

蘿蔔耐熱評估與提高耐熱力之策略

作物改良課 助理研究員 賴昭宏 分機 241

前言

蘿蔔是十字花科萊菔屬作物，原產自地中海沿岸至黑海地區，依地理性可區分為5個變種(variety)，廣泛栽培於日本至印度間之亞洲地區，為重要蔬菜品項，主要種植於冷涼季節。5個變種中以中國變種的板葉種、櫻桃蘿蔔和葉用蘿蔔較耐熱，但臺灣夏季期間平地生產困難，多須以進口滿足市場需求；依據99-110年之進口量呈持續增長趨勢，推估國內蘿蔔需求量將逐年增加。然因應地球暖化，氣候變遷，未來臺灣可能面臨無冬季，蘿蔔栽培適期日益縮短，為維護糧食安全與自給自足，有需要針對蘿蔔耐熱逆境評估方法與提高耐

熱能力預做準備；以下回顧部分文獻以期找出提升蘿蔔耐熱性的方法。

十字花科蔬菜耐熱性為多基因控制之數量遺傳，遺傳規律複雜，目前耐熱性鑑定多針對高溫下產量、根組織褐化、葉片蠟質、葉片厚度等外觀指標性狀進行，但其篩選效率低且易受其他環境因子如肥培、水分和光強度等影響，需有更簡便及精準的篩選指標，始能有效鑑定真正的耐熱性。細胞膜熱穩定性(cell membrane thermostability, CMT)為可遺傳與馴化的生理反應，藉由測量植株組織於不同溫度下之電解質滲漏(electrolyte leakage)程度，反映高溫逆境下細胞膜穩定性以評估耐熱



▲ 圖 1. 高溫逆境下，蘿蔔出現葉片黃化與生長停滯現象。



▲ 圖 2. 中國變種的板葉種蘿蔔為較耐熱的蘿蔔品種。



▲ 圖 3. 櫻桃蘿蔔同時具有耐冷和耐熱特性，可作為耐熱試驗材料。

性，為一敏感且快速之生理指標。以子葉和初期成熟本葉圓切片經50°C水浴處理30分鐘之熱相對傷害值(relative injury, RI)能區別種原間之耐熱性差異，且與高溫下產量減少比例具高度相關性，RI值低於50%可作為耐熱性篩選指標，進行苗期早期選拔(陳和楊，2015)。

植物膜聯蛋白(annexins)是一類 Ca^{2+} 依賴性磷脂結合蛋白，參與植物的生長發育和逆境耐受。然而，膜聯蛋白(RsANN)基因家族的全基因組特徵在蘿蔔中仍未得到充分探索。Shen等人從全基因組水平對蘿蔔膜聯蛋白基因家族進行了全面鑑定。總共鑑定出10個RsANN基因，這些假定的RsANN蛋白具有膜聯蛋白家族蛋白的典型特徵。系統發育分析表明，RsANNs與來自阿拉伯芥和水稻的膜聯蛋白一起聚類為5個具有相似基序模式的基因組。染色體定位表明，這10個RsANN基因分佈在蘿蔔的6條染色體(R3-R8)上。在RsANN基因的啟動子區域發現了幾個參與非生物脅迫反應的順式元件。基因表達分析表明，RsANN基因在不同生長階段和組織中表

現出組織特異性模式。實時定量PCR(RT-qPCR)顯示，大多數RsANN基因的表達是在各種非生物脅迫下誘導的，包括熱、乾旱、鹽度、氧化和ABA脅迫。此外，脅迫分析表明，RsANN1a的過表達可以改善植物的生長發育和耐熱性；而以人工阻斷的RsANN1a基因表達導致阿拉伯芥植物的存活率顯著降低。這些發現不僅顯示RsANN1a可能在蘿蔔的熱脅迫反應中發揮關鍵作用，而且有助於闡明RsANN基因在調控植物生長發育的生物學過程中的分子機制。

與其他非生物脅迫一樣，硼毒性是限制全球作物生產力的重要環境制約因素。硼毒性改變了植物生存所必需的許多生理過程。Siddiqui等人研究鈣和硼在正常和硼毒性條件下對蘿蔔的形態和生理特性的單獨和聯合影響。單獨或組合施用30 mM鈣和0.5 mM硼，可增強植物生長、生理和生化特性。然而，5 mM硼對大多數生長和生理參數都是有害的。30 mM鈣的應用通過降低丙二醛和過氧化氫水平以及電解質滲漏與通過增強抗氧化酶超氧化物歧化酶、

過氧化氫酶、過氧化物酶、穀胱甘肽還原酶和抗壞血酸過氧化物酶的活性來減輕硼毒性的有害影響最有效，而作物對硼毒害反應和高溫逆境下的過氧化反應如出一轍。鈣明顯地經由增強葉片中脯氨酸、總可溶性碳水化合物和光合色素的積累來誘導植物保護機制。在高溫逆境前經由葉面施用鈣肥可以明顯協助蘿蔔誘導抗氧化酶活性，以降低高溫造成的過氧化傷害(Chen and Yang, 2016)。

在Shen等人的研究中，櫻桃蘿蔔(*Raphanus sativus* L. var. *radculus pers*)在高溫(35°C / 30°C 晝夜)下培養和施用不同濃度褪黑激素(0、11.6、17.4、29.0、34.8和67.0毫克/公升)於這些高溫脅迫的植物，以觀察其對生物量、品質、抗氧化酶活性、葉綠素和內源激素含量的影響。植物在常溫(25°C / 20°C)下生長作為對照，在高溫條件下作為高溫脅迫處理。結果顯示，在29.0毫克/公升褪黑激素處理的高溫下，櫻桃蘿蔔生物量顯著增加了12.9%，可溶性蛋白質和可溶性固形物分別增加了18.7%和9.2%。抗氧化酶、抗壞血酸過氧化物酶和過氧化物酶的活性分別提高了43.7%和45.5%。27日時葉綠素a和類胡蘿蔔素含量較對照增加7.4%和20.0%。9日時生長素和離層酸含量較高溫脅迫顯著增加28.5%和6.7%。因此，褪黑激素最佳用量的施用對高溫脅迫下櫻桃蘿蔔的生長具有正面作用(Jia *et al.*, 2020)。

褪黑激素最近的另一個重要作用是其清除生物自由基的能力(抗氧化活性)，例如活性氧和氮物種，包括羥基自由基、

單線態氧、過氧自由基、過氧化氫、過氧亞硝酸根陰離子和一氧化氮。在這方面，有趣的是，褪黑激素作為抗氧化劑表現出某些特性，褪黑激素分子沒有促氧化作用，而褪黑激素中間產物表現出抗氧化特性，並與其他抗氧化劑如抗壞血酸、穀胱甘肽、褪黑激素對光週期(晝夜節律)節律的影響。

從1980年起，開始有在非脊椎動物(昆蟲、甲殼類、渦蟲等)體內檢測到褪黑激素的報導。特別是在昆蟲中，描述了具有夜間活動最大值的晝夜節律。1991年，在單細胞藻類 *Gonyaulax polyedra* 中檢測到褪黑激素，後來也在其他甲藻和綠藻中檢測到褪黑激素。褪黑激素也在細菌和真菌中檢測到，但只在極少數物種中進行過研究。

在維管束植物中，褪黑激素於1995年首次被檢測到，當時幾個小組主要在單子葉和雙子葉可食用植物科中發現褪黑激素。從那時起，褪黑激素已在根、芽、葉、果實和種子中被檢測和量化植物種類繁多。用於測量褪黑激素的最常用技術是放射免疫測定法和具有電化學或螢光檢測的高效液相層析法。最後，高效液相層析與質譜鑑定相結合，是精確測定植物樣品中褪黑激素的強大且必不可少的工具。植物器官中的褪黑激素水平差異很大，從每公克植物材料的皮克到微克不等。一般來說，種子和葉子的褪黑激素水平最高，果實最低。然而，需要對褪黑激素進行更具體的分析，同時考慮品種、農藝栽培條件、提取方案和用於測量目的的技術。到

目前為止，植物中褪黑激素的研究主要集中在測量其水平及其在人類食物中的可能影響，因為植物性食物中的褪黑激素從胃腸道吸收並進入血液；它還穿過血腦屏障和胎盤，而在細胞內尺度上，它主要結合在細胞核和線粒體中。通過攝入植物來源的食物調節哺乳動物和鳥類血液褪黑激素水平的可能性已經導致大量研究將褪黑激素視為與健康相關的植物化學物質。冷季型植物的生長發育易受高溫影響。褪黑激素是一種植物生長調節劑，具有提高植物對生物和非生物脅迫耐受性的潛力。最近提出了褪黑激素作為胡蘿蔔懸浮細胞中冷誘導細胞凋亡的保護劑之有趣研究。在這項研究中，（最接近證明植物中的保護作用），褪黑激素的抗細胞凋亡作用無法通過實驗進行與活性氧的產生有關。然而，褪黑激素作為膜完整性因子（包括核膜和質膜中）在這些培養細胞中的重要作用得到證實。褪黑激素的這種作用在動物細胞中被解釋為減少脂質過氧化和支持膜的最佳流動性。更相關的發現是用褪黑激素預處理胡蘿蔔懸浮細胞顯著增加了多胺、腐胺和亞精胺的水平。儘管作者認為褪黑激素對多胺水平的影響可能與一些光週期事件有關，但生長素、褪黑激素和多胺之間可能存在相互關係的可能性更大。一般來說，刺激植物發育的激素（生長素、細胞分裂素和赤黴素）的應用會增加植物組織中多胺的含量，而抑制性激素（脫落酸和乙烯）會降低其含量，這表明褪黑激素可能具有生理活性。

高溫逆境對蘿蔔的影響以破壞細胞的

膜結構穩定導致電解質滲漏而影響細胞正常生理，同時高溫也會導致超氧化物、過氧化氫和自由基等含量激增進而破壞細胞內酵素系統正常運作，從而導致光合作用、呼吸作用等受到阻礙，最終造成產量降低、粗纖維增加、褐化等生理障礙。利用子葉和早期成熟葉細胞膜熱穩定性提早評估蘿蔔品系的耐熱性。在熱逆境發生之前噴施鈣肥和褪黑激素有助於提升細胞膜穩定、誘導抗氧化酶活性，而提升蘿蔔耐熱力，應有進一步田間試驗的價值。

參考文獻

1. 陳葦玲、楊雯如。2015。葉用蘿蔔種原遺傳歧異度及耐熱性評估。臺中區農業改良場研究彙報 127: 41-62。
2. Feng Shen, Jiali Ying, Liang Xu, Xiaochuan Sun, Jizhong Wang, Yan Wang, Yi Mei, Yuelin Zhu & Liwang Liu. 2021. Characterization of Annexin gene family and functional analysis of RsANN1a involved in heat tolerance in radish (*Raphanus sativus* L.) Physiology and Molecular Biology of Plants. 27:2027–2041.
3. Chunhua Jia, Xiaojing Yu, Min Zhang, Zhiguang Liu, Peng Zou, Jun Ma & Yachun Xu. 2020. Application of Melatonin-Enhanced Tolerance to High-Temperature Stress in Cherry Radish (*Raphanus sativus* L. var. radculus pers). Journal of Plant Growth Regulation volume 39:631–640.