

中華民國 第 50 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物（生命科學）科

040712

葉裡的秘密-鈣離子對結晶形成的影響

學校名稱：國立旗美高級中學

作者： 高二 劉怡君 高二 鍾立婷 高二 蔡盈瑩 高二 張尹柔	指導老師： 蘇銘言 黃珮玉
---	---------------------

關鍵詞：草酸鈣結晶、鈣離子、避免被食

摘要

本實驗主要在探討不同鈣離子濃度對植物體中草酸鈣結晶的影響。

由實驗結果得知，環境中鈣離子濃度越高，植物於生長初期結晶長度越長，隨時間增加則不再受其影響，而鈣離子濃度和結晶密度則呈正相關。當環境中鈣離子濃度突然改變，植物體內結晶密度亦會改變，且呈正相關。以試管可培養出草酸鈣結晶，也有極少量「針狀」草酸鈣結晶的出現，但其形狀為單獨的針晶體而非植物體中的晶束，且其結晶長度遠大於植物體內的結晶長度。

另外在實驗中也發現，一植株內結晶密度最高的葉片為新生葉，且當新葉形成時，距離最近的舊葉片內結晶密度會大幅降低。此現象推測和結晶的功能性之一：「防蟲啃食」有密切關係，而這部分的討論在作品說名書中將有詳細的討論。

壹、研究動機

一般在生物體中，鈣離子常會形成化合物堆積於細胞內外，此種現象稱為「鈣化作用」。在植物界中，已知藻類、蕈類、裸子植物及被子植物體中均可能有鈣化合物的堆積。這些多餘的鹽類在植物體中會形成結晶，常存於液胞內，對支持植物體維持堅挺狀態有間接的幫助(李學勇，民 86)。

高二生物(上)第二章介紹植物體內水和無機鹽類的吸收與運輸，老師於實驗課帶我們以顯微鏡觀察葉子的細胞構造，發現葉子表皮細胞中有結晶存在，引起我們的興趣，開始觀察校園內常見的各种植物。但在進行觀察時卻發現，結晶易自細胞內散布出來，如此便無法得知結晶在細胞內原始的狀態，因此想比較不同處理方法對觀察結晶的效果。此外，還發現在不同植物葉片中，草酸鈣針狀結晶的長度和多寡相距甚多，這點再度引起我們的好奇，究竟是什麼因素使得結晶的形成有所差異？

經由查閱相關資料(吳啓智，民 84)得知，草酸鈣晶體為一種均質的晶體化合物，僅由草酸根離子與鈣離子結合而成。因此，我們決定以控制鈣離子的濃度來進一步探討植物體中草酸鈣結晶的形成及變化。

貳、研究目的

- 一、觀察校園植物中結晶體的有無、種類及出現的部位。
- 二、比較不同處理方法對觀察結晶的效果。
- 三、探討不同鈣離子濃度對植物體中草酸鈣結晶的影響。
- 四、比較以試管養晶和植物體內自然形成之草酸鈣結晶形狀的異同。

參、研究設備及器材

一、設備：

複式顯微鏡、顯微照相機、果汁機、離心機、電磁加熱器、恆溫水浴槽

二、器材：

燒杯、離心管、玻璃漏斗、塑膠滴管、濾布、刀片、解剖針、鑷子、載玻片、蓋玻片、玻棒、目鏡測微器、酒精燈、手套、鋁箔紙、培養皿、試管、試管架。

三、藥品：

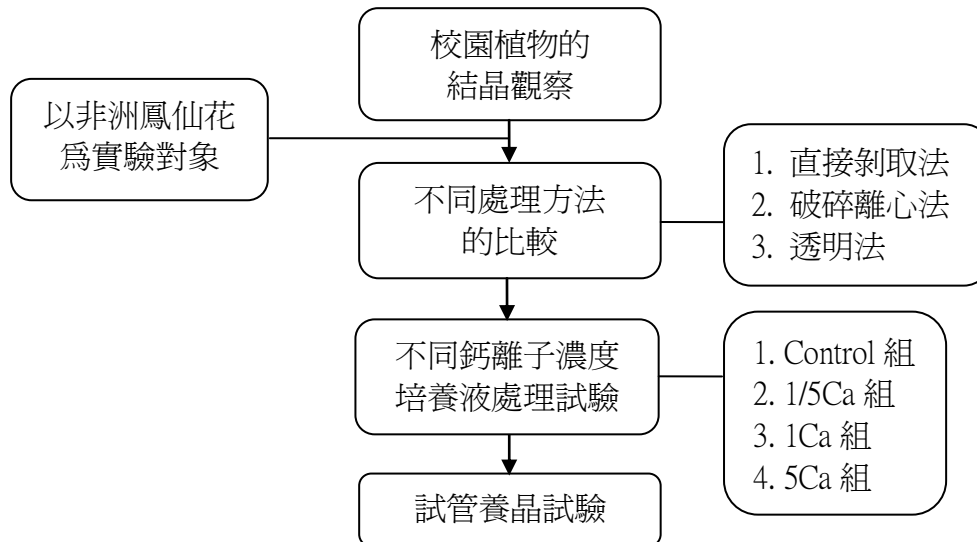
硝酸鈣 (Calcium Nitrate Tetrahydrate, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)、乳酸溶液 (L(+)-Lactic acid solution, 88~92%)、95%酒精溶液、工業用酒精、草酸鈣 (calcium ethanedioate, CaC_2O_4)。

四、材料：

校園植物、非洲鳳仙花種子、蒸餾水、脫脂棉花、花寶一號。

肆、研究過程與方法

一、實驗架構：



二、實驗過程及方法：

(一) 校園植物的結晶觀察

直接剝取植物葉片及花瓣上下表皮和葉肉組織，觀察其中結晶的有無、種類及存在部位。每一樣品取三處不同位置做觀察。

(二) 不同處理方法的比較

1. 直接剝取法：

撕裂、折撕、橫切植物葉片和花瓣上下表皮和葉肉組織，以顯微鏡觀察。

2. 破碎離心法：

將植物葉片或花瓣數片置入果汁機中，加入 100 ml 蒸餾水以低速打 30 秒，汁液以濾布過濾，置入離心管以 3000 rpm 離心 5 分鐘，分別取上層及下層溶液以顯微鏡觀察。

3. 透明法：

將葉片置入 95% 酒精中，以 100°C 水浴隔水加熱 30 分鐘，冷卻後，將葉片移至乳酸溶液中至少 30 分鐘（待葉片呈透明狀），最後以顯微鏡觀察之。

(三) 不同鈣離子濃度培養液處理試驗—種植試驗

1. 種子發芽：

將非洲鳳仙花種子均勻灑播於含潮濕脫脂棉花（以噴灑蒸餾水維持濕潤）的培養皿中，置於陰涼處並保持濕潤，約 10-15 天萌發。持續以蒸餾水保持充足水分，並移置陽光充足之處，待胚根伸出且子葉完全伸展後（約 7 天），再將幼苗移至燒杯中。

2. 不同鈣離子濃度培養液之配製：

主要營養液使用「花寶一號」，並以硝酸鈣 ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) 配四種不同鈣離子濃度組：5Ca 組 ($3750 \mu\text{mol/L}$)、1 Ca 組 ($750 \mu\text{mol/L}$)、1/5 Ca 組 ($150 \mu\text{mol/L}$)、Control 組 ($0 \mu\text{mol/L}$)。

3. 不同鈣離子濃度培養液處理：

當幼苗子葉完全伸展後，開始以含有不同鈣離子濃度的培養液培養，每週補充兩次，其餘時間以蒸餾水補充水分。於處理第 0、12、24、36 天時取樣觀察。

4. 草酸鈣結晶體的觀察：

於第 0、12、24、36 天時，觀察各組所有葉片（子葉、新葉 1、新葉 2...），中結晶的長度和密度。

5. 草酸鈣結晶長度計算：

以目鏡測微器於 100X 下測量結晶長度，每一葉片隨機選取 30 個晶束測量，最後以平均值代表該葉片之平均結晶長度。

6. 草酸鈣結晶體密度計算：

先以物鏡測微器測量出於 40X 所見之視野直徑，以此計算出 40X 所能見之視野面積，再計算在此視野中所見結晶個數，每片葉片取三處計算，最後取其平均值除以視野面積，即得到每平方公厘中有多少個結晶束。

(四) 不同鈣離子濃度培養液處理試驗—移植試驗

將以 $1/5Ca$ 培養液處理一個月之植株，改以 $5Ca$ 培養液處理；將以 $5Ca$ 培養液處理一個月之植株，改以 $1/5Ca$ 培養液處理。並於改變培養的第 12、24 天時取樣觀察結晶長度與密度。

(五) 試管養晶試驗

1. 將草酸鈣粉末過量加於蒸餾水中。
2. 以 8 種不同溫度：25、35、45、55、65、75、85、95°C 溶解草酸鈣粉末，配成 8 種不同飽和度溶液。
3. 置入恆溫水槽，溫度設定為 35°C，每天取樣一次，觀察其中草酸鈣結晶形成的狀態。

伍、研究結果

一、校園植物的結晶觀察

此部分實驗共採取 20 種校園植物葉片、11 種花朵來進行實驗，結果如表一、表二所示。

由表一得知，在 20 種葉片中，12 種有結晶存在，其中 10 種屬於「草酸鈣針狀結晶」；1 種同時存在草酸鈣「針狀」和「立方狀」結晶；1 種屬於「碳酸鈣鐘乳體結晶」。在 11 種花瓣中，有 4 種有結晶存在，且都屬於「草酸鈣針狀結晶」。此外，結晶出現的部位以葉片和花瓣的上、下表皮為主，唯獨榕樹葉片需以「橫切」方式才能觀察到在葉肉組織中的鐘乳體結晶。植物和結晶圖片如表二中的圖一~十六所示。

二、不同處理方法的比較

本部分實驗目的在比較下列三種處理方法：直接剝取法、破碎離心法、透明法，對觀察結晶的效果。結果如表三所示。

由表三得知，「直接剝取法」可清楚觀察到結晶的存在，且形狀完整無斷裂情形發生。但無法完整呈現結晶在細胞內真實的形態，會被其他細胞物質（如：葉綠素）擋住影響觀察，且結晶易由細胞中散布出來，代表在剝取的過程中破壞了結晶細胞（圖十七）。「破碎離心法」不受葉綠素干擾，但亦無法得知結晶在細胞內的原始形態，且結晶易受外力影響而斷裂（圖十八）。「透明法」不但可清楚地觀察到針狀結晶的存在，結晶亦完整無斷裂，且結晶細胞無破裂，可觀察到針狀結晶在細胞中是以晶束狀態排列整齊地存在，觀察時也不會受葉綠素或其他細胞的影響（圖十九）。


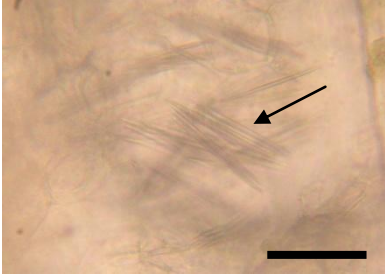

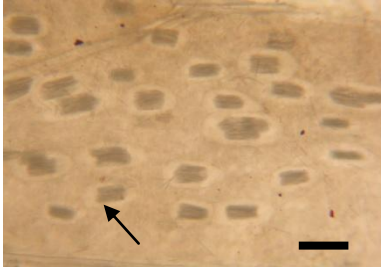

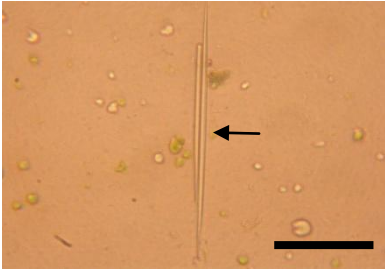

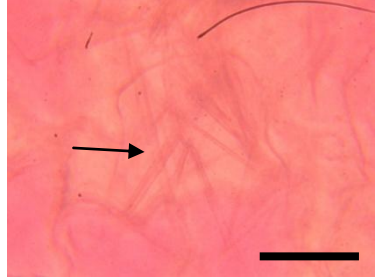
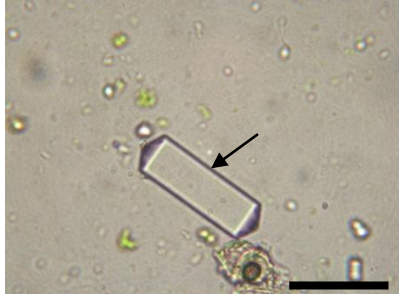

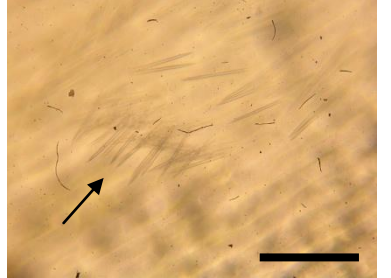
表一、校園植物結晶觀察之結果列表

編號	植物名稱	科名	學名	有無結晶	結晶種類	出現部位	備註
葉片部分							
1	金邊香龍血樹	龍舌蘭科	<i>Dracaena fragrans</i>	+	針狀	葉片上下表皮	表二、圖一
2	紫背萬年青	鴨拓草科	<i>Rhoeo discolor</i>	+	針狀、立方狀	葉片上下表皮	表二、圖二-1、二-2
3	紫葉朱蕉	龍舌蘭科	<i>Cordyline fruticosa</i> (L.) Goepp.	+	針狀	葉片上下表皮	表二、圖三
4	紫背鴨趾草	鴨拓草科	<i>Zebrina pendula</i> .	+	針狀	葉片上下表皮	表二、圖四
5	星點木	龍舌蘭科	<i>Dracaena godseffiana</i>	+	針狀	葉片上下表皮	表二、圖五
6	山蘇	鐵角蕨科	<i>Asplenium nidus</i> L.	+	針狀	葉片上下表皮	表二、圖六
7	黛粉葉	天南星科	<i>Dieffenbachia</i> spp.	+	針狀	葉片上表皮	表二、圖七
8	新幾內亞鳳仙花	鳳仙花科	<i>Impatiens Hawkeri</i>	+	針狀	葉片上表皮	表二、圖八
9	非洲鳳仙花	鳳仙花科	<i>Impatiens Hawkeri</i>	+	針狀	葉片上表皮	表二、圖九
10	繁星木	茜草科	<i>Pentas lanceolata</i> Deflers	+	針狀	葉片上下表皮	表二、圖十
11	翡翠木(發財樹)	景天科	<i>Crassula argentea</i> or <i>portulacea</i>	+	針狀	葉片上下表皮	表二、圖十一
12	榕樹	桑科	<i>Ficus microcarpa</i>	+	鐘乳體狀	橫切後的葉肉細胞	表二、圖十二
13	欖仁樹	使君子科	<i>Terminalia catappa</i>	-			
14	朱槿葉片	錦葵科	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	-			
15	紫色酢醬草	酢醬草科	<i>Oxalis corymbosa</i>	-			
16	變葉木	大戟科	<i>Codiaeum variegatum</i> Blume	-			
17	馬櫻丹	馬鞭草科	<i>Lantana camara</i>	-			
18	筆筒樹	桫欏科	<i>Sphaeropteris lepifera</i>	-			
19	七里香	芸香科	<i>Murraya paniculata</i>	-			
20	長春花	夾竹桃科	<i>Vinca rosea</i>	-			
花瓣部分							
21	朱槿花	錦葵科	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	+	針狀	花瓣上下表皮	表二、圖十三
22	九重葛	紫茉莉科	<i>Bougainvillea brasiliensis</i> Raeusch	+	針狀	花瓣上下表皮	表二、圖十四
23	繡球花	八仙花科	<i>Hydrangea macrophylla</i> cv	+	針狀	花瓣上下表皮	表二、圖十五
24	非洲鳳仙花	鳳仙花科	<i>Impatiens Hawkeri</i>	+	針狀	花瓣上下表皮	表二、圖十六
25	三色堇	堇菜科	<i>Viola tricolor</i>	-			
26	荷包花	玄參科	<i>Calceolaria herbeohybrida</i>	-			
27	四季秋海棠	秋海棠科	<i>Begonia semperflorens-hybr</i>	-			
28	長春花	夾竹桃科	<i>Vinca rosea</i>	-			
29	牽牛花	旋花科	<i>Ipomoea nil</i> (L.) Roth	-			
30	向日葵	菊科	<i>Helianthus annuus</i>	-			
31	大波斯菊	菊科	<i>Cosmos bipinnatus</i>	-			

註一：+代表有結晶存在；-代表無結晶存在。


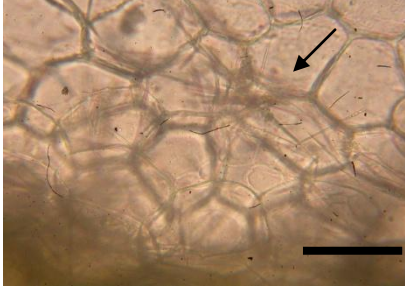

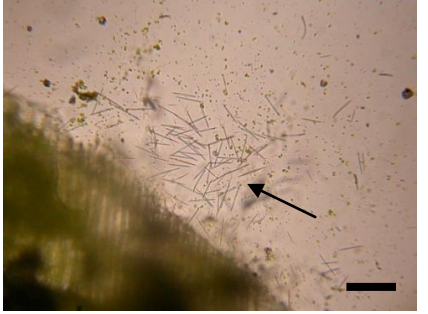

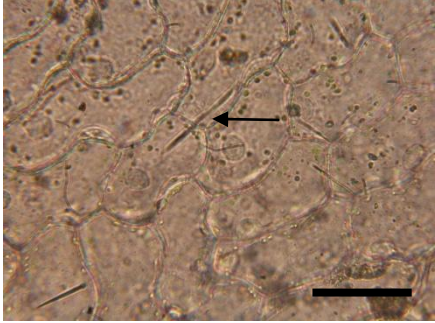



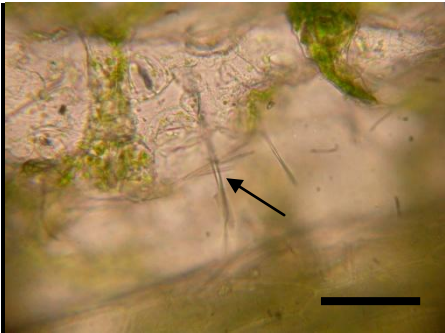

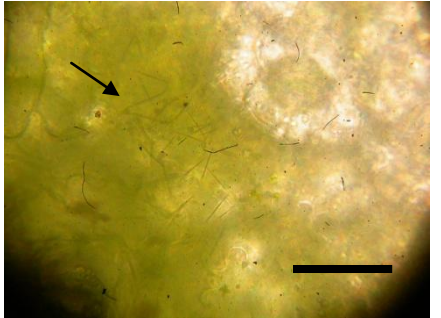
註二：每一樣品皆取三處不同部位觀察。

表二、校園植物結晶觀察之圖片彙整

編號	植物名稱及圖片	結晶圖片	編號	植物名稱及圖片	結晶圖片
1	金邊香龍血樹 	圖一 (400X) 	3	紫葉朱蕉 	圖三 (100X) 
2	紫背萬年青 	圖二-1 (400X) 	4	紫背鴨趾草 	圖四 (400X) 
		圖二-2 (400X) 	5	星點木 	圖五 (400X) 


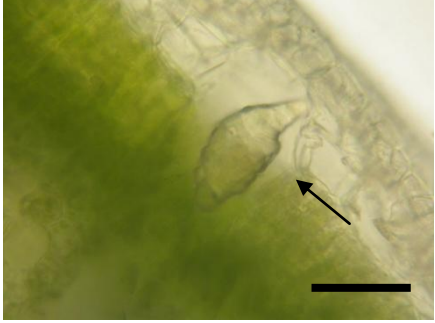

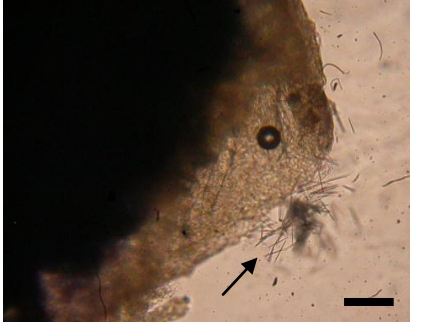

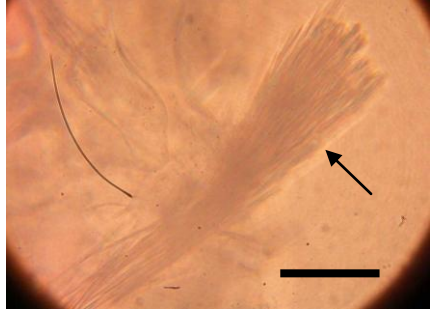



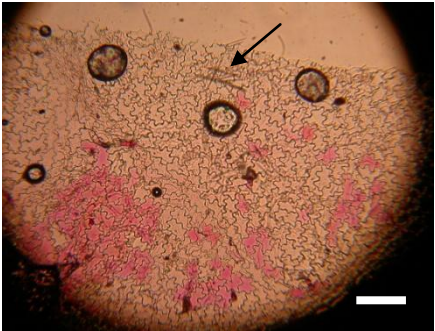
註：400X 之比例尺長度為 50 μ m；100X 之比例尺長度為 100 μ m。

表二、校園植物結晶觀察之圖片彙整 (續)

編號	植物名稱及圖片	結晶圖片	編號	植物名稱及圖片	結晶圖片
6	山蘇 	圖六 (400X) 	9	非洲鳳仙花 	圖九 (100X) 
7	黛粉葉 	圖七 (400X) 	10	繁星木 	圖十 (400X) 
8	新幾內亞鳳仙花 	圖八 (400X) 	11	翡翠木 (發財樹) 	圖十一 (400X) 

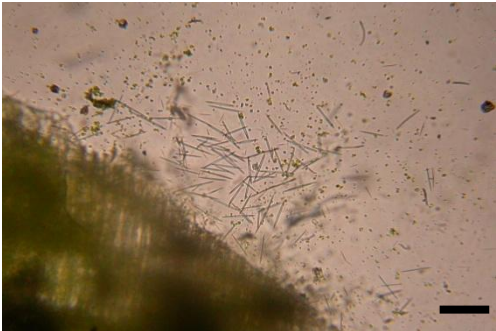
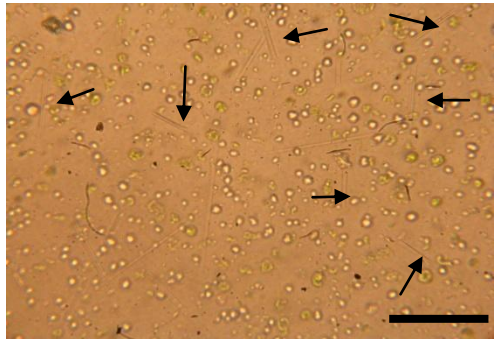
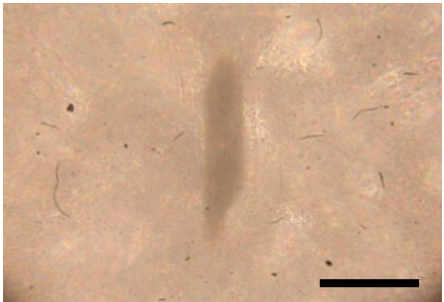
註：400X 之比例尺長度為 50 μ m；100X 之比例尺長度為 100 μ m。

表二、校園植物結晶觀察之圖片彙整(續)

編號	植物名稱及圖片	結晶圖片	編號	植物名稱及圖片	結晶圖片
12	榕樹 	圖十二 (400X) 	23	繡球花 	圖十五 (100X) 
21	朱槿花 	圖十三 (400X) 	24	非洲鳳仙花 	圖十六 (100X) 
22	九重葛 	圖十四 (100X) 			

註：400X 之比例尺長度為 50 μ m；100X 之比例尺長度為 100 μ m。

表三、不同處理方式對結晶觀察效果之評估表

處理方式	結晶圖片	觀察結果	優點	缺點
直接剝取法	<p>圖十七 (100X)</p> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 可清楚地觀察到針狀結晶的存在，且結晶形狀完整無斷裂情形發生。 2. 結晶皆自細胞中散布出來，代表在剝取的過程中破壞了結晶細胞，不易保持細胞的完整。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 容易操作，適合做為初步檢測植物體中有無結晶存在之方法。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 容易破壞結晶細胞，導致細胞內之結晶體散布出來。 2. 容易因人為操作不熟練而無法剝取正確位置，導致誤判。 3. 易受葉綠素影響觀察。
破碎離心法	<p>圖十八 (400X)</p> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 可清楚地觀察到針狀結晶的存在。 2. 發現部分結晶有斷裂情形，推測是破碎時間過長或力道太強所造成。 3. 左圖中，箭頭所指之處即為斷裂的針狀晶體。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 判斷樣品有無結晶時較為準確。 2. 不易受葉綠素影響觀察。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 以果汁機破碎之秒數及力道不易拿捏，容易使結晶斷裂。 2. 費時，且需較大量的樣品數才便於以果汁機破碎。
透明法	<p>圖十九 (400X)</p> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 可清楚地觀察到針狀晶叢的存在，且晶叢完整，無散布或斷裂情形發生。 2. 結晶細胞無破裂，可觀察到晶體在細胞中是排列整齊的存在。 3. 不受葉綠素或其他細胞影響。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 結晶體不會斷裂，可觀察到晶體在細胞內的真正形態。 2. 不會破壞結晶細胞，可觀察到晶體在葉中的分布情形。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 操作須使用高溫及酸性藥品處理，較危險。 2. 處理過後之葉片不易剝片或切割，導致觀察時光線不易透過有厚度的葉片，造成影像的模糊。

註一：400X 之比例尺長度為 50 μ m；100X 之比例尺長度為 100 μ m。

三、不同鈣離子濃度培養液處理試驗—種植試驗

本部分實驗以四種不同鈣離子濃度培養液：5 Ca 組 (3750 $\mu\text{mol/L}$)、1 Ca 組 (750 $\mu\text{mol/L}$)、1/5 Ca 組 (150 $\mu\text{mol/L}$)、Control 組 (0 $\mu\text{mol/L}$) 處理植株 36 天，於第 0、12、24、36 天時，各組各取一植株之所有葉片進行結晶長度和密度的觀察。結果如圖二十所示。另外將各組各葉片之結晶密度分別作圖觀察其中變化趨勢，結果如圖二十一所示。

由圖二十 (A) 得知，處理 12 天後，四組結晶平均長度即明顯有差異，以高鈣離子濃度培養液處理的組別較以低鈣離子濃度培養液處理的組別結晶平均長度長。又其中 5Ca 組、1Ca 組幾乎無差異，結晶平均長度分別為 0.079 mm、0.076mm；1/5Ca 組、Control 組幾乎無差異，結晶平均長度分別為 0.055mm、0.053mm。但 24 天後，四組結晶平均長度即無太大差異，平均結晶長度範圍為：0.071~0.082 mm。

由圖二十 (B) 得知，5 Ca 組不論於哪一個時期，結晶平均密度皆高居第一；1Ca 組居第二；1/5 Ca 組居第三，但在第 36 天時卻大幅下降；而 Control 組平均結晶密度則始終最低，僅於第 36 天時大於 1/5Ca 組。於第 36 天時的平均密度排序為：5Ca 組 > 1Ca 組 > Control 組 > 1/5Ca 組；密度依序為：9.21、7.85、6.10、3.81 (No/mm²)。

由圖二十一 (A)~(D) 得知，各組子葉中的結晶密度皆隨處理時間而變小，直至第 24 天後才開始緩慢增加。另外，就各組的第一片新生葉而言，新葉中的結晶密度皆較子葉中來得大且 Control 組 < 1/5Ca 組 < 1Ca 組 < 5Ca 組，密度依序為：5.20、5.66、6.91、12.50 (No/mm²) 但自第 2 片新葉開始，1/5Ca 組、1Ca 組、5Ca 組的結晶密度就無明顯差異 (密度分別為：14.14、12.76、12.50 (No/mm²))，但仍較 Control 組大上一倍 (密度為：6.97 (No/mm²))。

由圖二十一 (A)~(D) 發現，當第 2 片新葉出現時，各組的子葉及第一片新葉中結晶密度皆會減少。但由圖二十一 (C) 卻發現，當第 3 片新葉出現時，子葉和第一片新葉中結晶密度不減反微微增加，反而是距離最近的第 2 片新葉結晶密度大幅減少。另外，由圖二十一 (A) 也發現，若尚無新葉生成，植株所有葉片內的結晶密度皆會隨時間而增加。

四、不同鈣離子濃度培養液處理試驗—移植試驗

此部分實驗在探討當環境中鈣離子濃度突然改變時，葉片中之結晶長度和密度是否也會受影響。結果如圖二十二所示。

由圖二十二 (A) 得知，在移植 24 天後，1/5Ca→5Ca 組的結晶平均長度並無明顯差異，僅由 0.074mm 降至 0.071mm；而 5Ca→1/5Ca 組的結晶平均長度則有稍微增加，自未移植前的 0.066mm 增加為 0.074mm。

由圖二十二 (B) 得知，1/5Ca→5Ca 組的結晶平均密度 (No/mm²) 自未移植前的 8.99 於移植第 12 天時先上升至 10.97，又在第 24 天時降至 8.88；而 5Ca→1/5Ca 組的結晶平均密度則是先大幅下降至 9.52 後，再微幅提升至 9.88，仍比原本移植前的平均密度低。

五、試管養晶試驗

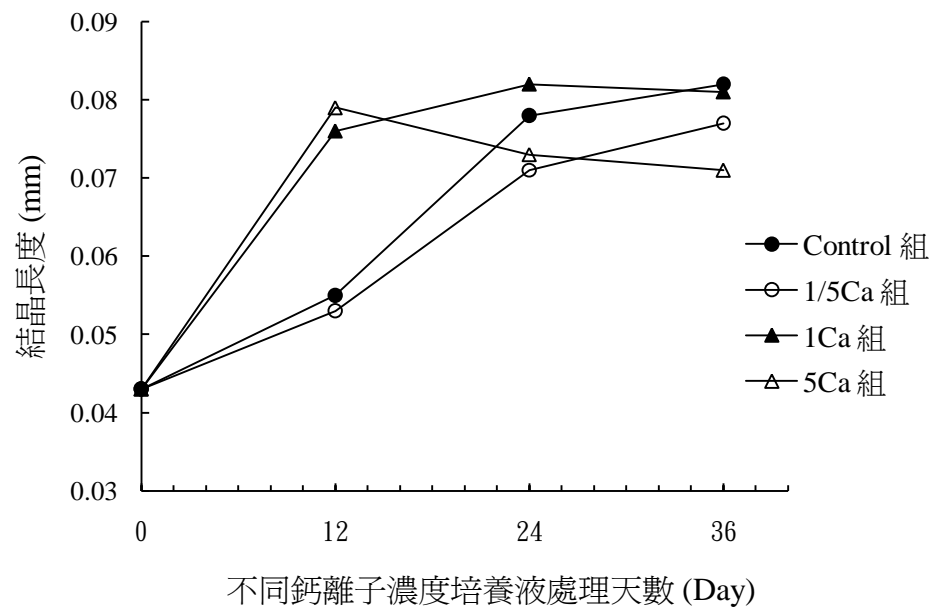
此部分實驗目的在於比較以試管養出的草酸鈣結晶和植物體內自然形成的草酸鈣結晶形狀、大小有何異同。結果如表四所示。

由第一天觀察結果得知 (圖二十三~二十六)，各溫度皆有結晶形成，形狀以短棒狀 (圖二十五、二十六) 及顆粒狀 (圖二十三、二十四) 為主。其中短棒狀有兩種形態：一為兩頭皆平整 (圖二十五)；另一為一端平整一端尖頭狀 (圖二十六)。結晶生成的多寡各組皆類似，都不多。

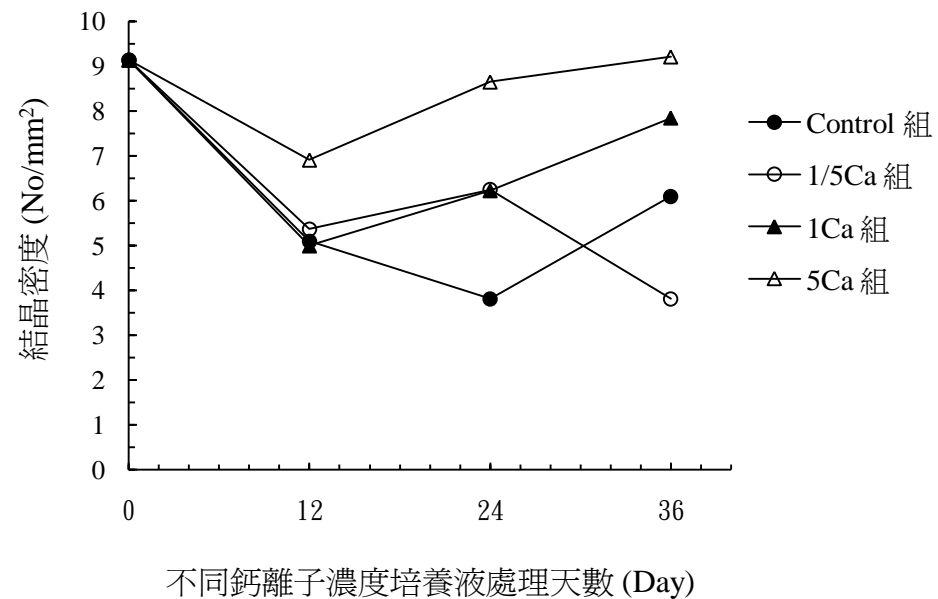
由第二天觀察結果得知 (圖二十七~三十)，各溫度結晶形狀仍以短棒狀和顆粒狀為主。而以高溫製備的飽和溶液，其生成結晶的速率較快。(圖二十九、三十)，但形狀則以顆粒狀為多。

由第三天觀察結果得知 (圖三十一~三十四)，共四組有針狀結晶出現 (45°C、55°C、65°C、95°C)，結晶長度分別為：0.035mm、0.16mm、0.2mm、0.1mm。此外，不論是以高溫或低溫製備的草酸鈣飽和溶液，其生成結晶的速率趨近相同，且形狀仍以顆粒狀為多。

(A) 結晶平均長度

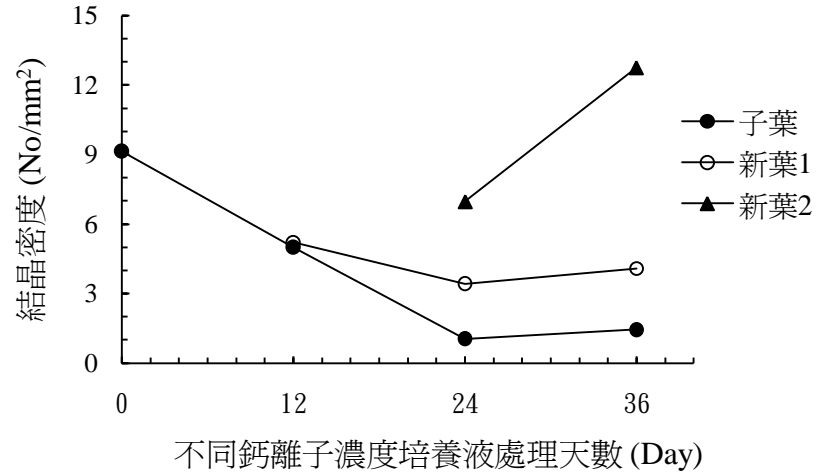


(B) 結晶平均密度

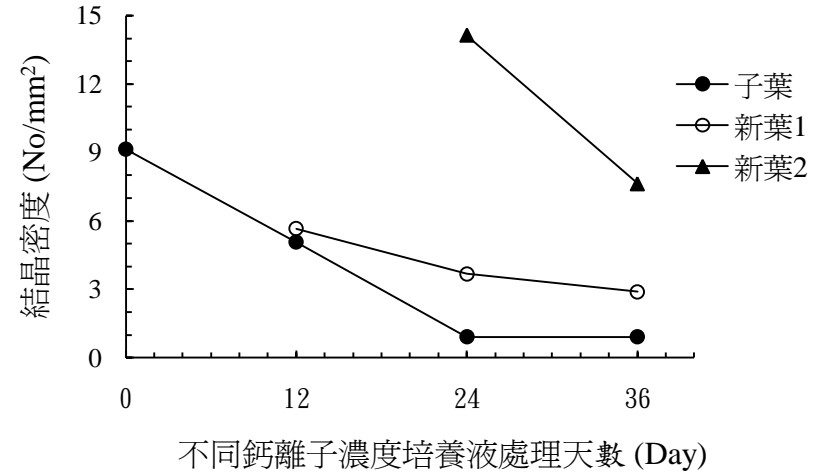


圖二十、不同鈣離子濃度種植試驗之 (A)結晶平均長度 及 (B)結晶平均密度 變化情形

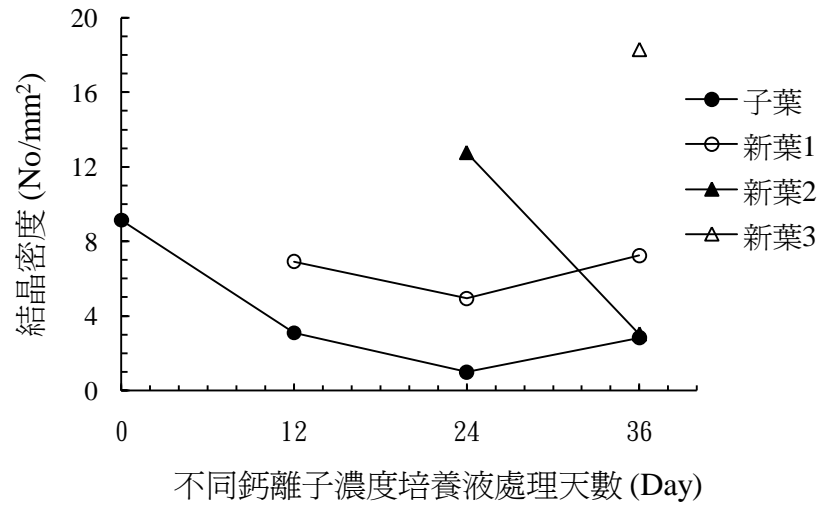
(A) Control 組



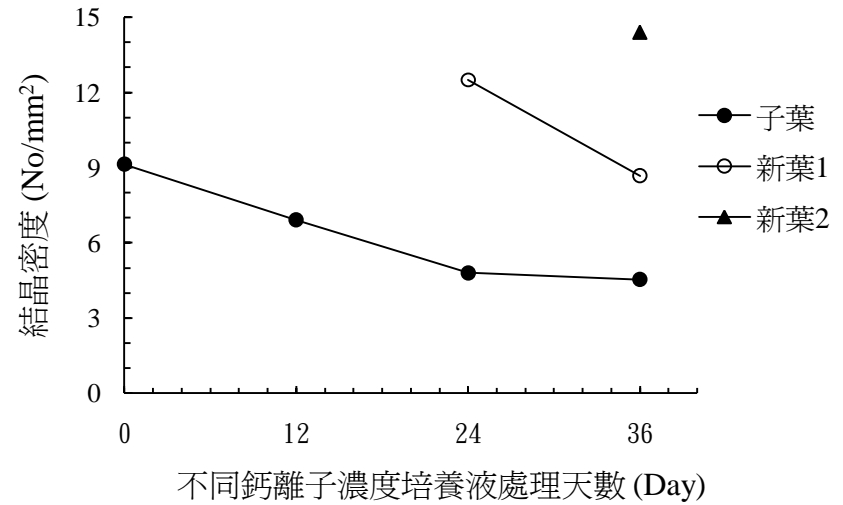
(B) 1/5Ca 組



(C) 1Ca 組

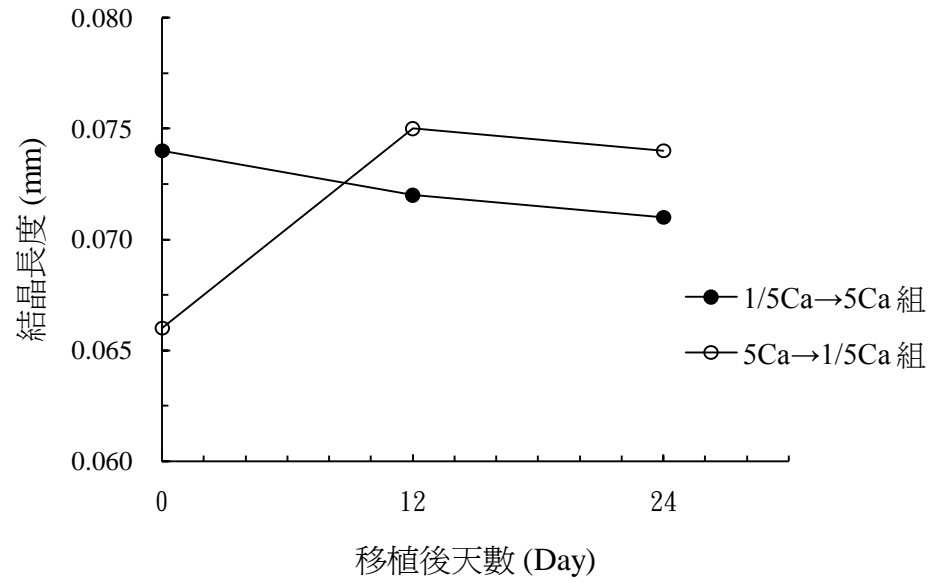


(D) 5Ca 組

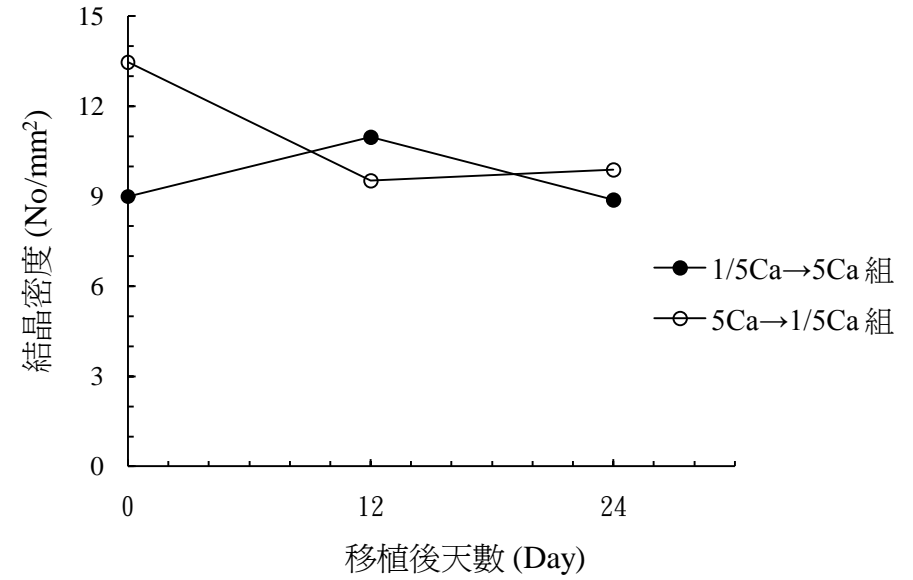


圖二十一、不同鈣離子濃度種植試驗各組各葉片之結晶密度變化

(A) 結晶平均長度


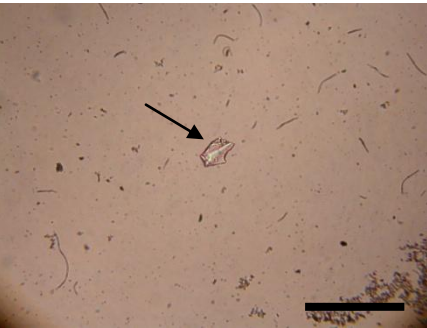
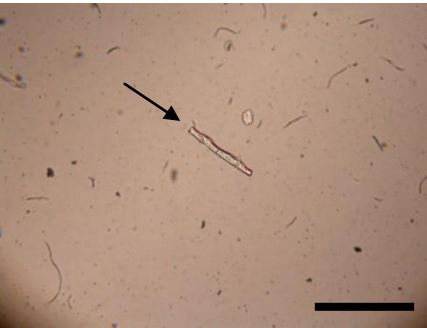

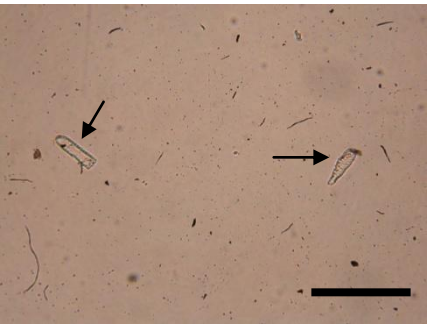
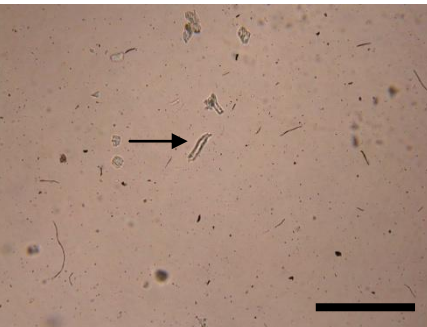
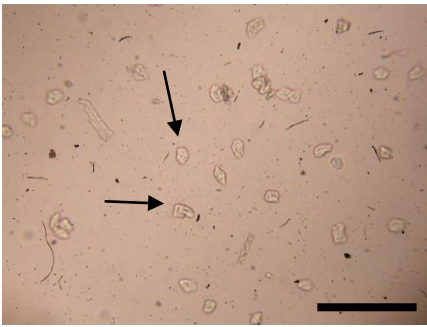

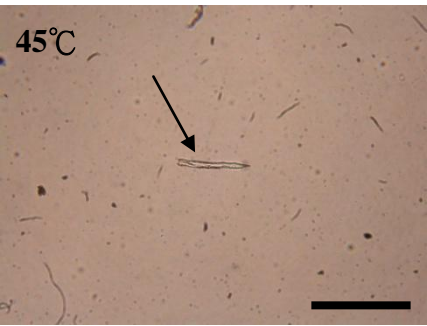
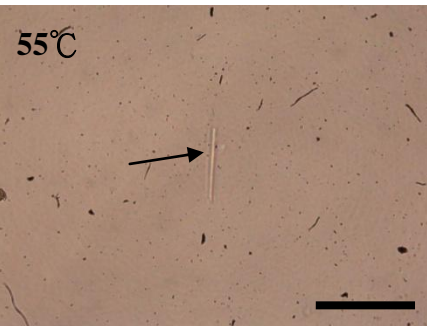
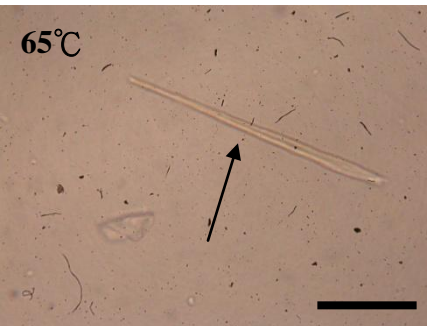
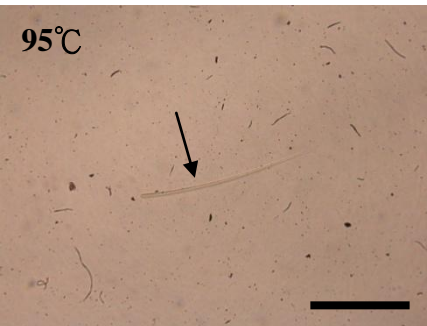


(B) 結晶平均密度

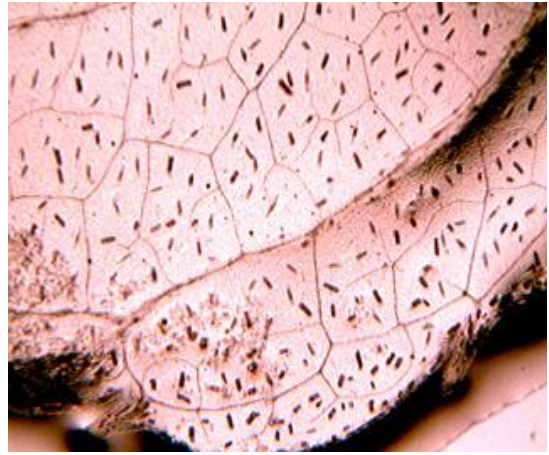
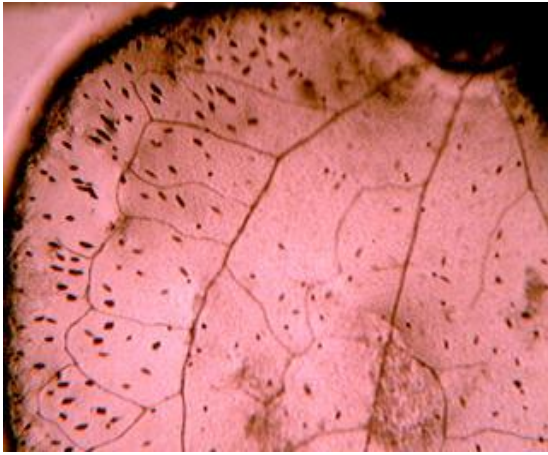


圖二十二、移植試驗之 (A)結晶平均長度 及 (B)結晶平均密度 變化情形

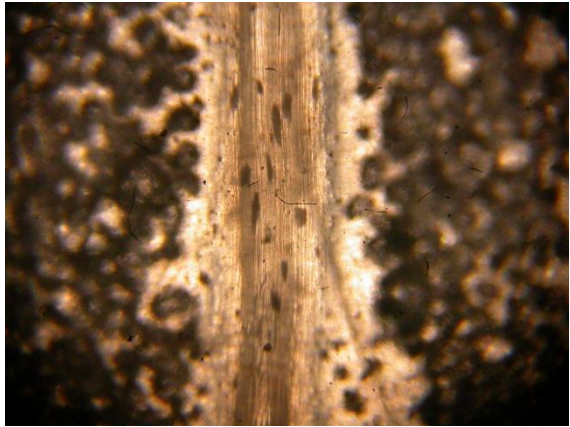
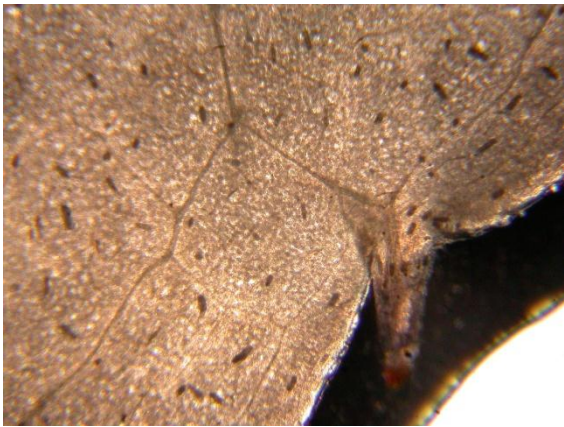
表四、試管養晶試驗之結晶圖片彙整

第一天觀察			
圖二十三 	圖二十四 	圖二十五 	圖二十六 
第二天觀察			
圖二十七 	圖二十八 	圖二十九 	圖三十 
第三天觀察			
圖三十一 45°C 	圖三十二 55°C 	圖三十三 65°C 	圖三十四 95°C 

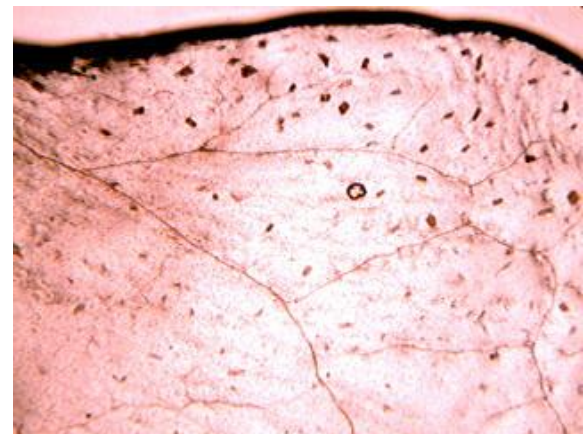
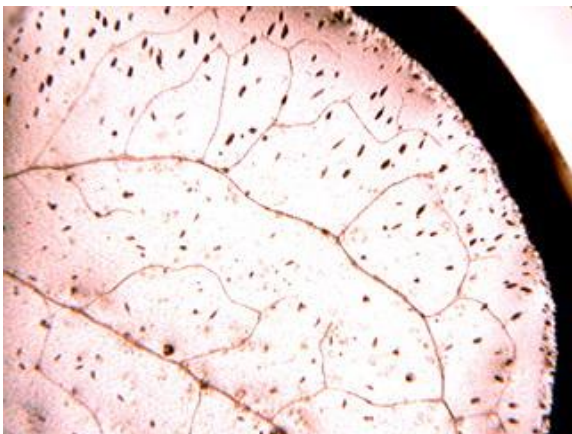
註一：以上圖片皆以 400X 拍攝，比例尺長度為 50 μ m。



(A) 葉片生長初期之結晶分布圖 (40X) (B) 葉片生長後期之結晶分布圖 (40X)
圖三十五、不同生長時期葉片中之結晶分布



(A) 葉緣突起處之結晶分布 (40X) (B) 葉脈中之結晶分布 (40X)
圖三十六、葉緣突起處及葉脈中之結晶分布



(A) 自來水組之子葉結晶分布 (40X) (B) 蒸餾水組之子葉結晶分布 (40X)
圖三十七、不同水分來源處理之子葉結晶分布

陸、討論

一、校園植物的結晶觀察

總計 15 種樣品中有結晶存在，其中 13 種屬於「針狀結晶」，1 種屬於「鐘乳體狀結晶」，1 種同時存在「針狀」及「立方狀」結晶。由相關文獻得知，草酸鈣常呈針狀或叢狀結晶的形態；而碳酸鈣則常以鐘乳體狀結晶形態存在，且同一種植物中可能同時存在不同形態之結晶體。又被子植物中含草酸鈣結晶的植物比含碳酸鈣結晶的植物來的多，且於被子植物中，鐘乳體狀結晶僅存於桑科、爵床科及蕁麻科等科內大部分植物的葉部（吳啓智，民 84；李學勇，民 86）。因此，本實驗所觀察到之結晶多為針狀草酸鈣結晶，僅有桑科的榕樹有觀察到碳酸鈣鐘乳體狀結晶，結果與文獻中所述相符合。

二、不同處理方法的比較

依表三之觀察結果，我們認為「直接剝取法」操作容易、方便上手，適合做為初步檢測植物體中有無結晶存在的方法；「破碎離心法」可避免因人為操作不熟練而無法剝取正確位置，導致誤判結晶有無的發生，以及不易受葉綠素影響觀察，於檢測植物體中有無結晶存在時，結果可信度較高（但破碎秒數需特別注意不能過久）；而「透明法」不會破壞結晶細胞，亦不會受其他細胞物質所影響，且可觀察到結晶在細胞內真實的狀態，因此決定後續實驗皆以「透明法」做為觀察結晶之前處理。

三、不同鈣離子濃度培養液處理試驗—種植試驗

前人曾研究過「培養液中不同鈣離子濃度對小葉桑葉部鈣結晶形成的影響」（吳啓智，民 84），這篇研究對象為小葉桑，其葉片中同時含有鐘乳體狀結晶和草酸鈣結晶。結果顯示草酸鈣結晶分布之平均密度於較高濃度之鈣營養液中（ $3750\mu\text{mol Ca/L}$ ）最大，於較低濃度之鈣營養液中（ $94\mu\text{mol Ca/L}$ ）則未觀察到草酸鈣結晶。

而本實驗除了密度外尚測量結晶的長度。由圖二十（A）結果得知，以不同鈣離子濃度培養液處理，在初期結晶長度會受影響，鈣離子濃度越高，結晶長度越長，但時間久了之後，

結晶長度則不再受鈣離子濃度高低所影響。另由圖二十 (B) 結果得知,和前人研究結果相同:鈣離子濃度和結晶密度呈正相關:鈣離子濃度越高,結晶密度越大;鈣離子濃度越低,則結晶密度越小。不同之處則為本實驗 Control 組 (0 $\mu\text{mol Ca/L}$) 亦有觀察到草酸鈣結晶的存在。

此外,本實驗還觀察各組各葉片之結晶密度的變化趨勢,由圖二十一結果得知,一植株內結晶密度最高的葉片為新生葉,且越晚形成的新葉中結晶密度越高。另外,當新葉形成時距離最近的舊葉片內結晶密度會大幅降低。由相關文獻得知,草酸鈣結晶在植物體內的作用除了支持作用、調節細胞離子濃度以避免受鈣離子或草酸根離子毒害外,尚有「避免被食 (against foraging animals)」的作用 (Franceschi and Horner, 1980)。因此,推測舊葉片內結晶密度會大幅降低原因為:結晶重新轉變成草酸根離子及鈣離子,並且運輸至新葉中,提供新葉形成新的草酸鈣結晶,以避免新形成之幼葉被其他昆蟲所食。且將由距離幼葉最近的舊葉就近來進行此項動作。

另外,圖二十一 (B) 1/5Ca 組第 36 天時的第 2 片新葉結晶密度突然驟降,若比照圖二十一 (C) 之結果應會有第 3 片新葉片出現但卻無標示,是因為此新葉剛生成,葉片極小且過於脆弱,因此在以透明法處理時損壞無法觀察了。也因此導致在計算 1/5Ca 組整株所有葉片平均密度時 (圖二十 (B)),第 36 天的數據偏低,使平均密度低於 Control 組。

四、不同鈣離子濃度培養液處理試驗—移植試驗

在「培養液中不同鈣離子濃度對小葉桑葉部鈣結晶形成的影響」(吳啓智,民 84) 這篇研究中亦有進行移植試驗,其結果顯示:由高鈣營養液移至低鈣營養液 24 天後,在移植前已達成熟的葉片內,草酸鈣晶體的密度顯著的減少;而由低鈣營養液移至高鈣營養液的草酸鈣晶體密度則明顯變大。

而本實驗除了密度外尚測量結晶的長度。由圖二十二結果得知,和前人研究相同:當鈣離子濃度提高時,結晶密度會增加;當鈣離子濃度降低時,結晶密度會降低。但結晶長度卻相反:當鈣離子濃度提高時,結晶長度會減少;當鈣離子濃度降低時,結晶長度卻增加。此現象之原因尚無法找出合理解釋,最有可能原因為本實驗重複數不足,樣品個體變異過大所造成。

五、試管養晶試驗

本實驗觀察到的草酸鈣結晶多為針晶體，但相關資料 (Franceschi and Horner,1980) 顯示在不同的植物中草酸鈣結晶亦有各種不同的形狀 (圖四十三)。因此，我們想比較以試管養出的草酸鈣結晶和植物體內自然形成的結晶形狀有何異同。

結果顯示，以試管方式可培養出針狀草酸鈣結晶，但仍以短棒狀及顆粒狀為主要形狀。只有以 45、55、65、95°C 製備的草酸鈣飽和溶液，於第三天可形成針狀草酸鈣結晶，但數量極少，且形成的結晶是單晶體而非晶束，長度亦較植物體內的結晶長 (植物體內結晶平均長度約在 0.07 ~0.08mm 之間，而試管中的長度最高可達 0.2mm)。對此，推測植物體內的結晶大小有可能會受限於其所在的液胞大小。

此部分尚有很多值得討論，後續預計將恆溫水浴槽溫度改為接近室溫的 25°C，進一步討論針狀結晶的出現受不同飽和度影響較大或不同環境溫度影響較大。

六、其他討論

在實驗過程中也發現，一開始結晶在葉片中是以分布在葉緣為主 (圖三十五 (A))，隨著時間的增長，結晶才開始平均分佈於葉片各部位 (圖三十五 (B))。另外，在葉緣突起處內亦發現有針狀結晶的存在 (圖三十六 (A))；在葉脈中也發現有結晶的堆積 (圖三十六 (B))。推測可能原因為：昆蟲啃食葉片皆是自葉緣開始，因此植物為了保護葉片不被蟲啃食，會自葉緣開始累積結晶，而後才慢慢分布至整片葉片及累積於葉脈中。

此外，我們也以蒸餾水及自來水，兩種不同水分來源來做發芽實驗，目的在探討植物體內的結晶形成是否完全倚賴外界的鹽類提供。結果如圖三十七所示，不論是以不含鈣離子的蒸餾水或是含鈣離子的自來水，種子發芽後形成的子葉內，皆會有結晶的形成。因此，推測植物會將多餘的鹽類儲存於種子內。使下一代在生成幼嫩子葉時，即使環境中無多餘鹽類提供亦可形成結晶，以保護幼芽不被其他昆蟲所食。

另外也發現，以自來水處理的子葉內結晶平均長度和密度，皆較蒸餾水組別來的長及大 (結晶平均長度：自來水組：0.076mm；蒸餾水組：0.043mm、結晶平均密度：自來水組：10.20 (No/mm²)；蒸餾水組：9.14 (No/mm²))。由此得知，種子發芽時環境中若有鈣離子存在，種子亦會將其吸收利用，以增強其防蟲啃食的功能。

柒、結論

- 一、本實驗觀察到的結晶以草酸鈣針狀結晶最多，且在細胞內是以晶束的形態存在。
- 二、以「透明法」做為觀察植物中結晶的方法，可觀察到清楚且完整無斷裂的結晶，且不會破壞結晶細胞，適合做為觀察植物體細胞內結晶實際形態的方法。
- 三、環境中鈣離子濃度多寡，對結晶長度及密度有明顯的影響。對結晶長度而言：鈣離子濃度越高，於生長初期結晶長度越長，但隨時間增加，則不再受鈣離子濃度高低所影響。對結晶密度而言：鈣離子濃度越高，結晶密度越高；鈣離子濃度越低，則結晶密度越低。
- 四、若環境中鈣離子濃度突然改變，植物體內結晶密度會跟著改變：鈣離子濃度增加，密度增加；鈣離子濃度減少，密度則減少。但對植物體內結晶長度於本篇實驗則無法觀察出其變化趨勢。
- 五、以試管方式培養草酸鈣結晶是可行的，且亦有「針狀」草酸鈣結晶的出現。

捌、參考資料及其他

一、參考資料

- (一) 王文中 (民 87)。Excel 於資料分析與統計學上的應用 (97 增訂最新版)。台北縣：博碩文化股份有限公司。
- (二) 呂秋菊 (民 84)。花材植物(一)。台北市：度假出版社有限公司。
- (三) 呂秋菊 (民 87)。花材植物(二)。台北市：度假出版社有限公司。
- (四) 李學勇 (民 86)。植物學要義。台北市：國立編譯館。
- (五) 吳啓智 (民 84)。桑科植物葉部鈣結晶與培養液中不同鈣離子濃度對小葉桑葉部鈣結晶形成的影響。國立台灣大學植物學研究所碩士論文，未出版，台北市。
- (六) 陳皓慈、賴學民 (民 98)。草酸鈣晶體成長之研究。教育部化工群科課程中心專題製作示例評選。台北市立松山工農化工科。
- (七) Franceschi V. R. and H. T. Horner. (1980) Calcium oxalate crystals in plants. *The Botanical Review*. 46: 361-427.

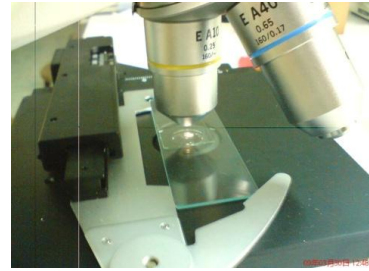
二、實驗流程彩圖：



(A)以解剖刀做橫切處理



(B) 以鑷子撕取上表皮



(C) 以複式顯微鏡觀察之

圖三十八、直接剝取法之操作過程



(A) 以低速破碎 30 秒



(B) 以濾布過濾汁液



(C) 分裝至離心中



(D) 以 3000 rpm 離心五分鐘

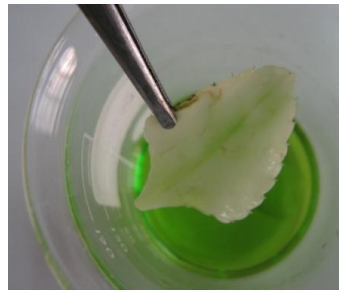


(E) 分別取上、下層液觀察

圖三十九、破碎離心法之操作過程



(A) 95%酒精隔水加熱 30 分鐘



(B) 冷卻並取出



(C) 將葉片輕輕拭乾



(D) 將葉片移至乳酸溶液中至少 30 分鐘



(E) 待葉片呈透明後取出觀察

圖四十、透明法之操作過程



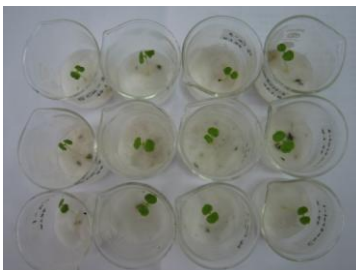
(A) 收集種子



(B) 種植於濕潤之脫脂棉花上



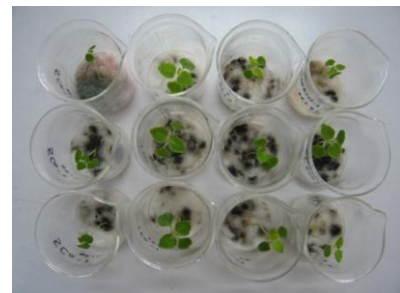
(C) 待萌發且子葉完全伸展



(D) 分別將小苗移至小燒杯中

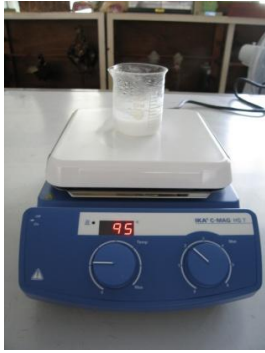


(E) 以不同培養液處理 36 天



(F) 定期取樣觀察

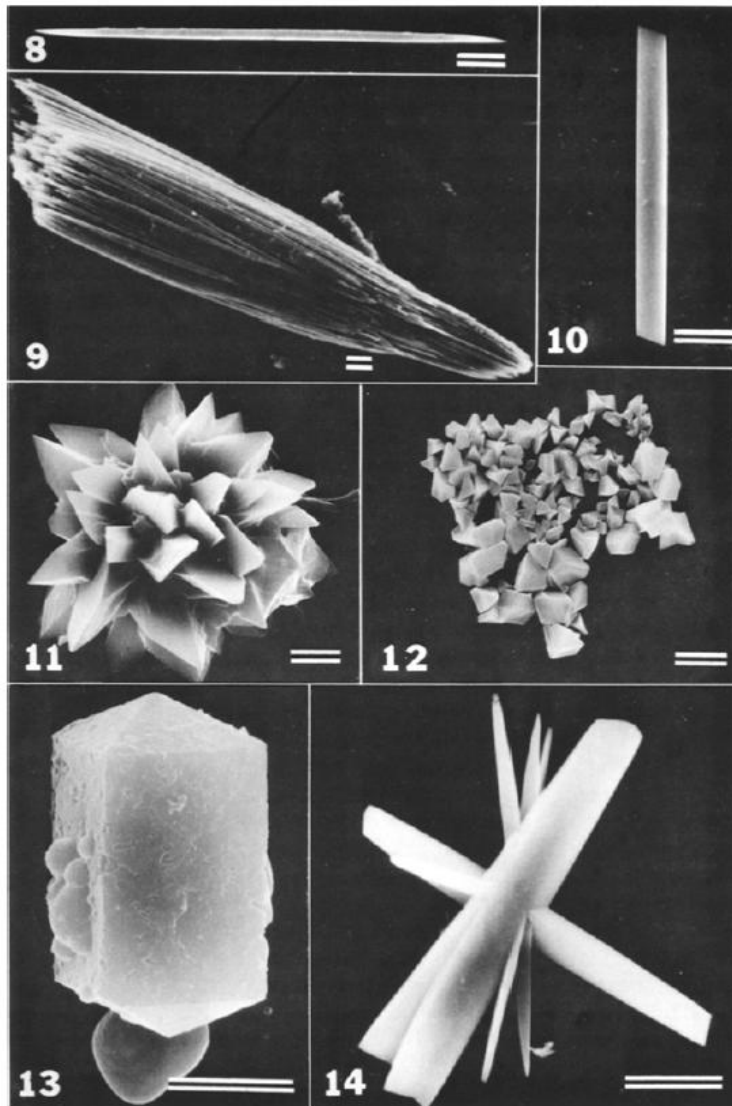
圖四十一、不同鈣離子濃度培養液處理試驗之流程



(A)配置 8 種草酸鈣飽和溶液，分裝於試管中 (B)於 35°C 恆溫水槽培養並定期取樣觀察

圖四十二、試管養晶試驗之流程

三、其他資料：



圖四十三、植物中各種不同形態的草酸鈣結晶

(Franceschi and Horner,1980)

【評語】 040712

- 1.結晶溫度的重要性應高於溶解或配置鈣離子溶液的溫度。
- 2.碳酸鈣或草酸鈣的形成是否具有物種關聯性或僅是鈣離子對碳酸根或草酸根結合的抗衡？