

中華民國第 55 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

佳作

030309

養我育我的部落勇士

—探討小米（becenge）的生存之秘

學校名稱：臺南市私立德光高級中學(附設國中)

作者： 國三 楊茜雯 國三 巴洛克 國三 陳奕婷	指導老師： 江芝韻 林恆生
---	-----------------------------

關鍵詞：小米、逆境、耐鹽

壹、摘要

我們蒐集了 10 個不同栽培種的小米，並模擬的小米在生長時可能遇到的逆境，觀察小米在黑暗、土壤鹽鹼化、淹水、乾旱的生長情況。結果顯示，小米能在缺水 20 天的情況下生長，但是卻無法在太潮溼或鹽分過高的環境中生存。此外，我們從中篩選出兩種耐鹽小米與兩種不耐鹽小米，它們在鹽逆境下皆能透過鈣離子來調節小米的抗鹽反應，且在根部皆有過氧化氫累積現象，然而耐鹽小米能透過累積更多花青素、較高的過氧化酶與過氧化氫酶活性來提升耐鹽小米的抗氧化能力，增加其存活率。我們的實驗能夠讓大家更加了解小米，並幫助原住民了解小米生長狀況不佳的可能原因，未來我們將篩選出的兩種耐鹽小米作為種原，期望培育出更耐鹽的小米品系。

貳、研究動機

小米是大多數原住民的主食，在台灣山地也可收集到許多不同的栽培種。在山區中，我們發現當地耕地普遍沒有如平原肥沃，而且當地耕地是有許多石頭的梯田地形，這讓我們非常好奇，究竟為什麼小米在當地的環境中可以生長良好，而小米的逆境承受力又能達到多少？不同栽培種的小米是否對逆境有著不同的反應？所以我們上網搜尋且與當地耆老和老師討論種植時常見的逆境，設計了黑暗逆境、鹽逆境、淹水逆境與乾旱逆境。以便測試小米的逆境承受力與改良小米種植方法和環境，並測試不同栽培種對逆境的反應差異，試圖找出逆境耐受性較高的小米栽培種，並試圖解開其耐受性佳的背後秘密。

參、研究目的

- 一、觀察小米的成長歷程
- 二、觀察小米在不同環境中的生長情形
- 三、觀察小米在各逆境中的存活狀況
- 四、比較不同種類逆境下，小米生長狀況及逆境表現情形觀測
- 五、分析與比較數據及繪圖的紀錄
- 六、從不同小米栽培種中篩選出耐鹽小米與不耐鹽小米
- 七、比較耐鹽小米與不耐鹽小米在鹽逆境下的生理差異
- 八、探討耐鹽小米為何能較耐鹽的背後秘密

肆、研究設備及器材

一、研究材料：小米(*Setaria italic*)(表一)












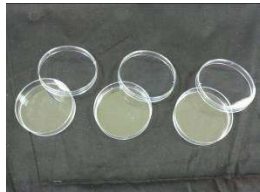




表一、本實驗研究生物



小米(*Setaria italic*)

二、實驗器材：

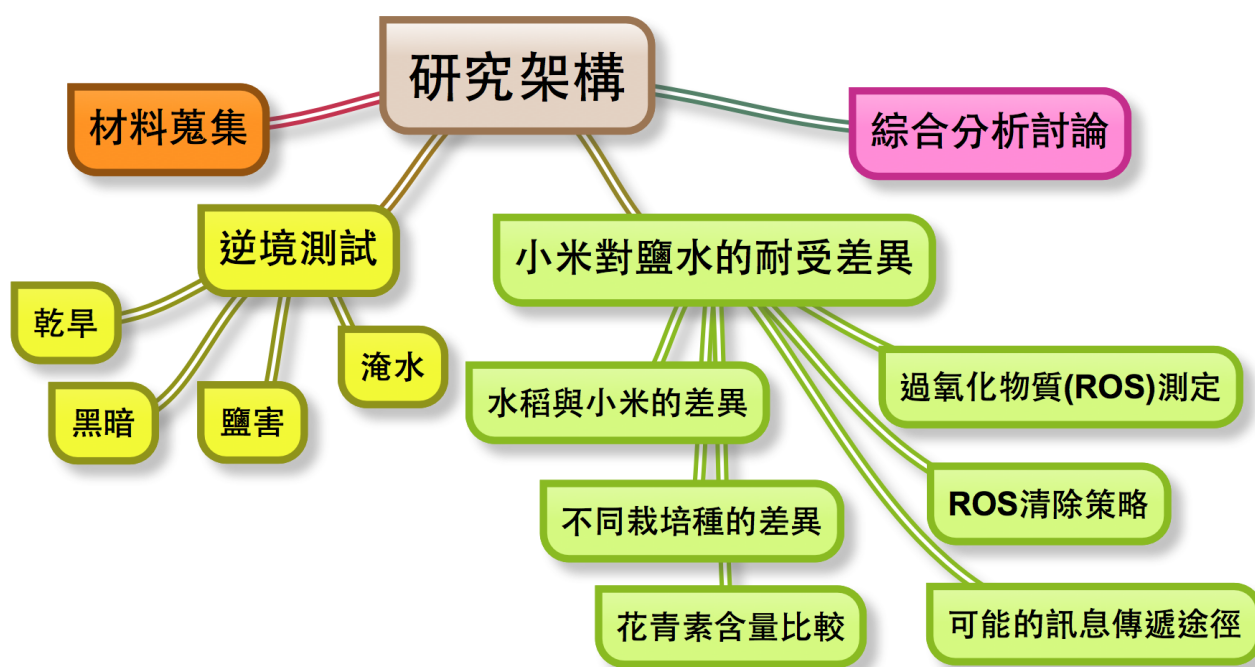
表二、實驗器材

			
小米	1ml微量吸管	1ml微量吸管尖頭	試管架
			
淺盤	植物生長燈	燒杯	擦手紙巾
			
鋁箔紙	秤量紙	數位相機	培養皿
			
橡膠手套	解剖顯微鏡	收納盒	燈管

			
塑膠血清瓶	盆栽	量筒	鑷子
			
桌上型電腦	油性極細簽字筆	電子天平	標籤紙

三、實驗藥品：蒸餾水(ddH₂O)、DAB、氯化鈉、氯化鈣、EGTA。

伍、研究過程或方法



(圖一)研究架構流程圖

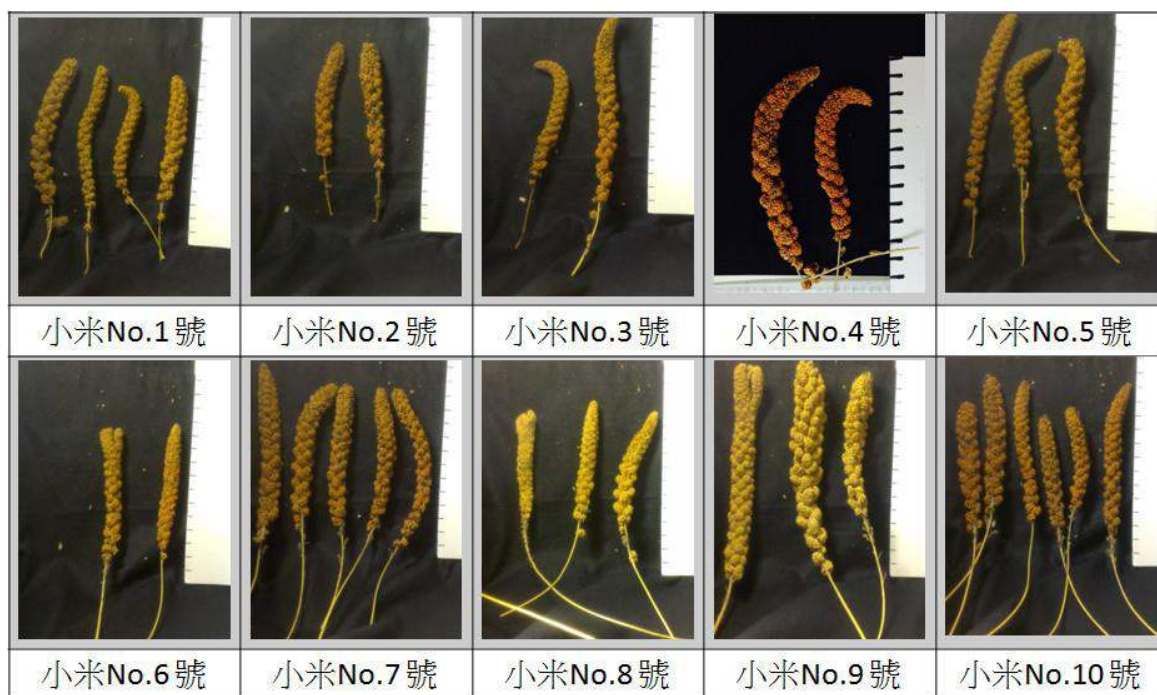
表三、研究時程表

	2014年			2015年						
	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月
文獻搜尋	■									
小米種植	■									
外型觀察記錄	■									
環境偏好測試		■								
逆境實驗進行			■							
資料統計		■								
綜合分析討論							■			
口頭報告									■	

一、準備工作—蒐集種子、了解山區環境：

(一)種子來源：

(圖二)各類小米分類對照表



我們蒐集完從山區部落取得的小米種子後，卻發現：它們卻有不同的顏色、大小、種子形狀。我們將小米分為 10 類。

二、觀察、比較不同時期的小米外表形態之異同。

三、觀察小米在正常耕作條件下的生長情形—

(一)利用自製植物保護網及塑膠布使種植環境保持 20°C 。



(圖三)自製植物生長箱圖



(圖四)自製植物生長箱圖

四、配製出種植用培養土—

動機：為了成功種植植物，必須配置出適合種植的培養土泡製流程：

表四、種植用培養土配製流程表



四、幼苗培育實驗—

(一)準備盆栽或是燒杯並將處理好的培養土置入其中

(二)利用放大鏡/解剖顯微鏡為工具，挑選出外觀完整的種子

(三)將外觀完整的種子置入盆栽或燒杯中，每個容器植入 10 顆種子，並置入含有土壤 250g 及水 125g 的容器中。(表五)

表五、幼苗培育實驗步驟



五、配製出鹽逆境的鹽水—

動機：為了模擬出鹽逆境，必須泡製適當濃度的鹽水，以討論小米的逆境表現狀況

六、稻米的催芽一

- (一) 將水稻用 2.5% 的次氯酸鈉殺菌且置入量筒以機器搖動 15 分鐘，再用 5 分鐘清洗一次，共清洗三次。
- (二) 將清洗完畢的水稻種子放入已加水的培養皿中，小麥 10ml、水稻 20ml。
- (三) 再將水稻放在 37 度三天。

七、小米的催芽一

- (一) 我們則將 2、4、6、8 號的小米各放入 64 顆種子進培養皿中且催芽 2 天。
- (二) 將小米移植到清水和 1.2% 的鹽逆境下。

八、小米加鈣實驗一

- (一)、 我們將催芽兩天的小米計算發芽個數，然後移植到不同的環境中，分別是 CTL、0.6% 鹽水、5mM EGTA、5mM Ca^{2+} 、0.6 鹽水+5mM EGTA、0.6 鹽水+5mM Ca^{2+} 、0.6% 鹽水+5mM Ca^{2+} +5mM EGTA

九、過氧化物含量測定

- (一)、 取直徑 3 公分培養皿，加入 10ml 的染劑(0.1g DAB 溶於 10mM 50ml MES)。
- (二)、 用夾子輕輕將植物夾至培養皿中，並確認其已浸泡在液體中。
- (三)、 用拭鏡紙鋪上，確保組織持續泡在藥劑中，利用抽氣幫浦抽真空 10 分鐘。
- (四)、 抽氣完畢，利用 95% 酒精，加熱退染。

十、抗氧化酵素活性測定

(一)、 小米蛋白質萃取

1. 秤取 0.05g 的小米樣本。
2. 將小米樣本用液態氮磨成粉末。
3. 樣本刮起後放置 1.5ml 離心管中。
4. 加入 200 μ l 的蛋白質萃取液(50mM 磷酸鉀緩衝溶液, pH7.0 / 1mM EDTA)，樣本與萃取液混合均勻。
5. 在 4°C 下，以 17800g，離心 10 分鐘。
6. 上清液吸出，並打入新的 1.5ml 離心管，在置於冰上。

(二)、 樣本蛋白質濃度測量

我們使用了 Bio Rad 公司出產的 *DC*TM Protein Assay，來測定樣本中蛋白質含量

1. 取蛋白質萃取液 2 μ l 與 Reagent A 100 μ l 混合。
2. 加入 Reagent B 800 μ l 均勻混合，並靜置 15 分鐘。
3. 將液體吸到比色管中，用分光光度測量 750nm 波長下的吸光值。
4. 讀值利用公式換算，得到樣本中蛋白質值的濃度。

(三)、 過氧化酶(Guaiacol Peroxidase, G-POD)活性測量

1. 取離心管，並加入 0.5ml 100mM 磷酸鉀緩衝溶液(pH7.0)，在加入 0.25ml 的蒸餾水與 0.1ml 2.5%愈創木酚。
2. 加入 2 μ l 的蛋白質萃樣本，混和均勻。
3. 加入 0.1ml 10mM 過氧化氫。
4. 快速將液體倒入比色管中，測量 470nm 在第一分鐘吸光值變化。
5. 將讀值除以蛋白質濃度後，得活性。

(四)、 過氧化氫酶(Catalase, CAT)活性測量

1. 取離心管，並加入 990 μ l 50Mm 過氧化氫溶液。
2. 加入 10 μ l 的蛋白質樣本，混合均勻。
3. 液體倒入比色管測量 240nm 第一分鐘吸光值變化。
4. 將讀值除以蛋白質濃度後，得活性。

十二、拍照記錄與測量根長

- (一) 使用 imageJ 測量根長

十一、分析、整理與比較數據及繪圖的紀錄。

陸、研究結果

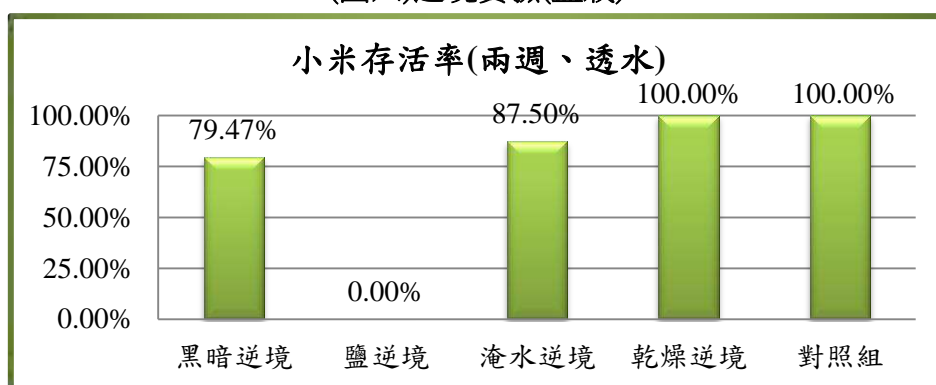
一、觀察小米的成長歷程：



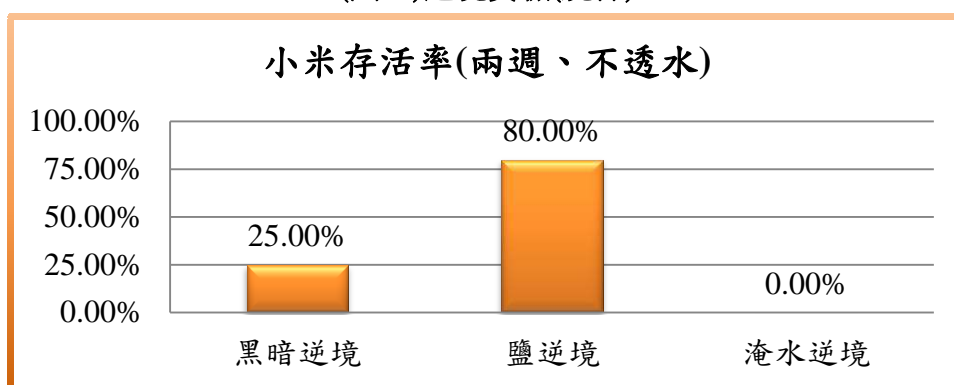
(圖五)可知：第 2 天，幼苗長出了一片葉子；到第 5 天，葉片明顯更成熟，根系較長；7 天大時的營養葉較成熟，部分則有第二片營養葉將發育；9 天大時，第 2 片營養葉發育完成，葉片更大，根系更明顯，第三片葉子準備發育，此時可以開始進行表現影響的實驗。

二、小米在各逆境中生存率之討論：

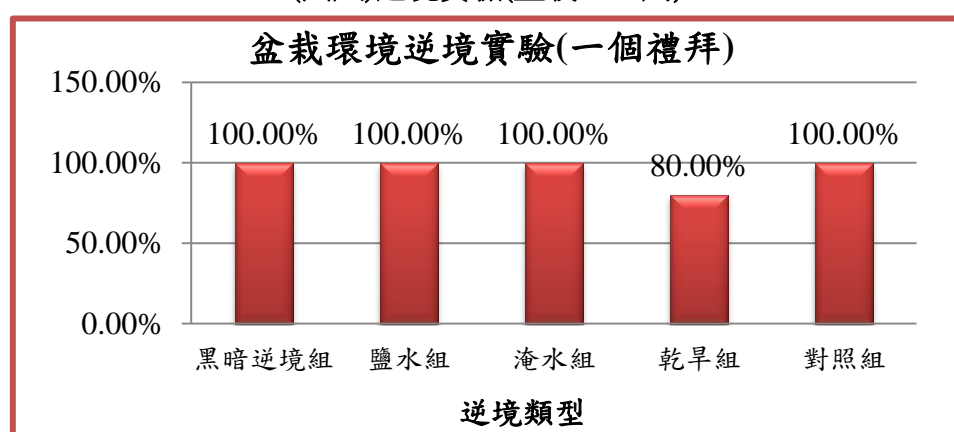
(圖六)逆境實驗(盆栽)



(圖七)逆境實驗(燒杯)



(圖八)逆境實驗(盆栽、一周)



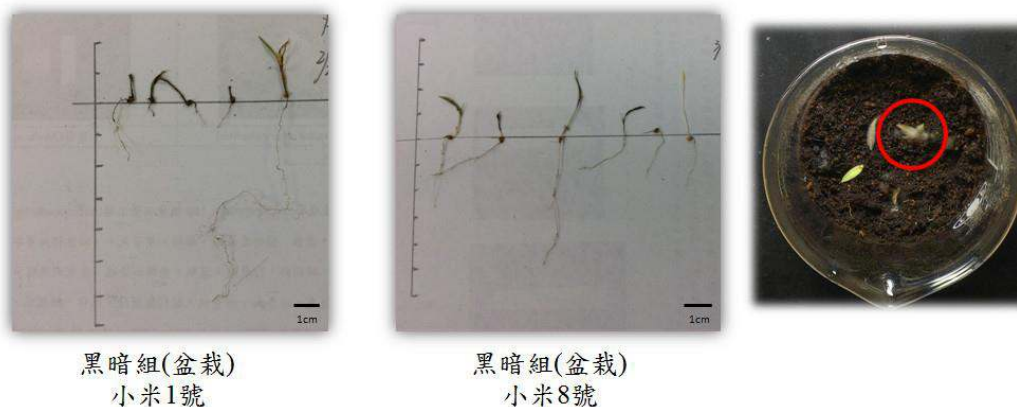
由(圖六)(圖七)(圖八)可知，小米在兩週逆境的處理下，特別是鹽水與淹水逆境會使之無法存活，但是若是短時間(一周逆境)，則存活率仍然很高。此外，盆栽(透水)與燒杯(不透水)環境下，小米對抗鹽逆境的表現有很大的不同，推測可能是因為在不透水環境下，水分沒有流失，可以維持較低的鹽度，讓小米不至於過度嚴重脫水所致。

三、觀察小米在各種逆境下的生長情形

(一)觀察小米在黑暗逆境下的生長情形：

在黑暗中，小米生長極差，除此之外還有發霉現象，葉長及根系都沒有明顯成長。發黴可能是：1. 無日照空氣潮濕，且少了紫外線殺菌，因此造成了小米與土壤表面發霉。2. 在陰暗中，無法行光合作用，使植物體抵抗力下降，且環境潮濕易發黴，植物缺乏抵抗力去對抗黴菌，甚至癱軟枯死。(圖九)

(圖九)小米在黑暗逆境下的生長情形

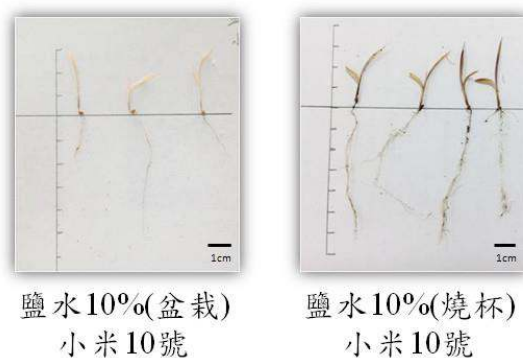


例如 1 號組個體都很矮小，植物軟爛，還會徒長，植株莖葉部分不超過土表 2 公分；8 號組小米在黑暗逆境中也會呈現植物體軟爛和徒長，此外莖很細長，較有日照的小米來得瘦小。

(二)觀察小米在鹽逆境下的生長情形：

易枯萎且土壤上有鹽結晶。實驗初期無明顯差異，但 3 天後，卻開始枯萎，一周不到，完全乾枯死亡狀態 (圖十)。

(圖十)小米在鹽逆境下的生長情形



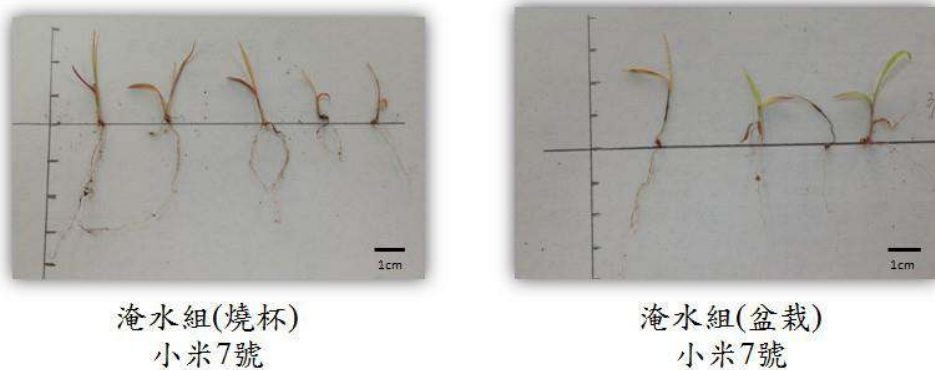
盆栽環境中會呈現整株小米乾枯的現象；在燒杯環境中則會呈現花青素累積的現象。由此可知：在排水良好環境下，多餘的水分會排出，使鹽分累積在土壤中，會導致整株植物體乾枯；但若排水不良，因大部分的水分並無排出環境中，因此鹽分濃度不高，不至於讓植物死亡，但仍有花青素累積現象。

(三) 觀察小米在淹水逆境下的生長情形：

分為排水良好與排水不良環境兩種：盆栽底部具有排水功能的小孔，短時間的積水不至於而造成生長不佳的，但若是持續加水，使盆栽的排水速率不及加水的速率，也是會有植物體軟爛的狀況。

燒杯組的淹水組的小米因為排水效果不佳，植物全株淹沒在水中，最後植物會軟爛死亡。(圖十一)

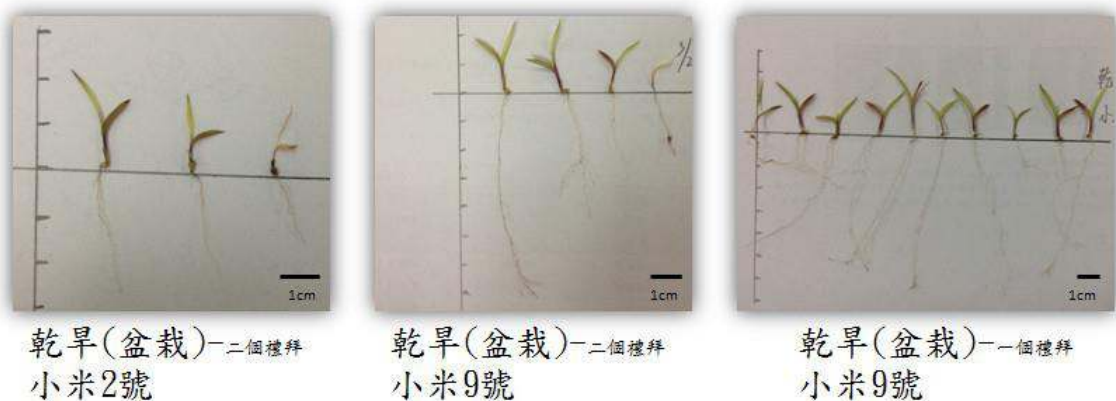
(圖十一)小米在淹水逆境下的生長情形



(四) 觀察小米在乾旱逆境下的生長情形：

土壤蓄水力較佳，導致小米在短時間內不因為缺少水分而死亡，但是時間過久，小米還是會呈現缺水的狀況，而導致葉片乾枯、露出土表的體積不大卻有深且廣的根系。幼苗期遇到乾旱會致死，但若在小米成長後期，則可以耐住較長期乾旱，甚至發現，兩周都不澆水還能順利結穗，對乾旱的耐受性很強。(圖十二)

(圖十二)小米在乾旱逆境下的生長情形

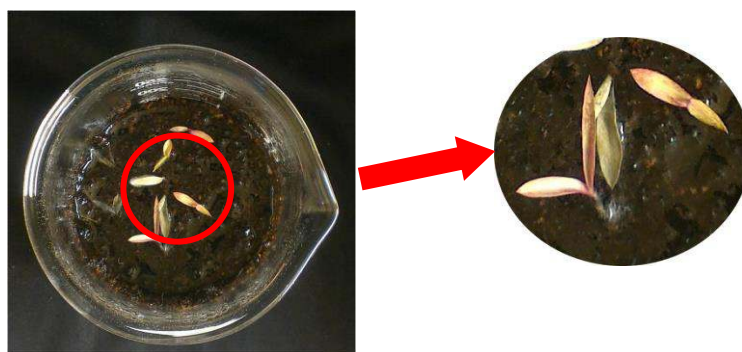


根據上圖可知，2號小米在乾旱逆境中的根長較9號短，平均只有2.6公分比9號小米的3.75公分短1.15公分；而兩者皆會在乾旱逆境中呈現花青素累積以及乾枯的現象。

根據時間長短去觀察小米的逆境表現可以發現：小米 9 號在一個禮拜的乾旱逆境中花青素累積較不明顯，而大部分營養葉都還是呈現綠色；而在兩個禮拜的乾旱逆境中可以發現小米的花青素累積更加明顯，甚至有小米呈現乾枯的情形。因此可以推測出當小米在逆境中的時間愈久，小米的逆境表現會更加明顯，例如花青素累積的面積增加，甚至達到營養葉乾枯的情形，有些還會達到整株乾枯而死的狀態

(五) 實驗：觀察植物特殊反應

在種植植物的過程中，我們發現一個特殊的現象：植物花青素累積。針對這個特殊現象，我們的觀察如下：



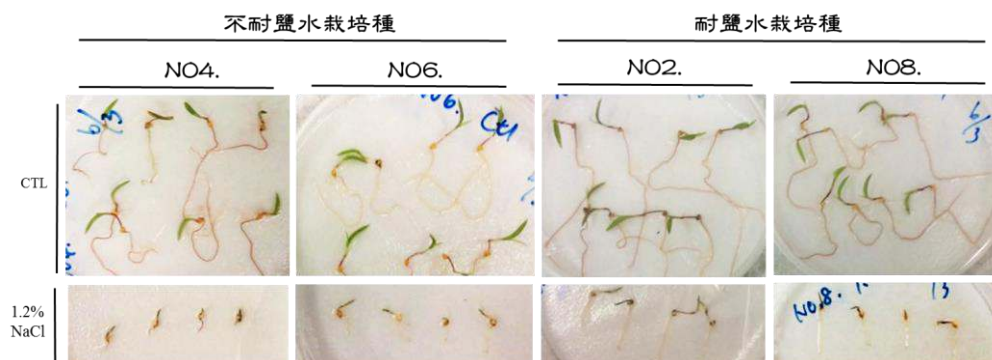
(圖十三)小米花青素累積

研究過程中，我們發現小米在多天的淹水、乾旱的逆境中都會出現葉片、莖變紫紅色的狀態，後來發現是花青素的累積，而與老師討論後我們發現植物在一些逆境中都會有不同的表現狀況，而我們推測花青素激增是因為小米在過於乾旱的環境中導致可溶性糖過多，而乾旱可能是因水份過少而導致無法溶解植物中的可溶性糖，使其轉變為花青素，使花青素在葉片中持續累積，導致植物的葉片變為紫紅色。(圖十三)

五、探討不同栽培種(cultivar)的小米對鹽水的耐受性差異

(一) 不同栽培種小米對鹽水的耐受性測試

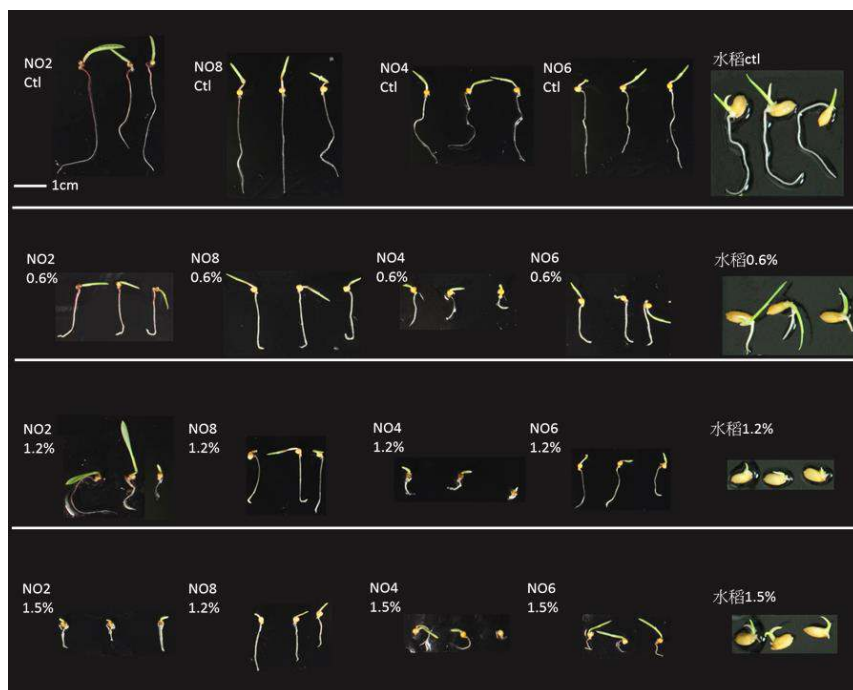
(圖十四、篩選耐鹽小米與不耐鹽小米)



由上圖(十四)可知：當不耐鹽的小米種類種植在含鹽量 1.2% 的鹽水中時，其小米根長會大幅變短，如小米 4 號、小米 6 號；而若是較耐鹽的小米種類放在 1.2% 的鹽水中，其小米的根長簡短幅度則較小，如小米 2 號、小米 8 號。然後我們可以看到，不耐鹽的小米根長縮減的比耐鹽的小米根長縮減還要多，小米 4 號的根長只剩一點，而 8 號小米的根長較長。

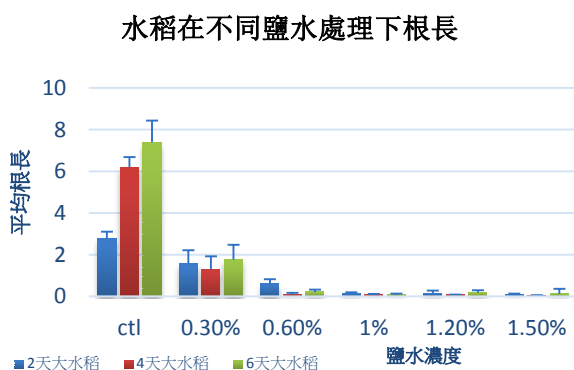
(二) 比較水稻與小米在鹽水環境下的生長差異

(圖十五、水稻與小米在鹽水下的生長狀況)

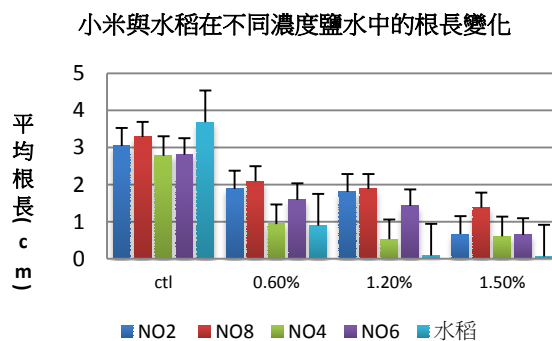


圖(十五)則是我們比較水稻與小米在不同鹽逆境下的根長變化。可以看到，不論是水稻或是小米，根長都會隨著鹽濃度越高而根長越短。在此其中，還可以發現 2 號與 8 號小米是最耐鹽水的，而 4 號與 6 號則較不耐，最不耐的是水稻。

(圖十六、水稻在鹽水下的根長)



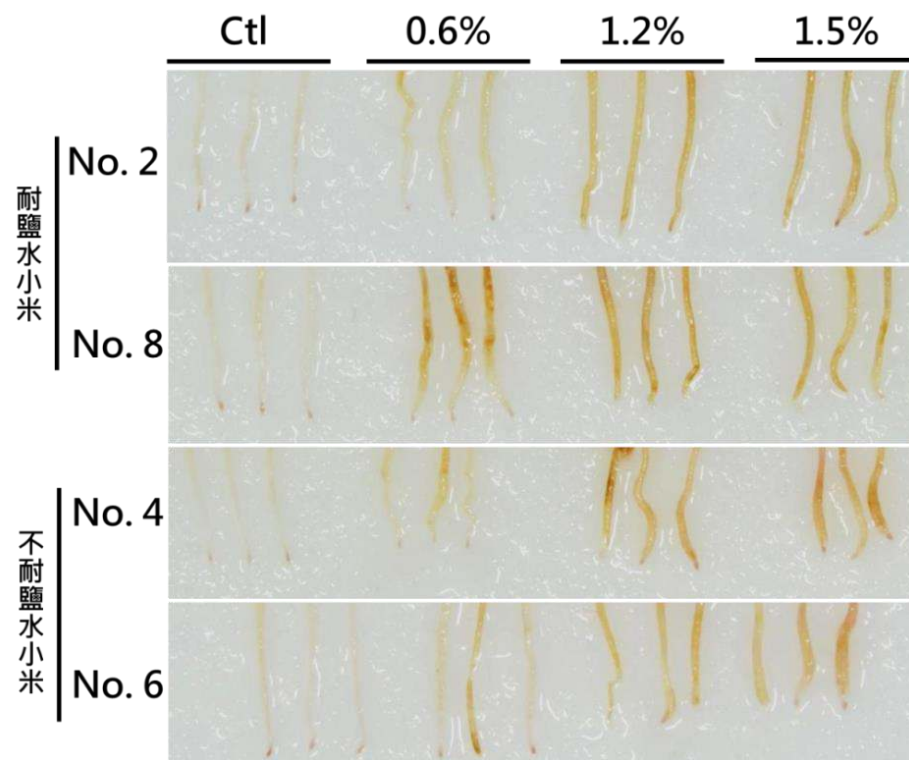
(圖十七、小米與水稻在鹽水下的根長)



由圖(十六與十七)中我們可以看到，2 號以及 8 號小米其生長狀況較佳，在低濃度鹽逆境下有較明顯的花青素累積。而鹽逆境濃度越高，小米根長越短，花青素累積則愈不明顯；生長較差的 4 號和 6 號，根長較短，但其花青素累積不明顯；水稻則是肉眼無法觀察到花青素累積的情形。

(三) 鹽水環境下小米的過氧化物質(ROS)含量測定

經討論並且閱讀文獻後，我們得知在逆境下植物常會累積大量過氧化物質(ROS)，可氧化細胞膜、蛋白質、核酸等，影響植物生長。我們好奇小米在鹽逆境下是否也會累積過氧化物，因此進行以下實驗。



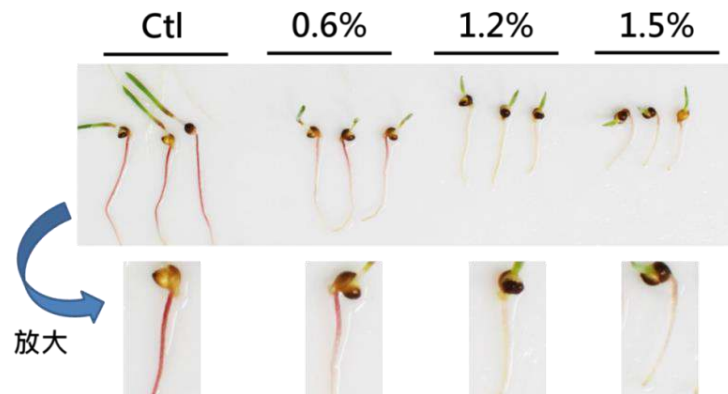
(圖十八、小米處理鹽逆境後過氧化氫含量測定)

我們將選用耐鹽水小米與不耐鹽水小米進行鹽水處理，三天後，將小米樣本利用 DAB 藥劑，DAB 能與過氧化氫反應還原成深咖啡色的物質，圖中咖啡色越深代表含有越多過氧化氫。

實驗可知，不論耐鹽水小米或不耐鹽水小米，在處理三天後，根部皆有過氧化物質累積的現象。鹽處理下除了會讓小米根部累積過氧化氫之外，我們發現不耐鹽水小米在 1.2% 鹽處理三天後，其根部會變粗變肥大，而耐鹽水小米則無此現象，推測可能是不耐鹽水小米因感受到的生存壓力較大，特意增加根部厚度，來阻隔外在的環境壓力。

(四) 不耐鹽水栽培種與耐鹽水栽培種的花青素含量比較

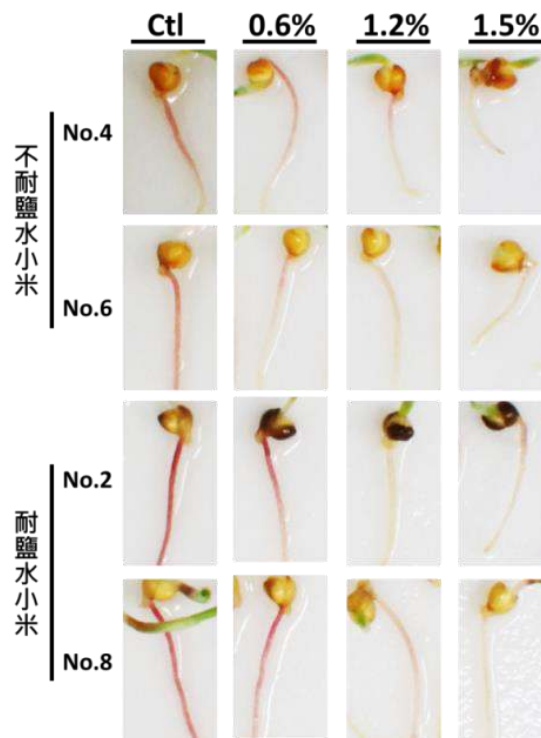
小米該如何應付過氧化氫呢？我們發現小米根部會有紫紅色的花青素，而花青素為多酚類的一種，因結構中攜帶 OH 基而具有抗氧化力，因此我們將小米進行鹽處理，並觀察根部花青素的含量變化。如圖(十九)，我們可以觀察到，越高濃度的鹽水下，小米花青素含量越少。對照組中，小米整株根都充滿花青素；但隨著鹽水濃度上升，花青素含量則會減少。



(圖十九、小米處理鹽逆境四天後觀察根部花青素)

(五) 不耐鹽水與耐鹽水的小米根中花青素比較

如圖(二十)我們可以看耐鹽水小米在對照組時，花青素含量比不耐鹽水小米還高，隨著鹽水濃度上升，雖然花青素含量皆會下降，但耐鹽水小米的下降幅度較小。



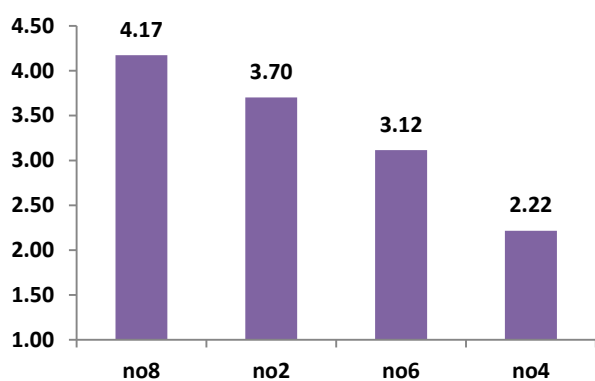
(圖二十、不同栽培種小米處理鹽逆境後觀察根部花青素)

(六) 比較不耐鹽水栽培種與耐鹽水栽培種在過氧化物質上的清除策略

在濃度超過 0.6% 的鹽逆境處理 3 天後，小米根部會累積過氧化物質。討論查詢發現清除過氧化物質的酵素(抗氧化酵素)會負責清除植物體內的過氧化物質，減少其氧化壓力。過氧化酶(Peroxidase, POD)與過氧化氫酶(Catalse, CAT)皆能將過氧化氫分解成水與氧氣，以降低植物體內的氧化壓力。我們好奇不耐鹽水與耐鹽水小米栽培種在鹽處理後，抗氧化酵素的活性變化使否有差，因此進行了過氧化酶與過氧化氫酶的活性測量。

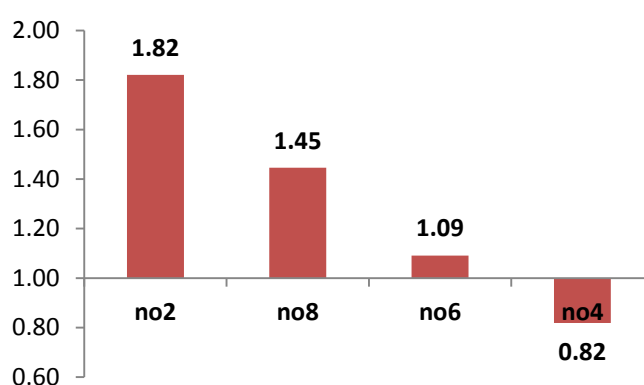
(圖二十一、過氧化酶活性變化)

處理前後過氧化酶(POD)活性上升倍數



(圖二十二、過氧化氫酶活性變化)

處理前後過氧化氫酶(CAT)活性上升倍率



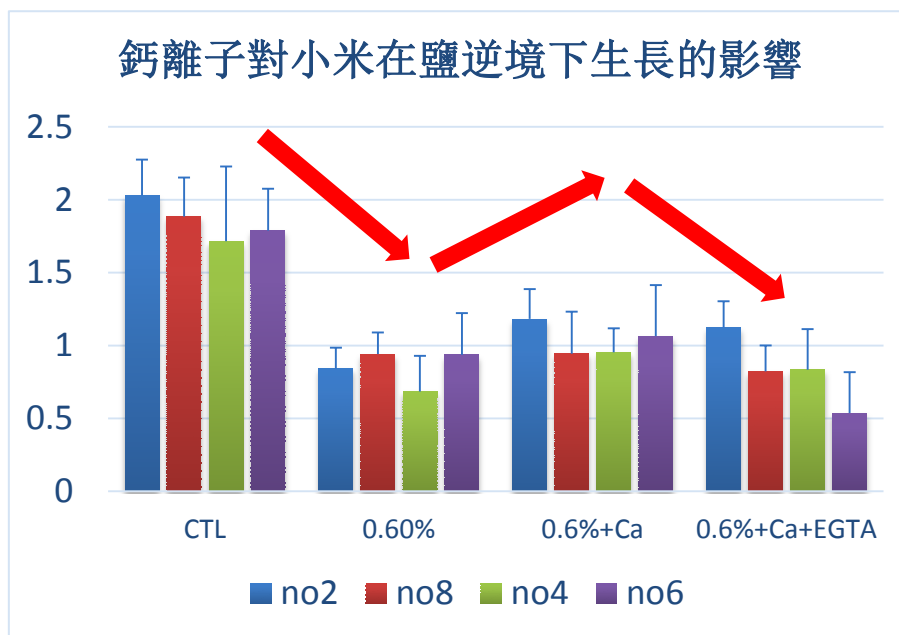
我們將小米處理 1.2% 鹽水三天，萃取蛋白質，並測量過氧化酶與過氧化氫酶的酵素活性變化。如圖(二十一)的結果，不論是耐鹽或不耐鹽的小米栽培種，在 1.2% 鹽水處理三天後，過氧化酶活性皆上升兩倍以上，耐鹽栽培種 2 號與 8 號活性上升倍數分別為 3.7 與 4.17 倍，不耐鹽的栽培種 4 號與 6 號則上升 2.22 與 3.12 倍。同樣的處理，但耐鹽栽培種的過氧化酶活性比起不耐鹽栽培種更高，我們推測可能是因為耐鹽栽培種在鹽逆境下，過氧化酶擁有較高的活性，能抵抗小米在鹽逆境下的氧化傷害，提升小米存活率。

此外，根據過氧化氫酶在 1.2% 鹽水處理三天後的活性變化，如圖(二十二)，我們發現耐鹽栽培種的過氧化氫酶活性有上升的趨勢，但不耐鹽栽培卻沒有活性上升的趨勢，4 號小米的過氧化氫酶活性甚至會下降。藉此推測氧化氫酶能有效提升耐鹽栽培種在鹽逆境下的存活率，不耐鹽栽培種則氧化氫酶無法在 1.2% 鹽逆境活性上升，所以較不耐鹽。

(七) 探討小米在鹽水環境下可能的訊息傳遞途徑

在鹽水處理下，小米的根長縮短，此外，根的型態也有些許變化，變的短胖，讓我們很好奇想知道為什麼？跟老師討論後，尋找資料，我們查到根部型態會改變，主要是因為細胞骨架有改變，進而造成根部型態的變化，使得根部變短腫脹。而植物細胞骨架會受到一些訊息傳遞途徑的調控，鈣離子就是植物細胞內很常見的一個訊息傳遞分子，所以我們設計相關實驗來探討？

(圖二十三、鈣離子對鹽逆境下小米的生長影響)



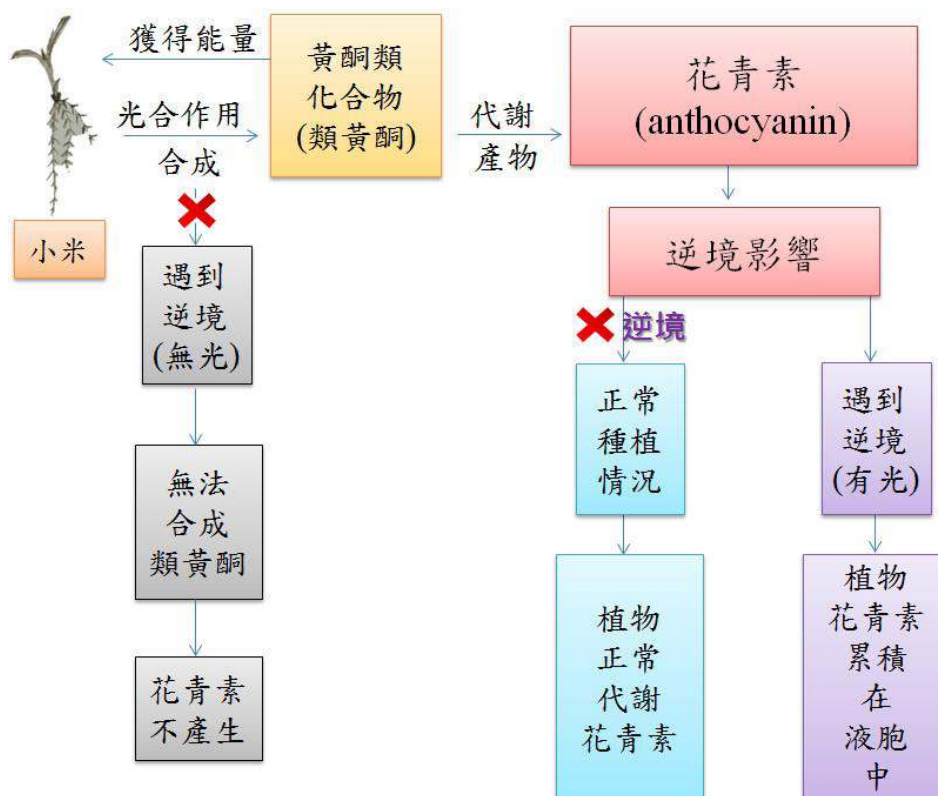
我們分別對四個栽培種的小米進行了對照組、鹽水處理(0.6%NaCl)、鹽水加鈣(0.6%NaCl+5mM CaCl₂)和鹽水加鈣與鈣離子螯合劑(0.6%NaCl+5mM CaCl₂+5mMEGTA)等四種處理，如圖(二十四)我們發現，和對照組相比之下，加入鹽水處理的小米根長會降低，而在鹽水處理下，若加入鈣離子，則可以讓植物的根長些許增加，但是若加入將鈣離子螯合的 EGTA，則會使得根長生長較短。

柒、討論

(一) 植物的怪現象：原來是植物逆境時的表現

種植小米時；若溫度過高的話，小米葉片會變乾，降低植物枝條生長速率及根系發展。同時，我們觀察到花青素累積的現象。經過閱讀文獻與觀察小米生長狀況後，花青素會累積在葉片，可能是因為植物代謝類黃酮後，產生花青素，同時又遇到逆境，使得花青素累積在液胞中。但在黑暗逆境中卻無法觀察到花青素累積現象，我們推測植物缺乏光線，以致於無法產生類黃酮，所以花青素也不會產生了。

(圖二十四)花青素累積原因



(二) 以演化的角度來討論水稻與小米在耐鹽策略的不同

實驗結果顯示小米比水稻擁有更高的鹽水耐受性，同樣是根長抑制一半的鹽水濃度，水稻是 0.3%，但小米卻是 0.6%，由此可知小米比水稻更佳耐鹽。

小米與水稻同為禾本科植物，但對於鹽逆境的抵抗能力卻差異很大，我們認為可能是小米與水稻的生存環境差異，使得兩者在演化上產生不同。小米生活環境較乾燥，長期演化下來，讓小米能演化出耐旱的能力，水稻則無。但為什麼擁有耐旱能力的小米亦能夠耐鹽呢？我們回想起上課老師說過的滲透壓的概念，在缺水環境下土壤的滲透壓會上升讓植物在水份吸收上產生困難，而小米因為長期生活在乾燥的環境，因而演化出可以在高滲透壓土壤中吸收水分的能力。鹽會增加土壤的滲透壓，讓植物吸收水分產生困難，小米可能已演化出一套高滲透壓環境的應對機制，水稻則無，導致小米比水稻耐鹽。

(三) 過氧化物在鹽逆境下扮演的角色

與老師討論並查閱資料，我們了解植物在鹽逆境下細胞內常會累積大量的過氧化物，包含了次氯酸、超氧陰離子、過氧化氫等等，它們會在細胞內氧化細胞膜、蛋白質、核酸等等，進而影響植物生長。

我們在實驗中發現，小米在鹽逆境下在根部累積過氧化氫。我們認為是因為根部是直接於鹽水接觸的部位，使得過氧化氫在根部累積現象特別明顯，而小米根部的氧化壓力提升，應會造成根部產生氧化傷害，使得根長受到抑制。

過氧化物除了會對植物造成氧化傷害以外，我們從文獻中發現，過氧化物也可能扮演細胞內的訊息傳遞分子，當植物遇到逆境時，過氧化物含量會上升，植物可藉由感受過氧化物的含量，來得知逆境已經來臨，進而啟動植物的抵抗機制。小米是否能藉由感受過氧化物含量來得知鹽逆境來臨？是我們未來想去了解的問題，我們將嘗試在鹽逆境處理之前，讓小米浸泡低濃度的過氧化氫，來看看是否能提升小米對鹽逆境的耐受性。

(四) 為什麼小米在遇到鹽水逆境時花青素會消失呢？花青素在鹽逆境下的角色

小米是如何應付鹽害下根部的氧化傷害呢？實驗過程中我們看到其根部會有紫紅色的花青素，而隨著鹽處理的濃度越高，根部花青素含量反而有下降的趨勢，到底花青素消失原因為何，累積的目的又為何？

經過上網查證，我們得知花青素為多酚類的一種，因結構中攜帶 OH 基而具有抗氧化力，因此我們認為小米對環境耐受性較佳的原因，可能是因為其平時能在根部累積花青素，來提升小米在逆境下的抗氧化能力，相較於水稻，其根部沒有明顯花青素累積現象，這也說明為何小米相較於水稻擁有較佳的鹽耐受性。花青素會隨著鹽水濃度越高在小米根部含量則會越少，我們猜測花青素作為抗氧化物質使用後，可能會改變結構而喪失其本來的顏色。

我們篩選出不耐鹽水(4 號、6 號)與耐鹽水小米(2 號、8 號)，而耐鹽水小米平時的花青素累積現象較不耐鹽水小米更多，在 0.6%的鹽逆境下，耐鹽水小米根部能可看到花青素，但不耐鹽水小米則不明顯，我們推測耐鹽水小米可能是因為花青素累積較多，藉以增加其抗氧化能力，提升對鹽逆境的耐受性。

(五) 耐鹽與不耐鹽的小米栽培種在鹽逆境下的抗氧化能力比較

實驗過程中，我們發現小米 2 號、8 號的花青素累積較多，而小米 4 號、6 號則累積較少，從此結果我們推論小米 2 號、8 號之所以較耐鹽水，可能是因為花青素的累積較多，進而提升其對於氧化壓力的耐受性，增加耐鹽能力。

我們與老師討論並且查閱資料，從中了解植物體內具有一套清除過氧化物的酵素，稱做抗氧化酵素，他們負責在植物體內清除過氧化物，減少植物在逆境下的氧化壓力。

過氧化酶(Peroxidase, POD)與過氧化氫酶(Catalse, CAT)是抗氧化酵素的一員，它們能將過氧化氫分解成水與氧氣，藉以降低植物體內的氧化壓力。從過氧化酶活性測定結果顯示，同樣是 1.2% 鹽水處理三天，但耐鹽小米的過氧化酶活性比起不耐鹽小米來的更高，我們推測耐鹽小米可能是因為其在鹽逆境下，過氧化酶擁有較高的活性，藉以抵抗小米在鹽逆境下的氧化傷害，提升小米存活率。

除了過氧化酶的活性具有差異外，過氧化氫酶的活性在不耐鹽水與耐鹽水小米間也具有特別的差異，我們發現鹽逆境下耐鹽小米的過氧化氫酶活性有上升的趨勢，但不耐鹽小米則無，其中 4 號不耐鹽小米的過氧化氫酶活性甚至會下降。我們認為過氧化氫酶能有效提升耐鹽小米在鹽逆境下的存活率，而不耐鹽小米可能因為過氧化氫酶無法在鹽逆境下活性上升，導致其較不耐鹽。

(六) 是誰告訴小米鹽逆境來了呢？

我們從上網查閱資料發現，鈣離子也是植物體內非常重要的訊息傳遞分子。在植物遭受逆境時，植物細胞內會累計大量鈣離子，界已告知逆境來臨。

我們的實驗結果顯示，小米在 0.6% 的鹽水逆境下，根長生長會抑制一半，但我們將鈣離子與鹽水同時處理小米，可以觀察到小米根長會略微增加，另外我們加入 EGTA 螯合鈣離子，則小米根長又會降回 0.6% 鹽水處理的長度。從以實驗結果我們推論，鈣離子應參與小米在鹽水逆境下的訊息傳遞過程，透過外加的鈣離子可以增加小米對逆境的耐受性。

(七) 為什麼小米的根在鹽水逆境下會變胖呢？

根據實驗結果，我們可以知道隨著鹽濃度上升，小米的根長會縮短，而我們也看到根有變粗的現象，讓我們非常好奇地想知道根的縮短變胖(腫脹)，是有什麼原因呢？經過與老師討論與文獻搜尋，我們得知，植物細胞的生長，主要藉由細胞吸水與細胞壁擴張兩個機制來進行，而細胞壁的擴張會決定植物組織和器官的形狀。植物細胞壁主要是由纖維素和果膠構成的複雜網狀結構，其合成會受到細胞骨架(cytoskeleton)所影響，當細胞骨架中的酵素或是蛋白質受到外界環境因子的刺激時，就可能會影響到植物細胞壁的合成，進而造成細胞形態改變，最後我們就會看到植物組織或是器官的形態有所改變。此外，文獻也有提到過，鈣離子能調控植物細胞的細胞骨架結構改變的機制，未來我們將設計了一組實驗，探討加入鈣離子之後，是否會影響小米根部的結構是否產生變化。

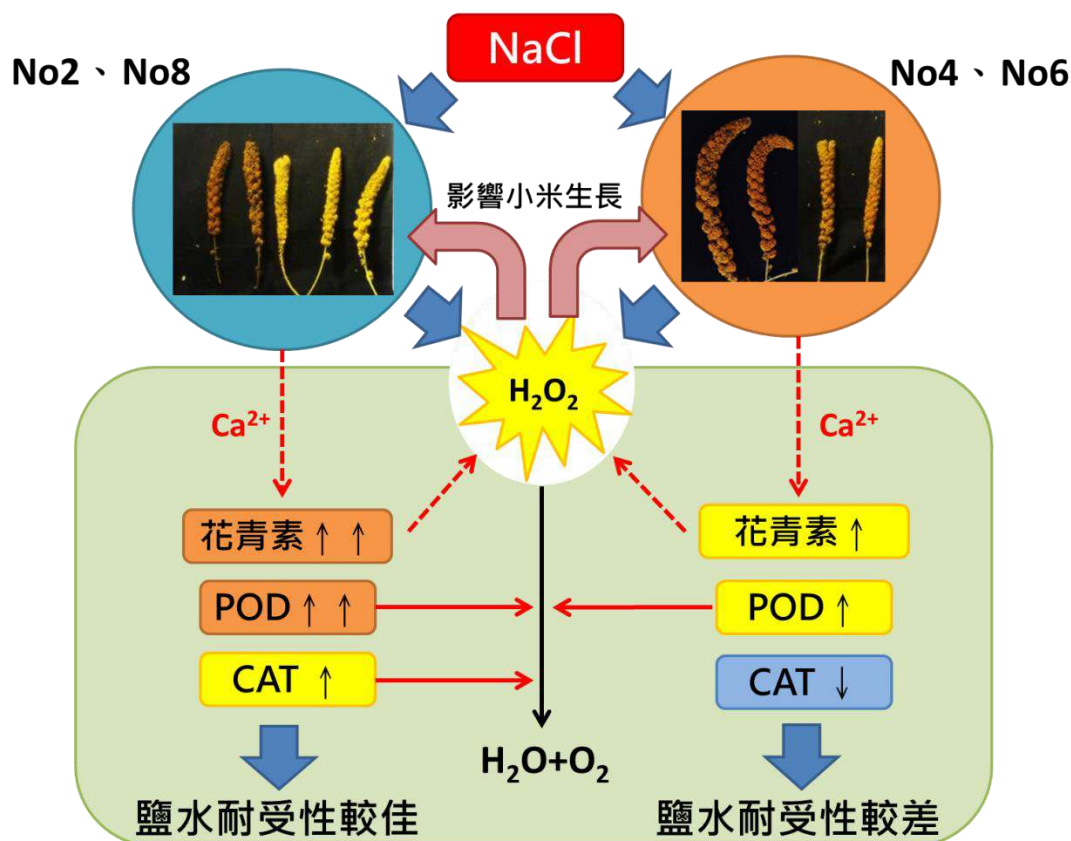
五、未來展望之討論：

根據本實驗的結果，我們總結出小米是較適合生長在較為乾旱的土壤中。而根據我們實驗結果來看，植物在缺少日照加上溼度過高的狀態下會造成小米較容易發霉的情形，因此我們可以建議小米要種植在排水良好的環境下，避免小米因為颱風的暴雨造成淹水導致影響收成。這次實驗中我們很幸運能篩選到較耐鹽害的小米栽培中，並也做了實驗分析，得知耐鹽種小米擁有較高的抗氧化能力，未來希望在更深入的探討耐鹽與不耐鹽小米在其他耐鹽機制上的差異，並能將耐鹽小米作為育種的種源，利用雜交育種來提升小米的耐鹽能力。

我們也在閱讀文獻時發現有一篇論文是在說活性氧是一種負責傳遞植物體內訊息的一個角色：包括生長、發育、生物反應以及逆境刺激，因此我們希望我們以後可以針對小米體內的活性氧是否有參與小米在逆境下的訊息傳遞做更深入的研究，用以了解小米的過氧化物在鹽逆境所扮演的角色。除了過氧化物質的功能探討以外，我們也會對小米在鹽逆境下根部增肥的現象做更進一步的研究，未來將進行小米的根部切片，利用顯微鏡觀察小米在鹽逆境下根部組織的結構變化，用以了解小米在鹽逆境下根加粗的原因與目的。

捌、結論

(圖二十五、研究示意圖)



在這次實驗中，我們發現小米較能忍受短期淹水與乾旱的情況，因此我們推測忽然增大的水量對於小米並無立即致死的傷害，但若是在長期泡水的狀況下，小米則無法生存。另外，小米也能夠忍受短期黑暗，但長期黑暗則會發霉而死；相較於上述逆境，乾旱的情況下，小米則是生存地很好。可是在高濃度的鹽逆境下，小米會因為過多的鹽分而導致植物體脫水，最後枯萎死亡。總之，種植小米適合在排水良好、通風好、鹽度低的環境，短期降大雨或是在生長後期的乾旱都不至於讓其致死。

同樣是禾本科植物，小米比起水稻擁有更好的鹽水耐受性。我們也在實驗中篩選出耐鹽水小米(2號、8號)與不耐鹽水小米(4號、6號)，不論是耐鹽水或不耐鹽水小米在鹽逆境下皆有過氧化物質累積現象，並能藉由鈣離子來啟動抗鹽機制，但耐鹽水小米擁有較多的花青素，而在抗氧化酵素活性測定實驗中，我們發現在鹽逆境下，耐鹽水小米的過氧化酶與過氧化氫酶比不耐鹽水小米來的更高，由此可推論耐鹽水小米在鹽水逆境下應有更佳的抗氧化能力，藉以增加其在鹽水逆境下的耐受性。

最後我們希望以後如果有機會，希望多加宣導並讓大眾了解且一起改良小米的種植方式與種植環境，讓種植小米時可以更容易且提高生存率，並可利用我們篩選出來的耐鹽水小米栽培種進行小米育種工作，期待能育出更耐鹽害的小米。另外也透過比較耐鹽與不耐鹽小米在鹽逆境下的反應，解開耐鹽小米背後的祕密。

玖、參考資料及其他

1. 維基百科小米
(無日期)<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E5%B0%8F%E7%B1%B3>
(取自民國 103 年 11 月 26 日)
2. Plant Responses to Drought, Acclimation, and Stress Tolerance (November, 2000)。
<http://link.springer.com/article/10.1023/A:1007201411474>(取自民國 104 年 4 月 5 日)
3. Foxtail millet: a model crop for genetic and genomic studies in bioenergy grasses(September,2003)。
<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/07388551.2012.716809>(取自民國 104 年 4 月 5 日)。
4. ROS as key players in plant stress signalling (November 19,2013)
<http://jxb.oxfordjournals.org/content/65/5/1229.short> (取自民國 104 年 4 月 5 日)。
5. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: A dual function in abiotic and biotic stress responses?(December ,2014)
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847213001536>(取自民國 104 年 4 月 12 日)。
6. Ultraviolet and environmental stresses involved in the induction and regulation of anthocyanin biosynthesis: A review(December 12 ,2008)
<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/59709>(取自民國 104 年 4 月 12 日)。

【評語】 030309

1. 本作品探討不同品種的小米，並探討在不同逆境中生長情形，觀察入微，研究工作有成果，值得鼓勵。
2. 本研究也用生化酵素的研究方法，加強論述，是難得的作品。
3. 圖 23 對 Ca^{2+} 離子在鹽水逆境中扮演的角色，研究數據最好利用統計方法以增加說服力。