

中華民國第 61 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國中組 生物科

佳作

030306

欲顏又紫追根究柢 - 紫葉酢漿草的抗逆境研究

學校名稱：臺中市立雙十國民中學

作者： 國一 黃睿怡 國一 游景涵 國一 陳宥維	指導老師： 林敬舒
---	------------------

關鍵詞：紫葉酢漿草、逆境、色素

摘要

本研究主要以紫葉酢漿草為研究對象，探究其處在日照、酸鹼度和水分等不同逆境時的形態與生理反應，同時以黃花酢漿草作為對照。

研究結果顯示，除了形態上的差異之外，當日照縮短，紫葉和黃花酢漿草的葉內色素含量會先增後減，但紫葉酢漿草的色素分解速度較慢。同時，葡萄糖與花青素含量的變化趨勢呈正相關，與防止光抑制作用產生有關。

在不同酸鹼度影響下，紫葉酢漿草較不耐酸性，此時的花青素含量最低，但葡萄糖最高。而乾旱一個月後，部份葉片會變色或萎焉，葉內的各類色素含量皆變低，但葡萄糖含量會增加。此時花青素與葡萄糖含量呈負相關。因此，除葉綠素 a 含量外，利用花青素與葡萄糖的比例關係，未來應可發展成植物是否處於逆境的有效指標。

壹、研究動機

最近運氣總是不太理想，常常覺得結果怎麼都和想得不一樣。所以利用下課時間到學校的花圃看看，想找找傳說中的四葉幸運草(黃花酢漿草)，如果找到，說不定可以改變一下命運與手氣。在尋找的過程中，無意中發現跟黃花酢漿草長得相似，但卻是紫色的植物。詢問老師才知道，原來這種紫色的植物名叫「紫葉酢漿草」，是源自野外酢漿草驅化來的園藝種。

在上網初步查了這種植物的資料後，發現紫葉酢漿草有許多有趣之處，除了代表愛國、幸運與復活節等花語之外，我們也開始懷疑這類植物究竟有什麼功能？紫色的葉片上是否一樣存有葉綠體？是何種色素促使他變成紫色的？在我們查到的相關資料中顯示，這些因素可能都和葉內色素含量與組成變化有很大的關係，而這些變化又受到外在環境的強烈影響。例如陳(2015)的研究顯示紫外輻射會減少植物的葉面積、抑制下胚軸伸長、降低光合作用和生產力，但同時也可能誘導類黃酮色素的合成和花青素的產生以提高防禦機制。蔡(2009)的研究也證實，湖泊中的滿江紅在遭受重金屬汙染的狀況下，會改變細胞內色素的比例來提高體內的過氧化氫酶活性，例如過氧化酶(Guaiacol Peroxidase, G-POD)、過氧化氫酶(Catalase, CAT)等。

這些種種的新知識遠遠超出國一所學的光合作用單元，讓我們愈想愈入迷，同時也激起了我們的好奇心和不服輸的決心，因此我們決定要一起探討這種特別的植物，想要對他們有更進一步的瞭解。

貳、研究目的

- 一、比較紫葉酢漿草與黃花酢漿草的形態構造差異。
- 二、比較紫葉酢漿草與黃花酢漿草的葉內色素差別。
- 三、瞭解日照逆境對紫葉酢漿草與黃花酢漿草的影響。
- 四、瞭解酸鹼逆境對紫葉酢漿草的影響。
- 五、瞭解乾旱逆境對紫葉酢漿草的影響。

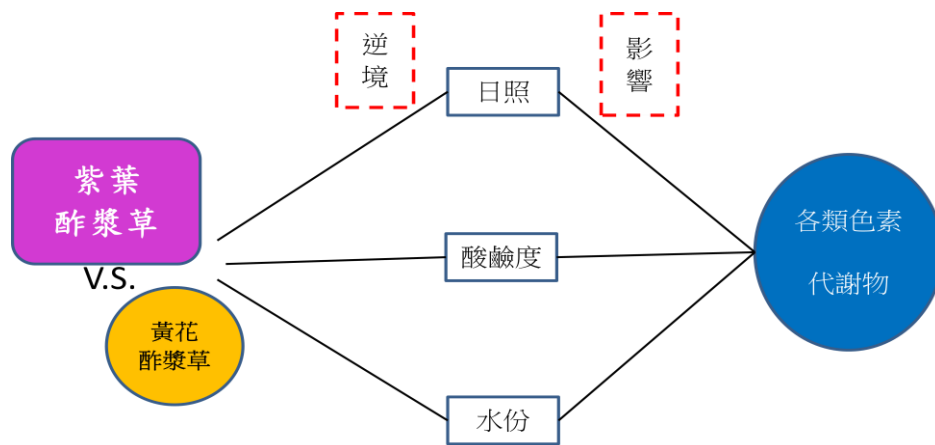


圖 1 本實驗的研究架構圖。

參、研究設備及器材

一、研究材料

紫葉酢漿草、黃花酢漿草、石油醚、90%丙酮、本氏液、碘液、氫氧化鈉、鹽酸等。

二、研究設備

複試顯微鏡、蓋玻片、載玻片、電子秤、分光光度計、酸鹼度測定儀、口罩、手套、廣用試紙、圓形濾紙、長條厚濾紙、比色管、洗瓶、鑷子、毛細管、研鉢與杵、量筒、紗布、鋁箔紙、燒杯、培養皿、滴管、數位相機、電腦、影相截取軟體、影相分析軟體等。

肆、研究過程與方法

一、實驗設計

除了對紫葉酢漿草與黃花酢漿草進行詳細的形態觀察之外，本實驗共對三種逆境變因進行測試，分別為"日照"、"酸鹼度"和"水份"(圖 1)，實驗設計如下：

(一)日照逆境對紫葉酢漿草與黃花酢漿草的影響

1.將紫葉酢漿草(圖 2)與黃花酢漿草(圖 3)盆栽各分成四組，分別為：無日照組、半日照強光組、半日照弱光組、全日照組。每日定量分別給各組 50 ml 的 RO 水。

(1)無日照組：植物處於 24 小時黑暗狀況。以鋁箔紙包覆數片葉片，並於實驗開始一周、二周和三周後，分別採葉面檢測。

(2)半日照強光組(正常日照)：植物處於 12 小時日照、12 小時黑暗狀況。即於野外環境正常生長的植株，不做任何處理。

(3)半日照弱光組：植物處於 12 小時日照、12 小時黑暗狀況。將植株移入室內窗戶邊，使其日照強度弱化。

(4)全日照組：植物處於 24 小時日照狀況。將植株於白天時置於室外，但傍晚後移入室內並置於人造燈源下，使其 24 小時皆處在光照狀況下。

2.二個星期之後，由上述各組植物上分別取其葉子，對葉內的色素和代謝物含量進行測定，包括胡蘿蔔素、葉黃素、葉綠素、花青素、葡萄糖等。



圖 2 不同日照處理的紫葉酢漿草。(A)無日照組；(B)半日照弱光組；(C)全日照組。



圖 3 不同日照處理的黃花酢漿草。(A)無日照組；(B)半日照強光組(正常日照)；(C)全日照組。

(二)酸鹼逆境對紫葉酢漿草的影響

- 1.利用鹽酸(HCl)和氫氧化鈉(NaOH)，將 RO 水分別調整成 pH 5.0、pH 7.0 和 pH 9.0。
- 2.將紫葉酢漿草盆栽分成三組，分別為酸性水源組、中性水源組和鹼性水源組。
- 3.每日定時定量分別供給不同酸鹼度的水 50 mL，持續 30 天。
- 4.除觀察外形變化之外，並對葉內各類色素與代謝物進行測量。

(三)水分逆境對紫葉酢漿草的影響

- 1.將紫葉酢漿草盆栽分成二組，分別為正常供水組和乾旱組。
- 2.正常供水組，每日定時定量分別供水 50 mL，持續 30 天。
- 3.乾旱組，完全不供水，持續 30 天。
- 4.除觀察外形變化之外，並對葉內各類色素與代謝物進行測量。

二、分析與檢測方法

(一)形態觀察

- 1.取紫葉酢漿草與黃花酢漿草的各部份構造，包括根、莖、葉、花、果實、種子等。
- 2.詳細觀察並記錄各項構造的特徵和差異。
- 3.使用複式顯微鏡觀察細部結構，包括表皮細胞、氣孔、花粉、花藥等。

(二)濾紙色層分析

- 1.用電子秤秤好各受試樣本的新鮮葉片 0.5 g。
- 2.將 4.5 ml 的石油醚及 0.5 ml 的丙酮置於 10 mL 量筒為展開液。
- 3.把受試葉片和 10 mL 的丙酮分別放入研鉢，研磨呈泥狀。
- 4.將圓形濾紙置於燒杯上，倒入萃取液於燒杯中。
- 5.用毛細管吸取萃取液，點在尖頭長條濾紙底部上方 3 cm 處。
- 6.將長條濾紙放入量筒，約 0.5 cm 浸入展開液中，並以鋁箔將筒口封閉。
- 7.等待 30 分鐘，觀察色素在濾紙上的分布情形(圖 4A)。

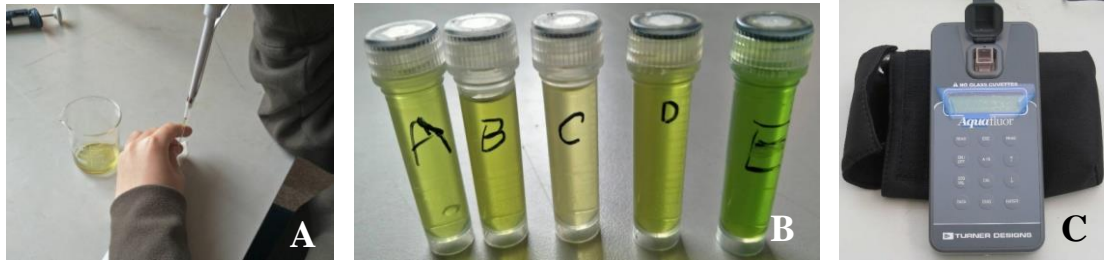


圖 4 色素萃取的實驗過程。(A)濾紙色層分析過程；(B)待測萃取液；(C)葉綠素 a 測定儀。

(三)葉綠素 a 含量測定

- 1.在色層分析以丙酮萃取葉綠素的同時，另取 2 mL 過濾液，保存於待測瓶中(圖 4B)。
- 2.利用葉綠素 a 測定儀(圖 4C)檢測過濾液中含有的葉綠素 a 含量。

(四)葡萄糖含量測定

1.本氏液比色法

- (1)利用電子秤量取相同重量(1.0 g)的待測試葉片。
- (2)以 90%丙酮隔水加熱，待葉綠素、花青葉退去至葉片略呈白色。
- (3)將變色的葉片置於試管中，加入 10 mL 本氏液。
- (4)隔水加熱，20 分鐘後，拍照並分析其呈色變化(圖 5)。



圖 5 葉片去色素的實驗過程。(A)丙酮隔水加熱；(B)退色後的紫葉酢漿草葉片；(C)退色後的黃花酢漿草葉片。

2.硫酸法

(1)葡萄糖萃取

- a. 取 1 g 待測葉，置於 50 mL 有蓋離心管中，加 RO 水定量至 10 mL。
- b. 加入 60 μ L 甲醛，置於 4°C 冰箱，1 小時。

- c. 加入 4 mL 1M 的氫氧化鈉，置於 4°C 冰箱，3 小時。
- d. 離心機以 4000 rpm 離心 10 分鐘，再取 1 mL 用分光光度計測吸光度 OD 490。
- e. 以酚-硫酸法(Phenol-Sulfuric acid)測定多糖體含量。
- f. 以葡萄糖製作濃度迴歸線，推估待測葉中的葡萄糖濃度。

(2)葡萄糖標準曲線製作與酚-硫酸法(Phenol-Sulfuric acid)

- a. 配製已知濃度葡萄糖：0、25、50、75、100、150 和 200 mg/L。
- b. 取 1 mL 於試管中，先加入 0.5 mL 的 5% 酚。
- c. 再加入 2.5 mL 的濃硫酸。
- d. 靜置 30 min，顏色穩定呈橘黃色後，以分光光度計測 OD 490 (圖 6)。

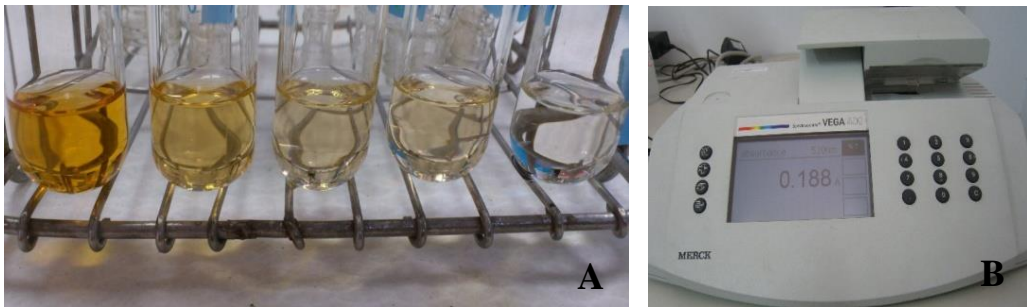


圖 6 葡萄糖含量的測定。(A)酚-硫酸法測定葡萄糖；(B)分光光度計。

(五)澱粉含量的測定

1. 摘取各待測試葉片一片。
2. 將各葉片分批以 95% 酒精隔水加熱，待其內色素退去至葉片略呈白色。
3. 清洗葉片後，加入碘液，靜待 5 分鐘，觀察其變色結果。

(六)花青素含量的測定

1. 利用電子秤量取相同重量(1.0 g)的待測試葉片。
2. 加入 100°C 熱水，浸泡 20 分鐘後，拍照並分析其呈色變化。

(七)分光光度計的使用

1. 先調配不同比例濃度的稀釋液，分別為 2.5%、5%、10%、20%、40%、60%、80%、100%，建立受試液的標本曲線。
2. 將受試液置入分光光度計後，進行三重複測量。

(八)資料分析

1. 自由軟體 Image J
 - (1) 將全彩圖檔改成灰階 8-bit 檔案。
 - (2) 先選定 Analyze 中的 Calibrate 選項，以 UnCalibrated OD 進行校正。
 - (3) 圈取欲分析的色塊範圍，以 Analyze 中的 Plot Profile 進行顏色深淺分析。
 - (4) 將欲分析的範圍，左右扣除 10% 的面積(試管玻璃反光造成的誤差)，計算中間 80% 的

面積，以此當成色澤分析結果。

2. Microsoft Excel

(1)利用所得色素含量的數據，輸入 Microsoft Excel。

(2)製作曲線圖或趨勢圖，同時製作迴歸方程式。

伍、研究結果

一、紫葉酢漿草和黃花酢漿草的比較

(一)形態特徵

1.紫葉酢漿草

學名：*Oxalis triangularis* Oxalis

別名：三角紫葉酢漿草、紅葉酢漿草等

型態：多年生宿根草本。葉呈紫紅色，叢生，具長柄，三出複葉，最上端有倒三角形小葉3枚。莖為鱗莖，花和葉分別從埋於土壤中的鱗莖長出。花呈粉紫色，繖形花序，花瓣5片，10個雄蕊，5長5短。花朵會在一天內，閉合、打開、再閉合。不結果實，主要由土中的地下鱗莖進行無性繁殖(圖7-8)。



圖7 紫葉酢漿草的植株形態結構。(A)野外植株；(B)粉色花朵；(C)地下莖。

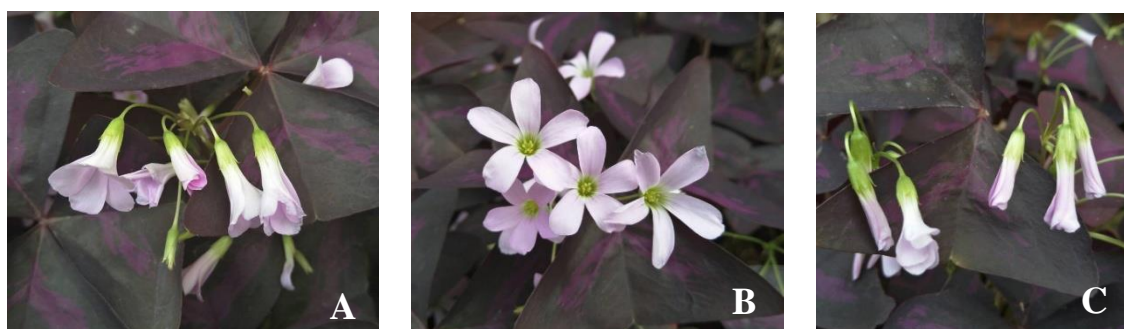


圖8 紫葉酢漿草的花朵於一天內的開花變化。(A)早上，花朵閉合；(B)中午，花朵盛開；(C)傍晚，花朵再次閉合。

2.黃花酢漿草

學名：*Oxalis corniculata* Linnaeus

別名：鹽酸草、酢漿草、酸味草等

型態：多年生匍匐性草本。葉呈綠色，互生，有長柄，三出複葉，小葉3枚，葉端上密佈細毛。莖匍匐在地上生長。花黃色，1至數朵長在總花梗的頂端，花瓣5片，10個雄蕊，5

長5短。花朵會在一天內，閉合、打開、再閉合。果實呈蒴果狀，成熟時會將褐色的種子彈出。顯微鏡的觀察顯示，未成熟的種子呈帶鉤狀的橢圓形小顆粒，但成熟之後，鉤狀物會退化消失(圖9)。

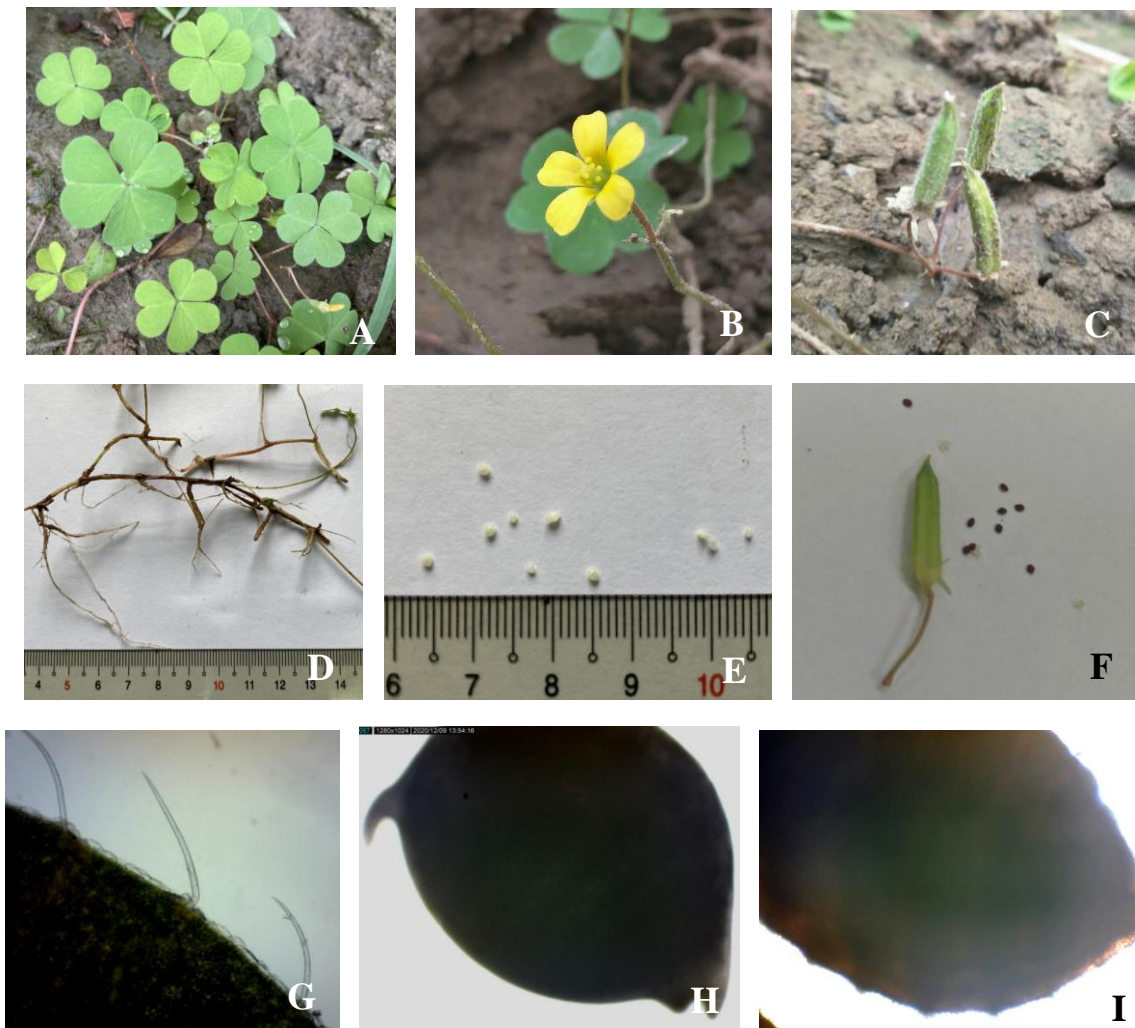


圖9 黃花酢漿草的植株形態結構。(A)野外植株；(B)黃色花朵；(C)蒴果；(D)匍匐莖；(E)未成熟種子；(F)成熟種子；(G)葉緣細毛(100X)；(H)未成熟種子(100X)，具勾狀突出；(I)成熟種子(100X)，勾狀突出退化。

3. 紫葉酢漿草與黃花酢漿草的形態比較

紫葉酢漿草與黃花酢漿草的主要形態差別如表一所列。基本上，紫葉酢漿草植株比黃花酢漿草大上數倍。葉形前者小葉呈三角形、後者為心形，面積上相差約9倍。在直立莖部份，紫葉酢漿草的直立莖寬度約為黃花酢漿草直立莖的2倍。另外，紫葉酢漿草主要以地下的鱗莖進行無性生殖，而黃花酢漿草則具有在地表爬行的匍匐莖(表一；圖10)。

在花朵構造的比較上，主要差異為大小和花色，雄雌蕊的數量並無異(圖11)，且兩者都會在一天之內，由早晨的閉合狀，中午的盛開狀，到傍晚後又回到閉合狀。在實驗過程中，並無發現紫葉酢漿草有果實和種子的形成，而黃花酢漿草的果實是綠色的香蕉狀蒴果，成熟時內含有褐色的種子，可經彈力爆開拓殖(圖9)。

顯微鏡的觀察顯示，紫葉酢漿草與黃花酢漿草的表皮細胞形狀相差不大，都呈不規則的

雲朵狀。在相同單位面積上，黃花酢漿草的氣孔數量明顯較紫葉酢漿草的氣孔數量多(圖 12-13)。花藥與花粉部份，紫葉酢漿草的花椰菜狀花藥上有長橢圓型的花粉粒，而黃花酢漿草的橢圓型花藥上可見橢圓型的花粉(表一；圖 14-15)。

表一 紫葉酢漿草與黃花酢漿草的形態比較(*氣孔數量 = 個 / 100x 視野)。

	紫葉酢漿草	黃花酢漿草
生長型	多年生宿根草本	多年生匍匐性草本
植株高度(cm)	28.7±2.2	5.8±0.9
葉形	三角形	心形
葉面積(cm ²)	18.2±0.8	2.1 ±0.2
直立莖直徑(mm)	~2.0	~1.0
根系	鬚根	鬚根
花	紫紅色	黃色
果實(cm)	無	香蕉狀蒴果，1.7±0.3 × 0.2±0.1
種子	無	褐色帶鉤狀小顆粒
表皮細胞	不規則	不規則
氣孔數量*	4.8±0.7	15.2±1.6
花藥形狀	花椰菜狀	橢圓型
花粉形狀	圓至長橢圓型	圓至橢圓型

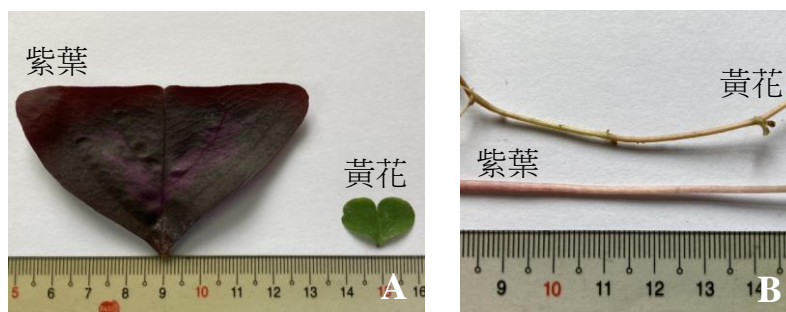


圖 10 紫葉與黃花酢漿草的葉形與莖之比較。(A)左為紫葉酢漿草葉，右為黃花酢漿草葉；(B)上為黃花酢漿草莖，下為紫葉酢漿草莖。

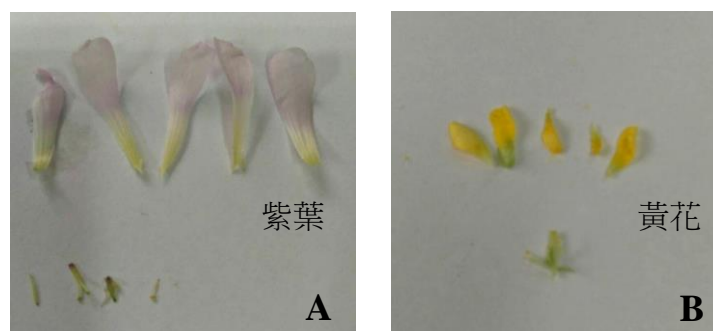


圖 11 紫葉與黃花酢漿草花朵的比較。(A)紫葉酢漿草的花瓣與雄雌蕊；(B)黃花酢漿草的花瓣與雄雌蕊。

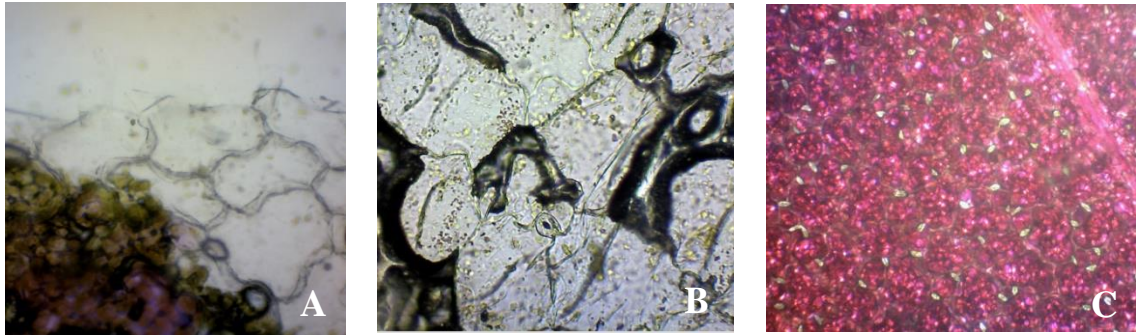


圖 12 紫葉酢漿草(40x)。(A)不規則狀的表皮細胞；(B)透明表面細胞上的氣孔；(C)下表皮上的綠色氣孔。

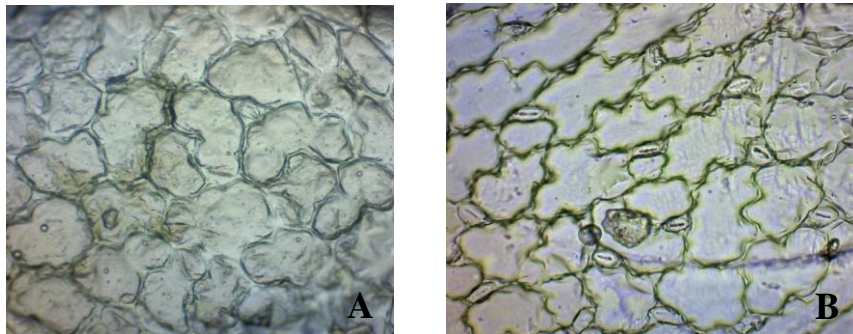


圖 13 黃花酢漿草(100x)。(A)不規則狀的表皮細胞；(B)表皮細胞上的唇狀氣孔。

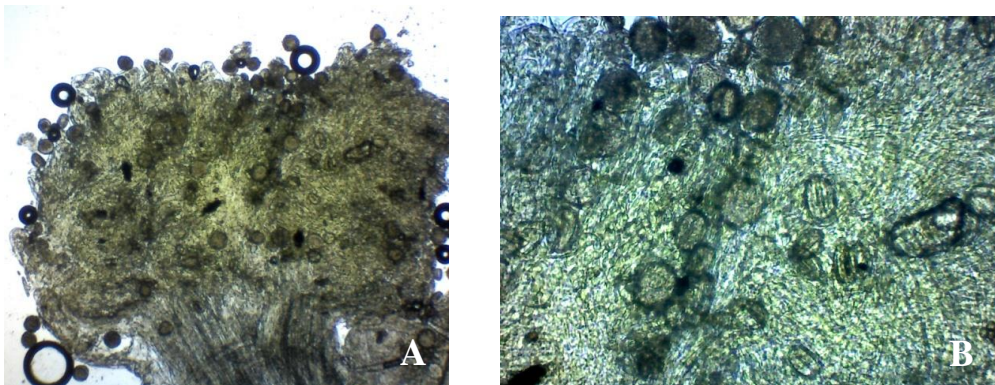


圖 14 紫葉酢漿草的花藥與花粉。(A)花椰菜狀花藥(40x)；(B)橢圓形的花粉粒(100x)。



圖 15 黃花酢漿草的花藥與花粉。(A)橢圓形花藥(40x)；(B)圓至橢圓形的花粉(100x)。

(二)紫葉酢漿草葉片的內外部差異

紫葉酢漿草葉片的內部具有一呈「V」字型的桃色區塊，明顯與葉外部的深紫色區域不同(圖 16)，因此本研究再將之區分，進行個別分析。



圖 16 紫葉酢漿草的葉片。(A)葉內部有具「V」字型的桃色區塊；(B)將葉的內外兩部份分開。

1.色層分析

色層分析結果顯示，紫葉酢漿草葉的內部桃色區域僅有胡蘿蔔素和葉綠素 a 可見，而葉的外側深紫色部份，除了胡蘿蔔素和葉綠素 a 之外，還有少許的葉黃素存在(圖 17)。



圖 17 紫葉酢漿草葉的內外兩部分之色層分析。上圖為內部桃色區，下圖為外部深紫色區。

Car (褐色)為類胡蘿蔔素、Lut (黃色)為葉黃素、Chla (深綠色)為葉綠素 a。

2.花青素

花青素含量分析結果顯示，紫葉酢漿草葉內部的花青素含量較葉外部含量高(圖 18)。

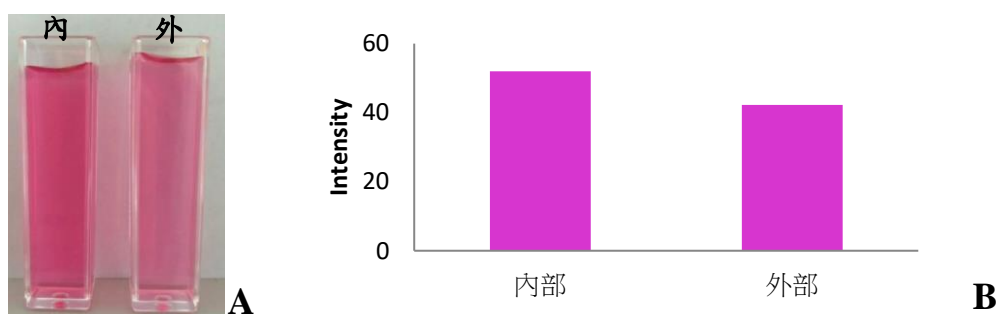


圖 18 紫葉酢漿草葉片內外兩部分的花青素分析。左邊為葉內部桃色區(內)、右邊為葉外部深紫色區(外)。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

(三)紫葉酢漿草和黃花酢漿草的生理特性比較

1.色層分析

色層分析結果顯示，在紫葉酢漿草與黃花酢漿草的葉內色素比較上，黃花酢漿草可見 4 條明顯的色帶，依序是胡蘿蔔素、葉黃素、葉綠素 a 和葉綠素 b。而在相同的單位重量上，紫葉酢漿草的色帶不似黃花酢漿草的明顯，可區分出 3 條色帶，分別為胡蘿蔔素、葉綠素 a 和葉綠素 b。相較下，紫葉酢漿草的葉黃素較不明顯(表二；圖 19)。

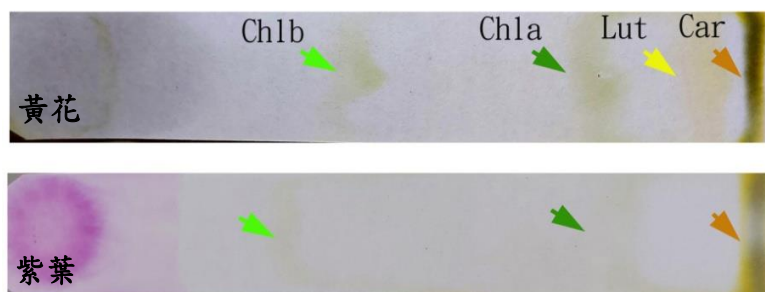


圖 19 黃花與紫葉酢漿草葉的色層分析。上圖為黃花酢漿草(黃花)，下圖為紫葉酢漿草(紫葉)。Car (褐色)為類胡蘿蔔素、Lut (黃色)為葉黃素、Chla (深綠色)為葉綠素 a、Chlb (淺綠色)為葉綠素 b。

表二 黃花與紫葉酢漿草葉的色層分析結果。

	類胡蘿蔔素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
黃花酢漿草	+++	++	+++	++
紫葉酢漿草	++	-	++	+

*含量指示：-，無；+，少；++，中；+++，多。

2.花青素含量

花青素含量分析結果顯示，黃花酢漿草幾乎無法測出花青素的存在，紫葉酢漿草葉的花青素含量顯著大於黃花酢漿草(圖 28-29)。

3.葡萄糖含量-本氏液比色法

葡萄糖含量分析結果顯示，於相同單位重量的比較上，紫葉酢漿草試管明顯呈現綠色，顯示紫葉酢漿草葉片內的葡萄糖含量大於黃花酢漿草(圖 20)。

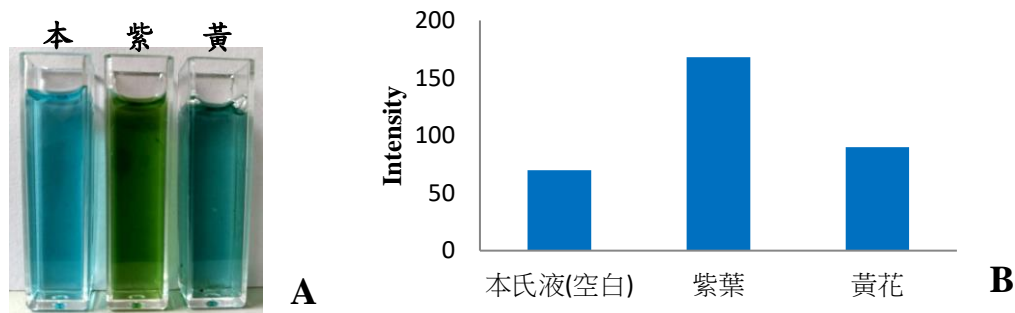


圖 20 相同單位重量的葡萄糖含量比較。由左至右分別為：本氏液(本)、紫葉酢漿草(紫)、黃花酢漿草(黃)。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

4.澱粉含量

澱粉含量分析結果顯示，黃花酢漿草葉片明顯呈現藍黑色，暗示黃花酢漿草葉片內的澱粉濃度比紫葉酢漿草高(圖 21)。



圖 21 酢漿草葉內澱粉含量的比較。左邊為紫葉酢漿草、右邊為黃花酢漿草。

二、日照逆境對紫葉酢漿草和黃花酢漿草的影響

本研究依日照強度差異，將紫葉和黃花酢漿草區分成「全日照組」、「半日照強光組(=正常日照組)」、「半日照弱光組」和「無日照組」。各類分析結果顯示如下。

(一)形態特徵比較

在有光照時，不論是全日照或半日照組別，紫葉酢漿草與黃花酢漿草在外觀形態上並沒有明顯的差異存在。但無日照時，則會使葉片開始損壞。紫葉酢漿草於無日照二周後，葉片逐漸衰縮損壞，三周後已幾近腐敗脫落(圖 22A)。相較下，黃花酢漿草更不耐缺光，於無日照情況下，二周後葉片即已損壞、退色、甚至脫落(圖 22B)。換句話說，紫葉酢漿草較黃花葉酢漿草耐陰。此外，在實驗中也有觀察到黃花酢漿草於全日照時，葉子的生長狀況較佳，葉片數量相對較多。

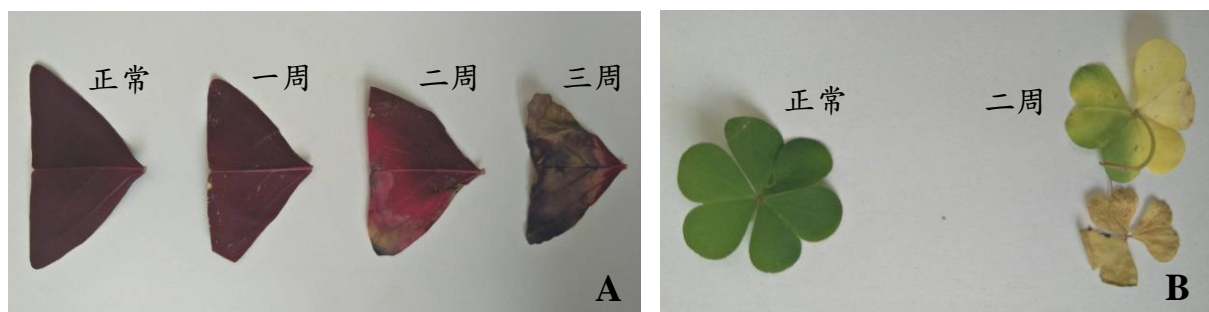


圖 22 不同日照強度對酢漿草的形態影響。(A)紫葉酢漿草，由左至右為正常日照組、無日照一周組、二周組和三周組；(B)黃花酢漿草，左為正常日照組，右為無日照二周組。

(二)色層分析

紫葉酢漿草的色層分析結果顯示，在正常情況下(半日照強光組)，可見 3 種較明顯的色素存在，分別為胡蘿蔔素、葉綠素 a 和葉綠素 b。在全日照時，除上述 3 種色素，亦可見葉黃素的出現。而在半日照弱光時，葉綠素 a 和 b 都有減少的現象。但在無日照時，各類色素的含量卻又顯著增加。然而，在無日照情況持續二周後，這類色素會逐步分解退化，三周後，就

算這些葉子開始損壞，但還是可見其內含的各類色素(圖 23-24)。這類色素的平均 Rf 值依胡蘿蔔素、葉黃素、葉綠素 a 和葉綠素 b 的順序分別為 1、0.8192、0.6851 和 0.3918 (表三)。

紫葉酢漿草屬於耐陰性植物，不喜歡過多的日照，因此在全日照組的葉綠素 a 含量不如正常日照組明顯。而在日照減弱時，又會誘導某些色素的增加，以加強光合作用的效率，特別是葉黃素和葉綠素 a。

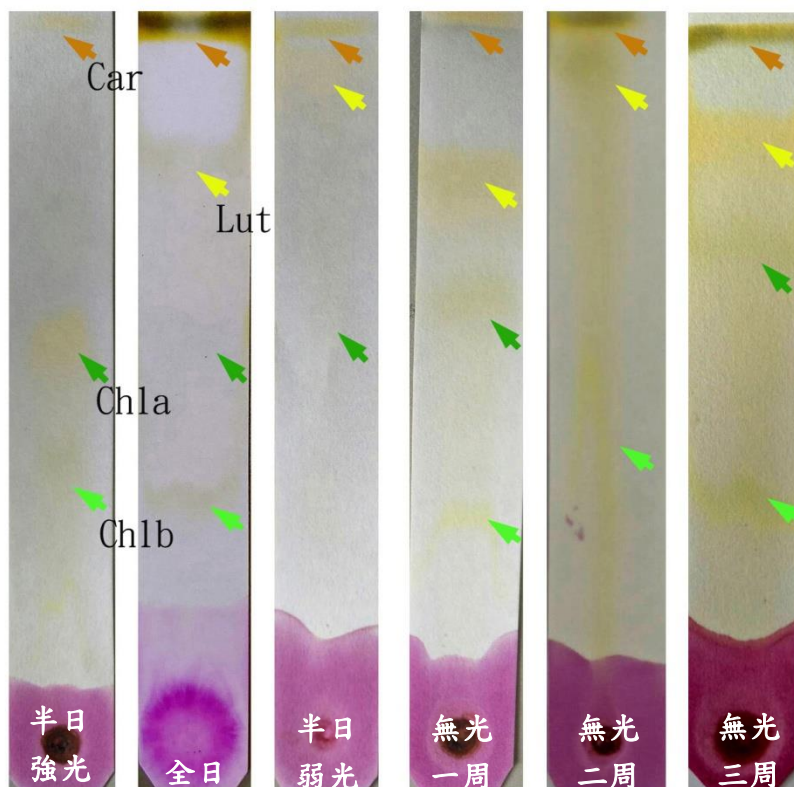


圖 23 紫葉酢漿草的色層分析結果。由左至右，分別為半日照強光(控制組=正常日照)、全日照、半日照弱光、無日(光)照一周、無日(光)照二周、無日(光)照三周組。Car (褐色)為類胡蘿蔔素、Lut (黃色)為葉黃素、Chla (深綠色)為葉綠素 a、Chlb (淺綠色)為葉綠素 b。

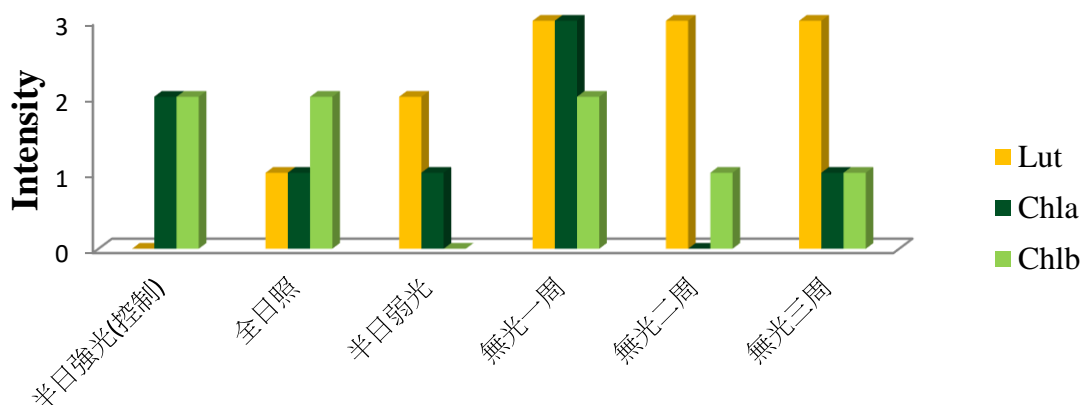


圖 24 不同日照強度對紫葉酢漿草的色素組成含量影響之結果。Lut 為葉黃素、Chla 為葉綠素 a、Chlb 為葉綠素 b。

黃花酢漿草的色層分析結果顯示，在全日照、半日照強光(正常日照)時，都有明顯的類胡蘿蔔素、葉黃素和葉綠素 a，而葉綠素 b 相對較少。當日照變弱時，葉黃素和葉綠素 a 含量會逐漸變少，而葉綠素 b 含量則相對增加。當無日照狀況持續二周之後，葉子明顯損壞，其內含色素多數已無法以肉眼辨識，僅約略可見淡淡的葉綠素 b (圖 25-26)。這類色素的平均 Rf 值依胡蘿蔔素、葉黃素、葉綠素 a 和葉綠素 b 的順序分別為 1、0.8935、0.8035 和 0.6323 (表三)。

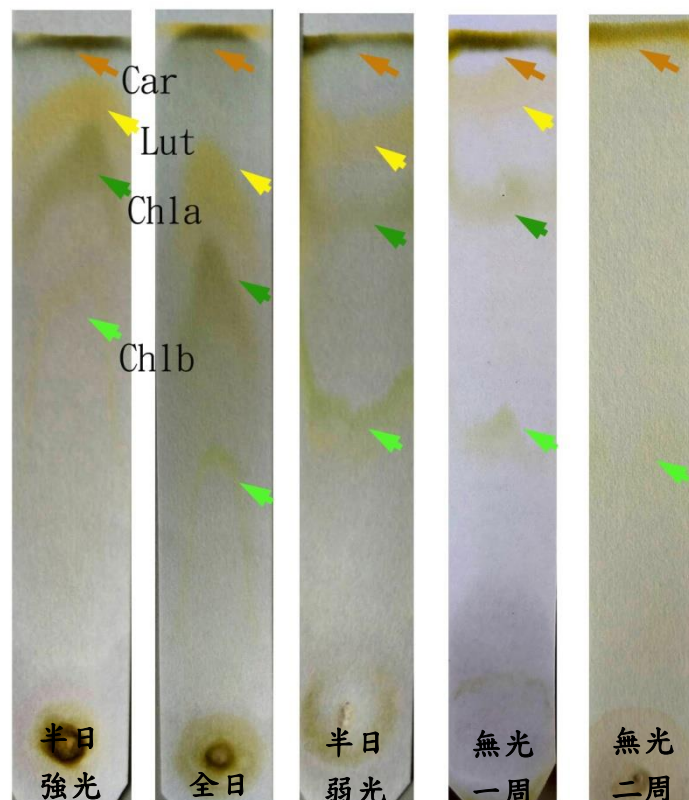


圖 25 黃花酢漿草的色層分析結果。由左至右，分別為半日照強光(控制組=正常日照)、全日照、半日照弱光、無日(光)照一周、無日(光)照二周組。Car (褐色)為類胡蘿蔔素、Lut (黃色)為葉黃素、Chla (深綠色)為葉綠素 a、Chlb (淺綠色)為葉綠素 b。

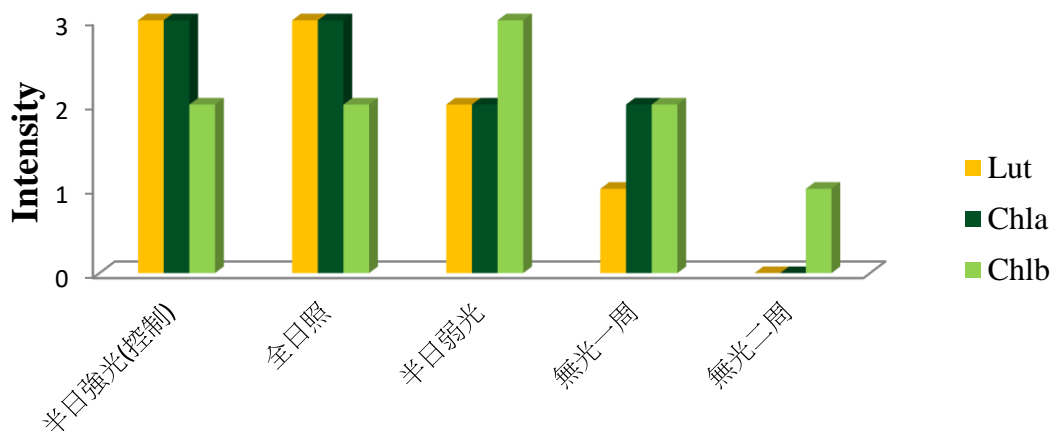


圖 26 不同日照強度對黃花酢漿草的色素組成含量影響之結果。Lut 為葉黃素、Chla 為葉綠素 a、Chlb 葉綠素 b。

表三 紫葉酢漿草與黃花酢漿草的色層分析平均 Rf 值。

Rf 值*	胡蘿蔔素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
紫葉酢漿草	1	0.8192	0.6851	0.3918
黃花酢漿草	1	0.8935	0.8035	0.6323

* Rf 值 = 色素移動距離 / 展開液移動距離。(N=10)

(三)葉綠素 a 含量

除了以濾紙色層分析呈現各類色素分析以外，本研究另以儀器檢測光合作用中最重要色素(葉綠素 a)之含量，以求更準確的呈現實驗數據。

以儀器分析的結果顯示，紫葉酢漿草的葉綠素 a 含量於正常情狀況(半日照強光組)，約在 70 ± 3 ppb 左右，於全日照狀況時，其葉綠素 a 會略減 15%；但於半日照弱光狀況時，會增加近 28%，而在完全無日照二周後，葉綠素 a 只比正常情況時略少 10% (圖 27)。

相對的，在正常情況下，黃花酢漿草的葉綠素 a 含量比紫葉酢漿草高，約在 80 ± 4 ppb 左右，於全日照狀況時，其葉綠素 a 維持穩定狀況，幾近持平；但於半日照弱光狀況時，會增加近 15%，而在完全無日照二周後，葉綠素 a 則顯著變少，比正常情況時降低了約 37% (圖 27)。

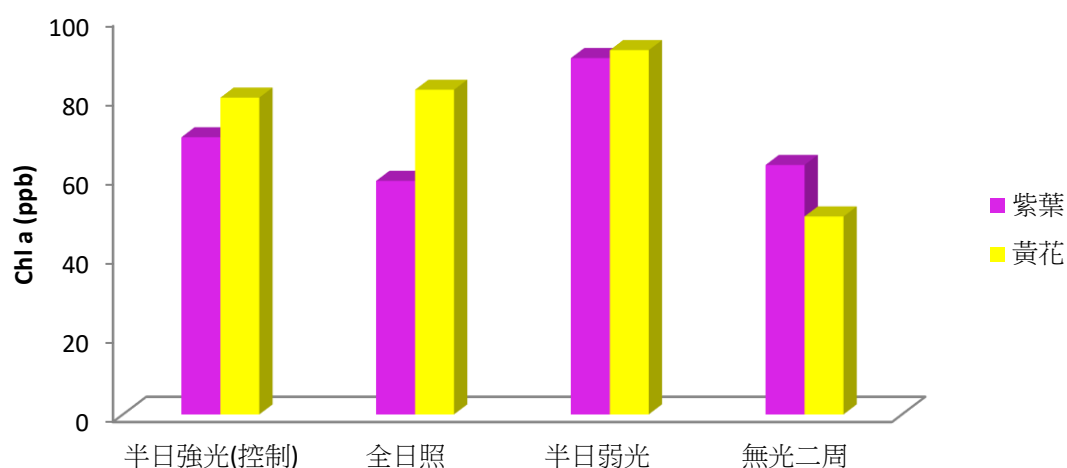


圖 27 不同日照強度影響實驗二周後，紫葉酢漿草與黃花酢漿草葉片內葉綠素 a (Chl a)含量的差異變化。

(四)花青素含量

紫葉酢漿草的花青素含量測定結果顯示，以半日照強光組(正常日照)的含量最高，其次為無日照組、半日照弱光組，含量最低者為全日照組(圖 28)。相對的，黃花酢漿草的花青素含量測定結果顯示，四組的花青素含量甚低或幾乎缺乏，無法測出(圖 29)。

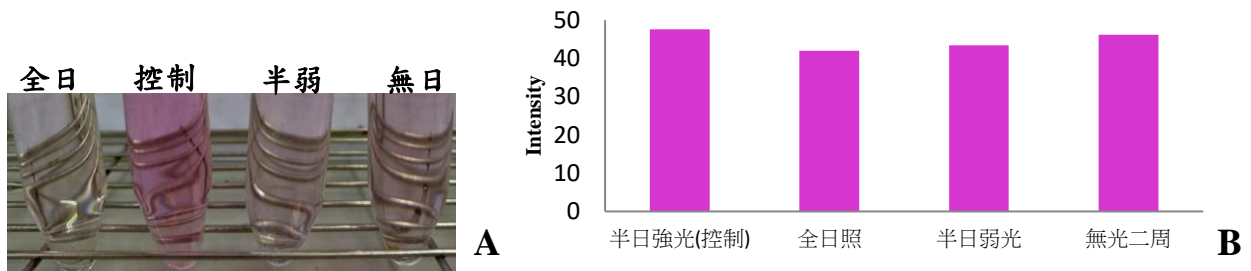


圖 28 紫葉酢漿草的花青素含量測定。由左至右分別是全日照(全)、半日照強光組(控制組=正常日照)、半日照弱光、無日(光)照二周組。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

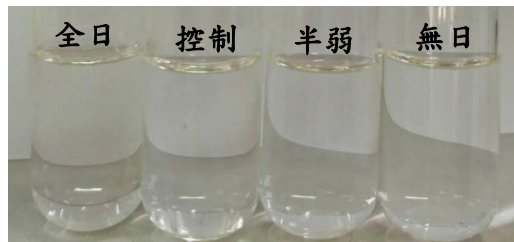


圖 29 黃花酢漿草的花青素含量測定。由左至右分別是全日照(全)、半日照強光組(控制組=正常日照)、半日照弱光(半弱)、無日照二周組(無日)。

(五)葡萄糖含量-本氏液比色法

葡萄糖含量測定結果顯示，紫葉酢漿草的葡萄糖含量，以半日照強光組(正常日照)的含量最高，其次為無日照組、半日照弱光組，含量最低者為全日照組(表四；圖 30)。相對的，在黃花酢漿草中，只有半日照弱光組略變色，其它各組相差不大(表四；圖 31)。

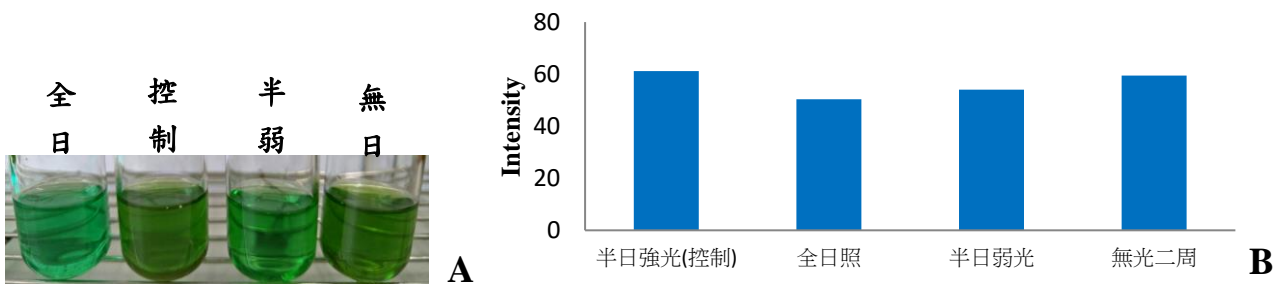


圖 30 紫葉酢漿草的葡萄糖含量測定。由左至右分別是全日照、半日照強光組(控制組=正常日照)、半日照弱光、無日(光)照二周組。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

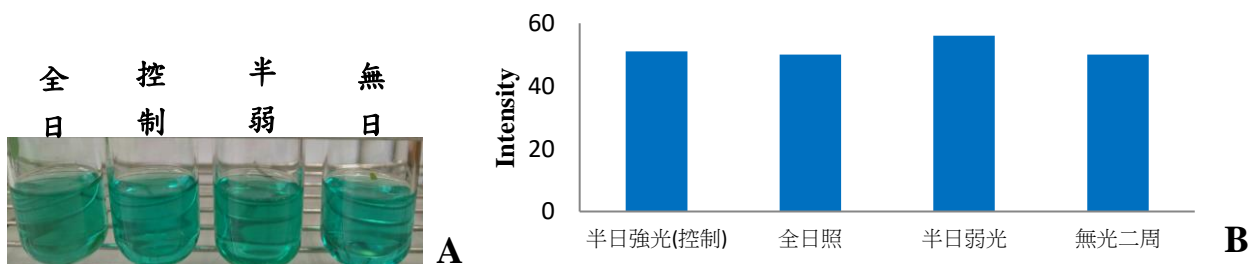


圖 31 黃花酢漿草的葡萄糖含量測定。由左至右分別是全日照(全)、半日照強光組(控制組=正常日照)、半日照弱光、無日(光)照二周組。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

表四 紫葉與黃花酢漿草的葡萄糖含量比較表(本氏液比色法)。

組別	全日照	半日照強光	半日照弱光	無日照組
紫葉酢漿草	藍綠色(+)*	綠色(+++)	藍綠色(++)	綠色(+++)
黃花酢漿草	藍綠色(+)	藍綠色(+)	藍綠色(+)	藍綠色(+)

* 葡萄糖含量表示：+，少；++，普通；+++，略多。

(六)相關數量分析

在紫葉酢漿草內，其部份色素含量變化明顯與日照強度改變有關，例如葡萄糖和花青素含量等，因此本研究進一步進行儀器含量測定與迴歸分析，相關研究數據整理於表五。而在黃花酢漿草內則缺乏類似的顯著波動，因此先將黃花酢漿草的數據撇除在外。

不同日照強度下，紫葉酢漿草葉內葡萄糖與花青素含量的變化趨勢相似，迴歸分析顯示其間有正相關($R^2=0.86$)。兩者都是在半日照強光(正常情況)時含量最高，而在全日照時的含量最低(表五；圖 32-33)。換句話說，在不同日照的影響之下，葡萄糖與花青素含量的變化有非常高的相對應關係存在(圖 33)。

表五 不同日照強度對紫葉酢漿草內各色素的含量變化。

	全日照	半日照		無日照		
		強光	弱光	一周	二周	三周
日照長度(晝：夜)	24：0	12：12	12：12	0：24	0：24	0：24
光度(Lux)	2900±300	4500±1200	120±30	0	0	0
葉綠素 a (ppb)	59.3	69.4	85.6	-	61.2	-
葡萄糖 (mg/ml)	0.30	0.35	0.31	-	0.32	-
花青素	0.420	0.476	0.434	-	0.462	-

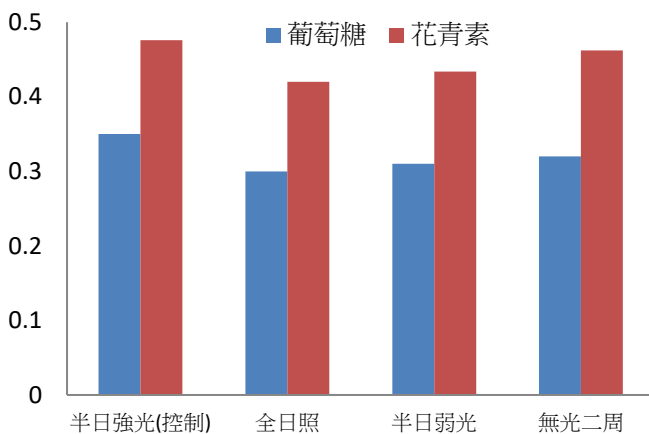


圖 32 紫葉酢漿草於不同日照強度下，葉內葡萄糖與花青素含量的變化。

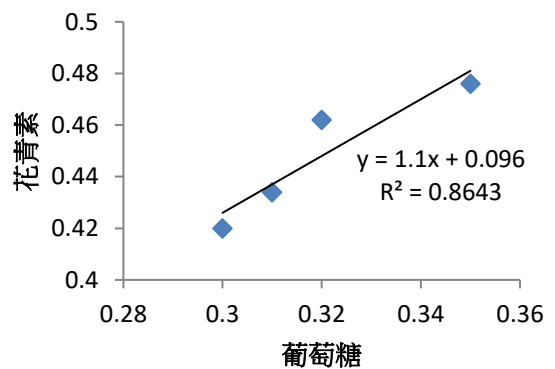


圖 33 不同日照強度下，紫葉酢漿草葉內葡萄糖與花青素含量的迴歸分析。

三、酸鹼逆境對紫葉酢漿草的影響

本研究依供給水源的酸鹼度差異，將紫葉酢漿草區分成「酸性水源組(pH 5.0)」、「中性水源組(pH 7.0)」和「鹼性水源組(pH 9.0)」，各類分析結果顯示如下。另因黃花酢漿草葉片內的花青素與葡萄糖含量皆甚低，且含量變化不顯著，因此本研究的酸鹼逆境與水份逆境研究即專注在紫葉酢漿草上。

(一)形態特徵比較

以不同酸鹼度水源給於紫葉酢漿草一個月後，就外觀形態上而言，酸性水源(pH 5.0)對植物葉片的影響較大，常會出現損毀、壞死的組織，甚至落葉。而鹼性水源(pH 9.0)和中性水源(pH 7.0)組別，在外觀上則無明顯差異(圖 34)。換言之，紫葉酢漿草相對上較能耐鹼，而較不耐酸性水源。

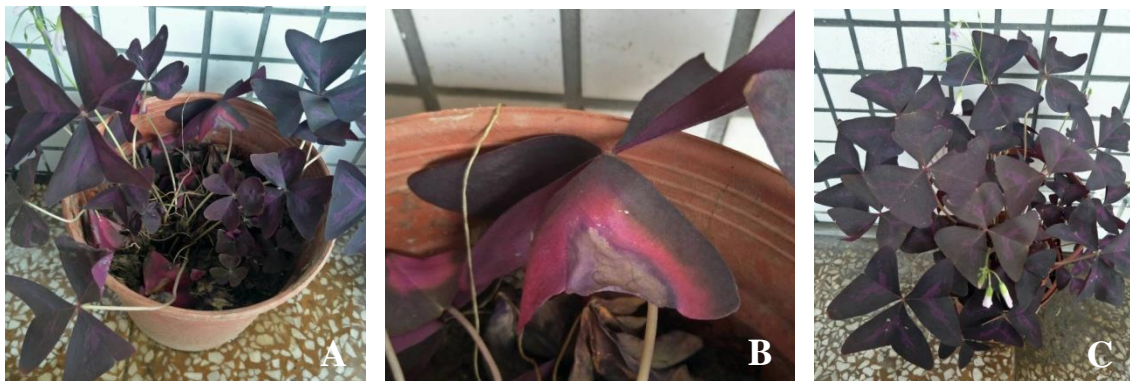


圖 34 不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草的影響。(A)酸性水 pH 5.0 組，部分葉片已損毀；(B)酸性水 pH 5.0 組，壞死的葉片組織；(C)鹼性水 pH 9.0 組，形態上與中性水組無異。

(二)色層分析

色層分析結果顯示，給於中性水時，紫葉酢漿草葉內可見 4 種不同的色素，其中又以葉綠素 a 最為明顯，含量最少者為葉黃素與葉綠素 b。在酸性組和鹼性組中，皆可見 4 種不同色素的分佈，但含量相對於中性水組皆變少，其中以葉綠素 a 含量減少較顯著，而葉黃素與葉綠素 b 含量皆不高(表六；圖 35)。

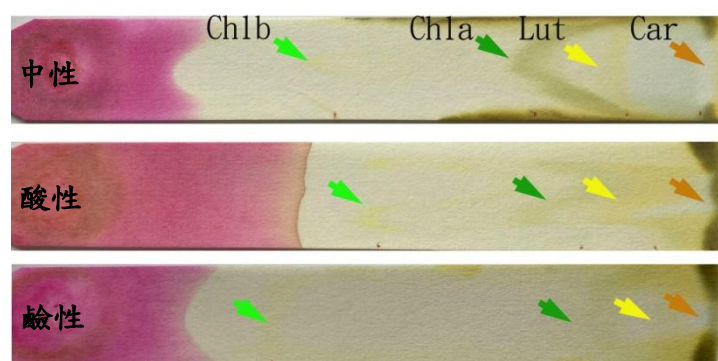


圖 35 不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草的色層分析結果。由上到下，分別為中性水組、酸性水組和鹼性水組。Car (褐色)為類胡蘿蔔素、Lut (黃色)為葉黃素、Chla (深綠色)為葉綠素 a、Chlb (淺綠色)為葉綠素 b。

表六 不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草的色層分析結果。

	類胡蘿蔔素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
中性水組	++	+	+++	+
酸性水組	+++	++	++	+
鹼性水組	+++	+	+	+

*含量指示：-，無；+，少；++，中；+++，多。

(三)花青素含量

以不同酸鹼度水源測試的結果顯示，紫葉酢漿草葉片內花青素含量變化，當葉片受損愈嚴重時，其內的花青素含量就愈少。最高的花青素含量出現在中性水組，最低含量出現在酸性組中的已受損壞葉內(圖 36)。

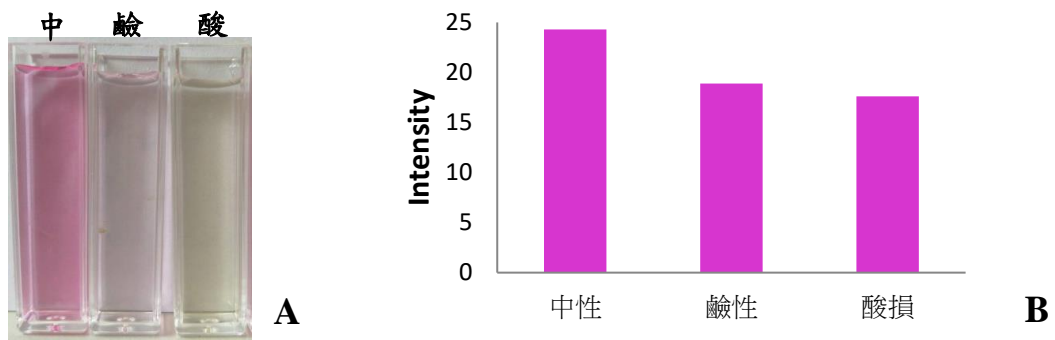


圖 36 不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草葉片內花青素含量的影響。由左至右分別為：中性水組(中)、鹼性水組(鹼)和酸性水組(酸)。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

(四)葡萄糖含量-本氏液比色法

以不同酸鹼度水源測試的結果顯示，紫葉酢漿草葉片內葡萄糖含量變化，最高的葡萄糖含量出現在酸性組別，特別是在損壞葉片中。而鹼性水組葉片內的葡萄糖含量與中性水組並沒有明顯的差異存在(圖 37)。綜合葡萄糖含量分析結果顯示，受酸鹼逆境影響時，葉片損壞愈嚴重，其內的葡萄糖累積有愈多的趨勢。

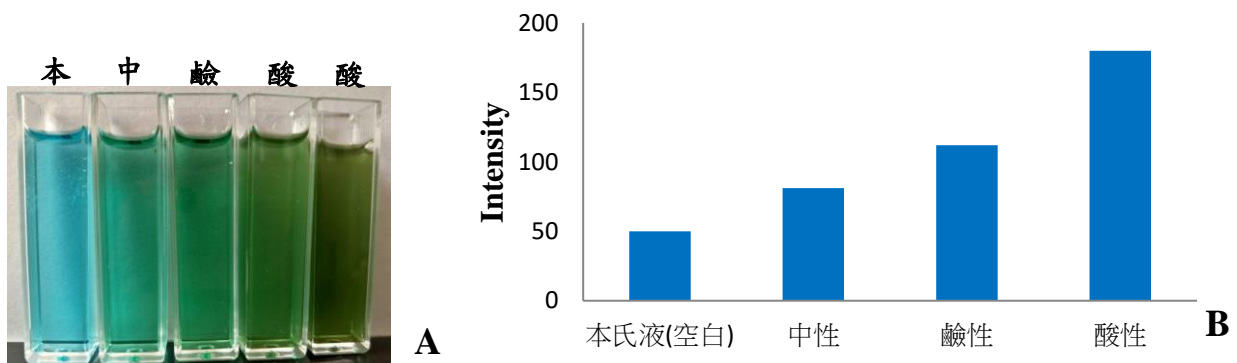


圖 37 不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草葉片內葡萄糖含量的影響。由左至右分別為：本氏液(本)、中性水組(中)、鹼性水組(鹼)和酸性水組(酸)。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

(五)澱粉含量

以不同酸鹼度水源測試的結果顯示，各組紫葉酢漿草葉內澱粉含量差異不大，且含量不高，變色效果不明顯。推論可能是其光合作用的澱粉產物，多儲存在地下莖中，而在葉片內則多以葡萄糖為主(圖 38)。



圖 38 不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草葉內澱粉含量的影響。由左至右分別為：中性水組(中性)、鹼性水組(鹼性)和酸性水組(酸性)。

(六)相關數量分析

除濾紙色層分析之外，部份重要色素與生理代謝物進一步以儀器測定含量，分析結果顯示如表七。在不同酸鹼度下，紫葉酢漿草葉內葡萄糖與花青素含量的變化呈現相反趨勢，迴歸分析顯示其間有負相關($R^2=0.26$)。在酸性情況下，葡萄糖的含量最高，花青素的含量最低；而在中性水源時，葡萄糖含量最低，花青素含量最高(圖 39-40)。葉綠素 a 含量亦以中性時最高，酸性時最低，約只有中性組別的 50% (表七)。

表七 不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草葉內各類色素與代謝物的含量影響。

	酸性水	中性水	鹼性水
pH	5.0	7.0	9.0
葉綠素 a (ppb)	33.1	68.1	42.3
葡萄糖(mg/ml)	1.06	0.45	0.61
花青素	0.216	0.243	0.207

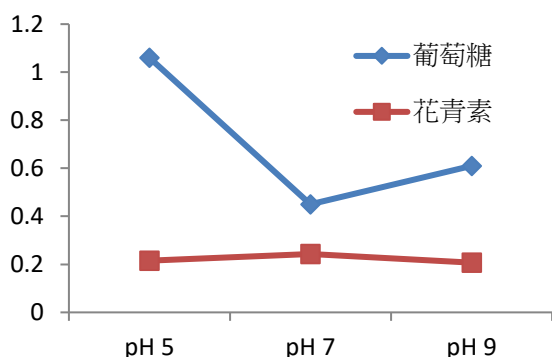


圖 39 紫葉酢漿草於不同酸鹼度水源下，葉內葡萄糖與花青素含量的變化。

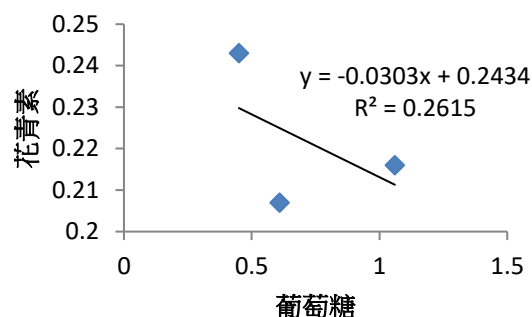


圖 40 不同酸鹼度下，紫葉酢漿草葉內葡萄糖與花青素含量的迴歸分析。

四、水份逆境對紫葉酢漿草的影響

本研究依供給水源的有無差異，將紫葉酢漿草區分成「正常供水組」和「乾旱組」。各類分析結果顯示如下。

(一)形態特徵比較

整體而言，紫葉酢漿草相當耐旱，於完全缺水一個月的狀況下，植株並不會死亡。但部份葉子會顯著轉變成淡紅色，有些葉子則會呈現萎焉狀(萎焉葉)(圖 41)。



圖 41 乾旱一個月後的紫葉酢漿草。(A)乾旱造成的變色葉；(B)乾旱造成的萎焉葉。

(二)色層分析

色層分析結果顯示，與對照組(正常供水組)比較，乾旱一個月後，萎焉葉內仍可見 4 種不同色素，但 4 條色帶都很弱，難以區別何種色素的含量較顯著，其中葉綠素 a 含量有顯著減少的情況(表八；圖 42)。

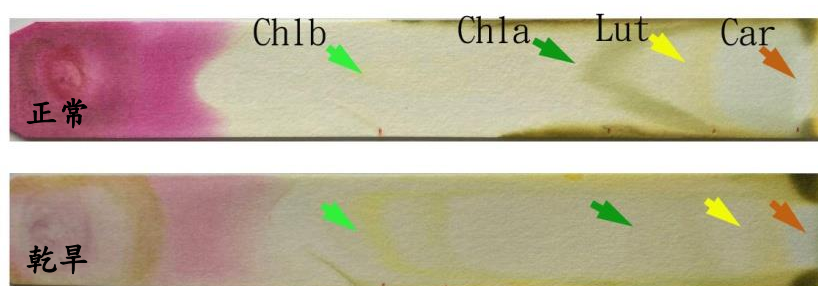


圖 42 水份逆境對紫葉酢漿草的色層分析結果。上圖為正常供水組、下圖為乾旱組。Car (褐色) 為類胡蘿蔔素、Lut (黃色)為葉黃素、Chla (深綠色)為葉綠素 a、Chlb (淺綠色)為葉綠素 b。

表八 乾旱對紫葉酢漿草的色層分析結果。

	類胡蘿蔔素	葉黃素	葉綠素 a	葉綠素 b
正常組	++	+	+++	+
乾旱組	+++	+	+	+

*含量指示：-，無；+，少；++，中；+++，多。

(三)花青素含量

花青素含量分析結果顯示，乾旱一個月後，與正常供水組比較，葉內的花青素顯著變低(圖 43)。

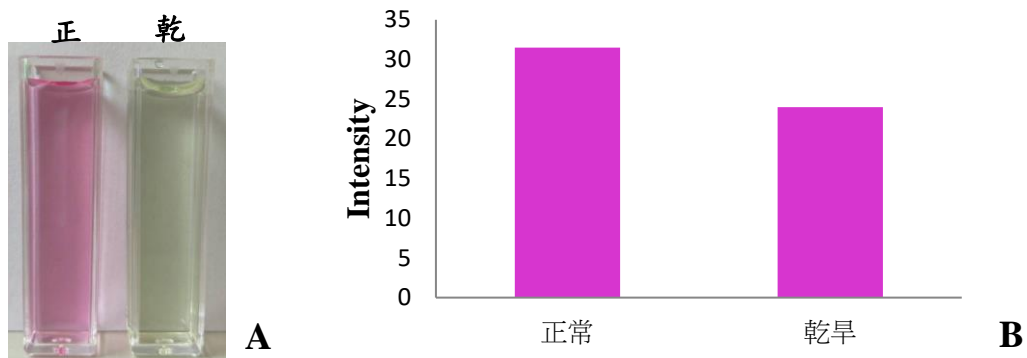


圖 43 水份逆境對紫葉酢漿草葉內花青素含量的影響。左邊為正常供水組(正)、右邊為乾旱組(乾)。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

(四)葡萄糖含量-本氏液比色法

葡萄糖含量分析結果顯示，乾旱一個月後，不論是在變色葉或萎蔫葉中，其內的葡萄糖含量皆比正常供水組高(圖 44)。

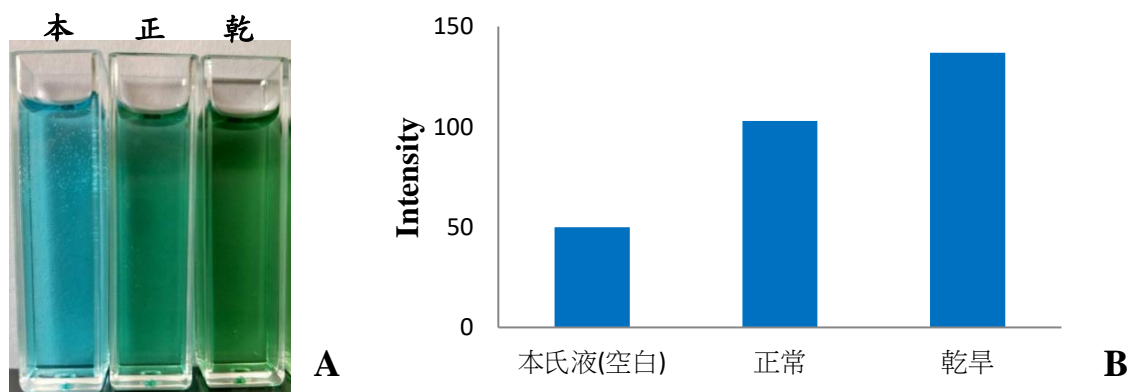


圖 44 水份逆境對紫葉酢漿草葉內葡萄糖含量的影響。由左至右分別為：本氏液(本)、正常供水組(正)、乾旱組(乾)。(A)萃取分析結果；(B) Image J 量化分析結果。

(五)澱粉含量

缺水乾旱對紫葉酢漿草葉內澱粉含量影響不大，且澱粉含量亦不高，變色效果不明顯(圖 45)。推論可能是其光合作用的澱粉產物，多儲存在地下莖中。



圖 45 乾旱對紫葉酢漿草葉內澱粉含量的影響。左邊為正常葉、右邊為乾旱葉。

(六)相關數據分析

除濾紙色層分析之外，部份重要色素與生理代謝物進一步以儀器測定含量，結果顯示如表九。在乾旱情況下，紫葉酢漿草葉內葡萄糖與花青素含量的變化呈現相反趨勢，迴歸分析顯示其有負相關。乾旱發生時，葡萄糖的含量會變高，花青素的含量則會變低(表九；圖 46-47)。葉綠素 a 含量於乾旱情況下明顯降低，約只有正常情況下的 50% (表九；圖 46)。

表九 乾旱對紫葉酢漿草葉內各類色素的含量影響。

	正常給水	乾旱一個月
葉綠素 a (ppb)	67.8	30.4
葡萄糖(mg/ml)	0.60	0.73
花青素	0.315	0.270

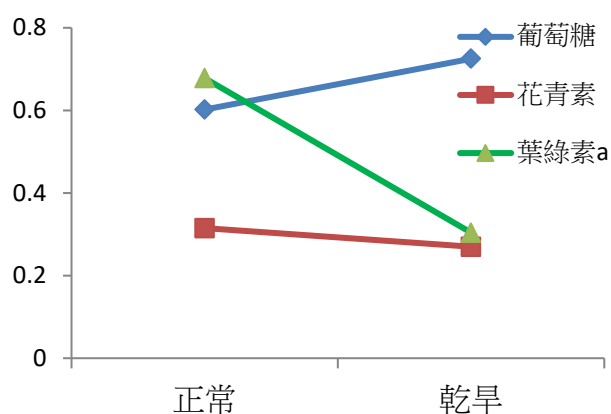


圖 46 紫葉酢漿草在乾旱情況下，葉內葡萄糖、花青素與葉綠素 a 含量的變化。

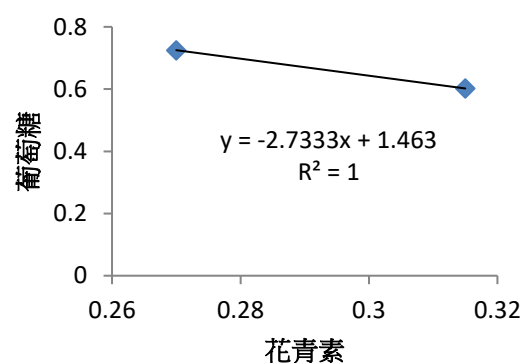


圖 47 乾旱情況下，紫葉酢漿草葉內葡萄糖與花青素含量的迴歸分析。

陸、討論

一、紫葉酢漿草與黃花酢漿草在形態與生理上的差異

隨著生活水準的提升，許多人不僅僅只滿足於對園林綠化的需求，同時還對綠化提出了更高的要求，例如要既能觀花，也要能賞葉，最好還能符合美學價值和滿足生態發展。酢漿草為酢漿草科(Oxalidaceae)、酢漿草屬(Oxalis)的一年生或多年生草本植物。全世界的酢漿草屬植物共有800多種，除極地區域之外，世界各地均有分佈(Rosen Feldt and Galati, 2005)。臺灣產的酢漿草屬植物有3種及1亞種的變種，包括黃花酢漿草(*Oxalis corniculata*)、紫花酢漿草(*Oxalis corymbosa*)、大霸尖山酢漿草(*Oxalis acetocella taimoni*)和台灣山酢漿草(*Oxalis acetocella griffithii* var. *formosana*)等。其它還有數種園藝觀賞用的外來品種，例如本研究的紫葉酢漿草即是。該屬植物喜向陽、溫暖、濕潤的環境，抗旱能力強，栽培繁殖容易，且葉形多樣、花色豐富、花形優美、觀賞期長，觀賞價值極高(Rosen Feldt and Galati, 2005)，可以在道路兩旁、假山假石處作點綴，給人親切自然之感受，因而深受愛花人士的喜愛(王，2007)。

在本研究所採用的植物中，基本上，黃花酢漿草偏向陽性植物，較喜愛日照較強的環境，

而紫葉酢漿草則屬於半陰性植物，可置於略陰暗處生長而不受影響。因此兩者除了外部形態上的結構差異之外，在細胞內部的色素組成也有所不同。例如在正常情況下，黃花酢漿草都比紫葉酢漿草含有更高量的葉黃素和葉綠素 a，合理推論，屬陽性植物的黃花酢漿草吸收紅光的能力也較強。相較之下，半陰性植物於過高量的日照時會有特殊的保護機制讓光合色素不易被破壞，而陽性植物通常缺乏，因此在本研究中的紫葉酢漿草可見含量相對較高的花青素，且花青素的含量會因環境狀況而產生明顯的變化，而這樣的變化並無法在黃花酢漿草中發現。

二、逆境時，光合作用色素組成的變化

在高等植物的葉綠體內，光合色素大致可分為葉綠素 a、葉綠素 b、葉黃素和胡蘿蔔素等 4 大類。葉綠素 a 為最主要的光合色素，負責吸收紅光(最高吸光波長在 660 nm)和藍紫光(最高吸光波長在 430 nm)，為光合作用光反應系統的反應中心，能直接將光能轉變為化學能。相對的，葉綠素 b、葉黃素和胡蘿蔔素等 3 大類稱為輔助色素，可協助吸收光能並將所吸收的光能轉移至葉綠素 a，同時也可以保護葉綠素，避免葉綠素被過於強烈的光氧化作用所破壞。其中，葉綠素 b 負責吸收橘紅光和藍光，胡蘿蔔素負責吸收紫光和藍光(蔡&蔡，2004)。簡言之，在光合作用的過程中，葉綠素 a 可以將吸收到的紅光和藍紫光由光能轉化為化學能。而葉綠素 b、葉黃素和類胡蘿蔔素的存在，可加大植物的吸收光譜範圍，提高光合作用的效率，利用二氧化碳和水合成葡萄糖，進一步使植物獲得能量而生長。

在陽光充足與溫暖的環境下，植物可以用氧、氮、鎂、水、醣類等成分合成葉綠素。合成葉綠素的最適溫度，隨著植物種類而異，例如馬鈴薯的最適生成溫度約在 11-19°C 間。然而，葉綠素並不穩定，當細胞組織內缺水，或受到強烈日光照射時，葉綠素便會被破壞(蔡&蔡，2004)。這也是本實驗中，不論在乾旱或酸鹼所產生的逆境時，葉子常會有變色情況發生的主要原因，即葉綠素 a 或 b 分解了，所以其它色素的顏色即顯現了出來。

一般而言，光照強度的改變常會直接影響葉綠素含量，且在弱光情況下時，葉綠素含量常會有略微提升的趨勢發生，然後長期遮光最終仍會導致葉綠素含量的下降(林，2014)。此現象在本研究中再次得到證明，不論是紫葉或黃花酢漿草，於半日照弱光情況時，葉綠素 a 含量皆比正常的野外植株含量高約 15-28%，而當實驗進行到約第 15 天時，紫葉酢漿草的葉綠素 a 含量減少了 10%，黃花酢漿草更顯著下降 37%。在黃花酢漿草實驗中，無日照的條件約 2-3 周之後，常會導致葉片無法維持正常運作而脫落。

此外，胡蘿蔔素與葉黃素通稱為類胡蘿蔔素。胡蘿蔔素結構高度不飽和，容易被氧化成為葉黃素，葉黃素在植物細胞中的含量約是胡蘿蔔素的 2 倍，且胡蘿蔔素類比葉綠素穩定，不易受到光照而分解(蔡&蔡，2004)。

三、逆境時，花青素的含量變化

花青素(Anthocyanidin, $C_{15}H_{11}O_6$)或稱花色素，為一種水溶性的植物色素，為莖、葉、花和果實中的常見成分，存在於液泡內，屬於酚類化合物中的類黃酮類(flavonoids)，基本結構包含 2 個苯環，並由 1 個三碳的單位連結($C_6-C_3-C_6$) (江，2012)。

花青素苷(anthocyanin)是花青素與醣類結合所形成的一種醣苷。花青素苷的顏色表現會因生化環境條件的改變而受到影響，包括如花青素濃度、共色作用、pH 值等。例如花青素在鹼

性時呈藍色、中性時成紫色、酸性時呈紅色，是一種天然的酸鹼指示劑(蔡&蔡，2004；Meng and Wang, 2004)。主要影響因子為其基本結構上的三種官能基(羥基 - OH、甲氧基 - OCH₃、甲基 - CH₃)的數量與位置差異，而形成不同的顏色變化(鐘等，2013)。而花青素所造成花朵或葉片的鮮豔色彩，本身就是吸引昆蟲傳播的利器之一。

花青素同時亦被證明為是相當有效的自由基清除劑，能與蛋白質結合，防止過氧化作用的發生(Lester Packer, 2002)，其清除自由基的能力明顯強於維生素C和維生素E(趙，2011)。根據趙等(2012)和鐘等(2013)的研究顯示，花青素可透過下列4種方法來減少體內自由基的產生：(一)阻止細胞與過氧根離子反應；(二)螯合細胞內某些特定的金屬離子，進而防止羥基的產生；(三)抑制脂質過氧化反應物的生成，如丙二醛(MDA)；(四)與膠原蛋白作用形成保護屏障，隔離組織與外界自由基的接觸。

過強的日照會導致植物的光合作用機制受到損傷，此時植物體會出現光抑制作用。這點對在本研究中屬於陰性植物的紫葉酢漿草中尤其重要。因此當日照過強時，花青素會有所謂的光保護作用，保護植物免於遭受過多日照的損害，同時也會抑制葉綠素所產生的綠光波反射。且有花青素保護的葉綠素經過強光照射後，與沒有花青素保護的葉綠素比較下，氧化程度較低(鐘等，2013)。換言之，花青素(或類胡蘿蔔素也有相似作用)可保護植物的花、葉或果實不受紫外光的破壞，此現象在高山上尤為明顯且重要。在張等(2018)的研究中也提到，栽培紅花酢漿草(*Oxalis corymbosa*)時，為避免植物產生光抑制作用而影響正常生長，應當給予適當的遮陰，同時提高植物的水分利用率。

然而，在本研究的全日照組中，由於是採用人工光源(檯燈)來模擬24小時的光照，光照的長度足夠，但強度卻遠不如正常的太陽日照，平均強度約只有室外的1/3至1/2，所以未能如期觀察到受"強烈"日照而增量的花青素含量。但我們仍在日照減弱的組別中觀察到花青素含量變少的現象。

此外，對大部份非綠色的植物組織而言，顏色變化的主因通常是因為花青素分子的組成與含量改變所導致。在木芙蓉或繡球花等植物中，可明顯見到植物花瓣或葉片的顏色隨土壤酸鹼度而改變。但本研究並沒有觀察到酸鹼度的改變造成植株葉片變色的現象。當然除了pH值之外，影響植物變色的原因尚有許多，也許改變日照強度或溫度，可能造成不一樣的顏色變化效果，這方面仍待進一步研究才可得知。

四、逆境時，葡萄糖的含量變化

葡萄糖為葉片行光合作用的直接產物，亦為維持細胞生理活動所必需的基本養分。在植物經光合作用之後，這些葡萄糖多數會轉化成澱粉進行儲藏，若植物的其它部份需要使用葡萄糖，則這些澱粉又必須轉化成葡萄糖，才可進行輸送。理論上，葡萄糖的增多有利於花青素的形成，因此於本研究中，在正常的野外植株族群裡，紫葉酢漿草有較高的花青素含量，因而可反推其亦含有較高含量的葡萄糖。

本研究中，在受日照強度影響的逆境狀況時，花青素和葡萄糖含量顯著呈現正相關趨勢，顯然光照可以直接誘使葡萄糖含量的改變，以利於葉片內花青素含量的調整，以利植物渡過不利的日照逆境。然而，在本研究的酸鹼逆境和水份逆境時，葡萄糖含量於此時不減反增，且與花青素呈負相關趨勢，推論可能原因有三：(一)不管動物或植物，葡萄糖皆為生物體的主要能量來源，因此可以合理推論生物體為渡過逆境而提高體內的葡萄糖含量。(二)植株或器官

接近成熟或開始衰老、損壞時，細胞內的生長速率與相關的代謝需求會下降，呼吸作用因而顯著變慢，因此葡萄糖的分解也減速，所以在細胞中的累積含量便會增多。(三)酸鹼與水分逆境，可能與花青素並無相關，葡萄糖含量的提升是為了其它的防禦系統做準備，例如轉化成過氧化酶(Guaiacol Peroxidase, G-POD)或過氧化氫酶(Catalase, CAT)等酵素防禦系統(蔡，2009)。

換言之，植物對抗不同逆境會有不同的對應路徑，色素、酵素或代謝產物(如脯氨酸 Proline)，都可能是為自己對抗自由基、穩定蛋白質、幫助酶合成等有效的抗逆境方法(彭&彭，2002)。綜合言之，除了光合作用中最重要的葉綠素 a 可直接反應植物的生長狀況之外，在逆境狀況時，葡萄糖與花青素的含量顯然與外界環境呈現顯著的對應變化，因此檢測葡萄糖與花青素的含量變化，應當可以當成植物處於逆境環境時的良好生理指標，此部份值得未來更進一步的深入探討研究。

五、色層分析之差異

濾紙色層分析法(Paper chromatography)為缺乏高端科技儀器時，相對有效的色素分析研究方式，利用葉片內各類色素間極性、分子量與顏色等的差異，使其在濾紙上區分開來。在植物葉綠體內的主要色素中，葉綠素 a，親水性較佳，而胡蘿蔔素、葉黃素的親脂性較高(李和陳，2013)。所以利用不同溶劑即可溶解出不同類的色素。但也因此在溶劑和展開液的使用上，就會因種類和比例的不同而導致實驗結果上的差異。例如常見的溶劑，石油醚的介電常數約 2，丙酮約為 21。因此極性較小的石油醚能萃取出較大量的親脂性色素，如葉黃素和胡蘿蔔素等，但親水性較佳且極性較大的葉綠素 a 和葉綠素 b 則相對難以萃取，此時則需改以有機溶劑萃取，如乙醇、丙酮、乙醚、氯仿等(李和陳，2013；趙等，2013)。

如果單以分子量來看，這些色素在濾紙上分離的順序，由上而下分別會是胡蘿蔔素($C_{40}H_{56}$)、葉黃素($C_{40}H_{56}O_2$)、葉綠素 a ($C_{55}H_{72}O_5N$)和葉綠素 b ($C_{55}H_{70}O_6N$)。分子量最小，跑得愈前端。又如果單以各類色素的極性大小來區分，在濾紙上分離的順序，由上而下則會改變成胡蘿蔔素、葉綠素 a、葉綠素 b、葉黃素。因此在溶劑的選擇和混合比例，在實驗結果的分析上占據相當關鍵的角色。例如以石油醚：丙酮 = 9：1 的比例混合時，各類色素的排列由上到下會是胡蘿蔔素、葉黃素、葉綠素 a 和葉綠素 b (李和陳，2013)。但如果將石油醚：丙酮的比率改為 1：1 時，其排列就會是胡蘿蔔素、葉綠素 a、葉綠素 b 和葉黃素。

因此，基本上，顏色反而是相對較簡單且準確的分辨依據，因葉綠素 a 總是呈深綠色、葉綠素 b 總是呈淡綠色、胡蘿蔔素總是銜黃色、葉黃素則呈淡黃色(張等，2005)。但要特別留意，葉綠素 a 和葉綠素 b 在光照下易氧化而褪色，因此實驗時最好能以避光方式處理。但即使如此，其基本規律為葉綠素 a 總是跑在葉綠素 b 之前、胡蘿蔔素總是跑在葉黃素之前。

此外，許多研究會討論色層分析的 Rf 值，如胡蘿蔔素 Rf 為 1.0，葉黃素 Rf 約 0.78，葉綠素 a 的 Rf 約 0.53，葉綠素 b 的 Rf 約 0.38。但呈如以上所討論，色層分析結果會依當時的環境狀況有所變化，如空氣溼度、溫度、展開液濃度與比例等，因此各類色素的 Rf 值並非定值，只能當成參考使用(李等，2007)。同時，因多數色層分析都會使用石油醚當成展開液，但極性極小的胡蘿蔔素並無法在濾紙上與石油醚區分開，因此會造成展開液擴散到何處，胡蘿蔔素就分布到何處的現象，出現胡蘿蔔素的 Rf 值總是呈現 1.0 的現象。也因胡蘿蔔素可能與其它雜質或色素混合而無法區分，是故本研究經取捨而主要以分析葉綠素和葉黃素為主。

柒、結論

- 一、形態上，宿根草本的紫葉酢漿草，耐陰性，不結果實，主要以地下莖進行無性繁殖，花藥呈花椰菜狀。匍匐性草本的黃花酢漿草，向陽性，具蒴果狀果實，成熟時會彈出褐色種子，花藥呈橢圓型。單位面積相同時，黃花酢漿草的氣孔數量明顯較紫葉酢漿草多。
- 二、色層分析結果顯示，正常的野生黃花酢漿草可見較明顯的胡蘿蔔素、葉黃素、葉綠素 a 和葉綠素 b，且含量皆比紫葉酢漿草多。但花青素和葡萄糖含量則是紫葉酢漿草較多。
- 三、日照強度常會直接影響葉綠素的含量，且在弱光情況時，葉綠素含量常會有略微提升的趨勢發生，但長時間的遮光最終仍會導致葉綠素含量下降。在不同日照強度的影響之下，紫葉酢漿草較黃花酢漿草耐陰。色層分析結果顯示，紫葉酢漿草的各類光合色素在無光照情況時，含量會先增後減，其中葉綠素 a 的含量在完全無光情況時，會略減少 10%。黃花酢漿草的葉黃素和葉綠素 a 含量也有相似的趨勢，但無光二周後即會快速的分解，其中葉綠素 a 含量會降低約 37%。
- 四、在不同日照強度的影響之下，紫葉酢漿草的花青素和葡萄糖含量皆以正常日照組最高，而黃花酢漿草的花青素和葡萄糖含量的變化程度不明顯。其中葡萄糖與花青素含量的變化趨勢呈正相關。換言之，花青素可協助防止光抑制作用的產生。同時，日照可直接誘使葡萄糖含量的改變，以利於花青素的調整，使植物渡過不利的日照逆境。
- 五、不同酸鹼度水源影響下，紫葉酢漿草相對上較耐鹼，而較不耐酸性水源。色層分析結果顯示，各組的色素組成相差不大，其中以葉綠素 a 最明顯，但會隨逆境發生而減量。在酸性組別中，花青素含量最低，但葡萄糖含量最高，兩者呈現負相關。
- 六、處於水分逆境下的紫葉酢漿草，乾旱一個月後植株雖不會死亡，但部份葉片會變色或萎焉。在這些受損葉片中，雖都具各類光合色素，但含量皆比正常時低，且花青素含量亦低，但此時的葡萄糖含量會增加，兩者呈現負相關。
- 七、除了光合作用最重要的葉綠素 a 之外，檢測花青素與葡萄糖含量的變化，或兩者間的特定比例關係，未來應可發展成植物是否處於逆境下的有效指標。

捌、參考資料及其他

- Meng, X.C. and Wang, X.J. 2004. Regulation of flower development and anthocyanin accumulation in *Gerbera hybrid*. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79:131-137.
- Rosen Feldt, S. and Galati, B.G. 2005. Ubisch bodies and pollen ontogeny in *Oxalis articulata* Savigny. *Biocell.* 29: 271-278.
- 王月雲、陳是瑩、童武夫。2000。植物生理學實驗(增計版)。藝軒圖書出版社。88-98 頁。
- 王旭昭。2007。紫葉酢漿草栽培技術與推廣應用。安徽農業科學 35：11905-11922。
- 李依儒、簡君芳、許喬婷、張育哲。2007。眼見不為憑：光合色素的濾紙層析分離。中華民國第四十七屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 李微、陳昭錦。2013。葉綠素(Chlorophyll)。科學 Online (<https://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=48452>)。
- 林振煜，2014。千「片」一「綠」－光照對葉綠素濃度之影響。中華民國第 54 屆中小學科

學展覽會作品說明書。

張育唐、莊濟全、郭英樹、陳建彰。2005。光合色素的色層分析。

(<http://www.ck.tp.edu.tw/~bio/pdf/02020004.pdf>)

張倚銘、黎雲祥、餘茂蕾、笄文怡、權秋梅。2018。紅花酢漿草光合模型適用性研究。生態科學 37：18-24。

陳加忠，2015。以 LED 進行不同光源與植物之生理反應

(http://amebse.nchu.edu.tw/new_page_370.htm)。

鹿兒陽、蔡仲涵。2008。嫩葉的紅。台灣林業。

(<https://drive.google.com/drive/folders/1IorJoQHKOuSfSBUvf9ssZ0iTzlgagI>)

彭志紅、彭克勤。2002。滲透胁迫下植物脯氨酸积累的研究进展。中國農學通報 4：80-83。

葉黃素。2007。大英百科全書。臺北市立圖書館線上資料庫。

趙秀玲。2011。藍莓的成分與保健功能的研究進展。中國野生植物資源 30：19-23。

趙海田、王振宇、王路。2012。花色苷類物質降血脂機制研究進展。東北農業大學學報 43：139-144。

趙崇言、邱彥承、張皓程。2013。析來素往首部曲之煉丹計。新北市 102 學年度中小學科學展覽會作品說明書。

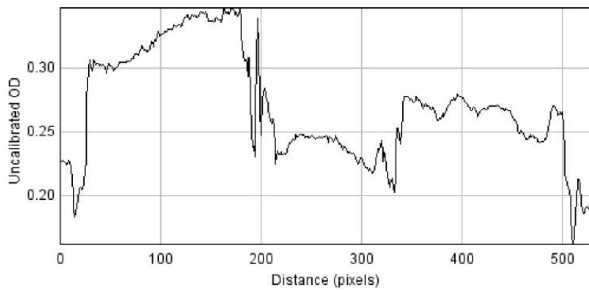
蔡佳娟，2009。兩種滿江紅花青素生成與 PS II 光化學效能之研究。國立台灣大學生態學與演化生物學研究所碩士論文。

蔡尚恬、蔡振章。2004。楓葉變紅了-天然色素的顏色化學。科學發展 381：55-59。

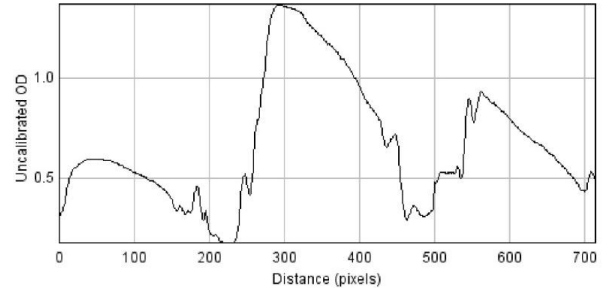
鐘蘭蘭、屠迪、楊亞、劉進輝。2013。花青素生理功能研究進展及其應用前景。生物技術進展 3：346-352。

玖、附錄

一、紫葉與黃花酢漿草的花青素與葡萄糖含量分析

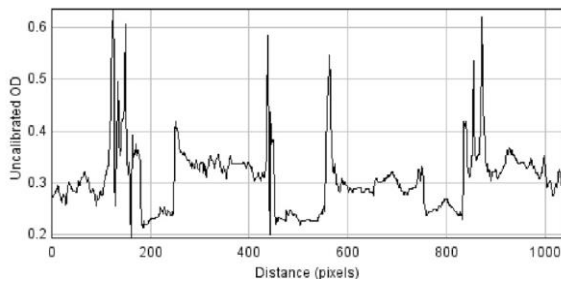


附圖 1 紫葉酢漿草葉內外部花青素含量 Image J 分析。

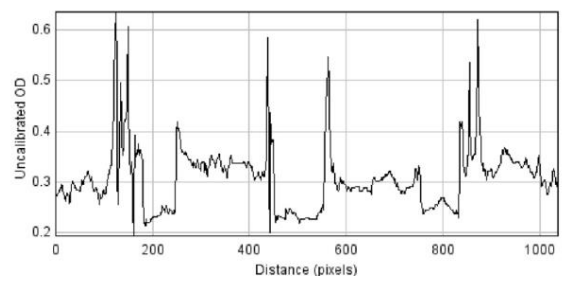


附圖 2 本氏液、紫葉、黃花酢漿草的葡萄糖含量 Image J 分析。

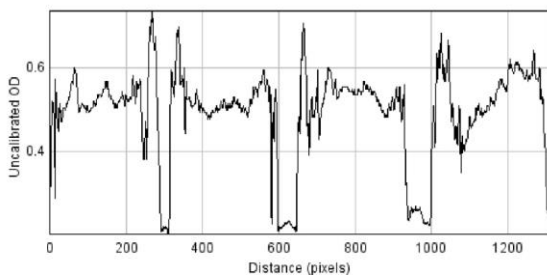
二、日照逆境下，紫葉與黃花酢漿草的花青素與葡萄糖含量分析



附圖 3 紫葉酢漿草於光逆境下的花青素含量 Image J 分析。

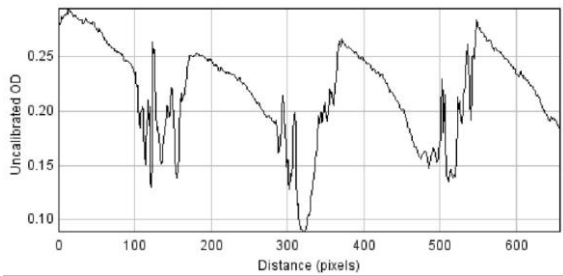


附圖 4 紫葉酢漿草於光逆境下的葡萄糖含量 Image J 分析。

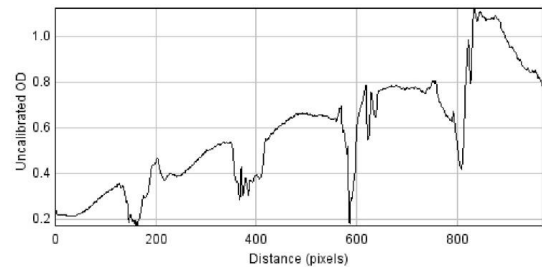


附圖 5 黃花酢漿草於光逆境下的葡萄糖含量 Image J 分析。

三、酸鹼逆境下，紫葉酢漿草的花青素與葡萄糖含量分析

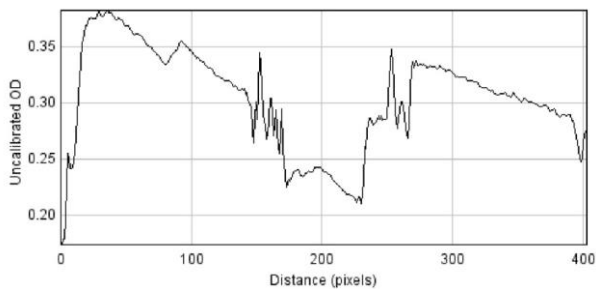


附圖 6 紫葉酢漿草於酸鹼逆境下的花青素含量 Image J 分析。

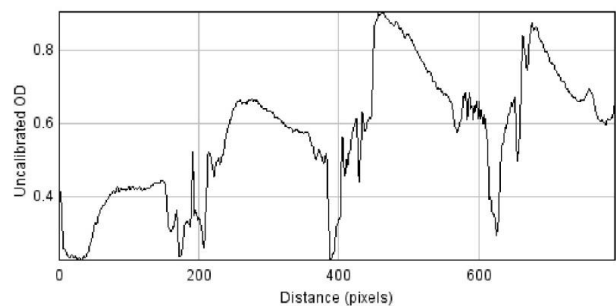


附圖 7 紫葉酢漿草於酸鹼逆境下的葡萄糖含量 Image J 分析。

四、水份逆境下，紫葉酢漿草的花青素與葡萄糖含量分析

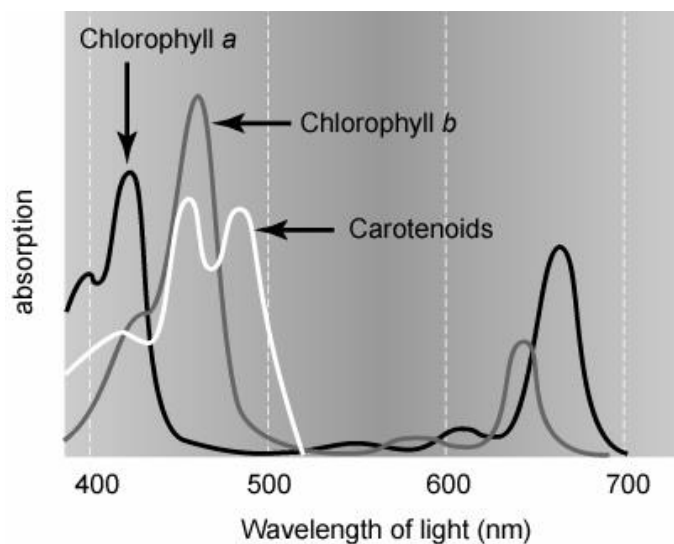


附圖 8 紫葉酢漿草於水份逆境下的花青素含量 Image J 分析。



附圖 9 紫葉酢漿草於水份逆境下的葡萄糖含量 Image J 分析。

五、光合色素的吸光光譜



附圖 10 植物葉綠體內的主要光合色素之吸收光譜。

【評語】 030306

本研究紫葉酢漿草作為研究對象，探究其處日照、酸鹼度和水分等不同逆境時的形態與生理反應，主題清楚且聚焦，科學研究方法適切，變因清楚、適當及完整，有助增進對酢漿草在逆境下型態與生理變化的了解。此外，學生能在校園中取得材料並進行植物外型觀察、生理及生化實驗，探討紫葉酢漿草在不同逆境時的形態與生理反應，使用多種測定分析方法以測量葡萄糖、花青素、葉綠素 a 與澱粉的含量變化來呈現其在逆境環境下的指標，值得鼓勵。

建議如下：

1. 建議各組實驗的重複試驗宜有獨立三重複以上為佳。如果能釐清並呈現植物處於逆境的有效指標（例如花青素與葡萄糖之間的比例關係），或許是未來研究發展的另一大亮點。
2. 色素含量以+表示，其量化標準宜先定義，且利用 Image J 分析轉換成圖 18 與圖 20 中濃度的意義宜略作說明。
3. 濾紙色層分析色素時，要同時與標準品來比較。
4. 研究中發現紫葉酢漿草相對上較能耐鹼，而較不耐酸性之水源，建議學生可以延伸探討是否環境中的酸鹼值不同會影響紫葉酢漿草與黃花酢漿草的生態分佈。

作品簡報

欲顏又紫追根究柢 —

紫葉酢漿草的抗逆境研究

組別：國中組

科別：生物科



前言

動機



問題



相關文獻



本研究



黃花酢漿草
(幸運草)



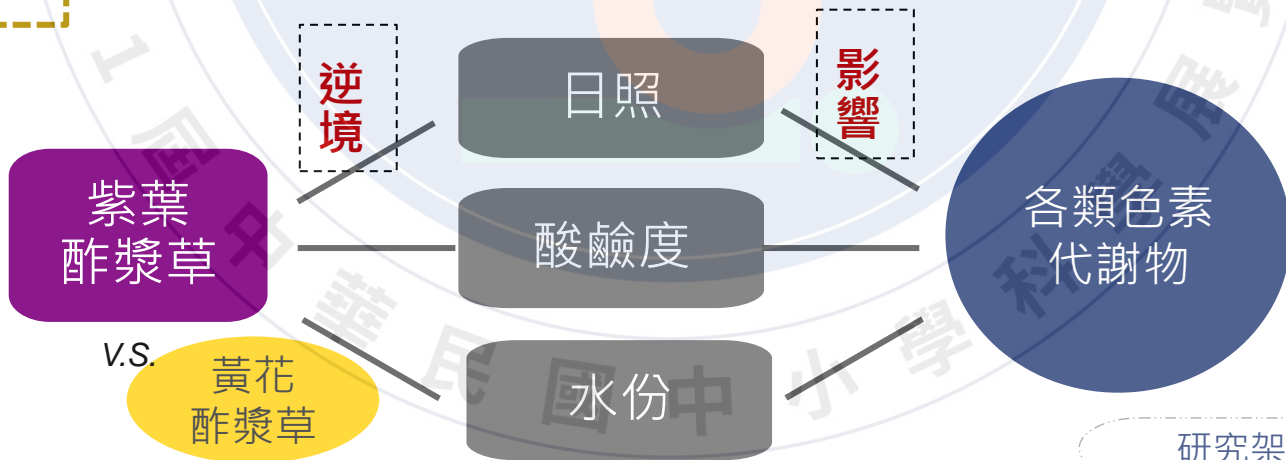
紫葉酢漿草

差異？
色素？
顏色變化？
光合作用？
環境因子？

1. 外在環境影響內在色素
2. 紫外線會減少葉面積、降低光合作用，誘導花青素產生 (陳, 2015)
3. 滿江紅受汙染時，改變色素比例來提高酶活性 (蔡, 2009)

欲顏又紫追根究底 -
紫葉酢漿草的抗逆境研究

組別：國中組
科別：生物科



研究架構圖

研究結果

一、紫葉酢漿草和黃花酢漿草的比較

(一)形態特徵

紫葉酢漿草(*Oxalis triangularis*)

v.s.

黃花酢漿草(*Oxalis corniculata*)



植株、花



地下莖

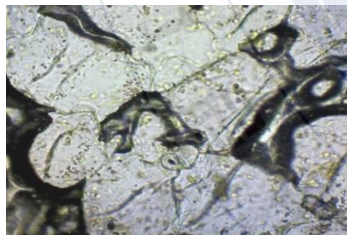


繁殖

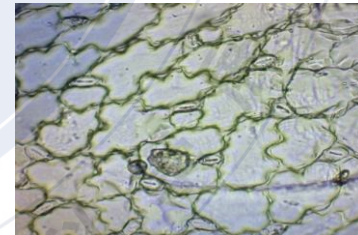


塑果
種子

少

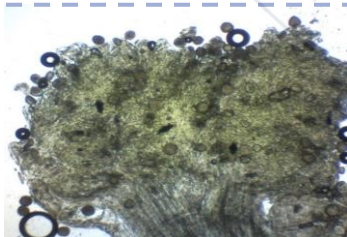


氣孔



多

花椰菜狀



花藥

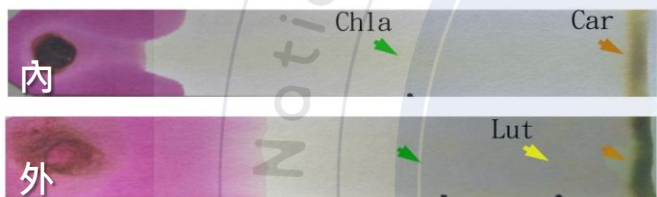


圓頭狀

(二) 紫葉酢漿草葉的內外部差異

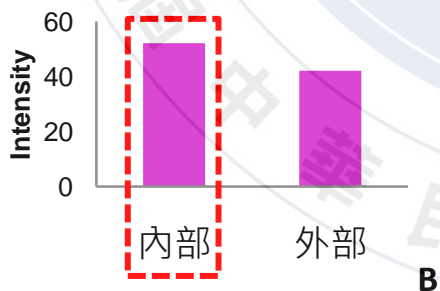


1. 色層分析比較



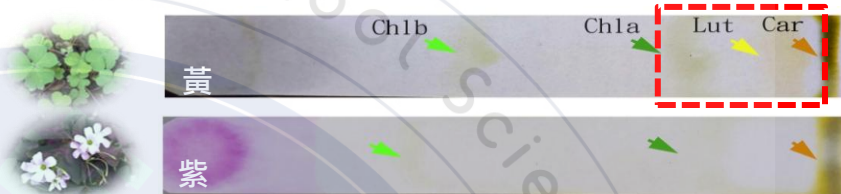
Car (褐色) 類胡蘿蔔素
Lut (黃色) 葉黃素
Chla (深綠色) 葉綠素a

2. 花青素含量比較



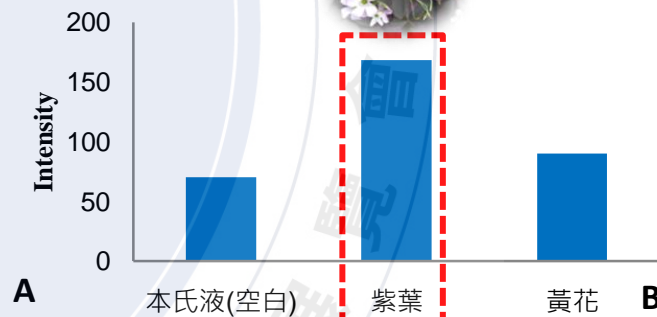
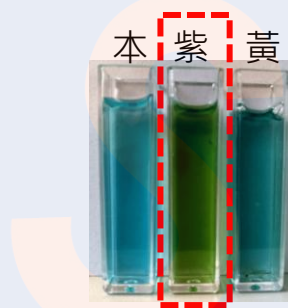
(三) 紫葉和黃花酢漿草的生理特性比較

1. 色層分析比較



	葉綠素b	葉綠素a	葉黃素	胡蘿蔔素
黃花	++	+++	++	+++
紫葉	+	++	-	++

2. 葡萄糖含量比較



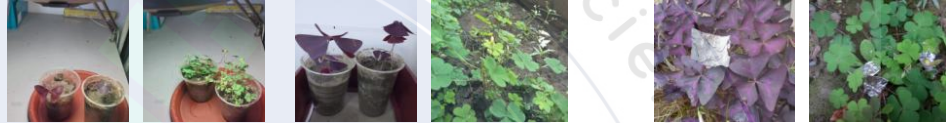
3. 澱粉含量比較



二、日照逆境對紫葉和黃花酢漿草的影響

實驗設計

	全日照	半日照		無日照		
		強光	弱光	一周	二周	三周
日照長度(晝:夜)	24:0	12:12		0:24		



1. 無日照影響

較耐陰

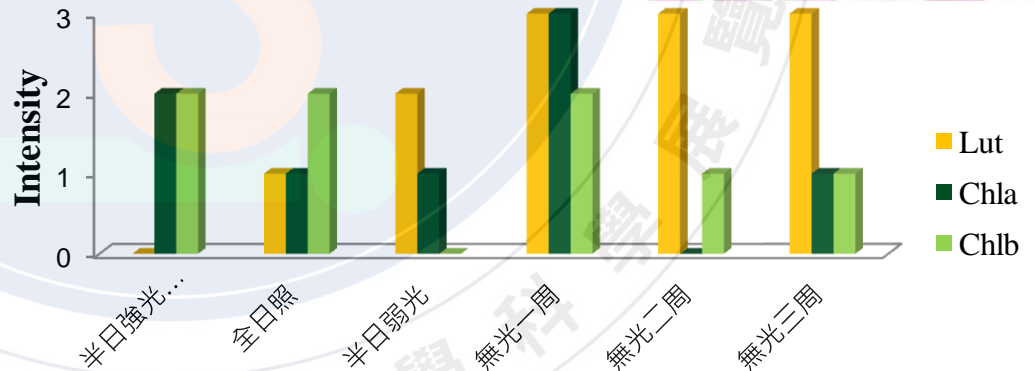
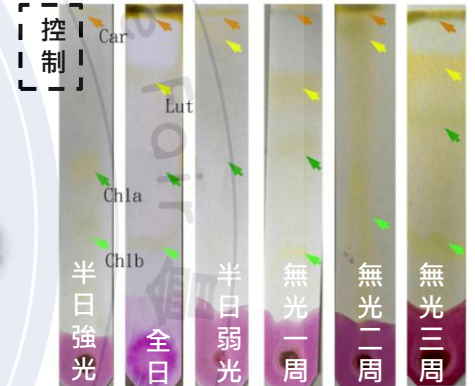


紫葉



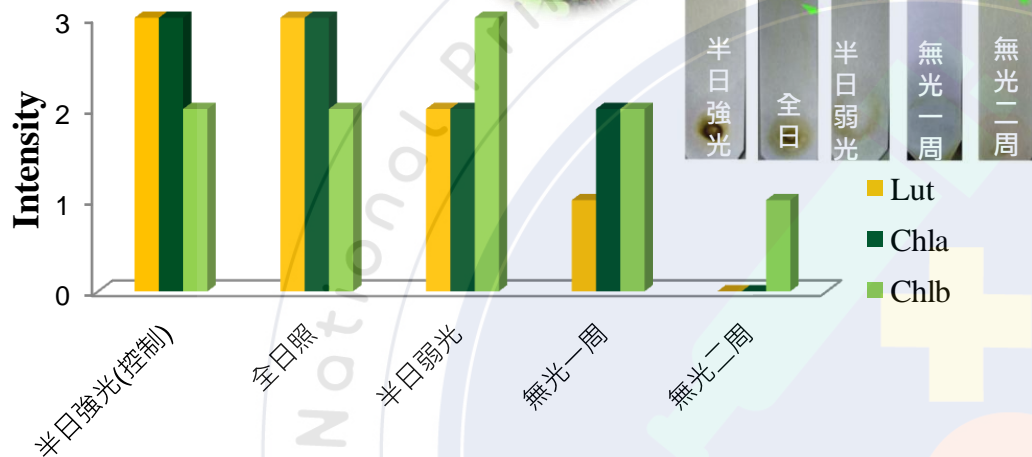
黃花

2. 色層分析比較

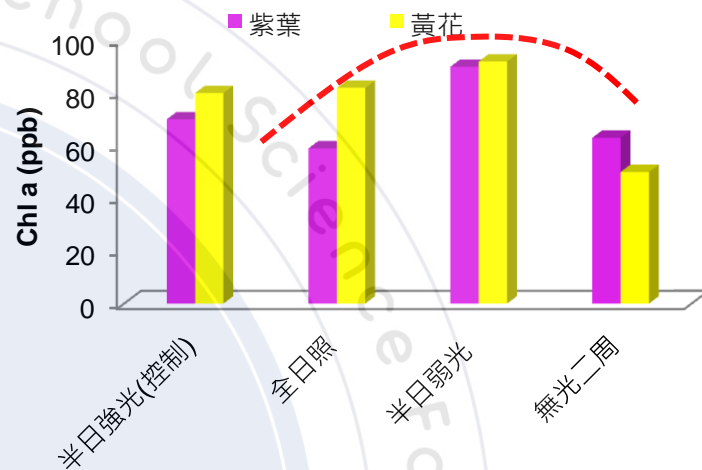


Conclusion: 1. 葉綠素a先增後減 2. 葉黃素增加

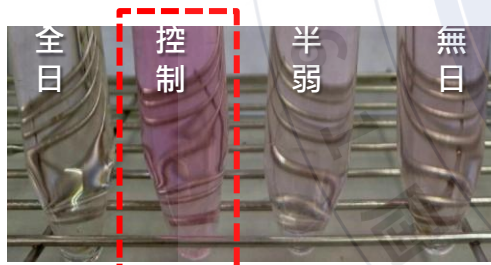
2. 色層分析比較 cont.



3. 葉綠素a含量比較

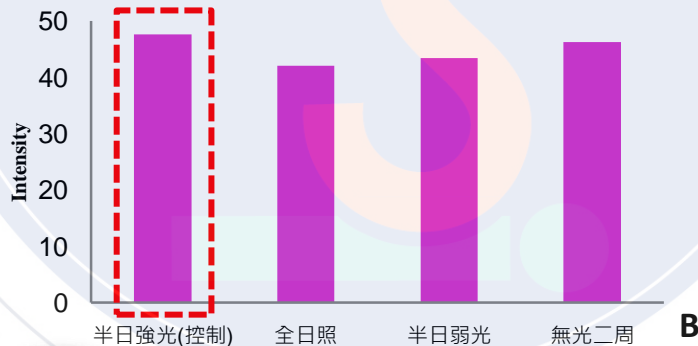


4. 花青素含量比較



A

紫葉



B

含量低，變化不顯著

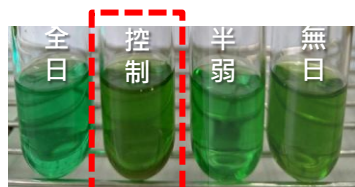


黃花

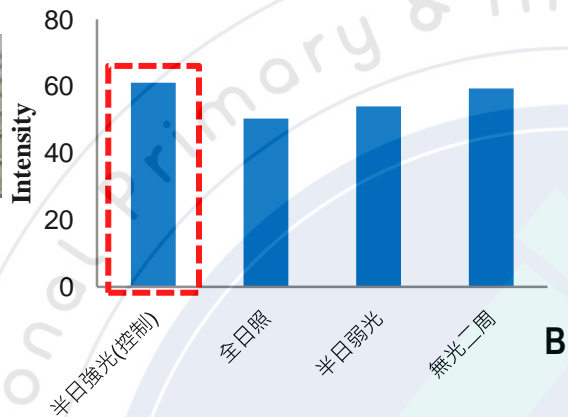
Conclusion: 1. 隨日照減弱，葉綠素a先增後減

2. 黃花的葉綠素a降解較快

5. 葡萄糖含量比較



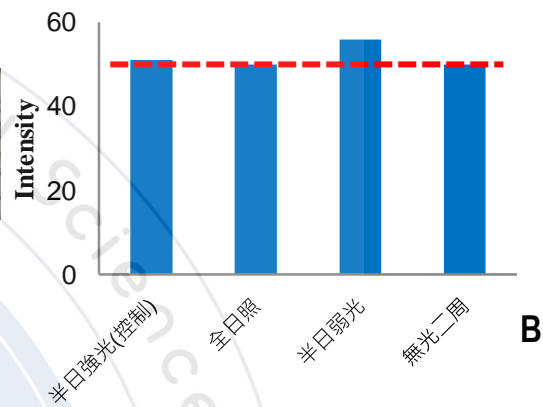
A



紫葉



A

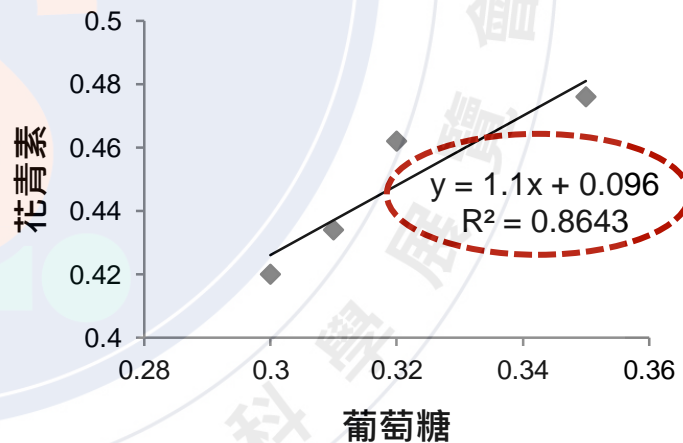
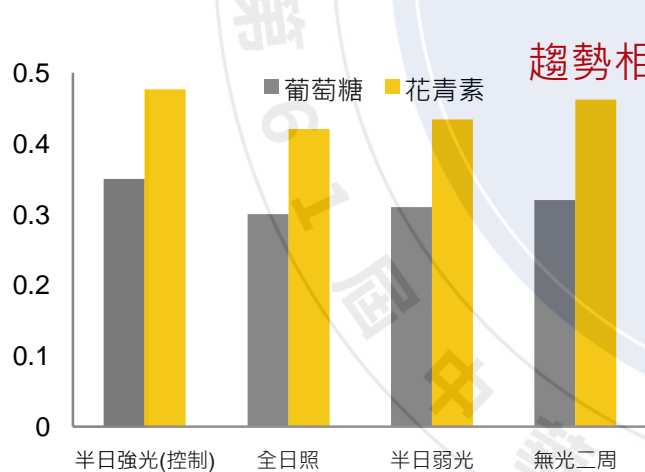


B



黃花

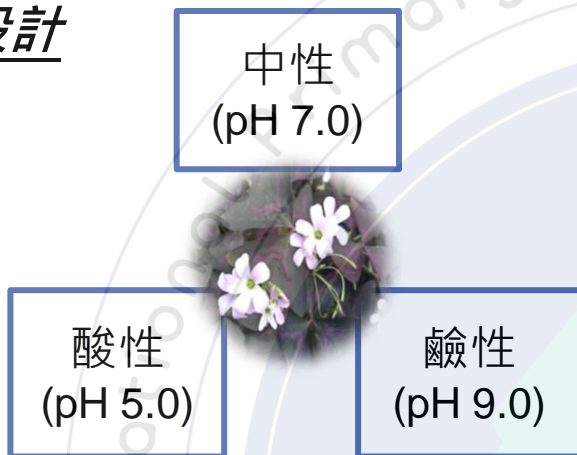
6. 日照逆境下，紫葉酢漿草的葡萄糖與花青素含量之變化比較



Conclusion: 日照逆境時，花青素與葡萄糖變化相似

三、酸鹼逆境對紫葉酢漿草的影響

實驗設計



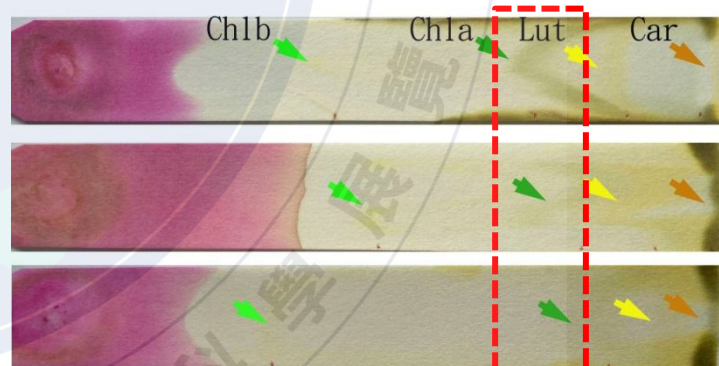
1. 形態特徵比較



2. 色層分析比較

不同酸鹼度水源對紫葉酢漿草的色層分析結果

	葉綠素b	葉綠素a	葉黃素	類胡蘿蔔素
中性	+	+++	+	++
酸性	+	++	++	+++
鹼性	+	+	+	+++

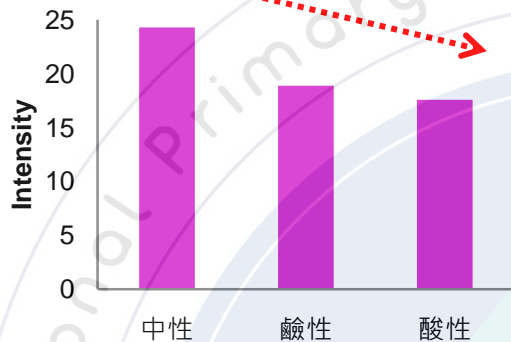


Conclusion: 1. 相較上，怕酸，耐鹼 2. 酸鹼逆境造成葉綠素a含量減少

3. 花青素含量比較



A

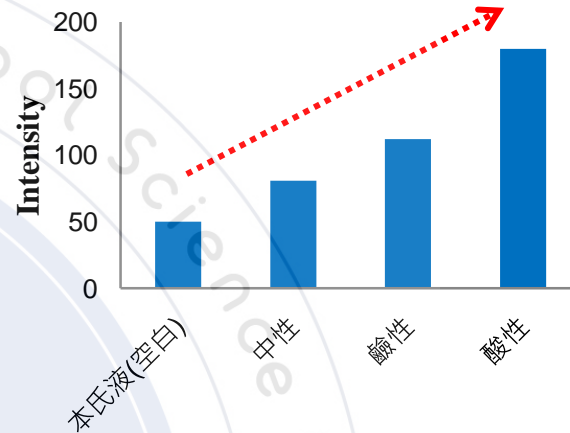


B

4. 葡萄糖含量比較



A



B

5. 酸鹼逆境下，紫葉酢漿草的葡萄糖與花青素含量之變化比較



Conclusion: 酸鹼逆境使花青素減少，葡萄糖增加

四、水份逆境對紫葉酢漿草的影響

1. 形態特徵比較

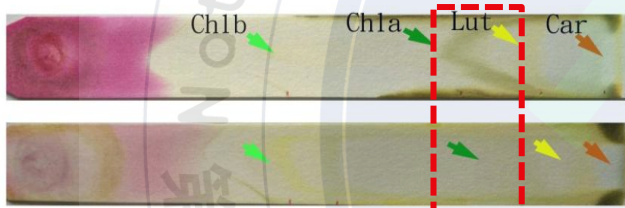


實驗設計

正常

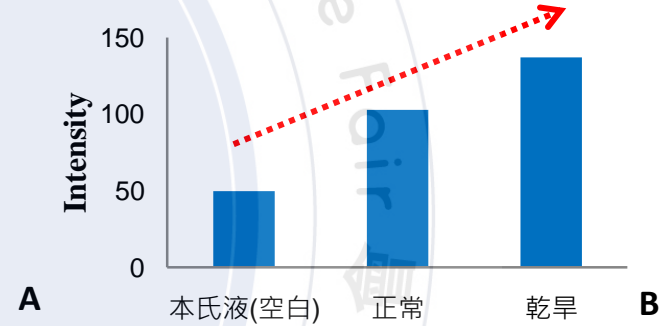
乾旱

2. 色層分析比較

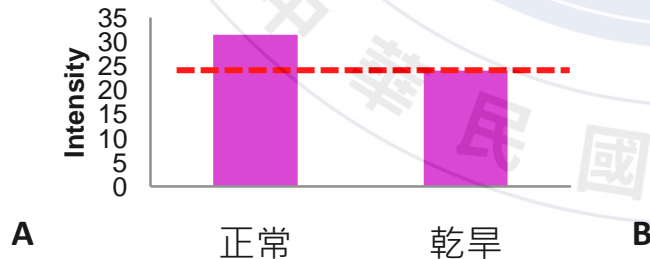


	葉綠素b	葉綠素a	葉黃素	胡蘿蔔素
正常	+	+++	+	++
乾旱	+	+	+	+++

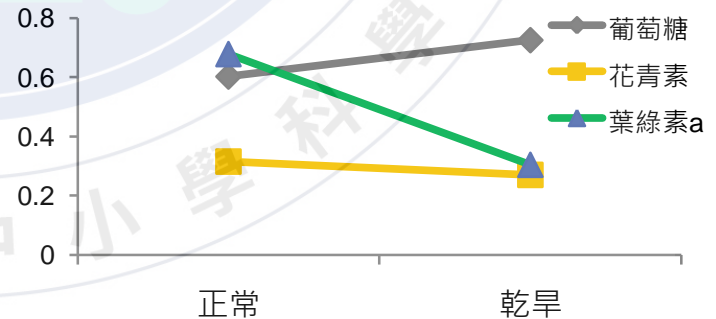
4. 葡萄糖含量比較



3. 花青素含量比較



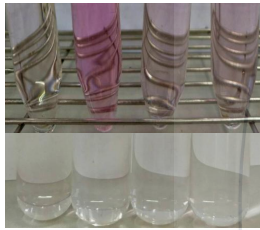
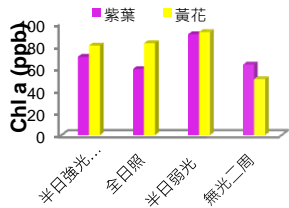
5. 水份逆境下，紫葉酢漿草葉內色素與葡萄糖含量的變化比較



討論

一、光合色素

光強度改變會影響葉綠素含量。弱光時，植物為提高光合效率，因此葉綠素a和葉黃素等常會增加，但長期遮光仍會導致色素的破壞。

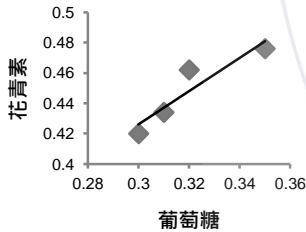


二、花青素

過強日照會導致光合作用受損，出現光抑制作用。花青素具光保護作用，減少體內自由基產生、抑制脂質過氧化物等，以此保護植物本身。

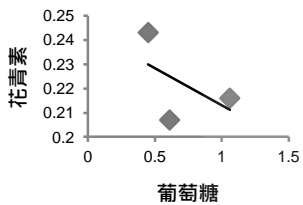
三、葡萄糖

(一)葡萄糖增多有利花青素形成，因此日照逆境時，可見花青素和葡萄糖含量呈正相關。



(二)酸鹼和水份逆境中，葡萄糖含量不減反增，可能原因有3：

1. 葡萄糖是主要能量來源；
2. 植株衰老損壞時，細胞代謝需求下降，葡萄糖分解減速；
3. 酸鹼與水分逆境，與花青素無關，葡萄糖提升是為其它防禦系統，例如活化酵素等。





■ 結論 ■

- ◆ 一、弱光時，葉綠素含量常先升後降，紫葉酢漿草的光合色素分解速度較黃花慢，也比黃花更耐陰暗。花青素在日照逆境中扮演重要角色。
- ◆ 二、紫葉酢漿草相當耐旱，但易受酸性水的影響。葡萄糖含量於此時會顯著提升，以利植物渡過水份和酸鹼逆境。
- ◆ 三、除光合作用最重要的葉綠素a之外，偵測花青素、葡萄糖含量的改變，未來有潛能可當成逆境發生時的生理指標。

■ 重要參考文獻 ■

- 1.王旭昭。2007。紫葉酢漿草栽培技術與推廣應用。安徽農業科學 35：11905-11922。
- 2.李依儒、簡君芳、許喬婷、張育哲。2007。眼見不為憑：光合色素的濾紙層析分離。中華民國第四十七屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 3.蔡尚恬、蔡振章。2004。楓葉變紅了-天然色素的顏色化學。科學發展 381：55-59。
- 4.鐘蘭蘭、屠迪、楊亞、劉進輝。2013。花青素生理功能研究進展及其應用前景。生物技術進展 3：346-352。