

國立臺灣大學生物資源暨農學院農業化學系

碩士論文

Department of Agricultural Chemistry
College of Bio-resources and Agriculture
National Taiwan University
Master Thesis

乾旱遮蔭及施氮量對青脆枝養分及喜樹鹼含量的影響

Effect of water stress, shading and nitrogen application
rate on nutrient and camptothecin contents of

Nothapodytes foetida



Chu-Chung Chen

指導教授：鍾仁賜 博士

Advisor: Ren-Shih Chung, Ph.D.

中華民國 98 年 7 月

July, 2009

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

乾旱遮蔭及施氮量對青脆枝養分及喜樹鹼含量的影響

Effects of water stress, shading and nitrogen application rate on
nutrient and camptothecin contents of *Nothapodytes foetida*

本論文係陳柱中君 (R96623020) 在國立臺灣大學農業化學系、所完成之碩士學位論文，於民國 98 年 7 月 28 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

魏仁賜

(簽名)

(指導教授)

陳仁煇

黃裕銘

黃良得

陳建德

系主任、所長

李進厚

(簽名)

謝 誌

研究所兩年的求學期間，首先要感謝恩師 鍾仁賜教授的悉心指導，讓我在研究所短短的兩年內，學習比我想像還要多的知識，老師廣博的學問、教學熱誠、以及對學生的關心與忍耐，都是我的最佳榜樣，感謝老師的身教與言教，老師的嚴肅與幽默帶給我許多美妙的回憶。

本論文初稿承蒙中興大學陳仁炫教授與黃裕銘副教授、臺灣大學黃良得教授與陳建德助理教授的審閱潤飾，並提供許多寶貴的意見與指導，使學生在本論文能更加完善。並感謝黃良得老師與陳建德老師在平常實驗室 meeting 時提供許多指導與鼓勵，使學生在論文寫作與報告上有更多的進步。

謝謝蘇學姐和廖小姐的在平常日子的關心與照顧，感謝實驗室學長霍嘉恒用最大的耐性帶我維護 HPLC，並指導許多珍貴的實驗技巧，在論文寫作前還幫我修好電腦。吳妍儒學姊教導做實驗的方法與技巧。張義宏學長教導報告的閱讀和撰寫方法，與學長聊天過程中受到許多激勵與啟發。謝謝逸凡學姊給予許多教導，感謝盈昕學姊不時給予關心鼓勵，還有翔仁學長、仔雯學姊、存澤學長、小傑給予很多指導，還有紹華的水果，以及暑假期間來做實驗的蔡阿國。感謝火車以及阿普，跟你們一起做同學真是太好啦，不在台北的時候有人幫我照顧植物，一起出去鬼混，實驗做不出來報告寫不出來都能夠互相幫忙，幫忙採樣洗植體，趕實驗的日子大家一起哀哀叫。謝謝其他同屆好友：阿美、覃覃、依潔、小元、成康、婉媛、包子、布丁、嘿那、俊廷、阿珠、小色、阿烈、品潔、致甫。感謝實驗室學弟妹：維德、智元、凡晟、阿狗、嵩勳、品志、彥涵、頌哲、雅仙，讓我在實驗系及農化系都有最好的回憶。

感謝大學時期李達源老師收我為專攻生，在土壤研究室獲得許多寶貴的知識以及實驗的邏輯，並感謝土壤研究室的學長姐；紫慧學姊、秀卿學姐、天麟學長、秋萍學姊、健智學長、佳容學姊、婉菁學姊、瑤瓊學姊，讓我在土壤研究室度過許多開心的時光。

另外還要感謝拳修社的朋友：文煜、志穎、毓言、意鈞、阿杜、文乘、Sophie、哲鳴、尚樺、宇臣、銘洋、舜正、哲睿、tata、介正，那裡是我修練與開心的地方，以及中原國術社、板中國術社的朋友們，謝謝師父所給予的教導，不論是武術或是為人，再次謝謝 tata 幫我找到許多重要的參考文獻並且訂正許多論文的錯誤。

能夠這麼開心的念書，謝謝我的媽媽給予全力的支持，還有外婆、大舅舅、小舅舅、舅媽、阿姨、哥哥，給我最大最大的關心與容忍，也要感謝天上的外公，給我許多美好的回憶與身教。更感謝許多生活週遭的人們，給予我許多的啟發，謝謝青脆枝還有實驗過程當中所有的儀器，感謝你們，謝謝！



摘要

喜樹鹼及其衍生物可抑制癌細胞之生長，已有兩種衍生物實際運用於癌症之治療。從植物中萃取是生產喜樹鹼的主要方法，青脆枝為能產生喜樹鹼的主要植物之一，而青脆枝栽培之研究甚少被關注。本研究探討缺水及遮蔭兩種環境因子及兩種施氮量對於青脆枝生長、養分吸收及喜樹鹼產量與分布之影響。本研究於臺灣大學農場溫室進行盆栽試驗，設計為逢機完全區集排列，材料為三年生之青脆枝，試驗前裁剪去所有枝條留下部份主幹，自 2008 年 5 月 24 日主幹開始抽芽，自此進行兩個月的培植與一個月的處理。培植期間每株以尿素為氮肥施入 2 g 氮，同時以過磷酸鈣與氯化鉀提供磷與鉀，每株施 0.25 g 的磷與鉀；之後進行一個月處理，少氮處理者 (2N) 不再施入氮肥，多氮 (3N)、缺水 (3ND) 及遮蔭處理者 (3NS) 皆再施入 1 g 氮，遮蔭處理者以黑色塑膠網遮去 2/3 日照，乾旱處理者以目視判斷，待葉片出現下垂徵狀一小時後澆水，重複缺水與供水，為期一個月。8 月 24 日進行第一次採樣，留下一個枝條之葉提供後續生長所需能量，再次進行培植及處理，於 12 月 20 日採收土壤與所有植體。兩次採樣所有枝條從頂芽算起五公分之莖葉歸類為嫩莖及嫩葉，其餘者為成熟莖與成熟葉。結果顯示，所有處理之青脆枝地上部乾重無顯著差異，而乾旱可增加地下部乾重。各部位總氮、硝酸態氮與可溶性還原態氮濃度隨施氮量增加而升高，乾旱處理會減低根的錳濃度，遮蔭處理則增加全株的硝酸態氮濃度；施氮量不同對於喜樹鹼濃度無顯著差異之影響，乾旱處理可增加根部喜樹鹼濃度及產量，遮蔭處理可提高主幹的喜樹鹼濃度。青脆枝各器官喜樹鹼濃度的高低順序為根 > 主幹 > 莖 > 葉，嫩莖及嫩葉的喜樹鹼濃度較成熟部位低。

關鍵詞：青脆枝、喜樹鹼、施氮量、乾旱、遮蔭

Abstract

Camptothecin and its analogues are potent anticancer agents, and two of its semi-synthetic derivatives are now applied to clinical treatment for cancer. Most camptothecin was extracted from camptothecin-containing plants. High concentration of camptothecin alkaloids presents in *Nothapodytes foetida*, however, only few researches concentrated on the effects of cultivation on the camptothecin production in *N. foetida*. The objective of this study was to investigate the effect of nitrogen (N) application rate, water stress, and shading on the growth, nutrient uptake, and the production of camptothecin in *N. foetida*. The studied plants were three-year-old *N. foetida*, grown in the greenhouse of farm of National Taiwan University. The treatments contained low and high N application rates (2N & 3N), water stress (3ND) and shading (3NS). All treatments were replicated four times and were arranged in randomized complete block design. All shoots were cut off from the 37 cm in height above ground on May 9, 2008, and all plants sprouted on May 24, 2008. Two months of cultivation and one month of treatments were conducted after budding. Two grams of urea-N, 0.25 g superphosphate-P and 0.25 g KCl-K per plant were applied on May 24, 2004. Later one gram urea-N per plant was applied to each plant except the 2N treatment on July 8, 2004. For water stress treatment, the plants were withheld water until leaf wilting. After one jour of the leaf wilting, the plants were watered and a new drought cycle started. The shading treatment was processed with a black shade cloth that reduces 66% full sunlight. On October 24, all shoots were harvested with one shoot remaining. Then another treatment cycle was conducted. The whole plants were harvested after the second treatments. Five centimeter from the top of each shoot was defined as young leaves and young stems, and the remaining parts were mature leaves and mature stems.

The results showed that treatments had no significant effect on the dry weight of

the upper parts of plants; however, water stress treatment resulted in increase in the dry weight of root. The higher rate of N application resulted in increase in the concentration of total N, nitrate-N, and soluble reduced N of plants. There was no significant effect of treatment on the camptothecin concentration. Water stress resulted in decrease in the manganese concentration of the root, and increase in the amount and concentration of camptothecin of the root. Shading resulted in increase in the concentrations of the nitrate-N of all parts of plants and camptothecin of the trunk. The camptothecin concentration in different parts of plants decreased in following order: root > trunk > stem > leaf. The camptothecin concentrations were lower in young leaves and young stems than that in mature parts.

Key words: *N. foetida*, Camptothecin, Nitrogen application rate, Water stress, Shading



目 錄

謝 誌	I
摘 要	III
ABSTRACT	IV
目 錄	VI
圖 目 錄	VII
表 目 錄	VIII
附表目錄	IX
附圖目錄	X
前 言	1
前 人 研 究	3
材 料 與 方 法	11
結 果	23
一、青脆枝收穫後土壤基本性質	23
二、青脆枝生長、養分吸收與分布	27
三、喜樹鹼的產量與分佈	53
討 論	58
一、 栽培後土壤的基本性質	58
二、 青脆枝的生長及營養狀態	58
三、 處理對青脆枝生長的影響	61
四、 喜樹鹼在青脆枝的分布	64
結 論	67
參 考 文 獻	68
附 錄	78

圖目錄

圖一、喜樹鹼及其衍生物之化學結構.....	5
圖二、喜樹鹼的合成途徑.....	8
圖三、種植期間之溫室內最低溫、最高溫及均溫.....	15
圖四、各種處理對青脆枝兩次採樣葉片脯胺酸濃度的影響.....	30
圖五、不同處理對青脆枝各部位總氮濃度的影響.....	31
圖六、不同處理對青脆枝各部位硝酸態氮濃度的影響.....	34
圖七、不同處理對青脆枝各部位不溶性氮濃度的影響.....	35
圖八、不同處理對青脆枝各部位可溶性還原態氮濃度的影響.....	36
圖九、不同處理對青脆枝各部位磷濃度的影響.....	38
圖十、不同處理對青脆枝各部位鉀濃度的影響.....	40
圖十一、不同處理對青脆枝各部位鈣濃度的影響.....	43
圖十二、不同處理對青脆枝各部位鎂濃度的影響.....	45
圖十三、不同處理對青脆枝各部位鐵濃度的影響.....	49
圖十四、不同處理對青脆枝各部位錳濃度的影響.....	50
圖十五、不同處理對青脆枝各部位銅濃度的影響.....	51
圖十六、不同處理對青脆枝各部位鋅濃度的影響.....	52
圖十七、不同處理對青脆枝各部位喜樹鹼濃度的影響.....	54
圖十八、以 HPLC 測定喜樹鹼與 10-羥基喜樹鹼標準品之圖譜.....	56
圖十九、以 HPLC 測定青脆枝喜樹鹼之圖譜.....	57

表 目 錄

表一、喜樹鹼及衍生物含量於青脆枝的存在分布	9
表二、青脆枝施肥與採樣計畫	14
表三、高效液相層析儀之動相條件	22
表四、青脆枝收穫後，不同處理對土壤基本性質的影響	24
表五、裁剪前青脆枝的養分組成	28
表六、不同處理對青脆枝各部位乾重的影響	29
表七、不同處理對青脆枝各部位總氮含量的影響	32
表八、不同處理對青脆枝各部位磷含量的影響	39
表九、不同處理對青脆枝各部位鉀含量的影響	41
表十、不同處理對青脆枝各部位鈣含量的影響	44
表十一、不同處理對青脆枝各部位鎂含量的影響	46
表十二、不同處理對青脆枝各部位喜樹鹼含量的影響	55



附表目錄

附表一、種植前土壤之基本性質	78
附表二、不同處理對青脆枝各部位總氮濃度及含量的影響	79
附表三、不同處理對青脆枝各部位硝酸態氮濃度的影響	80
附表四、不同處理對青脆枝各部位不溶性氮濃度的影響	81
附表五、不同處理對青脆枝各部位可溶性還原態氮濃度的影響	82
附表六、不同處理對青脆枝各部位磷濃度及含量的影響	83
附表七、不同處理對青脆枝各部位鉀濃度及含量的影響	84
附表八、不同處理對青脆枝各部位鈣濃度及含量的影響	85
附表九、不同處理對青脆枝各部位鎂濃度及含量的影響	86
附表十、不同處理對青脆枝各部位鐵濃度及含量的影響	87
附表十一、不同處理對青脆枝各部位錳濃度及含量的影響	88
附表十二、不同處理對青脆枝各部位銅濃度及含量的影響	89
附表十三、不同處理對青脆枝各部位鋅濃度及含量的影響	90
附表十四、不同處理對青脆枝各部位喜樹鹼濃度及含量的影響	91

附圖目錄

附圖一、以 HPLC 測定青脆枝葉片以及喜樹鹼標準品添加圖譜.....	92
附圖二、以 HPLC 測定青脆枝葉片以及 10-羥基喜樹鹼標準品添加圖譜.....	93



前言

植物是藥物生產的重要來源，可透過採集野生植物或人工栽培以獲取植物中的有效成分，但顧及植物的永續生存及其二次代謝物的利用，藥用植物栽培的研究則變得相當重要。除了提供適量的養分來源以供植物生長外，環境因子亦是影響植物生長的重要因素，唯有適當的肥力與管理，才能達到最大的植物生產力。植物的二次代謝物通常與抵禦環境逆境有關，許多生物或非生物逆境可促進二次代謝物的合成，而對於藥用植物栽培的研究，以及在栽培過程中逆境所扮演的角色須進行更多的研究。

喜樹鹼為單萜吲哚生物鹼 (monoterpenoid indole alkaloid)，可抑制癌細胞生長，irinotecan 與 topotecan 等兩種喜樹鹼半合成衍生物，是癌症治療藥物的主要成分之一 (Namdeo et al., 2008)，並有許多衍生物進入不同地臨床測試階段。以有機合成的方式生產喜樹鹼，其步驟長、產率低、再現性低且成本高 (楊與李, 2009)；雖透過組織培養的方式亦可獲得喜樹鹼，但其濃度較植物體中低得許多，因此，從植物體中萃取喜樹鹼為目前主要的生產方式。蘊含喜樹鹼的植物有喜樹 (*Camptotheca acuminata*)、白花舌根草 (*Ophiorrhiza pumila*)、青脆枝 (*Nothapodytes foetida*) 及海狗牙花 (*Ervatamia heyneana*) 等 (Loreance and Nessler, 2004)。青脆枝原生於台灣、印度、斯里蘭卡等國家，為目前喜樹鹼濃度最高的植物，並大量栽種於台灣的台東知本與嘉義云水 (何與張, 2007)，為台灣重要的藥用植物之一。除了台灣之外，在印度的西高止山 (Western ghats) 的野生青脆枝也是主要的喜樹鹼來源之一，由於全世界對喜樹鹼的大量需求，過去十年間西高止山的野生青脆枝減少了 20 % (Padmanabha et al., 2006)，因此，以人工栽培的方式提高青脆枝中喜樹鹼產量的研究相當必要。

喜樹鹼為植物中含氮的二次代謝物，一般認為植物鹼的生成與碳氮的平衡有關 (Bryant et al., 1983)，而許多單萜吲哚生物鹼對於環境的逆境敏感，例如長春花遭受乾旱逆境時 ajamaline 濃度上升 (Jallel et al., 2007)；另一種生產喜樹鹼的植物-

喜樹其喜樹鹼濃度在遮蔭及缺水狀態下較高 (Liu, 2000; Wang et al., 2004)；在喜樹與白花舌根草此二植物中，其喜樹鹼在嫩莖及嫩葉中最高 (López et al., 1994; Yamazaki et al., 2004)，但遮蔭、乾旱對青脆枝中喜樹鹼合成之影響及喜樹鹼在不同部位之分布相關的研究較少。因此，本研究探討兩種施氮量、乾旱及遮蔭，對於青脆枝生長、養分吸收及喜樹鹼生產與分布之影響。



前人研究

一、青脆枝簡介

青脆枝，又名馬臭比木或臭馬比木，學名為 *Nothapodytes foetida* (Sleumer) 或 *Nothapodytes nimmoniana* (Graham)、*Mappia foetida*，分類上為茶茱萸科 (Iacinaceae) 鷹紫花屬 (*Nothapodytes*)，因莖部青綠且含水量高易折斷，故名為青脆枝。為常綠小喬木或灌木，葉色綠、長 10-20 公分、寬 5-12 公分，葉片呈螺旋狀生長或互生，具葉柄約 2-3 公分，葉狀為橢圓形廣卵形，基部為楔形而葉端漸尖為銳形、全緣，葉面光滑而嫩葉有毛，羽狀側脈，一葉約 6-8 脈。花兩性，為白色單瓣、頂生、聚繖花序或繖房花序。核果長橢圓狀卵形或卵圓形，初期綠色漸轉為紫紅色，成熟時紫黑色，長約二公分。主要分布於印度、斯里蘭卡、柬埔寨、琉球、中國大陸、臺灣的蘭嶼及綠島 (Li, 1977; 章, 1991; 李, 2004; 莊與傳, 2005; 徐等, 2006)。

適合青脆枝生長為 pH 6.5 以上排水良好，有機質含量高的砂質壤土或石礫含量高的土壤，最適生長溫度為 25-35°C。青脆枝從第二年開始開花，始花期約為十二月下旬，花期可維持至隔年三月。在台東地區冬季間若有寒流來襲，則在短時間內即落葉完成。一般均採種子繁殖青脆枝，採黑色成熟種子立即剝去種皮及皮肉，直接播入苗床，約需 20 至 30 天發芽，苗期管理的重點為充足的水分，初期若行 50% 簡易遮光處理或於室內培育則生長迅速，發芽後三個月可除去遮光網，進行綠化健化管理，當苗高為 30 至 40 公分可定植於田間 (江, 2003)。

二、青脆枝活性成分

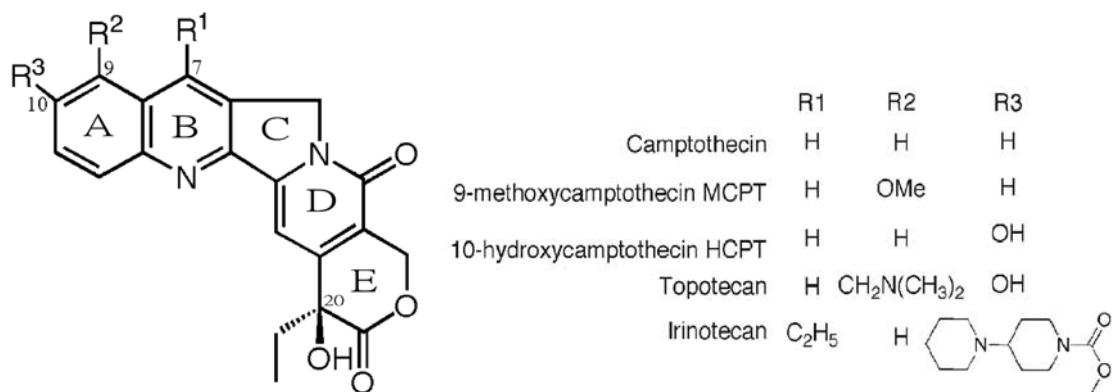
青脆枝最早由 Govindachari 等人 (1972) 發現含喜樹鹼，其他研究顯示青脆枝植體含：(+)-1-hydroxypinoresinol、 ω -hydroxypropioguaiacone、*p*-hydroxybenzaldehyde、*O*-acetylcampothecin、scopoletin、uracil, thymine、sitosterol、sitosteryl- β -D-glucoside、3 β -hydroxy-stigmast-5-en-7one、stigmast-5-en-3 β 、7 α -diol, 6 β -hydroxy-stigmast-4-en-one、sitost-4-en-3-one、18, 19-dehydrocamptothecin、linoleic acid、trignelline、campothecin、9-methoxycampothecin、pumiloside、nothapodytine-A, -B

(Aiyama et al., 1988; Wu et al., 1995; Wu et al., 1996; 吳, 2004)。

三、喜樹鹼及其衍生物的結構與活性機制

喜樹鹼 (camptothecin) 最早在由 Wall 等人 (1960) 從喜樹 (*Camptotheca accuminata*) 的心材和樹皮分離並鑑定結構；具抑制結腸及胃腫瘤之活性，其水溶性低故早期研究皆溶於鹽類溶液，但喜樹鹼之鹽類化合物毒性高如抑制骨髓形成及造成出血性膀胱炎，因此於癌症治療上的研究逐漸停止。於 1980 年代後期，發現喜樹鹼可抑制真核生物異拓撲酶 (topoisomerase I, Topo I) 之活性 (Hsiang et al., 1985)，喜樹鹼可對 Topo I 產生穩定作用使 Topo I 無法從 DNA 游離，而形成了 CPT-DNA-Topo I 的錯合物，此錯合物會對 DNA 的合成產生物理性屏障，作用於細胞週期的 S-phase，最後導致細胞死亡。而目前已有兩種高水溶性且毒性較低的喜樹鹼半合成衍生物，分別為治療卵巢癌及小細胞肺癌的 Topotecan，以及用於直腸結腸癌治療的愛萊諾迪肯 (Irinotecan，又稱 CPT-11) 為抗癌藥物的主要成分之一，在 2002 年兩者產值達到七億美金，而 2003 年產值達到十億美金 (Namdeo et al., 2008)。

喜樹鹼 (camptothecin) 分子式為 $C_{20}H_{16}N_2O_4$ ，化學結構如圖一所示，為單萜吲哚生物鹼 (monoterpenoid indole alkaloid)，水溶性低，為平面五環，AB 環屬於喹啉環 (quinoline ring)，在此兩環上進行修飾可增加其活性，C 環屬於吡咯環 (pyrrole ring)，D 環屬於內酰胺環 (lactam ring)，E 環屬於內酯環 (lacton ring)，對掌中心 (chiral center) 位於 C-20, 20(S) 的活性為 20(R) 之 10-100 倍 (Strivastava et al., 2005)。分離自喜樹的 10-hydroxycamptothecin，與分離自青脆枝的 9-methoxycamptothecin，皆是喜樹鹼的天然衍生物，水溶性較喜樹鹼高，與喜樹鹼同樣具有抗癌的活性 (Zhou et al., 2000; Lorence et al., 2004)。



圖一、喜樹鹼及其衍生物之化學結構

Fig. 1. Chemical structure of camptothecin.

四、二次代謝物

一次代謝物是指植物完成生命現象中所必須的物質，而二次代謝物在植物的合成對植物細胞本身重要性，二次代謝物皆衍生自一次代謝物，非所有植物所共有，也就是某一特定二次代謝物僅能在某一種植物或某一屬植物中發現。植物二次代謝物可分三類：萜烯類 (terpenes)、酚類 (phenolics) 及含氮化合物 (nitrogen-containing compounds)。

植物鹼為鹼性的含氮活性物質，大部分的植物鹼中含氮的部份皆衍生自胺基酸，而植物鹼其他含碳的骨架則是萜類代謝途徑的產物。植物鹼一開始被認為是植物中氮的儲存物質或是含氮化合物的代謝廢物，而目前較被接受的理論是與植物體對環境逆境的抗性相關，如保護植物不受昆蟲或動物所傷害。

喜樹鹼為單萜吲哚生物鹼，許多該類生物鹼具醫療價值，如具有抑制腫瘤 (antitumor)、抗發炎 (antiinflammatory)、抗 HIV 病毒、殺菌及抗瘧疾 (antimalarial activity)，因此，被廣泛的研究，目前已有超過 2000 種單萜吲哚生物鹼被分離 (Osorio et al., 2008)。該類生物鹼皆是由色胺 (tryptamine) 和 secologanin 經由異胡豆荳合成酶 (strictosidine synthase, SSS)，形成異胡豆荳 (strictosidine)，異胡豆荳合成酶上無任何的輔因子 (cofactor)，在植物體中不可移動 (Kutchan, 1993)。

五、喜樹鹼的分布

大部分的二次代謝物在植物界的分布，皆存在演化上的關係，也就是在分類上相近的植物可找到某一特定的二次代謝物，但含喜樹鹼的植物在被子植物門中的分布超越演化上的分類，目前發現含喜樹鹼的植物包括珙桐科 (Nyssaceae) 的喜樹 (*Camptotheca acuminata*)、茜草科 (Rubiaceae) 的白花舌根草 (*Ophiorrhiza pumila*)、及日本舌根草 (*Ophiorrhiza japonica*)、夾竹桃科 (Apocynaceae) 的海木狗牙花 (*Ervatamia heyneana*)、胡蔓藤科 (Gelsemiaceae) 的 *Mostuea brunonis*，而茶茱萸科有三株植物被發現含喜樹鹼，分別為青脆枝 (*N. foetida*)、*Merriliodendron megacarpum* 及 *Pyrenacantha klaineana*。(Lorence and Nessler, 2004; Kai et al., 2008; Lu, 2008)

喜樹鹼在不同部位的分布量因植物而異，在白花舌根草中，嫩葉的喜樹鹼濃度及含量較成熟葉高，全株的喜樹鹼濃度以花最高、其次為嫩葉及成熟莖，根的喜樹鹼濃度次之 (Yamazaki et al., 2003)；在喜樹中嫩葉的喜樹鹼濃度比成熟葉高，從嫩芽算起 10 公分的濃度為後面部分的 10 倍，其次為種子、根皮及樹皮，根及莖的喜樹鹼濃度最低 (López et al., 1994)，而喜樹的嫩莖及嫩葉中的分泌組織較成熟部分多，推測喜樹中喜樹鹼在嫩葉的累積和分泌組織有關 (Liu, 2004)。青脆枝不同部位喜樹鹼濃度如表一所示，喜樹鹼的濃度分布則是呈現種子最高，其次為根皮、根、莖，而葉片的喜樹鹼濃度最低 (Fulzele et al., 2005)。

六、喜樹鹼的生合成

喜樹鹼的生合成途徑如圖二所示。Hutchinson 等人 (1979) 利用 ^{14}C 與 ^3H 示蹤，得知 strictosidine 與 strictosamide 是異胡豆苷與喜樹鹼之間的中間產物，而到目前為止異胡豆苷至喜樹鹼之前的中間產物及酵素尚未被完全了解，目前認為喜樹鹼的前驅物包括 3(S)-Pumiloside、3(S)-Deoxypumiloside 以及 3(R)-Deoxypumiloside (Aimi et al., 1989; Kitajima et al., 1997)。Yamazaki 等人 (2004) 認為在白花蛇根草中，secologanin 來自於 2C-methyl-d-erythritol 4-phosphate pathway 而非 mevalonic pathway，而色胺來自於莽草酸途徑 (shikimate pathway)。

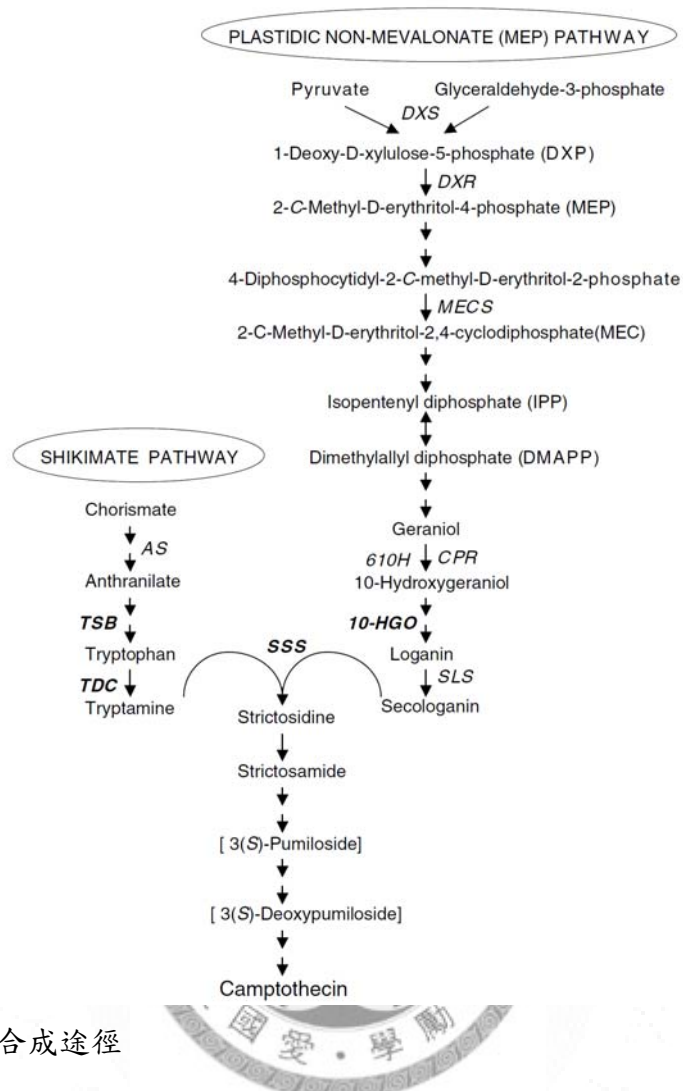
在青脆枝、喜樹及白花蛇根草中，異胡豆苷合成酶的酵素活性與基因表現量，皆是呈現根部最大、主幹次之，而葉片中偵測不到基因的表現，酵素活性較其他部位低得許多，因此，認為喜樹鹼在根部合成，之後以水溶性較高的型態往上運送 (López et al., 1994; Yamazaki et al., 2003)。

七、環境因子對二次代謝物的影響

病原菌的感染可增加鴉片罌粟 (*Papaver somniferum*)、加州罌粟 (*Eschscholtzia californica*) 及長春花 (*Catharanthus roseus*) 生物鹼的生成 (Roewer et al., 1992; Kutchan, 1993; Facchini et al., 1996)；乾旱可增加長春花 (*Catharanthus roseus*) 中 ajmalicine 的含量 (Jallel et al., 2007; Jallel et al., 2008)，不同光照強度則透過光敏素 (phytochrom) 調節長春花中的生合成，在遮蔭的條件下 vindoline 的產量則會降低 (De Luca et al., 1986; Aerts and De Luca, 1992; Vazquez-Flota and De Luca, 1998, Schröder et al., 1999)，喜樹幼苗在遮蔭的條件下喜樹鹼濃度及產量，皆較不遮蔭者高，且喜樹鹼濃度隨著遮光程度上升，而遮光率大於 60% 喜樹鹼濃度呈現下降趨勢 (Wang et al., 2004)；樹齡二年的喜樹，其葉片喜樹鹼濃度在乾旱逆境中上升 (Liu, 2000)。

八、喜樹鹼生產之研究

喜樹鹼的有機合成所需步驟長、產率低、再現性低及成本高 (楊與李，2009)，因此，目前喜樹鹼的生產仍從植物體中萃取為主要方法。以組織培養的方式生產喜樹鹼亦是另一可行的方法，最早由 Sakato 等人 (1974) 從喜樹進行組織培養，其喜樹鹼濃度為 3 mg kg⁻¹，Fulzele 等人 (2002) 進行青脆枝根細胞組織培養，其喜樹鹼濃度為 100 mg kg⁻¹ 而 9-甲氧基喜樹鹼 (9-methoxycamptothecin) 濃度為 16 mg kg⁻¹，相對於植物體中的喜樹鹼濃度而言低。Silvestrini 等人 (2002) 在喜樹的細胞懸浮液中加入喜樹鹼合成的前趨物，喜樹鹼的合成不受影響，目前為止，喜樹鹼的生產方法是從植物體中萃取。



圖二、喜樹鹼的合成途徑

Fig. 2. Biosynthetic pathway for monoterpene indole alkaloids in camptothecin producing plants (Lorence and Nessler, 2004).

表一、喜樹鹼及衍生物含量於青脆枝的存在分布

Table 1. Sites of accumulation of the antitumor alkaloid camptothecin and its natural derivatives in various parts of *N. foetida*

Sample origin	Tissue analyzed	Camptothecinoids content (mg kg ⁻¹ DW)	Reference
	Young leaves	CPT 4000-5000	López et al. (1994)
Okinawa, Japan	Stem wood	CPT 1400-2400 dCPT 19	Aiyjma et al. (1988)
Taiwan	Stem	ACPT 0.24	Wu et al. (1995)
Taiton, Taiwan	Root	CPT 4900, MCPT 4700	Li et al. (2005)
	Stem	CPT 3900, MCPT 3000	
Taiwan	Leaf	MCPT 700	江 (2003)
	Stem	MCPT 760	
	Trunk	MCPT 1060	
	Trunk bark	MCPT 1900	
	Trunk wood	MCPT 810	
Mahabalehwar, India	Shoot	CPT 750, MCPT 130	Roja and Heble (1994)
Mahabalehwar, India	Leaves	CPT 500, MCPT 100	Fulzele et al. (2005)
	Stem	CPT 800, MCPT 400	
	Root	CPT 1600, MCPT 700	
	Root Bark	CPT 2700, MCPT 1100	
Karnataka, India	Leaf	CPT 810	Padmanabha et al.
	Stem bark	CPT 2360	(2006)
	Stem wood	CPT 1400	
	Root wood	CPT 1800	
	Root bark	CPT 3500-7750	
India	Leaf	CPT 100	Govindachar and
	Stem	CPT 600, MCPT 10	Viswanathan (1972)
	Bark	CPT 800, MCPT 10	
	Root	CPT 1000, MCPT 20	

CPT, camptothecin; dCPT, (20S)-18-19 dehydro CPT; MCPT, 9-methoxy CPT.



照片一、青脆枝照片
Plate 1. The *N. foetida*.

材料與方法

材料

一、土壤

土壤採自嘉義縣義竹鄉，屬將軍系，質地為壤土。土壤採取前種植太陽麻 (*Crotalaria juncea* L.) 當綠肥，並已翻犁入土壤中。

二、肥料

氮、磷、鉀、鎂分別使用尿素、過磷酸鈣、氯化鉀和硫酸鎂。

三、試驗作物

青脆枝 (*N. foetida* (W.) Sleumer)。於 2005 年 4 月 7 日將種苗移植於 1/2,000 a 裝 10 公斤風乾土的 Wagner 盆中，每盆兩株，置於臺灣大學農場溫室旁空地，2005 年 8 月 25 日至 10 月 14 日盆栽改置於溫室內，期間施用之氮肥為尿素、磷肥為過磷酸鈣、鉀肥為氯化鉀，每兩個月每株施氮 1.0 g、磷 0.5 g、鉀 0.5 g，氮與鉀皆以液肥方式施入，磷肥以固體的方式施於土壤表面。

方法

一、處理與設計

於 2008 年 5 月 9 日從盆上 37 公分處裁剪，留下青脆枝主幹，5 月 22 日抽出新芽，5 月 24 日開始第一次培植。試驗時間從 5 月 24 日開始至 12 月 20 日結束，於 8 月 24 日與 12 月 20 日進行兩次採樣，第一次採樣前歷經 61 天的培植，之後進行一個月的處理，於 8 月 24 日進行第一次採樣，並開始另一次培植；由於第一次採樣為八月底，在地二次培植期間氣溫較低，故延長第二次培植時間至 84 天，培植後進行一個月的處理。本試驗進行複因子處理，變因為施氮量、乾旱及遮蔭，每因子各為二變級，每處理四重複，四種處理分別為：

少氮 (2N)：三個月的試驗期間每株施入 2 g 氮；

多氮 (3N)：三個月的試驗期間每株施入 3 g 氮；

乾旱 (3ND)：三個月的試驗期間每株施入 3 g 氮並加上乾旱處理；

遮蔭 (3NS)：三個月的試驗期間每株施入 3 g 氮並加上遮蔭處理。

施肥及採樣時間如表二所示。

第一次培植為 5 月 24 日至 7 月 24 日，為期二個月；第二次為 8 月 24 日至 11 月 18 日，為期二個半月，兩次培植後皆進行一個月的處理。於 8 月 24 日、12 月 24 日進行採樣。於培植期間每株施入 1 g 氮、0.25 g 磷、0.25 g 鉀，7 月 24 日與 11 月 18 日開始乾旱及遮蔭處理，所有處理者皆再施入 1g 氮，8 月 2 日少氮處理者 (2N) 不再施肥，其餘處理者皆再施入 1 g 氮，乾旱處理以目視判斷，待葉片出現下垂症狀一小時後澆水，於處理期間重複缺水與供水，遮蔭處理則以黑色塑膠網遮去 2/3 日照。

二、氣候

種植期間溫室內之溫度如圖三所示。以溫濕度計 (SATO SK-LTH IIα Datalogger, Tokyo, Japan) 紀錄溫室內溫度，計算每月均溫、最低溫及最高溫。

三、採樣

於 2008 年 8 月 24 日進行第一次採樣，留下一個枝條以提供後續生長所需能量，12 月 20 日採收所有植體及土壤。兩次採樣中所有於試驗期間抽出的枝條，從頂芽算起 5 cm 的莖葉皆歸類為嫩莖 (young stems, YS) 及嫩葉 (young leaves, YL)，其餘部分為成熟莖 (mature stems, MS) 與成熟葉 (mature leaves, ML)，在試驗前原本存在的部份則歸類為主幹 (trunk) 與根 (root)，兩次採樣前，皆採取部份葉片測定脯胺酸 (prline) 含量。

四、樣本處理

青脆枝植株以清水沖洗乾淨後再以去離子水沖洗，於 50°C 烘乾至恆重。

五、樣本分析

青脆枝採樣前皆取部份新鮮葉片測定脯胺酸濃度，烘乾植體測定總氮、

硝酸態氮、不溶性氮、可溶性還原態氮、磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅及喜樹鹼濃度。青脆枝收穫後測定土壤 pH 值、飽和水抽出液的比導電度值、有機質、總氮、銨態氮、硝酸態氮、Bray-1 磷、Mehlich III 萃取之鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅及鋅。

(一) 試劑

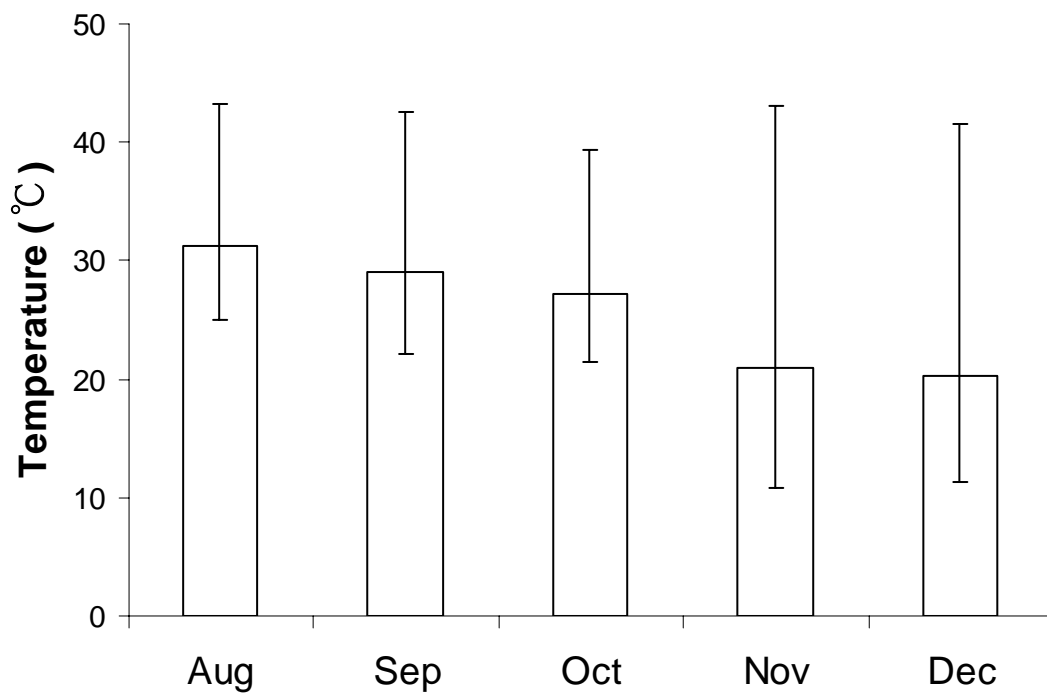
1. 反應液 (reaction mixture), 0.7 M 氨水 (ammonia water): 50 mL 濃氨水, 以蒸餾水稀釋成 1,000 mL。
2. 萃取液 (extraction mixture), 1 N HCl 溶液: 83 mL 濃鹽酸, 以去離子水稀釋成 1,000 mL。
3. 硫酸錳溶液 (MnSO₄ solution): 10 g 硫酸錳 (MnSO₄ · 7H₂O) 溶於 51 mL 冰醋酸中, 再以去離子水稀釋成 1,000 mL。
4. 鋅粉 (zinc powder): 通過 180 mesh 之篩網。
5. 重氮試劑 (diazoting reagent): 0.5 g 對胺苯磺醯酸 (sulfanilamide) 溶於 100 mL 2.4 N 鹽酸溶液中。
6. 偶合試劑 (coupling reagent): 0.3 g N-1 萘乙二胺 (N-(1-naphthyl-1)-ethylenediamine) 溶於 100 mL 0.12 N 鹽酸溶液中。
7. 單一試劑 (single solution)
 - (1) 5 N 硫酸: 將 70 mL 濃硫酸稀釋至 500 mL。
 - (2) 鉬酸銨溶液: 將 20 g 鉬酸銨 [(NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4 H₂O] 溶於去離子水中並定量至 500 mL。
 - (3) 抗壞血酸 (ascorbic acid): 將 1.32 g 抗壞血酸溶於 75 mL 去離子水中。
 - (4) 酒石酸銻鉀 (1 g Sb L⁻¹) 溶液: 將 0.2743 g 酒石酸銻鉀 (KSbC₄H₄O₇) 溶於去離子水中稀釋成 1,000 mL。

表二、青脆枝施肥與採樣計畫

Table 1. The fertilizer application rate and sampling schedule of *N. foetida*

	N ¹ (g plant ⁻¹)				P ¹ (g plant ⁻¹)	K ¹ (g plant ⁻¹)
	2N	3N	3ND	3NS		
2008/5/24	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	0.25
2008/7/8	0.5	0.5	0.5	0.5	-	-
2008/7/24	1	1	1	1	-	-
2008/8/2	-	1	1	1	-	-
2008/8/24	The first sampling					
	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	0.25
2008/10/9	0.5	0.5	0.5	0.5	-	-
2008/11/18	1	1	1	1	-	-
2008/11/28	-	1	1	1	-	-
2008/12/20	The second sampling					

¹ N applied as urea; P applied as superphosphate; K applied as potassium chloride



圖三、種植期間之溫室內最低溫、最高溫及均溫

Fig. 3. Monthly minimum, maximum, and mean temperature during the planting time in the greenhouse.

- (5) 250 mL 混合液：將 125 mL 5 N 硫酸、37.5 mL 鉬酸銨、75 mL 抗壞血酸及 12.5 mL 酒石酸銻鉀混合後即可使用，但由於抗壞血酸易氧化，所以混合液不宜放置 24 小時以上，抗壞血酸宜於使用前加入。
8. Mehlich III 萃取劑 (Mehlich III extraction mixture)：0.2 N 醋酸、0.25 N 硝酸銨、0.015 N 氟化銨、0.013 N 硝酸及 0.001 M EDTA (Mehlich, 1985)。
9. Bray No. 1 萃取液：取 15 mL 1.0 N 氟化銨溶液及 25 mL 0.5 N 稀鹽酸溶液混合，定量至 500 mL。
10. 氯化鉀 (KCl) 溶液 (2 M)：將 149 g 氯化鉀以去離子水溶解，稀釋至 1,000 mL。

(二) 土壤基本性質分析

1. pH 值 (1:1) (McLean, 1982)
- 秤 20 g 土壤於塑膠燒杯中，加入 20 mL 去離子水，以玻璃棒攪勻後靜置一小時，期間偶爾攪拌之，以 pH 計測定。
2. 飽和水導電度 (Rhoades, 1982)
- 秤 50 g 土壤於塑膠燒杯中，加去離子水達飽和，以玻璃棒攪勻後靜置一小時，期間偶爾攪拌之，抽氣過濾後收集濾液，以導電度計測定。
3. 總氮 (Bremner, 1965)
- (1) 秤取 1 g 土壤置於分解管中，加入 2 mL 去離子水靜置 30 分鐘，加入 1.1 g 分解促進劑 (硫酸鉀：硫酸銅：硒 = 100 : 10 : 1)，加入 0.3 g 水揚酸及 7 mL 濃硫酸，混合均勻，靜置過夜 (需將分解管封口以免吸收氮氣) 後加入 0.3 g 硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)。
- (2) 以微火加熱 (100°C)。至不產生泡沫時，以每 20-30 分鐘升溫 50°C 之速度加熱至 350°C ，以 350°C 之溫度加熱至固體分解而硫酸溶液成醬油色。
- (3) 取出分解管，使之冷卻，加入 2 mL 30% 之過氧化氫，繼續以強火加

熱，至澄清，並使過氧化氫分解（約需 20 分鐘）。

(4) 未澄清，則重複步驟 (3) 至澄清為止。

(5) 冷卻，加少許去離子水使之釋出部分稀釋熱。

(6) 將分解液轉移至 50 mL 定量瓶，並定量至 50 mL，均勻混合之。過濾並轉移至塑膠瓶中貯藏待用。

(7) 以自動分析儀 (SKALAR, Breda, Netherlands) 測定總氮。

4. 硝酸態氮

秤取 5 g 土壤，以 50 mL 2.0 M 氯化鉀溶液振盪萃取二小時後過濾。

(1) 取 10 mL 濾液於 250 mL 三角瓶中，加入 39 mL 0.7 M 氨水和 1 mL $MnSO_4$ 溶液，使其總體積為 50 mL。

(2) 加入 100 mg 鋅粉，振盪 30 分鐘。

(3) 過濾並取 2 mL 濾液至 50 mL 量瓶中，加入約 40 mL 蒸餾水、1 mL 重氮試劑混合均勻。

(4) 五分鐘後加入 1 mL 偶合試劑，混合均勻，呈色 30 分鐘後，在 540 nm 下測定吸光值。

5. 銨態氮

取上述 2 M KCl 萃取液 10 mL，加入氧化鎂粉末約 0.3 g，以蒸餾法測定銨態氮。

6. Bray No. 1 磷

土壤與 Bray No. 1 萃取液以 1 : 10 之比例，震盪五分鐘後過濾，而後取適量體積以 Murphy 與 Riley (1962) 單一試劑比色法測定其磷濃度。

7. Mehlich III 可萃取性陽離子 (Mehlich, 1985)

秤取 4 mL 之土壤於 50 mL 之塑膠離心管內，加入 40 mL Mehlich III 萃取液，於 200 rpm 下震盪五分鐘，後以 Whatman[®] No. 1 濾紙過濾。以原子吸收光譜儀測定鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅與鋅之濃度。

8. 有機物測定 (Ball, 1964)

- (1) 秤乾淨之坩鍋重並紀錄之 (W_0)。
- (2) 秤約 20 g 土壤至於坩鍋中，置於 105°C 下加熱二小時，放入乾燥器中冷卻至室溫後秤重 (W_1)。
- (3) 置於高溫爐 (muffle furnace) 中 250°C 下二小時，再於 375°C 下加熱時六小時，停止加熱後，在高溫爐中冷卻置 200°C 時，放入乾燥器中冷卻至室溫後秤重 (W_2)
- (4) 計算

$$\text{有機物 OM (g kg}^{-1}\text{)} = (W_1 - W_2) / (W_1 - W_0) \times 1000$$

(三) 植體分析

2. 總氮 (Bremner and Mulvaney, 1982)

- (1) 精秤 0.3 g 樣品置於分解管中，加入 0.3 g 水楊酸及 7 mL 濃硫酸，混合均勻，靜置過夜 (需將分解管封口以免吸收氮氣) 後加入 0.3 g 硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)。
- (2) 以微火加熱 (100°C)。至不產生泡沫時，以每 20-30 分鐘升溫 50°C 之速度加熱至 350°C ，以 350°C 之溫度加熱至固體分解而硫酸溶液成醬油色。
- (3) 取出分解管，使之冷卻，加入 2 mL 30% 之過氧化氫，繼續以強火加熱，至澄清，並使過氧化氫分解 (約需 20 分鐘)。
- (4) 未澄清，則重複步驟 (3) 至澄清為止。
- (5) 冷卻，加少許去離子水使之釋出部分稀釋熱。
- (6) 將分解液轉移至 50 mL 之量瓶，並定量至 50 mL，均勻混合之。過濾並轉移至塑膠瓶中貯藏待用。
- (7) 以自動分析儀測定總氮。

3. 硝酸態氮

以 Blacquirer 等人 (1987) 的方法萃取樣品中的硝酸態氮，然後以 Broaddus 等人 (1965) 的方法，將所萃取之硝酸態氮還原為亞硝酸態氮，再以修改之 Griess Ilosvay 方法 (Keeney and Nelson, 1982) 呈色，其分析步驟如下：

- (1) 取 0.3 g 烘乾之樣品，以 50 mL 1 N HCl 振盪萃取二小時。
- (2) 取 10 mL 抽出液於 250 mL 三角瓶中，加入 39 mL 0.7 M 氨水和 1 mL MnSO_4 溶液，使其總體積為 50 mL。
- (3) 加入 100 mg 鋅粉，振盪 30 分鐘。
- (4) 過濾並取 2 mL 濾液至 50 mL 量瓶中，加入約 40 mL 蒸餾水、1 mL 重氮試劑混合均勻。
- (5) 五分鐘後加入 1 mL 偶合試劑，混合均勻，呈色 30 分鐘後，在 540 nm 下測定吸光值。

4. 銨態氮 (Keeney and Nelson, 1982)

取上述 1 N HCl 抽出液 10 mL，加入氧化鎂粉末約 0.3 g，以蒸餾法測定銨態氮。

5. 不溶性氮

- (1) 取經 1 N HCl 水溶液萃取後之殘餘物連同濾紙一起置入 65°C 烘箱乾燥，乾燥後以硫酸分解，再以自動分析儀測定。
- (2) 空白試驗以濾紙與硫酸一起分解。

6. 總可溶性還原態氮

將上述之總氮減去硝酸態氮及不溶性氮而求得總可溶性還原態氮。

7. 磷 (Murphy and Riley, 1962)

取 2 mL 分解液於 50 mL 定量瓶中，加去離子水使其體積至約 40 mL，混合後加入 8 mL 單一試劑，以去離子水定量至 50 mL，混合均勻，靜置一小時後，再 882 nm 下測定吸光值。

8. 鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅與鋅

總氮測定之分解液經適當稀釋後，以原子吸收光譜儀 (atomic absorption spectroscopy, AAS) 測定。

9. 喜樹鹼 (camptothecin)：以 Yamazaki 等人 (2003) 方法萃取、分析。

(1) 精秤 0.1 g 樣品置於 2 mL 塑膠離心管中，加入 1.8 mL 甲醇-水 (90: 10)

均勻混合，超音波振盪 30 分鐘後以 2,000 g 離心 15 分鐘，重複三次。

(2) 上述離心液以甲醇定量成 10 mL，通過 0.45 μm 之微孔濾膜。

(3) 將所得之萃取物以高效液相層析儀 (high performance liquid chromatography, HPLC)

(4) 分析條件如下：

(a) HPLC: 幫浦 (Agilent G1311A, Waldbronn, Germany)、自動取樣器 (Spectra SYSTEM AS1000, Waldbronn, Germany)、偵測器 (Agilent G1314A, Waldbronn, Germany)。

(b) 管柱：4.6 \times 250 mm C18 reverse phase column (COSMOSIL 5C18-AR-II, Nacalai Tesque, Kyoto, Japan)。

(c) 動相：條件列於表二。

(d) 注入體積為 5 μL ，流速為 0.8 mL min^{-1} ，波長為 365 nm，滯留時間為 12.4 分鐘。

(5) 標準品：

(a) 喜樹鹼 (camptothecin)：購自 Sigma，純度 > 90 %

(b) 10-羥基喜樹鹼 (10-hydroxycamptothecin)：購自默克 (Merck)，純度 98.7 %。

10. 脯胺酸 (Bate et al., 1973)

(1) 取 0.3 g 新鮮植體以 5 mL 3 % 磺基水楊酸 (sulfosalicylic acid) 研磨成均質液，取 1.5 mL 於離心管中，以 10,000 g 離心 20 分鐘。

- (2) 取 0.5 mL 上清液於 10 mL 有蓋試管中，加入 1 mL 印滿三酮 (ninhydrin) 溶液 (0.25 g 印滿三酮溶於 10 mL 醋酸中)，混合均勻。
- (3) 在 100°C 水浴 60 分鐘，取出後置於冰上五分鐘中止反應。
- (4) 加入 4 mL 甲苯，震盪 15 秒後以 1,000 g 離心 10 分鐘。取甲苯層在 520 nm 下測定吸光值。

11. 植體元素全株濃度計算：植物體所吸收該元素總重除以該株植物體乾重。

六、統計分析

統計分析使用 SAS 9.2 系統，以一般線性模式 (general linear model, GLM) 進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，鄧氏多變域分析 (Duncan's multiple range test) 進行處理均值比較測驗。



表三、高效液相層析儀之動相條件

Table 2. Chromatographic conditions for high performance liquid chromatography

Time min	Flow-rate mL min ⁻¹	Pump A Solvent A ¹	Pump B Solvent B ²
0	0.8	60	40
12	0.8	20	80
17	0.8	20	80
18	0.8	60	40
20	0.8	60	40

¹ Solvent A: water : acetic acid = 99.75 : 0.25

² Solvent B: 100 % methanol



結 果

一、青脆枝收穫後土壤基本性質

表四為青脆枝收穫後不同處理對土壤基本性質的影響，以下分別說明之。

(一) pH 值

土壤 pH 值與養分的有效性、養分存在型態、微生物活性以及土壤理化性質關係密切。青脆枝收穫後，少氮處理 (2N) 其土壤 pH 值較 3N 處理高，乾旱處理 (3ND) 其土壤 pH 亦較 3N 處理高，3NS 與 3N 二處理之土壤 pH 值無顯著差異。

不同施氮量對於 pH 值效益顯著，可能是本試驗施用尿素為氮肥，尿素可被尿素酶 (urease) 分解為銨，而銨在硝化的過程中會造成介質的 pH 值下降，因此，土壤 pH 值會隨尿素的施用量增加而降低。乾旱對於土壤 pH 值顯著，可能是因乾旱時硝化作用活性較低，因此，土壤 pH 值下降的程度較小。

(二) 土壤飽和抽出液電導度

土壤飽和抽出液電導度 (electrical conductivity, EC) 與土壤溶液中的離子濃度關係密切，溶液離子強度越大 EC 也越高，因此，EC 亦可視為一肥力指標；但當土壤溶液中離子濃度過高，易造成滲透壓逆境以及離子的毒害，一般而言，土壤飽和電導度超過 4 dS m^{-1} 會對於植物生長造成阻礙。青脆枝收穫後所有處理之 EC 值約在 $2\text{-}3 \text{ dS m}^{-1}$ 之間。

(三) 氮

大部分的氮存於岩石圈中，其次為存在於大氣中的氮氣，土壤中的氮僅佔所有岩石圈的少量。而氮在土壤中可分為有機及無機兩種型態，大部分的氮以有機態氮存在，無機態氮包括銨態氮及硝酸態氮，一般而言，在土壤中無機態氮很少超過總氮的 2%，但卻是植物吸收氮的主要型態；除了施肥可增加土壤的無機態氮，有機態氮的礦化作用也是提供無機態氮供植物吸收的重要來源。

表四、青脆枝收穫後，不同處理對土壤基本性質的影響

Table 4. Effect of different treatments on soil properties after harvesting of *N. foetida*

Treatments	pH	EC ²	TN	NO ₃ -N	NH ₄ -N	Bray-1 P	
	(1:1)	(dS m ⁻¹)	(g kg ⁻¹)	mg kg ⁻¹			
2N	6.7 ± 0.1 ^{a1}	1.78 ± 0.37 ^b	1.3 ± 0.1 ^b	14 ± 6 ^b	5 ± 2 ^b	70 ± 20 ^a	
3N	6.3 ± 0.2 ^b	2.26 ± 0.84 ^b	1.3 ± 0.1 ^b	91 ± 45 ^a	15 ± 11 ^b	87 ± 5 ^a	
3ND	6.5 ± 0.2 ^a	2.41 ± 0.43 ^{ab}	1.7 ± 0.4 ^a	43 ± 19 ^b	25 ± 5 ^a	101 ± 18 ^a	
3NS	6.2 ± 0.2 ^b	2.99 ± 0.70 ^a	1.5 ± 0.2 ^a	111 ± 59 ^a	27 ± 18 ^a	83 ± 12 ^a	

Treatment	Mehlich III extractable (mg kg ⁻¹)						
	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
2N	266 ± 55 ^a	1609 ± 68 ^{ab}	432 ± 37 ^b	529 ± 54 ^a	60 ± 9 ^a	2.7 ± 0.9 ^b	6.9 ± 0.9 ^b
3N	310 ± 78 ^a	1523 ± 98 ^{bc}	425 ± 44 ^b	538 ± 34 ^a	66 ± 12 ^a	2.7 ± 0.4 ^b	7.1 ± 0.6 ^b
3ND	299 ± 80 ^a	1649 ± 105 ^a	532 ± 76 ^a	518 ± 22 ^a	67 ± 10 ^a	3.4 ± 0.7 ^a	9.6 ± 1.5 ^a
3NS	357 ± 40 ^a	1453 ± 43 ^c	431 ± 43 ^b	568 ± 86 ^a	77 ± 14 ^a	2.2 ± 0.5 ^b	8.0 ± 1.4 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² EC: electrical conductivity of saturated extract; OM: organic matter; TN: total nitrogen.

1. 總氮

青脆枝收穫後，土壤總氮濃度為 $1-2 \text{ g kg}^{-1}$ ；少氮處理的 2N 其土壤總氮濃度與 3N 處理沒有顯著差異，乾旱處理 (3ND) 及遮蔭處理 (3NS) 其土壤總氮濃度較 3N 處理高。

2. 硝酸態氮與銨態氮

而青脆枝收穫後土壤硝酸態氮濃度為 $10-100 \text{ mg kg}^{-1}$ ，土壤銨態氮為 $5-30 \text{ mg kg}^{-1}$ 。少氮處理 (2N) 及乾旱處理 (3ND) 其土壤硝酸態氮濃度較 3N 處理低，遮蔭處理 (3NS) 土壤硝酸態氮濃度與 3N 處理沒有顯著差異；土壤銨態氮則是 2N 與 3N 二處理間無顯著差異，3ND 與 3NS 二處理之銨態氮濃度較 3N 處理高。乾旱處理 (3ND) 土壤硝酸態氮較 3N 處理少而銨態氮較 3N 處理高。

少氮處理 (2N) 土壤無機態氮 (硝酸態氮+銨態氮) 濃度為總氮之 0.5%、3N 處理約為 8%、3ND 處理約為 4% 而 3NS 處理約為 8%。

(四) Bray no. 1 磷

由於磷在土壤中容易被鐵鋁氧化物所吸附或沉澱，土壤中總磷和植物可吸收的磷相關性不佳，以 Bray no. 1 法被廣為用來評估土壤中植物有效磷，在中性及酸性土壤下可有效評估植物可吸收的磷。

在試驗中，四種處理皆使用相同量的過磷酸鈣提供磷，收穫後四種處理之土壤 Bray-1 磷在 70 至 100 mg kg^{-1} 之間，各種處理間無顯著差異。

(五) 土壤 Mehlich 可萃取性鉀

試驗中，四種處理皆使用相同量的氯化鉀提供鉀，收穫後，四種處理之土壤 Mehlich III 可萃取鉀沒有顯著差異，而土壤的可萃取鉀皆在 250 與 350 mg kg^{-1} 之間。

(六) 土壤 Mehlich 可萃取鈣與鎂

青脆枝收穫後，土壤 Mehlich III 可萃取鈣為 $1,450-1,650 \text{ mg kg}^{-1}$ ，2N 與

3N 二處理之土壤 Mehlich III 可萃取鈣無顯著差異，3ND 處理之土壤可萃取鈣比 3N 處理高，而 3NS 處理的土壤可萃取鈣與 3N 處理無顯著差異。

青脆之收穫後，土壤 Mehlich III 可萃取鎂為 420-530 mg kg⁻¹，3ND 處理之土壤可萃取鎂較其他處理高，其他處理之間並無顯著差異。

(七) 土壤 Mehlich 可萃取鐵與錳

土壤中常見的鐵有二價鐵以及三價鐵，錳則有二價錳、三價錳及四價錳，在土壤中鐵是以氧化物的形式存在，而鐵氧化物的溶解度決定土壤中鐵的有效性，土壤中的鐵與錳亦可被有機質以及礦物所吸附，大部分情況而言，鐵和錳缺乏症出現在 pH 較高的石灰質土壤，而鐵的毒害出現在浸水的土壤。青脆枝收穫後，土壤 Mehlich III 可萃取鐵為 500-600 mg kg⁻¹，Mehlich III 可萃取錳為 60-80 mg kg⁻¹；各種處理之土壤 Mehlich III 可萃取鐵與錳皆無顯著差異。

(八) 土壤 Mehlich 可萃取銅與鋅

植物主要以二價銅 (Cu²⁺)，大部分土壤中的銅與鋅被有機質以及礦物所吸附，pH 影響土壤中銅和鋅的有效性，當土壤 pH 升高則有效性降低。植物體主要吸收二價鋅，在高 pH 時亦吸收 ZnOH⁺，鋅的缺乏症主要出現在高度風化或石灰質土壤，由於鋅也會和有機質緊密結合，因此，施入過多的有機質亦可發現鋅缺乏的症狀。

青脆枝收穫後，土壤 Mehlich III 可萃取銅為 2-3.5 mg kg⁻¹，Mehlich III 可萃取鋅為 6-10 mg kg⁻¹，土壤 Mehlich III 可萃取銅與鋅濃度皆以 3ND 處理最高，其他處理之間並無顯著差異。

二、青脆枝生長、養分吸收與分布

青脆枝裁剪前莖、葉養分組成如表五所示，處理兩次採樣青脆枝之養分吸收之影響以下個別說明。

(一) 產量

青脆枝第一次採樣及第二次採樣各部位乾重如表六所示。第一次採樣時，四種處理對於青脆枝各部位的乾重無顯著影響；第二次採樣時，四種處理對於青脆枝地上部各部位的乾重無顯著影響，而乾旱處理 (3ND) 其根部以及全株乾重較其他處理者大。由於乾旱逆境可促進植物根部生長，而本試驗之青脆枝根部乾重佔全株乾重約 1/3，因此，乾旱處理可增加根部乾重，間接增加青脆枝全株乾重。

(二) 脯胺酸

青脆枝兩次採樣前葉片脯胺酸濃度如圖四所示。第一次採樣取成熟葉，而第二次採樣則同時取成熟葉與嫩葉測定脯胺酸濃度，兩次採樣均顯示乾旱處理 (3ND) 脯胺酸濃度約為其他處理者之二至三倍，顯示該試驗程度之乾旱可增加葉片中的脯胺酸濃度。

(三) 氮

1. 總氮

兩次採樣青脆枝各部位總氮濃度如圖五所示、而總氮含量如表七所示。本試驗中，青脆枝總氮濃度在葉為 30-60 g kg⁻¹，在莖為 20-50 g kg⁻¹，在主幹為 10-20 g kg⁻¹，在根部為 25-30 g kg⁻¹。少氮處理 (2N) 在兩次採樣的成熟葉、成熟莖及第一次採樣的嫩莖，其總氮濃度均較 3N 處理與其他處理低，而 2N 處理其他部位總氮濃度雖與 3N 處理無顯著差異，但趨勢上仍較 3N 處理低。乾旱處理 (3ND) 除了於第二次採樣時成熟莖的總氮濃度比 3N 處理者低；在兩次採樣的其餘部位，3N 和 3ND 二處理的總氮濃度相近。第一次採樣時，各處理所吸收的氮分布在新生枝條與葉上均無顯著差異。第二次採樣時遮蔭處理各部位及全株總氮濃度顯著高於 2N 處理者，也比其他處理者有較高之趨勢。

表五、裁前青脆枝的養分組成

Table 5. Composition of nutrients of *N. foetida* before cutting

	Leaf	Stem
TN ² (g kg ⁻¹)	27.9 ± 1.3 ¹	8.3 ± 0.8
P (g kg ⁻¹)	2.0 ± 0.0	1.2 ± 0.2
K (g kg ⁻¹)	22.9 ± 4.2	10.5 ± 1.2
Ca (g kg ⁻¹)	21.6 ± 2.6	25.6 ± 3.5
Mg (g kg ⁻¹)	2.4 ± 0.2	0.6 ± 0.2
Fe (mg kg ⁻¹)	92.6 ± 5.7	20.3 ± 2.8
Mn (mg kg ⁻¹)	41.6 ± 5.8	17.5 ± 5.6
Cu (mg kg ⁻¹)	8.8 ± 0.8	5.7 ± 1.1
Zn (mg kg ⁻¹)	36.5 ± 3.7	40.5 ± 5.8
CPT (mg kg ⁻¹)	225.2 ± 94.7	410.1 ± 19.1

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4).

² TN: total nitrogen; CPT: camptothecin.



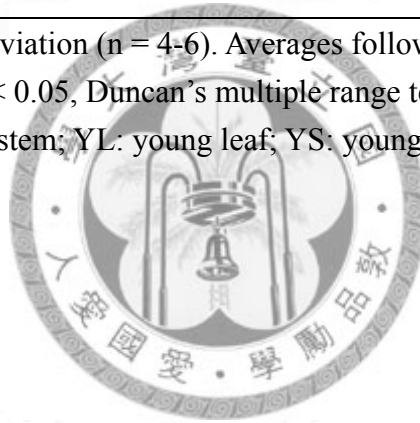
表六、不同處理對青脆枝各部位乾重的影響

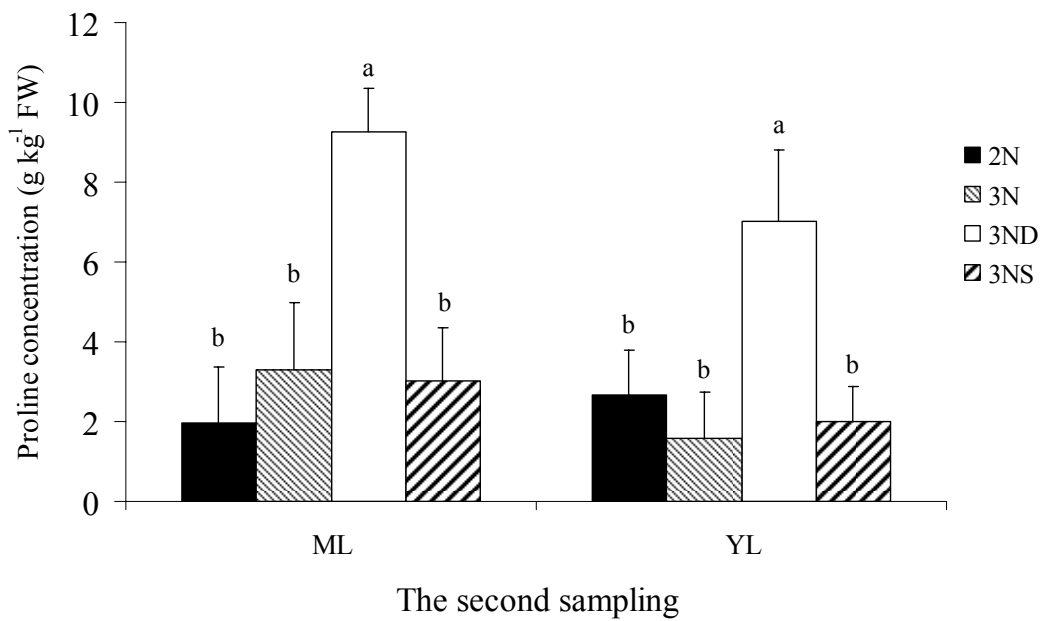
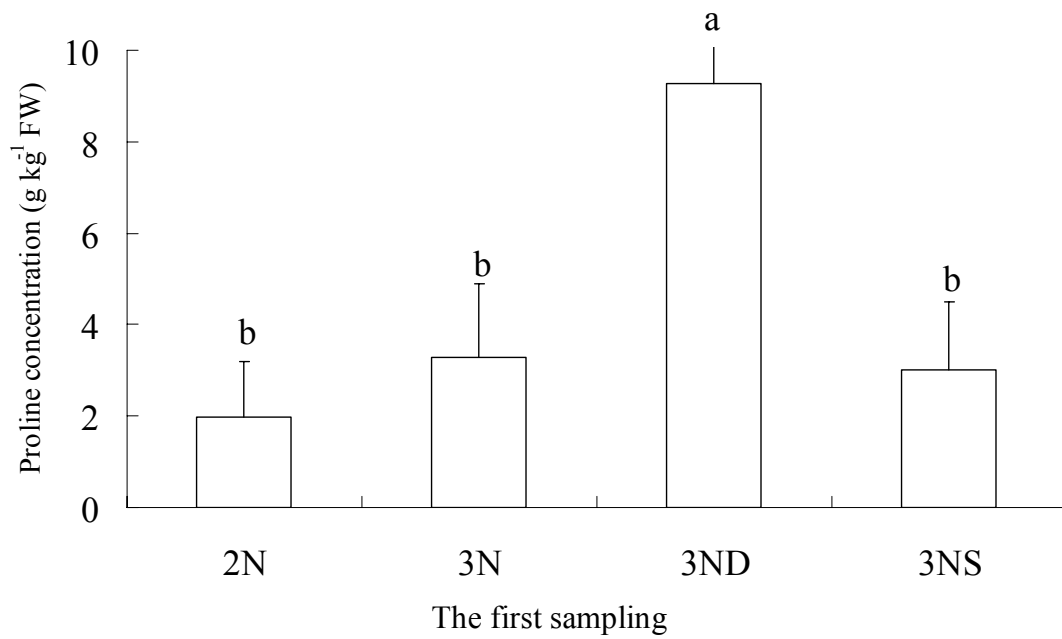
Table 6. Effect of different treatments on the dry weight in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling, g plant ⁻¹							
2N	29.1 ± 14.4 ^{a1}	10.0 ± 5.7 ^a	8.7 ± 3.9 ^a	8.4 ± 4.8 ^a	2.1 ± 0.9 ^a		
3N	21.5 ± 11.1 ^a	10.8 ± 6.2 ^a	4.0 ± 2.7 ^a	5.7 ± 4.0 ^a	1.0 ± 0.5 ^a		
3ND	22.9 ± 3.2 ^a	8.9 ± 1.7 ^a	5.6 ± 3.1 ^a	7.0 ± 1.4 ^a	1.4 ± 0.6 ^a		
3NS	30.3 ± 9.7 ^a	7.7 ± 5.4 ^a	7.0 ± 3.9 ^a	4.3 ± 2.0 ^a	1.2 ± 0.5 ^a		
The second sampling, g plant ⁻¹							
2N	137.3 ± 46.6 ^b	8.2 ± 3.7 ^a	6.5 ± 3.0 ^a	8.7 ± 4.8 ^a	1.9 ± 0.7 ^a	80.4 ± 32.4 ^a	31.7 ± 18.7 ^b
3N	123.8 ± 41.6 ^b	15.9 ± 4.2 ^a	2.4 ± 1.3 ^a	8.7 ± 6.0 ^a	1.0 ± 0.2 ^a	74.6 ± 19.5 ^a	33.0 ± 10.1 ^b
3ND	200.9 ± 41.8 ^a	6.7 ± 2.4 ^a	4.0 ± 0.6 ^a	9.3 ± 1.3 ^a	1.5 ± 0.7 ^a	112.4 ± 33.5 ^a	66.9 ± 15.7 ^a
3NS	123.5 ± 32.9 ^b	7.7 ± 4.9 ^a	5.7 ± 2.7 ^a	7.1 ± 3.7 ^a	1.8 ± 1.0 ^a	70.0 ± 19.4 ^a	31.2 ± 16.3 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

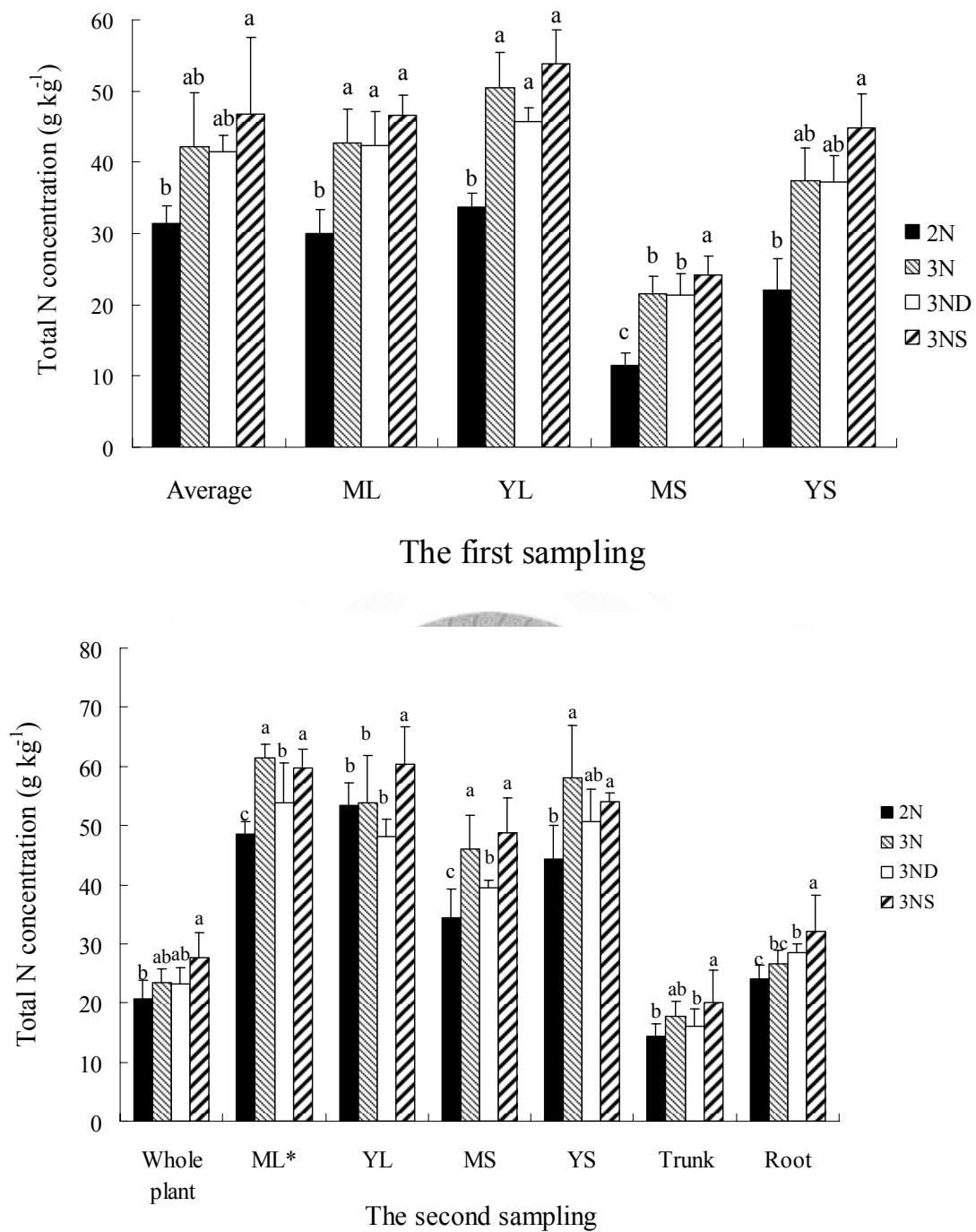




圖四、各種處理對青脆枝兩次採樣葉片脯氨酸濃度的影響

Fig. 4. Effect of different treatments on the proline concentration in leaf of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; YL: young leaf.



圖五、不同處理對青脆枝各部位總氮濃度的影響

Fig. 5. Effect of different treatments on the total nitrogen concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

表七、不同處理對青脆枝各部位總氮含量的影響

Table 7. Effect of different treatments on the amount of total nitrogen of various parts in

Nothapodytes foetida

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling, mg plant ⁻¹							
2N	752 ± 315 ^{a1}	318 ± 166 ^a	293 ± 118 ^a	96 ± 46 ^a	44 ± 14 ^a		
3N	872 ± 323 ^a	502 ± 204 ^a	202 ± 111 ^a	136 ± 68 ^a	31 ± 22 ^a		
3ND	824 ± 124 ^a	381 ± 94 ^a	252 ± 116 ^a	148 ± 19 ^a	43 ± 25 ^a		
3NS	1119 ± 314 ^a	474 ± 201 ^a	466 ± 140 ^a	127 ± 30 ^a	52 ± 10 ^a		
The second sampling, mg plant ⁻¹							
2N	2957 ± 710 ^a	488 ± 143 ^a	381 ± 117 ^a	313 ± 108 ^a	51 ± 12 ^a	980 ± 309 ^b	795 ± 78 ^b
3N	3269 ± 1032 ^a	973 ± 149 ^a	96 ± 38 ^b	439 ± 222 ^a	30 ± 7 ^a	1312 ± 111 ^b	930 ± 205 ^b
3ND	4957 ± 537 ^a	350 ± 92 ^a	195 ± 30 ^b	369 ± 56 ^a	54 ± 46 ^a	1730 ± 274 ^a	1899 ± 369 ^a
3NS	3569 ± 315 ^a	609 ± 203 ^a	405 ± 64 ^a	313 ± 17 ^a	61 ± 33 ^a	1339 ± 52 ^b	998 ± 197 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

氮的吸收量則是各處理間無顯著差異，乾旱處理 (3ND) 則顯示其分配於主幹及根中的氮量顯著高於其他處理者。

2. 硝酸態氮

兩次採樣青脆枝各部位硝酸態氮濃度如圖六所示。硝酸態氮濃度在葉片為 40-1,000 mg kg⁻¹，在莖為 30-1,500 mg kg⁻¹，在主幹為 150-300 mg kg⁻¹，在根部為 500-1,500 mg kg⁻¹。第一次採樣時少氮處理 (2N) 的成熟葉及嫩葉硝酸態氮濃度較 3N 及其他處理低，於第二次採樣的成熟葉、成熟莖及根部，硝酸態氮濃度較 3N 及其他處理低。

乾旱處理 (3ND) 於第一次採樣的成熟葉硝酸態氮濃度較 3N 處理高，於第二次採樣時，3ND 和 3N 二處理在各部位硝酸態氮濃度無顯著差異。雖然 3ND 與 3N 二處理根部硝酸態氮濃度無顯著差異，但 3N 處理的硝酸態氮濃度比 3ND 處理者有略高之趨勢。

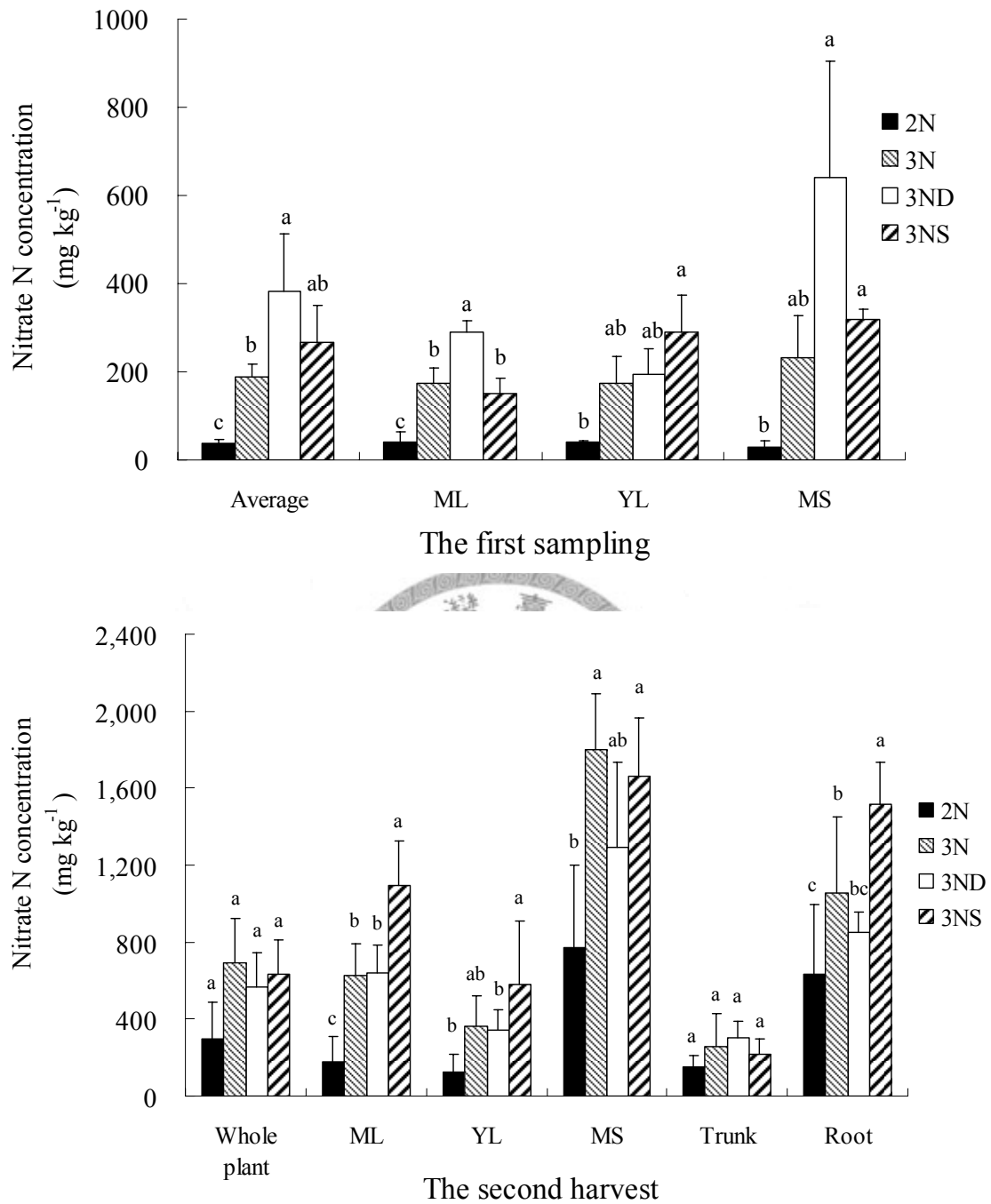
遮蔭處理對於硝酸態氮濃度的影響不大，於第一次採樣的嫩葉和第二次採樣的成熟葉，3NS 處理的硝酸態氮濃度較 3N 處理者高，根部的硝酸態氮濃度以 3NS 處理較 3N 處理者高。

3. 不溶性氮

兩次採樣青脆枝各部位不溶性氮濃度如圖七所示。青脆枝葉片不溶性氮濃度為 20-35 g kg⁻¹，莖為 7-10 g kg⁻¹，主幹為 4.5-5 g kg⁻¹，根為 11-13 g kg⁻¹。第一次採樣的成熟莖與第二次採樣嫩葉中，3N 處理的不溶性氮濃度顯著高於其他處理，而第二次採樣的成熟葉不溶性氮濃度，2N 與 3ND 二處理較 3N 處理者低，3NS 和 3N 二處理不溶性氮濃度無顯著差異。

4. 可溶性還原態氮

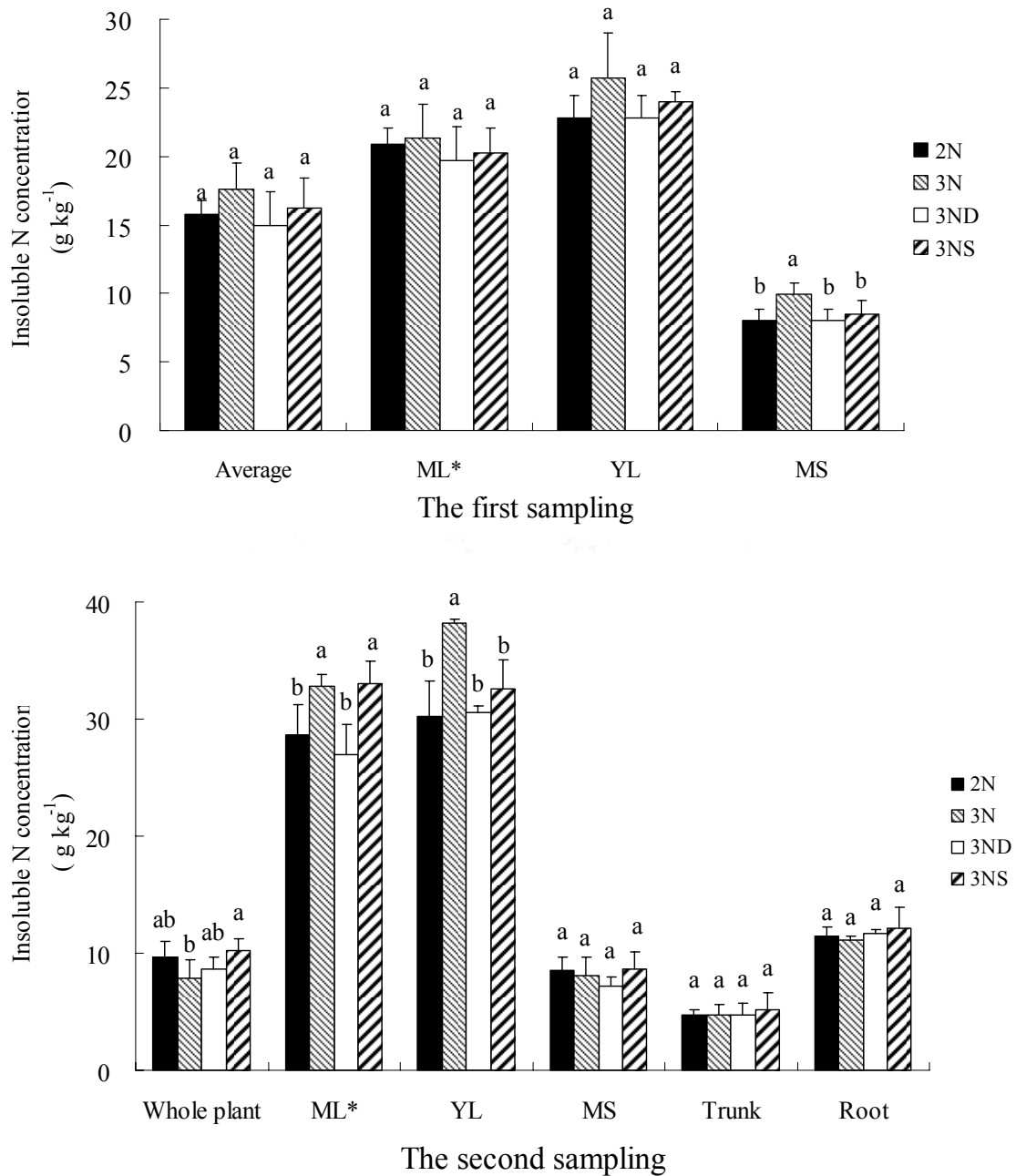
青脆枝兩次採樣可溶性還原態氮如圖八所示。青脆枝可溶性還原態氮在葉片中的濃度為 10-30 g kg⁻¹，在莖的濃度為 10-30 g kg⁻¹，在



圖六、不同處理對青脆枝各部位硝酸態氮濃度的影響

Fig. 6. Effect of different treatments on the nitrate nitrogen concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

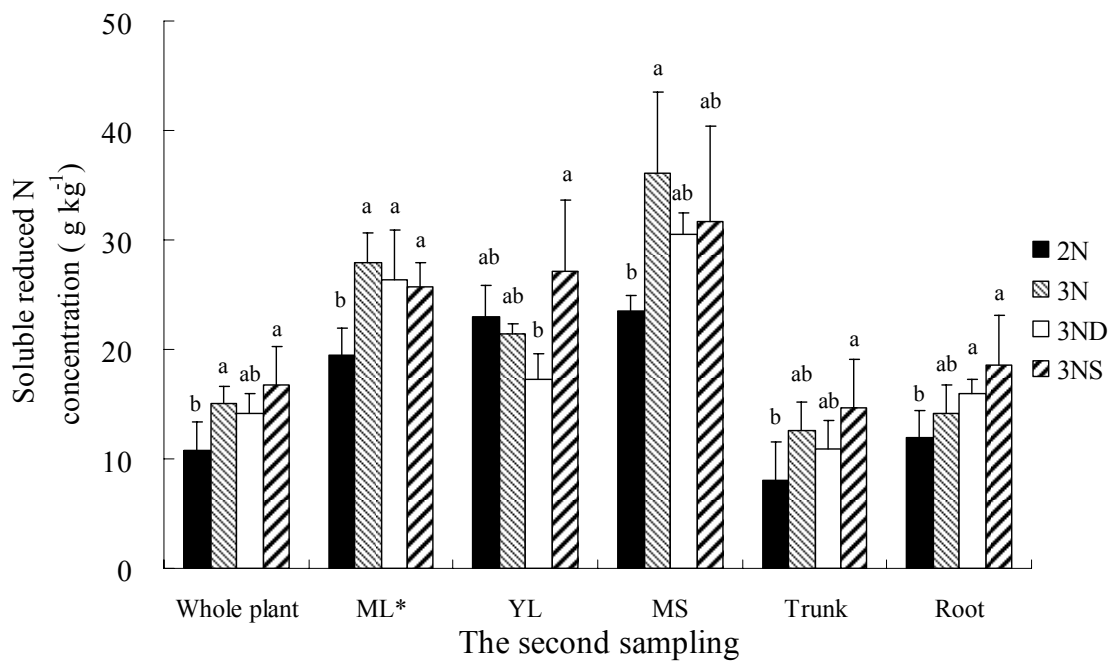
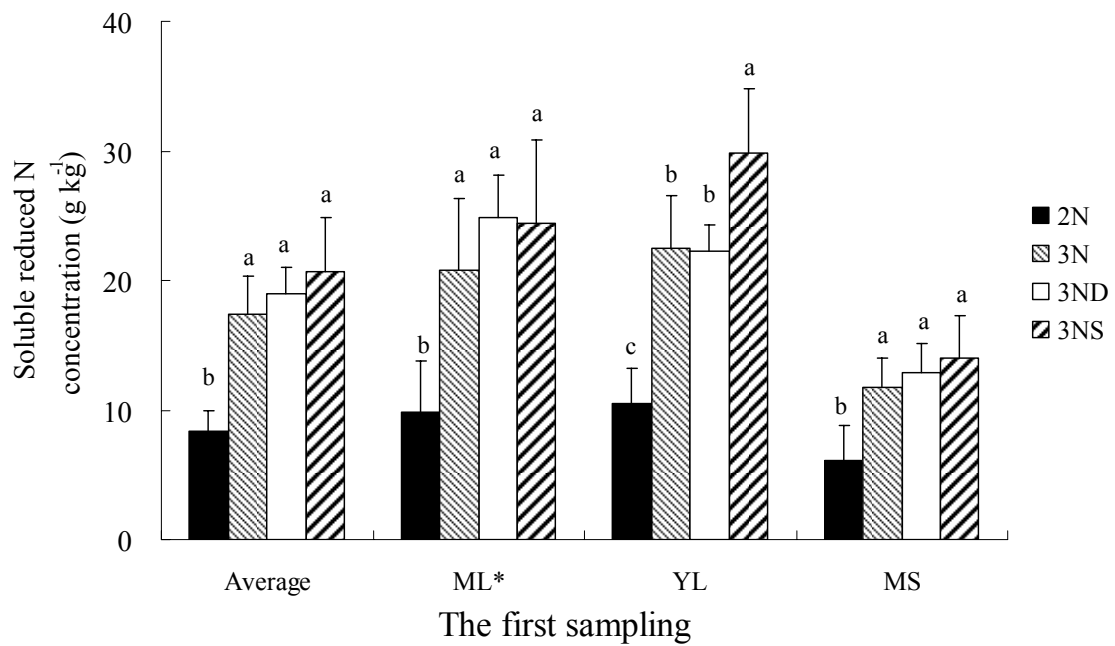
* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf.



圖七、不同處理對青脆枝各部位不溶性氮濃度的影響

Fig. 7. Effect of different treatments on the insoluble nitrogen concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf.



圖八、不同處理對青脆枝各部位可溶性還原態氮濃度的影響

Fig. 8. Effect of different treatments on the soluble reduced nitrogen concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf.

主幹的濃度為 $5-15 \text{ g kg}^{-1}$ ，在根的濃度為 $10-20 \text{ g kg}^{-1}$ 。少氮處理 (2N) 除了在第二次採樣的嫩葉、主幹與根可溶性還原態氮濃度與 3N 處理無顯著差異外，在兩次採樣中所有部位皆以 2N 處理比 3N 處理低。

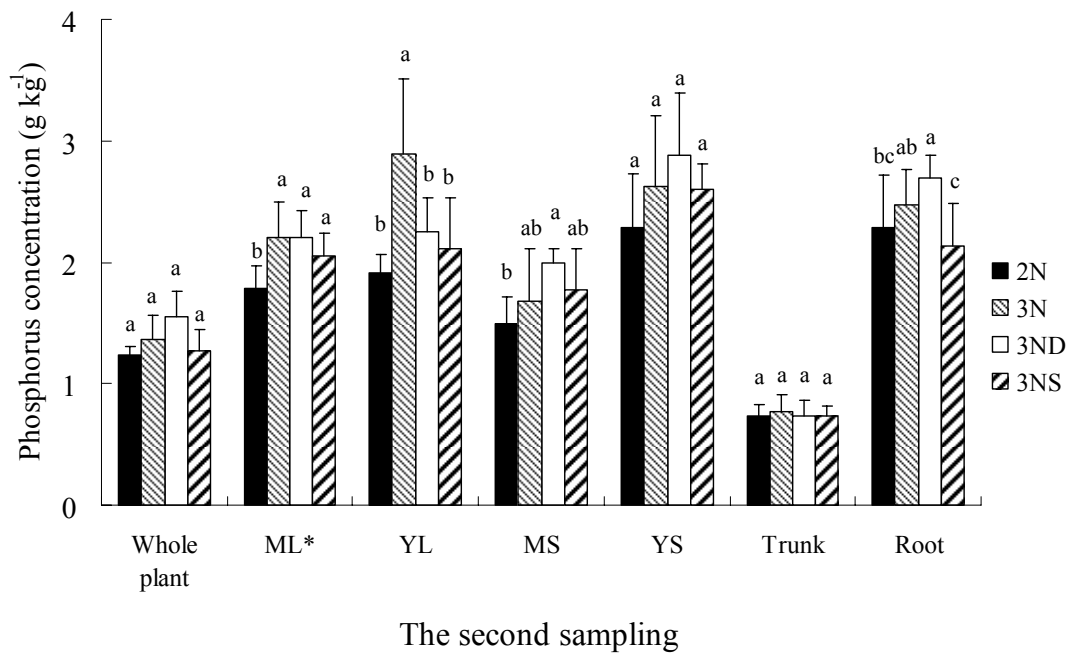
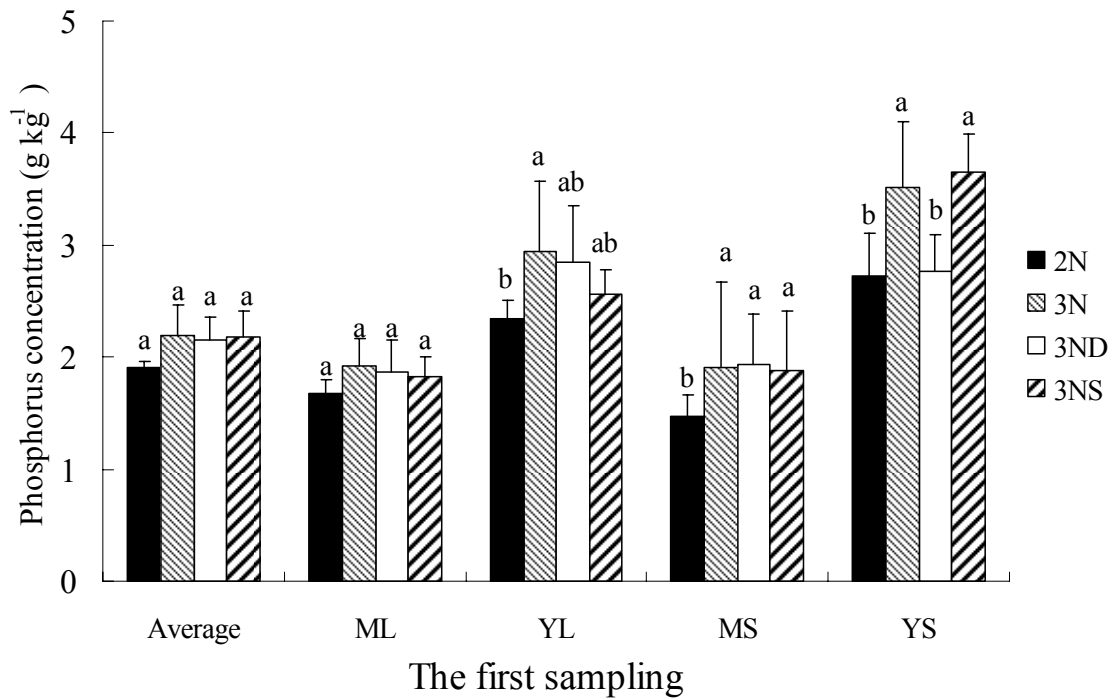
乾旱處理者 (3ND) 可溶性還原態氮濃度雖與 3N 處理者無顯著差異，但地上部的可溶性還原態氮濃度以 3ND 處理略低，地下部則以 3ND 處理略高。遮蔭處理 (3NS) 於第一次採樣時，嫩葉的可溶性還原態氮濃度比 3N 處理者高；第二次採樣時，3NS 處理所有部位可溶性還原態氮濃度與 3N 處理者無顯著差異，但是 3NS 處理之嫩葉可溶性還原態氮濃度比 3N 處理者高。

(四) 磷

青脆枝兩次採樣各部位磷濃度及含量，分別如圖九及表八所示。青脆枝葉片磷濃度為 $1.5-3 \text{ g kg}^{-1}$ ，莖為 $1.5-3.0 \text{ g kg}^{-1}$ ，主幹為 $0.7-1.0 \text{ g kg}^{-1}$ ，根為 $2.0-3.0 \text{ g kg}^{-1}$ 。第一次採樣各部位中四種處理的磷濃度均無顯著差異。第二次採樣成熟葉以及主幹四種處理間其磷濃度無顯著差異，而第二次採樣時，2N 處理的成熟莖磷濃度比 3ND 處理者低，3ND 與 3NS 二處理各部位的磷濃度和 3N 處理者無顯著差異；嫩葉磷濃度則是 2N、3ND 與 3NS 三處理比 3N 處理者低。四種處理的磷吸收量無顯著差異，而 3ND 處理分布在主幹與根的磷含量較其他處理者高。

(五) 鉀

青脆枝兩次採樣各部位鉀濃度及含量，分別如圖十與表九所示。葉片的鉀濃度為 $20-40 \text{ g kg}^{-1}$ ，莖為 $10-50 \text{ g kg}^{-1}$ ，主幹為 $5-7 \text{ g kg}^{-1}$ ，根則為 $2-3 \text{ g kg}^{-1}$ 。第一次採樣時，少氮處理 (2N) 的成熟莖、嫩葉、嫩莖鉀濃度比 3N 處理者低；而第二次採樣時，2N 與 3N 兩處理間各部位鉀濃度無顯著差異。第一次採樣時，乾旱處理 (3ND) 的成熟莖鉀濃度比 3N 處理者低；主幹鉀濃度及含量皆比 3N 處理高，因 3ND 處理的根部乾重較 3N 處理者高，而鉀濃度



圖九、不同處理對青脆枝各部位磷濃度的影響

Fig. 9. Effect of different treatments on the phosphorus concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

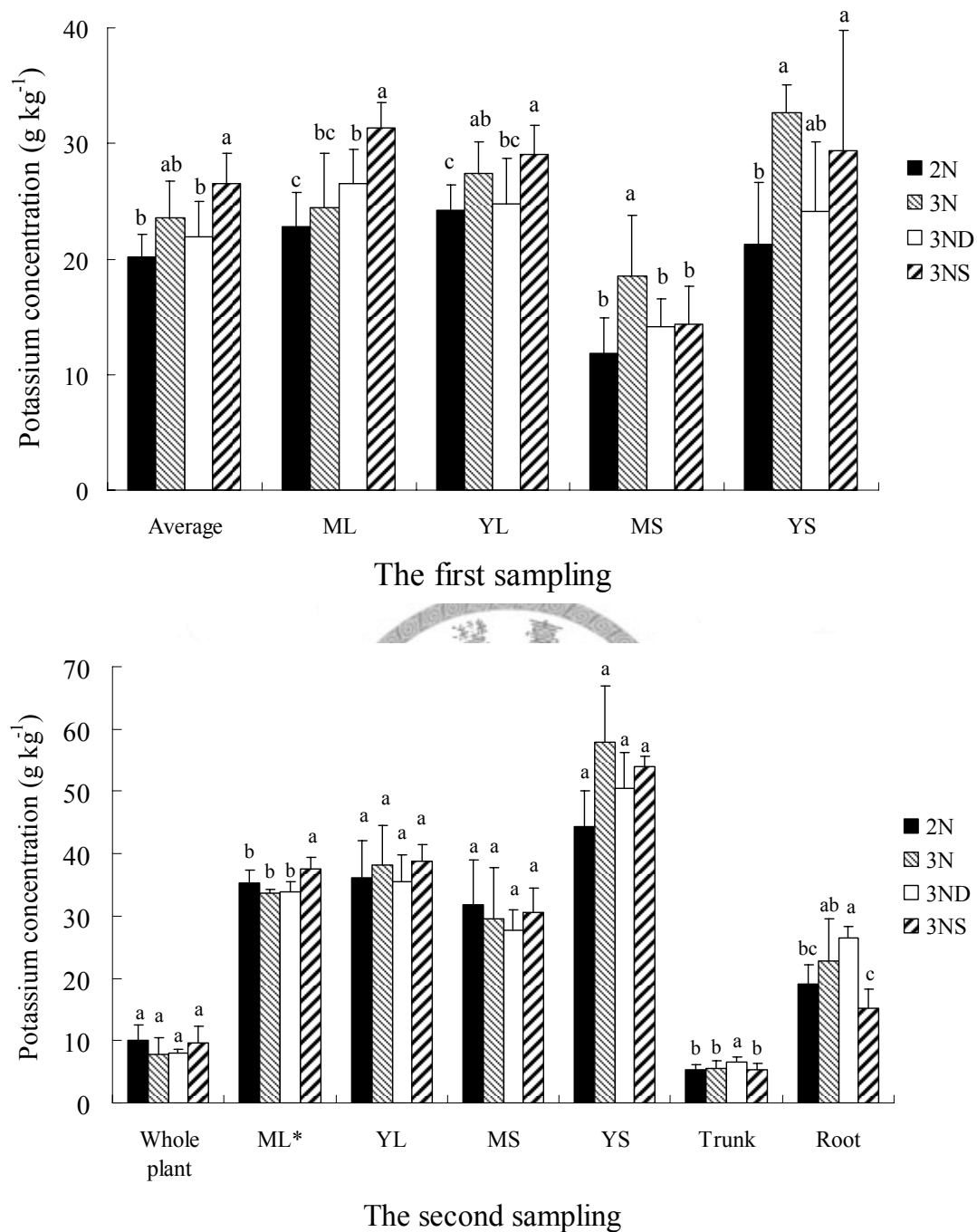
表八、不同處理對青脆枝各部位磷含量的影響

Table 8. Effect of different treatments on the amount of phosphorus of various parts in *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling, mg plant ⁻¹							
2N	55.2 ± 22.7 ^{a1}	17.2 ± 9.5 ^a	20.0 ± 7.2 ^a	12.1 ± 5.7 ^a	5.8 ± 2.4 ^a		
3N	53.9 ± 22.0 ^a	25.2 ± 13.4 ^a	12.1 ± 6.4 ^a	13.1 ± 7.0 ^a	3.5 ± 1.6 ^a		
3ND	49.1 ± 5.9 ^a	16.7 ± 4.3 ^a	15.4 ± 7.1 ^a	13.1 ± 1.0 ^a	3.9 ± 1.5 ^a		
3NS	56.3 ± 13.9 ^a	18.3 ± 7.3 ^a	10.8 ± 4.0 ^a	10.8 ± 4.0 ^a	5.0 ± 0.4 ^a		
The second sampling, mg plant ⁻¹							
2N	1497 ± 367 ^a	314 ± 93 ^a	275 ± 99 ^a	296 ± 117 ^a	115 ± 66 ^a	425 ± 101 ^b	73 ± 35 ^b
3N	1269 ± 650 ^a	537 ± 93 ^a	123 ± 13 ^b	326 ± 187 ^a	44 ± 18 ^a	476 ± 163 ^b	93 ± 31 ^b
3ND	1610 ± 232 ^a	225 ± 65 ^a	144 ± 29 ^{ab}	257 ± 22 ^a	67 ± 18 ^a	734 ± 183 ^a	183 ± 47 ^a
3NS	1568 ± 233 ^a	370 ± 103 ^a	274 ± 63 ^a	276 ± 83 ^a	100 ± 25 ^a	456 ± 112 ^b	92 ± 38 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.



圖十、不同處理對青脆枝各部位鉀濃度的影響

Fig. 10. Effect of different treatments on the potassium concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

表九、不同處理對青脆枝各部位鉀含量的影響

Table 9. Effect of different treatments on the amount of potassium in various parts of *N.*

foetida

Treatments	Total	ML ²	MS	YL	YS	Trunk	Root
The first sampling, mg plant ⁻¹							
2N	576 ± 223 ^a	224 ± 101 ^a	210 ± 89 ^a	98 ± 48 ^a	43 ± 16 ^a		
3N	565 ± 202 ^a	297 ± 136 ^a	111 ± 56 ^a	122 ± 57 ^a	36 ± 14 ^a		
3ND	502 ± 97 ^a	236 ± 52 ^a	140 ± 69 ^a	98 ± 15 ^a	31 ± 11 ^a		
3NS	708 ± 212 ^a	327 ± 132 ^a	256 ± 72 ^a	78 ± 18 ^a	46 ± 11 ^a		
The second sampling, mg plant ⁻¹							
2N	2020 ± 419 ^a	314 ± 93 ^a	275 ± 99 ^a	296 ± 117 ^a	115 ± 66 ^a	425 ± 101 ^b	597 ± 227 ^b
3N	2077 ± 1039 ^a	537 ± 93 ^a	123 ± 13 ^b	326 ± 187 ^a	44 ± 18 ^a	476 ± 163 ^b	900 ± 524 ^b
3ND	3208 ± 486 ^a	225 ± 65 ^a	144 ± 29 ^{ab}	257 ± 22 ^a	67 ± 18 ^a	734 ± 183 ^a	1781 ± 415 ^a
3NS	2137 ± 474 ^a	370 ± 103 ^a	274 ± 63 ^a	276 ± 83 ^a	100 ± 25 ^a	456 ± 112 ^b	661 ± 290 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

無顯著差異所以 3ND 處理根部鉀含量比 3N 處理者大，其餘部位鉀濃度，兩處理間無顯著差異。

第一次採樣時，遮蔭處理 (3NS) 的成熟葉及嫩葉鉀濃度比 3N 處理者高，而成熟莖鉀濃度比 3N 處理者低。3N 處理的嫩莖鉀濃度雖與 3NS 處理者無顯著差異但有較高的趨勢。於第二次採樣時，地上部中僅成熟葉呈現 3NS 處理鉀濃度較 3N 處理者高，其餘部位無顯著差異，而 3NS 處理根部鉀濃度較 3N 者處理低，但兩處理間鉀含量無顯著差異。

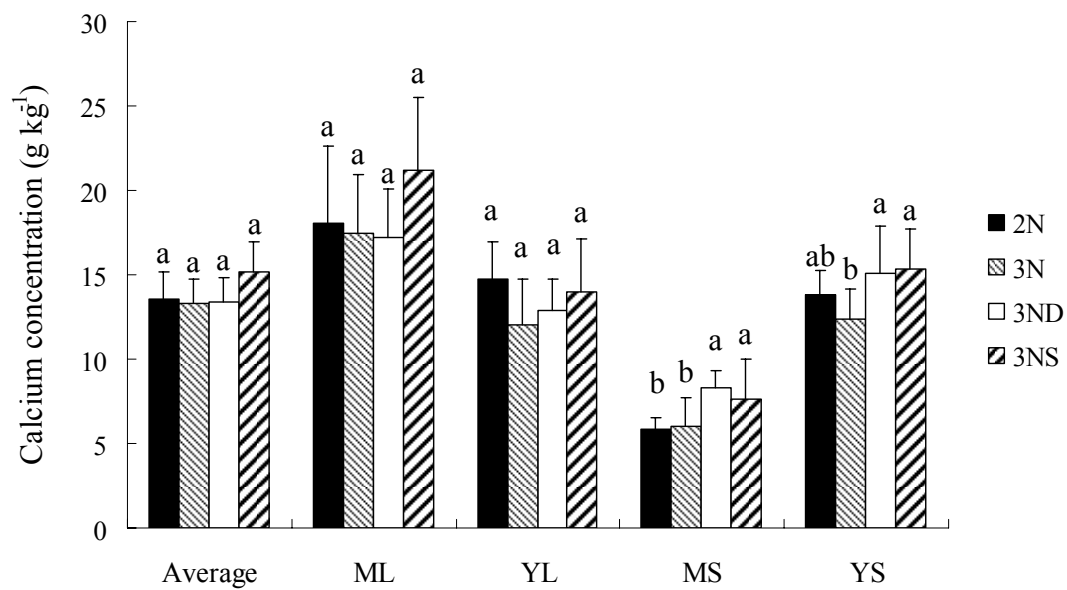
(六) 鈣

青脆枝兩次採樣各部位鈣濃度與含量，分別如圖十一與表十所示。葉的鈣濃度為 $10-30 \text{ g kg}^{-1}$ ，莖為 $10-20 \text{ g kg}^{-1}$ ，主幹為 $4.5-5.5 \text{ g kg}^{-1}$ ，根為 $3.5-6.0 \text{ g kg}^{-1}$ 。在兩次採樣中四種處理對於成熟葉、嫩葉，主幹的鈣濃度及鈣含量沒有顯著差異的影響；但在第一次採樣的成熟莖及嫩莖，乾旱處理 (3ND) 及遮蔭處理 (3NS) 比 3N 處理者高；而第二次採樣時，則是 2N 與 3ND 二處理成熟莖的鈣濃度比 3N 處理者低；3ND 及 3NS 二處理根的鈣濃度比 3N 處理者高。

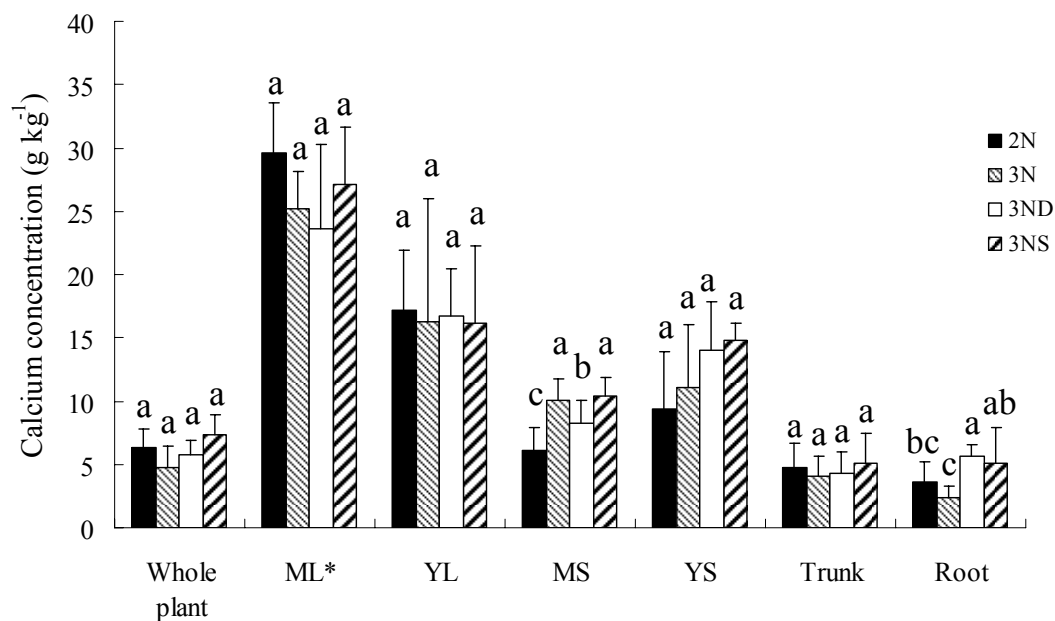
(七) 鎂

青脆枝兩次採樣部位鎂濃度及含量，分別如圖十二與表十一所示。第一次採樣時，四種處理間成熟葉、熟莖及嫩葉的鎂濃度皆無顯著差異，遮蔭處理 (3NS) 的嫩葉鎂濃度比 2N 及 3N 二處理者低，而其餘處理間無顯著差異。第二次採樣時，3NS 處理的成熟葉鎂濃度顯著高於 2N 與 3ND 二處理，在成熟莖與嫩莖則是呈現 3N 處理鎂濃度最低，根部鎂濃度則是 3NS 處理最低。四種處理各部位鎂含量皆無顯著差異。

第一次採樣的鎂濃度較第二次採樣低，在第一次採樣前葉片出現鎂缺乏的外表徵狀，於 8 月 20 日每株青脆枝施入 0.25 g 鎂，以硫酸鎂溶液的型態施入，在後續試驗期間則無鎂缺乏的外表徵狀出現。第二次採樣葉片鎂濃度為 $1.5-3.0 \text{ g kg}^{-1}$ ，莖為 $1.0-2.0 \text{ g kg}^{-1}$ ，主幹約為 1.0 g kg^{-1} ，根為 $5.0-6.0 \text{ g kg}^{-1}$ 。



The first sampling



The second sampling

圖十一、不同處理對青脆枝各部位鈣濃度的影響

Fig. 11. Effect of different treatments on the calcium concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

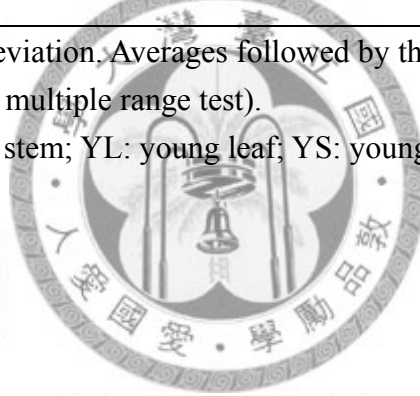
表十、不同處理對青脆枝各部位鈣含量的影響

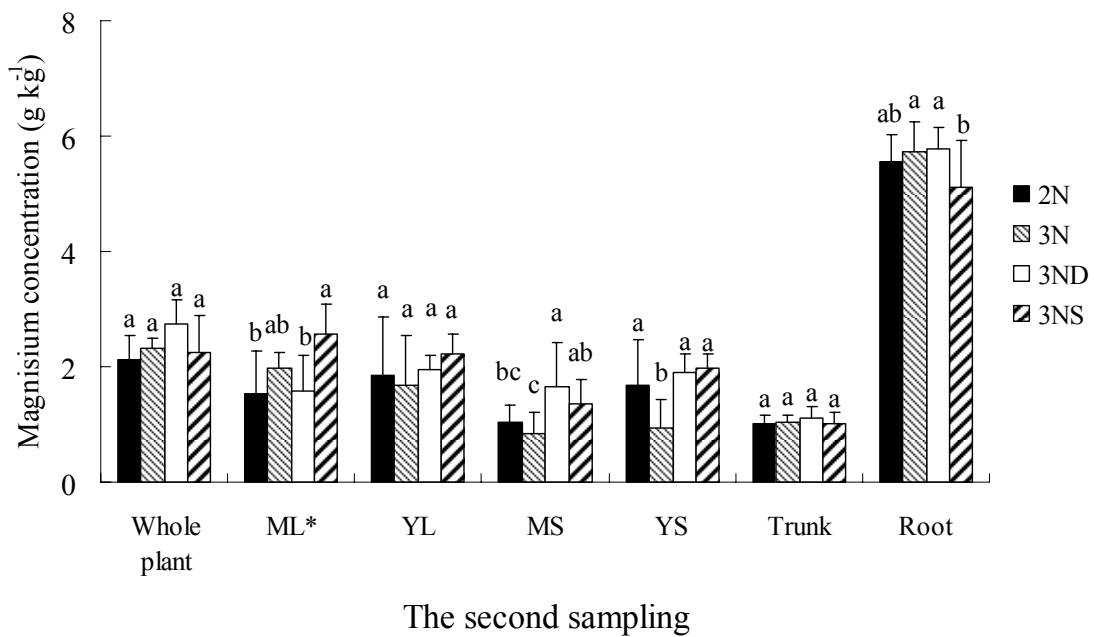
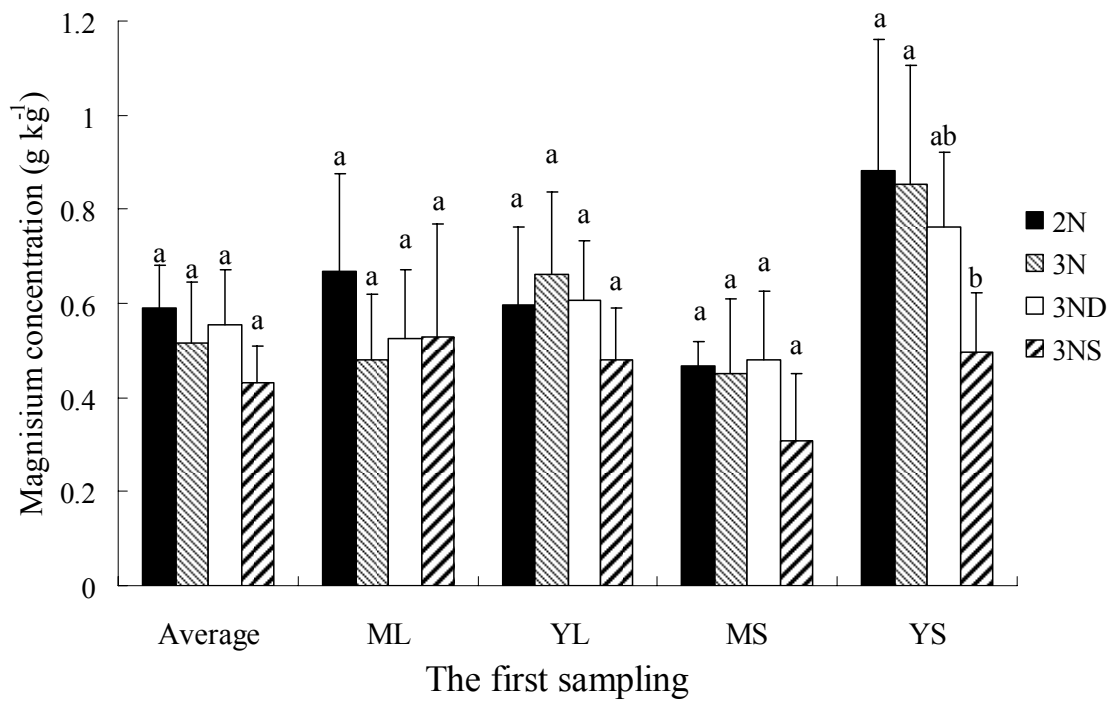
Table 10. Effect of different treatments on the amount of calcium in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	The first sampling, mg plant ⁻¹						
2N	400 ± 190 ^{a1}	194 ± 126 ^a	130 ± 64 ^a	48 ± 23 ^a	28 ± 9 ^a		
3N	331 ± 159 ^a	226 ± 108 ^a	55 ± 44 ^a	37 ± 19 ^a	13 ± 7 ^a		
3ND	303 ± 10 ^a	153 ± 34 ^a	72 ± 35 ^a	57 ± 7 ^a	21 ± 10 ^a		
3NS	383 ± 82 ^a	198 ± 67 ^a	118 ± 18 ^a	44 ± 16 ^a	23 ± 3.7 ^a		
The second sampling, mg plant ⁻¹							
2N	886 ± 226 ^a	243 ± 58 ^a	132 ± 55 ^a	56 ± 13 ^a	23 ± 10 ^a	321 ± 98 ^a	116 ± 80 ^b
3N	749 ± 374 ^a	409 ± 114 ^a	44 ± 30 ^b	123 ± 47 ^a	14 ± 5 ^a	315 ± 116 ^a	94 ± 29 ^b
3ND	1130 ± 174 ^a	152 ± 51 ^a	66 ± 16 ^{ab}	76 ± 11 ^a	20 ± 7 ^a	445 ± 210 ^a	371 ± 64 ^a
3NS	1054 ± 226 ^a	288 ± 133 ^a	102 ± 20 ^{ab}	96 ± 38 ^a	28 ± 7 ^a	310 ± 33 ^a	230 ± 210 ^{ab}

¹ Values are mean ± standard deviation. Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.





圖十二、不同處理對青脆枝各部位鎂濃度的影響

Fig. 12. Effect of different treatments on the magnesium concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

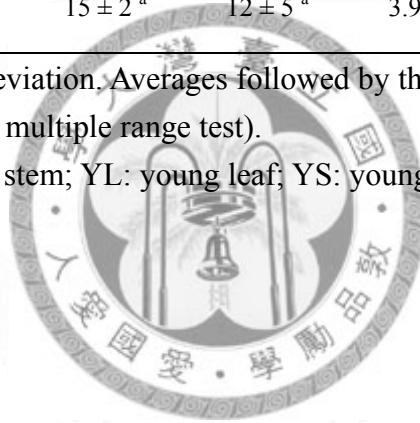
表十一、不同處理對青脆枝各部位鎂含量的影響

Table 11. Effect of different treatments on the amount of magnesium in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling, mg plant ⁻¹							
2N	17.3 ± 8.1 ^a	6.1 ± 2.7 ^a	5.2 ± 2.4 ^a	4.1 ± 2.3 ^a	1.9 ± 1.0 ^a		
3N	12.0 ± 5.2 ^a	5.5 ± 1.9 ^a	2.9 ± 1.9 ^a	2.7 ± 1.6 ^a	0.9 ± 0.4 ^a		
3ND	12.4 ± 1.0 ^a	4.7 ± 1.9 ^a	3.0 ± 1.6 ^a	3.6 ± 1.2 ^a	1.2 ± 0.2 ^a		
3NS	11.0 ± 2.1 ^a	4.4 ± 0.9 ^a	4.0 ± 0.6 ^a	1.8 ± 0.7 ^a	0.7 ± 0.2 ^a		
The second sampling, mg plant ⁻¹							
2N	305 ± 84 ^b	16 ± 11 ^a	14 ± 9 ^a	9 ± 4 ^a	4.0 ± 2.4 ^a	84 ± 32 ^a	179 ± 80 ^b
3N	321 ± 97 ^b	32 ± 9 ^a	4 ± 3 ^a	20 ± 3 ^a	2.1 ± 0.8 ^a	83 ± 19 ^a	206 ± 50 ^b
3ND	541 ± 73 ^a	11 ± 7 ^a	8 ± 2 ^a	15 ± 6 ^a	2.9 ± 1.4 ^a	120 ± 23 ^a	384 ± 70 ^a
3NS	320 ± 91 ^a	25 ± 7 ^a	15 ± 2 ^a	12 ± 5 ^a	3.9 ± 1.2 ^a	88 ± 17 ^a	176 ± 74 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation. Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.



(八) 鐵

青脆枝兩次採樣各部位鐵濃度如圖十三所示。葉片鐵濃度為 70-200 mg kg⁻¹，莖為 40-100 mg kg⁻¹，主幹為 300-400 mg kg⁻¹，根為 1,700-2,100 mg kg⁻¹。第一次採樣時，四種處理間所有部位鐵濃度皆無顯著差異，顯示在第一次採樣前各種處理對於青脆枝鐵吸收與分布無顯著影響。第二次採樣時，四種處理間成熟葉及主幹之鐵濃度無顯著差異；少氮處理 (2N) 及乾旱處理 (3ND) 的成熟莖鐵濃度比 3N 處理者高、嫩莖鐵濃度比 3N 者處理低、嫩葉鐵濃度與 3N 處理無顯著差異。第二次採樣時，遮蔭處理 (3NS) 成熟莖與嫩莖的鐵濃度比 3N 處理低、嫩葉中比 3N 處理者高，顯示遮蔭增加葉片的鐵濃度，降低莖的鐵濃度。

(九) 錳

青脆枝兩次採樣各部位錳濃度如圖十四所示。青脆枝葉的錳濃度為 30-100 mg kg⁻¹，莖為 30-50 mg kg⁻¹，主幹為 20-30 mg kg⁻¹，根為 80-160 mg kg⁻¹。第一次採樣時，四種處理間的成熟葉錳濃度皆無顯著差異，少氮處理 (2N) 各部位錳濃度與 3N 處理者無顯著差異；乾旱處理 (3ND) 的成熟莖與嫩葉錳濃度比 3N 處理者低、嫩莖與 3N 處理者無顯著差異；遮蔭處理 (3NS) 之新葉錳濃度比 3N 處理者低。第二次採樣時，四種處理間成熟莖、嫩葉與嫩莖錳濃度皆無顯著差異；2N 處理之主幹錳濃度比 3N 處理者高、根比 3N 處理者低；3ND 處理之根錳濃度比 3N 處理者低、成熟葉比 3N 處理者高，3ND 之嫩葉錳濃度與 3N 處理者無顯著差異但有比 3N 處理者高之趨勢，3ND 根的錳濃度比 3N 處理者高。

(十) 銅

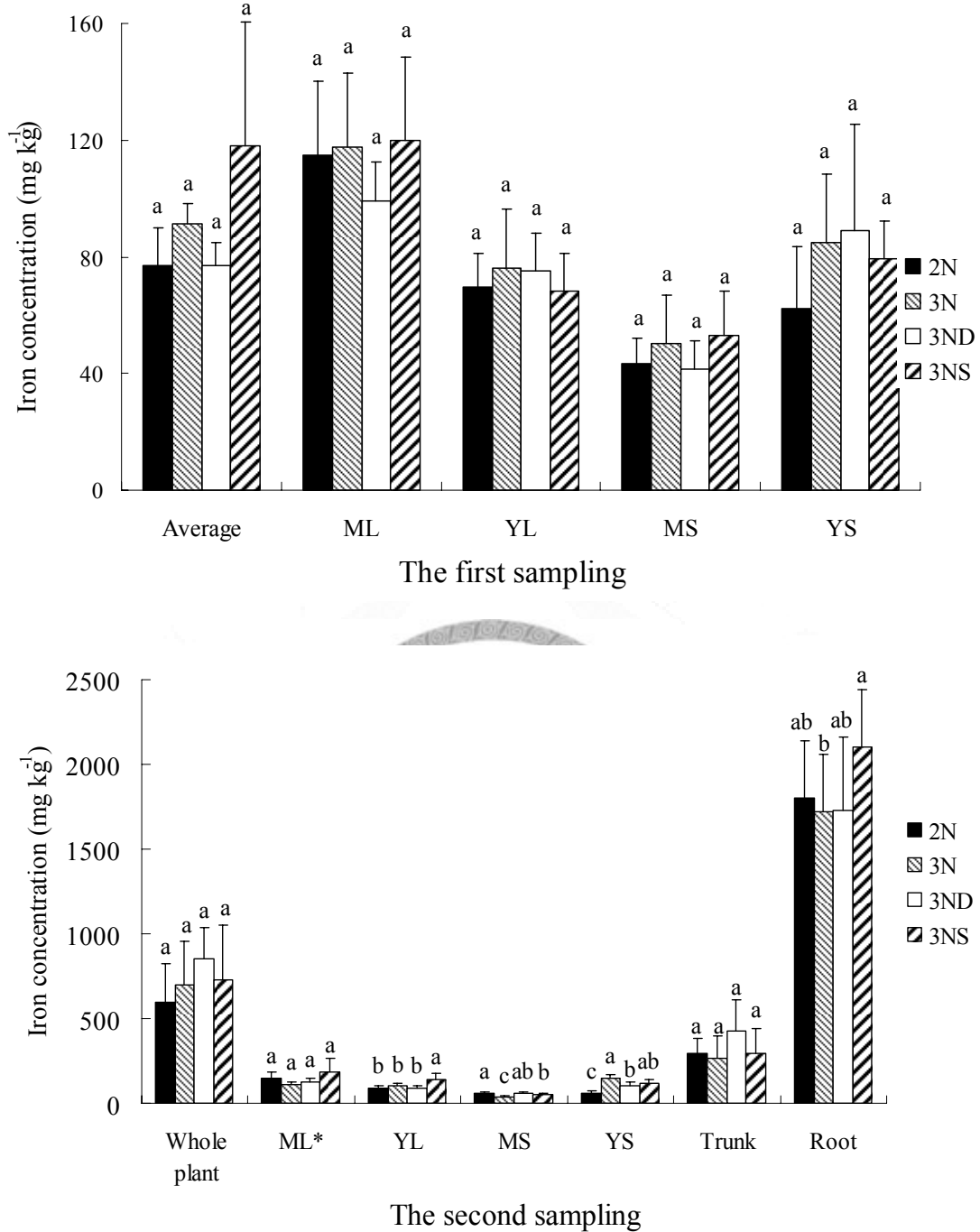
兩次採樣青脆枝各部位銅濃度如圖十五所示。葉的銅濃度為 10-20 mg kg⁻¹，莖為 10-20 mg kg⁻¹，主幹為 5-10 mg kg⁻¹，根為 40-50 mg kg⁻¹。第一次採樣時，四種處理間成熟葉及嫩莖銅濃度無顯著差異，少氮處理 (2N) 之嫩葉銅濃度較 3N 處理者低；乾旱處理 (3ND) 之成熟莖銅濃度比 3N 處理者

高，而遮蔭處理 (3NS) 之各部位銅濃度與 3N 處理者無顯著差異。第二次採樣時，四種處理間成熟葉、成熟莖與根之銅濃度無顯著差異，2N 處理之嫩莖銅濃度比 3N 處理者低；3ND 處理之嫩莖銅濃度比 3N 處理者低，3ND 之主幹銅濃度比 3N 處理者高；3NS 處理之嫩莖及主幹銅濃度皆比 3N 處理者低，而 3N 處理在第二次採樣的嫩莖中銅濃度最高。

(十一) 鋅

青脆枝兩次採樣各部位鋅濃度如圖十六所示。葉的鋅濃度為 20-50 mg kg⁻¹，莖為 20-100 mg kg⁻¹，主幹為 20-30 mg kg⁻¹，根為 70-80 mg kg⁻¹。第一次採樣時，少氮處理 (2N) 之嫩莖鋅濃度比 3N 處理者低，乾旱處理 (3ND) 之成熟葉鋅濃度比 3N 處理者低，遮蔭處理 (3NS) 所有部位鋅濃度與 3N 處理者無顯著差異。第二次採樣時，2N 處理之嫩莖鋅濃度比 3N 處理者低，3ND 處理者所有部位鋅濃度與 3N 處理者無顯著差異，3NS 處理者之主幹鋅濃度比 3N 處理者高。

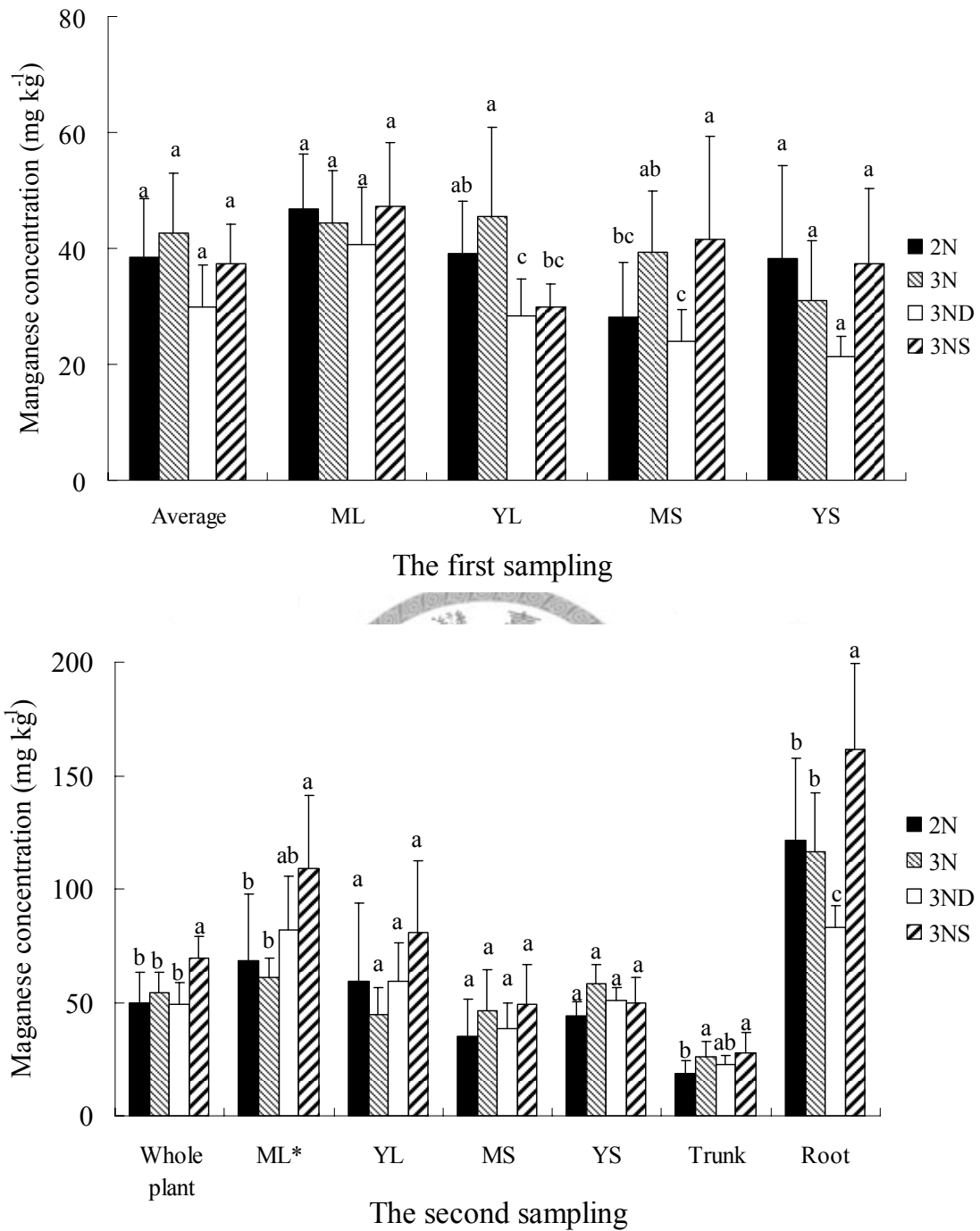




圖十三、不同處理對青脆枝各部位鐵濃度的影響

Fig. 13. Effect of different treatments on the iron concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

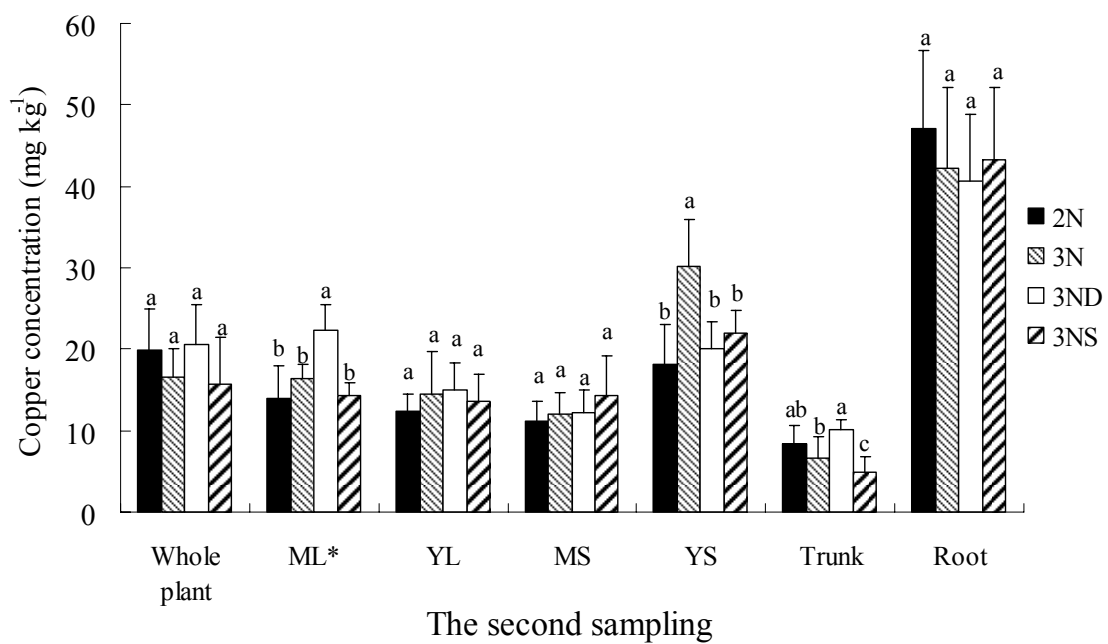
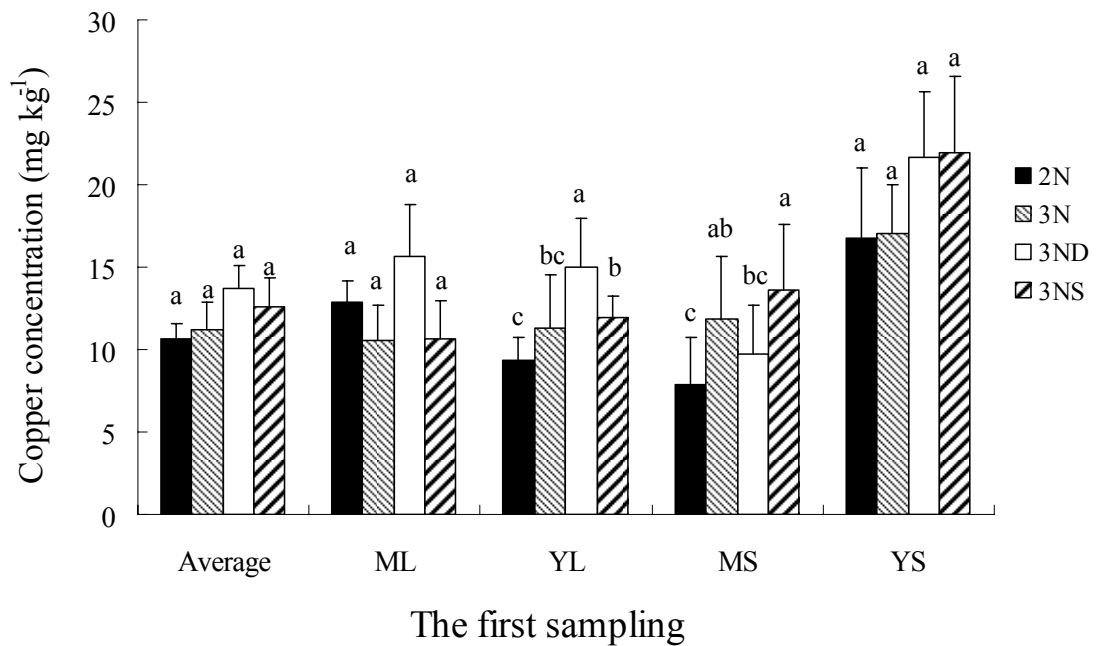
* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.



圖十四、不同處理對青脆枝各部位錳濃度的影響

Fig. 14. Effects of different treatments on the manganese concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

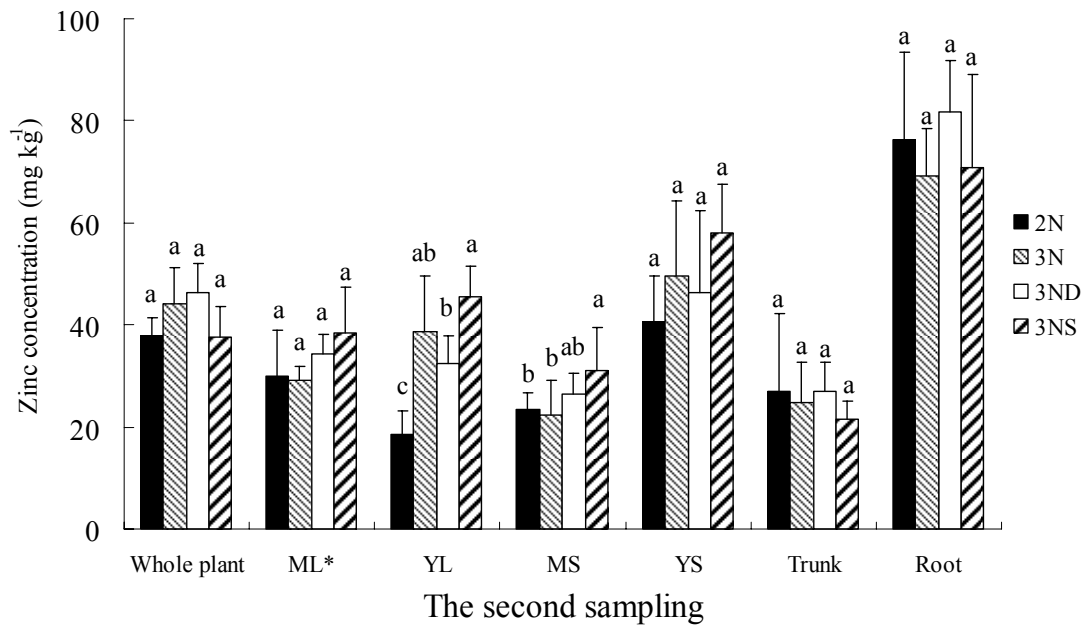
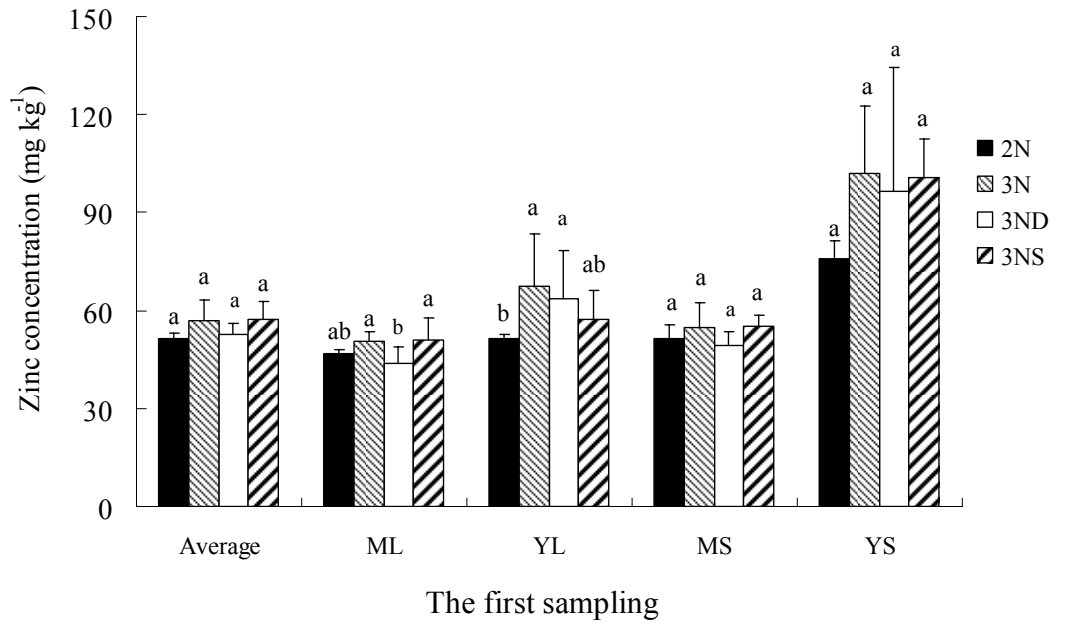
* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.



圖十五、不同處理對青脆枝各部位銅濃度的影響

Fig. 15. Effect of different treatments on the copper concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.



圖十六、不同處理對青脆枝各部位鋅濃度的影響

Fig. 16. Effects of different treatments on the zinc concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem,

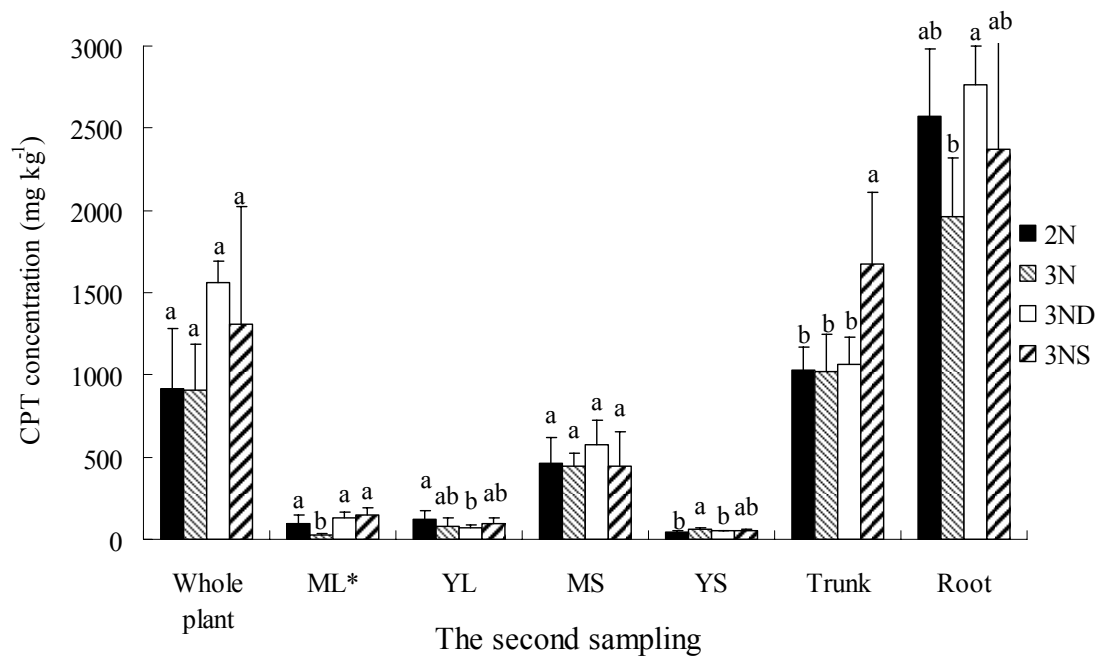
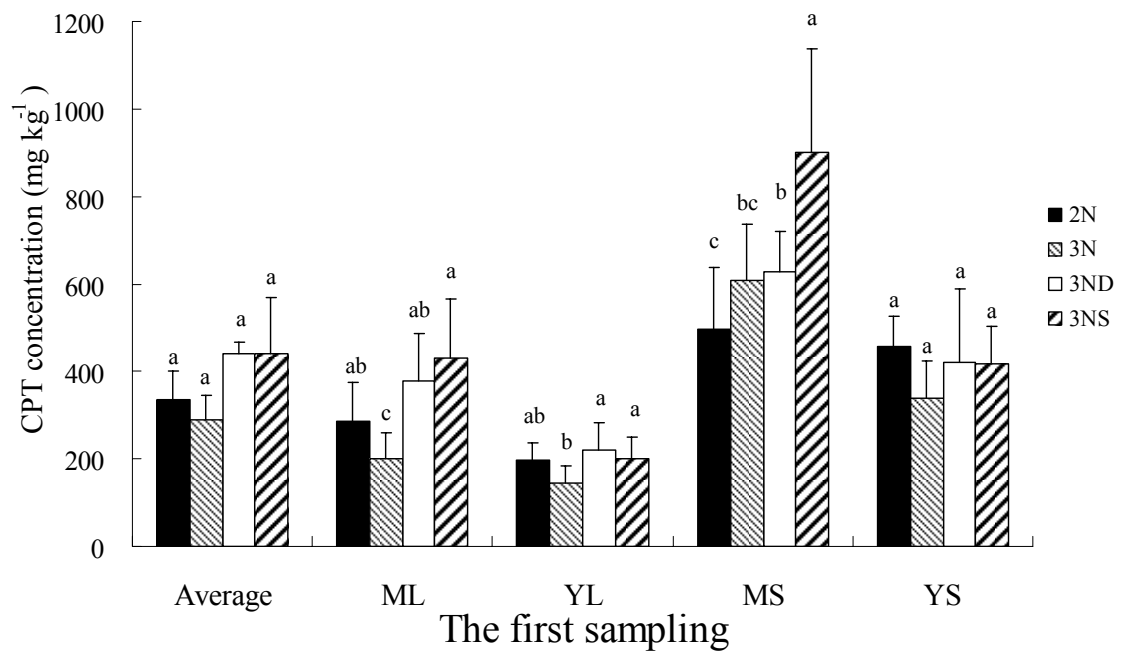
三、喜樹鹼的產量與分佈

兩次採樣之青脆枝各部位喜樹鹼濃度及含量，分別如圖十七及表十一所示。喜樹鹼的標準圖譜及青脆枝各部位的分析圖譜，分別如圖十八及圖十九所示。青脆枝葉的喜樹鹼濃度為 100-600 mg kg⁻¹，莖為 50-200 mg kg⁻¹，主幹為 1,000-2,000 mg kg⁻¹，根為 20,00-2,800 mg kg⁻¹。第一次採樣時，各種處理間嫩莖喜樹鹼濃度無顯著差異，少氮處理 (2N) 之成熟葉喜樹鹼濃度比 3N 處理者高，乾旱處理 (3ND) 之成熟葉及嫩葉喜樹鹼濃度皆比 3N 處理者高，遮蔭處理 (3NS) 之成熟葉、成熟莖及嫩葉喜樹鹼濃度皆比 3N 處理者高，3NS 處理之成熟莖喜樹鹼濃度比其餘處理者高；而各部位喜樹鹼濃度依序為成熟莖 > 嫩莖 > 成熟葉 > 嫩葉。

第二次採樣時，所有處理間全株 (包含地上部及地下部) 與成熟莖的喜樹鹼濃度皆無顯著差異，2N 處理之成熟葉喜樹鹼濃度比 3N 處理者高、嫩葉比 3N 處理者低，2N 處理其他部位喜樹鹼濃度則與 3N 處理者無顯著差異。3ND 處理之成熟葉及根喜樹鹼濃度比 3N 處理者高、嫩葉比 3N 處理者低；3NS 處理之成熟葉及主幹喜樹鹼濃度比 3N 處理者高。而各部位喜樹鹼濃度依序為根 > 主幹 > 成熟莖 > 成熟葉 / 嫩葉 > 嫩莖。

第一次採樣各部位之喜樹鹼濃度比第二次採樣者高，第二次採樣之成熟葉喜樹鹼濃度約為第一次採樣者之 1/3，在成熟莖則差異較小，第二次採樣之嫩葉及嫩莖喜樹鹼濃度為第一次採樣者之 1/9 至 1/10。第一次採樣時，嫩莖的喜樹鹼濃度比嫩葉高；而第二次採樣時，嫩葉的喜樹鹼濃度較嫩莖高。

第一次採樣時，四種處理間各部位喜樹鹼含量皆無顯著差異，接近一半的喜樹鹼累積於成熟莖中。第二次採樣時，乾旱處理 (3ND) 之根喜樹鹼含量較其他處理者高，雖各處理間主幹之喜樹鹼含量無顯著差異，但以 3ND 處理者較高，因此，全株喜樹鹼產量是以 3ND 處理最大。大部分的喜樹鹼累積於主幹及根中，除了 3ND 處理之外，主幹的喜樹鹼含量超過全株的一半，而 3ND 處理根的喜樹鹼含量佔全株 60%。



圖十七、不同處理對青脆枝各部位喜樹鹼濃度的影響

Fig. 17. Effect of different treatments on the camptothecin concentration in various parts of *N. foetida*. Error bars represent standard deviation ($n = 4-6$) and bars with the same letter were not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

* ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.

表十二、不同處理對青脆枝各部位喜樹鹼含量的影響

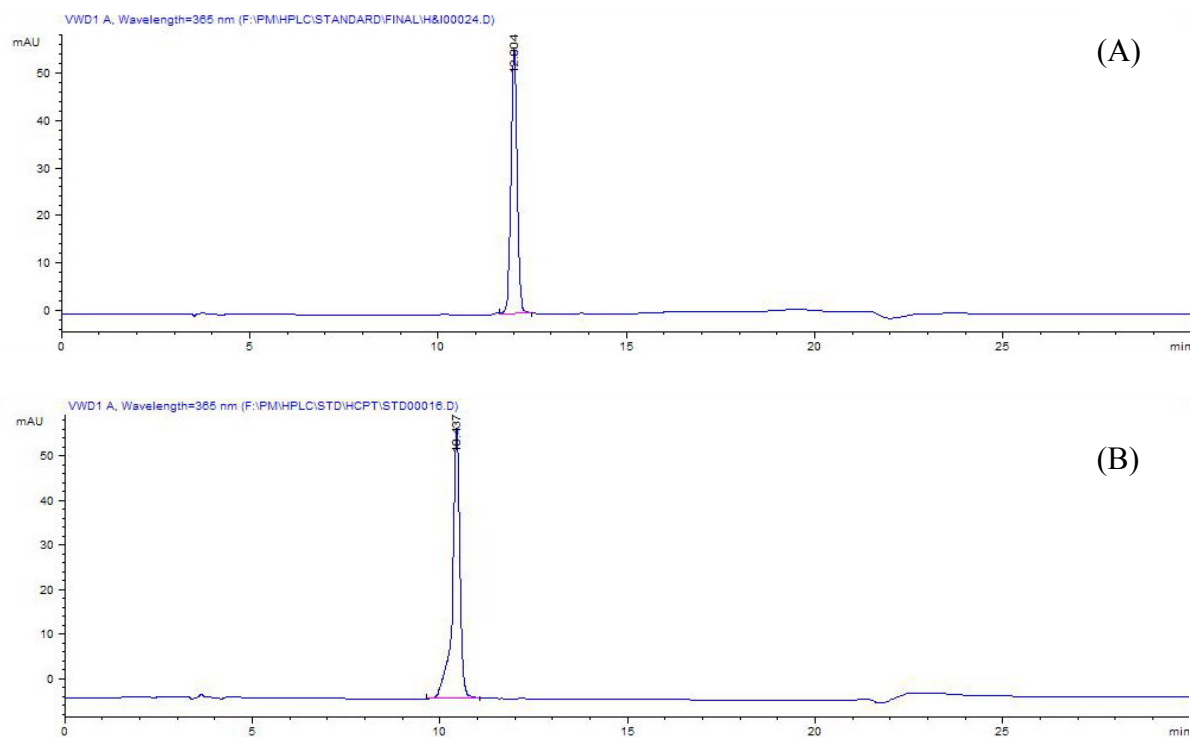
Table 12. Effect of different treatments on the amount of camptothecin in various parts of *N.*

foetida

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling, mg plant ⁻¹							
2N	10.2 ± 5.4 ^a	2.9 ± 1.5 ^a	1.8 ± 0.9 ^a	4.6 ± 2.7 ^a	1.0 ± 0.5 ^a		
3N	7.8 ± 4.6 ^a	2.3 ± 0.9 ^a	0.6 ± 0.4 ^a	4.5 ± 3.2 ^a	0.4 ± 0.3 ^a		
3ND	10.1 ± 1.6 ^a	3.0 ± 0.5 ^a	1.3 ± 0.8 ^a	5.2 ± 0.9 ^a	0.6 ± 0.4 ^a		
3NS	10.4 ± 5.5 ^a	3.8 ± 2.6 ^a	1.4 ± 0.5 ^a	4.7 ± 2.5 ^a	0.5 ± 0.1 ^a		
The second sampling, mg plant ⁻¹							
2N	191.1 ± 74.7 ^b	0.9 ± 0.5 ^a	0.8 ± 0.3 ^a	4.4 ± 1.7 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	94.8 ± 38.7 ^a	89.9 ± 46.1 ^b
3N	158.2 ± 42.2 ^b	0.4 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	4.9 ± 2.7 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	82.2 ± 27.6 ^a	70.8 ± 16.3 ^b
3ND	313.9 ± 63.8 ^a	0.9 ± 0.4 ^a	0.2 ± 0.0 ^a	5.4 ± 1.4 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	121.8 ± 36.2 ^a	185.4 ± 51.4 ^a
3NS	183.9 ± 86.6 ^b	1.4 ± 1.0 ^a	0.4 ± 0.0 ^a	3.9 ± 3.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	106.3 ± 51.6 ^a	71.7 ± 37.6 ^b

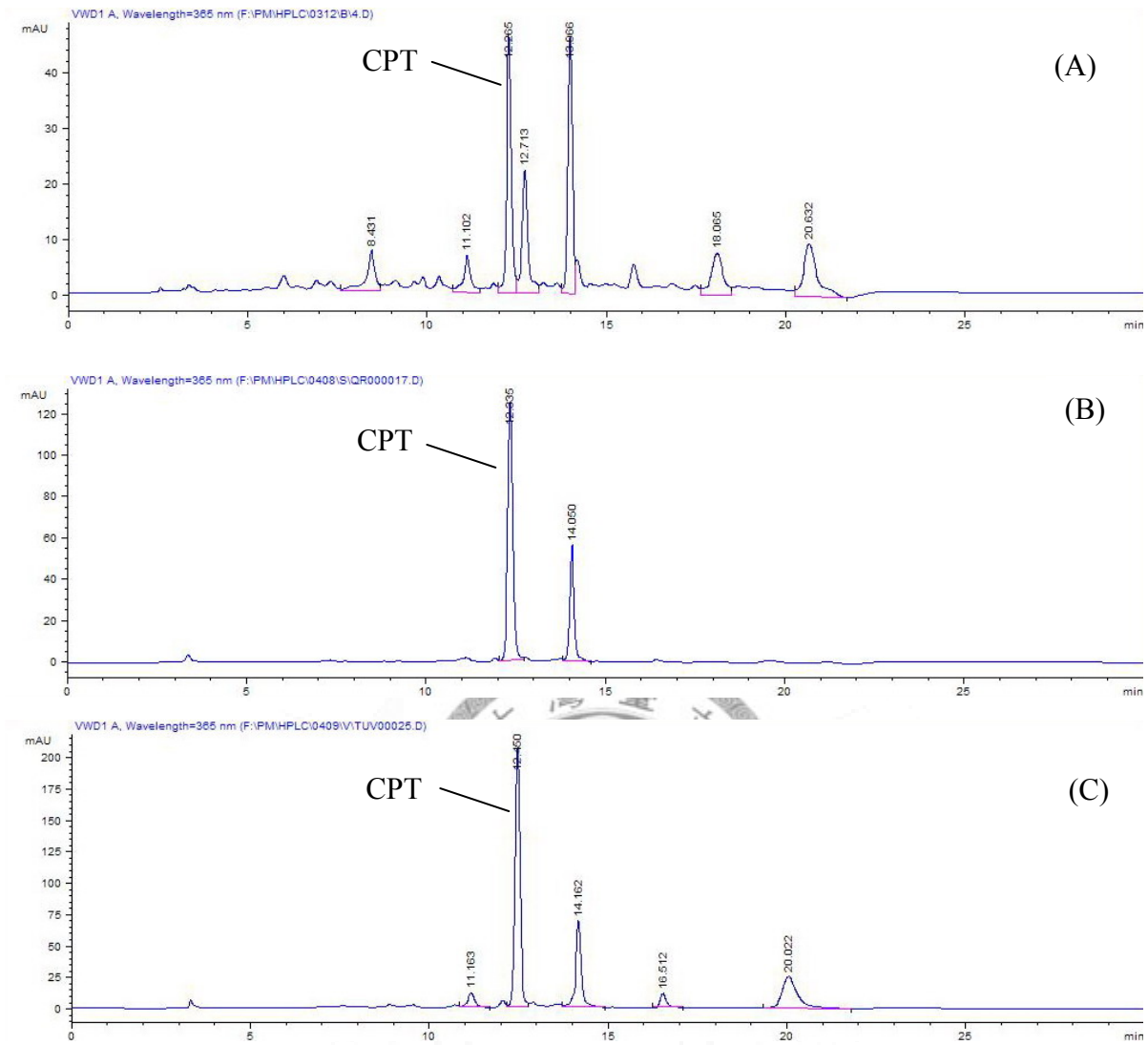
¹ Values are mean ± standard deviation. Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem.



圖十八、以 HPLC 測定喜樹鹼與 10-羥基喜樹鹼標準品之圖譜，(A)喜樹鹼；(B) 10-羥基喜樹鹼

Fig. 18. HPLC chromatograms of standard solution of camptothecin and 10-hydroxycamptothecin, (A) camptothecin, (B) 10-hydroxycamptothecin.



圖十九、以 HPLC 測定青脆枝喜樹鹼之圖譜，(A) 葉；(B) 莖；(C) 根

Fig. 19. HPLC chromatograms of camptothecin in various parts of *N. foetida* (A) leaf, (B) stem, (C) root.

討 論

一、栽培後土壤的基本性質

由各種處理土壤中基本性質 (表四) 顯示,盆栽四年中並未造成養分的累積或特別缺乏,而土壤飽和出抽液導電度顯示,雖經四年盆栽試驗,土壤鹽分的累積程度尚不會對植物造成傷害。乾旱時土壤硝化作用降低 (Barker and Bryson., 2007),因此,乾旱處理者 (3ND) 土壤硝酸態氮濃度較低,但其他土壤肥力相關因子並未受處理造成大程度的改變。土壤在栽種青脆枝前之 pH 值為 7.1,經過四年的栽種後土壤 pH 值約為 6.5,期間曾施用有機肥料與尿素,顯示施肥使土壤 pH 值下降,但未對植物造成危害。而土壤總氮濃度略高於栽種前 (1.2 g kg^{-1}),顯示在四年的栽種當中土壤總氮保持在之穩定的狀態,2N 處理之無機態氮 (硝酸態氮+銨態氮) 較其他處理低,顯示該處理大部分的無機態氮於施用後被植物利用。土壤 Bray-1 磷為 $70-100 \text{ mg kg}^{-1}$,而土壤可交換性鉀約 300 mg kg^{-1} ,顯示在四年內的施用磷肥與鉀肥,有效增加土壤有效磷與有效鉀含量,對於大部分作物而言,此程度的磷與鉀皆是足夠的。此結果亦顯示進行長期盆栽試驗可考慮在後期減低磷與鉀的施用量。

二、青脆枝的生長及營養狀態

青脆枝為木本科植物,生長速率慢,表六所示在第一次培植與處理期間的三個月內,所抽出的枝條莖葉乾重共為 $20-30 \text{ g}$;而第二次培植與處理的三個半月內,所抽出之條的莖葉乾重為 $10-30 \text{ g}$ 。在第二次採樣前,2N 及 3N 二處理處理部分植株經歷短暫的落葉期,而 3ND 與 3NS 二處理在試驗期間無明顯的落葉。

氮是植物生長所吸收最多的無機營養元素,植物體中含氮的化合物包含蛋白質、胺基酸、核酸以及含氮的二次代謝物,植物體中含氮化合物的代謝速度相當快,大部分的植物每小時有 $0.1-0.2 \%$ 的蛋白質分解與生成 (Racusen and Foote, 1960; Helleburst and Bidwell, 1963)。大分子的不溶性氮為蛋白質、核酸、葉綠素、維生素及生物膜上的氮,是組成植物結構的重要分子,當組織老化時或氮缺乏時

這些大分子的含氮化合物會分解，以小分子的型態運輸至生長勢較強的部位中；可溶性還原態氮為小分子可溶性有機態氮與銨態氮的總和，當植物內氮含量超過生長所需，會以醃胺類的型態暫存於植物體中，而可溶性還原態氮佔總氮的比例增加。與一般植物比，本試驗中青脆枝葉片的總氮濃度相當高（圖五），應為奢侈消耗 (luxury consumption) 的養分狀態，而第二次採樣各部位的總氮濃度皆較第一次採樣者高。青脆枝在第一次採樣中所抽出的枝條，其總氮含量為每株 0.8 至 1.1 g (表七)，每株青脆枝的氮移去量比施肥量少 1 至 2 g，土壤中氮的流失有脫氮作用、揮發，但施入量仍較損失量大，第一次採樣後施氮，導致土壤氮濃度繼續上升，故第二次採樣植物體氮濃度較第一次採樣者高。

在生物體中磷酸鍵與能量代謝以及分子連結有關，如 ATP、核酸、磷脂質及植素 (phytin) 等，有機與無機磷都可提供緩衝能力維持細胞 pH 恆定。大部份植物體磷濃度在 1-10 g kg⁻¹ 之間 (圖九)，青脆枝的磷濃度比一般較作物低 (如大麥 3-4 g kg⁻¹、水稻 3-4 g kg⁻¹)，與苜蓿較為接近 (2-3 g kg⁻¹) (Charles, 2007)。兩次採樣植物體中的磷濃度差異不大，顯示本試驗土壤有效磷的輸入與輸出達一穩定狀態。鉀是調節滲透壓重要的離子，如氣孔的閉合即是透過鉀濃度調節，而鉀對碳水化合物的運輸、可溶性醣類轉化成澱粉等不可或缺。圖十顯示青脆枝葉片的鉀濃度與番茄 (25-35 g kg⁻¹) 以及菸草相近 (25-45 g kg⁻¹) (Mengel, 2007)。第一次採樣每株青脆枝移去 0.5 g 鉀，較施入量的 0.25 g 大，而本試驗土壤有效鉀為 300 mg kg⁻¹，雖然青脆枝移去鉀較施入多，但土壤的有效鉀仍為相當足夠的範圍。

鈣是細胞壁與細胞膜的主成分，為植物中許多聚合物的架橋原子，與酵素的活化、植物荷爾蒙有關，圖十一顯示青脆枝葉片的鈣濃度和蕃茄 (16-38 g kg⁻¹) 相近，較大部分的植物高 (如大麥 7 g kg⁻¹、玉米 9 g kg⁻¹) (Pilbeam and Morley, 2007)，鈣在植物體中的移動性低，鈣缺乏常出現於新葉，因此，本試驗中老葉與成熟葉的鈣濃度較嫩葉高。大部分的鎂 70-85% 是酵素的輔因子 (cofactor)，而 20-30% 鎂為葉綠素的中心原子，故植物缺鎂時會出現黃化的外表徵狀。青脆枝第一次採樣

前有缺鎂的外表徵狀，在採樣前每株施入硫酸鎂以鎂計 0.25 g 鎂，第一次採樣的葉片鎂濃度為 0.5-0.7 g kg⁻¹，而第二次採樣葉片鎂濃度為 1.5-3.0 g kg⁻¹ (圖十二)，試驗開始前所裁剪下的葉片鎂濃度約為 2.4 g kg⁻¹。第二次採樣的鎂濃度與甘蔗較為類似 (0.1-2.0 g kg⁻¹) (Merharut, 2007)。本試驗土壤可交換鈣為可交換鎂的三倍 (表四)，試驗期間均施入鉀與鈣 (因本試驗以過磷酸鈣提供磷)，土壤有效鉀與有效鈣總和為有效鎂之四倍，推測亦因鉀與鈣抑制青脆枝吸收鎂 (Cao and Tibbitts, 1992; Peñalosa et al., 1995; Lasa et al., 2000)，而造成第一次採樣的植體缺鎂。

鐵為植物正鐵血紅素 (heme) 以及鐵硫蛋白 (Fe-S protein) 的組成分，正鐵血紅素是呼吸作用中電子的接收者—細胞色素 (cytochrome) 的部份單元，而另一類與細胞中清除活性氧族有關。鐵硫蛋白參與於植物的光合作用中，如硝酸還原酶 (nitrate reductase) 及亞硫酸還原酶 (sulfite reductase)。圖十三顯示青脆枝葉片鐵濃度與葡萄 (90-160 mg kg⁻¹) 相近 (Römheld and Nikolic, 2007)，鐵在植物內移動性低，因此，在本試驗中成熟葉鐵濃度較嫩葉高。錳在植物體中與酵素的活化相關，如去氫酶 (dehydrogenase)、轉移酶 (transferase)、羥化酶 (hydroxylase)、脫羧酶 (decarboxylase)，與胺基酸、木質素的合成有關。圖十四顯示青脆枝的錳濃度與油菜 (40-100 mg kg⁻¹) 和樹薯 (50-120 mg kg⁻¹) 相近 (Humphries et al., 2007)，而錳在植物內移動性低，本試驗中老葉錳濃度較新葉高。

銅參與植物氮代謝，與植物生長及增加植物抗性有關，銅也是植物內呼吸作用及光合作用氧化觸媒。銅以離子型態被植物所吸收，銅在根內以有機錯合物的型態存在，銅在植物內的移動性低。圖十五顯示本試驗中銅在根部的濃度最高為 40-45 mg kg⁻¹，約為葉片銅濃度的三倍，而老葉的銅濃度略高於新葉。

鋅主要以二價鋅 (Zn²⁺) 的型態被植物吸收，高 pH 環境中以 ZnOH⁺ 為主要的吸收型態，在植物體內以單獨的離子型態或和低分子量的有機質結合運輸。在植物體中鋅與酵素的催化、結構穩固及活化作用有關。大部份植物葉片鋅的濃度範圍在 10-100 mg kg⁻¹，通常葉片鋅濃度小於 10 mg kg⁻¹ 會出現缺乏症，超過 100 mg

kg^{-1} 則出現鋅的毒害 (Storey, 2007)，而當植物缺鋅時吲哚乙酸 (indole acetic acid, IAA) 的合成會受到抑制 (Salimi and Kenfick, 1970; Singh, 1981)，圖十六顯示青脆枝鋅濃度與玉米 ($20\text{-}70 \text{ mg kg}^{-1}$) 相近，根部鋅濃度較其他部位高。

三、處理對青脆枝生長的影響

(一) 不同施氮量對青脆枝的影響

氮是植物體中最多的元素，在大部分的情況下施氮能夠促進植物生長提高產量，在本試驗中不同施氮量對於植株乾重無顯著差異之影響，而增加施氮量可提高青脆枝全株的總氮濃度，一般認為葉片總氮小於 10 g kg^{-1} 為缺乏的養分狀態，大於 30 mg kg^{-1} 則為奢侈消耗 (luxury consumption) 的養分狀態 (Barker and Bryson, 2007)。兩次採樣兩種處理葉片的總氮濃度皆超過 30 mg kg^{-1} (圖五)，顯示在本試驗中的施氮量對青脆枝而言是足夠的。雖植物體內總氮吸收量因施氮量增加而增加，但乾重卻沒有增加，顯示本試驗植物的氮濃度可能已在臨界濃度 (critical concentration) 之上。

不溶性氮指存在於葉綠素、蛋白質、維生素、生物膜等大分子的氮，這些含氮化合物的多寡與遺傳有關，但環境也會改變其濃度 (Clark, 1983)。本試驗中不溶性氮濃度不因施氮量的增加而上升 (圖七)，而可溶性還原態氮與硝酸態氮濃度則因施氮量而增加 (圖六、圖八)；顯示在本試驗中，兩種施氮量足夠青脆枝基本生長，因此，3N 比 2N 處理吸收更多氮，而以小分子的可溶性還原態氮儲存於植物體中。

不同施氮量對土壤陽離子的有效性無顯著差異之影響 (表四)，而施氮量也對植物體內陽離子濃度無顯著差異的影響。與處理前相同栽培方式之 3N 處理，葉的喜樹鹼濃度略低於試驗前所裁剪下的葉，而莖喜樹鹼濃度略高於處理前 (表五)。不同施氮量對喜樹鹼濃度亦無顯著差異之影響 (圖十七)，但少氮處理成熟葉之喜樹鹼濃度在第二次採樣中下降程度較 3N 處理小。

(二) 乾旱對青脆枝的影響

乾旱是常見的環境逆境，植物在乾旱的條件散蒸散作用變少，葉片溫度升高，而輕度的乾旱則導致葉片水分含量變少、膨壓降低以及生長受影響；植物在乾旱條件下調節水份勢能的有機物如脯胺酸增加 (Gzik, 1996; Maldonado et al., 1997; Izzo and Rascio, 1999; Sarker et al., 2005; Monreal et al., 2007)。

表五顯示乾旱對於青脆枝地上部的乾重與未乾旱處理比無顯著差異之影響，顯示本試驗程度的乾旱經過三個月不至於影響植物體生長，而地下部的乾重則受乾旱所刺激增加，因此，青脆枝全株的乾重增加。Tanguilig 等人 (1987) 研究指出，在乾旱逆境下植物的總氮濃度會降低。在本試驗中，乾旱處理 (3ND) 總氮濃度比未乾旱之 3N 處理者有較低的趨勢，但在大部分的植體中 3ND 與 3N 二處理之總氮濃度無顯著差異 (圖五)。乾旱處理之青脆枝葉片脯胺酸濃度約為其餘處理之三倍 (圖四)，顯示本試驗之乾旱處理造成脯胺酸的累積，即是這樣的處理確實造成植物生理的反應，使其有較多的氮以脯胺酸的形式存在植物體中。而乾旱對不溶性氮濃度的影響亦不顯著 (圖七)。但乾旱處理地上部總氮濃度與未乾旱處理比有減低的趨勢，地下部總氮濃度則增加，應是乾旱條件下根部生長勢增加，與嫩葉競爭來自土壤以及老葉中再傳輸 (remobilization) 的氮，因此，第二次採樣嫩葉及成熟葉的不溶性態氮降低，反應出地上部氮的同化作用減少，有許多氮以小分子的形式往下運輸，而造成根部可溶性還原態氮濃度增加。許多研究指出植物在缺水逆境時，硝酸還原酶的活性會受抑制，而植物體內硝酸態氮的累積上升 (Morilla et al., 1973; Heuer et al., 1979; Erskine et al., 1996)，而本試驗中硝酸態但並未明顯的累積 (圖六)，顯示本試驗程度之乾旱對硝酸態氮的同化作用影響不大。

植物對陽離子的吸收與土壤中氮的狀態相關，特別是鉀、鈣、鎂等在土壤中主要以離子狀態存在的元素，土壤中的銨態氮會與土壤中的陽離子競爭，高濃度的銨抑制植物對陽離子的吸收；反之，若硝化作用旺盛而硝酸態氮為主要的氮源時，則陽離子吸收會受到硝酸根所誘導 (Schwartz and Yosef, 1983; Lasa et al., 2000)；此外，土壤水分含量減低時，鉀的質流 (mass flow) 降低，植物對鉀的吸

收亦受抑制 (Kuchenbuch et al., 1986)。乾旱處理土壤的硝酸態氮的濃度下降，土壤中銨態氮/硝酸態氮提高 (表四)，但植物體中的鉀、鈣、鎂濃度受乾旱影響不大 (圖十至圖十二)，應是本處理土壤並非持續維持在低水分含量的狀態，而是在澆水的間隔中乾旱的時間增長，之後立即回水，因此，除了土壤硝酸態氮之外，對其他土壤基本性質影響不大，因此，陽離子的有效性不因乾旱處理而降低，而銨態氮的增加尚不足影響陽離子吸收。

乾旱處理之青脆枝其根部乾重為其他處理之兩倍，對於大部分元素在根部的濃度不因乾重增加而改變，但根的錳濃度下降而含量無顯著改變 (圖十四)。Nambiar (1977) 指出在乾旱逆境下，黑麥草吸收錳的效率下降。推測本試驗乾旱處理根部生長勢增加但錳的吸收效率降低，往地上部傳輸未受影響，而造成根部錳濃度降低。

乾旱處理之土壤有效銅與有效鋅濃度較未乾旱者高 (表四)，兩次採樣青脆枝的銅吸收量略高於 3N 處理，顯示雖土壤的可交換銅增加，但銅的吸收卻未顯著受影響。第一次採樣時乾旱處理者鋅吸收量較 3N 處理低，而第二次採樣時鋅濃度不受乾旱所影響，顯示雖然乾旱可提高土壤可交換鋅，但鋅的吸收也未受影響。

圖十七顯示第一次採樣中乾旱處理可提高葉的喜樹鹼濃度，而莖的喜樹鹼濃度則與未乾旱處理者相近，而地下部的乾重與喜樹鹼濃度較 3N 處理者高，因此，根部喜樹鹼產量較無乾旱者高 (表十二)，在乾旱青脆枝地下部生長速率增加，而喜樹鹼濃度不因根的快速生長而被稀釋且較 3N 處理者高，顯示乾旱逆境可促進青脆枝合成喜樹鹼。

(三) 遮蔭對青脆枝的影響

表五顯示遮蔭對於植物的乾重與未遮蔭者比無顯著差異的影響。遮蔭處理可提高土壤銨態氮，而土壤硝酸態氮雖與 3N 處理無顯著差異，但遮蔭處理有較高的趨勢 (表四)；遮蔭處理者可吸收的無機態氮增加，又因遮蔭減少光合作用，因此，遮蔭處理植體的總氮濃度增加 (圖五)。遮蔭處理可提高植物硝酸態氮濃度 (圖

六)，除了因遮蔭的條件下硝酸還原酶的活性會抑制 (Lillo et al, 1994; Gunes et al., 1994; Gaudreau et al., 1995)外，亦與光合作用少，使醣之固定量下降有關。遮蔭對於可溶性還原態氮濃度及含量與未遮蔭者無顯著差異之影響 (圖八)，但是嫩葉部分可溶性還原態氮對遮蔭處理較敏感，而遮蔭對於不溶性態氮濃度則無一致的影響 (圖七)。

圖十五與圖十六顯示，遮蔭處理根的鐵與錳濃度較未遮蔭者高，另外，地上部的鐵與錳濃度比無遮蔭者有較高之趨勢，可能是遮蔭條件下，植物的蒸散作用降低，同時土壤水分蒸散速率亦較低，因此，土壤保持在較還原的狀態，有較多的鐵與錳以二價鐵及二價錳存在。土壤中可交換性鐵錳雖然與未遮蔭者無顯著差異，但比未遮蔭者有較高的趨勢 (表四)，因此，青脆枝可吸收較多鐵與錳，遮蔭處理的青脆枝鐵與錳濃度略高於未遮蔭者。

遮蔭處理土壤可交換性銅濃度略低於未遮蔭處理 (表四)，圖十五顯示不同處理間全株的銅濃度無顯著差異，而主幹與嫩莖銅濃度較未遮蔭者低。遮蔭處理土壤有效鋅較未遮蔭者高 (表四)，但僅第二次採樣的嫩莖鋅濃度較未遮蔭者高 (圖十六)，顯示遮蔭對於青脆枝鋅吸收與分布影響不大。

圖十七顯示遮蔭可增加喜樹鹼濃度，在第一次採樣中，遮蔭處理之青脆枝喜樹鹼濃度為未遮蔭者之 1-2 倍，而第二次採樣中，遮蔭與否對喜樹鹼濃度之影響較小；遮蔭處理之成熟莖，第二次採樣時喜樹鹼下降幅度較未遮蔭者大，顯示遮蔭處理之青脆枝，喜樹鹼濃度在不同季節中的變動幅度較大。遮蔭處理能提高主幹中的喜樹鹼濃度，而主幹的喜樹鹼產量約為全株之一半 (表十二)。遮蔭處理之成熟莖與成熟葉喜樹鹼濃度為試驗開始前之莖葉喜樹鹼濃之兩倍，青脆枝的喜樹鹼濃度隨採樣時間而變 (何與張，2007；吳，2008)，但試驗前相同栽培方式的 3N 處理，喜樹鹼濃度略低於試驗裁剪前，故本處理喜樹鹼濃度的提高並非源自於喜樹鹼的周年變化，而遮蔭處理所造成。

四、喜樹鹼在青脆枝的分布

在青脆枝所有部位中僅發現喜樹鹼 (camptothecin)，而無 10-羥基喜樹鹼 (10-hydroxycamptothecin)，另外，在青脆枝萃取液的分析圖譜中，喜樹鹼波峰出現在 12.2 分鐘，而所有圖譜上在 14 分鐘的位置皆出現另一波峰 (圖十八、圖十九)，比照 Fulzele 等人 (2004) 與 Puri 等人 (2005) 發表之圖譜，推測該波峰可能為 9-甲氧基喜樹鹼 (9-methoxycamptothecin)。在青脆枝所有位置的分析圖譜皆可發現此波峰，顯示青脆枝全株中皆含喜樹鹼與 9-甲氧基喜樹鹼，而無 10-羥基喜樹鹼，其他研究亦有相同之結果 (江，2003; Fulzele et al., 2005; Namdeo et al. 2008)。

本試驗青脆枝的喜樹鹼濃度 (圖十七)，與生長於印度西高止山的青脆枝濃度相近 (Fulzele et al., 2005; Padmanabha et al., 2006)。本試驗中喜樹鹼濃度在根部最高，其次為主幹、莖、葉，與先前的研究結果一致 (吳，2006；吳，2008)，其他研究指出青脆之喜樹鹼濃度在根皮中最高 (Fulzele et al., 2005; Padmanabha et al., 2006)，嫩葉及嫩莖的喜樹鹼含量比成熟葉、成熟莖低；喜樹與白花舌根草的喜樹鹼濃度以嫩葉最高 (López et al., 1994; Liu, 2004; Yamazaki et al., 2003)，但在青脆枝中嫩葉中沒有喜樹鹼累積的現象。目前台灣現行青脆枝採收，第三年從距離地面 20-30 公分處鋸斷主幹，收集莖與主幹，第五年則採收全株包括莖與根，而本試驗結果指出根、主幹與莖的喜樹鹼濃度較高，嫩葉與嫩莖濃度低，且此部位包含葉綠素不易與喜樹鹼分離，故現行的青脆枝採收方法應是最適宜者。

不同採樣時期亦影響喜樹鹼的濃度及產量 (圖十七與表十二)，本研究顯示第一次採樣時喜樹鹼濃度較第二次採樣高，兩次採樣時成熟莖的喜樹鹼濃度變化不大，其餘部位喜樹鹼濃度約為第一次採樣之 1/2 至 1/9 不等；吳 (2008) 指出在喜樹鹼新梢枝葉的周年調查中，10 月與 12 月青脆枝葉片喜樹鹼濃度為 6 月至 8 月的 1/4，而莖的喜樹鹼濃度在全年中的變化較小。何與張 (2007) 指出日商於台灣所種植的青脆枝與林試所種植之青脆枝，其喜樹鹼濃度皆受不同採樣時間所影響，在 4-5 月所採收之青脆枝喜樹鹼濃度最高。而本試驗結果亦指出喜樹鹼在葉片中的濃度受季節影響較大，而成熟莖的影響較小，而在 8 月採收之青脆枝可獲得最高

的效益，而何與張 (2007) 報告之青脆枝喜樹鹼濃度最高季節在四至五月，比吳 (2008) 所指出之時間早，顯示青脆枝之喜樹鹼於之周年變化，亦受栽培方式及栽培環境所影響。一般認為喜樹鹼在植物根部合成，之後以水溶性較高的型態往地上部運輸 (López et al., 1994; Yamazaki et al., 2003)。青脆枝葉片喜樹鹼濃度在不同月份當中的變化，受根部的合成速率以及往莖葉的分配情形所影響，但根部喜樹鹼的周年變化尚未清楚，因此，無法判斷是傳輸或合成影響地上部的喜樹鹼濃度。

喜樹與白花舌根草的喜樹鹼濃度以嫩葉最高，顯示該兩者根合成喜樹鹼後，以水溶性較高的形式往葉部運送在嫩葉中累積，而葉片喜樹鹼濃度及含量皆隨該葉片之成熟而下降，推測該兩株植物中，大部分之喜樹鹼合成後往頂芽運輸，隨著葉片之成熟，喜樹鹼的輸入比生長速度低，因此，產生稀釋效應造成喜樹鹼濃度減低，且有部分之喜樹鹼有從老葉至新葉的再傳輸 (retranslocation) 的現象，因此造成該兩株植物中嫩葉與嫩莖的喜樹鹼濃度較其他部位高。其可能與保護該兩種植物頂芽不受昆蟲傷害有關。而在青脆枝中，喜樹鹼往葉部運送的量並不多，主要儲存在根部，在根皮中含量最高，可能與保護其根部不受土壤生物的侵襲有關。

結 論

- 一、不同施氮量與遮蔭對於青脆枝乾重影響不顯著。乾旱對於青脆枝地上部的生長影響不大，但可促進青脆枝根的生長，增加根部乾重。
- 二、青脆枝各部位的總氮、硝酸態氮及可溶性還原態氮濃度隨施氮量的增加而升高；乾旱處理會降低根的錳濃度；遮蔭處理會提高青脆枝的硝酸態氮濃度及提高嫩葉的不溶性態氮濃度。
- 三、不同施氮量對於喜樹鹼濃度無顯著差異之影響，而乾旱可提高青脆枝根部喜樹鹼濃度及產量，遮蔭可提高青脆枝主幹喜樹鹼濃度。
- 四、青脆枝中喜樹鹼濃度有根 > 主幹 > 莖 > 葉的趨勢，而嫩葉及嫩莖的喜樹鹼濃度較成熟部位低；兩次採樣中，第一次採樣（八月）青脆枝的喜樹鹼濃度較第二次採樣（十二月）高，且葉片的喜樹鹼濃度隨時間變化的幅度較莖大。



參 考 文 獻

- 李興進。2004。青脆枝栽培簡介。青脆枝產業現況與發展研討會手冊，pp. 11-12。嘉義，臺灣。
- 江瑞拱。2003。抗癌植物~青脆枝。農業世界，pp. 57-60。臺中，臺灣。
- 何政坤，張淑華。2007。利用青脆之優良種苗枝葉生產喜樹鹼。林業研究專訊 14: 35。
- 吳天賞。2004。青脆枝之天然物成分研究。青脆枝產業現況與發展研討會手冊，pp. 17。嘉義，臺灣。
- 吳仔雯。2008。氮肥用量對青脆枝新梢枝葉養分及喜樹鹼含量周年變化的影響。國立臺灣大學研究所碩士論文。臺北，臺灣。
- 吳妍儒。2006。不同牛糞堆肥對青脆枝生長及生理營養的影響。國立臺灣大學研究所碩士論文。臺北，臺灣。
- 莊道揚、傅傑偉。2005。花東地區常見藥用植物，pp. 46。臺東，臺灣。
- 徐原田、林俊義、陳源俊、陳忠川。2006。藥用保健植物種原保存開發與利用，pp. 330。臺中，臺灣。
- 章錦瑜。1991。彩色圖鑑景觀植物 (4)，pp. 16-17。臺北，臺灣。
- 楊士平、李慶國。2009。喜樹鹼及其衍生物的歷史回顧及展望。化學，67: 45-60。
- Aert, B.J. and V. De Luca. 1992. Phytochrome is involved in the light-regulation of vindoline biosynthesis in *Catharanthus*. *Plant Physiol.* 100: 1029-1032.
- Aimi, N., M. Nishimura, A. Miwa, H. Hoshino, S.I. Sakai, and J. Haginiwa. 1989. Pumiloside and deoxypumiloside; plausible intermediates of camptothecin biosynthesis. *Tetrahedron Lett.* 30: 4991-4994.
- Aiyama, R., H. Nagai, K. Nokata, C. Shinohara, and S. Sawada. 1988. A camptothecin derivative from *Nothapodytes foetida*. *Phytochem.* 27: 3661-3664.
- Ball, D.F. 1964. Loss-on ignition as estimate of organic matter and organic carbon in

- non-calcareous soils. *J. Soil Sci.* 15: 84-92.
- Barker, A.V., and G.M. Bryson. 2007. Nitrogen. pp. 21-50. *In* Barker, A.V. and D.J. Pilbeam (eds.) *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Bate, L.S., R.P. Waldren, and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Blacquièrè, T., R. Hofstra, and I. Stolen. 1987. Ammonium and nitrate nutrition in *Plantago lanceolata* and *Plantago major* L. ssp. *Major*. I. Aspects of growth, chemical composition and root respiration. *Plant Soil* 104: 129-141.
- Bremner, J.M. and C.S. Mulvaney. 1982. Salicylic acid-thiosulfate modification on Kjeldahl method to include nitrate and nitrite. pp. 621-622. *In* A. L. Page (ed.) *Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties 2nd* (ed.). Academic Press, New York, USA.
- Broadbent, G.M., J.E. York, and J.M. Hoseley. 1965. Factors affecting the levels of nitrate nitrogen in cured tobacco leaves. *Tob. Sci.* 9: 149-157.
- Bryant J.P., F.S. Chapin III, and D.R. Klein. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.
- Cao, W. and T.W. Tibbitts. 1992. Growth, carbon dioxide exchange and mineral accumulation in potatoes grown at different magnesium concentration. *J. Plant Nutr.* 15: 1359-1371.
- Charles, A.S. 2007. Phosphorus. pp. 51-90. *In* Barker, A.V. and D.J. Pilbeam (eds.) *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Clark, R.B. 1983. Plant genotype differences in the uptake, translocation, accumulation, and use of mineral elements required for plant growth. pp. 49-70. *In* R. Saric and B.C. Loughman (eds.) *Genetic aspects of plant nutrition*. Martinus Nijhoff, Boston, USA.

- De Luca, V. Balsevich, R.T. Tyler, U. Eilert, B.D. Panchuk, and W.G.W. Kurz. 1986. Biosynthesis of indole alkaloids: developmental regulation of the biosynthetic pathway from tabersonine to vindoline in *Catharanthus roseus*. *J. Plant Physiol.* 125: 147-156.
- Erskine, P.D., G.R. Stewart, S. Schmidt, M.H. Turnbull, M. Unkovich, and J.S. Pate. 1996. Water availability- a physiological constraint on nitrate utilization in plant of Australian semi-arid mulga woodlands. *Plant Cell Environ.* 19: 1149-1159.
- Fulzele, D.P. and R.K. Satdive. 2004. Comparison of techniques for the extraction of the anti-cancer drug camptothecin from *Nothapodytes foetida*. *J. Chromatogr. A* 1063: 9-13.
- Fulzele, D.P., R.K. Satdive, and B.B. Pol. 2002. Untransformed root cultures of *Nothapodytes foetida* and production of camptothecin. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 69: 285-288.
- Fulzele, D.P. and R.K. Satdive. 2005. Distribution of anticancer drug camptothecin in *Nothapodytes foetida*. *Fitoterapia* 76:643-648.
- Facchini, P.J., A.G. Johnson, J. Poupart, and V. De Luca. 1966. Uncoupled defense gene expression and antimicrobial alkaloid accumulation in elicited opium poppy cell cultures. *Plant Physiol.* 111: 687-697.
- Gaudreau, L., J. Charbonneau, L.P. Vezina, and A. Gosselin. 1995. effects of photoperiod and photosynthetic photon flux on nitrate content and nitrate reductase activity in greenhouse grown lettuce. *J. Plant Nutr.* 18: 437-453.
- Gunes, A., W.N.K. Post, E.A. Kirkby, and M. Aktas. 1994. Influence of partial replacement of nitrate by amino acid nitrogen or urea in the nutrient medium on nitrate accumulation in NFT grown winter lettuce. *J. Plant Nutr.* 17: 1929-1938.
- Govindachari, T.R. and V. Viswanathan. 1972. Alkaloids of *Mappia foetida*. *Phytochem.* 11: 3529-3531.

- Gzik, A. 1996. Accumulation of proline and pattern of α -amino acids in sugar beet plant in response to osmotic, water and salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 36: 29-38.
- Hellburst, J.A. and R.G.S. Bidwell. 1963. Protein turnover in wheat and snapdragon leaves. *Can. J. Bot.* 41: 961-983.
- Heuer, B., Z. Plaut, and E. Federman. 1979. Nitrate and nitrite reduction in wheat leaves as affected by different types of water stress. *Physiol. Plant.* 46: 318-323.
- Hill, J., A.D. Robson, and J.F. Loneragan. 1979. The effects of copper supply and shading on retranslocation of copper from mature wheat leaves. *Ann. Bot.* 43: 449-457.
- Hsiang, Y. H., R. Hertzberg, S. Hecht, and L.F. Liu. 1985. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J. Biol. Chem.* 260: 14873-14878.
- Humphries, J.M., J.C.R. Stangoulis, and R.D. Graham. Manganese. 2007. pp. 351-374. In Barker, A.V., and D.J. Pilbeam (eds.) *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Hutchinson, C.R., A.H. Hechendorf, J.L., Straughn, P.E. Daddona, and D.E. Cane. 1979. Biosynthesis of camptothecin: III. Definition of strictosamide as the penultimate biosynthetic precursor assisted by carbon-13 and deuterium NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* 101: 3358-3369.
- Izzo, F.N., and N. Rascio. 1999. Plant response to water-deficit condition. pp. 231- 270. In Pessaraki, M. (ed.) *Handbook of plant and crop stress 2nd* (ed). Marcel Dekker, New York.
- Jallel, C.A., B. Sankar, P.V. Murali, M. Gomathinayagam, G.M.A. Lakshmanan, and R. Panneerselvam. 2008. Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*; impacts on ajmalicine accumulation. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 62: 105-111.

- Jallel, C.A., P. Manivannan, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Gopi, R. Somasundaram, and R. Panneerselvam. 2007. Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in *Catharanthus roseus* is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 60: 201-206.
- Jallel, C.A., P. Manivannan, A. Kishorekumar, B. Sankar, R. Gopi, R. Somasundaram, and R. Panneerselvam. 2007. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloids levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloids Surf B Biointerfaces* 59: 150-157.
- Jallel, C.A., P. Manivannan, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Gopi, R. Somasundaram, and R. Panneerselvam. 2007. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 60: 110-116.
- Kai, G.Y., L.M. Dai, X.Y. Mei, J.G. Zheng, W. Wang, Y. Lu, Z.Y. Qiang, and G.Y. Zhou. 2008. *In vitro* plant regeneration from leaf explants of *Ophiorrhiza japonica*. *Biol. Plant.* 52: 557-560.
- Keeney, D.R. and D.W. Nelson. 1982. Modified Griess-Ilosvay method. pp. 684-687. *In* A. L. Page (ed.) *Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties* 2nd (ed.). Academic Press, New York, USA.
- Kitajima, M., S. Masumoto, H. Takayama, and N. Aimi. 1997. Isolation and partial synthesis of 3(*R*)- and 3(*S*)-deoxypumiloside; structural revision of the key metabolite from the camptothecin producing plant, *Ophiorrhiza pumila*. *Tetrahedron Lett.* 38: 4255-4258.
- Kuchbuch, R., N. Classen, and A. Jungk. 1986. Potassium availability in relation to soil moisture. *Plant Soil* 95: 233-243.
- Kutchan, T.M. 1993. 12-Oxo-phytodienoid acid induces accumulation of berberine bridge enzyme transcript in a manner analogous to methyl jasmonate. *J. Plant*

- Physiol. 142: 502-505.
- Lasa, B.S.F., M. Aleu, B. González-Moro, C. Lamsfus, and P.M. Aparicio-Tejo. 2000. Effects of low and high levels of magnesium on the response of sunflower plants grown with ammonium and nitrate. *Plant Soil* 225: 167-174.
- Li, H.L. 1977. pp.648. *In* Flora of Taiwan. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Taipei, Taiwan.
- Li, Z. and Z. Liu. 2005. Camptothecin production in *Camptotheca acuminata* cultured hydroponically and with nitrogen enrichments. *Can. J. Plant Sci.* 85: 447-452.
- Li, C.Y., C.H. Lin, and T.S. Wu. 2005. Quantitative analysis of camptothecin derivatives in *Nothapodytes foetida* using $^1\text{H-NMR}$. *Chem. Pharm. Bull.* 53: 349-349.
- Lillo, C. 1994. Light regulation of nitrate reductase in green leaves of higher plants. *Physiol. Plant.* 90: 616-620.
- Liu, Z. 2000. Drought-induced in vivo synthesis of camptothecin in *Camptotheca acuminata*. *Physiol. Plant.* 110: 483-488.
- Liu, W.Z. 2004. Secretory structures and their relationship to accumulation of camptothecin in *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae). *Acta Bot. Sin.* 46: 1242-1248.
- López-Meyer, M., C.L. Nessler, and T.D. McKnight. 1994. Sites of accumulation of the antitumor alkaloid camptothecin in *Camptotheca acuminata*. *Planta Med.* 60: 558-560.
- Lorence, A. and C.L. Nessler. 2004. Camptothecin, over four decades of surprising findings. *Phytochem.* 65: 2735-2749.
- Lu, Y., H. Wang, W. Wang, Z. Qizn, L. Li, J. Wang, G. Zhou, and G. Kai. 2008. Molecular characterization and expression analysis of a new cDNA encoding strictosidine synthase from *Ophirrhiza japonica*. *Mol. Biol. Rep.* 55: 670-675.
- Maldonado, C.A., G.E. Zuñiga, L.J. Corcuera, and M. Alberdi. 1997. Effect of water

- stress on frost resistance of oak leaves. *Environ. Exp. Bot.* 38: 99-107.
- Mehlich, A. 1985. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15: 1409-1416.
- McCoy, E. and S.E. O'Connor. 2008. Natural products from plant cell cultures. *Prog. Drug Res.* 65: 330-370.
- McLean, E.O. 1982. Soil pH and lime requirement. pp. 199-224. *In* A. L. Page (ed.) *Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties 2nd* (ed.). Academic Press, New York, USA.
- Merhart, D.J. 2007. Magnesium. pp. 145-181. *In* Barker, A.V. and D.J. Pilbeam (eds.) *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Mengel, K. 2007. Potassium. pp. 91-120. *In* Barker, A.V. and D.J. Pilbeam (eds.) *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Monreal, J.A., E.T. Jiménez, E. Remesal, R.M. Velarde, S.G. Mauriño, and C. Echevarría. 2007. Proline content of sugar beet storage root: Response to water deficit and nitrogen fertilization at field condition. *Environ. Exp. Bot.* 60: 257-267.
- Morilla, C., J.S. Boyer, and R.H. Hageman. 1973. Nitrate reductase activity and polyribosomal content of corn (*Zea mays* L.) having low leaf water potentials. *Plant Physiol.* 51: 817-824.
- Murphy, J. and J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27: 31-46
- Nambiar, E.K.S. 1977. The effects of drying of the topsoil and of micronutrients in the subsoil on micronutrient uptake by an intermittently defoliated ryegrass. *Plant Soil* 46: 185-193.
- Namdeo, A.G., A. Sharma, and K.R. Mahadik. 2008. Some observations on *Nothapodytes foetida*: An overview. *Phcog. Rev.* 2: 110-115.
- Osorio, E.J., S.M. Robledo, and J. Bastida. 2008. Alkaloids with antiprotozoal activity.

- pp. 113-190. *In* G.A. Cordell. (ed.) *The Alkaloids Chemistry and Biology*. Elsevier, Burlington, USA.
- Padmanabha, B.V., M. Chandrashekar, B.T. Ramesha, H.C.H. Gowda, R.P. Gunaga, S. Suhas, R. Vasudeva, K.N. Ganeshiah, and R.U. Shaanker. 2006. Patterns of accumulation of camptothecin, an anti-cancer alkaloid in *Nothapodytes nimmoniana* Graham., in the Western Ghats, India: Implications for identifying high-yielding sources of the alkaloid. *Curr. Sci.* 90: 95-100.
- Peñalosa J.M., M.D. Cáceres, and M.J. Sarro. 1995. Nutrition of bean plants in sand culture: influence of calcium/potassium ratio in the nutrient solution. *J. Plant Nutr.* 18: 2023-2032.
- Pilbeam, D.J. and P.S. Morley. Calcium. 2007. pp. 121-144. *In* Barker, A.V. and D.J. Pilbeam (eds.) *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Puri, S.C., G. Handa, B.A. Bhat, V.K. Gupta, T. Amna, N. Verma. R. Anand, K.L. Dhar, and G.N. Qazi. 2005. Separation of 9-methoxycamptothecin and camptothecin from *Nothapodytes foetida* by semipreparative HPLC. *J. Chromatogr. Sci.* 43: 348-350.
- Racusen, D. and M. Foote. 1960. Protein turnover rate in bean leaf discs. *Plant Physiol.* 37: 640-642.
- Rhoades, J.D. 1982. Soluble salts. pp. 167-178. *In* A. L. Page (ed.) *Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties 2nd* (ed.). Academic Press, New York, USA.
- Roewer, I., N. Cloutier, C.L. Nessler, and V. De Luca. 1992. Transient induction of tryptophan decarboxylase (TDC) and strictosidine synthase (SS) genes in cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*. *Plant Cell Rep.* 11: 86-89.
- Römheld, V. and M. Nikolic. 2007. Iron. pp.329-350. *In* Barker, A.V. and D.J. Pilbeam

- (eds.) Handbook of Plant Nutrition. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Sakato, K., H. Tanaka, N. Mukai and M. Misawa. 1974. Isolation and identification of camptothecin from cells of *Camptotheca acuminata* suspension cultures. Agr. Biol. Chem. 38: 217-218.
- Salimi, A.U. and D.G. Kenfick. 1970. Stimulation of grown in zinc-deficient corn seedlings by the addition of tryptophan. Crop Sci. 10: 291-294.
- Sarker, B.S., M. Hara, and M. Uemura. 2005. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplant during and after repetitive soil moisture stress. Sci. Hortic. 103: 387-402.
- Schwartz, S. and B. Bar-Yosef. 1983. Magnesium uptake by tomato plants as affected by Mg and Ca concentration in solution culture and plant age. J. Agron. 75: 267-272.
- Schröder, G., E. Untervusch, M. Kaltenbach, J. Schmidt, D. Strack, V. De Luca, and J. Schröder. Light-induced cytochrome P450-dependent enzyme in indole alkaloid biosynthesis: tabersonine 16-hydroxylase. FEBS Lett. 458: 97-102.
- Storey, J.B. 2007. Zinc. pp. 411-436. In Barker, A. V. and D. J. Pilbeam (eds.) Handbook of Plant Nutrition. Taylor & Francis, Boca Raton, London, UK.
- Strivastava, V., A.S. Negi, J.K. Kumar, M.M. Gupta, and S.P.S. Khanuja. 2005. Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. Bioorgan. Med. Chem. 13: 5892-5908.
- Singh, M. 1981. Effects of zinc, phosphorus, and nitrogen on tryptophan concentration in rice grains grown on limed and un-limed soil. Plant Soil 62: 305-308.
- Silverstrini, A., G. Pasqua, B. Botta, B. Monacelli, R. van der Heijden, and R. Verpoorte. 2002. Effects of alkaloid precursor feeding on a *Camptotheca acuminata* cell line. Plant Physiol. Biochem. 40: 749-753.
- Tanguilig, V.C., E.B. Yambao, J.C. O'Toole, and S.K. DeDatta. 1987. Water stress

- effects on leaf elongation, leaf water potential, transpiration, and nutrient uptake of rice, maize, and soybean. *Plant Soil* 103: 155-168.
- Vazquez-Flota, F.A. and V. De Luca. 1998. Developmental and light regulation of desacetoxyvindoline 4-hydroxylase in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiol.* 117: 1351-1361.
- Wall, M.E., M.C. Wani, C.E. Cook, K.H. Palmer, A.T. McPhail, and G.A. Sim. 1966. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J. Am. Chem. Soc.* 88: 3888-3890.
- Wu, T.S., Y.L. Leu, H.C. Hsu, L.F. Ou, C.C. Chen, C.F. Chen, J.C. Ou, and Y.C. Wu. 1995. Constituents and cytotoxic principles of *Nothapodytes foetida*. *Phytochem.* 2: 383-385.
- Wu, T.S., Y.Y. Chan, Y.L. Leu, C.Y. Chern, and C.F. Chen. 1996. Nothopodytines A and B from *Nothapodytes foetida*. *Phytochem.* 42: 907-908.
- Wang, Y., S.J. Dai, and X.F. Yan. 2004. Effects of light intensity on secondary metabolite camptothecin production in leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings. *Acta Ecologica Sinica* 6: 1118-1112.
- Yamazaki, Y., A. Urano, H. Sudo, M. Kitajima, H. Takayama, M. Yamazaki, N. Aimi, and K. Saito. 2003. Metabolite profiling of alkaloids and strictosidine synthase activity in camptothecin producing plants. *Phytochem.* 62: 461-470.
- Yamazaki, Y., M. Kitajima, M. Arita, H. Takayama, H. Sudo, M. Yamazaki, N. Aimi, and K. Saito. 2004. Biosynthesis of camptothecin. In silico and in vivo tracer study from [1-¹³C]glucose. *Plant Physiol.* 134: 161-170.
- Zhou, B.N., J.M. Hoch, R.K. Johnson, M.R. Mattern, W.K. Eng, J. Ma, S.M. Hecht, D.J. Newman, and D.G.I. Kinston. 2000. Use of COMPARE analysis to discover new natural product drugs: isolation of camptothecin and 9-methoxycamptothecin from a new source. *J. Nat. Prod.* 63: 1273-1276.

附 錄

附表一、種植前土壤之基本性質

Table 1. Some selected chemical properties of the soil before planting

Sand (g kg ⁻¹)	143
Silt (g kg ⁻¹)	493
Clay (g kg ⁻¹)	43
Soil texture class	Loam
pH (1:1)	7.1
EC ¹ (dS m ⁻¹)	1.0
OM ¹ (g kg ⁻¹)	23
Total N (g kg ⁻¹)	1.2
NO ₃ -N (mg kg ⁻¹)	37
NH ₄ -N (mg kg ⁻¹)	114
Bray-1 P (mg kg ⁻¹)	43
M-III ² K (mg kg ⁻¹)	27
M-III Ca (mg kg ⁻¹)	1973
M-III Mg (mg kg ⁻¹)	445
M-III Fe (mg kg ⁻¹)	794
M-III Mn (mg kg ⁻¹)	1753
M-III Cu (mg kg ⁻¹)	6.2
M-III Zn (mg kg ⁻¹)	6.2

¹ EC, electrical conductivity of saturated extract; OM: organic matter

² Mehlich III extractable

附表二、不同處理對青脆枝各部位總氮濃度及含量的影響

Table 2. Effects of different treatments on the concentration and the amount of total nitrogen in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, g kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	31.5 ± 2.5 ^b	30.0 ± 3.4 ^b	33.7 ± 2.0 ^b	11.5 ± 1.8 ^c	21.2 ± 4.4 ^b		
3N	42.2 ± 7.5 ^{ab}	42.8 ± 4.7 ^a	50.5 ± 4.9 ^a	21.5 ± 2.4 ^b	57.5 ± 4.5 ^{ab}		
3ND	41.4 ± 2.4 ^{ab}	42.3 ± 4.8 ^a	45.7 ± 2.1 ^a	21.4 ± 2.9 ^b	37.3 ± 3.6 ^{ab}		
3NS	46.8 ± 10.7 ^a	46.5 ± 2.8 ^a	53.8 ± 4.7 ^a	24.2 ± 4.7 ^a	44.9 ± 4.8 ^a		
The second sampling							
2N	20.8 ± 3.2 ^b	48.6 ± 2.1 ^b	53.4 ± 3.8 ^b	34.3 ± 4.9 ^c	44.3 ± 5.7 ^b	14.3 ± 2.2 ^b	24.1 ± 2.3 ^c
3N	23.5 ± 2.2 ^{ab}	61.4 ± 2.3 ^a	53.8 ± 8.0 ^b	46.0 ± 5.8 ^a	57.9 ± 9.0 ^b	17.7 ± 2.6 ^{ab}	26.7 ± 2.1 ^{bc}
3ND	23.3 ± 2.8 ^{ab}	53.7 ± 6.8 ^a	48.1 ± 2.8 ^b	39.4 ± 1.3 ^b	50.6 ± 5.7 ^b	16.0 ± 2.9 ^b	28.5 ± 1.5 ^b
3NS	27.6 ± 4.2 ^a	59.8 ± 3.0 ^a	60.4 ± 6.3 ^a	48.7 ± 5.9 ^a	54.0 ± 1.6 ^a	20.1 ± 5.5 ^a	32.1 ± 6.0 ^a
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	752 ± 315 ^a	318 ± 166 ^a	293 ± 118 ^a	96 ± 46 ^a	44 ± 14 ^a		
3N	872 ± 323 ^a	502 ± 204 ^a	202 ± 111 ^a	136 ± 68 ^a	31 ± 22 ^a		
3ND	824 ± 124 ^a	381 ± 94 ^a	252 ± 116 ^a	148 ± 19 ^a	43 ± 25 ^a		
3NS	1119 ± 314 ^a	474 ± 201 ^a	466 ± 140 ^a	127 ± 30 ^a	52 ± 10 ^a		
The second sampling							
2N	2957 ± 710 ^a	488 ± 143 ^a	381 ± 117 ^a	313 ± 108 ^a	51 ± 12 ^a	980 ± 309 ^b	795 ± 78 ^b
3N	3269 ± 1032 ^a	973 ± 149 ^a	96 ± 38 ^b	439 ± 222 ^a	30 ± 7 ^a	1312 ± 111 ^b	930 ± 205 ^b
3ND	4957 ± 537 ^a	350 ± 92 ^a	195 ± 30 ^b	369 ± 56 ^a	54 ± 46 ^a	1730 ± 274 ^a	1899 ± 369 ^a
3NS	3569 ± 315 ^a	609 ± 203 ^a	405 ± 64 ^a	313 ± 17 ^a	61 ± 33 ^a	1339 ± 52 ^b	998 ± 197 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表三、不同處理對青脆枝各部位硝酸態氮濃度的影響

Table 3. Effects of different treatments on the concentration of nitrate nitrogen in various parts of *N.*

foetida

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling, mg kg ⁻¹							
2N	38 ± 7 ^c	41 ± 22 ^c	41 ± 2 ^c	29 ± 15 ^b			
3N	188 ± 29 ^b	173 ± 34 ^b	173 ± 63 ^b	231 ± 96 ^{ab}			
3ND	384 ± 130 ^a	289 ± 27 ^a	194 ± 59 ^b	642 ± 262 ^a			
3NS	266 ± 84 ^{ab}	151 ± 35 ^b	290 ± 83 ^a	318 ± 25 ^a			
The second sampling, mg kg ⁻¹							
2N	292 ± 190 ^a	176 ± 136 ^c	123 ± 92 ^b	770 ± 430 ^b		151 ± 62 ^a	636 ± 357 ^c
3N	694 ± 231 ^a	625 ± 166 ^b	362 ± 157 ^{ab}	1799 ± 288 ^a		256 ± 172 ^a	1057 ± 397 ^b
3ND	564 ± 182 ^a	640 ± 147 ^b	343 ± 103 ^{ab}	1295 ± 440 ^{ab}		301 ± 90 ^a	849 ± 108 ^{bc}
3NS	634 ± 180 ^a	1092 ± 233 ^a	579 ± 334 ^a	1661 ± 304 ^a		218 ± 78 ^a	1514 ± 220 ^a

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表四、不同處理對青脆枝各部位不溶性氮濃度的影響

Table 4. Effects of different treatments on the concentration of insoluble nitrogen in various parts of

N. foetida

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	The first sampling, g kg ⁻¹						
2N	15.8 ± 1.0 ^a	20.9 ± 1.2 ^a	23.7 ± 1.6 ^a	7.4 ± 0.9 ^b			
3N	17.6 ± 1.9 ^a	21.3 ± 2.5 ^a	25.7 ± 3.3 ^a	10.0 ± 0.8 ^a			
3ND	14.9 ± 2.5 ^a	19.7 ± 2.5 ^a	22.8 ± 1.7 ^a	8.0 ± 0.8 ^b			
3NS	16.2 ± 2.2 ^a	20.2 ± 1.9 ^a	23.9 ± 0.7 ^a	8.5 ± 0.9 ^b			
The second sampling, g kg ⁻¹							
2N	9.7 ± 1.4 ^a	28.7 ± 2.5 ^b	30.2 ± 3.0 ^b	8.5 ± 1.2 ^a		4.7 ± 0.5 ^a	11.5 ± 0.8 ^a
3N	7.8 ± 1.6 ^b	32.8 ± 1.1 ^a	38.2 ± 0.4 ^a	8.1 ± 1.7 ^a		4.7 ± 1.0 ^a	11.1 ± 0.3 ^a
3ND	8.6 ± 1.1 ^{ab}	27.0 ± 2.6 ^b	30.6 ± 0.5 ^b	7.2 ± 0.8 ^a		4.7 ± 1.0 ^a	11.7 ± 0.4 ^a
3NS	10.2 ± 1.0 ^a	33.1 ± 1.8 ^a	32.6 ± 2.5 ^b	8.6 ± 1.5 ^a		5.2 ± 1.4 ^a	12.1 ± 1.8 ^a

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表五、不同處理對青脆枝各部位可溶性還原態氮濃度的影響

Table 5. Effects of different treatments on the concentration of soluble reduced nitrogen in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling, g kg ⁻¹							
2N	8.3 ± 1.6 ^b	9.8 ± 3.9 ^b	10.5 ± 2.6 ^c	6.1 ± 2.7 ^b			
3N	17.4 ± 2.9 ^a	20.8 ± 5.6 ^a	22.5 ± 4.1 ^b	11.8 ± 2.2 ^a			
3ND	19.0 ± 2.0 ^a	24.8 ± 3.4 ^a	22.3 ± 2.0 ^b	12.9 ± 2.3 ^a			
3NS	20.6 ± 4.2 ^a	24.4 ± 6.4 ^a	29.8 ± 4.9 ^a	14.0 ± 3.4 ^a			
The second sampling, g kg ⁻¹							
2N	10.8 ± 2.5 ^b	19.5 ± 2.4 ^b	22.9 ± 2.9 ^{ab}	23.5 ± 1.5 ^b		8.1 ± 3.6 ^b	12.0 ± 2.4 ^b
3N	15.0 ± 1.6 ^a	28.0 ± 2.7 ^a	21.4 ± 1.0 ^a	36.1 ± 7.3 ^a		12.7 ± 2.6 ^{ab}	14.2 ± 2.5 ^{ab}
3ND	14.1 ± 1.9 ^{ab}	26.4 ± 4.6 ^a	17.3 ± 2.3 ^{ab}	30.5 ± 2.0 ^{ab}		10.9 ± 2.6 ^{ab}	16.0 ± 1.2 ^a
3NS	16.8 ± 3.4 ^a	25.7 ± 2.3 ^a	27.2 ± 6.5 ^a	31.7 ± 8.7 ^{ab}		14.7 ± 4.4 ^a	18.6 ± 4.6 ^a

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表六、不同處理對青脆枝各部位磷濃度及含量的影響

Table 6. Effects of different treatments on the concentration and the amount of phosphorus in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, g kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	1.9 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.2 ^a	1.5 ± 0.2 ^a	2.7 ± 0.4 ^a		
3N	2.2 ± 0.3 ^a	1.9 ± 0.2 ^a	2.9 ± 0.6 ^a	1.9 ± 0.8 ^a	3.5 ± 0.6 ^a		
3ND	2.2 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.3 ^a	2.9 ± 0.5 ^a	1.9 ± 0.4 ^a	2.8 ± 0.3 ^a		
3NS	2.2 ± 0.2 ^b	1.8 ± 0.2 ^a	2.6 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.5 ^a	3.7 ± 0.3 ^a		
The second sampling							
2N	1.2 ± 0.1 ^a	1.8 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.2 ^b	1.5 ± 0.2 ^b	2.3 ± 0.4 ^b	0.7 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.4 ^{bc}
3N	1.4 ± 0.2 ^a	2.2 ± 0.3 ^a	2.9 ± 0.6 ^a	1.7 ± 0.4 ^{ab}	2.6 ± 0.6 ^a	0.8 ± 0.1 ^a	2.5 ± 0.3 ^{ab}
3ND	1.6 ± 0.2 ^a	2.2 ± 0.2 ^a	2.2 ± 0.3 ^b	2.0 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.5 ^a	0.7 ± 0.1 ^a	2.7 ± 0.2 ^a
3NS	1.3 ± 0.2 ^a	2.1 ± 0.2 ^a	2.1 ± 0.4 ^b	1.8 ± 0.3 ^{ab}	2.6 ± 0.2 ^a	0.7 ± 0.1 ^a	2.1 ± 0.4 ^c
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	55.2 ± 22.7 ^a	17.2 ± 9.5 ^a	20.0 ± 7.2 ^a	12.1 ± 5.7 ^a	5.8 ± 2.4 ^a		
3N	53.9 ± 22.0 ^a	25.2 ± 13.4 ^a	12.1 ± 6.4 ^a	13.1 ± 7.0 ^a	3.5 ± 1.6 ^a		
3ND	49.1 ± 5.9 ^a	16.7 ± 4.3 ^a	15.4 ± 7.1 ^a	13.1 ± 1.0 ^a	3.9 ± 1.5 ^a		
3NS	56.3 ± 13.9 ^a	18.3 ± 7.3 ^a	10.8 ± 4.0 ^a	10.8 ± 4.0 ^a	5.0 ± 0.4 ^a		
The second sampling							
2N	1497 ± 367 ^a	314 ± 93 ^a	275 ± 99 ^a	296 ± 117 ^a	115 ± 66 ^a	425 ± 101 ^b	73 ± 35 ^b
3N	1269 ± 650 ^a	537 ± 93 ^a	123 ± 13 ^b	326 ± 187 ^a	44 ± 18 ^a	476 ± 163 ^b	93 ± 31 ^b
3ND	1610 ± 232 ^a	225 ± 65 ^a	144 ± 29 ^{ab}	257 ± 22 ^a	67 ± 18 ^a	734 ± 183 ^a	183 ± 47 ^a
3NS	1568 ± 233 ^a	370 ± 103 ^a	274 ± 63 ^a	276 ± 83 ^a	100 ± 25 ^a	456 ± 112 ^b	92 ± 38 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表七、不同處理對青脆枝各部位鉀濃度及含量的影響

Table 7. Effects of different treatments on the concentration and the amount of potassium in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, g kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	20.2 ± 2.0 ^b	22.8 ± 2.9 ^c	24.3 ± 2.1 ^c	11.9 ± 3.1 ^b	21.2 ± 5.4 ^b		
3N	23.5 ± 3.2 ^{ab}	24.4 ± 4.8 ^{bc}	27.4 ± 2.7 ^{ab}	18.6 ± 5.2 ^a	32.7 ± 2.4 ^a		
3ND	21.9 ± 3.1 ^b	26.5 ± 2.9 ^b	24.7 ± 4.0 ^{bc}	14.2 ± 2.3 ^b	24.1 ± 6.0 ^{ab}		
3NS	26.5 ± 2.7 ^a	31.3 ± 2.3 ^a	29.1 ± 2.5 ^a	14.3 ± 3.3 ^b	29.3 ± 10.5 ^a		
The second sampling							
2N	10.1 ± 2.4 ^a	35.3 ± 2.0 ^b	36.2 ± 5.9 ^a	31.9 ± 7.1 ^a	44.3 ± 5.7 ^a	5.3 ± 0.8 ^b	19.1 ± 3.0 ^{bc}
3N	7.7 ± 2.8 ^a	33.7 ± 0.5 ^b	38.2 ± 6.4 ^a	29.6 ± 8.2 ^a	57.9 ± 9.0 ^a	5.6 ± 1.3 ^b	22.9 ± 6.6 ^{ab}
3ND	8.1 ± 0.6 ^a	33.9 ± 1.6 ^b	35.6 ± 4.3 ^a	27.8 ± 3.1 ^a	50.6 ± 5.7 ^a	6.6 ± 0.7 ^a	26.5 ± 1.8 ^a
3NS	9.6 ± 2.7 ^a	37.6 ± 1.8 ^a	38.9 ± 2.5 ^a	30.6 ± 3.8 ^a	54.0 ± 1.6 ^a	5.4 ± 0.9 ^b	15.3 ± 3.0 ^c
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	576 ± 223 ^a	224 ± 101 ^a	210 ± 89 ^a	98 ± 48 ^a	43 ± 16 ^a		
3N	565 ± 202 ^a	297 ± 136 ^a	111 ± 56 ^a	122 ± 57 ^a	36 ± 14 ^a		
3ND	502 ± 97 ^a	236 ± 52 ^a	140 ± 69 ^a	98 ± 15 ^a	31 ± 11 ^a		
3NS	708 ± 212 ^a	327 ± 132 ^a	256 ± 72 ^a	78 ± 18 ^a	46 ± 11 ^a		
The second sampling							
2N	2020 ± 419 ^a	314 ± 93 ^a	275 ± 99 ^a	296 ± 117 ^a	115 ± 66 ^a	425 ± 101 ^b	597 ± 227 ^b
3N	2077 ± 1039 ^a	537 ± 93 ^a	123 ± 13 ^b	326 ± 187 ^a	44 ± 18 ^a	476 ± 163 ^b	900 ± 524 ^b
3ND	3208 ± 486 ^a	225 ± 65 ^a	144 ± 29 ^{ab}	257 ± 22 ^a	67 ± 18 ^a	734 ± 183 ^a	1781 ± 415 ^a
3NS	2137 ± 474 ^a	370 ± 103 ^a	274 ± 63 ^a	276 ± 83 ^a	100 ± 25 ^a	456 ± 112 ^b	661 ± 290 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表八、不同處理對青脆枝各部位鈣濃度及含量的影響

Table 8. Effects of different treatments on the concentration and the amount of calcium in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	YL	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, g kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	13.5 ± 1.6 ^a	18.0 ± 4.6 ^a	14.8 ± 2.2 ^a	5.8 ± 0.7 ^b	13.8 ± 1.4 ^{ab}		
3N	13.3 ± 1.5 ^a	17.4 ± 3.5 ^a	12.0 ± 2.7 ^a	6.0 ± 1.7 ^b	12.4 ± 1.7 ^b		
3ND	13.4 ± 1.4 ^a	17.2 ± 2.9 ^a	12.9 ± 1.8 ^a	8.3 ± 1.0 ^a	15.1 ± 2.8 ^a		
3NS	15.2 ± 1.7 ^a	21.2 ± 4.3 ^a	14.0 ± 3.1 ^a	7.6 ± 2.3 ^a	15.4 ± 2.3 ^a		
The second sampling							
2N	6.3 ± 1.5 ^a	29.6 ± 4.0 ^a	17.2 ± 4.8 ^a	6.1 ± 1.8 ^c	9.3 ± 4.5 ^a	4.8 ± 1.9 ^a	3.6 ± 1.6 ^{bc}
3N	4.7 ± 1.8 ^a	25.2 ± 2.9 ^a	16.2 ± 9.7 ^a	10.0 ± 1.7 ^a	11.0 ± 5.1 ^a	4.1 ± 1.6 ^a	2.4 ± 0.8 ^c
3ND	5.7 ± 1.2 ^a	23.6 ± 6.7 ^a	16.8 ± 3.7 ^a	8.3 ± 1.8 ^b	14.0 ± 3.8 ^a	4.3 ± 1.6 ^a	5.7 ± 0.9 ^a
3NS	7.4 ± 1.5 ^a	27.1 ± 4.6 ^a	16.2 ± 6.0 ^a	10.4 ± 1.6 ^a	14.8 ± 1.3 ^a	5.1 ± 2.4 ^a	5.0 ± 2.8 ^{ab}
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	400 ± 190 ^a	194 ± 126 ^a	130 ± 64 ^a	48 ± 23 ^a	28 ± 9 ^a		
3N	331 ± 159 ^a	226 ± 108 ^a	55 ± 44 ^a	37 ± 19 ^a	13 ± 7 ^a		
3ND	303 ± 10 ^a	153 ± 34 ^a	72 ± 35 ^a	57 ± 7 ^a	21 ± 10 ^a		
3NS	383 ± 82 ^a	198 ± 67 ^a	118 ± 18 ^a	44 ± 16 ^a	23 ± 3.7 ^a		
The second sampling							
2N	886 ± 226 ^a	243 ± 58 ^a	132 ± 55 ^a	56 ± 13 ^a	23 ± 10 ^a	321 ± 98 ^a	116 ± 80 ^b
3N	749 ± 374 ^a	409 ± 114 ^a	44 ± 30 ^b	123 ± 47 ^a	14 ± 5 ^a	315 ± 116 ^a	94 ± 29 ^b
3ND	1130 ± 174 ^a	152 ± 51 ^a	66 ± 16 ^{ab}	76 ± 11 ^a	20 ± 7 ^a	445 ± 210 ^a	371 ± 64 ^a
3NS	1054 ± 226 ^a	288 ± 133 ^a	102 ± 20 ^{ab}	96 ± 38 ^a	28 ± 7 ^a	310 ± 33 ^a	230 ± 210 ^{ab}

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表九、不同處理對青脆枝各部位鎂濃度及含量的影響

Table 9. Effects of different treatments on the concentration and the amount of magnesium in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, g kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	0.6 ± 0.1 ^a	0.7 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.3 ^a		
3N	0.5 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	0.7 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.2 ^a	0.9 ± 0.3 ^a		
3ND	0.6 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.2 ^{ab}		
3NS	0.4 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.1 ^b		
The second sampling							
2N	2.1 ± 0.4 ^a	1.5 ± 0.7 ^b	1.9 ± 1.0 ^a	1.0 ± 0.3 ^{bc}	1.7 ± 0.8 ^a	1.0 ± 0.2 ^a	5.5 ± 0.5 ^{ab}
3N	2.3 ± 0.2 ^a	2.0 ± 0.3 ^{ab}	1.7 ± 0.9 ^a	0.8 ± 0.4 ^c	0.9 ± 0.5 ^b	1.0 ± 0.1 ^a	5.7 ± 0.5 ^a
3ND	2.7 ± 0.4 ^a	1.6 ± 0.6 ^b	2.0 ± 0.3 ^a	1.7 ± 0.8 ^a	1.9 ± 0.3 ^a	1.1 ± 0.2 ^a	5.8 ± 0.4 ^a
3NS	2.2 ± 0.7 ^a	2.6 ± 0.5 ^a	2.2 ± 0.3 ^a	1.4 ± 0.4 ^{ab}	2.0 ± 0.2 ^a	1.0 ± 0.2 ^a	5.1 ± 0.8 ^b
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	17.3 ± 8.1 ^a	6.1 ± 2.7 ^a	5.2 ± 2.4 ^a	4.1 ± 2.3 ^a	1.9 ± 1.0 ^a		
3N	12.0 ± 5.2 ^a	5.5 ± 1.9 ^a	2.9 ± 1.9 ^a	2.7 ± 1.6 ^a	0.9 ± 0.4 ^a		
3ND	12.4 ± 1.0 ^a	4.7 ± 1.9 ^a	3.0 ± 1.6 ^a	3.6 ± 1.2 ^a	1.2 ± 0.2 ^a		
3NS	11.0 ± 2.1 ^a	4.4 ± 0.9 ^a	4.0 ± 0.6 ^a	1.8 ± 0.7 ^a	0.7 ± 0.2 ^a		
The second sampling							
2N	305 ± 84 ^b	16 ± 11 ^a	14 ± 9 ^a	9 ± 4 ^a	4.0 ± 2.4 ^a	84 ± 32 ^a	179 ± 80 ^b
3N	321 ± 97 ^b	32 ± 9 ^a	4 ± 3 ^a	20 ± 3 ^a	2.1 ± 0.8 ^a	83 ± 19 ^a	206 ± 50 ^b
3ND	541 ± 73 ^a	11 ± 7 ^a	8 ± 2 ^a	15 ± 6 ^a	2.9 ± 1.4 ^a	120 ± 23 ^a	384 ± 70 ^a
3NS	320 ± 91 ^a	25 ± 7 ^a	15 ± 2 ^a	12 ± 5 ^a	3.9 ± 1.2 ^a	88 ± 17 ^a	176 ± 74 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表十、不同處理對青脆枝各部位鐵濃度及含量的影響

Table 10. Effects of different treatments on the concentration and the amount of iron in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, mg kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	77 ± 13 ^a	115 ± 25 ^a	70 ± 12 ^a	43 ± 9 ^a	62 ± 21 ^a		
3N	91 ± 7 ^a	118 ± 25 ^a	76 ± 21 ^a	50 ± 17 ^a	85 ± 23 ^a		
3ND	77 ± 8 ^a	99 ± 14 ^a	75 ± 13 ^a	42 ± 10 ^a	89 ± 36 ^a		
3NS	118 ± 42 ^a	120 ± 29 ^a	68 ± 13 ^a	53 ± 15 ^a	79 ± 13 ^a		
The second sampling							
2N	593 ± 232 ^a	150 ± 37 ^a	87 ± 14 ^b	59 ± 7 ^a	55 ± 21 ^c	293 ± 92 ^a	1805 ± 335 ^{ab}
3N	697 ± 261 ^a	112 ± 13 ^a	104 ± 11 ^b	38 ± 7 ^c	145 ± 25 ^a	268 ± 132 ^a	1723 ± 338 ^b
3ND	856 ± 183 ^a	123 ± 25 ^a	87 ± 17 ^b	56 ± 9 ^{ab}	101 ± 22 ^b	426 ± 185 ^a	1727 ± 437 ^{ab}
3NS	726 ± 328 ^a	180 ± 87 ^a	143 ± 36 ^a	49 ± 12 ^b	116 ± 26 ^{ab}	293 ± 150 ^a	2103 ± 339 ^a
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	2.1 ± 7.8 ^a	1.1 ± 0.5 ^a	0.6 ± 0.3 ^a	0.4 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a		
3N	2.3 ± 0.9 ^a	1.5 ± 0.7 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.4 ± 0.3 ^a	0.1 ± 0.0 ^a		
3ND	1.7 ± 0.2 ^a	0.9 ± 0.2 ^a	0.4 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a		
3NS	3.0 ± 1.2 ^a	1.5 ± 0.6 ^a	1.1 ± 0.6 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a		
The second sampling							
2N	83 ± 29 ^b	1.3 ± 0.6 ^a	0.6 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.2 ^a	0.1 ± 0.0 ^b	23 ± 3 ^b	57 ± 27 ^b
3N	75 ± 13 ^b	1.8 ± 0.4 ^a	0.2 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.2 ^a	0.1 ± 0.0 ^b	22 ± 7 ^b	57 ± 5 ^b
3ND	176 ± 54 ^a	0.8 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^b	52 ± 25 ^a	123 ± 45 ^a
3NS	92 ± 13 ^b	1.6 ± 0.8 ^a	0.8 ± 0.2 ^a	0.4 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	18 ± 3 ^b	70 ± 15 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表十一、不同處理對青脆枝各部位錳濃度及含量的影響

Table 11. Effects of different treatments on the concentration and the amount of manganese in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, mg kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	39 ± 10 ^a	47 ± 9 ^a	39 ± 9 ^{ab}	28 ± 9 ^{bc}	38 ± 16 ^a		
3N	43 ± 10 ^a	44 ± 9 ^a	46 ± 15 ^a	39 ± 11 ^{ab}	31 ± 10 ^a		
3ND	30 ± 7 ^a	41 ± 10 ^a	28 ± 6 ^c	24 ± 6 ^c	21 ± 3 ^a		
3NS	37 ± 7 ^a	47 ± 11 ^a	30 ± 4 ^{bc}	42 ± 18 ^a	37 ± 13 ^a		
The second sampling							
2N	50 ± 14 ^b	69 ± 29 ^b	59 ± 34 ^a	35 ± 16 ^a	44 ± 6 ^a	19 ± 6 ^b	121 ± 36 ^a
3N	54 ± 9 ^b	61 ± 8 ^b	44 ± 12 ^a	47 ± 18 ^a	58 ± 9 ^a	26 ± 7 ^a	117 ± 26 ^b
3ND	49 ± 9 ^b	82 ± 23 ^{ab}	60 ± 17 ^a	38 ± 12 ^a	51 ± 6 ^a	23 ± 4 ^{ab}	83 ± 9 ^c
3NS	70 ± 10 ^a	109 ± 32 ^a	81 ± 31 ^a	49 ± 17 ^a	50 ± 11 ^a	28 ± 9 ^a	162 ± 38 ^a
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	1.0 ± 0.3 ^a	0.4 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.07 ± 0.00 ^a		
3N	0.9 ± 0.3 ^a	0.5 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.03 ± 0.01 ^b		
3ND	0.7 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.0 ^a	0.03 ± 0.01 ^b		
3NS	1.0 ± 0.3 ^a	0.4 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.05 ± 0.02 ^a		
The second sampling							
2N	6.7 ± 1.8 ^a	0.5 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1 ^{ab}	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	1.8 ± 1.0 ^a	3.7 ± 1.8 ^a
3N	7.3 ± 2.5 ^a	1.0 ± 0.3 ^a	0.1 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.2 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	1.8 ± 0.1 ^a	4.4 ± 2.1 ^a
3ND	10.0 ± 2.4 ^a	0.5 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1 ^{ab}	0.4 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	2.4 ± 0.4 ^a	6.3 ± 2.2 ^a
3NS	11.0 ± 1.6 ^a	1.0 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	1.2 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.6 ^a	6.5 ± 2.0 ^a

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表十二、不同處理對青脆枝各部位銅濃度及含量的影響

Table 12. Effects of different treatments on the concentration and the amount of copper in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
The first sampling							
2N	10.7 ± 0.9 ^a	12.8 ± 1.3 ^a	9.3 ± 1.4 ^b	7.9 ± 2.8 ^b	16.8 ± 4.2 ^a		
3N	11.2 ± 1.7 ^a	10.5 ± 2.2 ^a	11.3 ± 3.2 ^{ab}	11.8 ± 3.8 ^a	17.0 ± 3.0 ^a		
3ND	13.7 ± 1.3 ^a	15.6 ± 3.2 ^a	15.0 ± 3.0 ^a	9.8 ± 3.0 ^{ab}	21.7 ± 4.0 ^a		
3NS	12.6 ± 1.7 ^a	10.7 ± 2.3 ^a	11.9 ± 1.4 ^{ab}	13.6 ± 4.0 ^a	21.9 ± 4.6 ^a		
The second sampling							
2N	19.8 ± 5.1 ^a	13.9 ± 4.1 ^b	12.4 ± 2.0 ^a	11.2 ± 2.4 ^a	18.2 ± 4.8 ^b	8.3 ± 2.3 ^{ab}	47.1 ± 9.6 ^a
3N	16.6 ± 3.5 ^a	16.5 ± 1.6 ^b	14.5 ± 5.3 ^a	12.1 ± 2.5 ^a	30.1 ± 5.8 ^a	6.7 ± 2.6 ^b	42.1 ± 9.1 ^a
3ND	20.5 ± 5.0 ^a	22.2 ± 3.2 ^a	15.0 ± 3.3 ^a	12.1 ± 2.8 ^a	20.0 ± 3.3 ^b	10.2 ± 1.2 ^a	40.7 ± 8.2 ^a
3NS	15.6 ± 5.9 ^a	14.3 ± 1.6 ^b	13.5 ± 3.5 ^a	14.2 ± 5.0 ^a	22.0 ± 2.8 ^b	4.9 ± 1.9 ^c	43.3 ± 9.0 ^a
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	0.31 ± 0.12 ^a	0.12 ± 0.06 ^a	0.08 ± 0.04 ^a	0.07 ± 0.04 ^a	0.03 ± 0.01 ^a		
3N	0.29 ± 0.13 ^a	0.14 ± 0.08 ^a	0.05 ± 0.03 ^a	0.08 ± 0.04 ^a	0.02 ± 0.01 ^a		
3ND	0.32 ± 0.05 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.04 ^a	0.07 ± 0.02 ^a	0.03 ± 0.01 ^a		
3NS	0.31 ± 0.06 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.08 ± 0.02 ^a	0.03 ± 0.01 ^a		
The second sampling							
2N	2.61 ± 0.90 ^a	0.13 ± 0.05 ^a	0.10 ± 0.04 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.03 ± 0.04 ^a	0.68 ± 0.17 ^b	1.58 ± 0.82 ^a
3N	2.44 ± 1.10 ^a	0.27 ± 0.06 ^a	0.03 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.08 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	0.53 ± 0.17 ^b	1.60 ± 0.73 ^a
3ND	4.01 ± 0.70 ^a	0.15 ± 0.04 ^a	0.06 ± 0.01 ^{ab}	0.11 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	1.16 ± 0.35 ^a	2.50 ± 0.84 ^a
3NS	2.47 ± 0.97 ^a	0.14 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.04 ^a	0.14 ± 0.06 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.42 ± 0.10 ^b	1.63 ± 0.85 ^a

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

附表十三、不同處理對青脆枝各部位鋅濃度及含量的影響

Table 13. Effects of different treatments on the concentration and the amount of zinc in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, mg kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	51.5 ± 1.5 ^a	46.6 ± 1.3 ^{ab}	51.3 ± 1.3 ^b	51.4 ± 4.4 ^a	75.6 ± 5.6 ^a		
3N	57.1 ± 6.0 ^a	50.7 ± 2.8 ^a	67.6 ± 15.8 ^a	54.6 ± 7.7 ^a	102.0 ± 20.9 ^a		
3ND	52.5 ± 3.4 ^a	43.9 ± 4.8 ^b	63.8 ± 14.7 ^a	49.2 ± 4.2 ^a	96.6 ± 37.8 ^a		
3NS	57.4 ± 5.2 ^a	50.8 ± 6.9 ^a	57.4 ± 9.0 ^{ab}	55.2 ± 3.4 ^a	100.5 ± 12.1 ^a		
The second sampling							
2N	38.0 ± 3.4 ^a	30.1 ± 8.8 ^a	18.6 ± 4.6 ^c	23.5 ± 3.1 ^b	40.5 ± 9.1 ^a	26.9 ± 15.2 ^a	76.2 ± 17.4 ^a
3N	44.2 ± 7.0 ^a	29.1 ± 2.8 ^a	38.7 ± 10.9 ^{ab}	22.4 ± 6.8 ^b	49.7 ± 14.8 ^a	24.8 ± 7.8 ^a	69.2 ± 9.4 ^a
3ND	46.4 ± 5.6 ^a	34.3 ± 4.0 ^a	32.5 ± 5.3 ^b	26.3 ± 4.3 ^{ab}	46.4 ± 15.9 ^a	26.9 ± 5.7 ^a	81.8 ± 10.0 ^a
3NS	37.5 ± 6.1 ^a	38.3 ± 9.2 ^a	45.5 ± 6.0 ^a	31.0 ± 8.5 ^a	58.1 ± 9.4 ^a	21.6 ± 3.5 ^a	70.8 ± 18.4 ^a
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	1.4 ± 0.6 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.4 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.2 ^a	0.4 ± 0.2 ^a		
3N	1.4 ± 0.5 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.3 ^a	0.3 ± 0.1 ^a		
3ND	1.2 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.1 ^a		
3NS	1.4 ± 0.3 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.1 ^a		
The second sampling							
2N	5.4 ± 1.4 ^b	0.3 ± 0.2 ^a	0.1 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	2.3 ± 1.0 ^a	2.4 ± 1.1 ^b
3N	5.2 ± 1.4 ^b	0.4 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	2.0 ± 0.5 ^a	2.6 ± 0.7 ^b
3ND	9.3 ± 1.9 ^a	0.2 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	3.1 ± 1.1 ^a	5.5 ± 1.4 ^a
3NS	5.4 ± 1.1 ^b	0.3 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	2.0 ± 0.4 ^a	2.4 ± 0.7 ^b

¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem

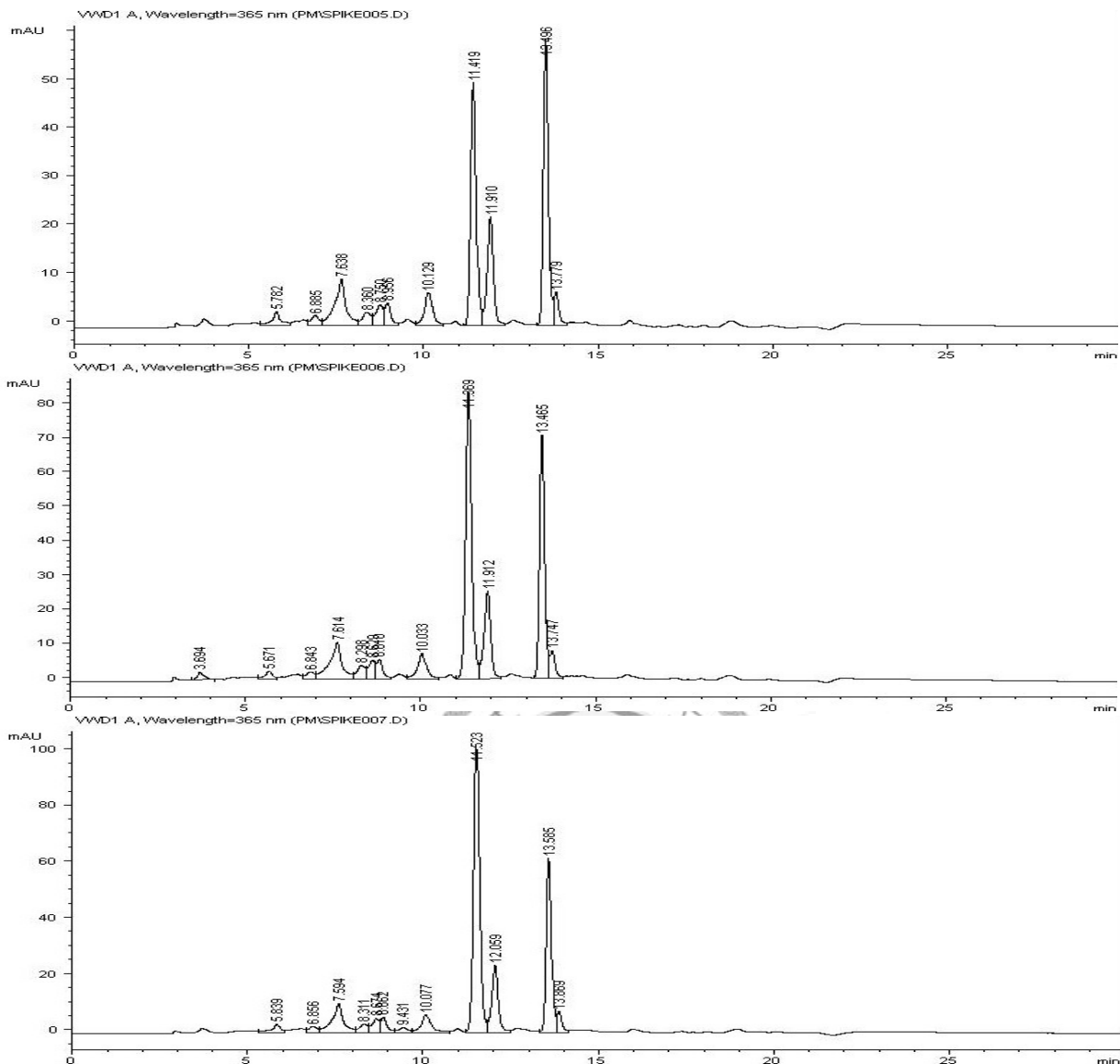
附表十四、不同處理對青脆枝各部位喜樹鹼濃度及含量的影響

Table 14. Effects of different treatments on the concentration and the amount of camptothecin in various parts of *N. foetida*

Treatments	Total	ML ²	YL	MS	YS	Trunk	Root
	<u>Concentration, mg kg⁻¹</u>						
The first sampling							
2N	336 ± 65 ^a	280 ± 87 ^{bc}	198 ± 40 ^{ab}	497 ± 142 ^c	457 ± 71 ^a		
3N	290 ± 55 ^a	199 ± 60 ^c	145 ± 39 ^b	609 ± 127 ^{bc}	340 ± 83 ^a		
3ND	441 ± 27 ^a	378 ± 108 ^{ab}	222 ± 61 ^a	627 ± 93 ^b	422 ± 165 ^a		
3NS	441 ± 127 ^a	431 ± 136 ^a	202 ± 49 ^a	901 ± 238 ^a	418 ± 84 ^a		
The second sampling							
2N	914 ± 363 ^a	99 ± 45 ^a	125 ± 49 ^a	462 ± 154 ^a	44 ± 6 ^a	1026 ± 139 ^b	2570 ± 412 ^{ab}
3N	904 ± 284 ^a	27 ± 6 ^b	76 ± 54 ^{ab}	443 ± 83 ^a	58 ± 9 ^b	1018 ± 230 ^b	1965 ± 357 ^b
3ND	1562 ± 133 ^a	131 ± 33 ^a	66 ± 22 ^b	578 ± 144 ^a	51 ± 6 ^b	1060 ± 170 ^b	2766 ± 236 ^a
3NS	1312 ± 710 ^a	146 ± 49 ^a	92 ± 39 ^a	447 ± 207 ^a	50 ± 11 ^{ab}	1673 ± 433 ^a	2196 ± 697 ^{ab}
<u>Amount, mg plant⁻¹</u>							
The first sampling							
2N	10.2 ± 5.4 ^a	2.9 ± 1.5 ^a	1.8 ± 0.9 ^a	4.6 ± 2.7 ^a	1.0 ± 0.5 ^a		
3N	7.8 ± 4.6 ^a	2.3 ± 0.9 ^a	0.6 ± 0.4 ^a	4.5 ± 3.2 ^a	0.4 ± 0.3 ^a		
3ND	10.1 ± 1.6 ^a	3.0 ± 0.5 ^a	1.3 ± 0.8 ^a	5.2 ± 0.9 ^a	0.6 ± 0.4 ^a		
3NS	10.4 ± 5.5 ^a	3.8 ± 2.6 ^a	1.4 ± 0.5 ^a	4.7 ± 2.5 ^a	0.5 ± 0.1 ^a		
The second sampling							
2N	191.1 ± 74.7 ^b	0.9 ± 0.5 ^a	0.8 ± 0.3 ^a	4.4 ± 1.7 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	94.8 ± 38.7 ^a	89.9 ± 46.1 ^b
3N	158.2 ± 42.2 ^b	0.4 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	4.9 ± 2.7 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	82.2 ± 27.6 ^a	70.8 ± 16.3 ^b
3ND	313.9 ± 63.8 ^a	0.9 ± 0.4 ^a	0.2 ± 0.0 ^a	5.4 ± 1.4 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	121.8 ± 36.2 ^a	185.4 ± 51.4 ^a
3NS	183.9 ± 86.6 ^b	1.4 ± 1.0 ^a	0.4 ± 0.0 ^a	3.9 ± 3.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	106.3 ± 51.6 ^a	71.7 ± 37.6 ^b

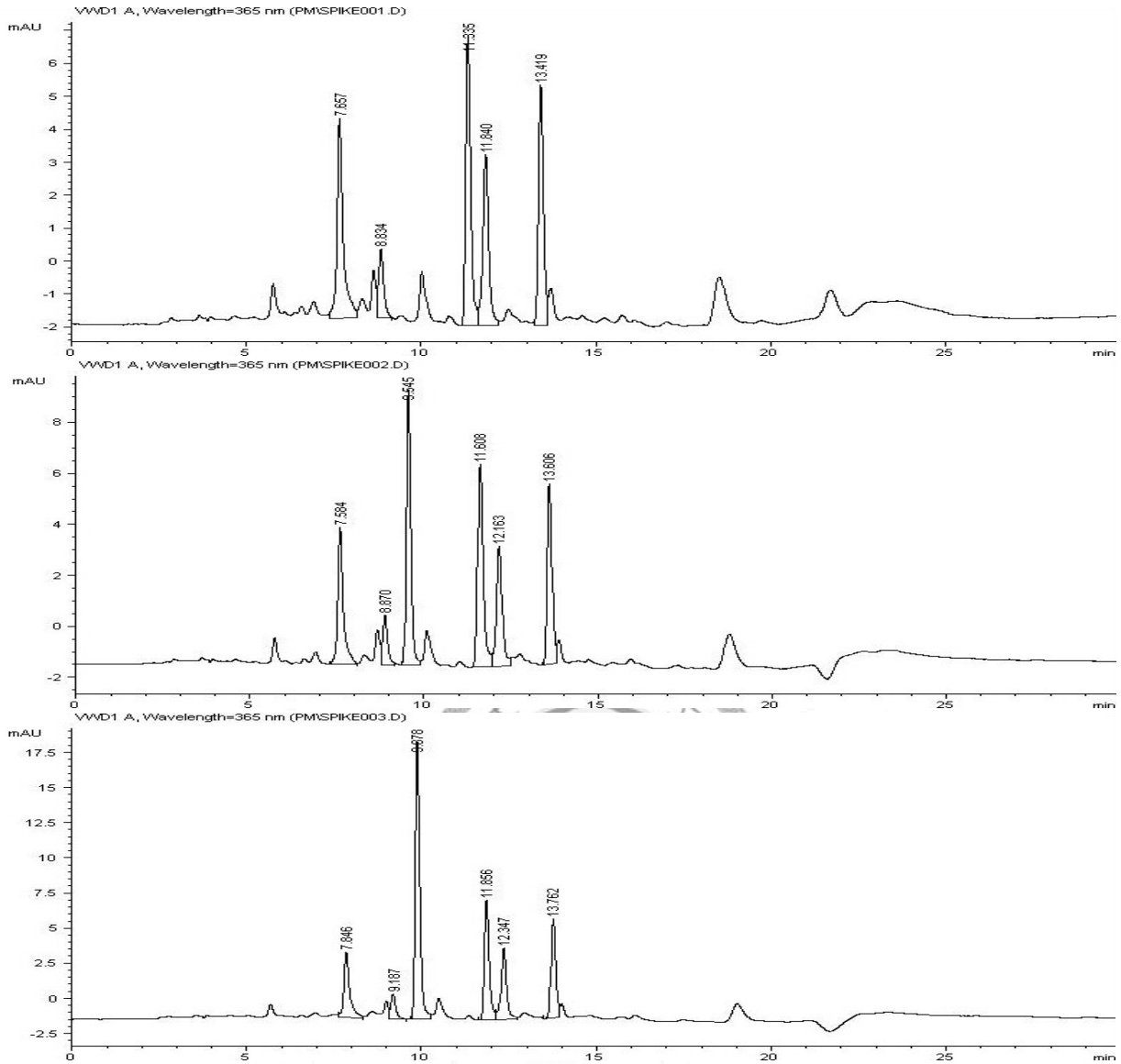
¹ Values are mean ± standard deviation (n = 4-6). Averages followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

² ML: mature leaf; MS: mature stem; YL: young leaf; YS: young stem



附圖一、以 HPLC 測定青脆枝葉片以及喜樹鹼標準品添加圖譜，(A) 未添加喜樹鹼；(B) 加入 5 mg L^{-1} 喜樹鹼 (C) 加入 10 mg L^{-1} 喜樹鹼

Fig. 1. HPLC chromatograms of leaf of *N. foetida* and different amount of camptothecin (CPT) standard addition, (A) no CPT addition, (B) 5 mg L^{-1} CPT addition, (C) 10 mg L^{-1} CPT addition.



附圖二、以 HPLC 測定青脆枝葉片以及 10-羥基喜樹鹼標準品添加圖譜，(A) 未添加 10-羥基喜樹鹼；(B) 加入 5 mg L^{-1} 10-羥基喜樹鹼；(C) 加入 10 mg L^{-1} 10-羥基喜樹鹼

Fig. 2. HPLC chromatograms of leaf of *N. foetida* and different amount of 10-hydroxycamptothecin (HCPT) standard addition, (A) no HCPT addition, (B) 10 mg L^{-1} HCPT addition, (C) 20 mg L^{-1} HCPT addition.