

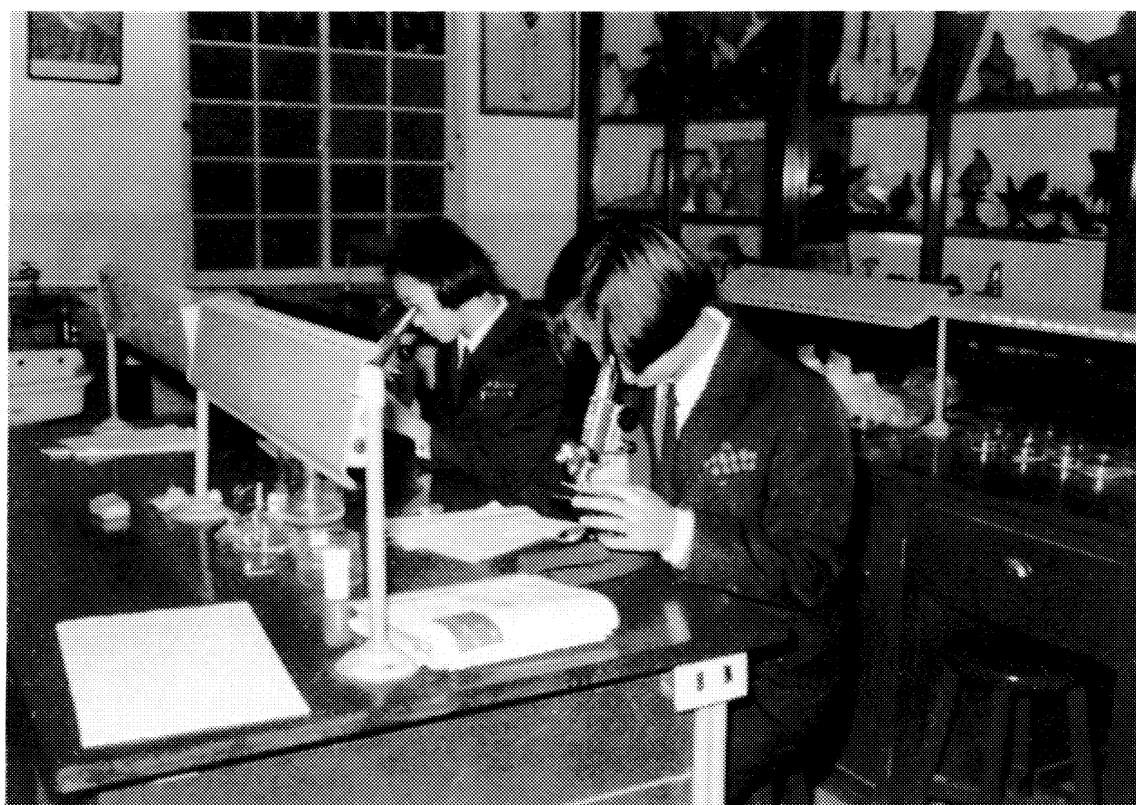
蕨類配子體的培養觀察及實驗的改進

高中組生物科第三名

省立新竹女子高級中學

作者：孫德珊、彭鈺棻等 7 人

指導教師：孫月貞



一、動機：

每當課文上到蕨類的生活史時，老師會將蕨類的孢子體及配子體的標本給我們看，然後告訴我們下次做這個實驗時，每個人都要帶材料來，以加深我們對蕨類生態環境的認識。可是實際上同學們帶來的配子體很少（有的受居住地方的限制，或氣候、或其它因素），如此情況下，要看到實驗課本上所說的藏卵器是瓶形構造，有膨大的基部，埋在配子體內，僅頸部露出，基部內有卵；假根附近有圓拱形的藏精器，其內有多鞭毛之精子能游泳，要看到游動的精子那簡直是可遇

不可求。每當這個實驗做下來，大家都覺得很洩氣。因此，我們就在尋找方法，若能自己動手由孢子在實驗室內開始培養。不僅可解決材料的來源，更可徹底了解蕨類的生長過程。所以我們就開始尋找資料，計劃做這個實驗。

二、目的：

尋找出一種最簡單最可行的方法，能培養出大量的配子體，且能看到藏卵器、卵子、藏精器、精子，使實驗順利完成。

三、器材

密毛小毛蕨	蓋玻片 ^o
斜方複葉耳蕨	載玻片
扇葉鐵線蕨	滴管
粗毛麟蓋蕨	燒杯
半邊羽裂鳳尾蕨	40 W 電燈
培養皿	40 W, 20 W, 10 W 日光燈
高溫高壓滅菌器	NaOCl
離心機	紅、藍、綠、藍紫色之玻璃紙
光度計	培養基 BBM- Agar
光電比色計	
溫度計	
顯微鏡	

(一)原液

salt	g/400 ml
CaCl ₂ · 2H ₂ O	1
NaNO ₃	10
Mg SO ₄ · 7H ₂ O	3
K ₂ HPO ₄	3
KH ₂ PO ₄	7
NaCl	1

(一)微量元素：

1. 50 g EDTA 與 31 g KOH 溶入 1 升蒸餾水
2. 4.98 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶入 1000 ml 酸水中
3. 11.42 g H_3BO_4 溶入 1 升水中
4. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8.82g , $\text{MgCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 3g , MoO_3 0.71g
 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.57g , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 0.49g 溶入 1 升蒸餾水中

(二)量 940 ml 蒸餾水，分別加入各 10 ml 原液，再加入 1 ml 的微量元素溶液，配成 1.5% Agar

四、過程：

(一)用刀片將蕨類葉子上之孢子囊群刮下，切碎，再用篩網過濾。

(二)孢子放於試管內以 2.5% NaOCl 溶液消毒 10 分鐘

(三)用離心機離心，丟棄上層懸浮液，加入蒸餾水，重覆此步驟 3 次。

(四)將已消毒過之孢子撒播於經高溫高壓滅菌後之固體培養基上，或液體培養基，經 48 小時的黑暗，再分別經過 18 小時紅光、藍綠光、遠紅光、日光燈照射，然後再分別放回黑暗中 48 小時。（紅光：以三層紅色玻璃紙以 R 表之，藍綠光：以 2 層藍紫色玻璃紙加 1 張藍色玻璃紙，以 G 表之，遠紅光：以 4 層藍紫色玻璃紙加 2 層綠色玻璃紙加 1 層紅色玻璃紙以 F 表之，並用光電比色計測波長）。

(五)將不同種類的蕨類分別做如下之處理，每種處理各做 3 個培養皿，固體培養基需維持潤濕

1. 固體培養基：

分別以 2400 lux 白光，1600 lux 白光，600 lux 白光，G 20 lux，F 20 lux，R 20 lux 每天光照 10 小時，另三個培養皿放暗室中

2. 液體培養基：處理方法用 1.

(六)檢查萌芽率

(七)定期比較其生長速度

(八)檢查長出藏卵器、藏精器的情形

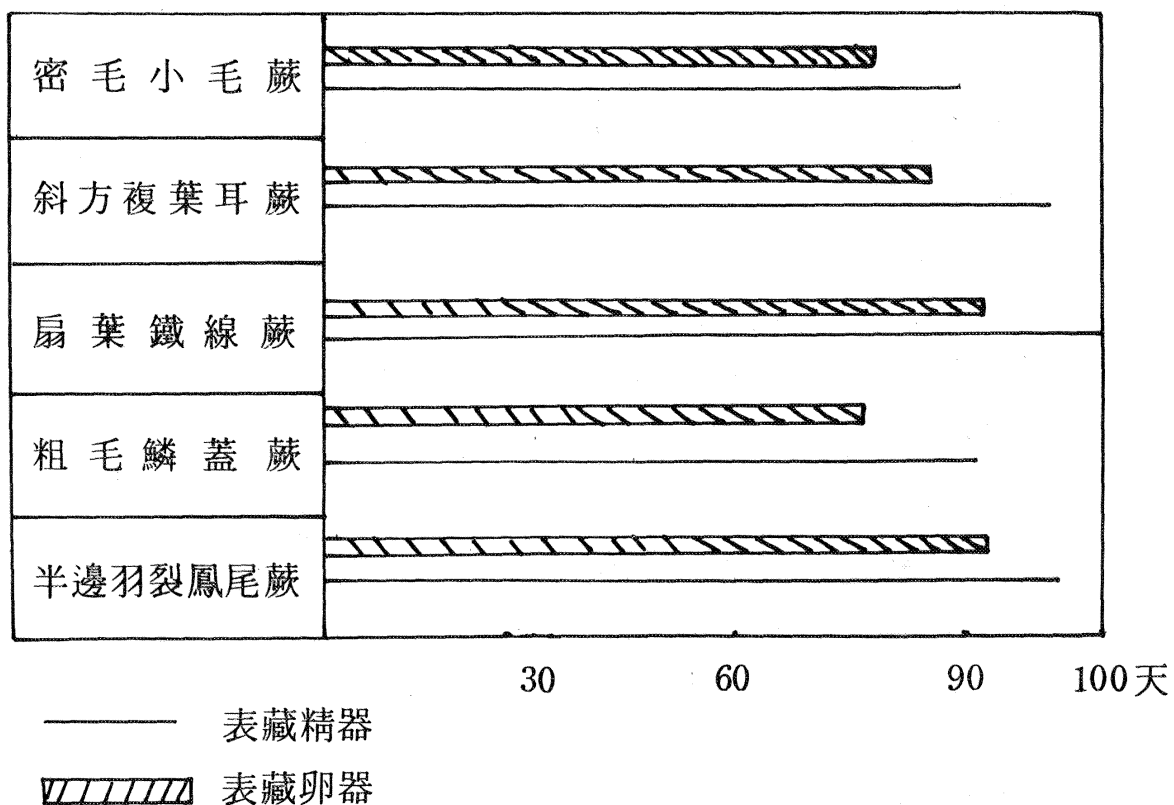
五、結果：

(一) 萌芽率

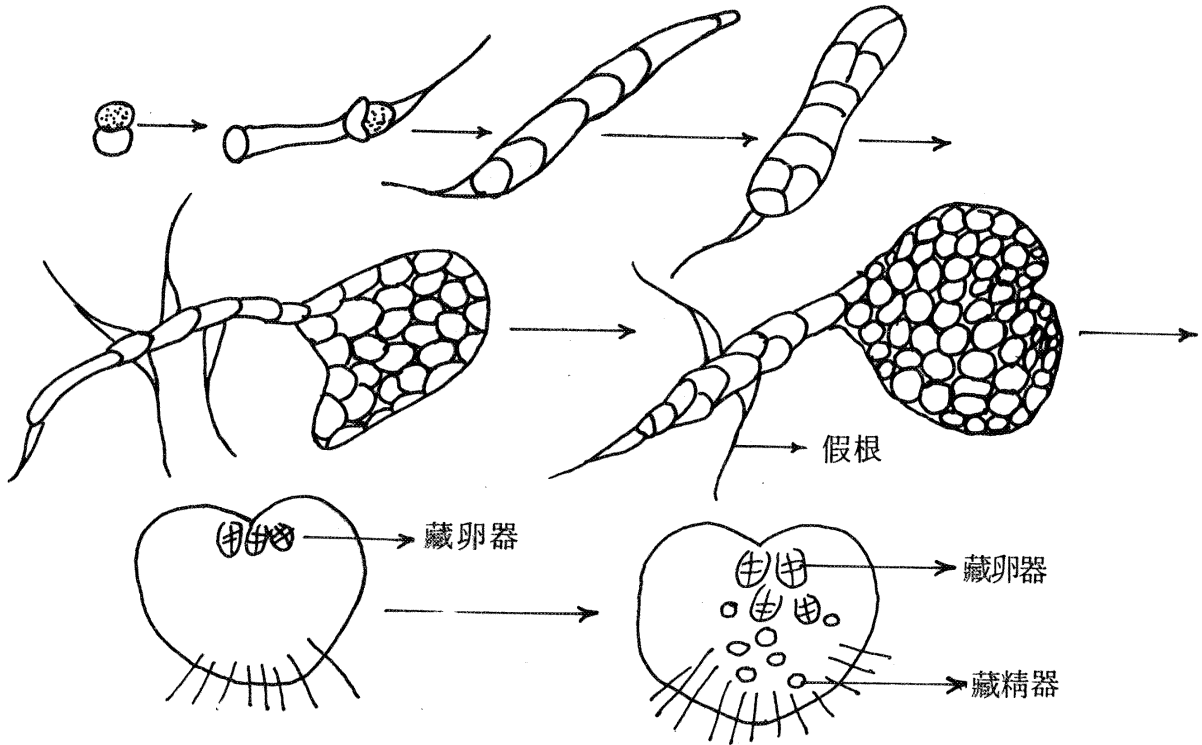
蕨類名稱	培養基		固體培養基						液體培養基							
	光源種類	光強度 (lux)	白		光	G	F	R	暗室	白		光	G	F	R	暗室
			2400	1600	600	20	20	20	0	2400	1600	600	20	20	20	0
密毛小毛蕨			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
斜方複葉耳蕨			90	93	96	20	14	87	84	92	85	87	16	18	75	85
扇葉鐵線蕨			2.5	6	4	40	5	1	3	76	66	70	60	2	4	66
粗毛鱗蓋蕨			99	99	80	93	20	91	90	95	90	92	80	16	76	88
半邊羽裂鳳尾蕨			56	60	30	82	10	38	56	53	48	32	58	40	35	64

註：密毛小毛蕨計算萌芽時沒看到，但後來成長到肉眼可見時，看到少數的幾個

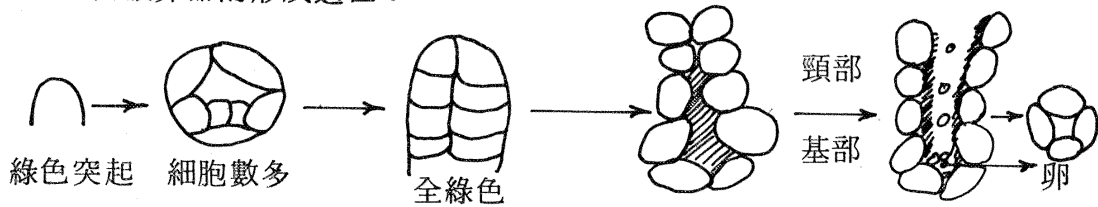
(六) 藏卵器、藏精器產生所需的時間 (以 2400 lux，9 月份開始做的)



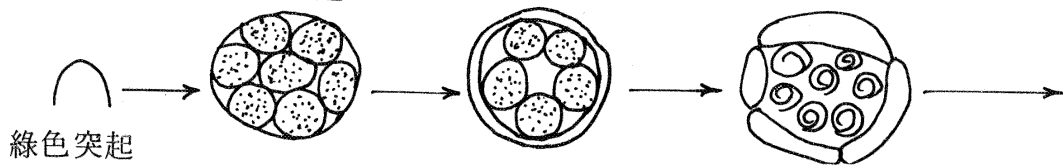
(一)配子體的生長過程：



(二)藏卵器的形成過程：



(三)藏精器的形成過程：



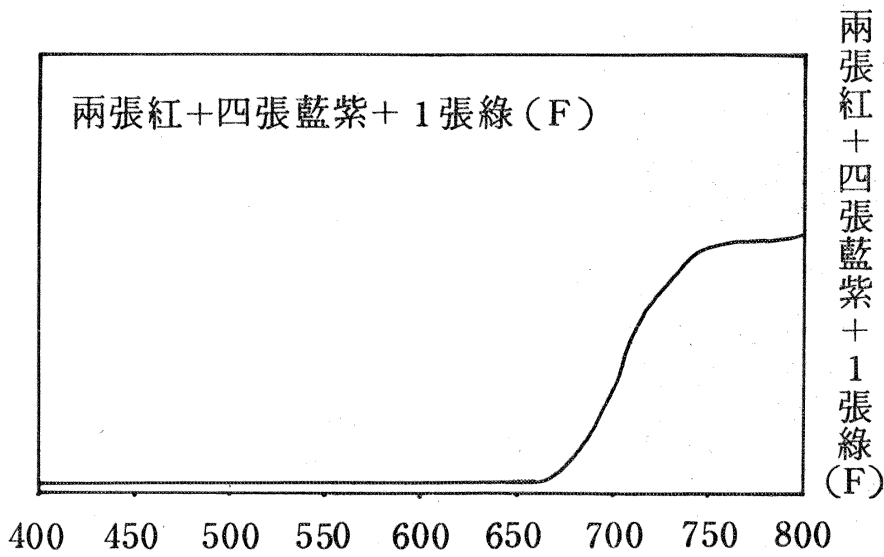
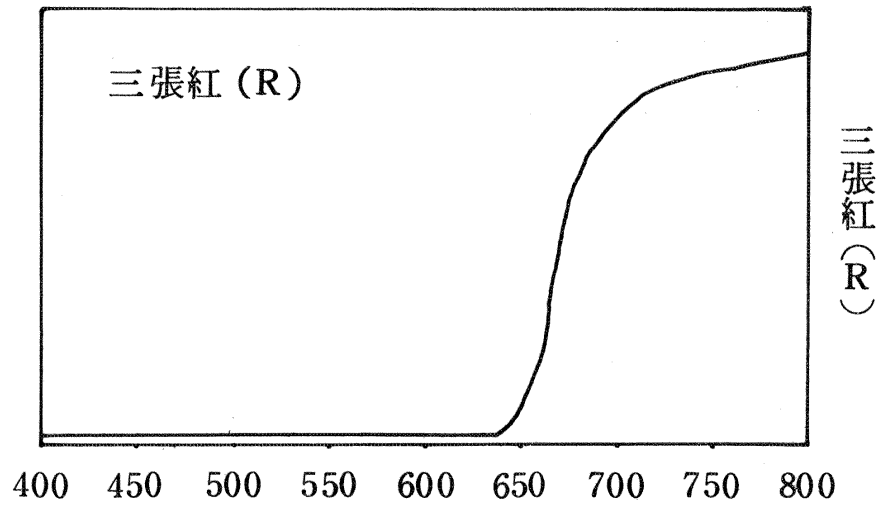
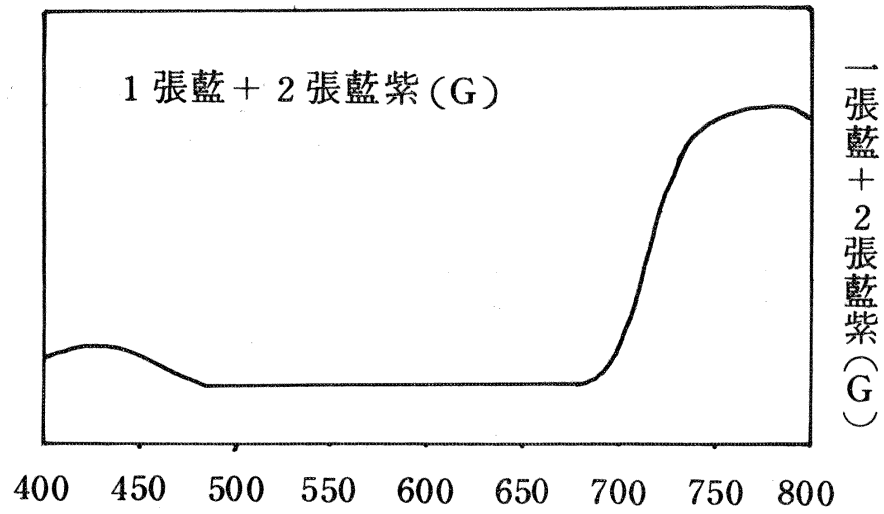
(四) 生長速度之比較 (45 天) : 單位 (mm), "x" 表沒有長出來, 培養溫度 $16 \pm 2^{\circ}\text{C}$

蕨類名稱	培養基		固 體 培 養 基					液 體 培 養 基								
	光強度 (lux)	光源種類	白 光			G	F	R	暗 室	白 光			G	F	R	暗 室
			2400	1600	600	20	20	20	0	2400	1600	600	20	20	20	0
密毛小毛蕨	{ 2.5 }		x	{ 1.5 0.65 }	x	x	x	x	{ 3 2 }	x	x	x	x	x	x	
斜方複葉耳蕨	{ 2 1 }	{ 0.65 0.8 }	{ 1.3 0.48 }	{ 0.3 0.02 }	{ 0.2 0.02 }	{ 1.4 0.015 }		1~2 個細胞	{ 2 0.8 }	{ 0.7 0.6 }	{ 0.7 0.3 }	{ 0.3 0.02 }	{ 0.2 0.15 }	{ 1.4 0.015 }	1~2 個細胞	
扇葉鐵線蕨	{ 1 0.6 }	{ 0.8 0.92 }	{ 0.4 0.6 }	{ 0.64 0.02 }	{ 0.1 0.015 }	{ 0.82 0.015 }		1~2 個細胞	{ 1.2 0.9 }	{ 0.5 0.7 }	{ 0.4 0.6 }	{ 0.6 0.02 }	{ 0.1 0.02 }	{ 0.9 0.015 }	1~2 個細胞	
粗毛鱗蓋蕨	{ 4 2.5 }	{ 0.85 1.1 }	{ 0.42 0.98 }	{ 0.34 0.03 }	{ 0.5 0.02 }	{ 0.78 0.015 }		1~2 個細胞	{ 3.5 2.5 }	{ 0.8 1.2 }	{ 0.4 0.8 }	{ 0.5 0.02 }	{ 0.4 0.02 }	{ 0.6 0.015 }	1~2 個細胞	
半邊羽裂鳳尾蕨	{ 3 1.5 }	{ 0.6 0.8 }	{ 0.4 0.3 }	{ 0.2 0.02 }	{ 0.2 0.02 }	{ 1.0 0.02 }		1~2 個細胞	{ 2 1 }	{ 0.8 0.5 }	{ 0.5 0.4 }	{ 0.2 0.02 }	{ 0.2 0.02 }	{ 0.8 0.015 }	1~2 個細胞	
共同特徵	心形	心形	心形	每個細胞 均有葉綠 體	每個細胞 有葉綠體, 但愈近 孢子處的 葉綠體愈 少	細長, 絲 狀, 僅末 端略有葉 綠體, 但 細胞間隔 不清楚, 有結節	停留在 萌芽階 段	心形	心形	心形	每個細 胞均有 葉綠體	末端葉綠 體較多	細長, 絲 狀, 僅末 端有葉綠 體, 細胞 間隔不清 楚, 有結 節	停留在萌 芽階段		

(七)溫度記錄：

光 度 \ 月 份	9月(°C)	12月(°C)
2400 lux 白 光	26	17.9
1600 lux 白 光	25	17.2
600 lux 白 光	24	16.8
20 lux G	24	17.2
20 lux F	23	17.1
20 lux R	24	16.8
暗 室	22.5	16

(八)光電比色計所測得之光波波長圖：



六、討論：

- (一)本實驗之主要目的是希望在一般高中實驗室的設備下能迅速培養出我們需要的配子體。以 1.5 % 之洋菜培養基因透明度高，在培養過程適合於直接在顯微鏡下觀察，且配子體較不會聚集在一團，但易被污染，一旦被污染會影響配子體正常的生長速度，甚至死亡。而液體培養基中培養的若被污染時，可用牙籤輕輕的一挑配子體就附在牙籤上而移到另一個培養液（因液體培養基培養的配子體通常浮於水面。液體培養基中培養的生長速度不比固體培養基慢。
- (二)依本實驗所用蕨類，有萌芽能力的孢子開始時稍呈綠色，然後呈絲狀體最後呈心形，有假根，假根為單細胞，線形，無色透明，到老時稍呈淡黃色。最先產生的藏卵器在心形缺口（此與實驗課本所說的先長藏精器不符），但後來長的會向假根附近分散。而藏精器最先是在假根附近，後長的也會向心形缺口處分散，以致後來藏卵器、藏精器、假根三者混在一起。
- (三)由野外採回來的配子體往往泥土、菌藻附着在上面，不易沖洗乾淨，再加上受外力之影響就不容易看到具有立體感的藏卵器、卵子，藏精器更不易見，那看精子之機會就更小了。但就本實驗在培養皿中培養的配子體，一個配子體上可以看到 60 ~ 70 個藏卵器，且不同的發育時期均可見，如照片。很容易看到清楚且具立體感之藏卵器的頸部。但要注意做這個步驟切勿一開始就蓋上蓋玻片，否則年輕綠色的藏卵器被壓成平面就不易看清，要看藏精器基部的卵則需蓋上蓋玻片，在高倍下觀察。
- (四)依實驗課本所提要看精子需加蓋玻片然後用點力壓在蓋玻片上，但依我們的觀察只要是成熟的藏精器，水一滴下去，藏精器破裂，精子就游泳出來。我們培養的配子體一個配子體（甚至 0.45 cm 長，0.2 cm 寬，未呈心形）可以找到 50 ~ 60 個藏精器，不僅可看到不同發育時期的藏精器，而且很容易看到正在游泳的精子，若加上蓋玻片後勉強被壓出的精子，有的尚未成熟也不會游動，但蓋上蓋玻片方便在高倍鏡下觀察，但需注意要看清楚精子的鞭毛則需加

碘染色。

- (五)在實驗室中要由孢子培養出大量的配子體，第一個要考慮的因素是孢子的萌芽率，因此萌芽率差的，或不易採到的蕨類就不適合，本實驗所採的蕨類是在新竹十八尖山路旁常見的幾種其中以粗毛鱗蓋蕨效果最好。
- (六)依實驗觀察，同一時期培養的配子體，凡體型較大，生長較快，呈心形的配子體是先長藏卵器，等到某一限度後才長藏精器。但另有一種生長較慢，體型較小，甚至呈絲狀、片狀或數十個細胞左右的配子體就只長藏精器，沒有看到藏卵器之形成，但却是看藏精器、精子之上等材料，這是野外採不到的。
- (七)在固體培養基上培養的配子體早期大部分是平展的，發育末期兩翼常起褶皺略捲曲，並由於假根的大量形成而使配子體不再平臥於培養基而稍為立起，在一個培養皿內若所培養之配子體太多，通常會使其生長速度減慢，體小，較不易呈心形，所以培養的早期若發現太密時應立刻用培養液沖洗掉一部分，以減低其密度。
- (八)做這個實驗本來我們考慮過不同的溫度處理，但因所做的培養皿數目太多，且有不同的光強度處理，因此我們只好將其放桌上（也是利用實驗室桌上現有的日光燈），盡量使每組的溫度差減少，不超過 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 。此實驗我們前後共做二次，第一次在9月份，第二次在12月份，記錄其溫度，如結果(7)，第一次因溫度高生長較快，形成藏卵器、藏精器所需時間比第二次的少15天左右。
- (九)本實驗光波之設計是根據童武夫教授在科學教育雙月刊第41期所發表的，但因玻璃低層次太多太厚，以致光強度很弱，我們也曾試着多放幾個日光燈在一起，但改進的效果並不好，所以G.F.R之光強度就很低。G.F.光度低植物生長慢，但R使植物之生長不正常，常常細胞中間突然膨大。

七、結論：

要做好蕨類配子體的實驗時，必需有足夠的材料，而本實驗之結果顯示要培養出大量乾淨又純的配子體，只要將適當的種類的蕨的孢

子，在 9 月開學時撒在固體液體培養基上，每天光照 10 小時，光強度約為 2400 lux，等到 12 月時做蕨類實驗時，所培養出來的配子體正好長到恰到好處，如此材料的來源既充裕，效果又好。但要做好此實驗時尚需注意：①不要實驗一開始就立刻將蓋玻片蓋上，才可以看到藏卵器的頸部突出在配子體之表面，要看卵子時，則需加上蓋玻片，在高倍下觀察。②由培養基中取材料，除了看到心形的配子體外，另外有小的絲狀，或片狀的更是看藏精器，精子的最佳材料，若要看精子的鞭毛，則需加碘染色。

八、參考資料及其它：

- (一)談苔蘚與蕨類 郭長生著 幼獅文化事公司印行
- (二)科學教育月刊 41 期
- (三)The experimental Biology of ferns AF. Dyer.
- (四)普通植物學 易希道等 6 人合編 國立編譯館出版
- (五)中山自然科學大辭典第八冊 植物學 商務印書館出版
- (六)Botany WILFRED W. Robbins.
- (七)植物生理學實驗 國立台灣師範大學出版組
- (八)台灣植物誌第一卷蕨類、裸子植物 台灣植物誌編輯委員編著
- (九)高中生物實驗課本 開明及東華書局。
- (十)本實驗之顯微照像承新竹中學陳清德老師的幫忙，師大黃生老師及學長們提供資料，特此感謝。

九、展望：

蕨類配子體我們已將它培養出來，我們正在尋找其它的方法，以縮短其培養時間，其誘導並產生藏卵器、藏精器。

評語：

題材普通，是低等植物教學的好材料，但學生製作結果及解說實驗經過及撰寫報告很得體，少有錯誤，故入選於本組名次中。