

葉綠素螢光作為評估山葵高溫逆境之指標

洪 萱 恩¹⁾ 謝 慶 昌²⁾

關鍵字：葉綠素螢光、山葵、高溫逆境

摘要：山葵 (*Wasabia japonica* (Mique) Matsumura) 為多年生香辛料作物，生長適溫為 8°C-18°C，臺灣多種於高山地區，如今環保意識抬頭，因此培育出耐熱性山葵非常重要，對山坡地的水土保持以及山葵產業未來發展會有更正面的助益。本試驗選了 14 種山葵品系及實生植株做為試驗材料，以 50°C 做為高溫逆境的溫度，並以葉綠素螢光儀做為篩選工具，篩選出較耐熱的山葵品系 No. 23，並分析耐熱與實生不耐熱山葵葉片之間氮、磷、總酚類、游離胺基酸以及可溶性蛋白質的含量，這些植化素與山葵的辛味有關。試驗中，無論哪種品系或是實生植株之山葵，葉綠素螢光值 (Fv/Fm) 皆隨著高溫處理時間增加而下降，其中 No. 23 可維持相對較高的葉綠素螢光值。以耐熱性做為區分條件，No. 23 與實生植株的氮、磷、總酚類、游離胺基酸以及可溶性蛋白的含量與不耐熱植株幾乎沒有差別。

前 言

山葵 (*Wasabia japonica* (Mique) Matsumur) 為十字花科山葵屬的多年生香辛料作物，全株皆可食用，主要以根莖為主，在日本是極受歡迎的烹飪佐料，近年來在西方國家也逐漸被廣泛使用 (胡, 1991; 胡等, 1994; 胡, 2005; Depree *et al.*, 1999; Sultana *et al.*, 2003.)。生長適溫為 8-18°C，陸山葵以夏季氣溫為基準，超過 23°C 時不適宜栽培 (築地和鈴木, 1956; 胡, 1991)。高溫逆境會干擾細胞的穩定度，導致生長遲緩甚至是死亡 (Kotak *et al.*, 2007)，位於葉綠體基質的類囊體和碳代謝上的光化學反應被視為高溫傷害的主要部位 Wise *et al.*, 2004)。高溫逆境抑制光合作用的光系統電子傳遞鏈，光系統 II 已經被證實是最不穩定的部位 (Camejo *et al.*, 2005)，葉綠素螢光參數 (Fv/Fm) 和最低螢光值也被證實與耐熱性有關 (Yamane *et al.*, 1998)。葉綠素螢光可以有效的偵測植物的光合性能，這是一

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

種非破壞性的方式，因此廣泛應用於記錄植物的生理逆境 (Baker and Rosenqvist, 2004, Maxwell and Johnson, 2000; Molina-Bravo *et al.*, 2011)。

本試驗利用葉綠素螢光做為篩選工具，篩選出較耐熱的山葵品系。山葵辛味物質與植物體內之硫、氮含量呈 $p < 0.001$ 顯著正相關，與可溶性蛋白呈 $p < 0.01$ 顯著正相關、與磷含量呈 $p < 0.05$ 顯著正相關，即硫、氮、磷、可溶性蛋白質含量高者，辛味含量有較高的趨勢(胡等, 1992)，氮、磷、可溶性蛋白質、多酚類與游離胺基酸亦做為品質分析的項目。

材料與方法

一、材料來源

本試驗材料為林業試驗所提供之不同品系編號盆栽種植之山葵，自中興大學園藝試驗場葡萄中心及高冷地分場，編號 7、8、9、13、16、18、19、20、33、36 栽種於高冷地分場，21、22、23、31 及實生植株栽種於葡萄中心。

二、試驗方法

高溫逆境對山葵離體成熟葉片葉綠素螢光之影響部分。於 2015 年 3 月 29 日摘取高冷地分場栽培之 7、8、9、13、16、18、19、20、33、36 等 10 種品系及葡萄中心之 21、22、23、31，及一般實生植株等 5 品系山葵成熟葉片 (完全展開)，皆放置於夾鏈袋中且保持濕度及避免過熱；葉片先用自來水洗淨並用紙巾擦拭乾淨，適度修剪至可放入培養皿之大小，葉片中間畫上兩個直徑大於 1 公分的圓，作為之後測量的部位。為了減少葉片水分散失，培養皿底部鋪上紙巾並加 3 mL 去離子水於培養皿中，以 50°C 做為篩選溫度，每一品種 4 重複，第 1、2、4 小時測量葉綠素螢光值試驗。

營養元素與總酚類 (Total phenolic compounds; TPC)、游離胺基酸 (Free amino acids; FAA)、可溶性蛋白 (Soluble proteins; SP) 的測定部分。選出之較耐熱品種 No. 23 及不耐熱之實生植株，採取葉片葉柄若干，做後續之測量。氮之測定採用凱氏氮測量法、磷為鉬黃法；TPC、FAA 以及 SP 是將葉片葉柄以自來水洗除附著於葉面上之塵土汙物。取新鮮組織 2 g 加入 5 mL 磷酸緩衝液 (0.1 M, pH 7.0) 及海砂，在 4°C 冰浴下研磨。裝入離心管離心 (4°C, 13000 rpm) 20 分鐘後過濾取上清液做後續測定。

三、調查項目

(一)、葉綠素螢光

樣品以黑色絨布遮蓋以進行暗適應 (dark-adapted)，30 分鐘後利用攜帶式葉綠素螢光分析儀 (portable chlorophyll fluorometer, MiNi-PAM, Walz, Germany) 測定，可藉由特殊光纖 (Special Fiberoptic 2010-F) 提供測定光及飽和脈衝光。儀器先給予光測得暗適應後之 F0 最低螢光值 (minimum fluorescence)，在給予飽和脈衝光得到 Fm 最高螢光值 (maximum

fluorescence) , 並且會自動換算出葉綠素螢光值 F_v/F_m , 計算方式為 $(F_m-F_0)/F_m$, 此即 PSII 在暗適應後最高螢光效能 (maximum quantum yield) 。此數值可作為 PSII 是否受到傷害的評估方式。除此之外亦計算相對下降率 (Relative decline ration of F_v/F_m) , 公式為 $[(F_v/F_m)_{T_0}-(F_v/F_m)_{T_x}]/(F_v/F_m)_{T_0} \times 100\%$, T_0 為未處理時, T_x 為經某溫度處理 X 小時。

(二)、營養元素與總酚類 (Total phenolic compounds ; TPC)、游離胺基酸 (Free amino acids ; FAA)、可溶性蛋白 (Soluble proteins ; SP)的測定

氮以 1/14 N H_2SO_4 做為標準酸滴定, 利用滴定量計算出氮含量, 單位以百分比(%)表示。磷以分光光度計 (Spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定樣品在波長 470 nm 時的吸光度, 單位以百分比(%)表示。總酚類將樣品以分光光度計測定在波長 660 nm 下之吸光度, 單位以 $\mu g \cdot g Fw$ 表示。標準曲線以 100 ppm caffeic acid 配製; 游離胺基酸以分光光度計測定樣品在波長 570 nm 下之吸光度, 單位以 $mmol \cdot g Fw$ 表示。標準曲線以 1 mM α -alanine 配製。全可溶性蛋白質以分光光度計測定樣品在波長 660 nm 下之吸光度, 單位以 $mg \cdot g Fw$ 表示。標準曲線以 0.25 mg/mL BSA 配置。

四、統計分析

將試驗之結果以 SAS 軟體 (Statistical Analysis System, Institute)計算平均值, 並利用 ANOVA 進行變方分析 (analysis of variance)及最小顯著差異檢定 (least significant difference test, LSD)比較各處理間之差異顯著性。

結 果

一、高溫逆境對山葵離體成熟葉片葉綠素螢光之影響

2015 年 3 月 29 日摘取高冷地分場栽培之 7、8、9、13、16、18、19、20、33、36 等 10 種品系, 葡萄中心之 21、22、23、31 品系, 及一般實生植株等 5 品系山葵, 其完全展開葉以 50°C 做為篩選溫度, 並利用葉綠素螢光做篩選條件。處理前先測量一次葉綠素螢光值, F_v/F_m 值在 0.82 到 0.84 之間, 葡萄中心採得之實生植株及高冷地分場採得之 No. 20、No. 36 皆為 0.82, 0.84 的為高冷地分場採得之 No. 13。

實生植株取得之葉片以 50°C 處理 1、2、4 小時之葉綠素螢光值分別為 0.73、0.29 及 0.02, 未處理前數值最高之 No. 13 處理後之數值則為 0.67、0.48 及 0.02, 未處理前之數值高低也不影響處理後之螢光值 (表 1)。No. 21 處理後之葉綠素螢光值分別為 0.80、0.76 及 0.15, No. 23 則為 0.79、0.78、0.20。實生植株、No. 21、No. 23 經熱處理 1 小時後葉綠素螢光值的下降百分比為 10%、4%、4%, 處理 2 小時後和未處理相比為 60%、9%和 6%, 4 小時後實生植株葉綠素螢光值為 0.02 與未處理相比下降了 98%, No. 21 和 No. 23 葉綠素螢光值分別為 0.15 及 0.20 下降了 82%和 75%。No. 21 及 No. 23 數值下降較為緩慢, 實

生植株葉片葉綠素螢光值則會快速下降。以此方法選出較耐熱植株品系 No. 21、No. 23 及不耐熱之實生植株。

在這次的試驗中，無論哪種品系或是實生植株亦或是自高冷地分場又或是自葡萄中心採摘之山葵，葉綠素螢光值 (Fv/Fm) 皆會隨著高溫處理時間增加而下降，經過 2 至 4 小時的高溫逆境處理，NO. 23 下降最少。

表 1. 不同品系山葵離體成熟葉片在 50°C 下葉綠素螢光的變化。

Table 1. Effect of high temperature (50°C) treatment on chlorophyll fluorescence (Fv/Fm ration) in wasabi detached mature leaves of different lines.

Lines	Chlorophyll fluorescence yield (Fv/Fm)			
	0 hour	1 hour	2 hours	4 hours
7	0.83±0.00 bdac	0.68±0.04 a	0.45±0.12 ebc	0.02±0.00 c
8	0.83±0.00 bdac	0.65±0.07 a	0.42±0.12 efcd	0.01±0.01 c
9	0.83±0.00 ba	0.54±0.05 a	0.23±0.08 f	0.00±0.00 c
13	0.84±0.00 a	0.67±0.05 ba	0.48±0.12 dc	0.02±0.01 c
16	0.83±0.00 bdac	0.65±0.03 ba	0.41±0.07 efcd	0.03±0.02 c
18	0.83±0.00 ba	0.69±0.02 bac	0.52±0.05 bc	0.07±0.02 bc
19	0.83±0.00 bdac	0.76±0.03 bdac	0.58±0.13 bac	0.00±0.00 c
20	0.82±0.00 de	0.71±0.06 bdac	0.57±0.13 bac	0.01±0.00 c
21	0.83±0.00 a	0.80±0.01 bdac	0.76±0.01 a	0.15±0.06 ba
22	0.83±0.00 bac	0.81±0.01 bdac	0.78±0.00 a	0.20±0.08 a
23	0.83±0.00 bdac	0.79±0.01 bdc	0.78±0.01 a	0.20±0.07 a
31	0.83±0.01 ba	0.79±0.01 dc	0.73±0.02 ba	0.16±0.03 a
33	0.83±0.00 bdac	0.75±0.04 dc	0.25±0.09 ef	0.01±0.00 c
36	0.82±0.00 bdec	0.72±0.07 d	0.29±0.11 efd	0.01±0.01 c
seedling	0.82±0.00 dec	0.73±0.05 d	0.29±0.10 efd	0.02±0.01 c

二、高溫逆境對山葵幼苗植株葉綠素螢光及生長的影響

圖 1 為 2015 年 4 月 24 日將實生植株、No.21、No.23 以耐熱塑膠袋包覆並留氣孔，以防止熱風使水分過度散失，以高溫處理並測定葉綠素螢光值，原先設定溫度為 50°C，可後來發現熱風烘箱內的溫度變為 53°C。實生植株在 53°C 下，2、4 小時後葉綠素螢光值分別為 0.08、0.01，回溫 4 小時後仍為 0.01。No. 21 分別為，0.15、0.04 及 0.02，No. 23 則是 0.14、0.02 及 0.00。

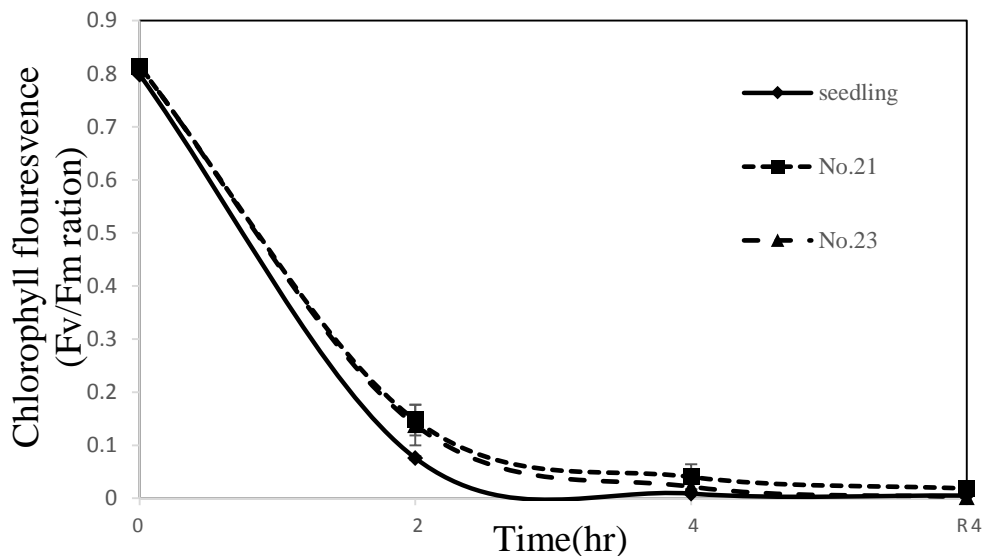


圖 1. 實生植株、No. 21 和 No. 23 山葵幼苗在 53°C 下葉綠素螢光變化。
Fig. 1. Effect of high temperature (53°C) treatment on chlorophyll fluorescence (Fv/Fm ratio) in No.21, No.23 and seeding wasabi plant. R4 = returned to ambient temperature for 4 hour.

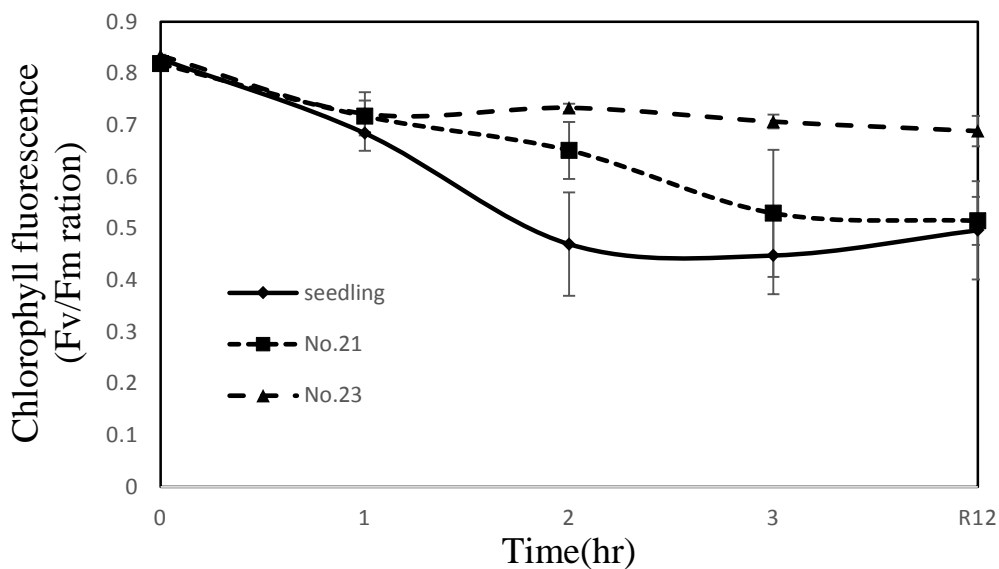


圖 2. 實生植株、No. 21 和 No. 23 山葵幼苗在 50°C 下葉綠素螢光變化。
Fig. 2. Effect of high temperature (50°C) treatment on chlorophyll fluorescence (Fv/Fm ratio) in No.21, No.23 and seeding wasabi plant. R12 = returned to ambient temperature for 12 hour.

圖 2 為 2015 年 5 月 4 日重複該試驗，這次烘箱內溫度為 50°C，實生植株在 50°C 下第 1、2、3 小時及回溫 12 小時之葉綠素螢光值為 0.68、0.47、0.45 及 0.50。No. 21 分別為 0.72、0.65、0.53 及 0.51，No. 23 則是 0.72、0.73、0.71 及 0.69。利用 SAS 軟體進行 ANOVA 變方分析的結果顯示從第 2 個小時開始，No. 23 與實生植株相比即有顯著差異，即使在室溫下回溫 12 小時後之葉綠素螢光值亦顯著高於實生植株。

三、營養元素與總酚類 (Total phenolic compounds ; TPC)、游離胺基酸 (Free amino acids ; FAA)、可溶性蛋白 (Soluble proteins ; SP)的測定

氮量上實生植株葉片含氮量 3.98%、葉柄 2.24%；No. 23 葉片含氮量 4.76%、葉柄 2.36%。含磷上實生植株葉片含磷量 0.33%、葉柄 0.24%；No.23 葉片含磷量 0.36%、葉柄 0.26%，兩者葉片的含氮量都高於葉柄，No. 23 葉片含氮量略高於實生植株，葉柄的含氮量則沒有差別。兩者葉片磷含量也高於葉柄，但葉片與葉片，葉柄與葉柄之間亦無差異。可溶性蛋白質和總酚類含量上，實生植株葉片葉柄的可溶性蛋白質為 16.64 mg · g Fw、葉柄 4.96 mg · g Fw，總酚類分別是 1421 μg · g Fw、274 μg · g Fw；No. 23 葉片葉柄的可溶性蛋白質為 20.89 mg · g Fw、葉柄 4.46 mg · g Fw，總酚類分別是 2040 μg · g Fw、246 μg · g Fw，也都是葉片高於葉柄，No. 23 葉片上的可溶性蛋白質和總酚類含量都高於實生植株，葉柄間都沒有差異。游離胺基酸數值皆 0.03 mmol · g Fw 全部都沒有差別。

表 2. 山葵不同品系及部位之氮、磷、可溶性蛋白質、總酚類及游離胺基酸的含量。

Table 2. Different of lines and part on the nitrogen, phosphorus, soluble proteins, total phenolic compounds and free amino acids of wasabi.

Lines and parts	N	P	SP	TPC	FAA
	%	%	mg · g Fw	μg · g Fw	mmol · g Fw
Leaf					
seedling	3.98±0.21 b	0.33±0.01 a	16.64±0.93 b	1421±87 b	0.03±0.00 a
No.23	4.76±0.06 a	0.36±0.01 a	20.89±0.92 a	2040±17 a	0.03±0.00 a
Petiole					
seedling	2.24±0.06 c	0.24±0.01 b	4.96±0.66 c	274±73 c	0.03±0.01 a
No.23	2.36±0.17 c	0.26±0.01 b	4.46±0.17 c	246±23 c	0.03±0.00 a

SP : soluble proteins

TPC : total phenolic compounds

FAA : free amino acids

討 論

葉綠素螢光是快速和非破壞性的檢測方式，可用來監測因環境逆境等原因造成的細胞損傷 (Smillie and Hetherington, 1983; Schansker *et al.*, 2014)。逆境下，F0 上升、Fm 下降，高溫傷害使得 PSII 的補光複合體遠離反應中心，爾後的光合反應受阻 (Petkova *et al.*, 2007)。Yamane 等人 (2000)認為除了前述原因外，QA-也會因為高溫而增加，這也是使得高溫下 F0 上升的原因之一。在 Mathur 等 (2011)的小麥試驗上，35°C 時釋氧複合體沒有受到影響，PS II 仍可正常運作，此時葉綠素螢光值是 0.812，釋氧複合體的活性是 98%，在 40°C 時葉綠素螢光值是 0.716，釋氧複合體的活性下降了 14%，到 45°C 時，葉綠素螢光值降到了 0.335，釋氧複合體的活性只剩 40%，由此可見葉綠素螢光值與釋氧複合體的活性是呈正相關，也與光合作用的反應有關。

本試驗中，無論是在離體成熟葉片亦或是植株，葉綠素螢光值皆隨著溫度升高、時間加長而降低。栽培地點對葉綠素螢光值也沒有絕對的影響。山葵的高溫逆境臨界溫度可能是在 50°C，當植株置於 53°C，會導致山葵產生不可逆之高溫傷害，甚至導致死亡。在 50°C 下時，No. 23 不論是植株或是離體葉片的葉綠素螢光值都高於實生植株，Willits 和 Peet (2001)用番茄所作的試驗上，也認為離體葉片與植株在高溫下葉綠素螢光值的反應是相關聯。

除了山葵，蝴蝶蘭葉片也會隨著溫度增加，葉綠素螢光值降低 (Seubma *et al.*, 2012)；佛手柑置於超過 40°C 的高溫時，葉綠素螢光值也會隨著溫度上升而下降 (Chen *et al.*, 2012)，Janka 等人 (2013)也曾利用葉綠素螢光來檢測菊花的耐熱性。葉綠素螢光廣泛被使用在園藝作物的逆境篩選上 (Gorbe and Calatayud, 2012.)。

山葵辛辣物質與植物體內之硫、氮含量呈 $p < 0.001$ 顯著正相關，與可溶性蛋白呈 $p < 0.01$ 顯著正相關、與磷含量呈 $p < 0.05$ 顯著正相關，即硫、氮、磷與可溶性蛋白含量高者，辛辣含量有較高的趨勢，辛辣物質的含量也是選種的條件之一 (胡等, 1992)。本試驗中，如以耐熱性作為區分，較耐熱的 No. 23 與不耐熱的實生植株相比 (表 2)，No.23 的氮及可溶性蛋白質含量都比實生植株略高，磷沒有差異，無論是像 Schonhof 等人在 2007 年青花菜試驗中呈負相關或是 Gerendas 等人 2009 年芥菜子試驗中氮與硫含量有交感關係，No. 23 與實生植株的氮含量間沒有太大差別，辛辣物質推估也沒有太大差別。除了氮之外，二者的磷沒有差異，即便是增加磷可以些微增加洋蔥黑芥子油醱苷含量 (Brown *et al.*, 2008)，在本試驗中也是沒有影響。可溶性蛋白質與 myrosinase 有關，或許 No. 23 的水解蛋白質比實生植株略高，但耐熱與否和辛辣物質多寡間並無關係。酚類化合物與風味有關 (王等, 2010)，胺基酸也與 glucosinolates 有關 (Graser *et al.*, 2000)，但此二者之間沒有差別，故認為以耐熱性狀做為區別條件之下，與山葵的風味沒有關係。

參考文獻

- 王玲平、周生茂、戴丹麗、曹家樹。2010。植物酚類物質研究進展。浙江農業學報 22: 696-701。
- 胡敏夫。1991。山葵栽培。台灣省農業試驗所技術服務 6: 21-26。
- 胡敏夫、王昭月、劉慧瑛。1992。台灣山葵主要栽培品種(系)間品質之評價。中華農業研究 41(1): 34-42。
- 胡敏夫、賴永昌、劉新裕。1994。山葵種原鑑定與農藝特性觀察。中華農業研究 43(3): 302-307
- 築地録太郎、鈴木正。1956。ワサビ栽培の基礎調査 (1)温度調査について。日本林学会誌 38: 415-418
- Baker, N. R. 2008. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 89-113.
- Ferguson, A. R. 2011. Kiwifruit: a botanical review. *Hort. Rev.* 6: 1-64.
- Brown, B. D., R. C. Gibson, B. Geary, and M. J. Morra. 2008. Biofumigant biomass, nutrient content and glucosinolate response to phosphorus. *J. Plant Nutr.* 31: 743-757.
- Camejo, D., P. Rodri'guez, M. A. Morales, J. M. D. Amico, A. Torrecillas and J. J. Alarco'n. 2005. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *J. Plant Physiol.* 162: 281-289.
- Chen, W. R., J. S. Zheng, Y. Q. Li, and W. D. Guo. 2012. Effects of high temperature on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, chloroplast ultrastructure, and antioxidant activities in fingered citron. *Russ. J. Plant Physiol.* 59(6): 732-740.
- Depree, J. A., T. M. Howard, and G. P. Savage. 1999. Flavour and pharmaceutical properties of the volatile sulphur compounds of wasabi (*Wasabia japonica*). *Food Res. Int.* 31: 329-337.
- Gerendas, J., J. Podestat, T. Stahl, K. Kubler, H. Bruckner, V. Mersch-Sundrmann, and K. H. Muhling. 2009. Interactive effects of sulfur and nitrogen supply on the concentration of sinigrin and allyl isothiocyanate in indian mustard (*Brassica juncea* L.). *J. Agric. Food Chem.* 57: 3837-3844.
- Gorbe, E. and A. Calatayud. 2012. Applications of chlorophyll fluorescence imaging technique in horticultural research: A review. *Sci. Hortic.* 138: 24-35.
- Graser, G., B. Schneider, N. J. Oldham, and J. Gershenzon. 2000. The methionine chain elongation pathway in the biosynthesis of glucosinolates in *Eruca sativa* (Brassicaceae). *Arch. Biochem. Biophys.* 378: 411-419.

- Janka, E., O. Körner, E. Rosenqvist, and C. O. Ottosen. 2013. High temperature stress monitoring and detection using chlorophyll a fluorescence and infrared thermography in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). *Plant Physiol. Biochem.* 67: 87-94.
- Kotak, S., J. Larkindale, U. Lee, P. V. Koskull-Doering, E. Vierling, and K. D. Scharf. 2007. Complexity of the heat stress response in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10: 310-316.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.* 345: 659-668.
- Mathur, S., A. Jajoo, P. Mehta, and S. Bharti. 2011. Analysis of elevated temperature-induced inhibition of photosystem II using chlorophyll a fluorescence induction kinetics in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Plant Biol (Stuttg)*. 13(1): 1-6.
- Molina-Bravo, R., C. Arellano, B. R. Sosinski, and G. E. Fernandez. 2011. A protocol to assess heat tolerance in a segregating population of raspberry using chlorophyll fluorescence. *Sci. Hortic.* 130: 524-530.
- Petkova, V., I. D. Denev, and D. Cholakov. 2007. Field screening for heat tolerant common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) by measuring of chlorophyll fluorescence induction parameters. *Sci. Hortic.* 111: 101-106.
- Schonhof, I., D. Blankenburg, S. Müller, and A. Krumbein. 2007. Sulfur and nitrogen supply influence growth, product appearance, and glucosinolate concentration of broccoli. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 170:1-8.
- Schansker, G., S. Z. Toth, A. R. Holzwarth, and G. Garab. 2014. Chlorophyll a fluorescence: beyond the limits of the QA model. *Photosynth Res.* 120:43-58.
- Seubma, P., P. Kasemsap, O. van Kooten and J. Harbinson. 2012. Effects of high temperature exposure on chlorophyll Fluorescence of *Phalaenopsis* Leaves. *CMU. J. Nat. Sci. Special Issue on Agri. Natur. Res.* 11 (1): 409-419.
- Smillie, R. M. and S. E. Hetherington. 1983. Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo. *Plant Physiol.* 72: 1043-1050.
- Sultana, T., G. P. Savage, D. L. McNeil, and N. G. Porter. 2003. The yield of isothiocyanates in wasabi rhizomes stored at different temperatures. *J. Food Agri. Environ.* 1: 39-45.
- Wise, R. R., A. J. Olson, S. M. Schrader, and T. D. Sharkey. 2004. Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. *Plant Cell Environ.* 27: 717-72.
- 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: 188-194.

- Yamane, Y., T. Shikanai, Y. Kashino, H. Koike, and K. Satoh. 1998. Effects of high temperatures on the photosynthetic systems in spinach: oxygen-evolving activities, fluorescence characteristics and the denaturation process. *Photosynth. Res.* 57: 51-59.
- Yamane, Y., T. Shikanai, Y. Kashino, H. Koike, and K. Satoh. 2000. Reduction of QA in the dark: another cause of fluorescence Fo increases by high temperatures in higher plants. *Photosynth. Res.* 63: 23-34.

Chlorophyll Fluorescence as an Indicator to Evaluate High Temperature Stress of Wasabi (*Wasabia japonica* (Mique) Matsumura).

Hsuan-En Hung¹⁾ Ching-Chang Shiesh²⁾

Key words: Chlorophyll Fluorescence, Wasabi, High Temperature Stress

Summary

Wasabi is a perennial spice plant. Its optimum growth temperature is at 8-18°C, so that was planted in high mountain areas in Taiwan and in which is often an ecologically fragile place. Now, because of climate change and people's environmental awareness has raised, Screening heat tolerance genotypes are very important in the wasabi breeding process. As a result, there will have a more positive helpful to the future development of hillside soil and water conservation as well as wasabi industry. In this study, we used mature leaves and plants of 14 lines and one seedling of wasabi, which were screened with 50°C as high temperature stress. Finally, we selected the heat-tolerant lines No. 23 by the chlorophyll fluorescence method. And content of nitrogen, phosphorus, total phenolic compounds, free amino acids and soluble protein contents, which related to wasabi's piquancy, were determined. The results indicated that wasabi leaves in all lines and seedling, underwent high temperature stress, and chlorophyll fluorescence yield (Fv/Fm) decreased as the temperature and treating time. The lines No. 23 can maintain a relatively high yield of chlorophyll fluorescence. Screening materials of mature leaves and plants under high temperature stress have got the same result in chlorophyll fluorescence yield. But there are almost no differences in heat-tolerant, nitrogen, phosphorus, total phenol compounds, free amino acids and soluble protein contents between the heat tolerant and heat sensitive lines and seedling.

1) Student in M.S. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

