

台灣二〇〇二年國際科學展覽會

科 別：植物學

作品名稱：光質對植物生長及生理之影響

學 校：國立臺中第一高級中學

作 者：李季穎

作者簡介

我，李季穎，目前就讀於國立台中第一高級中學。我是一個內向不多話、有時甚至會讓人覺得孤僻的人，不過，同時我也是一個善良、喜歡思考和親近大自然的人，不過不一定是想什麼大道理，只是純粹喜歡天馬行空的亂想，閒暇的時後，我會照顧、修剪家裡的盆栽。因為生長在一個單親家庭，所以媽媽、弟弟兩個人是我現在最重視的兩個人。

摘要

葉綠素合成不同波長光質實驗

為觀察不同波長光對植物光合作用要素「葉綠素含量」的影響。實驗材料甘藷（薤菜種、台農 57 號、台農 64 號）組織培養苗。正常光照三週，使其具備基本之根、莖、葉，再移入不同顏色雙層玻璃紙（藍光、綠光、紅光）所構成不同光質之光照環境。

除觀察生長狀況外，亦利用分光光度計測定葉綠素 a、葉綠素 b 及兩者總含量。結果顯示藍光和紅光為促進葉綠素合成之主要光譜。藍光組合成的量為對照組的 80.5% ；紅光組合成的量為對照組的 82.5% 。

更進一步利用氧氣電極測定光合作用速率。結果顯示以紅光組的光合作用最為旺盛。紅光組光合作用速率為對照組的 68% 。

Summary

Experiments about different wavelengths effect on chlorophyll contents

This study dealt with how light of different wavelengths make a difference on the content of chlorophyll. The material was tissue-cultured sweet potato (Weng-tsay native variety, *Ipomoea batatas* L cv. Tainung 57 and *Ipomoea batatas* L cv. Tainung 64) . For first three weeks, we exposed them under normal sunlight so that they would possess basic structure such as root, stem and leaves. Then we moved them into different illumination environments (blue , green and red light) made by double-layered glass plates.

Besides inspecting their growth, we also measured the quantity of total chlorophyll and chlorophyll a, b with spectrophotometer, Hitachi U2000. The results indicated that blue and red light was the main spectrum to accelerate the content of chlorophyll. The plant grown in blue environment had content 80.5 % chlorophyll of the control group; while 82.5 % in red environment.

Furthermore, we used oxygen electrode to inspect their rate of photosynthesis. The result showed that the red light treatment highest rate of photosynthesis among treatments, which was 68 % of the control group.

壹、前言

在去年（2000 年）的夏天，對自然科學充滿濃厚興趣的我參加大學所舉辦的生科營，在幾天的課程中，我接觸了許多有關生命科學領域的課程，其中有一堂植物生理尤其讓我感到興趣，而上前向主講的教授發問。教授除了解除了我的疑惑，也歡迎我在生科營結束後，前來參觀實驗室。同時表示到時候，他可以更進一步指導我一些基本的植物組織培養的技術。就這樣開始接觸植物組織培養。

在學習植物組織培養技術過程中，我心裡有個疑問，除了荷爾蒙，還有沒有什麼會影響植物的發生？例如不同波長的光。我把這個疑問向教授提了出來，教授表示我可以自己設計個實驗來證明這個假設。這個時候我看到了一個實驗，是英吉曼（T. Engleman）在 1882 年，利用絲狀水棉所作的一個實驗，該實驗中不同顏色的光影響了水棉。所以，在和教授、學校老師幾次討論後，我決定要研究不同波長的可見光對植物的影響。

所選的可見光有藍色、綠色、紅色。觀察植物在不同波長的光照射下，對植物生長、形態發生與植物生理有何影響。觀察重點有植物體外觀、葉綠素含量、光合作用速率等三項。

貳、研究方法與過程

一.實驗器材：

高溫高壓滅菌釜
分光光度計
氧氣電極
離心機
循環水槽
真空抽氣機
微量滴管(1 毫升、2 毫升、5 毫升)
水平式無菌無塵操作台
計時器
鑷子
400 毫升錐形瓶
大型培養皿
小型培養皿
酸鹼度計
天平
培養室

二.實驗材料，供試甘藷品種包括：

薤菜種：W（用 MS 全量）
台農 64 號：TN64（使用 MS 全量）
台農 57 號：TN57（使用 MS 二分之一）

三.實驗準備：

1. MS 培養基濃縮液

(1) NH_4NO_3	66g/0.4L
(2) KNO_3	76 g/0.4L
(3) $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	17.6 g/0.4L
(4) $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	14.8 g/0.4L
(5) KH_2PO_4	6.8 g/0.4L
(6) KI	0.0332 g/0.4L
(7) micro-element	
H_3BO_3	0.248 g/0.4L
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.892 g/0.4L
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.344 g/0.4L
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.001 g/0.4L

CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.001 g/0.4L
NaMnO ₄ · 2H ₂ O	0.001 g/0.4L
(8) EDTA-Fe	2.6 g/0.4L
2. Vit	
Glycine	80mg/0.4L
myo-inositol	4000 mg/0.4L
Nicotinic acid	20 mg/0.4L
pyridoxine-HCl	20 mg/0.4L
Thiamine-HCl	4 mg/0.4L

四.實驗步驟

1.配置 MS 培養基：

- ◎MS 全量：1~8 號及 Vit 濃縮液各取 10ml
 - +糖 30 克
 - +洋菜 7.5 克溶於 1000ml
- ◎1/2MS：1~5 號及 Vit 濃縮液取 5ml
 - 6~8 號濃縮液取 10ml
 - +糖 30 克
 - +洋菜 7.5 克溶於 1000ml

置於微波爐中煮溶洋菜，量取 100ml 培養基溶液倒入 400ml 的燒瓶中，密封送入高溫高壓滅菌釜滅菌。高溫高壓滅菌釜設定 121℃，1.1 kg/ cm²，滅菌 20 分鐘。

2.增殖實驗材料：

雙手以 75% 的酒精消毒後，在水平式無菌無塵操作台，操作滅菌後的器材，切取消毒後的甘藷含節莖段，植入培養基中。

3.材料生成環境：

在 25℃±1 恆溫，14 小時光照，10 小時黑暗之培養室中，培養三週，使其具備基本之根、莖、葉。

4.移入實驗環境：

如圖所示，分別以雙層藍色、綠色及紅色玻璃紙完全覆蓋，造成不同波長光照條件處理組，並以照白光為對照組。



(移入實驗環境 3 至 4 週後)

5.植物體外觀比較：

目視比較植物生長情況並以照相機拍攝紀錄。

6.葉綠素含量測定：

取 0.1g 重的樣本（頂芽及葉），在研鉢中加入海砂（增加摩擦力）磨碎，置入 10ml 的 80% 丙酮（甲醇：丙酮=1：4），以 3000 G 離心 10 分鐘，取上清液加入丙酮定量到 10ml，置入分光光度計讀取波長 645nm、652nm、663nm 之吸光值，並依下列公式計算。

◎葉綠素（chl）含量計算公式：

（王志恭。1998。缺水處理對番木瓜葉片光能利用及抗氧化系統之影響）

$$\text{chl a} = [12.7 (\text{OD}_{663}) - 2.69 (\text{OD}_{645})] * V/f.w.$$

$$\text{chl b} = [22.9 (\text{OD}_{645}) - 4.68 (\text{OD}_{663})] * V/f.w.$$

$$\text{chl (a+b)} = [(\text{OD}_{652}) * 1000/34.5] * V/f.w.$$

V：萃取液總體積（10ml）

f.w.：鮮重

7.光合作用速率：

植物光合作用速率可由葉片釋放氧氣速率決定。藉由氧氣電極在水溶液下，測量葉片於一定光照下之釋氧量。取四片葉圓片秤重（重約 0.1 至 0.2g），加入 3.733ml 緩衝溶液（含有 50mM HEPES-KOH、0.5mM CaSO_4 ， $\text{pH}=7.2$ ），再加入 1 滴 Tween-20（可使緩衝溶液與葉圓片接觸更良好）搖勻置入真空抽氣鍋中，抽氣 10 分鐘，將此溶液注入氧氣電極裝置的電極液槽加入 0.267ml NaHCO_3 （終濃度為 25mM）作為光合作用時二氧化碳來源。以循環水槽控制氧氣電極液槽恆溫 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。由記錄儀記錄葉圓片光照 10 分鐘內氧氣釋放量，藉此求得光合作用速率。

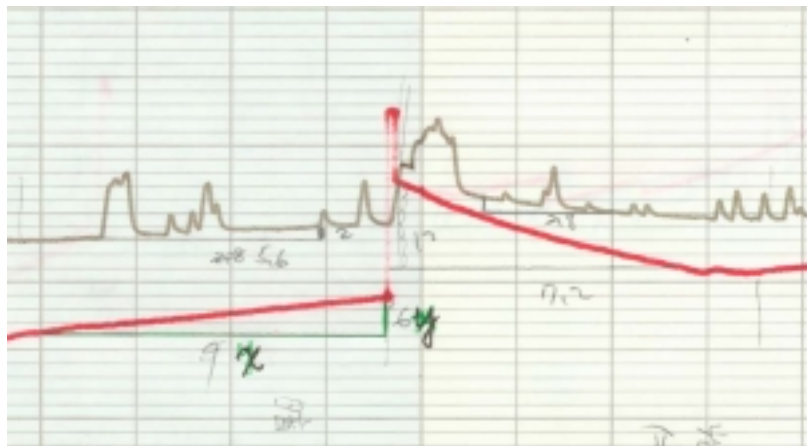
8.呼吸作用速率：

所有條件偕同上光合作用速率，另以不透光黑布遮蓋電極液槽。利用氧氣電極在黑暗中測定 10 分鐘內葉圓片的氧氣消耗量，藉此求得呼吸作用速率。

◎光合作用速率及呼吸作用速率計算公式：

（劉秋麗。1996。低溫處理對番木瓜葉片之生理影響）

溶氧量 $\times y \div x \times \text{測定液體積} \div \text{葉片重量}$



單位： $\mu\text{mol/hr/g} \cdot \text{f.w}$

※y 溶氧量變化幅度一格為 2% ；x 為時間變化量一公分為 2 分鐘

參、研究結果與討論

一、植物體形態外觀

- 1.藍光組的特徵有頂芽黃化，及葉片較對照組小。
- 2.綠光組除了組織培養苗全株有明顯的黃化外，其植株明顯小於對照組。
- 3.紅光組的頂芽生長旺盛，雖然葉片的數量與對照組相差不多；但在葉片小於對照組。

◎對照組參照第 6 頁，藍光組第 7 頁，綠光組第 8 頁，紅光組第 9 頁。

由上述結果可知，假設初步成立，不同之光質的確會影響植物的生長發育。

※W 為薤菜種；TN57 為台農 57 號；TN64 為台農 64 號，以下皆同。

對照組



W



TN57



TN64

藍光組

W



TN57



TN64

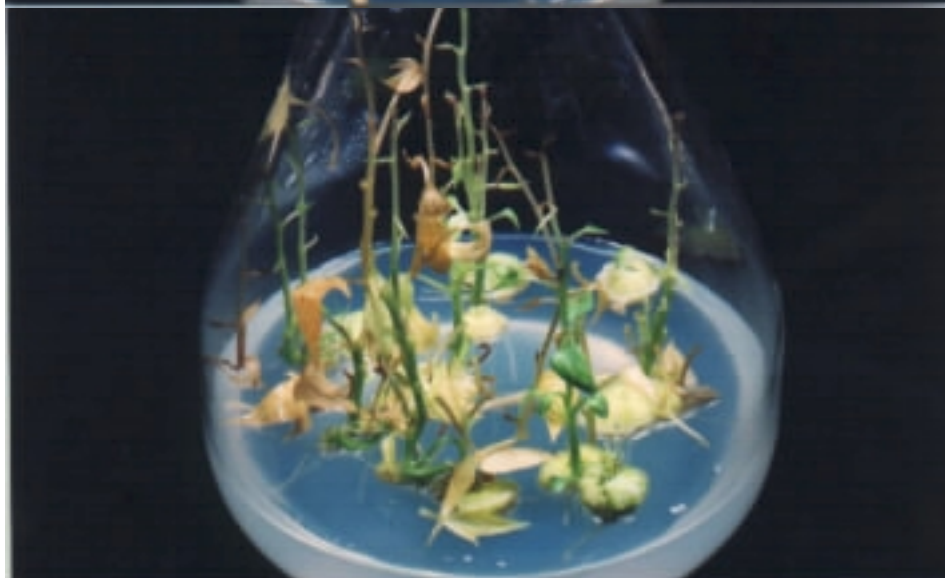


綠光組

W



TN57



TN64

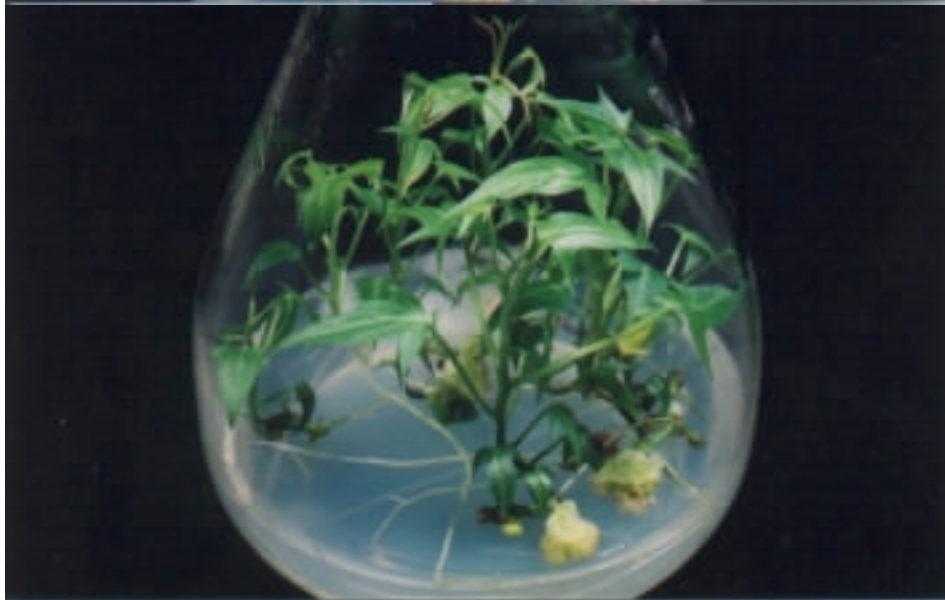


紅光組

W



TN57



TN64



二、植物葉綠素合成量

由數據和圖表（圖表一、二、三、四）可以看出，分別比較三個品種（W、TN57、TN64）之葉綠素 a、葉綠素 b，及兩者的總量，都可以清楚的看到綠光組的葉綠素含量是三組實驗組（藍、綠、紅光）中最少的。

綜合比較不同光質對三個品種（W、TN57、TN64）葉綠素(a+b)的含量，發現藍光組的葉綠素含量為對照組的 80.5% ；綠光組的葉綠素含量僅達對照組的 44.3% ；紅光組的葉綠素含量為對照組的 82.5% 。

chl a+chl b 含量越高，光能吸收量越高，所以光合作用速率越高。

公式：實驗組（W+TN57+TN64）葉綠素含量總和÷對照組葉綠素含量總和

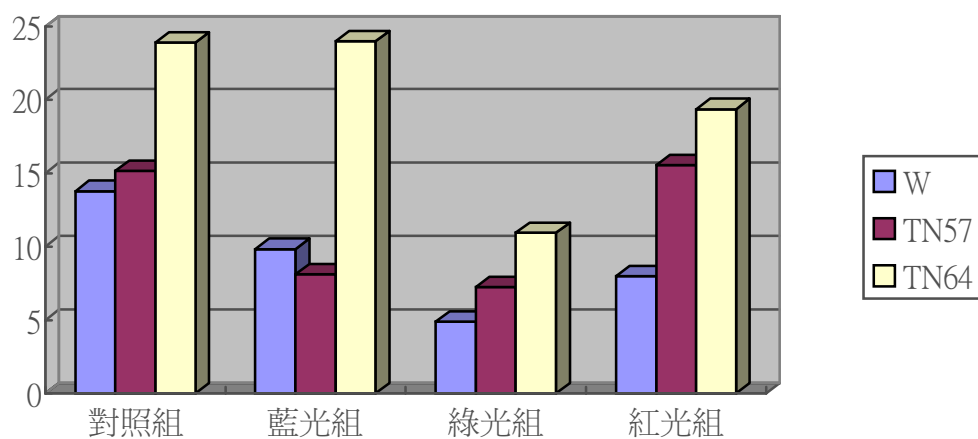
葉綠素(a+b)	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
W	20.986	15.159	7.652	12.377
TN57	22.551	12.377	11.275	24.435
TN64	37.449	37.681	16.986	30.028
總和	80.986	65.217	35.913	66.840
百分率%	100%	80.5%	44.3%	82.5%
光合速率 百 分 率	100%	33.4%	29.6%	68.1%

單位：mg/g·f.w

由上述結果可以知道，不同的光質會影響葉片葉綠素的含量，且由植物生長外觀而言，葉綠素含量較高的藍、紅兩組的生長狀況也比葉綠素含量低的綠光組好。

圖表一：

葉綠素 a 含量

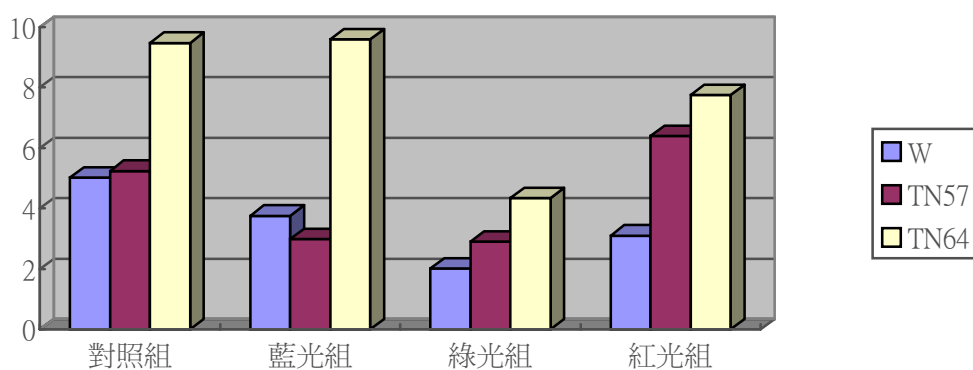


	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
W	13.7840	9.8250	4.8786	7.9825
TN57	15.1430	8.0916	7.2288	15.5431
TN64	23.8804	23.9759	10.9358	19.3531

單位：mg/g · f.w

圖表二：

葉綠素 b 含量

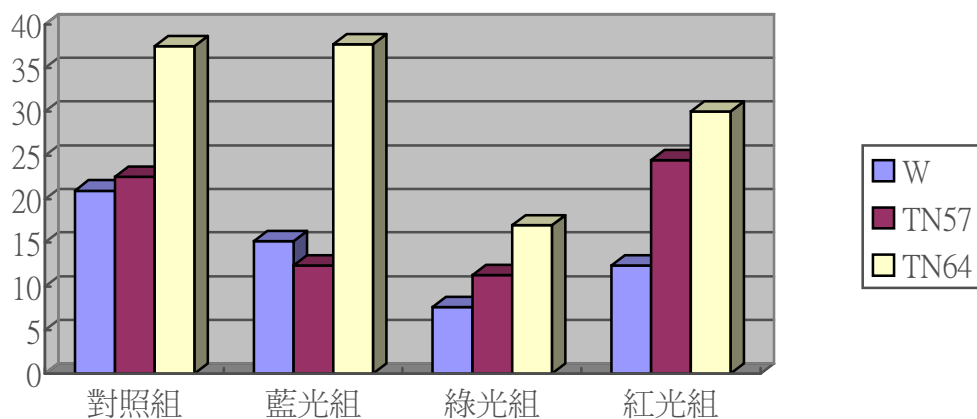


	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
W	5.0205	3.7627	2.0143	3.1052
TN57	5.2426	2.9991	2.9010	6.3878
TN64	9.4718	9.5900	4.3392	7.7547

單位：mg/g · f.w

圖表三：

葉綠素 (a+b) 含量

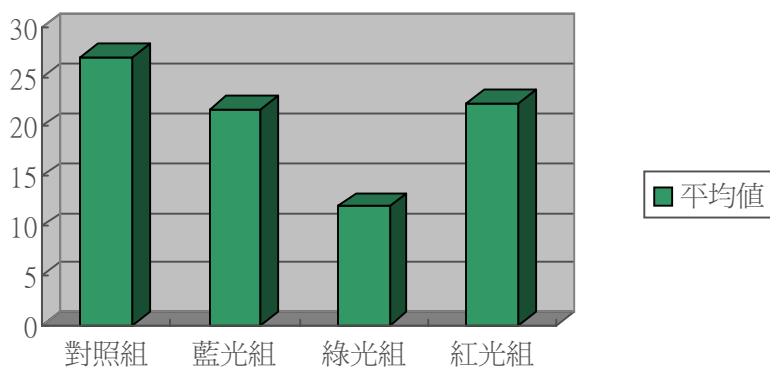


	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
W	20.986	15.159	7.652	12.377
TN57	22.551	12.377	11.275	24.435
TN64	37.449	37.681	16.986	30.028

單位：mg/g · f.w

圖表四：

綜合比較不同光質對葉綠素總量的影響



以三個品種之各次實驗值，總和累積後求得其平均值，繪製上圖。

	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
平均值	26.995	21.739	11.971	22.28

單位：mg/g · f.w

三、光質對光合作用速率與呼吸作用速率之影響

由測定結果（圖表五、六、七、八、九）獲知：

1. 光合作用速率：

光合速率	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
平均值	80.8758	27.0143	24.0069	55.0332
百分率%	100%	33.4%	29.6%	68.1%

※平均值為三個品種之平均

單位：u mol/hr/g · f.w

2. 呼吸作用速率：

呼吸速率	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
平均值	27.1207	27.277	18.0663	8.7725
百分率%	100%	100.5%	66.6%	32.3%

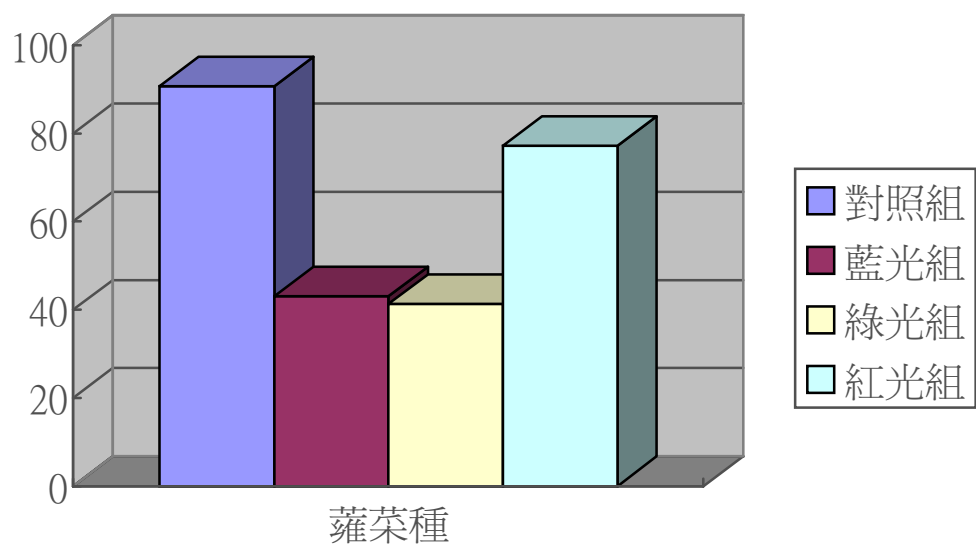
※平均值為三個品種之平均

單位：u mol/hr/g · f.w

從上述結果，可以發現紅光組產生能量的光合作用速率最高，而消耗能量的呼吸作用速率最低，因此紅光組能夠用於維持機能和生長的能量也多於其他兩組，所以紅光組的組織培養苗，生長狀況優於其他兩組（藍光組的頂芽已經開始黃化；綠光組已經整株黃化，只剩根、莖勉強維持）。

圖表五：

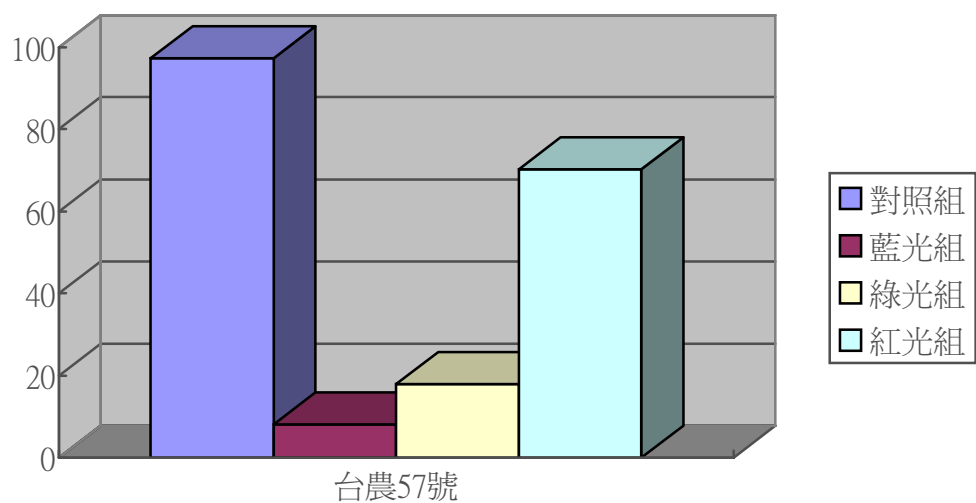
薤菜種光合作用速率



單位：u mol/hr/g · f.w

圖表六：

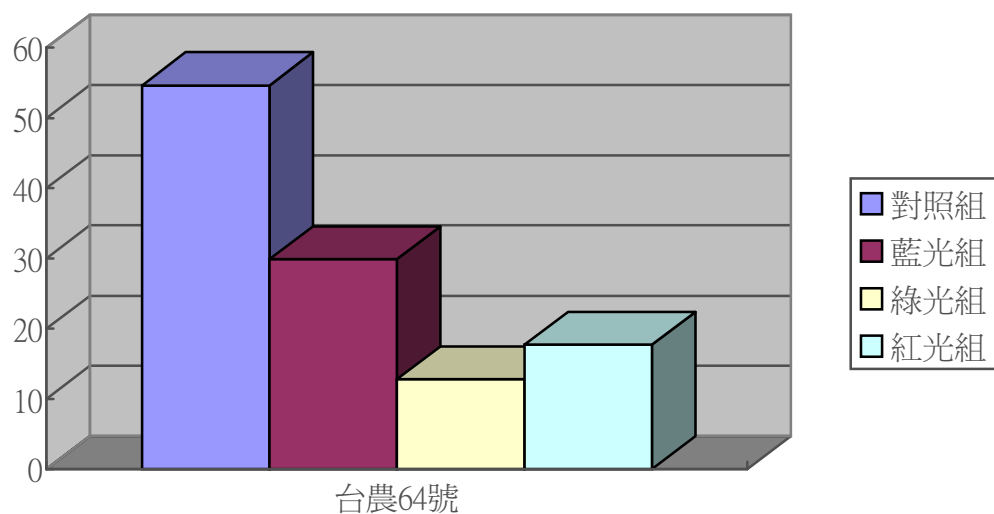
台農 57 號甘藷光合作用速率



單位：u mol/hr/g · f.w

圖表七：

台農 64 號甘藷光合作用速率

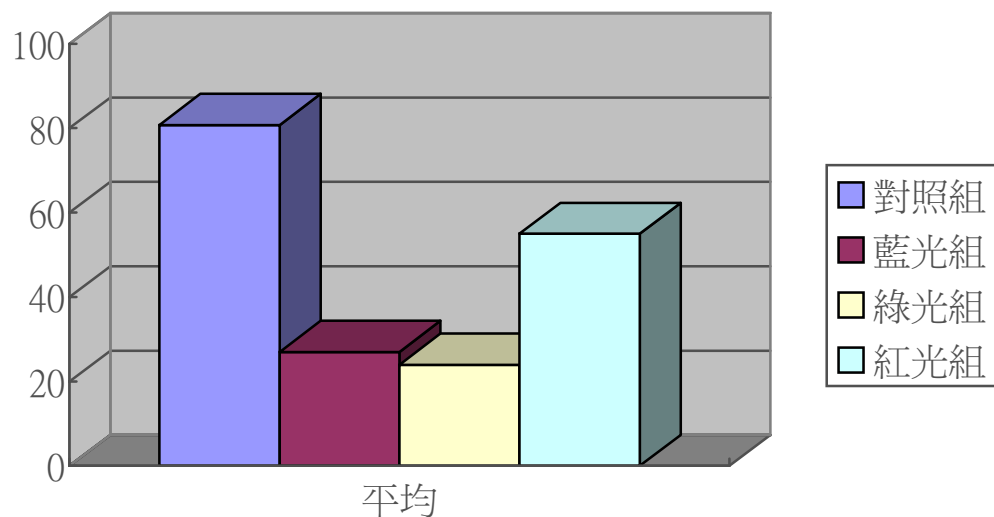


	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
實驗值	54.6593	29.8701	12.7778	17.7171

單位：u mol/hr/g · f.w

圖表八：

綜合比較光質對光合作用速率之影響

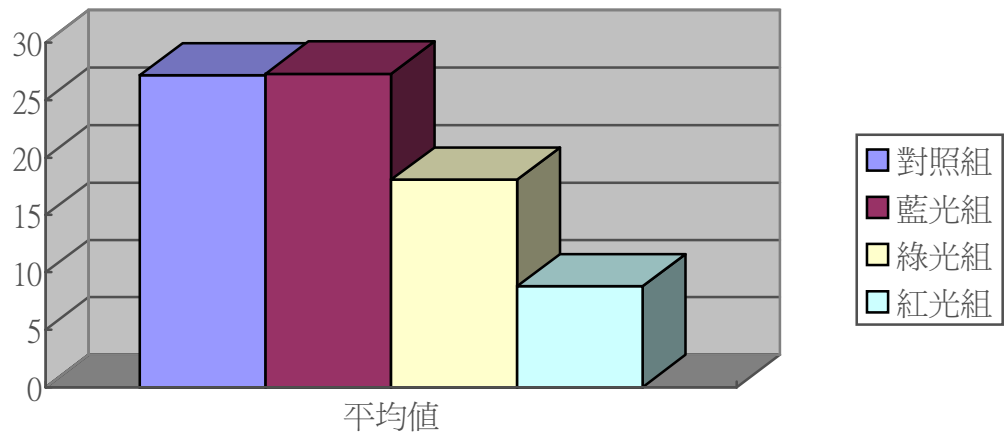


	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
平均值	80.8758	27.0143	24.0069	55.0332

單位：u mol/hr/g · f.w

圖表九：

綜合比較光質對呼吸作用速率之影響



	對照組	藍光組	綠光組	紅光組
平均值	27.1207	27.277	18.0663	8.7725

單位：u mol/hr/g f.w

肆、結論與應用

紅光和藍光對於植物在合成葉綠素的機制方面有著重要的地位，但是兩者在葉綠素合成的總量相近（約為對照組的 80% ），葉綠素 a 與葉綠素 b 的比值亦相近，何以在光合作用速率與呼吸作用速率出現這麼大的差異？是與光反應電子傳遞速率有關呢？或者是不同的光質影響下，連植物中的其他蛋白質酵素也受到影響？究竟還有哪些影響因子？值得更進一步探討。

而上述結果若能更進一步討論不同光質對植物生理之影響，在已知照射不同光質之下部分生理機制會遭到抑制，部分生理機制則無影響，甚至有所助益。再輔以基因工程，不同光質照射下，只有少數特定胞器或酵素可以合成。如此可能得到單一高純度的材料。

照射綠光會造成植物黃化死亡，可以利用於除草。

一年來的實驗室工作經驗，讓我學到許多實驗技術與態度，並學得如何從假設中，設計實驗加以印證的經驗，也知道碰到問題如何尋找參考資料，充實自己的知識。也體認到要將平常自己認為理所當然的事轉換成一份能令人信服的報告，是一件需要細心和耐心的工作。以上所獲得的經驗彌足珍貴，更奠定對生命科學濃厚的興趣。

伍、參考文獻

一、期刊論文

1. 劉秋麗。1996。低溫處理對番木瓜葉片之生理影響。國立中興大學植物學研究所碩士論文。
2. 王志恭。1998。缺水處理對番木瓜葉片光能利用及抗氧化系統之影響。國立中興大學植物學研究所碩士論文。
3. Murashige , T. and Skoog , F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.

二、圖書

1. 上野洋一郎等編譯，楊美桂校閱。植物組織培養與技術。藝軒圖書出版社。2000。
2. 李赫總編輯。園藝作物組織培養實用技術。豐年叢書 HV # 921。財產法人豐年社。1992。
3. 高明堂主編。精緻農業實用技術。豐年叢書 HV # 901。財產法人豐年社。1990。
4. 黑田行昭原著，上野洋一郎等編譯，楊美桂校閱。組織培養的技術。藝軒圖書出版社。2000。
5. 蔡平里譯。圖解蘭花繁殖最新技術。淑馨出版社。1991。
6. 劉賢祥譯。植物組織培養。徐氏基金會出版社。1982。
7. 劉賢祥譯。植物組織培養實驗手冊。徐氏基金會出版社。1987。
8. 薛聰賢編注。家庭園藝（第九輯）。薛氏家庭園藝出版部。1987。