

南華大學科技學院自然生物科技學系自然療癒碩士班

碩士論文

Master's Program in Natural Healing Sciences

Department of Natural Biotechnology

College of Science and Technology

Nanhua University

Master Thesis

乾旱與鹽逆境對冰花 (*Mesembryanthemum Crystallinum*
L.) 生長與生理之影響

The Effects of Drought and Salt Stress on the Growth and
Physiology of Ice Plants (*Mesembryanthemum Crystallinum* L.)

蕭如翔

Ru-Xiang Xiao

指導教授：吳浩群 博士

Advisor: How-Chiun Wu, Ph.D.

中華民國 112 年 6 月

June 2023

南華大學

自然生物科技學系自然療癒所碩士班

碩士學位論文

乾旱與鹽逆境對冰花(*Mesembryanthemum crystallinum* L.)

生長與生理之影響

The Effects of Drought and Salt Stress on the Growth
and Physiology of Ice Plants (*Mesembryanthemum
crystallinum* L.)

研究生：蕭如翔

經考試合格特此證明

口試委員：王昱海

吳游群

羅俊智

指導教授：吳游群

系主任(所長)：自然生物科技學系 陳嘉民
系主任

口試日期：中華民國 112 年 6 月 21 日

摘要

冰花(*Mesembryanthemum crystallinum* L.)近幾年常作為一項高功能性食品被廣泛討論；由於冰花依照環境培育的不同，將產生多種多元醇，便具有耐鹽以及耐旱特性，使冰花擁有高度研究價值；本研究將冰花種植在缺水的土壤並施加 NaCl，目的為探討冰花處於複數逆境時對其生長與生理之影響；本實驗利用澆水次數分為少量澆水(八天澆水一次)與適量澆水(兩天澆水一次)兩組別，同時在種植冰花土壤中添加 5 種 NaCl 濃度(0 mM、250 mM、500 mM、750 mM、1000 mM)，藉由減少澆水次數模擬缺水逆境，並在移植後每隔八天給予一次 NaCl 作為鹽逆境的施加。

實驗結果發現，冰花受到高濃度 NaCl (500 mM、750 mM、1000 mM)以及乾旱影響，表現出顯著生長較多的側枝葉片數，平均有著 4~7 片生長，與之相比，包含適量澆水組別的其他處理則是平均不到 1 片側枝葉片數；此外，雖然在未添加 NaCl 的兩組對照組，少量澆水所產生之乾旱顯著減少冰花葉片數量及葉片面積，但是當加入 NaCl 後，其呈現的生長變化幅度明顯高於適量澆水，整體而言，當冰花處於兩種逆境時(少量澆水和 250 mM 及 500 mM NaCl 濃度)其葉面積、濕重與乾重等三項目數值顯著高於其它處理。

兩組不同澆水次數實驗組別在離子檢測項目中，鹽逆境的施加減少冰花體內鉀離子含量，而鈉離子的累積則是隨著鹽逆境施加的濃度增加而提高，同時少量澆水造成的缺水逆境則會進一步顯著提升冰花葉片的鈉離子累積；於化學分析可觀察到缺水逆境將造成冰花體內葉綠素與胡蘿蔔素含量降低，但是在給予特定 NaCl 濃度(500 mM)與缺水逆境時，冰花的抗氧化能力和總多酚含量則有著顯著性地提高。

根據上述，即使乾旱與鹽逆境各別對冰花造成不同的負面影響，但依照本實驗收集的冰花性狀和體內生理狀況，可發現少量澆水並施加 NaCl 濃度 250 mM 之處理整體表現最佳。

關鍵字：乾旱、鹽生植物、鹽逆境、缺水逆境、氯化鈉

Abstract

In recent years, numerous investigations have been carried out to study ice plants (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) as a high-functional food. Ice plants are considered a high-value crop that are favored for research due to the fact that they produce various types of polyols depending on the environment in which they are grown. Furthermore, ice plants are drought-tolerant and can be grown in soils with high salinity. In the present study, ice plants were cultivated in a growth room in soil with water-deficit conditions and watered with NaCl solution. The aim was to investigate the effects of two stress factors on the growth and physiology of ice plants. Two watering treatments were used: low watering regimen (once every eight days) and regular watering regimen (once every two days). In addition, the ice plants were watered with five concentrations of NaCl solution (0 mM; 250 mM; 500 mM; 750 mM; 1000 mM) every eight days to induce salt-stress conditions.

Results showed that when ice plants were irrigated with high NaCl concentrations (500 mM, 750 mM, and 1000 mM) in combination with the low watering regimen, a significant increase in the number of leaves

forming on secondary shoots was observed, which on average had 4 - 7 leaves. In contrast, on average less than 1 leaf was produced by secondary shoots of ice plants irrigated with the regular watering regimen. Furthermore, in the treatment with no salt-stress (0 mM NaCl) in both the low- and regular watering regimens, those in the low watering regimen produced significantly fewer leaf numbers and lower leaf area, however, in the treatments in which ice plants were irrigated with NaCl, clear improvements in growth were observed in the low watering regimen compared to the regular watering regimen. This was particularly evident in ice plants that were cultivated under two stresses (the low watering regimen provided with 250 mM and 500 mM NaCl), which had significantly higher leaf area, fresh weight, and dry weight compared to the other treatments.

With regard to their nutrient composition, an increase in salt stress reduced the potassium content in the leaves, whereas the sodium content of leaves surged as the amount of NaCl given to the ice plants increased. Moreover, results also showed that drought-stress conditions further increased sodium accumulation in leaves. Chlorophyll and carotenoid contents of leaves were found to be reduced by water stress, however, the

DPPH activity and total phenol content were significantly increased when ice plants were grown in the low watering regimen provided with 500 mM NaCl. These findings demonstrated that, when provided separately to ice plants, water and salt stresses had a negative effect on the growth of ice plants. However, when exposed to both salt and water stress together, significant improvements in the growth of ice plants were observed. Overall, the best growth was found in the treatment where ice plants were provided with a low watering regimen and irrigated with 250 mM NaCl solution.

Keywords: drought stress, halophyte, salt stress, water stress, NaCl

目次

摘要.....	I
Abstract.....	III
目次.....	VI
表目次.....	VIII
圖目次.....	IX
第一章.....	1
緒論.....	1
1.1 研究背景	1
1.2 研究目的	2
第二章.....	3
文獻回顧.....	3
2.1 冰花概述	3
2.2 鹽逆境.....	5
2.3 乾旱	7
2.4 肌醇與松醇	8
2.5 葉綠素螢光 (Fv/Fm).....	10
第三章.....	11
方法與材料.....	11
3.1 植物與實驗環境	11
3.2 數據收集	13
3.2.1 性狀	13
3.2.2 葉綠素螢光 (Fv/Fm).....	13
3.2.3 離子檢測	14
3.3 化學分析	14
3.3.1 萃取樣品製備	14
3.3.2 總多酚	15
3.3.3 抗氧化分析	16
3.3.4 葉綠素與類胡蘿蔔素	16
3.4 統計分析	17
第四章.....	19

結果.....	19
4.1 冰花性狀	19
4.2 離子	24
4.3 葉綠素螢光、葉綠素與類胡蘿蔔素含量分析	28
4.4 DPPH 抗氧化能力與總多酚.....	31
第五章.....	35
討論.....	35
第六章.....	44
結論.....	44
研究限制.....	45
參考文獻.....	47



表目次

Table 4.1 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對葉綠素螢光 (Fv/Fm)、 葉綠素 <i>a</i> 、葉綠素 <i>b</i> 、葉綠素 <i>a+b</i> 與胡蘿蔔素之影響.....	31
Table 4.2 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對 DPPH 抑制率、多酚之 影響.....	33



圖目次

Fig. 3.1 實驗流程圖	18
Fig. 4.1 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對葉片數之影響	22
Fig. 4.2 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對側枝葉片數之影響	22
Fig. 4.3 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對葉面積之影響	23
Fig. 4.4 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對濕重之影響	23
Fig. 4.5 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對乾重之影響	24
Fig. 4.6 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對鈉離子之影響	26
Fig. 4.7 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對鉀離子之影響	27
Fig. 4.8 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對硝酸離子之影響	27
Fig. 4.9 冰花適量澆水生長第 45 天(A) 0 mM (對照組) ; (B) 250 mM ; (C) 500 mM ; (D) 750 mM ; (E)1000 mM	33
Fig. 4.10 冰花少量澆水生長第 45 天(A) 0 mM (對照組) ; (B) 250 mM ; (C) 500 mM ; (D) 750 mM ; (E)1000 mM	34

第一章

緒論

1.1 研究背景

冰花(*Mesembryanthemum crystallinum* L.)為一種高經濟作物，具有十分廣泛的發展空間，無論是在復育環境或是營養成分，冰花皆展現出高度的研究價值，如冰花含有大量的多元醇、胡蘿蔔素與各種礦物質等成分，有著對預防高血壓或慢性疾病的潛力，這一特點於近幾年受到不少的關注；另一方面則是關於環境復育，因為冰花的生長環境條件極為廣泛，可以生存在對於其它植物是致死量的鹽逆境、重金屬污染土壤中並吸取土壤中的鈉與重金屬，便能利用此種特性減少土地的鹽鹼化、重金屬危害程度。

1.2 研究目的

本實驗透過在特定時間的澆水加入不同 NaCl 濃度以此模擬鹽逆境，再利用澆水次數控制冰花土壤濕度，使之產生缺水逆境：

1. 藉由同時給予兩種環境逆境條件，探討其對冰花的生長與生理反應之影響。
2. 測量冰花葉片面積、濕重與乾重，了解兩種逆境對冰花性狀之影響。
3. 分析冰花經過逆境後，體內的葉綠素、類胡蘿蔔素、離子含量、抗氧化能力與總多酚含量之變化。

第二章

文獻回顧

2.1 冰花概述

冰花又名冰葉日中花 (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) 為石竹目 (*Caryophyllales*) 番杏科 (*Aizoaceae*)，屬於一年生的多肉植物，冰花喜日光、高溫，能在沙地或排水良好的土壤中生長，適合其生長溫度約在 12°C~30°C (Tembo-Phiri, 2019)；冰花正如其名，於成熟後葉片表面上將長出如冰晶般的腎形細胞 (epidermal bladder cells, EBCs)，依照環境的不同，細胞會受到鹽逆境的誘導而膨脹，腎形細胞能為冰花儲存水分以及體內過量的鹽分再與植物組織進行隔離 (Roern et al., 2016)，使冰花具有高度的耐鹽性，甚至能生存在等同海水的鹽度中(約 600 mM)，並且將冰花種植在鹽鹼化的土壤中也曾經由鹽逆境誘導增加體內肌醇濃度，於 DPPH 抗氧化測定也顯示處

於鹽逆境的冰花具有高於萵苣兩倍的抗氧化活性 (Agarie et al., 2015)，說明其對人體具有高度的營養價值。

冰花原生地為南非，而如今在包含美國中部等多國沿岸皆可發現其大量繁殖的蹤跡(Vivrette & Muller, 1977)，原因除了人為進口外，由於冰花為下一代的繁衍，發展出一套特殊的生殖策略；冰花在開花期間，較老的葉片將逐漸枯萎並隨著雨水或是霧氣中的水分將其葉片中累積的鹽分帶入土壤，導致冰花周圍的土壤鹽化，阻止周圍不耐鹽的植物生長以確保自己的後代繁殖，使冰花作為外來種與其它原生植物競爭時具有相當的優勢。

冰花的光合作用類型與其它多數植物不同，冰花具有兩種光合作用途徑，將根據其生長時間或周圍環境變化而改變(Winter, Garcia, & Holtum, 2008)；冰花生長初期如同大多數植物是以 C3 類二氧化碳固定行光合作用，直到成熟期或給予冰花處於滲透逆境(乾旱)中，冰花則會從 C3 類光合作用轉變為景天酸代謝(Crassulacean acid

metabolism, CAM)，景天酸代謝類型的植物多是生長環境與冰花相似，白天高溫且濕度低、夜晚氣溫寒冷，植物便會在白天時關閉氣孔以防止水份蒸散，夜晚相對濕度提高則將氣孔開啟(Cushman, 2001)；相較 C3、C4 類型植物，景天酸代謝植物對鹽逆境與乾旱表現出較高的耐受能力，其關鍵在於景天酸代謝是在夜晚對空氣中的二氧化碳進行固定(Dodd et al., 2002)，過程中將利用酶 PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase) 固定二氧化碳，這種形式使景天酸代謝的植物更高效地利用水源，便能在炎熱且缺少水分的環境中取得生長的優勢 (Thomas & Bohnert, 1993)。

2.2 鹽逆境

現今全球土壤鹽化面積逐漸擴大，對各地原有生態造成嚴重傷害，同時也使可耕作的土地逐年減少，其主要原因是源自人類過度發展農業與侵占自然林地所造成；根據聯合國農糧組織的全球受鹽

影響土壤地圖(GSASmap)統計，現今全球有超過 3%的表層土與超過 6%的底層土受到鹽鹼化影響(Food and Agriculture Organization, 2023)。

大多數植物種植在鹽鹼化的土壤中將會生長緩慢或是枯萎死亡，除了高濃度的鈉離子傷害植物細胞外，受到鹽害的土壤會造成植物體外滲透壓加大，水份無法進入根部使植物脫水、枯萎，再者可能進而造成植物累積具有毒性的化合物；另外，植物所吸收的養分中，若某項離子濃度過高可能會抑制植物吸收其它離子；例如處於鹽逆境中的植物會因為周圍環境鹽分過多，使鈉離子與鉀離子互相競爭進入植物體內而導致鉀離子的缺乏，但是耐鹽植物能在感應到過量鈉離子累積時，植物的轉錄因子將會調控體內滲透壓與離子平衡，以此減緩上述現象(Deinlein et al., 2014)，因此觀測植物體內受鹽逆境影響後鈉離子與鉀離子的比例，也能作為判斷植物是否具有耐鹽性的依據 (Isayenkov, 2012)。

2.3 乾旱

乾旱在農業中屬於最普遍制約生產力的一項環境逆境，通常乾旱會持續數個季節，其中有著多種不同因素造成乾旱發生，但大多與降雨量有著密切關聯；根據聯合國世界氣象組織(World Meteorological Organization, WMO)判定，乾旱依照發生的因素可分為六種類型，除了氣象、氣候、大氣等三種類型乾旱與自然環境相關之外，其它乾旱類型如農業、水文、用水管理等三種乾旱則與人類活動有著直接關聯。

在乾旱地帶生長的植物因土壤水勢低，便會需要同時面臨滲透壓與鹽逆境的危害，在全球處於半乾旱(地中海型氣候)與乾旱(沙漠地帶)的土地面積約占 1/3，生長在其中的植物以代謝方式為 CAM 的景天科占大多數 (Bohnert & Cushman, 2000)，因此冰花作為能進行景天酸代謝的植物具有十分耐旱的能力，此外，冰花相較其他植物，冰花不需要經由逆境誘導便能在體內累積松醇以應對乾旱，並且部

分研究中也曾經發現冰花處於乾旱環境能為其提高繁殖能力(Winter & Ziegler, 1992)。

2.4 肌醇與松醇

肌醇(inositol)為環己烷六醇，於 1850 年由 Scherer 發現，肌醇主要來源多為植物，尤其是水果、豆科植物與穀物皆為常見的肌醇來源(Clements & Darnell, 1980)，如今作為一種天然的抗氧化劑常添加於保健食品；肌醇的攝取對人體健康有著一定的幫助，如增強免疫力與預防惡性腫瘤生長，因此部分研究認為肌醇可以輔助癌症病人進行化療時的抗癌效果(Vucenik & Shamsuddin, 2006)。

在植物體內，肌醇的存在可以促進木質部對鈉離子的吸收與運輸並且保護植物進行光合作用(Nelson, Koukoumanos, Bohnert, 1999)，幫助植物在鹽逆境中生存；於冰花的生長階段，肌醇僅會在個體接近成熟後才開始產生，而幼苗階段的冰花體內並不具有肌醇，因此尚未成熟的冰花其抗鹽性相對較弱，但藉由外部施加肌醇也能促進

未成熟冰花吸收鈉並運輸至其葉片累積 (Nelson et al., 1999)；冰花除了會在成熟後開始累積肌醇外，當土壤中的鈉離子含量提高，也會誘導肌醇的積累(Li, Tien, Wen, & Yen, 2021)，因此能透過人為控制土壤中的鈉，間接提高冰花體內的肌醇含量，而此種特性使冰花具有在保健食品中發展的潛力。

松醇(Pinitol)為環己烷多元醇，多被檢測出在豆科植物與受乾旱影響之部分植物體內累積 (Thomas, Smigocki & Bohnert, 1995)，作為肌醇的異構物，松醇於各項研究中也發現其對治療特定人體疾病有著一定的效果，如松醇能改善糖尿病患體內血糖運作，同時提升患者對胰島素的敏感性 (Kim et al., 2012)，除此之外，由於松醇具有抗炎性，近年被提出能將其運用在癌症療程中抑制腫瘤(Kong, Du, & Dong, 2020)；於植物體內，松醇能為植物細胞調節滲透壓，維持細胞內膨壓，為植物減緩受缺水逆境與土壤鹽化造成的低水勢影響，同時松醇也能清除植物受乾旱脅迫時產生的大量自由基(Ahn,

Hossain, Lee, Kanth, & Park, 2018) ，因此在多數耐旱植物體內皆能測得其存在(Vernon & Bohnert, 1993) 。

2.5 葉綠素螢光 (Fv/Fm)

葉綠素螢光包含多種不同的參數，本研究於此部分僅採用 PSII (photosystem II,) ，PSII 的測量需在植物遮光、適應黑暗之後方可進行，數值以 Fv/Fm 呈現，其中 Fm 是在植物進行暗適應、對其照射光源後儀器測得最大螢光量，Fv 則為測得植物之最大螢光量減去其最低螢光量；在判斷植物是否受到逆境，葉綠素螢光中的 PSII 可以做為其中重要的參考數據，尤其在鹽逆境受到危害的植物會造成 PSII 中的活性下降 (Allakhverdiev & Murata, 2008) ，因此在本實驗中變採用此數據，作為冰花是否在實驗處理上受到環境迫害的一項參考。

第三章

方法與材料

3.1 植物與實驗環境

本研究使用的冰花種子 (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) 購買於農友種苗股份有限公司，實驗中栽培種子的介質為培養土 (泥炭培養土 Blumenerde, Germany) 與珍珠石以比例 2:1 混合，播種於洞數 7*12 的穴盤中，種苗的栽培與實驗過程皆在恆溫室進行；冰花幼芽對土壤水分的需求相較其它品種蔬菜更為敏感，因此在發芽過程會利用保鮮膜覆蓋於穴盤上，使土壤周圍的環境處於悶熱的狀態，播種後第 7 天，大多數冰花皆已發芽便會移除保鮮膜；經過 14 天發芽，挑選已生長出 1 對真葉且狀態正常的冰花幼苗移植；發芽後將冰花移植至直徑 14 cm、高 13 cm 之盆栽作為生長容器，其中所填入的介質與播種時相同；實驗使用光源為 $110 \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ Photosynthetic Active Radiation (PAR；光合作用有效光) 之紅、藍、白三色 LED 燈

(嘉輝企業股份有限公司，台灣)，提供冰花每天 14 小時光照周期，恆溫室溫度約為 26 ± 2 °C。

實驗過程使用 Hoagland's solution (Hoagland & Arnon, 1938) 作為養分，於移植後第八天首次施加給冰花，每次澆水量 200 mL；依照澆水的次數將實驗分為「適量澆水」與「少量澆水」兩組別，前者澆水頻率為二天一次，後者八天一次；「適量澆水」顧名思義，目的是為了讓此組別的冰花獲得平均最適合其生長的水量，「少量澆水」則是使冰花處於乾旱之中；本研究澆水方式參考 Winter 與 Ziegler (1992) 實驗過程並修改，將【適量澆水與少量澆水】兩組的所有冰花於移植後第八天、第十六天、第二十四天澆水時於 Hoagland's solution 中添加 NaCl 模擬鹽逆境，兩組冰花再分別依照 NaCl 濃度細分成五項處理: 0 mM (對照組)、250 mM、500 mM、750 mM 以及 1000 mM，每項處理種植 20 株冰花，實驗流程圖見 Fig. 3.1。

3.2 數據收集

3.2.1 性狀

冰花於播種 45 天後進行採收，並記錄下冰花的性狀，包含真葉葉片數、葉片面積、濕重與乾重；葉片面積的測量方式為將真葉攤開在一平面上，使用透明玻璃片壓平葉片再拍攝照片、上傳至電腦，利用圖像處理軟體 ImageJ v. 1.53a (National Institutes of Health, USA) 計算冰花葉片面積。

3.2.2 葉綠素螢光 (F_v/F_m)

葉綠素螢光測量方式參照 Molero & Lopes (2012) 所使用的實驗過程；測量的冰花葉片為從頂端算起已完全展開之第三片真葉，接著將冰花葉片在黑暗中避光約一小時後，使用感測儀器 (FluorPen FP100, PSI, Czech Republic) 為每葉片均測量三次取得平均值。

3.2.3 離子檢測

冰花葉片內的各離子數據使用 Laquatwin (Horiba Advanced Techno Co. Ltd., Japan) 離子檢測器測量冰花，可分為 Na^+ 、 K^+ 、 NO_3^- 三項檢測項目；取做檢測之目標葉片是選定冰花從頂端算起已展開之第四片真葉，此葉片與葉綠素螢光測量的葉片相互對稱；接著把選定葉片磨成汁，由於實驗性質導致冰花體內累積的鈉離子含量高於檢測器可測量範圍，因此須將汁液濃度稀釋至 1/5 再加入儀器內測量數值。

3.3 化學分析

3.3.1 萃取樣品製備

冰花採收的樣本在熱風循環烘箱 (YOTEC Precision Instrument Co., Ltd, Taiwan) 中以 $70\text{ }^\circ\text{C}$ 進行烘乾 24 小時再記錄乾重；將測量葉綠素螢光時所標記第三片已展開真葉打成粉，取粉末 100 mg，並依

照化學分析的項目不同，分別加入 10 mL 之 95 % 乙醇或 10 mL 之逆滲透水，接著使用 Vortex (多用途試管振盪器；萬柏科儀有限公司，臺灣) 混合，均勻後靜置約 10 分鐘，待混合溶液中雜質沉澱取上清液，使用離心機 (Baso Co., Ltd, Taiwan) 設定溫度 25 °C、轉速 2000 rpm 將上清液進行離心 10 分鐘，離心後的溶液再取其上清液即為樣本萃取液。

3.3.2 總多酚

總多酚含量使用 Folin–Ciocalteu reagent (FCR；Folin-酚試劑) 測定，此檢測過程參考 Chen 等人 (2012) 實驗過程並修改；取逆滲透水置備之樣本萃取液 200 μ L 混合 Folin–Ciocalteu (1N) 200 μ L，靜置五分鐘後，加入碳酸鈉 (20%) 200 μ L，接著利用 vortex 震盪均勻再靜置十分鐘，最後取其上清液至孔盤，於分光光譜儀 (Microplate Spectrophotometer, Biotek Instruments, Inc., USA) 進行波長 730 nm 照射測取吸光值。

3.3.3 抗氧化分析

本試驗參照 Chiu (2009) 檢測清除自由基過程，使用 DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 抗氧化劑；取 DPPH 試劑 750 μL 加入乙醇 230 μL 再與使用 95 % 乙醇置備之樣品萃取液 20 μL 混和，以 vortex 震盪後靜置三十分鐘，再取其上清液至孔盤，以分光光譜儀進行波長 517nm 照射下取得吸光值，最後將吸光值套入公式：【1- (實驗組吸收值/對照組吸收值)】*100，即為 DPPH 自由基清除能力。

3.3.4 葉綠素與類胡蘿蔔素

過程參考 Maadane 等人 (2015) 實驗方法，修改部分流程後用作檢測葉綠素 *a*、*b* 與類胡蘿蔔素。首先秤取植物烘乾樣品 50 mg 加入 95% 乙醇 10 mL，在黑暗中利用 vortex 震盪樣品萃取液 1 分鐘再將其冷藏於 4 °C 冰箱中 30 分鐘，接著維持在避光狀態下將樣品離心，轉速設定為 2000 rpm、10 分鐘，再取上清液加入孔盤，使用分光光譜

儀測量波長 664 nm、648 nm、470 nm 之吸光值，套用下列公式計算

葉綠素 a (C_a)、葉綠素 b (C_b)與胡蘿蔔素含量：

$$\text{Chlorophyll } a \text{ } (\mu\text{g/mL}) = 13.36 * A_{644} - 5.19 * A_{648}$$

$$\text{Chlorophyll } b \text{ } (\mu\text{g/mL}) = 27.43 * A_{648} - 8.12 * A_{644}$$

$$\text{Chlorophyll } a+b \text{ } (\mu\text{g/mL}) = C_a + C_b$$

$$\text{Chlorophyll } a/b \text{ } (\mu\text{g/mL}) = C_a / C_b$$

$$\text{Carotenoids } (\mu\text{g/mL}) = (1000 * A_{470} - 2.13 * C_a - 97.64 * C_b) / 209$$

3.4 統計分析

本研究對於實驗處理在植物的性狀、Fv/Fm 數值與離子測量的部分於各項次皆採 20 重複，而化學分析各檢測項目採 3 重複。結果以單因子變異數分析 (ANOVA) 測試顯著性，再依鄧肯新多重差距檢定 (Duncan's Multiple Range Test) 確認個別處理間的顯著性差異 ($p < 0.05$)。

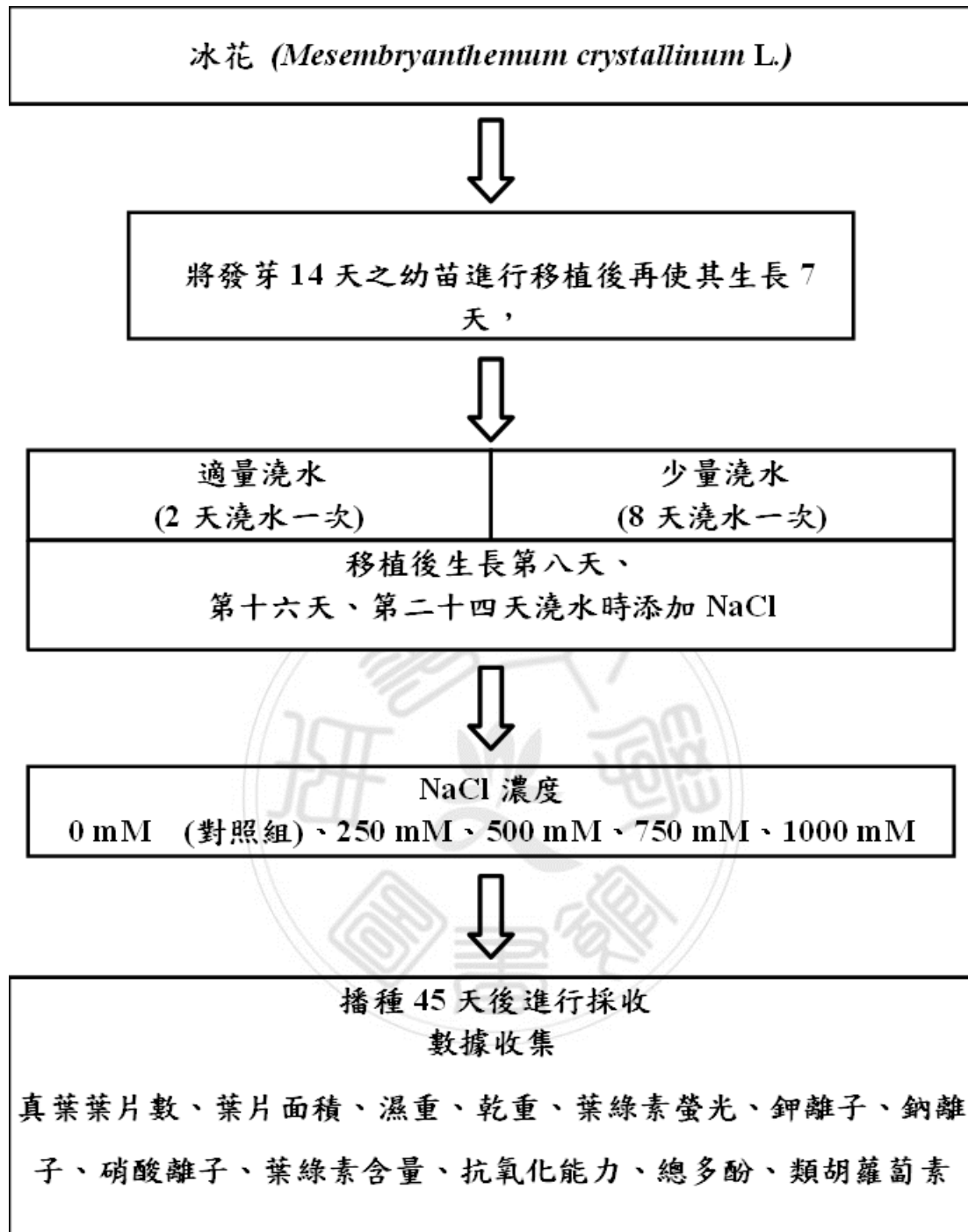


Fig. 3.1 實驗流程圖

第四章

結果

4.1 冰花性狀

本研究之適量澆水組別於葉片數中(Fig. 4.1; Fig. 4.9)，除施加 NaCl 濃度 1000 mM 之處理顯著少於其它濃度處理外，對照組與添加 NaCl 濃度 250 mM、500 mM、750 mM 等三項處理間並無明顯差異；而少量澆水組別，其添加 NaCl 之所有處理間，葉片數皆無顯著差異(Fig. 4.1; Fig. 4.10)，並同時相較未添加 NaCl 的少量澆水對照組有著顯著性提高；從適量及少量澆水兩組中的對照組比較可以發現少量澆水的葉片數顯著少於適量澆水，但是於添加 NaCl 之處理間反而呈現相反的狀況，所有少量澆水組別皆顯著大於適量澆水 (Fig. 4.1)。

於側枝葉片數方面，結果發現在不同處理的形成數量，因受澆水次數與添加 NaCl 的影響有著極大的變化，適量澆水的冰花在低於 NaCl 濃度 1000 mM 以下的處理間並無顯著差異(Fig. 4.2)，僅生長在

濃度 1000 mM 的冰花側枝葉片數顯著多於其它處理，即使如此，其平均葉片數也依然少於一片；少量澆水組別間，其對照組與施加 250 mM NaCl 之處理未發現側枝，而添加 NaCl 500 mM、750 mM、1000 mM 的少量澆水處理間則觀察到顯著的側枝生長，分別與相同濃度的適量澆水組別有著 4~7 倍的差距，尤其在濃度 750 mM 中平均生長 7.4 片側枝葉片數，有著處理中最高的數值。

根據實驗中冰花的葉面積 (Fig. 4.3) 在兩組不同澆水次數的對照組間可觀察出少量澆水顯著小於適量澆水 (Fig. 4.9; Fig. 4.10)，但是於添加 NaCl 之處理中，少量澆水的濃度 250 mM 與 500 mM 兩處理則顯著高於相同濃度之適量澆水組別，且於 250 mM 出現所有處理間最大的葉面積 (Fig. 4.10)；適量澆水組別在對照組與低於濃度 1000 mM 之添加 NaCl 處理間無顯著差異，唯 NaCl 濃度 1000 mM 顯著小於其它處理 (Fig. 4.9E)，同時可觀察到因受到較高濃度的 NaCl 影響，NaCl 濃度 1000 mM 之處理葉片開始出現白斑 (Fig. 4.9E)；在少量澆

水組別間，於添加 NaCl 濃度 250 mM 可觀察到最大的葉面積，而後在 NaCl 濃度 250 mM、500 mM、750 mM、1000 mM 之冰花葉面積便隨著濃度增加而顯著減少，當濃度提高至 750 mM 以上時，部分較老的葉片顏色將觀察到逐漸泛黃的現象，最後於濃度 1000 mM 觀察到少量澆水組別的最小葉面積 (Fig. 4.10)，且對照組與濃度 1000 mM 之間並無顯著差異 (Fig. 4.3)。

冰花濕重與乾重息息相關，因此兩者整體對於澆水次數與 NaCl 濃度的變化表現出相似的趨勢 (Fig. 4.4; Fig. 4.5)，濕重與乾重在兩組別對照組間無顯著差異，而在兩組不同澆水次數組別間，皆於 NaCl 濃度 250 mM 出現組別中的最高值，接著少量澆水處理間濕重和乾重皆隨著 NaCl 濃度增加而減少，並且少量澆水組別的 NaCl 濃度 250 mM、500 mM 以及 750 mM 濕重與乾重皆顯著高於相同濃度之適量澆水組別，反觀適量澆水，雖然也是在 NaCl 濃度 250 mM 出現最高值，然而對照組、500 mM 與 750 mM 三項處理之間無顯著差異。

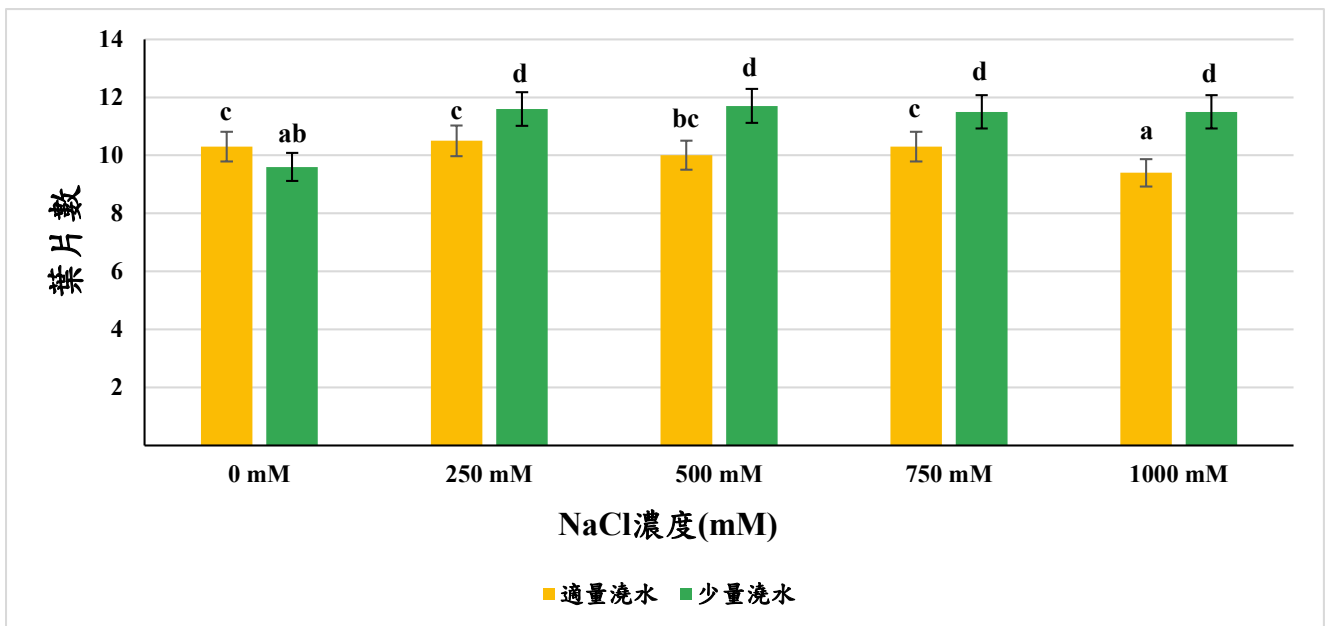


Fig. 4.1 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對葉片數之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異($P < 0.05$)

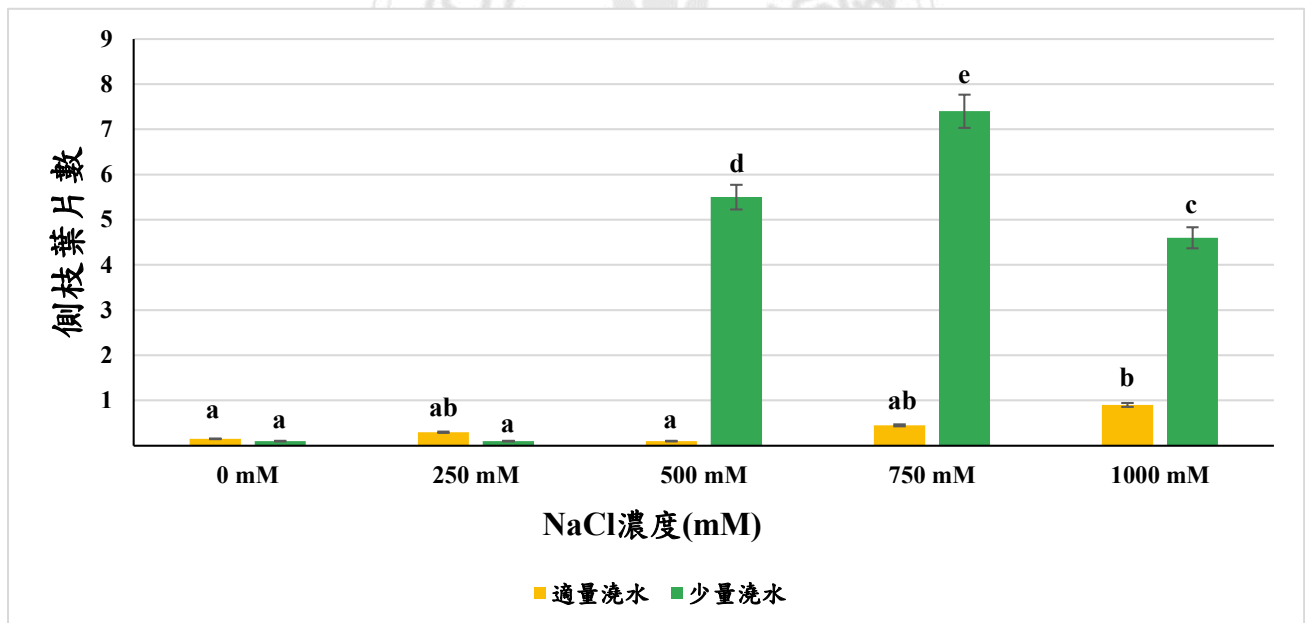


Fig. 4.2 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對側枝葉片數之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異($P < 0.05$)

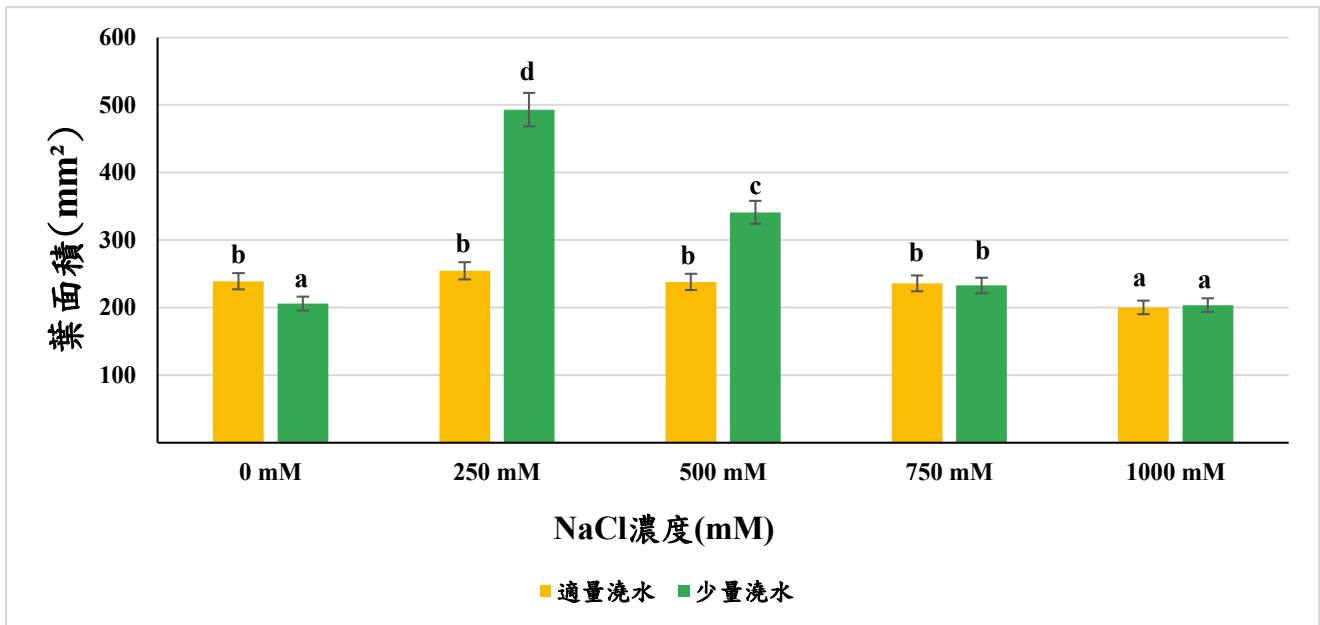


Fig. 4.3 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對葉面積之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異(P<0.05)

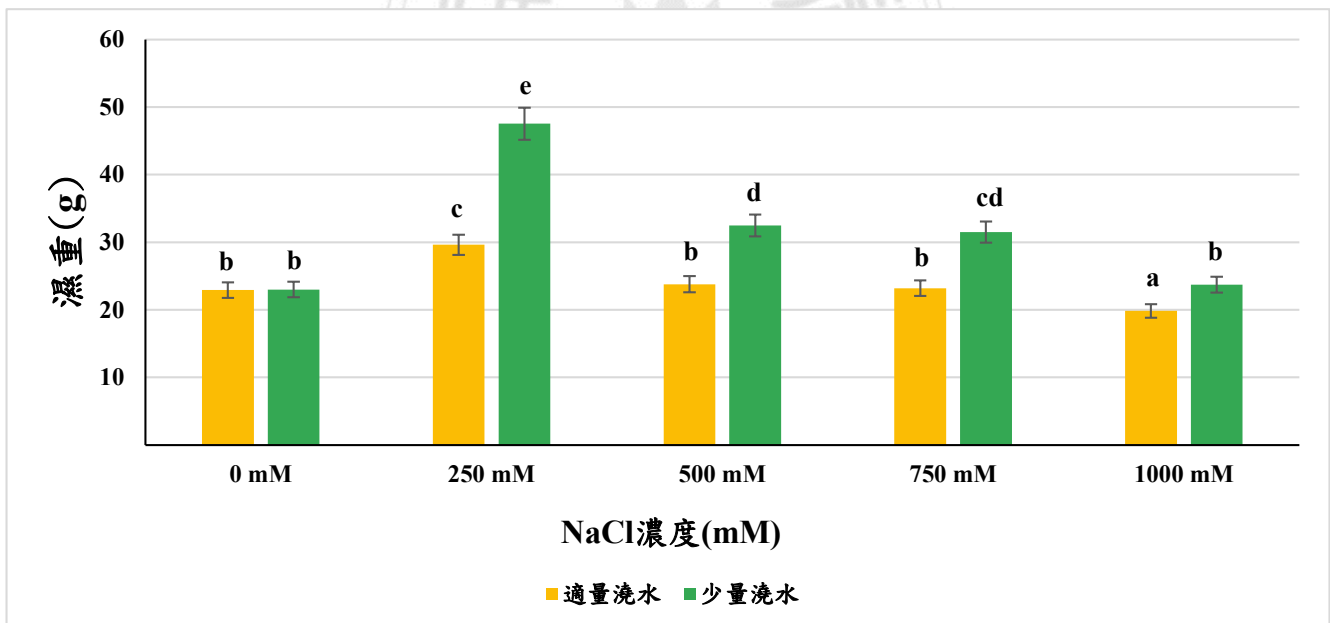


Fig. 4.4 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對濕重之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異(P<0.05)

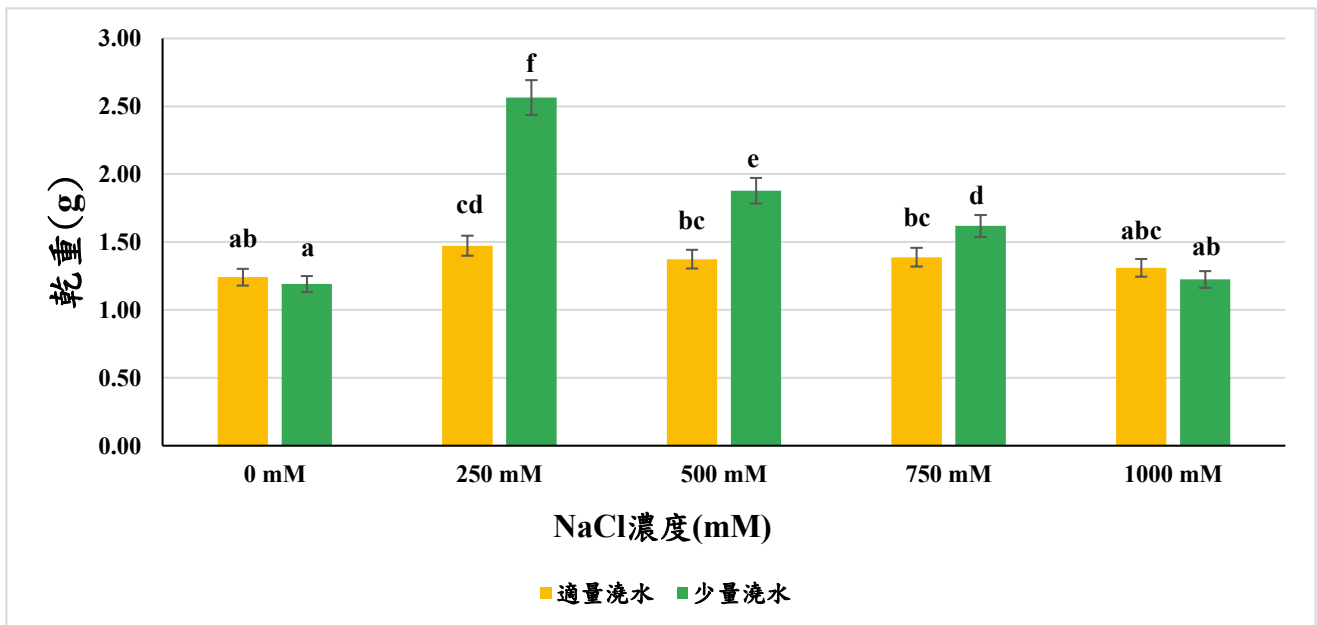


Fig. 4.5 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對乾重之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異($P < 0.05$)

4.2 離子

本研究結果發現於兩組不同澆水次數組別之鈉離子於冰花葉片的累積皆依照 NaCl 的添加而顯著提高(Fig. 4.6)，另外，施加 NaCl 之冰花實驗處理的鈉離子含量，除濃度 250 mM 之外，少量澆水分別顯著高於同濃度的適量澆水組別。

鉀離子 (Fig. 4.7) 於兩組不同澆水次數組別中，對照組累積的濃度數值最高，而實驗中所有施加 NaCl 之處理呈現的數值大約僅接近同組別對照組累積濃度的 1/5，明顯觀察到 NaCl 對冰花體內鉀離子的影響；於適量澆水組別間可發現添加 NaCl 濃度 500 mM 與 750 mM 之鉀離子含量顯著高於 NaCl 濃度 250 mM 與 1000 mM，同時 500 mM 與 750 mM 之間無顯著差異，並且僅只有 500 mM 與 750 mM 兩 NaCl 濃度之適量澆水處理顯著高於同濃度的少量澆水組別；而少量澆水的冰花鉀離子含量在濃度 1000 mM 含顯著高於其它施加 NaCl 的處理，低於濃度 1000 mM 的實驗處理之間則無顯著差異。

於適量澆水組別的對照組可發現其含有所有處理中最多的硝酸離子 (Fig. 4.8)，而少量澆水組別所呈現的數值變化與適量澆水組別相似，兩組皆於 NaCl 濃度 250 mM、500 mM、750 mM 三組濃度分別隨著添加 NaCl 濃度愈高其硝酸離子濃度隨之漸低，添加 NaCl 濃度至 1000 mM 時數值卻相比於 500 mM 有著顯著提升，其中兩組不

同澆水次數組別相異在於少量澆水之對照組是組別中累積最少硝酸離子；而在不同澆水次數的兩組別間比較可以發現雖然少量澆水的硝酸含量在對照組中僅約適量澆水的一半含量，但是在添加 NaCl 的所有實驗處理皆為少量澆水數值顯著高於適量澆水(Fig. 4.8)。

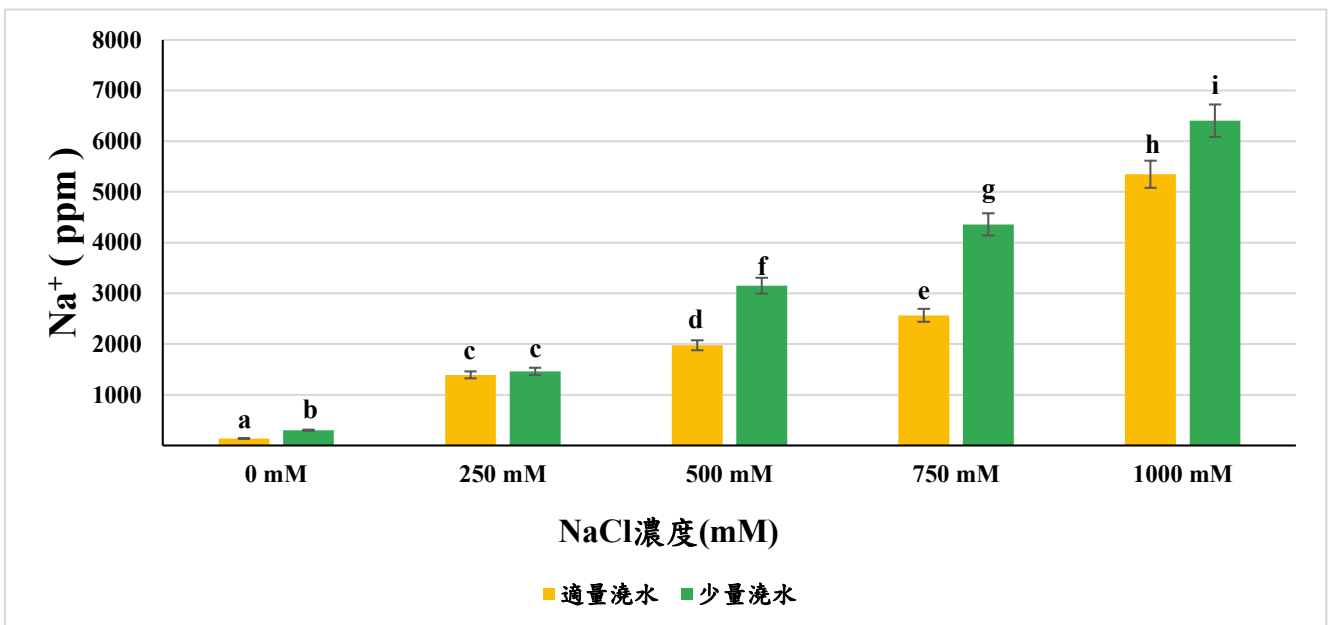


Fig. 4.6 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對鈉離子之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異($P < 0.05$)

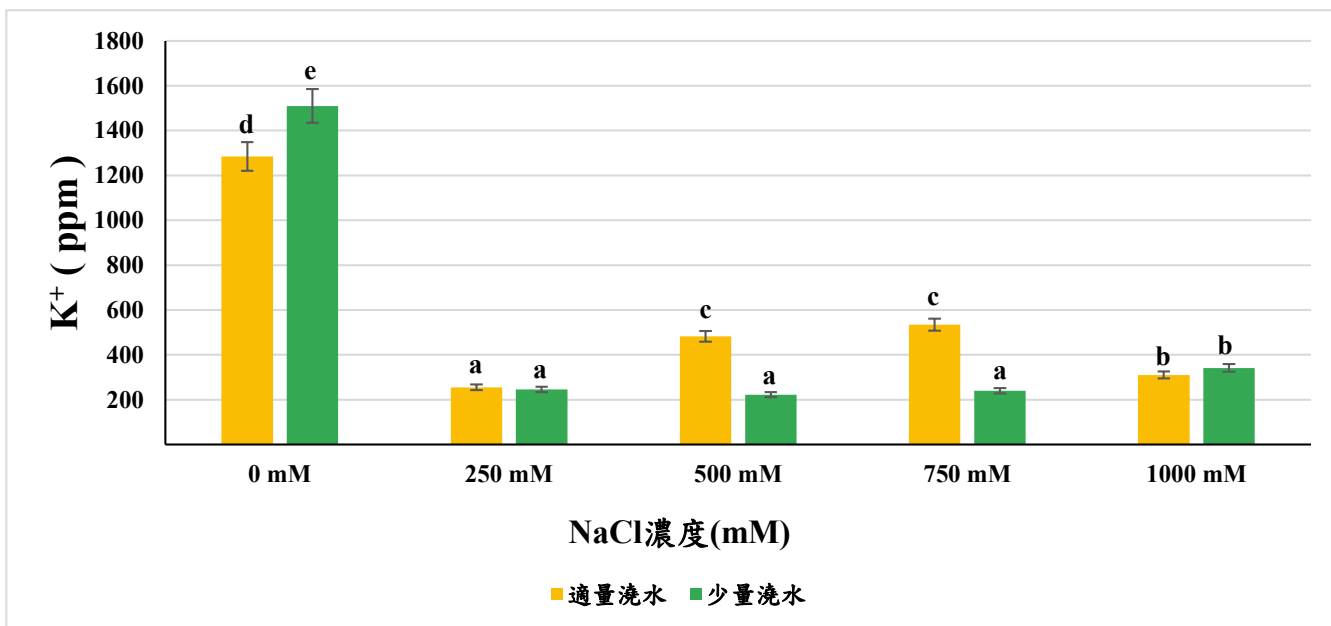


Fig. 4.7 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對鉀離子之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異(P<0.05)

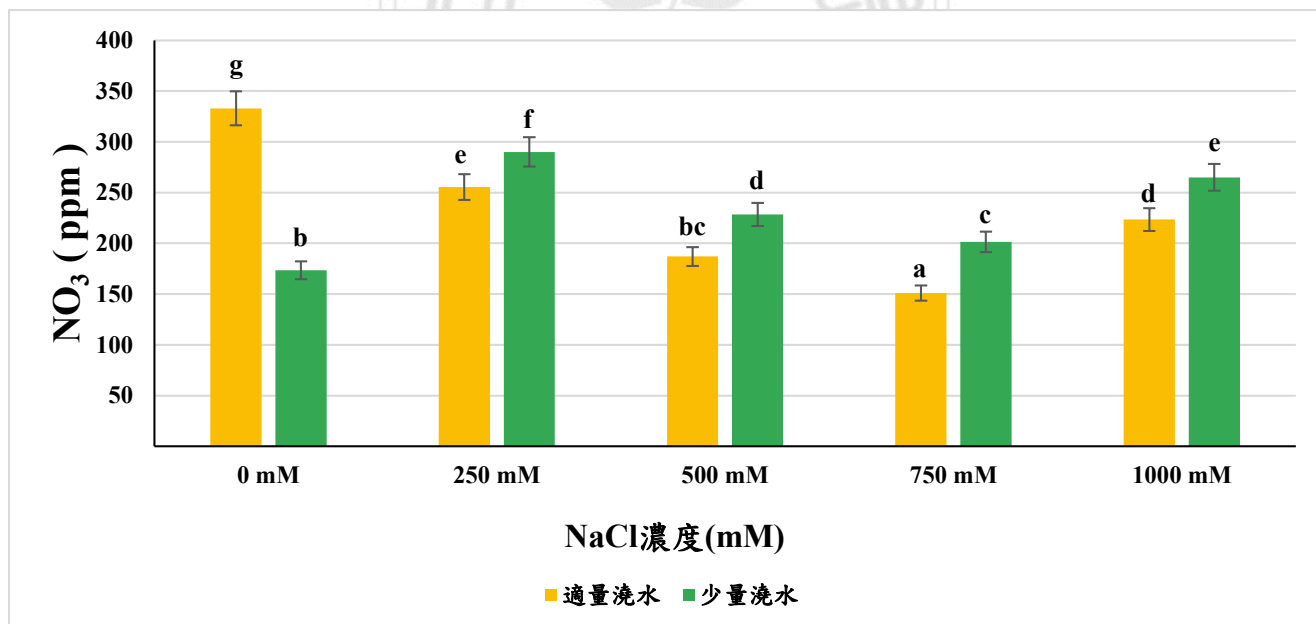


Fig. 4.8 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對硝酸離子之影響

註:圖中不同英文字母表示各處理以鄧肯氏多變異分析下有顯著性差異(P<0.05)

4.3 葉綠素螢光、葉綠素與類胡蘿蔔素含量分析

根據葉綠素螢光(Fv/Fm)所呈現的結果(Table. 4.1)可觀察到適量澆水組別之間並無顯著差異，代表其 Fv/Fm 值未受 NaCl 濃度影響，而少量澆水組別中濃度 500 mM、750 mM、1000 mM 三組處理間無顯著差異，其中 500 mM 與 750 mM 顯著低於其它處理。

冰花的葉綠素(Table. 4.1)經分析結果表示，於適量澆水組添加 NaCl 濃度 1000 mM 處理具有最高葉綠素 *a* 含量，除對照組外，適量澆水組別中添加 NaCl 的實驗處理之葉綠素 *a* 含量皆隨著 NaCl 濃度的上升而增加，並且適量澆水組別每項處理的葉綠素 *a* 皆顯著大於相同濃度的少量澆水組別；少量澆水組別之中可觀察到 NaCl 濃度 500 mM 分析出的葉綠素 *a* 含量顯著少於其它處理，而 NaCl 濃度於 750 mM、1000 mM 則是顯著高於同組的對照組、250 mM、500 mM；葉綠素 *b* (Table. 4.1) 於兩個不同澆水次數組別分別在適量澆水 250 mM 與少量澆水 1000 mM 出現最高值，而葉綠素 *b* 含量的最低值在

兩組別中則同時出現在濃度 500 mM；總和上述兩者的葉綠素 $a+b$ (Table. 4.1) ，兩不同澆水次數組別在 500 mM、750 mM 以及 1000 mM 皆表現出葉綠素 $a+b$ 隨著 NaCl 濃度上升而增加的趨勢，並且在兩組澆水處理中，所有施加 NaCl 處理的少量澆水組別的葉綠素 $a+b$ 數值皆分別顯著低於相同濃度的適量澆水組別。

類胡蘿蔔素含量 (Table. 4.1) 於少量澆水實驗組中表現出在 NaCl 250 mM 與 500 mM 隨著濃度增加而上升，750 mM 和 1000 mM 則受到較高濃度的 NaCl 影響，類胡蘿蔔素含量與添加的 NaCl 濃度成反比，但是在適量澆水的組別所呈現的結果卻與之相反，適量澆水的組別在施加 250 mM NaCl 的處理出現類胡蘿蔔素含量的最低值，而在此之後處理隨著 NaCl 添加濃度增加，其含量也成正比增加，最終於 NaCl 濃度 1000 mM 觀察到最高類胡蘿蔔素含量。

Table 4.1 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對葉綠素螢光 (Fv/Fm)、
葉綠素 *a*、葉綠素 *b*、葉綠素 *a+b* 與胡蘿蔔素之影響。

處理	葉綠素螢光 (Fv/Fm)	葉綠素 <i>a</i> (mg.g ⁻¹)	葉綠素 <i>b</i> (mg.g ⁻¹)	葉綠素 <i>a+b</i> (mg.g ⁻¹)	類胡蘿蔔素 (mg.g ⁻¹)
適量澆水					
0 mM	0.74±0.004 bc	5.38±0.02 f	2.11±0.10 c	7.49±0.08 d	1.21±0.05 c
250 mM	0.75±0.005 c	5.02±0.03 d	3.40±0.01 e	8.42±0.04 f	0.63±0.02 a
500 mM	0.74±0.003 bc	5.62±0.06 g	1.47±0.08 b	7.09±0.05 c	1.49±0.06 e
750 mM	0.75±0.003 c	6.09±0.03 h	2.74±0.05 d	8.83±0.02 g	1.82±0.05 f
1000 mM	0.74±0.004 bc	7.79±0.06 i	2.18±0.15 c	9.96±0.11 h	2.37±0.05 g
少量澆水					
0 mM	0.74±0.004 bc	4.91±0.06 c	2.27±0.10 c	7.18±0.08 c	1.04±0.06 b
250 mM	0.75±0.004 c	4.74±0.08 b	1.65±0.21 b	6.39±0.14 b	1.14±0.09 bc
500 mM	0.72±0.008 a	4.32±0.04 a	0.96±0.06 a	5.28±0.03 a	1.38±0.02 d
750 mM	0.71±0.008 a	5.12±0.05 e	2.91±0.09 d	8.03±0.10 e	1.06±0.04 b
1000 mM	0.73±0.01 ab	5.07±0.02 de	3.42±0.13 e	8.49±0.11 f	0.66±0.11 a

同列中不同英文字母代表各處理以鄧肯氏多變異分析下的顯著性差異(P<0.05)

4.4 DPPH 抗氧化能力與總多酚

冰花在適量澆水與少量澆水組別於 DPPH 抑制率(Table. 4.2) 可以觀察到無施加 NaCl 的對照組兩者間無顯著差異，而 250 mM 與 500 mM NaCl 適量澆水的數值分別顯著低於少量澆水，施加 NaCl 500 mM 和 1000 mM 適量澆水之 DPPH 抑制率顯著高於少量澆水，除此之外，兩者皆於濃度 250 mM 與 500 mM 處理的 DPPH 抑制率隨著濃度增加而上升，500 mM 和 1000 mM 則反之，DPPH 抑制率隨著濃度減少而下降。

如 Table 4.2 所示，根據分析冰花多酚濃度的結果，於大部分添加 NaCl 的實驗組大多在少量澆水組呈現出比適量澆水組更高的濃度；適量澆水的組別在實驗組 NaCl 濃度 250 mM 與 500 mM 表現的多酚濃度相對於對照組有顯著的成長，濃度增加至 750 mM 的實驗處理多酚濃度顯著下降，直到濃度 1000 mM 的實驗處理，多酚濃度相較於對照組有著顯著的下降；少量澆水組別整體上，添加 NaCl 的實驗組

在所有濃度呈現的數據與對照組比較皆表現出提升多酚的累積，從 NaCl 濃度 250 mM 開始多酚濃度便隨著 NaCl 濃度增加，當實驗濃度進行至 750 mM 的處理，其多酚呈現累積濃度顯著高於其它處理，而 NaCl 濃度達到 1000 mM 則出現多酚累積些微下降。

Table 4.2 不同 NaCl 濃度與澆水次數處理間對 DPPH 抑制率、多酚之影響。

處理	DPPH 抑制率 (%)	多酚 (mg.g ⁻¹)
適量澆水		
0 mM	0.64±0.00 b	33.81±1.54 b
250 mM	0.71±0.00 c	49.73±0.90 e
500 mM	0.76±0.00 d	50.66±0.83 e
750 mM	0.75±0.01 d	32.69±0.63 b
1000 mM	0.71±0.01 c	19.87±0.48 a
少量澆水		
0 mM	0.65±0.01 b	36.58±0.96 c
250 mM	0.74±0.01 d	44.78±0.86 d
500 mM	0.84±0.00 e	57.93±0.48 f
750 mM	0.65±0.00 b	71.58±0.55 g
1000 mM	0.53±0.01 a	50.89±0.60 e

同列中不同英文字母代表各處理以鄧肯氏多變異分析下的顯著性差異(P<0.05)



Fig. 4.9 冰花適量澆水生長第 45 天(A) 0 mM (對照組) ; (B) 250 mM ; (C) 500 mM ; (D) 750 mM ; (E)1000 mM

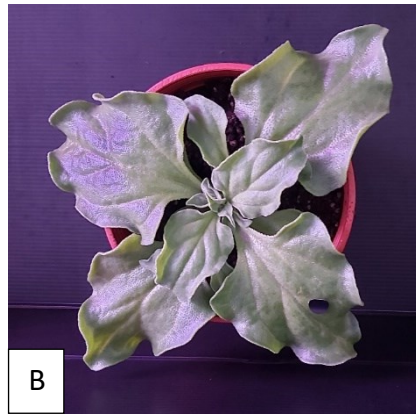
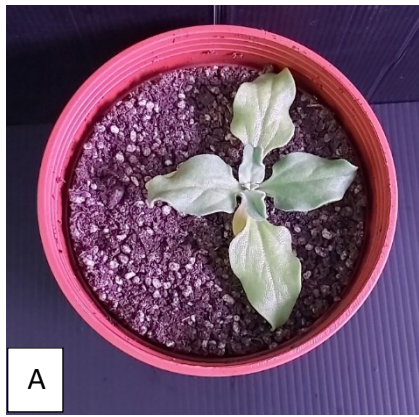


Fig. 4.10 冰花少量澆水生長第45天(A) 0 mM (對照組) ; (B) 250 mM ; (C) 500 mM ; (D) 750 mM ; (E) 1000 mM

第五章

討論

冰花對於逆境的容忍程度相當高，現今有許多研究是觀察冰花對於各種環境迫害的生理狀況的實驗，但較少有研究報告是關於冰花處在複數的環境逆境中所產生的反應，因此本論文藉由使冰花同時處於乾旱與鹽逆境中，探討冰花在特定的逆境組合下是否對其生長性狀及植物體內的代謝產物有所影響。

本實驗中所觀察的冰花側枝生長過程與 Bohnert & Cushman (2000)的結果雷同，根據 Bohnert & Cushman 研究發現冰花移植後第五周開始生成側枝，在形成側枝後冰花原本的主要葉片便會開始萎縮，接著花苞將從側枝頂端形成並於大約兩周後開花；而本實驗結果如同 Fig. 4.2 所述，當冰花培養在少量澆水並同時施加 NaCl 濃度 500 mM 以上，便會導致側枝顯著生長，大約於冰花移植後第三、第四周時可觀察到；推測當冰花處於兩種逆境條件時，能夠促進側枝

葉片提早形成，代表著冰花在接受少量澆水與濃度 500 mM 以上的 NaCl 後將導致其提早成熟，而僅給予鹽逆境或乾旱單一種逆境則無法促進冰花形成側枝葉片。

從本研究對冰花進行的兩種不同澆水次數，觀察到冰花少量澆水組別在添加 NaCl 濃度 250 mM、500 mM、750 mM 之處理中(Fig. 4.10B, Fig. 4.10C, Fig. 4.10D)，於葉片數(Fig. 4.1)、葉面積(Fig. 4.3)、濕重(Fig. 4.4)及乾重(Fig. 4.5)四項實驗結果之數值相較對照組皆顯著提高，此外，NaCl 濃度 250 mM、500 mM 之冰花少量澆水處理於上述生長性狀皆高於相同 NaCl 濃度之適量澆水組別，由此可知在給予冰花 250 mM、500 mM 濃度之 NaCl 與乾旱兩項條件後，將使冰花明顯提升整體生長(Fig. 4.10B, Fig. 4.10C)；依 Agarie 等人(2009)研究，鹽逆境與乾旱皆誘導冰花從 C3 光合作用轉變為景天酸代謝，而進行景天酸代謝的冰花體內將累積較高濃度的蘋果酸與檸檬酸(Winter, Lüttge, Winter, & Troughton, 1978)，這兩種有機酸參與粒線體的能量

合成(Dao et al., 2022 ; Wang et al., 2017) , 間接使冰花擁有較多能量進行生長 ; 於適量澆水組別添加 1000 mM NaCl 處理明顯受到高濃度 NaCl 影響(Fig. 4.9E) , 其葉片數、葉面積與濕重數值顯著低於包含對照組的其它適量澆水處理 ; 推測當冰花受到單一逆境 , 即 NaCl 達到 1000 mM 時便足以造成其生長受抑制 ; 相同地 , 在少量澆水組別中 添加 1000 mM NaCl 時(Fig. 4.10E) , 其葉面積、濕重與乾重等項目中 表現之數值皆顯著低於 250 mM、500 mM 與 750 mM 三組處理 , 且 與對照組相比無顯著差異(Fig. 4.10A) ; 推測由於 1000 mM NaCl 濃度 過高 , 當冰花同時處於乾旱及 NaCl 1000 mM 兩種逆境時 , 將導致冰 花生長受抑制 , 即使如此 , 依然可以從中發現冰花對鈉的高度耐受 力 ; 在 Adhikari 等人 (2019) 針對萵苣耐鹽品種的研究 , 當施加 NaCl 濃度約至 40 mM 便會對萵苣的生長重量造成抑制 , 與本研究所使用 的最高 NaCl 濃度相差 25 倍 , 可看出冰花有著顯著高於萵苣的耐鹽 性。

藉由分析冰花葉片中鈉離子濃度(Fig. 4.6)發現兩組不同澆水次數的實驗組，其鈉離子含量皆隨著施加在土壤中的 NaCl 濃度提高而增加，而在 500 mM、750 mM、1000 mM 三組濃度處理中發現冰花鈉離子含量的累積經過乾旱處理(少量澆水)相較適量澆水組別有顯著的提高；本研究結果與 Hirokane 等人(2014)研究相似，依 Hirokane 等人所進行的實驗結果顯示冰花在生長過程中受到乾旱影響會導致葉片累積較高的鹽分，並提出可以藉由觀察冰花葉片中鹽分累積的提高，以此做判斷土壤水勢是否降低，為土壤鹽鹼化提供額外一項監控的方式；另外，從鈉離子含量的數據能明顯發現冰花突出的耐鹽性；稻米、豆類等淡土植物(glycophytes)在受到鹽逆境危害時，只要土壤當中的鈉含量超過 100 mM 便會對植物本身造成嚴重傷害(Yokoi et al., 2002)；在 Wang 等人(2012)對稻米進行的鹽逆境實驗中，稻米的老葉片僅能累積接近 800 μm 鈉離子，而冰花在少量澆水添加 250 mM

NaCl 的處理中，不但生長未受抑制，同時能在葉片中累積約 30 mM 之鈉離子。

適量澆水與少量澆水兩組處理中所測量的鉀離子濃度 (Fig. 4.7)，可以明顯觀察到其濃度隨著是否施加 NaCl 而有大幅度的減少，根據 Abdelaziz 等人(2017)研究，在鹽逆境中產生過量鈉離子會與鉀離子競爭，進而取代鉀離子與細胞中的酶或蛋白質進行結合，推估此現象於本研究結果呈現，由於冰花施加 NaCl 導致實驗組鈉離子含量提高(Fig. 4.7)，進而與冰花體內鉀離子競爭，使實驗組鉀離子濃度顯著低於對照組。

此外，適量澆水中施加 NaCl 之實驗組所展現的硝酸鹽濃度(Fig. 4.8)累積趨勢與氯化物 (Cl^-) 較為相關 (Liu et al., 1996)，在 Liu 等人的實驗中發現施加氯離子濃度越高將降低硝酸鹽濃度，然而少量澆水組別並無觀察到此現象發生；冰花的兩種不同澆水次數的實驗組

別經由觀察，硝酸鹽離子的累積在 NaCl 濃度低於 1000 mM 之處理皆隨著 NaCl 濃度提高而下降，但是 NaCl 濃度 1000 mM 之處理則是出現其硝酸鹽濃度顯著高於實驗組 500 mM 與 750 mM 的現象，推測可能當冰花施加高達 1000 mM NaCl 時，對硝酸鹽累積有著不同的影響，而此部分將需要作更多研究進行探討。

於實驗結果的葉綠素螢光(Fv/Fm)中(Table. 4.1)，當冰花同時處於濃度 500 mM 或 750 mM 與乾旱(少量澆水)時，可發現其 Fv/Fm 數值顯著低於其它全部處理，而在適量澆水組別中可觀察到 NaCl 濃度的增加並未對螢光葉綠素造成顯著性的影響；依照 Ritchie (2006)的研究提出，當測量的 Fv/Fm 數值在 0.7 至 0.83 之間代表植物光合作用效率並未受到逆境危害，屬於正常生長範圍；然而本實驗發現少量澆水的 500 mM、750 mM 之 Fv/Fm 最低且接近 0.7，此為可預料的結果，由於冰花本身高度的耐鹽性，因此即使高濃度之 NaCl 顯著減少冰花 Fv/Fm 數值，但依然可維持植物生長正常範圍；而當澆水次

數改為兩天澆一次時(適量澆水)，其 Fv/Fm 則有著顯著地改善，其數值提升至約 0.74 以上。

本研究於測量冰花體內葉綠素 $a+b$ 與類胡蘿蔔素，發現其 NaCl 濃度 250 mM 處理之類胡蘿蔔素含量為少量澆水顯著高於適量澆水，除此之外，其它處理之葉綠素 $a+b$ 與類胡蘿蔔素含量皆為適量澆水顯著高於相同 NaCl 濃度的少量澆水組別(Table 4.1)，由此得知乾旱對於冰花體內的這兩種色素產生有著抑制的效果，此現象與 Poormohammad Kiani 等人(2008)觀察向日葵於乾旱中的變化結果相仿；另外根據 Ladjal 等人(2000)研究，乾旱將對植物葉綠體中的類囊體(Thylakoid)造成傷害，進而使其中的葉綠素與類胡蘿蔔素流失，導致其測得含量降低。

冰花的 DPPH 抗氧化能力(Table 4.2)，適量澆水組別添加 NaCl 之實驗組皆顯著高於對照組，少量澆水僅在 NaCl 濃度 250 mM 與 500

mM 顯著高於對照組，此結果雖然與 Birhanie 等人(2022)在大麻槿 (*Hibiscus cannabinus* L.)中進行的鹽逆境實驗結果相似，然而 Birhanie 等人認為植物的抗氧化能力增加與多酚累積的提高有關，本研究的多酚含量趨勢並不符合上述結果，推測冰花的 DPPH 抗氧化能力除了受到多酚影響外，有著其它變因存在。

實驗結果於 Table 4.2 中可發現，除添加 NaCl 濃度 250 mM 外的所有乾旱處理之總多酚濃度顯著高於適量澆水組別，此結果與其它不同植物的乾旱反應有著相似的趨勢；根據 Marín 等人(2009)於辣椒的實驗與 Guida 等人(2017)針對番茄的實驗，減少澆水量除了能提高辣椒與番茄體內的總多酚含量外，更在兩份研究中發現少量的給予水分對於兩種植物的品質上皆有著正面的影響；此外，少量澆水冰花添加 NaCl 之實驗處理多酚含量皆顯著高於對照組，推測由於鹽逆境造成植物體內活性氧增加，植物受此刺激便大量累積多酚進行抗

氧化(Hossain et al., 2022)；由上述可知乾旱和鹽逆境可提高作物品質

並促進體內生成二次代謝產物。



第六章

結論

本實驗藉由在冰花的生長環境中同時給予乾旱與鹽逆境，觀察冰花於複數逆境對其生理與生長之影響；結果顯示，NaCl 的施加對適量澆水組別，僅在施加 NaCl 濃度 250 mM 時濕重顯著高於同澆水處理的其它 NaCl 濃度，除此之外，NaCl 在適量澆水組別中針對冰花生長並無明顯正向影響；而在適量澆水組別之生理上則發現，經過施加 1000 mM NaCl 使其類胡蘿蔔素與葉綠素 $a+b$ 兩項目有著最高數值。

乾旱雖然顯著造成無添加 NaCl 之對照組冰花葉片面積縮小且減少體內的葉綠素與類胡蘿蔔素累積，但在整體性狀數據發現，當冰花處於乾旱並施加 250 mM 與 500 mM 之兩 NaCl 濃度(Fig. 4.10B; Fig. 4.10C)，對生長有著最明顯的正面影響，葉面積和濕重皆高於所有處理，與此同時，少量澆水的 500 mM NaCl 之處理在抗氧化能力表

現最佳，與其它處理有著顯著性差異；綜合性狀與生理數值，本研究發現僅給予冰花單一逆境難以為其生長提供益處，但是當冰花處於 8 天澆一次水(少量澆水)並添加 250 mM NaCl 兩種逆境時，整體生長狀態最佳。

研究限制

由於本研究並未檢測冰花的多元醇，無法得知在乾旱與鹽逆境兩種環境逆境的同時影響下冰花體內詳細的多元醇含量變化，但從各項文獻提供之結果，推測本實驗冰花在乾旱環境下施加特定濃度 NaCl 有助多元醇的累積；綜合上述，由於本實驗的少量澆水組別添加 NaCl 濃度 250 mM、500 mM 之兩組處理，皆於採收重量與葉面積等生長方面顯著優於其它組別，推測此處理冰花受乾旱與適量 NaCl (250 mM、500 mM)誘導，提高植物體內肌醇與松醇累積，使之減少逆境造成的危害，並取得相較其它實驗處理更多的生長優勢；因此

未來研究可優先測試多元醇在兩逆境下的濃度變化，更完整地探討

經過鹽逆境與乾旱影響，是否能增加冰花作為保健食品的價值。



參考文獻

Adhikari, N. D., Simko, I., & Mou, B. (2019). Phenomic and Physiological Analysis of Salinity Effects on Lettuce. *Sensors*, 19(21), 4814.

Retrieved from <https://www.mdpi.com/1424-8220/19/21/4814>

Agarie, S., Kawaguchi, A., Kodera, A., Sunagawa, H., Kojima, H., Nose, A., & Nakahara, T. (2015). Potential of the Common Ice Plant, *Mesembryanthemum crystallinum* as a New High-Functional Food as Evaluated by Polyol Accumulation. *Plant Production Science*, 12(1), 37-46. doi:10.1626/pp.s.12.37

Abdelaziz, M. E., Kim, D., Ali, S., Fedoroff, N. V., & Al-Babili, S. (2017). The endophytic fungus *Piriformospora indica* enhances *Arabidopsis thaliana* growth and modulates Na⁺/K⁺ homeostasis under salt stress conditions. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 263, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.07.006>

Agarie, S., Kawaguchi, A., Kodera, A., Sunagawa, H., Kojima, H., Nose, A., & Nakahara, T. (2009). Potential of the Common Ice Plant, *Mesembryanthemum crystallinum* as a New High-Functional Food as Evaluated by Polyol Accumulation. *Plant Production Science*, 12(1), 37-46. doi:10.1626/ppp.12.37

Ahn, C. H., Hossain, M. A., Lee, E., Kanth, B. K., & Park, P. B. (2018). Increased salt and drought tolerance by D-pinitol production in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun*, 504(1), 315-320. doi:10.1016/j.bbrc.2018.08.183

Allakhverdiev, S. I., & Murata, N. (2008). Salt stress inhibits photosystems II and I in cyanobacteria. *Photosynth Res*, 98(1-3), 529-539. doi:10.1007/s11120-008-9334-x

Birhanie, Z. M., Yang, D., Luan, M., Xiao, A., Liu, L., Zhang, C., . . . Li, D. (2022). Salt Stress Induces Changes in Physiological Characteristics, Bioactive Constituents, and Antioxidants in Kenaf

(*Hibiscus cannabinus* L.). *Antioxidants* (Basel), 11(10).

doi:10.3390/antiox11102005

Bohnert, H. J., & Cushman, J. C. (2000). The Ice Plant Cometh: Lessons in Abiotic Stress Tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*, 19(3), 334-346. doi:10.1007/s003440000033

Chen, L.-Y., Cheng, C.-W., Wang, J.-S., Lin, C.-C., Chang, Y.-L., Li, J.-L., You, S., Liang, J.-Y. (2012). Effects of Base-catalysis on Determination of Total Polyphenols with Folin-Ciocalteu Reagent. *MC-Transaction on Biotech.*, 4(1):10-19.

Chimwemwe Tembo-Phiri (2019). Edible Fynbos Plants: A Soil Types and Irrigation Regime Investigation on *Tetragonia decumbens* and *Mesembryanthemum crystallinum*. Retrieved from <https://scholar.sun.ac.za>

Chiu, S.-H. (2009). Studies on Antioxidant Capacities and Phenolic Compounds of *Perilla* (*Perilla frutescens*) with Different Varieties

and Growth Seasons. National Pingtung University of Science and Technology, Department of Plant Industry.

Clements, R., & Darnell, B. (1980). Myo-inositol content of common foods: development of a high-myo-inositol diet. *The American journal of clinical nutrition*, 33, 1954-1967. doi:10.1093/ajcn/33.9.1954

Cushman, J. C. (2001). Crassulacean Acid Metabolism. A Plastic Photosynthetic Adaptation to Arid Environments. *Plant Physiology*, 127(4), 1439-1448. doi:10.1104/pp.010818

Dodd, A. N., Borland, A. M., Haslam, R. P., Griffiths, H., & Maxwell, K. (2002). Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of experimental botany*, 53(369), 569-580.

Deinlein, U., Stephan, A. B., Horie, T., Luo, W., Xu, G., & Schroeder, J. I. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in plant science*, 19(6), 371-379.

D. M. Vernon, J. A. Ostrem & H. J. Bohnert (1993). Stress perception and response in a facultative halophyte: the regulation of salinity-

induced genes in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant, Cell and Environment* 16, 437-444

Dao, O., Kuhnert, F., Weber, A. P., Peltier, G., & Li-Beisson, Y. (2022).

Physiological functions of malate shuttles in plants and algae. *Trends in Plant Science*, 27(5), 488-501.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). Global

Soil Partnership. Retrieved August 03, 2022, from

<https://www.fao.org/global-soil-partnership/gasmap/en/>

Guida, G., Sellami, M. H., Mistretta, C., Oliva, M., Buonomo, R., De

Mascellis, R., . . . Giorio, P. (2017). Agronomical, physiological and fruit quality responses of two Italian long-storage tomato landraces under rain-fed and full irrigation conditions. *Agricultural Water*

Management, 180, 126-135. doi:10.1016/j.agwat.2016.11.004

Hirokane, T., Ooba, M., Shimada, S., & Toyoda, H. (2014). Effects of water

and salinity stress on the growth of iceplant. *Journal of Arid Land Studies*, 24, 161-164.

Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. (1938) The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circulation, 347, 32.

Hossain, M. N., Sarker, U., Raihan, M. S., Al-Huqail, A. A., Siddiqui, M. H., & Oba, S. (2022). Influence of Salinity Stress on Color Parameters, Leaf Pigmentation, Polyphenol and Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of Amaranthus lividus Leafy Vegetables. *Molecules*, 27(6). doi:10.3390/molecules27061821

Isayenkov, S. V. (2012). Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytology and Genetics*, 46(5), 302-318. doi:10.3103/s0095452712050040

Kim, H. J., Park, K. S., Lee, S. K., Min, K. W., Han, K. A., Kim, Y. K., & Ku, B. J. (2012). Effects of pinitol on glycemic control, insulin resistance and adipocytokine levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann Nutr Metab*, 60(1), 1-5. doi:10.1159/000334834

Kong, J., Du, Z., & Dong, L. (2020). Pinitol Prevents Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammatory Responses in BV2 Microglia Mediated by TREM2. *Neurotox Res*, 38(1), 96-104. doi:10.1007/s12640-020-00187-z

Ladjal, M., Epron, D., & Ducrey, M. (2000). Effects of drought preconditioning on thermotolerance of photosystem II and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings. *Tree physiology*, 20(18), 1235–1241. <https://doi.org/10.1093/treephys/20.18.1235>

Li, C. H., Tien, H. J., Wen, M. F., & Yen, H. E. (2021). Myo-inositol transport and metabolism participate in salt tolerance of halophyte ice plant seedlings. *Physiol Plant*, 172(3), 1619-1629. doi:10.1111/ppl.13353

Liu, L., & Shelp, B. J. (1996). Impact of chloride on nitrate absorption and accumulation by broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Canadian journal of plant science*, 76(2), 367-377.

Maadane, A., Merghoub, N., Ainane, A., El Arroussi, H., Benhima, R., Amzazi, S., Bakri, Y., Wahby, I. (2015). Antioxidant activity of some Moroccan marine microalgae: Pufa profiles, carotenoids and phenolic content. *J Biotech*, 215:13-19.

Marín, A., Rubio, J. S., Martínez, V., & Gil, M. I. (2009). Antioxidant compounds in green and red peppers as affected by irrigation frequency, salinity and nutrient solution composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(8), 1352-1359. doi:10.1002/jsfa.3594

Nelson, D. E., Koukoumanos, M., & Bohnert, H. J. (1999). Myo-inositol-dependent sodium uptake in ice plant. *Plant physiology*, 119(1), 165–172. <https://doi.org/10.1104/pp.119.1.165>

Poormohammad Kiani, S., Maury, P., Sarrafi, A., & Grieu, P. (2008). QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed

conditions. *Plant Science*, 175(4), 565-573.

doi:10.1016/j.plantsci.2008.06.002

Ritchie, G. A. (2006). Chlorophyll Fluorescence: What is it and what do the numbers mean? In L.E. Riley, R.K. Dumroese, T.D. Landis (ed.), *USDA Forest Service Proceedings* (pp. 34-43). Fort Collins, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station.

Roeurn, S., Hoshino, N., Soejima, K.-t., Inoue, Y., Cushman, J. C., & Agarie, S. (2016). Suppression subtractive hybridization library construction and identification of epidermal bladder cell related genes in the common ice plant, *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Production Science*, 19(4), 552-561.

doi:10.1080/1343943x.2016.1221320

Thomas, J. C., & Bohnert, H. J. (1993). Salt Stress Perception and Plant Growth Regulators in the Halophyte *Mesembryanthemum*

crystallinum. *Plant physiology*, 103(4), 1299–1304.

<https://doi.org/10.1104/pp.103.4.1299>

Thomas, J. C., Smigocki, A. C., & Bohnert, H. J. (1995). Light-induced expression of ipt from *Agrobacterium tumefaciens* results in cytokinin accumulation and osmotic stress symptoms in transgenic tobacco. *Plant molecular biology*, 27(2), 225–235.

<https://doi.org/10.1007/BF00020179>

Vivrette, N. J., & Muller, C. H. (1977). Mechanism of Invasion and Dominance of Coastal Grassland by *Mesembryanthemum crystallinum*. *Ecological Monographs*, 47(3), 301–318.

<https://doi.org/10.2307/1942519>

Vucenik, I., & Shamsuddin, A. M. (2006). Protection against cancer by dietary IP6 and inositol. *Nutr Cancer*, 55(2), 109–125.

[doi:10.1207/s15327914nc5502_1](https://doi.org/10.1207/s15327914nc5502_1)

Wang, H., Zhang, M., Guo, R., Shi, D., Liu, B., Lin, X., & Yang, C. (2012). Effects of salt stress on ion balance and nitrogen metabolism of old

and young leaves in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC plant biology*, 12, 1-11.

Wang, L., Cui, D., Zhao, X., & He, M. (2017). The important role of the citric acid cycle in plants. *Genomics and Applied Biology*, 8.

Winter, K., Garcia, M., & Holtum, J. A. (2008). On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoe*, and *Opuntia*. *J Exp Bot*, 59(7), 1829-1840. doi:10.1093/jxb/ern080

Winter, K., Lüttge, U., Winter, E., & Troughton, J. H. (1978). Seasonal shift from C3 photosynthesis to Crassulacean Acid Metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* growing in its natural environment. *Oecologia*, 34(2), 225-237. doi:10.1007/BF00345168

Winter, K., & Ziegler, H. (1992). Induction of crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* increases

reproductive success under conditions of drought and salinity stress.

Oecologia, 92(4), 475–479. <https://doi.org/10.1007/BF00317838>

Yildizli, A., Çevik, S., & Ünyayar, S. (2018). Effects of exogenous myo-
inositol on leaf water status and oxidative stress of *Capsicum*
annuum under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(6).
[doi:10.1007/s11738-018-2690-z](https://doi.org/10.1007/s11738-018-2690-z)

Yokoi, S., Bressan, R. A., & Hasegawa, P. M. (2002). Salt stress tolerance
of plants. *JIRCAS working report*, 23(1), 25-33.

