ISSN 0022-4847

台灣農業研究

第五十七卷　　第二期

研究報告

玉米花粉直感效應對籽粒重與果皮性狀表現之影響
謝光照 85

植酸酵素基因轉殖馬鈴薯收穫田區之殘株管理－浸水處理評估
陳烈夫、吳明哲、呂秀英 95

水稻表現序列標幟 (EST) 功能分析自動化系統
呂秀英、陳政道、呂椿棠、邱怡嘉、魏夢麗 103

培養基組成分對高氏柴胡癒合組織增殖與柴胡皂苷含量之影響
陳威臣、夏奇鈱、葉茂生、曹進義、蔡新聲 119

台灣高屏地區玉荷苞荔枝害蟲種類、危害調查與果實套袋試驗
溫宏治、劉政道 133

嘉義地區荔枝園荔枝細蛾與東方果實蠅危害調查
洪士程、何坤耀、陳健忠 143

中華民國九十七年六月
行政院農業委員會農業試驗所出版
中華民國　台灣　台中縣　霧峰鄉

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 57(2):85–94 (2008)

玉米花粉直感效應對籽粒重與果皮性狀表現之影響[1]

謝光照[2]

摘　要

謝光照。2008。玉米花粉直感效應對籽粒重與果皮性狀表現之影響。台灣農業研究 57:85–94。

本研究以人工雜交之台南白 8 個自交系及其 56 個全互交當代之 F_1 組合爲材料。種子達生理成熟後採收，於 38℃乾燥機中烘乾，然後進行籽粒重及果皮性狀之調查。變方分析結果顯示，種子親植株上的雜交種子其籽粒重、發芽面果皮厚度、非發芽面果皮厚度、果皮含量與平均果皮厚度等性狀，明顯因花粉親及種子親來源的不同而影響當代雜交種子籽粒重及果皮性狀之表現。種子親上的當代雜交種之種子其果皮係由母體之子房壁組織發育而成，由平均果皮厚度與果皮含量的平均值與花粉直感效應值，可看出有許多當代的雜交組合之種子果皮呈現較親本薄且果皮含量明顯較少。可能係因花粉親帶有較多的部份顯性基因，而部份顯性基因具有減少果皮厚度及含量之作用，因此在種子親上的雜交種子其果皮厚度及含量明顯的受花粉直感效應而改變其性狀之表現。

關鍵詞：台南白、花粉直感、籽粒重、果皮厚度、果皮含量。

前　言

玉米籽粒胚乳爲三倍體組織，其中二個染色體組係由母本藉極核 (polar nucli) 而來，另一個染色體組則由父本之精核所貢獻，因此由父本而來之基因可能會影響到玉米籽粒發育與性狀之表現。Xenia (花粉直感) 一詞來說明種子親本 (seed parents) 植株上的雜交種子可經由外來花粉基因型之影響，而致使果實的胚或其母體組織 (胚乳) 之外表性狀的表現有所不同。目前玉米籽粒上有關花粉直感現象的研究，顯示花粉的來源對籽粒顏色 (Sprague 1977)、胚乳型 (Kiesselbach & Leonard 1932)、百粒重與籽粒產量 (Leng 1949; Lambert *et al.* 1969; Odhiambo & Compton 1987; Tsai & Tsai 1990)、品質 (Cross & Dosso 1989; Pixley & Bjarnason 1994)、生長速率 (Seka & Cross 1995 a,b) 等性狀均有明顯的影響。本報告乃針對同一種胚乳型的不同來源之花粉所產生的花粉直感效應對籽粒重與果皮性狀之影響進行探討。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2316 號。接受日期：97 年 5 月 14 日。
2. 本所作物組研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：x486045@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23399544。

材料與方法

本試驗所使用之 8 個自交系及其 56 個 F_1 單交組合，皆由台南白族群分離及相互雜交而得。種子係於 1995 年秋作，以人工套袋雜交生產，其親本詳細來源及農藝特性如表 1 所示。自交系及 F_1 雜交組合，每一組合每重複 (果穗) 取 10 粒達生理成熟期、扁平且充實飽滿之種子稱其重量記錄之，然後測定不同部位果皮厚度。

玉米籽粒果皮剝取之方法，參考 Helm & Zube (1972) 之報告稍作修正，其剝取及測定方法如下：1. 達生理成熟期之種子，烘乾後稱其籽粒重，然後存放 10℃冷藏室內。2. 剝皮時取出烘乾冷藏之種子，先切下頂蓋 (tip cap)，然後將種子在室溫下浸水二天使種子質地變軟後，再以解剖刀剝取果皮。首先沿著發芽面 (germinal) (胚所在之面) 切下發芽面之果皮，然後沿著非發芽面 (abgerminal) 切下非發芽面之果皮，最後取下冠蓋 (crown cap) 及側邊 (sides) 之果皮。3. 剝下之果皮放置於體積比爲水：甘油醇 (glycerol) (1:3, v/v) 溶液中，過夜。4. 倒掉溶液，取出果皮，用吸水紙將果皮表面擦乾。5. 利用厚度計測量發芽面、非發芽面上中下各三點之厚度 (μm)，以平均值記錄之。測果皮厚度時，籽粒調查的性狀包含有：籽粒重、發芽面果皮厚度、非發芽面果皮厚度、平均果皮厚度及果皮含量等五個性狀。試驗設計爲完全逢機設計，四重複 (果穗)。所獲得之數據先以 SAS/GLM 進行變方分析及平均值差異顯著性比較。

表 1. 台南白玉米自交系來源與其農藝特性

Table 1. Original population and agronomic characteristics of inbred lines of Tainan-white maize

Inbred line	Population original from	Days to tasseling (days)	Leaf number (no.)	Plant height (cm)	Ear length (cm)	100-kernel weight (g)	Kernel length (mm)
A	Taichung	61.5	15.6	165	13.1	28.4	11.6
B	Tainan	60.8	17.2	176	16.8	34.5	10.9
C	Yunlin	60.3	18.1	163	15.4	26.5	10.9
D	Taoyuan	60.8	14.3	160	14.0	33.0	10.8
E	Taitung	63.8	17.8	198	18.9	43.7	11.4
F	Chunghun	62.3	17.3	157	12.8	31.8	9.7
G	Pingtung	64.3	17.7	159	15.5	29.7	10.7
H	Hualien	66.3	18.9	155	12.6	26.5	9.6

結　果

根據本研究所使用的台南白自交系其農藝性狀 (表 1) 顯示，不同自交系間存在著遺傳變異，其開花期之變異介於 60–67 天之間，葉片數介於 15–19，株高介於 150–190 cm，果穗穗長在 12.6–18.9 cm，籽粒百粒重介於 26.5–43.7 g，籽粒長度介於 9.6–11.6 mm。本試驗以人工套袋雜交之台南白 8 個自交系及其 56 個全互交當代之 F_1 組合爲材料，於種子達生理成熟後採收，於 38℃乾燥機中烘乾，然後進行調查籽粒重及果皮性狀。變方分析之結果 (表 2)，顯示，籽粒重、發芽面果

皮厚度、非發芽面果皮厚度、果皮含量與平均果皮厚度等性狀在基因型間、花粉親間、種子親間、組合間均達極顯著差異。表示種子親植株上的雜交種種子其籽粒重、發芽面果皮厚度、非發芽面果皮厚度、果皮含量與平均果皮厚度等性狀，明顯因花粉親及種子親來源的不同而受到影響。而雜交組合效應 (M × F) 對籽粒重、發芽面果皮厚度、非發芽面果皮厚度、果皮含量與平均果皮厚度等性狀亦有極顯著的影響，顯然上述性狀在種子親植株上的當代雜交種子性狀的表現，亦受花粉親與種子親之共同的基因遺傳系統所控制。

分析親本自交系及其雜交組合當代種子籽粒重與果皮性狀 (表 3)，顯示親本籽粒重的表現，以基因型 E (493.7 mg/kernel) 最重，其次爲基因型 G (393.5 mg/kernel)，最輕者爲基因型 B (251.0 mg/kernel)。而雜交組合中籽粒重最重的爲基因型組合 E × D (495.0 mg/kernel)，其次爲基因型 E × B 組合 (473.2 mg/kernel)，最輕者爲基因型 C × H 組合 (246.2 mg/kernel)。雜交組合籽粒重明顯高於自交系的有基因型組合 B × A、D × A、H × A、A × B、D × B、F × B、H × B、A × C、B × C、D × C、F × C、H × C、A × D、B × D、F × D、H × D、A × E、B × E、D × E、F × E、H × E、A × F、B × F、D × F、H × F、A × G、B × G、F × G、D × H、F × H 等 30 個。

各基因型種子就發芽面果皮厚度而言，八個親本中以基因型 C (96.0 μm) 最薄，其次爲 B (97.7 μm)、F (113.0 μm)及 H (114.0 μm)；最厚者爲 G (230.2 μm)，最薄與最厚者之果皮厚度相差 134.2 μm (表 3)。雜交組合中發芽面果皮厚度較薄者有 B × G (74.2 μm)，其次爲 B × F (82.7 μm)；最厚者爲 G × B (222.5 μm)。雜交組合較親本來得薄的基因型有 B × A、G × A、H × A、H × B、A × C、G × C、H × C、B × D、G × D、H × D、B × H、G × E、H × E、B × F、G × F、H × F、B × G、H × G、G × H 等 19 個。

就非發芽面果皮厚度而言，八個親本中以基因型 B (99.0 μm) 最薄，其次爲 F (103.0 μm)；最厚者爲 G (213.5 μm)，最薄與最厚者之果皮厚度相差 114.5 μm (表 3)。雜交組合中非發芽面果皮較薄者有 C × B (79.2 μm) 及 B × A (79.7 μm)；最厚者爲 E × A (232.2 μm) 及 G × B (228.2 μm)。雜交組合中果皮厚度較親本薄的基因型有 B × A、G × A、H × A、C × B、H × B、A × C、G × C、G × D、H × D、A × E、H × E、A × F、C × F、G × F、H × F、A × G、B × G、C × G、H × G、A × H、C × H、G × H 等 22 個。

表 2. 不同玉米基因型籽粒重及果皮性狀變方分析之均方值

Table 2. Mean square values of ANOVA for the pericarp characters and kernel weight of maize

Source	DF	Kernel weight	Germinal thickness	Abgerminal thickness	Pericarp content	Average thickness
Genotype	63	15,197** [z]	6,037**	5,692**	14.72**	5,749**
Male	7	102,949**	48,546**	41,855**	88.45**	45,195**
Female	7	8,327**	832**	1,173**	5.82**	826**
M × F	49	3,643**	707**	1,171**	5.47**	817**
Error	192	490	142	139	0.53	101

[z], ** Significant at 0.01 probability.

表 3. 玉米籽粒重及果皮性狀各基因型之平均值

Table 3. Mean values for pericarp characters and kernel weight of maize genotype

		Female									
	Male	A	B	C	D	E	F	G	H	Mean(M)	Inbred
Kernel	A		286.0	315.0	287.7	361.5	320.7	348.0	316.7	319.4	260.5
weight	B	312.5	—	259.7	341.0	473.2	374.7	354.2	337.2	350.3	251.0
(mg/kernel)	C	317.5	274.2	—	280.0	431.7	370.0	389.7	318.5	340.2	304.5
	D	304.5	305.7	290.2	—	495.0	451.0	353.7	321.2	358.9	255.0
	E	298.7	339.7	296.5	309.0	—	407.5	390.7	377.7	345.7	493.7
	F	288.5	323.0	231.0	329.0	402.5	—	336.2	334.2	320.6	332.7
	G	296.0	319.5	308.2	269.0	445.7	385.7	—	313.2	344.2	393.5
	H	256.3	262.7	246.2	334.5	451.7	401.0	358.2	—	330.1	296.2
	Mean(F)	296.2	301.5	278.1	307.2	437.3	387.2	361.5	331.2	$LSD_{0.05}$(m) = 19.11	
										$LSD_{0.05}$(fm)= 10.92	
Germinal	A	—	78.5	120.5	128.2	210.0	106.7	204.0	103.2	135.8	139.5
thickness	B	135.0	—	89.2	113.7	155.0	104.5	222.5	95.7	130.8	97.7
(μm)	C	120.0	90.0	—	113.2	140.5	114.7	177.7	103.0	122.7	96.0
	D	134.2	79.0	123.2	—	169.2	145.0	198.7	86.0	133.6	117.2
	E	131.0	79.5	131.0	136.5	—	130.0	211.5	98.7	131.2	137.2
	F	131.5	82.7	100.7	137.0	162.7	—	210.7	98.2	131.9	113.0
	G	128.2	74.2	97.5	134.2	160.2	113.7	—	99.7	115.4	230.2
	H	142.8	97.2	105.0	128.2	157.0	117.5	206.0	—	136.2	114.0
	Mean(F)	131.8	83.0	109.6	127.2	164.9	118.8	204.4	97.8	$LSD_{0.05}$(m) = 10.29	
										$LSD_{0.05}$(fm)= 5.88	
Abgerminal	A	—	79.7	119.2	134.0	232.2	119.2	178.2	108.2	138.7	150.0
thickness	B	147.0	—	79.2	133.5	176.5	112.7	228.2	93.5	138.7	99.0
(μm)	C	121.5	94.5	—	112.7	145.2	104.5	165.0	112.2	122.2	109.7
	D	153.2	98.0	112.2	—	197.5	144.0	169.5	87.5	137.4	122.0
	E	123.2	89.5	125.7	147.2	—	139.2	205.0	108.5	134.0	148.0
	F	125.7	97.7	88.7	134.0	173.0	—	189.2	101.5	129.9	103.0
	G	136.7	83.7	90.5	132.7	194.2	120.5	—	93.7	121.7	213.5
	H	136.7	94.0	98.0	128.7	147.5	118.5	196.2	—	131.4	123.2
	Mean(F)	135.1	91.0	101.9	131.8	180.8	122.6	190.2	100.7	$LSD_{0.05}$(m) = 10.18	
										$LSD_{0.05}$(fm) = 5.82	
Pericarp	A	—	5.74	6.88	7.50	10.54	5.74	13.81	8.13	8.33	6.97
content	B	6.36	—	6.01	8.62	8.31	6.17	12.97	6.89	7.90	7.49
(%)	C	6.34	4.58	—	8.45	6.92	7.26	8.45	6.94	6.99	6.30
	D	7.84	4.39	6.73	—	10.01	6.75	9.41	6.36	7.36	8.05
	E	7.55	4.05	6.66	8.03	—	7.07	10.42	5.39	7.02	7.90
	F	7.22	5.50	6.24	8.21	8.40	—	9.38	6.64	7.37	7.64
	G	8.96	4.22	4.67	7.97	9.28	9.05	—	6.85	7.28	9.66
	H	8.86	4.82	6.46	7.33	6.84	8.63	11.77	—	7.81	9.14
	Mean(F)	7.59	4.75	6.24	8.01	8.61	7.24	10.88	6.74	$LSD_{0.05}$(m)= 0.62	
										$LSD_{0.05}$(fm) = 0.35	
Average	A	—	79.2	120.5	131.0	221.0	113.2	191.2	106.0	137.4	145.0
thickness	B	41.2	—	84.2	124.7	166.0	108.7	225.5	94.5	139.2	98.5
(μm)	C	121.2	92.5	—	113.0	143.2	109.7	177.7	107.7	123.5	103.2
	D	143.7	88.5	118.0	—	183.7	144.5	184.2	86.7	135.6	119.7
	E	127.0	84.5	128.5	142.2	—	134.2	208.5	103.5	132.6	146.0
	F	128.7	90.2	95.2	135.5	167.7	—	200.0	100.2	131.1	108.0
	G	132.7	79.2	94.2	133.5	177.5	117.2	—	96.7	118.7	221.7
	H	140.0	96.0	101.5	128.7	152.2	118.0	201.0	—	133.9	118.5
	Mean(F)	133.5	87.2	106.0	129.8	173.0	120.8	198.3	99.3	$LSD_{0.05}$(m) = 8.68	
										$LSD_{0.05}$(fm)= 4.96	

就果皮含量而言，八個親本中以基因型 C (6.30 %) 最低，其次爲 A (6.97 %)；最高者爲 G (9.66 %) (表 3)，最低與最高者之果皮厚度相差 3.36 %。雜交組合中果皮含量較低者有 B × E (4.05 %) 及 B × G (4.22 %)；果皮含量最高者爲 G × A (13.81 %) 及 G × B (12.97 %)。雜交組合中果皮含量較親本低的基因型有 B × A、F × A、H × A、F × B、H × B、B × C、E × C、G × C、H × C、B × D、F × D、H × D、B × E、H × E、B × F、H × F、B × G、C × G、H × G、B × H、E × H 等 21 個。

就平均果皮厚度而言，八個親本中以基因型 B (98.5 μm) 最薄，其次爲 C (103.2 μm)；最厚者爲 G (221.7 μm) (表 3)，最薄與最厚者之果皮厚度相差 123.2 μm。雜交組合中平均果皮厚度較薄者有 B × A (79.2 μm) 及 B × G (79.2 μm)；最厚者爲 G × B (225.0 μm)。雜交組合中果皮較親本薄的基因型有 B × A、G × A、H × A、C × B、H × B、A × C、G × C、H × C、B × D、G × D、H × D、A × E、B × E、G × E、H × E、A × F、G × F、H × F、A × G、B × G、C × G、H × G、H × G 等 23 個。

花粉直感效應值之表現，就籽粒重而言，許多基因型呈現顯著的花粉直感效應。當親本 A 爲種子親時，有 A × B、A × C、A × D、A × E、A × F、A × G (表 4)；當親本 B 爲種子親時，有 B × A、B × C、B × D、B × E、B × F、B × G；親本 C 爲種子親時，有 C × B、C × F、C × H 等組合；當親本 D 爲種子親時，有 D × A、D × B、D × C、D × E、D × F、D × H 等組合；當親本 E 爲種子親時，有 E × A、E × B、E × C、E × F、E × G、E × H 等組合；當親本 F 爲種子親時，有 F × A、F × B、F × C、F × D、F × E、F × G、F × H 等組合；當親本 G 爲種子親時，有 G × A、G × B、G × C、G × F、G × H 等組合；當親本 H 爲種子親時，有 H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F 等組合。其中籽粒重呈現明顯增加的基因型有 A × B、A × C、A × D、A × E、A × F、A × G、B × A、B × C、B × D、B × E、B × F、B × G、D × A、D × B、D × C、D × E、D × F、D × H、F × B、F × C、F × D、F × E、F × G、F × H、 H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F 等組合。

就發芽面果皮厚度而言，許多基因型呈現顯著的花粉直感效應。當親本 A 爲種子親時，有 A × C 和 A × G 組合 (表 4)；當親本 B 爲種子親時，有 B × A、B × D、B × E、B × F、B × G 等組合；當親本 C 爲種子親時，有 C × A、C × D、C × E 等組合；當親本 D 爲種子親時，有 D × A、D × E、D × F、D × G、D × H 等組合；當親本 E 爲種子親時，有 E × A、E × B、E × D、E × F、E × G、E × H 等組合；當親本 F 爲種子親時，有 F × D、F × E 等組合；當親本 G 爲種子親時，有 G × A、G × C、G × D、G × E、G × F、G × H 等組合；當親本 H 爲種子親時，有 H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F、H × G 等組合。其中發芽面果皮厚度因花粉直感效應呈現明顯減少的基因型有 A × C、A × G、B × A、B × D、B × E、B × F、B × G、G × A、G × C、G × D、G × E、G × F、G × H、H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F、H × G 等組合。

就非發芽面果皮厚度而言，許多基因型呈現顯著的花粉直感效應。當親本 A 爲種子親時，有 A × C、A × E、A × F、A × G 和 A × H 組合 (表 4)；當親本 B 爲種子親時，有 B × A 和 B × G 等組合；當親本 C 爲種子親時，有 C × B、C × E、C × F、C × G 等組合；當親本 D 爲種子親時，有 D × A、D × B、D × E、D × F、D × G 等組合；當親本 E 爲種子親時，有 E × A、E × B、E × D、E × F、E × G 等組合；當親本 F 爲種子親時，有 F × A、F × D、F × E、F × H 等組合；當親本 G 爲種子親時，有 G × A、G × B、G × C、G × D、G × F、G × H 等組合；當親本 H 爲種子親時，有 H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F、H × G 等組合。其中非發芽面果皮厚度因花粉直感效應呈現明顯減少的基因型有 A × C、A × E、A × F、A × G、A × H、B × A、B × G、C × B、C × F、C × G、C × H、G × A、G × C、G × D、G × H、H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F、H × G 等組合。

表 4. 玉米籽粒重與果皮性狀花粉直感效應值

Table 4. Xenia effect value of pericarp characters and kernel weight in maize genotypes

		Female							
	Male	A	B	C	D	E	F	G	H
Kernel	A	—	35.0	10.5	32.7	28.8	-12.0	-45.5	20.5
weight	B	52.0	—	-44.8	86.0	-20.5	42.0	-39.3	41.0
(mg/kernel)	C	47.0	23.2	—	25.0	-62.0	37.3	-3.8	22.3
	D	44.0	54.7	-14.3	—	1.3	118.3	-39.8	25.0
	E	38.2	88.7	-8.0	54.0	—	74.8	-2.8	81.5
	F	28.0	72.0	-73.5	74.0	-91.2	—	-57.5	38.0
	G	35.5	68.5	3.7	14.0	-48.0	53.0	—	17.0
	H	-4.2	11.7	-58.3	89.5	-42.0	68.3	-35.3	$LSD_{0.05}$=19.1
Germinal	A	—	-19.2	24.5	11.0	72.8	-6.3	-26.2	-10.8
thickness	B	-4.5	—	-6.8	-3.5	17.8	-8.5	-7.7	-18.3
(μm)	C	-19.5	-7.7	—	-4.0	3.3	1.7	-52.5	-11.0
	D	-5.3	-18.7	27.2	—	32.0	32.0	-31.5	-28.0
	E	-8.5	-18.2	35.0	19.3	—	17.0	-18.7	-15.3
	F	-8.0	-15.0	4.7	19.8	25.5	—	-19.5	-15.8
	G	-11.3	-23.5	1.5	17.0	23.0	0.7	—	-14.3
	H	3.3	-0.5	9.0	11.0	19.8	4.5	-24.2	$LSD_{0.05}$=10.3
Abgerminal	A	—	-19.3	9.5	12.0	84.0	16.0	-35.3	-15.0
thickness	B	-3.0	—	-30.5	11.5	28.5	9.7	14.7	-29.7
(μm)	C	-28.5	-4.5	—	-9.3	-2.8	1.5	-48.5	-11.0
	D	3.2	-1.0	2.5	—	49.5	41.0	-44.0	-35.7
	E	-26.8	-9.5	16.0	25.2	—	36.2	-8.5	-14.7
	F	-24.3	-1.3	-21.0	12.0	25.0	—	-24.3	-21.7
	G	-13.3	-15.3	-19.2	10.7	46.2	17.5	—	-29.5
	H	-13.3	-5.0	-11.7	6.7	-0.5	15.5	-17.0	$LSD_{0.05}$=10.2
Pericarp	A	—	-1.75	0.58	-0.55	2.64	-1.90	4.15	-1.01
content	B	-0.61	—	-0.29	0.57	0.41	-1.47	3.31	-2.25
(%)	C	-0.63	-2.91	—	0.40	-0.98	-0.38	-1.21	-2.20
	D	0.87	-3.10	0.43	—	2.11	-0.89	-0.25	-2.78
	E	0.58	-3.44	0.36	-0.02	—	-0.57	0.76	-3.75
	F	0.25	-1.99	-0.06	0.16	0.50	—	-0.28	-2.50
	G	1.99	-3.27	-1.63	-0.08	1.38	1.41	—	-2.29
	H	1.89	-2.67	0.16	-0.72	-1.06	0.99	2.11	$LSD_{0.05}$=0.62
Average	A	—	-19.3	17.3	11.3	75.0	5.2	-30.5	-12.5
thickness	B	-3.8	—	-19.0	5.0	20.0	0.7	3.8	-24.0
(μm)	C	-23.8	-6.0	—	-6.7	-2.8	1.7	-44.0	-10.8
	D	-1.3	-10.0	14.8	—	-37.7	36.5	-37.5	-31.8
	E	-18.0	-14.0	25.3	22.5	—	26.2	-13.2	-15.0
	F	-16.3	-8.3	-8.0	15.8	21.7	—	-21.7	-18.3
	G	-12.3	-19.3	-9.0	13.8	31.5	9.2	—	-21.8
	H	-5.0	-2.5	-1.7	9.0	6.2	-0.8	-20.7	$LSD_{0.05}$=8.68

就果皮含量而言，許多基因型呈現顯著的花粉直感效應。當親本 A 爲種子親時，有 A × C、A × D、A × G 和 A × H 組合 (表 4)；當親本 B 爲種子親時，有 B × A、B × C、B × D、B × E、B × F、B × G、B × H 等組合；當親本 C 爲種子親時，有 C × G 組合；當親本 D 爲種子親時，有 D × H 組合；當親本 E 爲種子親時，有 E × A、E × C、E × D、E × G、E × H 等組合；當親本 F 爲種子親時，有 F × A、F × B、F × D、F × G、F × H 等組合；當親本 G 爲種子親時，有 G × A、G × B、G × C、G × E、G × H 等組合；當親本 H 爲種子親時，有 H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F、H × G 等組合。其中果皮含量因花粉直感效應呈現明顯減少的基因型有 A × C、A × D、B × A、B × C、B × D、B × E、B × F、B × G、B × H、C × G、D × H、E × C、E × H、F × A、F × B、F × D、G × C、H × A、H × B、H × C、H × E、H × F、H × G 等組合。

就平均果皮厚度而言，有許多基因型呈現顯著的花粉直感效應。當親本 A 爲種子親時，有 A × C、A × E、 A × F、A × G 等組合 (表 4)；當親本 B 爲種子親時，有 B × A、B × D、B × E 和 B × G 等組合；當親本 C 爲種子親時，有 C × A、C × B、C × D、C × E、C × G 等組合；當親本 D 爲種子親時，有 D × A、D × E、D × F、D × G、D × H 等組合；當親本 E 爲種子親時，有 E × A、E × B、E × D、E × F、E × G 等組合；當親本 F 爲種子親時，有 F × D、F × E、F × G 等組合；當親本 G 爲種子親時，有 G × A、G × C、G × D、G × E、G × F、G × H 等組合；當親本 H 爲種子親時，有 H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F、H × G 等組合。其中平均果皮厚度因花粉直感效應呈現明顯減少的基因型有 A × C、A × E、A × F、A × G、B × A、B × D、B × E、B × G、C × B、C × G、E × D、G × A、G × C、G × D、G × E、G × F、G × H、H × A、H × B、H × C、H × D、H × E、H × F、H × G 等組合。

討　論

在相同胚乳型的不同基因型間花粉直感 (xenia) 效應對玉米籽粒重有明顯的影響。前人研究顯示在正常胚乳型的馬齒種與硬粒種內，花粉親來源不同對種子親植株上的當代雜交種種子的大小有直接影響，當以種子明顯較大的花粉親進行授粉時，其種子親植株上的當代雜交種種子之重量會明顯增加 (Leng 1949; Tsai & Tsai 1990)，與本文之結果相符。可能係因所使用材料其親本間籽粒之大小，最重的爲基因型 E (493.7 mg/kernel)，最輕者爲基因型 B (251.0 mg/kernel)，籽粒大小的差異極爲明顯，故對種子親植株上的當代雜交種種子的大小產生直接影響。另花粉直感對玉米籽粒顏色、胚乳型 (sh2、bt1、o2、su1、ae、wx) 皆有明鮮影響，當花粉親爲正常顯性時，常使隱性的種子親上當代之雜交種子胚乳型產生改變，呈現正常型之外表，籽粒品質也會有所改變 (Kiesselbach & Leonard 1932; Sprague 1977; Cross & Dosso 1989; Pixley & Bjarnason 1994)。

花粉直感效應主要表現在種子親植株上籽粒的性狀，而種子親植株上的當代雜交種之種子其果皮係由母體之子房壁組織發育而成。本試驗在相同台南白胚乳型之遺傳背景下，由於玉米自交系的親本其果皮厚度有遺傳上之差異存在，八個親本中基因型 B (98.5 μm) 最薄，最厚者爲 G (221.7 μm)，最薄與最厚者之果皮厚度相差 123.2 μm。雜交組合中平均果皮厚度較薄者有 B × A (79.2 μm) 及 B × G (79.2 μm)；最厚者爲 G × B (225.0 μm)，相差達三倍。以基因型 A、B、G、H 等爲種子親時，其雜交組合較親本來得薄的基因型有 A × C、A × E、A × F、H × A、A × G、B × A、B × D、B × E、B × G、G × A、G × C、G × D、G × E、G × F、G × H、H × A、H × B、H × C、H × D、

H × E、H × F、H × G 等。由此可知花粉親所產生之花粉直感效應對玉米籽粒果皮厚度有明顯的影響。一般玉米果皮厚度之遺傳主要由具有累加性的部份顯性基因所控制，部份顯性基因表現減量作用 (Ho *et al.* 1975; Ito & Brewbaker 1991)。花粉直感效應會對種子親植株上的雜交種子產生減少果皮厚度之作用，可能係因花粉親帶有較多的減量作用之部份顯性基因所致。

本試驗之結果，除了獲知花粉直感效應會對種子親植株上的雜交種子產生減少果皮厚度外，同時亦得知種子親的基因型同樣會影響玉米果皮厚度的表現，顯示上述性狀在種子親植株上的當代雜交種子果皮性狀的表現會共同受花粉親與種子親之基因遺傳系統共同控制而呈現外表型。

鮮食用玉米影響品質的主要因子有果皮的柔嫩度 (tenderness)、甜度 (sweetness) 和喜好 (flavor) 等三項。而一般鮮食籽粒的柔嫩度與果皮的厚薄和含量有密切相關 (Ito & Brewbaker 1981)。果皮的柔軟性 (tenderness) 爲影響鮮食玉米品質好壞的一個重要因子，其與果皮的厚度呈顯著負相關 (Bailey & Bailey 1938; Ito & Brewbaker 1981)。因此果皮的厚度對甜玉米的玉米粒加工或玉米糊等罐頭加工會有很大的影響。在美國玉米籽粒果皮厚度超過 75 μm 的品種，因食用時口感粗糙，果皮殘渣多，一般較不能被消費者所接受 (Brewbaker *et al.* 1996)。國內超甜玉米大面積栽培時，爲了維持栽培品種的品質，除了必須與其它胚乳型的品種間隔適當距離或避開開花期，才不致對栽培品種品質產生不良之影響。

引用文獻 (Literature cited)

Bailey, D. M. and R. M. Bailey. 1938. The relationship of the pericarp to tenderness in sweet corn. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci. 36:555–559.

Brewbaker, J. L., L. B. Larish, and G. H. Zan. 1996. Pericarp thickness of the indigenous american races of maize. Maydica 41:105–111.

Cross, H. Z. and H. Dosso. 1989. R-nj aleurone color selection and grain-filling responses in opaque-2 maize. Euphytica 43:269–274.

Helm, J. L. and M. S. Zuber. 1972. Inheritance of pericarp thickness in corn belt maize. Crop Sci. 12:428–443.

Ho, L. C., L. W. Kannenberg, and R. B. Hunter. 1975. Inheritance of pericarp thickness in short season maize inbreds. Can. J. Genet. Cytol. 17:621–629.

Ito, G. M. and J. L. Brewbaker. 1981. Genetic advance through mass selection for tenderness in sweet corn. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 106:496–499.

Ito, G. M. and J. L. Brewbaker. 1991. Genetic analysis of pericarp thickness in progenies of eight corn hybrids. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 116:1072–1077.

Kiesselbach, T. A. and W. H. Leonard. 1932. The effect of pollen source upon the grain yield of corn. J. Am. Soc. Agron. 24:517–523.

Lambert, R. J., D. E. Alexander, and J. W. Dudley. 1969. Relative performance of normal and modified protein (opaque-2) maize hybrids. Crop Sci. 9:242–243.

Leng, E. R. 1949. Direct effect of pollen parent on kernel size in dent corn. Agron. J. 41:555–558.

Odhiambo, M. O. and W. A. Compton. 1987. Twenty cycles of divergent mass selection for seed size in corn. Crop Sci. 27:1113–1116.

Pixley, K. V. and M. S. Bjarnson. 1994. Pollen-parent effect on the protein quality and endosperm modification of quality protein maize. Crop Sci. 34:404–409.

Seka, D. and H. Z. Cross. 1995a. Xenia and maternal effects on maize kernel development. Crop Sci. 35:80–85.

Seka, D. and H. Z. Cross. 1995b. Xenia and maternal effects on maize agronomic traits at three plant densites. Crop Sci. 35:86–90.

Sprague, G. F. 1977. Corn and corn improvement. p.137–141. *in*: American Society of Agronomy. Inc., Publisher Madison. Wisconsin, U. S. A.

Tsai, C. L. and C. Y. Tsai. 1990. Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce change in dry matter and nitrogen accumulation. Crop Sci. 30:804–808.

Xenia Effect on the Kernel Weight and Pericarp Characters of Maize [1]

Guang-Jauh Shieh [2]

Abstract

Shieh, G. J. 2008. Xenia effect on the kernel weight and pericarp characters of maize. J. Taiwan Agric. Res. 57:85–94.

All cross-combinations, excluding the reciprocals, were made among eight inbreding lines isolated from different originated areas of Tainan-white populations. All F_1 crosses and eight inbreding lines used as materials were used to study the xenia effect based on the kernel weight and pericarp characteristics. Analysis of variance showed that genotypes, male, female, and male × female interaction were significant different on the pericarp characteristics. In addition, the xenia effects were significant on the kernel weight, as well as thickness and content of pericarp at the same genotype. The expression of xenia effects in kernel weight and might be due to the pollen parents with larger partly-dominant gene than that of the seed parents, and the dominant gene might be the increasing genes. Xenia effects in pericarp thickness and content might be due to the pollen parents with larger partly-dominant gene than that of the seed parents, and the dominant gene might be the decreasing genes.

Key words: Maize, Xenia effects, Kernel weight, Pericarp thickness, Pericarp content.

---

1. Contribution No.2316 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: May 14, 2008.

2. Agronomist, Crop Science Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: x486045@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23399544.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 57(2):95–102 (2008)

植酸酵素基因轉殖馬鈴薯收穫田區之殘株管理－浸水處理評估[1]

陳烈夫[2] 吳明哲[2] 呂秀英[3,4]

摘　要

陳烈夫、吳明哲、呂秀英。2008。植酸酵素基因轉殖馬鈴薯收穫田區之殘株管理－浸水處理評估。台灣農業研究 57:95–102。

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是世界上最重要的非禾穀類糧食作物。基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系，是由'克尼伯' (Kennebec) 品種轉殖植酸酵素基因 (phytase gene) 所產生的基因轉殖作物。爲了探討浸水處理對基因轉殖馬鈴薯收穫田區之殘株管理的效果，本研究在農業試驗所於 2006 年秋作種植的收穫田區內進行相關試驗。試驗田間設計採兩因子之裂區設計，三區集，以浸水或不浸水兩種處理爲主區，轉殖和非轉殖兩品 (種) 系爲副區。浸水區在試驗期間一直保持水深淹過田面 3 cm。浸水後第 7、17、28、51、70 天分別自每小區內各逢機取出 4 株，調查取樣植株上的殘留薯球總數，以進行差異性比較。結果發現，浸水 17 天起處理之間的殘留薯球數量即有顯著差異，浸水 28 天以上，轉殖與非轉殖馬鈴薯殘株皆可被完全清除。本試驗評估結果顯示浸水爲清除轉殖馬鈴薯土壤中殘薯的有效管理方法；此外，'克尼伯'轉殖 2-1 品系的田間棄置殘株產量明顯低於'克尼伯'，亦可供生物安全評估之參考。

關鍵詞：馬鈴薯、基因轉殖作物、植酸酵素基因、殘株管理、浸水。

前　言

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是世界上最重要的非禾穀類糧食作物，與水稻、小麥及玉米並列爲四大經濟作物，爲兼具糧、菜用作物，亦是工業加工和食品加工的重要原料 (Liang 2005)。隨著生物技術的興起和發展，全球利用基因轉殖技術在馬鈴薯的研究已積極展開，目前用來進行馬鈴薯基因工程的外源基因有抗病毒、抗細菌、抗昆蟲的抗性基因，用來改良馬鈴薯品質的澱粉合成基因，以及蛋白質合成基因，還有抗除草劑基因及其它一些基因等 (Wenzler *et al*. 1989; Conner 1994,

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2317 號。接受日期：97 年 5 月 22 日。
2. 本所生物技術組助理研究員與組長。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 本所作物組研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：iying@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23390528。

2006; Halpin 2005; Turhan 2005; Wang *et al*. 2005; Pribylova *et al*. 2006)。現今畜牧產業在植酸 (phytic-acid) 方面之研究相當重視，這是由於植物中含有相當多的植酸，而植酸易與磷結合形成植酸磷，但單胃動物胃中缺乏分解植酸的植酸酵素 (phytase)，故無法吸收和利用飼料中的植酸磷，而需添加外源性無機磷來滿足其對磷的需求。這導致飼料中大量的植酸磷被浪費，且未被利用的植酸磷隨動物糞便排出體外後，將造成土壤及地下水中磷的累積，嚴重污染環境。植酸酵素是一種新型的飼料添加劑，透過它對植酸磷的水解，可提高牲畜家禽對飼料中磷的吸收和利用率，從而降低飼料成本並減輕環境的磷汙染。但添加植酸酵素的成本較高，目前還難以被廣泛採用。而將植酸酵素基因轉殖至作物上，是可行的一條途徑 (Ravindran *et al*. 1995)，其能改善飼料中磷的消化率，意即可減少飼料配方中磷的使用。國內中央研究院余淑美博士首創將植酸酵素基因轉殖至‘克尼伯’品種馬鈴薯植株上，目的在藉此提高飼料的轉化率，最終達到節約糧食、提高動物的生產性能以及減輕養殖業所造成環境污染問題。

Chan *et al*. (2007) 於 2004 年和 2005 年在農業試驗所基因轉殖作物隔離試驗田進行植酸酵素基因轉殖之馬鈴薯植株生長和產量評估，結果發現植酸酵素基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系在各生長期的主莖長、側枝數、地上部乾重及單株薯球總鮮重，雖較對照之非基因轉殖馬鈴薯‘克尼伯’爲低，但未達統計上 5%顯著水準差異；此外，2-1 品系在移植後第四週時的出土率顯著低於‘克尼伯’，而且自行留種連續第二年栽種下小於 120 g 的薯球數量明顯減少，此結果可以作爲生態安全評估之參考。惟基因轉殖作物的生態安全評估工作，尚包括植株生長勢及與原生種、野生種或雜草的競爭力 (Conner *et al*. 2003; Jenczewski *et al*. 2003; Hill 2005)。在台灣地區天然條件下‘克尼伯’通常較少開花結籽，除非提早種植或進行嫁接與光期處理延長光照，有促進開花與結實之可能 (Tsao & Chang 1980)。因此國內種植基因轉殖馬鈴薯較無花粉飛散的問題，惟需調查薯球收穫後殘留薯球在田間之生育情形，評估是否有雜草化之可能性，據以供爲基因轉殖馬鈴薯商業栽培之可行性評估的依據之一。根據行政院農業委員會於 2005 年訂定發布之「基因轉殖植物田間試驗管理辦法」，基因轉殖作物在進行遺傳性狀調查及生物安全評估後所殘留下來之植物殘體，按規定須妥善處理 (COA-AFA 2007)，但一般處理作物殘株的方式，如焚毀、掩埋或清運離園 (Lin *et al*. 2004) 等方法，其中清運離園是基因轉殖作物安全評估作業所不允許，而掩埋方式往往不能完全清除乾淨，又露天焚燒產生之濃煙會有嚴重污染空氣的顧忌，故必須採以其他能徹底消除殘株的方法。植株長期浸水，可導致根部腐爛，植株缺氧死亡之現象 (McMichael & Persson 1991)。因此，本研究在基因轉殖與非基因轉殖馬鈴薯的收穫田區進行土壤浸水和不浸水處理的比較試驗，以評估基因轉殖馬鈴薯的殘留薯球能否在土壤中被清除，並藉此找出浸水處理所需的有效天數，提升基因轉殖馬鈴薯之殘株管理的有效性。

材料與方法

本試驗材料以馬鈴薯‘克尼伯’品種經轉殖植酸酵素基因之 2-1 品系與原轉殖受體品種‘克尼伯’(wild type, WT) 爲對照，於農業試驗所基因轉殖作物隔離試驗田進行秋作栽培試驗。田間設計採裂區設計，三區集，以浸水或不浸水爲主區，兩品 (種) 系爲副區，共 12 個小區。試驗於 2006 年 9 月 25 日種植，採一畦雙行式種植方式，行株距 60 × 30 cm，每行 20 株，每小區四畦計 160 株。栽

培管理方式爲基肥用量每公頃施用苦土石灰、雞糞、黑肥各 400 kg；追肥於其幼芽全部伸出土面時施用，即種植後 15 天及 30 天施第一次及第二次追肥，每公頃施用量爲台肥 4 號複合肥料 400 kg，條施於距植株 10 cm 處而後培土；期間適時以人工防除雜草，並適時施用 5%陶斯松粒劑每公頃 20 kg 及噴施蘇力菌 1000 倍稀釋液以防治害蟲。待 2007 年 1 月 22 日成熟收穫期，不採收任何薯球即進行田區土壤的浸水處理試驗。爲防止浸水區的灌溉水溢流，各主區先築起四周田溝。浸水區保持水深淹過田面 3 cm，並需注意田間水分蒸發散失，隨時補充水分，以維持一定高度；而不浸水區則不施以任何處理，以作爲對照組。

從施行浸水處理即日起，分別在第 7、17、28、51、70 天自每小區內各逢機取出 4 株，調查 2-1 品系和對照之‘克尼伯’在取樣植株上的殘留薯球總數，以比較兩個品 (種) 系在兩種浸水處理 (有、無) 之間的表現差異。

結　果

本研究之兩個品 (種) 系與兩種浸水處理 (有、無) 之兩因子試驗採裂區設計，由表 1 之各不同取樣時間的變方分析結果得知，處理 7 天的效應不顯著；但 17 至 51 天浸水期間的殘留薯球數量與對照 (不浸水) 殘留量之間皆呈顯著差異，惟其品種效應、處理 × 品種之交感效應皆不顯著，此意味著在這段期間內浸水處理對 2-1 品系和‘克尼伯’收穫田區之殘株處理具有一致的顯著效果；處理後第 70 天之變方分析中的處理、品種、處理 × 品種之交感等效應皆呈顯著，表示兩品 (種) 系的田間殘株受到浸水處理的效果開始有明顯差異。

進而檢視 2-1 品系和‘克尼伯’收穫田區在各取樣時間殘留於植株的薯球數量 (表 2)，則發現在不浸水狀況下，雖然在各取樣時間兩品 (種) 系間之差異皆未達統計上 5%顯著水準，但自第 28 天

表 1. 基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯收穫田區施行浸水處理對殘留薯球數量 [z] 影響的變方分析 (採用裂區設計)

Table 1. Analysis of Variance (ANOVA) of effects of post-harvest flooding on number of tubers [z] in the fields of transgenic and non-transgenic potatoes (2006 field experiment, split plot design)

		Mean squares				
Source	df	7 [w]	17	28	51	70
Block	2	53.6	15.3	22.8	9.8	6.1
Treatment (T) [y]	1	120.3	352.1*	396.8*	432.0*	310.1*
Error (a)	2	18.6	5.6	22.8	9.8	6.1
Cultivar (C) [x]	1	12.0	2.1	24.1	27.0	60.8
T × C	1	12.0	0.1	24.1	27.0	60.8
Error (b)	4	14.3	12.6	11.6	9.3	6.3

[z] Number of tubers from 4 plants sampled in each plot.
[y] Treatments: flooding and non-flooding.
[x] Potato: non-transgenic potato (cv. Kennebec) and transgenic potato (strain 2-1).
[w] Sampling time: days of flooding.
* Significant at 5% level.

起，2-1 品系的殘留薯球數量已逐漸少於‘克尼伯’，直到第 70 天，‘克尼伯’之 4 株取樣植株上的殘留薯球數量仍維持約 14–15 個，但 2-1 品系則已經少到僅剩 6 個。再由表 2 得知，兩品 (種) 系之收穫田區經過浸水處理的結果表現相當一致，浸水 7 天的 4 株取樣植株上皆僅約殘留 6 個薯球，浸水 17 天則約還有 2–3 個，到第 28 天及之後皆不見有任何薯球存在。

爲找出基因轉殖馬鈴薯田區殘株管理的有效浸水天數，將兩品 (種) 系在有、無浸水處理後的殘留薯球數量隨著不同取樣時間的變化，繪製成趨勢圖，如圖 1 所示。結果發現，倘不施以任何處理而任意將植株棄置田間，‘克尼伯’田區的薯球殘體不會減少，然 2-1 品系在第 28 天起的田區殘留薯球數量有明顯降低的趨勢，且隨著植株棄置田間的時間越久，殘株量亦會更少，到第 70 天時 4 株取樣植株上僅平均殘留著 6 個薯球，顯然該品系有生長弱勢之傾向。倘種植田區在收穫後即施予浸水處理，無論 2-1 品系和‘克尼伯’皆於處理後第 28 天起便不再有任何薯球殘留在田間 (圖 1)。由此顯示，2-1 品系和‘克尼伯’在進行遺傳性狀調查及生物安全評估後，所棄置之植物殘株在浸水處理 28 天以上皆可完全腐爛死亡，即能有效控制田間殘株存活數。

討　論

Chan *et al*. (2007) 以兩年秋作試驗發現基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系較非基因轉殖馬鈴薯‘克尼伯’的生長勢較弱。本研究進而發現，倘收穫田區不施以浸水處理，‘克尼伯’的殘留薯球量不會減少，但 2-1 品系在第 28 天起的田區棄置殘株明顯遞減，顯然該轉殖品系確實有生長弱勢之傾向 (表 2、圖 1)。此意味由‘克尼伯’品種轉殖植酸酵素基因所產生之馬鈴薯 2-1 品系在國內田間長期種植時，獲得競爭優勢的潛在可能性不高，再加上在台灣天然條件下‘克尼伯’通常較少開花結籽 (Tsao & Chang 1980)，較無花粉飛散問題，這將使得 2-1 品系形成新的雜草的機會大爲降低，此對生物安全評估具有正面的意義。但爲了能將種植轉殖馬鈴薯的潛在風險降至最低，收穫後的田區殘株管理

表 2. 有、無施行浸水處理下基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯收穫田區的殘留薯球數量比較

Table 2. Numbers of tubers transgenic and non-transgenic plants of potatoes in harvested fields with or without flooding.

		Number of tubers from 4 potato plants [z]				
Treatment	Cultivar [y]	7 [x]	17	28	51	70
Non- flooding	WT	14.3 ± 4.3 a	14.3 ± 2.1 a	14.3 ± 0.9 a	15.0 ± 1.5 a	14.7 ± 2.7 a
	2-1	10.3 ± 2.2 a	13.3 ± 1.2 a	8.7 ± 4.7 a	9.0 ± 3.2 a	5.7 ± 0.9 a
	LSD (0.05) [w]	14.9	12.5	16.9	15.1	12.4
Flooding	WT	6.0 ± 1.0 a	3.3 ± 2.8 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
	2-1	6.0 ± 3.0 a	2.3 ± 1.2 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
	LSD (0.05)	11.4	12.4	0.0	0.0	0.0

[z] Data indicate mean and its standard error of 3 replicates.
[y] WT: wild type (non-transgenic) potato (cv. Kennebec); 2-1: transgenic potato (strain 2-1).
[x] Sampling time: days of flooding.
[w] LSD (0.05): values of least significant difference are for comparisons of cultivar means within treatments at 5% level. Within treatment for each sampling time, cultivar means followed by different letter are significantly different by LSD-test at 5% level.

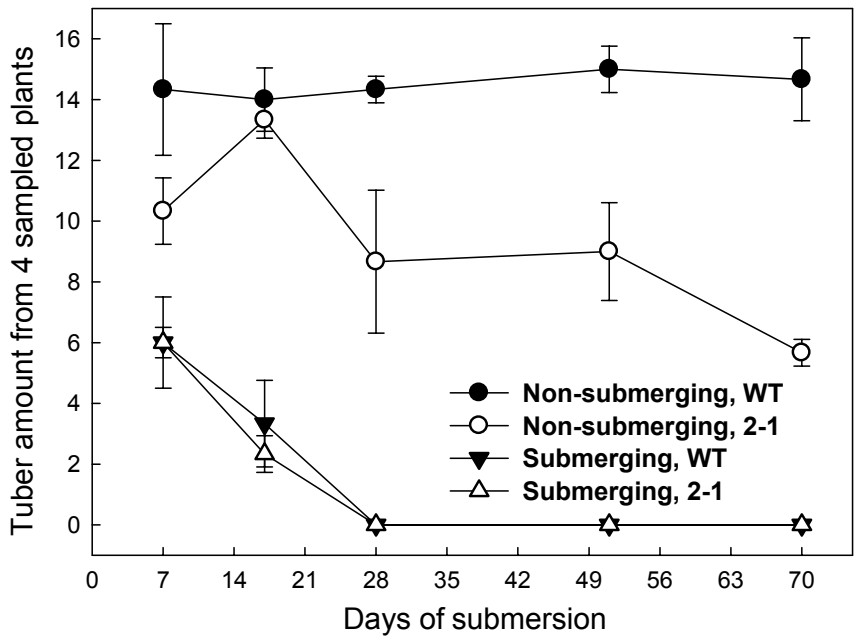


圖 1. 基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯收穫田區有、無浸水處理的殘留薯球數量變化。各點上的垂直線爲平均值之標準差。

Fig. 1. Changes of number of tubers of transgenic and non-transgenic potato plants in harvested fields with or without flooding. Vertical bars on each point are standard error of mean.

仍非常重要。經本研究評估結果，種植田區在收穫後即施予浸水處理 28 天以上，就能有效完全清除田間棄置之殘株 (表 2，圖 1)，因此以水淹法進行基因轉殖馬鈴薯的收穫田區殘株處理不失爲一良好的方式，可考量納入安全評估之標準操作程序中。

基因轉殖作物在土壤中之殘留物，與土壤生物群落長時間接觸，再加上轉殖也可能導致根際分泌物或作物本身其他生理特性產生改變，而影響作物殘株在土壤中的分解速率和分解產物中碳、氮等營養元素之含量變化，最終反過來又會影響土壤肥力、土壤生化過程及有機質組成 (Ponnamperuma 1984; E *et al*. 2004)。因此，未來將繼續就浸水期間基因轉殖作物在分解過程中對土壤生物的影響層面進行相關研究，以供作生態安全所需之資料，並提供未來基因轉殖馬鈴薯經安全評估認可釋放後在栽培管理上之參考。

誌　　謝

本研究承蒙農業生物技術國家型科技計畫補助經費 (96 農科-1.1.6-農-C1)，及中央研究院余淑美博士提供試驗材料，特此誌謝。

引用文獻 (Literature cited)

Chen, L. F., W. P. Tseng, M. L. Wei, and H. Y. Lu. 2007. Plant growth and yield evaluation of phytase transgenic potato. J. Taiwan Agric. Res. 56:45–52. (in Chinese with English abstract)

COA-AFA. 2007. Management method of field experiments in transgenic plants. p.65–82. *in*: A Reference Guide to Field Experiments in Transgenic Plants. (Liu, L. F. and Y. L. Yang, eds.) Agriculture and Food Agency (AFA), COA. Taiwan, ROC. (in Chinese)

Conner, A. J., T. R. Glare, and J. P. Nap. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. Plant J. 33:19–46.

Conner, A. J. 1994. Biosafety assessment of transgenic potatoes: environmental monitoring and food safety evaluation. p.1–12. *in*: The Proceeding of the 3rd International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms. California Univ. Oakland, California.

Conner, A. J. 2006. Biosafety evaluation of transgenic potatoes: gene flow from transgenic potatoes. p.127–140. *in*: International Symposium on the Ecological and Environmental Biosafety of Transgenic Plants. (Huang, S. L., S. Chen, and C. Y. Lin, eds.) ARI. Taichung, Taiwan, ROC.

E, Z. G., X. Chen, and G. Y. Zhi. 2004. Impact of transgenic crops on soil-organism. Rural Eco-Environ. 20:73–76. (in Chinese with English abstract)

Halpin, C. 2005. Gene stacking in transgenic plants-the challenge for 21st century plant biotechnology. Plant Biotechnol. J. 3:141–155.

Hill, R. A. 2005. Conceptualizing risk assessment methodology for genetically modified organisms. Environ. Biosafety Res. 4:67–70.

Jenczewski, E., J. Ronfort, and A. M. Chèvre. 2003. Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes. Environ. Biosafety Res. 2:9–24.

Lin, C. Y., P. J. Ann, C. A. Chang, C. T. Lo, and T. F. Hsieh. 2004. Cultural management. p.24–30. *in*: Non-pesticide Management of Crop Disease. Agric. Res. Inst. Pub. No.110. Taichung. 53 pp. (in Chinese)

Liang, Y. F. 2005. Introduction, evaluation and utilization of potato genetic resources from international potato center (CIP). Southwest China J. Agric. Sci. 18:814–817. (in Chinese with English abstract)

McMichael, D. G. and H. Persson. 1991. Plant Roots and Their Environment. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands. 650 pp.

Ponnamperuma, F. N. 1984. Effects of flooding on soils. p.10–46. *in*: Flooding and Plant Growth. (Kozlowski, T. T., ed.) Academic Press. New York.

Pribylova, R., I. Pavlik, and M. Bartos. 2006. Genetically modified potato plants in nutrition and prevention of diseases in humans and animals: a review. Vet. Med. 51:212–223.

Ravindran, V., W. L. Bryden, and E. T. Kornegay. 1995. Phytase: occurrence, bioavailability and implication in poultry nutrition. Poultry Avian Biol. Rev. 6:125–143.

Tsao, S. J. and Y. M. Chang. 1980. Study on potato production by true seeds - flowering and ruiting. J. Agric. Res. China 29:321–328. (in Chinese with English abstract)

Turhan, H. 2005. Salinity response of transgenic potato genotypes expressing the oxalate oxidase gene. Turk. J. Agric. For. 29:187–195.

Wang, Q., H. Y. Huang, Y. L. Chen, and D. Wang. 2005. Variation of polyphenol oxidase activity and isozyme in transgenic homozygous tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). Acta Agron. Sin. 31:1162–1166. (in Chinese with English abstract)

Wenzler, H., G. Mignery, G. May, and W. Park. 1989. A rapid and efficient transformation method for the production of large number of transgenic potato plant. Plant Sci. 63:79–85.

Effect of Flooding on Management of Phytase-Containing Potato Tubers in the Harvested Field [1]

Lit-Fu Chen[2], Min-TzeWu[2], and Hsiu-Ying Lu[3, 4]

Abstract

Chen, L. F., M. T. Wu, and H. Y. Lu. 2008. Effect of flooding on management of phytase-containing potato tubers in the harvested field. J. Taiwan Agric. Res. 57:95–102.

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most important non-cereal food crop in the world. The transgenic potato plants, strain 2-1, were obtained by transforming phytase-gene into their original plants, cv. 'Kennebec' (wild type). To study effects of flooding on survival and persistence of transgenic potato tubers in the harvested field, an experiment was conducted in a field at the Agricultural Research Institute in the fall crop season of 2006. A factorial split design with three blocks was used with flooding (with and without) as main factor and cultivars (strain 2-1 and wild type) as subfactors. For the flooding treatment, water level was maintained at 3 cm above soil, starting at harvest time and throughout the entire period of the experiment. For each of sampling date at 7, 17, 28, 51, and 70 days after flooding, four potato plants were randomly sampled from each plot and examined for number of tubers. Results showed that number of tubers was significantly reduced after flooding treatment of filed plots for 17 days, compared to non-flooding controls. After flooding for 28 days or longer, no tubers were found on both transgenic and non-transgenic plants of potatoes. This results suggest that flooding of potato fields is an effective method for post harvest field management of transgenic potatoes. Besides, production of potato tubers in the transgenic plants 'Kennebec' strain 2-1 was significantly lower than the non-transgenic plants cv. 'Kennebec' sampled from plots without flooding treatments. The lower number of potato tubers in the transgenic plants 'Kennebec' strain 2-1 might be another reference point for consideration in biosafety assessment of growing transgenic potatoes in the field.

Key words: Potato, *Solanum tuberosum*, Genetically modified crops, Phytase gene, Residue management, Flooding.

---

1. Contribution No.2317 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: May 22, 2008.
2. Respectively, Assistant Researcher and Director, Biotechnology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Senior Researcher, Crop Science Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: iying@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23390528.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 57(2):103–118 (2008)

水稻表現序列標幟 (EST) 功能分析自動化系統[1]

呂秀英[2] 陳政道[2] 呂椿棠[2,4] 邱怡嘉[3] 魏夢麗[2]

摘　要

呂秀英、陳政道、呂椿棠、邱怡嘉、魏夢麗。2008。水稻表現序列標幟 (EST) 功能分析自動化系統。台灣農業研究 57:103–118。

表現序列標幟 (expressed sequence tag, EST) 是 cDNA 序列片段，直接研究 EST 可獲取基因表現訊息。透過 EST 的功能註解、分類和表現量統計，能瞭解不同 cDNA 基因庫間之基因表現型式的差異性及表現基因的功能類別。現存於公共資料庫的水稻 EST 序列數量相當龐大，可作爲水稻基因組功能註解的重要資源。但針對這些巨量 EST，僅靠人工是不可能在短時間內完成所有分析與計算。因此，本研究在 Linux 伺服器以 MySQL 資料庫管理系統建立本地資料庫，並綜合 Perl 和 PHP 程式語言之運用，成功研發了一套完整的水稻 EST 功能分析自動化系統，能快速且準確完成 EST 功能註解、分類及表現量統計的全程分析工作，大大提高了工作效率。使用者無須登錄到 Linux 分析平台，只要在 Microsoft Window 操作環境下透過網頁瀏覽器，即可直接使用該系統。系統以 Web 界面爲基礎所設計的輸入畫面在操作上非常簡便，且分析完成後主動將輸出結果透過電子郵件寄給使用者。本系統亦可容易地擴展運用到其他物種之 EST 功能分析工作，對分子遺傳實驗室發展 EST 分析工作具有重要意義。

關鍵詞： 水稻、表現序列標幟、功能註解及分類、基因表現量統計、自動化系統、Perl 語言。

前　言

1991 年 Adams 等人從三種人腦組織的 cDNA 基因庫 (library) 中隨機挑選出 609 個選殖體 (clone) 進行定序，從而得到一組人腦組織的表現序列標幟 (expressed sequence tag, EST)，並將其與資料庫進行序列同源性對比，結果顯示該組中有 36 個代表已知基因，337 個代表未知基因，這是關於 EST 技術應用的首次報導，並首次提出了 EST 的概念 (Adams *et al.* 1991)。EST 雖然只是 cDNA 的片段序列，但具快速且低廉的優點，故成爲連接結構基因組學和功能基因組學的一道橋

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2318 號。接受日期：97 年 6 月 17 日。
2. 本所作物組研究員、計畫助理、助理研究員與助理研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 私立朝陽科技大學生物技術研究所碩士。台灣 台中縣 霧峰鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：tang@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23390528。

樑，進行 EST 分析可提供基因辨識、新基因發現及基因表現差異性等研究，是最快速獲得序列資訊及提供功能性基因組研究之來源 (Adams *et al*. 1991, 1992; Polymeropoulos *et al.* 1993; Bonaldo *et al*. 1996; Rounsley *et al*. 1996; Ewing *et al*. 1999; Jongeneel 2000; Kantety *et al.* 2002; Rudd 2003; Wei *et al*. 2005a, b)。隨著 EST 定序的快速發展，至 2008 年 3 月 28 日止，美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) 的 dbEST 資料庫已登錄不同物種之不同組織的 EST 共 50,818,319 條，其中以人和鼠的最多 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html)。目前全世界研究單位都在針對禾穀類作物或其他重要作物進行大規模的 EST 計畫，EST 資料仍在快速增加中 (Kantety *et al*. 2002)。至 2008 年 3 月 28 日止，登錄在 NCBI 之 dbEST 資料庫的水稻 EST 序列數量已累積近 1,220,261 條 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html)。從公共資料庫下載取得 EST 以進行分析之前，爲維持序列的品質，通常都會利用 CAP3 或其他接合軟體的聚集 (clustering) 與接合 (assembly) 之常規化處理，減少 EST 之重疊性，並將其連接成更長、更高質量的序列，此稱爲單一序列 (unique sequences) (Adams *et al*. 1995)；然後再透過該 EST 之單一序列的功能註解 (functional annotation)，以瞭解這個序列在生物體中所扮演的功能。透過已註解的 EST 序列，可以進行其上下游資訊的全面分析，包括新基因發現、重複序列測定、調控基因確定、完整基因分析等 (Jongeneel 2000; Wolfsberg & Landsman 2001; Sreenivasuls *et al*. 2002; Wei *et al*. 2005a)。

一般針對 EST 功能註解的方法，通常是將 EST 單一序列直接利用 BLAST (basic local alignment search tool) 去比對 NCBI 資料庫 (http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/) 或 MIPS (Munich Information Center for Protein Sequences) 之資料庫 (MAtDB, http://mips.gsf.de/proj/plant/jsf/athal/searchjsp/searchSequence.jsp)，然後再將所比對到的相似性序列進一步利用 MIPS 功能分類系統 (MIPS Functional Catalogue, MIPS_FunCat, http://mips.gsf.de/proj/funcatDB/search_main_frame.HTML) 來進行功能分類 (Lai *et al*. 2004; Shim *et al*. 2004; Brenner *et al*. 2005)。此程序必須經由一再核對及篩選的反覆過程，否則無法迅速且準確地獲知其真正的功能。基此，Chiu *et al*. (2007) 成功地建立了一套完整且快速的新流程：將 EST 單一序列比對 TIGR (The Institute for Gene Research) 之 Gene Index (TGI) 資料庫 (http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi) 的假設性一致性序列 (tentative consensus sequence, TC) 進行功能註解，再藉由 TC 搜尋結果連結到 GO (Gene Ontology, http://www.geneontology.org/) 與 MIPS 之功能分類系統進行功能分類，最後進行基因功能表現量之統計。對於少量資料，可將其提交到上述各相關網站，即可完成分析；但對於大量的 EST 資料，所需花費的時間和人力仍相當可觀，因爲利用網際網路在多個網站間交互操作，不僅存在速度慢、步驟繁瑣、缺乏針對性等缺點，而且保密性差，難以滿足研究工作需要。另外由於不同網站資料庫的操作方式與資料儲存格式不盡相同，故常常得花很多時間於各輸入輸出檔案間的格式轉換與資料整理，此過程中也容易出錯。隨著 EST 量越來越多，處理巨量生物資料的高度複雜性，僅靠人工完成所有分析與計算是難以想像的。而唯一解決之道，是將整個分析流程予以全面自動化。因此，本研究以 Chiu *et al*. (2007) 所建立的 EST 功能註解分析流程爲基礎，先從網路上將 TGI 中 TC 資料庫的相關序列及其訊息敘述、GO 分類資料庫的代碼及敘述、MIPS 分類目錄以及 BLAST 序列比對軟體，下載到自有 Linux 主機所構築的資料庫內，以建置一個可以在本地直接進行序列比對、功能註解和分類的操作平台；然後編寫程式，將整個分析流程予以自動化並設計簡單易用的使用介

面，使能快速準確地完成 EST 功能註解、分類及表現量統計的全程分析工作。此本地序列資料分析平台及自動化系統之建構完成，對於分子遺傳實驗室發展 EST 分析工作具有重要意義。

材料與方法

EST 功能註解分析之流程

Chiu *et al*. (2007) 擷取 NCBI 之 dbEST 資料庫中受褐飛蝨誘導之 188 條水稻 EST 序列，將其經 CAP3 軟體聚集和接合後，共獲得 155 條較高品質和去除多餘性的單一序列，以此單一序列爲材料建立了一套 EST 功能的註解、分類及表現量統計的分析流程，如圖 1 所示：(1) 首先將 EST 經聚集及接合後所產生的單一序列，去比對 TIGR Gene Index (TGI) 資料庫的 TC，以進行功能註解；(2) 藉由 TC 搜尋結果連結至相對應之 GO 分類代碼及敘述，可進行功能註解之粗分類；(3) 再經由 GO 分類代碼連結至相對應之 MIPS 分類代碼目錄，以進行功能註解之細分類；(4) 最後統計各功能類別的基因表現量及其比例。

TGI 資料庫蒐集的基因資料不僅簡單對 NCBI 之 GenBank 資料庫的基因和 EST 數據按物種分類，也提取 GenBank 資料庫中不同物種的 EST 和註解的基因序列，經由聚集、接合等分析過程以產生單一的、具有高可信度的 TC。因此可藉此網站輸入查詢序列進行比對後，找出相似的 TC，來推測基因之功能註解。GO 主要提供結構及動態模式的控制字彙和分類系統，真核生物的基因和蛋白質也可透過 GO 的整合性分類系統得到分子功能 (molecular function)、生物程序 (biological process)、細胞成分 (cellular component) 三個層次的註解，可對基因組資訊進行簡單分類及描述 (GO 2006)。MIPS 分類系統的功能分類目錄 (MIPS_FunCat, http://mips.gsf.de/proj/funcatDB/search_main_frame.HTML) 是一個階層系統，由二十多個主要功能種類所組成，主功能底下又有其細分類別，迄今最新 2.1 版已增加到 28 個主功能共包含 1362 項之功能類別，可用來對不同生物之基因組進行註解之分類，是研究者對基因及其產物進行功能分類時常參考的資料庫 (Andreas *et al*. 2004; Mewes *et al*. 2006, 2008)。

序列資料分析平台之建置

本研究所研發的自動化分析系統安裝在 Linux 伺服器內，用於建構該 Linux 序列資料分析平台的硬體配備爲 Pentium III、CPU 650 MHz、1GB RAM，及內含 80G 的 SCSI 硬碟。作業系統爲 RedHat Linux 9.0，可從 http://www.redhat.com 或其他鏡像站點取得。該類小型伺服器的花費較少，大部分實驗室都有能力配置。

由於生物資訊分析通常涉及巨量資料，資料的儲放必須有一個高效率的資料庫，才能利於管理、存取及後續分析。因此，本研究在 Linux 作業平台上，利用 PHP 及 MySQL 建立一個資料庫，專門用來儲存待分析之 EST 單一序列和所有分析結果。而爲了建置一個可以在本地直接進行序列比對、功能註解和分類的操作平台，也從網路上下載 TGI 中 Rice (*Oryza sative*) 之 TC 資料庫 (含序列及相關訊息敘述)、GO 分類資料庫 (含代碼及敘述) 和 MIPS 分類目錄，以及 BLAST 序列比對軟體，並將它們儲存在本地資料庫中。根據 Chiu *et al*. (2007) 所建立之水稻 EST 功能註解分析流程 (圖 1)，再利用 Perl 語言來撰寫水稻 EST 功能分析自動化系統之 Perl 程式模組。

相關軟體之獲取與安裝

建構分析平台和自動化系統所使用的軟體皆爲免費軟體，可以從網際網路下載或直接向作者索取，而在 RedHat Linux 9.0 作業系統安裝後即已內建 Perl 5.6、PHP 2.6.4 及 MySQL 3.23.5。由於這些軟體皆安裝在 Linux 操作系統中，不能移植到 Microsoft Windows 系統，但 Windows 使用者仍可以透過一般網頁瀏覽器 (如 IE, Netscape, Sleipnir 等) 輸入 Linux 伺服器的所在 IP 網址，就能連結使用本系統，而未必要藉由終端模擬軟體或遠端連線軟體登錄到 Linux 伺服器上使用。本研究相關軟體之功能，簡單說明如下：

序列相似性比對軟體 BLAST：BLAST 爲目前生物資訊學 (Bioinformatics) 研究上極爲重要的工具，特別是在核酸或胺基酸序列資料庫的搜尋，堪稱目前最廣泛使用的序列相似性比對方法。此法的演算式和統計學基礎由 Altschul 等人於 1990 年發表 (Altschul *et al*. 1990) 後，經陸續改進，至 1996 年成爲 NCBI 最重要的網路伺服工具。BLAST 使用了局部 (local) 而非全域性 (global) 的序列比對，而再採用字串比對 (word hashing) 時，加入了相似度門檻值 (similarity threshold) 的概念使得長字串不需全部一致而大幅提高搜尋速度，並利用極端分布統計 (extreme value distribution statistics) 的概念進行信賴度分析而設計了 E-value，在速度與搜尋靈敏度上獲得極佳的平衡 (Altschul & Gish 1996)。在給定條件的搜尋下，所找到的相似序列之清單中的 Score 是這一相似序列中最相似的區域之得分，代表統計學上的可能性，得分越高，越不可能是逢機發生，即越有可信度。但該值爲絕對值，與所搜尋的資料庫大小無關。而 E-value 是一種期望值，與搜尋空間大小有關，其意義是在這樣的資料庫搜尋空間中可逢機獲得這樣高分之序列的可能性，因此 E-value 越高，

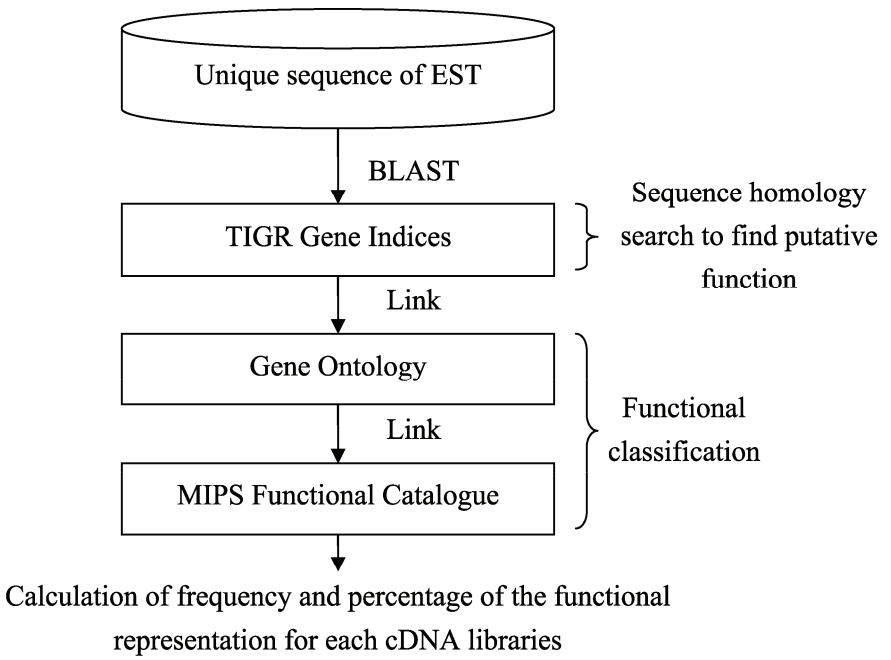


圖 1. Chiu *et al*. (2007) 所建立之 EST 功能註解分析的流程圖。

Fig. 1. Flowchart showing the analysis procedures of EST functional annotation established by Chiu *et al*. (2007)

則代表越有可能是逢機獲得的，也就越不可信，或越不具有生物意義。BLAST 可由 NCBI 網站下載 (http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/)，用來進行本地序列的相似性分析。

程式語言 Perl：Perl 是 practical extraction and report language (實用擷取與報告語言) 的縮寫，爲 Larry 於 1980 年代中期所創，最初是 UNIX 作業系統所開發的編製程式語言，現在具有強大的跨平台特性，幾乎不受限制，如 Linux、Microsoft Windows、Macintosh、MVS、VMS、OS/2、Plan9、Amiga 等作業系統也都有相應的 Perl 語言解釋器；Perl 是一種腳本語言 (script language)，對程序、檔案和文字有很強的處理與變換能力，因此凡是有關系統工具、軟體工具、系統管理、資料庫連結、圖像程序設計、網路連結和 WWW 程序設計等任務，都特別適合用 Perl 來執行 (Larry *et al*. 2000; Schwartz *et al*. 2005)。Perl 十分容易學習和掌握，大多數的任務只需要 Perl 語言的一小部分即可完成。Perl 也是一種解釋式的語言，即只要寫了程式後，不需經由一道中間的編碼過程即可測試，可快速、方便地測試及除錯。這些優點使得 Perl 成爲普及於全球資訊網中的編製程式語言，如同系統和資料庫與使用者之間的通道，並已成立專屬官方網站 (http://www.perl.org/)。現在 Perl 語言已廣泛應用在生物資訊學研究 (Jagota 2004; Jan *et al*. 2004; Haynes *et al*. 2006; Zhou *et al*. 2007)。

HTML 輸出程式 PHP：PHP 是 hypertext preprocessor (超文件前置處理器) 的縮寫，用來產生 HTML 網頁原始檔的中介程式及語言，屬於一種伺服端內嵌式 HTML 的應用程式；不是用一大堆指令來輸出 HTML 程式，而是直接可以在 PHP 和 HTML 間切換，尤其適合用來 Web 開發。它容易學習，執行速度快，可同時運行於 Windows、UNIX 和 Linux 不同作業平台的 Web 程序，內置了對文件上傳、密碼認證和郵件收發等功能 (Williams & Lane 2004; Trachtenberg & Sklar 2006)。PHP 也有其專屬的官方網站 (http://www.php.net/)。透過 PHP 程式之編寫設計，即便本系統是建立在 Linux 分析平台上，也能讓 Windows 使用者直接透過網頁瀏覽器來輸入資料並讀取輸出結果，而未必要登錄到 Linux 伺服器才能使用該系統。

資料庫管理系統 MySQL：MySQL 是一個快速、容易使用且功能強大的關聯式資料庫管理系統 (relational database management system, RDBMS)，可容易地與 C、C++、Java、Perl、PHP 等語言連結，且可運作在許多作業平台上，例如 Linux、HP-UX、Windows 等平台。自 1996 年以來，MySQL 得到很多大公司的支持，其功能性和穩定性都有很大的發展，目前共超過 40 個資料庫，包含 10,000 個表，其中 500 多個表超過 7 百萬行，大約有 100GB 容量的主要應用資料，能快速且靈活地儲存並記錄文件和影像，故已有許多配置和管理 MySQL 伺服器的圖形工具被開發，爲系統管理員提供極大的幫助 (Williams & Lane 2004; DuBois 2006)。MySQL 現也已成立專屬官方網站 (http://www.mysql.com)。透過 MySQL，能提供各研究室的 Web 網站或個人網站一個簡單、方便及高效能的資料庫系統。

系統之效率評估

爲確認系統的效益，有必要以實際序列資料進行評估。Chiu *et al.* (2007) 擷取 NCBI 之 dbEST 資料庫中受褐飛蝨誘導之 188 條水稻 EST 序列，將其經 CAP3 軟體聚集和接合後所得到的 155 條單一序列爲材料，採用人工方式進行功能註解，自 TC 資料庫相似性序列的蒐集比對至最終完成功能的註解、分類及統計，前後共花了大約 3 個月的時間。因此，本研究將首先以此 155 條單一序列來測試以自動化系統完成全程分析工作所需的時間。另外，Lu *et al*. (2007) 取自 NCBI 之 dbEST 中受稻熱病菌誘導之共 84,705 條水稻 EST，利用 CAP3 將其聚集和接合後，共得到 32,165 條 EST 單

一序列，此巨量的單一序列是絕不可能利用人爲方法來完成功能註解之分析工作，因此也是利用此自動化系統來完成所有分析。

結　果

使用介面操作

本研究在 Linux 主機以 MySQL 資料庫管理系統建立本地資料庫，並綜合 Perl 和 PHP 程式之運用，成功研發了一套完整的水稻 EST 功能分析自動化系統。透過 PHP 程式設計，使用者無須登錄到 Linux 主機平台，只要在 Microsoft Window 操作環境下透過網頁瀏覽器，即可使用該系統。使用者執行介面之畫面，設計如圖 2。它在操作上十分簡單易明，只要先將 FASTA 格式的序列資料，

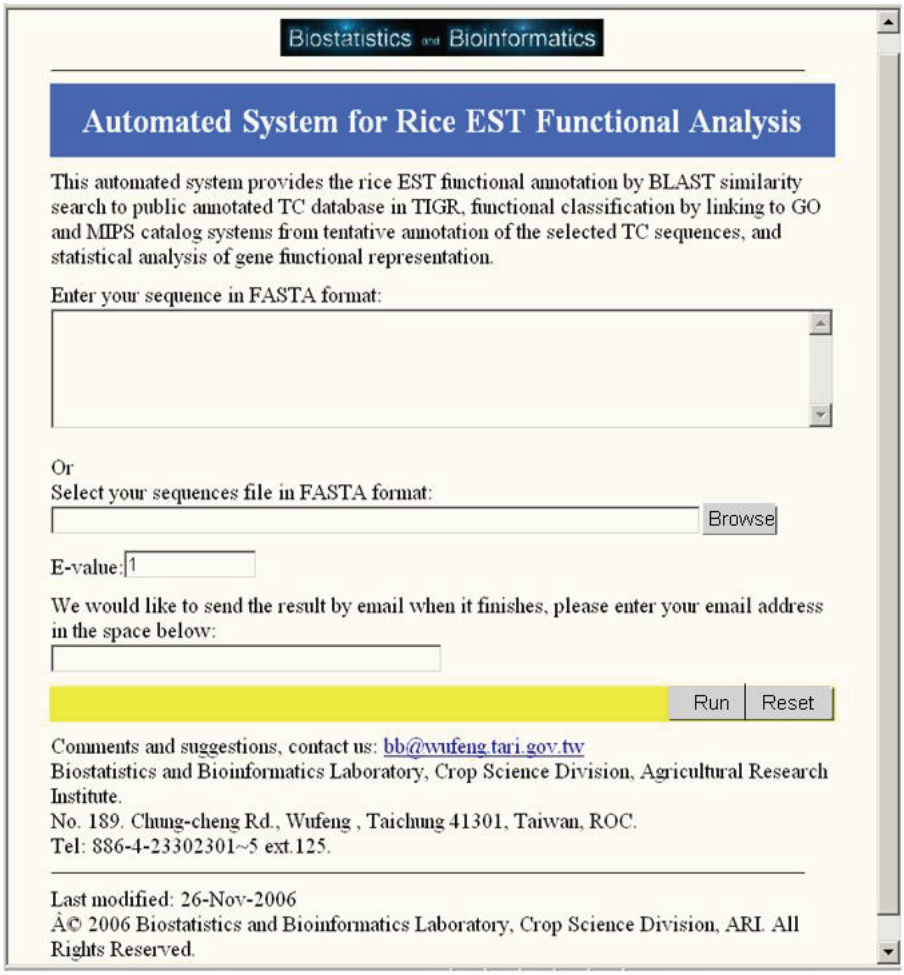


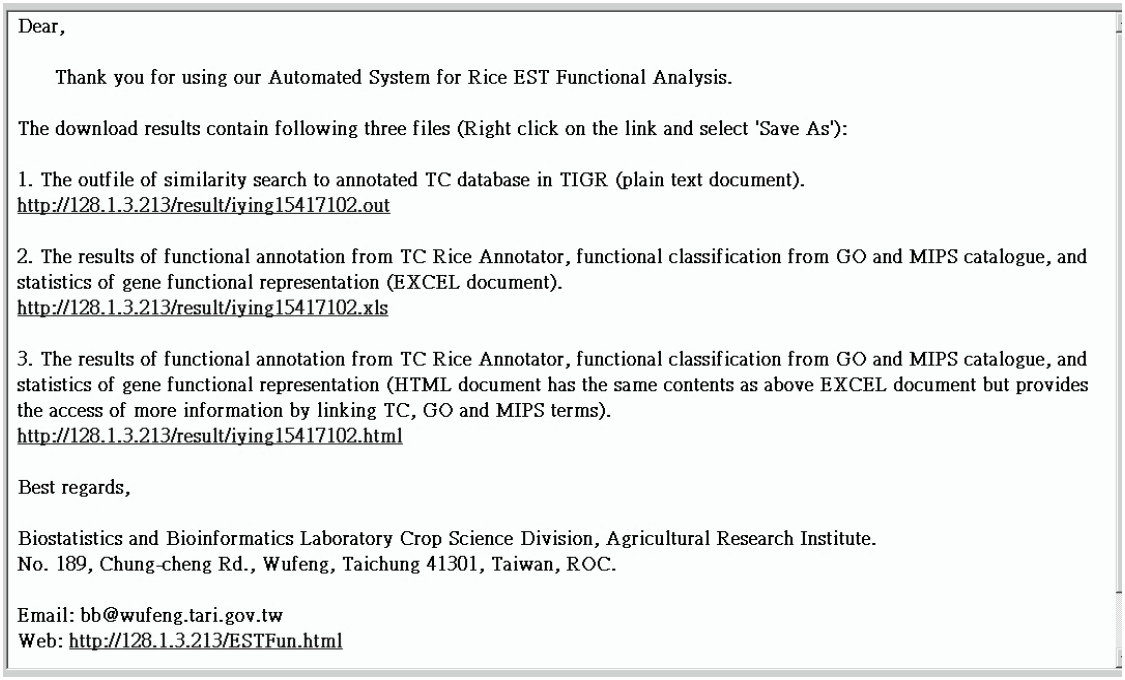
圖 2. 水稻 EST 功能分析自動化系統的輸入介面。

Fig. 2. Input interface of automated system for rice EST functional analysis.

用複製貼上之方式貼於畫面上的序列輸入框內，或者利用「Browse (瀏覽)」功能指定到個人電腦硬碟內儲存序列檔案的所在位置，再於最下面輸入框內填入使用者的電子信箱地址，最後按「Run (執行)」功能鍵即可。若在送出前按「Reset (重設)」功能鍵，則可清空已輸入的所有資料。系統在確認收到查詢序列後，會顯示出感謝使用本系統等字樣，然後將接下來的分析工作交給 Linux 主機執行。系統在完成分析後，會主動將結果以電子郵件寄給使用者，因此操作畫面中的電子信箱地址是必要輸入的。畫面中序列輸入框之下方的 E-value 欄位，系統內設值爲 1，但允許使用者自行修改將其降低或提高；降低 E-value 可將相似性比對的門檻變高，於是對 TC 所能搜尋的相似性序列會變得較少，反之若提高 E-value，則能比對到的序列可較多。

輸出結果內容

系統完成分析後，使用者會收到電子郵件通知，郵件內容如圖 3 所示。使用者可由收到的電子郵件中，直接用滑鼠點選相關檔案名稱，即可將它們直接開啓或下載。爲有利於使用者的各種後續運用，本系統將所分析的結果，提供了文字、Microsoft Excel 和 HTML 之三種不同儲存格式之輸出檔案，其附加檔名分別爲 out、xls 和 html。這三種檔案的命名原則，是以使用者所提供之電子信箱@之前的名稱，再加上一個流水號。第一個附加檔名爲 out 的輸出檔案，是可由網頁瀏覽器或任何文書製作軟體開啓的文字檔，內容爲查詢序列經 BLAST 比對 TIGR 的相似性搜尋結果，如圖 4 所示，輸出報表中會將所有小於指定 E 值 (系統內設值 = 1) 的相似性搜尋結果全部列出。至於


Dear,

Thank you for using our Automated System for Rice EST Functional Analysis.

The download results contain following three files (Right click on the link and select 'Save As'):

1. The outfile of similarity search to annotated TC database in TIGR (plain text document).
http://128.1.3.213/result/iying15417102.out

2. The results of functional annotation from TC Rice Annotator, functional classification from GO and MIPS catalogue, and statistics of gene functional representation (EXCEL document).
http://128.1.3.213/result/iying15417102.xls

3. The results of functional annotation from TC Rice Annotator, functional classification from GO and MIPS catalogue, and statistics of gene functional representation (HTML document has the same contents as above EXCEL document but provides the access of more information by linking TC, GO and MIPS terms).
http://128.1.3.213/result/iying15417102.html

Best regards,

Biostatistics and Bioinformatics Laboratory Crop Science Division, Agricultural Research Institute.
No. 189, Chung-cheng Rd., Wufeng, Taichung 41301, Taiwan, ROC.

Email: bb@wufeng.tari.gov.tw
Web: http://128.1.3.213/ESTFun.html

圖 3. 水稻 EST 功能分析自動化系統完成分析後主動寄給使用者的電子郵件訊息，隨函共附 3 個輸出檔。

Fig. 3. An e-mail message attaching with three output files from rice EST automated functional analysis system was sent to the user automatically after accomplishing the analysis.

```
BLASTN 2.2.11 [Jun-05-2005]


Reference: Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer,
Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997),
"Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search
programs",  Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

Query= Contig1
         (237 letters)

Database: tc
           36,381 sequences; 54,320,236 total letters

Searching..................................................done

                                                                  Score    E
Sequences producing significant alignments:                       (bits) Value

TC275121 GB|AAP47473.1|32331891|AY164899 RTNLB20 (Oryza sativa (...   389   e-108
TC261271 similar to GB|BAC22440.1|24414198|AP005452 alcohol dehy...    46   2e-04
TC256026 weakly similar to GB|AAP42759.1|30984592|BT008746 At1g2...    46   2e-04
TC258321                                                               42   0.002
TC248959 similar to UP|H136_ARATH (O82660) Photosystem II stabil...    42   0.002
TC261368 UP|O80422 (O80422) Carbonic anhydrase, partial (96%)          40   0.010
TC251134 B1003B09.10 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]          38   0.039
TC284026 Oryza sativa (japonica cultivar-group) cDNA clone:002-1...    36   0.15
TC277397 UP|Q6SZS7 (Q6SZS7) Cytosolic NADP malic enzyme, complete      36   0.15
TC261619 Oryza sativa (japonica cultivar-group) cDNA clone:J0330...    36   0.15
TC266761 Oryza sativa (japonica cultivar-group) cDNA clone:J0230...    34   0.60

>TC275121 GB|AAP47473.1|32331891|AY164899 RTNLB20 (Oryza sativa (japonica
            cultivar-group);) , complete
          Length = 1876

 Score =  389 bits (196), Expect = e-108
 Identities = 199/200 (99%)
 Strand = Plus / Minus
Query: 19   ggtacacctgagaactcgcaaacccgacaaaagacgccacccttccgaatcgagtcccct 78
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 1078 ggtacacctgagaactcgcaaacccgacaaaagacgccacccttccgaatcgagtcccct 1019


Query: 79   tgcgcaacttattctagttcttctttggcttcgccgggcccctgggtatcttgctcaaaa 138
            |||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 1018 tgcgcaacttattctagttcttctttggcttcaccgggcccctgggtatcttgctcaaaa 959


Query: 139  ccttggcatccagcacctcatagtgcttgcaggcctcagagtgagcccttccagcaaagt 198
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 958  ccttggcatccagcacctcatagtgcttgcaggcctcagagtgagcccttccagcaaagt 899


Query: 199  ggtcgaccttatcctggtac 218
            ||||||||||||||||||||
Sbjct: 898  ggtcgaccttatcctggtac 879


>TC261271 similar to GB|BAC22440.1|24414198|AP005452 alcohol dehydrogenase-like
            protein (Oryza sativa (japonica cultivar-group);) ,
            partial (72%)
          Length = 1202

 Score = 46.1 bits (23), Expect = 2e-04
 Identities = 23/23 (100%)
 Strand = Plus / Minus


Query: 215  gtacctgcccgggcggccgctcg 237
            |||||||||||||||||||||||
Sbjct: 1052 gtacctgcccgggcggccgctcg 1030
```

圖 4. 水稻 EST 功能分析自動化系統的輸出文字檔內容範例：比對 TIGR 之 TC 資料庫的相似性搜尋結果。

Fig. 4. An example of output text file from rice EST automated functional analysis system: results of similarity search to annotated TC database in TIGR.

Excel 和 HTML 兩種檔案的輸出結果完全相同，皆包含三部份內容，如圖 5 所示，此處僅以網頁形式檔爲例說明：(1) 各查詢序列 (query) 所比對到相似 TC 的 id 及其定義、該 TC id 連結到 GO 功能分類系統所得之 GO id 及其註解粗分類、再經由該 GO id 連結到 MIPS_FunCat 功能分類系統所得之 MIPS id 及其註解細分類，這些分析結果皆被整合在同一個表格內，以利相互參照 (圖 5-1)。以圖中第一條查詢序列 contig1 爲例，在內設 E value = 1 之條件下，比對到的所有相似 TC 有 TC275121、TC261271 等 (因版面限制，圖中僅列出部份結果)，由這些相似 TC 之 id 所對應到的 GO 和 MIPS 分類代碼，可知該 EST 單一序列與何種功能類別之基因表現有關。畫面中也提供超連結功能，讓使用者藉由點選 TC、GO 及 MIPS id，就能直接連結到其相關網站以瀏覽該 id 的詳細資訊。(2) 依據所有查詢序列比對到的 GO 分類代碼，統計在 GO 功能分類系統下所佔表現量及其比例 (圖 5-2)。以圖中實例而言，這些序列比對到分子功能 (molecular function, F)、生物程序 (biological process, P) 及細胞成分 (cellular component, C) 之功能類別表現量各爲 98、91 及 85，各

List of TIGR-GO-MIPS Hits

Query	TC id	TC term	GO id	GO term	Type	MIPS id
Contig1	TC275121	RTNLB20 {Oryza sativa (japonica cultivar-group);}, complete	GO:0005783	endoplasmic reticulum	C	MIPS_funcat:70.07
Contig1	TC261271	homologue to (Q8LIC3) Putative sex determination protein tasselseed 2, partial (93%)	GO:0016491	oxidoreductase activity	F	
Contig1	TC256026	(Q9AWN4) P0504D03.14 protein (OSJNBa0054L14.23 protein), complete	GO:0006810	transport	P	MIPS_funcat:20
Contig1	TC256026	(Q9AWN4) P0504D03.14 protein (OSJNBa0054L14.23 protein), complete	GO:0006839	mitochondrial transport	P	MIPS_funcat:20.09.04
Contig1	TC256026	(Q9AWN4) P0504D03.14 protein (OSJNBa0054L14.23 protein), complete	GO:0005488	binding	F	
Contig1	TC258321	(O10247) Nonstructural protein 1 (Fragment), partial (4%)				
Contig1	TC248959	similar to (O82660) Photosystem II stability/assembly factor HCF136 chloroplast precursor, partial (77%)	GO:0030095	chloroplast photosystem II	C	

圖 5-1. 水稻 EST 功能分析自動化系統輸出的 HTML 網頁檔內容範例：從相似 TC 連結對應到的 GO 及 MIPS 代碼之相關資訊。

Fig. 5-1. An example of HTML output file from rice EST automated functional analysis system: Hits information of GO and MIPS ids linked from similar TC sequences in TIGR.

Statistics of Gene Functional Representation based on GO category

Molecular Function (F)	Hit	%
	98	35.76
Category		
Antioxidant activity	0	0
Binding	75	10.59
Catalytic activity	65	9.180
Chaperone regulator activity	0	0
Enzyme regulator activity	6	0.847
Molecular function unknown	39	5.508
Motor activity	2	0.282
Nutrient reservoir activity	0	0
Obsolete molecular function	13	1.836
Protein tag	0	0
Signal transducer activity	3	0.423
Structural molecule activity	8	1.129
Transcription regulator activity	8	1.129
Translation regulator activity	3	0.423
Transporter activity	12	1.694
Triplet codon-amino acid adaptor activity	0	0

Biological Process (P)	Hit	%
	91	33.21
Category		
Behavior	1	0.141
Biological process unknown	32	4.519
Cellular process	82	11.58
Development	21	
Obsolete biological process	1	0.141
Physiological process	85	12.00
Regulation of biological process	22	3.107
Viral life cycle	0	0

Cellular Component (C)	Hit	%
	85	31.02
Category		
Cell	78	11.01
Cellular component unknown	63	8.898
Extracellular matrix	0	0
Extracellular region	0	0
Obsolete cellular component	0	0
Organelle	72	10.16
Protein complex	38	5.367
Virion	0	0

圖 5-2. 水稻 EST 功能分析自動化系統輸出的 HTML 網頁檔內容範例：GO 功能分類系統下各功能類別之基因表現量及其比例。

Fig. 5-2. An example of HTML output file from rice EST automated functional analysis system: Frequency and percentage of gene representation of functional classification based on GO functional category.

佔 35.76、33.21 和 31.02%。GO 分類系統除了三個層次的粗註解外，其下層仍有其自有的更細分功能，由於 GO 作爲基因功能註解有逐漸增加之趨勢，故本系統也同時再提供其第二層之細分功能類別的統計資料，以供參考。(3) 依據所有查詢序列比對到的 MIPS 分類代碼，統計在 MIPS 分類系統下各功能類別所佔表現量及其比例 (圖 5-3)。MIPS 分類目錄是一個階層系統，但一般皆以第一層的主功能類別來探討基因表現量之差異性，因此本系統僅就主功能類別進行統計。以圖 5-3 之實例而言，藉由 MIPS 分類系統，可知該 cDNA 基因庫表現出代謝 (metabolism) 功能的基因表現量佔 14.368%、能量 (energy) 功能佔 2.586%等。

Statistics of Gene Functional Representation based on MIPS category

MIPS	Hit	%
Metabolism	50	14.368
Energy	9	2.586
Storage protein	0	0
Cell cycle and DNA processing	5	1.437
Transcription	3	0.862
Protein synthesis	0	0
Protein fate (folding, modification, destination)	16	4.598
Protein with binding function or cofactor requirement (structureal or catalytic)	17	4.885
Regulation of metabolism and protein fucntion	0	0
Cellular transport, transport facilities and transport routes	53	15.23
Cellular communication / signal transduction mechanism	53	15.23
Cell rescue, defense and virulence	6	1.724
Interaction with the environment	2	0.575
Systemic interaction with environemnt	0	0
Transposable elements, viral and plasmid proteins	0	0
Cell fate	4	1.149
Development (Systemic)	1	0.287
Biogenesis of cellualr components	49	14.08
Cell type differentiation	0	0
Tissue differentiation	0	0
Organ differentiation	0	0
Subcellular localization	41	11.782
Cell type localization	0	0
Tissue localization	0	0
Organ differentiation	0	0
Classification not yet clear-cut	0	0
Unclassified proteins	39	11.207

圖 5-3. 水稻 EST 功能分析自動化系統輸出的 HTML 網頁檔內容範例：MIPS 功能分類系統下各功能類別之基因表現量及其比例。

Fig. 5-3. An example of HTML output file from rice EST automated functional analysis system: Frequency and percentage of gene representation of functional classification based on MIPS functional category.

除網頁形式的輸出檔案外，本研究還提供同樣內容的 Excel 輸出檔之目的，是方便使用者可將分析結果另用 Excel 軟體來開啓檢視，此有利於使用者在 Window 個人電腦上做進一步的其他各種統計分析。

系統效率評估

就系統分析的效率而言，Chiu *et al.* (2007) 直接將共 155 條受褐飛蝨誘導之水稻 EST 單一序列，提交到 TIGR 網站之 TC 資料庫進行相似性序列的蒐集比對，然後逐一用人工方式檢視，篩選出每條查詢序列所比對到的相似序列及其註解，再從其註解敘述中擷取出適當的關鍵字，分別輸入到 GO 及 MIPS 等網站找出該功能屬於何種類別，最後利用 Excel 試算表就每條查詢序列所對應到的各類別功能進行表現量個數和百分比統計，前後共花了大約 3 個月的時間。而使用本研究之 EST 功能分析自動化系統，約僅 30 分鐘左右的時間即完成所有序列的功能註解、分類及統計之全程分析工作。至於 32,165 條受稻熱病菌誘導之水稻 EST 的功能註解，由於數量非常龐大，是絕不可能經由人工方式來分析，但透過本自動化系統不用兩天即已完成。由此可知，本研究所建立之 EST 功能分析自動化系統確可節省大量資料之處理時間。

討　論

生物資訊學計算的最大特色就是要面對巨量資料之處理，惟有藉助於資料庫和操作自動化的設計技術，才能提高資料分析的效率與準確度效率。基此，本研究針對水稻 EST 之功能註解、分類及表現量統計分析，研發了一套自動化系統。該系統雖建立在 Linux 分析平台上，但使用者可在 Window 操作環境下透過網頁瀏覽器，以一個非常簡便的操作方法，無需面對繁瑣的參數和命令，也無需關注該程式如何工作，任務一旦提交將立即執行，具有簡單易用的優點，大大提高了工作效率。在分析完成後，系統會主動將將結果透過電子郵件提供超連結的檔案開啓和下載，讓使用者不必擔心分析過程中可能因網路中斷或個人電腦當機等意外而造成執行中斷，保證了研究的順利進行，達到事半功倍的效果。輸出結果的內容，同時提供了文字、Excel 和 HTML 之三種不同形式的檔案格式，更有利於後續的分析。更重要的是能夠一次快速且準確地完成 EST 註解、分類及表現量統計的完整分析工作；就本研究現有伺服器的硬體配備而言，雖只算是低階規格，但一次處理 155 條的序列只要約 0.5 小時即可完成，而處理 3 萬多條的大量資料，亦能於兩天內完成，節省了人工處理大量資料所需要的人力和時間。未來 Linux 分析平台的硬體配備若能予以提升，以加速執行速度，所需的時間當可更少。

在構築系統之前，本研究必須先到網路上下載 TIGR 網站之 TGI 的 TC 資料庫、GO 分類資料庫和 MIPS 分類目錄到本地伺服器，並爲確保本地資料庫的資料能維持最新，隨時留意版本更新，以不定期重新下載新的序列及目錄資料，是必要的工作。由於本系統建構之初期目標，在協助水稻基因組研究人員快速進行水稻 EST 的功能註解分析工作，因此目前僅自 TGI 中下載水稻 TC 至本地資料庫，但其實 TGI 尚蒐集了其他各種動植物和微生物等的 TC，未來只要再從 TGI 下載其他物種的 TC，則本系統將可輕易地擴展運用到其他物種之 EST 功能註解分析工作。目前本所正評估該系統之技術授權申請案，故暫不對外開放使用，僅公開給本所區域網路內部人員利用。

誌　謝

本研究承蒙行政院國家科學委員會補助經費 (NSC92-2313-B-055-006, NSC93-2313-B-055-002)，特此誌謝。

引用文獻 (Literature cited)

Adams, M. D., M. Dubnick, A. R. Kerlavage, R. Moreno, J. M. Kelley, T. R. Utterback, J. W. Nagle, C. Fields, and J. C. Venter. 1992. Sequence identification of 2,375 human brain genes. Nature 355:632–634.

Adams, M. D., J. M. Kelley, J. D. Gocayne, M. Dubnick, M. H. Polymeropoulos, H. Xiao, C. R. Merril, A. Wu, B. Olde, R. F. Moreno, A. R. Kerlavage, W. R. McCombie, and J. C. Venter. 1991. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. Science 252:1651–1656.

Adams, M. D., A. R. Kerlavage, R. D. Fleischmann, R. A. Fuldner, C. J. Bult, N. H. Lee, E. F. Kirkness, K. G. Weinstock, J. D. Gocayne, O. White, G. Sutton, J. A. Blake, R. C. Brandon, M. W. Chiu, R. A. Clayton, R. T. Cline, M. D. Cotton, J. Earle-Hughes, L. D. Fine, L.M. FitzGerald, W. M. FitzHungh, J. L. Fritchman, N. S. M. Geoghagen, A. Glodek, C. L. Gnehm, M. C. Hanna, E. Hedblom, P. S. Hinkle Jr., J. M. Jelley, K. M. Klimek, J. C. Kelley, L. I. Liu, S. M. Marmaros, J. M. Merrick, R. F. Moreno-Palanques, L. A. McDonald, D. T. Nguyen, S. M. Pellegrino, C. A. Phillips, S. E. Ryder, J. L. Scott, D. M. Saudek, R. Shirley, K. V. Small, T. A. Spriggs, T. R. Utterback, J. F. Weidman, Y. Li, R. Barthlow, D. P. Bednarik, L. Cao, M. A. Cepeda, T. A. Coleman, E. J. Collins, D. Dimke, P. Feng, A. Ferrie, C. Fischer, G. A. Hastings, W. W. He, J. S. Hu, K. A. Huddleston, J. M. Greene, J. Gruber, P. Hudson, A. Kim, D. L. Kozak, C. Kunsch, H. Ji, P. S. Meissner, H. Olsen, L. Raymond, Y. F. Wei, J. Wing, C. Xu, G. L. Yu, S. M. Ruben, P. J. Dillon, M. R. Fannon, C. A. Rosen, W. A. Haseltine, C. Fields, C. M. Fraser, and J. C. Venter. 1995. Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence. Nature 377 (6457 Suppl.):3–174.

Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers, and D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 215:403–410.

Altschul, S. F. and W. Gish. 1996. Local alignment statistics. Methods Enzymol. 266:460–480.

Andreas, R., A. Zollner, D. Maier, K. Albermann, J. Hani, M. Mokrejs, I. Tetko, U. Güldener, G. Mannhaupt, M. Münsterkötter, and H. W. Mewes. 2004. The FunCat, a functional annotation scheme for systematic classification of proteins from whole genomes. Nucleic Acids Res. 32:5539–5545.

Bonaldo, M. F., G. Lennon, and M. B. Soares. 1996. Normalization and subtraction: two approaches to facilitate gene discovery. Genome Res. 6:791–806.

Brenner, W. D., M. S. Katari, D. W. Stevenson, S. A. Rudd, A. W. Douglas, W. N. Moss, R. W. Twigg, S. J. Runko, G. M. Stellari, W. R. McCombie, and G. M. Coruzzi. 2005. EST analysis in Ginkgo biloba: an assessment of conserved developmental regulators and gymnosperm specific genes. BMC Genomics 6:143.

Chiu, Y. C., M. L. Wei, C. T. Lu, and H. Y. Lu. 2007. A new procedure of functional annotation and analysis in expressed sequence tag (EST). Crop Environ. Bioinform. 4:49–64. (in Chinese with English abstract)

DuBois, P. 2006. MySQL Cookbook, 2nd ed. O'Reilly Media Inc. Press, CA. 975 pp.

Ewing, R. M., A. B. Kahla, O. Poirot, F. Lopez, and S. Audic, and J. M. Claverie. 1999. Large-scale statistical analyses of rice ESTs reveal correlated patterns of gene expression. Genome Res. 9:950–959.

Gene Ontology Consortium. 2006. The Gene Ontology (GO) project in 2006. Nucleic Acids Res. 34:D322–D326.

Haynes, P. A., S. Miller, T. Radabaugh, M. Galligan, L. Breci, J. Rohrbough, F. Hickman, and N. Merchant. 2006. The wildcat toolbox: a set of perl script utilities for use in peptide mass spectral database searching and proteomics experiments. J. Biomol. Tech. 17:97–102.

Jagota, A. 2004. Perl for Bioinformatics, 2nd ed. Bioinformatics By The Bay Press, CA. 82 pp.

Jan, A. A., B. J. Jungenous, and M. A. M. Goenen, 2004. POSA: perl objects for DNA sequencing data analysis. MBC Genomics 5:60–64.

Jongeneel, C. V. 2000. Searching the expressed sequence tag (EST) database: planning for genes. Brief. Bioinform. 1:76–92.

Kantety, R. V., M. L. Rota, D. E. Matthews, and M. E. Sorrells. 2002. Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat. Plant Mol. Biol. 48:501–510.

Lai, J., N. Dey, C. S. Kim, A. K. Bharti, S. Rudd, K. F. X. Mayer, B. A. Larkins, P. Becraft, and J. Messing. 2004. Characterization of the maize endosperm transcriptome and its comparison to the rice genome. Genome Res. 14:1932–1937.

Larry, W., T. Christiansen, and J. Orwant. 2000. Programming Perl, 3rd ed. O'Reilly Media Inc. Press, CA. 1104 pp.

Lu, H. Y., Y. C. Chiu, C. T. Lu, M. L. Wei, and C. T. Chen. 2007. Comparative Analysis of Expressed Sequence Tag (EST) in Rice Induced by *Magnaporthe grisea*. J. Taiwan Agric. Res. 56:261–280. (in Chinese with English abstract)

Mewes, H. W., D. Frishman, K. F. X. Mayer, M. Münsterkötter, O. Noubibou, P. Pagel, T. Rattei, M. Oesterheld, A. Ruepp, and V. Stümpflenand. 2006. MIPS: analysis and annotation of proteins from whole genomes in 2005. Nucleic Acids Res. 34:169–172.

Mewes, H. W., S. Dietmann, D. Frishman, R. Gregory, G. Mannhaupt, K. Mayer, M. Muensterkötter, A. Ruepp, M. Spannagl V. Stuempflen, and T. Rattei. 2008. MIPS: analysis and annotation of genome information in 2007. Nucleic Acids Res. 36:196–201.

Polymeropoulos, M. H., H. Xiao, J. M. Sikela, M. Adams, J. C. Venter, and C. R. Merril. 1993. Chromosomal distribution of 320 genes from a brain cDNA library. Nat. Genet. 4:381–386.

Rounsley, S. D., A. Glodek, G. Sutton, M. D. Adams, C. R. Somerville, J. C. Venter, and A. R. Kerlavage. 1996. The construction of *Arabidopsis* expressed sequence tag assemblies. A new resource to facilitate gene identification. Plant Physiol. 112:1177–1183.

Rudd, S. 2003. Expressed sequence tags: alternative or complement to whole genome sequence? Trends Plant Sci. 8:321–329.

Schwartz, R. L., T. Phoenix, and B. Foy. 2005. Learning Perl, 4th ed. O'Reilly Media Inc. Press, CA. 304 pp.

Shim, K. S., S. K. Cho, J. U. Jeung, K. W. Jung, M. K. You, S. H. Ok, Y. S. Chung, K. H. Kang, H. G. Hwang, H. C. Choi, H. P. Moon, and J. S. Shin. 2004. Identification of fungal (*Magnaporthe grisa*) stress-induced genes in wild rice (*Oryza minuta*). Plant Cell Rep. 22:599–607.

Sreenivasuls, N., P. B. Kavi Kishor, R. K. Varshney, and L. Altschmied. 2002. Mining functional information from cereal genomes - the utility of expressed sequence tags. Curr. Sci. 83:965–973.

Trachtenberg, A. and D. Sklar. 2006. PHP Cookbook, 2nd ed. O'Reilly Media Inc. Press, CA. 810 pp.

Wei, M. L., C. T. Lu, and H. Y. Lu. 2005a. Research and development of expressed sequence tag (EST) in cereal crops. Sci. Agric. 53(1,2):15–21. (in Chinese)

Wei, M. L., H. Y. Lu, and C. T. Lu. 2005b. Bioinformatics collection and statistics of rice disease/pest resistance genomics research. Crop Environ. Bioinform. 2:295–306. (in Chinese with English abstract)

Williams, H. E. and D. Lane. 2004. Web Database Applications with PHP and MySQL, 2nd ed. O'Reilly Media Inc. Press, CA. 816 pp.

Wolfsberg, T. G. and D. Landsman. 2001. Expressed sequence tags (ESTs). p.283–301. *in*: Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins. 2nd ed. (Andreas D. B. and B. F. F. Ouellette, eds.) John Wiley & Sons Inc. Press, NY.

Zhou. M., C. F. Tong, and J. S. Shi. 2007. Realization of perl-based automatic sequence homogeneous analysis. Biochnology 17:60–63. (in Chinese with English abstract)

Rice Expressed Sequence Tag (EST) Automated Functional Analysis System[1]

Hsiu-Ying Lu[2], Cheng-Tao Chen[2], Chun-Tang Lu[2,4], Yi-Chia Chiu[3], and Meng-Li Wei[2]

Abstract

Lu, H. Y., C. T. Chen, C. T. Lu, Y. C. Chiu, and M. L. Wei. 2008. Rice expressed sequence tag (EST) automated functional analysis system. J. Taiwan Agric. Res. 57:103–118.

Expressed sequence tag (EST) is the fragment of cDNA sequence. Direct study of EST is therefore helpful to obtain the gene expression information. The analytical procedures of EST functional annotation, classification and representation statistics are used to detect the differences in gene expression patterns among libraries and identify the functional categories involved. A vast number of rice (*Oryza sativa* L.) EST sequences in the public databases provide an important resource for functional annotation of rice genome. However, it's impossible to accomplish the entire process of functional analysis for large-scale EST sequences within a short time using manual intervention only. To accelerate the functional analysis for rice EST sequences, an automated system was constructed by using Perl and PHP scripts based on a local MySQL database of the Linux platform. A series of analysis including functional annotation, classification and representation statistics for EST sequences could be done automatically, which provides a rapid, accurate and efficient tool for large-scale rice EST functional analysis. The system could be used directly through a web browser on Microsoft Window operating system without logging into the Linux platform. The web-based input interface of automated system is very easy and convenient for use. After finishing the work, an email message with output results was created and sent to users. The automated system could also be easily expanded and implemented in the EST functional analysis of other species, which facilitates the EST analysis in molecular genetics laboratories.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.), Expressed sequence tag, Functional annotation and classification, Gene representation statistics, Automated system, Perl script.

---

1. Contribution No.2318 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: June 17, 2008.
2. Respectively, Senior Researcher, Project Assistant, Assistant Researcher and Assistant Researcher, Crop Science Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Master, Graduate Institute of Biotechnology, Chaoyang University of Technology, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: tang@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23390528.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 57(2):119–132 (2008)

培養基組成分對高氏柴胡癒合組織增殖與柴胡皂苷含量之影響[1]

陳威臣[2] 夏奇鈱[2] 葉茂生[3] 曹進義[2] 蔡新聲[4, 5]

摘　要

陳威臣、夏奇鈱、葉茂生、曹進義、蔡新聲。2008。培養基組成分對高氏柴胡癒合組織增殖與柴胡皂苷含量之影響。台灣農業研究 57:119–132。

本研究利用高氏柴胡 (*Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang) 葉片癒合組織培養於添加 0.2 mg/L 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-dichlorophenoxyacetic acid; 2,4-D) 之 1/2 MS (Murashige & Skoog 1962) 基本培養基 (D2 培養基)，探討其他培養基組成分的添加對癒合組織增殖與柴胡皂苷 (saikosaponins) 含量之影響。在測試的培養基組成分中，除細胞分裂素 (cytokinins) 的添加對癒合組織生長有抑制作用外，其他培養基組成分及其濃度分別爲 3%蔗糖、0.9%洋菜 (Difco Bacto-agar)、0.5 g/L 蛋白胨 (peptone)、0.5 g/L 水解酪蛋白 (casein hydrolysate) 與 100 mL/L 椰子汁 (coconut water) 對於癒合組織生長均有促進效果。將上述可促進癒合組織生長之影響因子配合不同濃度 MS 鹽類進行試驗結果顯示，癒合組織之增殖以 1/4× MS 與 1/2× MS 鹽類濃度較佳，但其繼代培養間隔時間以不超過 6 週爲宜；上述 MS 鹽類濃度試驗所得癒合組織經高壓液相層析 (high performance liquid chromatography; HPLC) 分析結果顯示，以 1× MS 鹽類濃度培養之癒合組織具有較高之柴胡皂苷乾重含量。

關鍵詞：柴胡、藥用植物、細胞培養、二次代謝物、高壓液相層析。

前　言

柴胡 (Chai-Hu, Bupleuri Radix) 藥材列名神農本草經之草部上品，具有去腸胃中結氣、寒熱邪氣，更有推陳致新、久服輕身、明目益精等功能，於台灣、日本、韓國及中國等地區均有廣泛利用；中國藥典所列正品柴胡基原植物爲繖形科 (Umbelliferae)、柴胡屬 (*Bupleurum*) 植

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2319 號。接受日期：97 年 6 月 20 日。
2. 本所生物技術組助理研究員、副研究員、聘用人員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 中興大學農藝學系教授。台灣 台中市。
4. 朝陽科技大學生物技術研究所教授。台灣 台中縣 霧峰鄉。
5. 通訊作者，電子郵件：hstsay@cyut.edu.tw；傳真機：(04) 23742371。

物之北柴胡 (*B. chinense* DC)，而日本則是以其原生之三島柴胡 (*B. falcatum* L.) 爲正品柴胡 (Gan 1985; Hiraoka 1989; Pan *et al*. 2002; Tang & Eisenbrand 1992; Uomori & Tomita 1974)。柴胡根部所含柴胡皂苷 a、c 與 d (saikosaponin a, c, d; SSa, SSc, SSd) 爲具有藥理生物活性的主要物質，現代藥理研究證實 SSa 與 SSd 具有優異的保肝、抗 B 型肝炎病毒、抗氧化、消炎與抑制癌細胞增生等效果 (Benito *et al*. 1998; Chiang *et al*. 2003; Yen *et al*. 1991; Yen *et al*. 2005; Wang *et al*. 2004, 2005; Hsu *et al*. 2004a, 2004b, 2004c)；而臺灣特有高氏柴胡 (*B. kaoi* Liu, Chao et Chuang) 其柴胡皂苷含量業經證實優於三島柴胡與北柴胡 (Yen *et al*. 1991; Yen *et al*. 2005)。

近年來，因自然環境逐漸遭受破壞，部分重要藥用植物已面臨嚴重之生存威脅；利用組培技術大量繁殖藥用植物細胞，進而運用科學方法提高其藥用二次代謝物之質與量，對於重要藥用成分生產具有相當貢獻 (Berlin 1988; Bourgaud *et al*. 2001; DiCosmo & Misawa 1995; Mulabagal *et al*. 2004; Nalawade *et al*. 2004; Sagare *et al*. 2000; Verpoorte 2002)。Chen *et al*. (2005) 研究結果顯示，培養 8 週高氏柴胡癒合組織之 SSa + SSc + SSd 含量即可達市售品 (北柴胡) 含量之 18.8%，因此值得進一步探討促進高氏柴胡癒合組織增殖的適當條件並提高其柴胡皂苷產量。

目前對於柴胡癒合組織誘導與增殖的報導並不多，僅有三島柴胡 (Hiraoka *et al*. 1986; Wang & Huang 1982) 的數篇報告；而高氏柴胡相關研究資料的建立則有待加強 (Chen *et al*. 2005)。本研究利用高氏柴胡組培苗葉片誘導癒合組織，選擇生長快速且質地優良癒合組織建立大量增殖系統，並利用 HPLC 法檢測各檢品之柴胡皂苷含量，將有助於後續高氏柴胡懸浮細胞培養之建立。

材料與方法

供試材料、培養基配製與培養條件

利用高氏柴胡組培苗 (Chen *et al*. 2004, 2006) 葉片片段進行癒合組織之誘導 (Chen *et al*. 2005)，所得癒合組織經 3–4 次 (每次 4–6 週) 繼代培養後，選取生長均一且質地細密之癒合組織進行後續試驗，繼代培養係將癒合組織培養於含半量 MS 無機鹽類與全量 MS 維生素 (1/2 MS)，並添加 0.2 mg/L 2,4-D、3%蔗糖及 0.9%洋菜之培養基 (D2 培養基)，而後以 D2 培養基配合不同培養基組成分進行癒合組織增殖試驗。培養容器爲內含 10 mL 培養基之玻璃試管 (25 mm × 120 mm, Pyrex，日本)，接種後癒合組織均置於 25 ± 1℃恆溫、黑暗環境培養。癒合組織增殖試驗均採用 4 個重複，每重複培養 10 個 0.2 g 癒合組織。

培養基組成分對葉片癒合組織生長與增殖之影響

取約 0.2 g 癒合組織培養於 D2 培養基，並分別添加下列成分，包括細胞分裂素：0.5 與 1.0 mg/L N-糠基腺嘌呤 (N-furfuryladenine, kinetin, Sigma，美國)；0.5 與 1.0 mg/L 苄基腺嘌呤 (N6-benzyladenine, BA, Sigma，美國)，0、0.25、0.5、1、2 與 4 g/L 蛋白胨 (Merck，美國)，0、0.25、0.5、1、2 與 4 g/L 水解酪蛋白 (Merck，美國) 與 0、50、100 與 200 mL/L 椰子汁，上述試驗均採單一組成分因子進行試驗。蔗糖試驗爲添加不同濃度蔗糖 (1.5、3、6 與 12%) 之 D2 培養基進行試驗，洋菜試驗係添加不同濃度 Difco Bacto-agar (0.6、0.9、1.2 與 1.5%) 與 3%蔗糖之 D2 培養基進行試驗，癒合組織經培養 8 週後調查鮮重，再以 45℃烘乾 2 天後稱取乾重。

不同 MS 鹽類濃度培養基配合蛋白腺、水解酪蛋白與椰子汁對癒合組織生長與增殖之影響

取約 0.2 g 癒合組織培養於不同 MS 基本鹽類濃度 (1/4×、1/2×、1×及 2×) 培養基，並添加 0.2 mg/L 2,4-D、3%蔗糖、0.9% Difco Bacto-agar、0.5 g/L 蛋白腺、0.5 g/L 水解酪蛋白與 100 mL/L 椰子汁，於培養 2、4、6 與 8 週後分別調查癒合組織鮮重與乾重。烘乾後癒合組織並作爲後續 HPLC 檢測其 SSa、SSc 與 SSd 含量之用。

柴胡檢品之柴胡皂苷含量分析

柴胡皂苷含量測定係利用 HPLC 方法 (Controller 600C Pump; Photodiode Array Detector 996; Autosampler 717^{plus}; Temperature Control Module II; In-Line Degasser AF; Millennium^{32} program, Waters，美國)。柴胡檢品包括標準品 SSa 與 SSc (米山藥品工業株式會社，日本) 及 SSd (和光純藥工業株式會社，日本)，以及培養於上述不同 MS 鹽類濃度 (1/4×、1/2×、1×及 2×) 處理達 4 週之癒合組織。取標準品 SSa、SSc 及 SSd 以甲醇 (methanol, Merck，美國) 溶解且稀釋製得 4 種不同濃度 (125、250、500 與 1000 mg/L) 溶液，並以 0.22 μm 濾膜 (Millipore，日本) 過濾備用；將上述高氏柴胡癒合組織檢品乾燥並磨碎，以甲醇爲溶劑經超音波洗淨器震盪 30 mins 後以濾紙過濾並收集濾液，殘渣再加入等量甲醇，重複萃取三次，合併三次濾液以真空減壓濃縮機 (EYELA, Model A-3S，日本) 濃縮至乾，而後以適量甲醇將成分溶出，並以 0.22 μm 濾膜過濾備用。高壓液相層析法係採用 Chen *et al*. (2005) 之方法經修飾如下，在 35℃下以氰化甲烷 (acetonitrile; ACN, Merck，美國)：水 = 40:60/50:50/40:60 (v/v) 爲流動相進行梯度洗提分析，流速 1 mL/min，紫外線檢定波長爲 203 nm，用以分析各柴胡檢品之 SSa、SSc 與 SSd 含量。在上述層析條件下利用標準品溶液求得線性迴歸方程式及決定係數 (coefficient of determination, R^2)。各高氏柴胡癒合組織檢品注射 10 μL 檢品濾液，每一檢品重複注射 3 次，並依上述線性迴歸方程式推算檢品中 SSa、SSc 及 SSd 的含量。柴胡皂苷含量則利用每次 10 μL 進樣，共三次進樣之平均進行分析。

資料統計與分析

試驗所得資料經 SAS 8.2 (SAS Institute Inc. 2001) 套裝統計分析軟體程式進行 ANOVA 變方分析後，若處理間差異顯著，則利用 Least Signification Difference test (LSD) 比較各處理平均值間之差異，並以 Sigmaplot 軟體繪圖。

結　果

培養基組成分對葉片癒合組織生長與增殖之影響

試驗結果顯示，添加 BA 與 kinetin 對癒合組織生長並無助益，所有處理無論鮮重或乾重均較對照組 (D2 培養基) 差，鮮重分別爲 1.2–1.4 g，乾重則均小於 0.06 g，癒合組織培養於對照組之 D2 培養基達 8 週後的鮮、乾重分別爲 1.6 g 與 0.06 g (圖 1A、圖 2A)。蔗糖試驗結果如圖 1B 與圖 2B 所示，3%處理之癒合組織生長最爲旺盛，鮮、乾重均最高，分別可達 1.7 g 與 0.07 g，其次依序爲 1.5%與 6%之處理，而 12%處理之鮮、乾重均最低，僅分別爲 0.7 g 與 0.04 g。提高或降低洋菜濃度對於癒合組織生長並無幫助，雖 0.6%處理鮮重可達 1.7 g，但其乾重僅有 0.05 g，其餘 1.2%與 1.5%兩處理之鮮、乾重均較低，分別約爲 1.3 g 與 0.05 g (圖 1C、圖 2C)。

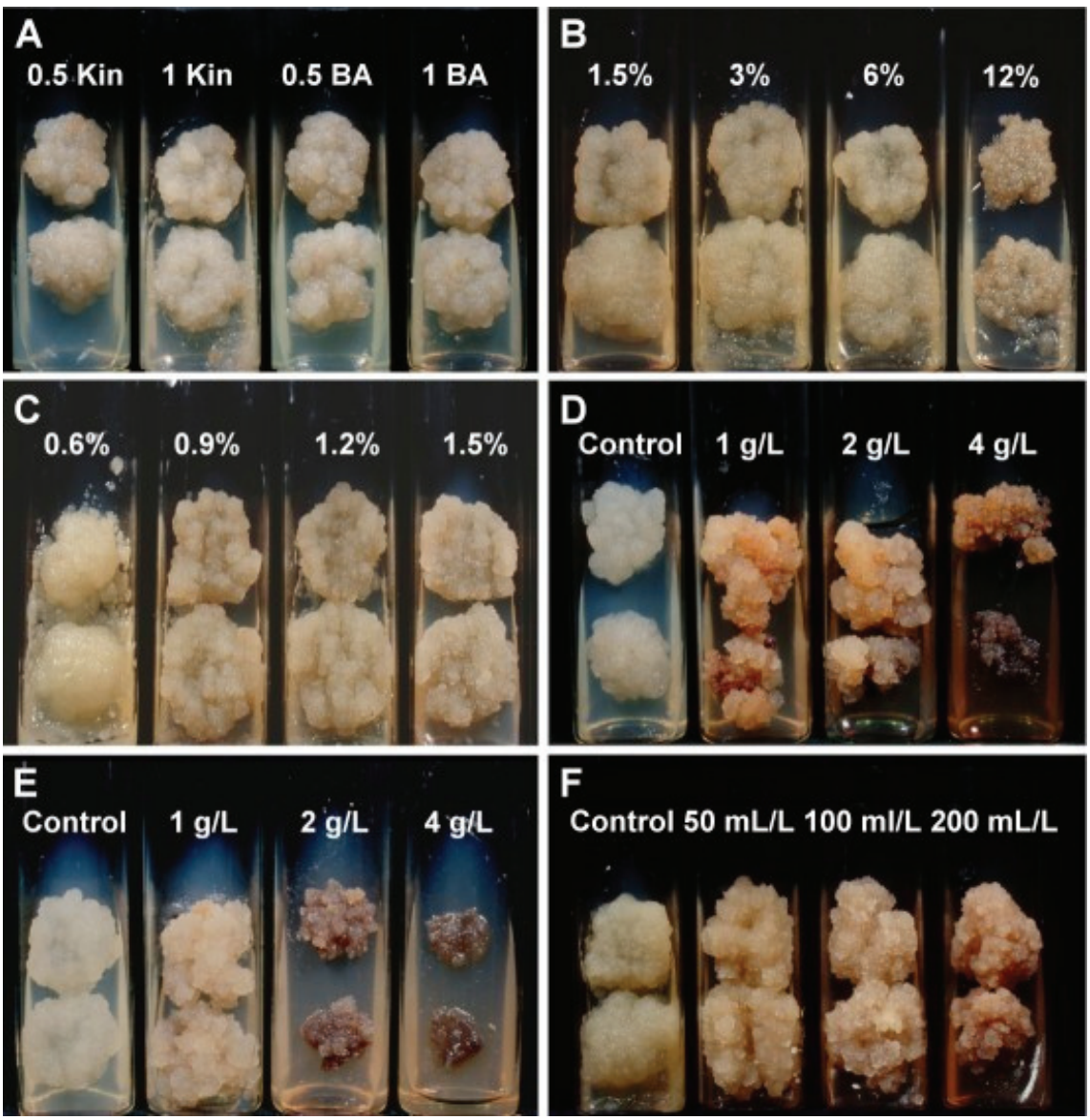


圖 1. 培養基組成分對高氏柴胡癒合組織生長增殖之影響。基本培養基組成爲含有 0.2 mg/L 2,4-D、0.3%蔗糖與 0.9%洋菜之 1/2 MS 固態培養基，分別添加下列各成分，包括 (A) kinetin (Kin) 與 BA (0.5、1 mg/L)；(B) 蔗糖 (1.5, 3, 6 與 12%)；(C) 洋菜 (0.6, 0.9, 1.2 與 1.5%)；(D) 蛋白腺 (0, 1, 2 與 4 g/L)；(E) 水解酪蛋白 (0, 1, 2 與 4 g/L)；(F) 椰子汁 (0, 50, 100 與 200 mL/L) 。

Fig. 1. Callus growth of *Bupleurum kaoi* cultured on a half-strength MS salt medium supplemented with 0.3% sucrose, 0.9% Difco Bacto-agar, 0.2 mg/L 2,4-D as a basal medium. Additive components including: (A) kinetin (Kin) and BA (0.5, 1 mg/L); (B) sucrose (1.5, 3, 6 and 12%); (C) Difco Bacto-agar (0.6, 0.9, 1.2 and 1.5%); (D) peptone (0, 1, 2 and 4 g/L); (E) casein hydrolysate (0, 1, 2 and 4 g/L); and (F) coconut water (0, 50, 100 and 200 mL/L).

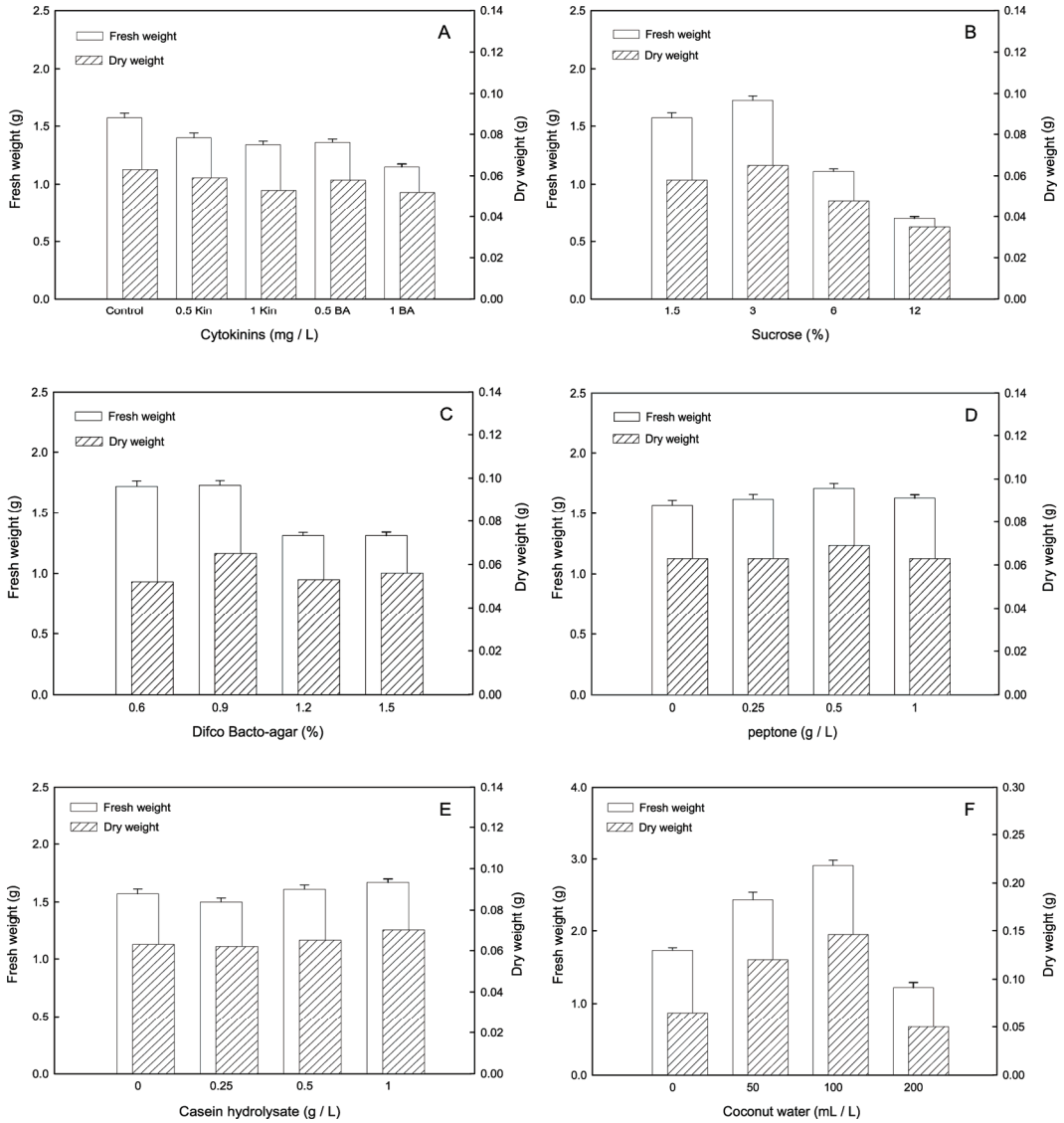


圖 2. 培養基組成分對高氏柴胡癒合組織生長增殖之影響。基本培養基組成爲含有 0.2 mg/L 2,4-D、0.3%蔗糖與 0.9%洋菜之 1/2 MS 固態培養基，分別添加下列各成分，包括 (A) kinetin (Kin) 與 BA (0.5、1 mg/L)；(B) 蔗糖 (1.5, 3, 6 與 12%)；(C) 洋菜 (0.6, 0.9, 1.2 與 1.5%)；(D) 蛋白腺 (0, 0.25, 0.5 與 1 g/L)；(E) 水解酪蛋白 (0, 0.25, 0.5 與 1 g/L)；(F) 椰子汁 (0, 50, 100 與 200 mL/L) 。

Fig. 2. Influence of additive components on proliferation of *Bupleurum kaoi* callus. Callus cultured on a half-strength MS salt medium supplemented with 0.3% sucrose, 0.9% Difco Bacto-agar, 0.2 mg/L 2,4-D as a basal medium. Additive components including (A) kinetin (Kin) and BA (0.5, 1 mg/L); (B) sucrose (1.5, 3, 6 and 12%); (C) Difco Bacto-agar (0.6, 0.9, 1.2 and 1.5%); (D) peptone (0, 0.25, 0.5 and 1 g/L); (E) casein hydrolysate (0, 0.25, 0.5 and 1 g/L); and (F) coconut water (0, 50, 100 and 200 mL/L). Vertical bars indicate the standard error of mean.

蛋白胨試驗結果顯示，添加 1 g/L 蛋白胨之處理具有最佳的效果，培養 4 週後之鮮重與乾重分別可達 1.5 g 與 0.07 g，而 2–4 g/L 蛋白胨處理之癒合組織外觀已呈褐化現象，尤其是 4 g/L 處理已有部分癒合組織因嚴重褐化而死亡 (圖 1D)。進一步降低蛋白胨濃度 (0、0.25、0.5 與 1 g/L) 試驗之結果如圖 2D 所示，四個參試濃度中以 0.5 g/L 蛋白胨對於癒合組織生長最爲有利，其鮮重與乾重可分別達到 1.7 g 與 0.07 g。

水解酪蛋白試驗則與蛋白胨試驗有著相同的趨勢，1 g/L 水解酪蛋白處理對癒合組織生長較佳，培養 4 週後之鮮重與乾重分別可達 1.6 g 與 0.08 g，而 2–4 g/L 水解酪蛋白處理癒合組織外觀呈現嚴重褐化，尤其是 4 g/L 之處理，全數褐化死亡 (圖 1E)。進一步降低水解酪蛋白濃度 (0、0.25、0.5 與 1 g/L) 試驗之結果如圖 2E 所示，四個參試濃度中雖以 1 g/L 水解酪蛋白對於癒合組織生長最爲有利，其鮮重與乾重可分別達到 1.7 g 與 0.07 g，但部分癒合組織呈現嚴重褐化的現象，因此以鮮、乾重分別達 1.6 g 與 0.07 g 之 0.5 g/L 水解酪蛋白處理進行後續試驗較爲適宜 (圖 2E)。

椰子汁試驗結果如圖 1F 與圖 2F 所示，以濃度 100 mL/L 處理之癒合組織生長最爲旺盛，無論鮮重或乾重均最高，可達 2.9 g 與 0.15 g，其次爲 50 mL/L 處理，而 200 mL/L 處理之癒合組織外觀呈褐化現象，且部分癒合組織因嚴重褐化而死亡。

不同 MS 鹽類濃度培養配合蛋白胨、水解酪蛋白與椰子汁對癒合組織生長與增殖之影響

癒合組織培養於含 0.2 mg/L 2,4-D 並配合 0.5 g/L 蛋白胨、0.5 g/L 水解酪蛋白與 100 mL/L 椰子汁之不同濃度 MS 培養基生長結果如圖 3 所示，培養 2 週後以 1/4× MS 與 1/2× MS 兩處理生長相當，其鮮、乾重分別約 0.8–0.9 g 與 0.06 g，而後依序爲 1× MS 及 2× MS 處理。培養 4 週後則以 1/2× MS 處理生長最旺盛，其鮮、乾重分別達 2.2 g 與 0.1 g，2× MS 處理生長量鮮重最低約 1.6 g，而 1/4× MS 及 1× MS 處理之鮮重介於中間；乾重方面依序爲 1/4× MS、2× MS 及 1× MS 處理。培養 6 週後以 1/4× MS、1/2× MS 及 1× MS 三處理生長相當，其鮮、乾重分別約 2.7–2.8 g 與 0.08 g，而 2× MS 處理雖鮮重較低，但乾重可達 0.09 g。培養 8 週後結果顯示，四種 MS 濃度處理之鮮重已無顯著差異，約 2.5–2.8 g，而乾重則以 2× MS 較高爲 0.09 g，而其餘三種處理僅約 0.07g (圖 3)。

圖 4A-D 分別顯示癒合組織培養後第 2 週至第 8 週之生長情形。1/4× MS 與 1/2× MS 處理之癒合組織於培養後第 6 週即出現褐化現象 (圖 4E)，而後隨時間增加褐化愈爲嚴重，若將褐化程度分成 0–5 級 (圖 4F)，則 1/4× MS 與 1/2× MS 處理之癒合組織褐化程度分別達約 3.7 及 2.3 (資料未列)，而 1× MS 與 2× MS 處理則仍呈現黃白色癒合組織。

柴胡檢品之柴胡皂苷乾重含量分析

上述試驗所得之癒合組織經 HPLC 分析結果如 (圖 5) 所示，四個 MS 鹽類濃度處理中，以 1× MS 處理癒合組織之 SSa + SSc + SSd 單位含量可達 0.247 mg/g 爲最高，其次爲 1/2× MS 處理之 0.176 mg/g，而 1/4× MS 與 2× MS 處理之癒合組織 SSa + SSc + SSd 單位含量最低，分別爲 0.123 與 0.127 mg/g。其中 SSa 含量以 1× MS 處理較低爲 0.066 mg/g，而 1/4× MS、1/2× MS 與 2× MS 處理之 SSa 含量相當，約爲 0.084–0.1 mg/g。SSd 含量則以 1× MS 處理最高達 0.131 mg/g，分別爲 1/2× MS 與 2× MS 處理之 5.7 與 14.5 倍，而 1/4× MS 處理則無法測得 SSd 成分。

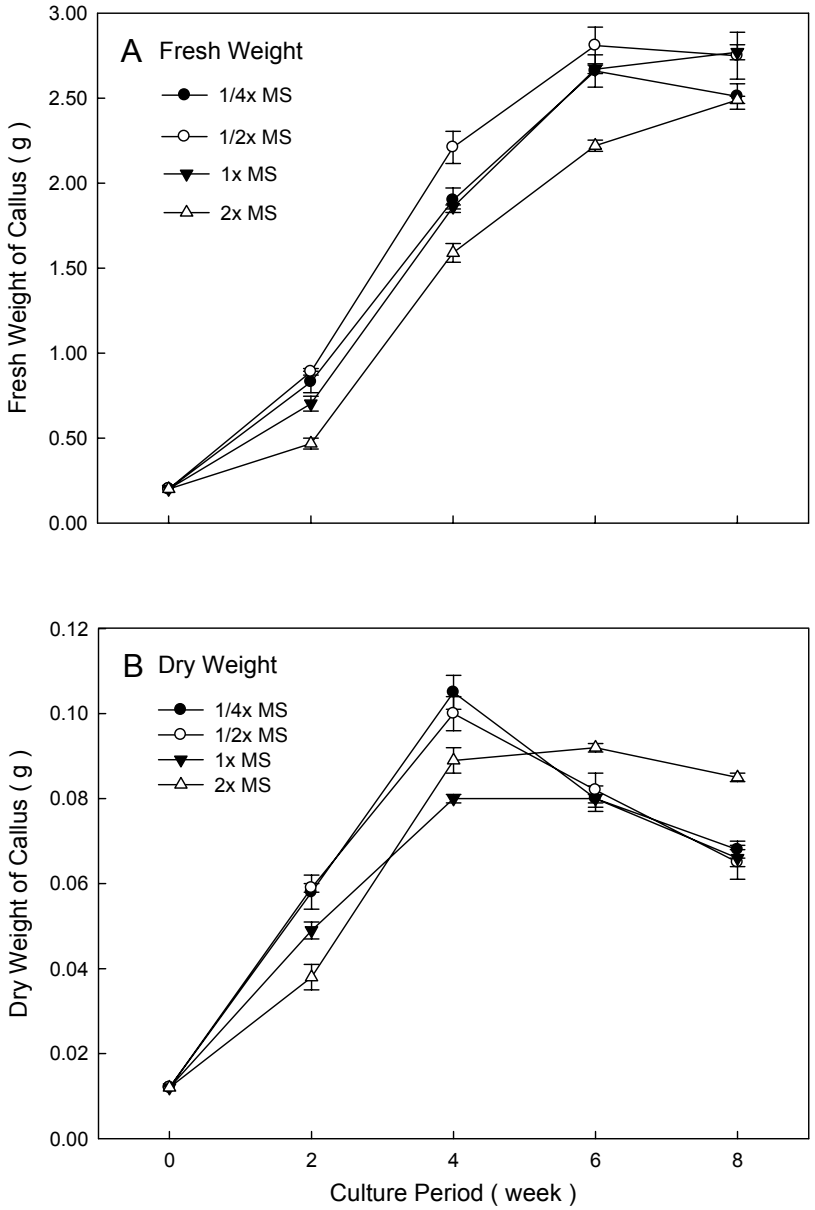


圖 3. 高氏柴胡癒合組織於不同 MS 基本鹽類濃度配合 0.2 mg/L 2,4-D、0.5 g/L 蛋白腖、0.5 g/L 水解酪蛋白與 100 mL/L 椰子汁培養基，每 2 週調查一次共 8 週時序培養所得癒合組織之 (A) 鮮重與 (B) 乾重。

Fig. 3. Time course study of various strength of MS salt medium on callus growth of *Bupleurum kaoi*. Callus cultured on the medium containing 0.2 mg/L 2,4-D, 0.5 g/L peptone, 0.5 g/L casein hydrolysate and 100 mL/L coconut water. (A) Fresh weight and (B) dry weight was collected at a 2-week-interval for a total of 8 weeks of culture. Vertical bars indicate the standard error of mean.

討 論

生長良好之高氏柴胡癒合組織已可成功誘導，並可利用含有 0.2 mg/L 2,4-D 之 1/2 MS 培養基 (D2 培養基) 進行大量增殖 (Chen *et al*. 2005)。本研究採用 D2 培養基作爲繼代培養之基本培養基，

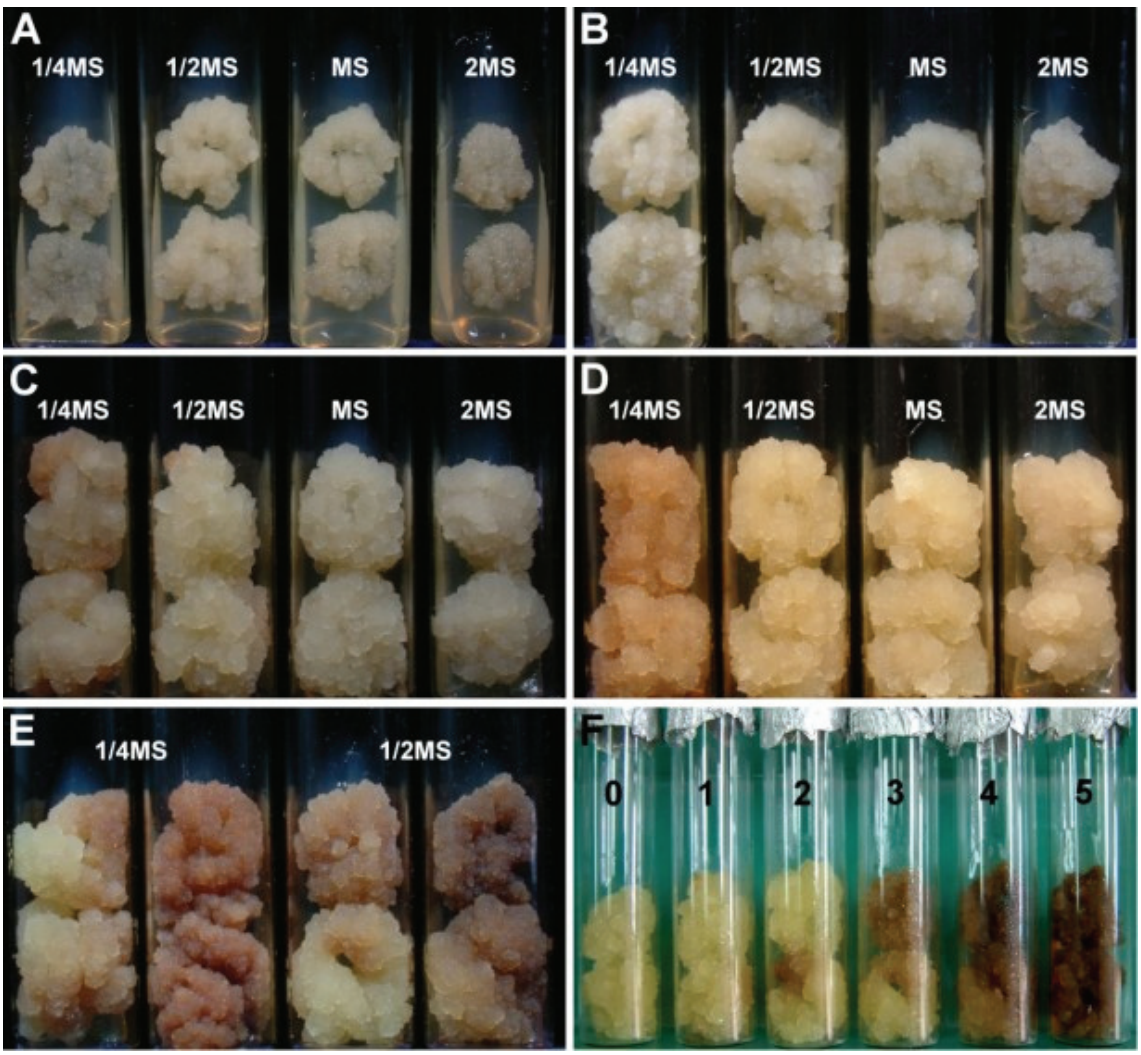


圖 4. 癒合組織培養於含 0.2 mg/L 2,4-D、0.5 g/L 蛋白胨、0.5 g/L 水解酪蛋白與 100 mL/L 椰子汁之 1/4× MS、1/2× MS、1× MS 與 2× MS 培養基達 (A) 2 週、(B) 4 週、(C) 6 週及 (D) 8 週之生長情形。 (E) 癒合組織於 1/4 MS 與 1/2 MS 培養 6 週之褐化情形。(F) 癒合組織褐化程度分級之情形。

Fig. 4. Callus of *Bupleurum kaoi* grown on various strength of MS basal medium containing 0.2 mg/L 2,4-D, 0.5 g/L peptone, 0.5 g/L casein hydrolysate and 100 mL/L coconut water for (A) 2 weeks; (B) 4 weeks; (C) 6 weeks; and (D) 8 weeks of culture. (E) Browning in callus cultured in 1/4× MS and 1/2× MS treatments for 6 weeks. (F) Callus were classified from 0 to 5 according to their increasing browning.

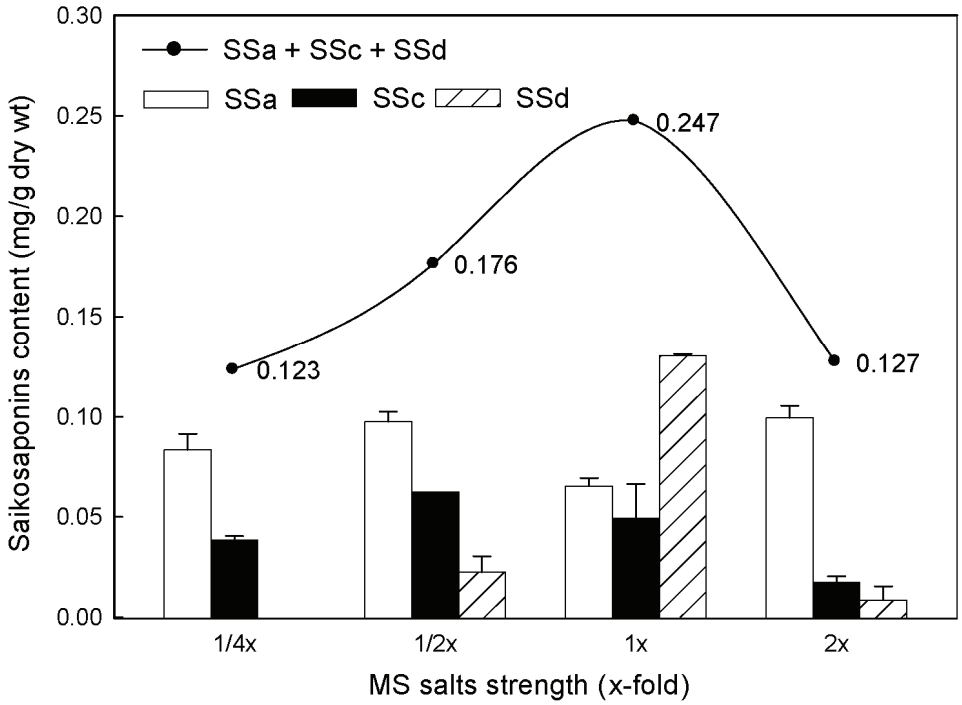


圖 5. 高氏柴胡癒合組織於添加 0.2 mg/L 2,4-D、0.5 g/L 蛋白胨、0.5 g/L 水解酪蛋白與 100 mL/L 椰子汁之不同 MS 基本鹽類濃度培養基，經 4 週培養後柴胡皂苷 (saikosaponins) 含量之情形。

Fig. 5. Saikosaponins content of *Bupleurum kaoi* callus grew on various strength of MS salt medium containing 0.2 mg/L 2,4-D, 0.5 g/L peptone, 0.5 g/L casein hydrolysate and 100 mL/L coconut water for 4 weeks of culture. Vertical bars indicate the standard error of mean.

再添加不同培養基組成分進行試驗，探討各因子對癒合組織生長與增殖的影響。Chang *et al.* (1993) 以繖形科的臺灣白芷 (*Angelica dahurica* var. formosana) 葉柄做培植體，培養在含有 2,4-D 及 kinetin 的 MS 培養基中，可成功地誘導且增殖出質地優良之癒合組織；Zhang & Cheng (1989) 在同樣是繖形科的當歸 (*Angelica sinensis* (Oliv) Diels) 癒合組織誘導與增殖研究中，指出以 cytokinin 搭配 auxin 之效果比 auxin 單用的結果更佳。Xie *et al*. (1999) 於盾葉薯蕷 (*Dioscorea zingibernisis* L.) 癒合組織試驗中亦顯示，培養基中添加 BA、kinetin 或 zeatin 均能有效促進其生長增殖。此外，cytokinin 具有促進細胞分裂與生長之生理作用，因此在促使癒合組織生長上頗具功效 (Gasper 1996; George 1993)。然而，本研究結果與 Zhang (2003) 於齒瓣延胡索 (*Corydalis remota* L.) 癒合組織增殖試驗結果相似，亦即添加 BA 與 kinetin 對癒合組織生長增殖並無促進作用，處理組之鮮重及乾重與對照處理相較並無顯著差異。

培養基中添加醣類主要爲提供培植體生長所需的能量來源，並具有調節滲透壓潛勢 (osmotic potential) 的功能，通常以蔗糖爲其主要之添加碳源 (George 1993)。本研究結果顯示 3%蔗糖是較

適當的濃度，增加或降低蔗糖濃度並無法促進癒合組織之鮮重與乾重。洋菜是固體培養基最常使用的支持固定劑，含有多種成分不明但具有生理活性的物質，因此添加量的多寡常影響試驗研究的結果。Chang *et al*. (1993) 於臺灣白芷研究結果顯示，癒合組織培養在 0.9–1.2% Difco Bacto-agar 的培養基中，生長情況良好，尤以 1.2%之處理濃度最佳；而 0.6 和 1.5%濃度處理下生長較差。本試驗結果顯示高氏柴胡癒合組織在 0.9% Difco Bacto-agar 的培養基中生長最好，0.6%濃度時癒合組織外觀呈水浸狀，且乾重較輕；1.5%濃度癒合組織之鮮重與乾重均較低，其質地呈現塊狀構造且易於褐化，推測此結果應與培養基滲透壓之高低有關。

水解酪蛋白、蛋白腖與椰子汁爲最常被添加於癒合組織生長培養基中的有機物質。適當濃度之水解酪蛋白可有利於齒瓣延胡索 (Zhang 2003) 與木瓜 (*Carica papaya* L.) (Hossain *et al*. 1993) 癒合組織之生長增殖。Chang *et al*. (1993) 的研究結果則顯示添加水解酪蛋白和椰子汁無益於臺灣白芷癒合組織的生長。本研究結果顯示添加水解酪蛋白、蛋白腖與椰子汁對高氏柴胡葉片來源癒合組織之生長均有益，但濃度過高時則癒合組織嚴重褐化死亡，因此建議有機添加物雖然有助於細胞生長，但使用之濃度會影響其效果。

基本鹽類濃度爲影響癒合組織生長與增殖的重要因子，MS 鹽類爲常用培養基組成，且調整其鹽類濃度 (1/4× MS 或 1/2× MS) 可適用於相當廣泛的植物組織培養 (Murashige 1977)。本研究在測試其他添加因子對癒合組織生長之影響後，以各個因子之最適濃度配合不同濃度之 MS 鹽類培養基進行測試，結果顯示培養 4 週時之鮮、乾重均以 1/2× MS 處理較佳，而培養 8 週後結果則顯示四種 MS 處理之癒合組織鮮重相當，但以 2× MS 處理癒合組織乾重最高，而低鹽類濃度 (1/4× MS 與 1/2× MS) 處理均呈現嚴重之癒合組織褐化現象 (圖 4E)。上述現象推測可能因爲低鹽類濃度處理下，癒合組織初期生長較爲快速，但培養後期因養分不足而導致癒合組織快速褐化死亡；此外低鹽類濃度 (1/4× MS 與 1/2× MS) 處理在培養後 4 週之乾重已達到 0.1 g，而 2 MS 處理於培養後期 (培養後 6–8 週) 之乾重亦僅達 0.085–0.090 g。高氏柴胡癒合組織以含有 0.2 mg/L 2,4-D、0.5 g/L 水解酪蛋白、0.5 g/L 蛋白腖、100 mL/L 椰子汁、3%蔗糖與 0.9%洋菜之 1/4×MS 與 1/2× MS 培養基培養，有利於癒合組織生長增殖及獲得細密呈黃白色癒合組織，但繼代培養時間須提早於培養後第 4–5 週進行，所得生長良好癒合組織有利於後續細胞懸浮培養系統的建立。

利用細胞懸浮培養方式生產植物有效二次代謝物，具有生長快速、全年生產，毋需受環境影響等優勢，尤其細胞生長週期較田間種植所需時間甚短，顯示其具有相當的發展潛力。本研究利用不同 MS 鹽類濃度配合適量 2,4-D、蛋白腖、水解酪蛋白與椰子汁之試驗所得之癒合組織經 HPLC 檢測柴胡皂苷含量如圖 5 結果顯示，以 1× MS 處理所得癒合組織之柴胡皂苷 (SSa + SSc + SSd) 乾重含量爲最高；若以 SSa + SSd 乾重含量或單純就 SSd 乾重含量而言，亦顯示 1× MS 鹽類濃度處理效果較佳。因此據上述研究結果加以推論，高氏柴胡癒合組織培養可利用兩階段培養方式，亦即初期 (1–4 週) 以利於癒合組織生長增殖之較低 MS 鹽類濃度 (1/4× MS 與 1/2× MS) 培養，而後期 (5–8 週) 以 1× MS 鹽類濃度培養可促進柴胡皂苷的累積。

誌　　謝

本研究承虎尾科技大學石麗仙博士對於 HPLC 成分分析相關技術之協助，特此申謝。

引用文獻 (Literature cited)

Benito, P. B., M. J. A. Martínez, A. M. S. Sen, A. S. Gómez, L. F. Matellano, S. S. Contreras, and A. M. D. Lanza. 1998. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity of saikosaponins. Life Sci. 13:1147–1156.

Berlin, J. 1988. Formation of secondary metabolites in cultured plant cell and its impact on pharmacy. p.39–47. *in*: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 4 (Bajaj, Y. P. S. ed.) Springer-Verlag, New York.

Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi, and E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci. 161:839–851.

Chang, W. D., C. C. Chen, Y. S. Chang, and H. S. Tsay. 1993. Study on tissue culture of *Angelica dahurica* var formosana I. callus induction and medium evaluation. J. Agric. Res. China. 42:253–264. (in Chinese with English abstract)

Chen, U. C., F. S. Chueh, C. N. Hsia, M. S. Yeh, and H. S. Tsay. 2005. Influence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on leaf callus induction, proliferation and saikosaponin formation of *in vitro Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang. Crop, Environ. Bioin. 2:39–49. (in Chinese with English abstract)

Chen, U. C., C. N. Hsia, M. S. Yeh, and H. S. Tsay. 2006. *In vitro* micropropagation and *ex vitro* acclimation of *Bupleurum kaoi*-a native endangerous medicinal plant. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. Plant 42:128–133.

Chen, U. C., M. S. Yeh, and H. S. Tsay. 2004. Studies on *in vitro* shoot multiplication of native medicinal herbs - *Bupleurum kaoi* by axillary bud culture. J. Agric. Res. China 53:27–38. (in Chinese with English abstract)

Chiang, L. C., L. T. Ng, and C. C. Lin. 2003. Cytotoxicity and anti-hepatitis B virus activities of saokosaponins from *Buplerum* species. Planta Med. 69:705–709.

DiCosmo, F. and M. Misawa. 1995. Plant cell and tissue culture: alternatives for metabolite production. Biotech. Adv. 13:425–453.

Gan, W. S. 1985. *Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang. Manual of medicinal plants in Taiwan. National Research Institute Chinese Medicine, Taipei. 651 pp. (in Chinese)

Gaspar, T., C. Kevers, C. Penel, H. Greppin, D. M. Reid, and T. A. Thorpe. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro* Cell Dev. Biol. Plant 32:272–289.

George, E. F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1. The Technology. England: Exegetics Ltd. 574 pp.

Hiraoka, N. 1989. *Bulpeurum falcatum* embryogenesis and the production of saikosapins. p.69–81. *in*: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 7 (Bajaj, Y. P. S., ed.) Springer-Verlag, New York.

Hiraoka, N., T. Kodama, and Y. Tomita. 1986. Selection of *Bupleurum falcatum* callus line produce anthocyanins in darkness. J. Nat. Prod. 49:470–474.

Hossain, M., S. M. Rahman, R. Islam and O. I. Joarder. 1993. High efficiency plant regeneration from petiole explants of *Carica papaya* L. through organogenesis. Plant Cell Rep. 13:99–102.

Hsu, Y. L., P. L. Kuo, L. C. Chiang, and C. C. Lin. 2004a. Involvement of p53, nuclear factor κB and Fas/Fas ligand in induction of apoptosis and cell cycle arrest by saikosaponin d in human hepatoma cell lines. Cancer Lett. 213:213–221.

Hsu, Y. L., P. L. Kuo, and C. C. Lin. 2004b. The proliferative inhibition and apoptotic mechanism of saikosaponin d in human non-small cell lung cancer A549 cells. Life Sci. 75:1231–1242.

Hsu, Y. L., P. L. Kuo, T. C. Weng, M. H. Yen, L. C. Chiang, and C. C. Lin. 2004c. The antiproliferative activity of saponin-enriched fraction from *Bupleurum kaoi* is through fas-dependent apoptotic pathway in human non-small cell lung cancer A549 cells. Biol. Pharma. Bull. 27:1112–1115.

Mulabagal, V., C. Y. Lee, S. F. Lo, S. M. Nalawade, C. Y. Lin, and H. S. Tsay. 2004. Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures. Bot. Bull. Acad. Sin. 45:1–22.

Murashige, T. 1977. Plant cell and organ cultures as horticulture practices. Acta Hortic. 78:17–30.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:437–497.

Nalawade, S. M. and H. S. Tsay. 2004. *In vitro* propagation of some important Chinese medicinal plants and their sustainable usage. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. Plant 40:143–154.

Pan, S. L., Q. S. Shun, Q. M. Bo, and X. S. Bao. 2002. The Coloured Atlas of the Medicinal Plants from Genus *Bupleurum* in China. Shanghai Sci. Tech. Liter. Pub., China. 148 pp. (in Chinese)

Sagare, A. P., Y. L. Lee, and H. S. Tsay. 2000. Application of biotechnological tools in conservation and utilization of medical plant genetic resource. p.171–187. *in*: The Proceeding of Agriculture of the New Century: Managing Bio-research and Bio-diversity. College of Agriculture, National Taiwan Univ., Taiwan.

Tang, W. and G. Eisenbrand. 1992. *Bupleurum* spp. p.223–232. *in*: Chinese Drugs of Plant Origin. Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine. Springer-Verlag, New York.

Uomori, A., S. Seo, and Y. Tomita. 1974. Studies on the constituents in tissue cultures of *Bupleurum falactum* L. Syoyakugaku Zasshi 28:152–160.

Verpoorte, R. 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phytochem. Rev. 1:13–25.

Wang, B. J., C. T. Liu, C. Y. Tseng, and Z. R. Yu. 2005. Antioxidant activity of *Bupleurum kaoi* Liu (Chao et Chuang) fractionated by supercritical CO_2. LWT-Food Sci. Technol. 38:281–287.

Wang, B. J., C. T. Liu, C. Y. Tseng, C. P. Wu, and Z. R. Yu. 2004. Hepatoprotective and antioxidant effect of *Bupleurum kaoi* Liu (Chao et Chuang) extract and its fractions fractionated using supercritical CO_2 on CCl_4-induced liver damage. Food Cheni. Toxico. 42:609–617.

Wang, P. J. and C. I. Huang. 1982. Production of saikosaponins by callus and redifferentiated organs of *Bupleurum falactum* L. p.71–72. *in*: Plant Tissue Culture (Fujiwara, A., ed.) Maruzen, Tokyo.

Xie, B. I., Y. H. He, and Z. J. Yi. 1999. Tissue culture and screening of high production clone line of *Dioscorea zingibernisis*. J. Central South For. Univ. 19:17–21. (in Chinese with English abstract)

Yen, M. H., C. C. Lin, C. H. Chuang, and S. Y. Liu. 1991. Evaluation of root quality of *Bupleurum* species by TLC scanner and the liver protective effects of "Xiao-chai-hu-tang" prepared using three different *Bupleurum* species. J. Ethnopharma. 34:155–165.

Yen, M. H., T. C. Weng, S. Y. Liu, C. Y. Chai, and C. C. Lin. 2005. The hepatoprotective effect of *Bupleurum kaoi*, an endemic plant to Taiwan, against dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. Biol. Pharm. Bull. 28:442–448.

Zhang, D. X. 2003. Effects of culture environment on callus growth and dl-tetrahydro-palmatine content in cultures of *Corydalis remota*. Bull. Bot. Res. 23:86–90.

Zhang, S. and K. C. Cheng. 1989. *Angelica sinensis* (Oliv) Diels: *In vitro* culture, regeneration, and the production of medicinal compounds. p.1–22. *in*: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 7. Medicinal and aromatic plants II. (Bajaj, Y. P. S. ed.) Springer-Verlag, New York.

Influence of Medium Components on Callus Proliferation and Saikosaponin Content of *Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang [1]

Uei-Chern Chen[2], Chi-Ni Hsia[2], Mau-Shing Yeh[3], Chin-Yi Tsao[2], and Hsin-Sheng Tsay[4,5]

Abstract

Chen, U. C., C. N. Hsia, M. S. Yeh, C. Y. Tsao, and H. S. Tsay. 2008. Influence of medium components on callus proliferation and saikosaponin content of *Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang. J. Taiwan Agric. Res. 57:119–132.

Medium components and their best concentrations of cytokinin, sucrose, Difco Bacto-agar, peptone, casein hydrolysate, coconut water were separately tested for callus growth of *Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang. Saikosaponins production of callus tissues was monitored. A half-strength MS salt medium supplemented with 0.2 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) was used as a basal medium (D2 medium) for callus growth. The results showed that additional N6-benzyladenine (BA) and N-furfuryladenine (kinetin) inhibited callus growth in all concentration tested in this study. Other than cytokinin, all factors could increase callus growth at a proper range of concentrations. It was concluded that 3% sucrose, 0.9% Difco Bacto-agar, 0.5 g/L peptone, 0.5 g/L casein hydrolysate, and 100 mL/L coconut water had the best effects on callus growth of *B. kaoi*. Various strengths of MS basal salts in combination with the aforementioned components at the best concentrations were further tested. Among four strengths of MS tested, half-strength MS treatment had the highest fresh and dry weight of callus growth after 4 weeks of culture. However, the highest saikosaponin a, c, d contents examined by high performance liquid chromatography (HPLC) was obtained from callus grown on the full-strength MS basal medium.

Key words: Bupleuri Radix, Medicinal plant, Cell culture, Secondary metabolite, High performance liquid chromatography.

---

1. Contribution No.2319 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: June 20, 2008.
2. Respectively, Assistant Researcher, Associate Researcher, Contract Employee, Biotechnology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan.
3. Professor, Department of Agronomy, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.
4. Professor, Graduate Institute of Biotechnology, Chaoyang University of Technology, Wufeng, Taichung, Taiwan.
5. Corresponding author, e-mail: hstsay@cyut.edu.tw; Fax: (04)23742371.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 57(2):133–142 (2008)

台灣高屏地區玉荷苞荔枝害蟲種類、危害調查與果實套袋試驗[1]

溫宏治[2,3] 劉政道[2]

摘　要

溫宏治 劉政道。2008。玉荷苞荔枝害蟲種類、危害調查與果實套袋試驗。台灣農業研究。57:133–142。

於台灣高、屏地區玉荷苞荔枝主要產地調查害蟲種類，共發現 22 種害蟲及葉蟎與蝸牛各一種，其中開花期以毛管蚜 (*Greenidea mangiferae*) 發生最多，危害率爲 15.14–22.47%，平均 18.52%，結果期以荔枝細蛾 (*Conopomorpha sinensis*) 及東方果實蠅 (*Bactrocera dorsalis*) 爲害果實最多，前者爲害植株上鮮果率爲 9.74–20.76%，平均 12.75%，落果被害率 64.93–85.13%，平均 73.24%，後者爲害果率爲 6.45–12.15%，平均 9.51%；嫩葉生長期則以捲葉蛾與荔枝尖細蛾 (*C. litchielle*) 發生較多，其爲害新芽及幼葉率分別爲 8.23–35.27%，平均 21.27%及 16.17–46.75%，平均 25.88%，老葉則以黃綠綿介殼蟲 (*Chloropulvinaria psidii*) 發生較多，危害葉率 5.28–18.69%，平均 9.52%。比較不同材質作果實防蟲套袋試驗結果，以套白色紙袋防蟲效果最佳，採收前 10 天及當天調查對荔枝細蛾之防治率分別爲 88.44%及 100%，對東方果實蠅防治率均爲 100%。

關鍵詞：玉荷苞荔枝、荔枝害蟲、果實套袋防治。

前　言

玉荷苞荔枝爲荔枝之新品系，屬早熟小核品種，原產於大陸原名爲〝妃子笑〞，早年引進台灣因爲產量不穩因素下未被推廣種植，鳳山熱帶園藝試驗分所於民國 85 年建立此品種之省工栽培模式，突破生產技術上之困難，使產量趨於穩定，至 90 年間技術成熟後逐漸推廣農民，因其品質優良深受消費者喜愛，農民栽植面積也日漸增加，並有取代原有之〝黑葉〞品種趨勢，成爲台灣新興果樹之一，目前栽培面積保守估計已超出 2,500 ha。

由於玉荷包荔枝種植面積日漸增加，病蟲害問題也日漸浮現，雖然國內以往在荔枝害蟲有發表多篇研究報告可供參考 (Hung *et al*. 2006; Hwang 1988; Hwang & Hung 1996)，但由於品種之差異及

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2321 號。接受日期:97 年 6 月 24 日。
2. 本所鳳山分所研究員兼植物保護系主任、研究員兼分所長。台灣省 高雄縣 鳳山市。
3. 通訊作者，電子郵件:we@fthes-tari.gov.tw；傳真機:(07)7315590。

結果期之不同，害蟲相勢必有受影響，故有必要建立害蟲資料，以提供害蟲防治時之重要依據。筆者等由民國 91 年著手調查害蟲種類及其發生情形，迄今已達 6 年，將所調查結果整理於后，以供研究與防治之參考。本調查發現之一般害蟲或害蟎均比對害蟲圖鑑與專書及相關研究報告 (Chang & Chen 1989; Chang 1984; Ho 2004; Ho *et al*. 1997; Hsieh 2003; Hung 1967; Lou 2006; Tao *et al.*1983; Wang 2002; Wu 1973)，不明確者另送請專家鑑定。另利用不同材質對果實進行套袋試驗，比較其對荔枝細蛾及東方果實之防治效果，一併敘述，供業者防治參考。

材料與方法

害蟲種類調查

自民國 91 年 1 月至 96 年 12 月，於台灣南部玉荷苞荔枝主要產地包括高雄縣鳳山市、大樹鄉、旗山鎮及屏東縣潮州鎮、高樹鄉，作荔枝害蟲種類調查工作，所調查荔枝之樹齡由 5 年至 12 年不等。

主要害蟲危害調查

於民國 94 年 4 月至 95 年 12 月於高雄縣鳳山市、大樹鄉及屏東縣潮州鎮、高樹鄉等地進行，並於各類害蟲主要發生期前往調查，每地調查 2 處果園，每處果園調查 20 株，調查方法如下：

檬果毛管蚜：每株調查 10 個花穗，計算花穗上之蚜蟲數，並將之分級，即每花穗含蚜蟲 0–5 隻爲 1 級；6–10 隻爲 2 級；11–20 隻爲 3 級；21–30 隻爲 4 級；31 隻以上爲 5 級，依下列公式換算危害度 (%) (Vanisham & Kogan 1979)。

$$\text{危害度 (\%)} = \frac{\sum (\text{級數} \times \text{該級被害花穗數})}{5 \times \text{調查花穗數}} \times 100\%$$

荔枝細蛾及東方果實蠅：結果期每地逢機採回新鮮果實，由 1,021 粒至 1,791 粒不等，並檢拾地上所有落果，由 1,052 粒至 1,625 粒不等，於室內利用刀切或剝殼方式，檢視果實是否遭受爲害。

黃綠綿介殼蟲：每株逢機調查 10 枝條上所有葉片，計算葉片被害數，再換算危害葉率。

荔枝尖細蛾：每株逢機調查 10 枚心梢之幼葉，計算幼葉被害數，再換算危害率。

捲葉蛾類：每株逢機調查 20 枚心梢上之新葉，計算葉片被害數，再換算危害率。

果實套袋防治蛀蟲及果實蠅試驗

本試驗於 96 年荔枝結果期在鳳山市進行，於荔枝花謝後 15 日開始進行套袋試驗，分別 4 處理 1. 套綠網袋 (30 × 50 cm^2)；2. 套白網袋 (30 × 50 cm^2)；3. 套紙袋 (35 × 40 cm^2)；4. 對照組不套袋，每處理共 1 株，4 重複共 16 株，每株套以 40 個試驗袋。於 96 年 4 月 3 日套袋，5 月 11 日第一次調查 (採收前 10 日)，5 月 22 日第二次調查 (採收期)，分別計算被荔枝細蛾及東方果實爲害果數，作比較。

結　果

害蟲種類調查

玉荷苞荔枝害蟲種類，經筆者於民國 91 年 1 月至 96 年 12 月在台灣南部調查結果，發現有 22 種害蟲，1 種害蟎及 1 種蝸牛 (表 1)，其中新紀錄害蟲有檬果毛管蚜 (*Greenidea mangiferae*) 1 種，與原有在荔枝紀錄 76 種害蟲及 6 種害蟎相差甚多 (Lin 2002; Tao 1999)。

主要害蟲為害調查

檬果毛管蚜：檬果毛管蚜除了爲害荔枝外，尙可爲害龍眼，主要爲害荔枝之花穗及嫩葉，於花期危害較嚴重，爲害方式係刺吸組織汁液，並大量分泌蜜露滴沾於花穗上或葉片，影響花器之授粉，並引來螞蟻舔食，且誘發煤病，民國 94 年在玉荷苞荔枝產地調查其爲害花穗情形，結果如表 2，以鳳山市之植株危害最嚴重，平均危害率達 22.47%，可能因當地之玉荷苞栽植較久，植株高大且密集，通風條件差，平常也疏於管理，致蚜蟲密度較高；大樹鄉危害率 19.23%，高樹鄉較少危害率僅 15.14%，各地調查平均危害率爲 18.52%。

表 1. 台灣高屏地區玉荷苞荔枝害蟲種類

Table 1. A list of insect pests of yuh-heh-bau litchi in Kao-Ping area of Taiwan (2002–2006)

Chinese name	Scientific name	Injury sites [z]	Notes [y]
檬果毛管蚜	*Greenidea mangiferae* Takahashi	fl, le	I. N.
黃斑椿象	*Erthesina fullo* Thunberg	le, fl	
紫膠介殼蟲	*Kerria lacca* Kerr	st	
黃綠綿介殼蟲	*Chloropulvinaria psidii* (Maskell)	le, st	I
角蠟介殼蟲	*Ceroplastes ceriferus* Anderson	le, st	
台灣粉介殼蟲	*Planoconus lilacinus* Cock	le, fl, fr	
柑桔粉介殼蟲	*Planococcus citri* (Risso)	le, st, fr	
姬黃薊馬	*Scirtothrips dorsalis* Hood	le	
花薊馬	*Thrips hawaiiensis* (Morgan)	fl	
赤腳銅金龜	*Anomala cupripes* Hope	le	
白點花潛金龜	*Protaetia orientalis* Gory & Perchelon	fr	
小白紋毒蛾	*Notolophus australis posticus* Walker	le, fl	
台灣黃毒蛾	*Porthesia taiwan* Shiraki	le, fl	
荔枝尖細蛾	*Conopomorpha litehielle* Bradley	le	I
荔枝細蛾	*Conopomorpha sinensis* Bradley	le, fr	I
三角新捲葉蛾	*Olethreates leucaspis* Meyrick	le	
圓翅捲葉蛾	*Ebola celligera* Meyiuck	le	I
咖啡木蠹蛾	*Zeuzera coffeae* Niether	st	
恒春小灰蝶	*Deudorix epijarbas* Morre	fr	
台灣青尺蠖	*Pingasa nagniuia* Guenue	le	
東方果實蠅	*Bactrocera dorsalis* Handel	fr	I
黑翅土白蟻	*Odontotermes formosanus* Shiraki	tr	
荔枝葉蟎	*Oligonychus litchi* Lo	le	
扁蝸牛	*Bradybaena similaris* (Ferussac)	le	

[z] le: leaf; fl: flower; fr: fruit; st: stem; tr: trunk.
[y] I: economic importance; N: new record in Taiwan.

黃綠綿介殼蟲：黃綠綿介殼蟲 (*Chloropulvinaria psidii*) 之成蟲、若蟲都群集於枝條或葉上，吸食汁液，分泌蜜露，誘發煤病，使葉片表面佈滿黑色覆蓋物，影響光合作用，並使樹勢衰弱及果實之外觀，品質深受影響。民國 95 年在玉荷苞產地調查其危害情形如表 3，葉片危害率各地由 5.28%至 18.69%不等，平均爲 9.52%。

荔枝細蛾：荔枝細蛾 (*Conopomorpha sinensis*) 以爲害果實爲主，當荔枝幼果長至 2–3 mm 大時，成蟲飛來產卵於果實表面上，卵孵化後幼蟲即鑽入食種仁及果實，造成嚴重落果或損害果實之品質。民國 94 年在玉荷苞荔枝產地調查其危害情形結果如表 4，株上果實被害率各地由 9.74%至 20.76%不等，平均爲 12.95%，檢拾落果之危害率各地由 64.93%至 85.13%不等，平均爲 73.84%，大體上果實遭荔枝細蛾爲害，容易造成落果，是故檢拾之落果被荔枝細蛾爲害比例較高。

表 2. 檬果毛管蚜爲害玉荷苞荔枝花穗調查

Table 2. Survey of mango aphid damage on the flower of yuh-heh-bau litchi (Mar.–Apr. 2005)

	Degree of infestation [z]		
Locality	Field 1	Field 2	Mean
Kaohsiung Hsien			
Fengshan	4.73─26.35	8.74─46.24	22.47
Tashuh	2.12─18.67	7.23─23.43	19.23
Pingtung Hsien			
Cashuch	1.68─29.43	4.22─30.25	15.14
Chaurjou	1.87─25.26	5.37─22.43	17.24
Average			18.52

[z] The flower which was infested by mango aphid.

表 3. 黃綠綿介殼蟲爲害玉荷苞荔枝調查

Table 3. Survey of cottony mealybug damage on the leaf of yuh-heh-bau litchi (Mar.–May 2006)

Locality	No. of examined leaves [z]	No. of damaged leaves	Damage rate (%)
Kaohsiung Hsien			
Fengshan	2300	430	18.69
Tashuh	3122	210	6.73
Pingtung Hsien			
Cashuch	2502	132	5.28
Chaurjou	1903	140	7.36
Average			9.52

[z] Total of 10 twigs of 20 plants from 2 fields.

表 4. 荔枝細蛾爲害玉荷苞荔枝果實調查

Table 4. Survey of litchi fruit borer damage on the fruit of yuh-heh-bau litchi (Apr.–May 2005)

Locality	Position [z]	No.of fruits [y]	No. of damaged fruits	Damage rate (%)
Kaohsiung Hsien				
Fengshan	P	1021	212	20.76
	G	1423	924	64.93
Tashuh	P	1180	132	11.18
	G	1625	1091	67.14
Pingtung Hsien				
Cashuch	P	1232	120	9.74
	G	1052	904	85.13
Chaurjou	P	1621	164	10.12
	G	1146	887	77.39
Average	P			12.95
	G			73.84

[z] P: fruit on the plant; G: fruit on the ground
[y] Total of 20 plants from 2 fields.

荔枝尖細蛾：荔枝尖細蛾 (*C. litchielle*) 成蟲產卵於嫩芽葉上，卵孵化後幼蟲鑽入葉肉組織內蛀食，形成曲折食痕，通常近葉片主脈兩側最多，造成葉表皮與葉肉脫離，葉片產生木栓化線條，嚴重致葉片枯萎。民國 94 年至玉荷苞產地調查其危害情形結果如表 5，葉片危害率各地由 16.17% 至 46.72%不等，平均爲 25.88%。

捲葉蛾：爲害玉荷包荔枝之捲葉蛾有三角新捲葉蛾 (*Olethreates leucaspis*) 及圓翅捲葉蛾 (*Ebola celligera*)，其中圓翅捲葉蛾發生較多。成蟲產卵於頂芽，卵孵化後，幼蟲吐絲將頂芽及嫩芽綴繞聚集，並可將嫩葉綴繞起成捲葉狀。民國 94 年在玉荷苞荔枝產地調查其危害葉片情形結果如表 6，如鳳山市之被害率 35.27%，可能因當地植株較高大，且平時疏於管理，致捲葉蛾密度較高，高樹鄉被害率爲 21.24%，潮州鎮較少，僅 8.23%，各地調查平均危害率爲 21.27%。

東方果實蠅：東方果實蠅 (*Bactrocera dorsalis*) 主要爲害近成熟荔枝果實，成蟲飛來產卵於果皮肉，卵孵化後幼蟲鑽入果肉內蛀食，使果品尚失價值，又其產卵產生果實上傷口易爲酸腐病之病源菌侵入，加劇果實腐敗，民國 96 年至玉荷苞產地調查其發生情形結果如表 7，果實危害率各地由 6.45%至 12.65%不等，平均爲 9.51%。

果實套袋防治荔枝細蛾及東方果實蠅試驗

比較不同材質套袋試驗結果，套白色紙袋防治荔枝細蛾效果略優於套網袋者。於採收前 10 天 (表 8) 及當天 (表 9) 調查防治率分別爲 88.44%及 100%。各種套袋處理對果實蠅防治率均 100%。

表 5. 荔枝尖細蛾爲害玉荷苞荔枝調查

Table 5. Survey of *Conopomorpha litchielle* damage on the young leaf of yuh-heh-bau litchi (Mar. 2005)

Locality	No. of examined leaves [z]	No. of damaged leaves	Damage rate (%)
Kaohsiung Hsien			
Fengshan	1875	876	46.72
Tashuh	1907	427	22.39
Pingtung Hsien			
Cashuch	1608	260	16.17
Chaurjou	1530	279	18.24
Average			25.88

[z] Total of 10 twigs of 20 plants from 2 fields.

表 6. 捲葉蛾爲害玉荷苞荔枝調查

Table 6. Survey of leaf roller damage on the shoot of yuh-heh-bau litchi (Feb.–Mar. 2005)

Locality	No. of examined leaves [z]	No. of damaged leaves	Damage rate (%)
Kaohsiung Hsien			
Fengshan	1624	572	35.27
Tashuh	1456	296	20.34
Pingtung Hsien			
Cashuch	1584	336	21.24
Chaurjou	1480	121	8.23
Average			21.27

[z] Total of 10 twigs of 20 plants from 2 fields.

表 7. 東方果實蠅爲害玉荷苞荔枝調查

Table 7. Survey of oriental fruit fly damage on the fruit of yuh-heh-bau litchi (Mar. 2006)

Locality	No. of examined fruits [z]	No. of damaged fruits	Damage rate (%)
Kaohsiung Hsien			
Fengshan	1427	180	12.65
Tashuh	1545	184	11.92
Pingtung Hsien			
Cashuch	1498	105	7.03
Chaurjou	1791	115	6.45
Average			9.51

[z] Total of 20 plants from 2 fields.

表 8. 荔枝果實套袋後對荔枝細蛾及東方果實蠅防治效果 (採收前 10 天)

Table 8. Effect of various wrapping bags on the control of litchi fruit borer and oriental fruit fly on fruit (10 days before harvesting) (fruits per plant)

Bag	Investigated fruits	Fruits damaged by [z]		Control (%)	
		Litchi fruit borer	Oriental fruit fly	Litchi fruit borer	Oriental fruit fly
Green nylon net	288.43	0.40 a	0 a	100	100
White nylon net	320.55	8.25 b	0 a	93.41	100
Paper	224.76	10.45 b	0 a	88.44	100
Unbagged	232.45	88.20 c	1.25 b	—	—

[z] Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at $P \leqq 0.05$ using Fisher's LSD test.

表 9. 荔枝果實套袋後對荔枝細蛾及東方果實蠅防治效果 (採收期)

Table 9. Effect of various wrapping bags on the control of litchi fruit borer and oriental fruit fly on fruit (Harvesting period) (fruits per plant)

Bag	Investigated fruits	Fruits damaged by [z]		Control(%)	
		Litchi fruit borer	Oriental fruit fly	Litchi fruit borer	Oriental fruit fly
Green nylon net	234.30	16.35 a	0 a	92.94	100
White nylon net	238.25	7.22 a	0 a	97.39	100
Paper	304.75	0.37 a	0 a	100	100
Unbagged	126.20	122.45 b	8 b	—	—

[z] Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at $P \leqq 0.05$ using Fisher's LSD test.

討　論

有關在玉荷苞害蟲種類調查與原先在其他品種荔枝調查相差甚多，可能因新品系荔枝種植面積不大，加上種植時間尚短，植株尚小，害蟲未能在短時間內適應，加上調查時間短，故發現種類不多。所調查種類中，檬果毛管蚜及黃綠綿介殼蟲在以往荔枝文獻中敘述不多 (Chou *et al.* 1999; Hung & Chiang 2002)，前者除刺吸花穗外，並會分泌蜜露，造成花穗枯萎或授粉不良現象，唯開花期間欲兼顧防治此蟲及保護授粉昆蟲，確實難予取捨，後者係近年來新浮現的荔枝害蟲，尤其在樹體較大之黑葉品種發生較多，故將之列爲經濟重要害蟲。荔枝細蛾、荔枝尖細蛾、圓翅捲葉蛾及東方果實蠅等害蟲也普遍發生危害，其中荔枝細蛾幼蟲蛀入果實內，造成落果，影響果實之產量及品質甚大，採自植株上之鮮果調查雖被害果數不多，但調查落果時被害果率均高達 60%，可見果實被荔枝細蛾危害後會造成嚴重落果，目前外銷荔枝將之列入重要檢疫害蟲。

荔枝尖細蛾及捲葉蛾類僅爲害幼葉，尤其在夏秋之新梢期發生較多，此期爲荔枝採收後不久，一般農民也不會刻意去用藥防治，唯其爲害嚴重時仍會造成新梢枯萎，一般建議予修剪之物理處理即可。東方果實蠅近年來可能擴大其寄主範圍而波及荔枝，成蟲產卵於成熟果實內致果實腐敗，通常梅雨期連續下雨發生更嚴重，尤其產卵傷口易成爲酸腐病病源菌入侵門戶，病蟲經常相繼發生，因而加速果實之腐敗。

在果實套袋試驗中，無論套網袋或紙袋對荔枝細蛾及東方果實蠅均有良好防治效果，其中對果實蠅之防治率均爲 100%。部分之果實雖有套裝但乃遭荔枝細蛾爲害，是否細蛾由網袋之細孔，或紙袋逢雨沾濕後破裂之孔隙產卵，有待進一步之觀察。

誌　　謝

本文研究承蒙行政院農業委員會 3 年公務經費補助，特以致謝。農藥所洪巧珍博士提供費洛蒙及其他鑑定資料，本分所李明哲先生、黃益美小姐及洪瑞蘭小姐協助調查，一併致上衷心謝忱。

引用文獻 (Literature cited)

Chang, C. P. and W. Y. Chen. 1989. Morphology and behavior of *Bradybaena similaris* (Férussae) on grape-vine in Taiwan. Plant Prot. Bull. 31:217–224. (in Chinese with English abstract)

Chang, C. P. 1984. Morphology and life history of *Zeuzera coffeae* Nietuer on grape-vine in Taiwan. Plant Prot. Bull. 26:145–153. (in Chinese with English abstract)

Chou, L. Y., S. P. Chen, and C. Y. Wong. 1999. Note on two aphids (Homoptera: Aphidoidea) attacking longan in Taiwan. Plant Prot. Bull. 41:223–225. (in Chinese with English abstract)

Ho, C. C. 2004. *Oligonychus litchi* is important agricultural pest in Taiwan (Acar: Tetranychidae) Plant Prot. Bull. 46:299–302. (in Chinese with English abstract)

Ho, C. C., K. C. Lou, and W. H. Chen. 1997. Spider mite (Acar: Tetranychidae) on various crops in Taiwan. J. Agric. Res. China 46:333–346. (in Chinese with English abstract)

Hsieh, B. C. 2003. Landsnails of Taiwan. Council of Agriculture. Executive Yuan,Taiwan, ROC. 239 pp. (in Chinese)

Hung, C. C. and B. Y. Chiang. 2002. Occurring of cottony scale, *Chloropulvinaria psidii* on litchi orchards in Taiwan. Plant Prot. Bull. 44:360. (in Chinese with English abstract)

Hung, C. C., J. S. Hwang, and H. Y. Wang. 2006. Survey of Lepidopterous pests of litchi and longan in Taiwan. Formosan Entomol. 26:27–44. (in Chinese with English abstract)

Hung, T. 1967. A study on morphological features of erinose mite of litchi (*Eriophyes litchi* Keifer) and an observation on the conditions of its damage. Plant Prot. Bull. 9:35–36. (in Chinese with English abstract)

Hwang, J. S. 1988. The ecology and control of major insect pests of litchi and longan tree Fruits in Taiwan. Chinese J. Entomol. Spec. Pub. 2:33–42. (in Chinese with English abstract)

Hwang, J. S. and C. C. Hung. 1996. Gracillariid insect pests attacking litchi and longan in Taiwan. Plant Prot. Bull. 38:75–78. (in Chinese with English abstract)

Lin, K. S. 2002. A list pests of fruit plant from Taiwan and mainland China. Agric. Res. Inst. Pub. No. 100. Taichung. 847 pp. (in Chinese)

Lou, K. C. 2006. Illustration of mite pests on agricultural crops in Taiwan. Agric. Res. Inst. Pub. No. 116. Taichung. 216 pp. (in Chinese)

Tao, C. C. 1999. List of Aphidoidea (Homoptera) of China. Taiwan Agric. Res. Inst. Spec. Pub. 77:1–144.

Tao, C. C., C. Y. Wong, and Y. C. Chang. 1983. Monograph of Coccide of Taiwan. ROC. (Homoptera: Coccoidae). J. Taiwan Mus. 36:94–95. (in Chinese)

Wang, C. L. 2002. Thrips of Taiwan: Biology and Taxonomy. Agric. Res. Inst. Pub. No. 99. Taichung. 328 pp. (in Chinese)

Wong, C. Y., S. P. Chen, and L. Y. Chou. 1999. Guidebook to scale insects of Taiwan. Agric. Res. Inst. Pub. No. 89. Taichung. 98 pp. (in Chinese)

Wu, L. L. 1973. Grave destruction of scarab beetles to grape-vine in Taiwan. Taiwan Agriculture 9(4):133–141. (in Chinese)

Vanisham, S. M. and M. Kogan. 1979. Sampling whitefles on soybean. Entomon (India). 14:306–311.

Insect Pests and Their Injuries on Yuh-heh-bau Litchi and Effect of Fruit Bagging in Kao-Ping Area of Taiwan [1]

Hung-Chich Wen[2,3] and Tsung-Dao Liou [2]

Abstract

Wen, H. C. and T. D. Liou. 2008. Inset pests and their injuries on yuh-heh-bau litchi and effect of fruit bagging in Kao-Ping area of Taiwan. J. Taiwan Agric. Res. 57:133–142.

Surveys of insects and other pests on yuh-heh-bau litchi were carried out from 2002 to 2007 in southern Taiwan. A total of 22 species of insects, one species of mite and one species of snail were found in southern Taiwan. Among them, the mango aphid (*Greenidea mangiferae*), litchi fruit borer (*Conopomorpha sinensis*), leaf borer (*C. litchielle*), cottony mealybug (*Chloropulvinaria psidii*), leaf roller (*Ehola celligera*) and oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*) were considered of economic importance. This report described the symptom of their injuries and percentages of infestation. Paper bag used for wrapping fruit was more effective than nylon net to protect litchi from the infestation of litchi fruit borer and oriental fruit fly.

Key words: Yuh-heh-bau litchi, Litchi pests, Fruit bagging.

---

1. Contribution No.2321 from Agricultural Research Institute. Council of Agriculture. Accepted: June 24, 2008.

2. Respectively, Senior Entomologist and Head, Department of Plant Protection, and Director of Fengshan Tropical Horticultural Experimental station, ARI, Fengshan, Kaohsiung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: we@fthes-tari.gov.tw; Fax: (07)7315590.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 57(2):143–152 (2008)

嘉義地區荔枝園荔枝細蛾與東方果實蠅危害調查[1]

洪士程[2] 何坤耀[2,4] 陳健忠[3]

摘　要

洪士程、何坤耀、陳健忠。2008。嘉義地區荔枝園荔枝細蛾與東方果實蠅危害調查。台灣農業研究。57:143–152。

2004 年嘉義農試分所，在嘉義地區實施荔枝園之荔枝細蛾與東方果實蠅之危害調查。不同荔枝品種在施藥防治區與未施藥區，受荔枝細蛾 (*Conopomorpha sinensis* Bradley) 之被害果率，各爲 7.5–47%與 88.5%。有實施防治之黑葉、糯米糍及 71-3-13 等荔枝品種較具抵抗性，黑葉品種在不同果實期，受細蛾危害之比率維持在 8–16.5%間。在施藥區及未施藥區樹上果之荔枝細蛾，平均危害率，分別爲 29.2%及 60.7%，而東方果實蠅 [*Bactrocera dorsalis* (Hendel)] 之危害率則分別爲 2.6%及 12.1%，由上因施藥可使樹上果實，顯著降低兩種害蟲之危害，因在 5–6 月間，東方果實蠅族群已進入高峰期，此時落果受其危害最高可達 35.3%。已確定在成熟之荔枝果實上，只要有細蛾蛀孔，就可能會被果實蠅產卵危害，所以於果實期，若能做好荔枝細蛾之防治，即能同時降低東方果實蠅的危害。另外，以性費洛蒙大量誘殺或寄生蜂 (*Phanerotoma* sp.) 綜合防治荔枝細蛾之功效並不佳。

關鍵詞：荔枝、荔枝細蛾、東方果實蠅、危害。

前　言

荔枝細蛾 (*Conopomorpha sinensis* Bradley) 又稱果實蛀蟲 (fruit borer)，爲荔枝最關鍵之害蟲 (Hung *et al*. 2006)，而東方果實蠅 [*Bactrocera dorsalis* (Hendel)] 則爲一般果樹的重要害蟲 (Chu & Chen 1985; Ho 1985)。依近年來果農反應，發現在荔枝果實成熟期，常遭受果實蠅產卵危害，此現象過去較少發生。荔枝爲東方果實蠅之寄主，已有 Chu & Chen (1985) 及 Norrbom & Kim (1988) 等多人報導，但也有荔枝不受果實蠅類危害之報告 (Stanley 1998; Walter *et al.* 1999)。經初步觀察，東方果實蠅會在荔枝近成熟時，選擇果皮有蛀孔或破損之果實產卵危害，然而在有定期噴藥防治荔枝細蛾之果園，則受果實蠅危害較輕。故針對近年果實蠅危害荔枝之現象，是否因荔枝園對荔枝細蛾防治管理不善，或遭金龜子等其他害蟲共同危害所造成，實有待進一步探討。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2322 號，接受日期：97 年 6 月 24 日。
2. 嘉義分所植物保護系助理研究員、副研究員。台灣　嘉義市。
3. 本所應用動物組研究員。台灣　台中縣　霧峰鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：kunyawho@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2773630。

荔枝果實成熟期在每年 6 月，剛好與東方果實蠅之發生盛期相吻合。因荔枝細蛾在此時期必定會發生危害 (Hung *et al*. 2006)，其所造成被害果實上的蛀孔傷口，便留給果實蠅有可乘之機，導致果實蠅再度產卵危害，故兩者之危害可說是狼狽爲奸、相輔相成，何等 (2007) 在農業試驗所技術服務季刊第 69 期曾對此作詳細探討 (未列入引用文獻)。因東方果實蠅爲水果外銷上之重要檢疫害蟲，故荔枝園之害蟲防治工作，具有相當密切的關連性，亦即需同時作好荔枝細蛾及東方果實蠅之管理。

另外，在荔枝細蛾的綜合防治策略上，能否配合費洛蒙作有效的偵測及誘殺，或是利用天敵寄生蜂作生物防治 (Lall & Sharma 1978; Lim *et al.* 1982; Hwang 1988; Hwang & Hung 1993)，亦將在本報告中進行測試調查。

材料與方法

不同荔枝品種受荔枝細蛾及果實蠅危害之被害率調查

於 2004 年 6 月間，在嘉義農試分所的水源地荔枝園，調查黑葉 (Black-leaf)、糯米糍 (Nome)、71-3-13、71-3-15 及 77-S-3 等不同品種施藥區之荔枝果實 (自謝花後每週施用 2.4%第滅寧水懸劑 1500 倍，共施五次，另含一區無施藥的黑葉品種作對照)。將每園區分成四重複小區，每小區各逢機摘取 50 粒樹上果，攜回室內逐粒切開檢查是否有遭荔枝細蛾及東方果實蠅之危害。分別記錄細蛾及果實蠅之危害果數，其中又將果實蠅之危害，分成含有卵、1–2 齡幼蟲 (幼齡期) 及 3–4 齡幼蟲 (老齡期) 兩組。將各組求得之被害率，先經 Sin^{-1} 轉角後，再以鄧肯氏多變域分析法 (DMRT) 比較各平均值在 5%下之差異顯著性。

荔枝黑葉品種不同時期之被害率調查

與上同時期於嘉義分所的水源地黑葉荔枝園 (有施藥管理區) 調查荔枝細蛾與東方果實蠅之危害果數，每週亦在四重複區各取 50 粒樹上果攜回室內檢查。自 2004 年 6 月 2 日至 23 日連續進行四週，記錄及分析方法皆同上。

施藥區與未施藥區之被害率比較

於 2006 及 2007 年 5–6 月間在嘉義分所有施藥防治 (施藥情形如同上述) 與未施藥之荔枝園，各選取三重複小區，每小區逢機摘取 50 粒樹上果及撿取 50 粒地上落果，分別調查荔枝細蛾與東方果實蠅之危害果數，並作差異性分析。

成熟落果之被害與其他害蟲調查

於 2006 年 6 月 14 日，在嘉義分所未施藥之荔枝園，撿取完全成熟之落果，逢機挑出只有蛀孔與同時有裂口之果實各 50 粒，各作三重複，調查其荔枝細蛾、東方果實蠅與隱翅蟲、小果蠅之數目，並以學生氏 t-test 比較平均值，探討其發生危害之相關性。

荔枝園東方果實蠅之發生調查

於 2003 至 2004 年間在嘉義分所之荔枝園懸掛渦旋式誘蠅器 (安啦®，Ho *et al*. 2003) 3 只，各距約 50 m。每旬調查一次，每月累計甲基丁香油誘殺之雄蟲數，作爲偵測瞭解整年東方果實蠅在荔枝園內之發生密度。

性費洛蒙誘殺荔枝細蛾之效果評估

於 2006 及 2007 年 5–6 月間分別在嘉義分所有施藥防治與未施藥防治之荔枝園，在各三重複小區中懸掛翼形誘蟲盒各一個 (由農業藥物毒物試驗所提供，內含可可細蛾性費洛蒙線條餌劑)，每兩週更新蟲盒，每月增加一條餌劑，每週記錄誘殺之荔枝細蛾蟲數。

荔枝細蛾寄生蜂寄生率調查

於 2006 及 2007 年 5–6 月間亦分別在嘉義分所有施藥防治與未施藥之荔枝園，亦由各三重複小區中，每小區逢機撿取落果 50 粒，攜回室內置於細尼龍紗網袋中，其下鋪紙巾以保持乾燥，讓其細蛾、寄生蜂在網內自行羽化，三週後收集計算乾死之寄生蜂數目，並以一果一蟲估算寄生率。

結　果

不同荔枝品種受荔枝細蛾及果實蠅危害之被害率

由表 1 中可見荔枝細蛾及東方果實蠅，在不同荔枝品種之危害率有顯著性差異 ($P = 0.05$)。荔枝細蛾之危害率，在施藥防治區爲 7.5–47%，未施藥區 88.5%；果實蠅之危害率 (含卵、幼齡及老齡幼蟲)，在兩區則分別爲 0–4.5%與 10%。其中以未施藥之黑葉品種受兩種害蟲之危害率最高，其次者爲有施藥之 77-S-3 及 71-3-15，有施藥之黑葉及糯米品種被害最低。

黑葉品種不同果實期之被害率

調查結果在有施用第滅寧防治之黑葉品種園之荔枝細蛾，全期造成之蛀果率平均爲 11.4%，而遭東方果實蠅之危害果率平均僅爲 0.6% (表 2)。其中不同時期之蛀果率維持在 8–16.5%，果實中後期較多被害，而以最後一次調查顯著較少 ($P = 0.05$)。在最末期亦僅有極低的幼齡期果實蠅，會在此有施藥防治之果園中危害。

施藥區與未施藥區果實之被害率

於施藥區與未施藥區兩種害蟲之樹上果被害率如表 3，採自地上之落果被害率則列於表 4。由 2006 年之調查結果，樹上果有施藥則兩種蟲害皆顯著較少 ($P = 0.05$)，平均各爲 42.5%及 3.9%，而在未施藥區則分別爲 86.2%及 14.3%。落果則在施藥與未施區發生之蟲害皆較多，於 2006 年在施藥區之蛀蟲果率及果實蠅危害率平均分別爲 84.7%及 18.9%，而未施藥區則分別爲 93%及 16.2%。2007 年之調查結果與 2006 年相似，若將 2006 及 2007 年之樹上果被害率平均，則可得知在施藥區及未施藥區之荔枝細蛾危害率爲 29.2%及 60.7%，而東方果實蠅之危害率則分別爲 2.6%及 12.1%。

成熟落果之被害與其他害蟲之相關

在有蛀孔之落果 (即已遭細蛾危害者) 調查中，發現另外增加之裂口並未能顯著 ($P = 0.05$) 提高果實蠅原本 17%之危害率 (表 5)，顯示果實蠅僅需有蛀孔就能在果實產卵危害。另如隱翅蟲 (Rove beetle) 則在只有細蛾蛀孔之果實上並不能造成危害，必需要再有其他裂縫才能造成 2.5%之產卵危害。而小果蠅 (*Drosophila* spp.)，也要在有其他裂口之果實上才會造成 7.5 倍顯著嚴重的危害。

表 1. 於 2004 年嘉義分所荔枝不同品種果實受荔枝細蛾及東方果實蠅危害之被害果率調查

Table 1. Percentage of damaged fruits in different litchi varieties caused by fruit borer and fruit fly at Chiayi Station, 2004

Litchi variety (treatment)	Litchi fruit borer (%)	Oriental fruit fly (%)		
		With eggs + young larva	With old larva	Total [z]
Black-leaf (sprayed) [y]	8.5 c [x]	0 b	0 b	0 b
Nome (sprayed)	7.5 c	0 b	0 b	0 b
71-3-13 (sprayed)	12.5 c	0 b	0 b	0 b
71-3-15 (sprayed)	21.0 c	2.5 ab	2.0 ab	4.5 ab
77-S-3 (sprayed)	47.0 b	2.0 b	0.5 b	2.5 b
Black-leaf (unsprayed)	88.5 a	5.0 a	5.0 a	10.0 a

[z] Total of the 1–2 stage young larva and 3–4 stage old larva.
[y] Sprayed with 2.4% Deltamethrin 1500-fold, 5 times, in 7–10 days intervals.
[x] Means within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by DMRT.

表 2. 於 2004 年嘉義分所黑葉品種不同時期果實受荔枝細蛾及東方果實蠅危害之被害率調查

Table 2. Percentage of damaged fruits of Black-leaf litchi variety by fruit borer and fruit fly surveyed on different dates at Chiayi Station, 2004

Date (mo/day)	Litchi fruit borer (%)	Oriental fruit fly (%)		
		With eggs + young larva	With old larva	Total [z]
6/2	8.5 ab [y]	0 b	0 a	0
6/9	12.5 ab	0 b	0 a	0
6/16	16.5 a	0 b	0 a	0
6/23	8.0 b	2.5 a	0 a	2.5
Average	11.4	0.6	0	0.6

[z] Total of the 1–2 stage young larva and 3–4 stage old larva.
[y] Means within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by DMRT.

表 3. 於 2006 (2007) 年施藥與未施藥荔枝園樹上果實受荔枝細蛾及東方果實蠅危害之被害果率調查

Table 3. Percentage of damaged fruits on litchi trees caused by fruit borer and fruit fly in the pesticide-sprayed and unsprayed orchards, 2006 and 2007

Date (mo/day)	Litchi fruit borer (%)		Oriental fruit fly (%)	
	Sprayed [z]	Unsprayed	Sprayed	Unsprayed
5/17	39.3 (9.2) [y]	66.0 (24.8)	0 (---)	0 (---)
5/24	30.0 (8.4)	78.7 (56.2)	3.0 (1.9)	11.0 (1.3)
5/31	56.7 (26.8)	100 (22.4)	2.7 (0.7)	20.0 (14.0)
6/7	44.0 (19.2)	100 (37.4)	10.0 (1.3)	26.0 (14.1)
Av [x]	42.5 (15.9) b	86.2 (35.2) a	3.9 (1.3) d	14.3 (9.8) c

[z] Sprayed with 2.4% Deltamethrin 1500-fold, 5 times, in 7–10 days intervals.
[y] Data in parentheses were collected in 2007 at about the same stages in 2006.
[x] Means within the row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by DMRT.

表 4. 於 2006 (2007) 年施藥與未施藥荔枝園落果受荔枝細蛾及東方果實蠅危害之被害果率調查

Table 4. Percentage of fruit drops caused by fruit borer and fruit fly in the pesticide-sprayed and unsprayed litchi orchards, 2006 and 2007

Date (mo/day)	Litchi fruit borer (%)		Oriental fruit fly (%)	
	Sprayed [z]	Unsprayed	Sprayed	Unsprayed
5/10	50.5 (40.2) [y]	71.3 (75.1)	2.7 (---)	0 (---)
5/17	83.3 (35.9)	90.1 (46.9)	0 (---)	0 (---)
5/24	79.3 (49.3)	97.3 (89.1)	35.3 (---)	24.7 (---)
5/31	100 (94.1)	99.3 (98.5)	28.5 (6.7)	23.7 (10.0)
6/7	100 (100)	100 (79.8)	29.6 (18.7)	28.1 (20.0)
6/14	94.8 (100)	100 (79.8)	17.0 (7.3)	20.7 (9.9)
Av [x]	84.7 (69.9) a	93.0 (78.2) a	18.9 (10.9) b	16.2 (13.3) b

[z] Sprayed with 2.4% Deltamethrin 1500-fold, 5 times, in 7–10 days intervals.
[y] Data in parentheses were collected in 2007 at about the same stages in 2006.
[x] Means within the row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by DMRT.

表 5. 未施藥區成熟的荔枝落果受不同害蟲之被害果率調查

Table 5. Percentage of ripened fruits fallen on the ground showing injury by insect pests in an unsprayed litchi orchard

Treatment (fruits)	Fruit damaged by insects (%)			
	Litchi fruit borer	Oriental fruit fly	Rove beetles	*Drosophila* spp.
With borer's pore and a crack	100 a [z]	17.5 a	2.5 a	22.5 a
Only with a borer's pore	100 a	17.0 a	0 b	3.0 b

[z] Means within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by t-test.

荔枝園東方果實蠅之發生消長

由圖 1 可見東方果實蠅在嘉義分所荔枝園之發生情形，其族群在 1–2 月間維持最低，自 3 月底密度逐漸上升，4–5 月間急速上升，7–8 月間維持較高峰。9–10 間密度開始急遽下滑，11 月底至 12 月初族群已降至低谷狀態。

性費洛蒙誘殺荔枝細蛾之效果

在 2006 年荔枝果實後期於施藥區及未施藥區，利用性費洛蒙全期所誘得之荔枝細蛾成蟲密度皆很低，平均每誘蟲盒每週僅分別誘得 2.1 及 3.1 隻，統計上 ($P = 0.05$) 並無顯著差異。若再與 2007 年之調查結果爲 4.7 及 3.1 隻平均，則各爲 3.4 及 3.1 隻 (表 6)。然此時期荔枝落果之平均細蛾危害率可能高達 84.7–93% (表 4)，亦即在田間荔枝細蛾之族群密度相當高。

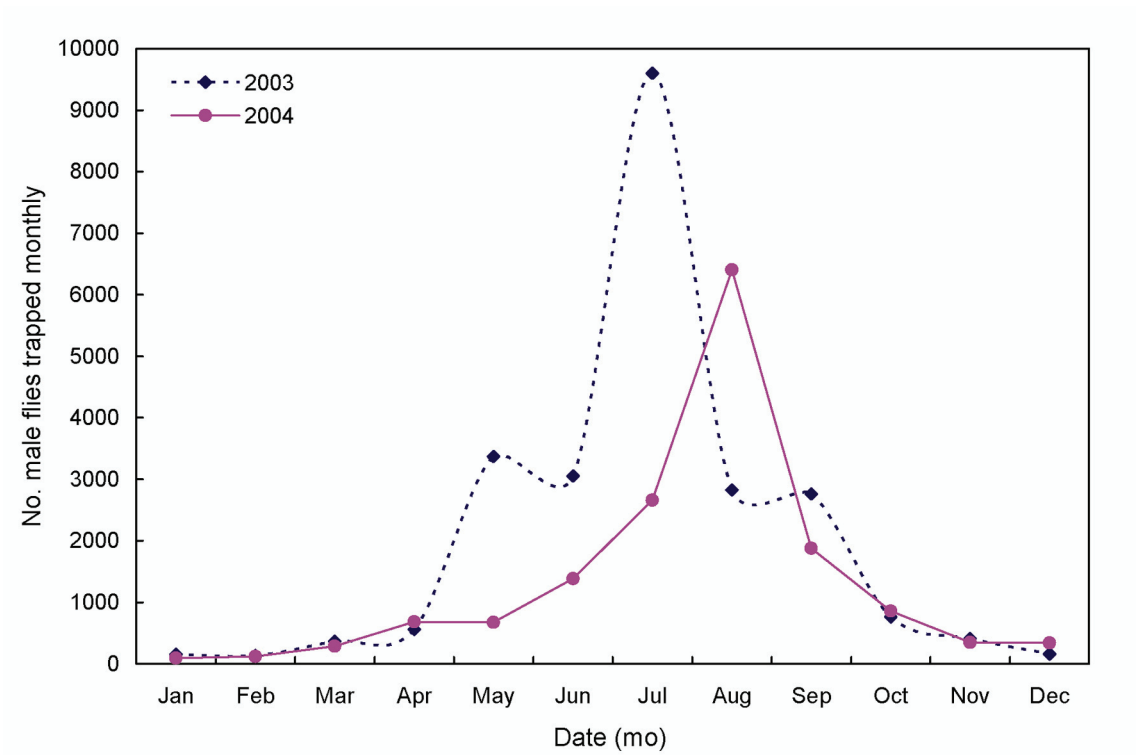


圖 1. 於 2003–2004 年嘉義分所荔枝園東方果實蠅發生消長圖。

Fig. 1. Fluctuation of population of the Oriental fruit fly in litchi orchard at Chiayi Station, 2003–2004.

表 6. 於 2006 (2007) 年果實後期以性費洛蒙誘殺荔枝細蛾之效果調查

Table 6. The effectiveness of pheromone for attracting litchi fruit borer during the late fruiting stages, 2006 and 2007

Date (mo/day)	No. adult fruit borers/trap/week	
	Sprayed orchard [z]	Unsprayed orchard
5/10	0.3 (3.4) [y]	0.7 (3.5)
5/17	0.7 (6.2)	3.3 (6.1)
5/24	3.0 (3.4)	2.3 (4.3)
5/31	3.0 (3.7)	5.3 (2.6)
6/7	2.0 (3.7)	1.3 (0.6)
6/14	3.3 (7.7)	5.7 (1.6)
Av [x]	2.1 (4.7) a	3.1 (3.1) a

[z] Sprayed with 2.4% Deltamethrin 1500-fold, 5 times, in 7–10 days intervals.
[y] Data in the parentheses were collected in 2007 at about the same stages in 2006.
[x] Means within the row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by DMRT.

荔枝細蛾寄生蜂之寄生率

寄生荔枝細蛾幼蟲之寄生蜂經農業藥物毒物試驗所洪巧珍博士協助鑑定，得知最主要者爲 *Phanerotoma* sp.。由表 7 中可見在 2006 年之調查期間在施藥區之寄生率爲 0%，而在未施藥區採集此種寄生蜂之寄生率平均亦僅有 13.4%，由最初之 38%逐漸遞減至最後之 0%。在 2007 年之調查結果亦類似，而在未施藥區之寄生率平均亦僅爲 7.1%。在統計上 (P = 0.05)，未施藥區之寄生率較施藥區顯著爲高。

討　論

由不同荔枝品種被害調查 (表 1) 中顯示，細蛾蛀果率高則果實蠅危害率亦高的趨勢。依此在防治此兩種害蟲之危害策略上，應可選擇栽植較具抗性之黑葉及糯米糍品種，並作好對蛀蟲之施藥防治，即可同時減少果實蠅之危害。

從兩年之調查可見未施藥區之樹上果被害率高，致使落果之被害率亦高，在 5–6 月之果實蠅族群高峰期，即荔枝果實中後期，竟可產生 17–35.3%之果實蠅危害率 (表 4)。而落果之調查結果顯示，在 2006 及 2007 兩年之情形相類似，平均兩年荔枝細蛾在施藥區及未施藥區之危害率各爲 77.3 及 85.6%，而東方果實蠅之危害則各爲 14.9 及 14.8% (表 4)。即遭受此兩種害蟲之危害率皆很高，且明顯高於樹上果之危害率。此可能因這兩種害蟲之危害會造成荔枝落果，而這兩種害蟲亦能在落果中再繼續生存。

有細蛾蛀孔之落果調查發現，除了細蛾之蛀孔外，其他裂縫傷口並未能顯著增加荔枝受果實蠅之危害率，亦即由金龜子取食或其他傷害裂口所引起之果實蠅危害並不嚴重。因此果實蠅對荔枝之危害，實應歸類爲第二次性危害，由此可知在果實蠅發生盛期，只要能做好荔枝細蛾之防治，即能降低果實蠅之危害。又由荔枝園東方果實蠅之發生調查 (圖 1) 得知，5–6 月間果實蠅之發生高峰

表 7. 於 2006 (2007) 年嘉義分所荔枝細蛾寄生蜂寄生率

Table 7. The parasitic rate of parasite of the fruit borer in litchi orchards at Chiayi Station, 2006 and 2007

Date (mo/day)	Fruit with parasite (*Phanerotoma* sp., %)	
	Sprayed treatment [z]	Unsprayed treatment
5/10	0 (0.7) [y]	38.0 (11.1)
5/17	0 (0)	18.7 (9.8)
5/24	0 (0)	16.7 (16.6)
5/31	0 (0)	4.7 (2.1)
6/7	0 (0)	2.0 (3.1)
6/14	0 (0)	0 (0)
Av [x]	0 (0.1) b	13.4 (7.1) a

[z] Sprayed with 2.4% Deltamethrin 1500-fold, 5 times, in 7–10 days intervals.
[y] Data in the parentheses were collected in 2007 at about the same stages in 2006.
[x] Means within the row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by DMRT.

期剛好配合荔枝果實成熟與細蛾之發生期，因而往往會造成較高比率之果實被果實蠅產卵危害。然而可得知，荔枝果實後期對果實蠅危害之防治重點在荔枝細蛾，而非針對東方果實蠅本身。

又由果實之被害率 (表 4) 及性費洛蒙之誘蟲數 (表 6) 之調查結果可知，在落果荔枝細蛾危害高達 69.9–93%之情況下，以可可細蛾性費洛蒙誘得之荔枝細蛾成蟲，每週每誘蟲盒僅 2.1–4.7 隻，亦即誘殺效果非常低。依 Hung *et al*. (2006) 之報導，此種可可細蛾之性費洛蒙確可用來誘集荔枝細蛾，但欲在此時期利用此種費洛蒙作爲防治之工具則幾乎無任何效果可言。因爲在台灣之荔枝產區 (含嘉義)，荔枝細蛾幾乎每年都會百分之百危害，而目前多只能靠噴藥防治此種害蟲。在有施藥之果園內此種細蛾的寄生蜂很難存活，尤其在荔枝果實期更需加強防治荔枝細蛾，故在田間寄生蜂密度更低，如此根本無法發揮生物防治之功效 (Hwang 1988; Hwang & Hung 1993)。

綜上，東方果實蠅確可伴隨荔枝細蛾之發生而增強危害，故結果期應在荔枝園配合利用蛋白質水解物等誘殺東方果實蠅，並作好荔枝細蛾之藥劑防治工作，便能減少荔枝蛀果再次被果實蠅產卵危害之機會，如此即可以避免荔枝外銷檢疫上的麻煩。

引用文獻 (Literature cited)

Chu, Y. I. and C. J. Chen. 1985. Records of non-cultivated host plant of the Oriental fruit fly. Phytopathol. Entomol. 12:63–77. (in Chinese with English abstract)

Ho, K. Y. 1985. The major insect pests of citrus crops at Chia-Yi region. Phytopathol. Entomol. 12:52–62. (in Chinese with English abstract)

Ho, K. Y., S. C. Hung, C. C. Chen, and H. J. Lee. 2003. The effectiveness of victor fly trap for attracting the Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). J. Agric. Res. China 52:62–67. (in Chinese with English abstract)

Hung, C. C., J. S. Hwang, and H. Y. Wang. 2006. Survey of Lepidopterous pests of litchi and longan in Taiwan. Formosan Entomol. 26:27–44. (in Chinese with English abstract)

Hwang, J. S. 1988. The ecology and control of major insect pests of litchi and longan tree fruits in Taiwan. Chinese J. Entomol. Spec. Pub. 2:33–42. (in Chinese with English abstract)

Hwang, J. S. and C. C. Hung. 1993. Control of the litchi fruit borer, *Conopomorpha sinensis* Bradley, with bagging method and insecticides. Plant Prot. Bull. 35:225–238. (in Chinese with English abstract)

Lall, B. S. and D. D. Sharma. 1978. Studies on the bionomics and control of the cacao moth *Acrocercops cramerella* Snellen (Lepidoptera: Gracillariidae). Pesticides 12(2):40–42.

Lim, G. T., E. B. Tay, T. C. Pang, and K. Y. Pan. 1982. The biology of cocoa pod borer, *Acrocercops cramerella* Snellen and its control in Sabah Malaysia. Deparment of Agriculture Pub. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia. 25 pp.

Norrbom, A. L. and K. C. Kim. 1988. A list of the reported host plants of the species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). USDA APHIS, Pub. No. 81-52, Washington. 114 pp.

Stanley, D. 1998. Lychees and longans no host for carib fly. Agricultural Research Service, News. Subtropical Horticulture Research Lab. Miami, Florida. 1 pp.

Walter, P. G., M. K. Hennessey, J. Pena, A. Castineiras, R. Nguyen, and J. Grane. 1999. Nonhost status of lychees and longans to Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 92:1212–1216.

Investigation of Fruit Damages of Litchi Caused by *Conopomorpha sinensis* Bradley and *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in Chiayi [1]

Shi-Cheng Hung[2], Kun-Yaw Ho[2,4], and Chien-Chung Chen[3]

Abstract

Hung, S. C., K. Y. Ho, and C. C. Chen. 2008. Investigation of fruit damages of litchi caused by *Conopomorpha sinensis* Bradley and *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in Chiayi. J. Taiwan Agric. Res. 57:143–152.

Results of a survey of litchi orchards in Chiayi in 2004 showed that damaged fruits of different varieties of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) caused by fruit borer *Conopomorpha sinensis* were 7.5–47% and 88.5% for the areas (in Black-leaf, Nome, 71-3-13, 71-3-15, and 77-S-3 treatments) of pesticide-spray and unspray control, respectively. Litchi varieties Black-leaf, Nome and 71-3-13 sprayed with Deltamethrin were more resistant to fruit borer, with damaged fruits of 8–16.5% (in Black-leaf), compared to 88.5% for the unsprayed control. For all surveyed areas, the average of damaged fruits caused by *C. sinensis* was 29.2% and 60.7% for pesticide-sprayed and unsprayed areas, respectively, whereas the average of damaged fruits caused by the Oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* was 2.6% and 12.1% for pesticide-sprayed and unsprayed areas, respectively. Thus, the survey reveals that chemical spray of litchi is effective in reducing fruit damages caused by *C. sinensis* and *B. dorsalis*. Another study showed that *C. sinensis* caused upto 35.3% of damages of litchi fruits which were ripened and fallen on the ground during the peak period of population increase of this insect in May and June. Any probing injury of ripening fruits of litchi by fruit borer could create a potential site for *B. dorsalis* to lay eggs. Therefore, control of fruit borer may be effective in reducing fruit damages by Oriental fruit fly. Results of another survey in 2006 and 2007 showed that neither sex pheromone for trapping male insects nor parasitic wasps (*Phanerotoma* sp.) was effective method for control of fruit borer in litchi orchards.

Key words: Litchi, *Conopomorpha sinensis*, *Bactrocera dorsalis*, Damage.

---

1. Contribution No.2322 from Agricultural Research Institute, Council of Agricultrue. Accepted: June 24, 2008.
2. Respectively, Assistant Entomologist, Associate Entomologist of Plant Protection Department, Chiayi Agricultural Experiment Station, ARI. Chiayi, Taiwan.
3. Senior Entomologist, Applied Zoology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan.
4. Corresponding author, e-mail: kunyawho@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2773630.

台灣農業研究稿約

一、本刊爲行政院農業委員會農業試驗所發行之學術性季刊，刊登農業試驗研究相關之研究稿件：

論　　說：由本所邀請專家撰寫。

研究報告：關於農業科學未曾發表之研究報告，按題目、作者、摘要、前言、材料與方法、結果、討論、結論 (一般略去)、誌謝 (可略去)、引用文獻等依序撰寫，圖與表附於其後，全文以不超過 10 印刷頁爲原則。

研究簡報：關於農業科學未曾發表之簡短原始研究報告，不須分章節撰寫，但須附中英文摘要，全文以不超過 4 印刷頁爲原則。

二、稿件應以中文或英文撰寫。來稿請送原稿及電子檔案各一份 (內各附照片原圖，繪製圖版可附原圖與影印圖片二份)。文稿以 A4 大小之白色紙張 (長 29.6 公分，寬 21 公分) 兩倍行高 (double space) 打字，12 號字體，左邊對齊，版面應上下預留 3 公分，左右 2 公分之空間，並自第二頁起在右下角以阿拉伯數字註明頁數。撰寫時，中文以細明體、英文以 Times New Roman 字體打字；英文字距一格，句距二格。審查接受之稿件，隨文請附紙本文稿一份與電子檔案，以利送審及電腦排版等作業。

三、稿件格式：

題　　目：宜簡短，能充分反應文旨，並附簡題 (Running title) (簡題 12 字以內)。英文題目除介系詞、連接詞等字外，每字第一字母應大寫。題目附小註，說明研究報告編號。

作　　者：作者姓名置中，中文名字間空一格；英文姓名則名在前姓氏在後，作者二人或二人以上時，以 "，" 相隔，最後一人前加 "and" 字樣，其表示方法如 Chen-Seng Huang, Chen-Chang Chen, and Chyr-Guan Chen。每一作者須附小註，以說明所屬機關單位，通訊作者須附電子郵件信箱與傳真機號碼。題目與作者同置第一頁。

摘　　要：不分段落、宜簡潔明確。摘要之前應加作者、年代、題目、期刊、及卷期，摘要之後應附關鍵詞 (Key words)，關鍵詞不超過五個，每個英文關鍵詞第一字母應大寫。摘要以不超過五百字爲原則。以中 (英) 文發表者須附英 (中) 文摘要，置於本文之後，且內容須與中 (英) 文摘要相符，並附稿件編號、作者、通訊作者之小註。

本　　文：依序爲前言 (INTRODUCTION)、材料與方法 (MATERIALS AND METHODS)、結果 (RESULTS)、討論 (DISCUSSION)、結論 (CONCLUSION)、誌謝 (ACKNOWLEDGEMENTS)、引用文獻 (LITERATURE CITED)。除學名、專有名詞、化學式、數學公式、數字、度量衡單位及縮寫外，文句中不得中外文並用，需使用英 (外) 文以助明瞭時，須將英 (外) 文括號置於中文之後。材料與方法、結果兩部份如有必要須分章節，每一章節內並可再分小章節，以助明瞭文稿內容。章節題目 (heading) 單行置於該章節之前，小章節題目 (subheading) 直接置於小章節之首。

表　　格：

1、每一表格應分別繕製，須以 word 中 "表格" 工具製作，上方須有標題，並按文中出現順序加上**表 1. (Table 1.)**，**表 2. (Table 2.)** 等冠號。

2、中文稿之表格標題應中英文並列，冠號與表幅齊頭，表內項目及內容以英文書寫。英文標題及各欄英文細目，除第一字之第一字母大寫外，餘均小寫。

3、表格應加分析、簡化與歸納後始可列表。每一表格應在文中標示清楚，以便對照。

4、表中內容如需說明，均須附加小註，以 z, y, x,...等縮小小寫字母置於右上角，並於表下依次敘述。表格僅列橫線。

5、性質類同之圖與表，務請精簡與合併。

圖　片：

1、手繪圖版以黑色墨水分別繪圖紙或描繪紙 (白色透明紙) 上。如以電腦繪圖，請以鐳射印表機或同規格之印表機列印，力求清晰。

2、圖中加註者，應於圖中說明，或以括號註明於標題之後。

3、照片以光面紙爲原則，清晰度以縮小 50%可判讀爲宜。多幅照片儘量製成併版；如有特別指明，應加圈或箭頭表明。顯微照相，應加比例尺大小；照片大小以不超過版面 (25 cm × 18 cm) 爲宜。

4、圖版及照片下方應有標題 (或另頁繕寫)，並按文中出現的順序加上**圖 1 (Fig. 1)**、**圖 2 (Fig. 2)** 等冠號，在文中須標示清楚，以便對照。中文稿應中英文併寫，力求明確。

5、除併圖外，每一圖片應單頁製作。

6、照片、圖片背面應註上冠號及作者姓名，以免排印錯誤。

誌　謝：不分段落，包括人物、經費來源等。誌謝可略去。

引用文獻：

1、引用文獻 (Literature cited) －列舉確實曾引用之文獻。文獻以登載於學術性期刊、書籍、研討會之文章及學位論文爲限。文中涉及引用文獻時，根據該文獻的作者與年代加以括號：如 (Sung 1991)、(Lo 1991, 1992)、(Chen & Ho 1983)、(Sung 1991; Hsu *et al.* 1992)，置於引用文處。

2、文獻須以英文撰寫，以姓名字母爲序。作者相同時以年代先後爲序。

3、文獻之書寫方法以期刊爲例，依序爲作者、年代、題目、期刊、卷期、頁數。

4、期刊名須用縮寫，其縮寫方式請參照 (Biosciences Information Service, 1992) 出版之 "Serial Sources for the BIOSIS Previews Database" 。

5、文獻書寫範例如下：

(1) 原中文報告引用文獻出自學術性期刊

Hsu, S. H., T. Y. Chung, T. C. Kuo, and S. F. Wang. 1992. Studies on the micro-climate of greenhouse. I. Light environment of greenhouse. J. Agric. China 157:34-43. (in Chinese with English abstract)

(2) 原中文報告引用文獻出自著作性書籍

Sung, J. M. 1991. Nitrogen metabolism of rice. Chinese Agronomy Press. Taipei. 100 pp. (in Chinese)

(3) 原中文報告引用文獻出自編輯性書籍

Yang, C. M. and C. Y. Lin. 2003. Studies on rice precision farming system. p.1-12. *in*: Rice Precision Farming System. (Yang, C. M. and C. Y. Lin, eds.) Agric. Res. Inst. Pub. No. 105. Taichung. 252 pp. (in Chinese with English abstract)

(4) 原中文報告引用文獻出自研討會專刊

Chang C. A. 2001. Application and extension of virus-free seedling for the control of virus diseases of passionfruit in Taiwan. p.31-38. *in* the Proceeding of Symposium on Application of Healthy Plant for Control of Plant Diseases. Taiwan Phytopathol. Soc. Pub. Taichung. (in Chinese with English abstract)

四、單位、縮寫格式、括號及統計分析

1、所有度量衡均採公制，數量以阿拉伯數字，單位以英文縮寫表示；如：1 m、2 g、3 L、4 mL。各常用之縮寫單位參照說明如下：

(1)長度：公里 (km)、公尺 (m)、公分 (=厘米) (cm)、公釐 (=毫米) (mm)、微米 (μm)。

(2)重量 (W)：公斤 (kg)、公克 (g)、毫克 (mg)、μg、公噸 (t)。

(3)容積 (V)：公升 (L)、公撮 (=毫升) (mL)、μL。

(4)面積：公頃 (ha)、平方公尺 (m^2)、平方公分 (cm^2)。

2、溫度：攝氏 (℃)、絕對溫度 (K，但須加以說明)。

3、時間：時 (hr, hrs)、分 (min, mins)、秒 (sec, secs)。

4、濃度：莫耳 (M)、千分之一莫耳 (mM)、當量 (N)、千分之一當量 (mN) 。

5、重力加速度：*g*。

6、其他之縮寫：平均 (*av*)、大約 (*ca*)、直徑 (diam.)。

7、括號：使用半形括號 ( )，括號前後各空一格。

8、統計分析：達顯著性水準以*、**或處理間顯著差異區分，以 a、b、c、…表示者均應加註顯著機率值 *P* (例如 $P < 0.01$)；各統計量請採慣用符號，例如相關係數 (*r*) 、決定係數 (R)、變異係數 (cv)、標準機差 (se) 等。

五、生物學名以斜體字表示，屬名第一字母大寫。學名於摘要、本文、每一圖表中第一次出現時，須寫全名，如 *Citrus sinensis*；第二次出現時，屬名保留第一字母後加句點 "."，種名全寫，如 *C. sinensis*。生物學名於本文中首次出現時應加註命名者。

六、稿件內容務須依照上列規定格式書寫，本期刊編輯委員保有修改與退稿之權利。文稿經本期刊接受後，作者得送含文稿內容之磁片或電子檔案 (IBM 相容電腦之文書管理檔，如 Word 檔或其他) ，並由作者負責前二校。除筆誤與錯字外，作者在校稿時，不得擅自更改內容與數據。

七、投稿本期刊之稿件，不得投稿其他刊物。稿件經本期刊接受後，刊登權屬農試所所有，非經本所書面同意，不得轉載或移轉他處發表。

八、來稿經編審委員會審查合格後刊登，由本刊印贈抽印本 50 本；彩色頁印刷及抽印本加印費用由投稿人自行負擔。

九、其他未盡事宜本期刊得隨時修正或補充。

台灣農業研究

（原中華農業研究）

第五十七卷　第二期

中華民國九十七年六月出版

發行人：陳炳輝
總編輯：方尚仁
主　編：吳宜晏　陳盈佑
編審委員：
生技組：吳明哲（主審）
作物組：歐錫坤（主審）
呂秀英　黃肇家　楊純明　劉新裕
施昭彰　徐信次　劉政道
農化組：郭鴻裕（主審）
簡宣裕　劉滄琴
植病組：安寶貞（主審）
蔡武雄　鄧汀欽　謝廷芳
應動組：王清玲（主審）
陳炳輝　陳健忠　鄭　允　溫宏治
農工組：蔡致榮（主審）
黃禮棟　梁連勝
種原組：黃勝忠（主審）
農經組：潘德芳（主審）

另聘請各大學院校及研究機關相關學者專家擔任審查委員

Vol. 57, No. 2 June 2008

JOURNAL OF TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

PUBLISHER: Chen, Bing-Huei

EDITOR IN CHIEF: Fang, Shan-Jen

EDITORS:

Wu, Yi-Yan Chen, Ying-You

EDITORIAL BOARD:

Ann, Pao-Jen (Plant Pathology)
Guo, Horng-Yuh (Agriculture Chemistry)
Huang, Sheng-Chung (Crop Genetic Resources)
Ou, Shyi-Kuan (Crop Science)
Pan, Te-Fang (Agriculture Economics)
Tsay, Jyh-Rong (Agriculture Engineering)
Wang, Chin-Ling (Applied Zoology)
Wu, Min-Tze (Biotechnology)

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

Chen, Bing-Huei
Chen, Chien-Chung
Cheng, Edward Yun
Chien, Shiuah-Yuh
Deng, Ting-Chin
Hsieh, Ting-Feng
Hsu, Hsin-Tszu
Huang, Chao-Chia
Huang, Li-Duhng
Liang, Lien-Sheng
Liou, Tsung-Dao
Liu, Sin-Yie
Liu, Tsang-Sen
Lu, Hsiu-Ying
Shih, Jau-Chang
Tsai, Wu-Hsiung
Wen, Hung-Chich
Yang, Chwen-Ming

Reviewers of the related fields are also invited from universities and other research organizations.

台灣農業研究第五十七卷第二期

出 版 者：行政院農業委員會農業試驗所

發 行 人：陳炳輝

總 編 輯：方尚仁

地　　址：台中縣霧峰鄉萬豐村中正路一八九號

網　　址：htpp://www.tari.gov.tw

電　　話：(04)2330-2301～5

印 製 者：學安文化事業有限公司

地　　址：台中市南區仁和二街七十八號

電　　話：(04)2286-1600

出版日期：九十七年六月三十日

展 售 處：五南文化廣場　400 台中市中山路 6 號

電話：(04)2226-0330

June 2008

Journal of Taiwan Agricultural Research

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

Vol. 57, No.2

Research Reports

Xenia Effect on the Kernel Weight and Pericarp Characters of Maize

Guang-Jauh Shieh 85

Effect of Flooding on Management of Phytase-Containing Potato Tubers in the Harvested Field

Lit-Fu Chen, Min-TzeWu, and Hsiu-Ying Lu 95

Rice Expressed Sequence Tag (EST) Automated Functional Analysis System

Hsiu-Ying Lu, Cheng-Tao Chen, Chun-Tang Lu, Yi-Chia Chiu, and Meng-Li Wei 103

Influence of Medium Components on Callus Proliferation and Saikosaponin Content of *Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang

Uei-Chern Chen, Chi-Ni Hsia, Mau-Shing Yeh, Chin-Yi Tsao, and Hsin-Sheng Tsay 119

Insect Pests and Their Injuries on Yuh-heh-bau Litchi and Effect of Fruit Bagging in Kao-Ping Area of Taiwan

Hung-Chich Wen and Tsung-Dao Liou 133

Investigation of Fruit Damages of Litchi Caused by *Conopomorpha sinensis* Bradley and *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in Chiayi

Shi-Cheng Hung, Kun-Yaw Ho, and Chien-Chung Chen 143

Published by The Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture Taichung, Taiwan, Republic of China

行政院新聞局出版事業登記證局版臺省誌字第二九八號 中華郵政中臺字第〇三〇九登記為雜誌交寄

ISSN 0022-4847

GPN 2009500560

定價：新台幣一七五元