甘藷同功異構酶之分析與利用

羅筱鳳
中國文化大學　園藝系

陳榮芳
中央研究院　植物研究所

摘　要

有關同功異構酶的分析與利用目前在各主要作物已有不少之報告，然甘藷在這方面的研究仍極爲有限。此與甘藷本身遺傳背景之複雜性及組織成份物質對酵素活性分析之干擾有或多或少之關係。近年來雖有一些新型分子標誌因子分析法，如核酸限制內切酶多形性分析及利用聚合酶連鎖反應所導來之逢機擴增多形性DNA等，然同功異構酶分析法仍不失爲較簡單、易學、經濟且快速之分析法，其分析所需之組織量少，且幾乎各類型之組織均可利用來作分析，在應用上仍有其優點。本報告即針對目前有關甘藷同功異構酶已見報之資訊，及本研究小組近年來在甘藷同功異構酶分析與利用上之探討作一綜合性之報告。所討論之酵素主要以具多形性酶譜之酵素如酒精去氫酶、β－澱粉酶、磷酸化酶、過氧化酶、黃遞酶、酯酶、磷酸葡糖變位酶、蘋果酸去氫酶、蘋果酸酵素、磷酸葡糖異構酶、6-磷酸葡糖去氫酶、穀草酸轉氨酶、莽草酸去氫酶、甲基萘酶、還原酶及胰蛋白抑制酶等。

（關鍵詞：甘藷、同功異構酶、品種鑑定、農藝性狀、酵素活性）

前　言

甘藷(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)係世界上主要的塊根作物之一，由於其生長勢健，適應性廣，利用性多，且易於管理，對於開發中及熱帶地區的國家尤有其經濟上之價值。然由於其爲六倍體(hexaploid)，加上一般具有自交不和合性(Self-incompatibility)，在甘藷育種改良上憑添了不少困難度與複雜性。近年來，由於生物技術之發展，不少分子、生化遺傳標誌因子紛被利用來當作作物種源、品種鑑定、雜交種之鑑別、基因連鎖圖譜之構築以及這些分子、生化標誌因子與重要農藝性狀相關性研究之重要工具。同功異構酶(isozymes)是分子、生化標誌因子中發展較早，且較有系統的一種，其主要優、缺點已有多篇報導[3,18,23]，不再此贅述。有關主要作物同功異構酶之研究與利用，Tanksley and Orton已有專書介紹，其列舉之作物涵蓋玉米、小麥、大麥、燕麥、水稻、番茄、馬鈴薯、煙草、苜宿、大豆、向日葵及草莓等，有關甘藷在此方面之報導則付之闕如。其在在此方面研究落後之原因，除了本身遺傳的複雜性外，甘藷葉片本身中一些多酚化合物(polyphenohic compounds)之

干擾有或多或少之關係。雖然甘藷本身有複雜的遺傳組成，然其一般係利用無性法繁殖，因此，分子、生化標誌因子之利用應仍有其價值，隨著異構酶分析技術之改進，例如活性炭(active carbon charcoal)、聚乙烯、咯烷酮(polyvinylpolypyrrolidone)及一些抗氧化劑如β-巰基乙醇(beta-mercaptoethanol)等之利用，近幾年來甘藷同功異構酶之分析已有了若干進展[1,6,11,21]。本報告即針對目前有關甘藷同功異構酶分析與利用之現況及本研究小組目前一些研究結果作綜合性之報告，以提供甘藷種源鑑別、育種改良上之參考。

內　　容

一、近十五年來的甘藷同功異構酶分析

較早在1978年日本的Kagoshima大學即有有關甘藷品種間酯酶(esterase)及過氧化酶(peroxidase)之變異性報告，惟該報告在地域性期刊發表，無從搜集得。在中國大陸1988年Xue等[24]亦利用甘藷過氧化酶酶譜探討甘藷栽培種與近緣種間之歧異度，徐州甘藷研究中心在1990年並有甘藷過氧化酶同功酶分析技術之報導[2]，此外芮氏等[1]並有利用超氧物歧化酶(Superoxide Dismutase；SOD) 之活性爲抗逆境種源篩選之指標之報告。此外，Matsuno and Uritani[15]亦報導甘藷根組織同功異構酶可因受割傷或乙烯處理而誘導出一陰向移動條帶，但受眞菌感染而罹病之組織該條帶則沒那麼明顯，而Muto and Uritani[17]亦分析出甘藷根組織之磷酸葡糖酸去氫酶 (6-phosphogluconate dehydrogenase) 無論正常或受傷之組織均具有三型同功異構酶。Zhu and Thompson[25]在甘藷 *I. batatas* 和其近緣種 *I. trifida* 間葉與花粉組織其磷酸葡糖異構酶(phosphoglucose isomerase)之研究中指出該酵素分由二至五基因座控制，且顯然係由二聚體分子構成。Kennedy and Thompson[11]利用九個甘藷栽培品種包括：Centennial, Jasper, Jewel, MD708, Regal, Southern Delite, Travis, Vardaman和W216進行酒精去氫酶(alcohol dehydrogenase, ADH; EC 1.1.1.1)，黃遞酶(diaphorase, DIA; EC 1.6.4.3)，酯酶(esterase, EST; EC 3.1.1.2)，穀胺酸去氫酶月(glutamate dehydrogenase, GDH; EC 1.4.1.2)，磷酸葡糖異構酶(phosphoglucose isomerase, PGI; EC 5.3.1.9)，異檸檬酸去氫酶(isocitrate dehydrogenase, IDH; EC 1.1.1.42)，蘋果酸去氫酶(malate dehydrogenase, MDH; EC 1.1.1.37)，蘋果酸酶(malic enzyme, ME; EC 1. 1.1.38)，六磷酸葡糖去氫酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, 6PGD; EC 1.1.1.44)，磷酸葡糖變位酶(phosphoglucomutase, PGM; EC 2.7.5.1)莽草酸去氫酶(shikimate dehydrogenase, SKDH; EC 1.1.1.25)和黃嘌呤去氫酶(Xanthine dehydrogenase, XDH; EC 1.2.1.37)等十二種酵素之酶譜分析，結果顯示九種酵素即ADH, DIA, EST, GDH, GPI, MDH, ME, 6PGD, PGM及SKDH均具多形性，可資分辨測試之九品種。此外，Reyes and Collins[21]亦利用 *I. trifida* 和 *I. batatas* 進行七種酵素，即過氧化氫酶(catalase, CAT; EC 1.11.1.6) ，PGM, PGI，

穀草轉胺酶(glutamatic oxaloacetate transaminase GOT; EC 2.6.1.1)，甲基萘醌還原酶(menadione reductase , MNR; EC 1.6.99. 2)，SKDH及MDH之種內及種間酶型之多形性分析比較。在甘藷胰蛋白抑制酶(Trypsin inhibitor, TI)之研究上，Lin[14]亦指出不同甘藷組織亦具異構酶，且利用胰蛋白抑制酶之活性分析很明顯可利用於甘藷品系之分類，田間試驗亦顯示胰蛋白抑制酶之活性明顯與一些農藝性狀有正相關之情形。此外，Kumagai et al.[12]亦報導了甘藷貯藏根中有缺乏或極少β-amylase含量之品系，這些缺乏正常β-amylase活性之品系被認爲有極大之潛力可用於加工製造，其並發展了一套快速檢定β-amylase酵素活性之方法，由其遺傳分析顯示β-amylase之活性由單一隱性基因控制。

本研究小組這幾年來致力於甘藷同功異構酶分析與利用方面之研究，所分析的酵素計有α-澱粉酶(α-amylase, α-AM; EC 3.2.1.1)，β-澱粉酶(β-amylase, β-AM; EC 3.2.1.2)，磷酸化酶(phosphorylase, PP; EC 2. 4.1.1) ，過氧化酶 (peroxidase, PX; EC 1.11.1.7)，酸性磷酸酶 (Acid phosphatase, AP; EC 3.2.1.2)，多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase; EC 1. 14.18.1), MDH, GOT, PGI, EST等，其中除AP, PGI與 PP 缺乏變化外，其他酵素均有多形性之情形，並利用各品系間酶型之不同進行酶型與農藝性狀間相關性之分析，初步結果顯示，部分酶型與一些農藝性狀間確有相關之情形，頗值得推敲。以下即針對上述具多形性異構酶之各酵素稍加說明：

酒精去氫酶(alcohol dehydrogenase, ADH)：在Kenndy and Thompson[11]之分析中甘藷ADH酶型主要有二型，其中較多數品系具有二條帶分在距原點5及15mm處，而有些品系則在上二條帶之外，在基部又多了一粗一細之條帶可供辨識。

β-澱粉酶(β-amylase, β-AM)：甘藷葉片與細根的β-AM酶型有明顯之不同，以台農66與台農67爲例，一般甘藷葉片有2-6個條帶，而細根則祇有一粗條帶，且通常在移植50天以上才出現此條帶，一般台農66號葉片的條帶較淡，而台農67號之紅皮與黃皮則有三條與六條細條帶之區別，且台農67之六條帶中有二條帶不穩定，非每一樣品均可分析得，而此兩品種小塊根均祇有一明顯之粗條帶位於Rf值約0.30處，其下偶而伴隨著一細條帶 (此細條帶不穩定，部分樣品無法分析得)。Kumagai et al.[12]報導在甘藷種源中有無或低β-amylase之品系存在，然其酶型如何或其酶型類別與甘藷澱粉酶含量間有無關係則並未見報導。

磷酸化酶(Phosphorylase, PP)：在甘藷之PP異構酶的分析上，葉組織與根組織有明顯之區別，兩測試品種台農66號與台農67號間亦有些許之不同，台農66號葉片組織通常在Rf值0.03－0.05處有一條帶，而台農67號則有兩條帶但活性一般均很弱，而貯藏根則在Rf值0.25處，此兩品種均有一條帶，惟該條帶台農66號似比台農67號稍快些，而一般細根(fibrous root)則活性較不明顯。

過氧化酶(Peroxidase, PX)：有關甘藷PX酶譜分析之報告，早在 1972年日本之Matsuno and Uritani[15]即比較甘藷根經black rot fungus(Ceratocystis fimbriata)

感染、乙烯處理及割傷後其過氧化酶活性及酶譜之變化分析，其報告顯示甘藷根至少有A-H八個成分帶組成，其中A-F爲陽向條帶，G與H爲陰向條帶。本研究室先前利用水耕培養探討甘藷在不同氮、鉀濃度下其PX酶譜之穩定性分析，結果顯示PX之酶譜在甘藷鬚根至少有A1-A19個陽向條帶，且存在C1及C2兩個陰向條帶。而在葉與藏塊根之酶型中，根相對之條帶較少，惟亦至少有7-12條陽向帶。陰向帶則在葉組織有一條，而塊根一般不易分析得，其中C2之條帶與Matsunoand Uritani[15]報告中之H成分頗類似，彼認爲H成分之形成與組織受割傷及乙稀之處理有關。在吾人水耕栽培穩定性分析中台農66號酶型之濃度一般顯比台農67號的來得濃，而PX之主要條帶不受氮及鉀施用量之影響，但部分條帶相對濃度確有或多或少之不同，且成熟之組織一般過氧化酶之條帶變少且較不明顯。在中國大陸亦有利用甘藷不同部位、膠体、抽取液而產生酶譜差異性之報導[2]，而本研究小組亦利用此PX酶譜分析方法進行酶譜與農藝性狀相關性之分析，將在後面章節報告。

黃遞酶(Diaphorase, DIA)：DIA酶型有7-8條帶，目前至少有二型被發現。在本研究小組之分析結果顯示甘藷品系中之DIA酶譜在Rf值約0.58至0.48處有一帶具有快慢二型，而Kenndy and Thompson亦報告品種間有二不同酶型出現，惟其兩型之差別在於距原點30mm處一條帶之有無。由於所用分析條件不一，所以兩報告間之差異很難解釋，惟DIA異構酶品種間酶譜具差異性則是一致的。

酯酶(Esterase, EST)：EST之酶型依據本研究小組之分析結果，葉片EST酶型計可分三個條帶區，第一個條帶區位於Rf值0.18處有一較淡之條帶，且部分品種缺乏此條帶，第二條帶區位於Rf值0.19至0.23間有3-5不等之條帶，且依其條帶之粗細及有無可區別成5型，另在Rf值0.28-0.29間部分品種具兩細條帶，而有些則無；然Kenndy and Thompson[11]之報告中甘藷EST之酶譜型僅在距原點約48mm發現具有快、慢及同時具該兩條帶之變型可供分辨。

磷酸葡糖異構酶(Phosphoglucose isomerase, PGI)：PGI之酶譜據報至少有三型，其酶譜一般在距原點 28mm 有一條帶爲各品種所共有，惟在其下則有一至二條帶各品種不等，且移動速率亦有差別，但在本研究小組分析中，該區域之條帶較爲糢糊不易區別出GPI之變型。Reyes and Collins[21]在I. trifida與I. batatas之報告中亦指出PGI至少有三型，而該三型之特徵爲最前頭具有一共同條帶，而在其下則有另一條帶具快、中、慢三型，顯與Kenndy and Thompson[11]之報告有類似處。

蘋果酸去氫酶(Malate dehydrogenase, MDH)：MDH之酶譜分析，在本研究小組之報告中曾提及其有一條區具快、中、慢三型，此與Reyes and Collins[21]及Kenndy and Thompson[11]之報告均有相仿之處，惟該兩報告均祇發現二型而已，且其中一型爲異型分子所致，此外在此變異區上下分別亦有2－4條帶係各品系所共有。

蘋果酸酵素(Malic enzyme, ME)：在Kenndy and Thompson[11]之初步分析中，ME計有三酶型被發現，此三型分具一至三條帶不等，第一型具三條帶分在距原點7.5、

11及15mm處，第二型則與第一型同具三條帶，惟其中在7.5mm位置之條帶爲9mm位置之條帶所取代，而其第三型則僅具位於9mm之一條帶，且具第三型之品種數還占大多數。

磷酸葡糖變位酶(Phosphoglucomutase, PGM)：PGM之酶型目前據報告至少有三型，其中Kenndy and Thompson[11]指出其酶譜A、B兩型有二條共同之條帶分在距原點約30及27mm處，第三條帶則分在23及24mm處，C 型則有一位於24mm之條帶與B型相似，而上另有二條帶，惟似乎均比A、B型中30及27mm處之條帶慢些，分在29及26mm處。另一報告則祇發現距原點較近之一條帶具有快、中、慢三型，兩報告之結果頗爲接近。

六磷酸葡糖去氫酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, 6-PGD)：目前所知甘藷6－PGD之酶譜一般具有六個條帶，其中與原點接近之四條帶各品系均一致，惟上二條似乎以二聚体形分有快、中、慢三型可供品種鑑別上之判定。Muto and Uritani[17]以Sephadex G200 gel filtration及電泳法分析甘藷根之6-PGD，亦發現甘藷根至少有六條異構酶帶型。

莽草酸去氫酶(Shikimate dehydrogenase, SKDH)：目前有關SKDH之酶譜條帶數雖有不同，然所發現之變型均祇有二型Kenndy and Thompson[11]指出SKDH有5-6條帶，一般品系均有其中五條帶，僅有些品種在距原點約14mm處多出一條帶，而Reyes and Collins[21]則有具單一條帶，然有快、慢兩型之報導。

穀草轉胺酶(Glutamatic oxaloacetate transaminase, GOT)：本研究小組初期對GOT酶譜分析顯示其可分成三帶條區，第一區位於Rf值0.15處，一般具有一條帶惟部分品種闕如，第二區約位於Rf值0.29處，爲一般品系所共同，第三區則位於Rf值0.31－0.33處，至少具有快、中、慢三型可供辨識，而Reyes and Collins[21]則稱甘藷GOT具三條帶區，第一條帶區在距原點約15mm處，此條帶區一般品種均有，第二條帶區則位於距原點30至24mm處，有快、慢兩型，第三條帶區位於距原點33至39mm處有快、中、慢三種類型可供 *Ipomoea* 種之鑑別。

甲基萘醌還原酶(Menadione reductase, MNR)：MNR之酶譜美國北卡州立大學之分析報告[21]指出其在 *I. trifida* 與 *I. batatas* 均有之，惟一般僅具有一條帶，且該條帶品種間顯有快、慢兩變型可供分析利用。

胰蛋白抑制酶(Trypsin inhibitor, TI)：據林[14]之報告甘藷TI之酶譜隨分析之組織而有所不同，其中僅一條分子量約20500係屬大部分組織例如莖、葉、芽、根等所共有，分子量15200和14100之條帶則爲莖、葉所共有，而25500和22200則爲芽與初出根所有，而休萌根則多出分子量39000、36600、34800、33100、21200和18000之條帶，這些條帶中，品種間亦偶有不同，如在莖分子量29400、27200及22200的條帶出現在台農64號，而在台農57號缺如，足見TI圖譜亦可供品系辨別之用，林等亦證明了TI活性可供甘藷品種分類之依據。

此外，尚有 TI 之活性與一些重要農藝性狀有關聯性之報告，容後再論。以上係針對甘藷酵素異構酶見報之酶譜多形性分析報告，另像酸性磷酸酶、異檸檬酸去氫酶、多酚氧化酶、黃嘌呤去氫酶及過氧化氫酶等亦曾被分析過，惟因缺乏變異或解析度不良而未見報者亦不在少數。

二、甘藷同功異構酶之利用

同功異構酶之利用在其他作物已非常普遍[23]，惟在甘藷仍十分有限，此與甘藷本身遺傳之複雜性與材料之特異性有關，異構酶之利用有賴其酶型具多形性，且多形性之類別越多越有利於分類上之檢定。然由於甘藷係屬六倍體，常有遺傳劑量效應，即相同對偶基因累積之數目越多，帶型之顏色濃淡則會有所差別，這也是爲什麼在酶譜分析上常有帶型顏色濃淡差異之主因。然異構酶之分析係以分辨帶型之有無爲主，在濃淡之分辨上有時較爲困難，惟適當之取量、定量與重覆亦可分辨條帶濃淡之眞實性。此外，一般甘藷葉由於含有較高量之多酚化物，對於酵素活性染色亦有或多或少之影響。例如 Reyes and Collins[21]在分析 *Ipomoea* 各物種酵素異構酶之遺傳檢定試驗中就曾利用了約20種以上之分析系統，結果在酵素活性染色下，酶譜之解析度足夠辨識參與分析者僅有七種酵素，此亦是異構酶分析不利於甘藷之利用之原因之一。以目前言，有關之應用仍以種源與品種之鑑定爲最普遍，然在本研究初步之分析研究中，利用酶型與農藝性狀相關性之情形或可利用於一般育種選拔或抗逆境品系篩選之工作，以下係針對目前甘藷同功異構酶利用上之報告：

㈠種源或品種之鑑定：

在甘藷種源或品種之鑑別上，Kenndy and Thompson[11]利用ADH、DIA、EST、GDH、GPI、IDH、MDH、ME、6PGD、PGM、SKD、XDH等十二種酵素以甘藷 *Ipomoea batatas* (L.) Lam.之品系如Centennial、Jasper、Jewel、MD708、Regal、Southern Delite、Travis、Vardaman等進行品種酶型之分析比較工作，12種酵素中僅GDH、IDH及XDH三種酵素不具多形性，其他酵素至少多具兩種以上之類型，而九個品種可成功地利用上述九個具多形性酵素中的5個分辨出，可見在甘藷之異構酶酶譜仍有充分之變異性來進行品種間之鑑定工作。Reyes and Collins[21]亦利用了七種酵素即CAT、PGM、PGI、GOT、EST、MNR、SKD和MDH之異構酶，探討甘藷近緣種 *Ipomoea trifida* (H.B.K) G. Don之二倍體(diploid)、四倍體(tetraploid)和六倍體族群及甘藷間異構酶型因子間之相互關係。在所檢測之酵素中除CAT及EST兩酵素缺乏變化外，其餘六種酵素之酶型至少代表了13個遺傳基因座上之24個對隅基因，由於甘藷係多倍體且一般不易雜交結子，因此，其利用二倍體材料之遺傳分析來推導此等異構酶基因之遺傳。所有多倍體之族群被發現與 *I. trifida* 之二倍體共有相同數目之異構酶基因，而像PGM及PGI，則顯現有重覆基因在多倍體系列中，而其中MNR之因子則只在多倍體中出現，兩物種間亦有很多相似性。此外，Morrison et al.[16]在甘藷貯藏過程中 α 與 β -amylase改變

之研究中亦輔以β-amylase之電泳圖譜分析，而提出至少有二種機制與主食用甘藷缺少澱粉水解並與甜度有關，即(1)是β-amylase之合成被抑制與(2)缺乏β-amylase之酵素，而種源中缺乏β-amylase酵素者(即缺乏一48KD之β-amylase蛋白)可利用電泳分析分辨之。

㈡酵素活性、酶譜與農藝性狀相關性之探討：

在甘藷有關酵素活性與農藝性狀相關性之報導較多，例如Bouwkamp et al.[15]即指出甘藷蛋白質含量與胰蛋白抑制酶之含量有正相關，且胰蛋白抑制酶與甘藷之乾物重亦有著密切之關係，Lin[14] 亦認爲甘藷胰蛋白抑制酶之活性與農藝性狀像莖與根之乾物重、根之澱粉含量等有著正相關；芮氏等1990年[1]亦指出SOD活性高並在逆境下增大之品種抗逆境性强，可提供甘藷種源抗逆境篩選之參考；Garner et al.[8]即証明 IAA 之含量及 IAA-oxidase 之活性與甘藷由鬚根改變爲貯藏根有著密切之關係；Kumagai et al.[12]亦指出甘藷品系中有些因子型其貯藏根缺乏β-amylase，在煮的過程中不會增加甜度很適合做主食之用，因此可利用貯藏根β-amylase之活性來區別其因子型；Morrison et al.[16]後來更進一步依甘藷種源其起初糖濃度及煮烤過程中之改變分爲四大類：(1)低糖含量及低澱粉水解，(2)低糖含量／高澱粉水解，(3)高糖含量／低澱粉水解及(4)高糖含量／高澱粉水解。而一般主食型之甘藷在烤煮之過程中其甜味並未顯著增高，通常屬於第一或第二大類，屬於第一大類者通常即缺乏β-amylase，而第二大類則雖然能大量水解澱粉但其產生麥芽糖(maltose)之甜度與蔗糖、果糖或葡萄糖相較仍甚低，而一般美國傳統之甘藷品種屬於第四類。低糖品系1、2類型之區分可經由β-amylase之電泳分析來証實。

本研究室這幾年來在甘藷同功異構酶酶型之分析上除建立了若干酵素異構酶之分析方法外，並在1990年即利用在不同品系上分析得之酶型直接利用與農藝性狀相關性及在逆境下酶譜變化之分析上。例如吾人曾利用甘藷葉片酵素如DIA、MDH、PX與PP之多形性酶譜分析探討其與35個甘藷品系之一些農藝數量性狀如可販賣塊根數、可販賣根鮮重、不良塊根數、不良塊根鮮重與地上部鮮重等，及塊根之化學組成如乾物含量、蛋白質含量、糖含量、澱粉含量與纖維含量等，利用單因子變方分析，進行每一酵素酶型與各性狀間關係之分析，結果顯示部分酶型與一些數量性狀或塊根之化學組成分間有著密切關係。例如PX之酶型與塊根乾物含量、塊根糖含量與澱粉含量地上部鮮重，PP酶型與塊根糖含量；DIA酶型與地上部鮮重等均有顯著之相關。此外，吾人亦利用PX與EST之酶型探討其在高溫高濕逆境下其酶型與農藝性狀間關係之探討，所調查之農藝性狀包括：葉面積、總乾重、根與地上部比、葉綠素含量、根氧化力、含糖量、澱粉含量、葉片、葉柄、鬚根、中鬚根、塊根之乾重量與鮮重量等，結果亦顯示PX與EST之酶型間在若干農藝性狀上確有著顯著之差異，可見酶型之分析利用上與性狀之表現有著密切之關係。

利用酵素異構酶酶型選拔優良之農藝性狀，在玉米、稻米已有成功之例子

[7,19,20,22]甘藷其遺傳組成雖較爲複雜，然其一般品系係無性繁殖而來，異構酶酶型之選拔應有其可利用性。

結語與展望

甘藷係世界上利用性高之塊根作物，由於其多倍體與自交不和合性之本質憑添育種改良之困難度，所幸其具無性繁殖之特性，可提供優良異質體之直接固定栽培之便。近幾年來，有關分子標誌因子之分析、利用在各主要作物均頗有進展，惟甘藷在這方面稍嫌落後，同功異構酶之分析是此些分子標誌因子中最易分析且最爲經濟的方法，由於其所需利用之組織量少，且幾乎各部分之組織均可利用來分析，在應用上自有其好處，惟仍有其受限之處，例如分析所得之因子座較爲有限、部分酵素酶型較不穩定、後傳譯後之修飾及不同膠體成分、抽取液濃度對酶型之影響等，然由於一般外表形態之農藝性狀通常其遺傳行爲較爲複雜，且常有上位性、因子間作用、多效性之問題及許多性狀屬數量性狀由多對因子控制，並易受環境因子之影響。上述異構酶分析方法，如能建立標準化分析模式當可克服其若干不利之處。近幾年，分子標誌因子數目由於DNA限制酶內切片段多形性之利用(restriction fragment length polymorphisms, RFLP)而增加，及聚合酶連鎖反應所產生之逢機擴增多形性DNA(random amplified polymorphic DNA)之利用，方便了各作物遺傳基因圖之構築。而利用遍布於各基因組之分子標誌因子進行其與數量性狀因子間相關性之探討，近年來亦已有了報告。惟如前所述甘藷複雜之遺傳背景及雜交稔性之問題在基因圖之構築上恐非易事，惟由於其具一般無性繁殖之優點，在分子標誌因子之利用上仍有可爲，如能證明一些分子標誌因子與某些農藝性狀有直接、間接之關連，對於日後甘藷改良將有或多或少之助益。目前在種源及品種之鑑定上，分子標誌因子仍不失爲一輔助傳統鑑定法之有利工具。若干酵素其活性或酶型如亦証明確與一些農藝性狀有著密切之關係，對日後之應用將有很大之幫助。

誌　　謝

本文部分摘要結果係來自執行七十八年度至八十一年度農委會農糧處農建計劃補助及亞洲蔬菜研究發展中心之協助，謹在此表達誠摯之謝意。

參考文獻

1. 芮仁廉，聶毓琦，童紅玉，1990.　超氧歧化酶(SOD)作爲甘藷種質資源抗逆境參數的研究12：17-21。
2. 郭小丁，鄔景禹，1990. 甘藷過氧化酶同功酶分析技術探討。中國甘薯12：130-132。
3. 陳榮芳，1987. 生化遺傳標識因子在作物改良上之應用。科學發展月15：487-494。
4. Alber, B. S. B., M. D. Edward and C. W. Stuber, 1991. Isoenzymatic identification of quantitative trait loci in cross of elite maize inbreds. Crop

Sci. 31 : 267-274.

5. Bouwkamp, J.C., S.C.S. Tsou and S. S. M. Lin, 1985. Genotype and enviroment effects on the relationship between protien concentration and trypsin inhibitor levels in sweet potatoes HortScience 20 : 886-889.
6. Chen, L. F. O., H. F. Lo, T. H. Chen and L. Lee, 1992. Peroxidase zymograms of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] grown under hydroponic culture. Bot. Bull. Acad. Sinica. 33 : 247-252.
7. Frei, O. M., C. M. Stuber and M. M. Goodman, 1986. Use of allozymes as genetic markers for predicting performance in maize single cross hybrids. Crop Sci. 26 : 37-42.
8. Garner Jr., J. O., H. F. Lo and L. Chen, 1989. IAA concentartion and the activities of IAA-oxidase and cell wall bound invertase in the sweet potato root system. HortScience 24(5) : 755.
9. Grafe, G. L., W. R. Fehr and S. R. Cianzio, 1989. Relation of isozyme genotypes to quantitative characters in soybean. Crop Sci. 29 : 683-688.
10. Kahler, A. L. and C. F. Wehrhahn, 1986. Associations between quantitative traits and enzyme loci in the F_2 population of a maize hybrid. Theor. Appl. Genet. 72 : 15-26.
11. Kennedy, L. S. and P. G. Thompson, 1991. Identification of sweet potato cultivars using isozyme analysis. HortScience 26(3) : 300-302.
12. umagai, T., Y. Umemura, T. Baba and M. Iwanaga, 1990. The inheritance of β-amylase null in storage roots of sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. Theor. Appl. Genet. 79 : 369-376.
13. Lande, R. and R. Thompson, 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. Genetics 124 : 743-756.
14. Lin, Y. H., 1993. Trypsin inhibitor of sweet potato : Review and prospect. (in press) In : Y. I. Hsing and C. H. Chou eds. Recent advancements on botany. Vol. II. In Commemoration of the 30th Anniversary of the Restoration of the Institute of Botany Academia Sinica, Taipei. Monograph Series No. 13. Institute of Botany, Academia Sinica.
15. Matsuno, H. and I. Uritani, 1972. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. Plant & Cell Physiol. 13 : 1091-1101.
16. Morrison, T. A., R. Pressey and S. J. Kays, 1993. Changes in α-andβ-amylase during storage of sweet potato lines with varying starch hydrolysis

potential. J. Amer. Hort. Sci. 118(2) : 236-242.

17. Muto, S. and I. Uritani, 1972. Behaviors on gel-filtration and electrophoresis of 6-phosphogluconate dehydrogenase isozymes isolated from sweet potato. Plant & Cell Phsiol. 13 : 931-936.
18. Paterson, A. H., S. D. Tanksley and M. E. Sorrells, 1991. DNA markers in plant improvement. Advance in Agronomy 46 : 39-90.
19. Peng, J. Y., J. C. Glaszmann and S. S. Virmani, 1988. Heterosis and isozyme divergence in indica rice. Crop Sci. 28 : 561-563.
20. Pollak, L. M., C. O. Gardner and A. M. Parkhurst, 1984. Relationships between enzyme marker loci and morphological traits in two mass selected maize populations. Crop Sci. 24 : 1174-1179.
21. Reyes, L.M. and W.W. Collins. 1992. Genetic control of seven enzyme systems in *Ipomoea* species. J. Amer. Hort. Sci. 117(6) : 1000-1005.
22. Shenony, V. V., D. V. Seshu and J. K. S. Sachan. 1990. Shikimate dehydrogenase-1 allozyme as a marker for high seed protein content in rice. Crop Sci. 30 : 937-940.
23. Tanksley, S.D. and T.J. Orton. 1983. Isozymes in plant genetics and breeding. Part B. pp.472, Elsevier Sci. Publ. Co. Inc. Holland.
24. Xue, Q. H., S. Y. Shi, A. H. Liu and Q. H. Yi. 1988. Analysis of peroxidase isozymes of *Ipomoea* species. Chinese J. Genet. 15 : 41-48.
25. Zhu, Z. and P. Thompson. 1991. Genetic variability of leaf and pollen phosphoglucose isomerase in *Ipomoea batatas* and *I. trifida* HortScience 26(5) : 490.

The Analysis of Isozyme Patterns in Sweet Potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]

Hsiao-Feng Lo
Department of Horticulture, Chinese Cultural University, Taipei, Taiwan, Republic of China.
Long-Fang O. Chen
Institute of Botany, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, Republic of China.

ABSTRACT

Studies on the analysis and utilization of isozyme patterns in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.)Lam.] are very limited in comparison with those of the major crop species. This might be due to the relative complexity of the sweet potato genomes and the existence of certain chemical components in tissue extracts tending to interfere the enzyme staining activity. In spite of the recent development of DNA molecular markers derived from restriction fragment length polymorphisms and random amplified polymorphic DNA derived from arbitrarily primed polymerase chain reaction, the isozyme approach is still the easiest and most economic and rapid method available. In addition, it also has the advantage of the small amount of tissue needed for the assay and no restriction to tissue type. In this communication, the current progress in isozyme analysis and utilization of sweet potato are reviewed. Emphases are laid on those polymorphic enzymes such as alcohol dehydrogenase, β -amylase, diaphorase, esterase, glutamatic oxaloacetate transaminase, malate dehydrogenase, malic enzyme, menadione reductase, peroxidase, phosphoglucomutase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, phosphoglucose isomerase, phosphorylase, shikimate dehydrogenase, and trypsin inhibitor.

(Key words : sweet potato (*Ipomoea batatas*), isozyme, agronomic trait, cultivar identification, enzyme activity.)