

花粉萌發因素的探討

—龍吐珠花粉最適萌發環境之發現

高中組生物科第三名

台灣省立台東高級中學

作 者：吳沛宇、張顥騰、陳彥廷、陳譽仁

指導教師：陳昭任、許淑玲

一、研究動機

“花粉的形態與萌發”的實驗是高中生物教材第九章——“種子植物”的補充實驗課程(1)。在去年準備生物科實驗操作競賽練習此實驗時發現當時所採集之材料，根據課本所提供之方法進行，無論如何嘗試，均不萌發，連老師都無法解釋清楚。但是查遍所有參考文獻，真正討論花粉的資料實在很少，且大都是探討花粉形態學(Palynology)，甚至原文資料亦十分貧乏，故引起我們對此一問題的強烈興趣。

二、研究目的

- (一)找出影響花粉萌發的環境因素，探討花粉的最適萌發條件。
- (二)改良課本教材的實驗步驟，以最精簡的方式來研究花粉之最適萌發因素。
- (三)提出屬於自己研究成果，供學術界參考。
- (四)本著獨立研究的精神，不倚賴超出所學程度之尖端設備，在有限的資源下進行研究，盼能帶動偏遠地區之研究風氣。

三、研究器材與設備

- (一)懸滴玻片
- (二)蓋玻片
- (三)光源式顯微鏡數台(Nikon, MCL21102)
- (四)顯微照像儀(Laboval, M292345)
- (五)顯微電視監視器(lamps)
- (六)梯度恆溫箱(Wisdom, MT316M)
- (七)PH METER(Wpa, CD740)
- (八)微量天秤(Precisa, 80A-200M)

(九)Heat plate

(十)試管、量筒、滴管

(十一)培養皿

(十二)濾紙

(十三)解剖工具

(十四)各種花粉

(十五)藥品：1. 藥用Sucrose

2. Boric Acid

3. Ca (No₃)₂ • 4H₂O

4. HCl & NaOH

5. Vitamin B₁—B₆—B₁₂—C (注射液)

四、研究方法、過程與結果

<實驗一> 找出最適宜測試的花粉 (Pollen)

由於不是每一種花粉都能在研究期間萌發。而我們又期望能夠找到能在最短時間 (1~2 小時內) 萌發的花粉，避免因時間拉大所造成之誤差，如培養液濃度的改變等。故搜集正逢花季而又盛開之花，再以最基本的培養液——蔗糖溶液實驗。因為花粉通常在 5% ~ 25% 的 Sucrose Solution 中易萌發 (4)，故我們取中間值 15% 來進行此實驗。

結果：經長時間嘗試各種採集之花粉後，發現龍吐珠及紫背萬年青萌發情形良好且迅速，大約能在 30 分鐘內萌發 (其時間長短時有不定)，尤其是龍吐珠花粉，最快曾在 15 分鐘冒頭，而且花粉顆粒大，顏色鮮明易觀察，故我們的實驗均以龍吐珠為研究材料。

<實驗二> 花粉萌發培養液之濃度的測定

花粉之 Exine 有萌發孔或溝 (germination pores)，而 intine 只為一層薄膜，故花粉培養液濃度若過低，則花粉便會在萌發前漲破。若濃度過高，花粉也會因為高漲而內壁擠縮無法生長。通常對萌芽最適合之 Sucrose 濃度，隨花粉種類而異，通常為 5% 至 25% (4)。故分別以 5%、10%、15%、20%、25%、30% 之 Sucrose 液在 PH = 6.2，室溫 25.5°C 下測試龍吐珠的萌芽。經多次實驗，求其平均值，得下列圖表 (略，若欲知圖表，請參閱作品說明書)。

結果：由圖表可看出 Sucrose Solution 濃度在 15% ~ 25% 範圍內龍吐珠花粉萌發均不錯，尤其是 20% 的 Sucrose 液萌發率最高，但在 Control 及 5% 的 Sucrose 液在 10 分鐘左右便全部爆裂，無法萌發。30% 的 Sucrose 液萌

發速度極慢。故推測有抑制作用。所以我們知道20%的Sucrose液非常適合來維持龍吐珠花粉的滲透壓。但我們由20%的Sucrose液的萌發情形來看，Sucrose可能不只有維持等張的作用，應該也有提供養份、促進生長的功能，與文獻所提相同。在往後的實驗中，均以20%之糖水為基本培養液，輔以其它變因。

<實驗三> 硼酸對花粉萌發的影響

硼酸對花粉影響甚巨(4, 7, 8, 9, 10, 11)，但文獻中均未提及最適宜的濃度及份量，故我們想找出適宜花粉萌發的硼酸濃度。但由於自然界中各離子濃度必極微量，而硼酸在常溫下飽和濃度在5.5%以下，則我們以20% Sucrose Solution 為溶劑，配成0.1%、0.15%、0.2%、0.25%、0.3%的硼酸蔗糖液，在PH=5.2，室溫為27°C下進行此實驗。經多次實驗，求其平均值，得下列圖表(略，若欲知圖表，請參閱作品說明書)。

結果：硼酸濃度在0.2%~0.3%之間時，龍吐珠花粉萌發速率最快，也大都維持一個穩定上升的趨勢，而0.25%的硼酸溶液在20分鐘左右便明顯看出萌發率特別突出，值得一提的是加0.25%硼酸的Sucrose液，最快曾有4分鐘就萌發的記錄。

<實驗四> Vitamin對花粉萌發的影響

從文獻資料可知Vit. B₁、Vit. B₆對花粉萌發的速率有促進作用(4)，但不知道其它水溶性Vitamin如Vit. B₁₂、Vit. C等對花粉的萌發有無影響，故設計此實驗。以濃度20%糖水為基本培養液，且以其為對照組。另四組分別於20%糖水20cc中加入注射液Vit. B₁ 10mg，Vit. B₆ 10mg，Vit. B₁₂ 10mg，Vit. C 10mg，在PH=5.2，室溫為26.1°C下進行本實驗。經多次實驗，求其平均值，得下列圖表(略，若欲知圖表，請參閱作品說明書)。

結果：含Vit. 的Sucrose液龍吐珠花粉萌發率都很高，其中以Vit. B群效果最好，尤以Vit. B₁為甚。萌發速度方面，同樣是Vit. B群最快，Vit. C次之，Control最慢。由此實驗來看，Vit. B₁最適合用來促進龍吐珠花粉的萌發。

<實驗五> 鈣離子對花粉萌發的影響

於培養液中加入鈣會對花粉萌發及生長有顯著的影響(8、9、10)，故先以Ca²⁺加入基本培養液配成濃度為0.1%、0.5%、1%並以20% Sucrose 液當對照來測試花粉。在PH=5.9，室溫為23.8°C下進行。經多次實驗，求其平均值，得下列圖表(略，若欲知圖表，請參閱作品說明書)。

結果1：我們發現高濃度的 Ca²⁺ 對龍吐珠花粉萌發有強烈的抑制作用。顯然

0.1% 的 Ca^{2+} 培養液雖比Control好，但我們推測，也許濃度降低，效果會更好，故以此實驗為基礎，更深入研究 Ca^{2+} 濃度對花粉的影響。

結果 2：0.05% 的 Ca^{2+} 對龍吐珠花粉萌發有極佳的促進作用。相對的0.2%的 Ca^{2+} 對於花粉萌發就有抑制作用。

<實驗六> PH值對花粉的影響

由於自然界植物都處於微酸性的條件下，而花粉的最適之PH範圍又是如何？故設計此實驗。我們用0.25% 的硼酸蔗糖液為Buffer Solution，且以其為Control，另加NaOH及Hcl配成PH值為4, 5, 6, 7, 8的培養液。室溫23°C。經多次實驗，求其平均值，得下列圖表（略，若欲知圖表，請參閱作品說明書）。

結果：當PH=5時對花粉萌發有顯著影響，這個結論符合了「植物存在於微酸環境下」的性質。PH=8時幾乎不萌發，就顯示PH值對花粉萌發的影響具有決定性。

<實驗七> 溫度對花粉的影響

花粉管生長速率及效率，顯著受環境因子之影響，尤以溫度的影響為最大，溫度過高或過低，其生長速率均減低(4)。故以前一階段所得之最有效變因配成培養液（20% 糖水 + 0.05% Vit. B₁ + 0.25% 硼酸 + 0.05% Ca (NO₃)₂），PH=5.4，將花粉以恆溫箱培養，定溫15°C、20°C、25°C、30°C、35°C，並定期取出觀察其萌發情形。經多次實驗，求其平均值，得下列圖表（略，若欲知圖表，請參閱作品說明書）。

結果：不論我們採用何種培養液，龍吐珠花粉都在30°C時萌發效果最佳。30°C以前，萌發隨溫度上升，而超過30°C以後，萌發率隨之急劇下降。故推測花粉對稍低的溫度尚可接受，但溫度一過高，花粉便無法接受。

五、結論與討論

(一)由實驗可知，在現在季節（12~2月），盛開觀賞用花中，以本作品所使用的龍吐珠花粉之效果最好。然而實驗用的花有時卻因天氣狀況、花粉成熟度，以及花粉內脫水狀況(8)而影響實驗數據的時間準確度，但經反覆進行，仍然可以得到一明顯趨勢。

(二)由於我們使用培養液的浸泡法，所以花粉周圍的溶液濃度是很重要的。由實驗得知20% 的Sucrose液是最適合維持龍吐珠花粉的滲透壓，至於其它花粉是否一樣適合，由於不易萌發，故不好探討。

(三)由實驗知，Boric Acid, Ca^{2+} 及 Vitamin B₁ 和 B₆ 對花粉萌發率有明顯促進

作用。且不論何種變因都有一個最適合的濃度，不足的話無法顯出其效果，而超過的話又會有抑制效果，故實驗的定量必須非常準確。

(四)所有生物對溫度均極敏感，由實驗知花粉最適萌發溫度是 30°C ，太低或太高對花粉萌發都無幫助。但是在冬天開花的Camellia卻能在 5°C 的情況下萌發(8)，蕃茄在 20°C 時花粉管生長最快，故推測可能只適合一部分類似龍吐珠的花粉。

(五)最適合花粉萌發的PH值範圍是5左右，故要使花粉萌發效果良好，除了要用適當藥品，溫度培養之外，調整其PH值至5也同樣重要。

(六)由實驗得知 Vit. B 群之萌發率與 Vit. C 的萌發率為明顯的二個集團，又因 Vit. B 群均為輔酶 (Coenzyme)，故我們推測 Vit. B 群能輔助花粉所釋放的酵素，增進其作用，加速體內生化反應，並增加發芽率。

(七)縱觀全部實驗我們發現，Vitamin B₁對花粉初期萌發速率非常重要，而 Ca²⁺對後期萌發率的提高亦助益良多。這是以往文獻未提到的。

(八)曾在實驗中因為藥用Sucrose用罄，以台糖所生產之「細粒特砂」白糖替代，卻發現萌發時間大大的縮短，萌發率大幅上升，令人驚奇。但台糖白糖所標示的原料與藥用Sucrose均為蔗糖，經查詢原來台糖白糖除了使用“碳酸法”脫色外，並未將蔗汁純化。推測可能是蔗汁中所含的Vitamin，礦物質或酵素等物質所產生的影響。

(九)實驗期間，正是玉米授粉季節。玉米花粉量極多，取得容易。照理玉米花粉此時正是成熟度最高，最易萌發的時候，但不論我們如何嘗試，花粉都不萌發。推測可能的原因是此花粉為雄不孕種，即花粉不會萌發。

(十)指導老師曾得知硼酸之處理濃度極稀，約在 10^{-4} 以下，但我們在不知情之下卻做出0.25%的最佳濃度？我們推測每種生物都有其獨特的生理特性。因此若改用其它花粉，處理不同濃度之硼酸，便能了解各種花粉對硼酸濃度的普通反應。

六、參考文獻

- 1.高中生物第一冊。
- 2.中山科學大辭典 植物學（花粉學 297—344）
- 3.科學農業 35 (11—12) 347—356, 1987
- 4.植物生理學 (391—393)，劉賢祥譯，徐氏基金會。
- 5.224種庭院草花，李百華編著。
- 6.孢粉學大觀，黃增泉譯，國立編譯館。
- 7.植物生長與發育 (587—592)，高景輝編著，國立編譯館。

8. Physiology of pollen (141—167), Iwanami, 1988.
9. Z. Naturforsch. 47c, 102—108, (1992) received June 13 / September 16, 1991.
10. Subbaiah, C.C. 1984 A polyethylene glycol based medium for in vitro germination of cashew pollen. Can. J. Bot. 62 : 2473—2475.
11. Brewbaker, James L, and Beyoung H, Kwack (U. Hawwaii, Honolulu.) The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. Jour. Bot. 50 (90) : 859—865.
12. 常見觀賞植物，臺灣省教育廳
13. 臺灣海濱常見植物，臺灣省教育廳
14. 臺灣校園常見植物，臺灣省教育廳
15. 植物生理學，陳昇明譯，三民書局

評 語

本著作為探討影響花粉萌芽因素的探討，使用各種化合物如硼酸、鈣離子、Vitamin B₁等可促進花粉之發芽，而發芽之最適溫度為30°C，而pH值為5，本著觀察詳細，成果豐碩，具學術價值。