

利用反應曲面法進行蝴蝶蘭種苗生理特性檢測之研究

邱健誠¹ 謝廷芳² 蔡致榮³ 戴廷恩^{4,*}

摘要

邱健誠、謝廷芳、蔡致榮、戴廷恩。2015。利用反應曲面法進行蝴蝶蘭種苗生理特性檢測之研究。台灣農業研究 64(2):122–134。

蝴蝶蘭是我國目前主要外銷花卉作物之一，主要銷往美國、日本及荷蘭，然而種苗品質一直無法提昇，主要原因在於未能掌握品種生理特性，營造適性培育環境。本研究開發蝴蝶蘭品種生理檢測技術，用以測定蝴蝶蘭種苗營養生長及催花之最佳環境需求條件(如日、夜溫度及光照強度等)，提供國內業者代工及外銷國接力生產栽培之參考依據。為降低檢測時間及次數，本研究設計多箱光合作用全植株連續式檢測系統，配合反應曲面法之應用，建立檢測技術。蝴蝶蘭 *Phalaenopsis* Sogo Yukidian '1318'、*P. Sogo Plum* 'F2486'、*P. Taida Smile* 'Taida Little Green' 及 *P. Nobby's* 'Cat Nip' 等 4 個品種系經本生理檢測技術平台測試後，各品種系營養生長期預估之最適日夜溫條件分別為 28/23°C、33/24°C、33/27°C 及 33/28°C；預估最適光強度除 'F2486' 為 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 外，其餘均為 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，相關數據已提供業者驗證。惟因生長箱模擬環境與溫室栽培環境存有差異，且試驗因設備限制而分批進行，植株生育整齊度亦為影響因子，因此未來檢測技術仍需持續改良與驗證。

關鍵詞：光合作用、全株量測、品種特性、反應曲面。

前言

蝴蝶蘭為蘭科 (Orchidaceae) 蝴蝶蘭屬 (*Phalaenopsis*) 植物，原生於澳洲北部及東南亞地區，主要分布於菲律賓呂宋島南部山區及台灣恆春半島、蘭嶼及台東海岸山脈等地 (Lin 1988)。台灣為 *P. aphrodite* subsp. *Formosana* 及 *P. equestris* 之原生地 (Christenson 2001)，前者在 1952 及 1953 年連續奪得國際蘭展冠軍而聲名大噪 (Lo 2003)。台灣因氣候適宜，頗適於發展蝴蝶蘭產業，早期許多趣味者收集了豐富種原並育成許多優良雜交種 (Tsai & Chu 2001)，豐富的品種資源配合精良的栽培技術奠定了台灣在國際蘭界重要的地位，也贏得「蝴蝶蘭王國」的美名。目前，蝴蝶蘭為台

灣花卉產業中最重要的花卉之一，即使在競爭激烈的國際花卉市場中，仍能佔有一席之地，帶來可觀的外銷收入。依行政院財政部關務署進出口統計資料顯示，2013 年蝴蝶蘭出口值達 1.18 億美元，占總花卉出口值的 62.41% (Customs Administration, Ministry of Finance 2013)，蝴蝶蘭成為國內出口值破億美元的農產品。然而，支持著此番榮景的品種優勢，卻也是當前外銷的一大困擾。許多品種依然存在著問題，例如適合栽培及開花等環境條件及生長特性不夠了解 (Chen & Lin 2012)，即使是同一品種來源的植株也難免品質不一，對於接手栽培的廠商乃至於消費者便無法提供最適當的環境條件資訊。Chen *et al.* (2012) 指出，在不同環境條件下栽培的植株，其性狀之表現

投稿日期：2014 年 10 月 16 日；接受日期：2014 年 12 月 19 日。

* 通訊作者：tedai@tari.gov.tw

¹ 農委會農業試驗所花卉研究中心研究助理。台灣 雲林縣。

² 農委會農業試驗所花卉研究中心研究員兼中心主任。台灣 雲林縣。

³ 農委會農業試驗所研究員兼副所長。台灣 台中市。

⁴ 農委會農業試驗所花卉研究中心研究員兼系主任。台灣 雲林縣。

即可能有所不同。因此在品種特性無法確定的情況下，台灣蝴蝶蘭的品質穩定性必然遭受質疑。基於產業界的需求，行政院農委會農業試驗所花卉研究中心嘗試進行蝴蝶蘭生理檢測技術之開發，以協助業者確認各品種較適當的栽培環境條件，以利國內業者乃至於國外接力栽培的廠商都能生產優良的植株，充分發揮該品種應有特性與價值，穩定並強化消費者對台灣優良蝴蝶蘭種苗的信心。

植物生長以光合作用為基礎，光合作用是植物重要的生理過程，氣體交換特性之研究，常被用來探討植物生長與環境間的關係 (Shen *et al.* 2010)。因此，生理檢測可先著重在各環境條件下植株的光合作用能力變化，而光合作用可利用二氧化碳 (carbon dioxide; CO₂) 及碳水化合物等物質之變化來評估，考量非破壞性且連續檢測的試驗需求，CO₂ 應是較理想的測定對象。開放式氣體循環檢測，可以應用於長期的氣體變化量測，並與單一葉片光合作用量測方法互補。利用複合量測箱，更可以重複量測或是同時比較不同環境或栽培處理，對於作物生育因子之影響 (van Iersel & Bugbee 2000)，所以光合作用研究者常針對試驗需求自行設計適合的系統 (Aker *et al.* 1985; Knight *et al.* 1988; Day 1990; Miller *et al.* 1996; van Iersel & Bugbee 2000; Klingeman *et al.* 2005; Chen & Lin 2012; He & Li 2014)。由於影響光合作用的環境因子繁多，逐一檢測顯然不符成本效益，且延長試驗時間亦會造成植株生長勢差異而導致試驗誤差，故嘗試以反應曲面法 (response surface methodology; RSM) 協助分析試驗結果，據以估算植株的最佳化環境條件。反應曲面法是一套結合統計分析與試驗設計的技術，透過一系列有系統的試驗，搜尋反應的最適化條件 (Wu 2008)，藉由一定量的試驗結果來預測條件範圍內的最適結果，以及達成該結果的條件，以取代逐一試驗，故可以最少的試驗次數來達成目的 (Su 2005)。此法目前已廣泛應用在農業、食品、化學工業、生物科技等領域 (Chen & Peng 1996; Liu & Peng 2002; Chandrika & Shahidi 2005; Hsu & Hong 2005; Wu 2008; Chiu *et al.* 2013)。

本研究之目的在於利用自行設計檢測設備並配合反應曲面法之應用，評估其在蝴蝶蘭種苗生理特性檢測之可行性，經由植株最適栽培環境條件之推估，提供生產者參考，並提昇種苗品質穩定度。

材料與方法

生理檢測系統之建置

檢測系統主要參考 Weng & Chen (1982)、Chiang (1983) 及 Long & Hällgren (1985, 1993) 等設計原理，再依試驗材料需求及儀器特性加以修改。

為求監測全株的 CO₂ 交換量，本試驗以大型壓克力箱 (內徑長 × 寬 × 高約 = 0.60 m × 0.50 m × 0.30 m) 作為植株試驗空間，並將壓克力箱置於生長箱 (FH-130, HIPOINT Company, Taiwan) 內，由生長箱控制試驗所需的溫度、濕度及光照。其中，溫度控制精度 ± 0.5°C (25°C時)，濕度控制精度 ± 3% (80%，25°C時)，光週期為 12 h，日夜變化轉換期設定 1 h 之內模擬日照平均漸亮及漸暗。光輻射值 (即光強度) 以輻射計 (LI-1400, LI-COR, Inc., USA) 測量壓克力箱中間位置，植株最上位葉高度的光強度，經由燈管開啟數量調整光輻射值。

本試驗設計需長時間監測 CO₂ 變化，故採用開放式氣體循環系統，抽氣馬達 (ACO-818, Zhejiang Sensen Industry Co., Ltd., China) 自溫室外高約 5 m 處抽取空氣送入生長箱，以流量計 (flow meter, RMA-22-SSV 和 RMA-26-SSV, Dwyer Instruments, Inc., USA) 控制流率約 13–15 L min⁻¹，再以馬達 (TA-318 和 TA-388D, TAKAOKA, Japan) 抽取生長箱及壓克力箱空氣，流率分別控制在約 2 及 9 L min⁻¹ (圖 1)，以二氧化碳/水汽分析儀 (CO₂/H₂O analyzer, LI-840A, LI-COR, Inc., NE, USA) 測定二氧化碳濃度。

植株最適馴化與測量時間之試驗

試驗材料為購自世芥蘭業公司的 *P. Sogo* Yuki-dian 'F1442' 3.5 吋盆成熟株。植株購入後，以葉面積儀 (AM-300, ADC BioScientific

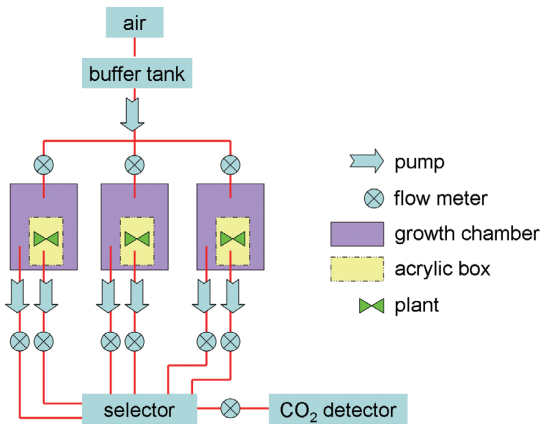


圖 1. 生理檢測系統架構簡圖。

Fig. 1. The diagram of physiological examination system.

Ltd., England) 量取總葉面積後，予平均分組，放置於日/夜溫約為 32/27°C 的溫室中馴化 1 wk 後，進行檢測。同一生長箱，5 株為 1 組置放於壓克力箱中，每次試驗前 1 天均充分給水。日夜溫設定分別為 28/23°C，植株最上位葉高度的光強度約 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，日夜週期為 12 h，相對濕度 70–90%，每 4 min 記錄 1 次數據，連續記錄擷取 7 d 淨二氧化碳交換量。

蝴蝶蘭種苗生理特性檢測之試驗

試驗材料為購自一心生技公司的蝴蝶蘭 *P. Sogo Yukidian* '1318'、世芥蘭業公司的 *P. Sogo Plum* 'F2486'、台大蘭園的 *P. Taida Smile* 'Taida Little Green' 及上品蘭園的 *P. Nobby's* 'Cat Nip'，皆為 3.5 吋盆成熟株。植株購入後，以葉面積儀 (AM-300, ADC Bio-Scientific Ltd., England) 量取總葉面積並平均分組，放置於日/夜溫約為 32/27°C 的溫室中馴化 1 wk 後，分批進行檢測。

影響植物生理的因子繁多，考量商業溫室有效控制、檢測技術、時間與成本後，先選定日溫、夜溫及光強度為檢測條件，探討品種間最適環境條件組合。利用 Design-Expert 軟體 (V8.0.7.1, Stat-Ease, Inc., Minneapolis, USA)，採用中央合成設計 (Central Composite Design; CCD) 組合試驗條件，試驗變數及位準設計如表 1 所列，日溫 (D) 設定高低限

表 1. 本研究之試驗變數及位準設計。

Table 1. Coded levels for the independent variables.

Independent variable	Symbol	Level	
		Coded	Uncoded
Day temperature (°C)	D	-1.68	26
		-1	28
		0	31
		1	33
		1.68	35
Night temperature (°C)	N	-1.68	21
		-1	23
		0	26
		1	28
		1.68	30
Light intensity ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	L	-1.68	80
		-1	125
		0	185
		1	225
		1.68	300

為 33 及 28°C，夜溫 (N) 設定高低限為 28 及 23°C，光強度 (L) 高低限為 225–125 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，設計後之試驗條件及組合如表 2 所列。本試驗探討日溫、夜溫及光強度對於蝴蝶蘭植株生育之影響，其中有 8 組複因子試驗點及 6 個軸上點，中心點採 4 重複，合計有 18 組試驗條件，每組試驗條件，以 5 株為 1 組置放於同一生長箱壓克力箱中，每次試驗前 1 天均充分給水。量測期間每 4 min 記錄 1 次數據，累計計算淨二氧化碳交換量，依 Long & Hällgren (1985, 1993) 方法計算單位葉面積之光合作用速率。

結果與討論

植株最適馴化及測量時間之條件

植株光合作用受環境影響為一動態過程，葉片會因外在環境變化而進行快速及動態的適應調整 (Calatayud *et al.* 2007)，為確定不同試驗條件之適應時間，本階段試驗旨在確認最適檢測時間及流程，連續測量 7 d 之淨 CO₂ 交換量，結果如圖 2。試驗開始後 1–2 d，數據動態變化較大且有逐漸上升趨勢，第 3 天之後趨於穩定，直到第 7 天開始有下降趨勢。在試

表 2. 本研究之試驗設計及條件組合。

Table 2. The arrangement and responses of Central Composite Design.

Treatment	Coded			Variable		
	D	N	L	D (°C)	N (°C)	L ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
1	-1.68	0	0	26	26	185
2	-1	-1	-1	28	23	125
3	-1	-1	1	28	23	225
4	-1	1	-1	28	28	125
5	-1	1	1	28	28	225
6	0	-1.68	0	31	21	185
7	0	0	-1.68	31	26	80
8	0	0	0	31	26	185
9	0	0	0	31	26	185
10	0	0	0	31	26	185
11	0	0	0	31	26	185
12	0	0	1.68	31	26	300
13	0	1.68	0	31	30	185
14	1	-1	-1	33	23	125
15	1	-1	1	33	23	225
16	1	1	-1	33	28	125
17	1	1	1	33	28	225
18	1.68	0	0	35	26	185

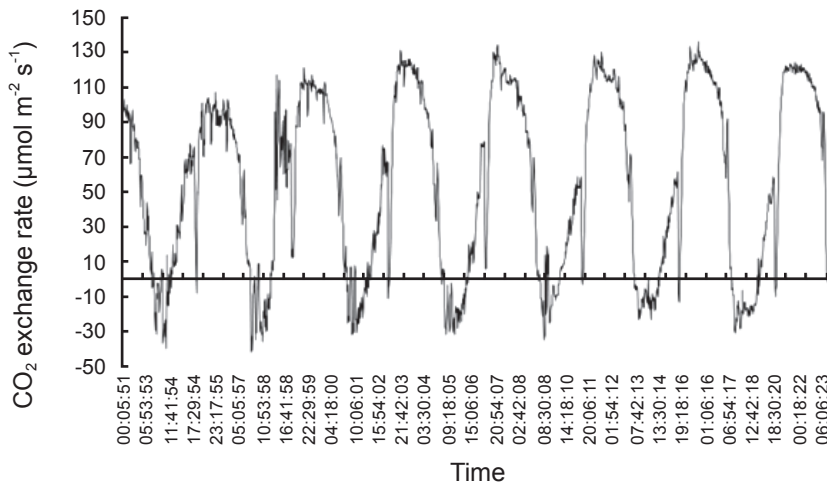


圖 2. 蝴蝶蘭 3.5 吋成熟株 *Phalaenopsis Sogo Yukidian* ‘F1442’ 7 d 淨二氧化碳交換量。

Fig. 2. The net CO₂ exchange rate of *Phalaenopsis Sogo Yukidian* ‘F1442’ for 7 days.

驗初期的不穩定原因可能有二：其一是植株甫經環境條件變化，需要一段調整適應的時間，也必須要有完整的時間進行氣體交換 (He & Li

2014)，此亦為設計本階段試驗之原因；其二則源自於箱體內部的空氣組成問題，意即箱體本身所含空氣及人員於操作時造成的較高 CO₂

濃度，尚未由外界空氣完全置換，因此在初期必然有不正常的數值顯現。儘管此影響之存續時間不長（視氣體流率而定），但在此操作方式下必然存在，故即使在試驗條件設定與馴化溫室相同而沒有適應問題時，仍須保留一段馴化時間，惟此時間可視氣體流率、箱體大小等因素再作調整。

依前段所述，試驗期間愈長理應獲得更加穩定之數據。然而除了試驗時效、維護與運作的成本等現實面的考量，植株本身的狀況更該列為優先考慮。為求偵測氣體之準確性，試驗期間除抽氣線路外，箱體處於與外界隔絕的狀態，故試驗期間不能進行澆水管理，對於盆徑較小之植株或較高溫之試驗條件恐有缺水之疑慮。Cui *et al.* (2004) 即指出，缺水逆境的影響並不限於基本可知的蒸散作用、光合能力等方面，尚包括醣類代謝、自由基為害等層面。水分逆境對於二氧化碳交換作用型態有極顯著影響 (Chen & Lin 2012)，而維持植株之正常生理，當是試驗的首要條件，故選擇試驗時間時應作全面性的考量。

植物生長以光合作用為基礎，因此生理檢測著重在各環境條件下植株的光合作用能力變化，而光合作用可利用 CO₂ 及碳水化合物等物質之變化來評估。考量分析的難易度，不必破壞性取樣且利於連續檢測的 CO₂ 應是較理想的測定對象。Yao *et al.* (2011) 亦曾提出，CO₂ 監測可作為研究蝴蝶蘭生理的方法，並可進一步作為決定栽培管理方式的重要依據。同時，CO₂ 測定尚可一併監控試驗環境（環境 CO₂ 濃度亦是光合作用的影響因子）是否正常，確認試驗是在穩定環境下進行，試驗結果即可歸因於植株之生理表現，有利於後續的分析討論。而由於蝴蝶蘭成株被認為是景天酸代謝 (crassulacean acid metabolism; CAM) 型植物 (Lo 2003)，光合作用效率相對較低，一般的測量方式不利於捕捉其細微的改變，因此擴大取樣範圍確有其必要。本試驗以生長箱及壓克力箱作為取樣的環境，即可將範圍由單葉擴大至全株甚至複數植株，有效放大 CAM 型植物的生理變化。

基於試驗開始後第 3 天數據即趨於穩定，

且直到第 7 天始有下降趨勢，在考量長時間試驗所增加的成本、試驗時間過長將造成植株生長勢差異誤差及操作上的不便等因素後，決定將後續各組生理特性檢測試驗均固定連續測量 72 h，並擷取最後 24 h 淨二氧化碳交換量，據以計算光合作用速率。

蝴蝶蘭種苗生理特性檢測之試驗

影響植物生理變化的因子繁多，考量目前溫室可以有效控制的環境因子，本試驗選定日溫、夜溫及光強度為主要檢測因子，探討品種間最適環境條件組合。本試驗各參試品種之試驗數據，先經變方分析確認後，進行最適條件之推算分析與曲面圖之繪製。並依據試驗結果，推算最適公式，估計該品種可能最適的生長環境條件 (表 3)。一心生技公司 *P. Sogo Yukidian* '1318' 品種的變方分析結果如表 4，為一階模式 ($y = 27.24 - 0.19D - 0.62N + 1.69e^{-0.05} L$; $R^2 = 0.56$, $P < 0.05$)，推估最佳栽培環境條件為日夜溫約 28°C/23°C，光強度約 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (表 3)，屬於中日溫低夜溫高光照的品種，栽培實務上建議維持 28°C 以上中至高日溫與高光度，並在不抽梗的前提下維持較低夜溫。在 3 個環境因子中，夜溫的影響力相對較大，因此較低夜溫有助於提高種苗品質。但是溫度 20–25°C 時，蝴蝶蘭種苗生殖生長開始啟動 (Yoneda 2007)，將造成植株抽梗，若僅考慮降低夜溫有執行層面的困難。8 h 或更長的高日溫栽培，可以產生抑梗效果，即便在較低夜溫的環境之下也不會產生花梗 (Blanchard & Runkle 2006; Huang *et al.* 2008; Newton & Runkle 2009)。但反應曲面法無法準確估計範圍外的反應值，若因故須選擇範圍外的設定值，應特別留意其變化 (圖 3)。而光強度對於光合作用值的影響相當直接，為全面性地增減，隨著光強度降低，整體光合作用能力亦隨之下降，但反應曲面圖因其影響程度遠較為小而不會有明顯的變形。顯示在範圍內各種光強度下，溫度的影響趨勢均相同，因此不論光強度為何，溫度的操控原則基本上一致。由於本品種試驗得到的一階模式相關性較低 ($R^2 = 0.56$)，必須與業者實際栽培經驗進一步比對確認。

表 3. 以反應曲面法推算之蝴蝶蘭各品種最適條件設定值。

Table 3. The optimum conditions for each of *Phalaenopsis* cultivars predicted by the response surface methodology.

Cultivar	Day temperature (°C)	Night temperature (°C)	Light intensity ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
<i>Phalaenopsis</i> Sogo Yukidian ‘1318’	28.0	23.0	225
<i>Phalaenopsis</i> Sogo Plum ‘F2486’	32.5	23.8	100
<i>Phalaenopsis</i> Taida Smile ‘Taida Little Green’	33.0	27.5	225
<i>Phalaenopsis</i> Nobby’s ‘Cat Nip’	33.0	28.0	225

表 4. 反應曲面變方分析表 (*Phalaenopsis* Sogo Yukidian ‘1318’)。

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) for response surface (*P. Sogo Yukidian* ‘1318’).

Source	Sum of squares	df	Mean square	F value	P-value Prob > F	
Model	6.520E + 006	3	2.173E + 006	5.11	0.0166	significant
A-Day	6.761E + 005	1	6.761E + 005	1.59	0.2314	
B-Night	5.822E + 006	1	5.822E + 006	13.69	0.0030	
C-Light	22735.83	1	22735.83	0.05	0.8211	
Residual	5.104E + 006	12	4.253E + 005	-	-	
Lack of Fit	4.593E + 006	10	4.593E + 005	1.80	0.4098	not significant
Pure Error	5.109E + 005	2	2.554E + 005	-	-	
Cor Total	1.162E + 007	15	-	-	-	

R² = 0.56

Design-Expert? Software

Factor Coding: Actual

Photo



X1 = A: Day

X2 = B: Night

Actual Factor

C: Light = 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

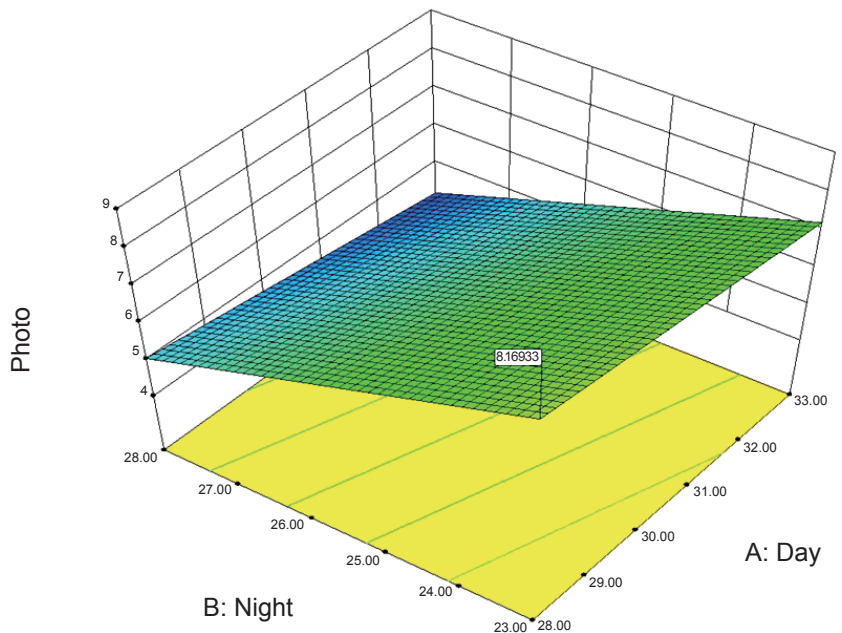


圖 3. 蝴蝶蘭生理檢測反應曲面圖 (*Phalaenopsis* Sogo Yukidian ‘1318’)。

Fig. 3. Response surface plots plotted according to results of *P. Sogo Yukidian* ‘1318’.

世芥蘭業公司 *P. Sogo Plum* 'F2486' 品種的變方分析結果如表 5，為二階模式 ($y = -247.35 + 10.76D + 5.84N + 3.24e^{-0.03} L - 0.03DN - 1.15e^{-0.04} DL - 0.14D^2 - 0.10N^2$; $R^2 = 0.72$, $P < 0.05$)，推估最佳栽培環境條件為日夜溫約 32.5°C/24°C，光強度約 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (表 3)，屬於日夜溫差大且光照影響程度相對較低的組合 (圖 4)，對此品種日夜保持恆溫即為不利的條件。與前者不同的是，其圖形曲率較大，因子間의 交感也有影響，故日溫與夜溫的組合方式更顯複雜，在不同的溫度範圍下，調整溫度的影響截然不同。當日溫較高 (例如 32.5°C)，提高夜溫 (例如自 24°C 提高至 26°C) 光合作用值將明顯下降，但日溫較低 (例如 28.5°C) 時，夜溫的變化對於光合作用較無明顯影響。故若欲依設施狀況調整溫度，須經過較全面性的評估。而此品種所求得的極值與其餘三者不同，條件範圍內已出現曲面的頂點，表示此值極可能已逼近真實的極值。隨著光強度增加，極值將逐漸往低日溫方向移動，此意謂高日溫與高光照同時存在不利於此品種，此時應優先減少光照並維持高日溫，於栽培時須格外留意。此外，由於極值的偏移，高日夜溫的組合也失去其優勢，成為與日夜恆溫相似的不利條件，故選擇條件時，若設施不能提供穩定的條件，則應留意環境變動可能帶來對植株生育的影響。

台大蘭園 *P. Taida Smile* 'Taida Little Green' 品種的變方分析結果如表 6，為二階模式 ($y = 57.30 - 1.80D - 1.76N - 1.03e^{-0.03} L + 0.15DN + 6.57e^{-0.06} DL + 2.50e^{-0.05} NL - 0.03D^2 - 0.06N^2 + 7.27e^{-0.09} L^2$; $R^2 = 0.87$, $P < 0.05$)，推估最佳栽培環境條件為日夜溫約 33°C/27.5°C，且光強度約 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (表 3)，為高日夜溫的類型 (圖 5)。低日、夜溫並非最不利的條件，且隨著光強度降低，兩者的光合作用值也會逐漸拉近，而另外兩者端點之表現則變化不大。此現象顯示該品種對於日、夜溫的需求可能不在於值的絕對高低，而是溫差的恆定，若欲調整溫度的設定，應留意此要件。

上品蘭園 *P. Nobby's* 'Cat Nip' 品種的變方分析結果如表 7，為二階模式 ($y = 56.11 +$

$2.67D - 5.53N - 3.70e^{-0.03} L + 0.07DN + 1.27e^{-0.05} DL + 8.63e^{-0.05} NL - 0.07D^2 - 0.04N^2 + 3.88e^{-0.08} L^2$; $R^2 = 0.89$, $P < 0.05$)，推估最佳栽培環境條件為日/夜溫約 33°C/28°C，且光強度約 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (表 3)，與前者同屬高日夜溫的類型 (圖 6)。雖然與其相對的低日、夜溫條件下光合作用表現不佳，但隨著光強度降低，高夜溫的優勢會逐漸被扭轉，但高日溫的優勢並不會有明顯改變。故在栽培時，應以高日溫的條件為優先考量，夜溫及光照則應互相搭配著作調整。

本試驗若採傳統複因子試驗，3 變數 5 層級便需要 125 個試驗組合，每個試驗條件連續檢測 3 d，檢測流程便長達 1 年以上，即便使用多組生長箱設計，試驗時程顯然無法符合實際需求，隨試驗時間的變化，植物的生長也造成生物誤差，實有必要發展減少試驗次數的檢測方法。尋求最佳化條件的時候，傳統的逐次檢驗試驗因子非常耗時，還必須考慮到因子之間的交感作用 (Chandrika & Shahidi 2005)。

由於反應曲面試驗設計法的靈活與可變性，近年來已廣泛地應用於尋求獲取最佳品質的最適操作條件上，反應曲面法具有下列優點：(1) 減少試驗次數，即減少成本及時間，在條件因子愈多時，效果愈顯著；(2) 可同時探討數個因子，及因子間的交互影響，並可知悉各因子對反應值的貢獻程度；(3) 藉由曲面圖，可快速得知最適化條件。其原理是利用試驗設計來進行有系統的條件挑選，再依控制條件 (自變數 x) 與反應值 (依變數 y) 來建立關係函數 $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n) + \epsilon$ (ϵ 為反應值的誤差)，藉由函數在一定條件範圍內預測出來的結果，繪製成反應曲面圖協助判斷最適條件的範圍 (Liu & Peng 2002; Su 2005)。

欲使用反應曲面法，須先符合以下要件：(1) 控制條件與反應結果必須是連續型量變數，(2) 控制條件至少 2 個。在本試驗中，控制條件有三：日溫、夜溫及光強度，三者連同反應結果-光合作用速率皆是連續型量變數，故反應曲面法之應用理論上並無疑義。但農業畢竟有別於化學工業等精密科技，因此在使用

表 5. 反應曲面線性模組的變方分析表 (*Phalaenopsis* Sogo Plum ‘F2486’)。

Table 5. Analysis of variance (ANOVA) for response surface (*P. Sogo Plum* ‘F2486’).

Source	Sum of squares	df	Mean square	F value	P-value Prob > F	
Model	3.576E + 006	7	5.108E + 005	3.38	0.0465	significant
A-Day	8.893E + 005	1	8.893E + 005	5.89	0.0382	
B-Night	6.786E + 005	1	6.786E + 005	4.49	0.0631	
C-Light	3.845E + 005	1	3.845E + 005	2.54	0.1451	
AB	48360.50	1	48360.50	0.32	0.5854	
AC	3.436E + 005	1	3.436E + 005	2.27	0.1658	
A2	1.175E + 006	1	1.175E + 006	7.77	0.0211	
B2	5.953E + 005	1	5.953E + 005	3.94	0.0784	
Residual	1.360E + 006	9	1.511E + 005	-	-	
Lack of Fit	9.473E + 005	6	1.579E + 005	1.15	0.4937	not significant
Pure Error	4.125E + 005	3	1.375E + 005	-	-	
Cor Total	4.936E + 006	16	-	-	-	

R² = 0.72

Design-Expert? Software

Factor Coding: Actual

Photo

● Design points above predicted value

○ Design points below predicted value

9.34

3.87

X1 = A: Day

X2 = B: Night

Actual Factor

C: Light = 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

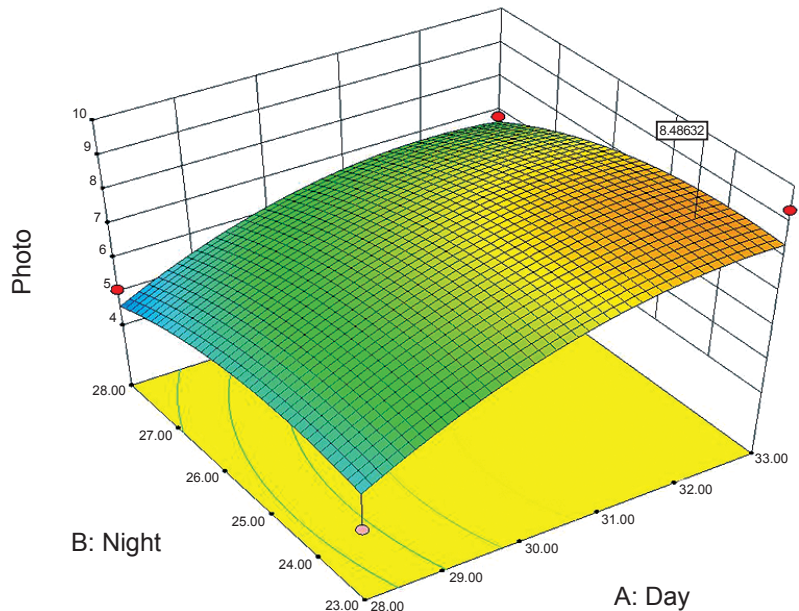


圖 4. 蝴蝶蘭生理檢測反應曲面圖 (*Phalaenopsis* Sogo Plum ‘F2486’)。

Fig. 4. Response surface plots plotted according to results of *P. Sogo Plum* ‘F2486’.

上略有不同。通常做法是先選定一條件範圍後，建立一階模型 (first-order model)，經由試驗確認此範圍內是否存在顯著的曲率。若不存在，則循最陡坡度法 (method of steepest

descent or ascent) 尋找下一個範圍重做。若具有顯著曲率，即表示範圍內存在極值，此時可配置二階模型 (second-order model) 來尋找。求得極值後，亦可再進行試驗確認，此時即可

表 6. 反應曲面線性模組的變方分析表 (*Phalaenopsis* Taida Smile ‘Taida Little Green’)。Table 6. Analysis of variance (ANOVA) for response surface (*P. Taida Smile* ‘Taida Little Green’).

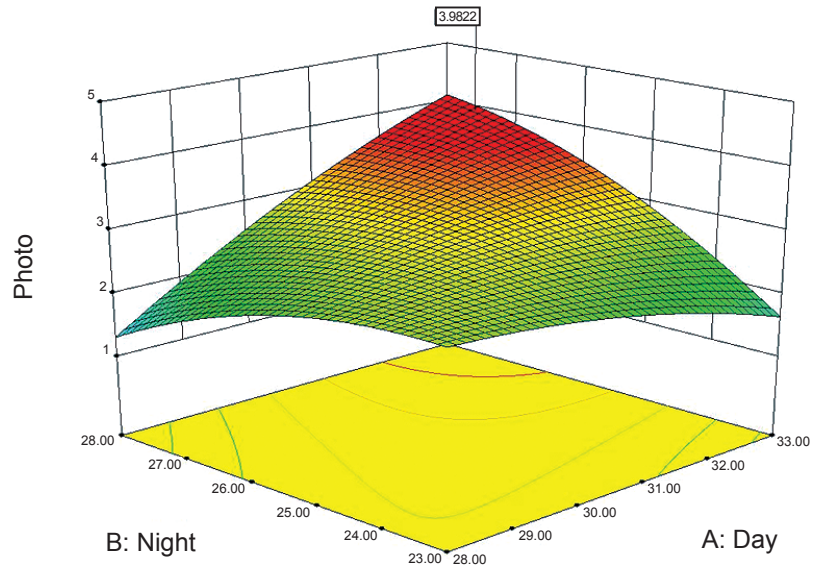
Source	Sum of squares	df	Mean square	F value	P-value Prob > F	
Model	1.326E + 006	9	1.473E + 005	4.31	0.0446	significant
A-Day	2.182E + 005	1	2.182E + 005	6.38	0.0449	
B-Night	1643.38	1	1643.38	0.048	0.8337	
C-Light	6426.26	1	6426.26	0.19	0.6797	
AB	6.994E + 005	1	6.994E + 005	20.47	0.0040	
AC	5160.27	1	5160.27	0.15	0.7110	
BC	72892.20	1	72892.20	2.13	0.1944	
A2	64589.30	1	64589.30	1.89	0.2183	
B2	2.300E + 005	1	2.300E + 005	6.73	0.0410	
C2	47058.29	1	47058.29	1.38	0.2851	
Residual	2.050E + 005	6	34172.03	-	-	
Lack of Fit	1.897E + 005	4	47425.91	6.19	0.1439	not significant
Pure Error	15328.52	2	7664.26	-	-	
Cor Total	1.531E + 006	15	-	-	-	

$R^2 = 0.87$

Design-Expert? Software

Factor Coding: Actual

Photo

X1 = A: Day
X2 = B: NightActual Factor
C: Light = 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 圖 5. 蝴蝶蘭生理檢測反應曲面圖 (*Phalaenopsis* Taida Smile ‘Taida Little Green’)。Fig. 5. Response surface plots plotted according to results of *P. Taida Smile* ‘Taida Little Green’.

獲得最佳解及其控制條件 (Su 2005; Wu 2008; Chiu *et al.* 2013)。但若依上述方法求解，可能會得到無法在實際栽培環境中應用的條件，

畢竟環境條件的調整尚須考量當地氣候、硬體設施能量、提升的收益與成本之平衡及設施中其它植株的需求等因素。因此，本試驗應用方

表 7. 反應曲面線性模組的變方分析表 (*Phalaenopsis Nobby's 'Cat Nip'*)。

Table 7. Analysis of variance (ANOVA) for response surface (*P. Nobby's 'Cat Nip'*).

Source	Sum of squares	df	Mean square	F value	P-value Prob > F	
Model	7.751E + 006	9	8.612E + 005	5.12	0.0300	significant
A-Day	7.320E + 005	1	7.320E + 005	4.35	0.0821	
B-Night	3231.37	1	3231.37	0.019	0.8943	
C-Light	34321.39	1	34321.39	0.20	0.6674	
AB	2.389E + 005	1	2.389E + 005	1.42	0.2785	
AC	34186.13	1	34186.13	0.20	0.6681	
BC	1.543E + 006	1	1.543E + 006	9.17	0.0232	
A ²	3.494E + 005	1	3.494E + 005	2.08	0.1997	
B ²	2.023E + 005	1	2.023E + 005	1.20	0.3150	
C ²	2.512E + 006	1	2.512E + 006	14.92	0.0083	
Residual	1.010E + 006	6	1.683E + 005	-	-	
Lack of Fit	1.822E + 005	3	60749.67	0.22	0.8771	not significant
Pure Error	8.277E + 005	3	2.759E + 005	-	-	
Cor Total	8.761E + 006	15	-	-	-	

R² = 0.89

Design-Expert? Software
 Factor Coding: Actual
 Photo
 8.25
 2.11
 X1 = A: Day
 X2 = B: Night
 Actual Factor
 C: Light = 225 μmol m⁻² s⁻¹

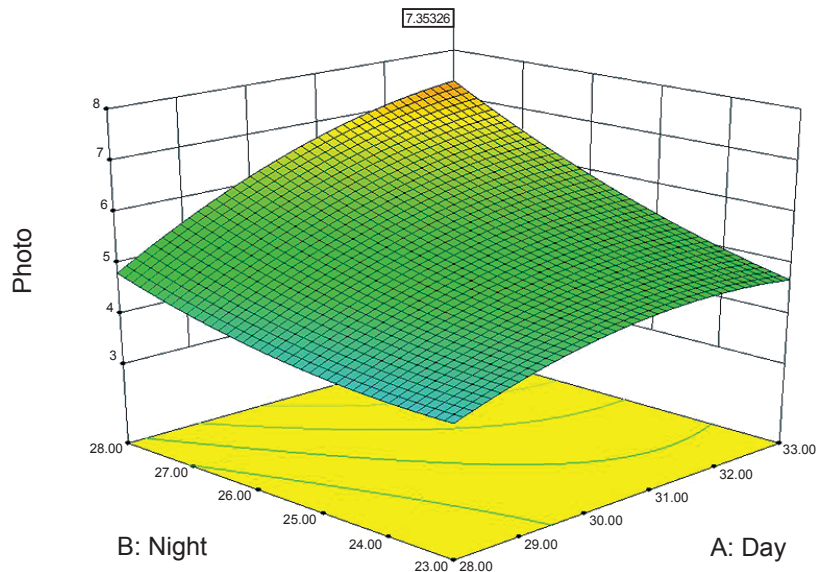


圖 6. 蝴蝶蘭生理檢測反應曲面圖 (*Phalaenopsis Nobby's 'Cat Nip'*)。

Fig. 6. Response surface plots plotted according to results of *P. Nobby's 'Cat Nip'*.

式略做修改，先行參考業界設施使用狀況以制定條件範圍，由此尋找範圍內局部最佳解，不再修正條件範圍以尋找真實的極值。

結論

蝴蝶蘭 *P. Sogo Yukidian '1318'*、*P. Sogo*

Plum 'F2486'、*P. Taida Smile* 'Taida Little Green' 及 *P. Nobby's* 'Cat Nip' 等 4 個品種系營養生長期之預估最適日夜溫條件分別為 28°C/23°C、33°C/24°C、33°C/27°C 及 33°C/28°C；預估最適光強度除 'F2486' 為 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 外，其餘均為 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。本試驗結果顯示，4 個蝴蝶蘭品種之生理特性不盡相同，也初步可以確認此試驗方法能區分不同品種的種苗生理特性，而反應曲面圖所呈現的特性趨勢，配合業者驗證之後，可以提供栽培管理調整時的參考依據。但本試驗是以生長箱模擬控制進行，日夜溫及光環境與實際自然及溫室環境並不完全相同，因此儘管試驗的結果可以推估可能的理想條件設定值，但仍必須持續進行試驗，同時配合業者實際栽培觀察反覆驗證，以累積足夠的檢測經驗及品種特性數據。

引用文獻

- Akers, C. P., S. W. Akers, and C. A. Mitchell. 1985. The minitron system for growth of small plant under controlled environment conditions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110:353–357.
- Blanchard, M. G. and E. S. Runkle. 2006. Temperature during the day, but not during the night, controls flowering of *Phalaenopsis* orchids. *J. Exp. Bot.* 57:4043–4049.
- Calatayud, A., D. Roca, E. Gorbe, and P. F. Martínez. 2007. Light acclimation in rose (*Rosa hybrida* cv. Grand Gala) leaves after pruning: Effects on chlorophyll a fluorescence, nitrate reductase, ammonium and carbohydrates. *Sci. Hort. Amsterdam* 111:152–159.
- Chandrika, L. P. and F. Shahidi. 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chem.* 93:47–56.
- Chen, C. C. and R. S. Lin. 2012. CO₂ uptake patterns in *Phalaenopsis amabilis*. *Afr. J. Agric. Res.* 7:128–141.
- Chen, H. M., F. B. Lu, G. F. Zhu, J. X. Cao, Y. You, and W. F. Xiao. 2012. The planting performance of 17 *Phalaenopsis* varieties in Guangzhou and Linzhi. *Agric. Sci. Guangdong* 19:48–50. (in Chinese with English abstract)
- Chen, J. J. and J. C. Peng. 1996. The study of extrudate's physical properties with response surface methodology. *J. Agric. Mach.* 5(3):29–39. (in Chinese with English abstract)
- Chiang, M. N. 1983. Studies on the method of estimating rates of photosynthesis and photorespiration in horticultural crops. *J. Chinese Soc. Hort. Sci.* 29:189–203. (in Chinese with English abstract)
- Chiu, H. W., J. C. Peng, S. J. Tsai, J. R. Tsay, and W. B. Lui. 2013. Process optimization by response surface methodology and characteristics investigation of corn extrudate fortified with Yam (*Dioscorea alata* L.). *Food Bioprocess Tech.* 6:1494–1504.
- Christenson, E. A. 2001. *Phalaenopsis: A Monograph*. Timber Press. Portland Oregon. 330 pp.
- Cui, Y. Y., D. M. Pandey, E. J. Hahn, and K. Y. Paek. 2004. Effect of drought on physiological aspects of crassulacean acid metabolism in *Doritaenopsis*. *Plant Sci.* 167:1219–1226.
- Customs Administration, Ministry of Finance. 2013. <https://portal.sw.nat.gov.tw/APGA/GA01> (visit on 9/25/2014)
- Day, T. E. 1991. *Fundamental Studies on Photosynthesis Characteristics of Litchi (Litchi chinensis Sonn.)*. Master Thesis, Department of Horticulture, National Taiwan University. Taipei. 103 pp. (in Chinese with English abstract)
- He, M. H. and K. T. Li. 2014. The plastic tunnel system reduced irradiance, and whole plant photosynthesis and vegetative growth in strawberry cultivation. *J. Taiwan Soc. Hort. Sci.* 60:41–49. (in Chinese with English abstract)
- Hsu, M. F. and W. L. Hong. 2005. Study on yam spread processing by response surface methodology. *Bull. TDARES* 58:27–43. (in Chinese with English abstract)
- Huang, C. H., H. S. Hsuan, S. H. Huang, and K. L. Huang. 2008. Effect of different day/night temperatures on flower-stalk emergence inhibition and flowering of *Phalaenopsis* hybrids. *J. Taiwan Soc. Hort. Sci.* 54:11–23. (in Chinese with English abstract)
- Klingeman, W. E., M. W. van Iersel, J. G. Kang, R. M. Auge, J. L. Moore, and P. C. Flanagan. 2005. Whole-plant gas exchange measurements of mycorrhizal "Iceberg" roses exposed to cyclic drought. *Crop Prot.* 24:309–317.
- Knight, S. L., C. P. Akers, S. W. Akers, and C. A. Mitchell. 1988. Minitron II system for precise control of the plant growth environment. *Photosynthetica* 22:90–98.
- Lin, T. P. 1988. *Native Orchids of Taiwan Vol. 2*. Southern Materials Center. Taipei. 355 pp. (in Chinese)
- Liu, M. C. and J. C. Peng. 2002. The study on the optimum operation conditions of tea roasting machine by using response surface methodology. *J. Agric. Mach.* 11:45–56. (in Chinese with English abstract)

- Lo, S. C. 2003. Identification of Taiwan Native *Phalaenopsis* and Photosynthetic Characteristics. Doctoral Dissertation, Department of Life Science, National Chung Hsing University. Taichung. 120 pp. (in Chinese with English abstract)
- Long, S. P. and J. E. Hällgren. 1985. Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. p.62–94. *in*: Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis (Coombs, J., D. O. Hall, S. P. Long, and J. M. O. Scurlock, eds.) Pergamon Press. Oxford. 298 pp.
- Long, S. P. and J. E. Hällgren. 1993. Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. p.129–167. *in*: Photosynthesis and Production in A Changing Environment: A Field and Laboratory Manual (Hall, D. O., J. M. O. Scurlock, H. R. Bolhár-Nordenkamp, R. C. Leegood, and S. P. Long, eds.) Chapman and Hall. London. 464 pp.
- Miller, D. P., G. S. Howell, and J. A. Flore. 1996. A whole-plant, open, gas-exchange system for measuring net photosynthesis of potted woody plants. *HortScience* 31:944–946.
- Newton, L. A. and E. S. Runkle. 2009. High-temperature inhibition of flowering of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* orchids. *HortScience* 44:1271–1276.
- Shen, Z. G., C. Q. Chen, L. L. Wang, B. Jiang, and H. F. Lu. 2010. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of three *Dendrobium* Species. *Acta Bot. Boreal. Occident. Sin.* 30:2067–2073. (in Chinese with English abstract)
- Su, S. K. 2005. The Application of Response Surface Design on the Complex Network. Master Thesis, Graduate Institute of Statistics, National Central University. Taoyuan. 37 pp. (in Chinese with English abstract)
- Tsai, W. T. and C. Y. Chu. 2001. The industry of *Phalaenopsis* in Taiwan. *Horticulture NCHU*. 26:27–42. (in Chinese with English abstract)
- van Iersel, M. W. and B. Bugbee. 2000. A multiple chamber, semicontinuous, crop carbon dioxide exchange system: design, calibration, and data interpretation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125:86–92.
- Weng, J. H. and C. Y. Chen. 1982. The research on the characteristics of photosynthesis and material production of soybean. *J. Sci. & Eng. NCHU*. 19:147–153. (in Chinese with English abstract)
- Wu, C. L. 2008. Study on the Optimal Operation Conditions of Pulping and Hulling Machine for Coffee Beans. Master Thesis, Department of Biomechatronic Engineering, National Chiayi University. Chiayi. 108 pp. (in Chinese with English abstract)
- Yao, M. H., C. J. Chen, and G. S. Huang. 2011. Estimating optimum temperature and light intensity for orchid of *phalaenopsis* from the measurements of carbon dioxide flux and daily carbon balance. *Crop Environ. Bioinform.* 8:172–180. (in Chinese with English abstract)
- Yoneda, K. 2007. *Phalaenopsis*. Agricultural Extension Center, National Chung Hsing University. Taichung. 180 pp.

Determination of Physiological Parameters of *Phalaenopsis* Cultivars by Using Response Surface Methodology

Jian-Cheng Ciou¹, Ting-Fang Hsieh², Jyh-Rong Tsay³, and Ting-En Dai^{4,*}

Abstract

Ciou, J. C., T. F. Hsieh, J. R. Tsay, and T. E. Dai. 2015. Determination of physiological parameters of *Phalaenopsis* cultivars by using response surface methodology. *J. Taiwan Agric. Res.* 64(2):122–134.

Phalaenopsis is one of the important export floricultural crops in Taiwan. It is mainly exported to the United States, Japan and the Netherlands. However, the primary factor accounting for the quality of seedlings has not been fully understood so that the physiological characteristics for its quality are not clear. Thus, no standards can be set up for an optimal growth conditions for the cultivated cultivars by growers. Attempt has been made for this study to develop a detection technique for examining the physiological characteristics of several *Phalaenopsis* cultivars and to use it as a service platform. With such, a better understanding of the optimal growth conditions, such as day and night temperatures and light intensity, in the vegetative and spike-forcing phases of *Phalaenopsis* plants can be reached. The information is needed to improve cultural practices for domestic production as well as to provide a reference management for countries that import these orchids. To reduce time and frequency for the examination, this study also designed a continuous carbon dioxide exchange system with multiple chambers for whole plants measurements by incorporating the response surface methodology. For cultivars of *Phalaenopsis* Sogo Yukidian '1318', *P. Sogo Plum* 'F2486', *P. Taida Smile* 'Taida Little Green' and *P. Nobby's* 'Cat Nip', the estimated optimal day and night temperatures were 28°C/23°C, 33°C/24°C, 33°C/27°C, and 33°C/28°C, respectively. The estimated optimum light intensity for cultivar *P. Sogo Plum* 'F2486' was about 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and for the rest of cultivars was about 225 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. All these experimental data will be provided to growers for verification. Due to the differences between the simulated growth chamber and the natural or greenhouse cultivation environment in other countries, as well as batch tests caused by equipment limitation and the uniformity of plants, the developed measurement technique needs to be further improved and verified in the future.

Key words: Photosynthesis, Whole-plant measurement, Variety characteristics, Response surface methodology.

Received: October 16, 2014; Accepted: December 19, 2014.

* Corresponding author, e-mail: tedai@tari.gov.tw

¹ Research Assistant, Floriculture Research Center, Taiwan Agricultural Research Institute, Yunlin, Taiwan, ROC.

² Research Fellow and Director, Floriculture Research Center, Taiwan Agricultural Research Institute, Yunlin, Taiwan, ROC.

³ Research Fellow and Deputy Director General, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

⁴ Research Fellow and Department Head, Floriculture Research Center, Taiwan Agricultural Research Institute, Yunlin, Taiwan, ROC.