

利用細胞膜熱穩定性技術篩選高耐熱性葉用蘿蔔¹

陳葦玲²、郭孚耀²、陳榮五²

摘 要

葉用蘿蔔(*Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers.)耐熱育種為產業上所需求，篩選出具有耐熱潛力之基因型則為育種的第一步。本試驗利用電解質滲漏技術測量葉用蘿蔔葉片和子葉細胞膜熱穩定(CMT)，並觀察其植株生育表現。結果顯示不同品種(系)之葉用蘿蔔葉片和子葉之熱傷害值與水浴處理溫度之間呈現一S曲線關係，曲線反折點約在水浴溫度46~50°C。50°C處理之熱傷害值接近曲線反折點，且對於品種(系)間耐熱性檢測有較佳的敏感度。選六品種(系)做進一步植株生育表現之觀察，結果顯示，六品種(系)之植株乾重、淨光作用、葉綠素螢光值(Fv/Fm)和葉綠素含量在35°C高溫下減少，反之蒸散速率、過氧化氫含量及丙二醛含量則增加，且呈現品種(系)間的差異。迴歸分析結果則指出植株乾重與葉綠素螢光值因35°C所減低之比例和50°C水浴之熱傷害值呈現二次相關性。

關鍵字：蘿蔔、高溫、電解質滲漏、熱傷害值。

前 言

在熱帶及亞熱帶地區，增加作物產量以供給人口成長需求為現今重要的議題，因此，當栽培需求量增加，作物種植於不適當的季節或環境之機會也勢必會提高⁽²⁰⁾。近年來全球暖化問題日趨嚴重，地球年平均溫度逐年升高，高溫成為影響作物生長之重要限制因子，其往往導致植株形態發育異常、營養元素吸收受阻、呼吸作用提高、淨光合作用能力降低等變化⁽¹⁴⁾，進而影響作物產量與品質。

蘿蔔(*Raphanus sativus* L.)為十字花科蘿蔔屬一年生栽培之蔬菜，原產自地中海沿岸至黑海地區，依地理性可區分為五個變種(variety)⁽¹²⁾。其在熱帶及亞熱帶地區高溫季節時無法耕作且作物品質下降。葉用蘿蔔(*R. sativus* L. var. *oleiformis* Pers.)因生長週期短，加上營養成分豐富，成為日本及臺灣地區新興葉用蔬菜，其雖可終年生產，但仍以在較低溫環境下才有較佳的產量及品質。為了提供臺灣夏季蔬菜多樣化選擇，選育適合夏季高溫生產之品種(系)有其必要性。

傳統耐熱育種過程中，田間篩選目標性狀所耗費之時間及勞力成本多，因此，快速且簡單之選別方法在育種流程中是不可或缺的。細胞膜熱穩定性(Cell membrane thermostability,

¹行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0709 號。

²行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員、副研究員及場長。

CMT)為測量植株葉片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⁽²²⁾。前人研究指出，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^(5,9,15,18,23)。本研究主要為利用CMT檢視葉用蘿蔔不同品種(系)之耐熱性，觀察植株在高溫下生長及生理表現，並與CMT之結果作相關性評估，建立日後在耐熱性篩選上之指標，以利育種工作進行。

材料與方法

植物材料

分別自日本、馬來西亞、中國及臺灣蒐集之21種葉用蘿蔔品種(系)(表一)，種子播種於直徑16.8 cm內含泥炭苔、珍珠石及蛭石混合介質(v:v:v = 6:1:1)之塑膠硬盆中，植株於25°C溫室生長7天後，一半植株移置35°C溫室，另一半則繼續於25°C溫室內栽培，栽培期間視介質水分狀態澆水，此外每週施以稀釋1,000倍之Peter's 20.0-4.4-24.9 N-P-K (The Scotts Co., Marysville, OH)一次，播種後28天調查植株表現。

試驗項目

(一)細胞膜熱穩定性測定

參考Yeh和Hsu (2004)之方法，分別取種植於25°C溫室內、播種後14天植株之子葉及28天植株之第四片完全展開葉，子葉與葉片先以去離子水擦拭過，再以直徑6 mm之打孔器均勻取樣打下6片葉圓片，放入含有1 ml去離子水之試管，分別置於25、30、35、40、45、50、55、60、65和70°C循環水浴槽中30 min後加入14 ml去離子水，於25°C下震盪24小時後以電導度計SC-120 (SUNTEX Co. Taiwan)測量液體第一次EC值(T₁)，之後各試管再置於100°C循環水浴槽中2小時，使細胞完全破壞，試管取出後待溫度降到25°C時，再以電導度計測量液體第二次EC值(T₂)，其中以25°C處理為對照組，其細胞完全破壞前後所測量之電導度分別為C₁及C₂。計算各溫度下熱相對傷害值(relative injury)為： $RI = \{1 - [1 - (T_1/T_2)] / [1 - (C_1/C_2)]\} \times 100$ 。

(二)植株乾重、光合作用、蒸散作用及葉綠素螢光(Fv/Fm)測定

植株乾重部分，分別取於25及35°C栽培28天之植株，以65°C烘箱乾燥5天後測量其乾重；光合作用及蒸散作用則以可攜式光合作用測定儀Li-6400 XT(Li-Cor Inc., Lincoln, NE., USA)量測植株第四片完全展開葉，量測時分別在25及35°C溫室內進行測量，葉室以紅藍LED燈提供500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPFD之光源，葉室內CO₂濃度則維持在380 μmol ，流速設定為500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、上下葉片氣孔數比為0.2。葉綠素螢光以光合作用儀Licor 6400 XT 配合葉綠素螢光葉室Licor 6400-40 LCF測量植株第四片完全展開葉，葉片測量前以黑暗馴化30分鐘，每葉量測三點計算平均值。

(三)葉綠素含量測定

參考Wintermans和Mots (1965)之方法，植株第四片完全展開葉片以50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)研磨成均質後加入100%乙醇均勻混合，於4°C、黑暗環境下靜置30分

鐘，之後經 $1000 \times g$ 離心15分鐘，取其上清液，利用分光光度計(Model U-3100, Hitachi Inc., Japan)測波長665及649 nm之吸光值，再計算總葉綠素含量。

(四)過氧化氫含量測定

過氧化氫(H_2O_2)含量之測定參考Jana和Choudhuri (1981)⁽¹¹⁾方法，植株第四片完全展開葉片以50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)研磨均質後，在 $4^\circ C$ 下以 $6000 \times g$ 離心25分鐘，取其上清液加入含0.1% titanium chloride之20% H_2SO_4 混合均勻，於室溫下以 $1000 \times g$ 離心15分鐘，取上清液以分光光度計測定410 nm之吸光值。

(五)丙二醛含量測定

丙二醛(Malondialdehyde (MDA))含量之測定採用Heath及Packer (1968)⁽⁷⁾之方法。植株第四片完全展開葉片以5% (w/v) trichloroacetic acid (TCA)研磨成均質後，於 $20^\circ C$ 下以 $10000 \times g$ 離心5分鐘，取上清液加入含有20% (w/v) TCA之5% (w/v) thiobarbituric acid (TBA)試管中混合均勻。將試管置於 $95^\circ C$ 熱水浴30分鐘後，立即移入冰浴以中止反應，之後於室溫下以 $5000 \times g$ 離心10分鐘，取上清液以分光光度計測定532 nm及600 nm波長之吸光值。

統計分析

試驗每一處理共四重複，每一重複取15株調查，試驗設計採用完全逢機試驗設計(Completely random design, CRD)，數據則以Fisher's Least Significant Difference test ($P < 0.05$)分析各處理間有無顯著差異，並以Sigmaplot 10.0 (SPSS Inc., USA)作相關性分析。

結 果

品種及取樣組織對葉用蘿蔔CMT之影響

本試驗中不同品種(系)葉用蘿蔔葉片組織之熱傷害值與水浴處理溫度之間呈現S曲線關係，曲線反折點(midpoint)落在 $41\sim 50^\circ C$ (圖一)。若以單一 $50^\circ C$ 水浴溫度處理30分鐘，不同品種(系)之熱相對傷害值有顯著的差異性，其值範圍從47.7~77.6%，依熱傷害值可分為三大群，其中‘Taichung No.1’及‘MeiLui’之熱傷害值較高為75.3%及71.7%；07-RD-CNWT-05及08-RD-TWKY-14較低，分別為47.7%和55.5%；07-RD-JKW-03及07-RD-CN-09則介於上述兩群之間，其值分別為68.3%及64.2% (表一)。此結果顯示了利用CMT可區別葉用蘿蔔品種(系)間之耐熱差異性，而 $50^\circ C$ 單一溫度熱處理可用於大量品種(系)的篩選。

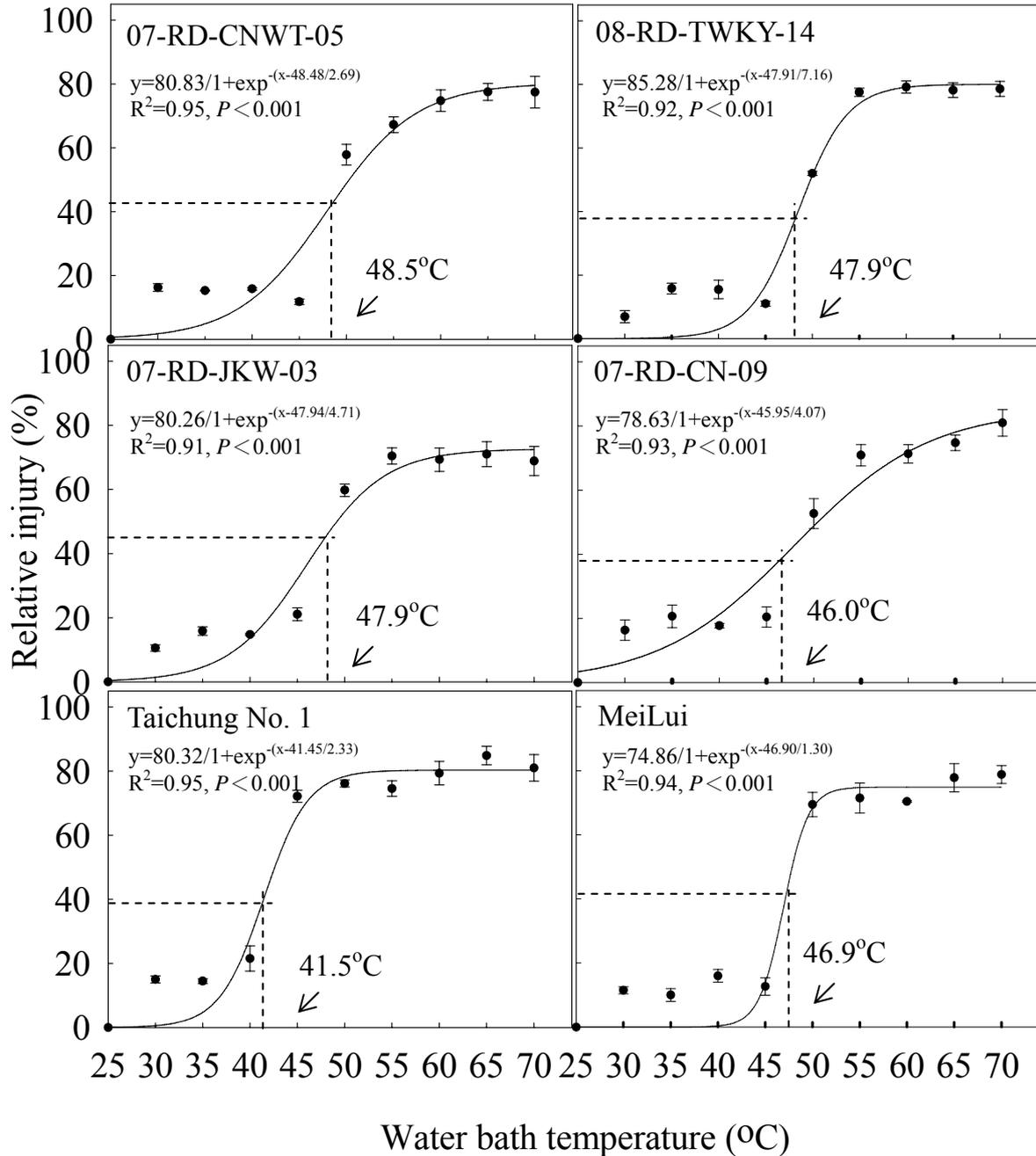
利用子葉為檢測細胞膜熱穩定性之材料，其熱相對傷害值和水浴處理溫度關係亦呈一S曲線，曲線反折點約落在 $46\sim 49^\circ C$ ，水浴溫度 $25\sim 40^\circ C$ 處理之熱相對傷害值之間無顯著差異，而相對傷害值在 $45\sim 50^\circ C$ 水浴處理下顯著增加， $55^\circ C$ 及更高溫度處理則都呈現高相對傷害值，其值約為80% (圖二)，此相關性曲線趨勢和葉片結果相似。就葉片及子葉在不同水浴溫度下之熱傷害值做相關性分析，呈現一高度正相關($P < 0.05$)， R^2 值高達0.98 (圖三)。

表一、21 品種(系)之葉用蘿蔔其在 50°C、30 分鐘水浴下之葉片電解質滲漏熱傷害值

Table 1. The relative injury (RI) value of 21 leafy radish cultivars/lines determined by leaf electrolyte leakage test under 50°C water bath for 30 min

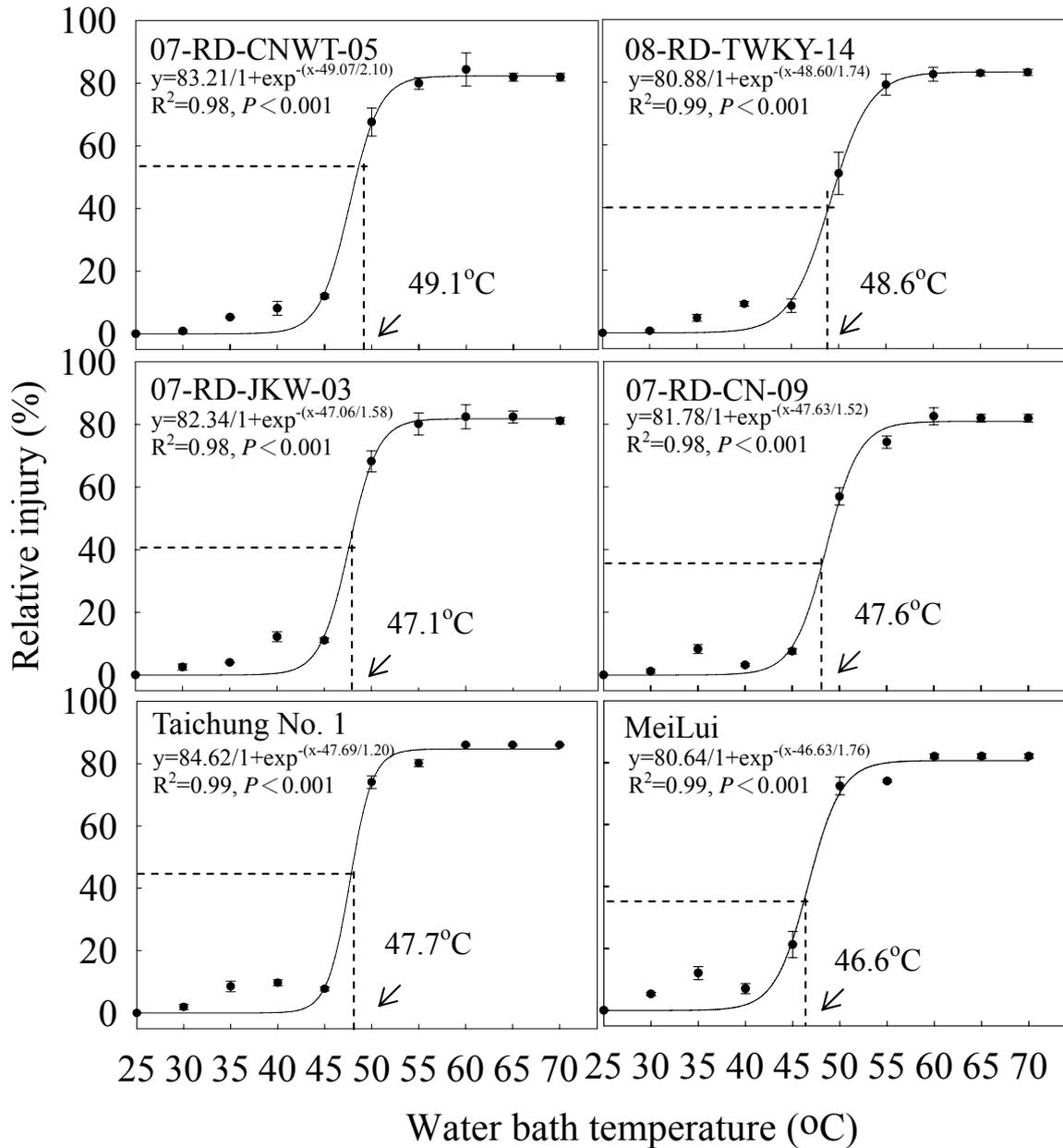
Cultivar/Line	Origin	Leaf shape ¹	Trichrome ²	RI (%)
07-RD-TWKY-01	Taiwan	B	c	50.2 fg ³
07-RD-JTH-02	Japan	P	c	67.3 abc
07-RD-JKW-03	Japan	B	a	68.3 abc
07-RD-CNDBS-04	China	B	a	52.4 fg
07-RD-CNWT-05	China	B	a	47.7 g
07-RD-CNDY-06	China	B	a	77.6 a
07-RD-CNNE-07	China	B	b	75.8 a
07-RD-CNNZ-08	China	P	d	73.2 ab
07-RD-CN-09	China	B	a	64.2 bcde
07-RD-CNRED-10	China	B	d	59.4 cdef
06-RD-TWKY-11	Taiwan	B	a	70.2 abc
06-RD-TWKY-11-F	Taiwan	B	a	51.7 fg
06-RD-MLCHL-12	Malaysia	B	d	55.8 defg
06-RD-MLCHL-13	Malaysia	B	d	69.0 abc
08-RD-TWKY-14	Taiwan	B	a	55.5 efg
08-RD-TWKY-15	Taiwan	P	d	66.6 abcd
Taichung No.1	Taiwan	B	a	75.3 a
LuiGin	Japan	B	b	75.3 a
MeiLui	Japan	B	a	71.7 ab
TsaiTsai	Japan	P	a	67.8 abc
YehBo	Japan	B	a	70.7 ab

¹B and P represent single broad and pinnate leaf, respectively.²a, b, c and d represent none, few, midium and plenty in leaf trichrome number respectively.³Mean separation within columns by Fisher's LSD test at $P \leq 0.05$.



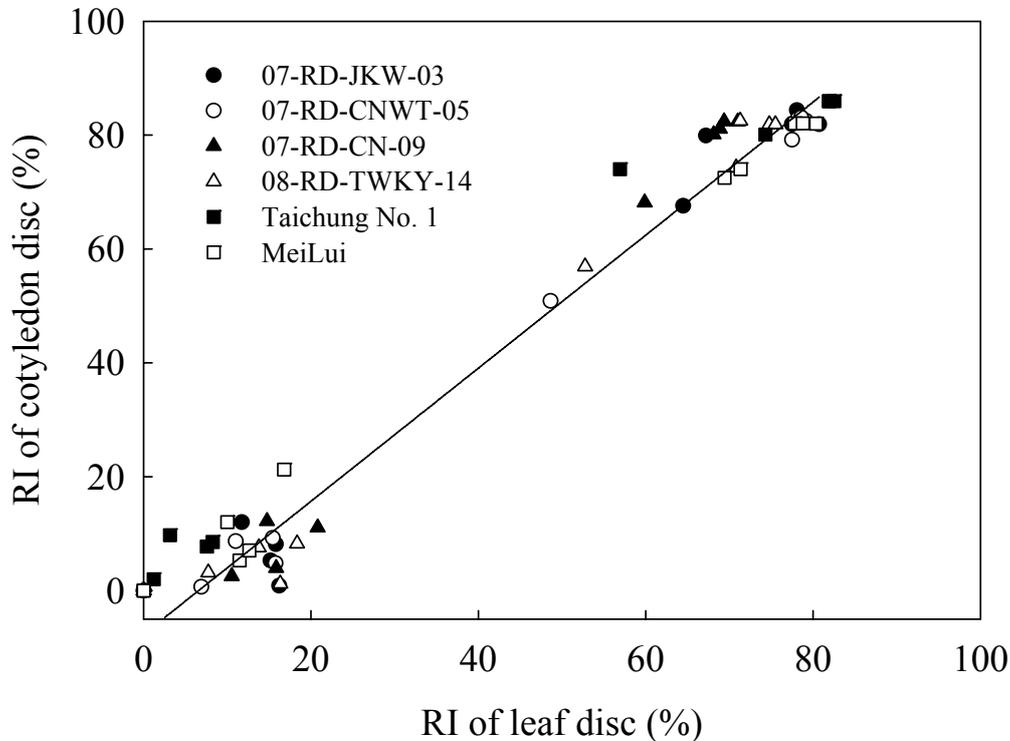
圖一、水浴溫度對於六品種(系)之葉用蘿蔔葉片熱相對傷害值之影響。

Fig. 1. Effects of water bath temperature on heat relative injury (RI) value of leaf discs of six leafy radish cultivars/lines.



圖二、水浴溫度對於六品種之葉用蘿蔔子葉熱相對傷害值之影響。

Fig. 2. Effects of water bath temperature on heat relative injury (RI) value of cotyledon discs of six leafy radish cultivars/lines.



圖三、葉用蘿蔔子葉和葉片於不同水浴溫度下熱相對傷害值之關係。

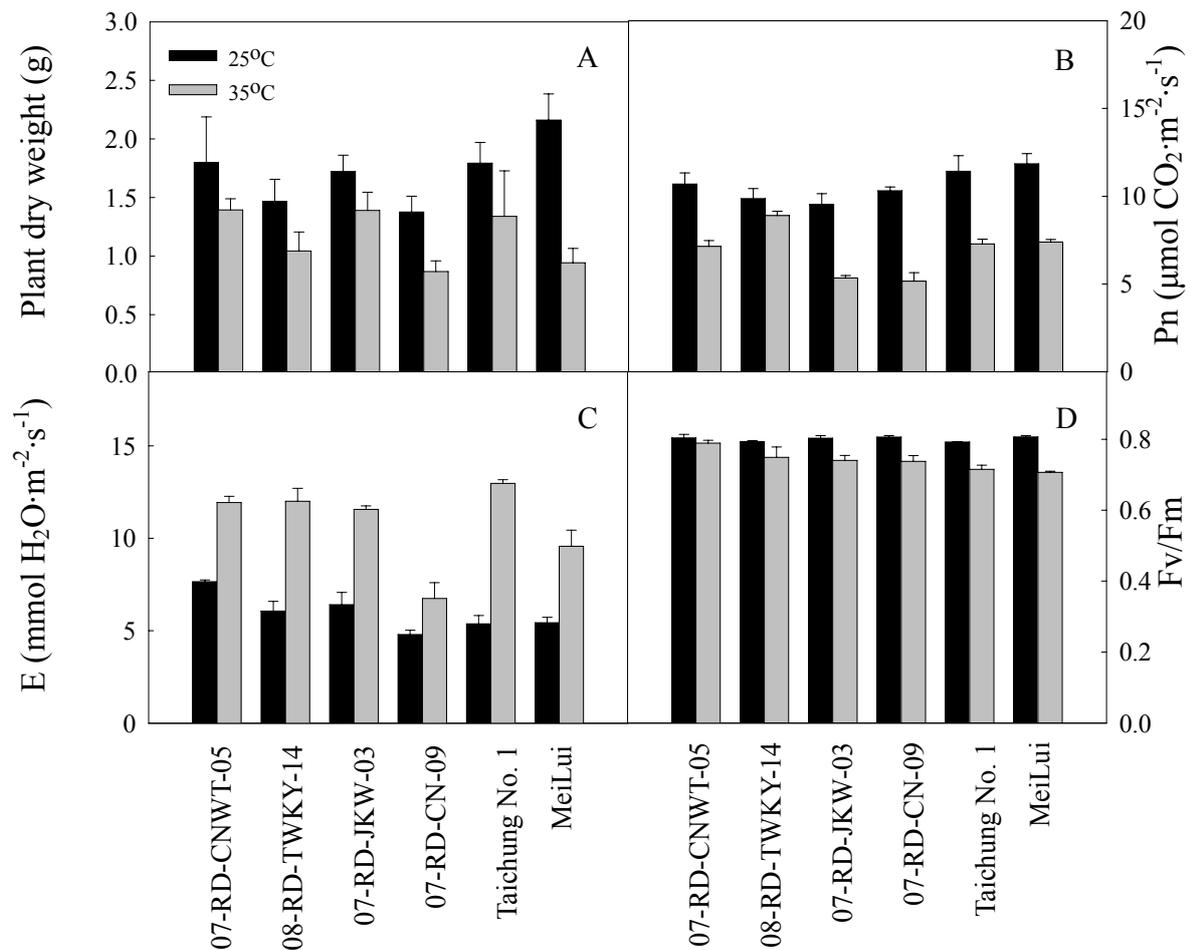
Fig. 3. The relationship between heat relative injury (RI) values of cotyledon and leaf discs of six leafy radish cultivars/lines at different water bath temperatures.

高溫逆境對葉用蘿蔔生長及生理表現之影響

依據植株葉片組織在50°C水浴處理下之CMT表現，將所試驗之21品種(系)分為高、中及低相對傷害值三群，每群各選取兩品種(系)作為進一步高溫逆境表現之觀察。高溫對於葉用蘿蔔六品種(系)植株生長及生理表現有顯著之影響，在植株乾重部份，35°C高溫造成植株乾重明顯降低，其中又以‘MeiLuLi’乾重降幅較大(圖四A)；在光合作用方面，植株淨光合作用於25°C環境下為8.6~12.7 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，而在35°C處理下則降低至5.2~9.0 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，六品種(系)間以08-RD-TWKY-14降幅較小(圖四B)。相反的，35°C高溫造成蒸散作用率升高，其值從25°C環境下之4.3~8.6 $\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 提高至6.9~12.6 $\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (圖四C)。Fv/Fm值則因高溫影響降低，其中又以‘Taichung No. 1’及‘MeiLui’為顯著(圖四D)。

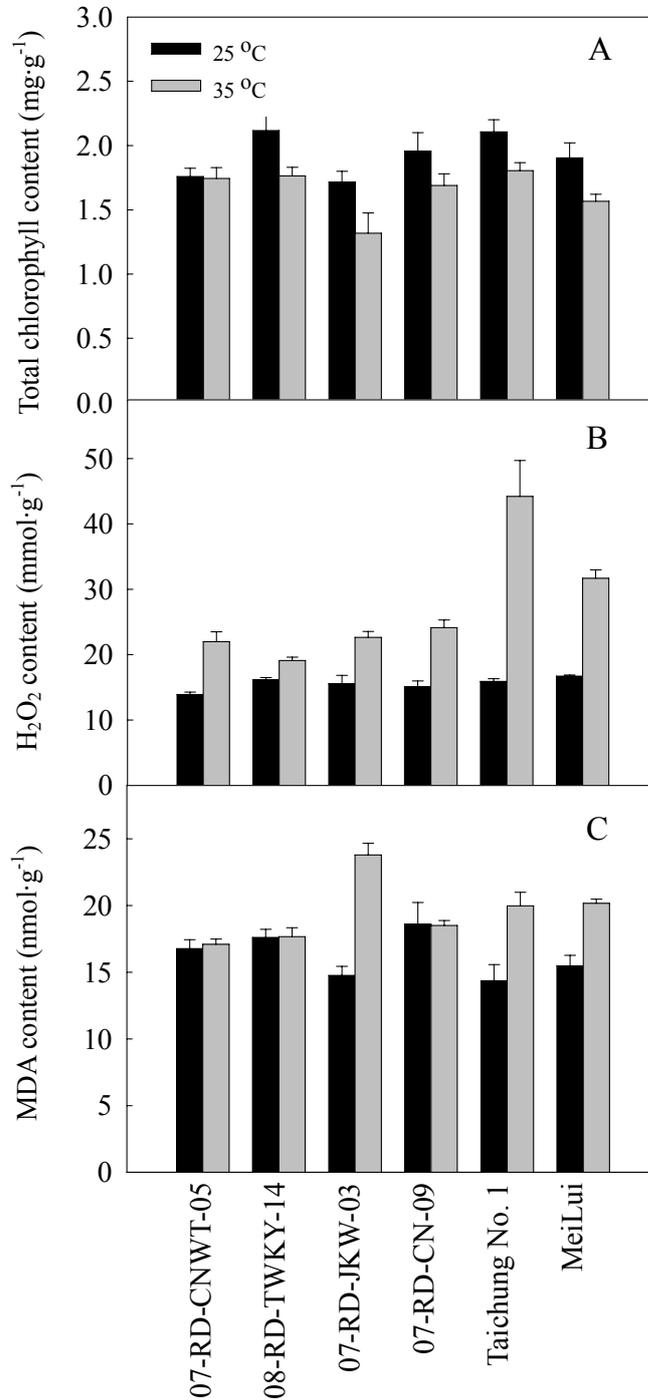
分析之六品種(系)，除07-RD-CNWT-05其葉綠素含量在25°C或35°C下並無顯著差異外，其餘五品種(系)於35°C環境下葉綠素含量皆顯著減低(圖五A)；35°C高溫也導致植體內 H_2O_2 含量明顯增加，而其中又以‘Taichung No. 1’增加量最為顯著(圖五B)；在葉片丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量方面，35°C高溫對於六品種(系)之葉用蘿蔔其品種(系)表現具差異性，在07-RD-JKW-03、‘Taichung No. 1’及‘MeiLui’三品種(系)高溫明顯提高植株葉片MDA含量，但在其他三品種則無顯著差異(圖五C)。

在外觀型態方面，35°C 高溫導致植株株高減低、葉片數減少，但六品種(系)間，07-RD-CNWT-05 及 08-RD-TWKY-14 雖株高減低較多，但葉片數卻未顯著減少，07-RD-CNWT-05 葉片數反而增加(圖六)。



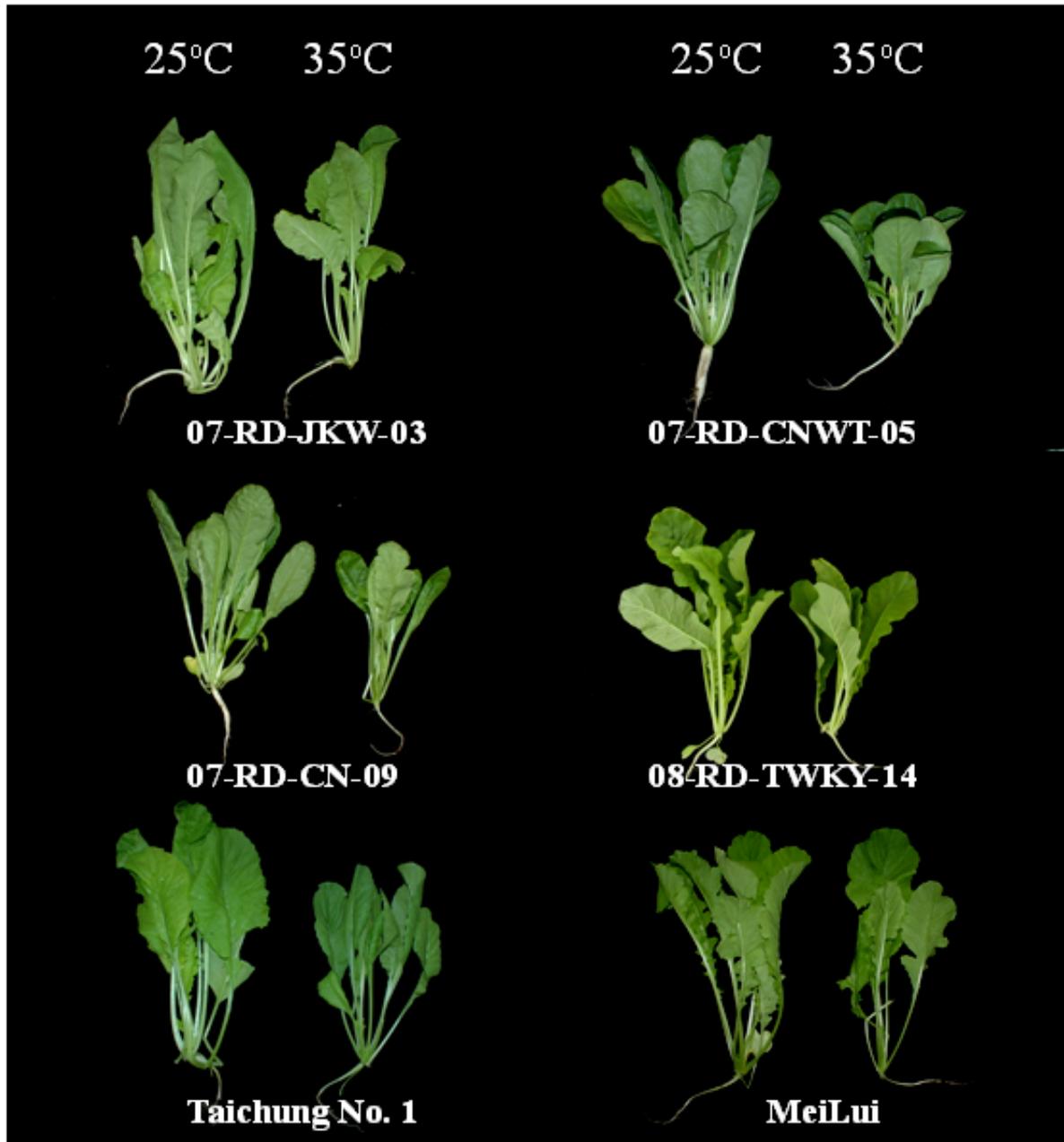
圖四、六品種(系)葉用蘿蔔栽培於 25°C 及 35°C 下其植株乾重(A)、淨光合作用，Pn (B)、蒸散作用，E (C)及葉綠素螢光，Fv/Fm (D)之變化。

Fig. 4. Plant dry weight (A), net photosynthetic rate, Pn (B), transpiration rate, E (C) and leaf chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) (D) in leaves of six leafy radish cultivars/lines under 25°C and 35°C.



圖五、六品種(系)之葉用蘿蔔栽培於 25°C 及 35°C 下其葉綠素(A)、過氧化氫(B)及丙二醛(C)含量之變化。

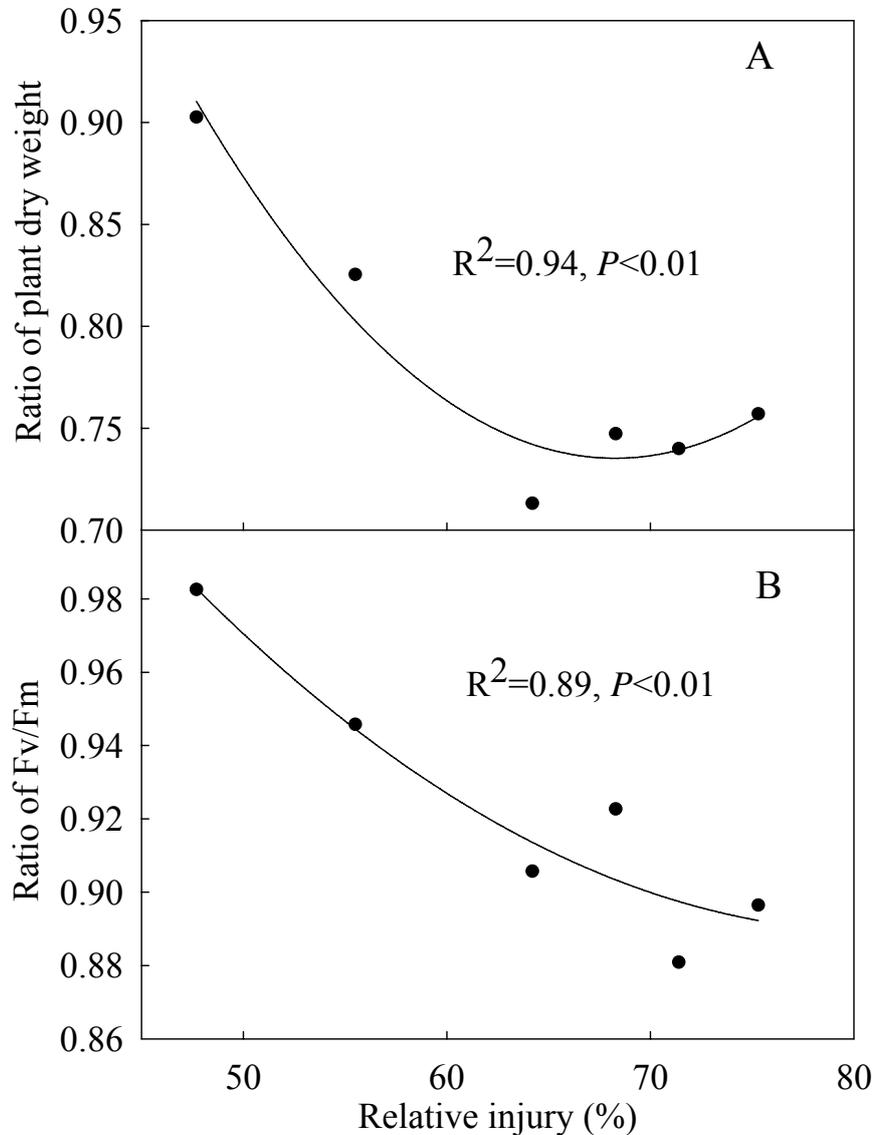
Fig. 5. Total chlorophyll (A), H₂O₂ (B) and malondialdehyde, MDA (C) content in leaves of six leafy radish cultivars/lines under 25°C and 35°C.



圖六、六品種(系)之葉用蘿蔔栽培於 25°C 及 35°C 下之植株外觀表現。

Fig. 6. Plant appearance of six leafy radish cultivars/lines grown under 25°C and 35°C.

就六品種(系)葉用蘿蔔在 50°C 水浴 30 分鐘處理下之熱相對傷害值與植株在 35°C 及 25°C 下其植株乾重和 Fv/Fm 表現值比率做相關性分析，兩者都呈現高度的二次負相關 ($P < 0.01$)， R^2 值分別為 0.96 及 0.92 (圖七)。



圖七、6 品種(系)之葉用蘿蔔於 50°C 下之相對傷害值與其在 35°C 下和 25°C 處理之植株乾重(A)及葉片葉綠素螢光值，Fv/Fm (B)比例之關係。

Fig. 7. The relationship between the relative injury at 50°C and the ratio of plant dry weight (A) and leaf Fv/Fm (B) value in six leafy radish cultivars/lines grown at 35°C to those at 25°C.

討 論

電解質滲漏檢測為一篩選作物耐熱性最為方便的方法⁽¹⁵⁾。本研究中，葉用蘿蔔葉片電解質滲漏和水浴處理溫度的關係呈一S曲線(圖一)，此反應曲線與先前許多報告包含農藝作物^(5,10)，果樹⁽²⁾，花卉⁽²⁴⁾和蔬菜⁽⁸⁾都相似。此外，本試驗結果也顯示子葉之熱相對傷害值和水浴溫度也呈一S曲線，且和葉片反應曲線相似(圖二)。將兩不同取樣部位之試驗結果作相關性分

析，可得到顯著的正相關(圖三)，此外，觀察植株因試驗需求於14天時摘下子葉對其日後植株生長表現並無顯著影響。因此，必要時我們亦可利用子葉組織為材料替代葉片組織進行熱傷害值的分析，篩選大量材料之耐熱性，進而可縮短田間栽培的時間、加速選種流程，並減低環境因子的影響。

作物耐熱性因基因型而不同，但如果要像試驗結果圖一或二求出一熱傷害反應曲線仍嫌費事，因此，若能利用單一溫度處理而區別出基因型的不同更能符合實際上的應用。從本試驗結果顯示，50°C、30分鐘水浴處理可用於偵測葉用蘿蔔基因型對於高溫的耐受性的差異(表一)；50°C同時也利用在大豆⁽¹⁷⁾和甜椒⁽²⁾的耐熱篩選上，而和蘿蔔同科之甘藍則是利用50°C、15分鐘水浴處理篩選耐熱品種⁽⁴⁾，此結果也和本試驗結果相似。

高溫造成葉用蘿蔔生長表現減弱，且呈現品種(系)之間的差異(圖四、五)。光合作用為一對高溫極為敏感的生理反應，且通常在外觀傷害顯示前就能有顯著變化⁽³⁾。本試驗中，35°C高溫造成淨光合作用效率減低，可能是因為葉綠體因高溫導致功能及型態上的破壞，或是因氣孔機能的限制所致⁽²⁵⁾。高溫更可能造成光合作用系統二(photosystem II, PSII)之光化學活力和電子傳遞需求之間的不平衡⁽¹⁹⁾，因此造成過激化(overexcitation)和造成PSII反應中心持續性的光抑制(photoinhibition)傷害，而導致試驗結果中Fv/Fm降低。

高溫亦造成過氧化物的累積，進而導致葉綠體和粒線體脂質膜的過氧化⁽¹⁶⁾。本試驗中，35°C高溫在六試驗品種(系)中造成植體內過氧化氫含量增加(圖五B)，而MDA含量的增加(圖五C)也可能是因為植株胞器受過多氧化物累積之氧化傷害所致，同時試驗結果所顯示之葉綠素含量的減少(圖五A)，也可能是因為葉綠體膜的過氧化傷害所造成，更可能是光合作用率降低的重要因子之一⁽¹³⁾。

就植株外觀形態而言，葉片較狹長、植株較矮小、根系較旺盛、地上部與地下部比值較小且分蘖性較強、葉片數較多之植株具有較佳的耐熱性。豇豆(*Vigna unguiculata* L. Walp)耐熱品系在高溫環境下植株較矮小、節間數較少且節間較短⁽¹⁰⁾，這和07-RD-CNWT-05及08-RD-TWKY-14兩品系反應相似，且此兩品系在高溫下與其在25°C下之植株生育反應差異較小，較具耐熱性。但本試驗中對於品種(系)外觀特徵調查之葉型及茸毛數和其在高溫下CMT或植株反應並無顯著相關性。

依據試驗中相關性分析結果，葉片熱傷害值和因為35°C高溫所導致植株乾重及Fv/Fm減低率呈現二次正相關(圖六)，而在所試驗的六品種(系)中07-RD-CNWT-05和08-RD-TWKY-14其具較低的熱傷害值和較少的乾重及Fv/Fm減低率，‘Taichung No. 1’和‘MeiLui’則有較高的熱傷害值和較大的減低率，在其他表現如淨光合作用能力及葉綠素含量之減低，亦或H₂O₂和MDA含量的增加也有07-RD-CNWT-05及08-RD-TWKY-14差異較小，‘Taichung No. 1’及‘MeiLui’改變量較大的類似表現，而此結果說明了若一品種(系)對於高溫較為敏感則有較高的熱傷害值，而其他作物如長春藤⁽²⁴⁾，小麥^(6,18)和豇豆⁽¹⁰⁾其植株表現和細胞膜熱穩定性也都具有一致性的關係存在。利用CMT較田間篩選簡單、快速且便宜，而育種者可利用此技術在植株生育早期就可進行篩選，以加快育種腳步。

參考文獻

1. Ahrfns, M. J. and D. L. Ingram. 1988. Heat tolerance of citrus leaves. HortSci. 23:747-748.
2. Anderson, J., G. McCollum and W. Roberts. 1990. High temperature acclimation in pepper leaves. HortSci. 25:1272-1274.
3. Camejo, D., P. Rodriguez, M. A. Morales, J. M. D. Amico, A. Torrecillas and J. J. Alarcón. 2005. High temperature effect on photosynthesis activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. J. Plant Physiol. 162:281-289.
4. Chauhan, Y. S. and T. Senboku. 1996. Thermostabilities of cell-membrane and photosynthesis in cabbage cultivars differing in heat tolerance. J. Plant Physiol. 149: 729-734.
5. Chen, H. H., Z. Y. Shen and P. H. Li. 1982. Adaptability of crop plants to high temperature stress. Crop Sci. 22:719-725.
6. Fokar, M., H. T. Nguyen and A. Blum. 1998. Heat tolerance in spring wheat. I. Estimating cellular thermotolerance and its heritability. Euphytica 104:1-8.
7. Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125:189-198.
8. Inaba, M. and P. G. Crandall. 1988. Electrolyte leakage as an indicator of high-temperature injury to harvested mature green tomatoes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113:96-99.
9. Ingram, D. L. and D. W. Buchanan. 1984. Lethal high temperatures for roots of three citrus root stocks. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109:189-193.
10. 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.
11. Jana, S. and M. A. Choudhuri. 1981. Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperm during aging. Aquat. Bot. 12:345-354.
12. Kaneko, Y., C. K. Takagi, S. W. Bang and Y. Matsuzawa. 2007. Radish. In: Kole C. (ed.) Genome Mapping and Molecular Breeding in Plant, vol. 5. Berlin. p.141-160.
13. Krause, G. H. and E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photo-synthesis: The basics. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 42:313-349.
14. Kuo, C. G. 1999. Vegetable improvement for heat-tolerance under tropical conditions. JIRCAS Working Report. 14:3.
15. Lester, G. E. 1985. Leaf cell membrane thermostabilities of *Cucumis melo*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110:506-509.
16. Liu, X. and B. Huang. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. Crop Sci. 40:503-510.

17. Martineau, J. R., J. E. Specht, J. H. Williams and C. Y. Sullivan. 1979. Temperature tolerance in soybeans. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. *Crop. Sci.* 19:75-78.
18. Saadalla, M. M., J. S. Quick and J. F. Shanahan. 1990. Heat tolerance in winter wheat: II. Membrane thermostability and field performance. *Crop Sci.* 30:1248-1251.
19. Souza, R. P., E. C. Machado, J. A. B. Silva, A. M. Lagôa and J. A. G. Silveira. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic change in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Env. Exp. Bot.* 51:45-56.
20. Takeda, H., T. U. Cenpukdee, Y. S. Chauhan, S. Ancha, M. M. Hossain, M. H. Rashad, L. Baiqing, H. S. Talwer, T. Senboku, S. Yashima, S. Yanagihara and M. Shono. 1999. Studies in heat tolerance of *Brassica* vegetables and legumes at the international collaboration research section from 1992 to 1996. JIRCAS Working Report. 14:17-29.
21. Wintermans, J. F. and A. De Mots. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochem. Biophys. Acta* 109: 448-453.
22. Wu, M. T. and S. J. Wallner. 1993. Heat stress response in cultured plant cells: Development and comparison of viability tests. *Plant Physiol.* 72:817-820.
23. Yeh, D. M. and H. F. Lin. 2003. Thermostability of cell membrane as a measure of heat tolerance and relationship of flowering delay in chrysanthemum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128:656-660.
24. Yeh, D. M. and P. Y. Hsu. 2004. Heat tolerance in English ivy as measured by an electrolyte leakage technique. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79:298-302.
25. Xu, Q., A. Q. Paulsen, J. A. Guikema and G. M. Paulsen. 1995. Functional and ultrastructural injury to photosynthesis in wheat by high temperature during maturation. *Env. Exp. Bot.* 35:43-54.

Selection High Heat Tolerance Leafy Radish Cultivars/Lines by Cell Membrane Thermostability¹

Wei-Ling Chen, Fu-Yao Kuo and Yung-Wu Chen²

ABSTRACT

Breeding for heat-tolerance of leafy radish (*Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers.) is of commercial interests, and the identification of potential genotypes is the first step to onset the program. An electrolyte leakage technique was applied to measure cell membrane thermostability (CMT) of leaf and cotyledon discs of leafy radish cultivars/lines. A sigmoidal curve relationship existed between the relative injury (RI) value in leaf and cotyledon tissue discs of each cultivar and water bath temperatures. The RI values near the midpoint of the sigmoid response curve fall within 46~50°C. A single treated temperature 50°C gave RI value near the inflection point and showed good sensitivity in detecting the genotypic difference in heat tolerance. Six cultivars/lines with different RI value were chosen for further observation on plant growth performance. Plant dry weight, net photosynthesis, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence value (Fv/Fm) were decreased while transpiration rate, H₂O₂ and malondialdehyde content were increased at 35°C in comparison to 25°C. Plant dry weight and Fv/Fm reduction ratio at 35°C versus their associated RI value at 50°C showed a quadratic relationship.

Key words: *Raphanus sativus* L., high temperature, electrolyte leakage, heat relative injury.

¹Contribution No. 0709 from Taichung DARES, COA.

²Assistant Horticulturist, Associate Horticulturist and Director of Taichung DARES, COA.