中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）43(3)：302～307（1994）

山葵種原鑑定與農藝特性觀察[1]

胡敏夫[2]　賴永昌[3]　劉新裕[2]

摘要：本年度新蒐集二品系，與原來蒐集保存的共計5品種（系）。經種植觀察，發現從日本引進之79-I-1（信玄）品系與新選79-S-1 品系之地上部產量較高；單株平均根莖重量則以70-I-1 及本地種較高，但品種間各主要農藝性狀之比較，經變方分析之差異均不顯著。種原之鑑定結果如下，利用可溶性蛋白質之電泳分析結果，僅發現79-S-1 及本地種條帶不同，其他品種間難以分辨。利用過氧化酶鑑定時，則五個品種系間之條帶圖譜均有明顯差異存在。

關鍵詞：山葵、過氧化酶。

山葵（*Wasabia japonica* Matsum）爲十字花科之多年生草本植物，喜陰濕環境，生育適溫爲8～18°C，通常被栽培於高冷地之杉木下。全株均具有獨特風味，以香、辛、甘及黏等四種特性傲居所有香辛作物之上，非爲人工替代物所能比擬。含芥子油類與糖類結合成配糖體，各種酵素及維生素等，有促進食慾、防腐及抗菌特性，並有解毒、發汗、利尿及清血等功用，常作爲吃生魚片及甜不辣之佐料[1,8,9]，每年內外銷數量達60萬公斤以上[3]，爲高經濟外銷作物之一，因之，被列爲發展之重點作物。

本省山葵栽培歷史，經查考始於民國3年，由日人佐藤昌氏宮城縣引進至阿里山栽培，至今已數十年，當年引進所謂青山品種經多年栽培，由於環境變異之影響，而導致退化使產量及品質低劣[7]。本所鑑於此，乃於民國70年起著手種原蒐集及引種。先後選育臺農1號[2]與70-I-1 兩品種系供農民栽培，目前已大部份取代原品種。然爲提高本省山葵品質及產量，有必要蒐集大量種原供作育種材料，繼續選育優良品種，以適合中低海拔地區栽培。

材料與方法

本試驗所採用之山葵品種爲臺農1號、70-I-1（眞妻）、79-S-1、79-I-1（信玄）及本地種等五品種（系）爲試驗材料，79年11月2日種植於海拔1,300m 之達邦原住民保留地，試驗採 RCBD 設計，試區 4m²，行株距各30cm，3重複，種植後10～12個月期間取樣供種原鑑定。品種鑑定方法，以取剛展開生長之心葉，置於手提式冰箱內，於取樣後12小時內用膠體電泳進行分析[4,5,6,10]，以瞭解品種間之蛋白質與同功異構酶如過氧化酶之反應，所顯現條帶（band）之差異加以鑑定。植後18個月收穫調查品種（系）間之產量與農藝特性。調查項目分別爲株型、株高、全株重、地上部重、主根莖直徑、主根莖長及重量與葉形、葉色等。

---

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1731 號。
2. 本所農藝系助理研究員、研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。
3. 本所嘉義農業試驗分所助理。臺灣省　嘉義市。

一、樣品萃取：

㈠應用於可溶性蛋白質測定：

取 0.1g 山葵葉片置於含 0.05m M Tris-HCl、2 % SDS、0.6 %2-mercaptoethanol、4 M urea, pH=7.5，1.5ml 溶液之冰凍缽中研磨，研磨後再以15,000×g 離心20分鐘，上層液即可用於可溶性蛋白質之測定。

㈡應用於 peroxidase 活性測定：

取 0.1g 山葵葉片置於含 0.1 M acetate buffer pH=5，1.5ml 溶液之冰凍缽中研磨，研磨後再以15,000×g 離心20分鐘，上層液即可用於 peroxidase 測定。

二、電泳膠體之製備：

㈠Stock solution 之配製

1. A 液	Acrylamide	29.2 gm
	Bis	0.8 gm
	加水至100 ml	
2. B 液	Tris	90.8 gm
(Running	TEMED	1.8 ml
buffer)	Hcl (1M)	119.0 ml
	加水至500 ml	pH 8.8
3. C 液	Tris	6.0 gm
(Stacking	TEMED	0.4 ml
buffer)	先以40 ml 水溶解，再加 HCl (1M) 47 ml，將 pH 調至6.8後，加水至100 ml 量。	
4. D 液	Tris	30.3 gm
(Chamber	TEMED	142.6 gm
buffer)	加水至1,000 ml	pH 8.3；使用時以水稀釋 5 倍

5. APS 溶液 (ammonium persulfate，過硫酸銨 5 %)

50 mg 溶於 1 l 水中，使用前才配好，隔日不再用。

㈡膠凝體之配製

上層液 (Stacking buffer) 及下層液 (running buffer) 配製濃度分別爲 4 %及7.5%，其調配方式如下：

表 1. 蛋白質與過氧化酶膠體配製方式

Table 1. The preparation of protein and peroxidase gel used in this test

	Protein		Peroxidase	
	7.5%	4%	7.5%	4%
A solution	5.0	0.66	5.00	0.66
B solution	5.0	—	5.00	—
C solution	—	1.24	—	1.24
10% SDS	0.2	0.05	—	—
dist. H_2O	9.9	2.95	9.90	3.00
ABS solution	0.1	0.10	0.11	0.10

三、可溶性蛋白質與 Peroxidase 之電泳分析：

㈠可溶性蛋白質之電泳分析測定：

係以 Polyacrlamide 膠體電泳法分析，通電約 4 小時，前 1 小時電壓採80伏特，後 3 小時採160伏特，通電後，將膠體取出，浸於飽和之 amide black 溶液中，染色三十分鐘，而後取出以 7 %之醋酸溶液退染兩天，即可見到可溶性蛋白質之藍色帶。

amide black 飽和溶液之配法如下：

甲醇：醋酸：蒸餾水＝5：1：5，以此溶液將 amide black 溶至飽和。

㈡Peroxidase 之測定：

Peroxidase 測定，亦以 Polyacrylamide 膠體電泳法分析，通電時間爲 5 小時，前 1 小時電壓採80伏特，後 4 小時採160伏特，通電後，將膠體取出，浸於 O-Dianisidine 染色液中，染色四十分鐘，而後取出浸於蒸餾水中，即可見到 Peroxidase 之褐色帶。

染色液配法如下：

取 0.1g 之 O-Dianisidine 先溶於10ml 丙酮，再加入 4 滴 H_2O_2，最後加入醋酸緩衝溶液使成100ml 量，而醋酸緩衝溶液之配法爲：

CH_3COOH	1.05 gm
CH_3COOH Na	2.66 gm
用蒸餾水溶爲	1,000 ml 量。

結果與討論

一、品種（系）之特性觀察：

臺農 1 號，稍葉大略呈菱形，葉脈分明稍縐縮，全株淡綠色，生長快，分蘗力強，株型高大，適合高、中海拔地區栽培，對高溫較鈍感，根莖大小屬中型，多汁液及辛味強，葉柄稍具甜味，平均單株可收穫根莖數 3 條，葉柄基部低溫時會顯淺紫紅色。79-S-1 品系，農藝特性與臺農 1 號很相似，但葉柄基部帶紫紅色部份較深，尤於氣溫較低時，此色澤表現很明顯，因此在一般狀況下較難分辨。70-I-1 品系，係於民國70年由日本引進，原品種之地方名謂眞妻種，經本所多年馴化栽培選出。葉形呈心臟形，葉色濃綠，葉脈網路複雜縐縮，葉背經透光察看無白色光澤，株型較小，分蘗力較弱，葉柄呈淡紫紅色又粗硬，低溫時幼株之葉柄呈鮮明紫紅色，因之，一般農民稱爲紅梗種。可食用根莖數平均爲 1 條，根莖長且大，但汁液少又稍帶苦味，磨成山葵糊時顏色差，不如臺農 1 號鮮黃綠，爲本省目前主要鮮食根莖供售品種。

79-I-1 品系，於79年由日本引進，原名爲信玄，亦屬青莖品系，株型高大，全珠青綠，葉柄基部亦稍帶淡紫紅色，分蘗力強，葉面較光滑，根莖碩大，多汁液，梢部大形葉片呈橢圓形。至於本地種，其葉形呈心臟形，葉脈網路複雜且縐縮，與紅梗種不同點，則葉色較淡綠，葉背經透光察看有淺白蠟質光澤，葉柄基部亦帶淺紫紅色，分蘗力強，可收穫之根莖數爲 2 ～ 3 條，根莖大小同臺農 1 號，亦多汁液。

二、可溶性蛋白質與 Peroxidase 之電泳測定：

可溶性蛋白質之測定，由 Polyacrylamide 膠體電泳法分析，得到各品種對蛋白質之電泳圖譜發現，79-S-1 及本地種之條帶（band）稍有不同於其他品種外，其餘品種間並無明顯差異（未附）。但用 Peroxidase 測定結果，由圖 1 可知70-I-1 顯示 a、b、c、d、f、e、h、j、i 等 9 條完整條帶，其中除 e 條帶濃度較淡外，其餘條帶濃度皆極濃。臺農 1 號則缺少 a、g、i 條帶，且 e 條帶濃度較淡。79-S-1 則缺少 a、e、f、g、i 條帶，且 b、c、d 條帶濃度較淡。79-I-1 則缺少 g 條帶，本地種則缺 f、i 條帶，可知此 5 品種（系）確實屬以不同種原，可充作育種材料。

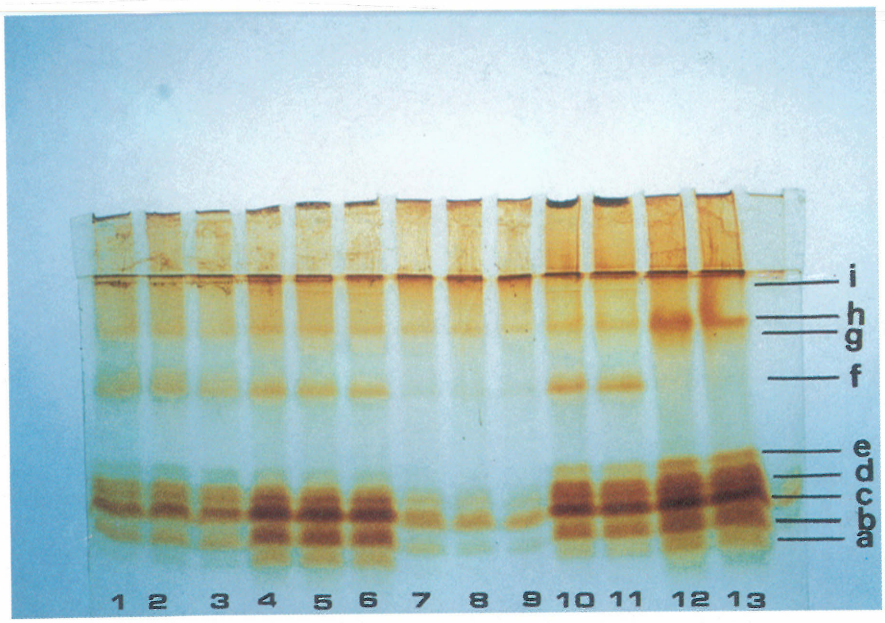
三、山葵品種（系）間收穫時之主要性狀表現：

山葵種植18個月後，收穫並調查地上及地下部之主要農藝性狀（表2），發現79-I-1（信玄）與79-S-1 皆得到較高地上部重，而70-I-1(眞妻)及本地種之根莖重則稍高，平均單株根莖重各達67g與65g，故此兩品種（系）皆得到較高之收穫指數，但觀察本地種之根莖，黑心病似發生較嚴重。另比較主根莖之長度及直徑發現，70-I-1 之根莖根長度爲10.21cm，根莖直後爲2.25cm，即均較其他品種（系）長又大，故其平均單株根莖重量因而比其他品種（系）高。至於臺農1號未有良好表現，乃因種植時所採用的種苗較幼嫩所使然。惟上述品種（系）間各主要農藝性狀唯然稍有差異，但經變方分析均呈不顯著。

表 2. 山葵品種（系）間之農藝性狀表現

Table 2. Comparisons of agronomic charcteristics per plant among wasabi varieties in observation test.

Variety	Plant height	Fresh plant wt.	Wt. of above ground part.	Rhizome wt.	Length of main rhizome	Diameter of main rhizome
Tai. No.1	45.0	222	177	45	7.32	1.93
70-I-1	36.9	288	221	67	10.21	2.25
79-S-1	43.1	333	291	41	8.45	1.99
79-I-1	41.7	383	335	47	8.00	1.98
Loc. var.	38.9	280	215	65	7.35	2.03



1，2，3=Tainung No. 1，4，5，6=70-I-1，7，8，9=79-S-1
10，11=79-I-1，12，13=Local variety.

圖 1. 山葵五品種（系）利用過氧化酶之電泳鑑定圖譜

Fig. 1. Isozyme patterns of peroxidase by electrophoresis among five wasabi varieties.

誌 謝

本研究承蒙農委會81科技-2.2糧-45(3)與82科技-2.2糧-48(3)計畫補助，特此誌謝。

引用文獻

1. 邱年永。1973。藥用植物栽培法。大學圖書出版社印。94-97頁。
2. 胡敏夫、邱善美、羅朝村、劉新裕、杜金池。1991。山葵臺農 1 號之育成。中華農業研究 40(1)：13-27。
3. 連錦漳、李國忠。1990。臺灣山葵產銷之分析。臺灣農業 26(4)：7-12。
4. 陳福旗、蕭吉雄、張有明、李弘文。1990。甜瓜品種間同功異構酶變異性之研究 I. 四個甜瓜品種（PMR、西施、黃金、新玉）間 Peroxidase 及 Shikimate dehydrogenase 變異性及 F1 純度鍵定之利用。中華農業研究 39(3)：182-189。
5. 莊榮輝、蘇仲卿、1985。蛋白質膠體電泳檢定法。博士論文。國立臺灣大學農業化學研究所。69-85頁。
6. 曾義雄、陳信芬、陳慶三。1978。電泳分離技術（研討會論文集）國科會發行。69-85頁。
7. 足之昭三。1987。ワサビ栽培 秀潤社。13-165頁。
8. 橫本國臣、上野良一。1981。山葵。農山漁村文化協會。1-149頁。
9. 屏之內勇造。1931。陸山葵之栽培方法。農業及園藝 6：1168-1170。
10. Reid M.B. V.B.Muriel and I.A.Thelda. 1966 plant Microtechnique Manual. University of California. Davis, California. pp.29-49。

Germplasm Identification and Characteristics Observation among Different Wasabi Varieties (*Wasabia japonica* Matsum)[1]

Min-Fu Hu[2], Yuing-Chang Lai[3] and Sin-Yie Liu[2]

Summary

Experiments were conducted with the aim to compare the agronomic characteristics of two new wasabi lines, i.e. 79-S-1 and 79-I-1, with three cultured varieties, i.e. Tainung NO. 1, 70-I-1 and Local cultivar. Electrophoresis methods of soluble protein and peroxidase were used for varietal identification. Experimental data showed that the aboveground weight of the two tested lines was higher than that of three check varieties. However, no significant difference was found in rhizome yield per plant among them. Electrophoresis analysis indicated that peroxidase, rather than soluble protein, may be used as an indicator to verify difference among these wasabi lines/varieties.

Key words : Wasabi (*Wasabia Japonica* Matsum), Peroxidase.

1. Contribution No. 1731 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Respectively, Assistant Agronomist, Senior Agronomist, Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Assistant, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.