

篩選油菜不同耐淹水性品種及其於低氧下之生理反應

林宛螢¹⁾ 宋好²⁾

關鍵字：油菜、淹水、鮮乾重、碳水化合物、乳酸脫氫酵素、乙醇脫氫酵素

摘要：本實驗以七個油菜品種種植於田間進行淹水試驗，結果顯示‘夏霸王’和‘夏樂天’於淹水後葉片之垂葉率、黃化率低且無死亡率，鮮乾重減少 16.4-19.6%，於排水六天後植株生長復原情況佳，故為耐淹水品種；‘福祿甜’和‘さおり’生長明顯受淹水影響，鮮乾重顯著減少 26.5-42%，且死亡率高，於排水六天後未恢復生長，故為不耐淹水品種。水耕油菜於低氧下，不耐淹水品種地上部和地下部鮮乾重顯著減少，低於耐淹水品種。所有品種地下部，於缺氧處理後全可溶性糖皆增加，耐淹水品種含量顯著高於不耐淹水品種，澱粉含量於耐淹水品種顯著減少，不耐淹水品種則與對照組無顯著差異。在根之發酵作用酵素方面，LDH 和 ADH 活性均被提高，以‘さおり’之 ADH 活性顯著增加最多，‘夏樂天’於缺氧下二酵素活性同時被誘導提高，‘夏霸王’和‘福祿甜’皆為 LDH 活性先增加，下降後，ADH 活性增加；‘さおり’則是 ADH 活性先被提高，LDH 活性於其後被提高。

前 言

油菜為十字花科芸苔屬植物，依不同品種可作為葉用、綠肥及油料之功用。本試驗以葉用油菜為主，油菜於台灣全年皆可栽培(戴和郭，2002)，於夏季常有豪雨發生，造成田間淹水，葉菜類根系淺，短暫淹水易造成危害，導致產量減少影響收成。根於低氧情況下，抑制呼吸作用，能量生合成受阻，進而轉為無氧呼吸作用，路徑包括乳酸發酵為丙酮酸經乳酸脫氫酵素(lactate dehydrogenase, LDH)催化形成乳酸；另一為乙醇發酵為丙酮酸經丙酮

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。

酸脫羧酵素(pyruvate decarboxylase, PDC)和酒精脫氫酵素(alcohol dehydrogenase, ADH)生成乙醇(Perata and Apli, 1993; Roberts *et al.*, 1984; Thomson and Greenway, 1991)。發酵作用過程中將還原態 NADH 轉為氧化態 NAD⁺，再生的 NAD⁺使糖解作用得以繼續進行，產生能量維持生理代謝(Rivoal and Hanson, 1994)。發酵作用會誘導乳酸脫氫酵素(lactate dehydrogenase, LDH)和酒精脫氫酵素(alcohol dehydrogenase, ADH)活性的提高，於玉米、水稻、小麥和番茄等作物均已證實(Allen and Crosby, 1989; Cao and Cai, 1991; Mustroph and Albrecht, 2003)。本研究將篩選出耐淹水和不耐淹水之油菜品種，比較不同淹水耐受性油菜品種於低氧水耕栽培下，植株生長及碳水化合物代謝上之變化。

材料與方法

一、油菜於田間淹水下植株生長之表現

(一) 試驗材料

本試驗所選用之油菜為葉用油菜，小油菜品種為夏霸王、福祿甜和青龍，小松菜品種為夏樂天、さおり、美松菜和極樂天。

(二) 植株栽培

1. 育苗：將供試驗油菜種子播於 72 格 PE 圓孔穴盤，穴盤規格為長×寬×高= 54 × 28 × 4 cm，穴格直徑為 43 mm，底部直徑為 28 mm，容積為 42 cm³，每格穴盤播種兩粒種子。介質採用泥炭土 Bio-Mix potting substratum 110 B (Tref, The Netherlands)為主要栽培介質，泥炭土與南海 3 號蛭石及南海 3 號珍珠石以 8:1:1 混拌置於穴盤中，於中興大學蔬菜室網室內進行培育。幼苗期每週施用 1500 倍尿素(農友牌)，於達二片本葉時進行間拔留一株，育苗期間依照植物保護手冊管理病蟲害適時防治。
2. 定植及栽培：於 2008 年 4 月將達三片本葉之幼苗進行定植於蔬菜實驗田，定植前施用田樂一號(田樂牌)為基肥，試驗採逢機完全區集設計(RCBD)雙行植，畦大小為 16 × 1 m，行株距為 15 × 15 cm，三重複，每重複九株。每週施用 1000 倍尿素，栽培期間立支柱架覆以白色紗網，並定期施用藥劑防治病蟲害。

(三) 淹水處理

植株生長達八片成熟葉時進行淹水試驗，將畦之前後方以袋裝之廢棄土堵起，採淹灌方式淹至植株基部，每天上下午確認淹水情形並維持水面高度，淹水四天後於排水零天、三天分別調查植株生長情形，以未淹水處理為對照組，各組逢機取三重複，每重複三株。

(四) 植株性狀調查

1. 葉片垂葉率：葉片下垂與葉柄相交之角度小於 90 度視為下垂葉，單株植株之下垂葉數/總成熟葉數×100%，單位：%。
2. 葉片黃化率：葉片黃化面積超過全葉面積的 1/4 視為黃化葉，單株植株之黃化葉數/總成熟葉數×100%，單位：%。

3. 死亡率：計算死亡株數/總株數×100%，單位：%。
4. 地上部鮮重：取植株之地上部(子葉處以上)秤其重量，單位：g。
5. 地上部乾重：將植株地上部放入牛皮紙袋中，置於 80°C 烘箱經三天烘乾秤重，單位：g。

二、水耕栽培下油菜於低氧狀態下之發酵作用情形

(一) 試驗材料

油菜之品種為‘夏霸王’、‘夏樂天’、‘福祿甜’和‘さおり’。

(二) 水耕設備

採用非循環式水耕方式，以 42 × 32 × 11 cm 之藍色塑膠籃種植，每籃養液量為 15 公升，外圍以銀黑色塑膠布包裹，以隔絕光線及減少養液溫度的上升，上方覆蓋厚度 1.5 cm 之保麗龍板，保麗龍板正面以銀黑色塑膠布包裹，以避免青苔滋生。養液配方參考台中區農業改良場葉菜類水耕營養液基本配方，如附表 1。以 Digital 手提式 pH meter (PH-208) 測量養液中之 pH 值，以 6 N HCl 調整養液 pH 值介在 5.5~6.5 之範圍內，並以 Aquarium Jop-004 /AC 幫浦(250 L/min)給予打氣，每週定期更換養液一次。

附表 1：台中區農業改良場葉菜類水耕營養液基本配方

養液配方	藥劑	用量 (g/L)
巨量元素	硝酸鈣 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	354
	硝酸鉀 KNO_3	101
	硫酸鎂 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	184.5
	磷酸銨 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	85.5
微量元素	EDTA -Fe	20
	硼酸 HBO_3	1.2
	氯化錳 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.72
	硫酸銅 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.04
	硫酸鋅 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.09
	鉬酸鈉 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.01

(三) 育苗與定植

於 2008 年 9-10 月和 2009 年 5-6 月期間將試驗之油菜種子播於培養皿置於 25°C 生長箱進行催芽一天，待胚根突破種皮後，再播於每格 3 × 3 × 3 cm 十字育苗海綿，每格播二粒種子，置於光照 12 小時之 25°C 生長箱，生長達二片本葉時進行間拔，並移至網室健化，隔天在開始施予 1000 倍 Peters 化學肥料(N:P:K=20:20:20, Scotts-Sierra Horticultural Products Company, U.S.A.)，待四片本葉時即行定植於藍色塑膠籃中，植株固定於 1.5 cm 保麗龍板，每籃 6 株，採用三角種植，行株距為 15 × 15 cm。

(四) 缺氧處理

植株生長達六片本葉時進行處理，以不打氣為缺氧試驗，每日早上及下午以手提式溶氧度計(DO-24P)調查水中之溶氧量，當溶氧量低於 2 ppm 即處於缺氧環境，於連續五天後調查植株生長情形及生理現象。

(五) 調查項目

1. 地上部鮮乾重：同試驗一。
2. 地下部鮮乾重：洗淨根系並以紙巾拭乾表面水分，秤取地下部重量為鮮重。將地下部置於放入牛皮紙袋中，置於 80°C 烘箱經三天烘乾秤重為乾重，單位：g。
3. 地下部碳水化合物之分析：

(1) 全可溶性糖含量

依據 Yoshida 等(1976)之測定方法加以小部分修改，取 0.1 g 乾燥樣品置於離心管中，加入 10 ml 蒸餾水，以 30°C 恆溫水浴震盪 3 小時，再以 11000 rpm 室溫下離心 10 分鐘，取 5 ml 上清液，加入 1 ml 6 N HCl，放入 70 °C 水浴振盪 15 分鐘，取出後迅速以冰水浴冷卻。取 0.1 ml 萃取液加入去離子水 1.9 ml 混合振盪均勻，再加入 0.1 ml 液態石碳酸(liquid phenol)及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻。靜置 30 分鐘後，使其成桃橘色。利用分光光度計(U-2900, HITACHI) 測定 490 nm 波長下之吸光值。以 0.5 μM D-glucose 配製標準液，計算樣品全可溶性糖濃度，單位以 mg/g Dw.表示。每處理三重覆，每重複二株。

(2) 澱粉含量

將上述離心後且抽完上清液之底部殘渣樣品置於 80°C 烘箱一天烘乾，將烘乾之粉末，加入 2 ml 去離子水，放入 100°C 水浴 15 分鐘，取出後迅速以冰水浴冷卻。再加入 2 ml 9.2 N HClO₄ 連續振盪 15 分鐘後，加入 6 ml 去離子水，定量至 10 ml。於 25°C 室溫 13000 rpm 離心 10 分鐘後，取上層液 0.1 ml 加入 1.9 ml 去離子水。將 2 ml 混合液加入 0.1 ml 液態石碳酸(liquid phenol)及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻。靜置 30 分鐘後，利用分光光度計測定 490 nm 波長下之吸光值。以 0.5 μM D-glucose 配製標準液，計算樣品澱粉濃度，單位以 mg/g Dw.表示。每處理三重覆，每重複二株。

4. 乳酸脫氫酶活性(LDH)

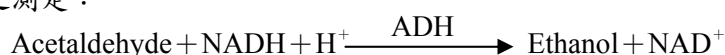
依據 Hoffman 等(1986)的方法部分修正，取新鮮根 1 g 置於預冷研鉢中，以液態氮急速冷凍，研磨均勻後加 5 ml extraction buffer 及 0.1 g PVPP 振盪均勻 10 秒，extraction buffer 包含 100 mM HEPES-NaOH (pH 7.4)、1 mM DTT、10 mM 2-mercat ethanol、12.5 % (v/v) glycerol 及 10 mM MgCl₂，於 4°C 下以 10000 g 離心 20 分鐘，取上清液作為活性測定用，全程於冰浴下進行。LDH 活性分析，為丙酮酸之還原方向之測定：



於石英管中加入 1 ml reaction buffer (pH 7.0)，包含 100 mM Triethanolamine (TEA)、0.15 mM NADH、3 mM 4-methylpyrazole 和 10 mM Na-pyruvate，加入 0.2 ml 萃取液，立即以分光光度計於波長 340nm 吸光值 1 分鐘變化之情形。

5. 乙醇脫氫酵素活性(ADH)

取新鮮根 1 g 置於預冷研鉢中，以液態氮急速冷凍，研磨均勻後加 5 ml extraction buffer 及 0.1 g PVPP 混合均勻後，extraction buffer 包含 100 mM HPEPS-KOH (pH 7.4)、0.5 mM ZnCl₂、1 mM DTT、10 mM 2-mercaptoethanol、12.5 % glycerol，於 4°C 下以 12000 g 離心 20 分鐘，取上清液作活性測定用，全程於冰浴下進行。ADH 活性分析，為乙醛之還原方向之測定：



於石英管中加入 reaction buffer (pH 6.4)，事先分項配製於測定時當場混合，成分包含 90 mM Mes-KOH、1 mM DTT、3 mM MgCl₂、0.2mM β-NADH，加入 0.1 ml 萃取液反應 72 秒後，再加入 0.1 ml 29.7 mM acetaldehyde 混合均勻後，立即以分光光度計於波長 340 nm 吸光值 1 分鐘變化之情形。

三、統計分析

以上試驗數據採用 SAS 套裝軟體(SAS Insbitue, Cary, NC)中的 PROC ANOVA (analysis of variance procedure) 進行變方分析(α = 0.05)，以 Fisher's LSD 進行各處理間平均值的比較。

結 果

一、油菜於田間淹水下植株生長之表現

由垂葉率、黃化率及死亡率如表 1 可知，‘夏霸王’、‘青龍’和‘夏樂天’為耐淹品種，其淹水後及排水三天後垂葉率分別為 3.7-26.4 % 和 4.6-17.7 %，黃化率分別為 9.7-15.9 % 和 11.1-14.7 %，死亡率分別為 0 % 和 0-11.1 %。‘福祿甜’、‘さおり’和‘美松菜’為不耐淹品種，其淹水後及排水三天後垂葉率分別為 41.7-77.8 % 和 31.7-82.1 %，黃化率分別為 17.9-32.8 % 和 14.1-41.7 %，死亡率分別為 0 % 和 11.1-74.4 %，顯示出淹水下對植株造成嚴重的傷害。

油菜於淹水後植株之鮮重情形如圖 1，淹水後鮮重之減少量、減少之百分率及淹水處理後相對生長速率之表現如表 2。在地上部之生長表現方面，所有品種於淹水下鮮重皆顯著較對照組減少，‘夏霸王’和‘青龍’於淹水後鮮重顯著減少最高者，分別減少 11.6 g (29.7 %) 和 14.6 g (30 %)，相對生長速率為 -7.4 和 -7.5 g/g/day，而‘夏樂天’鮮重減少 3.4 %，相對生長速率為 -1.1 g/g/day 為所有品種減少最低者，其他品種之間則無顯著差異。‘美松菜’和‘極樂天’於排水三天後鮮重分別減少 4.2 g (9.7 %) 和 8 g (16.7 %)，顯著低於‘夏霸王’減少 16.6 g (31.1 %)，其他品種間鮮重減少介於 19.2-27.3 % 彼此無顯著差異。‘夏霸王’、‘美松菜’和‘極樂天’相對生長速率分別為 11.1、12 和 10.6 g/g/day 顯著高於‘福祿甜’和‘さおり’。

表 1. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後之垂葉率、黃化率及植株死亡率
 Table 1. Percentage of wilting, yellow leaf and dead plant of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days.

油菜品種	垂葉率 (%)		黃化率 (%)		死亡率 (%)	
	第零天	第三天	第零天	第三天	第零天	第三天
夏霸王	26.4 bc ^z	4.6 c	15.9 bc	14.7 b	0.0 a	0.0 b
福祿甜	77.8 a	31.7 bc	25.0 abc	14.1 b	0.0 a	47.2 a
青龍	3.7 c	4.8 c	12.0 c	12.5 b	0.0 a	11.1 b
夏樂天	20.6 bc	17.7 bc	9.7 c	11.1 b	0.0 a	0.0 b
さおり	41.7 abc	44.4 b	17.9 bc	26.4 ab	0.0 a	74.4 a
美松菜	71.1 a	82.1 a	32.8 ab	41.7 a	0.0 a	11.1 b
極樂天	43.8 ab	31.3 bc	37.8 a	20.6 ab	0.0 a	11.1 b

^zMeans within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

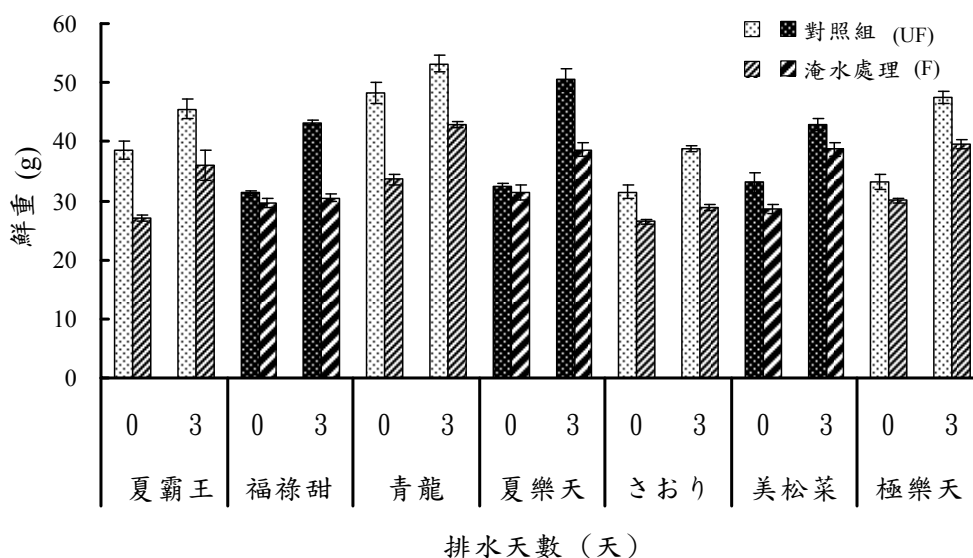


圖 1. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後地上部鮮重之情形。

Fig 1. The fresh weight of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days. Bars represent standard error of the mean of three replicates.

表 2. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後鮮重減少量、減少百分率和相對生長速率
Table 2. The decreased amount of fresh weight, decreased percentage and relative growth rate of rape to waterlogging in the field for 4 days following drainage for 3 days.

油菜品種	減少量 (g) UF-F		減少之百分率 (%) (UF-F)/UF×100 %		相對生長速率 ^z (g/g/day)	
	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天
夏霸王	11.6 a ^y	16.6 a	30.0 a	31.1 a	-7.4 c	11.1 a
福祿甜	1.7 b	11.8 ab	5.3 bc	27.3 ab	-1.3 ab	2.0 c
青龍	14.6 a	10.3 ab	30.0 a	19.2 bc	-7.5 c	9.3 ab
夏樂天	1.4 b	11.8 ab	3.4 c	23.1 ab	-1.1 a	8.1 abc
さおり	5.1 b	10.0 ab	16.0 b	25.8 ab	-4.0 b	3.2 bc
美松菜	4.6 b	4.2 c	13.5 bc	9.7 c	-3.4 ab	12.0 a
極樂天	3.1 b	8.0 bc	9.1 bc	16.7 bc	-2.3 ab	10.6 a

^z 植株於淹水下排水零天相對生長速率=(F-UF)/UF/4×100%

排水三天相對生長速率=(F3-F0)/F0/3×100%

^y Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

油菜淹水後及排水三天植株地上部之乾重情形如圖 2 和表 3，在淹水處理及排水期間變化趨勢與鮮重的表現十分相近，‘夏樂天’於淹水後乾重減少 0.1 g (3.2%)，相對生長速率減少 0.8 g/g/day 與對照組無顯著差異，‘夏霸王’和‘青龍’則乾重減少量顯著高於其他品種，分別減少 1.1 g (27.6%) 和 1.4 g (29.9%)，相對生長速率減少 6.9 和 7.5 g/g/day 為減少最多者。‘美松菜’於排水三天後乾重減少 9.3%，與‘青龍’和‘極樂天’無顯著差異，顯著低於其他四個品種。‘福祿甜’於排水三天後乾重之相對生長速率為 0.5 g/g/day 和‘さおり’1.9 g/g/day 無顯著差異，但顯著低於其他五個品種，其相對生長速率介於 9.6-12.3 g/g/day。

二、水耕栽培下油菜於低氧狀態下之發酵作用情形

(一) 植株於低氧下地上部、地下部鮮乾重及根部碳水化合物含量

油菜植株於低氧五天後植株鮮乾重表現及地下部碳水化含量之情形如表 4，植株處理低氧下地上部及地下部之生長均受抑制，鮮乾重較對照組均顯著減少，‘福祿甜’和‘さおり’減少較多均顯著低於‘夏霸王’和‘夏樂天’，在地上部鮮重表現方面，‘福祿甜’和‘さおり’於低氧後分別顯著減少 14.1 (47.2%) 和 13.1 g (43.1%) 為顯著最低，‘夏霸王’和‘夏樂天’則分別減少 9.1 和 7.9 g，地下部鮮重表現方面所有品種在未淹水前介於 1.91-1.98 g，於低氧後‘福祿甜’和‘さおり’顯著減少降至 1.04 和 0.95 g 為顯著最低，‘夏霸王’和‘夏樂天’則分別減少 0.53 和 0.56 g。

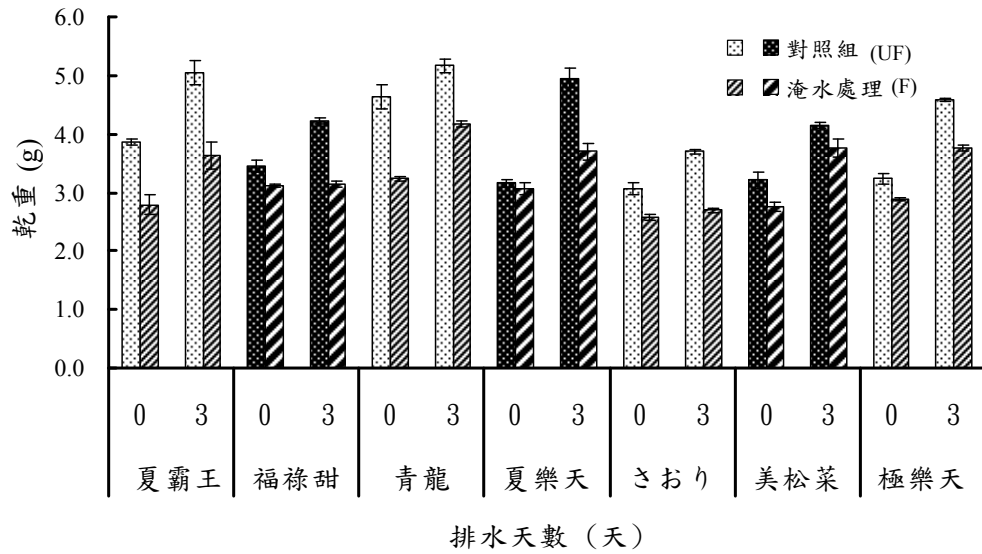


圖 2. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後地上部乾重之情形

Fig 2. The dry weight of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days. Bars represent standard error of the mean of three replicates.

表 3. 油菜植株於田間淹水四天、排水三天後乾重減少量、減少百分率和相對生長速率

Table 3. The decreased amount of dry weight, decreased percentage and relative growth rate of rape to waterlogging for 4 days in the field following drainage for 3 days.

油菜品種	減少量 (g) UF-F		減少之百分率 (%) (UF-F)/UF×100 %		相對生長速率 ^z (g/g/day)	
	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天	排水零天	排水三天
夏霸王	1.1 a ^y	1.4 a	27.6 a	27.6 a	-6.9 c	10.0 a
福祿甜	0.3 b	1.1 ab	9.8 bc	25.4 a	-2.4 ab	0.5 c
青龍	1.4 a	1.0 ab	29.9 a	19.4 ab	-7.5 c	9.6 a
夏樂天	0.1 b	1.3 ab	3.2 c	25.0 a	-0.8 a	7.1 ab
さおり	0.5 b	1.0 ab	15.9 b	27.0 a	-4.0 b	1.9 bc
美松菜	0.5 b	0.4 c	14.1 bc	9.3 b	-3.5 ab	12.3 a
極樂天	0.4 b	0.8 bc	10.8 bc	17.6 ab	-2.7 ab	10.3 a

^z 植株於淹水下排水零天相對生長速率=(F-UF)/UF/4×100%

排水三天相對生長速率=(F3-F0)/F0/3×100%

^y Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

表 4. 水耕油菜於低氧五天後植株地上部及地下部鮮乾重

Table 4. The fresh weight and dry weight of hydroponic rape under low oxygen condition for 5 days.

品種	處理	鮮重 (g)		乾重 (g)	
		地上部	地下部	地上部	地下部
夏霸王	對照組	32.3 a ^z	1.91 a	3.10 a	0.196 a
	缺氧	23.2 c	1.38 b	2.23 c	0.152 b
福祿甜	對照組	29.9 b	1.98 a	2.86 b	0.193 a
	缺氧	15.8 d	1.04 c	1.50 d	0.118 c
夏樂天	對照組	29.6 b	1.96 a	2.97 ab	0.194 a
	缺氧	21.7 c	1.40 b	2.11 c	0.129 b
さおり	對照組	30.4 b	1.94 a	2.98 ab	0.193 a
	缺氧	17.3 d	0.95 c	1.61 d	0.094 d
品種		**y	**	**	**
處理		**	**	**	**
品種 × 處理		**	**	**	**

^zMeans within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

^yn.s., *, ** indicated nonsignificant or significant at p=0.05 or 0.01, respectively.

植株之乾重表現如同鮮重，‘福祿甜’和‘さおり’於低氧後地上部乾重較對照組減少 47.5 和 45.9 % 顯著最低，二者間無顯著差異，而地下部乾重分別減少 39.1 和 51.3 %，‘さおり’顯著低於‘福祿甜’，‘夏霸王’和‘夏樂天’地上部及地下部乾重減少率介於 22.4-33.4 % 間，均顯著高於‘福祿甜’和‘さおり’，前二者間無顯著差異。

地下部之碳水化合物含量如表 5 於所有品種除‘さおり’外，於低氧下全可溶性糖於淹水下均顯著增加，‘夏霸王’和‘夏樂天’顯著增加高於‘福祿甜’和‘さおり’，前二者分別增加 0.06 和 0.09 mg/g DW，後二者則分別增加 0.03 和 0.02 mg/g DW。澱粉含量‘夏霸王’和‘夏樂天’於低氧下顯著減少，分別減少 0.04 和 0.06 mg/g DW 顯著最低，二者間無顯著差異，‘福祿甜’和‘さおり’於低氧下與對照組無顯著差異 澱粉含量分別為 0.31 和 0.32 mg/g DW，顯著高於‘夏霸王’和‘夏樂天’。

(二) 植株於低氧下對發酵作用酵素活性之影響

油菜植株於低氧五天情況下根之 LDH 活性表現如圖 3(A)，所有品種於缺氧下 LDH 活性皆較對照組顯著提高，其中以‘夏樂天’變化趨勢增加最多，‘さおり’則增加最少。‘夏霸王’於缺氧一天時 LDH 活性顯著較對照組提高 2.8 倍，於第三天時 LDH 活性降低與對照組無顯著差異，‘福祿甜’和‘夏樂天’LDH 變化趨勢相近，皆於缺氧二天時 LDH 活性顯

著提高，分別提高 1.8 和 3.4 倍，‘福祿甜’LDH 活性則於第三天顯著降低逐漸趨緩，仍較對照組高 1.6 $\mu\text{mol/g min FW}$ 左右，‘夏樂天’LDH 活性則於第三天仍持續增加 1.5 $\mu\text{mol/g min FW}$ 達到最高峰，於第四天後顯著降低 5.7 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，於第六天仍較對照組高 63.3 %。‘さおり’LDH 活性於缺氧三天內無顯著變化相近於對照組，於第四天後 LDH 較對照組顯著提高 1.7 倍，於第五天維持不變較對照組高出 2.6 $\mu\text{mol/g min FW}$ 。

在 ADH 活性表現情形如圖 3(B) 所有品種於低氧下 ADH 活性皆較對照組顯著提高，其中以‘さおり’變化趨勢增加最多，‘福祿甜’增加最少。‘福祿甜’於缺氧第一天 ADH 活性顯著較對照組增加 2.9 倍，隨之逐漸減少於第三天 ADH 活性 2.39 $\mu\text{mol/g min FW}$ 為最低，於第四天後 ADH 活性逐漸增加於第五天較對照組高出 3 倍。其他三品種則於低氧下變化趨勢相似，於缺氧時 ADH 活性逐漸達到高峰後又逐漸降低，‘夏霸王’於缺氧下 ADH 活性不斷提高，於第四天 ADH 活性較對照組高 4 倍，隨後第五天顯著降低 3.2 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，仍較對照組顯著高出 3.16 $\mu\text{mol/g min FW}$ 。‘夏樂天’則於缺氧三天 ADH 活性達到最高，較對照組增加 3.5 倍，於第四天顯著減少 2.3 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，於第五天逐漸恢復較對照組高 51 %。‘さおり’於缺氧第二天 ADH 活性顯著提高 10 倍達 13.6 $\mu\text{mol/g min FW}$ ，隨後逐漸降低，於第五天時較對照組增加 85 %。

表 5. 水耕油菜於低氧五天後植株地下部碳水化合物含量之情形

Table 5. The carbohydrate content of rape under low oxygen condition for 5 days in hydroponic culture.

品種	處理	全可溶性糖含量 (mg/g DW)	澱粉含量 (mg/g DW)
夏霸王	對照組	19.57 bcd	0.30 c
	缺氧	25.74 a	0.26 d
福祿甜	對照組	18.77 cd	0.30 bc
	缺氧	21.35 b	0.31 abc
夏樂天	對照組	17.74 d	0.30 bc
	缺氧	26.42 a	0.24 d
さおり	對照組	18.88 cd	0.32 ab
	缺氧	20.63 bc	0.32 a
品種		**	**
處理		**	**
品種 × 處理		**	**

^z Means within the same letters in a column are not significantly different by Fisher’s LSD test at 5% level.

^y n.s., *, ** indicated nonsignificant or significant at p=0.05 or 0.01, respectively.

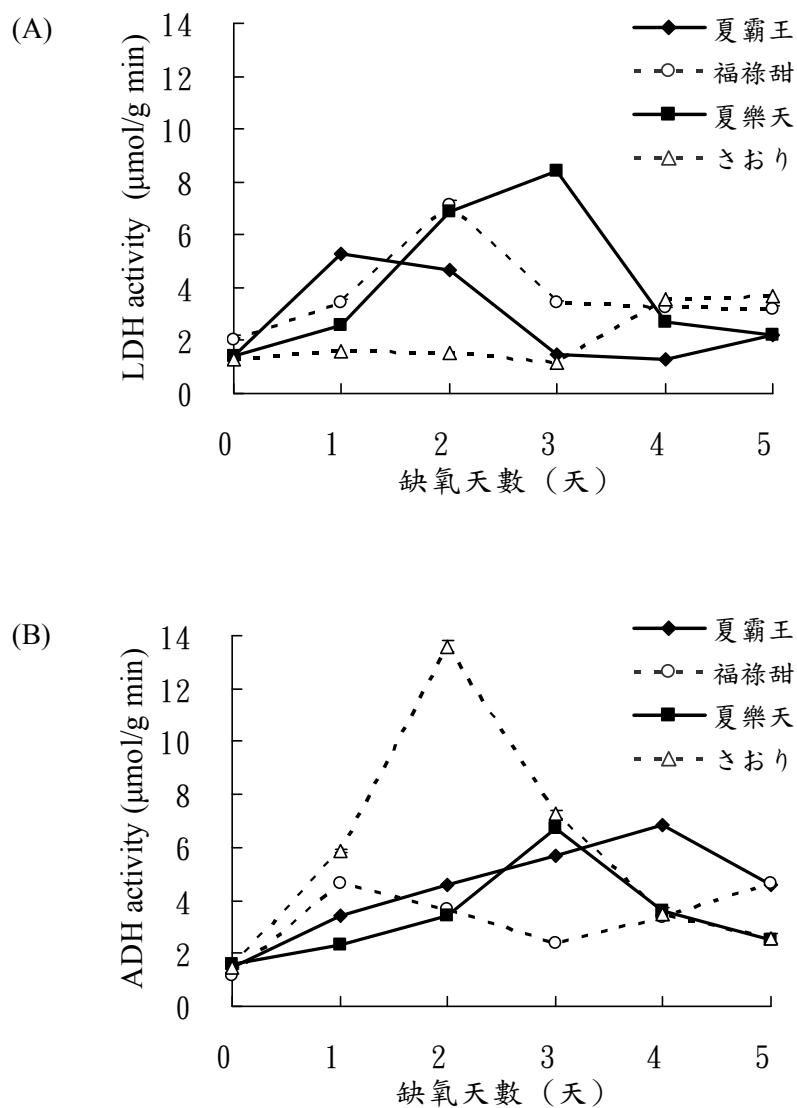


圖 3. 油菜植株於低氧下根之 LDH (A)和 ADH (B)活性之表現

Fig 3. The activity of LDH (A) and ADH (B) in root of rape under low oxygen condition for 5 days. Bars represent standard error of the mean of three replicates and are not visible if smaller than the symbol.

討 論

一、淹水對油菜植株生長之影響

植物於淹水下可看見的改變常發生於葉片的黃化，主要原因為淹水使根吸收水分能力降低，造成植株葉片的萎凋和老化。菸草於淹水十四天後下位葉出現黃化現象，嚴重則轉呈褐色而掉落(Jackson, 1956)。報告中指出油菜淹水3至30天造成顯著減產，可因其品種、發育階段及氣候不同而異(Gutierrez *et al.*, 1996)。Ashraf和Mehmood (1990)將四個油菜品種進行淹水處理，*B. juncea* L.於淹水下地上部的鮮乾重及葉面積相較於其他品種最高，*B. napus* L.則顯著減少顯示出不耐淹水。

二、水耕油菜於低氧下植株生理之反應

(一)低氧對植株生長及碳水化合物之影響

Daugherty和Musgrave(1994)之油菜試驗於淹水四天後，對淹水敏感品種的地上部及地下部之鮮乾重顯著減少，而耐淹品種則仍持續生長，與本試驗之油菜缺氧試驗結果一致，不耐淹的‘福祿甜’和‘さおり’植株鮮乾重較對照組顯著減少，亦顯著低於耐淹的‘夏霸王’和‘夏樂天’。不耐淹之番紅花於低氧下，地上部和地下部均無生長現象(Keyhani and Keyhani, 2004)。

本試驗耐淹之油菜品種全可溶性糖含量顯著高於不耐淹者(表5)，糖的含量高被視為適應上的改變，耐淹水的小麥品種根的糖含量顯著增加，可能與對淹水耐受性高有關(Huang and Johnson, 1995)。可促進離子吸收及能量的提供(Heides *et al.*, 1963)，碳水化合物適當的提供可能為植物組織於低氧下重要的存活關鍵(Setter *et al.*, 1987)，而Benjamin和Greenway (1979)則認為糖的累積是因為根生長的減少。

(二)低氧對發酵作用之影響

許多學者發現淹水逆境下根部因缺氧或低氧導致ADH和LDH活性增加的情形(Mustroph and Albrecht, 2003; 2007)，由本試驗油菜圖3數據得知耐淹水的‘夏樂天’於缺氧下LDH和ADH活性同時被誘導提高，耐淹水的‘夏霸王’和不耐淹水的‘福祿甜’趨勢接近，根之LDH活性先增加，接著ADH活性於LDH活性降低後而增加，不耐淹水的‘さおり’則相反，ADH活性先被提高，隨後LDH活性隨之提高。Kato-Noguchi和Morokuma (2007)水稻苗於無氧二天下，ADH活性均顯著提高，LDH則無顯著差異，ADH活性增加29-32倍之品種，其ATP濃度為正常情況下的46-48%，而ADH活性增加10-12倍之品種其ATP僅有原來的18-22%，顯示水稻於無氧情況下誘導ADH活性越高為耐受性高者。許多報告中指出酒精發酵途徑活化被視為植物生存於無氧環境下的策略之一(Drew, 1997; Ricard *et al.*, 1994; Tadege *et al.*, 1999)。Cao和Cai (1991)認為淹水下ADH活性迅速增加是植物耐淹水強而有力的適應機制，因氧氣缺少下抑制卡爾文循環，ATP藉由酒精無氧發酵生合成(Perata and Alpi, 1993)，且主要維持及刺激發酵作用來自於葡萄糖，葡萄糖可促進植物細胞於缺氧下存活之因子(Vartapetian, 1993)，許多報告指出於缺氧下若外加葡萄糖，可減緩水稻、南瓜及豌

豆於缺氧下對根結構的破壞，延長根尖死亡的時間(Vartapetian *et al.*, 1976; Webb and Armstrong, 1983)。

供試驗的四個油菜品種雖有耐與不耐淹水之差異，但所有品種根部在缺氧下均能誘導ADH及LDH活性，顯示於缺氧下皆進入發酵作用，進入ADH路徑生成產物為乙醇，進入LDH路徑生成產物為乳酸，二者產物在本試驗中曾進行分析，因其含量過低數據無法表達，可能取樣或技術上出現問題，無法得知是否有乙醇或乳酸的累積情形及其對細胞所造成的傷害。由油菜耐淹水生理特性的差異，推測原因可能為根的糖類含量多寡，耐淹者其含量顯著高於不耐淹者，糖類可提供無氧呼吸作用的基質，可提供能量，容忍缺氧之逆境。

參 考 文 獻

- 戴振洋、郭俊毅。2002。油菜“金寶-台中 3 號”之育成及栽培技術介紹。台中區農業改良場。
- Allen, G. G. and W. L. Crosby. 1989. Induction of alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase in hypoxically induced barley. *Plant Physiol.* 90: 860-866.
- Ashraf, M. and S. Mehmood. 1990. Effects of waterlogging on growth and some physiological parameters of four *Brassica* species. *Plant Soil* 121: 203-209.
- Benjamin, L. R. and H. Greenway. 1979. Effects of a range of O₂ concentrations on porosity of barley roots and on their sugar and protein concentrations. *Ann. Bot.* 43: 383-391.
- Cao, Y. and S. B. Cai. 1991. Some waterlogging tolerant wheat varieties. *Crop Genet. Res.* 2: 25-26.
- Daugherty, C. J. and M. E. Musgrave. 1994. Characterization of populations of rapid-cycling *Brassica rapa* L. selected for differential waterlogging tolerance. *J. Exp. Bot.* 45: 385-392.
- Drew, M. C. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism. Injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 223-250.
- Gutierrez, B. F. H., R. S. Lavado, and C. A. Porcelli. 1996. Note on the effects of winter and spring waterlogging on growth, chemical composition and yield of rapeseed. *Field Crops Res.* 47: 175-179.
- Heides, V. H., B. M. Boer-Bolt, and M. H. Raalte. 1963. The effect of a low oxygen content of the medium on the roots of barely seedlings. *Acta Bot. Neerl.* 12: 231-247.
- Huang, B. and J. W. Johnson. 1995. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Ann. Bot.* 75: 427-432.

- Jackson, W. T. 1956. Flooding injury studies by approach-graft and split root system techniques. *Amer. J. Bot.* 43: 496-501.
- Kato-Noguchi, H. and M. Morokuma. 2007. Ethanolic fermentation and anoxia tolerance in four rice cultivars. *J. Plant Physiol.* 164: 168-173.
- Keyhani, E. and J. Keyhani. 2004. Hypoxia/anoxia as signaling for increased alcohol dehydrogenase activity in saffron (*Crocus sativus* L.) *Corn. Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1030: 449-457.
- Mustroph, A. and G. Albrecht. 2003. Tolerance of crop plants to oxygen deficiency stress : fermentative activity and photosynthetic capacity of entire seedlings under hypoxia and anoxia. *Physiol. Plantarum* 117: 508-520.
- Mustroph, A. and G. Albrecht. 2007. Fermentation metabolism in roots of wheat seedlings after hypoxic pre-treatment in different anoxic incubation systems. *J. Plant Physiol.* 164: 394-407.
- Perata, P. and A. Alpi. 1993. Plant responses to anaerobiosis. *Plant Sci.* 93: 1-17.
- Ricard, B., I. Couee, P. Raymond, P. H. Saglio, V. Saint-Ges, and A. Pradet. 1994. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiol. Biochem.* 32: 1-10.
- Rivoal, J. and A. D. Hanson. 1994. Metabolic control of anaerobic glycolysis. Overexpression of lactate dehydrogenase in transgenic tomato roots supports the Davies-Roberts hypothesis and points to a critical role for lactate secretion. *Plant Physiol.* 106: 1179-1185.
- Roberts, J. K. M., J. Callis, D. Wemmer, V. Walbot, and M. Freeling. 1984. Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding intolerance in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 6029-6033.
- Setter, T. L., I. Waters, B. J. Atwell, T. Kupkanchanakul, and H. Greenway. 1987. Carbohydrate status of terrestrial plants during flooding. In Crawford, R. M. M., (ed.). *Plant life in aquatic and amphibious habitats.* Oxford : Blackwell Scientific. p. 411-443.
- Tadege, M., I. Dupuis, and C. Kuhlemeier. 1999. Ethanolic fermentation : new functions for an old pathway. *Trends Plant Sci.* 4: 320-325.
- Thomson, C. J. and Greenway. 1991. Metabolic evidence for stelar anoxia in maize roots exposed to low O₂ concentrations. *Plant Physiol.* 96: 1294-1301.
- Vartapetian, B. B. 1993. Plant physiological responses to anoxia. *Int. Crop Sci.* 1: 721-726.
- Vartapetian, B. B., I. N. Andreeva, and G. I. Kozlova. 1976. The resistance to anoxia and the mitochondrial fine structure of rice seedlings. *Protoplasma.* 88: 215-224.
- Webb, T. and W. Armstrong. 1983. The effects of anoxia and carbohydrates on the growth and viability of rice, pea and pumpkin roots. *J. Exp. Bot.* 34: 579-603.

Screen the Rape (*Brassica rapa* L.) Cultivars for Waterlogging Tolerant and Its Physiological Responses to Low Oxygen Condition

Wan-Ying Lin ¹⁾ Yu Sung ²⁾

Key words: Rape, Waterlogging, Fresh and dry weight, Carbohydrate content, LDH, ADH

Summary

Seven rape cultivars were planted at open filed and net house to conduct waterlogging study. Results showed that rape cv. 'His-ba-wang' and 'His-le-tian' had low wilting and yellow leaf as well as no dead plant. Plants fresh weight were reduced 16.4-19.6 % and all plants recovered after 6 days of drainage, then they were classified as waterlogging tolerant cultivars. Growth of rape cv. 'Fu-lu-tian' and 'Sa-ou-li' were significantly affected by waterlogging. Their fresh weight were significantly reduced 26.5-42 % and also with high fatal rate. Plants were not recovered after 6 days of drainage and then classified as waterlogging intolerant cultivars.

Hydroponic rape under low oxygen condition showed that the fresh and dry weight in leaf and root of waterlogging intolerant cultivars were significantly lower than waterlogging tolerant cultivars. The total soluble sugar content were increased in root of all cultivars after waterlogging. The waterlogging tolerant cultivars were significant higher than waterlogging intolerant cultivars. The starch content in waterlogging tolerant cultivars was significantly reduced, but it had no difference among the cultivars of waterlogging intolerant and control plants. The anaerobic fermentation enzymes in root showed LDH and ADH activity were increased, especially the ADH activity in rape cv. 'Sa-ou-li'. Both enzymes activity were induced simultaneously in rape cv. 'His-le-tian' under oxygen lacking condition. In cultivars 'His-ba-wang' and 'Fu-lu-tian', the LDH activity was increased firstly and then the ADH activity was increased after LDH activity decreased. The ADH activity was increased earlier than LDH, the LDH activity was increased in rape cv. 'Sa-ou-li'.

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

