

## 高等植物非葉綠色組織之葉綠素 a/b 比值

楊棋明<sup>1\*</sup> 吳雅婷<sup>1</sup> 劉翠雅<sup>1</sup> 黃文達<sup>2</sup> 黃秀鳳<sup>2</sup> 趙璧玉<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 中央研究院植物研究所暨生物多樣性研究中心副研究員、助理、助理。

<sup>2</sup> 國立台灣大學農藝學系講師、技士。

<sup>3</sup> 中國文化大學營養學系副教授。

\*通訊作者, Email: [cmyang@gate.sinica.edu.tw](mailto:cmyang@gate.sinica.edu.tw)

**摘要:**本文有系統的檢測 22 種野生高等植物之葉片及其 68 個非葉綠色組織(non-leaf green tissue, NLGT)之葉綠素含量及 a/b 比值。非葉綠色組織包括莖、果柄、果實、果皮、花萼、花瓣、花柄、花苞、葉柄、芽、或種子等。當葉片的葉綠素含量介於 1230  $\mu\text{g/g}$  與 4349  $\mu\text{g/g}$  而平均值是 2733  $\mu\text{g/g}$  時,非葉綠色組織則介於 30  $\mu\text{g/g}$  與 1749  $\mu\text{g/g}$  而平均值是 315  $\mu\text{g/g}$ , 兩者相差約 8.5 倍。當葉片的葉綠素 a/b 比之平均值約為  $3.09\pm 0.45$  時,非葉綠色組織則約為  $2.80\pm 0.56$ 。與文獻紀錄比較,非葉綠色組織可能可以視為葉片的另一種缺葉綠素突變種(chlorophyll-deficient mutant)。此隱含著,許多陸生非葉綠色組織已演化出類似於葉片之葉綠體及其類囊膜系統之形態與結構,但因葉綠素含量之大幅減少,非葉綠色組織之光合作用總產量可能遠低於葉片。依此推論,高等植物兩光合系統之演化,可能先達成系統平衡,而後再增加兩系統之數量。

**關鍵詞:** 高等植物、非葉綠色組織、葉綠素含量、葉綠素 a/b 比、缺葉綠素突變種。

## Chlorophyll a/b ratios of the non-leaf green tissues in higher plants

Chi-Ming Yang<sup>1\*</sup>, Yea-Teng Wu<sup>1</sup>, Tsui-Ya Liu<sup>1</sup>, Wen-Dar Huang<sup>2</sup>, Shiu-Feng Huang<sup>2</sup>, and Pi-Yu Chao<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Associate Professor, Institute of Botany and Research Center for Biodiversity, Academia Sinica. Corresponding author: email: cmyang@gate.sinica.edu.tw.

<sup>2</sup>Lecturer and Technician, Department of Agronomy, National Taiwan University.

**Abstract:** This research systematically investigated the content of chlorophyll a and b (Chl a+b), and Chl a/b ratios of 22 higher plant leaves and their 68 non-leaf green tissues (NLGT), such as fruit skin, seed coat, cotyledon, sepal, petal, stem skin, and so forth. While the average Chl a+b content of leaf is 2733  $\mu\text{g/g}$ , that of NLGT is 315  $\mu\text{g/g}$ , the former is about 8.5 fold of the latter. The Chl a/b ratio is  $3.09\pm 0.45$  in leaf, whereas that is  $2.80\pm 0.56$  in NLGT. Compared with literature, NLGT may be treated as a group of chlorophyll-deficient mutant of normal leaf. The data indicated that terrestrial higher plants have evolved chloroplast and thylakoid membrane similar to their corresponding leaf. However, the low quantity of Chl a+b content may cause the lower photosynthetic total productivity. It is expected that the two photosystems were evolved to balance first, then to increase the photosynthesis productivity.

*Keywords:* Chlorophyll a/b ratios, non-leaf green tissues, higher plants, chlorophyll content.

## 前言

葉綠素(chlorophyll, Chl)是自然界負責捕捉光線，以進行光合作用產生氧氣及醣類，和建立地球上生物食物鏈的基礎之綠色色素，普遍存在於植物、藻類及光合細菌。沒有葉綠素，日光與地球上的生物將缺乏連結點，地球的生態現狀與目前已知的生態理論勢必全部改寫。

高等植物的葉綠素都與類囊膜(thylakoid membrane)上某些特殊蛋白質以非共價鍵結方式結合成色素蛋白複合體(pigment-protein complex)，以提高捕捉日光能和光合作用效率(Markwell *et al.*, 1979)。高等植物的葉綠素分為 a 及 b 二種型式，即為葉綠素 a 及 b(Chl a 及 Chl b)，兩者之化學結構大同小異。Chl a 及 Chl b 分佈於所有的色素蛋白複合體，有些複合體只含 Chl a，有些同時含有 Chl a 和 Chl b。故色素蛋白複合體的 Chl a+b 數量及 Chl a/b 比則都不同。Chl a 同時擔任捕光與價分離(charge separation)兩種功能，而 Chl b 則只擔任捕光功能。Chl b 是輔助色素，基本上擔任三種重要功能：(一)捕光，但未介入首次光化學反應(Michel *et al.*, 1983)；(二)做為類胡蘿蔔素及 Chl a 間能量傳遞的中介者，以增加兩種分子間能量傳導的速率(Bellemare *et al.*, 1982)；和(三)保護與其結合之蛋白質，避免蛋白質之崩解(Goedheer, 1972)。含不同 Chl a+b 數量及 Chl a/b 比的色素蛋白複合體，大幅增加單純 Chl a 和 Chl b 對日光能的吸收波段，故能大幅增加陸生植物對太陽能的利用。大部份的 Chl b 分佈於葉綠餅(grana)的色素蛋白複合體 LHCII，亦即 Chl b 是與第二光系統(photosystem II, PSII)一起輔演化(co-evolution)。因此，根據 Chl a+b 含量與 Chl a/b 比，可以推測葉綠體的形態、結構與功能。

面對光質、光量、光度、光週期之變化，植物適應方法之一就是調控其 Chl a+b 含量及 Chl a/b 比。陽性植物(sun plant)之 Chl a/b 比約為 3，而陰性植物(shade plant)則較低，亦即後者含有較高量的 Chl b (Boardman, 1977)。由於 Chl a 及 Chl b 之合成過程很相似，植物體可能存在著調控 Chl a+b 含量及 Chl a/b 比之機制(Yang *et al.*, 1993)。不同種的植物葉，其 Chl a+b 含量及 Chl a/b 比就存在著差異，譬如：C<sub>3</sub> 植

物與 C<sub>4</sub> 植物之間, C<sub>4</sub> 植物的葉肉細胞與束鞘細胞之間(Chang and Troughton, 1972), 或一些葉片的葉綠素缺乏突變種(Chl-deficient mutant)。通常後者之 Chl a+b 含量大幅減少, 而 Chl a/b 比則超過 4 甚或達到∞ (Yang *et al.*, 1993)。

由於長期以來, 絕大部分文獻都紀錄各種各類植物葉片的 Chl a+b 含量及 Chl a/b 比, 只有極少數文獻針對豆莢、種皮等非葉綠色組織(non-leaf green tissue, NLGT)進行 Chl a+b 含量及 Chl a/b 比之測定(Yang *et al.*, 1995)。但迄今, 仍無人針對葉子以外的非葉綠色組織之 Chl a+b 含量及 Chl a/b 比, 進行有系統的檢測與比較。因此, 本文首度就此問題進行系統性的初步探討。

## 材料與方法

### 一、植物

所有植物都在距離中央研究院三公里半徑內之登山步道旁隨機採集回來, 總共 22 種植物, 及其 68 個非葉綠色組織之樣品(表一)。這些植物所處環境較相似, 可以消除環境因子對葉綠素生合成之影響。新鮮樣品採回後, 馬上進行樣品分類, 以液態氮急速冷凍, 以研鉢磨成細緻粉末, 進行冷凍乾燥後, 儲於攝氏零下 70 備用。

### 二、葉綠素之測定

以 80% 丙酮萃取凍乾之樣品, 於常溫下 2000 g 離心 5 分鐘, 取上清液 以 Hitachi U-2000 光譜儀測量上清液在 663.6 nm 及 646.6 nm 之吸收值 根據 Porra *et al.* (1989) 方法計算 Chl a 及 Chl b 之含量及 Chl a/b 比。含量單位為每 g 乾重(dry weight, DW) 樣品所含之色素。

## 結果與討論

每一種高等植物葉的 Chl a+b 含量都比同一植物體上非葉綠色組織的高很多(圖一)。在檢測的 22 種植物中, 當葉片的 Chl a+b 介於 1230 µg/g(碎米莎草)與 4349

$\mu\text{g/g}$ (竹葉草)之間時，大部份則介於  $2000 \mu\text{g/g}$  及  $3200 \mu\text{g/g}$  之間，而其平均含量為  $2733 \pm 1236 \mu\text{g/g}$  而非葉綠色組織則介於  $30 \mu\text{g/g}$ (中國穿鞘花的莖)與  $1749 \mu\text{g/g}$ (竹葉草的花柄)之間，絕大部份則低於  $500 \mu\text{g/g}$ ，其平均含量為  $315 \pm 308 \mu\text{g/g}$ 。雖然竹葉草花柄的 Chl a+b 含量高達  $1749 \mu\text{g/g}$ ，超過碎米莎草和中國穿鞘花的葉，但其葉片的 Chl a+b 含量則更高達  $4349 \mu\text{g/g}$ 。因此，葉片與非葉綠色組織兩者的 Chl a+b 含量之歧異度都很大；前者含量之平均值是後者的約 8.5 倍。

在 Chl a/b 比值方面，葉片與非葉綠色組織兩者間之差異較小，但葉片之平均比值仍是稍大於非葉綠色組織(圖二)。當葉片是  $3.09 \pm 0.45$  時，非葉綠色組織則為  $2.80 \pm 0.56$ ，兩者之歧異度顯然較小。

相對於正常綠葉，絕大部份的非葉綠色組織之 Chl a+b 含量都大幅減少，此類似於葉綠素缺乏突變種之含量水準(Yang *et al.*, 1990; Yang *et al.*, 1993)。但其 Chl a/b 比值則相反，當所有葉綠素缺乏突變種之比值都大於正常綠葉，且都大於 4 時，而非葉綠色組織則稍低於正常綠葉。

依 Chl a+b 含量及 Chl a/b 比值看，被檢測的這 22 種陸生高等植物之葉片及其相應之非葉綠色組織之葉綠體及其類囊膜之形態與結構有同有異，兩者都擁有兩個光合系統，但因非葉綠色組織 Chl a+b 含量少許多，其兩個光合系統之數目可能也少許多。由於大部份 Chl b 存在於葉綠餅的色素蛋白複合體 LHCII 上，而 LHCII 則影響葉綠餅的摺疊(grana stacking) (Allen, 1992; Bennet, 1992)，而非葉綠色組織的 Chl b 含量大幅減少，故其葉綠餅的厚度或寬度可能異於正常葉片，葉綠餅之數目也可能較少。若把非葉綠色組織視為正常葉的一群缺葉綠素突變種，則此類非葉綠色組織除了 Chl a+b 大幅減量與葉片的缺葉綠素突變種相似外，另外還產生不同且多樣化的立體形狀，而其 Chl a/b 比也明顯不同，遠低於葉片的缺葉綠素突變種。

此也顯示在演化過程中，非葉綠色組織雖已逐步演化出與其葉片相似形態與結構之葉綠體，且進行相似於葉片之光合作用效率，但光合作用總產量則可能少於葉片。亦即，陸生高等植物發展出非葉綠色組織，有助於減輕葉片光合作用產物長途運輸到發育中的繁殖器官：花、果實及種子，此包括花萼、花苞、果皮、果肉、種皮、子葉等非葉綠色組織。當然，以上所描述的基本上屬於推論範疇，此須更進一步以電子顯微鏡觀察非葉綠色組織類囊膜之形態與結構，並進行光合作用之各種指標測定，以便與其相對應之葉片相互比較，才能加以印證。

由以上結果，可進一步做如下之推論：高等植物兩個光合系統之演化，可能先追求二光合系統之出現以達成系統間之平衡，以達到較完美之光合作用效率，而後才逐漸增加兩光合系統之數量，以增加光合作用之總產量。此須未來更多的資料佐證。

### 參考文獻

- Allen, J.F. (1992) Protein phosphorylation in regulation of photosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1098: 275-335.
- Bellemare, G., S.G. Barlett, and Chua, N.H. (1982) Biosynthesis of chlorophyll a/b-binding polypeptides in wild type and the chlorine *f2* mutant of barley. *J. Biol. Chem.* 257: 7762-7767.
- Bennet, J. (1991) Protein phosphorylation in green plant chloroplasts. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 42: 281-311.
- Boardman, N.K. (1977) Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28:355-377.
- Chang, F.H. and J.H. Troughton. (1972) Chlorophyll a/b ratios in C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> plants. *Photosynthetica*, 6:57-65.
- Dale, M.P. and D.R. Causton. (1992) Use of the chlorophyll a/b ratios as a bioassay for the light environment of a plant. *Functional Ecol.* 6:190-196.
- Goedheer, J.C. (1972) Fluorescence action spectra of algae and bean leaves at room and at liquid nitrogen temperatures. *Biochim. Biophys. Acta* 102: 73-89.
- Markwell, J.P., J.P. Thornber, and R.T. Boggs. (1979) Higher plant chloroplasts: evidence that all the chlorophyll exists as chlorophyll-protein complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*

USA 76: 1233-1235.

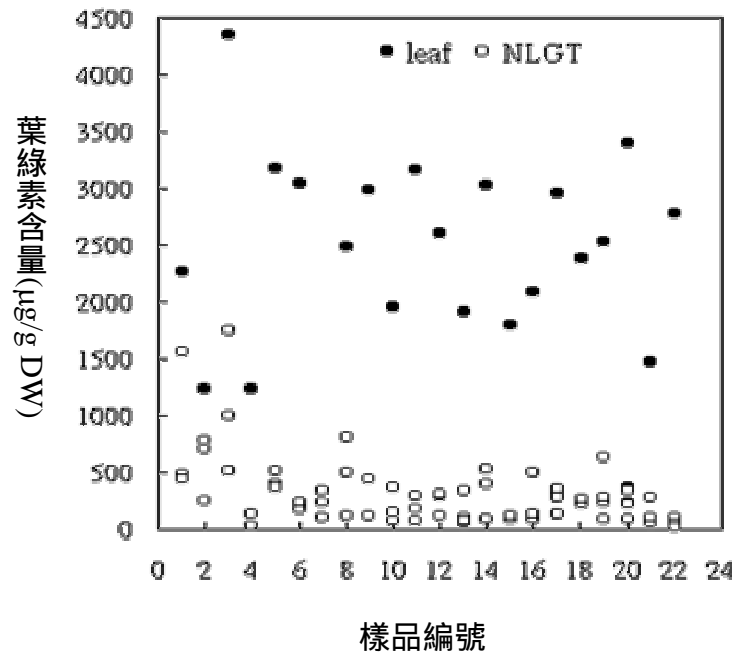
- Michel, H.P., D.F. Hunt, J. Shabanowitz, and J. Bennet. (1983) A chlorophyll b-less mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* lacking in the light-harvesting chlorophyll a/b-protein complex but not in its apoproteins. *Biochim. Biophys. Acta* 725: 417-424.
- Porra, R.J., W.A. Thompson, and P.E. Friedelman. (1989) Determination of accurate extraction and simultaneously equation for assaying chlorophyll and b extracted with different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 975: 384-394.
- Yang, C.M., J. C. Osterman, and J.P. Markwell. (1990) Temperature sensitivity as a general phenomenon in a collection of chlorophyll-deficient mutants of sweetclover (*Melilotus alba*). *Biochemical Genet.* 28: 31-40.
- Yang, C.M., J.C. Hsu, and Y.R. Chen. (1993) Light- and temperature-sensitivity of chlorophyll-deficient and virescent mutants. *Taiwania* 38:49-56.
- Yang, C.M., J.C. Hsu, and C.F. Shih. (1994) Response of chlorophyll a/b ratios in Yuan-Yang Lake Bryophytes to the alteration of light intensity. *Proc. Natl. Sci. Coun. ROC. B.* 18:134-137.
- Yang, C.M., J.C. Hsu and Y.R. Chen. (1995) Analysis of pigment-protein complexes in mungbean testa. *Plant Physiol. Biochem.* 33: 135-140.

表一、植物學名與其非葉綠色組織。

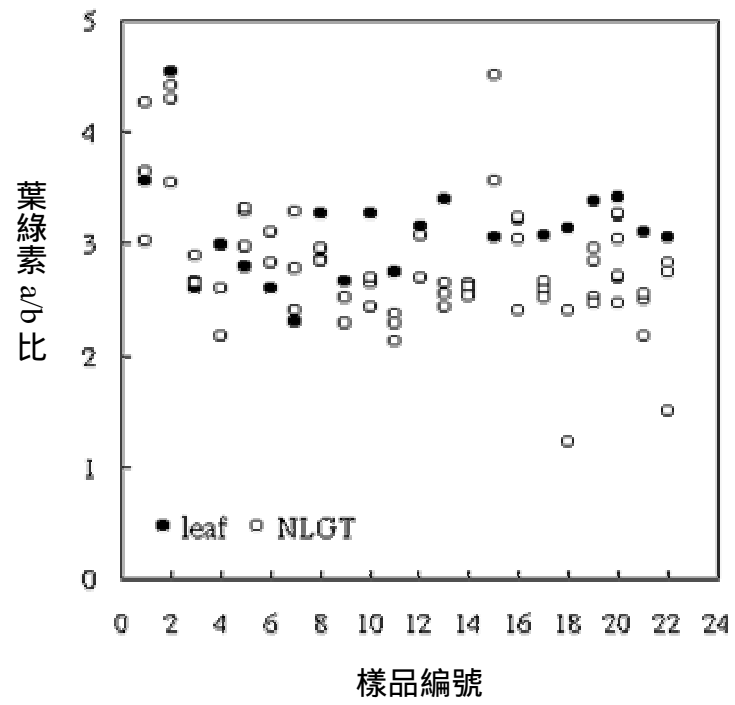
Table 1. Plant scientific names and their non-leaf green tissues.

| 編號 | 植物名稱  | 學名   | 非葉綠色組織     |
|----|-------|--|------------|
| 1  | 牛筋草   | <i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn                                   | 莖、果柄、果實    |
| 2  | 碎米莎草  | <i>Cyperus iria</i> L.   | 莖、果柄、果實    |
| 3  | 竹葉草   | <i>Oplismenus compositus</i> (L.) P. Beauv                           | 莖、花柄、種子    |
| 4  | 中國穿鞘花 | <i>Amischotolype hispida</i> (Less. & Rich.) Hong                    | 莖、花瓣       |
| 5  | 地膽草   | <i>Elephantopus mollis</i> Kunth                                     | 莖、花柄、種子    |
| 6  | 鵝掌柴   | <i>Schefflera octophylla</i> (Lour.) Harms                           | 莖、花苞       |
| 7  | 野棉花   | <i>Urena lobata</i> L.   | 莖、葉柄、花     |
| 8  | 月橘    | <i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack var. <i>paniculata</i>           | 莖、果柄、果實    |
| 9  | 瑪瑙珠   | <i>Solanum diphyllum</i> L.  | 莖、果實       |
| 10 | 九節木   | <i>Psychoria rubra</i> (Lour.) Poir                                  | 莖、果柄、果實    |
| 11 | 柄果苧麻  | <i>Boehmeria blinii</i> Levl. Var. <i>podocarpa</i> W. T. Wang       | 莖、葉柄、花     |
| 12 | 烏臼    | <i>Sapium sebiferum</i> (L.) Roxb                                    | 葉柄、果柄、果實   |
| 13 | 水冬瓜   | <i>Saurauia tristyla</i> DC. Var. <i>oldhamii</i> (Hemsl)            | 莖、葉柄、花柄、花苞 |
| 14 | 珊瑚櫻   | <i>Solanum pseudocapsicum</i> L.                                     | 莖、果柄、果實    |
| 15 | 大花曼陀羅 | <i>Brugmansia suaveolens</i> (Willd.) Bercht & Presl                 | 花瓣、花萼      |
| 16 | 美人蕉   | <i>Camelia indica</i> L.   | 莖、花萼、果皮    |
| 17 | 茶花    | <i>Camelia japonica</i> L.   | 莖、葉柄、花苞、芽  |
| 18 | 雞屎藤   | <i>Paederia foetida</i> L.   | 莖、果實       |
| 19 | 樹蘭    | <i>Aglaia odorata</i> Lour   | 莖、葉柄、果柄、果實 |
| 20 | 海州常山  | <i>Clerodendrum trichotomum</i> Thunb                                | 莖、葉柄、花柄、   |
| 21 | 森氏紅淡比 | <i>Cleyera japonica</i> Thunb. Var. <i>morii</i> (Yamamoto) Masanune | 莖、葉柄、果柄、果實 |
| 22 | 紫珠    | <i>Callicarpa</i> spp.   | 莖、葉柄、果實    |





圖一、二十二種高等植物葉片及其六十八個非葉綠色組織樣品之葉綠素含量。  
 Fig. 1. Chlorophyll a+b content of 22 higher plants and their 68 samples of non-leaf green tissues.



圖二、二十二種高等植物葉片及其六十八個非葉綠色組織樣品之葉綠素 a/b 比。

Fig. 2. Chlorophyll a/b ratios of 22 higher plants and their 68 samples of non-leaf green tissues.