綠蘆筍嫩莖採收後貯藏溫度對木質素，Gibberellins 和 Cytokinins 含量之影響

Effect of Storage Temperature on Lignin Content and Levels of Endogenous Gibberellins and Cytokinins in Green Asparagus Spears

張唯勤、張啓正、胡雪萍

by

Wei-chin Chang　Chi-cheng Chang and Shene-pin Hu

摘　要

綠蘆筍嫩莖採收後，於室溫儲藏期間，木質素急速形成，而 cytokinins 和 gibberellins之含量都急速降低。4°C 低溫儲藏，gibberellins 活性消失要比 cytokinins 之變化來得快速。噴灑 5ppm之 morphactin 可部分抑制木質素之形成及 gibberellins 和 cytokinins 活性之消失。

前　言

綠蘆筍嫩莖採收後之老化現象由基部向尖端迅速擴展，主要的成份變化是木質素（ lignin）的形成和纖維的出現，在室溫下往往於採收後數小時內就有多量的木質素聚集[6]，有關這種品質變化之原因報導不多，近年來僅有 Haard 等人[5]發現採割受傷部位產生多量之 ethylene，而又知 ethylene促進 peroxidase的活性，因而造成多量木質素的形成。但老化現象不見得只是由於 ethylene之作用所促成的，auxin 和 cytokinin 等植物荷爾蒙都與老化有密切關係（ Sacher，1973 ）。本文乃報導綠蘆筍採收後 cytokinins 和 gibberellins之變化與木質化之關係。

材料與方法

材料之來源和處理

所用之綠蘆筍（ *Asparagus officinalis* L. cv Mary Washington ）爲嘉義縣六脚鄉所出品的一級品。一部分於採收後立即浸於絕對甲醇中，作爲採收後零小時之樣品外，其他立即用冷凍車送回南港實驗室。一部分置於室溫 22-26°C，一部分貯於冷藏室（4°C ）分別於不同時間採取定量之樣品作分析。置於室溫的部分樣品以 5ppm之 morphactin（ methyl ester of 2-chloro-9-hydroxy-fluorene-(9)-carboxylic acid ）噴灑，以觀測經 morphactin 處理後質地和植物荷爾蒙之變化。

樣品在 4°C 情況下，用大型果汁機加無水甲醇打碎，經紗布和濾紙過濾後，把該甲醇抽出液濃縮至只剩水溶液後，離心 30 分鐘（ 4500g ），取澄清液貯於冷凍庫中供荷爾蒙分析用。過濾留下之殘渣供纖維和木質分析用。

纖維之定量

Acid-detergent fiber 之定量，乃根據 Soest 的方法[9]。取 2g 之乾殘渣，加 100 ml acid-detergent 溶液（ 20g 之 Cetyl trimethyl ammonium bromide 溶於 1N之硫酸 1 立升中而成），和 decalin 加熱沸騰後一小時，用石棉過濾，並用熱水沖洗兩次。再以 95% 之乙醇洗至濾液無色爲止。濾過殘渣經

本文原載於中國園藝第二十一卷第二期

烘乾，以 phosphorus pentoxide 乾燥後稱得纖維重。

木質素之定量

採用 Christian[3] 1971年所述之方法，將上述處理後之纖維樣品經72%硫酸處理 3 小時後用熱水洗清至無硫酸爲止，旋經烘乾，乾燥稱重，而得酸不溶性的木質素。

Gibberellins的抽取和定量

採用 Badr 等[2]所述之方法。取過濾後含植物荷爾蒙之水溶液，用硫酸調節至 pH2.5 ，再用 ethyl acetate 分離五次後， ethyl acetate 溶液再經 5 %之 $NaHCO_3$ 萃取。此鹼性之水溶液，用硫酸酸化成 pH2.5 後，再用 ether 萃取，至使 GA 與 inhibitors 分離。最後再用 n-butanol 把此種酸性水溶液中的 GA 抽出，濃縮至乾後，溶於少量甲醇中供定量分析。所用 GA 定量採用 *Rumex* chlorophyll retention 法[4]。

Cytokinins的抽出和定量

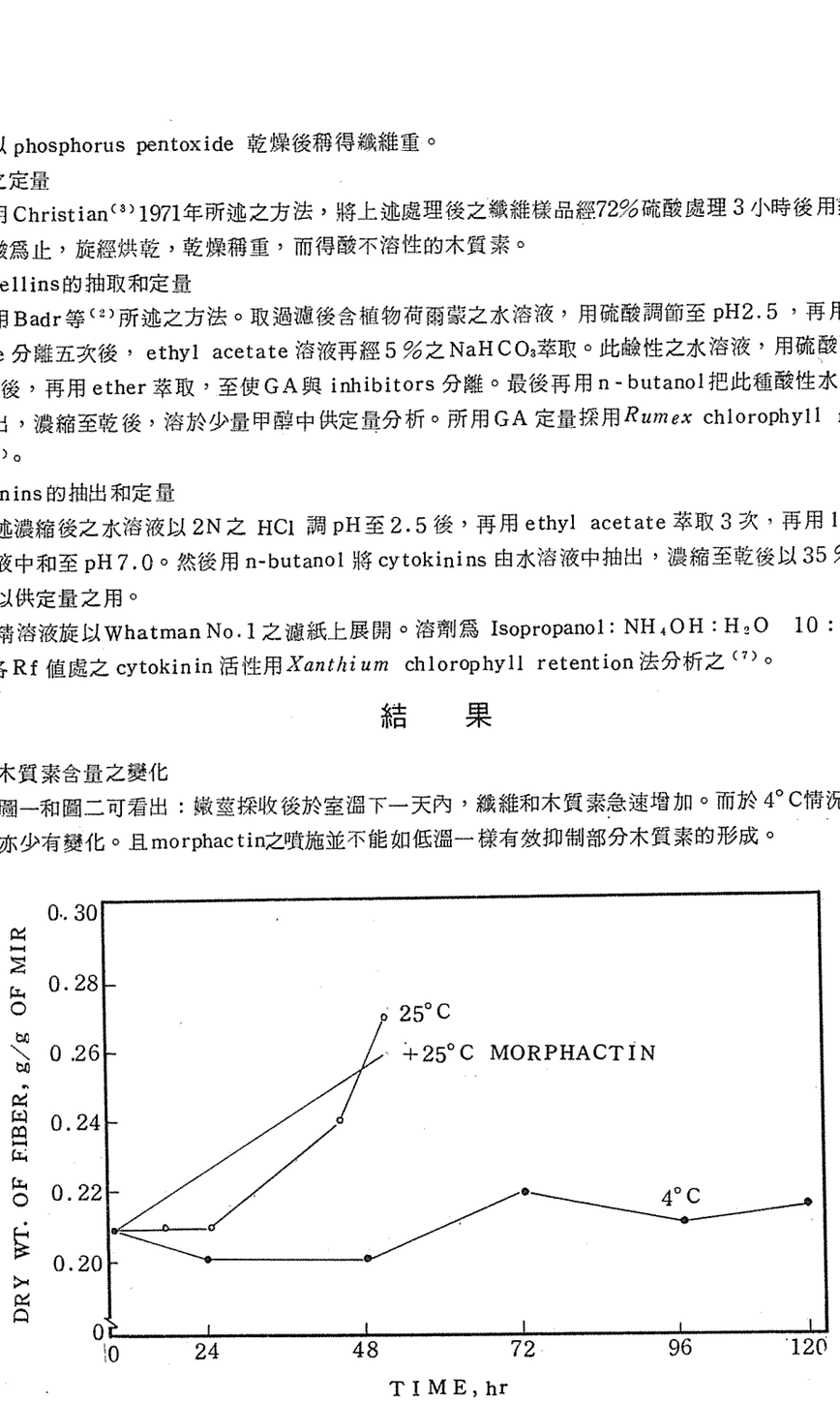
前述濃縮後之水溶液以 2N 之 HCl 調 pH 至 2.5 後，再用 ethyl acetate 萃取 3 次，再用 1 N NaOH 將水溶液中和至 pH 7.0。然後用 n-butanol 將 cytokinins 由水溶液中抽出，濃縮至乾後以 35 % 之酒精溶之，以供定量之用。

酒精溶液旋以 Whatman No.1 之濾紙上展開。溶劑爲 Isopropanol: NH_4OH : H_2O 10 : 1 : 1(v/v)。各 Rf 值處之 cytokinin 活性用 *Xanthium* chlorophyll retention 法分析之[7]。

結　果

纖維和木質素含量之變化

由圖一和圖二可看出：嫩莖採收後於室溫下一天內，纖維和木質素急速增加。而於 4°C 情況下，即使 5 天，亦少有變化。且 morphactin 之噴施並不能如低溫一樣有效抑制部分木質素的形成。



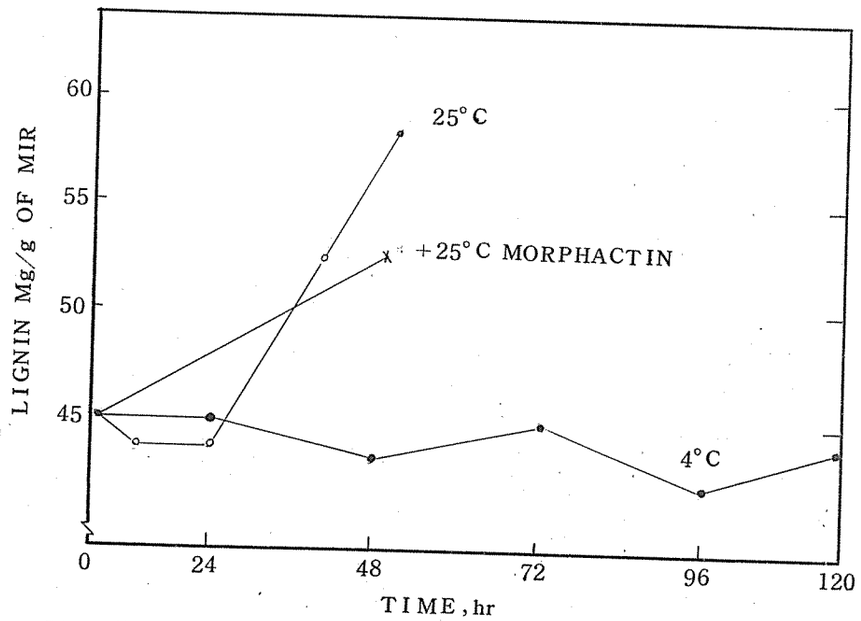
圖一　綠蘆筍嫩莖採收後，儲藏溫度和morphactin (5ppm) 對纖維含量的影響，纖維含量用單位甲醇中所含不溶性物質表示之。

Fig. 1: Effect of postharvest temperature and morphactin (5ppm) on fiber formation in green *Asparagus* spears.
MIR : methanol insoluble residues.

Cytokinins 含量之變化

儲藏於 25°C 和 4°C 之嫩莖，於不同時間取樣，抽出分離 cytokinins，部分後，用色層濾紙法展開，再用蒼耳子葉片法 (*Xanthium* chlorophyll retention method) 作生物法分析，其結果如圖三及表一。由表一可看出室溫儲藏 12 小時內已有 21 %之 cytokinins 活性消失，而 52 小時後 cytokinins 之活性僅有初採收時嫩莖之三分之一。 5ppm之morphactin 噴灑可使 cytokinins 活性消失速率減慢。如52小時後，經morphactin 處理之嫩莖仍有初採收時 cytokinins 活性之80%左右。低溫可有效抑制 cytokinins 活性之消失，經五天之低溫儲藏， cytokinins 活性僅消失約 20 %。

在儲藏期間， cytokinins 性質上之變異不大，如圖三。其主要活性物質在Rf0.6-0.8之間。室溫儲藏Rf0.6-0.8 之 cytokinins活性急速減低，而在其他Rf 值處則少有增加。而在低溫儲藏之樣品中，Rf 0.6-0.8 之 cytokinins 均少有變化。

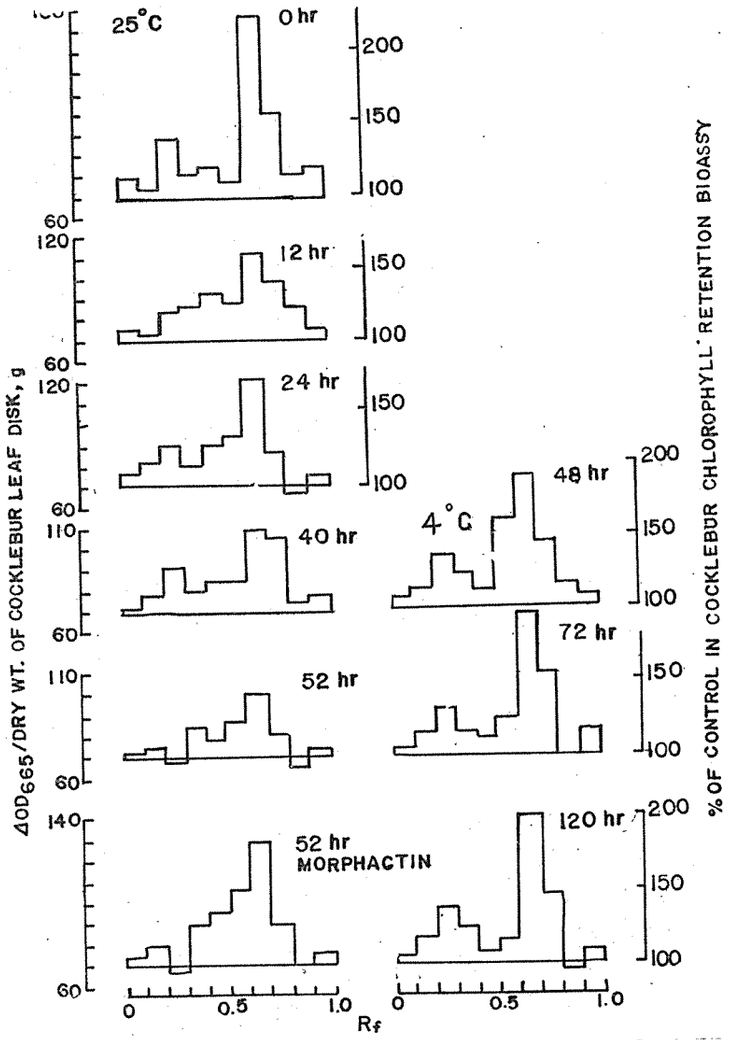


圖二　綠蘆筍嫩莖採收後儲藏溫度和morphactin (5ppm)對木質素形成的影響，木質素含量用單位甲醇不溶物質表示之。

Fig. 2: Effect of postharvest temperature and morphactin (5ppm) on lignin content in green *Asparagus* spears.

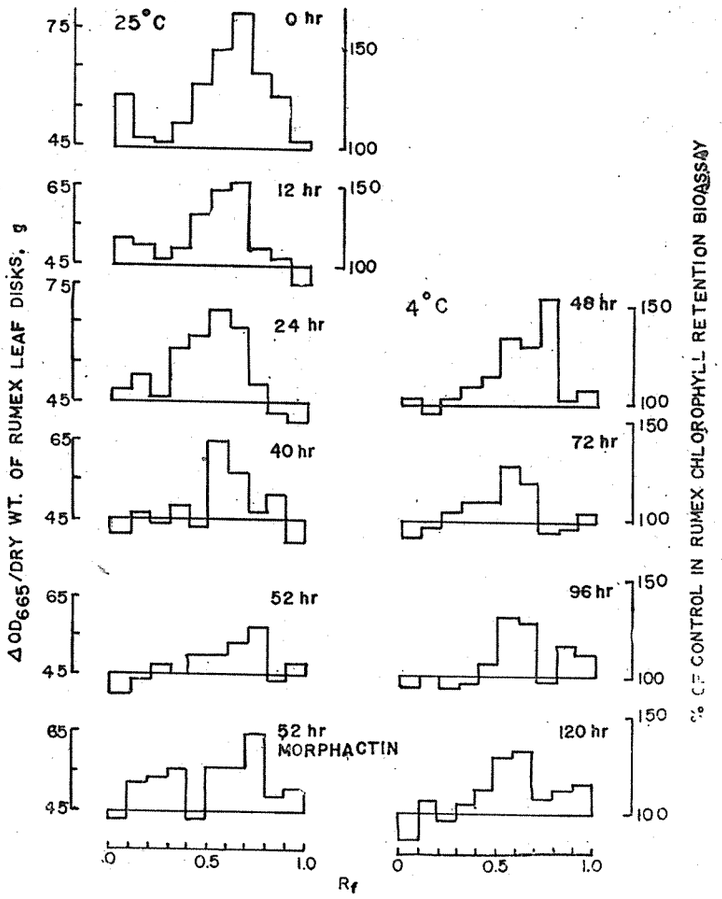
Gibberellins 含量之變化

抽出分離之 gibberellins 部分以色層濾紙法展開，用 *Rumex* leaf disks 法[4] 測定各 Rf 值處之 gibberellins之活性，其結果如圖四。並由其活性之總和算出各處理之嫩莖中 gibberellins活性之相對含量 (表一) 。於室溫儲藏嫩莖中 GA 之含量也急速下降。採收後於室溫下12小時內就失去一半的 GA 活性，而兩天後則所剩無幾。morphactin 之處理可抑制 GA活性消失之速率。低溫儲藏也可減低 GA 活性之消失，但消失之速率比 cytokinins 者來得大。如低溫儲藏兩天後， cytokinins 活性少有改變，而GA 活性却已下降一半左右。



圖三　儲藏溫度和 morphactin (5ppm) 處理對綠蘆筍嫩莖中cytokinins 活性之影響

Fig. 3: Effect of postharvest temperature and morphactin (5ppm) on cytokinin activities in green *Asparagus* spears.
Xanthium chlorophyll retention bioassay of paper chromatograms loaded with extract of 10.4g of *Asparagus* spears.



圖四　儲藏溫度和morphactin (5ppm) 處理對綠蘆筍嫩莖中 gibberellins 活性之變化。

Fig. 4: Effect of postharvest temperature and morphactin (5ppm) on gibberellin activities in green *Asparagus* spears.
Rumex chlorophyll retention bioassay of paper chromatograms loaded with extract of 17.2g *Asparagus* spears.

討　論

一般言之，植物荷爾蒙中，auxin 是抑制老化現象的主要物質[8] 。但近年來發現 cytokinins 和gibberellins也能抑制某些器官的老化[8]。就本試驗所得資料而言，綠蘆筍採收後老化過程中，GA和 cytokinins活性都急速下降，而與木質素和纖維之形成成相反關係。其中之因果關係，却有待進一步的研究。有關蘆筍採收後儲藏加工前內部荷爾蒙的變化之文獻很少。最近有人報導：蘆筍嫩莖採收後 ethylene 形成增加[5]，並發現外加 ethylene(用 ethephon)處理白化幼苗莖部，可促使木質素之形成[1]。但在綠蘆筍嫩莖採收後，木質素之形成是否只因創傷所生的 ethylene促成，有待試驗證明。由於資料有限，筆者對

於有關綠蘆筍嫩莖老化之原因不做太多推論。cytokinins 和GA活性之降低與 ethylene 之增加與木質素增加之關係，有研究的必要。

企圖找尋價廉之人工化合物來抑制嫩莖之老化，筆者於本試驗試用morphactin 處理嫩莖，雖能抑制 cytokinins 及GA活性之消失，且亦部份抑制木質素的形成，但其效果仍不如低溫儲藏的好。然此資料可表示：使用人工合成物質來抑制快速木質素之形成，實有可能。吾人已知morphactin 在植物體內作用主要是抑制 auxin 的運移。至於嫩莖儲藏期間， auxins和抑制物質之含量上的變化，筆者將另文報導。

表一　儲藏溫度及時間和morphactin 處理對綠蘆筍嫩莖中的 cytokinins 和 gibberellins 活性之影響

Table 1. Effects of postharvest temperature and morphactin (5 ppm) on activities of cytokinins and gibberellins in green *Asparagus* spears.

處　　理 (Treatment)	Cytokinins 之活性與初採收時活性之百分比 (Cytokinins activity in % of 0 hr sample)	Gibberellins 之活性與初採收時活性之百分比 (Gibberellins activity in % of 0 hr sample)
25°C		
0 hr	100	100
12 hr	78.9	48.8
24 hr	72.2	55.6
40 hr	69.4	21.0
52 hr	37.0	15.8
52 hr + morphactin 5ppm	79.6	52.6
4°C		
48 hr	99.2	52.6
72 hr	85.5	18.8
96 hr	—	28.5
120 hr	82.4	36.8

參考文獻

1. 張喜寧、韓小蓉 1975. Ethephon 及 2,4-D 對白化蘆筍幼苗細胞分化之影響　中國園藝 21(1): 5-12.
2. Badr. S.A., G.C. Martin, and H. T. Hartmann. 1971. A modified method for extraction and identification of abscisic acid and gibberellin-like substances from the olive (*Olea europaea*). Physiol. Plant., 24 : 191-198.
3. Christian, K. R. 1971. Detergent method for total lignin in herbage. Fld. Stn. Rec. Div. Pl. Ind. CSIRO (Aust.), 10 : 29-34.
4. Fletcher, R. A. and D. J. Osborne. 1966. A simple bioassay for gibberellic acid. Nature. 211 : 743-744.
5. Haard, N. F., S. C. Sharma., R. Wolf., and F. Flenkel. 1974. Ethylene induced isoperoxidase changes during fiber formation in postharvest asparagus. J. Food Sci. 39: 452-456.
6. Isherwood, F. A. 1963. Lignin. In : Lertch and Rhodes (ed.) Recent Advances in Food Science. Butterworth, London.
7. Osborne, D. J. and D. R. McCalla. 1961. Rapid bioassay for kinetin and kinins using sensescing leaf tissue. Plant Physiol. 36 : 219-221.
8. Sacher, J. A. 1973. Senescence and postharvest physiology. Ann. Rev. Pl. Physiol. 24 : 197-224.
9. Soest, P. J. Van. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Ⅱ. A rapid method for the determination of fiber and lignin. J. A. O. A. C. 46(5): 829-835.

Summary

Changes of lignin content and levels of cytokinins and gibberellins of green asparagus (*Asparagus officinalis* L. var. Mary Washington) spears stored in 25°C and 4°C. were investigated. Levels of cytokinins and gibberellins decreased sharply in the samples stored at 25°C. There is a negetative correlation between the lignin content and the levels of cytokinin and gibberellins. Low storage temperature slowed the decreasing of activities of both hormones. Morphactin sprayed at 5ppm partially retarded the lignin formation and decreasing of hormonal levels.