

中華民國第四十四屆中小學科學展覽會

作者說明書

高中組生物(生命科學)科

040704

國立台東高級中學

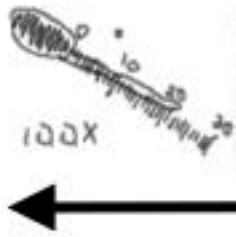
指導老師姓名

廖文姬

作者姓名

羅尉晉

田宜鑫



百合花粉嚇嚇叫

花粉管體外萌發實驗改良研究

壹、摘要

種子植物藉由花粉管的萌發，到達子房與胚株結合繁殖下一代，在這次實驗中我們以最明顯能夠觀察的百合，來做研究，以四種園藝改良品種來做花粉管的體外萌發實驗，在做各種物理、化學的條件後，我們發現黑暗下，30℃，蔗糖濃度 5% 加上培養液，pH 值 4.8 時，FS350 的萌發情況最好，我們便以此來設計改良花粉管萌發的實驗。

貳、研究動機

「花粉的形態與萌發」的實驗是現今多樣化教科書中，每一版本均將其列入高二生命科學(上)之範圍內，可見其重要性；根據學長實驗所言，使用最易觀察的百合花，一般使用的蔗糖液，均未見百合花粉萌發花粉管，雖然如此，但在我們進一步查到國立中興大學生物科技所一系列以鐵炮百合為題材的研究論文顯示出，以百合做花粉離體實驗培養並不難，於是便興起我們追蹤此實驗可改良空間的行動。並企圖以一般高中生之程度，有限的器材，來設計簡單實驗並改良此實驗。

參、研究目的

- 一、改良「花粉的型態及萌發」實驗。
- 二、企圖以最簡單的步驟、器材，來研究花粉最適合萌發之因素。
- 三、將花粉萌發的過程拍攝成影片，讓以後的學弟們能夠參考。
- 四、以不倚賴超出所學程度之設備，於有限的資源環境下進行花粉研究，進而帶動校內研究之風氣

肆、研究設備及器材

?基本儀器設備：

燒杯、量筒、解剖用具、電子天秤（精確值：小數點後四位）、等臂天秤、溫度計、磁性加熱攪拌器、懸滴玻片、載玻片、顯微攝影機、恆溫培養箱、數位相機、離心機、光源式複式顯微鏡數台、PH METER

?生物化學材料：

園藝系品種之百合【香水品系、鐵砲品系、葵品系、姬品系】

?藥品：

特級砂糖、硼酸 H_3BO_3 、 $CaCl_2$ 、 HCl 、 KOH 、甲醛

伍、研究過程、方法

一、 流程與架構

- (一) 從實驗中找出萌發情況良好的品系
- (二) 觀察不同品系間花粉型態的不同
- (三) 進行預備實驗
- (四) 各百合品系物理、化學條件測試：
 1. 光對萌發的影響
 2. 不同溫度下的萌發狀況
 3. 不同的蔗糖濃度下的萌發情形
- (五) 使用顯微攝影機來錄下花粉萌發的過程
- (六) 從上面所做的實驗來改良實驗過程
- (七) 設計新的花粉之體外萌發實驗

二、 實驗過程與數據討論

在本篇文章中所描述之專有名詞和計算方法，我們統一定義如下：





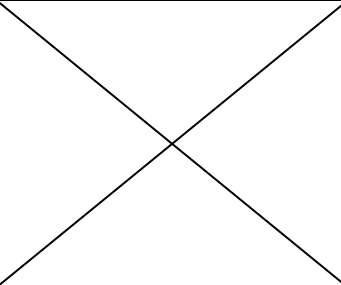
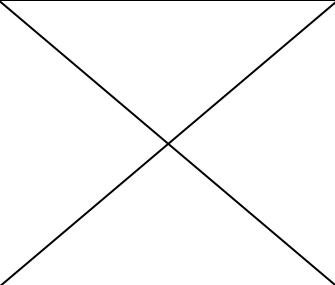
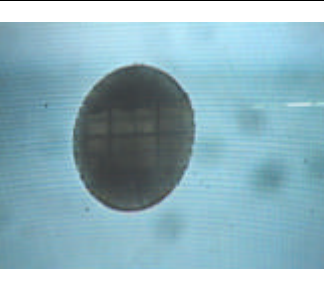
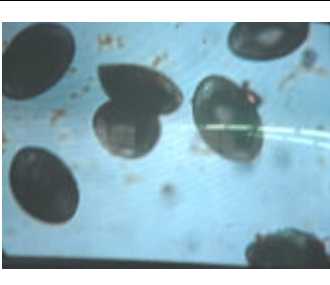
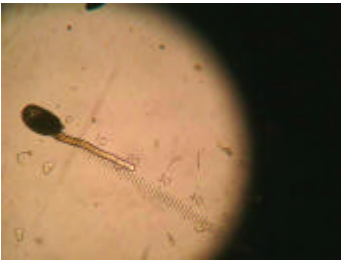
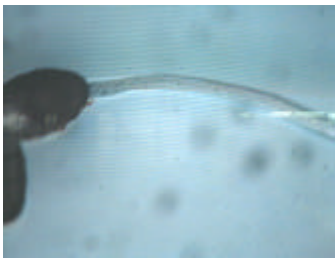
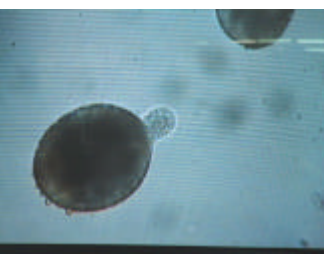
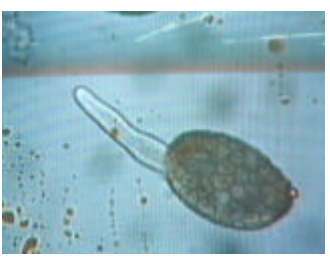
1、萌發：

花粉管達到花粉直徑的兩倍長（含以上）即認定為萌發。

2、平均萌發率：

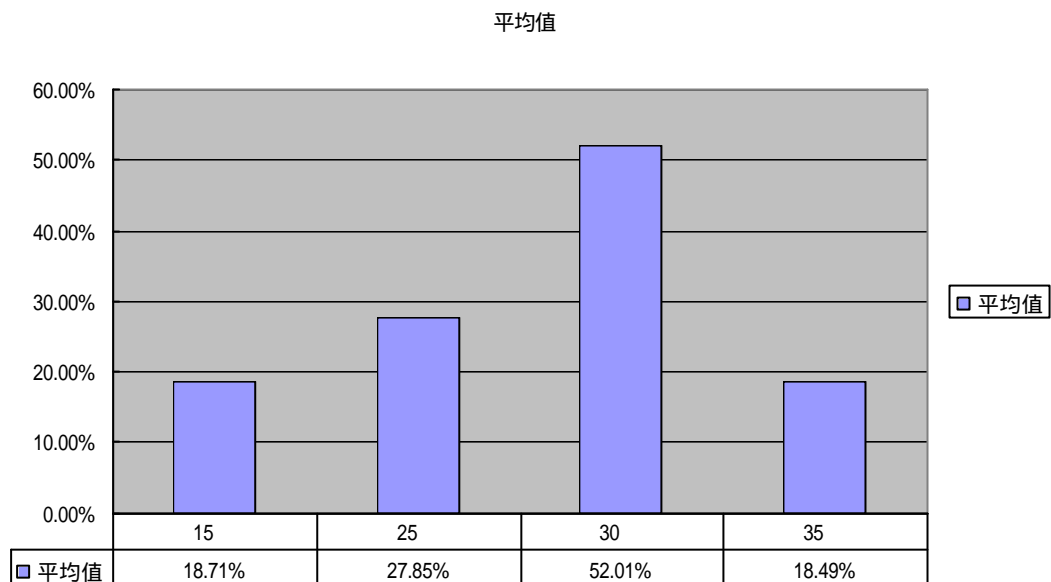
計算整個視野下的花粉總數中包含已萌發花粉數目的相對比例。（平均萌發率 = 萌發花粉數量 / 全部觀測花粉總數 × 100%）

(一) 百合品系

	FS440	FS350	FT	FL320
花的外觀				
花粉				
花粉管				

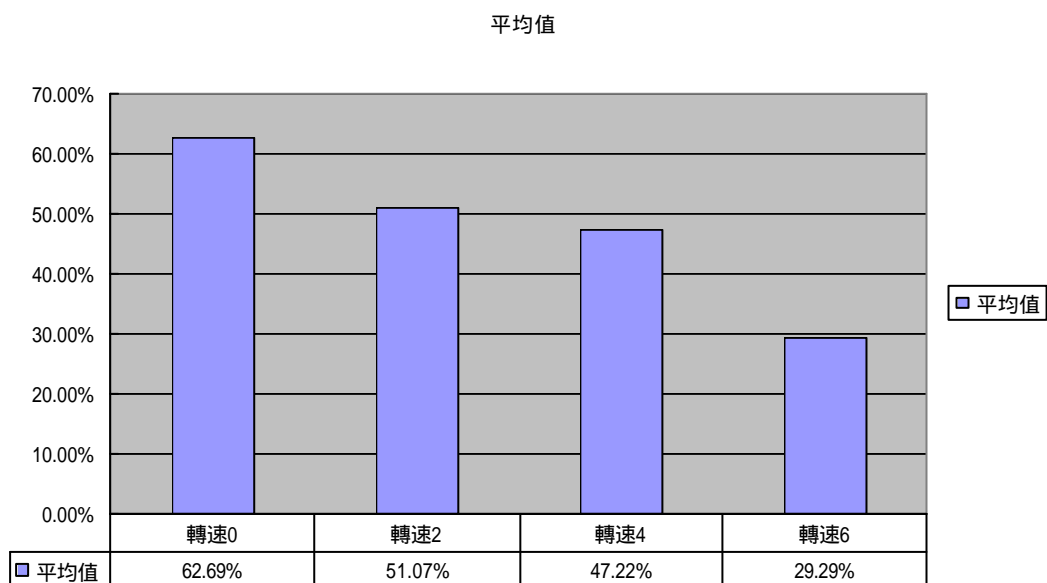
(二) 預備實驗：溫度對花粉萌發的影響

1. 本實驗目的是為了確定文獻所說花粉萌發的過程中，30 為最佳萌發溫度
2. 實驗設置： 實驗組：30
對照組：15 ,25 ,30 ,35
3. 此實驗我們只使用 FT 來做實驗，而其他控制的變因為 10%蔗糖濃度(根據中研院植物研究所的趙光裕老師的研究生所使用的配方:290mM 蔗糖相當於 10%)
4. 實驗方法：使用 Heat Plate 以及碎冰來將溫差控制在一度內
5. 實驗的圖表與數據



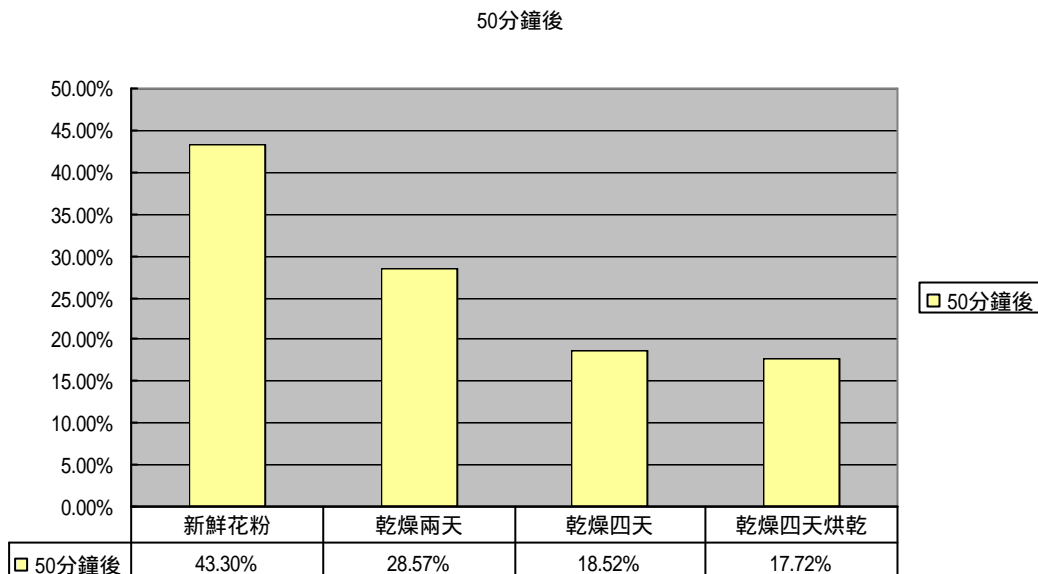
(三) 預備實驗：震動培養(利用電動攪拌器)的影響

1. 本實驗是為了尋找另外的培養方式
2. 設置的實驗就是將 Heat Plate 內建的轉速功能設為變因，其餘則相同。
3. 實驗圖表與數據：



(四) 預備實驗：花粉新鮮度的影響

1. 本實驗是為了實驗花粉的乾燥狀態對花粉萌發的影響
2. 設置的實驗所謂的乾燥狀態就是將花粉放在烘箱內，設置的變因就是天數的差異
3. 實驗的圖表與數據



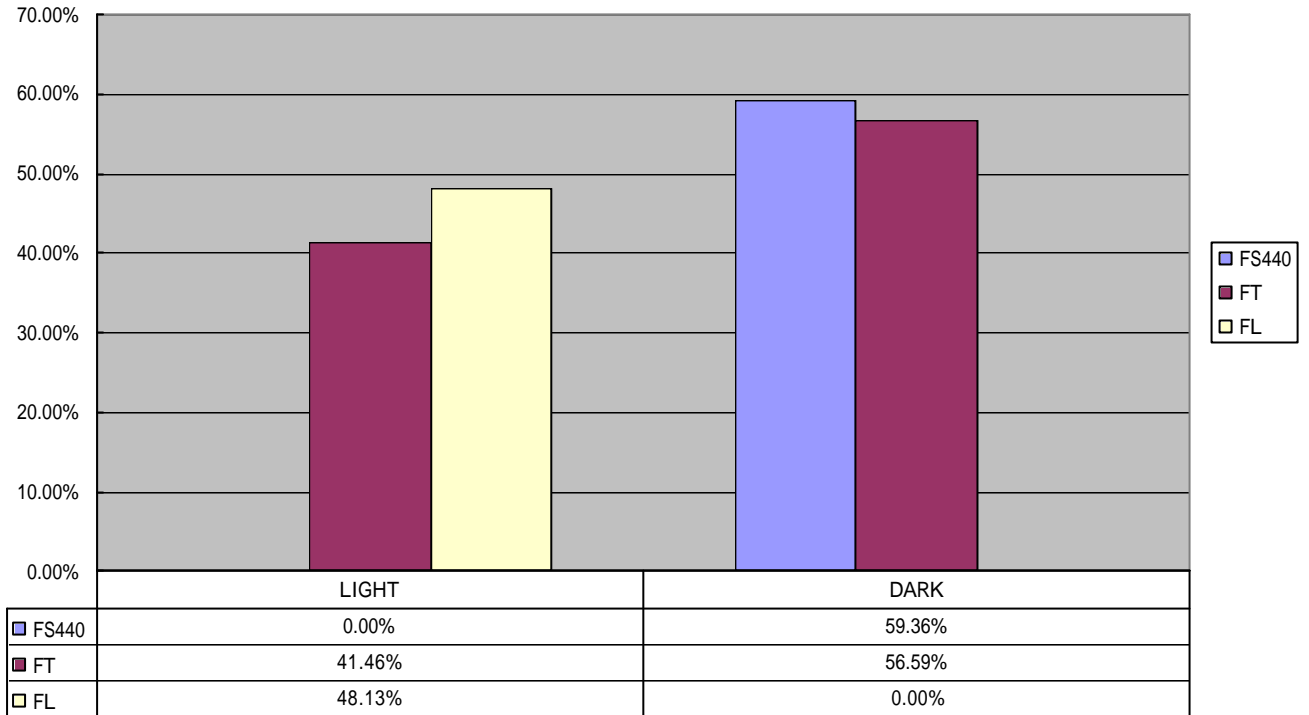
(五) 實驗一：光線對花粉萌發的影響

參考文件顯示 百合花粉在黑暗中的花粉萌發較好。所以我們有了以下的實驗設計

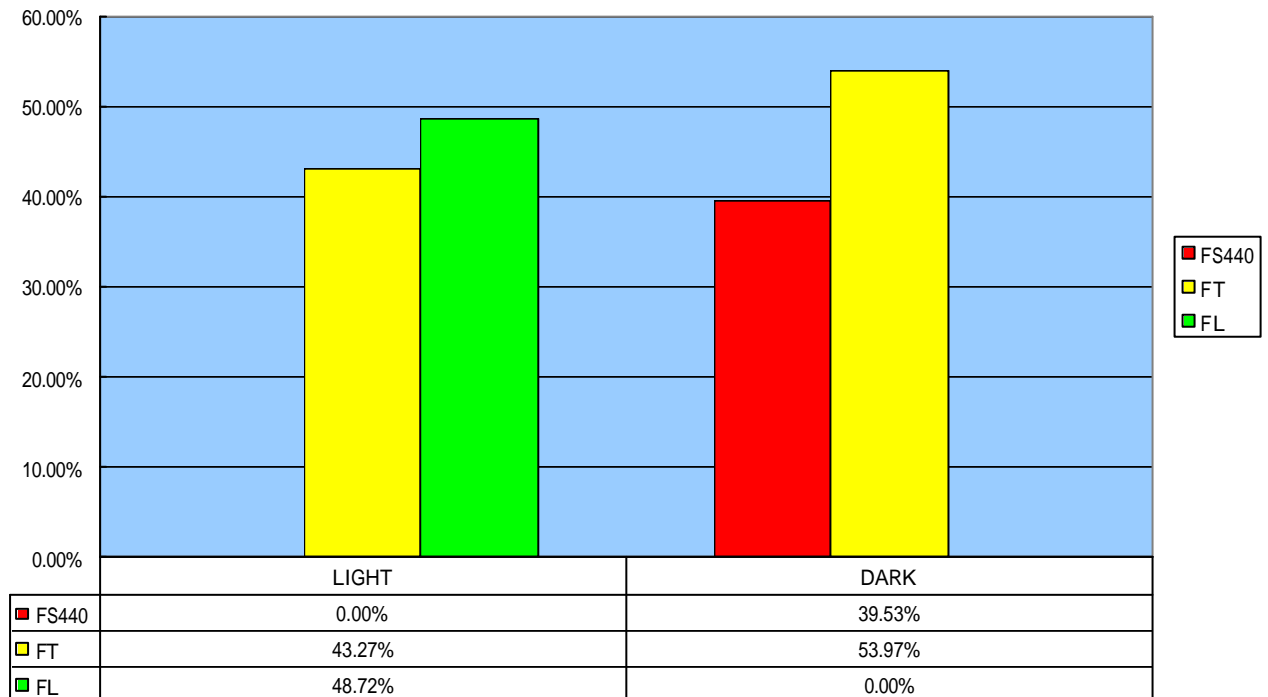
1. 實驗設置：實驗組：黑暗
對照組：光照
2. 控制變因：(1) 培養液的 PH 值為 4.8
(2) 溫控 30
(3) 新鮮花粉
(4) 蔗糖濃度 5 %
3. 實驗方法：
 - (1) 吸取 5ml 的蔗糖溶液放置於試管
 - (2) 將不同品系之花藥放置於試管
 - (3) 將光照組放置於事先調好的攝氏 30 度水中，並以 Heat Plate 適時的加熱，將溫差控制在正負 2 內
 - (4) 將黑暗組放置在攝氏 30 度的恆溫箱內
 - (5) 五十分鐘後觀察，並記錄其萌發率

此實驗我們總共做了三次來確立數據的可信度，但是第二次的實驗，花粉的新鮮度不一樣，是已經放了六天的花粉，得到的結果卻大致相同。

4. 實驗的圖表與數據：



實驗一



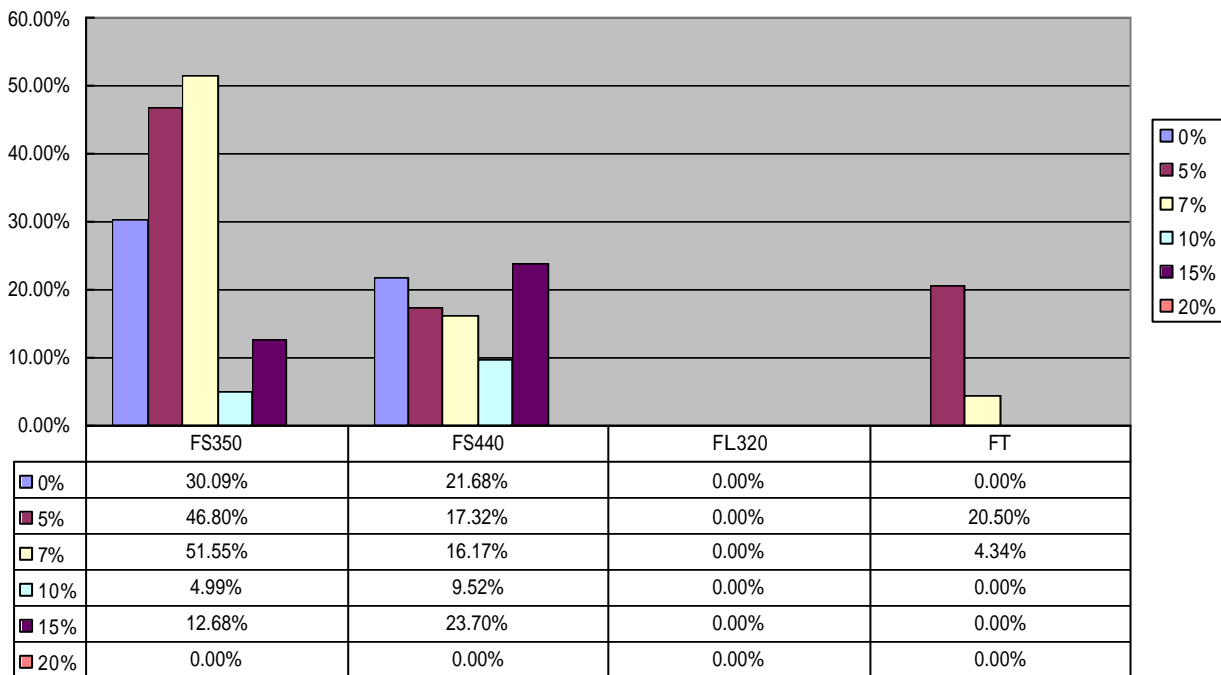
實驗二

(六) 實驗二：蔗糖溶液濃度的差異

看了那麼多的文獻資料之後，我們知道蔗糖濃度對花粉萌發有很大的影響，而百合花粉最好的環境下是在 7~8 % 所以我們設置了以下幾組 3 %、5 %、7 %、10 %、15 %、20 %

1. 實驗設置：實驗組：在 7 % 蔗糖溶液的四種百合花粉
對照組：3 %、5 %、7 %、10 %、15 %、20 %
2. 控制變因：(1) 培養液的 P H 值為 4.8
(2) 溫控 30
(3) 新鮮花粉
3. 實驗方法：
 - (6) 吸取 5ml 的蔗糖溶液放置於試管
 - (7) 將不同品系之花藥放置於試管
 - (8) 將黑暗組放置在攝氏 30 度的恆溫箱內
 - (9) 五十分鐘後觀察，並記錄其萌發率

此實驗我們總共做了二次來確立數據的可信度，兩次結果大致相同
此次數據我們做了平均值之後來做了圖表，圖表如下



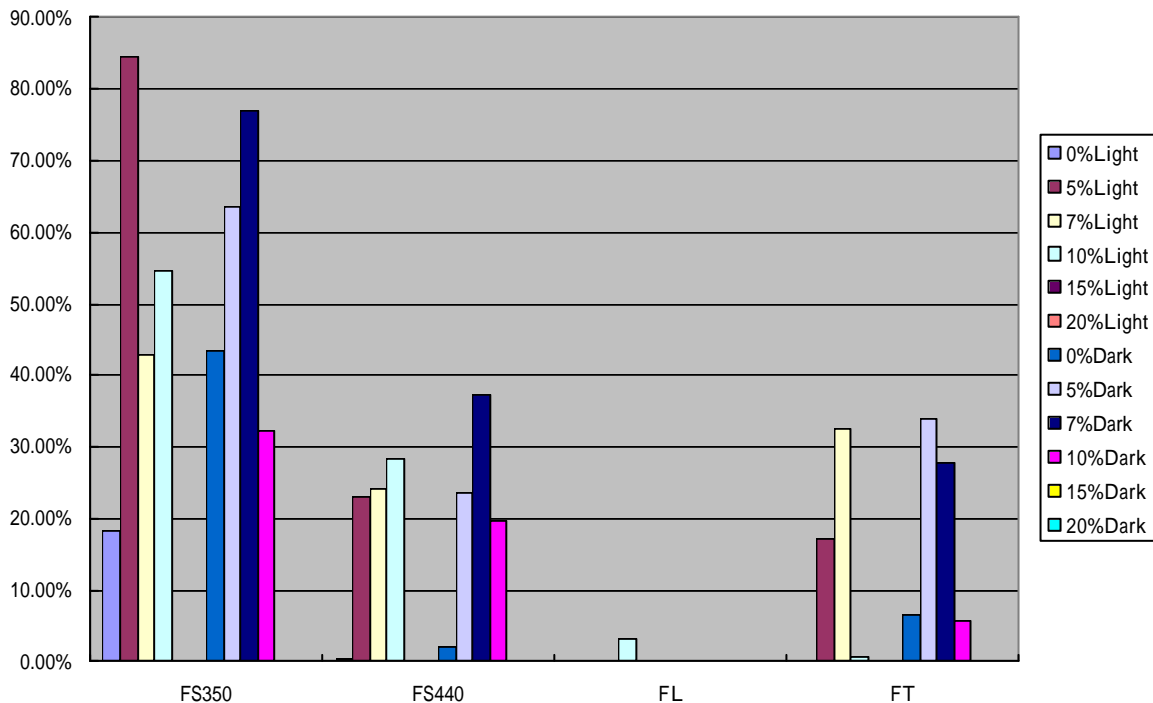
實驗數據圖表

(七) 實驗三：蔗糖溶液濃度與光亮與黑暗中的交叉比對

這次實驗以各類百合來做實驗，觀察時間為 50 分後，這時花粉管應已大部份萌發完，因此可開始測量萌發率，萌發率的計算是以花粉的萌發個數來決定，而計數的方式是以計數器，擔任測量的工作。

由於 FS350 的花粉萌發狀況在前面的實驗萌發率很高，所以我們決定，後面實驗以 FS350 為主，繼續完成以下實驗

1. 實驗設置：實驗組：在黑暗中、濃度 7 % 的各品種百合花粉
對照組：黑暗與亮光中，濃度 0 % 5 % 10 % 15 % 20 % 的各品種百合花粉
2. 控制變因：
 - (1) pH 值為 4.8
 - (2) 溫控攝氏三十度
 - (3) 新鮮花粉
3. 實驗方法：
 - (1) 吸取 5ml 的蔗糖溶液放置於試管
 - (2) 將不同品系之花藥放置於試管
 - (3) 將光照組放置於事先調好的攝氏 30 度水中，並以 Heat Plate 適時的加熱，將溫差控制在正負 2 內
 - (4) 將黑暗組放置在攝氏 30 度的恆溫箱內
 - (5) 五十分鐘後觀察，並記錄其萌發率
4. 實驗的圖表與數據：



(八) 實驗四：花粉萌發所需時間

此實驗是延伸上面的實驗中花粉萌發最好的狀態下；我們發現 FS350 萌發比例特高，所以我們假設它萌發比例高的原因是花粉管萌發較早，以它為實驗組進行

1. 實驗設置：實驗組：FS350

對照組：其他品種的花粉

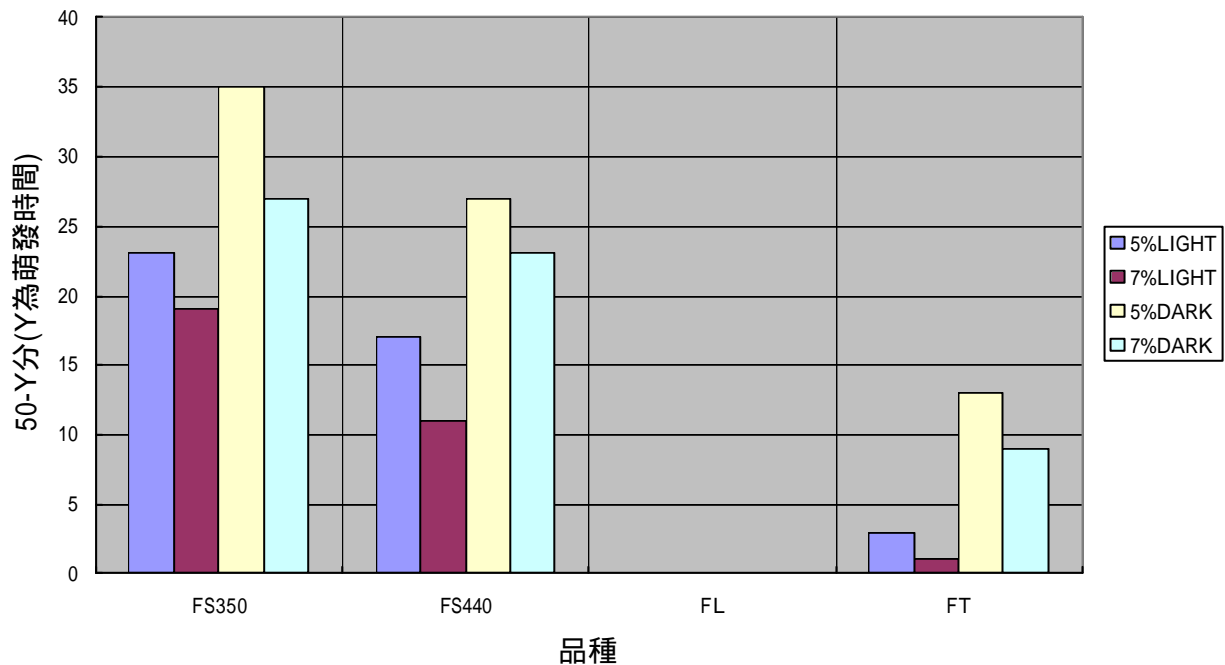
2. 控制變因：

- (1) pH 值為 4.8
- (2) 溫控攝氏三十度
- (3) 新鮮花粉
- (4) 蔗糖濃度 7 %
- (5) 黑暗

3. 實驗方法：

- (1) 將培養液滴於凹槽玻片上
- (2) 把花粉輕沾，讓它落下於滴好在凹槽玻片上的培養液
- (3) 蓋上蓋玻片，並在旁邊塗上凡士林，防止水分大量散失
- (4) 放入攝氏三十度的恆溫箱
- (5) 五分鐘後每隔二分鐘拿出來觀察到它生長為止
- (6) 未生長的到 5 0 分鐘觀察終止

4. 實驗的圖表與數據：



[圖表]

	LIGHT		DARK	
	5%	7%	5%	7%
FS350	27 分	31 分	15 分	23 分
FS440	33 分	39 分	23 分	27 分
FL	50 分	50 分	50 分	50 分
FT	47 分	49 分	37 分	41 分

萌發所需時間表(50 分終止計時).

(九) 實驗五：硼酸對花粉萌發的影響

在這次研究中佔領重要地位的培養液中，配方中有硼酸，所以我們想試試看，在只加硼酸的狀況下，它是否會萌發。

1. 實驗設置：實驗組：在黑暗中的 FS350

對照組：黑暗中，蔗糖濃度 0, 3, 5, 7, 10, 15, 20 % 的各品種百合花粉

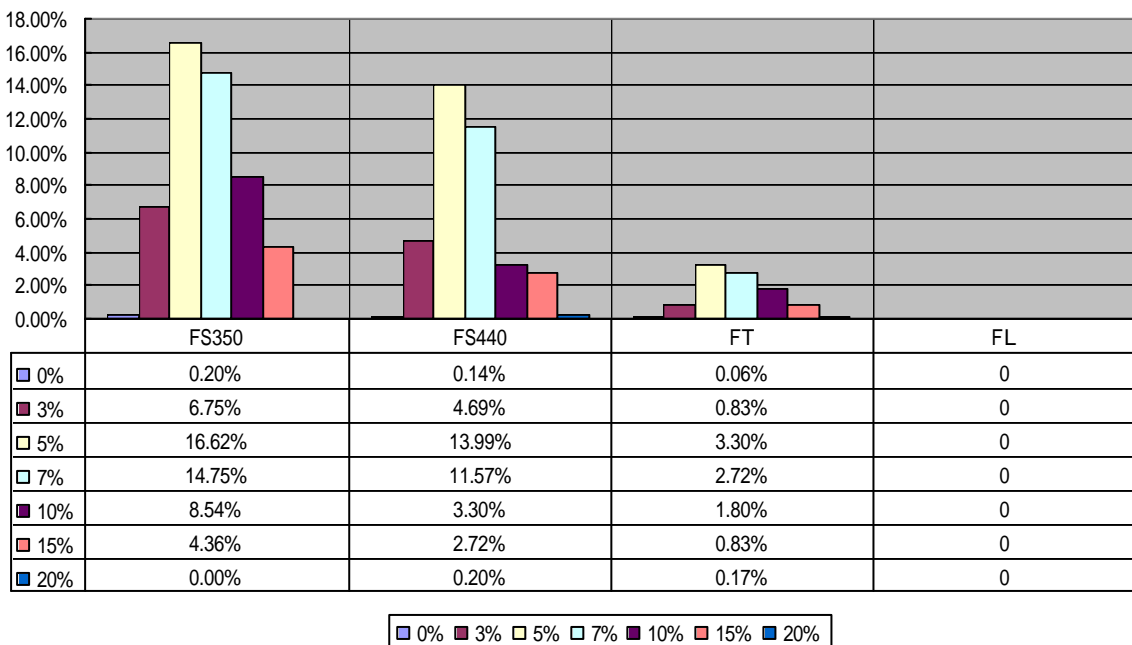
2. 控制變因：

- (1) pH 值為 4.8
- (2) 溫控攝氏三十度
- (3) 新鮮花粉 4 . 黑暗
- (4) 硼酸的濃度為 0.2%

3. 實驗方法：

- (1) 調製硼酸
- (2) 把花粉置於試管裡
- (3) 吸取 5ml 的硼酸蔗糖溶液放置於試管裡
- (4) 送入黑暗、攝氏三十度中的衡溫箱中
- (5) 五十分鐘後拿出來觀察，算其萌發率

4. 實驗的圖表與數據：



(十) 實驗六：pH 值的影響

在我們找到的文獻中顯示，pH 值在 5.2 的時候長的最好，所以我們決定以學校中限有器材來作此實驗

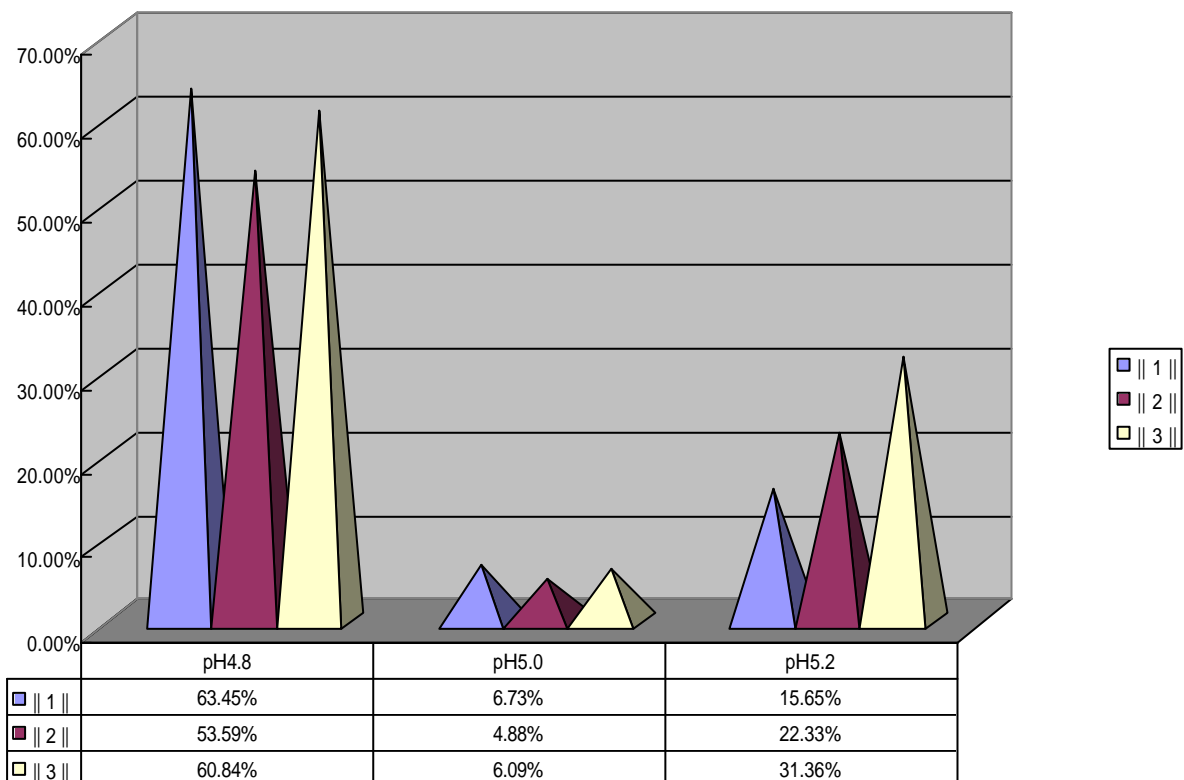
1. 實驗設置：實驗組：pH5.2 的各品種花粉
對照組：pH 4.8、 pH5.0 的各品種花粉

2. 控制變因：
 - (1) 攝氏三十度
 - (2) 黑暗
 - (3) 新鮮花粉
 - (4) 蔗糖濃度 7 %

3. 實驗方法：
 - (1)使用 KOH 、 HCl 調製培養液的 pH 值
 - (2)花粉放入試管
 - (3)加入 5ml 的蔗糖溶液放置於試管
 - (4)放入攝氏三十度的恆溫箱
 - (5)五十分鐘之後拿出算萌發率

4. 實驗的圖表與數據：

見下頁



陸、研究結果

一、 光線對花粉萌發的影響

我們發現 FL 在亮長暗不長，且它剛好與 FS440 相反。相較之下，FT 在此實驗中在兩個狀況下皆可生長，光線對其之影響較小

研究結果顯示，受光線影響較大的為 FS440、FL，若符合其要求，萌發率將有機會大幅提昇

二、 蔗糖溶液濃度的差異

在整個實驗中，我們發現了一個蠻有意思的情況，各品種的百合花粉在 5% 時是長的非常好的，而到蔗糖溶液 7% 之後萌發率就漸漸地下降，當蔗糖溶液 15% 時，其花粉之萌發率幾乎為 0，數據上跟人家研究之結果是沒有相差太多，值得一提的是，文獻上萌發率最高的在 7%~10%，而我們做出的實驗卻是在 5% 時萌發率最高，而其討論在此略過，放於後面討論四時再詳細說明。

所以可以驗證，高張溶液對百合花粉來說，並不會使其萌發更好。

三、 蔗糖溶液濃度與光亮與黑暗中的交叉比對

本實驗的結果是蔗糖濃度 5% 以及黑暗下的萌發率最高。

設置此交叉比對實驗的原因是為了檢視實驗一、二的結果是否正確，以達到重複檢視的原因。

四、 花粉萌發速率

此實驗我們發現的結果是：FS350 的萌發速率最快，而 5% 以及 7% 的比較下，又是 5% 較佳，光亮與黑暗之下又以黑暗的最快。

五、 硼酸對花粉萌發的影響

此實驗我們是為了檢視硼酸在整個培養液的重要性。

而我們的實驗，證明了硼酸是有決定性的影響，但是整體來說，用培養液仍然是比只用硼酸的萌發率來的高。

六、 pH 值的影響

實驗後我們得到的結果是 pH 值是 4.8 最好(30)，與文獻所說的 5.2 有所差別

柒、研究討論

一、 不論哪種品系，都是改良之園藝品種，但由於現在(2~4 月)並非野百合開花的季節，且現在由於野百合遭到管制，花的取得也是一個問題，所以沒有將 野百合列入。

二、 在我們找尋參考文獻的時候，發現有振動培養的方式，但是在我們實際操作過後，發現效果並不理想，推測是由於我們並不是使用 水浴槽 而用電動攪拌器代替的緣故。

三、 臺大植物系的教授陳淑華的研究生表示：新鮮的花粉活性最好，我們的預備實驗結果顯示，新鮮花粉的效果最好，相互映證。

四、 我們所做濃度結果是 5% 最好，而文獻上則是說 10% 最好，仔細研究這項差異，我們發現，文獻中的花粉都是以乾燥過後的花粉為主，花粉乾燥時水分散失(造成等張濃度的差異)，因此 10% 的濃度較適合於乾燥過的花粉，而我們實驗是以新鮮花粉為主，所以使用 5% 的濃度。

五、 控制溫度上，分為兩種，也就是黑暗環境以及光亮環境，由於學校設備上的問題，恆溫箱內都是屬於黑暗的環境，因此若要做到光亮環境下的恆溫，就一定得靠 Heat Plate 以及碎冰來控制了，但在這樣的情況下，不免有誤差(正負 1)，因此我們再加上了隔水加熱的手續，讓溫度的變化不至於太快，進而影響實驗之準確性。

- 六、花粉萌發的速率，有兩種判定方式，一種是單位時間內萌發的花粉管長度，另一種則是我們所採用的開始萌發的時間，我們的實驗目的，是為了如何在最短的時間內萌發，使學生能夠看到花粉管萌發，因此使用後者。
- 七、pH 的實驗，我們不能說是非常客觀，推測其原因可能是我們調配的方式不對，我們是使用 (KOH, 以及 HCl) 的緣故吧，而且我們在測量 pH 值，也忽略了 pH 在不同溫度下的不同，這些可能都是造成我們 pH 實驗有問題的原因吧，另外值得一提的是，我們再調配配方液的時候，若用蒸餾水，就可直接配出近乎 pH5.2 的配方液，若直接使用台東的水，則配出來的配方液大概都在 pH4.8 上下，後來，在實驗中發現了 pH4.8 的配方液最好，又讓我們減少了一項調配 pH 值的動作了。
- 八、近來品種改良，我們有發現改良品種的花粉極少(避免花粉沾在花上)，對於實驗而言是種困擾，因此設計實驗的時候要註明，花的採集是要採集有花粉的品種。

捌、研究結論

- 一、百合品系中，在體外萌發的表現上，以 FS350 為最佳選擇
- 二、體外萌發的培養環境，在我們所做的實驗上，得到：
溫度 30
濃度 5%
註：乾燥天數在 1 個星期內，基本上等張濃度會介於 5~10%左右。
(乾燥時間越長，等張濃度越高)
- 三、大部分花粉都適合於黑暗環境下生長，但是 FL 品系，在我們的實驗中，黑暗環境下是不會萌發的(這與陳淑華女士所研究之結果不同)，或許是由於我們取得的品系有問題，亦或是我們的實驗，變因太多，所以造成這樣的結果。
- 四、硼酸對於花粉萌發的過程是具有決定性的影響的，另外再我們的培養液中，也有許多會增進生長的離子，但是由於影響沒有硼酸來的大，因此沒有將其放置於我們的作品說明書中。若我們有時間能夠繼續研究的話，我們將會探討配方液中，各個離子對花粉萌發的影響。
- 五、pH 的問題，我們做出的結論是 pH4.8 是最好的，這讓我們能夠將這個實驗更簡化，不過，這項結果，有助益的，可能是我們台東的學生吧，其他地區可能仍需調配適當的 pH 值。
- 六、我們的實驗，就是要改良原本花粉體外萌發之實驗，使得之後的學弟們能夠使用更簡單的方法，來觀察花粉管，因此我們設計了一個實驗，實驗見下頁。

§ 花粉的觀察(學生版)

一、實驗目的

以百合為例，使學生了解花粉的構造，並實際操作體外培養花粉管的實驗。了解雙子葉與單子葉植物花粉型態之差異，以及等張溶液之概念。

二、實驗器材

1. 天平
2. 百合花粉(各品系-有花粉的)
3. 玻片、蓋玻片
4. 特級砂糖
5. 試管
6. 滴管
7. 攝子
8. 顯微鏡
9. 標籤紙
10. 配方液(教師事先配置)
11. 不同品種的花

三、實驗步驟

1. 將 5mL 的培養液倒入試管，並放入花藥。
2. 將試管內的花粉混合均勻後，吸取一滴在玻片上，剩下的交給老師統一放置於 30 的恆溫箱。
3. 在等待恆溫箱中花粉的同時，準備好顯微鏡，觀察剛吸起來的溶液，觀察不同品系間花粉形狀的不同，並且畫下你所看到的花粉。
5. 30 分鐘後，分別觀察恆溫箱內的花粉。

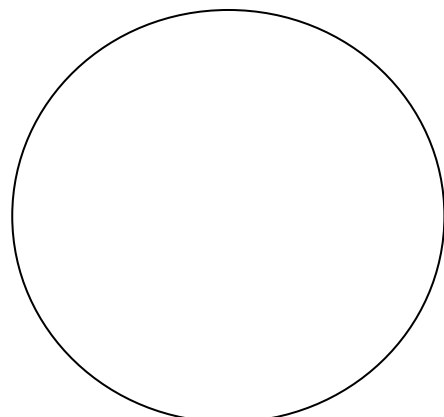
四、實驗紀錄

1. 描繪出你觀察到的花粉粒，並且標出萌發孔或萌發溝的位置
 - (1) 蔗糖液的濃度是()
 - (2) 溶液的溫度是()
 - (3) 請畫出花粉的外觀

20 分鐘	30 分鐘	50 分鐘

- (4) 請畫出[30]試管內的花粉
並且用箭頭指出他的萌發溝(孔)
、以及花粉管。

3. 比一比，哪組的花粉管最長!



五、實驗討論

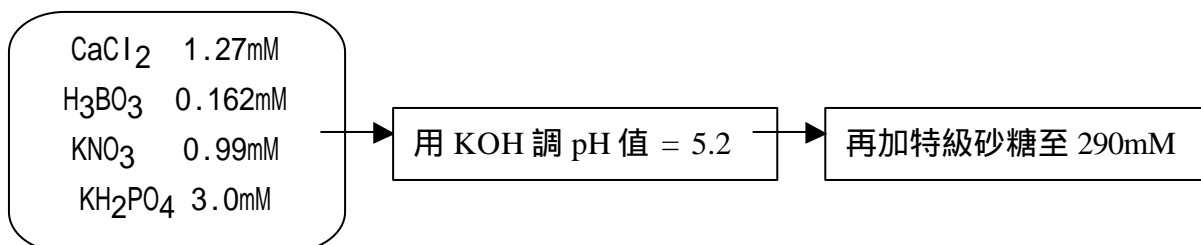
1. 你觀察到了哪幾種花粉粒？型態相同嗎？
2. 室溫下，多久花粉粒會開始萌發？每一濃度的花粉萌發情形都一樣嗎？
3. 你覺得還有什麼因素會影響花粉粒的萌發？
4. 哪一種蔗糖溶液的濃度，最適合花粉的萌發？此種濃度為低張、等張、或高張溶液？
5. 單子葉植物以及雙子葉植物的花粉形狀有何不同？

花粉管培養之教師注意事項：

1. 此實驗，未改良前，單使用蔗糖溶液來做，培養成效不彰，因此在我們改良此實驗後，我們參考中研院植物所趙光裕博士實驗室所使用的配方，詳細的配方資料，已在學生實驗中提及，但是經過我們的實驗，我們發現，pH 的差異其實不大，配置培養液時，要注意的是，配置時需使用蒸餾水，這樣 pH 值就不會與 5.2 相距太遠。在東部地區的水質，石灰質較重，因此若單用地下水，或是自來水所配置出的培養液，pH 都與 5.2 相差一段距離，因此建議以蒸餾水來做。
2. 其他品種之花粉的選擇，建議使用：朱槿、鳳仙花、非洲鳳仙花、龍吐珠、豌豆、日日春、鴨跖草、咸豐草、黃鐘花、兔兒菜、莢竹桃、玉米 等。
3. 實驗先裝置好後再開始解說實驗，這樣才不會浪費時間。
4. 蔗糖溶液請使用特級砂糖(農會很便宜，別去便利商店買)
5. 若要室溫下的萌發速度加快，可以使用 Heat Plate 以及碎冰，控制溫度在 30 ，裝置如下圖(在此沒放入實驗之原因 是因為太複雜了)



6. 基本上，花粉的選擇上還是建議以我們實驗的百合花，因為既然是要做實驗，就以最方便，最簡單的步驟，完成實驗，使用百合花，在 40X 就可以看到花粉外觀，100X 就可以清楚的看到花粉管，以及其中原生質的流動。而菊科植物的花粉太小，在觀察上不太方便。
7. 我們使用的百合花粉管萌發之配方液，是中研院植物研究所趙光裕博士在實驗室中所使用的配方，成分如下：



玖、參考資料及其他

- 一、王宮田,高中生物教材-活體培養技術,89,宜蘭,教育部中部辦公室,96~105
- 二、林彥宏 2001 溫度對菊花花粉活性及受粉之影響 國立臺灣大學園藝學研究所碩士論文 P12-73
- 三、胡正榮 2001 文心蘭類之花粉發育、花粉活力結實及無菌播種之研究 國立臺灣大學園藝學研究所碩士論文
- 四、施河,南一高中生命科學上冊(教師手冊),92,台南,南一書局,116~118
- 五、楊冠政,龍騰高中生命科學上冊(教師手冊),91,台北,龍騰文化事業股份有限公司,156~157
- 六、鄭湧涇,康熙高中生命科學上冊(教師手冊), 92,台中,康熙圖書網路股份有限公司,197~198
- 七、Brewbaker , James L, and Beyoung H , Hwack (U. Hawaii , Honolulu.) The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. Jour. Bot.50(90): 859 865.
- 八、Guang Yuh Jauh . Kathleen J.Eckard,Eugene A. Nothnagel . Elizabeth M.Lord, 1997, Adhesion of lily pollen tubes on an artificial matrix,Sex Plant Reprod ,173~180
- 九、Hee-Sung Park, 2002,Lily Pollen Growth In vitro and Agrobacterium-mediated GUS Gene Transformation via Vacuum-Infiltration ,Journal of Plant Biotechnology,2002 Vol4(4).pp.151~154
- 十、中國作物種質信息網 (CGRIS) - 農業科普及知識
(<http://icgr.caas.net.cn/kp/%E8%8A%B1%E7%B2%89.htm>)
- 十一、 東京都生物教育研究會-東京都高等學校理科教育研究會生物部會
(<http://www.asahi-net.or.jp/~yf8o-nbt/toseiken/kuchikomi/Q-A/10.htm>)
- 十二、 我的花粉管會轉彎-花粉管萌發方向之探討,國立屏東女子高級中學,陳麗珊,曾怡靜,曾惠真,周麗芬指導
- 十三、 吳沛宇、張顥騰、陳彥廷、陳譽仁 (1995), 花粉萌發因素的探討—龍吐珠花粉最適萌發環境之發現。中華民國第 34 屆高中組生物科科展作品
- 十四、 林學聖、彭淑媛 (1995), 「精卵的鵲橋—花粉管」之研究。中華民國第 34 屆國中組生物科科展作品。
- 十五、 王月雲 (1982), 漫談花粉生理。科學教育月刊, 51 期, 73~81。
- 十六、 蔡媚婷 (1989), 楊桃花粉發芽特性及品係間親和性之探討。國立中興大學園藝系碩士論文。
- 十七、 劉賢祥譯 (1976), 植物生理學。徐氏基金會, 391~393。

評語

040704 高中組生物科

百合花粉嚇嚇叫—花粉管體外萌發實驗改良研究

1. 記錄詳盡。
2. 研究內容應加強分子或細胞層次的探討。
3. 能運用有限設備進行教材改進。