

2022 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 060003

參展科別 植物學

作品名稱 「洞」「築」先機—預先戳洞提升綠豆耐鹽能力

得獎獎項 四等獎

就讀學校 臺南市私立德光高級中學

國立臺南第一高級中學

指導教師 江芝韻、鄭楷騰

作者姓名 李家翔、彭郁涵、吳湧波

關鍵詞 戳洞、鹽逆境、植物防禦

作者簡介



我是李家翔，就讀台南市私立德光中學，秉著好奇心和對科學的熱忱，踏上科展的探索之旅。在國中時我就對科學實驗有著濃厚，到了高中便投入植物學科的研究。

這次有幸可以參加國際科展覽會，非常感謝在身後支持的父母，及老師對我們的諄諄教誨，讓我這趟科展之旅獲益良多。

我是彭郁涵，對科展的興趣起源於對實驗的熱愛，在國中及高中的生物研究社便對實驗和科展十分著迷，進入高中之後遇到志同道合的朋友們，就此加入科展之旅的行列，一同投入植物科展的研究。

很榮幸能參加國際科展，首先最感謝的是一路帶領我們的老師，以及父母支持，使我在這次探索之旅有莫大的收穫。

我是吳湧波，來自台南市，家人經常帶我來往全台各地，常常與父母研究各地特殊的人事物。因此，我從小便對研究未知事務感興趣，經常探求周遭事物的原因。在高一時立即加入科研社，有幸遇到現在的指導老師和志同道合的朋友，開始這次科展探索之路。

很榮幸參加這次的國際科學展覽會，在這次科展之旅，使我收穫良多，也希望這次研究能帶給人們收穫。

摘要

閩南語有句俗諺：「打斷手骨顛倒勇」，人能在受傷後成長，越挫越勇，那植物呢？本研究發現，綠豆葉片在預先接受戳洞的物理刺激後，對生長不僅不會造成負面影響，更反而能提升綠豆耐鹽能力！隨著戳洞數增加或是延長戳洞後放置時間，皆能增強綠豆的耐鹽能力。深入研究結果顯示，戳洞刺激可能藉由鈣離子作為訊號傳遞分子，最終提升綠豆體內抗氧化酵素活性，藉此降低植物在逆境下的氧化傷害，提升其耐鹽能力。未來期望能將研究成果推廣至農業應用上，使其在面對天災人禍時，可以減少農損。

Abstract

To face biotic and abiotic stresses, plants have evolved a wide range of survival and adaptation strategies. This study investigates the effects of poking holes on the growth of mungbean seedlings. The experiments reveal that pre-treat with hole poking (HP) on mungbean leaves would not cause negative growth impacts. Instead, the tolerance to salt stress has increased. Compared with control groups, the fresh weight of the mungbean seedling increased significantly under salt stress after being punctured with three holes for 24 hours. The more the hole poking and the longer time after hole poking, the more increase the salt tolerance. For antioxidant enzymes, we found that after poking holes, the activities of POD and CAT had increased significantly, indicating that the increased antioxidant enzymes could reduce oxidative damage to plants under stress. In addition, our experiment related to calcium ion and chelating agents show that the calcium ion might play a vital role in the stress tolerance enhancement by HP priming. We hope this study can be applied to agriculture to reduce agricultural losses resulting from environmental disasters.

壹、研究動機

在溫室裡的花朵，需要經過細心的呵護與照顧才能成長茁壯，反觀路邊的行道樹，不但無需有人照料，而且經年累月接受各種傷害，卻依然能在大都市的環境中屹立不搖，因此我們好奇，**植物在面對物理傷害時是否會有生長上的變化**？會不會有像人一樣在傷害中成長茁壯，變得更高或更粗壯的現象呢？因此我們進行以下一連串實驗來探討此問題。

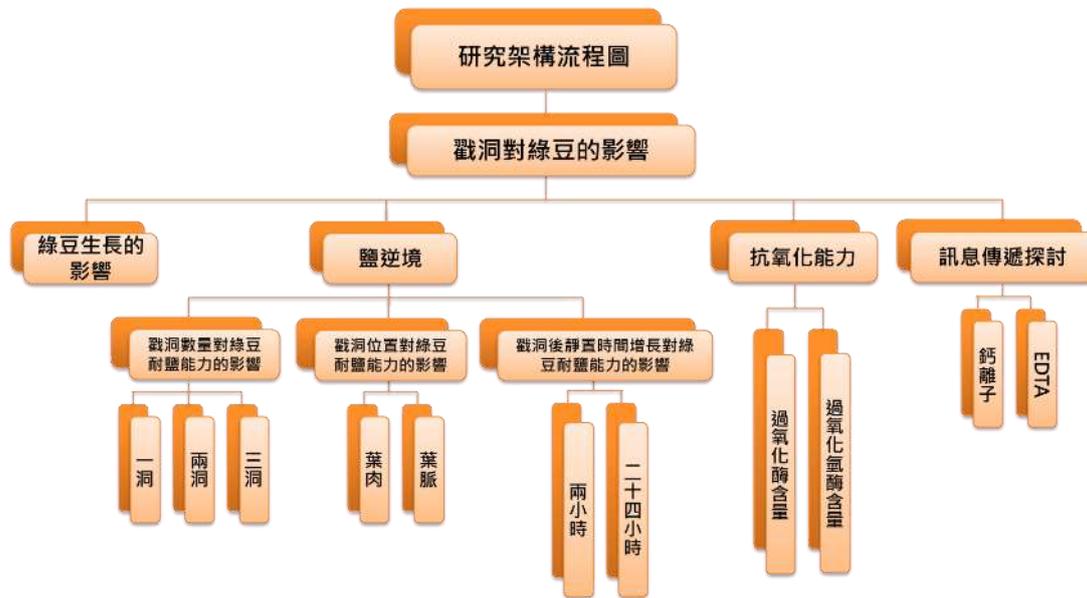
貳、研究目的

- 一、戳洞對綠豆生長速率之影響
- 二、戳洞對綠豆抗鹽逆境能力之影響
- 三、戳洞數量對綠豆抗鹽逆境能力之影響
- 四、戳洞位置對綠豆抗鹽逆境能力之影響
- 五、戳洞時間對綠豆抗鹽逆境能力之影響
- 六、找到戳洞使綠豆抗鹽逆境能力增加之內部機制

參、研究器材與設備

- 1、 **研究材料**：綠豆
- 2、 **實驗藥劑**：蒸餾水(ddH₂O)、鹽水(50mM、100mM、150mM)、磷酸鉀緩衝溶液(100mM)、愈創木酚(2.5%)、過氧化氫(50mM)
- 3、 **實驗器材**：培養皿、濾紙、鑷子、燒杯、量筒、塑膠盆、生長箱、秤量紙、電子精秤、保鮮膜、血清瓶、一寸盆、切割墊、解剖刀、解剖剪、針、刮勺、500ml 容量瓶、滴管、無粉檢診手套、離心管、蛋白質萃樣本、比色管。

肆、研究過程與方法

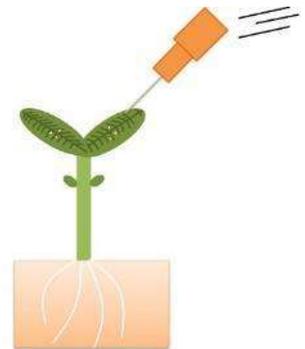


一、綠豆種植

- (1) 將綠豆沖水洗淨
- (2) 洗淨後的綠豆播種於一寸盆中，一盆一顆
- (3) 將種有綠豆的一寸盆放入 400 密林的塑膠盆中，共放 54 盆
- (4) 倒入 400ml 蒸餾水，用保鮮膜密封並置於生長箱中
- (5) 使生長箱溫度維持 26~30 度，於種植後第二天將保鮮膜打開一半，第三天將保鮮膜去除，避免綠豆生長受保鮮膜影響
- (6) 在保鮮膜打開後，固定每天加水 400ml

二、葉片上戳洞對綠豆生長的影響

- (1) 種植後第 5 天取出綠豆，戳三洞於葉肉上，放置 2 小時
- (2) 2 小時後將綠豆分為對照組(沒戳洞)、實驗組(有戳三洞)
- (3) 每天固定供給各組所需之蒸餾水，每盆 5ml
- (4) 於分組後六天觀察其外表型差異並測量根、莖、葉的鮮重



三、鹽逆境處理

- (1) 配置 NaCl 水溶液 50mM、100mM、150mM
- (2) 取 30ml 各濃度的水溶液加入培養皿
- (3) 將綠豆植株放入培養皿，分成供給蒸餾水的對照組和加 50ml、100ml、150ml 鹽水的實驗組，每組再分有戳三洞和沒戳洞，共八小組
- (4) 每天固定供給各組所需之鹽水及蒸餾水，每盆 5ml
- (5) 於分組後六天觀察其外表型差異並測量根、莖、葉的鮮重

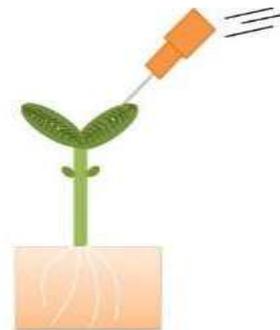
四、戳洞數量改變對綠豆耐鹽能力的影響

- (1) 配置 NaCl 水溶液 50mM、100mM、150mM
- (2) 取 30ml 各濃度的水溶液加入培養皿

- (3) 將綠豆植株放入培養皿，分成供給蒸餾水的對照組和加 50mM、100mM、150mM 鹽水的實驗組，每組再分有戳洞(兩洞或一洞)和沒戳洞，共八小組
- (4) 每天固定供給各組所需之鹽水及蒸餾水，每盆 5ml
- (5) 於分組後六天觀察其外表型差異並測量根、莖、葉的鮮重

五、戳洞位置對綠豆耐鹽能力的影響

- (1) 配置 NaCl 水溶液 50mM、100mM、150mM
- (2) 取 30ml 各濃度的水溶液加入培養皿
- (3) 將綠豆植株放入培養皿，分成供給蒸餾水的對照組和加 50mM、100mM、150mM 鹽水的實驗組，每組再分有戳洞(戳三洞，並戳在葉脈上)和沒戳洞，共八小組
- (4) 每天固定供給各組所需之鹽水及蒸餾水，每盆 5ml
- (5) 於分組後六天觀察其外表型差異並測量根、莖、葉的鮮重



六、戳洞後適應天數對綠豆耐鹽能力的影響

- (1) 將生長至第五天的綠豆取出，分成放置數天後供給蒸餾水的對照組和加 50mM、100mM、150mM 鹽水的實驗組，每組再分有戳洞(戳三洞)和沒戳洞，共八小組
- (2) 綠豆戳洞後放置於生長架中，放置數天
- (3) 配置 NaCl 水溶液 50mM、100mM、150mM
- (4) 取 30ml 各濃度的水溶液加入培養皿
- (5) 依照數天前的分組將綠豆植株放入培養皿
- (6) 於放入培養皿後六天觀察其外表型差異並測量根、莖、葉的鮮重

七、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 μ 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) 將讀值除以蛋白質濃度後，得活性。

八、過氧化氫酶(Catalase, CAT)活性測量

- (1) 取離心管，並加入 990 μ l 50mM 過氧化氫溶液。
- (2) 加入 10 μ 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) 將讀值除以蛋白質濃度後，得活性。

九、加入氯化鈣對綠豆耐鹽能力的影響

- (1) 配置 NaCl 水溶液 100mM
- (2) 配置氯化鈣水溶液 10mM
- (3) 將綠豆植株放入培養皿，將其依是否戳洞、是否置入 100mM 鹽逆境、是否加氯化鈣，共八小組，並在戳洞後放置一天待其反應時，將需要加入氯化鈣的組別加入氯化鈣，其餘加蒸餾水
- (4) 於隔天將培養皿換水並沖洗，加入各組所需之鹽水及蒸餾水，需要加入氯化鈣的組別，額外於土壤中加入，每盆各 2.5ml
- (5) 每天固定供給各組所需之鹽水或蒸餾水，將其加滿培養皿，需要加入氯化鈣的組別，額外於土壤中加入，每盆各 2.5ml
- (6) 於分組後六天觀察其外表型差異並測量根、莖、葉的鮮重
- (7) 將有戳洞植物之淨重除未戳洞之淨重

十、加入 EDTA(二價離子螯合劑)對綠豆耐鹽能力的影響

- (1) 配置 NaCl 水溶液 100mM
- (2) 配置 EDTA 水溶液 10mM
- (3) 將綠豆植株放入培養皿，將其依是否戳洞、是否置入 100mM 鹽逆境、是否加 EDTA，共八小組，並在戳洞後放置一天待其反應時，將需要加入 EDTA 的組別加入 EDTA，其餘加蒸餾水
- (4) 於隔天將培養皿換水並沖洗，加入各組所需之鹽水及蒸餾水，需要加入 EDTA 的組別，額外於土壤中加入，每盆各 2.5ml
- (5) 每天固定供給各組所需之鹽水或蒸餾水，將其加滿培養皿，需要加入 EDTA 的組別，額外於土壤中加入，每盆各 2.5ml
- (6) 於分組後六天觀察其外表型差異並測量根、莖、葉的鮮重
- (7) 將有戳洞植物之淨重除未戳洞之淨重

伍、研究結果

一、葉片戳洞對植物生長之影響

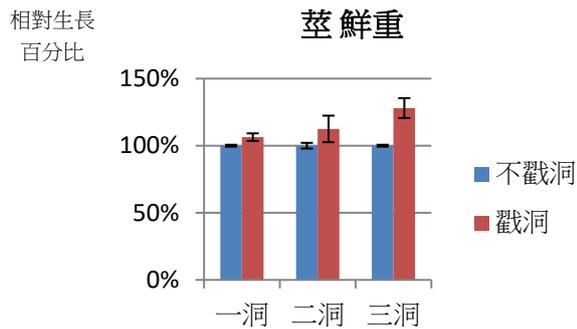
我們猜想，若給植物輕微的生存壓力後，能否有效提升其對逆境的耐受性？因此，我們以物理傷害處理植物，期待植物產生生理上的變化，藉此提升其逆境耐受性。但我們擔心物理傷害會使綠豆的生長情形有過度的抑制現象，於是我們將種植五天的綠豆，在葉肉上做戳洞處理，在綠豆的兩片葉子中段(將葉片依長度分三段，取中間一段)戳三洞，位置靠近葉脈但不傷及葉脈，並將其戳洞後放置兩小時，使其有時間產生生理變化，於六天後觀察其外表型，並測量莖葉的鮮重重量。



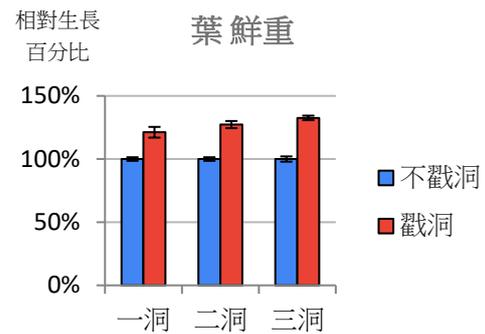
圖(1-1)綠豆戳三洞後莖、葉生長情形圖 圖(1-2)綠豆戳三洞後直立生長圖



圖(1-3)綠豆全株生長圖



圖(1-5)綠豆戳一洞、兩洞、三洞莖鮮重比例



圖(1-6)綠豆戳一洞、兩洞、三洞葉鮮重比例

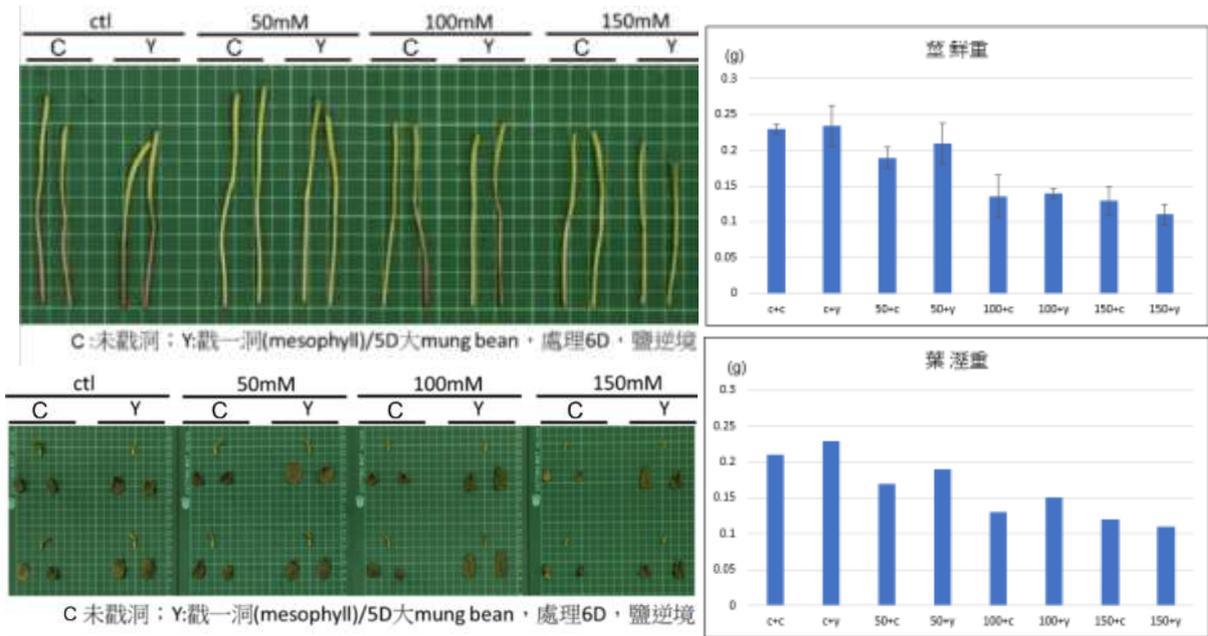
研究結果顯示，戳洞後的綠豆生長情形不會出現負成長的情況，並且有些微成長情形轉好的趨勢，因此我們得知，在葉片戳3洞的處理後，對植物生長影響不大。

確認葉片戳洞對植物本身生長影響不大後，我們好奇，接受過物理傷害的植物在逆境中是否能有生長情形的差異，因此我們接續做了以下實驗來探討。

二、葉片戳洞對植物抗鹽逆境之影響

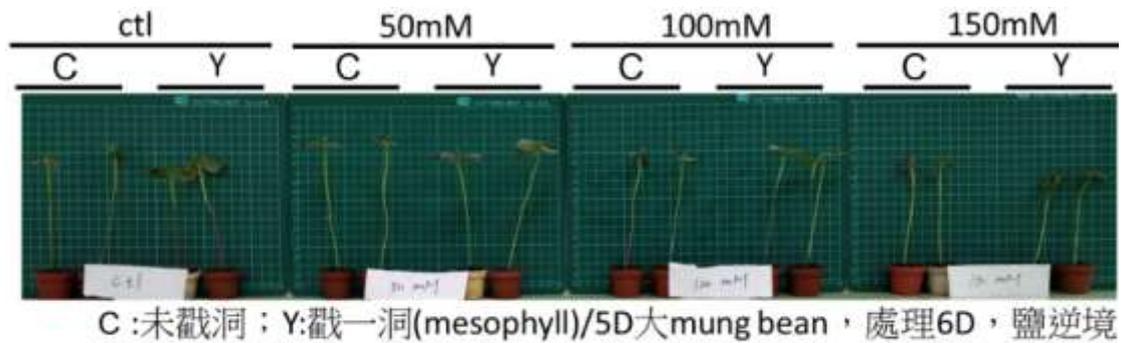
前面的實驗說明綠豆在經過戳洞處理後，不會對其造成負面的生長影響，因此我們想知道，在逆境中，預先接受物理傷害的綠豆，是否能在外表型上跟一般綠豆有不同的展現，因此我們選用常見的植物逆境—鹽害做實驗。

在一開始，我們選擇將綠豆做戳一洞的後靜置2小時，再將植物進行鹽害處理。但實驗結果顯示，在莖、葉的鮮重方面，預先接受物理傷害的植株在低濃度時，有較重的趨勢，但在150mM的濃度時，沒戳洞的對照組有更好的生長發育情形，鮮重重量較重，而且在外表型上也是對照組的生長情形較佳，莖、葉鮮重的趨勢在高濃度鹽逆境之中不明顯。

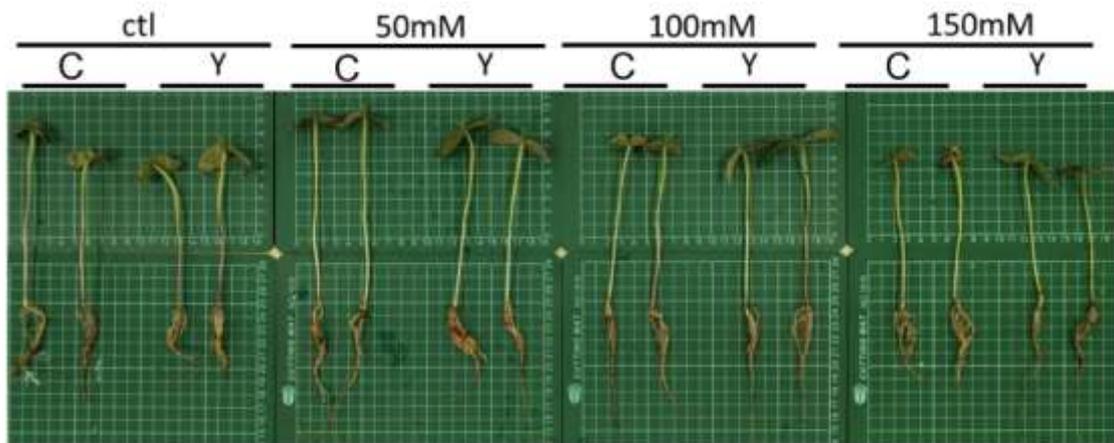


圖(2-1)綠豆戳一洞後莖、葉生長情形圖

圖(2-2)綠豆戳一洞後莖、葉鮮重

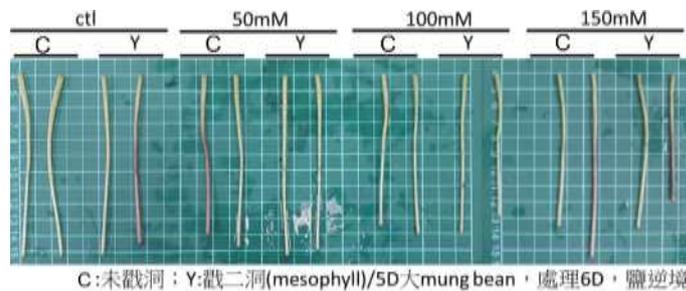


圖(2-3)綠豆戳一洞後直立生長圖

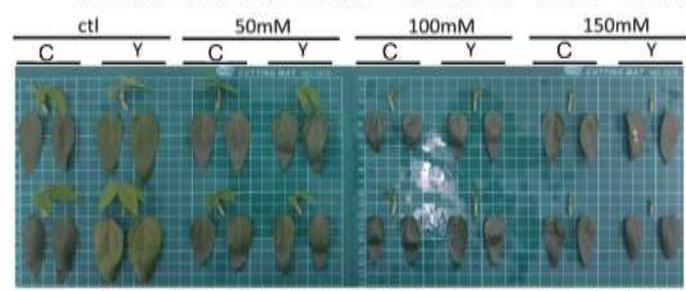
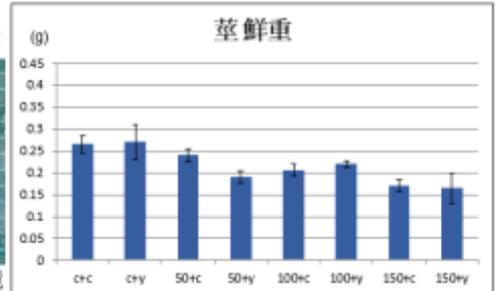


圖(2-4)綠豆戳一洞後全株生長圖

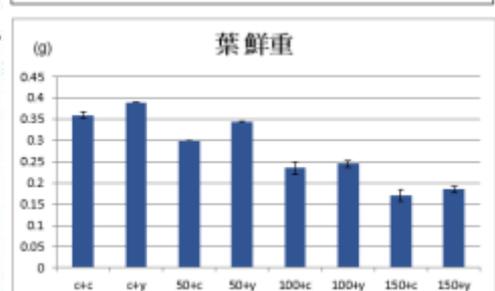
在前述實驗我們得知，戳一洞的綠豆可能有更好的耐鹽能力，但是趨勢在不同濃度中並不一致，於是我們便好奇，若戳洞數量往上增加—也就是物理傷害的程度增加，是不是能夠對綠豆耐鹽能力有所影響，因此我們將綠豆的戳洞數量從一洞改為兩洞，並以相同的方式處理。



C:未戳洞；Y:戳二洞(mesophyll)/5D大mung bean，處理6D，鹽逆境

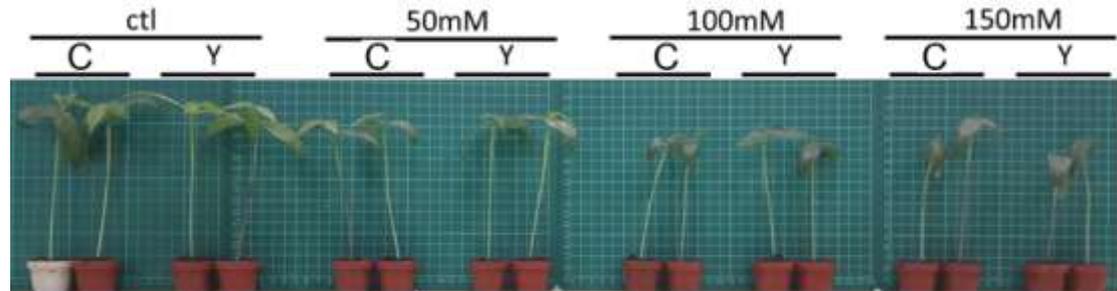


C:未戳洞；Y:戳二洞(mesophyll)/5D大mung bean，處理6D，鹽逆境



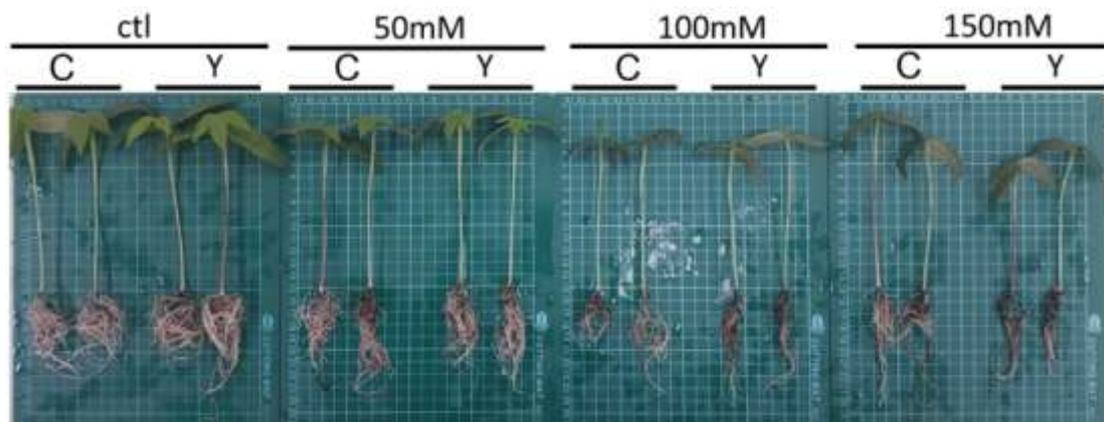
圖(2-5)綠豆戳兩洞後莖、葉生長情形圖

圖(2-6)綠豆戳兩洞後莖、葉鮮重



C:未戳洞；Y:戳二洞(mesophyll)/5D大mung bean，處理6D，鹽逆境

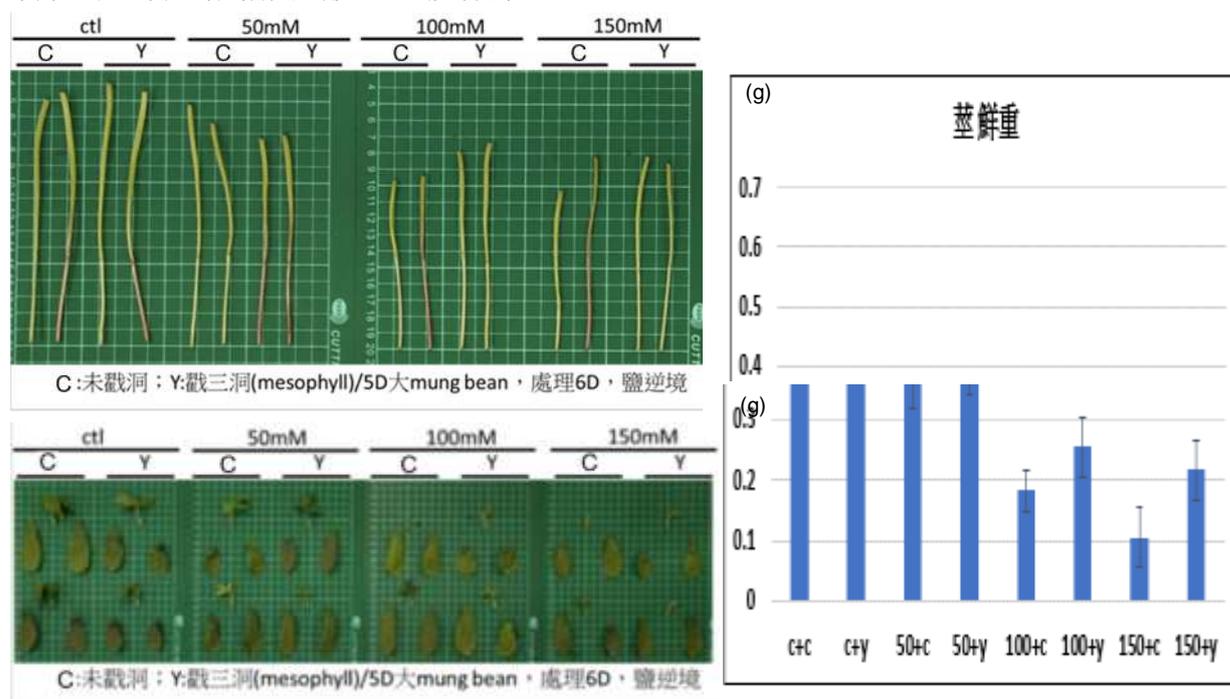
圖(2-7)綠豆戳兩洞後直立生長圖



C:未戳洞；Y:戳二洞(mesophyll)/5D大mung bean，處理6D，鹽逆境

圖(2-8)綠豆戳兩洞後全株生長圖

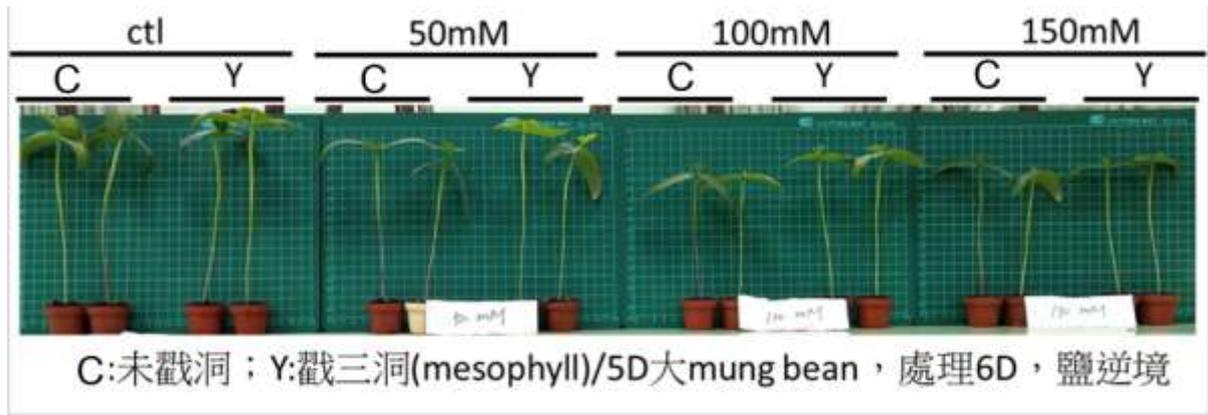
在戳兩洞的實驗中，已經能看到綠豆小苗的鮮重，在面對高鹽濃度逆境時，相對戳一洞的綠豆植株，有明顯且一致的上升趨勢，雖然植株在 150mM 的濃度時，戳洞植株的外表型態稍微較差，但在鮮重上已經超越沒被戳洞的對照組，因此我們推論傷害程度或許與抗鹽能力有一定的關聯，接著又將戳洞數量由兩洞改為三洞，做相同的處理以及觀察。



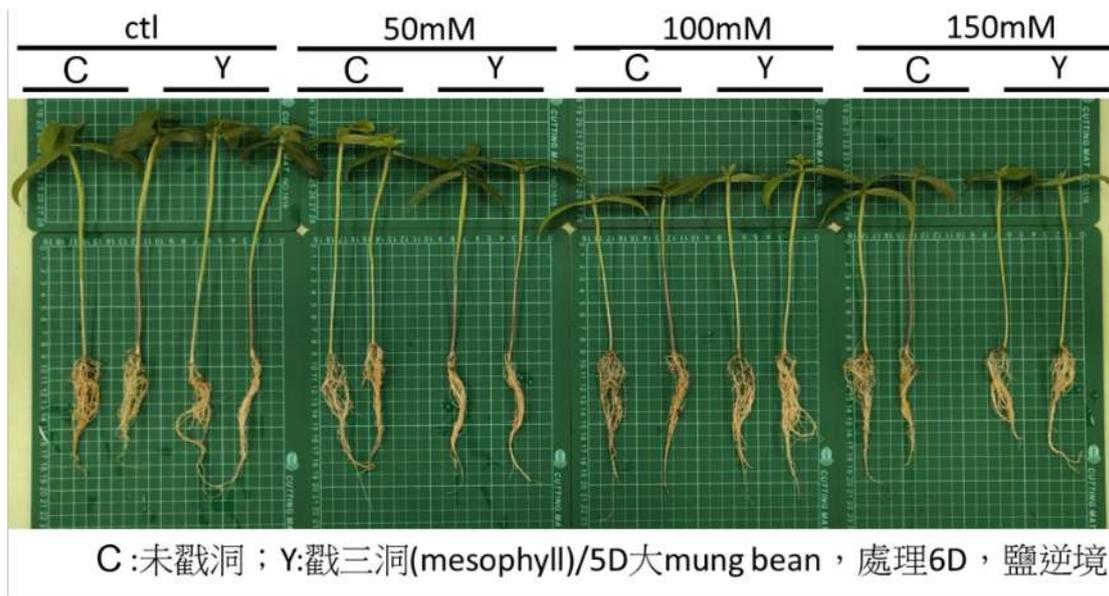
圖(2-9)綠豆戳三洞後莖、

葉生長情形圖

圖(2-10)綠豆戳三洞後莖、葉鮮重



圖(2-11)綠豆戳三洞後直立生長圖



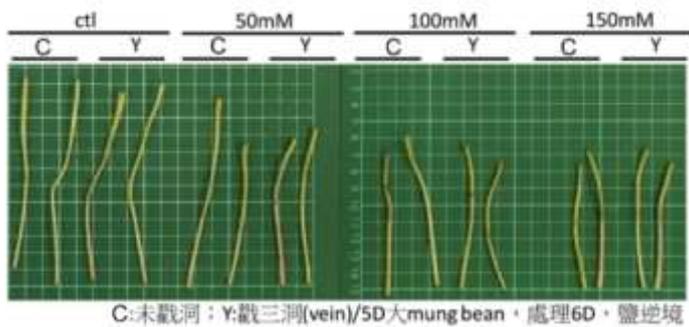
圖(2-12)綠豆戳三洞後全株生長圖

戳洞數量增加後，綠豆的生長差距更加明顯，在直立生長圖就能看出其差距。和對照組相比，其莖的鮮重、葉的鮮重也相較之前的一洞與兩洞更加明顯，在 150mM 的高濃度鹽逆境下，也能呈現出鮮重的明顯差距，因此我們推測，**在適當的物理傷害之下，綠豆能隨著傷害增加而提升鹽逆境的耐受性。**

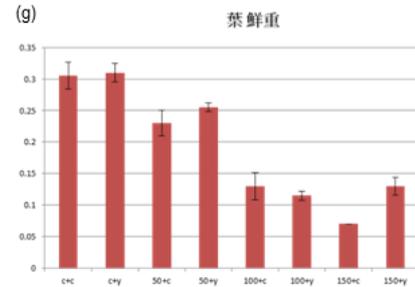
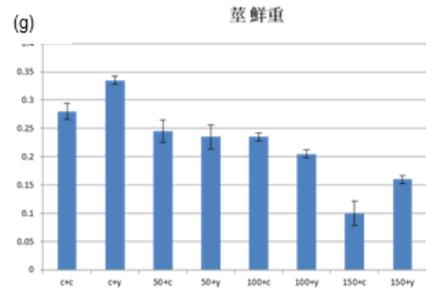
在解決傷害程度的疑問之後，我們便想到，先前的實驗都是將洞戳在葉肉上，如果將葉子戳洞處理的位置改變，是否會有相同的影響呢？因此我們接著做了以下實驗來探討。

三、葉片戳洞部位對植物抗鹽逆境之影響

在前述實驗我們得知，葉片的戳洞數量會對其耐鹽能力造成影響，接著我們又想到了，**如果我們將戳洞部位改在葉脈上，會對綠豆有什麼樣的生長影響呢？**我們一開始推測，可能因為將洞戳在葉脈上，傷害加大而使得綠豆耐鹽能力比戳在葉肉的實驗更加明顯，接著便依照先前的實驗步驟，將綠豆戳洞的部位改成葉脈再觀察一次。

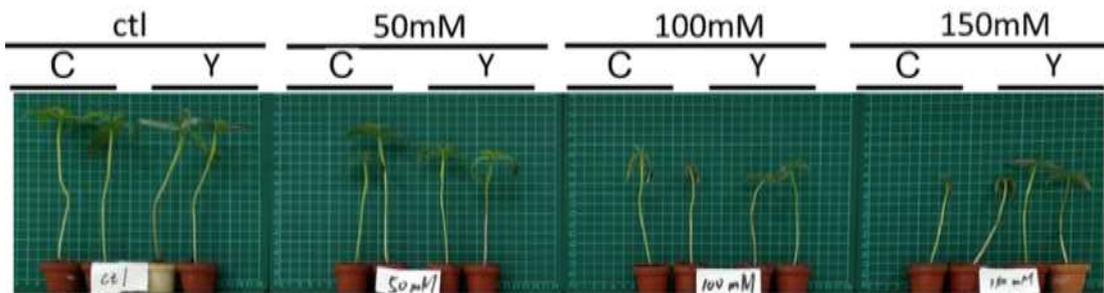


C:未戳洞; Y:戳三洞(vein)/5D大mung bean, 處理6D, 鹽逆境



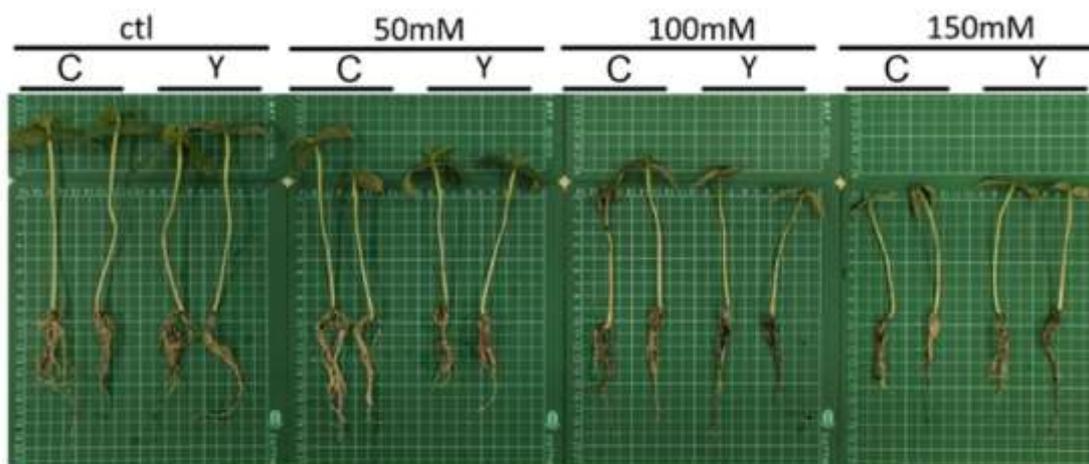
圖(4-1)綠豆戳三洞後莖、葉生長情形圖

圖(4-2)綠豆戳三洞後莖、葉鮮重



C未戳洞; Y:戳三洞(vein)/5D大mung bean, 處理6D, 鹽逆境

圖(4-3)綠豆戳三洞後直立生長圖



C:未戳洞; Y:戳三洞(vein)/5D大mung bean, 處理6D, 鹽逆境

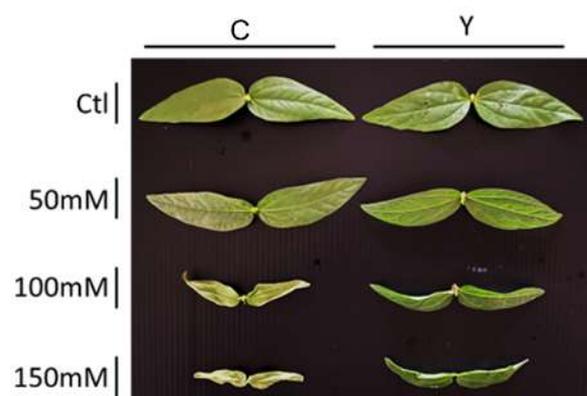
圖(4-4)綠豆戳三洞後全株生長圖

然而，實驗結果卻與我們的猜測不符，實驗鮮重數據相當的不穩定，並沒有像戳葉肉一樣有明顯的趨勢，推測可能是因為影響到維管束的物質運輸，對綠豆生長造成直接影響，所以實驗數據才沒有一定的趨勢，直立生長圖上也較

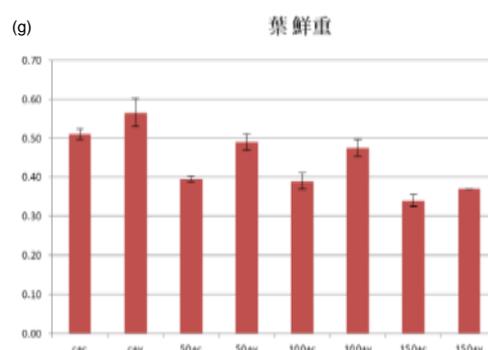
難直接看出葉脈戳洞的實驗組和沒戳洞對照組的差別。因此我們得出以下結論，在鹽逆境前，將綠豆葉片先戳三個洞在葉肉區將有助於提升綠豆的耐鹽能力。

4、 葉片戳洞時間對植物抗鹽逆境之影響

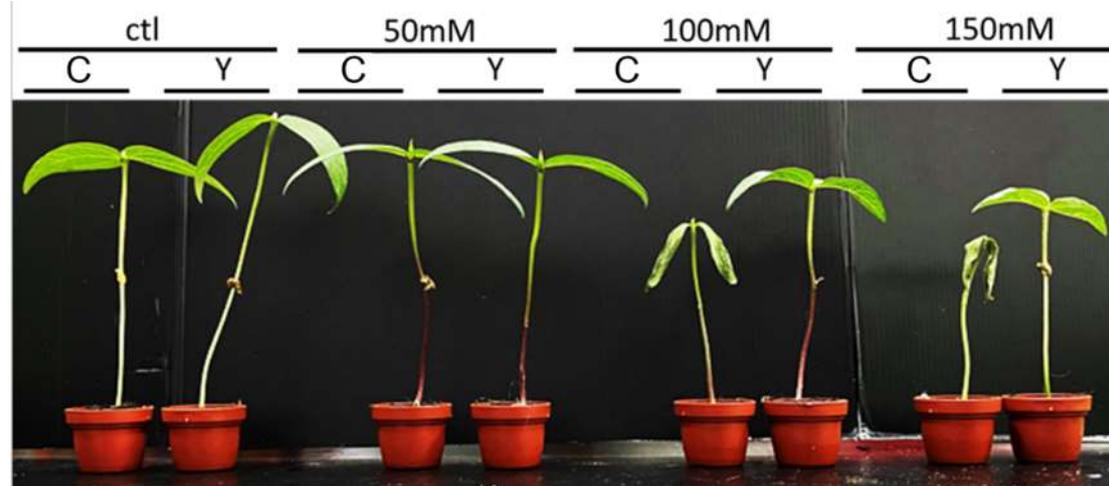
由於先前的實驗，在戳洞後都是將其放置兩小時，再進行鹽處理，我們便思考，如果延長戳洞後到遭遇鹽逆境前的時間，那是否能再看到更加明顯的差距呢？我們猜測，或許先前的實驗放置兩個小時的時間，尚不足以完全啟動植物體內應對物理傷害的機制，因此我們將戳洞後到遭遇鹽逆境前的時間延長至一天，然後再觀察其結果。



圖(5-1)綠豆戳洞一天後葉生長情形圖



圖(5-2)綠豆戳洞一天後莖、葉鮮重

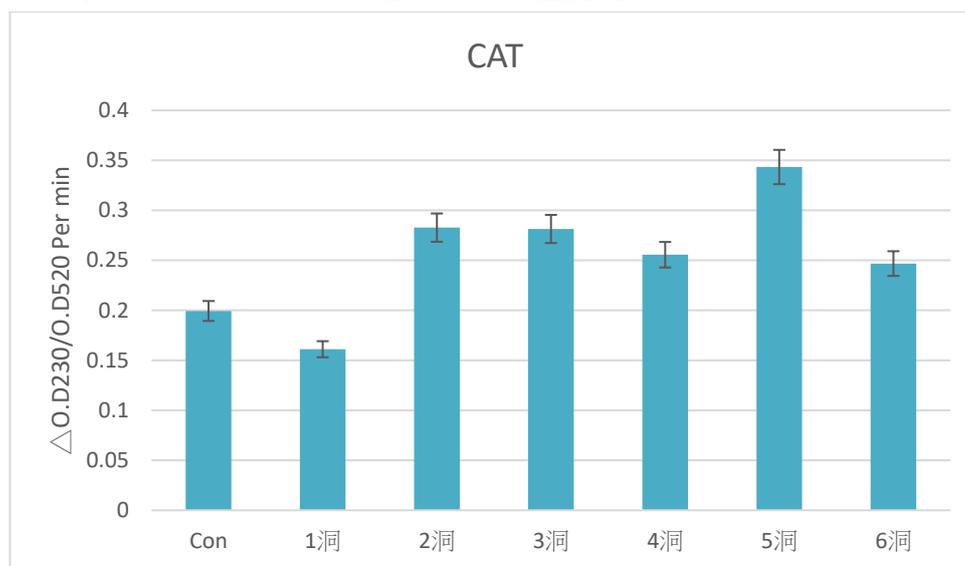


圖(5-3)綠豆戳洞一天後直立生長圖

實驗結果顯示，戳3洞增長處理後放置24小時在處理鹽逆境，其耐鹽能力比起放置2小時有更明顯的提升，到了鹽處理第六天時，未戳洞的綠豆葉片已產生下垂現象，但戳洞後24小時才處理鹽害的組別，其葉片仍然挺立，植株也較未戳洞的更高。根據上述時實驗結果得知，在鹽逆境前處理先給綠豆處理戳洞物理傷害，將有助於其抵抗鹽逆境，鹽逆境抵抗力會隨著物理傷害增加(戳洞數增加)而提升，且戳洞後靜置24小時在處理鹽害效果更好，推測戳洞後靜置時間越長，植物越有時間來改變其內部生理變化，藉以提升鹽害耐受性。

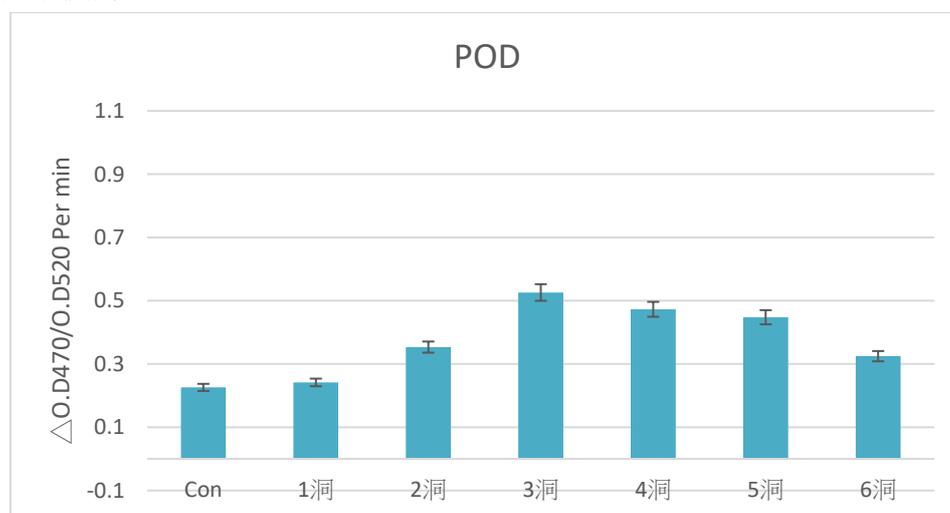
5、 戳洞使綠豆提升其抗鹽逆境能力的機制—過氧化酵素

在前面的實驗，我們知道了戳洞對於綠豆抗鹽逆境能力之影響，而我們想了解戳洞後的綠豆為何具有較高的耐鹽能力？其內部的生理機制產生了什麼變化？根據前人研究，植物在遭受逆境時，常會有過氧化物的累積進而造成危害，而植物會產生清除過氧化物的酵素，其中最具代表性的是過氧化氫酶(CAT)和過氧化酶(POD)。我們猜測，戳洞是否能誘發植物抗氧化酵素活性提升，藉此達到抵抗鹽逆境的能力，為了確認此事，我們將綠豆葉肉分別戳 1~6 洞，並靜置 24 小時後檢測其葉片內抗氧化酵素的活性變化。結果如下：



圖(5-1) 綠豆戳洞一天後 CAT 活性

從 CAT 活性變化結果我們發現，戳洞後的 CAT 活性整體有所提升，證明戳洞可以提升綠豆的抗過氧化物的能力，但是戳一洞時 CAT 濃度卻不升反降，我們猜測戳一洞時的物理傷害並不够提升其反應機制，也說明之前實驗中戳一洞的抗鹽逆境能力並不明顯，而戳兩洞時 CAT 濃度提升至原先的 1.5 倍，隨後便無明顯提升。

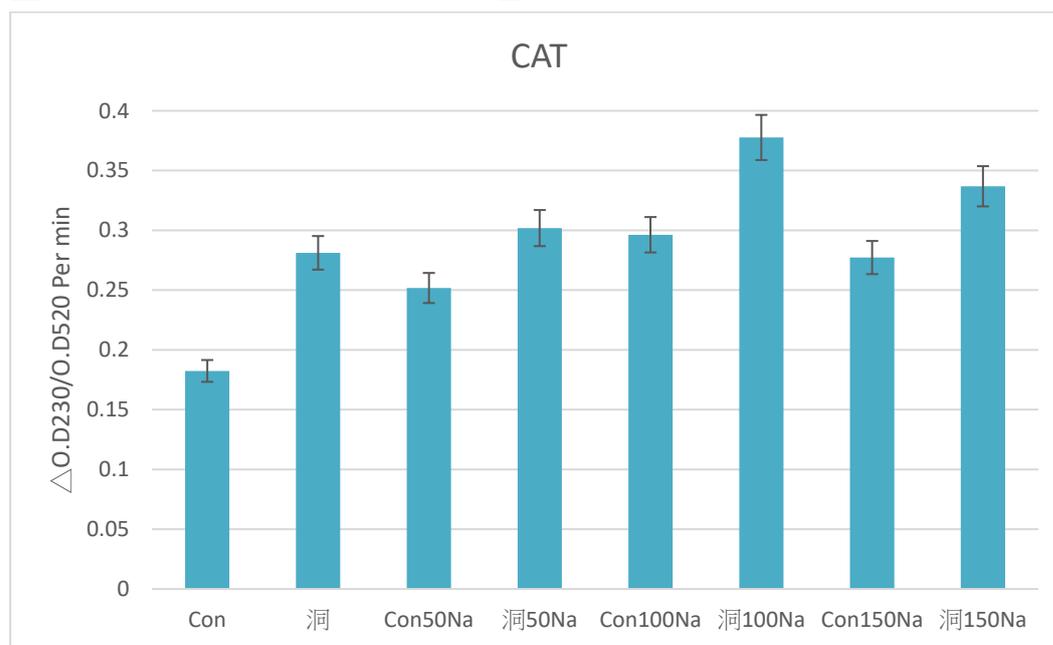


圖(5-2) 綠豆戳洞一天後 POD 濃度

跟 CAT 活性變化趨勢相似，POD 活性也在戳洞後有所上升，且其上升趨勢更為明顯，在戳三洞時 POD 活性會來到最高值，結合了之前的不同洞數對抗鹽逆境能力的影響，也是三洞的抗鹽逆境能力最佳，而 POD 活性在戳 4 洞以上後開始下降，從實驗檢果推測，戳三洞或許是最佳的物理傷害處理條件。

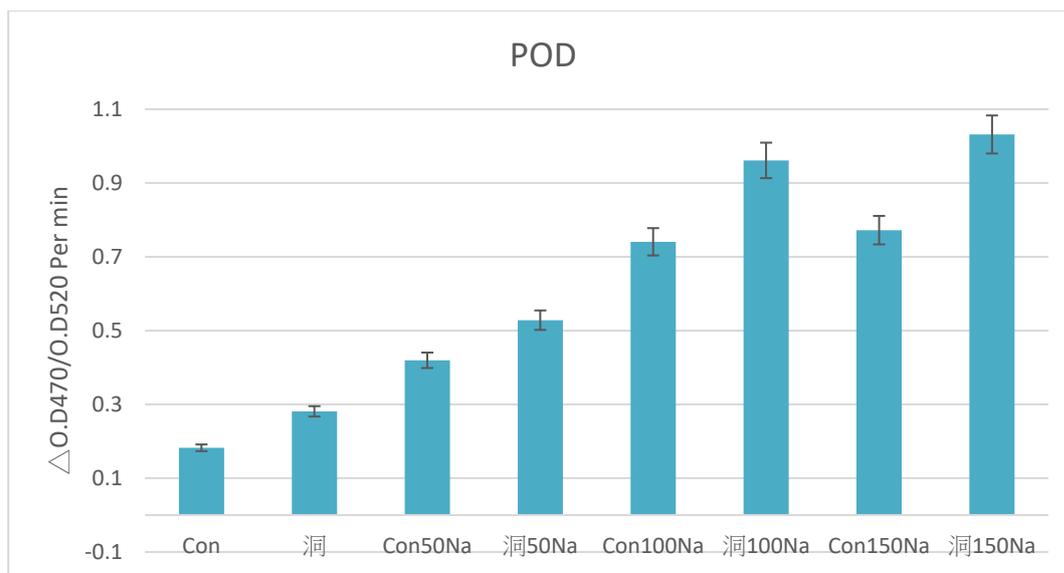
綜合比較 CAT 與 POD 的活性變化，當植物戳 2 洞時耐鹽能力提顯較不明顯，但 CAT 活性已經提升，而戳 3 洞植物耐鹽能力才有顯著提升，其中 POD 活性要戳 3 洞才會顯著上升，因此我們認為，CAT 活性上升對於提升綠豆耐鹽影響有限，而影響綠豆耐鹽能力的關鍵可能是 POD，需要戳到 3 洞誘發 POD 活性提升，綠豆才能具有明顯的耐鹽能力。

在我們了解戳洞的確會提升其 CAT 和 POD 的活性後，我們想知道，在面對危害時，CAT 與 POD 酵素的或性能否長期維持？藉此讓綠豆有能力的抗鹽逆境，因此我們將植物葉肉戳 3 洞後靜置 24 小時，接著在處理鹽逆境 6 天後測量綠豆葉片內的 POD 與 CAT 的活性。結果如下：



圖(5-3)鹽逆境後的 CAT 活性

可以發現戳洞和鹽逆境處理後，CAT 活性有提升的趨勢，代表植物在鹽逆境下能提升 CAT 活性來抵抗鹽逆境，但特別的事，有洞的組別，其在鹽處理下 CAT 活性會比沒戳洞的組別來的更高，表示戳洞後的 CAT 活性不只能可保持一段時間，甚至在鹽逆境下有著更顯著的提升，藉此保護植物提升耐鹽能力。當 150mM 鹽逆境時，綠豆內的 CAT 活性會低於 100mM，我們猜測，可能是植物生長嚴重受到損害，導致其 CAT 生產受到干擾，無法生產足夠的 CAT。

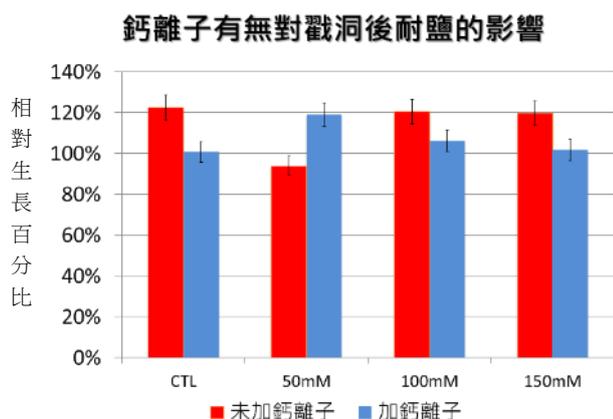


圖(5-4)鹽逆境後的 POD 濃度

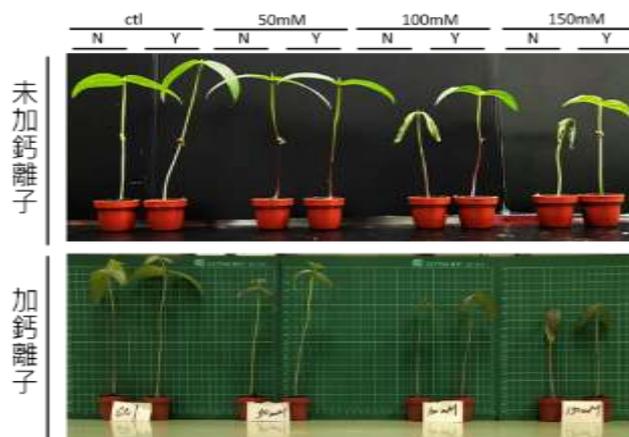
而 POD 活性變化也類似於 CAT，**戳洞後 POD 活性均比對沒有戳洞的組別來的更高，並能長時間的保持其活性以保護植物**，至 150mM 鹽逆境其趨勢依然明顯，也再次側面證明 POD 活性在植物對抗鹽逆境的重要性，藉此讓綠豆對更能抵抗鹽逆境。

六、戳洞使綠豆提升其抗鹽逆境能力的機制—鈣離子

我們從前面的實驗了解，植物可藉由提升抗氧化能力達到抗鹽逆境能力，但從戳洞到提升抗鹽能力並不應是一蹴而就，我們想要了解，當中是否還有過渡反應，而在文獻查詢時，我們發現鈣離子常作為植物面對逆境時的傳遞因子，因此我們猜測，戳洞會提升植物的鈣離子濃度進而提早啟動植物對抗逆境的內部機制，為了證明我們的猜想，我們首先添加鈣離子給植物吸收，並放入鹽逆境，實驗是否影響戳洞提升抗鹽逆境能力之效果。結果如下。

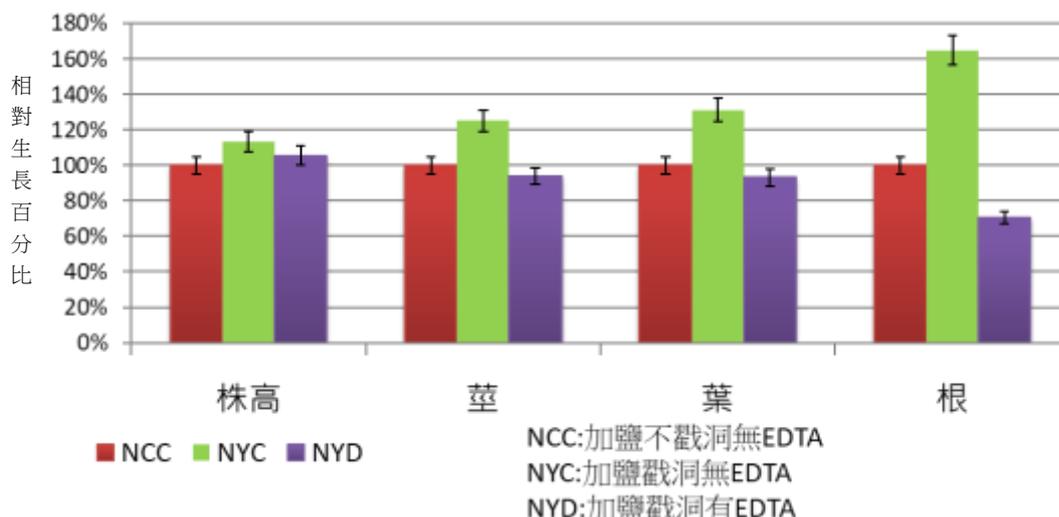


圖(6-1)有無加入鈣離子後植物葉莖淨重圖



圖(6-2) 綠豆有無加入鈣離子生長比較

從圖(6-1)可以發現在添加鈣離子後，戳洞對植物生長的影響減少，說明鈣離子可能是戳洞提升抗鹽逆境能力的傳遞因子，但為了更加確認鈣離子是否是戳洞提升植物抗鹽逆境的傳遞因子，我們使用 EDTA 離子螯合劑，將鈣離子螯合，放入鹽逆境，實驗是否影響戳洞之效果。結果如下。



圖(6-3) 有無加入 EDTA 後植物葉莖淨重



圖(6-4) 綠豆有無加入 EDTA 生長比較圖

從圖(6-3)可知，在加入離子螯合劑後，戳洞並沒有明顯提升植物抗鹽逆境能力，結合之前的實驗，我們認定鈣離子是植物提升抗鹽逆境的關鍵因子，再結合文獻所提，我們認為戳洞可以使植物提早提升鈣離子濃度，進而啟動植物抗逆境反應，進而在面對鹽逆境時，能有更好的抵抗能力。

陸、討論

1、植物可能具有物理傷害的感應機制

動物在接受物理傷害後，身上會產生生理反應來應對其物理傷害，例如：人類手握鉛筆，經常擠壓到的中指指節處會產生厚厚的一層繭，以減小物理傷害的影響，而植物在遭遇大自然的害蟲啃咬時，也同樣在面對物理傷害，本實驗中探討物理傷害對綠豆的影響，發現綠豆同樣具有感受物理傷害的能力，並改變其生長策略與生化機制，以提升耐鹽能力。因此我們推測，綠豆擁有感應物

理傷害的機制，並且會在接受到物理傷害後，啟動其保護機制，提高 POD、CAT 的活性來提升抗氧化能力。

2、物理傷害對綠豆的影響

我們可以由綠豆植株的莖、葉生長情形，發現在葉肉接受過物理傷害的綠豆，莖、葉面對鹽逆境或是鮮重重量的測量皆是生長較佳的，因此我們推測，適當的物理傷害能夠使綠豆生長情形更好，抗逆境能力有所提升。

進一步推測，或許害蟲在啃咬植物時，可能不只有單做「啃咬」這個動作，在啃咬的同時可能釋放出會抑制植株生長的物質，而那些物質造成植株生長的抑制，才導致植株的生長情況不佳，而這也可能是那些蟲之所以被稱為害蟲的更深層原因。

3、氧化物質可作為訊號分子

物理傷害會造成氧化物質累積，進而對植物造成損傷，本實驗藉由預先使植物接受物理傷害，使植物接受氧化物質傷害，並在實驗中得知，預先做戳洞處理的綠豆，其抗氧化傷害的能力有所提升，因此我們大膽推測，氧化物質能作為綠豆保護機制啟動的訊號分子，引導植株在面對逆境時增加抗性，使其生長情形改善。

4、POD 可能為綠豆提升耐鹽能力的關鍵

在實驗中我們得知，經過戳三洞於葉肉處理的綠豆，其耐鹽能力最為顯著，莖、葉的鮮重重量有所提升，在生化檢測的部分，POD 含量在戳三洞時為最高，與我們的實驗結果相符，反觀 CAT 的活性在兩洞的時候就有所提升，與我們的外表型鮮重重量觀察不符，因此我們推測 POD 是綠豆耐鹽能力提升的最主要酵素。

5、鈣離子可能為 CAT 活性上升的原因

從實驗中我們發現，CAT 活性會在戳洞後有所提升，我們也發現，鈣離子為植物戳洞後提升抗鹽逆境能力的傳遞因子，而在文獻中提到，鈣離子是 CAT 的輔因子，因此我們認為 CAT 活性在戳洞後的提升可能源於鈣離子濃度的提升。

柒、未來展望

我們希望能夠實驗更多植物檢測是否有類似的趨性，也希望實驗戳洞能否提升植物在對抗其他逆境的能力，也測試不同傷害方式和不同傷害程度，找出不抑制植物正常生長且擁有最高抗鹽逆境能力，期望未來將其推廣至農業應用，盼其使植物面對天災人禍時能有更好的抵抗能力，或使土壤些微鹽鹼化的地區擁有更好的收穫。

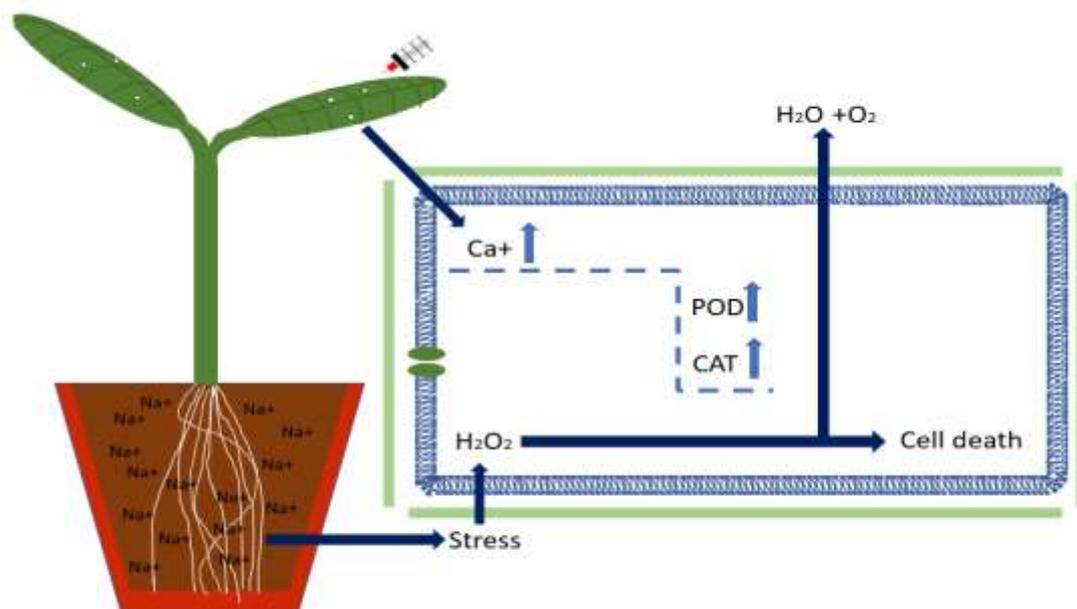
捌、結論

從本研究發現，**綠豆會因受到傷害而成長的更好，也能提升在鹽逆境中的耐受力**。從外表來看，戳過洞的綠豆在高度上成長較高，鮮重的部分也較重，比較不同戳洞數時，也發現洞數越多，能令兩者的差距更為明顯。而且位於鹽逆境時，戳過洞的鮮重和高度，比起沒戳過洞的在蒸餾水中相差更顯著。另外，再以戳洞部位的不同進行觀察，我們發現在葉脈戳洞的效果，因為傷及維管束組織，可能傷害過大，所以沒有葉肉戳洞的差距來的穩定與明顯。

生化方面，即使過氧化氫酶(CAT)的變動並沒有明顯的趨勢，但有戳過洞的綠豆數值比較高，而過氧化酶(POD)則是在一到三洞時呈正相關。在鹽逆境中，CAT 和 POD 在戳洞綠豆中的量較高，因此推測戳洞能讓 CAT 和 POD 酵素活性增加，再者 POD 的數值隨著鹽水濃度增加而增高，在 150mM 的鹽水濃度中，無論是否經過戳洞，兩者的 POD 濃度上升四至五倍，而在此鹽水滲透壓更高的情況下，實驗組與對照組的 POD 濃度差距更大，可推測 POD 應是主要減緩綠豆在鹽水中所受的氧化傷害，讓綠豆在逆境中耐受力更高。

鹽水逆境會造成植物體內過氧化氫的堆積，進而造成細胞死亡，戳洞令植物提前啟動抗氧化機制，將累積的過氧化氫分解，減少氧化的傷害，所以在鹽水中能有更好的生長能力，即使沒有鹽水的情況下，實驗組的生長狀況因為酵素濃度的增高，而有更好的成長能力。

從本研究可知，事先令植物受傷能讓過氧化酶和過氧化氫酶的活性增加，若是能將抗氧化酵素一開始就植入植物體內，令植物一開始就可以減緩氧化的傷害，就可以在農業方面進行應用，讓植物的產量可以提升，或是在突如其來的天災造成逆境時，能有較佳的生存能力。



玖、參考文獻及其他

1. 巴洛克、王定澤、楊茜雯(2017)·粟之高禾—探討小米不為人知的耐鹽機密·臺南市：天主教私立德光高級中學(附設國中)。
2. 蘇榆茜、孫偉哲、周柏仰(2016)「暗藏殺機的許願池」-探討硬幣水對浮萍生長的影響及其生存機制，臺南市：天主教私立德光高級中學(附設國中)。
3. Jonathan D. G. Jones, Jeffery L. Dangl(2006). The plant immune system. *Nature* 444, 323–329.
4. 陳敬文、蕭崇彥、陳昱丞(2020)，「醛」面啟動—探討肉桂醛提升綠豆耐鹽能力的機制，臺南市：天主教私立德光高級中學(附設國中)。
5. Zhu JK (2007) Plant salt stress. In: *Encyclopedia of life sciences*.
6. Saha P, Chatterjee P, Biswas AK (2010) NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense system and osmolyte accumulation in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Indian J Exp Biol* 48:593–600

【評語】 060003

1. 實驗設計周詳，由物理傷害至耐鹽性有詳細連結。
2. 鈣離子所扮演的角色宜進一步釐清。
3. 團隊合作及成果表達均佳。
4. 宜加強結果的統計分析，以得知差異性是否顯著。