

## 三種不同顏色甘藷葉片葉綠素合成能力之分析

黃秀鳳<sup>1</sup>、黃文達<sup>1</sup>、許明晃<sup>2</sup>、楊志維<sup>2</sup>、趙璧玉<sup>3</sup>、張新軒<sup>1</sup>、蔡養正<sup>1</sup>、楊棋明<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>國立臺灣大學農藝學系

<sup>2</sup>中央研究院植物研究所暨生物多樣性研究中心

<sup>3</sup>中國文化大學營養學系

### 摘要

本研究以綠(桃園 2 號)、黃及紫三種不同顏色甘藷葉片為材料,探討其葉片之吸收及反射光譜特徵,及比較添加 5 氦 4 酮-戊酸(ALA)後其葉綠素(Chl)含量及 Chl a/b 比值之變化,及葉綠素合成途徑之三種吡啉(PPIX、MGPP 及 Pchl<sub>ide</sub>)之含量及其莫耳百分比之變化。結果顯示,三種甘藷葉片之 Chl 合成速率是:紫色>綠色>黃色,綠色及黃色甘藷葉片之吡啉莫耳百分比分佈相似,紫色甘藷葉片則展現不同的形態。黃色甘藷葉片對 Chl a 及 Chl b 合成的調控能力不如其它二種甘藷葉片。這三種甘藷葉片似乎可在黑暗中合成 Chl, ALA 對三種甘藷葉片 Chl 合成途徑之 Pchl<sub>ide</sub> 莫耳百分比並無影響,對綠色及黃色二種甘藷葉片之 MGPP 莫耳百分比則有顯著抑制,而對三種甘藷葉片之 PPIX 莫耳百分比則有顯著促進,因此,這三種不同顏色甘藷葉片擁有不同的調控 Chl 合成之能力,而自我調適以面對環境變遷之機制也明顯不同。而這些調控機制迄今仍是謎,有待進一步研究。

**關鍵詞:** 甘藷葉、吸收及反射光譜、5 氦 4 酮-戊酸、葉綠素、吡啉、莫耳百分比。

\* 通信作者, cmyang@gate.sinica.edu.tw

投稿日期: 2004 年 1 月 5 日

接受日期: 2004 年 2 月 10 日

作物、環境與生物資訊 1:47-54 (2004)  
Crop, Environment & Bioinformatics 1:47-54 (2004)  
189 Chung-Cheng Rd., Wufeng, Taichung Hsien 41301,  
Taiwan (ROC)

### Different Capacities of Chlorophyll Biosynthesis in Leaves of Three Sweet Potatoes

Shiu-Fong Huang<sup>1</sup>, Wen-Dar Huang<sup>1</sup>, Ming-Huanq Hsu<sup>2</sup>, Zhi-Wei Yang<sup>2</sup>, Pi-Yu Chao<sup>3</sup>, Shin-Shinge Chang<sup>1</sup>, Yang-Zenq Tsai<sup>1</sup> and Chi-Ming Yang<sup>1, 2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy, National Taiwan University, Taipei, Taiwan (ROC)

<sup>2</sup> Institute of Botany and Research Center for Biodiversity, Academia Sinica, Nankang, Taipei, Taiwan (ROC)

<sup>3</sup> Department of Food and Nutrition, Chinese Culture University, Hwa Kang, Yangmingshan, Taipei, Taiwan (ROC)

### ABSTRACT

This study used green, yellow and purple varieties of sweet potato as materials to explore their absorptance and transmittance spectra characters, and to compare the change of Chl content and Chl a/b ratio, and the three porphyrin contents and their mole percentages, including PPIX, MGPP and Pchl<sub>ide</sub>. The chlorophyll synthesis rate was in the order of purple > green > yellow. The mole percentages of porphyrins in green and yellow sweet potatoes leaves were similar to each other, but were quite different in leaves of purple sweet potato. The regulation capacity of chlorophyll content and a/b ratio in green and purple sweet potatoes

**縮寫字:** 5 氦 4 酮-戊酸, δ-aminolevulinic acid (ALA); 葉綠素, chlorophyll (Chl); 原吡啉 IX, protoporphyrin IX (PPIX); 鎂吡啉 IX, magnesium protoporphyrin IX (MGPP); 葉綠素原, protochlorophyllide (Pchl<sub>ide</sub>).

leaves were better than those in yellow sweet potato leaves. Supplementation of  $\delta$ -aminolevulinic acid (ALA) did not influence the mole percentage of Pchl $a$  in leaves of these three sweet potatoes, but it did inhibit the mole percentage of MGPP in leaves of green and yellow varieties and promoted the mole percentage of PPIX in leaves of all varieties. Results suggest that the capacity in regulating chlorophyll quality and quantity and the adaptation to environmental change of these three sweet potato leaves may be different. The regulatory mechanism needs further investigation.

**Key words:** Sweet potato leaves, Absorbance and transmittance spectra,  $\delta$ -aminolevulinic acid, Chlorophyll, Porphyrin, Mole percentage.

## 前言

高等植物葉片進行光合作用時捕捉日光輻射能所需之色素均由葉綠素(chlorophyll, Chl)和類胡蘿蔔素(carotenoid, Car)擔任。這些光合色素,均以非共價鍵結合(non-covalent binding)方式與特定蛋白質結合成所謂的色素蛋白複合體(pigment-protein complexes),而位於葉綠體之類囊膜上(Markwell *et al.* 1979)。高等植物的Chl分為Chl *a*及Chl *b*,正常植物的葉片均可合成,而其Chl *a/b*比值在正常狀況下約為3 (Chang and Troughton 1972)。

迄今已在某些植物上,發現有Chl缺乏突變種(Chl-deficient mutant),例如水稻、大麥、豌豆、玉米、小麥、甜苜蓿、單胞藻(Markwell *et al.* 1986, Yang *et al.* 1990, Yang *et al.* 1993)及黃金桔(Yang *et al.* 1995, Chen and Yang 1995)。該等突變種大部份均為農作物。Chl缺乏突變種可分為兩類,一為Chl *b*產生量較少,稱之為Chl *b*缺乏突變種(Chl *b*-deficient mutant),通常此種

植物Chl *a/b*比值大於4,葉色為淡黃綠色;另一種則幾乎測不到Chl *b*,稱為無Chl *b*突變種(Chl *b*-lacking mutant),其Chl *a/b*比值接近無限大(King 1991, Yang *et al.* 1993)。通常,Chl缺乏突變種都有較高的Chl *a/b*比值,較低的Chl總量,無正常堆疊的葉綠餅(stacked grana),且幾無例外,Chl缺乏突變種均對溫度及光線極為敏感(Yang *et al.* 1990, Yang *et al.* 1995, Chen and Yang 1995)。但迄今也有三個例子顯示,即使缺乏或無Chl *b*,仍有正常堆疊的葉綠餅;亦即缺乏或無色素蛋白複合體LHCII,仍有正常的葉綠體形態(Nakatani and Baliga 1985, Quijia *et al.* 1988, Yang and Chen 1996)。另外,在紅糖(*Machilus thunbergii*)葉片下表皮癭蝨蟲癭之光合色素含量遠低於被感染葉片,而電子顯微鏡顯示,成熟蟲癭仍擁有正常摺疊的葉綠餅(grana)及類囊膜形態(Yang and Yang 2004)。事實上,高等植物光合作用可以不需要Chl *b*(King 1991),因為如上所述,自然界也存有無Chl *b*突變種之植物,其Chl *a/b*比值在正常狀況下為無限大,但仍能開花結果,繁衍後代。

通常Chl *a*及Chl *b*之含量會隨環境而調節,且其Chl *a/b*比值亦隨環境而改變。正常植物在強光下,其Chl *a/b*比值稍高於3,在弱光下此比值則小於3。陰性植物(shade plant)因長期處於弱光環境,其Chl *a/b*比值低於3,而陽性植物(sun plant)因處於較強光環境,其Chl *a/b*比值通常高於3 (Boardman 1980, Yang *et al.* 1994)。因此,Chl *a/b*比值也可作為植物適應光環境的指標(Dale and Causton 1992, Yang *et al.* 1994)。

先前研究顯示,紫色及綠色甘藷葉Chl及其代謝物、Car之含量皆明顯高於黃色

葉·Chl·Phe 及 LP Car 等極性較小之代謝物，其含量隨著葉位或葉齡的增加而增多，而吡琳(PPIX·MGPP·Pchlide)·Chlide 及 MP Car 等極性較大之代謝物，其含量則隨著葉位的增加而降低。三種甘藷葉在幼葉階段，其 Chl 崩解以 Chl→Chlide→Pho 為主要途徑，而以 Chl→Phe→Pho 為次要途徑。而隨著葉片逐漸成熟與老化，其 Chl 崩解之主要途徑變為 Chl→Phe→Pho，而次要途徑則改為 Chl→Chlide→Pho(Hsu *et al.* 2003a)。亦即，同一植物之不同葉齡葉片，其 Chl 崩解途徑似有選擇性。此也引起類似的問題，即同一植物上葉齡不同的葉片，其 Chl 合成途徑是否也有選擇性。

本文針對三種不同葉色(色素組成)之甘藷葉片，添加 Chl 合成的先驅物 5 氫 4 酮-戊酸( $\delta$ -aminolevulinic acid, ALA)，以分析其葉片 Chl 及吡琳合成途徑的差異。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

本研究以三種葉色的甘藷變種，即黃葉與紫葉品種及綠葉品種(桃園 2 號)為材料，單本插植於盆鉢後置於溫室。插植時取 5 節之甘藷莖先端苗，將 3 節埋入土中。生長三週後，取自頂端往基部算起葉身完全展開之第 3 葉位(leaf position)之葉片，進行各種色素之測定。

### 二、葉片光譜測定

摘取第 3 葉位之葉片，切割適當大小且不含主葉脈，使可直接且垂直插入 Hitachi U-2000 分光光度計之樣品槽。葉片上表皮面向光源，分別測其相對吸收及透光譜(absorbance and reflectance spectra)。掃描速度均為每秒 600 nm。

### 三、光合色素測定

根據 Yang *et al.* (1998)所建立之方法進行測定。甘藷樣品以液態氮急速冷凍並以研鉢磨成細粉後，以 80% 丙酮萃取色素，經 4,500 rpm 離心 5 分鐘，取上清液，再以 Hitachi U-2000 分光光度計測定  $A_{663.6}$ 、 $A_{646.6}$ 、 $A_{440.5}$  的吸收值。三者分別為 Chl *a*、Chl *b* 及 Car 的強吸收處。以 Porra *et al.* (1989)的公式計算 Chl *a* 與 Chl *b* 的含量；並以 Holm (1954)的方法計算 Car 的含量。

### 四、吡琳的測定及其莫耳百分比

吡琳的測定，以丙酮層的  $A_{575}$ 、 $A_{590}$ 、 $A_{628}$  之吸收值分別是 PPIX、MGPP 及 Pchlide 的吸收值，以 Kahn *et al.* (1976)之公式計算其濃度。前述三種吡琳的莫耳百分比計算如下： $[(\text{個別吡琳含量})/(\text{三種吡琳總含量})] \times 100\%$ 。亦即， $[PPIX(\text{或 MGPP 或 Pchlide})/(PPIX+MGPP+Pchlide)] \times 100\%$ 。

### 五、ALA 對葉綠素合成能力之影響

每種顏色甘藷葉片，含葉柄各取 20 片。其中 10 片做為對照組，葉柄置於含 10 mM sucrose、5 mM  $MgCl_2$  之培養液中。其餘 10 片做為實驗組，其葉柄置於相同培養液中，另加入 5 mM 5 氫 4 酮-戊酸(ALA)。兩組葉片於常溫下置於完全黑暗中 24 小時後採收，以液態氮急速冷凍進行光合色素之測定，以探討 ALA 對葉綠素合成能力之影響。採收亦在黑暗中完成。

## 結果與討論

綠、黃及紫色三種甘藷葉片最明顯差異在顏色的表現不同，而葉片顏色主要由其所含之色素種類及含量而定，其差異可能影響葉片對光線之反射，甚或影響光線之吸收及穿透。

### 一、葉綠素(Chl)

三種不同顏色甘藷葉片光合色素含量之差異極大：各種色素含量均以黃色葉片最少，而以紫色葉片最高(Table 1)。在 Chl 含量方面，綠色及紫色葉片分別是黃色葉的約 3.2 及 4.3 倍。在 Chl a/b 比值方面，綠色及紫色甘藷葉片大致介於正常高等植物的範圍，分別是 3.5 及 2.6 左右，前者比後者稍大；而黃色葉 Chl a/b 比值則超過 4.5。此結果與先前研究之資料相符合(Hsu *et al.* 2003a, Hsu *et al.* 2003b)。這些資料顯示，甘藷葉片在 Chl 總量的累積速率方面，是：紫色 > 綠色 > 黃色；但 Chl a 及 Chl b 相對累積速率之差距，則是：黃色 > 綠色 > 紫色。根據低的 Chl 總量及高於 4.5 的 Chl a/b 比值判斷，此黃色甘藷葉可能屬於 Chl 缺乏突變種(Chl-deficient mutant)，對光線及溫度都極為敏感，類囊體的堆疊不正常(Yang *et al.* 1990, Yang *et al.* 1995, Yang and Chen 1995, 作者未發表資料)。相似的，根據高的 Chl 總量及較低的 Chl a/b 比值判斷，紫色甘藷葉可能屬於高 Chl 螢光突變種(high Chl fluorescence mutant, hcf)(King 1991)，然而此須進一步確認。

### 二、吡啶(porphyrins)

三種吡啶總含量方面，亦是以黃色葉片最少，而以紫色葉片最高；綠色及紫色葉片

分別是黃色葉片的約 2.9 及 7.7 倍(Table 1)。亦即，在 Chl 合成途徑方面，三種甘藷葉片之合成速率是：紫色 > 綠色 > 黃色。在吡啶莫耳百分比方面，綠色及黃色甘藷葉片之莫耳百分比分佈形態大致相似，只在 PPIX 及 MGPP 稍微互有高低。此二種甘藷葉其 PPIX、MGPP 及 Pchl<sub>ide</sub> 之莫耳百分比分別為 45%、30% 及 25%。紫色甘藷葉片則展現完全不同的分佈形態，分別是 73%、26% 及 1%。在 Chl 合成過程，三種吡啶的相對累積速率，黃色與綠色甘藷葉基本相似，亦即黃色甘藷葉片之整個 Chl 合成步驟可能都以相似比率減速，或部份被阻礙(partial blockage)。而紫色甘藷葉片則有部份減速及部份加速之現象發生，亦即其 PPIX 之相對合成速率較正常者高約 24%，MGPP 較低約 4%，而 Pchl<sub>ide</sub> 之相對合成速率較正常者低約 20%。進一步判斷，個化 PPIX 往前推進的酵素活性可能較正常者低，導致 PPIX 的滯留；而一旦合成 Pchl<sub>ide</sub> 則很快轉換為下一產物，即負責此轉換步驟之酵素活性可能較正常者高。

### 三、葉綠素合成能力

已知 ALA 是 Chl 合成過程早期的前驅物(precursor) (Reinbothe and Reinbothe 1996)。因此理論上，將葉片培養於含 ALA 之溶液中，其 Chl 合成途徑每一中間代謝物應以等比例增加。但是事實上，此三種甘

Table 1. Contents and mole percentage of porphyrins in three varieties of sweet potato with green, yellow and purple colors, respectively. The data were the average of three replications.

Variety	Chl ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Chl a/b	Porphyrin ( $\text{nmol g}^{-1}$ )	Mole percentage (%)		
				PPIX	MGPP	Pchl <sub>ide</sub>
Green	1353±45	3.5±0.2	1577±82	44.1±1.9	33.2±1.6	22.7±1.1
Yellow	422±19	4.6±0.2	548±33	48.2±1.7	29.5±1.8	22.4±0.8
Purple	1797±73	2.6±0.2	4241±147	72.7±2.3	25.9±1.5	1.4±0.2

藷葉片在黑暗中栽培於含 ALA 的溶液中 24 小時，顯示極為複雜的結果 (Table 2)。

在 Chl 含量方面，不論有無 ALA，三種甘藷葉片 Chl 含量都比 24 小時前原初的 Chl 含量增加。而且，不論何種甘藷葉片，未加 ALA 其 Chl 合成之增幅都比有加 ALA 者多。其中以黃色甘藷葉片增幅最大，未加及有加 ALA 分別增加 32% 及 23%。在 Chl *a/b* 比值方面，不論有無 ALA，綠色及紫色甘藷葉片皆無明顯變化。但是黃色甘藷葉片則有明顯減少，有及無 ALA 分別自 4.7 降為 3.9 及 3.4。此顯示，ALA 對綠色及紫色二種甘藷葉片 Chl *a* 及 Chl *b* 合成之影響是相同的；而黃色甘藷葉片則有較多比例的 ALA 轉化為 Chl *b*，故導致 Chl *a/b* 比值下降的比較多。更進一步說，黃色甘藷葉片對 Chl *a* 及 Chl *b* 合成的調控能力不如其它二種甘藷葉片，甚或對其生長環境較敏感，譬如對光線及溫度之敏感性。至於植物調控含量與比值的內在機制仍是一大謎題 (Yang *et al.* 1993)。

長期以來，被子植物是否能在黑暗中合成 Chl 是一個爭議性非常大的問題，仍無定論 (Yang *et al.* 2003 及其文獻)。本研究也是在黑暗中進行，結果顯示不論有無添加 ALA，這三種甘藷葉片似乎都可進行 Chl 的暗合成 (Chl dark synthesis)。當然，這方面需要更多實驗加以證明。

#### 四、吡啉合成能力

本研究測定的三種吡啉，即 PPIX，MGPP 和 Pchl<sub>ide</sub>，都是 Chl 合成的中間代謝物 (Reinbothe and Reinbothe 1996)，三者都尚無植醇鏈 (phytyl chain)。

在三種吡啉總含量方面，不論有無添加 ALA，所有甘藷葉片吡啉總含量都比 24 小時前原初的吡啉含量增加 (Table 2)。這方面

有些類似 Chl 含量之變化，但也有相異之處。在綠色及黃色甘藷葉片方面，其吡啉總含量變化與 Chl 含量之變化相反，即有加 ALA 造成的增幅比未加 ALA 者多，尤其是黃色甘藷葉片增幅更大，分別是 79% 及 23%。而在紫色甘藷葉片方面，其吡啉總含量變化與 Chl 含量之變化相似，都是未加 ALA 的增幅比加 ALA 者高許多，分別是 78% 及 18%。與前述的 Chl 含量之增幅變化相對照顯示，三種甘藷葉片 Chl 合成途徑中，Chl 及吡啉的累積並不一致，即增加比例不一致。

在 PPIX 莫耳百分比方面，未加及有加 ALA 有明顯不同，即當後者都造成 PPIX 莫耳百分比增加外，前者仍保持不變 (Table 2)。綠色、黃色及紫色三種甘藷葉片的 PPIX 莫耳百分比分別自 43.3%、36.2% 及 73.1% 增加為 47.6%、51.5% 及 80.7%。在 MGPP 莫耳百分比方面，綠色及黃色二種甘藷葉片只有加 ALA 才有明顯變化，即二者分別自 32.2% 及 28.7% 降為 27.5% 及 24.2%。然而，紫色甘藷葉片不論有無添加 ALA，其 MGPP 莫耳百分比並無顯著變化。在 Pchl<sub>ide</sub> 莫耳百分比方面，則不論未加及有加 ALA，三種甘藷葉都無顯著變化。

此顯示，ALA 對三種甘藷葉片 Chl 合成途徑之 Pchl<sub>ide</sub> 莫耳百分比並無影響，但對綠色及黃色二種甘藷葉片之 Chl 合成途徑之 MGPP 莫耳百分比則有顯著抑制，而對三種甘藷葉片 Chl 合成途徑之 PPIX 莫耳百分比則有顯著促進。亦即，三種甘藷葉片調控吡啉或 Chl 合成機制的的能力不同，故受到 ALA 的影響不同。

#### 五、葉片光譜特徵

不論相對吸收 (absorbance) 或相對穿透 (transmittance) 光譜都顯示，三種顏色甘

Table 2. Changes of contents and mole percentage of porphyrins in three varieties of sweet potato with green, yellow and purple colors, respectively, at 24 hrs after supplementation of  $\delta$ -aminolevulinic acid. The data were the average of three replications.

Variety	Chl	Chl a/b ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Porphyrin ( $\text{nmol g}^{-1}$ )	Mole percentage (%)		
				PPIX	MGPP	Pchlide
<b>Green</b>						
CK	1301 $\pm$ 38	3.4 $\pm$ 0.2	1542 $\pm$ 67	43.4 $\pm$ 1.9	32.2 $\pm$ 1.9	23.4 $\pm$ 1.1
-ALA	1549 $\pm$ 56	3.3 $\pm$ 0.2	1887 $\pm$ 73	43.4 $\pm$ 2.3	33.6 $\pm$ 1.4	23.1 $\pm$ 1.4
+ALA	1430 $\pm$ 41	3.3 $\pm$ 0.2	1944 $\pm$ 67	47.6 $\pm$ 2.7	27.5 $\pm$ 1.8	24.9 $\pm$ 2.0
<b>Yellow</b>						
CK	444 $\pm$ 23	4.7 $\pm$ 0.2	534 $\pm$ 40	46.2 $\pm$ 1.7	28.7 $\pm$ 1.9	22.4 $\pm$ 1.0
-ALA	584 $\pm$ 52	3.9 $\pm$ 0.3	657 $\pm$ 43	45.8 $\pm$ 2.6	31.4 $\pm$ 1.6	22.8 $\pm$ 1.2
+ALA	544 $\pm$ 37	3.4 $\pm$ 0.3	954 $\pm$ 75	51.4 $\pm$ 2.8	24.2 $\pm$ 1.1	24.4 $\pm$ 1.6
<b>Purple</b>						
CK	1677 $\pm$ 64	2.5 $\pm$ 0.4	4123 $\pm$ 152	73.1 $\pm$ 2.1	24.1 $\pm$ 1.6	2.8 $\pm$ 0.2
-ALA	2114 $\pm$ 83	2.4 $\pm$ 0.2	7355 $\pm$ 154	74.2 $\pm$ 1.9	23.6 $\pm$ 1.3	2.5 $\pm$ 0.2
+ALA	1733 $\pm$ 91	3.0 $\pm$ 0.2	4852 $\pm$ 123	80.7 $\pm$ 2.7	23.7 $\pm$ 1.8	2.1 $\pm$ 0.2

葉片之基本格局都非常相似(Fig. 1)，而相對反射方面亦然(Hsu *et al.* 2003b)。在 350-365 nm 之間三種顏色甘藷葉片很相似；而在 365-750 nm 之間的光譜特徵顯示，黃色甘藷葉片之相對吸收值都比綠色及紫色甘藷葉片低許多，而後二者之相對吸收值則較接近。但是，在 365-575 nm 之間，綠色甘藷葉片之相對吸收值比紫色甘藷葉片稍低；而在 575-750 nm 之間，則是前者比後者稍高(Fig. 1)。

在相對穿透方面，三種甘藷葉片在 350-365 nm 之間似乎都無該波段光線之穿透現象。在 365-750 nm 之間，光線對黃色甘藷葉片之穿透則遠高於其他二種；而除了 685-715 nm 之間二者大致相同外，其它波段之相對穿透都是綠色甘藷葉片稍高於紫色甘藷葉片(Fig. 1)。而在 365-500 nm 間之波段，當綠色及紫色甘藷葉片之穿透接近於零時，黃色甘藷葉片則有甚高之穿透。自整體趨勢而言，三種甘藷葉片在相對吸收之差

距趨勢，與其在相對穿透之差距趨勢完全相反。

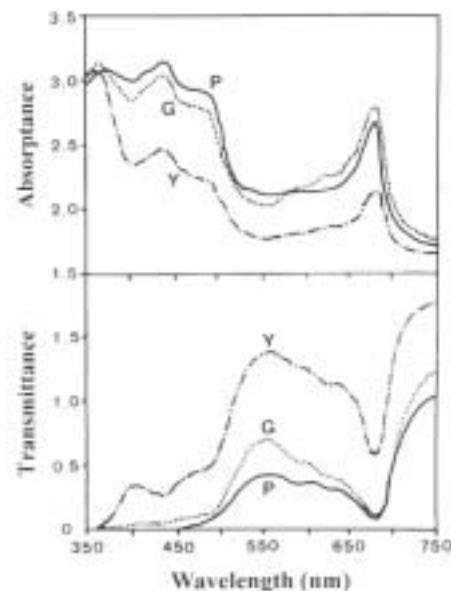


Fig. 1. Relative absorbance and transmittance spectra of three sweet potatoes with green, yellow and purple colors. Notes: Y, yellow; G, green; P, purple.

三種顏色甘藷葉之吸收、穿透及反射光譜形態，前者與後二者相差最大，而後二者則非常相似。當 575 nm 是相對吸收的一個明顯轉折點(isosbestic point)時，相對穿透及反射則無此變化(Hsu *et al.* 2003b)。無論何種光譜，藍光、綠光及紅光波段在此三種顏色甘藷葉之差異最明顯。而藍光及紅光波段之各種光譜特徵顯然受到 Chl 及 Car 含量之影響，而綠光波段則受到花青素等色素含量之影響。

影響葉片吸收、穿透與反射光譜特徵的因素除了前述一些光合色素外，尚有非常多的其他因素也會導致光譜特徵的變化，諸如：葉片厚度、面向、方位及角度、表皮蠟質層、表皮絨毛及突起物之密度及排列方式和角度、葉肉細胞生化組成及水溶性色素等。但是葉片吸收、穿透及反射光譜特徵是整個葉片裡裡外外各種各類物理或化學因子影響的綜合結果。此將引起一個問題，即個別因子或多個因子如何影響葉片與光線的互動，此有待有系統深入的探討。

有關 Chl 的合成過程已知可分為兩個途徑，一為需要光線參與的光合成途徑，此在所有光合細菌、藻類、苔蘚、蕨類、裸子及被子植物都存在；二為不需光線參與的暗合成途徑，此在被子植物外的所有植物都已被觀察到。關於被子植物是否能在黑暗中合成 Chl，迄今仍無定論。某些被子植物已被發現其 Chl 有暗合成現象，諸如：燕麥、大麥、水稻、豌豆、紫鴨拓草、阿拉伯芥、煙草、蓮初葉、*Postidonia australis* 及 *Zostera capricorni* (Yang *et al.* 2003 及其文獻)。而大部份這些可能進行 Chl 暗合成的植物也是農作物。已知被子植物的數量龐大，但迄今透過人為實驗而被觀察到有 Chl 暗合成現象的被子植物之比率可說微不足道。故而，被子植物是否能進行 Chl 暗合成是爭

議性很大的問題，是值得有系統地研究。而目前最重要的是尋找更多可在黑暗中能合成 Chl 的被子植物之例證。事實上，在一有系統的觀察中發現，188 科 666 屬 1094 種被子植物中超過三分之一，即有 72 科 224 屬 428 種植物其種子內有含 Chl 的胚(chlorophyllous embryo) (Dahlgren 1980, Yokovlev and Zhukova 1980)。迄今，這些綠胚的形成過程是 Chl 光合成或是暗合成，爭論極大。因為，光線是否能透過層層障礙物而進入後來成為綠胚的母細胞，確實是障礙重重。本研究結果顯示，此三種甘藷葉片可能可以在黑暗中合成 Chl。

高等植物合成 Chl 的途徑，自麩胺酸(glutamic acid)到終產物的 Chl，將近有 20 個生化反應(Reinbothe and Reinbothe 1996)。在這些複雜的生化反應中，欲探悉及掌握其調控細節非常困難。本研究資料顯示，三種不同葉色甘藷葉片就顯示其調控 Chl 合成的能力或方式明顯不同，面對環境變遷(譬如加或未加 ALA)自我調適的機制也明顯不同，而這些調控機制迄今仍是謎，有待進一步研究。

## 引用文獻

- Boardman NK (1980) Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 28:355-377.
- Chang FH, JH Troughton (1972) Chlorophyll a/b ratios in C3-C4-plants. *Photosynthetica* 6:57-65.
- Chen HY, CM Yang (1995) Temperature-sensitivity of chlorophyll expression in the leaves of *Ficus microcarpa* cv. Golden-leaves. *Proc. Natl. Sci. Council. ROC. Pt.B.* 19: 196-200.
- Dahlgren R (1980) The taxonomic significance of chlorophyllous embryos in angiosperm seeds. *Bot. Notiser.* 133:337-341.
- Holm G (1954) Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agric. Scand.* 4:457-461.

- Hsu MH, WD Huang, ZW Yang, YZ Tsai, CM Yang, SS Chang (2003) Study on the chlorophyll biosynthetic and degradative pathway in the leaves of three sweet potatoes. *Chinese Agron. J.* 13:87-98.
- Hsu MH, WD Huang, ZW Yang, YZ Tsai, SS Chang, CM Yang (2003) Remote sensing of pigment content in sweet potato leaves by reflectance spectra. *Chinese Agron. J.* 13:99-110.
- Kahn VM, N Avivi-Bieise, D. Von Wettstein (1976) Genetic regulation of chlorophyll synthesis analyzed with double mutants in barley. p.119-131. *In: Genetics and Biogenesis of chloroplasts and Mitochondria*, T Bhuchler (ed). Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- King J (1991) The genetic basis of plant physiological process. Oxford University Press, Inc., New York.
- Markwell JP, JP Thornber, RT Boggs (1979) Higher plant chloroplasts: evidence that all the chlorophyll exists as chlorophyll-protein complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76:1233-1235.
- Markwell JP, SJ Danko, J Bauwe, JC Osterman, HJ Gorz, FA Haskins (1986) A temperature-sensitive chlorophyll *b*-deficient mutant of sweetclover (*Melilotus alba*). *Plant Physiol.* 81:329-334.
- Nakatani HY, V Baliga (1985) A clover mutant lacking chlorophyll *a* and *b*-containing protein antenna complexes. *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 131: 182-189.
- Porra RJ, WA Thompson, PE Kriedelman (1989) Determination of accurate extraction and simultaneously equation for assaying chlorophyll *a* and *b* extracted with different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochem. Biophys. Acta* 975:384-394.
- Quijja A, N Farineaum, C Cantrel, T Guillot-Salomon (1988) Biochemical analysis and photosynthetic activity of chloroplasts and photosystem II particles from a barley mutant lacking chlorophyll. *Biochim. Biophys. Acta* 932:97-106.
- Reinbothe S, C Reinbothe (1996) Regulation of chlorophyll biosynthesis in angiosperm. *Plant Physiol.* 111:1-7.
- Yang CM, JC Hsu, YR Chen (1993) Light- and temperature-sensitivity of chlorophyll-deficient and virescent mutants. *Taiwania* 38:49-56.
- Yang CM, JC Hsu, CF Shih (1994) Response of Chlorophyll *a/b* ratio in Yuan-Yang Lake bryophytes to the alteration of light intensity. *Proc. Nat. Sci. Counc. ROC. Pt.B.* 18:134-137.
- Yang CM, JC Hsu, YK Lu (1995) Light-sensitivity of chlorophyll expression in the leaves of *Ficus microcarpa* cv. Golden-leaves. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 36:215-221.
- Yang CM, HY Chen (1996) Grana stacking is normal in a chlorophyll-deficient LT8 mutant of rice. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 37:26-29.
- Yang CM, JC Osterman, JP Markwell (1990) Temperature-sensitivity as a general phenomenon is a collection of chlorophyll-deficient mutants of sweetclover (*Melilotus alba*). *Biochem. Genet.* 28:31-40.
- Yang CM, KW Chang, MH Yin, HM Huang (1998) Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives. *Taiwania* 43:116-122.
- Yang CM, HM Tsai, JH Yang (2003) Glucose and  $\delta$ -aminolevulinic acid stimulate the dark chlorophyll synthesis of rice seedlings. *Acta Bot Sin.* 45:422-426.
- Yang CM, MM Yang (2004) Grana stacking is normal in two insect-induced cecidomyiid galls deficient in light-harvesting complex II (LHCII). *Plant Physiol. Biochem.* (accepted)
- Yokovlev MS, GY Zhukova (1980) Chlorophyll in embryos of angiosperm seeds, a review. *Bot. Notiser.* 133:323-336.