

利用葉綠素螢光與有效授粉估測甜椒之耐熱性¹

王昭月^{2,4} 曾夢蛟³

摘 要

王昭月、曾夢蛟。2010。利用葉綠素螢光與有效授粉估測甜椒之耐熱性。台灣農業研究 59:237–248。

葉綠素螢光為光合作用中極敏銳的初級反應，為非破壞性的光合活性評估工具。本研究以 12 個甜椒品系為材料，包含 6 個耐熱的短筒鐘型品系，3 個匈牙利甜椒品系，對照組為感熱型的短筒鐘型甜椒 2 品系與 1 個商業品種，分別探討於適溫 (27/22°C) 與高溫逆境 (33/22°C) 下，光合作用-光化學反應 PS II 活性表現。以適溫下生長 8 至 9 週植株，進行葉綠素螢光分析結果，依代表性之 Fv/Fm (PS II 光化學最大螢光值) 參數顯示，耐熱品系‘C02080’的 PS II 光合效能顯著最高。另高溫處理植株經葉綠素螢光分析結果，據代表性的 Fv/Fm 參數顯示，耐熱品系‘C02080’與‘C00611A’之 PS II 效能顯著較高。又利用螢光顯微鏡觀察適溫與高溫下甜椒花朵的授粉能力差異，發現高溫明顯抑制花粉管伸長，但耐熱品系‘C02080’與‘C00611A’受影響較小；而 33°C 高溫下發育的柱頭之受粉能力仍維持正常。鑑於高溫下葉綠素螢光分析與有效授粉檢測呈現一致性結果，故兼具準確與測量簡便的葉綠素螢光分析，應可利用於輔助甜椒田間耐熱性之評估。

關鍵詞：葉綠素螢光、花粉管生長、耐熱、甜椒。

前 言

光合作用是植物的物質轉換與能量代謝關鍵，對環境逆境具有敏銳且直接之反應。高溫逆境明顯影響光合作用活性，其中又以光反應系統 PS II 對高溫逆境最為敏感 (Wen *et al.* 2005)。據 Havaux & Gruszecki (1993) 研究，馬鈴薯葉片受高溫 20 分鐘即可偵測得 PS II 活性下降之變化。近代光合研究學者相繼利用葉綠

素螢光分析，作為光合活性指標，藉由監測葉片葉綠素螢光表現，評估植物對逆境之忍受性，並認同螢光偵測方式是一種兼具快速及非破壞性的光合活性檢測工具 (Chen *et al.* 1995; D’Ambrosio *et al.* 2006; Juneau *et al.* 2005)。Yamada *et al.* (1996) 以葉綠素螢光進行 23 種熱帶果樹的耐熱性研究，發現利用 45°C 20 分鐘高溫處理，依據其最小螢光值 (Fo)、最大螢光值 (Fm) 與 PS II 最大光效能 (Fv/Fm)，可用

-
1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2428 號。接受日期：99 年 11 月 29 日。
 2. 本所生物技術組助理研究員。台灣 台中市。
 3. 國立中興大學園藝學系教授。台灣 台中市。
 4. 通訊作者，電子郵件：jywang@tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

於估測耐熱性表現。Sinsawat *et al.* (2004) 發現玉米在 45°C 以上的高溫逆境，經葉片螢光分析顯示 PS II 最大光效能 (Fv/Fm) 與 PS II 有效光量子產量 (Φ PS II) 明顯下降；但非光化學淬熄 (non-photochemical quenching, NPQ) 則明顯上升。Costa *et al.* (2003) 以葉綠素螢光分析菜豆高溫逆境反應，顯示高溫下不耐熱品系之最小螢光值與非光化學淬熄係數 (qN) 有明顯上升趨勢，進一步綜合多種葉綠素螢光分析參數，可作為耐熱品系評估之利用。Weng & Lai (2005) 也利用葉綠素螢光分析的 Fo 與 Fv/Fm 參數值，評估熱帶地區 17 種植物 (包含 C3、C4 與 CAM 等類型物種) 之耐熱性。

由於全球氣候暖化，預估至 2100 年部份區域氣溫上升可達 1.5°C 以上 (Stainforth *et al.* 2005)，未來作物生產力將面臨極端氣候環境的威脅，因此研究植物耐熱性生理以及提升作物耐熱性，已成為作物育種亟需加強的主題之一。重要茄科蔬菜-甜椒為暖季型作物 (warm season crops)，種子發芽適溫為 25 至 30°C，低於 10°C 或高於 35°C 環境下，種子無法發芽 (Bosland & Votava 2000)。甜椒栽培適溫為 21°C，日溫範圍適於 23 至 26°C，夜溫則以 18 至 21°C 為佳；若日溫超過 33°C 或夜溫高於 27°C，皆導致落花或不結果的高溫生理障礙，另低於 15°C 夜溫則發生花柱異常肥大與畸形果之低溫傷害 (Rylski & Spigelman 1982; Erickson & Markhart 2002)。Aloni *et al.* (1994) 報告甜椒花器對高溫逆境敏感，低光照合併高溫 (34°C) 環境導致嚴重落花，並且“短筒鐘型”較“匈牙利型”甜椒更為敏感。Reddy & Kakani (2007) 利用分析花粉在高溫 (30–40°C) 活力表現之差異，作為不同地區番椒種原耐熱性之評估。此外，使用螢光顯微鏡觀察植物授粉後花粉管的生長，亦可作為有效授粉之參考 (Kaufmane & Rumpuneh 2002; Mesejo *et al.* 2007; Wang & Li 2006)。

本研究應用兼具敏感性、快速與非破壞性的葉綠素螢光分析方式，探討高溫對甜椒光合活性之影響，另配合螢光顯微鏡進行高溫對甜椒有效授粉差異表現之偵測，期建立多方面之生理指標，提供未來甜椒耐熱性評估之利用。

材料與方法

植物材料與栽培處理

甜椒 (*Capsicum annuum* L.) 12 品系，其中 9 品系引種自亞洲蔬菜研究發展中心，經 93 年至 95 年度 6 個夏秋期作，選拔田間夏季耐熱性與結果表現較優良者，分別為‘C01184’ (黃色果)、‘C00947’ (橘色果)、‘C01336’ (黃色果)、‘C05464A’ (青椒)、‘RB 102’ (紅色果)、‘KC 104’ (褐色果) 等 6 個“短筒鐘型”品系 (夏作單果重 54–70 g；單株果數 3–7 果)；以及 3 個“匈牙利”型品系 (夏作單果重 30–35 g；單株果數 10–13 果)，為‘C02080’ (橘紅色果)、‘C00611A’ (橘紅色果)、‘C03338B’ (橘紅色果)；另以夏作結果較差者 (單果重 50 g；單株果數 2 果) 的 2 個“短筒鐘型”品系‘PS 38’ (黃色果)、‘TC06979’ (橘紅色果)，以及商業品種‘麗妃星’ (‘Beauty Star’ 黃色果) 為對照。上列 12 品系播種於 72 格穴盤，3 週後定植於 9 吋鉢置於控溫之精密玻璃溫室 [日溫/夜溫：(27/22 ± 2)°C，自然光照 12–13 小時]，栽培介質為 Bio-Mix：珍珠石：蛭石 = 1：1：1。播種後 42 天 (42 days after sowing, 42 DAS) 植株進入花芽分化期；選取‘C01184’、‘C02080’、‘C00611A’、‘C00947’、‘TC06979’與商業對照品種‘麗妃星’等 6 品系各 4 株，移入高溫生長箱進行高溫處理，處理條件為日溫/夜溫 (33/22 ± 2)°C，光週期 12 小時，照度 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ，相對溼度 (70 ± 10)%，高溫處理期間為 42 至 62 DAS (花芽分化–盛花期)，並以適溫溫室栽培的 12 品系為對照。

葉綠素螢光反應分析

植物由營養生長進入生殖生長階段，為葉綠素螢光分析之適當生長期 (Karim *et al.* 2003; Georgieva & Lichtenthaler 2006)，故本研究分別於 55 DAS (花芽分化-始花期) 與 62 DAS (盛花期)，進行葉綠素螢光反應分析；另外又於 65 DAS (盛花與幼果發育期，即高溫處理結束後移回適溫 2 天) 與 68 DAS (盛花與幼果發育期，即高溫處理結束移回適溫 6 天)，分別進行第 3、第 4 次之葉綠素螢光反應測定。

本試驗選開花節位 (第 7 片葉) 為螢光分析葉，每一葉片選取 7 個測量點，其中一點接受 20 分鐘之暗馴化 (dark acclimation)，擷取螢光參數 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 、 $\Phi PSII$ 、 qN 、 F_m' ，參考前人研究 (van Kooten & Snel 1990; Xu & Zhou 2006)，各參數分別為 (一) 最小螢光值 F_o (minimal fluorescence) 為經暗馴化後初開啟之最小螢光值。(二) 最大螢光值 F_m (maximal fluorescence) 為經暗馴化後初開啟之最大螢光值。(三) PSII 最大光效能 F_v/F_m (maximal quantum efficiency of PSII photochemistry) 為經暗馴化後 PSII 光化學反應最大螢光有效光量子之螢光值，計算公式為 $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ 。(四) PSII 有效光量子產量 $\Phi PSII$ 或 yield，計算公式為： $\Phi PSII = (F_m' - F_s)/F_m'$ (F_s 即適光下穩定螢光值)。(五) 非光化學淬熄係數 qN (non-photochemical quenching coefficient)，為熱耗散之螢光淬滅。(六) 適光下最大螢光值 F_m' (maximal fluorescence of light-adapted)。

葉綠素螢光反應數值以 SAS 統計分析軟體 (SAS Enterprise Guide 4.1) 進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，以及最小顯著差異性測驗 (least significant difference, LSD) 之統計分析。

螢光顯微鏡觀察適溫、高溫栽培之甜椒花朵授粉能力

葉綠素螢光分析的甜椒 12 品系之對照

組，生育期間 (42 至 120 DAS) 種植於適溫溫室 [日溫/夜溫： $(27/22 \pm 2)^\circ\text{C}$]，自然光照 12 至 13 小時；高溫處理組 6 品系：‘C01184’、‘C02080’、‘C00611A’、‘C00947’、‘TC06979’與‘麗妃星’，則於花芽分化至成熟期 (42 至 120 DAS) 間，移入高溫生長箱 [日溫/夜溫： $(33/22 \pm 2)^\circ\text{C}$]；光週期 12 小時，照度 $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ，相對溼度 $(70 \pm 10)\%$ 。以上進行花朵授粉能力檢測之植株，在 90 至 120 DAS 盛花期間，固定於下午 3 至 4 時針對翌日將開放之花朵，進行蕾期去雄；並於翌日早上 9 至 10 時進行人工授粉，授粉用花粉與雌蕊分別取自溫室與高溫生長箱當日開放之花朵。完成人工授粉後 24 小時，摘取雌蕊進行固定、軟化、染色等，樣品處理如下：(一) 固定：將授粉 24 小時之雌蕊，浸於 FAA 固定液 [37% Formalin : 100% Acetic acid : 80% Ethanol = 1 : 1 : 8 (V/V)]，經隔夜，再以 50% 酒精洗 3 次，每次間隔 10 分鐘。(二) 軟化：經固定好之材料，以 3 N NaOH 在 60°C 下軟化 15 分鐘，至組織呈橙黃色，再以去離子水沖洗 2 次。(三) 染色：經軟化並沖洗乾淨之材料，置於含 0.1% aniline blue (溶於 0.1N K_3PO_3) 溶液中進行染色，染色時間為 3 小時。(四) 螢光顯微鏡觀察：將染色完成的材料，放在載玻片上，加一滴 0.1% aniline blue，蓋上蓋玻片後施力壓平，即進行螢光顯微鏡 (Axioskop2-plus, Zeiss, DAPI filter) 觀察其花粉管發芽與生長情形，並照相。

結 果

適溫栽培甜椒 12 品系於 4 個生育期之葉綠素螢光反應

供試 12 個甜椒品系，分別於不同生育時期 (播種後 55、62、65、68 天)，進行葉綠素螢光反應，測量其 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 、 $\Phi PSII$ 、 qN 、 F_m' 等 6 個螢光參數值，經變方分析結果顯示除 F_m' 參數外，其餘 5 個葉綠素螢光參數在 12

個不同品系與 4 個生育時期間的主效應，均呈極顯著差異，其中 Fm、ΦPS II 與 qN 等 3 個螢光參數在不同品系與生育日數間之交感作用亦顯著或極顯著存在 (表 1)。以不具交感作用的 Fo 與 Fv/Fm 兩個參數，進行 12 個品系之間的光合活性比較，顯示 Fo 螢光參數值以‘C01184’品系明顯最高，相對‘C02080’、‘PS38’、‘C01336’、‘C05464A’、‘TC06979’、‘RB102’與

‘KC104’等 7 品系顯著較低，故後者 7 個品系之光合活性較佳。而 Fv/Fm 參數則以‘C02080’與‘RB102’明顯較高，其光合活性也顯著較高。綜合 Fo 與 Fv/Fm 兩個參數螢光參數表現，以‘C02080’與‘RB102’品系之光合活性最佳 (表 2)。

以不具交感作用的 Fo 葉綠素螢光參數分析，獲得光合活性較佳之‘C02080’、‘PS38’、‘C01336’、‘C05464A’、‘TC06979’、‘RB102’與

表 1. 栽培於 27/22°C 環境下 12 個甜椒品系的 4 個生育期葉片之 6 種葉綠素螢光參數之變方分析

Table 1. ANOVA of the 6 leaves' chlorophyll fluorescence parameters of 4 growth days of 12 sweet pepper genotype plants grown under 27/22°C (day/night)

Source of variation	df	Mean squares of different parameters ^z					
		Fo	Fv/Fm	Fm	ΦPS II	qN	Fm'
Replication	2	0.00079*	0.00024*	0.00106	0.00091	0.00026	0.05645
Growing time (T)	3	0.00367**	0.00769**	0.13956**	0.09360**	0.00336**	0.15123
Genotype (G)	11	0.00312**	0.00038**	0.05488**	0.00410**	0.00092**	0.04898
T × G	33	0.00025	0.00009	0.00538**	0.00309**	0.00067**	0.06503
Error	96	0.00023	0.00007	0.00277	0.00041	0.00016	0.06141

^z Fo: Minimal fluorescence; Fv/Fm: Maximal quantum efficiency of PS II photochemistry; Fm: Maximal fluorescence; ΦPS II: Effective quantum yield of PS II reaction centers; qN: non-photochemical quenching coefficient; Fm': Maximal fluorescence of light-adapted.

*, ** significant at 5% and 1% level, respectively.

表 2. 栽培於 27/22°C 環境下 12 個甜椒品系葉片之 Fo 與 Fv/Fm 葉綠素螢光參數之比較

Table 2. Comparison of the leaves' chlorophyll fluorescence of Fo and Fv/Fm among 12 genotypes of sweet pepper plants grown under 27/22°C (day/night)

Genotype	Fo	Fv/Fm
C01184	0.340 ± 0.007 a ^z	0.789 ± 0.004 cd
C02080	0.285 ± 0.005 d	0.804 ± 0.004 a
PS38	0.295 ± 0.010 cd	0.788 ± 0.007 de
C00611A	0.317 ± 0.005 b	0.792 ± 0.003 bcd
C00947	0.309 ± 0.005 b	0.787 ± 0.005 de
C03338B	0.307 ± 0.004 bc	0.790 ± 0.005 cd
C01336	0.294 ± 0.004 d	0.789 ± 0.004 cd
C05464A	0.288 ± 0.004 d	0.796 ± 0.004 bc
TC06979	0.287 ± 0.002 d	0.789 ± 0.004 cde
RB102	0.290 ± 0.005 d	0.800 ± 0.003 ab
KC104	0.296 ± 0.003 cd	0.789 ± 0.005 cd
Beauty Star	0.314 ± 0.003 b	0.782 ± 0.005 e

^z Values are Mean ± standard error (n = 12). Means followed by the same letters within each column are not significantly different at 5% level.

‘KC104’等 7 品系 (表 2), 進一步比較 4 個生育時期之差異, 其中‘C02080’、‘PS38’與‘TC06979’等 3 品系在 4 個生育期之葉綠素螢光無顯著差異, 而‘C01336’、‘C05464A’、‘RB102’與‘KC104’等 4 品系則以 62 DAS 明顯較低, 而 65 DAS 光合活性明顯較高 (表 3)。另以不具交感作用的 Fv/Fm 葉綠素螢光參數, 獲得光合活性較高之‘C02080’、‘C05464A’與‘RB102’三品系 (表 2), 比較 4 個生育時期的差異, 顯示 62 DAS 的光合活性顯著最低, 但 65 DAS 光合活性顯著較高 (表 4)。

適溫栽培甜椒 12 品系花朵授粉能力之比較

甜椒 12 品系自開花期至成熟期間 (90 至 120 DAS) 栽培於適溫溫室 [日溫/夜溫: (27/22 ± 2)°C, 自然光照 12 至 13 小時], 以螢光顯微

鏡觀察柱頭上花粉發芽與花粉管生長, 顯示短筒鐘型甜椒除‘C01336’品系外, 其餘‘C00947’、‘C01184’、‘PS38’、‘TC06979’、‘RB102’、‘C05464A’、‘KC104’與‘麗妃星’8 品系的花粉發芽與花粉管生長活力均良好; 而匈牙利型甜椒除‘C03338B’品系外, ‘C02080’與‘C00611A’品系的花粉發芽與花粉管生長活力亦優良 (圖 1)。

高溫處理甜椒 6 品系於 4 個生育期之葉綠素螢光反應

接受 33/22°C (42 至 62 DAS) 高溫處理的甜椒 6 品系, 分別於 4 個生育時期 (播種後 55、62、65、68 天) 進行葉綠素螢光反應, 測量 Fo、Fm、Fv/Fm、ΦPSII、qN、Fm’等 6 個螢光參數值, 經變方分析結果: 除 qN 參數在供試 6 品系之間不具顯著性差異外, 其餘 5 個葉綠素螢

表 3. 栽培於 27/22°C 環境下不同甜椒品系在 4 個生育天數的 Fo 葉綠素螢光參數之比較

Table 3. Comparison of the leaves' Fo chlorophyll fluorescence among four growth days of 7 genotypes of sweet pepper plants grown under 27/22°C (day/night)

Days after sowing	Genotype						
	C02080	PS38	C01336	C05464A	TC06979	RB102	KC104
55	0.283 ± 0.008 a ^z	0.293 ± 0.006 a	0.294 ± 0.000 ab	0.279 ± 0.010 b	0.285 ± 0.005 a	0.286 ± 0.006 b	0.291 ± 0.005 ab
62	0.301 ± 0.009 a	0.312 ± 0.039 a	0.307 ± 0.007 a	0.306 ± 0.005 a	0.290 ± 0.003 a	0.310 ± 0.010 a	0.305 ± 0.003 a
65	0.279 ± 0.013 a	0.274 ± 0.007 a	0.281 ± 0.006 b	0.279 ± 0.005 b	0.286 ± 0.003 a	0.277 ± 0.010 b	0.287 ± 0.005 b
68	0.279 ± 0.004 a	0.301 ± 0.011 a	0.295 ± 0.006 ab	0.287 ± 0.007 ab	0.287 ± 0.006 a	0.287 ± 0.002 ab	0.300 ± 0.003 ab

^z Values are Mean ± standard error (n = 3). Means followed by the same letters within each column are not significantly different at 5% level.

表 4. 栽培於 27/22°C 環境下不同甜椒品系在 4 個生育天數的 Fv/Fm 葉綠素螢光參數之比較

Table 4. Comparison of the leaves' Fv/Fm chlorophyll fluorescence among 4 growth days of 3 genotypes of sweet pepper plants grown under 27/22°C (day/night)

Days after sowing	Genotype		
	C02080	C05464A	RB102
55	0.801 ± 0.002 ab	0.796 ± 0.003 a	0.792 ± 0.002 c
62	0.788 ± 0.008 b	0.776 ± 0.005 b	0.784 ± 0.002 d
65	0.815 ± 0.002 a ^z	0.808 ± 0.004 a	0.811 ± 0.001 a
68	0.810 ± 0.003 a	0.802 ± 0.003 a	0.803 ± 0.003 b

^z Values are Mean ± standard error (n = 3). Means followed by the same letters within each column are not significantly different at 5% level.

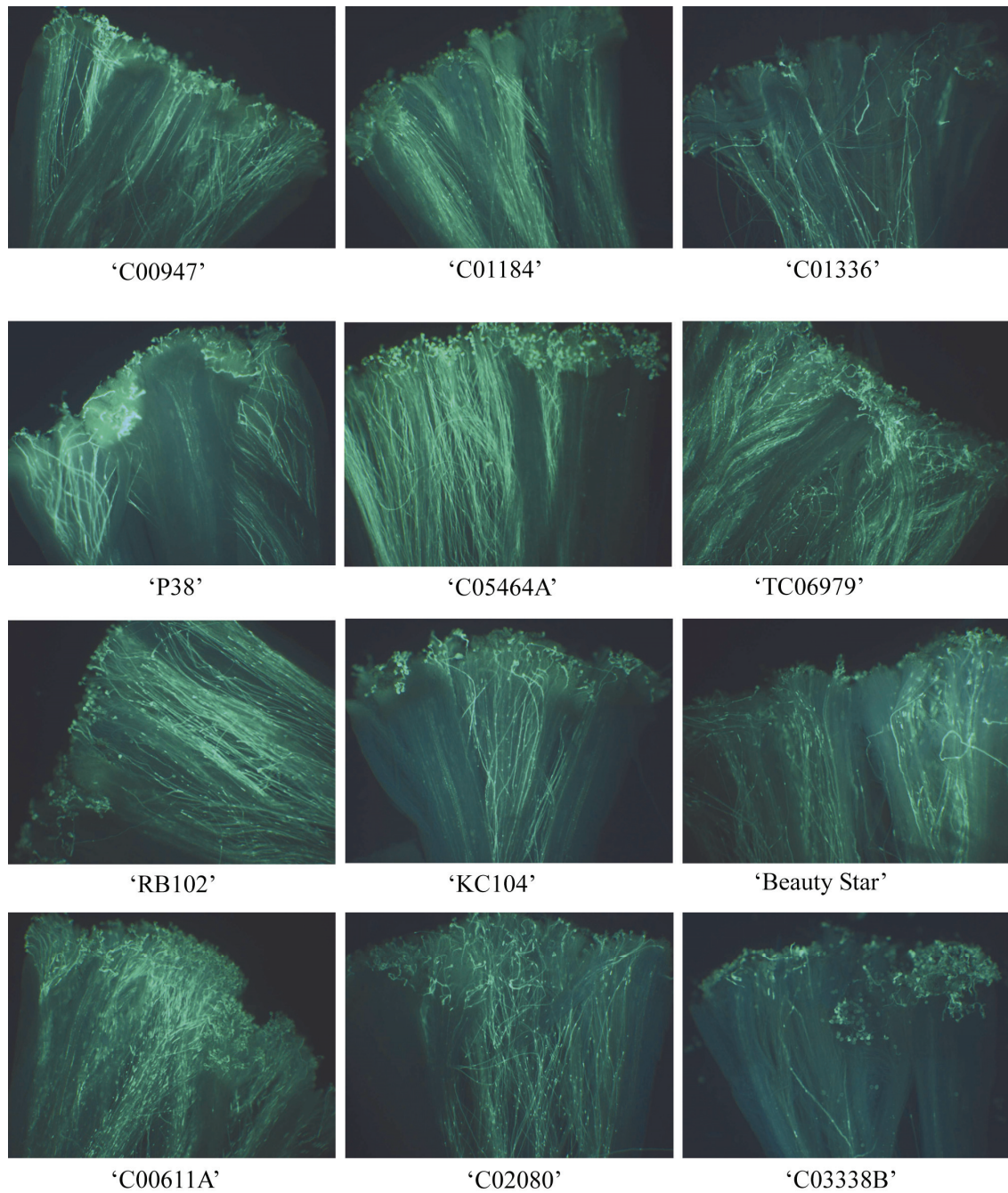


圖 1. 螢光顯微鏡觀察 12 個甜椒品系於授粉 24 小時後，柱頭上的花粉發芽與花粉管生長情形。

Fig. 1. Pollen germination and pollen tube growth were investigated by fluorescent microscopy after 24 h pollination within 12 lines of bell pepper (Both pistil and pollen grains were derived from plants growing at 27/22°C regime).

光參數在 6 個不同品系與 4 個生育時期的主效應，均呈極顯著差異，其中 Φ PS II 與 Fm' 兩個螢光參數在不同品系與生育日數間之交感作用亦極顯著存在 (表 5)。以不具交感作用的 Fo、Fv/Fm 與 Fm 等 3 個參數，進行 6 個品系的光合活性比較，顯示 Fo 螢光參數值以 'C01184' 品系明顯最高，'C02080' 與 'TC06979' 品系顯著較低，故後者 2 個品系之光合活性較佳；Fv/Fm 參數以 'C02080' 與 'C00611A' 顯著較高；Fm 參數則以 'C01184' 與 'C00611A' 顯著較高。綜合 Fo、Fv/Fm 與 Fm 等 3 個螢光參數表現，以 'C02080' 與 'C00611A' 品系之光合活性最佳 (表 6)。

依不具交感作用的 Fo 葉綠素螢光參數分

析，獲得光合活性較佳的 'C02080'、'TC06979' 與 'C00947' (表 6)，再比較 4 個生育時期 (播種後 55、62、65、68 天) 差異，顯示前 2 個品系之 Fo 螢光參數顯著隨生育日數提高，其中 'C02080' 在 65 天與 68 天顯著較高，'TC06979' 則在 68 天顯著較高；而 'C00947' 在不同生育日期間沒有顯著差異 (表 7)。又以不具交感的 Fv/Fm 葉綠素螢光參數分析，獲得光合活性較高的 'C02080'、'C0611A' 與 'C00947' 三品系 (表 6)，經比較 4 個生育時期的差異，顯示三品系皆以 65 DAS 光合活性顯著較高 (表 8)。另以不具交感的 Fm 葉綠素螢光參數分析，獲得光合活性較佳之 'C01184'、'C00611A' 與 'C02080'

表 5. 栽培於 33/22°C 環境下 6 個甜椒品系的 4 個生育期葉片之 6 種葉綠素螢光參數之變方分析

Table 5. ANOVA of the 6 leaves' chlorophyll fluorescence parameters of 4 growth days of 6 sweet pepper genotypes plants grown under 33/22°C (day/night)

Source of variation	df	Mean squares of different parameters ^z					
		Fo ^z	Fv/Fm	Fm	Φ PS II	qN	Fm'
Replication	2	0.00003	0.00011*	0.00408	0.00307*	0.00088	0.00084*
Growing time (T)	3	0.00144**	0.00088**	0.08876**	0.05511**	0.00707**	0.02961**
Genotype (G)	5	0.00087**	0.00013**	0.02279**	0.00993**	0.00010	0.00418**
T × G	15	0.00011	0.00003	0.00104	0.00315**	0.00086*	0.00065**
Error	48	0.00006	0.00003	0.00218	0.00080	0.00040	0.00022

^z Fo: Minimal fluorescence; Fv/Fm: Maximal quantum efficiency of PS II photochemistry; Fm: Maximal fluorescence; Φ PSII: Effective quantum yield of PSII reaction centers; qN: non-photochemical quenching coefficient; Fm': Maximal fluorescence of light-adapted.

*, ** significant at 5% and 1% level, respectively.

表 6. 栽培於 33/22°C 環境下 6 個甜椒品系葉片之 Fo、Fv/Fm 與 Fm 葉綠素螢光參數之比較

Table 6. Comparison of the leaves' chlorophyll fluorescence of Fo, Fv/Fm and Fm among 6 genotypes of sweet pepper plants grown under 33/22°C (day/night)

Genotype	Fo	Fv/Fm	Fm
C01184	0.297 ± 0.003 a ^z	0.801 ± 0.002 c	1.493 ± 0.023 a
C02080	0.276 ± 0.003 cd	0.808 ± 0.001 a	1.440 ± 0.021 bc
C00611A	0.284 ± 0.004 b	0.806 ± 0.002 ab	1.465 ± 0.021 ab
C00947	0.283 ± 0.002 bc	0.803 ± 0.002 bc	1.433 ± 0.021 c
TC06979	0.272 ± 0.003 d	0.801 ± 0.003 c	1.365 ± 0.022 d
Beauty Star	0.283 ± 0.004 b	0.800 ± 0.003 c	1.417 ± 0.024 c

^z Values are Mean ± standard error (n = 12). Means followed by the same letters within each column are not significantly different at 5% level.

(表 6)，進一步比較 4 個生育時期之差異，顯示 Fm 螢光參數隨生育日數有提高趨勢，三品系在 65 天、68 天之螢光值顯著高於 55 天者 (表 9)。

高溫處理甜椒 6 品系花朵授粉能力之比較

甜椒 6 品系自花芽分化至成熟期間 (42 至 120 DAS)，栽培於 33/22°C 高溫結果，‘TC06979’

品系無法開花，其餘‘C01184’、‘C02080’、‘C00611A’、‘C00947’與‘麗妃星’5 品系自 90 DAS 進入開花期。開花期間上述 5 品系之花朵，經人工授粉與螢光顯微鏡觀察顯示，以適溫 (27/22°C) 發育花粉授粉至 33/22°C 高溫發育之柱頭上，其花粉皆可正常發芽與生長 (圖 2A)；

表 7. 栽培於 33/22°C 環境下不同甜椒品系在 4 個生育天數的 Fo 葉綠素螢光參數之比較

Table 7. Comparison of the leaves' Fo chlorophyll fluorescence among 4 growth days of 3 genotypes of sweet pepper plants grown under 33/22°C (day/night)

Days after sowing	Genotype		
	C02080	TC06979	C00947
55	0.264 ± 0.006 b ^z	0.268 ± 0.001 b	0.282 ± 0.004 a
62	0.269 ± 0.003 b	0.271 ± 0.002 b	0.281 ± 0.008 a
65	0.283 ± 0.001 a	0.261 ± 0.006 b	0.282 ± 0.004 a
68	0.289 ± 0.004 a	0.287 ± 0.001 a	0.286 ± 0.005 a

^z Values are Mean ± standard error (n = 3). Means followed by the same letters within each column are not significantly different at 5% level.

表 8. 栽培於 33/22°C 環境下不同甜椒品系在 4 個生育天數的 Fv/Fm 葉綠素螢光參數之比較

Table 8. Comparison of the leaves' Fv/Fm chlorophyll fluorescence among 4 growth days of 3 genotypes of sweet pepper plants grown under 33/22°C (day/night)

Days after sowing	Genotype		
	C02080	C00611A	C00947
55	0.805 ± 0.001 b ^z	0.801 ± 0.004 b	0.794 ± 0.002 c
62	0.808 ± 0.001 b	0.808 ± 0.002 ab	0.801 ± 0.003 bc
65	0.814 ± 0.001 a	0.815 ± 0.002 a	0.813 ± 0.001 a
68	0.804 ± 0.003 b	0.802 ± 0.003 b	0.802 ± 0.003 b

^z Values are Mean ± standard error (n=3). Means followed by the same letters within each column are not significantly different at 5% level.

表 9. 栽培於 33/22°C 環境下不同甜椒品系在 4 個生育天數的 Fm 葉綠素螢光參數之比較

Table 9. Comparison of the leaves' Fm chlorophyll fluorescence between 4 growth days of 3 genotypes of sweet pepper plant grown under 33/22°C (day/night)

Days after sowing	Genotype		
	C02080	C00611A	C01184
55	1.356 ± 0.032 b ^z	1.377 ± 0.022 b	1.400 ± 0.048 b
62	1.402 ± 0.009 b	1.450 ± 0.036 ab	1.470 ± 0.033 ab
65	1.526 ± 0.011 a	1.520 ± 0.014 a	1.564 ± 0.017 a
68	1.476 ± 0.007 a	1.511 ± 0.036 a	1.537 ± 0.012 a

^z Values are Mean ± standard error (n = 3). Means followed by the same letters within each column are not significantly different at 5% level.

但高溫 (33/22°C) 發育之花粉授粉至適溫 (27/22°C) 發育柱頭上，其花粉發芽與花粉管生長活力，明顯低於正常花粉 (圖 2B)，其中又以短筒鐘型甜椒‘C01184’、‘C00947’與‘麗妃星’的花粉管生長最差；但匈牙利型甜椒‘C02080’與‘C00611A’二品系影響較小，仍具有相當之花粉發芽與花粉管之生長能力 (圖 2)。

討 論

甜椒由播種至果實採收的生育期間約 100 至 120 天，尤其彩色甜椒須再加 1 個月的果實轉色期，故為栽培期較長之蔬菜作物；若以田間果實產量作為選種指標，需要耗費較高之人、物力成本。本研究利用葉綠素螢光反應進行光合活性分析結果， F_o 、 F_v/F_m 、 F_m 與 $\Phi PS II$ 四個參數值不論在對照適溫 (27/22°C) 或經 33/22°C 高溫處理，分析對應不同生育日數與品種間之螢光反應值，均呈現顯著差異，其中 F_o 、 F_v/F_m 二參數，在生育日數與品種間不具交感作用，而本試驗目的為輔助耐熱品系之篩選，以建立準確與簡便之生理指標，故 F_o 與 F_v/F_m 應為較合宜之參數，此結果與多位前學者 (Costa *et al.* 2003; Sinsawat *et al.* 2004; Wen *et al.* 2005) 亦有吻合之處。探究 F_o 與 F_v/F_m 螢光參數，皆來自經過暗馴化處理 (依作物特質，約 5–20 分鐘) 之螢光反應，此為光反應開啟之最小螢光值 (F_o)，以及 PS II 光化學反應之最大螢光值 (F_v/F_m)，實已具備光反應啟始之一致性與穩定性特質。

另為探討較合宜之葉綠素螢光分析時期，本研究結果顯示，不同生育階段之葉綠素螢光反應，依不同螢光參數呈現差異，且多數具極顯著之差異 (表 1、表 5)。以不具交感作用的 F_o 與 F_v/F_m 參數而言，不論適溫組 (27/22°C) 或經 33/22°C 高溫處理組，皆以播種後 65 天的光合活性最高；但光合活性最低的時期則各不相同，適溫環境下以播種後 62

天的光合活性最低，而 33/22°C 高溫處理組則以播種後 55 天或 68 天的光合活性最低 (表 3、表 4、表 7、表 8)。植物學者 (Karim *et al.* 2003) 曾指出，植物由營養生長進入生殖生長階段適合光合效能評估，此時是植物對溫度最敏感的階段，易於呈現溫度逆境造成之生理障害，尤其針對溫度敏感型物種，此時期之光合活性明顯下降，而相對於有耐熱性或耐逆境潛力之植物，則呈現穩定或小幅度之變化。據本研究結果，播種後 65 天應該是測定品種間光合活性差異，較為穩定之時期。

利用螢光顯微鏡觀察高溫逆境下不同品系甜椒的有效授粉表現，顯示高溫對雌蕊的受粉能力影響較小，但高溫明顯降低花粉活力，尤其耐熱性不佳的品系，透過螢光顯微鏡觀察結果，花粉發芽率或花粉管生長數量均顯著降低 (圖 2)，此現象與 Erickson & Markhart (2002) 研究結果相似。此外，據 Aloni *et al.* (1994) 研究發現，高日溫造成甜椒嚴重落花，且以短筒鐘型甜椒 (bell type) 較匈牙利型 (paprika type) 更為敏感，其中短筒鐘形甜椒於 34°C 落花率最高，而匈牙利甜椒則提高至 42°C。綜合本研究結果，經高溫植株利用葉綠素螢光分析與有效授粉檢測，一致性以‘C02080’與‘C00611A’品系表現最好，此二品系亦為 paprika type 之甜椒。然目前甜椒商業栽培種幾乎全為“短筒鐘型”，不具耐熱特質，筆者經測試 paprika type 與 bell type 可以成功雜交 (此試驗結果未列於本文)，未來甜椒耐熱性育種改良上，可考慮將 paprika type 優良耐熱性，導入經濟栽培的 bell type，作為耐熱品種選育之親本，加速彩色甜椒耐熱選種之效益。

誌 謝

本研究承蒙 AVRDC 世界蔬菜中心種子庫提供番椒種原種子，謹此致謝。

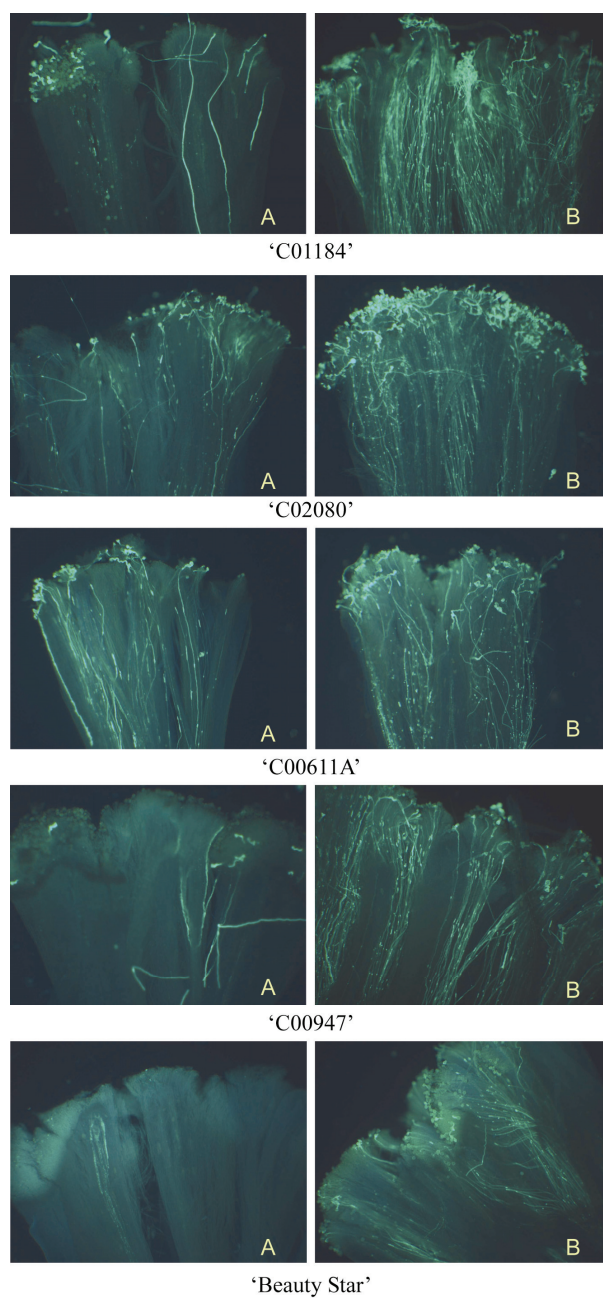


圖 2. 螢光顯微鏡觀察 5 個甜椒品系授粉後 24 小時在柱頭上的花粉發芽與花粉管生長情形。

Fig. 2. Pollen germination and pollen tube growth were investigated by fluorescent microscopy after 24 h pollination within 5 lines of bell pepper. (A: The pistil and pollen grains were derived from plants growing at 27/22°C and 33/22°C, respectively. B: The pistil and pollen grains were derived from plants growing at 33/22°C and 27/22°C, respectively).

引用文獻 (Literature cited)

- Aloni, B., L. Karmi, Z. Zaidman, Y. Riov, M. Huberman, and R. Goren. 1994. The susceptibility of pepper (*Capsicum annuum*) to heat induced flower abscission: Possible involvement of ethylene. *J. Hort. Sci.* 69:923–928.
- Bosland, P. W. and E. J. Votava. 2000. Taxonomy, pod type and genetic resources. p.14–39. *in*: Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. (Bosland, P. W. and E. J. Votava, eds.) CABI press. Wallingford, UK.
- Chen, Y., X. Li, L. Xia, and J. Guo. 1995. The application of chlorophyll fluorescence technique in the study of responses of plants to environmental stresses. *J. Trop. Subtrop. Bot.* 3:79–86. (in Chinese with English abstract)
- Costa, E. S., R. Bressan-Smith, J. G. Oliveira, and E. Campostrini. 2003. Chlorophyll a fluorescence analysis in response to excitation irradiance in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) submitted to high temperature stress. *Photosynthetica* 41:77–82.
- D'Ambrosio, N., C. Arena, and A. V. De Santo. 2006. Temperature response of photosynthesis, excitation energy dissipation and alternative electron sinks to carbon assimilation in *Beta vulgaris* L. *Env. Exp. Bot.* 55:248–257.
- Erickson, A. N. and A. H. Markhart. 2002. Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to elevated temperature. *Plant Cell Environ.* 25:123–130.
- Georgieva, K. and H. K. Lichtenthaler. 2006. Photosynthetic response of different pea cultivars to low and high temperature treatments. *Photosynthetica* 44:569–578.
- Havaux, M. and W. I. Gruszecki. 1993. Heat and light induced chlorophyll a fluorescence changes in potato leaves containing high or low levels of the carotenoid zeaxanthin: indications of a regulatory effect of zeaxanthin on thylakoid membrane fluidity. *Photochem. Photobiol.* 58:607–614.
- Juneau, P., B. R. Green, and P. J. Harrison. 2005. Simulation of Pulse-Amplitude-Modulated (PAM) fluorescence: Limitations of some PAM-parameters in studying environmental stress effects. *Photosynthetica* 43:75–83.
- Karim, A., H. Fukamachi, and T. Hidaka. 2003. Photosynthetic performance of *Vigna radiata* L. leaves developed at different temperature and irradiance levels. *Plant Sci.* 164:451–458.
- Kaufmane, E. and K. Rumpunen. 2002. Pollination, pollen tube growth and fertilization in *Chaenomeles japonica* (Japanese quince). *Sci. Hort.* 94:257–271.
- Mesejo, C., A. Martinez-Fuentes, C. Reig, and M. Agusti. 2007. The effective pollination period in 'Clemenules' mandarin, 'Owari' Satsuma mandarin and 'Valencia' sweet orange. *Plant Sci.* 173:223–230.
- Reddy, K. R. and V. G. Kakani. 2007. Screening *Capsicum* species of different origins for high temperature tolerance by in vitro pollen germination and pollen tube length. *Sci. Hort.* 112:130–135.
- Rylski, I. and M. Spiglmann. 1982. Effects of different diurnal temperature combinations on fruit set of sweet pepper. *Sci. Hort.* 17:101–106.
- Sinsawat, V., J. Leipner, P. Stamp, and Y. Fracheboud. 2004. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L.) grown at control or high temperature. *Env. Exp. Bot.* 52:123–129.
- Stainforth, D., T. Aina, C. Christensen, M. Collins, N. Faull, D. frame, J. Kettleborough, S. Knight, A. Martin, J. M. Murphy, C. Piani, D. Sexton, L. A. Smith, S. Spicer, A. Thrope, and M. Allen. 2005. Uncertainty in predictions of the climate response to rising levels of greenhouse gases. *Nature* 433:403–406.
- van Kooten, O. and J. M. Snel. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* 25:147–150.
- Wang, L. J. and S. H. Li. 2006. Thermotolerance and related antioxidant enzyme activities induced by heat acclimation and salicylic acid in grape (*Vitis vinifera* L.) leaves. *J. Plant Growth Regul.* 48:137–144.
- Wen, X., N. Qiu, Q. Lu, and C. Lu. 2005. Enhanced thermotolerance of photosystem II in salt-adapted plants of the halophyte *Artemisia anethifolia*. *Planta* 220:486–497.
- Weng, J. H. and M. F. Lai. 2005. Estimating heat tolerance among plant species by two chlorophyll fluorescence parameters. *Photosynthetica* 43:439–444.
- Xu, Z. Z. and G. S. Zhou. 2006. Combined effects of water stress and high temperature on photosynthesis, nitrogen metabolism and lipid peroxidation of a perennial grass *Leymus chinensis*. *Planta* 224:1080–1090.
- Yamada, M., T. Hidaka, and H. Fukamachi. 1996. Heat tolerance in leaves of tropical fruit crops as measured by chlorophyll fluorescence. *Sci. Hort.* 67:39–48.

Heat Tolerance Evaluation of Sweet Pepper by Chlorophyll Fluorescence Assessment and Effective Pollination¹

Jau-Yueh Wang^{2,4} and Menq-Jiau Tseng³

Abstract

Wang, J. Y. and M. J. Tseng. 2010. Heat tolerance evaluation of sweet pepper by chlorophyll fluorescence assessment and effective pollination. *J. Taiwan Agric. Res.* 59:237–248.

Chlorophyll fluorescence is a subtle reflection of primary photosynthesis reaction; it is a non-invasive method for estimating the photosynthesis performance. The photosynthetic activities of 12 lines of sweet pepper were investigated under suitable temperature (27/22°C) and high temperature (33/22°C) environments. These were six heat tolerant lines of bell type and three paprika types, and heat susceptible lines of two bell types and one commercial cultivar. At suitable temperature regime, the heat tolerant lines of 'C02080' and 'RB102' showed higher efficiency of PS II among 12 lines based on the chlorophyll fluorescence parameters of Fv/Fm (Maximal quantum efficiency of PS II photochemistry). While under high temperature, the heat tolerant lines of 'C02080' and 'C00611A' had better efficiency of PS II by Fv/Fm parameters. Furthermore, the observations through fluorescence microscope revealed that high temperature stunted pollen tube growth except heat tolerant lines of 'C02080' and 'C00611A', while all stigmatic receptivity remained unaffected. In summary, both of chlorophyll fluorescence analysis and effective pollination elucidated showed that 'C02080' and 'C00611A' had better performance under heat stress. From these consistent physiological estimations, it suggested that chlorophyll fluorescence analysis would be benefit as a convenient method for heat tolerance evaluation in field for sweet pepper.

Key words: Chlorophyll fluorescence, Pollen tube growth, Heat tolerance, Sweet pepper.

-
1. Contribution No. 2428 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: November 29, 2010.
 2. Assistant Horticulturist, Biotechnology Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Professor, Department of Horticulture Science, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
 4. Corresponding author, e-mail: jywang@tari.gov.tw; Fax: (04)23302806.