

中華民國第 56 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 植物學科

第一名

052104

粟之高禾—探討小米不為人知的耐鹽機密

學校名稱：臺南市私立德光高級中學

作者： 高一 王定澤 高一 巴洛克 高一 楊茜雯	指導老師： 江芝韻 鄭楷騰
---	-----------------------------

關鍵詞：小米、鹽逆境、耐鹽

得獎感言

科展之路

作者：巴洛克

當初國一開始嘗試做科展的時候，因為我的手不夠靈巧，而老師花了一年的時間帶著我練習手做。經過了一整年的練習，手終於可以做一些基本的實驗。然而比起手做，我比較擅長的是口語的表達跟報告的撰寫。我的組員，則是擅長於手做實驗，而在口語表達能力上也不俗。

在做實驗的時候，我們偶爾會有了分歧。這時就是用討論或是請教老師來決定。而在第一次參加科展比賽時，評審的過程我十分緊張，不過還是非常幸運地挺過去了。這是第一次讓我知道甚麼是「台上一分鐘，台下十年功」。

如果要說學到的東西，那就是實驗精神、團隊合作與口語表達能力，以及我們實踐操作的能力。其實做科展與報告時不需要害怕，只要用平常心告訴教授，我們平常在做些甚麼就好。

作者：楊茜雯

在比科展的時候，站在展板前我都會很緊張，但是想到能夠站在這裡是我們這個團隊一起努力多年換來的，我就又能恢復一點冷靜，不管期間我們實驗失敗了多少次，我們還是把實驗做完了。跟評審說明我們的實驗時，都會有一種開心的感覺，就像是在分享一個令人興奮的結果般，雖然我跟評審不熟，但總是能如好友般分享結果，我們的結果能夠讓教授聽到甚至建議，令人開心。做科展四年讓我學到了負責，實驗中不管失敗或是挫折都是自己要承擔、自己去面對，雖然有時會累，會有撞牆期，但我都有隊友、老師陪我一起完成。做科展可以讓我們學會負責，並且更能去承擔自己的錯誤。

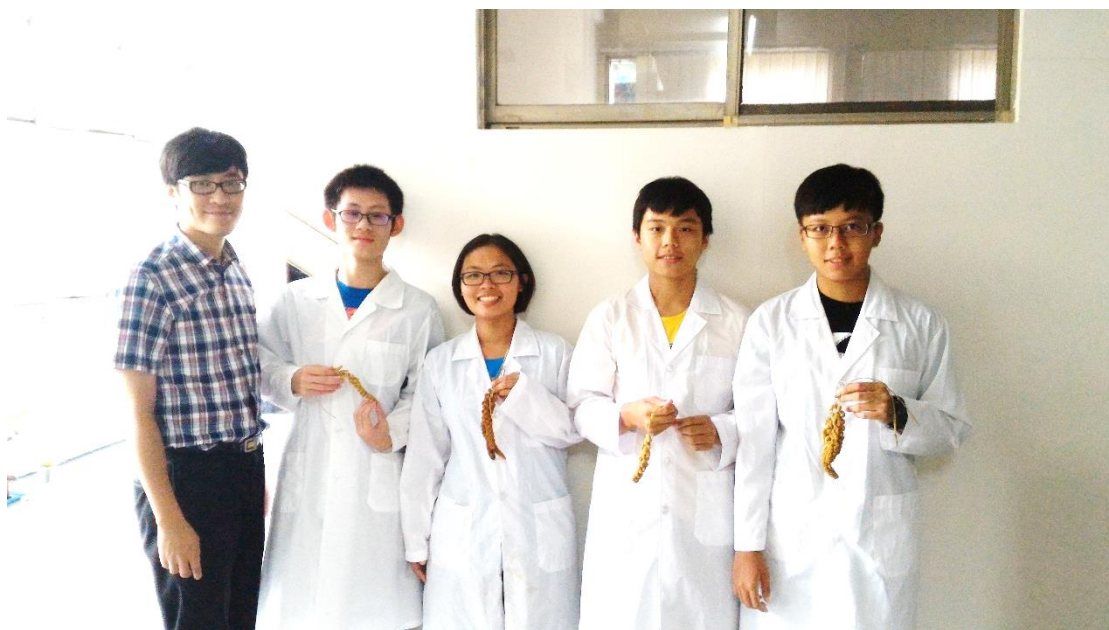
作者：王定澤

這是我第4年參加科展了，從小國一就開始摸索科學，當時，我毫無科學基礎，幸好老師細心的指導我們，讓我們一步一步地更上一層樓，這幾年來，科展離不開我，我也離不開科展，在實驗的過程中，有歡笑也有淚水，當我們發現到實驗結果符合我們的假說時，我們臉上浮出了笑容；當我們的意見不合而起了爭執，吵得面紅耳赤，那也是整個過程中必經的

一段路，這段路說實在的，並不好走，但是我們走過來了，幸運的是，經過多次努力後，得到評審的青睞，老師經常告訴我們：「得獎是可遇不可求的。」我們一路上，尋求實驗的精神，不怕失敗，跌倒了再站起來，保持著不屈不撓的心態，名次或許重要，但是一路上所學到的東西，是永遠不會消失的，我將秉持著這種心，繼續勇往直前。踏上科學這條路！



我們一起去山上採小米時，在魯凱族部落中的石板屋裡所拍的照片！



我們與我們的實驗材料—各種小米！

壹、 摘要

隨著全球變遷，能在極端環境下生存的作物，是大家未來共同的救命藥。臺灣原住民長期種植小米，雖產量不高，但保存了古老種源。將小米和稻米種植在鹽逆境下，我們觀察到小米的根長、葉長及側根生長狀況都比稻米來的好，且小米有花青素累積的現象。就氣孔開閉機制來說，小米在較低鹽濃度時就能關閉氣孔，稻米則否。而深入探討其耐鹽機制後，我們瞭解到小米體內過氧化物累積、過氧化酵素活性(POD、CAT、APX)及滲透壓調節相關機制(脯胺酸、澱粉酶)上都與稻米有程度上的明顯差異，皆提升了小米在鹽逆境下的生存能力。期望接下來能針對這神奇而珍貴的小米種源進行更深入的探討，為氣候變遷下日益重要的作物育種做出些許貢獻。

貳、 研究動機



小米是被原住民種植在山區的主食，而在過去小米也是中國北部地區的主食，直到稻米傳入後，中國地區的主食才變為稻米。稻米雖然比起小米更受到歡迎，但是同為主食，我們想知道兩者之中的生長狀況與能力是否也會有差異呢？雖然稻米比起小米更受大眾喜愛，可是在耐鹽性與生存能力上，有贏過小米嗎？若是小米勝過稻米，也許就可以作為現今氣候變遷時代中的重要糧食作物。因此我們將小米與稻米種植在高鹽的高滲透壓環境中，期待可以找出兩者耐鹽性的差異與生存能力的強弱，並了解到究竟是小米還是稻米更適合在這氣候變遷的環境中生存。

參、 研究目的




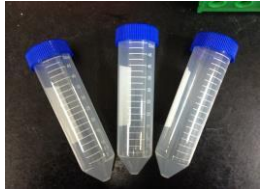







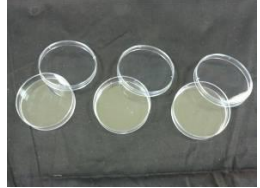




- 一、 觀察小米與稻米的成長歷程
- 二、 觀察小米與稻米的成長狀況
- 三、 比較小米和稻米在鹽逆境下的外觀差異
- 四、 比較小米和稻米在鹽逆境下的酵素差異
- 五、 分析比較數據並繪圖紀錄
- 六、 探討小米在鹽逆境下，為何能生長比稻米好



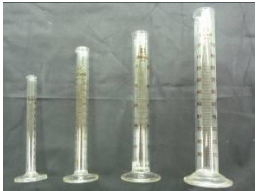


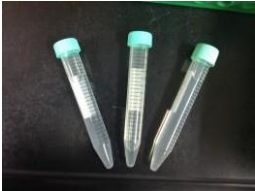

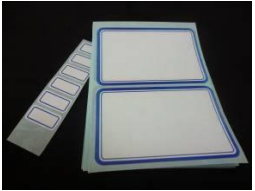
肆、 研究設備及器材

一、 研究材料：小米(*Setaria italica*)、稻米(*Oryza sativa*) (表一)

	
<p>小米(<i>Setaria italica</i>)</p>	<p>稻米(<i>Oryza sativa</i>)</p>

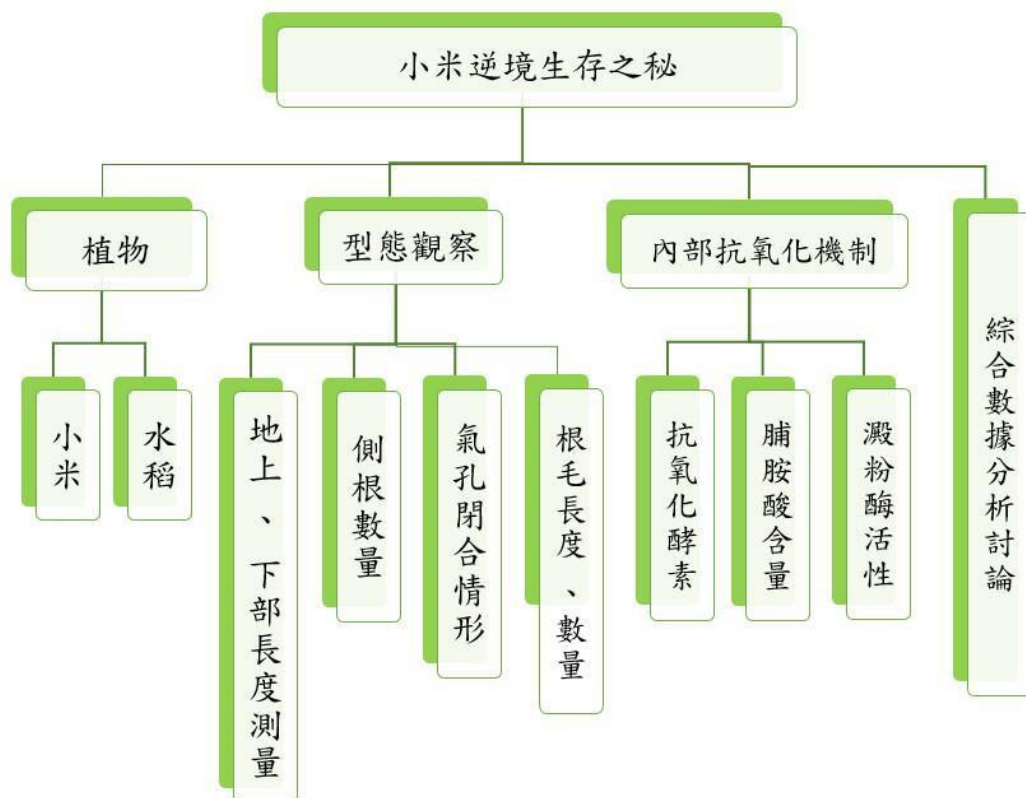
二、 實驗器材：

			
<p>磁石</p>	<p>比色管</p>	<p>分光光度計</p>	<p>50ml 離心管</p>
			
<p>加熱攪拌器</p>	<p>植物生長燈</p>	<p>燒杯</p>	<p>擦手紙巾</p>
			
<p>鋁箔紙</p>	<p>秤量紙</p>	<p>數位相機</p>	<p>培養皿</p>
			
<p>橡膠手套</p>	<p>解剖顯微鏡</p>	<p>酸鹼測定儀</p>	<p>震盪儀</p>

			
錐形管	微量吸管	量筒	鑷子
			
防爆管	15ml 離心管	電子天平	標籤紙

三、 實驗藥品：蒸餾水(ddH₂O)、DAB、氯化鈉、茚三酮、過氧化氫
 磺基水楊酸、DNS 試劑、醋酸鈉、磷酸鉀緩衝溶液、磷酸鈉緩衝溶液

伍、 研究過程或方法



(圖一)研究架構流程圖

	2015年				2016年				
	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月
閱讀文獻	■								
小米種植	■								
稻米種植			■						
逆境處理		■							
型態觀察	■								
實驗測試			■						
資料統計		■							
綜合分析討論				■					
口頭報告							■		

(圖二)研究時程表

一、蒐集種子：

- (一)小米種子來源：與屏東縣霧台鄉霧台部落族人溝通後，當地族人願意提供小米作為實驗用途。且該小米為當地族人已種植許久之品種。
- (二)稻米種子來源：與嘉義農人溝通協調後，願意將臺農 67 品種的種子給予我們作為實驗用途。

二、觀察、比較不同時期的小米與稻米外表形態之異同。

- (一)了解小米與稻米生長狀況
- (二)比較小米與稻米在鹽逆境中的生長差異

三、觀察小米與稻米在正常耕作條件下的生長情形—

- (一)確保小米與稻米生長在 25°C 環境中 (二)種植在光源下三天後，將其鹽處理三天後進行實驗

四、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，以討論小米與稻米的逆境表現狀況。

五、稻米的催芽—

- (一)將稻米用 2.5%的次氯酸鈉殺菌且置入 50ml 離心管以機器搖動 15 分鐘，接著每 5 分鐘清洗一次，共清洗三次。
- (二)將清洗完畢的稻米種子放入已加水的培養皿中，加水 20ml。
- (三)再將稻米放在 37°C 恆溫箱三天。

六、小米的催芽—

- (一)我們則將小米放入 64 顆種子進培養皿中且放入暗室中催芽 1 天。
- (二)將小米移至生長箱三天。

七、抗氧化酵素活性測定

(一)蛋白質萃取

1. 秤取 0.05g 的樣本。
2. 將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

1. 我們使用了 Bio Rad 公司出產的 DC™ Protein Assay，來測定樣本中蛋白質含量
2. 取蛋白質萃取液 2 μ l 與 Reagent A 100 μ l 混合。
3. 加入 Reagent B 800 μ l 均勻混合，並靜置 15 分鐘。
4. 將液體吸到比色管中，用分光光度測量 750nm 波長下的吸光值。
5. 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。

(五)維他命 C 氧化酶(APX)活性測量

1. 測量 0.02g 的冷凍樣本，並加入 1.8ml 的磷酸鈉緩衝溶液
2. 在 4°C 的環境下，以 12000g 離心 20 分鐘
3. 先分別為每管加入 0.25ml 的磷酸鉀緩衝溶液
4. 再加入 0.25ml 的 1.5mM 維他命 C 溶液與 0.1ml 的 0.75mM EDTA
5. 最後取出上清液 0.025ml 混合均勻
6. 然後一加入 0.125ml 的 6mMH₂O₂，混合均勻後便直接測量其吸光值 (290nm)，且過一分鐘後再次測量
7. 最後用差值除以其蛋白質濃度

(六)配置 150mM 的 pH7 磷酸鉀緩衝溶液 50ml

1. 加入 0.09225ml 的 1MK₂HPO₄與 0.05775ml 的 1MKH₂PO₄後，加水至 50ml

(七)配置 100mM 的 pH6.8 磷酸鈉緩衝溶液 50ml

1. 加入 0.0463ml 的 1MNa₂HPO₄與 0.0537ml 的 1MNaH₂PO₄後，加水至 50ml

(八)配置 0.75mM 的 EDTA 50ml

1. 測量 2.1918g 的 EDTA
2. 加入約 5ml 的水後，加入微量 NaOH 使其完全溶解，最後加水至 15ml
3. 取 0.75ml 配好的 EDTA 溶液，加水至 50ml

(九)配置 6mM 的 0.5ml H₂O₂ 10ml

1. 加入 35%H₂O₂ 0.00583ml 後，加水至 10ml

(十)配置 1.5mM 的維他命 C 溶液 50ml

1. 測量 0.013g 的維他命 C 粉後，加水至 50ml

八、檢測植物體內胺基酸—Proline 的含量

(一)檢測 Proline 含量

1. 將冷凍的樣本拿出，泡液態氮以免酵素活性過高
2. 將已秤重且加入鋼珠的樣本用震盪機震碎(15 秒一次，共四次)
3. 依樣本重量比加入 3%磺基水楊酸(Sulfosalicylic acid)後，最重的加入 1.8ml，再震盪 3 分鐘
4. 在常溫下，用 5000g 的離心力轉 20 分鐘
5. 加入 0.4ml 茚三酮(Ninhydrin)、0.4ml 樣本液後，再加入 0.4ml 醋酸並且每個實驗組抽取 2 管樣本液
6. 放入 100°C 的水浴槽中 60 分鐘
7. 將樣本拿出後急速冷卻，將各濃度混為一管
8. 加入 1.6ml 甲苯
9. 震盪 15 秒後，靜置 10 分鐘，再使用分光光度計(520nm)測甲苯層

(二)配置茚三酮(Ninhydrin)

1. 加入 6ml 醋酸
2. 加入 4ml 6M 磷酸.
3. 秤重 0.25g 水合茚滿三酮(Ninhydrin)後，充分攪拌均勻

(三)配置 3%磺基水楊酸(Sulfosalicylic acid)50ml(密度 1.84g/ml)

1. 取出 2.76g 的磺基水楊酸(Sulfosalicylic acid)
2. 加水加至 50ml

九、檢測植物體內澱粉酶活性

(一)檢測植物體內澱粉酶

1. 將冷凍的樣本拿出，泡液態氮以免酵素活性過高
2. 將已秤重且加入鋼珠的樣本用震盪機震碎(15 秒一次，共四次)
3. 加入 0.2ml 的醋酸鈉緩衝溶液，並放於室溫 15 分鐘，期間每 2 分鐘震盪一次
4. 將萃取液在 4°C 溫度下，用 14000g 離心 15 分鐘後取其上清液 0.1ml
5. 再加入醋酸鈉緩衝溶液 0.1ml，並置入 38°C 恆溫槽 15 分鐘
6. 加入 0.2ml 的 40°C 澱粉液後，再置入 38°C 恆溫槽 2 小時，期間每 10 分鐘震盪一次
7. 加入 0.05ml 2M NaOH，並將其混和
8. 加入 0.45ml DNS 試劑，並置入 100°C 恆溫槽 5 分鐘
9. 將其放在冰上冷卻並停止反應
10. 用分光光度計(595nm)測量

(二)配置 2M NaOH10ml

1. 測量 0.8gNaOH
2. 加水至 10ml
3. 加入 0.05ml2M NaOH，並將其混和
4. 加入 0.45mlDNS 試劑，並置入 100°C恆溫槽 5 分鐘
5. 將其放在冰上冷卻並停止反應
6. 用分光光度計(520nm)測量

(三)配置 1%DNS 試劑 50ml

1. 測量 0.8gNaOH、0.5g 的 DNS
2. 將其混合並加至 50ml 的水
3. 使其溶解至看不見顆粒後，加入 15g 的酒石酸並攪拌

十、比較小米與稻米的酵素基因序列

(一)進入 NCBI(National Center for Biotechnology Information)的網站 (二)以基因作為類別，搜尋小米與稻米的澱粉酶後，點選 FASTA 了解其序列 (三)使用 BLAST 等工具將小米與稻米的胺基酸序列進行比較

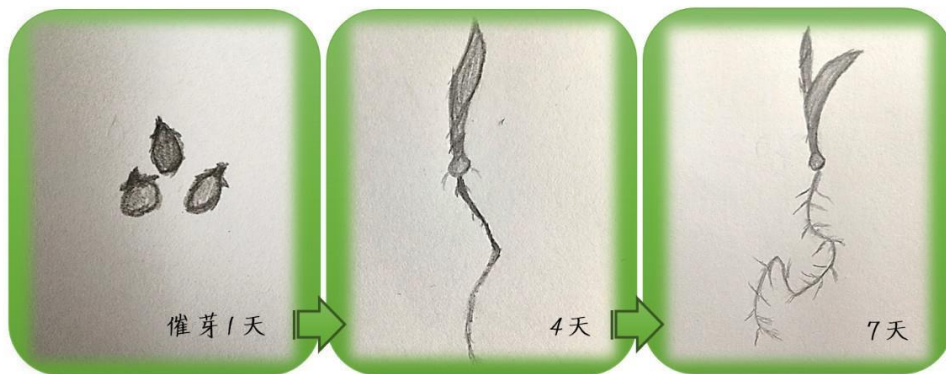
十一、拍照記錄與測量根長與葉長

(一)使用 imageJ 測量根長與葉長

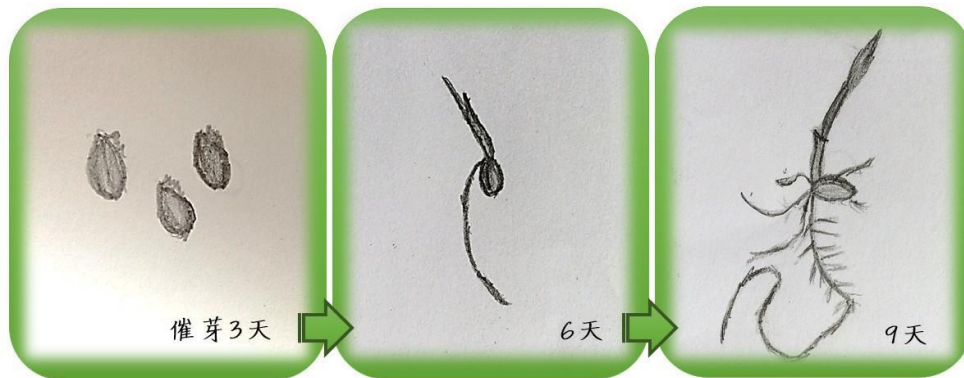
十二、分析、整理與比較數據及繪圖的紀錄。

陸、研究結果

一、 觀察小米、稻米的成長歷程：



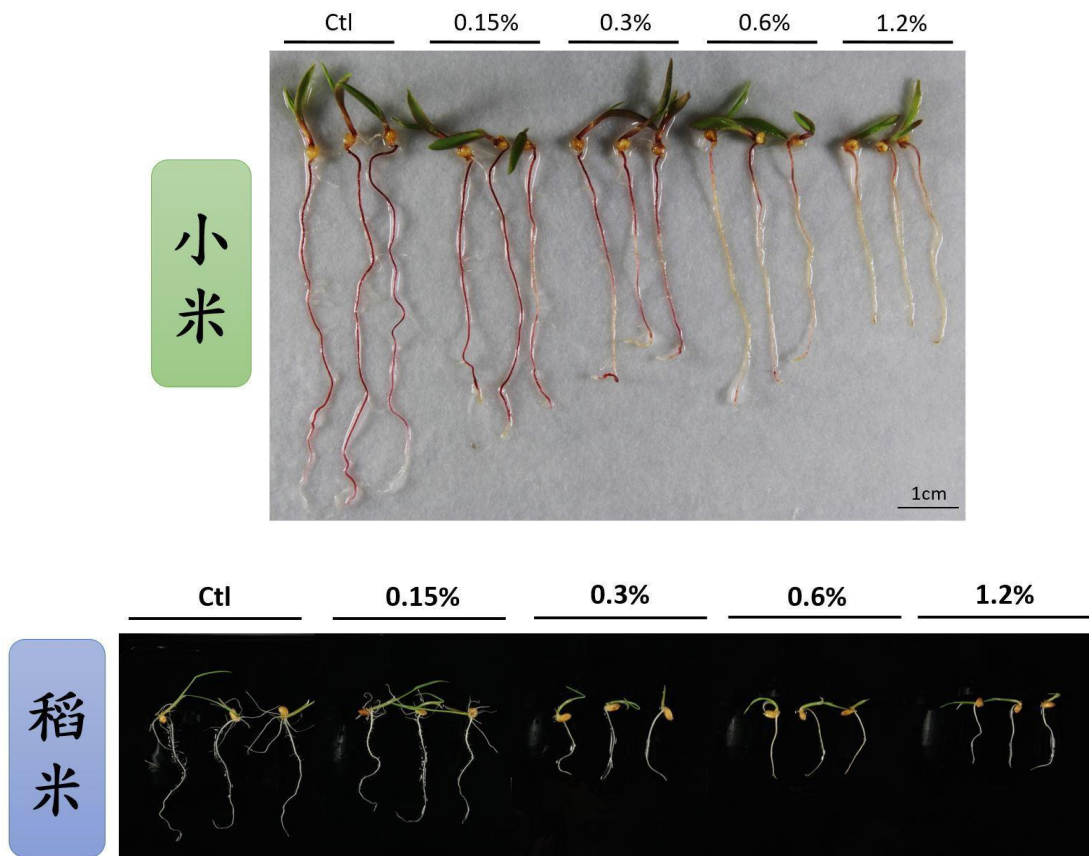
(圖三)小米成長手繪圖 在(圖三)中，我們可以看到小米的生長狀況。四天大時的小米，可以明顯地看到子葉與根的分布，而且根的頂部有明顯的花青素累積；在越接近根帽的部分，花青素會累積越不明顯；再過三天後，小米的子葉有明顯的成長，根的長度也加長不少，還長出了側根，甚至莖的底部還有花青素的累積。當小米在七天大時，我們停止進行鹽逆境實驗，這時我們可以看到在控制組中的小米，葉長明顯加長，但根的狀況改變不大。



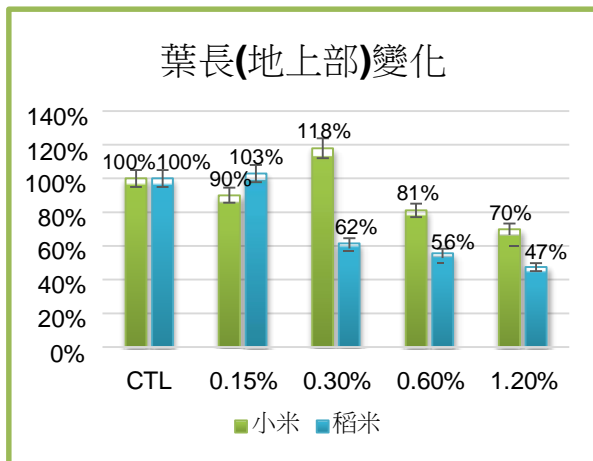
(圖四)稻米成長手繪圖 根據(圖四)，我們可以觀察到稻米的生長情形。首先我們能看到催芽三天的稻米在種子頂端一側冒出小芽；移至生長箱照光三天後則可以看到明顯的根，但與小米相比則沒有看出花青素的累積。再過三天後，稻米的子葉有明顯的成長，根的長度也加長不少，還長出其他側根與明顯的根毛。等到了稻米生長到九天大時，我們停止稻米鹽處理實驗，觀察控制組後，我們發現在控制組中的水稻，葉長與根長有明顯生長的現象。

二、 小米與稻米在不同鹽逆境下的外形比較：

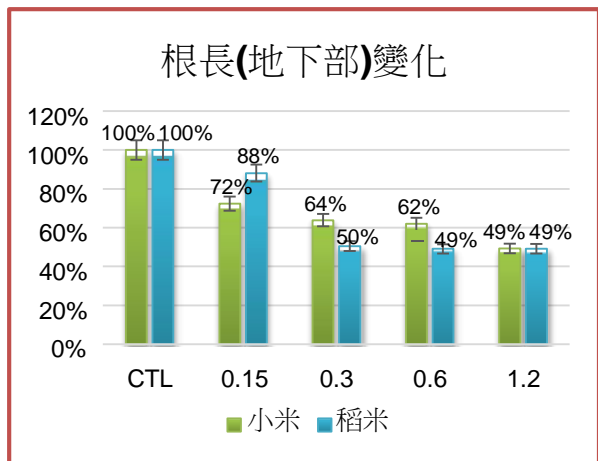
(一)小米與稻米的根長與葉長比較



(圖五)小米與稻米在鹽水下的生長狀況



(圖六)小米與稻米在鹽水下的葉長



(圖七)小米與稻米在鹽水下的根長

由(圖六)可知，在葉片的變化上，我們可以看到，小米在 0.3%的鹽逆境中，葉片長度與控制組相比的上升幅度是 18%。稻米在 0.3%的鹽逆境中，葉片長度與控制組相比的下降幅度為 38%。而在 0.6%的鹽逆境中，小米葉長的下降幅度為 19%，稻米葉長的下降幅度為 44%。

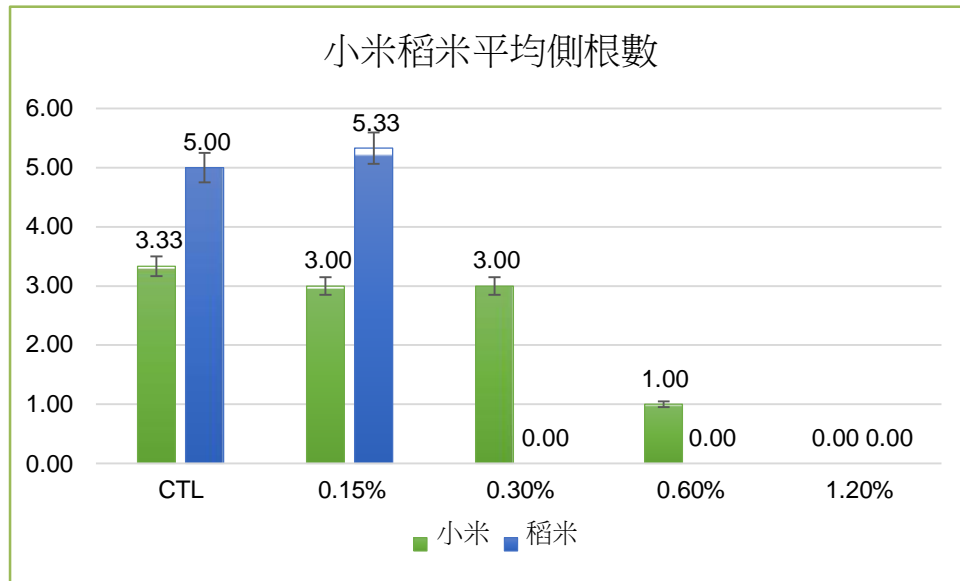
由此可明顯的發現，小米即使在高濃度的鹽逆境中，它的葉長不會跟稻米一樣有明顯縮短的變化。

而根長的變化中，我們可知，同樣在 0.3%鹽逆境的情況下，小米與控制組相比，下降幅度為 36%。稻米與控制組相比，下降幅度是 50 %。

由此可見，在更高濃度的鹽逆境中，小米的根長才有明顯的變化，且下降幅度都較稻米少。稻米在 0.3%的鹽逆境中根長有明顯縮短情況，但小米卻要等至 1.2%才有此狀況。

綜合以上數據，我們可以發現小米比起稻米擁有更佳的逆境耐受性。不論是葉長或是根長，我們都可以了解到小米比起稻米在逆境中的生存狀況更佳。

(二)小米與稻米在鹽逆境下的側根數差異



(圖八)小米稻米平均側根數

在生長型態觀察實驗中我們發現除了花青素的累積差異外，從(圖八)可知，小米跟稻米的側根生長情形也有所不同。側根是根的一部分，能夠幫助植物吸收水與養分，因此藉由側根的生長情形可以讓我們看到植物在鹽逆境中的生長狀況。

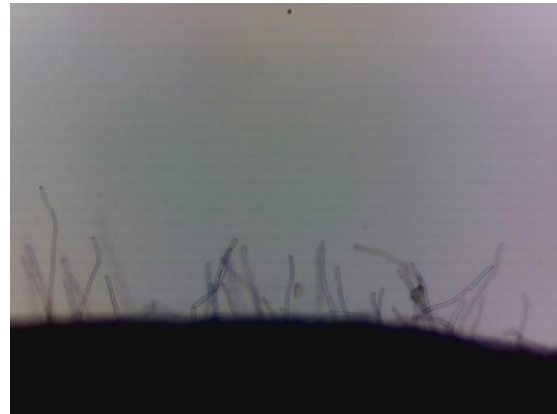
由實驗可知，我們在 0.3%鹽逆境中無法觀察到稻米的側根，而小米的側根則是在 1.2%鹽逆境中完全抑制生長的情形。因為在同樣為 0.3%鹽逆境中小米的側根生長情形較稻米佳，因此可以推測小米比起稻米的鹽逆境耐受性較強，還能讓小米在較高濃度鹽逆境中增強著吸水與養分的能力。

由這個實驗結果我們發現鹽逆境對於小米側根的生長抑制狀況較稻米不明顯，而讓小米在鹽逆境中可以維持吸收水分及養分的能力。因此可以得知小米較稻米有更佳的耐鹽能力。

(三)比較小米與稻米的根毛長度：



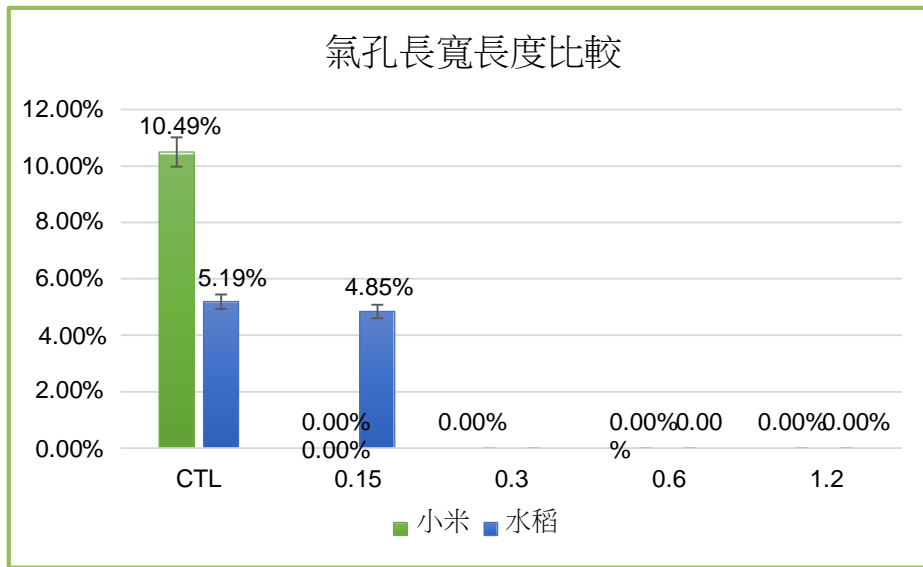
(圖九)小米根毛



(圖十)稻米根毛 除了氣孔

外，我們發現小米與稻米的根毛也有所差異。從這兩張圖中，我們可以明顯看到，在放大倍率相同的情況下，小米的根毛長度明顯的較稻米來得長、數量也較多。而鹽逆境是屬於難以吸收養分與水分的高滲透壓環境，較多與較長的根毛可以增加植物吸收水分的表面積，協助小米吸收更多的水分與養分，這也是使得小米較能生長在鹽逆境中的原因之一。

(四)比較小米與稻米在不同鹽逆境下的氣孔開闔：

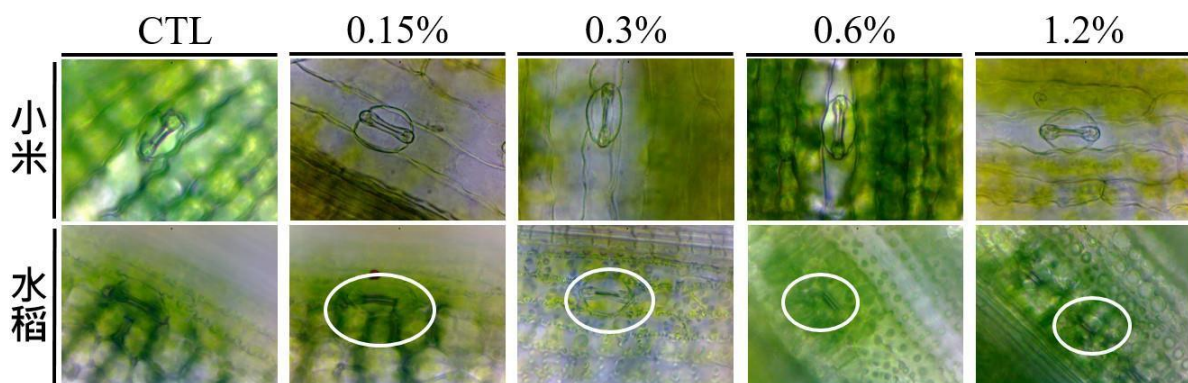


(圖十一)小米水稻氣孔長寬長度比較

在小米與稻米的外型上觀察到明顯變化後，我們也想了解是否在肉眼不可觀測到的地方也會有所差異？

由這張圖我們可以看到，稻米與小米的氣孔形狀差異不大，但是我們發現 0.15%鹽逆境下稻米的氣孔並無呈現關閉的情形，等到鹽濃度調高至 0.3%時，稻米的氣孔才閉合；而小米在 0.15%的鹽逆境中就将氣孔閉合，降低本身的水分蒸散，幫助小米在鹽逆境中維持生長。

由此現象可以知道，稻米比小米需要在更高濃度的鹽逆境中氣孔才會關閉，因此可以推測出稻米對於鹽逆境的敏感度較小米差，使它無法像小米一樣在鹽逆境中具有優勢。



(圖十二)、小米水稻氣孔開合比較

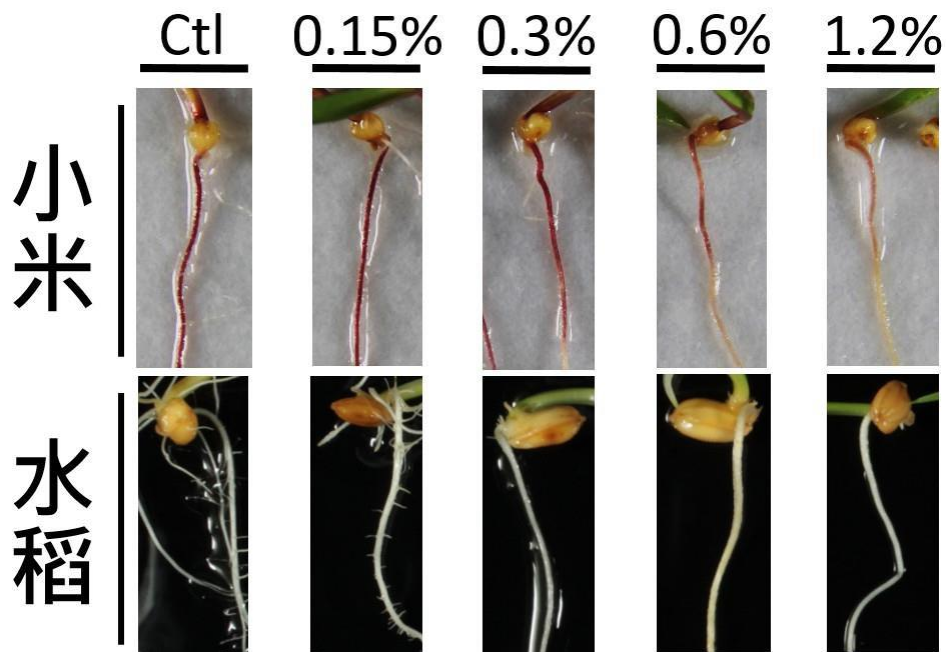
(五)小米與稻米的花青素含量比較

除了根長與葉長的成長差異，我們還可以發現到小米與稻米在不同程度的逆境中，根部上的花青素累積狀況也會有所不同。

我們知道，在逆境底下植物體內會產生過氧化物，而過氧化物會傷害植物體。我們所觀察到的花青素是多酚類的一種，結構中的 OH 基能夠作為抗氧化物質被消耗。那我們在外觀所觀察到的花青素累積差異與植物在不同逆境中的生存力是否會有關聯呢？

由下(圖十三)中，我們可以發現到小米在越高濃度中的鹽逆境，根部所累積的花青素就越不明顯。尤其對照組與 1.2% 鹽逆境中，我們可以看到明顯的差異。小米對照組的花青素在根部累積情形非常明顯，但 1.2% 鹽逆境中累積狀況明顯減少許多。

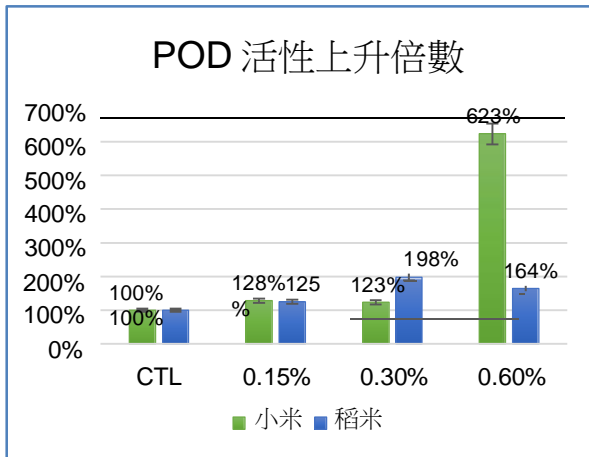
而稻米則不論在對照組或是鹽逆境中，都無法肉眼觀察到花青素累積的現象。在結合上述所觀察到的外觀差異，推測稻米可能會因為無累積可以清除過氧化物質的花青素，因此導致在鹽逆境下的生存狀況比小米差。



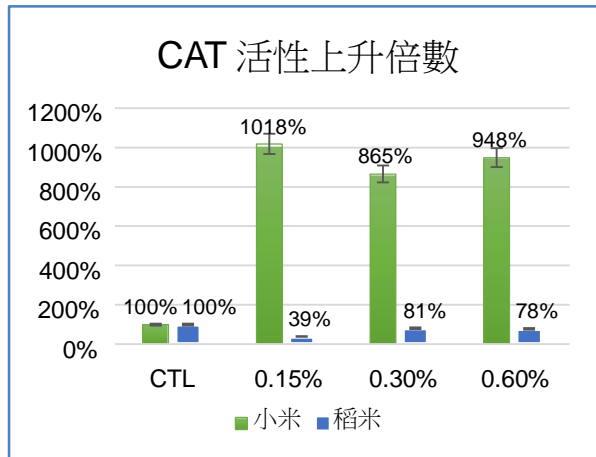
(圖十三)小米與稻米處理鹽逆境三天後觀察根部花青素

(六)比較小米與稻米在過氧化物質上的清除策略

1. 比較小米與稻米在不同鹽逆境下體內的過氧化酵素活性：我們發現將小米與稻米種植在鹽逆境中之後，植物體內會有過氧化物質的累積。而植物為了要對抗過氧化物質，體內會啟動過氧化酵素來清除過氧化物質。而其中最常被拿來做實驗的是過氧化酶(POD)與過氧化氫酶(CAT)，因此我們便檢測這兩種酵素活性變化，以了解這兩種酵素的活性變化對於小米與稻米在鹽逆境下的生長有何影響。



(圖十四)過氧化酶活性變化

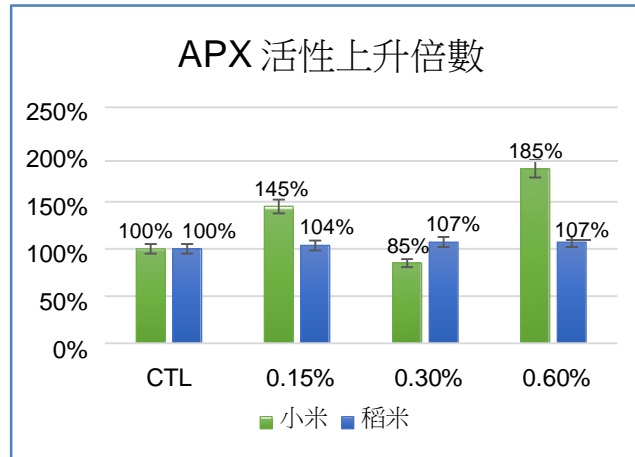


(圖十五)過氧化氫酶活性變化

由(圖十四)可知，不論是小米或是稻米，在鹽逆境中的過氧化酶都會有上升的趨勢。但也能發現，小米在 0.6%鹽逆境下，它的過氧化酶上升倍數較高，有 6.23 倍。而稻米雖也有上升的狀況，但是上升倍數沒小米高，只有 1.64 倍。

而由(圖十五)中，我們可以發現小米的過氧化氫酶活性會有急劇上升的狀況，甚至比原來還有著 8 倍以上的活性，但是稻米的過氧化氫酶活性卻呈現少於控制組的狀況，大約只剩 8 成，甚至在 0.15%濃度下與控制組相比活性約剩 4 成。

除了常見的兩種過氧化酵素外，植物體內還會有維他命 C 氧化酶(APX)幫助植物渡過逆境。而這種酵素需要維他命 C 作為輔酶來清除植物體內的過氧化物質。

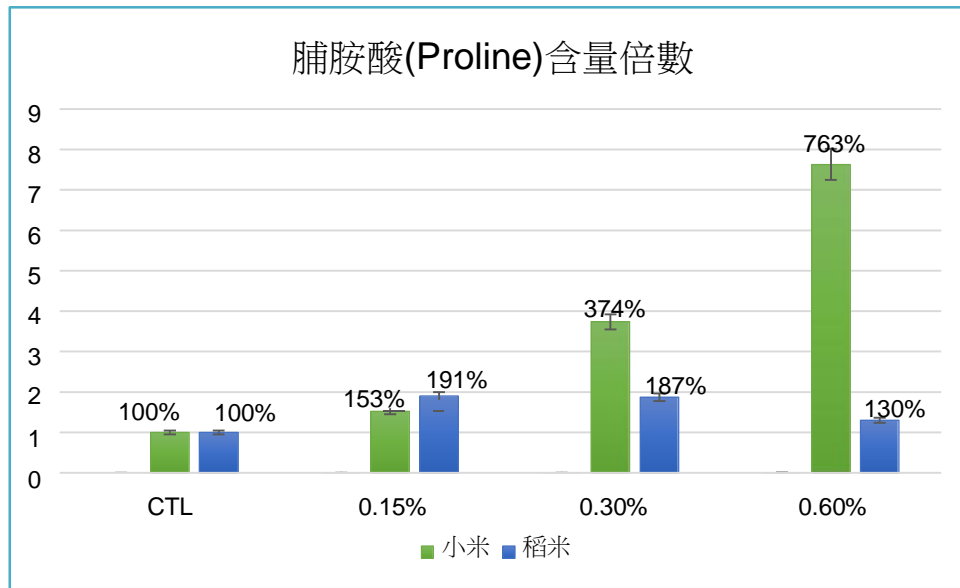


(圖十六)、維他命 C 氧化酶活性變化

由(圖十六)中，我們可以發現稻米的維他命 C 氧化酶活性變化不明顯，但是小米在逆境中卻有 1.5 倍甚至 2 倍的活性。

綜合以上三種過氧化酵素的活性變化，我們可以了解到小米之所以耐鹽能力較好的原因之一，是因為它體內的過氧化酵素活性在遇到逆境時會提升的緣故。使得小米可以更有效地清除體內較多過氧化物，以降低它在逆境下受到的氧化傷害。

2. 比較小米與稻米在不同鹽逆境下脯胺酸(Proline)含量：

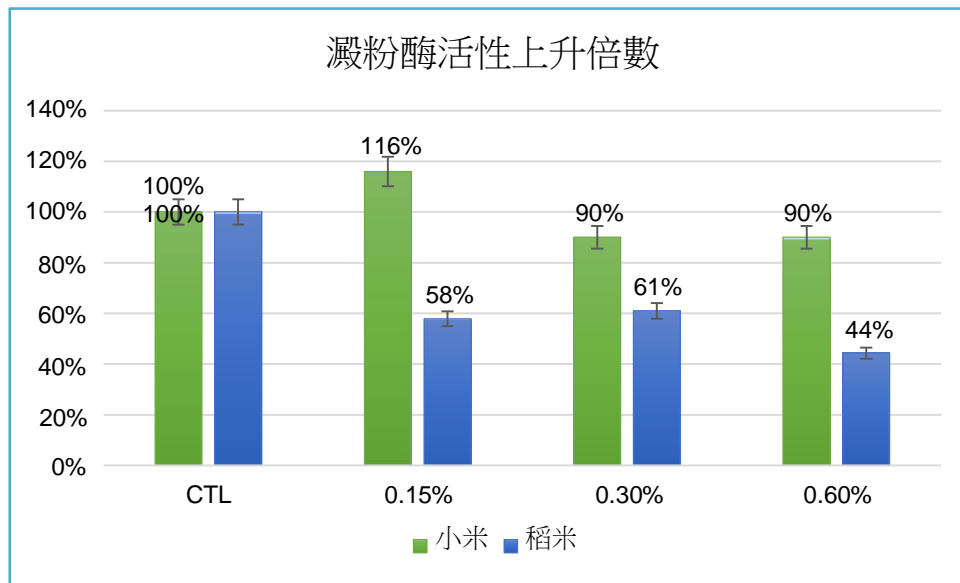


(圖十七)脯胺酸(Proline)含量變化

我們猜想，小米與稻米在鹽逆境下生長狀況會變得不好，是因為環境滲透壓過大而使植物難以吸收水分。經過上網搜尋後，發現有叫做脯胺酸(Proline)的一種胺基酸，它能幫助提升植物自體的滲透壓。所以我們檢測小米與稻米體內的脯胺酸含量，了解他們在鹽逆境下生長狀況的差異。

由(圖十七)，我們可以發現小米的脯胺酸含量在越高濃度的鹽逆境中，有隨著濃度上升的趨勢，因此能夠維持它的高滲透壓環境中的吸收能力；而稻米的脯胺酸含量在 0.15% 鹽逆境中最高，上升倍數甚至有超越小米在 0.15% 鹽逆境中的情形，但是在更高濃度的鹽逆境中，含量反而隨之降低。我們推測這是因為稻米對於鹽逆境敏感度低導致本身的抗氧化機制無法及時啟動，如氣孔的閉合，而在水分減少的情況下，稻米會在此時為了大量提升滲透壓而增加本身的脯胺酸含量，以維持生長；但在更高濃度鹽逆境下，稻米已無法負荷逆境造成的氧化壓力，導致稻米提升脯胺酸的能力降低。

3. 比較小米與稻米在不同鹽逆境下澱粉酶的活性：



(圖十八)、澱粉酶活性變化

我們測小米與稻米的澱粉酶活性的原因，是因為我們猜測澱粉酶將澱粉轉為單醣或雙醣有兩種目的。第一種是利用單醣或雙醣溶在植物根部的體液中以提升植物的滲透壓，使得植物能在高滲透壓的環境中生存；而第二種則是植物在逆境下分解澱粉轉為能量，以維持本身生長需求。

在(圖十八)中，我們可以看到，小米的澱粉酶活性不論是在何種濃度的鹽逆境濃度中都沒有顯著變化。而稻米的澱粉酶活性，在 0.15%鹽逆境中開始下降，而隨著鹽逆境濃度的提升，下降的愈多。我們閱讀文獻(*Journal of Biological Sciences*)後，推測稻米會有這種狀況是因為鹽逆境中的鈉離子改變了澱粉酶的結構而使得其活性降低。

柒、討論

一、 比較小米與稻米耐鹽能力 根據小米與稻米的生長情況，我們可以看到，小米在鹽逆境處理下的葉長與根長的生長情形都比稻米佳。而比起控制組，小米在鹽逆境下所縮減的葉長與根長都較稻米縮減的少。

二、 型態探討小米與稻米的生存機制 由氣孔的開合情形，我們可以發現小米在較低鹽濃度中氣孔就會關閉，但稻米卻要等到較高濃度的鹽逆境中，氣孔才會有關閉的現象。我們推測這是因為小米比起稻米對於鹽逆境較敏感，因而提早關閉氣孔，以防體內水分蒸散過多。由於鹽逆境與乾旱逆境皆為高滲透壓的環境，會讓植物難以吸收環境中的水分與養分，而氣孔開啟時會蒸散植物體內的水分，在難以吸收水分的環境下，體內水分又被蒸散，自然會使植物難以生存。

閱讀文獻後，我們了解到光合作用的產物 NADPH 會影響脯胺酸(Proline)的製造。而我們發現在鹽逆境下，小米地上部的生長狀況較稻米好，所以我們推測這代表鹽逆境下的小米光合作用較稻米來的佳，所以使得小米體內脯胺酸的累積較稻米多。

三、 抗氧化機制在小米與稻米上的差異 在觀察小米與稻米的外觀中，可以發現小米有花青素累積的現象，但稻米卻沒有這個情形。從文獻我們可以看出植物平時會利用光合作用合成類黃酮，經代謝產生能量後形成花青素。我們發現在鹽逆境下花青素的累積會隨濃度上升而減少，而因為花青素的結構中含有氫氧基，可以被植物當成抗氧化物質消耗掉。所以我們推測小米之所以比起稻米更加耐鹽的原因之一是因為小米有花青素累積的現象，因此可以將其當作抗氧化物質來減少逆境中小米的氧化傷害。

我們在檢測小米與稻米體內的抗氧化酵素後，發現不論是過氧化酶(POD)、過氧化氫酶(CAT)或維生素 C 氧化酶(APX)，小米活性的上升倍數都較稻米多。由此我們推測其因為抗氧化酵素有著較高的倍數，所以它耐鹽能力較強。

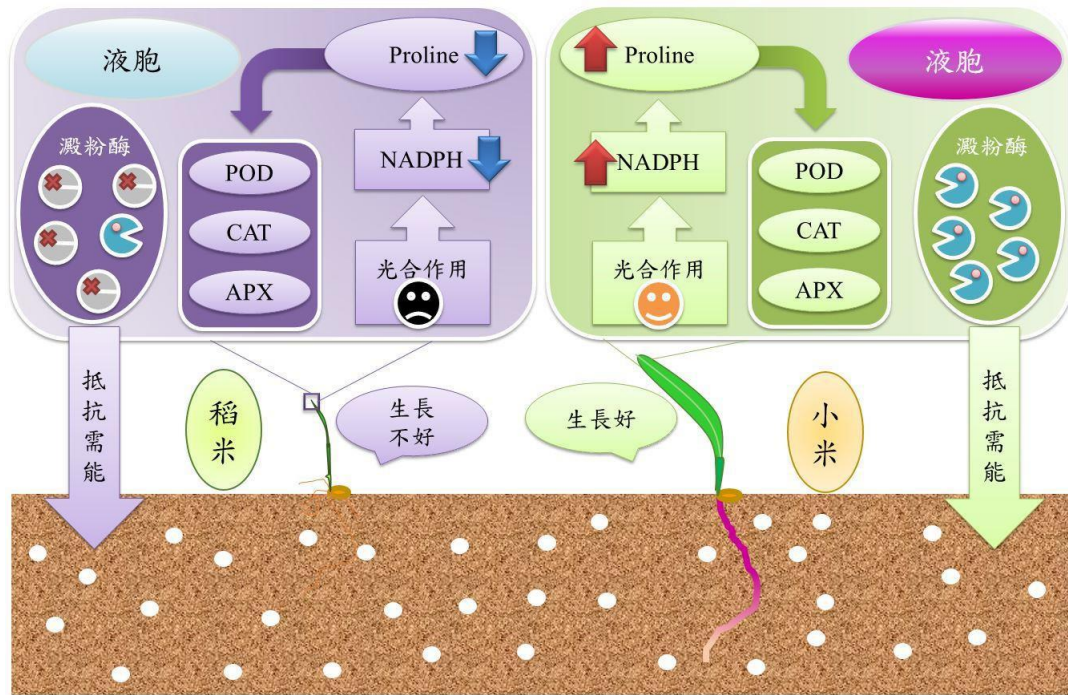
另外，我們也可以發現小米的脯胺酸(Proline)含量較稻米來的多。在閱讀文獻後，我們得知脯胺酸有著可以清除過氧化物並增強抗氧化酵素(如 POD、CAT)活性的功能。而小米之所以 0.3%鹽逆境中的抗氧化酵素活性比起 0.15%鹽逆境中來的低，我們推測是因為脯胺酸可以幫助抗氧化，所以當小米在 0.3%鹽逆境中，脯胺酸有所上升，所以抗氧化酵素的活性便不須上升過多便可以應付鹽逆境了。

四、 小米與稻米在對抗滲透壓逆境的差異 觀察氣孔時，我們發現到稻米比起小米需在更高濃度的鹽逆境中氣孔才會關閉。

因為鹽逆境是屬於高滲透壓的環境，因此小米與稻米會難以吸收水分與養分。但小米一遇到鹽逆境時就會將氣孔關閉，減少水分的蒸散；而稻米卻要到較高濃度的鹽逆境中才有氣孔關閉的現象，由此我們可以得知小米比水稻對於鹽逆境的敏感度更高，讓小米能夠及早啟動抗逆境的機制。

由我們的實驗結果中，可以發現到小米比起稻米擁有著更多的脯胺酸(Proline)含量，而脯胺酸可以增加植物的滲透壓，幫助植物可以在高滲透壓的環境中吸收到水分與養分，使其在高滲透壓的環境中維持生長。因此可以從脯胺酸含量看出，小米比稻米具有最佳的鹽逆境耐受性。

我們還發現小米比起稻米，它的澱粉酶活性較高。澱粉酶會將植物體內所累積的澱粉分解成單醣與雙醣，溶於植物的體液後，增加它的滲透壓，並使其在高滲透壓環境中可以更容易吸收水分。因為小米的澱粉酶活性較高，能夠更有效的提升本身的滲透壓，因此小米在鹽逆境環境中就會生長得較稻米佳。



(圖二十一、稻米小米應對鹽逆境之機制圖)

五、 小米與水稻在鹽逆境下能量代謝的差異 我們閱讀文獻後，我們發現光合作用時，將 NADPH 轉換成 NADP 和 H⁺時的能量會幫助脯胺酸的合成。而澱粉酶可以將澱粉分解成單醣與雙醣來提供植物體能量，我們經由實驗可以了解到小米的澱粉酶活性較稻米高，因此我們推測小米澱粉酶活性高能提供較多能量使小米合成更多脯胺酸。因此稻米在抵抗鹽逆境的能力上較小米差。

六、 小米與水稻在鹽逆境下澱粉酶活性差異 從實驗的結果中，我們發現到小米在鹽逆境下的澱粉酶活性比起稻米是來的高的。這可能是因為小米自古便生長在乾旱或高鹽等高滲透壓的環境，因此體內的酵素也演化成較不容易受鹽逆境等高滲透壓逆境破壞的狀況。同時也因為如此，使得小米可以分解較多的澱粉來產生能量，以使其活在鹽逆境下。

並且經過老師的建議後，我們上網搜尋兩者的澱粉酶胺基酸序列，並且使用工具來比較兩者。在(圖二十二)中，可以發現有差異的地方蠻多的。我們在此舉其中一種澱粉酶胺基酸序列做例子，圖中反黃的地方便是其差異處。

捌、結論



(圖二十三、稻米小米鹽逆境下差異圖)

經由這次實驗，我們可以發現小米比起稻米有著更好的鹽逆境耐受性。影響這點的原因包含外觀的花青素累積、根毛數量和長度差異與氣孔開合狀況，體內過氧化物質的累積差異、過氧化酵素的活性差異與提升滲透壓能力的差異。

鹽逆境是屬於高滲透壓的環境，植物會難以吸收水分與養分。而小米之所以耐鹽性較稻米好的原因，從外觀上便能推測。我們觀察到小米的根有花青素累積的現象，而花青素的結構中含有氫氧基，可被當作抗氧化物質消耗，然而稻米卻沒有。除此之外，小米的根毛數也較稻米來的多，長度也較長。根毛多與長代表吸水表面積較大，更容易吸收到土壤中的水分與養分，因此小米才較能在鹽逆境中生長。

關於氣孔開合與過氧化物質累積這方面，我們從文獻中了解到稻米本身有著合成過氧化物質又將其分解掉的機制，而稻米降低過氧化物質的累積後，導致它無法立即啟動應對逆境的機制，因此當它處在逆境時對於逆境的敏感度較低使氣孔得在更高濃度鹽逆

境中才關閉，除了環境本來就難以吸水外，加上不關閉氣孔而蒸散掉體內許多的水分，使稻米的生長狀況較小米差。而在過氧化酵素的方面，可以發現小米不論是過氧化酶(POD)、過氧化氫酶(CAT)或是維他命 C 氧化酶(APX)，活性上升倍數都較稻米多，所以小米比起稻米可以清除更多對其生長造成傷害的過氧化物。

最後在提升滲透壓這方面，因為鹽逆境是高滲透壓的環境，而植物為了生長，勢必得提升自己體內的滲透壓來吸水與養分。而脯胺酸(Proline)的累積和澱粉酶的活性上升狀況，我們發現小米在這些方面都比稻米要來的佳，所以在鹽逆境下也較容易吸水而不會使其缺少水分、養分而死。

在最後，希望大眾可以多重視小米這個較耐鹽的植物，並將其作為主食食用。在全球氣候變遷的時代，有許多的植物無法適應環境的變遷而消失，但是小米卻有著能耐逆境的能力，所以在稻米難以種植的地區，小米也許就可以被種植在當地，並被當作主食。

玖、參考資料及其他

劉玉山、張永達(2009年4月21日)植物對鹽逆境 (Salinity Stress)的反應。取自

<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=1007>

水稻耐鹽性之介紹

László Szabados, Arnould Saviouré(2009). Proline: a multifunctional amino acid Trends in Plant

Science, 15, 89-97. Retrieved

December 23, 2009,

from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138509002982>

Mehmet Ozaslan Journal of Biological Sciences(ISSN 1727-3048) MA: Asian Network for Scientific Information

<http://scialert.net/jindex.php?issn=1727-3048>

楊茜雯、巴洛克、陳奕婷(2015)養我育我的部落勇士—探討小米 (becenge) 的生存之秘。臺南：臺南市私立德光高級中學(附設國中)

<http://science.ntsec.edu.tw/Science->

[Content.aspx?cat=&a=0&fld=1000000&key=&isd=1&icop=10&p=1&sid=12514](http://science.ntsec.edu.tw/Science-Content.aspx?cat=&a=0&fld=1000000&key=&isd=1&icop=10&p=1&sid=12514)

【評語】 052104

1. 農業永續發展是重要的課題，本研究探討並比較小米耐鹽的機制，將有助於氣候變遷下如何提升植物適應能力，有所助益。
2. 實驗設計及結果分析嚴謹，極具創新性及應用性。
3. 團隊成員分工明確，表達能力佳。
4. 鼓勵能持續做更深入的探討，相信成果會有更深入的影響。