

作物耐熱性篩選指標之建立

陳葦玲

摘要

耐熱育種為解決全球暖化下作物生產的長遠方法，而作物耐熱性篩選可分為外部形態和經濟性狀、微觀結構、生理生化及分子標誌指標四大類。從實際生產面出發瞭解作物對熱逆境反應，並以此為據建立快速且正確的耐熱性評估方法可加速耐熱性育種流程。

前言

高溫為影響作物生長之重要限制因子，其造成植物結構、型態、生理、生化甚至遺傳(genetic)層次上之改變，進而影響產量與品質。耐熱性(heat tolerance)是可遺傳且馴化的生理反應(Ismail and Hall, 1999)，然而傳統耐熱育種流程中，田間篩選目標性狀所耗費之時間及勞力成本多，若能有生理現象或指標與植株耐熱程度及田間表現高度相關性，則可透過簡單儀器檢測獲得相關資訊，以利育種工作進行。

內容

1. 耐熱性評估指標~外部型態或經濟性狀

外部型態或經濟性狀評估為一種較直觀實際的方法，容易為育種工作者所接受。植物在高溫下可利用傳導、反射及蒸散等作用進行散熱，而其本身因應高溫型態適應變化隨著生長模式或品種特性而異，一般而言，植株型態有利於熱逸散者有較佳的耐熱性，亦利於在高溫下栽培生產。

白菜(*Brassica campestris* spp. *pekinensis* Rupr.)耐熱品種有較厚的葉片，但葉片氣孔密度卻較低，此型態可能有利於水分運輸到葉片並抑制蒸散，使得結球期遇到高溫仍能保持細胞膨壓，此外，絨毛未能有效降低白菜蒸散效率及葉溫，其耐高溫品種之絨毛密度較低(Kuo, 1988)。蘿蔔耐熱品種在高溫逆境，仍有多片功能葉，通常葉型為板葉、葉面積大、葉厚、葉色深綠，被認為是衡量其品種耐熱性的重要指標(韓, 1997)。耐熱品系之豇豆(*Vigna unguiculata* L. Walp.)在開花與結莢階段植株較矮小、節間數較少且節間較短，就耐熱與不耐品系地上部生長量比及株高比和溫度做相關性分析，其呈現一負相關，顯示隨著溫度升高耐熱品種地上部生長量及株高降低值較不耐熱品系多(Ismail and Hall, 1999)，而植株較矮的現象可能時其耐熱基因與其他基因發生多基因效應(ploietropic effect)而造成。

2. 耐熱性評估指標~微觀結構

除外觀型態觀察外，從細胞學角度的以微觀結構鑑定雖然較複雜，但較準確及客觀，亦為耐熱育種提供理論依據。在高溫逆境下，蘿蔔耐熱品種氣孔開度小，葉肉細胞排列緊密，葉柄維管束總面積大，且具有發達的形成層及厚壁組織，這些結構特點均是為了保持水分，避免在高溫水分喪失過多(韓等, 1997)。甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *Capitata*)在38~39°C高溫環境下，耐熱品種葉肉細胞結構仍能保持正常狀態和完整性，而不耐熱品種其葉綠體膜斷裂、解體、類囊體片層鬆散、排列紊亂，基質片層模糊不清(苗等, 1994)，這些特性說明耐熱品種可以抵抗熱脅迫對細胞結構的傷害。Welker等(1994)認為甘藍葉片的蠟粉密度及結構與它對光的反射有關，但對其抗熱性無影響，而隨後Welker等(1994)的研究中藉由掃描式電子鏡顯微鏡觀察到耐熱品種葉片表面蠟粉晶粒緻密，故認為耐熱性可能與蠟粉晶粒的結構和數量有關，並進而影響結球能力。

3. 耐熱性評估指標~葉綠素螢光

葉綠素螢光為快速、可性度高的植體逆境程度檢測方法，已被用各種逆境如乾旱、鹽害、低溫、缺氧及採後逆境等(Willits and Peet, 2001)。植物在行光合作用時，天線分子(antenna)可將吸收之光能匯集到光合作用系統II(photosynthesis II, PSII)，並使其激發成PSII*，進行電荷分離，即傳送一個電子給其他電子接收者，在這電子傳遞的過程中，植體二酮A(plastoquinone A, QA)是第一個電子接收者，為影響PSII反應及葉綠素螢光反應之重要影響因子。在高溫逆境環境下，類囊體膜受到傷害，造成PSII電子傳遞鏈會降低或抑制，此時QA還原能力降低，由於電場排斥的關係，平衡趨向葉綠素天線分子(chlorophyll antenna)，使大部分被激發的能量停在天線分子，激發能量停留時間越長，其釋放出螢光的機會及產量也較高，而葉綠素螢光檢測主要則是量測PSII所釋放之螢光，並可利用PSII之最大光子利用效率(maximum quantum efficiency, F_v/F_m)作為逆境指標，其中 F_v 為最低至最高螢光產量間的差值($F_m - F_o$)，而 F_m 則為最高螢光值(maximum fluorescence)。

F_v/F_m 主要為反應光合作用之生理狀態，健康植株的 F_v/F_m 為常數，值約在0.75~0.85之間(姚等人, 2002)，但在植物感受到逆境時，其值往往降低。番茄(*Solanum lycopersicum* L.)在不同測定溫度下與其所測得之 F_v/F_m 值呈現高度的二次負相關(Willits and Peets, 2002)。而葉綠素螢光用在馬鈴薯(*Solanum tuberosum* L.)品種耐篩選，以40.5°C處理各品種，*S. tuberosum* L 'Lucki'其 F_v/F_m 值下降較*S. tuberosum* L 'Hiang'少，且造成其 F_o 開始上升的溫度較低(Havaux, 1995)。 F_v/F_m 值的下降亦應用於鑑定白樺(*Betula platyphylla* Suk.)物種間耐熱性之差異(Ranney and Peet, 1994)。

4. 耐熱性評估指標~細胞膜熱穩定性

細胞膜是由雙層磷脂質(lipid bilayer)、蛋白質及醣類所組成，高溫逆境下，細胞構造及正常代謝途徑遭受破壞，使得膜脂質過氧化，造成雙層磷脂質鍵結受到改變，經由膜上蛋白質拉扯後由液相(liquid phase)變成為膠相(gel phase)，以致膜

的通透性增加、電解質滲漏提高(Raison *et al.*, 1980)。因此，利用電解質滲漏可評估逆境下細胞膜的穩定性，並反應了植物的耐熱性。

取植體組織至於水中給予高溫造成細胞膜通透性增加，並測量高溫處理後溶液之電導度(T_1)與組織完全被破壞之電導度(T_2)之比值，稱為熱相對傷害值(relative injury, RI)，其公式如下： $RI = \{1 - [1 - (T_1 / T_2) / [1 - (C_1 / C_2)]]\} \times 100$ ，其中 C_1 和 C_2 為以室溫水浴處理之電導度和其完全破壞之電導度，用以校正測量環境所造成的變因(Martineau *et al.*, 1979)。熱相對傷害值可量化細胞膜受傷的程度，評估植株細胞膜熱穩定性(cell thermostability, CMT)(Howarth *et al.*, 1997)，而評估CMT之兩個參數分別為熱致死溫度(heat lethal temperature)和熱致死時間(heat lethal time)，其分別定義為到達RI=50%時之溫度及時間，可作為物種或品種間耐熱性的指標(Yeh and Lin, 2003)。

CMT為測量植株組織於不同溫度下之電解質滲漏(electrolyte leakage)程度，為一敏感且可快速評估植物耐熱性之方法。在許多農藝及園藝作物中，CMT都能有效的鑑別不同品種之耐熱性(Chen *et al.*, 1982 ; Ingram and Willit, 1984 ; Leater, 1985 ; Saadalla *et al.*, 1990 ; Wang *et al.*, 2008)。在蔬菜耐熱篩選應用方面，甘藍六品系以電導度評估品系間耐熱性，其值從11.39%~39.30%，由統計差異性分析可區分出對高溫的耐受性，且和田間實際鑑定(包含生長勢、結球率和枯死率)及溫室模擬評估結果相同(康等人，2002)。豇豆以電解質滲漏法評估高溫下之耐熱性，不同處理溫度和其葉片電解質滲濾率其相關曲線呈S型，且可區出品系間的耐熱差異性(Ismail and Hall, 1999)，而就其116個品系其高溫下電導度滲漏率和田間產量做相關應分析，呈現一負相關性(Samba and Hall, 2004)。

5. 耐熱性評估指標~分子標誌

目前育種方式逐漸由傳統育種走向基因體育種(Genomic breeding)，從外表型(phenotype)走向基因型(genotype)的選拔。作物耐熱性為多基因遺傳，利用與作物耐熱性狀基因連鎖的分子標誌，可作為耐熱性狀基因的鈎取或分子標誌的輔助篩選(Marker-assisted selection ,MAS)，以提高耐熱育種的效率。

參考文獻

1. 苗琛、利容千、王建波。1994。熱脅迫下不結球白菜和甘藍葉片組織結構的變化。武漢植物學研究。12: 207-214.
2. 韓笑冰、利容千、王建波。1997。熱脅迫下蘿蔔不同耐熱品種細胞組織結構比較。武漢植物學研究。15: 173-178.
3. Ismail, A.M. and A.E. Hall. 1999. Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Sci.* 39:1762-1768.
4. Kamel, M.A., S.S.Soliman1, A.E. Mandour1 and M.S.S. Ahmed. 2010. Genetic evaluation and molecular markers for heat tolerance in tomato(*Lycopersicon*

- esculentum* Mill.). J. Ame. Sci. 6:364-374.
5. Samba, T., Amthony, E.H., 2004. Comparison of selection for either leaf-electrolyte-leakage or pod set in enhancing heat tolerance and grain yield of cowpea. Field Crops Res. 86, 239-253.
 6. Sato, S. and M. M. Peet. 2005. Effects of moderately elevated temperature stress on the timing of pollen release and its germination in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). J. Hort. Sci. Biol. 80:23-28.
 7. Wang, C.S., Yeh, D.M, Sheu, C.S., 2008. Heat tolerance and flowering-heat-delay sensitivity in relation to cell membrane thermostability in chrysanthemum. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 133, 754-759.
 8. Willits, D.H. and M.M. Peet. 2001. Measurement of chlorophyll fluorescence as a heat stress indicator in tomato: laboratory and greenhouse comparisons. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126(2):188-194.