

大豆葉片老化之探討¹

丁文彥²

摘 要

以大連豆為供試品種，自植株開花後每隔一週調查不同節位葉片葉綠素及蛋白質成分含量，並探討不同時間去莢對大豆葉片葉綠素含量的變化，以期進一步改善作物生產能力，做為今後研究大豆增產之參考。

老化型式有二，大豆植株自開花後，葉片首先由下部節位以漸進性方式向上發生老化，至開花後 6 週，全株則發生單熟性老化。葉片進行漸進性方式老化時，葉片內可溶性蛋白質含量反而增加，此時葉片老化與蛋白質含量表現不一致，當葉片發生單熟性老化時，可溶性蛋白質含量才明顯地減少。

大豆植株開花後，果莢開始形成至成熟期間，葉片最明顯的變化為葉綠素含量的改變。在生殖生長初期行去莢處理，對植株上部節位葉片的老化延緩效果較為顯著。開花後第 4、5 週去除莢果則對中、下節位葉片葉綠素含量的減少具延緩的效果。而生育後期的去莢處理對抑制植株老化的作用則不若早期來的明顯。

(關鍵字：大豆、老化、去莢)

前 言

植物生長過程中可分為幾個階段，從發芽、生長到開花結實、老化，最後走向死亡。在死亡之前，植物均需經過一段老化過程，這是植物的一種自然生理現象，植物種類不同，因而發生老化現象亦不相同；老化如同種子發芽是植物生活史中一段重要發育過程，是一種導致植物體本身或器官功能停止之衰退過程，為一種不可逆的破壞過程。Medawar (1957) 提出老化是一種植物體自然破壞的反應過程 (deteriorative process)。老化過程的快慢亦因植物種類而異，例如：在一些植物中，此種破壞過程是逐漸進行而使植物趨向死亡，但在另一些植物中，此過程迅速而使植物急速死亡。老化除了因植物體本身遺傳因子不同而異外，同時也受到外界環境因子的影響，諸如缺水、高低溫、鹽分等均會影響植物體的功能及老化過程。

-
1. 花蓮區農業改良場研究報告第 63 號。
 2. 花蓮區農業改良場蘭陽分場助理。

植物老化並不是一個單純的破壞過程，其破壞過程不僅受酵素控制，同時受植物賀爾蒙調節，故整個過程是由許多因子相互配合相互調節。在整個過程尚未被完全瞭解之前，人們研究重點偏向於某一器官之老化，尤其是葉片老化。

大豆植株由營養生長時期進入生殖生長時期，其光合產物主要來自於葉片，在此一生殖生長階段中，葉片不僅在外形上發生顯著的變化，其生理代謝上亦產生一連串的改变，這些變化不僅影響到葉片本身的生長和活性，亦直接地影響到莢果生長與發育，在生殖生長時期葉片外形最大的變化為發生黃化 (yellowing) 及脫落 (abscission)。1976 年 Lindoo 及 Nood'en 將大豆葉片 1/2 以上發生黃化稱為老化 (senescence)。葉片老化可以說是大豆生長的最後一個階段，其最大特徵為葉片中葉綠素含量與蛋白質含量的減少，光合速率降低與器官結構破壞等，最後導致植株的死亡。這些現象之間有相互的關係，彼此影響，相互牽制。所以本試驗研究目的在於研究大豆葉片不同型式的老化因子，並探討其對植株生長的影響，以期進一步改善作物生產的能力，以提高作物的產量。

材料與方法

一、供試品種：

本試驗所採用的大豆品種為大連豆 (Dah-liann)，此一地方性的品種可能是民國 38 年政府遷台時引進，高雄區農業改良場於民國 54 年發現本品種被農民所栽培，經調查及試驗結果很適於秋冬裡作栽培，屬於中熟性品種，成熟度整齊一致，分枝極少。

二、田間栽培：

本試驗地點為台中之國立中興大學農場，採用逢機完全區集設計 (RCBD)，三個重複。每小區種植 14 行，行長 2.3m，行距 0.45m，株距 0.1m，每行種植 23 株，每穴播二粒種子，播種深度約 2~4cm，種植約二週後施行間苗。肥料施用量為每公頃施用硫酸銨 140kg，氯化鉀 100kg，過磷酸鈣 340kg，以基肥方式一次施於田間。定期噴施農藥以防治雜草與病蟲害，並視需要適時灌溉，田間之中耕、培土及管理均依一般慣行栽培法進行。

三、取樣與調查：

本試驗於大豆植株開花後每隔一週取樣一次；每次三個重複，每一重複按節位依次採取新鮮葉片測定葉綠素及蛋白質含量。初生葉上方的第一複葉稱之為第一節位，依此類推，以十個節位為基準 (圖 1)。

四、測定項目：

(一)黃化及老化 (Yellowing and senescence) 的測定：

本試驗是將植株劃分為下 (第一節位至第四節位)，中 (第五節位至第七節位)，上 (第八節位以上) 三部份，按葉片黃化程度分為五個等級：全綠、 $< 1/4$ 黃化， $1/4 \sim 1/2$ 黃化， $1/2 \sim 3/4$ 黃化， $> 3/4$ 黃化。根據 Lindoo 和 Nood'en(1976) 方法求取各部份不同等級葉綠素含量與黃化程度的迴歸相關，進而計算各節位葉片的黃化程度。

(二)葉綠素含量測定：

葉片打孔器取 20 個葉圓片（直徑 0.6cm），加入少許海砂及 80 % 丙酮 (acetone) 研磨，萃取葉綠素，置於離心機中以 4000rpm 離心十分鐘，取上層液定量至 25ml，用光電比色計 (Cornign 253 colorimeter) 於 652nm 下測定吸光度 (absorbance)，再換算為葉綠素含量 (Yoshida 等, 1972)。

(三) 可溶性蛋白質含量測定：

葉圓片經葉綠素抽取離心後，剩餘的殘渣加入 1ml 0.1N NaOH 及 5ml 0.01 % SDS (sodium dodecyl sulfate)，混合均勻後置於黑暗中 30 °C 下 1 小時以萃取可溶性蛋白質。其後依據 Lowry 等 (1951) 提出之測定方法，取 1ml 萃取液加混合液 2ml（含有 2 % Na₂CO₃ 之 0.1N NaOH : 2 % Na-K-tartrate : 1 % CuSO₄ · 5H₂O, 100:1:1），靜置 15 分鐘後，再加 0.1ml 1N phenol reagent 呈色 30 分鐘，以光電比色計測定波長 540nm 的吸光度，並以不同濃度小牛血清蛋白 (bovine serum albumin) 為標準液，以估算可溶性蛋白質含量。

結果與討論

考慮葉片老化控制特性之前，首先須了解老化過程之控制機制。葉片老化最顯著的變化為葉綠素及蛋白質含量的減少，Thimann (1974) 提出在葉綠素發生分解前，葉片內已進行一連串老化分解過程，最先反應過程為蛋白質的分解。Peterson & Huffaker (1975) 則認為葉片老化過程中最初引起破壞的部份為葉綠體，但老化過程中葉綠體構造如何發生改變，其真正機制尚不清楚。眾說紛云，莫衷一是。本文僅就大豆葉片葉綠素及蛋白質含量變化加以探討。

大豆植株開花後，果莢開始形成至成熟期間，葉片最明顯的變化為葉綠素含量的改變（圖 2A）。最下端第一節位葉片含量最少，最先老化脫落。第二節位葉片葉綠素含量在開花後維持 2 週即逐漸減少，至開花後 5 週葉片也發生脫落。其餘節位的葉片葉綠素含量逐漸增加，至開花後第 2 週達最高，約 4.6 ~ 5.0mg · dm⁻² 之間。在整個生育期間愈高節位的葉片葉綠素含量達到高峰後即開始減少。節位愈低的葉片，葉綠素開始減少時間愈早，至成熟時各節位葉位含量約在 1.0mg · dm⁻² 以下。葉片中葉綠素變化若以黃化程度表示更為明顯（圖 2B）。其變化趨勢與葉綠素含量變化趨勢一致。第一節位葉片最先黃化，但黃化程度未超過 50 % 就發生脫落，第二節位次之，葉片逐次由下部節位向上黃化。開花後第 6 週，所有中上節位的葉片開始黃化，第 7 週時各葉片均有明顯黃化徵狀，至成熟時各節位葉片黃化程度均超過 70 % 以上。

各節位葉片可溶性蛋白質含量以低節位者含量最低，節位愈高含量愈高，上部節位葉片含量為最高（圖 3）。最下端第一節位葉片含量最少，最先老化脫落。第二節位以上各葉片含量在開花後呈持續地上升，至開花後第 5 週時達最高。各節位葉片含量達到高峰後，即開始減少，所有節位葉片可溶性蛋白質含量均在開花第 5 週後急遽減少，節位愈高的葉片，可溶性蛋白質降低速率也愈大。

由圖 3 顯示各節位葉片可溶性蛋白質含量變化與葉綠素含量變化具有相同的特性，即不同節位葉片蛋白質含量也表現出時序的變化。比較葉片老化與可溶性蛋白質含量之間變化，下部節位葉片老化與可溶性蛋白質含量沒有任何關係存在，但是上部節位的葉片在開花後第 5 週，當葉綠

素開始降低時，可溶性蛋白質含量也相伴地減少，開花後 6 週，葉綠素含量呈急速降低時，可溶性蛋白質亦發生急速的減少。

近幾年來的研究報告指出，單熟性植物葉片的老化可能是由於果實中具有某些老化訊息 (senescence signal) 會傳至葉片，引起葉片老化。Thimann(1980) 認為植株老化與種實的形成有密切的關係，而種實會產生某種訊息使植株老化。先前 Molisch(1928):c.f.(10) 即指出，延緩植株老化可以延長其生殖生長期；Leopold, et. al(1959) 亦表示，連續性去莢可以顯著延緩葉片和植株老化。Lindoo & Nood'en(1977) 研究去除莢果中的子粒對大豆植株老化的影響，結果證明老化訊息與種子形成有關。學者們均戮力於了解果實中老化訊息的產生及其對葉片老化的影響，而本文所提之去莢試驗，即在探討葉片老化之原因及老化訊息的產生——將大豆植株按節位分為下（第一節位至第四節位），中（第五節位至第七節位），上（第八節位以上）三部位，在開花後第 2 週起，每隔一週將植株的莢果去除，測定其葉綠素含量在生殖生長期間的變化情形。

大豆植株在開花後第 2 週將莢果去除（圖 4），葉片葉綠素含量的漏失有明顯的延緩，上、中、下三部位的葉片葉綠素含量在第 8 週時仍維持在 4.75 、 4.20 、及 $3.15\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ 左右，未去莢處理者，則在 $1.80\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ 以下，發生老化、脫落。

圖 5 顯示，在開花後第 3 週行去莢處理者，葉片延緩老化的效果較佳，愈至生育後期，其效果愈顯著，植株上、中、下三部位葉片葉綠素含量在開花後第 8 週時尚在 4.80 、 4.75 及 $3.80\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ 左右。

開花後第 4 週行去莢處理時（圖 6），在初期延緩葉片老化作用並不明顯，至第 6 週時方有顯著的延緩效果，葉片葉綠素含量達最高，上、中、下三部位分別為 5.95 、 5.40 及 $4.45\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ ，至成熟期時，葉綠素含量依然維持在 $3.75\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ 以上。

大豆植株在開花後第 5 週行去莢處理對上部節位葉片葉綠素含量的影響不若中、下節位來得明顯（圖 7）。中、下節位葉片在行去莢處理後，其葉綠素含量維持在一水平標準，分別為 4.85 及 $3.80\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ 左右。

愈至生育後期處理，其效果愈不顯著。在開花後第 6 週去莢，延緩葉片老化亦以中、下節位較為明顯（圖 8）。圖 9 結果顯示，在開花後第 7 週去莢對植株葉片老化的影響不大；在成熟時，上、中、下節位葉片葉綠素含量各為 2.30 、 2.70 及 $1.85\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ 左右。而未去莢處理者，其葉片葉綠素含量在生育後期約為 1.80 、 1.75 及 $1.25\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ 。

由以上結果顯示，在生殖生長初期行去莢處理，對於大豆植株上部節位葉片的延緩老化作用較為明顯；在開花後第 4、5 週處理則對中、下節位葉片葉綠素含量的漏失有明顯的延緩效果；至生育後期去除大豆植株莢果對延緩葉片老化的作用則不若早期處理來的有效。亦即早期的去莢對植株的老化的確有延緩的成果，此項結果與 Wittenbach(1982) 所發現的有相同的趨勢；該氏認為早期的去莢處理對於大豆葉片葉綠素含量的減少有延緩的效果，但對於蛋白質含量的增加與蛋白質分解酵素活性的減少並沒有直接的相關關係，後期的去莢才會影響到蛋白質的含量與活性。Kao(1980) 指出在大豆植株開花後 11 天去莢可抑制葉片的老化。Nood'en 等 (1978) 亦認為老化訊息的傳送有一定的範圍，愈早時間去莢對延緩老化的效果愈好，氏等同時發現老化訊息是向下傳導的，而且與種子的形成有密切的關係。

有關植物體葉片老化因子的研究雖多，但老化訊息究竟為何物質則莫衷一是，無一定論。由本文試驗結果支持莢果中的老化訊息與植株葉片老化有密切的關係之說法，同時可以確信的是單熟性植物的老化確實受果實內某種訊息引起的，而如何抑制老化訊息的傳送，延緩葉片老化，或許可以成為今後研究增產方面努力的目標。

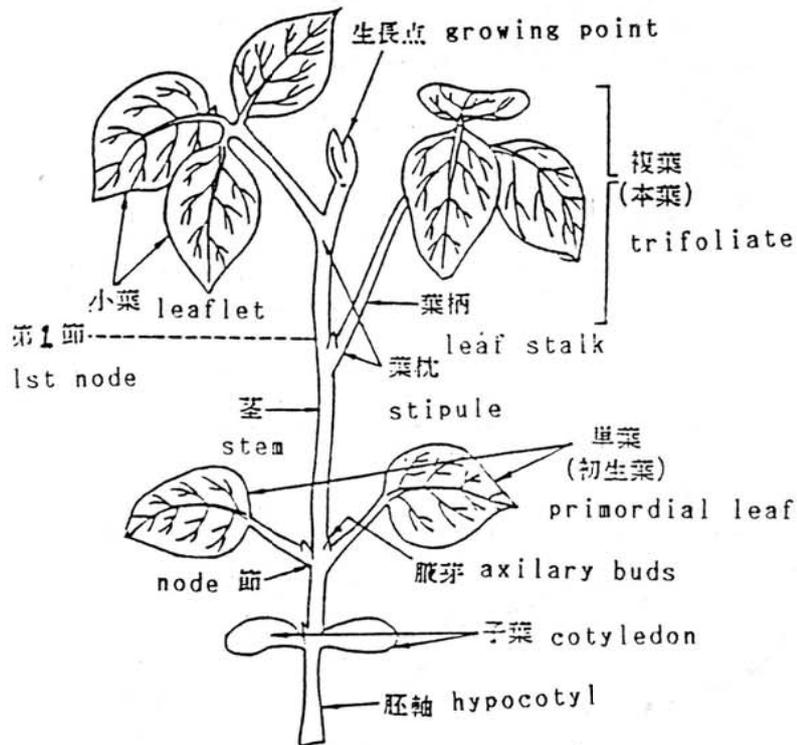


圖1. 圖示大豆植株不同節位部位名稱

Fig1. Diagram showing different node positions of soybean plant.

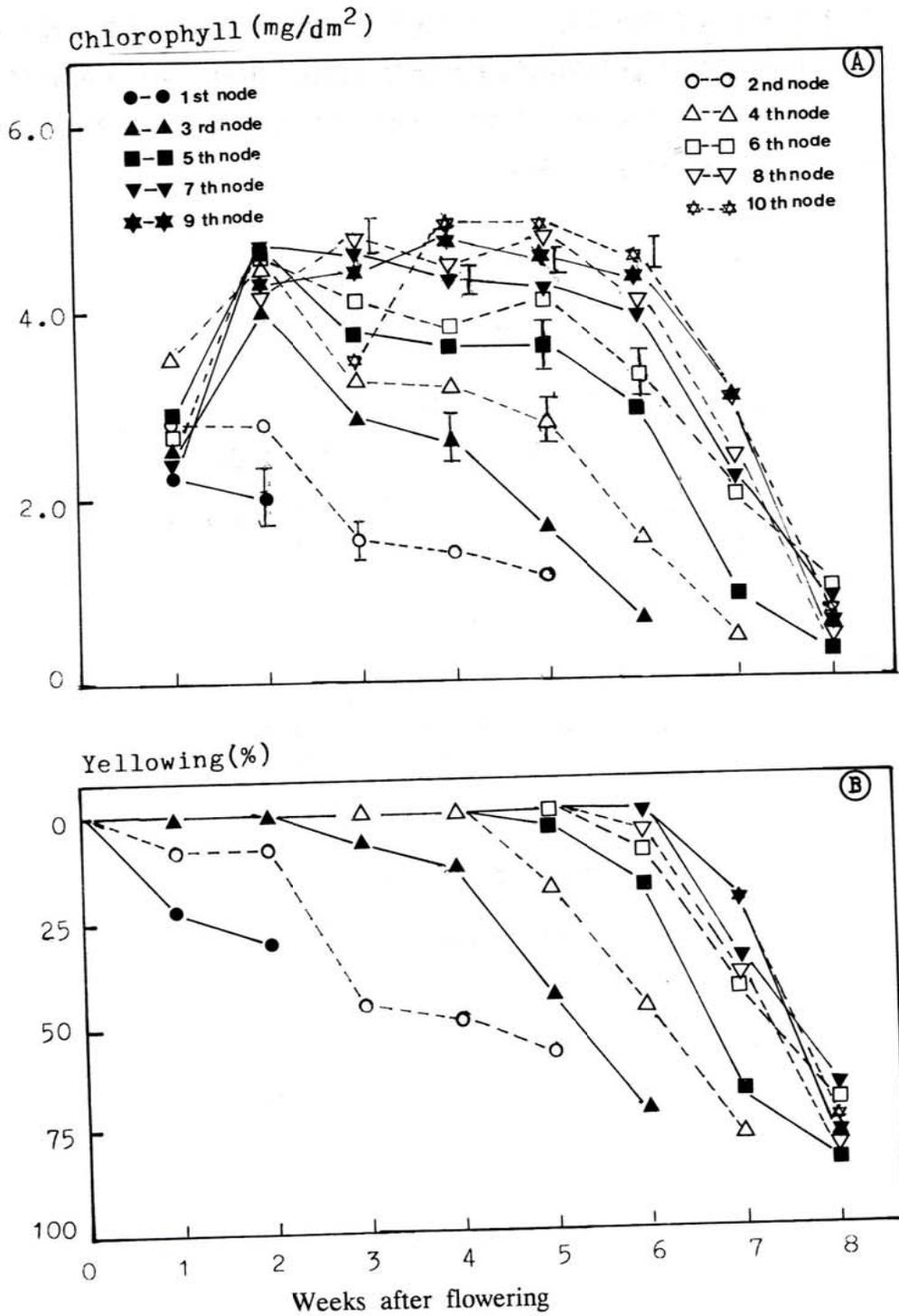


圖2. 大豆生殖期間，不同節位上葉片葉綠素含量(A)及黃化的變化(B)

Fig2. Changes of (A)chlorophyll content and (B)yellowing percentage of soybean leaves at ten node positions during reproductive growth period.

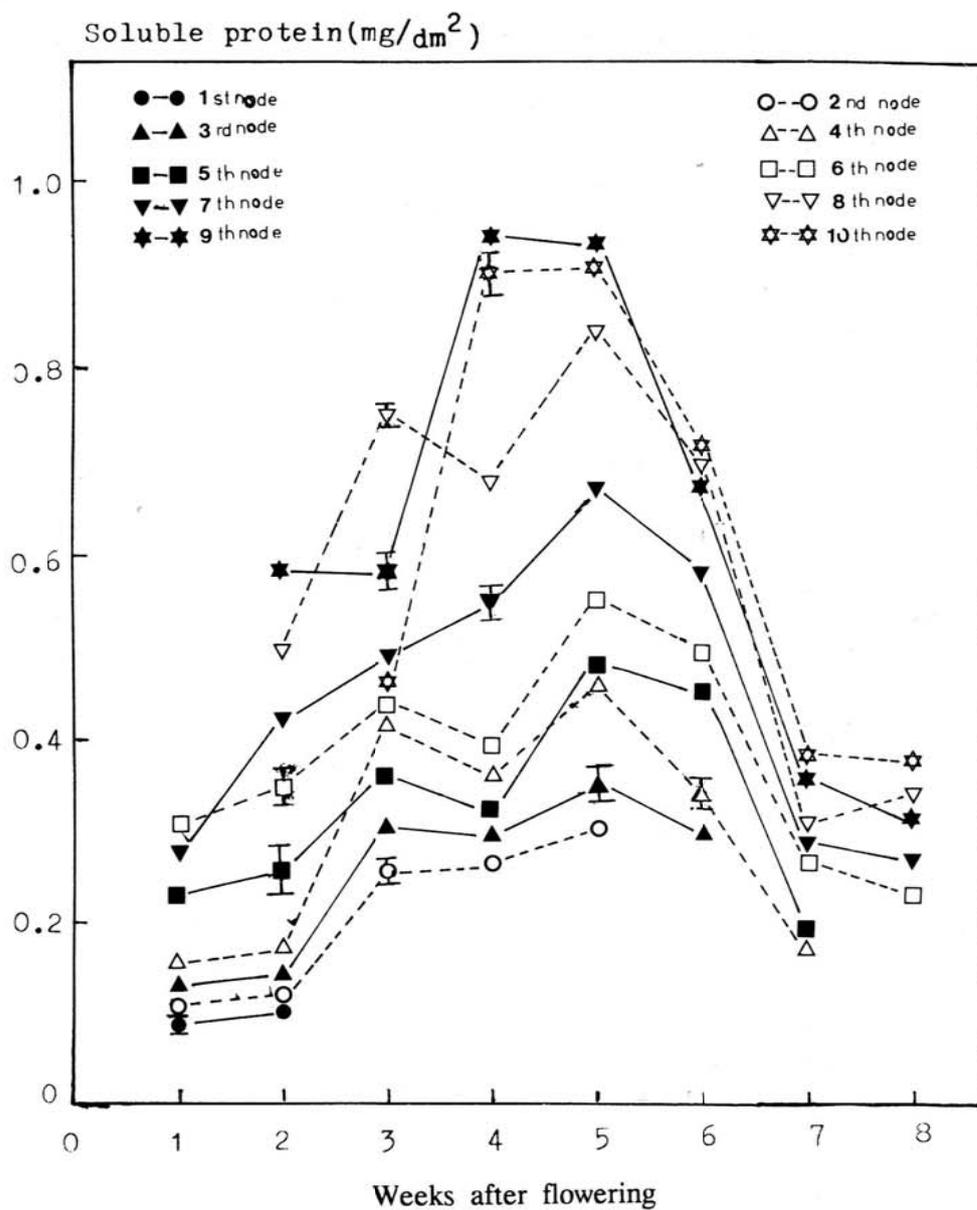


圖3. 大豆生殖期間，不同節位上葉片可溶性蛋白質含量的變化

Fig3. Changes of soluble protein content in the soybean leaves at ten node positions during reproductive growth period.

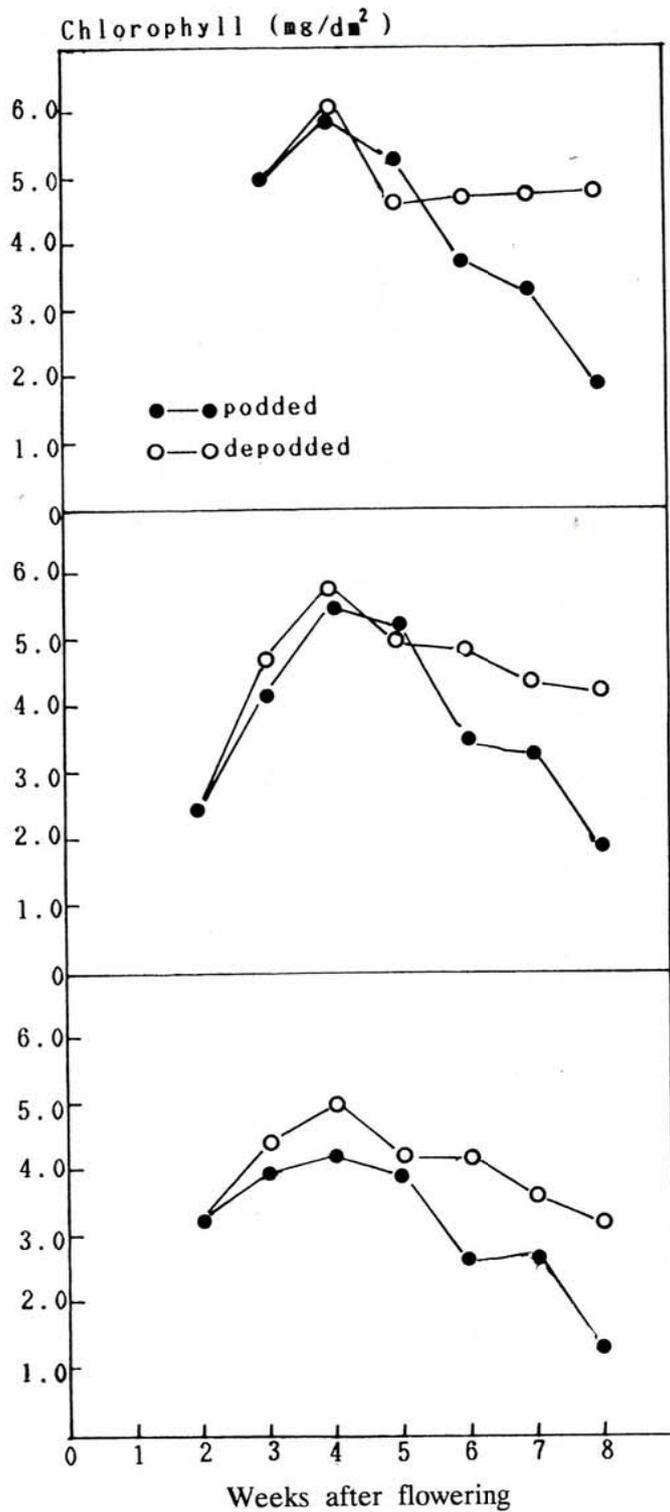


圖4. 大豆生殖期間，去莢(2WAF)對植株葉片葉綠素含量的變化

Fig4. Changes of chlorophyll content of soybean depodded leaves (2WAF) at different parts during growth period.

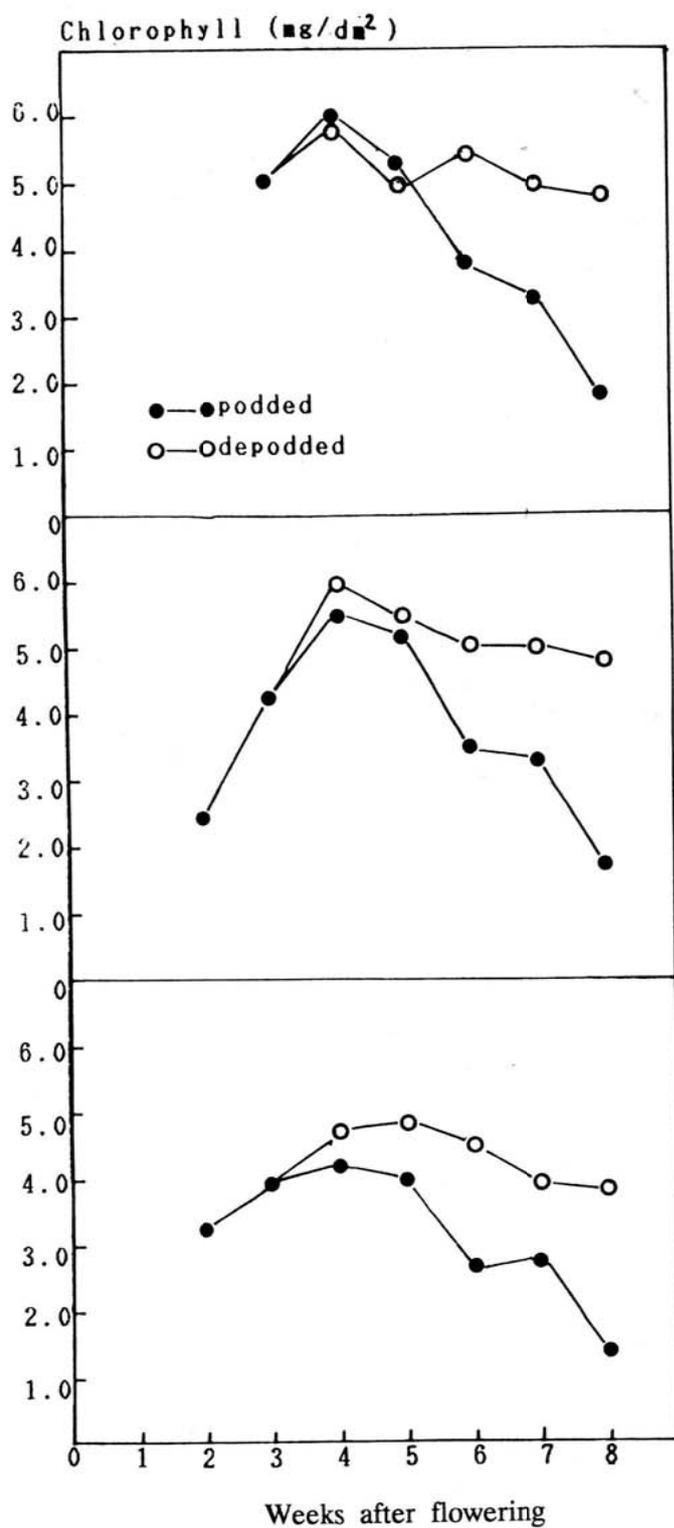


圖5. 大豆生殖期間，去莢(3WAF)對植株葉片葉綠素含量的變化

Fig5. Changes of chlorophyll content of soybean depodded leaves (3WAF) at different parts during growth period.

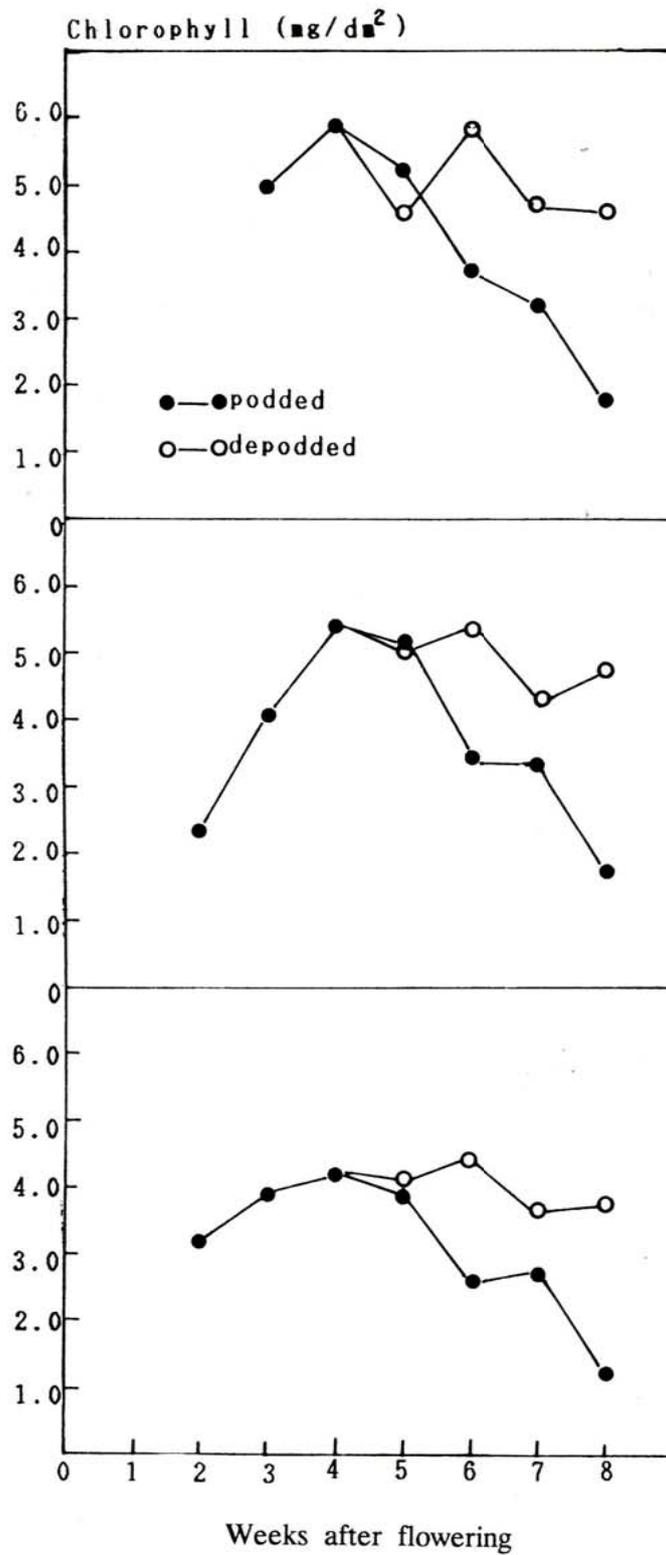


圖6. 大豆生殖期間，去莢(4WAF)對植株葉片葉綠素含量的變化

Fig6. Changes of chlorophyll content of soybean depodded leaves (4WAF) at different parts during growth period.

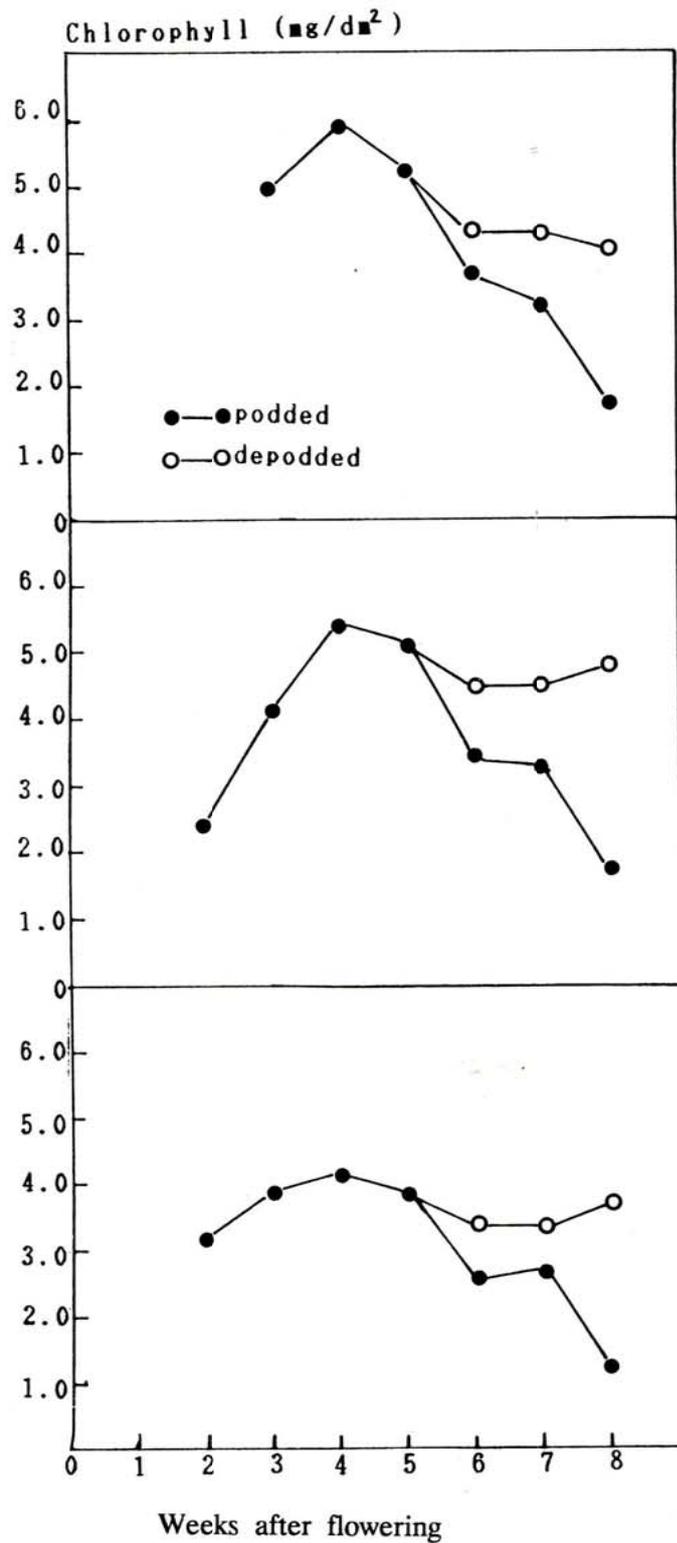


圖7. 大豆生殖期間，去莢(SWAF)對植株葉片葉綠素含量的變化

Fig7. Changes of chlorophyll content of soybean depodded leaves (SWAF) at different parts during growth period.

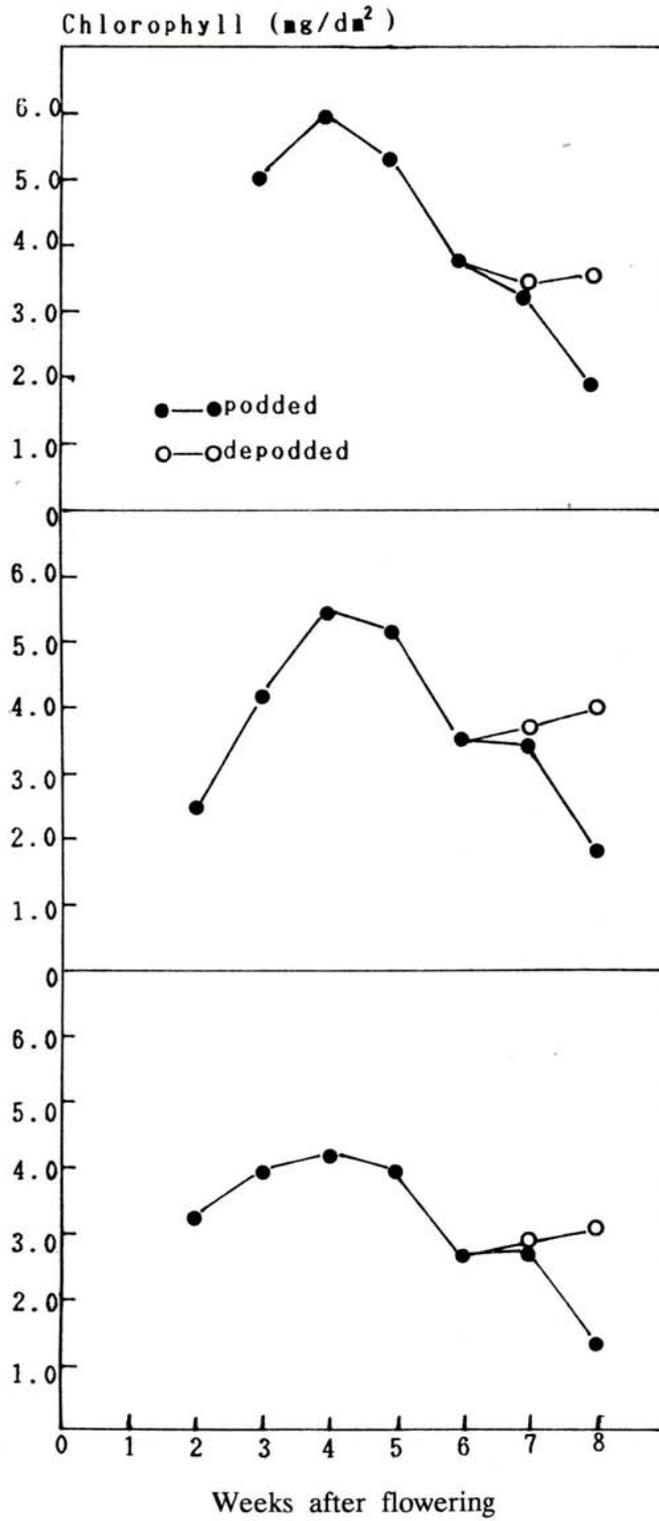


圖8. 大豆生殖期間，去莢(6WAF)對植株葉片葉綠素含量的變化

Fig8. Changes of chlorophyll content of soybean depodded leaves (6WAF) at different parts during growth period.

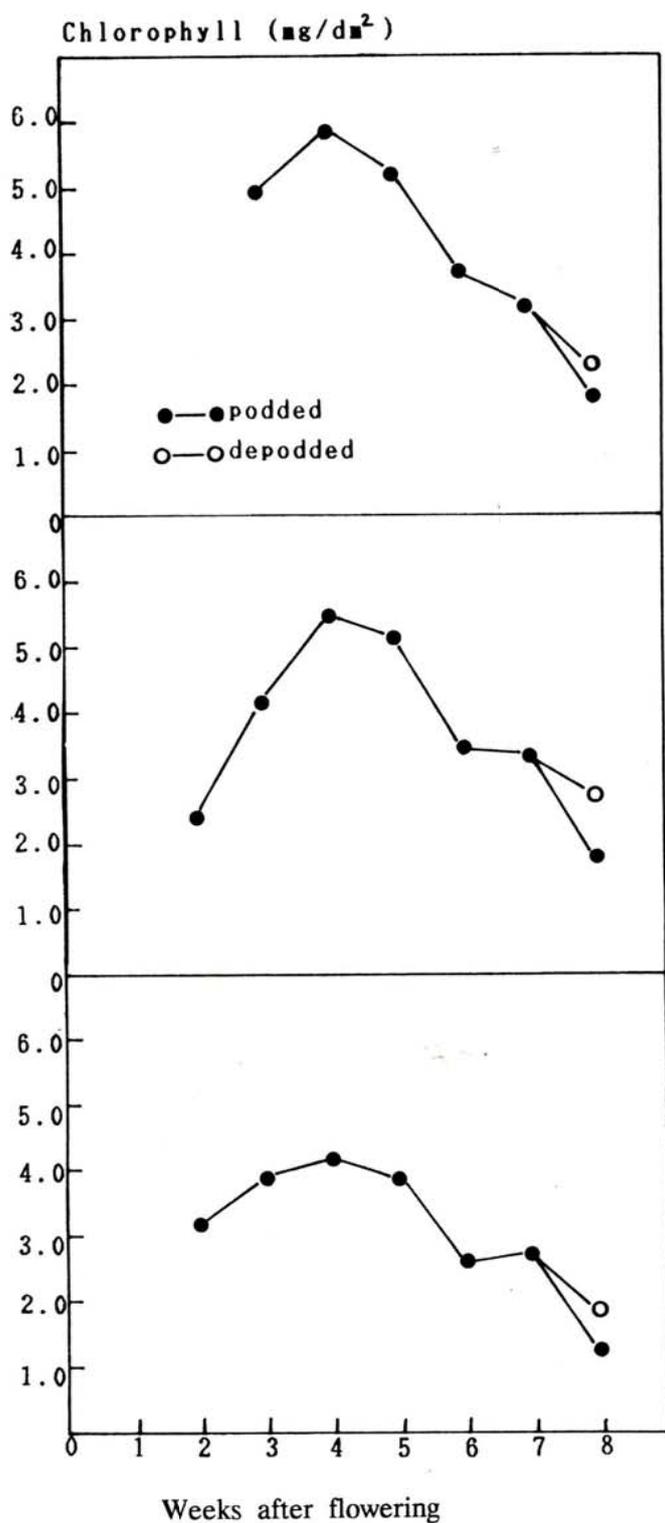


圖9. 大豆生殖期間，去莢(7WAF)對植株葉片葉綠素含量的變化

Fig9. Changes of chlorophyll content of soybean depodded leaves (7WAF) at different parts during growth period.

參考文獻

- 1.Kao,C.H. 1980. Retardation of leaf senescence by pod removal and low temperature in intact soybean plants. Proc.Natl. Sci. Counc. ROC:45-47
- 2.Leopold,A.C.,E.Niedergang-Kamien,and J.Janick.1959. Experimental modification of plant senescence. Plant Physiol.34:570-573.
- 3.Lindoo,S.J.,and L.D. Nood'en.1976. The interrelation of fruit development and leaf senescence in "Anoka" soybeans. Bot. Gaz.137:218-223.
- 4.Lindoo,S.J.,and L.D. Nood'en.1977. Studies on the behavior of the senescence signal in Anoka soybeans. Plant Physiol.59:1136-1140.
- 5.Lowry,O.H.,N.J.Rosebrough, A.L.Farr,and R.J.Randall,1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent.J. Biol. Chem.1193:265-275.
- 6.Medawar,P.B.1957. The uniqueness of the individual, Methuen,London.
- 7.Mondal, M.H., W.A.Brun,and M.L.Brenner.1978. Effects of sink removal on photosynthesis and senescence in leaves of soybean plant. Plant Physiol.61:394-397.
- 8.Nood'en, L.D., D.C.Rupp, and B.D.Derman.1978. Separation of seed development from monocarpic senescence in soybean. Nature 271:357.
- 9:Peterson,L.W.,and R.C. Huffaker.1975.Loss of RUDP carboxylase and increase of proteolytic activity in senescence of detached primary barley leaves. Plant Physiol.55:1009-1015.
- 10.Thimann,K.V.1980. In"Senescence in Plant"(Ed.J.Florini).Chapter 5:85-115.
- 11.Thimann,K.V.,R.M. Tetley, and M.T.T.Van.1974. The metabolism of oat leaves during senescence. II .Senescence in leaves attached to the plant. Plant Physiol. 54:858-862.
- 12.Wittenbach, V.A.1982.Effect of pod removal on leaf senescence in soybeans. Plant Physiol.70:1544-1548.
- 13.Wittenbach,V.A.1983.Effect of pod removal on leaf photosynthesis and soluble protein composition of field-grown soybeans. Plant Physiol.73:121-124.
- 14.Yoshida,S.,D.A.Forno, J.H.Cock, and K.A.Gomez.1972. Laboratory manual for physiological studies of rice. 2nd ed.,IRRI, Philippines.