

## 光照與吉貝素對薺菜子葉擴展之影響

羅淑惠 張永達 鄭湧涇 童武夫

國立台灣師範大學生物系所

### 摘 要

本研究以子葉鮮重及面積，做為測定離體子葉擴展之主要指標，用以探討光照與吉貝素 ( $GA_3$ ) 對薺菜子葉擴展之影響。結果顯示子葉經  $0.1mM$ ,  $GA_3$  處理後，在光強度  $34W/m^2$  及溫度  $30^\circ C$  之實驗條件下，子葉擴展反應最為顯著。

$GA_3$  與細胞分裂素 (BA) 皆能誘導離體子葉擴展，但兩者之作用機制不同，因為 BA 在光照或黑暗中對於子葉之擴展皆有顯著促進作用，而  $GA_3$  則僅在光照下，才有明顯的擴展反應。

子葉經  $GA_3$  處理並在光照下生長五天後，其乾重量、DNA 含量、及細胞數目方面，並無顯著增加，但是細胞大小方面，卻已由  $13\mu m$  增至  $40\mu m$ 。另一方面，子葉經 BA 處理後，其細胞之平均直徑達  $50\mu m$ ，細胞數目及 DNA 含量的增加分別為  $94\%$  及  $56\%$ ；甚至在黑暗中，BA 處理的子葉仍然有顯著的擴展現象。

實驗結果顯示， $GA_3$  可能是誘導子葉之細胞滲透勢 (Osmotic potential) 改變，因而引起子葉吸收水量之增加，由此導致子葉之鮮重與面積的增加，此乃  $GA_3$  能促進子葉擴展之主要原因。

關鍵詞：光照，吉貝素，薺菜，子葉擴展，細胞分裂素

### 前 言

影響植物生長發育的因子很多，其中外在環境的光照與內在植物激素的調節是相當重要的兩項。植物從種子發芽，幼苗生長到成熟開花，整個生活史都會受到光照的影響，其中以光合作用、蒸散作用、向光性等生理機能的影響最為直接 (Brennan *et al.*, 1976)。另一方面植物種子的萌發、莖

的伸長、葉的擴展、開花以及酵素的誘導等，則受植物激素所調節 (Butler, 1963; Cleland and Zeevaart, 1970)。

$GA_3$  是一種 diterpenoid，至今發現者，已有七十餘種 (Takahashi, 1988)，其中的 Gibberellic Acid ( $GA_3$ ) 是目前研究最多的一種。 $GA_3$  除了可以促進矮種植物莖之伸長 (Brian and Hemming, 1955; Phinney, 1956) 外，亦可打破種子及芽的休眠狀態，此外對於葉片的生

長、開花及果實的成熟，乃至於老化亦有影響 (Back and Richmend, 1969; Fletcher and Osborne, 1965; Halevy and Wittwer, 1965; Paleg, 1960; Smith and Rappaport, 1961)。

有關植物生長調節劑對子葉擴展 (expansion) 的影響，多年來已有不少研究。1988年 Muir 和 Cheng 探討 Zeatin 和  $GA_3$  對胡瓜離體子葉擴展之影響，發現 Zeatin 在光照和黑暗中對離體胡瓜子葉均有明顯的擴展現象，而  $GA_3$  在光照下對離體胡瓜子葉亦有明顯的擴展作用，其子葉鮮重及面積約為對照組的兩倍。但在黑暗中， $GA_3$  對子葉擴展則無明顯之影響，顯示  $GA_3$  在光照下才有促進作用。而在過去諸多研究中，Banerji 和 Laloraya 於 1966 年曾以南瓜 (pumpkin) 為實驗材料，研究 Kinetin 和  $GA_3$  對離體子葉生長之影響，結果發現在光照下以 Kinetin 和  $GA_3$  處理之子葉，其面積均顯著大於黑暗處理者，另外 Kursanov *et al* 於 1969 年也以南瓜之離體子葉為材料，結果亦發現在光照下以 BAP(6-Benzylaminopurine) 及  $GA_3$  處理之子葉，其子葉鮮重均較對照組大，由上述研究顯示光照與  $GA_3$  對子葉擴展有相輔相成之作用。

至於究竟  $GA_3$  如何促進子葉擴展，迄目前為止，相關的文獻報告均很少討論，不過根據大多數之研究結果顯示， $GA_3$  促進植物生長之反應，都經由  $GA_3$  促進細胞分裂 (Bradley and Crane, 1957; Sachs *et al.* 1959; Shining, 1971; Wareing, 1958; Wareing *et al.*, 1964),

或細胞伸長 (Haber and Luippold, 1960, Haber *et al.*, 1969; Nitsan and Lang, 1965, 1966; Wright, 1961) 或二者之協調效應 (Jones, 1973) 來討論。

相關植物生長調節劑促進子葉擴展的研究，過去多數均以胡瓜為材料，迄目前為止，尚未有以薺菜為材料的研究報導，以胡瓜子葉為研究材料的實驗結果顯示 Cytokinins (包括 Kinetin, Zeatin, Benzyladenine) 在光或暗中對子葉之擴展均有促進作用，但  $GA_3$  卻僅在光照下才有促進作用，在暗中則無反應，為何會有此種差異頗值得探討。再者對於  $GA_3$  促進子葉擴展之機制如何，是由於細胞擴大或細胞分裂？亦值得深入探討。

薺菜 (*Ipomoea aquatica* Forsk) 屬旋花科之雙子葉植物，是一種既耐熱又耐濕，營養價值頗高之蔬菜 (劉政道, 1980)，其蛋白質之含量相當高，約為胡瓜蛋白質含量的五倍 (Martin and Ruberte, 1975)，薺菜的生長極為迅速，播種兩天後即可發芽，而且子葉自萌發後，便不斷生長，甚至進行光合作用，供給幼苗生長發育所需之養份，經一段時間之後方開始黃化衰老而掉落，不似一般豆科植物子葉於種子萌發後，便逐漸萎縮，為研究光照與  $GA_3$  對子葉擴展之影響頗為合適的實驗材料，故本研究乃採用薺菜子葉為實驗材料，探討光照與  $GA_3$ 、BA 對子葉擴展之影響，並探討其可能之作用機制。

## 材料及方法

本實驗所使用之薺菜種子係購自高雄富農種苗公司，其品種為屏東大葉青骨薺菜。種子先經 10% 次氯酸鈉 (Sodium hydrochlorite) 消毒 20 分鐘後，用蒸餾水清洗數次，再浸潤於流動水中，隔夜後，種植於盛有潮濕蛭石之萌發盆中，覆以錫箔紙以防見光，移置於 30°C 之恆溫箱中使之萌發。四天後，取出萌發之幼苗，於暗室微弱之綠光下，將子葉切離，置入經滅菌處理之培養皿中，皿內含 15ml 之純培養液或處理液，切離之子葉均以 Adaxial 面向下的方式浮置於培養皿內之處理液上，每一培養皿置 30 片子葉，然後再將培養皿放入不同處理方式之生長箱內培養。

本實驗所用之培養液係依照 Green and Muir (1978) 的方法配製，內含 40mM KCl 及 10mM CaCl<sub>2</sub>，其它 GA<sub>3</sub> 及 BA 之處理液亦均以此培養液來配製。

子葉面積的測定係收取培養皿中之 30 片子葉吸乾之後，展平排列於玻璃片上，並覆蓋一張方格紙，再置於透視燈上方，將子葉外形描繪於方格紙上，然後將子葉形狀剪下稱重，再由其重量換算為子葉面積。

鮮重與乾重之測定，係於不同天數，分別採取不同處理方式之培養皿內之子葉，將每一培養皿內之 30 片子葉以吸水紙吸乾，立即稱重，是為鮮重，然後再將子葉移置於 80°C 之烘箱中，烘乾 24 小時，精確稱取其乾重。

實驗所用 GA<sub>3</sub> 濃度之選定，係以培養液配製 0.001、0.01、0.1、1mM 四種不同濃度之 GA<sub>3</sub> 溶液，各取 15ml

置培養皿內，再將 30 片切離之子葉置入培養皿中，分別於光照及黑暗中培養，溫度 25°C，光強度 1000 Lux，換算能量約為 4.3W/m<sup>2</sup> (Hansen and Biggs, 1979)。五日後，測定子葉之鮮重與面積。在由 0.001mM 至 0.1mM 的濃度範圍內，此種促進作用有隨濃度增高而增加之趨勢，而濃度超過 0.1mM 則有受抑制的現象（如圖一），因此本實驗之 GA<sub>3</sub> 濃度乃選定為 0.1mM。

子葉細胞數目之測定係各取不同處理方式之子葉 5 片，先測其鮮重及面積後，於每片子葉之相同位置各截取一長 0.5 mm，寬 0.2 mm 之小切塊，並予以稱重，先求此小切塊與原子葉之鮮重與面積之比例，後再置入小瓶中，加入 0.4ml 之 0.02M 之 Citric acid buffer (pH 4) 內含 1% 之 Ficol 400 及 77μM 之 Chloramphenicol，再加 0.1ml 之 Pectinase，即每小瓶之總體積為 0.5ml，震搖 24 小時後，以磁石攪拌均勻，再取 1μl 滴入血球計數器之載玻片上，並在光學顯微鏡下計算其中央 0.1mm 方格內之細胞數目，再推算總體積 0.5ml 之細胞總數，即可估算出每片子葉之細胞總數。

DNA 之含量測定，係採用 Burton (1956) 的方法。蛋白質之含量測定，係採用 Bradford (1976) 之方法，此定量速測法乃利用 CBB 染料 (Coomassie Brilliant Blue G-250) 與蛋白質結合後，會形成藍色複合物，可以在 595nm 之波長下測其吸光度。

光強度與溫度之測試，係將內含子葉之培養皿置於黑暗，弱光 (4.3W/

nm或 1000 Lux)、強光 (34W/m<sup>2</sup>或 8000 Lux) 之環境下培養，溫度控制有 25 °C 及 30 °C 兩種，逐日取出不同處理之培養皿各五個，分別測定子葉的鮮重與面積，各種處理均重複三次以上，求其平均值。

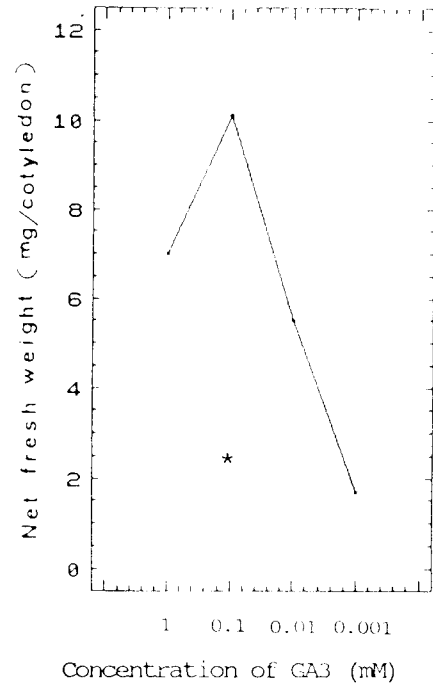
BA 與 GA 對薺菜子葉擴展影響之探討係分別將切離之子葉 30 片，放入內含 GA (0.1 mM) 與 BA(0.1mM) 及僅含培養液等三組不同處理方式之培養皿內，分別於光照及黑暗中培養，光照強度為 34W/m<sup>2</sup>，溫度為 30 °C，於培養一、三、五天後，取出不同處理之培養皿各六個，然後分別測量其子葉鮮重與面積、細胞數目、細胞大小、DNA 及蛋白質之含量。

### 結 果

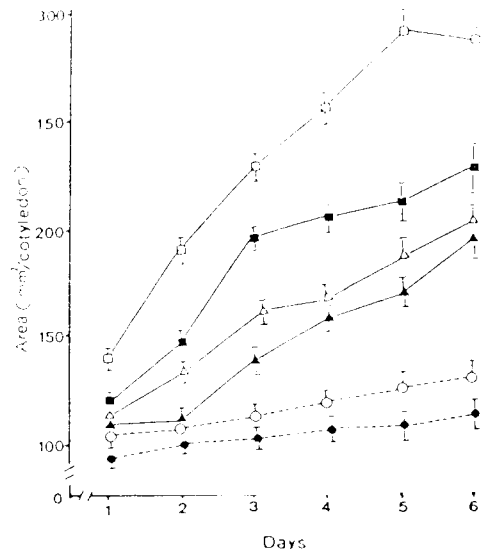
1. GA<sub>3</sub>、光照與溫度對離體薺菜子葉擴展的影響：

在溫度 25 °C、光照 4.3W/m<sup>2</sup>之狀況下，以不同濃度之 GA<sub>3</sub> 處理，對離體薺菜子葉“淨增鮮重”之影響，以 0.1mM GA<sub>3</sub> 之處理作用最為明顯（如圖一）。

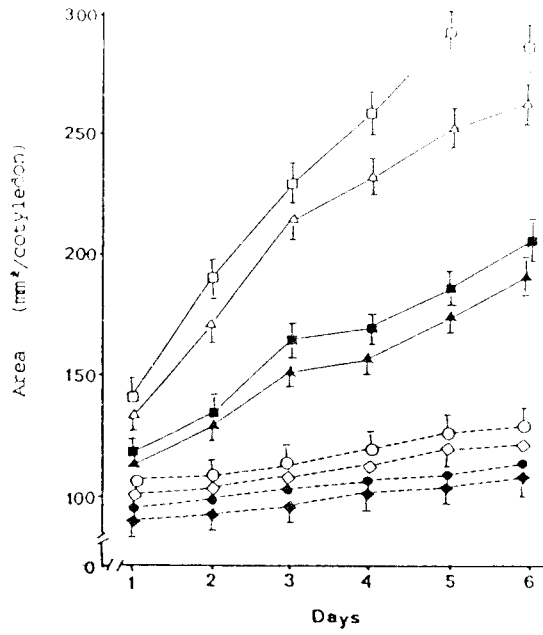
在溫度 30 °C 之情況下，以不同光強度及有無 GA<sub>3</sub> 處理的實驗結果顯示，子葉鮮重及面積的增加，以強光 (34W/m<sup>2</sup>) 及有 GA<sub>3</sub> 處理為最大。無論 GA<sub>3</sub> 處理之有無，光照很顯著地促進子葉面積的增加，而強光處理的效果也顯著高於弱光處理。在兩種光強度及黑暗中培養的子葉，有 GA<sub>3</sub> 處理者，其子葉鮮重及面積均較未處理的對照組為大（如圖二）。



圖一：在溫度 25 °C，光照強度 4.3W/m<sup>2</sup> 下，不同濃度 GA<sub>3</sub> 處理對離體薺菜子葉“淨增鮮重”之影響。  
\*：黑暗、對照組

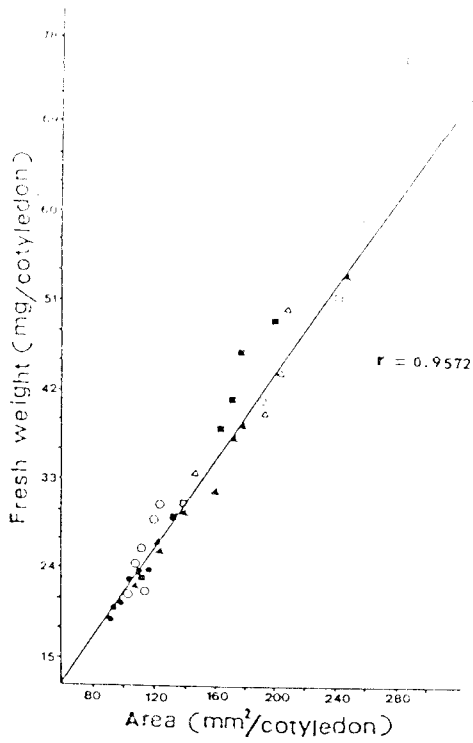


圖二：在溫度 30 °C，不同光強度之情況下，GA<sub>3</sub>(0.1mM) 的處理對離體薺菜子葉面積的影響。  
□，■：強光 (34W/m<sup>2</sup>)  
△，▲：弱光 (4.3W/m<sup>2</sup>)  
○，●：黑暗  
空心者表示有 GA<sub>3</sub> 之處理



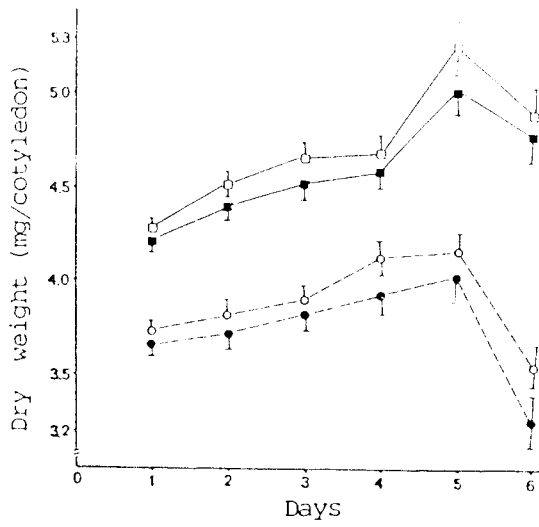
圖三：在強光 (34W/m<sup>2</sup>)，不同溫度之情況下，GA<sub>3</sub>(0.1mM) 的處理對離體蘿蔔子葉面積的影響。

□，■：強光、30℃  
 △，▲：強光、25℃  
 ○，●：黑暗、30℃  
 ◇，◆：黑暗、25℃  
 空心者表示有 GA<sub>3</sub> 之處理

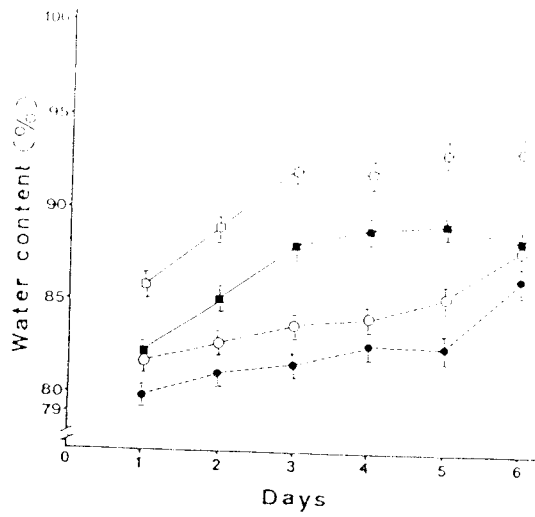


圖四：在溫度 30℃，不同光強度之情況下，GA<sub>3</sub>(0.1mM) 的處理，離體蘿蔔子葉面積與鮮重之相關性。

□，■：強光 (34W/m<sup>2</sup>)  
 △，▲：弱光 (4.3W/m<sup>2</sup>)  
 ○，●：黑暗  
 空心者表示有 GA<sub>3</sub> 之處理



圖五：在溫度 30°C、光照 (34W/m<sup>2</sup>) 之情況下、GA<sub>3</sub> (0.1mM) 的處理對籼菜子葉乾重量的影響。  
□、■：強光 (34W/m<sup>2</sup>)  
○、●：黑暗  
空心者表示有 GA<sub>3</sub> 之處理



圖六：在溫度 30°C、光照 (34W/m<sup>2</sup>) 之情況下、GA<sub>3</sub> (0.1mM) 的處理對籼菜子葉含水量之影響。  
□、■：強光 (34W/m<sup>2</sup>)  
○、●：黑暗  
空心者表示有 GA<sub>3</sub> 之處理

而在強光下，不同溫度及  $GA_3$  之處理，對薺菜子葉擴展的影響見於圖三。在  $30^\circ C$  之溫度下培養的子葉，其鮮重及面積的增加，均較  $25^\circ C$  為高且有  $GA_3$  處理者亦較對照組大。此外無論溫度為  $25^\circ C$  或  $30^\circ C$ ，有無  $GA_3$  之處理，光照組子葉之鮮重及面積均較黑暗組子葉高。然而  $5^\circ C$  的溫度變化所造成的差異並不太顯著。由此可見，對於子葉鮮重及面積的增加而言，光照及  $GA_3$  之處理具有加成效應 (Additive effect) 在溫度  $30^\circ C$ ，不同光照處理之離體薺菜子葉，其鮮重與面積二者之間之相關值為 0.9572 (圖四)，顯示二者之間有高度相關性存在，故以子葉面積來反應鮮重之大小，具有其可信度。因此本文呈現的實驗結果皆以面積表示之。

綜合上述資料顯示，當以  $0.1\text{ mM } GA_3$  處理時，薺菜子葉在溫度  $30^\circ C$ ，光強度  $34W/m^2$  之情況下培養，其子葉之擴展非常明顯。

將離體薺菜子葉在溫度  $30^\circ C$ ，光強度  $34W/m^2$  之情況下培養，每天分別測定乾重量，結果如圖五所示，無論在光照或黑暗中， $GA_3$  處理組與對照組比較，差異並不明顯，而且其生長趨勢十分類似。在第五天以後其乾重量均下降，這可能是子葉逐漸老化所致。再根據子葉的乾重與鮮重之百分比，換算為子葉含水量，結果如圖六所示，在強光下， $GA_3$  處理的子葉，其含水量最高。故由此顯示，光照及  $GA_3$  處理後，子葉之擴展、鮮重及面積的增加，可能是含水量增加所致。

## 2. $GA_3$ 及 BA 處理對薺菜子葉細胞大小及數目的影響：

為探討  $GA_3$  促使子葉擴展之原因，究竟是促進細胞擴大 (Cell enlargement) 或誘使細胞分裂 (Cell division)，或兩者兼而有之，乃以  $0.1\text{ mM } GA_3$  及  $0.1\text{ mM } BA$  (Benzyladenine) 分別處理切離之薺菜子葉，於第一、三、五天收取子葉，先測定子葉之鮮重與面積，進而再用石蠟切片法 (Paraffin method) 觀察測定細胞之大小，同時又以 Pectinase 分離細胞以後計算子葉之細胞數目。此外亦測定 DNA 含量及可溶性蛋白質含量，以反應子葉之細胞分裂現象。

表一的資料為顯示  $GA_3$  及 BA 處理促進離體薺菜子葉細胞大小的實驗結果。就處理五天的子葉結果而論，黑暗組中  $GA_3$  及 BA 處理之子葉，其細胞大小分別為對照組之 118% 及 147%，而光照組的細胞皆大於黑暗組，光照組中  $GA_3$  及 BA 處理的子葉，其細胞大小分別為對照組之 143% 及 179%，這個結果顯示在光照下， $GA_3$  及 BA 都能促進子葉細胞增大，且以 BA 處理者增加較大。此外，就  $GA_3$  及 BA 對子葉細胞數目的影響言，不論在光照下或黑暗中，以 BA 處理都能促進子葉細胞數目的增加 (表二)。以處理後第五天之子葉為例，黑暗組子葉用 BA 處理可使細胞增多達對照組之 155%，而在光照下子葉細胞數目增加則達對照組之 193%。相對地， $GA_3$  的處理對子葉的細胞數目則無顯著影響。

欲瞭解子葉細胞數目的增加是否

表一：在光與暗中，GA<sub>3</sub> 與BA處理對離體蕓菜子葉細胞大小之影響  
(根據切片之橫切面細胞直徑測定，單位為 um/cell)

處理 天數	暗			光		
	對照組	GA <sub>3</sub>	BA	對照組	GA <sub>3</sub>	BA
★ ○	13					
三	15	17	22	25	35	44
五	17	20	25	28	40	50

★：表示萌發四天之幼苗，子葉即時切離，未予任何處理者。

表二：在光與暗中GA<sub>3</sub> 與BA處理對離體蕓菜子葉細胞數目  
之影響 (單位：細胞數目 (×10<sup>5</sup> / 子葉))

處理 天數	暗			光		
	對照組	GA <sub>3</sub>	BA	對照組	GA <sub>3</sub>	BA
★ ○	8.37±0.78					
三	8.51±0.66	8.73±0.69	12.44±0.78	10.58±0.71	11.15±0.83	14.43±0.86
五	8.62±0.82	8.74±0.84	13.40±0.87	10.98±0.85	11.17±0.88	21.21±1.34

★：表示萌發四天之幼苗，子葉即時切離，未予任何處理者。

表三：在光與暗中，GA<sub>3</sub> 與BA處理對離體蕓菜子葉DNA含量之影響  
(單位：ug/cotyledon)

處理 天數	暗			光		
	對照組	GA <sub>3</sub>	BA	對照組	GA <sub>3</sub>	BA
★ ○	1.51±0.02					
三	1.52±0.03	1.55±0.04	2.09±0.05	1.64±0.03	1.70±0.05	2.18±0.06
五	1.54±0.05	1.56±0.06	2.16±0.06	1.69±0.05	1.72±0.07	2.63±0.11

★：表示萌發四天之幼苗，子葉即時切離，未予任何處理者。

表四：在光與暗中GA<sub>3</sub> 與BA處理對離體蕓菜子葉可溶性蛋白質  
含量之影響 (單位：mg/cotyledon)

處理 天數	暗			光		
	對照組	GA <sub>3</sub>	BA	對照組	GA <sub>3</sub>	BA
★ ○	0.69±0.014					
三	0.43±0.011	0.46±0.012	0.56±0.014	0.30±0.007	0.33±0.008	0.37±0.009
五	0.42±0.012	0.44±0.013	0.53±0.015	0.18±0.008	0.19±0.006	0.20±0.011

★：表示萌發四天之幼苗，子葉即時切離，未予任何處理者。



由於細胞分裂所致，乃更進一步分析子葉的 DNA 含量結果如表三所示。GA<sub>3</sub>處理的子葉，其 DNA 含量並無顯著增加，而 BA 處理的子葉在黑暗或光照下子葉的 DNA 含量，均有顯著增加。綜合表二及表三的結果，顯示子葉的細胞數目及 DNA 含量之間有高度相關，BA 處理明顯促使 DNA 含量增加而 GA<sub>3</sub>則否。此外，光照亦可增加細胞數目及 DNA 含量，但沒有 BA 處理的效果顯著。

### 3. GA<sub>3</sub> 及 BA 處理對薺菜子葉之可溶性蛋白質含量之影響：

子葉中可溶性蛋白質之測定結果見於表四，在黑暗中培養之子葉，其可溶性蛋白質含量普遍高於在光照下培養之子葉，究其原因可能是在黑暗中培養的子葉中儲藏的蛋白質分解較為緩慢，且合成新蛋白質之能力亦較低所致。可溶性蛋白質之电泳分析結果，顯示在光照下培養子葉的蛋白質帶多為 30-70kd 者，而在黑暗中培養的子葉則多為 30kd 以下蛋白質帶（結果未發表），故可能因而造成在定量時，黑暗中培養的子葉之可溶性蛋白質含量較高。至於光照究竟是促進子葉中較大分子蛋白質的合成或抑制這些較大分子的分解，可能需藉放射追蹤實驗才能得知。對於子葉中可溶性蛋白質含量的增加效益，也是 BA 較為顯著，而 GA<sub>3</sub>則頗不明顯。

## 討 論

自 1960 年以來，即有諸多植物生理學者研究植物生長調節劑對植物幼

苗生長及子葉擴展 (Expansion) 的影響。大多數的研究結果均發現 Cytokinins 對植物子葉的擴展有極明顯的促進作用。Muir and Cheng (1988) 的研究以 GA<sub>3</sub> 處理胡瓜子葉，結果發現在光照下，GA<sub>3</sub> 有促進子葉擴展的效應，GA<sub>3</sub> 處理的子葉之鮮重與面積約可增加二倍，但在黑暗中 GA<sub>3</sub> 則無促進子葉擴展的作用。

本研究以薺菜為材料的研究結果亦發現 GA<sub>3</sub> 對薺菜子葉之擴展亦有促進作用，若以 0.1 mM GA<sub>3</sub> 處理薺菜子葉，在 30°C 及光強度 34W/m<sup>2</sup> 之光照下培養五天後，其子葉之鮮重與面積大約為對照組的 1.5 倍以上（如圖一），這個結果與前述 Muir and Cheng (1988) 以 GA<sub>3</sub> 處理胡瓜子葉所得的結果大致相符，故由此可知，GA<sub>3</sub> 對切離的薺菜子葉之擴展反應確有明顯的促進作用。

GA<sub>3</sub> 促進薺菜子葉擴展的現象，會受到一些變因的影響，譬如 GA<sub>3</sub> 的濃度或生長環境的光強度與溫度，均會影響植物的生長，故本研究即先測試各種因素之最佳配合，由各種不同 GA<sub>3</sub> 濃度、溫度及光強度之實驗結果可獲致以下四點結論（圖一、二、三）：

- (1) GA<sub>3</sub> 對促進切離薺菜子葉的擴展之最適濃度是 0.1 mM。
- (2) GA<sub>3</sub> 對切離薺菜子葉的擴展之促進作用，僅在光照下才能作用，在黑暗中，GA<sub>3</sub> 並不促進薺菜子葉之擴展。
- (3) 強光 (34W/m<sup>2</sup>) 培養之薺菜子葉擴展

較弱光 4.3W/m<sup>2</sup>顯著

(4) 高溫 30°C 培養之薺菜子葉擴展現象較常溫 25°C 顯著

關於 GA<sub>3</sub> 促進子葉擴展的主要因素，究竟是促進細胞分裂或是僅促進細胞的擴大，目前仍無定論，不過已有的研究顯示，GA<sub>3</sub> 可影響植物之細胞分裂，主要是對於叢生型 (Rossette plants) 或高生型 (Caulescent plants) 之次頂端分生組織 (Subapical meristem)，可促進細胞數目增加，造成莖的生長 (Sachs *et al.* 1958, 1959)；不過也有學者認為莖的生長是細胞分裂及細胞擴大之影響 (Atsmon and Lang, 1968)；有許多報告更顯示了 GA<sub>3</sub> 在生長組織中，對 DNA、RNA 以及蛋白質代謝有顯著影響 (Key, 1969; Glasziou, 1969)；而 Nitsan and Lang (1965) 則證明 GA<sub>3</sub> 的刺激生長是由於促進 DNA 的合成 (Atsmon and Lang, 1968; Key, 1969)

本實驗為探討 GA<sub>3</sub> 促進薺菜子葉的擴展是否與細胞分裂有關，乃取 GA<sub>3</sub> 與葉經證實對細胞擴大 (Huff and Ross, 1975; Green and Muir, 1978) 及細胞分裂有促進效應 (Latham, 1971) 的細胞分裂素 BA (6-Benzyladenine) 作同步實驗，結果發現子葉之細胞大小、細胞數目及 DNA 含量三者相互關聯 (如表一、表二、表三)，BA 處理者，細胞擴大明顯，細胞數目最多，而 DNA 含量亦最高，顯示 BA 處理，使子葉增大的主要因素在於促進細胞的分裂。而 GA<sub>3</sub> 處理者，除了細胞大小有明顯擴大之外，其餘細胞數目及 DNA 含量均與對照組接近，由此可知 GA<sub>3</sub> 除了可促進

細胞擴大外，在細胞分裂的促進方面並不明顯

根據 Green and Muir (1978; 1979) 的研究，BA 對胡瓜子葉之擴展反應與子葉內鉀離子含量有關，BA 可能是促進子葉吸收大量之鉀離子，使子葉之滲透勢 (Osmotic potential) 降低，而使子葉容易吸水，導致子葉明顯擴大。本實驗中，GA<sub>3</sub> 溶液亦採用 Green and Muir (1978) 的方法配製，培養液內含 40mM 氯化鉀及 10mM 氯化鈣，故 GA<sub>3</sub> 促進子葉擴展之主要原因可能亦如 BA 一樣，子葉因吸收大量鉀離子，而使滲透勢降低，因而大量吸水所致，由圖五及圖六之比較，顯示薺菜子葉擴展愈大者，其含水量愈高，其結果與上述推論吻合。綜合言之，GA<sub>3</sub> 對薺菜子葉之擴展作用，主要在使子葉吸水，促使細胞擴大所致，而促進細胞分裂之現象則並不明顯。

薺菜子葉是養分儲藏器官，同時亦是營養器官，子葉於種子萌發後仍可繼續生長，並行光合作用，製造養分供幼苗生長之需。然而本實驗中，子葉內之可溶性蛋白質之含量隨著生長而逐漸減少，其原因可能是實驗中所使用之培養液僅含 40mM 氯化鉀及 10mM 氯化鈣而缺乏碳源和氮源之供給，因而無法有效的合成蛋白質，子葉中蛋白質逐漸分解後，無法獲得充分補充，可溶性蛋白質之含量乃逐漸減少；或由於植物組織或器官在其離體後，因無法生根而開始老化，老化過程通常與細胞代謝有關，代謝愈旺盛老化速度也愈快，亦即大分子物質的分解

也會加快，可能亦為造成可溶性蛋白質之含量逐漸減少之因素。

### 參考文獻

- Atsmon, D. D., and A. Lang, 1968. *Isr. J. Bot.* 17:225 (cited from Jones, 1973)
- Back, A., and A. Richmend, 1969. An interaction between the effects of Kinetin and Gibberellin in retarding leaf senescence. *Physiol. Plant.* 22: 1207-1216.
- Benerji, D., and M. M. Laloraya, 1966. Comparative effect of indole-3-acetic acid, kinetin and gibberellic acid on the growth of isolated *Cucurbita pepo* cotyledons. *Curr. Sci. (India)* 35: 601-602.
- Bradford, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Bradley, M. V., and J. C. Crane, 1957. Gibberellin stimulated cambial activity in stems of apricot spur shoots. *Science* 126:972-973.
- Brennan, T., J. E. Gunckel, and C. Frenkel, 1976. Stem sensitivity and ethylene involvement in phototropism of Mung Bean. *Plant Physiol.* 57:286-289.
- Brian, P. W., and H. G. Hemming, 1955. The effect of gibberellic acid on shoot growth of pea seedlings. *Physiol. Plant.* 8:669-681.
- Burton, K., 1956. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of DNA. *Biochem. J.* 62:315-323.
- Butler, R. D., 1963 The effect of light intensity on stem and leaf growth in broad bean seedlings. *J. Exp. Bot.* 14:142-152.
- Cleland, C. F., and J. A. D. Zeevaart, 1970. Gibberellins in relation to flowering and stem elongation in the long day plant *Silene armeria*. *Plant Physiol.* 46:392-400.
- Fletcher, R. A., and D. J. Osborne, 1965. Regulation of protein and nucleic acid synthesis by gibberellin during leaf senescence. *Nature* 207:1176-1177.
- Glasziou, K. T., 1969. Control of enzyme formation and inactivation in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 20:63-88.
- Green, J. M., and R. M. Muir, 1978. The effect of potassium on cotyledon expansion induced by cytokinins. *Physiol. Plant.* 43:213-218.
- Green, J. M., and R. M. Muir, 1979. An analysis of the role of potassium in growth effects cytokinin, light and abscisic acid on cotyle-

- don expansion. *Physiol. Plant.* 46: 19-24.
- Haber, A. H., and H. J. Luippold, 1960. Effects of gibberellin on gamma-irradiated wheat. *Amer. J. Bot.* 47:140-144.
- Haber, A. H., and D. E. Foard, and S. W. Perdue, 1969. Actions of gibberellic and abscisic acids on lettuce seed germination without actions on nuclear DNA synthesis. *Plant Physiol.* 44:463-467.
- Halevy, A. H., and S. H. Wittwer, 1965. Chemical regulation of leaf senescence. *Q. Bull. Mich. Agr. Exp. Sta.* 48:30-35.
- Hansen, M. C., and W. H. Biggs, 1979. Units and terminology used in radiation measurements in conjunction with the plant sciences. Li-cor, Inc., Lincoln, Nebraska.
- Huff, A. K. and C. W. Ross, 1975. Promotion of radish cotyledon enlargement and reducing sugar content by zeatin and red light. *Plant Physiol.* 56:429-433.
- Jones, R. L., 1973. Gibberellins: their physiological role. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:571-598.
- Key, J. L., 1969. Hormones and nucleic acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 20: 449-474.
- Kursanov, A. L., O. N. Kulaeva, and T. P. Mikulovich. 1969. Combined effect of 6-benzylaminopurine, gibberellic acid and 3-indoleacetic acid on the isolated pumpkin cotyledons. *Amer. J. Bot.* 56:767-772.
- Letham, D. S., 1971. Regulators of cell division in plant tissues XII. A Cytokinin bioassay using excised radish cotyledons. *Physiol. Plant.* 25:391-396.
- Martin, F. W., and R. M. Ruberte. 1975. Edible leaves of the tropics. Mayaguez Insti. of tropical Agri. pp. 11.
- Muir, R. M., and Y. J. Cheng, 1988. Effects of gibberellic acid and zeatin on the growth response of cucumber cotyledons. *J. Plant Growth Regul.* 7:197-201.
- Nitsan, J., and A. Lang, 1965. Inhibition of cell division and elongation in higher plants by inhibitors of DNA synthesis. *Dev. Biol.* 12:358-376.
- Nitsan, J., and A. Lang, 1966. DNA synthesis in the elongation non-dividing cells of the lentil epicotyl and its promotion by gibberellin. *Plant Physiol.* 41:965-970.
- Paleg, L. G., 1960. Physiological effects of gibberellins. *plant Physiol.* 35:902-906.
- Phinney, B. O., 1956. Growth response of single gene dwarf mutants in maize to gibberellic acid. *Proc.*

- natl. Acad. Sci. U. S. 42:185-189.
- Sachs, R. M., C. Bretz, and A. Lang, 1959. Shoot histogenesis: the early effects of gibberellin upon stem elongation in two rosette plants. *Amer. J. Bot.* 46:376-384.
- Sachs, R. M., C. Bretz, and A. Lang, 1959. Shoot histogenesis: the early effects of gibberellin upon stem elongation in two rosette plants. *Amer. J. Bot.* 46:376-384.
- Shininger, T. L., 1971. The regulation of cambial division and secondary xylem differentiation in *Xanthium* by auxins and gibberellin. *Plant Physiol.* 47:417-422.
- Smith, O. E., and L. Rappaport, 1961. Endogenous gibberellins in resting and sprouting potato tubers. *Adv. Chem.* 28:42-48.
- Takahashi, N., 1988. Endogenous plant hormones in rice in relation to the regulation of its life cycle. Manuscript presented at the 13th International conference, plant growth substances. Univ. of Calgary, Canada. July 17-22.
- Wareing, P. F., 1958. Interaction between indoleacetic acid and gibberellic acid in cambial activity. *Nature* 181:1744-1745.
- Wareing, P. F., C. E. A. Hanney, and J. Digby, 1964. In "The Formation of wood in forest trees" Ed. M. H. Zimmermann. New York, Acad. pp. 323-344.
- Wright, S. T. C., 1961. A sequential growth response to gibberellic acid, kinetin, and indoleacetic acid in the wheat coleoptile. *Nature*, 190:699-700.
- 劉政道, 1980. 蘿藦種子生產改進技術之研究, *中華農業研究*, 29(4)251-258.

Effects of Light and Gibberellic Acid on the Cotyledon  
Expansion of Water Spinach  
(*Ipomoea aquatica* Forsk)

Shwu-Huey Luo, Yung-Ta Chang, Yeong-Jing Cheng, Wu-fu Tong.  
Department of Biology, National Taiwan Normal University

## ABSTRACT

Fresh weight and area changes of excised cotyledons were used as the main indicators for the investigation of the effects of light and Gibberellic Acid ( $GA_3$ ) on water spinach cotyledon expansion. The most significant cotyledon expansion was observed when cotyledons were treated with both light ( $34W/m^2$ ) and  $GA_3$  (0.1mM) at  $30^\circ C$ .

Significant expansion of excised cotyledons were induced by the treatment of  $GA_3$  or Benzyladenine (BA). However, the mechanisms of cotyledon expansion induced by  $GA_3$  and BA seemed to be different, because cotyledon expansion induced by BA was significant in both light and dark, while that induced by  $GA_3$  was prominent only in the light.

Under light irradiation, the diameter of cells of five-days cotyledons treated with  $GA_3$  was increased from 13  $\mu m$  to 40  $\mu m$ , but no significant increase in dry weight, DNA content and cell numbers were observed. It was shown that the average diameter of cells of cotyledons treated with BA for 5 days reached 50  $\mu m$  and the cell numbers as well as the DNA content increased by 94% and 56% respectively. Furthermore, cotyledon expansion was also found by BA treatment in the dark.

It was suggested that changes in osmotic potential of cells in cotyledons which subsequently enhanced water uptake might play a role in the induction of cotyledon expansion and increase in fresh weight and leaf area by  $GA_3$  treatment.

key words: Light, Gibberellic acid, *Ipomoea aquatica*, Cotyledon Expansion, Benzyladenine.