

## 溫度對作物的影響及熱休克蛋白質的功能

張碧芳 助理教授

國立中興大學植物病理學系

電子郵件：[pfchang@nchu.edu.tw](mailto:pfchang@nchu.edu.tw); 傳真：04-2286-0442

### 摘 要

作物病害的致病因子很多，其中環境因子（如：溫度、溼度、空氣污染物、藥害、肥傷、養分等）也可造成病害，稱為非傳染性病、非寄生性病或生理病害（生理障礙）。本文僅針對溫度所引起的作物病害作簡單的介紹，並討論植物熱休克蛋白質在作物耐逆境的相關功能。高溫及低溫皆可引起作物之生理病害，例如：低溫引起的霜害、寒害及凍害；高溫引起的日燒、潰瘍及高溫障礙等。植物在高溫下會快速表現熱休克基因並大量合成熱休克蛋白質，熱休克蛋白質可以保護細胞免受短暫高溫的破壞，防止因高溫而變性的蛋白質大量累積，使植物在高溫逆境移除後能迅速回復正常的生理功能。目前已知熱休克蛋白質除了參與植物的耐熱功能外，對其他環境逆境所造成的傷害，也具有所謂「交叉抗性」的功能，近幾年的研究成果更顯示：熱休克蛋白質甚至可能參與在植物對生物性病原的抗病反應中。雖然熱休克蛋白質存在於各種原核及真核生物中，但植物卻異於動物及微生物而可合成高量及多種不同的小分子量熱休克蛋白質，這些小分子量熱休克蛋白質的功能為何？它們是否參與植物在生物及非生物逆境下的保護作用？其保護機制又為何？這些都是本研究室所要探討的課題之一。

**關鍵詞：**生理病害、低溫、非生物逆境、非寄生性病、非傳染性病、耐熱性、高溫、植物、溫度逆境、熱休克基因

## 緒 言

作物的病害最容易在溫暖而潮溼的季節發生。當病原接觸到寄主作物時，環境因子可以對於病害的發生與擴展具決定性的影響力。此外，不利的環境因子還可干擾作物的生理機能，誘使植株產生異常的病徵。這種病害因為不具傳染力，故稱為非傳染性病害（non-infectious disease）、非寄生性病害（non-parasitic disease）或生理病害（或生理障礙，physiological disorder）。這些非生物性之環境因子包括：溫度、溼度、空氣污染物、藥害、肥傷、養分（微量元素）不均衡和雷擊等（黃振文，1991；Agrios, 1997）。此種非生物性因子所引起的植物病害，在植物上所顯現的病徵，與許多病原菌引起的病害徵狀非常類似，容易混淆，因此在診斷植物病害時宜多注意。本文僅針對溫度所引起的作物病害作簡單的介紹，並討論植物熱休克蛋白質在作物耐逆境的相關功能。

## 溫度對作物的影響

每一種植物的生長發育都有其特定的溫度需求，一般植物的生長大約在0°C到45°C之間。溫度對植物的作用可分為最低溫度、最適溫度和最高溫度，即植物的三個基礎溫度。當環境溫度在最低和最適溫度之間時，植物體內的生理生化反應隨著溫度升高而加快，代謝作用加強，因而加快生長與發育速度；當溫度高於最適溫度，參與生理生化反應的酵素系統受到影響，代謝作用受阻，進而影響植物正常的生長發育。而當環境溫度低於最低溫度或高於最高溫度時，植物受到嚴重損害，甚至死亡。不同植物的三個基礎溫度並不相同，即使是同一植

物在不同的發育階段所能忍受的溫度範圍也有很大的差異（Hopkins, 1995；Salisbury and Ross, 1992；中國環境生態網，2004）。

### 低溫對植物的影響

溫度低於一定數值時，便會使植物受傷害，這時的溫度值稱為臨界溫度。在臨界溫度以下，溫度越低植物受害越嚴重。低溫對植物的傷害可分為霜害（frost injury）、寒害（chilling injury，亦稱為冷害）和凍害（freezing injury）兩種。霜害（frost injury）通常發生在晚春植物開始生長後，低溫突來，引起傷害，或生長期中（休眠之前）低溫提前來臨，引起植物傷害。寒害的定義，係指某一定的低溫（一般約在0-15°C之間）對植物造成傷害。至於何種低溫才足以造成寒害？則因植物種類、品種、年齡、不同發育階段甚至不同的部位而異。植物寒害的主要原因有：細胞質流受阻，蛋白質合成、光合和呼吸作用的速率降低、代謝失調和細胞質膜特性改變等（Hopkins, 1995；孫守恭，2004；戴振洋，2000）。凍害是指0°C以下的低溫使植物體內形成冰晶而造成損害。少數寒帶植物的體液能忍受0°C以下的低溫仍不結冰，稱為超冷現象（super-cooling），此為植物避免低溫的一種適應方式（Hopkins, 1995；中國環境生態網，2004）。低溫對植物生理及生育的影響如下：

#### 1. 原生質的機械傷害與細胞膜相轉換（phase transition）

當溫度降至冰點以下，植物會在細胞間隙形成冰晶，細胞內水分向外滲出而又結冰，原生質因而脫水而遭破壞。極端低溫對植物的致死作用主要也是細胞質及體液的冰凍和結晶，使原生質受到機械傷害、細胞內蛋白質也因脫水而變性（孫守恭，2004）。此外，低溫也使細胞膜的物理性質改變，產生相（phase）的轉變，由膠體液晶相（liquid crystalline state）轉為固相（solid or gel state），使膜的通透性

增大，導致代謝紊亂，毒性物質在細胞內大量累積，最後導致植物死亡（柯勇，1998）。

## 2. 生理異常與生育延遲

低溫來襲時，植物的光合作用速率明顯下降，因為低溫導致光合作用系統受損及PEP carboxylase (PEPcase) 等光合酵素活性降低。此外細胞質膜發生孔隙或龜裂，使其質膜通透性大增，離子或可溶性物質得以自由向外擴散等種種因素，致使光合作用速率減緩。相對地，低溫逆境下，呼吸作用明顯增加，而此種呼吸作用速率的增加是經由類似對氰酸不敏感 (cyanide-resistant) 的電子轉移途徑，而不產生ATP等可供植物利用的能量，僅產生熱能及回收還原態的核酸而已。在光合作用減緩，呼吸作用提高下，植物僅能維持短時間的基本生存，生長勢必延遲，無法正常的生長發育 (Janick, 1986; 戴振洋, 2000)。

## 3. 促進早期抽苔

當植株生長至一定大小時，能對低溫有所感應，進而花芽分化，此稱之為「綠植物春化型」(green plant vernalization type)，屬於這類的植物包括甘藍、花椰菜等。在正常條件下栽培花椰菜，其葉面積增長達2500-4500 cm<sup>2</sup>時，進行花芽分化階段，其花球可達理想的大小，但如在幼苗階段，適逢低溫則造成葉數太少，葉面積過小，光合產物不足之下，即進入花芽發育，花球自然是過小的，因花椰菜花球的大小和增長的速度，實際上與營養同化器官（大部分為葉片）的大小有密切的關係，花球形成前，同化面積的多寡是提高花球產量和品質的要件，否則其花球過小而不具有商品價值。本省彰化地區在寒流來襲後，最常見到花椰菜幼苗期結花球的現象 (Janick, 1986; 戴振洋, 2000)。

#### 4. 落花、落果

果菜類（胡瓜、苦瓜、茄子、番茄、菜豆、豌豆等）的栽培目的上，以果實為最終標的物，如嚴重落花、落果，則往往無法達到豐產的目標。當溫度過低（12°C）時，菜豆嫩莢落果達三分之一以上，且剛開的菜豆花朵半數落花；胡瓜則在10°C以下的溫度其花粉即無法發芽，且生育顯著抑制；而茄子的花粉發芽與發粉管伸長的最低溫度為15-17°C，低於此溫度則無法著果（Janick, 1986；戴振洋，2000）。

#### 高溫對植物的影響

溫度超過作物適應溫度的上限後即對植物有害，溫度越高對植物的傷害越嚴重。高溫對植物的影響包括：

##### 1. 抑制植物生長

持續高溫會增加植物體內化學反應的速率，使得主要代謝作用物質的濃度減少或用罄，這種高溫傷害造成植物飢餓，蛋白質分解，生長減緩甚至停止，同時一些代謝有毒物質也因此產生（柯勇，1998）。

##### 2. 蛋白質變性（Denaturation）或凝集（Aggregation）導致代謝失常

在高溫下蛋白質會變性甚至凝集。蛋白質變性則酵素系統必然受到影響，主要包括：(1) 葉綠體酵素系統不活化，使得光合作用降低，碳水化合物合成減少，導致植物飢餓；(2) 粒線體酵素系統不活化，干擾有氧呼吸，使無氧呼吸盛行而造成有毒物質累積及能量（ATP）減少；(3) 蛋白質合成機制不活化，導致蛋白質崩解。蛋白質凝固變性，則細胞膜停止進行離子交換作用，離子由細胞內滲出，造成細胞死亡（柯勇，1998；孫守恭，2004）。

### 3. 細胞膜脂質之高流動性 (Lipid hyper-fluidity)

在高溫下植物細胞死亡的另一原因，可能是因細胞膜內的脂質液化 (lipid liquefaction)，隨著溫度升高，脂質液化的程度也增高，結果導致細胞膜脂質層破裂，對離子的選擇性因而消失，再加上細胞膜蛋白質變性或凝結，促使細胞死亡 (柯勇，1998)。

### 4. 細胞乾燥缺水 (desiccation)

溫度增高使水分失散，植物呈現萎凋現象，若水分失散過多，則細胞乾燥而死。水分之失却較溫度關係更重要 (孫守恭，2004)。高溫並可能造成植物缺氧 (中國環境生態網，2004)。

## 溫度引起的作物病害

低溫及高溫皆可引發非傳染性病害。植物生長的最適溫度為15-30℃，而多年生植物及一年生之休眠器官，則可在1-40℃範圍內生存，不過也因植物種類而異，例如香蕉、柑桔等熱帶植物，當氣溫接近0℃或低於0℃，則受損嚴重，而甘藍菜、冬小麥等則受損輕微。植物生長時期不同，抵抗溫度變化的能力也有不同，一般而言，幼芽、細枝、花及幼果對氣溫較為敏感 (黃振文，1991；Agrios, 1997)。以蔬菜生理病害為例：一般適合蔬菜生長發育的溫度範圍是15-25℃，但以蔬菜種類而言，有較耐低溫的冷季蔬菜，如：菠菜、白菜、蘿蔔、蔥、甘藍等；有比較耐高溫的暖季蔬菜，如豇豆、菜豆、西瓜、甜瓜、南瓜、苦瓜等。但是，不論耐高溫或耐低溫，都有相對的限度，超過這個極限，就會出現不正常的現象。屬於低溫的症狀有：停止生長發育，甚至霜害、凍害使各器官僵化死亡。屬於高溫的症狀有：老化，甚至日燒、落葉、萎凋、全株死亡。高溫傷害往往伴隨著失水、脫

水；低溫傷害則往往伴隨著細胞結凍、膨脹、細胞壁破裂（Janick, 1986；三農在線，2004）。

## 低溫病害

低溫造成作物的傷害遠較高溫效應為多，溫度降至臨界冰點時，即可使玉米、菜豆等造成傷害。低溫亦可使馬鈴薯塊莖內的澱粉水解成蔗糖而呈現甜化效應。低於冰點的氣溫極易引起幼小植株頂端分生組織或草本植物的傷害，並可誘發許多樹木之主幹樹皮的龜裂或潰瘍，尤其向陽光面特別敏感。霜害則可引起植株缺綠、變色、萎凋及壞疽等現象，其原因除了植株本身對於低溫敏感的遺傳特性外，也可能是由於低溫可使植物細胞內或細胞間隙的水分凝聚成冰結晶，以致傷及植物細胞的結構（黃，1991；Agrios, 1997）。介質溫度的高低則影響植株根部的吸收能力，在深秋或早春晝夜溫差較大時，白天氣溫逐漸回升，葉溫升高導致蒸散太強，而此時土溫尚低，因此根部吸水過慢，不及地上部所需，因而表現出失水症狀，長時間會導致營養失調。介質的溫度還會影響植株的發根能力（Janick, 1986；新華網福建頻道，2004）。以下簡單介紹幾種因低溫而引起的作物病害：

### 霜害

霜害造成之病徵，因植物種類及霜害程度不同而異，通常有下列情形：(1) 缺綠（chlorosis）—低溫未達致死程度，但可抑制葉綠素之形成，呈現白綠、白色，或有其他色素如：紫、紅等色出現。(2) 萎凋（wilting）—葉面表皮下細胞水分溢出或結冰，使表皮細胞2-3層葉肉細胞與下部組織分離，突起或成泡狀（霜泡，frost blister）。由於此處細胞水分結冰或蒸散，細胞死亡成壞疽，因程度不同可為部分壞疽或全部死亡（孫守恭，2004）。台灣常見的霜害舉例如下：

### 1. 香蕉霜害

冬季寒流來襲，台灣中部地區香蕉易受霜害，葉片枯死，往往達數千公頃。已結果者，果實不能成熟；未結果者，次春雖可抽出新芽，但生育不良，延遲結果。平地香蕉受害甚多，若在山地，則谷底之香蕉受害較山頂者嚴重，除非溫度過低，山頂種植的香蕉才會有霜害（孫守恭，2004）。

### 2. 甘藷霜害

與香蕉霜害略同，每年冬季寒流來時，中部地區甘藷受害嚴重。甘藷葉因霜害而變黑、枯死（孫守恭，2004）。

### 3. 菸草及玉米霜害

每年冬季，台灣中部亦時時發生菸草及玉米霜害，然而並非全部葉片枯死，只是部分呈壞疽死亡，影響菸葉品質頗大。玉米亦有部份葉片枯死，生育延滯（孫守恭，2004）。

### 4. 甘蔗霜害

台灣中部山區，每年2-3月間降霜時，甘蔗葉片（嫩葉）部分凍死，輕微時次春新芽抽出繼續生長，嚴重時全株枯死（孫守恭，2004）。

## 寒（冷）害

許多熱帶或亞熱帶植物對低溫較為敏感，即使在攝氏零度以上之低溫，其生理作用仍不能正常進行，呈現病態，稱之為寒害（孫守恭，2004）。台灣常見的寒害舉例如下：

### 1. 香蕉寒害

發生於長途運輸途中。香蕉果實能耐寒之最低溫度為11°C，低於



此溫度則果皮變褐色，果肉亦逐漸液化。香蕉果皮內有許多腺管，內含乳汁 (latex)，並有豐富的單寧，在低溫下，乳汁變黑褐，果皮隨之褐變，可能尚有酵素之氧化作用參與其中 (孫守恭，2004)。

## 2. 甘蔗低溫白斑病 (cold chlorosis)

初春或晚春，因氣候突變，夜間氣溫降至7°C以下時，甘蔗心部尚未抽出之葉片，因葉綠素形成受低溫阻礙，待葉片抽出後，在該部 (心部葉環包圍處) 出現白斑，呈狹長 (5-10 cm) 或帶狀，分列中肋兩側 (孫守恭，2004)。

## 3. 鳳梨黑心病 (black heart of pineapple)

台灣冬季如有寒流過境，氣溫降至12-13°C停滯2-3日，然後又恢復正常，鳳梨果實在收穫前經此低溫一、二次，收穫後即罹黑心病。台灣中部地區所收之冬果，常有此病，損失頗重。黑心病外觀無異狀，剖開後，果心四周出現褐色斑點，嚴重時果心四周全部呈深褐色至黑褐色，無食用價值 (孫守恭，2004)。

## 4. 葡萄柚、萊姆、檸檬及柳橙之寒害

果實於貯運時，溫度過低易造成寒害，其症狀為果皮在果肩處形成褐色下陷斑點或小斑塊 (pitting)，嚴重時瓢瓣膜呈水浸狀或褐色劣變 (動植物防疫檢疫局，2003a)。

## 5. 檬果採收後寒害

寒害是限制檬果貯藏壽命的主要因子之一，因為在臨界溫度下貯運，果實可能因寒害而喪失品質並造成損失。檬果在寒害臨界溫度 (一般為6-13°C之間，因品種而異) 下，並不會表現寒害徵狀，而是在回溫後開始顯現，其病徵有：果皮褐化、病斑凹陷、無法後熟軟化及轉色、異味發生，容易腐爛等 (動植物防疫檢疫局，2003b)。

## 6. 葡萄落花

落花俗稱流花，為開花後不結實或部分形成黃色小果脫落，以致果型不整。葡萄於開花期間若遇低溫而影響授粉，為造成落花的原因之一（動植物防疫檢疫局，2003c）。

## 7. 蔬菜寒害

因本省冬季及早春受大陸性冷氣團之影響，常有季節風與寒流的侵襲，使氣溫瞬間降至 $10^{\circ}\text{C}$ 或 $5^{\circ}\text{C}$ 以下，造成蔬菜寒害。常見寒害對蔬菜的影響；輕者僅對蔬菜的生理代謝造成抑制，其中最明顯的是光合速率的降低，同化產物供應不足等生理影響。發生嚴重時，則造成蔬菜生育受阻，產量明顯下降，或導致外觀品質劣化，如葉菜類之葉片形成凹陷及黃化斑點；果菜類無法正常授粉或受精，引起花朵脫落或果實畸型彎曲；甘藍、花椰菜等提早抽苔，使產品品質下降。此外，部份蔬菜的採收期會因而延遲（戴振洋，2000）。

## 8. 觀葉植物寒害及切葉採收後冷害

溫度是觀葉植物生長的主要控制因子，目前本省流行的觀葉植物多原生於熱帶與亞熱帶，性喜高溫，對低溫特別敏感，低溫除了容易造成生長緩慢或停頓外，葉肉也常出現水浸狀斑塊、葉緣壞疽、葉片垂塌，嚴重時葉面凍傷、繁殖不易，甚至落葉而植株死亡。不同種屬觀葉植物間對低溫及低溫持續時間有不同忍受性。一般粗肋草屬、黛粉葉屬、蔓綠絨屬、火鶴屬、合果芋屬等觀葉植物，其生長最低溫在 $18^{\circ}\text{C}$ 左右，例如粗肋草銀后品種，當溫度降低至 $15^{\circ}\text{C}$ 以下，即表現葉下垂及壞疽等寒害徵狀（范美玲，1997）。當寒流來時，短暫的低溫（ $10^{\circ}\text{C}$ 以下）即足以使黃金葛與黛粉葉等受到寒害，長時間低於 $15^{\circ}\text{C}$ 則會造成生理障礙，因此必須有防寒措施，尤其是幼苗應在封閉的棚內栽培（新華網福建頻道，2004）。觀葉植物由於原生地不同，其切

葉的貯藏適溫也不盡相同，若貯藏於低溫可能遭受冷害，如：琴葉蔓綠絨、白玉萬年青、星點木、粗肋草於 $15^{\circ}\text{C}$ 以下則會產生冷害。而白鶴芋、蜘蛛抱蛋、油點木等則耐寒性稍強，可忍受 $10^{\circ}\text{C}$ 低溫。切葉的冷害病徵大致有下列數種：水浸狀斑點、片狀褐斑、壞疽、條狀斑塊、色澤變淡、組織崩解、焦枯等病徵。武竹屬等切葉多原生於溫帶，耐寒性佳，可貯藏於較低溫（范美玲，1995）。

## 9. 切花採收後冷害

切花採後置於略高於其細胞凍結點的低溫環境中，可以獲得最佳保鮮效果。但一些原產熱帶、亞熱帶的切花，於低溫環境會發生代謝異常，表現出生理病害—冷害。如洋蘭等需要 $8^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的儲藏溫度，如果溫度太低，會出現凹陷斑塊，局部表皮組織壞死、變色、呈水浸狀等冷害症狀，進而加速衰老及變質腐爛（新華網福建頻道，2004）。

## 凍害（或稱冬害，winter injury）

作物於生長末期、休眠期或產品貯藏期間，因低溫引起之傷害，稱為凍害或冬害（孫守恭，2004）。常見的凍害舉例如下：

### 1. 馬鈴薯凍害

長期將馬鈴薯塊莖貯藏於 $0-5^{\circ}\text{C}$ 下可引發凍害。通常有三種病情（孫守恭，2004）：

(1) 冰凍（freezing solid）—將塊莖貯藏於冰點或冰點以下之溫度，塊莖全部或一部分結冰，解凍後，塊莖組織破壞而崩潰，表皮下細胞之中膠層溶解，組織軟化，有時真菌或細菌隨之生長其上，加速腐爛。

(2) 甜化（turning sweet）—薯塊長期貯藏於冰點以上之溫度下，澱粉轉化成糖，而在低溫下，薯塊之呼吸作用低，糖分消耗少，故薯塊帶有甜味，不適一般炒食之用。但如將薯塊置於 $5-10^{\circ}\text{C}$ 溫度下，數

日後甜味即可消失，恢復正常。

(3) 內部壞疽 (internal frost necrosis) —長期貯存於0-5°C下，薯塊內部發生壞疽。其外觀無明顯徵兆，切開後約有三種型態：(A) 環狀壞疽 (ring necrosis) —內部維管束變褐色至深褐色，與莖相連接之處變色較大而深，剖開後可見沿皮下成環狀壞疽。(B) 網狀壞疽 (net necrosis) —內部微細維管束變色，散佈於塊莖內，呈不規則形塊斑，周邊之維管束亦有變色現象。(C) 污漬型壞疽 (blotch type necrosis) —內部變色壞疽部分成不規則大片污染，多出現在皮層 (cortex) (孫守恭，2004)。

## 2. 樹木之凍害

(1) 楔狀裂開 (cool wedge) —外部氣溫急劇降低，而內部尚熱，因低溫收縮樹幹外部有一處或多處楔狀裂開。

(2) 環狀裂開 (cup-shake) —樹幹內部尚冷，而外部突熱，樹幹外層膨脹與內部裂開環狀裂痕。

(3) 低溫日燒 (winter sun scald) —在冬季，向陽樹幹組織較柔嫩，日間溫度較其他部位略高，夜間溫度降低，該向陽部易冰凍組織死亡，呈潰瘍狀。

一般而言，樹木之凍害並非嚴重傷害，往往可癒合而復健。但如有菌類侵入為害，可引起木材腐朽 (孫守恭，2004)。

## 高溫病害

高溫通常引起日燒，在炎熱多陽光的日子，向陽的果實，其表皮下組織溫度較陰蔽處者為高，在先出現水泡後，隨之細胞死亡、褐化或乾枯，例如甜椒日燒症 (sunburn or sun scald)。土壤表面溫度過高時，則會使某些植物的莖基部產生潰瘍 (canker)。高溫再加上缺氧

時，可以使馬鈴薯的塊莖產生黑心症 (black heart)。由於高溫可以使植物的酵素系統不活化，或者加速其反應，導致植物體內不正常的生化反應及細胞的死亡。高溫也可以使蛋白質凝結及變性，或使細胞膜瓦解及細胞中毒。因此，持久的高溫對於細胞的傷害愈為嚴重 (黃，1991；Agrios, 1997)。此外，高溫也可使植物生育受阻，全株矮化，不開花或果實不成熟。在台灣，如將山地溫帶蘋果植於平地高溫地區，則全株矮化、生育不良、亦不結果。高溫對植物生長發育之影響還包括：提前落葉、提前成熟 (但非真成熟) 及全株死亡等 (孫守恭，2004)。以下簡單介紹幾種因高溫而引起的作物病害：

### 1. 高溫性潰瘍 (heat canker)

松樹一至三個月之幼苗，土溫在 $54.5^{\circ}\text{C}$ 至 $71^{\circ}\text{C}$ 時，幼莖基部土面上下部分細胞，因高溫而死亡，形成潰瘍。其他作物，如：萵苣、豆類、亞麻、燕麥也有高溫性潰瘍發生 (柯勇，1998)。台灣南部沿海沙地落花生亦有此病害。香蕉、柑橘、鳳梨等作物之日燒病也是因為高溫日照所引起 (孫守恭，2004)。

### 2. 蘋果水心病 (water core of apple)

圍繞果心四周的果肉變褐，並有水分泌出成水浸狀，故名水心病。又因果肉呈褐色至深褐色，故也稱黑心病。果實暴露於日光下，因過熱而導致日燒現象，大果易罹患水心病。在日光下氣溫上升，果實發生日燒，細胞液濃度提高，壓力增大，細胞液滲出至細胞間隙，果肉呈水漬狀，後期則水心部分變褐色 (孫守恭，2004)。

### 3. 柑橘、鳳梨之日燒病及高溫障礙

台灣各地柑橘果實及鳳梨 (夏果)，日燒病極為普遍，此乃高溫日照所引起。農民為防止鳳梨日燒，常將葉片攏起，繫於果實之上，或是在鳳梨果實頂上戴斗笠 (俗稱：戴帽子)，藉以遮避陽光防止日

燒。亦有將鋤起之草，蓋於果實上，防止日燒（孫守恭，2004）。柑橘之日燒果容易發生果實粒化（granulation，或稱乾米、吊汁）的現象，而柑橘採收前後或果實貯藏溫度太高則會果皮與果肉易分離而產生浮皮症（puffiness）（動植物防疫檢疫局，2003a）。

#### 4. 葡萄日燒病及其他高溫障礙

葡萄日燒病主要發生在果穗的肩部和果穗向陽面上，硬核期果實受害後，果皮於向陽面形成水浸狀如燙傷之淡褐色斑點，然後形成褐色乾疤並向下凹陷。受害處易遭受其他病菌（如炭疽病菌等）的侵入感染。是一種典型的因環境因子引起的生理病害。葡萄果實日燒病的發生是由於果穗缺少遮蔽，在烈日暴曬下，果粒表面局部受高溫失水，發生日燒傷害所致。品種間發生日燒的輕重程度有所不同，但粒大、皮薄的品種日燒病較嚴重。提早完成疏果及套袋或避免陽光直射可減少日燒病發生（動植物防疫檢疫局，2003c；葡萄專家諮詢系統，2004）。

葉燒病也是高溫引起的生理障礙，病徵為葉緣至葉脈之間呈赤褐色，缺乏葉綠素以致早期落葉；高溫也會引發一般性的早期落葉，其徵狀為基部葉變黃及落葉等現象；若氣溫突然上升，造成葉片水分蒸散作用高，但果實持續生長而發生部分缺水之不平衡生長，因而引起縮果病（又稱凹皮病），其症狀為硬核期之果實呈淡褐色，凹下變成紫黑色（動植物防疫檢疫局，2003c）。

#### 5. 馬鈴薯葉尖焦枯病 (tip-burn of potato)

在高溫及強烈陽光下，馬鈴薯葉尖萎凋，繼而黃化，並自葉尖向兩側及內部延伸，隨之變褐色且組織死亡，病部向內捲曲，此乃因高溫及強光所致，沙質土地質尤其容易發生（孫守恭，2004）。

#### 6. 天南星科觀葉植物的高溫障礙

天南星科觀葉植物喜好高溫的環境，黛粉葉屬與白鶴芋類植物在 32°C 下品質良好，粗肋草最高可忍受 42°C 高溫。但整體而言，不宜超過 35°C，因為短時間高溫，植物為了排除過多的熱量，而提高蒸散速率，植株呈現失水的症狀。若持續高溫，將導致生長速率緩慢或停頓等障礙。（新華網福建頻道，2004）

## 7. 盆花及切花的高溫障礙

亞洲型百合於花芽分化初期若遇 25°C 以上之高溫，不但花朵數目減少也容易發生消蕾（blasting）或盲芽（blindness）現象，而 30°C 時則會嚴重落蕾（bud dropping），此三種現象均無法完成開花過程，造成栽培的損失（動植物防疫檢疫局，2001a）。高溫時採收的切花，若不進行冷藏，長期置於高溫環境，由於呼吸作用散發的熱量不能及時排除，局部環境溫度過高，達到 30°C 以上，導致組織器官迅速衰老，葉片黃化甚至腐爛（浙江農村科技信息網，2004）。

## 番茄果實因高溫或低溫所引起的生理病害

近年來國人對蔬果消費量大幅提升，而食用番茄由於營養價值高且富含維他命 C 及茄紅素等成分，對許多疾病有預防效果等，更是深受消費者喜愛。為蔬果類的代表作物之一。在台灣，其栽培面積在近十多年來也逐漸擴大，因此特將其生理病害簡介如下：

### 1. 裂果

在果實發育後期或轉色期，遇夏季高溫、烈日、乾旱和暴雨等情況，果皮的生長與果肉組織的膨大速度不同步時，膨壓增大，則會出現裂果。其症狀為：果實以果蒂為中心，發生同心圓或放射狀的裂口，這是由於高溫乾燥後遇下雨，果實急速肥大而發生（曾喜一，

1989；中國星火計畫北京網，2004）。

## 2. 日燒

大部分發生在夏季高溫時期。番茄的部分果實，尤其是果實的果肩部易發生日燒。先是果皮表面發生白色或黃色斑紋，有的出現皺紋，乾縮變硬後凹陷，而後斑紋變成褐色，在果實成熟時，此部份仍不變色如日燒狀。其原因為果實暴曬在強烈陽光下，致使照射部位的果溫上升，果實的溫度在土壤乾燥及氣溫高時急劇上升，因異常高溫，使果實表面枯死，輕微時紅色素發生較少，僅呈黃色斑紋。日燒病在空洞果上非常顯著（曾喜一，1989；中國星火計畫北京網）。

## 3. 尻腐病（底腐病）

果頂部分，開始呈現水浸狀，後變成黑褐色，乾燥後凹下，若遭其他病菌侵入，也會發生腐爛現象，一般在多濕，高地溫，乾燥的環境下較易發生（曾喜一，1989）。

## 4. 空心

果實橫切時，可發現果肉與果皮部份不密接，兩者間中空。其原因可能是受氣溫過高或過低、或高溫強日照下用高濃度荷爾蒙處理花序等環境因子影響導致番茄的授粉、授精和果實內部組織後期不平衡發育所造成（曾喜一，1989）。

## 5. 畸形果

果形不平整或畸形，原因為心皮生長過度，產生多重子房，以及平整的花柱形成困難，而引起果實呈現畸形，發生的原因是因為植株生育旺盛，突然再遇長期低溫（6-8℃）使得心皮多和花柱癒合不良所致（曾喜一，1989）。此外，夜間高溫高濕也能促進畸形果的發生，而低溫則可造成果形的變化（四川農經網，2003）。



## 6. 蒂腐

分為白蒂果和黑蒂果兩種。其中黑蒂果可由日照不足，低溫、多肥、高濕、缺鉀等因素引起，其病徵為：果肉部的維管束壞死後，從果頂部開時向蒂部發展，出現黑色的帶狀（中國星火計畫北京網，2004）。

## 7. 凍害

番茄雖耐低溫，但果實易受凍害，如遇長期低溫，果實表面會呈暗褐色。因此，寒流到來時，應注意溫室保溫，最低溫度不低於5°C，露地栽培的番茄則應提前採收（中國星火計畫北京網，2004）。

## 8. 著色不良

氣溫在25°C以下，茄紅素的形成就會減少，使果實著色不良。在番茄果實膨大的前半期，夜間溫度最低不能低於5-10°C。一般在果實膨大的後半期是著色期，氣溫必需保持在15°C左右。另外，高溫會導致產生著色不良的黃色果實（中國星火計畫北京網，2004）。

## 蘭科植物的低溫性寒害(cooling disorder)或高溫性暑害(heat disorder)

蘭科植物屬別種類甚多，依溫度適應範圍可分為低溫種、中溫種以及高溫種三類，一般在臺灣冬季溫度可降低至5-6°C左右，因此許多高溫種類如秋石斛類、蝴蝶蘭類、萬代蘭類等極易在沒有加溫的環境中受到寒害，造成重大的損失。而齒舌蘭、三色堇蘭、虎頭蘭等低溫種，若生長於臺灣平地，由於夏季32°C以上時期過長，也很容易造成高溫性生理障礙，導致生長停頓，甚至暑害。

大部份種類遇低溫後，葉片開始由綠色轉成黃綠色，再轉變成紫

紅色或灰紅色，或在新葉產生葉肉細胞虛脫現象（mesophyll cell collapse），或有些葉片變成枯黃，然後葉片掉落。轉變速度視低溫程度而定，快則2-3週，慢則1-2個月，溫度愈低，顏色轉變的速度愈快，有時甚至在一天之內變色，凍傷葉片呈水浸狀枯黃而掉落。冬季的低溫性寒流，及在寒流來襲時於夜間澆水，都容易造成寒害。此外，於冬天外銷蘭花至溫帶國家時，如紙箱保溫不夠或置放於未加溫的機場貨艙過久，也容易造成低溫的凍害。在露天栽培場或未實施加溫的溫室中，高溫蘭類蘭幾乎在每年的12月至隔年3月，均會遭受寒害。低溫敏感種類如屬秋石斛類（*Dendrobium*）蝴蝶蘭系（*Phalaenopsis* type）的熊貓（Ekapol）及東南王（Queen Southeast）等品種，對低溫均十分敏感。蝴蝶蘭類於冬天15°C以下即停止生長，耐低溫的極限約為10°C。

高溫性生理障礙，一般先造成葉片停止生長，稍微軟化彎曲，有些則產生大小不等褐斑。由於根部活動停止，致使葉片失水而變軟，嚴重時葉片邊緣會出現焦枯現象。高溫性的生理障礙，在臺灣平地大多發生於7、8、9月。高溫敏感種類如齒舌蘭（*Odotoglossum*）、三色堇蘭（*Miltonia*）、喜普蘭（*Cypripedium*）、一葉蘭（*Pleione*）及石斛蘭中的高山種類—雪山石斛（*Den. cuberthsonii*），其他高溫導致平地不開花的種類，則有中、大朵虎頭蘭（*Cymbidium*）等。而栽培者也經常因不清楚品種的生理特性，而引進不適合平地栽培的溫帶品種，導致植物種類發生適應不良的現象（動植物防疫檢疫局，2001b）。

### 熱休克蛋白質

生物體暴露在高於最適生長溫度5-10°C左右時，所誘導產生的特殊生理反應，稱為熱休克反應（heat shock response, HS）。熱休克反

應除了抑制部分蛋白質的正常合成外，也會合成一類新的蛋白質，稱為熱休克蛋白質（heat shock protein, HSPs）（Linguist and Craig, 1988; Parsell and Linguist, 1993; Vierling, 1991）。熱休克反應最早開始於 Rittossa（1962）對果蠅（*Drosophila melanogaster*）幼蟲的研究，觀察到果蠅幼蟲的巨大唾液腺染色體在移至高溫時（25→37°C）會形成新的膨脹處（puff），後來證實此區域的轉錄（transcription）作用旺盛，部分新合成的mRNAs會轉譯（translation）合成熱休克蛋白質（Tissieres et al, 1974）。

早在1980年代初期，Barnett等人（1980）與Key等人（1981）分別研究菸草及大豆組織培養細胞與大豆白化幼苗時，即指出：此三種植物材料在遭受到高溫逆境時，其正常蛋白質的合成會被抑制，然而另一組新的蛋白質卻反而被誘導而生成，這些蛋白質與1960年代在果蠅中所見的熱休克蛋白質為同一類的蛋白質。以大豆白化幼苗為例，若經45°C處理二小時，則幼苗都會受到嚴重傷害而致死。但若幼苗先在40°C下處理一小時，之後再放到45°C進行熱處理，則幼苗卻能抗45°C高溫而不致死。以膠體電泳分析，結果顯示，在40°C一小時的前處理中，因能誘導植物體內熱休克蛋白質的mRNA進行轉錄並轉譯使熱休克蛋白質新合成，而使植物體變為較耐高溫。此外，細胞具備耐熱的特性與熱休克蛋白質在細胞內存在的時間是一致的（Chang and Lin, 2000）。

生物在高溫逆境下，其細胞內的熱休克蛋白質會因高溫誘導而迅速合成，且其表現量亦很顯著。而誘導熱休克蛋白質合成的溫度，則依生物體的最適生長溫度不同而有所不同，例如生長在熱溫泉口的極端細菌或古生菌，其最適生長溫度可達90°C以上，而其熱休克蛋白質則在100°C以上表現；而常溫下（28°C）生長的水稻，在32°C以上即可見熱休克蛋白質的表現，並可在41°C達到最大表現量（黃文寬，2004；Chang and Lin, 2000）。

誘導熱休克蛋白質產生所需的時間和溫度隨生物種類不同而有差

異，但此類蛋白質卻普遍存在各種生物體中：從低等的原核生物（如：細菌）到酵母菌、果蠅，乃至於大豆、水稻甚至人類等高等動植物皆有之，熱休克反應是已知最具保留性的生物現象之一（Chang and Lin, 2000）。

此外，這群熱休克蛋白質儘管來源不同，但彼此間的保留性卻非常高（Linguist and Craig, 1988）。熱休克蛋白質根據其分子量及序列相似性可區分為兩大類：(1) 高分子量熱休克蛋白質（high-molecular-mass heat shock proteins; HMM HSPs），其分子量約為60-110 kDa，包括HSP110、HSP100、HSP90、HSP70、HSP60等，為動物體內含量較多、研究較廣的蛋白質，在植物體內含量較少；(2) 低分子量熱休克蛋白質（low-molecular-mass heat shock proteins; LMM HSPs），又稱為「小分子量熱休克蛋白質」（small heat shock proteins, sHSPs），其分子量約為15-27 kDa，在動物體內含量較少，但在植物體內含量很多而且種類複雜，可視為植物中所特有的一群熱休克蛋白質（Linguist and Craig, 1988; Vierling, 1991）。

小分子量熱休克蛋白質（sHSPs）是所有熱休克蛋白質中保留性最低的一群，其分子量大小及胺基酸組成的差異很大（Linguist and Craig, 1988; Vierling, 1991; Waters et al., 1996），但它們在蛋白質結構上仍保有許多共同特點（Waters et al., 1996）：(1) 具有相似的hydropathy profile；(2) C端有較高的序列保留性，而N端的序列相似性較低；(3) C端有一保留性高之熱休克區域（'heat shock' domain）內含二個厭水小區（consensus I and II），二小區之間由長度不等之親水性序列串聯；另外，小分子量熱休克蛋白質在受熱誘導後可迅速大量合成，其累積量可達葉部或根部總蛋白質的1%以上（DeRocher et al., 1991; Hsieh et al., 1992）。根據這群蛋白質的胺基酸序列的相似度及其在細胞內的分布情形，可將其分為六個族（class）：第一族及第二族小分子量熱休克蛋白質都存在細胞質中；第三族小分子量熱休克蛋白質存在葉綠體內；第四族小分子量熱休克蛋白質存在內質網上；第五族小分子量熱

休克蛋白質位於內質網以外的內膜系統中；第六族小分子量熱休克蛋白質則存在粒線體內 (LaFayette et al., 1996; Waters et al., 1996)。已知在基因庫中至少有超過45個完整的植物小分子量熱休克蛋白質基因序列被發表，其中包括許多被子植物及一種裸子植物的基因 (Waters et al., 1996)；此外，同一種植物可能含有數十個不同的小分子量熱休克蛋白質 (Mansfield and Key, 1988)，但其序列的高度保留性顯示小分子量熱休克蛋白質對植物耐熱性的獲得非常重要。

### 植物熱休克蛋白質的功能與「交叉抗性」(cross tolerance)

一般認為，熱休克蛋白質的產生和細胞在高溫下耐熱性的獲得有很大的關聯，可保護細胞免受高溫的影響 (Craig et al., 1993; Gurley and Key, 1991; Hendrick and Hartl, 1993; Kimura et al., 1995; Lin et al., 1984; Parsell et al., 1995; Parsell and Linquist, 1993; Riabowol et al., 1988; Waters et al., 1996; Yeh et al., 1995; 1997)。

關於熱休克蛋白質在高溫逆境下保護細胞的機制，推測可能為：由於熱逆境傷害細胞內的蛋白質，一方面已存在於細胞內的蛋白質因高溫作用而變性，另一方面轉譯作用無法正常進行而造成許多不正常蛋白質的形成，而具備分子伴護 (molecular chaperone) 功能的熱休克蛋白質能結合這些累積在細胞內的不正常蛋白質，一方面防止其凝集以免造成更嚴重的危害，或者保護這些蛋白質，使其能在高溫逆境解除後可以回復正常的功能；另一方面，熱休克蛋白質可能保護正在進行轉譯的蛋白質，使其能正常合成，或協助新合成的蛋白質轉運到適當的胞器 (Chang and Lin, 2000; Welch, 1993)。

另外，不同的熱休克蛋白質也常受不同的生物性因子 (張喜民, 2003) 及非生物性因子 (包括：酒精、重金屬、乾旱、鹽害、缺氧、胺基酸類似物、磷酸鹽等) 或植物生長調節劑所調控 (Chang and Lin,

2000; Czarnecka et al., 1984) , 也為植物耐受不同逆境所必需 (Sanchez et al., 1992) , 熱休克反應更有「交叉抗性」之現象 (Nover et al., 1989) 。事實上, 許多研究證據顯示, 此種非生物逆境所引起的生物對其他逆境的「交叉抗性」確實存在, 例如: 經由砷酸鹽處理, 並使大豆幼苗累積熱休克蛋白質, 可增加其耐受致死高溫的能力 (Lin et al., 1984) ; 利用熱休克處理大豆幼苗也可增加其在酒精逆境下的忍受性 (郭惠芬, 1996) ; 此外, 利用高溫處理採收後的番茄果實, 並誘導其小分子量熱休克蛋白質累積, 可使這些番茄較耐低溫儲藏 (Sabehat et al., 1996) ; 而將不耐低溫的綠豆幼苗先以短暫高溫處理誘導其熱休克蛋白質合成, 則可增加幼苗之低溫耐性 (黃斌, 1997) 。

一般而言, 單子葉植物含有較少種類的小分子量熱休克蛋白質, 而雙子葉植物的小分子量熱休克蛋白質較為繁多複雜 (Mansfield and Key, 1987) 。水稻為台灣最重要的糧食作物, 且其基因組的研究也非常詳盡, 台灣夏季田間溫度很高, 若能將其低分子量熱休克蛋白質及其耐熱性的獲得詳細研究, 對水稻的耐熱性必定有很大的助益。目前台灣大學植物學系林秋榮院士研究室已針對水稻第一族低分子量熱休克蛋白質及其基因的結構、功能做了一系列的研究 (Chang and Lin, 2000; Chang et al., 2001; Lin et al., 1997; Guan et al., 1998) , 然而本研究室也已篩選到同樣位於細胞質內的水稻第二族低分子量熱休克蛋白質基因。有趣的是, 不同的水稻第一族低分子量熱休克蛋白質基因, 在不同非生物性逆境下之表現不盡相同 (林婉琦, 1998; 張喜民, 2003) , 而細胞質中存在二類不同的小分子量熱休克蛋白質, 是否意味各基因間分別具有特定的功能, 而其對熱保護或其他「交叉抗性」之作用機制是否不同, 值得作進一步的探討。

## 熱休克蛋白質與植物保護

許多植物病原細菌之致病性 (virulence) 和溫度有關，例如 *Agrobacterium tumefaciens* 引起腫瘤之最適溫度為 22°C，而在 32°C 以上則無法引起病徵 (Braun, 1947; Ricker, 1926)。其原因主要和活化 *vir* 基因及 T-DNA 轉移之 *virA* 基因及 *virB10* 蛋白質之合成不正常有關 (Banta et al., 1998; Jin et al., 1993)，而此高溫也是誘導熱休克蛋白質合成所必須 (Mantis and Winans, 1992)，上述結果顯示熱休克反應所引起之細胞活性變化可能和病原菌之致病性有關。另外，熱休克反應和其他逆境反應也有所謂「交叉抗性」的現象，例如：熱休克反應保護發芽中的 *Neurospora crassa* 分生孢子 (conidiospores) 免於凍傷 (Guy et al., 1986)。許多報導也顯示：熱休克反應對植物病原菌之感染及增殖有促進或抑制的作用 (Nover et al., 1989)。

組織受傷 (wounding) 和病原菌侵入 (penetration) 寄主及感染組織之過敏性反應 (hypersensitive responses, HR) 有關 (Bell, 1981; Ebel and Grisebach, 1988; Esquerré- Tugayé et al., 1985; Lamb et al., 1989; Ryan et al., 1987; 1988; Scheel and Hahlbrock, 1989)。組織受傷可誘導「病程相關蛋白質」 (Pathogenesis-related proteins, PR proteins) 之合成。PR proteins 最初分成 PR-1、PR-2 ( $\beta$ -1,3-glucanases)、PR-3 (chitinases)、PR-4 (小於 15 kDa 的蛋白質) 以及 PR-5 (thaumatin-like proteins)，為菸草嵌紋病毒 (Tobacco Mosaic Virus, TMV) 感染抗病毒的菸草植株時，因過敏性反應而於抗病菸草葉片中大量累積的一群蛋白質，目前有更多其他種類的植物蛋白質，如：蛋白質酵素抑制物 (protease inhibitors)，thionins 及 plant defensins 等也都被歸納為 PR protein 的一群 (van Loon and van Strien, 1999)。PR proteins 的累積常和 HR 相伴隨，且許多轉入 PR proteins 之轉基因植物具有抗病性，因此咸認 PR proteins 為植物抗病之一種指標 (van Loon et al., 1994)。而 PR proteins 也可受其他病原 (包括：真菌、細菌、病毒)，植物生長調

節物質，及其他非生物因子 (abiotic elicitors) 所誘導 (Chang et al., 1995; 1997; Jamet and Fritig, 1986; La Rosa et al., 1992; Traylor et al., 1987; van Loon, 1983; Vera et al., 1988; Vögeli-Lange et al., 1988; Xu et al., 1994)；而植物開花及老化時也會產生PR proteins (Nover et al., 1989及文中所列之參考文獻；La Rosa et al., 1992)。許多逆境相關基因都分別受到不同逆境因子及發育過程所調控 (Scheel and Hahlbrock, 1989; Lamb et al., 1989)，這些基因可能具有多功能之啟動子 (multifunctional promoters)，且可能為多基因群 (multigene family)，但其基因表現各受不同的因子調控 (Cornelissen et al., 1986; 1987)。而不同PR proteins的promoters上常帶有和熱休克基因受熱誘導所需之啟動子上的熱休克元素 (HS elements) 相似的重覆序列GAAnnTTC (Nover et al., 1989及文中所列之參考文獻)，且此序列在TATA box之上游 (upstream) 處 (Cornelissen et al., 1987; Pfitzner et al., 1988; Somssich et al., 1988)，這也意味著PR基因和熱休克基因之調控機制可能相同。

近幾年來，新的研究結果也顯示植物熱休克蛋白質基因在植物遭受病原攻擊時可被誘導，熱休克蛋白質可能也參與在植物的抗病反應中。例如：大豆被包囊線蟲 (*Heterodera glycines* Ichinohe) 感染時，HSP70 (一種分子量為70 kDa的熱休克蛋白質) 基因被大量誘導 (Vaghchhipawala et al., 2001)；而參與植物抗病反應之訊號傳遞 (signal transduction) 因子—水楊酸 (salicylic acid, SA) 及茉莉香酸 (jasmonic acid, JA)，其甲基化物 (methyl salicylate, MeSA; methyl jasmonate, MeJA) 也可在番茄果實中誘導小分子量熱休克基因之表現 (Ding et al., 2001)；而SA也可誘導番茄懸浮培養細胞中HSP70/HSC70之基因表現 (Cronje and Bornman, 1999)。甚至植物的抗病基因產物 (如：阿拉伯芥的PRS2) 也和HSP90等高分子量熱休克蛋白質有交互作用 (Takahashi et al., 2003)，而細胞質內的HSP70及HSP90也參與在由INF1所調節之非寄主抗性 (non-host resistance) 與過



敏性反應 (hypersensitive response, HR) 中，且為其必要元素 (Kanzaki et al., 2003)，這些結果在在顯示植物熱休克蛋白質可能參與植物之抗病反應。事實上，在動物系統中，已有多篇報導顯示熱休克蛋白質和發炎反應 (inflammatory reactions) 有關，目前醫藥界更因此研究以熱休克蛋白質作為藥物標靶 (drug target) 之可能，以改善目前許多抗癌藥物或其他非選擇性細胞毒殺藥物對正常細胞的毒害，期能減少上述藥物對人體之副作用，達到治療疾病之效果 (Welch, 1993)。

此外，在植物病原方面，許多證據顯示熱休克和 pathogen stress 間可能相互有關，例如：高溫可使病毒不能增殖，因其抑制病毒 RNA 和蛋白質的合成 (Dawson, 1976; 1983)；短暫熱休克處理 (50°C, 40 秒) 胡瓜幼苗可增加其對 *Cladosporium cucumerinum* 及 *Colletotrichum lagenarium* 之抗性 (Stermer and Hammerschmidt, 1984; 1985; 1987)；熱休克也抑制由 *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* 引起之疾病反應 (Daniels et al., 1987; Hadwiger and Wagoner, 1983)；而短暫的熱休克處理可促進銹病菌 *Puccinia graminis* 及 *P. coronata* 之 uredospore 發芽分化形成附著器 (appressorium) 及 (infection hyphae) 感染菌絲而加速感染 (Dunkle et al., 1969; Mendgen and Dressler, 1983; Staples et al., 1983; Wanner et al., 1985)。最近，Byth 等人 (2001) 之研究結果更顯示青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) 感染番茄時，其 Hsp70/Hsc70 的累積與病原菌之毒力呈正相關。

水稻 (*Oryza sativa*) 是目前全世界栽培面積最廣也是台灣最重要的糧食作物，因為高溫多濕是其最適合的栽培環境，而此環境因子也最適合病原菌的發生，其中紋枯病則是水稻栽植之最嚴重的病害之一，影響水稻產量甚鉅。本研究室目前正利用北方雜合分析法及「反轉錄-聚合酵素鏈反應」(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 作為基因表現的定量方法來研究水稻在組織切傷，水楊酸處理及接種水稻立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani* R96) 及其他水稻病原菌

後，其sHSPs的表現情形，並以PR基因之表現作為水稻抗病之參考指標，以期闡明sHSPs與組織受傷、病原感染、及elicitors等生物性逆境因子間之交互作用及「交叉抗性」的關係。

### 參考文獻

1. 林婉琦（1998）高溫下水稻16.9kDa熱休克蛋白質基因表現的調控及其mRNA的穩定性。國立台灣大學植物學研究所博士論文。
2. 柯勇（1998）非傳染性病害。作物病害與防治。藝軒圖書出版社，台北，台灣，第152-190頁。
3. 范美玲（1995）切葉植物採後保鮮。花蓮區農業專訊14:9-11。
4. 范美玲（1997）如何幫助觀葉植物過冬。花蓮區農業專訊22:14-16。
5. 孫守恭（2004）非寄生性病害。植物病理學通論，再版。藝軒圖書出版社，台北，台灣，第43-53頁。
6. 張喜民（2003）生物及非生物逆境對水稻第一族低分子量熱休克基因及病程相關基因的誘導。國立中興大學植物病理學系碩士論文。
7. 張碧芳（2001）水稻第二族低分子量熱休克蛋白質基因之選殖，定序，及其表現之研究（三）。行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告（計畫編號：NSC89-2313-B-005-159）。
8. 動植物防疫檢疫局（2001a）植物保護圖鑑系列5-百合保護。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局，台北，台灣，第100-102頁。
9. 動植物防疫檢疫局（2001b）植物保護圖鑑系列6-洋蘭保護。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局，台北，台灣，第104-114頁。
10. 動植物防疫檢疫局（2003a）植物保護圖鑑系列9-柑橘保護。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局，台北，台灣，第306-308頁。

11. 動植物防疫檢疫局 (2003b) 植物保護圖鑑系列10-檬果保護。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局，台北，台灣，第116-117頁。
12. 動植物防疫檢疫局 (2003c) 植物保護圖鑑系列11-葡萄保護。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局，台北，台灣，第165-171頁。
13. 郭惠芬 (1995) 酒精逆境對大豆幼苗的影響及胺基酸類似物誘導大豆第一族低分子量熱休克蛋白質生合成之定量分析。國立台灣大學植物學研究所碩士論文。
14. 曾喜一 (1989) 食用番茄生理病害之預防。花蓮區農業推廣簡訊 6(2):4-5。
15. 黃振文 (1991) 環境因子引起的作物病害。作物病害與防治。行政院青年輔導委員會，台北，台灣，第25-30頁。
16. 黃斌 (1996) 綠豆第一族低分子量熱休克蛋白質與低溫耐性之探討。國立台灣大學植物學研究所碩士論文。
17. 戴振洋 (2000) 蔬菜防寒及寒害後復育措施。台中區農情月刊 15(12):3。
18. Agrios GN (1997) Environmental factors that cause plant Disease. In: Plant Pathology, 4th ed., Academic Press., San Diego, CA. pp. 225-243.
19. Atkinson BG, Raizada M, Bouchard RA, Frappier JRH, Walden DB (1993) The independent stage-specific expression of the 18 kDa heat shock protein genes during microsporogenesis in *Zea mays* L. Developmental Genetics 14: 15-26.
20. Banta LM, Bohne J, Lovejoy SD and Dostal K (1998) Stability of the *Agrobacterium tumefaciens* VirB10 protein is modulated by growth temperature and periplasmic osmadaptation. J. Bacteriol. 180:6597-6606.
21. Bartling D, Bulter H, Liebeton K, Weiler EW (1992) An *Arabidopsis thaliana* cDNA clone encoding a 17.6 kDa class II heat shock protein. Plant Mol Biol 18: 1007-1008.

22. Bell AA (1981) Biochemical mechanisms of disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32:21-81.
23. Braun AC (1947) Thermal studies on the factors responsible for tumor initiation in crown gall. *Am. J. Bot.* 34:234-240.
24. Byth HA, Kuun KG, Bornman L (2001) Virulence-dependent induction of Hsp70/Hsc70 in tomato by *Rhizoctonia solanacearum*. *Plant Physiol. Biochem.* 39:697-705.
25. Chang P-FL, Cheah KT, Narasimhan ML, Hasegawa PM and Bressan RA (1995) Osmotin gene expression is controlled by elicitor synergism. *Physiol. Plant.* 95:620-626.
26. Chang P-FL, Damsz B, Kononowicz AK, Reuveni M, Chen Z, Xu Y, Hedges K, Tseng CC, Singh NK, Binzel ML, Narasimhan ML, Hasegawa PM, Bressan RA (1996) Alterations in cell membrane structure and expression of a membrane-associated protein after adaptation to osmotic stress. *Physiologia Plantarum* 98:505-516.
27. Chang PFL, Huang CY, Chang FC, Lin WC, Tseng TS and Lin CY (2001) Isolation and characterization of the third gene encoding a 16.9 kDa class I low-molecular-mass heat shock protein, *Oshsp16.9C*, in rice. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 42: 85-92.
28. Chang P-FL, Lin CY (2000) The discovery of the heat shock response in plants. In: *Discoveries in Plant Biology Vol. 3*, SD Kung and SF Yang eds. World Scientific Co Pte Ltd, Singapore. pp. 347-370.
29. Chang P-FL, Narasimhan ML, Hasegawa PM, Bressan RA (1993) Quantitative mRNA-PCR for expression analysis of low-abundance transcripts. *Plant Mol Biol Repter* 11: 237-248.
30. Chang P-FL, Xu Y, Narasimhan ML, Cheah KT, Paino D'Urzo M, Damsz B, Kononowicz AK, Abad L, Hasegawa PM and Bressan RA (1997) Induction of pathogen resistance and pathogenesis-related genes

- in tobacco by a heat-stable *Trichoderma* mycelial extract and plant signal messengers. *Physiol. Plant.* 100:341-352.
31. Coca MA, Almoguera C, Jordano J (1994) Expression of sunflower low-molecular-weight heat-shock proteins during embryogenesis and persistence after germination : Localization and possible functional implications. *Plant Mol Biol* 25:479-492.
  32. Cornelissen BJC, Hooft van Hujscluijnen RAM, Bol JF (1986) A tobacco mosaic virus-induced tobacco protein is homologous to the sweet-tasting protein thaumatin. *Nature* 321:531-532.
  33. Cornelissen BJC, Horowitz J, Kan van JAL, Goldberg RB, Bol JF (1987) Structure of tobacco genes encoding pathogenesis-related proteins from the PR1 group. *Nucl. Acids Res.*15:6799-6811.
  34. Craig EA, Gambill BD, Nelson RJ (1993) Heat shock proteins : Molecular chaperones of protein biogenesis. *Micro Reviews* 57:402-414.
  35. Cronjé MJ, Bornman L (1999) Salicylic acid influences Hsp70/Hsc70 expression in *Lycopersicon esculentum*: dose- and time-dependent induction or potentiation. *Bioch. Bioph. Res. Commun.*265:422-427.
  36. Daniels CH, Hadwiger LA, Cody YS, Kendra DF (1987) Disease resistance response genes:Induction in peas by fungal and bacterial wall components and blockage by heat shock. In: *Plant Gene Systems and Their Biology*. Alan R. Liss Inc., New York,pp.161-170.
  37. DeRocher AE, Helm KW, Lauzon LM, Vierling E (1991) Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular mass heat shock protein during heat stress and recovery. *Plant Physiol* 96:1038-1047.
  38. Dietrich PS, Bouchard RA, Casey ES, Sinibaldi RM (1991) Isolation and characterization of a small heat shock protein gene from maize. *Plant Physiol* 96:1268-1276.
  39. Dunkle LD, Matheshwari R, Allen PJ (1969) Infection structure from

- rust urediospores: Effect of RNA and protein synthesis inhibitors. *Science* 163:481-482.
40. Ebel J, Grisebach H (1988) Defense strategies of soybean the fungus *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*: A molecular analysis. *Trends Biochem. Sci.* 13:23-27.
  41. Esquerre-Tugaye MT , Mazau D, Pelissier B, Roby D, Rumeau D, Toppan A (1985) Induction by elicitors and ethylene of proteins associated to the defense of plants. In:Key and Kosuge(eds.),1985, pp.459-466.
  42. Guan JC, Chang FC, Tseng TS, Chang PFL, Yeh KW, Chen YM and Lin CY (1998) Structure of rice genes encoding three class-I low-molecular-mass heat-shock proteins (accession nos. U83669, U83670, U83671) (PGR 98-178). *Plant Physiol* 118:1101.
  43. Gurley WB, Key JL (1991) Transcriptional regulation of the heat-shock response : A plant perspective. *Biochemistry* 30:1-12.
  44. Guy CL, Plesofsky-Vig N, Brambl R (1986) Heat shock protects germinating conidiospores of *Neurospora crassa* against freezing injury. *J.Bacteriol.*167:124-129.
  45. Hopkins WG. (1995) Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 464.
  46. Hadwiger LA, Wagoner W (1983) Effect of heat shock on the mRNA-directed disease resistance response of peas. *Plant Physiol.* 72:553-556.
  47. Hendrick JP, Hartl FU (1993) Molecular chaperone function of heat shock proteins. *Annu Rev Biochem* 62:349-384.
  48. Hsieh MH, Chen JT, Jinn TL, Chen YM, Lin CY (1992) A class of soybean low molecular weight heat shock proteins : Immunological study and quantitation. *Plant Physiol* 99:1279-1284.
  49. Janick J (1986) Horticultural Science, 4th ed. WH Freeman & Co., San

Francisco, CA

50. Jamet E, Fritig B (1986) Purification and characterization of 8 of the pathogenesis-related proteins in tobacco leaves reacting hypersensitively to tobacco mosaic virus. *Plant Mol. Biol.* 6:69-80.
51. Jin S, Song YN, Deng WY, Gordon MP and Nester EW (1993) The regulator VirA protein of *Agrobacterium tumefaciens* does not function at elevated temperatures. *J. Bacteriol.* 175:6830-6835.
52. Jinn TL, Chang P-FL, Chen YM, Key JL, Lin CY (1997) Tissue-type-specific heat-shock response and immunolocalization of class I low-molecular-weight heat-shock protein in soybean. *Plant Physiol* 114:429-438.
53. Jinn TL, Chen YM, Lin CY (1995) Characterization and physiological function of class I low-molecular-mass heat-shock protein complex in soybean. *Plant Physiol* 108:693-701.
54. Jinn TL, Wu SH, Yeh CH, Hsieh MH, Yeh YC, Chen YM, Lin CY (1993) Immunological kinship of class I low molecular weight heat shock proteins and thermostabilization of soluble proteins *in vitro* among plants. *Plant Cell Physiol* 34:1055-1062.
55. Jinn TL, Yeh YC, Chen YM, Lin CY (1989) Stabilization of soluble proteins *in vitro* by heat shock protein-enriched ammonium sulfate fraction from soybean seedlings. *Plant Cell Physiol* 30:463-469.
56. Kanzaki H, Saitoh H, Ito A, Fujisawa S, Kamoun S, Katou S, Yoshioka H, Terauchi R (2003) Cytosolic HSP90 and HSP70 are essential components of INF1-mediated hypersensitive response and non-host resistance to *Pseudomonas cichorii* in *Nicotiana benthamiana*. *Mol. Plant Pathol.* 4(5):383-391.
57. Key JL, Kosuge T (eds.) (1985) *Cellular and Molecular Biology of Plant Stress*. Alan R. Liss, Inc., New York.

58. Kimura Y, Yahara I, Linnquist S (1995) Role of the protein chaperone YDJ1 in establishing HSP90-mediated signal transduction pathway. *Science* 268:1362-1365.
59. Krishna P, Felsheim RF, Larkin JC, Das A (1992) Structure and light-Induced expression of a small heat-shock protein gene of *Pharbitis nil*. *Plant Physiol* 100:1772-1779.
60. LaFayette PR, Nagao RT, O'Grady K, Vierling E, Key JL (1996) Molecular characterization of cDNAs encoding low-molecular-weight heat shock proteins of soybean organelles. *Plant Mol Biol* 30:159-169.
61. Lamb CJ, Lawton MA, Dron M, Dixon RA (1989) Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. *Cell* 56:215-224.
62. LaRosa PC, Chen Z, Nelson DE, Singh NK, Hasegawa PM and Bressan RA (1992) Osmotin gene expression is posttranscriptionally regulated. *Plant Physiol.* 100:409-415.
63. Lauzon LM, Helm KW, Vierling E (1990) A cDNA clone from *Pisum sativum* encoding a low molecular weight heat shock protein. *Nucl Acids Res* 18:4274.
64. Lee YL, Chang P-FL, Yeh KW, Jinn TL, Kung C-CS, Lin WC, Chen YM, Lin CY (1995) Cloning and characterization of a cDNA encoding an 18.0-kDa class I low-molecular-weight heat shock protein from rice. *Gene* 165:223-22.
65. Lin CY, Roberts JK, Key JL (1984) Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings : Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization. *Plant Physiol* 74:152-160.
66. Lin CY, Yeh CH, Tzeng SS, Tseng TS, Chang FC, Lee YL, Jinn TL and Chang P-FL (1997) Class I low-molecular-weight heat-shock proteins in *Oryza sativa*. In: Proceedings of Fifth International



- Symposium on Rice Molecular Biology. Yi-HSien Publ. Co., Ltd., Taipei, Taiwan, pp 41-52.
67. Linnquist S, Craig EA (1988) The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 22:631-677.
  68. Malmberg R, Messing J and Sussex, I.: *Molecular Biology of Plants: a Laboratory Course Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1985.
  69. Mansfield MA, Key JL (1988) Cytoplasmic distribution of heat shock proteins in soybean. *Plant Physiol* 86:1240-1246.
  70. Mantis NJ and Winans SC (1992) Characterization of the *Agrobacterium tumefaciens* heat shock response: Evidence for a  $\sigma^{32}$ -like sigma factor. *J. Bacteriol.*174:991-997.
  71. Mendgen K, Dressler E (1983) Culturing *Puccinia coronata* on a cell monolayer of the *Avena* coleoptile. *Phytopathol. Z.* 108:226-234.
  72. Nover L, Neumann D, Scharf K-D (eds.) (1989) *Heat Shock and Other Stress Response Systems of Plants*. Springer-Verlog, New York.
  73. Parsell DA, Kowal AS, Singer MA, Linnquist S (1995) Protein disaggregation mediated by heat-shock protein HSP104. *Nature* 372:475-478.
  74. Parsell DA, Linnquist S (1993) The function of heat-Shock proteins in stress tolerance : Degradation and reactivation of damaged proteins. *Annu Rev Genet* 27:437-496.
  75. Pfitzner UM, Fitzner AJP, Goodman HM (1988) DNA sequence analysis of a PR-1a gene from tobacco: molecular relationship of heat shock and pathogen responses in plants. *Mol.Gen.Genet.*211:290-295.
  76. Raschke E, Baumann G, Schoffl F (1988) Nucleotide sequence analysis of soybean small heat shock protein genes belonging to two different multigene families. *J Mol Biol* 199:549-557.

77. Riabowol KT, Mizzen LA, Welch WJ (1988) Heat shock is lethal to fibro-blasts microinjected with antibody against hsp70. *Science* 242:433-436.
78. Riker AJ (1926) Studies on the influence of some environmental factors on the development of crown gall. *J Agric Res* 32:83-96.
79. Rittossa (1962) A new puffing pattern induced by temperature shock and DEP in *Drosophila*. *Experientia* 18:571-573.
80. Ryan CA (1987) Oligosaccharide signalling in plants. *Annu. Rev. Cell Biol.* 3:295-317.
81. Ryan CA (1988) Oligosaccharide as recognition signals for the expression of defensive gene in plant. *Biochemistry* 27:8879-8883.
82. Salisbury FB, Ross CW (1992) *Plant Physiology*, 4th ed. Wadsworth, Inc., Belmont, CA.
83. Sabehat A, Weiss D, Lurie S (1996) The correlation between heat shock protein accumulation and persistence and chilling tolerance in tomato fruit. *Plant Physiol.* 110, 531-537.
84. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
85. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:5463-5467.
86. Scheel D, Hahlbrock K (1989) Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism, *Annu Rev Plant Physiol* 40:347-369.
87. Smith DB, Davern KM, Board PG, Tiu WU, Garcia EC, Mitchell GF (1986) Mr 26,000 antigen of *Schistosoma japonicum* recognized by resistant WEHI 129/J mice is a parasite glutathione-S-transferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:8703-8707.
88. Somssich IE, Schmelzer E, Kawalleck P, Hahlbrock K (1988) Gene

- structure and *in situ* transcript localization of pathogenesis-related protein 1 in parsley. *Mol. Gen. Genet.* 213:93-98.
89. Staples RC, Grambow H J, Hoch HC (1983) Contact with membrane grooves induces wheat stem rust uredospore germings to differentiate appressoria but not vesicles. *Phytopathology* 73:1436-1439.
  90. Takahashi A, Casais C, Ichimura K, Shirasu K (2003) HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(20):11777-82.
  91. Tissieres A, Mitchell HK, Tracy UM (1974) Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster* relation to chromosome puffs. *J Mol Biol* 84:389-398.
  92. Traylor EA, Shore SH, Ransom RF, Dunkle LD (1987) Pathotoxin effects in sorghum are also produced by mercuric chloride treatment. *Plant Physiol.* 84:975-978.
  93. van Loon LC (1983) Mechanisms of resistance in virus-infected plants. In: J. A. Bailey and B. J. Deverall (eds.), *The Dynamic of Host Defense*. Acad. Press, Sydney, pp.123-190.
  94. van Loon LC, Pierpoint WS, Boller TO, Conejero V (1994) Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Mol. Biol. Rep.* 12:245-264.
  95. van Loon, L. C. and van Strien, E. A. (1999) The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55:85-97.
  96. Vera P, Yago JH, Conejero V (1988) Immunocytochemical localization of the major "pathogenesis-related"(PR) protein of tomato plants. *Plant Sci.* 55:223-230.
  97. Vierling E (1991) The roles of heat shock proteins in plants. *Annu Rev Plant Pyhsiol Plant Mol Biol* 42:579-620.

98. Voegeli-Lange R, Hansen-Gehri A, Boller T, Meins F (1988) Induction of the defense-related glucanohydrolases, beta-1,3-glucanase and chitinase, by tobacco mosaic virus infection of tobacco leaves. *Plant Sci.* 54:171-176.
99. Wanner R, Foerster H, Mendgen K, Staples RC (1985) Synthesis of differentiation-specific proteins in germlings of the wheat stem rust fungus after heat shock. *Exp. Mycol.* 9:279-283.
100. Waters ER, Lee GJ, Vierling E (1996) Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants. *J Exp Bot* 47:325-338.
101. Weng J, Wang Z-F, Nguyen HT (1991) A *Triticum aestivum* cDNA clone encoding a low-molecular-weight heat shock protein. *Plant Mol Biol* 17: 273-275.
102. Welch WJ (1993) How cells respond to stress. *Scientific American* 268:34-41.
103. Xu Y, Chang P-FL, Liu D, Narasimhan ML, Raghothama KG, Hasegawa PM and Bressan RA (1994) Plant defense genes are synergistically induced by ethylene and methyl jasmonate. *Plant Cell* 6:1077-1085.
104. Yeh CH, Chang P-FL, Yeh KW, Lin WC, Chen YM, Lin CY (1997) Expression of a gene encoding a 16.9 kDa heat-shock protein, Oshsp16.9, in *Escherichia coli* enhances thermotolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:10967-10972.
105. Yeh CH, Yeh KW, Wu SH, Chang P-FL, Chen YM, Lin CY (1995) A recombinant rice 16.9 kDa low molecular weight heat shock protein can provide thermoprotection *in vitro* . *Plant Cell Physiol* 36:1341-1348.

## 參考網站

三農在線 (2004) 蔬菜生理病害。

<http://www.farmer.com.cn/nz/ny/200406170011.htm>

中國星火計畫北京網 (2004) 瓜果--番茄果實的生理病害及預防措施。

<http://www.bjsp.org.cn/jscg/gg/fqgs.htm>

中國環境生態網 (2004) 溫度的生態作用與生物的適應。

<http://www.eedu.org.cn/Article/ecology/ecologyth/living/200404/620.html>

四川農經網 (2003) 日光溫室番茄果實的生理病害及防治方法。

<http://www.scnjw.gov.cn/tfgd/scgd/dy/zhongc/ReadNews.asp?NewsID=522>

浙江農村科技信息網 (2004) 切花病害的起因及識別。

[http://www.zjsp.net/zjsp/webfun/f4/f4\\_prdt\\_detail.jsp?cid=6&sid=19514](http://www.zjsp.net/zjsp/webfun/f4/f4_prdt_detail.jsp?cid=6&sid=19514)

新華網福建頻道 (2004) 天南星科盆栽觀葉植物栽培指導。

[http://www.fj.xinhuanet.com/fjhh/2004-06/07/content\\_2267814.htm](http://www.fj.xinhuanet.com/fjhh/2004-06/07/content_2267814.htm)

葡萄專家諮詢系統 (2004) 主要生理病害。中國星火計畫四川網。

<http://www.scsp.org.cn/zxxt2/grape/webs/tm/tm0003.htm>



圖一、甘蔗寒害（黃振文提供）。



圖二、海棠凍害（黃振文提供）。



圖三、百合日燒（謝廷芳提供）。



圖四、百合花苞因高溫引起之消蕾（謝廷芳提供）。