

# 第二十三屆旺宏科學獎

## 成果報告書

參賽編號：SA23-119

隊伍名稱：織環隊

作品名稱：保衛細胞作動之機械探討(纖維環對於氣孔開闔的影響)

參賽類別：生物組

關鍵詞：保衛細胞，氣孔，纖維環，arduino



## 摘要

植物氣孔的開闔由保衛細胞的變形所控制，其原理為注水膨壓來達成，顯微鏡所觀察的靜態開闔可以模型來做細胞體外觀察，保衛細胞的細微結構可影響開闔的方式。其細微結構包含纖維環、端點與細胞壁厚薄。藉由製作模型的過程了解矽膠為最佳材質，模型的作動可了解細微結構的影響方式。經過顯微鏡觀察圖形量測分析與手動模型變化，可得知各種細微結構定性運作方式，欲達成定量分析需以運用機械量測達到數據精準化，Arduino 組件與程式撰寫可以達到初級定量分析，且加入數學等式運算證實其中微纖維環的數量影響張開程度最為明顯，其數學設計等式也可模擬與預測纖維環與開闔的關係，所得到的物理邏輯特性相當一致，應可將此原理導入仿生機具或模組達到以水壓驅動非關節性機具的轉折作動

## 壹. 研究動機

之前實驗課用顯微鏡觀察紫背萬年青下表皮保衛細胞時，覺得保衛細胞中間的氣孔很有趣，於是我便和我的組員開始上網查保衛細胞氣孔的相關資料，在一番研究後，我們發現保衛細胞氣孔運作方式比想像中複雜，便好奇是否可以以模型來模擬氣孔來更清楚的解釋其運作原理，將其重要的細微結構轉化成模型，可以更方便調整變因進而觀察到它們的相互關係。

### 文獻探究

植物氣孔保衛細胞從四億年的演化，都維持著它特有的形狀與功能。在所有的維管束植物保衛細胞壁在氣體交換時，會呈現可回復的型變。細胞壁的構成是異質性的多醣體網路，有較佳的延展性。而較堅硬的纖維環(Cellulose microfibrils)為 $\beta$ -1,4 葡聚糖鍵的組合，嵌在細胞壁

之間，而細胞壁有著不同的結晶度(crystallinity)造成硬度的不同<sup>1</sup>。(圖 1)

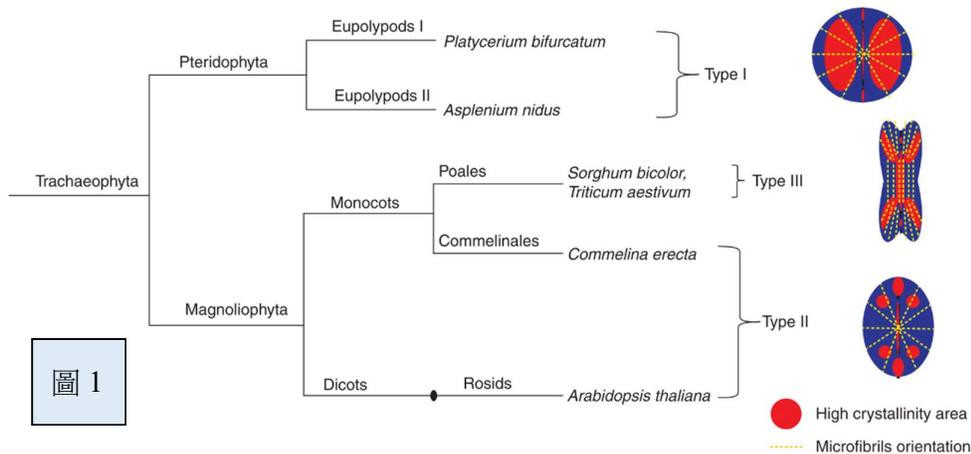
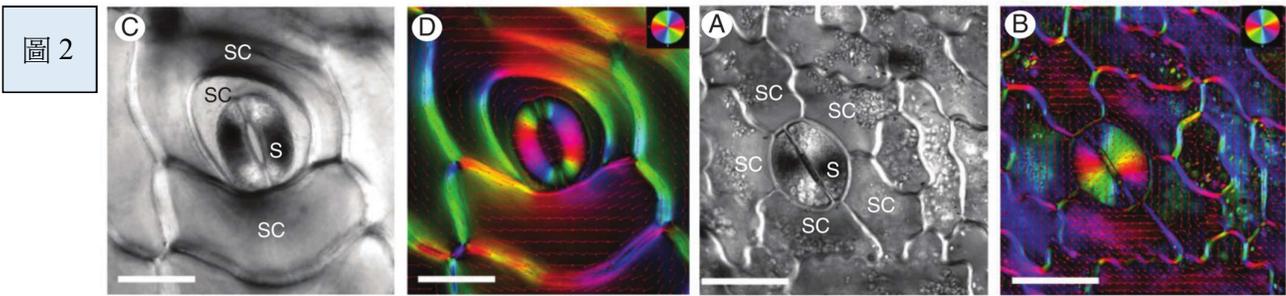
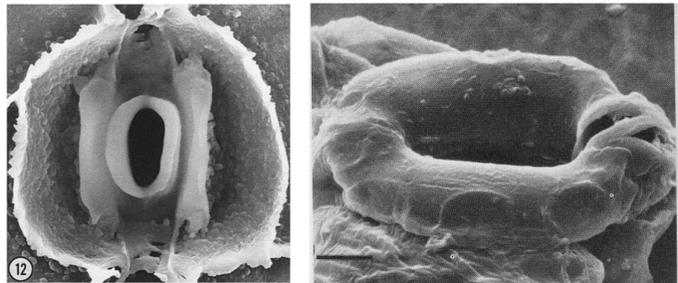


圖 1

而纖維環的排列也造成保衛細胞物理性質的不同。偏光顯微鏡可以看出保衛細胞結晶度的差異，纖維環的走向也可以加色呈現(colour-coded image)。(圖 2)

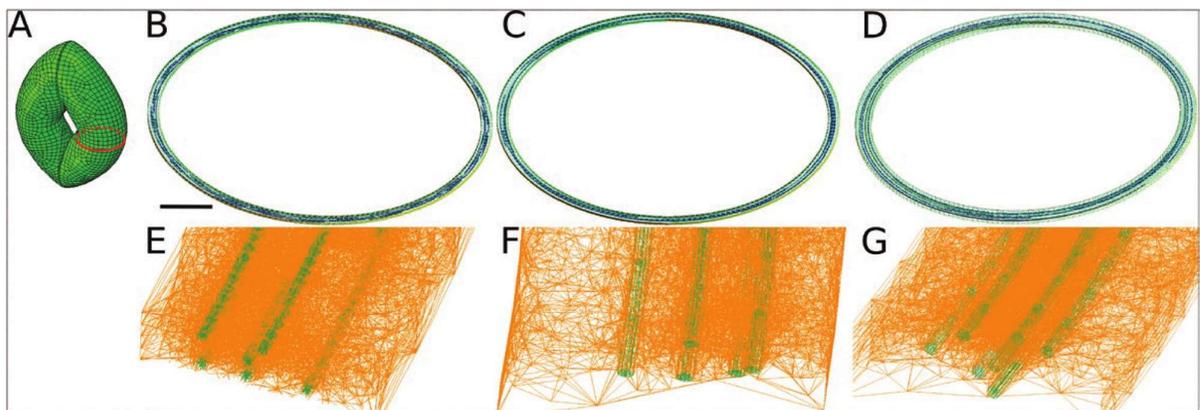
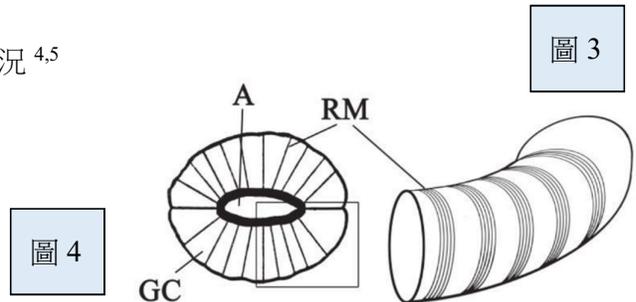


直接檢視纖維環可使用電子顯微鏡，然而切面圖無法顯示纖維環的走向，表面掃描也無法清楚的顯現<sup>2,3</sup>。(圖 3)



科學家便使用模型與電腦演算呈現出纖維環的走向。其纖維環的大小與數量在實際觀察與模擬推導的結果都呈現不一致的狀況<sup>4,5</sup>

(圖 4，圖 5)



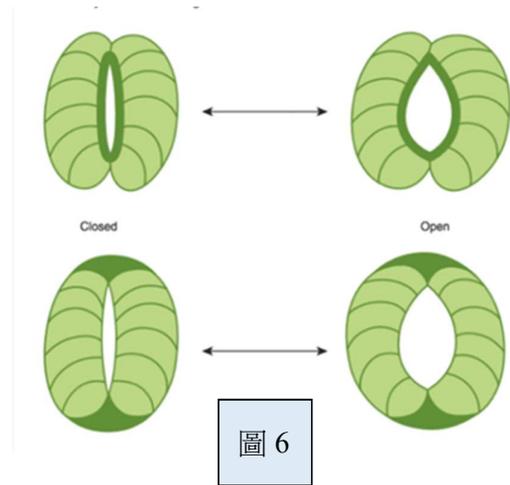
**Figure 1.** Models of a dotted red circular segment of guard cell walls in (A), with (B) 280 cellulose fibrils with lengths of 450 nm, (C) 76 cellulose fibrils with lengths of 1.5  $\mu\text{m}$  and (D) 8 cellulose fibrils with lengths of 4.5  $\mu\text{m}$ . The cellulose fibrils are modelled as bundled elementary cellulose microfibrils with a cross-sectional diameter of 15 nm, which represents five cellulose microfibrils (Brown 1999; Delmer 1999; Diotallevi and Mulder 2007). (E–G) Magnified cut-off sections of models (B–D). Purple lines represent matrix components, whereas blue and brown elements represent circumferentially deposited cellulose fibrils. Scale bar in the top row represents 1  $\mu\text{m}$ ; scale bar in the bottom row represents 10 nm. Circular models in (B–D) are shown in perspective.

圖 5

## 貳. 研究目的

經過模型製作後的實際演練，藉由細微結構包含纖維環、端點與細胞壁厚薄可以讓保衛細胞呈現彎曲現象，造成氣孔的開闔。將其操作變因設定為端點的固定與否，細胞壁的厚薄與否與纖維環的數量，應變變因設定為開闔程度。我們進行以下實驗: (圖 6)

1. 端點固定與否對保衛細胞彎曲程度的影響
2. 纖維環的數量對保衛細胞彎曲程度的影響
3. 纖維環的數量與保衛細胞彎曲程度以等式分析與預測



## 參. 研究設備與器材

點滴延長線	點滴三通接頭	50ml 針筒	矽膠，硬化劑與脫模劑
3D 灌模模具一組	廚房，浴室專用矽利康	3D 模組骨架*	3D 纖維環模型*
電器絕緣膠帶	橡皮筋，攪拌長匙	18G 針頭，免洗杯	座台蓋子，精密磅秤
Arduino UNO 開發板	雷射測距模組	步進馬達	馬達驅動 LN298n 模組
* 由 SketchUp 建模後，由 3D 列印機印出模型			

圖 7



圖 7

## 肆. 研究過程與方法

### 一. 實體顯微鏡觀察與擷取影像量測

1. 準備植物標本
2. 顯微鏡觀察，找出最多同時氣孔打開與閉合的視野
3. 連接轉接環至目鏡與電腦
4. 擷取視野圖形
5. 將擷取圖形匯入 SketchUp，將圖形轉成平面
6. 以”尺寸”工具量測保衛細胞的縱軸長度、單一保衛細胞本體寬度與張開距離
7. 將數據輸入 EXCEL 表格再加以繪製圖形

氣孔可以在許多移動的視野中看到，如果以實際量測尺規移動測量來擷取圖形，可能會有基準值偏移的問題，選擇單一有最多氣孔的視野再以 sketchup 軟體匯入圖形，使用量測工具將尺寸標示上去，其單位並非實際大小，而是在該圖形上的長度尺寸。

### 二. 3D 建模製作模型以矽膠材質定案

1. 以 3D 列印機將各個矽膠灌模組件印出
2. 組裝矽膠灌模加以固定，混和矽膠與硬化劑灌入模具中，震動模具來排除氣泡
3. 上下矽膠脫模後，以浴室用矽利康膠合，再以矽膠加環成形。
4. 做出整個保衛細胞模形後，在端點插入針頭連結管路。
5. 以 3D 列印機把氣孔外框印出(支架模式)
6. 組合矽膠模型與支架，連結管路至針筒。(圖 8)

圖 8

研發以矽膠本體材質，依照觀察的外型用 3D 列印製作模具，做出可模擬氣孔保衛細胞的矽膠模型。除了膨壓增加時，開闔的動作與觀察的外型相似，其膨壓的增加與開闔的大小也呈正相關。由於矽膠模型的結構會彈性變化，所以模型變化需要在固定的臺座上比較好觀察。以 3D 建置氣孔模型骨架，



上下有旋轉樞紐讓保衛細胞可以自由的變形不受干擾，我們把端點的固定與纖維環的數量當作操作變因來觀察氣孔開闔大小。

### 三.手動量測各項變因數值

1. 將 50ml 針筒吸滿自來水
2. 注入水至保衛細胞模型到飽滿與些微膨脹，關閉管路 (填充模型至滿水位)
3. 重新將針筒吸水
4. 注入 40ml 觀察保衛細胞模型變化(測試漏水以矽利康膠封)
5. 恢復保衛細胞模型飽滿狀態
6. 注入 20ml 水並維持壓力
7. 量測保衛細胞模型開口展開寬度
8. 再注入 20ml 至總水量達 40ml 並維持壓力 (圖 9)
9. 量測保衛細胞模型開口展開寬度
10. 改變結構變因(固定端點，纖維環數量 6 個，纖維環數量 12 個)再將實驗步驟重複

開始以定容量的水壓作為膨壓增加的量，尺規量測開闔程度為結果，觀察到影響較大的操作變因為纖維環的數量。但由於手動尺規的量測與注入水量由肉眼觀察造成每次的實驗結果有落差且數據間距過大造成劃出的趨勢線不準確，進而發展以儀器量測。



兩個保衛細胞模形置於骨架中，以手動推壓針筒，模擬膨壓增加，量尺測量張開寬度

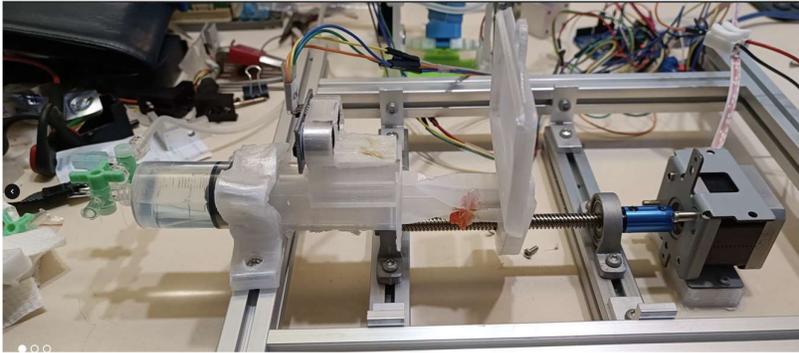
圖 9

### 四.儀器量測數據以電腦程式分析

1. 架設距離感測器在單一保衛細胞模形的中點
2. 架設針筒推進器(裝置於步進馬達模組上)
3. 架設距離感測器於針筒本體與推桿之間
4. 連結針筒與保衛細胞的注水管路
5. 連結距離感測器至 Arduino UNO 開發板
6. 使用 LN298n 馬達驅動板連接 UNO 開發板與外接 12V 電源
7. 撰寫 Arduino 程式語言來驅動步進馬達每轉 18 度後測距一次
8. 測量矽膠模形彎折至中線距離，測量針筒推桿移動距離

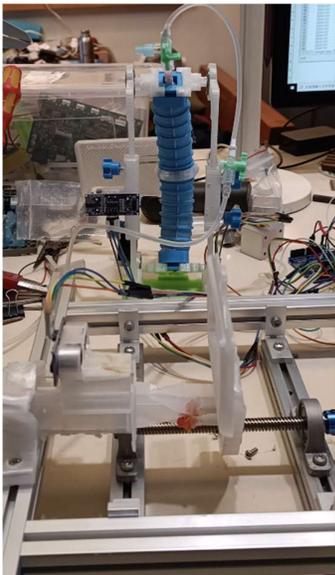
## 9. 將數據傳輸至 EXCEL 表格且同時以圖形呈現

以 Arduino 裝置為量測裝置，Arduino 語言撰寫程式擷取量測結果，將其匯入 EXCEL 分析與製圖。由於 Arduino 超音波量距模組有變異產生，以程式語言撰寫濾波器將離群變異值去除。得到同質性高與反覆實驗一致性佳的實驗數據。後續以步進馬達作為加壓工具，考慮針筒水壓較大，直接驅動推進針筒可能扭距不足會推不動，因而使用廢棄的 3D 列印機的零件與螺桿組合成 Arduino 注射器，可用程式調整轉動量與速度，進而達到固定的加壓容量區間。由於是機器驅動，可以自行調整停頓時超音波量測的次數，可以排除離群值再將數值平均。(圖 10、圖 11)



以 Arduino 控制步進馬達推壓針筒，模擬膨壓增加。

圖 10



管路連接模型，裝置測距模組，測量單邊模型彎折張開距離與針筒推擠距離

圖 11

## 五. 假設模擬數學等式以電腦程式解出

1. 連接新的 UNO 開發板至電腦(無任何外接感測器或模組)
2. 撰寫 Arduino 程式語言
3. 將兩個單元的面積公式套入程式語言中
4. 設定兩個迴圈來變化個別單元的彎折角度(外迴圈為  $\theta_1$ ，內迴圈為  $\theta_2$ )

5. 每一個外迴圈的值可求得內迴圈的值(運用兩單元的面積相等公式)
6. 每一個  $\theta_1$  ,  $\theta_2$  值即時匯入 EXCEL 並繪出圖形

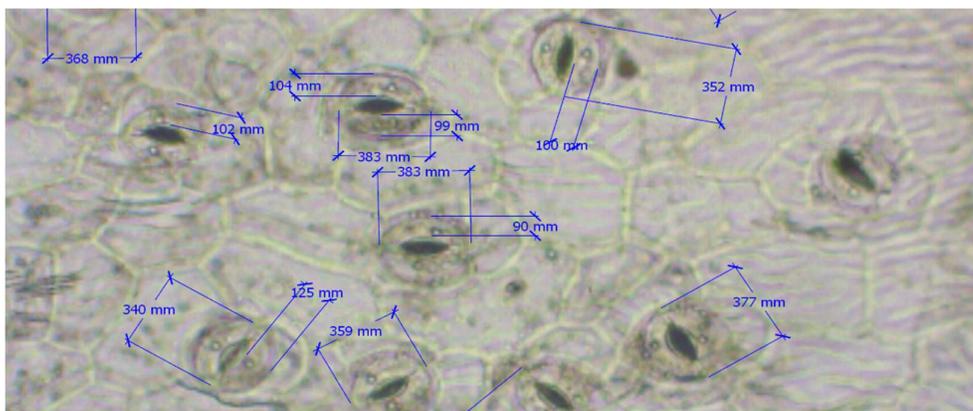
由於纖維環的數量所量測出的數據一致性較佳，嘗試以數學演算方式來理解纖維環的數量所形成的差異。在同樣材質的容器內注入相同的液體後，其體積與壓力應該視為一致。在此狀況下，纖維環較多與纖維環較少的體積相同(雖然外觀不同)。取其截面積來計算，將操作變因做為變數，可得出等式。

## 伍. 研究結果

### 一. 端點固定結果

以顯微鏡觀察紫背萬年青氣孔型態(以新鮮標本)，以 40 倍物鏡所觀察到單一視野影像經擷取後傳輸至電腦。選擇同時有開啟與閉合的氣孔圖像，匯入圖形處理軟體，以工具標註端點距離與保衛細胞的寬度，發現不管是否有張開，其長軸的變化不大且寬度也類似。

使用顯微鏡目鏡影像擷取工具，將觀察在單一視野中，同時有打開與閉合的氣孔的影像擷取，把圖形匯入 SketchUp 軟



體，在平面狀態時，以"尺寸"工具量測氣孔的長度與單一保衛細胞的寬度，同時也紀錄氣孔張開的距離(圖 12)。由於

圖形從顯微鏡目鏡擷取，匯入 SketchUp，轉成平面再以"尺寸"工具標上大小

圖 12

氣孔尺寸較小(10-80um)，轉換比例尺可能會造成更多的誤差，所以以同一張圖片的所有可量測的氣孔作為整體的母群，所有的數值去除單位以比例方式製圖做為比較。

而在模型的端點固定之下，氣孔模型的開闔較為明顯。因而判斷自然界的氣孔端點結構應是固定，也可增加氣孔開闔的效率，而且彎曲的氣孔細胞還是維持相似的寬度(沒有脹大)。

(一)紫背萬年青(圖 13)

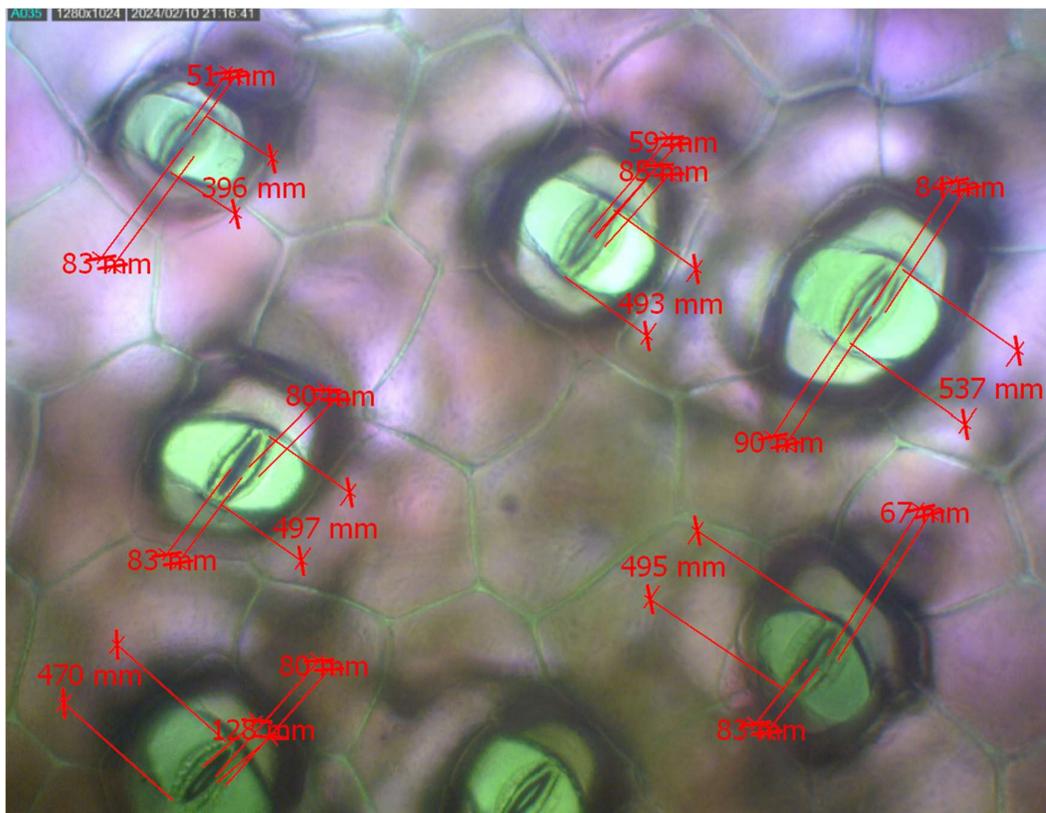
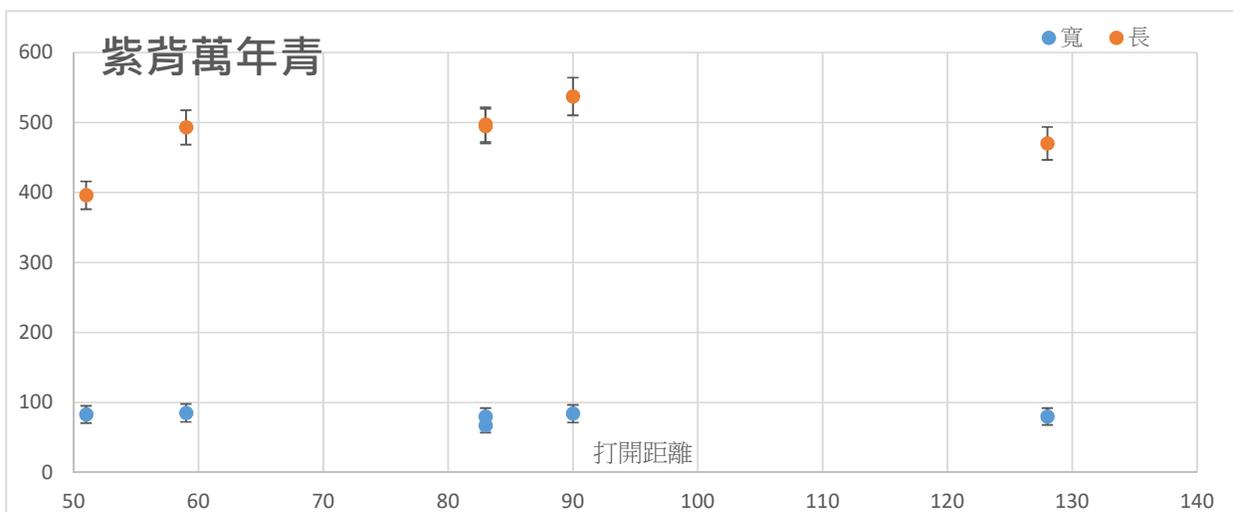


圖 13

紫背萬年青	一	二	三	四	五	六
寬(mm)	80±12	80±12	83±13	85±13	84±13	67±11
長(mm)	470±24	497±25	396±20	493±25	537±27	495±25
打開距離(mm)	128	83	51	59	90	83



(二) 沙漠玫瑰(圖 14)

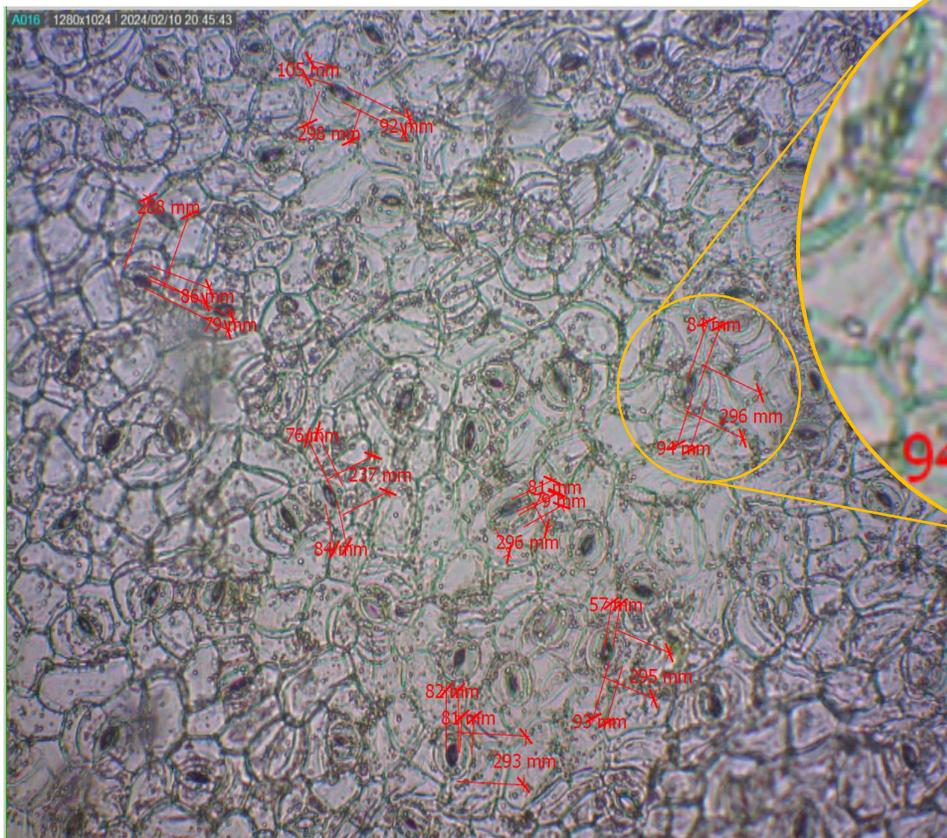
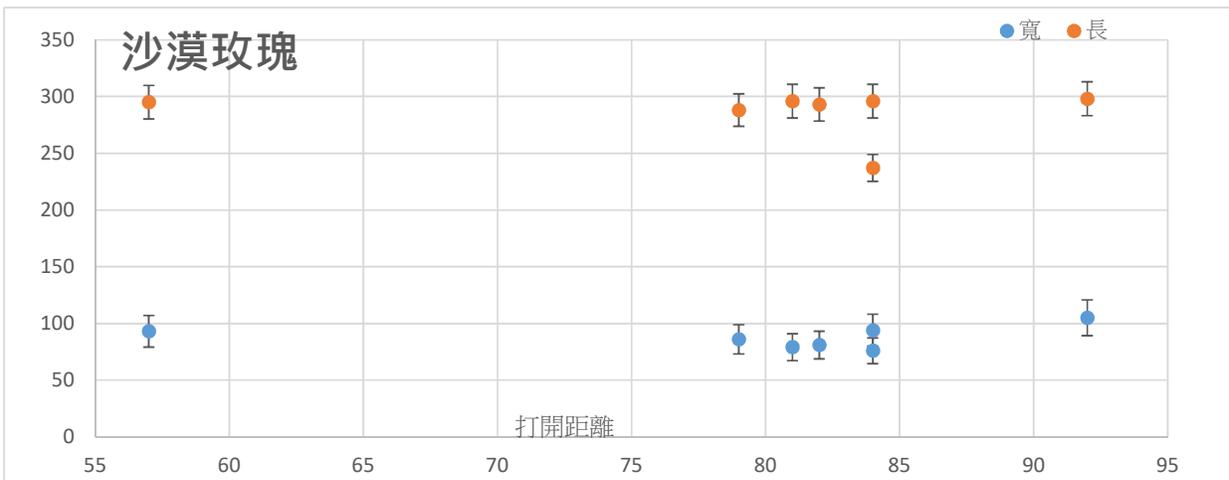


圖 14

沙漠玫瑰	一	二	三	四	五	六	七
寬(mm)	105±16	86±13	76±12	79±12	81±13	93±14	94±15
長(mm)	298±15	288±15	237±12	296±15	293±15	295±15	296±15
打開距離(mm)	92	79	84	81	82	57	84



(三)日日春(圖 15)

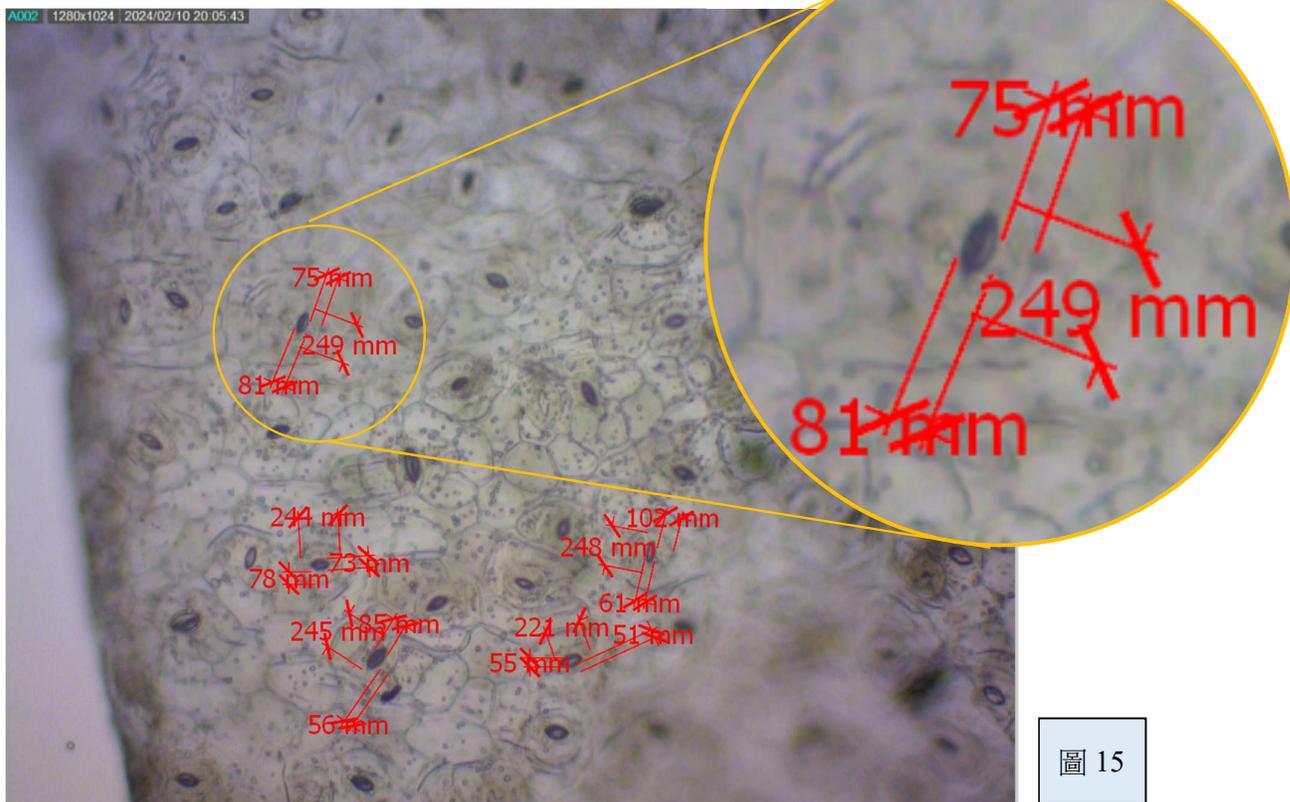
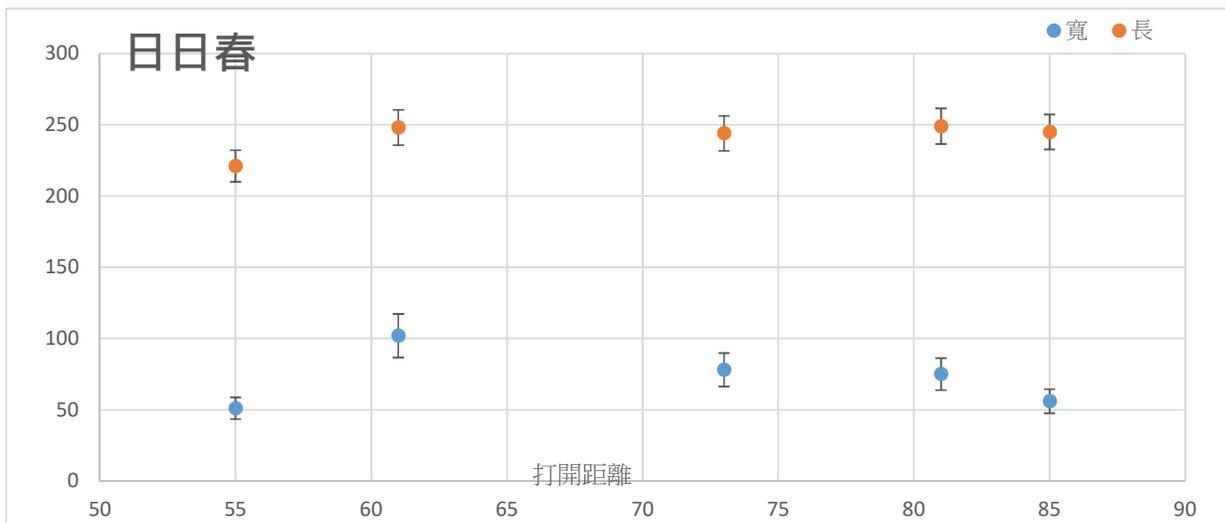


圖 15

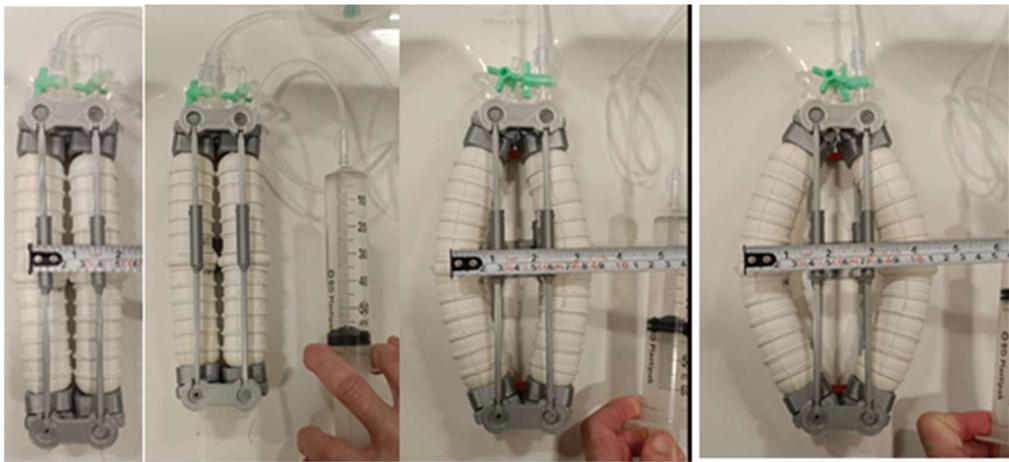
日日春	一	二	三	四	五
寬(mm)	75±12	78±12	56±9	102±16	51±8
長(mm)	249±13	244±13	245±13	248±13	221±12
打開距離(mm)	81	73	85	61	55



這三種植物氣孔大小雖然不一致，但在製圖分析後皆有一致的趨勢:氣孔張開距離增加時不管軸長度與寬度都沒有呈現線性的變化，而且幾乎變化多侷限在一個狹窄範圍，可見氣孔軸長度與寬度不隨著氣孔張開而變化，可能軸長度與寬度沒有改變，量測值的不同可能來自細胞個體差異，或是切片的角度不同所致。

## 二.手動量測注水結果(圖 16)

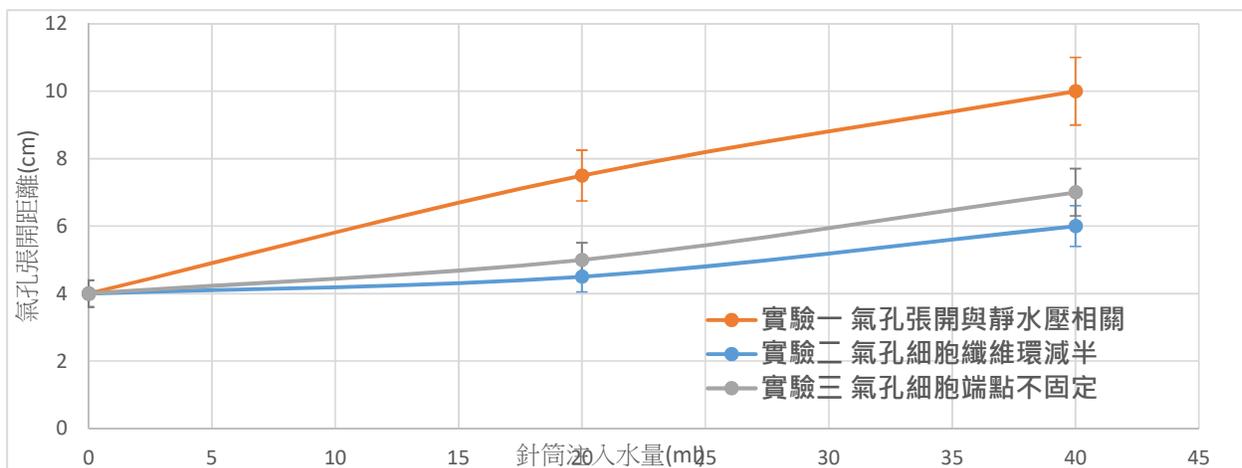
矽膠模型的延展性極佳，防水性良好，注水時可以產生像氣孔開闔的外型。隨著水注入越多(膨壓越大)，保衛細胞模型彎曲變形越明顯，外觀即類似氣孔開口變大。以此模型注水操作時，改變其結構變因後，保衛細胞模型變形與注水之間的關係有著不同的差異，用尺規量測的應變變因結果，可以用圖表呈現改變結構變因造成注水與張開程度關係的差異。



由左到右為 1.未注水量測寬度 2.連接針筒注水測試  
3.注入 20ml 後量測寬度 4.注入 40ml 後量測寬度

圖 16

實驗一 氣孔張開與靜水壓相關		實驗二 氣孔細胞纖維環減半		實驗三 氣孔細胞端點不固定		
針筒注入水量(ml)	氣孔張開距離(cm)	針筒注入水量(ml)	氣孔張開距離(cm)	針筒注入水量(ml)	氣孔張開距離(cm)	氣孔細胞長度(cm)
0	4	0	4	0	4	15
20	7.5	20	4.5	20	5	15.5
40	10	40	6	40	7	16



### 三.Arduino 連續性量測結果

#### (一)手動加壓機器量測

由於端點固定與否的應變變因增加了保衛細胞的長度變長，且造成量測主要應變變因(張開程度)的干擾，故選定以纖維環的差異可呈現比較一致的結果。由於張開程度可用中線到保衛細胞模型彎曲最高點的距離表示。Arduino 的超音波測距儀可以取得這些數據，而注水量等同膨壓的變化，可以用針筒推入的距離表現，同樣可以用 Arduino 超音波測距，在擷取這兩組數據之後，再以 Arduino 的儀器量測分析量測結果從 Arduino 直接輸出至 EXCEL 軟體列表且繪製成 XY 分布圖(X 軸為注入水量,Y 軸為張開距離)，期間發現量測模組的變異以兩次操作變因與應變變因的差值比小於 3 ( $abs(diff/diff2)<3$ )，所得圖形如下:(圖 17、圖

18)

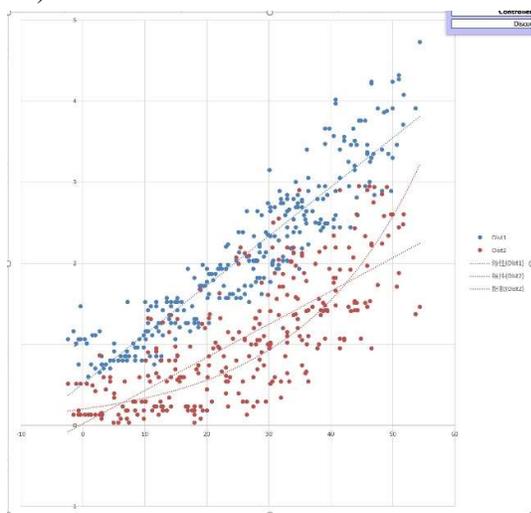


圖 17

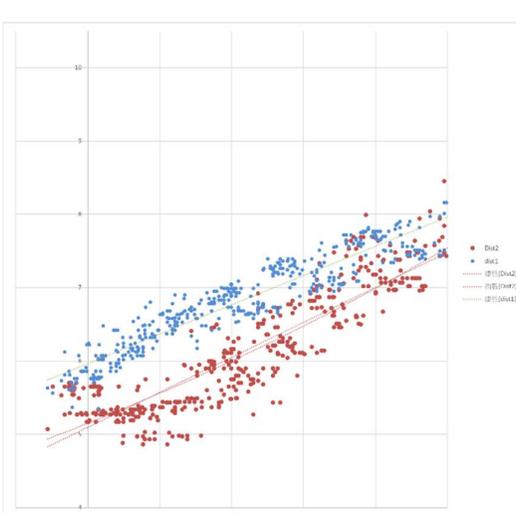


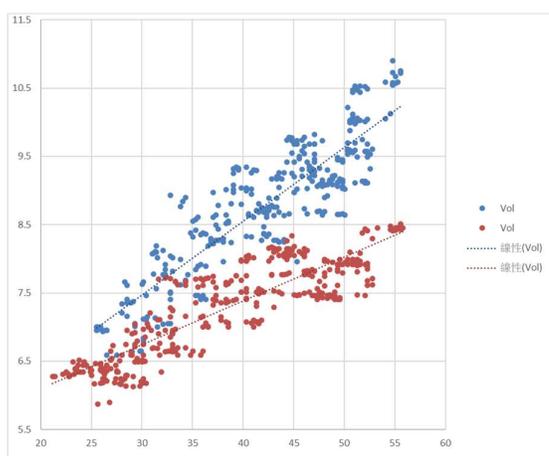
圖 18

左圖為未去除變異值，可見量測點重疊明顯  
右圖為去除變異值，可見量測點較為集中，且趨勢性較好判斷

未去除變異值的離散程度很嚴重，幾乎兩個結果重疊，很難分析趨勢走向。去除變異值後可見纖維環較多可產生直線迴歸現象，而較少纖維環的產生指數變化。(反應較慢)

## (二) 步進馬達加壓機器校正量測

由於手動加壓時，加壓力道變異太大造成測量值區間(X 軸)不一致，需反覆加壓與減壓獲取測量值，且每次量測的結果有很大的落差。所以考量以機器加壓方式，定量加壓，且加壓後擷取多個測量值去除離群值後再加以平均作為結果，所得圖形如下:可看出兩者的斜率不同，張開的最大值也不一樣。(圖 19)

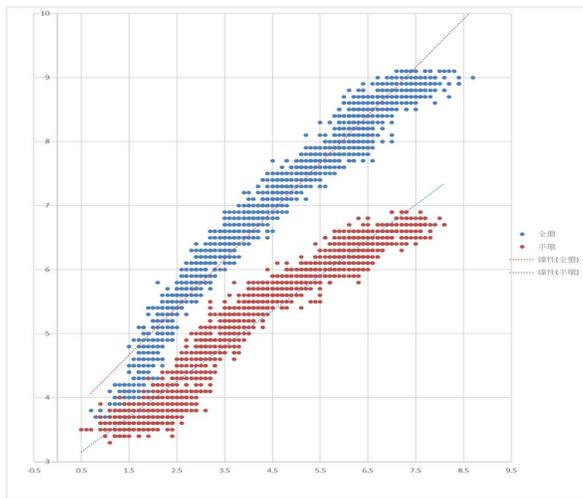


以 Arduino 控制步進馬達推壓針筒，每段時間推進較手推針筒還要固定與精準，可見圖形各量測點分布較為均勻，而手推針筒的圖形疏密不一。

圖 19

## (三) 雷射測距模組量測

雖然使用步進馬達可以得到較集中的測量值(在圖形中)，但仍然有相當大的變化，尤其要篩除很多的離群值也會消耗到整個測量過程的時間，我們開始檢討超音波測距模組的準確性。一開始選用超音波測距是參考網路上的測試結果<sup>4</sup>而決定。但是一再受到量測值變化不准的困擾，使我們想轉換雷射測距看看。我們選定範圍較小(20mm-100mm)的雷射測距模組(VL6180x)，經過一連串的試誤校正，終於得到了不用移除變異值也可以有集中的量測值的曲線。(圖 20)



以雷射測距模組量測，不需移除變異值即可得到非常集中的測量點，也可容易看出兩者的趨勢性

圖 20

由圖形的變化可得知，不管是以時間作為橫軸或是以注入水量作為橫軸，全環的張開比半環的張開還要大，而且水量注入越多時，差異越大。由時間軸也可得知，注水到達終末端時半環的張開效率變差。

圖 21

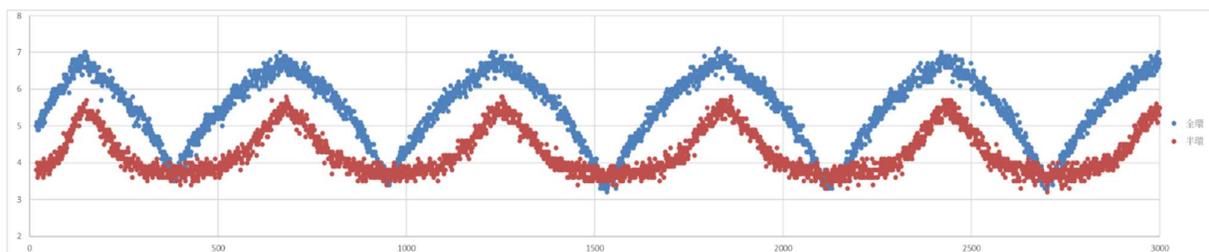
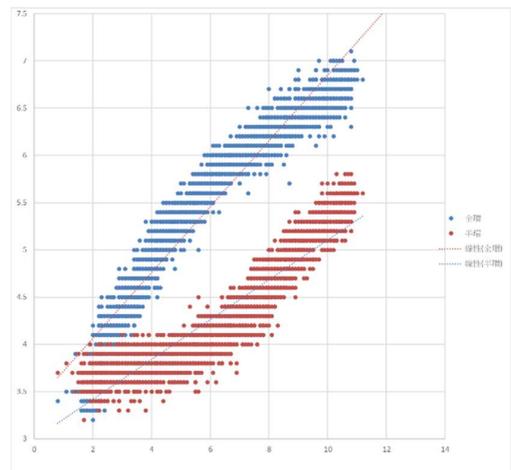
#### (四) 連通管同時測試結果

雖然個別測試可以得出明顯的曲線趨勢差異，但是在於測試的基準點並沒有很精準的零點，也就是起始的條件

不同（壓力與內含水量）。在手動注水實驗時可以做到

以連通管同時量測作圖，可見起始點一致，彼此在同一個 X 軸值的比值會較精準

（之前的量測圖形為分開量測後，再重疊比較，而連通管的注入水量在兩個模形中，為個別注水量的一半，所以圖形也呈現一半）



以連通管同時量測作圖，X 軸為時間單位(以步進馬達的推進單位計算)，

收集 3000 量測點(步進馬達推進一次，量測一次)，可見圖形約有五個週期。

圖 22

連通管相接，使兩組裝置的壓力相同，當以步進馬達注水，水壓過大時會導致馬達扭力不足

無法推進。且改用雷射測距後，同時使用多組感應器的 **Arduino** 程式較為複雜，經過推進模組加上光軸減震引導可以增加馬達的推進力，同時使用三組雷射測距模組（經過反覆測試修改 **Arduino** 程式）兩組量測半環與全環模型的張開距離，一組量測針筒推進距離，換算成注水體積。可以得到兩種曲線，一種是以注水量作為 X 軸，打開的距離作為 Y 軸。另一種曲線是以時間為 X 軸，打開距離為 Y 軸做出連續性曲線圖。(圖 21、圖 22)

所得結果相當一致，特別是時間軸連續性的結果可以呈現週期性變化，波長與頻率皆一致，代表量測系統相當穩定，量測數據不會有變動現象。曲線結果顯示半環模型一開始注水時，打開反應較慢，而全環模型的反應比較線性，不管在哪一種條件下（時間軸或注水量）全環模型永遠比半環模型打開較大距離。(圖 23、圖 24、圖 25)

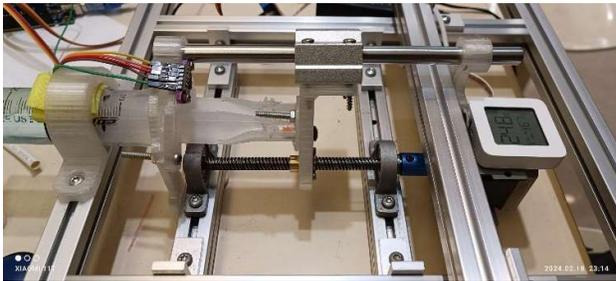


圖 23

步進馬達的推進塊以光軸抑制震動，除了量測較不受干擾之外，還可增加推進扭力



圖 24

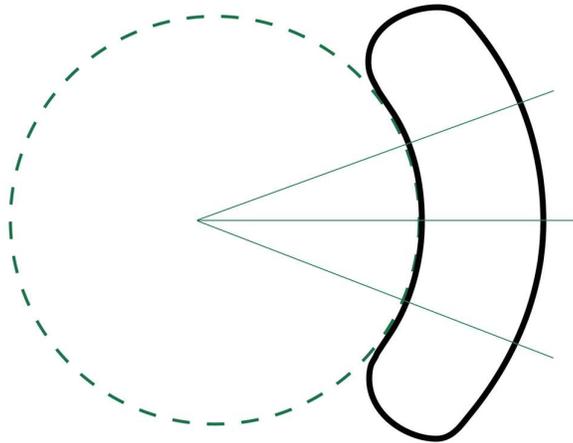
連通管連接頂部端點，不會干擾模形彎折運動，也能確保兩個模形內注水壓力一致



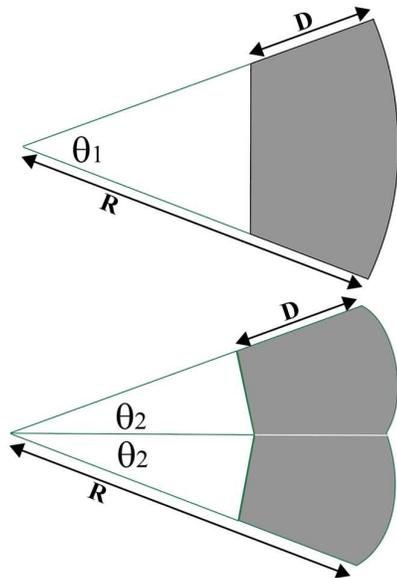
圖 25

半環模形與全環模形並排比較，  
左圖為注水初期兩個模形皆彎折較少  
右圖為注水末期兩個模形彎折明顯，且全環模形比半環模形彎折較大(雷射測距也量測到較大距離)

#### 四.數學推演等式



模形彎折時可假設有個虛擬圓心，由圓心做直線橫切模型可視為相似的單元 (element)，單元的運動方式可視為一致，所以可以將其中的單元做分析來代表整個物件的變化 (finite element analysis)



上圖為半環模形的單元，灰色區為模型， $\theta_1$  為虛擬圓心夾單元的角度

下圖為全環模形的兩個單元，由於兩個  $\theta_2$  相似於半環模形的一個單元，所以比較時會以兩個  $\theta_2$  與一個  $\theta_1$  做比較

角度較大者表示彎折較大，亦即張開距離較大

D 為保衛細胞直徑，R 為彎曲程度的延伸半徑 (由虛擬圓心來計算)

將保衛細胞模型的兩個纖維環的橫截面來分析數據，圖一代表較少環 A 的橫截面，圖二代表較多環 B 的橫截面。D 為保衛細胞直徑，R 為彎曲程度的延伸半徑，n 為 R 與 D 的比值。 $\theta_1$  為模型 A 橫截面張開角度， $\theta_2$  為模型 B 橫截面張開角度。如果模型 B 的纖維環數量是模型 A 的兩倍，在注入等量的水時，造成均勻的膨壓，所造成的橫截面積應相等 (灰色區域)。

其近似橫截面積為  $\theta$  角度弧面積減去內側三角形面積，所得等式如下：

$$\pi R^2 \frac{\theta_1}{360} - \sin \theta_1 (R - D)^2 x \frac{1}{2} = 2 \left( \pi R^2 \frac{\theta_2}{360} - \sin \theta_2 (R - D)^2 x \frac{1}{2} \right)$$

$$\pi R^2 \frac{\theta_1 - 2\theta_2}{360} = \frac{(R - D)^2}{2} (\sin \theta_1 - 2\sin \theta_2) \quad R = nD$$

$$\pi (nD)^2 \frac{\theta_1 - 2\theta_2}{360} = \frac{((n - 1)D)^2}{2} (\sin \theta_1 - 2\sin \theta_2)$$

$$\frac{2\pi n^2}{360(n - 1)^2} = \frac{\sin \theta_1 - 2\sin \theta_2}{\theta_1 - 2\theta_2}$$

$\theta_1$  與總和  $\theta_2$  (兩倍  $\theta_2$ ) 之間的比較可看出整個保衛細胞的張開程度，角度越大代表張開程度越大。以數學方式解等式的方法較為複雜，欲求出兩角度的相關，運用電腦程式以逼近法求取兩角度的近似值。設定  $\theta_1$  為第一迴圈， $\theta_2$  為第二迴圈，角度範圍從 1 度到 70 度，在兩個截面積相近時，在模型 A 的截面積恰小於模型 B 的截面積時，取其迴圈數值為  $\theta_1, \theta_2$  的結果。

$$area1 : \pi (nD)^2 \frac{\theta_1}{360} - \sin \theta_1 ((n - 1)D)^2 x \frac{1}{2}$$

$$area2 : 2 \left( \pi (nD)^2 \frac{\theta_2}{360} - \sin \theta_2 ((n - 1)D)^2 x \frac{1}{2} \right)$$

$$angle1 = \theta_1 \quad angle2 = \theta_2$$

$$area1 = (\pi * \text{sq}(n) * angle1 / 360) - \sin(\pi * angle1 / 180) * \text{sq}(n - 1) / 2;$$

$$area2 = \text{ratio} * ((\pi * \text{sq}(n) * angle2 / 360) - \sin(\pi * angle2 / 180) * \text{sq}(n - 1) / 2);$$

$$\text{diff} = \text{diff};$$

$$\text{diff} = \text{area1} - \text{area2};$$

$$\text{if} (\text{diff} * \text{diff} < 0) \{$$

保衛細胞長 150mm 外直徑為 30mm，推算  $R=75\text{mm}$ ， $D=30\text{mm}$ ，故  $n=2.5$

把數值從 Arduino 直接輸出至 EXCEL 軟體列表且繪製成 XY 分布圖(X 軸為計算個數 i, Y 軸為角度, angle1, angle2)來比較。(實際測量個數為 277 筆資料)

發現 $\theta_1$ 與總和 $\theta_2$ 在任何情況下，都是 $\theta_1$ 小於總和 $\theta_2$ ，也就是說較少纖維環的模型 A 彎曲程度小於較多纖維環的模型 B，亦即模型 A 的張開程度小於模型 B，這個結果可以驗證我們的模型實作測試與 Arduino 實際量測結果。(圖 26)

右圖為兩個模形的分析圖，X 軸為計算個數，以 angle1 為基準角度，每增加計算一次，angle1 會增加 0.3 度，Arduino 算出 angle2 的值(用兩個角度的面積相等來計算)，將兩個角度以不一樣的顏色標出，可見 $\theta_1$ 與總和 $\theta_2$ 在任何情況下，都是 $\theta_1$ 小於總和 $\theta_2$

左圖為 Arduino 輸出到 EXCEL 的 raw data

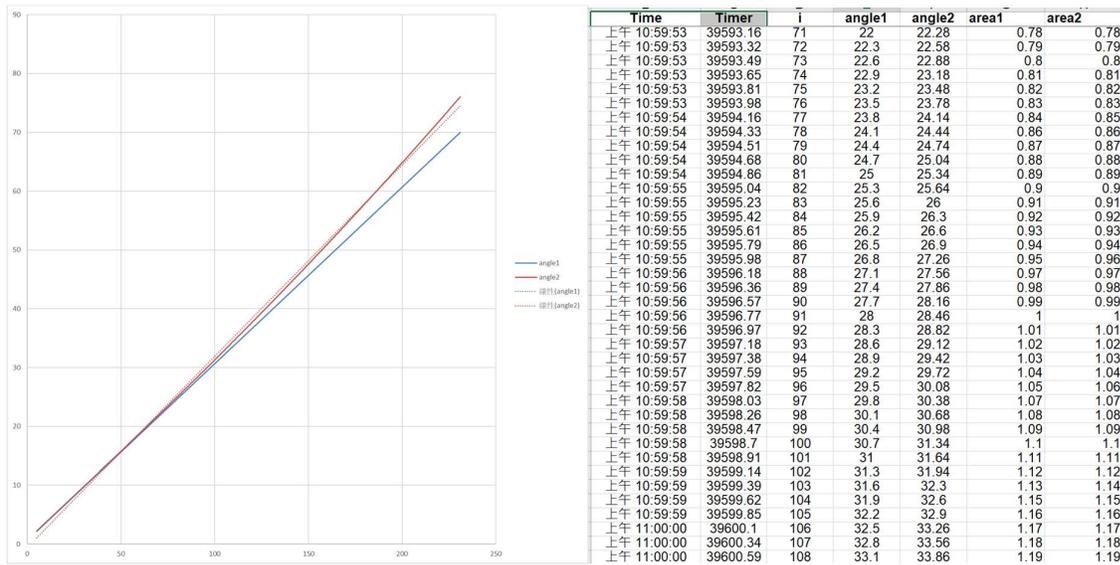


圖 26

## 陸. 討論

### 一. 端點固定結果

大部分文獻與教科書將保衛細胞特殊結構使氣孔開闔的原因，歸因於細胞壁的厚薄與腎形結構。我們參考 Woolfenden<sup>6</sup>的這篇論文，裡面以電腦模擬端點固定與否對氣孔開闔的影響。我們以實際顯微鏡觀察的細微測量值與矽膠模型的測試<sup>7</sup>，都證實氣孔的端點結構應該是固定，也會增加開闔的效果。

### 二. 手動量測注水結果

注水主要模擬 Na-K 幫浦進水造成膨壓增加，在改變矽膠模型的結構參數後，可以觀察模型的變化差異，定性的觀察有顯示出正確的結果，定量的觀察卻產生量測值數量不足與

每次量測的結果有很大的差異，經過檢討後可能原因為肉眼觀察差異與每次量測基準點不同所致。以儀器量測應該會減少量測誤差與增加量測值數量，以 Arduino 的量測儀器最容易取得也比較好客製化。

### 三. Arduino 連續性量測結果

超音波量距會有反射物體材質與角度的問題，需要重新建立模型的量測骨架來減少超音波量測的誤差。實際量測時發現部分測量值有相當的變異，可能跟取樣的時間與現實空間的環境影響所致。由於連續性測量比較不會得出變化量遽增的結果，相鄰兩個控制變因與應變變因的比值作為篩去變異值的方式，當比值設為 3 時，恰好從離散現象改變為可呈現迴歸的結果。以步進馬達的加壓可以讓我們的測量方便許多，而且還沒有手動加壓的手痠疲累，惟架設步進馬達推進器有一定的複雜度，需要多次調整來獲得較平順的量測結果。

藉由各種感測器（雷射測距）調整與步進馬達軸心校正加上光軸抑震，最後的量測曲線的一致性的重現率很高，代表矽膠模型的穩定性很好，每次的反應都一樣，Arduino 量測系統的準確度高，不會有偏移現象。

### 四. 數學推演等式

手動與儀器量測結果相符，代表控制變因(纖維環數量)與應變變因(張開距離)的關係可能為定律。為了分析變形的變量，我們將整個保衛細胞切割成相似的單元體，藉由其變化來導論整個個體的變化趨勢。有點像是有限元素分析(finite element method)，這個單元體設定為邊界兩個纖維環之間的正中矢狀面的截面積。單元體變動趨勢可代表整個個體的變動，由於數學等式過於複雜，且太多未知數，用電腦將兩個未知數( $\theta_1, \theta_2$ )在範圍內(0-70deg.)以兩個連續迴圈巢狀式將數值帶入，用逼近法求出各個角度對應數值。即便不是用整個個體分析，得出的結論與實作完全一致。

### 五. 氣孔結構的運動力學

以教科書所提到氣孔結構會造成開闔的原因主要是 1.腎形結構 2.細胞壁的厚薄，但有論文提到只藉由者兩個結構，可能無法解釋真實的開闔狀況<sup>5</sup>，我們所使用的模型可以重現膨壓造成氣孔的開闔現象。即便模型並非腎形也可以有效率的開闔，我們可歸納出有關氣孔結構運動力學的幾個要點：

1. 細胞壁厚薄可以決定彎折方向
2. 腎形結構一開始便彎折，使開闔更容易

3. 固定端點可使彎折的弧度變大
4. 纖維環的數量可使彎折的效率增加且弧度更大

## 柒. 結論

顯微鏡下的氣孔看起來，開闔的形態各不相同。雖然教科書上強調它的可活動性！如果以觀察的方法，應該是不可能看到連續性的變化。一個穩定模型需要採用**矽膠**作為主結構，文獻所提到的細微結構皆有重要的功能與角色，特別是**纖維環**，更是舉足輕重且影響鉅大。在顯微鏡外重現氣孔的開闔，是一件令人興奮的事，但是以科學方法紀錄則是一個相當漫長的過程，由於沒有相關的資料可供參考，實驗中走了很多彎折的遠路，最終理想的科學紀錄法為 **Arduino** 下用**雷射測距**與**步進馬達**注水加壓。科學量測的結果如果能以數學方式驗證，代表著操縱變因與應變變因關係為定律(**纖維環的密度可以增加彎曲變化的效率與程度**)，甚而可將應用於生活當中，像是放在水缸中的閥門，不需要電線與防水，只要水管注水便可以控制開闔，來達成"仿生"的運用面，也可以做個條紋毛毛蟲玩具，用一條幫浦水管，就可以讓毛毛蟲爬來爬去了。

由此實驗我們可探知植物細胞的動力學(氣孔動力學 stomatal biomechanics)，決定性參數包含端點固定與纖維環數量，特別是纖維環數量比例(與保衛細胞長度比例)不曾在我們有搜尋的文獻出現過，也沒有學者探討過纖維環數量與動力學的影響(只有在電子顯微鏡下描繪纖維環的外觀與走向)，發現纖維環與保衛細胞的動力關係，除了在物理的仿生可以作為演示(不需要關節，水壓可以轉換為有向量的活動)，甚至之後可以探討各種植物纖維環的差異，與它在演化上可能的角色。

## 捌.參考文獻資料

1. Shtein I, Shelef Y, Marom Z, Zelinger E, Schwartz A, Popper ZA, Bar-On B, Harpaz-Saad S. Stomatal cell wall composition: distinctive structural patterns associated with different phylogenetic groups. *Ann Bot.* 2017 Apr 1;119(6):1021-1033. doi: 10.1093/aob/mcw275. PMID: 28158449; PMCID: PMC5604698.
2. Ruth A. Stockey, Brenda J. Frevel, and Philippe Woltz. Cuticle Micromorphology of Podocarpus, Subgenus Podocarpus, Section Scytopodium (Podocarpaceae) of Madagascar and South Africa. *Int. J. Plant Sci.* 159(6):923–940. 1998.
3. P. Dayanandan, PB Kaufman. A scanning electron microscope study of isolated guard cells. *31<sup>st</sup> Ann Proc. Electron Microscopy Soc. Amer.* 1973, New Orleans.
4. A. A. Pautov, S. M. Bauer, O. V. Ivanova, Y. O. Sapach, E. G. Krylova; Stomatal movements in laurophyllous plants. *AIP Conf. Proc.* 2 May 2018; 1959 (1): 090007.
5. Hojae Yi, Charles T Anderson, Bottom-up multiscale modelling of guard cell walls reveals molecular mechanisms of stomatal biomechanics, *in silico Plants*, Volume 5, Issue 2, 2023, diad017,
6. Woolfenden HC, Baillie AL, Gray JE, Hobbs JK, Morris RJ, Fleming AJ. Models and Mechanisms of Stomatal Mechanics. *Trends Plant Sci.* 2018 Sep;23(9):822-832..
7. 會鞠躬的毛毛蟲(氣孔開闔實驗),2023 第六屆全國科學教具創意設計競賽高中大專組第三名
8. Reddy, J. N., An Introduction to the Finite Element Method (Third ed.). *An Introduction to the Finite Element Method* (Third ed.). McGraw-Hill. 2006.
9. Arduino 筆記(96) : HC-SR04 與 VL53L0X(GY-530)的測距比較,  
<https://atceiling.blogspot.com/2020/11/Arduino96hc-sr04vl53l0xgy-530.html>

## 附錄

### 一. Arduino 步進馬達推進與同時兩組模形以雷射測距程式

```
#define GPIO_PIN1 11 //laser number: 1 pin #3
#define GPIO_PIN2 8
#define GPIO_PINL1 10 //laser number: 2

#include <Wire.h>
#include <VL6180X.h> //tof short range polulu library
#include <VL53L0X.h> //tof long range polulu library

VL6180X laser1; //init laser var1 SHORT
VL6180X laser2;
VL53L0X laser3; //init laser var3 LONG

#include <Stepper.h>
// 定義步進馬達轉一圈所需的步數及輸出的腳位
Stepper stepper(200, 7, 6, 5, 4);

int reverse=-1;//Reverse First
int i1,i2;
int MasterI=0;

float cm,cm1,cm2;
int MC=0;

void setup() {
  pinMode(GPIO_PIN1, OUTPUT); //set XSHUT as OUTPUT
  pinMode(GPIO_PIN2, OUTPUT);
  pinMode(GPIO_PINL1, OUTPUT); //set XSHUT of third laser as OUTPUT

  digitalWrite(GPIO_PINL1, LOW); //reset XSHUT of third laser
  digitalWrite(GPIO_PIN2, LOW);
  digitalWrite(GPIO_PIN1, LOW); //reset XSHUT of first laser

  delay(500);
  Serial.begin (9600);

  Wire.begin();
  digitalWrite(GPIO_PINL1, HIGH); //begin writing to XSHUT of first laser
  delay(50); //delay
  laser3.init(); //init laser object, look for it
  //laser3.configureDefault(); //laser config
  laser3.setTimeout(500);
  laser3.setAddress(0x27);

  digitalWrite(GPIO_PIN2, HIGH); //begin writing to XSHUT of first laser
  delay(50); //delay
```

```

laser2.init(); //init laser object, look for it
laser2.configureDefault(); //laser config
laser2.setTimeout(500);
laser2.setAddress(0x26); //38

digitalWrite(GPIO_PIN1, HIGH); //begin writing to XSHUT of first laser
delay(50); //delay
laser1.init(); //init laser object, look for it
laser1.configureDefault(); //laser config
laser1.setTimeout(500);
laser1.setAddress(0x25); //37

Serial.println("CLEAR SHEET"); // clears sheet starting at row 1
Serial.println("LABEL,Date,Time,Timer,Vol,Dist1,Dist2,MC");

stepper.setSpeed(5);
}

void loop()
{
  Serial.println(MC) ;
  PreP:
    Wire.beginTransmission(37); //0x25 address for laser1
    cm=laser1.readRangeSingleMillimeters();
    Wire.endTransmission();
    Wire.beginTransmission(38); //0x26 address for laser2
    cm2=laser2.readRangeSingleMillimeters();
    Wire.endTransmission();
    Wire.beginTransmission(39); //0x27 address for laser3
    cm1=laser3.readRangeSingleMillimeters();
    Wire.endTransmission();
    cm=cm/10;
    cm2=cm2/10;
    cm1=((9.9-(cm1/10))*50/6.8;
  delay(50);
  if (cm1>50 and reverse==1){reverse=-1;}
  if (cm1<0 and reverse==-1){reverse=1;}

  stepper.step(10*reverse);
  if (MasterI==0 and cm1>0){goto PreP;}
  else {MasterI=1;}

  MC++;
  if (MC>3000){exit(0);}
  delay(10);

  Serial.print("DATA,DATE,TIME,TIMER,");
  Serial.print(cm1); //印出距離值 cm 在序列埠監控顯示器 單位公分

```

```

Serial.print(",");

Serial.print(cm);
Serial.print(",");
Serial.print(cm2);
Serial.print(",");

}

```

## 二.Arduino 以數學等式計算兩個模形單元的角度程式

```

const float n=2.5;
int i;
const int ratio=2;
float angle1,angle2;
float diff,diff1,area1,area2;
void setup() {
  // put your setup code here, to run once:
  Serial.begin (9600);          //設定序列埠監控視窗 (Serial Monitor) 和 Arduino 資料傳輸
  //速率為 9600 bps (Bits Per Second)
  Serial.println("CLEARSHEET"); // clears sheet starting at row 1
  Serial.println("LABEL,Date,Time,Timer,i,angle1,angle2,area1,area2,diff1,diff2");

  // put your main code here, to run repeatedly:
  for( angle1=1;angle1<70;angle1=angle1+0.3){
    i++;
    for( angle2=1;angle2<70;angle2=angle2+0.03){
      area1=(PI*sq(n)*angle1/360)-sin(PI*angle1/180)*sq(n-1)/2;
      area2=ratio*((PI*sq(n)*angle2/360)-sin(PI*angle2/180)*sq(n-1)/2);
      diff1=diff;
      diff=area1-area2;
      if (diff1*diff<0){
        Serial.print("DATA,DATE,TIME,TIMER,");
        Serial.print(i);      //印出距離值 cm 在序列埠監控顯示器 單位公分
        Serial.print(",");

        Serial.print(angle1);  //印出距離值 cm 在序列埠監控顯示器 單位公分
        Serial.print(",");
        Serial.print(angle2*ratio);
        Serial.print(",");
        Serial.print(area1);   //印出距離值 cm 在序列埠監控顯示器 單位公分
        Serial.print(",");
        Serial.print(area2);
        Serial.print(",");
        Serial.print(diff);
        Serial.print(",");

```

```
        Serial.println(diff1);
        goto Skip;
    }

    }
    Skip:
    delay(1);
    diff=0;
}
}

void loop() {
}
```