

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 生物科

第三名

030308

飲「鹽」止旱~探討台灣藜抗鹽耐旱的可能原因
及囊狀細胞角色

學校名稱：高雄市立明華國民中學

作者： 國二 鍾承希 國二 倪羽安 國二 蔡昕哲	指導老師： 蘇育弘 李冠徵
---	-----------------------------

關鍵詞：台灣藜、逆境、囊狀細胞

摘要

台灣藜為台灣原生種作物，本實驗發現其種子發芽率與幼苗生長，隨鹽度及乾旱程度上升，受到很大抑制；發展至第一對葉，台灣藜才展現較好抗逆能力。花青素與類黃酮比較結果，不論是子葉或是第一對葉，鹽度越高或越乾旱時，含量均較高。但 POD 與 CAT 活性，子葉時活性變化不大。生長至第一對葉時，POD 在 2% 鹽處理組，活性上升 10.8 倍；乾旱 w40% 組，活性上升 3.6 倍。CAT 在 2% 鹽處理組，活性上升 5.2 倍；在乾旱 w40% 組，活性上升 3.8 倍，酵素活性的結果與抗逆關鍵時期相符。刷除囊狀細胞後，發現台灣藜在鹽逆境下生長較差。2% 鹽處理後，將囊狀細胞刷除，CAT 活性下降約 82%，POD 活性下降約 39%。囊狀細胞除了儲鹽能力外，尚有抗氧化酵素存在其中的可能。加鹽的處理能加強抗旱能力。

壹、研究動機



圖 1 種植在校園的原生台灣藜

我們在速食店吃到紅藜米漢堡，對這種作物產生好奇。查閱相關資料，台灣紅藜是台灣原生種作物，2008 年正名為台灣藜，紅藜的營養價值豐富，所以文獻多是探討紅藜的營養成份。資料中也發現紅藜具多重抗逆的能力，但相關文章較少見，究竟在逆境下生長情形如何？我們由種子開始，於鹽及乾旱逆境

下記錄他們的生長，初步觀察卻發現幼苗時期並不具備抗逆的能力，這與網路及文獻的資料不同，讓我們感到疑惑，台灣藜是否要發展至某個時期才具較好的抗逆境能力？而顯微鏡下明顯的囊狀細胞，在逆境下扮演了什麼樣的角色？野外環境常有逆境同時發生現象，鹽逆境的發生是否能夠提升耐旱能力呢？希望藉這一系列實驗，解開台灣藜抗逆的謎團。

貳、研究目的

- 一、觀察台灣藜在不同逆境(鹽、乾旱)下的生長情形
- 二、探討較能抵抗逆境的生長時期
- 三、探討較能抵抗逆境的可能原因
- 四、探討鹽逆境下囊狀細胞的角色
- 五、探討鹽處理對抗旱能力的影響



圖 2 台灣藜幼苗具抗逆境能力？

參、研究器材與設備

一、種植相關

台灣藜(*Chenopodium formosanum*)，莧科藜亞科藜屬，一年生作物，為台灣原生種植物。傳統稱為紅藜，2008 年正名為台灣藜，是原住民的傳統作物。台灣多於山區原住民部落種植，目前種植面積較大的區域為花蓮、台東與屏東等。為了解台灣藜在不同逆境(鹽及乾旱)下的生長情形，我們取得屏東來義部落原住民的台灣藜種子(圖 3)，以土耕方式種植。

1. 光照條件：室內 LED 白燈 4 呎*12，光照 12 小時，照射距離約 25cm。(圖 4)
2. 土耕條件：黑土及培養土 2：1 混合。鹽逆境以育苗盆；乾旱逆境以紅色小盆種植。
3. 鹽逆境處理：以氯化鈉調製成不同濃度的鹽逆境，每日澆灌至育苗盆底部流出為止。
4. 乾旱逆境處理：以土壤水分感測器(圖 5)，調控不同土壤濕度的乾旱逆境來進行種植。

二、測量器材及設備

1. 不同逆境生長觀察

台灣藜種子、培養土、育苗盆、紅色小盆、室內種植 LED 燈組、電子天平、電子游標尺、IMAGE J 軟體、洗滌瓶



圖 3 紅藜種子

2. 探討逆境適應可能原因~型態部份

測微軟體、複式及解剖顯微鏡、解剖器具、筆電、玻片組



圖 4 室內 LED 種植情形

3. 探討逆境適應可能原因~生理部分(色素及酵素)

分光光度計、比色管、高速離心機、液態氮、研鉢、微量吸管、離心管、甲醇、乙醇、雙氧水、愈創木酚、磷酸緩衝液



圖 5 土壤水分感測器~乾旱



圖 6 育苗盆進行鹽逆境處理



圖 7 光度計測定色素含量

肆、研究過程及方法

◎查閱相關文獻

(一) 逆境與台灣藜

耕作百年以上的台灣原住民紅寶石~台灣藜，與近親南美洲藜麥相同，具優良的多重抗逆境能力及高度營養價值，本篇對台灣藜面對鹽及乾旱逆境的生長進行研究，探討在逆境下的外部及內部生理變化，最後探討逆境同時發生下，鹽逆境提升抗旱的可能。

(二) 文獻一、不同生長條件對台灣藜機能性成份的影響(2017，中華民國雜草會刊)

台灣藜幼苗在高溫下，次級代謝物(類黃酮、花青素)含量最高，鹽分逆境試驗結果顯示適度鹽分濃度可有效增加作物生理表現、機能性成分含量及抗氧化能力。

(三) 文獻二、養我育我的部落勇士-探討小米的生存之祕(中華民國第 55 屆中小學科學展覽)

小米在鹽逆境下，藉由累積較高花青素及過氧化物酶、過氧化氫酶活性提升耐鹽能力。

(四) 文獻三、探討番杏的抗鹽方式與鈣離子對抗鹽能力的影響(中華民國第 58 屆中小學科展)

台灣原生植物番杏，具抗鹽耐旱能力，鹽逆境會使新長出的葉子囊狀細胞增大。

(五) 研究流程



一、觀察台灣藜在不同逆境(鹽、乾旱)下的生長情形

台灣藜為南部及東部原民部落常見的作物，但逆境下的生長記錄較為少見，我們由種子開始種植，來記錄型態變化，並了解不同逆境對幼苗生長造成的影響。

(一) 觀察不同逆境下的發芽率

1. 鹽逆境發芽率

(1) 鹽逆境條件設定：以氯化鈉配製不同濃度鹽水模擬鹽逆境，分別設定如下：

ctrl (0%)	0.5%	1%	2%	3%
-----------	------	----	----	----

(2) 將台灣藜種子，分別浸泡在不同濃度鹽水的培養皿內(圖 9)，待 5 天後計算各培養皿內的種子發芽數量。種子數 N=30，進行四重覆取平均值。

2. 乾旱逆境發芽率

(1) 乾旱條件設定：利用土壤水分感測器(圖 10)來調控不同土壤乾旱程度，設定如下：

ctrl	w80%	w60%	w40%	w20%
控制組 (<u>最大含水量*80%</u>)	控制組之含水量 *80	控制組之含水量 *60%	控制組之含水量 *40%	控制組之含水量 *20%

註：經測定乾旱實驗用之小紅盆，土壤最大體積含水量為 49.86%。

由查詢文獻(屏科大)，將控制組(ctrl)的土壤水含量設定為最大含水量之 80%。

(2) 種植台灣藜種子後，每 2 日測定土壤含水量，將各盆的土壤含水量維持在設定範圍內。

(3) 5 天後仔細清理土壤，計算各盆發芽的數量。種子數 N=30，進行四重覆取平均。



圖 8 台灣藜種子的發芽情形



圖 9 不同濃度鹽水發芽實驗



圖 10 感測器調控土壤含水量

(二) 探討不同逆境下，台灣藜的生長情形

了解台灣藜在逆境下的發芽情形後，接著想知道逆境對生長究竟會造成什麼樣的影響？

因此我們分別由不同的時間點：D7(第 7 天)、D14(第 14 天)、D21(第 21 天)來進行記錄

1. 鹽逆境下的生長情形：將台灣藜種子直接種於育苗盆內，並以不同鹽濃度進行處理，每日定時以鹽水處理至育苗盆底部流出為止，每隔 7 天記錄一次。植株數 N=4，三重覆取平均

(1) 根、莖長：於不同時間點，將植株洗去土壤後，以電子游標尺量測根、莖長(圖 11)

(2) 生物質量：取不同時間點植株，洗去土壤後吸取多餘水分，置電子天平秤鮮重。

(3) 最大葉面積：於不同時間點取出之植株，選取不同鹽逆境處理下的最大葉子，置於尺

規旁拍照後以 image J 軟體進行葉面積計算(圖 12)。

- 乾旱逆境下的生長情形：將種子種於不同乾旱程度小紅盆(圖 13)，每 2 日測定含水量，維持原本設定的乾旱程度，每隔 7 天記錄一次。相關記錄與鹽逆境同。N=4，三重覆取平均。



圖 11 電子游標尺記錄莖長

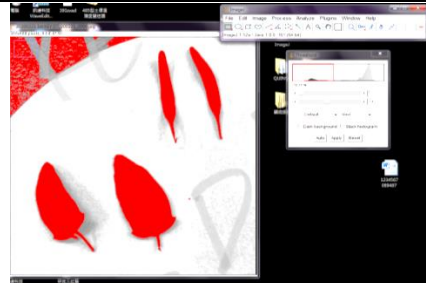


圖 12 以 image J 軟體量測面積



圖 13 不同乾旱下生長情形

二、探討較能適應逆境的生長時期

由實驗一的初步結果，台灣藜並不如文獻指出具有良好的抗逆能力，逆境下有明顯的抑制。我們由此了解台灣藜並非從小就開始適應逆境，因此進一步探討由哪個時期開始較能抵抗。

(一)鹽處理下，較能抵抗逆境的生長時期

研究一的結果，較高鹽濃度(2、3%)，台灣藜生長情形並不好，因此選取較高濃度 2、3% 鹽逆境，探討逆境對不同時期的影響。

- 分別選取生長至子葉以及第一對葉的幼苗，開始以 ctrl (0%)、2%、3% 鹽水處理，每日進行鹽澆灌至底部流出為止(圖 14)。



圖 14 第一對葉時進行鹽處理

- 於第 7 天及第 14 天，記錄生物質量與新生葉葉面積。各組 N=4，三重覆取平均。

(二)乾旱處理下，較能抵抗逆境的生長時期

研究一的結果，除了不適應較高鹽度外，較低水份的土壤也抑制了生長，因此我們選取了 ctrl 組*40% 及 ctrl 組*20% 兩種不同乾旱程度的土壤，探討對不同生長時期台灣藜的影響。

- 分別選取生長至子葉及第一對葉的幼苗，移入小紅盆內，並將土壤乾旱程度維持在 ctrl、w40%、w20% 等三種(圖 15)。



圖 15 第一對葉移至乾旱處理

- 於第 7 天、第 14 天，記錄生物質量與新生葉葉面積。各組 N=4，三重覆取平均。

三、探討較能適應逆境的可能原因

由研究二的初步結果，台灣藜幼苗可能生長至第一對葉時，具有較好的適應逆境能力，

這讓我們很好奇第一對葉與子葉，有了什麼樣的差異？我們選取了研究二的鹽逆境濃度(2、3%)及乾旱程度(w40%、w20%)來進行討論。由外部型態觀察發現葉上具有明顯的囊狀物，在植株的內部，莖及葉背有明顯的紅色累積，這是否和逆境有關？

這個部分我們將針對台灣藜的內部生理物質與外部型態變化探討，比較子葉與第一葉的差異，以釐清為何生長至第一對葉時，開始有了較好的抗逆能力。

(一) 探討內部生理與逆境適應的關聯



觀察到台灣藜的莖及葉背明顯的色素(圖 16)，查詢為花青素，具很強抗氧化能力。文獻查詢並與老師討論，了解生物在代謝過程會產生許多的活性氧化物，逆境則會使得這些活性氧化物大量產生，此時會藉由抗氧化物質來清除，植物的抗氧化物可分為醣

圖 16 葉背明顯的花青素 素型的抗氧化酵素(POD、CAT)及非酵素型的抗氧化物質(植物色素)。生長至第一對葉時具較好的抗逆能力，與色素或酵素有關呢？在附近大學(光度計及高速離心機)的協助下，開始植物色素與抗氧化酵素的探討。色素與酵素萃取前的相關逆境處理如下：

分別取不同生長時期(長到子葉及第一對葉)台灣藜，進行以下逆境處理		
鹽逆境	濃度：ctrl、2%、3%	取樣天數：處理後第 2 天、第 4 天
乾旱逆境	程度：ctrl、w40%、w20%	取樣天數：處理後第 4 天、第 8 天

1. 非酵素型抗氧化~植物色素與逆境關聯

由文獻查詢，了解除花青素外，葉內含有的類黃酮也具有很強的抗氧化能力，為抗氧化指標之一。我們針對花青素及類黃酮的含量，來比較生長至子葉及第一對葉時的含量，藉以釐清為何第一對葉具有較好的抗逆能力。

◎花青素：

- (1) 取不同處理條件下之樣本，以液態氮磨成粉末。(圖 17a)
- (2) 將含有 1% HCl 的甲醇溶液 3 ml 加入研鉢中進行萃取。
- (3) 將萃取液吸取至離心管，並以 4°C、2000rpm 離心 15 分鐘。(圖 17b)
- (4) 吸取上清液至比色管，以光度計測定波長 530、657 nm 之吸光值。(圖 17c)
- (5) 計算花青素含量:花青素含量 (μmol / g)=(A530-0.33 x A657/31.6) x 萃取液(ml) / g

◎類黃酮：

- (1) 取不同處理條件下之樣本，以液態氮磨成粉末。
- (2) 將含 1% HCl 的乙醇溶液 3ml 加入研鉢中萃取。
- (3) 萃取液吸取至離心管，4°C、3000rpm 離心 10 分，移至比色管，測定 540nm 之吸光值
- (4) 計算類黃酮含量，計算公式如下：類黃酮含量(A540/g) = OD 540 x 萃取液體積(ml)/g



圖 17a 以液態氮進行研磨



圖 17b 於低溫下進行離心



圖 17c 以光度計測量吸光值

2. 酵素型抗氧化~抗氧化酵素與逆境關聯

除了非酵素型的植物色素外，抗氧化酵素也扮演了重要的角色，選取常作為抗氧化指標的過氧化物酶及過氧化氫酶，試著比較生長至子葉及第一對葉的活性是否有所差別。

◎蛋白質萃取

- (1) 稱量不同處理條件處理下之葉，以液態氮磨成粉末。
- (2) 加入 400 μ l 磷酸緩衝液(pH7.4，含 1：1000 稀釋之蛋白質酶抑制劑)，均勻混合。
- (3) 將萃取液吸至 1.5ml 離心管，以 4°C、17600rpm 離心 10 分鐘(圖 18a)。
- (4) 將上清液吸取至新的 1.5ml 離心管內(圖 18b)，置於冰上備用。

◎過氧化物酶(POD)活性測量

- (1) 於比色管內加入 500 μ l 磷酸緩衝液、250 μ l 蒸餾水與 100 μ l 5%愈創木酚。
- (2) 加入 4 μ l 蛋白質樣本，混合均勻，最後加 10mM 過氧化氫溶液 100 μ l，置入光度計。
- (3) 以 470nm 測量吸光值在第一分鐘變化。以(OD470 / 鮮重)作為活性比較

註：乾旱逆境樣本，因酵素活性偏低，第 1 分鐘無法看出變化，以反應 5 分鐘作為比較。

◎過氧化氫酶(CAT)活性測量

- (1) 於石英比色管內加入 50mM 過氧化氫溶液 990 μ l。
- (2) 加入 10 μ l 蛋白質樣本，混合均勻，置入光度計(圖 18c)。
- (3) 以 240nm 測量第一分鐘吸光值變化。以(OD240 / 鮮重) 作為活性比較。



圖 18a 蛋白質萃取液離心

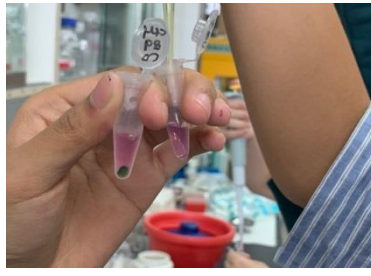


圖 18b 離心後抽取上清液



圖 18c 紫外光度計~測量 CAT

(二) 探討外部型態與抵抗逆境的關聯

台灣藜生長至第一對葉，顯微鏡下可明顯看到顆顆囊狀細胞，而蒸散作用主要通道的氣孔，也讓我們好奇這些外部型態會因逆境而有所變化嗎？

1. 氣孔開關與逆境關聯：

(1) 分別取不同條件，下表皮製成玻片(圖 19c)，計算單位視野(100x)內氣孔關閉比例。

(2) 乾旱處理：於第 4 天、第 8 天進行記錄，記錄方式與鹽逆境相同。(N=3，三重覆平均)

2. 囊狀細胞與逆境關聯 (逆境設定資料，鹽逆境(ctrl、2、3%)、乾旱逆境(ctrl、w40%、w20%))

(1) 鹽逆境處理：分別將生長至子葉及第一對葉之植株，鹽處理後第 2、4 天進行觀察。

(2) 記錄葉面葉背在顯微鏡單位視野下，囊狀細胞密度及面積(圖 19ab)。

(3) 乾旱處理：於第 4 天、第 8 天進行記錄，方式與鹽逆境相同。(N=3，三重覆平均)



圖 19a 葉背下完整囊狀細胞

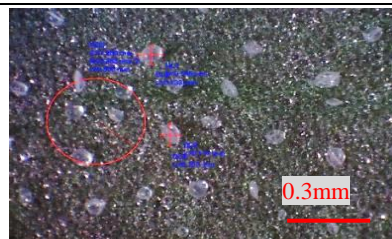


圖 19b 鹽逆境密度、面積減少

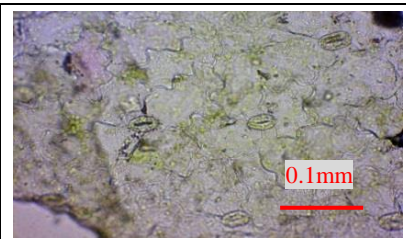


圖 19c 計算氣孔開關比例

四、探討鹽逆境下囊狀細胞的角色

在研究三，發現鹽逆境下，囊狀細胞密度、面積均有下降趨勢，顯示囊狀細胞的存在可能與協助抗逆有關。為進一步了解囊狀細胞功能，將其刷除(圖 20)，比較有無囊狀細胞在逆境下的反應，並探討囊狀細胞內容物與角色。



圖 20 刷除囊狀細胞後，鹽處理

(一) 無逆境下，囊狀細胞對生長的影响

為避免刷除囊狀細胞造成傷害，先在無逆境(以水澆灌)狀態下，比較兩者生長情形。

刷除第一對葉的囊狀細胞，4 天後與對照組比較生物質量及葉面積。N=6，二重覆

(二) 鹽逆境下，囊狀細胞對生長的影響

刷除第一對葉的囊狀細胞後，再以 2%、3% 鹽處理，4 天後與對照組相比。N=6，二重覆

(三) 鹽逆境下，囊狀細胞的內容物與角色

囊狀細胞的功能與抗逆有關，除了排除葉內鹽分，而將鹽離子儲存其中，是否還含有其它的內容物呢？會與扮演重要抗逆角色的抗氧化酵素有關嗎？

1. 選取兩組生長至第一葉的植株，分別以 2%、3% 鹽逆境處理。2 天後，將其中一組的囊狀細胞刷除後，立即以液態氮磨碎後，進行 CAT 及 POD 活性測定(測定方式如研究三)。
2. 比較鹽逆境刷除囊狀細胞組、對照組(無刷除)之抗氧化酵素活性變化。N=3，二重覆

五、探討鹽處理對抗旱能力的影響

由研究三結果，不論乾旱或鹽逆境，台灣藜皆是生長至第一對葉時，開始有較強的抗逆能力。自然環境中，常有多重逆境發生的可能，就是鹽與乾旱同時發生。這讓我們想到，實行鹽處理之後，會造成體內生理的變化，會不會進而提升耐旱能力呢？

(一) 比較台灣藜在鹽及乾旱逆境下的反應情形

由研究三結果，我們假設鹽逆境下，反應較乾旱逆境快。

1. 將生長至第一對葉時之植株(圖 21a)，以鹽(2%)及乾旱(w40%)分別處理 2 天(圖 21b)。
2. 測量並比較 ctrl、2% 及 w40% 組別的抗氧化植物色素及酵素。N=2，二重覆取平均

(二) 探討鹽處理對抗旱能力的影響

1. 選取生長至第一對葉之植株，以不同鹽濃度 ctrl、0.5%、1%、2% 進行澆灌。
2. 澆灌鹽水後進行連續乾旱，每 7 天記錄第一對葉下垂角度(圖 21c)，至枯萎為止。

註：下垂角度計算 ~ 拍照後以 image J 軟體測量葉尖至葉基部的連線與莖的夾角(圖 21)



圖 21a 選取長至第一對植株



圖 21b 澆灌鹽水後持續乾旱

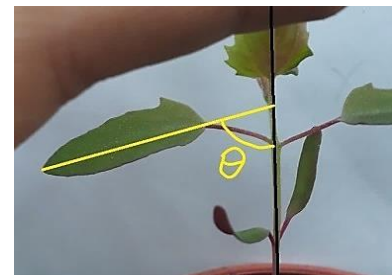


圖 21c 計算不同時間下垂角度

伍、研究結果

一、觀察台灣藜在不同逆境(鹽、乾旱)下的生長情形

(一)探討不同逆境下的種子發芽率

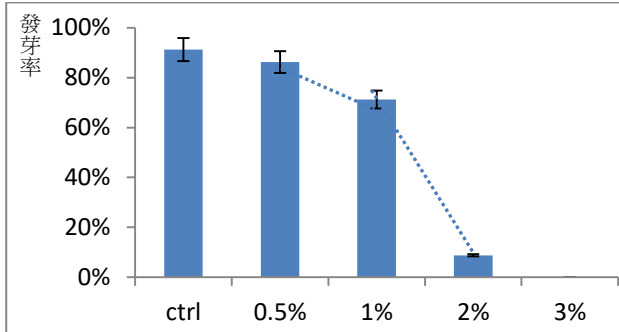


圖 22a 不同鹽逆境下的發芽率

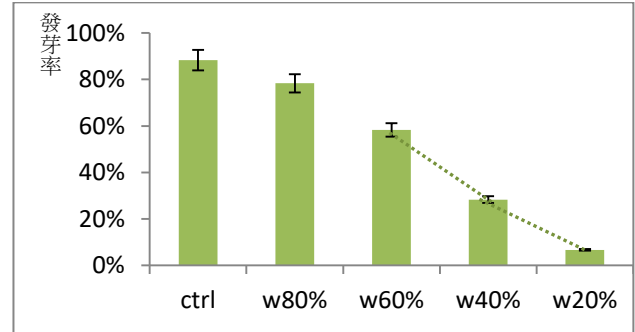


圖 22b 不同乾旱逆境下的發芽率

在不同鹽逆境下的發芽率結果，當鹽濃度上升至 1%時可看出發芽率受到抑制。而提升較高的鹽逆境至 2%時，發芽率大幅下降(低於 10%)。在不同乾旱逆境下的結果，當乾旱程度降至 w40%時，發芽率大幅下降，乾旱程度最重的 w20%組別，仍有約 6.6%發芽率。

(二)探討不同逆境下，台灣藜的生長情形

文獻上關於逆境的型態記錄不多，因此我們由發芽開始記錄不同時間點的生長情形。

1. 鹽逆境下的生長情形

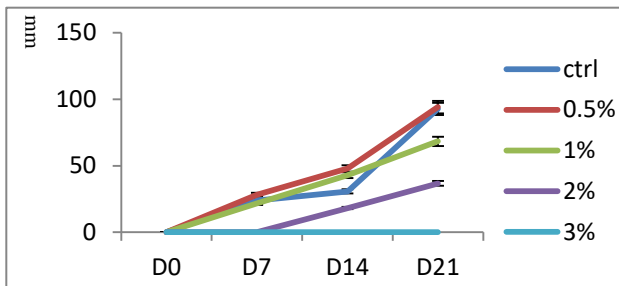


圖 23a 不同鹽逆境下的根長

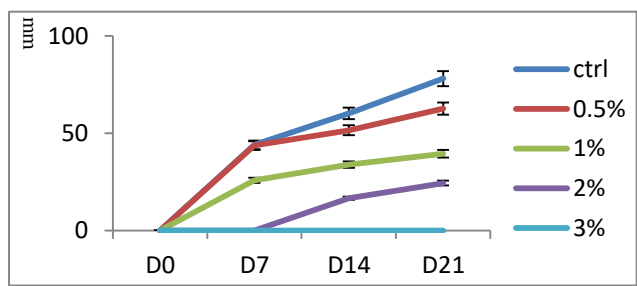


圖 23b 不同鹽逆境下的莖長

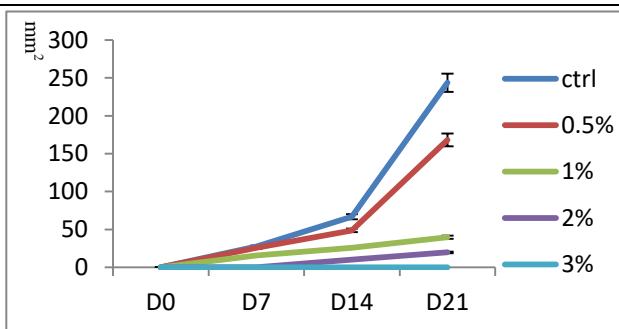


圖 23c 不同鹽逆境下的最大葉面積

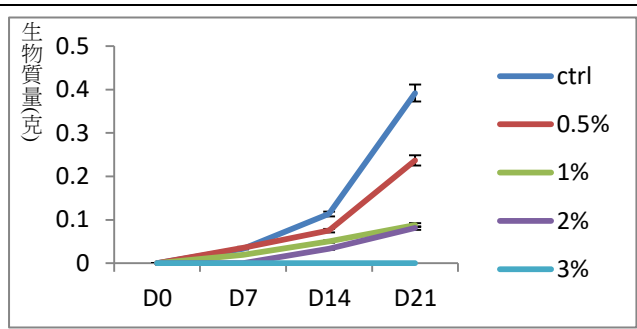


圖 23d 不同鹽逆境下的生物質量

台灣藜幼苗的生長，隨著鹽逆境程度提升，被抑制生長也隨之上升，尤其高濃度 2%組別。

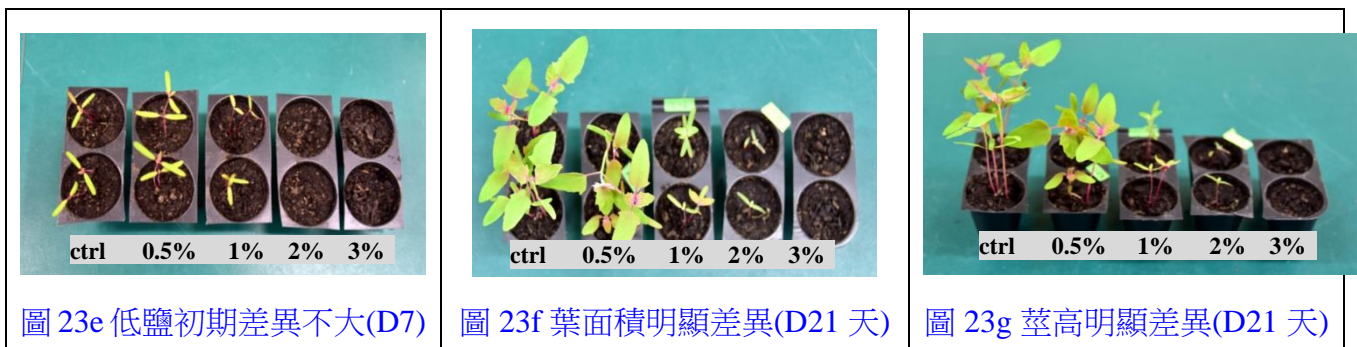


圖 23e 低鹽初期差異不大(D7)

圖 23f 葉面積明顯差異(D21 天)

圖 23g 莖高明顯差異(D21 天)

2. 乾旱逆境下的生長情形

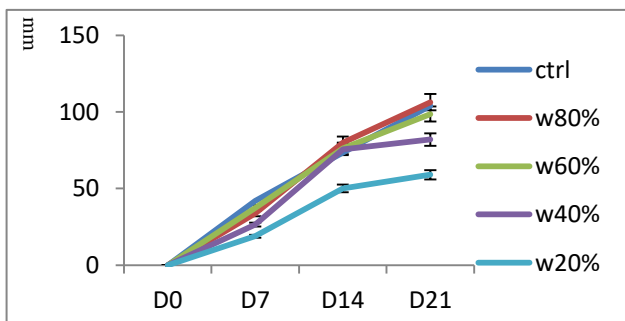


圖 24a 不同乾旱逆境下的根長

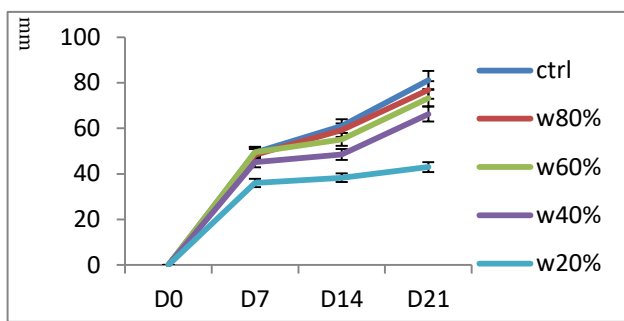


圖 24b 不同乾旱逆境下的莖長

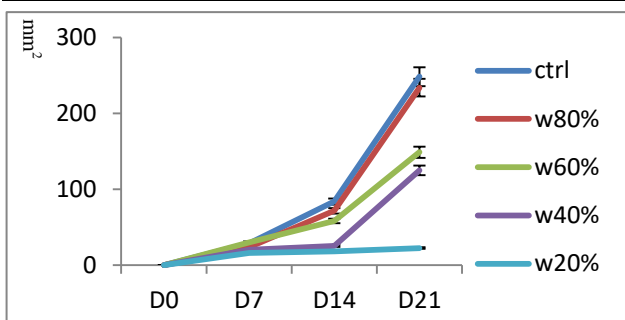


圖 24c 不同乾旱逆境下的最大葉面積

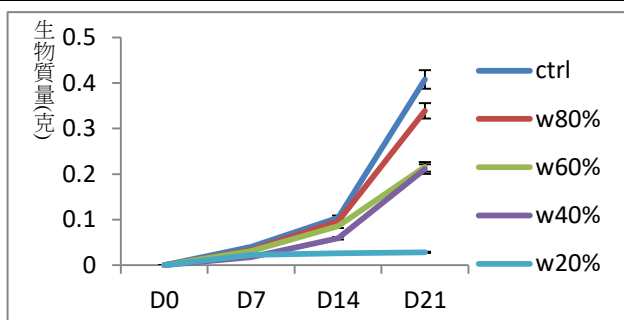


圖 24d 不同乾旱逆境下的生物質量

乾旱逆境，不同時間的生長結果發現，整體而言，隨著乾旱程度的加深，生長受到抑制的情形也隨之加重。尤其土壤含水量最低的 w20% 組別，除了根之外，生長情形幾乎停滯。

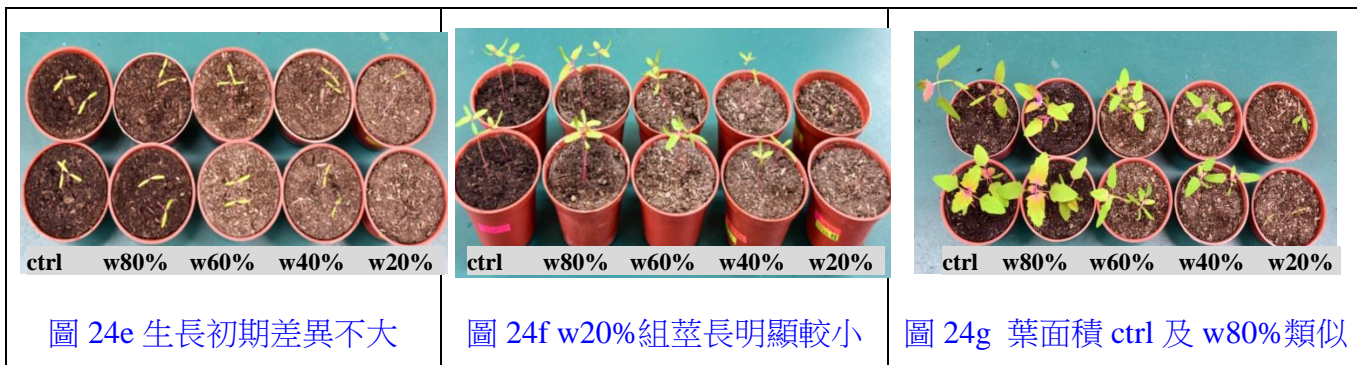


圖 24e 生長初期差異不大

圖 24f w20% 組莖長明顯較小

圖 24g 葉面積 ctrl 及 w80% 類似

由研究一的生長結果，令我們納悶，資料查詢表示台灣藜具很強抗逆能力，但逆境下的種植結果並非如此，這是否暗示著台灣藜生長初期，可能還沒發展出較為成熟的抗逆能力呢？

二、探討較能抵抗逆境的生長時期

由上個實驗的結果暗示，台灣藜可能需生長至某個時期才開始發展出抗逆能力，因此接下來，我們將探討台灣藜在哪個生長時期(子葉、第一對葉...)，開始較能適應逆境。

(一)鹽處理下，較能抵抗逆境的生長時期

為了解鹽逆境對不同生長時期影響，選用研究一中，生長較不利的高鹽(2、3%)環境作為比較。

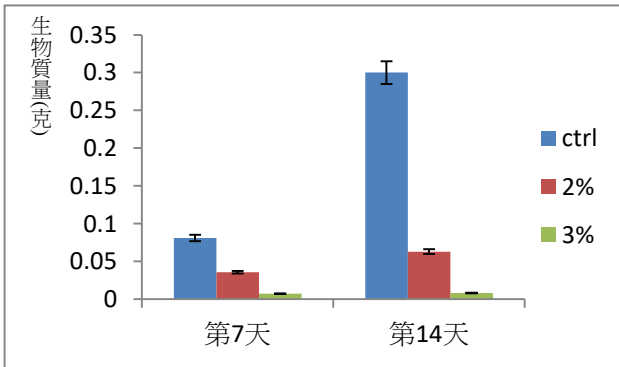


圖 25a 長到子葉，鹽處理 7、14 天生物質量

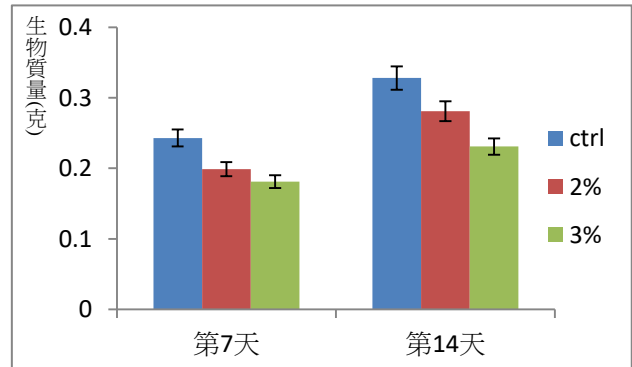


圖 25b 長到第一對葉，鹽處理後生物質量

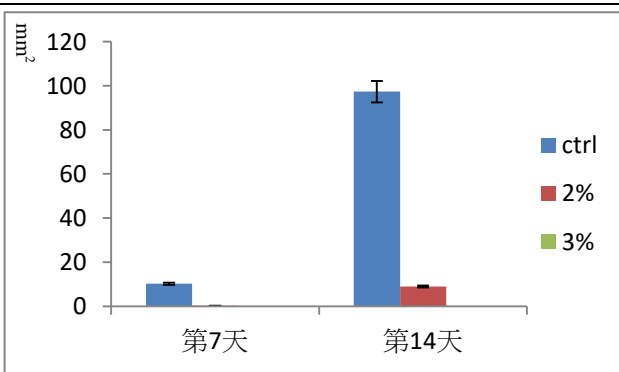


圖 25c 長到子葉，鹽處理 7、14 天之新葉面積

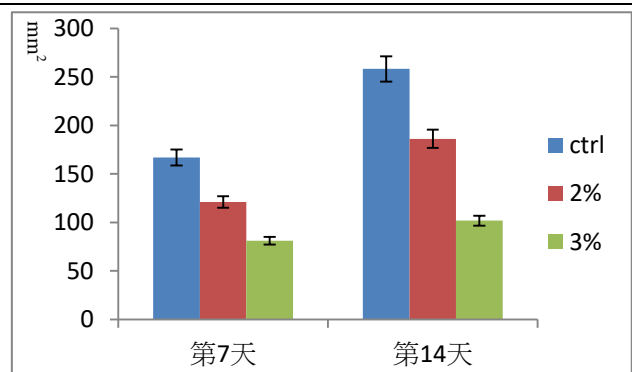


圖 25d 長到第一對葉，鹽處理後之新葉面積

結果顯示，生長至子葉開始進行的鹽處理，此時已具有抗逆能力，但發展尚未成熟，生長情形受大幅度抑制，尤其 3% 逆境，整個生長幾乎停滯；而生長至第一對葉時，相對於子葉，已具有相當不錯的抗逆境力，暗示著此時期開始發展出較為成熟的抗鹽能力。

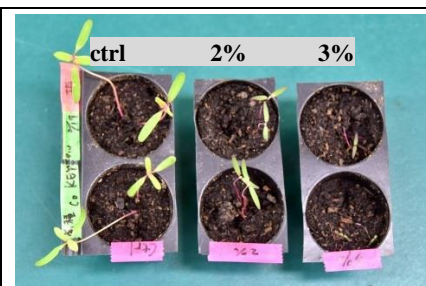


圖 25e 子葉，鹽處理後第 7 天

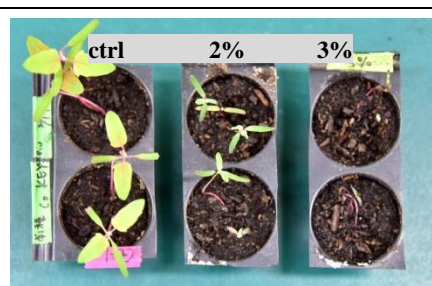


圖 25f 子葉，鹽處理後第 14 天

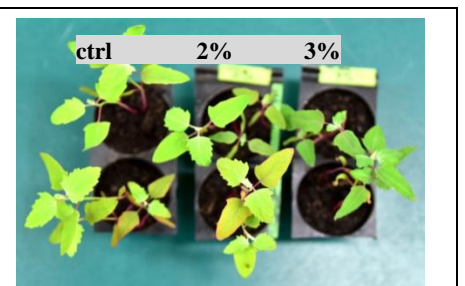


圖 25g 第一對葉，鹽處理後 7 天

(二)乾旱處理下，較能抵抗逆境的生長時期

這個部份，我們選用研究一中乾旱程度較高，生長較不良的 w40%、w20%，進行比較。

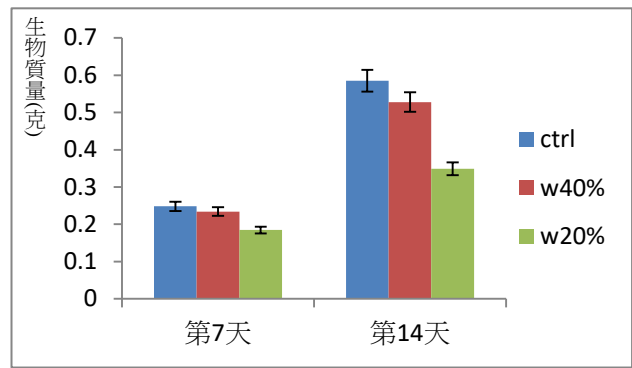
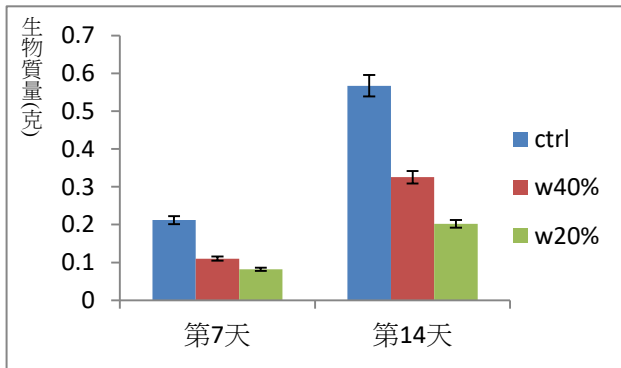


圖 26a 長到子葉，乾旱處理 7、14 天生物質量

圖 26b 長到第一對葉，乾旱處理後之生物質量

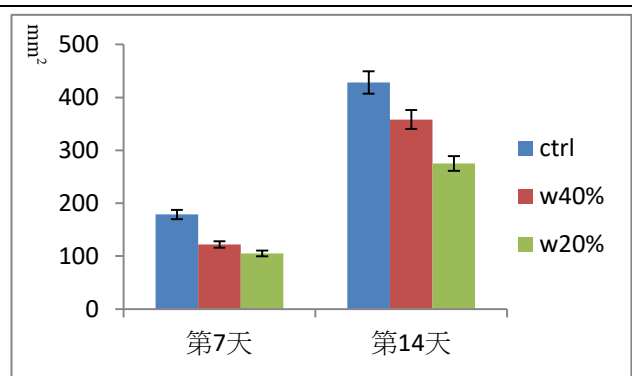
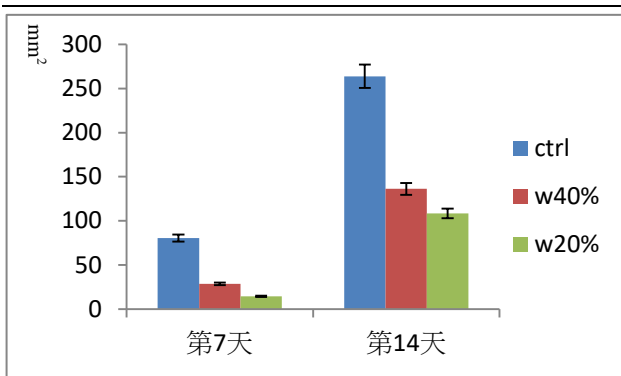


圖 26c 長到子葉，乾旱處理 7、14 天新葉面積

圖 26d 長到第一對葉，乾旱處理後之新葉面積

乾旱逆境對不同生長時期的結果，生長到子葉開始進行的乾旱處理，生物質量及葉面積均受到一定程度的抑制，尤其 w20%的組別與 ctrl 相比生物質量及葉面積分別下降 60.9%與 58.2%；而與生長到第一對葉進行處理的組別比較，第一對葉組的對抗旱能力顯著優於子葉組，暗示著在乾旱程度較高的環境下，第一對葉可能發展出較為良好的抗逆能力。

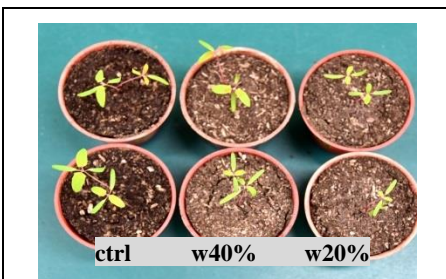


圖 26e 子葉，乾旱處理後 7 天

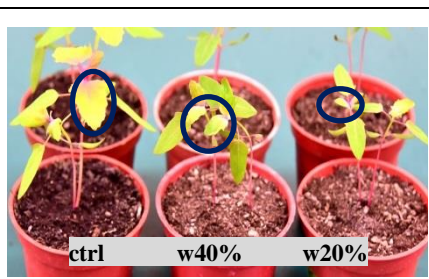


圖 26f 子葉，乾旱處理後 14 天

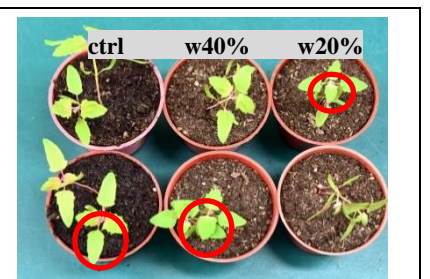


圖 26g 第一對葉，乾旱後 7 天

在探討發展至哪個生長時期較能抗逆的結果上，子葉在鹽、乾旱均可發現受到相當大程度的抑制，而生長至第一對葉後，不論是鹽或是乾旱逆境，都發展出較為成熟的抗逆能力。
生長到第一對葉後，究竟台灣藜出現了什麼樣的變化，使得這個時期較能適應逆境呢？

三、探討較能抵抗逆境的可能原因

這個部份，我們比較生長至子葉以及第一對葉時，在內部生理及外部型態出現什麼變化。

(一) 探討內部生理與抵抗逆境的關聯

1-1 鹽逆境下，非酵素型抗氧化 ~ 植物色素含量比較

種植過程，台灣藜葉背有醒目的花青素累積，除花青素外，類黃酮也是植物抗氧化的重要指標。這個部份我們將針對植物色素進行探討，以釐清第一對葉為何具有較好的抗逆能力。

(1) 花青素含量比較

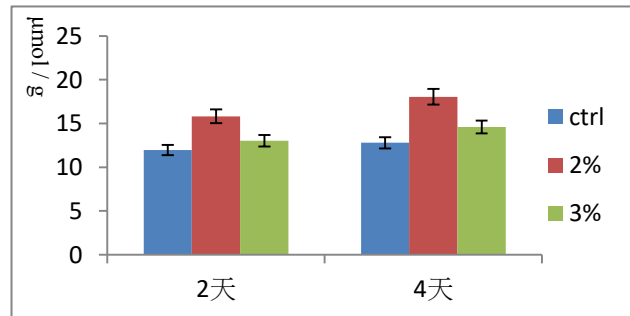
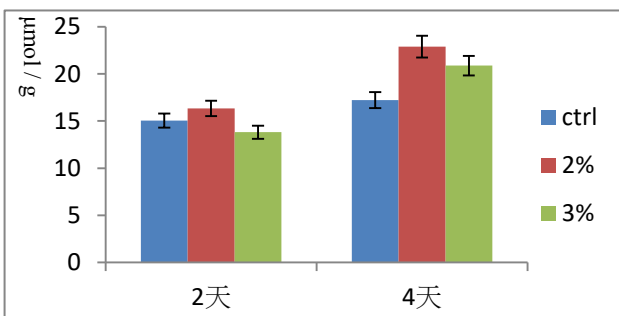


圖 27a 長到子葉時，鹽處理下之花青素比較

圖 27b 長到第一對葉，鹽處理下之花青素比較

在花青素的比較結果上，不論是子葉或是第一對葉，大致上 2% 組別均較 ctrl 的花青素多。結果顯示花青素在子葉及第一對葉時期，均有協助抵抗逆境的能力。

(2) 類黃酮含量比較

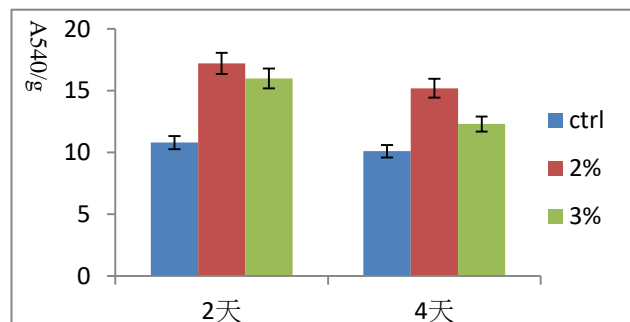
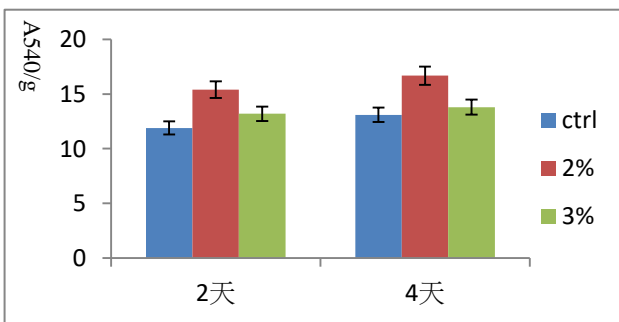


圖 27c 長到子葉，鹽處理下之類黃酮比較

圖 27d 長到第一對葉，鹽處理下之類黃酮比較

在類黃酮的比較結果上，發現不論是子葉時期或是第一對葉，2% 的組別均較 ctrl 組的類黃酮多。在兩種植物色素抗氧化部份，顯示在鹽逆境的刺激下，子葉及第一對葉均有增加的趨勢。

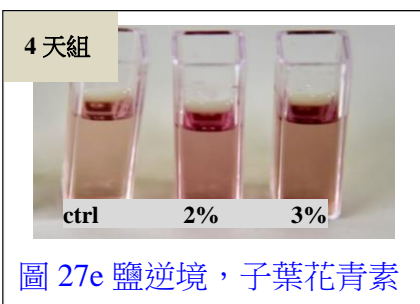


圖 27e 鹽逆境，子葉花青素

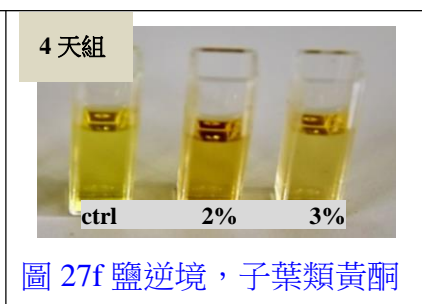


圖 27f 鹽逆境，子葉類黃酮

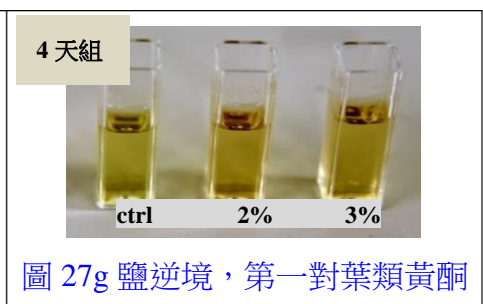


圖 27g 鹽逆境，第一對葉類黃酮

1-2 鹽逆境下，酵素型抗氧化 ~ 抗氧化酵素活性比較

上個實驗結果，顯示在逆境下由子葉開始，就有較多的植物色素出現，那第一對葉的較好抗逆能力還有其它可能原因嗎？我們進行了常見的抗氧化酵素 POD 及 CAT 來進行比較。

(1)過氧化物酶(POD) 活性比較

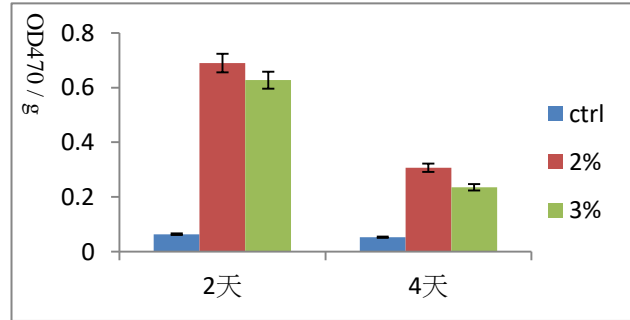
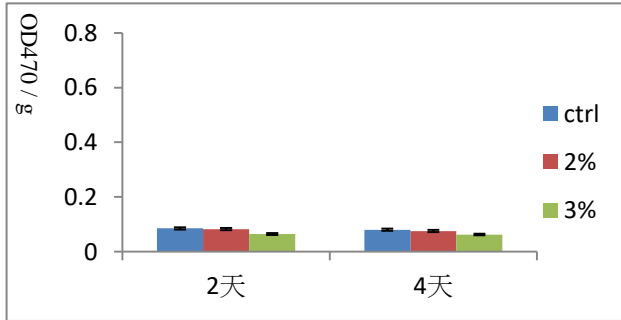


圖 28a 長到子葉時，鹽處理之 POD 活性比較

圖 28b 長到第一對葉，鹽處理 POD 活性比較

於子葉時期，ctrl 與 2%組的活性類似，隨鹽度上升，活性有下降趨勢；但生長至第一對葉時，明顯看出 POD 在 2%逆境下大幅上升，達到 ctrl 的 10.8 倍左右，隨鹽度升高及逆境時間加長，活性有明顯下降狀態。顯示生長至第一對葉時，POD 可能具有協助抗鹽保護的能力。

(2)過氧化氫酶(CAT)活性比較

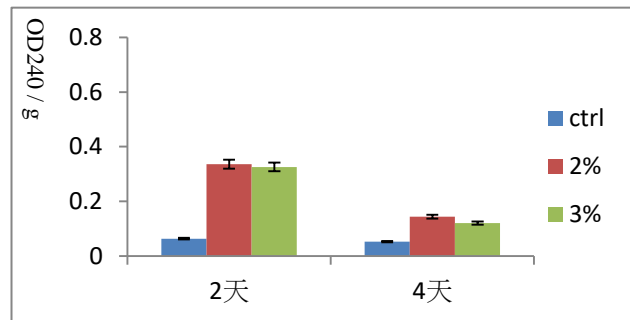
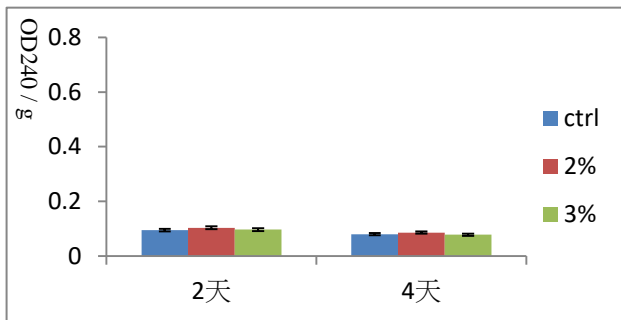


圖 28c 長到子葉，鹽處理下之 CAT 活性比較

圖 28d 長到第一對葉，鹽處理 CAT 活性比較

CAT 的部分，與 POD 類似，子葉時期的活性與 ctrl 組相比無太大差異；當生長至第一對葉時，2%、3%組別與 ctrl 相比，CAT 活性上升達 5.26 倍及 5.12 倍左右，隨逆境時間加長，活性下降，但 2%組別仍有 ctrl 組的 5.82 倍。生長至第一對葉時，CAT 也可能具有協助抗鹽能力。

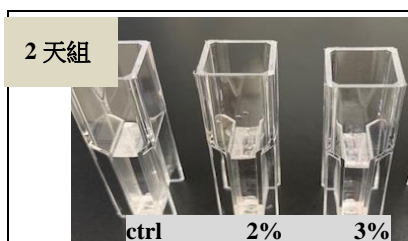


圖 28e 鹽處理，子葉 POD 活性

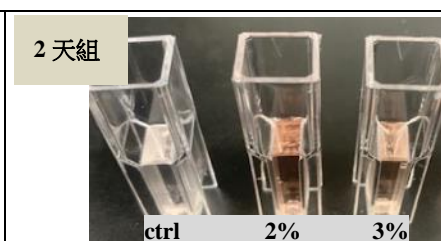


圖 28f 鹽處理，第一對葉 POD 活性

2-1 乾旱逆境下，非酵素型抗氧化 ~ 植物色素含量比較

上個實驗中，得知抗氧化酵素(CAT 及 POD)在第一對葉生長後，提供了台灣藜在鹽逆境下的保護能力，而在乾旱的結果如何呢？我們比較了植物色素及抗氧化酵素。

(1)花青素含量比較

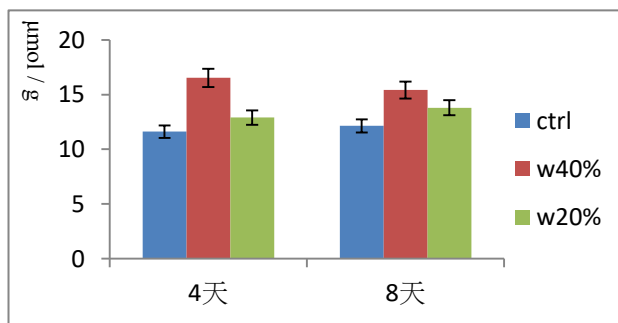
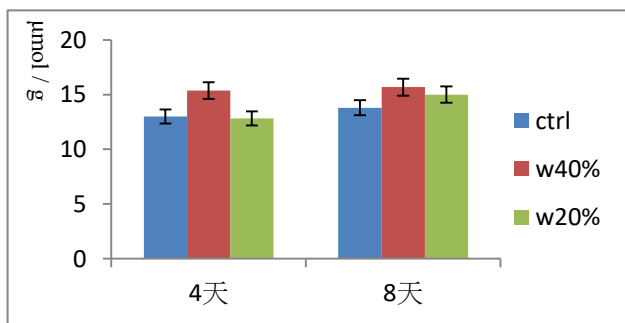


圖 29a 長到子葉時，乾旱處理之花青素比較

圖 29b 長到第一對葉，乾旱處理之花青素比較

由花青素的結果來看，子葉時的 w40% 與 ctrl 之 $p < 0.05$ ，達顯著差異，顯示花青素在子葉時期就會被乾旱逆境刺激，使得含量增加來協助抵抗逆境，但較高乾旱程度的 w20% 則與 ctrl 相差不大，推測可能超過耐旱的程度或是作物抗氧化物的花青素被消耗較多所致。

(2)類黃酮含量比較

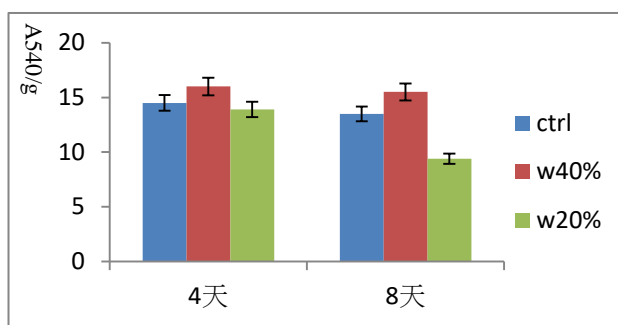
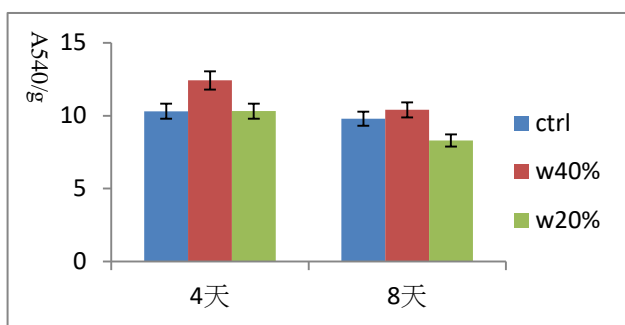


圖 29c 長到子葉，乾旱處理下之類黃酮比較

圖 29d 長到第一對葉，乾旱處理之類黃酮比較

類黃酮的含量比較與花青素也有類似的情形，由子葉開始遭遇乾旱逆境，就會產生高於 ctrl 組的類黃酮，生長至第一對葉才遭遇乾旱的情形也類似。與鹽逆境進行比較，乾旱逆境也有相同的趨勢，在子葉時期，不論是花青素還是類黃酮，皆有較高的含量以協助抵抗逆境。

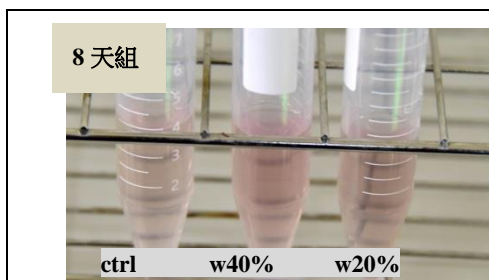


圖 29e 乾旱處理，離心後子葉花青素

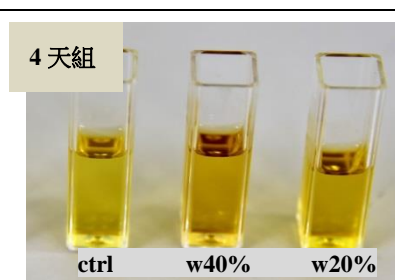


圖 29f 乾旱處理，第一對葉類黃酮

2-2 乾旱逆境下，酵素型抗氧化 ~ 抗氧化酵素活性比較

上個實驗結果與鹽逆境類似，植物色素由子葉即開始協助抵抗乾旱逆境，那第一對葉的較好抗旱能力會和鹽逆境相同，由抗氧化酵素來協助嗎？

(1)過氧化物酶(POD)活性比較

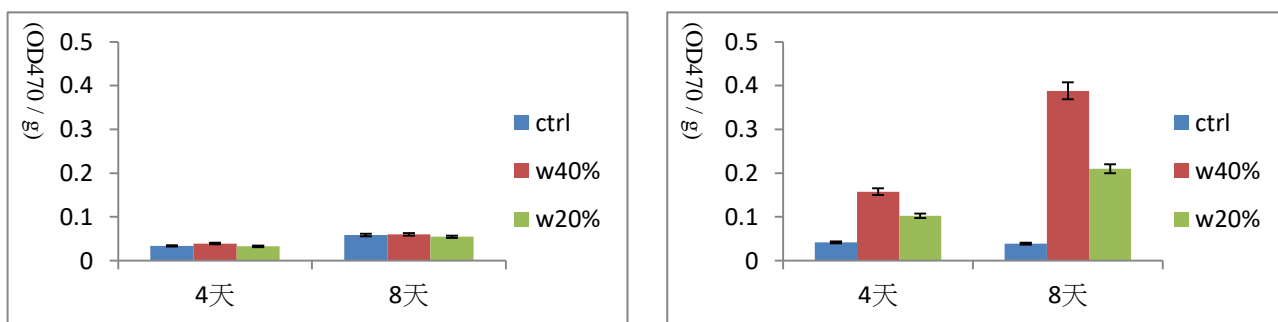


圖 30a 長到子葉時，乾旱處理之 POD 活性比較 圖 30b 長到第一對葉，乾旱處理 POD 活性比較

子葉時期的 POD 活性，似乎還沒發展成熟，當遭遇 w40%或是更乾旱的 w20%時，與 ctrl 比，酵素的活性變化不大，當生長至第一對葉時，可看出相當明顯的變化，處理 4 天時的 w40% 組與 ctrl 相比，活性上升約 3.6 倍，隨乾旱時間加長，POD 的活性均隨之上升。

(2)過氧化氫酶(CAT)活性比較

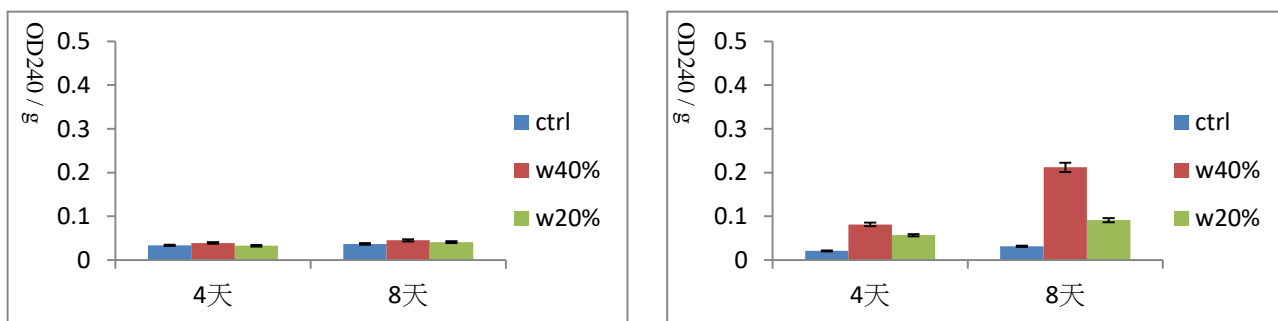


圖 30c 長到子葉，乾旱處理之 CAT 活性比較 圖 30d 長到第一對葉，乾旱處理 CAT 活性比較

子葉時期的 CAT 與 POD 的活性變化情形類似，台灣藜幼苗長至第一對葉時，才明顯看出 CAT 在乾旱逆境下的變化情形，尤其 w40%組，在乾旱處理 4 天與 8 天的 CAT 活性變化，分別是 ctrl 的 3.8 倍及 6.9 倍，而 w20%的活性有顯著的下降，但仍較 ctrl 組高。

在比較不同生長時期(子葉、第一對葉)，具有較好的抗逆能力可能原因，發現鹽逆境及乾旱處理下的結果類似，在內部生理方面，長至第一對葉時，可能因內部的抗氧化酵素較為成熟而發展出較好的抗逆能力，除了內部物質的協助抗逆之外，台灣藜的外部型態方面，是否也有協助抗逆的能力呢？

(二) 探討外部型態與抵抗逆境的關聯

首先，我們探討了氣孔的關閉率，水分缺乏的狀態會使得氣孔關閉，此外由子葉之後(上胚軸)可觀察到明顯囊狀細胞，這會與逆境相關嗎？與第一對葉的較強抗逆能力有關嗎？

1. 外部型態~氣孔關閉率與不同逆境

(1) 氣孔關閉率與鹽逆境

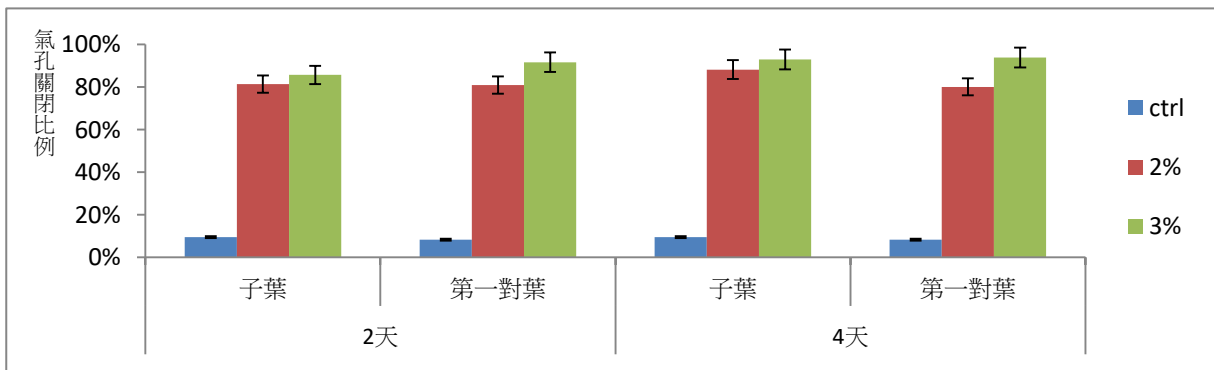


圖 31b 不同鹽逆境對不同生長時期之氣孔關閉率

實驗結果發現不論子葉或第一對葉，在鹽刺激下，有極高的比例氣孔關閉。這也顯示了第一對葉抗鹽能力較好與氣孔關閉較無關。

(2) 氣孔關閉率與乾旱逆境

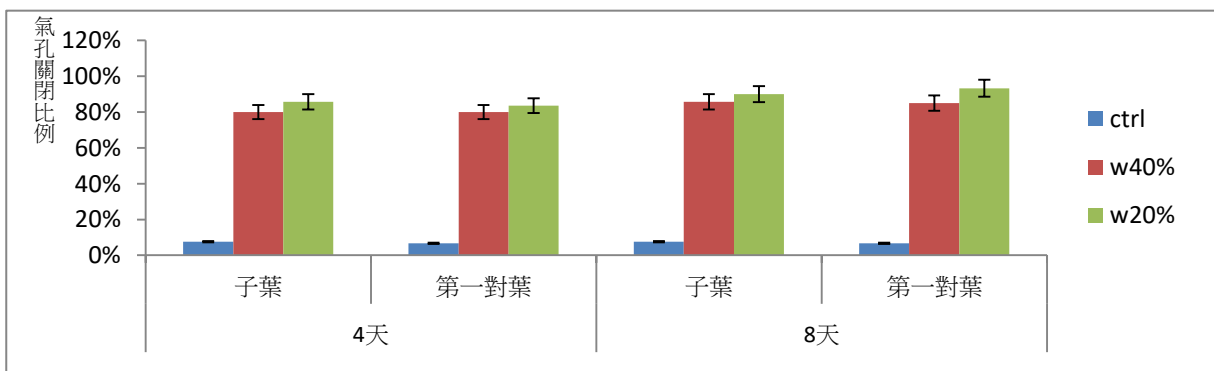


圖 31b 不同乾旱程度對不同生長時期之氣孔關閉率

不論是長到子葉或是第一對葉時期，氣孔均較 ctrl 組有極大幅度的關閉，與鹽逆境相同乾旱缺水的環境大多數氣孔呈現關閉。顯示第一對葉的抗逆能力較強可能與氣孔關閉度無關



圖 31c 第一對葉，氣孔多張開

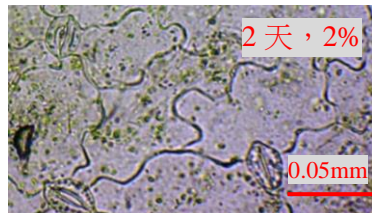


圖 31d 第一對葉，氣孔多關閉

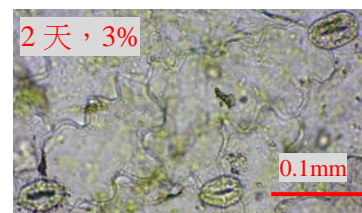


圖 31e 第一對葉，氣孔多關閉

2. 外部型態~囊狀細胞密度、面積與不同逆境

(1)囊狀細胞密度、面積與鹽逆境

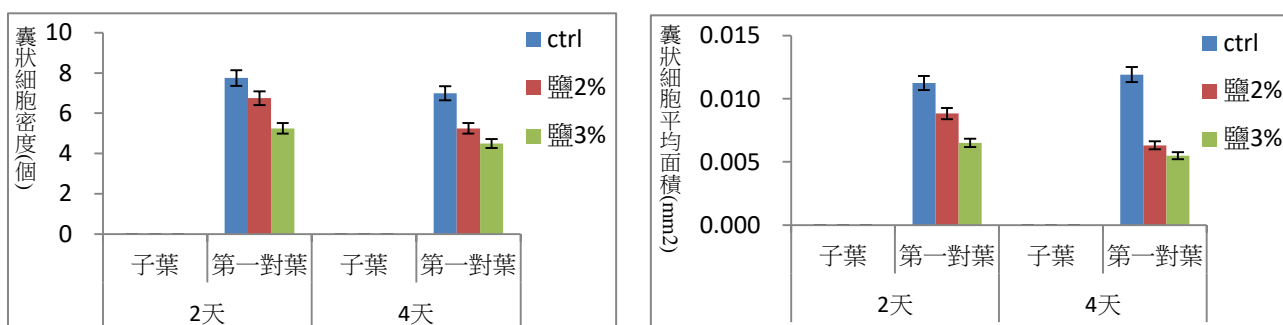


圖 32a 不同鹽逆境及處理天數，對不同生長時期的囊狀細胞密度及面積影響

顯微鏡下觀察，發現子葉無囊狀細胞。結果顯示生長至第一對葉，無論是囊狀細胞的密度或是面積，會隨著鹽度上升而下降(密度和面積的ctrl與2%組， $p < 0.05$ 皆達顯著差異)，顯示生長至第一對葉時可能藉由囊狀細胞的密度下降及面積縮小來協助抗逆。

(2)囊狀細胞密度、面積與乾旱逆境

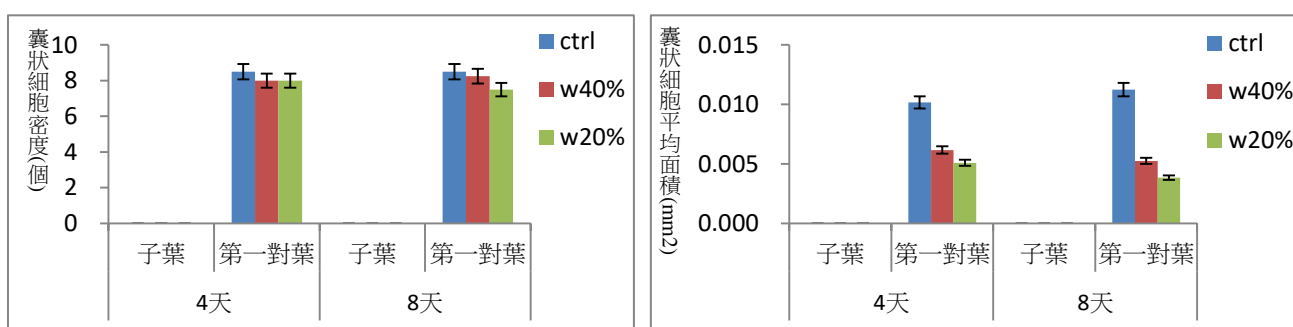


圖 32b 不同乾旱逆境及處理天數，對不同生長時期的囊狀細胞密度及面積影響

乾旱逆境下的結果顯示，密度方面差異不大(ctrl與w40%組， $p > 0.05$)，但面積有顯著性的縮小，這與鹽逆境同時造成囊狀細胞的密度及面積縮小不同。

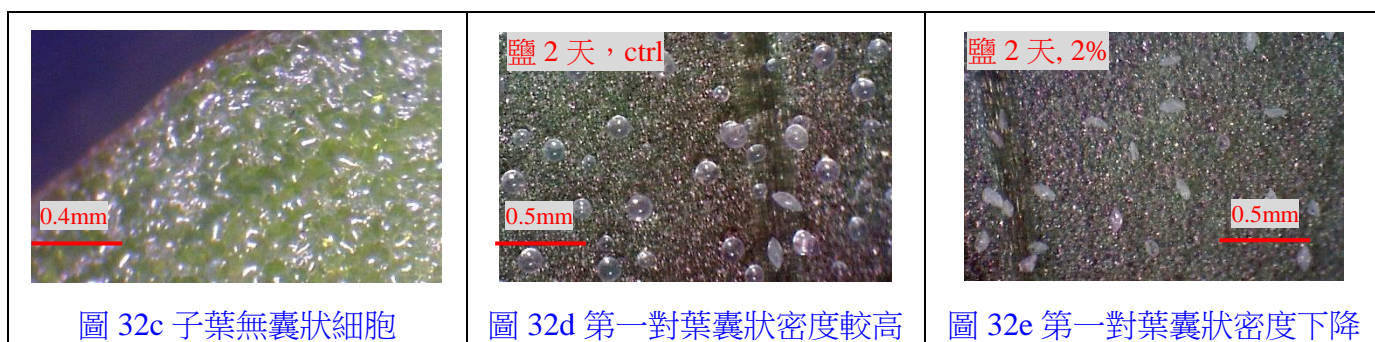


圖 32c 子葉無囊狀細胞

圖 32d 第一對葉囊狀密度較高

圖 32e 第一對葉囊狀密度下降

外部型態結果方面，囊狀細胞似乎與逆境之間有所關聯，尤其鹽逆境下，不論是密度或是面積均下降，這讓我們很好奇囊狀細胞在鹽逆境下扮演了什麼樣重要的角色與功能？

四、探討鹽逆境下囊狀細胞的角色

由研究三，了解第一對葉的較好抗逆能力可能是具較成熟的抗氧化酵素及囊狀細胞協助有關，這個部份，我們將探討鹽逆境下，囊狀細胞的功能以及與抗氧化酵素之間的關聯。

(一) 無逆境下，囊狀細胞對生長的影響

研究過程，發現囊狀細胞可被刷除，當囊狀被刷除後，是否抗鹽能力會受到影響？為避免刷除可能造成幼苗生長的傷害，我們先比較無逆境下，刷除囊狀細胞對生長的影響。

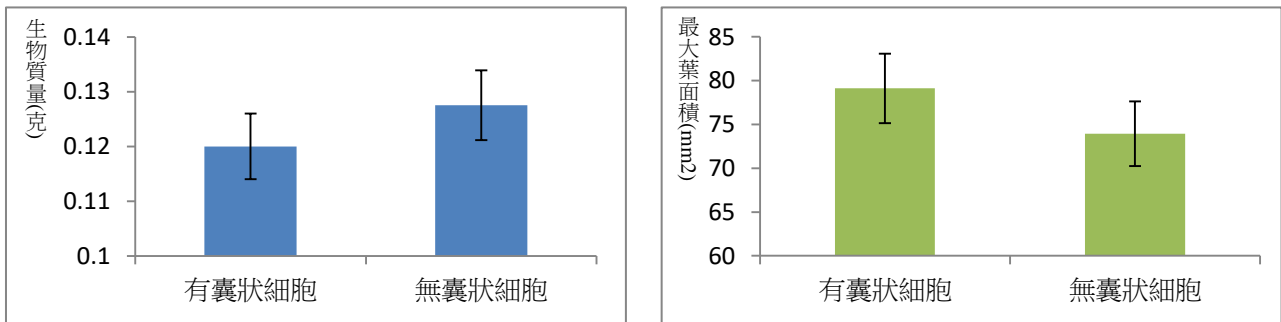


圖 33a 無逆境下，有無囊狀細胞對生長的影響

生物質量、葉面積方面，有無刷除囊狀細胞均未達顯著差異($p>0.05$)，顯示無逆境下，刷除囊狀細胞對台灣藜生長影響不大。接著將囊狀細胞刷除後，以鹽逆境處理，了解囊狀角色。

(二) 鹽逆境下，囊狀細胞對生長的影響

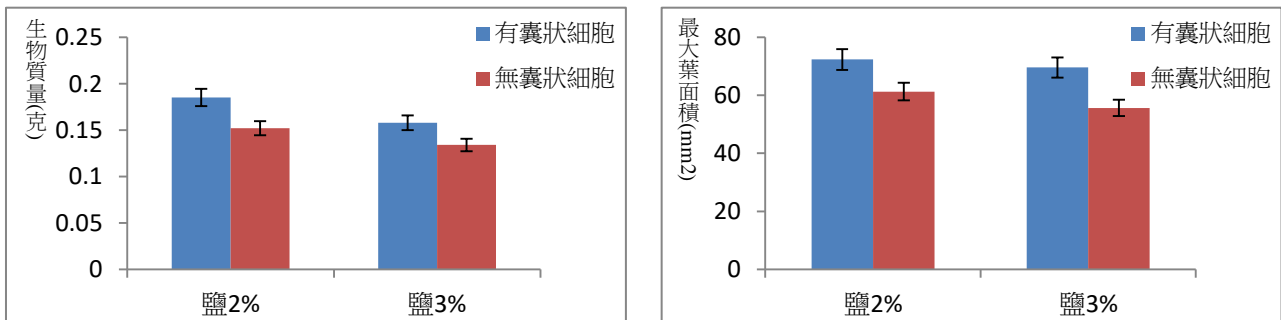
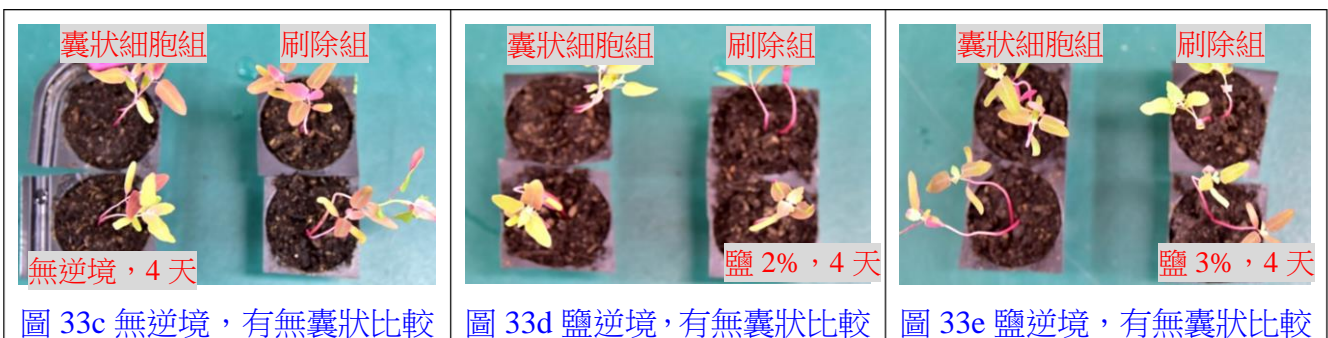


圖 33b 鹽逆境下，有無囊狀細胞對生長的影響

刷除囊狀細胞後，以鹽逆境處理，與無刷除相比，生物質量、葉面積分別達顯著差異 ($p<0.05$)，顯示囊狀細胞的存在，在鹽逆境下扮演了相當重要的角色，可能與排鹽有關。



(三) 鹽逆境下，囊狀細胞的內容物與角色

上個實驗中，了解囊狀細胞在鹽逆境下，可能扮演了與排鹽有關的角色，在研究結果三中，了解抗氧化酵素在逆境下的重要功能，接著我們想進一步探討囊狀細胞除了排鹽儲存外，還會有其它的內容物嗎？是否與抗氧化酵素有什麼樣的關聯呢？

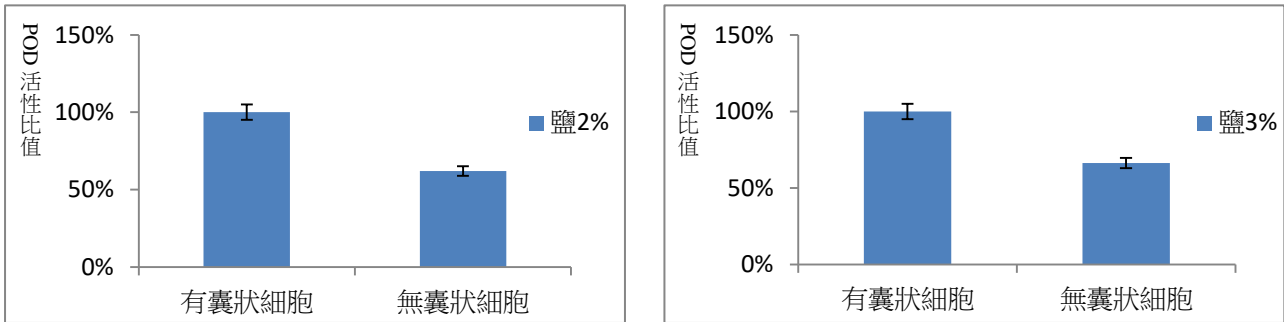


圖 34a 鹽逆境處理後，刷除囊狀細胞對 POD 活性比較

在 2% 鹽逆境處理後，刷除囊狀細胞組別的 POD 活性，與對照組組比，下降約 39%，暗示鹽逆境下的 POD，可能存在囊狀細胞內。

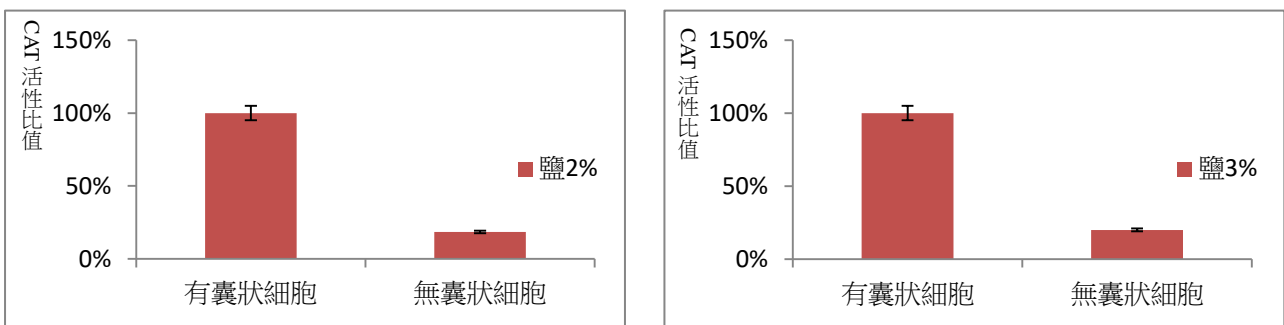
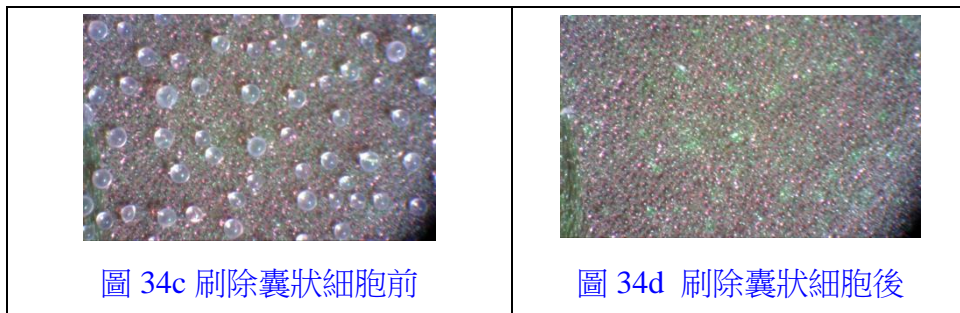


圖 34b 鹽逆境處理後，刷除囊狀細胞對 CAT 活性比較

在 2% 鹽逆境處理後，刷除囊狀細胞的組別，與對照組相比 CAT 活性下降約 82%。鹽逆境時，有較多的 CAT 在囊狀細胞內，而在刷除的過程中被去除，使得 CAT 活性大幅下降。這顯示囊狀細胞除了排鹽之外，可能也有儲存抗氧化酵素(POD、CAT)的能力。



抗氧化酵素及囊狀細胞，增加了台灣藜生長至第一對葉時的抵抗逆境能力，這讓我們想到是否能夠利用鹽逆境所造成的內部酵素變化，來協助提升耐旱能力呢？

五、探討鹽處理對抗旱能力的影響

由上述的研究中，了解第一對葉對台灣藜而言，是抗逆的重要發展及較為成熟時間，野外環境中常有多重逆境的同時發生，鹽與乾旱若同時出現下，是否能夠由鹽造成的生理變化，進而增加內部的抗氧化能力，進而提升抗旱能力呢？我們由比較台灣藜對鹽、乾旱逆境的內部生理反應開始，接著試著探討鹽處理對抗旱能力提升的可能性。

(一) 比較台灣藜在鹽及乾旱逆境下的反應情形

1. 非酵素型抗氧化 ~ 植物色素比較

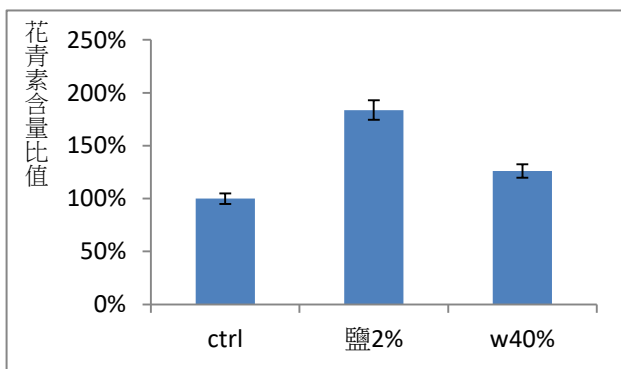


圖 35a 不同逆境之花青素與 ctrl 比值

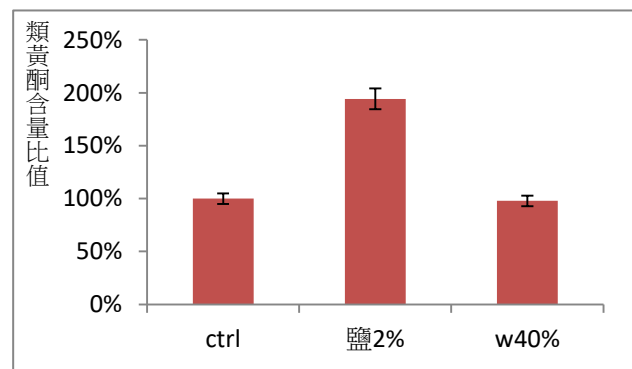


圖 35b 不同逆境之類黃酮與 ctrl 比值

比較第一對葉在鹽及乾旱處理後的植物色素比較，發現鹽逆境下的花青素及類黃酮與乾旱組相比，均高出許多(分別為 1.51 倍及 1.98 倍)。結果顯示，台灣藜對於鹽的敏感度較乾旱逆境高，相同時間下的刺激，使得具抗氧化能力的植物色素大量增加。

2. 酵素型抗氧化 ~ 抗氧化酵素活性比較

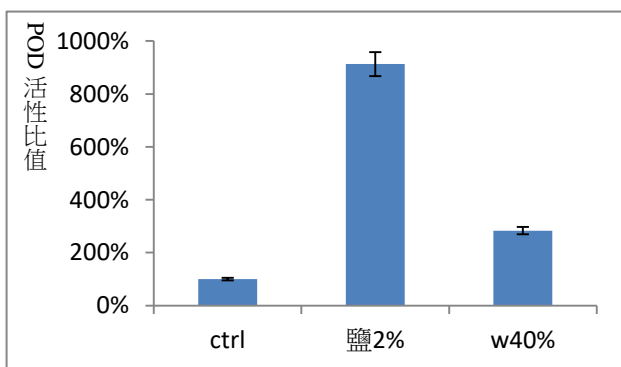


圖 35c 不同逆境之 POD 活性與 ctrl 比值

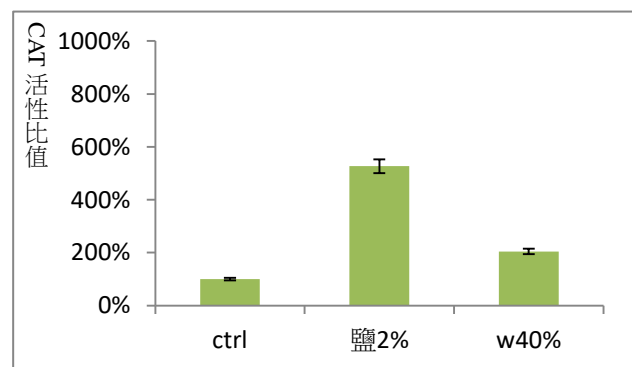


圖 35d 不同逆境之 CAT 活性與 ctrl 比值

抗氧化酵素部分，當生長至第一對葉時，才有較為明顯的協助抗抵抗逆境能力，不論是 POD 或是 CAT，鹽逆境與乾旱組比，活性變化均較高(3.25 倍及 1.58 倍)，植物色素的結果也是鹽相對較高。顯示台灣藜面對鹽逆境時，能快速增加體內相關的抗氧化物質。

(二) 探討鹽處理對抗旱能力的影響

由上個研究結果，了解台灣藜在鹽逆境下的敏感度較大，能增加較多的抗氧化物質，面對自然環境同時出現鹽及乾旱逆境，是否可以利用添加鹽處理方式，來增加耐旱能力呢？

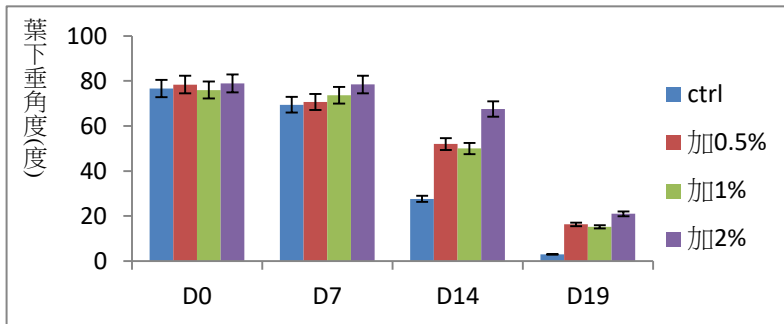


圖 36a 不同鹽處理後，連續乾旱時間與葉下垂角度

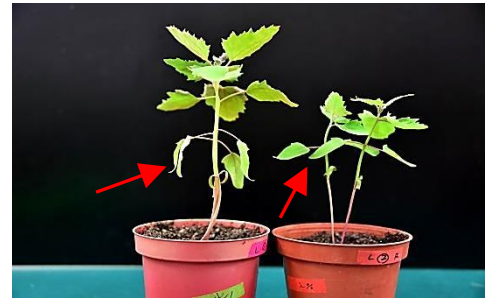


圖 37a 乾旱 14 天，
第一對葉下垂情形

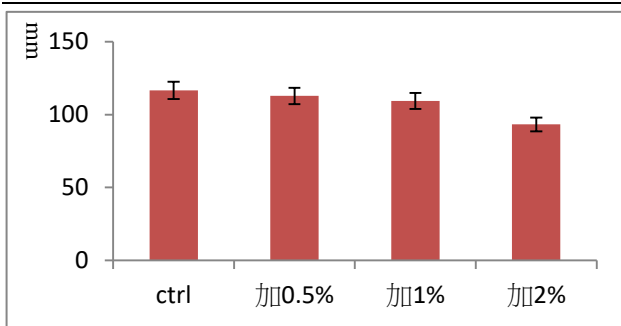


圖 36b 乾旱 19 天(ctrl 開始枯萎)之莖長比較

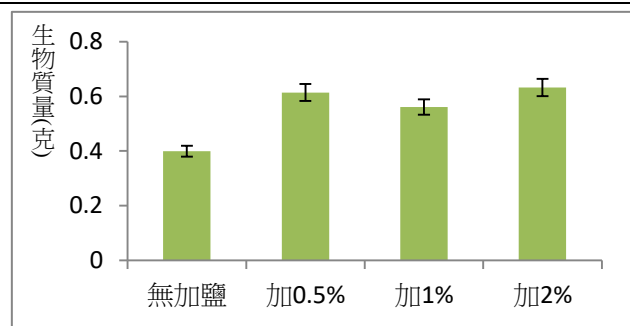


圖 36c 乾旱 19 天之生物質量比較

鹽處理後連續乾旱的實驗，我們除了比較葉子開始枯萎的時間、生物質量與莖長外，為了了解不同時間的變化，一併比較不同乾旱時間的第一對葉下垂角度。

結果來看，台灣藜的耐旱能力驚人，連續乾旱約 2 週的時間，葉出現較為明顯的下垂現象，ctrl 組的下垂角度顯著高於經過鹽處理組，但 2% 組的下垂角度最小，似乎受到乾旱影響不大。記錄至第 19 天時(ctrl 組出現明顯枯萎)，鹽處理組的下垂角度仍小於 ctrl 組，此時 2% 鹽逆境的莖長受到顯著抑制，生物質量部份，ctrl 組可能因為乾旱脫水關係，質量顯著小於鹽處理組。外加鹽的處理，可能提升了台灣藜體內抗氧化物質，進而加強了抗旱能力。



圖 37b 連續乾旱 14 天時生長情形



圖 37c 乾旱 19 天時，鹽處理組較能耐旱

陸、討論

極端氣候的出現似乎成為常態，暖冬少雨導致連續乾旱，使得農作物收成大受影響，台灣更是全球排名第 19 的缺水國(2018)，據農委會資料指出 2019 年初乾旱造成的農作物損失約 7.3 億元；而鹽害問題也造成農作物很大的威脅，據估計全

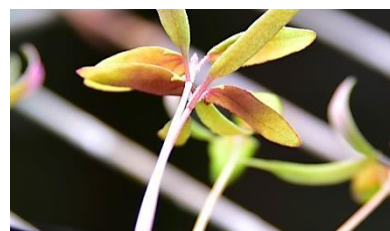


圖 38 校園內即將成熟的台灣藜

球有 1/3 土地存在鹽害問題，過度施肥、地層下陷、颱風造成的海水倒灌等皆會造成土壤鹽化。當乾旱及鹽害發生的頻率逐漸上升時，探討具有較強抗逆能力的作物就顯得格外重要。

台灣藜種子深具高度營養及機能性成份，關於台灣藜在逆境下的生長情形及抗逆方式則相對較少，因此我們想要由逆境下的生長情形開始探討起。

首先是逆境的部份。依劉玉山(2009)將植物對鹽害反應，分為三大類：(1)鹽土植物，NaCl 濃度在 1.2~3%之間仍能生長，如紅樹林；(2)高鹽容忍非鹽土植物，如番茄；(3)淡土植物，NaCl 濃度在 0.3%左右即會對植物造成鹽害。因此我們將鹽害濃度依序設定為 ctrl(0%)、0.5%(淡土作物上設)、1%、2%、3%；屏科大古明萱農藝學教材指出，田間保水量約 60~80% 對作物的生長最佳，因此我們以實驗用的小紅盆最大的體積含水量*80%做為控制組(ctrl)，並依序設定 w80%(ctrl 含水量*80)、w60%、w40%、w20%等不同乾旱程度來進行探討。



在逆境下種植的結果卻發現，台灣藜耐鹽抗旱的能力並不如文獻所述，這引起了我們的好奇與疑惑，開始探討生長時期與逆境間關聯，以及較能抗逆的可能原因。植株上的囊狀細胞，會與逆境間有什麼樣的關聯呢？當逆境同時發生時，鹽逆境下的台灣藜是否能提升抗旱能力呢？以下是關於我們這一系列的討論：

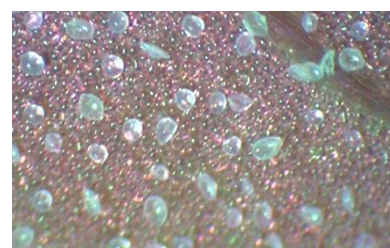


圖 39 台灣藜的花青素(上)與囊狀細胞(下)，抵抗逆境？

一、觀察台灣藜在不同逆境(鹽、乾旱)下的生長情形

1. 發芽率：缺水環境對發芽的抑制相對較少，w20%組別的含水量極低(接近土壤本身濕度)，但仍有少數能發芽，可見台灣藜具有極好的耐旱能力。比較張伶禕(2018)報告中，另一種台灣原生種抗逆植物番杏，在鹽逆境下發芽率(2%及 3%)，分別為 16%、7.8%，顯示台灣藜種子對逆境的忍受度相對較低。

2. 生長情形：在不同逆境下持續生長的幼苗，隨鹽及乾旱程度上升，造成很大的抑制。台灣藜在鹽逆境下生長以 ctrl(0%)最好，而乾旱逆境下則是 ctrl 與輕微乾旱的 w80%生長較好。



圖 40 0.5% 鹽刺激，造成抑制

多數耐鹽作物，在輕微鹽逆境下有較好的生長情形，如張伶禕(2018)研究耐鹽作物番杏，0.5%下生長較好，而陳亮萱(2017)研究耐鹽冰花，也在 0.5%下生長較好，此外，黃蒼臻(2017)研究報告中，提及同為藜屬的藜麥，在 0.5%~1.2%鹽度，有最好的生物質量，這與我們研究的台灣藜結果不同，0.5%鹽逆境下，生長情形並不良(圖 40)，除了品種差異外，推測可能與台灣藜逆境適應的生長時期有關，

二、探討較能抵抗逆境的生長時期

在逆境下的生長結果與網路資料及文獻並不相同，我們推測台灣藜可能需生長至某個時期才發展出較成熟的抗逆能力，研究結果也顯示當生長至第一對葉時，發展出較能抵抗逆境的能力，



圖 41 第一對葉，抗逆開始？

此時期的生物質量與新生葉面積雖然均有下降趨勢，但與子葉時期相比，第一對葉抵抗逆境的能力相對較強。張伶禕(2018)研究原生種番杏報告，也提及番杏發展至第 3 對葉時，較能抵抗逆境，相較之下，台灣藜在較小的生長時期即開始發展抗逆能力。

三、探討較能抵抗逆境的可能原因

我們很好奇為何第一對葉時同時具備了抗鹽及耐旱的能力，發展至第一對葉與子葉時，除了外觀上的差別外，還有什麼發展使得抗逆能力出現差異。

(一)比較內部生理~非酵素抗氧化(植物色素)及酵素抗氧化(POD、CAT)

子葉即具有明顯花青素累積，文獻查詢後，了解花青素屬於類黃酮化合物，而類黃酮具有很強抗氧化能力，能清除代謝產生的活性氧分子，常作為抗氧化指標。黃蒼臻(2017)指出，台灣藜在種植 5 天之幼苗，低鹽度(0.5%)刺激下，會增加花青素及類黃酮含量。這與我們

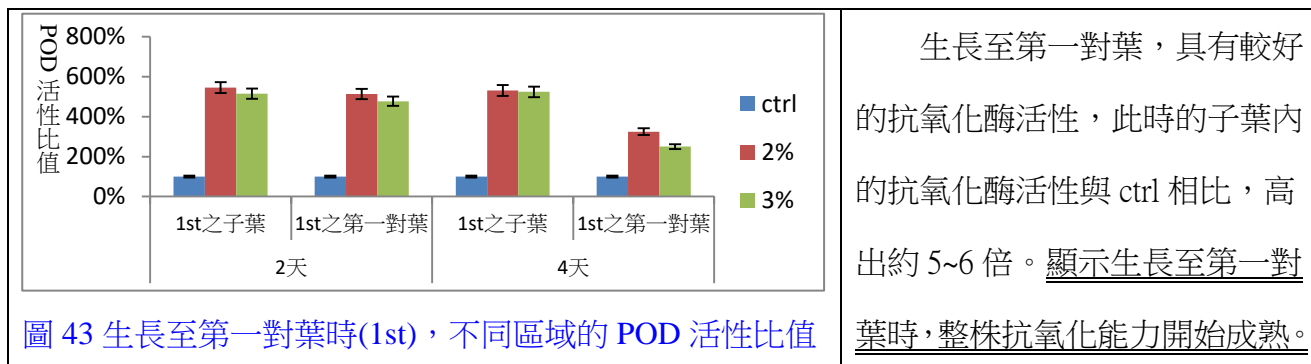


圖 42 新生葉花青素含量多

的結果類似，但比較子葉及第一對葉時，植物色素在逆境下的含量差異不大，並觀察到台灣藜新生葉具有明顯色素(圖 42)，推測台灣藜的植物色素在不同時期皆扮演了協助抗逆的角色。

我們探討了子葉與第一對葉的抗氧化酵素活性，發現生長至第一對葉時，遭遇鹽及乾旱逆境

下，不論是過氧化物酶(POD)或是過氧化氫酶(CAT)，均較 ctrl 組高出許多倍，這與薛貽恩(2017)報告相似，台灣藜幼苗的抗氧化酶活性，會在鹽逆境刺激增加。比較鹽及乾旱逆境，發現隨著鹽處理時間增加，而抗氧化酶活性下降，乾旱則隨著處理時間增加，而活性上升，可能是因為乾旱對台灣藜的影響較緩慢，尚未超過台灣藜對逆境的忍受程度。



(二)比較外部型態(氣孔關閉率、囊狀細胞密度、面積)

王定澤(2017)研究小米耐鹽報告，指出小米較稻米耐鹽，因小米對鹽較為敏感，在較低鹽刺激下能提早關閉氣孔。台灣藜在鹽與乾旱逆境下，子葉及第一對葉都有極高的關閉比例來避免水散失。比較子葉及第一對葉，在逆境下的氣孔關閉率相差不大。

台灣藜長至第一對葉時，有為數不少的囊狀細胞。在鹽及乾旱逆境中，囊狀細胞的面積均會下降，而囊狀細胞密度僅有鹽逆境下會顯著下降。這與張伶禕(2018)指出番杏的囊狀細胞，不會因鹽逆境而改變數量的結果不同。

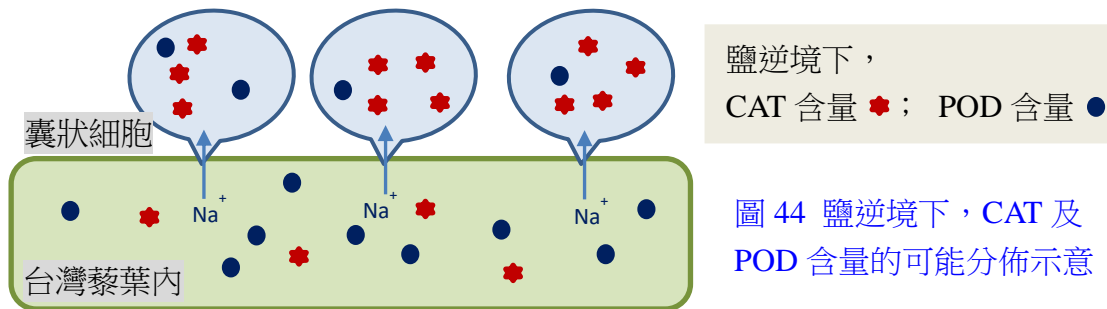
子葉時期遭遇逆境時，仰賴植物色素(花青素、類黃酮)的保護，而待生長至第一對葉時，抗氧化酵素才逐漸成熟加上囊狀細胞的協助，也大幅提升了台灣藜的抗鹽耐旱能力。

四、探討鹽逆境下囊狀細胞的角色

鹽逆境下的囊狀細胞，可能與排出過多鹽分有關，為了解在鹽逆境下的角色，我們將囊狀細胞刷除後，比較鹽處理後的生長。結果顯示生長情形不良，這與薛貽恩(2017)的研究報告指出，台灣藜可能藉由葉片之鹽囊貯存鹽離子以減少毒害結果相仿。

囊狀細胞除了鹽離子的儲存之外，我們將鹽處理後的植株，刷除囊狀細胞後立即以液態氮處理，比較抗氧化酵素(POD、CAT 活性)，發現兩種抗氧化酵素均下降，顯示囊狀細胞很有可能具有儲存抗氧化酵素的能力，而 POD 活性下降較少、CAT 活性卻大量的下降，暗示著 POD 可能有較高的含量在葉子內，而 CAT 則有較高的含量位於囊狀細胞內。

囊狀細胞在協助台灣藜的抗逆能力方面，扮演了舉足輕重的角色，藉由刷除囊狀細胞的實驗，了解除了排鹽之外，也可能是抗氧化酵素的儲存區域。



由研究二的抗逆生長時期，可以發現當生長至第一對葉時具有較好的抗逆能力，在研究三的實驗發現，生長至第一對葉時，抗氧化酵素的活性較為成熟，此時葉上開始有了為數不少的囊狀細胞出現，囊狀細胞內除了儲存過多的鹽，也具有抗氧化酵素於其中。台灣藜生長至第一對葉具有的抗逆能力，在抗氧化酵素成熟與囊狀細胞的出現與功能間，呈現了密切的關聯，我們將台灣藜的可能抗逆的模式整理如下：

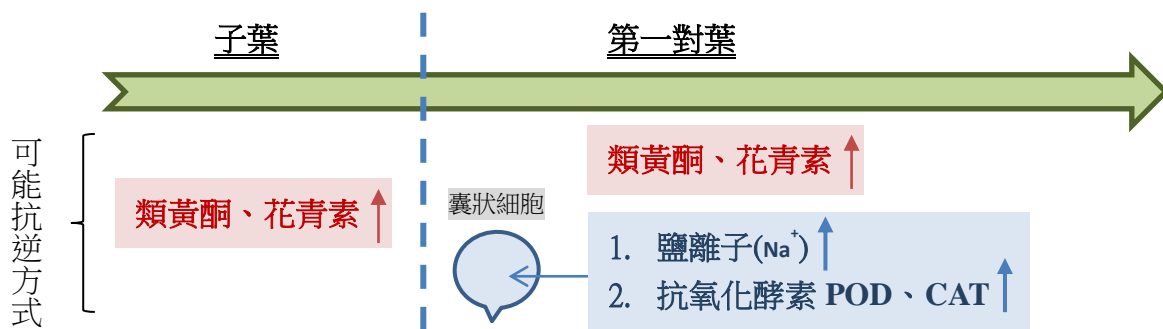


圖 45 不同時期台灣藜的可能抗逆方式

五、探討鹽處理對抗旱能力的影響

野外自然環境中，多重逆境常會同時發生，例如鹽及乾旱逆境。在我們的研究結果發現，鹽處理下能提升抗旱能力，解衛海(2015)的研究報告中，也提及棉花在鹽處理後，能緩解乾旱造成的傷害。當生長至第一對葉時，鹽處理能產生較大的抗氧化反應，可能進而協助抗旱能力。值得一提的是，2%組別具有相對較好的抗旱能力，但生長卻會遭到鹽抑制，莖長相對較小，鹽害與乾旱間的該如何取得平衡，可能尚待進一步研究與討論。

在這一系列的實驗中，我們逐步解開台灣藜生長時期與抗逆發展之謎，並藉由刷除囊狀細胞來了解其扮演的角色，最後利用鹽處理造成的抗氧化活性升高，來提升抗旱能力。台灣藜多種植在台灣山區，希望藉由我們的實驗，在生長至第一對葉後，試著在海邊鹽化土壤種植，並可能具有更強的耐旱能力。

柒、結論

全球藜科植物共約 110 屬，約 1500 種，廣泛分布歐亞大陸、南北美洲、非洲和大洋洲的半乾旱及鹽鹼地區。「台灣藜」(*Chenopodium formosanum Koidz*) 屬於藜麥的一個品系，為台灣的原生種。「台灣藜」含許多機能成分，如：抗氧化的總酚、類黃酮、SOD(超氧歧化酶) 等等，被稱為「穀物的紅寶石」。然而，我們初步觀察台灣藜於鹽及乾旱逆境下的生長情形，卻發現其發芽與生長情況與文獻資料不同。於是我們重新設計系列實驗，希望能進一步探討出台灣藜抗逆的情形與可能機制，並進一步探討囊狀細胞的角色，以下為我們的實驗結論：

1. 在不同鹽逆境下的發芽率結果，ctrl(0%)與低鹽度刺激(0.5%)的相差不大(發芽率分別為 91.8%與 86.3%)，鹽濃度上升至 2%時，發芽率低於 10%，鹽濃度 3%時，則無法發芽。
2. 不同乾旱逆境下的發芽率結果，土壤含水量為 ctrl 的 80%(w80%組)，與 ctrl 組發芽率較類似(分別為 88.3%、79.6%)，當土壤乾旱程度升高至 w40%時，發芽率大幅下降，而乾旱程度最重的 w20%組別，仍有約 6.6%發芽率。
3. 台灣藜在鹽逆境下生長以 ctrl(0%)最好，鹽逆境(2%)雖然能生長，但長至第一對葉需 16 天，ctrl 組約需 8 天；乾旱程度最重的 w20%，生長至第一對葉則需 18 天，顯示在不同逆境下持續生長的幼苗，隨鹽度及乾旱程度上升，造成很大的抑制。
4. 不同時期的鹽處理中，發現於第一對葉時進行鹽處理，相對於子葉時，具有大幅提升的抗逆能力；而在乾旱處理也顯示類似結果。暗示著第一對葉為發展抗逆能力的關鍵時期。
5. 在花青素與類黃酮的比較結果上，發現不論是子葉時期或是第一對葉，2%鹽處理的組別均較 0%鹽處理組的多。乾旱逆境也有相同趨勢，逆境處理皆有較高的含量以協助抗逆。
6. 台灣藜生長至第一對葉時，明顯看出 POD 在 2%鹽處理組別大幅上升，達到 0%鹽處理的組別的 10.8 倍左右。顯示生長至第一對葉時，POD 可能具有協助抗鹽的保護能力。CAT 的部分，子葉時期的活性變化不大；但當生長至第一對葉時，2%與 0%鹽處理組別比，CAT 活性上升達 5.2 倍。
7. 台灣藜子葉時期遭遇 w40%或是更乾旱的 w20%時，與 ctrl 比，POD 活性變化不大；當生長至第一對葉時，乾旱處理 4 天時的 w40%組與 ctrl 相比，POD 活性上升約 3.6 倍。在乾旱處理 4 天時的 w40%組與 ctrl 相比，CAT 活性上升 3.8 倍。

8. 不論子葉或第一對葉，分別在鹽及乾旱刺激下，有極高的比例氣孔關閉。這也顯示了第一對葉抗鹽耐旱的能力較好與氣孔關閉較無關。
9. 台灣藜子葉尚未有囊狀細胞出現；第一對葉的囊狀細胞會隨著鹽度上升，密度及面積下降，顯示生長至第一對葉時可能藉囊狀細胞的改變來協助抗逆，乾旱逆境也有類似情形。
10. 刷除囊狀細胞後，以鹽逆境處理，生物質量及葉面積均較對照組下降，顯示若無囊狀細胞的存在，可能無法排除過多的鹽分。囊狀細胞在鹽逆境下扮演了相當重要的角色。
11. 鹽逆境處理後，刷除囊狀細胞的組別，與對照組相比，不論是 POD 或是 CAT 活性均有下降的趨勢，顯示囊狀細胞除了排鹽之外，也可能具有儲存抗氧化酵素的能力。
12. 台灣藜在鹽逆境下的植物色素及抗氧化酵素之變化情形，雖與乾旱逆境下有類似模式，但鹽逆境下的變化皆較為快速。鹽處理後連續乾旱約 2 週的時間，發現 2% 鹽處理組的下垂角度顯著小於經過 0% 鹽處理組，受到乾旱影響較小。顯示加鹽的處理，可能迅速提升了台灣藜體內抗氧化物質，進而加強了抗旱能力。

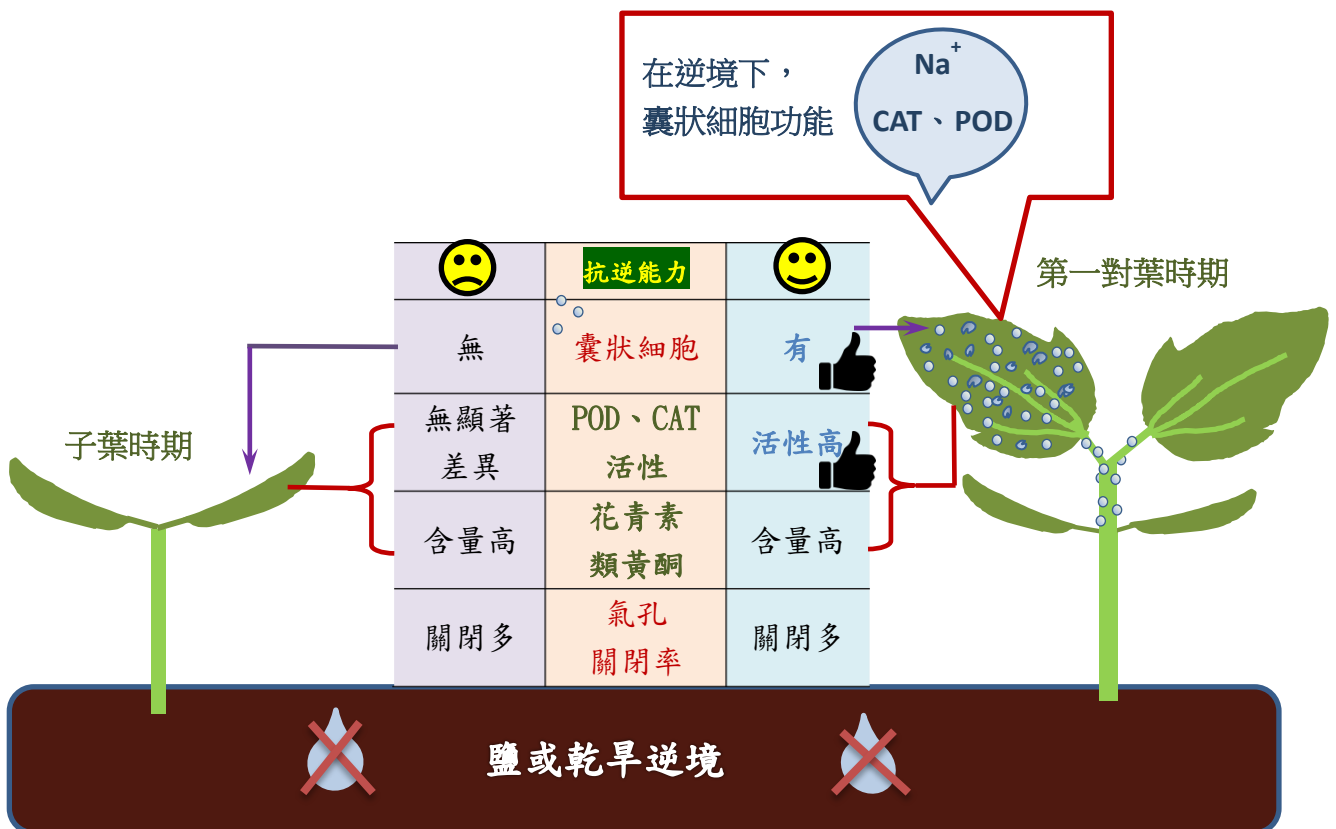


圖 46 比較台灣藜生長第一對葉時，具有較好抗鹽耐旱能力的可能原因

註：子葉時期、第一對葉時期抗逆能力，分別與對照組比較

捌、參考資料

1. 鄭伊娟(2009)。台灣藜之開發應用成果介紹。取自行政院農委會出版品
<https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=21684>
2. 古明萱。屏東科技大學園藝學教材。取自：
<http://cec.npust.edu.tw/e-learning/agronomy/>
3. 台灣藜資料，取自台東農改場：
<https://www.ttdares.gov.tw/ws.php?id=2040>
4. 楊茜雯、巴洛克、陳奕婷(2015)。養我育我的部落勇士-探討小米的生存之密。中華民國第 55 屆中小學科學展覽作品。
5. 王定澤、巴洛克、楊茜雯(2016)，探討小米不為人知的耐機密。中華民國第 56 屆中學學科學展覽作品。
6. 黃薈臻(2017)。不同生長條件對台灣藜幼苗機能性成分之影響。臺灣大學農藝學研究所學位論文
7. 薛貽恩(2018)。台灣藜耐鹽逆境生理機制之研究。屏東科技大學農業科學學門碩士論文。
8. 何盈德、陳亭瑋、廖芳淳(2013)。逆境求生-幫助綠豆在“鹽逆境”中生長的實驗與研究。中華民國第 53 屆中小學科學展覽作品。
9. 解衛海(2015)。Na⁺吸收對乾旱導致的棉花葉片光合損傷緩解。生態學報，35 卷，19 期
10. 劉玉山(2009)。植物對鹽分逆境 (Salinity Stress) 的反應。取自：教育部高瞻自然科學教學資源平台。<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=1077>
11. 陳亮萱、賴芷絮、王怡心(2017)。冰鹽逆險記-探討冰花在鹽逆境下生長與改善土壤鹽化可行性。中華民國第 57 屆中小學科學展覽作品。
12. 張伶禕、黃紫璇、王駿愷(2018)。鹽而有杏，探討番杏的抗鹽方式與鈣離子對抗鹽能力的影響。中華民國第 58 屆中小學科學展覽作品

【評語】 030308

本研究主題具鄉土性。同學們觀察台灣藜在不同逆境(鹽、乾旱)下的生長情形，並且進行詳細記錄；另外在圖 44-46 中，能把實驗結果繪製卡通圖做為結論為很好的整理報告。

改進的建議包括：

1. 摘要中的縮寫字必須先註明全名後再行縮寫。
2. 鹽灌實驗時，讓鹽水流至底部流出為止的方式較不洽當，宜能固定澆灌相同的溶液體積量。
3. 探討囊狀細胞與台灣藜耐鹽機制的關係是一個很好的切入點，但現有結果尚不能明確其功能角色，宜再提供更多實驗證據。

摘要

台灣藜為原生種作物，本實驗發現種子發芽率與幼苗生長，隨鹽度及乾旱程度上升，受到很大抑制；發展至第一對葉，台灣藜才展現較好抗逆能力。花青素與類黃酮比較結果，不論子葉或第一對葉，鹽度越高或越乾旱，含量均較高。但 POD 與 CAT 活性，子葉時活性變化不大。生長至第一對葉時，POD 在 2% 鹽處理組，活性上升 10.8 倍；乾旱 w40% 組，活性上升 3.6 倍。CAT 在 2% 鹽處理組，活性上升 5.2 倍；在乾旱 w40% 組，活性上升 3.8 倍，酵素活性的結果與抗逆關鍵時期相符。刷除囊狀細胞後，發現台灣藜在鹽逆境下生長較差。2% 鹽處理後，將囊狀細胞刷除，CAT 活性下降約 82%，POD 活性下降約 39%。囊狀細胞除了儲鹽能力外，尚有抗氧化酵素存在其中的可能。加鹽的處理能加強抗旱能力。

壹、研究動機

台灣紅藜，原住民種植的原生種作物，2008 年正名為台灣藜。查閱資料了解，能在極端氣候生長，具多重抗逆能力，但關於抗逆資料較少見。在逆境下種植結果，發現幼苗期並不具備抗逆能力，這與資料有所不同，是否暗示台灣藜要發展至某個時期才具有較好抗逆能力？顯微鏡下明顯的囊狀細胞，逆境下扮演什麼角色？野外環境常有逆境同時發生，鹽逆境是否能提升耐旱能力呢？讓我們逐步解開台灣藜抗逆之謎。

貳、研究目的

- 一、觀察台灣藜在不同逆境(鹽、乾旱)生長情形
- 二、探討較能抵抗逆境的生長時期
- 三、探討較能抵抗逆境的可能原因
- 四、探討鹽逆境下囊狀細胞的角色
- 五、探討鹽處理對抗旱能力的影響

參、研究器材與設備

一、實驗器材與設備：

台灣藜 (*Chenopodium formosanum*)，莧科藜亞科藜屬，一年生作物，為台灣原生種植物。

(一)生長情形：電子游標尺、IMAGE J 軟體(葉面積) (二)抵抗逆境可能原因(內部物質)：~分光光度計、高速離心機、液態氮、雙氧水、甲醇、乙醇、愈創木酚、微量吸管

(三)抵抗逆境可能原因(外部型態)：~解剖顯微鏡、電子目鏡、測微軟體

二、逆境條件設定

(一) 鹽逆境：氯化鈉配製不同濃度鹽水如下：

ctrl (0%)	0.5%	1%	2%	3%
-----------	------	----	----	----

(二) 乾旱逆境：以土壤水份感測器調控不同乾旱程度如下：

ctrl	w80%	w60%	w40%	w20%
控制組(最大含水量*80%)	ctrl 含水量*80	ctrl 含水量*60%	ctrl 含水量*40%	ctrl 含水量*20%



圖 1 台灣原生種作物~台灣紅藜

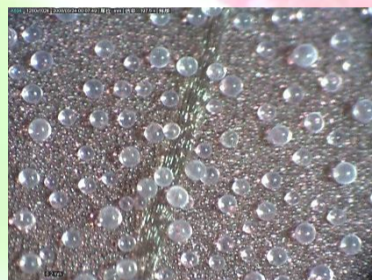


圖 2 顯微鏡下的囊狀細胞



圖 3 葉背明顯的花青素



圖 4 台灣藜種子



圖 5 室內以 LED 燈照射



圖 6 感測器調控含水量



圖 7 鹽逆境下，刷除囊狀細胞

肆、研究過程與方法

為何第一對葉較能抗逆？

鹽、乾旱逆境下的生長

- 發芽率
- 莖根長、葉面積
- 生物質量

何時較能抵抗逆境？

- 較抗鹽時期
- 較耐旱時期

抵抗逆境可能原因

- 內部物質
 - 抗氧化物質(花青素、類黃酮)
 - 抗氧化酵素(POD、CAT)
- 外部型態
 - 氣孔關閉率
 - 囊狀細胞密度

鹽逆境下囊狀細胞的角色

- 逆境下有無囊狀細胞的影響
- 囊狀細胞內容物

鹽處理是否提升抗旱能力？

- 鹽、乾旱下內部變化
- 鹽處理對抗旱影響

鹽、乾旱下生長不良，與資料不同

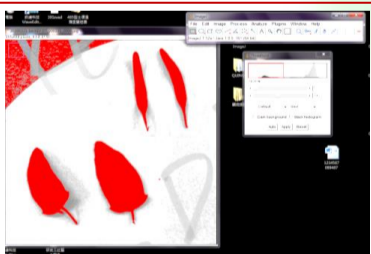


圖 8 以 IMAGE J 測量葉面積



圖 9 以液態氮進行研磨



圖 10 研磨後萃液離心



圖 11 以光度計測量吸光值

伍、研究結果

一、觀察台灣藜在不同逆境(鹽、乾旱)下的生長情形

(一)比較鹽及乾旱逆境下的發芽率

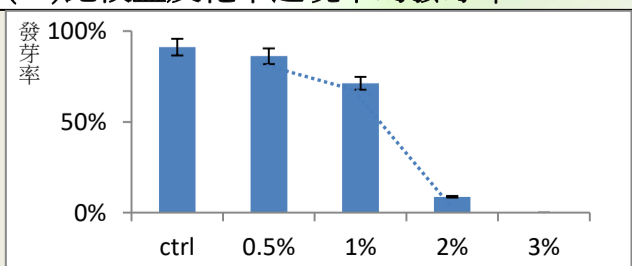


圖 12a 不同鹽逆境下的發芽率

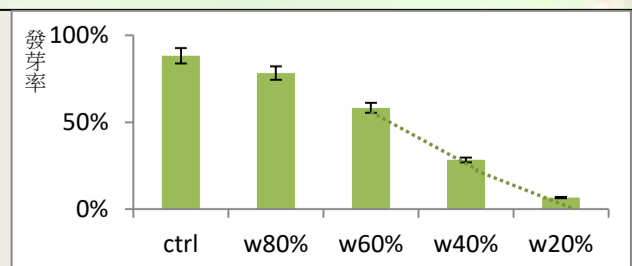


圖 12b 不同乾旱逆境下的發芽率



圖 12c ctrl 及 0.5% 有不錯發芽率

(二)比較鹽及乾旱逆境下的生長情形

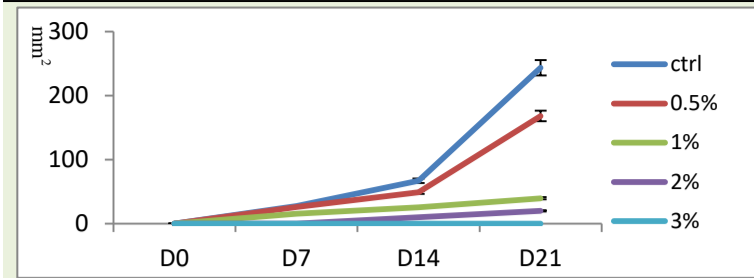


圖 13a 不同鹽逆境下的最大葉面積

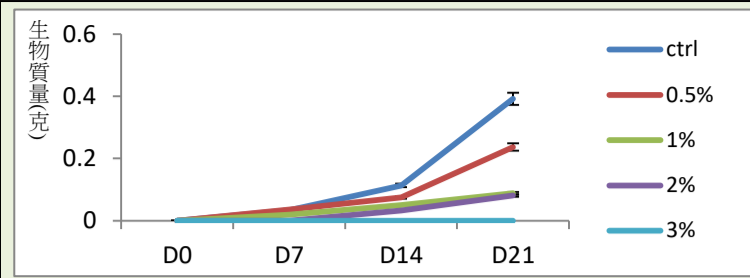


圖 13b 不同鹽逆境下的生物質量

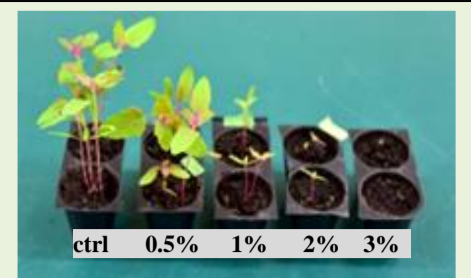


圖 13c 鹽逆境抑制生長(21 天)

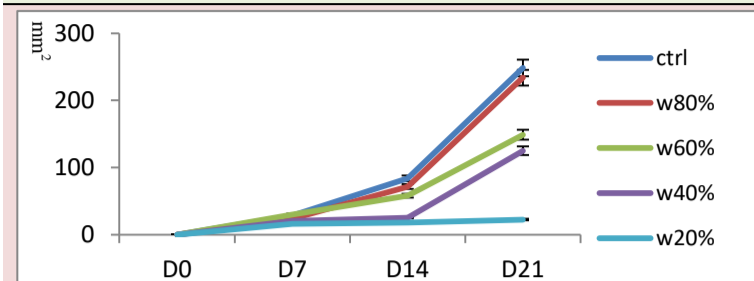


圖 14a 不同乾旱逆境下的最大葉面積

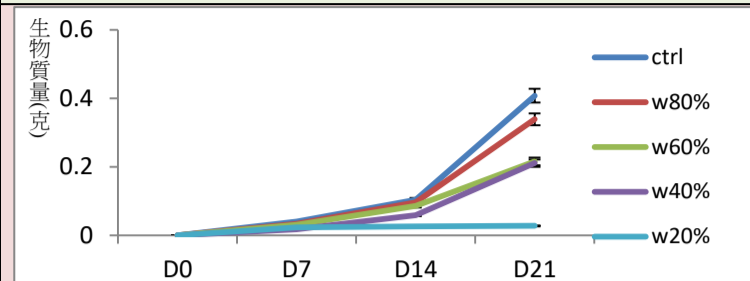


圖 14b 不同乾旱逆境下的生物質量

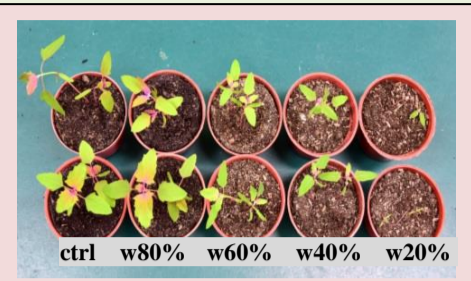


圖 14c 乾旱逆境下生長(21 天)

結果顯示台灣藜的種子及生長情在高鹽逆境(2、3%)及較乾旱程度(W40%、20%)抑制幅度相當大。由種植觀察結果發現，逆境下生長情形，似乎和文獻資料的良好抗逆能力不同，是否暗示台灣藜需生長至某個生長時期才有較好抗逆能力呢？

二、探討較能抵抗逆境的生長時期

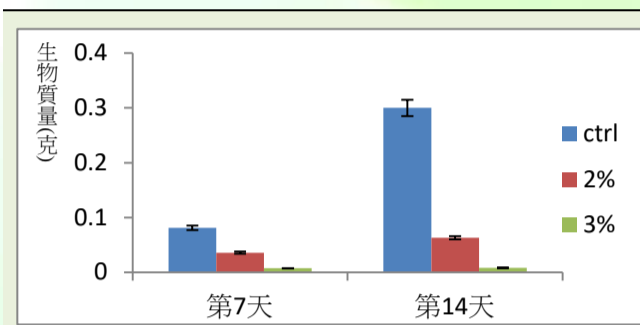


圖 15a 長到子葉，鹽處理 7、14 天生物質量

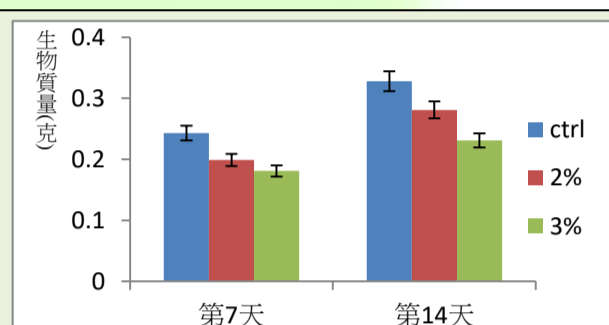


圖 15b 長到第一對葉，鹽處理後生物質量

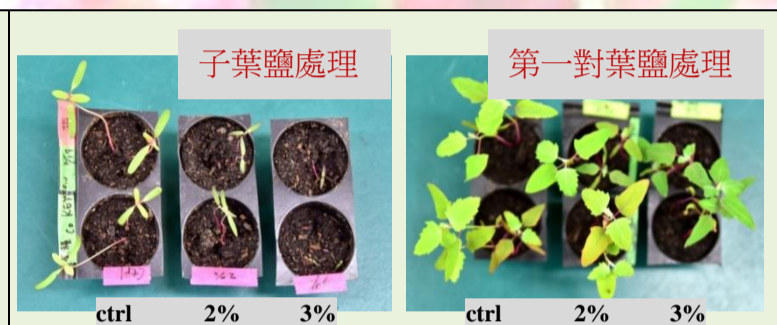


圖 15c 不同生長階段，以鹽處理後第 7 天比較

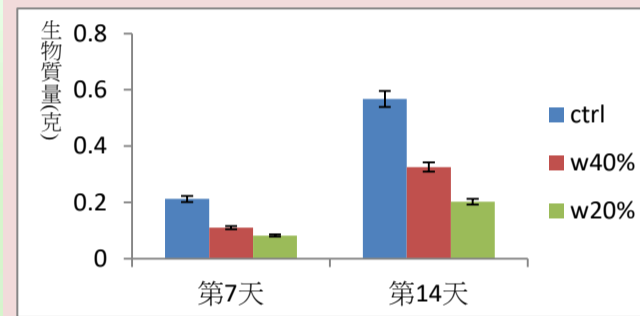


圖 16a 長到子葉，乾旱處理 7、14 天生物質量

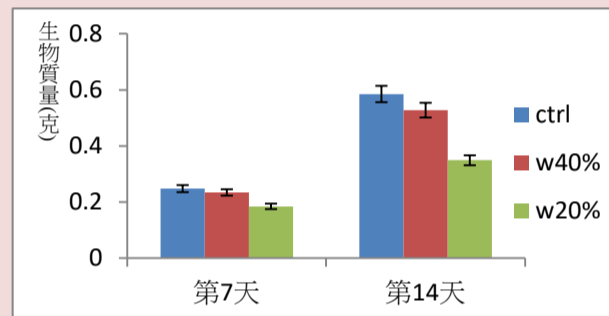


圖 16b 長到第一對葉，乾旱處理之生物質量

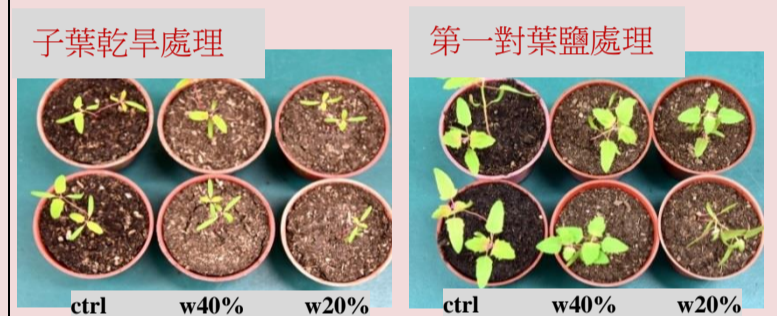


圖 16c 不同生長階段，乾旱處理後第 7 天比較

生長至第一對葉後，發展出較為成熟的抗逆能力。這個時期，究竟台灣藜出現了什麼樣的變化，因而較能適應逆境呢？

三、探討較能抵抗逆境的可能原因

(一)探討內部物質與抵抗逆境關聯~抗氧化物質(色素)

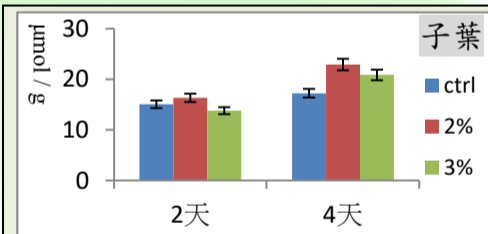


圖 17a 鹽處理下的花青素比較

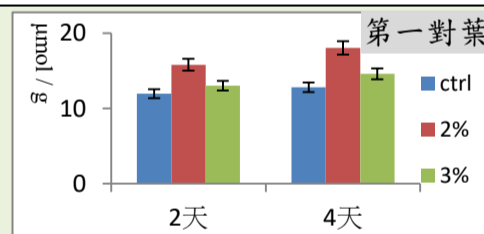


圖 17b 鹽處理下的類黃酮比較

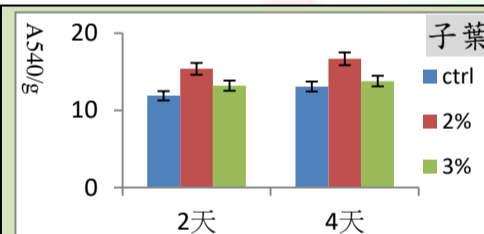


圖 18a 乾旱處理下的花青素比較

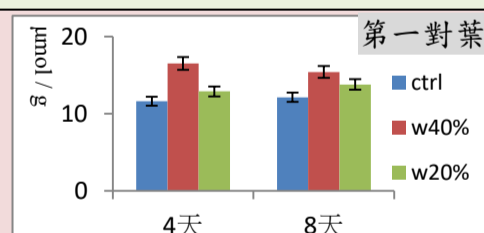


圖 18b 乾旱處理下的類黃酮比較

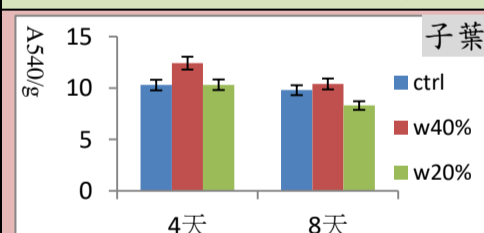


圖 18c 乾旱處理下的類黃酮比較

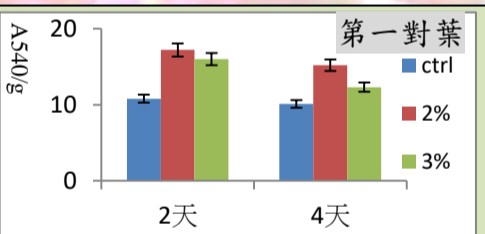


圖 18d 乾旱處理下的類黃酮比較

不論是鹽或乾旱逆境，子葉及第一對葉的色素含量均有顯著增加。第一對葉較強的抗逆與酵素有關嗎？

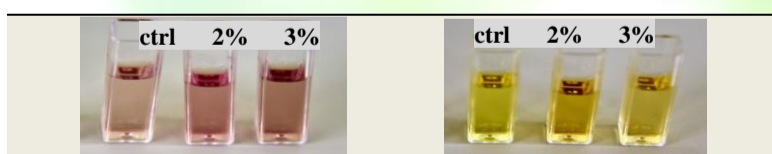


圖 19 鹽處理 2 天，子葉花青素(左)與類黃酮(右)比較

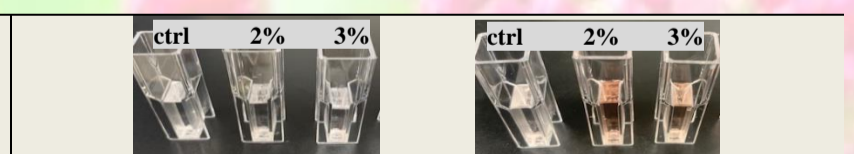


圖 20 鹽處理 2 天，子葉(左)、第一對葉(右)之 POD 活性

(二)探討內部物質與抵抗逆境關聯~抗氧化酵素

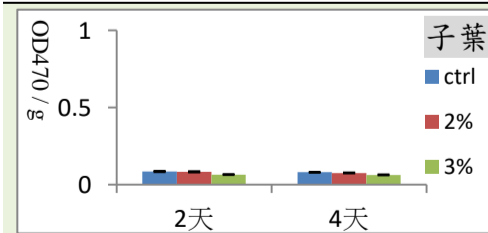


圖 21a 鹽處理下的 POD(過氧化物酶)比較

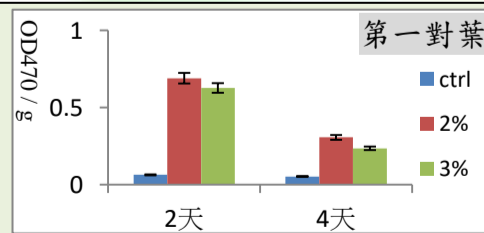


圖 21b 鹽處理下的 CAT(過氧化氫酶)比較

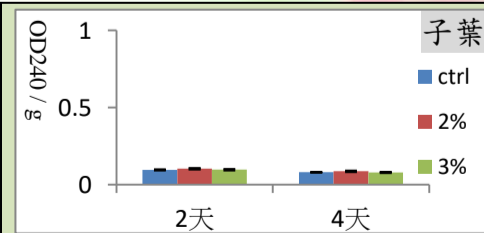


圖 22a 乾旱處理下的 POD(過氧化物酶)比較

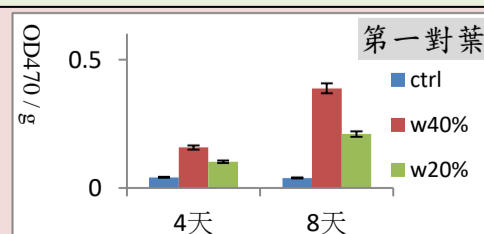


圖 22b 乾旱處理下的 CAT(過氧化氫酶)比較

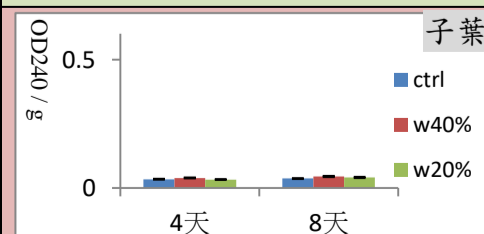


圖 22c 乾旱處理下的 CAT(過氧化氫酶)比較

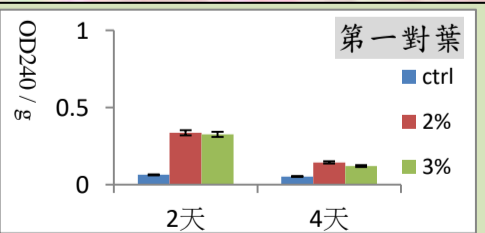


圖 22d 乾旱處理下的 CAT(過氧化氫酶)比較

抗氧化酵素的結果顯示，當生長至第一對葉時，才有較為明顯的協助抵抗逆境能力。

(三)探討外部型態與抵抗逆境關聯~氣孔關閉率

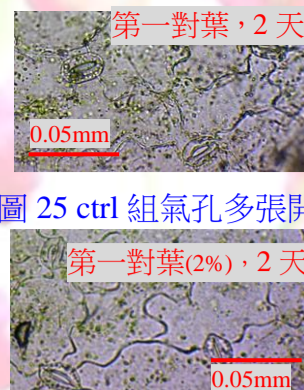
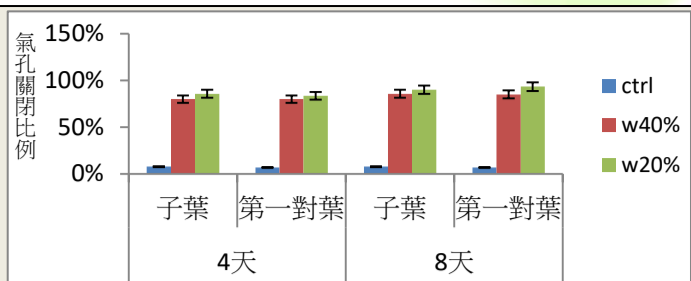
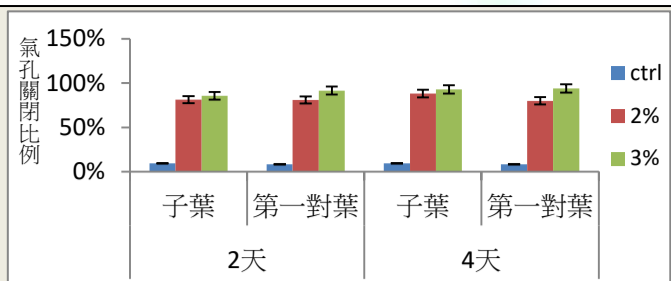


圖 23 不同鹽逆境對不同生長時期之氣孔關閉率

圖 24 不同乾旱程度對不同生長時期之氣孔關閉率

鹽及乾旱逆境下，子葉及第一對葉皆有大幅度的關閉，顯示第一對葉的抗逆能力較強可能與氣孔的關閉程度無關。

(四)探討外部型態與抵抗逆境關聯~囊狀細胞密度、面積與逆境

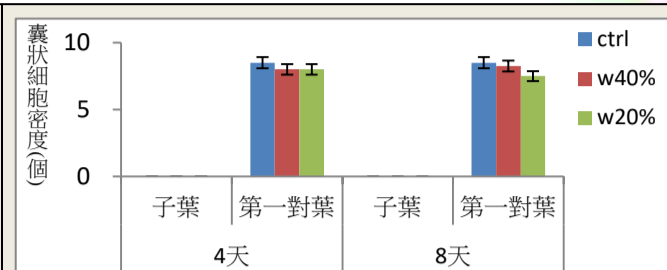
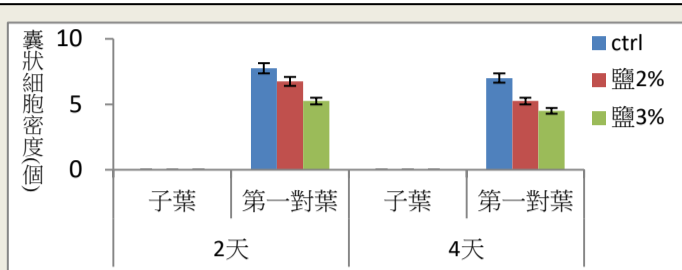
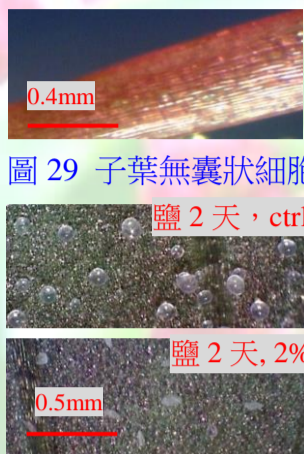


圖 27 不同鹽逆境處理對囊狀細胞密度的影響

圖 28 不同乾旱逆境處理對囊狀細胞密度的影響

逆境造成囊狀細胞的密度及面積縮小。結果似乎暗示著囊狀細胞與逆境間存在著關聯？



四、探討鹽逆境下囊狀細胞的角色

(一)有無囊狀細胞對生長的影響

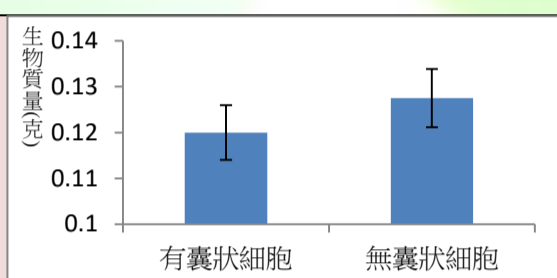


圖 31 有無狀細胞對生長影響(無逆境下)

(二)逆境下，有無囊狀細胞對生長的影響

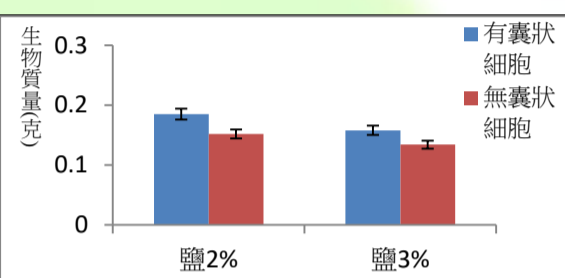
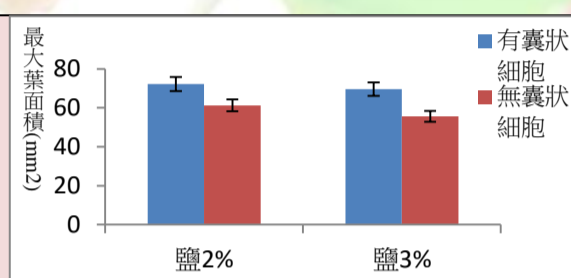


圖 32 刷除囊狀細胞後，以鹽逆境處理，對生長的影響



(三)鹽逆境下，囊狀細胞的內容物與角色

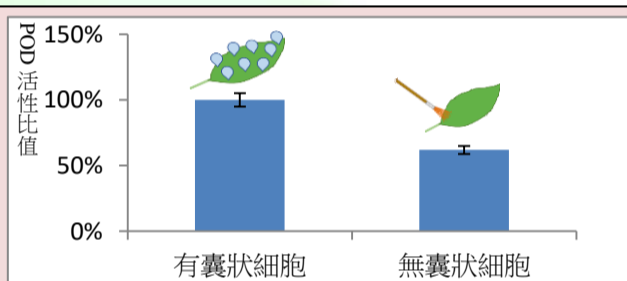


圖 33a 鹽逆境(2%)處理後，刷除囊狀細胞，探討對 POD 及 CAT 活性影響

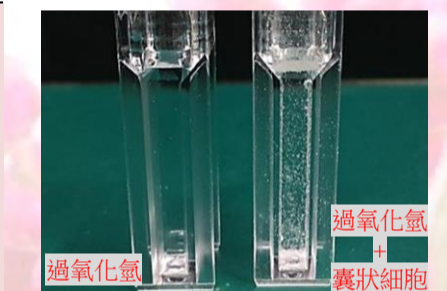
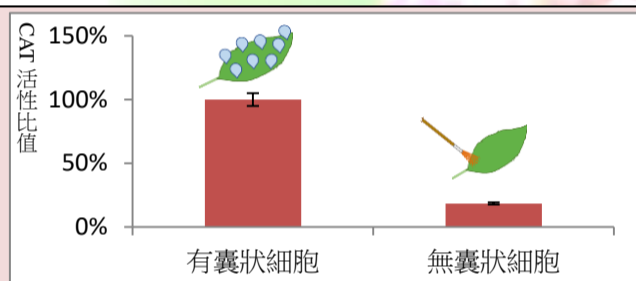


圖 33b 囊狀細胞與過氧化氫反應

在 2% 鹽逆境處理後，刷除囊狀細胞組別，POD、CAT 活性均下降，顯示囊狀細胞除排鹽外，可能有儲存抗氧化酵素能力。

五、探討鹽處理對抗旱能力的影響

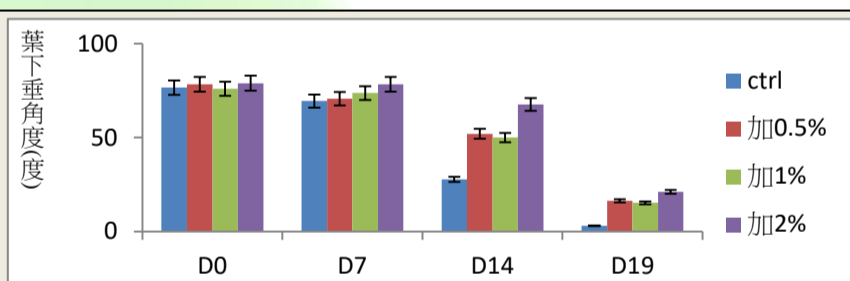


圖 34a 不同鹽處理後，連續乾旱時間與葉下垂角度

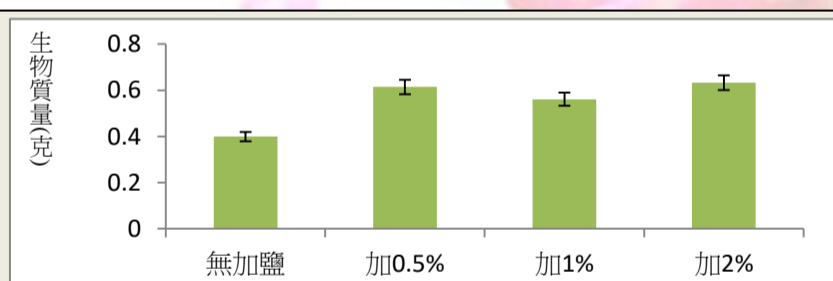


圖 34b 乾旱 19 天之生物質量比較

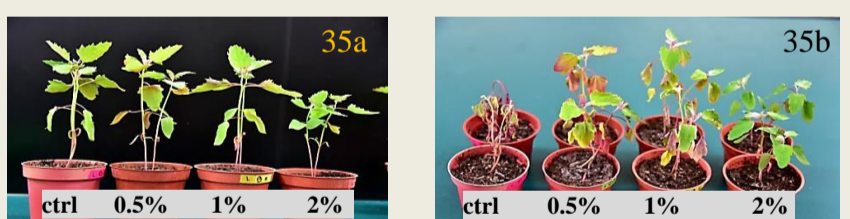


圖 35a 連續乾旱 14 天時之生長情形
圖 35b 乾旱 19 天時，鹽處理組較能耐旱
台灣藜的耐旱能力驚人。外加鹽的處理，可能提升了台灣藜體內抗氧化物質，進而加強了抗旱能力。

陸、討論與結論

在這一系類實驗，逐步解開台灣藜抗逆發展之謎，囊狀細胞在協助抗逆上，扮演重要角色，除排鹽外，可能是抗氧化酵素儲存區域。台灣藜多種植在山區，希望藉由實驗結果，生長至第一對葉後，在海邊鹽土種植，並具更強耐旱能力。

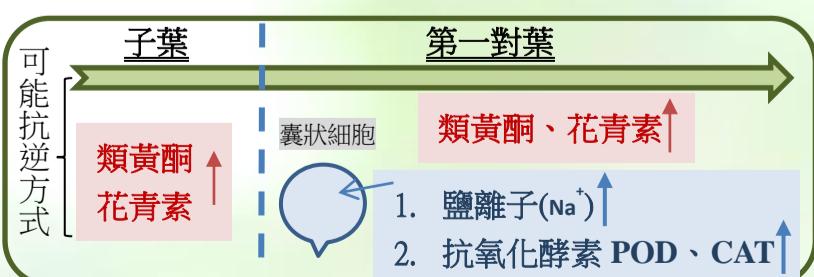
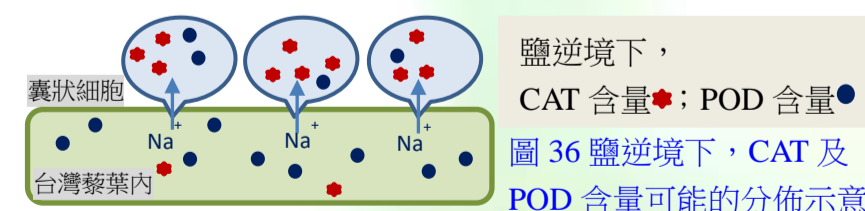


圖 37 不同時期台灣藜的可能抗逆方式



圖 38 比較第一對葉，具有較好抗鹽耐旱能力的可能原因
註：子葉、第一對葉時期抗逆能力，分別與對照組比較

柒、參考資料

- 台灣紅藜資料，取自台東農改場網站介紹
- 王定澤、巴洛克、楊茜雯 (2016)。粟之高禾—探討小米不為人知的耐鹽機密。中華民國中小學科學展覽作品。