

中華民國第 51 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

040718

脈脈含情

學校名稱：臺中市私立致用高級中學

作者： 高二 蔡宜庭 高二 高怡芳	指導老師： 葉宏毅
-------------------------	--------------

關鍵詞：葉子的發育、葉脈維管束、木質化

摘 要

「在已木質化的葉片當中，葉片是如何延展的呢？」死去的木質部細胞將有利於運輸水分，但當葉子長大時，又如何改變既定的骨架呢？其表面下的過程及機制是我們所不知道的，因此我們設計一系列的實驗來探討。一開始的葉脈標本實驗，了解到葉子木質化程度與葉子大小無一定關聯。將葉片點上記號，發現在生長期間點位移呈等比例型式放大，由此證明葉子確實是以放大的方式成長；玉蘭樹單葉的成長一路持續，而馬拉巴栗成長時在某些週數中呈現快速成長的爬階梯現象。數位顯微攝影得知葉脈的佈局在葉肉分化之前就已決定，爾後葉脈隨著葉子成放大生長，但無法解釋已木質化死去的葉脈木質部如何一同生長延長。

壹、研究動機

上高二生物課時，老師播放「植物的私生活」這部有趣的影片，片中我們看到植物不停地向上茁壯，想辦法爭取到陽光以製造養分。其利用曠時攝影同時記錄下葉與莖的生長情形，而其中讓我們發想的是：葉子與莖的成長方式似乎不同——莖的頂端分生組織以堆積的方式成長；而葉子似乎是以放大的方式成長。

維管束的木質部在成熟後木質化死亡得以有效率的運輸水分，這也意味著木質部將會固定它的形狀與長度。如果以頂端分生組織所造成的生長來看，新生的木質部永遠堆砌在死的木質部之後，如同釘在樹幹上的釘子不會隨著樹高的成長而改變高度。

然由影片看來，葉子不是以堆積的形式生長。如果將一個圓放大，其圓周也會變長。葉脈會將葉肉細胞框住，隨著葉片的展開，這個圍籬勢必要變長。

為了解葉脈中維管束木質部的發展，我們先製作了一系列不同時期葉子的葉脈標本。發現葉子脫離嫩葉時期之後，其木質部已有木質化的現象，這引起矛盾的問題，「已成熟死去的木質部細胞何以跟著葉子成長呢？」抱著這樣的疑問，我們試圖以一系列的實驗來解惑。

貳、研究目的

一、葉脈標本製作了解葉齡與木質化的程度的關係

二、確定葉子的成長模式

挑選單葉玉蘭樹 (*Michelia alba*) 與複葉馬拉巴栗 (*Pachira macrocarpa*) 的若干葉片，以點記號在時間軸上位移的量測探討葉子展開的模式。

三、葉脈成長細部顯微攝影

觀察細部葉脈佈局的時間點與葉脈及其所包圍的葉肉 (町) 的成長模式。

參、研究設備及器材

一、葉脈標本的製作¹¹

氫氧化鈉 5% 及 10%

不同時期的玉蘭葉和馬拉巴栗葉

二、點位移實驗

不同時期的玉蘭葉和馬拉巴栗葉

透明網格紙

麥克筆

壓克力板

三、打洞實驗

圓形打洞器

透明網格紙

相機及數位顯微鏡頭 (Dino Lite)

四、葉脈的數位顯微攝影

數位顯微鏡頭 (Dino Lite)

肆、研究過程或方法

一、葉脈標本的製作

在抽氣櫃中以 10% NaOH (嫩葉以 5% NaOH) 溶液加熱煮葉子至呈現較為透光時撈出，以清水加以清洗後，放在 100 目不銹鋼濾網上以高壓細水柱沖洗掉葉肉部份，留下木質化未被破壞的葉脈。

二、葉子的成長模式

(一) 點記號的標記

利用時間軸上的點位移記錄葉子長大的過程，紀錄週期最短一週，最長為三週。



圖 1. 以黑色奇異筆在玉蘭葉 (圖左)、馬拉巴栗(圖右)上打點

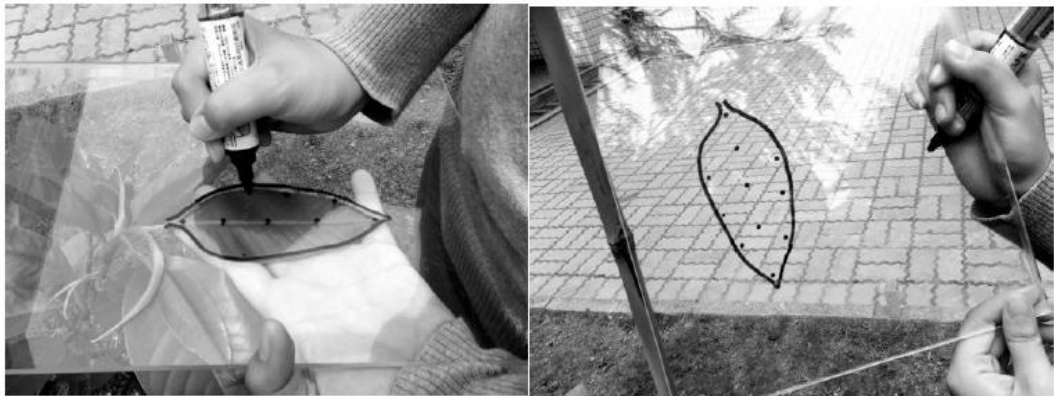


圖 2. 玉蘭葉上的點記號



圖 3. 描繪馬拉巴栗葉

(二) 點標記的量化

如右圖 4，以葉柄與葉面的交界點基部設為原點 (0, 0)，與葉尖的點連為 Y 軸，右邊葉面的點資料編號 L 為第二象限、左邊葉面的點資料編號 R 為第一象限，中肋編號為 M，點的位置資料利用印在投影片上的方眼格來計算。

(三) 在葉子上打洞

以活頁紙張打孔器 (直徑 6 mm) 在若干大小不同的葉子上打洞是為觀察葉子上的洞是否跟著葉子的成長而擴大。紀錄的過程與點記號相同，但只記錄葉形、圓洞的尺寸與位移量。本觀察為期兩週時間。

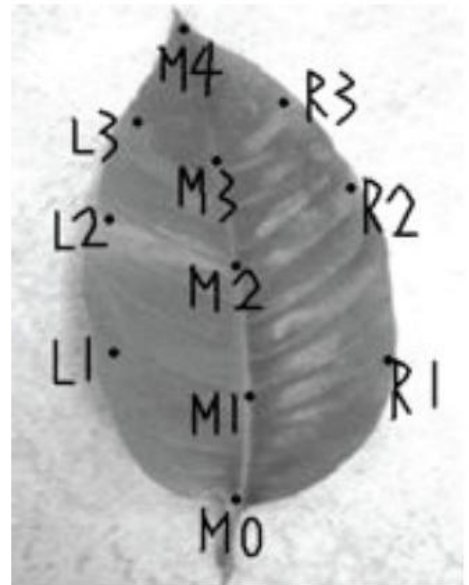


圖 4. 玉蘭樹葉上的點記號編號

三、葉脈的細部生長情況

為了看見葉脈的細部，我們使用數位顯影器，在夜晚搭配日光燈將葉子透光以便清楚看見細脈。

在數位顯微攝影機的幫助之下可見葉脈會圍住葉肉形成一格格封閉區塊，我們定義為「町」。

為了方便觀測，我們選定了特定的一個町，將其頂點標記出來，再以每天一次的曠時攝影的方式逐一記錄。

伍、研究結果

一、葉脈標本

圖 5 為玉蘭樹葉脈標本，在定量哪一個尺寸 (年齡) 以上的葉子就可以煮出葉脈標本時並不容易，以手的觸感可大致判斷嫩葉 (較鮮綠葉片軟而壓出痕跡) 年齡以上的葉子可以煮出葉脈標本，也意味著這類的葉子其木質部已有木質化的現象。

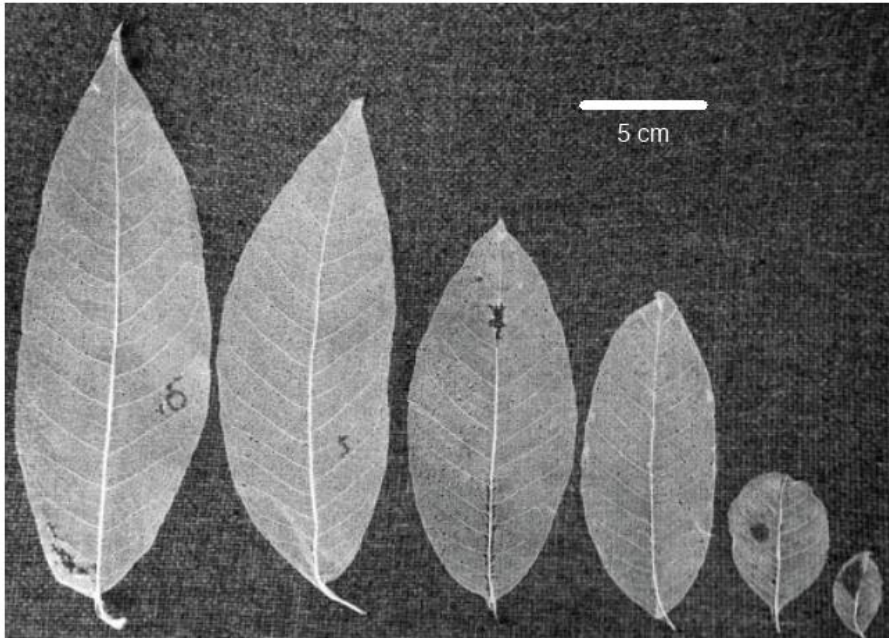
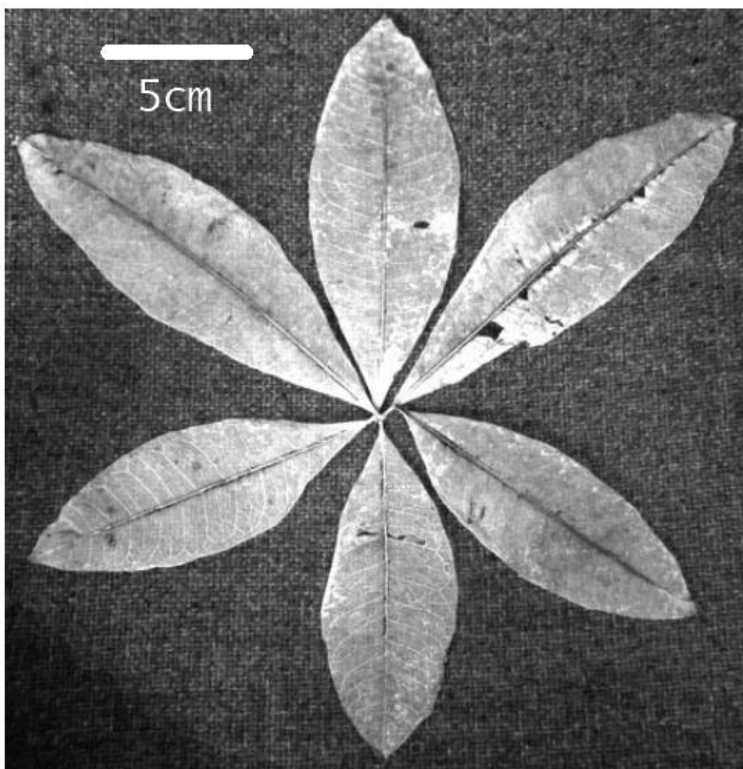


圖 5. 玉蘭樹各尺寸葉脈標本



二、葉子成長模式：點位移的記錄

點位移的計算方式如下：

$$\text{成長比例} = \frac{\text{第 } n \text{ 天點與原點的距離}}{\text{第 } 0 \text{ 天點與原點的距離}}$$

玉蘭樹葉資料的取得上一波三折。玉蘭樹種在校園開闊的草坪上，在初幾次取得點位移資料手法不熟，再入秋後又遇到颱風，因地緣關係秋冬後風勢強勁，葉子被打掉了好幾次，進冬天後葉子成長的速率無明顯變化，在數據取得上無法接續完整，以下為第二批次量測其中兩片較為完整由 2011 年 5 月 6 日到 2011 年 6 月 4 日的點位移記錄。

圖 7 中成長比例大部分大於 1.0，表示有正成長，也有些點位移產生負成長。那片葉子位在同一枝條上。

圖 8 的玉蘭葉為我們老師將點資料利用 Processing (<http://www.processing.org>) 程式寫出的成長動畫，我們從其中截取最先與最後的圖形，圖中所描繪出來的並不是葉子真正的形狀，是打點的位置。

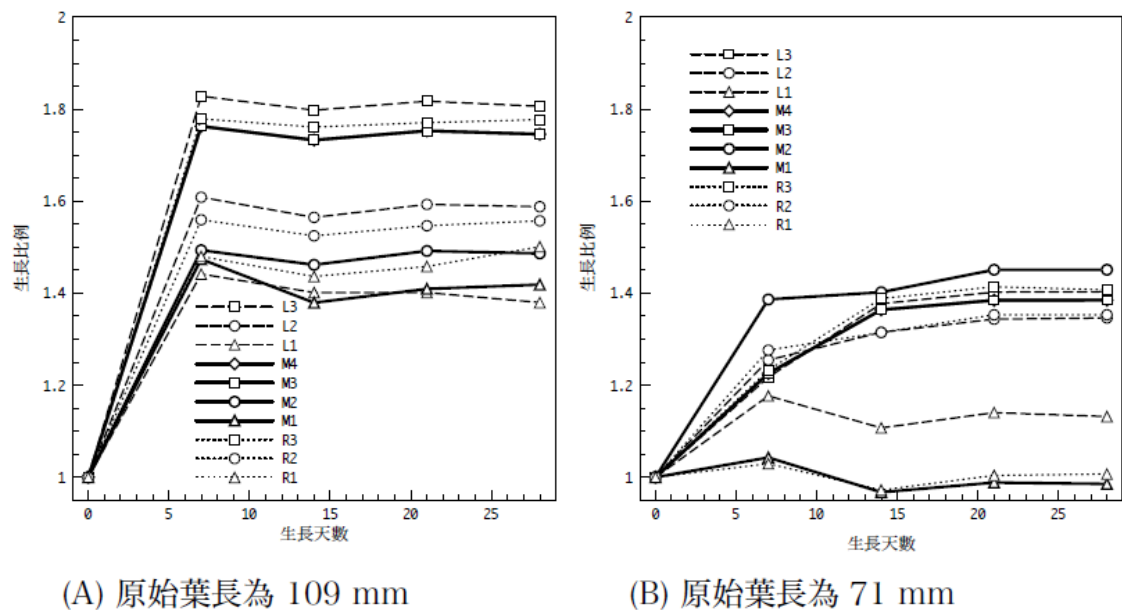
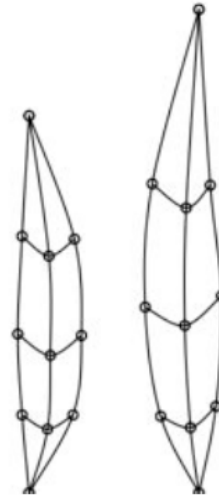
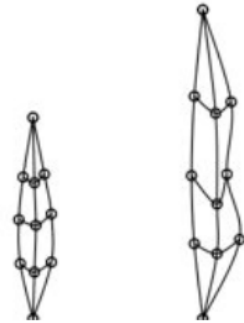


圖 7. 玉蘭樹單葉其中兩片的成長點位移比例

0 / 28 days

28 / 28 days

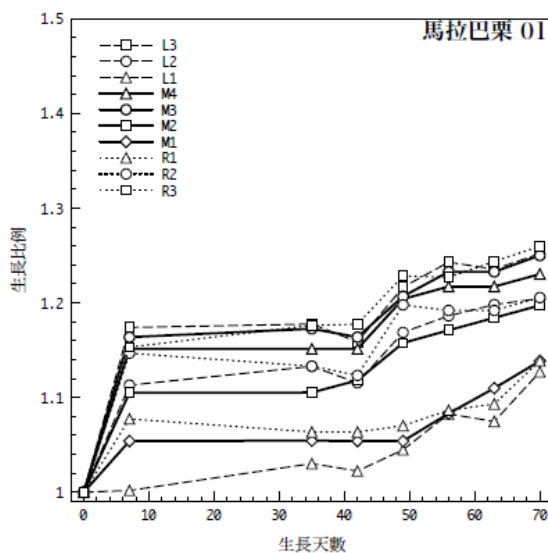


第 0 天，左為圖 7 (A) 的葉，右為圖 7 (B) 的葉

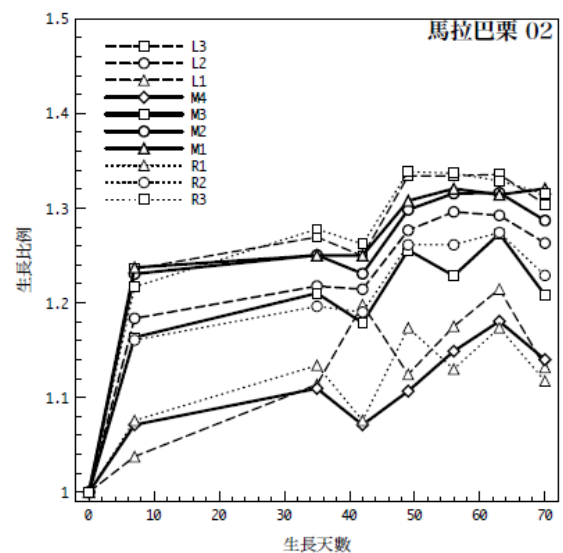
第 28 天，左為圖 7 (A) 的葉，右為圖 7 (B) 的葉

圖 8. 以電腦程式回溯玉蘭樹葉點位移之圖形，並非真正葉形，而是以點位置的連線所繪製

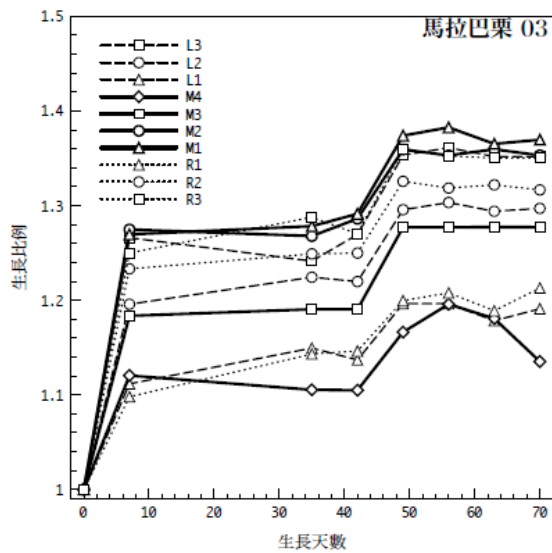
圖 9 顯示出馬拉巴栗葉子在時間軸上的成長點位移比例，實驗由 2010 年 7 月 30 日起至 2010 年 10 月 8 日止共 70 天的點位移記錄。馬巴拉栗盆栽容易在天災時移入室內，有比較完整的記錄。在第一週 0 ~ 7 天的點位移百分比資料中發現葉子有一次的高速率成長，並且於複葉中每一片小葉都能觀察到這樣的現象。第二次高速率成長發生在第 7 週 (42 ~ 49 天)，成長幅度小於第一週。



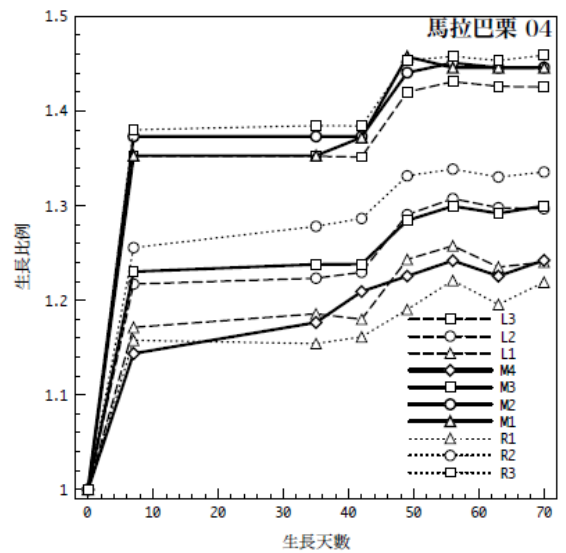
(A) 原始葉長為 76 mm



(B) 原始葉長為 78 mm

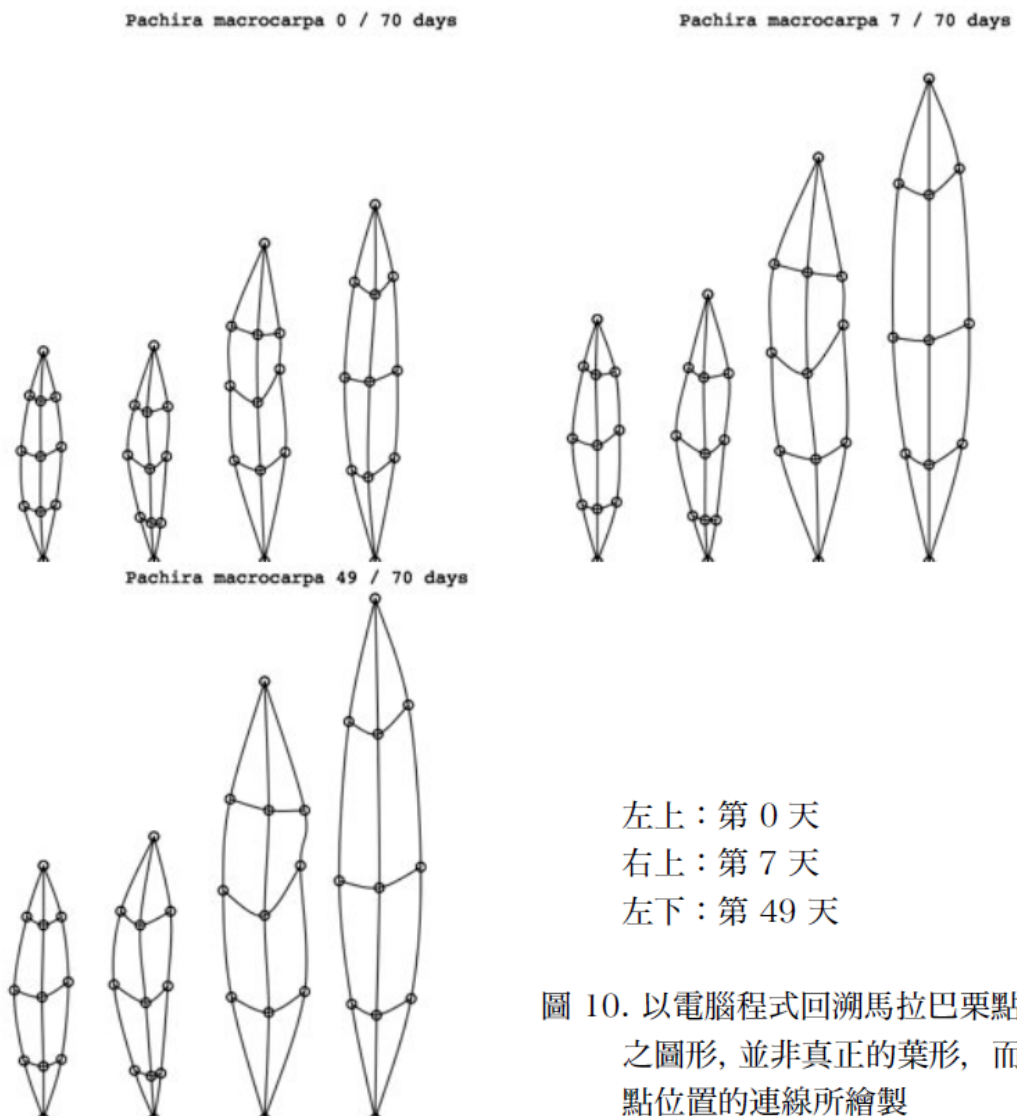


(C) 原始葉長為 115 mm



(D) 原始葉長為 129 mm

圖 9. 馬拉巴栗複葉六片其中四片小葉的成長點位移比例



左上：第 0 天
 右上：第 7 天
 左下：第 49 天

圖 10. 以電腦程式回溯馬拉巴栗點位移之圖形，並非真正的葉形，而是以點位置的連線所繪製

三、葉子洞位移

玉蘭樹葉在不同中肋長度的葉子上打洞後經過兩週的觀察，依圖 11 所示，洞的直徑與中肋成長的長度有高度相關性 (0.93)，就算葉肉被去除，洞的直徑也因為葉片成長放大的過程一同變大。

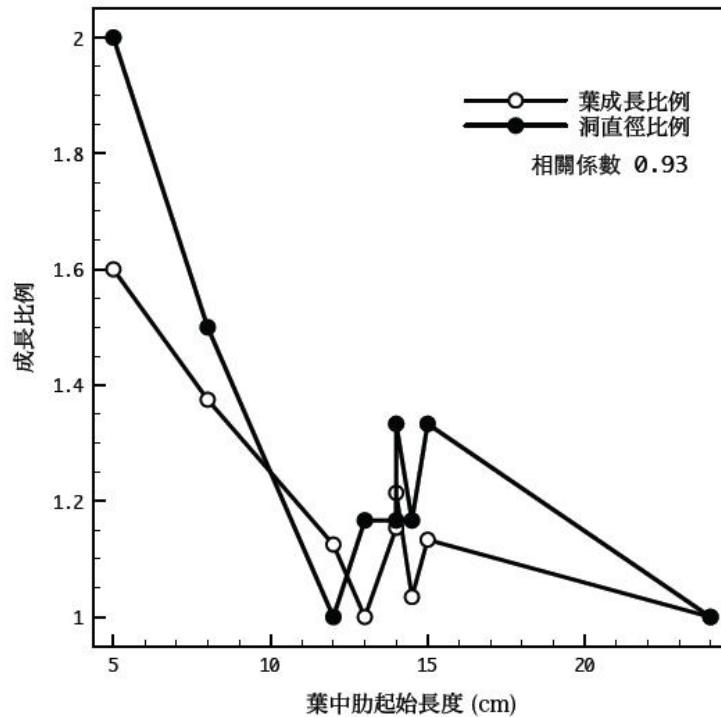


圖 11. 葉上打洞直徑長度與葉子中肋長度於時間軸上的成長關係

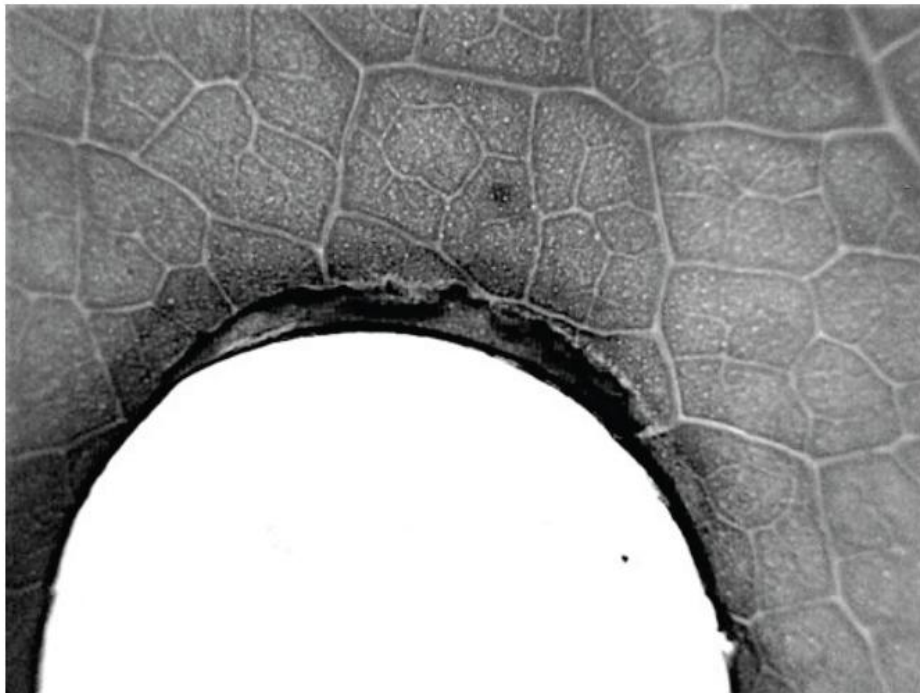
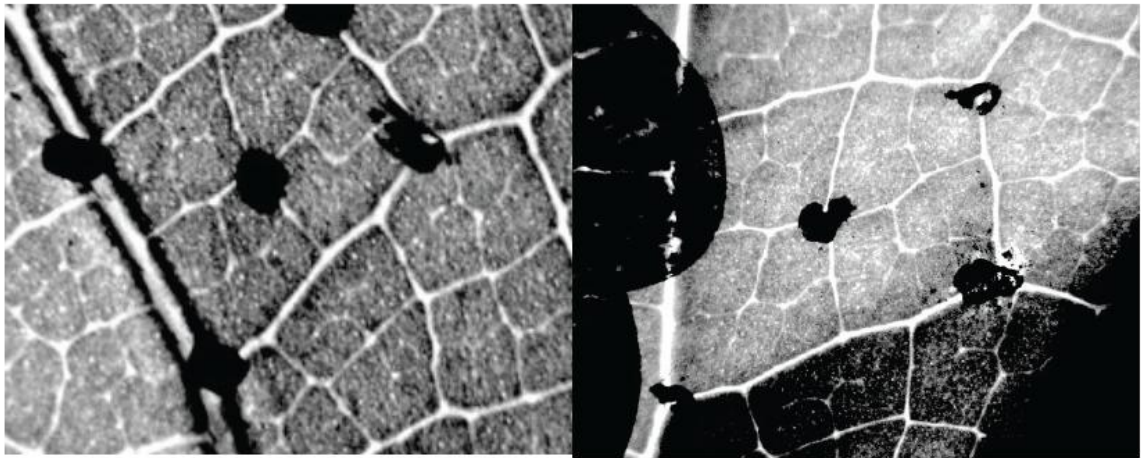


圖 12. 玉蘭樹打洞處的數位顯微照片

四、葉脈成長的細部顯微攝影

圖 13 為玉蘭樹葉，原長 7.8 cm，20 天成長了約 4 倍面積，由圖片判斷並無新的葉脈形成，屬單純「町」變大的狀況，圍著町的葉脈長度也跟著變長。



(A) 2011.05.18 (圖片放大 4 倍)

(B) 2011.06.07

圖 13. 玉蘭樹葉細部葉脈生長狀況 (影像經過對比處理)

圖 14 為馬拉巴栗葉，原長 5.8 cm，16 天成長面積約 2.3 倍，由照片比對下似無新的葉脈產生，而町與圍住町的葉脈都變大了。



(A) 2011.05.18

(B) 2011.06.04

圖 14. 馬拉巴栗細部葉脈生長狀況 (影像經過對比處理)

圖 15 針對更嫩的馬拉巴栗葉幼葉，原長 2.2 cm，6 天面積成長了約 9 倍，由於幼葉葉肉中的葉綠素還不足，在拍照時反差不易呈現，但依稀可見的是葉脈由「町」的中央向町的邊緣生長，最後與原圍著町的葉脈接合。圖 15 (A) 上的白點是黑色墨水的標記點，在成長了 6 天後墨水形成的膜因無法與表皮一同擴張而脫落。

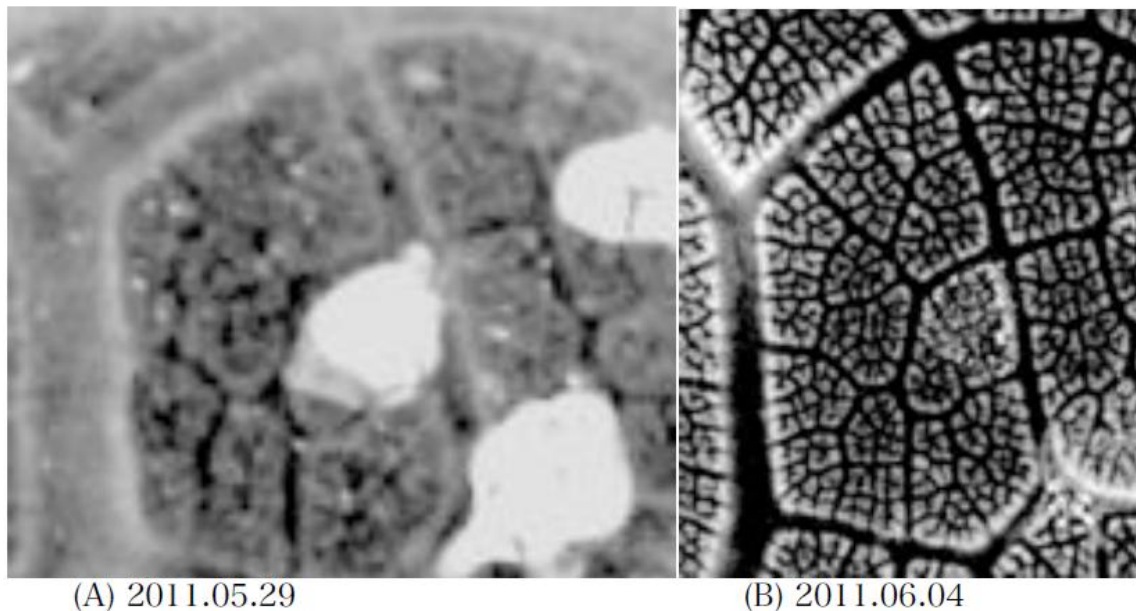


圖 15. 馬拉巴栗細胞葉脈生長狀況，A 圖已放大 9 倍 (影像經過對比處理)

陸、討論

一、細部葉脈顯微攝影

目前我們仍在解決如何將拍到的嫩葉圖片的對比以顯示出葉脈與葉肉的差別，否無法與葉肉較深色的葉子相比較。新生葉的葉肉顏色很淡，葉綠素很少，在拍攝時極不易判別出葉脈，而在葉子拍得到明顯的四級葉脈時，繼續成長中的葉子除了町的放大之外，並無發現新的葉脈形成。在 Nelson 的實驗中^[2]，阿拉伯芥的葉子在葉綠體未分化前葉脈已開始佈局。

以上的狀況我們推測，葉肉的細胞會分化為葉肉細胞或葉脈細胞，葉肉細胞因葉綠體的發育而成熟，而葉脈細胞在分化後成了維管束、纖維及束鞘。因此當我們拍得到明顯葉脈時，葉綠體的形成促成了拍攝時理想的對比，而在此分化點後，從一級脈的中肋到四級脈都已經決定好葉脈的路線，剩下的就是隨著町的放大一起成長。

二、葉脈標本中町的訊息

在一開始的推測中，認為只有較老較厚的葉子才有木質化的現象。但在找了許多

不同年齡的葉子將其做成葉脈標本，發現連很小的葉子都已有木質化的現象。

在早先的葉脈標本實驗中，我們曾利用下圖 16 的玉蘭樹葉脈及圖 17 的馬拉巴栗葉脈進行推論：

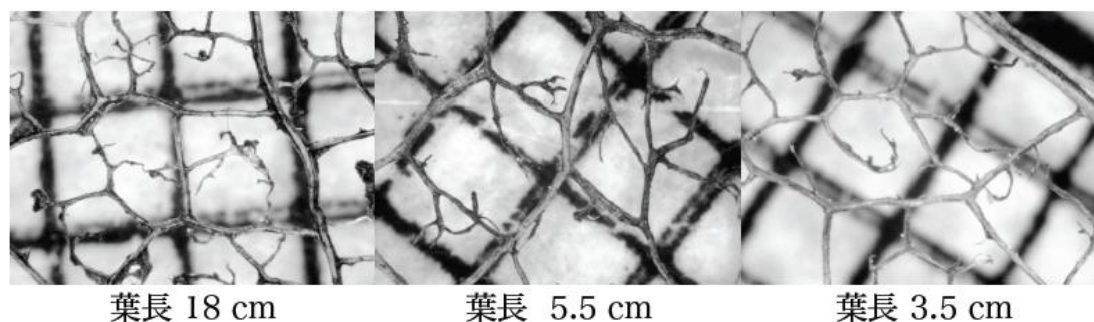


圖 16. 不同年齡的玉蘭樹葉脈構造比較圖 (1mm² 方眼格)

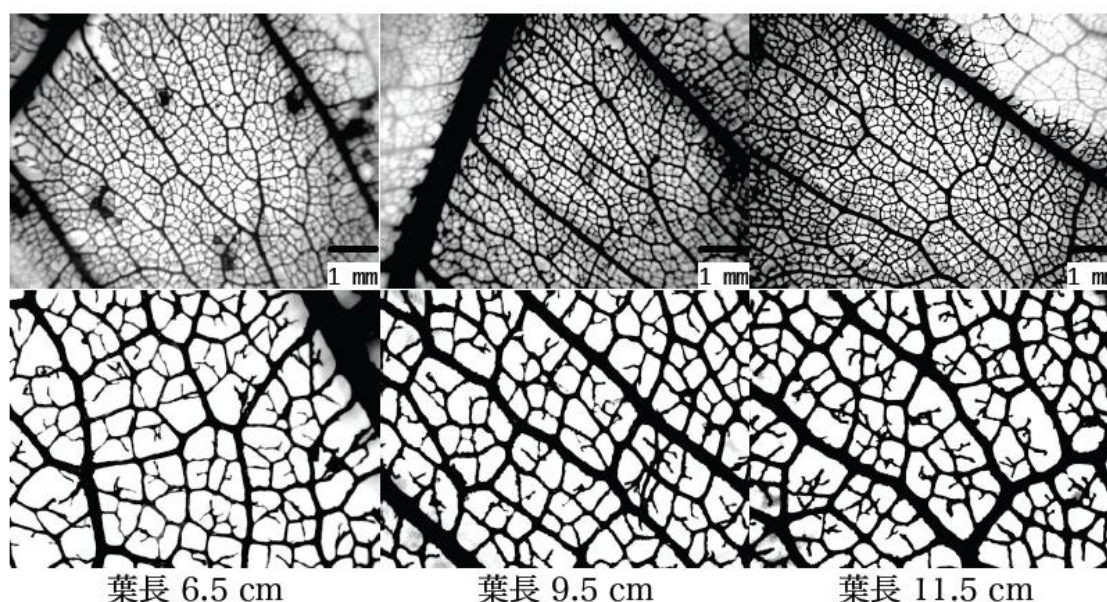


圖 17. 馬拉巴栗同一葉片中最小小葉與最大小葉之葉脈的比較(影像加深處理)

原本認為町在生長的過程中一直維持住一定的大小 (並不是固定大小而是長過大會切出新的町)，如果在成長中放大了就由町的中央再長出新的葉脈將町切得更小些。

但葉脈標本的製作是屬於「破壞性觀察」實驗，在使用顯微攝影進行「非破壞性觀察」後我們發現町在葉子發育很早期 (可能早在葉肉中的葉綠體成熟前) 就決定了，且町會一直放大。葉脈標本在製作時會損失許多細小的葉脈，造成結果與推論的誤判。在 Blonder 的文獻^[3]中提及葉子中的葉脈密度與水分及養分的運輸有相當大的關聯性，且 Blonder 文獻中也提到未成長完的葉子其葉脈的密度比較高，在長大之後變疏，這也意味著葉脈早已固定佈局的說法。

二、點記號位移觀察葉子的成長方式

葉子從發生到成熟可分為五個時期：(1) 起始期；(2) 頂端成長期；(3) 邊緣成長期；(4) 葉片平板成長期；(5) 葉脈發育期^[4]。本實驗點位移的記錄屬於第四成長期時的研究。

(一) 葉子的確是以放大的方式生長

由玉蘭樹葉或馬拉巴栗葉的資料來看，葉子確實是以放大的方式長大。無論是點位移資料或顯微攝影都看到這樣的形象。

(二) 葉子的階梯狀成長模式

馬拉巴栗的成長在某些週數中呈現快速成長的現象，之後又會沈寂數週再來一次快速成長。可解釋的是：葉子的細胞在相同的時間內進行分裂，再共同吸水長大因而呈現快速成長期，之後漲大的細胞再慢慢累積所需物質，建構更多的細胞質與胞器，等待下一次的分裂。有趣的是一片馬拉巴栗的複葉中的小葉會在同一時間進行吸水漲大的過程，想必各小葉之間應該有某種溝通的激素在進行命令的聯繫工作。

玉蘭樹的成長雖一波三折，我們在今年五月到六月初又進行了一次量測，此次的量測只有 28 天，在這 28 天的資料中，玉蘭樹的葉子在成長比例上沒有未出現第二次生長的狀況，我們目前仍在持續量測中，若依植物的私生活影片中所見，我們推測玉蘭樹葉也有階梯狀成長的現象。

(三) 葉子產生些許的負成長

在圖 7 及 9 中都可發現曲線下降的資料點，我們也利用了凸多邊型的面積公式進行計算，如 M1, M2, L2, L1 所圍出的凸四邊形，來進行比較，結果也與圖 8 及 9 中點資料與原點的距離的作圖相同，表示葉子是有可能會縮小，但程度並不大，約在 1% ~ 10% 左右。首先是人為的誤差，人為的誤差在葉子都不太成長的停滯期時會變得更加明顯，再者負成長大到 10% 的原由推測可能是水份攝取的狀況所造成的影響，兩種植物都以非規律，而以自然園藝手法培植及養育。

(四) 點位移實驗屬個案研究

由玉蘭樹葉的點位移實驗可知，位在同一枝條上的兩片葉子的生長過程可以是無法類比的模式，圖 7 (A) 各點的生長比例一致性高，而圖 7 (B) 則凌亂許多。就算在馬拉巴栗的點位移實驗裡，同一片複葉中的小葉間其生長模式仍有所不同，不過複葉在階梯狀的生長時間點每個小葉都一致令人想再一探究竟。

(五) 葉脈發育期是第五期？

我們在顯微攝影中發現到葉脈的佈局早在第四期的葉片平板生長期，第四期的平板生長，葉脈只是跟著放大延長，我們認為葉脈的發育應為第四期，平板為第五期。

四、葉子打洞實驗

在記錄玉蘭樹的點位移時，意外發現葉子背後常有各式各樣的昆蟲停駐，而葉片上也有他們餐後留下的痕跡。這些成了紀錄外的意外收穫。而每隔一周的紀錄也會順便探訪他們，看看老朋友是否依然健在或留下的足跡。然而一次的一瞥，發現他們飽餐過後，缺了一角的葉緣竟變大了。這樣的驚奇發現，促使我們一個發想：在葉子上打洞會是什麼樣的情形。

打洞的區域可視為「叮」被去除的部位，如圖 12，洞的邊緣產生癒合組織。因叮的去除，該區域面積的放大是因為周邊的叮放大的結果，破裂的成因為癒合組織限制生長的結果。

五、葉脈到底是如何與長大中的叮一起成長？

這是我們「脈脈含情」所真正要探討的問題，但是我們一直沒辦法直接找到葉脈會跟著葉子的放大成長而延長的原因。

葉脈由束鞘、纖維及維管束組成，其中已木質化的木質部為了疏導水分而將原生質捨棄，成為只剩細胞壁的空管子，理論上應該不會再有長度上的變化，但無論是利用點位移觀察整個葉子的生長，或是打洞實驗，更甚至用顯微放大觀察的結果都再再證實葉脈隨著叮的放大一起生長延長。

我們認為木質部可能是活細胞。這個假設很大膽，但除此之外我們想不到其他的解釋。

我們曾經請教過大學植物學相關教授，教授們建議以解剖的方式進行研究，這超出我們實驗的門檻，以我們目前會的技术認為將細胞切破，在原生質的流失後只剩細胞壁，無法確定是否為活細胞。

顯微攝影的推論裡認為整個葉子的葉脈早已在葉綠素大量出現在葉子之間就決定好了，之後只進行延長的工作，延長的過程中一定需要更多的新細胞，這些新細胞是如何產生？就一個運水為主要功能而細胞死去的木質部而言，一切都變得無法解釋。

柒、結論

- 一、葉脈在各種不同尺寸大小的葉子都能找到有木質化的現象，顯示出葉脈已有成熟的現象。
- 二、葉子成長具有階梯狀快速成長期與停滯期，且葉子都以放大面積的方式生長。
- 三、整個葉子的葉脈在葉肉細胞分化成熟前已佈局完畢，葉脈跟著其圍住的葉肉 (町) 一同長大延長。
- 四、本實驗觀察到延長中的維管束，但無法証實一般認為已死去的木質部如何與葉子一起成長。

捌、未來展望

我們只是很單純的想知道一直跟著葉子長大的葉內維管束與課本告訴我們木質部是死細胞這兩個之間的矛盾，這也是目前沒有人研究的課題，我們需要更多的植物解剖學的知識與資源，也想了解是葉脈控制了葉子的形狀，還是葉肉的町？

玖、參考資料

1. 葉脈標本的製作 (<http://2008sg.necoast-nsa.gov.tw/content/images/%E8%91%89%E8%84%88%E6%A8%99%E6%9C%AC%E8%A3%BD%E4%BD%9C%E8%AA%AA%E6%98%8E.doc>)
2. Kang, J., Dengler, N. (2004) Vein pattern development in adult leaves of *Arabidopsis thaliana* *Int. J. Plant Sci.* 165(2):231–242
3. Blonder, B., Violle, C., Patrick, L., Enquist, B. (2011) Leaf venation networks control the leaf economics spectrum *Ecology Letters* Vol. 14, Issue: 2, 91-100
4. Enrico Scarpella, Michalis Barkoulas, and Miltos Tsiantis (2010) Control of Leaf and Vein Development by Auxin. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010;2:a001511
5. Nelson, T., Dengler N. (1997) *Leaf Vascular Pattern Formation The Plant Cell*, Vol. 9, 1121-1135
6. 影片：植物的私生活 第一篇 植物的成長 (The Private Life of Plants Vol. I Growth) BBC, David F. Attenborough

【評語】 040718

本作品實驗設計尚可，研究內容符合高中生物教學使用，且在研究過程中發現葉的生長期不是均勻的而是具有二次階梯式快速或長期與停滯期之別。唯本作品對一個“町”中細胞數目與大小的變化未能用數據呈現是美中不足之處，導致葉的生長方式知道了卻無法提出讓人信服的解釋。