

# 水黃皮葉片的發育 與葉綠素含量變化之研究

邱暉育\* 許博行\*

## 【摘要】

水黃皮 (*Pongamia pinnata*) 實生苗葉片展開至發育達最大葉面積所需天數為 7 天，而經截幹後重新萌發的新葉則需 15 天。葉片生長達最大葉面積前，單位乾重的葉綠素含量隨葉片展開天數之增加而上昇，葉綠素 a/b 比值亦增加。在葉子的形態上，葉之寬度與葉面積間有高度的相關性，因此由葉的寬度即可推算葉面積。中興大學實驗林研究報告 第十四卷，第二期：31~37 (民國 81 年 9 月)

## 【關鍵詞】

水黃皮，葉片生長，葉綠素含量。

## Studies on Leaf Development and Chlorophyll Contents of *Pongamia pinnata* Seedlings

Huei-Yuh Chiou\* Bor-Hung Sheu\*

---

\* 國立中興大學森林學系

Dept. of Forestry, National Chung Hsing University.

## 【Abstract】

Chlorophyll contents and chlorophyll a/b ratios of *Pongamia pinnata* leaves increased during leaves development. Leaves sprouted from current seedlings were necessary for 7 days to develop to the maximum leaf area, however, sprouted from the stem cutted seedlings needed 15 days.

For there was a high relation ( $r^2=0.9416$ ) between leaf width and leaf area, it was reliable to estimate the leaf area by measured the leaf width.

## 【Keyword】

*Pongamia pinnata*, leaf development, chlorophyll content.

## 一、前言

植物葉片中進行光合作用的場所——葉綠體，一直是植物學家感到興趣而詳加研究探討的對象，而植物葉片發育期間與葉綠素形成的關係，以往亦有學者從事研究 (Rajasekhar, 1983; Dei, 1978, 1982)，唯大多先將植株栽培於黑暗中，使葉片黃化後，再觀察葉綠素形成的變化，然此方法終究不是一個生長於正常光照下，葉片發育時葉綠素形成的方式。因此，本實驗即以水黃皮 (*Pongamia pinnata*) 為材料，探討在正常光照與自然光週期下生長的苗木，葉片成熟過程及葉綠素含量的變化，以瞭解葉綠素合成與葉片發育間的關係。

## 二、材料與方法

### (一) 供試材料的培育

#### 1. 實生苗的栽培

水黃皮種子採自中興大學校園為材料，採得的種子以5%硫酸銅水溶液浸泡消毒5分鐘後播於溫室砂床，待其發芽。種子發芽後隨即移植於直徑12公分之塑膠盆，並移至溫室中栽培，生長期間(79年9月至10月)平均之溫度為白天36.3°C，夜晚22.53°C，白天光照強度平均約由6.4至28.1 klux。待真葉長出後，每盆每週一次澆稀釋4倍之Hoagland solution 2 營養液(成分如表1) 50ml，二週後改澆濃度稀釋2倍者。

表 1： Hoagland solution 2 營養液之組成份

元素	溶液中濃度 ( $\mu\text{M}$ )	化 合 物	貯備溶液濃度 mM (g/l)	每升營養液中貯備 溶液之體積 (ml)
N	16000			
巨 量 元 素	K 6000	$\text{KNO}_3$	1000 (101.10)	6
	Ca 4000	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1000 (236.16)	4
	P 2000	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	1000 (115.08)	2
	S 1000	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1000 (246.49)	1
	Mg 1000			
微 量 元 素	Cl 50	KCl	50 (3.7280)	
	B 25	$\text{H}_3\text{BO}_3$	25 (1.5460)	
	Mn 2	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	2 (0.3380)	1
	Zn 2	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2 (0.5750)	
	Cu 0.5	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.5 (0.1250)	
	Mo 0.5	$\text{H}_2\text{MoO}_4$	0.5 (0.0810)	
	Fe 20	Fe-EDTA	20 (6.9220)	1

- Johnson 1971調整Hoagland solution微量元素含量比例改良而成(Epstein 1971)
- 鐵離子的貯備溶液須另外配製，不得與其他離子混合配製。

## 2. 截幹苗的栽培

發芽翌年，即80年2月1日每盆施以截幹處理，截留處距地際10公分高，並停止澆灌營養液。新葉萌發後每盆施以N:P:K(14:14:14)之緩效性肥料3g。此生長期間溫室中平均之溫度為白天32.26°C，夜晚18.73°C，白天光照強度平均約由4.7至40.0klux。

### (二) 葉面積之量測

剪取76片各生長階段不同大小的葉片，量其葉柄基部至葉尖端之長為葉長，垂直於葉脈的最大寬度為葉寬，記錄之。然後將已量測得知長與寬的葉片平展於葉面積儀(Li-Cor Model Li-3000)，掃描讀取葉面積3次，取其平均數為葉面積值。

### 三、葉綠素含量測定

由40株苗木中，記錄每株每天生長的葉片，至葉片達最大葉面積生長時，同一時間採下葉片，並依不同發育天數分開葉片。將分開的葉片各自混合後，由其中隨機選取3個重複，以冷凍真空乾燥機，在溫度 $-50^{\circ}\text{C}$ 下，真空乾燥60小時以上。將乾燥葉片放入研鉢，並加入少量液態氮及海砂後，在冰浴中以25ml之80%丙酮研磨萃取。萃取過濾後的澄清濾液，隨即以分光光度計測645nm、652nm及663nm三波長之吸光度，以Arnon (1949) 及 Bruinsma (1961) 之計算式並經換算成每克乾葉重的葉綠素含量，其計算式分別如下：

$$\text{葉綠素 a 含量} = (12.7 \times D_{663} - 2.69 \times D_{645}) \times V/W$$

$$\text{葉綠素 b 含量} = (22.9 \times D_{645} - 4.68 \times D_{663}) \times V/W$$

$$\text{葉綠素 a+b 總量} = (D_{652}/36) \times V/W$$

註：V：葉綠素80%丙酮萃取液總體積 (l)。

W：葉片乾重 (g) D：各波長之吸光度。

## 三、結果與討論

由於本試驗在量測葉面積生長時為非破壞性試驗，因此為探求供試樹種葉片之長、寬與葉面積間是否具有相關性，隨機取樣76片葉片，分別量測葉長、葉寬及葉面積後，求各參數間的迴歸式，結果如下：

#### 1. 葉長 (X) 與葉面積 (Z)

$$Z = -14.1959 + 7.2177X \quad r^2 = 0.9194^{**}$$

#### 2. 葉寬 (Y) 與葉面積 (Z)

$$Z = -13.1340 + 8.2460Y \quad r^2 = 0.9416^{**}$$

#### 3. 葉長 (X)、葉寬 (Y) 與葉面積 (Z)

$$Z = -13.2936 + 0.5650X + 7.6172Y \quad r^2 = 0.9402^{**}$$

由上列諸式顯示，水黃皮葉寬對葉面積有較高的相關性，因此，於葉片生長期間，為調查葉面積生長，僅需對生長葉片作葉寬的生長記錄，即可依迴歸式求得生長期間葉面積之變化。

由於植株間生成葉片的速率有極大的差異，在自然光照下生長的同一批植物樣品，很難同時

取得足夠且發育至同一階段的葉片，以進行葉綠素含量變化的分析。所以大部份的研究爲了減低葉片間發育過程的差異，規整同一批植株，使合成葉綠素之起始與步調趨於一致，其方法多以生長於黑暗中的黃化葉片爲對象，研究受光照射後葉綠素合成之變化 (Rajasekhar, 1983; Dei, 1978, 1982)。然於正常光照下或黑暗中生長的葉片，細胞內質體 (plastid) 的超顯微構造 (ultrastructure) 的發育有所不同 (Stetler and Laetsch, 1969; Baker, et al. 1975)，故此等以黃化葉片爲研究對象所得的結果，是否與實際正常光照下生長的葉之葉綠素含量相同，仍未可知。故本試驗以水黃皮爲材料，探討葉片之生長與葉綠素含量的關係時，係在自然光照與光週期下測定之。

茲將水黃皮苗木葉面積生長與葉綠素含量的變化分述如下：

### (一) 葉面積之生長變化

水黃皮在種子發芽後 (以第一階段表示) 與截幹處理後 (以第二階段表示) 葉片的生長情形

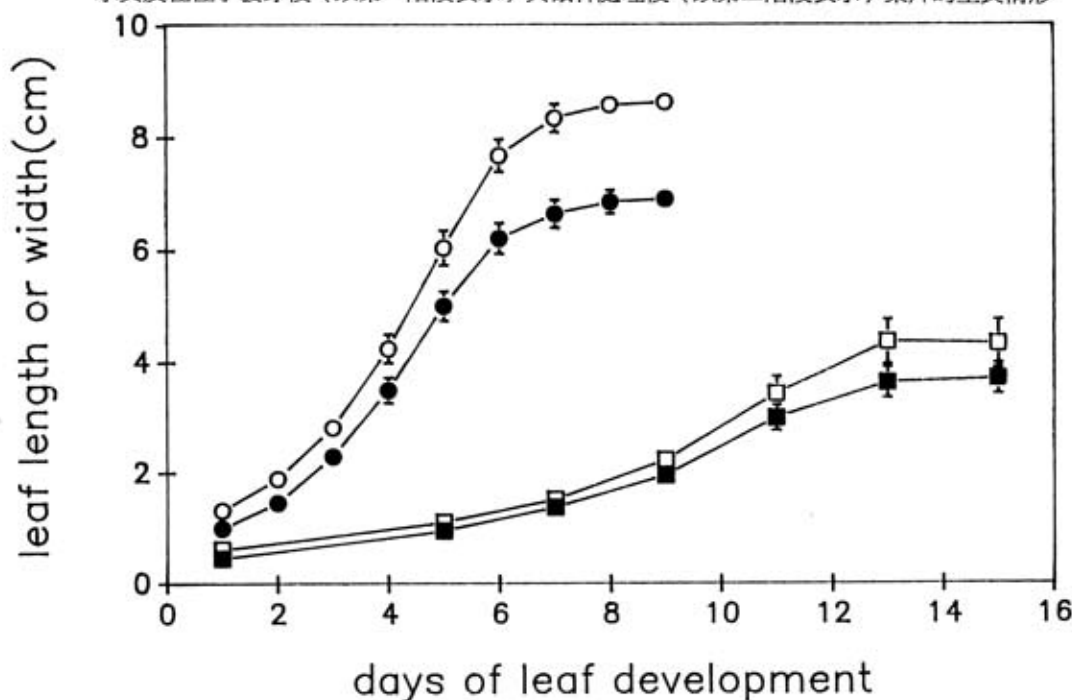


圖 1：水黃皮截幹前後之葉長與葉寬生長

○：截幹前葉長生長 ●：截幹前葉寬生長

□：截幹後葉長生長 ■：截幹後葉寬生長

I：標準偏差

水黃皮在二個階段內的生長速率有極大的差距，在第一階段生長期間僅需 7 天即可達其最大葉面積，而於截幹後的第二階段生長期間，則須延長至第 15 天，葉面積方達最大值。惟未截幹的苗木，其葉片不論長或寬的生長均較截幹後再萌發生長的葉片顯著增大，此現象在楓香樹種中亦可發現（邱，1991）。據 Sestak（1985）提出，同一樹冠層中，中間枝條所生葉片較其上方枝條及下方枝條的葉片有較大的葉面積。本試驗未截幹前第一階段所量測的葉片為苗木發育的第 6 片葉，而截幹後的第二階段是以萌發的第一片葉測定，此或為第二階段葉面積較小的原因之一。另截幹後葉片面積較小，是否受截幹的影響，或苗木自身年齡的相期轉換（phase change）所導致的結果，有待更進一步的研究。

## (二) 葉綠素含量之變化

水黃皮實生苗葉片展開發育過程，葉綠素含量之變化如表 2 所示。

表 2.: 水黃皮實生苗葉片展開發育過程葉綠素含量之變化

展開天數	葉綠素 a (mg/g)	葉綠素 b (mg/g)	葉綠素 a+b (mg/g)	葉綠素 a/b
1	1.00±0.04	1.11±0.07	2.09±0.11	0.90±0.02
2	1.12±0.20	0.83±0.14	1.95±0.34	1.36±0.06
3	1.36±0.16	1.08±0.15	2.44±0.30	1.27±0.06
4	1.72±0.18	1.37±0.25	3.07±0.41	1.29±0.14
5	3.33±0.19	2.84±0.23	6.10±0.38	1.18±0.06
6	3.66±0.22	2.41±0.13	6.04±0.27	1.53±0.11
7	6.74±0.16	4.30±0.04	10.98±0.19	1.57±0.04

由表 2 顯示單位乾重中葉綠素 a、葉綠素 b 及其總量，在葉片發育的前 4 天增加不顯著，等於第 4 天開始急速增加，如葉綠素 a 自 1.72mg/g 增至第 7 天的 6.74mg/g，而葉綠素 b 則由 1.37mg/g 增至 4.30mg/g，此二種色素以葉綠素 a 的增加較為快速，致葉綠素 a 與 b 的比值亦隨著葉片的發育而增加，到葉面積趨於穩定時，比值漸趨於定值。當葉片展開發育時，前質體（proplastid）漸漸分化成具功能性的葉綠體，在此同時，葉綠素亦由原紫質（protoporphyrin）慢慢轉變形成，此兩種過程是同時進行的（Goodwin，1971）。因此，新葉發生時，葉綠素含量將伴隨葉綠體形成及類囊體（thylakoid）的堆積而迅速增至最大值，隨後緩慢下降；生活期（life span）較長的葉片，其葉綠素含量的高峰期會持續較久，而不會於葉綠素含量達最大值後隨即減少（Sestak，1985）。水黃皮為一常綠樹種，葉綠素於何時下降，本試驗並未探求，有待後續的研究。

## 五、參考文獻

1. 邱暉育(1991) 水黃皮與楓香葉片成熟期間葉綠素含量之變化 國立中興大學森林學系學士論文
2. Arnon, D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24:1-15
3. Baker, N.R.; Hardwick, k. and Jones, P. (1975) Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa(*Theobrom cacao*) II. Development of chloroplast ultrastructure and carotenoids. *New Phytol.* 75:513-518
4. Bruinsma, J.(1961) A comment on the spectro-photometric determination of chlorophyll. *Biochim. Biophys. Acta.* 52:576-578
5. Dei, M. (1978) Inter-organ control of greening in etiolated cucumber cotyledons. *Physiol. Plant.* 43:94-98
6. Dei, M. (1982) A two-fold action of benzyladenine on chlorophyll formation in etiolated cucumber cotyledons. *Physiol. Plant.* 56:407-414
7. Epstein, E. (1971) Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. pp.38
8. Goodwin, T.W. (1971) Biosynthesis by chloroplasts. In:Gibbs, M. 1971 Structure and Function of chloroplasts. pp.232-243
9. Rajasekhar, V.K.; Sipra G. and Sudhir, K.S. (1983) Time dependence of phytochrome-mediated carotenoid and chlorophyll synthesis in *Sorghum bicolor* L. *Ann. Bot.* 52(2): 159-163
10. Sestak, Z. (1985) Photosynthesis during leaf development. Dr W. Junk Publishers. pp. 76-106
11. Stetler, D.A. and Laetsch, W.M. (1969) Chloroplast development in *Nicotiana tabacum* 'Maryland Mammoth' *Amer. J. Bot.* 56:260