

中華民國第 61 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

佳作

探究精神獎

052106

探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造與運輸鹽類的機制

學校名稱：臺中市立臺中女子高級中等學校

作者： 高二 林子加 高二 陳以晴	指導老師： 陳玉珊
-------------------------	--------------

關鍵詞：空氣鳳梨、毛狀體、硝酸鉀

摘要

本研究主要探討空氣鳳梨吸收與運輸鹽類的機制。首先，製作空氣鳳梨石蠟包埋玻片以觀察其表皮和內部構造。再來，分別以浸濕硝酸鉀水溶液的棉花包覆葉子不同部位，和對空氣鳳梨噴灑不同濃度的硝酸鉀水溶液，觀察空氣鳳梨在短時間內(1-3 小時)與長時間下(14 天)運輸硝酸鉀的情形。本研究發現：毛狀體是空氣鳳梨吸收鹽類的構造；空氣鳳梨吸收硝酸鉀後，短時間內會將其由高往低濃度區域運輸；長時間下硝酸鉀則由葉基部向尖端運輸，以抵抗高鹽逆境。最後，本研究提出空氣鳳梨運輸鹽類的路徑為：溶於水中的鹽類經由毛狀體進入植物體內，透過水的蒸散拉力將鹽類由葉基部運輸至尖端。未來，希望能以空氣鳳梨作為檢測環境汙染物與酸雨的指標性植物。

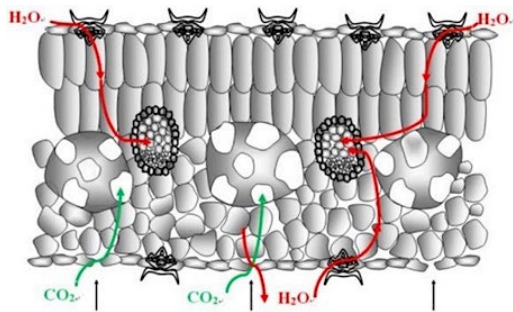
壹、研究動機

空氣鳳梨是市面上常見的一種觀賞植物，和一般植物不同的是，空氣鳳梨不需要種植在土壤裡，只需噴灑些許水分，便可以正常生長。已知空氣鳳梨的根部僅能固定植株，而無吸收水分和鹽類的功能。

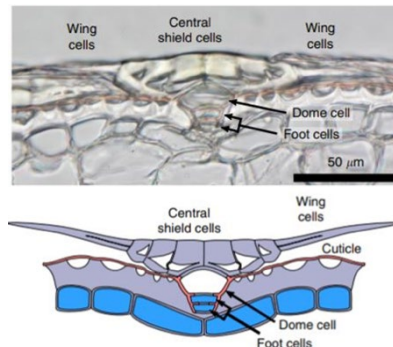
在查閱相關文獻資料，知道空氣鳳梨的葉表有一種特殊的毛狀體 (trichome)，此毛狀體有助於吸收環境中的水分。在吳思儀、洪禎林 (2016) 的論文中，提及空氣鳳梨屬於 CAM 植物，氣孔主要在夜晚開啟，讓氣體進出並促進蒸散作用，此蒸散拉力可驅使水分由葉子基部運輸到尖端；所吸收的水分可由位於下表皮的氣孔離開 (圖一)。Pascal S.等人 (2020) 的研究中，提及空氣鳳梨毛狀體的構造主要分為四個部分 (圖二)：Wing cells、Central sheild cells、Dome cell、Foot cells。當環境濕度高時，空氣鳳梨毛狀體的 Wing cells 會向上舉起，使水分可由 Wing cells 和 Central sheild cells 下方流入；當環境濕度低時，Central sheild cells 則會下陷，以減少葉內部水分蒸散。

綜合上述與空氣鳳梨相關的研究，皆是探討空氣鳳梨吸收水分的構造與運輸水分的方式，但關於鹽類的吸收構造與運輸方式，都尚未提出合理假說與相關實驗驗證。在植物生長過程中，氮、磷、鉀等為生長所需的必要元素，其中氮是植物合成蛋白質與核酸的重要元素。而植物根部主要吸收的含氮無機鹽類是 NH_4^+ 與 NO_3^- ，其中又以 NO_3^- 為主。因此本研究使用 KNO_3 作為研究空氣鳳梨 (*Tillandsia harrisii*) 鹽類吸收與運輸機制的主角，並將實驗分為三個部份：首先，製作空氣鳳梨葉片的石蠟包埋玻片，觀察葉表毛狀體和氣孔的構造與相對分布，以探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造；接著，以浸濕硝酸鉀水溶液的棉花包覆空氣鳳梨葉片

的尖端、中間、基部三個部位，觀察在短時間內(1-3 小時)硝酸鉀鹽類在植物體內的運輸情形；最後，藉由噴灑不同濃度的硝酸鉀水溶液，觀察在長時間(14 天)下空氣鳳梨體內各部位硝酸根含量，藉此推測鹽類運輸情形。



圖一：水分和二氧化碳進出空氣鳳梨的路徑
(吳思儀、洪禎林，2016)



圖二：毛狀體的構造
(Pascal S. et al. 2020)

貳、研究目的

- 一、探討空氣鳳梨葉表吸收鹽類的構造。
- 二、探討空氣鳳梨在短時間內運輸硝酸鉀的路徑。
- 三、探討空氣鳳梨在長時間下運輸硝酸鉀的路徑及找出空氣鳳梨體內內源性硝酸鉀濃度。
- 四、綜合以上研究結果，繪製空氣鳳梨在短時間和長時間吸收鹽類下運輸鹽類的模式圖。

參、研究設備及器材

一、實驗植物



圖三：空氣鳳梨哈里斯 (*Tillandsia harristii*)

空氣鳳梨哈里斯 (*Tillandsia harrisii*)，是一種 CAM 植物。空氣鳳梨是一般食用鳳梨的近親，為鐵蘭屬的總稱，多分布於中南美洲、南美洲和北美洲南部。空氣鳳梨根部外露在空氣之中，可固定植株但不需要吸取土壤中的無機養份，是世界上唯一完全生於空氣中的植物。

二、實驗藥品

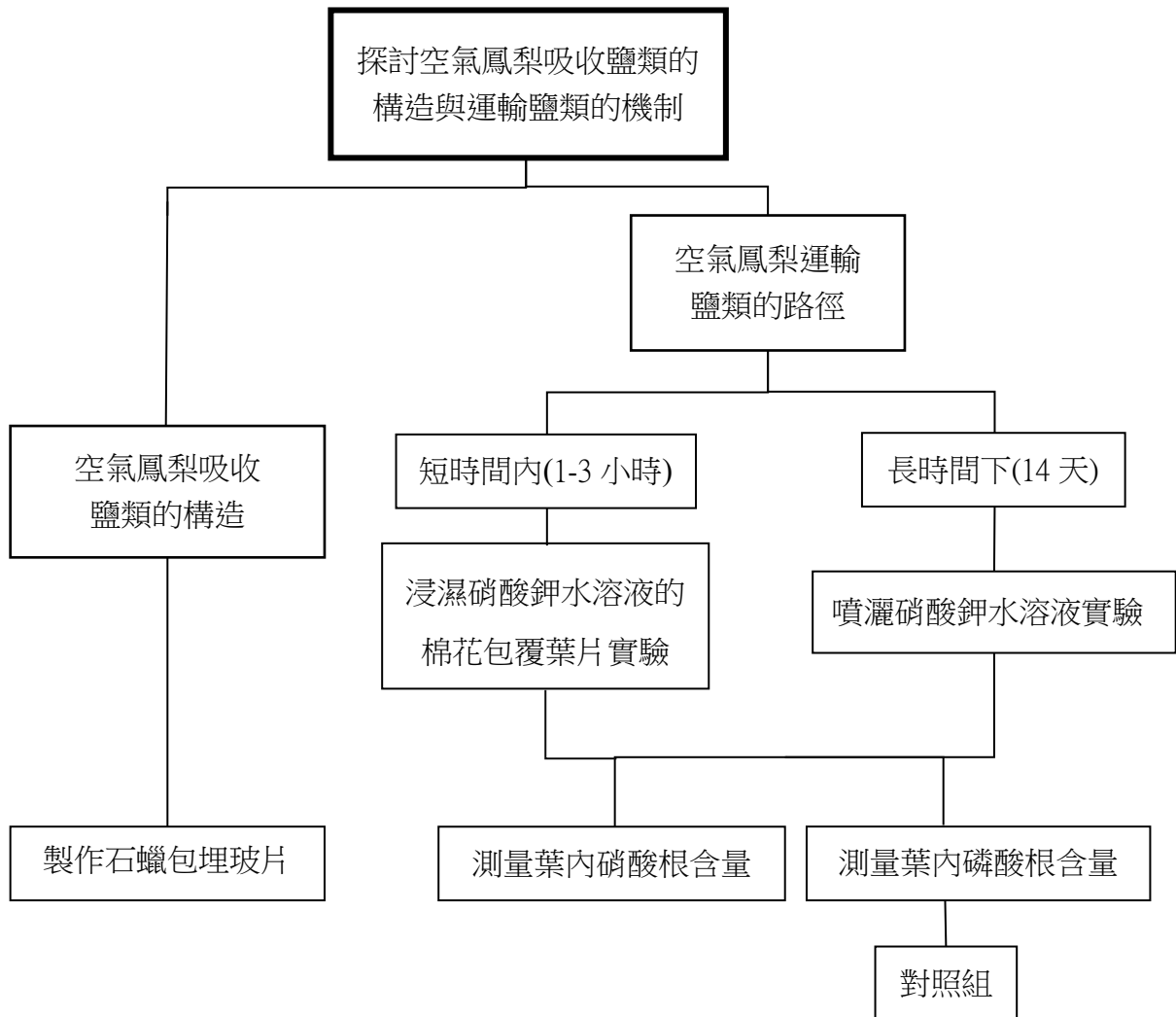
NaOH 水溶液(4.2 N)、硝酸鉀水溶液、5 %水楊酸(溶於濃硫酸)、二次水、Killer Reagent(A 液包含 4.2 g 鉬酸銨和 27 ml 硫酸溶於 1 L 水，B 液包含抗壞血酸(10 %)，A 液與 B 液以體積比 5：1 混合)、100 ml F.A.A 固定液(14 %福馬林 10 ml、醋酸 10 ml、70 %酒精 80 ml)、1 %番紅(Safranin，溶於 50 %酒精)、0.5 %快綠 (Fast Green，溶於 90 %酒精)、二甲苯、石蠟粒、封片膠。

三、實驗設備：

烘箱 (CDV-602)、熔蠟包埋機 (BNT Paraffin Dispenser)、冷凍盤旋轉式切片機 (BNT RM3000 Rotary Microtome)、水浴式石蠟伸展器 (AMOS AWB 210)、切片用烘片台 (WEXIS DR230)、離心機 (HIMAC CT15RE)、試管震盪器 (VORTEX-GENIE 2 Shaker)、分光光度計 (Thermo Spectronic Genesys 10-VIS)、實體變焦顯微鏡 (NIKON SMZ445)。

肆、研究過程與方法

一、研究架構



二、研究方法

(一)製作空氣鳳梨的石蠟包埋玻片

1. 取葉子樣本，以刀切取葉片基部、中間、尖端的組織，每個樣本長度 1 cm。
2. 將樣本放入樣本瓶，浸泡於 F.A.A 固定液 1 天，再將 F.A.A 換為 70 %酒精浸泡 2 小時，並依序用 85 %、95 %、99.5 %酒精浸泡置換各 2 小時，最後浸泡於 99.5 %酒精 12 小時以上，使樣本完全脫水。
3. 將酒精換為二甲苯浸泡 6 小時，更換二甲苯再浸泡 6 小時以上至樣本透明澄清。
4. 將標本瀝掉二甲苯，放入浸蠟塑膠盒中，並依序提高蠟液濃度(二甲苯和石蠟的比例由 1:1、1:2、1:3，逐漸至全石蠟)，使樣本自二甲苯逐漸置換至蠟液，每個濃度浸泡 2 小時。此步驟須於 65°C 烘箱中使蠟融化。

5. 使用熔蠟包埋機將樣本包埋於石蠟中，待蠟液凝固後放置冰箱冷凍 2 小時。
6. 將樣本從冰箱中取出，並放置於冷盤上保持低溫、等待切片。
7. 使用切片機將標本切片後，將標本切片置於 45°C 水浴中展開，以載玻片撈起，放置於 65°C 烤片機上使標本切片完全附著於載玻片上。
8. 將載玻片放在染色架上，放入裝有二甲苯的染色缸中，浸泡 10 分鐘。更換二甲苯，再浸泡 10 分鐘。
9. 依序用 99.5 %、95 %、70 %、50 % 酒精浸泡置換各 3 分鐘。
10. 以番紅染 30 分鐘。
11. 以 50 % 酒精洗去多餘之染料。
12. 依序用 50 % 酒精 (重複兩次)、70 % 酒精、95 % 酒精浸泡置換各 3 分鐘。
13. 以快綠染 5 分鐘。
14. 以 95 % 酒精洗去多餘之染料。
15. 依序用 95 %、99.5 % 酒精(重複三次)浸泡各 30 秒。
16. 將載玻片放在染色架上，放入裝有二甲苯的染色缸中，浸泡 5 分鐘。更換二甲苯，再浸泡 5 分鐘。
17. 以封片膠將蓋玻片黏著於載玻片上，以覆蓋標本。
18. 用複式顯微鏡 40X、100X 倍率觀察。

(二)測量以浸濕硝酸鉀水溶液棉花包覆空氣鳳梨不同部位和空氣鳳梨體內硝酸根含量的關係

1.不同部位、包覆時間相同

(1)分別取三株空氣鳳梨的外層葉子各三片，每片葉子劃記長度相等的三等分。

(2)三片同一株的葉子分別以浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花完全包覆三等分中的尖端、中間、基部，如(圖四)。



圖四：以浸濕硝酸鉀水溶液的棉花包覆空氣鳳梨葉片(由左至右為包覆尖端、中間、基部)

- (3)浸濕 1.5 小時後，移除棉花，將葉子擦乾。按標記切成三等分，並記錄每一等分的重量(之後計算數據需要)，置入 5 ml 的二次水中保存。
- (4)求得每公克葉片硝酸根含量，測量方法如下：(Dominic Anthony Cataldo, 1975)
 - a. 取空氣鳳梨葉片樣本，用 2 ml 蒸餾水研磨萃取。
 - b. 離心 17,600 x g，25 分鐘 (4°C)。
 - c. 取 0.1 ml 上清液，加入 0.4 ml 水楊酸，在室溫下反應 20 分鐘。
 - d. 緩慢加入 4.5 ml NaOH(4.2 N)，並震盪。
 - e. 在室溫下靜置 30 分鐘，使其降溫至室溫。
 - f. 用分光光度計測量 OD 值 (波長 410 nm)。
 - g. 繪製標準曲線，並將所測量的 OD 值換算成硝酸根含量。

2.同一部位、包覆時間不同

- (1) 取三株空氣鳳梨的外層葉子各三片，每片葉子劃記長度相等的三等分。
- (2) 三片同一株的葉子分別以浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花完全包覆於三等分中的尖端，並放置靜待 1 小時、2 小時、3 小時。
- (3) 移除棉花，將葉子擦乾，按標記切成三等分，並記錄每一等分的重量(之後計算數據需要)，置入 5 ml 的二次水中保存。
- (4) 求得每公克葉片硝酸根含量，測量方法同上。
- (5) 將棉花完全包覆於三等分的中間，重複步驟(1)-(4)。
- (6) 將棉花完全包覆於三等分的基部，重複步驟(1)-(4)。

(三)測量長時間噴灑不同濃度硝酸鉀水溶液和空氣鳳梨體內硝酸根含量的關係

- 1.分別以不同濃度的硝酸鉀水溶液連續噴不同植株的空氣鳳梨 14 天，由植株前、後、左、右距離 5 cm 噴灑，每天 8:00、12:00、16:00 各噴一次，如(圖五)。



圖五：噴灑不同濃度硝酸鉀水溶液的空氣鳳梨

- 2.分別取下各植株的外層葉子三片，用水清洗並擦乾。
- 3.以長度將葉子均分為長度相等的四等分，並測量和記錄每一等分的重量(之後計算數據需要)，置入 5 ml 的二次水中保存。
- 4.求得每公克葉片硝酸根含量，測量方法同上。

(四)測量長時間噴灑不同濃度硝酸鉀水溶液和所測得空氣鳳梨體內磷酸根含量的關係

1.實驗原理：

根據文獻 Determination of Phosphate Concentration in Soil，得知測量植物體內磷酸根含量的方法。其原理是當磷酸鹽和鉬酸鉍一起加熱時，藉由絡合反應產生鉬酸鹽和磷的藍色絡合物，形成有色絡合物的量取決於樣品中的磷酸鹽濃度，因此可藉由分光光度計測量樣本變色的深淺來判斷空氣鳳梨體內磷酸根的含量多寡。

2.實驗過程：

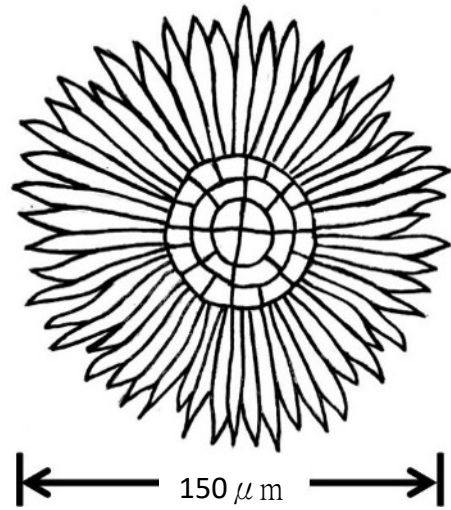
- (1)連續 14 天在不同植株分別噴不同濃度的硝酸鉀水溶液，由植株前、後、左、右距離 5 cm 噴灑，每天 8:00、12:00、16:00 各噴一次。
- (2)分別取下各植株的外層葉子三片，用水清洗並擦乾。
- (3)以長度將葉子均分為長度相等的四等分，並測量和記錄每一等分的重量(之後計算數據需要)，置入 5 ml 的二次水中保存。
- (4)求得每公克葉片磷酸根含量，測量方法如下：
 - a.取空氣鳳梨葉片樣本，用 2 ml 蒸餾水研磨萃取。
 - b.離心 17,600 x g，25 分鐘 (4°C)。
 - c.取上清液 0.5 ml，加入 Keller Reagent 1 ml，並等待 30 分鐘呈色反應。
 - d.用分光光度計測量 OD 值 (波長 820 nm)。
 - e.繪製標準曲線，並將所測量的 OD 值換算成磷酸根含量。

伍、研究結果

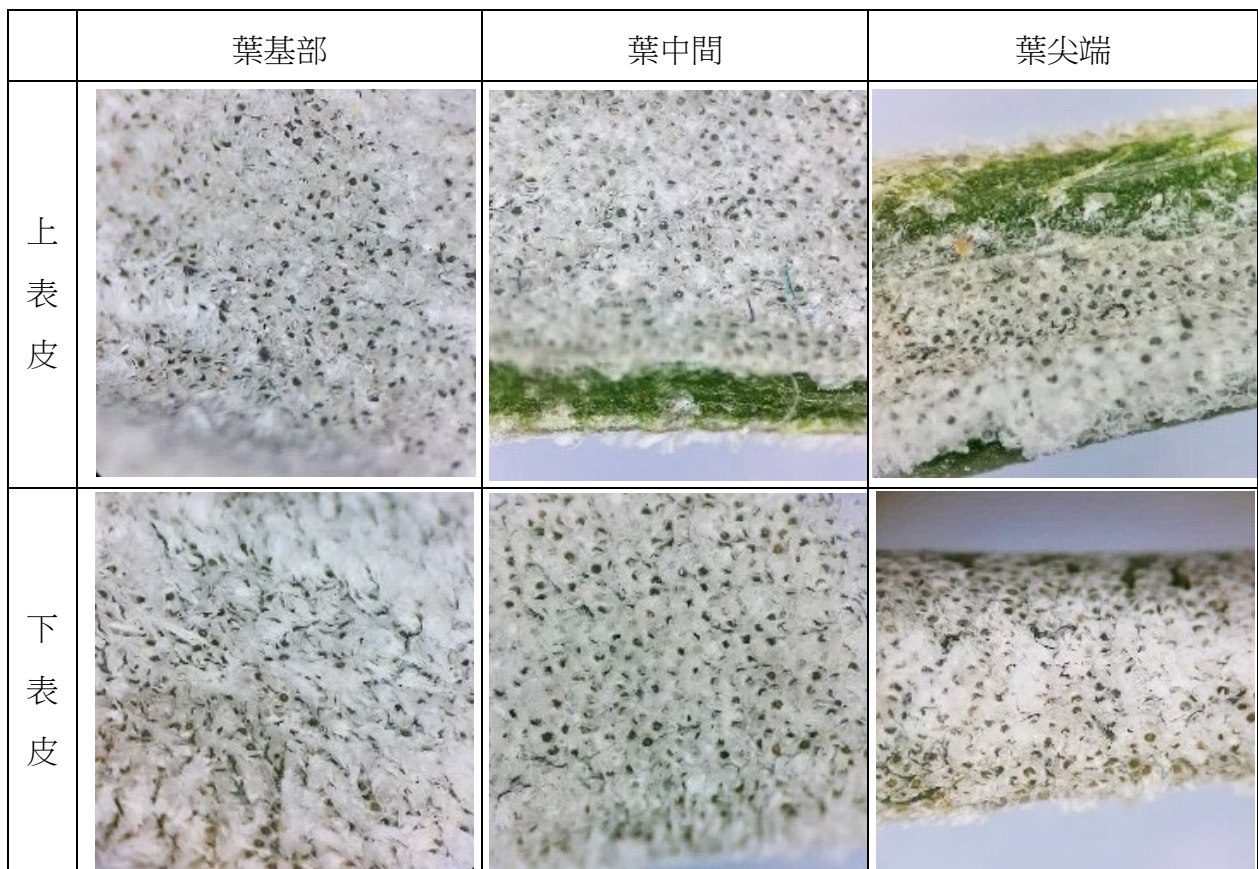
一、探討空氣鳳梨葉表吸收鹽類的構造

(一)空氣鳳梨葉表的毛狀體

首先，本研究以實體變焦顯微鏡（NIKON SMZ445）直接觀察空氣鳳梨葉片上、下表皮毛狀體分布密度情形，如(圖七)。因相鄰毛狀體的外圍的 Wing cells 會彼此重疊，無法確實計數毛狀體的數目，但在相同視野與放大倍率下，藉由觀察毛狀體外圍的白色 Wing cells(圖六)分佈情形，可判斷葉表上的毛狀體密度。根據(圖七)觀察結果，空氣鳳梨無論是在上、下表皮，其毛狀體的數量皆由基部向尖端明顯遞減。

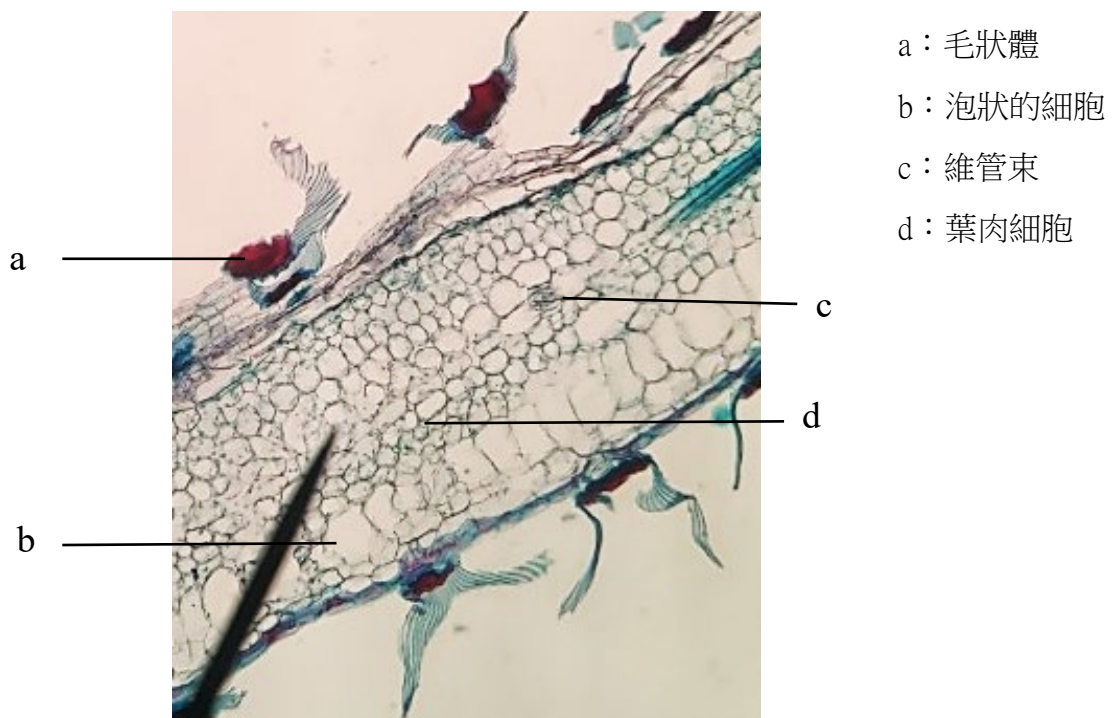


圖六：空氣鳳梨毛狀體手繪俯視圖

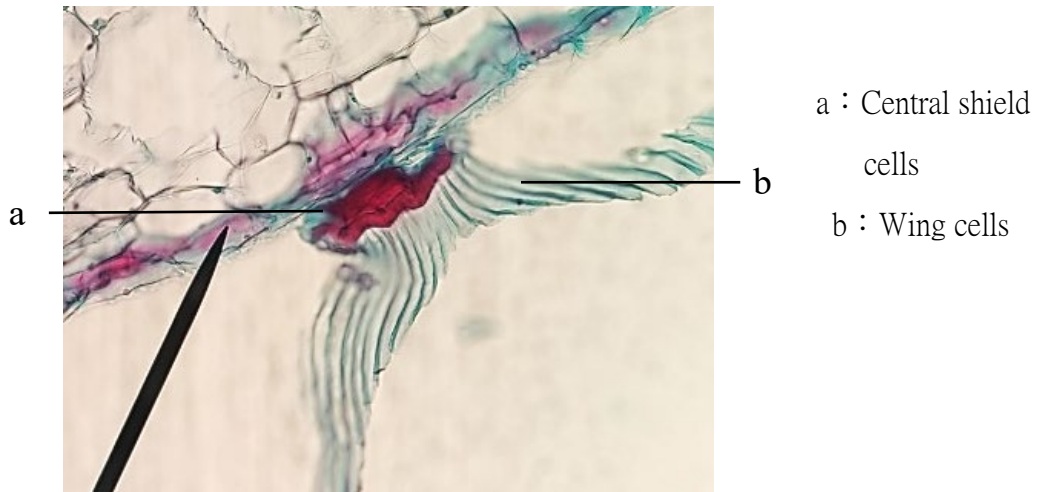


圖七：空氣鳳梨上、下表皮的毛狀體分布情形(實體變焦顯微鏡, 3.5X)

此外，為了能更清楚觀察空氣鳳梨葉片內部的細微構造，本研究製作空氣鳳梨的石蠟包埋玻片，用複式顯微鏡觀察結果如(圖八)和(圖九)所示。根據(圖八)結果，得知葉子內部構造除了維管束和含葉綠體的葉肉細胞外，在靠近上表皮的 2~3 層泡泡狀的薄壁細胞，可能有類似 Bulliform Cell 的功能。文獻資料 (Susanne Matschi, 2020) 提及部分單子葉植物可以透過位於表皮下 Bulliform Cell 的膨脹或萎縮，讓整片葉子伸展或捲曲，以調節植物蒸散作用的強度。此外，表皮細胞外側覆蓋著角質層；毛狀體分布在上、下表皮。(圖九)為毛狀體的細部構造，紅色部分為番紅染色的結果。番紅 (safranin) 會使細胞核、木質化細胞壁、角質化細胞壁呈現暗紅至鮮紅色。根據結果，本研究發現毛狀體內紅色部分為含有角質層防水構造的 Central shield cells 與 Dome cell，而 Wing cells 則未觀察到有角質化的現象。



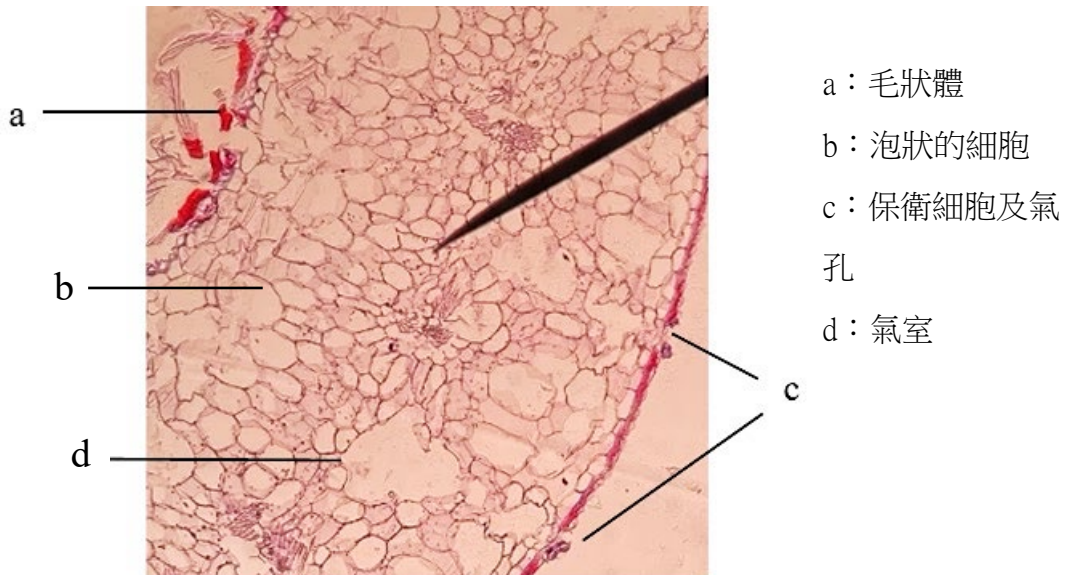
圖八：空氣鳳梨毛狀體(L.S., 100X)



圖九：空氣鳳梨毛狀體(L.S., 400X)

(二)空氣鳳梨葉表的保衛細胞及氣孔

(圖十)是空氣鳳梨葉基部的橫切面。圖中的左側有 2~3 層泡泡狀的薄壁細胞，推知左側為上表皮、右側為下表皮。本研究發現空氣鳳梨葉的上表皮無氣孔，下表皮則無論是在葉的基部、中間和尖端皆有氣孔。除了毛狀體和保衛細胞外，空氣鳳梨的葉子表皮上無其它可能吸收鹽類的構造。

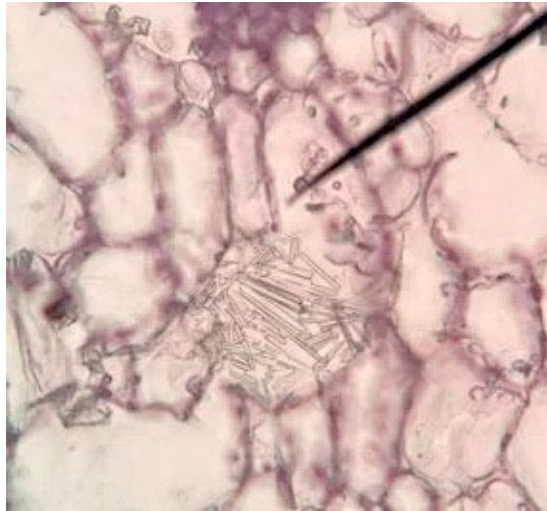


圖十：空氣鳳梨葉基部橫切面(C.S., 100X)

(三)空氣鳳梨葉內的結晶

(圖十一)是空氣鳳梨葉基部的結晶構造。根據結果，本研究發現空氣鳳梨會在葉內維管束附近或葉肉細胞間形成針狀結晶 (raphides)，也觀察到部分結晶會破壞細胞壁。

此外，本研究觀察到結晶數量從基部到尖端呈現遞減的現象。



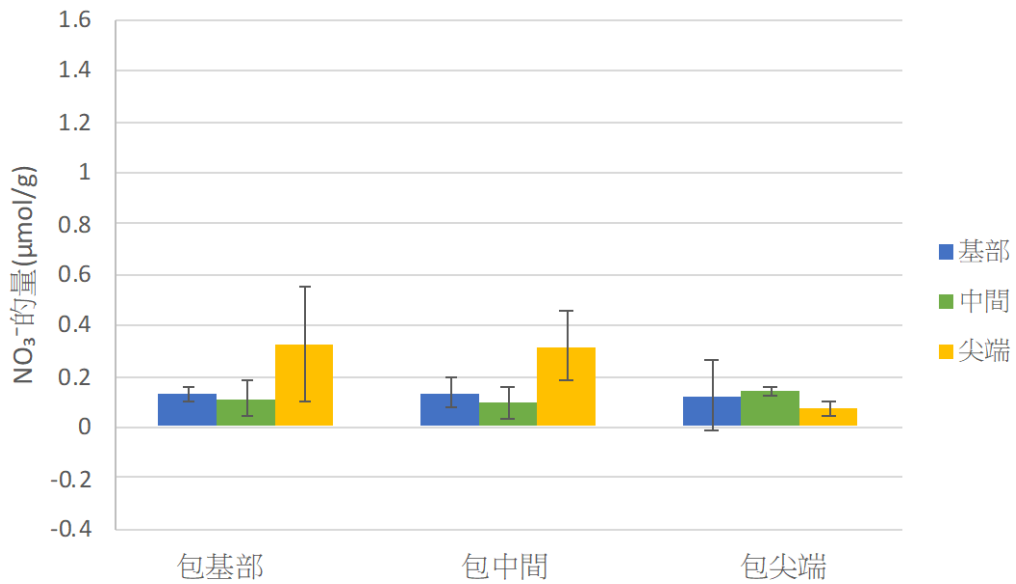
圖十一：空氣鳳梨葉基部的結晶(C.S., 400X)

二、探討空氣鳳梨在短時間內運輸硝酸鉀的路徑

本研究為了解空氣鳳梨的葉片在高濃度鹽類處理下，短時間內(1-3 個小時)體內鹽類運輸情形。首先，以浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆於空氣鳳梨葉片的基部、中間、尖端，經過一段時間後測量空氣鳳梨葉子各部位的硝酸根含量，以推測硝酸鉀之運輸情形。

此實驗分為兩個部分：實驗(一)，是將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆於空氣鳳梨葉子的不同部位，測量經過相同時間(1.5 小時)後各部位的硝酸根含量；實驗(二)，是將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花分別包覆空氣鳳梨葉子的基部、中間、尖端，觀察隨著時間(1 小時後、2 小時後、3 小時後)硝酸根含量的變化。

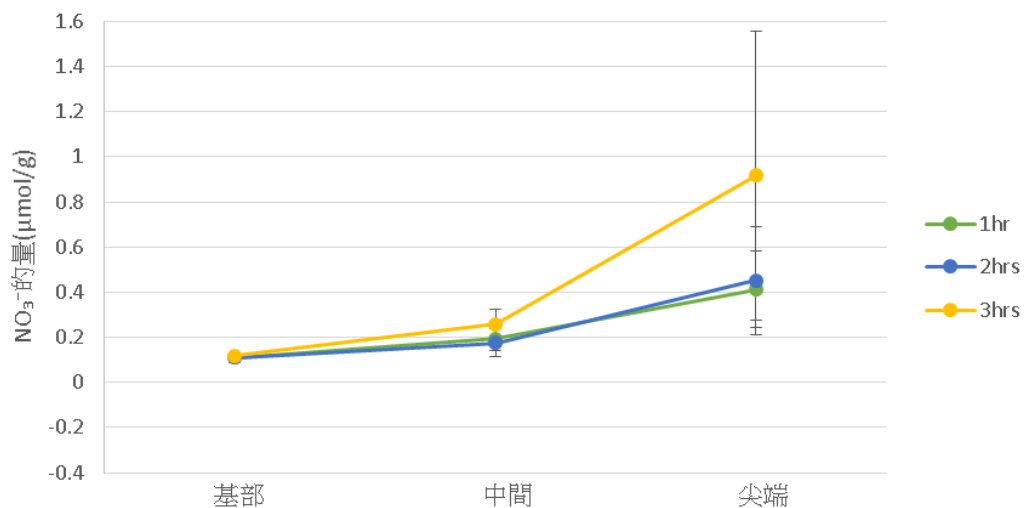
(一)將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆於空氣鳳梨葉子的基部、中間、尖端，經過 1.5 小時後，測得植物體內的■基部、■中間、■尖端硝酸根含量



圖十二：將棉花包覆於葉片不同部位，所測得植物體內不同部位硝酸根含量的直條圖

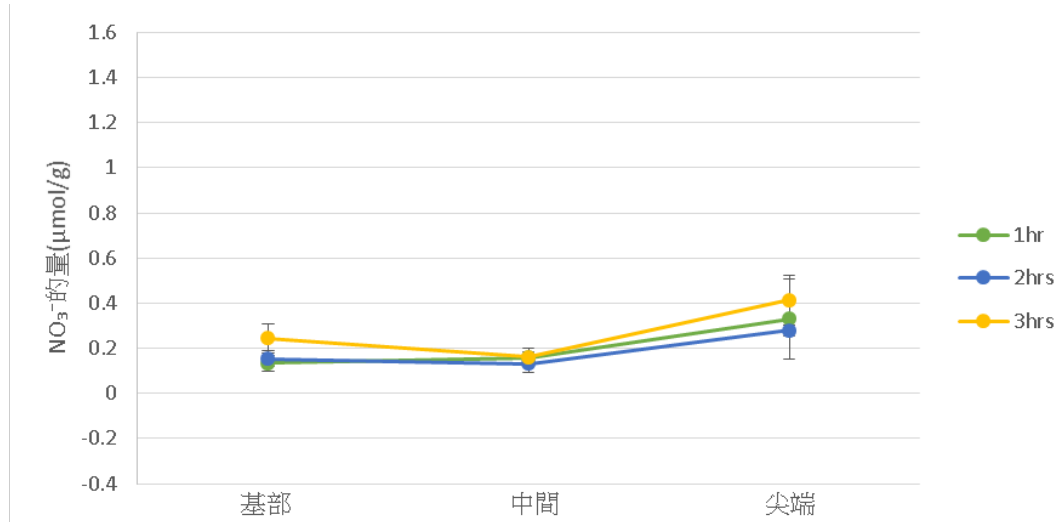
根據(圖十二)結果，將浸濕高鹽水溶液的棉花包覆於基部的組別，在經過 1.5 小時後，其硝酸根由基部向尖端方向運送，且尖端硝酸根含量最多；當棉花包覆於中間的組別，硝酸根由中間向基部及尖端兩方向運送，其中又以運送至尖端的硝酸根含量較多；當棉花包覆於尖端的組別，則觀察到硝酸根向基部方向運送。

(二)將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆於空氣鳳梨葉子的基部、中間、尖端，隨著時間變化(1 小時、2 小時、3 小時)，測量植物體內的硝酸根含量



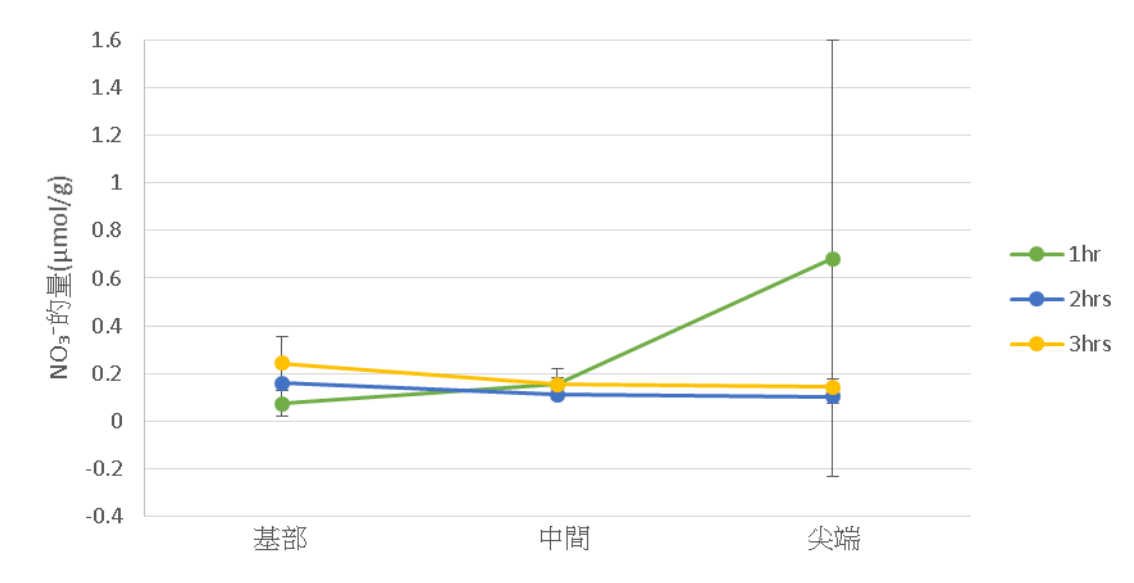
圖十三：將棉花包覆於葉的基部，隨著時間變化所測得之植物體內不同部位硝酸根含量折線圖

根據(圖十三)結果，將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆在基部的組別，可觀察到隨著時間變化，硝酸根由基部向中間和尖端輸送，且在 3 小時後，尖端的硝酸根含量最多。



圖十四：將棉花包覆於葉的中間，隨著時間變化所測得之植物體內不同部位硝酸根含量折線圖

根據(圖十四)結果，將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆在中間的組別，隨著時間變化，硝酸根向基部和尖端運送，且在 3 小時後輸送到尖端的硝酸根含量較基部多。



圖十五：將棉花包覆於葉的尖端，隨著時間變化所測得之植物體內不同部位硝酸根含量折線圖

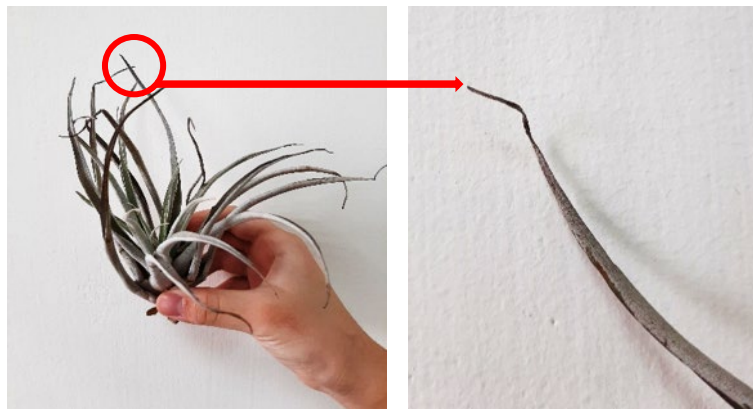
根據(圖十五)結果，將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆在尖端的組別，隨著時間變化，硝酸根向基部及中間輸送；經過 3 小時後，尖端硝酸根含量較初始下降許多。

綜合以上結果，不論浸濕高鹽水溶液的棉花包在葉子基部、中間、尖端，硝酸根皆會由包覆棉花處向其他部位輸送，即鹽類會由高濃度向低濃度區域運送。

三、探討空氣鳳梨在長時間下運輸硝酸鉀的路徑及找出空氣鳳梨植物體內內源性硝酸鉀濃度

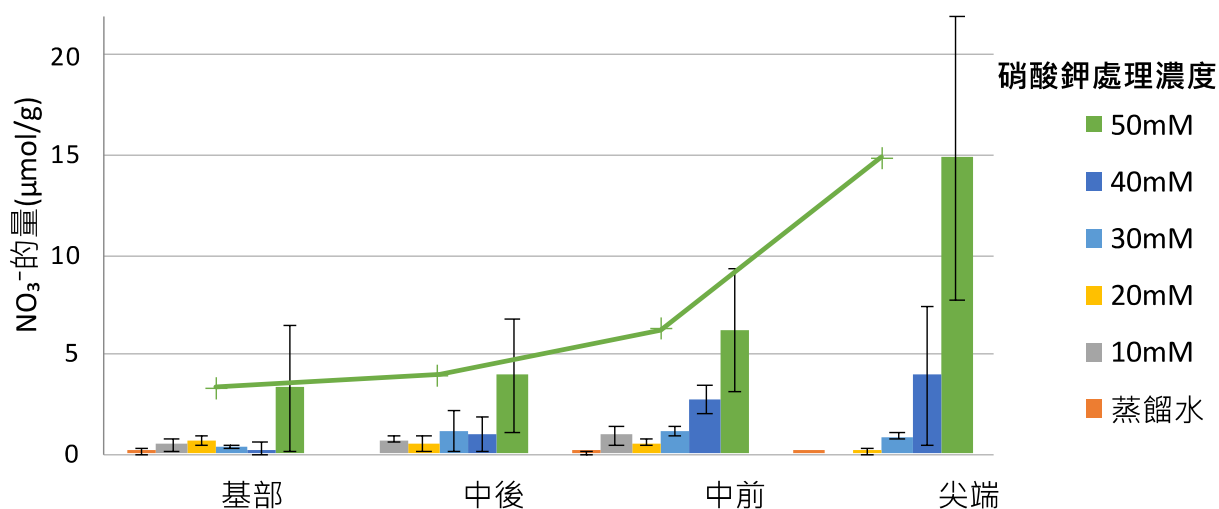
(一)噴灑蒸餾水、0.5 %、1 %、1.5 %、2 %、2.5 %、3 %硝酸鉀水溶液

本研究初始是每日分別以蒸餾水、0.5 %、1 %、1.5 %、2 %、2.5 %、3 %硝酸鉀水溶液處理空氣鳳梨。連續處理 14 天後，發現在實驗進行中或實驗結束後，噴灑濃度高於 1 %硝酸鉀水溶液的空氣鳳梨，其葉尖捲曲枯黃如(圖十六)，整個植株也逐漸死亡。因此，往後實驗改採 0.5 % (大約 50 mM)以下的硝酸鉀水溶液濃度來進行實驗。



圖十六：空氣鳳梨葉尖捲曲枯黃(右圖為放大圖)

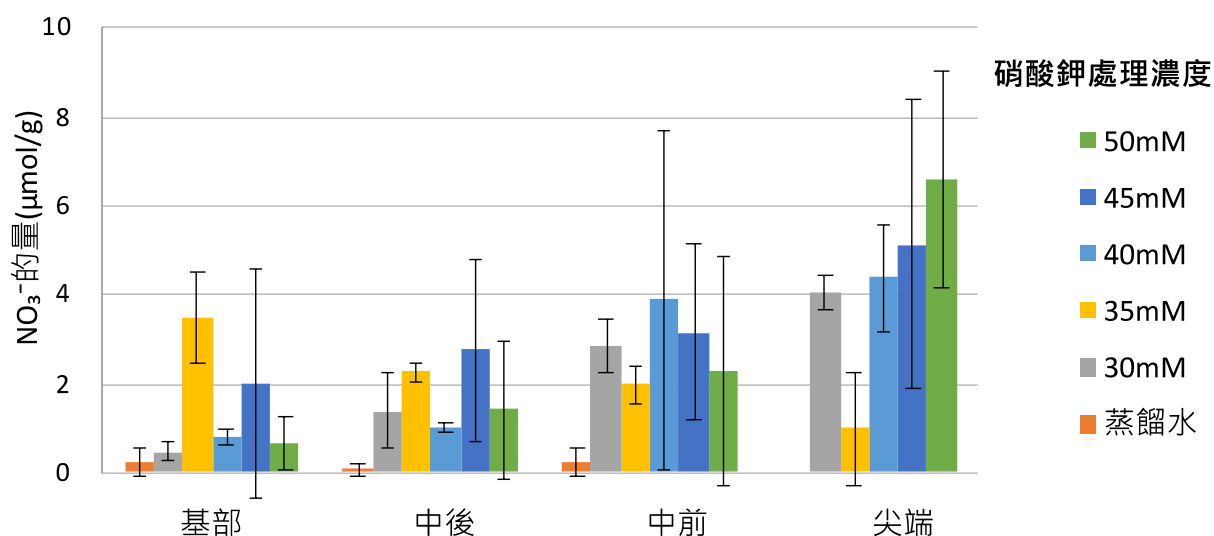
(二)噴灑蒸餾水、10 mM、20 mM、30 mM、40 mM、50 mM 的硝酸鉀水溶液



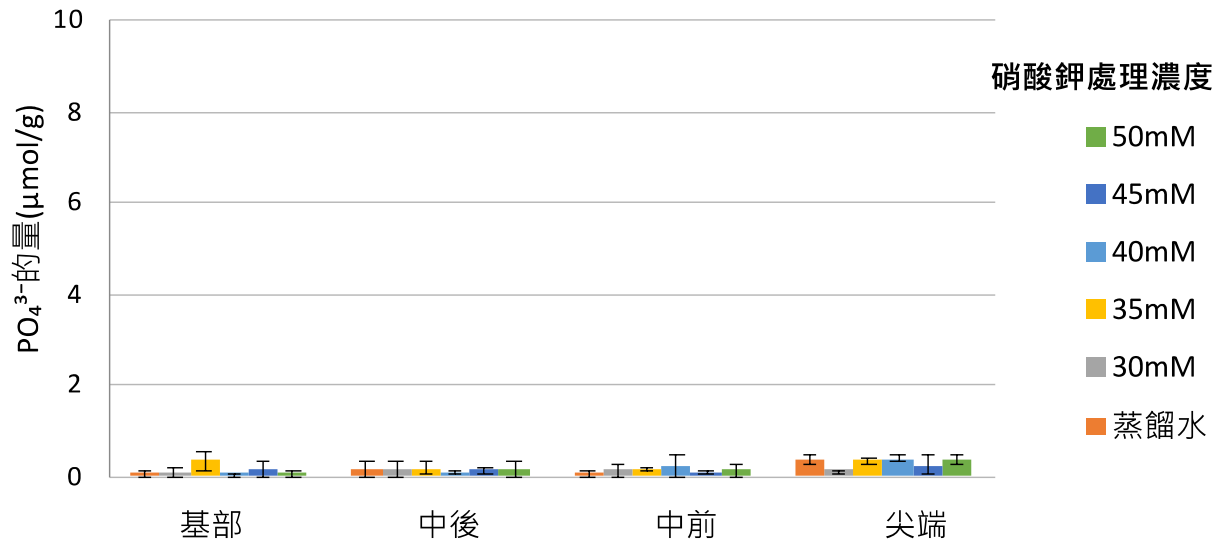
圖十七：不同濃度硝酸鉀水溶液處理的空氣鳳梨，不同部位體內硝酸根含量的直條圖

根據(圖十七)結果，連續噴灑 14 天硝酸鉀水溶液的空氣鳳梨，在處理蒸餾水、10 mM、20 mM、30 mM 硝酸鉀水溶液的組別，基部到尖端的硝酸根含量無明顯的差異，推測空氣鳳梨體內內源性硝酸鉀濃度為 10~30 mM。然而，處理 40 mM 和 50 mM 硝酸鉀水溶液的組別，從基部到尖端的硝酸根含量逐漸上升。其中，以 50 mM 處理的組別，其硝酸根含量變化較 40 mM 處理組別明顯。由此結果可推知，在噴灑 40 mM 及 50 mM 硝酸鉀水溶液時，硝酸鉀會由基部往尖端運送。

(三)噴灑蒸餾水、30 mM、35 mM、40 mM、45 mM、50 mM 硝酸鉀水溶液



圖十八：不同濃度硝酸鉀水溶液處理的空氣鳳梨，不同部位體內硝酸根含量的直條圖



圖十九：不同濃度硝酸鉀水溶液處理的空氣鳳梨，不同部位體內磷酸根含量的直條圖

根據(圖十八)結果，在連續噴灑 14 天蒸餾水、30 mM、40 mM、45 mM、50 mM 硝酸鉀水溶液的組別，皆可觀察到從基部到尖端硝酸根含量逐漸上升，且隨著硝酸鉀水溶液噴灑濃度越高，上升的趨勢越明顯。根據(圖十九)結果，不論空氣鳳梨處理何種濃度的硝酸鉀水溶液，所測得的空氣鳳梨體內的磷酸根含量皆相當低，約在 0~0.5 μ mole/g 之間，可作為本實驗的對照組。同時推知，(圖十八)中所測得的硝酸根含量的增加，係來自於本實驗所噴灑之硝酸鉀水溶液所致。

陸、討論

一、探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造

利用複式顯微鏡觀察自製的空氣鳳梨石蠟包埋玻片，觀察結果為空氣鳳梨葉表上僅可發現表皮細胞、毛狀體及保衛細胞構成的氣孔，此結果與文獻 (Pascal S. et al. 2020) 相符。該文獻中提及，空氣鳳梨葉表約有 2.6 % 由毛狀體覆蓋，其餘 97.4 % 由表皮細胞覆蓋。因氣孔僅分布於下表皮，因此空氣鳳梨能吸收鹽類的構造僅可能為毛狀體。此外，本實驗也觀察到空氣鳳梨葉表皮毛狀體密度是基部多於中間和尖端，此結果與文獻相符 (吳思儀、洪禎林，2016)。

本研究推測鹽類是以溶於水的方式經由毛狀體(葉子基部為主)進入空氣鳳梨葉部。除了鹽類進入植物細胞時，需細胞膜上專一性運輸蛋白參與 (例如：硝酸鹽運輸蛋白

(plant nitrate transporter, NRT) 可協助阿拉伯芥根部細胞吸收硝酸根) 之外，鹽類在植物體內運輸的路徑應與水的運輸是一致性的。鹽類可藉由空氣鳳梨下表皮氣孔蒸散作用產生的蒸散拉力，將溶於水中的鹽類，經木質部由葉的基部運輸到尖端。

此外，本實驗亦觀察在噴灑不同濃度的硝酸鉀水溶液後，空氣鳳梨葉內結晶的情形。結果發現隨著噴灑硝酸鉀水溶液處理濃度的增加，結晶數量並沒有明顯差異。根據文獻 (Dominic A. C. et al. 1975)，植物體無機鹽結晶的主要成分為草酸鈣 (CaC_2O_4)，結晶會沉積於液胞與細胞質中。故本實驗所噴灑的硝酸鉀水溶液，並不會在植物體內形成結晶。

二、探討空氣鳳梨在短時間內硝酸鉀的運輸路徑

在時間相同、包覆不同部位的實驗中，用浸濕硝酸鉀水溶液的棉花完全包覆葉子基部、中間、尖端的組別，皆可觀察到硝酸根由包覆棉花處向其他兩個部位輸送的現象。此外，在同一部位、包覆時間不同的實驗中，用浸濕硝酸鉀水溶液的棉花完全包覆葉子基部、中間、尖端的組別，皆可觀察到硝酸根由包覆棉花處向鄰近兩個部位輸送的現象，且隨著時間變化，測得鄰近兩個部位的硝酸根濃度上升。根據文獻 (吳思儀、洪禎林，2016)，以沾有紅墨水的棉花包覆空氣鳳梨葉片的實驗中，紅墨水 4 小時後才會完全進入維管束。再者，因木質部僅能單向運輸水分和鹽類，故由上述結果推測空氣鳳梨應是以擴散作用或原生質流 (protoplasmic streaming) 的方式將鹽類由高濃度區域往鄰近低濃度區域運送，使鹽類可以充分被葉部細胞所利用。

三、探討空氣鳳梨在長時間內硝酸鉀的運輸路徑及找出空氣鳳梨植物體內內源性硝酸鉀濃度

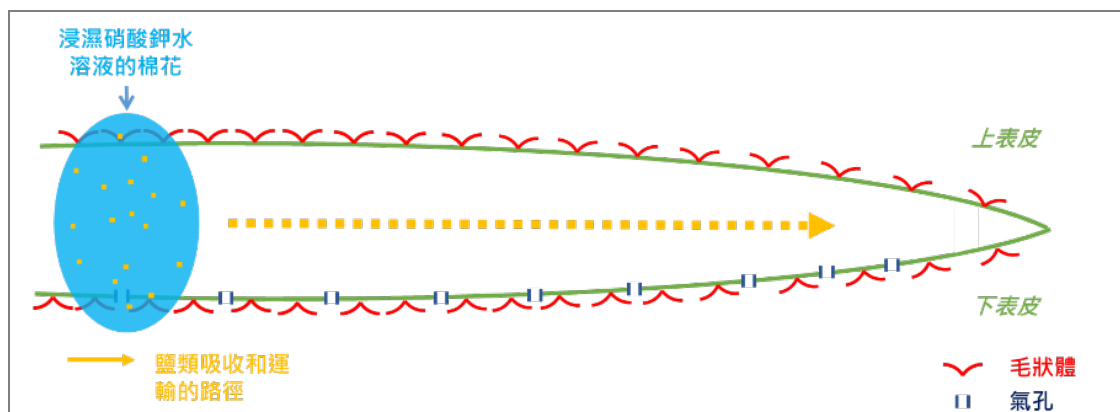
在連續噴灑 14 天蒸餾水、10 mM、20 mM、30 mM 硝酸鉀水溶液的空氣鳳梨組別，從葉的基部到尖端測得的硝酸根含量無明顯的差異，推測是因噴灑的硝酸鉀水溶液濃度低於或接近植物體本身硝酸鉀濃度，以致無法觀察出顯著的差異。故空氣鳳梨體內內源性硝酸鉀濃度為 10~30 mM。此外，在處理 40 mM 和 50 mM 硝酸鉀水溶液的組別，從葉的基部到尖端的硝酸根含量逐漸上升。本研究推測空氣鳳梨吸收硝酸鉀後由基部運輸到尖端。

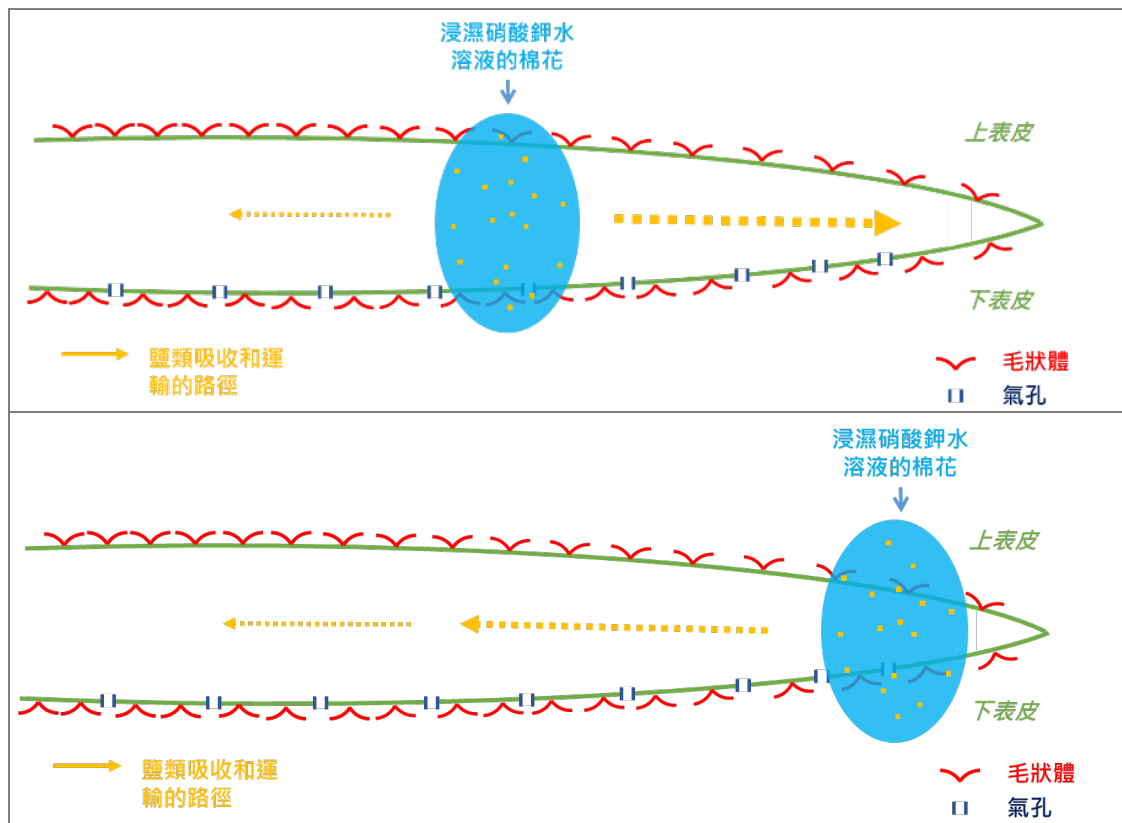
接著，本研究參考 Kun-Hsing Liu 等人 (2003) 研究阿拉伯芥根部細胞的硝酸鹽運輸蛋白兩段式鹽類吸收機制，改採噴灑蒸餾水、30 mM、35 mM、40 mM、45 mM、50 mM 硝酸鉀水溶液，以逐步縮小濃度範圍。其中，在處理 30 mM、40 mM、45 mM、50 mM 硝酸鉀水溶液的組別，皆可觀察到硝酸根含量從葉基部到尖端逐漸上升，且隨著硝酸鉀水溶液噴灑濃度越高，上升的趨勢越明顯。

此外，本研究在空氣鳳梨葉內觀察到結晶構造。因植物體內結晶成分主要為草酸鈣，加上本實驗所噴灑的硝酸鉀並不會形成結晶構造。本研究推測空氣鳳梨在處理濃度大於 30 mM 硝酸鉀水溶液時，因體內硝酸鉀濃度已達飽和，空氣鳳梨便會將多餘的硝酸鉀透過木質部蒸散流的拉力、原生質流或主動運輸送至尖端堆積，並自葉子尖端開始捲曲枯黃，使其餘葉部細胞能維持正常滲透壓，以避免整株植株因鹽類濃度過高而死亡。而葉子尖端的捲曲可能與前面所提及的表皮下方具多層泡泡狀細胞因高鹽脫水，失去膨壓所致。此為空氣鳳梨抵抗高鹽逆境時的生存機制。

柒、結論

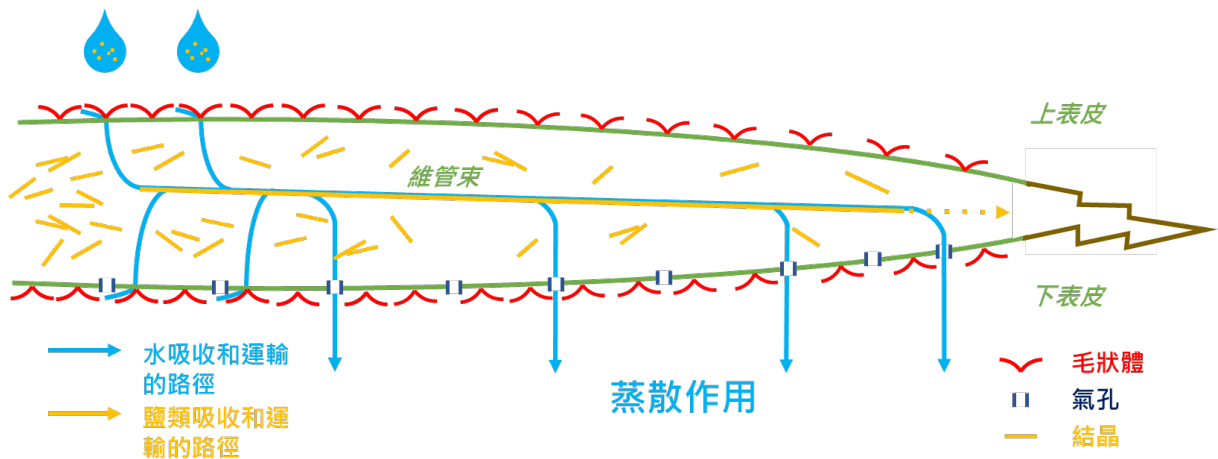
- 一、本研究結果推測毛狀體是空氣鳳梨吸收鹽類的構造。
- 二、本研究找出空氣鳳梨體內內源性硝酸鉀濃度範圍為 10~30 mM。若處理的硝酸鉀水溶液濃度大於 30 mM，空氣鳳梨會將多餘鹽類由葉基部往尖端輸送；若處理的硝酸鉀水溶液濃度大於 50 mM，葉尖端的細胞會因鹽類大量堆積，造成細胞脫水而使滲透壓改變，導致葉尖端捲曲枯黃。推測此為空氣鳳梨抵抗高鹽逆境（Salinity Stress）的方式，目的是為了避免整株植株在高鹽逆境死亡。
- 三、將空氣鳳梨以 50 mM 硝酸鉀水溶液處理，在短時間(1~3 小時)內，空氣鳳梨可能透過擴散作用或原生質流（protoplasmic streaming）的方式將鹽類由高濃度向低濃度區域運送。因浸濕硝酸鉀水溶液的棉花所包覆葉子的部位不同，鹽類的運送是由基部送往尖端或由尖端送往基部。根據本研究結果，繪製空氣鳳梨葉子不同部位在短時間內吸收與運輸鹽類的模式圖(圖二十)。在模式圖中，當鹽類由葉片基部吸收時，鹽類會向葉尖端運送；當鹽類由葉片中間吸收時，鹽類會向葉基部與尖端兩方向運送，其中又以向葉尖端運送的量更多；當鹽類由葉片尖端吸收時，鹽類則會向葉基部運送。





圖二十：空氣鳳梨葉子不同部位在短時間內吸收與運輸鹽類的模式圖

四、本研究推測，將空氣鳳梨以不同濃度的硝酸鉀水溶液處理後，在長時間(14 天)吸收鹽類下空氣鳳梨吸收與運輸鹽類的方式和路徑如(圖二十一)所示：首先，鹽類是以溶於水的方式由毛狀體進入到植物體內(此吸收過程需要專一性運輸蛋白的參與)，透過水由下表皮氣孔離開時產生的蒸散作用拉力，可將進入木質部中的水和鹽類由葉的基部運輸至尖端。運輸鹽類的方式除了可藉由木質部中的蒸散拉力外，也可以原生質流 (protoplasmic streaming) 或以主動運輸方式(圖中黃色虛線)將鹽類由低濃度運輸至高濃度區域。當鹽類濃度過高時，空氣鳳梨將鹽類主動運輸至尖端堆積，使葉尖端先捲曲枯死，以度過高鹽逆境 (Salinity Stress)。



圖二十一：空氣鳳梨在長時間吸收鹽類下，吸收與運輸鹽類的模式圖

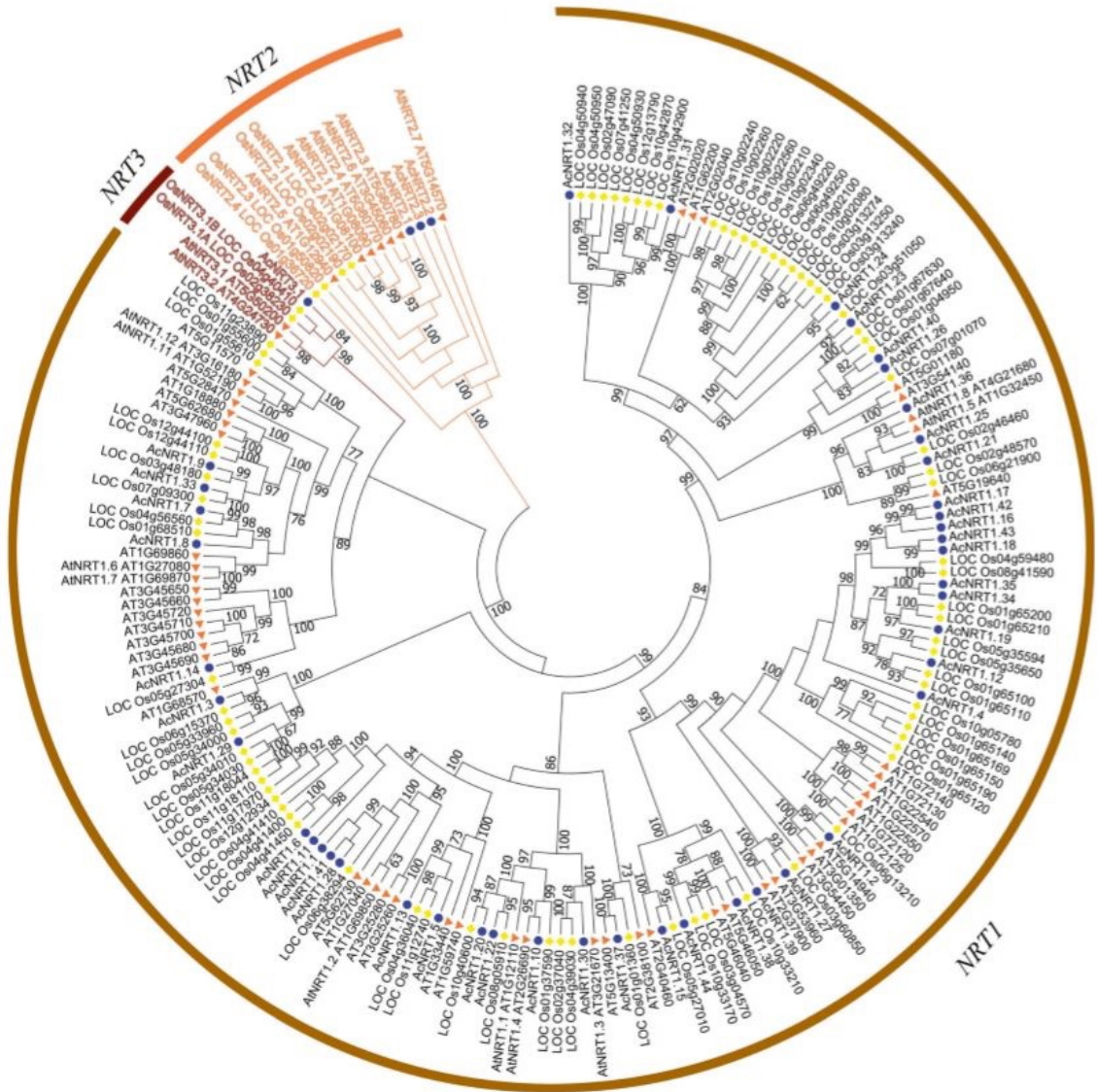
五、未來展望：

(一)以空氣鳳梨作為檢測空氣汙染或酸雨嚴重程度的指標性植物

本研究發現，當空氣鳳梨處理濃度大於 50 mM 的硝酸鉀水溶液時，整株植株會因鹽類濃度過高而死亡。未來希望可以利用空氣鳳梨吸收鹽類後其葉尖端的枯萎程度，來判斷酸雨中不同鹽類或汙染物的相對濃度，以作為檢測空氣汙染（如: NO 或 NO₂）或酸雨嚴重程度的指標性植物。

(二)找出空氣鳳梨運輸硝酸鹽的運輸蛋白（Nitrate transporters, NRTs）

Weimin Li.等人在 2018 年發表於 Tropical Plant Biology 論文中提到，與空氣鳳梨同為鳳梨科的食用鳳梨（*Ananas comosus*）其基因組中的硝酸根運輸蛋白基因，可分為 NRT1、NRT2 和 NRT3 三群(圖二十二)。其中，NRT1 屬於低親合力（Low-Affinity）運輸蛋白，NRT2 屬於高親合力（High-Affinity）運輸蛋白。當環境中硝酸根濃度低於 1 mM 時，可由高親和力運輸系統負責吸收和運輸硝酸根；當硝酸根濃度高於 1 mM 時，則由低親和力運輸系統負責吸收和運輸硝酸根。未來可利用基因選殖技術，找出空氣鳳梨在葉表負責運輸硝酸鹽的蛋白。



圖二十二：食用鳳梨(*Ananas comosus*)、阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana*)和
水稻(*Oryza sativa*)的 NRT 基因親緣關係圖 (Weimin Li. et al., 2018)

捌、參考資料

- 一、吳思儀、洪禎林(2016)。鳳言鳳語—空氣鳳梨毛狀體與吸收路徑探討。全國科展作品。
<https://twsf.ntsec.gov.tw/activity/race-1/56/pdf/052109.pdf>
- 二、Determination of Phosphate Concentration in Soil
<https://www.canterbury.ac.nz/media/documents/science-outreach/phosphate.pdf>
- 三、Dominic Anthony Cataldo, Lawrence E Schrader(2020). Rapid Colorimetric Determination of Nitrate in Plant-Tissue by Nitration of Salicylic-Acid.

<https://www.mdpi.com/2073-4352/10/7/591>

四、Kun-Hsing Liu, Yi-Fang Tsay(2003). Switching between the two action modes of the dual affinity nitrate transporter CHL1 by phosphorylation. *EMBO*.

<https://www.embopress.org/doi/full/10.1093/emboj/cdg118>

五、Pascal S. Raux, Simon Gravelle, Jacques Dumais(2020). Design of a unidirectional water valve in *Tillandsia*. *Nature*, 396.

<https://www.nature.com/articles/s41467-019-14236-5>

六、Weimin Li, Maokai Yan, Bingyan Hu, S. V. G. N. Priyadarshani, Zhimin Hou, Simon Peter Ojolo, Junjie Xiong, Heming Zhao & Yuan Qin(2018). Characterization and the Expression Analysis of Nitrate Transporter (NRT) Gene Family in Pineapple. *Tropical Plant Biology*, 177-191.

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12042-018-9209-z>

七、Susanne Matschi, Miguel F. Vasquez, Richard Bourgault, Paul Steinbach, James Chamness, Nicholas Kaczmar, Michael A. Gore, Isabel Molina, Laurie G. Smith(2020). Structure-function analysis of the maize bulliform cell cuticle and its role in dehydration and leaf rolling. *Plant Direct*.

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.06.937011v1>

【評語】 052106

1. 本研究主要目的在對空氣鳳梨吸收鹽類的構造與運輸鹽類的機制進行探討。研究發現空氣鳳梨吸收鹽類的構造為毛狀體。當空氣鳳梨吸收硝酸鉀，在短時間內會藉由擴散作用之方式將鹽類由高濃度向低濃度區域運送。而在長時間內則會透過水的蒸散拉力將硝酸鉀由葉基部向尖端運輸，當硝酸鉀濃度過高時，葉尖端會捲曲枯黃，藉以抵抗高鹽逆境，進而避免整株植株死亡。
2. 本研究對空氣鳳梨如何吸收及運送鹽類有很明確的結果，並能提出合理的運送模式圖，成果完成度高。
3. 本研究對運送鹽類之機制須經進一步的實驗驗證。
4. 實驗動機及過程書寫均十分詳實，論述和結果之整理有條理。
5. 大部份實驗均為觀察性質，沒有假說與實證的過程。

作品簡報

中華民國第61屆中小學科學展覽會

科別：植物學科

組別：高中職組

作品名稱：**探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造
與運輸鹽類的機制**

壹、研究問題

已知空氣鳳梨的根部僅能固定植株，無吸收水分和鹽類的功能。前人的研究，已探討了空氣鳳梨吸收水分的構造（圖一）與運輸水分路徑（圖二）。卻未探討與鹽類吸收相關領域。因此，本研究利用 KNO_3 ，以探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造與運輸鹽類的機制。

研究目的：

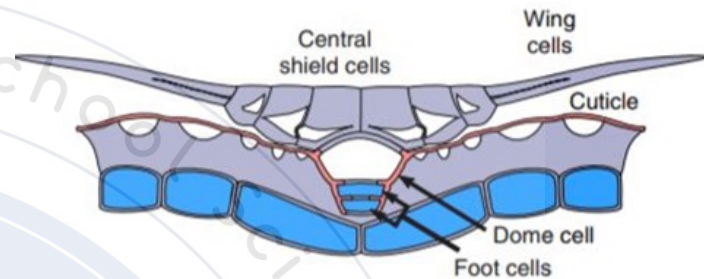
- 一、探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造
- 二、探討空氣鳳梨在短時間內運輸硝酸鉀的路徑
- 三、探討空氣鳳梨在長時間下運輸硝酸鉀的路徑及空氣鳳梨植物體內內源性硝酸鉀濃度
- 四、綜合以上研究結果，繪製空氣鳳梨在短時間和長時間吸收鹽類下運輸鹽類的模式圖

參考資料：

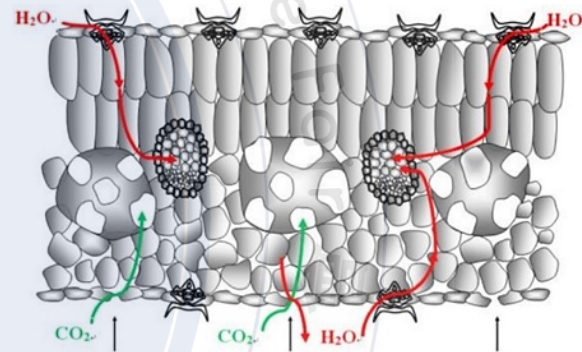
1.Pascal S. Raux, Simon Gravelle, Jacques Dumais(2020). Design of a unidirectional water valve in Tillandsia.Nature, 396.

<https://www.nature.com/articles/s41467-019-14236-5>

2.吳思儀、洪禎林(2016)。鳳言鳳語—空氣鳳梨毛狀體與吸收路徑探討。全國科展作品。<https://twsf.ntsec.gov.tw/activity/race-1/56/pdf/052109.pdf>



圖一、毛狀體的構造
(Pascal S., 2020)



圖二、水分和二氧化碳進出空氣鳳梨的路徑
(吳思儀、洪禎林，2016)

貳、研究過程

探討空氣鳳梨
吸收鹽類的構造與
運輸鹽類的機制



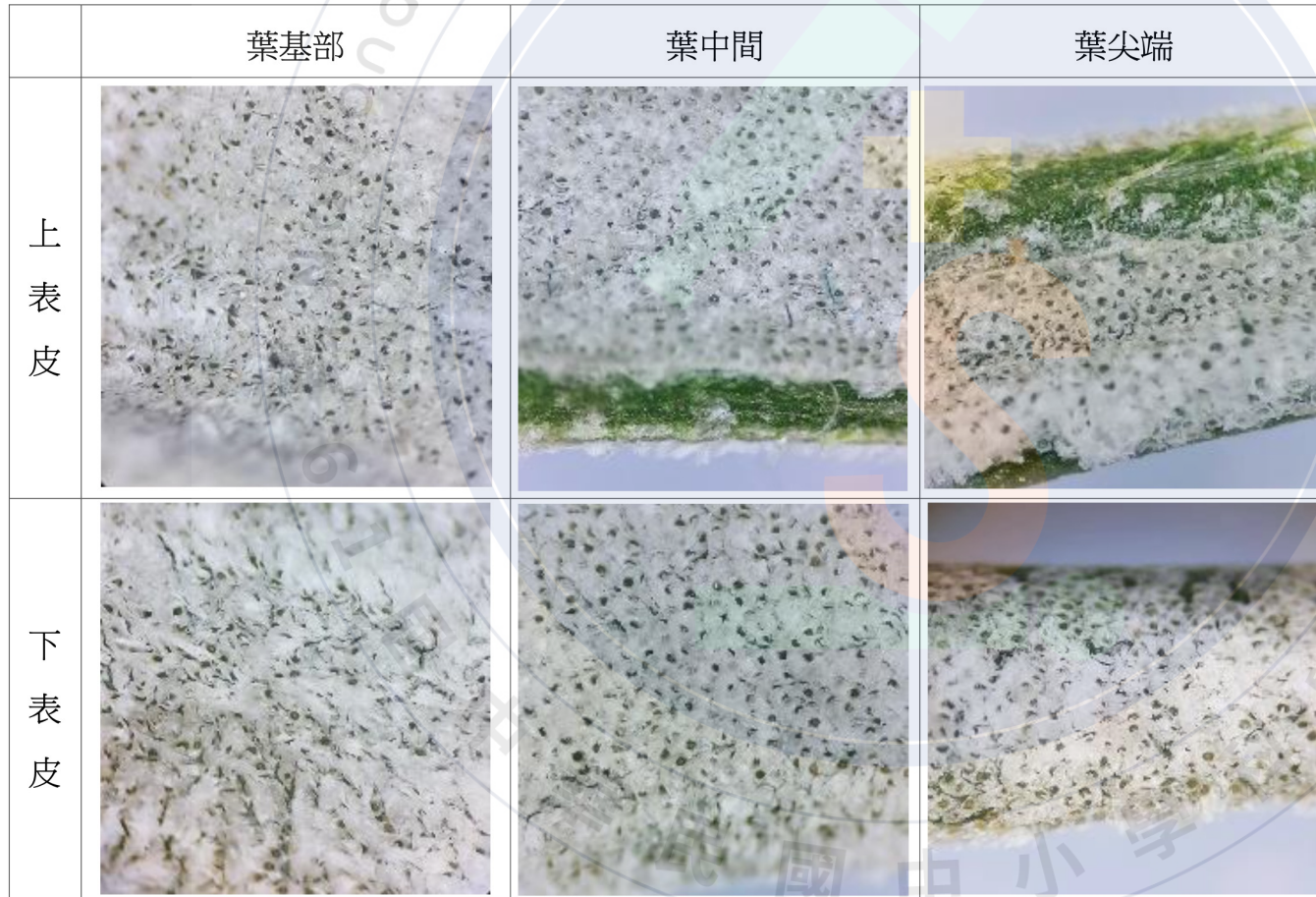
圖三、空氣鳳梨哈里斯
(*Tillandsia harrisii*)



參、研究結果與討論

一、探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造--毛狀體

根據(圖四) 結果，在相同視野與放大倍率下，本研究藉由觀察毛狀體外圍的白色 Wing cells(圖五)分佈情形，可判斷葉表上的毛狀體密度：**由葉的基部向尖端明顯遞減。**



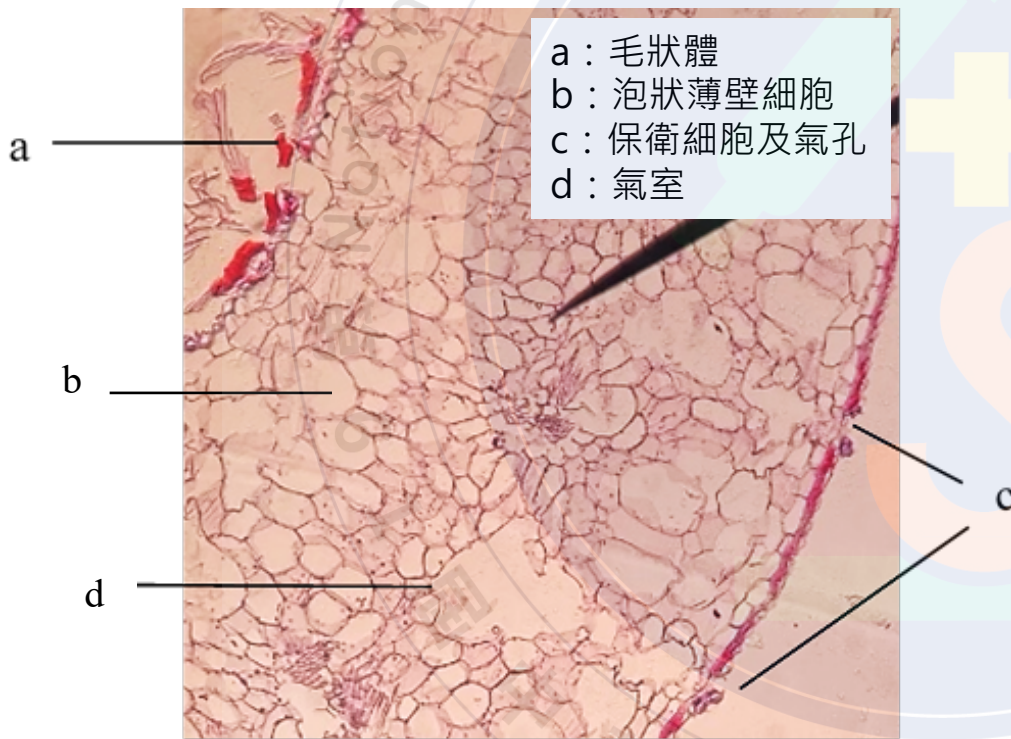
圖四、空氣鳳梨上、下表皮的毛狀體分布情形(實體變焦顯微鏡, 3.5X)



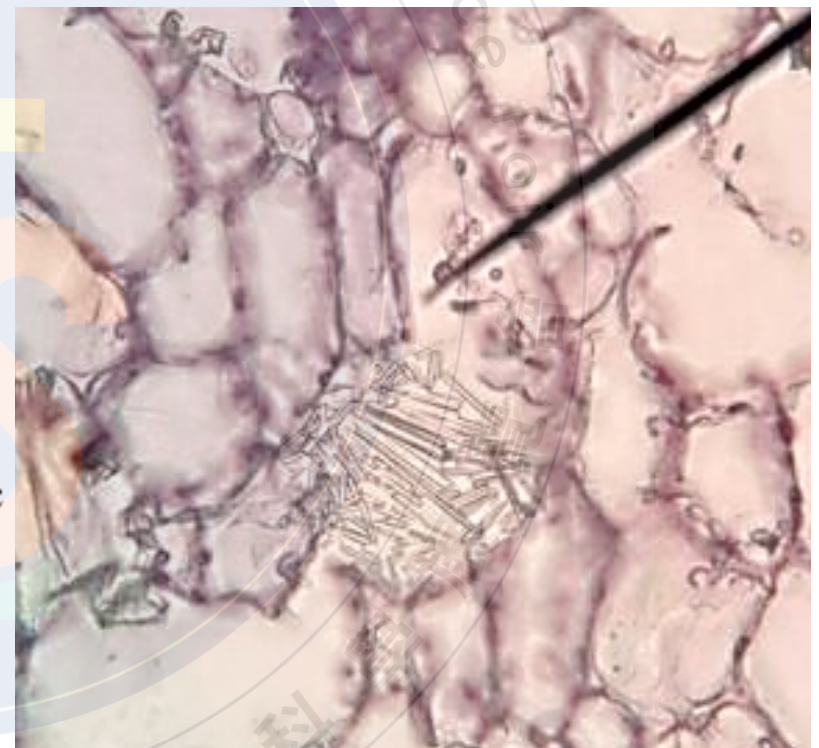
圖五：毛狀體手繪俯視圖 4

一、探討空氣鳳梨吸收鹽類的構造-葉內部構造

根據(圖六)結果，葉內在靠近上表皮的數層**泡泡狀的薄壁細胞**，推測可能有類似 Bulliform Cell 的功能，可調節葉子伸展或捲曲。此外，**氣孔僅位在下表皮**。在葉內維管束附近或葉肉細胞間形成**針狀結晶**(圖七)，結晶數量從基部到尖端呈現遞減的現象。根據文獻，植物體無機鹽結晶的主要成分為**草酸鈣 (CaC₂O₄)**。



圖六：空氣鳳梨葉基部橫切面(C.S., 100X)



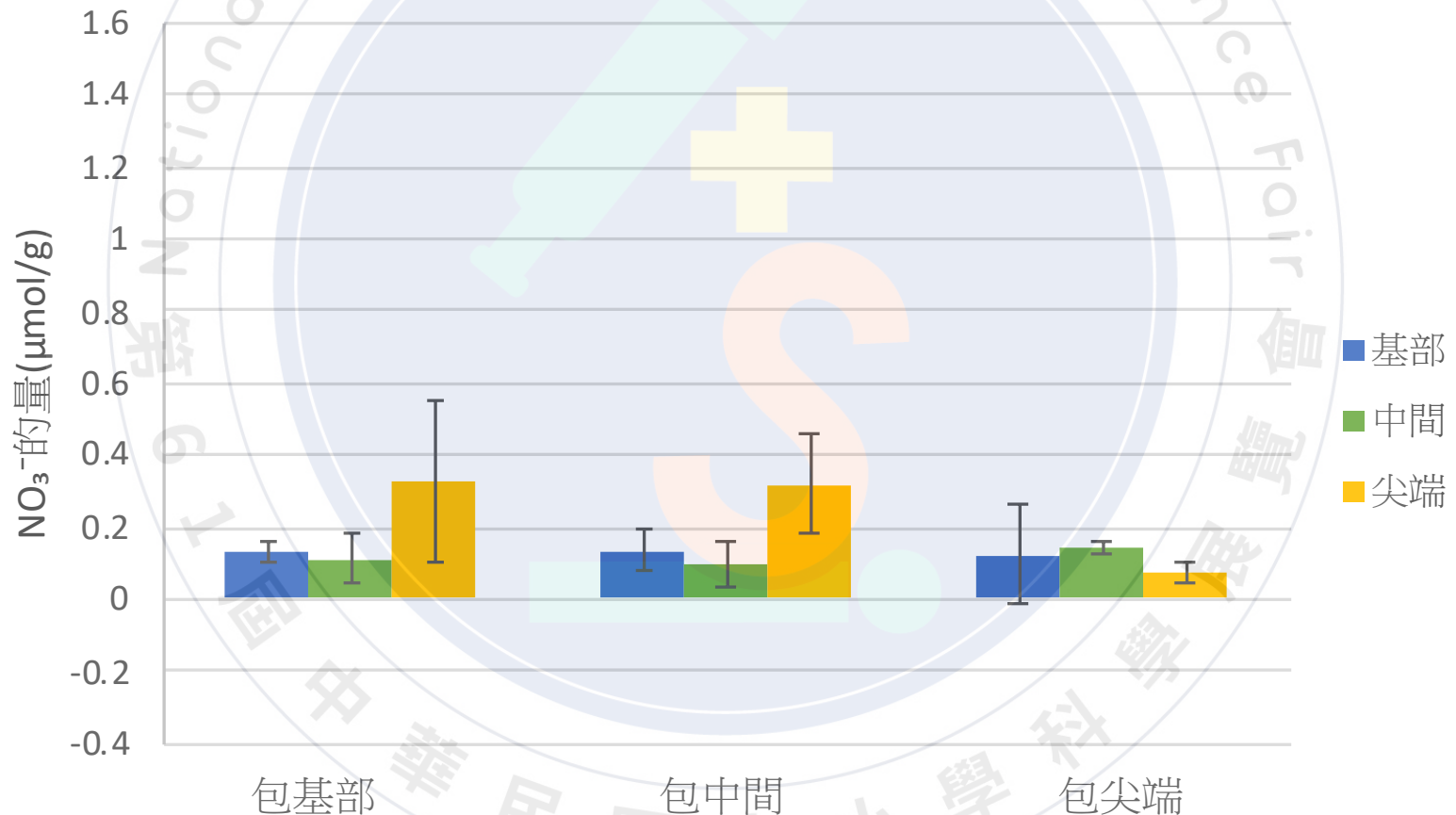
圖七：空氣鳳梨葉基部的結晶(C.S., 400X)

參考資料：

Susanne Matschi, Miguel F. Vasquez (2020). Structure-function analysis of the maize bulliform cell cuticle and its role in dehydration and leaf rolling. Plant Direct. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.06.937011v1>

二、探討空氣鳳梨在短時間內運輸硝酸鉀的路徑

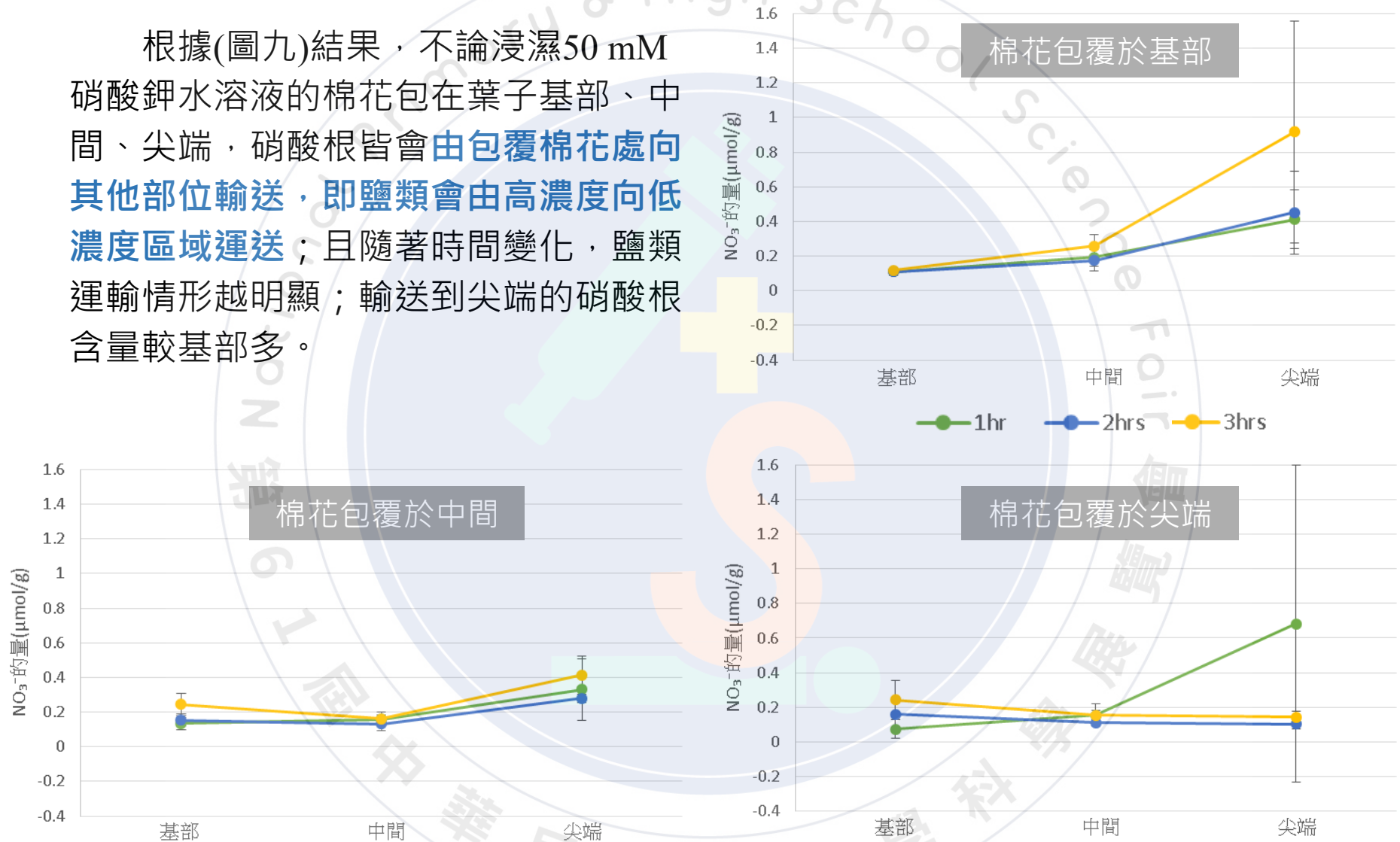
根據(圖八)結果，將浸濕 50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包覆於葉基部的組別，經過1.5小時後，其硝酸根由基部向尖端方向運送，且尖端硝酸根含量最多；當棉花包覆於葉中間的組別，硝酸根由中間向基部及尖端兩方向運送，其中又以運送至尖端的硝酸根含量較多；當棉花包覆於葉尖端的組別，則觀察到硝酸根向基部方向運送。



圖八：將棉花包覆於葉片不同部位，所測得植物體內不同部位硝酸根含量的直條圖

二、探討空氣鳳梨在短時間內運輸硝酸鉀的路徑

根據(圖九)結果，不論浸濕50 mM 硝酸鉀水溶液的棉花包在葉子基部、中間、尖端，硝酸根皆會由**包覆棉花處向其他部位輸送**，即鹽類會由**高濃度向低濃度區域運送**；且隨著時間變化，鹽類運輸情形越明顯；輸送到尖端的硝酸根含量較基部多。

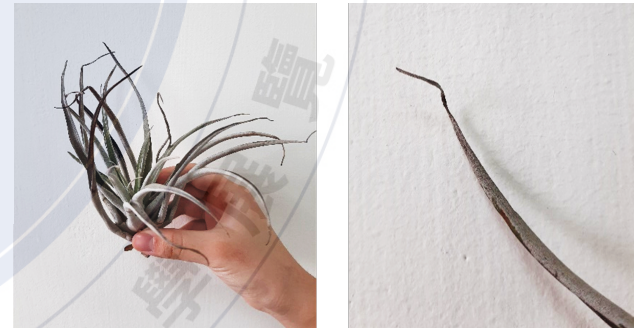
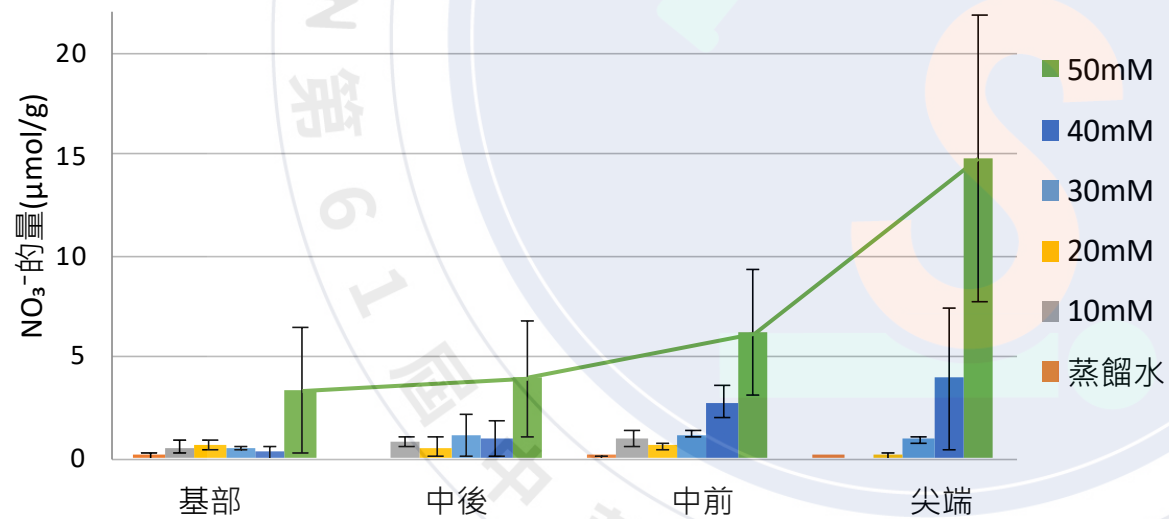


圖九、將棉花包覆於葉的不同部位，隨著時間變化所測得之植物體內不同部位硝酸根含量

三、探討空氣鳳梨在長時間下運輸硝酸鉀的路徑及空氣鳳梨植物體內內源性硝酸鉀濃度

(一)噴灑蒸餾水、10 mM、20 mM、30 mM、40 mM、50 mM 的硝酸鉀水溶液

根據(圖十)結果，在處理蒸餾水、10 mM、20 mM、30 mM硝酸鉀水溶液的組別，基部到尖端的硝酸根含量無明顯的差異，推測空氣鳳梨體內內源性硝酸鉀濃度為10~30 mM。然而，處理40 mM和50 mM硝酸鉀水溶液的組別，從基部到尖端的硝酸根含量逐漸上升。當硝酸鉀濃度高於50 mM時，空氣鳳梨葉尖端會出現捲曲枯黃現象(圖十一)。



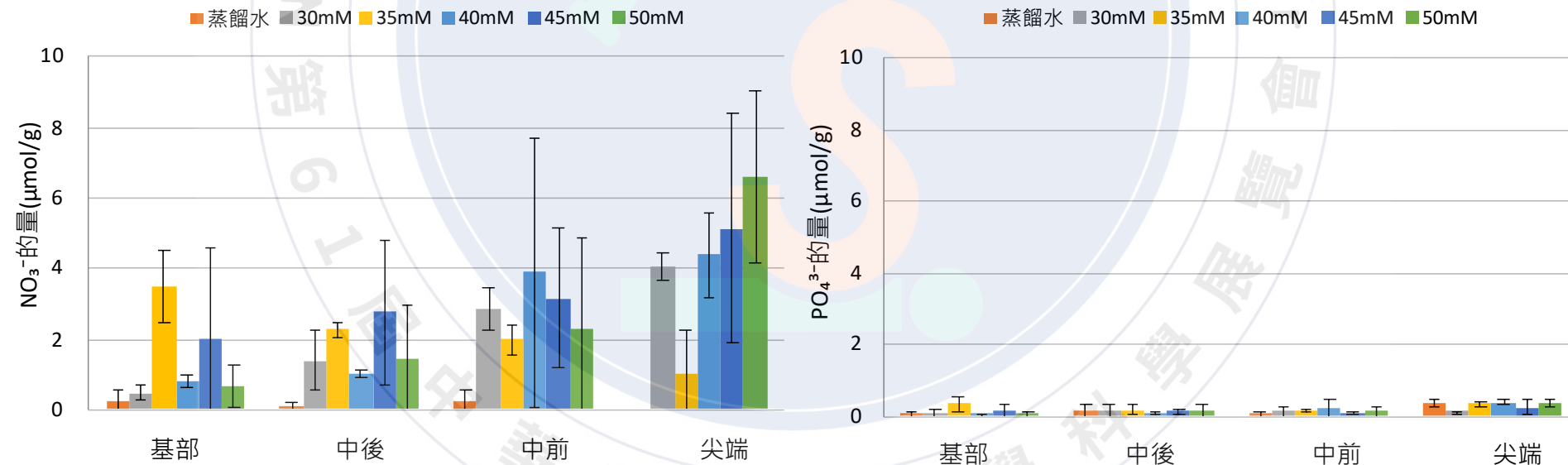
圖十、不同濃度硝酸鉀水溶液處理的空氣鳳梨，在不同部位體內硝酸根含量的直條圖

圖十一、空氣鳳梨葉尖捲曲枯黃(右圖為放大圖)

三、探討空氣鳳梨在長時間下運輸硝酸鉀的路徑及空氣鳳梨植物體內內源性硝酸鉀濃度

(二)噴灑蒸餾水、30 mM、35 mM、40 mM、45 mM、50 mM 的硝酸鉀水溶液

根據(圖十二)結果，在連續噴灑14天蒸餾水、30 mM、40 mM、45 mM、50 mM 硝酸鉀水溶液的組別，皆可觀察到從葉的**基部到尖端硝酸根含量逐漸上升**，且隨著硝酸鉀噴灑濃度越高，上升的趨勢越明顯。根據(圖十三)結果，不論空氣鳳梨處理何種濃度的硝酸鉀，所測得的空氣鳳梨體內的**磷酸根含量皆相當低**，可作為本實驗的**對照組**。



圖十二、不同濃度硝酸鉀水溶液處理的空氣鳳梨，在不同部位體內硝酸根含量的直條圖

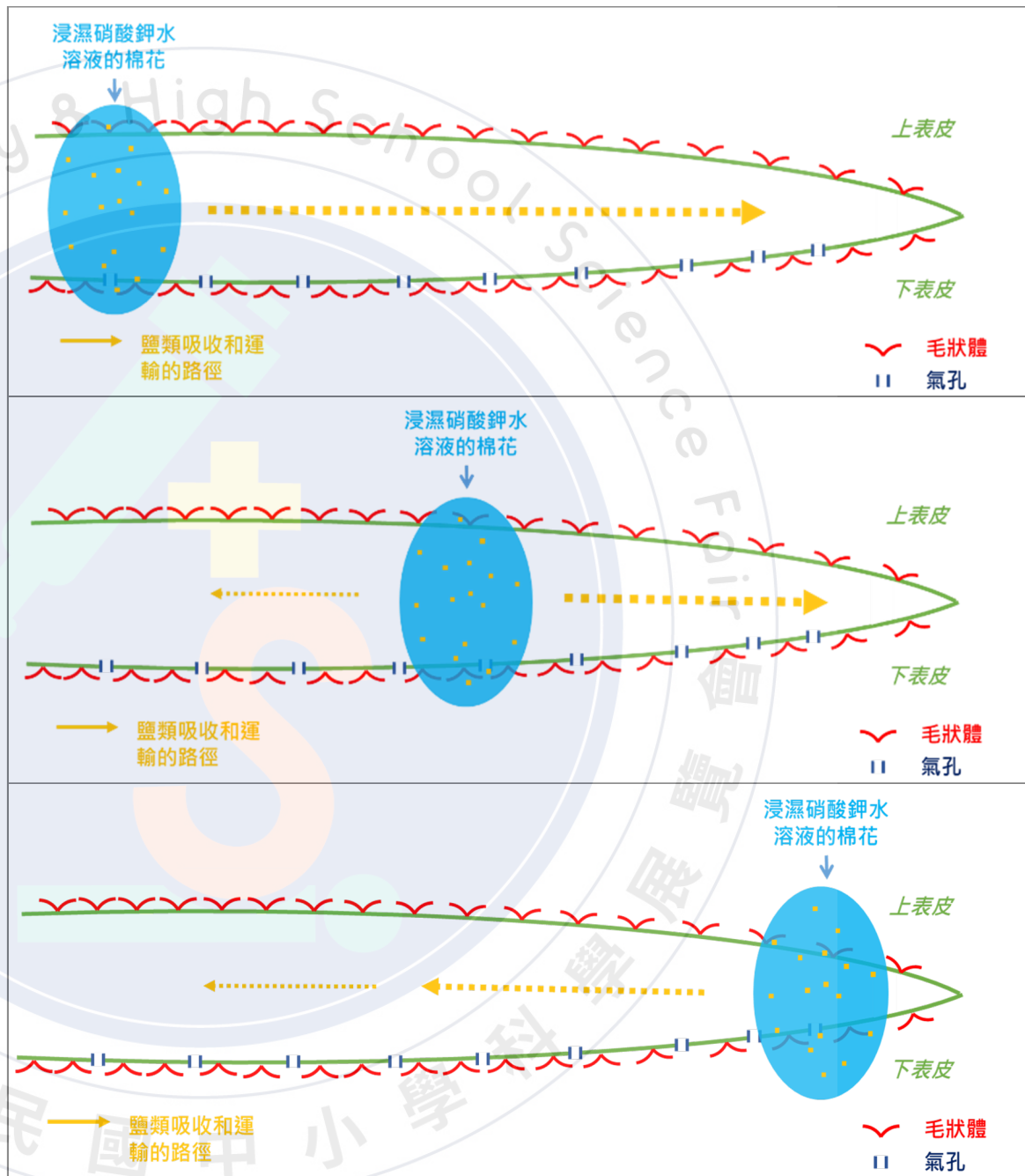
圖十三、不同濃度硝酸鉀水溶液處理的空氣鳳梨，不同部位體內硝酸根含量的直條圖

肆、結論

一、**毛狀體**是空氣鳳梨吸收鹽類的構造。

二、空氣鳳梨植物體內**內源性硝酸鉀濃度為10~30 mM**；當硝酸鉀濃度大於30 mM時，空氣鳳梨會將多餘鹽類由葉基部往尖端運送；當硝酸鉀濃度大於50 mM時，空氣鳳梨**葉尖端先捲曲枯黃**，以避免整株植株死亡，推測此為空氣鳳梨面對**高鹽逆境**（salt stress）維持生存的方式。

三、在**短時間**(1~3小時)內，空氣鳳梨可能是藉由擴散作用或原生質流的方式將鹽類由**高濃度**向**低濃度區域運送**。

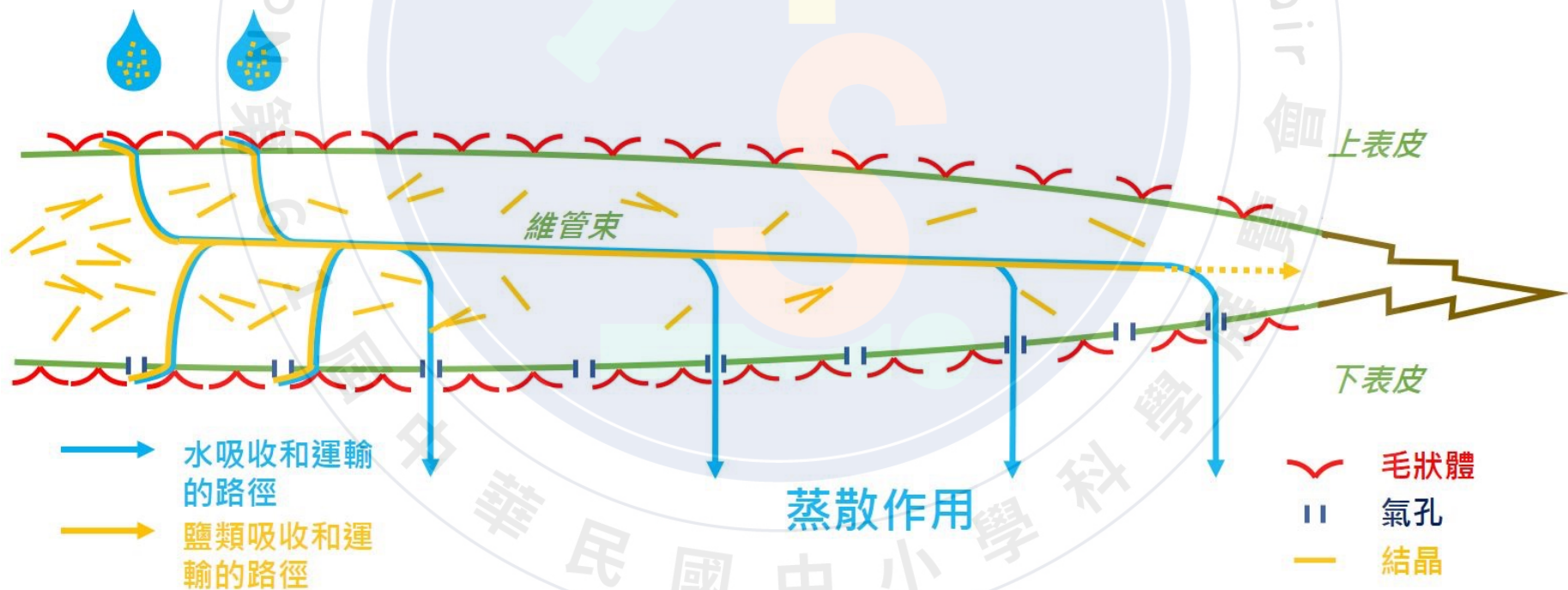


圖十四、空氣鳳梨葉子不同部位吸收鹽類在短時間內運輸的模式圖 10

四、在長時間(14天)吸收鹽類下，空氣鳳梨運輸鹽類的方式和路徑。

模式圖說明：(圖十五)

鹽類以**溶於水**方式由毛狀體進入到植物體內(此吸收過程需要專一性運輸蛋白的參與)，透過水由下表皮氣孔離開時產生的**蒸散作用拉力**，可將進入木質部中的水和鹽類由**葉的基部運輸至尖端**。運輸鹽類的方式除了可藉由木質部中的蒸散拉力外，也可以原生質流 (protoplasmic streaming) 或以主動運輸方式(圖中黃色虛線)將鹽類由低濃度運輸至高濃度區域。當鹽類濃度過高時，空氣鳳梨將鹽類主動運輸至尖端堆積，使葉尖端先捲曲枯死，以度過**高鹽逆境** (salt stress) 。

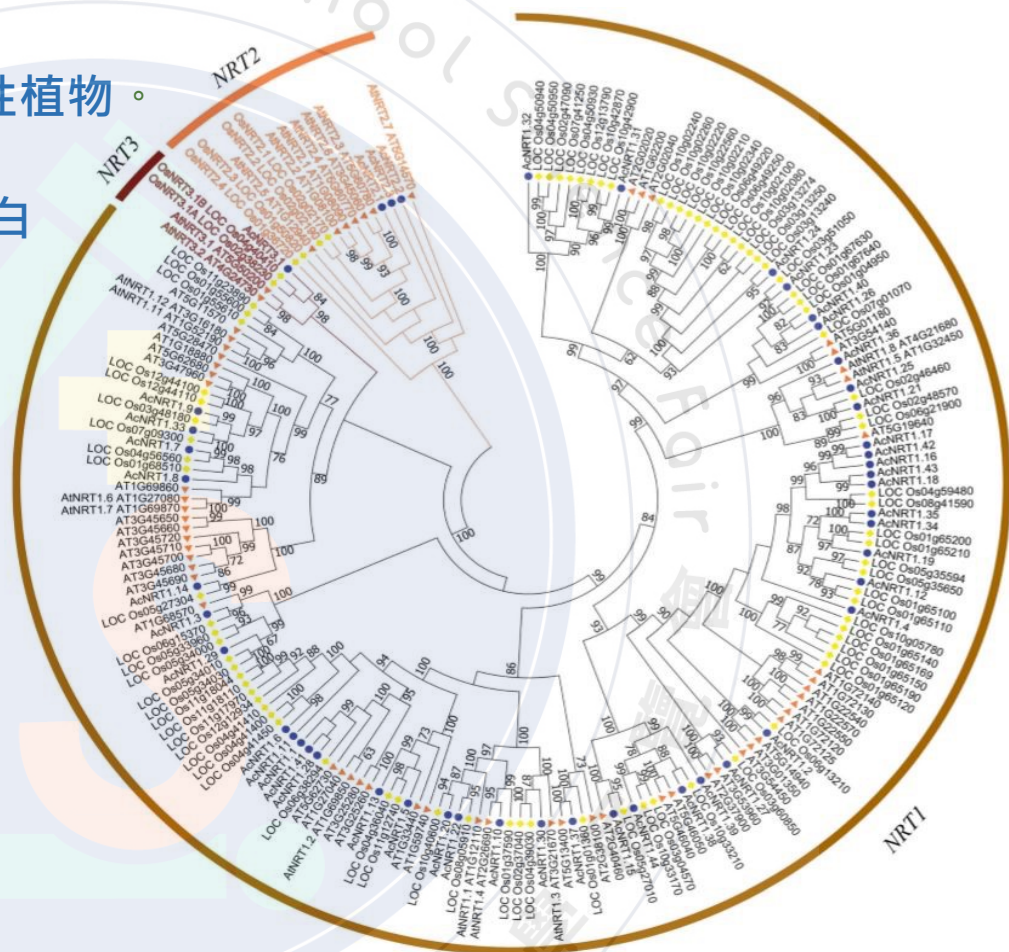


圖十五、空氣鳳梨長時間吸收鹽類下，運輸鹽類的模式圖

五、未來展望

- (一)以空氣鳳梨作為檢測空氣汙染 (如: NO或NO₂) 或酸雨嚴重程度**指標性植物**。
- (二)找出空氣鳳梨**吸收硝酸鹽的運輸蛋白** (Nitrate transporters, NRTs)

Weimin Li.等人在2018年發表於Tropical Plant Biology論文，與空氣鳳梨同為鳳梨科的食用鳳梨 (*Ananas comosus*) 其基因組中的硝酸根運輸蛋白基因，可分為NRT1、NRT2和NRT3三群(圖十六)。其中，NRT1屬於低親合力 (Low-Affinity) 運輸蛋白，NRT2屬於高親合力 (High-Affinity) 運輸蛋白。



圖十六、食用鳳梨(*Ananas comosus*)、阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)的NRT基因親緣關係圖 (Weimin Li. et al., 2018)