

---

# C4 植物葉片氣孔密度與維管束鞘面積 及葉肉面積的相關性

王怡婷 王崇宇 黃沛晴 劉綵筠 游心妤 房樹生\*

國立臺南家齊高級中等學校

## 壹、前言

氣孔是植物非常重要的構造，舉凡光合作用、呼吸作用以及蒸散作用等，都需要借助它的協助才得以進行。由文獻的結果顯示，氣孔的密度及分布會受到環境因子的影響，例如：溫度、光照強度、CO<sub>2</sub> 濃度及土壤的重金屬濃度等(車等人, 2017)。我們認為光合作用與葉片的氣孔密度有關，光合作用當然也與維管束鞘及葉肉的大小有關，因此我們想要進一步探討氣孔密度與維管束鞘或葉肉之間是否也具有相關性。

生長在熱帶及亞熱帶乾旱地區的 C4 植物，其葉片維管束周圍的葉肉細胞會特化成緊密排列成圈的維管束鞘細胞，藉此減少 RuBisCO 與氧氣的接觸，以減少光呼吸作用(鄭湧涇, 2017)。C4 植物進行碳反應時，會在葉肉細胞進行第一次固碳，利用 PEP carboxylase 將 PEP 及 CO<sub>2</sub> 固定形成四碳化合物形成四碳化合物，此四碳化合物會經由原生質絲擴散至鞘細胞，並釋出二氧化碳由 RuBisCO 催化進入卡爾文循環，此第二次固碳的卡爾文循環大多

只能在維管束鞘細胞的葉綠體進行(李等人, 2010)。

維管束鞘細胞位於葉片的中央，相對於葉肉細胞而言，離氣孔的距離較遠，較不易受到大氣中高濃度氧氣的影響。維管束鞘的形成與氧氣的濃度有關，而氣孔的密度也可能與葉片內與氧氣的濃度有關，因此我們認為維管束鞘的大小與氣孔的分布及密度可能也具有一定的相關性，也就是說若鞘細胞的位置或大小有了不同變化的話，則其氣孔的分布或數量也有可能做相對應的改變，反之亦然。同樣地，葉肉細胞負責 C4 植物的第一次固碳，氧氣及二氧化碳的濃度會影響第一次固碳的效率，因此我們認為葉肉的大小與氣孔的分布與密度可能也具有一定的相關性。

在本實驗中，我們將分析葉肉細胞與維管束鞘細胞兩者與氣孔密度的相關性差異，看看何者的相關性較高，並試著提出合理的解釋。

有文獻指出，玉米葉片大小與維管束面積會隨著乾旱脅迫程度的增加而減小，且維管束鞘細胞的形狀變得不規則，葉肉的花環細胞排列也呈現散亂的狀態。在乾旱脅迫下，維管束鞘細胞凌亂和不緊密的

---

\*為本文通訊作者

排列會使其與葉肉花環細胞的接觸面積減小，更進一步的影響了兩種細胞配合完成 C4 光合途徑的效率下降(李等人, 2014)。

甘蔗屬於高光合效率的 C4 植物，高效的光合作用所需消耗的水分，可以透過調節氣孔密度與大小來減少水分的蒸散，以適應乾旱環境。抗旱性強的甘蔗品種，其氣孔密度、葉脈密度和淨光合速率呈現正相關，且甘蔗的葉肉細胞具有特殊的花環型結構，抗旱性強的甘蔗品種，其束鞘細胞面積：葉肉面積的比值較高，而較高的比率不僅使水和養分更好地運輸，還有利於碳的固定，使光合水分利用效率與光合能力更強。而維持膨壓的能力與植物的耐旱性相關，也就是說葉片的束鞘細胞面積：葉肉面積比值越高，膨壓的喪失點就越低，維持膨脹的能力就越強，耐旱性也就越高(秦等人, 2017)。

由以上文獻可知，當土壤水分減少發生乾旱時，C4 植物的氣孔密度會改變，葉肉細胞及維管束鞘細胞的面積與形狀也會跟著改變，這似乎暗示著氣孔密度與束鞘

細胞及葉肉細胞具有某種程度的相關性，這也是本實驗想要進一步證實的地方，故選用常見的 C4 植物：玉米、甘蔗、狼尾草及稗草來進行以下的實驗。

## 貳、研究目的

- 一、探討 C4 植物氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積的相關性。
- 二、探討 C4 植物氣孔密度與葉肉細胞相對面積的相關性。
- 三、探討 C4 植物氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積：葉肉細胞相對面積的相關性。

## 參、研究設備及器材

### 一、生物材料：

C4 植物：玉米(*Zea mays*)、甘蔗(*Saccharum officinarum*)、狼尾草(*Pennisetum alopecuroides*)、稗草(*Echinochloa crusgalli*)。四種植物適合的生長環境整理如下(維基百科, 2018)：

玉米	甘蔗	狼尾草	稗草
玉米喜歡溫帶環境，生長期日均溫 18℃ 以上。玉米為短日照作物，日照時數在 12 小時內，成熟提早。長日照則開花延遲，甚至不能結穗。在砂壤、壤土、粘土上均可生長，耐鹽鹼能力差，特別是氯離子對玉米為害大。	甘蔗適合生長在氣溫高、溫差小、年雨量在 1,000~2,000 mm、大氣濕度高、不適合狂風暴雨，但也不適合連續乾旱。	狼尾草喜歡光照充足的生長環境，耐旱、耐濕、耐半陰且抗寒性強。適合溫暖、濕潤的氣候條件，當氣溫達到 20 度以上時，生長速度加快。	稗草種子的成熟期早於或與稻子同時成熟，使其常會雜在稻田中。生長於台灣全島溼地、水邊，是溝渠和水田及其四週較常見的雜草。

## 二、儀器設備：

顯微鏡〈NIKON E100〉、電腦、數位相機

## 三、其他器材及藥品：

透明膠帶、蓋玻片、載玻片、指甲油、相機、0.1% 甲基苯藍、燒杯、滴管、鑷子、培養皿、蒸餾水、剪刀、刀片、量筒、燒杯、標籤紙

## 肆、研究過程與方法

### 一、實驗步驟

- (一) 四種植物皆選取由頂端往下數的第二片葉片，且盡量選取大小一致的葉片。
- (二) 每個葉片選取葉中的部位(邱等人, 2013)，利用指甲油印模法製成玻片。
- (三) 選取和指甲油印模法(詳見下方)同樣的部位，以玻片固定徒手切片法做橫切切片(詳見下方)。
- (四) 利用 Image J 和 Microsoft Excel 2007 計算出各葉片的氣孔密度、維管束鞘細胞相對面積(維管束鞘細胞面積/葉面積)、葉肉細胞相對面積(葉肉細胞面積/葉面積)與維管束鞘細胞相對面積：葉肉細胞相對面積。
- (五) 畫出維管束鞘細胞相對面積及上下表皮氣孔密度二者之間的散布圖。
- (六) 畫出葉肉細胞相對面積及上下表皮氣孔密度二者之間的散布圖。

(七) 畫出維管束鞘細胞相對面積：葉肉細胞相對面積及上下表皮氣孔密度二者之間的散布圖。

### 二、實驗方法

#### ※指甲油印模法

取植物新展開第二片葉，洗淨後擦乾，分別在葉中的上下表皮塗上指甲油，待乾後，用透明膠帶分別黏貼上下表皮，輕輕撕掉，貼到載玻片，放入顯微鏡下觀察，一律用 400X 拍照。

#### ※玻片固定徒手切片法

1. 取植物新展開第二片葉，利用剪刀剪取葉片的中段部位，取 3-4 段葉片重疊放置於載玻片上，滴水潤濕。
2. 以另一片載玻片固定葉片於載玻片，露出部分葉片，主葉脈需與固定的載玻片垂直，避免造成斜切現象。
3. 將單面刀片沾水，先將露出的部分葉片切除。
4. 再以刀片快速沿玻片削下，取得薄片。
5. 將薄片移置入有水的培養皿中，重複步驟 1~5。
6. 選取適當的薄片製成水埋玻片，若在顯微鏡下無法清楚觀察，則可滴適量的 0.1% 甲基苯液染色，以利觀察。

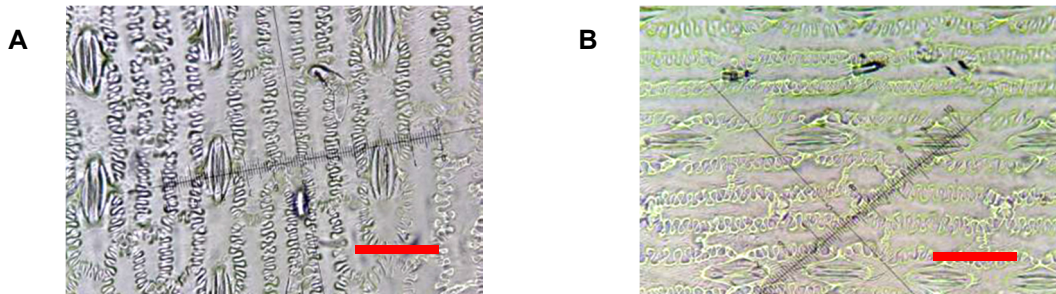
### 伍、研究結果

#### 一、C4 植物氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積的相關性

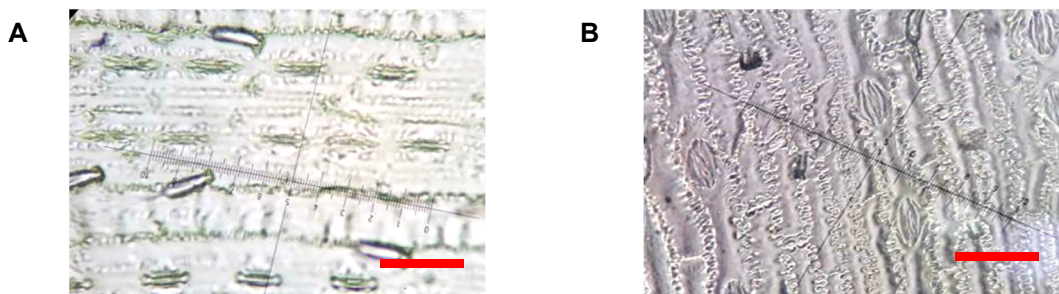
### (一) 不同 C4 植物的氣孔特徵

四種 C4 植物葉片的上下表皮都有氣孔分布 (圖一~圖四), 但其氣孔密度則不盡相同, 這可能是因每種植物都具有不同的遺傳特性, 或是生長在不同的氣候環境

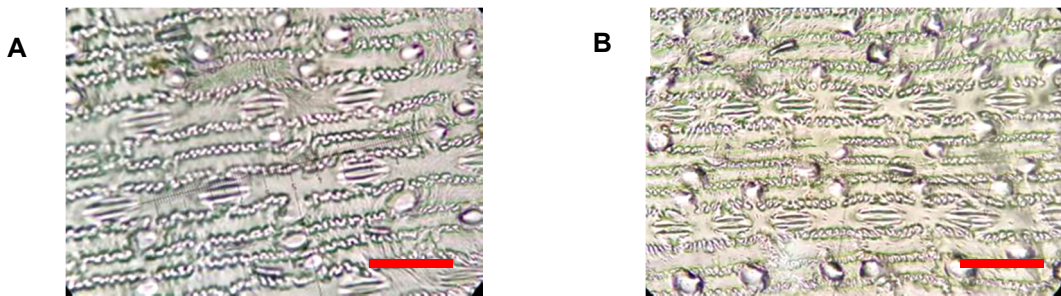
所致。在這四種植物中, 甘蔗下表皮的氣孔密度最高, 且與其他三種植物呈現非常顯著差異 ( $p < 0.005$ ), 甘蔗上表皮的氣孔密度則與其他三種植物呈現顯著差異 ( $p < 0.05$ ) (圖五)。



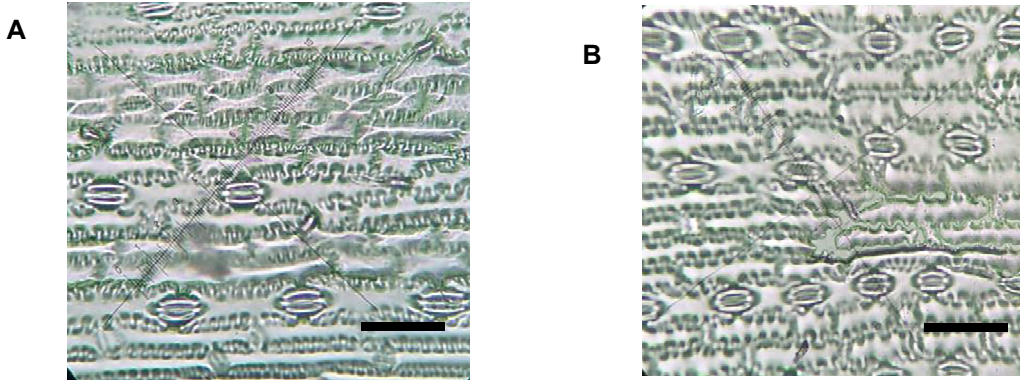
圖一、玉米的氣孔分布 (400X)。(A) 上表皮 (B) 下表皮, scale bar = 100  $\mu\text{m}$



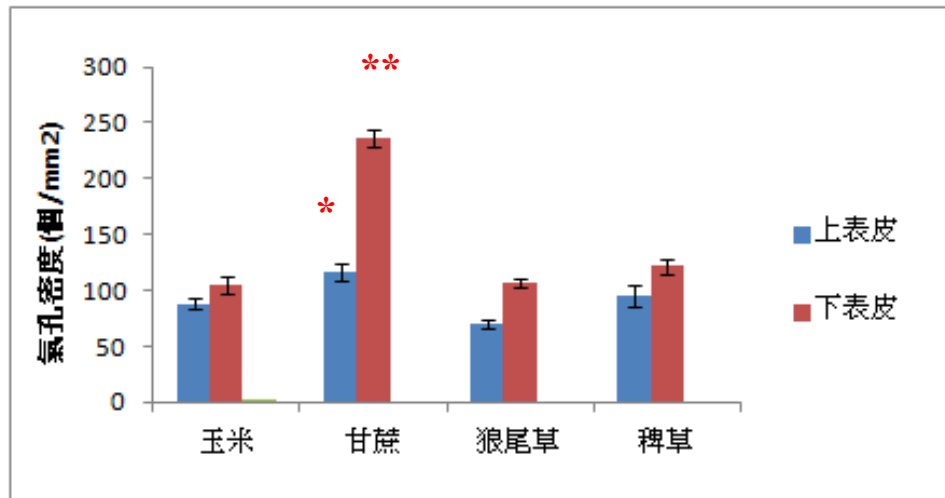
圖二、甘蔗的氣孔分布 (400X)。(A) 上表皮 (B) 下表皮, scale bar = 100  $\mu\text{m}$



圖三、狼尾草葉子的氣孔分布 (400X)。(A) 上表皮 (B) 下表皮, scale bar = 100  $\mu\text{m}$



圖四、稗草葉子的氣孔分布 (400X)。(A) 上表皮 (B) 下表皮, scale bar = 100 µm



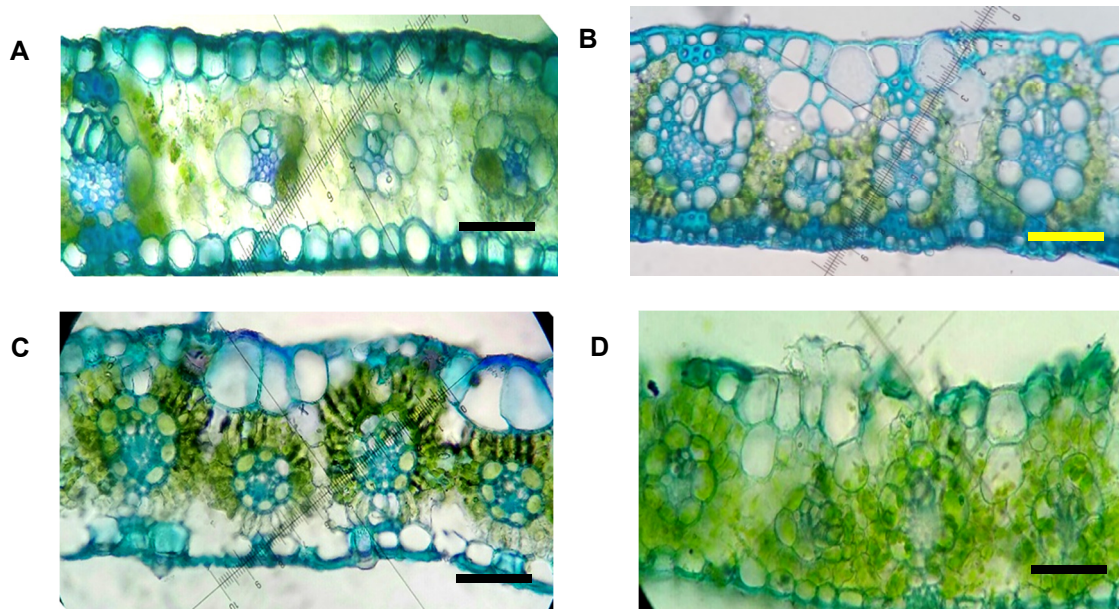
圖五、四種 C4 植物上、下表皮氣孔密度的比較。甘蔗上表皮的氣孔密度與其他三種植物呈現顯著差異 ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ )；甘蔗下表皮的氣孔密度與其他三種植物則呈現非常顯著差異 ( $p < 0.005$ ) ( $n=3$ )。

## (二) 不同 C4 植物的維管束鞘特徵

圖六的結果證實, 4 種 C4 植物葉片的橫切面都具有維管束鞘細胞, 但不同植物的維管束鞘細胞的大小與排列方式則不盡相同, 甚至其葉肉細胞的大小與排列方式也都不相同。

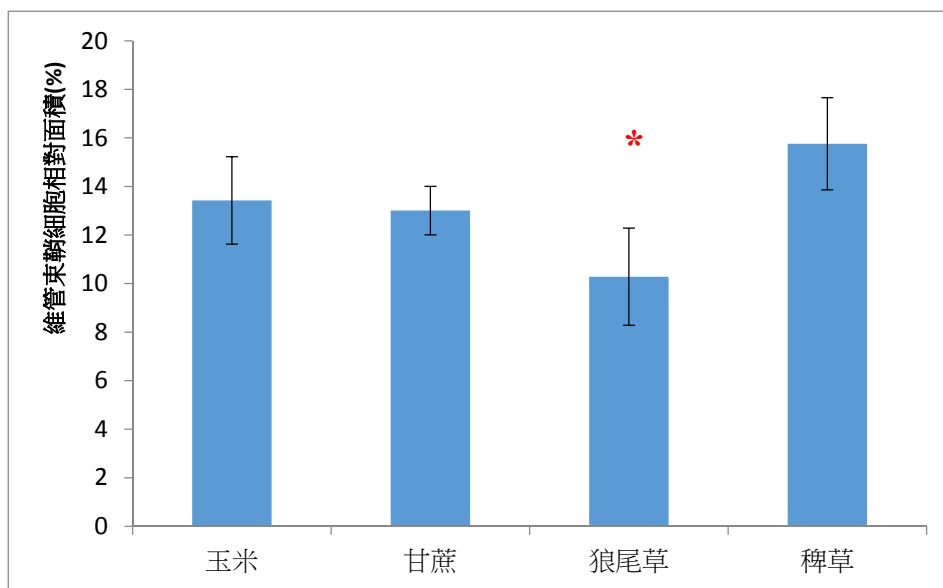
由於每片葉子的大小不一, 為了去除這個變因, 我們利用 4 種 C4 植物葉橫切面的維管束鞘細胞相對面積 (維管束鞘細胞面積 / 葉面積) 來做比較, 結果如圖七所示, 只有狼尾草的維管束鞘相對面積與其他三種植物呈現顯著差異, 其餘植物之間的差異不明顯。





圖六、四種 C4 植物的葉片橫切面 (400X)。A：玉米 B：甘蔗 C：狼尾草 D：稗草。

scale bar = 100 $\mu$ m



圖七、四種 C4 植物葉橫切面的維管束鞘細胞相對面積的比較。狼尾草的維管束鞘相對面積與其他三種植物呈現顯著差異 ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ )。

### (三) 氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積的相關性

圖五是比較 4 種 C4 植物的氣孔密度，圖七是比較 4 種 C4 植物的維管束鞘細胞相對面積。接下來，我們想看看同一植物的葉片中，其氣孔密度與維管束鞘細胞的相對面積之間是否具有任何的相關性。

由圖八的結果可知，在四種植物中，除狼尾草外，這兩種與光合作用相關的特徵之間都明顯地呈現負相關，玉米上表皮的  $R^2$  (相關係數) = 0.57 (中度相關)，下表皮的  $R^2$  = 0.96 (高度相關)；甘蔗上表皮的  $R^2$  (相關係數) = 0.86 (高度相關)，下表皮的  $R^2$  = 0.57 (中度相關)；稗草上表皮的  $R^2$  (相關係數) = 0.89 (高度相關)，下表皮的  $R^2$  = 0.99 (高度相關)。

狼尾草的氣孔密度與維管束鞘細胞的相對面積之間呈現正相關，其上表皮的  $R^2$  (相關係數) = 0.66 (中度相關)，下表皮的  $R^2$  = 0.91 (高度相關)。

將圖八的結果整理及簡化成表一，兩者之間呈現正相關，代表當維管束鞘細胞面積變大時，氣孔密度也會隨之增加；兩者之間呈現負相關，代表當維管束鞘細胞面積變大時，氣孔密度也會隨之減少。結果顯示，只有狼尾草的氣孔密度與維管束鞘細胞呈現正相關。其他三種植物呈現負

相關的原因，我們後面會加以討論。但是，由這個結果我們可以確認的是，這四種 C4 植物的氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積具有中度到高度的相關性。

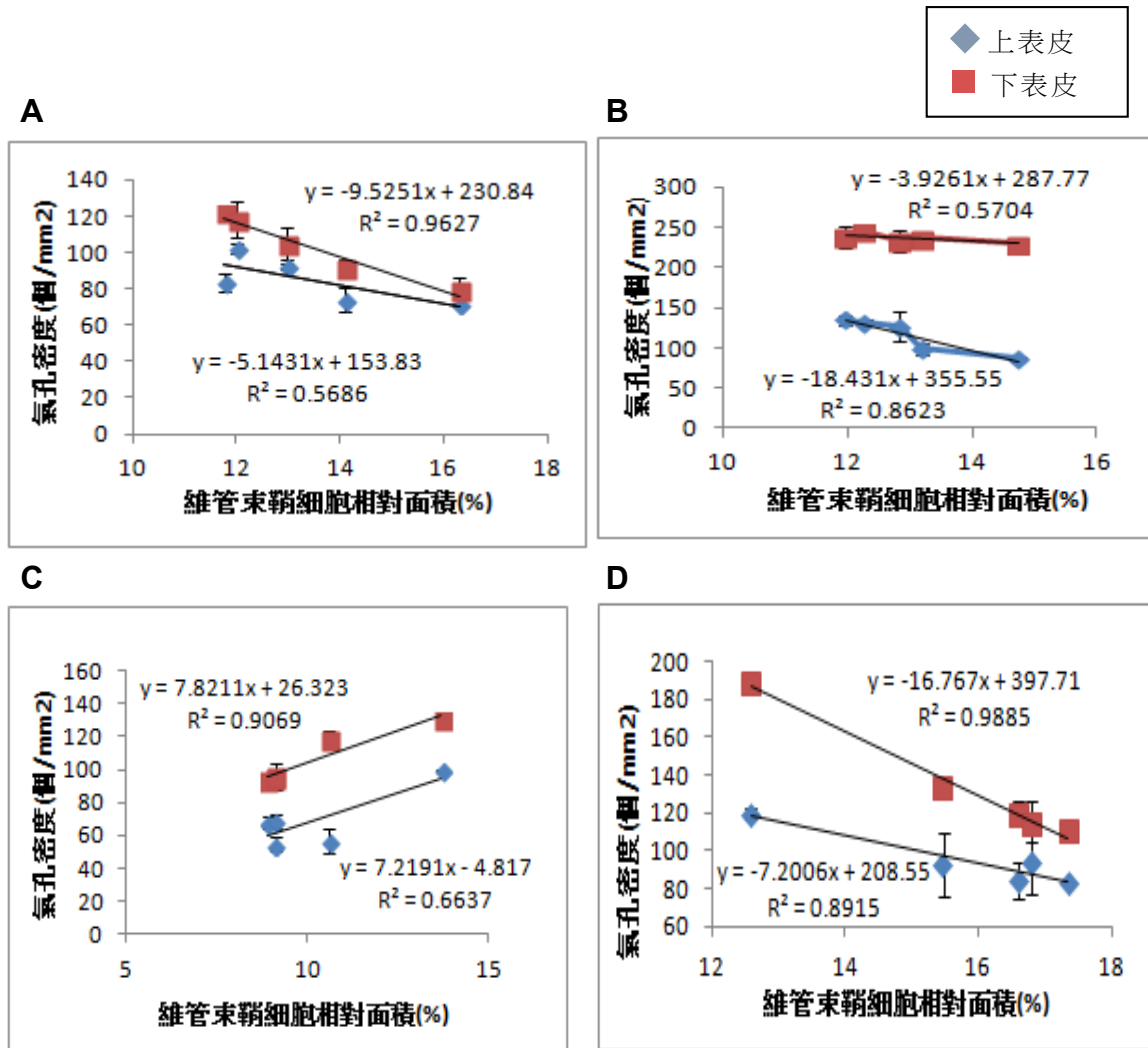
### 二、C4 植物的氣孔密度與葉肉細胞相對面積的相關性

在葉的橫切面構造中，除了鞘細胞外，最重要也佔最大面積的便是葉肉細胞，因此接下來，我們也想看看氣孔密度與葉肉細胞相對面積是否也具有相關性。

由圖九的結果可知，氣孔密度與葉肉細胞相對面積僅有低度到中度的相關性。將結果進一步整理及簡化成表二，可以發現這四種 C4 植物的氣孔密度與葉肉細胞相對面積大多僅具有低度的相關性。

### 三、C4 植物的氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積/葉肉細胞相對面積的相關性

由表一及表二的結果得知，氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積具有中度到高度的相關性，但氣孔密度與葉肉細胞相對面積僅呈現低度的相關性。接下來，我們想看看氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積 / 葉肉細胞相對面積是否也具有相關性。



圖八、四種 C4 植物的氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積的散佈圖及其相關性。A：玉米  
B：甘蔗 C：狼尾草 D：稗草

表一、四種 C4 植物氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積的相關性整理

植物種類	表皮	
	上表皮	下表皮
玉米	中度負相關	高度負相關
甘蔗	高度負相關	中度負相關
狼尾草	中度正相關	高度正相關
稗草	高度負相關	高度負相關



由圖十的結果可知，氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積 / 葉肉細胞相對面積具有中度到高度的相關性。將結果進一步整理及簡化成表三，可以發現這四種 C4 植物的氣孔密度與葉肉細胞相對面積大多僅具有低度的相關性，此結果與表一的數據大致吻合，與表二數據則差異甚大，這也進一步確認氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積具有明顯的相關性，而與葉肉細胞相對面積較為無關。

## 肆、討論

C4 植物葉片的上下表皮都有氣孔分布，而且不同植物的氣孔密度也都不一樣（圖五），即使是同一種植物，為了適應各種生長逆境，其氣孔密度也會隨之改變（邱等人，2013）。

生存是生物的最高準則，因此我們的基本假設是，植物為了適應所處的生長環境，在改變氣孔密度的同時，一定會有葉片的其他構造跟著改變，全體動員以度過逆境或順境，增加存活率。我們認為會跟氣孔密度連動變化的構造，可能是維管束鞘細胞或是葉肉細胞的面積大小，因為這些構造都和光合作用密切相關。

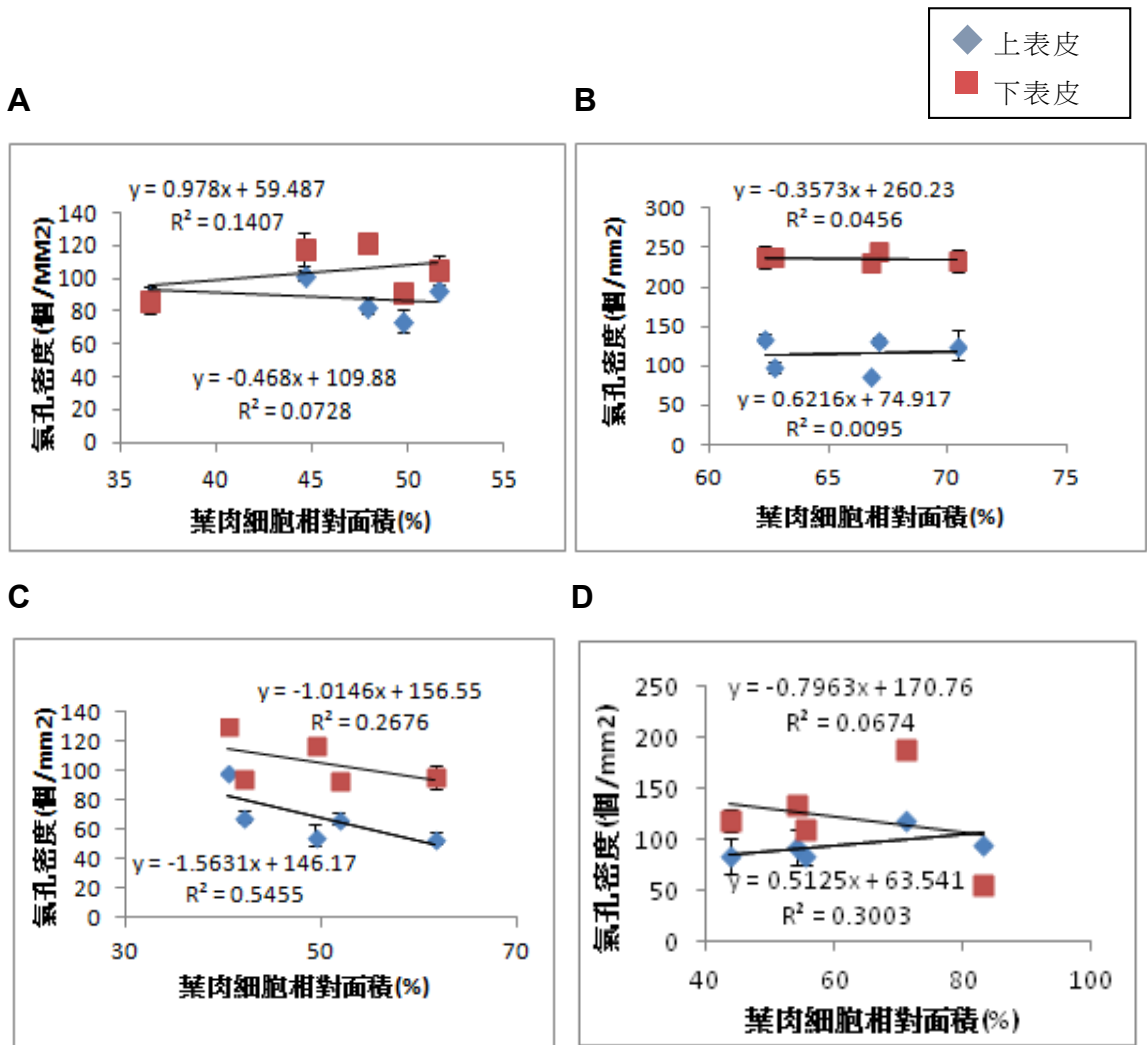
我們的結果顯示，四種 C4 植物的氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積具有中度

到高度的相關性，但與葉肉細胞相對面積大多僅具有低度的相關性。這樣的結果表示當氣孔密度改變時，維管束鞘細胞相對面積會明顯地跟著改變，而葉肉細胞相對面積則不會（表一~表三）。

針對這樣的結果，我們的推論是，C4 植物葉肉細胞內負責固碳的酵素是 PEP carboxylase，此酵素與 CO<sub>2</sub> 的親和力很高，不會有光呼吸的現象，因此，當氣孔密度改變，造成葉內的氧氣濃度波動變大時，葉肉細胞的大小便不需要做相對應的改變（表二）；但是，維管束鞘細胞內負責固碳的酵素是 RuBisCO，此酵素有明顯的光呼吸現象，因此，可以看到氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積大多呈現中度到高度的負相關（表一）。當然，以上的推論仍需要進一步的實驗才能加以證實。

## 伍、結論

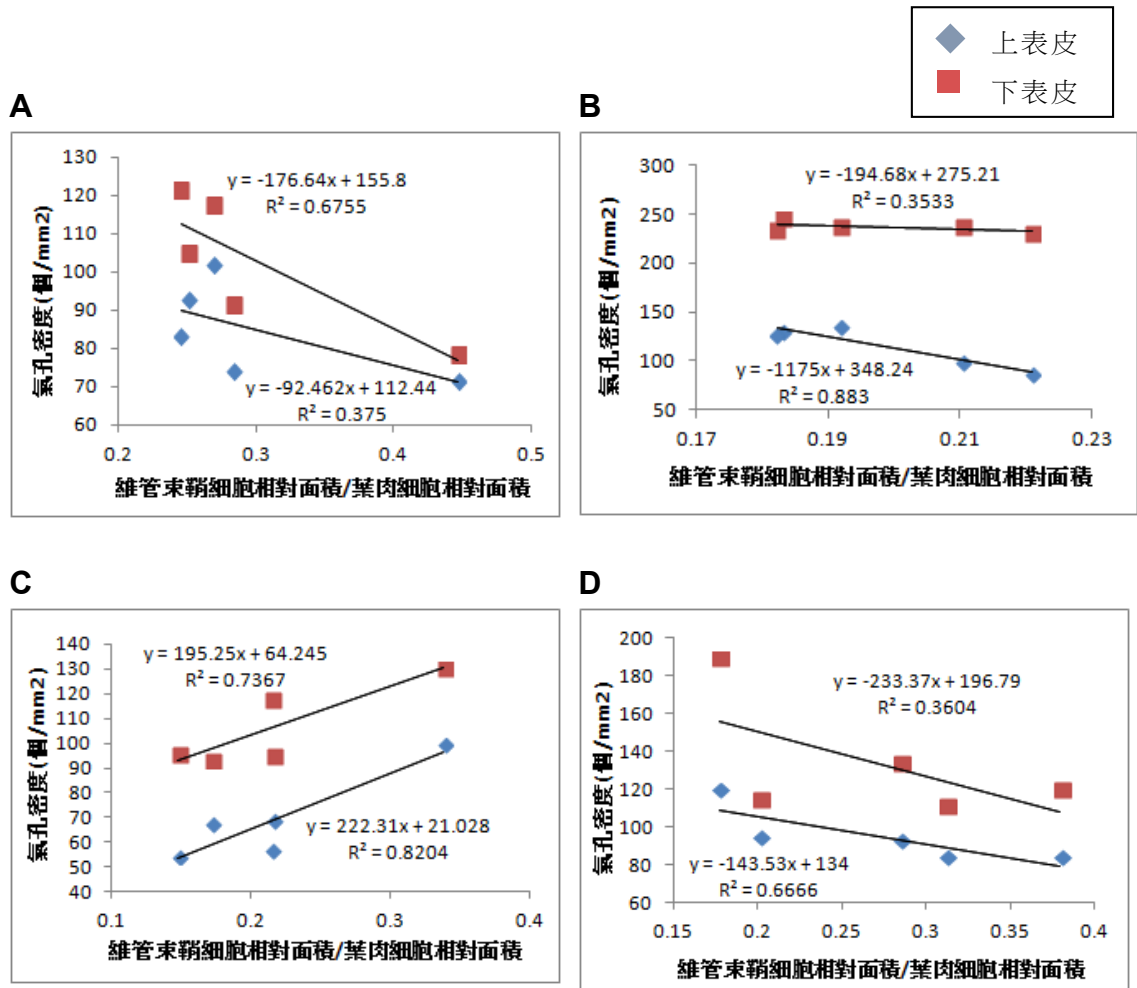
- 一、在本實驗所選取的四種 C4 植物中，氣孔密度與維管束鞘相對面積具有中度到高度的相關性，且相關性有正有負。
- 二、在本實驗所選取的四種 C4 植物中，氣孔密度與葉肉相對面積具有低度的相關性。



圖九、四種 C4 植物的氣孔密度與葉肉細胞相對面積的散佈圖及其相關性。A：玉米 B：甘蔗 C：狼尾草 D：稗草

表二、四種 C4 植物氣孔密度與葉肉細胞相對面積的相關性整理

植物種類 \ 表皮	上表皮	下表皮
玉米	低度正相關	低度正相關
甘蔗	低度正相關	低度正相關
狼尾草	低度負相關	中度負相關
稗草	低度負相關	中度正相關



圖十、四種 C4 植物的氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積/葉肉細胞相對面積的相關性散布圖。A：玉米 B：甘蔗 C：狼尾草 D：稗草

表三、四種 C4 植物氣孔密度與維管束鞘細胞相對面積/葉肉細胞相對面積的相關性整理

植物種類	表皮	
	上表皮	下表皮
玉米	中度負相關	中度負相關
甘蔗	高度負相關	中度負相關
狼尾草	高度正相關	高度正相關
稗草	中度負相關	中度負相關

## 參考文獻

- 車亭儀、莊宥潔、房達奇、鄭茜文、房樹生 (2017)。利用法國秋海棠的氣孔特徵作為土壤中硫酸及硝酸鉛污染指標的可行性探討。**科學教育**, 397, 30-42。
- 鄭湧涇 (2017)。高中**選修生物**。新北市：康熹文化。
- 李瑋、姜翠茹、陳龍俊 (2010)。C4 模式植物的研究進展。**現代農業科技**, 23, 22。
- 李真真、張莉、李思、董鶴、王巧燕、劉西平、姚雅琴 (2014)。玉米葉片氣孔及花環和維管束結構對水分脅迫的響應。**應用生態學報**, 25 (10), 2944-2950。
- 秦茜、朱俊傑、關心怡、於天藝、曹坤芳 (2017)。七個甘蔗品種葉片解剖結構特徵與光合能力和耐旱性的關聯。**植物生理學報**, 53 (4), 705-712。
- 劉萍、丁義峰 (2010)。植物光呼吸的生理意義。**生物學教學**, 35 (10), 6。
- 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**, 365: 38-53。
- 維基百科。2018 年 3 月 30 日，取自 <https://zh.wikipedia.org/wiki/Wikipedia:%E9%A6%96%E9%A1%B5>。