

綠豆與胡瓜種子萌發時 子葉呼吸活性變化的比較研究

國中教師組第一名

台北市立北安國中

製作：李 蘭 香



一、研究動機：

在國中生物上册第四章「營養」裏，曾經提到豆類植物幼苗的生長，子葉的重量隨生長日數的增加而減少，幼苗的重量則隨生長日數的增加而增加。但是在日常裏常見的其它植物的種子，有些並不如此，譬如瓜類植物的種子萌發，它的子葉會變綠長大行光合作用來供給幼苗的生長，這一類植物的子葉，自萌發後在外表看來，它的大小，常隨生長日數的增加，而增加到相當時間之後，才開始萎黃掉落。在上册第六章「生物恒定性的維持」裏也提到植物種子萌發時，呼吸作用最爲旺盛，這兩種不同類型的種子在萌發時，它們呼吸活性的消長是不是一樣呢？因此，我想以綠豆和胡瓜爲材料，來研究這兩種不同類型的子葉的呼吸活性變化。

二、研究目的：

比較綠豆和胡瓜種子萌發時，兩種不同類型子葉的生長情況與呼吸活性變化。冀期使國中學生對上述章節的敘述有一明確的觀念。

三、實驗材料及過程：

(一)材料

以綠豆和胡瓜材料，分別代表上述兩種不同類型的種子。

(二)實驗過程

1. 實驗植物的種植：

- ①綠豆和胡瓜種子用 1% 次氯酸鈉溶液消毒之後，以蒸餾水洗去次氯酸鈉。
- ②將消毒後的種子，置於滅菌的培養皿內的棉花上加些水，將培養皿移入 27°C 的照光培養箱中培養。
- ③以同樣方法，每天種植一批，連續種植十天。
- ④十天之後，分別採收一些子葉，供鮮重量，乾重量，面積及呼吸活性的測定。

2. 粒線體之分離：

- ①將各時期採收之胡瓜或綠豆子葉，每次 5 克置冰凍的研鉢中，倒入 10c.c 緩衝液，快速研磨後，倒入離心管。
- ②在高速冷凍離心機中，以 2,000 g 離心五分鐘。

- ③上層澄清液再以12,000 g 離心十分鐘。
- ④倒掉上層澄清液，加入 0.1M 磷酸緩衝液，這就是粒線體懸浮液。
- ⑤粒線體的量以蛋白質的量做定量標準，每 c.c 含有 4—5 毫克蛋白質。

3.呼吸酵素活性之測定：

①琥珀酸去氫酶 (Succinic Dehydrogenase) 活性之測定：

a、取兩支試管，標上 1、2，依照下表依次加入：

溶 液	試管 1	試管 2
0.1M 磷酸緩衝液 PH=7.4	1.8cc	1.6cc
0.1M 氰化鉀	0.2cc	0.2cc
2.5 mM 2,6-D CIP (註 1)	0. cc	0.2cc
0.1M 琥珀酸鈉	1.0cc	1.0cc
粒線體懸浮液	1.0cc	1.0cc
總 體 積	4.0cc	4.0cc

註 1：2,6—DCIP：2,6—Dichlorophenol—indolphenol

b、迅速混合之後，倒入比色管，以「光電比色儀」600 m μ 波長，測定試管 2 之吸光密度 (OD)，每分鐘測定一次，連續測定30分鐘，記錄吸光密度的變化。

②細胞色素氧化酶 (Cytochrome Oxidase) 活性之測定：

a、取兩支試管標上1,2，依照下表加入

0.1M 溶 液	試管 1	試管 2
0.1M 磷酸緩衝液 PH=7.4	1 .cc	1 .cc
0.02% PPD (註 2)	1 .cc	1 .cc
飽和鐵氰化鉀溶液	3 滴	

粒線體懸浮液	1 .cc	1 .cc
總體積	3 .cc	3 .cc

註2 PPD : P—Phenylene diamine

b、以光電比色儀580m μ 先測定試管1的OD，然後於試管2中加入PPD迅速混合，測定其OD達到試管1之值所需的時間。

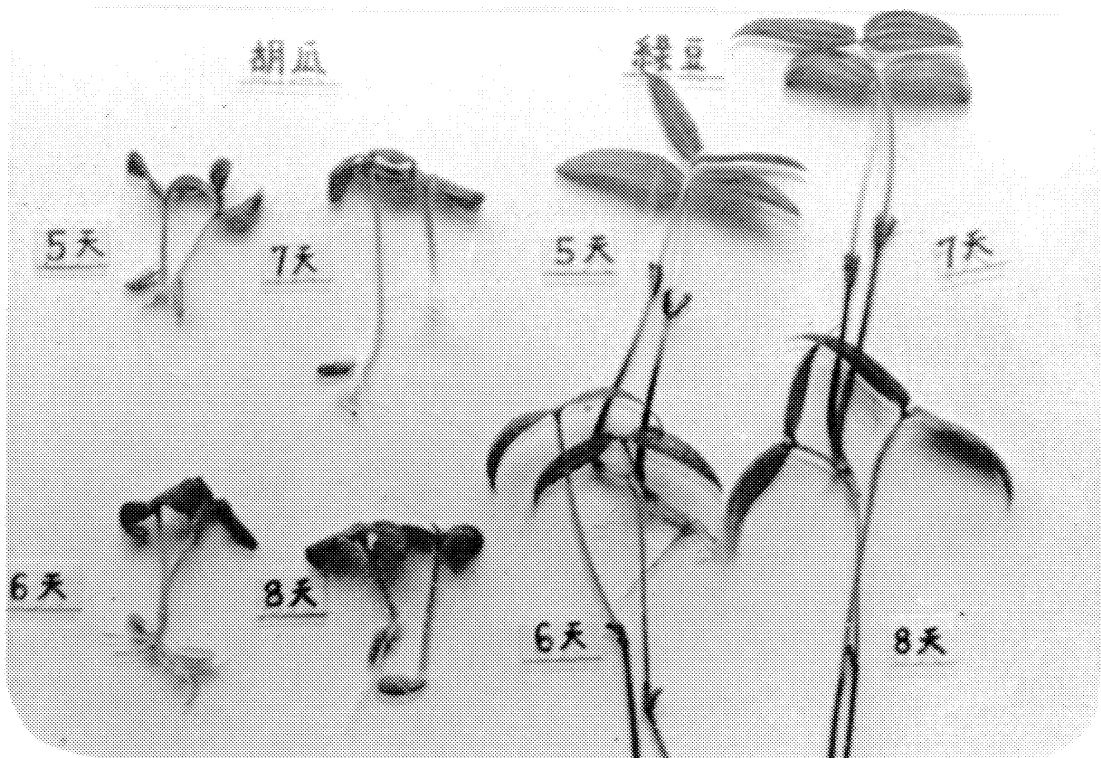
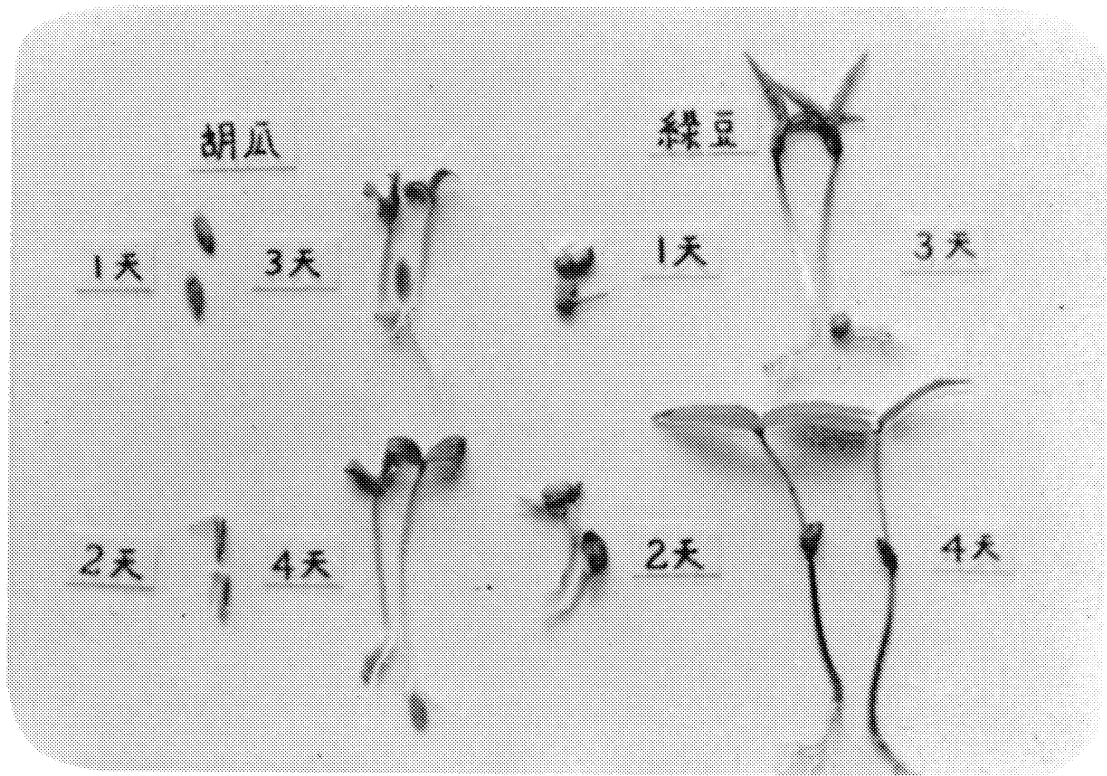
4.呼吸活性之測定

- ①粒線體呼吸活性之測定利用氧檢定儀（Oxygen Monitor）測定氧之消耗量。
- ②反應溶液含有0.1M tris—Hcl 0.3M甘露醇，0.004M氯化鎂和0.005M磷酸二氫鉀，PH—74。
- ③測定前將0.1c.c粒線體懸浮液加入反應溶液中，然後注入定量之琥珀酸或ADP測定溶液中氧的消耗。

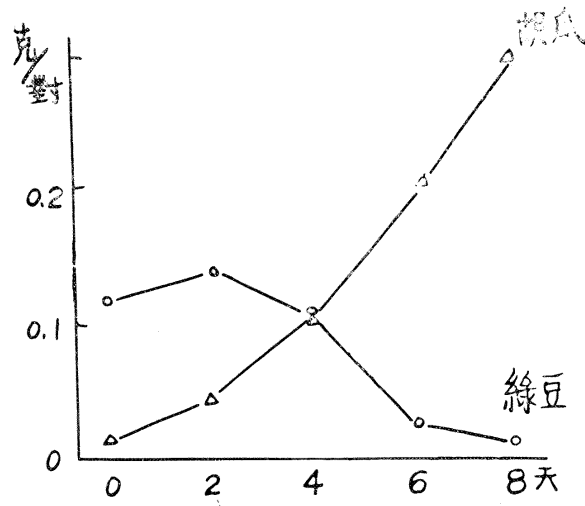
四、結果與討論

(一)子葉生長情況之比較：

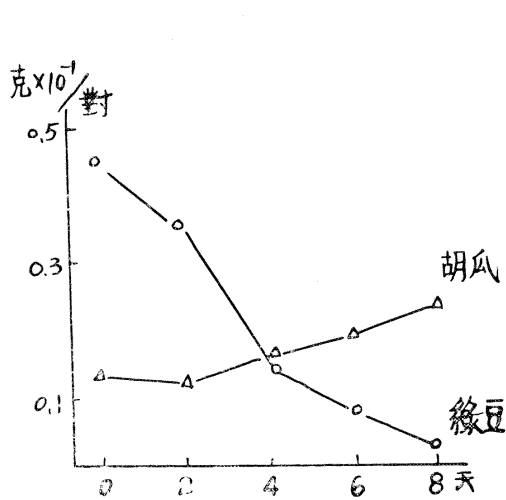
- 1.綠豆種子之萌發要比胡瓜快，在第一天即長出胚根，而胡瓜種子則在第二天方長出胚根。
- 2.綠豆種子在第二天即長出正常葉，而胡瓜種子迄第十天仍未長出正常葉。
- 3.綠豆子葉自萌發後要一天至要八天，隨生長日數的增加而逐漸萎縮；至第九天開始掉落。而胡瓜子葉則自萌發第一天一直至第十天，隨生長日數的增加而逐漸長大而且綠化（附照一、二）



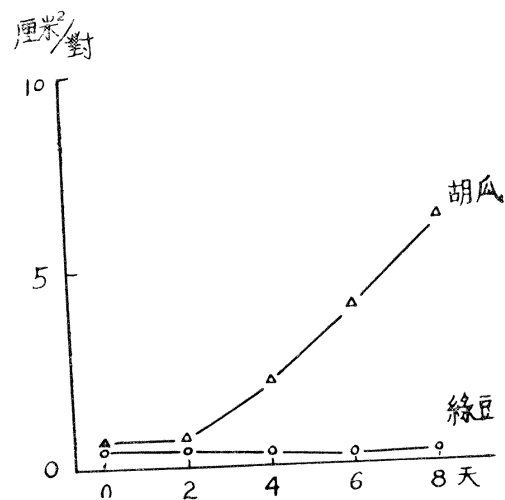
4. 兩種不同類型子葉在萌發後，第一天至第十天，鮮重量，乾重量與面積之變化，綠豆子葉自萌發後，上述三項目均隨生長日數之增加而遞減；而胡瓜子葉上述三項目則隨生長日數之增加而增加，截然不同，請參見圖一、圖二、圖三。



圖一 鮮重量之變化



圖二 乾重量之變化



圖三 子葉面積之變化

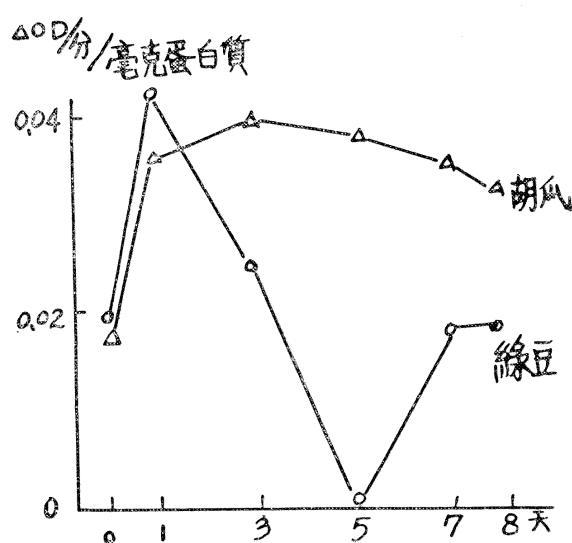
(二) 呼吸酵素活性變化比較：

琥珀酸去氫酶與細胞色素氧化酶是粒線體進行呼吸作用最重要而典型的酵素，其活性變化足以代表粒線體之呼吸活性變化。在綠豆子葉此二酵素的活性均以第一天為最高，至第五天後逐漸消失；而胡瓜子葉此二酵素的活性均以第五天為最高，以後乃略為下降，其變化情形，請參見圖四、五。

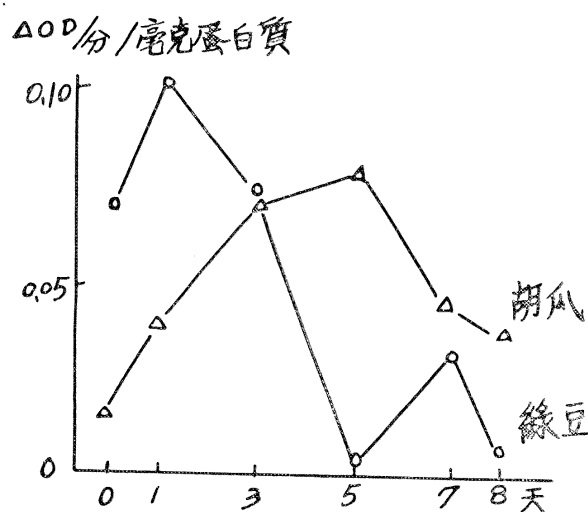
呼吸活性變化之比較：

粒線體之呼吸活性變化，表現在外的，除了生長與代謝的變化之外，最顯著的便要算氧消耗量之變化了。本實驗將以呼吸控制值（RC值），ADP與 O_2 之比（ADP:O）和氧的消耗量等三項來測定呼吸活性之變化。

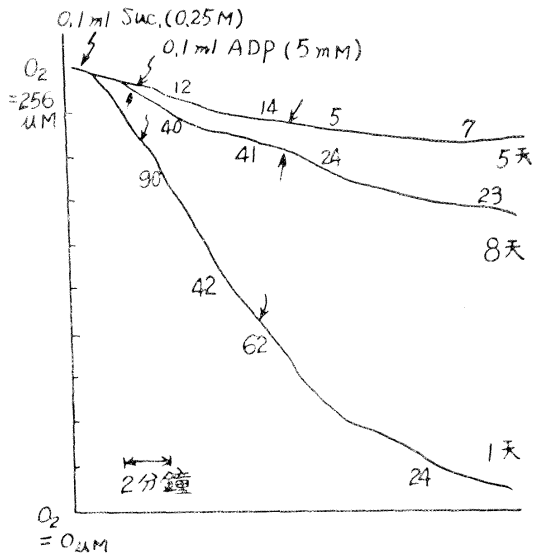
由圖六、圖七、可以看出綠豆及胡瓜子葉，在第一、五、八天時，粒線體呼吸活性之變化。



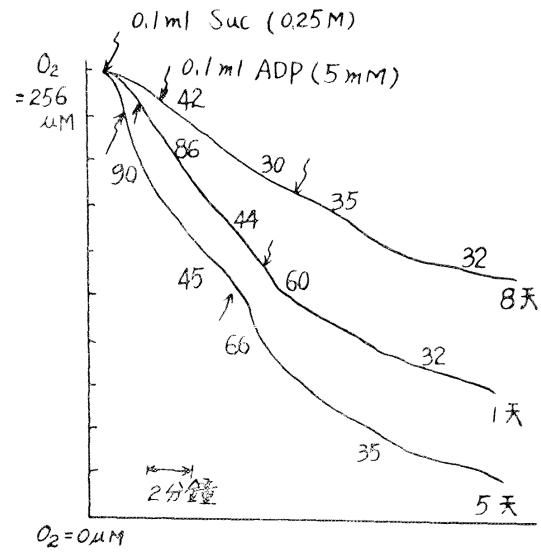
圖四 琥珀酸去氫醯活性的變化



圖五 細胞色素氧化醯活性的變化

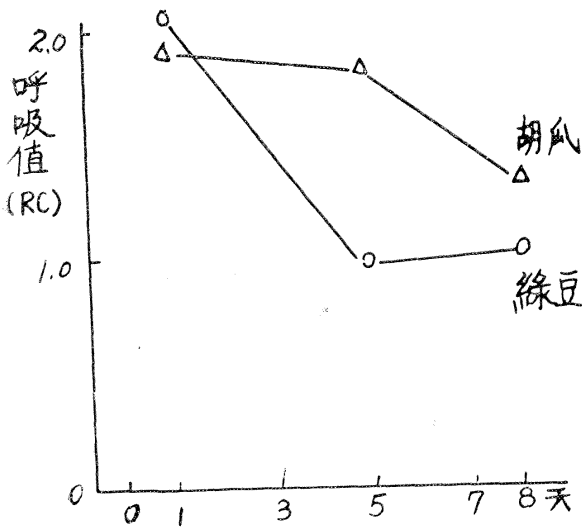


圖六 綠豆子葉呼吸活性的變化

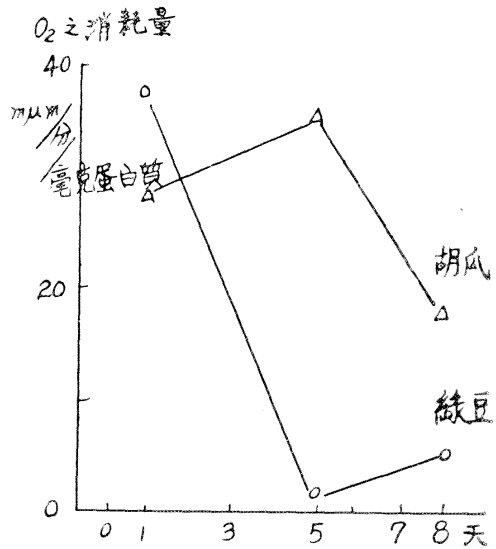


圖七 胡瓜子葉呼吸活性的變化

再由圖八、九可以看出，綠豆子葉之呼吸活性以第一天為最高，以後則逐漸降低。而胡瓜子葉則以第五天為最旺盛以後稍為下降其變化情形。



圖八 呼吸值的變化



圖九 氧消耗量的變化

五、結語：

- (一)由種子萌發後，子葉及幼苗的生長情況和呼吸酵素及呼吸活性的變化來看，綠豆及胡瓜這兩種不同類型子葉截然不同。
- (二)綠豆子葉由萌發後，即逐漸萎縮而終至掉落，沒有葉綠素的合成，不能進行光合作用，純粹以所貯藏的養分來供給幼苗的生長。而胡瓜子葉則由萌發後，即逐漸長大，有葉綠素的合成，子葉變綠，可行光合作用供給幼苗生長所需的養分。
- (三)呼吸酵素活性與呼吸活性之變化與兩種不同類型子葉之生長情況尚頗相符。大體上，子葉生長良好時或子葉急速萎縮時，呼吸酵素與呼吸活性愈旺盛，這個結果表示，不能行光合作用之子葉以所貯藏的養分供幼苗的生長，如綠豆是，可以行光合作用的子葉，一方面以所貯藏的養分供幼苗的生長，一方面也長大進行光合作用製造養分供幼苗生長所需，而且以後者的功能比較重要，如胡瓜是。
- (四)故在雙子葉植物中，子葉的生長情況與功能至少有上述兩種截然不同的類型存在。

六、未來的探討：

- (一)兩種不同類型的子葉在發育，功能與萎縮過程中，除了呼吸性的更進一步探討之外有關各種水解酵素，包括蛋白質水解酵素，脂質水解酵素等的比較研究，仍待更進一步的探討。
- (二)有關這兩種不同類型子葉與幼苗，在發育和代謝上的關係，也值得加以比較研究。
- (三)利用子葉為工具，還可做其他代謝如核酸，植物激素和蛋白質代謝等的研究。