

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國小組 生物科

第一名

080310

喔『葉』-皇宮菜在缺水逆境的適應研究

學校名稱：桃園市中壢區新明國民小學

作者： 小五 林宥甄 小五 李庭瑜 小五 皮羽晴	指導老師： 邱亞函 林哲猷
-----------------------------------	---------------------

關鍵詞：氣孔、蒸散作用、皇宮菜

得獎感言

我們的科展初體驗

炎炎夏日中,許多人早已玩得不知去向,而我們卻待在實驗溫室裡和皇宮菜“約會”度過了這酷熱的暑假。我們從冰箱的蔬菜找到實驗的靈感,由一連串的問題啟動我們好奇的開關,企圖由實驗解開「為什麼皇宮菜能較其他作物更能夠把水分保留在植物體內」的謎團。

在這個實驗中,我們遇到了許多瓶頸,例如:皇宮菜在遇到缺水逆境時,他不像我們實驗結果還沒出爐前的假設,會降低氣孔密度來減少水分散失,而是完全相反的,竟是增加氣孔密度、係數,而且還出現「氣孔簇」!我們絞盡腦汁思考及嘗試後,最後以寶特瓶搓洞來製作葉片模型,模擬在乾旱環境下,葉子表面氣孔密度、氣孔簇的形成與蒸散作用的關係,結果發現模擬氣孔密度增加及氣孔簇形成的寶特瓶蒸散量明顯較少,這是實驗中最驚喜的發現!我們認為這是皇宮菜因應缺水逆境的「超前佈署」概念!

此外,為了更細微的觀察皇宮菜葉片的內部構造,老師拿出了讓我們既好奇,又疑惑的儀器-顯微鏡!一開始,我們完全不會使用顯微鏡,但經過老師細心的教導後,讓我們學會如何使用顯微鏡及親自動手製作許多植物玻片標本,在鏡頭下看到了一個個小窗格般的嶄新世界!

非常感謝邱亞函老師和中大壠中林哲猷老師的指導與督促,讓我們的實驗更加的精采、有趣!也謝謝學校自然科老師們和主任在全國賽前特地抽空前來給予支持與鼓勵,提點我們找到許多問題盲點及做科學的態度與方法,當然,這一路以來市賽評審與教授給我們的建議與教導,讓我們越來越進步,才能擁有全國賽亮麗的名次,感謝你們的悉心教導,讓我們的實驗更加精準、科學化。最後感謝全國賽評審對我們的肯定,給我們一個機會,能夠踏上全國國小生物組第一的舞台!這將會成為難忘且美好的回憶!

這次的科展讓我們收穫多多,不但學會了團隊合作,似乎也讓以前聽什麼都會遲疑停頓的我們,現在吸收書中知識及理解思考的能力變得更強!謝謝老師們願意不厭其煩的向我們解釋各種植物產生的生理作用和探索科學的方法!

下次如果有機會,我們一定會持續帶著爸爸、媽媽的陪伴與暖心關懷,繼續勇敢嘗試尋找各種不同的科學奧妙,闖出不一樣的舞台!



操作指甲油印模法實驗過程~



科展逗點



摘要

本實驗研究數種夏令作物反應乾旱逆境的生長狀況，發現皇宮菜可以對水分變化做出快速的調整反應，隨不同缺水程度氣孔密度明顯增加，氣孔係數也有提高趨勢，而且嚴重乾旱下藉氣孔簇形成以減少水分蒸散。當水分逆境解除之後，氣孔簇發生率會下降，回復正常生理的趨勢，氣孔簇的出現可能與外界環境信號有關。皇宮菜透過生理、形態的變化以因應外界環境水分的改變，來維持光合效能又有效地防止水分流失，達到基礎生理需求以適應逆境，此研究探討土壤水分對作物生理與生長發育之影響，以了解作物於水分逆境下之可能生長模式，作為因應氣候變遷應用於農作物土壤水分管理之節水參考可能性。

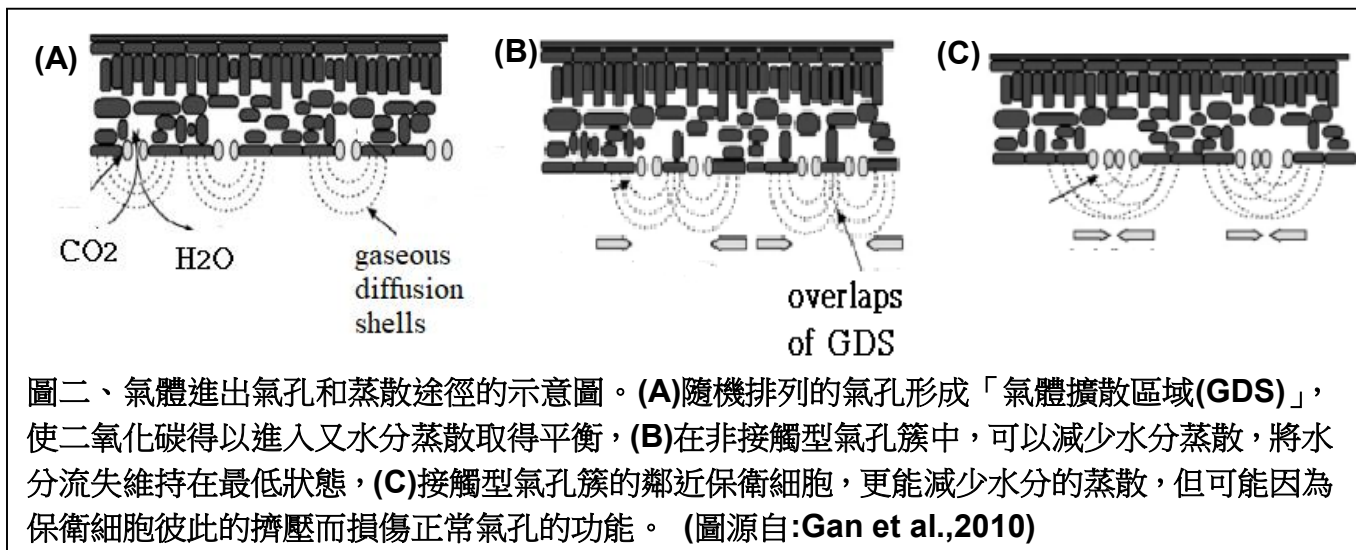
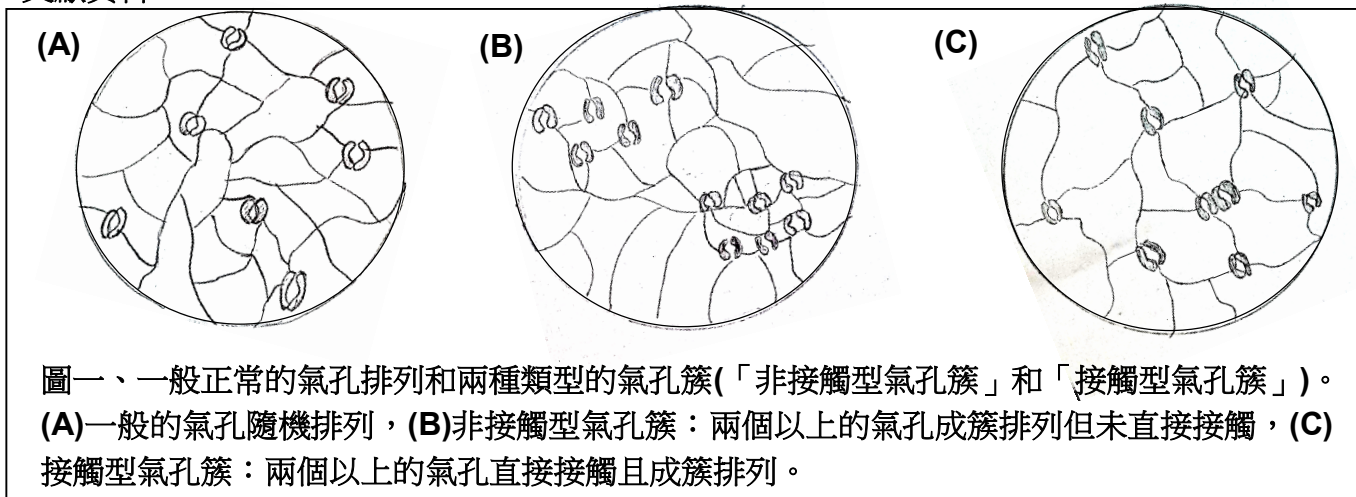
壹、研究動機

近年來由於極端氣候，加上台灣地狹人稠，可利用淡水資源不足，常面臨農業缺水問題，而種植耐旱作物對於乾旱的忍受能力較一般農作物高，且對於水資源的節用也頗有助益。

常常發現媽媽買來的蔬菜放在冰箱數天後，葉子多會呈現脫水凋萎狀態，但有一次發現放了好幾天的皇宮菜葉子依然保水鮮綠，我們好奇皇宮菜的葉子形態和其他種類作物有何不同，為何可以保持植物體內的水分呢？我們查閱文獻，得知氣孔是植物體和外界環境進行氣體交換和蒸散的重要途徑，氣孔是由兩個保衛細胞所構成，當偵測到外界環境因子的變化時，可以藉由保衛細胞膨壓的改變而調節氣孔的開閉，以維持植物體內水分的恆定(施河,2010)。另外有研究報導指出幾個科屬的陸生植物具有氣孔簇(stomatal clusters)，這種氣孔聚集成簇的現象是部分植物陸生適應的標誌(Gan et al.,2010)。我們為驗證耐旱作物的皇宮菜和氣孔簇是否具有關聯性，氣孔簇形成的特徵又是否因為受到外界環境的水分變化，增進植物適應環境的能力呢？

當植物生長在不利環境下，植物會以多種不同方式來反應逆境甚至逐步適應，其中對於植物氣孔簇的出現和外界環境信號的相關研究甚為罕見，植物在乾旱逆境中所形成氣孔簇的生物意義是非常基礎的研究課題。我們企圖探討在相同時節的不同作物在缺水條件下是否改變氣孔的密度分布，及其和蒸散之間的相關性，尋找出耐旱作物在缺水逆境下的新標誌，以作為栽植過程中節用水資源的可能參考價值。

文獻資料：



<p>(A)菜葉甘藷(俗稱地瓜葉) 學名：<i>Ipomoea batatas</i>， 是旋花科(Convolvulaceae)一年生或多年生草本雙子葉植物， 葉柄綠色，葉形五深裂、三深裂或心臟形。在高溫多雨的環境 生長快，一年四季都有，盛產期是夏季。</p>	
<p>(B)蕹菜(俗稱空心菜) 學名：<i>Ipomoea aquatica</i>， 是旋花科(Convolvulaceae)一年生草本植物，莖中空，節上能 生不定根，葉為披針形，長5~15公分，寬2~8公分。夏季炎 熱高溫仍能生長，但不耐寒，是典型的夏季蔬菜。</p>	
<p>(C)落葵(俗稱皇宮菜)： 學名：<i>Basella alba</i>， 是落葵科(Basellaceae)多年生草本植物。單葉互生、葉全緣無 缺刻，有葉柄，葉片卵形或圓卵形，生育適溫環境 25-30℃， 在夏、秋季常供食用蔬菜。</p>	
<p>(D)紅鳳菜(別名紅菜) 學名：<i>Gynura bicolor</i>， 是菊科(Asteraceae)多年生草本植物，單葉互生，葉片背面呈紫 紅色，正面呈深綠色，葉肉厚，葉橢圓形或倒披針形，先端銳 尖。生長力強，在高溫乾旱條件下仍可生長，為夏季常見作物。</p>	
<p>(E)莧菜(別名苋菜) 學名：<i>Amaranthus tricolor</i>， 是莧科(Amaranthaceae)一年生草本植物，葉互生，全緣，略 有波狀，葉先端鈍，形近圓形或短卵形。耐高溫，生長快，是 夏、秋兩季的當令蔬菜。</p>	
<p>(F)紫蘇(別名蘇葉) 學名：<i>Perilla frutescens</i> 是唇形科(Lamiaceae)一年生草本作物，葉片橢圓形或卵形， 對生，邊緣有鋸齒，兩面多為綠色或紫色。在陽光充足的環境， 容易存活，是夏季常見作物之一。</p>	
<p>圖三、夏季當令蔬菜作物，包括(A)地瓜葉、(B)空心菜、(C)皇宮菜、(D)紅鳳菜、(E)莧菜和(F)紫蘇。</p>	

貳、研究目的

本研究以皇宮菜為實驗對象，目的在探討植物於缺水逆境的生長條件下，氣孔數量、分布的改變和蒸散的變化關係，進一步研究皇宮菜在乾旱環境中，葉部產生的形態變化和生理適應機制。

一、觀察不同種類作物的氣孔分布和蒸散速度的差異。

(一)以顯微觀察方式，比較不同作物上、下表皮的氣孔數量和分布的差異。

(二)在缺水逆境中，比較不同作物的蒸散速度和蒸散量的差異。

二、探討皇宮菜在缺水逆境生長條件中，葉部產生的形態變化和生理適應機制的改變。

(一)比較皇宮菜在不同乾旱程度，氣孔分布、數量和氣孔簇形成以及蒸散變化的關聯性。

(二)以自製水耕設計模式，觀察皇宮菜在不同乾旱程度下，葉子的形態變化、表皮角質化程度和解剖構造的差異。

三、探討皇宮菜在解除缺水逆境中，葉部產生的形態變化和生理適應機制的改變。

(一)比較皇宮菜在解除缺水逆境中，氣孔分布、數量和氣孔簇形成以及蒸散變化的關聯性。

(二)以自製水耕設計模式，觀察皇宮菜在解除缺水逆境後，葉子的形態變化、表皮角質化程度和解剖構造的差異。

四、分析皇宮菜生長在缺水逆境的生存適應方式，以歸納出氣孔分布和蒸散變化關係的生物意義，期此研究可應用在耕作節水之參考可能性。

參、研究設備與器材

一、儀器設備：



圖四、儀器(A)複式顯微鏡 (B)電子目鏡(DinoLite) (C)電子數位式天秤 (D)植物培養箱

二、實驗器材、藥品和生物材料

(一)植物氣孔玻片製作器材：載玻片、透明指甲油、透明膠帶。

(二)蒸散係數測量設備：氯化亞鈷試紙、鑷子、吹風機、測時碼表。

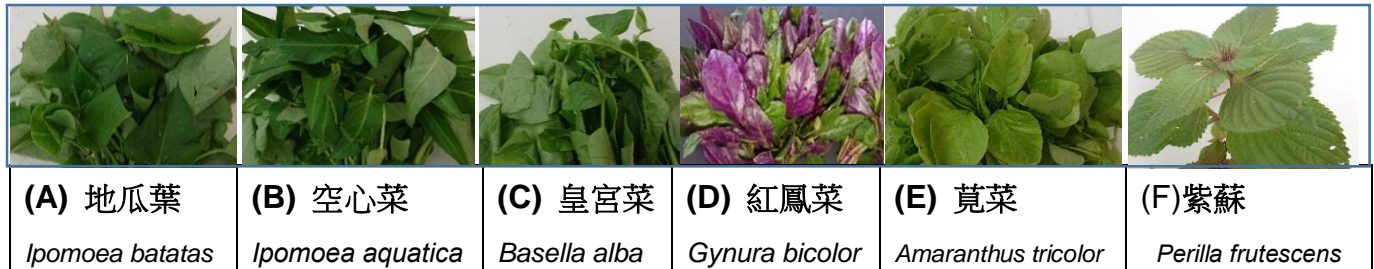
(三)自製水耕模型器材：3公分口徑試管、試管架、泡棉。

(四)其他：計數器、土壤溼度計、照度計、培養土、3吋盆栽數個。



圖五、實驗器材 (A)玻片製作用，(B)蒸散測量用，(C)栽植作物及土壤溼度測試用。

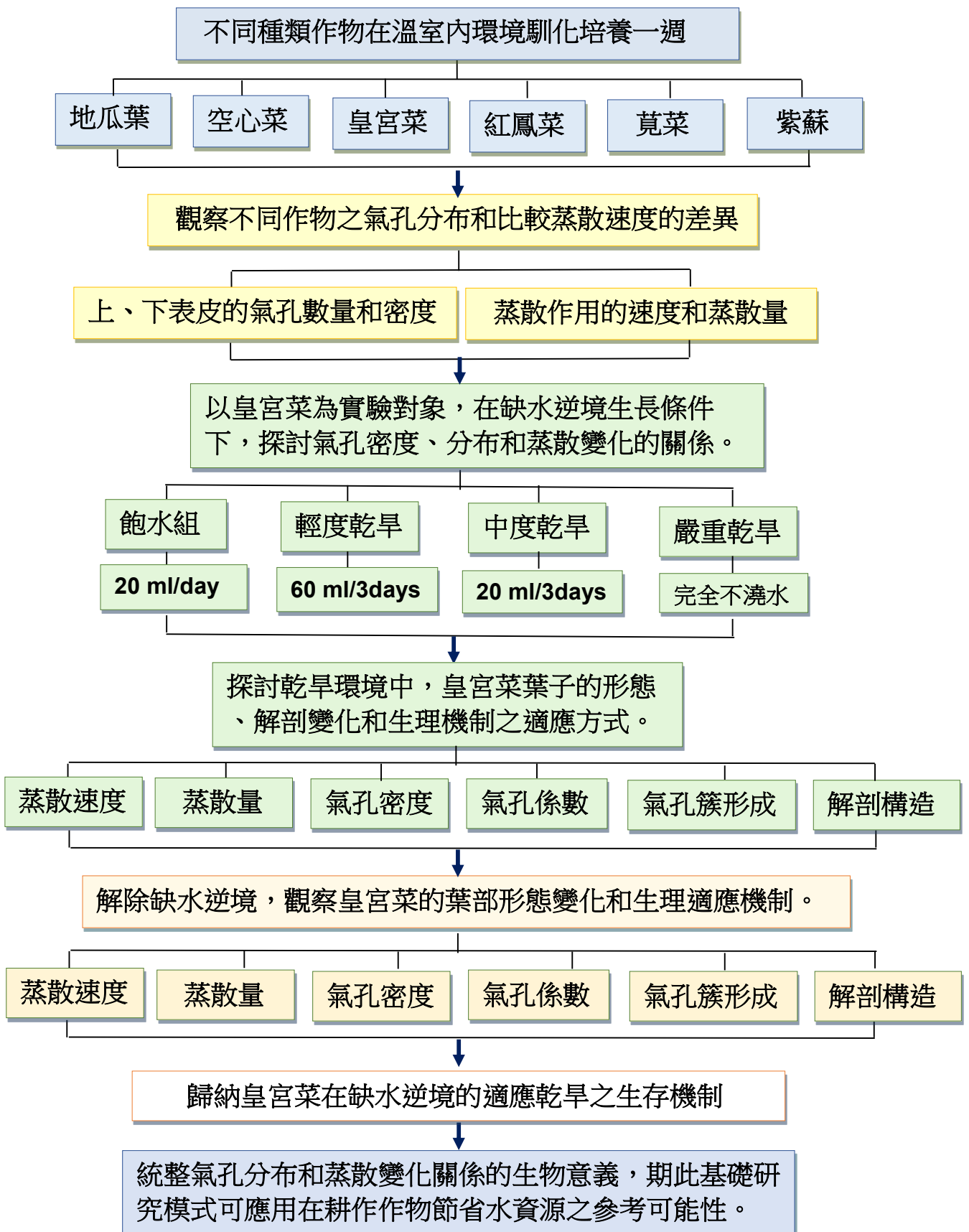
三、生物材料



(A) 地瓜葉 *Ipomoea batatas* (B) 空心菜 *Ipomoea aquatica* (C) 皇宮菜 *Basella alba* (D) 紅鳳菜 *Gynura bicolor* (E) 莧菜 *Amaranthus tricolor* (F) 紫蘇 *Perilla frutescens*

圖六、生物材料 (A)~(F)六種不同種類的作物。

肆、研究過程與方法



一、探討不同種類作物的氣孔分布之研究

(一)在實驗溫室馴化培養不同種類作物和篩選：

- 1.將不同種類作物栽種在三吋盆栽，盆栽置於實驗溫室裡馴化一週時間，每天固定時間澆水 30 ml(澆水量能維持總土量潮濕，溼度計測土壤濕度=80%以上)。
- 2.觀察馴化一週的作物的生長狀況，以有新生葉子和老葉無出現黃化的盆栽視為「生長情形良好」，將此作物盆栽以不同方式處理進行試驗。在試驗過程中盆栽置於植物培養箱(恆溫26°C、12小時光照/12小時黑暗)。

(二)利用指甲油印模法觀察不同種類作物的氣孔分布和數量：

- 1.將指定的葉子(從莖頂往下數的第5片葉子)的特定部分(上表皮、下表皮的中心或葉尖部、葉基部、葉左部、葉右部)塗上透明指甲油，等待指甲油自然風乾後，黏上透明膠帶並撕下。
- 2.將含有氣孔拓印的透明膠帶黏在載玻片上，直接以複式顯微鏡放大100倍率觀察，隨機計算五個不同視野內氣孔和表皮細胞的數量。
- 3.觀察氣孔型態和以計數器計數氣孔數目，計算氣孔密度、氣孔係數和氣孔發生率。

(1)氣孔密度(stomatal density)= 氣孔數目/單位面積(氣孔數目/mm²)。

在顯微鏡下以10倍物鏡搭配電子目鏡，計算每平方公釐的氣孔數目，而實際在電子目鏡的放大下，透過載物台測微器換算顯微視野的實際長寬，再求得顯微實際面積，計數視野下氣孔數，然後除以換算面積，求得每平方mm 有多少個氣孔。

(2)氣孔係數(stomatal index)= $2N_s/(2N_s+N_e)$ (N_s ：氣孔數目， N_e ：表皮細胞數目)。

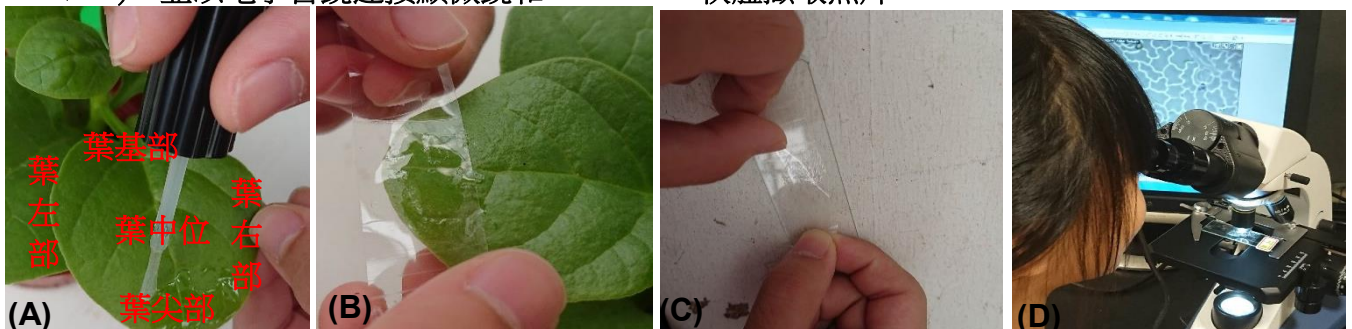
是指在每平方mm 內的保衛細胞數目(一個氣孔由兩個保衛細胞所包圍)與表皮細胞數目 N_e 總和中有幾個氣孔，所以是 $2N_s$ 除以 $(2N_s+N_e)$ 。

(3)氣孔簇發生率(clustering index)：氣孔簇出現的數目/隨機選取的視野數目。

「氣孔簇」定義為兩個或兩個以上的氣孔成簇排列，保衛細胞直接接觸或兩對保衛細胞細胞之間相隔一表皮細胞，使氣孔有成簇排列的現象。(參考文獻邱相齡,2013)

計算植物指甲油印膜上隨機取10次視野，計算共出現多少個氣孔簇，再除以10 做為平均一個視野出現幾個氣孔簇。

- 4.每個特定處理進行三重覆實驗，得一平均值，進行EXCEL繪製直方圖和作統計量分析(*,p < .05)，並以電子目鏡連接顯微鏡和DINO-EYE軟體擷取照片。

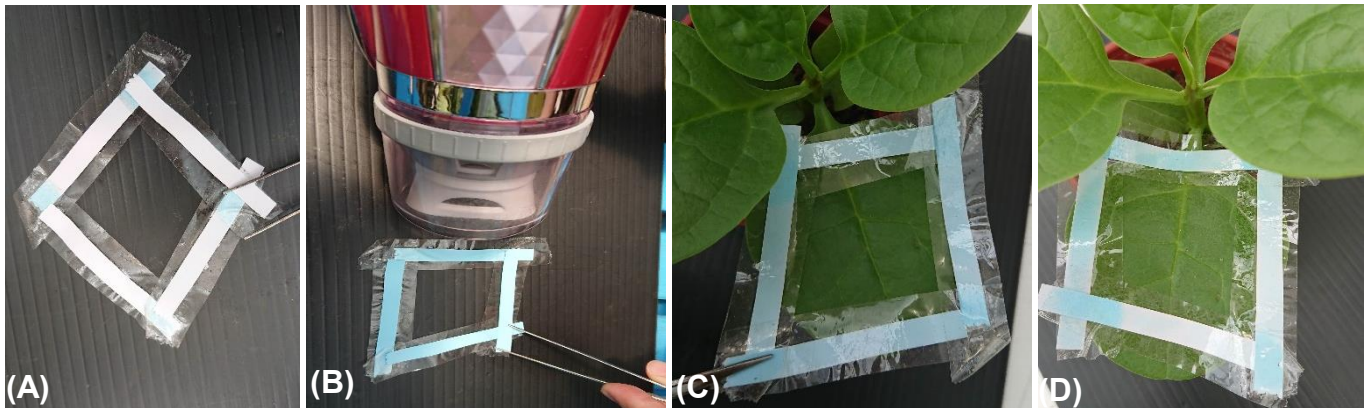


圖七、觀察氣孔密度的指甲油印模法實驗。(A)以指甲油塗在葉子特定部位，(B)用透明膠帶黏在風乾後的指甲油上，(C)將含有氣孔的指甲油拓印的透明膠帶黏在載玻片，(D)以複式顯微鏡觀察，計數氣孔數量，並以 DINO-EYE 電子目鏡連接顯微鏡，在電腦上擷取照片。

二、探討不同種類作物的蒸散速率之研究

(一)測量蒸散所需時間的蒸散速率測試：

- 1.將特定處理的實驗組別分別於特定天數下，取各組指定的葉子(從莖頂下數的第5片葉子)，以透明膠帶黏上無水氯化亞鈷試紙，先經吹風機乾燥處理30秒，立刻貼在葉上指定位置。
- 2.當單一條或四方框的藍色氯化亞鈷試紙貼至待測葉上的部位，同時按下碼表計時器，以碼表計時葉片上的藍色氯化亞鈷試紙，整張完全轉變為粉紅色的時間(變粉紅代表乾燥氯化亞鈷試紙潮濕，表示水分蒸散量足以使氯化亞鈷試紙潮濕所需時間)，分別紀錄葉子各部位(中位或者基部、尖部、左部、右部)水分蒸散所需時間。
- 3.每片葉子重複三次，紀錄數據。每個特定處理進行三重覆，計算出平均值，以Excel進行資料分析和繪製統計圖以及作統計量分析(*,p<.05)。



圖八、測量水分蒸散實驗。(A)將氯化亞鈷試紙以透明膠帶黏成四方框架，(B)用吹風機把粉紅色的氯化亞鈷試紙乾燥處理至藍色，(C)把藍色的氯化亞鈷試紙迅速黏至選擇的葉子上，(D)以計時器計時氯化亞鈷試紙由藍色轉變成粉紅色所需的時間。

三、探討作物在缺水乾旱條件下之蒸散和氣孔分布變化的研究

(一)將作物以乾旱環境處理的裝置：

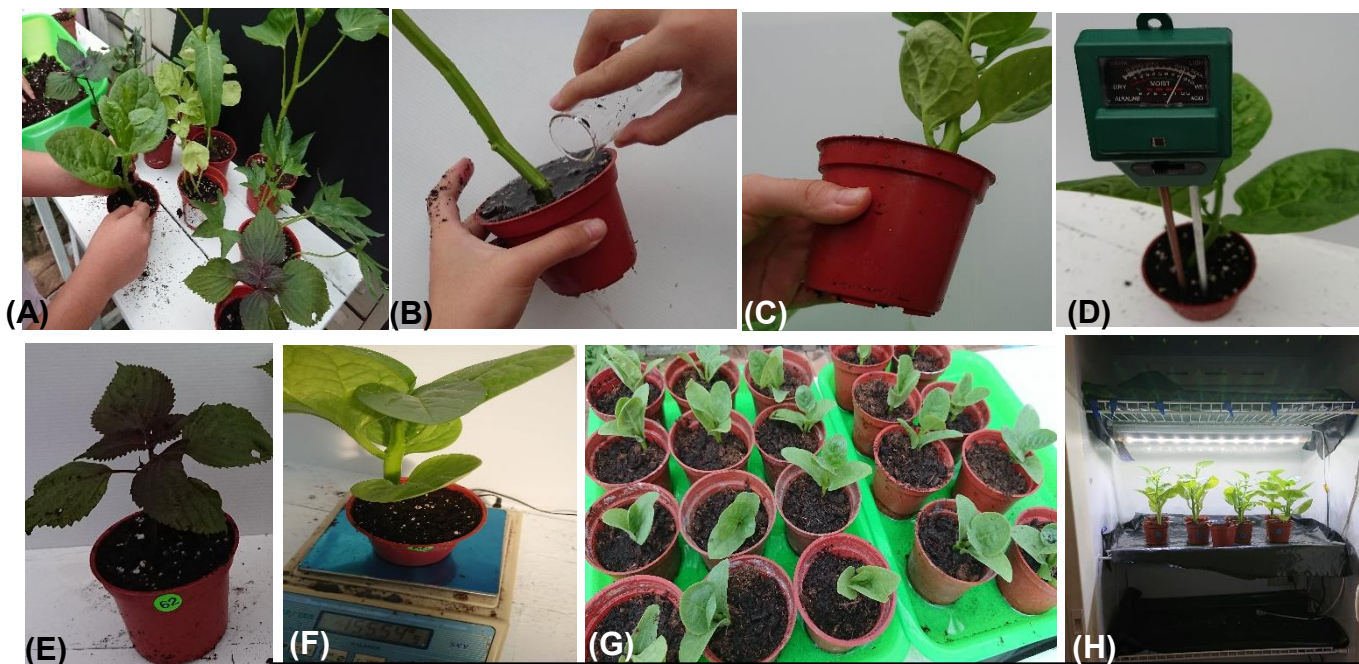
- 1.將作物種在三吋盆栽，每天固定時間澆水30 ml(維持土壤濕度=80 %以上)，至土壤飽滿水分，盆栽內多餘水分會從盆栽底洞流出，直到不再有水流出再進行秤重。隔天開始不澆水處理為「第一天」進行(嚴重)乾旱試驗，連續兩週。(另外只有土壤沒有栽植作物的盆栽，為對照組。)
- 2.蒸散量測試：乾旱試驗過程中，每天觀察作物的存活情形和生長表現以記錄之，並進行盆栽秤重，計算每天重量的變化，再求出不同作物每天蒸散量，以統計分析蒸散量製作曲線圖。
蒸散量=有作物的盆栽減少的重量-只有土壤的盆栽減少的重量(自然蒸發量)
= [(作物盆栽重量) - (前一天作物盆栽重量)] - [(只有土壤盆栽重量) - (前一天只有土壤盆栽重量)]
- 3.蒸散速度測試：在乾旱實驗前，土壤飽滿水分時進行蒸散時間測試，利用透明膠帶將藍色氯化亞鈷試紙黏於葉片下表皮，計算氯化亞鈷試紙完全變為粉紅色的時間；乾旱試驗兩周後再以相同一片葉子進行蒸散時間實驗，以統計分析進行比較。
- 4.每天觀察作物存活和生長狀況，並在特定實驗時間以印模法觀察氣孔數量、分布變化。

(二)不同程度乾旱試驗測試：

- 1.將作物進行秤重後，以固定量土壤栽種在三吋盆栽裡，並澆水30 ml至土壤飽滿水分，而盆栽內多餘水分會從盆栽底洞流出，直到不再有水流出再進行秤重。(以只有土壤的盆栽作為自然蒸發背景對照) 各組盆栽置於植物培養箱中進行恆溫26 °C、光照12小時控制。
- 2.不同程度的乾旱試驗：每隔三天澆水量60 ml作為「輕度乾旱」組；每隔三天澆水量20 ml作為「中度乾旱」組；另外不澆水處理為「嚴重乾旱」，和每天澆水20 ml作為「飽水」組。進行乾旱試驗連續四週。
- 3.每天秤重盆栽，進行蒸散量測試，和在第一、第二、第三和第四週進行蒸散所需時間測試，比較「輕度乾旱」、「中度乾旱」、「嚴重乾旱」和「飽水」的蒸散作用變化差異，並以指甲油印模法觀察氣孔數量、分布的改變。

(三)乾旱後的復水試驗測試：

- 1.各不同乾旱條件組別(「輕度乾旱」、「中度乾旱」、「嚴重乾旱」和「飽水」)每天澆水20 ml進行復水試驗。
- 2.每天秤重盆栽，進行蒸散量測試，和在第一、第二、第三和第四週進行蒸散所需時間測試，比較各不同乾旱條件組別在復水之後的蒸散作用變化差異，並以指甲油印模法觀察氣孔數量、分布的改變。



圖九、缺水逆境和復水試驗。(A)先將不同作物植栽於三吋盆栽進行馴化，(B)以固定量水使土壤飽滿水分，(C)水分完全被土壤吸收，待至盆栽不再有水滲出，再進行秤重，(D)土壤溼度計測試土壤中的含水量，(E)盆栽編碼標記，(F)每天進行各特定處理的盆栽秤重，為求蒸散量，(G)不同乾旱條件組別，(H)各組別盆栽置於植物培養箱中進行 26 °C 恆溫、光照 12 小時控制。

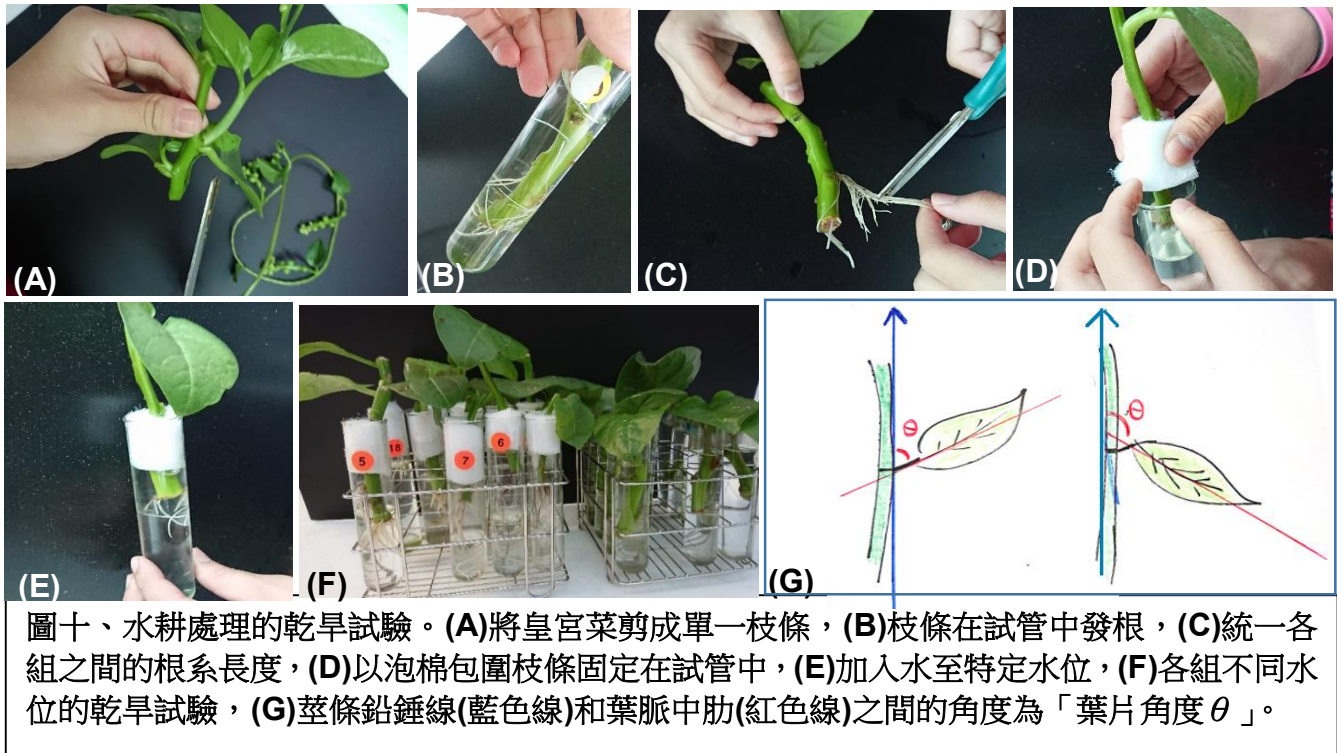
四、探討皇宮菜以水耕處理在乾旱條件下之葉片膨壓變化的研究

(一)將皇宮菜以水耕方式不同程度乾旱條件的裝置：

- 1.將皇宮菜側枝剪除只留單一枝條，且頂芽切除，只留一片葉子，將此一枝條置放至裝滿水的口徑3 cm玻璃試管中，等待發根。
- 2.取出發根後的皇宮菜枝條，將各組的根系修剪至相同長度，再以泡棉包圍住莖枝條以固定皇宮菜在試管中的位置，再以滴管加入水至特定水位。
- 3.不同程度的乾旱條件（水位高低不同）：將試管中的皇宮菜根系全部浸在水中作為「飽水處理」，根系的二分之一部分浸在水中為「輕度乾旱」，根系的四分之一部分浸在水中為「中度乾旱」，試管中完全沒有水分為「嚴重乾旱」。

(二) 量化葉片角度以評估葉子膨壓的改變：

- 1.以莖條為鉛錘線方向，測量葉片基部和葉片頂點的連線，和鉛錘線的夾角為「 $\theta 1$ 」。乾旱實驗三週後，葉子失水後再測量其夾角為「 $\theta 2$ 」。「 $\theta 1$ 」減「 $\theta 2$ 」視為失水後膨壓的變化。復水後一週，葉子吸水後再測量夾角為「 $\theta 3$ 」，「 $\theta 2$ 」減「 $\theta 3$ 」視為復水後膨壓的變化。



五、探討皇宮菜葉部解剖構造的研究

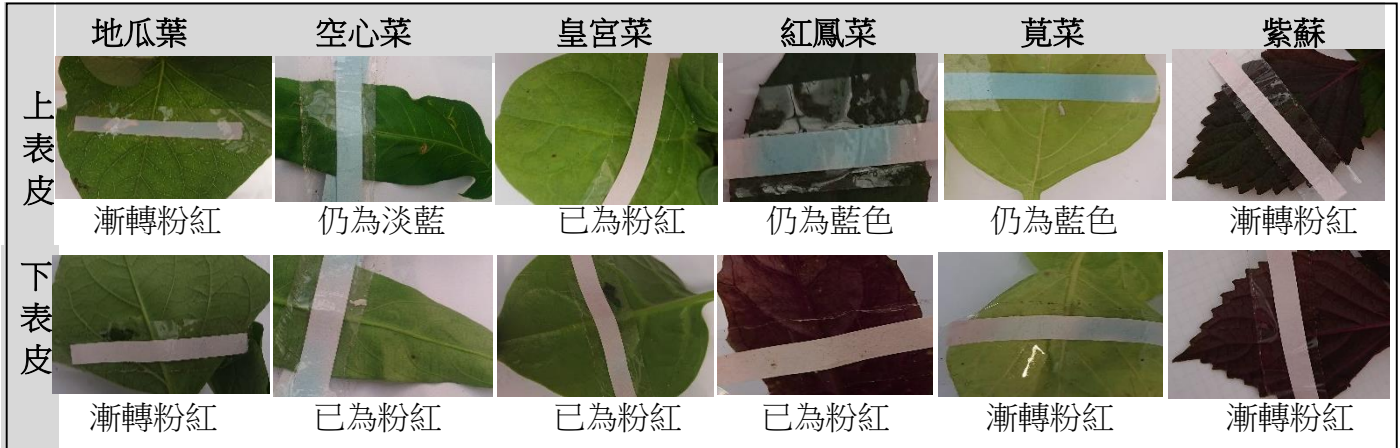
- (一)取水耕處理的皇宮菜葉子，以解剖刀進行徒手縱切超薄切片，置於載玻片上，利用光學顯微鏡觀察組織結構的形態變化，比較不同水分條件下（飽水狀態、乾旱處理、復水後）葉片組織解剖的特徵，包括葉片厚度、表皮厚度、角質層厚度等。

伍、實驗結果

一、不同種類作物水分蒸散速度和氣孔分布之間關聯的研究

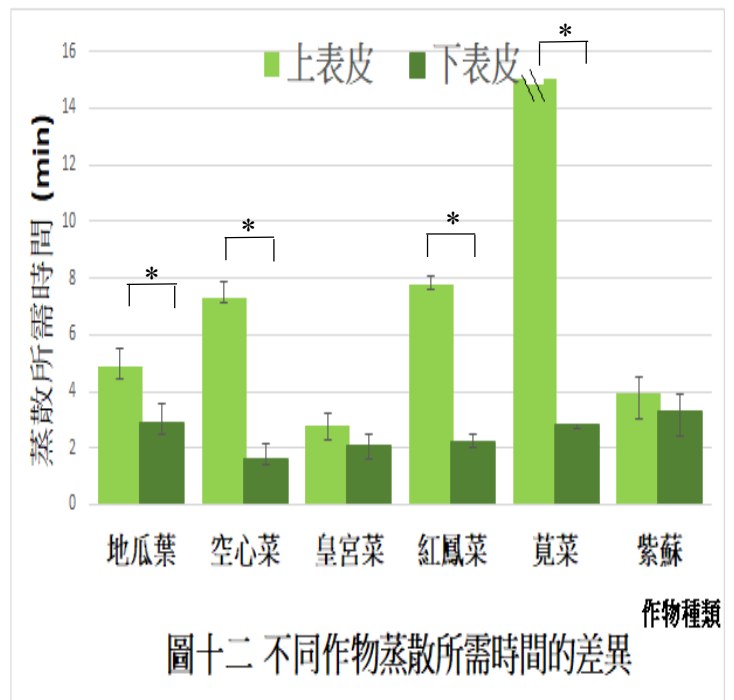
(一)不同作物蒸散速度的差異：

觀察在夏季盛產的作物，包括莧菜、空心菜、地瓜葉、皇宮菜，紅鳳菜和紫蘇等，這些蔬菜因為流失水分造成細胞膨壓減少使得蔬菜萎凋，然而我們發現這些蔬菜萎凋的速度皆不相同，於是我們利用氯化亞鈷試紙來測試這些夏季盛產作物的蒸散速度。



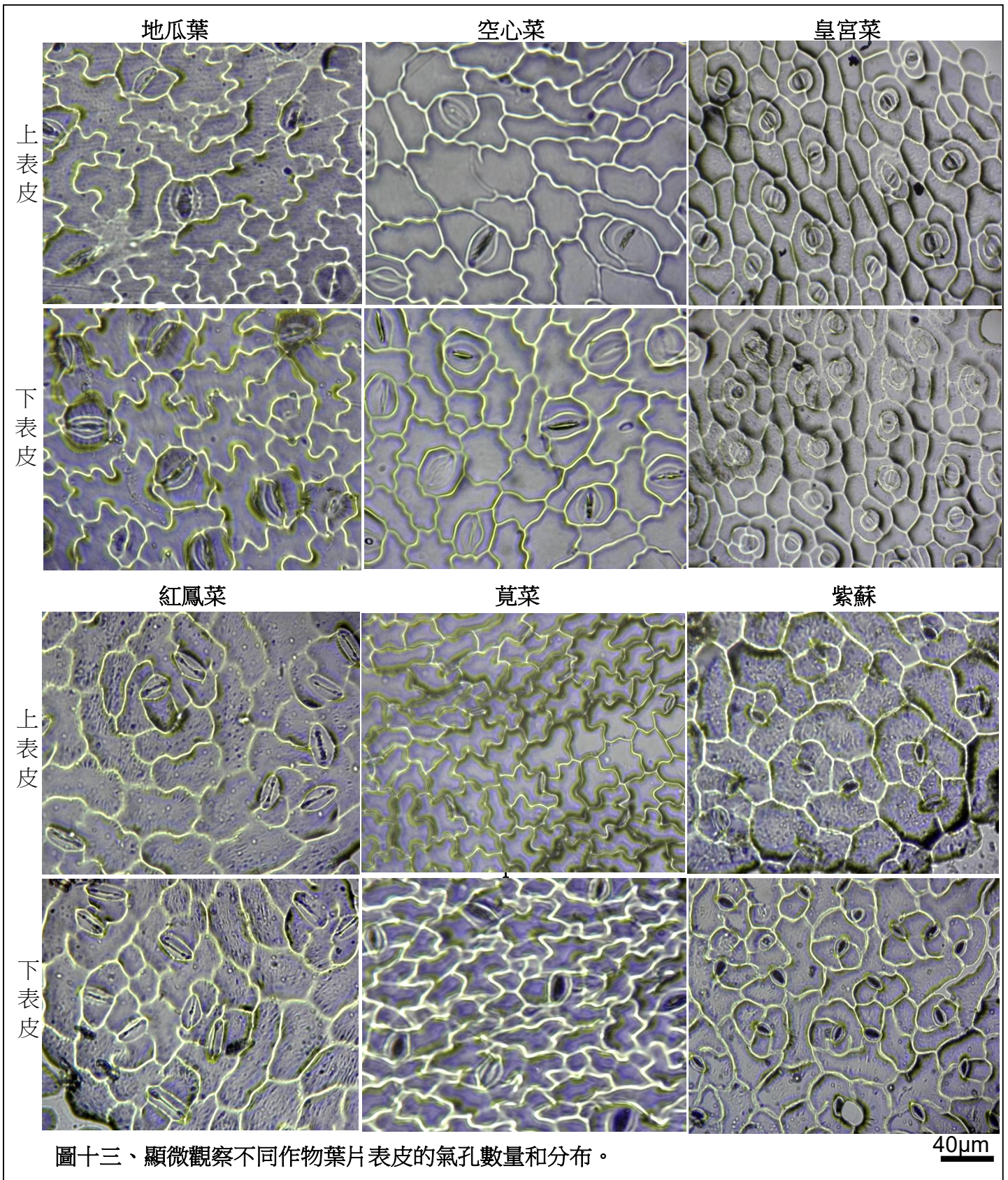
圖十一、以氯化亞鈷試紙測試不同作物的蒸散過程，測試 5 分鐘氯化亞鈷試紙的情形。

將貼附在葉片上的氯化亞鈷試紙上顏色由藍轉至淡粉紅過程的時間視為「蒸散所需時間」，我們發現這些作物的上表皮蒸散所需時間結果是莧菜遠大於其他作物，以皇宮菜所需時間最短，同時這些作物下表皮的蒸散時間皆明顯小於上表皮，表示下表皮的蒸散速度快於上表皮，唯皇宮菜葉片上、下表皮蒸散所需時間無顯著差異，而且蒸散速度相較其他作物快速，皇宮菜是否有其他方式以適應陸生環境？我們好奇這些作物水分蒸散速度的差異是否和葉片上氣孔的數量和分布情形有關呢？



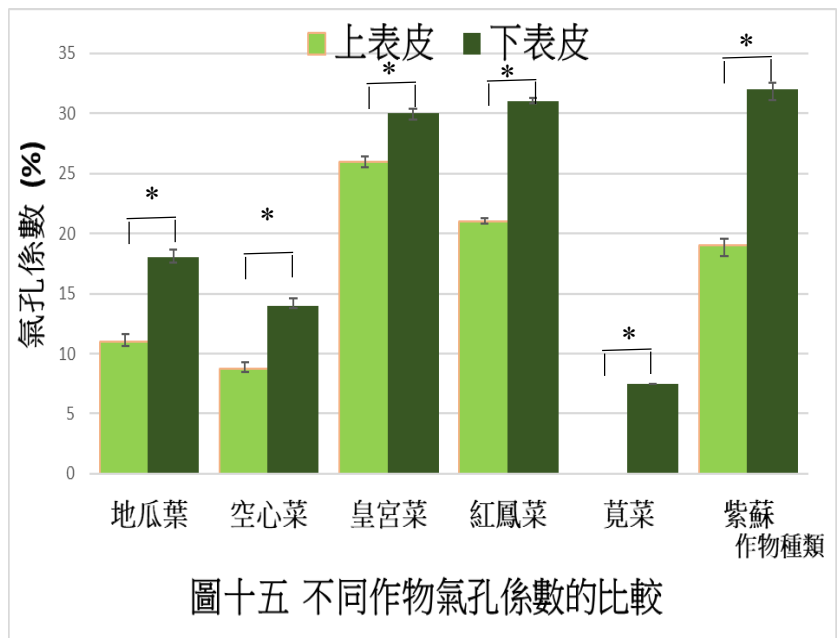
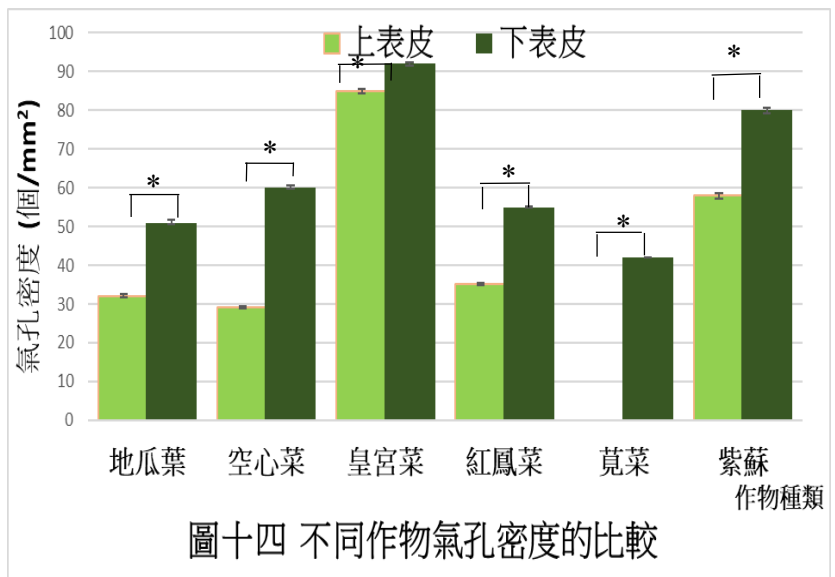
(* 表示 $p < .05$ ，與各作物上表皮比較)

(二)觀察不同作物上、下表皮的氣孔分布情形：



圖十三、顯微觀察不同作物葉片表皮的氣孔數量和分布。

在植物的蒸散作用中，氣孔扮演著重要的角色，而氣孔在葉面上的數目及密度的大小與蒸散作用的強度有著密切的關係，因此我們進一步以指甲油印模法來瞭解這些不同作物的氣孔在葉面上的數量和分布，和蒸散速度是否有所關聯。顯微觀察上、下表皮氣孔密度以皇宮菜最高，其次是紫蘇、空心菜、地瓜葉、紅鳳菜，莧菜的上表皮沒有氣孔分布，而氣孔係數也以皇宮菜最高，紅鳳菜、紫蘇其次。所以由實驗結果得知皇宮菜葉片的氣孔面積雖然相較其他作物小，但是氣孔密度多，可能會造成植物體內的水分從氣孔處離開的蒸散量高，當蒸散作用強度大時，蒸散所需的時間短。相同的，其他作物的表皮氣孔密度分布情形和蒸散作用的強度，也存在著高度的關聯性。進一步我們好奇當外在環境水分改變時，植物體的蒸散強度和氣孔密度的關係是否會有變化呢？



(*表示 $p < .05$ ，與各作物上表皮比較)

二、不同種類作物在乾旱環境中的水分蒸散和氣孔分布的變化關係

(一)不同作物在缺水環境下的生長情況：

我們以這六種在夏季盛產的作物進行乾旱試驗，企圖比較在缺水環境下的生長差異。我們發現在第三天紫蘇的葉子下垂、邊緣開始皺縮，甚至部分葉子已經黃化，在第七天全部呈現枯萎狀態。空心菜在第五天因為缺水造成葉子全數下垂之外，莖桿也向下垂吊，在第七天葉子出現黃化，空心菜葉在第十二天全部枯萎。莧菜在第七天時葉子出現下垂，在第八天莖桿也向下垂吊，葉子黃化，開始出現枯萎。地瓜葉在第八天約一半葉子出現下垂，在第十天大多的葉子黃化，兩天後全部葉子凋落只留莖桿。紅鳳菜葉子在試驗兩週內沒有出現明顯枯萎，依然存活。皇宮菜葉在缺水逆境中仍能存活，葉片保持鮮綠只有面積縮小、厚度變薄的趨勢。由乾旱試驗結果得知，紫蘇的耐旱性最差，空心菜、莧菜和地瓜葉其次，紅鳳菜和皇宮菜的耐旱性最好，然而這些不同耐旱程度的作物在水分缺少條件下的蒸散作用是否有所改變呢？



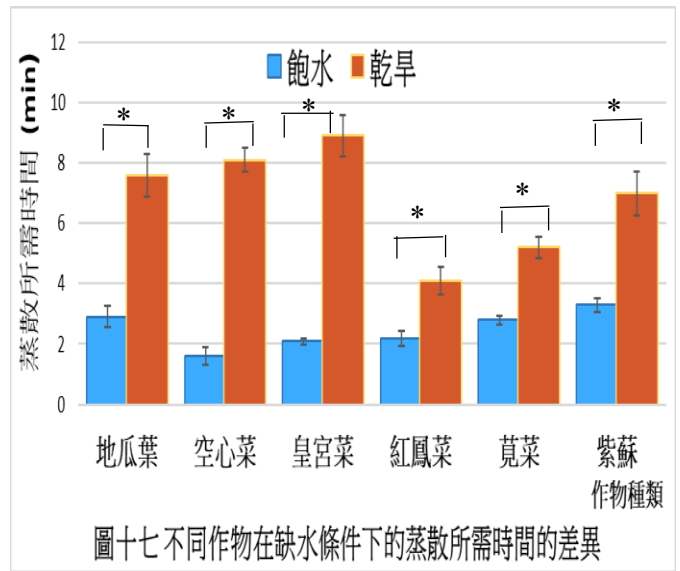
圖十六、不同作物在缺水環境連續兩週的乾旱試驗。



圖十六、不同作物在缺水環境連續兩週的乾旱試驗。

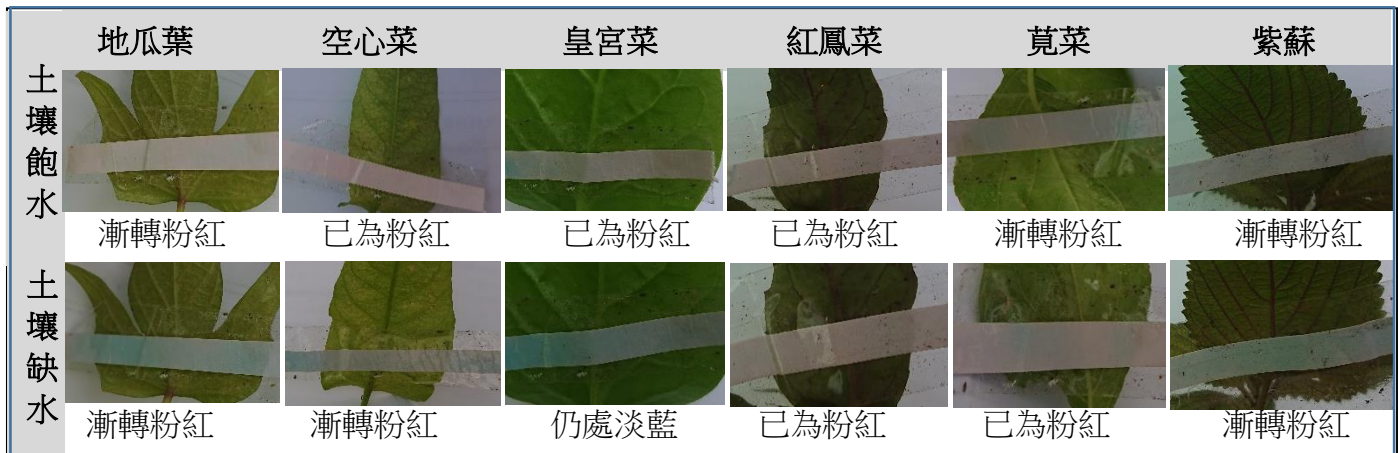
(二)不同作物在缺水逆境下的蒸散速度差異：

這些夏季盛產的作物在缺水逆境下，可能因為過度流失水分造成細胞膨壓減少，而葉片漸下垂，但是這些作物的萎凋速度皆不相同，於是我們好奇不同作物在乾旱下的蒸散速度是否有所差異，我們在缺水第五天時利用氯化亞鈷試紙來測試這些夏季盛產作物下表皮的蒸散速度。結果發現作物在乾旱環境中的蒸散所需時間拉長，換句話說缺水條件下的蒸散速度相較飽水狀態變慢，尤其以皇宮菜和空心菜最明顯，其次是地瓜葉，進一步我們觀察蒸散量的變化，是否和蒸散速度有著密切關係？



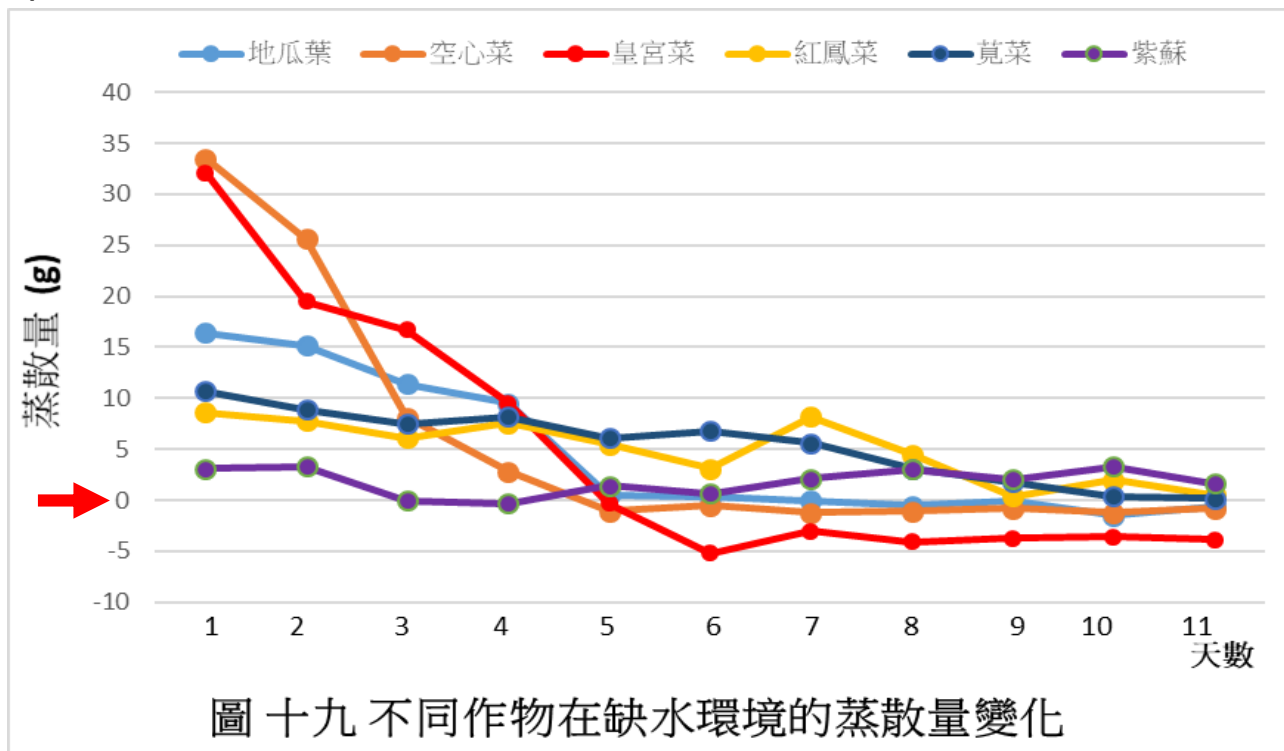
圖十七 不同作物在缺水條件下的蒸散所需時間的差異

(*表示 $p < .05$ ，與各組飽水比較)



圖十八、以氯化亞鈷試紙測試不同作物的在缺水條件下的蒸散過程，測試5分鐘氯化亞鈷試紙情形

(三)不同作物在缺水逆境下的蒸散量變化：

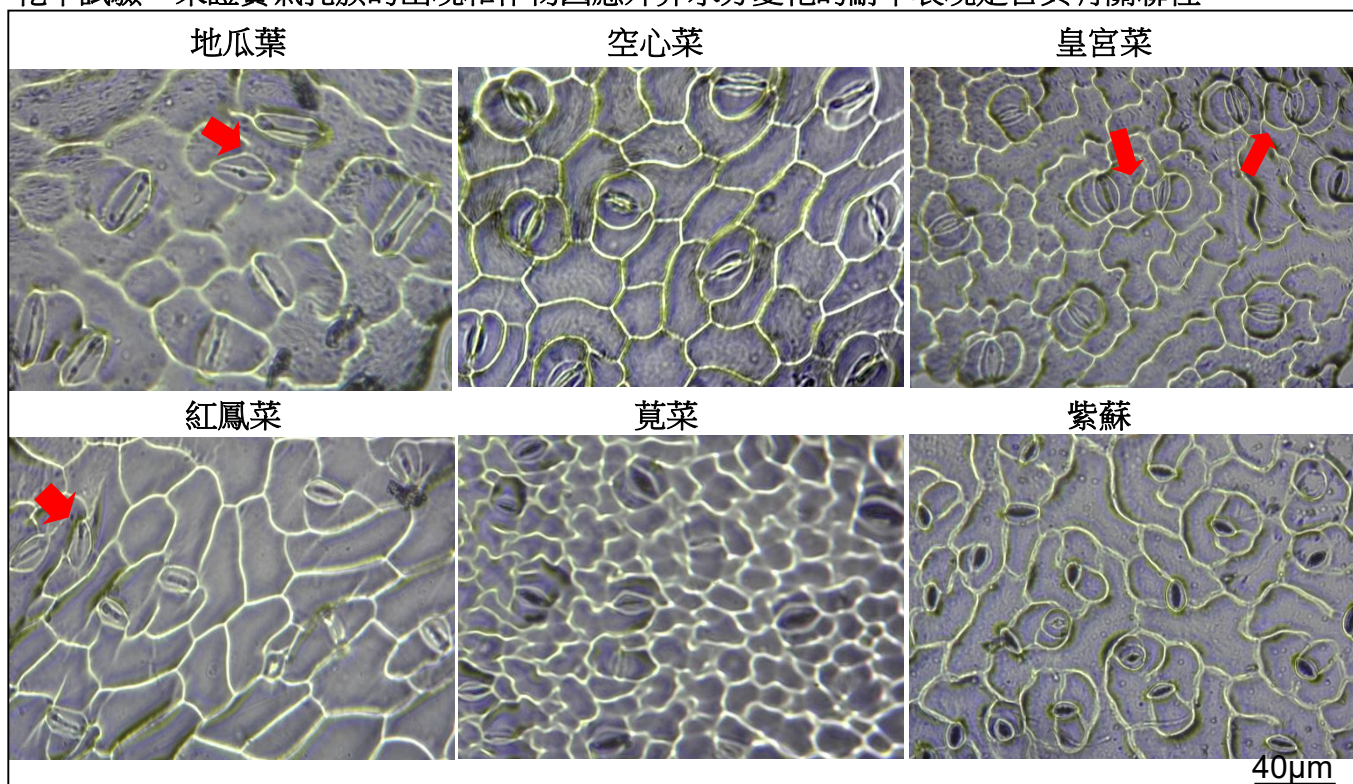


圖十九 不同作物在缺水環境的蒸散量變化

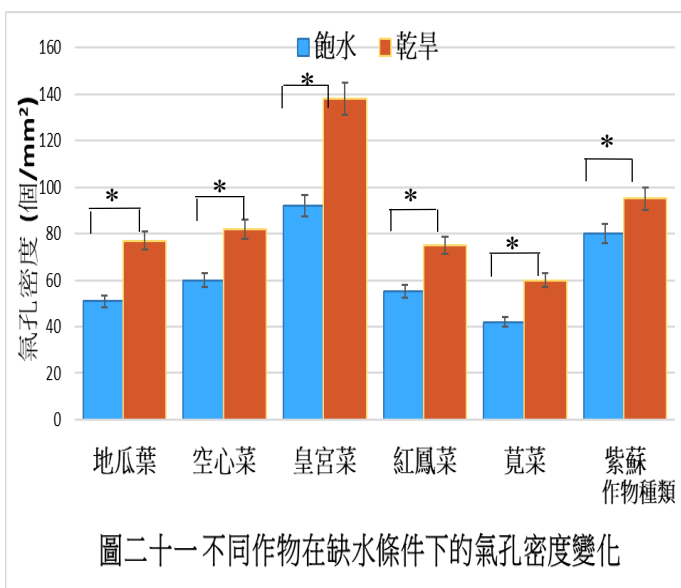
我們的實驗結果發現不同作物在缺水逆境下，作物的蒸散量有所差異，此現象可能會影響作物的生長狀況。乾旱試驗過程總蒸散量的比較：皇宮菜>空心菜>地瓜葉>莧菜>紅鳳菜>紫蘇，在初期階段以空心菜的蒸散量大，但處於缺水逆境第三天的蒸散量漸趨於零，生長表現無法耐旱，地瓜葉和莧菜也同樣隨著乾旱時間拉長，蒸散量隨之減少。紅鳳菜的蒸散量在乾旱過程中無明顯起伏變化，總蒸散量小，植體存活表現良好。紫蘇的總蒸散量最小，但最先表現枯萎，我們推測是因為紫蘇在乾旱環境吸收土壤水分效率差所導致。有趣的是皇宮菜總蒸散量最大，且蒸散量大多集中在實驗初期，在試驗中期蒸散量快速降低，且後期階段的蒸散量為負值，其值明顯小於只有土壤盆栽的自然蒸發量，同時乾旱中的皇宮菜存活和生長狀況良好，我們猜測皇宮菜能因應外界水分的變化，快速調整生理機制以適應乾旱環境，耐旱性強的皇宮菜植株似乎有強吸水力，且能將水分保留在植體內，保水性佳，所以盆栽的減少重量會低於在環境中土壤的自然蒸發量。這些不同的作物在缺水逆境下表現不同耐旱程度，其蒸散量的差異，又是否和氣孔開關、氣孔分布有所關聯呢？

(四)不同作物在缺水環境的下表皮氣孔分布的變化：

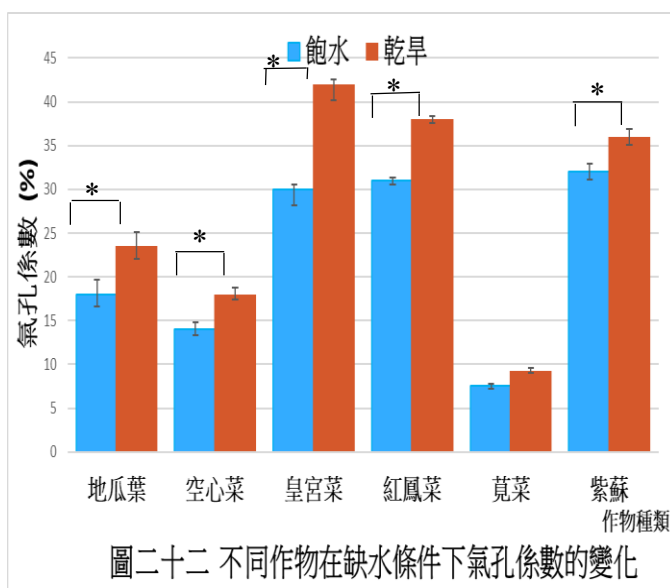
我們以氣孔數目較多的下表皮為研究對象，發現在缺水逆境下，大多作物下表皮氣孔密度相較於對照組有明顯增加，以皇宮菜最明顯，紅鳳菜和空心菜次之，而且皇宮菜的氣孔係數也有增加趨勢。顯微觀察這些作物的氣孔分布不同於飽水處理，氣孔有成簇排列的現象，尤其皇宮菜和紅鳳菜有明顯的氣孔簇形成，數量亦多。我們進一步以耐旱性最佳的皇宮菜進行不同缺水程度的乾旱試驗，來證實氣孔簇的出現和作物因應外界水分變化的耐旱表現是否具有關聯性。



圖二十、顯微觀察不同作物在缺水條件下的葉下表皮氣孔分布。(紅色箭頭為氣孔簇形成之處)



圖二十一 不同作物在缺水條件下的氣孔密度變化



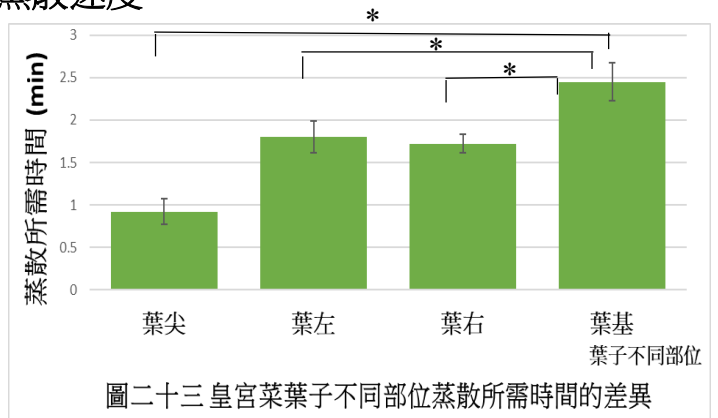
圖二十二 不同作物在缺水條件下氣孔係數的變化

(*表示 $p < .05$ ，與各組飽水比較)

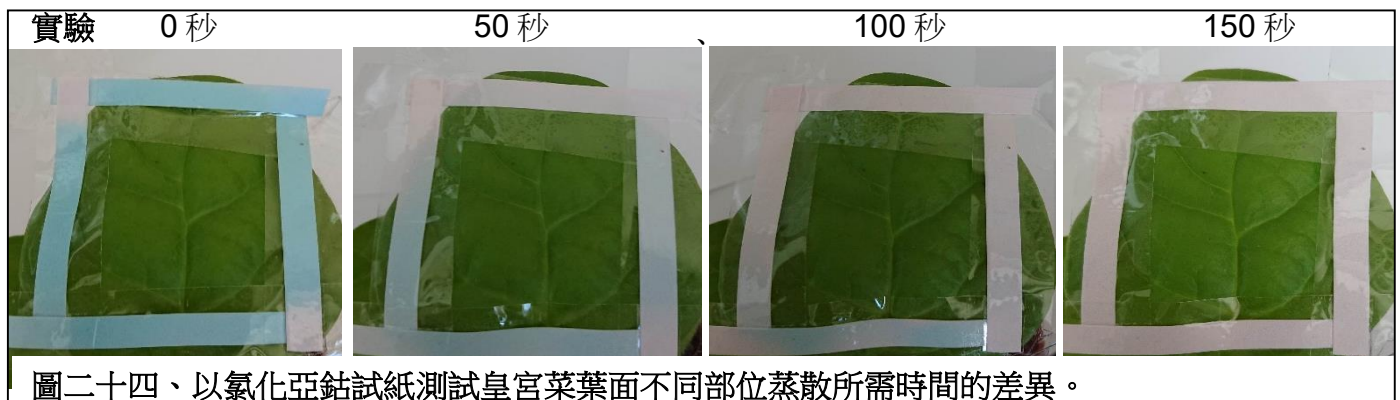
三、觀察皇宮菜下表皮不同部位的氣孔分布和蒸散作用的關係

(一)探討皇宮菜的葉面下表皮不同部位的蒸散速度

我們選擇飽水狀態下的皇宮菜，採用氣孔數較多的下表皮作為觀察位置，比較葉片不同部位氣孔蒸散的差異，實驗發現皇宮菜葉片不同部位的「蒸散所需時間」有明顯差異，蒸散所需時間結果是：基部 > 左部 = 右部 > 尖部 ($p=0.000$)，表示蒸散的速度以尖部最快，左部和右部其次，基部最慢，我們好奇不同部位蒸散速度的差異是否和氣孔的密度和分布有關呢？

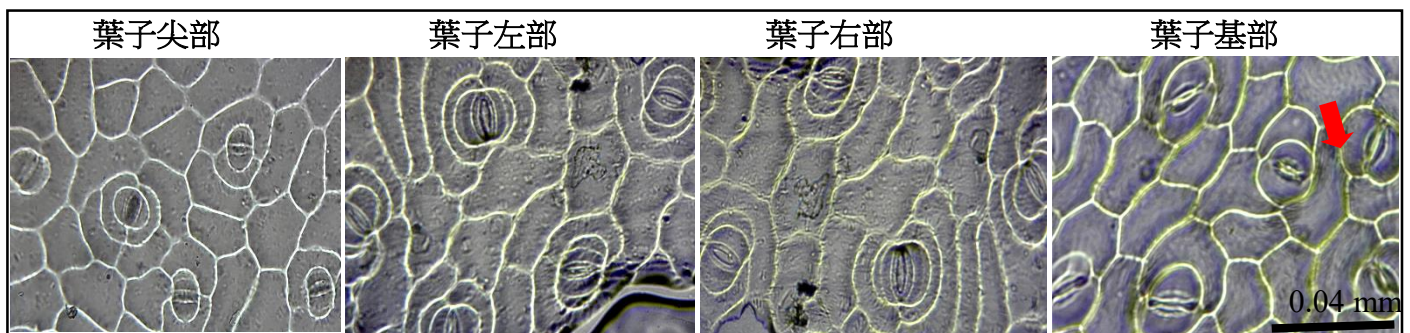


(*表示 $p < .05$ ，與基部比較)

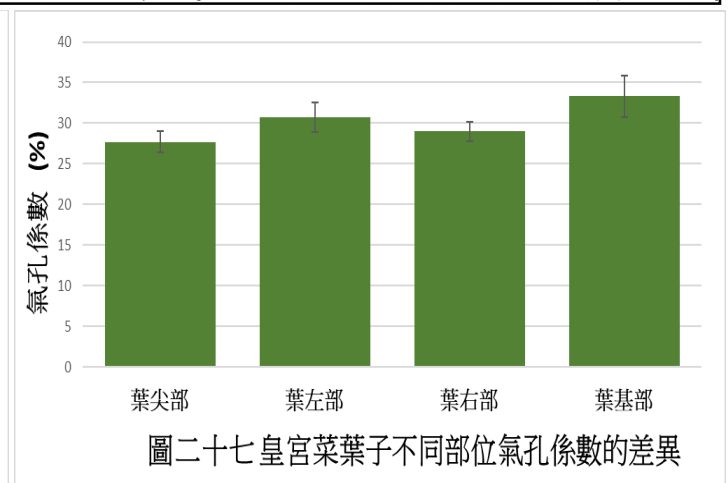
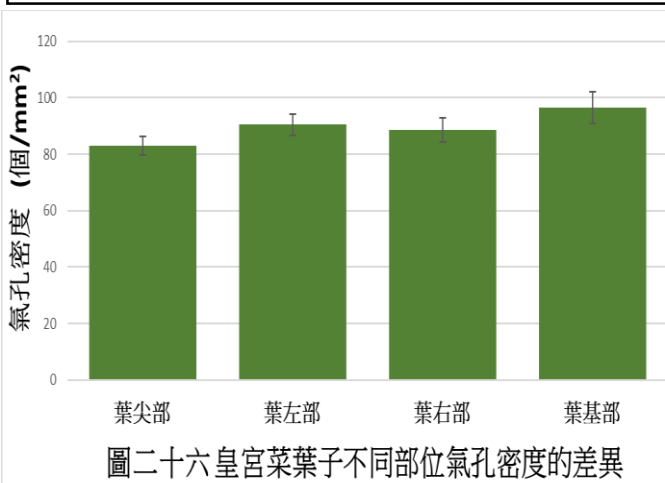


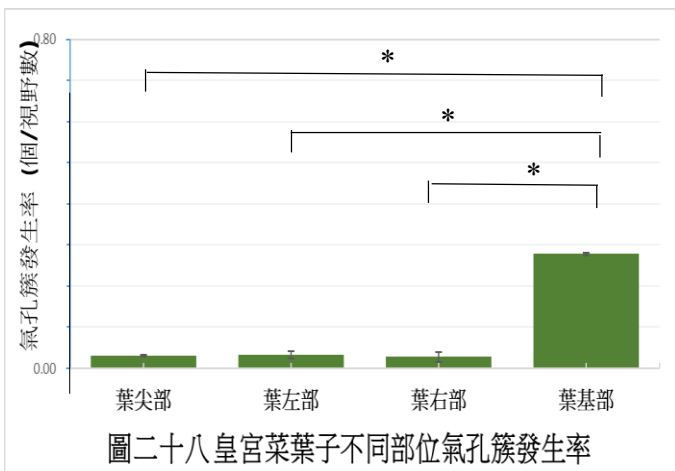
圖二十四、以氯化亞鈷試紙測試皇宮菜葉面不同部位蒸散所需時間的差異。

(二)顯微觀察皇宮菜的葉面下表皮不同部位的氣孔分布



圖二十五、顯微觀察皇宮菜葉面下表皮不同部位的氣孔分布。(紅色箭頭為非接觸型氣孔簇形成之處)





(*表示 $p < .05$ ，與基部比較)

我們以指甲油印模法來瞭解葉面下表皮的尖部、左部、右部和基部的氣孔分佈，顯微觀察氣孔密度的結果：尖部 = 右部 < 左部 < 基部，但統計上無顯著差異 ($p = 0.076$)。除此之外，葉片基部位置的氣孔係數和其他部位亦無顯著差 ($p = 0.055$)，唯基部的氣孔分布較緊密排列，氣孔簇發生率較其他部位高 ($p = 0.000$)，且基部的蒸散速度也較其他部位慢，此「氣孔簇」現象是否和皇宮菜蒸散作用具有相關性，是我們要進一步探討。

四、觀察皇宮菜下表皮在不同乾旱條件下氣孔分布和蒸散作用的關係

(一) 皇宮菜在不同程度缺水條件下的生長情況：

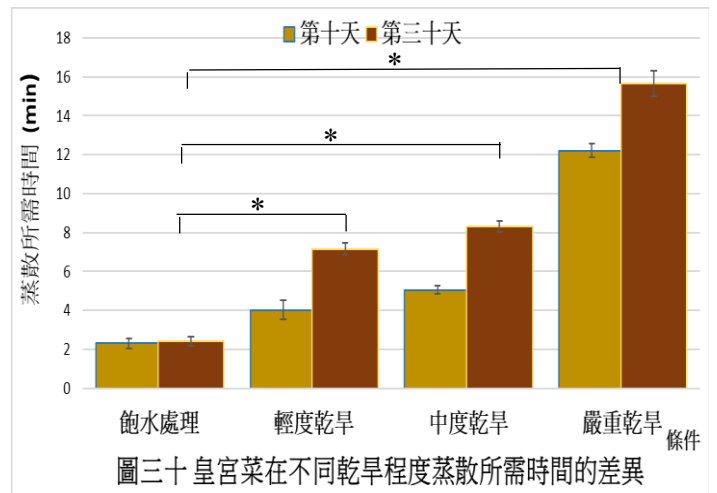


圖二十九、皇宮菜在不同缺水程度條件下連續四週的乾旱試驗。

進一步我們要以皇宮菜在不同程度乾旱環境下進行試驗，比較生長差異和蒸散速度不同之間是否有所關聯。首先，我們觀察皇宮菜在輕度乾旱，甚至是中度乾旱組別，在試驗四週後，皇宮菜的葉片皆保持綠色，但中度乾旱中的植株生長趨緩，植株高度生長量相較飽水處理組減少60%，在嚴重乾旱組的皇宮菜葉子邊緣因為缺水出現皺縮，以及老葉在第三週開始黃化，四週後老葉枯萎掉落。而皇宮菜在不同耐旱程度的缺水條件下，是否會影響蒸散作用和氣孔密度的分布呢？

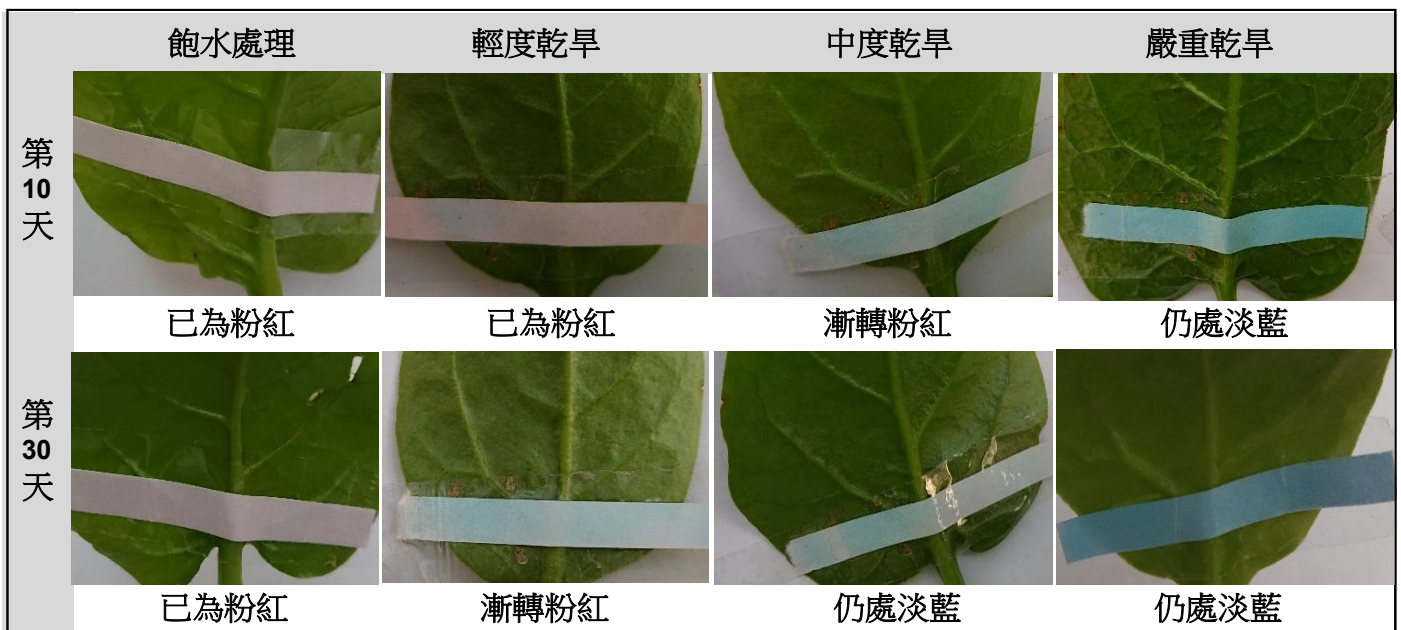
(二)皇宮菜在不同程度缺水逆境下的蒸散速度差異：

在不同缺水程度中，原本飽水處理的皇宮菜下表皮基部位置的蒸散所需時間約只有 2分鐘，但在乾旱環境中，氯化亞鈷試紙變色所需時間拉長，表示蒸散速度減慢，尤其嚴重乾旱組的皇宮菜蒸散速度最慢，氯化亞鈷試紙完全變粉紅所需的時間是飽水處理組的九倍以上。綜合以上實驗結果，我們得知皇宮菜在不同程度缺水環境中，蒸散的速度有所差異，進一步我們要觀察皇宮菜的蒸散量是否也有所變化，是否和蒸散速度有著密切關係？



圖三十 皇宮菜在不同乾旱程度蒸散所需時間的差異

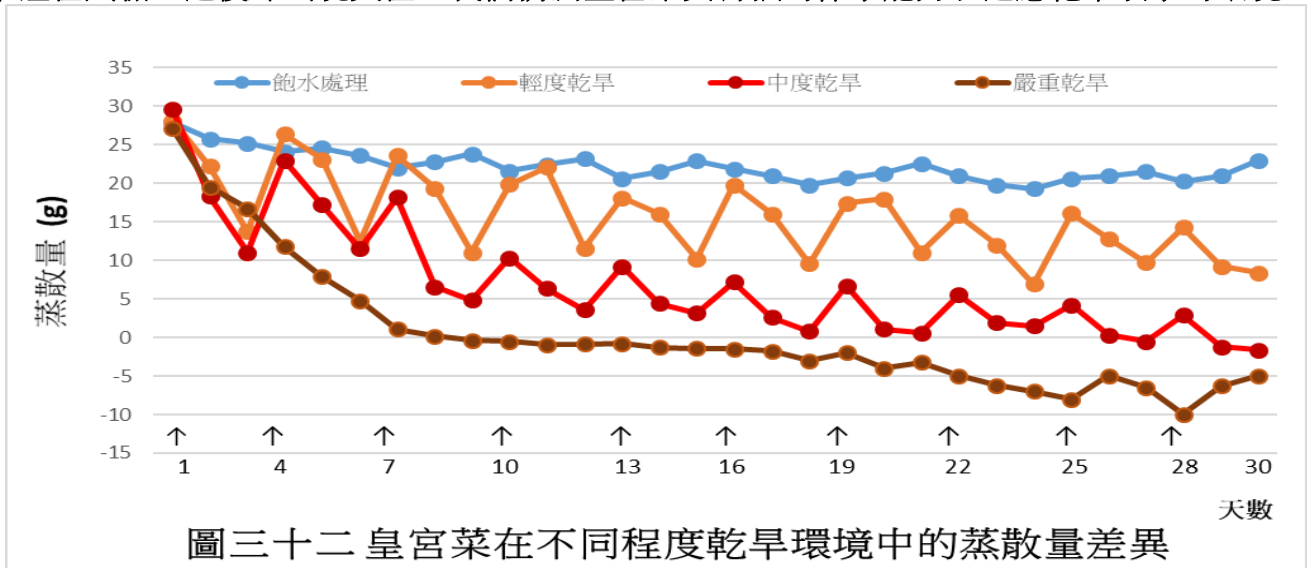
(*表示 $p < .05$ ，與復水前比較)



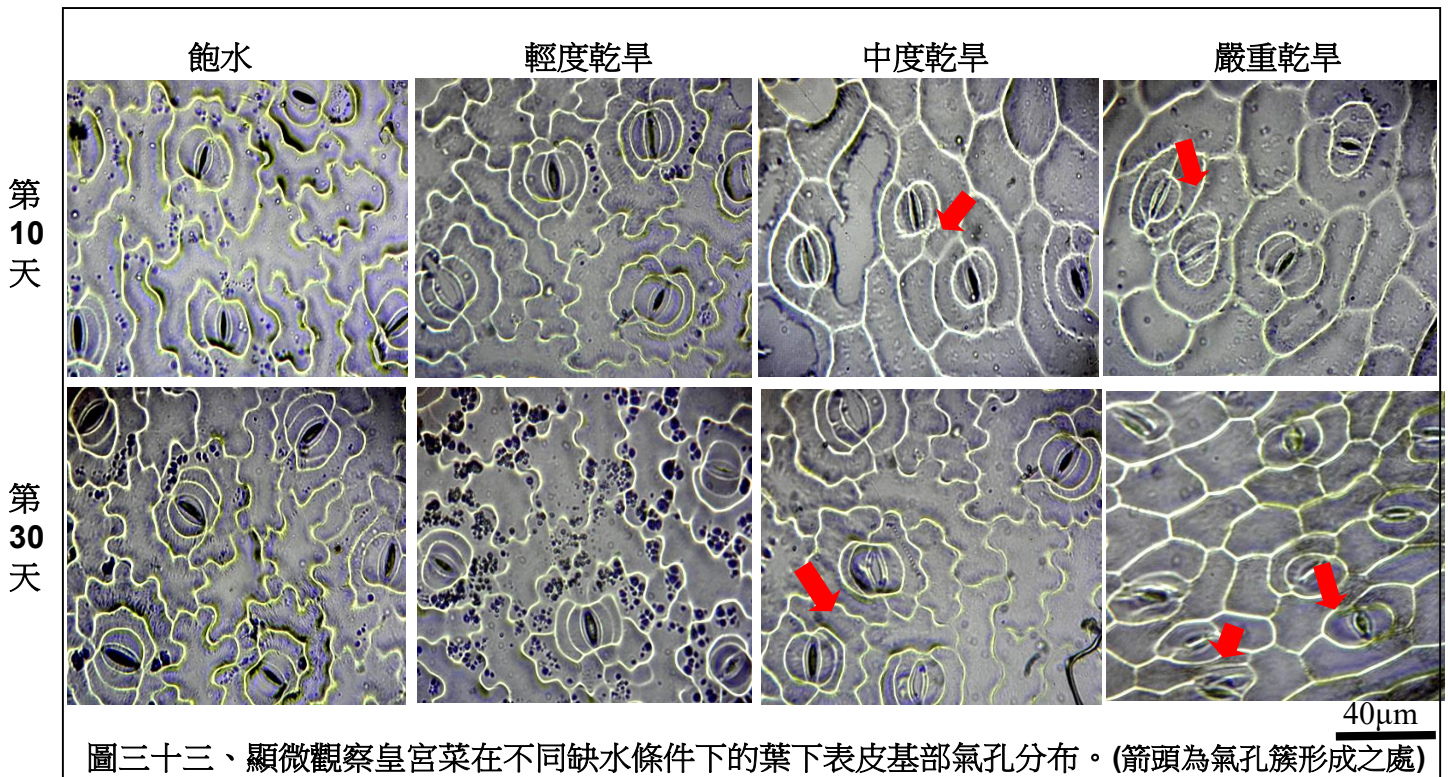
圖三十一、以氯化亞鈷試紙測試皇宮菜在不同缺水條件下的蒸散過程，測試5分鐘氯化亞鈷試紙的情形。

(三) 皇宮菜在不同程度乾旱逆境下的蒸散量變化：

皇宮菜在每天提供20 ml飽水處理下，氣孔的蒸散量大約在20~25 公克，但乾旱處理後，氣孔的蒸散量開始出現變化，輕度乾旱以每隔72小時提供60 ml水(圖中箭頭所指處為加水處理)，我們發現在加水後皇宮菜的蒸散量維持在飽水處理狀態，但在加水前的乾旱階段中，氣孔的蒸散量明顯降低，在中度乾旱(每隔72小時只提供20 ml水)的處理更是明顯，而且長時間處理下，蒸散量有下滑的趨勢，在第四週後蒸散量出現負值，表示皇宮菜植株內開始保水，尤其嚴重乾旱組在試驗一週後即出現負值，我們猜測皇宮菜具有強的保水能力以適應乾旱缺水的環境。

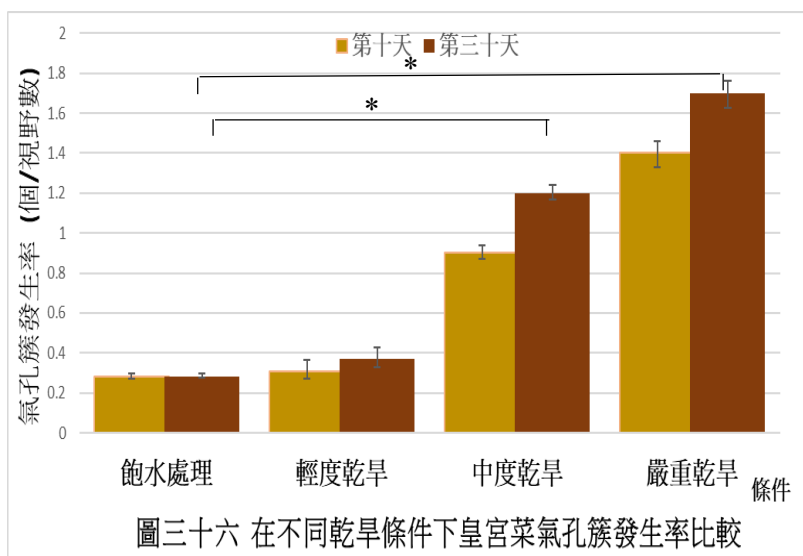
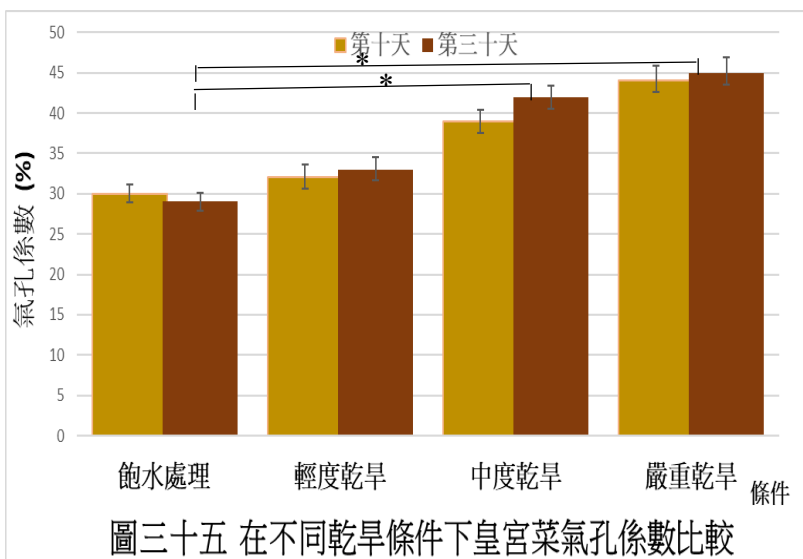
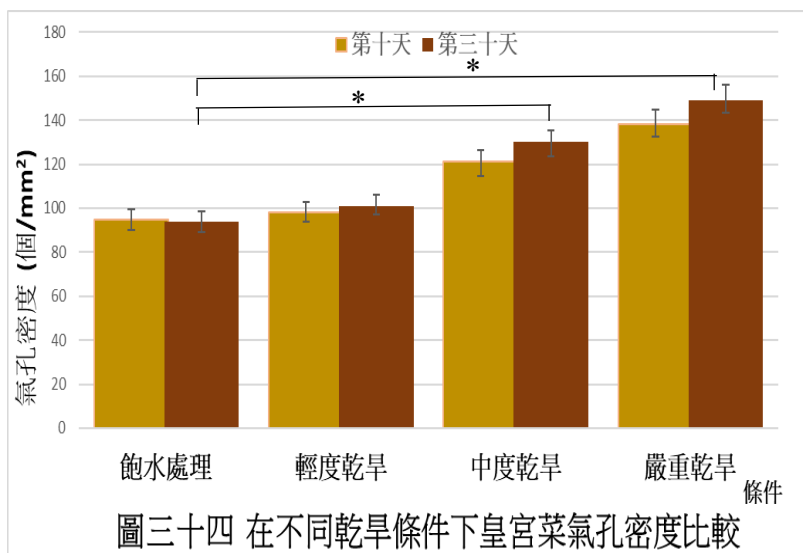


(四) 顯微觀察皇宮菜在不同缺水條件下的葉面氣孔分布的變化



我們發現皇宮菜在不同缺水程度下，氣孔密度隨乾旱程度有明顯上升趨勢，其中以中度乾旱組(20 ml/3day)和嚴重乾旱組(完全不澆水)的增加幅度最明顯，嚴重乾旱組的氣孔密度比飽水處理組(20 ml/day)增加了53%。在顯微觀察氣孔的分布，發現氣孔簇發生頻率隨乾旱程度不同和乾旱天數而有不同幅度的增加，輕度乾旱和飽水組相似，中度乾旱其次，嚴重乾旱組的氣孔簇增加幅度最大，相較飽水組增加五倍以上。

綜合以上實驗結果，皇宮菜隨著乾旱梯度和天數增加，氣孔密度與氣孔簇發生率隨之提高，同時蒸散速度和蒸散量明顯減少。我們推測皇宮菜在缺水逆境中，藉由氣孔密度的增加和形成氣孔簇，產生耐旱的生理適應。



(*表示 p < .05, 與飽水處理比較)

五、觀察皇宮菜下表皮在乾旱後復水處理的氣孔分布和蒸散作用的關係

(一)皇宮菜在復水後的生長情況：

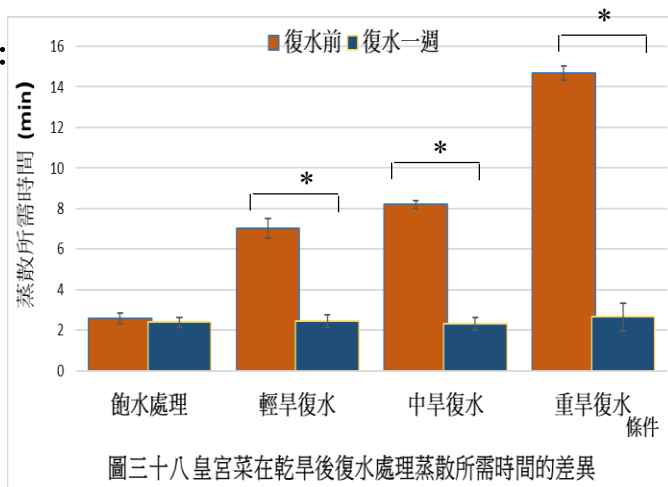


圖三十七、皇宮菜在乾旱後復水處理的生長狀況。

皇宮菜在經歷乾旱之後以復水處理，我們發現皇宮菜的葉子轉為鮮綠，而且葉內細胞的膨壓增大，在乾旱中的皇宮菜葉子，原本邊緣因為缺水而皺縮，在復水之後葉邊緣因為膨壓增加而變得圓滑，嚴重乾旱的皇宮菜老葉黃化枯萎即凋落，但皺縮的葉子復水後，葉柄挺直使的葉子不再下垂，然而，皇宮菜的蒸散作用和氣孔密度的分布是否會因為復水處理改變呢？

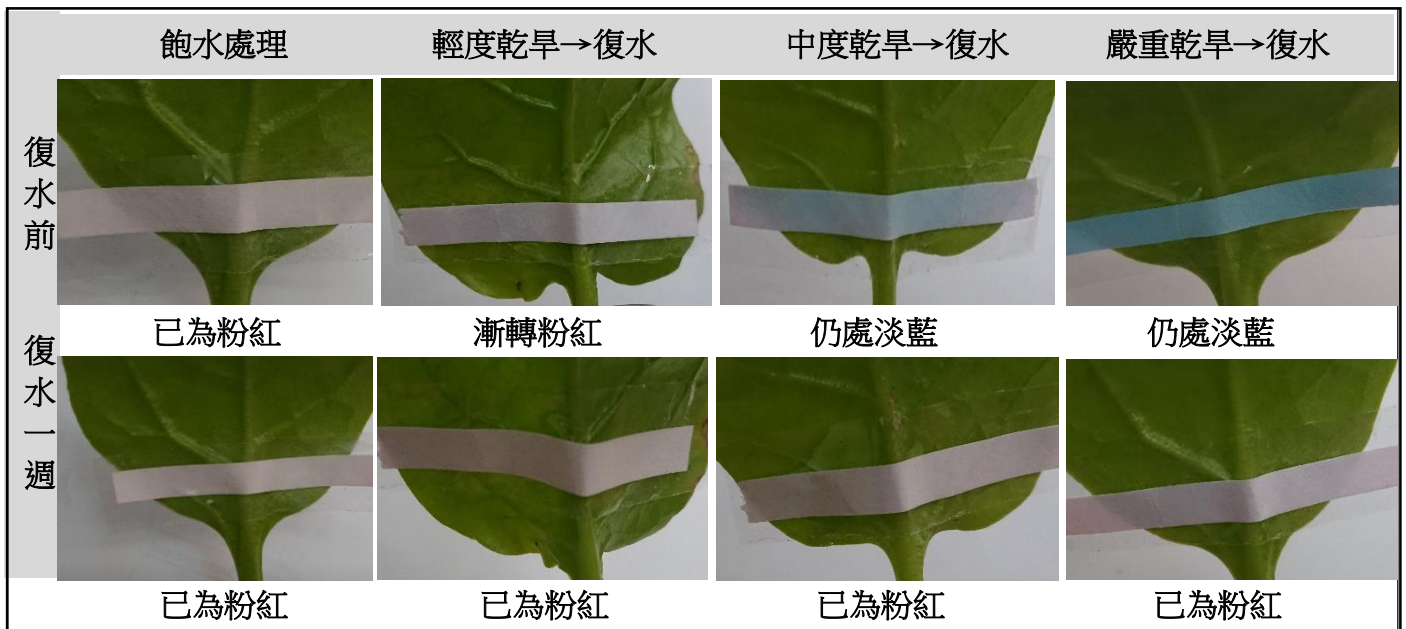
(二)皇宮菜在乾旱後復水處理的蒸散速度差異：

原本皇宮菜在缺水環境中，氯化亞鈷試紙變色所需時間拉長，嚴重乾旱下的蒸散速度極慢，但復水處理後，氯化亞鈷試紙完全變粉紅所需的時間縮短，蒸散速度和飽水處理組別相似，進一步我們要觀察皇宮菜的蒸散量是否因為復水處理後也有所改變？



圖三十八 皇宮菜在乾旱後復水處理蒸散所需時間的差異

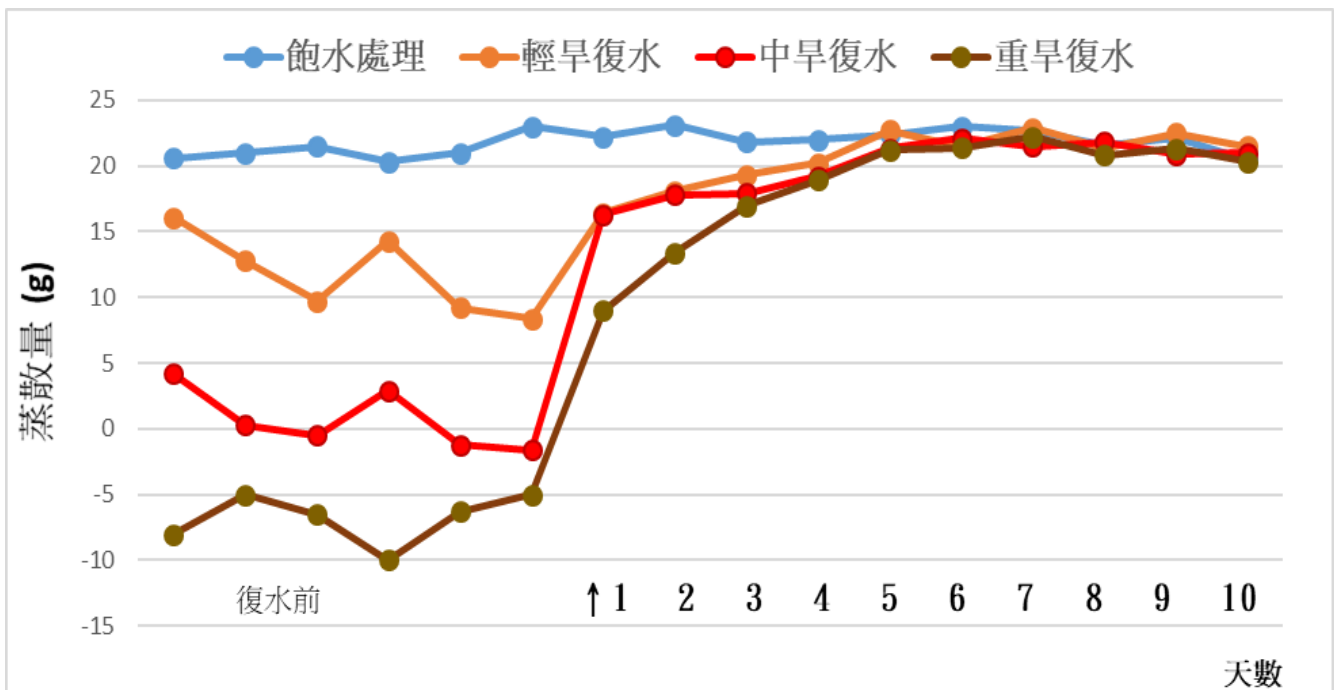
(*表示 $p < .05$ ，與復水前比較)



圖三十九、以氯化亞鈷試紙測試皇宮菜在乾旱後復水處理的蒸散過程，測試5分鐘的變色情形。

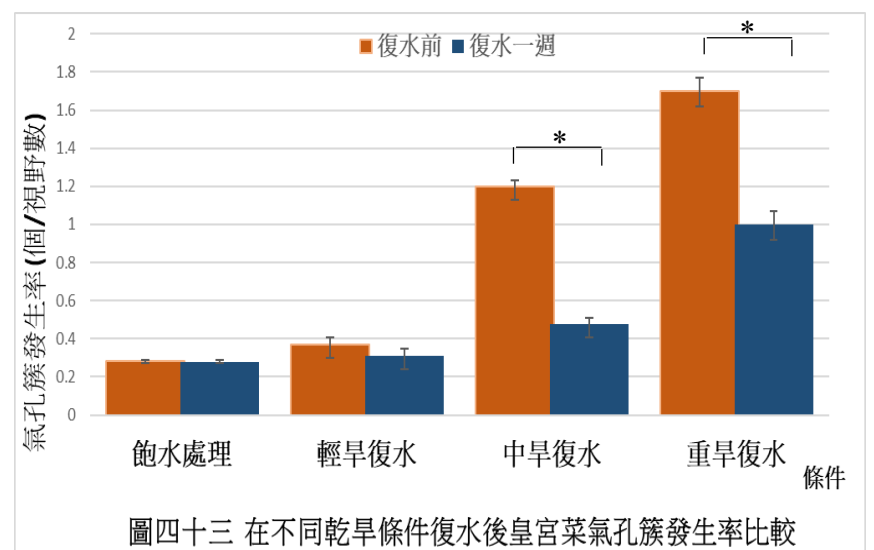
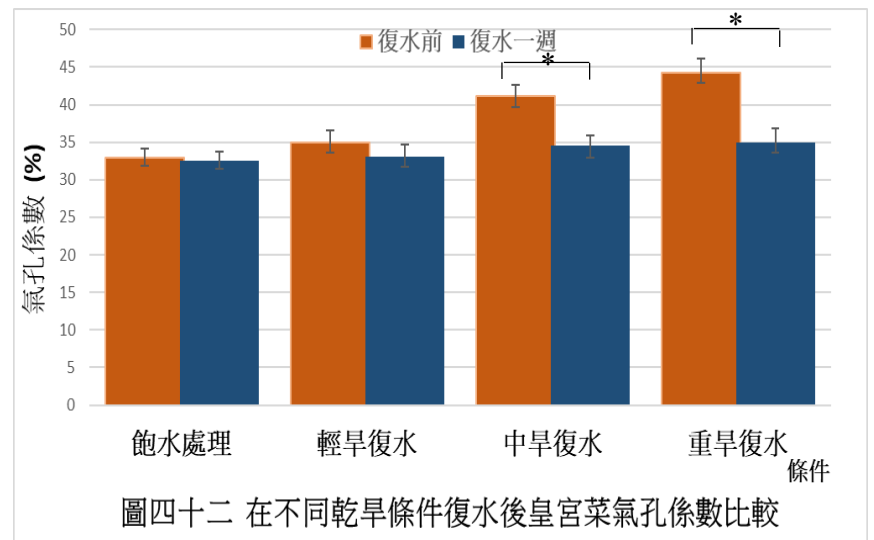
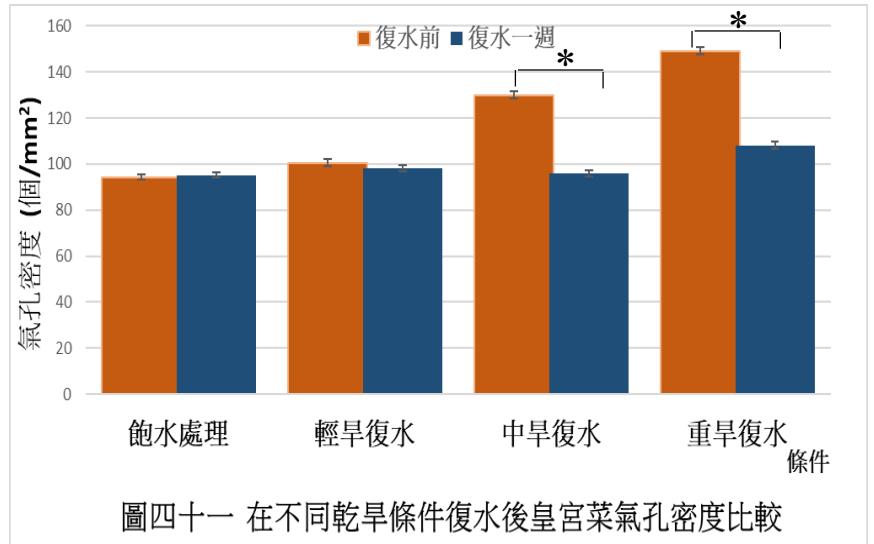
(三)皇宮菜在不同程度乾旱逆境下的蒸散量變化：

皇宮菜在嚴重乾旱的蒸散量出現負值，在復水處理之後(圖中箭頭所指處為開始加水處理)，每天提供20 ml飽水處理下，不論之前以輕度乾旱、中度乾旱或嚴重乾旱處理，氣孔的蒸散量回復到和飽水處理組相似，各組間沒有顯著的差異，在恆溫26 °C處理下氣孔的蒸散量大約在20~25公克。



圖四十 皇宮菜在乾旱環境復水後的蒸散量差異

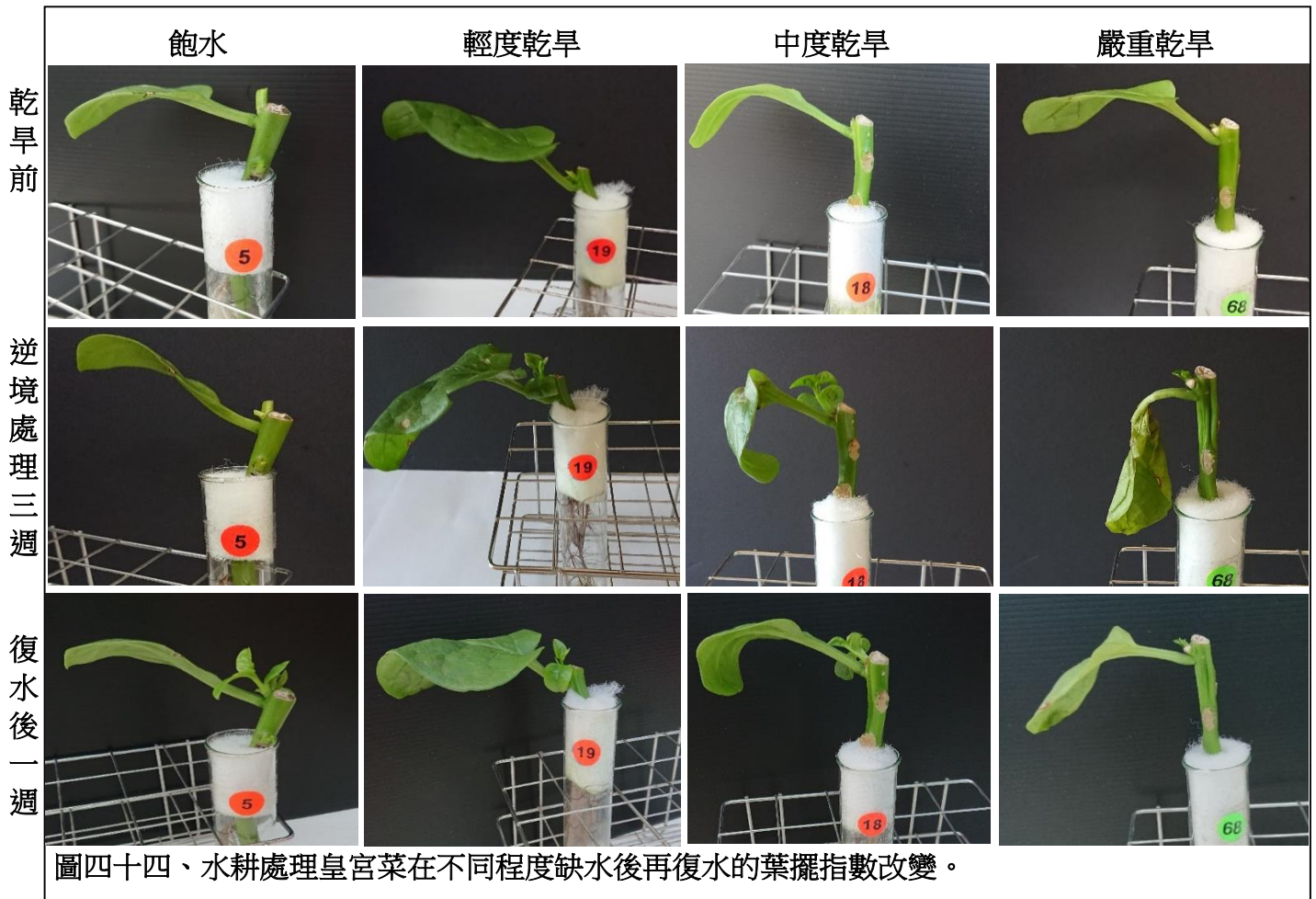
皇宮菜在缺水逆境三十天後開始恢復正常水分供應，發現各組間的氣孔密度下降，嚴重乾旱組減少**27%**，氣孔係數也回復至和飽水處理組相似。原本氣孔簇發生率因乾旱增加，也隨著逆境解除，氣孔簇的數目也有顯著降低。綜合以上結果，當水分逆境解除後，氣孔密度、氣孔係數和氣孔發生率都會隨之減少，而且蒸散量、蒸散速度也同步增加。我們也進一步推測皇宮菜葉表面的氣孔簇形成，和皇宮菜的耐旱適應有極度的相關性。



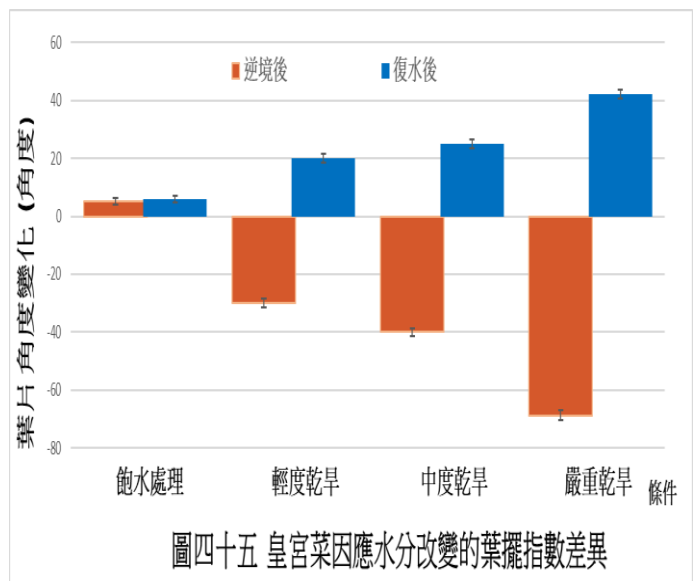
(*表示 $p < .05$ ，與復水前比較)

六、皇宮菜面臨乾旱逆境的葉擺變化和解剖構造的改變

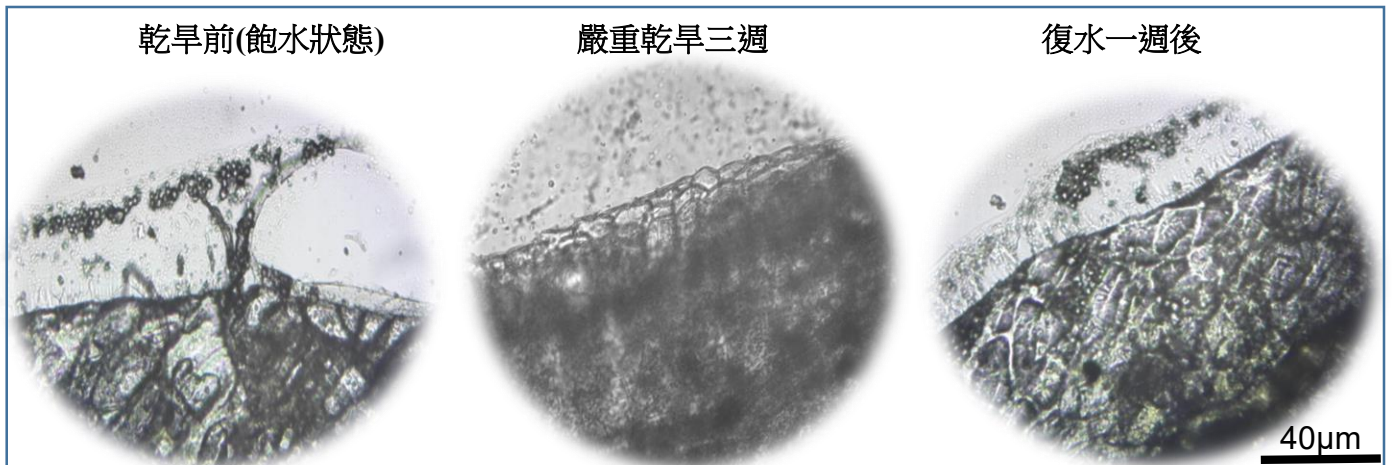
(一)皇宮菜因應環境水分的改變的葉擺指數變化



皇宮菜在乾旱逆境中，因為失去水分，葉子會自然下垂，但復水後又會挺直回來，我們可以從葉子的角度變化來評估葉子軟化程度和膨壓的大小，藉此量化皇宮菜葉片的缺水程度。為準確控制各組缺水條件，每株只留單一葉片，來比較不同組別間，葉子失水的角度變化和復水後的角度變化。實驗結果發現葉片隨乾旱程度，葉子下垂角度明顯，尤其嚴重乾旱組高達90度以上，甚至完全下擺，我們的實驗也證實葉片復水後因為膨壓增加可以重新挺起，一週後的下垂角度至少回復一半。



(二) 皇宮菜因應環境水分的改變的葉解剖構造變化



圖四十六、皇宮菜在因應水分的改變的葉部解剖構造差異。

皇宮菜為因應環境水分的變化，透過葉片氣孔密度和分布的改變以提高節水效率，和保持氣孔的微開使氣體進出達到光合作用的維持，同時我們也好奇葉片內部的解剖構造是否也會對應不同乾旱強度也出現相應的策略呢？我們徒手縱切皇宮菜葉片，在顯微觀察中發現，和飽水處理組別相比，乾旱處理的皇宮菜角質層厚度和對照組相比較，無顯著差異；但是我們發現飽水狀態的皇宮菜葉表皮外有個「泡狀構造」，我們推測這個「泡狀構造」可能和皇宮菜儲水功能有關，但仍需進一步研究，以確認皇宮菜在飽水狀態下是否透過「泡狀構造」達到保水的功效，此外，在解剖過程中，我們也發現皇宮菜葉及莖內部存在明顯的黏液狀汁液，值得注意的是同為落葵科的川七植物和其他科屬的多肉植物一樣也具有黏液，然而這些植物體的內部成分物質和皇宮菜的「泡狀構造」是否和保水功能相關，使皇宮菜在乾旱環境下相較其他作物能在短時間內因應水分的變化，表現了較強的適應性，這是值得進一步深入研究。

陸、討論

一、探討不同作物對缺水環境的耐旱適應能力：

近年來全球氣候變遷，臺灣因降雨與氣溫之影響，土壤水分變化逐漸極端化。水分為作物生長的主要環境因子，土壤水分狀況直接影響作物生長、開花及結實，而水分之可利用性也為世界農業生產主要的環境限制因子之一。本實驗企圖探討土壤水分對作物生理與生長發育的影響，來了解作物在土壤水分逆境下之可能的適應模式，作為未來因應氣候變遷耕作土壤水分管理之參考。我們以地瓜葉 (*Ipomoea batatas*)、空心菜 (*Ipomoea aquatica*)、皇宮菜 (*Basella alba*)、紅鳳菜 (*Gynura bicolor*)、莧菜 (*Amaranthus tricolor*) 和紫蘇 (*Perilla frutescens*) 夏令作物為實驗對象進行耐旱試驗，採用盆栽試驗與稱重控水法，實驗結果顯示不同作物在缺水環境中生長差異，表現不同程度的耐旱表現，其中紫蘇最早枯黃，紅鳳菜和皇宮菜在完全缺水兩週仍能存活。作物在土壤缺水下，會產生許多生理及形態上的調適，以抵抗乾旱逆境，例如在早期乾旱環境中會造成單葉的面積減小，或是成熟葉脫落與根系生長量增加，最後氣孔關閉，來減少水分消耗(蕭元彰,2012)。因此我們探討這6種夏令作物對乾旱的相應變化，以了解陸生作物對乾旱環境重要的適應策略。

作物在停止供應水分的狀態下，植物體葉片可能枯黃、凋萎，葉片是植物進行光合作用和蒸散作用主要器官，其形態結構和生理機制會直接影響到植物乾旱下的水分利用與調整策略，對植物的生長非常重要(王勇 等, 2014)，由這六種作物的蒸散速度實驗中發現，在乾旱中作物的蒸散所需時間拉長，換句話說缺水條件下的蒸散速度相較飽水狀態變慢，尤其以皇宮菜和空心菜最明顯，乾旱過程中的水分總蒸散量又以皇宮菜最大，其次是空心菜，而且氣孔面積小、氣孔密度高的皇宮菜在乾旱初期蒸散量最大，在後期階段的蒸散量甚至為負值，表示皇宮菜能將水分保留在植株內，保水性佳，我們發現這六種作物中以皇宮菜相應乾旱環境的調整速度快，和耐旱適應力強。

二、探討皇宮菜對缺水逆境的應變和適應：

在乾旱的脅迫下，皇宮菜可以對外界短時間水分變化做出快速的調整反應。有文獻指出作物隨著水分供給量的多寡，藉由開關葉片氣孔達到控制進出葉片氣體與水分的量，另一種則是對外界環境變化長期適應的結果，包括氣孔長度、氣孔密度的改變是對水分缺乏長期適應的機制之一。氣孔是植物控制水分和進行氣體交換的通道，而氣孔調節是植物抵禦乾旱和適應環境的機制之一，且氣孔的分佈特徵、密度和面積等會受環境水分狀況而有變化(夏振華 等, 2018)。研究文獻指出氣孔密度隨著環境中水分和溼度減少而增加，但氣孔面積則趨向小型化發展，氣孔多下陷形成氣孔窩(Maria Papanatsiou, et.al.,2017)，同時我們的實驗結果也發現皇宮菜在生長過程會受到環境因子而影響氣孔的數量和分布，極度乾旱條件下，氣孔密度明顯增加，氣孔係數也有提高趨勢。

然而有其他的文獻報導指出，氣孔密度並不隨乾旱程度的加劇而一直升高，而是先升高後下降，這有利於乾旱下的節水，且乾旱對葉面積擴展的限制，使葉面積朝小型化發展、導致氣孔密

度增加，所以氣孔係數常作為氣孔分化強度的指標 (王勇,2014)。李永華研究指出乾旱逆境對葉片組織解剖結構產生影響，隨著水分的減少，植物柵欄組織厚度增加，海綿組織厚度相應減少，葉片厚度增大等(李永華,2012)。我們觀察皇宮菜葉片型態解剖構造，發現皇宮菜在飽水狀態下表皮組織外出現「泡狀構造」，此「泡狀構造」是否具有儲水功能，使的能在缺水逆境中快速而有效率調解水分以適應乾旱有關，仍待進一步研究證實。

三、氣孔簇對陸生植物在乾旱逆境中的適應策略：

耐旱性強的皇宮菜下表皮蒸散的速度以尖部最快，基部最慢，但基部位置的氣孔密度和其他部位並無顯著差異，唯基部的氣孔分布較緊密排列，我們發現基部位置有氣孔簇的形成，推斷氣孔簇的形成是為了減少水分在輸送時的耗損，以維持葉片末端水分補給效率。另外隨著乾旱程度，氣孔簇數目頻率的增加，可以抑制水分蒸散，協助植物度過乾旱逆境。甘毅等研究報導也指出乾旱脅迫會明顯增加了蠶豆葉片的氣孔密度和氣孔指數，而且接觸型氣孔簇的出現頻率也明顯增加 (Yi Gan, et.al.2010)。皇宮菜在水分逆境解除之後，氣孔簇發生的頻率會下降，文獻報導也指出秋海棠在復水之後，其氣孔密度、係數和氣孔簇發生率皆下降回正常生理的趨勢(邱相齡,2013)，推測氣孔簇的特徵是可逆的，需要時氣孔簇數目會增加，不需要時會減少。這些結果暗示著氣孔簇的出現與外界環境信號有關，它們可以作為陸生植物感受和適應環境的新標誌。

研究報導指出，目前 60 多種陸生植物觀察到有氣孔簇的現象，我們的實驗結果也發現當乾旱逆境達到一定程度後，氣孔密度在整個葉上的分佈即出現嚴重紊亂，而「氣孔簇」是一種由二到多個氣孔組成的非正常氣孔排布格局，而且「接觸型的氣孔簇」可能會損傷保衛細胞(Yi Gan, et.al.2010)，但是當作物因應環境變化，感受水分的脅迫時，皇宮菜會以「非接觸型氣孔簇」形成來使氣孔微開，能有效地防止水分丟失，同時維持基礎的光合作用效能，從而維持植株的生長的基本需求以適應乾旱環境。

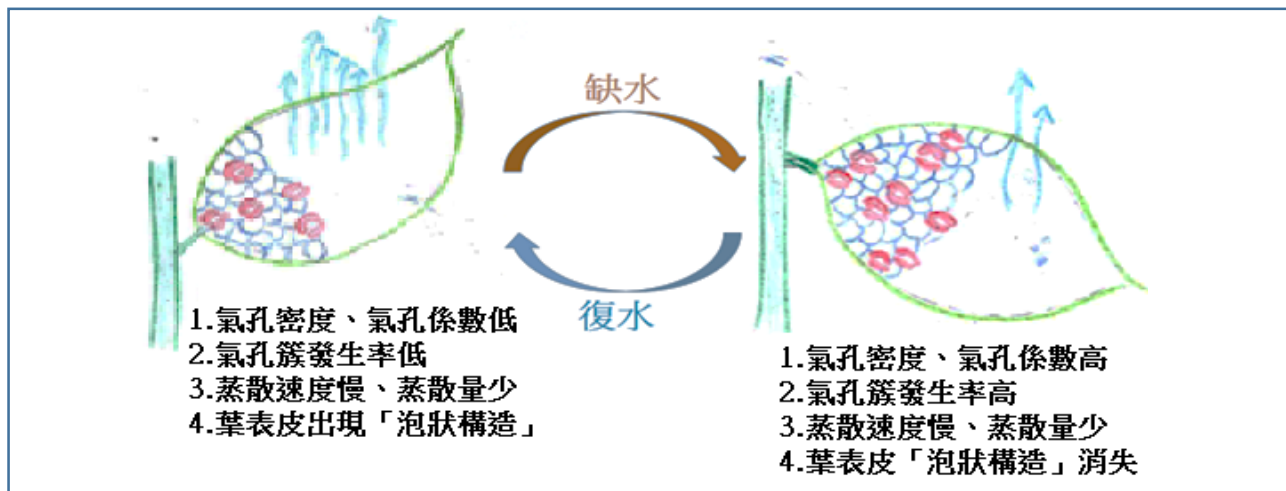
四、未來展望

我們發現皇宮菜因應環境水分變化，產生形態和生理上改變的生存適應機制。生理方面，皇宮菜藉由調整氣孔密度及氣孔簇發生率，改變於缺水逆境下的蒸散速度；形態方面，其葉片解剖構造發現表皮外有疑似的「泡狀構造」，和存在葉及莖內部的黏液狀汁液，這些是否和保水功能相關呢，有報導指出這黏液汁液為水溶性膳食纖維，富含果膠及黏液質等成分，同為落葵科的川七同樣具有黏液成分，然而，這些植物體內部的成分是否也有助於缺水逆境下的保水，兩者在演化上是否具有類似的生理適應機制，這是值得進一步深入研究與比較。

土壤水分的變化因全球氣候變遷而逐漸極端化，對作物之生長與生理有立即性與持續性的雙重作用，作物可能藉由形態與生理的改變，例如提高根系自土壤吸收水分的效率與減少樹冠水分蒸散量，或可利用滲透調節維持植物體水量與基本生理活力，或可降低生長量以減少水分需求，來適應不同程度之乾旱逆境，另外葉片組織解剖上也可能因為乾旱而出現不同程度的葉片增厚、柵欄組織厚度、葉片緊實度、葉綠體分布和角質層厚度增加等，我們期待未來進一步可以針對在乾旱條件下，根系的發育和葉片解剖構造等，試探討土壤水分對作物生理與生長發育之影響，以了解作物於土壤水分逆境下之可能生長模式，作為未來因應氣候變遷耕作土壤水管理之參考。

柒、結論

1. 皇宮菜相較其他夏令作物，在飽水狀態有強吸水力和蒸散作用，能對外界水分變化快速調整生理、形態的改變，以適應極度乾旱逆境。
2. 皇宮菜隨乾旱程度，氣孔密度、氣孔係數有增加趨勢，尤其以中度和嚴重乾旱最明顯，進一步發現有氣孔簇的形成。
3. 氣孔簇的出現可能與外界環境水分的變化有關，當皇宮菜適應乾旱後會形成氣孔簇，以減少水分的蒸散，當水分逆境解除後，氣孔簇發生的頻率會下降，恢復至正常生理的趨勢。
4. 皇宮菜的葉片解剖構造中，發現表皮外有個「泡狀構造」和葉內有黏液物質存在，我們推測「泡狀構造」和黏液的存在可能和儲存水分有關，需進一步深入研究確認。
5. 皇宮菜透過生理、形態的變化以因應外界環境水分的改變，來保持基礎的光合作用效能又可以有效地防止水分散失，我們希望透過這個實驗作為因應氣候變遷，應用於農作物土壤水分管理之節水參考可能性。



捌、參考文獻

1. 邱相齡、童美慈、房達文、劉水德、房樹生 (2013)。秋海棠(*Begonia coccinea*)在逆境生長條件下氣孔簇數量的變化關係，科學教育月刊.365：38-53.
2. 蕭元彰、李國譚 (2012)。土壤水分逆境對果樹生理之影響，台灣園藝(J. Taiwan Soc. Hort. Sci).58(3)：185-197.
3. 王勇、梁宗鎖、鞏春梅、韓蕊蓮、于晴 (2014)。乾旱脅迫對黃土高原四種蒿屬植物葉形態解剖學特徵的影響，生態學報 34(16)：4535-4548.
4. 楊洋、馬三梅、王永飛 (2011)。植物氣孔的類型、分布特點和發育，生命科學研究 15(6)：550-555.
5. Gan Y., Zhou, L., Shen, Z.-J., Shen, Z.-X., Zhang, Y.-Q., and Wang G.-X., (2010)。 **Stomatal clustering, a new marker for environmental perception and adaptation in terrestrial plants.** Botanical Studies,51: 325-336.
6. Papanatsiou, M., Amtmann A., and Blatt, M. R., (2017)。 **Stomatal clustering in *Begonia* associates with the kinetics of leaf gaseous exchange and influences water use efficiency.**Journal of Experimental Botany, 68(9)：2309-2315.

【評語】 080310

本實驗研究夏令作物反應乾旱逆境的生長狀況，並選擇皇宮菜進行深入研究，探討其對氣孔密度及係數對水分變化如何做出調整反應。

1. 觀測不同植物葉片氣孔簇在回應缺水現象時的變化。以常用蔬菜為研究題材，回應在生活中所看到的現象，提供科學測量後的觀點。
2. 觀察記錄十分詳盡，實驗設計的控制變因及變因清楚完整，實驗的方向與目前氣候變遷下如何發展農作物對抗乾旱環境的適應策略高度相關。
3. 對於植物氣孔簇的出現和外界環境信號的相關研究甚為罕見，該團隊可以此進行研究，主題創新且具有應用性。
4. 多種簡易工具探討植物耐旱機制，結果充分討論部分分析合理。

摘要

本實驗研究不同的夏令作物反應乾旱逆境的生長狀況，其中發現皇宮菜可以對水分變化做出快速的調整反應，隨不同缺水程度氣孔密度明顯增加，氣孔係數也有提高趨勢，而且嚴重乾旱下氣孔簇發生率增加，減少水分蒸散，在葉片解剖顯微觀察也發現「泡狀構造」，可能與保水相關。當水分逆境解除之後，氣孔簇發生的頻率會下降，回正常生理的趨勢，氣孔簇的出現可能與外界環境信號有關。皇宮菜透過生理、形態的變化以因應外界環境水分的改變，來維持光合效能又有效地防止水分丟失以適應環境，此研究探討土壤水分對作物生理與生長發育之影響，作為因應氣候變遷應用於農作物土壤水分管理之節水參考可能性。

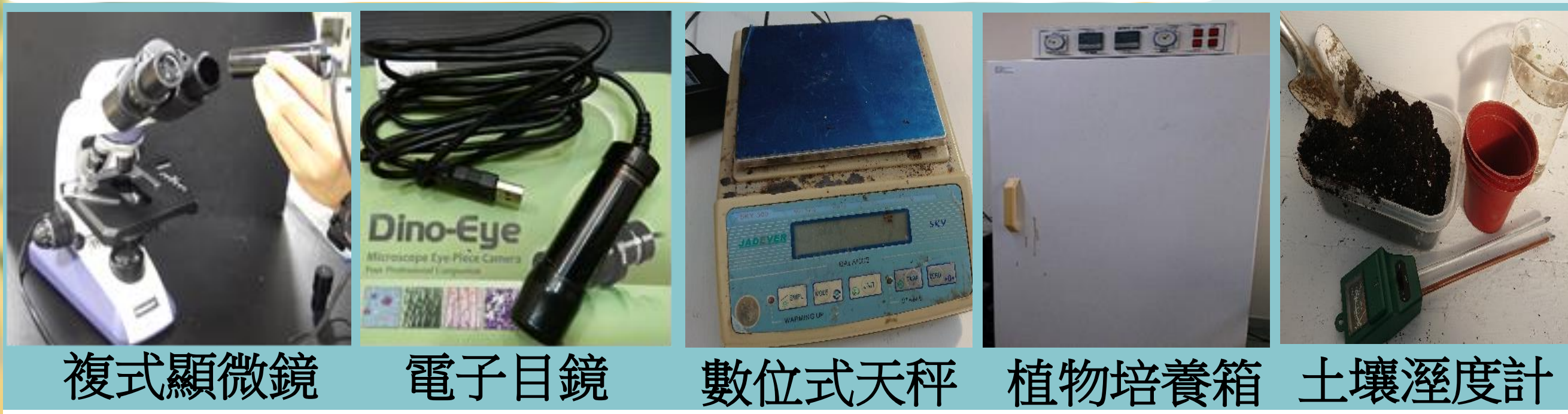
壹、研究動機

近年來由於極端氣候，加上台灣地狹人稠，可利用淡水資源不足，常面臨農業缺水問題，而種植耐旱作物對於乾旱的忍受能力較一般農作物高，且對於水資源的節用也頗有助益。最近對於植物遭遇逆境的研究特多，當植物生存與生長在不利環境下，植物會以多種不同方式來反應逆境甚至逐步適應，其中對於植物氣孔簇的出現和外界環境信號的相關研究甚為罕見，植物在乾旱逆境中所形成氣孔簇的生物意義是非常基礎的研究課題。我們企圖探討在相同時節的不同作物在缺水條件下是否改變氣孔的密度分布，其和蒸散之間的相關性，尋找出耐旱作物在缺水逆境下的新標誌，其作為作物栽植過程中節用水資源的可能參考價值。

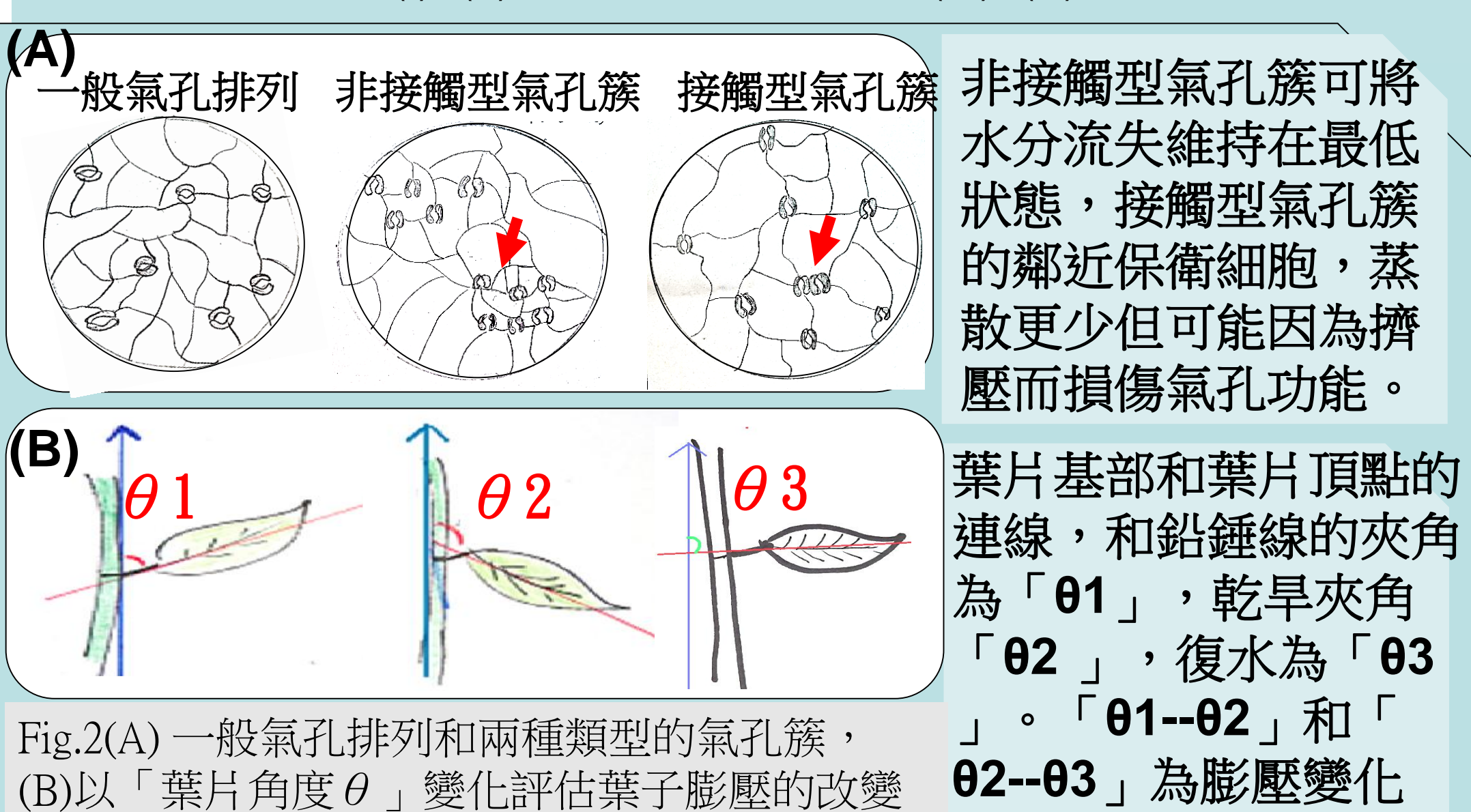
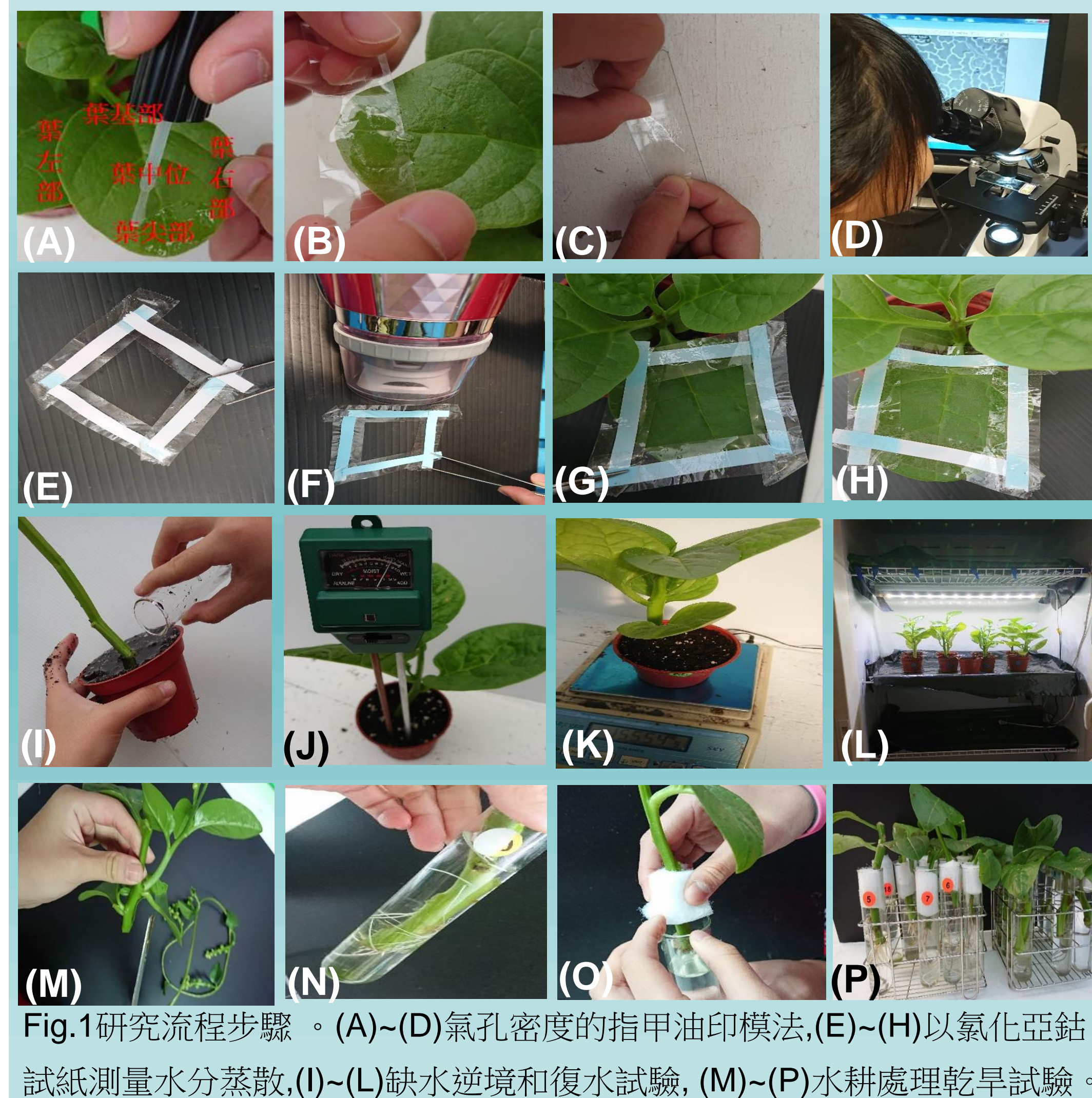
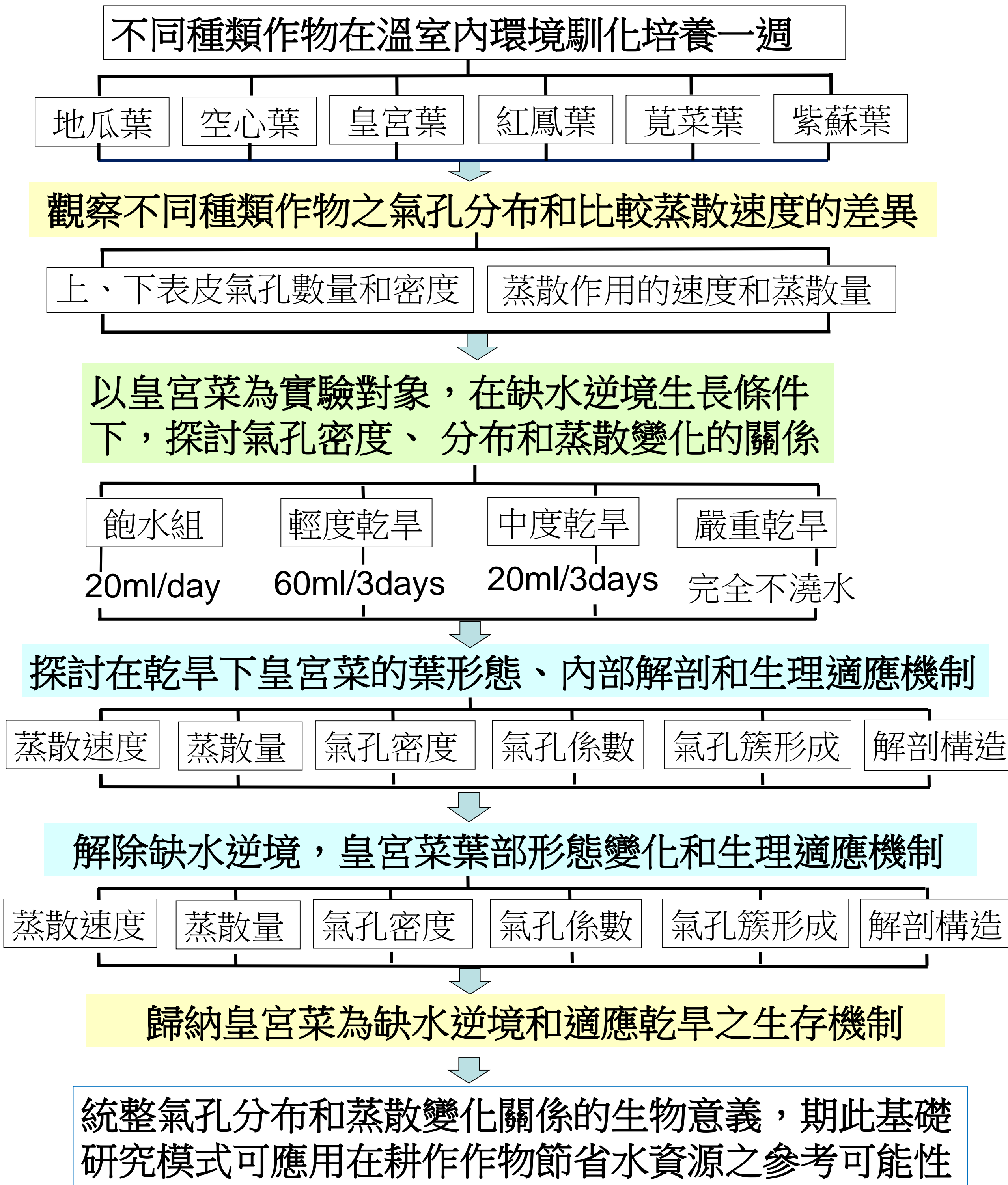
貳、研究目的

- 一、觀察不同種類作物的氣孔分布和蒸散速度的差異。
- 二、探討皇宮菜在缺水逆境生長條件中，葉部產生的形態變化和生理適應機制的改變。
- 三、探討皇宮菜在解除缺水逆境中，葉部產生的形態變化和生理適應機制的改變。
- 四、分析出氣孔分布和蒸散變化關係的生物意義，透過皇宮菜適應乾旱的生理機制研究應用在耕作節水之參考。

參、研究設備與器材



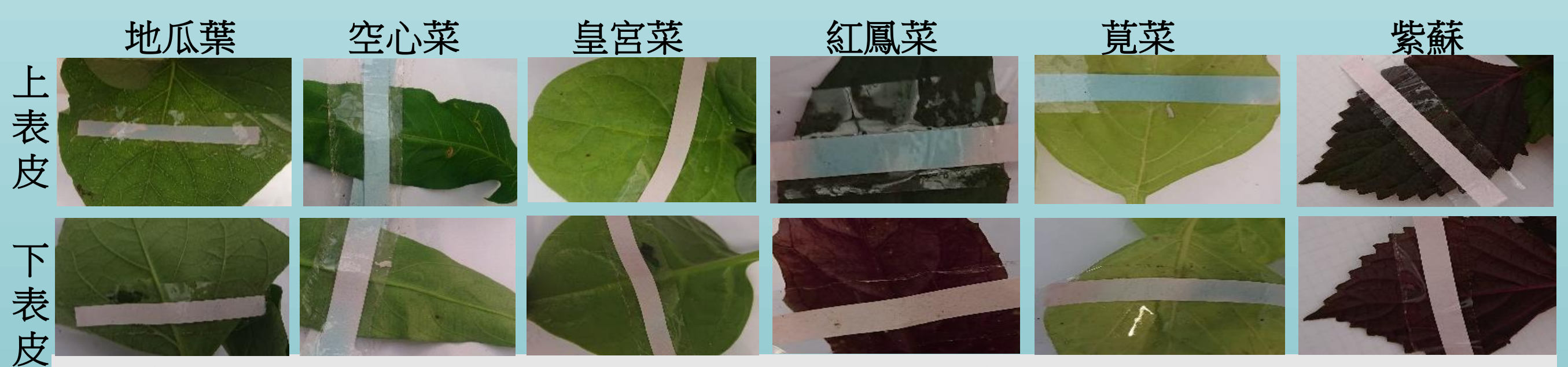
肆、研究過程與方法



伍、實驗結果

一、不同種類作物水分蒸散速度和氣孔分布之間關聯的研究

觀察在夏季盛產的作物，包括莧菜、空心菜、地瓜葉、皇宮菜，紅鳳菜和紫蘇等，這些蔬菜因為流失水分造成細胞膨壓減少使得蔬菜萎凋，然而我們發現這些蔬菜萎凋的速度皆不相同，於是我們利用氯化亞鈷試紙來測試這些夏季盛產作物的蒸散速度。



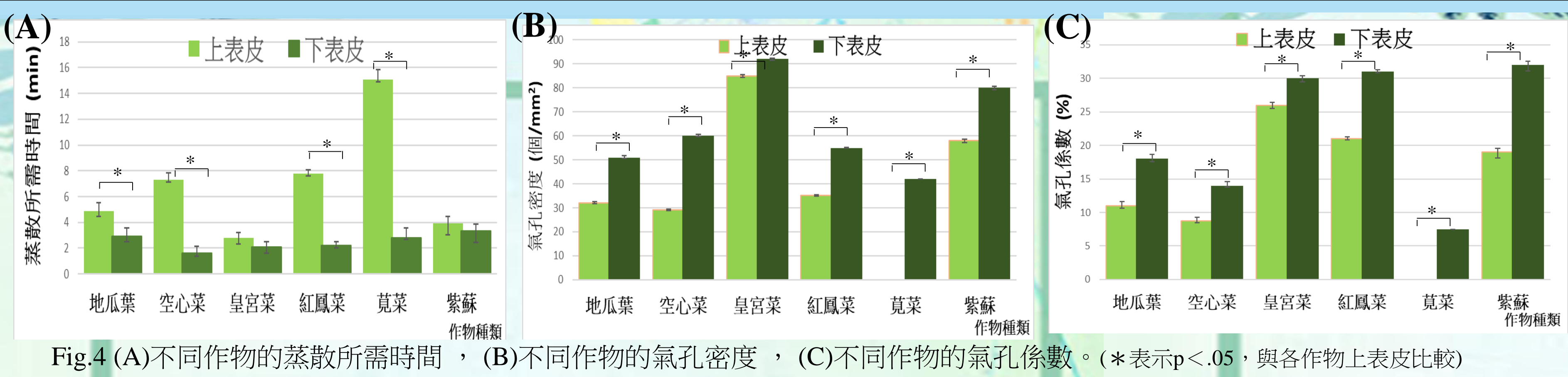


Fig.4 (A)不同作物的蒸散所需時間, (B)不同作物的氣孔密度, (C)不同作物的氣孔係數。(*表示 $p < .05$, 與各作物上表皮比較)

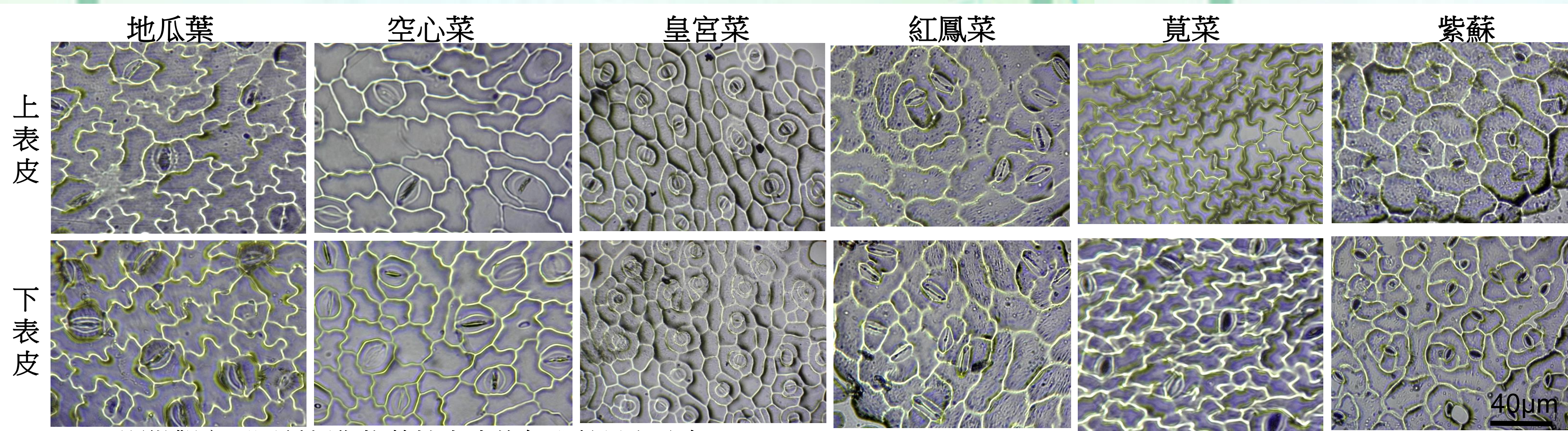


Fig.5 顯微觀察不同種類作物葉片表皮的氣孔數量和分布。

1. 上表皮蒸散所需時間結果是莧菜遠大於其他作物, 以皇宮菜所需時間最短。
2. 這些作物下表皮的蒸散時間皆明顯小於上表皮, 唯皇宮菜上、下表皮蒸散時間無顯著差異, 且速度快於其他作物。
3. 顯微觀察上、下表皮氣孔密度以皇宮菜最高, 其次是紫蘇、空心菜、地瓜葉、紅鳳菜, 莧菜的上表皮沒有氣孔分布, 而氣孔係數也以皇宮菜最高, 紅鳳菜、紫蘇其次。
4. 皇宮菜葉片的氣孔密度多, 可能會造成水分從氣孔離開的蒸散量高, 當蒸散作用強度大時, 蒸散所需的時間短。

二、不同種類作物在缺水乾旱環境中的水分蒸散和氣孔分布的變化關係



Fig.6 不同種類作物在缺水環境連續兩週的乾旱試驗。

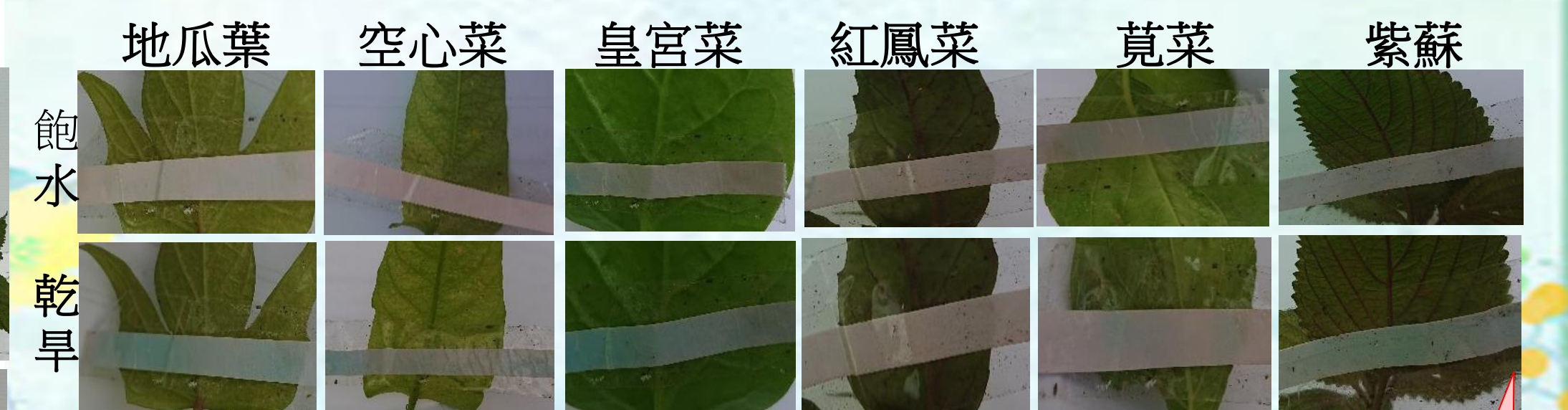


Fig.7 以氯化亞鈷試紙測試不同作物的在缺水條件下的蒸散過程, 測試5分鐘氯化亞鈷試紙的顏色變化情形。

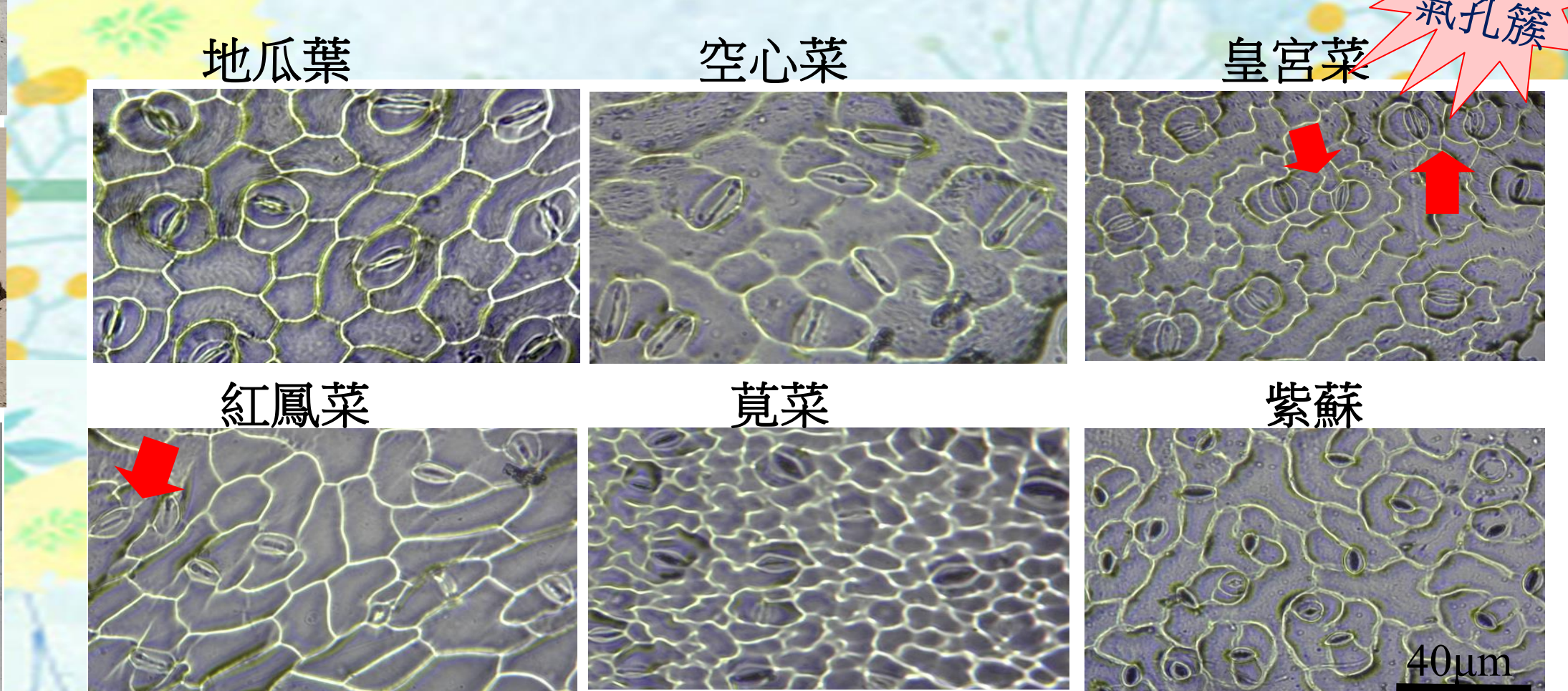


Fig.8 顯微觀察不同作物在缺水條件下的葉下表皮氣孔分布。(紅色箭頭為氣孔簇形成之處)

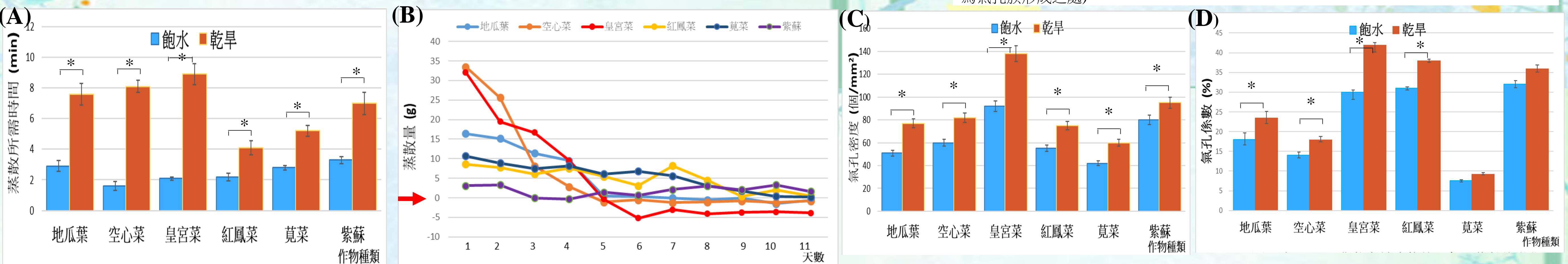


Fig.9 (A)不同作物在乾旱的蒸散所需時間, (B)不同作物在乾旱的蒸散量變化, (C)不同作物在乾旱的氣孔密度, (D)不同作物在乾旱的氣孔係數。(*表示 $p < .05$, 與各作物飽水比較)

1. 乾旱中紫蘇葉子下垂快速枯萎, 以紅鳳菜和皇宮菜的耐旱性最強。
2. 在乾旱中的蒸散速度慢, 以皇宮菜最明顯, 其次空心菜和地瓜葉。
3. 乾旱過程總蒸散量: 皇宮菜 > 空心菜 > 地瓜葉 > 莧菜 > 紅鳳菜 > 紫蘇, 皇宮菜總蒸散量最大, 集中在初期, 後期蒸散量為負值。

4. 在缺水逆境下, 氣孔密度明顯增加, 以皇宮菜最明顯, 紅鳳菜和空心菜次之, 且出現氣孔簇。
5. 皇宮菜因應外界水分變化, 快速調整氣孔分布和蒸散機制, 透過節水以適應乾旱環境, 產生耐旱表現

三、觀察皇宮菜下表皮不同部位的氣孔分布和蒸散作用的關係

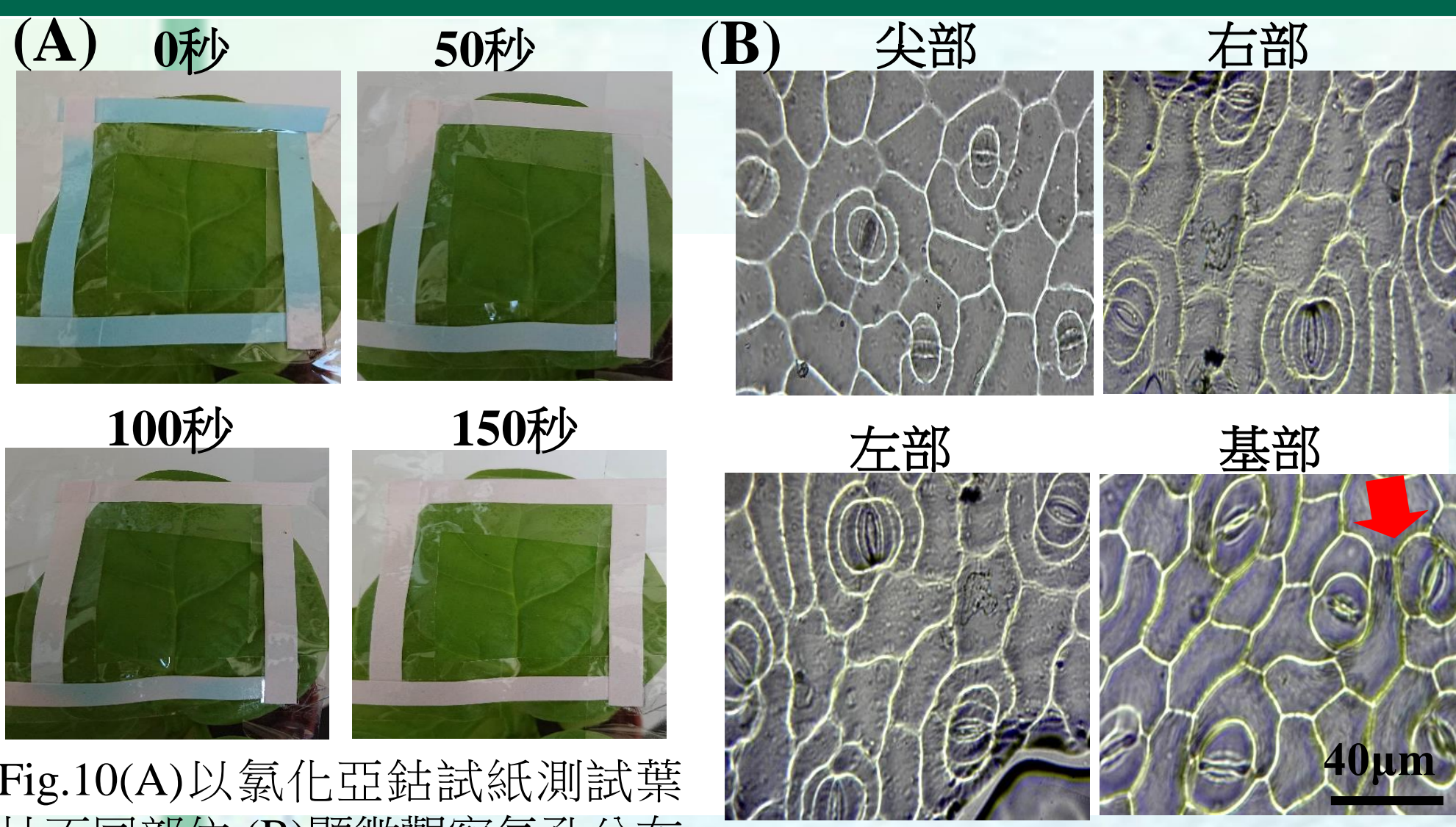


Fig.10 (A)以氯化亞鈷試紙測試葉片不同部位, (B)顯微觀察氣孔分布

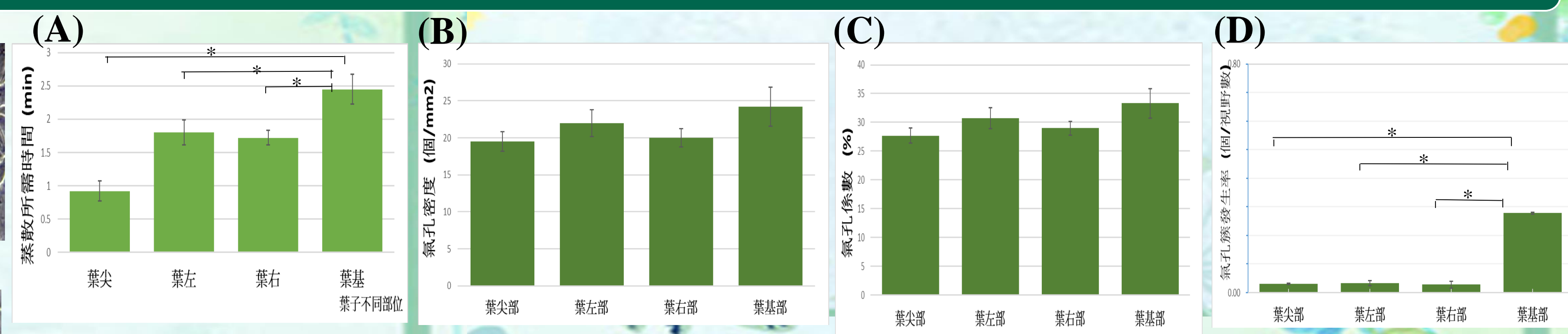


Fig.11 不同部位各項係數 (A)蒸散時間的差異, (B)氣孔密度, (C)氣孔係數, (D)氣孔簇發生率。(*表示 $p < .05$, 與葉基比較)

1. 葉片不同部位蒸散所需時間有明顯差異: 基部 > 左部 = 右部 > 尖部。
2. 顯微觀察氣孔密度: 尖部 = 右部 < 左部 < 基部, 但統計上無顯著差異($p = .076$), 唯基部的氣孔分布較緊密排列, 是否和蒸散作用具有相關性, 需要進一步探討

四、觀察皇宮菜下表皮在不同乾旱條件下氣孔分布和蒸散作用的關係

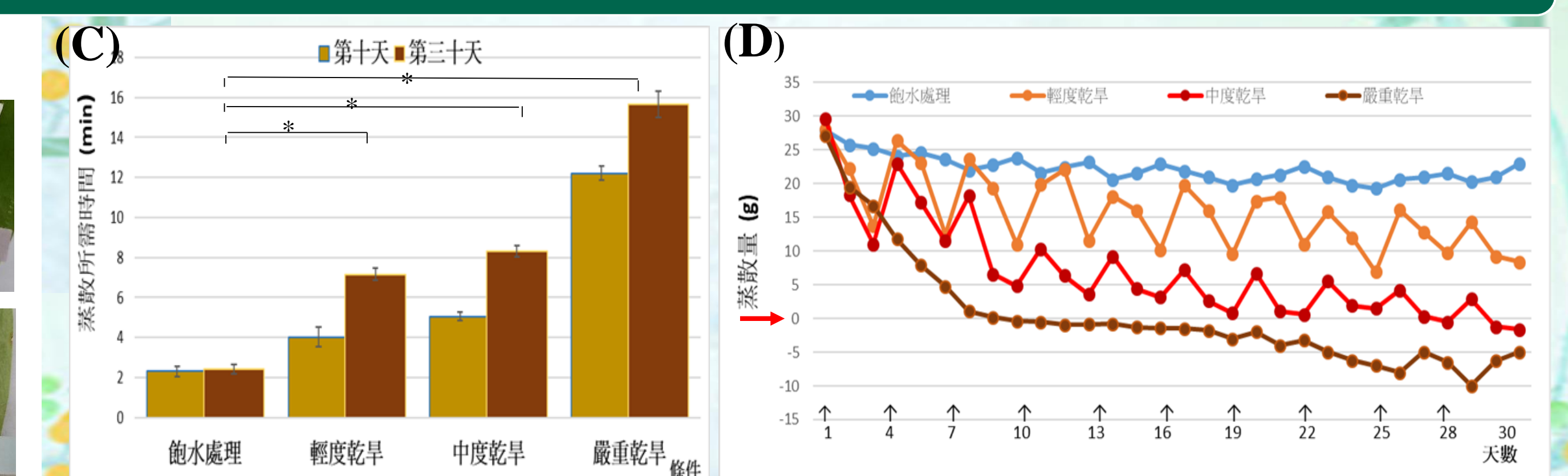


Fig.12 (A)皇宮菜在不同缺水程度條件下連續四週的乾旱試驗, (B)氯化亞鈷試紙測試在5分鐘內顏色變化, (C)在不同乾旱條件下蒸散所需時間, (D)試驗中蒸散量變化。(*表示 $p < .05$, 與飽水比較)

1. 前三週皆保持鮮綠, 四週後嚴重乾旱葉子因缺水出現皺縮
2. 嚴重乾旱組的蒸散速度最慢, 蒸散所需時間是飽水組九倍
3. 起初蒸散量極大, 隨乾旱梯度後蒸散量有下滑的趨勢, 嚴重乾旱組在試驗一週後即開始出現負值。

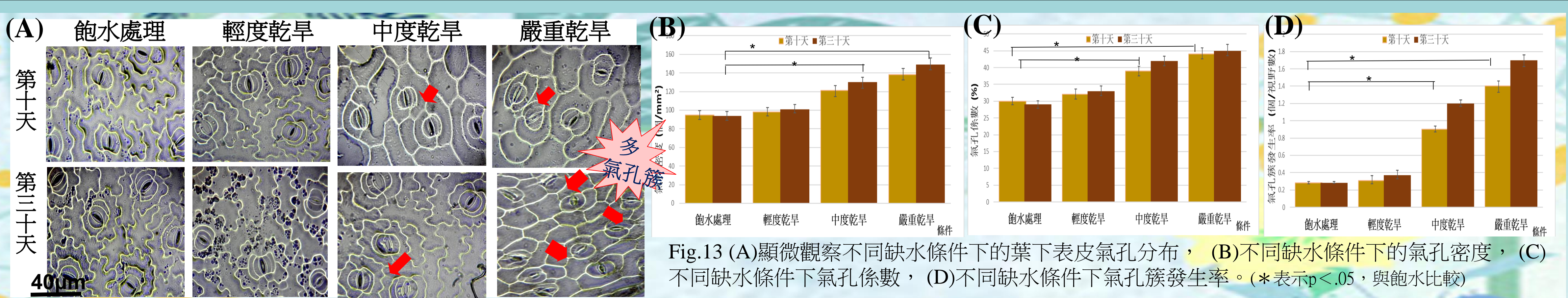


Fig.13 (A)顯微觀察不同缺水條件下的葉下表皮氣孔分布，(B)不同缺水條件下的氣孔密度，(C)不同缺水條件下氣孔係數，(D)不同缺水條件下氣孔簇發生率。(*表示 $p < .05$ ，與飽水比較)

1.隨乾旱梯度氣孔密度有明顯上升趨勢，嚴重乾旱組的氣孔密度比對照組(20ml/day)增加了66%。氣孔簇發生頻率也大幅增加，相較對照組增加五倍以上。

2.皇宮菜隨不同程度乾旱，其氣孔密度與氣孔簇增加以減少蒸散量，推測皇宮菜藉由氣孔密度的增加以促進氣孔簇的形成，產生耐旱的生理適應。

五、觀察皇宮菜下表皮在乾旱後復水處理的氣孔分布和蒸散作用的關係

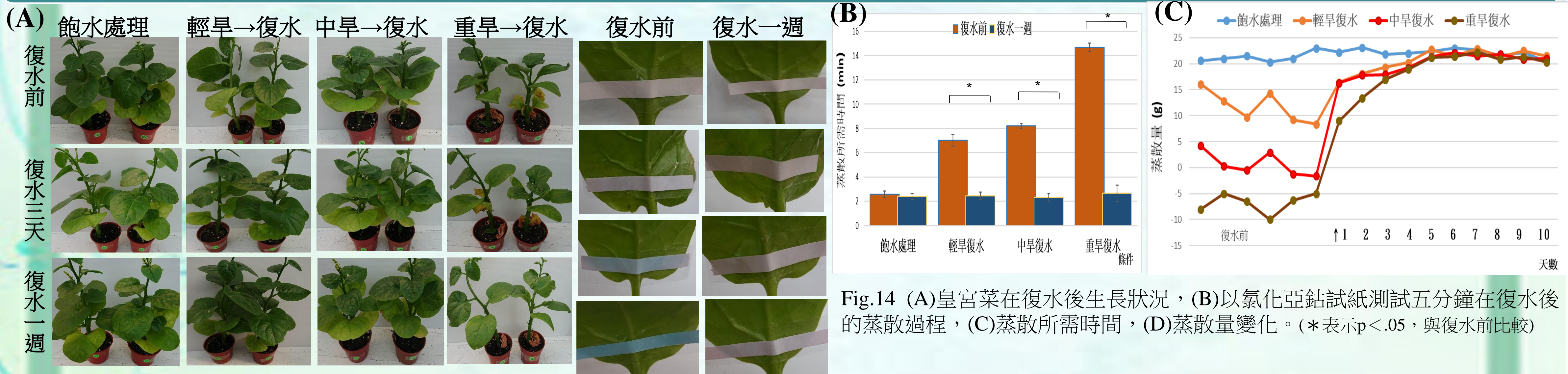


Fig.14 (A)皇宮菜在復水後生長狀況，(B)以氯化亞鈷試紙測試五分鐘在復水後的蒸散過程，(C)蒸散所需時間，(D)蒸散量變化。(*表示 $p < .05$ ，與復水前比較)

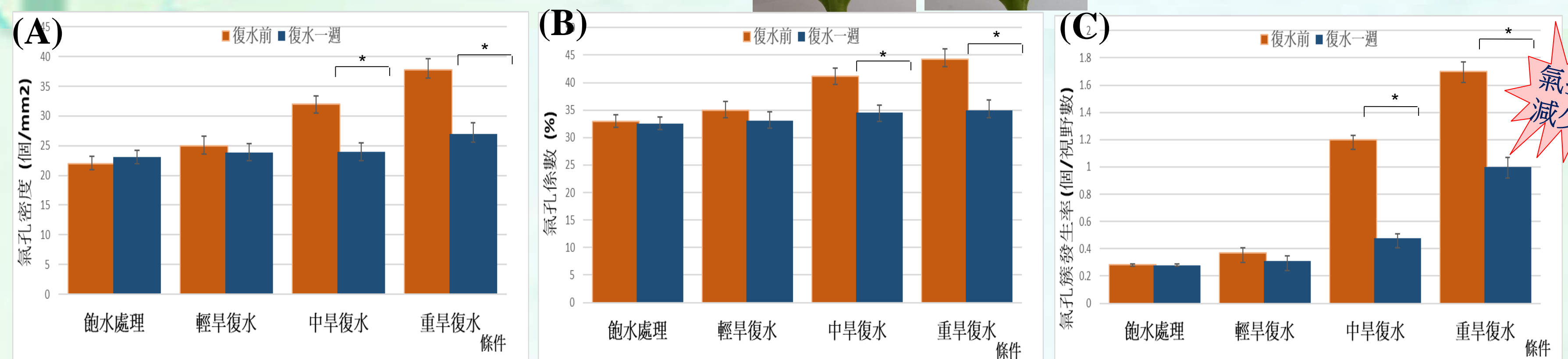


Fig.15 顯微觀察復水後的葉下表皮氣孔分布，(A)復水後下表皮氣孔密度，(B)復水後的氣孔係數，(C)復水後氣孔簇發生率 (*表示 $p < .05$ ，與復水前比較)

皇宮菜在復水後葉子轉為鮮綠，細胞的膨壓增大，葉柄挺直使的葉子不再下垂，且蒸散速度回復和對照組相似，在恆溫 26°C 下氣孔每天蒸散量大約在20~25公克

六、皇宮菜面臨乾旱逆境的葉擺變化和解剖構造的改變

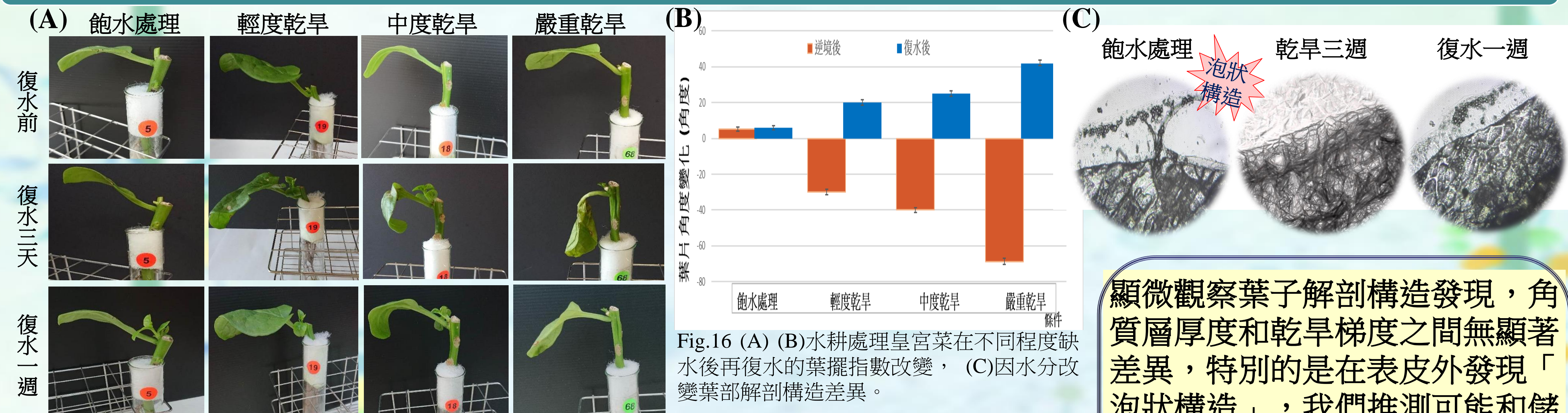


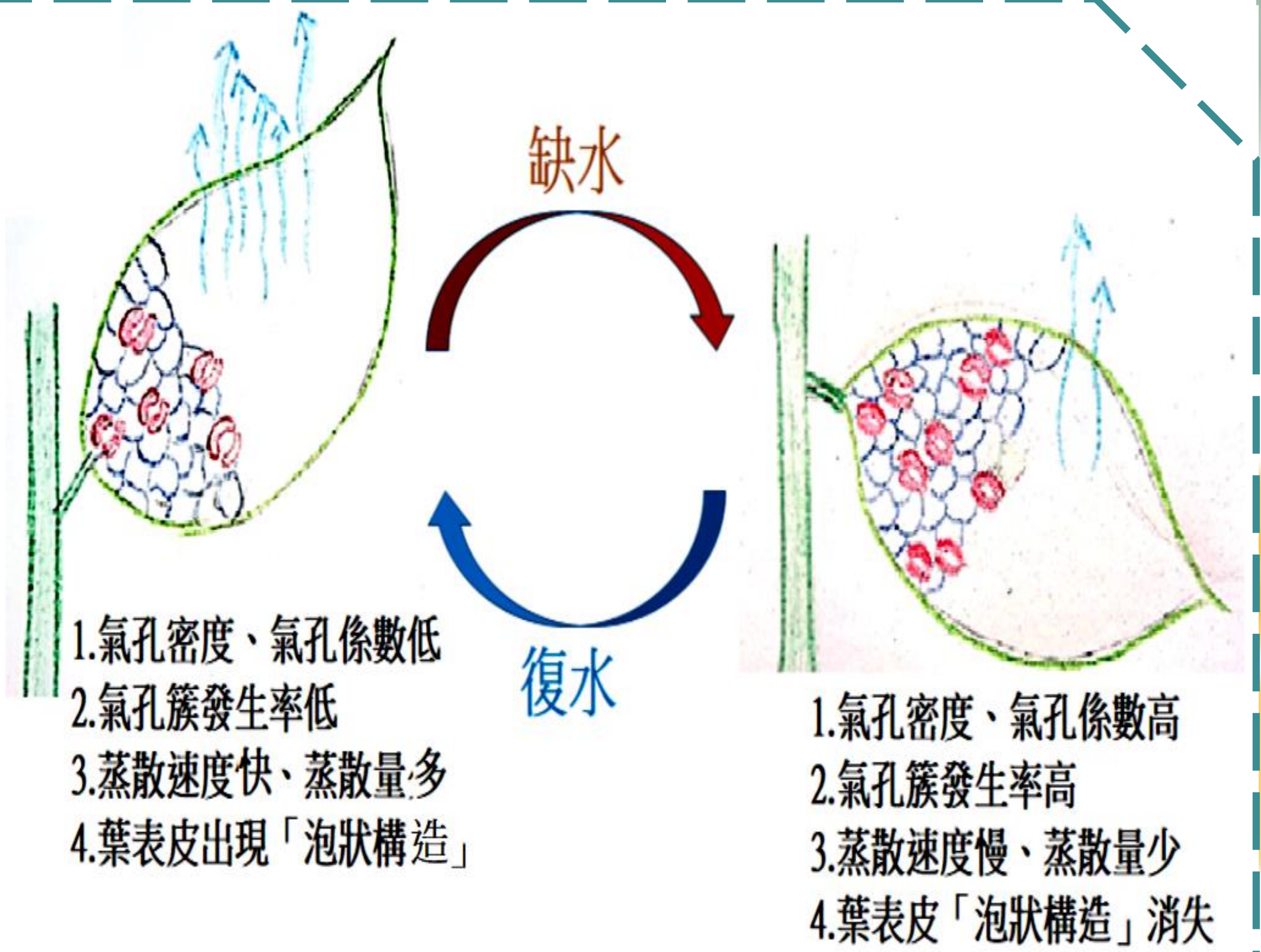
Fig.16 (A) (B)水耕處理皇宮菜在不同程度缺水後再復水的葉擺指數改變，(C)因水分改變葉部解剖構造差異。

以葉子的角度變化來評估葉子軟化程度和膨壓的大小。為準確控制各組缺水條件，只留單一葉片，失水和復水後的角度變化。隨乾旱梯度葉子下垂角度明顯，尤其嚴重乾旱組高達 90° 以上，復水後下垂角度至少回復一半

顯微觀察葉子解剖構造發現，角質層厚度和乾旱梯度之間無顯著差異，特別的是在表皮外發現「泡狀構造」，我們推測可能和儲水功能有關，且葉內有黏液狀汁液存在，其是否和皇宮菜能在短時間內因應水分變化表現耐旱適應有關，值得進一步研究討論。

陸、結論

- 1.皇宮菜較其他夏令作物，在飽水時有強蒸散力，可因應水分變化時快速調整生理、形態改變以適應乾旱的脅迫。
- 2.皇宮菜隨乾旱梯度，氣孔密度、氣孔係數有增加趨勢，尤其以中度和嚴重乾旱最明顯，進一步發現有氣孔簇形成。
- 3.氣孔簇的出現可能與外界環境水分的變化有關，當皇宮菜適應乾旱後會形成氣孔簇，以抑制水分的蒸散，當水分逆境解除後，氣孔簇發生頻率會下降，恢復至正常生理趨勢。
- 4.皇宮菜的葉片解剖構造中，發現表皮外有個「泡狀構造」和葉內有黏液物質存在，我們推測「泡狀構造」和黏液的存在可能和儲存水分有關，需進一步深入研究確認。
- 5.皇宮菜透過生理、形態變化以因應外界環境水分的改變，來保持基礎光合效能又有效防止水分散失，期此實驗作為未來因應氣候變遷應用於耕作土壤水管理之節水參考可能性



柒、參考文獻

- 1 邱相齡、童美慈、房達文、劉水德、房樹生 (2013)。秋海棠(*Begonia coccinea*)在逆境生長條件下氣孔簇數量的變化關係，科學教育月刊.365: P38-53.
- 2 蕭元彰、李國譚 (2012)。土壤水分逆境對果樹生理之影響，台灣園藝(J. Taiwan Soc. Hort. Sci).58(3): P185-197.
- 3 楊洋、馬三梅、王永飛 (2011)。植物氣孔的類型、分布特點和發育，生命科學研究 15(6): P550-555.
- 4 Gan Y., Zhou, L., Shen, Z.-J., Shen, Z.-X., Zhang, Y.-Q., and Wang G.-X., (2010). Stomatal clustering, a new marker for environmental perception and adaptation in terrestrial plants. *Botanical Studies*,51: 325-336.