綠化遮陽效能之評估研究結果得知，面狀覆蓋受日射方位與角度影響不大，評估方式以植栽覆蓋率及植栽葉面日射透過率決定，評估公式如下：

$$\text{黃金金露花之日射取得率} = 1 - (\text{植栽覆蓋率} \times 0.94) \quad (\text{黃菘苗, 2003})$$

以上兩人之研究結果均顯示覆蓋率對建築物之隔熱效能呈現線性的關係。

在國內外對建築物之綠化研究中，已證實綠化確實有減溫效能(Krusche *et al.*, 1982；Minke and Witter, 1982；Ohlwein, 1984；近藤等, 1987；園原芳信、池田英男, 1990；Barrio, 1998；Eumorfopoulou and Aravantinos, 1998；Onmura *et al.*, 2000；Ferrante and Mihalalalou,

2001； Theodosiou, 2003； Wong *et al.*, 2003)，其中屋頂綠化所吸收日照輻射約為牆面的兩倍，但就建築物而言，屋頂吸熱最大影響為頂層，而牆面吸熱則影響該牆面所涵蓋的每一層樓，且綠化上較節省空間，因此本研究以壁面綠化作為主題，進行綠化效能之實驗，並以植物的觀點，探討其減溫之效果，冀望在推廣壁面綠化時將有所助益。

研究方法

研究第一部份以不同綠化方式測量其對建築物內部溫度、溼度的影響，比較「屋頂綠化」及「壁面綠化」兩種綠化方式之隔熱效果。第二部份為攀緣植物特性對建築物內部溫、溼度之影響試驗，其中測量「植栽覆蓋率」、「植栽層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」等變項對建築物內部溫、溼度的影響。本研究以實物試驗模擬之方式進行，溫度測量工具為 TK500 溫、溼度紀錄器及非接觸紅外線測溫器，分別量測建築物模型內部溫、溼度及外牆的表面溫度。

一、實驗設備

(一)建築物模型

- 1.材料：混凝土。
- 2.規格：長 75cm，寬 75cm，高 150cm(圖 1)。

(二)植栽材料

挑選常用的綠化植栽材料，在屋頂綠化的草種選用馬尼拉草 *Zoysia matrella*，壁面綠化的植栽則是選用地錦 *Parthenocissus tricuspidata*、炮仗花 *Pyrostegia venusta*、薜荔 *Ficus pumila*。

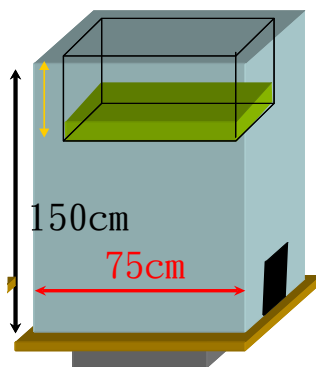


圖 1. 不同處理下的模型示意圖(分別為無處理、屋頂綠化、壁面綠化)

Fig. 1. The pictures of greening method (no greening, greening roof and greening wall)

二、實驗時間

(一)研究不同的綠化方式對建築物內部溫度及溼度之影響

本研究於下列時間進行試驗：

09/23.24.25、09/30、10/01.02.03.04.05、10/12.13.14.15.16

(二)探討不同植物特性對建築物內部溫度、溼度及外牆溫度之影響

在此部分試驗中，試驗時間的間隔為每隔一星期進行一次試驗，但由於試驗期間長，其中經歷多次颱風的影響，因此在調整試驗時間後，試驗時間如下：

06/10.11.13、07/07.08.11.12.13、07/21.22.23.26、08/04.05.07.09、08/18.19.21.22、09/01.02.03.04、09/17.18.19.20、10/01.02.03.04、10/12.13.14.15

三、分析方法

資料分析採用描述性統計分析、t 檢定、單因子變異數分析、相關分析等統計方法，進行結果的描述。

結果與討論

一、屋頂綠化對建築物隔熱效果之分析

在屋頂綠化對建築物隔熱效果方面，在經過平均數分析之後發現屋頂植草的第一組試驗與對照組比較之下，溫度的差值為 0.4°C ；也就是說第一組屋頂綠化第一組處理下的室內溫差降低了 0.4°C 。而在第二組試驗與對照組比較之下，溫度的差值為 -0.3°C ；也就是第二組屋頂綠化處理下的室內溫差升高了 0.3°C 。

根據其它的研究顯示屋頂綠化會降低室內溫度，但在本研究的第二組試驗中室內溫度反而升高，推測原因為受外在因素的影響，因第二組試驗的位置位於建築物中央，所受到的建築輻射較高，且空氣對流亦沒有位於基地外圍的第一組試驗好，而造成了第二組將比第一組的溫度高，而對照組的位置與第一組試驗相同，因此第二組屋頂綠化與對照組比較後，室內溫度反而較高。

二、壁面綠化對建築物隔熱效果之分析

(一)綠化壁面和裸露壁面的表面溫度比較

在外牆溫度的試驗上，經過平均數分析後，地錦植栽表面的溫度比對照組的牆面溫度低 5.9°C ；炮仗花 6.4°C ；薜荔 8.3°C 。而在地錦植栽覆蓋下的外牆表面的溫度比對照組的牆面溫度低 7.6°C ；炮仗花 7.8°C ；薜荔 9.2°C 。

就外牆溫度的隔熱效果為：薜荔 $>$ 炮仗花 $>$ 地錦。

而覆蓋率則因外牆溫度測量點為建築模型下部受植栽覆蓋的牆面之溫度，而各模型的下部植栽覆蓋率相近，皆為高覆蓋率(80%以上)，因此在植栽特性對外牆溫度影響這部份，則視各樣本的覆蓋率相等，並不予以探討覆蓋率之影響。

另一方面植栽層的厚度則是取下部植栽層厚度的平均值，並非整個牆面的植栽層厚度平均值。結果顯示：植栽層厚度之大小為：地錦>炮仗花>薜荔。

葉色依葉綠素數測定儀之平均數結果為地錦 40.5、炮仗花 29.9、薜荔 44.3，因此葉色深淺度為：薜荔>地錦>炮仗花。

利用光合作用儀測得的各種類之蒸散速率值分別為地錦 3.45、炮仗花 0.44、薜荔 3.81，試驗之結果為地錦與薜荔之蒸散速率值相近，而炮仗花卻遠低於前兩者，因此蒸散速率為：薜荔>地錦>>炮仗花。

從文獻得知在日本的試驗結果為裸露壁面與綠化壁面之外牆溫度差為 10(野島等, 1993)~14°C(前川等, 1987)，在台灣高國峰(2000)利用紅外線熱像技術觀測裸露壁面與綠化壁面上植栽之表面溫度差為 3.8°C，而本研究測量裸露壁面與綠化壁面上之植栽表面溫度差為 2.2~10.9°C，其中高國峰的試驗中為一日多個地點之觀測結果，而在本試驗則觀測時間較長，因此所獲得的數據較完整。

(二)壁面綠化對室內溫度之影響

在壁面綠化對建築物隔熱效果方面，在經過平均數分析後得地錦之室內溫度為 31.3°C，比對照組低 2.5°C；炮仗花之室內溫度為 32.0°C，比對照組低 2.0°C(有 miss 值)；薜荔之室內溫度為 32.1°C，比對照組低 1.7°C。

就平均數觀測而言，壁面綠化對室內溫度之隔熱效果為：地錦>炮仗花>薜荔。

植栽覆蓋率量測之平均值為：地錦>炮仗花>薜荔。

植栽層的厚度之量測為整個牆面的植栽層厚度平均值，因此植栽層的厚度為：地錦>炮仗花>薜荔。

葉色與蒸散速率則同上述之測量結果。

三、不同綠化方式對建築物內部溫度之影響

本研究利用 t 檢定分析發現不同「綠化方式」，其「建築物內部之溫度差」達顯著差異之結果(表 1)，表示綠化方式對建築物內部溫度之影響有明顯的差異。在本試驗中由平均數分析得知壁面綠化對建築物的隔熱效果比屋頂綠化的效果佳。

表 1. 「綠化方式」對「建築物內部之溫度差」之 t 檢定分析

Table 1. The t-test analysis of greening method on internal temperature of buildings.

測試項目	壁面綠化		屋頂綠化		t 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	
建築物內部之溫度差	1.41	0.423	0.05°C	0.347	14.667***

註：***表 $p \leq 0.001$ 。

四、探討不同植物特性對建築物內部溫度及外牆溫度之影響

(一)探討不同植物特性對建築物內部溫度之影響

1.攀緣植栽之「植栽覆蓋率」、「植栽葉面層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」與「建築物內部之溫度差」之相關性分析

在利用皮爾森積差相關分析後發現攀緣植栽之「植栽覆蓋率」、「植栽葉面層厚度」與「建築物內部之溫度差」相關，而攀緣植栽之「葉色」、「蒸散速率」與「建築物內部之溫度差」則沒有顯著相關性(表 2)。

本研究在植栽覆蓋率方面之研究結果，與黃菘苗(2003)在面狀遮陽評估上(僅考慮覆蓋率的影響)，及宋苾璇(2002)在壁面綠化之隔熱效能之研究結果結果相符。

在植栽層厚度方面黃菘苗(2003)之研究結果顯示，植栽在面狀覆蓋與其厚度小於五公分時，在評估的因子主要受覆蓋率影響，且覆蓋率愈高，其隔熱效能越佳，但當覆蓋之植栽厚度大於五公分時，方位角及高度角對遮陽效能之影響逐漸提高，與皮爾森積差相關分析的結果植栽層厚度愈高，隔熱效果愈好的結果相似。

表 2. 攀緣植栽之「植栽覆蓋率」、「植栽葉面層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」與「建築物內部之溫度差」之相關性分析

Table 2. The correlation analysis of planting cover rate, thickness of planting's layer, leave color, and transpiration rate on internal temperature of buildings.

測試項目	植栽覆蓋率	植栽葉面層厚度	葉色	蒸散速率
建築物內部之溫度差 Person 相關	0.478***	0.598***	0.023	-0.069

註：***表 $p \leq 0.001$ 。

2.「植栽覆蓋率」對「建築物內部之溫度差」影響之分析

本試驗欲了解「植栽覆蓋率」對「建築物內部之溫度差」之影響，因此參照黃菘苗(2003)之試驗方法將植栽覆蓋率分為四個類別，分別將植栽覆蓋率之數值為 0.00~0.25 者歸為第一類、0.25~0.50 歸為第二類、0.50~0.75 歸為第三類、0.75~1.00 歸為第四類，接著進行單因子變異數分析。分析結果為攀緣植栽不同的「植栽覆蓋率」，其「建築物內部之溫度差」達顯著差異之結果($F=33.374, p=0.000$)，因此「建築物內部之溫度差」會因「植栽覆蓋率」之不同，而有所不同。同時依「植栽覆蓋率」對「建築物內部之溫度差」之平均數及 Post Hoc 檢定可知，第三類及第四類中高及高覆蓋率的建築物內部之溫度差異大於低、中覆蓋率的第一類及第二類。

3. 「植栽葉面層厚度」對「建築物內部之溫度差」影響之分析

將植栽層分為五個類別，厚度 0~2 公分為第一類，2~4 公分為第二類，4~6 公分為第三類，6~8 公分為第四類，8~10 公分為第五類，進行單因子變異數分析後發現攀緣植栽不同的「植栽葉面層厚度」，其「建築物內部之溫度差」達顯著之結果($t=27.234, p=0.000$)。由平均數及 Post Hoc 檢定分析可知，厚度大於 4 公分的三個類別，其建築物內部之溫度差較厚度小於 4 公分的大。黃菘苗(2003)之研究結果指出，植栽在面狀覆蓋與其厚度小於 5 公分時，隔熱效能主要受覆蓋率影響，當其厚度大於 5 公分時，方位角及高度角對遮陽效能之影響逐漸提高。因此若將植栽葉面層厚度以 5 公分為區隔分為兩類，其對建築物內部之溫度差將有明顯的影響，厚度超過 4 公分者，其隔熱效果比厚度小於 4 公分者較佳。本研究之結果與黃菘苗(2003)之研究結果相似。

4. 「葉色」對「建築物內部之溫度差」影響之分析

將植栽的葉色依照綠色深淺度分為三類，分別炮仗花 29.9 為最低，歸為第一類；其次是地錦 40.5，為第二類；顏色最深的為薜荔，歸為第三類。再利用單因子變異數進行分析，分析後發現攀緣植栽不同的「葉色」，其「建築物內部之溫度差」達顯著差異之結果。

由不同「葉色」對「建築物內部之溫度差」之平均數及 Post Hoc 檢定分析得知，中度的葉色的建築物內部之溫度差值最大，但據傳熱理論推斷顏色最淺的炮仗花應該有最高的建築物內部之溫度差，而實驗結果並非如此，可能是因為建築物內部之溫度差受到覆蓋率及厚度的影響更大，亦可能因不同葉色的樣本數不足，因此分析葉色時，反受其它因素所影響。

5. 「蒸散速率」對「建築物內部之溫度差」影響之分析

分析結果為不同的「蒸散速率」，其「建築物內部之溫度差」未達顯著差異之結果($t=-1.034, p=0.303$)。因此攀緣植栽不同的「蒸散速率」對「建築物內部之溫度差」沒有顯著影響。

6. 攀緣植栽的「種類」對「建築物內部之溫度差」影響之分析

分析結果顯示不同攀緣植栽的「種類」，其「建築物內部之溫度差」達顯著差異之結果($t=35.619, p=0.000$)。由攀緣植栽的「種類」對「建築物內部之溫度差」之平均數及 Post Hoc 檢定分析，可知地錦的隔熱效果最佳，其次是炮仗花，而薜荔的效果則最差。

(二)探討不同植物特性對建築物外牆溫度之影響

在探討植物特性對建築物外牆溫度之影響時，因試驗方法不同於建築物內部溫、溼度的測量，其測量建築模型下部受植栽覆蓋的牆面之溫度，而各模型下部的植栽覆蓋率相近，皆為高覆蓋率(80%以上)，因此在植栽特性對外牆溫度影響這部份，則視各樣本的覆蓋率相等，並不予以探討覆蓋率之影響。另一方面亦是因測量位置為建築模型下部，所以植栽層的厚度則是取下部植栽層厚度的平均值，並非整個牆面的植栽層厚度平均值。因此不同植物特性對建築物外牆溫度之影響此部份之試驗，僅就其中的「植栽葉面層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」三項因子進行分析討論。

1. 攀緣植栽之「植栽葉面層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」與「建築物外牆溫度差」之相關性分析

在利用皮爾森積差相關分析後發現攀緣植栽之「植栽葉面層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」與「建築物外牆溫度差」相關，其中「植栽葉面層厚度」呈高度負相關性，其次「葉色」為正相關，而「蒸散速率」之相關性較低(表 3)。

「植栽葉面層厚度」之分析結果，與黃菘苗(2003)之研究，厚度愈高，其隔熱效能越佳的試驗結果相反，推斷係因下層的植栽厚度較大者其覆蓋的密度小，葉子雖多但也較稀疏，反而不如厚度小但密度高的效果佳，但也有可能是受其它因素所影響。

「葉色」之分析結果呈顯著正相關，這與傳熱理論不符，因此這部份的結果可能受其它相關因素所影響，如植栽種類。

「蒸散速率」的正相關性表示，蒸散速率值愈高，隔熱效能越佳，此部份證實 Eumorfopoulou and Aravatinos(1998)及 Krusche(1982)的概念。

表 3. 攀緣植栽之「植栽葉面層厚度」、「葉色」、「蒸散速率」與「建築物外牆溫度差」之相關性分析

Table 3. The correlation analysis of planting cover rate, thickness of planting's layer, leave color, and transpiration rate on the temperature of outer wall surface.

測試項目	植栽葉面層厚度	葉色	蒸散速率
建築物內部之溫度差 Person 相關	-3.98***	0.278**	0.212***

註：*表 $p \leq 0.05$ ，**表 $p \leq 0.01$ ，***表 $p \leq 0.001$ 。

2. 「植栽葉面層厚度」對「建築物外牆溫度差」影響之分析

經分析後發現將攀緣植栽不同的「植栽葉面層厚度」，其「建築物外牆之溫度差」達顯著差異之結果($t=8.953$, $p=0.000$)。其中厚度較小的 1~3 公分、3~6 公分兩個類別其建築物外牆之溫度差大於厚度較大的 6~9 公分、9~12 公分兩個類別，這與黃菘苗(2003)之研究結果相反，推測因下層的植栽厚度較大者其覆蓋的密度小，其效果反而不如厚度小但密度高的效果佳，但也有可能是受其它因素所影響。

3. 「葉色」對「建築物外牆之溫度差」影響之分析

在利用單因子變異數分析後發現攀緣植栽不同的「葉色」，其「建築物外牆之溫度差」達顯著差異之結果。由平均數及 Post Hoc 檢定分析得知，顏色最深的薜荔其隔熱效果最

佳，但據傳熱理論推斷顏色最淺的炮仗花應該有最高的建築物外牆之溫度差，而實驗結果並非如此，推測可能建築物外牆之溫度差受到其它因素之影響更大。

4. 「蒸散速率」對「建築物外牆之溫度差」影響之分析

分析結果為不同的「蒸散速率」，其「建築物外牆之溫度差」達顯著差異之結果。且蒸散速率高者，隔熱效果較佳。

5. 攀緣植栽的「種類」對「建築物外牆之溫度差」影響之分析

分析結果顯示不同攀緣植栽的「種類」，其「建築物外牆之溫度差」達顯著差異之結果($t=35.619$, $p=0.000$)。因此攀緣植栽的「種類」的確影響「建築物外牆之溫度差」。

結 論

一、研究結論

- (一)在本研究所使用的試驗方法測量下，壁面綠化較屋頂綠化之隔熱效果佳。
- (二)在比較綠化壁面和裸露壁面表面溫度的試驗中，「植栽覆蓋率」相同的情況下，植栽之隔熱效果以薜荔最佳，炮仗花次之，地錦的效果則最差。
- (三)壁面綠化對室內溫度之影響經分析後得知，隔熱效果為地錦最佳，炮仗花次之，薜荔的效果最差。
- (四)由壁面綠化對外牆表面溫度及室內溫度影響的兩組試驗結果，得知植栽特性中影響隔熱效果最大的因子為「植栽層厚度」，其次是「植栽覆蓋率」，再者是「蒸散速率」，而「葉色」對隔熱效果則沒有顯著的影響。
- (五)試驗結果顯示壁面綠化對建築物內部的降溫效果越佳，其相對溼度則會越高。
- (六)試驗結果發現綠化植栽的「葉片密度」會影響建築物之隔熱效果。

二、植栽應用建議

- (一)在進行綠化工作選擇植栽材料時，假如要挑選隔熱效果較佳的植栽，首先可以植栽特性中的「植栽層厚度」做為優先考量，日後生長的植栽層厚度大於五公分者有較佳的隔熱效果，但還需有高的葉片密度；其次考量「植栽覆蓋率」，未來可達到的植栽覆蓋率愈高，隔熱效能愈佳；再者則考量其「蒸散速率」，蒸散速率愈高，隔熱效能愈佳，但另外還需注意其相對帶來較高的溼度。
- (二)由試驗過程得知，本試驗所採用的三種植栽中以地錦的生長速率最快，若是要在短時間內達到綠化的效果，地錦是一個很好的選擇，但前提是需考慮其具有季節性，在冬季休眠呈落葉狀態。而若只考慮植栽對建築物的隔熱效果，不考慮其生長速度，則建議選擇薜荔作為綠化植栽。若考慮植栽的美觀性，這三種植栽中只有炮仗花具開花的特性，有豔麗的花色，是美化環境、增加視覺注意力的良好植栽。

三、後續研究建議

- (一)景觀美質：建議未來綠化植材的相關研究可以針對不同植栽所營造的景觀加以探討，對未來利用綠化植栽時，可以有另一個參考方向。
- (二)綠視率對心理的影響：另外壁面綠化為都市所帶來的立面綠視率，可滿足人們在都市中對綠色的滿足度，建議未來可朝綠視率對心理的影響進行實驗，分析其對生活緊張的現代人，是否有放鬆心理壓力的作用。

參 考 文 獻

- 王以雄等譯。1996。熱力學概論。高立圖書有限公司。台灣：台北。
- 王家珍。2002。多孔性構材應用於雙層立面對室內溫熱環境影響之研究。碩士論文。國立台灣科技大學建築系。台灣：台北。
- 王錦堂。1980。建築應用物理學。臺隆書店出版。台灣：台北。
- 吳協勳。2001。由建築節能觀點探討外牆構法上隔熱功能改善之研究。碩士論文。國立臺灣大學生物環境系統工程學系暨研究所。台灣：台北。
- 宋苾璇。2002。壁面綠化隔熱效能之研究。碩士論文。國立台灣科技大學建築研究所。台灣：台北。
- 谷家恆。2000。建築外殼耗能管制實施現況檢討研究。內政部建築研究所。台灣：台北。
- 徐忠慶。1976。臺灣地區建築物外殼常用建材及構造熱傳特性之研究。碩士論文。國立台灣科技大學工程技術研究所。台灣：台北。
- 高國峰。2000。利用紅外線熱像技術觀測環境綠化效果之研究。碩士論文。國立台灣科技大學工程技術研究所。台灣：台北。
- 陳昶源。2000。木構造建築之複合壁體與屋頂對隔熱及溫濕度調節效應。碩士論文。國立台灣大學森林學研究所。台灣：台北。
- 黃菘苗。2003。牆面綠化遮陽效能之評估研究。碩士論文。國立台灣科技大學建築研究所。台灣：台北。
- 楊秉純。2000。建築外殼性能檢測分析研究(一)建築構造體熱取得率量測實驗室規劃。內政部建築研究所。台灣：台北。
- 廖志中。1998。木質內裝材料及木質複合壁體隔熱效應之研究。博士論文。國立台灣大學森林學研究所。台灣：台北。
- 廖鴻一。1999。利用紅外線熱像解析都市敷地及建築外殼熱特性之研究。碩士論文。國立台灣科技大學工程技術研究所。台灣：台北。
- 嚴定萍。1997。建築材料熱傳導測試基準之應用研究。內政部建築研究所。台灣：台北。
- Eumorfopoulou, E. and D. Aravantinos. 1998. The contribution of a planted roof to the thermal protection of buildings in Greece. *Energy and Buildings*, 27: 29-36.

- Ferrante, A. and G. Mihalalalou. 2001. The influence of water, green and selected passive techniques on the rehabilitation of historical industrial buildings in urban areas. *Solar Energy*. 70(3): 245-253.
- Krusche, P., M. Krusche, D. Althaus, and I. Gabriel. 1982. *Ökologisches Bauen*, Herausgegeben vom Umweltbundesamt. Wiesbaden and Berlin Bauverlag.
- Minke, G. and G. Witter. 1982. *Häuser mit grünen Pelz, Ein Handhuch zur Hausbegrünung*, Fricke Verlag. Frankfurt.
- Ohlwein, K.. 1984. *Dachhegrünung: Ökologisch und Funktiongerecht*, Bauverlag, Wiesbaden und Berlin.
- Onmura, S., M. Matsumoto, and S. Hokoi. 2000. Study on evaporative cooling effect of roof lawn gardens. *Energy and Buildings*. 33: 653-666.
- Theodosiou, T. G. 2003. Summer period analysis of the performance of a planted roof as a passive cooling technique. *Energy and Buildings*. 35: 909-917.
- Wong, N. H., Y. Chen, C. L. Qng, and A. Sia. 2003. Investigation of thermal benefits of rooftop garden in the tropical environment. *Building and Environment*. 38: 261-270.
- 近藤三雄、其他。1987。建築物の屋上・壁面をすることによる夏季の室温の上升抑制効果について。芝草研究：16-2。
- 前川、其他。1987。園藝學要旨：62 秋。
- 原園芳信、池田英男。1990。屋上での簡易養液栽培による室内熱環境への影響。農業氣象：46-1。

Influences of Different Plantings on Buildings' Cooling Effect

Wei-Fan Hsieh ¹⁾ Sheng-Jung Ou ²⁾

Key words: Greening Building, Wall, Roof, Cooling Effect, Climbing Plants, Greening Method

Summary

The major purpose of this study is to discuss the influences of greening methods and different plantings on building's cooling effect. It is expected that the study results provide guidelines for designers when using plants as major elements in greening buildings. In order to achieve the study purpose, this study creates the simulated buildings to obtain the temperature of outer wall surface and internal temperature of the simulated buildings. In the part of different greening methods, this study measures differences of building's internal temperature and humidity between roof greening method (using turf as a greening material) and outer wall greening method (using climbing plants as greening materials). In the part of different plantings, this study measure the influences of planting cover rate, thickness of planting's layer, leave color, and transpiration rate on building's internal temperature/humidity. Through statistical analyses, such as descriptive analysis, t-test, one-way analysis of variance, and correlation analysis. This study has obtained the following conclusions:

1. Outer wall greening method has a better cooling effect than that of roof greening method.
2. In the influence of wall greening on the temperature of outer wall surface and building's internal temperature, the most effective factor is the thickness of planting's layer followed by planting cover rate and transpiration rate. While, the factor of leave color has no significant effect on temperature change.
3. The leave density has an influence on building's cooling effect.

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

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

ISSN 0255-5921

興大園藝

第三十卷 第二期

- 高冷地彩色海芋不整地栽培的研究
.....李秀崑 倪正柱..... 1
- 中國櫻桃(*Prunus pseudocerasus* L.)促成栽培
.....吳文貴 倪正柱.....11
- ‘珍珠拔’番石榴葉片、果實礦物元素及品質之相關性
.....鄭安亨 林慧玲.....23
- 彩色辣椒(*Capsicum annuum* L.)再生系統的建立
.....蔡有章 曾夢蛟.....33
- 珈瑪射線對聖誕紅生長之影響
.....傅仰人 朱建鏞 黃敏展.....43
- 培養基活性碳應用對蝴蝶蘭瓶苗生長及瓶內氣體組成之影響
.....賴思倫 林瑞松.....59
- 民宿旅客住宿型態偏好之研究
.....林奕君 歐聖榮.....73
- 商業街道視覺品質改善之研究
.....李冠賢 歐聖榮.....83

國立中興大學園藝學系

中華民國九十四年六月編印

高冷地彩色海芋不整地栽培的研究

李秀崑¹⁾ 倪正柱²⁾

關鍵字：撒播、小康草、白花三葉草、水土保持

摘要：台灣高山農業發展因土石流問題嚴重將受到限制。本研究以彩色海芋'Florex Gold'為材料，在中台灣海拔 2,000 m 的興大高冷地園藝試驗分場進行不整地栽培。利用直徑 3 cm 以下塊莖進行撒播，1 個下午可撒播約 50 kg 的小塊莖，逢機調查其發根率為 68.29 %。於小康草進行不整地栽培可以 20 x 20 及 30 x 30 cm 的行株距。彩色海芋不整地栽培的生長表現以在混生草中最好，其次為小康草、白花三葉草，但花朵間花莖長度無差異。在已經完成小康草覆蓋的 30 度坡地，彩色海芋不整地栽培仍然可行，北向坡上較平緩地可得較高的株高及花莖長。高冷地農業若採用不整地栽培方式，則能減緩甚至停止山坡地的水土流失問題。

前 言

不整地栽培自 1940 年代在美國開始受到重視，運用田間作物的栽培，至今有玉米 (Exkert and Johnson, 1985)、大豆 (Hargrove *et al.*, 1982) 及高粱 (Baumhardt *et al.*, 1985) 等，園藝作物如果樹及蔬菜也有進行有機栽培，其中果樹的草生栽培則有不整地栽培的精神所在，在花卉至今僅有蘇 (2001) 進行過彩色海芋的草耕栽培。彩色海芋 (*Zantedeschia hybrida*) 切花品種葉柄長，在小康草上草耕栽培不會被小康草遮陰 (蘇, 2001)。*Z. albomaculata* 原生於溪谷、森林邊緣或是山地草地 (Singh, 1995)，許多品種即由此原生種育出。彩色海芋在光照強度弱的環境下，其葉面積、葉柄長會較在光照強度強的環境下來得大 (Corr *et al.*, 1990; Funnell *et al.*, 1998)，生長速率 ($d.w. g \cdot day^{-1}$) 及相對結球速率 ($g \cdot g^{-1} day^{-1}$) 也較快 (Funnell, 1992)。

1) 國立中興大學園藝學系研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

Welsh 和 Clemens(1992)指出以粒徑 3~5 mm，具 21 % 空氣孔隙度的矽土河砂(silica river sand)介質為適合的無機栽培介質。蘇(2001)試驗發現小康草層中的空氣孔隙度達到 38 %，較一般無機栽培介質來得高。紐西蘭種苗公司 Bloomz 建議栽培密度，若種球直徑 2~3 cm 則 40 球/平方公尺、5~6 行/畦，4~5 cm 則 20 球/平方公尺、3~4 行/畦；7~8 cm 則 12~15 球/平方公尺、2~3 行/畦。本省栽培彩色海芋為一畦兩行，林(1997)建議以球徑 3~5 倍密度的適度密植，可增加單位面積產量，還能減少雜草降低軟腐病的發生。

彩色海芋進行草耕栽培時，種植位置與時間影響塊莖的存活率，1 月份在海拔 2,000 m 的北東眼山種植時，露天種植凍死率高達 95 %，而將塊莖埋藏於小康草層中的則無凍傷情形發生(蘇, 2001)。

材 料 與 方 法

一、試驗材料

試驗用的彩色海芋植株為金黃色 'Florex Gold' 品種，種球分批於 2001 年 9 月、11 月及 2002 年的 11 月挖取，除 2001 年 9 月是在彩色海芋植株綠葉倒伏時挖取，其餘皆為地上部完全落葉後挖取。彩色海芋植株為種植於海拔 2,000 m 的興大高冷地園藝試驗分場。種球採收後載至台中中興大學，經清洗、分球再浸泡藥劑氫氧化銅(400X)、鋅錳乃浦(1,000X)及鏈四環黴素(1,000X)進行消毒，陰乾 4 天後移至 10°C 冷藏庫冷藏，種植前再取出種球。試驗用的種球為直徑 4~6 cm 的開花球，大部份種球種植前均浸泡 50 ppm GA₃ 15 mins，撈起後置於通風良好處陰乾。

二、試驗地點

為興大高冷地園藝試驗分場，位於海拔 2,000 m 的南投縣仁愛鄉北東眼山山頂，土壤成份主要為富含板岩的黏壤土，部份森林邊緣的土壤表層含有豐富有機質。園區內草生覆蓋主要由小康草及白花三葉草兩種草種構成，因白花三葉草與小康草生長習性上的差異，導致小康草的生長區域被白花三葉草入侵，造成小康草覆蓋區域逐年減少，而兩草種交界處會呈現白花三葉草葉片自小康草伸出的混合生長情形。

三、種植方法

彩色海芋不整地栽培係利用小康草及白花三葉草覆蓋的園區，不經過翻土整地等農事直接將彩色海芋種植。各項試驗無論小康草或白花三葉草，均利用鐮刀將草莖割開直到可見土表，再拉出直徑 10 cm 的植穴，放入 5 cm 厚的半腐熟洋菇堆肥，再放上彩色海芋的塊莖，並覆上 5 cm 厚的半腐熟洋菇堆肥。袋耕的彩色海芋以長寬各 60 cm 的 32 孔目尼龍網袋，塊莖放置方法相同於在小康草的放置方法，最後才將整個網袋放在小康草間。

四、高冷地彩色海芋不整地栽培

(一)彩色海芋撒播栽培

利用當年冬季彩色海芋分球後剩餘的 3 cm 以下小種球，所有種球都在中興大學高冷地園藝試驗分場的遮雨蓬底下，接受自然低溫，並於 2003 年 3 月 16 日移至全園草生的果園撒播。

撒播時由高處將彩色海芋小球以人力徒手均勻撒至果園每一處角落，包括果樹底下與小康草、白花三葉草草生的空曠區域。種球撒播至白花三葉草後會隱沒不見，而撒播至小康草的種球部份滾落在草球間，部份落在平坦的小康草上，直至因氣候回暖及降雨令小康草萌發生長，種球才會被小康草覆蓋。

(二)彩色海芋不整地栽培行株距

試驗分成 4 種行株距，分別為 D1(20 x 20 cm)、D2(30 x 30 cm)、D3(40 x 40 cm)及 D4(15 x 15 cm)，每處理 4 重複，每重複 12 個種球。試驗區域位於森林邊緣，早上全日照，下午無太陽直射，由小康草所覆蓋。彩色海芋塊莖種植時先以 32 孔目的尼龍網袋置於小康草底部，種植方法與其他試驗相同。

(三)彩色海芋不整地栽培方法的選擇

試驗以興大高冷地園藝試驗分場主要的兩種草種進行不整地栽培，分為土耕組、小康草組、白花三葉草組、混生草組及網袋組，試驗地點及種植方法如前述，株距為 60 cm，每處理 3 重複，1 重複 20 株。

(四)彩色海芋在坡地不整地栽培之觀察

試驗區域位於海拔 2,000 m 的興大高冷地園藝試驗分場，第三宿舍前前往北東眼山三角點的斜坡上，坡度約在 30°~40°之間。試驗分為對照組及試驗組，對照組為平緩地不整地栽培。對照組及試驗組的種植方式均如前述。本試驗種植株距為 30 cm，試驗組因受限於試驗區域內有李樹而種植 6 行，每行 10 株。每組試驗為 3 重複，1 重複 20 株。

五、統計分析

調查所得數據採用 SAS 套裝軟體(SAS Inst., Inc., Cary, N. C.)中之 ANOVA(analysis of variance)進行變方分析，其平均值以鄧肯氏多變域分析(Duncan's Multiple Range Test)與最小顯著差異(LSD)進行其差異顯著性分析(P = 0.05)。

結 果

一、彩色海芋撒播栽培

種球撒播到小康草後經過 1 個月，其種球腐爛率為 6.1%，撒播出去後種球主芽朝上方的比例為 34.15%，主芽朝下的比例為 29.27%，主芽朝著四周的比例為 30.49% (圖 1)。

進一步觀察這四種種球主芽方向與其發根情形(圖 2)，已經腐爛的種球發根率為 0%，主芽朝四周的發根率最高為 92%，主芽朝下的發根率次之為 91.67%，主芽朝上的發根率最低為 39.29%。若不計種球腐爛，撒播後的總發根率有 70.89%，若加入種球腐爛，撒

播後的總發根率則為 68.29 % (圖 1)。

二、彩色海芋不整地栽培行株距

不整地情形下草體會和彩色海芋植株互相競爭水分和養分，一般整地栽培的種植行株距有可能需要調整才適用於草耕上。在 4 種種植行株距上，萌芽率以 D3 最高有 100 %，而在 D4 的萌芽率最低，為 83.33 %，D1 與 D2 的萌芽率分別為 94.44% 與 91.67 %。4 種栽植行株距的株高都相當接近，無顯著差異。在 4 組栽植行株距的莖數也都無明顯差異(表 1)。在花朵品質上，花莖長以 D2 最高，其次是 D1，但兩組間無明顯差異，D4 花莖長 46.00 cm 與 D1 無明顯差異，但與 D2 有明顯差異，D3 花莖長與 D4 無明顯差異，與 D1 及 D2 有明顯差異。佛焰苞長在 D2 與 D3 有顯著差異，但 D1、D2 與 D4 間無顯著差異，D1、D3 與 D4 間也無顯著差異。花莖直徑 4 組間無顯著差異(表 1)。

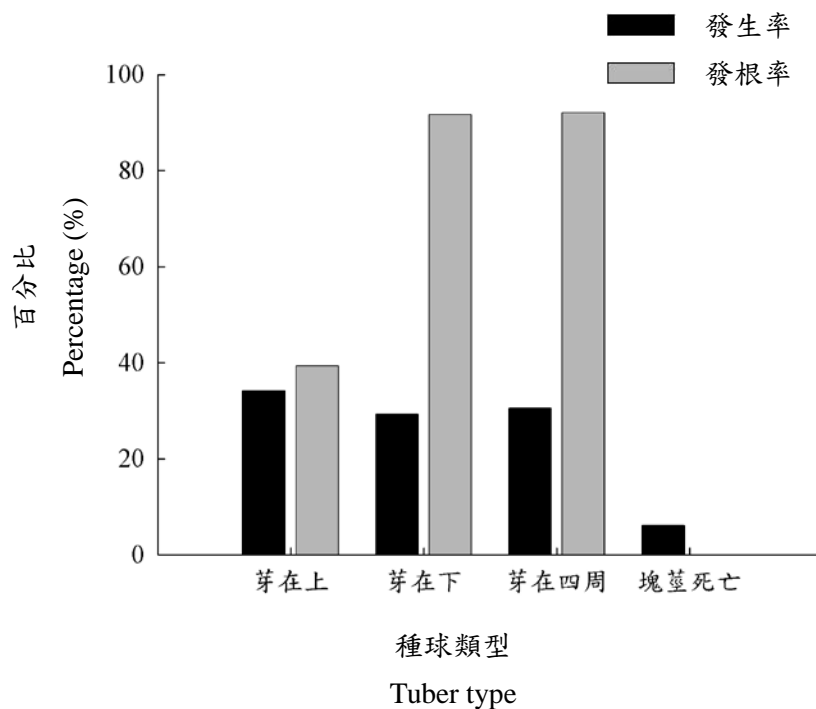


圖 1. 撒播對彩色海芋塊莖的影響

Fig 1. Effect of sowing tuber on plant growth of *Z. hybrida* 'Florex Gold' in highland.



圖 2. 彩色海芋塊莖撒播後一個月的生長情形

Fig 2. Growth of tuber of *Z. hybrida* 'Florex Gold' after sowing 1 month in highland.

A：芽在四周呈 90 度向上生長；B：芽在下朝 180 度向上生長

A: Tuber of bud at arrow grows and turn upward 90°; B: Tuber of bud below grows and turn upward 180°

表 1. 不同行株距對不整地栽培彩色海芋生長及開花之影響

Table 1. Effect of different spacing in the rows on plant growth and flower quality of non-tillage *Z. hybrida* 'Florex Gold' in highland.

行株距 Spacing in the rows (cm)	萌芽率 Sprouting (%)	株高 Plant height (cm)	莖數 Shoots/ tuber	花莖長 Peduncle length (cm)	花莖直徑 Peduncle diameter (cm)	佛焰苞長 Spathe length (cm)
15 x 15	83.33 ^x	52.96a	2.79a	46.00bc	1.17a	8.98ab
20 x 20	94.44	52.59a	2.46a	51.33ab	1.24a	9.11ab
30 x 30	91.67	52.54a	2.64a	52.89a	1.24a	9.27a
40 x 40	100.00	52.37a	2.21a	45.44c	1.18a	8.33b

^x Means within column followed by different letters were significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.

三、彩色海芋不整地栽培方法的選擇

比較彩色海芋不整地栽培在不同栽培方法下的表現，結果在萌芽率中，最低的是網袋草耕僅 60 %，白花三葉草有 86.78 %、混生草有 95 %、小康草有 90 %，最高的是土耕有 100 % (表 2)。

株高最高的是混生草有 54.49 cm，最矮的是網袋草耕僅有 31.03 cm，土耕、小康草和 白花三葉草分別是 44.05、48.07 和 49.28 cm。在莖數上則以土耕最多，平均有 2.52，其餘 4 組在 1.59~1.77 之間，處理間無顯著差異。經過一個生長週期，各試驗的種球成長率在土耕組為 31.63 %，小康草、白花三葉草及混生草因為不見植株殘體，不易尋獲地下部的塊莖故無數據，網袋草耕則是有 87.64 % 的成長 (表 2)。

在花朵品質上，花莖長在 5 個組間都沒有顯著差異。佛焰苞的長度以白花三葉草最長有 9.97 cm，最短的則是土耕組的 8.13 cm，和小康草的 8.83 cm、混生草的 8.91 cm 達到顯著差異，和網袋草耕的 9.26 cm 差異不顯著；花莖直徑以網袋草耕和混合草耕最高，分別有 1.17 和 1.16 cm，最小的是小康草草耕和 白花三葉草草耕的 1.04 cm，土耕為居中的 1.09 cm，但和另 4 組間的差異不顯著 (表 2)。

表 2. 不整地栽植方法對彩色海芋生長及開花之影響

Table 2. Effect of different planting method on plant growth and flower quality of non-tillage *Z. hybrida* 'Florex Gold' in highland.

栽植方法 Planting method	萌芽率 Sprouting (%)	株高 Plant height (cm)	莖數 Shoots/tuber	種球成長率 Tuber growth rate (%)	花莖長 Peduncle length (cm)	花莖直徑 Peduncle diameter (cm)	佛焰苞長 Spathe length (cm)
土耕	100.00 ^x	44.05c	2.52a	31.63	55.26a	1.09ab	8.13c
小康草	90.00	48.07b	1.59b	-	51.33a	1.04b	8.83bc
白花三葉草	86.78	49.28b	1.77b	-	51.93a	1.04b	9.97a
混生草	95.00	54.49a	1.75b	-	50.22a	1.16a	8.91bc
網袋草耕	60.00	31.03d	1.64b	87.64	49.97a	1.17a	9.26ab

^x Means within column followed by different letters were significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.

四、彩色海芋在坡地不整地栽培之觀察

在坡度 30° 的坡地上，彩色海芋草耕的萌芽率有 88.33 %，種在平緩地為 85 %。在株高上分別為坡地組 51.3 cm 與對照組 41.86 cm，坡地組比對照組高且達顯著差異。在莖數上分別為坡地組的 1.40 與對照組的 1.98，坡地組較對照組少且達顯著差異(表 3)。

在花朵品質上，花莖長分別為坡地組的 51.13 cm 與對照組的 46.48 cm，兩組間無顯著差異。佛焰苞長分別為坡地組的 9.23 cm 與對照組的 8.55 cm，兩組間達顯著差異。花莖直徑分別為坡地組的 1.39 cm 與對照組的 1.03 cm，兩組間無顯著差異(表 3)。

表 3. 坡地不整地的彩色海芋植株生長及開花情形

Table 3. Plant growth and flower quality of non-tillage culture *Z. hybrida* 'Florex Gold' at hill field in highland.

處理 Treatment	萌芽率 Sprouting (%)	株高 Plant height (cm)	莖數 Shoots/ tuber	花莖長 Peduncle length (cm)	花莖直徑 Peduncle diameter (cm)	佛焰苞長 Spathe length (cm)
平緩地	85.00 ^x	41.86a	1.98	46.48	1.03	8.55
坡地	88.33	51.30a	1.40	51.13	1.39	9.23
LSD0.05	-	3.66*	0.52*	5.88 ^{NS}	1.16 ^{NS}	0.66*

^x Means within column followed by different letters were significantly different at 5% level by t-test.

^{NS}, *, No significant or significant at $P \leq 0.05$ by LSD test.

討 論

彩色海芋不整地栽培種植於小康草中較費工，因為在冬季若遇到 -10°C 的寒流，放在小康草上的彩色海芋塊莖就會有凍死的情形(蘇, 2001)，因此在冬季種植彩色海芋需要先在彩色海芋挖洞，確保彩色海芋塊莖不會凍死。放在小康草表面的彩色海芋，在 1 月份塊莖會有 95 % 的凍死率，2 月份的凍死率則有 40 % (蘇, 2001)。直接放彩色海芋塊莖在小康草上，其種植速度比傳統種植方法及挖栽植穴快很多。由於草層的柔軟性，即使直接丟擲彩色海芋塊莖也不會有傷害，以直徑 3 cm 以下的塊莖來進行小康草及白花三葉草上的撒播，在 3 月中旬並無凍死的情形。4 月下旬隨機調查彩色海芋生長情形，發現塊莖撒播後的形態呈平均的分佈，無論是主芽在上、在下或在四周，其比例大致上為 1 : 1 : 1。

圖 2 可見到芽在四周及在下的塊莖順利發根，芽在下的塊莖所長出來的根又比芽在四周的塊莖來得多，這是因為芽周圍受到來自小康草蒸散的水分造成局部高濕，加上無光線直接照射使得根得以萌發生長。芽在上的塊莖多數因為芽點直接曝露於日光下所以都沒有發根，甚至乾枯，僅有約 40 % 的塊莖因為有部份小康草生長後覆蓋上去而能正常發根。塊莖的發根率有 68.92 %，後續觀察沒發根的塊莖皆無法存活，若是發根的塊莖皆能正常生長，則存活率可望高達 7 成。

蘇(2001)以株距 60 cm 來進行彩色海芋草耕栽培，結果和一般栽培的彩色海芋表現相近，但細菌性軟腐病的發生率極低。惟 60 cm 的株距將造成單位面積種植株數減少，在台灣中高海拔山區的宜農地面積不多的情形之下，若能縮小栽培行株距可增加種植株數。在表 1 可見彩色海芋以不同行株距進行不整地栽培，株高及莖數都無顯著差異，但在萌芽率上則是以行株距 15cm 略低，其餘行株距都有 90 % 以上的萌芽率。花朵品質以行株距 20 及 30 cm 的表現最佳，最小行株距及最大行株距的表現不佳，建議可以將彩色海芋不整地栽培時的行株距縮小至 20~30 cm。

在小康草中進行彩色海芋的不整地栽培不易採收塊莖，塊莖採收不易的原因有：1. 彩色海芋休眠後塊莖被小康草覆蓋，不易找到正確位置；2. 小康草草層厚且柔軟。為解決此一問題，利用尼龍網袋的袋耕方式，來作為彩色海芋不整地栽培的方法之一。以尼龍網袋種植彩色海芋，32 網目的孔隙大小可能會影響彩色海芋根系向外伸展，因而使用了較大容積的尼龍網袋(60 x 60 cm)來增加可置入的介質，以及使用不裁縫成袋型的方式來避免根向外生長受到阻礙；經實際種植可發現在網袋中彩色海芋根部的生長是可以正常地伸出尼龍網的網孔，而在不裁縫的尼龍網上種植的彩色海芋，其根部也會伸出尼龍網的網孔。

受到 2002 年 3-5 月少雨的影響，在當年 5 月份(種植後 4 個月)土耕的彩色海芋皆已萌芽，但在不同草種的不整地栽培組才剛萌芽出來，袋耕的彩色海芋則不見萌芽，且網袋內的半腐熟洋菇堆肥幾乎是乾的，在半腐熟洋菇堆肥內的塊莖同樣未萌芽、未生根。試驗中以袋耕種植的彩色海芋萌芽率低，株高較矮，但是莖數和其他草耕方式比較沒有差別，花朵品質的差異也不大。不同草種的不整地栽培彩色海芋，其生長表現僅有莖數少於土耕組，其餘表現皆與土耕組表現相近，可證實以不整地栽培彩色海芋，並不因草種而影響植株生長表現。

山坡地因坡向及坡度的不同會造成氣候上的差異，在北半球，當山坡地坡向為南向時，每天的日照時數較高，平均溫度較高。在台灣，夏季有來自南方的西南氣流造成降雨。當山坡地坡向為極向時，每天的日照時數較低，平均溫度較低。在台灣，冬季有來自北方的東北季風造成降雨。無論坡向為何坡度愈大日射量愈小，但北向坡容易沒有直射光(周, 1990)。

在北東眼山北向的坡地上進行彩色海芋不整地栽培，其萌芽率較平緩地稍好，株高也多了約 10 cm，這可能是受每日日照時數較短有關，此外在坡地上，由於光線呈斜角入射，光強度也相對較低。在花朵品質的表現上，坡地不整地栽培的彩色海芋都較平緩地不整地

栽培來得好。由此結果得知若是在北向的坡地上種植彩色海芋有助於花朵長度的增加，如果在南向的坡地上草耕彩色海芋，有可能會因為春季所接受的日照量過多，以及局部性加溫造成的過於乾燥，反而不利於彩色海芋在自然狀態下的草耕，將造成萌芽率低、莖數、葉數較少以及株高較矮等情形。

坡地利用小康草做覆蓋有絕佳的水土保持功效，不產生土壤沖蝕，不影響果樹生長，且做為休閒用之草皮極為適合(倪與張, 1995)。2004年7月2日的敏督利颱風造成全台各地重要災情，尤其在中部山區多處土石流，道路中斷，影響人數眾多，因而從民間到政府開始對山坡地農業興起了一陣討論，行政院於2005年1月份研擬了國土復育策略方案暨行動計畫(草案)(中華民國行政院, 2005)，在第二章國土保育範圍之劃定與管理中，第七條提到將海拔1,500 m以上的山區列為高海拔山區，除了所記載的事項外，與經過中央目的事業主管機關許可者外，禁止各項新開發，既有建物、設施應限期拆除，在以水土保持為前提的情形之下，能否進行不破壞水土保持的農業活動尚不可得知，不過本研究已經提供了高山農業的一個新思維。

參 考 文 獻

- 何陽修、劉明宗、陳駿季、沈再發。2000。海芋栽培技術手冊。農委會種苗改良繁殖場。55pp。
- 周昌弘。1990。植物生態學。433頁。聯經出版事業公司。台北。
- 行政院。2005。國土復育策略方案暨行動計畫(草案)。中華民國行政院。38pp。
- 林巽智。1997。彩色海芋結球及種球貯藏之研究。國立台灣大學園藝研究所碩士論文。94pp。
- 倪正柱、張騰維。1995。台灣高冷地小康草(*Agrostis palustris* Huds)生育及水土保持功能研究。中華農學會報新 172:83-92。
- 蘇玉如。2001。高冷地彩色海芋之草耕栽培模式。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。72pp。
- Baumhardt, R. L., R. E. Zartman, and P. W. Unger. 1985. Grain sorghum response to tillage method used during fallow and to limited irrigation. *Agron. J.* 77: 643-646.
- Corr, B. E. and R. E. Widmer. 1990. Growth and flowering of *Zantedeschia elliottiana* and *Z. rehmannii* in response to environmental factors. *HortScience* 25: 925-927.
- Funnell, K. A. and B. R. MacKay. 1992. Comparative effects of promalin and GA₃ on flowering and development of *Zantedeschia* 'Galaxy'. *Acta Hort.* 292: 173-191.
- Funnell, K. A., E. W. Hewett, I. J. Warrington, and J. A. Plummer. 1998. Leaf mass partitioning as a determinant of dry matter accumulation in *Zantedeschia*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123: 973-979.
- Welsh, T. E. and J. Clemens. 1992. Protected cropping of *Zantedeschia* tuber and cutflowers in New Zealand. *Acta Hort.* 319: 335-340.

Non-tillage Culture of Calla Lily at Highland

Xiun-Kun Li ¹⁾ Chneg-Chu Nee ²⁾

Key words: Sowing, bentgrass, clover, water and soil conservation

Summary

Mudflows and landslides limits agricultural development at highland in Taiwan. This research of non-tillage culture calla lily 'Florex Gold' at horticultural experimental station of NCHU, altitude 2,000 m, center Taiwan, we planted 50 kg small tubers which diameter under 3 cm by sowing in an afternoon. There were 68.29% which rooting. Non-tillage culture of calla lily on bentgrass could be used 20 x 20 and 30 x 30 cm. Best growth of non-tillage culture is on mixed grass, next is on bentgrass, next is on clover. There are no significant difference with peduncle length in 5 treatments. Non-tillage culture of calla lily was succeeds fully plant on bentgrass at hill. There were higher plant height and peduncle length on northern hill. Water and soil conservation were achieved successfully with non-tillage culture in highland agriculture.

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

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

中國櫻桃(*Prunus pseudocerasus* L.)促成栽培

吳文貴¹⁾ 倪正柱²⁾

關鍵字：櫻桃、促成栽培、低溫需求

摘要：本試驗展現出中國櫻桃盆栽商業生產之潛力，利用盆栽促成栽培，使中國櫻桃賞花期從12月底到3月中旬，而果實採收期理論可從2月中旬到6月，以提供台灣市場食用與觀賞櫻桃。先將櫻桃栽培於中興大學校園內，藉由台中低海拔夏季的熱累積，加快櫻桃營養生長與成熟。經由芽體成熟誘導花芽的創始。於夏末，將櫻桃盆栽移到高海拔的高冷試驗分場(2000公尺)，進行植株的健化與累積碳水化合物。11、12月櫻桃植株在冬季高山或移到冷藏室來滿足中國櫻桃高低溫需求(5℃，1080小時)。

前 言

櫻桃(英名：cherry，日名：さくらんぼ、オウトウ)，Rehder(1974)分類屬於薔薇科(Rosaceae)桃李屬(*Prunus*)櫻亞屬(*Cerasus*)果樹，其下有 6 群(section)：Microcerasus、Pseudocerasus、Lobopatalum、Cerasus、Mahaleb、Phyllocerasus。中國櫻桃屬於 Pseudocerasus 群，而歐洲甜、酸櫻桃則屬於 Cerasus 群(Iezzoni *et al.*, 1991)。櫻桃原生地為夏乾冬濕的地區，台灣亞熱帶地區高濕多雨，病蟲害多，尤其夏季梅雨期，造成露天栽培甜櫻桃生產栽培更加困難。櫻桃採果時期約在 5 月，此時為台灣梅雨時期，降雨容易造成櫻桃裂果，造成嚴重損失。此外，台灣位於亞熱帶地區，平地冬季低溫平均 15℃ 以上，因此當溫帶果樹種植於平地時，因冬季低溫需求無法滿足，造成隔年春天無法正常萌芽。情況嚴重者樹勢逐漸衰老死亡，輕微者勉強營養生長，無法正常開花。冬季低溫不足為亞熱帶平地常見問題。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

本試驗利用高低海拔進行低溫需求較高的中國櫻桃促成栽培，以自然高海拔低溫提早櫻桃落葉，再以人工低溫或自然低溫滿足其低溫需求，使之正常萌芽、開花與結果，達到產期調節之目的。

材料與方法

一、試驗材料

本實驗材料試驗中所使用之中國櫻桃盆栽，其來源皆為中興大學高冷地試驗分場遮雨棚下中國櫻桃母樹之無性繁殖苗。於2001年冬季扦插在高冷分場後山，生長3年，2004年2月修剪去土，植株長35cm，直徑2.5-3公分，裸根移植至台中中興大學園藝系網室，種植於8吋盆中，隨時摘心，株高控制在180公分以下。之後於8月8日移至高冷分場(M)，共35盆，進行低溫健化處理，櫻桃盆栽於10月27日時完全落葉，進行低溫處理。

中國櫻桃14吋盆栽，為無性繁殖苗，5年生，栽培於高冷地分場，株高控制在180公分以下，共9盆，未經過平地促成栽培。

二、試驗方法

在人工低溫處理上，2004年10月28日由高冷分場移至台中15盆(3處理組)促成盆栽，對照組不處理低溫(代號 M0)；處理組一以5°C 冷藏25天(600hr)，11/23移出戶外(代號 M600)；處理組二以5°C 冷藏45天(1080hr)，12/13移出戶外(代號 M1080)，記錄萌芽率與日期。記錄一個月。在自然低溫處理上，2004年12月13日(代號 M12/13)、2005年1月3日(代號 M1/3)、2005年1月24日(代號 M1/24)，每隔21天，從高冷分場移至台中平地促成盆栽，記錄萌芽率與日期。記錄一個月。中國櫻桃14吋盆栽櫻桃盆栽自然低溫處理同上。最後高冷分場留處理組作為對照用(代號 MCK)促成盆栽，記錄萌芽率與日期。記錄一個月。

結果

人工低溫

人工低溫處理時間對萌芽、開花之影響上，以50% 的萌芽率為基準，中國櫻桃8吋盆栽，5°C 冷藏1080小時 (M1080)，只需4天就達到(59.28%)；5°C 冷藏600小時的處理組(M600)需約19天的時間才達到(55.25%)；未經過5°C 冷藏的對照組(M0)到31天，萌芽率只有4%，枝條基部少許葉芽萌動生長，比 M600(萌芽率74.4%)、M1080(萌芽率90.3%)還來的低(圖1、2)。試驗結果得知，中國櫻桃低溫需求以5°C 冷藏所需時間1080小時即可滿足，較甜櫻桃1440小時還少。

5°C 冷藏1080小時的中國櫻桃8吋盆盆栽(M1080)，低溫處理結束後經過13天即進入盛

花期，且開花整齊(萌芽率89.49%)，同時葉芽也已開始抽出；19天後進入落花期時，葉芽開始快速生長。而5°C冷藏600小時的處理組(M600)，花芽早萌芽的於處理後13天觀察到開花，花芽萌發晚的一直到31天以後才萌芽開花，花芽萌發延遲且不一致；19天葉芽開始陸續生長，因此到31天時出現花與葉同時生長之現象。未經過5°C冷藏的對照組(M0)到31天，只有頂端花芽有開花過，其餘花芽死亡；枝條基部葉芽少許生長，其餘則無萌發。

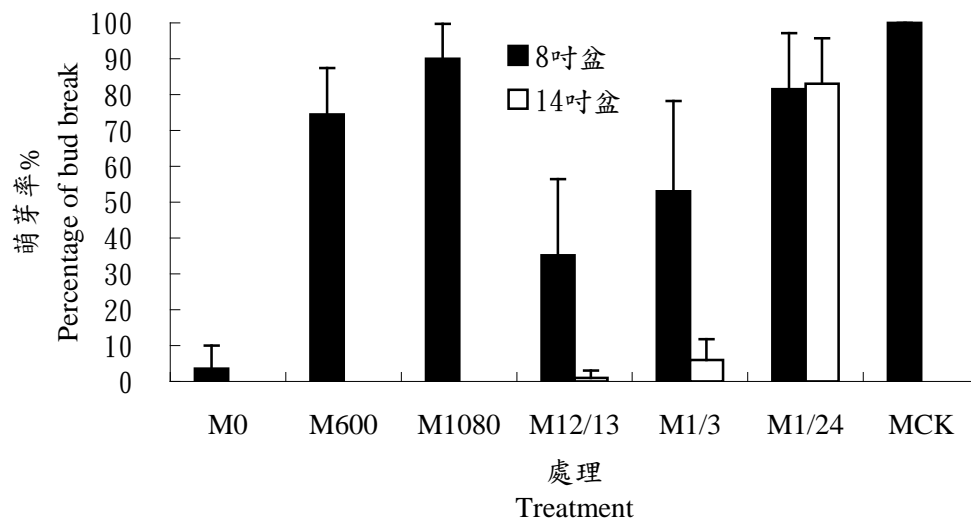


圖 1. 中國櫻桃盆栽不同低溫處理經過 31 天萌芽率比較

Fig 1. Sprouting rate of Chinese cherries with different chilled treatments after 31 days.

M0：對照組不處理低溫

M600：5°C 冷藏 600hr，11/23 移出戶外

M1080：5°C 冷藏 45 天(1080hr)，12/13 移出戶外

M12/13：2004 年 12 月 13 日從高冷分場移至台中促成盆栽

M1/3：2005 年 1 月 3 日從高冷分場移至台中促成盆栽

M1/24：2005 年 1 月 24 日從高冷分場移至台中促成盆栽

MCK：高冷分場不移至台中促成盆栽

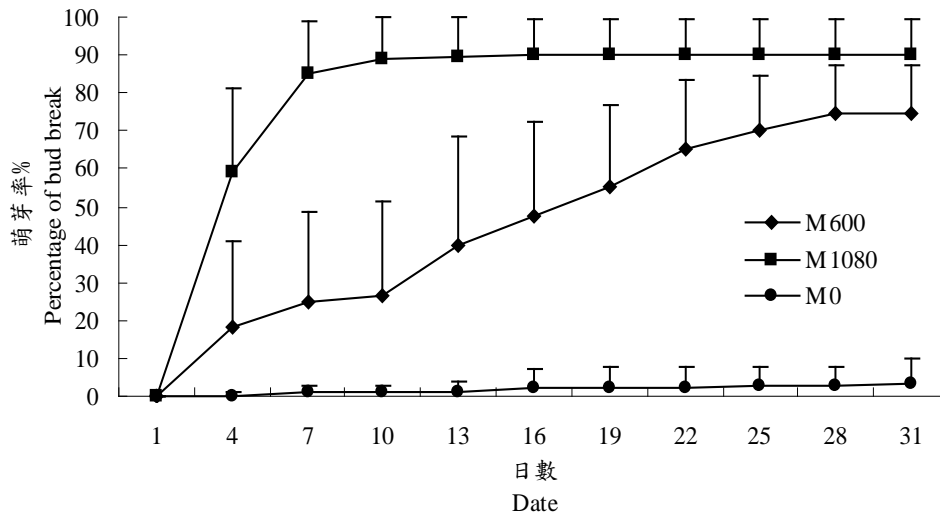


圖 2. 人工低溫與促成栽培對中國櫻桃 8 吋盆萌芽之影響

Fig 2. Sprouting rate of Chinese cherries by forcing culture and chilled artificially.

M0：對照組不處理低溫

M600：5°C 冷藏 600hr，11/23 移出戶外

M1080：5°C 冷藏 45 天(1080hr)，12/13 移出戶外

自然低溫

自然低溫處理時間對萌芽、開花之影響上，以50%的萌芽率為基準，中國櫻桃8吋盆盆栽，2005年1月24日從高冷分場移至台中促成盆栽(M1/24)只需13天達到(59.91%)；2005年1月3日從高冷分場移至台中促成盆栽(M1/3)需約31天的時間才達到；2004年12月13日從高冷分場移至台中促成盆栽(M12/13)經過31天仍未達到50%萌芽率，且只有枝條少許葉芽萌動，花芽部份的枝條在之後逐漸死亡乾枯。(圖1、3)。

14吋櫻桃盆栽未經過平地高溫加速生長，不同時間從高冷分場移下至台中，萌芽率明顯差異。由圖9看出，2005年1月24日從高冷分場移至台中櫻桃盆栽處理組(mm1/24)經過4天萌芽率達56.92%，經過31天達82.92%，而2004年12月13日從高冷分場移至台中櫻桃盆栽對照組(mm12/13)、2005年1月3日從高冷分場移至台中櫻桃盆栽處理組(mm1/3)超過31天，萌芽率都未達50%，甚至mm12/13萌芽率只有1%。

櫻桃盆栽8吋盆，2005年1月24日從高冷分場移至台中促成盆栽(M1/24)進入盛花期約需16天，7天後進入落花期，但無結果；2005年1月3日從高冷分場移至台中促成盆栽(M1/3)19天後才開始萌芽，花芽萌動不整齊，因此從25天後陸續有花芽萌動開花，31天時枝梢頂葉芽生長；2004年12月13日從高冷分場移至台中促成盆栽(M12/13)在16天時花與少

部份葉芽生長，之後花與葉片同時生長。

14 吋櫻桃盆栽的開花與生長，2004 年 12 月 13 日從高冷分場移至台中櫻桃盆栽對照組(mm12/13)經過 75 天，只有 3-4 個枝條頂端芽體有萌動，其他芽體則毫無動靜；處理組 (mm1/3) 1 月 3 日從高冷分場移至台中一直到 1 月 28 日才開始有芽體萌芽，因花芽萌動不整齊，之後花芽與葉芽同時生長；處理組 mm1/24，1 月 28 日(第 3 天)即萌芽，並且可以看到花蕾，1 月 31 日(第 6 天)花蕾抽出芽體，2 月 3 日(第 9 天)花瓣微張，2 月 6 日(第 12 天)開花，2 月 9 日(第 15 天)進入盛花期，到 2 月 18 日(第 24 天)落花且開始結小果。

中國櫻桃經過不同促成栽培低溫處理，其中 M1080、M1/24 與 MCK 萌芽率都高過 50%，且花芽萌發整齊，達到低溫需求滿足的條件，而之間最大的差異在於萌芽開花時間不同。以花苞抽出時間為例，M1080 花苞抽出時間為 2004 年 12 月 20 日，而 M1/24 在 2005 年 2 月 6 日，MCK 則在 2005 年 2 月 23 日，之間相差日數分別為 45 天(M1080- M1/24)、17 天(M1/24-MCK)(圖 5)。

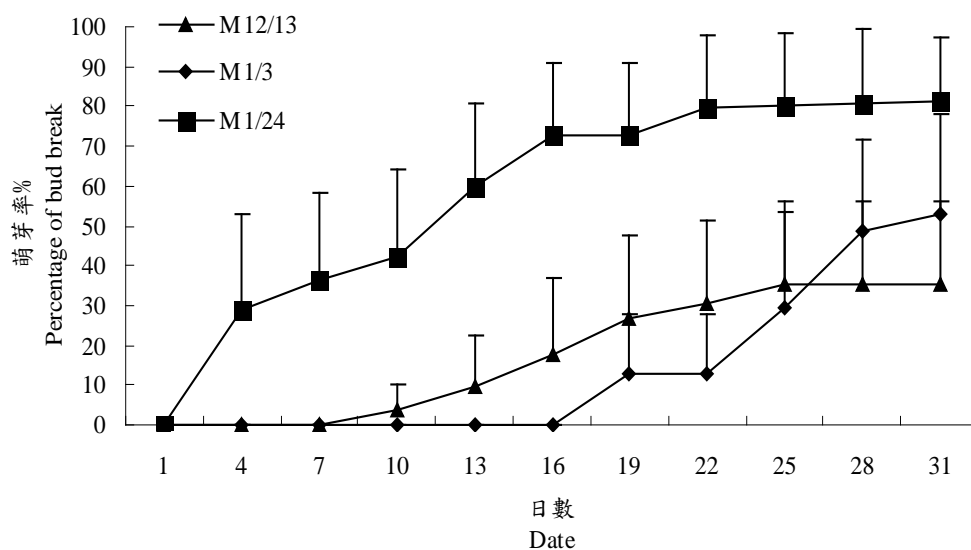


圖 3. 自然低溫與促成栽培對中國櫻桃 8 吋盆萌芽之影響

Fig 3. Sprouting rate of Chinese cherries by forcing culture and chilled naturally.

M12/13：2004 年 12 月 13 日從高冷分場移至台中促成盆栽

M1/3：2005 年 1 月 3 日從高冷分場移至台中促成盆栽

M1/24：2005 年 1 月 24 日從高冷分場移至台中促成盆栽

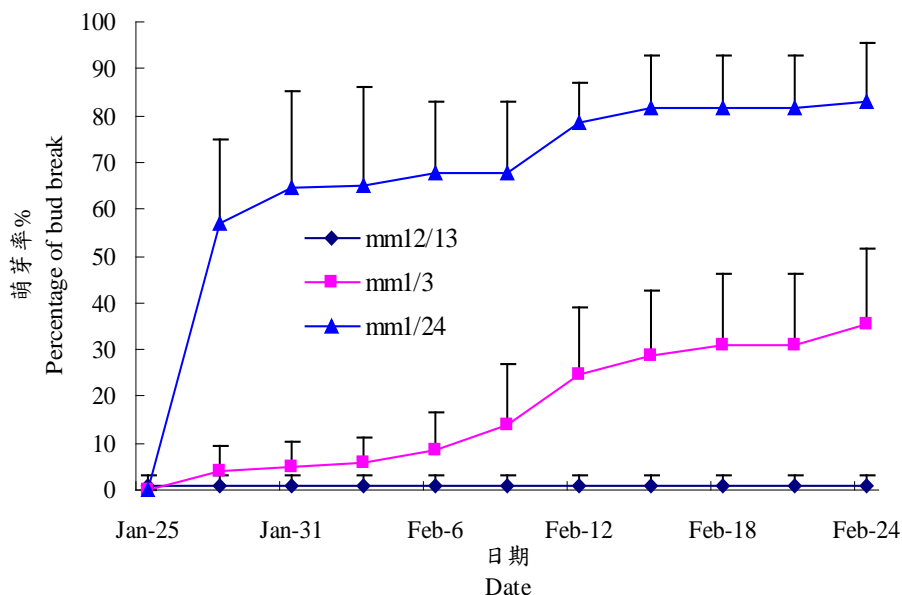


圖 4. 自然低溫對中國櫻桃 14 吋盆栽萌芽之影響

Fig 4. Sprouting rate of Chinese cherries by chilled naturally.

mm12/13：2004 年 12 月 13 日從高冷分場移至台中櫻桃盆栽對照組(CK)

mm1/3：2005 年 1 月 3 日從高冷分場移至台中櫻桃盆栽處理組

mm1/24：2005 年 1 月 24 日從高冷分場移至台中櫻桃盆栽處理組

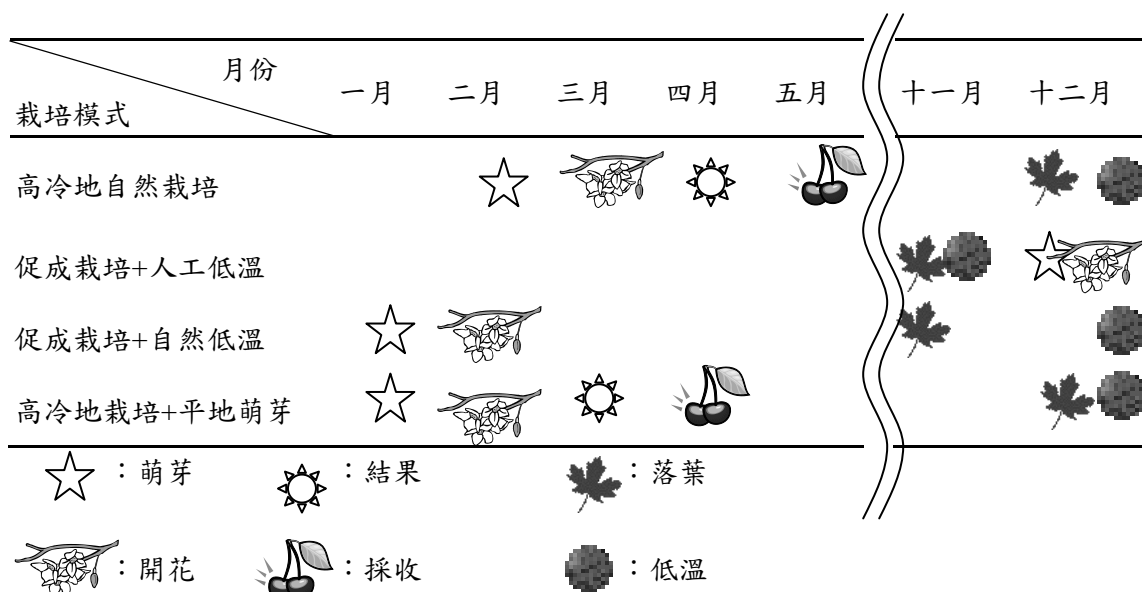


圖 5. 中國櫻桃栽培生長週期

Fig 5. Phenology of Chinese cherry with different cultured systems.

討 論

本試驗經由中國櫻桃盆栽促成栽培試驗，利用平地高溫加速櫻桃生長與發育，在移到高冷分場進行芽體養份累積，低溫健化處理。自然落葉後，分別以人工低溫與自然低溫，成功將花期提早到 12 月 25 日與 2 月 12 日，並且不影響植株樹勢生長。而促成櫻桃盆栽 2 月 12 日開花著果正常，4 月 1 日即可採收櫻桃；而促成櫻桃盆栽 12 月 25 日開花，理論上著果正常時，2 月中旬即可採收櫻桃。

倒頭果生產其利用落葉果樹夏季高溫花芽分化之特性(農文協編, 1985; 小西國義, 1988; Guimond *et al.* 1998.)，以剪枝、撚枝或化學藥劑(黃等, 1982)等方法進行新梢抑制工作，使新梢停止生長，葉片成熟，有利於花芽分化(內藤隆次等, 1981)與芽體肥大(Droebsting, 1980)。判斷花芽是否完成分化初步可以目測觀察芽體是否膨脹而較肥圓，然後再以解剖觀察確定。確定花芽分化完成後，以人工除葉或藥劑五氯酚(納)(PCP(Na))、銅劑或尿素(李_{a、b}, 1974)、Ethrel 2000-3000 ppm 加夏油 30-50 倍噴施全株(林, 1984)。落葉後，盡速進行田間灌溉，始根部吸收水分，促進萌芽整齊(Kliwer, 1973、Lloyd, 1974)。桃李約 20-30 天開始萌芽、開花(廖, 1984)。如此可達到產期調節與提高市場價格之目的。

但這種方式的商業化栽培，對低溫需求過高的品種不具實用性。在相同地點同一時期進行人工落葉，隨者各品種之低溫需求(假法蘭西梨大於松茂梨大於高牆梨大於橫山梨)增加，其果實成熟或葉片脫落時間也會提早，因此對於低溫需求過高的品種因果實提早成熟老化，果實小且較硬，因而不具經濟價值(倪, 1991)。而倒頭果生產，因樹體因秋季果實生產而無法蓄積養分，樹勢容易衰弱死亡。

在 2003 年櫻桃盆栽促成栽培初步試驗，3 月 17 日與 3 月 22 日不同時間將櫻桃 14 吋盆栽由高冷分場搬下山，在中興大學網室。3 月 17 日搬下山植株生長較 3 月 31 日的植株葉片較大、抽梢快且莖節位較長，後者葉片正準備展開，但前者已經完全展開並且成熟。2003 年 3 月 22 日觀察到盆栽在平地種植，因溫度較高冷分場高溫，營養生長速度較快。7 月初將在台中促成櫻桃盆栽 3 盆搬上高冷分場，與高冷分場露天櫻桃盆栽比較，經過促成栽培的櫻桃盆栽葉片較山上栽培的成熟，較硬、深綠，枝條莖頂優勢較明顯，植株較高，而高冷分場栽培的櫻桃盆栽生長較慢，植株較為矮小，分枝性明顯。至 9 月初時，促成栽培的櫻桃莖頂已停止生長，鱗片包覆芽體，葉片開始黃化脫落。而山上栽培之櫻桃，莖頂仍持續抽新梢；除了枝條基部芽體有鱗片包覆，上部芽體仍可見到綠色的鱗片，葉片仍鮮綠，稍微革質化。促成栽培之櫻桃約在 11 月初就幾乎完全黃化落葉，而山上栽培的櫻桃盆栽莖頂停止生長，鱗片也包覆芽體，但仍有許多葉片未脫落。2004 年重複之促成栽培試驗，確定當植株移往高海拔進行低溫健化，因溫度下降有助於新梢停止生長，並有利於養分回流於芽體，提早落葉進入休眠。

為了了解落葉果樹休眠與低溫需求關係，許多學者提出許多計算低溫需求的模式，如 Weinberger(1950)計算 0°C 至 7.2°C 的低溫累積量；Gurdian and Biggs(1964)、Sharpe(1969)

就曾以 12.8°C (55°F) 為低溫作用的臨界值；Erez and Lavee(1971)提出加權低溫小時 (Weighted chilling hours) 的觀念；Richardson 等(1974)提出猶他模式(Utah model)，即溫度 6°C 之下經過 1 小時為 1 低溫單位(chill unit, CU)；Anderson 與 Seeley(1992)也提出針對特定環境與品種之數學模式；Cesaraccio 等(2004)利用函數計算低溫天數(Chill days)與逆低溫天數(anti-chill days)來評估低溫天數與臨界溫度，但未必適切所有狀況。

在亞熱帶地區，猶他模式並不能準確預測亞熱帶環境的低溫需求(del Real-Laborde, 1987)。因此，在佛羅里達州，Gilreath 與 Buchanan(1981)的低需冷量油桃模式(low-chill nectarine model)；歐氏(1992)以已知低溫需求之關鍵栽培種來推算台灣栽培桃的低溫需求，並開發的台灣需冷模式，發現以低於 12.9°C 的小時數與台灣需冷模式(始花期的前一星期為完成休眠期，RCD)對評估原生緋寒櫻花(*Prunus campanulata* Maxim.)之低溫需求較為準確。許多低溫需求評估模式，雖然仍有其不足與缺失，但目的是為了能了解當地冬季低溫能否讓落葉樹於隔年春天解除休眠，正常萌芽開花。

2003 年 11 月 2 日由高冷分場載下 8 吋促成栽培櫻桃盆栽 1 盆，以 5°C 低溫冷藏至 12 月 13 日，共 40 天，解除休眠，2 週後於 12 月 25 日聖誕節及可觀賞白色櫻桃花，萌芽率達 100%，但仍有部分枝條花芽萌動較晚。賞花期從花苞至落花約 2 週之時間。雖有蜜蜂授粉，但最後仍無法正常結果。

2004 年重複 2003 年試驗，並加入高冷地自然低溫觀察其中國櫻桃的低溫需求，櫻桃盆栽於 2004 年 11 月以人工低溫 5°C 處理 1080 小時，花芽及葉芽萌芽時間較早，整齊度一致，盛花時間在聖誕節(12 月 25 日)，白櫻桃花剛好配合聖誕節下雪之氣氛，但冷藏庫成本較高；而以高冷地自然低溫處理下，需到 1 月 24 日櫻桃盆栽低溫需求才大約滿足，花芽萌芽明顯較葉芽快，開花整齊度一致，盛花期在 2 月 9 日至 12 日，剛好配合傳統農曆春節。二者都有滿足低溫需求，且都為促成栽培之下，花期最早最佳的時候。若櫻桃盆栽提早解除人工或自然低溫，在台中戶外高溫下櫻桃盆栽萌芽延遲，萌芽率下降，開花不整齊，無觀賞價值。再與高冷地設施下櫻桃盛花時期(2 月 23 日)比較，明顯個別提早 2 個月與 1 個月，且不影響樹勢生長。

以 chilling hours (Ch) 估算自然低溫時數，為了接近實際生產模式，計算以溫度 0°C~15°C 之間為 1Ch，累計值大致上 $M0 = M12/13$ ， $M600 = M1/3$ ， $M1080 = M1/24$ 。萌芽率以人工低溫 M1080 較高，萌芽速度較快，開花也較整齊，而 M1/24 萌芽率與開花整齊度也相當高，但萌芽速度較慢；M600 與 M1/3 萌芽率雖最後都達到 50%，但萌芽速度較慢，也不一致整齊，與前組比較一樣，人工低溫較自然低溫容易打破休眠。M0 萌芽率(8 吋盆 4%；6 吋盆 22%)較 M12/13(8 吋盆 35%，6 吋盆 25%)低，但生長狀況相似，非常標準的低溫不足：1.萌芽率低、2.花芽幾乎死亡、3.少數葉芽萌芽，但抽梢較短、4.植株容易從之條末端開始向基部逐漸死亡。

在高冷地的促成栽培櫻桃盆栽對照組(MCK)其萌芽率都達 100%，2005 年 02 月 07 日觀察到花蕾萌出，與高冷地設施櫻桃、高冷地露天櫻桃物候期相當。2 月 15 日對照組花

蕾抽出，2月23日櫻桃花有的展開，有的抽花蕾中；而設施下櫻桃花已展開。觀察比較設施下櫻桃花展開較快可能與溫度有關，在設施下氣溫較穩定，白天不會因日照遮陰而有溫度突然上升降低，溫度較高，開花較快；露天栽培下，溫度起伏較大，因光照強烈，花蕾較深紅；但因高海拔氣溫較低，開花與展開速度較慢。圖5顯示，將盆栽於1月底移下山，可提早解除環境休眠，萌芽、開花與結果時間可較高冷地櫻桃提早30至45天，明顯提早產期。而人工低溫花期可調節至12月底，但在商業生產上是否符合經濟效益，仍有待評估。

參 考 文 獻

- 李信芳^a。1974。使用石灰硫磺合劑加五氯酚鈉促進橫山梨春果結實之關鍵時期。中國園藝。20(6):351
- 李信芳^b。1974。農藥對橫山梨樹落葉開花與結果之效益。中國園藝。20(1):23-29
- 林嘉興。1984。橫山梨栽培改進技術。寄接梨生產栽培。台灣山地農牧局。p1-14。
- 倪正柱。1991。落葉果樹芽體休眠與生產設計。台灣果樹之生產及研究發展研討會專刊。P.78-87。
- 黃季春、林嘉興、張清勤。1982。葡萄生長調節劑。農業藥劑委託試驗報告。植物保護中心。p104-105
- 農文協編。1985。果樹全書クリ・クルミ・オウトウ・アンズ。p338-680。農山漁村文化協會。日本東京。
- 廖萬正。1984。桃與李之產期調節。果樹產期調節研討會專集(台灣省台中區農改良場特刊第1號)。p53-61
- 歐錫坤。1992。台灣本地種桃樹的低溫需求評估。中華農業研究 41(3): 251-260。
- 小西國義。1988。花卉の開花調節。p3-15。養賢堂株式會社。東京。
- 內藤隆次等。1981。果樹園藝學。昭倉書店。p 168-171。
- Anderson, J. L. and S. D. Seeley. 1992. Modelling strategy in pomology: Development of the Utah models. Acta Hort. 313: 297-306.
- Cesaraccio C., D. Spano, R. L. Snyder. and P. Ducea. 2004. Chilling and forcing model to predict bud-burst of crop and forest species. Agricultural and Forest Meteorology 126 : 1-13
- del Real-Laborde, J. I. 1987. Estimating chill units at low latitudes. HortScience 22: 1227-1231.
- Droebsting, E. J. JR. and J. E. Middleton. 1980. The behavior of peach *Prunus persica* tree under extreme drought stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105(3): 380-385.
- Erez, A. and Lavee, S. and Samish, R. M. 1971. Improved methods for breaking rest in the

- peach and other deciduous fruit species. *J. Amer. Soc. Hort. sci.* 96(4): 519-522.
- Gilreath, P. R. and D. W. Buchanan. 1981. Rest prediction model for low-chilling 'Sungold' nectarine. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106: 426-429.
- Guimond C. M., P. K. Andrews. and G. A. Lang. 1998. Scanning Electron Microscopy of Floral Initiation in Sweet Cherry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123(4):509-512.
- Gurdian, R. J. and R. H. Biggs. 1964. Effect of low temperatures on terminating bud dormancy of 'Okinawa', 'Flordadawn', 'Flordahome' and 'Nemaguard' peaches. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 77: 370-379.
- Iezzoni, A., H. Schmidt. and A. Albertini. 1991. cherries (*Prunus*). *Acta Hort.* 290: 111-173.
- Kliwer, W. M. and R. D. Fuller. 1973. Effect of time and severity of defoliation on growth of roots, trunk and shoots of "Thompson seedless" grapevine. *Amer. J. Enol. Viticult.* 24(2):59-64.
- Lloyd, D. A. and G. A. Couvillon. 1974. Effects of date of defoliation on flower and leaf bud development in the peach (*Batsch*) *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99(6): 514-517.
- Rehder, A. 1974. *Manual of cultivated trees and shrubs-hardy in North America.* Macmillan, New York.
- Richardson, E. A., Seeley, S. D. and Walker, D. R. 1974. A model for estimating the completion of rest for "Redheaven" and "Elberta" peach trees. *HortScience* 9: 331-332.
- Sharp, R. H. 1969. Subtropical peach and nectarines. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 82: 302-306.
- Weinberger, J. H. 1950. Chilling requirements of peach varieties. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 56: 122-128.

Forcing Culture of the Chinese Cherry (*Prunus pseudocerasus* Lindl.)

Wen-Guei Wu ¹⁾ Cheng-Chu Nee ²⁾

Key words: cherry, forcing culture, chilling requirement

Summary

This is the first time that Chinese cherry (*Prunus Pseudocerasus* Lindl) could be grown and harvest in Taiwan. By forcing culture, We can see cherry flower from December to March and eat fruit from February to June. First, Vegetative growth was accelerated in the campus of National Chung-Hsing University at low attitude in central Taiwan by use of accumulating the heat during the summer season. Flower initiation was also induced by measuring the size of buds. Second, In the late summer, the cherry pots were transported to high altitude (2000m) for the acclimation and accumulation of carbohydrate. To overcome the dormancy of cherry, the plants were chilled at the high mountain during the winter or move to cool room to satisfy the high chilling requirement of Chinese cherry.

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

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

'珍珠拔'番石榴葉片、果實礦物元素及品質之相關性

鄭安亨¹⁾ 林慧玲²⁾

關鍵字：番石榴、礦物元素、品質

摘要：本試驗調查台灣彰化、高雄等地區，番石榴果園果實品質與果實和葉片礦物元素期能了解其間之相關性，並建立葉片各礦物元素標準範圍。試驗結果顯示，果實中總可溶性固形物濃度與果實硬度和果實中鎂濃度成負相關。果實中鎂濃度和果實抗壞血酸成正相關。果實中鈣濃度和總可溶性糖成正相關。葉片磷、鈣濃度和總可溶性固形物濃度成負相關，葉片鈣濃度和抗壞血酸成正相關。高品質果實氮濃度 0.5-0.86%、磷濃度 0.061-0.105%、鉀濃度 1.04 -1.5%、鈣濃度 0.024-0.068 %、鎂濃度 0.023-0.039%。葉片氮濃度 1.45 -1.71%、磷濃度 0.111-0.149%、鉀濃度 0.69-1.21%、鈣濃度 1.49-2.81%、鎂濃度 0.15-0.33%，可作為葉片營養診斷及田間肥培管理之參考。

前 言

番石榴(*Psidium guajava* L.)又名芭樂、拔仔，為桃金娘科(Myrtaceae)番石榴屬(*Psidium*)之熱帶果樹，適於熱帶及亞熱帶地區栽培，依 92 年台灣農業統計年報指出，目前台灣番石榴栽培面積達 7,703 公頃，年產量 198,408 公噸，主要集中於高雄縣(3,054 公頃)、台南縣(1,431 公頃)和彰化縣(1,347 公頃)等地(92 年台灣農業統計年報)。*'珍珠拔'*番石榴果實及葉片之礦物元素變化之相關資料尚缺乏，為建立*'珍珠拔'*番石榴果樹營養狀況之資料，本試驗調查台灣彰化、高雄等地區，選擇具代表性的果園進行採樣分析，以了解台灣地區*'珍珠拔'*番石榴栽培果園之果樹營養狀況，果實品質與果實和葉片間礦物元素的相關性，以建立葉片各礦物元素標準範圍，提供合理化肥培管理之參考。

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。

材料與方法

一、試驗材料

本實驗材料採自高雄、彰化栽培之'珍珠拔'番石榴，高雄縣大社鄉一位劉姓及二位謝姓農民之果園，於2004年5月11日進行採樣。彰化縣溪州鄉番石榴產銷第十四班12位農民、永靖鄉番石榴產銷第二班陳姓與魏姓2位農民、二水鄉林姓與張姓2位農民共計16個果園，於2004年9月11日進行採樣。彰化縣社頭鄉之陳姓、蔣姓與二位張姓農民之果園，於2005年1月4日進行採樣。採樣方式於每個果園中隨機選5植株，於東、南、西、北方向各選1顆果實及上方一對葉片，各20重複。

二、調查項目及分析方法

(一) 果實品質

果實鮮重、果長及果寬之調查，鮮重以電子天平秤重。果長及果寬分別以游標尺量果實果梗端至果萼端之距離及赤道部位直徑。果肉硬度之測定，以硬度計(Penetrator F327)測定單位面積內穿刺果肉所需之最大力量，以牛頓(N)表示。果汁可溶性固形物之測定，以手持屈折計(hand refractometer, Atago, model N1)測定果肉壓搾後之果汁可溶性固形物，單位以 $^{\circ}$ Brix表示。抗壞血酸之測定，稱取新鮮果肉及果皮1g，切細後加入6ml偏磷酸抽取液(含6% metaphosphoric acid之2N acetic acid)，置於研鉢磨碎後，以維他命C試條(Reflectoquact ascorbic acid test strip, 24-450mg/l, Merck)沾吸待測溶液，並置入RQ-flex讀取抗壞血酸之濃度，再換算為mg/100ml鮮重。

(二) 果實、葉片之礦物元素分析

果肉切成適當大小後以液態氮急速冷凍，裝入封口袋內進行冷凍乾燥，約72小時完全乾燥後，以磨粉機磨成粉末，再放入封口袋內密封，置於 -20°C 冷凍庫下備用。葉片採樣後以自來水沖洗附著葉片上之灰塵，再以1%HCl快速涮洗，之後以去離子水沖洗三次，洗畢後將葉片裝入牛皮紙袋中，置於烘箱中，先以 100°C 1小時進行殺菁，再將溫度調整至 70°C 至葉片完全烘乾。之後以磨粉機將葉片磨成粉狀，裝入硫酸紙袋中，置於乾燥環境下保存備用。

灰化(ashing)時精稱果肉及葉片粉末1.0g置於坩堝中，放入灰化爐(muffle furnace)內，先以 200°C 加熱2小時，繼以 400°C 加熱1小時，最後以 550°C 加熱2小時使樣品完全灰化，取出待樣品冷卻後，加入5ml 2N HCl(Merck Company)將灰分完全溶解，並以Whatman#42濾紙過濾，濾液定量至25ml，混合均勻後裝入PE塑膠瓶中保存待測。

上述濾液可直接測定鐵、錳、鋅、銅四種元素；測鉀及鎂各取0.1ml濾液加3.9ml去離子水稀釋；測鈣則取0.1ml濾液加3.9ml去離子水及1ml 5%氧化鏷(lanthanum oxide)，以原子吸收儀(Varian 20 Techtron atomic absorption spectrophotometer)測定之。

氮之分析採用Micro-Kjeldahl法，精稱0.2g果肉粉末，包於Whatman#1濾紙中，投入分解管並加入1g催化劑(Merck 8030)及4.5ml濃硫酸，置於 410°C 分解爐上加熱2.5-3小時，

待樣品分解至澄清或淡綠色，取出冷卻後加入 15ml 蒸餾水，再倒入 Micro-Kjeldahl 裝置之容器中，加入 20ml 12N NaOH，並以裝有含 20ml 2% boric acid 指示劑(19 μ M bromocresol green 及 25 μ M methyl red)之塑膠燒杯接收蒸餾出之氨水，至燒杯溶液體積達 50ml 時取出，再以 1/14N H₂SO₄ 標準酸滴定，計算氮含量百分比。指示劑配法：20 g 硼酸加入 20 ml 指示劑母液(0.33 g bromocresol green 與 0.165 g methyl red 溶於 50 ml 乙醇)，均勻混合定量至 1 升並調整酸鹼值至 5.0。

磷之測定採用鉬黃法(vanadate-molybdate yellow method)，取 1ml 濾液加 3ml 去離子水及 1ml 鉬黃試劑(vanadate-molybdate reagent)，混合均勻後靜置 10 分鐘，以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定 470nm 之吸光度。鉬黃試劑配法：分別取 22.5g (NH₄)₆Mo₇O₇·4H₂O 溶於 400ml 去離子水中及 1.25g ammonium vanadate 溶於 300ml 溫水中，再將後者倒入前者中，之後再加入 250ml 硝酸(Merck Company)，最後定量至 1 公升即完成。

(三) 果實、葉片之碳水化合物分析

精稱上述之果肉及葉片樣品 0.1g 放入 50ml 離心管中，加入 10ml 去離子水，置於 30°C 水浴中振盪 3 小時，取出後於室溫下以 1000xg 離心 10 分鐘，過濾後取上層液測可溶性糖含量，殘渣置於 70°C 烘箱烘乾，待完全乾燥後取出以供澱粉含量之測定。

1. 全可溶性糖之測定

全可溶性糖之測定採用 Dubois (1956) 之測定方法，取上述過濾之上層液 0.5ml 加 4.5ml 去離子水稀釋，混合均勻後，再取 0.1ml 稀釋液加入 1.9ml 去離水及 0.1ml 90% 石炭酸(liquid phenol)，並迅速加入 6ml 濃硫酸混合均勻，靜置 30 分鐘後，以分光光度計(spectrophotometer, Shimadzu UV-200S)測定波長 490nm 之吸光值。標準曲線以 0.5mM glucose 配置，單位換算為%。

2. 澱粉之測定

上述殘渣置於 70°C 烘箱，至完全烘乾後加入 2ml 去離子水，放入沸水中煮 15 分鐘，取出後迅速冷卻，加入 2ml 9.2N HClO₄ 振盪 15 分鐘，再加入 6ml 去離子水，於室溫下以 1000xg 離心 10 分鐘，過濾後取上層液 0.5ml 加 4.5ml 去離子水稀釋混合均勻後，再取 0.2ml 稀釋液加入 1.8ml 去離水及 0.1ml 90% 石炭酸，並迅速加入 6ml 濃硫酸混合均勻，靜置 30 分鐘後，以分光光度計(spectrophotometer, Shimadzu UV-200S)測定波長 490nm 之吸光值。標準曲線以 0.5 mM 之 glucose 配置，單位換算為%(Dubois, 1956)。

(四) 葉綠素螢光及葉綠素含量之測定

以攜帶式葉綠素螢光分析儀(Portable Chlorophyll Fluorometer, MiNi-PAM, Walz Germany)。所連接的探針利用特殊光纖(Special Fiberoptic 2010-F)瞬間提供測定光與飽和脈衝光，並由下列公式計算而得 PS II 活性(PS II potential activity, Fv/Fm)。Fv=Fm-Fo，Fo 為最小螢光釋放量，Fm 為螢光釋放最大值。葉片先行暗馴化 30 分後再測定。葉綠素含量之測定以葉綠素測定儀(Chlorophyll meter, SPDA 502, Minota)測定葉片葉綠素含量。

結 果

果實礦物元素和果實品質之相關性結果顯示，果實氮、磷、鉀、鎂濃度增加時，果實總可溶性固形物下降。果實鈣濃度和果實可溶性糖成正相關。果實鎂濃度和果實硬度成負相關，而和抗壞血酸成正相關(表 1)。

葉片礦物元素和果實品質的相關性，葉片磷濃度和總可溶性固形物成負相關($r=-0.577$)。葉片鉀濃度和果實硬度($r=0.523$)、抗壞血酸($r=0.468$)成正相關，而和總可溶性固形物($r=-0.472$)成負相關。葉片鈣濃度和果重($r=0.482$)、抗壞血酸($r=0.552$)、澱粉($r=0.458$)成正相關，而和果實硬度($r=-0.474$)、總可溶性固形物($r=-0.624$)成負相關。葉片鎂濃度和總可溶性固形物($r=-0.464$)成負相關(表 2)。果實和葉片之相關性，葉片磷濃度和果實氮($r=0.148$)、磷($r=0.398$)、鉀($r=0.232$)、鎂($r=0.147$)成一正相關性，而和果實鈣濃度($r=-0.136$)成負相關。葉片鉀濃度增加果實中鉀濃度($r=0.144$)隨之增加，但鈣濃度($r=-0.348$)明顯下降。葉片鈣濃度增加果實中氮濃度($r=-0.384$)明顯下降，而磷濃度($r=0.159$)上升。葉片鎂濃度增加，果實氮($r=0.263$)、磷($r=0.407$)、鈣($r=0.371$)隨之增加(表 3)。葉片之葉綠素營光(Fv/Fm)和果實氮元素成($r=0.151$)一正相關性，葉片之葉綠素和葉片所測得之葉綠素營光(Fv/Fm)有良好的相關性($r=0.352$)(表 4)。

表 1. '珍珠拔'番石榴果實大量元素與果重、果實硬度、總可溶性固形物、抗壞血酸、全可溶性糖、澱粉之相關性

Table 1. Correlation coefficients of fresh weight(g), firmness(N), total soluble solids (TSS), ascorbic acid(mg/100g), total soluble sugar, starch and fruit macro element concentrations of 'Jen-Ju Bar' guava fruit.

Parameters	Fruit nutrients				
	N	P	K	Ca	Mg
Fresh weight	0.117	0.186	-0.047	-0.344	0.222
Firmness	0.376	0.289	-0.064	0.397	-0.764***
TSS	-0.478*	-0.574**	-0.668**	-0.110	-0.736***
Ascorbic acid	-0.087	-0.078	0.348	-0.053	0.716***
Total soluble sugar	0.217	0.204	0.348	0.345***	0.095
Starch	0.098	0.210	0.071	-0.096	0.130

*, **, *** Correlation coefficient values are significant at $P=0.05$, $P=0.01$, and $P=0.001$, respectively.

表 2. '珍珠拔'番石榴葉片大量元素與果重、果實硬度、總可溶性固形物、抗壞血酸、全可溶性糖之相關性

Table 2. Correlation coefficients of fruit fresh weight(g), firmness(N), total soluble solids (TSS), ascorbic acid(mg/100g), total soluble sugar, starch and leaf macroelement concentrations of 'Jen-Ju Bar' guava.

Parameters	Leaf nutrients				
	N	P	K	Ca	Mg
Fresh weight	-0.151	0.301	0.094	0.482*	0.155
Firmness	0.396	-0.136	0.523*	-0.474*	0.078
TSS	0.336	-0.577**	-0.472*	-0.624**	-0.464*
Ascorbic acid	-0.365	0.070	0.468*	0.552**	0.051
Total soluble sugar	-0.303	0.225	—	0.284	0.401
Starch	-0.180	0.124	0.051	0.458*	0.081

*, **, *** Correlation coefficient values are significant at P=0.05, P=0.01, and P=0.001, respectively.

— : No correlation

表 3. '珍珠拔'番石榴葉片大量元素與果實大量元素之相關性

Table 3. Correlation coefficients of fruit mineral concentrations and leaf mineral concentrations of 'Jen-Ju Bar' guava.

Fruit nutrients	Leaf nutrients				
	N	P	K	Ca	Mg
N	—	0.148*	-0.094	-0.384***	0.263***
P	-0.086	0.398***	-0.097	0.159*	0.407***
K	-0.104	0.232***	0.144*	0.109	0.121
Ca	-0.131	-0.136*	-0.348***	—	0.371**
Mg	—	0.147*	0.117	—	-0.064

*, **, *** Correlation coefficient values are significant at P=0.05, P=0.01, and P=0.001, respectively.

— : No correlation

表 4. '珍珠拔'番石榴葉片和果實氮元素與葉片葉綠素螢光及葉綠素之相關性
 Table 4. Correlation coefficients of fruit and leaf nitrogen concentrations, chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameter (Fv/Fm) of 'Jen-Ju Bar' guava.

Parameters	Fruit N	Leaf N	Leaf Fv/Fm	Leaf Chlorophyll
Fruit N	1	—	0.151*	—
Leaf N		1	—	0.424
Leaf Fv/Fm			1	0.352***
Leaf Chlorophyll				1

*, **, *** Correlation coefficient values are significant at P=0.05, P=0.01, and P=0.001, respectively.

— : No correlation

表 5. 高品質(糖度>9, 鮮重>300 公克)果園葉片及果實礦物元素濃度
 Table 5. Macroelement concentration in fruit and leaf of high quality(°Brix>9, Fresh weight>300g) 'Jen-Ju Bar' guava .

Macroelement concentration (%)					
	N	P	K	Ca	Mg
Fruit	0.68±0.18*	0.083±0.022	1.27±0.23	0.046±0.022	0.031±0.008
Leaf	1.58±0.13	0.13±0.019	0.95±0.26	2.15±0.66	0.24±0.09

Microelement concentration (ppm)				
	Fe	Mn	Cu	Zn
Fruit	18.80±10.13	5.46±1.93	3.65±1.70	8.72±4.40
Leaf	143.6±21.9	130.8±77.7	24.5±9.7	23.5±8.4

* Mean±standard error

綜合以上所調查之果園，挑選出糖度大於 9，果重大於 300 克之高品質果實(表 5)，所得之高品質果實中葉片及果實礦物元素濃度如下:果實氮 0.5-0.86%、磷 0.06-0.11%、鉀 1.04-1.5%、鈣 0.024-0.068%、鎂 0.023-0.039%、鐵 8.67-28.93 ppm、錳 3.53-7.39 ppm、銅 1.95-5.35ppm、鋅 4.32-13.12 ppm。葉片氮 1.45-1.71%、磷 0.11-0.15%、鉀 0.69-1.21%、鈣 1.49-2.81%、鎂 0.15-0.33%、鐵 121.7-165.5ppm、錳 53.1-208.5 ppm、銅 24.5-34.2 ppm、鋅 15.1-31.9 ppm。高品質果實之果實可溶性糖濃度 35.39-41.87%、澱粉濃度 3.32-4.72%。葉片可溶性糖濃度 7.13-8.67%、澱粉濃度 3.15-3.16% (表 6)

表 6. 高品質(糖度>9，鮮重>300 公克)果園葉片及果實可溶性糖、澱粉濃度
Table 6. Soluble sugar and starch concentrations in fruit and leaf of high quality ($^{\circ}$ Brix>9, Fresh weight>300g) 'Jen-Ju Bar' guava.

Organ part	Soluble sugar (% DW)	Starch (% DW)
Fruit	38.63±3.24 *	4.02±0.70
Leaf	7.80±0.67	3.16±0.01

* Mean±standard error

討 論

印度番石榴所建立之葉片氮、磷、鉀、鈣和鎂標準濃度範圍分別為 1.63-1.96 %、0.18-0.24%、1.31-1.71%、0.67-0.83%和 0.52- 0.65% (Khandauja and Garg, 1980)。而本實驗高品質番石榴葉片氮、磷、鉀、鈣和鎂濃度分別為 1.45-1.71%、0.11-0.14%、0.69-1.21%、1.49-2.81%和 0.15-0.33%(表 5)。氮濃度兩者間無差異，磷、鉀和鎂濃度略低於印度建立之標準，而鈣濃度高於印度建立之標準。

果實礦物元素和果實品質之相關性顯示，果實氮、磷、鉀、鎂濃度與果實總可溶性固形物呈負相關(表 1)，Casero 等人(2004)指出可溶性固形物和果實鉀、鎂成負相關，其結果和本試驗一致。果實鈣濃度和果實可溶性糖成負相關。果實鎂濃度和果實硬度成負相關(表 1)，Casero 等人(2004)以'Golden Smoothee'蘋果為材料，當果實鎂濃度增加時，硬度隨之下降。

葉片和果實的氮濃度無相關性(表 3)，此結果和 Dris 等人(1999)研究 8 種不同品種蘋果時所得之結果相同，但也有學者亦以' Starkspur Golden Delicious '蘋果為材料，指出葉片氮增加果實氮隨之增加(Fallahi *et al.*, 1985 ; Dris and Niskanen, 1998)。Dris 等人(1999)指出

葉片鉀和果實鉀濃度無相關性，但亦有學者認為果實鉀濃度和葉片鉀濃度成正相關(Fallahi and Simons, 1996；Dris and Niskanen, 1998；Dris *et al.*, 1999；Casero *et al.*, 2004)，鉀在植體內為易移動之元素，亦可經由篩管運輸至果實，葉片與果實濃度呈同步增加，顯示果實生育期植株吸收鉀量增加，分別分配至果實及葉片，而番石榴果實亦有類似之趨勢，在本試驗果實鉀濃度隨葉片鉀濃度增加而增加(表 3)，因此可利用葉片中鉀濃度預知果實鉀濃度之指標(Casero *et al.*, 2004)。

果實鈣濃度和葉片鈣濃度無相關性(Fallahi *et al.*, 1985；Fallahi and Simons, 1996；Dris *et al.*, 1999；Casero *et al.*, 2004)，與本試驗結果亦相似(表 3)。果實鈣濃度和磷、鉀成負相關(表 3)，Casero 等人(2004)實驗結果和本試驗有相同的結果，學者認為會造成這些影響是因鈣和其他元素互相競爭吸收、運輸、代謝之鍵結位置所造成的結果。番石榴果實開花期葉片鈣濃度低於採收期 (Chetri *et al.*, 1999)，主要是因鈣不易移動，葉片鈣濃度隨葉齡增加而逐漸累積，鈣主要經由蒸散流(transpiration stream)及陽離子交換(cation exchange)在木質部運移，為不易移動元素(Ahlawat *et al.*, 1986；Saure, 2005)，因此，葉片的鈣不易轉移到果實(Menzel *et al.*, 1992)，果實中鈣濃度和葉片中鈣濃度不易有相關性存在。果實鎂濃度和葉片鎂濃度無相關性(表 3)，Fallahi 等人(1985)在以蘋果為材料時亦有相似之結果。Casero 等人(2004)調查‘Golden Smoothee’蘋果果實與葉片間礦物元素之相關性，葉片鈣濃度和果實氮、磷、鉀成負相關，但本試驗結果顯示番石榴葉片鈣濃度和果實氮濃度成負相關，而和果實磷濃度成正相關(表 3)。葉片之葉綠素螢光(Fv/Fm)和果實氮元素成一正相關性(表 4)，因此可利用非破壞性測定之葉片葉綠素螢光間接測定果實中氮元素之多寡。

果實中礦物元素含量和果實品質息息相關(Bramlage, 1993)，如奇異果果實中鈣濃度較高時果實硬度較高 (Hopkirk *et al.*, 1990)、蘋果果實中氮濃度過高將造成果實硬度下降(Drake *et al.*, 2002)、蘋果果實中含有較高的鈣時，貯藏能力較佳(Li *et al.*, 1995)、番石榴果實中鉀濃度高時，可提高可溶性固形物(柯和王, 1996)。果樹是多年生植物，樹體中貯藏大量的養分，果實中礦物元素每年變化不一(Fallahi *et al.*, 1985)，隨果實發育期不同而改變(Cline *et al.*, 1991)，且果實品質因品種、栽培方式、地區、季節而有所不同，以上種種因子影響果實中礦物元素和品質之間的相關性錯綜複雜。因此，番石榴在不同地區之肥料試驗及葉片、果實分析有其必要性，如此才能因地制宜，而獲得合理的施肥及診斷依據。

參 考 文 獻

- 柯立祥、王維德。1996。氮磷鉀施肥量對番石榴產量及品質之影響。中華農學會報 179：15-27。
- 農業統計年報。2003。行政院農業委員會出版。
- Ahlawat, V. P., S. S. Dahiya, R. Yamdagni, and A. P. Khera. 1986. Foliar sampling technique in

- guava (*Psidium guajava* L.). Prog. Hort. 18: 7-12.
- Bramlage, W. J. 1993. Interactions of orchard factors and mineral nutrition on quality of pome fruit. Acta Hort. 326: 15-28.
- Casero, T., A. Benavides, J. Puy, and I. Rexasens. 2004. Relationship between leaf and fruit nutrients and fruit quality attributes in 'Golden Smoothie' apples using multivariate regression techniques. J. Plant Nutr. 27: 313-324.
- Chetri, K., D. Sanyal, and P. L. Kar. 1999. Changes in nutrient element composition of guava leaves in relation to season, cultivar, direction of shoot and zone of leaf sampling. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 30: 121-128.
- Cline, J. A., E. J. Hanson, W. J. Bramlage, R. A. Cliner, and M. Kushad. 1991. Calcium accumulation in delicious apple fruit. J. Plant Nutr. 14: 1213-1222.
- Dris, R. and R. Niskanen. 1998. Nutritional status of commercial apple orchards in the Aland Islands. Acta Agric. Scand. Sect. B Soil Plant Sci. 48: 100-106.
- Dris, R., R. Niskanen, and E. Fallahi. 1999. Relationship between leaf and fruit minerals and fruit quality attributes of apples grown under northern conditions. J. Plant Nutr. 22 : 1839-1851.
- Dubois, M. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal. Chem. 28 : 350-356.
- Fallahi, E. and B. R. Simons. 1996. Interrelations among leaf and fruit mineral nutrients and fruit quality in 'Delicious' apple. J. Tree Fruit Prod. 1: 15-25.
- Fallahi, E., T. L. Righetti, and D. G. Richardson. 1985. Predictions of quality by pre-harvest fruit and leaf mineral analyses in 'Starkspur Golden Delicious' apple. J. Am. Soc. Hort. Sci. 110: 524-527.
- Hopkirk, G., F. R. Harker, and J. E. Harman. 1990. Calcium and firmness of kiwifruit. New Zealand J. Crop Hort. Sci. 18: 215-219.
- Khanduja, D.S. and V.K. Garg. 1980. Nutritional status of guava (*Psidium guajava* L.) trees in North India. J. Hort. Sci. 55: 433-435.
- Li, B., G. Lin, and F. Liu. 1995. Relationship between fruit quality, storability and mineral composition of apples. J. Fruit Sci. 12: 141-145.
- Menzel, C. M., G. F. Haydon, and D. R. Simpson. 1992. Mineral nutrient reserves in bearing litchi trees (*Litchi chinensis* Sonn.). J. Hort. Sci. 67: 149-160.
- Saure, M. C. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. Sci. Hort. 105: 65-89.

Relationships Between Leaf, Fruit Mineral Nutrients and Fruit Quality of Guava (*Psidium guajava* L. cv. 'Jen-Ju Bar')

An-Heng Cheng ¹⁾ Huey-Ling Lin ²⁾

Key words: Guava, mineral nutrients, correlated

Summary

The objectives of this study were to investigate the relationships between leaf, fruit mineral nutrients and fruit quality of guava in Kaohsiung and Changhua, and to establish the standard range of respectively mineral nutrient in leaf. The firmness of fruit and the total soluble solids were negatively correlated with Mg whereas the ascorbic acid was positively correlated with Mg concentration. Fruit Ca and total soluble sugar had a similar trend. In leaf P and Ca concentrations were negatively correlated with total soluble solids, while Ca and ascorbic acid were found positively correlated. In the high quality 'Jen-Ju Bar' fruits, N was found to be between 0.5 and 0.86%; P : 0.061- 0.105%; K : 1.04- 1.5 %; Ca : 0.024-0.068%; Mg : 0.023-0.039%. Leaf N concentration was 1.45-1.71%; P : 0.111-0.149%; K : 0.69-1.21%; Ca : 1.49-2.81% and concentration of Mg ranged from 0.15 to 0.33 %. These figures could be used as a reference in the fertilization and management programs in producing good quality 'Jen-Ju Bar' guava in the field.

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

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

Corresponding author.

彩色辣椒(*Capsicum annuum* L.)再生系統的建立

蔡有章¹⁾ 曾夢蛟²⁾

關鍵字：彩色辣椒、組織培養、再生系統

摘要：本研究以彩色辣椒之子葉及下胚軸為材料，建立彩色辣椒之再生系統。本研究之結果顯示以添加2~3 mg/l 6-BA及1 mg/l IAA的MS培養基最適合'PBC776'彩色辣椒的芽體誘導及分化，再移到不添加任何6-BA的MS培養基，培植體則可順利的分化出根。

前 言

彩色辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 屬於茄科 (Solanaceae) 番椒屬 (*Capsicum*)，原產於中南美洲墨西哥與秘魯一帶，因容易雜交，以至種類繁多，而目前所見皆為栽培品種。彩色辣椒果實因品種不同，朝上或往下生長；果形從圓球形、錐形、櫻桃形，以至長形皆有；果色千變萬化，綠、黃、橙、紅、紫，甚或黑，又稱為「五彩辣椒」、「七彩辣椒」、「觀賞辣椒」(ornamental pepper) (張武男, 1995)。彩色辣椒可直接食用，也可作為調味品，且富含多種營養物質，深受大眾的喜愛；其果實於成熟過程中果皮會有轉色的現象，是探討調控果色轉變機制及基因的理想材料。但利用基因工程改良或利用彩色辣椒性狀，至今尚未有顯著成果。利用基因轉殖技術來改良彩色辣椒的重要關鍵技術為培植體再生的成功與否(余等, 2000)。因此本研究以彩色辣椒之子葉及下胚軸為材料，建立彩色辣椒之再生系統，作為它日以基因工程改良及利用彩色辣椒性狀之基礎。

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。

材料與方法

一、試驗材料

以'PBC776'之彩色辣椒(*Capsicum annuum* L. var. *annuum*)為建立再生系統的材料。辣椒種子經 70% 酒精浸泡 1 分鐘，以無菌水清洗一次後，以 2% 次氯酸鈉消毒 10 分鐘，再用無菌水清洗 3-4 次，加 5 ml 的無菌水置於 37°C 催芽 12-16 小時後，將種子播於 1/2MS 培養基含 3% 蔗糖 (pH5.8) 的培養基上，於黑暗培養至發芽，再移至日夜溫度 25°C/20°C 光強度為 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{sec}$ ，16 小時光週期的培養條件下培養 7~10 天後，切取幼苗子葉及下胚軸做為培植體。

二、試驗方法

1. 不定芽的誘導與分化

切取之幼苗子葉及下胚軸置於含 3% 蔗糖、8 g/l agar (pH 5.8) 之 MS 培養基 (Murashige and Skoog, 1962) 培養，分別探討：(一) 6-BA (6-benzylamino purine) 濃度 (0、1、2、3、4、5 mg/l)、(二) 不同種類之 auxin [2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)、IAA (indoleacetic acid)、IBA (indole butyric acid)、NAA (naphthaleneacetic acid)]、(三) 胺基酸類 [脯胺酸 (proline)、色胺酸 (tryptophan)]、多胺類 [腐胺 (putrescine)、亞精胺 (spermidine)]、酪蛋白水解物 (casein hydrolysate) 等，對誘導彩色辣椒培植體分化成不定芽的影響。

2. 不定芽的生長

將已分化的辣椒芽叢分割並移植到生長培養基中 [MS 培養基含 0.2 mg/l IAA、2 mg/l 6-BA 及 0-5 mg GA₃、2% 蔗糖、8g/l agar (pH 5.8)]，觀察不定芽生長的情形。

3. 誘導不定芽發根

當不定芽生長至約 2 公分時，自不定芽基部將不定芽切下，將不定芽移植至發根培養基 [1/2 MS 培養基含 0.2mg/l IAA、2% 蔗糖、8g/l agar (pH 5.8)]，觀察不定芽發根的情形。

結 果

一、6-BA 濃度對'PBC776'彩色辣椒培植體分化的影響

本研究所使用之彩色辣椒為'PBC776'品系，其果實結果轉色的過程依序為由淡白綠色、紫色、黃色、橙色至紅色，整個轉色過程約在 20~30 天即可完成 (20°C~25°C)。不同品系的辣椒培植體再生條件差異甚大，本試驗以'PBC776'彩色辣椒的下胚軸及子葉為供試材料，在 MS 培養基中添加不同濃度的 6-BA (0~5 mg/l) 觀察其對芽體分化的影響。下胚軸及子葉在含有 2 mg/l 6-BA 的培養基的芽體分化率最佳分別為 16% 及 18% (表 1、表 2)。當 6-BA 濃度增加至 4 mg/l 時，子葉不再分化出芽體，而轉而分化成癒傷組織。當 6-BA 增

加至 5 mg/l 時下胚軸也有類似的情形發生。在不添加任何 6-BA 的對照組中培植體可順利的分化出根，當 6-BA 濃度增加時根的分化會受到抑制。

二、不同種類之 auxin 對'PBC776'彩色辣椒培植體分化的影響

將彩色辣椒下胚軸與子葉培植體分別培養在含有不同濃度之 2, 4-D、NAA、IBA、IAA 等 auxin 的分化培養基上(6-BA 濃度均為 2.0 mg/l)，進行芽體誘導。4 週後觀察芽體分化發現，無論以下胚軸 (表 3) 或子葉 (表 4) 為材料，在含有 1.0 mg/l IAA 的培養基中，不定芽的分化率最高，但不定芽無伸長現象。培植體在含有 0.5 mg/l IAA 的培養基分化頻率也相對比較高。子葉及下胚軸在含有 0.5 mg/l NAA、0.5 mg/l IBA 及 1.0 mg/l IBA 的培養基中，少數培植體也可以分化出不定芽。

三、胺基酸類、多胺類、酪蛋白水解物對'PBC776'彩色辣椒下胚軸之芽體分化的影響

在篩選出 6-BA 為 2.0 mg/l、IAA 為 1 mg/l 的最佳生長調節劑的 MS 培養基中分別添加 5 mg/l proline、5 mg/l tryptophan、500 mg/l casein hydrolysate、5 mg/l putricin 及 5 mg/l spermidine。不論是下胚軸(表 5)或子葉(表 6)皆以添加 500 mg/l 的 casein hydrolysate 的芽體分化率最高，而添加 5 mg/l proline、5 mg/l tryptophan、5 mg/l putricin 及 5 mg/l spermidine 對不定芽的誘導分化並無明顯的促進作用。

表1. 不同6-BA濃度對'PBC776'彩色辣椒下胚軸之芽體分化的影響

Table 1. Effects of different concentrations of 6-BA on buds differentiation of hypocotyls of 'PBC776' chili pepper.

調查項目*	6-BA (mg/l)					
	0	1	2	3	4	5
培植體數 No. of explants	50	50	50	50	50	50
芽體分化數 No. of buds induced	0	2	8	4	1	0
芽體分化率(%) % of buds induced	0	4	16	8	2	0
癒傷組織分化數 No. of calli induced	0	44	42	46	49	50
癒傷組織分化率(%) % of calli induced	0	88	84	92	98	100
根分化數 No. of roots	50	4	0	0	0	0
根分化率(%) % of roots induced	100	8	0	0	0	0

*數值為三次試驗的平均值。*Data were the mean of the three independent experiments。

表2. 不同6-BA濃度對'PBC776'彩色辣椒子葉之芽體分化的影響

Table 2. Effects of different concentrations of 6-BA on buds differentiation of cotyledons of 'PBC776' chili pepper.

調查項目*	6-BA (mg/l)					
	0	1	2	3	4	5
培植體數 No. of explants	50	50	50	50	50	50
芽體分化數 No. of buds induced	0	3	9	3	0	0
芽體分化率 % of buds induced	0	6	18	6	0	0
癒傷組織分化數 No. of calli induced	2	45	40	47	50	50
癒傷組織分化率 % of calli induced	4	90	80	94	100	100
根分化數 No. of roots	48	2	1	0	0	0
根分化率 % of roots induced	96	4	2	0	0	0

*數值為三次試驗的平均值。*Data were the mean of the three independent experiments。

表3. 不同種類之auxin濃度對'PBC776'彩色辣椒下胚軸之芽體分化的影響

Table 3. Effects of different concentrations of auxin on buds differentiation of hypocotyls of 'PBC776' chili pepper.

調查項目*	CK ^z	2, 4-D (mg/l)		NAA (mg/l)		IBA (mg/l)		IAA (mg/l)	
		0.25	0.50	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
培植體數 No. of explants	50	50	50	50	50	50	50	50	50
芽體分化數 No. of buds induced	6	0	1	3	0	5	2	8	11
芽體分化率 % of buds induced	12	0	2	6	0	10	4	16	22

*數值為三次試驗的平均值。*Data were the mean of the three independent experiments。

^z 培植體培養在含 2 mg/l 6-BA、2% 蔗糖、8g/l agar (pH 5.8) 之MS培養基。*Plantlets were cultivated in the MS medium containing 2 mg/l BA, 2% sucrose, 8g/l agar (pH 5.8).

表4. 不同種類之auxin濃度對'PBC776'彩色辣椒子葉之芽體分化的影響

Table 4. Effects of different concentrations of auxin on buds differentiation of cotyledons of 'PBC776' chili pepper.

調查項目*	CK ^z	2, 4-D (mg/l)		NAA (mg/l)		IBA (mg/l)		IAA (mg/l)	
		0.25	0.50	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
培植體數 No. of explants	50	50	50	50	50	50	50	50	50
芽體分化數 No. of buds induced	8	0	0	4	0	2	4	9	14
芽體分化率 % of buds induced	16	0	0	8	0	4	8	18	28

*數值為三次試驗的平均值。*Data were the mean of the three independent experiments。

^z 培植體培養在含 2 mg/l 6-BA、2% 蔗糖、8g/l agar (pH 5.8) 之MS培養基。*Plantlets were cultivated in the MS medium containing 2 mg/l 6-BA, 2% sucrose, 8g/l agar (pH 5.8).

表5. 胺基酸類、多胺類、酪蛋白水解物對'PBC776'彩色辣椒下胚軸之芽體分化的影響

Table 5. Effects of amino acids, polyamines, and casein hydrolysate on buds differentiation of hypocotyls of 'PBC776' chili pepper.

調查項目*	CK ^z	Proline	Tryptophan	Casein hydrolysate	Putricine	Spermidine
		(5mg/l)	(5mg/l)	(500mg/l)	(5mg/l)	(5mg/l)
培植體數 No. of explants	50	50	50	50	50	50
芽體分化數 No of bud induced	13	11	9	15	10	9
芽體分化率(%) % of bud induced	26	22	18	30	20	18
癒傷組織分化數 No. of callus induced	37	39	41	35	40	41
癒傷組織分化率(%) % of callus induced	74	78	82	70	80	82

*數值為三次試驗的平均值。*Data were the mean of the three independent experiments。

^z 培植體培養在含 2 mg/l 6-BA、1 mg/l IAA、2% 蔗糖、8g/l agar (pH 5.8) 之MS培養基。*Plantlets were cultivated in the MS medium containing 2 mg/l 6-BA, 1 mg/l IAA, 2% sucrose, 8g/l agar (pH 5.8).

表6. 胺基酸類、多胺類、酪蛋白水解物對'PBC776'彩色辣椒子葉之芽體分化的影響
 Table 6. Effects of amino acids, polyamines, and casein hydrolysate on buds differentiation of cotyledons of 'PBC776' chili pepper.

調查項目*	CK ^z	Proline (5mg/l)	Tryptophan (5mg/l)	Casein hydrolysate (500mg/l)	Putricine (5mg/l)	Spermidine (5mg/l)
培植體數 No. of explants	50	50	50	50	50	50
芽體分化數 No of bud induced	12	9	8	17	11	10
芽體分化率 % of bud induced	24	18	16	34	22	20
癒傷組織分化數 No. of callus induced	38	41	42	33	39	40
癒傷組織分化率 % of callus induced	76	82	84	66	78	80

*數值為三次試驗的平均值。*Data were the mean of the three independent experiments。

^z 培植體培養在含 2 mg/l 6-BA、1 mg/l IAA、2% 蔗糖、8g/l agar (pH 5.8) 之MS培養基。*Plantlets were cultivated in the MS medium containing 2 mg/l 6-BA, 1 mg/l IAA, 2% sucrose, 8g/l agar (pH 5.8).

討 論

本研究將'PBC776'彩色辣椒培植體培養於含有不同 6-BA 濃度的 MS 培養基中，觀察其再生的情形。結果顯示以添加 2~3 mg/l 的 BA 最適合'PBC776'彩色辣椒的芽體分化。何(1996)等人，將辣椒培植體分別培養於含有 6-BA、zeatin 及 kinetin 的 MS 培養基上，2 週後在含有 BA 或 zeatin 的培養基上，部分葉片切口處形成淺綠色質地緻密的癒傷組織，並在癒傷組織上出現綠色芽點，繼而形成不定芽；部分葉片切口處可直接分化長出不定芽。而在含 kinetin 的培養基上的培植體切口處形成質地緊密，表面成白色絨毛狀的綠色癒傷組織，但未有任何芽體的分化。分別比較 BA 與 zeatin，則以 BA 對辣椒培植體不定芽的誘導效果較 zeatin 為佳，而 BA 對不定芽誘導的有效濃度為 2~6 mg/L。因此本研究就直接測試不同 6-BA 濃度對'PBC776'彩色辣椒培植體芽體分化的影響，而沒有測試其他 cytokinine 類之生長調節劑。試驗結果顯示無論下胚軸及子葉均以含有 2 mg/l 6-BA 的培養基的芽體分化率最佳，分別為 16% 及 18%，此與何(1996)等人之研究結果相似。本研究同時發現，'PBC776'彩色辣椒培植體之不定芽分化率會隨 BA 濃度的增加，不定芽分化頻率不增反減。此可能與高濃度 cytokinine 可能造成頂端優勢，導致抑制不定芽的發生有關 (Polisetty *et al.*, 1997)。

前人研究報導誘導辣椒不定芽分化時，在添加 6 mg/L BA 的 MS 培養基上分別再添加 2,4-D、NAA、IBA 或 IAA，發現對辣椒不定芽分化產生截然不同的影響 (Rafael *et al.*, 1996; Shivegowda *et al.*,)。2,4-D 對不定芽的分化有明顯的抑制作用，AA 與 IBA 也有不同程度的抑制作用，但 BA 與 IAA 互相搭配則可明顯的促進不定芽的分化。本研究以 2 mg/l 的 6-BA 配合 1 mg/l 的 IAA，其芽體產生的比率較單獨使用 2 mg/l 6-BA 來的高，此與其研究結果相符。

酪素水解物(casein hydrolysate)是種氨基酸的複合物，有類似還原性氮的作用，可促進大豆根(Lazzeri *et al.*, 1987) 的生長，誘導大豆未成熟子葉之體胚形成和生長(葉與全, 1992)，誘導木瓜莖頂產生叢生芽(何等, 1988)。本研究結果顯示，在含有 2 mg/l BA+A1 mg/l IAA 的培養基中添加 500mg/l casein hydrolysate 對'PBC776'彩色辣椒培植體之芽體的生長有明顯的促進效果。

由於辣椒培植體分化形成的不定芽呈現叢生狀，其中只有少部分可以伸長，因此在培養基中添加 GA3 可以有效促進不定芽的伸長。羅(2003)等人，以不同的 BA 與 GA3 比例的處理中，發現不同濃度的比例對不定芽伸長有不同程度的影響，較高的 BA 濃度對不定芽的伸長有具有抑制的作用，在 BA 濃度為 5 mg/L 時不論 GA3 濃度高或低皆不會促進不定芽伸長的效果。本研究將已分化的辣椒芽叢分割並移植到含有 0.2 mg/l IAA、2 mg/l 6-BA 及 0.5 mg GA3 之 MS 培養基，迨不定芽生長至約 2~3 公分時，再將其切離後移植至僅含有 0.2 mg/l IAA 之 1/2MS 培養基，經培養後可得到發根之再生彩色辣椒植株。

辣椒的再生受品種的影響甚鉅，黎等人(2002)報導，將 17 個供試材料的培植體接種於分化培養基(MS+IAA 1.0 mg/L +6-BA 5.0 mg/L)。20 天後 17 個分化率為 65%~98%，品種之間存在顯著差異。17 個辣椒品種之子葉培植體的再生率介於 65% ~98% 之間。羅等人(2003)觀察 4 個不同品種辣椒子葉再生的情形，發現 4 個不同品種分化頻率有所不同，其分化率介於 67%~83%，但不同品種間培植體分化之平均芽體數則無明顯差異。本研究雖然嘗試添加 BA 及 auxin，但最佳情況的生長調節劑組合，無論是下胚軸或子葉培植體的芽也只得約 22~28%。添加 casein hydrolysate 也只增加到 30~34%，與上述之研究結果有很大的差距；品種(系)的不同，可能是主要的原因。

參 考 文 獻

- 余小林、李乃堅、黃自然、李穎。2000。辣椒子葉離體培養和植株再生體系的建立。園藝學報 27(1):42-46。
- 何偉真、趙元才、趙弘彥。1988。木瓜之微體繁殖。國立臺灣大學農學院園藝學系(編)。園藝作物組織培養之應用研討會專集。pp73-79。臺灣、台北。
- 何曉明、王鳴、聶之。1996。辣椒葉片離體培養與植株再生。西北農業大學學報 24(1):93-96。
- 張武男。1995。番椒。台灣農家要覽----農作篇(二)。行政院農業委員會。農年社。P.437~440。
- 葉茂生、全中和。1992。大豆未熟胚培養之研究 V.瓊脂或凝膠及酪素水解物對大豆未熟胚軸及子葉之體胚及器官形成的影響。農林學報 41(1): 13-22。
- 黎定軍、張寶璽、越開軍、謝丙炎、羅寬。2002。辣椒子葉高效植株再生體系的建立。園藝學報 29(1):25-29。
- 羅素蘭、王鵬程、張轉、長孫東亭。2003。辣椒高效再生體系及其卡那黴素篩選體。海南大學學報。21: 51-57。
- Lazzeri, P. A., F. F. Hildebrand, and G. B. Collins. 1987. Soybean somatic embryogenesis : Effects of nutritional, physical and chemical factors. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 10: 209-220.
- Multiple shoot induction by benzyladenine and complete plant regeneration from seed explants
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15(3): 473-497.
- Polisetty, R., V. Paul, J. J. Deveshwar¹, S. Khetarpal¹, K. Suresh¹, and R. Chandra¹. 1997. Multiple shoot induction by benzyladenine and complete plant regeneration from seed explants of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Plant Cell Rep. 16: 565-571.
- Rafael, R. M. and O. A. Neftali. 1996. An improved and reliable chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) plant regeneration method. Plant Cell Rep. 16:226-231.
- Shivegowda, S. T., J. B. Mythili, G. V. S. Saiprasad, T. K. S. Gowda, L. Anand, and R. Gowda. 2002. In vitro regeneration and transformation in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). J. Hort. Sci. and Biotech. 77(5):629-634.
- Yamakawa, T., S. Sekiguchi, T. Kodama, S. M. Smith, and M. M. Yeoman. 1998. Transformation of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) with a phenylalanine ammonia-lyase gene. Plant Biotech. 15(4):189-193.

Establishment of the Regeneration System of Colored Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.)

Yu-Chang Tsai¹⁾ Menq-Jiau Tseng²⁾

Key words: colored chili pepper 、 tissue culture 、 regeneration system

Summary

The objectives of this study is to establish the regeneration system of colored chili pepper (*Capsicum annuum* L.). The cotyledons and hypocotyls were used as initial explants for induction of *in vitro* regeneration of colored chili pepper. Buds induction and differentiation was achieved on gelled Murashige & Skoog medium (MS) supplemented with 2 to 3 mg/l of indole-3-acetic acid (IAA) combined with 1 mg/l of 6 benzylaminopurine) (6-BA). The plantlets were transferred to MS medium with IAA but not BA for subsequent rooting.

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

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

伽瑪射線對聖誕紅生長之影響

傅仰人¹⁾ 朱建鏞²⁾ 黃敏展³⁾

關鍵字： γ -射線、聖誕紅、誘變育種

摘要：以 γ -射線照射聖誕紅的插穗、發根苗及盆苗，期能誘發變異，育成新品種。試驗使用 'Peterstar' 發根苗為材料，處理 γ 射線 0、25、35、45、50 及 100 格雷(Gy) 劑量之結果顯示，隨劑量增加而使根部之傷害嚴重，株高之生長抑制也愈明顯，超過 45 Gy 則植株均不能成活。其中以 25 Gy 劑量照射者變異率為 3.5 %，而 35 Gy 劑量照射者變異率為 2.3 %。另以 'Peterstar' 插穗先行 25 Gy 照射，經扦插 4 週發根完全後再行 25 Gy 照射，則變異率增為 6.7 %。而 'Peterstar' 發根苗上盆後以 25 Gy 劑量照射一次，間隔 3 週再行 25 Gy 劑量處理之分次累積照射時，其變異率可達 4.3 %。以對照組生長速率為 100 %，比較經 γ -射線處理的植株的生長，發現相對生長速率為 33-37 % 時變異率最高。不同品種聖誕紅經 γ 射線照射後之當代側枝變異率，'Peterstar' 或 'Freedom' 分別為 5.4 % 或 7.3 % 之間，而 'Lilo' 及 'Supjibi' 品種則沒有變異產生。花色變異 'Freedom' 佔 51.3 %，而 'Peterstar' 佔 28.6 %。

前 言

聖誕紅遺傳基因庫有限，在種間雜交品種 'Dulce Rosa' 育成 (Ecke III *et al.*, 2004) 之前，聖誕紅源自一野生種，因此要在遺傳變異上有所突破，極需仰賴誘變育種 (朱, 1998; Love, 1966; Broertjes, 1976)。目前已知菊花、玫瑰花、聖誕紅、中國水仙、紅薑花、瓜葉菊、山茶花、美人蕉、閉鞘薑、九重葛、朱槿、松葉牡丹、夜來香及玉葉金花等，都有利用誘變育種育成的新品種 (王和何, 1990; Broertjes and van Harten, 1988; Przybyla, 2000)，而聖

-
- 1) 行政院農業委員會桃園區農業改良場台北分場主任，本文為第一作者博士論文之部分。
 - 2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。
 - 3) 國立中興大學園藝學系退休教授，通訊作者。

誕紅更是各國種苗公司爭相利用誘變育種的花卉作物 (Ecke Jr., 1988)。聖誕紅由於芽條變異率極高，由芽條變異產生的新品種也多。其中包括目前在國內最大宗之栽培品種 'Peterstar' 和 'Pepride' 都是在丹麥利用放射線誘變育成的品種 (Ecke III *et al.*, 2004)。

植物誘變育種，多使用具離子化放射線，較普遍認知的射線，有 X 射線、 γ 射線、紫外線、質子、中子及 α 與 β 粒子等 (黃, 1996; 謝和謝, 1981; Broertjes and Van Harten, 1988)。一般均認為放射線劑量與突變率有正相關之趨勢，與成活率有負相關之反應。在對觀賞植物誘變處理，LD50 常作為處理劑量的指標，即造成生物體族群個體 50% 死亡的劑量 (黃, 1967; 謝和謝, 1981; Broertjes and Van Harten, 1988; Nagatomi *et al.*, 2000)。

聖誕紅經誘變之商業品種很多利用細胞懸浮培養照射 X 射線 (Kleffel *et al.*, 1980; Peril *et al.*, 1991)，或以癒傷組織照射 γ 射線 (朱及趙, 2002) 可以得到新品種，但利用插穗或植株照射輻射線誘變育種的方法卻少有文獻發表。本研究擬建立以 γ 射線照射聖誕紅插穗、發根苗及成株之誘變技術，並探討其變異範圍和造成變異之原因。

材料及方法

一、植物材料：

試驗主要以聖誕紅 'Peterstar' 為材料，另外也以 'Freedom'、'Lilo' 以及 'Supjibi' 測試不同品種對輻射之反應。試驗用的材料分別為插穗、發根苗以及成株三種。插穗的取法同一般盆花生產所用的標準插穗，即為直徑 5 mm 長度 7 cm 的頂梢，插穗上有 3-4 片完全展開葉及 2-3 片未完全展開葉。採下的插穗基部以濕吸水紙包裹置封口袋中備用。發根苗是將標準插穗扦插於 2 寸盆中，介質由等體積的泥炭苔和真珠石混合而成，經 21 天後的發根苗。盆栽植株是將發根苗定植於 15 cm 盆 7 天後的植株，盆中裝的介質由 3 份體積的泥炭苔和 1 份真珠石混合而成。

二、試驗方法：

放射線之照射處理在桃園縣龍潭鄉核能研究所之鈷六十照射場中進行。射源為鈷 60 (^{60}Co) 產生的 γ 射線。

聖誕紅 'Peterstar' 插穗以 0、15、25、35 或 45 Gy 之 γ 射線照射 (劑量率為 10.42 Gy/min)，照射後將插穗扦插於 6 cm 盆，經置於扦插床 4 週後進行調查。另將插穗分別以 0 或 25 Gy 之 γ 射線照射 (劑量率為 10.15 Gy/min) 後扦插於 6 cm 盆中，4 週後再經前述 5 種劑量照射，然後換盆至 15 cm 盆，介質為 3 份體積的泥炭苔和 1 份真珠石混合而成，並持續調查至開花期。

另外將聖誕紅 'Peterstar' 發根苗，分別以 0、25、35、45、50 或 100 Gy 之 γ 射線照射 (劑量率為 12.94 Gy/min)，再定植於 15 公分盆中，2 週後摘心 0.5 cm，再調查聖誕紅苗之生育情形。

又將聖誕紅'Peterstar'上盆後 1 週行摘心處理，然後分別照射 25 Gy 1、2、3 或 4 次（劑量率為 12.21 Gy/min），每次照射時間區隔分別為 1 至 3 週（表 2-5）。照射後移至溫室中並持續調查至開花期。

另外取'Freedom'、'Peterstar'、'Supjibi'及'Lilo'之發根苗各 144 株，分別照射 25 Gy。照射處理後立即定植於 15 cm 盆中，一週後行摘心處理，調查其生育情形。

三、調查項目：

插穗照射調查項目為成活率、根長及根數。發根苗和盆株則在照射後每週調查生育情形，並統計其成活株數，換算 50 % 成活率之劑量範圍。調查的園藝性狀，包括成活率、株高、展幅、單朵花徑、分枝數、有效分枝數、平均分枝長、苞葉轉色期及變異率。變異率高低之測定係將照射後成活植株(M1)之側芽取下扦插繁殖為後代(M1V1)，並調查其至開花末期之生育性狀，觀察並記錄有無變異之情形。最後品種照射試驗種植後每 30 天調查一次。

四、統計方法：

試驗採完全逢機設計，每試驗 3 重複。調查數據以變方分析(Analysis of Variance；ANOVA)測驗其顯著性。再以鄧肯氏多變域分析(Duncan,s Multiple Range Test)比較各處理均值間之 5 % 的差異顯著性。當調查數據無法進行變方分析時，即以均值±SE (標準誤差)進行數值間之比較。

結 果

聖誕紅'Peterstar'插穗經 γ 射線照射後，照射劑量超過 45 Gy 者，發根受抑制。雖在處理 4 週後依然存活，但其不定根發生困難，即使成活，對其後續生育，非常緩慢，且不易栽培。經低於 45 Gy 之 γ 射線照射者，插穗根生長與照射劑量成反比，劑量愈高根數愈少根長愈短。如照射處理 0 到 35 Gy，根長由 9.50 降至 2.17 cm，根數由 17.67 降至 1.67 條（表 1）。

聖誕紅'Peterstar'發根苗經 γ 射線照射後，經 45 Gy 劑量照射者成活率為 50%最低，其次為經 35 Gy 劑量照射者，而經 25 及 15 Gy 劑量照射者成活率為 100%(表 2)。對株高而言，所有 γ 射線照射組均顯著比對照組為矮，且隨劑量增加而使株高之生長抑制愈明顯。對樹冠展幅而言，抑制之趨勢與株高同，但較輕微，僅 45 Gy 劑量照射者之抑制較為明顯。對花朵直徑而言，抑制之趨勢與展幅類似，以 45 Gy 劑量照射者抑制最為明顯，其他 γ 射線照射組則比對照組稍受抑制。對分枝數而言，僅 45 Gy 劑量照射者之 2.7 枝顯著少於對照及其他 γ 射線照射組；對總分枝長而言，25 Gy 以上劑量照射者則明顯較短，45 Gy 劑量照射者則為最短。對相對生長率而言，以 45 Gy 劑量照射者之 6.4%為最低，35 Gy 劑量照射者則為 50.6%，25 Gy 劑量照射者則為 72%。對變異率而言，以 25 及 35 Gy 劑量

照射者之 3.3% 較高。插穗先以 25 Gy 之 γ 射線照射處理後立即扦插，經 4 週發根完整後再以 γ -射線照射處理，結果顯示對成活率而言，以 45 Gy 劑量照射者之 10% 為最低，35 Gy 劑量照射者之 30% 次之，25 Gy 劑量照射者之 80% 再次之，而 15 Gy 劑量照射者之 85% 為處理組之最高者，對照組則為 100% 成活。對株高而言則以 45 Gy 劑量照射者之 2.7 cm 為最矮，25 及 35 Gy 劑量照射者則稍比對照組及 15 Gy 劑量照射者為矮。對展幅而言，也是以 45 Gy 劑量照射者之 3.3 cm 最小，而 35 Gy 劑量照射者之 20 cm 次之，其他則差異不顯著。對單朵花徑而言，則隨劑量增加花徑則愈小。對分枝數而言，卻是以 15 Gy 劑量照射者之 11 枝為最高，對照組及 25 Gy 劑量照射者之 8.7 及 8 枝次之，35 Gy 劑量照射者之 6.3 枝再次，而 45 Gy 劑量照射者之 0.3 枝最少。對總分枝長而言，25 Gy 劑量照射以上則明顯較短，45 Gy 劑量照射者則為最短。對相對生長率而言，以 45 Gy 劑量照射者之 0.2% 為最低，35 Gy 劑量照射者則為 19.1%，25 Gy 劑量照射者則為 37.7%，15 Gy 劑量照射者則為 62.9%。對分枝長而言，劑量高於 25 Gy 劑量照射者則抑制愈明顯。對變異率而言，以 25 Gy 劑量照射者之 6.7% 為最高 (表 2)。

聖誕紅 'Peterstar' 發根苗經 γ 射線照射後，45 Gy 以上劑量照射者，在照射後 56 天後均死亡 (圖 1)，35 Gy 劑量照射者則在 42 天後存活 16 棵，成活率約 67%，25 Gy 劑量照射者之成活率則為 100%。而經 25 及 35 Gy 劑量照射者照射後存活植株之枝葉上均有明顯的輻射傷害效應 (表 3)。變異之情形則如表 4 顯示，35 Gy 劑量照射者之側芽因高劑量輻射傷害而生長不良，平均單盆總分枝長為 90.2 cm，相對生長率則為 46.9%，每盆正常枝數僅 3.8 枝。而 25 Gy 劑量照射者的正常枝數 8.4 枝，盲枝數僅 0.4 枝，總分枝長為 149.6 cm，相對生長率則為 77.9%。將照射處理後存活植株之枝條扦插繁殖為照射後無性繁殖第一代

表 1. 聖誕紅 'Peterstar' 插穗經 γ 射線照射後對根生長的影響

Table 1. Effect of γ -ray irradiation on root growth of poinsettia 'Peterstar' cuttings.

照射劑量 (Gy)	成活率 (%)	根數 (no.)	最長根長 (cm)
Dosage	Survival rate	No. of root	Length of root
0	100a ^x	46.67a	10.77a
15	100a	17.67b	9.50ab
25	98a	12.67c	6.67c
35	67b	1.67d	2.17d
45	0c	—	—

Z: 同行之平均值後具有相同字母者，表示以 5% 水準之鄧肯氏多變域分析結果無顯著差異。

Z: Means within the column with the same letters are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 2. 聖誕紅'Peterstar'插穗經 γ 射線累積照射後對生育之影響Table 2. Effect of γ -ray split irradiation on the growth of unrooted cutting for poinsettia 'Peterstar'.

照射劑量 ^Z Dosage (Gy)		成活率 Survival rate (%)	株高 Plant height (cm)	樹冠直徑 Canopy diameter (cm)	側枝數 Lateral shoots (no.)	總分枝長 Length of total shoots/Pot (cm)	相對生長率 ^Y Relative growth (%)	側枝變異率 Mutation of Lateral shoot (%)
I	II							
0	0	100a ^X	35.7a	43.3a	11.3a	297.2a	100.0 a	0.0d
25	0	100a	26.7bc	32.3c	8.7b	174.0c	58.6c	1.7c
0	15	100a	28.3b	41.0a	11.0a	256.3ab	86.1ab	0.0d
25	15	85b	26.7bc	37.7ab	11.0a	187.0c	62.9 c	3.3b
0	25	100a	26.0bc	39.3ab	10.7a	214.0bc	72.0 b	3.3b
25	25	80b	19.7c	33.3c	8.0b	112.0d	37.7 d	6.7a
0	35	75bc	19.0c	31.0c	9.0b	150.3cd	50.6 cd	3.3b
25	35	30de	15.0cd	20.0d	6.3bc	56.7e	19.1 e	0.0d
0	45	50d	9.0d	7.3e	2.7d	18.9e	6.4 ef	0.0d
25	45	10e	2.7f	3.3f	0.3e	2.1ef	0.2 f	0.0d

Z：分二次照射：第 I 次在扦插前；第 II 次在扦插後 4 週。

Z：Twice irradiation:The 1st before cutting;the 2nd 4weeks after cutting.

Y：相對生長率—處理組與對照組'總分枝長'之比較。

Y：Relative growth—Total shoot Length of treatment compared to control's.

X：同行之平均值後具有相同字母者，表示以 5%水準之鄧肯氏多變域分析結果無顯著差異。

X：Means within the column with the same letters are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

(M1V1)，其中 25 Gy 劑量照射者可繁殖出 170 株，比 35 Gy 劑量照射者之 47 株多約 4 倍左右。照射後無性繁殖第一代(M1V1)中之變異株，則以 25 Gy 劑量照射者之變異有 6 株，變異率為 3.5%，比 35 Gy 劑量照射者之變異 1 株為多，變異率則為 2.3%(表 4)。聖誕紅'Peterstar'成株經 γ 射線分次累積照射後，以存活株數而言，照射一次者均存活，而連續每週照射超過 2 次以上者均無存活，照射 2 次者間隔超過 2 週以上者，間隔愈久則存活率愈高，間隔 3 週者存活率為 70%(表 5)。故以聖誕紅分次累積照射之實施，建議間隔以 3 週以上為宜。聖誕紅經 γ 射線分次累積照射後，生長速率結果如表 6 顯示，側枝數以摘心當週照射者分枝最多，分枝數為 8 枝，而摘心後一週照射處理，分枝數為 5 枝，分枝表現最

差。對平均側枝、生長速率及相對生長率的影響，亦有類似之趨勢。顯示照射時若側芽處於未發動狀態，對其側芽的發生影響最小，若側芽處於發動1週之狀態，對照射的反應最大。另外照射2次仍存活性者，其側枝數平均約為2到3.4枝，其平均側枝長約僅為3.9到6.1cm，均較照射一次者為差。而2次照射時間間隔愈短者，又較間隔時間長者為差。對誘變率而言，則是以2次照射且間隔3週之4.3%為最高。



圖 1. 聖誕紅'Peterstar'發根苗照射 γ 射線 30 天後之生育情形

Fig 1. The growth of potted poinsettia 'Peterstar' 30 days after γ -ray irradiation.

表 3. γ 射線照射對聖誕紅'Peterstar'發根苗成活率之影響

Table 3. Effect of γ -ray irradiation on the survival poinsettia 'Peterstar' of rooted cutting.

輻射劑量 Irradiation (Gy)	處理後天數之成活率 (%) Survival rate at days after γ -ray irradiation					
	21 day	28 day	35 day	42 day	49 day	56 day
0	100a ^x	100a	100a	100a	100a	100a
25	100a	100a	100a	100a	100a	100a
35	100a	96a	79b	67b	63b	63b
45	100a	92ab	42c	17c	17c	0c
50	100a	54b	29c	0d	0d	0c
100	88b	46bc	8d	0d	0d	0c

^x 同行之平均值後具有相同字母者，表示以 5% 水準之鄧肯氏多變域分析結果無顯著差異。

^x Means within the column with the same letters are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. γ 射線照射對聖誕紅 'Peterstar' 側芽發育及變異之影響Table 4. Effect of γ -ray irradiation on the branch growth and mutation of poinsettia 'Peterstar'.

處理劑量 Dosage (Gy)	側枝數 Lateral shoots	正常枝數 Normal shoots	盲芽枝數 Blind shoots	總分枝長 Length of total shoots/ Pot (cm)	相對生長率 ^Z Relative growth (%)	M1V1 成活 株數 ^Y Survivals of M1V1	M1V1 成活株 之變異率 ^X Mutation of M1V1 (%)
0	7.3b W	7.3b	0.0c	192.0a	100.0a	156b	0.0c
25	8.8a	8.4a	0.4b	149.6b	77.9b	170a	3.5a
35	6.4c	3.8c	2.6a	90.2c	46.9c	47b	2.3b
45	0.0d	0.0d	0.0c	—	—	—	—

Z：相對生長率—處理組'平均單盆總分枝長'對對照組百分比。

Z：Relative growth—Length of total shoots after γ -ray treatment compared with control's.

Y：M1V1 成活株數—照射株 (M1) 之側枝扦插後成活數目。

Y：Survival plant of M1V1—Survival plants from lateral shoots of irradiated plant (M1 plant) .

X：M1V1 成活株之變異率—照射株 (M1) 之側枝扦插後成活株發生變異之比例。

X：Mutation rate of M1V1—Mutation rate of the plants which from lateral shoots of irradiated plant (M1 plant) .

W：同行之平均值後具有相同字母者，表示以 5% 水準之鄧肯氏多變域分析結果無顯著差異。

W：Means within the column with the same letters are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

聖誕紅不同品種經 γ 射線照射後以 'Freedom'、'Peterstar' 品種存活率較高，'Supjibi' 次之，'Lilo' 最差，經觀察結果其成活率與側芽數量有正相關性，'Lilo' 品種在夏高溫下生長，其側枝多不形成，亦即腋無側芽，經照射後摘心植株即慢慢萎縮死亡，故成活率較差。'Supjibi' 品種則是在摘心處理下方 1-2 個側芽才易發育成側枝，而經照射後其上方之側芽所受之輻射傷害較大，抑制芽條發育，故也有類似的情形(表 7)。不同品種聖誕紅經 γ 射線照射後之 M1 數量及變異選拔株數株，'Peterstar' 及 'Freedom' 品種之照射誘變率約在 5.4%~7.3% 之間。而 'Supjibi' 及 'Lilo' 品種則沒有變異產生。'Peterstar' 及 'Freedom' 品種之誘變後代則如表 8 所示，其中 'Freedom' 之花色變異最多達 51.3% 比 'Peterstar' 之 28.6% 為高。其次為花形之變異達 20.5%，而 'Peterstar' 則為 21.4%；葉色及葉形之變異達 15.4%，比 'Peterstar' 之 17.9% 略少；開花期之變異則以 'Peterstar' 之 28.6% 較高，'Freedom' 僅 7.7%；株型之變異則在兩品種均為最少(圖 2、3)。

表 5. 聖誕紅 'Peterstar' 成株以 γ 射線 25 Gy 累積照射對成活率之影響

Table 5. Effect of γ -ray irradiating method on the survival of potted poinsettia 'Peterstar'.

照射時期 Irradiation date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
At pinch	★				★			★		★	★		★	★	★
1 week after pinch		★			★	★			★		★	★	★		★
2 week after pinch			★			★	★	★			★	★		★	★
3 week after pinch				★			★		★	★		★	★	★	★
存活率 (%) Survival	100	100	100	100	0e	0e	0e	20d	50c	70b	0e	0e	0e	0e	0e

★:照射期

★:irradiated

Z:同列之平均值後具有相同字母者，表示以 5% 水準之鄧肯氏多變域分析結果無顯著差異。

Z:Means within the row with the same letters are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

討 論

最早企圖用 X 線及紫外線以改變植物特性，為 Alberto Piroveno 於 1922 年在意大利所報告(謝和謝, 1981)。聖誕紅不同花色品種之獲得，在早期均靠實生育種或自然變異而來 (Robinson and Darrow, 1929)；直到 1960 年左右才有利用放射線誘使聖誕紅產生人為變異 (Stewart, 1965; Datta, 1980)，但至今有關於聖誕紅人為誘變之技術，則鮮少詳細報導。本研究則針對 γ 射線處理不同材料之聖誕紅，觀察其反應及變異情形，以界定其最適之處理方式，此將有助於提升聖誕紅誘變育種之效益。

早期國外研究指出大戟屬(*Euphorbia*)植物之發根苗最適之照射劑量約為 30-50 Gy 之範圍(謝和謝, 1981)。然而，本研究之結果則顯示， γ 射線處理聖誕紅發根苗，劑量超過 45 Gy 以上，經過 6-8 週後植株均會死亡，而 35 Gy 劑量照射者，經過 8 週後其死亡率也達 37.5 %。經觀察， γ 射線對聖誕紅植株之傷害主要在根部，當 γ 射線劑量超過 45 Gy 以上，聖誕紅之發根苗其根部呈現漸次褐化而腐爛，地上部植株幾乎呈現生長停頓，最後導致枯

萎死亡；而 35 Gy 劑量照射者，其根部則呈現數量少且生長慢，最後導致地上部生育較為遲緩之現象。而插穗經 45 Gy 以上劑量照射者，則均不見不定根之發生；而 35 Gy 劑量照射者，其根數僅為無照射之對照組的 3.6%，根長則不及其 1/5。這與郭等(1997)及 Huitema 等(1989)處理菊花時指出，其根部為輻射傷害較敏感部位之結果類似。

以輻射照射原理之半致死劑量(LD50)而言，以 45 Gy 劑量照射者在 56 天後全部死亡，35 Gy 劑量照射者則在 42 天後 24 株中存活 16 株，25 Gy 劑量照射者則全部成活，最適劑量推估應為 35 Gy (謝和謝, 1981)；且前人研究顯示在不使死亡的前提下，照射劑量愈高，提高變異的機率也越大(Broertjes, 1985；Broertje and van harten, 1988)之結論推測，最適劑量應是 35 Gy 比 25 Gy 適合。然而，以聖誕紅植株地上部之生育而言，35 Gy 劑量照射者，側芽因高劑量輻射傷害，加上根部之傷害而生長不良，單盆中平均之枝數僅 6.2 枝，而頂提高變異的機率也越大(Broertjes, 1985；Broertje and van harten, 1988)之結論推測，最適劑量應是 35 Gy 比 25 Gy 適合。然而，以聖誕紅植株地上部之生育而言，35 Gy 劑量照射者，

表 6. 聖誕紅'Peterstar'成株以 γ 射線累積照射對生長速率之影響

Table 6. Effect of γ -ray irradiating method on the growth rate of potted poinsettia 'Peterstar'.

性狀 Character	處理序號 ^Z (No. of series)							
	CK	1	2	3	4	8	9	10
側枝數 (no.) No. of branch	6.2b ^Y	8.0a	5.0b	6.0b	6.0b	2.1d	2.0d	3.4cd
側枝長 (cm) Length of lateral shoots	24.3a	10.6b	6.7c	9.3b	11.2b	4.3d	3.9d	6.1c
相對生長率 (%) ^Y Relative growth	100a	58.9b	28.4d	37.5c	46.1bc	5.8e	5.4e	33.1d
側枝變異率 (%) mutation of lateral shoots	0.0e	0.4de	1.3bc	2.6b	1.7bc	0.7d	1.6bc	4.3a

Z：同表 5

Z：The same as table 5.

Y：相對生長率—處理組與對照組'總分枝長'之比較。

Y：Relative growth—Total shoot length of treatment compared to control's.

X：同列之平均值後具有相同字母者，表示以 5%水準之鄧肯氏多變域分析結果無顯著差異。

X：Means within the row with the same letters are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

側芽因高劑量輻射傷害，加上根部之傷害而生長不良，單盆中平均之枝數僅 6.2 枝，而頂芽盲芽枝更高達約佔 40%，M1V1 之變異率為 2.3 %；而 25 Gy 劑量照射者的單盆中平均之枝數可達 8.8 枝，甚至較對照組之 7.3 枝還多，而盲枝數僅約佔 5%，M1V1 之變異率為 3.5%。因此基於能有足夠子代供選拔的機會，同時並兼顧高變異率的維持，最適之 γ 射線照射劑量似乎應以 25 Gy 較 35 Gy 為適宜。

這造成與前人理論矛盾之疑點，應與最適劑量之判別標準有關，一般而言，半致死劑量 (LD50)較常針對種子繁殖作物於輻射照射時之判別。而營養繁殖作物，一般考慮其芽條變異率之高低，而有以生長勢下降 50%之劑量(GD50)作為輻射照射時之判別(謝和謝, 1981；Broertje and van harten, 1988；van Harten, 1998)。這在插穗以 25 Gy+25 Gy 劑量分次累積照射時，相對生長率 37.7%，其變異率可達 6.7%；而發根苗上盆後以 25 Gy+25 Gy 劑量分次累積照射時，相對生長率 33.1%，其變異率可達 4.3%，均比單獨以 25 Gy 或 35 Gy 劑量照射者，可得到較高之變異率。故以聖誕紅而言，輻射照射之適宜劑量之判別，可以相對生長速率為對照組之 33-37%的照射劑量較為適宜。

表 7. γ 射線照射對聖誕紅品種成活率之影響

Table 7. Effect of γ -ray irradiation on the mutation of different varieties of poinsettia.

品種 Cultivars	M1 成活株數 M1 Survival	M1V1 成活株數 ^Z Survival plants of M1V1	M1V1 成活株中之變株 ^Y Mutants of M1V1	變異百分率 Mutation rate (%)
Peterstar	102b	741b	40b	5.4b
Supjibi	62c	186c	0c	0.0c
Freedom	120a	933a	68a	7.3a
Lilo	9d	4d	0c	0.0c

Z：M1V1 成活株數—採取照射株 (M1) 之側枝扦插成活數目。

Z：Survival plants of M1V1—Survival plants from lateral shoots of irradiated plant (M1 plant) .

Y：M1V1 成活株之變異率—採取照射株 (M1) 之側枝扦插成活株發生變異之比例。

Y：Mutation rate of M1V1—Mutation rate of the mutants which from lateral shoots of irradiated plant (M1 plant) .

X：同行之平均值後具有相同字母者，表示以 5 %水準之鄧肯氏多變域分析結果無顯著差異。

X：Means within the column with the same letters are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

圖 2. 聖誕紅經 γ 射線處理之變異型態

Fig 2. Mutation types of poinsettia after γ -ray irradiation.



A：花色變異 (Color)

B：花形變異 (Bract shape)

C：斑色變異 (Variegate)

D：葉形變異 (Leaf shape)

E：株型變異 (Plant form)

F：花期變異，左：早花 (Anthesis, left: early flowering)

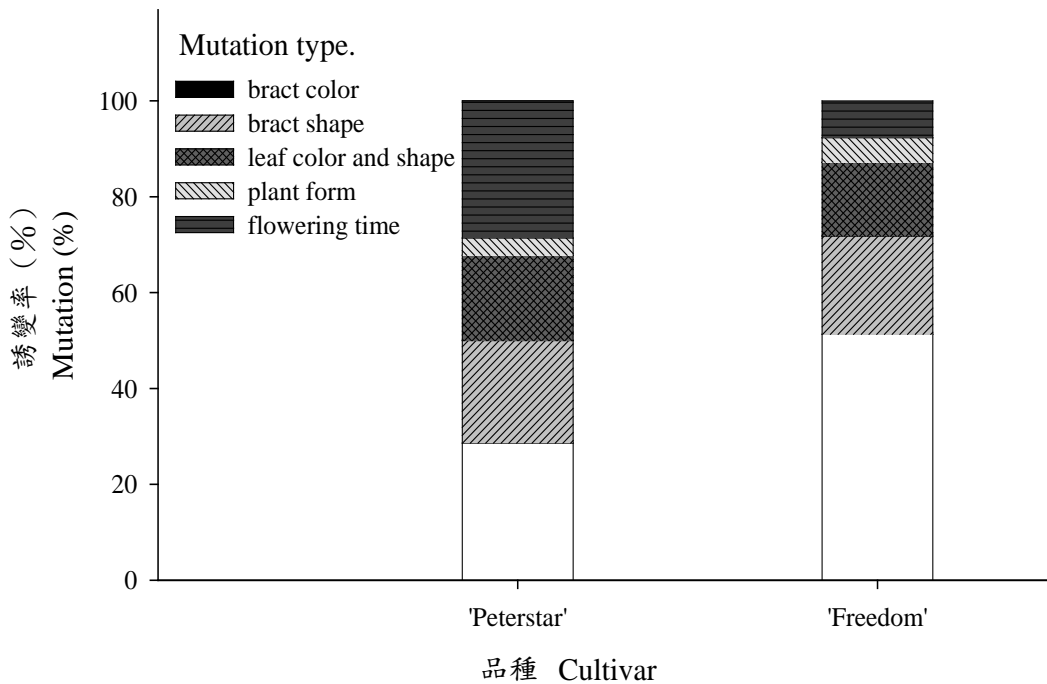


圖 3. 聖誕紅品種照射 γ 射線後變異之分佈。

Fig 3. Mutation distribution of poinsettia cultivars after γ -ray irradiation.

黃(1967)以 X-ray 1500r (15 Gy) 劑量，分次照射菊花發根苗以誘導體細胞突變研究指出，照射間隔較短的傷害性比間隔長者為嚴重，而重複照射對花形及花色之變異性增加，為最有效之方法。但超過 4 次則傷害增加，變異卻減少，故建議最有效為照射 3 次，而總劑量為 4500r(45 Gy)。謝和謝(1981)則指出分次累積照射處理時，若兩次照射之間隔超過一個月，則誘變之累積效應較差。本試驗發現聖誕紅多次照射可增加變異率(表 2)，而二次照射之間間隔以 3 週最佳(表 6)。

不同聖誕紅品種對加馬射線的反應顯示，'Peterstar'及'Freedom'均有較高的成活率，'Lilo'品種因在高溫下側芽不形成，故照射後大部分植株無繼續生長而死亡，'Supjibi'品種分枝性不佳，在側芽被加馬射線傷害下，約有一半的植株死亡。此與周等(1990)指出山茶花插穗的輻射敏感性及成活率因品種不同而異，有相似之結果。不同品種聖誕紅照射後之 M1V1 數量及變異選拔株數，'Peterstar'及'Freedom'品種之照射誘變率約在 5.4 %~7.3 % 之間，其中'Freedom'之花色變異明顯比'Peterstar'為高，這可於聖誕紅主要育種公司 Paul Ecke Ranch 之品種目錄得到相同之結果，即'Freedom'之變異品種系列有 13 個，佔所有品種之

21.3%，而'Peterstar'之變異品種系列只有7個，佔所有品種之11.5%。供試品種中唯'Supjibi'品種沒有變異產生，此可能因'Supjibi'品種為四倍體，輻射傷害之抵抗性較強或細胞之修復性較快，故無明顯變異之子代可供選拔。此結果與 Datta 等(1980)以九重葛照射誘變時有類似之結果，即重瓣者因細胞數較多，輻射傷害之抵抗性較強且細胞之修復作用較快，故需較高之劑量才可誘導出變異之產生。

參 考 文 獻

- 王思淑、何俊蓉。1990。慢照射誘發月季突變的研究。核農學報 4: 185-188。
- 朱建鏞。1998。聖誕紅育種技術。聖誕紅生產技術與消費。桃園區農業改良場特刊第 12 號。p.5-11。
- 朱建鏞、趙玉真。2002。聖誕紅經由懸浮培養之體胚形成。中國園藝 48:247-256。
- 周迪英、沈守江、王炎君。1990。山茶花 (*Camellia japonica L.*) 輻射誘變效應。核農學報 4: 13-18。
- 黃敏展。1996。亞熱帶花卉學總論。pp.367。中興大學園藝系。台中。
- 郭安熙、范家霖、楊保安、王柏楠、張建偉。1997。菊花花色輻射誘變研究。核農學報 11: 65-73。
- 謝順景、謝日鑫譯。1981。無性繁殖植物的誘變育種技術。誘變育種學。國立編譯館。台北。p.249-265。
- 黃敏展。1967。X 線照射によるキクの變異主に花色に関する研究。pp.143。京都大學農學部蔬菜花卉園藝學研究室 (博士論文)。
- Broertjes, C. 1966. Mutation breeding of chrysanthemum. *Euphytica* 15: 156-162.
- Broertjes, C., P. Koene, and J. W. H. Van Veen. 1980. Irradiation of progressive rotation-induced mutants in a mutation-breeding programme with *Chrysanthemum morifolium* Ram. *Euphytica* 29: 525-530.
- Broertjes, C. 1976. Mutation breeding in vegetatively propagated floricultural crops. *Acta Hort.* 63: 187-195.
- Broertjes, C. and C.A.M.Lock. 1985. Radiation-induced low-temperature tolerant solid mutants of *Chrysanthemum morifolium* Ram. *Euphytica* 34: 97-103.
- Broertje, C. and van Harten, A. M. 1988. Application of Mutation Breeding Methods in the Improvement of Vegetatively Propagated Crops. pp.316. Elsevier, Amsterdam and New York..
- Datta, S. K. 1980. Role of mutation breeding in floriculture. IAEA-SM-311/85: 273~281.
- Datta, S. K. 1980. Flower colour mutations. IAEA-SM-311(57): 479~484.
- Ecke, P. Jr. 1988. Poinsettia culture. pp. 610-660. Ball Red Book. Ball Publishing. Batavia, Illinois.

- Ecke, Paul III, Williams, J., Higgins, A. and Faust, J.E. 2004. The Ecke Poinsettia Manual. pp. 287. Ball Publishing. Batavia, Illinois.
- Huitema, J. B. M., W. Preil, G. C. Gussenhoven, and M. Schneidereit. 1989. Methods for the selection of low-temperature tolerant mutants of *Chrysanthemum morifolium* Ram. by using irradiated cell suspension cultures. I. Selection of regenerants *in vivo* under suboptimal temperature conditions. *Plant Breeding* 102: 140-147.
- Huitema, J. B. M., W. Preil, and J. de Jong. 1991. Methods for selection of low temperature tolerant of *Chrysanthemum morifolium* Ram. by using irradiated cell suspension culture. III. Comparison of mutants selected with or without preselection *in vitro* at low temperature. *Plant Breeding* 107:135-140.
- Jong, J. De, J. B. M. Huitema, and W. Preil. 1991. Use of *in vitro* technique for the selection of stress tolerant mutants of *chrysanthemum morifolium*. *Plant Mutation Breeding for Crop Improvement*. IAEA-SM-311(122): 149-155.
- Johnson, R. T. 1980. Gamma irradiation and *in vitro* induced separation of chimeral genotypes in carnation. *HortScience* 15:605-606.
- Kleffel, B., F. Walther, and W. Preil. 1980. X-ray-induced mutability in embryogenic suspension cultures of *Euphorbia pulcherrima*. IAEA-SM-282(5): 113~120.
- Love, J. E. 1966. Some effects of fast neutron irradiation on the somatic tissues of poinsettia. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 89: 672-676.
- Nagatomi, S., E. Miyahira, and K. Degi. 2000. Induction of flower mutation comparing with chronic and acute gamma irradiation using tissue culture techniques in *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Acta Hort.* 508: 69-73.
- Preil, W., M. Engelhardt, and F. Walther. 1983. Breeding of low temperature tolerant poinsettia and chrysanthemum by means of mutation *in vitro* culture. *Acta Hort.* 131: 345-351.
- Preil, W. J., B. Huitema, and J. de Jong. 1991. Methods for selection of low temperature tolerant of *Chrysanthemum morifolium* Ram. by using irradiated cell suspension culture. II. Preselection *in vitro* under low-temperature stress. *Plant Breeding* 107: 131-134.
- Przybyla, A. A. 2000. Mutagenesis in creation of new *Alstroemeria* genotypes. *Acta Hort.* 508: 351-353.
- Robinson, T. R., and G. M. Darrow. 1929. A pink poinsettia chimera. *J. Hered.* 20: 335-339.
- Stewart, R. N. 1965. The origin and transmission of a series of plastogene mutants in *Dianthus* and *Euphorbia*. *Genetics.* 52: 925-947.
- van Harten, A. M. 1998. *Mutation Breeding. Theory and Practical Applications.* pp.353. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Effect of γ -ray on the Growth of Poinsettia

Yang Jen Fu ¹⁾ Chien Young Chu ²⁾ Min Chang Huang ³⁾

Key words: irradiation, poinsettia, mutation breeding

Summary

This study γ -ray was irradiated on the unrooted ,rooted cutting or potted plants to induce mutants for poinsettia breeding. The rooted 'Peterstar' cuttings were treated with γ -ray at 0, 25,35,45,50 and 100 Gy. The higher γ -ray irradiated the more damage was on the root, as well the more inhibition was on the shoot growth. There was no survival when the dose was over 45 Gy. Rooted 'Peterstar' treated with 25 Gy was induced 3.5% mutation and treated at 35 Gy was induced 2.3% mutation.Cuttings were irradiated at 25 Gy before inserting and cutting and re-irradiated 4 weeks after,the growth rate was 37.7% and the mutation rate increased to 6.7 %.Potted poinsettia of 'Peterstar'irradiated γ -ray at 25 Gy and re-irradiated again 3 weeks later, the growth rate was 33.1% but the mutation rate was 4.3%.They were better than once irradiation at 25 or 35 Gy.To be sure a suitable γ -ray irradiation,it was found that when irradiation decreased the relative growth rate 33-37% it was suitable dosage. Poinsettia of 'Peterstar'or 'Freedom' treated with γ -ray the mutation was 5.4 or 7.3%,respectively. There was no mutant on 'Supjibi'and'Lilo'.The mutation types of bract color was 28.6 or 51.3% in the total mutants of 'Peterstar'or 'Freedom' ,respectively.

-
- 1) Chief, Taipei Branch Station, Tao-Yuan District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan. The paper is a part of Ph.D.thesis of the first author.
 - 2) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.Corresponding author.
 - 3) Retired Rrofessor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

培養基活性碳應用對蝴蝶蘭瓶苗生長及瓶內 氣體組成之影響¹⁾

賴思倫²⁾ 林瑞松³⁾

關鍵字：蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis*)、活性碳、氣體、組織培養、乙烯

摘要：本試驗主要探討培養基中添加不同濃度活性碳對蝴蝶蘭瓶苗生長及氣體組成成分的影響。瓶苗經繼代第 40 天後生長速率上有顯著差異，1 g/l 的活性碳添加可以增加葉片生長，葉長及葉寬分別達 28.7 mm 及 15.4 mm，並促進發根數達 6.2 條，根部活性可達 4.04 ODA480/g F. W.，而 2 g/l 活性碳則會抑制植物的生長，此外活性碳皆會抑制根的伸長。在氣體組成上，瓶內乙烯及二氧化碳的含量皆會隨活性碳濃度而提高，瓶內亦偵測出有甲烷的存在。

前 言

瓶苗在瓶內生長時，其生長狀態會受制於瓶內培養基成分及氣體成分的影響，培養基成分中的糖分、有機質已知會影響植體的許多生理反應(邱，2002)，在養分供應下，瓶苗多半成自營或混營，而瓶內大氣組成成分主要為氧氣、乙烯、二氧化碳，以及部分其他氣體，乙烯為一植物荷爾蒙，對於培植體的再生、生長及老化均有極大影響力，且與二氧化碳間有一相對關係(Buddendorf-Joosten and Woltering, 1994)。

活性碳為組織培養上常使用的物質，是一具有高密度孔隙的含碳物質，本身無味、無臭，不溶於水以及有機溶劑，主要是由碳原子互相鍵結的環狀結構堆疊而成，由於其堆疊的不規則性，以及其在製造過程中會使用到高溫高壓，因此使其產生大量的微隙孔隙及高比表面積，可以作為優良的吸附劑(蕭等，2003)。在組織培養應用上，活性碳可以提供黑

1) 本文承蒙農委會研究經費補助，計畫編號：93 農科 4.1.2 糧-Z2 特表謝忱。

2) 國立中興大學園藝系碩士班研究生。

3) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

暗環境(Dumas and Monteuiis, 1995)、吸附抑制物質(Fridborg *et al.*, 1978)、植物荷爾蒙及其他物質的吸收(Zaghmout and Torello, 1988; Mensuall-Sodi *et al.*, 1993; Johansson *et al.*, 1990)、促進蔗糖水解(Druart and de Wulf, 1993)以及調整培養基 pH 值(Eymer *et al.*, 2000)。但其真正作用機制仍然為未知，活性碳對於許多作物上的應用皆有正面效果，多方試驗認為活性碳促進生長的作用，可能與吸收植物本身所分泌之物質有關 (Fridborg *et al.*, 1978; van Waes J., 1987; Wang and Huang, 1976)。

本試驗目的是探討活性碳添加對蝴蝶蘭瓶苗品質的影響，調查培養基中不同濃度活性碳的添加對於瓶內氣體以及蝴蝶蘭瓶苗生長的影響，並找出最適合的添加濃度。

材料與方法

一、試驗材料及栽培管理方法

材料自嘉義大林鎮一心蘭園的蝴蝶蘭分生苗，品種代號為 *Phalaenopsis* I-Hsin Cream 'KHM246'。實驗選擇葉片數 3 - 4 片、葉長寬分別為 16.2 - 24.5mm 及 6.0 - 8.0 mm、根數 2 - 3 條、每株 0.3 - 0.5 克的二中母瓶分生苗，苗齡約為瓶內培養 180 天。

將蝴蝶蘭 *Phalaenopsis* I-Hsin Cream 'KHM246' 繼代於蘭花瓶中，每瓶含有 100 ml 的培養基。培養基中 3 g/l 的花寶一號(Hyponex; N:P₂O₅:K₂O=7:6:19)、3 g/l Tryptone、100 g/l 香蕉果肉、30 mg/l 檸檬酸、20 g/l 蔗糖及 8 g/l 洋菜，pH 調整為 5.2，此外，分別添加不同濃度活性碳(0、0.5、1.0、2.0 g/l)。蘭花瓶以橡膠塞(中間打孔塞入 0.1 g 棉花)封好並套上透明塑膠套，每瓶 16 株培植體。培養室條件為溫度 25±1°C、光強度 45 μmol.m⁻².s⁻¹、光週期設定為明暗期各 12 小時。

於繼代後第 20、40、60 天，於明期前 1 小時偵測瓶內二氧化碳、乙烯及甲烷含量變化，氣體分析採三重複，每重複一瓶，並分析植株生長速率、植體內 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) 含量、ACC oxidase (ACO) 活性、碳水化合物含量、氯化三苯四唑氮 (triphenyl tetrazolium chloride; TTC) 根部活性。

二、分析方法

(一) 二氧化碳、乙烯及甲烷濃度偵測

在明期前 1 小時以 1 ml 玻璃針筒 (SGE, Australia) 自瓶內抽取氣體，利用氣體分析儀測定二氧化碳與乙烯的含量。每處理作三重複。

二氧化碳濃度以氣相層析儀 (Shimadzu, GC-8A, Japan) 分析，其偵測器為熱傳導式偵測器 (Thermal conductivity detector; TCD)，層析管為 2.5 公尺長之不鏽鋼管，內部填充 activated charcoal 60/80 mesh。偵測器及注射孔溫度設為 180 °C，層析管為 100 °C，載體為氮氣。

乙烯生成量以氣相層析儀分析(Shimadzu, GC-14B, Japan)，偵測器為火焰離子式偵測器(Flame ionization detector; FID)，層析管為玻璃內填充 Squalane 60/80 mesh。偵測器及

注射孔溫度設為 115 °C，層析管溫度 65 °C，載體為氮氣。

甲烷濃度以氣相層析儀(Shimadzu, GC-8A, Japan)分析，其偵測器為熱傳導式偵測器(Thermal conductivity detector; TCD)，層析管為 2.5 公尺長之不鏽鋼管，內部填充 60/80 Carboxen-1000。偵測器及注射孔溫度設為 35 °C，層析管為 225 °C，載體為氮氣。

(二) 葉片及根部 ACC 含量之分析

將 1 g 的上數第二片完全展開葉或是根部樣品，連續 2 次以 5 ml 80%酒精在 80°C 熱水浴中抽取 20 分鐘，再將 2 次之抽取液混合，以減壓濃壓裝置(VAPOUR-IX, KC-12)將酒精及水去除，殘渣加入 1 ml 蒸餾水，以震盪器使殘渣完全溶於水中。取萃取液依 Lizada 和 Yang (1979) 之方法測定 ACC 含量，單位以 n mole ACC/g 表示。

(三) 葉片及根部 ACO 活性之分析

將 1 g 的上數第二片完全葉展開葉或根部樣品置入試管中，依序加入 2.5 ml 0.1 M Tris pH 7.5 (含 0.4 M Minitol)、0.1 ml 0.9 M Vitamin C、0.1 ml 3 mM FeSO₄、0.1 ml 0.6 M NaHCO₃、0.1 ml 30 mM Cycloheximide、0.1 ml 30 mM ACC，然後以血清塞封口於 30 °C 恆溫水浴槽中以 50 rpm 震盪，2 小時後以塑膠針筒抽取試管內氣體測乙烯生成速率。ACO 活性即以添加 ACC 後之乙烯生成速率表示，單位以 nl C₂H₄/g F.W.hr 表示。

(四) 葉片及根部碳水化合物之分析

1. 全可溶性糖

精秤 0.1 g 地上部或地下部烘乾後之磨碎樣品粉末，加 10 ml 蒸餾水，於 30 °C 水浴震盪 3 小時後，室溫下以高速離心機(Kubota, KN-70, Japan)於 3500 rpm 下離心 30 分鐘。取 0.2 ml 上清液加蒸餾水稀釋(稀釋倍數依樣品而異)，再由稀釋液中取出 2 ml 加入 0.1 ml liquid phenol 和 6 ml 濃硫酸，震盪均勻後，靜置 30 分鐘，以分光光度計(Hitachi, U-2001, Japan) 測定 490 nm 之吸光值。每處理三重複。

2. 澱粉

將上述離心後之殘渣烘乾，加 2 ml 蒸餾水，在沸水中放置 15 分鐘，取出後迅速冷卻。加入 2 ml 9.2 N HClO₄，在 15 分鐘內不時攪拌震盪，再加水定量至 10 ml，於室溫下以高速離心機以 3500 rpm 離心十分鐘。取 0.2 ml 上清液加蒸餾水稀釋(稀釋倍數依樣品而異)。再由稀釋液中取出 2 ml 加入 0.1 ml liquid phenol 和 6 ml 濃硫酸，震盪均勻後，靜置 30 分鐘，以分光光度計(HITACHI, U-2001, Japan)測定 490 nm 之吸光值。每處理三重複。

(五) 根部 TTC 活性之分析

依據 Steponkus 和 Lanphear (1967)之方法，取 0.1 g 未革質化根，根部選取根尖約 0.5 cm，置於 TTC 液 (0.6 % triphenyl tetrazolium chloride、0.05 mM Na₂HPO₄ 或 KH₂PO₄ buffer pH 7.4)，於室溫下黑暗處理 20 小時。根部以蒸餾水沖洗數次並將水分吸乾，放入試管中，加入 20 ml 95 % 酒精後置於 78 °C 恆溫水浴槽中水浴 20 分鐘，冷卻後再用 95 % 酒精定量為 20 ml。利用分光光度計測定在 480 nm 波長下之吸光值，並計算單位鮮重之吸光值，每處理為三重複。

結 果

一、培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗葉片、根部生長及鮮重之影響

蝴蝶蘭苗繼代於不同濃度的活性碳培養基中，在第 20、40、60 天進行生長速率調查，其中以 1 g/l 活性碳使用的效果最佳。第 60 天時葉長、葉寬平均可達 28.7 mm 及 15.4 mm，葉數在統計上則無顯著差異，根生長方面，根數則可比對照組增加 30 %，但在根長上卻顯示被抑制的現象(表 1)。

二、培養基中活性碳對根部活性的影響

實驗以 TTC 測定方式檢測根部活性，根部活性會隨著繼代天數增加而逐漸下降，當活性碳的使用濃度為 1 g/l 時根部活力最高，平均為 4.04 OD A₄₈₀/g F.W. (圖 1)。

表 1、培養基中活性碳濃度對蝴蝶蘭瓶苗葉片與根部生長的影響

Table 1. Effect of activated charcoal concentration on leaf and root growth of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' plantlets *in vitro*.

Day	Activated charcoal conc. (g/l)	Leaf			Root		
		number	length (mm)	width (mm)	number	length (mm)	diameter (mm)
20	0	2.9a ^z	21.1a	8.9a	3.1b	13.5a	1.7a
	0.5	2.7a	21.3a	9.7a	3.6a	13.9a	1.9a
	1.0	3.0a	21.4a	9.3a	3.4ab	12.2a	1.9a
	2.0	2.9a	21.8a	8.7a	3.6a	14.3a	1.8a
40	0	3.0ab	21.5b	8.8b	3.2b	16.1b	2.1ab
	0.5	3.1ab	23.4ab	10.9a	3.5b	16.6b	2.4ab
	1.0	3.1a	26.3a	11.8a	4.6a	18.8a	2.5a
	2.0	2.9b	21.8b	8.7b	3.6b	14.3c	1.8c
60	0	3.3a	24.1ab	13.1c	4.8b	22.7a	2.3a
	0.5	3.3a	25.6b	13.8bc	4.9b	22.0ab	2.6a
	1.0	3.4a	28.7a	15.4ab	6.2a	19.3ab	2.6a
	2.0	3.3a	25.6ab	15.8a	6.1a	18.7b	2.5a

^zMeans in each column followed by the same letter were not significantly different (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

三、培養基中活性碳對瓶苗碳水化合物含量變化的影響

在瓶內，蝴蝶蘭瓶苗的全可溶性糖於整個栽培期間，地下部的含量皆遠高於地上部，而且地上部及地下部的全可溶性糖含量在第 40 天時最低，之後再逐漸上升，其中以活性碳 1 g/l 處理的累積量最高。澱粉含量方面，以地下部的累積較地上部高，在栽培期間，地上部及地下部的澱粉含量會隨天數增加而上升，第 60 天時，以 1 g/l 活性碳處理的地上部及地下部澱粉含量分別可達 6.34 % 及 12.48 % (表 2)。

四、瓶內氣體變化

二氧化碳的濃度會隨著栽培時間增加而上升，40 天後，對照組的二氧化碳呈現下降現象，添加活性碳者則維持在一穩定狀態，其中又以 2 g/l 活性碳處理含量最高 (圖 2)。

瓶內乙烯含量在栽培初期會上升，在後期呈現下降，添加活性碳會增加瓶內乙烯的含量，其中以 1 g/l 活性碳處理所產生乙烯量最高，至第 60 天時，瓶內乙烯含量可達 0.065 ppm，為對照組 1.33 倍(圖 3)。

甲烷在蝴蝶蘭瓶內培養時期會不斷累積，添加 2 g/l 活性碳者所形成的甲烷量高出其他處理組極多，結果顯示活性碳的添加亦會增加瓶內甲烷含量(圖 4)。

五、活性碳對瓶苗 ACC 含量及 ACO 活性之影響

ACC 在瓶內蝴蝶蘭瓶苗莖及葉片的累積會在第 40 天之前呈現下降，而在之後持續上昇，第 60 天的累積最高量可達 $0.61 \text{ n mol g}^{-1}$ ，其中以培養基中添加 2.0 g/l 活性碳者在整個栽培過程中累積量最高(圖 5)。而在根部 ACC 含量的變化則與葉片相類似，其中以 1 g/l 活性碳加入培養基處理組在栽培初期的 ACC 含量會明顯高於其他處理濃度，然而在第 60 天時，根部 ACC 的含量會明顯低於其他處理(圖 6)。

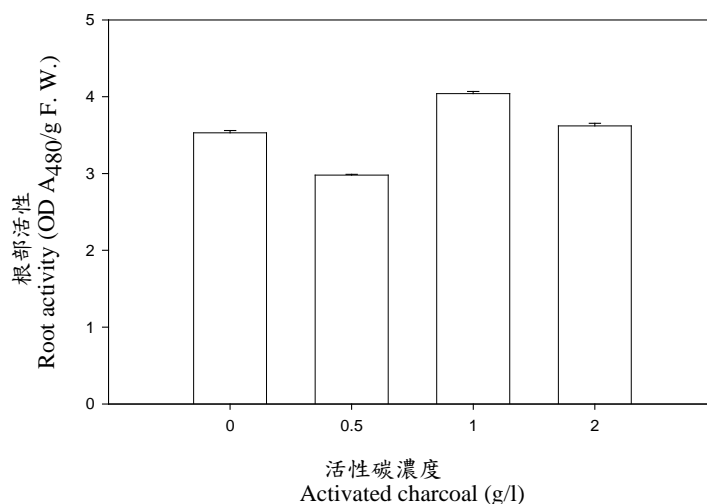


圖 1. 蝴蝶蘭瓶苗以不同濃度活性碳處理後第 60 天之根部活性

Fig 1. Root activity of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' at different activated charcoal concentration at 60 days after subculture.

表 2. 培養基中活性碳濃度對蝴蝶蘭瓶苗碳水化合物之影響

Table 2. Effect of activated charcoal concentration on total soluble sugar and starch content of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' plantlets *in vitro*.

Day	Activated charcoal conc.	Total soluble sugar (%)		Starch (%)	
		Leaf & Shoot	Root	Leaf & Shoot	Root
20	0	7.59ab ^z	12.32b	2.65b	8.67a
	0.5	8.41a	13.92ab	3.10b	9.61a
	1	9.78a	14.95a	5.48ab	11.33a
	2	4.91b	10.09c	7.14a	9.94a
40	0	3.63b	8.33b	4.76a	11.08a
	0.5	5.20ab	10.96ab	3.45a	9.49a
	1	6.94a	9.81ab	6.40a	10.42a
	2	7.17a	11.63a	3.87a	10.76a
60	0	4.44b	11.13a	5.78a	11.19a
	0.5	4.26b	11.23a	3.62b	10.64a
	1	9.24a	12.09a	6.34a	12.48a
	2	9.24a	11.29a	5.71a	12.72a

^zMeans in each column followed by the same letter were not significantly different (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

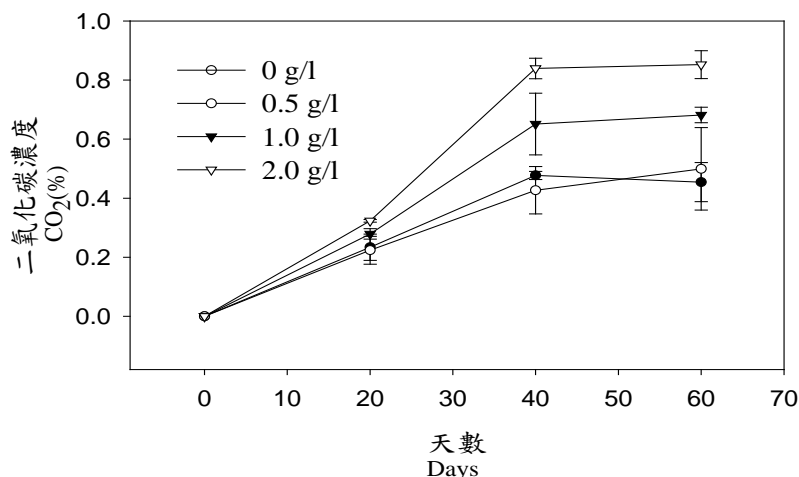


圖 2. 培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗瓶內二氧濃度之影響

Fig 2. Effect of activated charcoal on carbon dioxide content in the flask of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246'

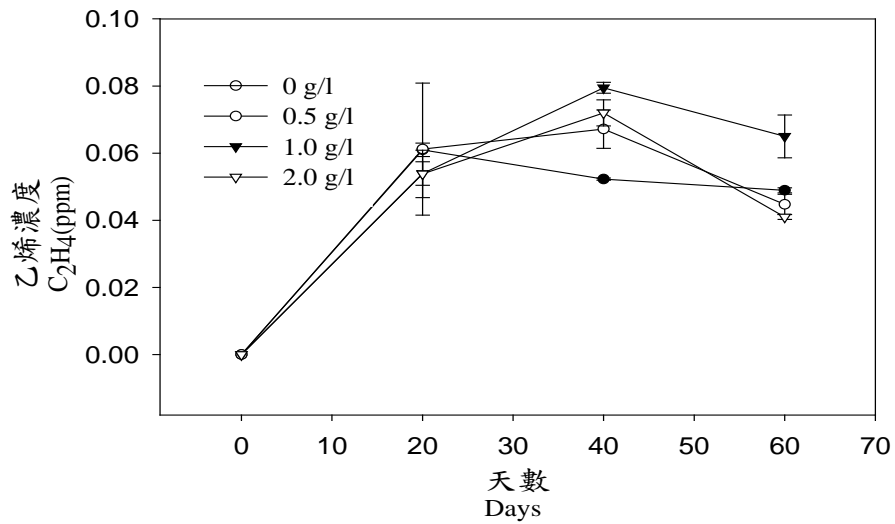


圖 3. 培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗瓶內乙烯濃度之影響

Fig 3. Effect of activated charcoal on ethylene content in the flask of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246'.

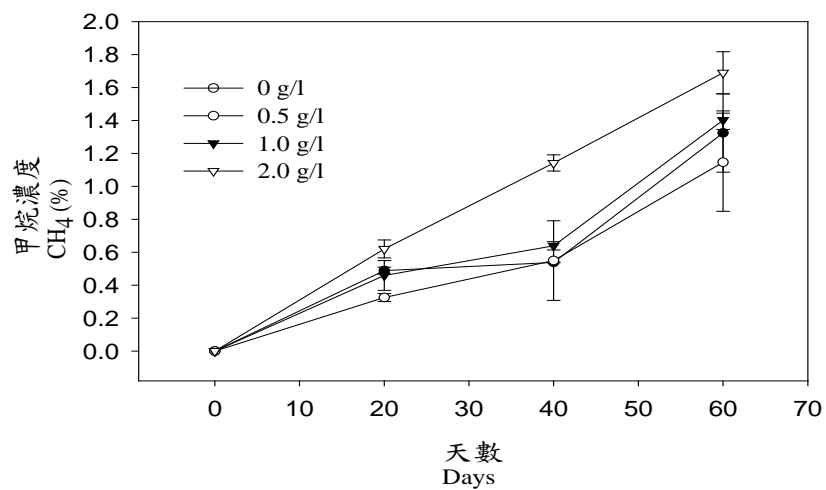


圖 4. 培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗瓶內甲烷濃度之影響

Fig 4. Effect of activated charcoal on methane content in the flask of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246'.

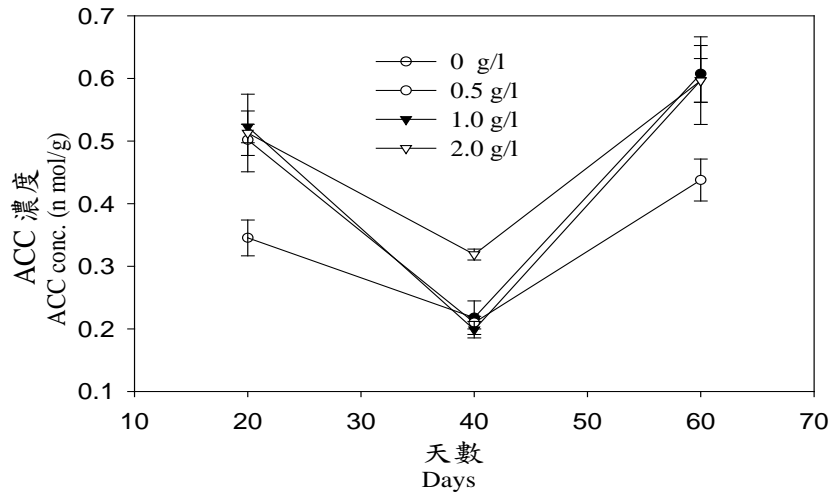


圖 5. 培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗葉片 ACC 含量之影響

Fig 5. Effect of activated charcoal on ACC activity of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' leaf *in vitro*.

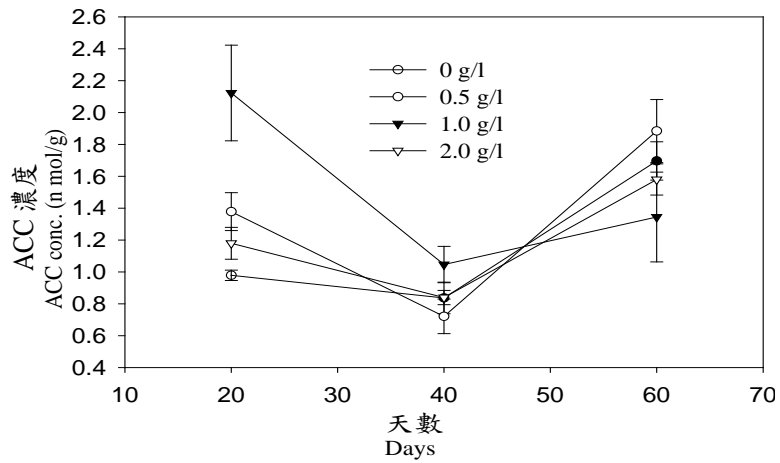


圖 6. 培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗根部 ACC 含量之影響

Fig 6. Effect of activated charcoal on ACC activity of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' root *in vitro*.

地上部 ACO 的活性在繼代 40 天時的變化不大，但在之後會急速下降，活性碳的添加會增加葉中 ACO 的活性，以 1 g/l 活性碳的添加的值最高，而 2 g/l 活性碳的添加次之(圖 7)。而根部的 ACO 活性則會隨著繼代時間而逐漸減少，初期則以 1 g/l 活性碳的根部 ACO 活性最高，第 60 天時各組處理對根部 ACO 活性的影響沒有顯著趨勢(圖 8)。

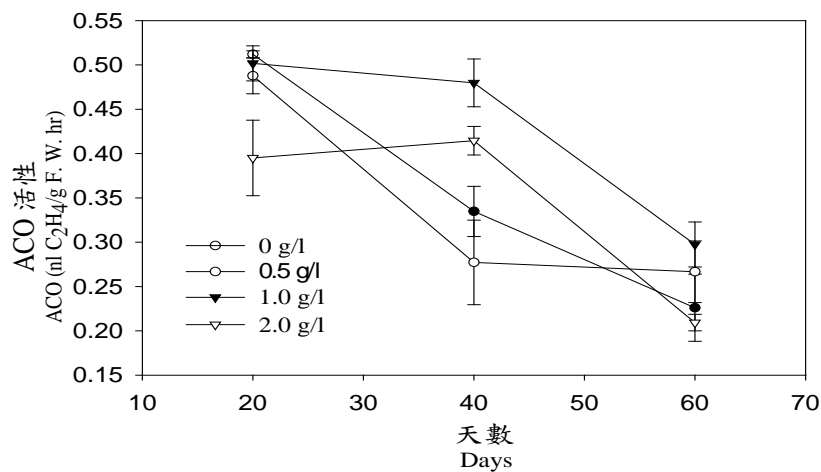


圖 7. 培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗葉片 ACO 活性之影響

Fig 7. Effect of activated charcoal on ACO activity of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' leaf *in vitro*.

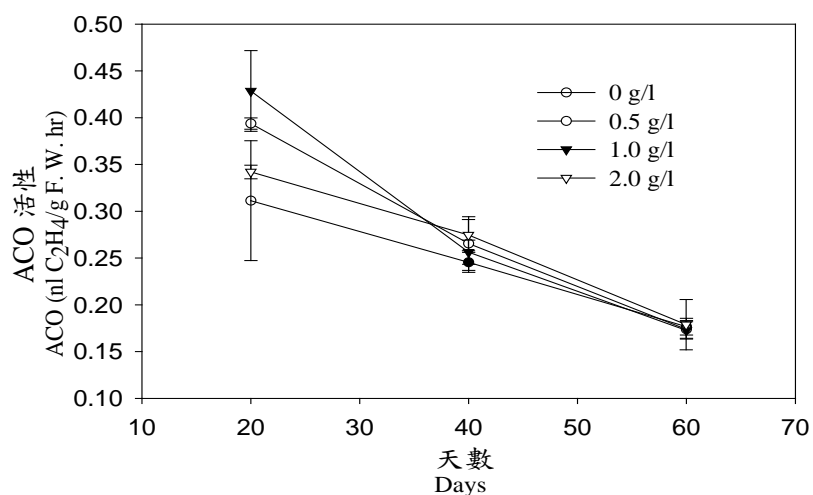


圖 8. 培養基中活性碳對蝴蝶蘭瓶苗根部 ACO 活性之影響

Fig 8. Effect of activated charcoal on ACO activity of *Phal.* I-Hsin Cream 'KHM246' root *in vitro*.

討 論

活性碳是組織培養時培養基中常添加的物質，而活性碳的促進效果範圍極廣，試驗中活性碳的添加對於根數的促進有顯著效果(表 1)，可能是活性碳所造成的黑暗環境影響導致(Dumas and Monteuis, 1995)，以 TTC 檢測結果顯示活性碳的添加可以提高瓶苗的根部活性(圖 2)。此外，許多文獻皆把活性碳的作用原因歸咎在其吸附作用，包含培養基中成份及雜質、鹽酸硫胺素 (Thiamine hydrochloride)、某些氣體成份等的吸收(卜等, 1988)，在落葉蝴蝶蘭(*Phalaenopsis wilsonii*)中，活性碳可以阻止培養基被組織所釋放的物質染色，並且促進植體生長 (Wang and Huang, 1976)，因此推測蝴蝶蘭組織培養時添加活性碳可以吸附其組織所釋放之物質而達到一促進生長的效果。

試驗結果顯示的性碳處理以 1 g/l 的添加最佳，而濃度增加為 2 g/l 活性碳時卻出現葉片生長變小的現象(表 1)，這是由於活性碳對於物質的吸收不具選擇性，當培養基中存有過量的活性碳時可能會將部份培養基成份過度吸收，造成植體可用養分變少，導致生長緩慢。Fridborg 等(1978)指出菊科植物(*Haplopappus*)在活性碳的吸收下，會因為 benzoic acid、pelargonic acid 及 caprylic acid 等物質的被過度吸附，反而導致植物的生長嚴重受到抑制。

另一方面，二氧化碳及乙烯是瓶內的主要氣體成分，二氧化碳在瓶內所擔任的角色包含早期階段時可增強乙烯的生合成，在後期與乙烯為拮抗作用，以及在組織器官發生時之種種新陳代謝反應中，二氧化碳扮演一獨立性的角色 (Kumar *et al.*, 1987)。本試驗中，活性碳添加濃度越高，相對乙烯量及二氧化碳皆越高(圖 2、圖 3)，第 60 天時，呼吸作用隨瓶苗長大而增強，瓶內二氧化碳濃度提高，但乙烯含量卻下降，顯示初期二氧化碳可促進乙烯形成，繼代後期則會抑制乙烯的產生。

二氧化碳能促進 ACC 轉變為乙烯，而使乙烯含量增加(Grodzinski *et al.*, 1982)，試驗中，在繼代 30 天前，二氧化碳及乙烯的含量會持續累積(圖 2、圖 3)，而 ACC 的含量則迅速減少(圖 5、圖 6)，而後期由於二氧化碳與乙烯之間的關係轉為拮抗作用，而使 ACC 轉換率下降，而累積在植物體中，而根部 ACC 的含量(圖 6)在整個時期皆會高於葉片(圖 5)。植株在浸水後，根區呈無氧狀態，抑制根部 ACC 轉化為乙烯，並促進 ACC 合成量增加(郭等, 1987)。根部生長在洋菜培養基中，無氧的環境抑制 ACC 轉換為乙烯的關係，而使 ACC 累積在根中(楊, 2003)，而本試驗中根部 ACO 的活性會隨繼代時間而逐漸降低(圖 8)，顯示培養基中氧氣的缺乏會降低 ACO 的活性，而抑制了 ACC 的轉換。

試驗結果顯示活性碳所添加濃度越高，所產生的乙烯量也越多(圖 3)，銀蓮花(*Anemone coronaria*) 實生苗培養時也發現，活性碳的添加不僅沒有吸附乙烯，還比對照組產生更大的累積量，推論此現象與乙烯為氣體有極大關聯，活性碳為粉末狀且吸收範圍被侷限在培養基中及培養基與大氣接觸的表面，因此活性碳對乙烯的吸收會取決於植體大小以及容器形狀(Mensuall-Sodi *et al.*, 1993； Horner *et al.*, 1977)。細胞在分裂、生長及代謝過程中皆會產生乙烯，而隨著植體苗齡及體積的增加，細胞的代謝活性也會逐漸增強，而

使乙烯的產生量增加(Aitken-Christie *et al.*, 1995)。乙烯在植物生長控制上具有某些功能，當乙烯在細胞內作用完畢後會被釋放於瓶內大氣中，活性碳可能藉由抑制物質的吸附而刺激了植物的生長，因而產生了較高量的乙烯(Mensuall-Sodi *et al.*, 1993)，因此推測試驗中，活性碳的添加造成高量乙烯的產生，是由於植體生長旺盛所引起。

乙烯對於多數植物根部的形成具有促進效果，在不含 IAA 及 kinetin 的培養基中，乙烯可以促進毛地黃屬植物(*Digitalis obscura*)根的形成(Perez-Bermudez *et al.*, 1985)，因此，試驗中活性碳的添加而促進蝴蝶蘭根數的形成也有可能是高量乙烯造成(表 1、圖 3)。高量乙烯會刺激根的創始，使根數增加但卻明顯抑制根的伸長(楊，2003)，因此活性碳的添加使乙烯增加，促使根數增加而抑制根的伸長(表 1)，根長的縮短有助於增加移植的便利性，避免根部受傷，而降低瓶苗出瓶後的生長速率(楊，2003)。

此外，試驗中也偵測到瓶中有甲烷的存在(圖 4)，在第 60 天時以 2 g/l 活性碳處理所產生甲烷濃度最高。Buddendorf-Joosten and Woltering (1994)認為除了二氧化碳、乙烯及氧氣外，瓶內其他的氣體可能會影響植物的生長與發育，而這些氣體的產生可能來自於植物材料或是栽培容器及移植時消毒的工具。Righetti 等(1990)發現在瓶內沒有植體的狀況下，約 3 個月便會有少量乙烯、乙烷、丙烯、丙烷、甲醇、乙醛、酒精及丙酮出現。而試驗中甲烷產生的量會隨著活性碳濃度及培養的天數而增加，因此推測甲烷的產生可能是來自於培植體或是活性碳，而對於蝴蝶蘭瓶苗生長的影響則尚不清楚。

參 考 文 獻

- 邱雯卉。2000。環境因子、乙烯與培養基添加物對蝴蝶蘭瓶苗品質的影響。中興大學園藝所碩士論文。143pp。
- 郭純德、王自存、蔡平里。1987。高等植物之乙烯生合成及其調節。科學農業 35(5-6): 130-147。
- 楊于萱。2003。培養基成分、IBA 及香蕉成熟度對朵麗蝶蘭瓶苗生長的影響。中興大學園藝所碩士論文。116pp。
- 蕭翌柱、陳威臣、楊淑如、夏奇鈺。2003。活性碳的物理化性狀及其在植物組織培養上的應用。科學農業 51(9,10): 225-234。
- Aitken-Christie, J., T. Kozai, S. Takayama. 1995. Automation in plant tissue culture – general introduction and overview. In: J. Aitken-Christie, T. Kozai and M. L. Smith(eds.), Automation and environment control in plant tissue culture. P.1-19. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Buddendorf-Joosten, J. M. C., and E. J. Woltering. 1994. Components of gaseous environment and their effects on plant growth and development in vitro. Plant Growth Regul. 15: 1-16.
- Druart, P. H., and O. De Wult. 1993. Activated charcoal catalyses sucrose hydrolysis during autoclaving. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 32: 97-99.

- Dumas, E., and O. Monteuis. 1995. In vitro rooting of micropropagated shoots from juvenile and mature *Pinus pinaster* explants: influence of activated charcoal. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 40: 231-235.
- Eymar, E., J. Alegre, M. Toribio, and D. López-Vela. 2000. Effect of activated charcoal and 6-benzyladenine on *in vitro* nitrogen uptake by *Lagerstroemia indica*. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 63: 57-65.
- Fridborg, G., M. Pedersen, L-E Landstöm, and T. Eriksson. 1978. The effect of activated charcoal on tissue culture: Adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiol. Plant.* 43: 104-106.
- Grodzinski, B., L. Boesel, and R. F. Horton. 1982. Ethylene release from leaves of *Xanthium strumarum* L. and *Zea mays* L. *J. Exp. Bot.* 33: 344-354.
- Horner, M., J. A. McComb, A. J. McComb, and H. E. Street. 1977. Ethylene production and plantlet formation by *Nicotiana* anthers cultured in the presence and absence of charcoal. *J. Exp. Bot.* 28: 1365-1372.
- Johansson, L. B., E. Calleberg, and A. Gedin. 1990. Correlations between activated charcoal, Fe-EDTA and other organic media ingredients in cultured anthers of *Anemone canadensis*. *Physiol. Plant.* 80: 243-249.
- Kumar, P. P., D. M. Reid, and T. A. Thrope. 1987. The role of ethylene and carbon dioxide in differentiation of shoot buds in excised cotyledons of *Pinus radiata in vitro*. *Physiol. Plant.* 69: 244-252.
- Lizada, M. C. C., and S. F. Yang. 1979. A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Anal. Biochem.* 100: 140-145.
- Mensual-Sodu, A., M. Panizza, G. Serra, and F. Tognoni. 1993. Involvement of activated charcoal in the modulation of abiotic and biotic ethylene levels in tissue cultures. *Sci. Hort.* 54: 49-57.
- Perez-Bermudez, P., M. J. Cornejo, and J. Segura. 1985. Amorphogenic role for ethylene in hypocotyl cultures of *Digitalis obscura* L. *Plant Cell Rep.* 4: 188-190.
- Righetti, B., E. Magnanini, R. Infante, and S. Predieri. 1990. Ethylene, ethanol, acetaldehyde and carbon dioxide released by *Prunus avium* shoot cultures. *Physiol. Plant.* 78: 507-510.
- Steponkus, P. L., and F. O. Lanphear. 1967. Refinement of the triphenyltetrazolium chloride method of determining cold injury. *Plant Physiol.* 42: 1423-1426.
- van Waes, J. 1987. Effect of activated charcoal on in vitro propagation of western european orchids. *Acta Hort.* 212: 131-138.
- Wang, P. J., and L. C. Huang. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. *In Vitro.* 12: 260-262.
- Zaghmout, D. M. F., and W. A. Torello. 1988. Enhanced regeneration in long-term callus cultures of red fescue by pretreatment with activated charcoal. *Hort. Sci.* 23: 615-616.

Effects of activated charcoal on plantlet quality of *Phalaenopsis* and components of the gaseous environment *in vitro* ¹⁾

Szu-Lun Lai ²⁾ Ruey-Song Lin ³⁾

Key word : *Phalaenopsis* 、 activated charcoal 、 gaseous 、 tissue culture 、 ethylene

Summary

The study was to seek effects of activated charcoal on *Phalaenopsis* plantlet growth and components of the gaseous environment *in vitro*. Plantlet had different growth rate at 40 days after subculture. 1 g/l activated charcoal can increase growth leaf length to 28.7 mm and width to 15.4 mm, respectively. Root number also promoted to 6.2 and root activity gave 4.04 ODA₄₈₀/g F.W, but it inhibited root elongation, and 2 g/l activated charcoal inhibited plantlet growth. Compare the components of the gaseous environment *in vitro*, ethylene and dioxide carbon content in flask increased accompanied with activated charcoal concentration. Methane can also be found in the flask.

1) This research was supported by Council of Agriculture, R. O. C. at project No. AS 4.1.2-FD-Z2.

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

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

民宿旅客住宿型態偏好之研究

林奕君¹⁾ 歐聖榮²⁾

關鍵字：民宿、住宿型態偏好、重宿旅客

摘要：本研究之目的乃在探討民宿重宿旅客住宿特性與住宿型態偏好之研究，冀藉由本研究能對民宿業者於旅客關係管理提出建議，以達到民宿長久經營之目標。本研究採郵寄問卷之方式，針對國內合法民宿重宿旅客進行研究。研究結果發現，民宿重宿旅客之偏好認同度最高者為「親切樸實的熱情招待」及「賞心悅目的環境景觀」；住宿型態偏好認同度最低則為「多樣齊備的附屬設施」及「豪華享受的客房設備」，且民宿旅客特性不同對於住宿型態之偏好也會有所差異。

前 言

近年來由於政府積極推動觀光產業的發展，國內興起一股休閒旅遊風氣的熱潮，許多面對 WTO 威脅的傳統農業地區及力求重建的地震災區，為尋求新的生機，在社區發展意識的帶動下，也紛紛轉型發展觀光旅遊，因而掀起國內一波民宿旅遊風潮。

民宿與一般的觀光旅館不同，主要是在地人將自家的住宅空間提供予旅客住宿，並以副業方式經營的一種住宿業，旅客不僅能體驗當地的生活、了解當地的文化、認識當地的產業，更能感受到地方的暖暖人情。故可知民宿為一種相當仰賴地方資源生存的產業，除提供旅客一般之餐飲住宿功能外，最重要的更在於其地方特色及旅遊吸引力之展現。自民宿旅遊受到國人重視後，便開始以驚人的速度蔓延於各觀光風景地區，根據交通部觀光局所統計之【各縣市政府輔導民宿登記現況】，自民國 92 年 2 月份至 94 年 3 月份止，國內民宿之函報現有家數由 600 家增加至 1785 家，短短兩年時間，增加了 1185 間民宿，可見其成長速度之驚人。

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。

由於民宿旅遊漸趨流行，民宿市場快速發展，供過於求的狀況下，整體產業經營環境出現激烈競爭的情形。許多業者為在激烈競爭中得以生存，開始將民宿轉向專業化的經營方式，以強調高價位、高品質為訴求，目的在以豪華設備的高級享受達吸引旅客之目的，故一間間的大型民宿於觀光風景區隨之而生，國內民宿產業也漸漸失去真正的內涵，成為觀光地區單純過夜的豪華旅館。就本質上來看，民宿本該是一種強調主客交流互動、著重地方資源特色之突顯及重視旅客多樣化住宿體驗的休閒產業，其經營必須基於其本身的實體特色、優質的民宿形象、精準的市場區隔以及成功的產品定位，才能使其在市場中具有優勢的競爭地位。

基於以上之研究背景與動機，本研究擬以民宿重宿旅客之住宿型態偏好程度及住宿特質之情形，來探討影響民宿旅客選擇再次投宿之主要原因，及旅客之個人住宿特質對於住宿型態偏好之影響作用，以提供民宿經營者於民宿永續經營管理之參考。

文 獻 回 顧

一、民宿之定義

民宿為台灣近年來新興的一種觀光休閒產業，早期國內民宿的起源，主要是為解決假日觀光地區住宿設施的供需問題，衍變至今日，民宿的內涵並非僅止於提供旅客住宿的場所，除了住宿空間的提供外，自然傳統文化的體驗與農村休閒產業之結合更是現今民宿所涵蓋的範圍，透過有別於一般旅館之住宿體驗及旅遊服務的提供，來滿足投宿旅客之觀光遊憩與文化體驗上的需求，以創造更高的遊憩價值與效益。然而國內在【**民宿管理辦法**】制定之前，對於民宿一直無一個標準的規範，回顧過去國內學者對於民宿之定義，發現有從周邊資源著手、有從經營型態提起或從住宿體驗來探討等，雖然觀點不同，然而每種定義都有其考量之重要內涵與意義。

在民宿經營型態方面，何郁如、湯秋玲(1989)、郭永傑(1991)、潘正華(1994)指出民宿為居民利用私人住宅空間出租予旅客的家庭副業，與一般旅館專業經營之旅館不同。高崇倫(1998)進一步指出民宿除了提供旅客住宿空間外，還具備有與民宿主人交流認識及體驗鄉村生活的特質。林宜甲(1998)、高崇倫(1998)、林梓聯(2001)則提到在外部資源方面，民宿需結合週邊的自然及人文資源特色，以做為民宿經營特色的基礎。林梓聯(2001)更進一步指出所謂之自然資源包括自然環境、景觀、產業和文化，而經營者必須活用這些傳統文化、民俗與環境產業特色，讓旅客自然的接觸、認識與體驗。

有鑒於國內民宿業之興盛，但水準卻參差不齊且缺乏完善的管理制度，政府於 2001 年底正式通過「**民宿管理辦法**」，對於民宿定義、設置地點、建築規模、消防設備以及經營設施基準等開始有詳細的規範。根據**民宿管理辦法**中第三條之定義，民宿為一種利用自用住宅空間房間，結合當地人文、自然景觀、生態、環境資源及農林漁牧生產活動，以家

庭副業方式經營，提供旅客鄉野生活之住宿處所，且需經過合法的申請與登記，才得以正式經營。此後學者便皆以此做為國內民宿之正式的定義。

二、民宿產業經營特性

民宿雖與旅館一樣，主要都是提供旅客住宿的場所，但民宿在其經營發展的型態上卻有不同於一般旅館業的特質。依據【民宿管理辦法】之定義，民宿為利用自用住宅空閒房間，結合當地人文、自然景觀、生態、環境資源及農林漁牧生產活動，以家庭副業方式經營，提供旅客鄉野生活之住宿處所。相較之下民宿與旅館業雖然都提供了旅客一個住宿的場所，但其週邊資源、經營規模、產業型態...等都有明顯的差異。

有關民宿與一般旅館業的區別，Alastair, Philip, Gianna, Nandini & Joseph (1996)認為可由以下五點來區分：(1) 民宿具有私人服務的，與主人具有某一程度上交流；(2) 具有特殊的機會或優勢去認識當地環境或建物特質；(3) 通常是產權所有者自行經營，非連鎖經營；(4) 特別的活動提供給遊客；(5) 較少的住宿容量。

姜惠娟(1997)指出民宿與一般旅館最大不同的特色在於，民宿比起一般旅館應具有平價合理的收費及自助性的服務，且民宿在經營上不重在強調設備的豪華氣派、服務的專業精緻，而是著重在其住宿環境的安全衛生與濃厚人情的家庭氣味；更重要的是民宿還需結合周邊的自然資源並配合當地的人文特色，讓遊客能感同身受的體會當地之風土民情，並進而提供運動、休閒、娛樂等功能，讓遊客充分感受到休閒的樂趣。

鄭健雄(2001)具體指出民宿經營的三項重要條件，分別為豐富的區域資源、舒適溫馨的住宿空間及認真用心的主人；鄭健雄、吳乾正(2004)則主張除上述三項必備條件外，民宿的經營上還需根據其本身的實體特色(建築風格、料理、區位)、優勢地位、品牌形象、市場區隔及產品地位來制訂相關的民宿經營策略。

三、民宿旅客特性

(一) 民宿旅客投宿動機

在民宿旅客之投宿動機方面，Dawson & Brown(1988) 研究中指出 11 項旅客在選擇投宿民宿時的主要原因，依其重要程度依序羅列如下：(1)地理位置；(2)親切的服務；(3)喜歡 B&B 的體驗；(4)膳食；(5)介紹；(6)此地區有住宿需求；(7)價格；(8)有效的廣告；(9)地方性的吸引力；(10)對 B&B 有特殊的興趣；(11)想嘗試有交流的住宿。姜惠娟(1997)參考 Dawson & Brown (1988)之問項，針對休閒農民宿旅客特性與需求進行研究，研究結果指出，遊客在旅遊過程中選擇住宿時會選擇民宿之原因依其重要程度排序如下：(1) 民宿較為親切樸實；(2) 民宿的環境遠離都是與人群；(3) 民宿的環境讓我有鬆弛身心的感覺；(4) 宿地點周邊有美麗的風景及視野；(5) 享受不同於日常生活的體驗；(6) 民宿較不吵雜擁擠；(7) 民宿的消費較符合我的預算。嚴如鈺(2002)針對民宿消費者型態進行相關之研究，研究結果指出遊客在選擇民宿之動機上主要以樸實親切、經濟因素、住宿體驗以及社交追尋為主要選擇之原因；廖榮聰(2003)分析民宿遊客之投宿動機，研究結果顯示民宿周邊的自然環境、民宿內部的悠閒氣氛以及民宿親切樸實的服務為促使遊客選擇投宿民宿的

最主要原因；黃俊傑(2002)於遊客住宿型態選擇之研究中，比較投宿於不同住宿型態下遊客重視之住宿屬性因子之差異，結果發現草根親切樸實的服務、與主人有互動認識的機會、可以了解地方風土民情與參與當地的特殊活動為投宿民宿遊客所最重視之因子。

研究設計

一、研究範圍與對象

本次研究主要以交通部觀光局所公佈之國內(不包含外島)合法登記營業民宿為主要研究範圍，研究對象則是針對曾於任一間民宿有過住宿經驗之本國旅客為主，為使問卷資料能確實符合本研究之目的及需求，需針對受測旅客之身分做相關之限制，故本次研究僅針對曾經在同一間民宿有過兩次以上(包括 2 次)住宿經驗之旅客為主要之研究母體。

二、研究方法

為提高本研究調查之有效度，本研究採以立意抽樣法(purposive sampling)，以郵寄問卷之方式，懇請民宿業者針對符合本研究限制條件之住宿旅客進行調查。

結果討論

一、樣本描述

調查期間共計回收有效問卷 229 份。

(一)旅客社經背景

在旅客社經背景之頻度分析中，整體而言受訪旅客女性多於男性，但差異不大；以 21-30 歲者為最多，佔有效樣本數之 44.1%；教育程度以大學為最多，佔有效樣本數 65.0%；在婚姻及家庭狀況方面，以未婚為居多，佔有效樣本數之 47.6%；職業以服務業為最多，佔有效樣本數之 30.1 居住地方面，半數以上多居住在北部地區，佔有效樣本數之 54.1%。

(二)旅客住宿特性

在住宿特性方面，受訪旅客之主要住宿資訊來源以親友介紹居多，佔有效樣本數 36.2%；在旅客個人平均消費支出金額部分，以平均消費金額 1201~3000 元居多，佔有效樣本數之 54.6%；旅遊夥伴部分以朋友/同學/同事一同前來居多，佔有效樣本數之 52.0%；在推薦民宿行為方面有高達 94.3%%之旅客曾向他人推薦過該民宿；在民宿決策方面，以受訪旅客中自己決定的居多，佔有效樣本數之 46.7%。

二、旅客個人旅遊住宿偏好敘述性統計分析

在旅客個人旅遊住宿型態偏好之敘述性統計部分，其偏好型態之平均值高低排序如表 1 所示。由表 1 可知，在旅遊住宿偏好型態部分，旅客之偏好認同度最高者為「親切樸實

的熱情招待」(平均值= 4.6943)，其中非常同意者佔 72.5%，同意佔 24.4%。其次依序為「賞心悅目的環境景觀」(平均值=4.4716)、「互動交流的住宿體驗」(平均值=4.3057)、「專業完善的住宿服務」(平均值=4.2402)及「地方特色的體驗活動」(平均值= 4.2009)。在「賞心悅目的環境景觀」部分，旅客回答非常同意者佔 52.4%，同意者佔 42.8%；「互動交流的住宿體驗」部分，非常同意者佔 43.6%，同意者佔 43.8%，普通者則佔 12.2%；「專業完善的住宿服務」部分，非常同意者佔 41.0%，同意者佔 42.4%，普通者佔 16.2%；「地方特色的體驗活動」非常同意者佔 36.2%，同意者佔 48.5%，普通者佔 14.4%。

本次受訪旅客對於旅遊住宿型態偏好認同度最低的為「多樣齊備的附屬設施」(平均值=3.1572)，其次依序為「豪華享受的客房設備」(平均值=3.4454)、「高級精緻的美食餐飲」(平均值=3.6507)、「低價便宜的消費價格」(平均值=3.8428)、「便利可及的交通位置」(平均值=3.8734)等五項，然而此五項因子之平均分數均大於中間值(3.0)，顯示旅客對於這些住宿型態因子仍抱持正面的看法，並非完全持排斥之心態，亦即相較於偏好認同度較高之前五項因子而言，多樣齊備附屬設施、豪華享受客房設備、高級精緻美食餐飲、低價便宜消費價格與便利可及交通位置，為旅客選擇旅遊住宿時之次要考量因素，而非負面影響之因子。

表 1. 民宿旅客住宿型態偏好之敘述性統計分析及排序

Table 1. The descriptive statistic analysis and rank for accommodation preferences.

排序	問項內容	同意程度百分比 %					平均值 Mean	標準差 S.D
		非常不同意	不同意	普通	同意	非常同意□		
1	親切樸實熱情招待	0	0	3.1	24.4	72.5□	4.6943	0.5240
2	賞心悅目環境景觀	0	0.4	4.4	42.8	52.4□	4.4716	0.6036
3	互動交流住宿體驗	0	0.4	12.2	43.8	43.6□	4.3057	0.6965
4	專業完善住宿服務	0	0.4	16.2	42.4	41.0□	4.2402	0.7309
5	地方特色體驗活動	0	0.9	14.4	48.5	36.2□	4.2009	0.7095
6	便利可及交通位置	0.4	2.2	26.2	52.0	19.2□	3.8734	0.7531
7	低價便宜消費價格	0.4	3.1	31.0	42.8	22.7□	3.8428	0.8228
8	高級精緻美食餐飲	2.2	5.7	38.0	33.1	21.0□	3.6507	0.9460
9	豪華享受客房設備	1.7	11.4	41.9	30.6	14.4□	3.4454	0.9332
10	多樣齊備附屬設施	5.7	17.0	46.3	17.9	13.1□	3.1572	1.0394

三、假設檢定

由表 2 可知經由 one-way ANOVA 及 t-test 檢定後，發現不同性別的民宿旅客在「親切樸實熱情招待」及「互動交流住宿體驗」之偏好程度上有顯著差異之情形；不同年齡之旅客對於「便利可及交通位置」之偏好程度有顯著差異之情形；不同教育程度之旅客對於「賞心悅目環境景觀」及「親切樸實熱情招待」之偏好程度有顯著差異情形；住宿資訊來源管道不同之旅客對於「高級精緻美食餐飲」之偏好程度有顯著差異情形；平均住宿消費金額不同之旅客對於「賞心悅目環境景觀」、「高級精緻美食餐飲」、「地方特色體驗活動」及「便利可及交通位置」之偏好程度有顯著差異情形；旅遊夥伴不同之民宿旅客對於「賞心悅目環境景觀」之偏好程度有顯著差異情形；曾經推薦過該民宿之旅客與未曾推薦過之旅客對於「賞心悅目環境景觀」、「親切樸實熱情招待」及「互動交流住宿體驗」之偏好程度上有顯著差異之情形。

表 2. 民宿旅客之個人社經背景對住宿型態偏好之 t 檢定與單因子變異數分析

Table 2. Results of the t-test and one-way analysis of variance for personal socio-economic background and accommodation preferences.

	豪華享受客房設備	賞心悅目環境景觀	高級精緻美食餐飲	專業完善住宿服務	地方特色體驗活動	親切樸實熱情招待	多樣齊備附屬設施	互動交流住宿體驗	便利可及交通位置	低價便宜消費價格
性別	.347	.882	.414	.564	.958	.045*	.767	.028*	.778	.115
年齡	.702	.715	.401	.730	.106	.783	.704	.808	.011*	.331
教育程度	.655	.011*	.338	.352	.061	.001**	.194	.151	.062	.496
職業	.757	.467	.834	.455	.223	.364	.058	.733	.024*	.023*
月收入	.587	.370	.155	.739	.187	.290	.456	.156	.749	.650
居住地	.778	.052	.405	.465	.282	.081	.746	.113	.388	.352
住宿資訊來源	.047	.064	.001**	.383	.092	.239	.921	.623	.316	.373
平均消費金額	.062	.028*	.000***	.099	.007*	.390	.090	.080	.000***	.835
旅遊夥伴	.446	.026*	.235	.313	.022	.679	.744	.052	.240	.527
推薦行為	.319	.012*	.324	.298	.014*	.000***	.335	.000***	.272	.514

*達 p<0.05 顯著水準 ** p<0.01 顯著水準 *** p<0.001 顯著水準

結論與建議

一、研究結論

本研究主要在探討民宿旅客之住宿型態偏好以及不同特性之旅客其偏好程度之差異情形，並以重宿旅客為主要研究對象，藉由其所偏好之住宿型態，來探討促使其再次投宿的原因。綜合前述分析之結果，民宿重宿旅客所偏好之住宿型態排序最高的為「親切樸實的熱情招待」，其次則為「賞心悅目環境景觀」及「互動交流住宿體驗」；重宿旅客偏好程度較低的住宿型態則為「多樣齊備附屬設施」及「豪華享受客房設備」。另外，旅客之個人特質及旅遊特性不同，也會影響其對於不同住宿型態之偏好程度。

二、民宿經營管理建議

由本研究之結果可知，對民宿重宿旅客而言於，經營者的「親切樸實的熱情招待」以及民宿週邊之「賞心悅目環境景觀」為旅客所最注重的，而「多樣齊備附屬設施」及「豪華享受客房設備」則較不受到旅客之重視，此外旅客個人的特質也會影響其偏好的住宿型態，故建議民宿經營者於民宿之經營與旅客關係管理上可針對目標客群來決定民宿之經營主題與方向。就整體的長遠效益來看，與旅客間良好互動關係之建立，為民宿長久經營之重要關鍵所在。

參考文獻

- 何郁如、湯秋玲。1989。墾丁國家公園住宿服務現況之研究。戶外遊憩研究 2(1): 51-62。
- 林宜甲。1998。國內民宿經營的問題與個案分析—以花蓮縣瑞穗鄉舞鶴地區為例。東華大學自然資源管理研究所碩士論文。台灣 花蓮。
- 林梓聯。2001。日本農村建設成功的經驗。農政與農情 106: 54-59。
- 姜惠娟。1997。休閒農業民宿旅客特性與需求之研究。中興大學園藝研究所碩士論文。台灣 台中。
- 高崇倫。1998。遊客對國營休閒農場遊憩環境體驗之研究—以武陵農場為例。文化大學觀光事業研究所碩士論文。台灣 台北。
- 郭永傑。1991。山地民宿村莊之計劃理念與營運計劃。休閒農業經營手冊 106-111。行政院農委會。
- 黃俊傑。2002。遊客住宿型態之研究。嘉義大學管理研究所碩士論文。台灣 嘉義。
- 廖榮聰。2003。民宿旅客投體驗之研究。朝陽大學休閒事業管理系碩士論文。台灣 台中。
- 潘正華。1994。台灣農村地區發展休閒農業於農牧用地上興建民宿之法令可行性研究。台灣大學農業工程學系碩士論文。台灣 台中。
- 鄭健雄。2001。民宿經營之道。農業經營管理會訊 27: 6-9。
- 鄭健雄、吳乾正。2004。渡假民宿管理。臺北市：全華科技圖書股份有限公司。

嚴如鈺。2002。民宿使用者消費型態之研究。輔仁大學生活應用科學系碩士論文。台灣 台中。

Alastair, M. M., L. P. Philip, M. Gianna, N. Nandini, and T. O. Joseph. 1996. Special Accommodation: Definition, Markets Served, and Roles in Tourism Development. *Journal of Travel Research* (Summer): 18-25.

Dawson, C. P. and T. L. Brown. 1988. B&Bs: A Matter of Choice. *Cornell Hotel and Restaurant Administration Quarterly* 29: 17-21.

A Study on Repurchase Visitors' Accommodation Preferences for B&B Industry

I-Chun Lin ¹⁾ Sheng-Jung Ou ²⁾

Key words: Accommodation Preferences 、 B&B Industry 、 Repurchase Visitors

Summary

The purpose of this study was to explore the repurchase visitors' accommodation preferences for B&B industry. Through this study, it was expected that customer relationship management suggestions help B&B manages achieve the objectives of sustainable development. The questionnaires were distributed to the visitors who have been stayed in B&B over 2 nights or more in Taiwan. The study used mail questionnaire survey method to collect the required data. Results of this study demonstrated that repurchase visitors had the highest preference for "cordial and sincere greeting from B&B hosts" and "pleasing environment", while "the luxurious equipments" was rated as the least important ones. Furthermore, the socio-economic background of repurchase visitors with different characteristics had different preferences of selecting the accommodation demand.

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

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

商業街道視覺品質改善之研究

李冠賢¹⁾ 歐聖榮²⁾ 林建堯³⁾

關鍵字：偏好、招牌、街道景觀

摘要：本研究之主要目的在探討不同類型的垂直式招牌對受測者偏好，研究利用電腦模擬技術(3D studio MAX)來模擬改善後之景觀，其中招牌型式部分有五種：現存型、簡易立面型、廣告桿型、造型廣告桿型以及廣告版型等五種，而模擬之方式以動態結合汽車駕駛者的視角之模擬來進行，利用五種不同招牌型式建構出五種不同的街道景觀，共計五張影片。本研究利用問卷調查方式獲取所需資料，研究總計獲得300份有效樣本。研究中先利用頻度分析檢視樣本特性及偏好分布之情形，研究獲得主要結論為受測者均一致偏好造型廣告桿型之招牌型式，建議未來招牌設計能夠將招牌減量化並結合街道設施，以提昇街道視覺之品質。

前 言

隨著都市發展，為了因應國人的生活，增加生活之便利性，許多商業地區日漸的蓬勃發展，商業街道也日漸形成，為了讓消費者以及用路者能夠辨別，商業招牌也隨之紛紛成立。學者 Ewald & Mandelker (1977) 曾經研究招牌景觀能帶給人一個地區或是國家的意象，然而台灣地區街道呈現出來的卻是高密度商業發展下產生招牌林立的景況，各種不同樣式、尺寸、顏色的招牌爭相突顯，使的原來街道建築物的美觀立面，完全被招牌給取代。可知招牌景觀的改善，在台灣地區仍在起步之階段，國內學者目前也多針對實質環境之狀況來進行偏好、認知以及情緒體驗之研究，同時對於未來招牌設計模式亦提出相關之建

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。

議。而本研究主要參考國外之案例，針對招牌的型式改善，來探討民眾對於偏好之影響，藉此提供未來設計之參考。

本研究探討之招牌類型主要為參考國外招牌之設置方式來進行，因此利用電腦模擬技術來達成；而人於環境中多以動態、移動視線的方式來知覺環境，故本研究以動態之模擬來進行，模擬之方式主要以汽車駕駛者的視角來進行模擬，並利用汽車駕駛者平日觀看之垂直面招牌為主要之探討之招牌。以下主要闡述本次研究之文獻回顧。

一、招牌相關文獻

招牌，廣義來說乃是指為招攬顧客而設置的各式牌匾。舉凡必須與大眾發生商業交易者，均有必要以各式各樣的牌匾或其他方式來告示大眾，進而招引人們的光臨（陳慶源，1987）。

李新富(2000)指出就現今店鋪的廣告招牌與表現形式而言，招牌的意義應該是一種訊息、一種說明，也是一種象徵與標示，可以做為商家與顧客的媒介，具有引導消費路徑和辨識方向的作用，並且提供店鋪門面其精神上之表徵。在國外，日本屋外廣告物法第二條對廣告物的定義為：經常或在一定期間內展示於公眾者，分別有懸掛招牌、立地招牌、牆壁上張貼廣告紙及牆壁上張貼廣告牌以及廣告塔、廣告板。凡展示於建築物及其他工作物上之廣告，或供廣告之構架而言。

招牌設計之要素中，學者 Nasar(1987)提到對於街道招牌可以明顯控制之特徵，其內容主要包含招牌之高度 (height)、形狀 (shapes)、招牌顏色(colors of signs)、招牌型式 (style)、數量(number)、文字位置(placement of letters) 等。

國內對於影響廣告招牌因子有如下 8 項【台北市政府都發局，1993；參考陳俊宏、李雅雯、李英弘（2001）】：廣告招牌的構成元素包括尺寸、懸掛高度、字體、色彩、材質、型式及照明等，本研究整理說明列示如下：

1.招牌尺寸

台灣地區商家業者常常為了讓自己的店家廣為宣傳，往往擴大招牌尺寸，使街道景觀凌亂。本次研究之基地，招牌經過城鄉新風貌整頓之後，每一商家之招牌尺寸皆統一化，故模擬現有之招牌尺寸時主要以現地調查之尺寸(2 公尺×60 公分)來進行模擬，而改善後之招牌則以 60 公分×20 公分做為減量設計之招牌模擬之單位尺寸。

2.位置

招牌呈現之位置主要有兩種，即水平式及垂直式，水平式招牌(包括橫列式及片面式)設置方式即與建築物正面平行；垂直式廣告招牌的懸掛，其面與建築物垂直。

3.型式

在高燦榮(1994)於巴黎街道招牌藝術一書中提到，巴黎店鋪招牌大致可區分為四種型式：掛牌式、吊牌式、出蓬式、站牌式。此外，高燦榮(1994)於巴黎街道招牌藝術著作中亦指出廣告牌的形式可分為三種：廣告柱、廣告桿、廣告板。

本研究主要探討將垂直面之招牌數量減少，其中一類型為完全沒有垂直面招牌之型式，而其他類型之減量單位則經過現地調查後，為了儘量不增加街道之設施物，故配合現地約每五個商家設置一盞之路燈設施為單位來進行模擬，此五種形式為五種型式分別是：基本型、無垂直面招牌型、廣告板型、基本廣告桿型以及造型廣告桿型。

4.字體

招牌本身是一種街道圖案，文字只是輔助說明。李崑正(2001)於「招牌設計視覺資訊要素之研究」中，調查北、中、南三地之招牌，其中結果顯示在招牌標題字體中，以「楷書」、「黑體」被選用的次數最多。本次研究中招牌之字體主要以「楷書」為主。

5.色彩

招牌上色彩的構成，除了配合整體的設計外，即是為了提高視覺效果，戴祖亮(1985)提到過多的色彩數混淆了視覺亦未必能提升訴求效果。參考學者李崑正(2001)「招牌設計視覺資訊要素之研究」調查北、中、南三地之招牌顯示最常被選用的配色表現形式為「藍底白字」與「紅底白字」。本次研究中基地之招牌文字以及色彩配置在研究之前測時使用「藍底白字」，結果顯示顏色與背景無法凸顯出招牌內之文字，故本次研究利用紅底白字來做為模擬招牌之底色。

6.訊息因子

招牌所欲傳達之訊息內容，不外乎以圖形與文字為表現。本次研究基地之招牌，經過現地調查之結果，訊息因子主要為商店名稱以及商標，其餘之因子於基地之招牌景觀中並未顯示。

7.材質

招牌所使用的材料種類，可分為木質、鉛片、鋁、石鑄、塑膠布及壓克力等，依商店經營年代、經營型態、規模而迥異，不同的材質給與人不同視覺和感情效應。本次研究主要所欲探討之重點為招牌之型式，故本研究不以材質做為測量因子。

8.照明

夜裡對招牌的感覺已經轉變成對照明方式、功能或亮麗程度的反應。因此，成為夜間街道景觀之主角。夜間影響照明之因子包含招牌本身、商家、周遭環境之間均會影響光彩之呈現及受測者視覺之判斷，故本研究暫不將夜間照明列為考量之因子，而以探討日間的情況對受測者之影響。

綜合上述，本研究參考招牌設計元素來進行招牌設計，將設計之招牌型式結合模擬之街道來詢問受測者之偏好。

二、景觀偏好

偏好的產生需經過一連串價值判斷的歷程，以觀賞者生理機制的角度來說，偏好的感知首先透過視覺、聽覺、嗅覺、味覺、觸覺以及動覺對環境的刺激產生感覺，由此感覺再產生美的聯想和興奮以及刺激，所以要了解景觀偏好不僅需了解視覺景觀資源本身，還要了解觀賞者的心性狀態(侯錦雄，1985)。在景觀相關領域當中，偏好的形成並非由於縝密

而複雜的思考或推理，相反的他是來自心理的直接反應，包括情緒體驗、過去經驗、甚至進化原理、都會引發觀賞者對環境的喜歡或不喜歡(Kaplan,1987;Mealey & Theis,1995)。景觀偏好是觀賞者對景觀加以評價的主觀心理判斷，其目的在於了解景觀的特性及個人喜好之程度，以做為規劃設計以及管理的依據。

前人的研究中，Nasar(1999)在都市招牌景觀視覺偏好曾探討招牌之明顯性與複雜性與偏好之關係，其研究結果顯示民眾認為招牌的明顯性越低，則其偏好值越高。此外，Nasar(1988)於行人對商業區招牌景觀偏好之研究中，加入「該景觀是否吸引你前來購物」之問項，結果證實人們對環境的偏好的確與造訪意願成正相關。

近年國內也有多數學者探討招牌偏好之問題，其中包括：李英弘等人(2003)於街道招牌景觀偏好之研究中主要探討街道招牌元素給予人們的情緒體驗反應及景觀偏好程度，其研究結果顯示街道招牌景觀元素中唯獨材質元素不影響偏好外，其餘因子皆會顯著影響偏好。

陳育文、李素馨(2003)於廣告招牌與植栽型式對視覺認知及偏好之影響研究中主要探討招牌與植栽型式對使用者的視覺認知及偏好影響差異，其研究結果顯示受測者偏好值在水平式、垂直式、水平+垂直式的招牌類型評值相近，而混亂式招牌之偏好值最低而受測者對於街道景觀偏好影響最大為美觀性其次是秩序性、清晰度、趣味性。

李英弘等人(2003)於市區街道廣告招牌之偏好分析中，將都市地區景觀道路分為 1.林蔭道 2.商業街道 3.歷史街道三類，並選取街道廣告招牌構成元素為 1.尺寸 2.型式 3.位置 4.字體 5.色彩為評估因子，其研究結果顯示研究發現受測者對於廣告招牌統一化後成果偏好並不高，而在尺寸大小統一之下，字體經過設計、底色統一之偏好值較高。

三、視覺理論

在知覺過程的生理歷程部分的接受器官，是對實質環境直接感受、接觸的第一線。接受器官之感覺包括：視覺、聽覺、嗅覺、味覺、皮膚感覺、動覺、平衡覺等，其中以視覺以及聽覺最為重要。在所有的感覺中以視覺最為重要，因為個體對外界的感知，有 87% 來自於視覺(Fish,1972)，故本研究主要以視覺模擬為基礎來進行研究。

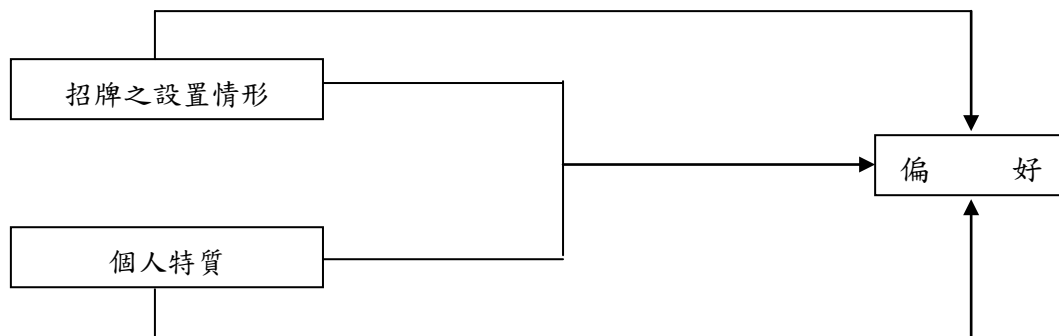
人類視覺的角度其單眼範圍視覺範圍為 42 度，稱為週邊視覺區域。整體的視覺範圍為 208 度，而在兩眼視域範圍中重疊的區域，即是視覺最精確的範圍。Gibson(1950)提到，「人類於靜止時可清楚分辨事物的範圍，兩眼所見的尺度水平方向為 120 度，垂直方向約為 150 度」。蕭朝明(1999)提到人眼可見的距離及範圍，對於電腦模型模擬時的觀景條件設定，提供了一般性的整理條件。一般對於行人而言，基本上是假設平均視覺眼高約為 150 公分，而汽車駕駛約為 115 公分左右(針對小型車而言)。

McCluskey (1992)及 Hornbeck, Garlavd & Okerlund(1973)針對道路使用者在車行狀態下的視覺狀況的研究皆曾指出，車行狀態下的景觀知覺有以下特性：當速度增加時，注意力跟著提高，注意力集中的焦點後退、視野縮小、前景變的模糊、且空間感逐漸減弱。

研究方法

一、研究架構

本研究主要依據前人研究之偏好、視覺品質做為研究之理論基礎，將不同型式之招牌、個人社經背景及偏好之關係綜合成本研究之研究架構圖，如下圖。



研究架構圖

二、研究變相確立

本研究依據研究動機、相關研究之文獻回顧，抽取與本研究相關及具意義之變項來進行分析研究。

依據大隆路兩側立面招牌設置之問題及現況，配合本研究之理論架構，分成招牌之類型、個人特質、視覺品質以及偏好來進行探討。

(一)個人特質因子

本研究依研究之目的以及用路者之心性狀態，擷取相關之變項來進行研究，並且依其性質之不同，將擷取之問項歸類為“個人社經背景”、“體驗狀態”以及“對於目前形象商圈立面招牌之意見”三類。

(二)招牌之型式

本次研究招牌型式主要有基本型以及減量設計型，其中包含五種型式：基本型(如圖 1)、簡易立面招牌(如圖 2)、廣告板型(如圖 3)、基本廣告桿型(如圖 4)、造型廣告桿型(如圖 5)。

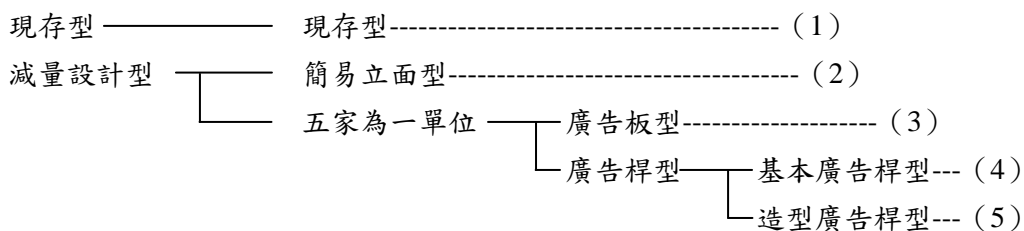




圖 1 現存型



圖 2 簡易立面型



圖 3 廣告板型



圖 4 基本廣告桿型



圖 5 造型廣告板型

三、問卷設計

本研究調查問卷，依研究架構及研究目的所確立的研究變相及評估因子綜合設計而成。問卷總共分三個部分，第一部分主要為個人社經背景；第二部分主要針對五種型式之招牌共計五段影片進行受測者之偏好，評量尺度皆為單極由 1 至 10 的等級尺度，「1」表示感受程度極弱，「10」表示感受程度最強烈。問卷第三部分主要為受測者對於目前形象商圈之意見。

(一) 個人特質變相

個人社經背景：包含性別、教育程度、學習背景、駕車經驗、居住地點、個人對目前垂直面招牌設置之意見以及對模擬環境之熟悉程度。

二、調查計畫

(一) 母體界定及取樣方法

本次研究之主題在探討商業街道視覺品質改善之研究，母體即界定一般形象商圈之使用者、商家、中興大學學生以及中州技術學院學生為主要之研究族群。

(二) 實驗場地及受測時間

於大隆路形象商圈中，實驗以筆記型電腦播放，讓受測者觀看影片來進行問卷之填答。在學校方面，調查之實驗場地，利用單槍投影機投影至布幕上播放，每次受測人數為 5 人來直接進行模擬場景之試驗；測試時間約略 15 分鐘，其中包含 5 段影片（每段 36 秒）、測試圖片、測驗說明以及受測者等待接受評估之時間。

(三) 問卷調查時間及結果

本研究測試之時間主要為民國 94 年 5 月 8 日至 6 月 18 日，測試時間內共有 300 名測試者參與模擬實驗測試，得到 300 份有效之調查問卷。

結果與討論

依本研究之研究目的以及問題，提出相關之研究假設，並以 T 檢定、單因子變異數分析以及皮爾森相關分析加以檢定或驗證。

一、個人社經背景

1. 性別

樣本中男性有 149 人，女性 151 人，分別佔樣本總數 49.7% 及 50.3%。

2. 是否接受過設計相關之訓練

樣本中有受過設計相關訓練佔 155 人，沒有受過設計專業訓練的佔 145 人，分別佔樣本總數 51.3% 及 48.3%。

3. 駕車經驗

樣本中有 158 人有過駕車經驗，142 人則無，分別佔樣本總數 52.7% 及 47.3%。

4. 居住地點

樣本中有 20.2% 居住於鄉村，23.0% 居住於郊區，56.7% 居住於都市，數據顯示多數受測者居住於都市，其次為郊區及鄉村。

5. 教育程度

教育程度頻度統計中，有 7% 學歷為國中，5% 為高中職，9.3% 為專科學生，大學學歷的佔 81.0%，而擁有研究所學歷者佔 4.0%。

二、個人對於目前立面招牌之意見

受測者對於目前形象商圈垂直面招牌之反應態度的初步統計結果可知，在受測者認為位置於招牌設計元素中最為重要，其次為色彩、型式、字體、訊息內容、尺寸，而材質對受測者而言其重要程度最低。

對於設置必要性中，受測者均認為有必要設置；對於設置適當性，多數在校學生認為招牌設置適當性尚可；對於招牌注意程度中，受測者一致認為平時會去注意垂直面招牌；對於模擬環境熟悉中，多數受測者認為對模擬環境之熟悉程度為尚可。

三、影片偏好之敘述性統計

受測者對不同招牌型式之偏好順序評估分析結果如表 1 所示。由統計資料顯示，受測者最偏好造型廣告桿型之招牌型式，其次為基本廣告桿型、廣告板型、現存型，而受測者最不偏好簡易立面型之招牌型式。由此推測受測者偏好結合設施物之招牌呈現模式。偏好順序評估分析結果。

表 1. 受測者對不同招牌型式之偏好順序評估分析

Table 1. The statistic analysis and rank for different types of commercial board on respondents' preference.

影片內容 招牌形式	對立面招牌偏好評分有效百分比										標準差	平均數	排名 順序
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
現存型	1.7	4.0	11.7	14.7	18.0	16.7	13.7	11.0	4.3	4.3	2.0935	5.5933	4
簡易立面型	3.7	8.7	12.7	13.0	16.3	15.7	11.0	8.7	5.0	5.3	2.3309	5.3133	5
基本廣告桿	0.0	1.3	5.7	9.0	19.0	21.3	18.0	15.7	8.0	2.0	1.7555	6.2200	2
造型廣告桿	0.7	1.7	5.0	7.7	14.3	18.7	18.0	18.7	9.3	6.0	1.9481	6.5267	1
廣告板	1.0	3.3	9.0	14.0	18.7	16.3	17.3	11.3	5.0	4.0	2.0065	5.7900	3

四、個人社經背景不同對現今垂直面招牌設置情形之意見的影響

1. 受測者"性別"對招牌設置情形之反應態度之影響

檢視評值平均值後可知在模擬環境熟悉程度方面，男性較女性還熟悉模擬之環境。

2. 受測者"駕車經驗"對招牌設置情形之反應態度之影響

檢視評值平均值後，可知沒有駕車經驗均較有駕車經驗的受測者認為色彩之重要程度較高。

3. 受測者"是否接受過設計相關訓練"對招牌設置情形之反應態度之影響。

受測者是否受過專業訓練對於招牌設計之元素以及招牌設置之反應態度等反應皆無顯著差異。

4. 受測者"教育程度"的不同對招牌設置情形之反應態度之影響。

結果顯示，受測者教育程度對於招牌設計元素以及對招牌設置情形皆無顯著差異。

5. 受測者"居住地點"的不同對招牌設置情形之反應態度的影響。

檢視評值平均值，在招牌設計元素中，居住於郊區的受測者認為位置重要程度較高；居住於都市的受測者較為字體、色彩較不重要。

五、個人特質對整體街道視覺品質及偏好之影響

結果顯示，受測者之性別、駕車經驗、教育程度以及居住地點均不會影響其對於招牌之偏好，唯獨有受過設計訓練的受測者較不偏好簡易立面型、造型廣告型的型式。

六、測者對於現今招牌設置之意見對偏好以及視覺品質感受之影響

結果顯示，對目前招牌設置之必要性以及注意程度不同均會影響受測者對於招牌偏好之影響。

結 論

一、研究結論

研究結果顯示，受測者均較偏好改善後之招牌型式，於此可推測，受測者對於垂直面招牌減量之認同度高，對於未來招牌設計，建議可依此模式來進行規劃。

此外，受測者最不偏好簡易立面型之招牌，比較招牌設置必要性之結果，可推測受測者對簡易立面型之偏好值最低之原因，可能平時受測者較常注意垂直面招牌來獲取資訊，故對於簡易立面型之型式最不偏好。此外，研究中也發現有駕車經驗者認為簡易立面型之招牌適意性最低，經過交叉分析可知受測族群中，以駕車者最常注意垂直面招牌，故進一步推測未來垂直面招牌設置需考量駕車者之視覺感受來進行設計。

二、建議

本次研究主要探討不同招牌型式對受測者之偏好以及視覺品質感受之影響，綜合本研究之結果對街道招牌設計提出建議如下：

1.招牌減量化

本次研究受測者對於現存型的評值並不高，但是對於改變後的景觀均相當偏好，藉此對於未來進行形象商圈招牌設計時，可嘗試以減少商家之垂直面招牌為出發點來進行街道之規劃設計。

2.結合現地設施物

本次研究中，受測者對於招牌型式之偏好均一致偏好結合設施物之招牌型式，結合設施物，減少資源浪費，並且達到垂直面招牌減量之效果是一項可行的招牌設計手法。

3.考量招牌設計因子

本次研究探討針對招牌以及整體街道之景觀，結果顯示，受測者認為招牌部分以適意性影響最大，其次為注意程度及招牌易辯性，而招牌設置之適當於否，招牌之設計因子扮演很重要之角色，而研究中在校學生以及商家行人均認為位置以及色彩於招牌設計元素中最為重要，而尺寸、型式、字體、訊息內容受測者認為重要，唯獨材質對受測者而言為尚可。由此可知，進行招牌設計時，可依其重要程度來執行。

4.提升街道景觀

本次研究街道景觀有五項考量因子，經過分析之後，以美觀性影響最大，其次為舒適性、開放性以及一致性，對於未來要提升街道品質，首重美觀性部分，也就是說除了招牌本身以及週邊設施物、商家裝飾都是影響街道視覺品質之重要因子，研究中受測者均一致偏好造型廣告桿型的招牌景觀，藉此對於未來規劃設計時，應考慮將招牌、結合之設施物以及週邊環境共同納入設計時考量之因素。

三、未來研究建議

本次研究以台中市大隆路商圈為主要之模擬對象，並模擬駕駛者觀點來進行偏好以及視覺品質之感受，研究過程中發現改善街道之品質以及招牌設計在國內仍有很大之發展空

間。茲提出以下四點建議，作為未來研究之參考：

1. 研究區位的多樣化

本次研究主要針對台中市大隆路形象商圈來進行模擬，而台灣地區之街道有許多類型，對於未來研究中，可將不同區位例如鄉村、都市以及郊區之街道類型納入研究之考量因子；然而本次研究調查中，發現許多新興之觀光景點，例如民宿區以及休閒農業區，隨著地區之發展有許多地方招牌日漸增多，其入口意象之景緻均是招牌林立；為了避免新興地區再度淪為招牌氾濫，影響視覺景觀，藉此建議對於招牌設計，仍可朝向不同屬性之發展區位來進行招牌設計之研究。

2. 象徵式識別符號系統

本次研究主要針對招牌型式探討，以謀求街道視覺品質改善之道。研究結果顯示多數受測者偏好改善後之招牌型式，而部份受測者認為反應贊同改善後之招牌，但卻不容易辨識，在此建議未來可建立象徵式之識別符號系統，應用於未來之街道景觀當中，不僅可簡化招牌，同時可進一步針對象徵式符號來進行研究，將招牌成為一項藝術品來裝飾街道。

3. 利用不同媒體進行相關研究

本次研究主要利用 3D MAX 來進行模擬設計，呈現方式極受場地及設備之限制，而當前模擬設計之軟體相當普及，未來建議能夠依據時間、空間以及設備來進行更能符合目地所需的研究方法，以提高沿研究模擬之有效性。

4. 針對不同之招牌設計因子來考量

本次研究主要討論以招牌之型式來做為研究主要之參考，建議未來能夠利用其它方式或延用設計之結果並加入招牌設計因子來做更深入地探討研究。

參 考 文 獻

- 李新富。2000。台中市區招牌現況問題分析及改善建議之研究。商業設計學報。第4期。p. 189-216。
- 陳慶源。1987。廣告招牌影響街道景觀之研究-以台北市為例。碩士論文。淡江大學建築研究所。台北。
- 台北市政府都市發展局。1993。台北市廣告招牌美化計劃-衡陽路歷史街區規劃報告書。禾立設計公司。
- 李崑正。2001。招牌視覺資訊要素之研究。雲林科技大學視覺傳達設計研究所碩士論文。
- 陳俊宏、李雅雯、李英弘。2001。市區街道廣告招牌之偏好分析。2001 休閒、遊憩、觀光研究成果研討會論文集 III。p. 13-35。
- 高燦榮。1994。巴黎街到招牌藝術。藝術家出版社。台北。

- 戴祖亮。1985。都市中心商業區街道景觀之研究-以台中市中正路為例。碩士論文。東海大學建築研究所。台中。
- 侯錦雄。1985。景觀知覺與景觀設計。東海學報 26 卷。p. 857-868。
- 高育芸、李英弘、葉源鎰。2003。街道招牌景觀偏好之研究。造園景觀與環境規劃設計成果研討會—景觀認知與偏好論文集。p. 13-26。
- 陳育文、李素馨。2003。廣告招牌與植栽形式對視覺認知與偏好之影響。造園景觀與環境規劃設計成果研討會—景觀認知與偏好論文集。p. 1-12。
- 蕭朝明。1999。電腦視覺模擬輔助都市設計審議之可行性研究。國立成功大學建築研究所碩士論文。
- Ewald, G. W. Jr, & Mandelker, D. R. 1977. Street graphics: A concept and a system. McLean, VA. : Landscape Architecture Foundation.
- Fish, Ivan L. 1972. The visual aspects of resource management, 16th Annual Arizona Watershed Symposium Proceedings, Project No.2, Arizona Water Commission.
- Gibson, J. J. 1950. The perception of the visual world. Boston: Houghton Mifflin.
- Kaplan, S. 1987. Aesthetics, Affect, and Cognition: Environmental Preference from an Evolutionary Perspective. *Environment and Behavior*, 19 (1): 3-32.
- McCluskey, J. 1992. Road Form and Townscape. Second edition. Oxford: Part of Reed International Book.
- Mealey, L. & Theis, P. 1995. The Relationship between Mood and Preference among Natural Landscape : an Evolutionary Perspective. *Ethology and Sociobiology*, 16: 247-256.
- Nasar, J. L. 1987. Effect of Signscape Complexity and Coherence on the Perceived Visual Quality of Retail Scenes. *Journal of the American Planning Association*, 53: 499-509.
- Nasar, J. L. 1988. Perception and Evaluation of Residential Street Scenes. *Environmental Aesthetics*. Cambridge University Press.
- Nasar, J. L. 1999. Visual preference in urban signsapes. *Environment and Behavior*, 31(5): 671-691.
- Sheppard, S. R. J. 1989. Visual simulation-A users guide for architects, engineer, and planner. New York: Van Nostrand Reinhold.

Improving Visual Quality of Commercial Streets

Kuan-Hsien Li ¹⁾ Sheng-Jung Ou ²⁾ Chien-Yau Lin ³⁾

Keywords: preference, board, streetscape

Summary

The purpose of this study was to discuss the influences of different types of commercial board on respondents' preference. The study used 3D Studio Max software to simulate five improved streetscape with different commercial boards, including the present type, simple type, advertising pole type, artistic form of advertising pole type, and advertising board type, for respondents to evaluate their scores on preference. Questionnaire survey was used in this study and 300 valid samples were obtained. By performing t-test, one-way ANOVA, and Pearson Correlation, this study obtained the the artistic form of advertising pole type of commercial board was highly preferred by most respondents.

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

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

興大園藝

第三十卷 第三期

- Physiological Responses of Papaya (*Carica papaya* L.) Plants to Flooding
.....Nguyen Trinh Nhat Hang Yau-Shiang Yang..... 1
Fruit Production in Thailand
.....Kanjana Suthikul.....15
- ‘中興三號’與‘中興四號’獼猴桃採收適期之研究
.....吳明安 謝慶昌 倪正柱.....31
- 利用 RAPD 與 ISSR 分子標誌評估楊桃品種間之遺傳歧異度
.....曾湘琇 陳京城.....47
- 貯藏溫度及時間對酪梨果實貯藏壽命及品質之影響
.....楊智媛 謝慶昌.....61
- 混合不同葉綠體基因轉殖載體以基因槍法共同
轉殖基因到甘藍葉綠體
.....陳立德 曾夢蛟.....71
- 不同立體栽培模式對番茄‘桃園亞蔬九號’生育與產量之影響
.....楊瑜甄 宋 好 張武男.....85
- 鄉村景觀環境對觀賞者生心理效益之研究
.....周孟慈 張俊彥.....97

國立中興大學園藝學系

中華民國九十四年九月編印

Physiological Responses of Papaya (*Carica papaya* L.) Plants to Flooding

Nguyen Trinh Nhat Hang ¹⁾ Yau-Shiang Yang ²⁾

Key words: *Carica papaya*, Flooding, Photosynthesis, Plant growth

Summary

Potted papaya (*Carica papaya* L.) plants of four cultivars, 'Damoc', 'Jampada', 'Philippines wild' and 'Tainung No.2', grown in sand culture were subjected to flooding for 3 days under green-house condition. Flooding caused a reduction in plant fresh and dry weight in all cultivars. Leaf wilting appeared earlier in 'Da Moc' and 'Jampada'. Total leaf chlorophyll decreased by flooding treatment. After one days of flooding there was no effect on leaf photosynthesis. However, photosynthesis rate was significantly reduced after three days of flooding. The photosynthesis rate reduced about 30-40 percent in 'Tainung No.2' and 'Philippines wild' after three days of flooding. Furthermore, the leaves of 'Da moc' plants showed wilting symptom. The ethylene production was increased in all cultivars after one day of flooding and reduced on the following days. There were significant different in the activity of alcohol dehydrogenase in roots among cultivars during 3 days of flooding.

Introduction

Flooding from excessive rainfall or high level of water-table in lowland can compromise the growth and yield of flood intolerance crops. The initial eco- physiological response of most plants to flooding is wilting within a day or two days following root exposure. Tolerance ratings

1) Graduated Student in PhD Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Assistant Researcher, Southern Fruit Research Institute, Vietnam.

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

have been based on different criteria including growth responses of plants amount of injury sustained and survival (Kozloski, 1984). The reduction net photosynthesis is observed in many flooding plants (Backman *et al.*, 1992; Schaffer and Ploetz, 1989; Vu and Yelenosky, 1991; Dias-Filho and De Canvalho, 2000). In flood-tolerant plants, flooding has been hypothesized to increase alcohol dehydrogenase (ADH) activity (Crawford and Baines, 1977). In contrast, McManmon and Crawford, 1971 indicated that flood tolerance was depended on low ADH activity (Brown *et al.*, 1976; Marshall *et al.*, 1974). Increasing ADH activity in response to flooding has been reported in crop and woody species (John and Greenway, 1976; Lin and Lin, 1992; Pezeshki *et al.*, 1993, 1996). Flooding stimulates ethylene production in both herbaceous and woody plants (Tang Kozlowski, 1982; Vossenek *et al.*, 1993; Yamamoto *et al.*, 1995; Pezeshki *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 2002). There was no significant different in levels of ethylene in wax-apple of flooding plant and control (Lin and Lin, 1992).

For these reasons, the objective of study evaluated effects of flooding on photosynthesis, growth response of 'Da moc', 'Jampada', 'Philippines wild' and 'Tainung No.2' cultivars in potted.

Materials and Methods

Plant materials

Seedlings of four papaya cultivars, 'Tainung No.2', 'Philippines wild', 'Jampada' and 'Da Moc' was planted in the plastic pot (10x10x9cm) containing the media compost perlite and washed sand (1:1). Plants were watered with fourth strength Hoangland solution two times a week. When seedlings about 20cm in height were transplanted into Wagner's pot (1/2000a), 14 liters filled in washed sand. Plants were watered and fertilized two times a week with half strength Hoangland solution.

Flooding treatment

Tow month-old plants were subjected to flooding for 3 days. Water level in the pots was maintained 3cm above the sand surface. Effects of flooding on leaf yellowing percentage, leaf chlorophyll content, leaf photosynthesis, ethylene production and alcohol dehydrogenase activity in roots were examined.

Leaf yellowing and chlorophyll content

Leaf yellowing symptom was observed during the flooding treatment.

Chlorophyll extraction and determination: Freshly leaf samples were collected extracted with acetone 80% (v/v). The total leaf chlorophyll concentration was determined following the method of Arnon, 1949 and modified.

Leaf photosynthesis

Measurement of leaf gas exchange were made between 1100- 1200 hr. on single, fully developed and sun exposed leaf, leaf kept in the control chamber, using 1 liter chamber in the closed gas exchange mode of LI-6200 Portable Photosynthesis System (LI-COR, Lincol, NE) as previously reported (Vu *et al.*, 1991). The rate of air flow into the leaf chamber was 990-1100 μmols^{-1} and the leaf temperature was 34-36°C at the measurement of leaf level. The leaves gas exchange was expressed on a leaf area basis, determined after measurement with LI-COR LI-3000 Portable Area Meter.

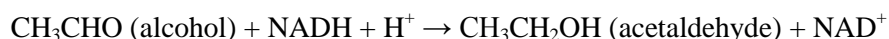
Ethylene production determination

For measurement of ethylene production the method described by Saltveit and Yang (1987) was followed. Whole root was enclosed in vessel and sealed with cap. After incubated for 1 hour, the ethylene production was assayed by withdrawing 1 ml gas sample using gas tight syringe from each vessel and injected into a gas chromatography (GC-8A, Shimadzu model, Tokyo, Japan) which used nitrogen as the carrier gas and was equipped with an active alumina column at 80°C and flame ionization detector at 110°C (Ververidid and Jonhn, 1991).

Alcohol dehydrogenase (ADH) determination

Alcohol dehydrogenase (ADH) extraction: The lateral roots were harvested and rinsed with distilled water, immediately frozen in liquid nitrogen and store at -70°C until extraction. The frozen roots was placed in mortar containing liquid nitrogen and ground to fine powder using pestle. The powder was homogenized in 3ml g^{-1} of extraction buffer solution containing 0.1M HEPES (pH 7.4), 0.5mM MgCl_2 , 0.1M 2-Mercaptoethanol, 1mM DTT, 12.5% (v/v) glycerol and 8% (w/v) PVPP. The homogenate was centrifuge at 10000 rpm for 30 minutes at 4°C. The supernatant was assayed immediately for the alcohol dehydrogenase (Hanson *et al.* 1984 and Kato-Noguchi, 2001).

Alcohol dehydrogenase (ADH) assay following the method described by Kimmerer (1987).



The assay mixture consisted of 0.8 ml of reaction buffer containing 90 mM MES-KOH (pH 6.4), 1mM DTT, 3 mM MgCl_2 , 0.2 mM NADH, 0.1ml of 29.7 mM acetaldehyde and 0.1ml enzyme extraction. The measurements were done at OD 340nm by using spectrophotometer (Thermo spectronic software version 3.2, UK). ADH activity is reported in U (μmolmin^{-1}).

Results

Fresh weight and dry weight of the leaf, stem, root

The results indicated that there were significantly different in stem, root fresh and dry weight among cultivars (Table 1 and 2).

Flooding for 3 days were reduced in fresh and dry weight of leaf, stem and root in all cultivars. The result also revealed that there were significantly different in fresh and dry weight of leaf, stem and root in all cultivars (except for fresh and dry weight of stem in 'Tainung No.2' and dry weight of stem in 'Philippines wild') between control and flooding treatment by t-test (Table 1 and 2).

Effect of flooding on the percentage of leaf yellowing and leaf chlorophyll content

The percentage of leaf yellowing and total leaf chlorophyll in 'Da Moc', 'Jampada', 'Philippines wild' and 'Tainung No.2' during 3 days flooding was presented in Table 3. Before flooding treatment leaves displayed green in all cultivars. Leaf yellowing symptom was increased with continuous flooding for 2 to 3 days.

Table 1. Effects of flooding on fresh weight of leaf, stem and root in papaya plants.

Cultivars	Fresh weight (g)					
	Control			Flooding		
	Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root
Tainung No.2	98.3**	143.4 ^{ns}	66.1**	79.4** (80.8) ^y	138.1 ^{ns} (96.3)	33.6** (50.8)
Da Moc	74.1**	88.6**	48.3**	38.7** (52.2)	53.4** (60.2)	20.9** (43.3)
Jampada	77.2**	123.6**	44.7*	60.9** (78.9)	69.1** (55.9)	37.5* (83.9)
Philippines wild	88.3**	127.5*	78.3**	68.3** (77.3)	110.3* (86.5)	54.9** (70.1)
LSD(P=0.05) ^x	8.0	19.8	9.4	13.9	21.9	9.5

y: Data in parentheses are percentage of control (100 percent).

x: Least significant difference among cultivars at P=0.05.

*,**: Significant difference between control and flooding by t-test at P=0.05 and 0.01, respectively.

Table 2. Effects of flooding on dry weight of leaf, stem and root in papaya plants.

Cultivars	Dry weight (g)					
	Control			Flooding		
	Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root
Tainung No.2	15.1*	18.6 ^{ns}	6.1**	9.5* (62.9)	14.8 ^{ns} (79.6)	3.3** (54.1)
Da Moc	12.8**	12.5**	4.9**	7.6** (59.4)	6.8** (54.4)	1.8** (36.7)
Jampada	11.6*	19.7**	4.4*	8.8* (75.9)	8.9** (45.2)	2.9* (65.9)
Philippines wild	14.1*	15.9 ^{ns}	7.6**	11.1* (78.7)	13.9 ^{ns} (87.4)	4.4** (57.9)
LSD(P=0.05) ^x	ns	5.1	1.6	ns	5.6	1.4

y: Data in parentheses are percentage of control (100 percent).

x: Least significant difference among cultivars at P=0.05, ns: not significant.

*,**,: Significant difference between control and flooding by t-test at P=0.05 and 0.01, respectively.

The lowest in percentage of leaf yellowing was recorded in 'Philippines wild' (19.8%) followed by 'Tainung No.2' (30.3%). Whereas, the highly percentage of leaf yellowing was 'Da Moc' (38.6%) which were observed after 3 days of flooding.

The result indicated that leaf chlorophyll content was reduced during flooding. After 3 days of flooding the chlorophyll in 'Philippines wild' (1.23 mg gfw⁻¹) was significantly higher than 'Jampada', and 'Da Moc' (0.99 and 0.91 mg gfw⁻¹, respectively). Besides, leaf chlorophyll content in 'Da Moc', 'Jampada', 'Tainung No.2' and 'Philippines wild' were reduced (46.3, 51.0, 56.9 and 80.4 percent, respectively) and significant different when compared to before flooding (0 day) by t-test (Table 3).

Effect of flooding on leaf photosynthesis

Before flooding, photosynthesis rate in 'Philippines wild', 'Jampada', 'Tainung No.2' and 'Da Moc' (11.6, 11.4, 10.9, 10.9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectively) were not significantly different among cultivars (Fig.1).

The result indicated that under flooding 1 day, photosynthesis rate was reduced greatly in 'Da Moc' (5.7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) while 'Philippines wild' (11.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was unchanged when compared to before flooding. Photosynthesis of 'Tainung No.2' and 'Jampada' (9.5 and 8.7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was statistically on par. After flooding for 2 to 3 days, photosynthesis rate was reduced

in all cultivars. The lowest photosynthesis was recorded in 'Da Moc' (4.2 and -1.9 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectively). Photosynthesis rate in 'Philippines wild' and 'Tainung No.2' were reduced 30 to 40 percent, respectively when compared to before flooding which was recorded after 3 days of flooding (Fig.1).

Effect of flooding on ethylene production rate in roots

Flooding had a marked effect on ethylene production in roots papaya plants (Table 4). Under flooding for 1 day the result showed that ethylene production rate in flooded roots were increased significantly when compared to control. The highly ethylene production rate were recorded in 'Tainung No.2' and 'Philippines wild' (12.8 and 11.6 $\mu\text{l kgfw}^{-1}\text{hr}^{-1}$, respectively) followed by 'Jampada' (8.5 $\mu\text{l kgfw}^{-1}\text{hr}^{-1}$) and lowest ethylene production in roots of 'Da Moc' (4.1 $\mu\text{l kgfw}^{-1}\text{hr}^{-1}$). Flooding for 3 days, ethylene production rate in flooded roots continuously decreased in all cultivars. It also revealed that there was significantly different in ethylene production rate between control and flooding treatment by t-test (Table 4).

Table 3. Effects of flooding on leaf yellowing percentage and total leaf chlorophyll content of papaya plants.

Cultivars	Leaf yellowing (%)			Total leaf chlorophyll (mg gfw ⁻¹)			
	1	2	3	0	1	2	3
TainungNo.2	6.8	9.8	30.3	1.74 (100)	1.65 (94.8) ^y	1.51 (86.8)	0.99* (56.9)
Da Moc	9.2	19.7	38.6	1.75 (100)	1.41 (80.6)	1.39 (79.4)	0.81* (46.5)
Jampada	5.3	11.1	32.1	2.04 (100)	1.84 (90.2)	1.44 (70.6)	1.04* (51.0)
Philippines wild	6.2	11.2	19.8	1.53 (100)	1.54 (100)	1.49 (97.4)	1.23* (80.4)
LSD(P=0.05) ^x	ns	7.1	10.6	ns	ns	ns	0.26

y: Data in parentheses are percentage of before flooding (100 percent).

x: Least significant difference among cultivars at P= 0.05, ns: not significant.

*: Significant difference between flooding and before flooding (0 day) by t-test.

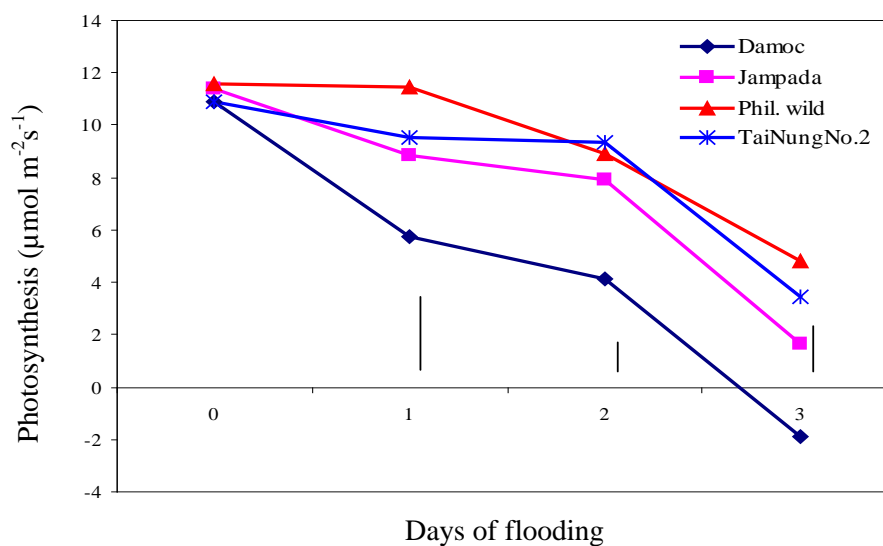


Fig.1. The effect of flooding on photosynthesis of papaya plants. Vertical bar is LSD (P=0.05)

Table 4. Effect of flooding on ethylene production ($\mu\text{l kgfw}^{-1} \text{h}^{-1}$) in papaya roots.

Cultivars	Days of flooding					
	1		2		3	
	Control	Flooding	Control	Flooding	Control	Flooding
TainungNo.2	8.8*	12.8*	8.9 ^{ns}	7.8 ^{ns}	8.9**	3.4**
Da Moc	3.2*	4.1*	3.3 ^{ns}	3.0 ^{ns}	3.5**	2.2**
Jampada	7.4*	8.5*	7.8 ^{ns}	6.3 ^{ns}	7.8*	3.5*
Philippines wild	8.5*	11.6*	8.8*	10.3*	8.8**	4.4**
LSD(P=0.05) ^y	0.9	2.7	2.0	1.5	2.2	ns

y: Least significant difference among cultivars at P=0.05.

*,**: Significant difference between control and flooding by t-test at P=0.05 and 0.01, respectively.

ns: Not significant.

Effect of flooding on alcohol dehydrogenase (ADH) activity in roots

The results revealed that there were significant different in ADH activity among cultivars during treatments (Table 5). In addition, ADH activity in 'Philippines wild', 'Tainung No.2', 'Jampada' and 'Da Moc' (1.29, 1.20, 0.22 and 0.15 U gfw⁻¹, respectively) were increased but not significant different when compared to control which was recorded after 1 day of flooding. Flooding for 3 days showed that ADH activity in 'Tainung No.2' and 'Philippines wild' were reduced and significantly different when compared to control. ADH activity in roots of 'Philippines wild' (0.86 U gfw⁻¹) was 1.3, 9.5 and 10.7 folds higher than 'Tainung No.2' (0.64 U gfw⁻¹), 'Jampada' (0.09 U gfw⁻¹) and 'Da Moc' (0.08 U gfw⁻¹), respectively (Table 5).

Table 5. Effect of flooding on alcohol dehydrogenase activity (U gfw⁻¹) in papaya roots.

Cultivars	Days of flooding					
	1		2		3	
	Control	Flooding	Control	Flooding	Control	Flooding
TainungNo.2	0.98 ^{ns}	1.20 ^{ns}	1.49 ^{ns}	1.09 ^{ns}	1.51 ^{**}	0.64 ^{**}
Da Moc	0.12 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.08 ^{ns}
Jampada	0.15 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.09 ^{ns}
Philippines wild	0.84 ^{ns}	1.29 ^{ns}	1.55 ^{ns}	1.23 ^{ns}	1.59 ^{**}	0.86 ^{**}
LSD(P=0.05) ^y	0.53	0.72	0.16	0.64	0.18	0.12

y: Least significant difference among papaya cultivars at P= 0.05.

*,**,: Significant difference between control and flooding by t-test at P=0.05 and 0.01, respectively.

ns: Not significant difference.

Discussion

The data indicated that there were significantly different in the leaves, stem and roots fresh and dry weight among cultivars. It is also resulted that flooding reduced significantly in fresh and dry weight of leaf and root when compared to control. The common responses for a plant under flooding stress are reduction in growth of leaves, shoots and roots (Kozlowski, 1984).

Summer flooded of apple also decreased leaf and root dry weight (Olien, 1987). Joyner and Schaffer (1989) observed that leaf, stem and root dry weight of carambola decreased with increased flood duration. Vu and Yelenosky (1991) reported that prolonged flooding also reduced the biomass of fibrous roots in both rootstocks rough lemon and sour orange.

Flooding for 1 day was not significantly different in the percentage of leaf yellowing among papaya cultivars. The percentage of leaf yellowing was increased when plants exposed to flood for 2 and 3 days. Chen *et al.* (2002) reported that adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding, leaves exhibited chlorosis, an increasingly reddish green color after 3 days of flooding.

The present study shown that within 3 days of flooding total leaf chlorophyll content was reduced and significant different when compared to before flooding which was recorded after flooding for 3 days. Total leaf chlorophyll content in 'Philippines wild', 'Tainung No.2', 'Jampada' and 'Da Moc' were reduced about 80.4, 56.9, 51.0 and 56.9 percent, respectively when compared to before flooding. Vu and Yelenosky (1991) study on sweet orange 'Hamlin' grafted onto rootstocks as sour orange and rough lemon flooded for 24 days were reduced 38 and 18% of leaf chlorophyll content, respectively.

Leaf gas exchange parameters have been used to study photosynthesis capacity of plants during flooding treatments. An early response of fruit crops to water-logging is a reduced of net CO₂ assimilation. Flooding for 1 days, photosynthesis rate was reduced great in 'Da Moc' while 'Philippines wild' was unchanged when compared to before flooding. Under flooding for 3 days photosynthesis rate in 'Da Moc' was reached to negative and plants displayed wilting, photosynthesis rate in 'Philippines wild' and 'Tainung No.2' were reduced about 30-40 percent, respectively when compared to before flooding treatment. Flooding on container grown of mango reduced net CO₂ assimilation after 2 to 3 days (Larson *et al.*, 1989). Malik *et al.* (2001) reported that net light-saturated rates of photosynthesis in leaves of wheat growing in soils water-logged at the surface were slightly reduced after 1 day and severely reduced after 2 days or more days of water-logging. The decline in net CO₂ assimilation by fruit crops associated with flooding is affect by flood duration as well as environment factors (Crane and Davies, 1989). The flooding reduced in leaves photosynthesis have been reported on grape, mango, carambola, 'Tahiti' lime, rough lemon and orange (Larson *et al.*, 1989; Joyner and Schaffer, 1989; Vu and Yelenoski, 1991).

When plants treated to flooding for 1 day ethylene production rate was increased in all cultivars but there were not significant different when compared to control. The highly ethylene production rate were recorded in 'Tainung No.2' and 'Philippines wild' followed by 'Jampada' and lowest ethylene production rate in roots of 'Da Moc'. Flooding for 3 days resulted decreased

in root ethylene production of all cultivars. The biosynthesis of ethylene is inhibited under anoxic conditions because the conversion of ACC to ethylene by ACC oxidase requires oxygen (Peng *et al.*, 2001). Sine oxidation to ethylene can not proceed in the absence of oxygen. In many woody and herbaceous species, ethylene concentrations in both root and shoots increase in response to soil flooding (Vossenek *et al.*, 1993, Chen *et al.*, 2002) whereas the ethylene production in root of wax-apple was no significant different in both flooded and control plants during 7 days of flooding (Lin and Lin, 1992). Flooding resulted in increased root ethylene production in highly flood-tolerant *Taxodium distichum* L. species but had no effect on root ethylene production in the oak species as flood-tolerant *Quercus lyrata* and flood-sensitive *Quercus falcata* species (Pezeshki *et al.*, 1996).

In flood-tolerant plants, flooding has been hypothesized to increase alcohol dehydrogenase (ADH) activity (Crawford and Baines, 1977). The present study indicated that the ADH activity in root of control plants as 'Philippines wild' and 'Tainung No.2' were higher than 'Jampada' and 'Da Moc'. Johnson *et al.* (1989) reported that pre-exposure to hypoxic conditions resulted in increased ADH activity, adenylate charge ratio and survival of corn root. Many investigators have studied the relationship of ADH activity and flood tolerance. The present study indicated that there were significantly different in ADH activity among cultivars during flooding. Besides, after flooding for 1 day ADH activity in root of 'Philippines wild', 'Tainung No.2', 'Jampada', 'Da Moc' were increased but not significant different when compared to control. However, on ADH activity was reduced in all cultivars after flooding for 2 and 3 days. ADH activity was highly in 'Philippines wild' followed by 'Tainung No.2'. Van Toai *et al.* (1985) found that there was no correlation between ADH activity and flooding tolerance of maize seeds. The significance of induction of high levels of ADH activity in maze root tip is therefore obscure. Whereas, Jackson *et al.* (1982), Tripepi and Mitchell (1984) indicated that many flood-tolerant species have been shown to exhibit increased ADH activity when exposed to root hypoxia. Induction of ADH during low oxygen conditions has been observed in many plant species (Kennedy *et al.*, 1992; Ricard *et al.*, 1994; Tadege *et al.*, 1998). During 7 days of flooding treatment, the wax-apple roots increased in ADH activity (Lin and Lin, 1992). Plants judged to be flood-intolerant had a high ADH activity under flood conditions (Crawford and Baines, 1977).

Acknowledgement

The authors grateful to Dr. Loong-Sheng Chang, Associate Professor, Department of Horticulture, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC for research supporting. This

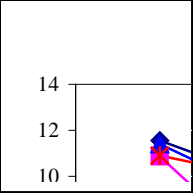
work was supported by Grant COA 90 AS-1.1.1-FD-Z5 (3) from the Council of Agriculture Executive Yuan, Republic of China.

References

- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.
- Backman, T. G., R. L. Perry, and J. A. Flore. 1992. Short-term flooding affects gas exchange characteristics of containerized Sour cherry trees. *HortScience.* 27: 1297-1301.
- Brown, A. D. H., D. R. Marshall, and J. Munday. 1976. Adaptedness of variants at an alcohol dehydrogenase locus in *Bromus mollis* L. (Soft Brome grass). *Aust. J. Biol. Sci.* 29: 389-396.
- Chen, H., R. Qualls, and G. Miller. 2002. Adaptation responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production. *Environ. Exp. Bot.* 48: 119-128.
- Crawford, R. M. M. and M. A. Baines. 1977. Tolerance of anoxia and the metabolism of ethanol in tree roots. *New Phytol.* 79: 519-526.
- Dias-Filho, M. B. and C. J. R. De Carvalho. 2000. Physiological and morphological responses of *Brachiaria* ssp. to flooding. *Pesp. Agropec. Bras.* 35: 1959-1966.
- Jackson, M. B., B. Herman, and A. Goodenough. 1982. An importance of the ethanol in causing injury to flooded plants. *Plant Cell Environ.* 5: 163-172.
- Joyner, M. E. B. and B. Schaffer. 1989. Flooding tolerance of 'Golden Star' carambola trees. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 102: 236-239.
- Johnson, J., B. G. Cobb, and M. C. Drew. 1989. Hypoxic induction of anoxia tolerance in roots of *Zea mays*. *Plant Physiol.* 91: 873-841.
- Kato-Noguchi, H. 2001. Anoxia tolerance and alcohol dehydrogenase activity in lettuce seedlings. *Plant Growth Regul.* 33: 199-203.
- Kennedy, R. A., M. E. Rumpho, and T. C. Fox. 1992. Anaerobic metabolism in plants. *Plant Physiol.* 1992. 100: 1-6.
- Kimmerer, T. W. 1987. Alcohol dehydrogenase and pyruvate decarboxylase activity in leaves and roots of eastern cotton wood (*Populus deltoids* Bartr.) and soybean (*Glycine max* L.). *Plant Physiol.* 84: 1210-1213.
- Kozlowski, T. T. 1984. Plant responses to flooding of soil. *Bioscience* 34: 162-167.
- Larson, K. D., B. Schaffer, and F. S. Davies. 1989. Flooding carbon assimilation and growth of mango trees. *ASHS. 1989. Ann. Mtg. Tulsa Okla, Prog. and Abstr.* P.126.

- Liao, C. T. and C. H. Lin. 1994. Effect of flooding stress on photosynthetic activities of *Momordica charantia*. *Plant Physiol. Biochem.* 32: 1-5.
- Lin, C. H. and C. H. Lin. 1992. Physiology adaptation of waxapple to water flooding. *Plant Cell Environ.* 15: 321-328.
- Malik, A. I., D. T. Colmer, H. Lambers, and M. Schortemeyer. Changes in physiological and morphological traits of roots and shoots of wheat in response to different depths of waterlogging. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 1121-1131.
- Marshall, D. R., P. Broue, and R. N. Oram. 1974. Genetic control of alcohol dehydrogenase isozymes in narrow-leafed lupins. *J. Heredity.* 65: 198-203.
- McManmon, M. and R. M. M. Crawford. 1971. A metabolic therapy of flooding tolerance: the significance of enzyme distribution and behaviour. *New Phytol.* 70: 299-306.
- Olien, W. C. 1987. Effect of seasonal soil waterlogging on vegetative growth and fruit of apple trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112: 209-214.
- Peng, H. P., C. S. Chan, M. C. Shih, and S. F. Yang. 2001. Signaling events in the hypoxic induction of alcohol dehydrogenase gene in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126: 742-749.
- Pezeshki, S.R., J.H. Pardue, and R.D. Delaune. 1993. The influence of soil oxygen deficiency on alcohol dehydrogenase activity, root porosity, ethylene production and photosynthesis in *Spartina patens*. *Env. Exp. Bot.* 33(4): 565-573.
- Pezeshki, S. R., J. H. Pardue, and R. D. Delanue. 1996. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. *Tree Physiol.* 16:453-458.
- Ricard, B., I. Couée, P. Raymond, P. H. Saglio, V. Saint-Ges, and A. Pradet. 1994. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiol. Biochem.* 32: 1-10.
- Saltveit, M. and S. F. Yang. 1987. Ethylene. In: Rivier, L. and Crozier, A. (Eds). *Principles and practice of plant hormone analysis*. Vol. II. Academic Press, pp. 367-369.
- Schaffer, B. and R. C. Ploetz. 1989. Gas exchange characteristics as indicator of damage thresholds for phytophthora root rot of flooded and nonflooded avocado trees. *HortScience.* 14: 653-655.
- Tadege, M., R. Brändle, and C. Kuhlemeier. 1998. Anoxia tolerance in tobacco roots: effect of overexpression of pyruvate decarboxylate. *Plant J.* 14: 327-335.
- Tang, Z. C. and T. T. Kozlowski. 1982. Some physiological and morphological responses of *Quercus macrocarpa* seedlings to flooding. *Can. J. Res.* 12:196-202.
- Tripepi, R. R. and C. A. Mitchell. 1984. Metabolic response of river brich and European brich roots to hypoxia. *Plant Physiol.* 76: 31-35.
- Van Toai, T. T., P. Saglio, B. Ricard, and A. Pradet. 1995. Development regulation of anoxia

- stress tolerance in maize. *Plant Cell Environ.* 18: 937-942.
- Veveridid, P. and John, P. 1991. Complete recovery in vitro of ethylene forming enzyme activity. *Phytochemistry* 30: 725-727.
- Voesenek, L. A. C. J., M. Banga, R. H. Their, C. M. Mudde, F. J. M. Harren, G. W. M. Berendse, and C. W. P. M. Blom. 1993. Submergence-induced ethylene synthesis, entrapment and growth in two plant species with contrasting flooding resistances. *Plant Physiol.* 103: 783-791.
- Vu, J. C. V. and G. Yelenosky. 1991. Photosynthesis responses to citrus trees to soil flooding. *Physiol. Plant.* 81: 7-14.
- Yamamoto, F., T. Sakata, and K. Terazawa. 1995. Physiological, morphological and anatomical responses of *Fraxinus mandshurica* seedling to flooding. *Tree Physiol.* 15: 713-719.



番木瓜植株在淹水逆境下之生理反應

阮一月¹⁾ 楊耀祥²⁾

關鍵字：番木瓜、淹水、光合成作用、植株生長

摘要：'Da moc'、'Jampada'、'Philippines Wild'及'台農 2 號'四種番木瓜栽培種之砂耕盆栽植株，在溫室內以淹水處理 3 天，全部的供試植株之鮮重及乾重均呈下降。'Da moc'及'Jampada'兩栽培種之葉片較早發生凋萎現象。在淹水處理 3 天後，葉片的總葉綠素含量呈下降，且與淹水處理前有顯著差異。淹水處理 1 天後葉片光合成作用未受影響。但是，淹水處理 3 天後，其葉片的光合成速率迅速下降。'Philippines Wild'及'台農 2 號'約為淹水處理前的 30-40%，'Jampada'及'Da moc'幾乎無光合成能力。在淹水處理後 1 天，各栽培種根部之乙烯生成量皆呈上升，處理後 3 天則降低至一半左右。在淹水處理 3 天的期間內，栽培種之間的根部酒精去氫酵素活性有顯著差異，耐水較強的'Philippines Wild'及台農 2 號有較高的活性。顯示不同栽培種對淹水逆境有不同的生理反應。

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。越南南方果樹研究中心助理研究員。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

Fruit Production in Thailand

Kanjana Suthikul¹⁾

Key words: Fruit production, Thailand

Summary

Agricultural sector has played an important role in Thailand economy. Fresh fruits and fruit products is one of the agricultural sub-sectors that expands rapidly and becomes more and more important to Thai economy in the last decade. There are many kinds of tropical fruits in Thailand. In the past the fruits were produced mainly for domestic consumption. At present, however the demand of high quality fruits and processed fruit products for foreign market recently has increased significantly. With the increase in competition on horticultural crops in local and overseas markets, good strategies in planting the production and the cooperation of research information with international is needed.

Introduction

Fruit industry is becoming more important in Thailand's economy. In Southeast Asian region, Thailand is the leading fruit producing country with the total production about 10.5 million metric tons a year and more than 40 kind of fruits are produced. The total bearing planted area and yield during the year 2001-2002 was presented in Table1. Fruit producing areas are found in the central plain, fruit such as sapodilla, grape, papaya, guava, pomelo, wax apple and mango are commonly seen growing on the raised ridge in this region. Chiang Mai and northern provinces produce mango, longan, lychee, orange and selected sub-tropical fruits. Areas along the coastal belts around the Gulf of Thailand grow pineapple as the main commercial fruit crop, while durian, mangosteen, rambutan, longong and lansat are grown in the eastern and southern provinces. In the drier areas of ortheastern provinces, tamarind, cashew nut and sugar apple are predominantly grown.

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

Topography

Thailand is divided into 5 regions, including North, East, North East, Central, and South (Fig. 1). The country is divided into 76 provinces. The northernmost part of Thailand is in Mae Sai district, Chiang Rai province, bordered by Myanmar and the Lao People's Democratic Republic. The southernmost part is in Betong district, Yala province, bordered by Malaysia and the Gulf of Thailand. The easternmost part is in Phibun Mangsahan district, Ubon Ratchathani province, bordered by the Lao People's Democratic Republic and the Kingdom of Cambodia and the westernmost part is in Mae Sariang district, Mae Hongson province, bordered by Myanmar, the Andaman Sea and the Strait of Malacca.

Thailand is naturally divided into three topographic regions:

Plains Most of the plain areas are in the Central region, such as the Basin of Chao Phraya river and its tributaries (Ping, Wang, Yom, Nan rivers). Besides, there are basins of Mae Klong river, Petchaburi river, Bang Prakong river, Thachin river and Pa Sak river.

Highlands Highland areas are mostly in the Northeast region such as the Korat Plateau, in which there are the plains along the Mun and Chi rivers.

Mountains Mountainous areas are mostly found in the North and the Southeast regions. There are significant mountains such as ranges and ridges of Dan Lao, Luang Prabang, Thanon Thongchai, Phetchabun and Tanaowasri.

Climate of Thailand

Thailand is in the tropical region of Asian continent and is geographically located between 7°-20°north of the equator and between 98°and 105°east of Greenwich. Fruit production is mainly produced in the Central lowland, coastal areas as well as in the northern region. All of Thailand has a tropical monsoon climate with clearly defined wet and dry season. Seasonal variations are effected by the direction and force of the prevailing winds. Broadly speaking Thailand has a rainy season from May to October, a cool dry season from November to February, and a hot dry season from March to May except in the south where there is no pronounced dry season.

Production of important economic fruit

Thailand produces a large variety of tropical fruits. The production area, yield and price of economic fruit in year 2002 are given in Table 1.

Durian (*Durio zibethinus* L.) is mainly produced in the central plain. It is often referred



Fig.1. Divided region of fruit production in Thailand.

to as the King of Tropical Fruits, but it gives off a very strong smell. Thailand is probably the top producer of quality, commercial durian, which has emerged through a long process of selection. The harvested area, production and yield per hectare by region are shown in Table 2. The main fruiting season of Durian is from April to September. Durian exports as fresh and frozen fruits to Malaysia, Hong Kong, Taiwan, Canada and United States. The main cultivars of durian are Mon Thong, Chane, Kaan-Yaw and Kradum.

Grape (*Vitis vinifera* L.) was considered to be recently introduced to Thailand. The crop is suitably grown in the western region especially in Ratchaburi, Nakhon Pathom, Samut Songkram and Samut Sakhon provinces. The two most suitable varieties are White Malaga and Cardinal. Seedless and Kyoho in Fang, Chiang Mai. With the climate is favorable for growth, grape growers now adopted forcing technique to produce grape all year round. However, the peak harvesting months are January and February. The planted area and production for are shown in Table 3.

Longan (*Euphoria longan* L.) is a well known fruit crop that has been grown in Thailand over 100 years with the production area concentrated in the Northern provinces especially Chiang Mai, Lamphun, Nan, Chiang Rai, and Lampang. The production figures are shown in Table 4. Most of longan produced is consumed domestically as fresh longan and the rest is exported as fresh, dry and canned longan. Common cultivars are Biew Khiew, Si Chomphu, and Daw.

Table 1. Fruit production area, yield and price in Thailand.

Kind of fruit	Bearing planted area (ha)	Total planted area (ha)	Average yield (kg/ha)	Total product (ton)	Price (US\$/kg)
Cashew nut	22,969	27,650	1,640	38,539	0.45
Durian	82,365	95,605	9,647	795,191	0.74
Grape	1,162	1,567	15,428	17,949	1.45
Guava	7,049	7,941	15,467	109,300	0.20
Jackfruit	27,312	35,962	23,982	656,134	0.11
Banana	82,727	98,486	16,782	1,175,521	0.17
Langsat	7,020	8,112	7,929	55,648	0.35
Lime	21,959	25,966	8,788	193,289	0.85
Longan	40,594	63,304	8,319	338,617	0.45
Longkong	20,961	37,261	6,757	142,254	0.80
Lychee	18,957	23,198	5,351	101,798	0.61
Mango	185,689	223,188	6,366	1,183,677	0.30
Mangosteen	19,809	27,149	6,015	119,314	0.45
Marian plum	1,424	1,898	7,929	11,304	0.64
Papaya	12,889	16,573	18,944	244,402	0.12
Pomelo	9,376	13,345	9,061	85,366	0.32
Rakam	1,236	1,410	8,046	9,956	0.50
Rambutan	52,804	59,205	10,155	537,575	0.26
Wax apple	5,272	6,307	9,452	49,951	0.35
Santol	5,980	8,491	8,827	52,884	0.39
Sapodilla	4,194	5,261	7,304	30,658	0.28
Sugar apple	6,325	7,523	5,585	35,413	0.30
Tangerine	25,612	42,993	13,514	346,393	0.49
Total	663,685	782,595	8,921	7,166,612	

Source : Department of Agricultural Extension, 2001-2002.

Table 2. Harvested area, production and yield of durian in Thailand.

Region	Harvested area (ha)		Production (ton)		Yield (kg/ha)	
	2003	2004	2003	2004	2003	
					2004	
Whole Kingdom	110,139	113,386	736,320	852,720	6,679	7,577
Northern	3,709	3,635	15,467	15,346	4,140	3,897
North-Eastern	378	352	1,843	2,158	4,843	6,132
Central Plain	63,697	62,538	488,313	516,798	7,968	8,319
Southern	44,753	46,859	230,697	318,418	5,155	6,835

Source: Office of Agricultural Economics, 2003-2004.

Table 3. Harvested area, production and yield of grape in Thailand.

Region	Harvested area (ha)	Production (ton)	Yield (kg/ha)
Whole Kingdom	366	6,587	8,531
Northern	20	2	100
North-Eastern	8	91	11,618
Central Plain	338	6,494	13,875

Source : Department of Agricultural Extension, 2002.

Table 4. Harvested area, production and yield of longan in Thailand.

Region	Harvested area (ha)	Production (ton)	Yield (kg/ha)
Whole Kingdom	40,447	336,234	7,020
Northern	35,981	290,689	8,075
North-Eastern	1,263	6,832	5,406
Central Plain	3,183	38,592	8,562
Southern	20	121	6,037

Source : Department of Agricultural Extension, 2002.

Lychee (*Litchi chinensis* Sonn) is another fruit crop that has been introduced and grown in Thailand over the same period as of longan. It is commonly grown in the northern provinces of Chiang Mai and Chiang Rai. Lowland lychee is also grown in the central plain of Samut Songkhram. The main cultivars grown in Samut Songkhram are Kom, Kra Tone, Sa-lack, Kam-Pun, whereas the commercial cultivars in the northern provinces are Hong Huay, O-Hia, Kim Cheng. Thailand exports fresh and canned lychee to Hong Kong, Malaysia, Singapore and United States. The production figures are shown in Table 5.

Mango (*Mangifera indica* L.) is one of the most important economic fruit crops in Thailand. It is grown in all region Thailand but area of concentration is in the northeast. The main harvesting time is from late March to early June depending on cultivars off-season production of mango is now practiced in some orchards. The main mango cultivars are Khiew Sawoe, Nang Klang Wan, Nam Dokmai, Ok-Rong and Thong Dam. The production figures are shown in Table 6.

Table 5. Harvested area, production and yield of Lychee in Thailand.

Region	Harvested area (ha)		Production (ton)		Yield (kg/ha)	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004
Whole Kingdom	18,629	24,328	60,933	86,943	3,241	3,554
Northern	15,921	21,376	55,281	76,069	3,437	3,554
North-Eastern	782	845	3,178	2,934	4,062	3,437
Central Plain	1,925	2,106	2,474	7,940	1,249	3,749

Source : Office of Agricultural Economics, 2003-2004.

Table 6. Harvested area, production and yield of Mango in Thailand.

Region	Harvested area (ha)	Production (ton)	Yield (kg/ha)
Whole Kingdom	40,447	336,234	7,020
Northern	35,981	290,689	8,075
North-Eastern	1,263	6,832	5,406
Central Plain	3,183	38,592	8,562
Southern	20	121	6,037

Source : Department of Agricultural Extension, 2002.

Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) is regarded as the queen of tropical fruits. The production is limited to the Southern provinces of Surat Thani and Chumphon, and in the central plain of Rayong, Chanthaburi, Trat, and Prachin Buri. The harvested area and yield are presented in Table 7. In Thailand, the fruits are first harvested in the eastern provinces in May, and late harvesting occurs in the southern provinces. It's production is mainly for domestic consumption. Mangosteen is also exported as fresh and frozen fruit to Hong Kong and Japan.

Pineapple (*Ananas cosmosus*) Thailand is the world's largest producer of fresh pineapple and also canned pineapple. The statistics shows that Thai pineapple accounts for 17.5% of the global output in 1999. The biggest growing area of pineapple in Thailand is Prachuap Khiri Khan province in the Southern part of Thailand. The important cultivar is Pattavia, Sri Raja, and Nang Lae. The harvested area and yield are presented in Table 8.

Table 7. Harvested area, production and yield of mangosteen in Thailand.

Region	Harvested area (ha)		Production (ton)		Yield (kg/ha)	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004
Whole Kingdom	39,398	43,410	202,828	237,528	5,155	4,218
Central Plain	16,290	16,853	90,500	63,755	5,546	3,749
Southern	23,108	26,556	113,328	173,773	4,882	6,523

Source : Office of Agricultural Economics, 2003-2004.

Table 8. Harvested area, production and yield of pineapple in Thailand.

Region	Harvested area (ha)		Production (ton)		Yield (kg/ha)	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004
Whole Kingdom	81,420	88,368	1,899	1,993	23,318	22,537
Northern	6,757	7,572	167	179	24,842	23,748
North-Eastern	4,780	4,720	113	107	23,670	22,693
Central Plain	67,472	73,572	1,544	1,632	22,850	22,186
Southern	2,409	2,503	73	74	30,623	29,724

Source : Office of Agricultural Economics, 2003-2004.

Pomelo (*Citrus grandis* Osb.) is commonly grown in the central provinces of Nakhon Pathom, Samut Sakhon and Samut Songkhram. Pomelo has good market potential since the fruit is of low perishability and thus allowing for distant transport to overseas consumers. The main fruiting season of pomelo is from August to November. The main cultivars are Khao Hom, though, Khao Nampheung, Khao Paen, and Khao Phuang. The production figures are shown in Table 9.

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) is produced in central plain of Rayong, Chanthaburi, Trat, and Prachin Buri, and in the southern provinces of Surat Thani, Chumphon, Narathiwat, Nakhon Si Thammarat, and Yala. The harvested area and yield are presented in Table 10. The main fruiting season of rambutan is from April to September depending on the growing sites. The main rambutan cultivars are Rongrian and Si Chomphu.

Table 9. Harvested area, production and yield of pomelo in Thailand.

Region	Harvested area (ha)	Production (ton)	Yield (kg/ha)
Whole Kingdom	811	5,196	4,471
Northern	73	302	6,062
North-Eastern	43	116	2,712
Central Plain	683	4,728	5,831
Southern	12	50	3,281

Source : Department of Agricultural Extension, 2002.

Table 10. Harvested area, production and yield of rambutan in Thailand.

Region	Harvested area (ha)		Production (ton)		Yield (kg/ha)	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004
Whole Kingdom	81,025	80,025	651,308	584,370	8,007	7,265
Central Plain	43,213	42,351	390,670	348,617	9,022	8,202
Southern	37,488	37,267	258,775	233,550	6,874	6,249
Other	324	406	1,863	2,203	5,741	5,390

Source : Office of Agricultural Economics, 2003-2004.

Tangerine (*Citrus reticulata* Blanco) has its area of concentration in the northern and central part of Thailand. The production figures are shown in Table 11. Tangerine can be harvested all year but the fruits are in abundance from September to February. Tangerine is mainly consumed domestically, where as a minor amount exported to Laos and Malaysia. The main tangerine cultivars are Som Kaew Wan, Som Sai Nampheung and Som Chokun.

Table 11. Harvested area, production and yield of tangerine in Thailand.

Region	Harvested area (ha)	Production (ton)	Yield (kg/ha)
Whole Kingdom	8,078	80,007	9,521
Northern	498	5,030	7,656
North-Eastern	58	366	4,337
Central Plain	7,452	73,883	15,143
Southern	70	728	10,950

Source: Department of Agricultural Extension, 2002.

Marketing

Domestic market Most of fruits are grown and distributed on a local level. Growers sell their produce to middlemen in the auction and large fruit markets in Bangkok. Retailers obtain the fruits from such markets and sell them to consumers. Both the distribution and collection of fruits that enter trade are centered in Bangkok. Domestic market is dominated by private enterprise.

Export market Export of fruits during year 2001-2002 shows an items on fresh fruit, frozen fruit, dried fruit, fruit in airtight container, fruit juice, and fruit preserve in sugar (Table 12, 13, 14, 15, 16). Established fruit exporting countries have authorized national organizations with well known brand names to co-ordinate the production and marketing of their produce like Thaifresh. In 2003, the principle export markets for Thai fruits were United State, Japan, Netherlands, China, Hong Kong, England, Canada, Germany, Taiwan, and Australia (Table 17). Other new markets include countries in Europe particularly France, United Kingdom, Germany and Denmark. In North America, USA and Canada are new markets for Thai fruits.

Problems

Production problems One of the reasons given for the slow growth of the fruit industry in Thailand is the poor production technology. This results in inadequate and irregular supply of good quality fruits. Apart from market demand, the growers' choice in the types of fruit cultivated is very much affected by the several agro-ecological such as drought, floods, typhoons, extreme temperature and agro-biological such as pests, diseases, weeds which have been limiting factors in improving production and quality of the produce. The need to understand the agricultural technology fully becomes clear when one considers that the final harvest is measured not from yield alone, but also from the quality of the produce.

Cultivars problems Developing new cultivars possessing new and improved traits periodically is one way to prevent the competitors, especially those low-cost producers, from encroaching into the market-share built up over a time period. New cultivars also help to keep up with consumers' changing demands and reduce the incidence of resistance to pests and diseases. Such breeding work is necessary to sustain available fruit industry. Most of new cultivars come from foreign particularly Taiwan. Field of this work need to be improved.

Table 12. Quantity and value of fresh fruit exported from Thailand.^z

Fruit	2001		2002	
	Quantity ^y	Value ^x	Quantity ^y	Value ^x
Longan	101,305	45.5	111,168	46.19
Durian	116,674	48.99	85,814	41.35
Mangosteen	18,388	9.72	17,326	8.32
Litchee	9,343	5.34	16,110	9.13
Mango	10,829	5.17	8,736	3.48
Pummelo	6,574	2.41	7,518	2.41
Orange	4,582	0.33	5,178	0.42
Pineapple	6,471	1.59	4,561	1.07
Rambutan	5,930	2.21	3,259	1.18
Papaya	495	0.39	2,681	0.95
Other Fruit	22,666	13.05	67,569	27.24
Total	303,257	134.74	329,920	141.80

z: Department of Agricultural Extension, 2001-2002.

y: Quantity = metric ton.

x: Value = million US\$.

Postharvest problems Thailand is a tropical country, and tropical produce tends to have a high water content and a high respiration rate. There are serious levels of postharvest losses, mainly as a result of physical damage, physiological changes and disease. Fruit rot is a major cause of fruit losses, and can be as high as 60% in mango. Although there have been many programs to reduce postharvest losses of horticultural crops, progress has been slow. This is partly because the cooperative system has not grown as rapidly as hoped, and partly because Thai farmers, like Asian farmers everywhere, tend to focus on production and overlook the role of postharvest technology.

Table 13. Quantity and value of frozen fruit exported from Thailand.^z

Fruit	2001		2002	
	Quantity ^y	Value ^x	Quantity ^y	Value ^x
Durian	26,972	13.94	27,648	13.90
Pineapple	2,440	2.64	2,042	2.14
Longan	1,597	1.52	1,235	1.10
Strawberry	652	0.79	528	0.56
Mangosteen	329	0.51	362	0.71
Other Fruit	3,509	6.37	4,205	6.12
Total	35,499	25.78	36,020	24.56

z: Department of Agricultural Extension, 2001-2002.

y: Quantity = metric ton.

x: Value = million US\$.

Table 14. Quantity and value of dried fruit exported from Thailand.^z

Fruit	2001		2002	
	Quantity ^y	Value ^x	Quantity ^y	Value ^x
Longan	26,838	31.19	29,917	31.57
Tamarind	15,143	5.28	15,865	5.91
Pineapple	610	0.57	1,880	1.51
Banana	237	0.77	511	0.75
Other Fruit	1,101	0.13	2,327	1.39
Total	43,929	37.95	50,500	41.16

z: Department of Agricultural Extension, 2001-2002.

y: Quantity = metric ton.

x: Value = million US\$.

Table 15. Quantity and value of fruit juice exported from Thailand.^z

Fruit	2001		2002	
	Quantity ^y	Value ^x	Quantity ^y	Value ^x
Pineapple	105,311	70.61	95,862	83.72
Orange	4,961	2.14	10,808	5.31
Grape	336	0.13	612	0.24
Apple	278	0.18	258	0.19
Grape fruit	9	0.002	195	0.12
Other Fruit	56,668	41.73	69,630	51.44
Total	167,563	114.81	177,365	141.05

z: Department of Agricultural Extension, 2001-2002.

y: Quantity = metric ton.

x: Value = million US\$.

Table 16. Quantity and value of fruit preserve in sugar exported from Thailand.^z

Fruit	2001		2002	
	Quantity ^y	Value ^x	Quantity ^y	Value ^x
Pineapple	13,819	15.63	14,148	16.09
Banana	136	0.20	1,492	0.35
Durian	163	0.33	152	0.45
Other Fruit	12,819	20.35	14,065	21.90
Total	26,937	36.53	29,857	38.80

z: Department of Agricultural Extension, 2001-2002.

y: Quantity = metric ton.

x: Value = million US\$.

Transportation problems As the distance of transportation increases, the storage and transport facilities become more important. Most fruits are shipped by passenger aircraft. High freight costs could result in non-competitive pricing and eventually low returns and poor incentive to the growers. This cost item has resulted in limited buyers of Thai fruits in foreign markets.

Marketing problems At the moment, marketing of most of the export fruits is done by individuals who usually compete with each other. There is a critical shortage of grading and packing facilities, cold stored, and loading and unloading equipment in most market terminals. Comprehensive market intelligence in terms of the market structure supply and demand of competing fruits and the consumer buying pattern of the targeted markets is still lacking.

Table 17. Exported value of horticultural commodity and product to principle country.^z

Countries	Value ^y	Percentage
Total value	1,462	100.00
United state	308	21.06
Japan	210	14.36
Netherlands	116	7.93
China	83	5.67
Hong Kong	62	4.24
England	61	4.17
Canada	54	3.69
Germany	52	3.55
Taiwan	51	3.48
Australia	34	2.32
Other countries	431	29.48

z: Department of customs, 2003.

y: Value = million US\$

Conclusion

Fruit production in Thailand in the new century will have to rely on producing high quality crops as well as using the production techniques that minimize the use of chemical pesticides or employing the use of natural products. And since tropical fruits are high

value and perishable crops, they need special market outlets, and special postharvest handling and packaging in order to maintain high quality. The details of production, packaging, transport and marketing should be looked into with the aim of producing a large volume of high quality and competitively priced fruits which can compete in international market.

References

- Anonymous. 2001-2002. Data on fruit and tree crop production in Thailand. Department of Agricultural Extension, Bangkok, (in Thai).
- Anonymous. 2002. Basic information-Agricultural statistic. Department of Agricultural Extension, Bangkok, (in Thai).
- Anonymous. 2003. Foreign trade statistics of Thailand. Department of Customs, Ministry of Finance, Bangkok, (in Thai).
- Anonymous. 2003-2004. Agricultural statistics of Thailand, Office of Agricultural Economics, Bangkok, (in Thai).

泰國的果實生產

甘佳娜¹⁾

關鍵字：泰國、果實生產

摘要：農業在泰國經濟上扮演相當重要的角色。其中青果及果實製品生產為農業中迅速擴展的產品，並且近十年來，在泰國經濟上佔有愈來愈重要的地位。泰國有許多種熱帶果樹，在過去生產的果實主要供應國內消費，不過目前國外市場對於高品質青果及其加工製品的需求有明顯增加的趨勢。隨著園藝作物在本地及海外市場的競爭增加，產品需要有良好的貯藏性及加強國際間的合作研究。

1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

'中興三號'與'中興四號'獼猴桃採收適期之研究

吳明安¹⁾ 謝慶昌²⁾ 倪正柱³⁾

關鍵字：獼猴桃、採收適期、成熟度

摘要：探討'中興三號'與'中興四號'獼猴桃果實之生理變化及後熟特性。在花後 21 到 28 週期間採收，採收時的果肉硬度隨著採收時間愈晚有愈下降的趨勢，全可溶性固形物含量則有愈上升的趨勢；後熟之後則無明顯趨勢。'中興三號'後熟之後果實品質在花後 22 到 24 週期間較佳，以花後第 24 週最佳且貯藏潛力僅次於最早採收的果實；'中興四號'則以花後 24 到 26 週期間最佳，其中以花後第 25 週貯藏潛力最佳。

前 言

獼猴桃，台灣慣稱奇異果(Kiwifruit)，為獼猴桃科(Actinidiaceae)獼猴桃屬(Actinidia)漿果類落葉藤本果樹，主要分布於中國。自 1904 年紐西蘭人從中國帶回種子開始，發展至今約一百年，已成為全球年產量超過百萬噸的世界性商業果品(Ferguson, 2004)。

台灣有 7 種原生獼猴桃(Peng & Lu, 1996)，卻僅有少數私人農場或教學單位進行試驗栽培，內需完全仰賴國外進口。台灣自 1989 年開始進口獼猴桃，消費量逐年遞增，至今全年消費果實總重量約 15 萬公噸，總值達 1500 萬美元(agrapp.coa.gov.tw, 2005)。

近年來高山園藝的發展政策轉趨嚴謹，在降低環境生態衝擊及兼顧山區農民生計前提下，台灣中高海拔地區栽培作物的轉型成為重要課題。本試驗之目的在探討由倪正柱教授自'Bruno'獼猴桃後代選育的'中興三號'和'中興四號'之採收適期，以期將來推廣應用之參考。

-
- 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。
 - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

材料與方法

一、試驗材料

本試驗使用的獼猴桃果實，均採自中興大學園藝試驗場高冷地分場，10年生的'中興三號'、'中興四號'及'Abbott'三個品種。挑選無病蟲害或外傷的果實採收，採後立即運回中興大學園藝系實驗室進行試驗。

二、試驗方法

於2004年11月10日開始採果，之後每週採收，最後採收時間為2004年12月27日共計採收8次，除11月10日每個品種採收13果以外，其餘每品種採收18果，其中9果（除11月10日處理10果）採後，立刻調查果實鮮重、硬度、糖度、果肉顏色及可滴定酸度；另外9果（除11月10日處理3果）於採收當日置於室溫下的呼吸缸，每日以加濕空氣流通式呼吸率測定法，調查呼吸率與乙烯釋放率，待達到乙烯釋放率高峰後，再取出調查果實鮮重、硬度、糖度、果肉顏色及可滴定酸，作為代表後熟之後的果實品質。

三、調查項目及方法

(一)果實鮮重與失重率之調查

利用電子天秤測量果實重量。每樣品先測定採收當日的重量，再放入呼吸缸，在果實達到乙烯高峰後取出，再次測定樣品的重量，所有失重率除此段期間的天數為每日平均失重率，單位以%表示。計算方式：

$$\text{每日平均失重率} = \text{總失重率} / \text{置於呼吸缸之天數}$$

(二)果肉顏色之測定

將果實削皮，以色差計(Σ 80 Color Measuring System, Nippon Densokoku Ind. Co.)測定果肉之a值。a值代表紅綠互補色，正時為紅色，負時為綠色，其數值介於+50~-50，負值愈小表示果肉綠色愈深。

(三)果肉硬度之測定

將果實橫切成兩半，以硬度計(Penetrometer F327, Effgi, Italy)採用直徑9.7mm之探針測定單位面積內穿刺果肉所需最大之力量，每果測定2點求其平均值，單位以N表示。

(四)全可溶性固形物含量之測定

取果汁以手持式折射計(Hand refractometer, Atago, Model N1)，測定果汁中全可溶性固形物(total soluble solid, TSS)的含量，單位以 $^{\circ}$ Brix表示之。

(五)可滴定酸之測定

取1ml果汁加入50ml純水中，再以0.1N之NaOH標準溶液滴定，紀錄pH達8.2所需之NaOH溶液量。滴定結果換算成檸檬酸的重量，再換算成佔果汁重之百分比，單位以%表示。

(六)糖酸比之計算

$$\text{糖酸比} = \text{全可溶性固形物含量}(\%) / \text{可滴定酸}(\%)$$

(七)呼吸率之測定

果實採後當日置於壓克力材質的密閉呼吸缸中，於室溫下 1 小時之後，以 1ml 注射針頭抽取缸內氣體樣品，採用紅外線二氧化碳分析儀(IR-analyzer, Maihak, UNOR610)分析樣品中二氧化碳濃度。呼吸率單位以 $\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ 表示。

(八) 乙烯釋放率之測定

果實採後當日置於壓克力材質的密閉呼吸缸中，於室溫下 1 小時之後，以 1ml 注射針頭抽取缸內氣體樣品，以氣相層析儀(Shimadzu Model GC-8A，日本島津公司製造)分析樣品濃度，採用火焰離子式偵測器(flame ionization detector, FID)，分離管內填充物為 60/80 mesh 活性氧化鋁(activated alumina)，管柱(column)之溫度為 90°C ，注入口及偵測器(detector)溫度為 130°C 。乙烯釋放率單位以 $\mu\text{IC}_2\text{H}_4/\text{kg}\cdot\text{hr}$ 表示。

結 果

一、採收時果實鮮重與後熟後失重率之變化

八次採收的單粒果實鮮重總合平均如圖 1，以'中興四號'的平均單粒果實鮮重最重，達 $82.2\pm 7.6\text{g}$ ，'中興三號'的平均單粒果實鮮重次之，為 $69.4\pm 5.7\text{g}$ ，而'Abbott'果實的平均單粒鮮重最輕，僅有 $56.3\pm 7.8\text{g}$ 。

每日果實平均失重率如圖 2，其中'中興三號'果實的平均失重率與'Abbott'相同皆為 0.09%，'中興四號'果實則為 0.08%，三者之間無顯著差異。

二、不同採收期間採收時及後熟後果肉顏色 a 值之變化

三個品種果肉顏色 a 值之變化情形如圖 3 所示，'中興三號'果實果肉顏色的變化，以 11/10 採收的 a 值最小為 -14.1，12/13 採收的果實 a 值最大為 -10.9，後熟後的果肉顏色中，a 值的變化呈現不規律；'中興四號'果實採收時與後熟的果肉 a 值之變化在不同採收時期之間差異並無明顯規律，但其中以 11/15 採收時的，a 值最小為 -12.8，顯示此次採收的果實，果肉顏色最綠；'Abbott'果實採收時的果肉顏色 a 值以 11/10 採收者最小為 -14.6，a 值有隨著採收成熟度增加而變大，'Abbott'果肉綠色略微減輕的趨勢，觀察'Abbott'後熟後的果肉顏色中，以 11/10 採收時的 a 值最小為 -11.7，與採收時的果肉顏色變化相似，後熟之後的果肉顏色 a 值，不同採收時期間呈現的變化並不規律。

三、不同採收期間採收時及後熟後果肉硬度之變化

三個品種果肉硬度之變化情形如圖 4 所示，'中興三號'果實採收時的硬度以 11/10 最高達 139.2N，12/20 採收的硬度最低為 87.7N，採收時果肉硬度有隨著採收成熟度增加逐漸下降的趨勢，後熟之後的果肉硬度以 11/29 採收最高達 17.7N，11/22 採收者最低僅 9.7N；'中興四號'果實的果肉硬度，在 11/15 採收者最高達 139.2N，而在 12/13 採收者最低為 97.2N，經過後熟的果肉硬度以 11/10 採收者最高達到 19.7 N，11/22 採收者硬度最低為 8.5

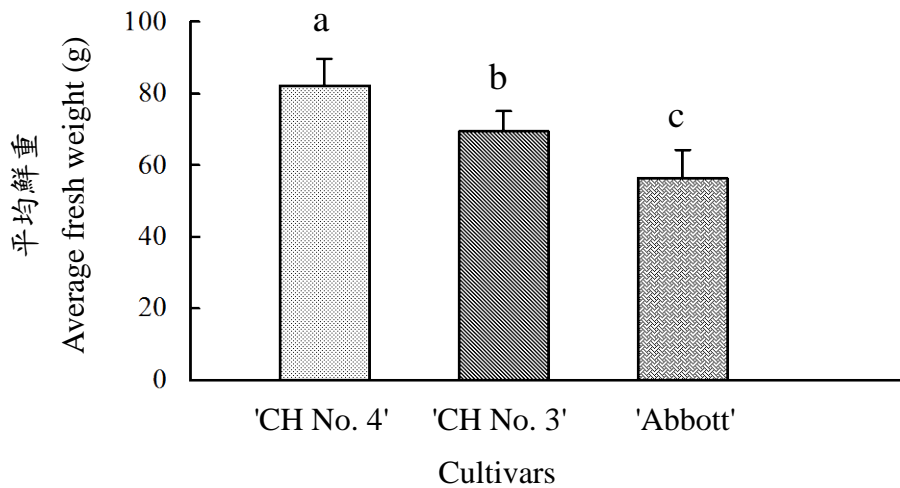


圖 1. 三個獼猴桃品種採收單粒果實平均鮮重之比較

Fig. 1. Comparison of average fresh weight of single kiwifruit at harvest of three cultivars.

'CH No.4'='Chung Hsing No. 4', 'CH No.3'='Chung Hsing No. 3'

N, '中興四號'採收時的果肉硬度, 有隨著採收成熟度增加而逐漸下降的趨勢, 但經過後熟的果肉硬度此趨勢並不明顯; 'Abbott'果實採收時的果肉硬度, 在 11/10 採收者最高達 133.0N, 11/15 採收的硬度最低為 93.3N, 後熟後的果肉硬度以 12/20 採收者最高達 29.9 N, 12/6 採收的硬度最低僅 2.7N, 'Abbott'採收時與經過後熟的果肉硬度, 在不同時期採收的變化並不規律。

四、不同採收期間採收時及後熟後全可溶性固形物含量與可滴定酸之變化

三個品種全可溶性固形物含量之變化情形如圖 5 所示, '中興三號'果實採收時的全可溶性固形物, 以 12/20 採收的果實最高達到 11.0°Brix, 11/15 採收者最低僅 6.2°Brix, 後熟後的全可溶性固形物, 以 11/10 採收最高達 13.7°Brix, 12/6 最低為 11.5°Brix, '中興三號'採收時的全可溶性固形物, 有隨著採收期愈晚逐漸增加的趨勢, 但果實經過後熟的全可溶性固形物並無此趨勢; '中興四號'果實採收時的全可溶性固形物以 12/20 採收者最高達 10.5°Brix, 11/10 採收者最低僅 6.6°Brix, 後熟後以 11/15 採收最高達 12.9°Brix, 11/10 採收者最低為 11.3°Brix, '中興四號'採收時的全可溶性固形物, 有隨著採收期愈晚逐漸增加的趨勢, 但經過後熟後的果實全可溶性固形物, 除第一次採收者較低外, 其餘沒有顯著差異; 'Abbott'果實採收時的全可溶性固形物, 以 12/6 採收者最高達 8.6°Brix, 11/10 採收的最低僅 5.6°Brix, 後熟之後的變化並不規律, 各採收時期之間無顯著差異, 'Abbott'採收時的全可溶性固形物, 有隨著採收期愈晚逐漸增加的趨勢, 但後熟後未見此一趨勢。

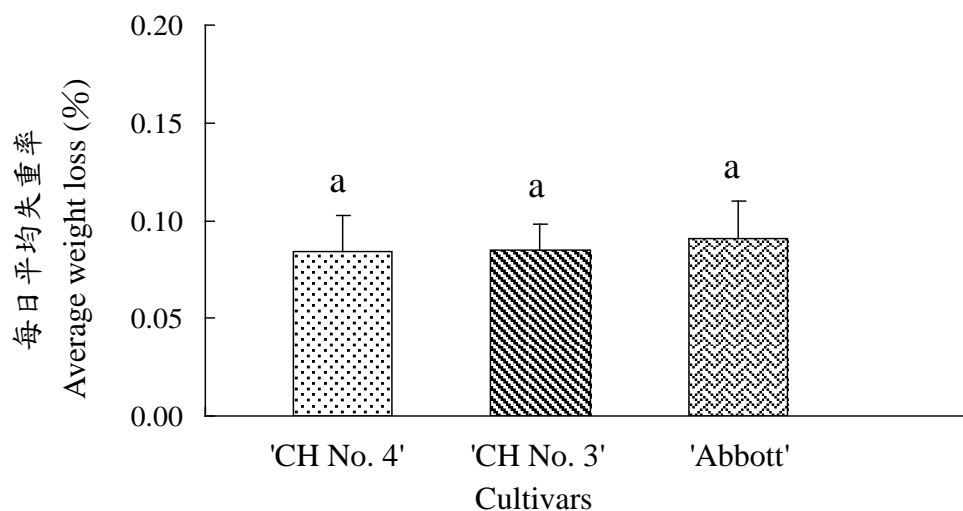


圖 2. 三個獼猴桃品種果實在室溫下後熟每日平均失重率之比較

Fig. 2. Comparison of average weight loss everyday of kiwifruit ripened at room of three cultivars. 'CH No.4'='Chung Hsing No. 4', 'CH No.3'='Chung Hsing No. 3'.

三個品種可滴定酸之變化情形如圖 6 所示，'中興三號'果實採收時的可滴定酸，以 11/10 最高達 2.15，11/29 採收者最低僅 1.76%，果實後熟後的可滴定酸，以 12/27 最高達 1.15%，11/29 採收的可滴定酸最低僅 0.56%，'中興三號'後熟後的可滴定酸，有隨著採收成熟度增加先下降而後升高之趨勢，在採收時果實的可滴定酸無此趨勢，但是另外觀察到前六次採收時的可滴定酸數值高，則後熟的可滴定酸也有較高的趨勢，但末兩次採收則呈現相反趨勢；'中興四號'採收時的可滴定酸，以 12/13 採收最高達 1.78%，11/10 採收者最低僅 1.49%，後熟後的可滴定酸以 11/10、11/22 採收時最高同樣為 0.84%，12/13 採收者最低僅 0.35%，'中興四號'後熟之後的可滴定酸，有隨著採收成熟度增加，先下降而後又逐漸升高之趨勢，在採收時的可滴定酸並無此趨勢；'Abbott'果實採收時的可滴定酸，範圍在 1.45~1.71%之間，各採收時期間無顯著差異，果實經過後熟的可滴定酸以 12/13 採收者最高達 1.09%，以 12/6 採收者最低僅 0.77。

三個品種糖酸比之變化情形如圖 7 所示，'中興三號'果實採收時的糖酸比，以 12/20 採收時最大達 5.92，11/10 採收者最小僅 3.01，後熟後的糖酸比以 11/29 採收的最大達 21.2，12/27 採收者最小僅 13.5，'中興三號'採收時的糖酸比，隨著採收期愈晚有逐漸增加的趨勢，但果實經過後熟的糖酸比，則隨著採收成熟度增加先上升而後又逐漸下降之趨勢；'中興四號'採收時的糖酸比，以 12/6 採收者最大達到 6.49，11/10 與 11/15 採收的最小僅 4.42，果實後熟後的糖酸比，以 12/13 採收者最大達 35.9，11/10 採收者最小僅 13.5，'中興四號'採收時的糖酸比有隨著採收期愈晚逐漸增加的趨勢，而果實後熟後的糖酸比則有隨著採收

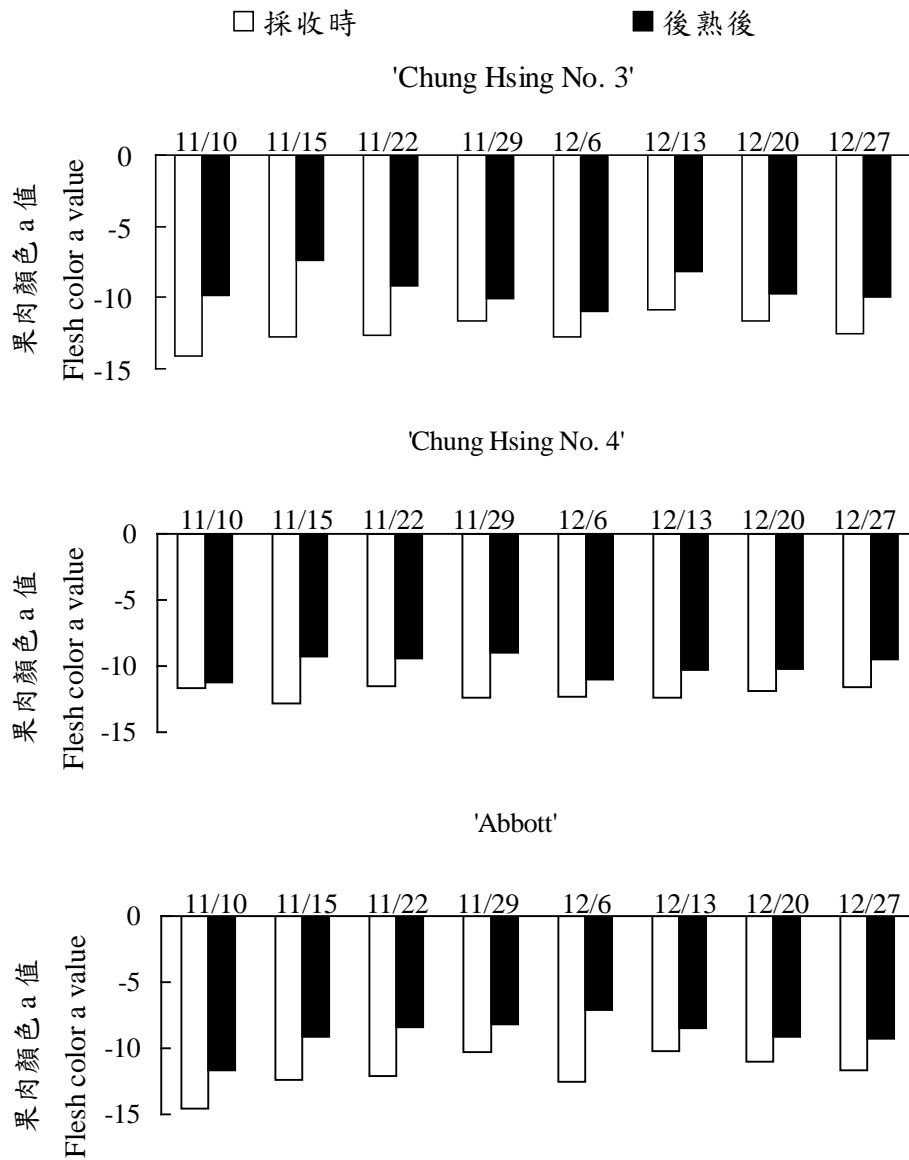


圖 3. 三個獼猴桃品種果實在不同採收時期採收時及後熟後果肉顏色 a 值之變化

Fig. 3. Changes in flesh color a value of three cultivars of kiwifruit harvested on different date at harvest and ripened at room temperature. Date means harvest date.

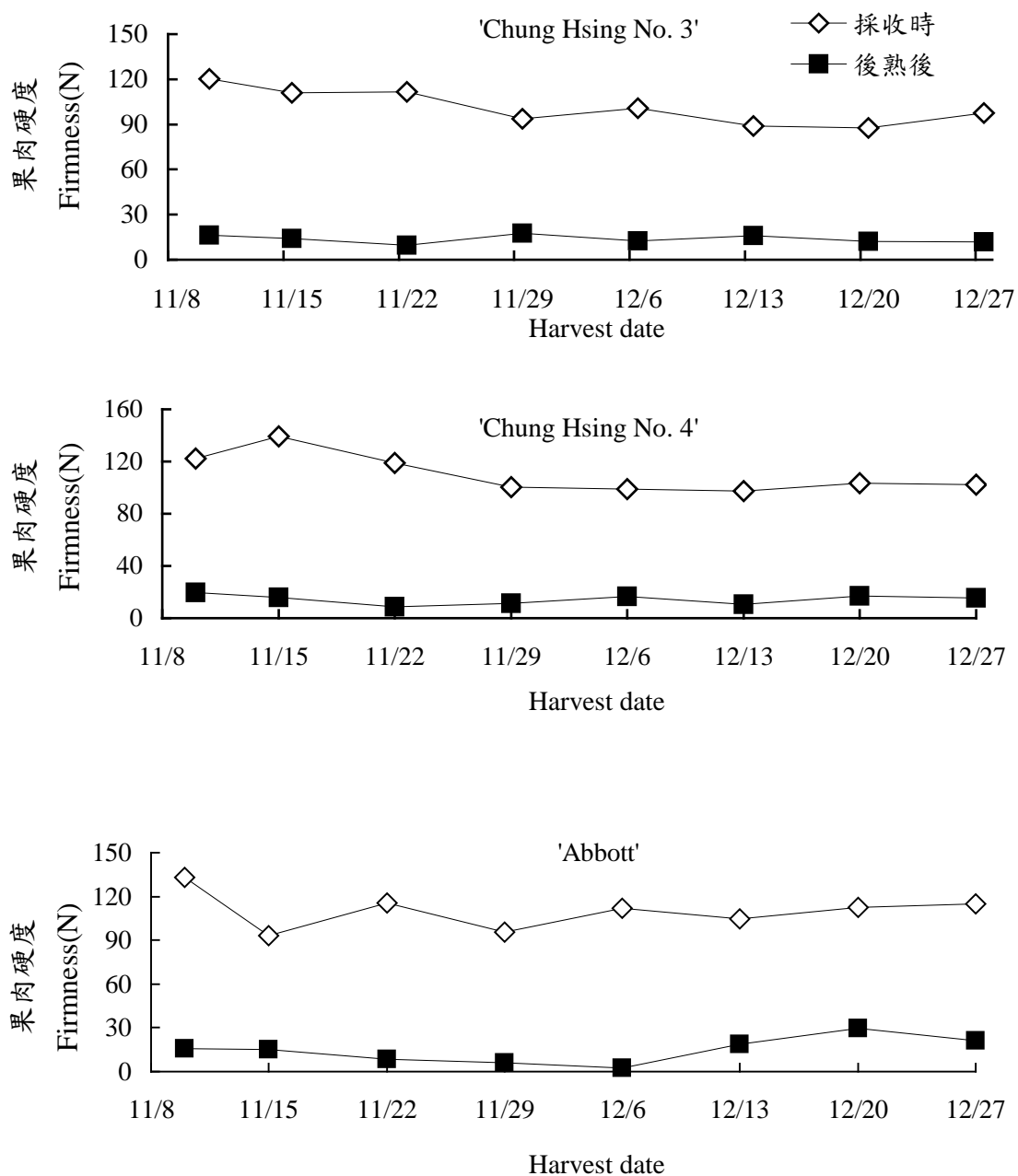


圖 4. 三個獼猴桃品種果實在不同採收時期採收時及後熟後果肉硬度之變化

Fig 4. Changes in flesh firmness of three cultivars of kiwifruit harvested on different date at harvest and ripened at room temperature.

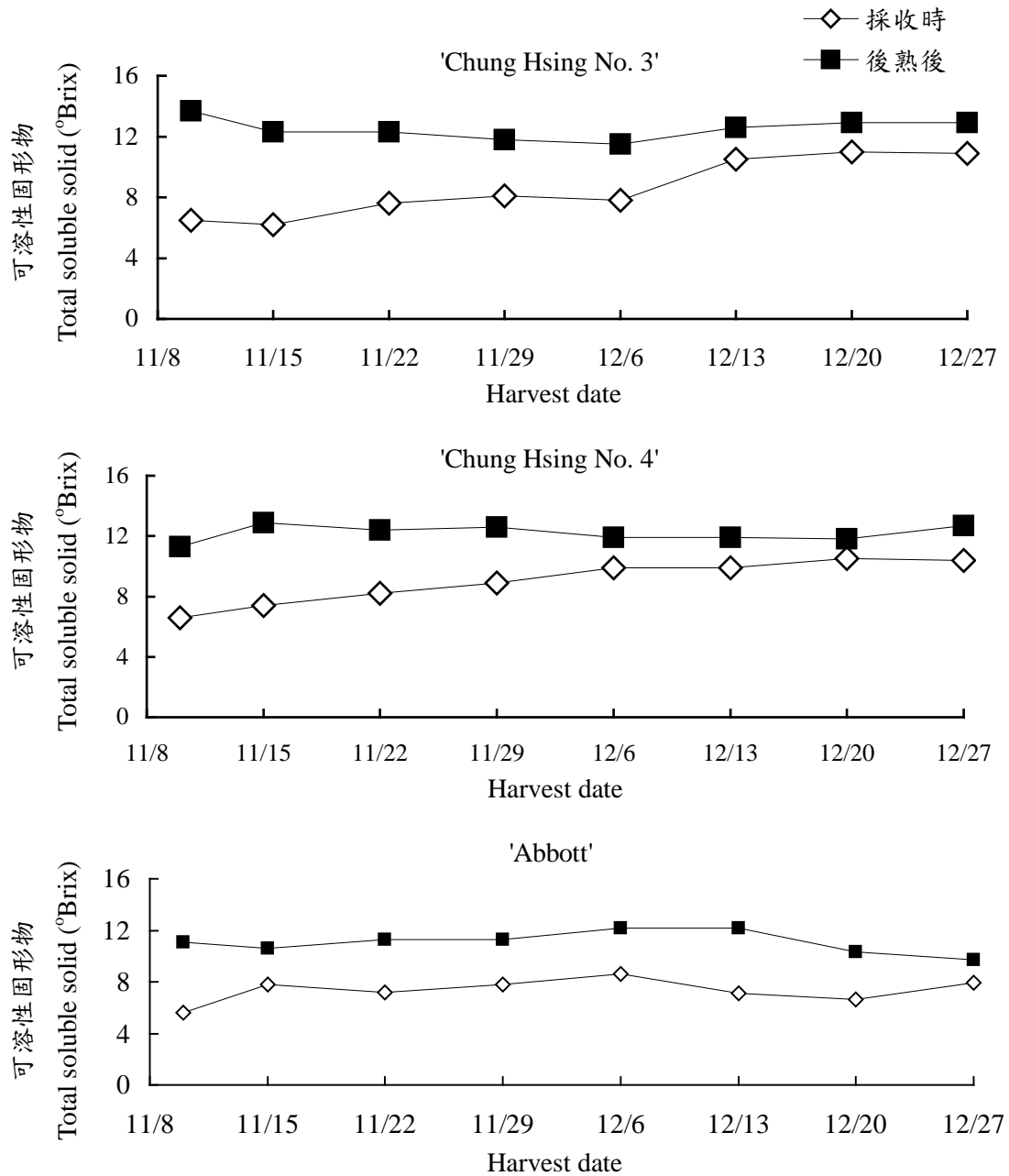


圖 5. 三個獼猴桃品種果實在不同採收時期採收時及後熟後可溶性固形物含量之變化
Fig 5. Changes in content of total soluble solid of three cultivars of kiwifruit harvested on different date at harvest and ripened at room temperature.

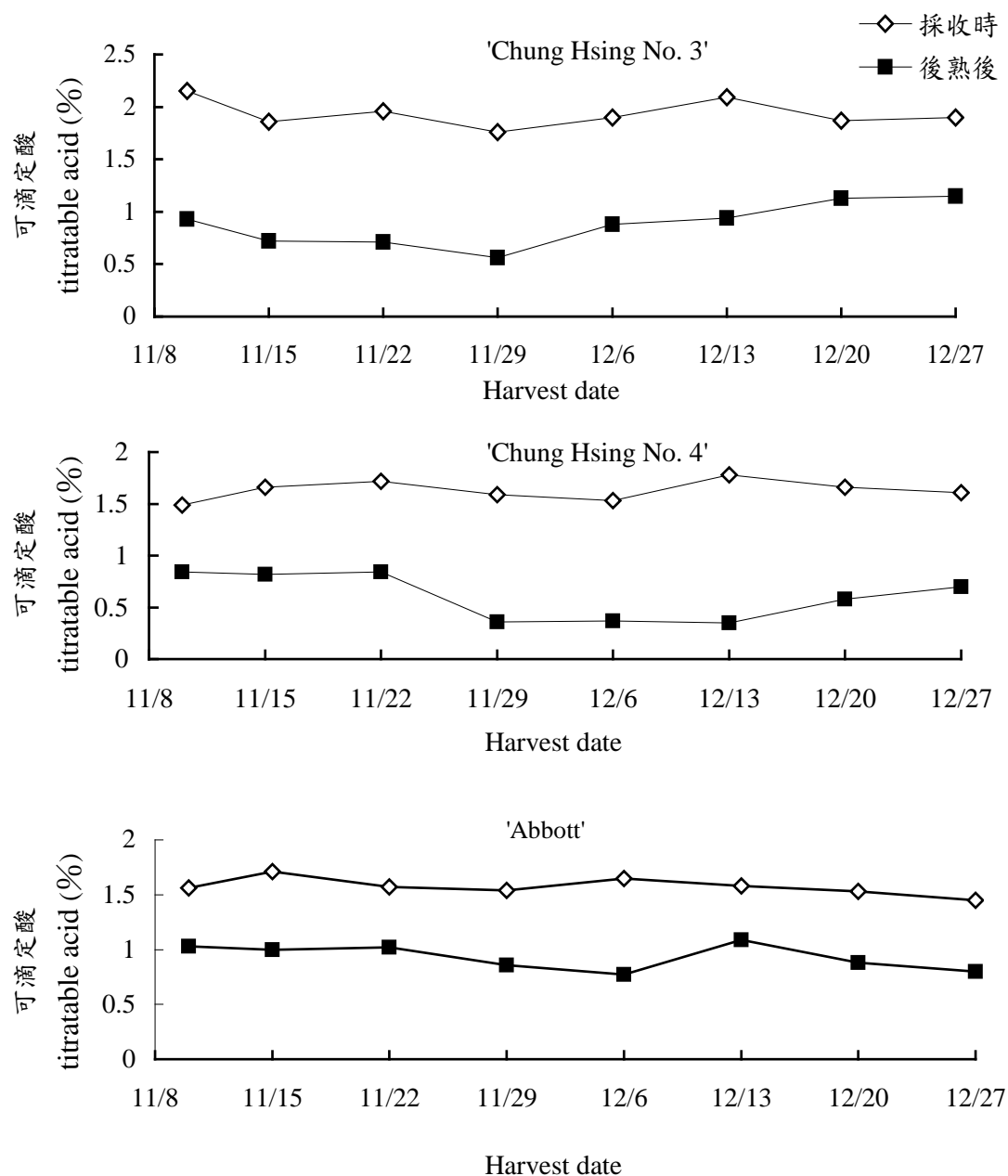


圖 6. 三個獼猴桃品種果實在不同採收時期採收時及後熟後可滴定酸之變化

Fig. 6. Changes in content of titratable acid of three cultivars of kiwifruit harvested on different date at harvest and ripened at room temperature.

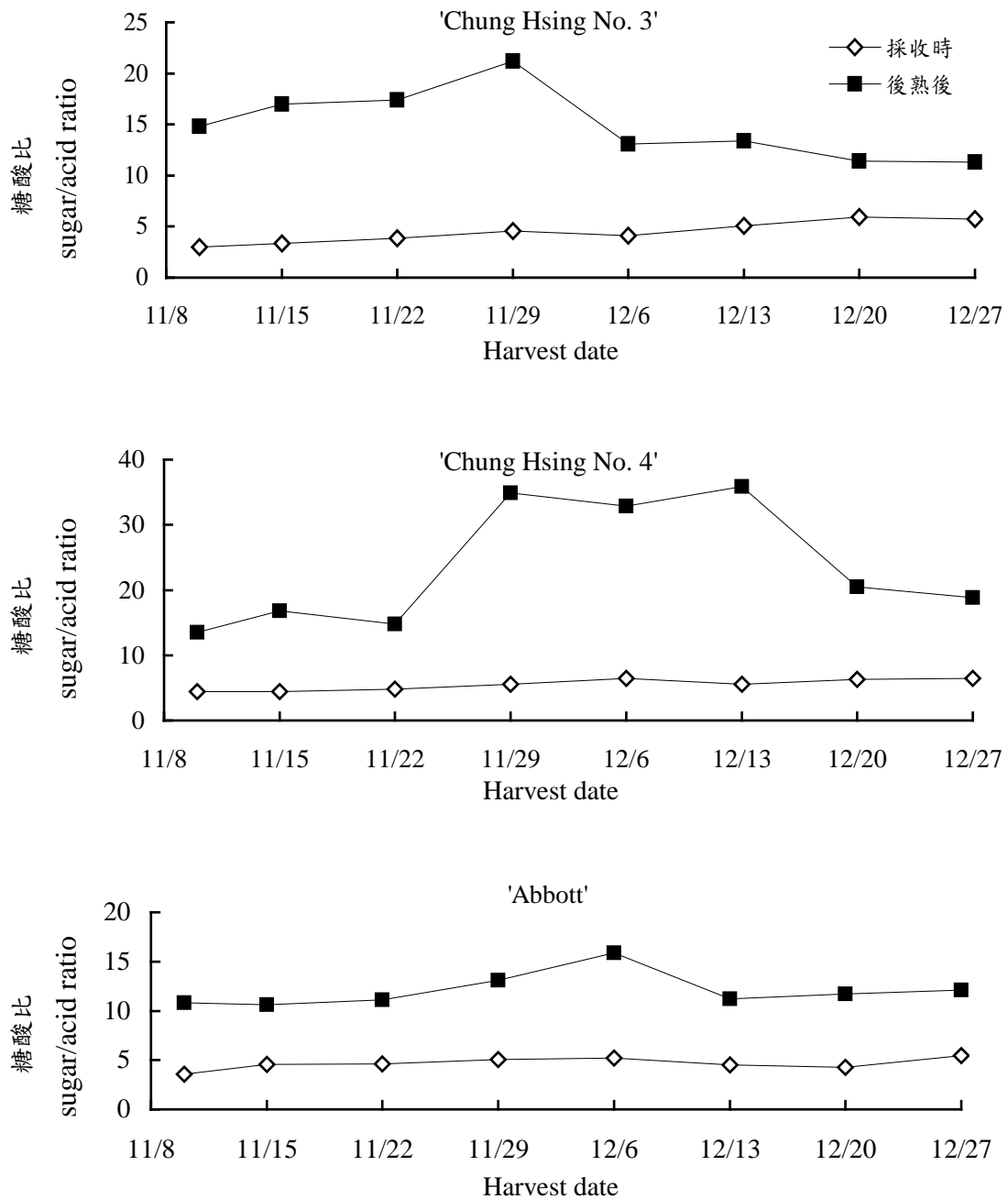


圖 7. 三個獼猴桃品種果實在不同採收時期採收時及後熟後糖酸比之變化

Fig 7. Changes in content of Sugar/acid ratio of three cultivars of kiwifruit harvested on different date at harvest and ripened at room temperature.

成熟度增加，先上升而後又逐漸下降之趨勢；'Abbott'以 12/27 採收時的糖酸比最大達 5.44，11/10 採收者最小僅 3.58，後熟後的糖酸比以 12/6 採收的最大達 15.9，11/15 採收者最小僅 10.6，'Abbott'採收時的糖酸比，有隨著採收期愈晚逐漸增加的趨勢，後熟後的糖酸比則有隨著採收成熟度增加，先上升之後又逐漸下降之趨勢。

五、不同採收期間乙烯產生量及呼吸率之比較

三個品種呼吸率及乙烯產生量之比較如表 1 所示，'中興三號'不同採收時期呼吸率變化，以 11/10 採收的果實乙烯高峰最晚出現，乙烯高峰與呼吸高峰皆在第 50 天出現，乙烯產生量最高達到 $151.3 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸率也是最高，達 $32.4\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ，乙烯高峰次晚出現的是 11/29 採收的果實，乙烯高峰出現在第 35 天，乙烯產生量為 $100.1 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸高峰在第 32 天出現，呼吸率為 $17.1\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ，而乙烯高峰最早出現的是 12/27 採收者，乙烯與呼吸高峰皆在第 12 天出現，乙烯產生量為 $124.6 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸率為 $22.9\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ；不同採收時期的'中興四號'，同樣是 11/10 採收的果實乙烯高峰最晚出現，乙烯高峰在第 78 天出現，乙烯產生量為 $42.5 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸高峰在第 77 天出現，呼吸率為 $11.1\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ，乙烯高峰次晚出現的是 12/6 採收的果實，乙烯與呼吸高峰皆出現在第 52 天，乙烯產生量為 $77.4 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸率為 $11.9\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ，而乙烯高峰最早出現的是 12/20 採收者，乙烯與呼吸高峰皆在第 6 天出現，乙烯產生量為 $95.0 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸率為 $18.0\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ；'Abbott'不同採收時期的果實，也同樣是 11/10 採收的果實乙烯高峰最晚出現，乙烯與呼吸高峰皆在第 80 天出現，乙烯產生量為 $160.6 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸率為 $11.1\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ，乙烯高峰次晚出現的是 11/15 與 12/13 採收的果實，乙烯高峰皆出現在第 53 天，乙烯產生量分別為 196.3 與 $44.5 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，而乙烯高峰最早出現的是 11/29 採收者，乙烯高峰出現在第 8 天，乙烯產生量為 $95.5 \mu\text{l/kg}\cdot\text{hr}$ ，呼吸高峰在第 7 天出現，呼吸率為 $22.3\text{mlCO}_2/\text{kg}\cdot\text{hr}$ 。

討 論

獼猴桃在開花後十週之內是果實迅速生長階段，果實在此一時期體積和鮮重增量約佔整個生長量的 $2/3$ (Pratt & Reid, 1974)，大約在花後 23 週，果實接近成熟期，生長增加很慢 (Beever & Hopkirk, 1990)；韓及黃 (2002) 指出中華和美味獼猴桃果實在樹上的發育期約為 140~180 天，有三個明顯階段：第一階段為迅速生長期，約 45~50 天，此期果實體積和鮮重增量約佔 70~80%、第二階段是慢速生長期約 50 天，此時果實增長較慢、第三階段屬於微弱生長期，此期果實體積增長量小。本試驗採收的果實成熟度(表 1)，分別是花後 21 週到花後 28 週的'中興四號'、'中興三號'，以及花後 22 週到花後 29 週的'Abbott'從，此時期果實已進入慢速生長期或微弱生長期，鮮重變化幅度趨小，採收果實的鮮重頗能呈現當季該品種之特性，總合八次採收的單粒果實平均鮮重(圖 1)，'中興四號'的鮮重

表 1. 三個獼猴桃品種不同採收時期在室溫下呼吸及乙烯更年峰出現時間與產生率之比較
 Table 1. Comparison of the days and rates of respiration and ethylene production peak occurred at room temperature of three kiwifruit cultivars harvested on different date.

品種 Cultivar	花後週數 Weeks	採收日期 Date	呼吸高峰 Respiration peak		乙烯高峰 Ethylene production peak	
			時間 Days	呼吸率 mlCO ₂ /kg·hr	時間 Days	產生量 µl/kg·hr
'CH No. 3'	21	11/10	50	32.4	50	151.3
	22	11/15	20	12.7	23	59.7
	23	11/22	24	14.7	25	101.7
	24	11/29	32	17.1	35	100.1
	25	12/6	16	16.7	19	85.5
	26	12/13	14	22.8	13	140.8
	27	12/20	19	21.4	18	107.5
	28	12/27	12	22.9	12	124.6
'CH No. 4'	21	11/10	77	11.1	78	42.5
	22	11/15	4	14.6	8	85.9
	23	11/22	9	18.4	10	109.4
	24	11/29	7	14.9	7	92.5
	25	12/6	52	11.9	52	77.4
	26	12/13	6	17.7	8	123.0
	27	12/20	6	18.0	6	95.0
	28	12/27	12	15.9	12	100.0
'Abbott'	22	11/10	80	42.9	80	160.6
	23	11/15	52	24.8	53	196.3
	24	11/22	12	18.2	14	66.4
	25	11/29	7	22.3	8	95.5
	26	12/6	10	18.6	11	150.6
	27	12/13	47	18.2	53	44.5
	28	12/20	37	13.4	37	46.5
	29	12/27	14	11.6	14	37.6

'CH No.3'='Chung Hsing No. 3','CH No.4'='Chung Hsing No. 4'.

82.2±7.6g 與'中興三號'的 69.4±5.7g 明顯大於對照的'Abbott'56.3±7.8g，對照市面上常見的商業果品'Hayward'獼猴桃，鮮重約在 80 到 110g 之間，'中興四號'獼猴桃儼然已具有商業果品的鮮重水準，而'中興三號'在本試驗之前的採集，甚至曾測得最大果實鮮重達 150g，深究這些採自中興大學園藝試驗場高冷地分場的獼猴桃果實，其栽培管理未能儘如商業栽培一般周全完善，甚至由於人力缺乏的因素，在灌溉、修剪與病蟲害防治方面，幾近於完全放任狀態，但仍能在果實鮮重有如此表現，由此更可反映出若'中興四號'與'中興三號'在施行商業栽培後，果實鮮重的表現將極具潛力。

隨著果實採收日期愈晚，採收時的全可溶性固形物含量愈高。其中'中興四號'自 6.6 升到 10.5°Brix，'中興三號'自 6.5 升到 11.0°Brix，而對照組'Abbott'從 5.6 升到 8.6°Brix(圖 5)，除了'Abbott'較不明顯外，其他兩個品種果實全可溶性固形物含量，隨著採收期愈晚而明顯增加，較其他測定項目有更規律的變化，更適合作為採收指標。也印證了獼猴桃果實達到生理成熟期時，一般以全可溶性固形物含量，作為判定採收成熟度的依據，例如紐西蘭、智利以 6.2% 為標準，美國及中國則以 6.5% 作為採收獼猴桃的成熟指標(Sale, 1991；Cheah & Irving, 1997；Zoffoli et al., 1999；韓及黃，2002)。台灣若能利用中高海拔地區栽培獼猴桃，將目標放在消費總值約 1.5 億美元的獼猴桃內銷市場(agrapp.coa.gov.tw, 2005)，則可待果實成熟度更高再採收販賣或開放採果，也許能以全可溶性固形物含量更高的果品與外國進口獼猴桃做一市場區隔。

Crisosto 及 Crisosto(2001)指出'Hayward'獼猴桃果實，隨著採收時期延後，可溶性固形物含量愈高，且後熟時的可溶性固形物含量也較高，消費者接受度也較高。本試驗數據顯示隨著採收期愈晚，採收時可溶性固形物含量愈高，但後熟過的可溶性固形物含量並未隨之愈高，是因為測定後熟狀態的時間點，依據果實出現乙烯高峰後才進行測定，此時果實已經超過適合食用的熟度，因此與前人的結論有所出入。

Zoffoli 等(1999)指出獼猴桃在花後 150~170 天，果實可溶性固形物的增加保持一個相對恆定的狀態，之後才迅速上升。本試驗數據顯示獼猴桃'中興三號'果實可溶性固形物的增加在花後 21~25 週有類似上述的恆定狀態，25 週後才迅速增加；'中興四號'則在花後 21~25 週有個持續且穩定的增加，之後才達到較平穩的水準。當'Hayward'獼猴桃後熟的可溶性固形物含量低於 11.6% 時，可滴定酸扮演了左右消費者接受度的重要角色，若可滴定酸大於 1.17% 則接受度明顯地降低(Crisosto & Crisosto, 2001)。從本試驗後熟之後的果實品質變化來看(圖 5、6)，獼猴桃'中興四號'表現最突出，尤其以 11/29 至 12/13 採收的果實，全可溶性固形物含量在 11.9 到 12.6°Brix 之間，可滴定酸低至 0.36 左右，這段時間採收的果實皆有 32.9 以上的糖酸比；'中興三號'則以 11/15~11/29 之間，全可溶性固形物含量在 11.8 到 12.3°Brix，可滴定酸較低，從 0.56 至 0.72 之間，糖酸比達到 17.0 以上。從以上'中興三號'與'中興四號'的果實品質表現來推論，'中興三號'採收適期約在花後 22 到 24 週，而'中興四號'則在花後 24 至 26 週適合採收，其中又以花後 24 週的'中興三號'與花後 25 週的'中興四號'，在室溫下有 35 日以上才達到乙烯高峰(表 1)，且採收時的全可溶性固形物

含量達 8.1°Brix 以上(圖 5)，顯示此時期採收的果實除了有更佳的品質外，更擁有較佳的貯藏潛力。

由於獼猴桃的食用期較短，往往需要在果實生理成熟期進行採收，歷經分級、包裝、運輸等環節，到達消費者手中才不致過了適合食用期(Sale & Lyford, 1990)，因此國外進口的獼猴桃成熟度較低，使得台灣以成熟度較高的本土栽培獼猴桃果實，進行市場區隔成為可能；加上近年來政府對於高山園藝的發展轉趨嚴謹，中高海拔種植果樹被直指為破壞水土的元兇，反觀獼猴桃的品種大多來自人工野生選種，果實多被有厚毛，其病蟲害為所有果樹中最輕微的(韓及黃，2002)，正符合「有機農產品管理作業要點」(organic.niu.edu.tw, 2003)：「選擇環境適應性佳及具有抗病蟲害特性的作物種類或品種，並儘量以生物及遺傳多樣化為原則，改進生產環境之生態多樣化。」在降低環境生態衝擊以及兼顧山區人民生活經濟的前提下，以獼猴桃在台灣的高山地區實施果樹有機栽培，不僅能降低消費者對進口獼猴桃的依賴，而且能幫助農民生計，為台灣高山園藝發展找到一條出路！

參 考 文 獻

- 韓禮星、黃貞光。2002。獼猴桃優質豐產栽培技術。中國農業出版社。中國北京。173 pp。
- Beever, D. J. and G. Hopkirk. 1990. Fruit development and fruit physiology. pp. 97-126, in: I.J. Warrington and G. C. Weston (eds.). *Kiwifruit: science and management*. Ray Richards Publisher, Auckland, New Zealand.
- Cheah, L. H. and D. E. Irving. 1997. *Kiwifruit*. pp.209-227, in: S. Mitra (ed.). *Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits*. CAB International, Wallingford, UK.
- Crisosto, C. H. and G. M. Crisosto. 2001. Understanding consumer acceptance of early harvested 'Hayward' kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 22: 205-213.
- Chen, J., R. Zeng, and P. Li. 2003. Physio-biochemical changes and metabolism of active oxygen during cold storage in *Actinidia deliciosa*. *Acta Hort.* 610: 219-227.
- Ferguson, A. R. 2004. 1904-the year that kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) came to New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 32: 3-27.
- Peng, J. J. and F. Y. Lu. 1996. Actinidiaceae. pp.656-661, in: Editorial Committee of the Flora of Taiwan, 2nd Edition (eds.). *Flora of Taiwan, 2nd Ed., Vol. 2*. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, 2nd Ed., Taipei, Taiwan.
- Pratt, H. K. and M. S. Reid. 1974. Chinese gooseberry: seasonal patterns in fruit growth and maturation, ripening, respiration and the role of ethylene. *J. Sci. Food Agric.* 25:747-757.
- Sale, P. R. 1991. The evolution of kiwifruit production methods. *Acta Hort.* 297: 43-50.

Sale, P. R. and P. B. Lyford. 1990. Cultural, management and harvesting practices for kiwifruit in New Zealand. pp.247-296, in: I.J. Warrington and G.C. Weston (eds.). *Kiwifruit: science and management*. Ray Richards Publisher, Auckland, New Zealand.

Zoffoli, J. P., G. F. Gil, and C. H. Crisosto. 1999. Determination of harvest period of Chilean kiwifruit in relation to fruit quality and temperature during maturation. *Acta Hort.* 498: 247-254.

<http://organic.niu.edu.tw/oaic-english/data/Agricultural%20Products.htm> (行政院農委會。2003。有機農產品管理作業要點。)

<http://agrapp.coa.gov.tw:7001/TS2/TS2Jsp/Index.jsp> (行政院農委會。2005。農產貿易統計查詢系統—進出口量值動態查詢。)

Studies on Optimum Harvest Date of 'Chung Hsing No. 3' and 'Chung Hsing No. 4' Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*)

Ming-Ann Wu ¹⁾ Ching-Chang Shiesh ²⁾ Cheng-Chu Nee ³⁾

Key words: Kiwifruit, Optimum harvest date, maturity

Summary

The intention of this study were to establish the data of optimum harvest maturity and the best storage condition of newly breeding 'Chung Hsing No. 4' and 'Chung Hsing No. 3' kiwifruit to benefit popularization afterward.

'Chung Hsing No. 4' and 'Chung Hsing No. 3' kiwifruit were harvested from 21 weeks after anthesis, their total soluble solid content have approached 6.5~6.6°Brix, which reaches harvesting standard of the imported kiwifruit. Average fresh weight of 'Chung Hsing No. 4' reaches 82.2±7.6g and average fresh weight of 'Chung Hsing No. 3' reaches 69.4±5.7g respectively. To compete with imported kiwifruit, the domestic kiwifruits were harvested as late as possible to obtain higher quality with higher soluble solid content.

As long as Taiwan farmers culture 'Chung Hsing No. 4' and 'Chung Hsing No. 3' kiwifruit on mountain region to product fruit with high quality, they will not only reduce dependence on the imported kiwifruit but also find a way of mountain horticulture in Taiwan.

1) Graduate student, 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.

利用 RAPD 與 ISSR 分子標誌評估楊桃品種間之遺傳歧異度

曾湘琇¹⁾ 陳京城²⁾

關鍵字：楊桃、分子標誌

摘要：本研究以 RAPD (random amplified and polymorphic DNA)與 ISSR(inter simple sequence repeat)分子標誌進行 20 個楊桃(*Averrhoa carambola* L.)栽培品種間遺傳相似度之分析與比較其鑑別能力，試驗結果顯示此二種分析在楊桃栽培品種間均表現高度多型性。

本研究用 14 支 RAPD 引子產生 144 個多型性增殖 DNA 片段，17 支 ISSR 引子產生 195 個多型性增殖 DNA 片段。所產生的片段大小分別介於 1500 bp-190 bp 和 1300 bp-200 bp 之間。將 14 支 RAPD 引子及 17 支 ISSR 引子所產生之多型性 DNA 片段，經 Nei/Li 方法計算其相似性，並以 UPGMA 建構相似度樹狀圖分析，結果以 RAPD 群叢分析能夠將酸味種分群，而 ISSR 群叢分析酸味種與酸味厚斂雖未能直接分群，但也有一定相似度。依花柱長短 RAPD 與 ISSR 皆可大致將受測楊桃品種分群集中。不過，兩種分析方法均無法有效獲得針對果實風味(甜、酸味)及花柱種類(長、短)性狀分群之專屬標誌。

利用 RAPD 與 ISSR 所產生之多型性片段 DNA 的比率分別為 73.47%與 73.31%，其分析能力相近。在品種鑑定方面，RAPD 可鑑別台農一號、甜味、CIND-01、五汴頭反、秤錘、酸味厚斂，ISSR 可鑑別台農一號、甜味、白絲、Golden akarta。

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助理教授，通訊作者。

前 言

楊桃(*Averrhoa carambola* L.)屬羊桃科(Averrhoaceae)羊桃屬(*Averrhoa*)之中型常綠果樹，適應熱帶、亞熱帶的環境條件，耐寒性弱忌霜害。因果實甜酸度不同楊桃可概分為甜味種及酸味種兩類，甜味種果實可直接鮮食，也可入菜或當做沙拉飾品。酸味種楊桃可加工、製果汁、果醬、醋、釀酒，也可糖漬、鹽漬、醬漬，而乾燥後作為蜜餞及四果冰的原料(王,1996)。DNA 分子標誌(molecular marker)具有能直接反應遺傳物質的差異及不受到環境因素所影響等優點。以 PCR 為基礎的分析方法如 AFLP、SSR、RAPD、ISSR 廣泛被應用(Heun *et al*, 1994)，這些方法均只需少量樣品的 DNA 及操作簡易(Bornet *et al*, 2001；Rossetto *et al*, 1995)。RAPD 及微衛星序列在園藝作物上之應用如目標基因的標誌與育種後代選拔：利用 RAPD 及微衛星序列所產生之特定標誌，應用於作物品種育種上可加速其時程並減少金錢與人力的浪費。篩選抗病植株是目前很多作物之育種目標之一，而利用 RAPD 與微衛星序列技術來篩選的園藝作物有很多，如番茄抗白粉病(*Oidium lycopersicum*) (Giovanni *et al*, 2004)、香蕉抗葉斑病(yellow Sigatoka) (Vidal and Garcia, 2000)等。雜交育種早期植株的篩選如櫻桃(Hormaza, 1999)、mandarin(Elisiário *et al*, 1999)、獼猴桃(Shirkot *et al*, 2002)，另外則是作物特殊性狀之選拔如葉緣無刺鳳梨(*Ananas comosus* L., Merr.) (Soneji *et al*, 2002)。親緣相似度之分析：Archak 等人(2002)利用 RAPD 研究 27 個印度番茄品種。Plieske 及 Struss(2001)以 ISSR 分析 32 個油菜(*B. napus* L.)品種及自交系的遺傳變異，用 61 組引子可將之分成冬油菜(winter type)及春油菜(spring type)兩大類，其中冬油菜並可進一步分成七個亞群。除遺傳歧異度之分析外，有學者提出遺傳變異與地理區域間是有關聯性的(Lázaro and Aguinalalde, 1998; Zenglu and Nelson, 2001)。栽培品種之鑑定：傳統的品種鑑定通常是用植株的外部形態、比較解剖、化學分類或是利用染色體的數目、大小與型態等進行，但這些技術時常會遇到如植株特徵會隨不同發育時期及環境變遷或是取得的特徵數量太少而導致對於相近的品種無法做出有效的鑑別。另外品種保護及品種專利在國際間日益受到重視，而為保護栽培者的努力成果，故利用 RAPD 與 ISSR 來做品種鑑別是簡易又快速的方法(蔡, 2001；王等人, 1999；Ling *et al*, 1997；Prevost and Wilkinson, 1999；Charters, 1996)。營養繁殖變異之分析：Chen 等人(1998)以 RAPD 研究 *Phalaenopsis* True Lady 'B79-19'體細胞之變異。在開花的營養繁殖體中，其葉片外觀上是無差異，只有在少數花瓣上有些許變異特徵出現。用此技術證明在遺傳上突變株有異於正常株，並利用其所產生之 RAPD 標誌加以區分突變株。Al-Zahim 等人(1999)亦成功以 RAPD 分析 5 個蒜品種之體細胞變異。

本研究之目的是建立可區別台灣之楊桃品種的 RAPD 與 ISSR 分子標誌，並由其結果了解各品種之形態性狀與其親緣關係，可作為日後雜交育種篩選品種的快速分析方法。

材料與方法

一、試驗材料

由鳳山熱帶園藝試驗分所取得 20 個楊桃品種：台農一號、台農二號、二林、大有、五汫頭反、白絲、石塹、竹葉、秤錘、花地、馬來、甜味、酸味、酸味厚斂、Arkin、B-7、B-17、CIND-01、Golden star、Jakarta 之枝條嫁接於中興大學園藝系之溫網室。

二、試驗方法

(一)葉片 genomic DNA 之萃取

取楊桃嫩葉放入已滅菌之研鉢中以液態氮磨碎，取 50 mg 磨好之葉片用 Qiagen 公司之植物基因組 DNA 萃取套組(DNeasy Plant Mini Kit)。加入 400 μ L 之 AP1 buffer 充份混合後再加入 4 μ L 之 RNase A，於 65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分中後加入 130 μ L 之 AP2 buffer，再震盪混合冰浴 5 分鐘，倒入 QIA shredder 濾管組離心 2 分鐘。收集上層濾液並加入濾液體積的 0.5 倍的 AP3 buffer 及 1 倍的酒精(96-100%)，再放置於 DNeasy mini 過濾管組用 8000 rpm 離心 1 分鐘，去除過濾液。加入 500 μ L 之 AW buffer 離心去除膜上雜質，再用 500 μ L 酒精(99.5%)清洗膜上雜質 1-3 次，加入 100 μ L 之 AE buffer 於膜上置於室溫下 10 分鐘後用 8000 rpm 將 DNA 離心下來，再最後將 genomic DNA 用分光光度計測定其品質優劣並將之濃度稀釋至 50 μ g/ml 備用。

(二)聚合酶連鎖反應(PCR)

PCR 反應溶液總體積 25 μ l 包括 1 \times PCR buffer(Mg²⁺ free) (包含 20mM Tris-HCl (pH 8.0 at 25 $^{\circ}$ C)、100mM KCl、0.1mM EDTA、1mM DTT、50% glycerol、0.5% Nonidet-P40 及 0.5% Tween 20)、2.5 mM MgCl₂、0.2 mM d NTP、1.0 μ M primer、1 unit *Taq* DNA Polymerase、25 ng template DNA。起始變性反應 94 $^{\circ}$ C 6 分鐘、變性反應 1 分鐘、鏈合反應(RAPD: 40 $^{\circ}$ C 45 秒；ISSR:50 $^{\circ}$ C 45 秒)、延長反應 72 $^{\circ}$ C 1 分鐘、反應週期為 40 個循環，最後延長反應 72 $^{\circ}$ C 7 分鐘。

(三)DNA 瓊脂凝膠電泳之分析

1.5% agarose 加入 0.5 \times TBE 電泳緩衝液加熱溶解(w/v)待溫度降至約 60 $^{\circ}$ C，再加入 0.5 μ g/ml EtBr(ethidium bromide)均勻混合後，緩慢倒入製膠槽後待完全凝固。將膠片置於電泳槽(Model OSP-300)中，加入 0.5 \times TBE 電泳緩衝液至完全覆蓋膠片。經 PCR 增殖放大後之 DNA 產物加入 5 μ l Fermentas 公司之電泳追蹤染劑混合後，取 10 μ l 注入膠片樣品槽中進行電泳。電泳完成後以 UV transilluminator 觀察膠片中條帶之位置並照相分析之。

(四)RAPD 及 ISSR 群叢分析

群叢分析(cluster analysis)依據 UPGMA(Unweighted Pair Groups Method using Arithmetic Averages)並以 NT-SYS(Numerical Tajonomy and Multivariate Analysis System)軟體計算其相似度。先分別計算兩品種分析所得的條帶數及兩品種間所共有的條帶數，再將數值帶入遺傳相似性公式： $S = 2N_{xy}/(N_x + N_y)$ 。S：兩品種間的相似性係數(similarity)， N_{xy} :x

與 y 兩品種間共有的條帶數， N_x :x 品種的條帶數， N_y :y 品種的條帶數。所計算之條帶數分成三種，一種是只單獨計算每一引子中所產生的多型性條帶，另一種是計算每引子所產生之總條帶數，最後是將 RAPD 與 ISSR 所產生之多型性條帶合併一起計算。

結 果

一、RAPD 標誌在楊桃栽培品種之鑑別

(一) RAPD 標誌之引子篩選與不同的楊桃栽培品種之鑑別

結果顯示共有 14 支引子分別是 OPA-01、OPA-03、OPA-04、OPD-15、OPE-07、OPG-02、OPG-06、OPG-13、OPG-19、OPI-02、OPI-16、OPJ-04、OPJ-19 可以在 20 個楊桃的栽培品種間產生具有多型性條帶(表 1)。

表 1. RAPD 分析選用之 14 個具多型性條帶引子

Table 1. 14 polymorphic primers used for RAPD analysis.

引子 Primers	5'到3'序列 Sequence 5' to 3'	總條帶數 Total fragments	多型性條帶數 Polymorphic fragments	多型性條帶比率 Polymorphic index (%)
OPA-01	CAGGCCCTTC	12	10	83.33
OPA-03	AGTCAGCCAC	16	7	43.75
OPA-04	ATTCGGGCTG	16	11	68.75
OPD-15	CATCCGTGCT	7	6	85.71
OPE-07	AGATGCAGCC	17	17	100.00
OPG-02	GGCCTGAGG	15	10	66.67
OPG-06	GTGCCTAACC	19	16	84.21
OPG-13	CTCTCCGCCA	12	9	75.00
OPG-19	GTCAGGGCAA	11	7	63.64
OPI-02	GGAGGAGAGG	7	3	42.86
OPI-16	TCTCCGCCCT	16	9	56.25
OPJ-04	CCGAACACGG	15	10	66.67
OPJ-19	GGACACCACT	21	17	80.95
OPL-17	AGCCTGAGCC	12	12	100.00
Total		196	144	
Average		14	10.29	73.47

(二) RAPD 群叢分析

合併 14 支引子所產生的增殖片段 DNA，經 Nei/Li 計算其兩兩品種間之相似性，再以 UPGMA 建構之相似樹狀圖分析之。若只分析多型性增殖 DNA 片段時所得之相似度矩陣表，經 UPGMA 建構後得相似度樹狀圖如圖 1。

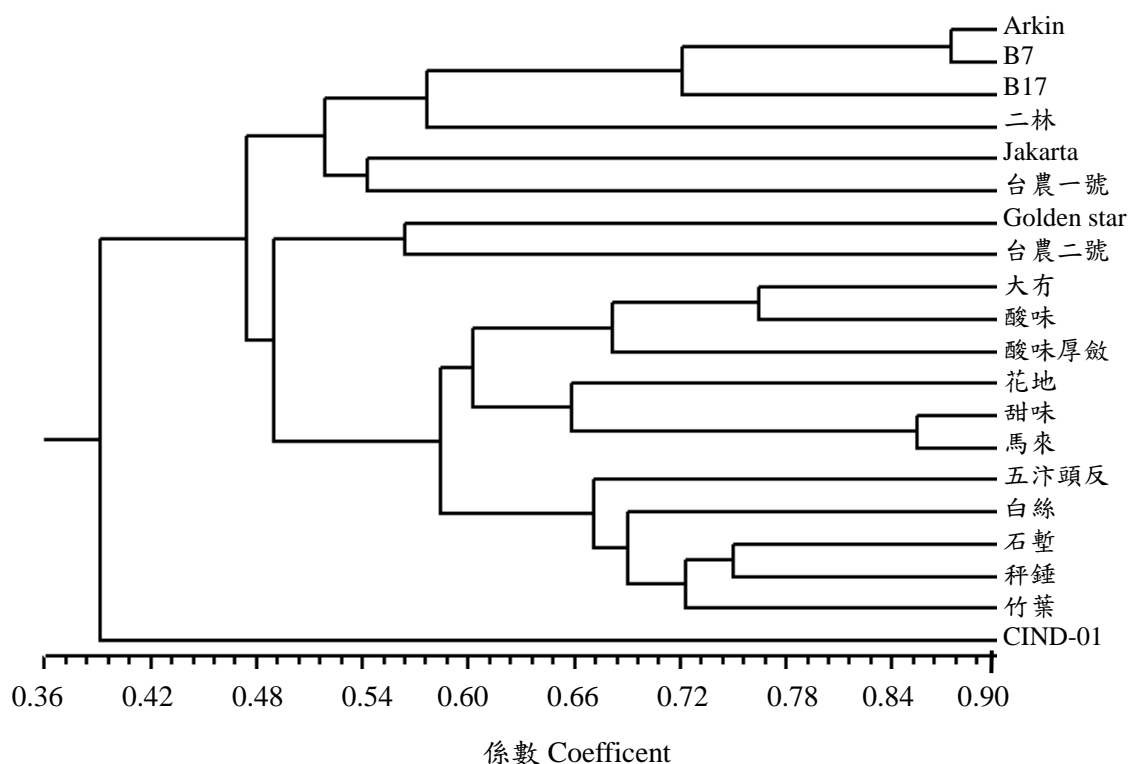


圖 1. 20 個楊桃栽培品種之 RAPD 多型性標誌分析所得相似度矩陣經 UPGMA 群叢分析後建立之相似度樹狀圖

Fig. 1. Dendrogram of 20 carambola cultivars generated by UPGMA cluster analysis based on the similarity matrix of RAPD polymorphic markers.

結果除了 CIND-01 之外，在相似性 47.5% 時可將其他品種概分成 2 群。第 I 群群內相似度為 51.5%，包括 Arkin、B7、B17、二林、Jakarta 與台農一號，其又可分成兩小群。第 1 小群有 Arkin、B7、B17 與二林，小群相似度為 54.5%，其中 Arkin 與 B7 相似性最高為 86%。第 2 小群有 Jakarta 與台農一號，其相似度為 53%。第 II 群有 13 個楊桃栽培品種，群內相似度為 47%，其又可分成兩小群。第 1 小群是 Golden star 與台農二號，其相

似度為 55%。第 2 小群有 11 個楊桃栽培品種，群內相似度為 56.2%，其又可分成兩群。一群群內相似度為 59%，包括有大有、酸味、酸味厚斂、花地、甜味、馬來，其中大有、酸味、酸味厚斂成一小群，其相似度為 67%，其中又以大有與酸味相似度最高為 75%。剩下包括有花地、甜味、馬來，其小群內相似度為 65.5%，而甜味與馬來相似度最高為 85%。另一群包括有五汴頭反、白絲、石塹、竹葉、秤錘 5 個栽培品種，其小群內相似度為 66%，其中以石塹與秤錘相似性最高為 74%，而五汴頭反則是與其 4 個栽培品種相似性最遠。

二、ISSR 標誌在楊桃栽培品種之鑑別

(一)ISSR 標誌之引子篩選與不同的楊桃栽培品種之鑑別

結果顯示 UBC810、UBC815、UBC821、UBC824、UBC835 等共有 17 支引子可以在 20 個楊桃的栽培品種間具有多型性條帶(表 2)。

表 2. ISSR 分析選用之 17 個具多型性條帶引子

Table 2. 17 polymorphic primers used for ISSR analysis.

引子 Primers	5'到 3'序列 Sequence 5' to 3'	總條帶數 Total fragments	多型性條帶數 Polymorphic fragments	多型性條帶比率 Polymorphic index (%)
UBC810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	16	13	81.25
UBC815	CTCTCTCTCTCTCTG	16	8	50.00
UBC821	GTGTGTGTGTGTGTGTT	10	5	50.00
UBC824	TCTCTCTCTCTCTCTCG	15	11	73.33
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	16	15	93.75
UBC836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	21	20	92.24
UBC841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	21	19	90.05
UBC843	CTCTCTCTCTCTCTCTRA	12	11	91.67
UBC844	CTCTCTCTCTCTCTCTRC	12	9	75.00
UBC853	TCTCTCTCTCTCTCTCRT	22	22	100.00
UBC855	ACACACACACACACACYT	12	4	33.33
UBC857	ACACACACACACACACYG	15	9	60.00
UBC864	ATGATGATGATGATGATG	14	4	28.57
UBC866	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	10	3	30.0
UBC876	GATAGATAGACAGACA	18	12	66.67
(CATA)5	CATACATACATACATA A	20	19	95.00
(GACA)5	GACAGACAGACAGACAGACA	16	11	68.75
Total		266	195	
Average		14.18	11.06	73.31

(二)ISSR 群叢分析

合併 17 支引子所產生的增殖片段 DNA，經 Nei/Li 計算其兩品種間之相似性，再以 UPGMA 建構之相似樹狀圖分析。若只分析多型性增殖 DNA 片段時所得之相似度矩陣表如，經 UPGMA 建構之相似度樹狀圖如圖 2。相似度 54%時，除 Golden star 外，其餘分群在一起。在相似度 61%時可將 19 個楊桃栽培品種分成 2 大群，第 I 群群內相似性為 63%，包括 Arkin、B7、B17 及 CIND-01，其中以 B7 與 B17 相似性最高為 77.5%。第 II 群群內相似性為 60%，群內有 15 個楊桃栽培品種，大致上可又分成 2 小群。第 1 小群包括有 Jakarta、台農一號、台農二號、二林、大有、花地、甜味、酸味、馬來種及酸味厚斂 10 個栽培品種，其小群內相似性為 67%，又可分成 2 群。一群是 Jakarta、台農一號、台農二號、二林及大有，其相似度為 72%，又以 Jakarta 與台農一號相似性最高為 82%，台農二號與大有相似性次之為 77%。另一群是花地、甜味、酸味、馬來及酸味厚斂，其相似度為 71.5%，又以酸味與馬來相似性最高為 83%，花地與甜味相似性次之為 82.5%。第 2 小群包括五汙頭反、白絲、石塹、秤錘與竹葉，其小群內相似性為 67.5%，其中以五汙頭反與竹葉相似性最高為 82%。

三、合併 RAPD 與 ISSR 引子之群叢分析

合併 RAPD 分析的 14 支引子與 ISSR 分析的 17 支引子所產生之增殖片段 DNA，經 Nei/Li 計算其兩品種間之相似性，再以 UPGMA 建構之相似度樹狀圖分析。若只分析多型性增殖 DNA 片段時所得之相似度矩陣表，經 UPGMA 建構後得相似度樹狀圖如圖 3。

在相似度 52%時，除 CIND-01 與 Golden star 分群一起外其相似性為 57%，其餘楊桃栽培品種分群在一起。在相似度 56%時，可將 18 個楊桃栽培品種分成 2 大群，第 I 群群內相似性為 71%，包括 Arkin、B7 及 B17，其中以 B7 與 B17 相似性最高為 76.5%。第 II 群群內相似性為 57.5%，群內有 15 個楊桃栽培品種，大致上可又分成 2 小群。第 1 小群包括 Jakarta、台農一號、台農二號及二林等 4 個栽培品種，其小群內相似性為 60.5%，其中以 Jakarta 與台農一號相似性最高為 72.5%。第 2 小群包括大有、花地、甜味、酸味、馬來、酸味厚斂、五汙頭反、白絲、石塹、竹葉及秤錘等 11 個栽培品種，其小群內相似性為 62%。外其小群內又可分兩群，一是大有、酸味、酸味厚斂、花地、甜味、馬來、五汙頭反，除五汙頭反與其相似度最遠，其中大有、酸味、酸味厚斂是為一群其相似度為 72%，又以酸味、酸味厚斂相似度最高為 78.8%。另一群相似度為 72%包括花地、甜味、馬來，又以馬來與甜味相似性最高為 83%。第二群包括白絲、石塹、竹葉及秤錘，其中以竹葉與秤錘相似性最高為 72%。

四、RAPD 及 ISSR 分析中具特殊條帶之引子

利用 RAPD 與 ISSR 可分別鑑別楊桃栽培品種，其結果分述如下：

(一) RAPD 分析結果可鑑別的楊桃品種有台農一號、甜味、CIND-01、五汙頭反、秤錘、酸味厚斂。台農一號：OPA-01₅₂₀、OPA-01₄₈₀ 沒有產生條帶、OPJ-04₃₀₀ 有產生條帶。甜味：OPA-03₃₂₀ 無產生條帶。CIND-01：OPA-04₅₈₀ 無產生條帶。五汙頭反：OPE-07₂₀₀₀、OPJ-14₉₅、

OPJ-14₇₈₀、OPJ-14₂₅₀ 有產生條帶。秤錘：OPJ-04₉₇₀ 有產生條帶。酸味厚斂：OPJ-04₇₂₀ 無產生條帶。

(二) ISSR 分析結果可鑑別的楊桃品種台農一號、甜味、白絲、Golden star、Jakarta。台農一號：UBC815₅₁₀ 沒有產生條帶。甜味：UBC824₈₈₀ 有產生條帶。白絲：UBC855₅₃₀ 沒有產生條帶。Jakarta：UBC835₁₈₀ 沒有產生條帶、UBC836₁₈₀₀、UBC876₁₀₅₀ 有產生條帶。Golgen star：UBC857₇₂₀、UBC857₄₃₀、UBC864₈₄₀ 沒有產生條帶。

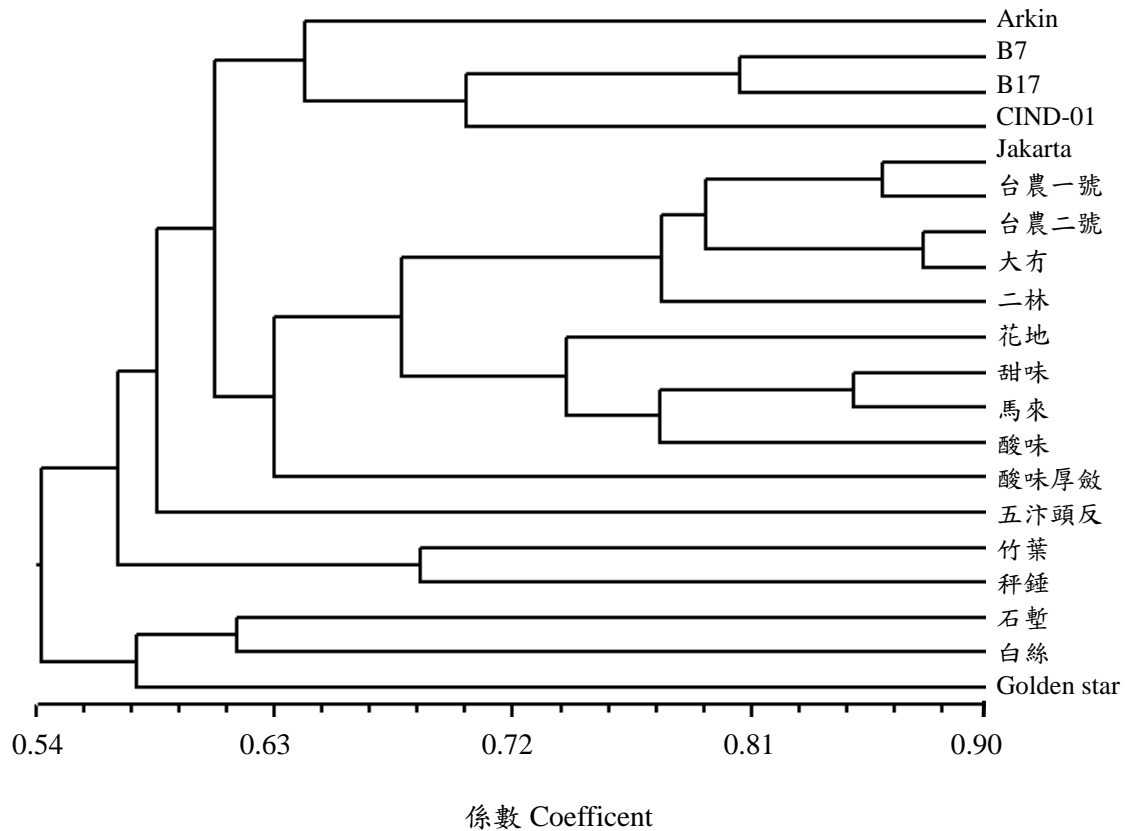


圖 2. 20 個楊桃栽培品種之 ISSR 多型性標誌分析所得相似度矩陣經 UPGMA 群叢分析後建立之相似度樹狀圖

Fig. 2. Dendrogram of 20 carambola cultivars generated by UPGMA cluster analysis based on the similarity matrix of ISSR polymorphic markers.

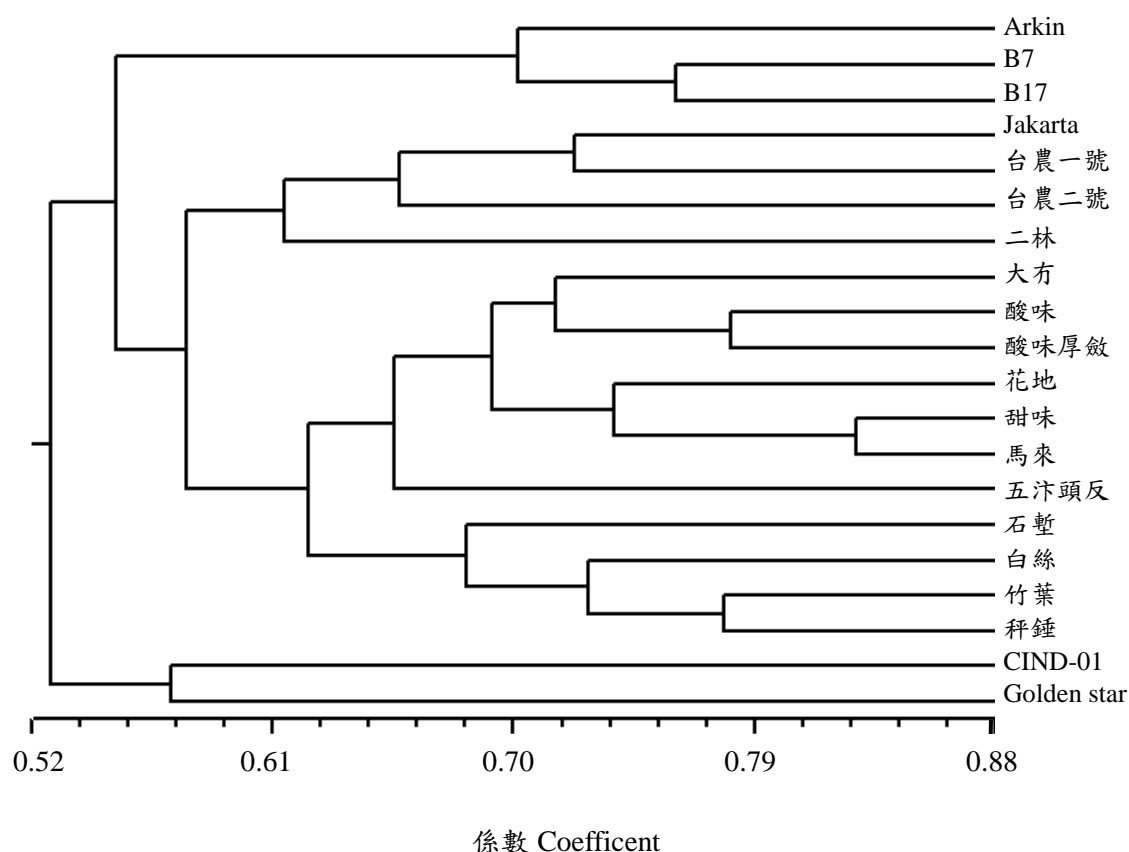


圖 3. 20 個楊桃栽培品種之 RAPD 及 ISSR 多型性標誌分析所得似度矩陣經 UPGMA 群叢分析後建立之相似度樹狀圖

Fig. 3. Dendrogram of 20 carambola cultivars generated by UPGMA cluster analysis based on the similarity matrix of RAPD and ISSR polymorphic markers.

討 論

楊桃花器構造在品種間有相當大的差異，如小花梗長度及顏色、萼片及花瓣大小等特徵可供品種辨認參考。此外楊桃花柱長度在各品種間可明顯區分兩大群，依據 Knight(1965) 分類楊桃的花柱若長過於花絲者為長花柱型(long style)，反之則為短花柱型(short style)，這種特性稱之為兩蕊異長(heterostyly)。另外花柱的長短與果型有關，長花柱品種之果實尾端多為尖形；反之則果實尾端多向內凹入(劉，2000)。本研究中楊桃屬長花柱品種有：秤錘、酸味、酸味厚斂、竹葉、五汴頭反、白絲、石塹、花地及 Golden star；短花柱品種有：台農一號、台農二號、二林、大有、馬來、甜味、Jakarta 及 Arkin。本研究利用 RAPD 與

ISSR 分析結果大致都可依花柱長短分群集中。

RAPD 不論是單獨分析多型性增殖片段 DNA 或全部增殖 DNA 片段一起分析時，其分群結果差異不大，唯有 CIND-01 的分群位置並不確定，以多型性增殖片段 DNA 分析時，其沒有與任何一個品種成群且其與 19 個楊桃栽培品種相似度只有 47.5% (圖 1)，ISSR 不論是單獨分析多型性增殖片段 DNA 或全部增殖 DNA 片段一起分析時，其分群結果差異不大，唯有 Golden star 的分群位置並不確定。以多型性增殖片段 DNA 分析時，其沒有與任何一個品種成群且其與 19 個楊桃栽培品種平均相似度只有 59.4% (圖 2)。若是以 RAPD 與 ISSR 的多型性增殖 DNA 片段綜合起來分析，則分群的結果與單獨用 RAPD 及 ISSR 的多型性增殖 DNA 片段或全部增殖 DNA 片段分析的結果雷同且更能夠有效分群，其中 CIND-01 與 Golden star 獨立成群且相似度為 57% (圖 3)。

綜合以上 5 種分析的結果可確定五汙頭反、白絲、石塹、竹葉及秤錘這 5 個栽培品種是相似度較接近的一群，其植株的性狀特徵皆為長花柱型。石塹及竹葉之小花顏色皆為白-紫紅色，果實皆略有澀味但具有清香並為鮮食用，果皮皆無光澤並有斑點，果稜皆為綠色。B7、B17 與馬來種是由馬來西亞所引進台灣的，但在 RAPD 的分析結果 Arkin、B7 與 B17 三者分群集中且 Arkin 與 B7 相似度較高，而馬來種則是分佈在不同群且與甜味種相似度較高。在 ISSR 的分析結果 Arkin、B7 與 B17 三者分群集中且是 B7 與 B17 相似度較高，而馬來種則是分佈在不同群且與酸味種相似度較高。因此可以確定 Arkin、B7 與 B17 是相似度較接近的一群且其皆是短花柱型。Jakarta、台農一號、台農二號與二林是相似度較接近的一群，其植株的性狀特徵皆為短花柱型。四者之小花顏色皆為白-紫紅色，果實除二林略有澀味外其餘沒有，果實皆有清香，除 Jakarta 為加工用其餘為鮮食用，果皮除二林無光澤外其餘皆有，台農一號與二林之果皮有斑點且果稜皆為白綠色。Jakarta、台農二號之果皮少有斑點且果稜皆為橙黃色。其中台農一號是二林種與蜜絲種、歪尾種混植行自然雜交，於二林種實生後代選育而得，但台農一號在此分群中卻是與 Jakarta 相似度高於二林種，另外台農二號是由馬來西亞引進的品系中 76-B-10 篩選而來。

利用 ISSR 分析 20 個不同楊桃栽培品種結果發現二核苷酸為單元的組成作為引子所獲得之多型性 DNA 片段最多，篩選後的 17 支引子當中有 12 支是二核苷酸為單元的組成，相較之下其他同時測試篩選的三核苷酸、四核苷酸為單元的組成多不存在或不具多型性，此與前人研究報告中所提出之結果有相似之處。如 Ratnaparkhe 等人(1998a)利用 ISSR 進行小藜豆抗病基因篩選研究中，發現二核苷酸為單元的組成以(GA) n 與(TG) n 之形式大量存在其基因中，另外(AC) n 更是與小藜豆抗青枯病之基因有關聯性。王等人(2001)利用 ISSR 分子標誌分析火鶴花栽培品種間之遺傳相似性中也發現在篩選多型性最高的 7 個引子中全部都是由二核苷酸為單元的組成，其中(TC) n 就佔了 4 個。本研究中因二核苷酸為單元的組成形式沒有特定，故無法判定楊桃是以何種二核苷酸為單元的形式大量存在於基因中。

利用 RAPD 與 ISSR 分析所產生多型性片段 DNA 的平均分別為 73.47% 與 73.31%，其鑑別分析品種能力相近。兩者用於楊桃單一栽培品種之鑑定能力也相近，RAPD 產生 11 條特殊條帶，可分別用於鑑別台農一號、甜味、CIND-01、五汙頭反、秤錘、酸味厚斂；

ISSR 產生 9 條特殊條帶，可用於鑑別台農一號、甜味、白絲、Golden star、Jakarta。其中 RAPD 中有 OPE-07 與 OPL-17 二個引子可產生 100% 的多型性片段 DNA，ISSR 中有 UBC853 也可可產生 100% 的多型性片段 DNA。RAPD 與 ISSR 分析所產生多型性片段 DNA 的比率分別為 42.86%-100% 與 28.57%-100%。

參 考 文 獻

- 王武彰。1996。台灣農家要覽(上) 楊桃。豐年 p.760-764。
- 王昭月、莊耿彰、范明仁。1999。以逢機增殖多型性 DNA(RAPD)進行火鶴花栽培種鑑定與遺傳歧異性之分析。中華農業研究，48(4):52-63。
- 王昭月、莊耿彰、范明仁。2001。以 ISSR 與 RAPD 分子標誌分析火鶴花栽培種間遺傳相似性。中華農業研究，50(1):54-67。
- 蔡奇助。2001。DNA 分子標誌在文心蘭品種鑑別之應用。高雄區農業專訊，38:20-21。
- 劉碧鵬。2000。楊桃品種與性狀。楊桃綜合管理(各論)。行政院農委會農藥毒物試驗所，p.195-199。
- Al-Zahim, M. A., B. V. For-Lloyd, and H. J. Newbury. 1999. Detection of somaclonal variation in garlic (*Allium sativum* L.) using RAPD and cytological analysis. Plant Cell Rep. 18:473-477.
- Archak, S., J. L. Karihaloo, and A. Jain. 2002. RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars. Curr. Sci. 82:1139-1143.
- Bornet, B., and M. Branchard. 2001. Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers:reproducible and specific tools for genome fingerprinting. Plant Mol. Biol. Rep. 19:209-215.
- Charters, Y. M., A. Robertson, M. J. Wilkinson, and G. Ramsay.1996. PCR analysis of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*) using 5'-anchored simple sequence repeat (SSR) primers. Theor. Appl. Genet. 92:442-447.
- Chen, W. H., T. M. Chen, Y. M. Fu, R. M. Hsieh, and W. S. Chen. 1998. Studies on somaclonal variation in *Phalaenopsis*. Plant Cell Rep. 18:7-13.
- Elisiário, P. J., E. M. Justo, and, J. M. Leitão. 1999. Identification of mandarin hybrids by isozyme and RAPD analysis. Sci. Hort. 81:287-299.
- Giovanni, C. D., P. D. Orco, A. Bruno, F. Ciccarese, C. Lotti, and L. Ricciardi. 2004. Identification of PCR-based markers (RAPD, AFLP) linked to a novel powdery mildew resistance gene (*ol-2*) in tomato. Plant Sci. 166:41-48.
- Heun, M., J. P. Murphy, and T. D. Phillips. 1994. A comparison of RAPD and isozyme for determining the genetic relationships among *Avena sterilis* L. accessions. Theor. Appl.

- Genet. 87:689–696.
- Hormaza, J. I. 1999. Early selection in cherry combing RAPDs with embryo culture. *Sci. Hort.* 79:121-126.
- Knight, R. J., and Jr. 1965. Heterostyly and pollination in carambola. *Proc. Fla. State Hort. Sci.* 78:75-78.
- Lázaro, A., and I. Aguinagalde. 1998. Genetic diversity in *Brassica oleracea* L. (Cruciferae) and wild relatives (2n=18) using RAPD markers. *Ann. Bot.* 82: 829-833.
- Ling, J. T., R. Sauve, and N. Gawel. 1997. Identification of poinsettia cultivars using RAPD markers. *Hortscience.* 32:122-124.
- Plieske, J., and D. Struss. 2001. Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica*. I. development in *Brassica napus* and abundance in *Brassicaceae* species. *Theor. Appl. Genet.* 102:689–694.
- Prevost, A., and M. J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 98: 107-112.
- Ratnaparkhe, M. B., D. K. Santra, A. Tullu, and F. J. Muehlbauer. 1998a. Inheritance of inter-simpler- sequence-repeat polymorphism and linkage with a fusarium wilt resistance gene in chickpea. *Theor. Appl. Genet.* 96:348-353.
- Rossetto, M., P. K. Weaver, and K. W. Dixon. 1995. Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered
- Shirkot, P., D. R. Sharma, and T. Mohapatra. 2002. Molecular identification of sex in *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* by RAPD markers. *Sci. Hort.* 94:33-39.
- Soneji, J. R., P. S. Rao, and M. Mhatre. 2002. Suitability of RAPD for analyzing spined and spineless variant regenerants of pineapple (*Ananas comosus* L., Merr.). *Plant Mol. Biol. Rep.* 20:307a-307i.
- Vidal, M. D. C., and E. D. García. 2000. Analysis of a *Musa* spp. somaclonal variant resistant to yellow sigatoka. *Plant Mol. Biol. Rep.* 18:23-31.
- Zenglu, L., and R. L. Nelson. 2001. Genetic diversity among soybean accessions from three countries measured by RAPDs. *Crop Sci.* 41:1337-1347.

Assessment of Genetic Diversity among Carambola (*Averrhoa carambola L.*) Cultivars by RAPD and ISSR Markers

Shung-Sui Tseng ¹⁾ Ching-Cheng Chen ²⁾

Key words: carambola, molecular markers

Summary

Twenty carambola (*Averrhoa carambola L.*) cultivars were evaluated and compared by using RAPD (random amplified and polymorphic DNA) and ISSR (inter simple sequence repeat) markers. The object was to assess genetic similarity between cultivars and to search for identification markers for individual cultivars. The results indicated that both methods revealed high degree of polymorphism.

A total 196 amplified DNA fragments were generated by fourteen selected RAPD primers and in which 144 fragments were polymorphic. The sizes of DNA fragments were between 1500 bp and 190 bp. A total 266 amplified DNA fragments, including 195 polymorphic fragments, were generated by seventeen selected ISSR primers. The sizes of DNA fragments were between 1300 bp and 200 bp. The similarity between cultivars were estimated using the Nei/Li formula based on the total amplified and polymorphic DNA fragments by using RAPD and ISSR. The similarity dendrograms of twenty carambola cultivars were generated by UPGMA cluster analysis. The results showed that UPGMA cluster analysis based on RAPD similarity matrix could separate the sweet and sour flavor carambola cultivars. In contrast, ISSR markers could not effectively separate them. The results of RAPD and ISSR analysis could separate and group up carambola cultivars based on two style types. However, the results of both methods did not produce any specific markers for fruit flavors (sweet or sour) and style types (long or short).

The ratios of polymorphic DNA fragments produced by RAPD and ISSR analysis were 73.47% and 73.31%, respectively. For identification of individual carambola cultivars, Tainung No.1, Tian wei, CIND-01, Wu bian tou fan, Cheng chui and Suan wei hou lian can be identified by RAPD. Tainung No.1, Tian wei, Pai si, Golden star and Jakarta can be identified by ISSR.

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

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

Corresponding author.

貯藏溫度及時間對酪梨果實貯藏壽命及品質之影響

楊智媛¹⁾ 謝慶昌²⁾

關鍵字：低溫貯藏、貯藏壽命、果實品質、酪梨

摘要：酪梨果實貯藏壽命及品質會受到貯藏溫度及時間的影響。本試驗中共分 1、3、6、9、12、15°C 共 6 種貯藏溫度以及 2、4、6、8 週 4 種貯藏時間進行貯藏試驗，藉此觀察不同貯藏溫度及時間對‘嘉選三號’酪梨果實貯藏壽命及品質之影響。試驗結果指出在 12°C 與 15°C 下當貯藏時間超過 2 週後，果實會出現後熟軟化或腐爛的現象，無法繼續貯藏。而在 1°C、3°C、6°C 下貯藏 2 週，‘嘉選三號’酪梨果實則會產生果皮褐化、果肉褪色以及無法後熟正常軟化的寒害徵狀。貯藏於 9°C 下的果實則可以貯藏到 6 週仍然不會出現果肉褪色的寒害症狀。

前 言

由於 10 月份到 12 月份之間為國內酪梨生產之空窗期，中生種無果實可採，而晚生種果實尚不能採收，為能在青黃不接之際仍能供應市場需求，因此需要尋求適當的貯藏方法。‘嘉選三號’酪梨是由嘉義試驗分所選育出來的品系，普遍栽培於嘉義地區，特性趨於西印度系，果為長梨形，果肩傾斜，種子中等大小。成熟時果皮光滑暗綠，後熟後果皮為仍呈暗綠。果皮厚而革質，易剝皮，果肉重 270-720 克，油分約 13-16%，果味溫和芳香，產期在 8 月至 10 月初，為品質良好的中生種酪梨(鍾, 1997)，因此若能經由貯存方式使此品種供貨期延至 10-12 月間，則能使產值及價格更加提昇。本試驗中以‘嘉選三號’酪梨進行不同溫度的貯藏以期規劃出‘嘉選三號’酪梨的適宜貯藏條件，延長酪梨供貨時期。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

材料與方法

一、試驗材料及方法

本試驗以嘉義市地區生產之‘嘉選三號’酪梨為材料。於 2004 年 9 月 14 日採收。採收後果實於當日攜回試驗室，選擇無受傷果實，留下 2 公分長果梗，作為材料。

將果實逐果以 0.03mm 未打孔聚乙烯塑膠袋包裝後，分別置於 1、3、6、9、12、15°C 恆溫箱中貯藏，並於貯藏後第 2、4、6、8 週時，分別取出 9 果調查。將取出果實置於室溫下回溫 3 小時，之後噴灑益收(Ethrel 39.5%)1000 倍溶液並密閉 12 小時。取出後置入相對溼度為 85%以上、溫度 25°C 的通氣壓力箱中，後熟 4 日再進行品質調查。

二、調查項目及方法

(一)果皮顏色

在酪梨果實赤道處果皮以色差儀(Handy colorimeter, Nippon Denshoku 出品, Model NR-3000)分別測定 L、a*、b*、C、H 值，一個果實測定兩點。L 值表示果實明亮度，a* 值表紅綠程度，a* 值為正代表顏色偏紅；a* 值為負代表顏色偏綠。b* 值代表黃藍程度，b* 值為正代表顏色偏黃；b* 值為負，代表顏色偏藍。C 值為彩度(Chroma)，數值越高則表示色彩濃度越高；H 值為色相角(Hue angle)，表示果實顏色色相之變化，色相角為 0 度為紅色-紫色(red-purple)；90 度為黃色(yellow)；180 度為藍-綠色(bluish-green)；270 度為藍色(blue)。

(二)果肉顏色

將果實縱切之後，於果實中段處果肉部位以色差儀(Handy colorimeter, Nippon Denshoku 出品, Model NR-3000)分別測定 L、a*、b*、C、H 值，一個果實測定兩點。

(三)果肉硬度

將果實於赤道處橫切，於切面上以硬度計(Penetrometer F327)測定單位面積內穿刺果肉所需最大重量，探針直徑為 8mm，一個果實測量兩點求其平均值。讀取單位為 lb，讀值乘以 4.4492 後換算為牛頓力(N)，作為表示硬度之單位。

結 果

一、果皮及果肉顏色

貯藏 2 週後，各溫度處理在催熟第 4 天之後果皮大多褐化，與未經貯藏的對照組相較之下 L 值、b* 值、C 值與 H 值都是較低的，L 值與 H 值在各組間並沒有明顯的差異；b* 值與 C 值則是以 12°C 貯藏處理的數值最低。a* 值部分則都比對照組高，但其中以 15°C 與對照組的差異最大(表 1)；這表示，隨著貯藏溫度的增加，在貯藏 2 週後果皮的顏色會出現褐化的現象。在果肉顏色的部分，經過貯藏的處理組，其 L 值、b* 值、C 值與 H 值還是比對照組低的；而 a* 值則比對照組高。其中又以 1°C 與 3°C 貯藏果實的 b* 值明顯低於其

表 1. 不同溫度貯藏 2 週後‘嘉選三號’酪梨果實在 25°C 下催熟第 4 天果皮顏色之變化

Table 1. The peel color of ‘CAES 3’ avocado fruits after storage at various temperature for 2 weeks and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Peel color				
	L	a*	b*	C	H
H ^y	36.7 a ^z	-1.5 b	24.4 a	24.7 a	92.2 a
1°C	25.8 b	9.8 a	6.8 b	12.6 b	30.6 b
3°C	25.9 b	9.9 a	5.7 bcd	11.7 bc	28.5 b
6°C	25.1 b	9.7 a	4.6 bcd	10.8 bc	30.3 b
9°C	26.8 b	9.1 a	4.1 cd	10.0 bc	23.8 b
12°C	26.2 b	8.4 a	3.4 d	9.1 c	22.0 b
15°C	27.1 b	10.3 a	6.5 bc	12.4 b	32.3 b

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

他組別，顯示其果肉轉色程度較差(表 2)。另外，1°C 與 3°C 貯藏的果實在回溫後都有出現維管束褐化的現象。

貯藏 4 週時，各溫度貯藏在催熟第 4 天之後的果肉顏色部分，1°C 與 3°C 貯藏的果實在 L、a*、b*、C 及 H 值都較為接近，且與未經貯藏的對照組差異最大；15°C 貯藏的果肉顏色則和對照組最為接近(表 3)。

貯藏 6 週後，在果皮顏色的部分只有 9°C 貯藏的果實在 L 值、a* 值、b* 值、C 值及 H 值間與對照組較接近(表 4)，其餘貯藏溫度的果實在催熟第 4 天後果皮大多轉為黑褐色。在果肉顏色的部分也是以 9°C 貯藏的果實在 L 值、a*、b*、C 及 H 值間與對照組較接近(表 5)，但此時 9°C 貯藏的果實果肉中維管束有少量褐化現象，而其他三種溫度貯藏的果實果肉顏色則大多轉為灰黃色，尤其是 6°C 貯藏的果實特別明顯。

貯藏 8 週後只剩下 1°C、3°C 以及 6°C 貯藏的果實，剛取出時 6°C 貯藏的果實表皮就有深褐色的塊斑，在催熟 4 天後，6°C 貯藏的果皮顏色均已變成黑褐色，反倒是以 1°C 貯藏的果實其果皮還能保有大部分的綠色，在 L 值、a* 值、b* 值、C 值及 H 值間與未經貯藏的對照組較接近(表 6)。果肉顏色的部分，3 個處理的果肉都出現褪色、維管束褐化的寒害症狀，但是以 6°C 貯藏的處理最為嚴重，其果肉近乎全黑。在 L 值、a* 值、b* 值、C 值及 H 值的部分也與對照組差距最大(表 7)。

表 2. 不同溫度貯藏 2 週後 ‘嘉選三號’ 酪梨果實在 25°C 下催熟第 4 天果肉顏色之變化
 Table 2. The pulp color of ‘CAES 3’ avocado fruits after storage at various temperature for 2 weeks and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Peel color				
	L	a*	b*	C	H
H ^y	78.4 a ^z	-5.0 b	52.7 a	53.2 a	95.5 a
1°C	65.9 b	2.2 a	37.1 d	37.5 b	85.6 b
3°C	64.4 b	2.2 a	37.4 d	37.6 b	85.4 b
6°C	60.5 b	4.4 a	38.7 cd	50.3 ab	82.5 b
9°C	60.3 b	4.7 a	39.4 cd	40.0 a	81.7 b
12°C	64.8 b	2.4 a	45.2 b	45.5 ab	86.6 b
15°C	62.6 b	3.0 a	42.8 bc	43.2 ab	84.9 b

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

表 3. 不同溫度貯藏 4 週後 ‘嘉選三號’ 酪梨果實在 25°C 下催熟第 4 天果肉顏色之變化
 Table 3. The pulp color of ‘CAES 3’ avocado fruits after storage at various temperature for 4 weeks and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Pulp color				
	L	a*	b*	C	H
H ^y	78.4 a ^z	-5.0 d	52.7 b	53.2 b	95.5 a
1°C	59.8 c	3.5 a	29.8 e	30.2 e	82.5 cd
3°C	59.3 c	3.7 a	27.8 e	28.3 e	81.6 d
6°C	66.3 b	1.0 bc	36.0 d	36.3 d	87.4 b
9°C	69.9 b	0.4 bc	42.8 c	43.1 c	88.7 b
12°C	60.4 c	2.2 ab	40.3 c	40.6 c	86.4 bc
15°C	71.1 b	-0.3 c	57.2 a	57.3 a	90.4 b

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

表 4. 不同溫度貯藏 6 週後 ‘嘉選三號’ 酪梨果實在 25°C 下催熟第 4 天果皮顏色之變化
 Table 4. The peel color of ‘CAES 3’ avocado fruits after storage at various temperature for 6 weeks and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Peel color				
	L	a*	b*	C	H
H ^y	36.7 a ^z	-1.5 d	24.4 a	24.7 a	92.2 a
1°C	29.3 c	5.9 bc	12.7 c	15.8 bc	52.7 c
3°C	27.2 c	11.0 a	5.3 d	12.7 c	24.5 d
6°C	27.1 c	7.6 b	7.9 cd	12.8 c	33.5 d
9°C	32.9 b	3.6 c	18.7 b	19.4 b	68.1 b
12°C	--	--	--	--	--
15°C	--	--	--	--	--

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

表 5. 不同溫度貯藏 6 週後 ‘嘉選三號’ 酪梨果實在 25°C 下催熟第 4 天果肉顏色之變化。
 Table 5. The pulp color of ‘CAES 3’ avocado fruits after storage at various temperature for 6 weeks and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Pulp color				
	L	a*	b*	C	H
H ^y	78.4 a ^z	-5.0 c	52.7 a	53.2 a	95.5 a
1°C	56.1 c	5.3 a	29.4 c	30.1 c	79.5 c
3°C	58.1 c	4.7 a	30.5 c	31.1 c	80.6 c
6°C	51.4 c	6.6 a	22.0 d	23.8 d	69.1 d
9°C	70.2 b	0.4 b	39.9 b	40.1 b	88.6 b
12°C	--	--	--	--	--
15°C	--	--	--	--	--

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

表 6. 不同溫度貯藏 8 週後 ‘嘉選三號’ 酪梨果實在 25°C 下催熟第 4 天果皮顏色之變化。
 Table 6. The peel color of ‘CAES 3’ avocado fruits after storage at various temperature for 8 weeks and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Peel color				
	L	a*	b*	C	H
H ^y	36.7 a ^z	-1.5 c	24.4 a	24.7 a	92.2 a
1°C	33.6 b	1.6 b	23.2 a	23.6 ab	84.7 a
3°C	30.4 c	5.9 a	18.1 b	20.3 b	68.0 b
6°C	32.6 bc	3.1 b	19.0 b	19.9 b	73.0 b
9°C	--	--	--	--	--
12°C	--	--	--	--	--
15°C	--	--	--	--	--

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

表 7. 不同溫度貯藏 8 週後 ‘嘉選三號’ 酪梨果實在 25°C 下催熟 4 天果肉顏色變化。
 Table 7. The pulp color of ‘CAES 3’ avocado fruits after storage at various temperature for 8 weeks and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Pulp color				
	L	a*	b*	C	H
H ^y	78.4 a ^z	-5.0 d	52.7 a	53.2 a	95.5 a
1°C	54.3 b	7.1 b	28.2 b	29.3 b	75.9 b
3°C	56.1 b	5.4 c	30.2 b	30.7 b	79.5 b
6°C	33.2 c	10.4 a	14.0 c	17.8 c	50.4 c
9°C	--	--	--	--	--
12°C	--	--	--	--	--
15°C	--	--	--	--	--

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

二、果肉硬度

在果肉硬度的部分：貯藏 2 週後，1°C 與 3°C 貯藏的果實回溫催熟 4 天後果肉硬度的部分也較其他組別為高，但還低於未經貯藏果實的硬度(26.6N)；6°C 的果實硬度較低，而其餘溫度的果實硬度大部分已過低，無法測得。貯藏 4 週時，1°C 與 3°C 的硬度遠高於對照組，而 6°C、9°C、12°C 以及 15°C 則比對照組來得低，在第 4 週時，貯藏在 15°C 的果實在剛取出果肉已經軟化。而 12°C 及 15°C 貯藏的果實在第 5~6 週期間全數腐爛。貯藏 6 週後，1°C 與 3°C 貯藏的果肉硬度極高，顯示出此溫度下貯藏的果實無法正常後熟軟化；而 6°C 與 9°C 貯藏的果肉硬度則低於正常果實的硬度。除此之外，9°C 貯藏的果實在貯藏 6 週後取出時，果實已經軟化，在第 7 週開始發霉腐爛，無法繼續貯藏。貯藏 8 週後，1°C 與 3°C 的果肉硬度遠高於對照組，而 6°C 貯藏的果實則有著最低的硬度(表 8)。另外此時貯於 6°C 的果實大多產生異味，無法食用。

表 8.不同溫度與不同貯藏時間對‘嘉選三號’酪梨果實在 25°C 下催熟第 4 天果肉硬度之影響。

Table 8. Pulp firmness of ‘CAES 3’ avocado fruits after stored at various temperature for different time and then ripening at 25°C for 4 days.

Storage temperature	Pulp firmness (N)			
	Storage times			
	2weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
H ^y	26.6 a ^z	26.6 b	26.6 b	26.6 b
1°C	3.9 b	129.0 a	129.0 a	129.0 a
3°C	3.1 b	115.6 a	129.0 a	129.0 a
6°C	0.3 b	12.1 b	5.3 c	5.3 c
9°C	0.0 b	3.4 b	6.6 c	--
12°C	0.0 b	0.0 b	--	--
15°C	0.0 b	--	--	--

^z Means with the same letters within a column are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

^y H = evaluated after ripening at 25°C for 4 days, no stored.

討 論

酪梨的寒害症狀包括果肉褐化、維管束褐化以及果實無法正常後熟軟化。影響酪梨發生寒害的因子包括品種、成熟度、貯藏溫度與貯藏時間。由於‘嘉選三號’酪梨的果實特性較為接近西印度品系(鍾, 1997), 因此對低溫的忍受力理論上會偏低。根據試驗結果可知：於 2004 年 9 月 14 日採收的‘嘉選三號’酪梨果實在 1°C、3°C、6°C 下貯藏 2 週後回溫，就會產生果皮褐化、果肉褪色以及果實無法軟化的寒害徵狀(表 1、表 2、表 8)。而貯藏於 9°C 的果實在貯藏 6 週並回溫 4 天後，雖然果皮產生變色，但在果肉顏色的表現上並沒有產生褪色以及維管束黑褐化等寒害症狀(表 4、表 5)。而果肉也在回溫 4 天後正常軟化，並未出現無法軟化的現象(表 8)。因此，可以推測出 9°C 在‘嘉選三號’酪梨寒害臨界溫度之上。而貯藏在較高的溫度，如 12°C 與 15°C 則在貯藏時間超過 2 週後，出現果實已經後熟軟化或甚至腐爛的現象，無法繼續貯藏。(表 1、表 8)。根據上述結果推測‘嘉選三號’酪梨無法貯藏在低於 6°C 的環境下，適合的貯藏溫度約在 9°C，可有 6 週的貯藏壽命。

與國外常見的商業品種，如‘Hass’與‘Fuerte’相較之下，‘嘉選三號’酪梨的耐低溫能力明顯較差，‘Hass’酪梨與‘Fuerte’酪梨在 5°C 下貯藏 3 週後才開始有寒害徵狀產生(Eaks, 1976)，而‘嘉選三號’酪梨在 6°C 下貯藏 4 週後便出現果肉轉色不正常以及維管束褐化的現象。但若與西印度系的‘Pollock’酪梨相較，‘嘉選三號’酪梨則有較強的抗寒能力，西印度系的‘Pollock’酪梨貯藏在 10°C 下 13 天後便出現輕微寒害症狀，貯藏 19 天之後寒害症狀更明顯 (Campbell and Hatton, Jr. 1959)。「嘉選三號」酪梨則可以在 9°C 貯藏 6 週後果實仍無後熟異常或果肉褐化等寒害徵狀。

參 考 文 獻

- 鍾志明。1997。台灣酪梨品種改良。提升果樹產業競爭力研討會專輯。I:127-140。
- Campbell, C. W. and T. T. Hatton, Jr. 1959. Chilling injury in Pollock avocados during cold storage. Proc. Fla. State Hort. Soc. 72 : 337-338.
- Eaks, I. L. 1976. Ripening, chilling injury, and respiratory response of ‘Hass’ and ‘Fuerte’ avocadofruits at 20°C following chilling. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 101 : 538-540.
- Paull, R.E. 2000. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. pp.17-36. In: Wang, C. Y. (ed) Chilling Injury of Horticultural Crops. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.

Effects of Storage Temperature and Time on the Storage Life and Quality of Avocado (*Persea americana* Mill.) Fruit

Chih-Yuan Yang ¹⁾ Ching-Chang Shiesh ²⁾

Key words: low temperature storage, storage life, fruit quality, Avocado, *Persea americana* Mill.

Summary

The objectives of this study were to investigate the influence of storage temperature and time on the storage life and quality of 'CAES 3' avocado fruit. The ripening and chilling injury of 'CASE3' avocado fruit (*Persea americana* Mill.) were determined at 25°C subsequent to 2, 4, 6 and 8 weeks storage at 1°C, 3°C, 6°C, 9°C, 12°C or 15°C. Fruits held at 12°C and 15°C no chilling injury and were ripe by the third week. After transfer to 25°C, fruit held at 1°C, 3°C and 6°C longer than 2 weeks developed chilling injury and the severity increased as the storage time increased. The fruit stored at 9°C could hold 6 weeks without any chilling injury. From the experimental result, we could suppose 'CAES 3' avocado fruits were suitable to store at 9°C.

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

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

混合不同葉綠體基因轉殖載體以基因槍法 共同轉殖基因到甘藍葉綠體

陳立德¹⁾ 曾夢蛟²⁾

關鍵字: 基因槍、葉綠體、共同基因轉殖

摘要: 本研究分別將熱休克蛋白 (heat shock proteins cognate, HSC); 蘇力菌殺蟲晶體蛋白 (Bt); 超氧化歧化酵素 (superoxide dismutase, SOD) 與過氧化氫酵素 (catalase, CAT) 基因構築到蕁苔屬蔬菜葉綠體轉殖載體, 並同時混合四種不同葉綠體基因轉殖載體 (*bt*、*hsc70*、*cat*、*sod*), 利用基因槍轉移到`初秋`甘藍葉綠體中。以 PCR、南方墨點與北方墨點分析三棵轉殖株顯示, 一株植株同時具有二種基因 (*bt*、*cat78*), 並可轉錄出 *bt* 及 *cat78* 之 mRNA; 一株只有一種基因 (*cat78*), 一株則不帶任何轉殖基因。將含有 *bt* 基因的轉殖株餵食小菜蛾幼蟲有明顯的殺蟲效果。

前 言

近年來的轉殖植物衍生出一些問題; 目標基因藉由花粉的飛散, 污染了鄰近的雜草, 使雜草能抵抗殺草劑, 轉殖植物的有毒花粉 (蘇力菌晶體蛋白) 危害非目標昆蟲, 以及目標蛋白質的產量過低等等, 皆影響基因轉殖作物的商品化; 然而, 葉綠體基因轉殖技術的開發為以上的問題, 提供了一個解決的方法。

植物葉綠體基因轉移的優點為: 1) 葉綠體的轉殖基因屬母系遺傳, 轉殖基因不會隨著花粉而散播, 2) 植物細胞含多套的葉綠體基因組, 有助於外來基因大量表現, 3) 不會有基因轉移的 gene silence 及 position effect, 4) 較細胞核基因轉移穩定 (Bock, 2001; Daniell *et al.*, 2001a, 2001b); 其缺點為: 1) 轉殖方法不穩定, 基因槍每次打擊都不同, 2) 與農桿菌感染的培植體比較, 需要花較多時間再生, 3) 需要花較多時間, 才能獲得多數轉殖基因的葉綠體, 4) 葉綠體轉殖目前並沒有通用轉殖載體 (universal transformation vector)。

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。

蘇力菌殺蟲晶體蛋白 (Bt) 具有殺蟲的效果 (Perlak *et al.*, 1990; 1991); 超氧化歧化酵素 (superoxide dismutase, SOD)、過氧化氫酵素 (catalase, CAT), 能增加植物抗逆境的能力 (Inzé and Van Montagu, 1995); 熱休克蛋白 (heat shock protein, HSP), 與植物耐高溫有密切的關係 (Hendrick and Hartl, 1993)。本研究即將上述四種基因共同轉移到甘藍的葉綠體, 由於一個植物細胞含有多套的葉綠體基因組, 期望能獲得可同時抗逆境、耐高溫及抗蟲的轉殖植株。

材料與方法

一、植物材料

本實驗以`初秋`品種之甘藍 (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) 作為葉綠體基因轉殖的試驗材料。無菌播種為, 將適量的甘藍種子倒入已滅菌過的 25 ml 小空瓶中, 以 70% 酒精劇烈振盪 1 分鐘, 以無菌水清洗 1 次; 將商業漂白劑 5% Clorox 稀釋 1/3 加入小空瓶中, 劇烈振盪 1 分鐘, 以無菌水清洗 1 次; 將漂白劑稀釋 1/2 加入甘藍的小空瓶中, 振盪消毒 20 分鐘, 再以無菌水洗滌三次。將表面滅菌之種子播種於含 3 % 蔗糖與 1 % 洋菜膠 (agar) 的 1/2 MS 基本培養基中, 培養於 $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, $150\ \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{sec}$, 16 小時光週期之環境。

二、轉殖基因之種類

本實驗作為甘藍葉綠體基因轉移之基因計有: 1. 蘇力菌殺蟲晶體蛋白基因 (*cryIA(b)*, *bt*) (國立中興大學分子生物研究所陳良築教授所贈): 以 16S ribosomal RNA 啟動子 (*prrn*) *rbc* S 為啟動子, 以光系統 II 反應中心 D1 蛋白基因 (*psbA*) 的 3' 核酸序列為終結子的 pASCCBt (本研究室劉程煒學長構築) (劉, 2003); 2. 由番茄中篩選出的熱休克蛋白基因 (*hsc70-2*) (原名 pSHC70 或 pAHSC70 (Lin *et al.*, 1991), 國立清華大學生命科學所林彩雲博士所贈): 以 *prrn* 為啟動子, 以 *psbA* 的 3' 核酸序列為終結子的 pASCCHSC (本研究室陳志宏學長構築) (陳, 2004); 3. 由`濱綠`結球白菜中篩選出的超氧化歧化酵素基因 (本研究室尤進欽學長選殖): 以 *prrn* 為啟動子, 以 *psbA* 的 3' 核酸序列為終結子的葉綠體轉殖載體 pASCCSOD (本研究室劉程煒學長構築) (劉, 2003); 4. 由`濱綠`結球白菜中篩選出的過氧化氫酵素基因 (*cat78*) (本研究室尤進欽學長選殖): 以 *prrn* 為啟動子, 以 *psbA* 的 3' 核酸序列為終結子的葉綠體轉殖載體 pASCCCAT (本研究室陳志宏學長構築) (陳, 2004), 共四種基因。

三、基因轉殖之基因槍法

(一)、基因載體 (carrier) 備製

將金粒子或鎢粒子分裝 50 mg, 先以殺菌釜滅菌, 再以 100 % 之酒精 1 ml 清洗 50 mg 的金粒子或鎢粒子三次, 最後以無菌水 1 ml 清洗三次去除上清液, 加入 1 ml 無菌水分裝 20 管, 每一管平均 2.5 mg 金粒子或鎢粒子。

(二)、混合 DNA 與基因載體

將 15 μ l 的目標 DNA 與 50 μ l 2.5 M CaCl₂, 20 μ l 0.1M spermidine 及備製的粒子在室溫振盪 30 分鐘，加入 200 μ l 無水酒精以 8,000 rpm (Sigma 2K15, rotor 12145) 洗滌三次，去除上清液加入 40-50 μ l 無水酒精，保存在 -20°C 的冰罐中等候槍擊。

(三)、基因轉移

選用 Biolistic® -PDS-1000/He Particle Delivery System (Bio-Rad) 的機型，槍擊時將本葉、子葉、下胚軸等置於培養皿中心半徑約 2 公分的同心圓中，將培植體置於槍口下方之穴隔中槍擊，槍即時以幫浦將槍擊室內抽成部分真空 (28-29 in Hg)，待氮氣累積至 1,100 或 1,350 psi 時便擊發，每次槍擊時約有 0.5 mg 的金粒子或鎢粒子，並帶有 3 μ g 之目標 DNA。隨後將槍擊完的培植體放入陰暗處避光 3 天，再轉放再生培養基。

(四)、植株再生

將消毒過後的甘藍種子播種於 1/2 MS 培養基中。取發芽 6 天後的下胚軸切成適當大小，以及成熟幼葉，先在 L1 再生培養基 (MS 基底培養基含 0.05 ppm picloram, 0.5 ppm BA) 預培養 1 周；經基因槍處理後，放置 L1 再生培養基，同時將抗生素 spectinomycin 由 1~5 ppm 的慢慢改變，之後再換成 L2 發根培養基 (MS 基底培養基含 1 ppm NAA) 上誘導發根並予以健化，最後移至瓶外定植培養。

四、轉殖植株 DNA、RNA 之萃取及操作

E. coli 質體的萃取、DNA 片段的回收及黏接、*E. coli* 宿主勝任細胞 (competent cell) 的備製、質體轉形作用、探針備製、植物染色體 DNA 及 RNA 的萃取方法皆參考陳 (2004) 的方法。

五、聚合酵素鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)

利用 PCR 技術複製構築基因片段或用以偵測轉殖基因是否進入轉殖甘藍中，反應時置於 DNA 聚合連鎖反應器 (Peltier Thermal Cycler, PTC-200; MJ Research, INC.) 中。各基因偵測方式分述如下：

所有的反應皆利用 *Taq* DNA polymerase (5 U)(Viogene)、10 x buffer (1 x)、dNTP (0.2 mM)、引子濃度 1 μ M，再加入去離子水，使最終體積為 25 μ l。偵測 *aadA* 基因是以目標基因為範本，並加入引子分別為 5' CAGACAATCGGCTGCTCTGAT 3'、5' TGCGATGTTT CGCTTGGTGGT 3'，可產生出 0.8 kb 片段，反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，60°C、1 分鐘，72°C、30 秒，35 個 cycle，再進行 72°C、1 分鐘。

偵測 *hsc* 基因是以目標基因為範本，以 *hsc70* 基因上第 1033-1948 設計引子分別為 5' GGCTCCACTAGAATCCCAAAAGTTC3'、5'CCACCTCCTCAATCTTAGGACCAGC3'，可複製出 *hsc70* 羧基端 916 bp 片段。反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，60°C、1 分鐘，72°C、30 秒，35 個 cycle，再進行 72°C、45 秒。以 *hsc70* 基因上第 742-1948 設計引子分別為 5'GAGGTGAAGGCTACTGCTGGAG3'、5'CCACCTCCTCAATCTTAGGACCAGC 3'，可複製出 *hsc70* 羧基端 1206 bp 片段；反應的流程為 95°C 5 分鐘，1

個 cycle，95°C、1 分鐘，61°C、1 分鐘，72°C、45 秒，35 個 cycle，再進行 72°C、1 分鐘。偵測 *Bt* 基因是以目標基因為範本，偵測 *Bt* 基因的引子分別為 5'CCCGGGTGGTCAGTCCC TTCCATGGATAAC 3'及 5'CGACGGCCCGGGAATTCGATCT CACTCAAC 3'；反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，55°C、1 分鐘，72°C、45 秒，35 個 cycle，再進行 72°C、1 分鐘。

偵測 *cat* 基因是以目標基因為範本，偵測 *cat* 基因的引子分別為 5' GCAGCCATGGAT CCAT ACAAGCACCGCCCG 3'及 5' GCTTTC TTCTCGGAGCTCCTT ACATGCTC 3'；反應的流程為 95°C 5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，50.5°C、45 秒，72°C、1 分鐘，35 個 cycle。偵測 *sod* 基因是以目標基因為範本，偵測 *sod* 基因的引子分別為 5'GAATGGTG AAGGCCGTCGCAGTT3'及 5' GAAACCAGCAAAGCTAACGGCAGGC 3'；反應的流程為 95°C 5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，58°C、1 分鐘，72°C、45 秒，35 個 cycle。

偵測重組區間與篩選基因的片段以目標基因為範本，引子分別為 5' GCAGCC ATGGA TCCATAACAAGCACCGCCCG 3'及 5' GCTTTCCTTCCTCGGAGCTCCTTA CATGCTC 3'；反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、30 秒，60°C、45 秒，72°C、1 分鐘，35 個 cycle。反應完畢後，取 10-20 μ l 最終產物於 1.0% 之洋菜膠上進行電泳分析。

六、南方墨點法

取轉殖植物的葉片 DNA 30 μ g，經不同限制酵素進行剪切。經 1% 洋菜瓊脂膠體電泳分離。首先將膠體以 10 ml denaturation solution (0.5 M NaCl, 0.2 M NaOH) 輕輕振盪 30 分鐘，再換至 renature solution (1.5 M NaCl, 1.0 M Tris-HCl, pH 7.4) 輕輕振盪 30 分鐘；以 10X SSC 潤濕 DNA 轉漬膜 (Zeta-Probe[®] GT Blotting Membranes, BIO-RAD)，再以 Posi Blot[™] Pressure Blotter (Stratagene) 將 DNA 轉移至 DNA 轉漬膜。將轉漬膜加入待完全乾燥後利用紫外光連接器 (UV-cross-Linker) 強化 DNA 與濾膜結合。

將濾膜以 2X SSC 潤濕後置入雜交管內，加入 5 ml prehybridization solution (0.25 M Na₂HPO₄ pH 7.2, 7% SDS)，於 65°C 進行 1 小時的 prehybridization，更新 hybridization solution (0.25 M Na₂HPO₄ pH 7.2, 7% SDS) 10 ml，加入經變性處理的探針，於 65°C 下進行雜交反應，14 小時以上。以 low stringency wash buffer (20 mM Na₂HPO₄ pH 7.2, 5% SDS) 於 65°C 下清洗濾膜 10 分鐘二次，再以 high stringency wash buffer (20 mM Na₂HPO₄ pH 7.2, 1% SDS) 於 65°C 下清洗 5 分鐘二次。將清洗完成之濾膜陰乾，以塑膠袋密封，再以 X 光片壓片，依放射線的強度調整沖洗之時間。

七、北方墨點法

製備含有 2% formaldehyde 之 1.2% 的洋菜瓊脂膠體：取 1.2 g agarose 溶於 85 ml DEPC H₂O，加入 10 ml 之 10X MOPS buffer (0.2 M MOPS, 0.05 M NaOAc, 0.01 M EDTA, pH 7.0) 及 5.4 ml 之 37% formaldehyde，取 20 μ g 的 total RNA 樣品，加入 14.4 μ l loading buffer (8 μ l formamide, 1.6 μ l 10X MOPS buffer, 2.8 μ l 37% formaldehyde, 2 μ l 0.05% EtBr) 於樣品中，再加入 2 μ l RNA formaldehyde loading dye，置於 70°C 中 10 分鐘使之變性，將處理好的樣

品以 50 伏特進行電泳，待電泳完畢後約 1 小時，以 50 mM NaOH 浸泡膠片 30 分鐘，再以 10X SSC 處理 30 分鐘。將預先剪好的濾膜先浸潤於 10X SSC，再以 Posi Blot™ Pressure Blotter (Stratagene) 將 RNA 轉移至轉漬膜上，再將此濾膜以 2X SSC 與 0.1% SDS 浸濕，洗去雜質，待完全乾燥後利用紫外光連接器 (UV-cross-Linker) 強化 RNA 與濾膜結合。將經過轉漬的濾膜裝入雜交管內，加入 5 ml prehybridization buffer，在雜交箱中以 65°C 預先雜交半小時，更新雜交緩衝液 (同 prehybridization buffer) 10 ml 後，於雜交管中加入已製備完成的 RNA 探針，再置於 65°C 的雜交箱內反應 16-24 小時。雜交反應完成後，去除反應溶液，依序以清洗液 I (同南方墨點法) 及清洗液 II (同南方墨點法) 各自清洗濾膜 30 分鐘兩次。清洗完成之濾膜陰乾後，以 X 光片壓片，依照放射線強度調整沖洗的時間。

八、餵食小菜蛾 (*Plutella xylostella* L.) 幼蟲處理

選取轉殖植株與對照植株葉片，分別置入底部鋪設濕潤 3MM paper 之保鮮盒中，並於每盒中放入小菜蛾幼蟲 15 隻，調查 3 天後小菜蛾幼蟲之生長狀態與葉片被啃食之情形。

結 果

一、葉綠體基因轉殖植株之再生

本研究將個別帶有 *bt*、*hsc70*、*sod62*、*cat78* 基因的葉綠體轉殖載體利用基因槍的方式轉殖到‘初秋’甘藍的下胚軸中，藉由葉綠體特殊啟動子 *prn* 在轉殖植株中大量表現外源基因。在實驗中發現，利用 5 ppm 的抗生素 spectinomycin 能有效的區別轉殖株與未轉殖株，故以 5 ppm spectinomycin 為篩選植株的標準。經過基因槍轟擊的下胚軸暗處理三天後，換到 L1 再生培養基約兩週，之後再換到含有 5 ppm spectinomycin 的 L1 培養基篩選三個月；將帶有再生綠色芽梢的下胚軸換到含有 1 ppm spectinomycin 的 L1 培養基讓芽梢抽長，約三週；將抽長的芽梢切下換到含有 2 ppm spectinomycin 的發根培養基中發根皆篩選，約三週可發根；將發根完全的轉殖株換到含有 5 ppm spectinomycin 的 1/2 MS 健化培養基中健化植株，約 2 週後移植到溫室馴化及定植。本實驗所轟擊下胚軸的數量很多，但是最終獲得的轉殖株只有三棵。

二、轉殖植株分析

(一)、聚合酵素鏈鎖反應 (PCR)

共同轉殖四種基因的甘藍植株之 PCR 分析總 DNA，先以引子偵測轉殖植株是否含有 *aadA* 基因。試驗結果顯示經電泳膠片分離 PCR 產物後，共同轉殖的植株可獲得預期的 *aadA* 片段 (0.8 kb)，未轉殖植株及對照組則無 (圖 1A)。分別以不同引子偵測轉殖植株是否含有 *bt*、*hsc70*、*cat78* 及 *sod62* 基因，經電泳膠片分離 PCR 產物後之試驗結果顯示，共同轉殖的甘藍植株可獲得預期的 *cat78* 片段 (1.5 kb) (圖 1B)，*sod62* 片段 (0.65 kb) (圖 1C)，*hsc70* 片段 (0.9 kb) (圖 1D)，*bt* 片段 (2.0 kb) (圖 1E)；總計在這三棵植株中 ASCCSOD/CAT/Bt/

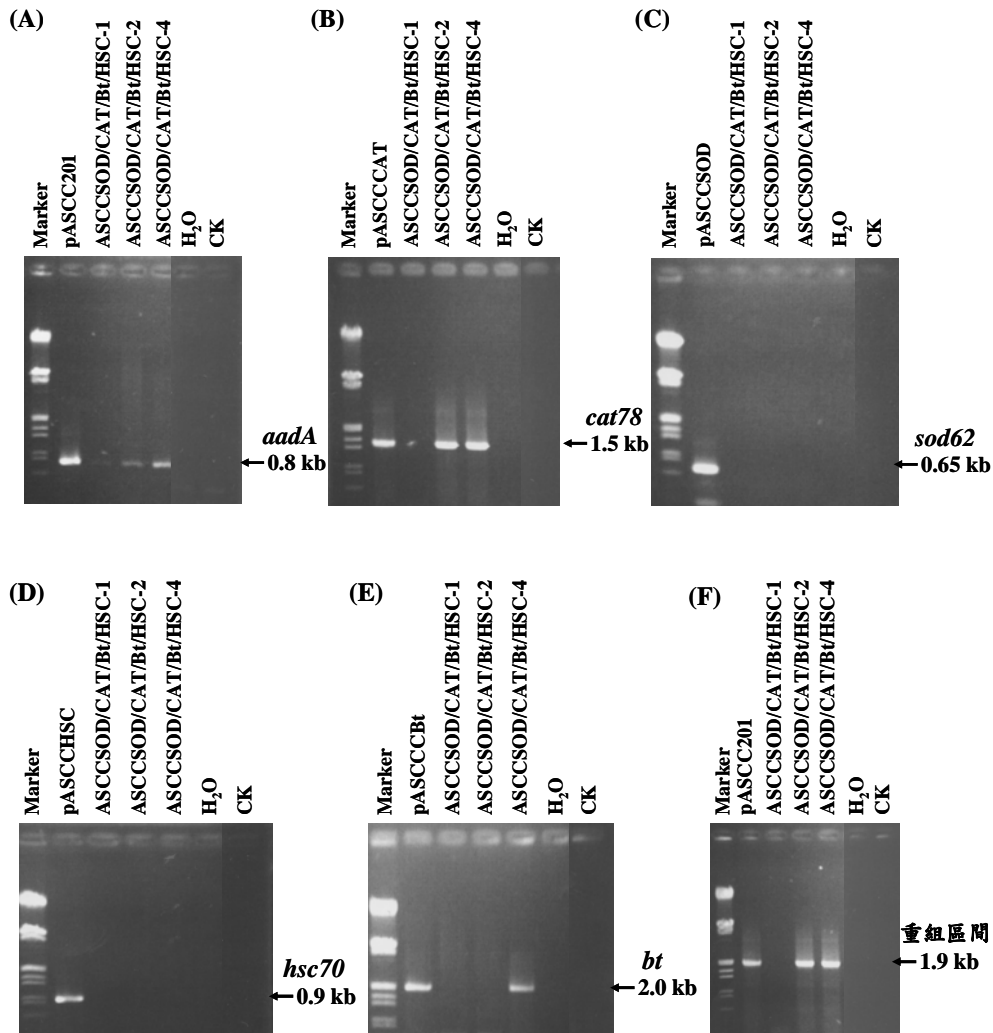


圖 1. 共同轉殖四種基因的甘藍再生植株之基因組 DNA 以 PCR 分析(A) *aadA* 基因、(B) *cat78* 基因、(C) *sod62* 基因、(D) *hsc70* 基因、(E) *bt* 基因與 (F) 重組區間片段，其產物在電泳膠片上分離之情形。ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1, -2, -4 為轉殖甘藍，CK 為對照組。

Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of the PCR products containing part of the *aadA* gene(A)、*cat78* gene (B)、*sod62* gene (C)、*hsc70* gene (D)、*bt* gene (E) and recombination site (F) fragments amplified from the pASCCSOD/CAT/Bt/HSC co-transformed cabbage. ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1, -2, -4: transgenic cabbage, CK: non-transgenic cabbage.

HSC-4 有 *aadA*、*bt*、*cat78* 等三種基因，ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-2 有 *aadA*、*cat78* 等二種基因，ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1 則不帶有任何轉移之基因。

為了進一步確認轉移之基因是否重組到轉殖甘藍葉綠體，本研究設重組區間與篩選基因之引子，分析葉綠體轉殖基因之重組位置 (*rrn16S-aadA*)。經 PCR 反應之產物在電泳膠片上分離。在上述 2 株共同轉殖四種基因的甘藍植株 (ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-2, -4) 均可獲得預期的 1.9 kb 條帶 (*rrn16S-aadA*) (圖 1F)。顯示轉移之基因經所設計之重組位置插入到甘藍葉綠體中。

(二)、南方墨點分析

萃取共同轉殖四種基因甘藍植株之總 DNA，以限制酵素切割，經電泳分離後進行南方墨點分析。以 *Nco* I 與 *Sac* I 切割，以 *cat78* 基因片段做為探針偵測是否有 *cat78* 基因的存在。試驗結果顯示，編號 ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-2、-4 兩株植株有雜交訊號，而 ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1 則無 (圖 2A)。以 *Eco* RI 與 *Kpn* I 切割，以 *sod62* 基因片段做為探針偵測是否有 *sod62* 基因的存在，結果顯示三株轉殖植株皆無雜交訊號產生 (圖 2B)。以 *Eco* RI 切割，以 *hsc70* 基因片段做為探針偵測是否有 *hsc70* 基因的存在，結果顯示三株轉殖植株皆無雜交訊號產生 (圖 2C)。以 *Sma* I 切割，以 *bt* 基因片段做為探針偵測是否有 *bt* 基因的存在。結果顯示，編號 ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-4 有雜交訊號產生 (圖 2D)，而編號 ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1、-2 則無雜交訊號 (圖 2D)。對照組在四種基因皆無雜交訊號的產生。

(三)、北方墨點分析

萃取共同轉殖四種基因甘藍植株的總 RNA，經電泳分離後進行北方墨點分析。分別以 *cat78*、*sod62*、*hsc70* 及 *bt* 四種基因為探針，偵測是否有其 mRNA 的表現。試驗結果顯示，在三株轉殖植株中編號 ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-2、4 有 *cat78* mRNA 的訊號 (圖 3A)；編號 ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-4 有 *bt* mRNA 的訊號 (圖 3D)；而 *sod62* 與 *hsc70* 基因則是無雜交訊號產生 (圖 3B、圖 3C)。此試驗結果與 PCR 及南方墨點所呈現的結果相同，而對照組植株則均無雜交訊號。

三、餵食小菜蛾幼蟲處理

選取轉殖植物與未轉殖之對照植物葉片進行小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 三齡幼蟲餵食 3 天後，外觀上有極大的差異 (圖 4)，對照組葉面上尚有小菜蛾幼蟲在啃食，且有許多被小菜蛾幼蟲啃食過明顯的破洞並遍佈蟲屎顆粒；而轉殖植株僅有被小菜蛾幼蟲啃食過少許的破洞，且破洞比對照組小，而蟲屎顆粒分布也明顯少於對照組，並可觀察到有蟲的屍體分佈在葉片周圍。而轉殖株 ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-2 在分子檢測上並沒有 *bt* 基因訊號產生，但是抗蟲性屬中等 (圖 4)，其他所轉殖植株葉片均受到小菜蛾嚴重殘食。

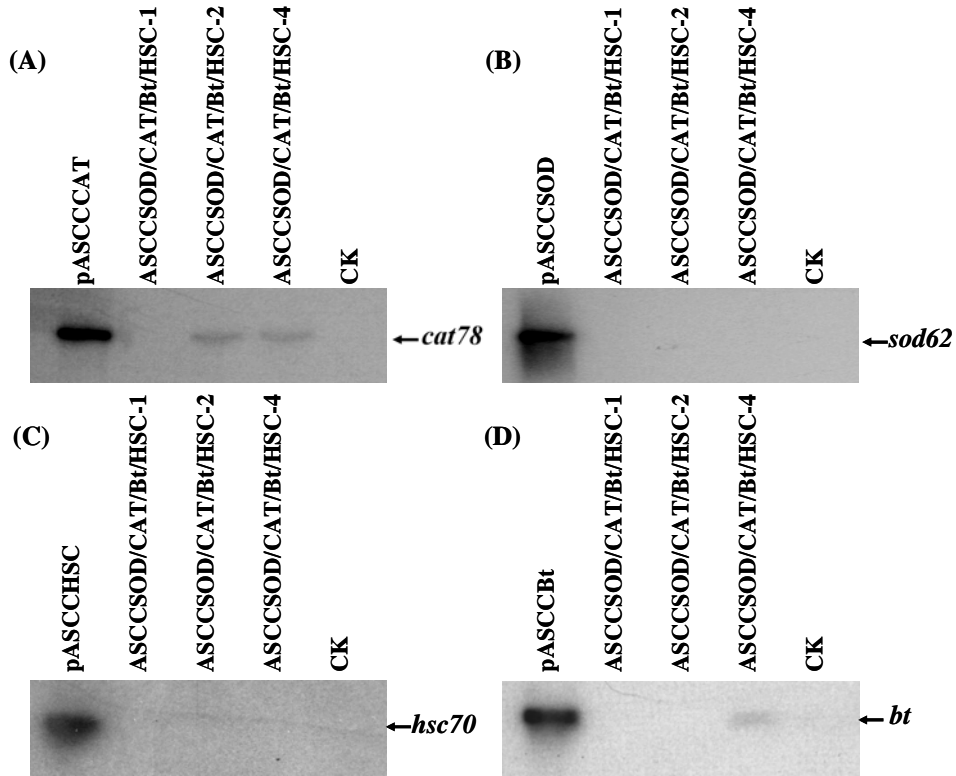


圖 2. 共同轉殖四種基因的甘藍再生植株，其 DNA 經限制酵素 *Nco* I 與 *Sac* I (A)、*Eco* RI 與 *Kpn* I (B)、*Eco* RI (C) 及 *Sma* I (D) 切割並以 *cat78* (A)、*sod62* (B)、*hsc70* (C) 及 *bt* (D) 基因為探針，經南方墨點雜交分析之情形。ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1, -2, -4 為轉殖甘藍，CK 為對照組。

Fig. 2. Southern hybridization of the pASCCSOD/CAT/Bt/HSC co-transformed cabbage with the P³²-labeled *cat78* (A), *sod62* (B), *hsc70* (C) and *bt* (D) gene fragments as the probe. DNA was digested with *Nco* I and *Sac* I (A), *Eco* RI and *Kpn* I (B), *Eco* RI (C) and *Sma* I (D). ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1, -2, -4: transgenic cabbage, CK: non-transgenic cabbage.

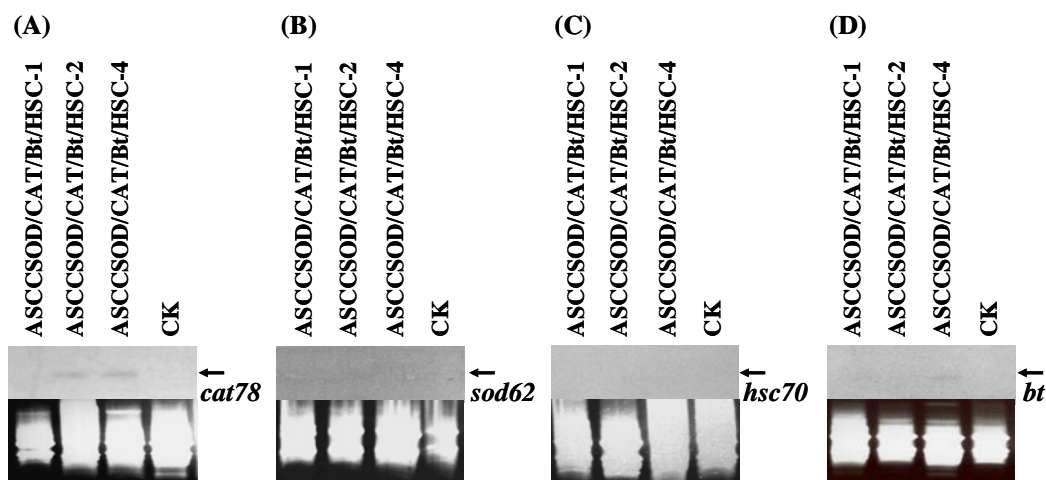
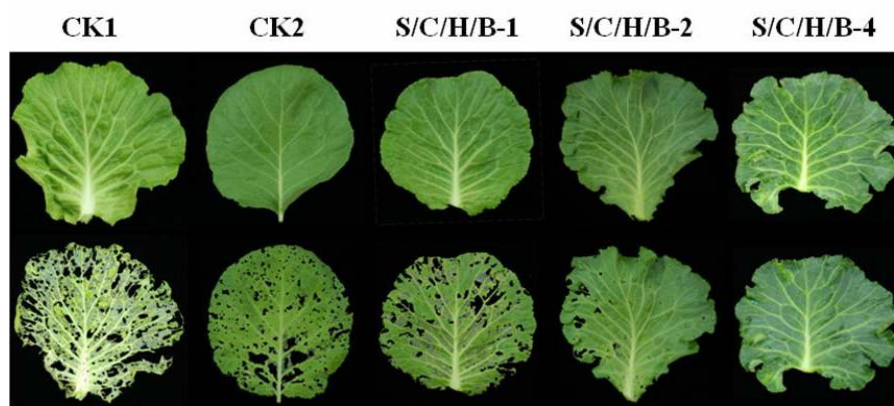


圖 3. 共同轉殖四種基因的甘藍再生植株，萃取其總 RNA 經北方墨點分析 *cat78* (A)、*sod62* (B)、*hsc70* (C) 及 *bt* (D) 基因之情形。ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1, -2, -4 為轉殖甘藍，CK 為對照組。

Fig. 3. Detection of the *cat78* (A), *sod62* (B), *hsc70* (C) and *bt* (D) gene in the pASCCSOD/CAT/Bt/HSC co-transformed cabbage by northern hybridization. The *cat78* (A), *sod62* (B), *hsc70* (C) and *bt* (D) gene fragments were used as the probe. ASCCSOD/CAT/Bt/HSC-1, -2, -4: transgenic cabbage, CK: non-transgenic cabbage.



圖四. 共同轉殖四種基因的甘藍再生植株 (S/C/H/B-1, -2, -4) 與未轉殖植株 (CK1, CK2)，餵食 15 隻小菜蛾前 (上) 與餵食三天後 (下) 植物葉片外觀的比較。

Fig. 4. Appearances of leaves of co-transformed cabbage (S/C/H/B-1, -2, -4), and un-transformed cabbage (CK1, CK2) before (upper) and after (lower) feeding with 15 *Plutella xylostella* for 3 days.

討 論

以 PCR 的方式進行檢測，可以直接確認轉殖植株的 DNA 中是否帶有目標基因的存在，此方法是在初步篩選轉殖植株時具有方便性及時效性。實驗中在轉殖植株經過抗生素篩選後，移到生長箱馴化時，以微量萃取的方式萃取轉殖植株的 DNA，以專一性極高的 *aadA* 引子進行 PCR 的分析，偵測篩選 *aadA* 基因。因為本實驗所用的 *aadA* 基因為細菌所屬，在與植物之間其基因的相似度並不高，因此在分析轉殖植株時，不會有非預期的片段產生 (劉, 2003)。為了更加以確認目標基因是否存在，再以引子測定轉殖甘藍是否帶有 *cat78*、*sod62*、*hsc70*、*bt* 基因。然而植株本身具有 *cat78*、*sod62*、*hsc70* 與轉殖的基因具有高度的相似性 (尤, 2000; 陳, 2004)，因此同時具有 *aadA* 基因及目標基因的訊號，才代表著轉殖基因有存在植物當中。為了更確定轉殖基因存在於葉綠體內，以重組區域的 *rrn16S* 與 *aadA* 基因間設計引子，分析可獲得 1.9 kb 的片段 (圖 1F)，雖然此法可以確認基因位在於葉綠體染色體內，但無法確認有多少比例的葉綠體攜帶有轉移之基因，因此未來若能藉由後代分析將可進一步的確認本研究轉殖甘藍的葉綠體同質性程度。

當基因轉殖進入植物的 DNA 後，最重要的工作便是確認目標基因的片段大小及完整性，以南方墨點法能檢測轉入植株內的基因。將所有甘藍轉殖植株以限制酵素切割，以 *Nco* I/ *Sac* I 切割出完整的 *cat78* 基因，以 *Eco* R I/ *Kpn* I 切割出完整的 *sod62* 基因，以 *Eco* R I 切割出完整的 *hsc70* 基因，以 *Sma* I 切割出完整的 *bt* 基因。由結果顯示 2 號轉殖植株可偵測到 *cat78* 基因，4 號轉殖植株可偵測到 *cat78* 及 *bt* 基因 (圖 2A, 2D)，但在 *sod62* 及 *hsc70* 基因方面，在三株轉殖植株則均無雜交訊號。

有學者指出有些轉殖植株即使在 DNA 的層次上可以被偵測得到，但不見得會在 RNA 的層次上穩定表現，可能是因為轉入的基因被修飾、重組或是基因靜默 (gene silence) 現象 (Hobbs *et al.*, 1990)。為了避免上述的原因且確認轉殖植株是否可以穩定表現轉殖基因，便萃取所有轉殖植株葉片的總 RNA，進行北方墨點雜交分析。分別以 *cat78*、*sod62*、*hsc70* 及 *bt* 基因為探針之雜交結果顯示，在 2 號及 4 號轉殖植株可偵測到預期的雜交訊號，確認可以轉錄出其 mRNA，與 PCR 及南方墨點的結果相同。本研究之部份轉殖植株的北方墨點雜交訊號較為微弱，此可能是未轉殖的葉綠體與轉殖的葉綠體同時存在於葉片組織中，因此稀釋了轉殖基因之 mRNA 與放射性探針雜交的強度 (Bock, 2001)；再者，本研究因為轉殖材料數量受限，無法大量分離葉綠體，進行葉綠體基因檢測，因此所獲得之轉殖葉綠體基因在葉綠體內的複製、轉錄及轉譯等的資訊也受限。

選取轉殖植物與未轉殖對照組葉片，進行小菜蛾幼蟲餵食 3 天，檢測結果顯示，4 號轉殖植株被啃食的情形明顯比對照組植物要少，表示 *bt* 基因可在其葉綠體中正常的表現，並發揮降低小菜蛾幼蟲對植株的傷害。而 2 號轉殖植株在 PCR、南方墨點及北方墨點的檢測中都沒有 *bt* 基因之訊號產生，但在餵蟲的過程中被小菜蛾幼蟲啃食的情形明顯比對照植物要少，而比 2 號轉殖植株多一點。推測原因可能是轉殖 *bt* 基因成功的葉綠體在整體

植物中含量不多，導致在分子檢測上偵測不到訊號，但是所產生的蛋白質亦能發揮部份殺蟲的效果。

綜合以上，本實驗是以四種不同基因的葉綠體轉殖載體定量混合後利用基因槍法轉殖到甘藍葉綠體中，總共獲得三棵植株，經過分子檢測後有一棵植株含有兩種基因，一棵植株含有一種基因，一棵植株則不含有目標基因，與期望在一棵甘藍中同時含有四種目標基因有差距，推測可能為：1) 四種轉殖載體都是用相同的重組區間，在與葉綠體進行同源重組時有被互相替換的可能，2) 葉綠體基因轉殖是靠隨機發生的，如果基因沒有進到葉綠體內，發生重組的機率就會比較低，3) 本實驗所利用的培植體為下胚軸，而下胚軸所含有的葉綠體相對比葉片要少，所以轉殖成功率也相對較低。

參 考 文 獻

- 尤進欽。2000。超氧化歧化酵素與過氧化氫酵素基因之轉殖與選殖。國立中興大學園藝學研究所博士論文。
- 陳志宏。2004。熱休克蛋白基因與過氧化氫酵素基因轉移到甘藍及結球白菜葉綠體之研究。國立中興大學分子生物學研究所碩士論文。
- 劉程煒。2003。水稻農桿菌基因轉殖系統與甘藍及水稻葉綠體基因轉殖系統之建立及應用。國立中興大學園藝學研究所博士論文。
- Bock, R. 2001. Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. *J. Mol. Biol.* 312: 425-438.
- Boynton, J. E., N. W. Gillham, and E. H. Harris. 1988. Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high velocity microprojection. *Science* 240: 1534-1538.
- Daniell, H., B. Muthukumar, and S. B. Lee. 2001a. Marker free transgenic plants: engineering the chloroplast genome without the use of antibiotic selection. *Curr. Genet.* 139:109-116.
- Daniell, H., S. B. Lee, T. Panchal, and P. O. Wiebe. 2001b. Expression of the native cholera toxin B subunit gene and assembly as functional oligomers in transgenic tobacco chloroplast. *J. Mol. Biol.* 311: 1001-1009.
- Hendrick, J. P. and F. U. Hartl. 1993. Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 62: 349-384.
- Hobbs, S. L. A., P. Kpodar, C. M. O. DeLong. 1990. The effect of T-DNA copy number, position and methylation on reporter gene expression in tobacco transformants. *Plant Mol. Biol.* 15: 851-864.
- Inzé, D. and M. Van Montagu. 1995. Oxidative stress in plants. *Curr. Opin. Biotech.* 6: 153-158.
- Lin, T. Y., N. B. Duck, J. Winter, and W. R. Flok. 1991. Sequences of two hsc70 cDNAs from

Lycopersicon esculentum. *Plant Mol. Biol.* 16: 475-478.

Perlak, F. J., R. L. Fuchs, D. A. Dean, S. L. Mcpherson, and D. A. Fischhoff. 1991. Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 3324-3328.

Perlak, F. J., R. W. Deaton, T. A. Armstrong, R. L. Fuchs, S. R. Sims, J. T. Greenplate and D. A. Frischhoff. 1990. Insect resistant cotton plants. *Bio/Technology* 8:939-943.

Co-transfer of Genes into Cabbage (*Brassica oleracea*) Chloroplast *via* Particle Bombardment with Mixture of Transplastomic Vectors

Li-Te Chen ¹⁾ Menq-Jiau Tseng ²⁾

Key words: biolistic bombardment, chloroplast, co-transfer

Summary

In this study, *hsc70*, *bt*, *sod62* and *cat78* gene was constructed in the *Brassica* chloroplast transgenic vector, respectively. Mixture of the transgenic vector was co-transferred into cabbage (KY-cross) chloroplast *via* particle bombardment. The results of PCR, Southern and Northern blot hybridization indicated that one of three plant contained transformed *bt* and *cat78* genes, and expressed *bt* and *hsc70* mRNA. One of three co-transfer plants contained *cat78* gene and the other plant didn't containing target genes. The *bt* gene transformed plants exhibited the high degree of resistance to the *Plutella xylostella*.

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

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

不同立體栽培模式對番茄‘桃園亞蔬九號’ 生育與產量之影響

楊瑜甄¹⁾ 宋妤²⁾ 張武男³⁾

關鍵字：番茄、立體栽培、光合作用光子流量密度、產量

摘要：本研究以‘桃園亞蔬九號’番茄為試驗材料，以五週之番茄苗定植於中興大學園藝系之簡易遮雨棚內。試驗處理共有雙層正倒向栽培、雙層均倒向栽培、三層均倒向栽培、單層正向栽培及對照組單層正向栽培五種處理。於不同的槽植立體栽培模式研究對番茄生長發育、產量與品質之影響。結果顯示，雙層正倒向栽培之單位面積產量顯著較其他處理者為高，而以雙層均倒向栽培之單位面積產量為最低。單位面積可售果產量以雙層正倒向栽培、三層均倒向栽培及對照組較高，三者間無顯著差異。早期產量以雙層正倒向栽培及三層均倒向栽培顯著高於其他三處理，以單層正向栽培之早期產量為最低。對照組之單株葉鮮重及單株莖鮮重分別為 476g 及 265g，顯著高於其他處理者，對照組正向栽培與單層正向栽培植株之第一花序至第三花序有最多之開花數及結果數。

前 言

番茄(Tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill)為茄科，番茄屬，一、二年生草本植物(陳, 1995)，原產於南美安第斯山之秘魯、厄瓜多爾、玻利維亞地區。台灣大約在 1895 年由日本引進栽培迄今。民國 92 年番茄栽培面積為 5,128 公頃，總產量達 142,703 公噸，每公頃平均產量約為 27,85 公噸，產區主要集中在中南部之彰化縣、雲林縣、嘉義縣、台南縣及高雄縣等地(行政院農業委員會, 2004)。

-
- 1) 國立中興大學園藝學系研究生。
 - 2) 國立中興大學園藝學系教授。
 - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

於台灣一般栽培番茄季節集中在 9 月至翌年 4 月，此時氣候較冷涼適合番茄生長，而 5 月至 9 月屬高溫且多雨的夏季，平地栽培不易則移往中部之中高海拔地區栽培。番茄露地栽培，夏季易遭逢驟雨及病蟲害，為避免天然災害及病蟲害侵襲，常以簡易塑膠布網室種植。於設施內長期種植同科作物(例如番茄、茄子、辣椒、甜椒)(李, 1999)，易造成土壤物理性及化學性質劣化及連作障礙，因此部分栽培者引進介質袋栽培(bag culture)，配合滴灌設備取代傳統土耕栽培，以減少連作障礙和土傳性病害等問題，對提高產量，延長產期及改善品質具有相當好的功效。植株密度直接影響著番茄植株的產量(林, 2001)，隨著植株密度的增加可提高總產量及早期產量，但會造成單果重量下降，小果數百分比增加；植株之留果數及栽培型式皆影響果實大小，隨著留果數的增加會，如養分供應不足，造成小果數增加。於雙層架上以正向及倒向栽培番茄，倒向栽培層生產之果實大於正向栽培層之果實，在兩層倒向栽培中，明顯地下層植株之生育情形及產量劣於上層植株(林, 2003)。

試驗目的於設施內以立體栽培，研究以不同植株生長方向對番茄番茄生長發育、產量與品質影響。並利用提高密度及減少花序數的方式對單位面積的早期產量及果實採收期之影響，而進一步分析，期可利用立體栽培，控制植株生育方式於短期內提高番茄產量。

材料與方法

一、試驗材料

供試品種為‘桃園亞蔬九號’鮮食大果番茄，栽植槽容積為長×寬×高=65×25×20cm，每一植槽填充 10L “FLORAL POTTING PLANT”(50L/包，昌林國際貿易有限公司進口)之商用介質，其介質主要成分及特性為泥炭苔 20%、黑泥炭 80%。介質使用前先充分搓揉，使其疏鬆再填充至栽植槽，定植前須充分灌水以確保介質之通氣性及保水力。試驗之養液配方採用山崎氏養液配方(沈, 2001)。

二、試驗方法：

(一) 育苗與栽培：

本試驗於民國 91 年 8 月 28 日將供試番茄品種，以 128 格穴盤育苗，經五週後，於 91 年 10 月 1 日定植至紅色塑膠栽培槽，再移置於中興大學園藝系之簡易遮雨棚內。每栽植槽種 3 株，植株於營養生長期間，供給 1/2 濃度之養液，pH 值為 6.6，待第一果房小果期(始花後 20 天)，將養液配方提高至全量的濃度。植株採單幹整枝，以尼龍繩牽引枝條，第一花序去除不留，由第二花序取代第一花序，植株於第一果房採收完畢後進行疏葉處理，將第一果房下方留一葉，去除以下之基部葉。

(二) 試驗處理：

共五處理說明如下：

A 處理(雙層之正向及倒向栽培)：每植株留三花序，每花序留五果。單層每處理有四

植槽共 12 株，上下兩層共栽植 24 株，每處理面積 0.975 m²。

B 處理(雙層均倒向栽培)：每株留三花序，每花序留五果。單層每處理有四植槽栽植 12 株，上下兩層共種植 24 株，每處理面積 1.35 m²。

C 處理(三層均倒向栽培)：每株皆留二花序，每花序留五果。單層每處理有四植槽栽植 12 株，上中下三層共栽植 36 株，每處理面積 1.35 m²。

D 處理(單層正向栽培)：每株留三花序，每花序留五果，每處理面積 0.975 m²，單層每處理四植槽共栽植 12 株。

E 處理(對照組)：單層正向栽培，留五花序，每花序留五果，每處理面積 0.975 m²，單層每處理有四植槽共栽植 12 株。

(三) 調查項目：於植株生育期間每處理選取 6 株調查下列項目：

1. 單株葉鮮重：果實採收結束時，單株不含莖之葉重量。
2. 單株莖鮮重：果實採收結束時，單株之莖重量。
3. 節間長度：總莖長除節數所得之值。
4. 開花數：每一花序之小花數。
5. 結果數：每一花序之結果數。
6. 結果率：結果數除以開花數所得之值乘以 100。
7. 可溶性固形物：以糖度計(Digital Refractometer, PR-101, ATAGO)測得果實之可溶性固形物含量，測量之果實為每花序之第一果實，每株取一果，取其平均值為單株之可溶性固形物。
8. 酸度：果實之滴定酸含量，以檸檬酸為樣品標準瓶。測量之果實為每花序之第一果實，每株取一果。將果實榨汁後，取 5 ml 果汁加入 50 ml 蒸餾水，以 0.1N 之 NaOH 滴定，以 pH meter 測定滴定酸鹼度至 8.1 所需之 NaOH 溶液量。
9. PPFd 值：光合作用光子流量密度(photosynthetic photon flux density)，以光強度感應器(LI-189, LI-COR, Inc)所測得之 PPFd 值，於上午十點至下午十四點之間測量，於植株由頂端向下數之第五片番茄葉所在部位測定。

三、統計分析：

試驗採單因子完全隨機設計(Completely Randomized Design, CRD)，每處理調查 6 株，調查所得數據以 SAS 套裝軟體(SAS. Institute, Cary, NC)中之 PROC GLM 進行分析。

結 果

一、立體栽培對產量之影響

調查番茄‘桃園亞蔬九號’在不同立體式栽培處理之產量(表一)，以正向與倒向雙層單幹三花序之栽培(A 處理)與三層倒向栽培之單幹二花序(C 處理)為最高，分別為 20.5 與 20.6

kg，顯著高於對照組單層正向栽培單幹五花序(E處理)之 16.0 kg，或單層正向栽培單幹三花序(D處理)之 13.4 kg。B處理為雙層皆倒向栽培留三花序，處理產量為 15.6 kg，與對照組 E處理並無顯著差異。換算成單位面積產量，仍以 A處理為最高有 21.0 kg/m²，並顯著高於 D、E(對照組)處理之 13.7 kg/m² 與 16.4 kg/m²。B處理為最低僅及 11.6 kg/m²，惟 C處理降至 15.3 kg/m² 仍與對照組並無顯著差異，但卻顯著低於 A處理之 21.0 kg/m²。不同立體式栽培在每處理果數的比較中，A、B、C處理的每處理果數分別為 243、206、246 個，均顯著高於 D處理的 143 個及 E處理的 179 個。其中以 D處理之果數為最低，顯著低於其他處理。單果重的比較中，以 D處理的單果重最重 93.7 g，其次是對照組 E處理的單果重 89.7 g、A處理的單果重 84.4 g 及 C處理的單果重 78.3 g，最輕的為 B處理的單果重 75.7 g。

表 1. 不同立體栽培模式對番茄‘桃園亞蔬九號’產量之影響^y

Table 1. Influence of vertical culture model on fruit yield of tomato cv. ‘TAOYUAN AVRDC No.9’.

處理 ^z	產量	果數	單果重	單位面積產量
A	20.5 ^a	243 ^a	84.4 ^b	21.0 ^a
B	15.6 ^b	206 ^{ab}	75.7 ^c	11.6 ^c
C	20.6 ^a	246 ^a	83.7 ^b	15.3 ^{bc}
D	13.4 ^b	143 ^c	93.7 ^a	13.7 ^{bc}
E	16.0 ^b	179 ^b	89.4 ^b	16.4 ^b
	** ^x	**	**	**

z：各處理代號見材料與方法

y：定植日期:1992年10月1日。採收期:由1992年12月8日開始採收，為期六週

x：ns,*,**,Non signification or signification at $p=0.05$ or 0.01 , respectively

進一步分析果數中，果實周徑大於 18 公分之正常可售果數、可售果產量結果列如表二。各處理可售果數的比較中，以 A、C處理的可售果最高，分別為 122、143 個，顯著高於 B處理的處理可售果數 82 個，D處理的處理可售果數為 81 個及對照組 E處理的處理果數有 93 個。各處理可售產量的比較中，仍以 A及 C處理可售產量為 12.4 及 14.5 kg，顯著高於 B、D處理，其中 C處理可售產量顯著高於對照組 E處理之 11.2kg。不同立體式栽培各處理間單位面積可售產量的表現，以 A處理之單位面積可售產量為最高有 12.7kg/m²，其次為對照組 E處理的 11.6 kg/m²，C處理為 10.7 kg/m² 及 D處理 9.6 kg/m²，

最低者為 B 處理的 6.8 kg/m²，各處理間均呈顯著差異。A 處理可售果處理產量與果數之減少主要係由於其可售果占產量的比例僅有 60.5%，對照組 E 處理、C 處理及 D 處理的可售果占產量百分比為 70.1-70.7%。

表 2. 不同立體栽培模式對番茄‘桃園亞蔬九號’可售果實產量之影響^x

Table 2. Influence of vertical culture model on marketable fruit yield of tomato cv.‘TAOYUAN AVRDC No.9’.

處理 ^z	可售果數	可售果產量 ^y	單位面積	可售果占產量
A	122 ^a	12.4 ^{ab}	12.7 ^a	60.5
B	82 ^b	9.1 ^c	6.8 ^c	58.5
C	143 ^a	14.5 ^a	10.7 ^{ab}	70.3
D	81 ^b	9.4 ^c	9.6 ^b	70.1
E	93 ^b	11.2 ^{bc}	11.6 ^{ab}	70.7
	** ^w	**	**	

z：處理說明如表 1

y：可售果為果圍大於 18 公分之正常果實

x：定植日期:1992 年 10 月 1 日。採收期:由 1992 年 12 月 8 日開始採收，為期六週

w：ns,*,**, Non signification or signification at $p=0.05$ or 0.01 , respectively

二、立體栽培對營養生長之影響

調查不同立體式栽培對番茄‘桃園亞蔬九號’營養性狀結果(表三)，指出番茄植株每處理總葉鮮重以 C 處理的 6.4 kg 及 A 處理的 6.3 kg，均顯著高於對照組 E 處理的 5.7 kg、D 處理的 4.9 kg，以 B 處理的 4.5 kg 最低。在單株葉鮮重以對照組 E 處理的 476 g 為最高，D 處理的 410 g 次之，再次為 A 處的 262 g，以 B 與 C 處理均少於 200 g，並顯著低於其他處理。總莖鮮重以 C 處理的 5.2 kg 最高，D 處理的 2.6 kg 最低，各處理呈顯著差異。單株莖鮮重和單株葉鮮重有相同結果，以對照組 E 處理 265 g 顯著高於其他處理，C 處理有最小的單株莖鮮重值 145 g。每株平均節數結果，以對照組 E 處理 23.8 顯著高於 D 處理的 20.1，A 處理的 19.5 及 B 處理的 19.4，C 處理的 17.7 為最低。平均節間長度以 C 處理的 7.06 cm 顯著小於其他處理，對照組 E 處理平均節間值為最高 8.36 cm。

表 3. 不同立體栽培模式對番茄‘桃園亞蔬九號’植株營養性狀之影響

Table 3. Influence of vertical culture model on plant characteristics of tomato cv.‘TAOYUAN AVRDC No.9’

處理 ^z treatment	總葉鮮重 (kg treatment ⁻¹)	單株 葉鮮重 (g plant ⁻¹)	總莖鮮重 (kg treatment ⁻¹)	單株 莖鮮重 (g plant ⁻¹)	平均節數 (no.)	平均節間 長度 (cm node ⁻¹)
A	6.3 ^a	262 ^c	4.2 ^b	173 ^c	19.5 ^{bc}	8.18 ^{ab}
B	4.5 ^c	188 ^d	3.9 ^b	163 ^d	19.4 ^{bc}	7.49 ^c
C	6.4 ^a	177 ^d	5.2 ^a	145 ^e	17.7 ^d	7.06 ^d
D	4.9 ^{bc}	410 ^b	2.6 ^d	213 ^b	20.1 ^b	7.78 ^{bc}
E	5.7 ^b	476 ^a	3.2 ^c	265 ^a	23.8 ^a	8.36 ^a
	** ^y	**	**	**	**	**

z：處理說明如表 1

y：ns,*,**, Non signification or signification at $p=0.05$ or 0.01 , respectively

三、立體栽培對植株生殖生長之影響

調查處理間花序開花數結果(表四)指出,對照組 E 處理與 D 處理在第一花序至第三花序均有最多之花數, E 處理為 8.5、11.1 及 9.7 朵花, D 處理為 8.6、12.0 及 9.2 朵花。C 處理二花序分別為 6.9 與 7.7 朵花, 為處理中最少者。所有處理均以第二花序有最多之花數後再減少, 而花序結果數則以 D 與 E 處理為最多, 第一花序為 7.2 與 7.0 個, 其第二花序結果數為最高, 顯著高於其他處理達 9.5 與 9.4 個, 至第三花序則降為 7.2 與 7.7, 但與其他處理並無顯著差異。A、B 與 C 處理結果數以第一花序為最低, 隨花序數之增加, 其每一花序結果亦呈增加。不同花序結果率以 D 與 E 處理於第一花序結果率最高達 83.9 與 80.8 % (表四), 其他 A、B、C 處理為 61.7、77.6 及 65.8 %。第二花序於 A 與 C 處理之結果率顯著小於 D、E 及 B 處理。各處理第三花序之結果率均達 80 % 以上, 各處理間差異則不顯著。

番茄‘桃園亞蔬九號’在不同立體式栽培處理中果實可溶性固形物及酸度之情形如表五, 顯示可溶性固形物以對照組 E 處理之可溶性固形物最高 5.12。Brix, 其次為 C 處理之可溶性固形物 5.02。Brix, 及 B 處理及 D 處理之可溶性固形物, 分別為 4.94。Brix 及 4.87。Brix, A 處理為五處理中之可溶性固形物最低者為 4.21。Brix, 此五處理間呈顯著差異。酸度在不同立體式栽培處理的比較, 以 B 處理之酸度 0.906 % 顯著高於其他處理, 其他處理之酸度均介於 0.738-0.763 % 之間, 無顯著差異。

表 4. 不同立體栽培模式對番茄‘桃園亞蔬九號’開花數、結果數及結果率之影響
Table 4. Influence of vertical culture model on flower number, fruit number and fruit-setting ratio of tomato cv. ‘TAOYUAN AVRDC No.9’.

處理 ^z treatment	開花數(no.)			結果數(no.)			結果率(%)		
	1st ^y	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd
A	7.4 ^{ab}	9.1 ^b	8.4 ^{bc}	4.8 ^b	6.8 ^b	7.2	61.7 ^b	73.9 ^b	84.1
B	8.0 ^{ab}	8.0 ^c	8.1 ^b	6.2 ^{ab}	6.8 ^b	7.1	77.6 ^a	84.0 ^a	87.6
C	6.9 ^b	7.7 ^c	—	4.9 ^b	5.8 ^b	—	65.8 ^b	73.8 ^b	—
D	8.6 ^a	12.0 ^a	9.2 ^{ab}	7.2 ^a	9.5 ^a	7.2	83.9 ^a	81.5 ^a	80.2
E	8.5 ^a	11.1 ^a	9.7 ^a	7.0 ^a	9.4 ^a	7.7	80.8 ^a	85.1 ^a	81.1
	* ^x	*	*	*	*	ns	*	*	ns

z：處理說明如表 1

y：1st, 2nd, 3rd, 為花序(inflorescence)著生位置

x：ns, *, **, Non signification or signification at $p=0.05$ or 0.01 , respectively

表 5. 不同立體栽培模式對番茄‘桃園亞蔬九號’果實可溶性固形物及酸度之影響
Table 5. Influence of vertical culture model on fruit soluble solids and titrable acidity of tomato cv. ‘TAOYUAN AVRDC No.9’.

處理 ^z	可溶性固形物	酸度
A	4.21 ^c	0.749 ^b
B	4.94 ^b	0.906 ^a
C	5.02 ^{ab}	0.752 ^b
D	4.87 ^b	0.738 ^b
E	5.12 ^a	0.763 ^b
	* ^y	*

z：處理說明如表 1

y：ns, *, **, Non signification or signification at $p=0.05$ or 0.01 , respectively

四、不同立體栽培下之環境因子

番茄‘桃園亞蔬九號’於不同立體式栽培下環境光子流量度(PPFD)之情形如表六，苗株定植後 29 天，於 10 月 29 日調查光子流量密度，B 處理之 $805 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 顯著高於 C 處

理的 695、D 處理 575 及對照組 E 處理 613 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，A 處理之 452 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 為顯著最低。在定植後 41 天，於 11 月 10 日調查之 PPFD 值以對照組 E 處理 690 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 為顯著最高，D 處理的 637 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、B 處理的 601 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 次之；再次為 C 處理的 572 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ；A 處理的 377 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 為最低。定植後 10 天的 LAI 值以對照組 E 處理的 1.09 顯著高於 A 處理的 0.72、B 處理的 0.91 及 C 處理的 0.88 和 D 處理的 0.78。定植後 39 天之 LAI 以 D 處理的 2.17 及對照組 E 處理的 2.34 顯著高於其他處理，其他處理的 LAI 值介於 1.79-1.84。

表 6. 不同立體栽培模式在番茄 ‘桃園亞蔬九號’ 植株中的光子流量密度(PPFD)及葉面積指數(LAI)之差異

Table 6. Influence of vertical culture model on photosynthetic photon flux density and leaf area index of tomato cv. ‘TAOYUAN AVRDC No.9’.

處理 ^z treatment	PPFD($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)		LAI	
	定植後天數 ^y		定植後天數 ^x	
	29	41	10	39
A	452 ^d	377 ^d	0.72 ^b	1.79 ^b
B	805 ^a	601 ^{bc}	0.91 ^b	1.84 ^b
C	695 ^b	572 ^c	0.88 ^b	1.80 ^b
D	575 ^c	637 ^b	0.78 ^b	2.17 ^a
E	613 ^c	690 ^a	1.09 ^a	2.34 ^a
	** ^w	**	**	**

z：處理說明如表 1

y：番茄植株於 10 月 1 日定植，10 月 29 日為定植後 29 天，11 月 10 日為定植後 41 天

x：番茄植株於 10 月 1 日定植，10 月 10 日為定植後 10 天，11 月 08 日為定植後 39 天

w：ns,*,**, Non signification or signification at $p=0.05$ or 0.01 , respectively

討 論

為了經濟有效利用設施內空間，番茄植株以立體層架及不同生長方式栽培，研究其對番茄產量影響。試驗結果指出在不同立體式栽培處理中的每處理果數以 A 及 C 處理的果數顯著高於其他處理與傳統袋耕供作對照組的 E 處理，並以 D 處理為最低。果數的多寡主要受栽培密度、花序數、小花數及結果率之影響，不同立體栽培處理之株數以 A 處理每處理均栽植 24 株，每株留三花序，計有 72 花序；C 處理為 36 株，但留二花序亦 72 花序；D 處理為 12 株留三花序，僅有 36 花序；對照 E 處理有 12 株留五花序，共有 60 花序。試驗結果顯示有較多花序之 A 與 C 處理其結果數較對照組 E 處理高，D 處理為花序最少者，其果數亦最低。Papalopoulos 和 Parajasingham (1997)指出提高番茄植株之密度可增加花序數，以提高果數及產量。林(2001)之研究栽培密度與留花序數對番茄果數之影響，指出留二花序至五花序數，其總果數由 5.8 增加至 13.6 個，應證果數會隨花序數的增加而增加。

番茄之單位面積產量則由每平方公尺株數、單株果數及單果重三個因素所構成，試驗中 A、D 與 E 處理，面積皆為 $0.975 \text{ m}^2/\text{處理}$ ，結果以 A 處理其單位面積產量為最高，由於 A 處理其花序數顯著多於 D 與 E 處理，故有較高之單位面積產量，C 處理花序數雖與 A 處理相同，每處理為 72 花序，但其面積為 $1.35 \text{ m}^2/\text{處理}$ 卻較 A 處理之 $0.975 \text{ m}^2/\text{處理}$ 多出 38%，故雖然 C 與 A 處理在處理間的產量相近，但 C 處理之單位面積產量顯著低於 A 處理。B 處理之單位面積產量為最低，原因之一可能亦為其單位面積的總花序僅為 A 處理之 62%。單果重亦顯著影響單位面積產量，D 與 E 雖有最高之單果重，但其花序數與果數顯著較 A 處理為少，B 處理則因單位面積果數與單果重皆較低，以致其單位面積產量較低。Agele 等人(1999)研究指出單位面積之果實產量會隨著栽植密度的增加而增加，係由於單位面積的植株數量增加所致。林(2003)在植株密度對袋植番茄生長與發育的試驗，說明不同栽培密度對單果鮮重及單位面積產量均有影響。單果鮮重會隨著密度或是花序數目的增加而降低，單位面積產量則隨密度或花序數目增加而增加產量，均與試驗研究結果相符合。

可售果為具有販賣價值之番茄果實，其定義為番茄果實周徑大於 18cm 之正常果。可售果之果數及產量在各處理間差異和果數及產量有相同結果，總果數較多之處理，其相對之可售果數亦較多。單位面積的種植密度及單株花序數同時影響可售果的產量，單位面積之種植株數愈高，則易造成植株之徒長，並因葉片重疊之遮蔭影響其光合作用產物，促使可售果占產量比例下降。Ferry 等人(1970)研究不同品種番茄在不同栽植密度中可售果產量及總產量表現，各品種番茄之總產量皆隨栽培密度增加而增加總量，可售果產量則隨栽培密度增加而趨於平緩，促使高栽培密度處理之可售果產量占總產量之比例下降(Zahara and Tim, 1973)。單株花序數的增加而降低可售果比例，林(2001)在番茄栽培密度與留花序數的試驗中，指出單位面積株數 3.7 增加至 12.5 株，其可售果比例由 86.5% 降至 67.6%。單株

花序數由二花序增加至五花序，可售果比例則由 81.5% 降至 79.2%。Gosselin 等人在 1996 年的研究中亦有相同結果，適當摘除花序可增加可售果比例。

植株營養生長發育影響果實產量，本研究各處理之總葉鮮重和產量呈正相關，隨著總葉鮮重上升，產量也隨之較高，如 A 處理及 C 處有最高的值。構成葉鮮重的影響因子有葉片數目、單葉重量、葉面積。各處理間單株葉鮮重之差異，主要在於單位面積栽培密度不同所造成光強度截取量的差異。隨栽培密度的增加，各植株之光線截取量降低，葉片鮮重下降。C 處理之單位面積種植株數 26.7 株為最高，故其單株葉鮮重最低。D 處理及 E 處理之單位面積種植株數僅為 12.3 株，而有最高單株葉鮮重。Papadopoulos 和 Ormrod(1991) 報告指出隨著種植間距的增加導致葉面積指數的降低，因而促使單株葉面積增加 (Heuvelink and Marcelis, 1996)。葉片為光合作用之主要器官，葉面積指數可以度量植物群落光合作用之大小，作物之光合作用不僅和光合成系統大小有關，同時與光合效率有密切關係。有較高之葉片形成速率，提供植物生長發育所需之同化產物，以提高植物產量(高, 1994)。

果實的風味是鮮食番茄果實品質的重要特性，這個特性需要由許多化學構成物組合而成，如六碳醣和有機酸，兩者亦是可溶性固形物的主要成分，對於果實的風味十分重要 (Young *et al.*, 1993)。試驗調查 E 處理之環境因子光合作用光子流量密度(photosynthetic photon flux density, PPFD)較高，因此 E 處理有較高之可溶性固形物。Logendra 和 Shannon (1992) 之研究顯示遮蔭會減少果實同化產物的含量，因減少葉片同化產物分配為蔗糖，因此從葉片運移至果實的碳水化合物含量減少。Balibera 等人 (1999) 研究指出增加養液及根圈 EC 值可使果實具有較高的糖和酸濃度，其主要原因是減少果實水分含量，其次是影響同化產物的運移。在不同處理之酸度比較中，以雙層均倒向栽培 B 處理之酸度較高，推測其因為倒向栽培促使介質水分蒸發快，土壤之水分降低、EC 值上升所致，因此若以倒向栽培須調整灌溉水量。

參 考 文 獻

- 行政院農業委員會。2004。台灣農業年報(民國九十二年版)。行政院農業委員會編印。
- 李文汕。1999。蔬菜無土介質容器栽培。蔬菜容器栽培技術開發研討會專集。國立中興大學園藝系主編。p.1-17。
- 沈在發、許焱焱。2001。作物的營養及影響養液組成之因素。沈博士論文集(下冊)。農委會種苗改良繁殖場 p.702-719。
- 林英志。2003。植株密度與雙層栽培對袋耕番茄生育與產量之影響。中興大學園藝學研究所碩士論文。臺灣台中。
- 林國青。2001。番茄栽培密度與留花序數對果實產量、品質及採收期的影響。中興大學園

藝學研究所碩士論文。臺灣台中。

- 高景輝。1994。植物生長與分化。國立編譯館主編。茂昌圖書有限公司發行。臺灣台北。
- 陳正次。1995。番茄。台灣農家要覽農作篇(二)。財團法人豐年社發行。 p.427-436。
- Agele, S. O., G. O. Iremiren, and S. O. Ojeniyi. 1999. Effects of plant density and mulching on the performance of late-season tomato (*Lycopersicon esculentum*) in southern Nigeria. J. Agr. Sci. 133:397-402.
- Balibrea, M. E., M. Parra, M. C. Bolarin, and F. P. Alfocea. 1999. Cytoplasmic sucrolytic activity controls tomato fruit growth under salinity. Aust. J. Plant Physiol. 26:561-568.
- Fery, R. L. and J. Janick. 1970. Response of the tomato to population pressure. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95(5):614-624.
- Gosselin, A., H. L. Xu, and M. Dafiri. 1996. Effects of supplemental lighting and fruit thinning on fruit yield and source-sink relations of greenhouse tomato plants. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65(3):595-601.
- Heuvelink, E. 1996. Re-interpretation of an experiment on the role of assimilate transport resistance in partitioning in tomato. Ann. Bot. 78:467-470.
- Logendra, L. S. and H. W. Janes. 1992. Light duration effects on carbon partitioning and translocation in tomato. Sci. Hort. 52:19-25.
- Papadopoulos, A. P. and D. P. Ormrod. 1991. Plant spacing effect on growth and development of the greenhouse tomato. Can. J. Plant Sci. 71:297-304.
- Papadopoulos, A. P. and S. Parajasingham. 1997. The influence of plant spacing on light interception and use in greenhouse tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.): A review. Sci. Hort. 69:1-29.
- Young, T. E., J. A. Juvik, and J. G. Sullivan. 1993. Accumulation of the components of total solids ripening fruits of tomato. J. Amer. Hort. Sci. 118:286-292.
- Zahara, M. and H. Timm. 1973. Influence of plant density on growth, nutrient composition, yield, and quality of mechanically harvested tomatoes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98(50):513-516.

Influence of Vertical Culture Model on Plant Growth and Yield
of Tomato cv. 'TAOYUAN AVRDC No. 9'
(*Lcopersicon esculentum* Mill)

Yu-Cheng Yang ¹⁾ Yu Sung ²⁾ Woo-Nang Chang ³⁾

Key words: tomato, vertical culture, photosynthetic photon flux density (PPFD), yield

Summary

Five-week-old seedlings of tomato cv. TAOYUAN AVRDC No. 9 were planted in plastic tanks filled with peat moss in vertical culture. The results showed that the two-layer culture in treatment A of arching down on top layer and upright growth on bottom layer had the highest yield, but treatment B of both layers arching down growth had the lowest yield. Treatment A had the highest marketable yield but not significantly different from the control of one layer traditional upright planting (treatment E). However, treatment A and three layer arching down plant (treatment C) had significantly higher early yield than the control. The fresh weight of the leaf and of the stem per plant in control were 476 g and 265 g, respectively, which were significantly higher than other treatments. The Control plant also had more flowers and fruits in the first to the third inflorescence.

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

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

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

鄉村景觀環境對觀賞者生心理效益之研究

周孟慈¹⁾ 張俊彥²⁾

關鍵字：鄉村景觀、生理回饋、狀態焦慮

摘要：本研究目的在探討不同的鄉村景觀環境，對於觀賞者之生心理反應是否會造成不同的影響？並且進一步驗證觀賞者生理與心理反應間之相關性。研究選取國內風景優美之鄉村與自然景觀作為生心理測試之刺激來源，於太魯閣國家公園、苗栗飛牛牧場及台中市西屯區東籬農園休閒農場等 6 處拍攝測試用之有聲動態影片，共 20 秒。受測者觀看影片後之心理感受以狀態焦慮量表評估；生理反應部分則利用生理回饋儀器量測受測者觀看影片後之「左腦 α 波值，EEGa」、「右腦 α 波值，EEGb」及「前額肌電值，EMG」。並進一步探討觀賞者之「狀態焦慮程度」與「左腦 α 波值，EEGa」、「右腦 α 波值，EEGb」及「前額肌電值，EMG」間之相關性。

經統計結果分析發現，受測者一般在「人文史蹟環境」影片時反映出較高的心理放鬆狀態；觀看「溪流環境」則最低。反觀生理反應部份，各監測指標反應的結果不甚一致，由平均數可知，受測者觀看「溪流環境」影片時，其「EEGa」、「EEGb」及「EMG」均處於放鬆的狀態。

以重複量測變異數分析結果發現，不同的鄉村景觀環境對受測者之「狀態焦慮程度」及「EEGb」兩者有明顯之影響；但對「EEGa」及「EMG」則無。在心理感受與生理反應間的相關性方面，以皮爾遜積差相關分析驗證，結果發現受測者觀看「人文史蹟環境」影片後，其「狀態焦慮程度」與「EEGb」間有顯著的相關性存在；其餘環境則無。

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。

前 言

在景觀評估及環境認知研究方法的領域中，一般多偏重於運用心理學及社會學的理论方式進行研究，1970 年代許多學者對於大自然體驗與效益的研究，多是以心理學為主，探討使用者的心理認知為主(Kaplan, 1973; Ulrich, 1979)。自 1980 年代，逐漸有學者對於景觀經由視覺所產生的生理反應與心理效應間的關係作進一步的探究(Ulrich, 1981, 1983, 1986; Ulrich and Simons, 1986)。1990 年代則更以動態的戶外休閒遊憩與靜態的休閒活動，運用心理生理學(Psychophysiology)的測量方式加以深入探討研究(Tarrant, Manfredo, and Driver, 1994)，使得景觀評估及環境認知，已由傳統上偏重於心理學及社會學之自我評估為主的研究方法，逐漸趨向於對生理和情緒反應(壓力、喚起刺激的基準、情感效應或情緒狀態)的探索所取代。

隨著監測儀器的進步，自然景觀的效益不僅只在於心理效益的功能上，亦可直接影響心理與生理的各種反應，此測量方法上的新趨勢，使個體在經由景觀環境刺激後，對環境知覺的研究由客觀性的心理層面感受，擴及至探索人的情感、知覺、壓力及行為反應中生理反應關聯的研究(Cacioppo, Tassinary, and Berntson, 2000; Chang and Perng, 1998; 張俊彥、曾慈慧, 1999)。

此外，因為現代社會進步迅速，壓力已是現代人無可避免的一個夢魘，也是許多文明病的頭號病因，人們為了紓解日常壓力，紛紛到戶外從事休閒活動以獲得身心健康，但一般大眾對於戶外休閒活動的獲益往往僅止於風景的欣賞，殊不知自然體驗帶給人們生理與心理的種種效益。因此本研究主要之目的在於因應現代的潮流，經由實證研究的方式，了解人們從事自然旅遊可獲得之生心理效益，以期能在園藝治療研究方面提供一個明確而有效的指標。

為提高觀賞者對於環境的基本認知及感受，測試環境主要以台灣地區常見之鄉村與自然景觀為代表。藉由實證調查，以不同的「鄉村景觀環境」為自變項，生理指標—「EEGa」、「EEGb」、「EMG」；心理指標—「狀態焦慮程度」為其依變項，驗證不同鄉村景觀環境對觀賞者生心理反應之影響，及其生理反應與心理感受之間的相關性。

文 獻 回 顧

一、自然景觀效益相關理論

Ulrich(1983)、Kaplan 夫婦(1989)及 Hartig(1993)等學者研究指出，人類對自然景觀的偏好甚於人造景觀。例如 Purcell, Lamb, Mainardi Peron, and Falchero(1994)及 Stamps(1996)研究歐洲與北美地區成年人對照片環境的感受發現，受測者對自然景觀的偏好、景觀美質評價或是愉悅程度等等，都比都市景觀來得高(van den Berg, Koole, and van der Wulp, 2003)。大多數學者認為，人類偏好自然景觀的原因是因為自然景觀提供紓解壓力及恢復

注意力的效益(Kaplan and Kaplan, 1989; Hartig and Evans, 1993; Staats, Kieviet, and Hartig, 2003)。另有學者認為人們偏好自然環境甚於都市環境的原因，可能是因為自然環境具有恢復或促進身心健康的效益(Appleton, 1975; Ulrich, 1983; Kaplan, 1987)。

在心理效益部份，Kaplan 夫婦(1989)在一項戶外挑戰活動研究中意外發現，參與活動的受訪者在活動當中體驗到很深的寧適感，甚至有被醫治的感覺；除了心理的疲勞得到恢復之外，許多人覺得自己處於一個反省的狀態，並思考自己的生活及人生課題的優先次序。除此之外，發現自然是如此地有力量且令人感到舒適。Hartig, Mang, and Evans(1991)研究比較三群旅遊者發現，從事荒野旅遊的人對於文稿校對的工作完成度較高，在從事都市中渡假或不渡假的人對於此種工作完成度較低。而根據 Francis and Cooper Marcus(1991)調查美國舊金山地區大學生時也發現，有 75%的受訪者覺得心情不好或沮喪時，會到有水和植物的地方讓自己心情恢復平靜。

在生理效益部份，Ulrich(1981)評估視覺上與自然環境接觸所帶來的效益。以自然和都市景觀作為自變項，觀察受測者生心理的反應。結果顯示以綠色之植栽為主及具有水體的自然景觀，對心理狀態有較好的影響；而這種情形女性比男性明顯。在生理方面，觀看只有植栽的自然景觀幻燈片者，大腦中 α 波的振幅顯著增加(α 波的振幅大表示愈清醒、放鬆)，看有水體的自然景觀的增加更顯著。Ulrich(1984)和 Verderber and Reuman(1987)將自然窗景病房中的病人與病房中窗景為建築物的病人相比較，發現前者所要求的止痛劑藥量比後者少。Parsons, Tassinary, Ulrich, Hebl, and Grossman-Alexander(1998)研究表示，請受測者觀賞模擬車子行經道路之沿線景觀，包括以自然景觀為主或以建築景觀為主，並記錄其生理反應，結果顯示觀看人工景觀時，皮膚電阻較高，心跳脈搏速率較高，而觀看自然景觀後，其皮膚電阻則較小，脈搏速率較低。近幾年國內學者運用不同的生理指標來評估受測者接受不同景觀類型刺激所引發之生理反應，Chang and Perng(1998)以不同的景觀資源做為視覺刺激來源，運用膚電、指溫與肌電值作為生理反應的觀測指標，結果發現受測者觀看自然景觀時，其膚電值明顯下降。張俊彥、萬麗玲(1999)運用不同城鄉景觀作為刺激源，同樣發現受測者觀看鄉村景觀後之肌電值有下降的趨勢。

二、壓力與焦慮相關理論

焦慮情緒是壓力的主要表徵，一般人生活中經常容易感受到的壓力(stress)，想去除壓力就等於要去除它所帶來的焦慮(anxiety)與緊張(tension)。所謂「緊張」是在面對壓力時，生理或心理所呈現的一種準備應付狀態，而「焦慮」是伴隨緊張而出現不安、擔心、害怕等感受交織成的複雜情緒狀態，以及一些生理變化，如顫抖、心跳加速及暈眩(張春興，1989; 鄭昭明，1993)。傳統上，焦慮可概分為狀態焦慮(state anxiety)和特質焦慮(trait anxiety)兩種。前者乃是一種由特殊情境所引發的短期性情緒反應，其發生和強度與個體對情境刺激的主要知覺有關，如果個體對一刺激感受壓力或威脅，即會產生焦慮，但是此因素一旦消失，便會恢復到正常的狀態，是以狀態焦慮具有轉變的基本性質。另一種特質焦慮則屬於長期性的心理傾向，是個體人格運作上的一種特徵，不像狀態焦慮那樣受到情境因素的

支配，也就是特質焦慮可使一個人在許多情境中皆感受到普遍性的緊張或不安情緒，故在本研究中選用狀態焦慮為測量心理狀態的指標(葛樹人，1996)。

心理學對焦慮性質的測量工具和量表頗多，但這些量表通常對狀態和特質兩種焦慮並不加以分辨，而造成應用上的混淆和限制。自 1960 年代以來，Spielberger 等人對狀態和特質焦慮的理論加以系統性的研究，並編製了一種與其他量表不同的測量工具，將狀態和特質焦慮於同一量表上同時分別加以測量，此一方法頗受一般重視，名為狀態-特質焦慮量表。該量表適用於高中年齡以上的青年和成人，自出版以來在研究和臨床上使用很多，為其他各類量表所不及。量表中共包括四十個自陳式項目或敘述語句，每一項目上有一個分為四個等級的評量表，供受測者用來作強度或頻率性的反應，量表得分愈高，表示焦慮程度愈高。這四十個項目又劃分成狀態焦慮(A-state)和特質焦慮(A-trait)兩個分量表，各含二十題(葛樹人，1996)。

三、心理生理學相關理論

人在從事遊憩活動時，不只是在實質的環境中產生活動，更需藉由感覺器官與各種景觀資源產生交互作用的影響(Steven, 1988)，許多相關的研究指出在所有的感官知覺中，視覺佔所有感官的 87%，為對外界最主要的感官知覺。

生理回饋(Biofeedback)是利用儀器將個體在平常情況下，將不能意識到的心理生理過程反應出來，以便進行隨意控制和自我調節，經由儀器將自身的生理學變化信息如肌肉緊張、皮膚溫度、腦波、皮膚電反應、血壓、心跳頻率等經由儀器檢錄、放大和轉換，在顯示系統上準確的反應出而反饋於個體。從研究的方式來看，在心理生理學上有三種基本的研究方法(徐斌、王效道, 1993)：

(一)、解剖學法

最普通的方法是對神經系統的某些部位加以損傷其某一神經系統後，觀察個體對接受環境刺激後與正常個體兩者反應上的差別。

(二)、電擊或化學藥劑刺激法

長期以來此種技術被用來測量記錄自律神經系統的變化，因新技術的發展使得電極已可長期植入體內，測量中樞神經的變化。

(三)、生理變化測量法

本方法對受測個體較不具侵襲性，為研究生理心理學的基本工具，包括對呼吸、心跳等周邊生理變化的測量和記錄。

研究者進行生理回饋醫療研究時，是將監視儀器與受測者連接，使反應結果客觀地顯示出來，而這也使受測者得知其生理的反應狀況，例如：受測者受到環境刺激而感到情緒的起伏，其手部的感覺會產生變化，隨之出現血管舒張引起血流增加，在測試儀器上會顯示皮膚的溫度上升，此時即為受測者因環境刺激而產生的認知情緒反應(經由大腦皮質及自主神經系統而產生)與生理變化的直接感知連接。

本研究即是利用這種源於控制運動肌肉活動的信號，透過外感受器(眼或耳)的傳入，

使人能夠更清楚自覺到肌肉的活動，運用生理回饋方法，將監視儀器與受測者連接，使反應結果客觀地顯示出來，以得知受測者經由不同的鄉村景觀環境刺激後，其生理指標的反應狀況，以分析不同鄉村景觀環境間對於觀賞者生理反應之影響。

材料與方法

為了避免測試時，受測者之間的交互影響，因此每次測試僅有一位受測者。為了避免受測者會產生煩躁感，測試進行之前會要求受測者先緩和呼吸，完全放鬆。有鑑於本次實驗尚無法普及於社會大眾，加上必須考量受測者本身健康狀況等原因，在選擇測試對象時，以中興大學農資學院及靜宜大學觀光系學生為受測者抽樣母體，採方便性抽樣，於測試進行之前，由自願參與測試者先填寫可以接受測試的時間，經整理後將測試媒體採隨機分配的方式，分配給所有願意接受測試的受測者。

一、測試媒體選擇之依據

在許多研究中證實，利用彩色動態影片模擬真實環境可以提供合理而有效的替代性資料(Herzog & Gale, 1996)，而且本研究測試之刺激主要為視覺刺激，因此模擬現場環境的測試媒體選擇彩色動態有聲影片。自然遊憩環境選取則參考 Laumann, Gärling, and Stormark(2001)之研究，其將景觀型態區分為兩大類，第一類為自然景觀型態，包括高山、水體、森林三種景觀型態，第二類為都市景觀型態，包括公園景觀與都市景觀兩類。而本研究目的在於探討不同的鄉村景觀環境對觀賞者生心理反應之影響，故選取以國內景色優美之旅遊景點為測試內容，包括「高山環境」、「溪流環境」、「海岸環境」、「人文史蹟環境」、「鄉村環境」及「都市近郊環境」六類。根據張俊彥、洪佳君(2002)與翁珮怡(2003)等研究指出，受測者接受視覺刺激(靜態影像或動態影像)後至生理指標變化的反應時間約為 20 秒，故本研究之測試影片長度設定為 20 秒鐘，以自動旋轉台拍攝，避免人為操作造成影片不流暢而影響受測者之反應。

二、生理反應測試

研究中受測者生理反應變化狀況係使用 Thought Technology Ltd.所製造之多媒體視窗版生理回饋組 Procomp+ /Biograph V2.0 Biofeedback System 來記錄，以下針對本研究選用之生理指標操作原理詳細說明：

(一)、前額肌電值(EMG)量測

係利用感應器偵測且增強肌肉收縮時所產生的電流脈衝，所得訊號的強度與肌肉收縮力量是成比例的。一般來說，肌肉停止收縮時的輸出數值介於 3~5 μ V 之間，若肌肉處於非常放鬆的狀態則可能低於 0.3 μ V(Thought Technology Ltd., 2001; Peek, 1995)。依據本研究之目的，量測受測者所得之 EMG 值越低代表受測者之前額肌肉越鬆弛，即受測者處於越放鬆之狀態。

(二)、左右腦 α 波值(EEGa、EEGb)量測

腦波 EEG 感應器可偵測且增強腦細胞(神經元)激發時所產生的微弱電壓，如同肌肉纖維一樣，不同位置的神經元的激發速率有所不同，較常出現的頻率約介於 1~40 Hz 之間。EEG 感應器紀錄原始的 EEG 訊號(正負電極之間持續的電位差)，再利用軟體處理以獲得腦波的頻率波段(Thought Technology Ltd., 2001)。依據本研究之目的，量測受測者所得之 EEGa 與 EEGb 代表受測者左右腦 α 波之出現次數，其值越高者代表受測者處於越放鬆之狀態。

三、心理感受問卷調查—自我評估的問卷設計

本研究之心理效益係以自填式問卷估量，參考 Spielberger, Gorsuch, Vagg, and Jacobs(1983)編製的狀態-特質焦慮量表(State-Trait Anxiety Inventory, STAI)，選擇狀態焦慮部分問項作為本次測試之狀態焦慮量表，共 20 個題目，由受測者逐題評估自己「現在、此時」的狀態，評估尺距為：「一點也不」、「有一點」、「大概是這樣」、「完全是這樣」，將 20 題之評值總分用以代表受測者觀看影片後產生之心理狀態變化情形，狀態焦慮評值總分愈低者則代表該受測者愈焦慮。

四、測試媒體播放

本研究為消除不同景觀類型播放順序差異對受測者生心理反應之影響，因此採用隨機播放之方式來播放測試媒體。由於依隨機抽樣法所需準備之測試媒體多達 120 套，恐造成實驗操作上之阻礙；此外，為避免同一順序之戶外環境影片在播放順序中出現在同一順位次數過高造成之影響，採用隨機選取之原則共抽出 20 套測試影片組合供實驗播放。此外依據 Larsen, Adams, Deal, Kweon, and Tyler(1998)所提出之實驗方法，首先調查受測者的身分與人數以安排測試時間，再依隨機抽樣方法將測試媒體分配給每位受測者，依上述操作方法之原則進行測試。

本研究於 2005 年 4 月至 5 月期間進行生心理回饋之實證研究。測試時使受測者處於 10.6 公尺×8.6 公尺，維持恆溫 25°C 的實驗室中，以單槍投影機將測試影片投射於螢幕上，並讓受測者坐在舒適的座椅上，減少測試過程中必須維持一定姿勢所產生的不舒適感，受測者與螢幕距離 4 公尺。測試儀器置於受測者之後方，以減少對受測者之干擾。

測試前由測試者說明本研究測試的目的，並簡述測試內容、問卷填寫方式及測試注意事項等等，減少受測者對於測試儀器及測試操作產生疑慮，以致造成不必要的緊張影響測試結果。然後請受測者簽署同意書後再進行測試。測試程序主要分為三個部分詳述如下：首先是測試前指導語，請受測者調整呼吸及放鬆心情；接著以 5 秒鐘的空白綠片讓受測者放鬆；第二部分是隨機播放鄉村景觀環境影片，請受測者想像自己正在該環境中，於此時紀錄受測者的生理指標變化情形；第三部分則是請受測者填寫心理感受問卷。

結 果

本研究於測試期間共完成有效問卷計 60 份。受測者之心理感受部分，係將問卷各問項之評值加總來代表受測者之狀態焦慮程度，其值越低代表受測者處於越焦慮之狀態。生理反應部分，係利用生理回饋儀器紀錄所得之生理反應資料，共有 EEGa、EEGb 和 EMG，其中腦電波每秒紀錄 256 筆資料；肌電值每秒紀錄 32 筆資料。於受測者觀看每種環境影片時，記錄 15 秒的生理回饋資料。將所得 15 秒的生理回饋資料輸出並標準化之後，作為後期統計分析之用。

一、受測者心理感受與生理反應之描述性統計

受測者觀看不同鄉村景觀環境影片後之「狀態焦慮程度」經統計分析結果顯示，其觀看「人文史蹟環境」影片後之中之狀態焦慮程度最高(平均值 67.00)；觀看「溪流環境」則最低(平均值 62.73)。即受測者觀看「溪流環境」時最焦慮；觀看「人文史蹟環境」影片時最不焦慮，推論環境中出現大片開放綠地可給人放鬆的心理感受，此結果與 Ulrich(1981)研究結果相同。

受測者的 EEGa 部分經統計分析結果發現，其觀看「海岸環境」影片時，其 EEGa 值最高(平均值 5.61)；而觀看「空白測試」影片時最低(平均值 4.96)。即受測者觀看「海岸環境」影片時，左腦 α 波的出現次數最多，生理處於最放鬆之狀態；而觀看「空白測試」影片時則最不放鬆，推論環境中若有大面積的水體存在，可激發人產生較高的 α 波出現次數，獲得較放鬆之生理反應，此結果亦與 Ulrich(1981)研究結果相同。

EEGb 部分則是在觀看「高山環境」影片時，其 EEGb 值最高(平均值 5.13)；而觀看「空白測試」影片時最低(平均值 4.71)。即受測者在觀看「高山環境」影片時，右腦 α 波的出現次數最多，生理處於最放鬆之狀態；而觀看「空白測試」影片時則最不放鬆。推論觀賞者認為高山環境可提供休息、放鬆的空間，而且視野遼闊，富有開放感，與日常生活接觸之緊湊街景明顯不同，亦可激發人產生較高的 α 波出現次數，獲得較放鬆之生理反應，此結果與張俊彥、洪佳君(2002)研究結果相同。

EMG 部分經統計分析結果發現，受測者在觀看「海岸環境」影片時，其 EMG 值最高(平均值 7.45)；而觀看「溪流環境」影片時，其 EMG 值最低(平均值 6.57)。即受測者在觀看「海岸環境」影片時，前額肌肉的緊張程度最高，處於越焦慮之狀態；而觀看「溪流環境」影片時則最放鬆。

二、鄉村景觀環境與受測者生心理反應之差異性分析

本研究進一步探討不同鄉村景觀環境對於觀賞者之生心理反應是否有所影響，由於每次測試受測者需觀看三段之鄉村景觀環境影片，為消除受測者之生心理反應受前後影片刺激之影響，利用重複量測變異數分析(Repeated Measure ANOVA)來進行驗證分析。

在受測者之心理感受差異性檢定部分，以「鄉村景觀環境」為自變項，受測者之「狀態焦慮程度」為依變項，經重複量測變異數分析結果可得 $F=4.124$, $p=0.003<0.05$ 達顯著

水準，可知受測者觀看之「鄉村景觀環境」不同時，對受測者之「狀態焦慮程度」有明顯的影響存在，即受測者觀看不同鄉村景觀環境影片時，其狀態焦慮程度有所不同，因而獲得不同之心理放鬆效果。

在受測者生理反應差異性檢定部分，以「鄉村景觀環境」為自變項，受測者之「EEGa」、「EEGb」及「EMG」為依變項進行重複量測變異數分析檢定。在受測者的 EEGa 部分，經重複量測變異數分析結果可得 $F=0.872$ ， $p>0.05$ ，未達顯著水準，可知受測者觀看之「鄉村景觀環境」不同，對受測者之 EEGa 未有明顯的影響存在。受測者的 EEGb 部分經重複量測變異數分析結果可得 $F=2.647$ ； $p=0.039<0.05$ 達顯著水準，可知受測者觀看之「鄉村景觀環境」不同時，對受測者之 EEGb 有明顯的影響存在，即受測者觀看不同鄉村景觀環境影片時，其右腦 α 波之出現次數有所不同，因而獲得不同之生理放鬆效果。受測者的 EMG 部分經重複量測變異數分析結果可得 $F=0.352$ ， $p>0.05$ ，未達顯著水準，可知受測者觀看之「鄉村景觀環境」不同，對受測者之 EMG 未有明顯的影響存在。

三、受測者心理感受與生理反應之相關性分析

在受測者生心理反應之相關性分析方面，以受測者之「狀態焦慮程度」及「EEGa」、「EEGb」、「EMG」為研究變項進行分析，利用皮爾遜積差相關係數(Pearson Product-Moment Correlation)檢驗兩變項之間的關聯強度，經分析檢定結果顯示，僅在「人文史蹟環境」部分，受測者之「狀態焦慮程度」與「EEGb」之間有顯著的相關性存在($\gamma=-0.34$)，在其他鄉村景觀環境中之心理感受與生理反應之間無明顯的相關性存在。

討 論

本研究目的在瞭解以不同的鄉村景觀環境作為刺激源時，觀賞者之心理感受與生理反應是否會受此影響？以心理生理學的測試方式，利用生理回饋監測儀器將觀賞者無法意識到的生理變化客觀的反應出來，免除傳統的社會心理學研究方法，以自陳式問卷評估觀賞者心理感受之造成的誤差。並進一步探討在各環境中觀賞者之生心理反應間的相關性。

根據研究結果顯示，受測者在不同鄉村景觀環境的刺激下，其心理反應會隨著環境變化而改變，顯示鄉村景觀環境與心理反應間有明顯的關連性存在。而進一步了解各環境中給予人心理放鬆的效果發現，「人文史蹟環境」與「鄉村環境」提供之心理放鬆效果較佳，而「溪流環境」較低。推論可能因為「人文史蹟環境」與「鄉村環境」影片中皆出現大面積的綠色植栽，給予人平靜舒適的感覺；相較之下，「溪流環境」影片中之較具封閉感，可提供的心理放鬆效果較少。

另根據研究結果發現，鄉村景觀環境與受測者之生理反應間的關連性並不明顯，僅有 EEGb 值會隨環境不同而有明顯的改變。此結果符合大腦偏側化理論(李文森，1996)，由於大腦發展偏側化的差異，一般學者認為右腦前額葉主要是控制情感、想像力、美學感受

等反應，而本研究之刺激屬於視覺刺激，並且要求受測者想像自己身歷其境，故受測者之喚起刺激反應在右腦部分較為敏感，而使得右腦成為對空間感受較為敏銳的觀測指標。研究結果中不同鄉村景觀環境對生理反應的影響以「高山環境」可激發出較多的右腦 α 波出現次數，符合 Moore(1981)、Ulrich, Dimberg, and Driver(1991)與 McAndrew(1993)等學者認為自然環境較具有生理效益之研究結果。其他生理指標(EEGa、EMG)並未隨鄉村景觀環境不同而有明顯的改變，顯示此兩項指標與環境之間無明顯的關連性存在，由於生理反應為一複雜的連續性變化，而影響生理反應的因素仍包含有其他許多不確定因素，有待後續相關研究進行更深入之探討。

在實質建議部分，由於都市生活的長期壓力，常常會使人變得焦慮易怒，容易產生身心疾病，根據本研究結果顯示，從事自然旅遊可使人獲得生理與心理上的放鬆，充分獲得恢復健康的體驗。在各種鄉村景觀環境中，以「人文史蹟環境」與「鄉村環境」較具有心理放鬆的效果；而「高山環境」與「溪流環境」則較具生理放鬆之效果。

根據歷年來有關生心理效益間之研究顯示，生理反應與心理感受間之關連性仍有待發掘，本研究之分析探討仍有所不足，建議未來可藉由不同的面向切入進行環境與生心理反應之研究。在生心理量測的方法上，則可利用不同的生心理指標作更進一步之探討，以瞭解生心理反應間之最適搭配為何。由於本次研究並未從受測者個人特質的差異進行討論，未來研究中除了可以深入的探討個人特質的差異性之外，亦可探討不同文化背景之受測者間的變化情形，更能推廣其研究之應用性。

參 考 文 獻

- 李文森。1996。解剖生理學。台北。五南圖書公司。
- 徐斌、王效道。1993。心身醫學—心理生理醫學的基礎與臨床。台北。合記圖書出版社。
- 翁珮怡。2003。環境景觀生態結構對物種、使用者自然度感受及其生心理反應影響之研究。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。
- 張俊彥、洪佳君。2002。景觀空間元素與生心理反應之研究。造園學報。9(2): 107-120。
- 張俊彥、曾慈慧。1999。景觀元素對肌電變化之研究。博物館季刊。13(4): 99-111。
- 張俊彥、萬麗玲。1999。鄉村與都市景觀對心理反應影響之研究。興大園藝。24(2): 95-108。
- 張春興。1989。張氏心理學辭典。台北。東華書局。
- 葛樹人。1996。心理測驗學。台北。桂冠圖書公司。
- 鄭昭明。1993。情緒心理學。台北。五南圖書公司。
- Appleton, J. 1975. The Experience of Landscape. London: Wiley Press.
- Cacioppo, J. T., Tassinary, L. G., & Berntson, G. G. 2000. Handbook of Psychophysiology- 2nd edition. Cambridge University Press. UK: Cambridge.

- Chang, C. Y. and Perng, J. L. 1998. Effect of landscape on psychological and physical responses. *Journal of Therapeutic Horticulture* 1: 73-76.
- Francis, C., and Cooper Marcus, C. 1991. Places people take their problems [Thematic Session Affective relations between 'person-object-place']. In J. Urbina-Soria, P. Ortega-Andeane, and R. Bechtel (Eds.), *Healthy environments [Proceedings of EDRA 22 / 1991]* (pp. 178-184). Oklahoma City, OK: EDRA.
- Hartig, T. 1993. Nature experience in transactional perspective. *Landscape and Urban Planning* 25: 17-36.
- Hartig, T. Mang, M., and Evans, G. W. 1991. Restorative effects of natural environment experiences. *Environment and Behavior* 28: 44-72.
- Hartig, T., and Evans, G. W. 1993. Psychological foundations of nature experience. In T. Gärling & R. G. Golledge (Eds.), *Behavior and environment: Psychological and geographical approaches*. Amsterdam: North-Holland. pp. 427-457.
- Herzog, T., and Gale, T. A. 1996. Preference for urban buildings as a function of age and nature context. *Environment and Behavior* 28: 44-72.
- Kaplan, R. 1973. Some psychological benefits of gardening. *Environment and Behavior* 5: 145-162.
- Kaplan, R. & Kaplan, S. 1989. *The Experience of Nature: A Psychological Perspective*, pp.177-201, Cambridge University Press.
- Kaplan, S. 1987. Aesthetics, affect and cognition: Environmental preference from an evolutionary perspective. *Environment and Behavior* 19: 3-32.
- Larsen, L., Adams, J., Deal, B., Kweon, B., and Tyler, E. 1998. Plants in the workplace: The effects of plant density on task performance, attitudes and perceptions. *Environment and Behavior* 30: 261-281.
- Laumann, K., Gärling, T., and Stormark, K. M. 2001. Rating scale measures of restorative components of environments. *Journal of Environmental Psychology* 21: 31-44.
- McAndrew, F. T. 1993. *Environmental Psychology*. Pacific Grove, CA: Brooks /Cole.
- Moore, E. O. 1981. A prison environment's effect on health care service demands. *Journal of Environmental System* 11: 17-34.
- Parsons, R., Tassinari, L. G., Ulrich, R. S., Hebl, M. R., and Grossman-Alexander, M. 1998. The view from the road: Implications for stress recovery and immunization. *Journal of Environmental Psychology* 18: 113-140.
- Peek, C. J. 1995. A primer of biofeedback instrumentation, p.45-95. In: M. S. Schwartz et al., (eds.) *Biofeedback practitioner's guide*. 2nd ed. New York: The Guilford Press.
- Purcell, A. T., Lamb, R. J., Mainardi Peron, E., and Falchero, S. 1994. Preference or preferences

- for landscapes? *Journal of Environmental Psychology* 14: 195-209.
- Spielberger, C. D., Gorsuch, R. L. Vagg, P. R. and Jacobs, G. A. 1983. *Manual for the state-trait anxiety inventory*. CA: Consulting Psychologists.
- Staats, H., Kieviet, A. and Hartig, T. 2003. Where to recover from attentional fatigue: An expectancy-value analysis of environmental preference. *Journal of Environmental Psychology* 23: 147-157.
- Stamps, A. E. 1996. People and places: Variance components of environmental preferences. *Perceptual and Motor Skills* 82: 323-334.
- Steven, C. B. 1988. Toward a theory of landscape aesthetics. *Landscape and Urban Planning* 15: 241-252.
- Tarrant, M. A., Manfredi, M. J. and Driver, B. L. 1994. Recollections of outdoor recreation experiences: a psychophysiological perspective. *Journal of Leisure Research* 26: 357-371.
- Thought Technology Ltd. 2001. Tech Note 009: ProComp+ encoder and sensor instructions. Thought Technology Ltd. Montreal, QC, Canada.
- Ulrich, R. S. 1979. Visual landscape and psychological well-being. *Landscape Research* 4: 17-23.
- Ulrich, R. S. 1984. View through a window may influence recovery from surgery. *Science* 224: 420-421.
- Ulrich, R. S. and Simons, R. F. 1986. Recovery from stress during exposure to everyday outdoor environments. In J. Wineman, R. Barnes, and C. Zimring (Eds.). *Proceeding of the Seventeenth Annual Conference of the Environmental Design Research Association* (pp.115-122). Washington, DC: EDRA.
- Ulrich, R. S., Dimberg, U. and Driver, B.L. 1991. *Psychophysiological indicators of leisure benefits*. PA: Venture Publishing Inc. pp. 73-89
- Ulrich, R. S. 1981. Natural versus urban scenes some psychophysiological effects. *Environment and Behavior* 13: 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*, Vol. 1, New York: Plenum Press, pp.85-125.
- van den Berg, A. E., Koole, S. L., and van der Wulp, N. Y. 2003. Environmental preference and restoration: (How) are they related? *Journal of Environmental Psychology* 23: 135-146.
- Verderber, S. and Reuman, N. 1987. Windows, views, and health status in hospital therapeutic environments. *The Journal of Architectural and Planning Research* 4: 120-133.

The Influences of Rural Landscape Environment on Participants' Psychophysiological Benefits

Meng-Tzu Chou ¹⁾ Chun-Yen Chang ²⁾

Keywords: Rural landscape, Biofeedback, State anxiety

Summary

The purpose of this study was to explore whether different rural landscape environments would have influences on participants' psychophysiological responses. Furthermore, it was also to explore the relationship between participants' physical and psychological responses. Six sites in Taroko National Park, Flyingcow Ranch in MiaoLi, and DongLi Farm in Taichung was selected. Each site was filmed for 20 seconds as the stimuli of psychophysiological test. The State Anxiety Inventory was used to estimate participants' psychological responses (State Anxiety, SA) after watching the test film. The right and left sphere Alpha Brain Waves (EEGa, EEGb) and the forehead Electromyography (EMG) was recorded by biofeedback instruments to represent participants' physical responses. In addition, this study was tried to explore the correlation between SA, EEGa, EEGb, and EMG.

The results showed that participants generally had higher psychological release after viewing the Historical environment but lower one after viewing the River environment. On the other hand, participants' physical responses had some inconsistency. According to the mean values of those physical indices, it was found that participants showed higher physical release when viewing the River environment.

According to the results of Repeated Measure ANOVA, the difference environments did have significant influences on participants' SA and EEGb. The results of Pearson Correlation between psychological and physical responses also showed significant correlation when participants viewing the Historical environment.

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

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

興大園藝

第三十卷 第四期

- 化學藥劑處理對'台農 17 號'鳳梨果實品質之影響
.....周雅玲 陳京城 楊耀祥..... 1
- '巨峰'葡萄變異株之園藝性狀及果實發育
.....黃士晃 陳秉訓 陳京城 徐思東 楊耀祥.....13
- 利用 RAPD 與 ISSR 分子標誌評估印度棗品種間之遺傳歧異度
.....蘇慧珊 陳京城.....27
- 構築基因至同一個葉綠基因體轉殖載體以基因槍法
共同轉殖基因到甘藍葉綠體
.....陳立德 曾夢蛟.....39
- 蘭共生菌對嘉德利亞蘭出瓶分生苗生長之影響
.....林佑東 王才義.....53
- 暗處理對不同花序成熟度蝴蝶蘭植體生理之影響
.....胡盈盈 林瑞松.....65
- 鄉村地區樹籬廊道生態效益之研究
.....周彥瑜 張俊彥.....77
- 農村居民社經背景特徵與發展規劃參與程度之關係的研究
.....李美芬 歐聖榮.....91

國立中興大學園藝學系

中華民國九十四年十二月編印

化學藥劑處理對`台農 17 號`鳳梨果實品質之影響

周雅玲¹⁾ 陳京城²⁾ 楊耀祥³⁾

關鍵字：鳳梨、植物生長調節劑、黑心劣變

摘要：本試驗調查不同化學藥劑處理對`台農 17 號`鳳梨果實品質之影響。結果顯示，採收前 1~2 週處理 GA₃ 明顯延緩鳳梨果實果皮的轉色，且可有效降低貯藏期果冠的萎凋。不同濃度 GA₃、paclobutrazol 及 tebuconazole 之處理其黑心劣變發生率差異並不顯著。採收後以 NAA 或 GA₃ 處理亦可延緩果皮黃化，但發現經 GA₃、NAA 及 BA 處理之果實在室溫下貯放 3 週後，皆會誘使黑心劣變之發生。

前 言

鳳梨[*Ananas comosus* (L.) Merr.]在植物分類學上屬於鳳梨科(*Bromelicaceae*)鳳梨屬(*Ananas*)之多年生草本單子葉植物，原產於南美洲之巴西、巴拉圭及阿根廷一帶(Ray, 2002)。目前台灣主要栽培品種有開英種(正常開英、突目、三菱系等)、`台農 4 號`、`台農 6 號`、`台農 11 號`、`台農 13 號`、`台農 16 號`、`台農 17 號`、`台農 18 號`、`台農 19 號`、`台農 20 號`及`台農 21 號`等。各品種果實品質各具特色，而`台農 17 號`是目前栽種面積及產量最大的品種，其肉質細緻、果心稍大但細嫩可食，口感及風味均佳(黃, 2004)。

在外銷運輸過程中，常需以低溫貯藏來維持果實的品質，而鳳梨果實在低溫下易發生寒害，產生黑心劣變(blackheart)，又稱為 internal browning、endogenous brown spot，為鳳梨果實採收後主要生理病害之一。採收前田間的低溫亦可能造成鳳梨果實黑心劣變的發生(張及吳, 1961; Paull and Rohrbach, 1985; Sun, 1971)。Zhou 及 Tan(1997)以 GA₃ 處理`Smooth Cayenne`鳳梨果實並貯藏於室溫下，可誘導黑心劣變的發生，其發生的可能機制為 GA 會誘導與黑心劣變相關之基因表現，如多酚氧化酵素(Polyphenol oxidase)(Stewart *et al.*, 2001;

-
- 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。

誘導與黑心劣變相關之基因表現，如多酚氧化酵素(Polyphenol oxidase)(Stewart *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2003)。本試驗主要目的為在鳳梨果實採收前處理 GA₃ 及 GA₅ 生合成抑制劑 paclobutrazol 及 tebuconazole，另以 NAA 及 BA 處理採收後鳳梨果實，與 GA₃ 比較，調查其對鳳梨果實品質及黑心劣變發生之影響。

材料與方法

一、試驗材料

試驗材料取自雲林縣古坑鄉吳姓農戶之鳳梨果園，鳳梨品種為‘台農 17 號’，取樣時間分別為 93 年 3 至 4 月及 94 年 3 至 4 月，其催花日期分別為 92 年 9 月 20 日及 93 年 9 月 28 日。採樣依果實成熟度判斷，以果皮顏色為基準，採收後試驗選取果皮 1/3~1/2 轉黃階段之果實。田間藥劑處理之試驗則選取果皮開始轉色之果實(約採收期前 2 週之果實)。

二、試驗方法

(一) 採收前化學藥劑處理及採收後低溫貯藏對鳳梨果實品質之影響

分別配製濃度 50 ppm、100 ppm 之 GA₃(Gibberellic acid, Sigma 出品)溶液及濃度 50 ppm、100 ppm 之 paclobutrazol(PP333)溶液及濃度 50 ppm、100 ppm 之 tebuconazole 溶液，並在溶液中加入 1% Triton X-100，對照組則以蒸餾水加 1% Triton X-100，每處理逢機選取 20 個成熟度相近的鳳梨果實，分別於採收前 2 週及 1 週將配製之溶液噴施於果實及果冠，果實採收後裝入瓦楞紙箱，貯放於 8°C(相對溼度 85~90%)下 2 週，再移至 25°C 室溫下 1 週後調查果實品質。

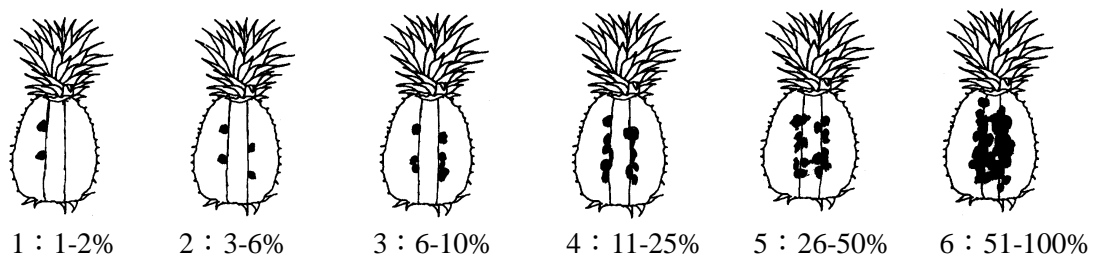
調查項目下：

1. 果冠之重量測定：利用磅秤測定，以 g 表示。
2. 可溶性固形物測定：取鳳梨果實赤道部位果肉搾取汁液，使用手持曲折計(hand refractometer, ATAGO)測定，以°Brix 表示之。
3. 可滴定酸含量測定：取 1 ml 鳳梨果實赤道部位果肉之果汁，加入 9 ml 蒸餾水及指示劑 10 µl 之 0.1% 酚酞(w/v ethanol)，以 0.1N 之 NaOH 滴定至呈現粉紅色，記錄滴定量，以檸檬酸為標準換算之，以%表示之。
4. 果肉抗壞血酸含量之測定：分別取鳳梨果實赤道部位靠近果皮約 1 cm 寬之果肉及靠近果心約 1 cm 寬之果肉搾取果汁，直接以 Merck 出品之抗壞血酸試條(Reflectoquant ascorbic acid test strip 25~450 mg/l)沾取代測之果汁，並置入 RQ-flex(Merck 出品)讀取抗壞血酸之濃度，以 mg/l 表示之。
5. 果皮轉色之測定：目測估算果皮轉色情形，並以 1-7 表示之，1:深綠色(dark green), 2:綠色(green), 3:1/4 轉黃(1/4 yellow), 4:1/2 轉黃(1/2 yellow), 5:3/4 轉黃(3/4 yellow), 6:全黃(all yellow), 7:橘黃(reddish yellow)。

6. 果皮顏色之測定：以 Nippon Denshoku 出品之 NR-3000 色差計(Hand colorimeter)測定果實赤道部位之果皮顏色，以 L、a、b 值表示。L 值代表色澤亮度，其值介於 0~100，L100 為白色，L0 為黑色；a 值代表紅綠互補色值，其值介於 -50~50，+a 表示偏紅色，-a 偏綠色；b 值代表黃藍互補色值，其值介於 -50~50，+b 表示偏黃色，-b 偏藍色。
7. 果實黑心劣變發生率：估算整批果實中發生黑心劣變果實所佔之百分比。

$$\text{黑心劣變發生率} = \frac{\text{黑心劣變果實數量}}{\text{總果實數量}} \times 100\%$$

8. 果實黑心劣變發生嚴重程度：參考 Paul 及 Rohrbach(1985)所訂定之標準，目測估算果實縱切面有黑心劣變症狀之面積，佔內部果肉(靠近果心約 1 cm 之果肉)及果心總縱切面面積之百分比，並以 1-6 表示，如下圖所示，無黑心劣變發生者，以 0 表示。



9. 果冠萎凋率之測定：目測估算果冠萎凋部分佔總果冠的百分比，估算區間為 10%。

(二) 採收後化學藥劑處理對鳳梨果實品質之影響

分別配製濃度 100 μM 、200 μM 、300 μM 之 GA_3 (Gibberellic acid, Sigma 出品)、NAA (1-Naphthylacetic acid, Janssen Chimica 出品) 及 BA (6-benzylamino-purine, Sigma 出品) 溶液，並在溶液中加入 1% Triton X-100，對照組則以蒸餾水加 1% Triton X-100，每處理逢機選取 10 個成熟度相近的鳳梨果實，浸置於溶液中約 1 分鐘，而後將果實置於室溫下 1 天陰乾，並裝入瓦楞紙箱，貯放於 25°C 室溫下 3 週後調查果實品質。調查項目除果肉抗壞血酸含量之外如同試驗(一)。

結 果

一、採收前化學藥劑處理及採收後低溫貯藏對鳳梨果實品質之影響

本試驗以「台農 17 號」鳳梨果實為材料，於果實採收前 2 週及 1 週以不同濃度之 GA_3 、paclobutrazol 及 tebuconazole 處理，並將採收之果實貯放於 8°C 下 2 週，再移至 25°C 室溫下 1 週後調查果實品質，結果如表 1、2、3 所示，各處理之果冠重以 GA_3 處理者較高，

顯示失水較少。可溶性固形物以 GA₃ 100 ppm 處理者最高，為 11.1°Brix，tebuconazole 100 ppm 處理者最低，為 10.2°Brix。各處理之可滴定酸含量則無顯著差異，介於 0.6~0.68。GA₃100 ppm 處理者之外部及內部果肉抗壞血酸含量皆最高，分別為 334 mg/l 及 285 mg/l，依然維持高量，而 paclobutrazol 及 tebuconazole 處理之鳳梨果實其果肉之抗壞血酸含量則明顯降低，且對照組之果肉抗壞血酸含量也下降，結果也發現，各處理內部果肉之抗壞血酸含量較外部果肉低(表 1)。

在果皮顏色方面，GA₃處理者之果皮轉色程度明顯低於其他處理組，果色指數分別為 4.5 及 4.4，果皮約 1/2~3/4 轉色，而其他處理組之果色指數為 6.9 及 7.0，果皮完全轉色，果皮呈橘黃色。各處理果皮之 L、b 值無顯著差異，a 值以 GA₃處理者較低，分別為 4.7 及 3.8，所以果皮呈現偏綠色，其他處理組皆在 11.5 以上，果皮呈橘黃色(表 2)。

表 1. 採收前施用 GA₃、paclobutrazol 及 tebuconazole 對低溫貯藏後`台農 17 號`鳳梨果實品質之影響^z

Table 1. Effects of preharvest applications of GA₃、paclobutrazol and tebuconazole on fruit quality of `Tainung-17` pineapple after low temperature storage^z.

處理藥劑 及濃度 Treatments	果冠重 Crown weight (g)	可溶性固形物 Total soluble solids (°Brix)	酸度 Acidity (%)	抗壞血酸含量(mg/l)	
				Abscorbic acid contents	
				外部果肉 Outer flesh	內部果肉 Inner flesh
Control	62b ^y	10.6abc	0.67a	257abc	227abc
GA ₃ 50 ppm	78a	11.0ab	0.67a	270ab	268ab
GA ₃ 100 ppm	79a	11.1a	0.68a	334a	285a
Paclobutrazol 50 ppm	60b	10.9abc	0.65a	230bc	203bc
Paclobutrazol 100 ppm	60b	10.3bc	0.60a	179c	157c
Tebuconazole 50 ppm	63b	10.7abc	0.64a	199bc	183c
Tebuconazole 100 ppm	63b	10.2c	0.61a	179c	156c

^z 果實採收後貯藏於 8°C 下 2 週，再移至 25°C 室溫下 1 週後調查。Fruits were harvest and stored at 8°C for 2 weeks, followed by 25°C for 1 week before evaluation.

^y 以鄧肯式多變域分析統計其顯著性差異(P=0.05)。Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P=0.05.

表 2. 採收前施用 GA₃、paclobutrazol 及 tebuconazole 對低溫貯藏後`台農 17 號`鳳梨果實果皮顏色之影響^z

Table 2. Effects of preharvest applications of GA₃, paclobutrazol and tebuconazole on skin color of `Tainung-17` pineapple fruit after low temperature storage^z.

處理藥劑 及濃度 Treatments	果色指數 ^y Skin color index	果皮顏色 Skin color		
		L	a	b
Control	6.9a ^x	33.3a	11.5a	23.1a
GA ₃ 50 ppm	4.5b	38.6a	4.7b	22.2a
GA ₃ 100 ppm	4.4b	34.0a	3.8b	21.7a
Paclobutrazol 50 ppm	7.0a	36.2a	14.7a	23.9a
Paclobutrazol 100 ppm	6.9a	35.1a	15.3a	25.1a
Tebuconazole 50 ppm	7.0a	36.4a	13.8a	23.2a
Tebuconazole 100 ppm	7.0a	35.7a	11.5a	23.4a

^z 果實採收後貯藏於 8°C 下 2 週，再移至 25°C 室溫下 1 週後調查。Fruits were harvest and stored at 8°C for 2 weeks, followed by 25°C for 1 week before evaluation.

^y 果色指數(Skin color index)：1:深綠色(dark green), 2:綠色(green), 3: 1/4 轉黃(1/4yellow), 4:1/2 轉黃(1/2 yellow), 5: 3/4 轉黃(3/4 yellow), 6:全黃(all yellow), 7:橘黃(reddish yellow).

^x 以鄧肯式多變域分析統計其顯著性差異(P=0.05)。Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P=0.05.

各處理之果實黑心劣變指數及發生率無顯著差異，黑心劣變指數介於 3.0~3.9，但 GA₃ 處理者稍微高於其他處理者，而發生率皆為 80% 以上，GA₃ 處理者之黑心劣變發生率甚至達 100%。在果冠萎凋率方面，GA₃ 處理者之果冠萎凋率明顯低於其他處理組，分別為 15.3% 及 12.5%，而 paclobutrazol 及 tebuconazole 處理之果冠萎凋率則高於對照組，達 83.5% 以上(表 3)。

二、採收後化學藥劑處理對鳳梨果實品質之影響

本試驗以不同濃度之 GA₃、NAA、BA 處理`台農 17 號`鳳梨果實，並將果實貯放於 25°C 室溫下 3 週後調查果實之品質，結果如表 4、5、6 所示，果冠重以對照組最低，各處

理之可溶性固形物無顯著差異，而可滴定酸含量以 GA₃ 處理者最高，為 0.77%~0.86%，BA 200 μM 處理者最低，為 0.60%，而糖酸比以 BA 200 μM 處理者最高，15.7(表 4)。

果皮顏色方面，GA₃ 及 NAA 處理可減緩鳳梨果皮之轉色，其果皮著色程度之結果為 GA₃ 處理者之果色指數介於 2.7~3.2，果實約 1/4 轉色；NAA 處理者之果色指數介於 3.0~5.2，果實約 3/4 轉色；而 BA 處理並無減緩鳳梨果皮轉色之效果，其果色指數介於 6.5~6.7 間，對照組之果色指數為 7，果皮完全轉色，兩者果皮顏色皆呈橘黃色。GA₃ 處理者果皮之 L 值最高，介於 58.5~61.8，NAA 次之，介於 38.7~39.3，而 BA 處理者及對照組果皮 L 值較低；則以 BA 處理者及對照組果皮之 a 值明顯高於 GA₃ 及 NAA 處理者；b 值以 GA₃ 及 NAA 處理者較低，介於 17.6~22.8 間，BA 處理者最高，介於 28.4~30.4 間。GA₃ 及 NAA 處理者之果皮呈偏綠色，BA 處理者及對照組之果皮則呈橘黃色(表 5)。

表 3. 採收前施用 GA₃、paclobutrazol 及 tebuconazole 對低溫貯藏後‘台農 17 號’鳳梨果實黑心劣變發生及果冠萎凋率之影響^z

Table 3. Effects of preharvest applications of GA₃、paclobutrazol and tebuconazole on blackheart occurrence and crown wilting of ‘Tainung-17’ pineapple fruit after low temperature storage^z.

處理藥劑 及濃度 Treatments	黑心劣變指數 ^y Index of blackheart	黑心劣變發生率 Incidence of blackheart (%)	果冠萎凋率 Severity of crown wilting (%)
Control	3.2a ^x	90	73.5b
GA ₃ 50 ppm	3.8a	100	15.3c
GA ₃ 100 ppm	3.9a	100	12.5c
Paclobutrazol 50 ppm	3.0a	95	90.0a
Paclobutrazol 100 ppm	3.7a	80	84.0a
Tebuconazole 50 ppm	3.3a	85	89.0a
Tebuconazole 100 ppm	3.7a	85	83.5a

^z 果實採收後貯藏於 8°C 下 2 週，再移至 25°C 室溫下 1 週後調查。Fruits were harvest and stored at 8°C for 2 weeks, followed by 25°C for 1 week before evaluation.

^y 黑心劣變指數(Index of blackheart)：1:1-2%，2:3-5%，3:6-10%，4:11-25%，5:26-50%，6:51-100%。

^x 以鄧肯式多變域分析統計其顯著性差異(P=0.05)。Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P=0.05.

表 4. 採收後 GA₃、NAA 及 BA 處理對‘台農 17 號’鳳梨果實品質之影響Table 4. Effects of postharvest treatments of GA₃、NAA and BA on fruit quality of ‘Tainung-17’ pineapple.

處理藥劑 及濃度 Treatments	果冠重 Crown weight (g)	可溶性固形物 Total soluble solids (°Brix)	酸度 Acidity (%)	糖酸比 TSS/TA
Control	48b ^z	9.4a	0.67bcd	14.1abc
GA ₃ 100 μM	58a	9.4a	0.77ab	12.2cde
GA ₃ 200 μM	58a	9.8a	0.86a	11.6de
GA ₃ 300 μM	53a	9.3a	0.86a	11.1e
NAA 100 μM	63a	9.5a	0.73bc	13.3bcd
NAA 200 μM	56a	9.5a	0.78ab	12.3bcde
NAA 300 μM	64a	9.2a	0.72bc	12.7bcde
BA 100 μM	66a	9.3a	0.73bc	13.1bcde
BA 200 μM	60a	8.9a	0.60d	15.7a
BA 300 μM	59a	9.3a	0.65cd	14.5ab

^z 以鄧肯式多變域分析統計其顯著性差異(P=0.05)。Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P=0.05.

採收後 GA₃、NAA 及 BA 處理對鳳梨果實黑心劣變發生的影響，結果如表 6 表示，外加 GA₃、NAA 及 BA 處理皆誘導鳳梨果實黑心劣變的發生，尤以 GA₃ 處理者較嚴重，其黑心劣變指數達 1.1 以上，果實已失去實用價值。結果也顯示，GA₃ 及 NAA 處理明顯降低果冠萎凋率，尤以 GA₃ 處理者效果較佳(表 6)。

討 論

本研究發現以 GA₃ 處理之鳳梨果實其可滴定酸含量較其他處理者及對照組高，果皮轉色也較慢，推測 GA₃ 處理可延緩鳳梨果實的後熟。一般認為 GA₃ 處理可延緩果實轉色

(McDonald *et al.*, 1997; Porat *et al.*, 2001; Schirra *et al.*, 1999)，並延緩果實後熟及老化 (Dostal and Leopold, 1967; Krishnamurthy and Gopalkrishna Rao, 1982; Parmar and Chundawat, 1988; Garcia-Luis *et al.*, 1992; McDonald *et al.*, 1997)，亦可減緩果實軟化 (Schirra *et al.*, 1999; Jiang *et al.*, 2003)，且於果實採收前或採收後處理，皆有延緩果實轉色及成熟的效果 (Schirra *et al.*, 1999)。柑橘果實採收前噴施 GA，可使果皮維持綠色，並可延長採收期 (El-Otmani *et al.*, 1990)。在果冠之影響方面，本研究發現以 GA₃ 處理之鳳梨果實其果冠重較其他處理者高，且果冠萎凋率明顯較低，果冠的萎凋主要由於失水所引起，因此，推論可減少果冠的失水，降低果冠萎凋。

表 5. 採收後 GA₃、NAA 及 BA 處理對‘台農 17 號’鳳梨果實果皮顏色之影響
Table 5. Effects of postharvest treatments of GA₃、NAA and BA on skin color of ‘Tainung-17’ pineapple fruit.

處理藥劑 及濃度 Treatments	果色指數 ^z Skin color index	果皮顏色 Skin color		
		L	a	b
Control	7.0a ^y	37.4c	18.5a	27.3ab
GA ₃ 100 μM	2.7d	61.8a	5.3b	21.9cd
GA ₃ 200 μM	3.2cd	58.5ab	3.1bc	17.6d
GA ₃ 300 μM	2.8d	60.5ab	3.2bc	19.4cd
NAA 100 μM	5.2b	54.0b	4.9bc	20.0cd
NAA 200 μM	4.3bc	58.4ab	4.7bc	22.8bcd
NAA 300 μM	3.3cd	53.9b	2.9c	19.5cd
BA 100 μM	6.7a	39.3c	20.1a	28.4ab
BA 200 μM	6.7a	38.7c	16.9a	30.4a
BA 300 μM	6.6a	39.3c	16.3a	29.0ab

^z 果色指數 (Skin color index)：1:深綠色 (dark green), 2:綠色 (green), 3: 1/4 轉黃 (1/4 yellow), 4:1/2 轉黃 (1/2 yellow), 5: 3/4 轉黃 (3/4 yellow), 6:全黃 (all yellow), 7:橘黃 (reddish yellow).

^y 以鄧肯式多變域分析統計其顯著性差異 (P=0.05)。Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P=0.05.

表 6. 採收後 GA₃、NAA 及 BA 處理對`台農 17 號`鳳梨果實黑心劣變發生及果冠萎凋率之影響

Table 6. Effects of postharvests treatment of GA₃、NAA and BA on blackheart occurrence and crown wilting of `Tainung-17` pineapple fruit.

處理藥劑 及濃度 Treatments	黑心劣變指數 ^z Index of blackheart	黑心劣變發生率 Incidence of blackheart (%)	果冠萎凋率 Severity of crown wilting (%)
Control	0b ^y	0	34ab
GA ₃ 100 μM	1.1ab	60	12cd
GA ₃ 200 μM	1.3a	60	13bcd
GA ₃ 300 μM	1.4ab	60	8.5d
NAA 100 μM	0.6a	50	23b
NAA 200 μM	0.8a	50	22bc
NAA 300 μM	0.9a	50	18bcd
BA 100 μM	0.2a	30	37a
BA 200 μM	0.5a	40	22bc
BA 300 μM	0.5a	30	23b

^z 黑心劣變指數(Index of blackheart)：1:1-2%，2:3-5%，3:6-10%，4:11-25%，5:26-50%，6:51-100%。

^y 以鄧肯式多變域分析統計其顯著性差異(P=0.05)。Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P=0.05.

Zhou 及 Tan(1997)以 GA₃ 處理`Smooth Cayenne`鳳梨果實並貯藏於室溫下，可誘導黑心劣變的發生。Zhou 等人(2003)更進一步發現外加 GA₃ 處理會誘導 *PINPP01* 與 *PINPP02* 基因的表現，進而導致 PPO 活性的上升及黑心劣變的發生。Triazoles 為 GA_s 生合成抑制劑，對多種植物之生長及生理具有顯著的調節效果，triazoles 化合物中已有多種發展為植物生長調節劑，如 paclobutrazole、triapenthenol、uniconazole 等，其作用除了抑制 GA_s 生合成，亦能改善植物對逆境的適應能力，如耐旱及耐寒性。因此，本研究於鳳梨果實採收

前 2 週及 1 週處理 GA₃、paclobutrazol 及 tebuconazole 溶液，以調查採收前 GA₃ 處理是否會誘導鳳梨果實黑心劣變，並觀察 paclobutrazol 及 tebuconazole 是否能抑制黑心劣變的發生。結果顯示，paclobutrazol 及 tebuconazole 處理並無法降低果實寒害的發生，皆有發現黑心劣變徵狀，且與處理者及對照組差異不顯著，此可能是由冬季田間的低溫所造成。

抗壞血酸(ascorbic acid)在貯藏過程中易流失，主要是由於果實中的抗壞血酸在貯藏期間產生氧化作用，造成其含量減少(Wong and Stanton, 1989)。學者發現鳳梨果實貯藏於低溫時，抗壞血酸含量減少，而室溫下貯藏者其含量變化不大(Miller and Heliman, 1952)，果實中抗壞血酸含量會影響黑心劣變的發生(Paull and Rohrbach, 1985)，鳳梨果實抗壞血酸含量高者，黑心劣變發生率較低(Akamine *et al.*, 1979; Paull and Rohrbach, 1985; Sanewski and Giles, 1997; Zhou *et al.*, 2003)。學者並發現鳳梨果實內部果肉之抗壞血酸含量通常較外部果肉低，而一般黑心劣變之最初徵狀是發生在果心或果心附近之小果基部，顯示抗壞血酸含量與鳳梨果實黑心劣變發生有顯著的相關性。抗壞血酸為一抗氧化劑，可減少植物體中自由基反應，保護細胞免受自由基侵害(自由基累積過多，會加速生物膜發生脂質過氧化作用，且防禦系統被破壞，造成細胞敏感度提高)，因此，抗壞血酸含量高者，可維護細胞之防禦系統(Sanewski and Giles, 1997; Smirnoff, 1996; Zhou *et al.*, 2003)。本研究結果發現，外加 GA₃ 處理之鳳梨果實其果肉之抗壞血酸含量依然維持高量，變化不大，而 paclobutrazol 及 tebuconazole 處理之鳳梨果實其果肉之抗壞血酸含量則明顯降低，但各處理之黑心劣變程度差異並不顯著，皆達 3 以上，果實已失去商品價值，GA 誘導黑心劣變發生之機制可能與抗壞血酸之含量高低無關。本研究也發現採收後處理 NAA 及 BA 也會誘導黑心劣變之發生，其誘導機制是否也與 PPO 酵素基因之表現有關，則有待進一步之研究。

參 考 文 獻

- 黃碧海。2004。台灣鳳梨產銷現況與發展。台灣鳳梨研究與發展研討會專刊。國立嘉義大學編印。p.1-12。
- 張尊三、吳永欽。1961。鳳梨果實生理性黑腐病之研究。植物保護學會會刊 3:197-206。
- Akamine, E. K., T. Goo, T. Steepy, T. Greidanus, and N. Iwaoka. 1979. Control of endogenous brown spot of fresh pineapple in postharvest handling. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 100:60-65.
- Dostal, H. C. and A. C. Leopold. 1967. Gibberellin delays ripening of tomatoes. *Science* 158:1579-1580.
- El-Otmani, M., A. A. M'Barek, and C. W. Coggins. 1990. GA₃ and 2,4-D prolong on-tree storage of citrus in Morocco. *Sci. Hort.* 44:241-249.

- Garcia-Luis, A., A. Herrero-Villén, and J. L. Guardiola. 1992. Effects of applications of gibberellic acid on late growth, maturation and pigmentation of the clementine mandarin. *Sci. Hort.* 49:71-18.
- Jiang, W., Q. Sheng, Y. Jiang, and X. Zhou. 2003. Effects of 1-methylcyclopropene and gibberellic acid on ripening of Chinese jujube (*Zizyphus jububa* M) in relation to quality. *J. Sci. Food Agric.* 84:31-35.
- Krishnamurthy, S. I. and K. P. Gopalkrishna Rao. 1982. Regulation of ripening by chemicals in 'Alphonso' mango. *Scientia Hort.* 16:179-183.
- McDonald, R. E., P. D. Greany, P. E. Shaw, and T. G. McCollum. 1997. Preharvest application of gibberellic acid delay senescence of Florida grapefruit. *J. Hort. Sci.* 72:461-468.
- Miller, E. V. and A. S. Heilman. 1952. Ascorbic acid and physiological breakdown in the fruits of the pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *Science* 116:505-506.
- Parmer, P. B. and B. S. chundawat. 1988. Effect of various post-harvest treatments on the physiology of Kesar mango. *Acta Hort.* 231:679-684.
- Paull, R. E. and K. G. Rohrbach. 1985. Symptom development of chilling injury in pineapple fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110:100-105.
- Porat, R. 2001. Gibberellic acid slows postharvest degreening of 'Oroblanco' citrus fruits. *HortScience* 36:937-940.
- Ray, P. K. 2002. Pineapple, pp.201-214. In:Breeding tropical and subtropical fruits. Narosa Publishing House, New Delhi.
- Sanewski, G. M. and J. Giles. 1997. Blackheart resistance in three clones of pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] in subtropical Queensland. *Aust. J. Exp. Agri.* 37:459-461.
- Schirra, M., G. D'hallewin, P. Inglese, and T. La Mantia. 1999. Epicuticular changes and storage potential of cactus pear [*Opuntia ficus-indica* Miller(L.)] fruit following gibberellic acid preharvest sprays and postharvest heat treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 17:79-88.
- Smirnoff, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann. Bot.* 78:661-669.
- Stewart, R. J., B. J. B. Sawyer, C. S. Bucheli, and S. P. Robinson. 2001. Polyphenol oxidase is induced by chilling and wounding in pineapple. *Aust. J. Plant Physiol.* 28:181-191.
- Sun, S. K. 1971. A study of black heart disease of pineapple fruits. *Plant Prot. Bul. (Taiwan)* 13:39-47.
- Zhou, Y., J. M. Dahler, S. J. R. Underhill, and R. U. Wills. 2003. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chem.* 80:566-572.
- Zhou, Y-C. and X-J. Tan. 1997. Mechanism of blackheart development induced by low temperature and gibberellic acid in pineapple. *Acta Hort.* 425:587-593.

Effects of Chemical Treatments on 'Tainung-17' Pineapple Fruit Quality

Ya-Ling Chou ¹⁾ Ching-Cheng Chen ²⁾ Yau-Shiang Yang ³⁾

Key words: Pineapple, Plant growth regulator, Blackheart

Summary

Effects of chemical treatments on quality of 'Tainung-17' pineapple fruit were examined in this study. The results showed that fruit treated with GA₃ 1~2 weeks before harvest delayed the process of skin yellowing and decreased the severity of crown wilting during storage. There was no significant difference in the occurrence of blackheart between GA₃, paclobutrazol and tebuconazole treatments. The application of exogenous NAA or GA₃ postharvest delayed the process of skin yellowing. Fruits treated with GA₃, NAA and BA and stored at room temperature for 3 weeks developed internal blackheart symptom.

-
- 1) Graduate student, 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.

‘巨峰’葡萄變異株之園藝性狀及果實發育

黃士晃¹⁾ 陳秉訓¹⁾ 陳京城¹⁾ 徐思東²⁾ 楊耀祥³⁾

關鍵字：葡萄、無子、園藝性狀、果實發育

摘要：本研究調查一‘巨峰’葡萄變異株之園藝性狀與果實發育，並以‘巨峰’品種作為對照。結果顯示，變異株之枝條及葉片形態與‘巨峰’並無明顯差異，主要差異在於花及果實。變異株之花器及果形均較細長，子房內之胎座及胚珠數目異常比率高，多形成無子的橢圓形果。變異株之果實較‘巨峰’小，且成熟期較‘巨峰’早。

前 言

葡萄為落葉性藤本果樹，在植物分類學上屬於葡萄科(Vitaceae)葡萄屬(Vitis)，一般可分為歐洲種(vinifera)及美洲種(labrusca)兩大類。釀酒、鮮食及製乾是葡萄的三大生產用途，在這些用途當中，無子化被認為是鮮食及製乾用途中最有價值的性狀。無子葡萄主要可以經由自然形成與人為誘導兩種途徑產生。自然形成方面包括單為結果(parthenocarpy)及略精結實(stenospermocarpy)兩種無子結實類型(Ledbetter and Ramming, 1989)；人為誘導方面則是以藥劑處理有子品種而導致其無子化(Shiozaki *et al.*, 1997)。

由於無子鮮食葡萄多屬於歐洲種，在台灣之氣候環境下栽培不易，主要仰賴進口，國內僅有少數栽培歐美雜交種‘Himrod Seedless’品種。台灣的試驗研究單位也曾嘗試以 GA₃ 及其他生長調節劑處理‘巨峰’葡萄(歐, 1985；曾及楊, 1997)，冀求獲得無子化，然而其效果不穩定，因而未能持續發展。

在 2002 年，南投縣竹山鎮莊姓農民在其葡萄園中發現一株由國立中興大學葡萄中心供應之‘巨峰’組培植株變異株，其植株性狀與‘巨峰’相似，但是果形略長且為無子，具發展成無子品種之潛力，本研究之主要目的係調查該變異株，比較其與‘巨峰’於園藝性狀上

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生、講師及助理教授。

2) 國立中興大學葡萄中心技士。

3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

及果實發育上之差異，希冀該變異種之發現有助於改善台灣目前品種過於單一化之問題，藉以促進葡萄產業之發展。

材 料 與 方 法

一、試驗材料

本研究採用之材料為南投縣竹山鎮莊姓農民之葡萄園中發現之`巨峰`葡萄組培苗自根3年生之變異母株(2003年移植至國立中興大學葡萄中心)及經扦插繁殖之1年生植株，並以國立中興大學葡萄中心所栽種經嫁接(砧木為8B Teleki)之8年生`巨峰`(*Vitis vinifera* L. × *Vitis labruscana* Bailey)植株作為觀察之對照。於開花期標定花期一致之花穗，進行相關形態發育調查及果粒切片觀察，每一果穗經整穗疏果後留約40粒果實，其餘栽培管理比照慣行栽培模式進行。

二、試驗方法

園藝性狀之調查包含枝、葉、花、果實及種子中非量化之植物學外觀特徵為主。果實調查進行時間為2004年第一收之夏果，採樣調查日期以滿花日為基準，每隔5日採樣調查一次，花後40日之後則每10日採樣調查一次，至果實正常採收期為止。每次每品種隨機選取10個果粒以進行各項生育調查。

(一)、園藝性狀之調查

調查`巨峰`與變異株之枝條、葉片、花、果實及種子之性狀特徵。

(二)、花之形態特性與果實發育之調查

花器構造方面，利用電子游標尺(Mitutoyo廠製CD-6BS型)測量開花當日雄蕊、小花梗及雌蕊之長度及子房之寬度。果實發育方面，利用電子游標尺測量果實自果頂至果蒂連接處之距離為縱徑，果實赤道部位橫切面之最大徑長為橫徑，前項測定之果實縱徑與果實橫徑之比值為果形指數(berry shape index)。以電子天秤秤取果實之重量，並以浮力法測量果實之體積，最後依前項測定之果實重量與體積之比計算果實比重。

(三)、果實品質特性之調查

此調查於果實成熟採收期進行，果實硬度以日本木屋製作所之果實硬度計穿刺果粒中央部位測量，以kg為測量單位。果色則以日本農林水產省果樹試驗場製成之巨峰葡萄果色板測定每粒果實果頂部，果色等級為1~12級，級數越高表示越接近黑。果實經榨汁後以紗布過濾，利用手持式曲折計(hand refractometer, ATAGO)測定果汁中之可溶性固形物，並取1ml果汁加入9ml蒸餾水，滴入酚酞指示劑，利用ATAGO FS-2果汁酸度計，以0.1 N NaOH滴定至呈現粉紅色，記錄滴定量，以酒石酸為標準換算之，獲得酸度，最後利用可溶性固形物與酸度之比值計算糖酸比。

(四)、採收時果心長度、果軸直徑及果軸木質部直徑之調查

逢機選取10粒果實，將果梗連同相接之中央維管束(果心)取出，以電子游標尺量測果心長度。另外量測果軸距離結果枝連接處1cm處之直徑，同時測量此處橫切面木質部之直徑。

(五)、種子發育之調查

果實發育期間，每次選取10粒種子，以電子游標尺測量種子之縱徑及橫徑。於成熟採收時逢機取25粒種子以電子天秤稱其重量，計算平均單粒種子之重量。

結 果

一、園藝性狀

‘巨峰’與變異株無論在枝條、葉片及卷鬚之形態性狀皆無明顯差異，惟在花及果實方面有較明顯之差別，差異特性之比較如圖1及表1所示。變異株於開花前之花蕾及小花梗明顯較‘巨峰’長，因此花穗之花蕾分布於開花前夕較‘巨峰’鬆散，開花當日變異株之花冠不易自然彈開(圖1a)，開裂卷起之花冠套在雄蕊上經外力碰觸或訪花昆蟲之撥弄即可脫離掉落，未脫落之花冠於開花隔日則會失水褐化而附著於子房上，反觀‘巨峰’則一般於上午8~10時花冠皆已全數彈開掉落。

在花器構造方面，變異株之花絲較‘巨峰’長，‘巨峰’之雌蕊形狀為對稱之短錐狀，變異株則具有對稱長錐狀及不對稱長錐狀兩種雌蕊形狀(圖1b)。在心室數及胚珠數方面，正常‘巨峰’之子房大多為2心室4個胚珠，然而變異株之子房則可發現具有1或2個心室及1~5個不等的胚珠數，其具1心室者(單側隔膜胎座)會產生不對稱之果形。

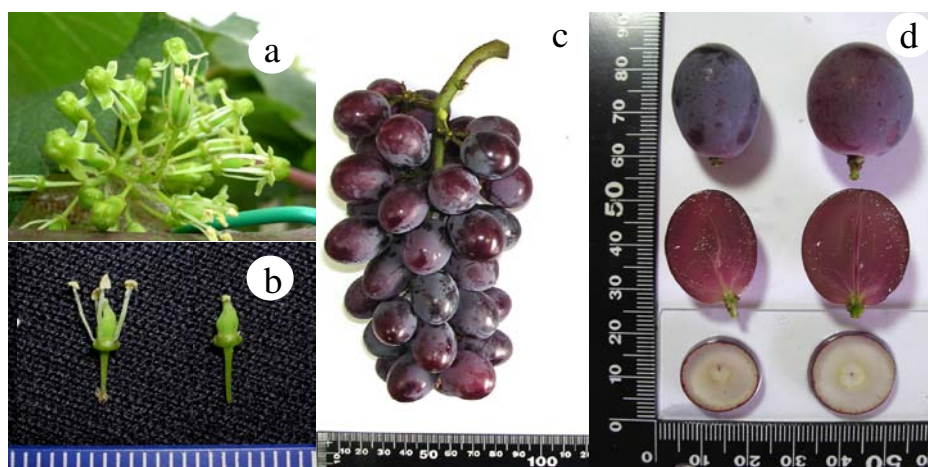


圖 1. ‘巨峰’變異株之開花情形(a)、花朵形態(b)、成熟之果穗(c)及成熟果(d)

Fig. 1. Blooming inflorescence(a), individual flowers(b), fruit cluster(c) and mature berries(d) of ‘Kyoho’ mutant.

在果實方面，`巨峰`不論在幼果或成熟果之果形皆趨近於圓形，變異株之幼果呈對稱或不對稱之長橢圓形，成熟果則為不對稱或對稱之橢圓形。成熟果外觀上兩者皆呈紫黑色並具有濃厚果粉，果皮與果肉皆易脫離(圖1c及圖1d)，肉質口感亦相仿。

在種子方面，`巨峰`之果實一般具有1~4個正常種子，以1~2個種子居多，約在花後30日及發育至最終之大小，種皮木質化且硬化。反觀變異株之果實自滿花日到採收，種子之大小均無明顯增長，成熟果僅具有極細微之種子，呈淡褐色且空心，未形成堅硬木質化之種皮，單穗中僅有極少數果實能產生1~2個正常種子，並以具1個種子之果實佔大多數。

表1. `巨峰`與`巨峰`變異株花及果實之比較

Table 1. Comparison of flower and berry characteristics between `Kyoho` and `Kyoho` mutant.

器官	性狀	巨峰	巨峰變異株
Organ	Characteristics	Kyoho	Kyoho mutant
花	花冠脫落	易	不易
Flower	Cap-fall	Easy	Difficult
	雌蕊形狀	對稱短錐狀	對稱或不對稱長錐狀
	Pistil shape	Symmetrical short cone	Symmetrical or unsymmetrical long cone
	心室數	2	1~2
	Loculus number		
	胚珠數	4	1~5
	Ovule number		
果實	幼果形狀	圓形	對稱或不對稱長橢圓狀
Berry	Shape of young berry	Round	Symmetrical or unsymmetrical long ellipse
	成熟果形狀	圓形	對稱或不對稱橢圓狀
	Shape of mature berry	Round	Symmetrical or unsymmetrical ellipse
	種子 大小	正常	極小
	Seed Size	Normal	Very small
	種皮	木質化	未木質化
	Testa	Lignification	Unlignification
	無子率	低	高
	Seedless percentage	Low	High

二、花之形態特性與果實發育

花器構造之調查結果如表2所示，可知`巨峰`與變異株在雌蕊長度上並無顯著差異，在雌蕊寬度上`巨峰`顯著大於變異株，變異株之雌蕊長寬比、雄蕊長度及花梗長度則均顯著大於`巨峰`。

在果實發育方面，果實發育期間之縱徑及橫徑之變化如圖2所示，在縱徑變化方面，由圖中可見`巨峰`與變異株之曲線變化趨勢大致相符，分別在滿花後25日及20日之前均呈現縱徑快速增加之現象，自此之後至採收期則呈現緩慢上升之趨勢，此外可以發現變異株之縱徑自滿花後10日至滿花後80日之期間均小於`巨峰`，在滿花後80日`巨峰`與變異株之平均縱徑分別達到26及24 mm。在橫徑變化方面，由圖中可見`巨峰`與變異株之曲線變化趨勢大致相同，分別在滿花後35日及30日之前均呈現橫徑快速增加之現象，而後經一短暫之停滯期，自此之後橫徑變化又趨增快，至接近採收期則呈現緩慢上升之趨勢，此外可發現變異株之橫徑自滿花後10日至滿花後80日之期間均小於`巨峰`，在滿花後80日`巨峰`與變異株之平均橫徑分別達到22.9及20 mm。

果實發育期間之重量及體積之變化如圖3所示，在重量變化方面，`巨峰`與變異株之曲線變化趨勢大致相同，均呈雙S型之曲線型式，分別在滿花後10~35日及10~20日之間均呈現重量快速增加之現象，而後經一短暫之停滯期，自此之後重量變化又趨增快，至接近採收期則呈現緩慢上升之趨勢，此外可發現變異株之果重自滿花後10日至採收之期間均低於`巨峰`，在滿花後80日時`巨峰`與變異株之平均重量分別達到8.6及6 g。在體積變化方

表2. `巨峰`與`巨峰`變異株開花時花朵特徵之比較

Table 2. Comparison of flower characteristics between `Kyoho` and `Kyoho` mutant at blooming.

植株 Plants	雌蕊 Pistil			雄蕊長 Stamen length (mm)	花梗長 Pedicel length (mm)
	長 Length (mm)	寬 Width (mm)	長/寬 Length/Width		
Kyoho	2.96	1.63	1.85	4.74	4.26
Kyoho mutant	3.15	1.38	2.31	5.56	4.96
t-test ^z	ns	*	*	*	*

z: *表示`巨峰`與變異株兩者經t-test分析達0.05之顯著水準，ns表示無顯著差異。

z: * Indicates significant difference between `Kyoho` and `Kyoho` mutant by t-test at P = 0.05 ;
ns indicates no significant difference.

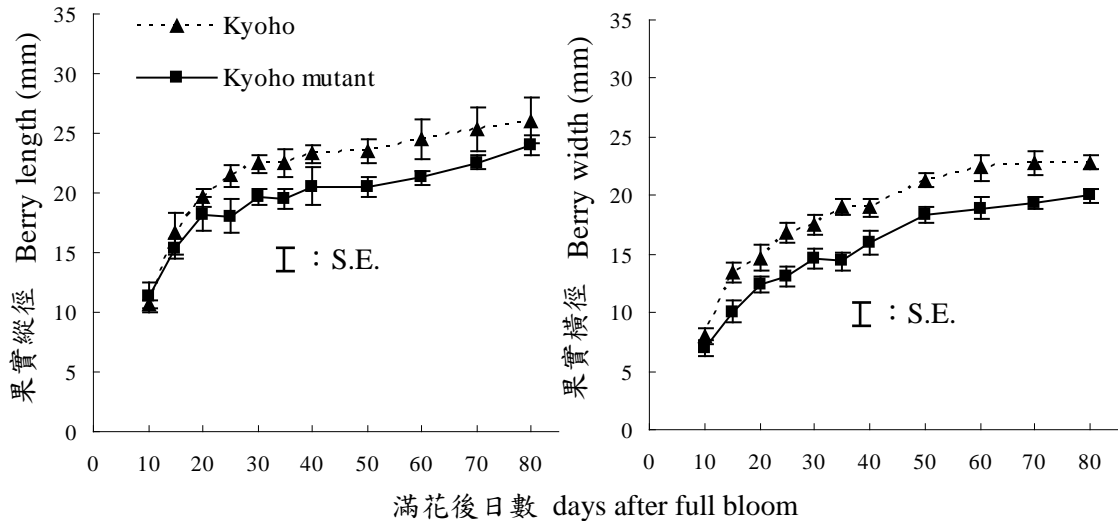


圖 2. `巨峰`與`巨峰`變異株果實發育期縱徑及橫徑之變化

Fig. 2. Changes in berry length and width of `Kyoho` and `Kyoho` mutant during development.

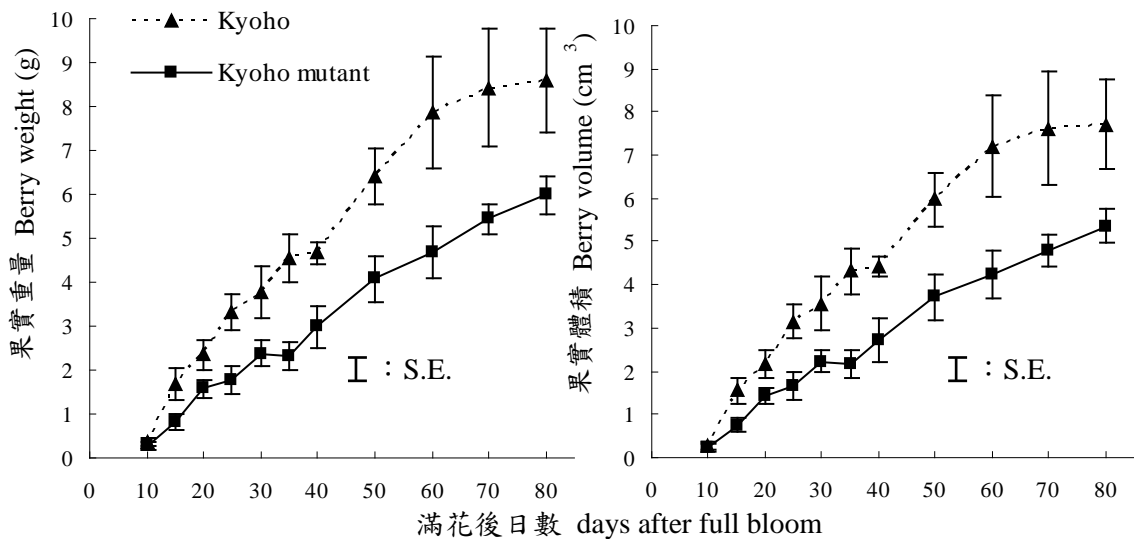


圖 3. `巨峰`與`巨峰`變異株果實發育期重量及體積之變化

Fig. 3. Changes in berry weight and volume of `Kyoho` and `Kyoho` mutant during development.

10~35日及10~20日之間均呈現體積快速增加之現象，而後經一短暫之停滯期，自此之後體積變化又趨增快，至接近採收期則呈現緩慢上升之趨勢，此外可發現變異株之體積自滿花後10日至採收之期間則均低於`巨峰`，在滿花後80日`巨峰`與變異株之平均體積分別達到7.7及5.4cm³。10~35日及10~20日之間均呈現體積快速增加之現象，而後經一短暫之停滯期，自此之後體積變化又趨增快，至接近採收期則呈現緩慢上升之趨勢，此外可發現變異株之體積自滿花後10日至採收之期間則均低於`巨峰`，在滿花後80日`巨峰`與變異株之平均體積分別達到7.7及5.4cm³。

果實發育期間之果形指數及可溶性固形物變化如圖4所示。在果形指數方面，兩者曲線之變化皆為緩慢下降之趨勢，變異株自滿花日至採收之期間則均高於`巨峰`，於滿花日變異株之果形指數達到最高為2.3，遠高於`巨峰`之1.8，由此至滿花後40日變異株均明顯高於`巨峰`，由滿花後40日至採收變異株亦高於`巨峰`，然兩者之差異減小，在滿花後80日`巨峰`與變異株之平均果形指數分別為1.1及1.2。在可溶性固形物變化方面，兩者之變化之曲線趨勢大致相同，`巨峰`與變異株於滿花後10~20日均維持在4°Brix左右，變異株自滿花後20日開始緩慢提高，然而於滿花後30~35日起則急劇增加，之後趨於平穩，反觀`巨峰`則自滿花後10日起至35日均無明顯變化，至滿花後35日起才開始急遽增加，在滿花後80日`巨峰`與變異株之平均可溶性固形物均為20°Brix左右。

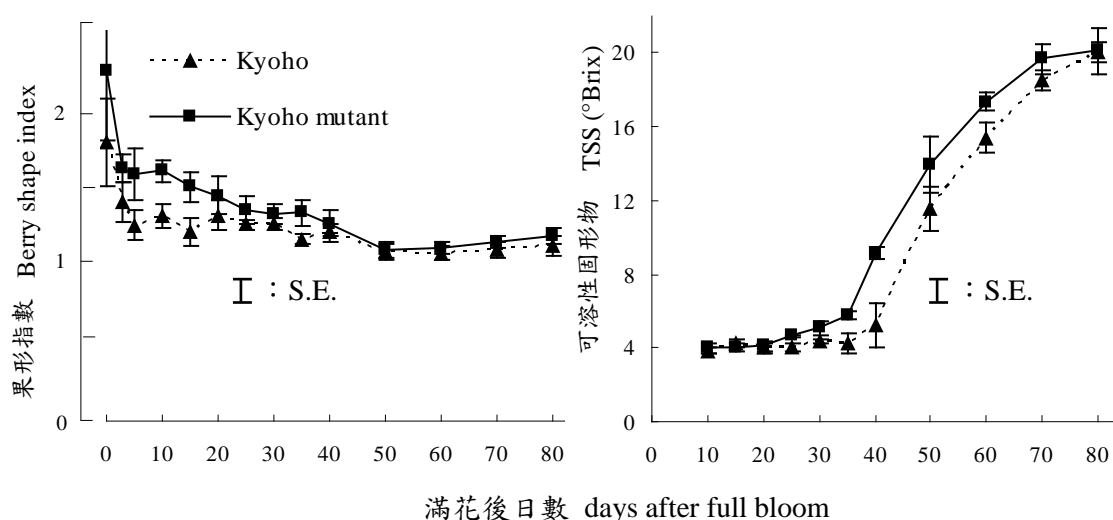


圖 4. `巨峰`與`巨峰`變異株果實發育期果形指數及可溶性固形物之變化

Fig. 4. Changes in berry shape index and total soluble solids of `Kyoho` and `Kyoho` mutant berries during development.

三、果實之品質

果實品質分析於滿花後80日進行，結果如表3所示。`巨峰`與變異株不論在可溶性固形物、酸度、糖酸比、果色及硬度上都無明顯差異。其中可溶性固形物兩者均可達到20°Brix，在酸度、果色及硬度上，`巨峰`皆略高於變異株，糖酸比則變異株略高於`巨峰`。

四、採收時果心長度、果軸直徑及果軸木質部直徑

在果心長度、果軸直徑及果軸木質部直徑之調查結果如表4所示，`巨峰`與變異株之果心長度及果軸直徑並無顯著差異，但果軸木質部直徑則變異株顯著大於`巨峰`。

表 3. `巨峰`與`巨峰`變異株在滿花後 80 日之果實品質

Table 3. Berry qualities of `Kyoho` and `Kyoho` mutant on the 80th day after full bloom.

植株 Plants	可溶性固形物 TSS (°Brix)	酸度 Acidity (%)	糖酸比 TSS/TA	果色級數 Skin color degree	硬度 Firmness (Kg)
Kyoho	20.0	0.46	43.4	9.2	0.42
Kyoho mutant	20.1	0.42	44.3	8.2	0.36
t-test ^z	ns	ns	ns	ns	ns

z : ns表示`巨峰`與變異株兩者經t-test分析(P = 0.05)兩者無顯著差異

z : ns indicates no significant difference between `Kyoho` and `Kyoho` mutant by t-test at P = 0.05.

表 4. `巨峰`與`巨峰`變異株在滿花後 80 日之果心長度、果軸直徑及果軸木質部直徑

Table 4. Comparison of berry brush length, rachis diameter and xylem diameter of rachis between `Kyoho` and `Kyoho` mutant on the 80th day after full bloom.

植株 Plants	果心長度 Berry brush length (mm)	果軸直徑 Rachis diameter (mm)	果軸木質部直徑 Xylem diameter of rachis (mm)
Kyoho	7.2	5.8	4.3
Kyoho mutant	6.5	6.0	5.2
t-test ^z	ns	ns	*

z : *表示`巨峰`與變異株兩者經t-test分析達0.05之顯著水準，ns表示無顯著差異

z : * indicates significant difference between `Kyoho` and `Kyoho` mutant by t-test at P = 0.05 ; ns indicates no significant difference.

五、種子之發育

種子發育之調查結果如圖5所示，在種子縱徑方面，`巨峰`與變異株於開花當日之縱經約0.8 mm，`巨峰`種子之縱徑自滿花後開始急速增加，直到滿花後25日才趨於平緩，而後約維持在8 mm左右，未再明顯增加。反觀變異株於滿花後5日達到1 mm後，便一直維持於1~1.5 mm之間。在種子橫徑方面，`巨峰`與變異株於開花日之縱經約0.28 mm，`巨峰`種子之橫徑自滿花後開始急速增加，直到滿花後30日才趨於平緩，而後約維持在5 mm左右，未再明顯增加，反觀變異株於滿花後3日之後，便一直維持於0.3~0.5 mm之間。

滿花後80日種子特性之比較如表5所示，在平均種子縱徑方面，`巨峰`與變異株分別為8.5及1.4 mm，在平均種子橫徑方面，`巨峰`與變異株分別為5.3及0.5 mm，在平均種子重量方面，`巨峰`與變異株分別為110.7及0.3 mg，`巨峰`之正常種子約為變異株種子之370倍，變異株種子之外觀不似`巨峰`正常種子為合點端膨大型呈倒三角形之鳥嘴狀，而維持胚珠之雛形，但種臍端略微膨大，與合點端之間形成一褐色微凹之環帶。此外變異株少部分果實產生之正常種子無論在種子縱徑、橫徑及重量上均與`巨峰`種子無明顯差異，惟在外型上變異株正常種子之輪廓線上之稜線特別明顯，在種子鈍端產生兩明顯突出之稜角，與一般`巨峰`種子較圓滑的外觀有異，在種子色澤上呈現深褐色，有時夾雜黑色之斑點或粗糙物，與`巨峰`灰褐色均勻之色澤亦不甚相同。

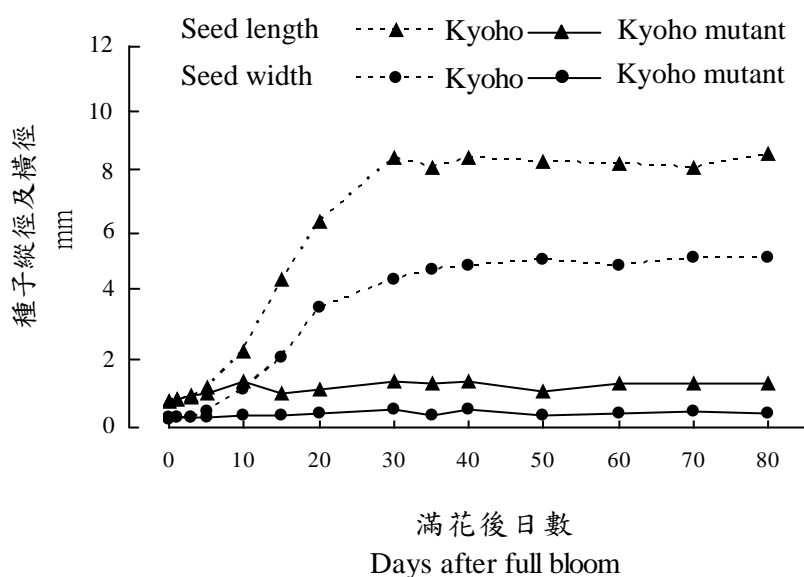


圖5. `巨峰`與`巨峰`變異株種子縱徑及橫徑之變化

Fig. 5. Changes in seed length and width of `Kyoho` and `Kyoho` mutant.

表5. `巨峰`與`巨峰`變異株在滿花後80日之種子大小

Table 5. Comparison of seed characteristics between `Kyoho` and `Kyoho` mutant on the 80th day after full bloom.

供試材料 Materials	縱徑 Length (mm)	橫徑 Width (mm)	重量 Weight (mg)
Kyoho seeded berry	8.48	5.27	110.7
Kyoho mutant seedless berry	1.37	0.46	0.3
Kyoho mutant seeded berry	8.34	5.05	103.3

討 論

本研究針對`巨峰`與`巨峰`變異株進行各項園藝性狀之調查，結果發現兩者在營養器官上之性狀特徵皆相似，僅於生殖器官尤其於花與果實形態及種子特徵上呈現較大之差異，推論此異株僅於生殖器官或於生殖生理上發生突變，造成其無子之產生。

開花當日變異株之花冠雖可開裂捲起，然而有不易脫落之情況，推測與雄蕊長度過長、花冠開裂深度不足或雄蕊撐開力量不足有關，內藤等人(1988)指出`巨峰`一般花冠不脫離率為12%，強梢比率為17.8%顯著大於弱梢之2.6%，經SADH處理會降低花冠不脫離現象之發生，經4-CPA處理則會增加花冠不脫離比率，並減少有子果的著果率，此外花冠不脫離之花朵，其花柱內花粉管侵入數目顯著低於花冠脫離之花朵。因此變異株由於花冠不脫離，雄蕊包藏於花冠之中，對於花粉之散佈及授粉作用可能造成負面影響。

變異株之雌蕊及果實形狀上主要具有對稱及不對稱兩類，其導因於胎座形式上的不同，單側隔膜胎座易產生不對稱之果形，正常胎座則產生對稱之果形，由三次花器之調查結果可知，雖然於雌蕊長及雌蕊寬方面之統計結果差異較大，但就長寬比而言，變異株均顯著大於`巨峰`，雄蕊及小花梗之長度亦大於`巨峰`，同時變異株在果實發育期間之果形指數均大於`巨峰`，尤以幼果期更為明顯，未經GA處理之變異株果實亦能自然肥大至`巨峰`之70%左右，因此由變異株之特殊形態與生長可知其與內生GA含量較高可能有關，但仍需進一步探討。

在果實生育方面，由於採樣之變異株與`巨峰`之樹齡並不相當，因此僅做一初步之觀察比較，結果發現兩者於果實縱橫徑、重量及體積均呈雙S型之生長曲線，此結果與一些學者認為自然無子品種之生長曲線與有子品種同屬於雙S型之論點一致(Coombe, 1960;

Nitsch *et al.*, 1960; Iwahori *et al.*, 1968), 然與Wang及Horiuchi(1990)認為`Himrod Seedless`無子葡萄之生長曲線並不符合雙S型之看法相悖。由生長曲線亦可發現變異株較`巨峰`提早進入生長停滯期, 可溶性固形物之增加及開始轉色之時間均較`巨峰`提早, 由此可說明變異株較`巨峰`早熟, 約提早1週之時間, 曾及楊(1997)以GA₃處理`巨峰`所得之無子果比正常的有子果提早一週成熟, 其結果與本研究相同; Shiozaki等人(1997)亦指出`Delaware`以GA₃誘導產生之無子果其生長曲線呈雙S型, 其比有子果提早進入生長停滯期, 且停滯期較有子果短6天, 因此亦有提早成熟之現象。

在果實品質方面, 變異株與`巨峰`均無明顯差異, 顯示此變異株仍保有`巨峰`原有之優良品質, 惟果粒大小約僅5~6g, 可待加強栽培管理與利用生長調節劑之處理, 應可使其大小達到商業生產之標準。許多研究指出`巨峰`經GA₃處理會導致穗軸及果梗之硬化, 木質部增厚, 木質部細胞層數增加(中村及堀, 1980; 柴, 1980; 陳及楊, 1989)、果梗PAL酵素活性提高及酚類物質含量增加(中村及堀, 1980)等, 容易導致果實脫粒。本研究於滿花後80日發現`巨峰`變異株之穗軸及果梗明顯硬化, 穗軸木質部直徑亦大於`巨峰`, 因此易因碰觸而脫粒, 與經GA₃處理之特徵相似。

在種子方面, 變異株滿花後80日之種子縱徑皆不超過1.5 mm, 根據王(1983)對`巨峰`種子之分類方式, 可歸類為不發育胚珠(第3類): 種子縱徑 < 1.5 mm; 依據Bouquet及Danglot(1996)之分類方式, 可歸類為種子類型S(第1類): 無種子或具有極小且種皮未硬化之種子痕跡, 不具有胚乳; 根據Spiegel-Roy等人(1990)之分類方式, 可歸類為S: 幾乎無子, 無可見之種子痕跡; 根據Striem等人(1992)之分類則可歸類為small seed trace(第4類), 根據以上之分類方式變異株與典型略精結實品種`Sultanina`應歸屬於同一類, 然其平均種子縱徑相較於`Sultanina`之3 mm(Coombe, 1960)則約小了一倍。此外, 變異株有少數果實會產生與`巨峰`正常種子相仿之種子, 然而卻未發現介於正常種子與極小種子之間之中間型, 即王(1983)對於`巨峰`種子之分類方式之發育不全種子(第2類): 種子縱徑介於0.2~0.6 mm, 此種現象與略精結實無子葡萄之種子表現呈現連續性變化之特性(Ledbetter and Ramming, 1989)不同, 變異株正常種子之種皮硬化, 經解剖可發現胚乳及胚, 亦與略精結實無子葡萄不具完全硬化種皮以及胚與胚乳早期退化之特性不同(Ledbetter and Ramming, 1989), Coombe(1960)指出單為結果品種`Black Corinth`大多數果實內的胚珠由於缺乏胚囊, 因此於開花後無法受精而未進一步發育, 然有少部分胚珠可發育形成堅硬之種皮, 其果實亦會明顯增大, 此特性與變異株相似。

謝 辭

本研究執行期間承行政院農業委員會農糧署 93 農科-1.1.2-糧-Z1(9)計畫補助, 台中區農業改良場及農業試驗所提供試驗材料, 謹申謝忱。

參 考 文 獻

- 王乃霖。1983。巨峰葡萄結實生理之研究。國立中興大學園藝研究所碩士論文。
- 陳秉訓、楊耀祥。GA₃及KT-30對冬季巨峰葡萄果實生長之影響。興大園藝 14: 15-30。
- 曾建興、楊耀祥。1997。GA₃及Fulmet在巨峰葡萄無子化之利用。興大園藝 22: 29-42。
- 歐錫坤。1985。植物生長調節劑誘發巨峰無子葡萄之研究。中華農業研究 34: 33-44。
- 中村正博、堀裕。1980。ジベレリン處理による巨峰無核果房の果梗の硬化に關する研究。
日本園藝學會昭和55年春季大會研究發表要旨:130-131。
- 內藤隆次、山村宏、安部紀代子。1988。巨峰系品種における花冠の離脱との關係。日本園藝學會昭和63年秋季大會研究發表要旨:29。
- 柴壽。1980。ブドウの大粒品種(巨峰・ピオーネ)に対する無核化技術。農業および園芸 55(2): 294-298。
- Bouquet, A. and Y. Danglot. 1996. Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 35: 35-42.
- Coombe, B. G. 1960. Relationship of growth and development to changes in sugars, auxins, and gibberellins in fruit of seeded and seedless varieties of *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.* 35: 241-250.
- Iwahori, S., R. J. Weaver, and R. M. Pool. 1968. Gibberellin-like activity in berries of seeded and seedless Tokay grapes. *Plant Physiol.* 43: 333-337.
- Ledbetter, C. A. and D. W. Ramming. 1989. Seedlessness in grape. *Hort. Rev.* 11: 159-181.
- Nitsch, J. P., C. Pratt, C. Nitsch, and N. J. Shaulis. 1960. Natural growth substances in Concord and Concord Seedless grapes in relation to berry development. *Amer. J. Bot.* 47: 566-576.
- Shiozaki, S., T. Miyagawa, T. Ogata, S. Horiuchi, and K. Kawase. 1997. Differences in cell proliferation and enlargement between seeded and seedless grape berries induced parthenocarpically by gibberellin. *J. Hort. Sci.* 72: 705-712.
- Spiegel-Roy, P., Y. Baron, and N. Sahar. 1990. Inheritance of seedlessness in seeded x seedless progeny of *Vitis vinifera* L. *Vitis* 29: 79-83.
- Striem, M. J., G. Ben-Hayyim, and P. Spiegel-Roy. 1994. Developing molecular genetic markers for grape breeding, using polymerase chain reaction procedures. *Vitis* 33: 53-54.
- Wang, J. and S. Horiuchi. 1990. A histological study on seedlessness in 'Himrod Seedless' grape. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 59: 455-462.

Horticultural Characteristics and Berry Development of a `Kyoho´ Mutant Grapevine

Shih-Huang Huang ¹⁾ Bing-Shiunn Chen ¹⁾ Ching-Cheng Chen ¹⁾
Szu-Tung Hsu ²⁾ Yau-Shiang Yang ³⁾

Key words: Grape, Seedless, Horticultural characteristics, Berry development

Summary

There was no apparent difference in shoots and leaves between `Kyoho´ and `Kyoho´ mutant. The major morphological variations were the flower and berry shapes; those of the mutant were more elongate. Most ovaries of the mutant had abnormal placetae and ovules, which led to an abnormal unsymmetrical shape. Berries of the mutant were smaller and ripened earlier than `Kyoho´.

-
- 1) Graduate student, Instructor and Assistant professor, respectively, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
 - 2) Technician, Viticulture Research Station, National Chung Hsing University.
 - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

利用 RAPD 與 ISSR 分子標誌評估印度棗品種間之遺傳歧異度

蘇慧珊¹⁾ 陳京城²⁾

關鍵字：印度棗、分子標誌

摘要：本研究以 28 個 RAPD 引子及 16 個 ISSR 引子增殖產生之標誌分析 15 個印度棗品種之遺傳歧異度。結果共獲得 286 個 RAPD 標誌片段及 150 個 ISSR DNA 片段。以 RAPD 全部增殖 DNA 片段分析所得相似度矩陣經 UPGMA 法建構之親緣樹狀圖顯示相似度介於 0.68~0.95。以 RAPD 多型性標誌分析所得相似度矩陣經 UPGMA 法建構之親緣樹狀圖顯示相似度介於 0.42~0.92。以 ISSR 全部增殖 DNA 片段分析所得相似度矩陣經 UPGMA 法建構之親緣樹狀圖顯示相似度介於 0.80~0.97。以 ISSR 多型性標誌分析所得相似度矩陣經 UPGMA 法建構之親緣樹狀圖顯示相似度介於 0.58~0.91。

前 言

印度棗(Indian jujube, *Zizyphus mauritiana* Lam.)俗稱棗子，為鼠李科(*Rhamnaceae*)棗屬(*Ziaypgus* Mill.)之作物。大部分原產於印度、緬甸及中國雲南一帶。與溫帶果樹之中國棗(*Zizyphus vulgaris* Lam.)為同科同屬但不同種之作物。在亞洲南部、非洲、澳洲等地均有分佈(黃，1995)。印度棗實生苗的幼年期很短，播種後當年或第二年即可結果，再加上實生苗變異大及芽條突變，使印度棗歷年來品種更替速度很快且品種多樣化。

印度棗栽培面積，依據農業年報統計，由民國 82 年的 1,406 公頃，增加至 93 年的 1,800 公頃。主要產地集中在屏東縣，其次是高雄縣及台南縣。此外在嘉義縣、嘉義市、台中縣、雲林縣及台東縣亦有零星栽培。在台灣印度棗雖然不是大宗果樹，但由於品種改良及栽培技術的改進，因此能生產品質相當良好，目前已成為高屏地區的重要經濟果樹之一。

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。

印度棗不同品種間的外觀形態相似，早期分子生物及相關生物技術尚未成熟時，主要以外表形態為鑑別方法，故所得到的標誌有限。而進行鑑別工作時，若以外表形態來評估植物性狀，則容易受到環境因子及生長條件的影響，近代以DNA為基礎的技術能更靈敏的偵測物種的遺傳變異，便可以排除這些難題。因此以PCR為基礎的分析法如AFLP、RAPD、SSR等被廣泛應用。RAPD與ISSR在應用上有協助育種工作：Hormaza(1999)的報告提出，許多果樹和堅果作物由於幼年期較長，需要較長時間才能發育至一定的大小，因此會花費許多時間及成本。Shirkot等人(2001)發現PCR-based RAPD技術能在定植前即分辨奇異果(Kiwifruit)的雌雄基因型。分析族群歧異度與性狀：Archak(2002)等人以27個具有不同遺傳性狀的番茄栽培種利用RAPD makers作分析，相似度愈高，則暗示在研究的材料中，其遺傳變異是有限的。Blair(1999)等人，以32個ISSR引子分析59個水稻種源，共產生370條多型性條帶可區分出indica及japonica型。ISSR分子標誌可於遺傳歧異度與性狀表現差異中做相關性解釋，應用在莖苔屬作物之形態特徵分群上，證明分子標誌與形態標誌分群上確有相關性。DNA指紋分析資料及品種鑑定：Ronning等人(1995)以RAPD進行番荔枝屬(*Annona*)的指紋分析。Prevost和Wilkinson(1998)以4個ISSR引子對34個馬鈴薯品系進行分析，其中有兩個引子單獨使用即可區分所有品種，而4個引子中的其中2個引子組合，亦能顯現出各品系間的特異性。分析地理位置之相關性：Pillay等人(2001)以RAPD分析東非29種高地香蕉和另外兩群不同集團的香蕉，分析其遺傳差異和關聯性。由樹狀圖分析顯示主要分4群，分別為AAA高地香蕉、Agbagba(ABA)群、Kisubi和Kamaramasenge(AB)群及Calcntta 4(AA)群。據實驗結果顯示PAPD的分析無法區分何者為釀酒用或是主食用香蕉，但對於親源相近的高地香蕉能加以區分，並可提供親本的選擇以改善種質的遺傳基礎。RAPD與ISSR一樣具有分析技術簡單、分析方法較為安全、靈敏度高、標誌數量豐富、在植物任何發育階段都可進行分析、僅需微量樣品即可分析、以及無基因上位現象等優點。因此本研究主要以RAPD及ISSR分子標誌來評估國內印度棗品種間之遺傳歧異度及品種鑑別，並比較RAPD及ISSR分析後的結果及差異。

材料與方法

一、試驗材料

試驗材料為15個印度棗(*Zizyphus mauritiana* Lam.)品種來源分別為：1.鳳山熱帶園藝試驗所的品種有：'台農1號'、'高朗1號'、'碧雲'、'天蜜'、'翠蜜'、'黃冠'、'蜜棗'、'泰國'、'玉冠'、'新世紀'、'特龍'、'金鈴'。2.高雄區農業改良場的品種有：'高雄2號'、'高雄3號'。3.嘉義大學的品種有：'新蜜棗'。

二、試驗方法

(一) 萃取基因組DNA

採取新鮮印度棗嫩梢，以液態氮冷凍並以研鉢研磨成細粉末狀，使用 QIAGEN 公司之 DNeasy® Plant Mini Kit 進行萃取，萃取方法如下：取 0.05 g 磨好之印度棗嫩梢樣品，加入 400 μ l AP1 buffer 及 4 μ l RNase A stock solution(100 mg/ml)，並充分混合及震盪。混合後置於 65°C 水浴 10 分鐘。(期間震盪 2-3 次)。加 130 μ l AP2 buffer 充分混合後，置於冰中 5 分鐘，最後震盪混合，以最高轉速(13000 rpm)離心 5 分鐘。用去尖頭 tip 吸取上層液，加入 QIA shredder 過濾管，以最高轉速(約 13000 rpm)離心 2 分鐘。取過濾液，倒入 1.5 ml tube 中，再加入 1.5 倍 AP3 buffer 用 pipet 輕輕混合，先取 650 μ l 加入 DNeasy 過濾管，以 8000 rpm 離心 1 分鐘，倒掉濾液，再取剩餘混合液加入過濾管，同法離心。去除離心後之濾液，加入 500 μ l AW buffer，以最大轉速(約 13000 rpm)離心 2 分鐘，倒掉濾液。再使用 96-100%酒精清洗一次，離心 2 分鐘，倒掉濾液之後，再離心 1 分鐘，避免酒精殘留。使用 1.5 ml 離心管，將濾心置入，加入預熱 65°C 之 AE buffer 100 μ l，置於室溫下 5 分鐘後，以 8000 rpm 離心 1 分鐘。使用分光光度計測量 220-320 nm 波長間之吸光值變化，並單獨測量波長 230、260、280 nm 處之吸光值，理想之純 DNA 的 A_{260}/A_{280} 數值比例約為 1.7-1.9。DNA 將濃度調整為 $A_{260} = 1 = 50 \text{ ug/ml}$ ，儲存於 -40 °C 下備用。

(二) RAPD 與 ISSR 之 PCR 分析與電泳

1. 多型性 DNA 標誌引子之篩選：第一次共使用 OPERON 逢機引子組 A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、K、L 及 X 等共 13 組 10mer 之引子進行篩選。共使用 UBC Kit9 共 100 個 ISSR 引子及進行試驗。
2. 聚合酶鏈鎖反應：聚合酶鏈鎖反應的反應溶液總量為 25 μ l，包含 2.5 mM MgCl_2 、1 X Mg free buffer(含 20 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50 % glycerol, 0.5 % Tween 20, 0.5 % Nonidet®-P40)、160 μ M 之 dNTP、1 unit Taq DNA polymerase (Promega 出品)、25 pmol primer 及 25 ng Template DNA，混合均勻後，放入 DNA 聚合酶反應器 Gene Amp PCR system 2700 中進行加熱與降溫循環。反應條件設定為：94°C 6 分鐘，接著再以 94 °C 45 秒、40 °C 下 45 秒(ISSR 的為 50 °C 下 45 秒)、72 °C 下 1 分鐘進行 40 次循環反應，最後 72 °C 下 7 分鐘結束。
3. DNA 瓊膠電泳：將 0.5 X TBE buffer 及 1.5 % 瓊膠(agarose)倒入 250 ml 之三角瓶中，以微波爐加熱溶解，溶解後靜置冷卻至約 60 °C 左右加入 0.5 μ g/ml ethidium bromide 再倒入模型槽中製作膠片，凝固後置於含有 0.5 X TBE buffer 之電泳槽中。將經過 PCR 反應後之 25 μ l 樣品混合 5 μ l 6X dye (Fermentas 出品)，注入溝槽，樣品兩側注入混合 6 X dye 之 2.0 μ l Bio 100 bp DNA Ladder(PROTECH 出品)，作為判斷電泳條帶片段大小之依據。
4. 相似度(similarity)分析、群叢分析及相似度樹狀圖(dendrogram)製作：相似度之計算依照 Nei 和 Li(1979)不同樣品間的遺傳相似性(similarity)算法，再利用 NT-SYS 電腦套裝軟體進行 UPGMA 進行群體分析後，得到品種間遺傳相似度樹狀圖。公式為 $S_{xy} = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ ， S_{xy} 代表 x 品種及 y 品種之間的相似度， N_{xy} 代品種表 x 品種及 y 品種共有之條帶數， N_x 及 N_y 分別代表 x 品種及 y 品種各自之條帶總數(Wang *et al.*, 1999)。

結 果

一、RAPD總條帶分析

15個印度棗品種經使用13組共260支RAPD引子進行篩選後，篩選出28個能產生多型性條帶之引子，總計共212個多型性電泳條帶及74個單型性條帶。

由樹狀圖中(圖1)發現15個印度棗品種區分成4群，I群包含12個品種，'金鈴'及'泰國'及'新蜜棗'這三個品種則各自一群。遺傳相似係數為0.68~0.95之間，兩品種間之相似度方面，以'台農1號'與'高朗1號'變異株之相似度最高，高達0.92，其次分別為'高雄2號'與'高雄3號'這組與'玉冠'與'特龍'這兩組之相似度同樣為0.897。另外'黃冠'與'新世紀'之相似度為0.886，'碧雲'與'天蜜'之相似度為0.806。所求得之平均相似度係數為0.776，平均變異度係數為0.224。其分析結果與多形性條帶分析相類似，在相似度方面則提高許多。

表1. RAPD分析選用之28個具多型性條帶引子

Table 1. 28 polymorphic primers used for RAPD analysis.

引子 Primers	序列 Sequence 5' to 3'	總條帶數 Total fragments	多型性條帶 polymorphic fragments	多型性條帶比率 Percentage of polymorphic
OPA-03	AGTCAGCCAC	7	5	71.43
OPB-11	GTAGACCCGT	10	10	100.00
OPB-18	CCACAGCAGT	12	11	91.67
OPC-13	AAGCCTCGTC	9	6	66.67
OPD-01	ACCGCGAAGG	9	7	77.78
OPD-04	TTGGCACGGG	11	7	63.64
OPD-07	TCTGGTGAGG	9	6	66.67
OPE-06	AAGACCCCTC	10	8	80.00
OPE-08	TCACCACGGT	7	6	85.71
OPE-14	TGCGGCTGAG	9	5	55.56
OPE-17	CTACTGCCGT	17	14	82.35
OPE-20	AACGGTGACC	10	6	60.00
OPF-01	ACGGATCCTG	9	6	66.67
OPF-04	GGTGATCAGG	9	7	77.78
OPG-08	TCACGTCCAC	11	7	63.64
OPH-05	AGTCGTCCCC	11	7	63.64
OPH-08	GAAACACCCC	10	7	70.00
OPH-12	ACGCGCATGT	13	10	76.92

OPI-16	TCTCCGCCCT	10	6	60.00
OPJ-05	CTCCATGGGG	10	6	60.00
OPK-01	CATTCGAGCC	11	8	76.92
OPL-02	TGGGCGCTAA	9	8	88.89
OPL-19	GAGTGGTGAC	12	7	58.33
OPX-02	TTCCGCCACC	10	6	60.00
OPX-07	GAGCGAGGCT	9	7	77.78
OPX-08	CAGGGGTGGA	8	8	100.00
OPX-13	ACGGGAGCAA	14	10	71.43
OPX-18	GACTAGGTGG	9	9	100.00
Total		286	212	
Average		10.21	7.57	74.13

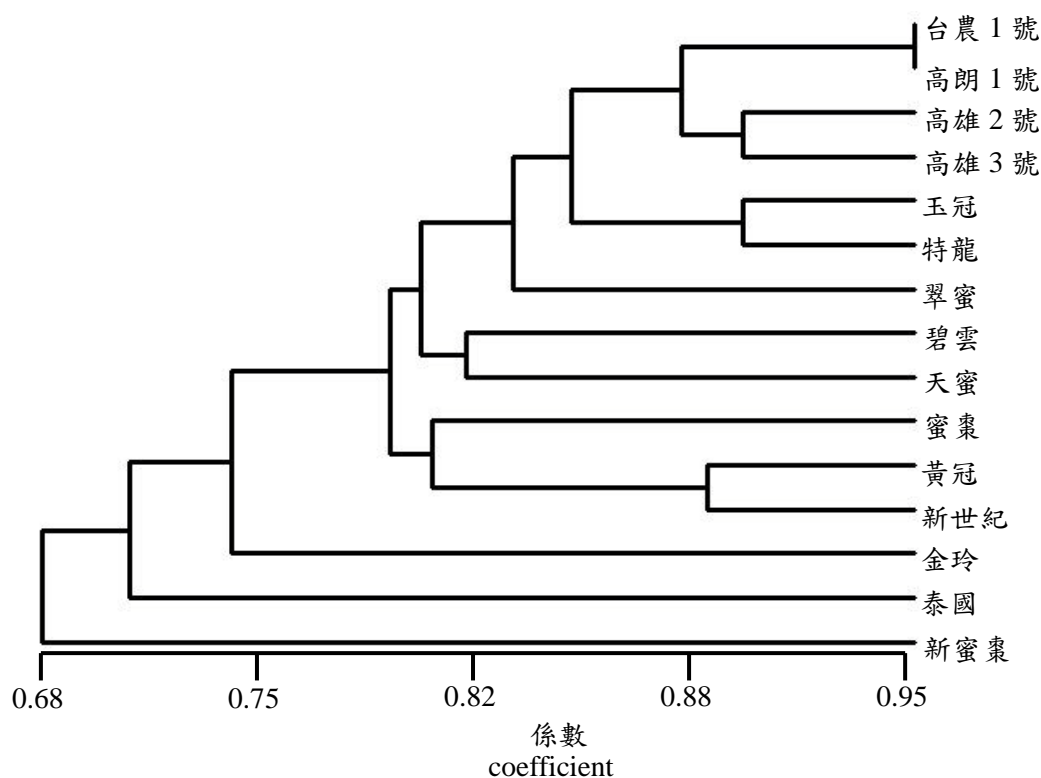


圖1. 15個印度棗品種之RAPD全部增殖DNA片段分析所得相似度矩陣經UPGMA群叢分析後建立之相似度樹狀圖

Fig. 1. Dendrogram of 15 Indian jujube cultivars generated by UPGMA cluster analysis based on the similarity matrix of RAPD total amplified DNA fragments.

二、RAPD多形性條帶分析

由樹狀圖中(圖2)發現15個印度棗品種可區分成4群，I群包含12個品種，'金鈴'及'泰國'及'新蜜棗'這三個品種仍各自為獨立成三群。此結果與RAPD總條帶分析相同。經分析後，遺傳相似係數介於0.42- 0.92之間，兩品種間之相似度方面，以'台農1號'與'高朗1號'變異株之相似度高達0.92為最高，其次分別為'高雄2號'與'高雄3號'之相似度為0.843、'玉冠'與'特龍'之相似度為0.839及'黃冠'與'新世紀'之相似度為0.793，其餘組合皆小於0.75。所求得之平均相似度係數為0.620。

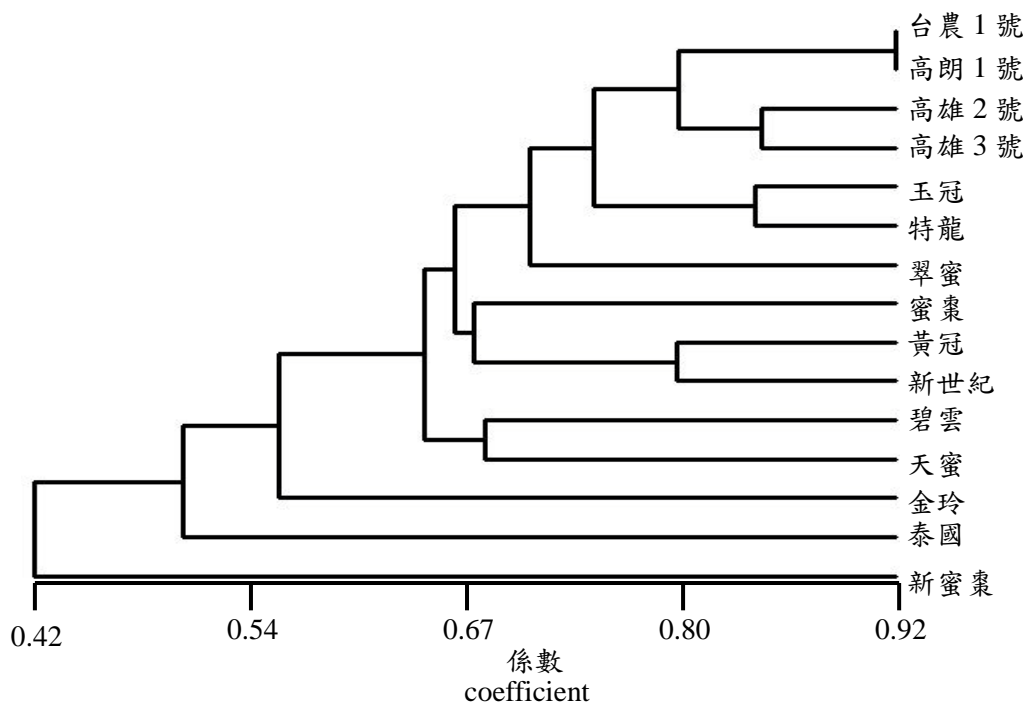


圖2. 15個印度棗品種之RAPD多形性標誌分析相似度矩陣經UPGMA群叢分析後建立之相似度樹狀圖

Fig. 2. Dendrogram of 15 Indian jujube cultivars generated by UPGMA cluster analysis based on the similarity matrix of RAPD polymorphic markers similarity matrix.

三、ISSR總條帶分析

印度棗品種經使用104支ISSR引子進行篩選後，選取16個能產生多型性電泳條帶之引子(表2)，總計共95個多型性條帶及55個單型性條帶。這16個引子所顯示的結果如(表2)。

群叢分析製成相似度樹狀圖(圖3)中可發現15個印度棗品種區分成I、II兩群，第I群包含12個品種，第II群則為'泰國'、'蜜棗'和'新蜜棗'三品種。兩品種間之相似度方面，以'台農

1號'與'天蜜'之相似度高達0.97為最高，其次分別為'黃冠'與'新世紀'之相似度為0.948，'高朗1號'與'翠蜜'之相似度為0.939。

'蜜棗'與'新蜜棗'之相似度為0.911，'高雄2號'與'高雄3號'之相似度為0.905，以及'玉冠'與'特龍'之相似度為0.903。所求得之平均相似度係數為0.834。

表2. ISSR分析選用之16個具多型性條帶引子

Table 2. 16 polymorphic primers used for ISSR analysis.

引子 Primers	序列 Sequence 5' to 3'	總條帶數 Total fragments	多型性條帶 Polymorphic fragments	多型性條帶比率 Percentage of polymorphic
UBC-823	TCTCTCTCTCTCTCC	8	4	50.00
UBC-824	TCTCTCTCTCTCTCG	6	4	66.67
UBC-825	ACACACACACACACT	10	6	60.00
UBC-845	CTCTCTCTCTCTCTRG	8	7	87.50
UBC-847	CACACACACACACARC	9	8	89.89
UBC-849	GTGTGTGTGTGTGTGYA	10	5	50.00
UBC-853	TCTCTCTCTCTCTCRT	8	3	37.50
UBC-854	TCTCTCTCTCTCTCRG	9	5	55.56
UBC-856	ACACACACACACACYA	11	5	45.45
UBC-857	ACACACACACACACYG	11	7	63.64
UBC-864	ATGATGATGATGATG	9	4	44.44
UBC-876	GATAGATAGACAGACA	9	6	66.67
UBC-891	HVHTGTGTGTGTGTGTG	10	8	80.00
UBC-898	GATCAAGCTTNNNNNATGTG	8	5	62.50
(gATA) ₅	GATA GATA GATA GATA GATA	7	4	57.14
(CAA) ₅	CAA CAA CAA CAA CAA	8	5	62.50
Total		150	95	
Average		9.38	5.96	63.33

² R = (A, G), Y = (C, T), D = (A, G, T), H=(A,C,T), V=(A,C,G), N=(A,G,C,T)

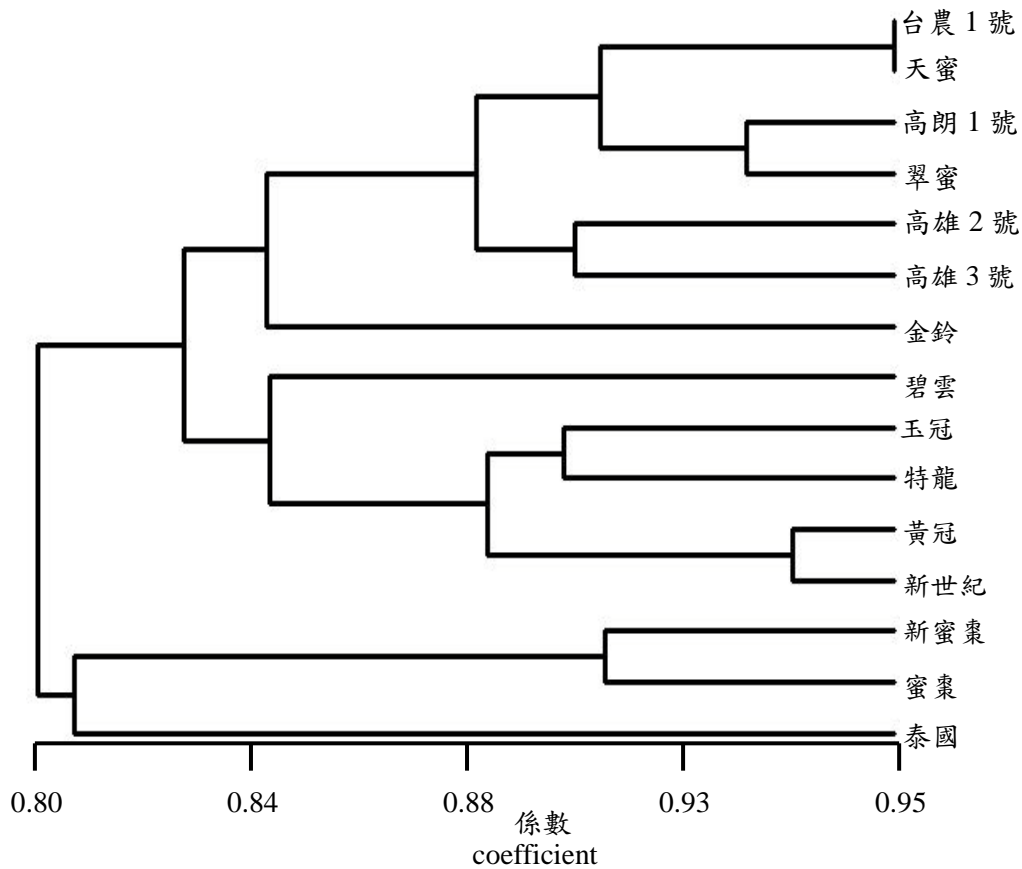


圖3. 15個印度棗品種之ISSR全部增殖DNA片段分析所得相似度矩陣經UPGMA群叢分析後建立之相似度樹狀圖

Fig. 3. Dendrogram of 15 Indian jujube cultivars generated by UPGMA cluster analysis based on the similarity matrix of ISSR total amplified DNA fragments.

四、ISSR多形性條帶分析

經群叢分析製成相似度樹狀圖如圖48所示。由樹狀圖中(圖4)發現15個印度棗品種可區分成I、II兩群，第I群包含13個品種，第II群則為'蜜棗'和'新蜜棗'兩品種。

兩品種間之相似度方面，以'黃冠'與'新世紀'之相似度高達0.91為最高，其次分別為'台農1號'與'高朗1號'之相似度為0.843，'高雄3號'與'特龍'之相似度為0.812，'蜜棗'與'新蜜棗'之相似度為0.788，其餘組合皆小於0.75。所求得之平均相似度係數為0.656。其分析結果與總條帶分析差距甚大。

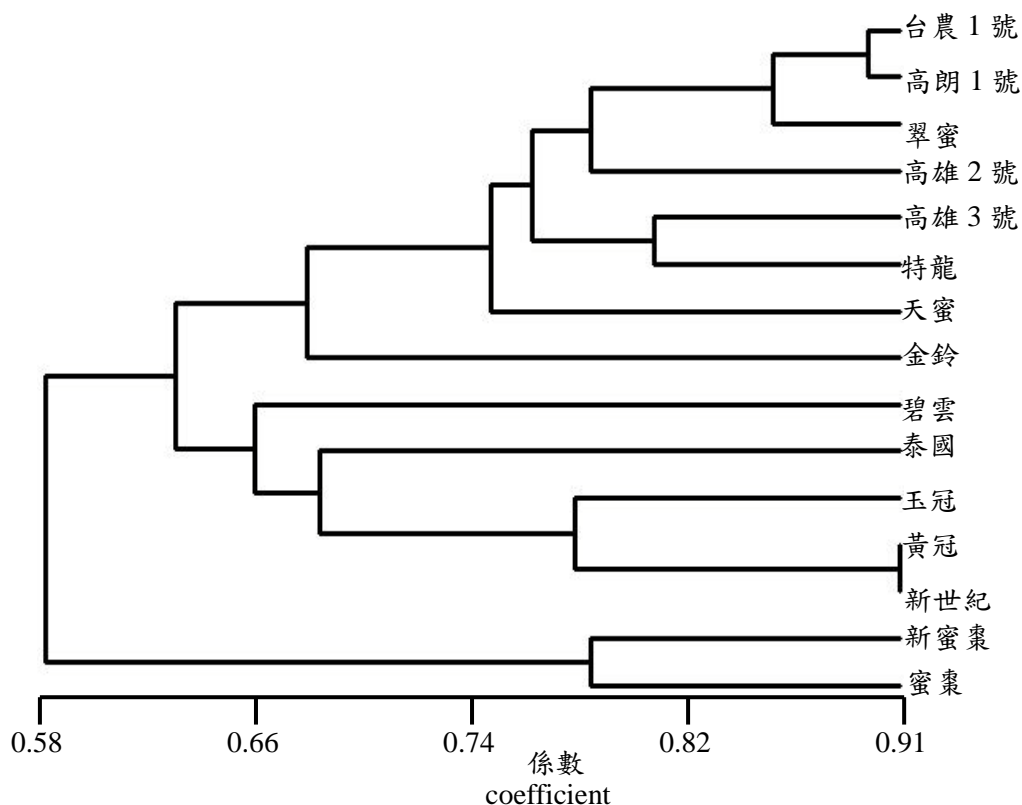


圖4. 15個印度棗品種之ISSR多型性標誌相似度矩陣UPGMA群叢分析後建立之相似度樹狀圖

Fig. 4. Dendrogram of 15 Indian jujube cultivars generated by UPGMA cluster analysis based on the similarity matrix of ISSR polymorphic markers similarity matrix.

討 論

一、RAPD 條帶分析

在 RAPD 總條帶分析方面，第 I 群的 12 個品種中，'台農 1 號'、'高雄 3 號'、'翠蜜'這 3 個品種為'高朗 1 號'的芽條突變。而'高雄 2 號'、'蜜棗'、'碧雲'及'天蜜'這 4 個品種則是從'高朗 1 號'的實生苗中選育而來。另外'玉冠'及'新世紀'雖不知道其父母本，但其性狀與'高朗 1 號'相類似。'黃冠'為 1989 年由阿蓮鄉果農所選育之晚熟品種，但並不知道其親本來源。而'特龍'則是由'泰國蜜棗'的實生苗選拔而來。在第 I 群的 12 個品種中，'高朗 1 號'、'天蜜'、'翠蜜'、'碧雲'、'玉冠'、'特龍'以及'新世紀'這七個品種果實皆是屬於橢圓形。其他分別為'台農 1 號'果實屬於扁長四方形、'高雄 2 號'果實屬於長扁圓形、'高雄 3 號'果實屬於圓錐形、

'黃冠'果實屬於扁圓形、'蜜棗'果實屬於桃子形。其他三個品種則個別獨立，分別為'泰國'和'金鈴'為引進品種，'新蜜棗'則尚無任何參考文獻可供參考。以 RAPD 分析並無法區分印度棗果實屬於早生、中生、中晚生或是晚生品種；果實屬於大果、中果或是小果；葉形是屬於橢圓形、長橢圓形、卵狀披針形；以及刺的多寡及軟硬。如同 Transue(1994)等人無法以形態特性區分莧屬(*Amaranthus*)中的 *A. caudatus* L.、*A. cruentus* L.和 *A. hypochondriacus* L.三種中的 29 個品系。在第 I 群的 12 個品種中，'台農 1 號'、'高雄 3 號'、'翠蜜'這三個品種為'高朗 1 號'的芽條突變。'高雄 2 號'、'蜜棗'、'黃冠'、'碧雲'、'天蜜'這五個品種為'高朗 1 號'實生苗選拔而來。'玉冠'、'特龍'、'新世紀'這三個品種的特性與'高朗 1 號'相類似。以 RAPD 技術分析確實能鑑定果樹品種的親緣關係。

二、ISSR 條帶分析

ISSR 總條帶分析與 ISSR 多型性條帶分析結果明顯不同。這是由於 ISSR 分析結果其單型性條帶較多，因此加入單型性條帶分析，造成分群結果差異很大。以 ISSR 總條帶分析能清楚分群。

三、RAPD 條帶分析與 ISSR 條帶分析

RAPD 多型性條帶與總條帶數的比值為 0.741，ISSR 多型性條帶與總條帶數的比值為 0.63。以多型性與總條帶數的比值來判斷，比值愈高，其分辨品種間差異之效率愈高。以 RAPD 與 ISSR 來分析印度棗品種間之遺傳歧異度的結果來看，ISSR 所產生的多型性條帶較少，而 RAPD 的分析果較符合已知之印度棗品種間親緣關係。

綜合以上分析結果以及已知之親緣資料，可確定'台農 1 號'、'高朗 1 號'、'碧雲'、'天蜜'、'翠蜜'、'黃冠'、'蜜棗'、'玉冠'、'新世紀'、'特龍'、'高雄 2 號'、'高雄 3 號'等 11 個栽培品種是屬於相似度較接近的一群。'泰國'及'金鈴'由國外引進，而'新蜜棗'為新品種。

參 考 文 獻

- 張麗華。1994。印度棗品種之輪替。農業世界。211:35-36。
- Archak, A., J. L. Karihall, and A. Jain. 2002. RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars. *Curr. Sci.* 82(9,10):1139-1147.
- Blair, M. W., O. Panaud, and S. R. Mocouch. 1999. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 98:780-792.
- Hormaza, J. I. 1999. Early selection in cherry combining RAPDs with embryo culture. *Sci. Hort.* 79:121-126.
- Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Soc. USA* 76:5269-5273.

- Pillay, M., E. Ogundiwin, D. C. Nwakanma, G. Ude and A. Tenkouano. 2001. Analysis of genetic diversity and relationships in East African banana germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 102:965-970.
- Prevost, A. and M. J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 98:107-112.
- Transue, D. K., D. J. Fairbanks, L. R. Robison and W. R. Andersen. 1994. Species identification by RAPD analysis of grain amaranth genetic resources. *Crop Sci.* 34(5):1385-1389.
- Waugh, R. and W. Powell. 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *TIBTECH* 10:186-191.
- Rafalski, J. A. and S. V. Tingey. 1993. Genetic diagnostics in plant breeding : RAPDs, microsatellites and machines. *Trends Genet.* 9(8):275-280.
- Ronning, C. M., R. J. Schnell and S. Gazit. 1995. Using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to identify *Annona* cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120(5):726-729.
- Shirkot, P., D. R. Sharma and T. Mohapatra. 2002. Molecular identification of sex in *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* by RAPD markers. *Sci. Hort.* 94:33-39.

Assessment of Genetic Diversity among Indian Jujube (*Zizyphus mauritiana* Lam.) Cultivars by RAPD and ISSR Markers.

Hui-Shan Su ¹⁾ Ching-Cheng Chen ²⁾

Key words: Indian jujube, molecular makers.

Summary

The genetic diversity among 15 Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lam.) cultivars were analyzed by RAPD and ISSR makers, generated by 28 RAPD primers and 16 ISSR primers. A total of 286 markers were scored by using the 28 RAPD primers and a total of 150 ISSR markers were scored by using the 16 ISSR primers. UPGMA analysis was performed and dendrograms were constructed. The similarity coefficients based on RAPD total amplified DNA fragments were between 0.68 and 0.95. The similarity coefficients based on RAPD total amplified DNA fragments were between 0.42 and 0.92. The similarity coefficients based on RAPD polymorphic markers were between 0.80 and 0.97. The similarity coefficients based on ISSR total amplified DNA fragments were between 0.58 and 0.91.

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

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

Corresponding author.

構築基因至同一個葉綠基因體轉殖載體以 基因槍法共同轉殖基因到甘藍葉綠體

陳立德¹⁾ 曾夢蛟²⁾

關鍵字: 基因槍、葉綠體基因轉殖、甘藍

摘要:本研究將熱休克蛋白 (heat shock proteins cognate, HSC) 基因與蘇力菌殺蟲晶體蛋白 (Bt) 基因構築在同一個蕓苔屬蔬菜葉綠體轉殖載體，稱之為 pASCCBtHSC；將超氧化歧化酵素 (superoxide dismutase, SOD) 基因與過氧化氫酵素 (catalase, CAT) 基因構築到同一個蕓苔屬蔬菜葉綠體轉殖載體，稱之為 pASCCBtHSC。利用基因槍法將兩種載體分別轉殖到`初秋`甘藍葉綠體中。以 PCR、南方墨點與北方墨點分析轉殖再生植株，在 pASCCSODCAT (*cat+sod*) 方面，獲得的七株轉殖甘藍，均同時具有 *cat* 及 *sod* 基因並轉錄出其 mRNA；在 pASCCBtHSC (*bt+hsc*) 方面，獲得的二株轉殖甘藍中，即有一株轉殖甘藍同時具有 *bt* 及 *hsc70* 基因，轉錄出 *bt* 及 *hsc70* mRNA，並大量表現 HSC70 蛋白及具有顯著的抗蟲效果。

前 言

台灣地處亞熱帶，夏季氣候高溫多濕，造成病蟲害危害嚴重，且常有溫度逆境的發生，因此培育出抗病蟲害、且耐逆境的蔬菜品種，為育種工作的首要目標。目前將單一基因轉殖到某一種作物，已經不能滿足產業生產上的需求，未來之基因改良工作傾向於開發多種性狀同時改良之作物新品種，使得農民之田間管理工作簡化，減少農藥的使用，同時提高作物產量及品質 (Bohnert and Jensen, 1996)。近年來的轉殖植物衍生出一些問題，例如目標基因藉由花粉的飛散，污染鄰近未轉殖作物與雜草，以及目標蛋白質的產量過低等等，

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。

皆影響基因轉殖作物的商品化。然而，葉綠體基因轉殖技術的出現為以上的問題，提供了一個解決的方法。植物葉綠體基因轉移有以下幾種優點：1. 葉綠體的轉殖基因屬母系遺傳，轉殖基因不會因為隨著花粉而散播，2. 植物細胞含多套的葉綠體基因組，有助於外來基因大量表現，3. 不會有基因轉移的 gene silencing 及 position effect，4. 較細胞核基因轉移穩定 (Bock, 2001; Daniell *et al.*, 2001)。其缺點為：1. 轉殖方法不穩定，基因槍每次打擊都不同，2. 與農桿菌感染的培植體比較，需要花較多時間再生，3. 需要花較多時間，才能獲得多數轉殖基因的葉綠體，4. 葉綠體轉殖目前並沒有通用轉殖載體 (universal transformation vector)。目前利用葉綠體作為轉殖的高等植物仍然有限，以菸草居多，主要原因在於植物再生不易，因此擴大葉綠體轉殖的植物種類是必行的目標 (Heifetz, 2000)。另一方面由於葉綠體含有多套 DNA，因此使外源基因完全整合到葉綠體達到同質化是目前需解決的問題，將有助於提升葉綠體轉殖的表現量。

蘇力菌殺蟲晶體蛋白 (Bt) 具有殺蟲的效果 (Perlak *et al.*, 1990; 1991)；超氧化歧化酵素 (superoxide dismutase, SOD)、過氧化氫酵素 (catalase, CAT)，能增加植物抗逆境的能力 (Inzé and Van Montagu, 1995)；熱休克蛋白 (heat shock protein, HSP)，與植物耐高溫有密切的關係 (Hendrick and Hartl, 1993)。本研究將熱休克蛋白 (heat shock proteins cognate, HSC) 基因與蘇力菌殺蟲晶體蛋白 (Bt) 基因構築在同一個蕓苔屬蔬菜葉綠體轉殖載體；將超氧化歧化酵素 (superoxide dismutase, SOD) 基因與過氧化氫酵素 (catalase, CAT) 基因構築到同一個蕓苔屬蔬菜葉綠體轉殖載體，利用基因槍法將兩種載體分別轉殖至甘藍葉綠體中。由於一個植物細胞含有多套的葉綠體基因組，期望能獲得較佳抗逆境及同時耐高溫、抗蟲的轉殖植株。

材料與方法

一、植物材料

本實驗以`初秋`品種之甘藍 (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) 作為葉綠體基因轉殖的試驗材料。無菌播種為，將適量的甘藍種子倒入已滅菌過的 25 ml 小空瓶中，以 70% 酒精劇烈振盪 1 分鐘，以無菌水清洗 1 次；將商業漂白劑 5% Clorox 稀釋 1/3 加入小空瓶中，劇烈振盪 1 分鐘，以無菌水清洗 1 次；將漂白劑稀釋 1/2 加入甘藍的小空瓶中，振盪消毒 20 分鐘，再以無菌水洗滌三次。將表面滅菌之種子播種於含 3 % 蔗糖與 1 % 洋菜膠 (agar) 的 1/2 MS 基本培養基中，培養於 26±2°C，150 μE/m²·sec，16 小時光週期之環境。

二、轉殖基因之種類

本實驗作為甘藍葉綠體基因轉移之基因計有：1. 蘇力菌殺蟲晶體蛋白基因 (*cryIA(b)*, *bt*) (國立中興大學分子生物研究所陳良築教授所贈)；以 16S ribosomal RNA 啟動子 (*prn*) *rbc S* 為啟動子，以光系統 II 反應中心 D1 蛋白基因 (*psbA*) 的 3' 核酸序列為終結子的

pASCCBt (本研究室劉程煒學長構築) (劉, 2003); 2. 由番茄中篩選出的熱休克蛋白基因 (*hsc70-2*) (原名 pSHC70 或 pAHSC70 (Lin *et al*, 1991), 國立清華大學生命科學所林彩雲博士所贈): 以 *prn* 為啟動子, 以 *psbA* 的 3' 核酸序列為終結子的 pASCCHSC (本研究室陳志宏學長構築) (陳, 2004); 3. 由'濱綠'結球白菜中篩選出的超氧化歧化酵素基因 (本研究室尤進欽學長選殖): 以 *prn* 為啟動子, 以 *psbA* 的 3' 核酸序列為終結子的葉綠體轉殖載體 pASCCSOD (本研究室劉程煒學長構築) (劉, 2003); 4. 由'濱綠'結球白菜中篩選出的過氧化氫酵素基因 (*cat78*) (本研究室尤進欽學長選殖): 以 *prn* 為啟動子, 以 *psbA* 的 3' 核酸序列為終結子的葉綠體轉殖載體 pASCCCAT (本研究室陳志宏學長構築) (陳, 2004), 共四種基因。

三、轉殖載體構築

(一)、超氧化歧化酵素基因 (*sod62*) 與過氧化氫酵素基因 (*cat78*) 之葉綠體共同轉殖載體 pASCCSODCAT 的構築是利用 pASCCSOD (本研究室, 劉程煒學長所構築) 為載體, 以限制酵素 *Pst* I 做部分切割 (partial digestion) 回收 10 kb 的片段; 以 pokPcat78T (本研究室, 陳志宏學長所構築) 為插入片段, 先用限制酵素 *Sac* II 作用 4-5 小時, 再以 *Pst* I 作部分切割, 回收 2 kb 的 *prn-cat78-psbA* 完整片段, 與載體作黏貼反應, 完成 pASCCSODCAT (圖 1A)。

(二)、蘇力菌殺蟲晶體蛋白基因 (*Bt*) 與熱休克蛋白基因 (*hsc70*) 之葉綠體共同轉殖載體 pASCCBtHSC 的構築是利用 pASCCBt (本研究室, 劉程煒學長所構築) 為載體, 以限制酵素 *Pst* I 做部分切割, 處理 Klenow fragment 30 分鐘, 回收 11 kb 的片段, 先進行自我黏接反應 (self-ligation), 以 *Pst* I 做確認, 選取只剩單一 *Pst* I 切位的質體為載體; 以 pokPhscT (本研究室, 陳志宏學長所構築) 為插入片段, 以 *Pst* I 做部分切割, 回收 2.65 kb 的 *prn-hsc70-psbA* 完整片段, 與載體作黏貼反應, 完成 pASCCBtHSC (圖 1B)。

四、基因轉殖之基因槍法

(一)、基因載體 (carrier) 備製

將金粒子或鎢粒子分裝 50 mg, 先以殺菌釜滅菌, 再以 100% 之酒精 1 ml 清洗 50 mg 的金粒子或鎢粒子三次, 最後以無菌水 1 ml 清洗三次去除上清液, 加入 1 ml 無菌水分裝 20 管, 每一管平均 2.5 mg 金粒子或鎢粒子。

(二)、混合 DNA 與基因載體

將 15 μ l 的目標 DNA 與 50 μ l 2.5 M CaCl_2 , 20 μ l 0.1M spermidine 及備製的粒子在室溫振盪 30 分鐘, 加入 200 μ l 無水酒精以 8,000 rpm (Sigma 2K15, rotor 12145) 洗滌三次, 去除上清液加入 40-50 μ l 無水酒精, 保存在 -20°C 的冰罐中候槍擊。

(三)、基因轉移

選用 Biolistic® -PDS-1000/He Particle Delivery System (Bio-Rad) 的機型, 槍擊時將本葉、子葉、下胚軸等置於培養皿中心半徑約 2 公分的同心圓中, 將培植體置於槍口下方之穴隔中槍擊, 槍即時以幫浦將槍擊室內抽成部分真空 (28-29 in Hg), 待氬氣累積至 1,100

或 1,350 psi 時便擊發，每次槍擊時約有 0.5 mg 的金粒子或鎢粒子，並帶有 3 μ g 之目標 DNA。隨後將槍擊完的培植體放入陰暗處避光 3 天，再轉放再生培養基。

(四)、植株再生

將消毒過後的甘藍種子播種於 1/2 MS 培養基中。取發芽 6 天後的下胚軸切成適當大小，以及成熟幼葉，先在 L1 再生培養基 (MS 基底培養基含 0.05 ppm picloram, 0.5 ppm BA) 預培養 1 周；經基因槍處理後，放置 L1 再生培養基，同時將抗生素 spectinomycin 由 1~5 ppm 的慢慢改變，之後再換成 L2 發根培養基 (MS 基底培養基含 1 ppm NAA) 上誘導發根並予以健化，最後移至瓶外定植培養。

四、DNA 的操作、轉殖植物之南方及北方墨點雜交分析

E. coli、質體 DNA 的萃取、DNA 片段的回收及黏接、蛋白質電泳分析 (SDS-PAGE)、*E. coli* 宿主勝任細胞 (competent cells) 的製備、質體轉形作用、PCR 偵測轉殖的基因、探針製備、植物染色體 DNA 及 RNA 的備製、南方及北方墨點雜交分析等方法，參照陳(2004)之方法。

五、聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)

利用 PCR 技術複製構築基因片段或用以偵測轉殖基因是否進入轉殖甘藍中，反應時置於 DNA 聚合連鎖反應器 (Peltier Thermal Cycler, PTC-200; MJ Research, INC.) 中。各基因偵測方式分述如下：

所有的反應皆利用 *Taq* DNA polymerase (5 U)(Viogene)、10 x buffer (1 x)、dNTP (0.2 mM)、引子濃度 1 μ M，再加入去離子水，使最終體積為 25 μ l。偵測 *aadA* 基因是以目標基因為範本，並加入引子分別為 5' CAGACAATCGGCTGCTCTGAT 3'、5' TGCGATGTTT CGCTTGGTGGT 3'，可產生出 0.8 kb 片段，反應的流程為 95°C 5 分鐘，1 個 cycle，95°C 1 分鐘，60°C 1 分鐘，72°C 30 秒，35 個 cycle，再進行 72°C 1 分鐘。

偵測 *hsc* 基因是以目標基因為範本，以 *hsc70* 基因上第 1033-1948 設計引子分別為 5'GGCTCCACTAGAATCCCAAAAGTTC3'、5'CCACCTCCTCAATCTTAGGACCAGC3'，可複製出 *hsc70* 羧基端 916 bp 片段。反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，60°C、1 分鐘，72°C、30 秒，35 個 cycle，再進行 72°C、45 秒。以 *hsc70* 基因上第 742-1948 設計引子分別為 5'GAGGTGAAGGCTACTGCTGGAG3'、5'CCACCTCCTCAATCTTAG GACCAGC3'，可複製出 *hsc70* 羧基端 1206 bp 片段；反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，61°C、1 分鐘，72°C、45 秒，35 個 cycle，再進行 72°C、1 分鐘。偵測 *Bt* 基因是以目標基因為範本，偵測 *Bt* 基因的引子分別為 5'CCCGGGTGGTCA GTCCCTTCCATGGATAAC3'及 5'CGACGGCCCGGAATTCGATCTCACTCAAC3'；反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，55°C、1 分鐘，72°C 45 秒，35 個 cycle，再進行 72°C、1 分鐘。

偵測 *cat* 基因是以目標基因為範本，偵測 *cat* 基因的引子分別為 5'GCAGCCATGG ATCCATAACAAGCACCGCCCG3'及 5'GCTTTC TTCTCGGAGCTCCTT ACATGCTC3'；反

應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，50.5°C、45 秒，72°C、1 分鐘，35 個 cycle。偵測 *sod* 基因是以目標基因為範本，偵測 *sod* 基因的引子分別為 5'GAATGGTGAAGGCCGTCGCAGTT3'及 5'GAAACCAGCAAAGCTAACGGCAGGC 3'；反應的流程為 95°C、5 分鐘，1 個 cycle，95°C、1 分鐘，58°C、1 分鐘，72°C、45 秒，35 個 cycle。

偵測重組區間與篩選基因的片段以目標基因為範本，引子分別為 5'GCAGCCATGGATCCATAACAAGCACCGCCCG 3'及 5'GCTTTCTTCCTCGGAGCTCCTTACATGCTC 3'；反應的流程為 95°C 5 分鐘，1 個 cycle，95°C 30 秒，60°C 45 秒，72°C 1 分鐘，35 個 cycle。反應完畢後，取 10-20 μ l 最終產物於 1.0% 之洋菜膠上進行電泳分析。

六、西方墨點法

取經過 SDS 膠體電泳分離後之膠片，以濕式法 (Mini Trans-Blot Electrophoretic cell, Bio-Rad) 依正極至負極轉漬原則，按序放置海綿、圖畫紙、PVDF paper、膠體、圖畫紙、海綿，以轉移緩衝液 (25 mM Tris, 192 mM Glycine, 10% Methanol, pH 8.3) 進行轉漬。以 70 伏特、200 毫安培電流於低溫轉漬 2 小時，再將 PVDF paper 置於 30 ml blocking buffer (5% non-fat dried milk, 150mM NaCl, 50mM Tris-HCl pH7.4, 1mM EDTA pH8.0, 0.05% Tween-20) 室溫下輕輕搖動 1 小時，以 TTBS buffer (20mM Tris-HCl pH7.5, 0.5M NaCl, 0.05% Tween-20) 清洗 10 分鐘 3 次，加入 25ml TTBS buffer 及適當濃度 (1/1000) 的一級抗體 [primary antibody, monoclonal (mouse) anti-heat shock protein 70 Antibody (IgG), Catalog No. MA3-007, ABR] 室溫迴旋搖動 2hr，以 TTBS buffer 清洗 10 分鐘 3 次，加入 25ml TTBS buffer 及適量濃度 (1/2000) 的二級抗體 [secondary antibody, anti-mouse IgG (H+L), AP conjugated] 於室溫迴旋搖動 2hr，以 TTBS buffer 清洗 10 分鐘 3 次，加入 10ml AP substrate、16.5 μ l NBT、33 μ l BCIP 進行呈色反應約 10 分鐘後，PVDF paper 稍有明顯條帶出現時，以 50mM EDTA (pH8.0) 終止反應，待 PVDF paper 風乾後，即完成西方墨點分析。

七、餵食小菜蛾 (*Plutella xylostella* L.) 幼蟲處理

選取轉殖植株與對照植株葉片，分別置入底部鋪設濕潤 3MM paper 之保鮮盒中，並於每盒中放入小菜蛾幼蟲 15 隻，調查 3 天後小菜蛾幼蟲之生長狀態與葉片被啃食之情形。續選取轉殖植株與對照植株，觀察經小菜蛾幼蟲餵食 1 天後植株外觀之比較。

結 果

一、葉綠體基因轉殖植株之再生

本研究個別將帶有 *bt+hsc70* 基因及 *sod62+cat78* 基因的葉綠體轉殖載體利用基因槍的方式轉殖到 '初秋' 甘藍的下胚軸中，藉由葉綠體特殊啟動子 *prrn* 在轉殖植株中大量表現外源基因。在實驗中發現，利用 5 ppm 的抗生素 spectinomycin 能有效的區別轉殖株與未轉

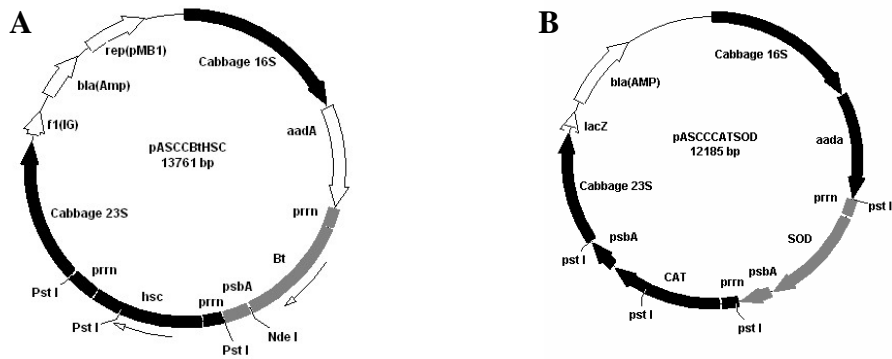


圖 1. pASCCBtHSC (A)及 pASCCSODCAT (B)之限制酵素圖譜。
Fig. 1. Restriction enzyme maps of pASCCBtHSC (A), and pASCCSODCAT (B).

植株，故以 5 ppm 為篩選植株的標準。經過基因槍轟擊的下胚軸暗處理三天後，換到 L1 再生培養基約兩週，之後再換到含有 5 ppm 抗生素的 L1 培養基篩選三個月；將帶有再生綠色芽梢的下胚軸換到含有 1 ppm 抗生素的 L1 培養基讓芽梢抽長，約三週；將抽長的芽梢切下換到含有 2 ppm 的發根培養基中發根皆篩選，約三週可發根；將發根完全的轉植株換到含有 5 ppm 抗生素的 1/2 MS 健化培養基中健化植株，約 2 週後移植到溫室馴化及定植。本實驗所轟擊下胚軸的數量很多，但是最終獲得的轉植株在共同轉殖 *bt* 與 *hsc70* 基因方面只有二棵，在共同轉殖 *sod6* 與 *cat78* 基因方面則有七棵。

二、轉殖植株分析

(一)、聚合酵素鏈鎖反應 (PCR)

共同轉殖的甘藍植株之 PCR 分析總 DNA，先以引子偵測轉殖植株是否含有 *aadA* 基因。試驗結果顯示經電泳膠片分離 PCR 產物後，共同轉殖的植株均可獲得預期的 *aadA* 片段 (0.8 kb)，未轉殖植株及對照組則無 (圖 2A)。分別以不同引子偵測轉殖植株是否含有 *bt*、*hsc70*、*cat78* 及 *sod62* 基因，經電泳膠片分離 PCR 產物後之試驗結果顯示，共同轉殖 *bt+hsc70* 基因的甘藍植株可獲得預期的 *hsc70* 片段 (0.9 kb)(圖 2B)，*bt* 片段 (2.0 kb)(圖 2C)，共同轉殖 *sod62+cat78* 基因的甘藍植株可獲得預期的 *cat78* 片段 (1.5 kb)(圖 2D)，*sod62* 片段 (0.65 kb)(圖 2E)；在共同轉殖 *bt* 與 *hsc70* 基因甘藍轉殖植株方面，二株再生轉殖植株中只有 ASCCBtHSC-11-1 可偵測到存在 *aadA*、*hsc70* 與 *bt* 基因片段。在共同轉殖 *sod62* 與 *cat78* 基因甘藍轉殖植株方面，七棵轉殖植株皆有 *aadA*、*sod62* 與 *cat78* 基因的片段。

為了進一步確認轉移之基因是否重組到轉殖甘藍葉綠體，本研究設重組區間與篩選基因之引子，分析葉綠體轉殖基因之重組位置 (*rrn16S-aadA*)。經 PCR 反應之產物在電泳膠片上分離。在上述共同轉殖基因的甘藍植株均可獲得預期的 1.9 kb 條帶 (*rrn16S-aadA*)(圖 2F)。顯示轉移之基因經所設計之重組位置插入到甘藍葉綠體中。

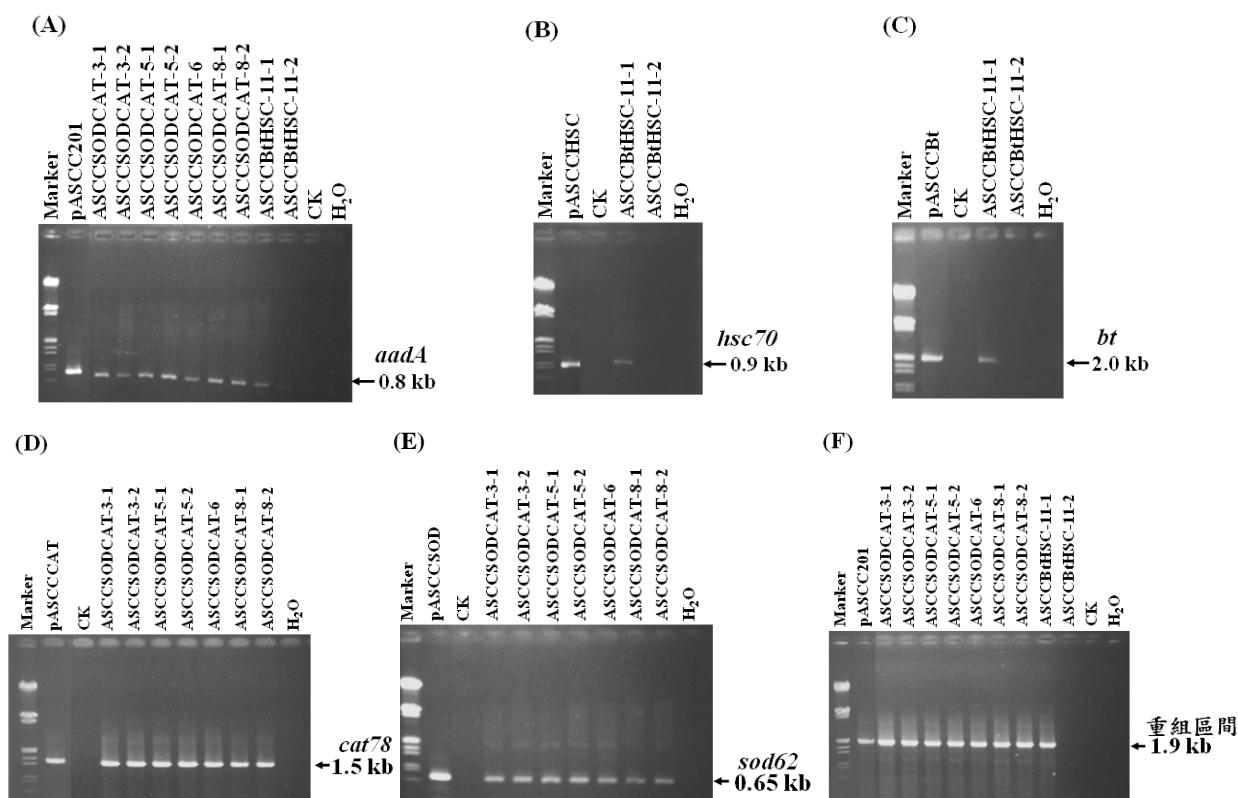


圖 2. 共同轉殖 *bt+hsc70* 與 *sod62+cat78* 基因的甘藍再生植株之基因組 DNA 以 PCR 分析 (A) *aadA* 基因、(B) *hsc70* 基因、(C) *bt* 基因、(D) *cat78* 基因、(E) *sod62* 基因與 (F) 重組區間片段，其產物在電泳膠片上分離之情形。ASCCBtHSC 與 ASCCSODCAT 為轉殖甘藍，CK 為對照組。

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of the PCR products containing part of the *aadA* gene(A)、*hsc70* gene (B)、*bt* gene (C)、*cat78* gene (D)、*sod62* gene (E) and recombination site (F) fragments amplified from the pASCCBtHSC and pASCCSODCAT co-transformed cabbage. ASCCBtHSC and ASCCSODCAT: transgenic cabbage, CK: non-transgenic cabbage.

(二)、南方墨點分析

萃取共同轉殖甘藍植株之總 DNA，以限制酵素切割，經電泳分離後進行南方墨點分析。以 *Eco* RI 切割，以 *hsc70* 基因片段做為探針偵測是否有 *hsc70* 基因的存在。結果顯示，編號 ASCCBtHSC-11-1 有雜交訊號 (圖 3A)。以 *Sma* I 切割，以 *bt* 基因片段做為探針偵測是否有 *bt* 基因的存在。結果顯示，編號 ASCCBtHSC-11-1 有雜交訊號 (圖 3B)，而編號

ASCCBtHSC-11-2 則皆無雜交訊號 (圖 3A、B)。以 *Nco* I 與 *Sac* I 切割，以 *cat78* 基因片段做為探針偵測是否有 *cat78* 基因的存在。試驗結果顯示，編號 ASCCSODCAT-3-1、3-2、5-1、5-2、6、8-1、8-2 七株植株有雜交訊號 (圖 3C)。以 *Eco* RI 與 *Kpn* I 切割，以 *sod62* 基因片段做為探針偵測是否有 *sod62* 基因的存在。結果顯示，編號 ASCCSODCAT-3-1、3-2、5-1、5-2、6、8-1、8-2 七株植株有雜交訊號產生 (圖 3D)。對照組皆無雜交訊號的產生。

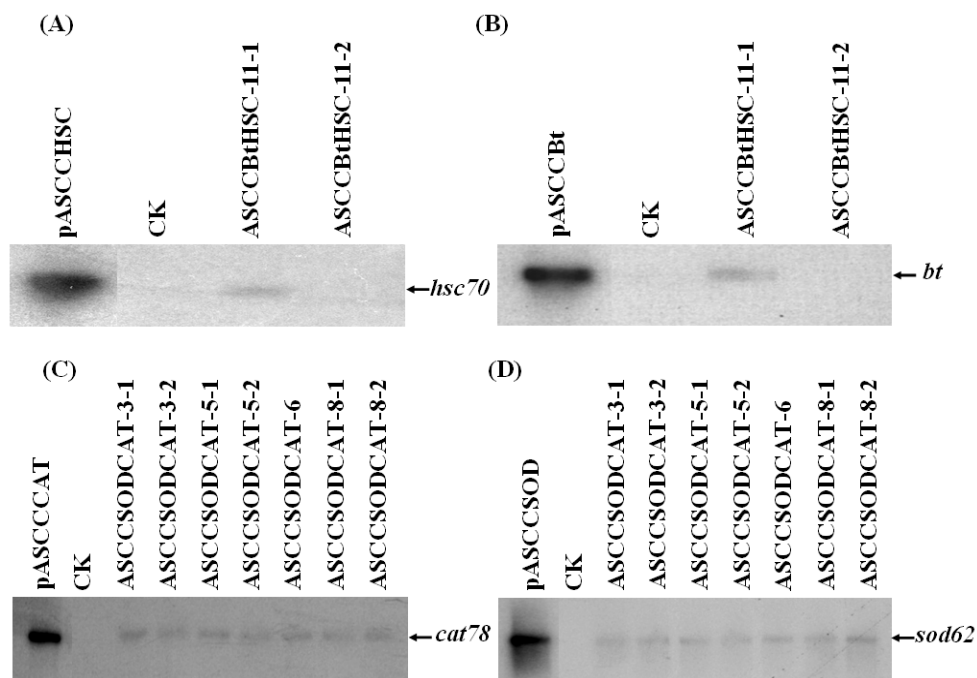


圖 3. 共同轉殖 *bt+hsc70* 與 *sod62+cat78* 基因的甘藍再生植株，其 DNA 經限制酵素 *Eco* RI (A)、*Sma* I (B)、*Nco* I 與 *Sac* I (C)、*Eco* RI 與 *Kpn* I (D) 及切割並以 *hsc70* (A)、*bt* (B)、*cat78* (C) 及 *sod62* (D) 基因為探針，經南方墨點雜交分析之情形。ASCCBtHSC 與 ASCCSODCAT 為轉殖甘藍，CK 為對照組。

Fig. 3. Southern hybridization of the pASCCBtHSC and pASCCSODCAT co-transformed cabbage with the P³²-labeled, *hsc70* (A), *bt* (B), *cat78* (C), and *sod62* (D) gene fragments as the probe. DNA was digested with *Eco* RI (A), *Sma* I (B), *Nco* I and *Sac* I (C), and *Eco* RI and *Kpn* I (D). ASCCBtHSC and ASCCSODCAT: transgenic cabbage, CK: non-transgenic cabbage.

(三)、北方墨點分析

萃取共同轉殖甘藍植株的總 RNA，經電泳分離後進行北方墨點分析。分別以 *hsc70*、*bt*、*cat78* 及 *sod62* 四種基因為探針，偵測是否有其 RNA 的表現。試驗結果顯示，編號 ASCCBtHSC-11-1 有 *hsc70* 及 *bt* mRNA 的訊號 (圖 4A、B)；編號 ASCCBtHSC-11-2 則無任何訊號 (圖 4A、B)；而編號 ASCCSODCAT-3-1、3-2、5-1、5-2、6、8-1、8-2 皆有 *cat78* 及 *sod62* mRNA 雜交訊號產生 (圖 4C、D)。此試驗結果與 PCR 及南方墨點所呈現的結果相同，而對照組植株則均無雜交訊號。

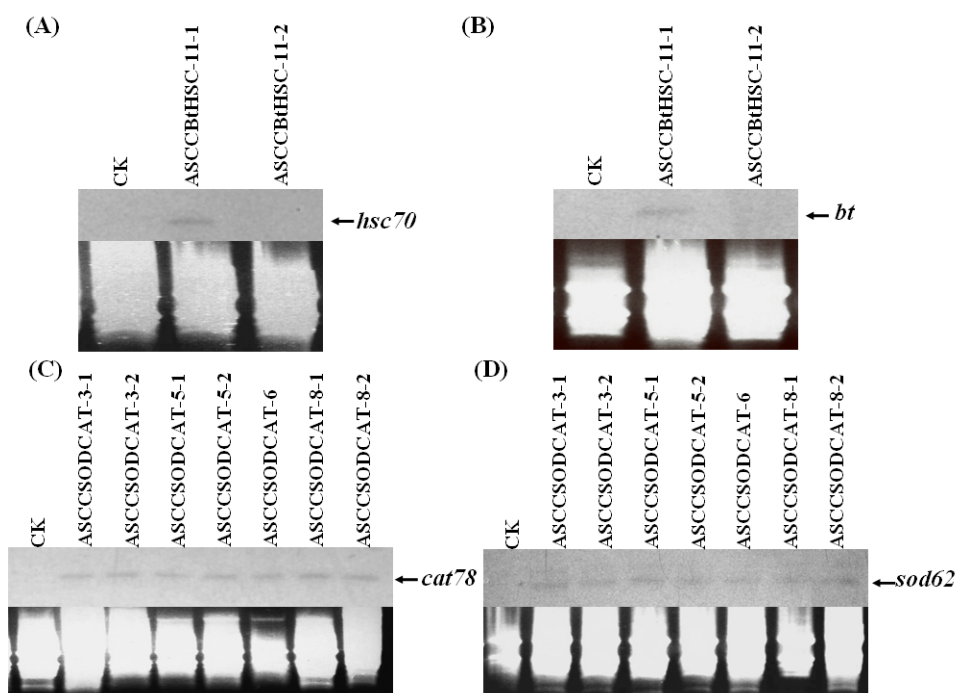


圖 4. 共同轉殖 *bt+hsc70* 與 *sod62+cat78* 基因的甘藍再生植株，萃取其總 RNA 經北方墨點分析 *hsc70* (A)、*bt* (B)、*cat78* (C) 及 *sod62* (D) 基因之情形。ASCCBtHSC 與 ASCCSODCAT 為轉殖甘藍，CK 為對照組。

Fig. 4. Detection of the *hsc70* (A), *bt* (B), *cat78* (C), and *sod62* (D) gene in the pASCCBtHSC and pASCCSODCAT co-transformed cabbage by northern hybridization. The *hsc70* (A), *bt* (B), *cat78* (C), and *sod62* (D) gene fragments were used as the probe. ASCCBtHSC and ASCCSODCAT: transgenic cabbage, CK: non-transgenic cabbage.

(四)、西方墨點分析

萃取上述經過基因分析具有 *hsc70* 基因之轉殖甘藍，編號 ASCCBtHSC 11-1 的可溶性蛋白質，經 SDS-PAGE 電泳分離，並以西方墨點法偵測 HSC70 蛋白表現之情形。試驗結果顯示，轉殖植株編號 ASCCBtHSC 11-1 有約 70 kDa 蛋白質的雜交條帶出現，未轉殖植株也有相同蛋白的條帶出現，但是轉殖植株的量明顯較對照組多 (圖 5)。

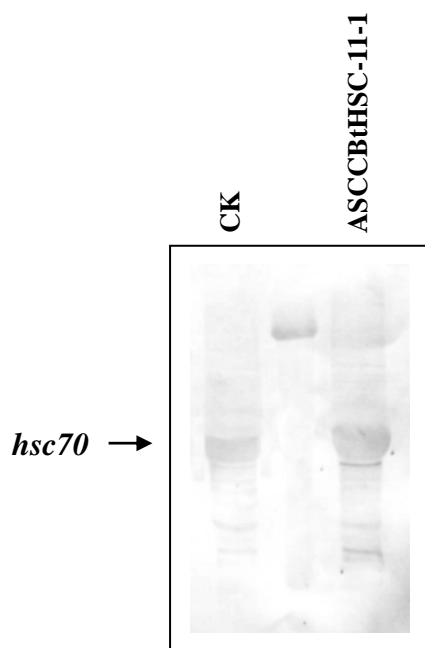


圖 5. 轉移 *bt+hsc70* 基因 (pASCCBtHSC) 的初秋甘藍，以西方墨點雜交分析 HSC70 蛋白質。萃取轉殖 *bt+hsc70* 基因 (pASCCBtHSC) 的甘藍再生植株之蛋白質經 SDS-PAGE 分離，並以熱休克蛋白單株抗體偵測。CK: 未轉殖植株

Fig. 5. Detection of HSC70 by western blot. Proteins extracted from the pASCCBtHSC transformed cabbage were separated in SDS-PAGE, and then subjected to western blot using rabbit monoclonal anti-heat shock protein antibody (IgG). CK: untransformed cabbage.

三、餵食小菜蛾幼蟲處理

選取轉殖植物與未轉殖之對照植物葉片進行小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 三齡幼蟲餵食 3 天後，外觀上有極大的差異 (圖 6A)，對照組葉面上尚有小菜蛾幼蟲在啃食，且有許多被小菜蛾幼蟲啃食過明顯的破洞並遍佈蟲屎顆粒；而轉殖植株僅有被小菜蛾幼蟲啃食過少許的破洞，且破洞比對照組小，而蟲屎顆粒分布也明顯少於對照組，並可觀察到有蟲的屍體分佈在葉片周圍。選取 ASCCBtHSC-11-1 及對照組植株，施放 50 隻小菜蛾幼三齡幼蟲到整株植株，餵食一天後觀察植株外觀之變化。圖 6B 顯示對照組植株在餵蟲處理後，外觀上與上述以葉片餵食之結果類似，餵食後，對照組葉面啃食嚴重，尤以愈靠近植株中心部位頂芽附近愈嚴重；而轉殖植株僅稍有被小菜蛾幼蟲啃食的破洞，並有蟲的屍體停留在啃食的葉片周圍。

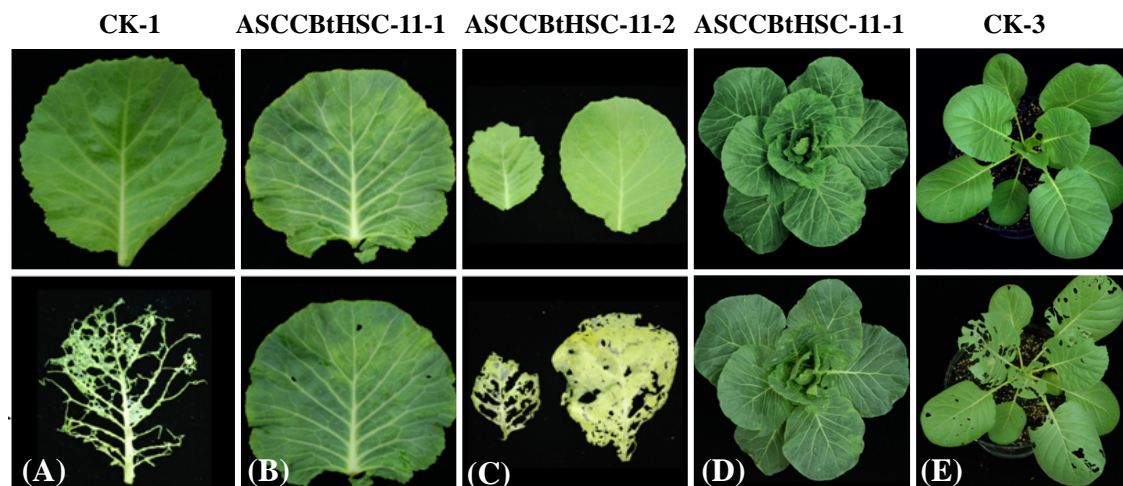


圖 6. 共同轉殖 *bt+hsc70* 基因 (pASCCBtHSC) 的甘藍再生植株 (BtHSC-11-1, 11-2) 與未轉殖植株 (CK-1, CK-3), 餵食 15 隻(A~C)或 60 隻(D~E)小菜蛾前 (上列) 與餵食三天後 (下列) 植物葉片外觀的比較。

Fig. 6. Appearances of leaves of pASCCBtHSC transformed cabbage (BtHSC-11-1, 11-2), and un-transformed cabbage (CK-1, CK-3) before (upper row) and after (lower row) feeding with 15 (A-C) or 60 (D-E) *Plutella xylostella* for 3 days.

討 論

目前進行葉綠體基因轉殖的轉移方式有很多種, 但仍以基因槍的轉移方式最有效率 (Su *et al.*, 2001)。因此本實驗採取基因槍的方式, 進行甘藍的葉綠體基因轉殖。將帶有葉綠體基因轉殖載體的金粒子, 以 1,350 psi 及 1,100 psi 的氮氣壓力轟擊到距槍口 9 公分的培植體。本實驗所使用的材料為'初秋'甘藍的胚軸與幼葉, 其中本研究室過去對甘藍的下胚軸組織培養再生系統已建立起高效率的再生。雖然下胚軸的葉綠體含量比葉片、子葉所含的量低, 但 Hou 等人 (2003) 成功以油菜的子葉柄進行葉綠體基因轉移, 因此本研究才想以甘藍的下胚軸來模擬油菜子葉柄以進行葉綠體基因轉移。以基因槍施打金粉的過程中, 將下胚軸垂直緊密的插在培養基上並排列呈環狀, 比起橫放排列成環狀具有更多的好處, 因為胚軸的頭尾切口是易於再生芽體的位置。當基因槍轟擊完後, 將培植體放入黑暗處避光, 有助於使受傷的培植體能恢復。轟擊過後的胚軸與葉片等培植體, 皆放在相同的未含抗生素之 L1 培養基, 培養四天, 然而這些培植體會因放在培養基而膨大的倍率不一, 其中以葉部會膨大成兩到三倍, 是故需將其切成 3x3 cm² 的大小繼續培養。先將培植體在 LI 再生培養基中讓芽梢長出, 約三週; 之後培養基再將放入 spectinomycin 抗生素緩慢的由 5 ppm 以進行篩選的工作, 目的是讓細胞中有轉殖的葉綠體能夠增生。在低濃度的抗生

素 spectinomycin 中，雖然會影響培植體的再生能力與生長速度，但有轉殖的培植體仍會有綠色芽梢的存活，因此在篩選三個月後將仍存活的培植體換到含有 1 ppm spectinomycin 的 L1 培養基中，讓芽梢能長大。長大的芽梢換到 L2 發根培養基中，含有 2 ppm spectinomycin，有轉殖的培植體生長良好，未轉殖的植株則白化。最後換成 5 ppm 抗生素篩選成株。但篩選最後存活的甘藍植株並不多，推測可能是下胚軸的葉綠體數量不多所造成。利用葉片轉殖，因為在再生過程中葉片褐化的很快，在沒有抗生素的 L1 培養基中，約兩個月就會自然衰亡，期間試過許多培養基但是效果都不好，所以本研究利用葉片當培植體並沒有再生出植株。

葉綠體的研究不論是在基礎研究上或是在應用研究方面都已有許多的成果，而在葉綠體基因轉殖中葉綠體基因組的基因排列模式、調控模式、GC 鹼基對含量及轉譯所偏愛的密碼子與原核生物相近 (Mcbride *et al.*, 1994)，並且由於具有原核特性，多個外源基因可以採 polycistron 形式同時在葉綠體中轉錄和表達 (Hibberd *et al.*, 1998) 與細胞核基因轉殖有很大的不同。在本研究中構築的策略並不是以 polycistron 的形式，而是以一基因一 cassette 的形式，這樣的形式會造成載體中重組區間的擴大，使同源重組的機率相對變小而降低轉殖率。

本實驗將 *bt* 與 *hsc70* 基因及 *sod62* 與 *cat78* 基因構築在同一個葉綠體轉殖載體後利用基因槍法轉殖到甘藍葉綠體中，分別總共獲得 *bt+hsc70* 的甘藍轉殖株二棵與 *sod62+cat78* 的甘藍轉殖株七棵植株，經過分子檢測後 *bt* 與 *hsc70* 基因的二棵轉殖株中有一棵有 *bt* 與 *hsc70* 基因的訊號並且有 HSC70 蛋白的表現及明顯殺蟲的效果，*sod62* 與 *cat78* 基因的甘藍轉殖株七棵中皆有 *sod62* 與 *cat78* 基因的訊號；由於本實驗的下胚軸再生率很高但是轉殖率卻很低，推測可能是因為：1. 葉綠體基因轉殖是靠隨機發生的，如過基因沒有進到葉綠體內，發生重組的機率就會比較低；2. 本實驗所利用的培植體為下胚軸，而下胚軸所含有的葉綠體相對比葉片要少，所以轉殖成功率也相對較低。由於實驗材料的限制以及時間不足，只利用 PCR 的方式證明轉殖基因有進入到葉綠體內，並沒有分離葉綠體進行葉綠體基因組的分子檢測以及各個基因的蛋白活性，待往後的實驗能做更進一步的確認。本研究之結果顯示進行基因槍之葉綠體共同基因轉移時，以將標的基因一起構築在同一個葉綠體基因轉殖載體，會較混合不同葉綠體基因轉殖載體的轉殖效率為佳。但構築在同一個葉綠體基因轉殖載體之基因數量的上限，則有待再測試。

參 考 文 獻

- 陳志宏。2004。熱休克蛋白基因與過氧化氫酵素基因轉移到甘藍及結球白菜葉綠體之研究。國立中興大學分子生物學研究所碩士論文。
- 劉程煒。2003。水稻農桿菌基因轉殖系統與甘藍及水稻葉綠體基因轉殖系統之建立及應用。國立中興大學園藝學研究所博士論文。
- Bock, R. 2001. Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. *J. Mol. Biol.* 312: 425-438.
- Bohnert, H. J. and R. G. Jensen. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnology* 14: 89-97.
- Daniell, H., B. Muthukumar, and S. B. Lee. 2001. Marker free transgenic plants: engineering the chloroplast genome without the use of antibiotic selection. *Curr. Genet.* 139:109-116.
- Hendrick, J. P. and F. U. Hartl. 1993. Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 62: 349-384.
- Heifetz, P. B. 2000. Genetic engineering of the chloroplast. *Biochimie.* 82: 655-666.
- Hibberd, M., J. Linley, and M. Khan. 1998. Transient expression of green fluorescent protein in various plastid types following microprojection bombardment. *Plant J.* 16: 627-732.
- Hou, B. K., Y. H. Zhou, L. H. Wan, Z. L. Zhang, G. F. Shen, Z. H. Chen, and Z. M. Hu. 2003. Chloroplast transformation in oilseed rape. *Trans. Res.* 12: 111-114.
- Inzé, D. and M. Van Montagu. 1995. Oxidative stress in plants. *Curr. Opin. Biotech.* 6: 153-158.
- Lin, T. Y., N. B. Duck, J. Winter, and W. R. Flok. 1991. Sequences of two hsc70 cDNAs from *Lycopersicon esculentum*. *Plant Mol. Biol.* 16: 475-478.
- McBride, K. E., D. Schaaf, and M. Daley. 1994. Controlled expression of plastid transgenes in plants based on a nuclear encoded and plastid targeted T7 RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91: 7301-7305.
- Perlak, F. J., R. W. Deaton, T. A. Armstrong, R. L. Fuchs, S. R. Sims, J. T. Greenplate and D. A. Frischhoff. 1990. Insect resistant cotton plants. *Bio/Technology* 8: 939-943.
- Perlak, F. J., R. L. Fuchs, D. A. Dean, S. L. Mcpherson, and D. A. Fischhoff. 1991. Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 3324-3328.
- Su, N., Y. M. Wu, B. Y. Sun, and G. F. Shen. 2001. A new way of plant genetic engineering chloroplast transformation. *Biotechnol. Information* 4: 9-13.

Co-transfer of Genes into Cabbage (*Brassica oleracea*) Chloroplast by *via* Particle Bombardment with Co-constructed Transplastomic Vector

Li-Te Chen ¹⁾ Menq-Jiau Tseng ²⁾

Key words: biolistic bombardment, chloroplast transgenic, cabbage

Summary

In this study, *bt* and *hsc70* genes as well as *sod62* and *cat78* genes were constructed in the same *Brassica*-specific-plastid vector which were named pASCCBtHSC and pASCCBtHSC, respectively. The constructed vectors were transferred into cabbage (KY-cross) chloroplast *via* particle bombardment mediated transformation. The results of PCR, Southern and Northern blot hybridization indicated that seven plants of co-transformed *sod 62 + cat 78* plants contained both *sod 62* and *cat 78* gene, and expressed *sod 62* and *cat78* mRNA. One of the two co-transformed *bt + hsc70* plants contained both *bt* and *hsc70* genes, and exhibited the high degree of resistance to the *Plutella xylostella*.

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

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

蘭共生菌對嘉德利亞蘭出瓶分生苗生長之影響

林佑東¹⁾ 王才義²⁾

關鍵字：蘭菌、嘉德利亞蘭、共生

摘要：嘉德利亞蘭營養系(*Cattleya dolosa* `Togashima`)接種 10 種蘭菌處理 6 個月後，接種 AP、PA-2、RR-1、TF 等菌種對植株高度、葉片長度、葉片寬度、葉片數皆有促進之效果，而根數生長以 RG 表現最佳；整體而言以接種 AP 菌株，對嘉德利亞蘭生長最佳。

前 言

嘉德利亞蘭為蘭科草本花卉，英名為 *Cattleya*。台灣所稱的嘉德利亞蘭不僅止於嘉德利亞蘭屬(*Cattleya*)，另外還包括其近緣屬的白拉索屬(*Brassavola*)、蕾利亞屬(*Laelia*)及索芙蘿屬(*Sophranitis*)，各屬中除了原生種外，四屬間亦可互相交配，因此有許多人工交配的新品種陸續問世。嘉德利亞蘭花朵華麗碩大，且有些具有甜美的香氣，因此被譽為「洋蘭之王」，常用來做為高級盆花及切花欣賞，一直廣受台灣及世界消費者喜愛。

蘭花菌根與其他類型的菌根相比，有極大的差異性：蘭科植物從種子發芽的異營生活到能行自營生活的幼苗期，皆須仰賴共生菌共生(Burgeff, 1959)。蘭花與菌根菌共生有許多的優點，最重要的是菌根菌可增進植物對土壤資源利用。

目前，對於蘭菌應用於嘉德利亞蘭栽培上，少有文獻報告可供參考。因此本研究以蘭菌在嘉德利亞蘭幼苗生長上進行探討。期望能廣泛利用之，能對於蘭花之保育及栽培上有所助益。

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。

材料與方法

一、試驗材料

(一) 植株材料

由台中縣大里市永芳蘭園購得之嘉德利亞蘭(*C. dolosa* `Togashima`)分生瓶苗(mericlone)，苗瓶為 500 ml 之蘭花瓶，每瓶含有 15-25 株小苗。小苗株高約 2-3 cm，具 2-3 片葉片的組培苗。試驗前培養於中興大學園藝學系組織培養室中。

(二) 菌種代號及來源

BF(篩自白芨)、RG(白狐狸尾蘭)、RR-1(長穗狐狸尾蘭)、TF(台灣風蘭)等菌種為中興大學園藝學系花卉實驗室所保存。及本試驗新篩選之菌株 AP(紅花鹿角蘭)、PA-1、PA-2、PA-3(拖鞋蘭`金童`)、RR-2(長穗狐狸尾蘭)、SS(綠花寶石蘭)。以上菌株平時培養於 PDA 培養基上備用。

二、帶菌基質之製備

泥炭苔(TKS 2，德國進口)基質，經 70°C 烘箱處理 48 小時後，秤取 150 g 乾燥的介質裝入 500 ml 的蘭花瓶，加入 150 ml 的半量修飾 CM(Marianne and Marise, 1996)培養基(含 0.25% glucose, 0.25% peptone, 0.25% malt extract)。經高溫滅菌釜 121°C 滅菌 30 分鐘後，待冷卻後接種一塊 0.2 × 0.2 cm 的菌絲塊，將其培養於 25°C 黑暗下兩週，每隔兩天搖晃一次，使菌絲分佈生長均勻。

三、試驗方法

取嘉德利亞蘭瓶苗先於精密溫室中馴化 10 天，將植株取出以水苔(紐西蘭進口)做為瓶苗出瓶及穴盤苗移植接種之介質。種植於 128 格穴盤中，接種處理則每格介質表面灑上少量的泥炭苔菌種土，每一處理 5 重複，每重複 6 株。無菌株接種者為對照組。每隔 2 個月進行生育調查。調查項目有：植株株高、假球莖數、莖徑、葉片數、葉長、葉寬、根數、鮮重及乾重等。

四、栽培環境

瓶苗移植後種於國立中興大學園藝學系水牆式精密溫室中，於遮蔭 50% 的環境下生長，待土表微乾後澆水至完全溼透。

結 果

選取 AP、BF、PA-1、PA-2、PA-3、RG、RR-1、RR-2、SS 及 TF 等菌株進行對嘉德利亞蘭幼苗生長試驗。嘉德利亞蘭(*C. dolosa* `Togashima`)接種 10 種蘭菌處理 6 個月後對於植株生長之影響。

由表 1 的結果顯示，蘭菌在接種 2 個月至 6 個月期間，時間愈長新生偽球莖生長(株高)愈高，而添加菌種者愈後期效果愈顯著，初期(2-4 個月)以 AP、PA-1、PA-2 等菌株對

株高較有正面促進的效果，後期(6個月)AP、PA-2、TF等菌株表現較佳，而其中以AP及PA-2菌種的添加對植株高度有最佳促進的效果。

在葉片數、葉片長度、葉片寬度方面，以葉長及葉數的差異值較大，接種蘭菌處理與對照組達到顯著差異。葉長方面以AP、PA-1、PA-2、TF等菌株對葉長生長較有幫助(表2)，葉片寬度方面在前期時接種蘭菌對葉寬較有幫助，如AP、PA-2、RR-1等菌株都有不錯的效果，然而在後期(6個月)則無明顯差異(表3)。而葉數方面以AP及RR-1等菌株效果表現最好(表4)。

在接種蘭菌6個月後之調查可知(表5、圖1)，新生偽球莖其接種處理與未接種處理的生長勢差異較大，如株高、葉片長度、葉片數的生長勢也較佳，但葉片寬度上並未達到顯著差異(表5)。可由(表5)的結果顯示，接種AP、PA-2、RR-1、TF等菌種對植株高度、葉片長度、葉片寬度、葉片數皆有促進之效果，凡是有接種者大都較未接種者來得好，整體而言以AP對嘉德利亞蘭的表現最佳(圖1)。

表 1. 蘭共生菌接種於 *Cattleya dolosa* 'Togashima' 嘉德利亞蘭分生苗對株高之影響

Table 1. Effect of orchid mycorrhizal fungi on plant height of *Cattleya dolosa* 'Togashima' mericlones.

Inoculum	Plant height (cm)		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	29.1e ^y	30.5d	43.4d
AP	45.8ab	45.9ab	54.6ab
BF	36.6d	38.8c	45.8cd
PA-1	45.9ab	47.4a	50.6abcd
PA-2	47.6a	47.8a	57.8a
PA-3	39.7cd	41.9abc	52.9abc
RG	39.2cd	44.3abc	51.0abc
RR-1	42.5abc	42.6abc	49.1cd
RR-2	40.9bcd	43.8abc	51.3abc
SS	39.1cd	45.5ab	46.3cd
TF	40.5bcd	40.8bc	54.1ab

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 2. 蘭共生菌接種於 *C. dolosa* `Togashima` 嘉德利亞蘭分生苗對葉生長之影響
 Table 2. Effect of orchid mycorrhizal fungi on leaf growth of *C. dolosa* `Togashima` mericlones.

Inoculum	Leaf length (mm)		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	25.6c ^y	26.2c	29.8d
AP	36.5ab	37.5a	40.6ab
BF	33.1b	34.0b	34.9c
PA-1	38.7a	39.7a	39.1abc
PA-2	36.9ab	40.3a	44.1a
PA-3	33.1b	36.2ab	41.0ab
RG	33.8b	33.3b	36.7bc
RR-1	33.6b	36.4ab	39.2abc
RR-2	35.6ab	36.3ab	38.5bc
SS	33.4b	34.1b	37.5bc
TF	35.5ab	36.1ab	40.5ab

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

地下部以接種 AP、BF、PA-1、PA-2、RG、RR-1 及 TF 菌種表現較佳。在植株地下部的根數上，由(表 5)顯示對照組地下部根數，接種菌種 AP、BF、PA-1、PA-2、RG、RR-1 及 TF 者差異值達顯著水準，因此接種菌種有促進地下部生長之效果。而其中以 RG 表現最佳，由(圖 2)可以觀察到，接種 RG 菌株者，與無接種菌株者差良多。

而在表 5 中顯示，對於鮮重同樣以 AP、PA-2 及 RR-1 菌種為佳，在植株鮮重及乾重方面，對照組未添加菌種者其地上部鮮重為 2.7g 與接種蘭菌 AP 處理者 5.2g 相差近一倍，差異度頗大。此外，抽樣植株採取根部來切片染色可發現，蘭菌於嘉德利亞蘭根部中形成大量的菌絲團，共生狀況良好(圖 3)。

討 論

為避免試驗差異，本試驗選擇營養系品種(mericlone) *C. dolosa* `Togashima` 做為試驗材料，以免因為實生苗基因型不同，造成生長勢上的差異。由結果得知以 AP 及 PA-2 菌種

的添加對植株高度有最佳促進的效果。葉長方面以 AP、PA-1、PA-2、TF 等菌株對葉長生長較有幫助，在葉片數、葉片長度、葉片寬度方面，以葉長及葉數的差異值較大，接種蘭菌處理與對照組達到顯著差異。而葉數方面以 AP 及 RR-1 等菌株效果表現最好。根部方面接種菌種 AP、BF、PA-1、PA-2、RG、RR-1 及 TF 者差異值達顯著水準，因此接種菌種有促進地下部生長之效果。對於鮮重同樣以 AP、PA-2 及 RR-1 菌種為佳，在植株鮮重及乾重方面，對照組未添加菌種者其地上部鮮重為 2.7g 與接種蘭菌 AP 處理者 5.2g 差異頗大。由表 5 結果指出嘉德利亞蘭(*C. dolosa* `Togashima`)於瓶苗出瓶時接種蘭菌 AP、PA-2、TF 等菌種，對於植株地上部及地下部皆有促進的效果，其中以 AP 菌種表現最佳，是值得推薦的有效菌種。而且這些有效菌株在接種嘉德利亞蘭種子及幼苗上也不會傷害嘉德利亞蘭小苗，甚而促其種子發芽，提高幼苗的生長勢，顯示這些菌株可作為嘉德利亞蘭之共生菌。

表 3. 蘭共生菌接種於 *C. dolosa* `Togashima` 嘉德利亞蘭分生苗對葉寬之影響

Table 3. Effect of orchid mycorrhizal fungi on leaf width of *C. dolosa* `Togashima` mericlones.

Inoculum	Leaf width (mm)		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	11.4e ^y	11.7g	19.8a
AP	16.6a	17.1bcd	21.9a
BF	12.9cd	14.4ef	19.7a
PA-1	15.3b	19.2a	20.7a
PA-2	15.6ab	17.7abc	21.8a
PA-3	13.9cd	16.1cde	19.8a
RG	13.6cd	14.8e	20.2a
RR-1	13.6cd	18.7ab	22.0a
RR-2	13.6cd	15.6de	21.1a
SS	12.6d	13.1fg	15.5b
TF	14.1c	15.2e	20.1a

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. 蘭共生菌接種於 *C. dolosa* `Togashima` 嘉德利亞蘭分生苗對葉數之影響
 Table 4. Effect of orchid mycorrhizal fungi on No. of leaves of *C. dolosa* `Togashima` mericlones.

Inoculum	No. of leaves		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	3.4bc ^y	3.3f	3.8bcd
AP	3.7b	3.7bcdef	4.8a
BF	3.7b	4.1ab	4.2abc
PA-1	2.4e	3.3ef	3.4d
PA-2	3.3bc	4.0abc	4.2abc
PA-3	3.0cd	3.8bcde	4.1abc
RG	3.3bc	3.7bcdef	4.4ab
RR-1	4.2a	4.4a	4.8a
RR-2	2.6de	3.4def	3.7bcd
SS	3.1c	3.6cdef	3.6cd
TF	3.4bc	3.9bcd	4.1abc

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

本試驗結果中發現，可促進蘭出瓶苗生長的菌株，不見得可以促進種子發芽，似乎種子對共生菌的專一性高於幼苗。在王(1999)的報告中提到，蘭共生菌的種類很多，蘭科植物種類也不少，以試驗得到的經驗，在種子期與根莖期以同種屬的蘭花所分離出的蘭菌，接種於同種屬的親合力較大，較易形成共生關係，待出瓶以後與蘭科植物間的專一性較不顯著(王, 1999)。本試驗中所使用的菌株，與林(2001)所使用的菌株有所重複，雖然接種菌根菌都可促進蘭苗的生長，然而適用菌株卻不盡相同，原因可能為菌株本身與宿主之間親合性不同所造成。

蘭花的根除了支持植物體外，還有吸收水分、運輸及貯藏的功能。著生性蘭可說是經常處於水分逆境的環境下生長，由於氣生根並無土壤供應水分，而呈現著生狀態，即使在熱帶雨林降雨量多的地區，大部分的水也可說是無效的。在表 5 顯示 *C. dolosa* `Togashima` 接種蘭菌 6 個月後發現，植株地下部根數及根鮮重，以接種 AP 菌種其差異值達顯著水準。

當蘭菌在根部大量進行感染時，除提供碳源之外，蘭菌尚會提供磷、礦物質、維他命等養份的運移(Harley & Smith, 1983)。學者指出菌根化的植物吸收磷肥的能力會顯著增強，磷肥之吸收和轉移與植物菌根化程度成正相關。由於磷在土壤中溶解度低且為不可移動性，所以磷的消耗區相對較小，而菌根菌有助於磷的吸收，乃藉由菌絲延伸越過磷肥消耗區(胡，1990)。根部外菌絲也會進行養分的運移，例如磷和礦物質等(Hadley, 1984)，如此可幫助植株吸收養分，促進生長。

在存活率方面，接種蘭菌根菌的所有處理，均較對照組高，顯示菌根菌可以有效提高蘭苗的成活。曾(2002)曾於菌根菌接種石斛蘭組織培養苗試驗中發現，接菌處理之植株成活率都較對照組之植株成活率高。一般組織培養苗移植出瓶時會使用消毒藥劑處理，以避免含有培養基中的糖類物質造成日後雜菌侵入的感染源，在瓶苗出瓶時對組培苗是最傷害的時期，因此添加有效菌種促使小植株恢復正常生長期，是一種可行的做法(張 2001；藍 2001)。於本研究結果發現，接種蘭菌的處理，植株的成活率均較高。林(2001)的報告中提到，受污染的石斛蘭瓶苗，經過清洗並接種蘭菌者，可正常發育及生長，而無接種蘭菌者，則陸續死亡；此現象在報歲蘭也曾觀察到(王, 1999)。

表 5. 蘭共生菌接種 6 個月後對嘉德利亞蘭 *C. dolosa* 'Togashima' 出瓶分生苗生長之影響

Table 5. Effect of orchid mycorrhizal fungi on the growth of *C. dolosa* 'Togashima' mericlones 6 months after inoculation.

Inoculum	Survival (%)	Fresh weight	Dry weight	No. of roots
NM ^z	84.4b	2.7d	0.22d	7.5d
AP	100.0a	5.2a	0.42ab	11.1ab
BF	100.0a	4.3abc	0.34abc	10.6ab
PA-1	94.7ab	3.5cd	0.32bc	10.2ab
PA-2	100.0a	5.0ab	0.43a	10.4ab
PA-3	100.0a	4.0bc	0.38abc	9.8bc
RG	95.8a	4.4abc	0.35abc	11.9a
RR-1	100.0a	5.2a	0.40ab	11.1ab
RR-2	96.2a	3.3cd	0.30c	8.4cd
SS	95.5a	2.6d	0.21d	4.4e
TF	100.0a	4.0bc	0.34abc	10.4ab

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.



圖 1. 十種蘭共生菌接種 6 個月後對嘉德利亞蘭 *C. dolosa* 'Togashima' 分生苗生長之影響。由左至右為對照組、AP、BF、PA-1、PA-2、PA-3(上); RG、RR-1、RR-2、SS、TF(下)。

Fig 1. Effect of ten orchid mycorrhizal fungi on the growth of *C. dolosa* 'Togashima' mericlones after 6 months of inoculation. Left to right were no mycorrhizal control、AP、BF、PA-1、PA-2、PA-3 (up); RG、RR-1、RR-2、SS、TF (down).



圖 2. 蘭共生菌接種 6 個月後對嘉德利亞蘭 *C. dolosa* 'Togashima' 出瓶分生苗根部生長之影響。(左：無接種之對照組；右：接種蘭菌 RG 者根數較多)

Fig 2. Effect of orchid mycorrhizal fungi on the root growth of *C. dolosa* 'Togashima' mericlones after 6 months of inoculation.(left : no mycorrhizal control ; right : OMA-RG)

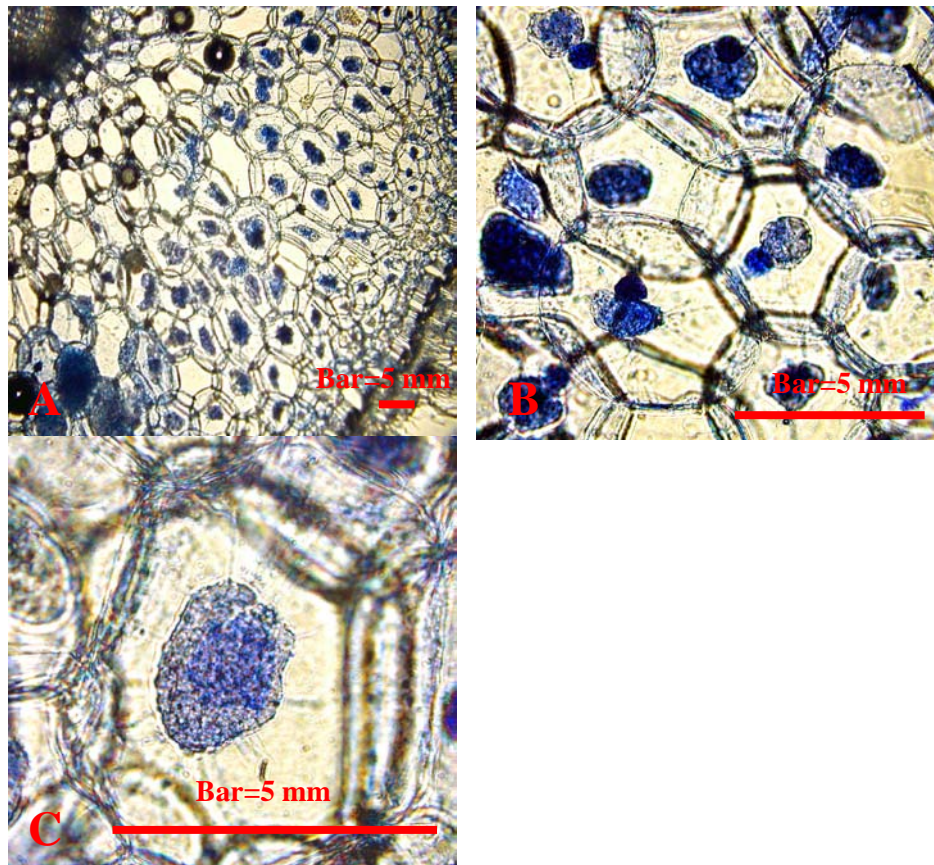


圖 3. 蘭菌於嘉德利亞蘭 *C. dolosa* `Togashima` 分生苗根部皮層形成菌絲團的情形。

A、嘉德利亞蘭感染菌根之橫切面

B、於皮層細胞中形成菌絲團

C、菌絲團構造

Fig 3. The orchid mycorrhizal fungi forming peloton of TC orchid mericlone root cortex observed under light microscope.

A. The cross section of orchid mycorrhizal fungi infected.

B. Well developed pelotons in the cortex cells of root.

C. The peloton structure of orchid mycorrhiza.

在不良環境的忍受力上，學者指出共生發芽的植株於根部形成菌根，有抵抗病原菌的能力，對植株產生保護作用，此外亦可提高小植株移植至土壤中之存活率(Tan *et al.*, 1998)。Bernard 指出蘭花的根部本身也會分泌一種抗菌物質，一般以紅蘭(*Orchis militaris*)的根部及塊莖最多，此抗菌素是一種原始且主動分泌的抗菌物質，其會分解和抵制蘭菌或其他真菌的入侵，尤其在許多歐洲原生的蘭科植物中都可觀察到此現象(Beyrle *et al.*, 1994; Harley & Smith, 1983)。

本試驗中的嘉德利亞蘭苗，雖然處理組與對照組之間有顯著性差異，然而生長速度較一般栽培者稍慢，推測原因為本試驗期間於秋天至翌年春天，其中經歷冬天低溫，對於原生於熱帶的嘉德利亞蘭溫度稍低，使蘭苗生長較緩慢；且栽培溫室之光度較低，影響光合作用產物的累積。然而本試驗中處理組植株葉片肥厚翠綠健康，若能搭配良好的環境，可能會有更佳的效果出現。環境中的光線、溫度、養分及植株年齡，均會影響蘭菌與蘭科植物建立之共生關係，未來應一併探討這些環境因素、植株差異及蘭菌種類，以便對蘭菌應用上有更近一步的發展與了解。

蘭共生菌確實可以幫助蘭苗的生長，並提高成活率，只要找出適當的蘭共生菌，當成生物肥料來使用，便可減少化學藥劑的使用，對於複雜的生態體系是很有幫助的。

參 考 文 獻

- 王美琇。1999。蘭共生菌與數種蘭科植物生長與發育之影響與應用。台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- 林秋芬。2001。蘭菌對石斛蘭種子發芽與幼苗生長之影響。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。
- 胡弘道。1990。林木菌根。千華出版公司。666 頁。台北。
- 張棋雯。2001。彩葉蘭與彩葉蘭道生種之大量繁殖與蘭菌之利用。國立台灣大學園藝研究所碩士論文。
- 曾千容。2002。石斛蘭蘭菌之分離、鑑定與培養及其對石斛蘭生長之影響。台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- 藍亦青。2001。蘭菌對蝴蝶蘭與拖鞋蘭生長與發育之影響。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- Beyrle, H. F., S. E. Smith, R. L. Peterson, and C. M. M. Franco. 1994. Colonization of *Orchis morio* protocorms by a mycorrhizal fungus : effects of nitrogen nutrition and glyphosate in modifying the responses. *Can. J. Bot.*73:1128-1140.
- Harley, Fra. J. L. and S. E. Smith. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. p.268-298. Academic Press. London.

- Hadley, G. 1984. Uptake of ^{14}C glucose by asymbiotic and mycorrhizal orchid protocorms. *New Phytol.* 96:263-273.
- Marian, B. and B. Marise. 1996. Identification at strain level of *Rhizoctonia silani* AG4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of ITS regions. *Curr. Genet.* 29:174-181.
- Tan, T. K., W. S. Loon, E. Khor, and C. S. Loh. 1998. Infection of *Spathoglottis plicata*(Orchidaceae) seeds by mycorrhizal fungus. *Plant Cell Rep.* 18:14-19.

Orchid Mycorrhizal Fungi Inoculum Production and Effects on the Growth of *Cattleya*.

Yu-Tung Lin ¹⁾ Tsai-Yih Wang ²⁾

Key words: orchid mycorrhiza, *Cattleya*, symbiotic

Summary

C. dolosa 'Togashima' mericlones were inoculated with ten orchid mycorrhiza isolates for 6 months. The results showed that the growth of plant height, leaf length, leaf width and number of leaves of mericlones inoculated with AP, PA-2, RR-1 or TF were significantly enhanced. However, number of roots of RG treatments was more than those of other treatments. On the whole AP treatment was the best in the growth of *Cattleya*.

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

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

Corresponding author.

暗處理對不同花序成熟度蝴蝶蘭植體生理之影響¹⁾

胡盈盈²⁾ 林瑞松³⁾

關鍵字：蝴蝶蘭、暗處理、花朵萎凋率、乙烯

摘要：本試驗以蝴蝶蘭 *Phalaenopsis* New Candy 'KHM293' 為試驗材料，探討暗處理對不同花序成熟度的蝴蝶蘭植株外觀品質和生理變化之影響，以期確定適合長程暗貯運的植株條件。試驗中以花序開放成熟度較高的植株，對長時間的暗逆境有較佳的耐受性，包括有花朵萎凋率與乙烯生成量較低，葉綠素含量變化幅度較小。

前 言

蝴蝶蘭(*Phalaenopsis* spp.)生長在海拔 800~1,500 公尺陰涼處樹木屬於單莖軸(monopodial)著生性(epiphytic)之蘭科植物，約四十至五十種，主要分布於喜馬拉雅山麓、馬來西亞、菲律賓至澳大利亞等濕熱原始林，台灣為其分布的北界。近年來，台灣的蝴蝶蘭產業已發展出環控設施栽培的生產模式、加上企業化經營、高科技品種改良技術及善用原生蝴蝶蘭資源育成多樣化之品種，使得蝴蝶蘭成為台灣加入世界貿易組織後，最具外銷潛力的花卉之一(陳，2002)。蝴蝶蘭盆花海運至日本或香港約需一週(陳等，2003)，而蝴蝶蘭花朵又對乙烯非常敏感，只要低濃度即會導致花朵萎凋(李和林，1992)。由於蝴蝶蘭盆花在黑暗密閉空間內易造成花苞和花朵萎凋、黃化及脫落(陳等，2003)。

本試驗之目的主要為探討不同花序成熟的蝴蝶蘭盆花於暗處理過程中，逆境對盆花外觀品質及生理活性所造成之影響，建立適當的蝴蝶蘭盆花貯運成熟度，增加產業競爭力。

-
- 1) 本研究承農委會補助研究經費，計畫號碼 93 農科-1.1.2-糧 Z3。
 - 2) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。
 - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

材料與方法

一、試驗材料與栽培環境

自嘉義縣大林鎮一心蘭園，取得蝴蝶蘭白花紅心 *Phalaenopsis* New Candy 'KHM293' 10.5 公分盆具 7-10 朵花的單梗開花株，具有 4 到 6 片葉，雙葉幅約為 30 公分以上。花序成熟度分為，花序具 1-2 已開放花朵、6-8 個花蕾及花序具 3-5 已開放花朵、4-6 個花蕾兩種。栽培於走入式生長箱，生長箱的溫度控制於 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相對濕度控制為 $65\pm 5\%$ ，光照是以早上 9 點整至晚上 9 點整區分為光照 12 小時與黑暗 12 小時，照度為 $293\ \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 。每 7 天澆水一次。

二、試驗方法及調查項目

(一) 試驗方法

蝴蝶蘭盆花 'KHM293' 自一心蘭園購入後，置入冷藏庫，以溫度 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相對溼度 $65\pm 5\%$ 的條件，暗處理 7、10 及 13 天。出庫後移至走入式生長箱，分別於出庫當天、出庫後經栽培 7 天及出庫後經栽培 14 天，分析外觀性狀、葉綠素含量、根部活性及蘋果酸含量之變化。各處理組在出庫當天早上 9 點封罐 4 小時，偵測罐內二氧化碳及乙烯的含量變化，連續一周。各處理組使用 4 重複。

(二) 調查項目

1. 花朵萎凋率：以處理時以開放之花朵數為分母，計算出花朵萎凋率，而處理後才開放的花不列入計算。
2. 乙烯之偵測：在光照開始時(早上 9 點)各取 4 株以 26.67 公升呼吸缸密封，4 小時後以 1 ml 塑膠針筒，自缸內抽取氣體，以氣相層析儀(Shimadzu, GC-14B, Japan) 分析。每個呼吸缸為 1 重複，共 4 重複。
3. 葉綠素含量分析：選蝴蝶蘭植株從莖頂數來第二片葉及從莖基數來第二片葉，於中肋部位取六個葉圓片為樣本，稱重，加入丙酮：甲醇= 80：20(v/v)的萃取液，置於黑暗下 24 小時，再以分光光度計(Hitachi UV-2001)測定波長 645 nm、652 nm 及 663 nm 之吸收值，並利用公式計算。取樣時間為早上 9 點至 10 點。
4. 蘋果酸含量之測定：修改自 Kubota 等人(1997)之方法，取植株從莖頂數來第二片及從莖基數來第二片葉完全展開葉中肋部位之葉圓片。加入 3 ml 的蒸餾水，利用微波爐(Sunpentown, SM-129, Thailand) 400 W 微波 2 分鐘。再以蒸餾水定量至 15 ml，均質後以 Zip-Pak(Varian, C18, USA) 過濾，利用高效液態層析儀(high performance liquid chromatography; HPLC)分析蘋果酸含量。每處理作 4 重複。取樣時間為早上 10 點至 11 點。

結 果

不同開放成程度的蝴蝶蘭盆花'KHM293'經過暗處理後，不論處理天數，開放程度 1 至 2 朵之植株的花朵萎凋率皆高於開放程度 3 至 5 朵之植株；且隨著暗處理的天數增加，兩種開放成熟度的植株，其花朵萎凋率皆有加劇的趨勢(圖 1、2、3)。暗處理 7 天開放程度 1 至 2 朵之植株的花朵萎凋率到處理後 27 天後才接近 60%(圖 1)，但同樣暗處理 10 天及 13 天後開放程度之植株，分別在處理後 15 天及 9 天，花朵萎凋率就接近 60%(圖 2、3)。開放程度 3 至 5 朵之植株亦有類似的趨勢，但在暗處理 7 天及 10 天後，開放程度 3 至 5 朵之植株一個月內的花朵萎凋率仍可維持在 60%以下(圖 1、2)，但在暗處理 13 天後 21 天花朵萎凋率即達到 60%(圖 3)。

不同開放成程度的蝴蝶蘭盆花'KHM293'經過暗處理後，不論處理天數乙烯生成量皆是在出庫當天有最大生成量，之後則遞減，維持在光照下的植株乙烯生成量最低且平緩，而最大乙烯生成量皆出現暗處理 13 天(圖 4、5)。開放程度 3 至 5 朵的植株各處理組出庫當天的乙烯生成量，皆低於開放程度 1 至 2 朵的植株(圖 4、5)。

開放 1 至 2 朵之蝴蝶蘭 *Phal. New Candy 'KHM293'* 植株，出庫當天從莖頂數來第二片葉總葉綠素含量，均隨著暗處理的天數增加而遞減(圖 6)。而各處理中，以暗處理 13 天的下降最為明顯，維持在光照下的植株其葉綠素含量為最高，出庫 7 天後葉綠素含量皆有回升的趨勢，至出庫後 14 天維持在光照下的處理組已可回升至與未處理的對照組相當

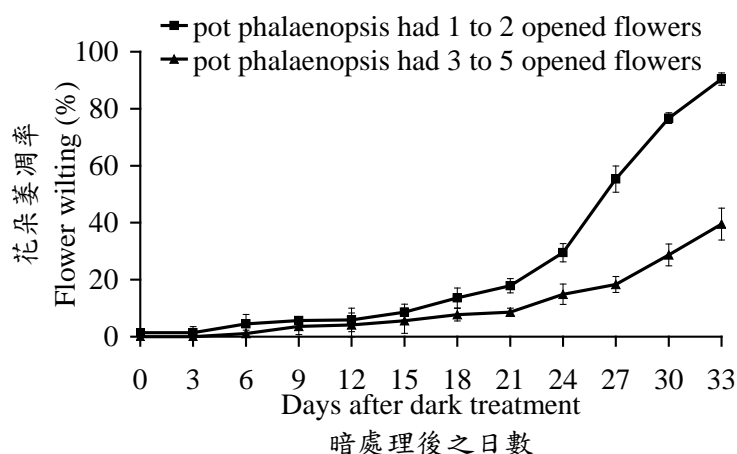


圖 1. 暗處理 7 天對不同開放程度之蝴蝶蘭盆花 *Phal. New Candy 'KHM293'* 花朵萎凋率之影響。

Fig.1. Effect of dark treatment for 7 days on flower wilting of *Phal. New Candy 'KHM293'* potted flower had different of the mature degree of inflorescence.

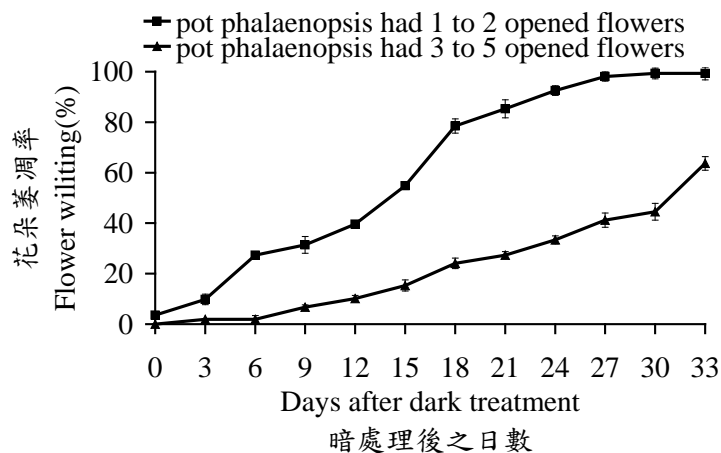


圖 2. 暗處理 10 天對不同開放程度之蝴蝶蘭盆花 *Phal. New Candy 'KHM293'* 花朵萎凋率之影響。

Fig.2. Effect of dark treatment for 10 days on flower wilting of *Phal. New Candy 'KHM293'* potted flower had different of the mature degree of inflorescence.

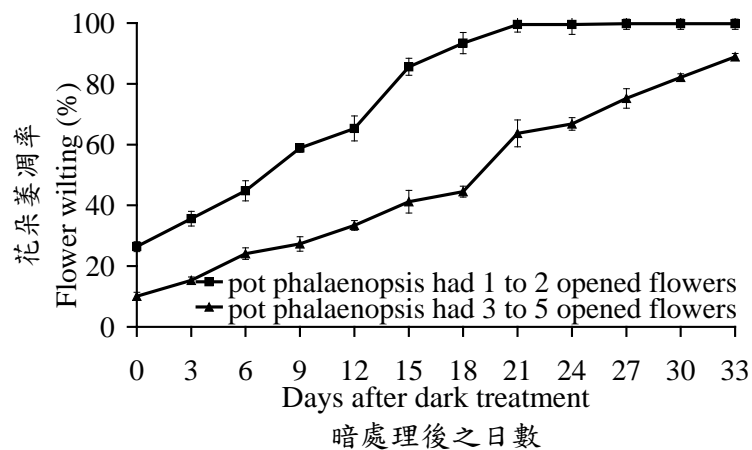


圖 3. 暗處理 13 天對不同開放程度之蝴蝶蘭盆花 *Phal. New Candy 'KHM293'* 花朵萎凋率之影響。

Fig.3. Effect of dark treatment for 13 days on flower wilting of *Phal. New Candy 'KHM293'* potted flower had different of the mature degree of inflorescence.

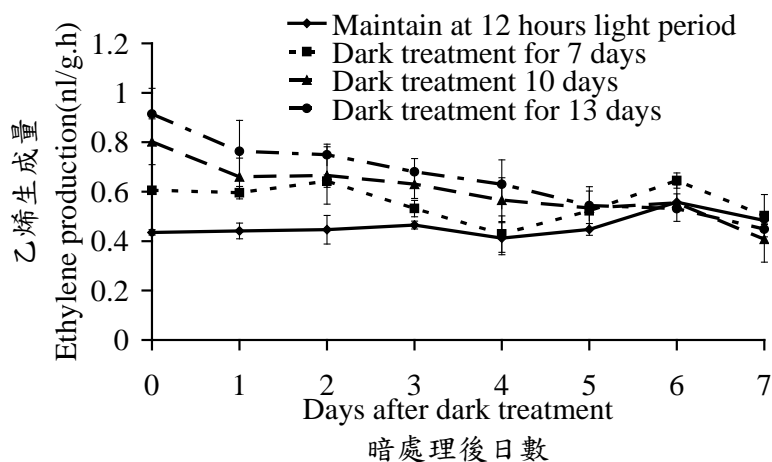


圖 4. 暗處理對開放 1 至 2 朵之蝴蝶蘭盆花 *Phal.* New Candy 'KHM293' 乙烯生成量之影響。
 Fig.4. Effect of dark treatment on ethylene production of *Phal.* New Candy 'KHM293' potted flower had 1 to 2 opened flowers.

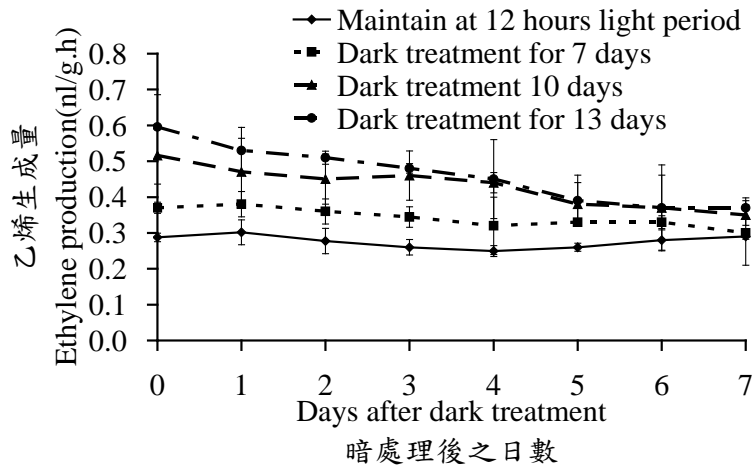


圖 5. 暗處理對開放 3 至 5 朵之蝴蝶蘭盆花 *Phal.* New Candy 'KHM293' 乙烯生成量之影響。
 Fig.5. Effect of dark treatment on ethylene production of *Phal.* New Candy 'KHM293' potted flower had 3 to 5 opened flowers

(圖 6)。從莖基數來第二片葉的總葉綠素含量變化與上位葉類似，但變化更為顯著 (圖 7)。開放 3 至 5 朵的植株，出庫當天從莖頂數來第二片葉及從莖基數來第二片葉之總葉綠素含量，亦隨模擬黑暗貯運的天數增加而遞減，且下位葉的含量變化亦較上位葉顯著，但整體下降趨勢未若開放 1 至 2 朵的植株明顯 (圖 8、9)。

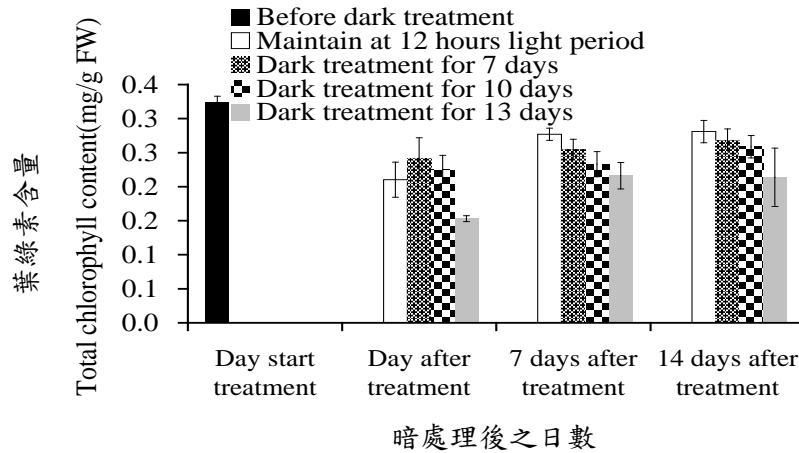


圖 6. 暗處理對開放 1 至 2 朵之蝴蝶蘭盆花 *Phal.* New Candy 'KHM293' 由上數來第二葉葉片總葉綠素含量之影響。

Fig.6. Effect of dark treatment on total chlorophyll content of front of the second leaf from upper of *Phal.* New Candy 'KHM293' potted flower had 1 to 2 opened flowers.

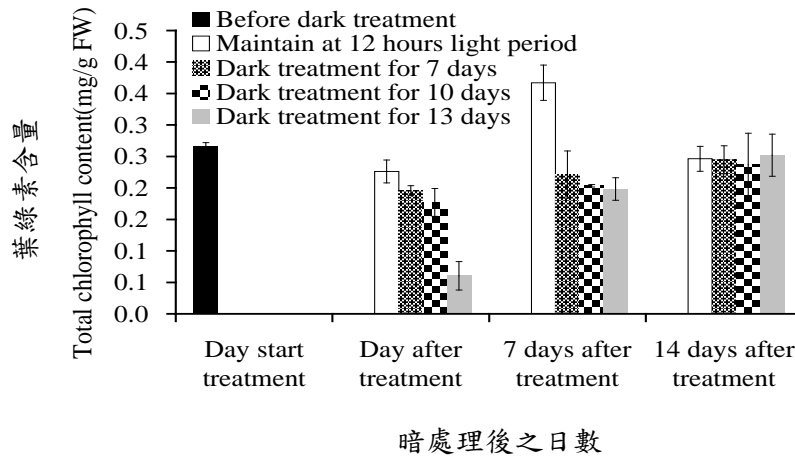


圖 7. 暗處理對開放 1 至 2 朵之蝴蝶蘭盆花 *Phal.* New Candy 'KHM293' 由下數來第二葉葉片總葉綠素含量之影響。

Fig.7. Effect of dark treatment on total chlorophyll content of front of the second leaf from base of *Phal.* New Candy 'KHM293' potted flower had 1 to 2 opened flowers.

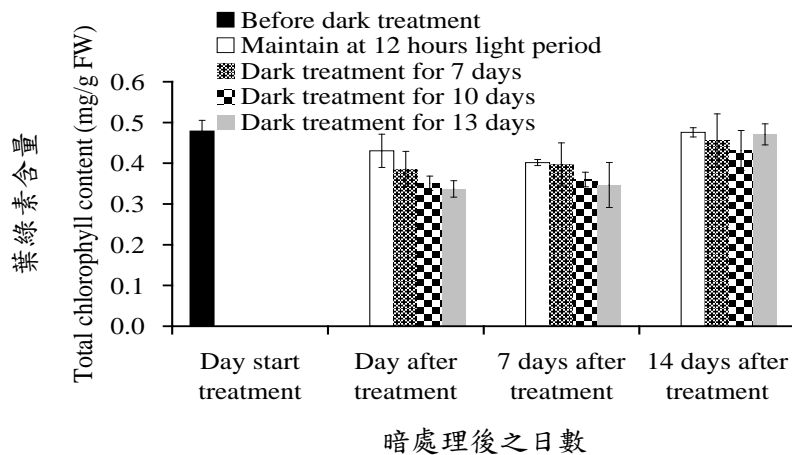


圖 8. 暗處理對開放 3 至 5 朵之蝴蝶蘭盆花 *Phal.* New Candy 'KHM293' 由上數來第二葉葉片總葉綠素含量之影響。

Fig.8. Effect of dark treatment on total chlorophyll content of front of the second leaf from upper of *Phal.* New Candy 'KHM293' potted flower had 3 to 5 opened flowers.

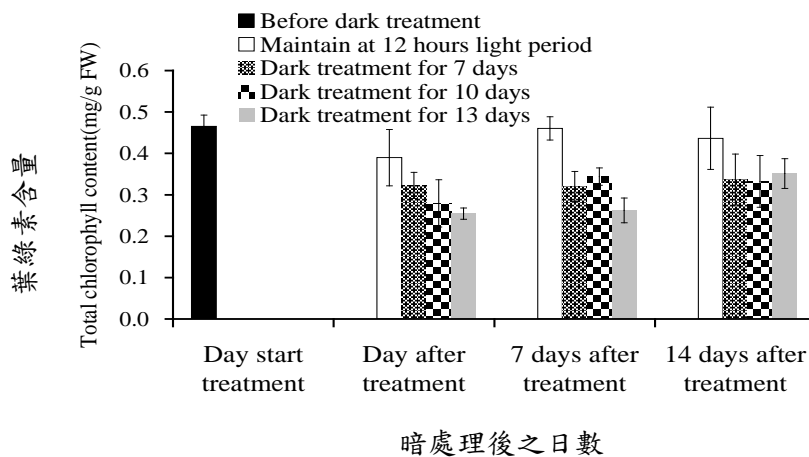


圖 9. 暗處理對開放 3 至 5 朵之蝴蝶蘭盆花 *Phal.* New Candy 'KHM293' 由下數來第二葉葉片總葉綠素含量之影響。

Fig.9. Effect of dark treatment on total chlorophyll content of front of the second leaf from base of *Phal.* New Candy 'KHM293' potted flower had 3 to 5 opened flowers.

討 論

不同開放成程度的蝴蝶蘭盆花'KHM293'經過暗處理後，不論處理天數，開放程度 1 至 2 朵之植株的花朵萎凋率皆高於開放程度 3 至 5 朵之植株；且隨著暗處理的天數增加，兩種開放成熟度的植株，其花朵萎凋率皆有加劇的趨勢(圖 1、2、3)。開放程度 3 至 5 朵之植株亦有類似的趨勢，但在暗處理 7 天及 10 天後，開放程度 3 至 5 朵之植株一個月內的花朵萎凋率仍可維持在 60%以下(圖 1、2)，但在暗處理 13 天後 21 天花朵萎凋率即達到 60%(圖 3)。顯示出黑暗逆境的時間越長，對植體的影響及傷害越大，而植體發育成熟度的不同對黑暗逆境的耐受性亦有差別。此點在扶桑花中亦有觀察到，扶桑花於 20°C 下黑暗貯運 5 天，之後回復到正常生長環境，會使花蕾萎凋率增加 21%，且葉片會有輕微黃化的現象；若貯運時間延長至 10 天，花苞萎凋率達 93%(Force *et al.*, 1988)。Al-Saqri 等人(2003)將花蕾被劃分為六個發育階段，當'Pink Versicolor'在 13、18 或 25°C 下，船運 2、4 或 6 天，發現一個船運、溫度及花蕾階段三向的交互作用，在所有情況下，階段 5 和 6 的花蕾經歷正常發育及衰老。不過，船運期間未發育之階段 1 及 2 的花蕾，其脫落隨溫度增加。乙烯敏感性是決定花朵壽命的重要因素，如香石竹'Sandrosa'，此品種的香石竹隨著花齡增加乙烯敏感性會遞減，因此在自動催化乙烯生成的表現有異於大部分的香石竹品種，而此品種的香石竹觀賞壽命也較其他品種長(Mayak and Tirosh, 1993)。然而，在同一植株的器官間，對乙烯的敏感性亦不同(Blankenship and Dole, 2003)。因此較長時間的黑暗逆境造成逆境乙烯的累積，使落花、落蕾的狀況加劇，而不同發育階段對乙烯的敏感性亦有所不同，因此發育成熟度低的植株可能對乙烯較為敏感造成花朵萎凋率較高。

山菜豆(*Radermachera sinica* L.)在許多室內環境生長良好，但經貯運後極易發生完全落葉的現象，此與乙烯的作用有關(Wang and Dunlap, 1990)。在正常生長與發育下乙烯產量很低，但是當植物遭受逆境之時會較正常下產生 2 至 50 倍的產量(Tingey, 1980)。不同開放程度的蝴蝶蘭盆花'KHM293'經過暗處理後，不論處理天數乙烯生成量皆是在出庫當天有最大生成量，之後則遞減，維持在光照下的植株乙烯生成量最低且平緩，而最大乙烯生成量皆出現暗處理 13 天(圖 4、5)。開放程度 3 至 5 朵的植株各處理組出庫當天的乙烯生成量，皆低於開放程度 1 至 2 朵的植株(圖 4、5)。發育成熟度較低的植株，其乙烯生成量較高，對照其外觀品質的劣變也較為明顯及花朵萎凋率亦較高。在黑暗環境下，植物產生逆境乙烯或是外來乙烯的作用，再加上光合作用不足，而加重落葉及落蕾情形(Thaxton *et al.*, 1988)。

Marousky 和 Harbaugh(1980)曾表示長壽花(*Kalanchoe blossfeldiana* L.)在黑暗貯運下 3 天葉片會黃白化(chlorotic)且葉綠素含量減少。Poole 和 Conover(1983)表示在 16 至 19°C 長期黑暗下，觀葉植物的品質下降與乙烯的毒害有關。黑暗下會造成葉綠素含量的減少，黛粉葉(*Dieffenbachia maculate* L.)經 9 天貯運之後會導致下位葉黃化、葉綠素減少，而使光合作用能力低於十分之一(Poole and Conover, 1979)；Poole 等人(1984)以澳洲鴨腳木

(*Brassia actinophylla* L.)的黑暗貯運實驗說明，若以葉綠素作為指標來評定貯運之後的品質維持極為恰當。開放 1 至 2 朵之蝴蝶蘭 *Phal.* New Candy 'KHM293' 植株，出庫當天從莖頂數來第二片葉總葉綠素含量，均隨著暗處理的天數增加而遞減。而各處理中，以暗處理 13 天的下降最為明顯，維持在光照下的植株其葉綠素含量為最高，出庫 7 天後葉綠素含量皆有回升的趨勢，至出庫後 14 天維持在光照下的處理組已可回升至與未處理的對照組相當(圖 6)。從莖基數來第二片葉的總葉綠素含量變化與上位葉類似，但變化更為顯著(圖 7)。開放 3 至 5 朵的植株，出庫當天從莖頂數來第二片葉及從莖基數來第二片葉之總葉綠素含量，亦隨模擬黑暗貯運的天數增加而遞減，且下位葉的含量變化亦較上位葉顯著，但整體下降趨勢未若開放 1 至 2 朵的植株明顯(圖 8、9)。Sanada 等人(1988)更進一步指出老化期間葉綠素 a/b 比率的下降，最常發生在老葉，但在短期 9 天內黑暗下可保持一穩定的數值。故蝴蝶蘭經 4 週的黑暗模擬貯運出庫後，在外觀上仍能維持良好的品質(洪, 1998)。

就花朵萎凋率、乙烯生成及葉綠素含量等表現，可以觀察到花序開放成熟度較低的植株，在暗處理後乙烯生成量高，植體所遭受的損傷大，表現出較差的暗逆境耐受性。但花序開放成熟度高的植株經暗處理後，整體表現皆優於花序開放成熟度低的植株，表現出較高的暗逆境耐受性。因此，在不影響包裝的前提下，花序開放成熟度較高的蝴蝶蘭植株是較為適合長程的黑暗貯運。

參 考 文 獻

- 陳文輝。2002。蝴蝶蘭的品種改良。科學發展 351: 32-39。
- 陳彥睿、易美秀、魏芳明、蔡宛育。2003。應用 1-MCP 在蝴蝶蘭屬及朵麗蝶蘭屬盆花模擬外銷貯運之研究。臺中區農業改良場研究彙報 79: 1-10。
- 李晔、林雨森。1992。蝴蝶蘭花朵之呼吸作用。中國園藝 38: 228-240。
- 洪惠娟。1998。貯運及貯運前後環境對蝴蝶蘭抽梗與開花品質的影響。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。台灣。93pp。
- Al-Saqri, F. A., J. E. Barrett, C. A. Bartuska, D. G. Clark, and R. K. Schoellhorn. 2003. Shipping and ethylene effects on flower bud abscission in potted *Hibiscus Rosa-Sinensis*. Acta Hort. 628: 303-310.
- Blankenship, S. M., and J. M. Dole. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biol. Technol. 28: 1-25.
- Force, A. R., K. A. Lawton, and W. R. Woodson. 1988. Dark-induced abscission of hibiscus flower buds. HortScience 23: 592-593.
- Kubota, S., T. Hisamatsu, and M. Koshioka. 1997. Estimation of malic acid metabolism by measuring pH of hot water extracts of *Phalaenopsis* leaves. Sci. Hortic. 71: 251-255.

- Marousky, F. J. and B. K. Harbaugh. 1980. Foliar chlorosis of *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. As influenced by temperature, darkness, and ethylene. Proc. Fla. State Hort. Soc. 93: 175-178.
- Mayak, S. and T. Tirosh. 1993. Unusual ethylene-related behavior in senescing flowers of the carnation 'Sandrosa'. Physiol. Plant. 88: 420-426.
- Poole, R. T. and C. A. Conover. 1979. Influence of shade and nutrition during production and dark storage simulating shipment on subsequent quality and chlorophyll content of foliage plants. HortScience. 14: 617-619.
- Poole, R. T. and C. A. Conover. 1983. Influence of simulated shipping environments on foliage plant quality. HortScience. 18: 191-193.
- Poole, R. T., C. A. Conover, and J. Ben-Jaacov. 1984. Long-term storage of foliage plants. Sci. Hortic. 24: 331-335.
- Sanada, Y., K. Nishida, and G. Edwards. 1988. Prolonged survival of CAM-mode *Mesembryanthemum crystallinum* in darkness and its possible dependence on malate. Plant Cell Physiol. 29: 117-122.
- Thaxton, D. R., J. W. Kelly, and J. J. Frett. 1988. Control of *Hibiscus rosa-sinensis* L. bud abscission during shipping. Sci. Horti. 34: 131-137.
- Tingey, D. T. 1980. Stress ethylene production – a measure of plant response to stress. HortScience. 15: 630-633.
- Wang, Y. T. and J. R. Dunlap. 1990. Leaf abscission in *Radermachera sinica* in response to ethylene and silver thiosulfate. HortScience. 25: 233.

Effect of Dark Treatment on Physiology of Pot *Phalaenopsis*¹⁾

Yin-Yin Hu ²⁾ Ruey-Song Lin ³⁾

Key words: *Phalaenopsis*, dark treatment, flower wilting rate, ethylene

Summary

This experiment used *Phalaenopsis* New Candy 'KHM293' for experiment the material, study the effect of dark treatment on appearance quality and physiological change of the *Phalaenopsis* has different of the mature degree of inflorescence, to expect confirmed plant condition that suit the dark transport of the long distance. Plants with higher maturity of flower clusters had the better endurance to the dark stress of the long time including the lower flower wilting rate and ethylene production, and the chlorophyll content variety range was smaller.

-
- 1) This research was supported by Council of Agriculture, ROC, project NO. 93AS-1.1.2-FD-Z3.
 - 2) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
 - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

鄉村地區樹籬廊道生態效益之研究

周彥瑜¹⁾ 張俊彥²⁾

關鍵字：景觀生態、廊道、樹籬廊道、鳥類族群

摘要：本研究企圖以景觀生態學之觀點探討廊道所提供之生態功能，針對台灣本土景觀的樹籬廊道以實證研究的方式探討其與鳥類族群間之相關性，期望研究成果能應用於景觀規劃之實務工作。本研究地點為新竹縣竹北市具有明顯樹籬廊道紋理之地區，利用 ESRI Arc GIS 8.3 地理資訊軟體及 e-Cognition 4.0 影像分析軟體為工具，套疊比例為五千分之一之空照圖進行樹籬廊道結構數化及繪製，並實地進行探勘及鳥類物種調查。以樹籬廊道特性為自變項，包含樹籬廊道本身結構特性、網絡結構特性、周圍環境結構組成三個構面；鳥類族群生態性指標為依變項，包括總種數、個體數、族群歧異程度、族群均勻程度四項指標，再以量化統計方法分析各變相間之相關性。研究結果顯示樹籬廊道本身結構特性及網絡結構特性對鄉村地區之整體鳥類族群影響不大，而樹籬廊道周圍之土地使用型態對一地區之生態效益影響較為顯著。

前 言

一、研究背景與動機

隨著人類的發展，都市地區的快速擴張，越來越多的自然地區呈現破碎化的情形，而去維持或復育棲息地之連結性成為生態保育上一個重要的目標。生態廊道被視為連結孤立的棲息地塊區進而解決棲地破碎化的方法之一(Noss, 1983；Soule, 1991)。

台灣鄉村地區近年來由於都市擴張、耕地過度開發、大型公共建設...等不當的土地利用，造成鄉村生態系之斷裂與破碎，既有的生態特殊性逐漸消失，因此，如何保護位居城鄉連續譜中敏感地帶之鄉村地區，復育其應有之生態功能，成為當前刻不容緩之重要議

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。

題，許多專家學者也紛紛提出推動鄉村綠色廊道，重塑鄉村地區生態網絡等概念，以解決當前鄉村生態環境破碎化之情形。

本研究企圖以景觀生態規劃領域的角度去探討廊道所提供的生態功能，以實證研究之方式，針對台灣本土的鄉村景觀，探討樹籬廊道結構與物種生態性之相互關係，以確實了解樹籬廊道結構對於鄉村生態環境之影響，並期望研究成果能應用於日後鄉村地區景觀規劃之實務工作上。由於鳥類物種具有容易觀測、對棲地的破碎化或棲地組成結構的改變有高度的敏感性之特性，因此本研究選取鳥類物種作為生態性之指標。

二、研究目的

基於上述之研究動機，本研究主要之目的為藉由文獻整理歸納出樹籬廊道(hedgerow corridors)所提供之生態功能，並以實證研究之方法探討樹籬廊道特性與鳥類族群之相關性，最終期望可更深入了解台灣本土地貌下，樹籬廊道與鳥類族群間之相互關係，進而探討其對整體生態環境之貢獻。

文 獻 回 顧

一、景觀生態學基本概念

「景觀生態學」一詞，最早是由德國生物地理學家 Carl Troll 於 1939 年所提出，主要從傳統歐洲地區的地理學、植物學以及航空攝影技術衍生而來。西元 1968 年，Troll 更進一步將景觀生態學定義為：對景觀某一地段上的生物群與環境間，綜合其主要的因果關係之研究，這些相互關係，可以從明確的分布組合(景觀鑲嵌、景觀組合)和各種大小不同等級的自然區域表現出來(肖篤寧，1993)。景觀生態學於 1981 年導入北美，此後 Richard Forman 與 Michel Godron 提出了塊區(Patch)、廊道(corridor)與基質(Matrix)等概念，引導了後續的景觀生態研究。總體來說，景觀生態學主要為研究關於生物及人類文化發展過程的空間改變，它結合了地理學強調的空間分析方法及生態學家所著重的功能性方法(Forman and Godron, 1986)。

景觀生態學將景觀視為一個由不同土地單元鑲嵌組成，並且具有明顯土地特徵之地理實體，其主要結構組成按其型態及功能可分為三個部分：塊區(Patch)、廊道(Corridor)及基質(Matrix)，主要研究重點為了解空間中結構(structure)、功能(function)、變化(change)三個過程間之相互作用，並且強調尺度之重要性與時空之異質性(Forman and Godron, 1986)，研究對象包括景觀中所有之動物、植物及人類(Farina, 1997)，探討空間對生物歧異度之決定性因素與棲地結構如何影響族群的豐度和分布。

二、廊道概念相關文獻

(一) 廊道之定義與概念

Forman(1986, 1995)，以景觀生態之觀點定義廊道(corridor)為一個異於周遭基質環境

的狹長地帶且遍及於地面。大自然所創造出來的廊道形式包含河川、山脊、動物的遷徙路徑等，而人為力量所創造出來的廊道則包含道路、電纜線、溝渠、步道等，這兩種廊道類型的差別在於自然力量所形成的廊道通常較彎曲且具延續性，除非人為的力量將其取直或阻斷，而人為創造出來的廊道則通常較窄也較難維護。

根據 Forman 對於廊道之定義，幾乎所有的景觀都被廊道所分割，同時，也被廊道所連結，這種雙重而相反的特性證明了廊道在景觀中具有重要作用(Forman, 1986)，廊道在交通運輸和通訊方面之重要作用是人所共知的，如道路、鐵路將不同地區連結在一起；廊道在農業及水資源研究中之作用也為人所知，如樹籬或河流廊道可在不同地區之間形成屏障。廊道於經濟學到視覺景觀不同範圍中皆具有重要意義，但其生態作用為景觀生態學之研究重點。因此本研究均針對廊道之生態意義做探討。

(二) 廊道之結構與功能

廊道之本體結構可分為三個部分說明：1. 整體廊道的寬度是指環境中垂直高度落差顯著的一邊到另一邊，通常廊道兩邊的邊緣都不同且兩邊生態系統的影響也可能不同。2. 廊道的中央可能包含一個特殊的內部主體(internal entity)，像是河川、溪流、道路、小徑、溝渠、圍牆或是土牆，通常內部主體出現於較寬之廊道中。3. 廊道的植物及動物組成特性包含植生之垂直結構、物種數的豐度(richness)及族群組成的豐度(abundances)(Forman, 1995)。若從空中鳥瞰的角度去看，一個廊道的結構特性不只是廊道本身而已，還包括廊道與其周圍基質、塊區及環境狀態的相互關係(Forman, 1983; Mailer, 1984; Noss, 1986; Curatolo and Murphy, 1986; Henein and Merriam, 1990)。

Forman 及 Godron 認為廊道可作為某些物種的棲息地，提供物種沿廊道遷徙的通道，也可以作為分隔地區的屏障或過濾器，並影響周圍基質的環境和生物源。而 Bueno, Tsihritiz, Alvarez(1995)指出利用廊道的設置能夠加強分裂、殘餘棲地間的連結，提升野生動物多樣性，能促進物種遷移以平衡物種滅絕率。Dramstad、Olson、Forman(1996)更進一步指出廊道的五種機能：包括棲地(Habitat)、通導(Conduit)、過濾(Filter)、供給源(Source)、沒入(Sink)。

(三) 樹籬廊道之定義

Forman(1995)將這些由樹林所構成的條狀區域(woody strip)定義為具有比周圍基質高的樹冠(canopy)的廊道，其包括：

1. 防風林(windbreaks)：指用來作為防風用途的林帶。
2. 樹籬(hedgerows)：泛指從窄的線狀廊道及寬度由幾棵喬木或灌木所構成的綠籬，主要用途為分隔開放的空間，綠籬(hedgerows)這名詞是一個通稱，包含任何機械所造成的籬笆(fencerows)、農用田籬(planted hedges)或是殘留的線狀樹林(remnant lines of trees)。
3. 林帶(woodland corridors)：指由自然植被所構成的較寬的林帶。

本研究欲探討之樹籬廊道(hedgerow corridor)是指在鄉村景觀中由樹木或灌木所構成的長條狀植栽結構，其包含綠籬(fencerows)、田籬(hedgerows)、防風林(windbreaks)、殘留

的線狀樹林(remnant lines of trees)…等不同形式，這些樹籬廊道在單調的耕作區域中形成強烈的對比，提供了一定的生態功能。

(四) 樹籬廊道與物種之相關性

樹籬廊道被證實對於野生動物是有益的，特別是鳥類。成熟的木本植物提供很多鳥類物種基本的棲息地需求，像是提供食物來源、遮蔽或是築巢的地方。在英國樹籬廊道幾乎佔了鄉村地區大部分喬木及灌木覆蓋的地區，而有大量的證據證明增加或移除樹籬廊道將會影響當地鳥類物種的豐度。樹籬多寡的重要性取決於鳥類的數量是否接近環境的生物容許量(O'Connor and Shrubbs, 1986)。觀察大量樹籬被移除的農田中發現，當樹籬數量低於一個關鍵性數值時其的對於鳥類物種的衝擊會變得很明顯。此數值大約是 50 m²/ha(Lack, 1992)。

Best(1983)在愛荷華州(Iowa)發現很多鳥類物種棲息在具有連續喬木及灌木的樹籬，雖然樹籬在愛荷華的農業景觀中被視為維持鳥類族群的重要元素，但大多數棲息於樹籬的鳥類都為可忍受人為環境變遷的邊緣物種(weedy species)，這些鳥種被視為邊緣物種因為牠們棲息在不同基質的交界，像是林地與農地之間。因此，樹籬或較窄的廊道對原生物種的保育價值是較低的，但從另一觀點來看，對於大部分自然棲息地已不存在的鄉村景觀中，較窄的廊道還是增加了生物多樣性，一些邊緣鳥類物種還能幫助抑制有害的昆蟲。

樹籬的品質是多變的，Spark 等人(1996)指出，樹籬的特性不同會招引不同的鳥類，例如較高的樹籬會有較多的森林鳥類來築巢與覓食，即使農地轉彎處的短樹籬，若高度夠，也會可提供某些種的繁殖；開闊地鳥類如金翼啄木鳥、雲雀等則選擇矮灌叢或草本植物的邊界。不過樹籬間的農地，也會因為所提供的食物(植物種子或昆蟲等)的不同而影響鳥類的數量。

研究指出在澳洲西部，鳥類物種的豐度會隨著道路旁自然綠帶的寬度而改變，從 8 公尺到 60 公尺成正比增加(Arnold and Weeldenburg, 1990; Saunders and de Rebeira, 1991)。在美國中部也有相似的研究結果，寬度變成評估廊道內的鳥類豐度、巢穴的密度及鳥類繁殖成功率一個很重要的指標(Martin, 1981; Shalaway, 1985; Yahner, 1983)。

樹籬廊道的垂直結構包括植被的複雜程度、植栽物種的組成，是影響鳥類豐度很重要的因素(Johnson and Beck, 1988; Yahner, 1983)。儘管樹籬廊道的樹冠並不是很茂密，樹籬廊道內仍可能有許多在地表覓食的鳥類物種(ground-feeding birds)，這是由於廊道內的灌木層扮演了很關鍵的角色(Johnson and Beck, 1988; Yahner, 1982)。事實上，藉由樹木的行數、植栽種類的數量、植被的高度及植物的排列之間的變化可設計出適於野生動物棲息的樹籬廊道(Capel, 1988)。

樹籬的結構及其植物的組成均會影響其對鳥類物種的價值。Osborne(1984)在研究多塞特郡農地中的 42 條樹籬中發現，鳥類豐富的樹籬通常是那些底部寬度較寬並且有很多灌木種類在其中的。

樹籬廊道內的內部主體，如石牆、溝渠、土牆…等提供了額外的微棲息地(Baudry,

1988)。舉例來說：若廊道內有溝渠可能會增加一些溼地植物、兩棲動物或是爬蟲類動物(Pons *et al.*, 1990)；土牆能提供一些小哺乳動物的棲地像是花栗鼠或是田鼠(Henein and Merriam, 1990; Bennett *et al.*, 1994)。

英國 CBC(Common Bird Census)的調查中也指出主要棲息在林地的鳥類物種受樹籬尺寸(size)影響最多(Lack, 1992)，而樹籬周圍棲地的環境將會左右樹籬尺寸對於鳥類物種的影響。

三、鳥類族群相關文獻

一地區景觀生態結構之改變，通常會反應出植被型態改變、空間配置變化情形，因而直接影響到鳥類種類和數量之分佈。鳥類為高級消費者，在生態金字塔上扮演重要角色，分佈廣泛，且對於環境結構和組成的改變也相當敏感。有鑑於此，在觀察一地區中整體生態系統是否良好，可利用鳥類來作為研究指標物種(Forman and Godron, 1986; Langevelde *et al.*, 2000; Savard *et al.*, 2000)。

研究方法

一、研究架構與假說

根據文獻回顧的整理與研究問題的思考提出本研究之研究架構，本研究明確的研究脈絡為探討樹籬廊道對於鳥類族群的影響，第一個部份為個體空間尺度下，就樹籬廊道本體的結構特性與鳥類生態性指標進行探討，第二個部分為整體空間尺度下，了解整體的樹籬廊道網絡結構特性對於鳥類族群之影響，第三部份為樹籬廊道之周圍環境因子也會對鳥類族群造成影響。詳細架構如下：

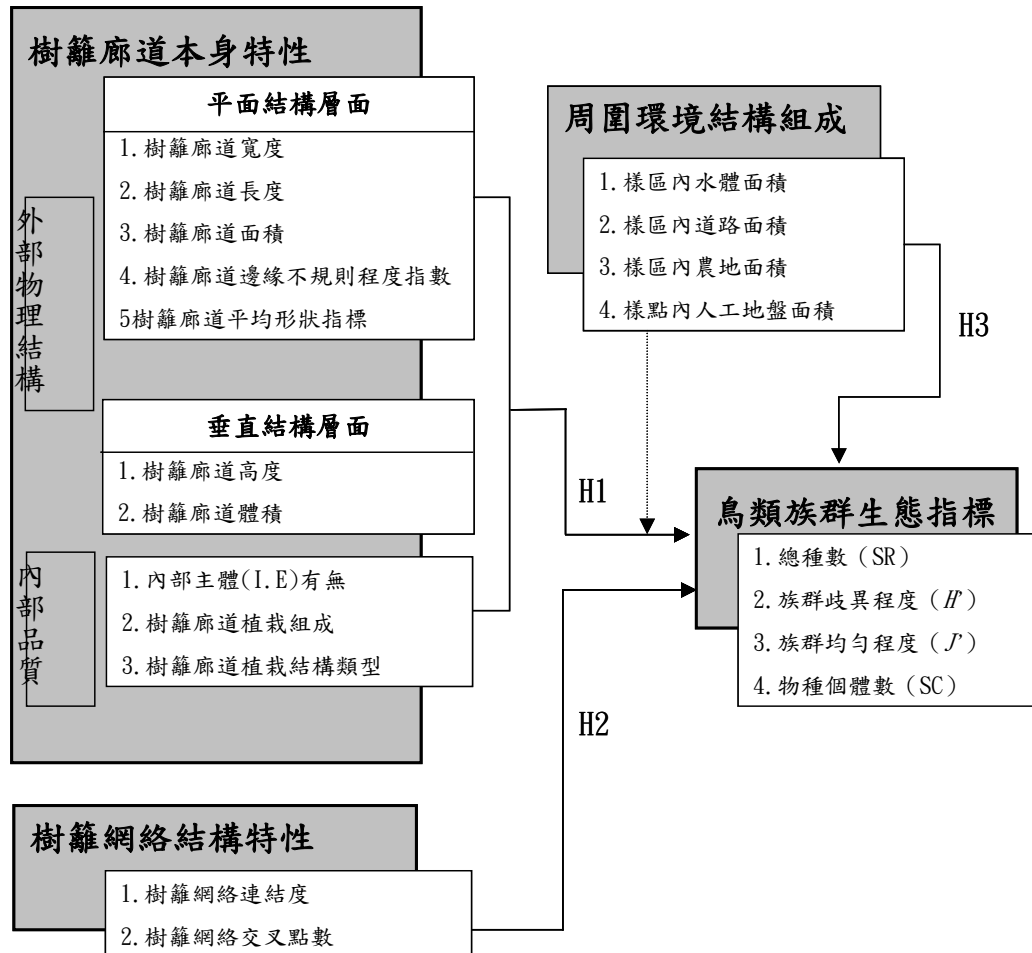


圖 1. 研究架構圖

假設一(H1)：樹籬廊道本身特性不同，會影響鳥類族群生態性指標

假設二(H2)：樹籬廊道網絡結構特性的不同，會影響鳥類族群生態性指標

假設三(H3)：樹籬廊道周圍環境組成不同，會影響鳥類族群生態性指標

二、研究設計

(一) 研究樣點選定

本研究樣區為竹北市與芎林鄉交界之東海里，全區為民風純樸之農村，頭前溪流經其中，開發之農地景觀中有交錯之樹籬廊道散佈其中，形成此地區特殊之自然景觀。

本研究樣區面積為 1,000 公頃左右，為有效選取樣區內具有樹籬廊道紋理之樣點，以五千分之一空照圖為底圖，以 ESRI Arc GIS8.3 地理資訊軟體為工具將研究區域劃出 100 m × 100 m 之網格，並以廊道的有無為基準，逐一對每一個方格做篩選，排除掉人工地盤面積大於百分之五十及主要道路幹線穿越其中之區域，在篩選後的區域中分別選取 20 個調

查樣點。

(二) 地圖資料處理

本研究共選取了 20 個調查樣點，為進一步獲取廊道結構特性資料，需對地圖資料加以判讀分析。以五千分之一之空照圖為基本圖，使用影像分析軟體 e-Cognition 4.0 為工具，對所選取之研究樣區進行數化工作。

在探討廊道本體結構特性與鳥類族群關係之部分，考慮廊道本體尺度與周圍環境結構的組成，在半徑 100 公尺環框內，將景觀之結構類型分為樹籬廊道、農業耕作區、道路、水體、人工地盤、及零星樹叢六種分類(圖 3-6)，將數化完之向量檔格式(Vector format)資料輸出至 Arc View 3.2 地理資訊軟體進行分析並建立屬性資料，並利用 Fragstats 2.0 for Arc View 3.2 之景觀生態結構運算軟體，計算出本研究所欲探討之研究變項資料，包括：樣點內之樹籬廊道面積、樹籬廊道邊緣不規則程度(AWMPFD)、樹籬廊道形狀指標(AWMSI)及樣點內之農業耕作區、水體、道路、人工地盤之面積。

無法由 Fragstats 2.0 運算之變項資料，如廊道寬度、廊道長度等變項，則利用 ESRI Arc GIS 8.3 地理資訊軟體分析測量

而在探討樹籬廊道網絡結構與鳥類族群相關性之部分，則以半徑 250 公尺之環框為研究範圍，數化出所有範圍內之樹籬廊道結構，並計算廊道與廊道間之最近距離以作為連結度指標之依據，由於計算景觀結構兩塊區間之距離需以網格檔格式(grid)進行運算，因此需將所數化之向量檔格式資料以 ESRI Arc GIS 8.3 進行轉檔工作，再匯入 Fragstats 3.3 進行計算，最後得到樹籬網絡連結度(ENN)變項資料、網絡交叉點數變項資料。

(三) 實地探勘調查

樹籬廊道的垂直結構特性及品質特性部分，經由實地的探勘調查取得，調查項目包括：廊道高度、廊道植群結構類型及廊道植群組成、是否具有內部主體四項，詳細調查方法如下：

1. 廊道高度：比對五千分之一之空照圖，將樣點內之廊道編號，並於現地分別對每一條廊道進行量測，以 LaserCraft 公司 Contour XLRic 雷射測距槍為工具，於樹籬廊道垂直高度具有變化之處測量，並同步記錄下其數值。計算出每條廊道之平均高度後，再以其廊道表面積加以權重，以獲得樣點之平均數籬廊道高度資料。
2. 廊道植群結構類型：現地觀察各樣點之廊道類型並予以記錄。
3. 廊道植群組成：現地觀察各樣點之廊道植群組成並予以記錄。
4. 內部主體有無：現地觀察各樣點之廊道內是否具有內部構造，並予以記錄。

(四) 鳥類物種調查

本研究於 2005 年 3 月至 5 月協同專業鳥類調查員，進行鳥類物種調查，每隔一個禮拜調查一次，若遇陰雨天則不進行調查，每個樣點共紀錄 6 次，且每個樣點調查時間分散於不同時段，以減少因時間取樣所造成之誤差。就定點計數所需停留之時間而言，時間過短則無法觀測完整，時間太長則會造成重複計數的問題，因此建議調查時間在 3-10 分鐘

(William, 2002)，參照台灣特有生物中心之鳥類定點調查方法，本研究設定每定點停留 6 分鐘，並記錄鳥類之種類、數量、行為、及觀測所發現之位置。由於鳥類活動之高峰期為日出後三小時及日落前三小時(王穎和孫元勳，1990；張集益，1999)，因此所有調查盡量控制於此時段完成。

結果討論

一、樹籬廊道結構及鳥類族群生態指標相關分析

(一) 樹籬廊道本體結構與鳥類族群生態指標相關分析

以皮爾森積差相關(Person coefficient)檢驗之結果，只有樹籬廊道之體積變項與鳥類個體數(SC)達顯著相關($r=0.501$, $p=0.024$)，此結果代表，樹籬廊道於一樣區內之總體積越大時，其鳥類個體數會增加。而廊道樹籬廊道之「寬度」、「長度」、「面積比」、「邊緣不規則程度指數(AWMPFD)」、「平均形狀指標(AWMSI)」、「高度」均與鳥類族群生態指標呈現不顯著相關(表 1)。

表 1. 樹籬廊道平面及垂直結構與鳥類族群相關分析表

Table 1. The correlation between hedgerow corridor structure indices and bird ecological indices

	總種數(SR)	個體數(SC)	歧異程度(H')	均勻程度(J')
H.C.寬度	0.078	0.056	0.268	0.252
H.C.長度	-0.117	0.041	-0.188	-0.157
H.C.面積比	0.123	0.221	0.088	0.052
H.C.AWMPFD	0.008	-0.125	-0.006	-0.035
H.C.AWMSI	0.207	0.097	0.136	0.043
H.C.高度	0.046	0.412	-0.31	-0.35
H.C.體積	0.182	0.501*	-0.186	-0.263

* $p<0.05$ ，** $p<0.01$

以 T-test 檢驗樹籬廊道品質層面變項對鳥類族群生態指標影響之結果，「內部主體(IE)有無」、「植栽結構組成的不同」及「植栽結構類型的不同」對鳥類族群生態指標無顯著的差異。

(二) 樹籬廊道網絡結構與鳥類族群生態指標相關分析

以皮爾森積差相關(Person coefficient)檢驗之結果，「樹籬網絡連結度(ENN)」、「樹籬

網絡交叉點數」與鳥類族群生態指標皆呈現不顯著相關(表 2)。

表 2. 樹籬廊道網絡結構與鳥類族群相關分析表

Table 2. The correlation between hedgerow corridor network indices and bird ecological indices

	總種數(SR)	個體數(SC)	歧異程度(H')	均勻程度(J')
樹籬網絡連結度(ENN)	0.025	0.3	-0.317	-0.367
樹籬網絡交叉點數	-0.031	-0.237	0.073	0.084

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

(三) 樹籬周圍環境組成與鳥類族群生態指標相關分析

以皮爾森積差相關(Person coefficient)檢驗之結果，發現樣點內「人工地盤面積」與鳥類族群「總種數」為顯著負相關($r = -0.434$, $p = 0.056$)，而其他變項皆與鳥類族群生態指標未達顯著相關。也就是說當樣區內人工地盤的面積越大時鳥類物種的種類數會有下降的情形，此現象與前人的研究的結果相同(張高雯，2000；江彥政，2004)，當人為開發地區越廣時，相對也代表鳥類棲地破碎及受干擾的情形更嚴重，尤其對生存環境較為敏感的鳥種將會消失(表 3)。

表 3. 樹籬廊道周圍環境結構與鳥類族群相關分析表

Table 3. The correlation between environmental composition indices and bird ecological indices

	總種數(SR)	個體數(SC)	歧異程度(H')	均勻程度(J')
樣點內人工地盤面積	-0.434*	-0.193	-0.305	-0.151
樣區內農地面積	0.188	-0.131	0.159	0.092
樣區內道路面積	-0.13	0.016	-0.094	-0.043
樣區內水體面積	-0.292	0.034	-0.094	0.007

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

結論與建議

一、研究結論

綜合上述的分析，可以發現儘管選取樣點時，刻意將樣區內較易對鳥類物種產生衝擊

的土地使用類型面積控制於 10% 以下(人工地盤及道路)，其影響性仍為顯著，而一地區樹籬廊道結構對鳥類族群最顯著之影響為其在空間中所佔之體積，推測造成此結果之原因為鳥類對於棲地的選擇與活動地點會受土地使用的類型影響很大，人工地盤屬於對鳥類族群產生負面干擾之土地使用型態，而樹籬廊道為對鳥類物種提供正面效益之土地使用型態，其提供鳥類棲息、繁殖、藏匿、覓食之活動空間；由於土地使用類型對於鳥類族群佔了先決性的影響，因此，較難深入了解其中一種的景觀結構細部特性對於鳥類物種的影響。

二、研究建議

由研究結果可以推論樹籬廊道對於鄉村地區具有正面之生態效益，其具有吸引鳥類棲息，蘊育鳥類繁殖之生態功能，台灣地區地窄人稠，農地的開發早已於 1930 年代達到飽和，大部分地區為了讓農田獲得最高之生產效率，多採單一化之農作物種植，而其間少有結構完整之樹籬廊道，所形成之樹籬廊道以作為邊界及防風林為主，大多短而窄，高度因無整理而異，所構成之植物物種以竹子、扶桑、黃堇較多，因此，其所提供之生態性也較為侷限。建議於鄉村地區之農地邊界、道路、水圳兩旁發展結構完整之樹籬廊道以增加鳥類族群之多樣性，提昇其生態環境。

參 考 文 獻

- 台灣野鳥資訊社、日本野鳥の會。1995。台灣野鳥圖鑑，台北：亞舍圖書有限公司。
- 江彥政。2004。以景觀生態及景觀心理探討永續環境之研究。碩士論文。國立中興大學園藝學系。台中。
- 徐嵐。1993。景觀網絡結構的幾個問題。景觀生態學：理論、方法及應用。pp.225-232。台北：地景氣業股份有限公司。
- 張俊彥。2002。農村景觀生態支復育與創造。造園季刊。(42)：75-92。台北。
- 王穎、孫元勳。1990。太魯閣國家公園陶塞溪、花蓮池和神秘谷地鳥相及其變化。國家公園學報 2(1)：41-66。
- 肖篤寧。1993。景觀生態學理論、方法及運用。台北：地景。
- 張高雯。2000。景觀生態結構與鳥類多樣性之相關研究。興大園藝。25(3)：95-107。
- 許富雄。2001。鳥類資源的調查方法。特有生物研究 3：81-90。
- Arnold, G. W. & Weeldenburg, J. R. 1990. Factors Determining the Number and Species of Birds in Road Verges in the Wheatbelt of Western Australia. *Biological Conservation*. 53: 295-315.
- Bennett, A. F., Henein, K. & Merriam, G. 1994. Corridor Use and the Elements of Corridor Quality: Chipmunks and Fencerows in a Farmland Mosaic. *Biological Conservation*. 68: 155-66.

- Best, L. B. 1983. Bird Use of Fencerows: Implications of Contemporary Fencerow Management Practices. *Wildlife Society Bulletin*. 11: 343-47.
- Capel, S. W. 1988. Design of Windbreaks for Wildlife in the Great Plains of North America. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 22/23: 337-47.
- Curatolo, J. A. & Murphy, S. M. 1986. The Effects of Pipelines, Roads, and Traffic on the Movements of Caribou Rangifer Tarandus. *Canadian Field Naturalist*. 100: 218-24.
- Dramstad, W. E., Olson, J. D. and Forman, R. T. T. 1996. *Landscape Ecology Principles in Landscape Architecture and Land-use Planning*. Washington, DC: Island Publishers.
- Farina, A. 1997. *Principles and Methods in Landscape Ecology*. Chapman & Hall, New York.
- Forman, R. T. T. 1995. *Land Mosaics: The Ecology of Landscape and Region*. New York: Cambridge University Press Publishers.
- Forman, R. T. T. 1983. Corridors in a Landscape: Their Ecological Structure and Function. 2: 375-87.
- Forman, R. T. T. and Godron, M. 1986. *Landscape Ecology*. New York: John Wiley and sons Publishers.
- Henein, K. M. & Merriam, G. 1990. The Elements of Connectivity Where Corridor Quality is Variable. *Landscape Ecology*. 4: 70-157.
- Johnson, R. J. & Beck, M. M. 1988. Influences of Shelterbelts on Wildlife Management and Biology. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 22/23: 30, 1-35.
- Lack, P.C. 1992. *Birds on Lowland Farms*. HMSO, London.
- Mailer, H-I. 1984. Animal Habitat Isolation by Roads and Agricultural Fields. *Biological Conservation*. 29: 81-96.
- Martin, T. B. 1981. Limitation in Small Habitat Islands: Chance or Competition? *Auk*. 98: 715-34.
- Noss, R. F. & Harris, L. B. 1986. Nodes, Networks and MUMS: Preserving Diversity at All Scales. *Environmental Management*. 10: 299-309.
- Noss, R. F. 1983. A Regional Landscape Approach to Maintain Diversity. *BioScience*. 33: 700-706.
- O'Connor, R.J. & Shrubbs, M. 1986. *Farming and Birds*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pons, A., Couteaux, M., de Beaulieu, J. L. & Reille, M. 1990. Plant Invasions in Southern Europe from the Paleocological Point of View. In F. di Castri, A. J. Hansen & M. Debussche, eds. *Biological Invasions in Europe and the Mediterranean Basin*. pp. 169-77.
- Shalaway, S. D. 1985. Fencerow Management for Nesting Birds in Michigan. *Wildlife Society Bulletin*. 13: 302-6.

- Soule, M. E. 1991. Theory and Strategy. In: Landscape Linkages and Biodiversity. Island Press, Washington. pp. 91-105.
- Sparks, T. H., Parish, T., & Hinsley, S. A. 1996. Breeding Birds in Field Boundaries in an Agricultural Landscape. Agriculture, Ecosystems and Environment. 60: 1-8.
- Yahner, R. H. 1982. Avian Use of Vertical Strata and Plantings in Far, Stead Shelterbelts. Journal of Wildlife Management. 46: 50-60.
- Yahner, R. H. 1983. Seasonal Dynamics, Habitat Relationships, and Management of Avifauna in Farmstead Shelterbelts. Journal of Wildlife Management. 47: 85-104.

A Study on the Ecological Effects of Hedgerow Corridors in Rural Area

Yen-Yu Chou ¹⁾ Chun-Yen Chang ²⁾

Key words: Landscape Ecology 、 Corridors 、 Hedgerow Corridors 、 Bird Species

Summary

This study attempts to realize the ecological functions of hedgerow corridors in rural area on landscape ecological approach. To explore the relationship between hedgerow corridors of local Taiwan landscape and bird species and hope the results could be applied to landscape planning work. The study sites are located at Hsinchu County, Jhubei, which has obvious hedgerow corridor patterns. Lapping the aerial map, scale 1:5000, the ArcGIS8.3 and eCognition 4.0 was used to digitize the corridor structures. Field investigation and bird investigation have also been down. The independent variables are the attributes of hedgerow corridors which including hedgerow corridor structure indices, hedgerow corridor network indices and environmental composition indices. The dependent variables are four bird ecological indices, species richness (SR), species diversity (H'), species evenness (J'), species capita (SC). The results show that the attributes of hedgerow corridors structure and hedgerow corridors network have low influences on bird species, and the environmental composition around hedgerow corridors have serious influences on ecological benefit in rural area.

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

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

農村居民社經背景特徵與發展規劃參與程度之關係的研究¹⁾

李美芬²⁾ 歐聖榮³⁾

關鍵字：居民參與、農村發展、個人特質

摘要：本研究之主要目的在於了解農村居民個人特質與其參與農村發展規劃之方式及程度間之關係，以供相關公部門及規劃單位於執行相關計畫、鼓勵民眾參與時之參考。研究中選定南投地區曾執行實質建設發展、產業建設發展及文化精神方面建設發展相關計畫之6個區域進行問卷調查，共得有效問卷384份。經分析結果顯示，居民之個人特質部分，性別差異及是否擔任社區幹部，會影響其參與規劃的方式及程度。針對非幹部之樣本進行分析，居民認為不同層級範圍之規劃案及不同的計畫類型，對其較具吸引力的活動類型不同，即未來針對不同層級、不同類型的計畫，應舉辦不同型式的參與活動。本研究結果，可供相關單位未來執行參與式農村規劃模式之參考。

研究動機及背景

過去數十年來，台灣地區工商業經濟蓬勃發展的結果，導致大量的人口與產業多集中於都會地區，農村地區的發展相對緩慢，勞動力紛往外流，造成都市及農村間所得水準差距持續擴大，農村之文化、教育、醫療品質、公共設施水準及普及率亦皆有落後的現象。此外，因國民平均所得不斷增高，國人對休閒旅遊的興趣及需求亦大量增加，農村以其含

1) 本研究為行政院農業委員會水土保持局研究資助計畫 (91 農科-1.6.3-保-S1)之部分成果，特此致謝。

2) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。

3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

括自然、人文、農業等多樣化的資源，而成為備受矚目潛力遊憩資源。故針對農村地區之各建設項目積極進行發展，對於活絡農村地區之經濟、改善農村的生產條件、提昇農村的環境品質、形塑具魅力的遊憩據點而言，皆將有卓巨的助益。故農村建設實為一重要且刻不容緩的工作。

一地區之發展建設的成敗，往往決定於是否有一妥善的規劃做基礎，規劃的主要目的即在使發展建設能較適切、完滿的達成，故農村發展規劃的良窳，常與後續之實質建設工作推動的成效緊密相關，而如何建立一套良備有效的規劃模式，又為一重要的研究課題。

現行農村規劃工作乃由政府主導、農村居民部分參與之模式。而學者在針對農村發展規劃之相關研究中指出，農村居民為農村事務的主體者、農村居民為農村發展規劃內容的承受者，且農村居民最能了解農村發展，故農村居民廣泛或全面地參與規劃，才是最完滿的參與(蔡宏進，1999; 1997)。而Luz進行景觀生態規劃計畫時，亦曾提出由下而上的參與式決策模式，他認為一個好的方案應該是在所有的學者、政府部門及民間包括科學家，規劃者，政府部門和地方居民間有良好的溝通時所達成的，而達成良好溝通的最佳方式便是由下而上，透過地方居民與學者將意見向上傳達後，決策者可確實瞭解當地地方居民之需求，進而做出能符合當地居民所需要的決策，以避免由決策者直接發佈其決策，而當地居民卻無法享有其成效而造成另一種資源的浪費(Luz, 2000)；此外，Abbott (1995)進行的研究顯示，個人的參與程度越高，代表其對社區的認同程度越高；而Lackey and Dershem (1992)、Tse(1995)亦證實「參與」亦被證實為減弱社區衝突發生有效方法，可以凝聚對社區問題的共識。而由上述之研述可知，農村規劃工作應由農村居民主導以由下而上方式推動。目前台灣部分農村地區及其他許多建設發展計畫，已執行不同程度之民眾參與式之規劃模式，其中不乏執行成功的案例，而有更多計畫則效果不彰。此現象已吸引部分學者之關注，並著手進行研究探討。

回顧學者所進行的相關研究分析，可將阻礙居民參與發展規劃的因素大略分為居民本身的因素、發展規劃方案的性質、地區性的因素及外界或上層機關等大類。本研究擬針對居民個人特徵因子部分，了解居民個人特質與其參與農村發展規劃之方式及程度間之關係，並調查其對民眾參與策略的意見與看法，相關研究結果可供公部門及規劃單位於執行相關計畫、鼓勵民眾參與計畫、提高參與程度時之參考。

文獻回顧

一、農村發展規劃之意涵及內容

中、外對於農村發展規劃之意涵未有統一的定義，但其目標不外乎以改善農村居民工作與生活條件、保存及維護農村風貌與獨特風格、維護自然景觀及農村生態環境為主。日本將農村計畫稱為農村空間計畫或農村整備，包括社會、產業及實質之綜合計畫。社會

計畫與產業計畫是無形的計畫，實質計畫為有形的計畫(鄭詩華, 1991)。而德國農村規劃之內涵主要包括營建計畫、鄉村更新、農地重劃、農業規劃及景觀規劃等大類(劉健哲, 1992)。有關農村發展規劃的類型，可依多種指標來劃分，蔡宏進(1999a)依發展事務之內涵劃分為社區實質建設規劃、農業發展規劃、社區文化與精神倫理的發展規劃、休閒娛樂的發展規劃、安全與安定的發展規劃及宗教信仰的發展規劃等 6 類；而依計畫之主導者而分，則大略分為由政府主導者及由地方自發的發展方案 2 類。劉健哲(2000)則將農村規劃建設依其範圍及內容分為居住環境及基礎建設、產業及農業發展、社會與文化發展、生態與環境維護等 4 類。蔡宏進於 1997 年將範圍繁多的農村發展事務，概分為實質的建設與發展(包括住宅、道路、溝渠、公共活動中心、電訊、用水等建設)、產業的建設與發展(包括農業、林業、礦業、工商業、服務業等)，以及心理及精神方面的建設與發展(包括行為態度、風俗習慣、道德法律、文物藝術、宗教信仰與活動等)等 3 大類(蔡宏進, 1997)。這些建設與發展對於農村居民的生活程度與水準及農村社會整體的品質與形象，都有正面與增強的意義。本研究綜合上述之分類，將居民參與之發展規劃方案的性質分為社區實質建設規劃、農業產業發展規劃、社區文化與心理精神的發展規劃等 3 大類。

二、居民參與及居民參與阻礙因子

為了使農村發展規劃之內容之成果切合農村居民之需要，採用由下而上之「居民參與」規劃模式為一最佳途徑。「居民參與」的類似用語有許多，例如「民眾參與」、「公眾參與」、「社區參與」、「社會參與」等。回顧學者所進行的居民參與相關研究可知，不同的計畫類型導入「居民參與」規劃模式時，皆可能遭遇不同的阻礙因子。本研究綜合各學者的研究，將阻礙居民參與發展規劃的因素大略分為居民本身的因素(蔡宏進, 1997, 1999b; 陳亮全, 1993; 李永展, 2001; 李明宗, 1994; 陳恆鈞, 1997; 李燦東, 1994; 李怡娟, 1995)、發展規劃方案的性質(蔡宏進, 1997, 1999b; 陳亮全, 1993; 王本壯, 2000; 林欽榮, 1999; 李永展, 2001; 王培蓉等, 2000; 陳恆鈞, 1997)、地區性的因素(蔡宏進, 1997, 1999b; 陳亮全, 1993; 王本壯, 2000; 林欽榮, 1999; 李永展, 2001; 王培蓉等, 2000; 陳恆鈞, 1997)及外界或上層機關等部分(王本壯, 2000; 王培蓉等, 2000; 朱斌好與李素貞, 1998; 李明宗, 1994; 李燦東, 1994; 林欽榮, 1999; 陳亮全, 1993; 陳恆鈞, 1997; 陳愛娥, 1998; 廖耀東, 1998; 蔡宏進, 1997); 而本研究關注的焦點—與居民本身特質有關的阻礙因子—包括參與態度的偏差、年齡、居住地點、教育程度、社經地位、個性、能力、是否為社區幹部、個人利益、民眾心態、民主素養、生活水準等。

三、居民參與情形之度量

學者提出之度量“參度程度”的方法有許多，如吳坤良(1999)於進行老人的社區參與程度相關研究時，即以「出席」、「涉入」、「控制」、「全心投入」等四個向度做為「社區參與程度」之反應指標。蔡宏進(1999b)於進行農村居民參與農村發展規劃之問題的研究時，則針對居民參與計畫之層面(類型)、方式與程度進行探討，其綜合不同主導者之發展計畫的參與方式與角色，將其分成最主要領導者、基本幹部、贊助者或附和者、幕後出

主意者、出錢出力者、反對者及其他等類型;而在參與程度部分其使用之二種量表，一種是問其主動與熱心與否的程度(參與態度)，另一種是直接問其參與的高、中、低及不參與等四種不同程度。此外，值得一提的是「參與方式」與「參與程度」間以未完全獨立不相關。如 Chapin(1939)提出的五種參與尺度來衡量參與成員的參與程度，這五種參與尺度(scale)由淺而深分別是(1)加入會員，(2)出席情形，(3)貢獻財物，(4)委員會成員，(5)持有辦公室者。此五種尺度實為不同的“參與方式”。而陶蕃瀛(1993)在探討博物館的社區居民參與問題時，更直接將「參與方式」與「參與程度」進行連結，如擔任相關幹部及負責計畫規劃表示“高度參與”，而僅接受服務人員訪問徵詢參觀意見則代表“低度參與”。惟此部分之問題與本研究無直接相關，故不進行深入探究。

研究方法

一、研究架構及研究變項

綜合上述之研究問題及相關文獻回顧，將本研究之研究變項內容略述如後：

(一)影響居民參與計畫之個人特質因素

在居民本身的因素部分，本研究依據蔡宏進(1999a)及陳亮全(1993)等學者之研究及論述，抽取年齡、性別、職業、教育程度、宗教、經濟狀況、居住年限、是否擔任幹部等8項個人特質因素，探討其與居民之參與程度、參與方式之關係。

(二)居民參與方式與程度

本研究採用居民的參與方式與參與程度二個度量因子，做為檢測居民參與情形的重要指標。參與方式(角色)包括「最主要領導者」、「基本幹部」、「贊助者或附和者」、「幕後出主意者」、「出錢出力者」、「反對者」、「其他」等類型(蔡宏進, 1999a);而參與程度則使用直接問其參與的高、中、低及不參與等四種不同程度，為單純自評式的度量法。

(三)促進民眾參與策略之意見

本研究回顧相關案例及各學者提出之農村規劃模式，選取於執行農村發展計畫時，導入民眾參與模式時，可能產生的關鍵問題，於問卷中探詢農村居民的看法，以供後續建置規劃模式時之參考。選取的問題包括「計畫的參與者」、「活動舉辦的類型」、「活動的經費」、「本身願意參與的方式」等4項。

二、調查樣區及調查計畫

原擬針對南投地區農村社區，抽取研究樣區，進行現有參與式規劃模式之執行現況及居民相關意見之調查問卷200份，並提出分析結果。而因考量農村發展規劃之計畫類型及計畫層級，可能所需的參與模式不同，故將原定調查之200份問卷擴充，使調查層級包含執行村里、鄉鎮等級，計畫類型則含括實質建設、產業建設及社區文化等不同類型。本

次研究之調查計畫主要分村里等級與鄉鎮等級二部分進行，調查時間為 2002 年 6 月。共計獲得有效問卷 384 份。

(一)村里等級部分

於南投地區選定執行實質建設發展、產業建設發展及文化精神方面建設發展相關計畫之 3 個聚落，分別為集集鎮田寮里(88 年執行「田寮里社區重建景觀工程」、水里鄉上安村(88 年執行「上安社區重建景觀工程」、松柏嶺地區(88 年執行「松柏嶺受天宮地區總體營造計畫」)。每樣本社區以隨機取樣方式進行調查，得有效樣本 152 份。

(二)鄉鎮等級部分

選定南投地區執行實質建設發展、產業建設發展及文化精神方面建設發展相關計畫之 3 個鄉鎮，分別為水里鄉(88 年執行執行「水里溪創作藝術河堤計畫工程」、埔里鎮(87 年執行執行「埔里花都營造計畫」、草屯鎮(88 年執行「草屯稻草文化產業振興計畫」、89 年執行「稻草文化產業振興計畫」)。抽樣方式採集群抽樣法中之二階段地區抽樣法(two-stage area sampling)進行調查，將每鄉鎮依經建圖上之經、緯線之格線劃分 2*2 平方公里之區塊若干個。第一階段先淘汰鄉鎮邊緣無人居住之零碎區塊，第二階段則針對每一鄉鎮隨機抽取 10 個塊區、每區抽取 5 個樣戶進行調查，得有效樣本 145 份。此外亦針對此三鄉鎮之社區發展委員會幹部、村里長、幹事等重要社區幹部利用電話訪談或親自訪談的方式進行調查，得有效問卷 87 份。共計於鄉鎮等級之樣區取得有效問卷 232 份。

結 果

(一)樣本特性

本研究共調查 384 個農村居民，分別抽自於南投地區之 6 個樣區。在受訪者年齡部分，以 35-49 歲之中年人居多，佔 46.9%；在性別部分，男性受訪者較多，約佔 61.8%，女性則佔 38.2%；受訪者職業部分，以農林漁牧業者佔最多，為 29.4%，其依次為軍公教佔 13.5%，服務業有 12.7%，從事工業之受訪者最少，僅佔 4.5%；受訪者有擔任過地方幹部者佔 48.2%，無擔任幹部者佔 51.8%。

(二)具不同個人特質之農村居民參與農村發展規劃之方式與程度

本研究於探討農村居民參與之問題時，以居民對計畫案之「參與方式」與「參與程度」來檢示居民參與計畫的情形，其中「參與程度」又分為“積極參與”與否的「參與態度」及“自評式”之「參與程度」2 種度量方式。而因考量「參與方式」、「參與程度」間似未完全不相關，故綜合探討相關可能之阻礙因子與此 2 個檢測變數間之關係(表 1、表 2)。在居民本身因素部分，分析結果顯示，性別差異及是否擔任社區幹部與其參與計畫的方式及程度有顯著關聯。居民之「參與程度」與「性別」因子有顯著關聯($\chi^2=9.946$, $p=0.019<0.05$)。男性居民面對農村規劃時主要為中度參與(32.8%)或高度參與(30.6%)；女

表 1. 個人特質因子與「參與方式」之關聯性分析表

Table 1. The contingency analysis between personal characteristics and their participant way.

	參與方式(角色) Participant way							sum	P χ^2 values
	①領導者 leader	②基本幹部 cadre	③附和者 echo	④出主意者 Supply ideas	⑤出錢出力 Fund & effort	⑥反對者 objector	⑦其它 other		
	% (N)	% (N)	% (N)	% (N)	% (N)	% (N)	% (N)		
1. 是否擔任幹部 Served as a cadre									.P=000***
① 未擔任 Yes	0(0)	24.6(15)	54.1(33)	3.3(2)	4.9(3)	0(0)	13.1(8)	100.0(61)	35.779
② 擔任 No	19.1(22)	42.6(49)	20.0(23)	5.2(6)	0(0)	0(0)	13.0(15)	100.0(115)	

* 表示達 p=0.05 顯著水準，*** 表示達 p=0.001 顯著水準

* Significance at 5% level, *** Significance at 0.1% level

表 2. 個人特質因子與「參與程度」之關聯性分析表

Table 2. The contingency analysis between personal characteristics and their involvement level in planning.

	參與程度 The level of involvement				Sum	P χ^2 value
	① 高度參與 high	② 中度參與 medium	③ 低度參與 low	④ 不參與 no		
	% (N)	% (N)	% (N)	% (N)		
1. 性別 gender						p=.019*
① 男 male	30.6(55)	32.8(59)	9.4(17)	27.2(49)	100.0(180)	9.946
② 女 female	13.2(12)	39.6(36)	11.0(10)	36.3(33)	100.0(91)	
2. 是否擔任幹部 Served as a cadre						p=.000***
① 未擔任 Yes	12.2(14)	30.4(35)	11.3(13)	46.1(53)	100.0(115)	29.140
② 擔任 No	34.2(50)	37.7(55)	8.9(13)	19.2(28)	100.0(146)	

* 表示達 p=0.05 顯著水準，** 表示達 p=0.01 顯著水準，*** 表示達 p=0.001 顯著水準

* Significance at 5% level, ** Significance at 1% level, *** Significance at 0.1% level

性居民者參與農村規劃的程度主要為中度參與(39.6%)或沒有參與(36.3%)。居民「是否擔任幹部」與其「參與方式」、「參與程度」間皆有顯著關聯。在「參與方式」與「是否擔任幹部」之關聯分析部分($\chi^2=35.779$, $p=.000 < 0.05$)，沒有擔任幹部者在參與農村規劃時之角色大多為贊助附和者(54.1%)；擔任幹部者在參與農村規劃時之角色則為基本幹部(42.6%) (表 1)。在「參與程度」與「是否擔任幹部」之關聯分析部分($\chi^2=29.140$, $p=.000 < 0.05$)，未擔任幹部之居民，參與農村規劃的程度主要為沒有參與(46.1%)、或中度參與(30.4%)；而擔任社區幹部者，則多自評為中度(37.7%)及高度參與(34.2%)。

另考量“一般居民”(非幹部)與“社區幹部”之參與程度的差異，進一步將幹部之樣本與一般居民之樣本分離，分別進行分析(表 3)。針對一般居民樣本進行分析，發現其在「參與程度」與「計畫層級(計畫範圍劃定)」間有顯著關聯($\chi^2=12.825$, $p=.005 < .05$)。經檢示其頻度分布情形可知，沒有擔任幹部之居民，在參與村里層級之計畫時之參與程度主要為中度參與(43.1%)；面對鄉鎮級之規劃時，一般居民有近 6 成者表示沒有參與(59.4%)。另針對社區幹部樣本進行分析，發現其在「參與程度」與「計畫層級(計畫範圍劃定)」間亦有顯著關聯($\chi^2=12.825$, $p=0.006 < 0.05$)。經檢示其頻度分布情形可知，在參與村里層級之計畫時，幹部之參與程度主要為中度參與(47.9%)，不參與之比率則很少(8.3%)；而面對鄉鎮級之規劃時，有參與計畫之幹部，多為高度(37.8%)及中度(32.74%)的參與，另值得注意的是，相較於村里等級的計畫，幹部沒參與鄉鎮等之計畫的比率較高(24.5%)。

(三)對促進民眾參與策略的看法

由前述分析可知，農村居民是否擔任幹部與其參與農村發展規劃的方式及程度有極大相關；而居民之參與方式，又與計畫類型、計畫層級有關。進一步分離社區幹部與一般居民的樣本，分別探討其針對不同類型、不同層級之計畫之民眾參與促進意見(包括「計畫的參與者」、「活動舉辦的類型」、「活動的經費」、「本身願意參與的方式」)的看法。

(1)社區幹部對促進民眾參與策略的看法

抽取社區幹部之樣本，針對「計畫的參與者」、「活動舉辦的類型」、「活動的經費」、「本身願意參與的方式」此 4 類參與建議與「計畫類型」、「計畫層級」2 變項間，以卡方分析(χ^2)進行檢定，檢測其間之關連。分析結果顯示，社區幹部對未來促進民眾參與策略的看法，僅在「計畫層級」與「本身選擇參與的方式」間有顯著關連($\chi^2=10.716$, $p=0.030 < 0.05$) (表 4)。檢示其頻度分佈，可知，社區幹部在面對村里層級之計畫時，會選擇的參與方式主要以出力、不出錢的方式(34.4%)，其次為出錢、出力的方式(31.1%)；而參與鄉鎮級之計畫時，幹部主要選擇的參與方式以出錢、出力者為多(44.7%)。

表 3. 「居民」及「幹部」之不同計畫層級與「參與程度」的關聯性分析表

Table 3. The contingency analysis between the level of participating project and the involvement level in planning of resident and cadre.

	參與程度 The level of participation				Sum %(N)	p (χ^2 值)
	① 高度參與 high %(N)	② 中度參與 medium %(N)	③ 低度參與 low %(N)	④ 不參與 no %(N)		
1.居民參與 Resident participate in						p=.005
① 村里層級計畫 Neighborhood-level project	17.6(9)	43.1(22)	9.8(5)	29.4(15)	100.0(51)	12.825
② 鄉鎮層級 Village-level project	7.8(5)	20.3(13)	12.5(8)	59.4(38)	100.0(64)	
2.幹部參與 cadre participate in						p=0.006
① 村里層級計畫 Neighborhood level project	27.1(13)	47.9(23)	16.7(8)	8.3(4)	100.0(48)	12.289
② 鄉鎮層級計畫 Village level project	37.8(37)	32.7(32)	5.1(5)	24.5(24)	100.0(98)	

*** 表示達 p=0.000 顯著水準 *** Significance at 0.1% level

(2) 一般居民對促進民眾參與策略的看法

抽取一般居民(非幹部)之樣本，針對「計畫的參與者」、「活動舉辦的類型」、「活動的經費」、「本身願意參與的方式」此 4 類參與建議與「計畫類型」、「計畫層級」2 變項間，以卡方分析(χ^2)進行檢定，檢測其間之關連。分析結果顯示，在「計畫類型」與「較具吸引力的活動」間($\chi^2=29.222$, $p=0.004<0.05$)，及「計畫層級」與「較具吸引力的活動」間($\chi^2=10.326$, $p=0.035<0.05$)有顯著關係(表 5)。

一般居民面對社區實質建設規劃之類型的計畫時，認為較能吸引其參加的活動類型主要為意見交流討論會(37.5%)及公眾服務(義工)活動(31.3%)；參加農業產業發展規劃類型時，一般居民認為較能吸引其參加的活動類型主要為意見交流討論會(37.5%)；而針對社區實質建設規劃及社區文化與心理精神的發展之類型的計畫時，一般居民認為較能吸引其參加的活動類型主要為意見交流討論會(36.4%)，其次為居民構想發表會及公眾服務(義工)活動(皆佔 27.3%)。而在「計畫層級」與「較具吸引力的活動」部分，一般居民在參與村里層級之計畫時，認為較能吸引其參加的活動類型主要為意見交流討論會 32.2%)；而參與鄉鎮級之規劃時，一般居民認為較能吸引其參加的活動類型主要為說明會、公聽會(32.4%)。

表 4. 社區幹部「參與方式」與「計畫層級」之關聯性分析表

Table 4. The contingency analysis between the level of participating project and preference of participant way of cadre.

	參與方式偏好 preference of participant way					sum %(N)	p χ^2 value
	① 出錢出力 Fund & effort	② 出錢、不出力 Fund & no-effort	③ 不出錢、出力 No-fund & effort	④ 不出錢、不出力 No-fund & no-effort	⑤ 其它 other		
	%(N)	%(N)	%(N)	%(N)	%(N)		
計畫層級 Type of project							p=0.030*
① 村里層級計畫 Neighborhood-level project	31.1(19)	4.9(3)	34.4(21)	3.3(2)	26.2(16)	100.0(61)	10.716
② 鄉鎮層級 Village-level plan project	44.7(55)	0.8(1)	40.7(50)	1.6(2)	12.2(15)	100.0(123)	

* 表示達 p=0.05 顯著水準 * Significance at 5% level

討論與建議

經本研究分析結果，可知、規劃方案之性質、地區性因素及外界或上層機關部分等四大領域皆有部分因子對農村居民參與農村發展規劃造成顯著的阻礙。研究結果顯示，居民個人特質部分，性別差異及是否擔任社區幹部，會影響其參與規劃的方式及程度。女性居民之參與情形較被動、參與程度較低。而檢視男、女性受訪者對阻礙參與因素的認知，可知，女性居民者認為會影響農村居民參與農村發展規劃之較重要的個人因素為經濟條件及時間，且認為參與活動需具備專業技術或知能。曾進勤(1995)於進行婦女社區參與的相關研究中提出，婦女因其基本的人格特質因素，彼此號召力較強，較具犧牲奉獻之精神，適宜從事事務性工作。故在促農村居民參與相關發展建設規劃時，應針對婦女特質，考量農村婦女之作習時間，充份利用農村婦女人力資源，提供平等參與機會。

社區幹部因其本身因角色的問題，參與程度與態度皆較積極，另從受訪者對「領導者因素」部分之參與阻礙認知可知，約五成之農村居民認為領導者之能力會影響民眾參與計畫的情形，故社區幹部的素質，將對民眾參與的品質有著實的影響，如何培訓優秀社區領袖，為推動居民參與規劃的重要課題。

綜合本研究對農村居民之調查結果的分析與討論可知，未來執行農村發展相關規劃時，欲提高居民之參與程度，可藉由考量農村婦女之作習時間，以提供平等之二性參與機會；舉辦居民教育訓練，培養居民之專業技術或知能，有助提高其參與計畫的自信心，進而改善參與情形；舉辦幹部訓練及教育訓練，培養優秀之社區領導者及幹部，提昇民眾參與品質等策略來達成。

表 5. 居民對不同「計畫類型」、「計畫層級」與「參與活動偏好」之關聯性分析表
 Table 5. The contingency analysis between the type of project, the level of project, and preference of participant activities of residents.

	參與式活動偏好 preference of participant activity					Sum %(N)	p (χ^2 值)
	①公聽說明會 宣告 Announcing meeting %(N)	②意見發表會 Opinion- expressing meeting %(N)	③意見討論會 forum %(N)	④公眾服務活動 Public service activity %(N)	⑤其它 other %(N)		
	1.計畫類型 Type of project						
①實質建設發展 Physical development	18.8(3)	12.5(2)	37.5(6)	31.3(5)	0(0)	100.0(16)	29.222
②農業產業發展 agriculture development	26.3(5)	15.8(3)	42.1(8)	15.8(3)	0(0)	100.0(19)	
③文化發展 culture development	9.1(1)	27.3(3)	36.4(4)	27.3(3)	0(0)	100.0(11)	
④其它 other	33.3(3)	0(0)	0(0)	22.2(2)	44.4(4)	100.0(9)	
2.不同計畫層級 The level of project							p=0.035*
①村里層級計畫 Neighborhood level project	15.3(9)	22.0(13)	32.2(19)	22.0(13)	8.5(5)	100.0(59)	10.326
②鄉鎮層級計畫 Village level project	32.4(33)	19.6(20)	27.5(28)	19.6(20)	1.0(1)	100.0(102)	

* 表示達 p=0.05 顯著水準，** 表示達 p=0.01 顯著水準

* Significance at 5% level, ** Significance at 1% level

參考文獻

王本壯。2000。從社區總體營造推動地方特色產業振興的策略--以三義木雕產業為例。聯合學報。17: 125-134。

王培蓉、鄭欽龍、鄭祈全。2000。六龜試驗林森林經營決策中發展地方民眾參與之研究。臺灣林業科學。15(2): 245-255。

朱美珍。1995。由人力資源網絡論社區意識的凝聚。社區發展季刊。69: 67-74。

朱斌好、李素貞。1998。環境影響評估中民眾參與機制之檢討。中國行政評論。8(1): 85-114。

吳坤良。1999。老人的社區參與動機、參與程度與生活適應之相關研究。成人教育輔導季

- 刊。38-46。
- 李永展。2001。社區產業經營與民眾參與--以水里上安社區為例。看守臺灣。2001(6): 25-29。
- 李怡娟。1995。如何促進社區民眾參與基層保健工作。社區發展季刊。69: 95-100。
- 李明宗。1994。民眾參與的理論與實務初探—以鄰里公園規劃、設計及管理為例。休閒、觀光、遊憩論文集。pp: 175-198。台北，地景出版社。
- 李燦東。1994。都市計畫民眾參與問題之研究。計畫經緯。1994(6): 33-42
- 林欽榮。1999。社區的出路--臺北市「社區設計」制度發展的出路從「地區環境改造計畫」到「社區規劃師實驗示範計畫」。空間。119: 25-48。
- 陳亮全。1993。親手造家園--民眾參與的空間規劃設計系列演講福林社區的居民參與。空間。51: 115-118。
- 陳恆鈞。1997。由「公私部門合夥」觀念談民眾參與政府建設。人力發展。47: 32-41。
- 陳愛娥。1998。民眾參與的理念與實際--以民眾參與「水庫集水區」的管理為例。中央警察大學法學論集。1998(3): 41-64。
- 陶蕃瀛。1993。論博物館的社區居民參與。博物館學季刊。7(2): 9-15。
- 曾進勤。1995。從實務面談婦女的社區參與—以高雄市社區婦女為例。社區發展季刊。71: 72-80。
- 廖耀東。1998。淺談如何加強民眾參與都市計劃之規劃及審議機制。臺灣地政。152: 12-14。
- 劉健哲。1992。德國農村規劃之目標、內涵及其組織概況。台灣地政。81: 21-43。
- 劉健哲。2000。農村規劃與村民參與。農業金融論叢。43: 147-176。
- 蔡宏進。1997。農村居民參與農村發展規劃的性質與問題。農政與農情。86(8): 26-35。
- 蔡宏進。1999a。Factors Impeding Rural People's Participation in Rural Development Planning in Taiwan。農業推廣學報。16: 67-81。
- 蔡宏進。1999b。農村居民參與農村發展規劃之研究。農業金融論叢。88(7): 81-116。
- 鄭詩華。1991。日本農業法制系統研究之5：農村規劃之理念及法制。經社法制論叢。7: 77-118。
- Abbott, J. 1995. Community participation and it's relationship to community development. *Comm. Devel. J.* 30(2): 158-168.
- Chapin, F. S. 1939. Social participation and social Intelligence. *Amer. Sociol. Rev.* 4: 157-166.
- Lackey, A. and L. Dershem. 1992. The process is pedagogy: what does community participation teach? *Comm. Devel. J.* 27(3): 220-234.
- Luz, F. 2000. Participatory landscape ecology—A basis for acceptance and implementation, *Landscape Urban Plan.* 50: 157-166.
- Tse, W. L. 1995. Resistance to community-based learning disability facilities: implications for prevention. *Comm. Devel. J.* 30(1): 83-91.

The Study of Relationship between Residents' Demographic Characteristics and their Participation Level in Development and Planning for Rural Areas ¹⁾

Mei-Fen Lee ²⁾ Sheng-Jung Ou ³⁾

Key words: Residents' Participation, Planning of Rural Areas, Characteristics

Summary

The major purpose of this study is to understand the constraint factors of resident's participation in development and planning for rural areas. It is expected that the study results provide references for related agencies and planning teams in implementing planning projects. The study selects six survey areas where the projects of physical development, agricultural development, and cultural development had been implemented in Nantou County. Through sampling, the study obtains 384 valid samples. By using descriptive statistics and chi-square test, the study obtains the following results: Gender and whether residents play a responsible role in community development or not have an influence on residents' participation way and involvement level in planning.

-
- 1) This research was supported by grants from the Soil and Water Conservation Bureau, Council of Agriculture, Executive Yuan, under project No. 91AS-1.6.3-SW-S1.
 - 2) Ph.D. student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
 - 3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.