

氮源對霧氣耕芭菲爾鞋蘭生理之影響

戴裕森¹⁾ 林深林²⁾

關鍵字: 氮源、有機氮、無機氮、硝酸還原酶、霧氣耕

摘要：使用 Maudiae type 芭菲爾鞋蘭 '*Paph. Clair de Lunezp*' 組培分生苗於不同型態氮源：全硝、全銨以及尿素的養液中進行霧耕，檢視芭菲爾鞋蘭的氮同化作用反應。在最長葉長、葉寬方面，以尿素處理高於其他處理。但總鮮重方面，以全硝處理高於其他處理。可溶性蛋白質含量以全硝處理最高，而全銨處理最低。尿素處理的植株根部硝酸還原酶(nitrate reductase activity; NRA)高於全硝處理，而全銨處理的根部 NRA 最低，且地上部 NRA 與可溶性蛋白質含量呈現正相關。

前 言

芭菲爾鞋蘭屬(*Paphiopedilum*)，於台灣栽培的歷史約二十年，這種蘭科植物的市場接受度甚高，Maudiae Type 近年來受到大眾的喜愛，歸因於具有較短的营养生長期及艷麗的花色。前人研究指出，許多陸生植物對於不同氮型態的吸收能力，以硝態氮優於銨態氮，而有機態氮對於陸生植物的生長具有優於無機態氮的趨勢(Chapin *et al.*,1993; Näsholm *et al.*,1998)。芭菲爾鞋蘭原生環境為富含有機質或石灰岩，芭菲爾鞋蘭可能具有吸收有機態氮及經分解後的無機態氮，但對於不同型態氮肥的吸收能力及生理反應，仍須經由實驗加以釐清。期望以霧氣耕排除介質的干擾，能更深入的了解芭菲爾鞋蘭對於不同型態氮肥的吸收能力及生理反應。

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講師，通訊作者。

材料與方法

一、試驗材料：

出瓶後一年的 *Maudiae* type 芭菲爾鞋蘭 '*Paph. Clair de Lunezp*' 分生苗(由穎川蘭園提供)。種植於霧耕桶中，根部懸空於桶內的保麗龍板下，桶底裝有 400 ml 養液。每桶單獨以高壓空氣之噴霧裝置達到養液噴霧效果。試驗區置於水牆降溫溫室，遮光 50%，氣溫 25~28°C。

二、試驗方法：

試驗期間 2009 年 11 月至 2010 年 01 月，處理前，先於純水霧耕培養 1 週後，再於 1/8 Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950, Modified) 養液中培養 1 週後，開始處理不同氮型態比例之霧耕養液。各養液以 1/4 Hoagland 為基礎，僅調整氮成份並平衡其他大量元素。各養液之氮素為：Solution I(2.5 mM Nitrogen, $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+=1:0$); Solution II (3.75 mM Nitrogen, $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+=0:1$); Solution III(3.75 mM Nitrogen, $\text{NO}_3^-:\text{Urea}=0:1$)。每種氮肥處理 5 桶，每桶種一株。噴霧時間從上午六點至下午六點，每隔兩小時進行一次噴霧，每次噴霧 15 秒，每週更換一次養液。調查項目如下：

1. 生長量調查：

植株總鮮重、葉幅、最長葉的葉長、最長葉的葉寬、莖基厚。處理後一個月進行生長量調查，及植物體分析。於處理後，每週測定更換的舊養液中剩餘的游離營養成分。

2. 養液中游離大量元素與微量元素(Macro and micro elements)分析：

- (1) 游離銨及游離硝(Free NH_4^+ 、 NO_3^-)分析：濾液直接以氮分析儀(Alltech model 380 Inorganic Nitrogen Analyzer)分析。
- (2) 磷之分析：以鉬黃法(Vanadate-Molybdate Yellow Method)測定。
- (3) 鈣、鉀、鎂、鐵、錳、鋅、銅之分析：以原子吸收光譜儀(Varian 20 Techtron atomic absorption spectrophotometer)測定。

3. 植物體可溶性蛋白質(Soluble protein)分析：

取 0.2 g 鮮樣，測定方法參照 Bradford(1976)之方法，並加以修改。

4. 植物體游離胺基酸(Free amino acid)分析：

取 0.2 g 鮮樣，測定方法採 Rosen(1957)之方法，並加以修改。

5. 植物體硝酸還原酶活性(Nitrate reductase activity; NRA)分析：

取單株葉片，以打孔機取下直徑 0.8 cm 的葉圓片 10 片，或根部取 0.2g 並橫切成 0.5 cm 小段，測定方法採 Jaworski(1971)之方法，並加以修改。

三、統計分析：

調查後的數據，使用 Minitab 統計軟體進行變方分析 ANOVA(analysis of variance)，各處理平均值以 Tukey's 測驗(Tukey's test)進行差異顯著性比較試驗。

結 果

一、氮源對相對生長量之影響：

由表 1 所示，以不同氮源處理後一個月，最大葉長、最大葉寬方面，以全尿素為氮源的處理高於其他處理。總鮮重則以全硝為氮源的處理高於其他處理。而各處理之間的總鮮重相對生長量趨勢，與最大葉長、最大葉寬相對生長量趨勢呈現相反的現象。

二、氮源對游離胺基酸的影響

由表 2 所示，以尿素為氮源處理的植株根部游離胺基酸含量皆高於以全銨為氮源處理及以全硝為氮源的處理。但地上部的游離胺基酸以全銨處理高於全硝處理及尿素處理。

三、氮源對可溶性蛋白質的影響

由表 2 所示，以尿素為氮源處理的植株根部可溶性蛋白質含量皆高於以全銨為氮源處理及以全硝為氮源的處理。但地上部的可溶性蛋白質以全硝處理高於尿素處理及全硝處理，但全硝處理與全尿素處理的地上部可溶性蛋白含量差異不大。

四、氮源對硝酸還原酶的影響

由表 2 所示，以尿素為氮源處理的植株根部 NRA 高於以全硝為氮源處理，而全銨為氮源處理的根部 NRA 為最低。但地上部的 NRA 以全硝處理高於尿素處理及全銨處理，而全銨為氮源處理的地上部 NRA 為最低。

表 1. Maudiae type 芭菲爾鞋蘭霧氣耕於不同氮源養液一個月的相對生長量。

Table 1. The relative growth rate of aeroponic Maudiae type *Paphiopedilum* different nitrogen sources in nutrient solution for one month.

Treat ^y	RGR (%)		
	LL	LW	TFW
NO ₃ ⁻	3.01 ^z ±0.27	1.10±0.23	3.01±0.18
NH ₄ ⁺	3.04±0.27	1.48±0.31	2.31±0.14
Urea	3.31±0.29	2.14±0.45	2.13±0.13

z: n=5.

y: Nitrogen type in nutrient solution.

RGR(Relative growth rate)=(final measure – initial measure)/ initial measure × 100%.

Abbreviation: LL(Leaf length),LW(Leaf wide),TFW(Total fresh weight).

五、硝酸還原酶對游離胺基酸及可溶性蛋白質的影響

由表 2 所示，當根部 NRA 提高時，根部可溶性蛋白質含量也會隨著提高。而地上部 NRA 含量提高時，地上部可溶性蛋白質含量也會隨著提高。但地上部 NRA 與可溶性蛋白質含量的趨勢為，全硝處理高於尿素處理高於全銨處理。根部 NRA 與可溶性蛋白質含量的趨勢為，尿素處理高於全硝處理高於全銨處理。在地上部方面，尿素處理的 NRA 低於所有處理，而可溶性蛋白質也有相同趨勢，但游離氨基酸含量皆高於其他處理。在根部方面，尿素處理的 NRA 高於全硝處理，以全銨處理為最低，而可溶性蛋白質也有相同之趨勢，但根部的游離氨基酸含量趨勢卻是尿素處理高於全銨處理，最低為全硝處理。

六、於 4 週處理期間養液中游離硝及游離銨之變化

由表 3 所示，以全硝為氮源的養液培養 1-4 週後，養液中無銨態氮的出現，且硝態氮含量皆低於 5 ppm，以第二週下降最多(1.86 ppm)。以全銨為氮源的養液培養至第 2 週時，游離銨態濃度提高至 42.86 ppm，且第 2 週(1.38 ppm)的養液中，開始出現游離硝，而且第 3 週(12.66 ppm)及第 4 週(26.56 ppm)的養液中游離硝有逐漸升高的趨勢。而以尿素為氮源的養液中的游離硝及游離銨變化，與全銨為氮源處理的養液有著相同趨勢，但以尿素為氮源的養液中的游離硝上升速度比全銨為氮源的處理慢。

七、第 1 週處理後養液中大量元素及微量元素之變化

由表 4、5 所示，各處理之間，除了以全硝為氮源處理的鈣元素顯著高於其餘兩組處理外，其餘各處理之間的大量元素於培養一週後皆未達 5%顯著性差異。養液中微量元素方面，除了以全銨為氮源處理中的錳元素高於其他處理外，其餘所分析的微量元素在各處理之間皆未達顯著性差異。

表 2. Maudiae type 芭菲爾鞋蘭霧氣耕於不同氮源養液一個月的地上部及根部，游離胺基酸、可溶性蛋白質、硝酸還原酶活性。

Table 2. The free amino acid (FAA), soluble protein (SP) and nitrate reductase activity (NRA) in shoot and root of aeroponic Maudie type *Paphiopedilum* plants with different nitrogen sources in nutrient solution for one month.

Treat ^y	FAA (μmol. g ⁻¹ Fw)		SP (μg .g ⁻¹ Fw)		NRA (μmol .hr ⁻¹ .g ⁻¹ Fw)	
	Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot	Root
NO ₃ ⁻	5.56 ^z ±0.33	5.82±2.37	5867±856	2892±1196	0.221	0.159
NH ₄ ⁺	8.14±2.36	8.63±4.20	5261±571	2526±1332	0.075	0.054
Urea	4.78±0.03	11.82±5.17	5809±367	3873±571	0.123	0.196

z: n=2.

y: Nitrogen type in nutrient solution.

表 3. 經霧氣耕培養 7 天後養液中游離銨及游離硝含量。

Table 3. Free NH_4^+ and NO_3^- contents in nutrient solution after 7 days of aeroponic culture.

Treat ^y / week	Nitrogen (ppm)							
	Free NH_4^+				Free NO_3^-			
	1	2	3	4	1	2	3	4
NO_3^-	0.00c ^z	0.00c	0.00c	0.00c	4.92a	1.86b	2.84b	2.63c
NH_4^+	29.30a	42.86a	37.16a	37.16a	0.00c	1.38b	12.66a	26.56a
Urea	12.69b	23.91b	14.01b	13.7b	0.94b	4.96a	12.88a	15.36b

z: Means in a column followed by different letters are significantly different at 5% by Tukey's test .

y: Nitrogen type in nutrient solution.

Culture solution were renewed every week during 4 week experiment.

表 4、霧氣耕培養一週後，養液中大量元素含量。

Table 4. Macro element contents in nutrient solution after 1 week of aeroponic culture.

Treat ^y	Macro element(ppm)			
	P	K	Ca	Mg
NO_3^-	20.16a ^z	108.50a	46.00a	3.55a
NH_4^+	25.50a	112.33a	11.63b	2.99a
Urea	21.16a	105.53a	13.83b	2.90a

z: Means in a column followed by different letters are significantly different at 5% by Tukey's test .

y: Nitrogen type in nutrient solution.

表 5、霧氣耕培養一週後，養液中微量元素含量。

Table 5. Micro element contents in nutrient solution after 1 week of aeroponic culture.

Treat ^y	Micro element (ppm)			
	Fe	Mn	Zn	Cu
NO ₃ ⁻	0.37a ^z	0.04b	0.05a	0.01a
NH ₄ ⁺	0.35a	0.12a	0.08a	0.01a
Urea	0.31a	0.02b	0.06a	0.01a

z: Means in a column followed by different letters are significantly different at 5% by Tukey's test .

y: Nitrogen type in nutrient solution.

討 論

一、氮源對生長之影響

由表 1 結果顯示，最大葉長、最大葉寬方面，以尿素為氮源的處理高於其他處理。似乎說明了，芭菲爾鞋蘭對於有機態氮的利用，可能對葉片生長有促進的效果。但總鮮重方面，以全硝為氮源的處理高於其他處理。可能與較能夠累積蛋白質於地上部有關(表 2)。因為大部分的硝態氮能從根部細胞轉運至木質維管束，再運往地上部進行氮同化作用，於地上部合成與累積蛋白質(Forde and Clarkson, 1999; Gilmer *et al.*, 2001)。

二、氮源對游離胺基酸、可溶性蛋白質及硝酸還原酶的影響

本試驗結果顯示，以尿素為氮源處理的植株根部游離胺基酸含量皆高於以全銨為氮源處理及以全硝為氮源的處理。各處理之間的可溶性蛋白含量，在根部也有與胺基酸含量，相同的趨勢。前人研究指出，當外加的尿素進入至根部時，尿素可經由 Urease 水解為 NH₃，之後進入 GS/GOGAT Cycle 將 NH₃ 同化成 Glutamine，在代謝為植物體所需的其他胺基酸，並且在根部的同化作用高於地上部，此代謝路徑與銨的同化作用相同(Mérigout *et al.*, 2008)。這說明了提供尿素及銨態氮為芭菲爾鞋蘭的氮源時，能增加根部游離胺基酸及可溶性蛋白質的累積。地上部的游離胺基酸含量以全銨為氮源處理最高，以尿素為氮源處理最低，但可溶性蛋白質含量以全硝為氮源處理為最高，以全銨為氮源處理為最低，這個結果可能是，硝態氮較能夠運往地上部進行氮同化作用有關(Forde and Clarkson, 1999; Gilmer *et al.*, 2001)。

據學者研究指出，硝酸還原酶活性受到硝酸根離子誘導(Cazetta and Vilella, 2004)。由本試驗結果所示，以尿素為氮源處理的植株根部 NRA 高於以全硝為氮源處理，而全銨為

氮源處理的根部 NRA 為最低，可能是因為在霧氣耕條件下能夠經由硝化細菌，將有機氮硝化為硝態氮，使的硝態氮增加(表 3)，以致於在根部誘導了較高的 NRA，也有可能是，一部分尿素進入根部後，再經由根部內的菌類硝化成硝態氮。但地上部的 NRA 以全硝處理高於全尿素處理及全銨處理，而全銨為氮源處理的地上部 NRA 為最低，因為硝態氮較容易經由導管轉運至地上部，再進行無機氮同化作用(Forde and Clarkson, 1999; Gilmer *et al.*, 2001)，所以全硝處理的 NRA 才會高於其他兩組處理。由表 2 所示，當根部 NRA 提高時，根部可溶性蛋白質含量也會隨著提高。而地上部 NRA 含量提高時，地上部可溶性蛋白質含量也會隨著提高，說明了 NRA 與可溶性蛋白質含量呈現正相關。

三、養液中游離銨及游離硝含量之變化

由表 3 所示，以全硝為氮源的養液培養 1-4 週後，養液中無銨態氮的出現，且硝態氮含量較低，以第二週下降最多(1.86 ppm)，說明了一大部分的硝態氮已經由植物根部吸收及霧氣耕系統內的微生物所分解，而且被利用的速度較快。但以全銨為氮源的養液培養至第 2 週時，游離銨濃度提高，且第 2 週的養液中，開始出現游離硝，而且之後的養液中游離硝有逐漸升高的趨勢，造成此結果的原因可能為，霧氣耕系統內已建立了硝化細菌的菌落。

参 考 文 献

- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72(1-2): 248-254.
- Cazetta, J.O. and L.C.V. Villela. 2004. Nitrate reductase activity in leaves and stems of tanner grass (*Brachiaria radicans* Napper). *Sci. Agric.* 61(6): 640-648.
- Chapin III, F.S., L. Moilanen., and K. Kielland. 1993. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge. *Nature.* 361:150-153.
- Forde, B.G. and D.T. Clarkson. 1999. Nitrate and ammonium nutrition of plants: Physiological and molecular perspectives. *Adv. Bot. Res.* 30: 1-90.
- Gilmer, F., K.W.T. Herdel., and U. Schurr. 2001. Nutrient transport in the xylem of intact plants diurnal variation and response to nutrient availability. *Develop. Plant Soil Sci.* 92: 270-271.
- Gahoonia, T.S., N. Claassen., and A. Jungk. 1992. Mobilization of phosphate in different soils by ryegrass supplied with ammonium or nitrate. *Plant Soil.* 140: 241-248.
- Jaworski, E.G., 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commu.* 43: 1274-1279.
- Mérigout, P., M. Lelandais., F.B., J. Renou., X. Briand., C. Meyer., and F. Daniel-Vedele. 2008. Physiological and transcriptomic aspects of urea uptake and assimilation in arabidopsis plants. *Plant Physi.* 147: 1225-1238.
- Näshol, T., A. Ekblad., A. Nordin., R. Giesler., M. Högberg., and P. Högberg. 1998. Boreal forest plants take up organic nitrogen. *Nature.* 392: 914-916.
- Rosen, H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch. Biochem. Biophys.* 67(1): 10-15.

Effects of Nitrogen on the Physiology of Aeroponic *Paphiopedilum* Orchids

Yu-Sem Dai ¹⁾ Shen-Lin Lin ²⁾

Key words: Nitrogen source, Organic nitrogen, Inorganic nitrogen, Nitrate reductase, Aeroponic culture

Summary

Different types of nitrogen source, nitrate-N, ammonia-N, urea-N in solution used in aeroponic culture of Maudiae type *paphiopedilum* 'Paph. Clair de Lunezp' plants, with check to nitrogen assimilation responses of *paphiopedilum* orchids. The urea-N was doing better for leaf length (LL) and leaf width (LW). The nitrate-N solution culture had most growth in the fresh weight. The nitrate reductase activity (NRA) was highest in the nitrate-N treated roots, but was lowest in the ammonia-N treated roots. For all treatments, shoot NRA was positively correlated with soluble protein content in the shoot.

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

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

