材料與方法

一、材料：

（一）供試品種：

芥藍菜[Kale (Brassica oleracea L. var. acephala DC.)]，購自農友種苗公司。

（二）養液製備：

採用 Johnson 的修正培養基(Johnson et al., 1957)，其配方如表一所示。

表一、水耕養液配方

Table 1. The composition of nutrient solution for vegetable growing in the experiment

Compound	concentration
KNO_3	6mM
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	4mM
$NH_4H_2PO_4$	2mM

$MgSO_4.7H_2O$	1mM
KCl	50μM
H_3BO_3	25μM
$MnSO_4.H_2O$	2μM
$ZnSO_4.7H_2O$	2μM
$CuSO_4.5H_2O$	0.5μM
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$(81%MoO_3)	0.5/7μM
Fe-EDTA	20μM

二、方法：

（一）水耕栽培與處理：

以 20 公升之塑膠桶，保麗龍板（60×45×3cm^3）浮根式栽培（高，1991），每桶六株，每 10 日換一次水耕液，充分通氣，培養至約十葉齡，分控制組、停用硝酸態氮組和遮陰組三種處理。首日 21:00 收後開始處理，之後每六小時（3:00,9:00,15:00,21:00）採樣一次，每處理三重複，連續採三日。控制組以相同之水耕液繼續培養；停用硝酸態氮組以 KCl 和 $CaCl_2$ 補足 K^+和 Ca^{2+}，其餘配方同控制組；遮陰組在翌日早上 9:00 以遮光 55%的黑網遮陰，其餘同控制組。採收植體全株分葉片、葉柄、莖與根，稱鮮重，以液態氮急速冷凍，置於-70℃冰箱中保存；將樣品冷凍乾燥，稱乾重。

（二）植體分析

1.硝酸態氮之測定：

取 0.2g 乾燥植體，以 50mL 1N HCl 振盪抽取二小時，取 5mL 抽出液於三角瓶，加入 40mL 0.7M 氨水、蒸餾水和 1mL $MnSO_4$ 使其總體積為 50mL，加入 100mg 鋅粉，振盪 30 分鐘過濾；取 2mL 濾液，加入 46mL 蒸餾水、1mL 重氮試劑(diazoting reagent)和 1mL 偶合試劑(coupling reagent)，呈色 30 分鐘，標準溶液以 50ppm KNO_3 配製，使終濃度為 0.04 0.16ppm 作標準曲線測，540nm 吸光值(林與陳，1986)。

重氮試劑--以 100mL 2.4N HCl 溶解 0.5g sulfanilamide

偶合試劑--以 100mL 0.12N HCl 溶解 0.3g N-(1-naphthyl-ethylene)diamine

$MnSO_4$--10g $MnSO_4$ 加 51mL 冰醋酸，定量至 1,000mL

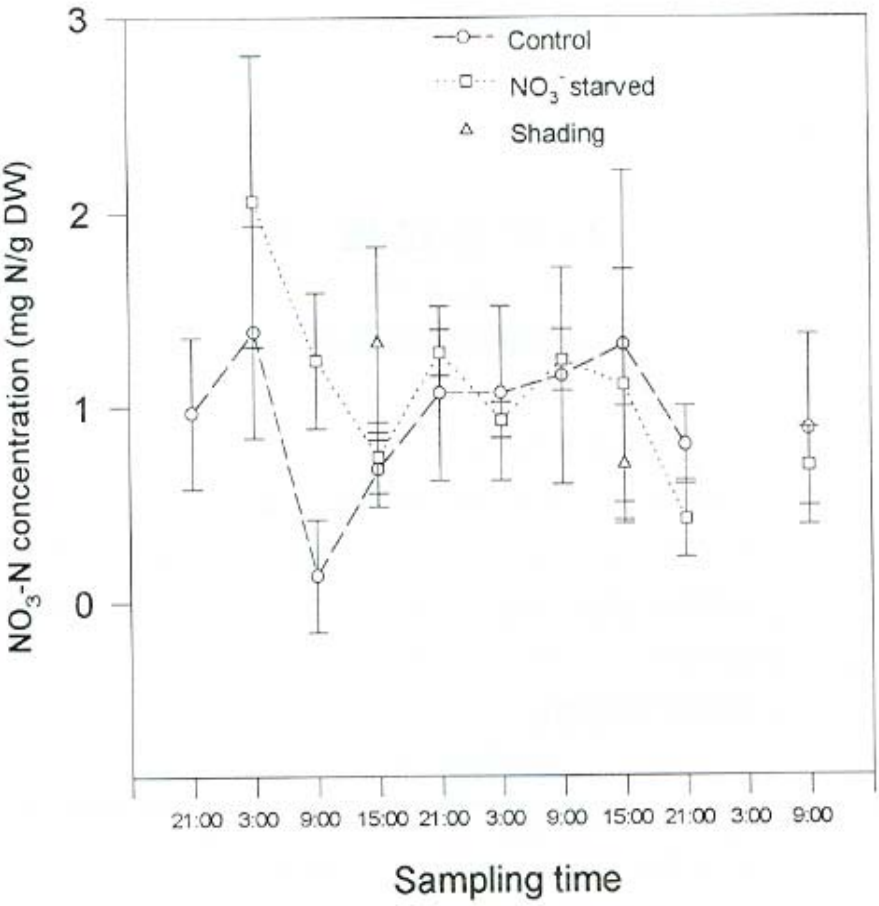
2.還原態氮之測定：

取上述硝酸態氮測定法中之 1NHCl 抽出液以凱氏法測定可溶性還原態氮；取抽出後之殘餘物連同濾紙以濃硫酸消化後以凱氏法測定不溶性還原態氮。

（三）芥藍菜硝酸還原酵素活性測定

1.栽培方法

民國八十三年八月二十三日播種，九月一日移入人工氣候室，一組於 20／15℃（日／夜）自然光室，另一組於 30／25℃（日／夜）自然光室，水耕栽培至十月十二日。上午九時採收對照組，並對遮陰組處理，下午三時採收對照組及遮陰組，稱取 1.0g 及 2.0g 第一展開葉片和葉柄、莖與根於液態氮中急速冷凍保存。1.0g 樣品供硝酸還原酵素活性測定，2.0g 樣品經冷凍乾燥後，稱乾重，測植體中硝酸態氮濃度。



圖一、各處理對芥藍菜葉片中硝酸態氮濃度日變化之影響

Fig.1.Effect of different treatments on diurnal changes of NO_3-N concentration in blades of kale.

2.硝酸還原酵素活性測定

取 1.0g 冷凍之新鮮植體於研缽中，加入 0.6g PVPP(poly vinyl poly pyrroli-done)及少許液態氮充分研磨，加入 6mL 萃取液，混合均勻後以 30,000g，4℃下離心 15 分鐘，取 0.5mL 上澄液於試管中，加入 0.5mL 反應液，30℃水浴下反應 30 分鐘，再加入 1mL 1% Sulfanilamide 以及 1mL 0.2% N-(1-naphthylet hylene)diamine 呈色 30 分鐘後測 540nm 吸光。

萃取液包括 50mM tris-HCl pH 7.8

15% Glycerol

14mM B-mercaptoethanol

1mM EDTA

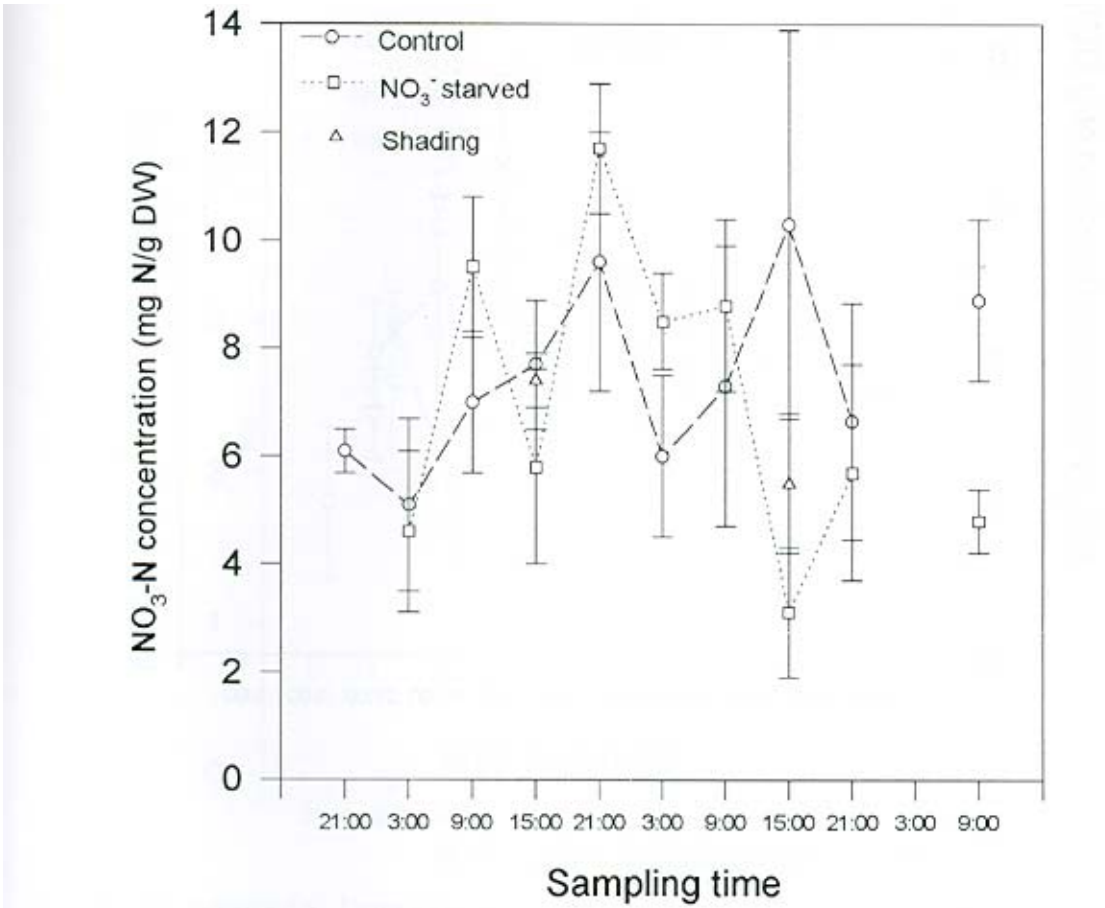
0.1% Triton X-100

反應液包括 25mM phosphate buffer pH 7.5

5mM L-cysteine

10mM KNO_3

0.2mM NADH



圖二、各處理對芥藍菜葉柄中硝酸態氮濃度日變化之影響

Fig.2.Effect of different treatments on diurnal changes of NO_3-N concentration in petioles of kale.