

蕨不自戀

(蕨類完美的異體受精及優生)

高中組生物科第二名

臺灣省立新竹高級中學

作者：李裕仁、賴新華

指導教師：彭寬燿

一、研究動機

在生物界中，雌雄同體的生物，其異體受精的主要目的，乃是在增加有性生殖的變異性，以求適應外界多變的環境(一)(二)(三)(四)，如某些環節動物及顯花植物(五)(六)，其達成異體受精，而尋求較大變異性的方法卻不見得比低等的蕨類來的高明。高二上學期當老師上到蕨類在同一個原葉體（配子體）上雖有約各數十個藏精器與藏卵器的構造。且在以水為媒介的受精方式下，卻能夠很『精準』的處理異體受精以求達到生殖的最大變異機會(七)。實在是令人讚嘆，也誘發我們渴望深入去作探討。

二、實驗目的

探討蕨類如何精準的做到異體受精，以求有性生殖的最大變異性及優生。

三、研究設備器材

(一) 器材

- | | |
|--|--|
| 1. 無菌操作檯(Laminar flow) | 2. 植物培養箱(INSTRUMENTSCORD) |
| 3. 解剖針 | 4. 鑷子 |
| 5. 解剖刀(buffer) | 6. 滴管 |
| 7. 試管(test tube) | 8. 顯微鏡(microscope) |
| 9. 攝影機 | 10. 單眼相機 |
| 11. 筆筒蕨(<i>Sphaeropteris lepifera</i>)的原葉體 | 12. 金狗毛蕨(<i>Cnidotum barometz</i>)的孢子(spore)及原葉體 |
| 13. 橡皮手套(buty gum) | 14. 燒杯500ml 250ml |

- | | |
|----------------------------|--------------------|
| 15. 高壓滅菌器 (autoclave) | 16. 乾熱滅菌器 (oven) |
| 17. 超音波清洗器型號: BRANSON 5200 | 18. 量筒 100ml 500ml |
| 19. 微量滴管 | 20. 棉花 |

(二) 藥品

- | | |
|---|--|
| 1. NaNO_3 | 2. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ |
| 3. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 4. K_2HPO_4 |
| 5. KH_2PO_4 | 6. NH_4PO_3 |
| 7. NaCl | 8. $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ |
| 9. Boric acid | 10. ZnCl_2 |
| 11. CuCl_2 | 12. MoCl_5 |
| 13. FeCl_3 | 14. KI |
| 15. $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 16. $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ |
| 17. 酒精 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) | 18. NaOCl |

四、研究過程或方式

(一) 分區採集二種蕨葉 (Frond) 之孢子 (spore) 及原葉體，並分別裝於已經標示

1. 單株原葉體、2. 群體原葉體之培養皿內。

(二) 原葉體的部分：

1. 實驗步驟：

- (1) 先用清水洗滌原葉體上的土壤至潔淨為止。
- (2) 再分別以顯微鏡觀察原葉體腹面上的藏精器及藏卵器的生長情形。
- (3) 紀錄並統計所觀察的結果。

2. 探討採集回來已經長有幼孢子體的原葉體：

- (1) 紀錄每片原葉體所長出幼孢子體的數目。
- (2) 在已長出幼孢子體的原葉體腹面，觀察其藏精器與藏卵器的變化情形。
- (3) 紀錄並統計所觀察的結果。

3. 採集樹蕨原葉體在顯微鏡下分類培養。

4. 將腹面無生殖構造的原葉體作前處理4天，每天觀察。若原葉體腹面長出生殖構造者就立刻移出，而後進行下列四個實驗：

(1) 實驗一：探討化學物質誘導藏精器與時間的關係。

ㄡ、將腹面長有成熟的藏卵器之原葉體，及腹面無生殖器之原葉體共同培養。

ㄡ、每天觀察原葉體腹面生殖構造的生長情形，並記錄之。

ㄓ、將未成熟藏卵器及只含成熟藏精器之原葉體，為誘導物當對照，並觀察及記錄之。（同實驗二ㄡ、ㄡ之處理。）

(2)實驗二：探討化學物質與距離的關係。

ㄡ、採用長形的培養容器約60公分長，8公分寬，取紗布適量放入其中。

ㄡ、刻劃好間隔5公分距離後給予編號，把只有藏卵器的原葉體放在起始位置，再把其它無藏卵器及藏精器的原葉體分別放在5、10、15、20、25、30公分之位置。

ㄓ、4天後觀察生殖器的變化情形。

ㄔ、經實驗ㄡ、ㄡ、ㄓ、處理，更換誘導原葉體為成熟藏精器作對照。

(3)實驗三：探討藏卵器已放出化學物質之原葉體的經濟效益。

ㄡ、將培養皿放入紗布，再加入培養液。

ㄡ、取培養皿放入已有誘導能力之藏卵器的原葉體及正在散出精子的原葉體一起培養。

ㄓ、觀察孢子體的生長情形。

(三) 孢子的部分：

1.以組織培養的方法將孢子分成以下兩組：

(1)取22個已消毒過的孢子分別放入22個裝有固態培養基之玻璃試管內培養，培養至萌發成原葉體後，繼續培養13天後，觀察藏精器及藏卵器的生長情形，並記錄之。

(2)取一群孢子培養

取裝有固態培養基的玻璃管13個，再每一試管分別加入已經消毒的孢子一群，培養至萌發成原葉體後，繼續培養30天後，觀察藏精器及藏卵器的生長情形，並記錄之。

(四) 培養條件：在25℃下全天照光。

(五) 統計軟體：Microsoft Excel 97及Microsoft Access 97

五、研究結果

(一) 野外單一原葉體之生長情形：

1.單一個原葉體藏精器及藏卵器的生長情形：

植物編號	種類	採集地	生長情形	距離(cm)
1	金狗毛蕨	十八尖山	只有藏卵器	上13.5右14.0
2			只有藏卵器	上12.4右9.2
3			有未成熟的藏卵器及成熟的藏精器	下2.5右4.3
4			只有藏精器	左4.0下2.8
5	掌葉樹	崑崙植物園	有未成熟的藏卵器及成熟的藏精器	右7.0上6.0
6			有未成熟的藏卵器及成熟的藏精器	左7.5下6.9
7			只有藏精器	左2.5上5.5
8			只有藏精器	下5.0左12.0
9			只有藏卵器	上10.5右9.4
10			只有藏卵器	右8.0下14.0
11			只有藏卵器	右8.3下15.6

〈表一〉

2. 表一之統計表。

種類	有藏卵器及藏精器	只有藏卵器	只有藏精器	無藏卵器及藏精器
金狗毛蕨	1	2	1	0
掌葉樹	2	3	2	0

〈表二〉

(二) 野外群體原葉體之生長情形：

1. 原葉體之藏精器及藏卵器的生長情形：

群集編號	採集地點	種類	有藏卵器及藏精器	只有藏卵器	只有藏精器	無藏卵器及藏精器	總合
1	十八尖山	金狗毛蕨	20	2	0	0	22
2			15	0	4	0	19
3			14	1	3	6	24
加總			49	3	7	6	41
5	崑崙植物園	掌葉樹	21	0	4	2	27
6			12	0	4	2	18
7			12	3	2	4	21
8			10	2	10	0	22
9			8	1	12	8	29
10			14	2	6	0	22
11			10	0	6	4	20
12			9	1	6	6	22
13			13	2	2	4	21
加總			109	11	52	30	202

〈表三〉

(三) 組織培養結果：

1. 單一孢子培養38天後的生長情形：

(1) 孢子萌發率：

種類	種植個數	長出配子體個數	未長出配子體	成功率(%)
金狗毛蕨	22	12	10	54.55

(表四)

(2)萌發為配子體後4天，用顯微鏡觀察。

種類	有藏卵器及藏精器	只有藏卵器	只有藏精器	無藏卵器及藏精器
金狗毛蕨	0	7	0	5

(表五)

2. 群體孢子培養38天後的生長情形：

(3)孢子萌發率：

種類	種植個數	長出配子體個數	未長出配子體	成功率(%)
金狗毛蕨	13	5	8	38.46

(表六)

(4)群體孢子培養之生長情形：

植物編號	採集地點	種類	有藏卵器及藏精器	只有藏卵器	只有藏精器	無藏卵器及藏精器
1	十八尖山	金狗毛蕨	3	0	8	5
2			5	2	4	10
3			12	1	5	7
4			6	2	6	8
5			7	0	4	6
加總			33	5	27	36

(表七)

(四)長有小葉的原葉體生長情形：

採集地點	種類	有藏卵器及藏精器	只有藏卵器	只有藏精器	無藏卵器及藏精器
崑崙植物園	筆筒樹	3	0	8	5

(表八)

(五)誘導藏精器生長百分比：

時間 誘導物	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	第六天	第七天	第八天
成熟藏卵器	0%	0%	29%	29%	57%	57%	71%	100%
未成熟卵器	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
成熟藏精器	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

(表九)

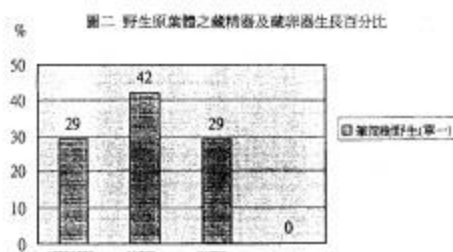
(六) 距離與藏精器被誘導生長百分比：

誘導物 \ 距離	0(cm)	5(cm)	10(cm)	15(cm)	20(cm)	25(cm)	30(cm)
成熟藏卵器	0%	33%	66%	100%	100%	66%	0%
成熟藏精器	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

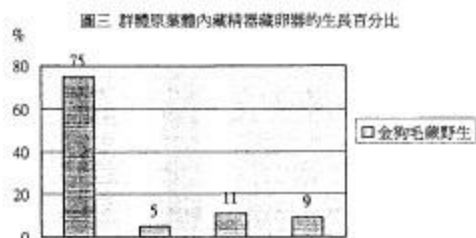
〈表十〉



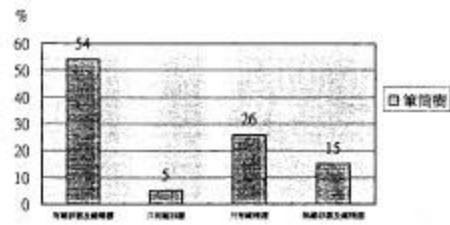
※說明：野生之金狗毛蕨第一原葉體沒有藏精器及藏卵器佔 0%



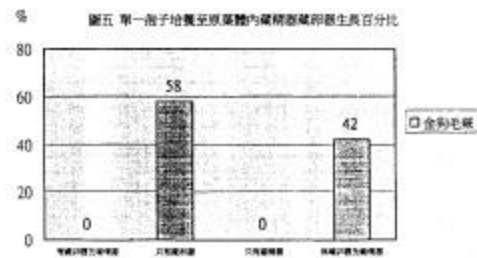
※說明：野生之筆管蕨第一原葉體沒有藏精器及藏卵器佔 0%



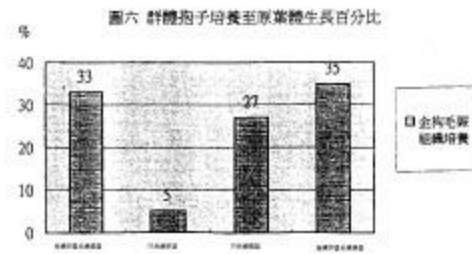
※說明：野生金狗毛蕨群體原葉體只有藏卵器的比例只有佔 75%



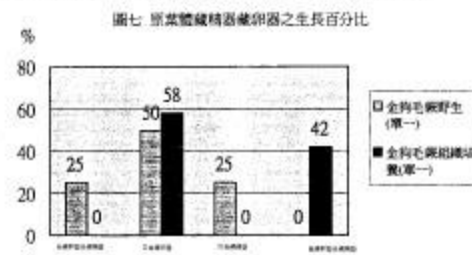
※說明：野生華箭樹蕨群體原葉體表面只有藏卵器的比例只有佔 5%



※說明：單一孢子培養至原葉體表面只有藏精器或兩者皆有的比例皆為 0%

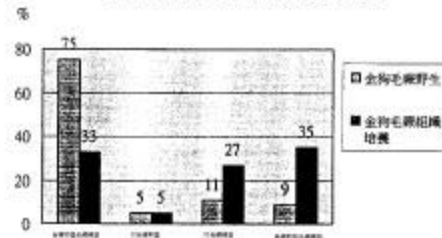


※說明：金狗毛蕨群體孢子培養至原葉體表面只有藏卵器佔 5%



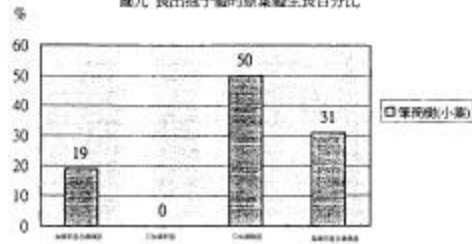
※說明：結合野生與組織培養之單一配子體表面，可見只有藏卵器比例為 50

圖八 群體原基體內藏精器發育生長百分比



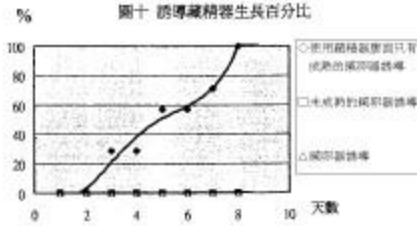
※說明：結合野生與組織培養之群體配子體腹面可見只有藏卵器皆為 5%

圖九 長出孢子體的原基體生長百分比



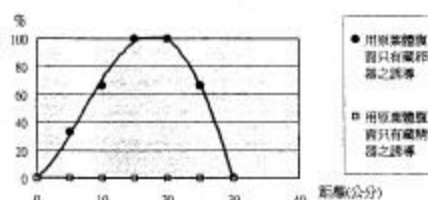
※說明：長出孢子體的原基體腹面只有藏卵器的比例為 0%

圖十 誘導藏精器生長百分比



※說明：用不同的原基體去誘導，發現只在長有成熱的藏卵器之原基體誘導腹面皆無生殖構造的原基體。在第三天可得到藏精器的生長，且經過第八天後，此一誘導現象達 100%。

圖十一 距離與藏精器誘導生長百分比圖



※說明：在不同距離的處理下，用腹面只有藏卵器及只有藏精器的原葉體去誘導原生體構成的原葉體，處理後第四天發現在 15-20 公分的誘導距離最佳，且達 100% 的生長。但用腹面只有藏精器的原葉體誘導並無藏精器生長。

六、討論

〈一〉由表一、二及圖一、二中，可得若在單獨一個原葉體時，其腹面在金狗毛蕨或筆筒樹找到缺乏藏精器及藏卵器的原葉體，（如此可以推知幼小的原葉體，藏精器或藏卵器並非在原葉體萌發時就已經出現的），因為可能原葉體太小沒有被發現。

〈二〉由表三及圖三、四中，可以看到無論是金狗毛蕨或筆筒樹在群體原葉體腹面具有藏卵器的比例只佔5%左右，而具有藏精器或藏精器藏卵器兩者皆存在的比例多出了2倍以上，此種情形有可能是在群體原葉體中，先萌發的孢子其原葉體先長出藏卵器。

〈三〉由表五及圖五中，可以發現金狗毛蕨在單一孢子培養之條件下可以觀察到已萌發之原葉體腹面，只有藏卵器的佔58%，如此更可證實蕨類（如：金狗毛蕨）在沒有其他的誘導因素存在下是只有藏卵器發育。

〈四〉由表七及圖六，可以得到金狗毛蕨群體孢子的培養條件下，原葉體腹面只有藏卵器的只佔了5%，亦同野生的金狗毛蕨群體原葉體的比例。

〈五〉由圖七組織培養與野生的金狗毛蕨單一原葉體腹面只有藏卵器的比例約為50%及58%之多，且組織培養中沒有找到藏精器或兩者皆有的原葉體，如此更可以證明原葉體在沒有受其他因素誘導的話，藏卵器先成熟，由於野生的原葉體腹面發現藏精器藏卵器兩者皆具有及只有藏精器的原葉體存在，可能是因為距離的關係而早已被誘導出藏精器出來。

〈六〉由圖八組織培養與野生的金狗毛蕨群體原葉體腹面藏卵器所佔比例極少；依生物對資源利用之經濟原則下，是否可以說藏卵器有誘導其他原葉體之

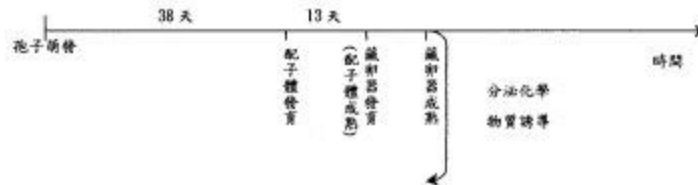
藏精器發育的功能。

(七) 本實驗亦將原葉體腹面只具有藏卵器的個體繼續培養一段時間，亦未發現有藏精器出現。反之只有藏精器的原葉體培養一段時間後會再長出藏卵器。

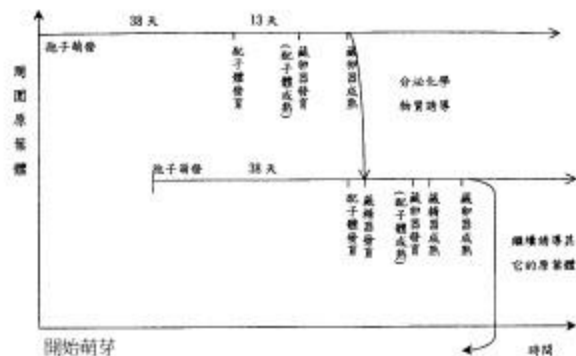
(八) 在原葉體腹面藏卵器與藏精器皆存在的個體，發現有一些正放出精子的原葉體，其藏卵器雖已經出現，但是尚未成熟，故精子沒有辦法進入自己的藏卵器內。

(九) 綜合以上的論點，我們可以說先萌發為原葉體之個體，其藏卵器先發育，當藏卵器成熟後放出誘導因子（化學物質）時，其本身的藏精器已經失去被誘導的機會，而其周圍的原葉體因有誘導因子的出現，先長出藏精器；至於藏卵器則時間到就成熟。由此可見同一原葉體的藏卵器在藏精器已經放出精子後才成熟，而達成完美的異體受精。（如下圖：）

1. 單一孢子培養之原葉體生長圖：



2. 群體孢子培養之原葉體生長圖：



(十) 採回16個筆筒樹的原葉體中，都是單一個原葉體只長出一株幼孢子體

1. 在顯微鏡下觀察有幼孢子體的原葉體腹面，如表八及圖九得知，只有藏精

器的比例佔50%，而只有載卵器的比例佔0%。如此可見蕨類生長中爲了使其生長的幼孢子體能夠獲得足夠生長所需的水分、空間與陽光而分泌某化學物質來加速其他的載卵器退化，而此控制時機可能在受精卵受精成功之時。

(十一) 由表九及圖十可知成熟的載卵器，確實可以誘導其它原葉體腹面載精器的生長經過誘導後第三天已有載精器生長，到了第八天可達100%。

(十二) 由表十及圖十一，可知誘導距離在離誘導原葉體15~20公分之間最佳。由此可見以距離比喻成誘導物質的濃度則在植物的激素中如IAA，如生長素(IAA)對莖的作用亦有相似的情形。而此一誘導的化學物質在高濃度或低濃度對原葉體腹面載精器的生長並不有利。

(十三) 此一實驗由於時間不多所以不能用組織培養所得之原葉體來作實驗。實爲美中不足，雖然本實驗樣品直接由野外採得，但未去除外界可能影響之因素，我們也謹慎作了前處理，或許可以彌補其中之缺失。

(十四) 由於時間的不足，實驗四至今並未看到已有誘導載卵器的原葉體長出孢子體，或許先驅原葉體只有扮演誘導的角色，受精卵萌發成可觀察的孢子體時間超過7天。

(十五) 蕨類(如：金狗毛蕨及筆筒樹)，它是從三億年前就一直存在的植物，然而卻沒有被改變的環境消滅或取代，若依達爾文的演化論：「適者生存，不適者淘汰。」，其原因之一，可能是它爲了求得有性生殖更大的變異性以利環境的改變(如討論九)以精準達到一體受精。其原因之二，優生(如討論十)如此更能映證達爾文的演化論。

(十六) 本實驗由於組織培養的成功率都不高(如表四及表六)，所以將來冀望再尋求更好的培養方式或條件。

(十七) 本實驗採孢子時期剛巧筆筒樹都沒有孢子，是實驗美中不足的地方，期待將來能補足。

七、結論

(一) 載卵器的生長是依正常發育時間，而載精器可能是由載卵器分泌的某些化學物質誘導而發育，此一誘導行爲是有時效性的。(由討論一、二、三、四、五、六、七、八、九、十)

(二) 一個配子體長出一株孢子體。載卵器中的卵，在第一個成功受精後，會抑制其它受精卵成熟。(由討論一、二、三、四、五、六、七、八、九、十)

(三) 由(一、二)蕨類(如：金狗毛蕨或筆筒樹)是異株受精且優生。

八、參考資料

- (一) 中山自然科學大辭典(第八冊)植物學
第七篇植物分類學第十四群蕨類植物群P.539~600
總編：王雲五
召集人：李熙謀 鄧靜華 易希陶
主編：劉堯瑞
出版者：台灣商務印書館
- (二) 生物學實驗(藝軒圖書出版社 修訂版)
實驗16 維管束植物(Phylum Tracheophyta)P.91~99
編著：溫永福、鄭永涇、郭麗香、周雪美
- (三) 台灣維管束植物 植種名錄(國立台灣大學實驗林管理處)
Ch1.蕨類植物(The Ferns)p.1~12
編著：姚榮竊
- (四) 高中生物課本(國立編譯館出版)
第一冊p.102~105, p.145~147 第二冊p.25~28
- (五) 組織培養技術(藝軒圖書出版社 修訂版) p.1~23
緒論 第二章 培養前的準備及基本知識
編著：日本組織培養協會
編譯：上野洋一郎
編校：辛智煒
- (六) 最新生物學(藝軒圖書出版社 修訂版) p.259~262
第14章 植物界 低等維管束植物
編譯：黃俊雄 校閱：陳福旗
- (七) Biology concepts & connections p.341~348
Ch.18 Plants, Fungi, and the Colonization of Land By Neil A. Campbell
Larence G. Mitchell
Jane B. Reece
- (八) Biology Fourth Edition (university of california, riverside)
p.555~560
by Neil A. Camdbel
The Benjamin/Cummings Publishing Company, INC

(九) Biology

vascular Plants Division Tracheophyta p.461~466

by Claude A.Villee

Eldra Pearl Solomon

P.William Davis

Molt-Saunders International Editions

(十) Bioscience 21:266-275(1971)

By Voeller, B.

(十一) HELENA CURTIS BIOLOGY Fourth Edition

The Vascular Plants: AN INTRODUCTION p.460~467

WORTH

(十二) Morphology Of Plants Third Edition p.392~443

Ch.21~Ch.23

by Harold C. Bold

(十三) Plants physisology (1995)

By Mohr, H.

(十四) Plant and Cell Physiol. 9:27-33 (1968)

On separation and identity of fern antheridiogens

評語

本作品很精確的掌握蕨類異體受精時機，同時亦發現藏精器不發育的過程所產生的化學物質，為未來的研究確立了良好的探討空間，為一件觀察詳盡且富創意並符合研究精神的作品。

