

溫度對文心蘭與彩色海芋組培苗二氧化碳利用能力的影響¹⁾

吳順宗²⁾ 林瑞松³⁾

關鍵字：溫度、二氧化碳、葉綠素、氣孔、組織培養

摘要：彩色海芋組培苗在 35°C 處理時停止生長，而文心蘭組培苗在此溫度處理下，葉綠素含量大量下降，且此溫度造成兩者暗期二氧化碳釋放量最低，使得組培苗明期二氧化碳利用能力下降，而其乾重也降至最低。文心蘭組培苗在 30°C 時氣孔長度、所有葉綠素含量及暗期二氧化碳釋放量最高，而彩色海芋組培苗在 25°C 時氣孔寬、氣孔密度、所有葉綠素含量及暗期二氧化碳釋放量最高，有利於明期二氧化碳利用，因此其乾重有最大值。

前 言

組培苗生長除受培養基配方的影響外，環境條件(溫度、二氧化碳)也佔有重要的角色。低溫(8°C)使得菊花培植體葉綠素含量降低(Huitema *et al.*, 1987)。而草莓小植株(plantlet)在 25°C 有最高的光合作用能力，且植株根乾重、莖乾重與葉片乾重值最大(Oda, 1989)。在二氧化碳對培植體生育的影響方面。瓶內二氧化碳濃度愈高，培植體枝梢數目(Nour 與 Thorpe, 1994)、長度 (Seko and Kozai; 1996; Fournioux 與 Bessis 1993)與枝梢再生存活率(Seko 與 Nishimura 1996)會增加，體胚生成愈多(Kvaalen and Arnold, 1991; Johansson and Eriksson, 1984)，且培植體吸收 $^{15}\text{NO}_3^-$ 及 $^{15}\text{NH}_4^+$ 能力，較低二氧化碳濃度來得高(Hdider *et al.*, 1994)，而細胞內 NO_3^- 及 NH_4^+ 的含量會影響培植體的生長(Bayley *et al.*, 1972; Thorpe *et al.*, 1989)。當二氧化碳濃度較高時，單位細胞葉綠體數目，單位鮮重及乾重的葉綠素含量

1) 本文承行政院農委會 88-生技-2,3-糧-03(5)研究經費補助，特表謝忱。

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。

(Bockers *et al.*, 1997), 葉片柵狀組織厚度、氣孔密度及光合作用(Kirdmanee *et al.*, 1992; Kirdmanee *et al.*, 1995)較低二氧化碳濃度來得高, 使得培植體鮮重、乾重、葉面積、淨光合作用、寡糖含量及葉綠體內有澱粉粒形成(Tanaka *et al.*, 1999)較低二氧化碳濃度處理來得高(Fujiwara *et al.*, 1995; Heo *et al.*, 1996; Jeong *et al.*, 1996)。由此可知, 溫度與二氧化碳對組培苗生長有非常重大的影響。文心蘭南西品種(*Oncidium`Gower Ramsey`*)由於花莖細長又具有分枝, 花朵小且多, 而彩色海芋(*Zantedeschia hybrida Hort.*)由於花朵色彩豔麗、切花壽命長達二星期, 兩者頗受市場歡迎。未來對文心蘭及彩色海芋種苗的需求量勢必大增, 因此利用組織培養技術來大量生產健康的組培苗也是一種必然的趨勢。本篇報告在探討不同溫度處理, 對文心蘭與彩色海芋組培苗二氧化碳利用能力及其生育的影響, 以尋求最適當的生長環境。

材料與方法

一、試驗材料

文心蘭南西品種 (*Oncidium`Gower Ramsey`*)。自彰化縣大村鄉臺大蘭園購買剛移植至發根培養基的瓶苗, 每一培植體葉片數約 3-4 片, 每一瓶約二十五株。在兩小時內運回實驗室放置於生長箱中進行光度與溫度試驗。

彩色海芋 (*Zantedeschia hybrida Hort.*)自臺中縣新社鄉種苗繁殖場取得剛移植至發根培養基的瓶苗, 移植時將培植體枝梢切除。每一瓶約二十二株。在兩小時內運回實驗室放置於生長箱中進行光度與溫度試驗。

二、試驗方法

將取回的瓶苗置於生長箱中, 光週期為十二小時明期十二小時暗期, 光度 $45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 溫度分別為 20°C 、 25°C 、 30°C 及 35°C 。每隔一週分析瓶內二氧化碳含量, 每兩小時測定一次, 連續 24 小時, 共檢測四週。四週後將瓶苗取出, 分析葉片葉綠素含量、氣孔形態、小苗的生長狀況及碳水化合物含量。

三、分析方法

(一)二氧化碳含量測定

每隔一週檢測瓶內二氧化碳在 24 小時內含量的變動。方法為每 2 小時以 1ml 塑膠針筒自瓶內抽取氣體, 連續 24 小時。利用氣體分析儀測定二氧化碳含量, 每瓶為一重複, 共 3 重複。明期二氧化碳利用能力計算方法, 為每一小時瓶內二氧化碳減少的量(ppm/hr), 暗期二氧化碳釋放量計算方法, 為每一小時瓶內二氧化碳增加的量(ppm/hr)。

二氧化碳濃度以 Shimadzu 公司之 GC-8A 型氣相層析儀分析, 其分析原理係利用熱傳導式偵測器(Thermal Conductivity Detector; TCD), 析儀管為 2.5 公尺長之不銹鋼管,

內部充填活性碳(Activated charcoal) 60/80 mesh。偵測器及注射孔溫度設為 200°C，析離管為 150°C，載體為氫氣。

(二)葉綠素含量分析

自每一植株取 0.2 克新鮮葉片切成數片，浸泡於 10ml 由 80%Acetone 及 20%Methanol 配製之溶液中，置於黑暗中 24 小時，在以光電比色計(HITACHI U-2001 Spectrophotometer) 測定在 645 nm、652 nm、663 nm 波長下之吸收值，並利用下列公式計算單位葉重內葉綠素 a、b 及總葉素含量。每一瓶取三株(0.2 克新鮮葉片)，每一瓶為一重複，共五重複。

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

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

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

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

W:葉片組織鮮重量(g)

(三)葉片氣孔數目之觀察

利用指甲油印膜法觀察葉片下表皮氣孔數目。每一瓶取三個植株，選擇完全展開的葉片，以透明指甲油均勻塗抹在葉片下表皮，待 5-10 分鐘後薄膜已完全風乾，再以鑷子輕輕將薄膜撕下，置於載玻片上，蓋上蓋玻片後置於光學顯微鏡下觀察並照相計錄，每一瓶為一重複，共五重複。

(四)果糖、葡萄糖及蔗糖分析

1.樣品萃取

稱取文心蘭及彩色海芋組培苗之乾燥粉末 0.1 g 加入 5 ml 80%酒精，置入 70°C 水浴 15 分鐘連續萃取 3 次，取上層液。上層液經減壓濃縮機(vapour-Mix KC-12)在 50°C 下除去酒精，並以 1 ml 去離子水溶解，定量至 1.5 ml，經 0.45 μm Syringe Filter(Nalgene U.S.A.) 過濾膜除去大分子，濾液供 HPLC 分析果糖、葡萄糖及蔗糖含量。每一處理為三重複。

2.樣品分析

HPLC 分析系統包括 Shimadzu LC-10AT pump, RID-10A detector, CTO-10AS oven, TSKgel Amide-80 column (4.6mmID×25cm), 移動相為氫甲烷(CH₃CN)與水比例 70:30(v/v) 之溶液，流速為 1ml/min, Amide-80 column 溫度控制在 70°C。以葡萄糖、果糖及蔗糖混合液 1000 ppm 做標準品檢量線，由積分儀所計錄標準品各成份的停滯時間及積算面積，藉此標準品之定量即可求得樣品的成份及相對含量。

四、統計分析

試驗所得數據以變方分析(Analysis of Variance)測驗其顯著情形，並以鄧肯氏多變域分析(Duncan's Multiple Range Test)檢查其 5%的差異顯著性。

結 果

一、溫度對明期的固碳作用與暗期呼吸作用的影響

文心蘭組培苗在 30°C 有最高的二氧化碳利用能力為 4340 ppm/hr，25°C 次之，在 35°C 則有最低的二氧化碳利用為 476 ppm/hr。彩色海芋組培苗則在 25°C 也有最大的二氧化碳利用能力為 3301 ppm/hr，30°C 次之，在 35°C 處理下則有最低的二氧化碳利用能力為 397 ppm/hr(圖 1)。因為文心蘭組培苗在 35°C 處理時，葉片葉綠素含量明顯降低，嚴重影響其光合作用，而彩色海芋組培苗在此溫度缺乏綠色葉片可供進行光合作用，因此其值也是最低(表 1)，可以看出在 35°C 處理下對組培苗生長有不利的影響。

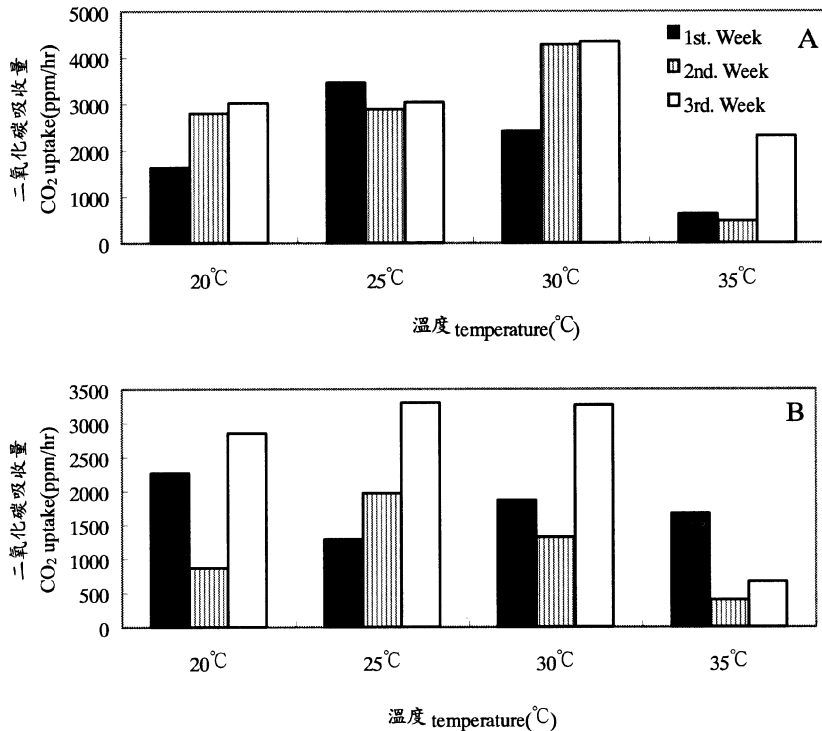


圖 1. 溫度處理對文心蘭與彩色海芋組培苗明期二氧化碳吸收量的影響

Fig. 1. Effect of temperature on CO₂ uptake during light duration in *Oncidium* 'Gower Ramsey' (A) and *Zantedeschia hybrida* Hort. (B) plantlets in vitro. The photosynthetic photon flux during the light period is 45 μ mol/m²/s. The light duration is 12 hours and dark duration is 12 hours. Each value represents the mean of three replications

由於在試驗中，並沒有對瓶內添加二氧化碳，因此組培苗光合作用所需的二氧化碳皆由其呼吸作用所提供，因此呼吸作用的強弱也會間接影響組培苗光合作用。在 30°C 處理下文心蘭組培苗在暗期有最高的二氧化碳釋放量為 926 ppm/hr，25°C 次之，在 35°C 處理下有最低的暗期二氧化碳釋放量為 231 ppm/hr。彩色海芋在 25°C 處理下有最高的暗期二氧化碳釋放量為 1279 ppm/hr，30°C 次之，在 35°C 處理下有最低的暗期二氧化碳釋放量為 75 ppm/hr(圖 2)。從植物生理學觀點，呼吸作用愈強則蔗糖及澱粉水解速率較高(糖解作用較高)，而產生的葡萄糖及果糖則轉變成糖解作用最終產物丙酮酸進行下一個反應，

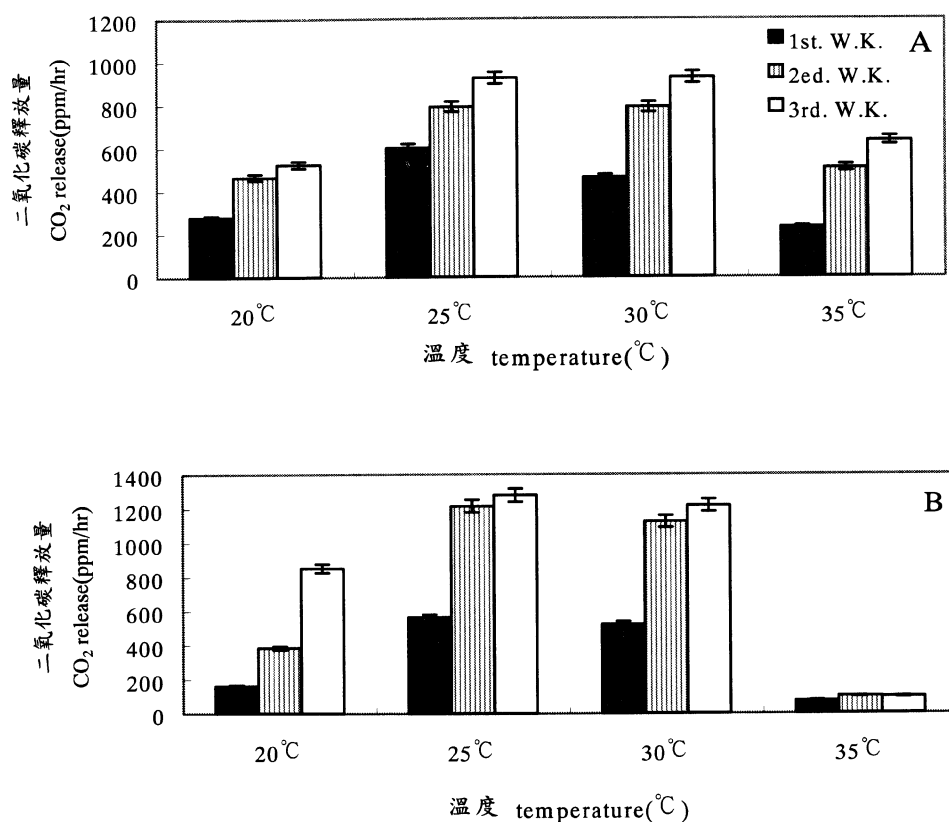


圖 2. 溫度處理對文心蘭與彩色海芋組培苗暗期二氧化碳釋放量的影響

Fig. 2. Effect of temperature on CO₂ release during dark duration in *Oncidium 'Gower Ramsey'* (A) and *Zantedeschia hybrida Hort.* (B) plantlets in vitro. The photosynthetic photon flux during the light period is 45 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. The light duration is 12 hours and dark duration is 12 hours. Each value represents the mean of three replications

因此果糖及葡萄糖含量會降低。在本試驗中，文心蘭在 35°C 處理下蔗糖及果糖含量最高，分別為 52705 ppm 及 24860 ppm，在 25°C 處理下果糖含量加葡萄糖的含量最低，30°C 次之。彩色海芋在 35°C 處理下果糖加葡萄糖含量最高，25°C 處理下果糖含量加葡萄糖含量最低，30°C 次之(表 2)。

二、氣孔特性、葉綠素含量與固碳能力的相關性

溫度除直接影響組培苗二氧化碳的利用之外，也可能藉由改變光合作用器官型態如葉綠素含量與氣孔特性而影響光合作用。就文心蘭而言，在 30°C 處理下其葉綠素 a、葉綠素 b 及所有葉綠素含量最高，分別為 0.40、0.16 及 0.59 mg/g。但彩色海芋在 30°C 時其葉綠素 a、葉綠素 b 及所有葉綠素含量最低，分別為 0.09、0.06 及 0.15 mg/g，在 25°C 則有最大值，分別為 0.25、0.10 及 0.37 mg/g(表 1)。溫度對氣孔特性的影響。文心蘭組培苗氣孔長在 30°C 處理有最高值為 34.8 μm ，氣孔寬在 20°C 處理時有最大值為 28.2 μm ，但氣孔密度在所有處理別中並無顯著差異。彩色海芋組培苗氣孔長在所有處理別並無顯

表 1. 溫度處理對文心蘭與彩色海芋組培苗葉綠素含量的影響

Table 1. Effect of temperature on chlorophyll contents in *Oncidium* 'Gower Ramsey' and *Zantedeschia hybrida* Hort. plantlets in vitro during the light period is 45 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$ at 25°C. The light duration is 12 hours and dark duration is 12 hours. Each value represents the mean of five replications

溫度 Temperature	葉綠素 a 含量 Chl. a Contents (mg/g)	葉綠素 b 含量 Chl. b Contents(mg/g)	總葉綠素含量 Total Chl. Contents(mg/g)
<i>Oncidium</i>			
35°C	0.06d	0.02d	0.09c
30°C	0.40a	0.16a	0.59a
25°C	0.23c	0.09c	0.36b
20°C	0.31b	0.12b	0.46b
<i>Zantedeschia</i>			
35°C	-	-	-
30°C	0.09b	0.06b	0.15b
25°C	0.25a	0.10a	0.37a
20°C	0.14b	0.07b	0.22b

Mean in each row followed by the same letter were not significantly different ($p=0.05$) according to Duncan's multiple range test

表 2. 溫度處理對文心蘭與彩色海芋組培苗乾重、果糖、葡萄糖及蔗糖含量的影響

Table 2. Effect of temperature on dry weight, fructose, glucose and sucrose concentration in *Oncidium* 'Gower Ramsey' and *Zantedeschia hybrida* Hort. plantlets in vitro during the light period is 45 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ at 25°C. The light duration is 12 hours and dark duration is 12 hours. Each value represents the mean of three replications

溫度 Temperature	乾重 Dry Weight (g/plant)	果糖含量 Fructose (ppm)	葡萄糖含量 Glucose (ppm)	蔗糖 Sucrose (ppm)
<i>Oncidium</i>				
35°C	0.017c	24860a	0b	52705a
30°C	0.041a	770b	6365a	29170b
25°C	0.026b	785b	5335a	17260c
20°C	0.027b	4118b	5610a	28585b
<i>Zantedeschia</i>				
35°C	0.030c	0b	4575a	14195a
30°C	0.045b	1710ab	2615ab	10185c
25°C	0.067a	3205a	580b	12028b
20°C	0.045b	1605ab	5380a	12095b

Mean in each row followed by the same letter were not significantly different ($p=0.05$) according to Duncan's multiple range test

著差異，氣孔寬在 25°C 及 20°C 有最大值，分別為 13.4 及 14.2 μm ，但氣孔密度在 25°C 及 30°C 處理有最大值，分別為 31 及 34 個/ mm^2 (表 3)。溫度會影響組培苗光合作用能力，勢必對光合成產物有一定影響，分析組培苗平均乾重，文心蘭組培苗在 35°C 處理乾重值最低為 0.017 克，在 30°C 處理下有最大值為 0.041 克。彩色海芋組培苗在 35°C 處理乾重值最低為 0.030 克，在 25°C 處理有最大值為 0.067 克(表 2)。

由此可知文心蘭組培苗在 30°C，而彩色海芋組培苗 25°C 處理時，在暗期有較高的二氧化碳釋放量，使得瓶內有較多二氧化碳濃度，有助明期固碳作用，使得組培苗有較高的乾重量，而此現象與葉片氣孔開度及葉綠素含量有關。

表 3. 溫度處理對文心蘭與彩色海芋組培苗氣孔特性的影響

Table 3. Effect of temperature on stomatal characteristics in *Oncidium* 'Gower Ramsey' and *Zantedeschia hybrida* Hort. plantlets in vitro during the light period is 45 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ at 25°C. The light duration is 12 hours and dark duration is 12 hours. Each value represents the mean of five replications

溫度 Temperature	氣孔長度 Stomatal Length (μm)	氣孔寬度 Stomatal Width (μm)	氣孔密度 Stomatal Density (number/ mm^2)
<i>Oncidium</i>			
35°C	28.4bc	23.8b	51a
30°C	34.8a	22.6bc	56a
25°C	27.4c	19.4c	55a
20°C	33.6ab	28.2a	52a
<i>Zantedeschia</i>			
35°C	-	-	-
30°C	29.2a	9.4b	34a
25°C	30.0a	13.4a	31a
20°C	31.8a	14.2a	18b

Mean in each row followed by the same letter were not significantly different ($p=0.05$) according to Duncan's multiple range test

討 論

在瓶內為促進培植體生長，有許多理由支持高二氧化碳濃度的使用：(1)具葉綠素的組織擁有光合作用能力；(2)在明期時，二氧化碳不足會限制光合作用；(3)在高二氧化碳濃度及高光度下，培養基不含糖，植株進行光自營性生長且生長較佳(Tanaka *et al.*, 1999)。在高二氧化碳濃度下培植體生長較佳(Tanaka *et al.*, 1999; Jeong *et al.*, 1996), Heo 等人(1996)發現東亞蘭培植體在高光度(100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)、高二氧化碳濃度(1000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)的狀況下，植株淨光合作用較低光、低二氧化碳濃度處理來得高，而 Kirdmancee 等人(1992)發現東亞蘭培植體在光自營狀況下生長時，其氣孔密度、葉綠素含量及光合作用較異營生長的培植體來得高。可見得大部份組培苗具有光合作用能力，且受溫度、二氧化碳濃度、氣孔密度及葉綠素含量的影響。在本試驗中的材料，文心蘭與彩色海芋組培苗也證實此論點。

組培苗明期二氧化碳利用能力，間接受葉片氣孔密度與葉片葉綠素含量的影響。Capellades (1990)發現玫瑰葉片下表皮在高光低濕($80 \mu \text{mol/m}^2/\text{s}$, 75%RH)的狀況下較低光高濕($25 \mu \text{mol/m}^2/\text{s}$, 100%RH)的環境下，氣孔呈橢圓形且氣孔密度較少，證實光度會影響氣孔密度。在光週期對氣孔特性的影響上，Zacchini 等人(1997)發現在不同光週期處理，蘋果及梨葉片氣孔密度有差異，當光週期為 4 小時明期 2 小時暗期處理時，葉片氣孔密度大於 16 小時明期 8 小時暗期處理，可見在最短的光照與暗期處理下有助於氣孔分化。在本試驗中，文心蘭組培苗在 35°C 處理時葉片葉綠素含量下降，因此其二氧化碳濃度的日變化並不如其它處理來得明顯。在 30°C 時文心蘭組培苗氣孔長度最高，且葉綠素 a、葉綠素 b 及所有葉綠素含量最高，因此在此溫度處理時文心蘭組培苗有最高的二氧化碳利用能力。就彩色海芋而言，在 35°C 時由於組培苗停止生長，因此二氧化碳濃度日變化並無規律可循。在 25°C 時由於氣孔寬及氣孔密度較大，且葉綠素 a、葉綠素 b 及所有葉綠素含量最高，有利於明期二氧化碳利用。

由於在試驗中，並沒有對瓶內添加二氧化碳，因此組培苗光合作用所需的二氧化碳皆由其呼吸作用所提供，因此呼吸作用的強弱也會間接影響組培苗光合作用。從一般植物生理學觀點來看，呼吸作用可分成三個階段，經由一連串複雜的步驟將六碳糖氧化並釋放出能量及二氧化碳氣體。而第一個步驟是糖解作用，在所有儲藏性碳水化合物進入此一反應前，必須將由蔗糖或澱粉水解而來的葡萄糖及果糖轉變成果糖-1,6-雙磷酸(Fructose-1,6-bisphosphate)，然後轉變成丙酮酸進行下一個步驟，由此可知當呼吸作用較強時，植體內糖解作用較強，使得果糖及葡萄糖含量較少。本試驗有相同的發現，文心蘭組培苗在 30°C ，而彩色海芋組培苗在 25°C 處理時，暗期有較高的二氧化碳釋放量，分析可溶性糖中的果糖、葡萄糖及蔗糖含量，發現在 25°C 時文心蘭與彩色海芋組培苗植體內果糖與葡萄糖總含量最低，可見呼吸作用會影響組培苗的糖解作用效率，並影響瓶內二氧化碳濃度，間接影響組培苗明期二氧化碳利用能力。

Fujiwara 等人(1995)發現在高二氧化碳濃度時培植體的光合作用能力、葡萄糖、果糖、蔗糖及乾重增加量較低二氧化碳濃度處理來得高。Jeong 等人(1996)發現非洲菊培植體乾重、鮮重明顯受二氧化碳濃度的影響。而東亞蘭培植體在高光度($100 \mu \text{mol/m}^2/\text{s}$)高二氧化碳濃度($1000 \mu \text{mol/mol}$)的狀況下，植株乾重及淨光合作用較低光、低二氧化碳濃度處理來得高(Heo *et al.*, 1996)。從這些文獻可以瞭解當組培苗有明顯的光合作用時，對其光合成產物有一定的影響。在本試驗中，溫度會影響組培苗葉片氣孔特性、葉綠素含量、暗期二氧化碳釋放量及明期二氧化碳利用能力，勢必對其光合成產物也有一定的影響。由於 35°C 處理時造成彩色海芋組培苗體停止生長，並造成文心蘭組培苗葉綠素含量大量下降，且暗期二氧化碳釋放量最低，使得明期二氧化碳利用效率不高，因此其乾重也降至最低。文心蘭組培苗在 30°C 時，由於氣孔長、葉綠素含量及暗期二氧化碳釋放量較其它處理者來得高，有助於光合作用的進行，因此其明期二氧化碳利用能力最高，分析乾重，發現在 30°C 處理下組培苗乾重量最高。彩色海芋組培苗在 25°C 時，暗期二氧化碳釋放量

及葉綠素含量最高，且氣孔長及氣孔密度較高，有助於光合作用的進行，因此其明期二氧化碳利用能力最高，分析乾重，發現在溫度處理時組培苗乾重量最高。

參考文獻

- 王月雲、陳是瑩、童武夫。1987。氣孔的大小及分佈。植物生理學實驗 pp.64-65。
- 蔡淑華。1995。埋蠟切片法。植物組織切片技術綱要 pp.4-45。
- Bayley, J. M., J. King, and Gamborg. 1972. The effect of the source of inorganic nitrogen on growth and enzymes of nitrogen assimilation in soybean and wheat cells in suspension cultures. *Planta* 105: 15-24.
- Bockers, M., V. Capkova, I. Ticha, and C. Schafer. 1997. Growth at high CO₂ affects the chloroplast number but not the photosynthesis efficiency of photoautotrophic *Marchantia polymorpha* culture cells. *Plant Cell, Tissue, Organ Cult.* 48: 103-110.
- Capellades, M., R. Fontarnau, C. Carulla, and P. Debergh. 1990. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosa multiflora*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115(1): 141-145.
- Fournioux, J. C. and R. Bessis. 1993. Use of carbon dioxide enrichment to obtain adult morphology of grapevine in vitro. *Plant Cell, Tissue, Organ Cult.* 33: 51-57.
- Fujiwara, K., S. Kira, and T. Kozai. 1995. Contribution of photosynthesis to dry weight increase of in vitro potato cultures under different CO₂ concentrations. *Acta Hort.* 393: 119-126.
- Hdider, C., L-P.Vezina, and Y. Desjardins. 1994. Short-term studies of ¹⁵NO₃⁻ and ¹⁵NH₄⁺ uptake by micropropagated strawberry shoots cultured with or without CO₂ enrichment. *Plant Cell, Tissue, Organ Cult.* 37: 185-191.
- Heo, J. W., C. Kubota, and T. Kozai. 1996. Effect of CO₂ concentration, PPFD and sucrose concentration on *Cymbidium* plantlet growth in vitro. *Acta Hort.* 440: 560-565.
- Huitema, J. B. M., G. C. Gussenhoven, J. de Jong, and J. J. M. Dons. 1987. Selection and in vitro characterization of low-temperature tolerant mutants of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Acta Hort.* 197: 89-96.
- Jeong, B. R., C. S. Yang, and J. C. Park. 1996. Growth of *Gerbera hybrida* in vitro as affected by CO₂ concentration and air exchange rate of the vessel. *Acta Hort.* 440: 510-514.
- Jeong, B. R., C. S. Yang, and E. J. Lee. 1996. Photoautotrophic growth of *Dianthus caryophyllus* in vitro as affected by photosynthetic photon flux and CO₂ concentration. *Acta Hort.* 440: 611-615.
- Johansson, L. and T. Eriksson. 1984. Effect of carbon dioxide in anther cultures. *Physiol. Plant.*

60: 26-30.

- Kirdmanee, C., C. Kubota, B. R. Jeong, and T. Kozai. 1992. Photoautotrophic multiplication of cymbidium protocorm-like bodies. *Acta Hort.* 319: 243-248.
- Kirdmanee, C., Y. Kitaya, T. Kozai. 1995. Effect of CO₂ enrichment and supporting material *in vitro* on photoautotrophic growth of *Eucalyptus* plantlets *in vitro* and *ex vitro*: anatomical comparisons. *Acta Hort.* 393: 111-115.
- Kvaalen H. and S.von. Arnold. 1991. Effect of various partial pressures of oxygen and carbon dioxide on different stages of somatic embryogenesis in *Picea abies*. *Plant Cell, Tissue, Organ Cult.* 27: 49-57.
- Nour, K. A., and T. A. Thorpe. 1994. The effect of the gaseous state on bud induction and shoot multiplication *in vitro* in eastern white cedar. *Physiol. Plant.* 90: 163-172.
- Oda, Y. 1989. Effect of light intensity, temperature and CO₂ concentration on photosynthesis and growth of strawberry plantlet cultured *in vitro*. *Acta Hort.* 265: 399-403.
- Seko, Y. and T. Kozai. 1996. Effect of CO₂ enrichment and sugar-free medium on survival and growth of turfgrass regenerants grown *in vitro*. *Acta Hort.* 440: 601-605.
- Seko, Y. and M. Nishimura. 1996. Effect of CO₂ and light on survival and growth of rice regenerants grown *in vitro* on sugar-free medium. *Plant Cell, Tissue, Organ Cult.* 46: 257-264.
- Tanaka, M., D. C.H. Ng, C. S. Hew. 1999. The physiology of cymbidium plantlets cultured *in vitro* under conditions of high carbon dioxide and low photosynthetic photon flux density. *J. Hort. Sci. Biotech.* 74(5): 632-638.
- Thorpe, T. A., K. Bagh, A. J. Cutler, D. I. Dunstan, D. D. McIntyre, and H. J. Vogel. 1989. A ¹⁴N and ¹⁵N nuclear magnetic resonance study of nitrogen metabolism in shoot-forming cultures of white spruce (*Picea glauca*) buds. *Plant Physiol.* 91: 193-202.
- Zacchini, M., S. Morini, and C. Vitagliano. 1997. Effect of photoperiod on some stomatal characteristics of *in vitro* cultured fruit tree shoots. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 49: 195-200.

Effect of Temperature on CO₂ Uptake Capacity in *Oncidium* 'Gower Ramsey' and *Zantedeschia hybrida* Hort. Plantlets¹⁾

Shuen-Tzong Wu²⁾ Ruey-Song Lin³⁾

Key words: Temperature, CO₂, Chlorophyll, Stomata, Tissue culture

Summary

Zantedeschia hybrida Hort. plantlets stopped to grow and chlorophyll contents of *Oncidium* Grow Ramsey plantlets decreased vastly at 35°C. Stomatal length, chlorophyll contents, CO₂ release capacity during dark duration, CO₂ uptake capacity during light duration and dry weight of *Oncidium* plantlets were higher at 30°C. Stomatal width, stomatal density, chlorophyll contents, CO₂ release capacity during dark duration, CO₂ uptake capacity during light duration and dry weight of *Zantedeschia* plantlets were higher at 25°C.

1) This research was supported by the Council of Agriculture of Executive Yuan. Under project of 88-BT-2,3-F-03(5).

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

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

Corresponding author.