

# 2023 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 060010

參展科別 植物學

作品名稱 引菁拒鹽 - 探討田菁較綠豆耐鹽的機制

得獎獎項

就讀學校 臺南市私立德光高級中學

指導教師 江芝韻、鄭楷騰

作者姓名 洪子軒、林郁晁、徐靖涵

關鍵詞 田菁、綠豆、鹽逆境

## 作者簡介



我們是就讀台南私立德光中學三年級的洪子軒、林郁晁、徐靖涵。因為有想要共同研究的事物，我們組成了這個科展團隊，在老師的指導以及父母的支持之下，我們秉持著對科學的熱忱，研究常見綠肥植物—田菁的耐鹽機制，並希望這項研究能在未來應用於農業上。

在這次的科展過程中，我們精進探究與實作的能力，實驗並整理數據後產出報告，也學習到問題解決的方法、追根究柢的態度，實屬獲益良多。

## 摘要

In recent years, changing disasters have become a major cause of economic damage to crops. To find out the mechanisms underlying plant stress tolerance is pressing. It has been shown that *Sesbania cannabina*, which is a kind of green manure in Taiwan, can be grown in soil with higher salinity. *Vigna radiata* (mung bean) is a typical crop and material widely used in research and daily life. *Sesbania cannabina* and mung bean both belong to legumes. We want to know why *Sesbania cannabina* has better salt tolerance. We make comparisons between *Sesbania cannabina* and *Vigna radiata* to investigate the mechanism of salt tolerance: First, in the phenotype, *Sesbania cannabina* showed better growth performance under salt stress in seedlings' germination rate, shoot length, root length, and fresh weight. Second, the density of stomata is lower in *Sesbania cannabina* under salt stress, leading to lower water loss. Third, in physiological experiments, *Sesbania cannabina* had shown higher antioxidant enzyme activities in POD and CAT. These antioxidant enzymes could help plants to survive under stress. In conclusion, *Sesbania cannabina* has better salt tolerance due to higher antioxidant ability and puts more energy into growing a more complex root architecture. In addition, we found that *Sesbania cannabina* had separated stele and more proline in roots to help it keep water and away from salt. All the mechanisms mentioned above make *Sesbania cannabina* a better adaptation under salt stress. We hope this study can be applied to agriculture and reduce economic losses from unpredictable environmental disasters.

## 中文摘要

隨著越來越劇烈的天災，對農作物損害造成了許多危機。去了解植物如何對抗逆境，是刻不容緩的。田菁是台灣重要的綠肥作物，我們也常在濱海鄉村的農田看到其存在；綠豆是常用作物，在研究上與日常生活中都很常見，同樣身為豆科植物，兩者對於常見的鹽逆境的反應是否有差異呢？本研究透過比較田菁與綠豆兩種常見豆科植物，深入了解並比較其耐鹽機制。首先，在外表型上，田菁幼苗在鹽逆境下的發芽率、芽長、根長和鮮重皆有較好的生長情形。其次，鹽逆境下田菁的氣孔密度較低，進而可以減少水分蒸散。第三，在生化測試中，田菁在 POD 和 CAT 兩個酵素上，表現出更高的酵素活性。這些抗氧化酵素可以幫助植物在逆境下更容易生存。總之，田菁由於更高的抗氧化能力而具有更好的耐鹽性，並且將更多的能量用於生長更複雜的根結構。此外，我們發現田菁在根中出現中柱分離和更多的脯氨酸累積，以幫助它保持水分和遠離鹽害。上述所有機制使田菁在鹽逆境下具有更好的適應與生長。我們希望這項研究可以在未來應用於農業上，減少不可預測的環境災害造成的經濟損失。

## 壹、研究動機

田菁(*Sesbania cannabina*)作為常見的植物，因生長性、固氮作用強，常做為綠肥植物，分布於東南亞，引進後因容易繁殖而遍佈台灣，甚至是土壤鹽分含量高的海岸附近都能見其茁壯的生長著，但就細胞生長而言，高鹽分的環境容易使植物脫水，而田菁在高鹽分的鹽逆境下究竟如何發展對應的存活機制？若拿同為蝶形花科且常見的綠豆(*Vigna radiata*)做比較，在耐鹽的程度上，是綠豆較能克服鹽逆境還是田菁比較容易存活呢？若是田菁勝過綠豆，也許就可以作為如今十分嚴重的土壤鹽鹼化問題的解決之道。因此我們將綠豆與田菁種植在鹽的高滲透壓環境中，期待可以找出兩者耐鹽性的差異與生存能力的強弱，並了解是田菁還是綠豆更適合在高鹽度的環境中生存。

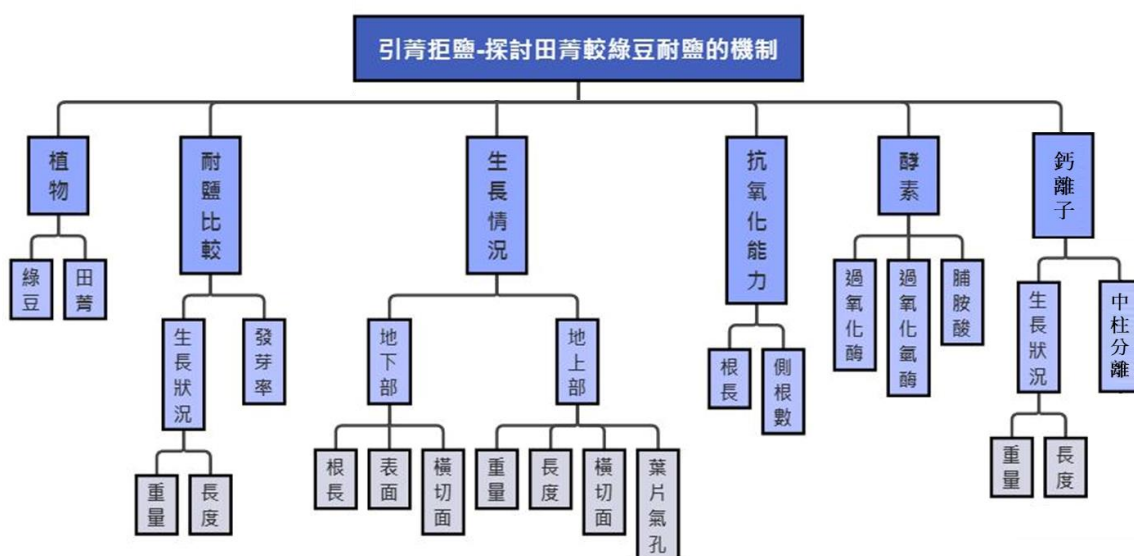
## 貳、研究目的

- 一、探討綠豆與田菁何者較耐鹽
- 二、比較綠豆與田菁在鹽逆境下的發芽率
- 三、觀察綠豆與田菁在鹽逆境下的外觀差異
- 四、比較綠豆與田菁在鹽逆境下的地下部生理機制差異
- 五、比較綠豆與田菁在鹽逆境下的地上部生理機制差異
- 六、比較綠豆與田菁在氧化逆境下的地下部生理機制差異
- 七、比較綠豆與田菁在鹽逆境下的脯胺酸含量差異
- 八、比較綠豆與田菁在鹽逆境下的抗氧化酵素活性
- 九、探討鈣離子造成綠豆與田菁在鹽逆境下的生長情形與生理機制差異

## 參、研究設備及器材

- 一、研究材料：綠豆（學名：*Vigna radiata*）、田菁（學名：*Sesbania cannabina*）
- 二、實驗器材：培養皿、濾紙、刀片、解剖顯微鏡、橡膠手套、秤量紙、量筒、鑷子、電子天平、50ml 離心管、恆溫箱、冷凍櫃、ImageJ 軟體、Excel 軟體
- 三、實驗藥品：蒸餾水、氯化鈉、過氧化氫、磺基水楊酸、醋酸、甲苯

## 肆、研究方法



(圖 0-1) 實驗架構

### 一、蒐集種子

- (一) 田菁種子來源：於種子行「豐谷行」購買。
- (二) 綠豆種子來源：綠豆皆為超市的「南北坊」袋裝綠豆。

### 二、觀察、比較綠豆與田菁何者較耐鹽

- (一) 了解綠豆與田菁生長狀況
- (二) 比較綠豆與田菁在鹽逆境中的生長的發芽率及外表特徵：配置 50mM、100mM、150mM、200mM、300mM、400mM 之 NaCl 水溶液，並取 14 毫升溶液至培養皿中，再分別取綠豆、田菁各十顆置於不同培養皿中，及純水對照組，置於 28 度恆溫箱中照光，四天後取出觀察並測其鮮重、長度及計算發芽率。

### 三、觀察、比較綠豆與田菁的耐鹽機制

- (一) 對比綠豆與田菁生長狀況
- (二) 比較綠豆與田菁在鹽逆境中的生長的特徵：

1. 培養皿實驗：配置 50mM、100mM、200mM 之 NaCl 水溶液，並取 14 毫升溶液至培養皿中，再分別取綠豆、田菁各十顆置於不同培養皿中，及純水對照組，置於 28 度恆溫箱中照光，七天後取出觀察並測其鮮重、拍照、切片。
2. 土壤實驗：配置 50mM、100mM、150mM、200mM 之 NaCl 水溶液，先將綠豆、田菁種於土壤當中，以蒸餾水培育，四天後自恆溫箱取出，並分別置入五組不同培養皿當中，再七天後去除土壤並記錄其長度與鮮種

#### 四、比較綠豆與田菁在氧化逆境中的生長差異

取 14 毫升純水至培養皿中，再分別取綠豆、田菁各十顆置於不同培養皿中，置於 28 度恆溫箱中照光，七天後取出並於實驗組加入 0.1M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水溶液，再置於 28 度恆溫箱中照光，七天後取出觀察並切片。

#### 五、比較綠豆與田菁在鹽逆境中的酵素

配置 50mM、100mM、200mM 之 NaCl 水溶液，並取 14 毫升溶液至培養皿中，再分別取綠豆、田菁各十顆置於不同培養皿中，及純水對照組，置於 28 度恆溫箱中照光，七天後取出後放入 15ml 離心管中並分別測量植株淨重並記錄於瓶身，再將離心管放入 -80°C 的冰箱保存

##### (一) 脯胺酸(Proline)含量測定：

1. 將樣本利用液態氮磨碎
2. 加入 3% 1.8ml 的黃基水楊酸(sulfosalicylic acid)並混和均勻
3. 在常溫下 5000g 離心 20 分鐘
4. 加入 0.4ml Ninhydrin(0.25g Ninhydrin+5ml 醋酸+4ml 6M 磷酸)、0.4ml 樣本液、0.4ml 醋酸混和均勻
5. 放入 95 度水浴槽反應 1 小時
6. 加入 1.6ml 甲苯強力震盪 15 秒，並靜置 10 分鐘，測量上液 520nm 吸光值後換算濃度

##### (二) 過氧化酶(Peroxidase, POD)活性測量：

1. 取離心管，並加入 0.5ml 100mM 磷酸鉀緩衝溶液(pH7.0)，在加入 0.25ml 的蒸餾水與 0.1ml 2.5%愈創木酚。
2. 加入 2 $\mu$ l 的蛋白質萃樣本，混和均勻。
3. 加入 0.1ml 10mM 過氧化氫。
4. 快速將液體倒入比色管中，測量 470nm 在第一分鐘吸光值變化。
5. 將讀值除以植物鮮重後，得活性。

##### (三) 過氧化氫酶(Catalase, CAT)活性測量：

1. 取離心管，並加入 990 $\mu$ l 50mM 過氧化氫溶液。
2. 加入 10 $\mu$ l 的蛋白質樣本，混合均勻。
3. 液體倒入比色管測量 240nm 第一分鐘吸光值變化。
4. 將讀值除以植物鮮重後，得活性。

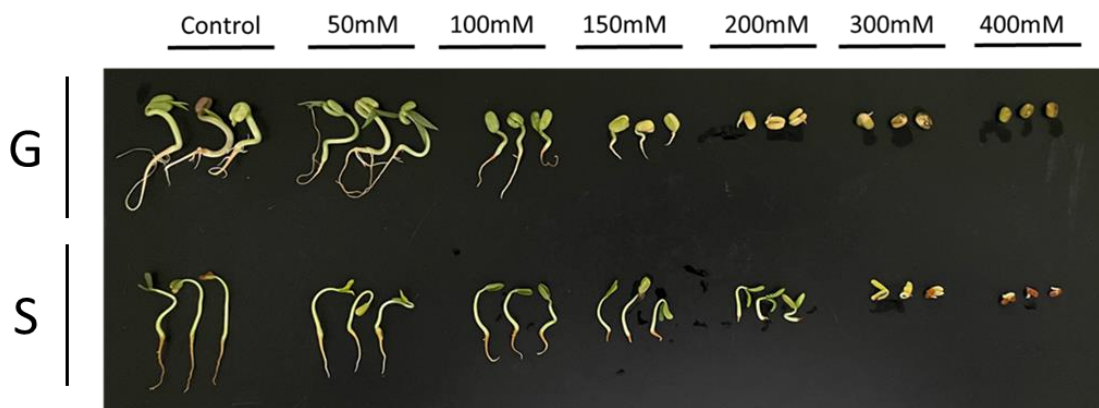
## 伍、研究結果

### 一、比較綠豆與田菁的耐鹽能力

#### (一) 幼苗耐鹽測試

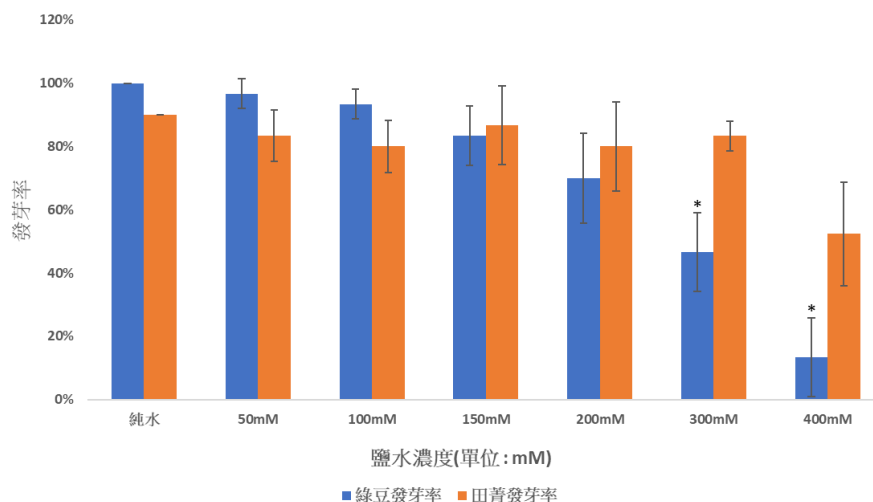
為了辨別田菁的耐鹽能力，我們取綠豆與田菁的種子置於培養皿中，在相同的種子數目與溶液含量下，將兩者種子放入不同鹽濃度的溶液中並觀察、紀錄，兩种植物種子的發芽率及生長情形差異，根據（圖 1-1）對照組的綠豆及田菁的發芽狀況皆良好，到達鹽濃度 100mM 時仍有較長的植株，而在 100mM 之後發現綠豆的根部開始明顯變短，150mM 時的綠豆植株根長，約是 100mM 時的一半，200mM 之後根長更是不明顯，到 400mM 時根部不再長出，發芽率明顯下降，而田菁在 200mM 時還有子葉長出，到 400mM 仍有些許根部冒出，發芽率受到的鹽濃度影響較綠豆小。

我們將發芽率進行量化作圖（圖 1-2），可以發現綠豆的發芽率隨著鹽濃度的增加而下降，300mM 的發芽率甚至是 100mM 的一半，在 400mM 時發芽率更不到 300mM 的一半，而田菁在 300mM 前仍能維持 80% 的發芽率，在 150mM 時甚至高於 50mM、100mM 的發芽率，在 400mM 時發芽率雖下降到 50%，卻仍遠高於在相同鹽濃度下的綠豆發芽率。



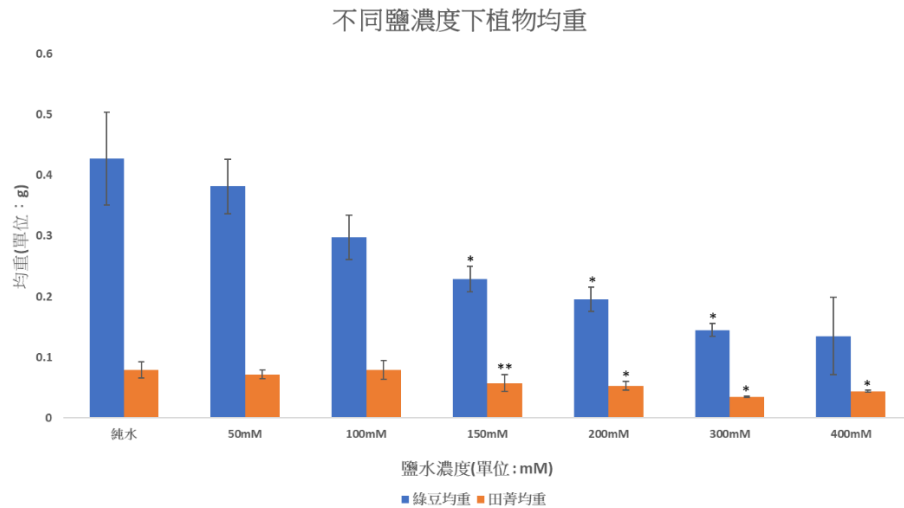
（圖 1-1）綠豆與田菁在鹽水下的生長情況 [G:綠豆；S: 田菁]

不同鹽濃度下植物發芽率



（圖 1-2）綠豆與田菁在鹽水下的生長發芽率

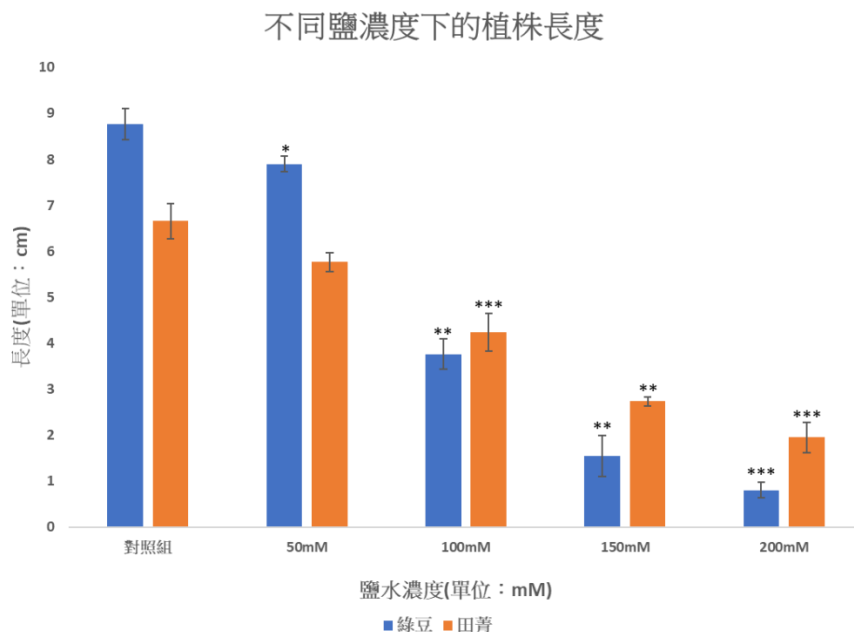




(圖 1-3) 綠豆與田菁在鹽水下的植物均重

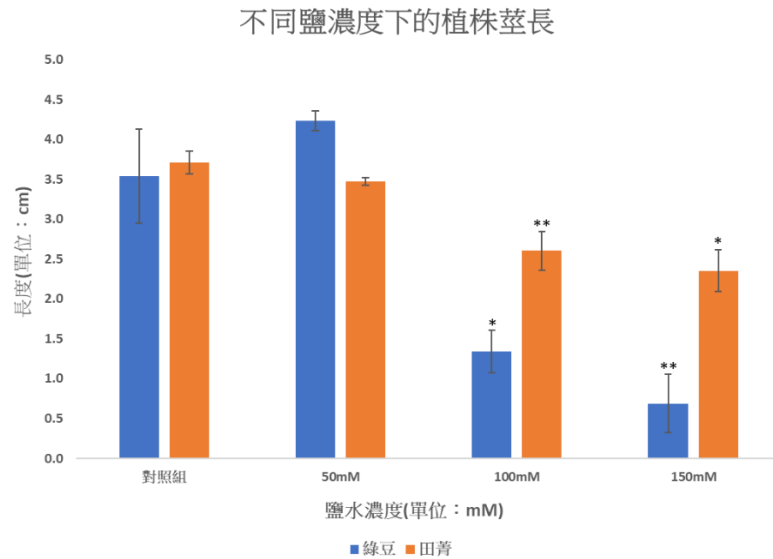
除了發芽率外，我們同時測量了綠豆與田菁的鮮重並量化作圖（圖 1-3），結果顯示，綠豆的植株重量隨著鹽濃度的增加下降，在 200mM 下的植株鮮重僅剩對照組的一半，減輕十分明顯，而田菁的重量則沒有明顯的改變，雖有些許下降的趨勢，但減輕的幅度遠不及綠豆。

在長度的表現上，到了鹽處理第四天皆有明顯差異（圖 1-4、1-5）。在 50mM 時綠豆的莖長較對照組長，但莖的粗度卻能由（圖 1-1）發現到明顯變細的情形。而隨著鹽濃度的增加，總長度皆是減半，田菁的植株長度雖隨著鹽濃度的增加而減少，但減少的幅度並沒有綠豆減少的幅度那般劇烈，而後在 300mM、400mM 的鹽濃度中，綠豆已經無法明顯看到根部，甚至在 200mM 就已無法明顯分別綠豆的莖與根。



(圖 1-4) 綠豆與田菁在鹽水下的植株長度





(圖 1-5) 綠豆與田菁在鹽水下的根部長度

種子 在 培養 皿 中，經 鹽 處 理 後 4 天，我 們 發 現 當 鹽 濃 度 上 升 時，不 論 是 發 芽 率、植 株 重 量 以 及 植 株 長 度，田 菁 改 變 的 比 例 皆 小 於 綠 豆，透 過 此 實 驗 我 們 推 斷，田 菁 比 綠 豆 具 有 更 佳 的 耐 鹽 能 力。

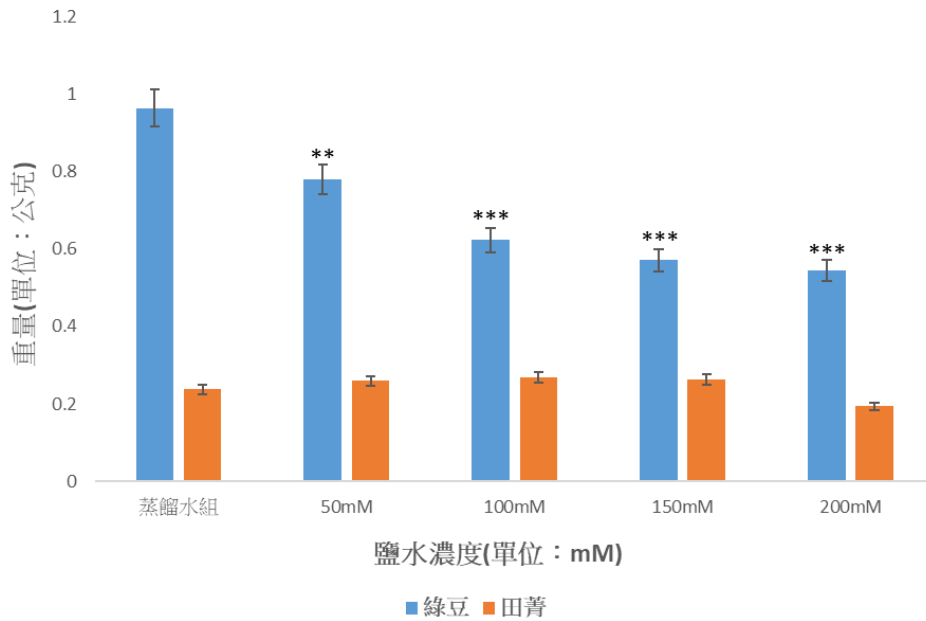
## (二) 成熟株耐鹽測試：

為 了 確 認 田 菁 較 佳 的 耐 鹽 能 力 並 非 僅 限 種 子 到 幼 苗 階 段，待 其 生 長 為 成 熟 植 株 時 是 否 同 樣 具 有 較 佳 耐 鹽 能 力。我 們 先 將 植 物 置 於 土 壤 (由 一 寸 盆 盛 裝) 中 發 芽、成 長 四 天 後 使 其 成 熟，再 將 一 寸 盆 由 恆 溫 箱 中 取 出，於 分 別 盛 裝 14 毫 升 蒸 餾 水、50mM、100mM、150mM 及 200mM 食 鹽 水 的 培 養 皿 中 各 放 兩 盆 植 株，七 天 後 將 其 自 土 壤 中 取 出，清 洗 掉 根 部 土 壤 後 拍 照 記 錄 其 最 終 生 長 狀 況，並 計 算 其 各 部 位 的 重 量 與 長 度。



(圖 1-6) 植株在不同鹽逆境下的成長情形[S:田菁；G:綠豆]

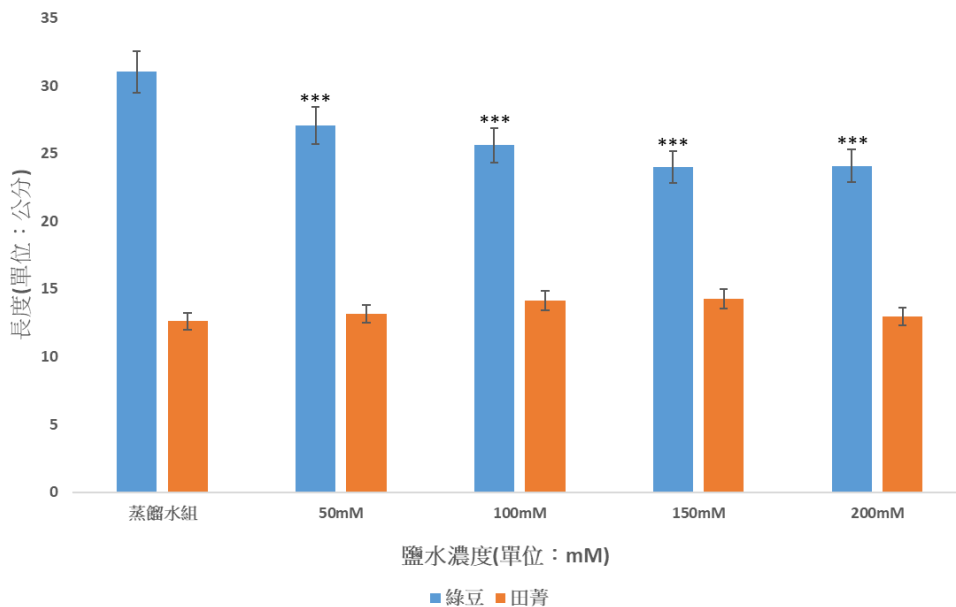
## 植株鮮重(單位：公克)



(圖 1-7) 植株於不同濃度鹽逆境下的重量差別

實驗結果如(圖 1-6)所示，可以看出，綠豆長度明顯長於田菁，然而，當我們將不同鹽逆境下的植株重量及長度量化後做比較後，發現在(圖 1-7)與(圖 1-8)中皆呈現了一種狀況：**同樣都受到鹽逆境影響，然而綠豆無論長度亦或是重量皆有所下降，重量下降的尤其明顯，反觀田菁的重量及長度則下降不多，甚至還有些微上升的情形**，因此，除去綠豆本來就長的比田菁大的因素之外，我們得以推論**田菁的耐鹽能力確實不局限於幼苗，待其發育為成熟植株後仍能維持較好的耐鹽能力**。

## 植株全長

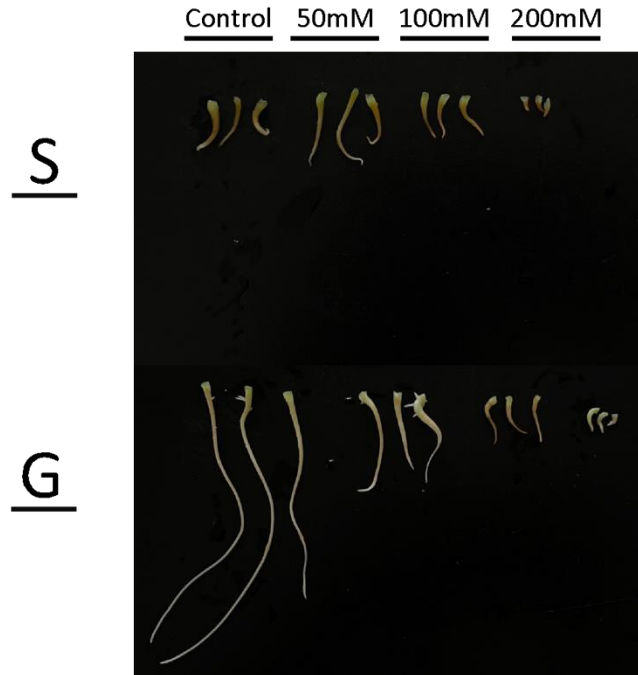


(圖 1-8) 植株於不同濃度鹽逆境下的長度

## 二、比較田菁與綠豆地下部差異藉以探討田菁耐鹽機制

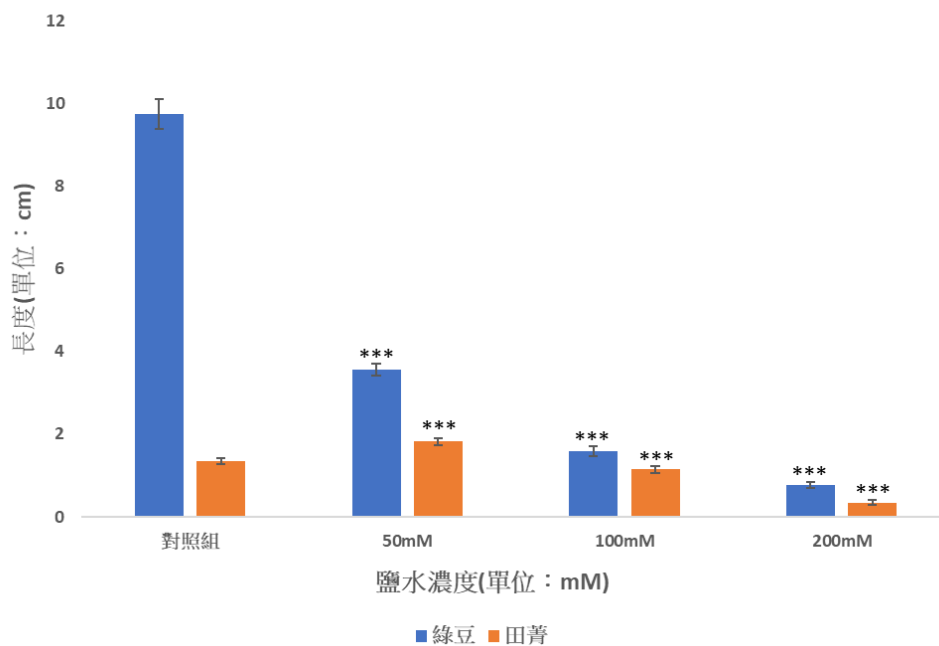
鹽逆境下，植物會因環境滲透壓的提升而產生缺水問題，根部作為植物吸收水分的關鍵角色，我們想透過外觀型態與切取橫切面去了解田菁與綠豆根部間構造的差異，試圖找出田菁的耐鹽原因。

首先我們將植物鹽逆境時間增至七天，藉以比較綠豆與田菁在鹽逆境時對於根部的能量分配情形，拍照並測量後，作圖呈現結果。



(圖 2-1) 植株根部[S:田菁；G:綠豆]

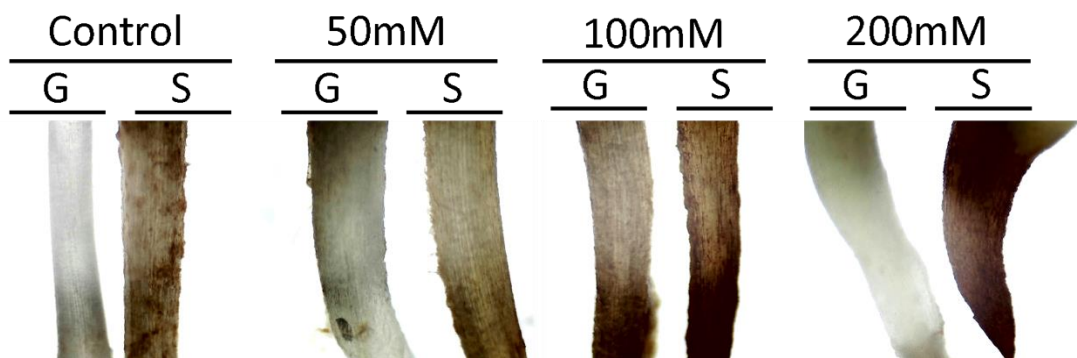
### 不同鹽濃度下植物根長



(圖 2-2) 植株根部長度

由（圖 2-1）可發現，當實驗時間加長到七天時，測量其長度後，發現綠豆根部的長度隨鹽濃度上升而遞減，在（圖 2-2）中更可以看到鹽濃度在 50mM 時，綠豆根長僅剩對照組長度的約三分之一長，而後隨鹽濃度增加對半遞減。反觀田菁，在 50mM 時根部長度甚至較對照組長，之後雖同樣隨鹽濃度增加而遞減，但相對於對照組的下降幅度皆比綠豆來的少。因此我們推知，在鹽逆境下，田菁會選擇將能量投入於根部發展，以維持其根系，有機會提升其地下部吸收水分的能力，以應付缺水環境。

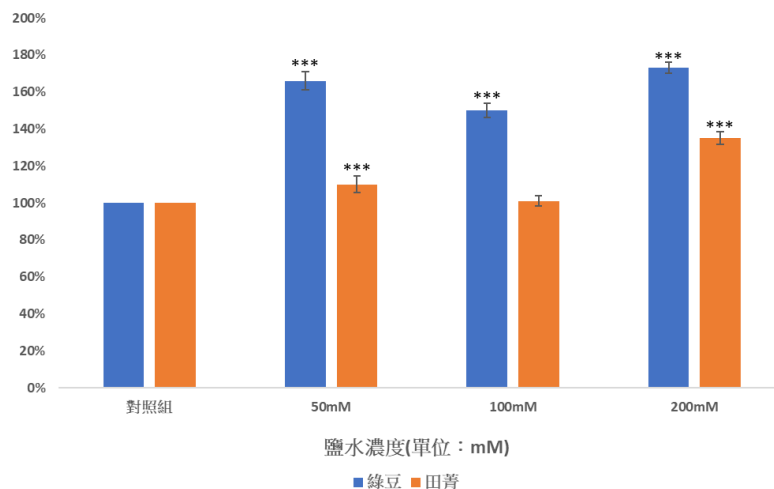
在觀察根部構造時我們發現，田菁根部外面有一層褐色絨毛構造，如（圖 2-1）所示，因此我們將綠豆與田菁根部放在解剖顯微鏡下觀察（圖 2-3），我們發現綠豆的根部表面較田菁光滑，而田菁根部表面有層明顯的棕色粗糙凸起，我們推測，田菁根部表面的棕色粗糙構造有助於增加表面積，藉以提升其吸水能力，以應付高滲透壓環境。



（圖 2-3）解剖顯微鏡根表面[S:田菁；G:綠豆]

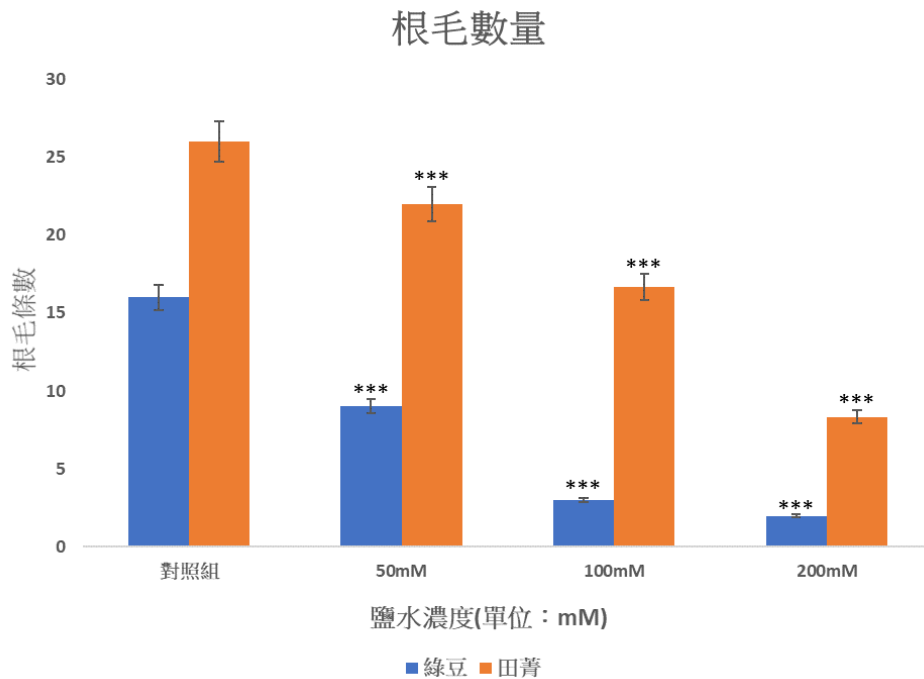
根部觀察過程我們發現，在鹽逆境下綠豆與田菁根部會產生增粗現象，透過測量根部的粗度並量化作圖進行比較，結果如（圖 2-4）所示。在鹽處理下田菁與綠豆的根都有變粗現象，但綠豆加粗的現象比田菁更為明顯，特別是在鹽濃度 50mM 的情況下。我們推測根加粗可能是鹽逆境下植物常見的反應，而田菁加粗較不明顯的原因可能歸於其擁有較佳的耐鹽能力所致。

不同鹽濃度下根粗比例



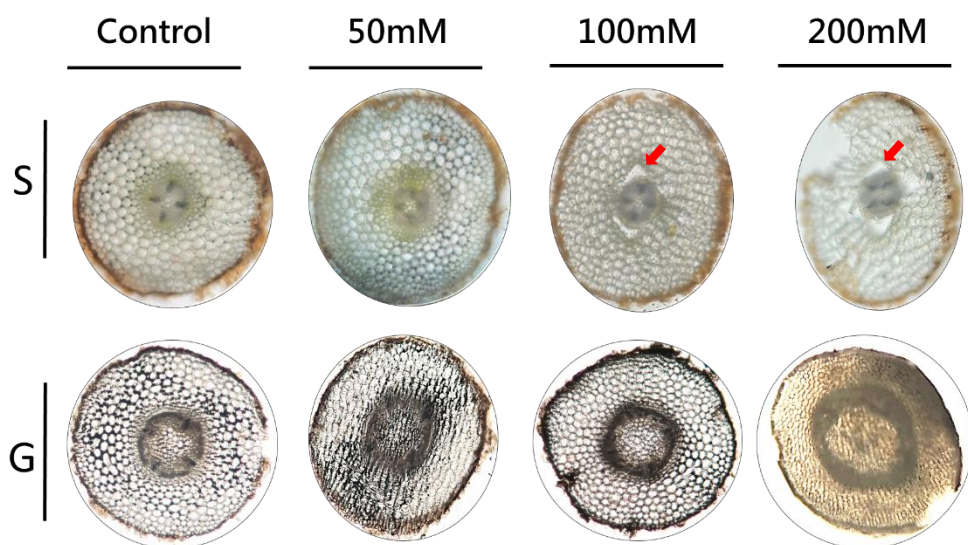
（圖 2-4）解剖顯微鏡下的根部粗度比例

我們也嘗試在顯微鏡下觀察並計算綠豆與田菁的根毛數量，結果如圖（圖 2-5）所示，在尚未經鹽處理的組別中，田菁根毛數即高於綠豆，在鹽處理後，兩者根毛數量皆有下降現象，但田菁降幅不明顯，而綠豆在鹽濃度 50mM 時，根毛數量就下降將近一半。根據結果我們得知，田菁比綠豆擁有更多的根毛，在鹽逆境下亦能較好的維持其根毛的數量，透過增加根的表面積以提升吸水效益，藉以面對高滲透壓環境。



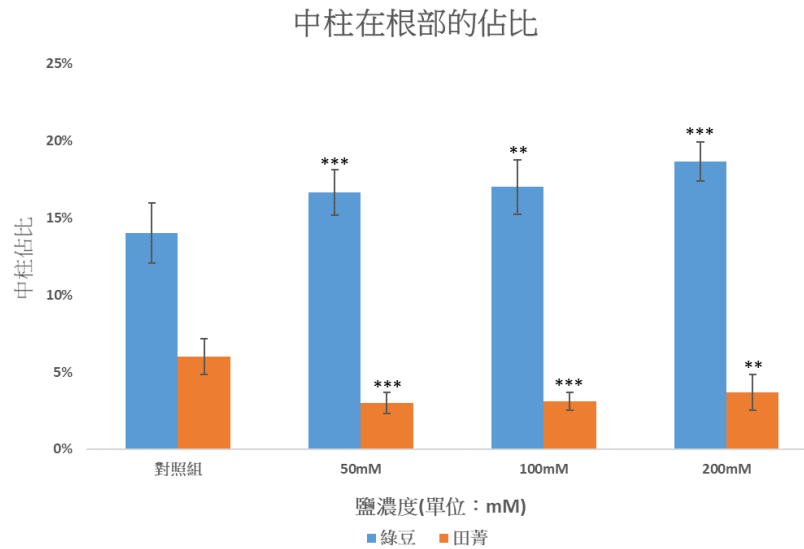
(圖 2-5) 綠豆與田菁根毛數量計算

接著我們進一步進行根部橫切面觀察，藉以比較綠豆與田菁根部內部結構，以找出田菁的耐鹽機制。根部橫切面結果如（圖 2-6）所示。



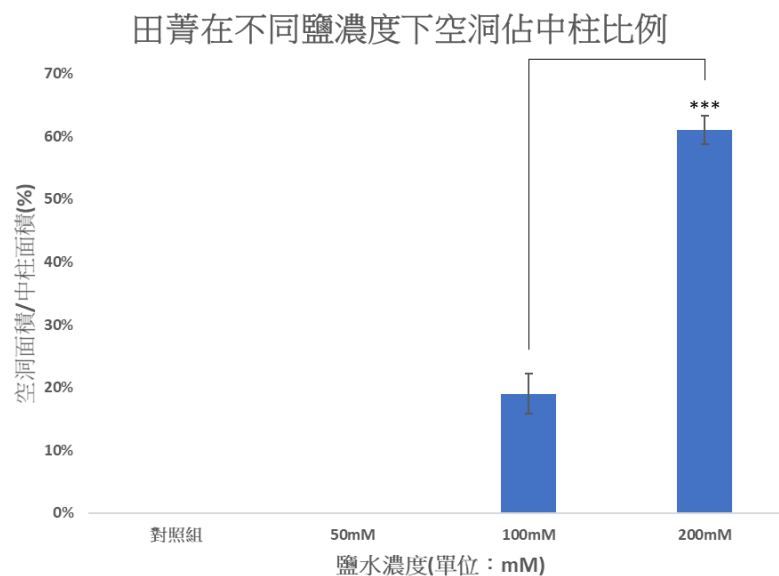
(圖 2-6) 複式顯微鏡根切片，紅色箭頭為中柱分離現象[S:田菁；G:綠豆]

根據根部橫切面觀察結果顯示，綠豆與田菁的中柱佔比具有明顯差異，綠豆中柱佔根部比例約 14%，而田菁僅佔 6%。根據文獻指出，中柱較小有助於根部將有機物或離子困於中柱，以此提升中柱滲透壓來達到更好的吸水效果，而田菁可能透過較小的中柱佔比來增強其抵抗高滲透環境的能力。此外，當綠豆遇上鹽逆境時，其中柱佔比不減反增，而田菁則是能將中柱佔比由 6%降至 3%。由此推知，田菁中柱在根部的低佔比有可能提升其耐鹽能力。



(圖 2-7) 綠豆與田菁根部中柱佔比

除了中柱占比較低之外，我們意外的發現，當鹽濃度增加到 150mM 時，田菁根部中柱周圍有分離的現象，如(圖 2-6)紅色箭頭所示。我們利用 imagej 軟體量化其空洞所占面積比例，結果如圖(圖 2-8)所示。當鹽濃度達 200mM 時，其空洞區域占比高達中柱的六成，而綠豆的根部皆無中柱分離現象。



(圖 2-8) 複式顯微鏡田菁切片空洞比例

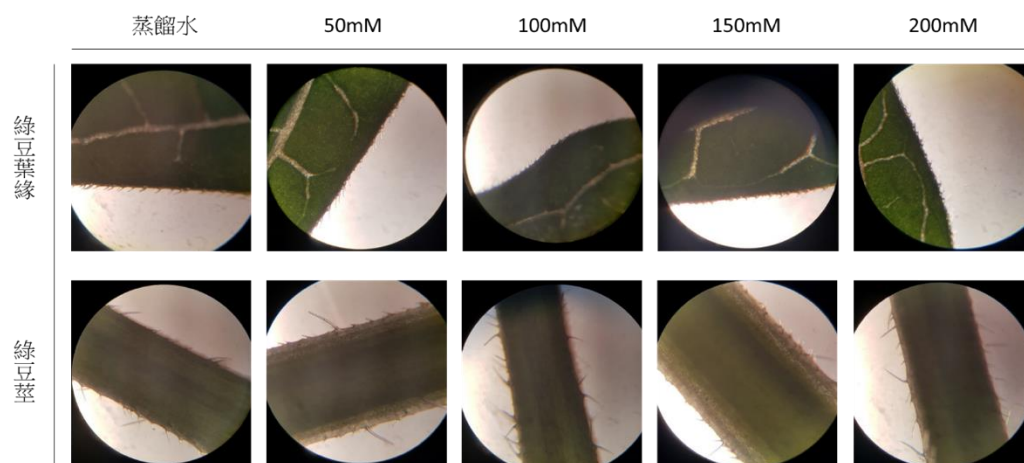


因為根部內皮具有卡氏帶的關係，物質進出中柱僅能走質體內途徑，而高鹽環境下田菁中柱與皮層分離，將有效的降低質體內運輸途徑，藉以將物質鎖在中柱內以提升中柱滲透壓，達到更加的耐鹽效果。

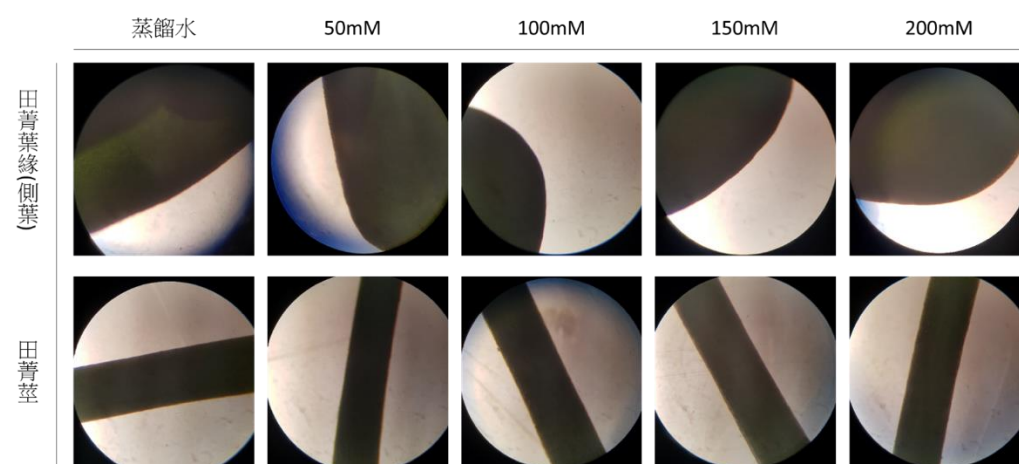
根據上述根部研究結果我們發現：田菁在鹽逆境時傾向維持其根系的發展，並擁有特殊褐色絨毛與根毛來提升吸收表面積，亦可透過降低中柱佔比與促使中柱周圍分離來將物質困於中柱，透過提升根部滲透壓，以提升田菁的耐鹽能力。

### 三、比較田菁與綠豆地上部差異藉以探討田菁耐鹽機制

除了地下部的探討以外，我們也嘗試探討綠豆與田菁在地上部的構造差異，藉以找出田菁耐鹽機制。首先我們利用顯微鏡觀察綠豆與田菁的葉面邊緣的構造，結果如圖（圖 3-1、圖 3-2）所示。



（圖 3-1）綠豆葉緣與莖周圍的毛生長情形



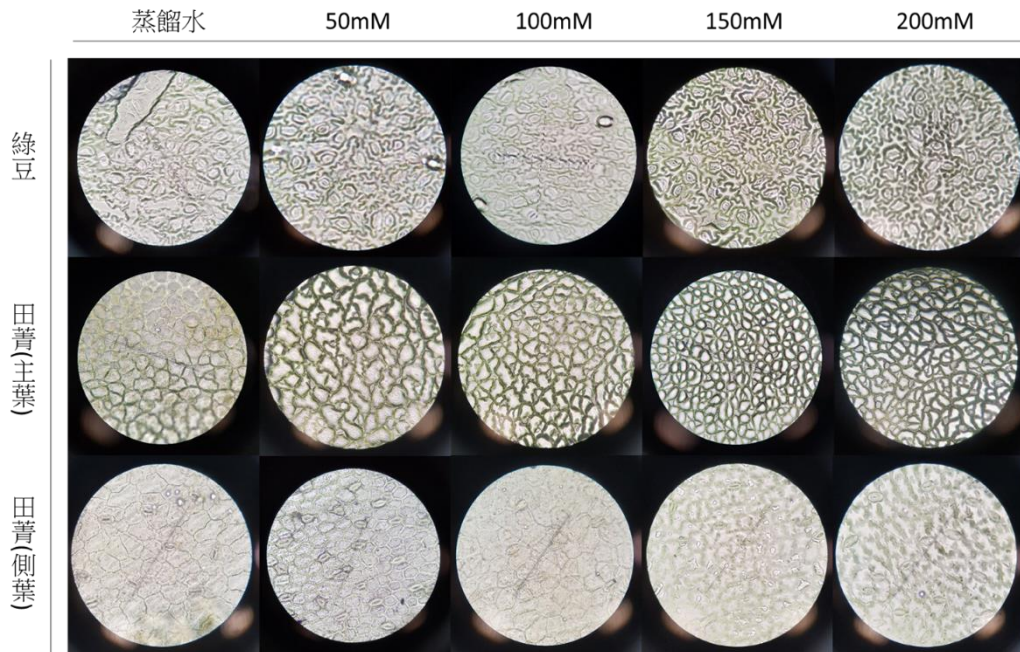
（圖 3-2）田菁葉緣(側葉)與莖周圍的毛生長情形

在（圖 3-1）與（圖 3-2）中，毛的部分則與根部不同，反而是田菁周圍光滑，而綠豆周圍則反而有明顯的毛，葉片的毛細而小且密，莖周圍的毛則粗而大且稍微疏鬆一些。若從毛可以阻止水分散失的功能來看，我們可以推論綠豆在鹽逆境下因為缺乏水分，故而需要較多的毛來阻止水分自植物體中散失，相反的田菁則是不需要透過毛來阻止水分散失，這或許是由

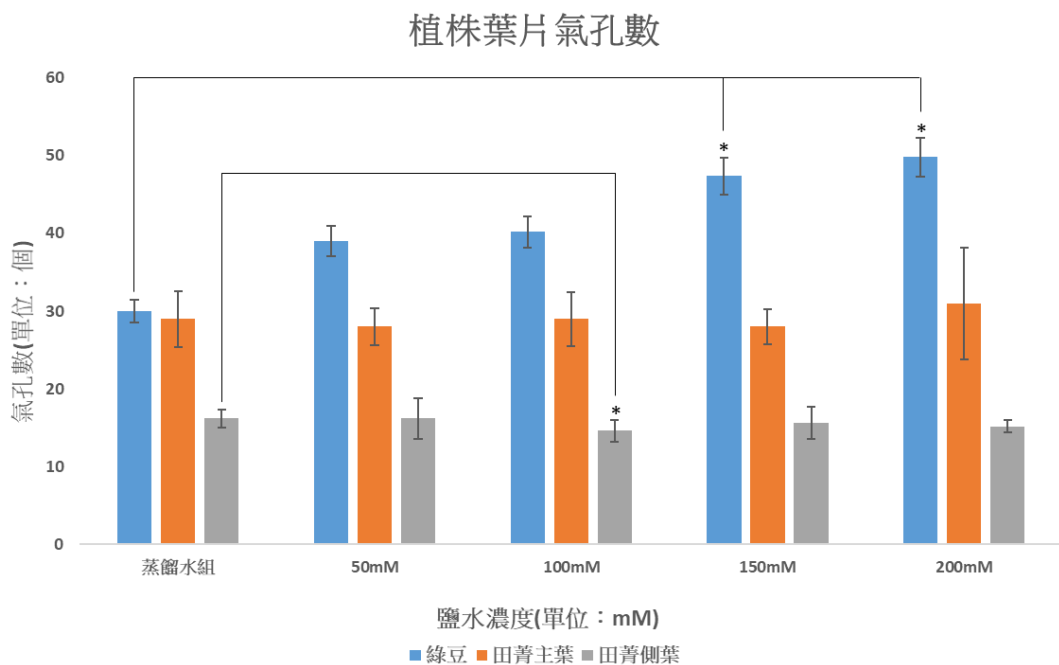


於其耐鹽之緣故，使得田菁在鹽逆境下也沒有需要擔心水分散失過多的原因，亦可作為田菁耐鹽程度較高的證據之一。

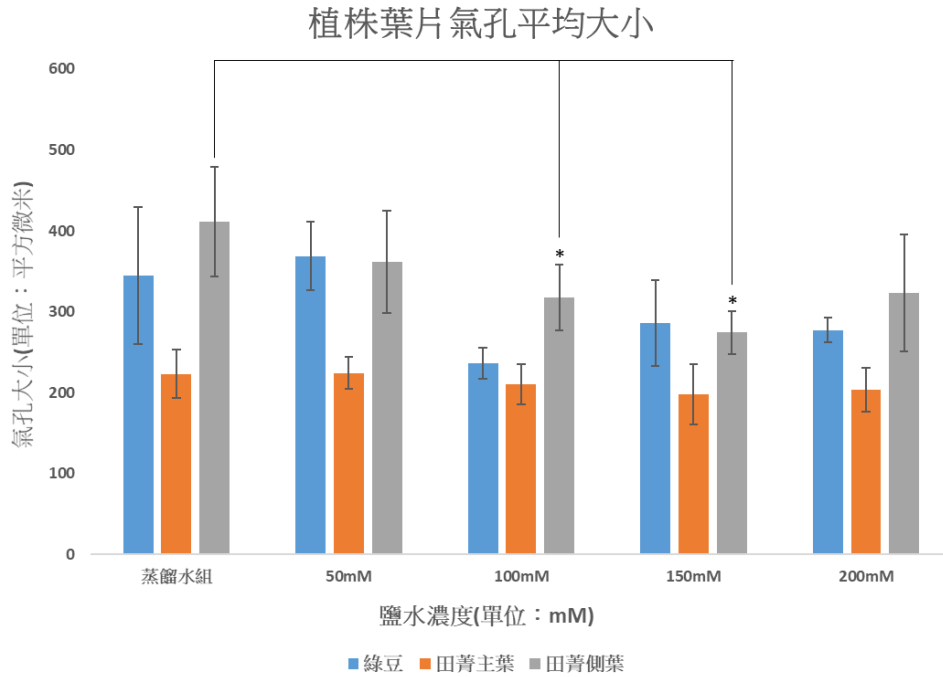
氣孔是植物水分蒸散的管道，而鹽逆境下植物會遇到缺水的問題，我們好奇田菁與綠豆在氣孔的部分是否有存在特別的差異，因此我們利用顯微鏡觀察了綠豆與田菁葉片的氣孔，並且將結果量化統計後作圖。



(圖 3-3) 植株葉片於不同濃度鹽逆境下的氣孔分布

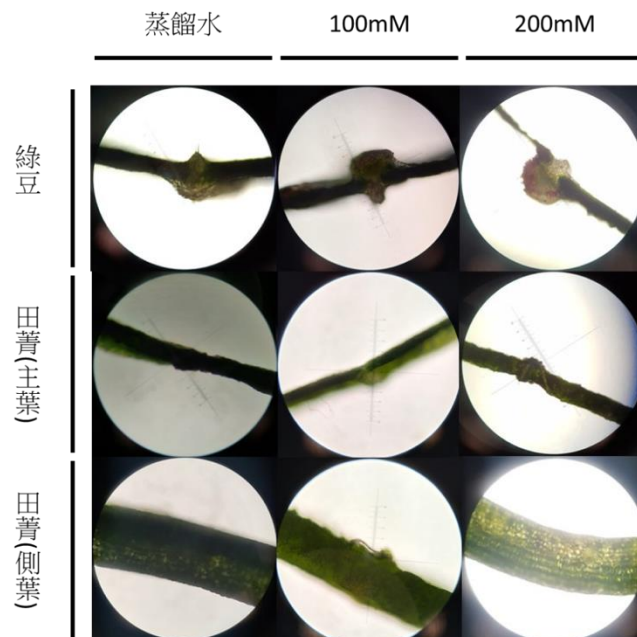


(圖 3-4) 植株葉片於不同鹽濃度下的氣孔數



(圖 3-5) 植株葉片於不同鹽濃度下的氣孔大小平均

從(圖 3-3)的照片,以及(圖 3-4)與(圖 3-5)的數據,我們可以發現,田菁主葉上的氣孔數量與綠豆對照組相差不大,但綠豆氣孔數卻會隨著鹽逆境的濃度而有大幅的提升現象,反觀田菁並沒有因鹽逆境而產生特別大的變化。因此我們推測鹽逆境下兩者的氣孔數量差異可能影響了他們的耐鹽能力,鹽逆境下綠豆較高的氣孔數量將有可能增加其水分散失的機會,降低其耐鹽的能力,而田菁氣孔數量並無增加,將有助於其面對高鹽環境。另外,在氣孔大小上,田菁主葉的氣孔大小也是十分穩定,不因鹽濃度而有太大的變化,我們認為這也未嘗無法證明田菁耐鹽率較高之事實。



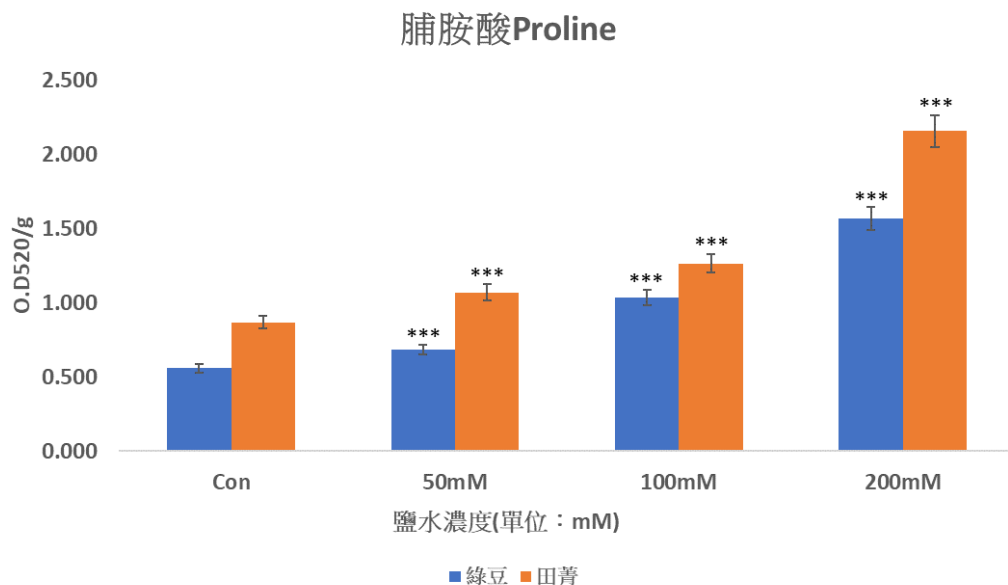
(圖 3-6) 植株葉片於不同濃度鹽逆境下的橫切面

除了氣孔的觀察外，我們也嘗試透過觀察綠豆與田菁葉片的橫斷面來推測兩者的耐鹽能力差異，結果如圖（圖 3-6）所示。我們可以發現綠豆葉片厚度隨著鹽逆境的濃度增加，有變薄的狀況，因此推測高鹽濃度會使綠豆產生脫水現象，使其葉片厚薄。田菁的主葉厚實，而厚實的葉片應能儲存更多的水分，藉以抵抗高滲透壓的環境。此外，田菁主葉厚度並不會隨著濃度增加而顯著變薄，代表田菁在高鹽逆境下葉片仍能具有高度好水力之外，也不易因為環境的高滲透產生明顯的脫水現象。

根據地上部的觀察研究顯示，田菁在鹽逆境下能穩定其氣孔的大小與數量，並具有較厚實的葉片以存放水分，在滲透壓的環境下也能保住水分，不會脫水衰亡。

#### 四、比較鹽逆境下田菁與綠豆在鹽逆境下根部的脯胺酸含量

脯胺酸（proline）是植物耐鹽的指標之一，在高滲透壓環境下植物能在根部累積脯胺酸來提升根部滲透壓，藉以增加根部的收水能力。我們好奇田菁比綠豆擁有更加的耐鹽能力是否與脯胺酸有關係，因此我們將田菁與綠豆進行鹽處理後測量兩者根部脯胺酸含量，結果如圖（圖 4-1）所示



（圖 4-1）鹽逆境下 Proline 含量差異

結果顯示，無論是田菁還是綠豆，兩者根部的脯胺酸含量皆隨著鹽濃度上升而增加，代表兩者都能透過累積脯胺酸來抵抗鹽逆境，但田菁在尚無鹽處理前就擁有較高的脯胺酸含量，且隨著鹽濃度增加，其脯胺酸累積的增幅亦較綠豆更高。因此我們推測，田菁根部在鹽逆境下能更有效的合成大量脯胺酸以提升其根部滲透壓，藉此提升其耐鹽能力。

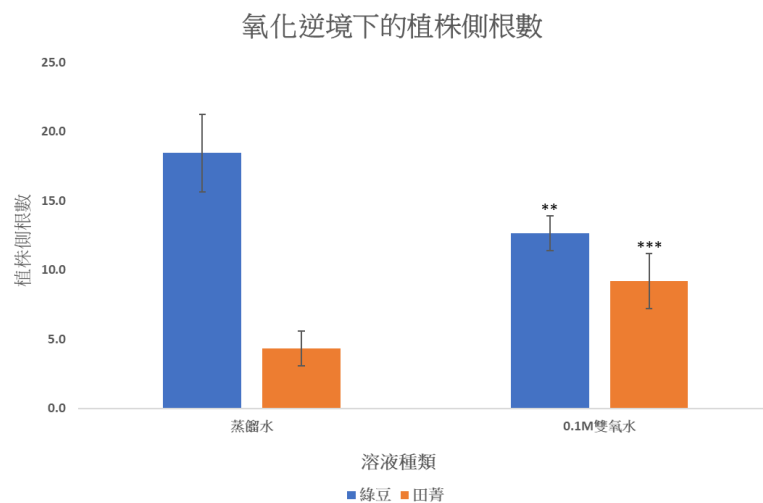
## 五、比較田菁與綠豆的抗氧化能力

當植物受鹽逆境影響時常會導致植株內累積大量過氧化物，造成嚴重的氧化傷害，而擁有較高的抗氧化力將有助於植物抵抗逆境下的氧化傷害。**我們好奇田菁比綠豆更加耐鹽是否因為田菁擁有更佳的抗氧化力？**因此我們將植株置入雙氧水環境中模擬氧化傷害七天，並觀察田菁與綠豆的生長狀況，藉以探討兩者的抗氧化力，結果如圖（圖 5-1）所示。



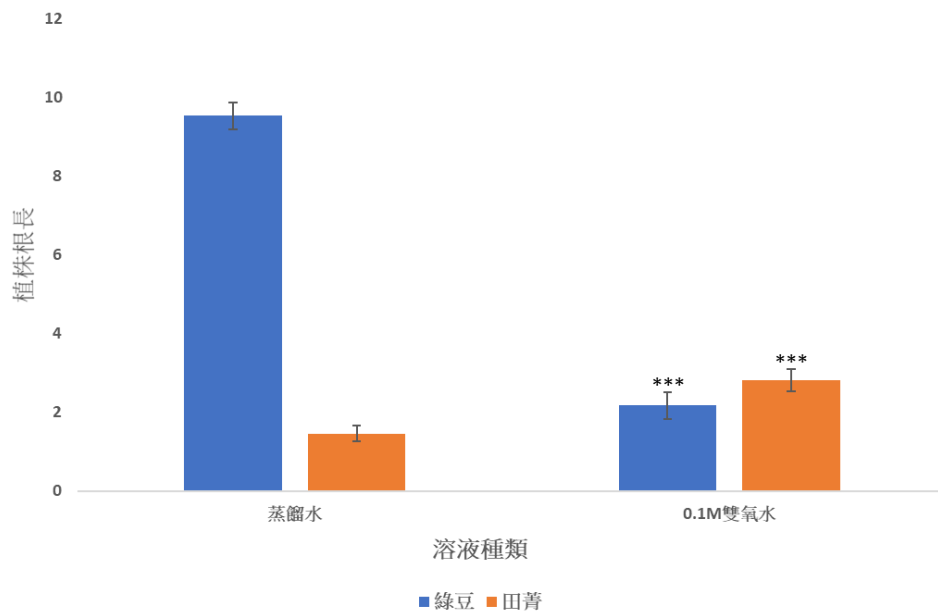
（圖 5-1）綠豆與田菁在雙氧水下的生長情況[S:田菁；G:綠豆]

由（圖 5-1）可明顯看出**綠豆根部在氧化逆境下受到抑制，而田菁根部抑制不明顯，反而根系更加茂盛。**在計算側根數後（圖 5-2）可發現綠豆在對照組中有較多的側根，而氧化逆境中則較少，反觀田菁在氧化逆境中具有對照組約兩倍的側根數，測量主根的長度得出（圖 5-3）**綠豆的根長同樣受到抑制，田菁根長則無明顯抑制現象。**



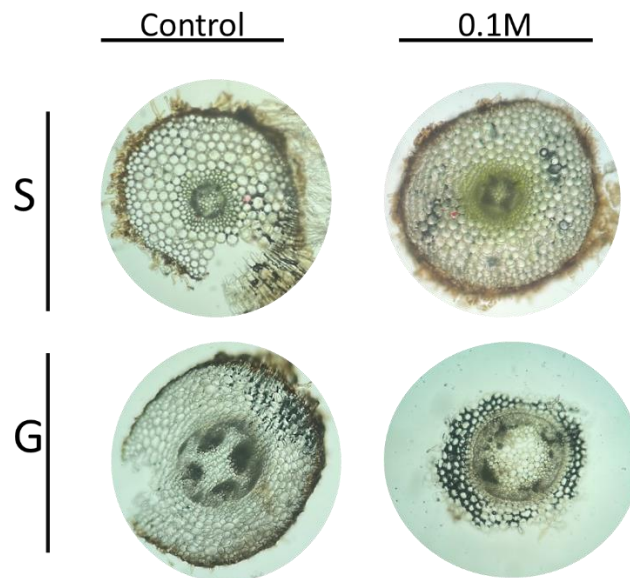
（圖 5-2）綠豆與田菁在雙氧水下的側根數目

## 氧化逆境下的根長度



(圖 5-3) 綠豆與田菁在雙氧水下的根長度

為觀察氧化傷害對田菁與綠豆根部的結構影響，我們將浸泡雙氧水的根部進行橫切觀察，結果如(圖 5-4)所示。我們發現，在雙氧水處理下，田菁的根部橫切面的結構能保持與對照組相似，但綠豆的表皮與皮層都因嚴重的氧化傷害而破損脫落，僅留下少部分的中柱與周圍少量的皮層，結構嚴重受損。

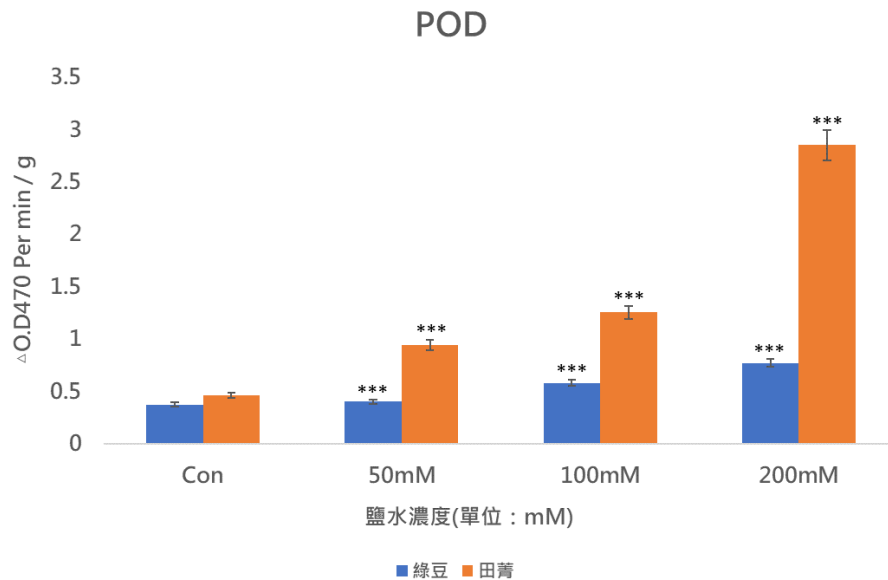


(圖 5-4) 雙氧水處理下田菁與綠豆根部橫切面[S:田菁；G:綠豆]

綜合以上實驗，我們得知田菁比綠豆具有更佳的抗氧化能力，田菁在氧化傷害下仍可持續生長，甚至發展更茂盛的根系，相反的綠豆則難以抵擋強烈的氧化傷害，根部表皮與皮層受損脫落。而田菁較佳的抗氧化能力也說明了其為何擁有較佳的耐鹽能力。

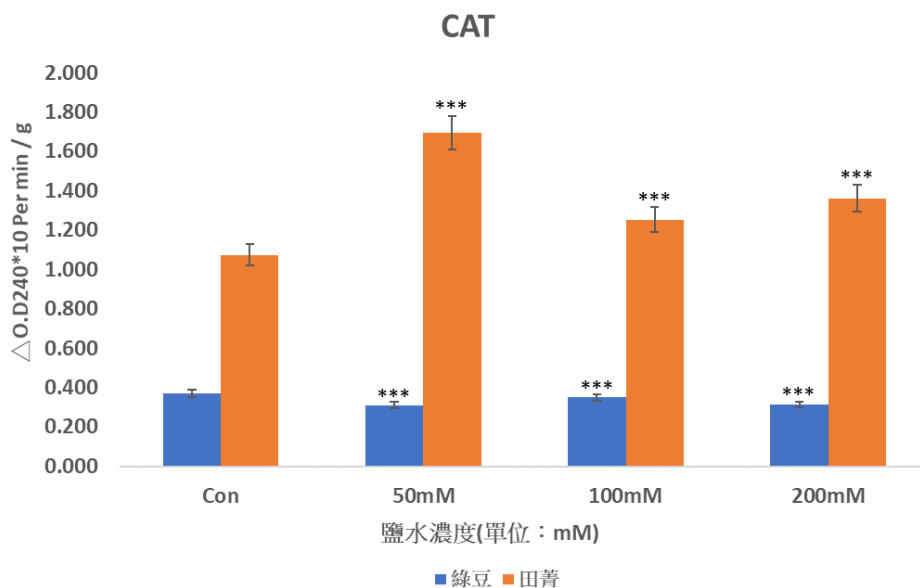
## 六、比較田菁與綠豆抗氧化酵素活性

根據前面實驗得知，田菁比綠豆擁有更好的抗氧化能力，因此我們猜想，是不是田菁植物內的抗氧化酵素活性優於綠豆，因而增加田菁的耐鹽能力？為確認我們的猜想，我們將田菁與綠豆鹽處理後測量其抗氧化酵素 CAT 與 POD 的活性，結果如圖（圖 6-1）、（圖 6-2）所示。



（圖 6-1）鹽逆境下 POD 活性差異

透過（圖 6-1）的數據，比較鹽逆境下 POD 含量的差異，發現在逆境下的 POD 能將雙氧水還原以保護細胞，而隨著鹽濃度提高，含量也隨之上升，在 50mM 下的田菁 POD 活性是對照組的兩倍，而到 200mM 時，甚至有對照組的五到六倍之多，綠豆的 POD 活性雖然也隨鹽濃度上升而增加，但比例遠不及田菁。



（圖 6-2）鹽逆境下 CAT 活性差異

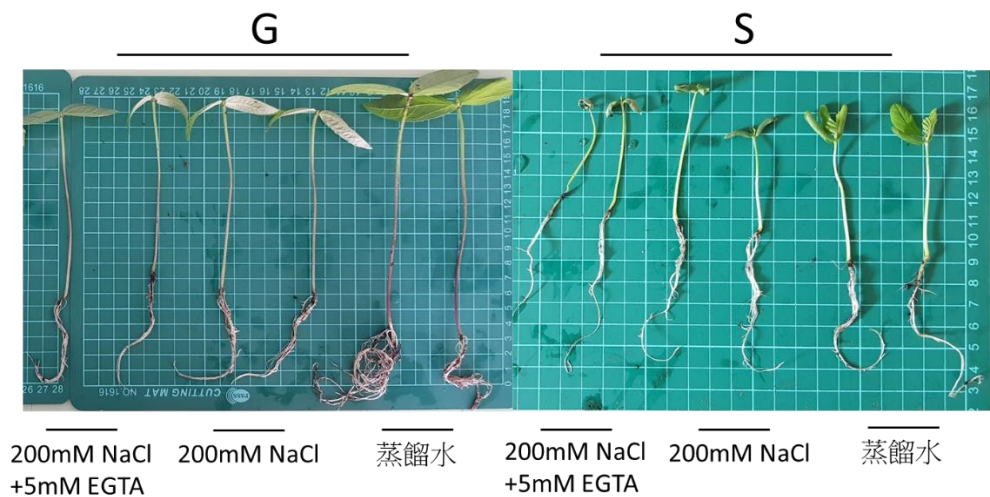


CAT 同樣也能在逆境下協助植物移除體內的雙氧水，由（圖 6-2）得知，綠豆的 CAT 活性差異不大，無明顯隨鹽濃度改變的趨勢，而田菁的實驗組含量則明顯高於對照組。

綜合以上酵素測定可發現，田菁的 POD、CAT 的酵素活性皆比綠豆來的更高，這結果可作為田菁比綠豆擁有更高抗氧化能力的證據之一。

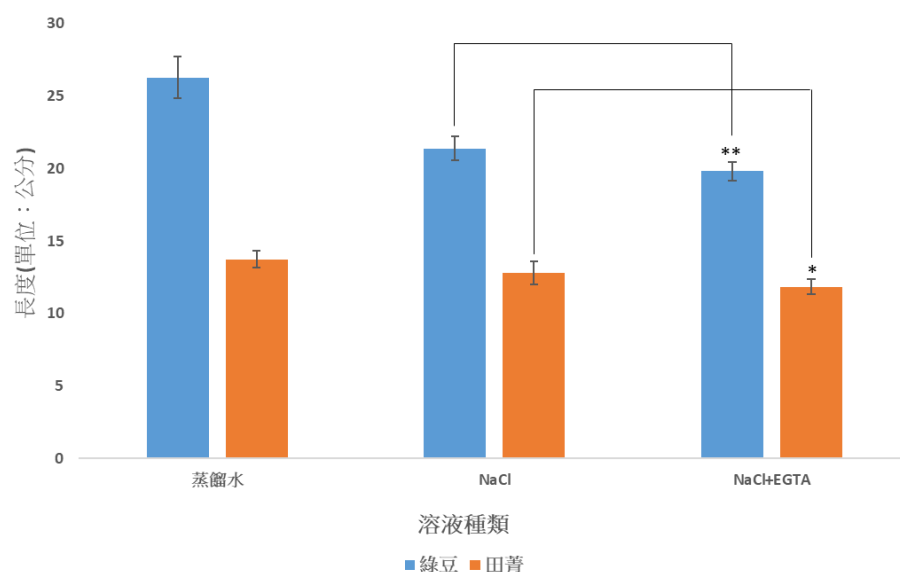
## 七、比較田菁與綠豆耐鹽機制與鈣離子間的關係

鈣離子為植物逆境下常見的訊息傳遞因子，在逆境來臨時，植物能透過累積鈣離子做為訊號，藉以啟動植物的防禦機制。我們好奇，田菁的耐鹽機制是否也需透過鈣離子來誘導啟動？在本輪實驗當中，我們加入了 5mM 的 EGTA(鈣離子螯合劑)，目的是為了測試鈣離子的有無究竟會不會對田菁的耐鹽能力造成影響。



(圖 7-1) 植株於 EGTA 中受鹽逆境影響之生長差異

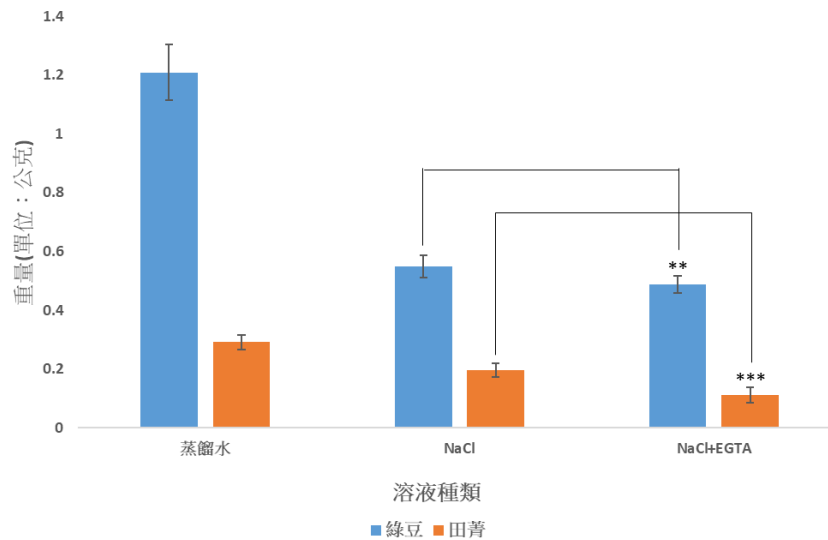
### 鈣離子影響植物生長的長度變化



(圖 7-2) 植株於 EGTA 中受鹽逆境影響之植株長度差異



鈣離子影響植物生長的鮮重差異

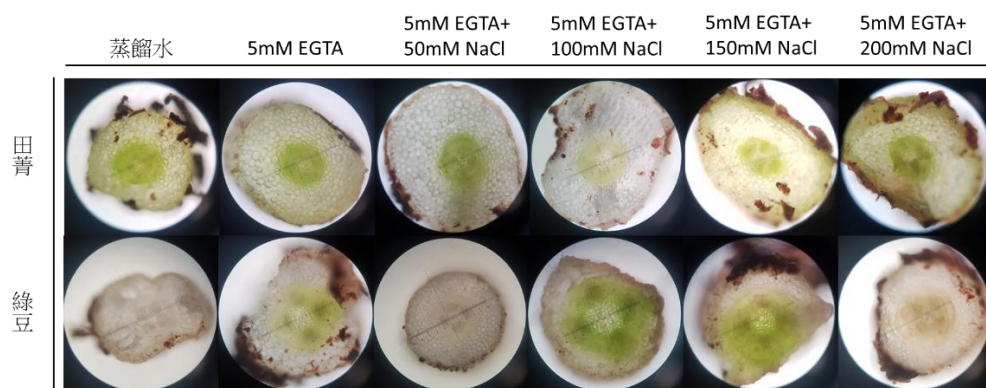


(圖 7-3) 植株於 EGTA 中受鹽逆境影響之植株鮮重差異

綜合 (圖 7-2) 以及 (圖 7-3) 的數據，我們可以發現，在鹽逆境下再加入鈣離子螯合劑(EGTA)後，植株的生長情形皆較未加入 EGTA 的組別差，田菁的生長情形變差的幅度更加明顯，因此從這裡我們可以判斷鈣離子有參與田菁的耐鹽機制。

## 八、探討鈣離子與田菁中柱分離現象的關聯

我們猜測中柱分離現象是田菁較綠豆更為耐鹽的原因，而我們也知道鈣離子使得田菁具有較好耐鹽能力，因此，我們想進一步知曉中柱分離現象與鈣離子的關聯。在本輪實驗中，我們加入鈣離子螯合劑(EGTA)使得植株在鹽逆境下失去鈣離子，並切取根部橫切面，目的是觀察鈣離子的有無是否會影響田菁中柱的分離。



(圖 8-1) 植株於 EGTA 中受鹽逆境影響之根部結構差異

從 (圖 8-1) 中，我們可以發現加入了鈣離子螯合劑(EGTA)後，田菁就算同樣置於 150mM 與 200mM 的鹽逆境中，仍沒有發生如 (圖 2-6) 那樣的中柱分離現象，因此我們認為鈣離子確實與田菁的中柱分離現象有所關聯。

## 陸、討論

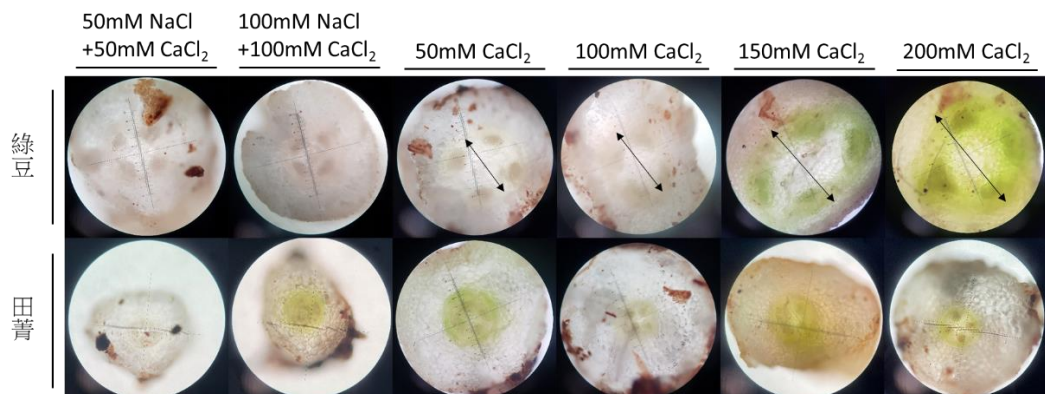
### 一、 植物在鹽逆境下生長

鹽逆境降低作物光合作用的能力，影響作物碳同化作用，抑制植物的生理代謝作用，造成作物生長與產量降低，在土壤中高濃度的鹽分會造成作物產量大幅度地降低 (Yildirim et al., 2006; Luetal.,2002)。鹽逆境影響植物生長的原因，一種是因為土壤中的過量離子濃度所造成的滲透逆境，一種是離子不平衡，導致累積有毒離子，如鈉離子、氯離子和硼離子 (Sibole et al.,2005)。土壤鹽化降低土壤中的水分潛勢，會阻礙植物根部水分吸收與利用，造成細胞喪失膨壓，加上離子毒害反應，會抑制酵素活性和生理代謝作用 (Santos , 2004 ; Kaya et al.,2006)。

### 二、 抗氧化機制在綠豆與田菁上的差異

根據文獻，暴露於鹽逆境會誘導 ABA 的積累，從而提高耐受性。多項證據表明，ABA 可誘導  $H_2O_2$  的積累，而  $H_2O_2$  在 ABA 信號傳導中起重要作用，在氧化逆境中具有較好耐受性的田菁，能有效習慣 ABA 的累積因而具有較好的耐鹽性。

### 三、 外加鈣離子對植株造成的影響

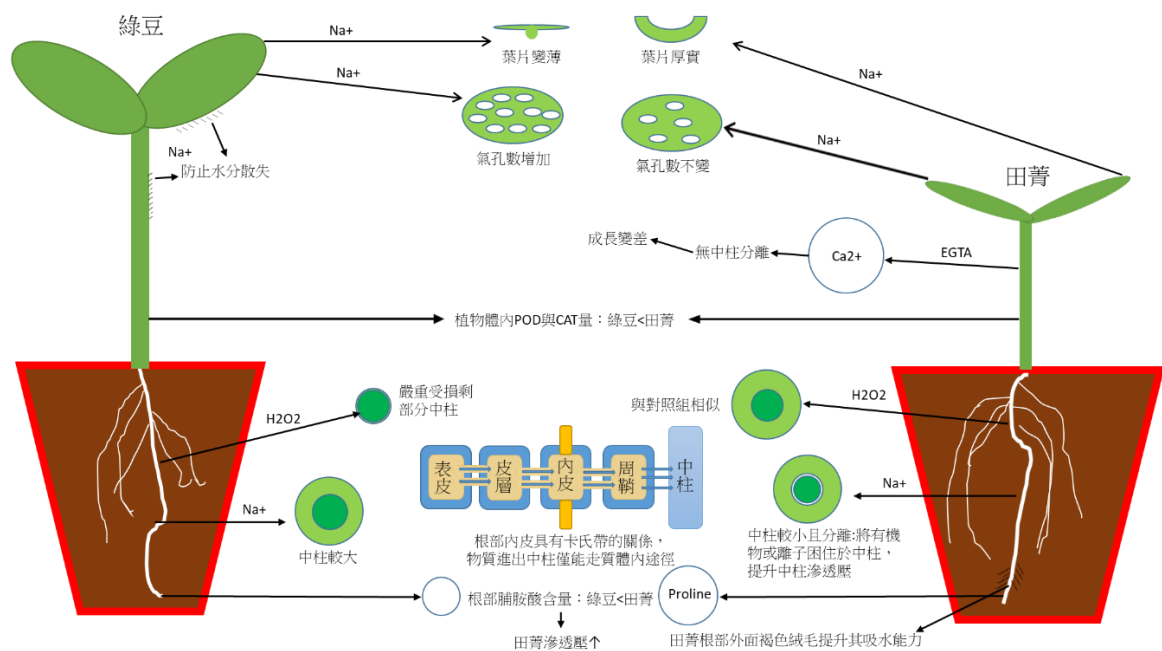


(圖 9-1) 植株外加鈣離子受鹽逆境影響與鈣離子梯度下的根部構造之差異

從 (圖 9-1) 中，我們可以發現，綠豆在鈣離子梯度下的根部中柱占比隨濃度上升而增加，然而田菁在鈣離子梯度下中柱占比卻沒有增加，此趨勢與鹽逆境下的趨勢相似。此外，在鹽逆境下再加入鈣離子並不會使田菁在較低濃度的鹽逆境中也發生中柱分離現象，此處並未測試於較高濃度的鹽逆境中加入鈣離子是因為會導致植物死亡。從此次實驗我們可以發現高濃度鈣離子並不會使田菁發生中柱分離現象，但卻使綠豆出現了在鹽逆境下才有的中柱占比提升的現象，所以我們認為綠豆確實會因為高濃度的鈣離子而影響生長情形，但田菁並不會受其影響而產生抗逆境的對應機制。

## 柒、結論

- 一、田菁耐鹽能力優於綠豆
- 二、田菁將能量分配於根部使其生長複雜，以應對環境壓力
- 三、田菁根部具有更多的根毛與棕色毛狀構造來增加其吸收面積
- 四、田菁具有較低的中柱佔比來提增其耐鹽效果
- 五、田菁在高鹽環境下能透過中柱分離降低質體內運輸途徑，藉以將離子、有機物等可溶性物質困於中柱內
- 六、田菁在鹽逆境下不需發展過多防止水分散失之功能
- 七、田菁擁有更高的脯胺酸來提升其應對滲透壓逆境
- 八、田菁耐氧化能力優於綠豆
- 九、田菁對應酵素的能力普遍優於綠豆
- 十、田菁可能透過鈣離子來啟動其耐鹽機制



## 捌、參考資料及其他

Ren, C.-G., Kong, C.-C., & Xie, Z.-H. (2018). Role of abscisic acid in strigolactone-induced salt stress tolerance in arbuscular mycorrhizal *Sesbania cannabina* seedlings. *BMC Plant Biology*, 18(1).

楊宗憲、李堂察、蔡智賢。2009。作物幼苗耐鹽性之研究。臺灣園藝 55(4)，270。

Yildirim, E., A. G. Taylor, and T. D. Spittler. 2006. Ameliorative effects of biological treatments on growth of squash plants under salt stress. *Sci. Hortic.* 111, 1-6.

Sibole, J. V., C. Cabot, W. Michalke, C. Poschenrieder, and J. Barcelo. 2005. Relationship between expression of the PMH<sup>+</sup>-ATPase, growth and ion partitioning in the leaves of salt-treated *Medicago* species. *Planta*. 221: 557-566.

Santos, C.V. (2004). Regulation of Chlorophyll Biosynthesis and Degradation by Salt Stress in Sunflower Leaves. *Scientia Horticulturae*, 103, 93-99.

周南鏞、許林英、範林潔、沈生初、胡利強(2009)。鹽分脅迫下田菁種子發芽特性的研究。浙江農業科學，301-303。

顏佳怡、黃巧恩、高于鈞、喻雅庭、房樹生(2015)。乾旱逆境下法國秋海棠 (*Begonia coccinea*) 形成氣孔簇以減少水分蒸散的機制探討。科學教育月刊，381，50-60。

邱相齡、童美慈、房達文、劉水德、房樹生(2013)。秋海棠(*Begonia coccinea*)在逆境生長條件下氣孔簇數量的變化關係。科學教育月刊，356，38-53。

王鐘和、丘麗蓉(2001)。輪作制度中綠肥田菁的角色與功能。農業試驗所，43-56。

## 【評語】 060010

- 一、此研究主要比較兩種豆科植物(田菁及綠豆)在鹽逆境情況下，外表型(發芽率、莖長、根長、橫切面結構、植物鮮重及氣孔密度)、脯胺酸累積量與抗氧化酵素(POD 和 CAT)活性的差異。
- 二、此外，本研究亦探討鈣離子參與耐鹽機制的調節。
- 三、作者研究主題明確，實驗設計及分析方法具科學適切性，並且描繪出淺顯易懂的總結圖。
- 四、保衛細胞數與維管束脫離現象，與田菁抗鹽的關聯性仍待進一步釐清。