

中華民國第 52 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 生物科

佳作

030304

花仙子的美麗與哀愁

學校名稱：國立南科國際實驗高級中學(附設國中)

作者： 國二 詹佳容 國二 楊昕宜 國二 鄭茲庭	指導老師： 蔡銘哲
---	------------------

關鍵詞：活性氧、開花、阿拉伯芥

摘要

我們以不同濃度雙氧水來模擬逆境時的活性氧狀態，結果發現，20 mM 雙氧水會促進阿拉伯芥開花，50 mM 雙氧水會促進開花，但花會停止生長，高於 100 mM 雙氧水會讓植物本身停止生長。維生素 C 則會抑制植物活性氧，20、35、50 mM 維生素 C 會抑制阿拉伯芥開花。同樣的處理，在矮牽牛上也有效果。利用早開花突變植物做維生素 C 噴灑試驗，發現阿拉伯芥開花抑制基因 *svp* 可能是活性氧下控制開花的重要因素。從晚開花突變株噴灑雙氧水的實驗結果中，也發現開花基因 *ft* 可能也參與在活性氧控制開花的過程中。總而言之，我們的實驗結果證明，低濃度的雙氧水可以當作低濃度活性氧訊號，促使植物提前開花。維生素 C 會抑制植物的活性氧濃度，進而抑制植物開花。

壹、研究動機

暑假期間有一陣子不在家，花園裡的植物沒有澆水。回來時發現，九層塔雖然已經快要枯死了，但比原先提早開花，準備繁殖後代。上網搜尋之後，發現九重葛要在少澆水的情形下，花才會開得更美麗。蓮霧泡鹽水之後植物根會壞死，農民將蓮霧斷根，斷根之後的蓮霧會比較早開花且果實較好。因此，一開始我們想要研究乾旱和開花有什麼關係。

我們和老師討論後，發現土壤乾旱的情形，不是那麼容易控制的。不知道哪一種程度的乾燥土壤，會促進植物開花？我們也沒有特殊的土壤偵測儀器，可以知道土壤有多乾燥。所以老師建議改成研究植物在其他逆境中為何會提早開花？從網路上知道植物遭受逆境後，會產生活性氧（ROS），而且 H_2O_2 （雙氧水）是活性氧的一種（蔣永正，2011）。 H_2O_2 是一種具強烈毒性的氧化劑，會造成細胞傷害甚至死亡；但同時， H_2O_2 又可作為一訊號分子，來活化細胞救援或防禦系統，以回復植物細胞之氧化還原狀態（黃信端，2005）。那麼我們想問生活中的雙氧水是不是也可以當作一種訊號，造成植物的提早開花？而維生素C會清除植物過多的 H_2O_2 （蔣永正，2011）。那麼生活中的維生素C是不是會讓植物體內的活性氧減少，使得植物變得晚開花？

一年級下學期上生物課時，我們學到基因及突變的基本概念，另外在一次聽演講的過程中，演講的老師說阿拉伯芥有突變種，某一個基因壞掉的植物，它的外表會告訴我們，這個基因可能扮演什麼角色。在研究植物開花的過程中，突變植物提供了很多資訊給科學家，讓大家知道哪些基因控制植物開花。國中二年級上學期，參觀一些研究機構，他們在介紹的過程中，有研究一些突變的植物，將一些開花的基因利用基因轉殖的方法（潘子明，2012），持續表現在阿拉伯芥中，來看這些基因是不是會控制植物開花。我們不會做基因轉殖，但是如果活性氧會當作訊息來促進植物開花，那麼利用 H_2O_2 和維生素C是不是會讓這些突變植物早開或是晚開花？讓我們推論活性氧跟這些基因的關聯性。

貳、研究目的

- 一、 雙氧水是否可以當活性氧逆境訊號，使植物提早開花？
- 二、 維生素C 是否可以降低活性氧逆境訊號，使得植物延緩開花？
- 三、 生活中人類使用的雙氧水及維生素C 是否對植物也有影響？
- 四、 研究活性氧逆境是不是會對不同種植物的開花也有影響？
- 五、 利用各種阿拉伯芥基因轉殖突變株，來推論這些基因與活性氧逆境的關聯性。

參、研究材料與器材

編號	物品名稱	數量	備註
1	阿拉伯芥種子	一包	Columbia 生態種
2	阿拉伯芥突變株	數個	
3	矮牽牛種子	一包	興農公司的白花品種 Mirage white

4	培養土	1 大包	
5	一次水	1 桶 (不定時添加新的一次水)	澆水用，防止植物長霉菌或長青苔。
6	花寶二號 (肥料)	1 包	五金行購買
7	雙氧水 (30% H_2O_2)	1 瓶	實驗室專用溶液 廠牌：SHOW A 自行調配濃度
8	維生素 C	1 瓶	實驗室專用粉狀 廠牌：Sigma 自行調配濃度
9	雙氧水 (30% H_2O_2)	4 大罐	藥局買的消毒水，久仁製藥廠。
10	維生素 C	各 8 瓶	人類食用 (第一種品名：你滋美得/ 長效 C1000，綠杏生物科技 公司。第二種品名：諾鈣 C，台灣諾華公司)
11	緩衝劑 (MES)	1 瓶	廠牌：J.T.Baker
12	展著劑 (Tween-20)	1 瓶	廠牌：Merck 屬於溶液
13	盆栽	直徑 10 公分 7 個 五公分 300 個	
14	托盤	10 個	五金行購買
15	pipette man	2 個	廠牌：Gilson
16	eppendoff tube	數個	廠牌：eppendoff
17	鑷子	3 組	五金行購買
18	保鮮膜	2 盒	五金行購買
19	500 毫升燒杯	5 個	配藥用
20	噴霧器	12 個	五金行購買
21	標示膠帶	2 捲	書局購買圓形標籤
22	氣球棒	數個	書局購買
23	實驗紀錄簿	1 本	
24	相機	1 台	廠牌：Nikon
25	電腦	1 台	
26	實驗衣	3 件	
27	手套	2 盒	
28	酸鹼檢驗器	1 台	廠牌：Jenco
29	1 M HCl	1 瓶	廠牌：Sigma

30	1 M NaOH	1 瓶	廠牌：Sigma
----	----------	-----	----------

阿拉伯芥突變種：

編號	阿拉伯芥突變株	基因	備註
1	flc 突變株	Flower locus C	開花途徑抑制基因突變後使植物早開花 (附錄一)
2	svp 突變株	SHORT VEGETATIVE PHASE	開花途徑抑制基因突變後使植物早開花 (附錄一)
3	持續表現 FVE 植物	FLOWERING LOCUS VE	開花途徑促進基因持續表現使植物早開花 (附錄一)
4	持續表現 AGL24 植物	AGAMOUS-LIKE 24	開花途徑促進基因持續表現使植物早開花 (附錄一)
6	soc1 突變植物	SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1	開花途徑促進基因突變後使植物晚開花 (附錄一)
7	ft 突變植物	Flower locus T	開花途徑促進基因突變後使植物晚開花 (附錄一)
9	持續表現 SOC1 植物	SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1	開花途徑促進基因持續表現使植物早開花 (附錄一)

肆、研究過程與方法

一、播種阿拉伯芥、矮牽牛

前一天晚上將種子泡入水中，隔天播種成兩大盆（圖一），放到植物生長箱中。植物生長條件是：16 小時光照，8 小時黑暗。溫度是光照時 24℃，黑暗時 22℃。播種一週後，移植阿拉伯芥至六十盆小盆栽，並挑選三十盆生長條件較為相似的阿拉伯芥，繼續實驗。阿拉伯芥品種為 Columbia 生態種。另外有早開花和晚開花的突變種，早開花的植物是 flc 和 svp 突變株，以及持續表現 FVE (FVEOX)、AGL24 (AGL24OX)、SOC1 的植物。晚開花的植物是持續表現 soc1、ft 和 agl24 等突變株。突變植物的種植方法和野生型植物的播種方法相同。矮牽牛則是購自興農公司的白花品種(Mirage white)。



圖一、阿拉伯芥播種後發芽的情形。

二、移植阿拉伯芥、矮牽牛

首先將花寶二號和培養土混合均勻（圖二），混合均勻後，將培養土分別裝入小盆栽（圖三），並用小貼紙貼在盆上，上面註明植物種類（例如野生型 W T 或是突變株），另外加註移植時間。準備好培養土後，開始移植阿拉伯芥幼苗（不同時期分別種植野生型或是突變株）或是矮牽牛幼苗（圖四）。每一個盆子中種植一棵一週大的植物。移植後澆水並包上保鮮膜（保鮮膜是爲了防止水分蒸散太快）（圖五、圖六）。兩至三天後，再移除保鮮膜，讓植物繼續生長。



圖二、混合移植土的情形。



圖三、培養土裝入小盆中。



圖四、移植植物的情形。



圖五、澆水



圖六、包上保鮮膜防止水分蒸散。

三、配製雙氧水及維生素 C

H_2O_2 溶液主要成分是調配不同濃度的 H_2O_2 。首先倒出適當量的 30% H_2O_2 在少量的水中（圖七），再加入 50 mg/l 緩衝劑（MES）和 50 μ l/l 展著劑（Tween-20），再加入水調整到 200 毫升。

不同濃度的維他命 C 溶液也是取適當量的維生素 C，加入少量水中讓它溶解，再加入 50 mg/l 緩衝劑（MES）和 50 μ l/l 展著劑（Tween-20），實驗用的不同濃度雙氧水及維他命 C 分別如下：

H_2O_2 ：0、10、20、50、100 mM

維他命 C：0、10、20、35、50 mM

配好不同濃度溶液後，用酸鹼指示器檢查，並且用 1M 的 HCl 或是 1M 的 NaOH 調整溶液 pH 值維持在 5.8。最後加入水調整到 200 毫升。

展著劑主要是讓噴出的溶液可以均勻散開在植物葉上，讓植物可以吸收這些溶液。而緩衝劑的用途則在維持溶液的酸鹼度。

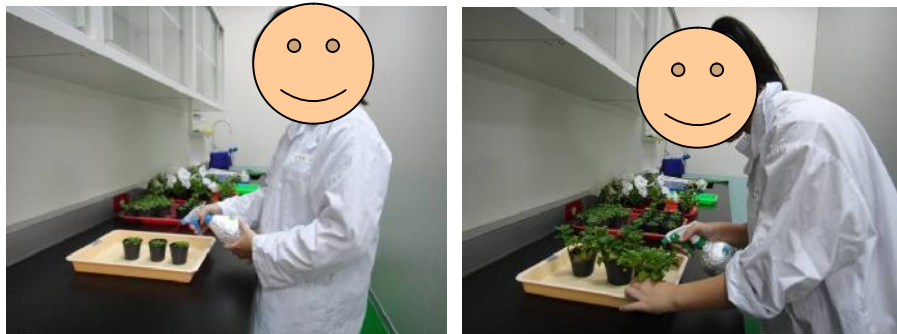


圖七、取出適量的 H_2O_2 藥劑。

四、處理植物

分別處理野生型植物與突變株植物

- (一) 將調配後不同濃度的雙氧水噴在三週大的阿拉伯芥植物葉片上（植物大約有六到八片葉子，一般野生型植物大約十到十二片葉子開花）（圖八）。維生素 C 噴灑則是噴在植物大約有八到十片葉子時（約三週半）。每個濃度各噴三盆，噴出的溶液量約為五毫升。持續噴一週。每個實驗重複三次。實驗結束時拍照並統計整理資料。
- (二) 阿拉伯芥不同的基因突變植物則分為早開花突變植物和晚開花突變植物。早開花突變株在植物大約有四到六片葉子，做維生素 C 噴灑處理（早開花突變株大約六到八片葉子開花）。晚開花植物則在植物大約二十片葉子時做 H_2O_2 噴灑處理（晚開花突變株大約三十片葉子開花）。每個濃度各噴三盆，噴出的溶液量約為五毫升。持續噴十天。每個實驗重複三次。實驗結束時拍照並統計整理資料。
- (三) 一個半月大的矮牽牛植物，也做不同濃度的雙氧水噴灑處理。維生素 C 噴灑則是噴在兩個月大的矮牽牛植物上（主要區別是有開花側莖出現後）。噴出的溶液量則約為二十毫升。持續噴十天。每個實驗重複三次。實驗結束時拍照並統計整理資料。
- (四) 藥局買的人類食用的維生素 C（一百克重的藥錠中含有 1500 毫克的維生素 C）。第一種食用的維生素 C，因為是錠劑，較難直接溶於水，所以先用研杵及研钵研磨成粉狀，再溶於水中。第二種維生素 C 很容易溶於水，溶於水後做成較高濃度的溶液，再經由濃度的調整後，再作噴灑實驗，藥房買的 30% 雙氧水也是做濃度調整後，再做實驗。這兩種藥品分別做野生型阿拉伯芥植物噴灑處理。每個濃度各噴三盆，噴出的溶液量約為五毫升。持續噴七天。每個實驗重複三次。實驗結束時拍照並統計資料。
- (五) 所有的實驗，我們都會統計開花時的葉片數目。但是晚開花植物和高濃度處理，開花時統計葉子數目，則根據開花時的時間，才結束實驗。如果葉子枯萎，則記成葉片數目零。如果有些不開花，但葉子也不枯萎，則只計算有開花的植物葉片數再平均。葉子數目是取每個處理三盆，重複三次所得到的數值，平均後以四捨五入，取到個位數。



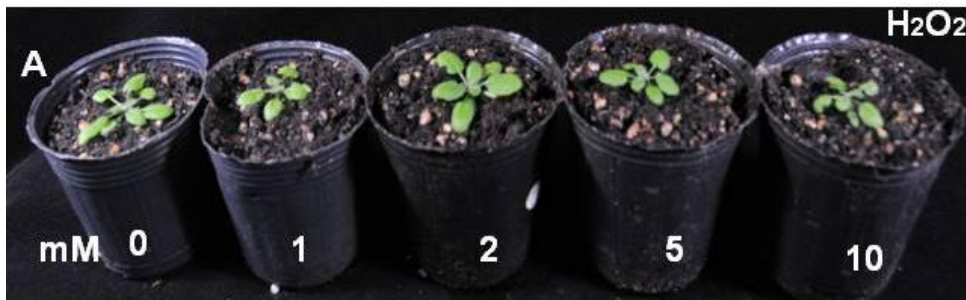
圖八、噴灑 H_2O_2 及維他命 C 的情形。

伍、 研究結果

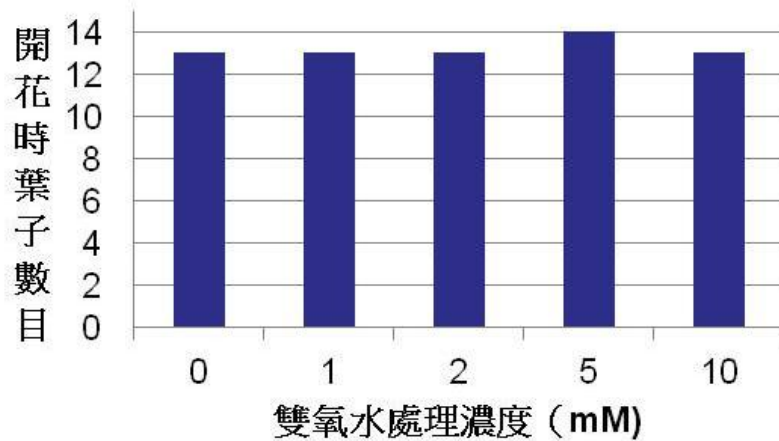
一、雙氧水對植物的影響

首先我們試驗低濃度雙氧水對植物的影響，並希望知道雙氧水是不是會對植物有傷害。結果發現，低於 10 mM 的雙氧水，對於阿拉伯芥沒有任何影響（圖九）。而且噴灑了七天後，所有的植物都正常生長，十天後所有實驗的植物都開花，並沒有發現任何一組試驗濃度有提早開花的結果。所有的實驗植物都在十三片葉子時有花苞出現。

我們提高濃度繼續進行實驗，我們分別噴了 0、20 和 500 mM 的雙氧水。結果發現 500 mM 的雙氧水會對植物產生毒害，讓阿拉伯芥葉子枯萎，而 20 mM 的雙氧水會讓植物提早開花（圖十），大約在十片葉子時出現花苞。對照組大約都在十三片葉子時出現花苞。這個結果告訴我們低濃度雙氧水可以促進開花，高濃度雙氧水會讓植物死亡。



B

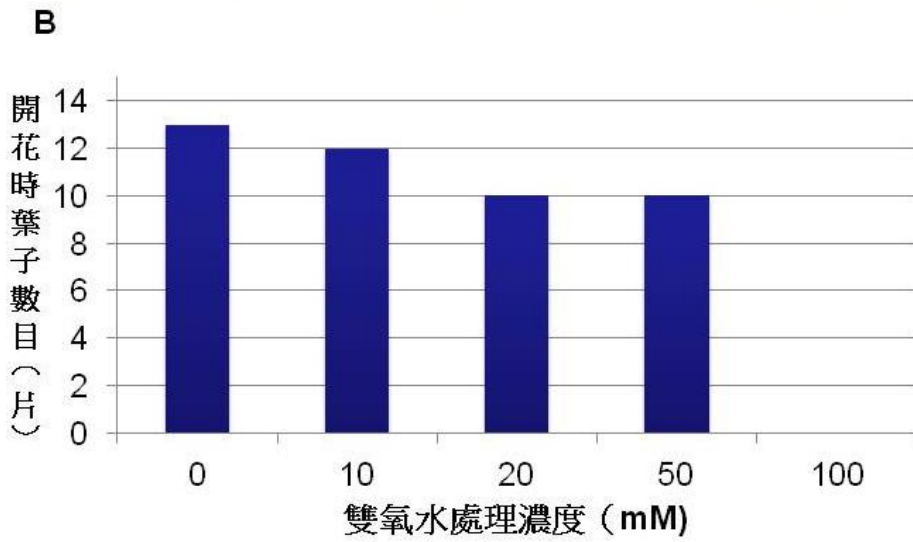


圖九、噴灑不同濃度 H_2O_2 後阿拉伯芥的生長情形。A 噴灑七天後，低於 10 mM 的雙氧水，噴灑在植物葉片上，植物並沒有任何影響。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。



圖十、不同濃度雙氧水對植物生長的情形。0 mM 是對照組，大約十三片葉子開花，而 20 mM 雙氧水會促進植物開花，500 mM 雙氧水則會讓植物葉子枯萎。

我們重複實驗，再做其它濃度的噴灑，噴灑的濃度分別是 0、10、20、50 和 100 mM 的雙氧水。阿拉伯芥經過實驗後發現，雙氧水會影響阿拉伯芥的開花。而濃度為 20 mM 效果最為顯著，處理組植物在 10 片葉子時有花苞出現；濃度 0 mM 為對照組，對照組是在十三片葉子時出現花苞；濃度為 10 mM 雖有效果（大約十二片葉子時出現花苞）但並無 20 mM 佳；而且時間要超過七天噴灑才有效果。濃度為 50 mM 會很早出現花苞（大都在十片葉子時出現花苞），甚至有些植物會比 20 mM 還早（八片葉子就有花苞）。但是噴到第三天，50 mM 的處理組，葉子會出現部分枯萎，而且花梗不會伸長。處理七天後與 10 mM 相較之下開花程度一樣不明顯，只有長出花苞。100 mM 的處理組和對照組比較，則是葉子停止生長，也沒有長出花苞（圖十一）。這個結果顯示低濃度雙氧水會促進植物開花，也代表低濃度活性氧會促進開花，但高濃度活性氧抑制了植物本身的生長。

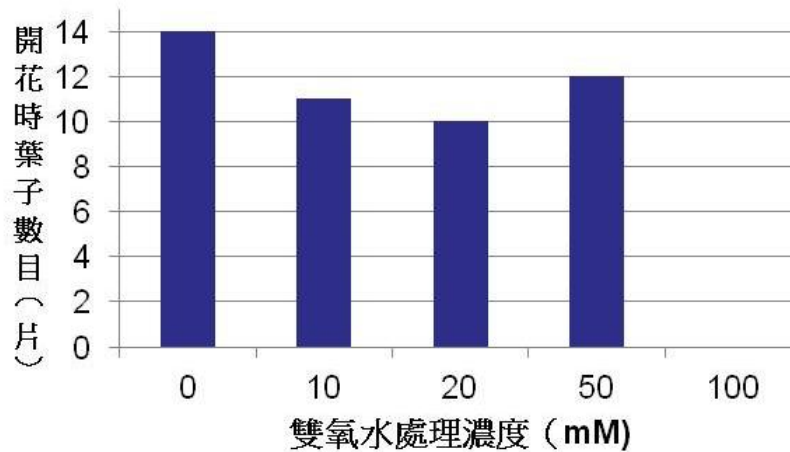


圖十一、噴灑不同濃度雙氧水後，野生型植物開花的情形。A. 噴灑七天後阿拉伯芥的開花情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

接著，我們利用藥房買的雙氧水配成不同濃度，噴灑的濃度分別是 0、10、20、50 和 100 mM 的雙氧水。我們發現藥房買的雙氧水也能促進開花，濃度 20 mM 效果也是最顯著，其它濃度的效果也跟實驗室的雙氧水噴灑效果類似，10 mM 和 50 mM 相對於對照組較早開花，100 mM 噴過後，植物停止生長。不過比較起來，藥房買的雙氧水，在 10 mM 的促進開花效果比實驗室的雙氧水效果好（圖十二 A）。對照組在十四片葉子時有花苞，10 mM 處理下，十一片葉子就有花苞，20 mM 處理下，十片葉子就有花苞，50 mM 處理下，十二片葉子有花苞，100 mM 處理，都沒有花苞產生（圖十二 B）

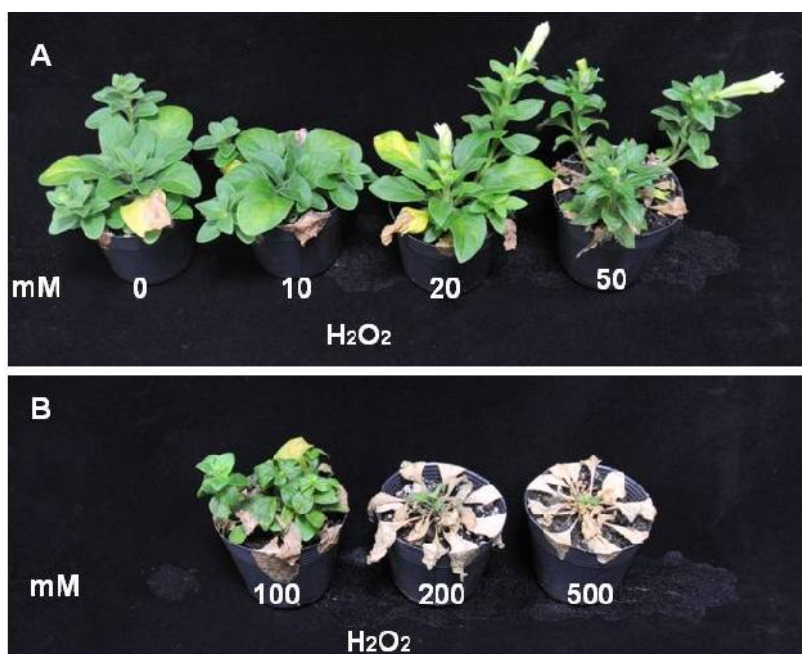


B



圖十二、噴灑藥房買的雙氧水 (H_2O_2)，配不同濃度後噴灑在阿拉伯芥上，植物開花生長的情形。A. 噴灑 7 天後。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

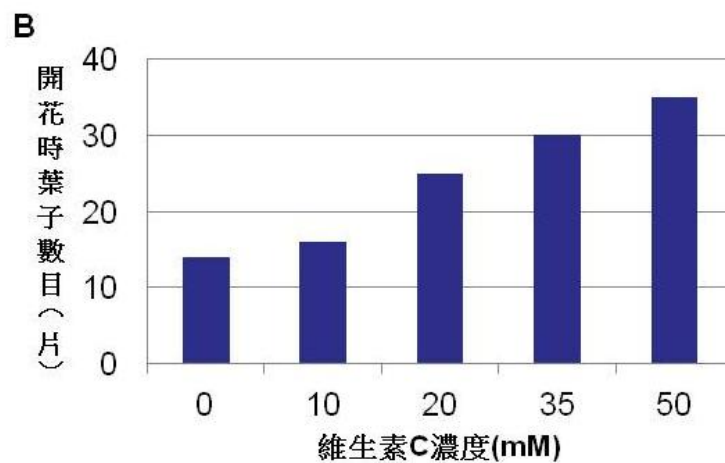
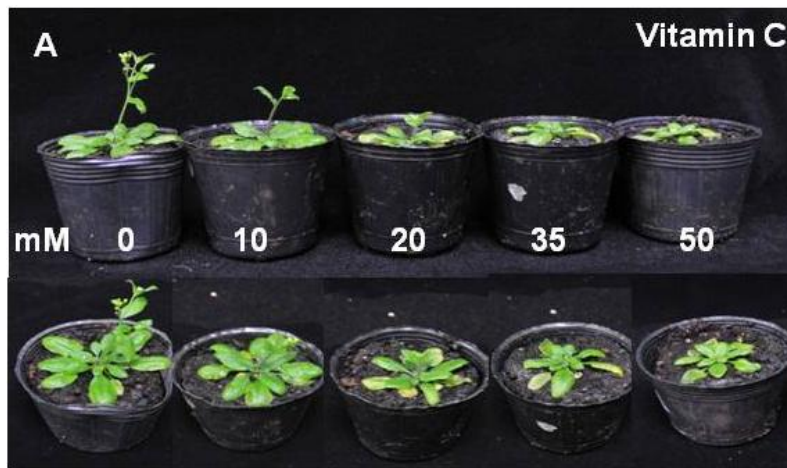
我們想要知道雙氧水的效果是不是在其它植物也有相類似的效果，我們選了矮牽牛做相類似的實驗。但是因為矮牽牛比較大，我們增加了更多濃度的雙氧水來做試驗。濃度分別是 0、10、20、50、100、200 和 500 mM。結果發現，20 mM 的處理還是最好，50 mM 的處理也會促進矮牽牛提早開花，但是葉子枯萎的數目比較多。對照組和 10 mM 的處理組則沒有促進的效果(圖十四 A)。100 mM 的處理組，植物不但沒有提早開花反而逐漸枯萎，200 和 500 mM 的處理濃度太高，植物全部很快就枯萎了(圖十三 B)。



圖十三、噴灑不同濃度 H_2O_2 後，矮牽牛開花的情形。A 圖濃度分別是 0、10、20 和 50 mM 。 B 圖濃度分別是 100、 200 和 500 mM 。

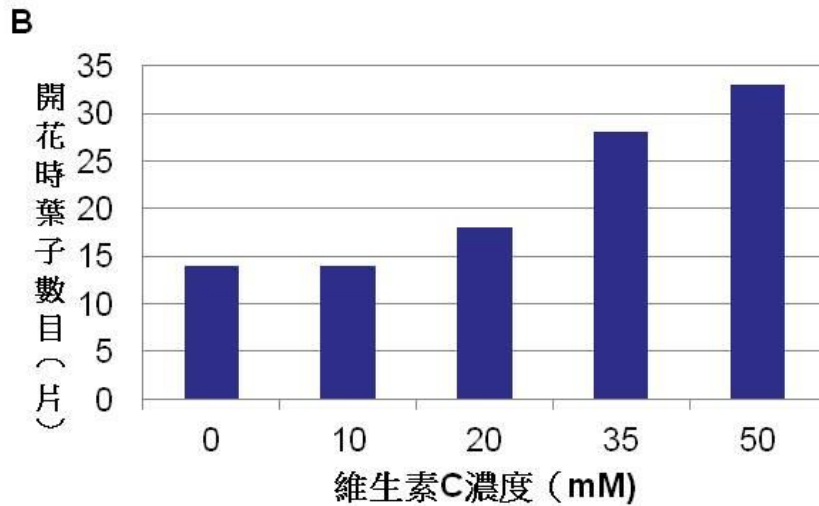
二、維生素 C 對植物的影響

濃度 0 mM 為對照組，因為沒有受到維生素 C 的影響，所以植物仍照原來的週期開花；10 mM 則因為濃度較低，開花週期雖受影響，但並未完全抑制植物開花；20、35 和 50 mM 則皆有效抑制了植物的開花（圖十四 A）。其中 35 和 50 mM 的處理組，葉子會出現枯萎的現象，比較老的葉子枯黃的情形越嚴重。50 mM 的處理組，雖然會長出新的葉子，但是老葉就停止生長。在停止噴灑後三週才開始有花芽長出。我們也做了 100 mM 以上濃度的維生素 C 噴灑，但是植物葉子很快就枯掉了，而且蟲很喜歡吃，還來不及照相就看不太清楚了。所以後面的實驗，就沒有再做高濃度的維生素 C 噴灑。在開花時，葉子數目的統計上。對照組 14 片葉子產生花苞，10 mM 處理，16 片葉子才有花苞；20 mM 處理，25 片葉子才有花苞；35 mM 處理，30 片葉子才有花苞；50 mM 處理，35 片葉子才有花苞，有些植物甚至不產生花苞（圖十四 B）。由阿拉伯芥實驗，證明維生素 C 可抑制植物的開花，而且濃度越高效果越佳。



圖十四、噴灑維生素 C 後阿拉伯芥的開花情形。A. 噴灑十天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

我們也利用藥房買的維生素 C 來做實驗。第一種是含有纖維錠的維生素 C。因為非常難溶於水，我們就先將他磨碎後，再溶在水中。結果這種溶液會阻塞噴頭，水溶液完全無法噴出。所以我們沒有再重複這種維生素 C 的實驗。我們又買了含有發泡錠的維生素 C，結果很容易溶解，但是太酸，所以植物很快就枯萎了。我們接著改良這種溶液，把溶液調整 pH 值。結果發現實驗結果和實驗室用的維生素 C 相類似。不過噴灑後，葉子比較深綠色。而且抑制花梗伸長的效果比較不顯著。10 mM 的處理組和對照組開花時間差異不顯著，20 和 35 mM 的處理組會稍微抑制開花，但是花梗會持續生長。不像實驗室的維生素 C 抑制效果那麼好。50 mM 的處理組，會抑制植物開花。但是葉子沒有出現枯黃的現象（圖十五 A、B）。開花時的葉片數目，各處理濃度和實驗室用的維生素 C 相類似。



圖十五、噴灑藥房買的維生素 C 後，阿拉伯芥的開花情形。A. 噴灑十天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

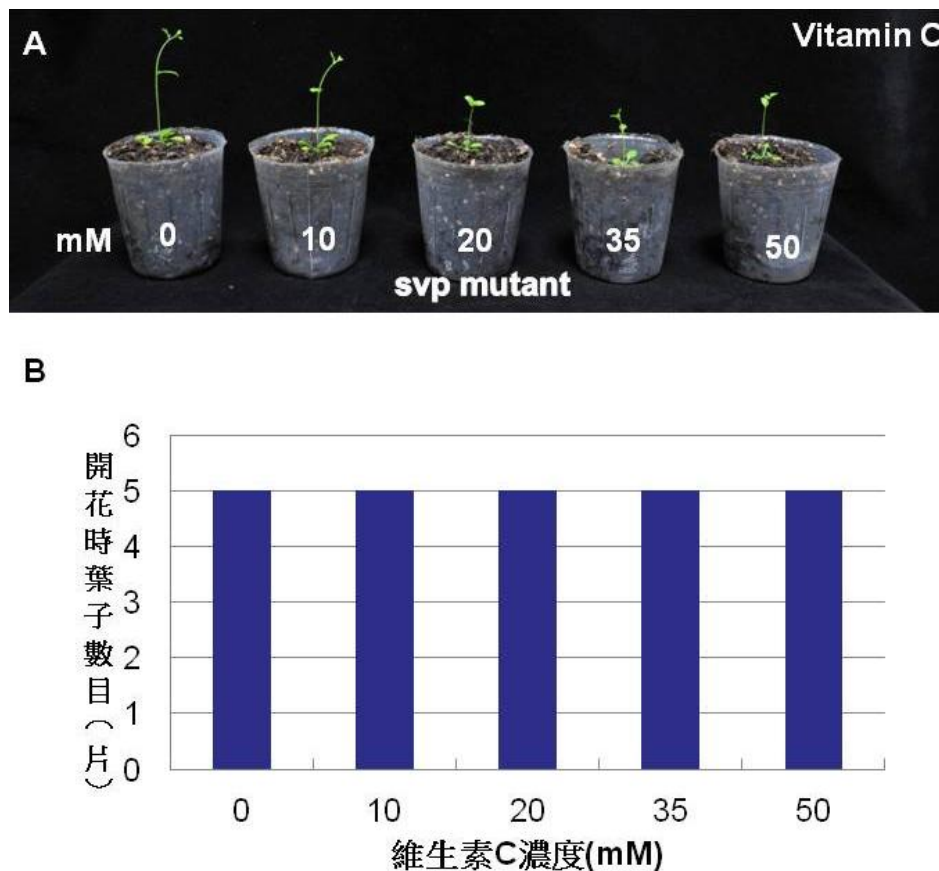
在阿拉伯芥上發現維生素 C 可以抑制開花，我們也在矮牽牛上噴灑維生素 C。第一次實驗時，噴灑一個半月大的植物，植物一直看不到差異。要到兩個月大才看到對照組陸續開花，而且不同濃度的處理組，葉子都開始有枯萎的現象。所以我們改用兩個月大的植物作噴灑。結果發現，對照組四天後就有花苞了。10 mM 則因為濃度較低，開花週期雖受影響，但並未完全抑制植物開花；20 和 35mM 則稍微抑制植物的開花，但是花苞還是會出現。50 mM 則是抑制植物開花（圖十六）。這個結果表示維生素 C 也能抑制矮牽牛植物開花。



圖十六、噴灑維生素 C 後矮牽牛的開花情形

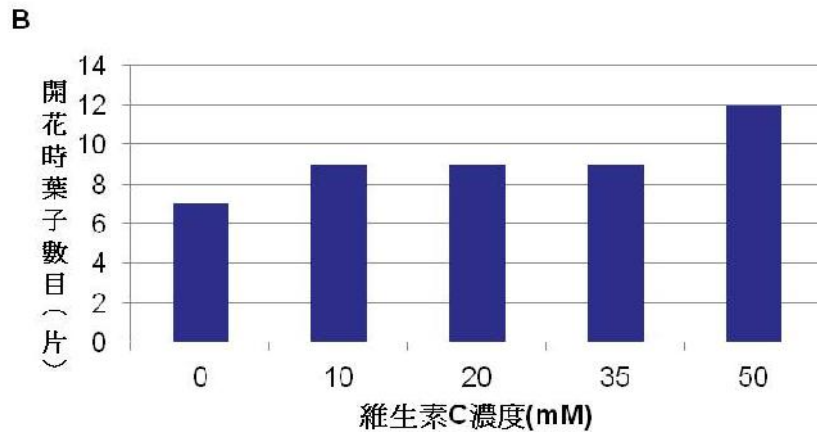
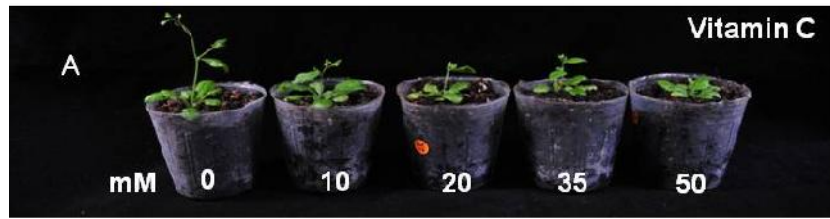
三、維生素 C 對早開花突變植物的影響

爲了瞭解維生素 C 對早開花突變株是否也有影響，我們對幾種早開花突變植物做相類似的實驗。因爲第一次作實驗時，svp 植物在五片葉子時，就有花苞出現了。所以第二次實驗，svp 植物有四片葉子時，我們開始進行實驗。10、20 和 35 mM 雖有因爲濃度升高而漸漸抑制植物生長，但到 50 mM 的效果不但沒有被抑制，居然還比 35 mM 花開得更明顯（圖十七 A），對照組和不同處理濃度都是在五片葉子時有花苞出現（圖十七 B），實驗結果發現維生素 C 並不會抑制 svp 突變株的開花。由此可知，這個基因被破壞後，植物會提早開花，但是維生素 C 並不能抑制這個突變植物開花（維生素 C 在野生型植物上會抑制開花），或許 svp 是活性氧影響植物開花的重要基因。



圖十七、噴灑維生素 C 後，svp 突變株的開花情形。A. 噴灑十天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

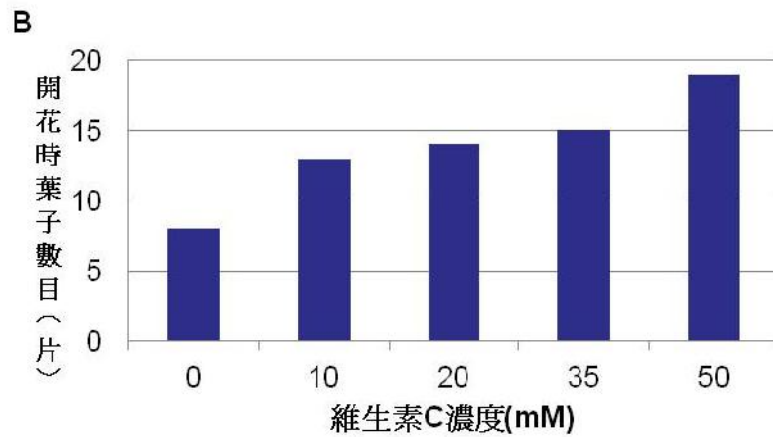
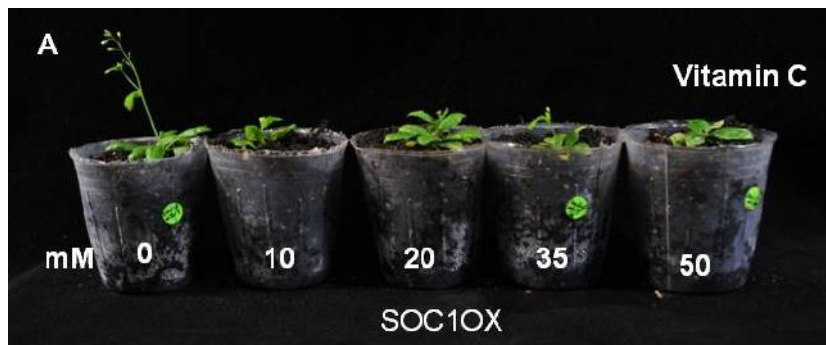
我們在 flc 植物五片葉子時做維生素 C 噴灑實驗，10、20、35 和 50 mM 有稍微抑制植物開花（圖十八 A）。高濃度維生素 C 在對 flc 植物的葉子生長也有抑制效果。這個突變植物，對照組大約在七片葉子時就有花苞產生。但是 50 mM 維生素 C 會抑制花梗的生長，所以我們在植物較大的時候，才拍照。對照組植物在七片葉子時出現花苞，10、20、35 mM 在九片葉子時有花苞，50 mM 在十二片葉子時有花苞（圖十八 B）。這個結果表示 FLC 基因可能跟維生素 C 抑制開花沒有很直接關係。



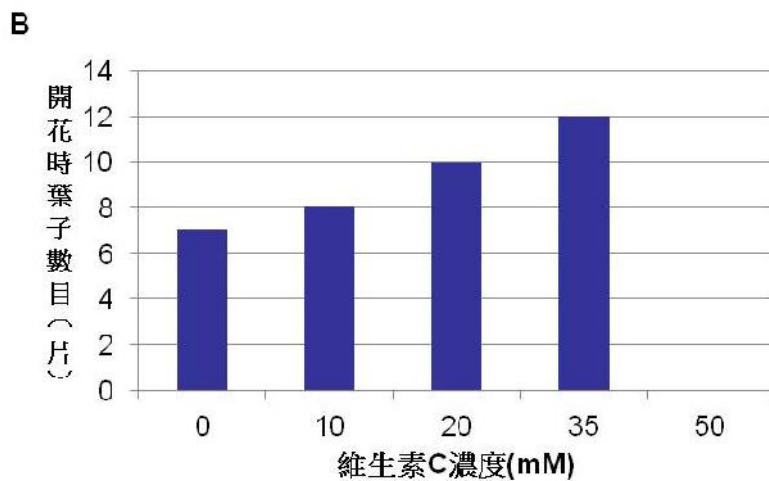
圖十八、噴灑維生素 C 後，flc 突變株的開花情形（照片是植物較大時照的）。A. 噴灑二十天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

從附錄一可以知道 SOC1 是開花基因 LEAFY 的上游基因，它會促進 Leafy 基因的表現，所以持續表現 SOC1 基因會使轉殖阿拉伯芥提早開花。噴灑實驗發現，對照組大約 7 片葉子就開花了。而所有的維生素 C 濃度都有抑制開花的效果（圖十九）。處理 10 mM 的植物在 12 片葉子時有花苞出現。20 mM 的植物在 14 片葉子時出現花苞。35 mM 則是 15 片葉子出現花苞。50 mM 則在 18 片葉子會有花苞出現（圖十九 B）。這個結果表示持續表現 SOC1 基因的植物，會受到維生素 C 的抑制開花作用，與野生型處理維生素 C 相同。

從附錄一可以知道 FVE 是開花抑制基因 FLC 的上游基因，它會阻止 FLC 的表現。所以持續表現 FVE 會使轉殖阿拉伯芥早開花。實驗結果發現，對照組很快就開花了（六片葉子），10 mM 的效果跟對照組相類似，也很快開花。20 mM 的維生素 C 有稍微的抑制開花效果，35 mM 則是晚了兩到三天，但是花苞仍會繼續生長。50 mM 的效果，植物開花會完全抑制（圖二十 A、B）。處理 10 mM 的植物在七片葉子時有花苞出現。20 mM 的植物在九片葉子時出現花苞。35 mM 則是十四片葉子出現花苞。50 mM 一直到我們結束實驗也沒有出現花苞（約兩個月）。這個現象和野生型處理維生素 C 一樣，表示 FVE 沒有參與活性氧促進開花。



圖十九、噴灑維生素 C 後 SOC10X 植物的開花情形。A. 噴灑十天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

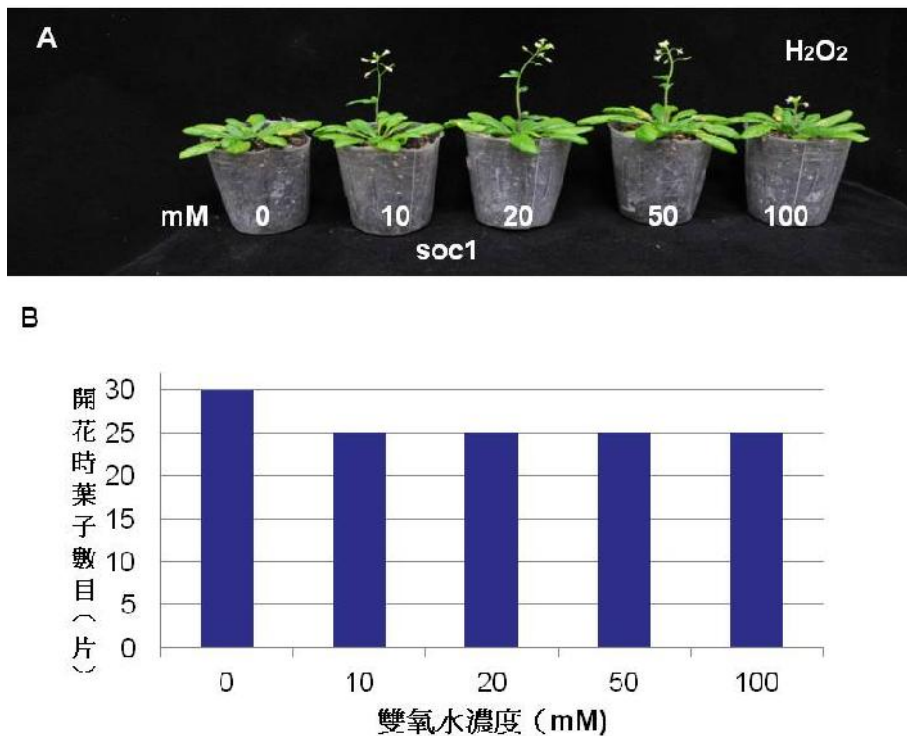


圖二十、噴灑維生素 C 後 FVEOX 植物的開花情形。A. 噴灑十天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

四、 H_2O_2 對晚開花突變植物的影響

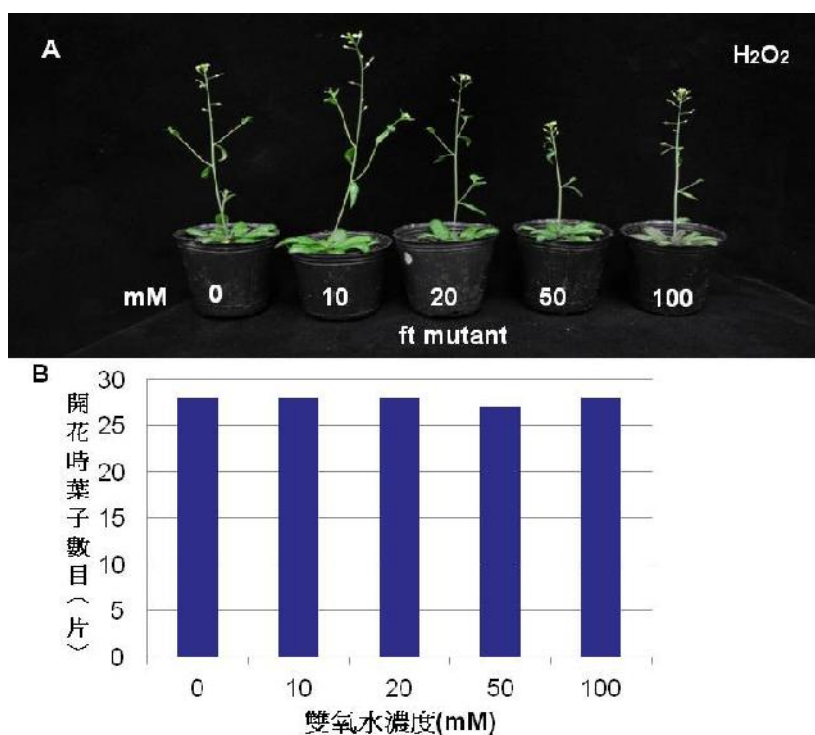
既然維生素 C 可以抑制早開花的植物開花，那麼雙氧水可不可以促進晚開花的植物早一些開花。我們利用了幾種晚開花的植物作實驗。ag124 本來是晚開花的突變植物，但是我們種植後，發現和野生種植物沒有太大差異。都在同時間開花。所以，我們就沒有做後續實驗。因為是在最初作的實驗，所以也沒有照相。

另外 soc1 突變株是晚開花，我們在長日照狀況下噴灑雙氧水。結果發現，0 mM 對照組在 30 片葉子時有花苞產生，10 mM 雙氧水就有很好的促進開花效果，在 25 片葉子時有花苞產生。20 和 50 mM 的效果跟 10 mM 的效果差不多，20 mM 是在 25 片葉子時有花苞產生，50 mM 也是 25 片葉子產生花苞。反而是 100 mM 在 25 片葉子時就產生花苞，但是 100 mM 雙氧水會抑制花梗伸長（圖二十一 A、B）。



圖二十一、噴灑 H_2O_2 後，soc1 突變植物開花的情形。A. 噴灑七天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

在 ft 突變植物實驗時，所有的處理都無法抑制植物開花。這些處理之下，實驗組和對照組都是在相近的時間內開花（圖二十二 A）。不同濃度的雙氧水噴灑，實驗組都和對照組相類似，在葉子約 28 片時有花苞產生（圖二十二 B）。我們認為雙氧水無法促進這個晚開花的突變植物開花，代表這個基因突變後，失去這個基因的功用，雙氧水的促進開花的效果也不明顯。這個結果表示雙氧水的促進開花的效果可能跟 FT 這個基因有關。



圖二十二、噴灑 H_2O_2 後，*ft* 突變植物開花的情形。A. 噴灑七天後植物的情形。B. 不同濃度噴灑，植物出現花苞時的葉子數目。

陸、討論

一、低濃度雙氧水可以促進植物開花，低濃度維生素 C 可以抑制植物開花

我們的實驗結果證實雙氧水可以促進植物開花，而且不僅在阿拉伯芥植物中看到效果，在矮牽牛中也有相類似的效果。只是在矮牽牛植物上，噴灑的量要比較多。而維生素 C 處理則有相反的效果，噴灑 50 mM 的維生素 C 會對阿拉伯芥和矮牽牛植物都有抑制開花的效果。植物遭受逆境後，會產生活性氧 (ROS)， H_2O_2 (雙氧水) 是活性氧的一種，而維生素 C 可以抑制活性氧 (蔣永正, 2011)。所以我們的實驗結果說明低濃度的雙氧水可以當作活性氧來促進開花。這可能是輕微逆境時，植物不至於死亡，但是這種逆境告訴植物，環境可能不適合繼續生長，所以要趕快開花繁殖後代，以利於植物綿延生存。但是高濃度的活性氧就會造成毒害，使植物死亡。相反的，維生素 C 的實驗結果表示維生素 C 可以抑制開花，而維生素 C 又會抑制植物體內的活性氧，這可能是低濃度的維生素 C 抑制活性氧後，植物以為環境很好，可以繼續生長，所以本來應該開花的時間，植物也不開花，而繼續生長。也代表說活性氧濃度如果很低，像 10 mM 雙氧水處理，植物是感受不到訊號而不開花。但是高濃度維生素 C 會抑制生長，使得植物停止生長。我們也發現有研究指出，綠豆幼苗或蝴蝶蘭的幼苗以過氧化氫進行前處理，再接受低溫的逆境可以得到保護，而減輕低溫的傷害 (Yu et al., 2002)。

二. SVP 可能參與在活性氧誘導開花的途徑

雖然我們無法收集到所有可能的突變植物 (Ehrenreich et al., 2009)，但很幸運的，我們得到了幾種跟開花有關的突變植物。我們共獲得了兩種早開花的阿拉伯芥突變植物 (*svp* 和 *flc*)，

三種持續表現開花基因而早開花的阿拉伯芥植物(持續表現 FVE (FVEOX)、SOC1 (SOC1OX)、AGL24 (AGL24OX))。晚開花的植物是 soc1、ft 和 agl24 等突變株。我們就利用這些植物來做雙氧水和維生素 C 的噴灑實驗。首先，我們對早開花植物做雙氧水噴灑實驗，但是發現噴灑後，每一種處理(10、20、35 和 50 mM)和對照組都會同時開花。所以對早開花的植物來說，雙氧水的處理不明顯。所以，我們就只對早開花植物噴灑維生素 C，看看維生素 C 抑制開花的效果是不是也會在早開花植物中出現。如果某一個基因並不參與這些反應，那麼這些突變植物對於雙氧水或是維生素 C 的效果會跟野生型植物一樣。換句話說，某個基因突變後，植物就失去了這個基因的功能。如果這個基因是重要的參與基因，而野生型植物已經有反應，那麼噴灑實驗應該就不會對這個突變植物有效。結果令我們很高興，整個實驗結果來看，沒有受到維生素 C 處理抑制開花的突變植物(svp)，我們認為 svp 突變植物對於維生素 C 的抑制開花都沒有反應，這個結果表示這個基因參與維生素 C 抑制開花的過程，但是我們仍需要更進一步的實驗，才能證明是不是如同我們所推論的一樣。而持續表現 FVE 或是 SOC1 的植物結果也告訴我們，持續表現這些基因仍然會受到維生素 C 的抑制開花影響，表示這兩個基因可能沒有參與這個抑制開花的調節。

三.FT 可能也參與活性氧(雙氧水)促進開花的過程

晚開花噴灑雙氧水的實驗，所獲得的結果跟野生型植物的噴灑濃度不盡相同。晚開花植物能夠在 100 mM 濃度下正常生長，並且開花。可能的原因是晚開花植物大都比較健壯，葉子比較厚，所以可能比較能夠耐受高濃度的雙氧水，並且也可以開花。但是促進的效果還是以 20 - 50 mM 較好。我們也發現 ft 突變植物本來晚開花，但是噴了雙氧水後，相較於對照組並沒有促進開花，這也代表 FT 基因被破壞後，雙氧水促進開花的效果不見了，表示 FT 可能也參與活性氧(雙氧水)促進開花的過程，目前我們並不知 FT 基因是如何參與這個過程的，還需要進一步研究才能知道。其它晚開花的植物受到雙氧水促進開花的情形，都跟野生型植物反應一樣，表示這些基因並沒有參與這個過程。當然如果我們有更多突變植物，實驗後，也許我們的推論會更正確。

總而言之，我們利用雙氧水來模擬植物體內的活性氧，而低濃度的活性氧可以促進開花。利用維生素 C 抑制植物體內的活性氧濃度，來達到降低植物體內的活性氧，進一步來抑制開花。我們的實驗清楚的證明活性氧是輕微逆境下的一個訊號，這個訊號告訴植物何時該開花，何時該繼續生長。

柒、結論

一、低濃度活性氧促進開花的及低濃度維生素 C 抑制開花的結果可以應用在某些花卉中，調節花期，達到分散開花時間的效果

冬天晚上從台中坐高鐵回台南的路上，在田尾附近常可以看到，菊花農會利用夜間開燈來抑制菊花開花，這是因為菊花是短日照植物，冬天日照較短，所以要開燈來延長日照，這個處理雖然很有效但也浪費能源。如果我們的維生素 C 抑制開花的實驗結果，也可以應用到菊花的開花控制，那麼可能可以節約能源。但是要克服的是濃度的實驗和大面積噴灑的問題。夏天時，花農會用遮陰來縮短日照時間促進開花。我們的雙氧水實驗結果，可以促進植

物開花。如果也能應用到花卉培育中，那麼效果應該也不錯。

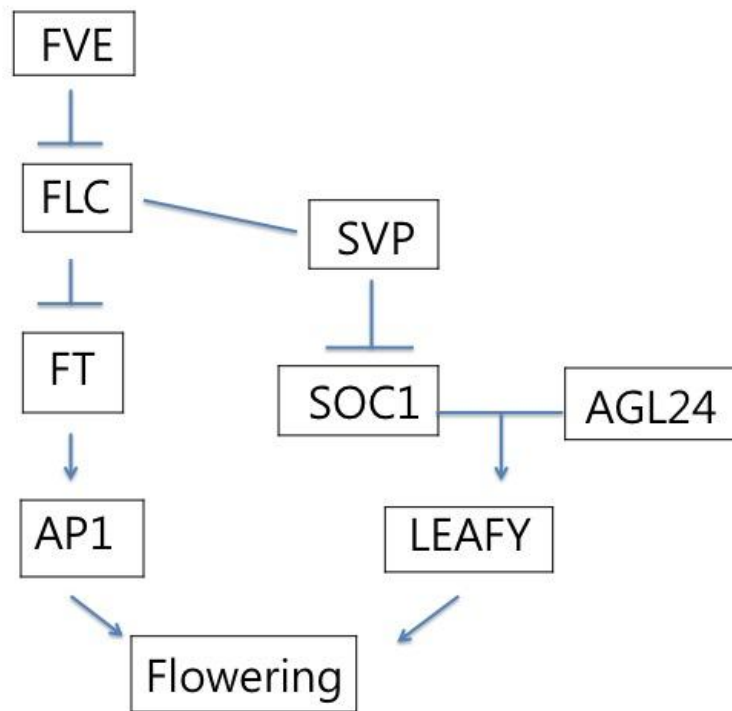
二. 嘗試找尋更便宜或更有效果的化學藥品來達到相同的結果

雖然維生素 C 可以抑制活性氧，而且維生素 C 抑制開花的效果也很好。如果我們實驗時間還可以增加的話，我們應該再加做其它種抗氧化劑，例如維他命 E 類及胡蘿蔔素是否會抑制植物開花。如果仍然也有抑制開花的效果，那麼低濃度活性氧可以充當訊號來促進植物開花，抑制植物體活性氧可以抑制開花的假說，基礎就更穩固了。

捌、參考資料

1. 阿拉伯芥。維基百科。
<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E9%98%BF%E6%8B%89%E4%BC%AF%E8%8A%A5>
2. 花粉。維基百科。<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%8A%B1%E7%B2%89>
3. 逆境開花 --- 植物的開花機制。
<http://tw.myblog.yahoo.com/lansan-lansan/article?mid=5861&prev=5873&next=-2&page=1&sc=1>
4. 菊屬。維基百科。<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%8F%8A%E8%8A%B1>
5. 黃信端 (2005)。H₂O₂ 對水稻根部細胞生長及對其 MAPK 活性之研究。94 年度高級中學基礎科學資優人才培育計畫期末報告。
6. 蔡任圃 (2009)。揪出開花素的本尊 - 開花素是 mRNA 還是蛋白質? 科學月刊, 479, 885-857。
7. 蔣永正 (2011) 植物對環境逆境之調控與應用。農情與農政。第 231 期。
<http://www.coa.gov.tw/view.php?catid=24091>
8. 潘子明 (2012) 農業生物技術大躍進。正確認識基因改造作物, 邁向綠色永續未來。作物永續發展協會出版。
9. Ehrenreich, I., Hanzawa, Y., Chou, L., Roe, J.L., Kover, P.X. and M.D. Purugganan (2009). Candidate gene association mapping of Arabidopsis flowering time. *Genetics* 183:325-335.
10. Higgins, J.A., Bailey, P.C., and Laurie, D.A. (2010). Comparative genomics of flowering time pathways using *Brachypodium distachyon* as a model for the temperate grasses. *PLoS One* 5: 10065.
11. Oh, S.K., Baek, K.H., Seong, E.S., Jung, Y.H., Choi, G.J., Park, J.M., et al. (2010) CaM-siB2, pepper methionine sulfoxide reductase B2, is a novel defense regulator against oxidative stress and pathogen attack. *Plant Physiol.* 154: 245-261.
12. Yu, C.-W., Murphy, T.M., Sung, W.-W., and C.-H. Lin. (2002). H₂O₂ treatment induces glutathione accumulation and chilling tolerance in mung bean. *Functional Plant Biology* 29:1081-1087.

附錄



附錄一、阿拉伯芥控制開花的不同途徑（由 Higgins et al., 2010 簡化修改）。

【評語】 030304

本研究探討受活性氧自由基物質調控的開花機制，實驗規劃符合邏輯性，執行情形亦良好，且有初步成果，值得鼓勵。

建議本研究能對開花機制的參考文獻做更深入的瞭解，並針對活性氧訊號與 svp 及 ft 基的關係設計實驗，加以探討，預期能對作用機制有更明確、清楚的瞭解。