

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 植物學科

探究精神獎

052109

孟母三遷—異葉水蓑衣異形葉解剖特徵及浸沒
適應實驗

學校名稱：國立中科實驗高級中學

作者： 高二 張家昀 高二 陳冠云 高二 蔡鈺真	指導老師： 王郁茜 林靜英
---	-----------------------------

關鍵詞：異葉水蓑衣、淹水逆境、異形葉

摘要

本研究分為異葉水蓼葉之觀察、激素處理及浸沒生理測定及軟體模擬四大部分，探討葉形變化對浸沒適應的關聯。葉之觀察方面，羽狀葉及卵形葉無普遍的特徵，浸沒葉及未浸沒葉解剖特徵差異大。激素處理後新生葉形沒有改變。浸沒生理測定方面，發現羽狀植株發展出通氣組織、根部成長率較高，然而其MDA含量較卵形葉植株高；卵形植株未發展出通氣組織，明顯抽高，實驗後兩者的過氧化氫累積及總葉面積成長率無顯著差異。最後，以軟體模擬葉片在流體中所受壓力，羽狀葉鋼體模型在高速水流下所受機械壓力較大。期待增加對於兩棲植物適應水機制的理解，並於日後應用在減少農作物因降雨變化劇烈導致收成受損的情況。

前言

淹水可對植物造成不可逆的傷害，即使在水中有許多對植物不利的條件，為了獲取更多生存空間，植物演化出了許多機制以降低淹水造成的傷害。其中兩棲植物(amphibious plant)生活在水位變動的環境，發展出兩種型態的葉子以分別適應陸生、水生環境。兩棲植物的未浸沒葉、浸沒葉不僅在解剖構造上有所不同，還同時具有不同的葉形(Mommer & Visser, 2005)。本研究所採用的異形葉性(heterophylly)其定義為「環境使兩棲植物在兩種或多種葉形間轉換稱為異形葉性」(Nakayama, H., Nakayama, N., Nakamasu, S., & Kimura, 2012)，如異葉水蓼的陸生葉為卵形，水生葉為羽狀，即表現了異形葉性。

異葉水蓼(*Hygrophila difformis*)，為爵床科水蓼屬，是一種兩棲植物(amphibious plant)。因其具高度外表形可塑性(phenotypic plasticity)、葉形變化明顯，易於栽種與繁殖等特點，常被用於研究。許多因素能影響異葉水蓼的葉形，如溫度、相對濕度，以及激素如離層素、乙烯、吉貝素等。溫度上升(由20度調整至26度)、相對濕度上升(由30%調整至60%)、滴乙烯利於莖頂等，均可誘導陸生植株發育羽狀葉。而溫度由26度調整至20度、相對濕度由60%調整至30%、滴吉貝素抑制劑或離層素於莖頂，均可使相對濕度60%下的陸生羽狀葉植株發育出卵形葉(Li et al., 2017)。異葉水蓼可利用 HCO_3^- 為無機碳源，水生葉的無機碳利用率高於陸生葉，而浸入水中十天的陸生葉碳酸氫根利用率則介於兩者之間，然而成熟的葉片葉形不會因為淹水而產生變化(Horiguchi, G., Nemoto, K., Yokoyama, K., Hirotsu, N., 2019)。用途上，異葉水蓼可用來防治藻類，還具有抗氧化、鎮靜安眠、抗凝血、止痛等藥理效果(Li et al., 2017)。

壹、研究動機

在生活周遭，不難發現植物有著形形色色的葉子，有些具有特別葉形的植物是人為塑造的園藝種，然而有些是在自然環境下長期演化所形成，因此在類似的環境下可發現型態類似的葉子。資料顯示異葉水蓼衣在浸沒環境下發育出羽狀葉，在非浸沒環境下發育出卵形葉，這使我們猜測異葉水蓼衣在浸沒環境下，發展出羽狀葉較卵形葉有利，反之亦然。

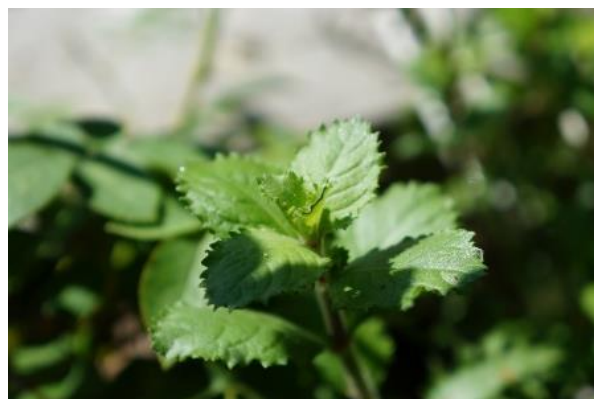
然而種植過程中發現，不論是卵形葉或羽狀葉都可在浸沒及非浸沒環境發育出，這使我們好奇，葉形與葉片功能的關聯是什麼？外在環境如何使植株改變新生葉形？不同葉形能使植株更加適應其相對應的環境嗎？為什麼沉水能長卵形葉、挺水能長羽狀葉？為了得到答案，我們進行了本研究，從不同葉形的葉子開始，探討異葉水蓼衣葉形對環境適應的功能。

貳、研究目的

- 一、觀察異葉水蓼衣成長狀況。
- 二、探討異葉水蓼衣不同葉型之葉綠素含量與解剖構造差異。
- 三、探討不同激素對葉形生成的影響。
- 四、比較卵形葉植株與羽狀葉植株在水中的生長情形。
- 五、比較卵形葉植株與羽狀葉植株在水中所受氧化逆境情形。
- 六、探討卵形葉植株與羽狀葉植株在水中所表現之現象。
- 七、模擬葉片所受壓力

參、研究設備及器材

- 一、研究材料：異葉水蓼衣(*Hygrophila difformis*)



異葉水蓼衣(*Hygrophila difformis*)

二、器材：



燒杯



鑷子



單面刀



塑膠滴管



藥杓



培養皿



解剖剪刀



研鉢



尺



載物台測微器



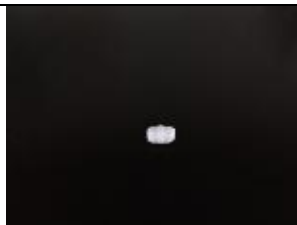
微量吸管



量筒



定量瓶



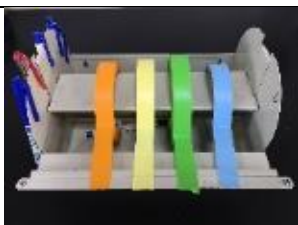
磁石



美國矽砂



黑土



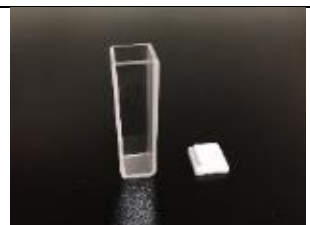
標籤紙



昆蟲飼養箱



水草液肥



石英比色管



試管與試管架



微量離心管

三、儀器設備：



複式顯微鏡



相機



加熱器



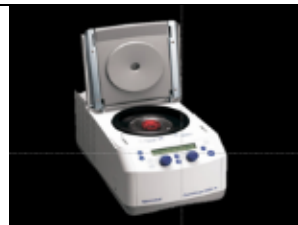
酸鹼測定儀



分光光度計



微量天平



高速微量離心機



筆記型電腦

四、軟體：Image j(葉面積及羽狀指數計算)、Excel(數據整理級繪圖)、R gui(統計及繪圖)、Adobe Photoshop(圖片去背)、Adobe Illustrator(繪製葉片輪廓)SOLIDWORKS Flow Simulation(流體模擬)

五、藥品：99%丙酮、海砂、離層素、吉貝素(GA3)、乙烯利(Ethephon)、蒸餾水(ddH₂O)、二氨基聯苯胺(Diaminobenzidine, DAB)、三氯乙酸(Trichloroacetic acid, TCA)、硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)、95%乙醇、75%乙醇

肆、研究過程或方法

一、研究架構

本研究架構如（圖 1）。

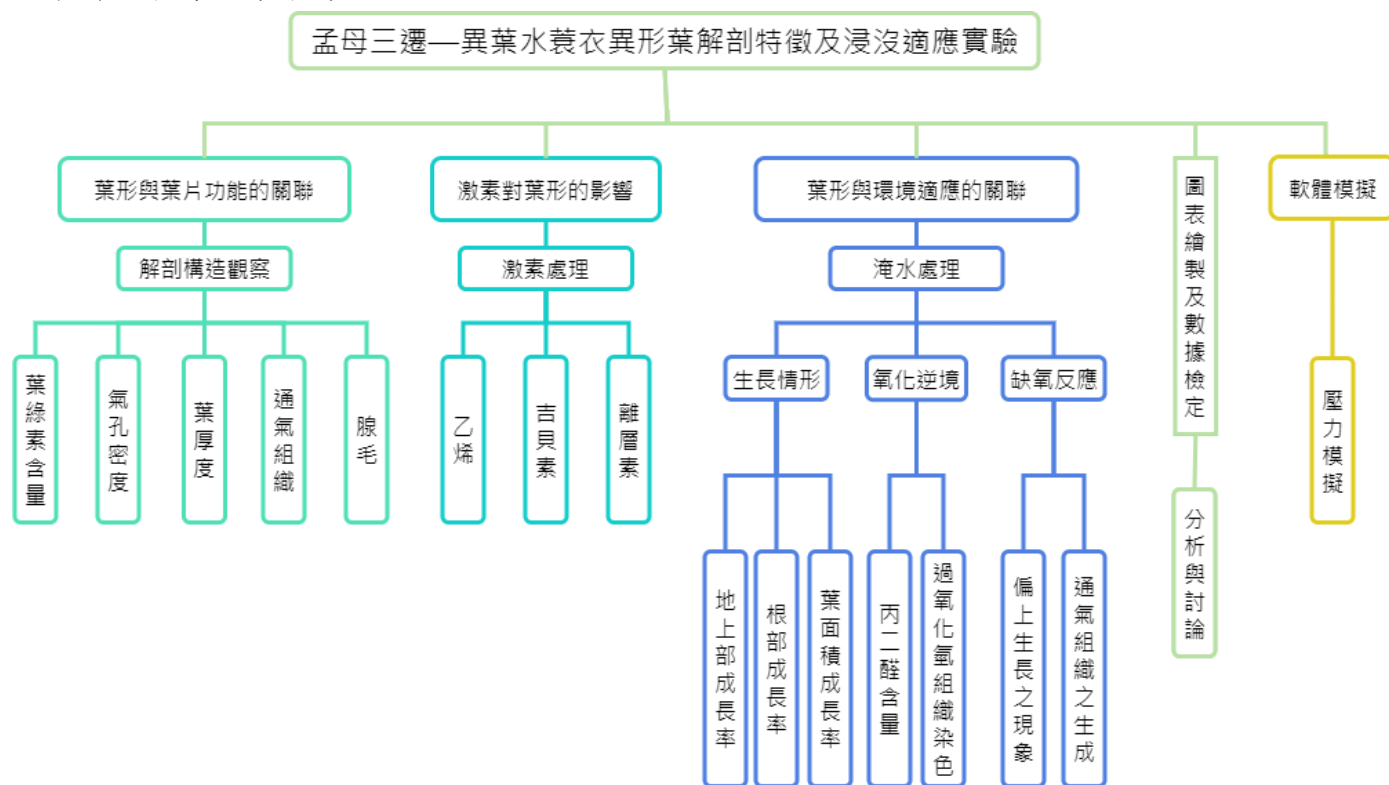


圖 1、研究架構

二、實驗方法

(一) 氣孔密度比較

直接以複式顯微鏡在 100 X 下觀察，記算氣孔數，並用數位相機記錄。每片葉子上下表皮各取十個視野記錄，計算視野面積為 0.12 mm²時氣孔數，並繪製圖表。

(二) 葉片厚度比較

在水中以單面刀將葉片橫切後，置於複式顯微鏡下拍照，藉由載物台測微器與 image j 求得 400X 下照片像素數與實際長度之比值後，使用 image j 測量葉厚度。

(三) 葉綠素含量

1. 測定方法

取由上往下第三或第四之葉片，以蒸餾水清洗，去除葉片中肋，並秤取 0.1g，以 5ml 之 99% 丙酮混和海砂將葉片磨至漿狀，倒入離心管，並將丙酮加入離心管至總體積 10 ml。以 2500 rpm 離心 10 mins，吸取上清液 4 ml，加水稀釋至 8 ml。以稀釋至 49.5 % 之丙酮校正分光光度計，測量在波長為 663 nm、645 nm 時的吸光值。

2. 含量計算

葉綠素含量公式(賴錦怡, 2010) :

(1) 葉綠素 a(mg / g FW):

$$\frac{[12.7 \times (\text{OD } 663) - 2.69 \times (\text{OD } 645)] \times 20}{0.1 \times 1000}$$

(2) 葉綠素 b(mg / g FW):

$$\frac{[22.9 \times (\text{OD } 645) - 4.68 \times (\text{OD } 663)] \times 20}{0.1 \times 1000}$$

(3) 葉綠素總(mg / g FW):

$$\frac{[20.2 \times (\text{OD } 645) + 8.02 \times (\text{OD } 663)] \times 20}{0.1 \times 1000}$$

以上三式中, 20 為萃取液總體積(ml), 0.1 為葉片組織鮮重(g)。

(四)葉肉細胞排列比較

在水中將葉片橫切後, 置於複式顯微鏡下觀察葉肉細胞排列, 並以數位相機拍照記錄。

(五)通氣組織比較

在水中將葉片 1/2 處中肋橫切後, 置於複式顯微鏡下觀察有無通氣組織, 並以數位相機拍照記錄。

(六)茸毛比較

觀察茸毛並以數位相機記錄。

(七)激素處理

1. 羽狀指數定義

本文參考(Li et al. 2017)之方法定義「羽狀指數」為:

$$\frac{\text{葉周長}}{\sqrt{\text{葉面積}}}$$

羽狀指數愈高, 代表葉片形狀越偏向羽狀葉(圖 2)。面積及周長由數位相機記錄後再由 image j 求出。



圖 2、羽狀指數。葉片上方數字即該葉片羽狀指數。(bar=1 cm)

2. 激素處理方法

取未浸沒卵型植株，每組四株，以簽字筆標記成熟葉片以便與實驗後新發育葉片區分。植株種於裝有美國矽砂的一公升燒杯中，自然光種植。實驗期間保持燒杯內美國矽砂濕潤。每週五天於中午滴 100 μ l 配置好濃度的不同激素或水於莖頂。實驗時間為 2019 年 5 月 31 至 6 月 20 日，共 21 天。實驗中乙烯處理使用乙烯利，乙烯利在植物體內可產生乙烯。激素濃度為乙烯利 100 μ m，吉貝素 50 μ m，離層素 100 μ m。實驗後將新發育葉片剪下，以數位相機拍照後，利用 image j 測量周長與面積及計算羽狀指數。

(八) 淹水處理

1. 淹水逆境模擬

分別取未浸沒卵型植株、未浸沒羽狀葉植株各八株進行淹水逆境處理。在水中剪下含三個節間的枝條，標上標籤後，扦插於黑土中並淹水，自然光種植。實驗期間每周換一次水，換水方法為快速將水抽乾並加入新的水，新的水再加入前事先打氣一小時，確保水中的氣體與空氣中的達到平衡，打氣後測量 pH 值並記錄，平均為 8.26。實驗時間為 2019 年 10 月 13 日至 11 月 14 日，共 32 天(圖 3)。



圖 3、淹水處理

2. 植株成長率計算

(1) 地上部成長率為：

$$\frac{\text{實驗後地上部長} - \text{實驗前地上部長}}{\text{實驗前地上部長}}$$

(2) 根部成長率為：

$$\frac{\text{實驗後根部長}}{\text{實驗前地上部長}}$$

(3) 總葉面積成長率：

$$\frac{\text{實驗後總葉面積} - \text{實驗前總葉面積}}{\text{實驗前總葉面積}}$$

根部成長率計算方法與其他兩者不同，是因為我們以無根的植株進行實驗，實驗前根部長度為零，故無法以相同方式計算。

(九) DAB 過氧化氫組織染色，參考(楊斯羽，2015)之方法。

1. 染色方法

取由下往上數第二或第三葉片，以蒸餾水清洗，浸泡於 0.5 mg ml^{-1} DAB 染劑中染色四小時，過程避光。四小時後去除染劑，以 75%乙醇浸泡至去除葉綠素，掃描，並以 image j 選取亮度 0~108 的範圍作為褐色部分，計算褐色面積比例(圖 4)。由於將葉片切下造成過氧化氫累積於葉柄，故計算時我們將葉柄部分扣除。

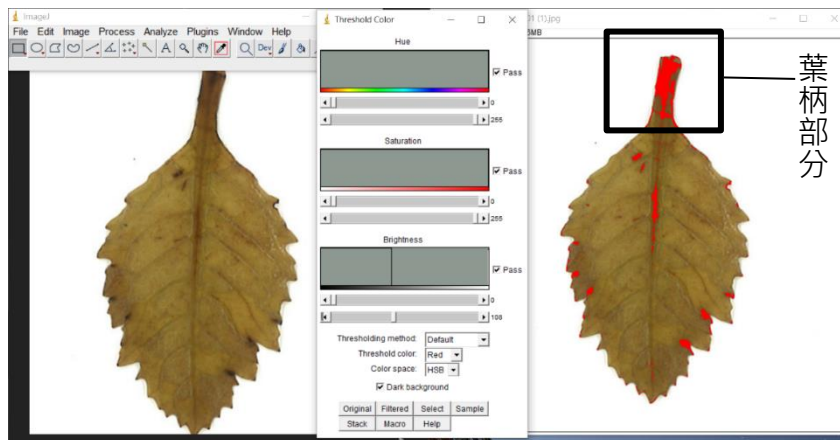


圖 4、image j 操作畫操作畫面

2. 藥品配置

取 DAB 30 mg，溶於 40 ml 4N HCl，調整 pH 值至 5.8，並以去離子水定量至 60 ml。

3. 染色比例為：

$$\frac{\text{褐色面積}}{\text{葉面積}}$$

(十) MDA 含量，參考張嘉滿(2004)之方法

1. 測定方法

取由下往上數第二或第三葉片，以蒸餾水清洗，秤量葉片鮮重並記錄。以 4 ml TCA (5%，w/v) 加入少許海砂，研磨葉片至漿狀。20 度 C 下以 10,000 g 離心 5 mins，取 1 ml 上清液，加入 4 ml TBA [5%，w/v，溶於 TCA (20%，w/v) 中]，沸水浴 30 mins，迅速冷卻冰浴 5 mins，室溫下以 5,000 g 離心 10 mins。校正分光光度計後測上清液 532 nm、600 nm 波長之吸光值，空白試驗以 1 ml 之 TCA (5%，w/v) 代替萃取液，加入 4 ml TBA 進行反應。

2. 藥品配置

TBA(thiobarbituric acid) [5%，w/v，溶於 TCA (20%，w/v) 中] 製法如下：取 20 g TCA 加入 80ml 去離子水中，加熱攪拌至溶解，完全溶解後加入 0.5 g TBA 繼續加熱攪拌，冷卻後以去離子水定量至 100 mL。配置時需配戴手套，因 TCA 為具腐蝕性之強酸結晶粉末。

3. 含量計算：MDA 含量為：

$$\frac{(\text{OD } 532 - \text{OD } 600) \times 155 \times 5 \times 4 \times 1000}{0.5}$$


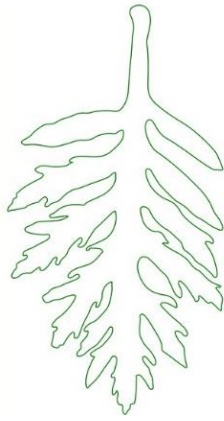

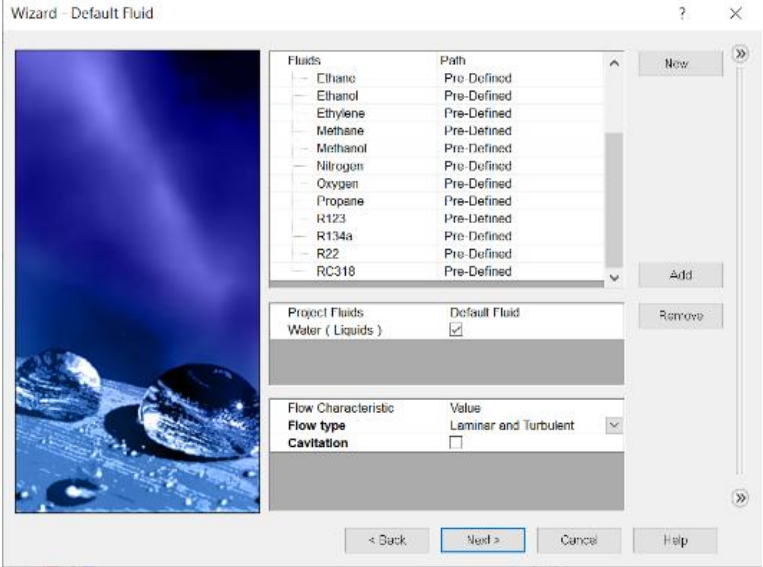
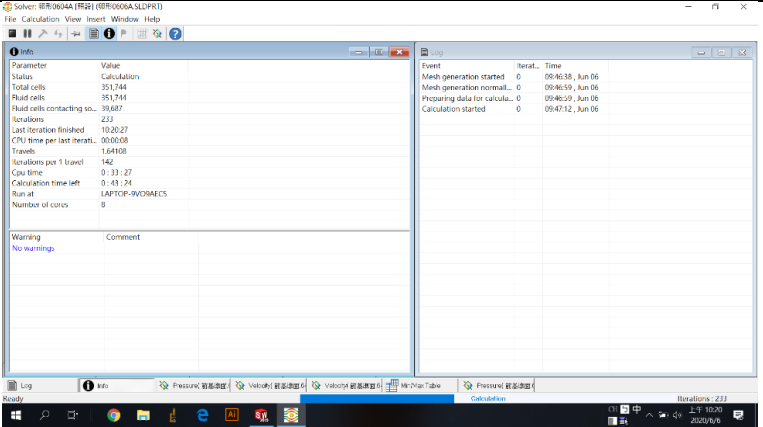
上式中，155 為消光係數($\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)，5 為反應體積(ml)，4 為稀釋倍數，0.5 為樣品鮮重。

(十一) 流場模擬

使用 SOLIDWORKS Flow Simulation 軟體，模擬葉片在水中、空氣中，周圍的流場及葉片所受壓力。條件假設步驟如表 1

表 1

流場模擬過程

過程	內容	圖例
繪製 葉片 模型	<ol style="list-style-type: none"> 1. 掃描葉片 2. 以 Adobe Illustrator 描下葉片輪廓。由於羽狀葉葉形複雜，將葉片重疊之處切開。 3. 將葉片輪廓導入 SOLIDWORKS，建立立體模型，並將兩種葉形皆調整為長 56mm，厚 0.2mm。 	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>原始照片</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>輪廓</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>立體模型</p>  </div> </div>
假設 條件	<ol style="list-style-type: none"> 1. 為探討葉片周圍水流，選擇 [external]，流體分別選擇空氣、水。 2. 空氣的流速設為 y 方向 5 m/s、z 方向 4 m/s。 3. 水高速的流速設為 y 方向 0.5 m/s、z 方向 0.4 m/s。 4. 水低速的流速設為 y 方向 0.05 m/s、z 方向 0.04 m/s。 	
計算 結果 及繪 製圖 表	<ol style="list-style-type: none"> 1. 由電腦進行疊代運算。 2. [Surface Plot]，以比較葉片所受壓力。 	

(十二)分析方法

本研究使用圖表描述資料特性，觀察葉形、環境與葉片解剖構造的關聯，並查閱文獻探討解剖構造對環境適應的影響，針對淹水實驗，我們使用 R 語言、excel 進行資料處理與統計分析，為探討問題，使用推論統計進行分析。並以 SOLIDWORKS Flow Simulation 軟體模擬流場。

1. 淹水實驗之測量變項

表 2

淹水實驗之變項說明

變項名稱	操作型定義	變數類型
依變項		
地上部成長率	$(\text{實驗後地上部長}-\text{實驗前地上部長})/\text{實驗前地上部長}$	連續
根部成長率	$\text{實驗後根部長}/\text{實驗前地上部長}$	連續
總葉面積成長率	$(\text{實驗後總葉面積}-\text{實驗前總葉面積})/\text{實驗前總葉面積}$	連續
DAB 染色面積	褐色面積/葉面積	連續
MDA 含量	實驗測得單位鮮重葉片所含之 MDA	連續
自變項		
未浸沒卵形葉植株	在未浸沒條件下發展出，且全株葉片皆為卵形之植株	類別
未浸沒羽狀葉植株	在未浸沒條件下發展出，且全株葉片皆為羽狀之植株	類別

2. 淹水實驗之實驗假設

(1)卵形葉植株與羽狀葉植株在水中生長情形之假設

假設一:淹水後植株地上部成長率在卵形葉植株與羽狀葉植株間具有顯著差異。

假設二:淹水後植株根部成長率在卵形葉植株與羽狀葉植株間具有顯著差異。

假設三:淹水後植株總葉面積成長率在卵形葉植株與羽狀葉植株間具有顯著差異。

(2)卵形葉植株與羽狀葉植株在水中所受氧化逆境情形之假設

假設四:淹水後植株之 DAB 染色面積在卵形葉植株與羽狀葉植株間具有顯著差異。

假設五:淹水後植株之 MDA 含量在卵形葉植株與羽狀葉植株間具有顯著差異。

伍、研究結果

一、異葉水蓴衣成長狀況



圖 5、未浸沒環境

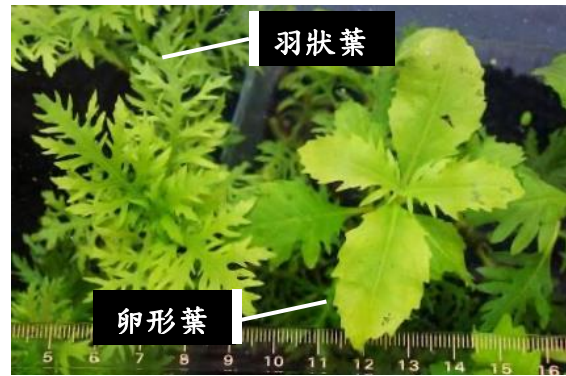


圖 6、浸沒環境

起初我們將異葉水蓴衣種於生長箱中，然而在生長箱中的成長狀況不是很好，便改種於室外(於走廊放置塑膠盆或燒杯進行盆栽)。在(圖 5)及(圖 6)中可以觀察到，在條件未控制的室外，即使生長於相同盆栽內，異葉水蓴衣不會全發育出同樣葉形，不論是否浸沒皆可發育出卵形葉與羽狀葉。由此推測許多環境因素可影響異葉水蓴衣葉片發育，且各因素之間也許相當複雜。

在未浸沒環境中發育、成長的卵型葉片，我們稱之為未浸沒卵形葉，依此類推。本研究使用的四種葉片為未浸沒卵形葉、未浸沒羽狀葉、浸沒卵形葉、浸沒羽狀葉。其中浸沒卵形葉相當稀少，在我們種植的過程中僅出現一段時間，其餘浸沒者皆發展出羽狀葉。而未浸沒羽狀葉持續發展出幾個月，使我們得以取得後續實驗需要之植株。

我們也注意到當異葉水蓴衣轉變葉形時，不會由卵形葉直接變成羽狀葉，或由羽狀葉直接變成卵形葉，而是會發育出數片過渡型態的葉子才轉變為另一種葉形。因為過渡型態的葉子僅會在葉形轉變時期出現，故較少見。

二、探討異葉水蓴衣不同葉型之葉綠素含量與解剖構造差異

(一) 異葉水蓴衣不同葉型葉綠素含量差異

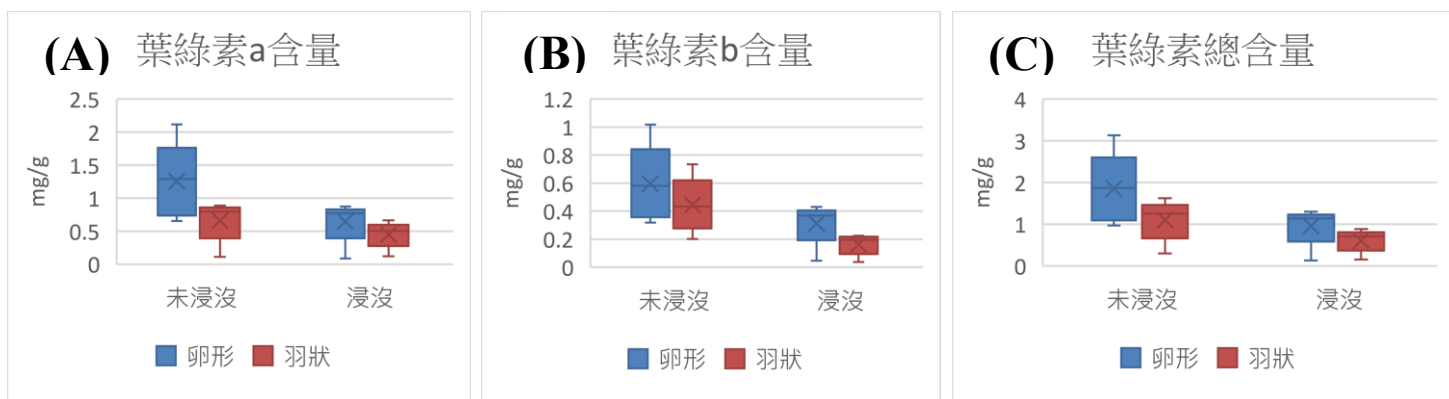


圖 7、葉綠素含量。A: 葉綠素 a, B: 葉綠素 b, C: 葉綠素總含量(圖中 X 為平均值)。

此實驗各組樣本數為 5。由 (圖 7) 可知，葉綠素 a 含量、葉綠素 b 含量、葉綠素總含量由高到低排列依次為未浸沒卵型葉、未浸沒羽狀葉、浸沒卵形葉、浸沒羽狀葉。未浸沒環境發育出的葉片葉綠素總含量皆較浸沒葉片高，且卵形葉皆較羽狀葉高。

(二) 異葉水蓴衣不同葉型解剖構造差異

1. 氣孔密度比較

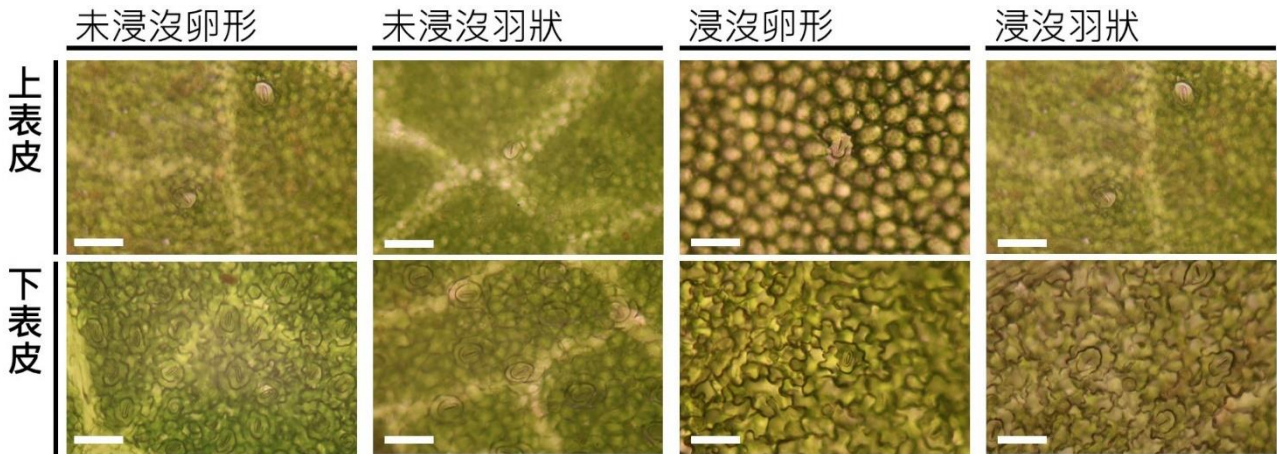


圖 8、異葉水蓴衣之上下表皮氣孔。比例尺=100 μm 。

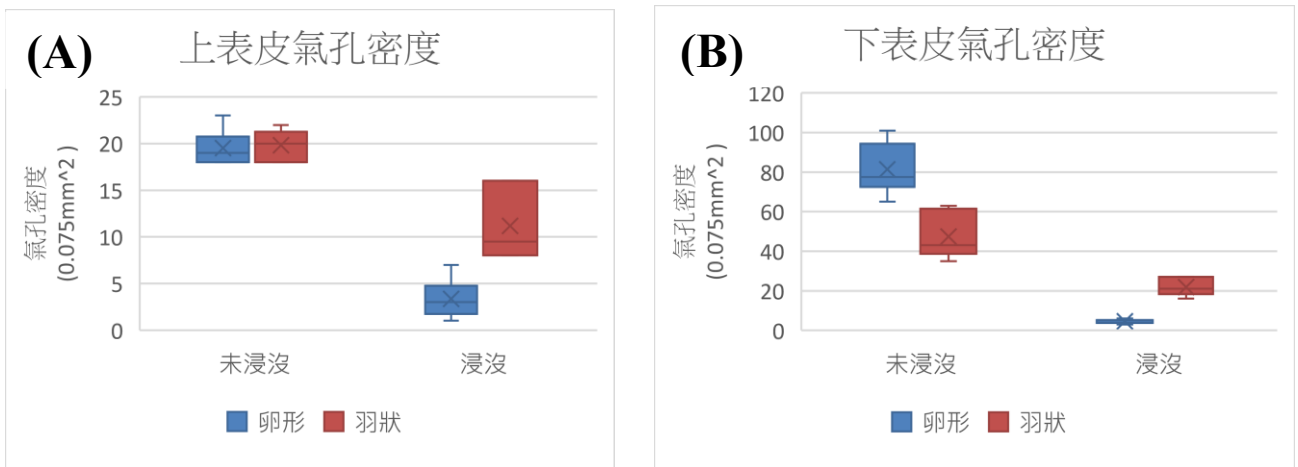


圖 9、氣孔密度。A: 上表皮氣孔密度，B: 下表皮氣孔密度

此實驗各組樣本數為 6。由 (圖 9) 得知在異葉水蓴衣中，未浸沒葉氣孔數較浸沒葉多，且浸沒卵形葉或浸沒羽狀葉皆具氣孔。在水中，葉片沒有蒸散作用，一些浸沒葉缺乏角質層，氣體直接經由表皮交換 (Mommer & Visser, 2005)，因此不需氣孔，如水蘊草、毛茛屬的浸沒葉皆缺乏氣孔 (Woodward, 1998)。由此可知水中的氣體交換應不是經由氣孔，而是經由表皮直接擴散。異葉水蓴衣的浸沒葉具有氣孔，可能為演化過程中仍保留了部分未浸沒葉的特徵所導致。

2. 葉片厚度比較

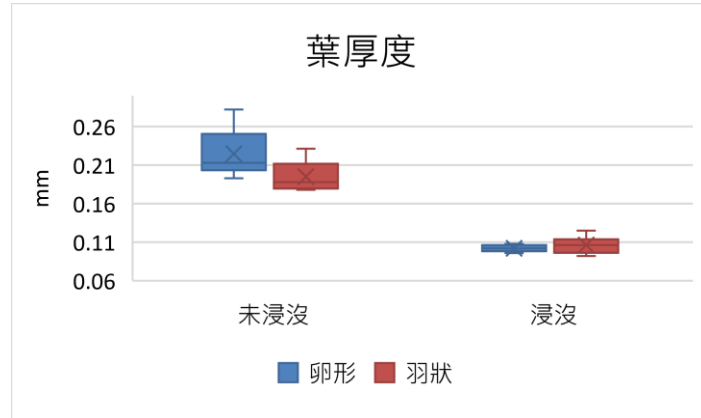


圖 10、葉片厚度比較。

此實驗各組樣本數為 6。浸沒葉葉片厚度皆較未浸沒葉薄，未浸沒卵形葉較未浸沒羽狀葉厚，浸沒卵形葉與浸沒羽狀葉厚度相近(圖 10)。查了資料顯示在水中因水的浮力，植物較不需發展出堅固的支持構造對抗重力，且水會對葉片施加物理壓力 (Li et al. 2017)，故葉片較薄在水中可能較具優勢。

3. 葉肉細胞排列比較

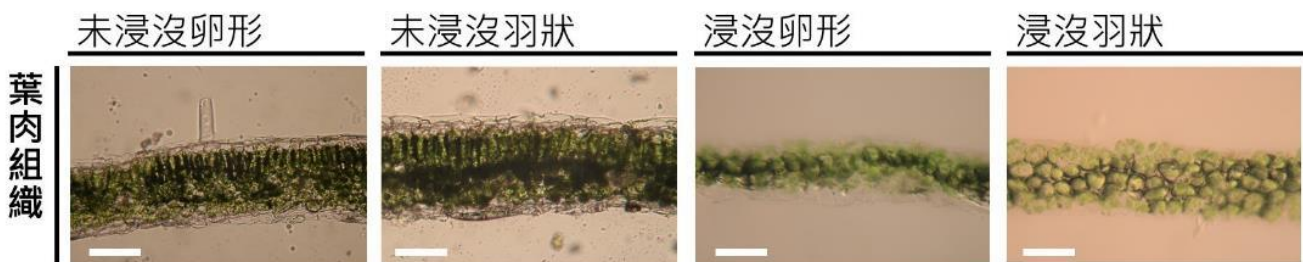


圖 11、葉肉細胞排列。比例尺=100 μ m。

由 (圖 11) 可以發現未浸沒葉有柵狀組織與海綿組織之分，浸沒葉則無。

4. 通氣組織比較

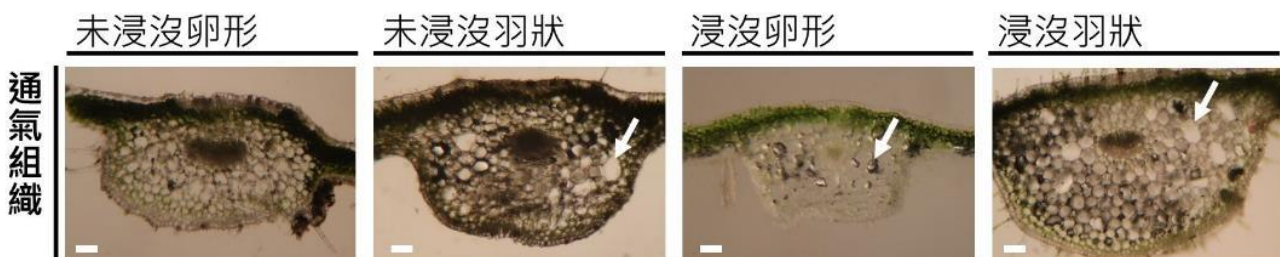


圖 12、通氣組織。白箭頭處為通氣組織。比例尺=100 μ m。

我們所觀察的未浸沒卵形葉不具有通氣組織，而未浸沒羽狀葉與浸沒卵形葉、浸沒羽狀葉皆具有通氣組織。某些被淹水的植物，以及許多浸沒植物都有通氣組織，通氣組織為皮層空洞，可讓空氣流通，使根部不缺氧

5. 茸毛比較



圖 13、茸毛。白箭頭處為茸毛。比例尺=1cm。

未浸沒植株莖、葉具茸毛，浸沒植株皆不具。我們猜測或許異葉水蓼衣的茸毛具有驅趕或阻礙昆蟲行動的作用，而驅趕的對象無法生活在水中，故浸沒葉不具茸毛。

(三) 探討不同激素對葉形生成的影響

我們以離層素、吉貝素、乙烯利處理未浸沒卵型植株，探討激素對葉形生成的影響。

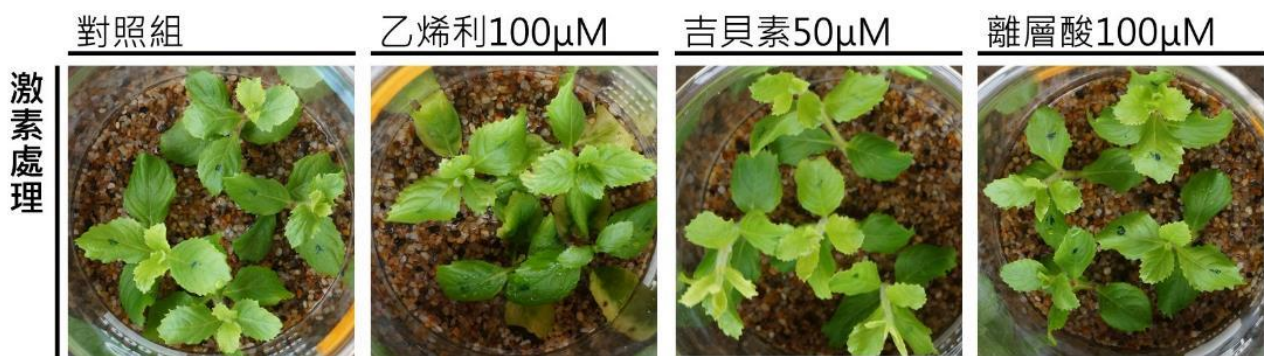


圖 14、各激素處理後之葉形。

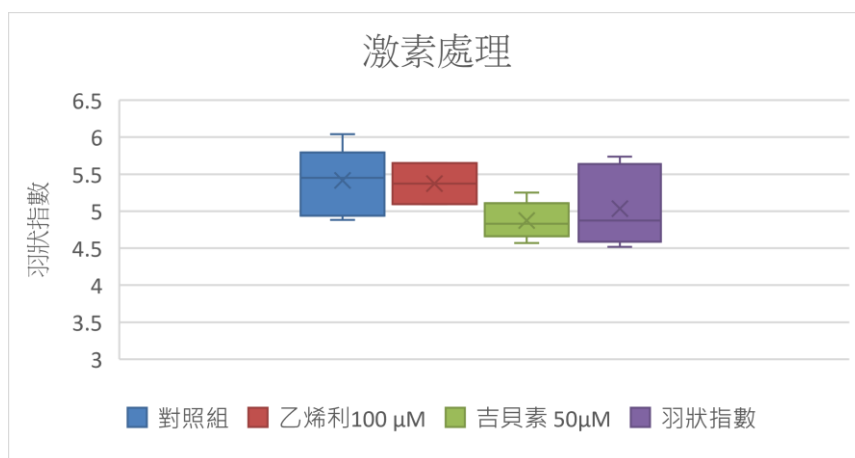


圖 15、各激素處理之羽狀指數。

此實驗各組樣本數為 4，然而實驗後部分植株死亡，乙烯利組僅兩筆數據。如結果所示，以乙烯利、吉貝素、離層素處理三周後，各組植株羽狀指數皆介於 5.5 至 4.8 之間，仍是卵形葉，**各組間差異不明顯**。乙烯利處理的植株有明顯葉片枯黃現象，吉貝素處理的植株明顯抽高，而離層素處理植株外觀與對照組無明顯差異。從乙烯利與吉貝素處理組的外觀可得知在莖頂滴這兩種激素對植物產生了作用，但沒有造成葉片羽狀化。結果與文獻不同，我們無法確定為何此處理方式使植株外觀無明顯變化。

(四) 卵形葉植株與羽狀葉植株在水中的生長情形

我們好奇若將未浸沒型態的異葉水蓼衣淹水，在水中的生長狀況會不會因為葉形的不同而有所差異？先前所述，在觀察解剖特徵時，我們發覺葉片形成環境對解剖特徵的影響大於葉片型態對解剖特徵的影響。然而，葉形改變究竟是否有適應上的意義？若異葉水蓼衣的異形葉對於環境是適應性的，我們猜測在水中兩種不同葉形的異葉水蓼衣生長情形可能會有所不同。為了得到答案，我們使用 excel 繪製盒形圖作為描述性統計，並且以 R 統計軟體進行獨立樣本 t 檢定作為推論性統計，探討卵形葉植株、羽狀葉植株在淹水逆境下的生長情形是否具顯著差異。

1. 地上部成長率與根部成長率

此實驗各組樣本數為 10。由圖表可以看到，淹水處理約一個月後，卵形植株地上部成長率為 60%，羽狀植株為 18%，數據顯示**卵形植株地上部成長率顯著大於羽狀植株**(T 檢定 p 值為 0.001499**)。

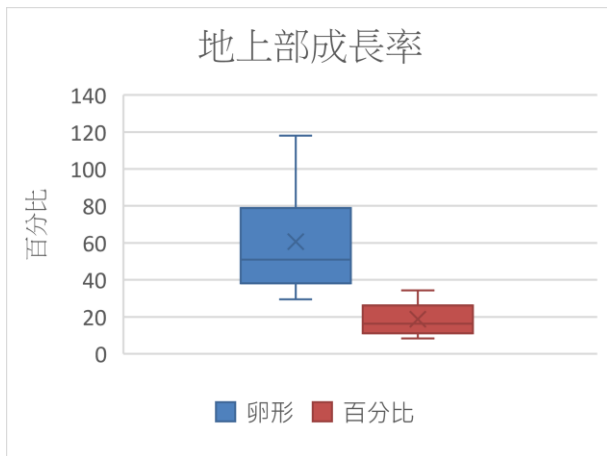


圖 16、淹水後羽狀葉植株與卵形葉植株地上部成長率

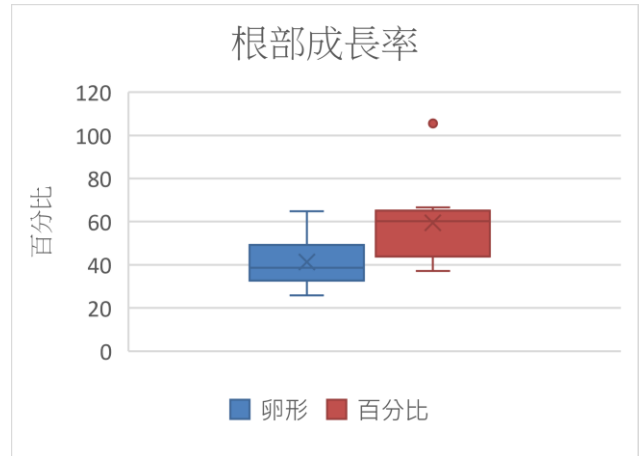


圖 17、淹水後羽狀葉植株與卵形葉植株根部成長率

由於異葉水蓼衣是鬚根系，不容易有部分根特別長而其他部分稀疏的情形，我們便以測量根的長度量化根部的生長。根的生長情形，卵形植株與羽狀植株分別是 41%及 58%，數據顯示羽狀植株根部成長率顯著大於卵形植株(T 檢定 p 值為 0.02039*)。

2. 總葉面積成長率

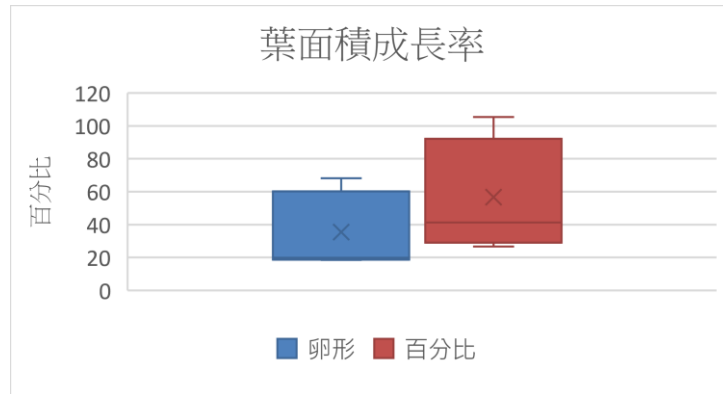


圖 18、淹水後羽狀葉植株與卵形葉植株葉面積成長率

查閱了文獻，我們推測植物在淹水逆境下因為二氧化碳缺乏、光線不足等因素限制光合作用應會導致總葉面積減少、形成新葉受阻；因此測量淹水前、後葉面積，以比較在淹水下的生長情形。此實驗各組樣本數為 5。結果如圖表，卵形植株平均數為 35.55，羽狀植株平均數為 56.65，數據顯示羽狀葉植株與卵形葉植株之間總葉面積成長率沒有顯著差異 (T 檢定 p 值為 0.4764)。

(五) 比較卵形葉植株與羽狀葉植株在水中所受氧化逆境情形

除了觀察其生長情形，我們也想知道淹水對於未浸沒植株是否會造成逆境？由於若未浸沒植株可以完全適應淹水，則不須浸沒型態，因此我們猜測，淹水會對其造成一定程度的逆境，便設計實驗了解卵形葉植株與羽狀葉植株所受的逆境是否有差異。

查閱了文獻，了解到植物於逆境下會累積活性氧族 (reactive oxygen species, ROS)，會對植株構成氧化逆境，造成傷害，其中過氧化氫可經由過氧化氫酶 (Catalase, CAT)、過氧化物酶 (Peroxidase, POD) 催化，將 3, 3'-diaminobezidine (DAB) 氧化，形成棕色沉澱，因此可藉由 DAB 染色法檢測植物體內累積的過氧化氫。若植物細胞膜暴露在活性氧下，會導致細胞膜脂質過氧化，而脂質過氧化最終會產生 MDA，若 MDA 之值較低，則表示其膜愈完整，愈適應氧化逆境，故可作為植物抗逆境生理指標。因此我們進行 DAB 染色檢測過氧化氫，與 MDA 含量測定，探討植株所受的逆境程度。

1. DAB 染色檢測過氧化氫

卵形葉

羽狀葉



圖 19、淹水後卵形葉與羽狀葉 DAB 染色。比例尺=1cm。

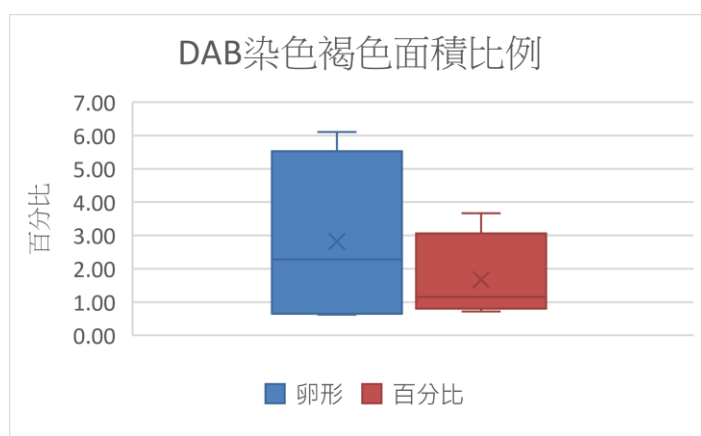


圖 20、淹水後卵形葉與羽狀葉 DAB 染色面積比例

此實驗各組樣本數為 8。DAB 染色褐色面積卵形葉的平均數為 0.18，羽狀葉的平均數為 0.56，T 檢定 p 值為 0.4683，表示淹水後卵形植株與羽狀植株之 DAB 染色面積的平均數無顯著差異。由（圖 19）可見染色情形。

2. MDA 含量測定

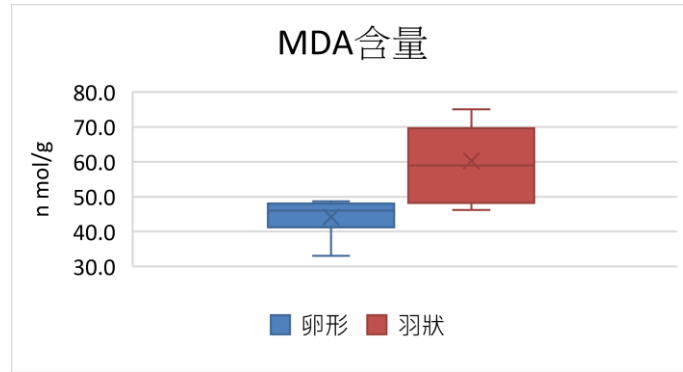


圖 21、淹水後羽狀葉與卵形葉 MDA 含量

此實驗各組樣本數為 9。MDA 含量，卵形葉平均數為 43.19 羽狀葉平均數為 60.24，數據顯示淹水後羽狀葉 MDA 含量顯著大於卵形葉(T 檢定 p 值為 0.001999**)。

(六) 探討卵形葉植株與羽狀葉植株在水中所表現之現象

1. 偏上生長



圖 22、偏上升長。Bar=5cm

我們觀察到淹水後的異葉水蓼衣卵形葉植株，羽狀葉植株葉片皆捲曲，最初認為是根部腐爛使植株缺水而凋萎，然而如（圖 22）所示，根部並沒有腐爛，且淹水處理是全株泡水，不太可能缺水而凋萎，查閱了文獻了解到當植物缺氧時會產生乙烯，而乙烯除了可誘導通氣組織生成外也可使葉片近軸(adaxial)生長速率高於背軸(abaxial)生長速率，使葉片呈向下彎曲，稱為偏上生長(epinasty，或稱葉柄上偏性)(楊斯羽，2015)，我們認為所觀察到的現象可能就是偏上生長。

2. 通氣組織

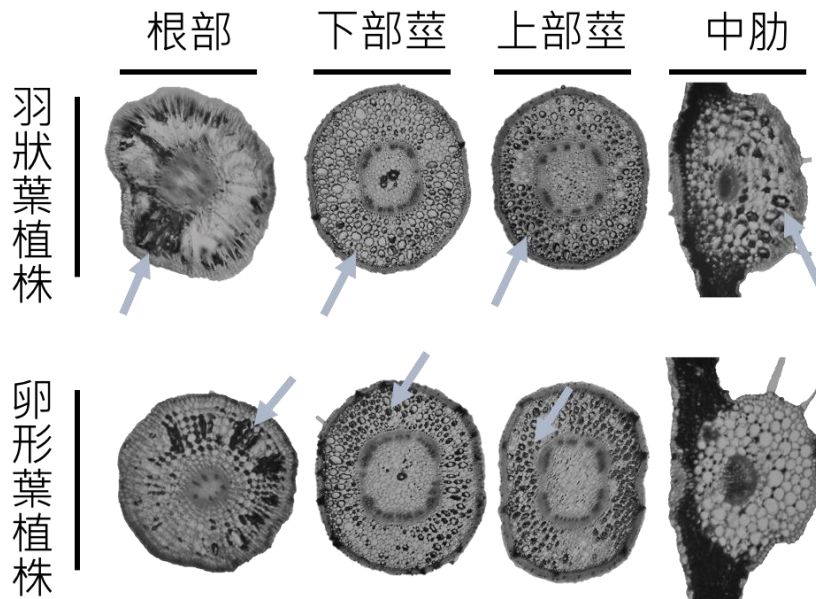


圖 23、通氣組織

如（圖 23）所示，卵形葉植株莖部、根部有通氣組織，葉片中肋沒有，羽狀葉植株的根部、莖部、葉片中肋都有通氣組織。我們推測因為**卵形葉植株**的葉片沒有通氣組織，所以它採取優先伸長節間的策略，使植株挺出水面接觸空氣，以**逃離淹水環境**，而**羽狀葉植株**因為葉片具有通氣組織，**在淹水逆境下可能較不易缺氧**，因此沒有植株抽高的現象。

(七) 模擬葉片周圍流場及所受壓力

對於葉形功能的解釋，植物學中往往會提到邊界層(boundary layer)的概念，形狀較破碎的葉子具有較薄的邊界層，但並未詳細描述邊界層的概念，且未找到植物學的文獻實際求出、比較不同葉形邊界層的厚度。查閱流體力學相關文獻後，了解到，邊界層為靠近物體表面，因摩擦力產生的流速較慢的區域，其中較直觀的定義為擾動厚度(disturbance thickness)，即，由物體表面開始，至速度為 0.99 倍自由速度的區域，在此層內摩擦力產生的影響不可忽略，而此層之外的流體可視為無黏性（王珉玟、劉澄芳、徐力行(譯)，2010)。且一般物理討論的是動量邊界層(momentum boundary layer, MBL)，若討論流體中的物質傳遞，則是使用濃度邊界層(concentration boundary layer, CBL)，即將上述定義中的速度改成物質濃度。而在濃度邊界層中，十分接近物體表面處有擴散邊界層(Diffusional Boundary Layer, DBL)，在此層中，溶質傳遞主要依賴擴散作用。(Nishihara, Canada & Ackerman, 2016)。

儘管運動學邊界層無法代表擴散邊界層，若求出運動學邊界層厚度，或許有助於比較葉形對周圍水流流速的影響。然而所探討的異葉水蓼葉片尺寸小，以探針測水流速度可能造成很大的誤差，因此想藉由軟體計算模擬邊界層。實行的過程中了解到，能夠計算邊界層的軟體相當昂貴，試用版下載不易，也非一般家庭電腦能夠運算，便轉為使用相對易上手的 SOLIDWORKS Flow Simulation，模擬葉片所受壓力，進行討論。

1. 葉表面壓力

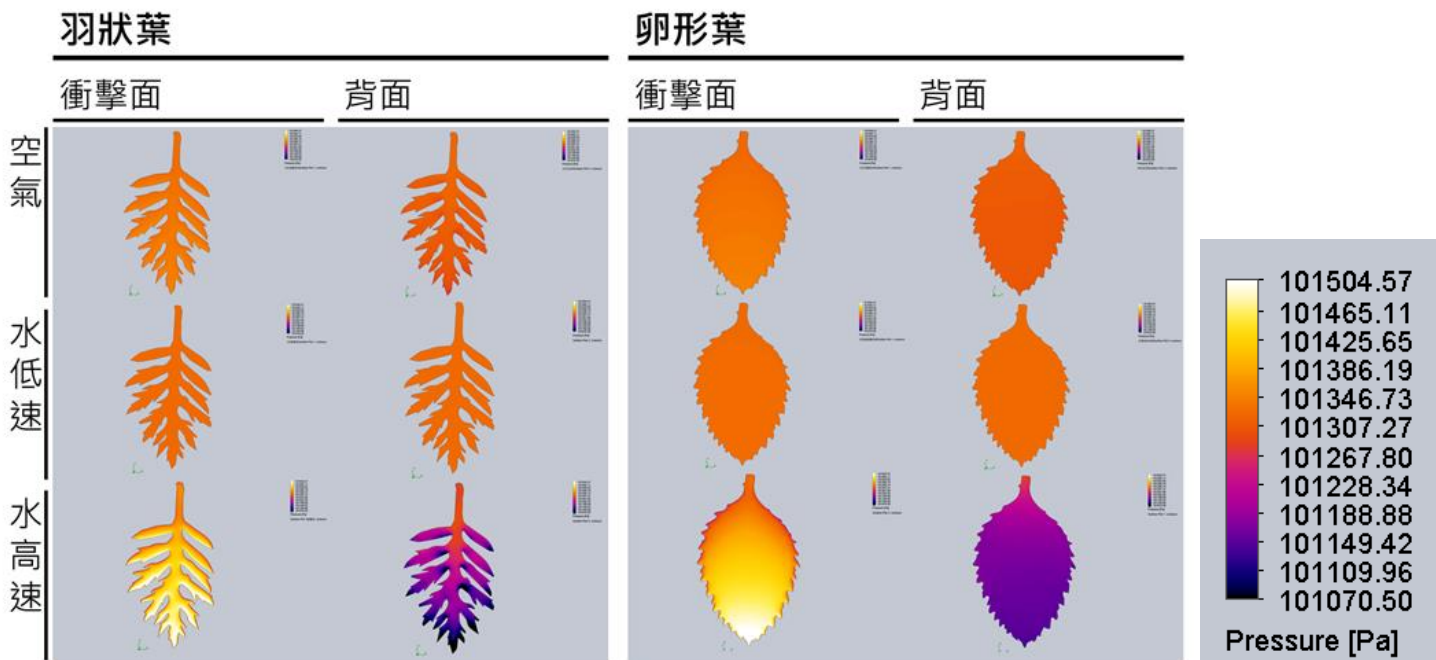


圖 24、葉表面壓力等值線圖

所有等值線圖的最大、最小值皆設定為 101504.57 Pa、101070.50 Pa，壓力由相對大至相對小，會呈現白色、橘色，至紫色的變化。流速設定與流線模擬相同。在風中及低水流速度下，葉片的流體衝擊面、背水流面之壓力皆介於約 101300 Pa 至 101400 Pa 之間，高水流速度下葉片壓力範圍即大約介於等值線圖的最大、最小值間。注意到在高水速下，衝擊面、背水流面的壓力差較明顯，且羽狀葉模型的背面有深紫色區域，顯示該區壓力較低，在衝擊面壓力較高的情況下，可能使葉片較易折彎或斷裂。

陸、討論

一、異葉水蓼不同葉型解剖構造差異討論

將部份結果整理為以下表格，以便討論。

表 3

氣孔數多寡示意圖。(＃越多代表氣孔越多)

	浸沒環境	未浸沒環境
卵形葉	#	####
羽狀葉	##	###

表 4

環境(沉水與否)與葉形對解剖特徵的影響與否

	茸毛	柵狀組織與 海綿組織組 線	氣孔數	葉厚度	葉綠素濃度
環境	√	√	√	√	√
葉形			√	√	√

根據我們的觀察結果，若單看環境對於葉片解剖特徵，可發現能歸納出一致的結果：浸沒葉的解剖特徵為具有較低葉素含量、較少的氣孔、葉片較薄、無柵狀-海綿組織之分別、不具茸毛；未浸沒葉則具有較高葉素含量、較多的氣孔、葉片較厚、具有柵狀、海綿組織之分別、具茸毛，以上即使葉形不同也成立。而若單看葉形對於葉片解剖特徵，僅能歸納出卵形葉的葉綠素含量較羽狀葉高，其餘特徵在環境不同時結果不一致，如氣孔數在未浸沒下，卵形葉較高，浸沒下，羽狀葉較高(表 2)。而通氣組織這項特徵僅在未浸沒卵形葉沒有表現。

文獻中異葉水蓼衣與其他水生植物的浸沒葉特徵有多處相似，且和浸沒環境所需之構造相符。由此可知即使羽狀葉為浸沒條件下普遍的葉形，當羽狀葉發育於未浸沒條件時，並未連同發展出浸沒條件下相應的解剖構造，造成植株適應未浸沒環境的能力降低，因此羽狀葉並非總是伴隨著浸沒條件下的解剖構造，卵形葉也是同樣道理。綜合上述特徵，我們認為影響異葉水蓼衣葉片解剖構造的主要因素為葉片發育的環境，次要因素為葉形(表 3)。且異葉水蓼衣發展出羽狀葉或卵形葉可能不會造成其適應環境的能力降低，然而是否對適應環境有正面影響，將在淹水實驗部分探討。

二、不同激素對葉形生成的影響討論

在文獻中，乙烯、吉貝素、離層素能夠影響葉形生成，然而在我們的實驗中，這三種激素皆沒有使葉形改變。可能是由於所使用的濃度並非造成葉形變化的對應濃度，或者有其他未控制住的變因對葉形的影響比外加激素大，使激素的影響未顯現。我們使用燒杯種植異葉水蓼，而燒杯底部沒有洞，實際上實驗是在滯害環境下進行的，故種植介質含水量對質株的影響可能大於外源激素。因為種植在室外，許多可能使葉形改變的因素如溫度、溼度等皆沒有控制住，也許上述原因綜合起來最終導致葉形呈卵形。然而因為時間因素，我們來不及將激素濃度或外在變因等影響全數研究完成。文獻中有提到，由於以外加激素探討激素對植物生長的影響時，無法得知實際進入植物體內激素的量，因此此方法並不準確，較準確的是以激素相關突變株進行實驗(William & Norman, 2008)。

三、卵形植株與羽狀植株在水中的生長情形討論

於水後進行獨立樣本 t 檢定，卵形葉植株的地上部成長率顯著較羽狀葉植株($P < 0.01$)，羽狀植株的根部成長率顯著較卵形植株高($P < 0.05$)，而總葉面積成長率則無顯著差異。可發現卵形葉植株地上部成長率雖顯著較高，總葉面積成長率卻沒有同時顯著較高，推測在水中，卵形葉植株快速增加高度為逃離淹水的表現，若植株頂端高於水面，即可部分脫離氧氣較缺乏的水中，而缺氧的原因可能為氧氣的溶解度較低，又未浸沒葉具角質層，無法直接經由表皮交換氣體，再加上水中的氣體擴散速率慢，而導致缺氧。羽狀植株相較下無快速增加植株高度之現象。根部的生長情形則是羽狀葉植株優於卵形葉植株。羽狀葉生長對卵形葉較佳，雖然未達顯著。綜合上述，我們認為在淹水下的生長情形，卵形葉植株與羽狀葉植株之間有所差異，且羽狀葉植株生長略優於卵形葉植株。

四、卵形葉植株與羽狀葉植株在水中所受氧化逆境情形討論

表 5

淹水實驗檢定結果

	卵形葉植株	羽狀葉植株
地上部成長率	顯著較高($P < 0.01$)	
根部成長率		顯著較高($P < 0.05$)
總葉面積成長率	無顯著差異	無顯著差異
DAB 染色面積	無顯著差異	無顯著差異
MDA 含量		顯著較高($P < 0.01$)

於淹水後一個月進行獨立樣本 t 檢定，羽狀葉植株的 MDA 含量顯著較卵形葉植株高 ($P < 0.01$)，DAB 染色面積則無顯著差異，由圖表得知羽狀葉平均值較高。MDA 為活性氧族所造成膜脂質過氧化的穩定產物，而過氧化氫屬活性氧族，由此可知，卵形植株在浸沒下承受較大氧化逆境。針對 MDA 含量差異顯著，DAB 染色卻不顯著，我們有以下猜測：首先，過氧化氫為其中一種活性氧族，其他活性氧族(如氫氧自由基、氧原子)也可造成膜脂質過氧化而產生 MDA，因此 MDA 含量顯著較高，過氧化氫含量不一定顯著較高。其次，DAB 方法偵測極限是 $0.1 \mu\text{M}$ ，過氧化氫濃度大於 $1-10 \mu\text{M}$ 時會呈深色(Martha and Clarence, 1999)，而 MDA 極限則是 $0.16 \mu\text{M}$ (Mendes, Cardoso & Pestana, 2009)，DAB 染色比例法偵測範圍較 MDA 方法窄，可能因此使較低、較高含量無法顯現，導致差異不明顯，MDA 方法較靈敏，則可顯現差異。綜合以上所述，可進一步推出淹水時羽狀葉植株所受氧化壓力較大。

五、造成卵形葉植株與羽狀葉植株在水中生存策略不同之可能原因討論

卵型葉、羽狀葉的解剖構造除卵形葉無通氣組織外，其餘如氣孔數、葉厚度、葉肉細胞排列、是否具茸毛等皆未觀察到差異，因此就解剖構造，我們認為**通氣組織是造成羽狀葉植株與卵形葉植株適應差別的原因之一**。通氣組織可能使羽狀葉植株在水中有較好的適應可持續生長在水中，而卵形葉植株則需抽高以接觸空氣。我們在羽狀與卵形葉植株上皆觀察到類似類似偏上生長的現象，偏上生長與溶生性通氣組織(lysigenous aerenchyma)皆由乙烯誘導(Leather, Forrence & Abeles, 1972)，(楊斯羽, 2015)。然而卵形葉卻不具通氣組織，因此猜測要使卵形葉發展出通氣組織的乙烯濃度可能與造成偏上生長的濃度不同；或者所觀察到的現象並非偏上生長；或者淹水下產生之通氣組織非溶生性，為裂生性(schizogenous aerenchyma)。然而當初對通氣組織不了解，以乙烯利處理後沒有做橫切觀察。在我們沒有觀察到的角質層方面或許也有差異，角質層的厚度不同可能使水下氣體交換速率不同，進而影響到植物生長。在淹水實驗中，每周換水時加入的水 pH 值平均為 8.26，當 pH 值介於 6.3 至 10.3 時，是以 HCO_3^- 之形態存在，(陳紫嫻、葉瑾瑜、謝介士, 2010)，我們認為在 HCO_3^- 利用能力上的差異也可能導致在水中的生長情形差異，但由於技術與資源上限制， HCO_3^- 利用率仍待進一步實驗探討，未用以做為生長能力的指標。

六、卵形葉及羽狀葉模型所受壓力模擬討論

葉形出現的頻率為其功能的最直接證據，根據觀察，在浸沒環境中幾乎都是羽狀葉，僅有極少數卵形葉，而未浸沒環境中多數為卵形葉，但有時也會出現為數不少的羽狀葉。因此假設在浸沒環境中羽狀葉有明顯優勢，在未浸沒環境中卵形葉有優勢，但也可長羽狀葉。再根據模擬的結果進行討論。

根據葉表面壓力的模擬結果，羽狀葉在水流速度大的時候($y=0.5\text{ m/s}$ 、 $z=0.4\text{ m/s}$)衝擊面與背水流面的壓力差較卵形葉明顯，可能較容易折彎、斷裂，那麼為什麼浸沒環境中幾乎都是羽狀葉？起初我們懷疑模擬的結果，因所使用的模型為剛體，可能無法反映出現實中柔軟葉片所承受的壓力。然而在(Ismail, Vladimir, Oliver & Matthew, 2012)的研究中，使用有彈性的塑膠片模擬葉片，測量相同面積、不同形狀塑膠片在水中所承受之阻力(drag force)，得到羽狀塑膠片相較橢圓、長方形塑膠片承受更大的阻力的結論。因此在某種彈性下，羽狀葉在水中可能確實承受較大機械壓力。若單純考慮形狀，有以下猜測：(1) 羽狀葉有某方面的優勢，使植株「冒著斷裂的風險」仍發展出羽狀葉；(2) 這個優勢必須是卵形葉沒有的，否則由於卵形葉可能較不易斷裂，數量將會較多；(3) 根據本研究的模擬結果，在流速很慢($y=0.05$ ， $z=0.04$)的時候，壓力在羽狀、卵形葉間差異不大。因此異葉水蓼生長的地方水流速度可能不高；(4) 也就是，當水流速度快時，葉形可能轉為卵形葉，或無法生存於流速快的環境；(5) 或者，與上述 1~4 皆不同，即便是以有彈性的塑膠板模擬，也無法反映出柔軟的羽狀葉在水中所受的阻力大小，即，當葉片相當柔軟的時候，羽狀可能比卵形更具順應力，此有待實驗證明。

那為何未浸沒環境中卵形葉數量較多？且某些時候也能出現不少羽狀葉？同樣僅考慮形狀下，猜測：(1) 發育出什麼葉形在未浸沒環境中較不嚴格，可能有某種限制因素在未浸沒環境中較不明顯。(2) 卵形葉具有某種優勢使他的數量較多，但不是那麼絕對。若葉片的柔軟程度不同會使葉形對阻力的影響不同，在先前探討解剖構造的結果中，未浸沒葉厚度約是 0.2mm ，浸沒葉則約是 0.1mm ，卵形與羽狀葉差異不大，較厚的未浸沒葉特性可能較符合剛體模擬的結果，也就是羽狀葉將承受較大的機械壓力。因此卵形葉在空氣中具有優勢可能為其所受的壓力較小，又因空氣的密度較小，需要較高的速度才能導致葉片的傷害，因此羽狀葉也能出現在未浸沒環境。

七、異葉水蓼中異形葉性的可能功能

在異葉水蓼中，異形葉性及環境皆會對葉片的解剖構造有所影響，而其中環境對其的影響較明顯。且當環境改變時，葉形的改變並不是立即的，需經過渡階段始得轉成另一種葉形。假設對浸沒或未浸沒環境相當重要的特徵，如角質層，在浸沒植株露出水面後經過數月才發展出，期間在空氣中發展出無角質層或具薄角質層的葉子，可能會因水分散失太快而乾枯，然而在空氣中具角質層但葉形為羽狀的葉子，並不會因葉形不是卵形而立即失去功能，因此我們認為當環境改變時，葉形的改變可能為非必要的。在他人的研究中，除了是否泡水外，溫度、濕度、光週期、光強度均能使異葉水蓼葉形發生改變，我們也觀察到在沒有刻

意調整環境因素下異葉水蓼衣即可發育出不同葉形，猜測由於某些因素，如溫度、光強度，在淹水下會改變，因此實際上葉形的改變是因為植物回應這些因素的變化(如溫度加上光強度的變化)而發生葉形改變，並非只是受淹水單一因素控制，致使沒有使用生長箱的我們無法做出和前人研究相同的結果。但葉形在不同環境出現的頻率確實有所不同，提示著葉形仍具有某種適應上意義。在軟體模擬中，葉片所受壓力模擬結果卻違背羽狀葉破碎的形狀有助於減少阻力的假說。可能由於葉子的柔軟程度使葉形對阻力的影響不同，若此為真，則能夠解釋為何在淹水實驗中，卵形葉植株及羽狀葉植株的浸沒適應無明顯差異，因未浸沒葉厚度約為浸沒葉的兩倍，此差異影響了葉片的柔軟度，使羽狀葉無法展現其順應性。葉片柔軟度影響葉形與阻力的關係仍待進一步實驗證明。

八、未來展望

本研究了解到，異葉水蓼衣葉片解剖構造特徵與發育環境較相關，與葉形較不相關，且注意到環境與葉形間可能具交互作用，然而其基因層面機制尚不清楚，未來希望能夠了解不同環境、不同葉形下基因表達之差異，以理解此現象。淹水實驗的結果未顯現卵形葉或羽狀葉何者較能適應浸沒環境，無法作為異葉水蓼衣之異形葉性具適應上意義的佐證，然而我們期望在不同實驗條件下能得出不同的結論，故期望未來能探討水流強度及風強度對葉形的影響。軟體模擬的結果與多數文獻的觀點不同，希望未來能針對柔軟度、葉形、阻力之間的關係進行研究。至今我國國內對於異葉水蓼衣及其他具有異型葉的研究並不多，期待增加對於兩棲植物適應水機制的理解，能夠應用在減少農作物因降雨變化劇烈導致收成受損的情況。

柒、結論

- 一、影響葉形發育的因素可能相當複雜。
- 二、葉形變化對於適應淹水可能並非必須。
- 三、葉片的解剖構造特徵與環境及葉形皆有關聯，而其中與環境的關聯較明顯。
- 四、單純以外源激素處理未必能影響葉形發育。
- 五、淹水一個月後，未浸沒卵形植株及未浸沒羽狀植株皆有缺氧的表現，顯示陸生植株在水中遭受逆境。
- 六、對於適應淹水，陸生卵形植株及陸生羽狀植株在適應力上並無顯著優劣之分，然而兩者的策略並不相同。
- 七、在剛體模型下，羽狀葉在高水速下所受壓力較卵形葉高。

捌、參考資料及其他

1. 王淑美、潘瑞熾 (2016)。植物生理學。臺北市：藝軒圖書出版社。
2. 王珉玟、劉澄芳、徐力行(譯)(2010)。流體力學。(原作者:Robert W. Fox, Philip J. Pritchard & Alan T. McDonald)。台北市:全華圖書出版社。
3. 陳紫嫻、葉瑾瑜、謝介士 (2010)。生物作用對水中 pH 值及鹼度之影響。水試專訊，32，44-46。
4. 張晏禎 (2016) 台灣產榕屬 (桑科) 植物葉片結構性狀之研究 (碩士論文)。取自臺灣博碩士論文系統。(系統編號 104NCHU5360025)
5. 張嘉滿(2004) 乙烯誘導芥藍葉片老化過程中之抗氧化反應 (碩士論文)。取自臺灣博碩士論文系統。(系統編號 092NTU05379028)
6. 楊斯羽(2015)。淹水及高溫逆境下陸稻幼苗之生理及分子特性分析 (碩士論文)。取自臺灣博碩士論文系統。(系統編號 103NCHU5417018)
7. 廖家蔚 (2007)。影響異葉水蓼生長及其異型葉產生之環境因子探討 (碩士論文)。取自臺灣博碩士論文系統。(系統編號 095NCUE5112008)
8. 賴錦怡(2010)。溫泉薤菜採收後生理及處理之研究(碩士論文)。取自臺灣博碩士論文系統。(系統編號 098NIU07378001)
9. Woodward, F. I. (1998). Do plants really need stomata? *Journal of Experimental Botany*, 49, 471-480 . Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/23695980>
10. Li, G., Hu, S., Yang, J., Schultz, E. A., Clarke, K., Hou, H. (2017). Water-Wisteria as an ideal plant to study heterophylly in higher aquatic plants. *Plant Cell Reports*, 36, 1225-1236.
11. Mommer, L., & Visser., E. J. (2005). Underwater Photosynthesis in Flooded Terrestrial Plants: A Matter of Leaf Plasticity. *Annals of Botany*, 96, 581-589.
12. Martha O. C., Clarence A. R. (1999) Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
13. Nakayama, H., Nakayama, N., Nakamasu, A., Sinha, N., & Kimura, S.

- (2012). Toward elucidating the mechanisms that regulate heterophylly. *Plant Morphology*, 24, 57-63.
14. William, G. Hopkins & Norman P. A. Hüner. (2008). *Introduction to Plant Physiology*. Hoboken, N.J. : Wiley.
 15. G. R. Leather, L. E. Forrence & F. B. Abeles. (1972). Increased Ethylene Production during Clinostat Experiments May Cause Leaf Epinasty. *Plant Physiol*, 49, 183-186
 16. Rogério Mendes, Carlos Cardoso, Carla Pestana. (2009). Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry*, 112, 1038 - 1045
 17. Genki Horiguchi, Kyosuke Nemoto, Tomomi Yokoyama, Naoki Hirotsu. (2019). Photosynthetic acclimation of terrestrial and submerged leaves in the amphibious plant *Hygrophila difformis*. *AoB PLANTS*, 11(2), 1-10
 18. Gregory Nishihara, Ontario, Canada & Josef Daniel Ackerman(2016). Mass transport in aquatic environments. ResearchGate.
 19. Ismail Albayrak, Vladimir Nikora, Oliver Miler & Matthew O' Hare(2012). Flow-plant interactions at a leaf scale: effects of leaf shape, serration, roughness and flexural rigidity. *Aquatic Sciences*, 74, 267 - 286.

【評語】 052109

1. 對異葉水蓼衣做了許多實驗和觀察，但是許多結果未能做出結論，沒有完整論述。
2. 有引用相關現代文獻，但研究主題的新穎性，應加以說明。
3. 本研究對異葉水蓼衣之羽狀及卵型異形葉進行探討，對兩棲植物適應水機制提供一些說明，但仍須後續做深入之探討。

摘要

本研究分為異葉水蓼葉之觀察、激素處理及浸沒生理測定及軟體模擬四大部分，探討葉形變化對浸沒適應的關聯。**解剖構造**方面，羽狀葉及卵形葉無普遍的特徵，浸沒葉及未浸沒葉解剖特徵差異大。**激素處理**後新生葉形沒有改變。**淹水處理**方面，發現羽狀植株發展出通氣組織、根部成長率較高，然而其MDA含量較卵形葉植株高；卵形植株未發展出通氣組織，明顯抽高，實驗後兩者的過氧化氫累積及總葉面積成長率無顯著差異。最後以**軟體模擬**葉片在流體中所受壓力，羽狀葉鋼體模型在高速水流下所受機械壓力較大。期待增加對於兩棲植物適應水機制的理解，並於日後應用在減少農作物因降雨變化劇烈導致收成受損的情況。

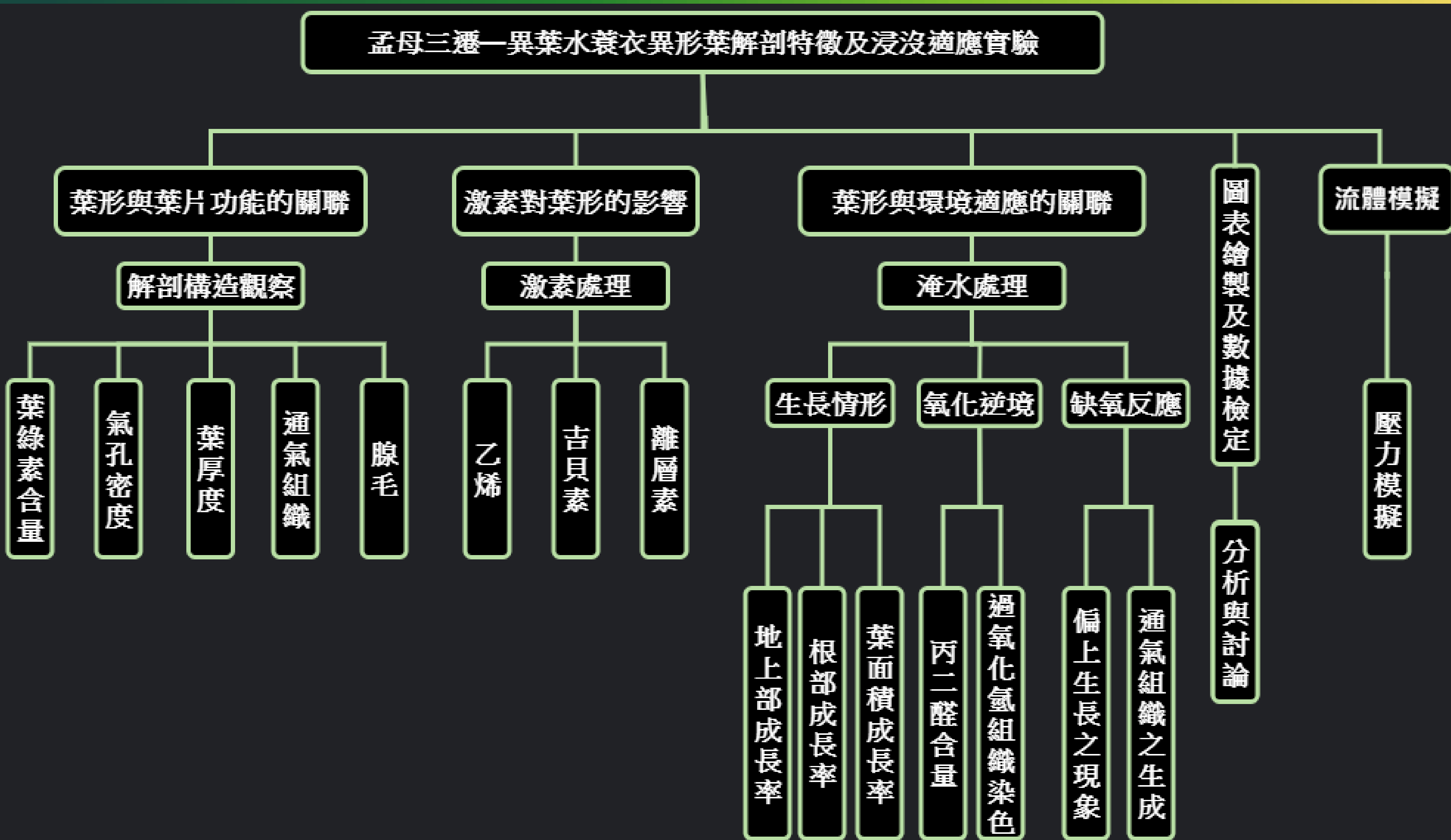


研究動機

在觀察到異葉水蓼葉形變化後，我們好奇，

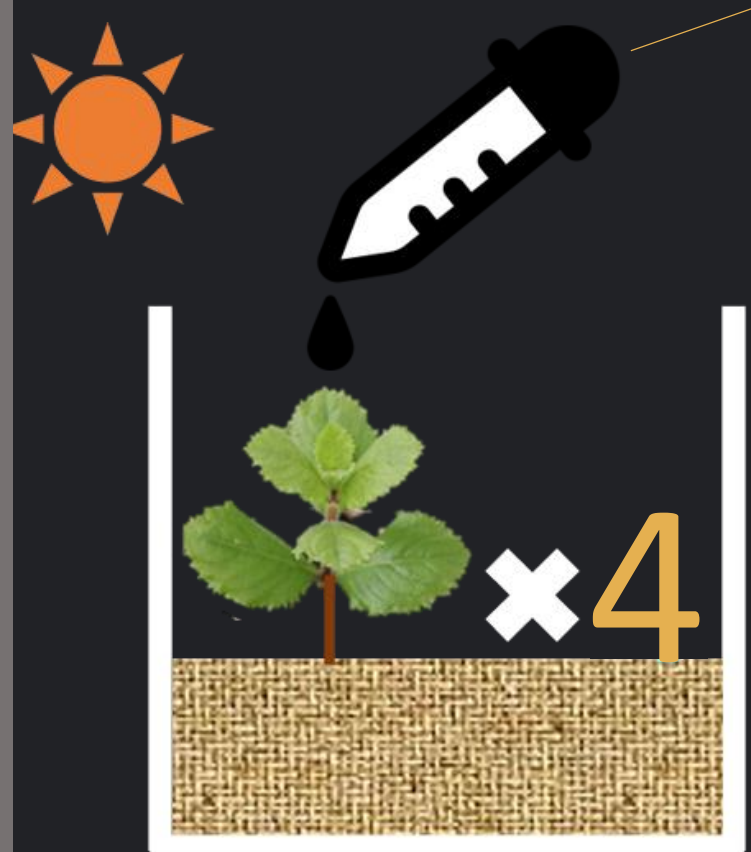
1. 葉形與葉片功能的關聯是什麼？
 2. 外在環境如何使植株做出改變新生葉形的回應？
 3. 不同的葉形能使植株更加適應其相對應的環境嗎？
 4. 到底為什麼沉水也能長卵形葉、挺水也能長羽狀葉？
- 為了得到答案，我們進行了本研究。

實驗流程圖與方法



• 激素處理

離層素100μm
吉貝素50μm
乙烯利100μm



analyze



(NEW)

Image J

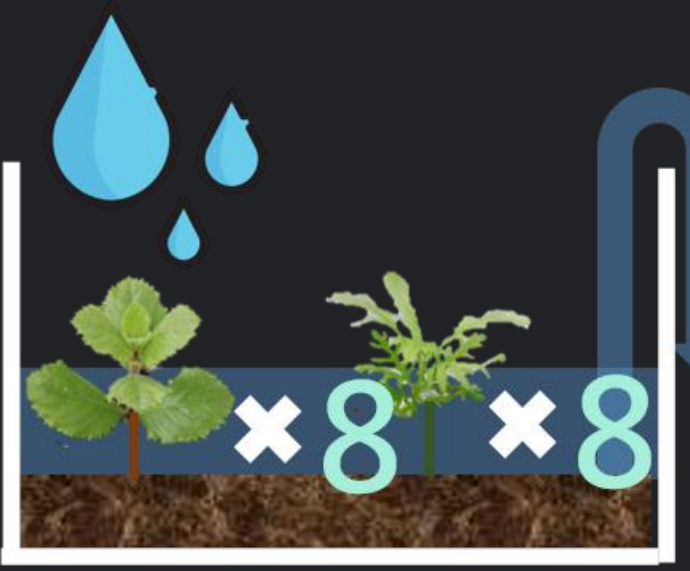
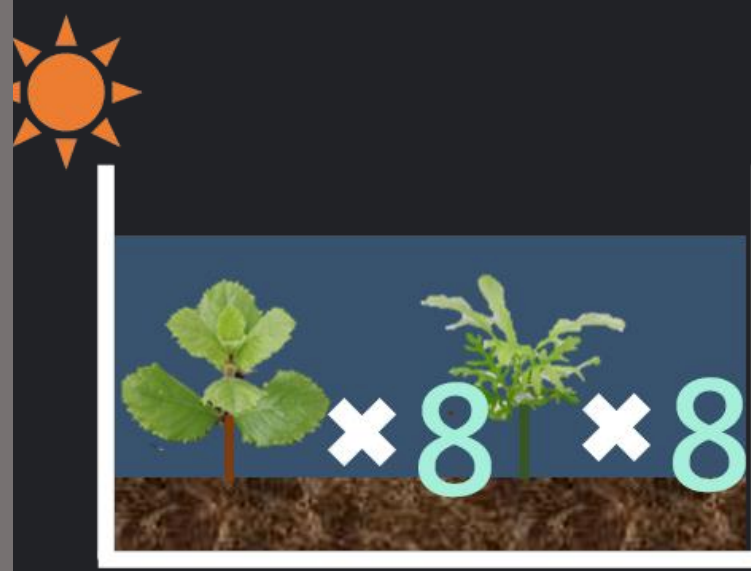
周長
面積

羽狀指數

*每週五天於中午滴100μl激素或水於莖頂。
2018年5月31至6月20日。共21天

• 淹水實驗

pH 平均=8.26
事先打氣一小時



地上部成長率
根部成長率
總葉面積成長率

DAB過氧化氫組織染色
丙二醛(MDA)含量

*2019年10月13日至11月14日。共32天

• 流體模擬

葉片繪製

軟體	Adobe Illustrator、SOLIDWORKS	
葉片	長度	56mm
	厚度	0.2mm

壓力模擬

軟體	SOLIDWORKS	
模擬速度	風	Y: 5 m/s Z: 4 m/s
	高速水流	Y: 0.5 m/s Z: 0.4 m/s
	低速水流	Y: 0.05 m/s Z: 0.04 m/s

參考資料

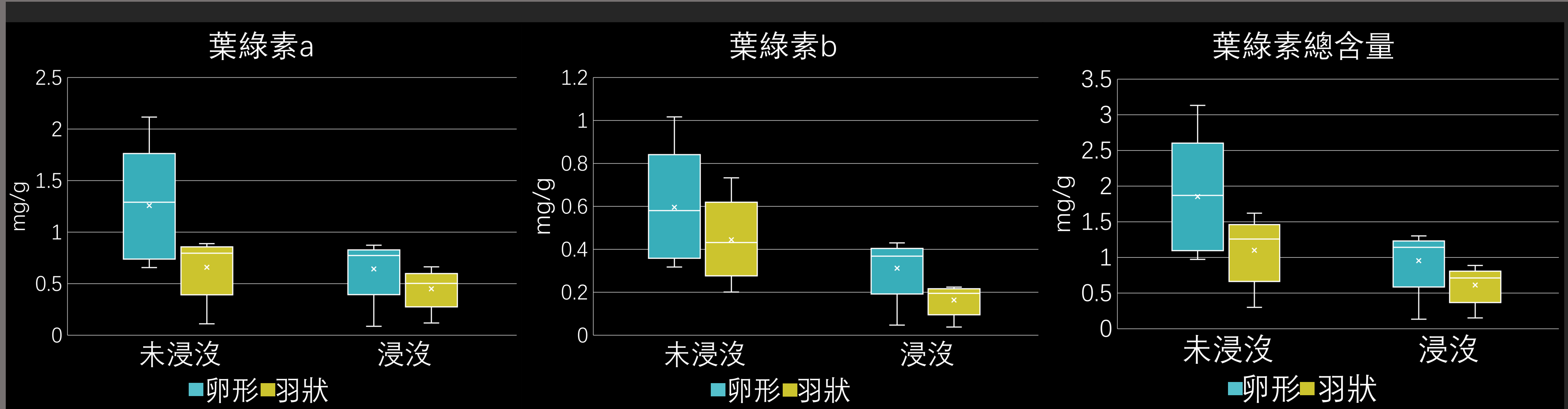
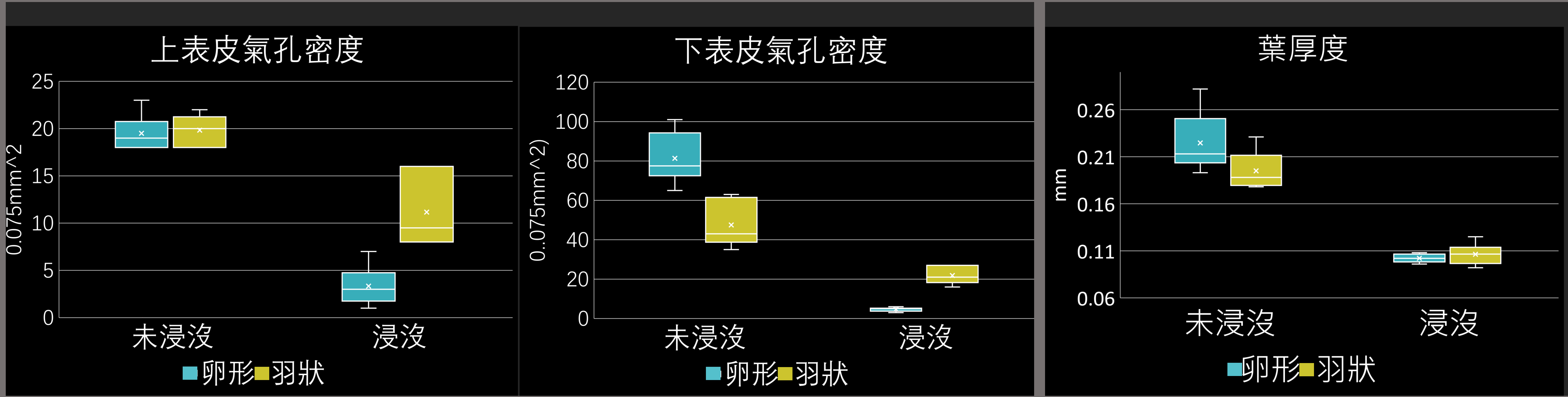
1. 廖家蔚 (2007)。影響異葉水蓼生長及其異型葉產生之環境因子探討。國立彰化師範大學：博碩士論文。
2. LIESJE MOMMER, & ERIC J. W. VISSER. (2005). Underwater Photosynthesis in Flooded Terrestrial Plants: A Matter of Leaf Plasticity. *Annals of Botany*, 96(4), 581-589. Retrieved June 3, 2019, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4247027/>

研究結果與討論

1 成長狀況及不同葉型解剖構造差異



		解剖構造			
		茸毛	柵狀-海綿組織	通氣組織	氣孔
未浸卵	#	#			#
未浸羽	#	#	#		#
浸卵				#	#
浸羽				#	#



氣孔數	
	浸沒環境
卵形葉	####
羽狀葉	###

→ “#” 越多表示氣孔越多->環境影響較大

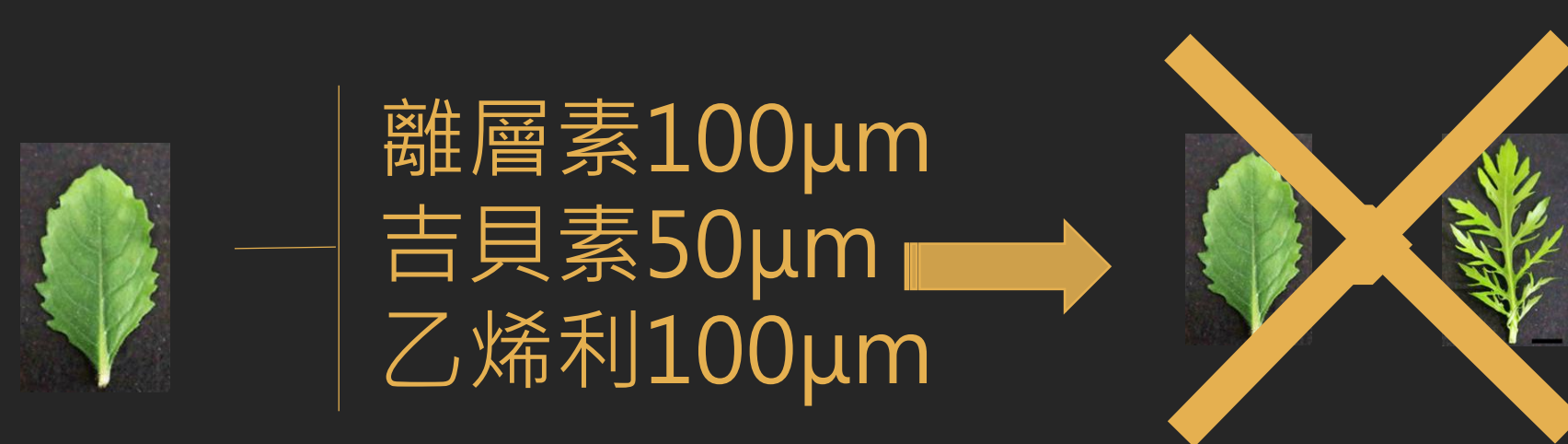
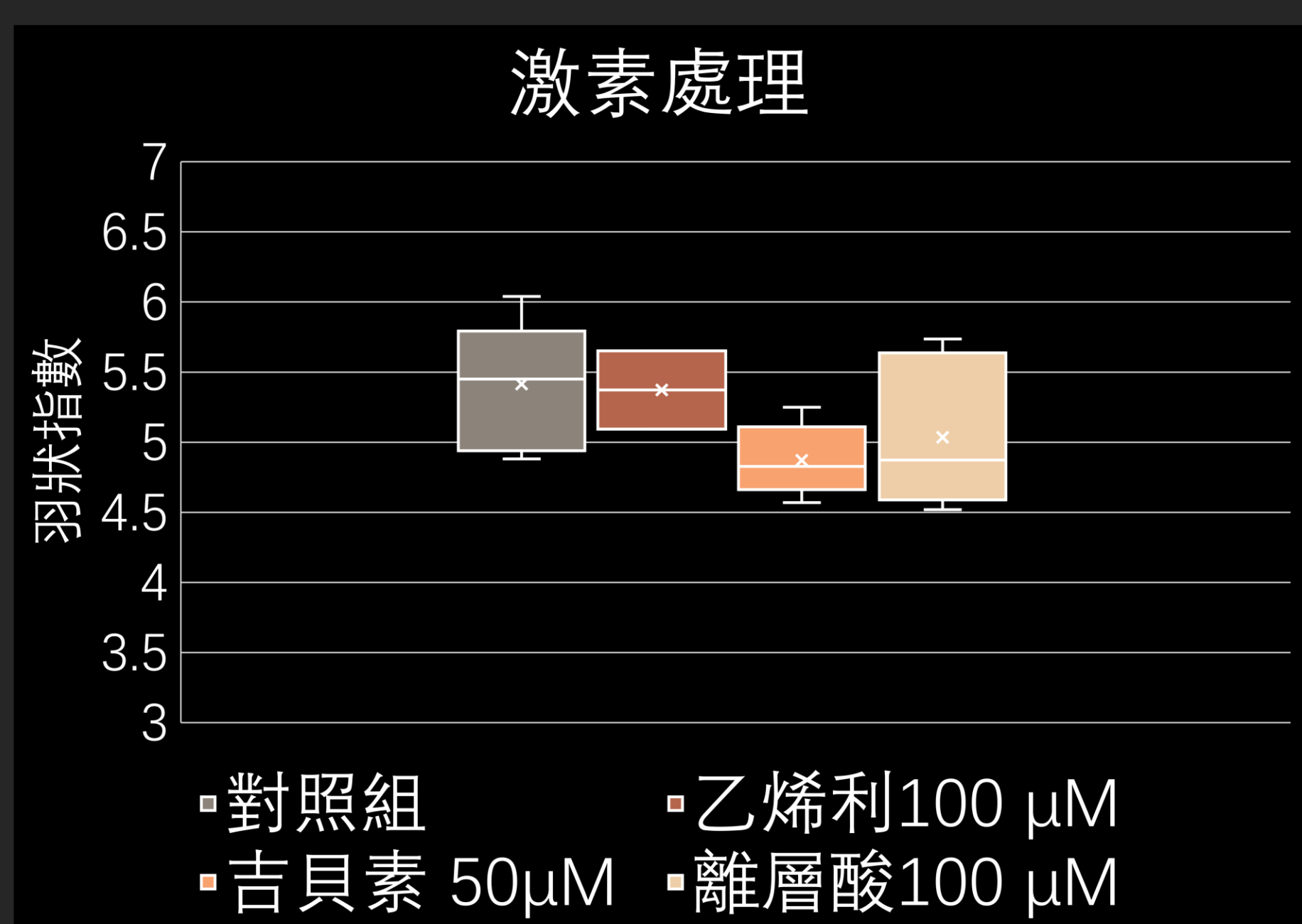
	浸沒環境	未浸沒環境
卵形葉	#	####
羽狀葉	##	###

		茸毛	柵狀-海綿組織	氣孔數	葉厚度	葉綠素含量
環境	葉形	#	#	#	#	#
浸沒	卵形	#	#	#	#	#
浸沒	羽狀	#	#	#	#	#

→ 環境與葉形皆影響其解剖構造。

- 通氣組織這項特徵僅在未浸沒卵形葉沒有表現。
- 影響異葉水蓼葉片解剖構造的主要因素為葉片發育的環境，次要因素為葉形。且異葉水蓼發展出羽狀葉或卵形葉可能不會造成其適應環境的能力降低。

2 激素處理

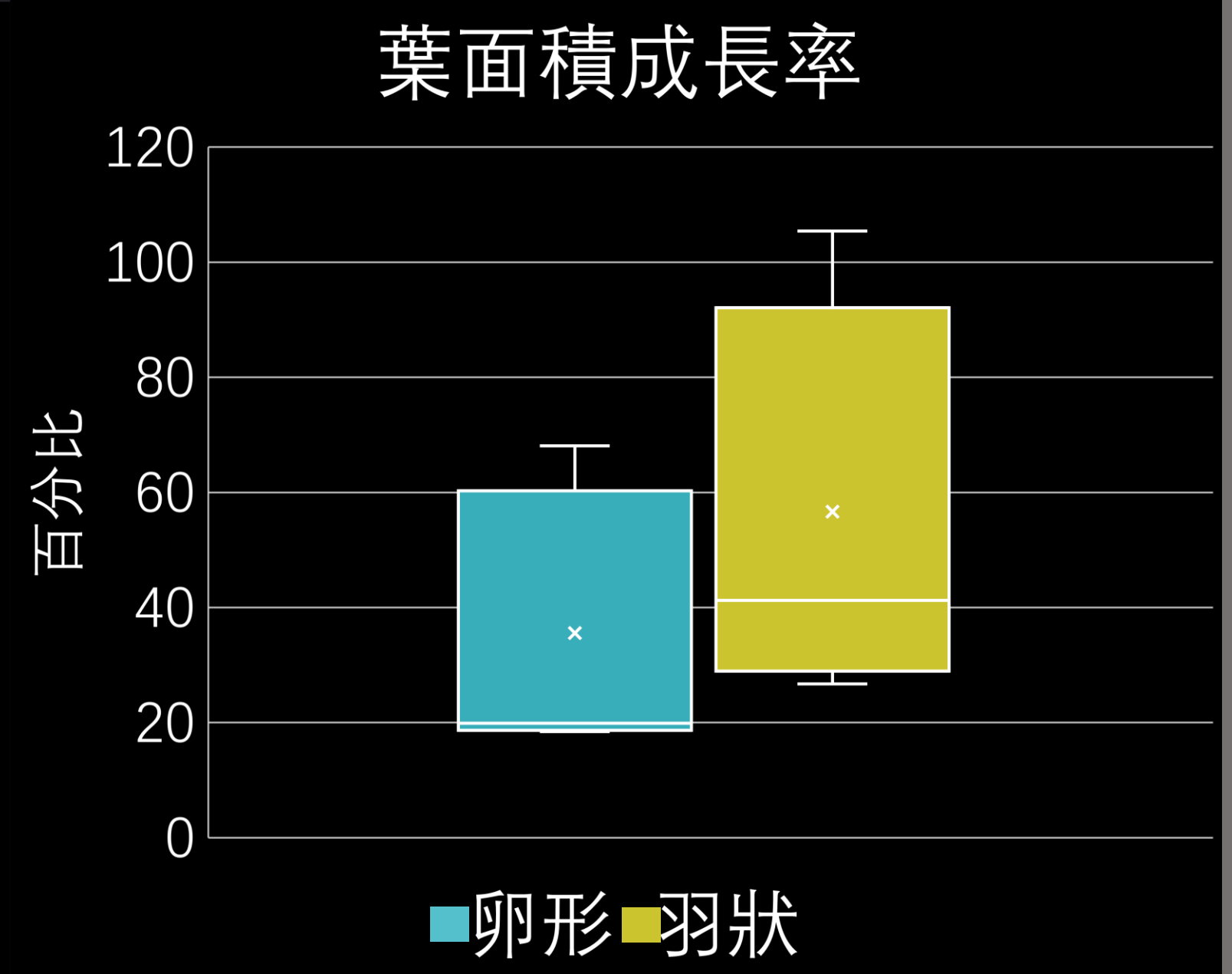
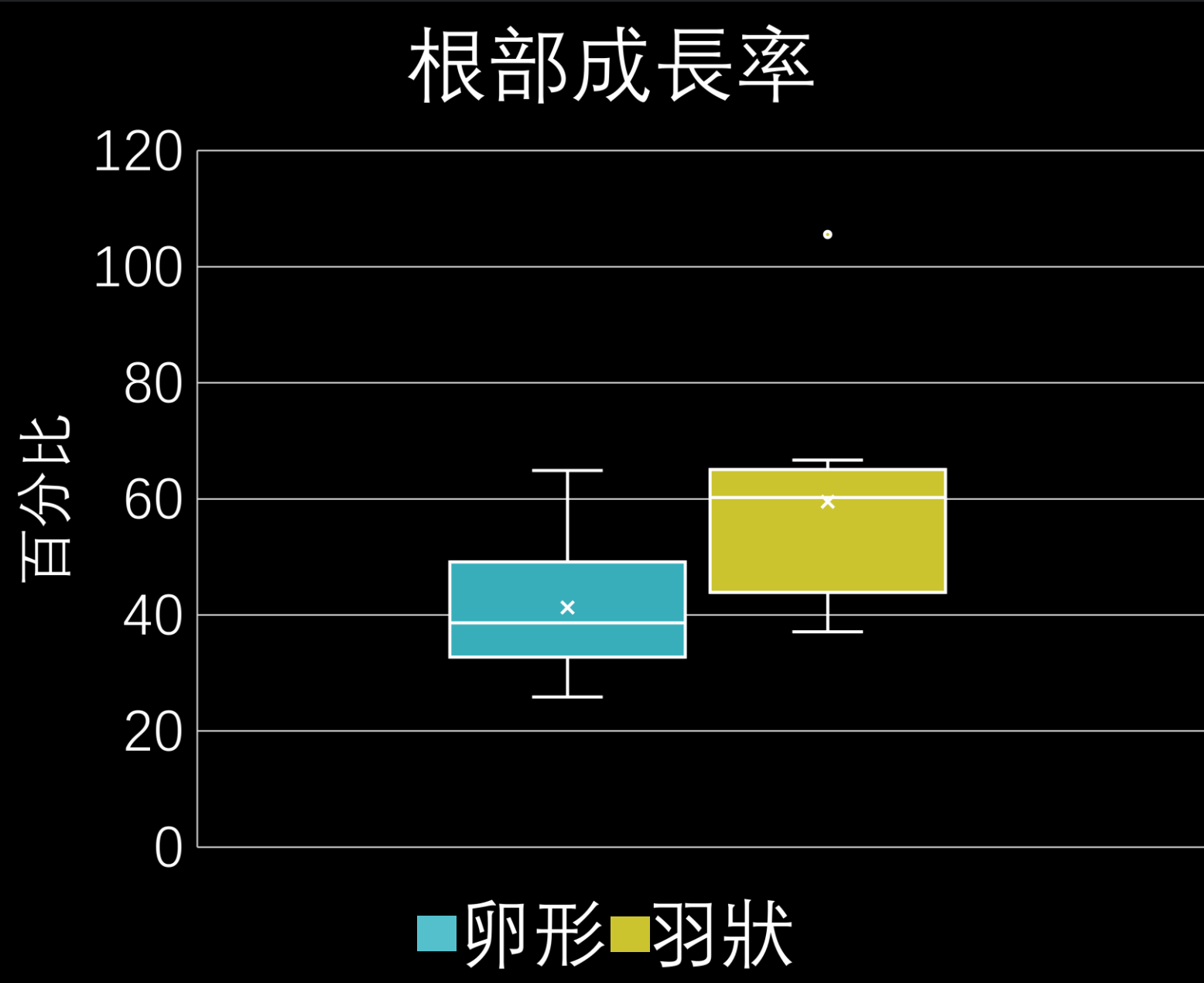
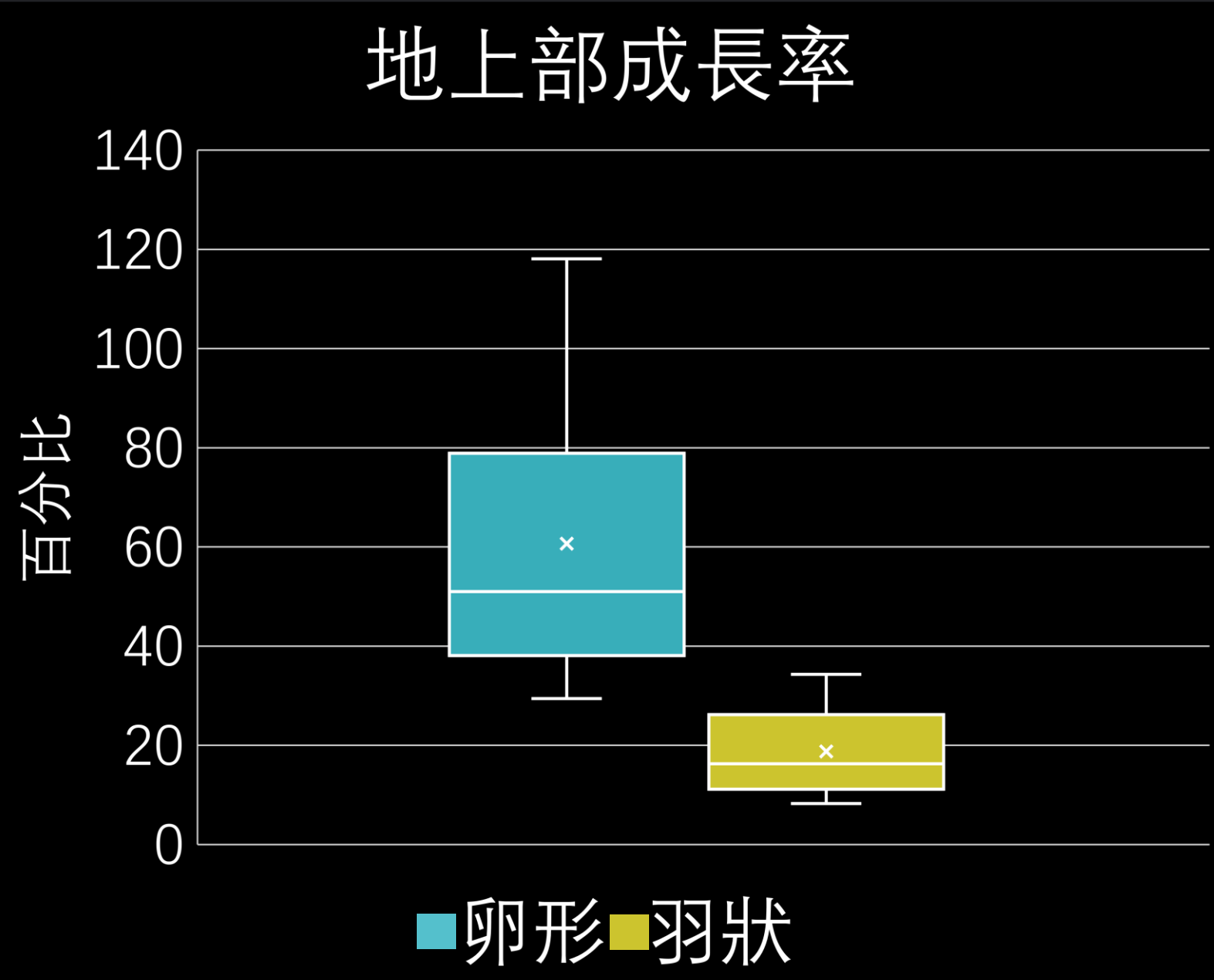


葉形無變化可能原因：
 1. 進入植株替內的激素濃度並非造成葉形變化的對應濃度。
 2. 其他環境因素對葉形的影響比外加激素大，如本實驗之澇害環境、室外種植。

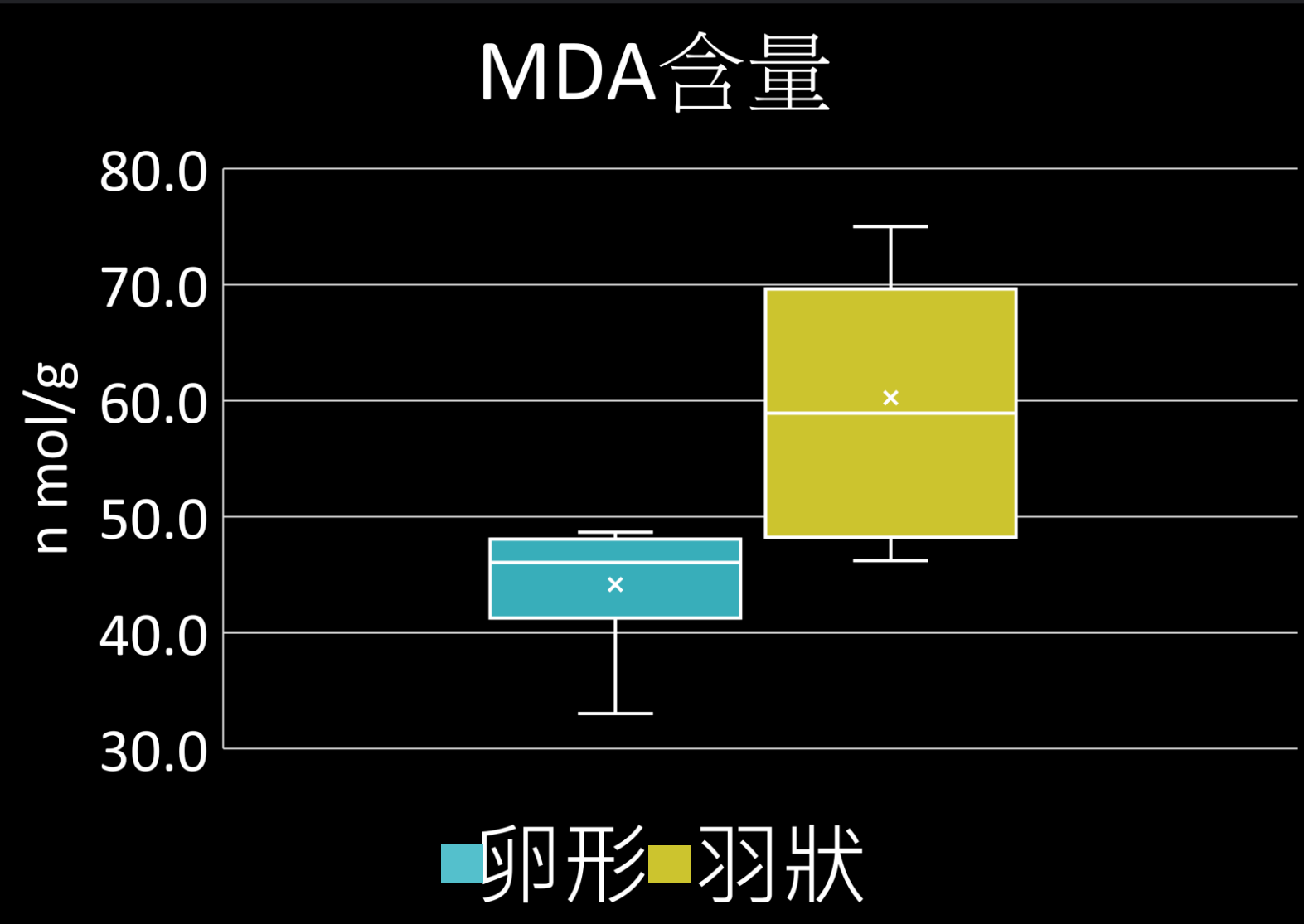
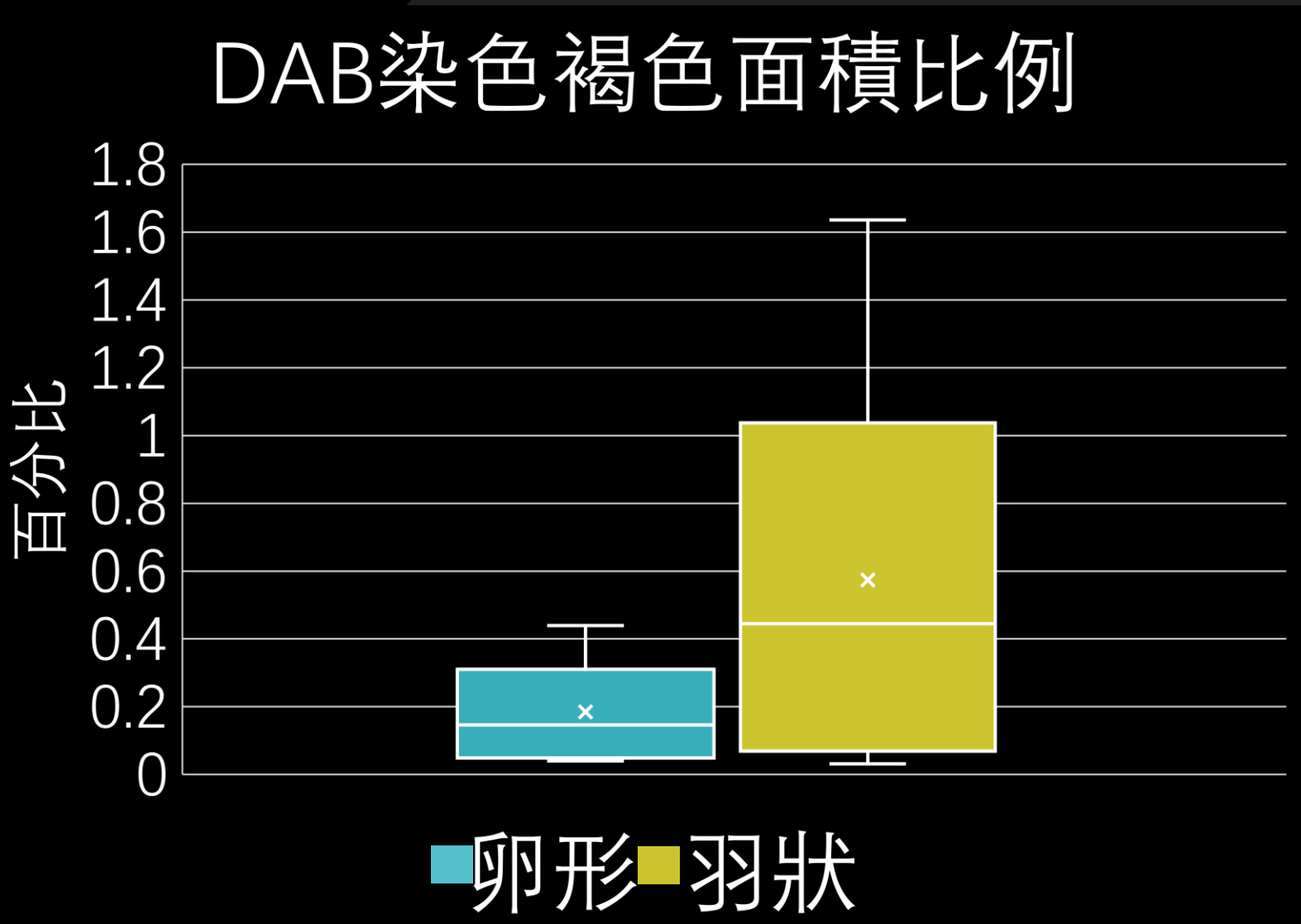
- 由於以外加激素探討激素對植物生長的影響時，無法得知實際進入植物體內激素的量，因此此方法並不準確，較準確的是以激素相關突變株進行實驗。

3 淹水處理

植株成長狀況



氧化逆境

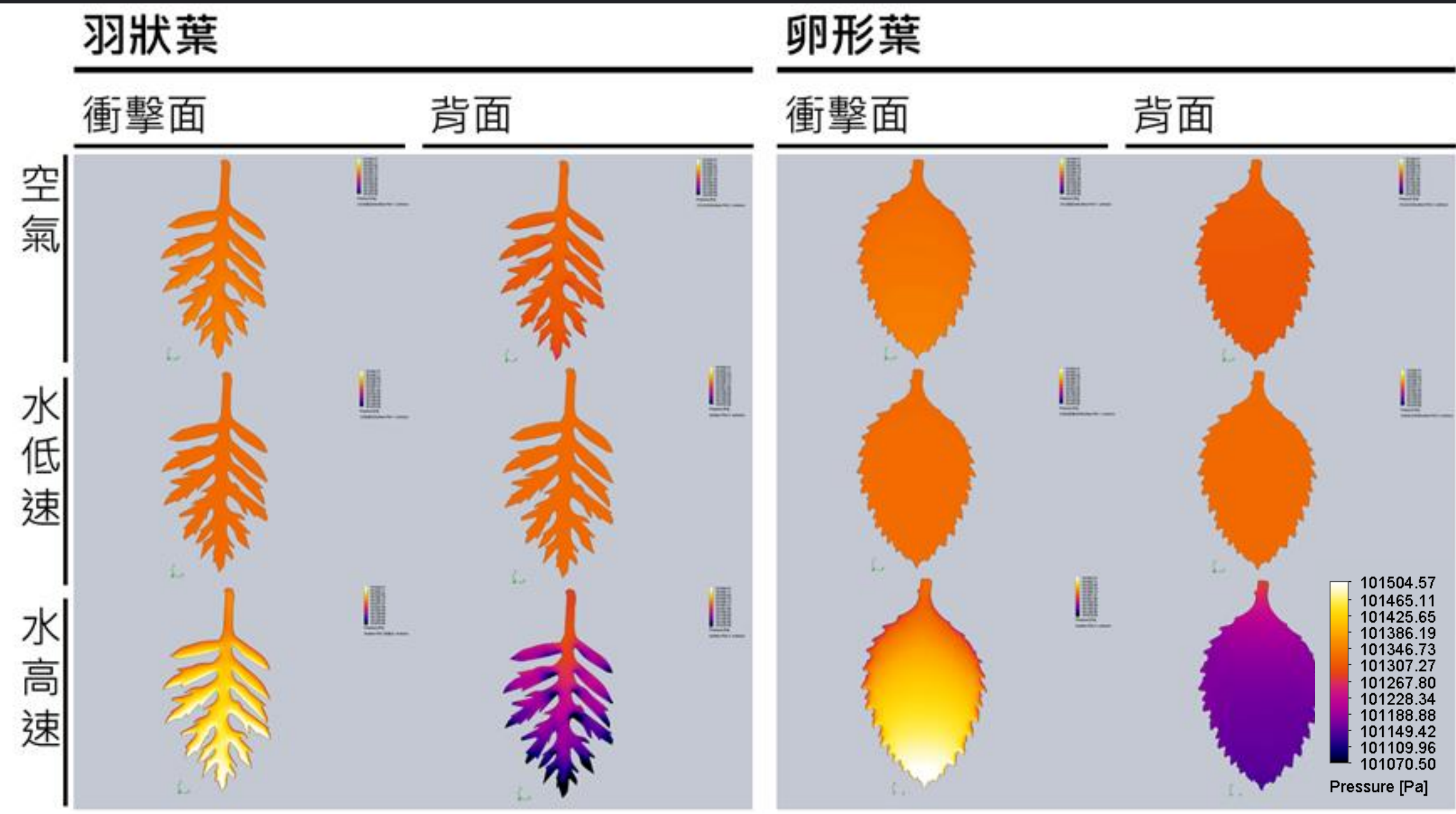


檢定表格

	卵形葉植株	羽狀葉植株
根部成長率		顯著較高(P<0.01)
地上部成長率	顯著較高(P<0.05)	
總葉面積成長率	無顯著差異	無顯著差異
DAB染色面積	無顯著差異	無顯著差異
MDA含量		顯著較高(P<0.01)

- 快速增加植株高度為卵形葉逃離淹水的表現。
- 羽狀葉植株生長略優於卵形葉植株。
- 淹水時羽狀葉植株氧化壓力較大。
- 卵形葉具備上生長之現象卻不具通氣組織：
 - 造成兩者的乙烯濃度不同。
 - 此現象非偏上生長。
 - 淹水下產生之通氣組織非溶生性，為裂生性。

4 流體模擬



- 高水流下羽狀衝擊面、背面壓力差較明顯
- 若剛體模擬結果具一定參考價值：
 - 羽狀葉可能承受較大機械壓力。
 - 羽狀葉在水中有另外的優勢。
 - 異葉水蓼衣的生存環境流速不高。
- 若剛體模擬結果與真實相差甚遠：
 - 葉子剛性越強塑性越小，模擬可信度可能越大。
 - 相較浸沒葉，未浸沒葉(較厚)可能較接近本模擬結果。

結論

1. 解剖構造

根據我們的實驗，葉片的解剖構造特徵與環境及葉形皆有關聯，而其中與環境的關聯較明顯。我們認為影響葉形發育的因素可能相當複雜，葉形變化對於適應淹水也可能為非必須。

2. 激素處理

在我們的實驗條件下，乙烯、離層素、吉貝素皆無法使異葉水蓼衣葉形發生明顯改變。顯示單純以外源激素處理未必能影響葉形發育。

3. 淹水處理

淹水一個月後，未浸沒卵形植株及未浸沒羽狀植株皆有缺氧的表現，顯示陸生植株在水中遭受逆境。然而陸生卵形植株及陸生羽狀植株在淹水環境的適應力上並無顯著優劣之分，不過兩者的策略並不相同。

4. 軟體模擬

在剛體模型下，羽狀葉在高水速下所受壓力較卵形葉高。

未來展望

我們期望未來能藉由研究異葉水蓼衣基因層面上的機制來了解其解剖構造特徵相較葉形與發育環境較有關的原因，以及葉形與環境間的交互作用關係。也期望未來能以柔軟材質進行水流模擬，作為異葉水蓼衣之異形葉性具適應上意義的佐證。至今我國國內對於異葉水蓼衣及其他具有異型葉的研究並不多，期待增加對於兩棲植物適應水機制的理解，能夠應用在減少農作物因降雨變化劇烈導致收成受損的情況。