

## 後記

### 創新「葉綠素電池」 麗中學生研究力與表達力均佳

麗山高中高瞻計畫的「綠手機」主題，關心生態和綠色能源，林鵬、黎上瑋、吳郁萱三位同學，將學到的生物和物理知識結合，研發了照光就可激發出電子的「葉綠素電池」。

這三位麗山高中的同學現在已經都申請到理想的科系，雖然人還在學校，在張堯卿老師課堂教室裡，卻顯得心情很輕鬆。張堯卿老師是他們的化學老師，另外還有物理科金佳龍老師，生物科張素卿老師；由於麗山高中很重視跨科學習，因此他們的專題研究過程中，總是分別向多位老師請教，「葉綠素電池」便是在學習不同科目的知識後，綜合而成的題目。

#### 從錯誤中學習與成長

翻開他們「葉綠素電池」的研究小論文，文獻列得整整齊齊，還做出一整頁的比較表格，「因為老師很重視文獻，參加科展時，也有教授告訴我們文獻要增加。」林鵬說。談到他們選擇這主題的契機，發現除了老師課堂內容給他們靈感之外，文獻真的是很重要的原因：在看文獻的過程中，他們發現以往葉綠素電池的研究，多半是光化學原理而不是電化學原理，加上化學課上學到的奈米金屬取得技術，便著手研究可利用葉綠素本質特性的電池。

一開始做專題，三個人是以比較隨性的方式進行，實驗是做了，但卻沒有做記錄；後來他們慢慢發現這樣是不行的，已做過的實驗沒有記錄就無法重現，才記取教訓，開始做實驗記錄。除了實驗方法之外，他們的表達能力也有進步，這可是張堯卿老師觀察到的，「林鵬喜歡說話，但邏輯不好，訓練到後來就很清楚了；黎上瑋以前很害羞，現在變得很會講！很嗆！」張老師笑著說。

#### 展現能力與企圖心 是讓作品被看見的第一步

的確，在重視專題研究的麗山高中，好好表達自己作品含義的能力，也很受重視。林鵬曾因為要做英文的口頭報告，被張老師要求在辦公室讀英文，讀出聲音來，足足讀了二個月；在正式報告前，老師們也一定會聽過他們演練，金老師甚至會帶資優班學生坐在台下「砲轟」台上的三個報告者！這麼嚴格的訓練，想必他們到了現場，會發現根本沒什麼好怕的！

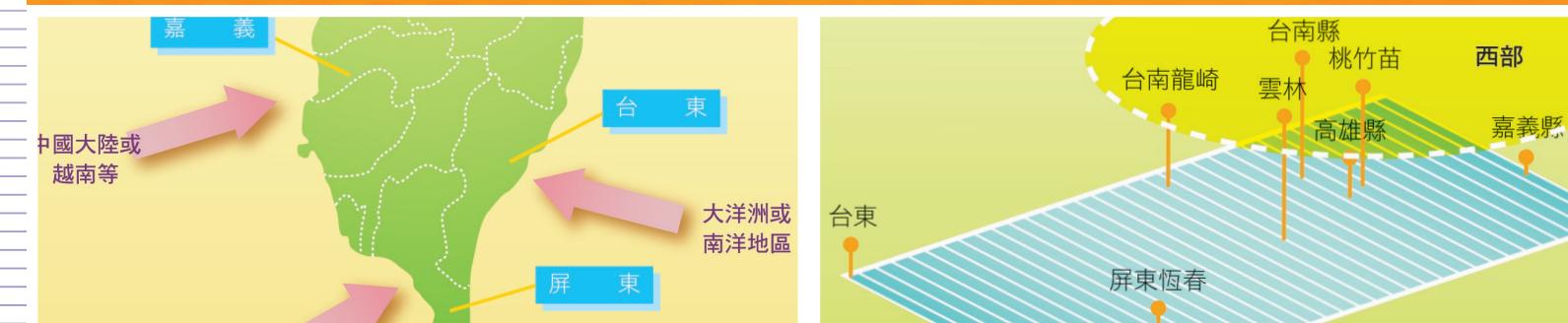
在做研究的過程中，除了在學校問老師之外，有時需要再往上請教到教授等級的專家，這時更可看見表達力的重要性。「要學會怎麼問問題。禮儀很重要，英文能力也很重要。」張老師課堂上的李增為同學談起他找了近30個教授後的心得，「問教授問題，他會反問回來，所以對自己的東西要了解，也要有自己的想法。」

葉綠素電池作品得獎連連，三個優秀的學生，在科展得獎後，便得到在大學研究室做實驗的機會，除了林鵬在交大以實驗室的研究題目為主之外，另二位同學在師大光電，還是繼續往葉綠素主題發展。「參加科展，作品的發展性當然很重要，但是在發表時，言談中表達的企圖心也很重要！」經歷多場科學比賽之後，他們得到了這樣的經驗。看來他們在高中學到的，除了研究方法之外，良好的表達能力更是重要，一輩子受用無窮。

3-1

生物

科學小論文



### 民「竹」遷移 台灣地區刺竹族群遺傳變異

國立嘉義高級中學  
何維邦

## 民「竹」遷移——台灣地區刺竹族群遺傳變異

刺竹(*Bambusa stenostachia* Hackel)是合軸叢生竹類植物(Sympodial rhizocauls)，竹桿基部鞭條狀的刺隨乾旱期越長表現愈密集，因此得名。相傳高雄古時的平埔族(馬卡道族)的部落，周圍都種植刺竹，馬卡道族稱刺竹為Takau，是高雄古地名「打狗」的由來。早期聚落集體防禦及防風之最佳材料，因而與人類農墾遷徙而拓殖可能有關，如新竹、彰化等縣城未築磚牆前即以刺竹當城牆。主要分佈於西南部的丘陵地，是季風型氣候冬季乾旱少雨的代表性植物，用途相當廣泛如炭薪及建材。產於東南亞季風區，由印度到廣東、福建及台灣(劉業經等，1994)。

近年來，分子標記(molecular marker)廣泛應用在生物學研究，包括用於植物生態學、分類學、遺傳學及生物地理學的研究。Zietkiewicz等人(1994)所發展以PCR(polymerase chain reaction)技術為基礎之ISSR(inter-simple sequence repeat)分子標記，其操作方便、實驗花費較少、所需DNA樣本量少、多型性高(polymorphism)、及再現性(amplification reproducibility)明確等優點。目前廣泛應用於遺傳連鎖分析及建構遺傳圖譜、研究物種族群遺傳變異、和區分種內、亞種、或品系、栽培種、研究自然族群雜交現象等。

刺竹為台灣重要竹類，且為廣泛分佈之單子葉植物，族群繁殖雖可由開花結果傳播，然而竹類開花時間長，相對較少機會，一般多以藉由根株分株方式，而台灣環境與氣候變化複雜，及早期遷徙是否改變族群遺傳變異與親緣關係，頗值得進行探討，本研究即應用ISSR分子標誌，探討族群遺傳多樣性關係。

### A 研究方法

#### 一、採集方法

為了了解台灣環境與氣候之複雜變化，及遠古先民遷徙是否改變族群遺傳變異與親緣關係，採集了台灣8處刺竹自然分佈地區(表1、及圖1)，每區採取6-8株，共採得56株，每株選取無病蟲害5-10葉片，矽膠乾燥劑脫水乾燥。

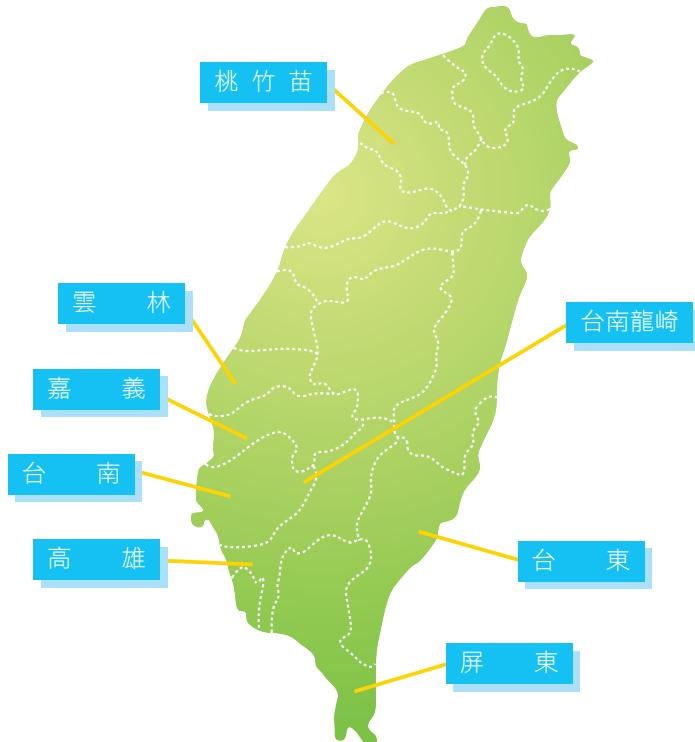


圖1 採集地理位置圖

表1 試驗採樣地點與樣本數

試驗編號	採樣地點	海拔(m)	樣本
台南	台南縣	50	8
高雄	高雄縣	80	7
嘉義	嘉義縣	80	5
龍崎	台南縣龍崎鄉	160	8
桃竹苗	中北部	200	8
雲林	雲林縣	80	6
屏東	屏東	100	7
台東	台東	40	7

#### 二、DNA之萃取及定量

採用Doyle and Doyle (1987) CTAB萃取法，分離genomic DNA，再利用分光光度計進行DNA濃度(ng/μl)測定。

### 三、ISSR的擴大反應

1. 參考Zietkiewicz (1994)方法加以修改如下：總體積為 $25\ \mu\text{L}$ ，試劑為：

表2 ISSR PCR 反應溶液配方

藥劑	體積
(1) dd H <sub>2</sub> O	16.7 $\mu\text{L}$
(2) 10xPCR Buffer	2.5 $\mu\text{L}$
(3) 2.5 mM dNTPs	1.6 $\mu\text{L}$
(4) Taq DNA polymerase (1 u)	0.2 $\mu\text{L}$
(5) Primer	2 $\mu\text{L}$
(6) DNA template (20 ng / $\mu\text{L}$ )	2 $\mu\text{L}$
Total volume	25 $\mu\text{L}$

2. 溫度循環機 (thermocycler; Perkin Elmer Geneamp PCR System 9700)進行PCR。

表3 ISSR PCR 溫度循環參數

PCR循環步驟	溫度	時間
(1) Primary denaturation	94 °C	5 min
(2) Denaturation	94 °C	30 sec
(3) Annealing	52 ~ 55 °C	50 sec
(4) Extension	72 °C	2 min
(5) Final extension	72 °C	10 min

### 四、電泳、染色及照相

以1.5% Agarose(GIBCO BRL)，將擴增DNA產物進行電泳。使用ethidium bromide染色，Polaroid 667拍照記錄。

### 五、統計分析

1. 記錄多型性條帶與計算相似度(Similarity)

讀取清晰、亮度大且具多型性之條帶，以代碼1(出現)和0(不出現)記錄條帶出現狀況。利用NTSYS-pc ver 2.0套裝軟體(Rohlf, 1993)，以Simple Matching 公式計算兩兩樣本間之相似度矩陣(SSM)，另以Dice(Dice, 1945)公式計算兩兩樣本間之相似度(SAB)矩陣。各公式如下：

$$\text{SSM} = m/n$$

m：兩兩樣本一致出現及一致不出現的條帶數。

n：多型性條帶總數。

$$\text{SAB} = 2\text{NAB}/(\text{NAB}+\text{NA}+\text{NB})$$

NA：樣本A出現但樣本B不出現的條帶數。

NB：樣本B出現但樣本A不出現的條帶數。

NAB：樣本A與樣本B皆出現的條帶數。

將SSM 相似度矩陣轉換成D 距離矩陣(Excoffier et al.1992)，計算族群間的遺傳距離矩陣( $\Phi_{st}$ )。

$$D = n(1 - SSM); n = \text{多型性條帶總數}$$

2. 分子變方分析(Analysis of Molecular Variance : AMOVA)

以AMOVA v1.55 程式(Excoffier et al., 1992)進行分析，計算族群間、族群內個體間的變方成分值及所佔總變方成分之百分比，並以9999 次隨機重排測驗各變方成分的顯著性。

3. 族群間遺傳歧異度、遺傳分化係數、基因流之分析：

以POPGENE 1.31 套裝軟體計算族群間遺傳資料(Yeh et al., 1997)，計算Nei's 遺傳歧異度(H)(Nei, 1973)；遺傳分化係數Gst [coefficient of gene differentiation (Nei, 1973)]，再利用Gst 估算基因流值Nm (Nm = 0.5 × (1-Gst)/Gst)(Slakin and Barton, 1989)。

4. 遺傳距離矩陣與地理距離相似度矩陣之相關分析

以Biom軟體進行遺傳距離矩陣與地理距離矩陣之關聯檢定(mantel test)，且再經1000次隨機排列測驗達顯著相關。

5. 歸群分析(Cluster analysis)與主座標分析(Principal Coordinate Analysis , PCOA)

將NTSYS-pc ver 2.0所計算出之各樣本間Dice相似度矩陣及AMOVA所算出之地區間距離( $\Phi_{st}$ )矩陣，以NTSYS-pc v.2.0的SAHN(Sequential, Agglomerative, Hierarchical, and Nested clustering method)程式、UPGMA(Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic averages)方法，進行各地區的歸群分析建立樹狀圖(Dendrogram)。樣本間Dice相似度矩陣及AMOVA所算出之地區間距離( $\Phi_{st}$ )矩陣，以NTSYS-pc v.2.0進行主座標分析，以三維及二維所佔變異最大的主要軸繪成立體圖及平面圖，求出各地區在空間分佈之變異關係。

## B 結果與討論

- 一、多型性條帶判視(Similarity)（略）。
  - 二、分子變方分析(Analysis of Molecular Variance；AMOVA)（略）。
  - 三、遺傳變異與地理距離之關聯分析（略）。
  - 四、族群之遺傳歧異度、遺傳分化、基因流（略）。
  - 五、歸群分析(Cluster analysis)與主座標分析(Principal Coordinate Analysis，PCOA)
- 經比對遺傳距離矩陣，與相似度矩陣所得之協表相關係數(cophenetic correlation coefficient)為0.9097，此歸群圖尚未扭曲可表現真實之群團狀態；由歸群圖所呈現親緣關係（圖2），於相似度50%可分成3大群，東部、南部與西部族群的關係。

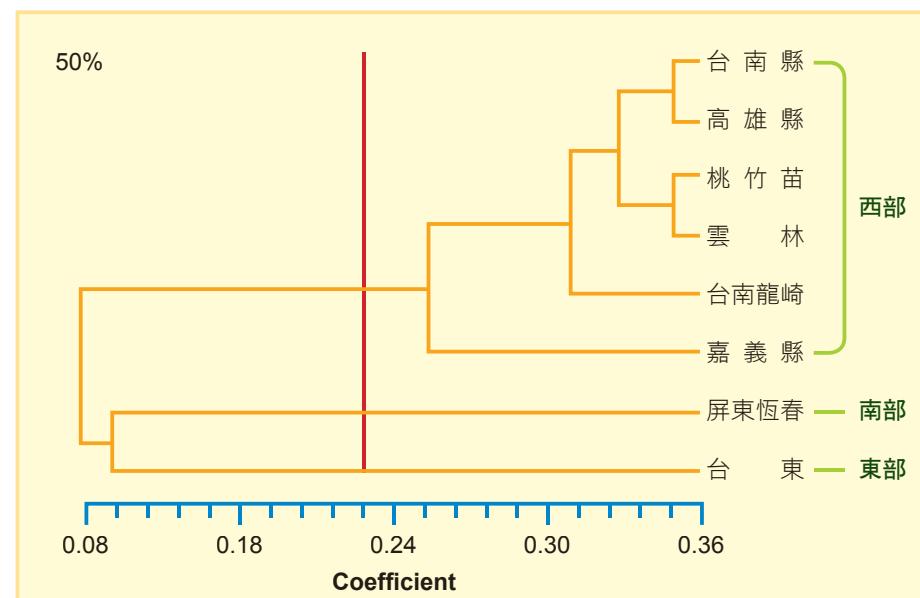


圖2 歸群分析(UPGMA)樹狀圖

主座標分析(PCOA)結果，第一維可解釋55.33%，第二維可解釋28.96%，第三維可解釋10.35%，三維座標共解釋94.64%；由三維（圖3）及二維座標圖（圖5）明顯看出族群間發現族群間呈東部與南部2小群團，及西部大群團之分佈關聯（圖2）地理親緣關係。

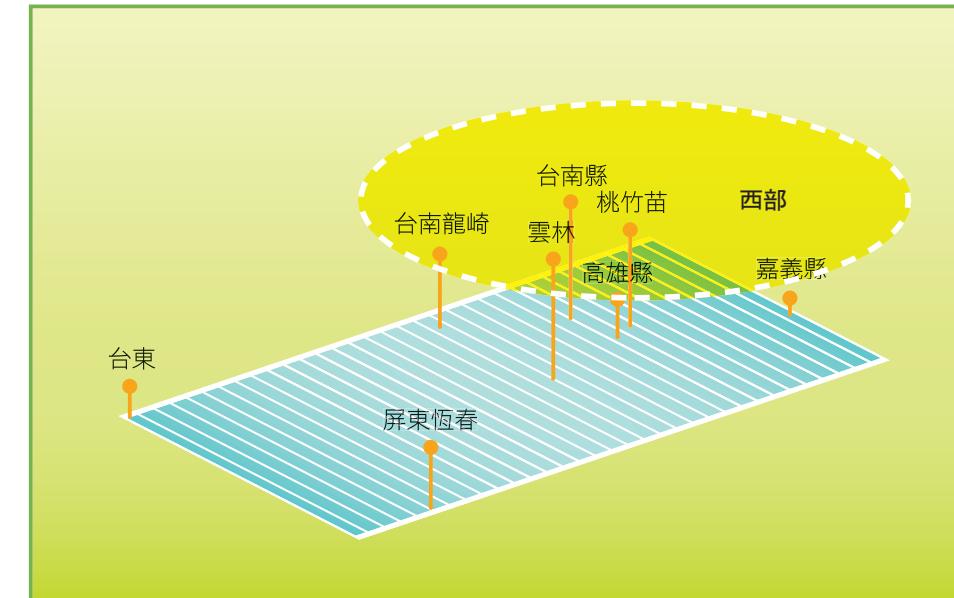


圖3 主座標分析座標圖

歸群分析之歸群圖發現族群呈西部1大群團及東部與南部2小群團之歸群趨勢（圖2）。主座標分析所得座標圖亦反映此分佈關係。一般而言，族群分化起源有多種模式，如隨環境梯度變化而成漸變模式，或是不同生態環境造成分化而不會對應空間順序，以及地理距離的隔離造成分化，或不同族群發育歷程造成分化等(Sokal et al., 1978)。

推測刺竹族群可能由生育地環境差異，因自然汰選能適應環境之族群而具較高遺傳歧異度。另亦可能族群發育歷程造成分化，例如刺竹族群可能多源進入台灣，包括來自中國之廣東福建、或菲律賓等南洋地區，甚至於大洋洲之可能來源（圖4）。

事實上，刺竹族群分佈於東南亞季風區，當拓殖至本島時，各生育地之複雜環境與氣候變化，山脈地形之隔離，如東部台東地區及南部屏東恆春地區可能地形崎嶇，限制了遷入之族群遺傳基因交流，長期隔離而形成具較高遺傳分化。刺竹為單子葉植物其繁殖系統，雖可能由開花結實傳播，但一般多以營養器官分株方式，因而一部分之族群變異來自體細胞變異，因基因突變或漂變，擴大了地區隔離之分化傾向，因此，分子變方分析確認大部分變異存在於各地區族群內樣株間。同時，推測西部嘉南平原即可能早期開墾之主要區域，而最先引種栽植刺竹，因之其遺傳變異包含所有西部之變異基因（圖5），而後向四周遷徙發展，乃至發展至西部族群遺傳分化與親緣關係，這符合台灣開拓由南而北之過程。

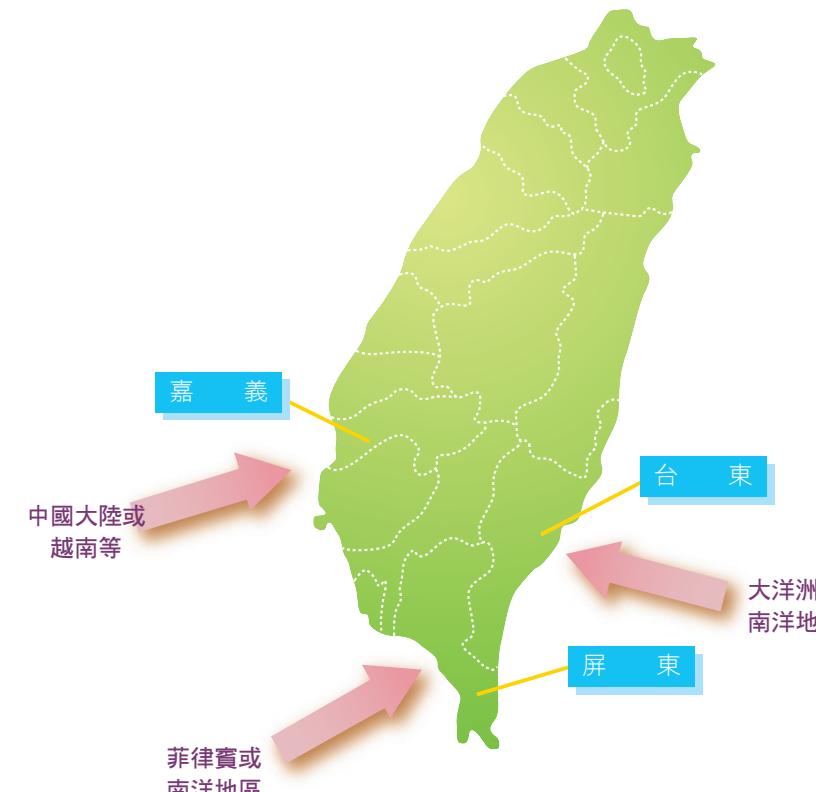


圖4 刺竹族群多源引入之來源推演圖

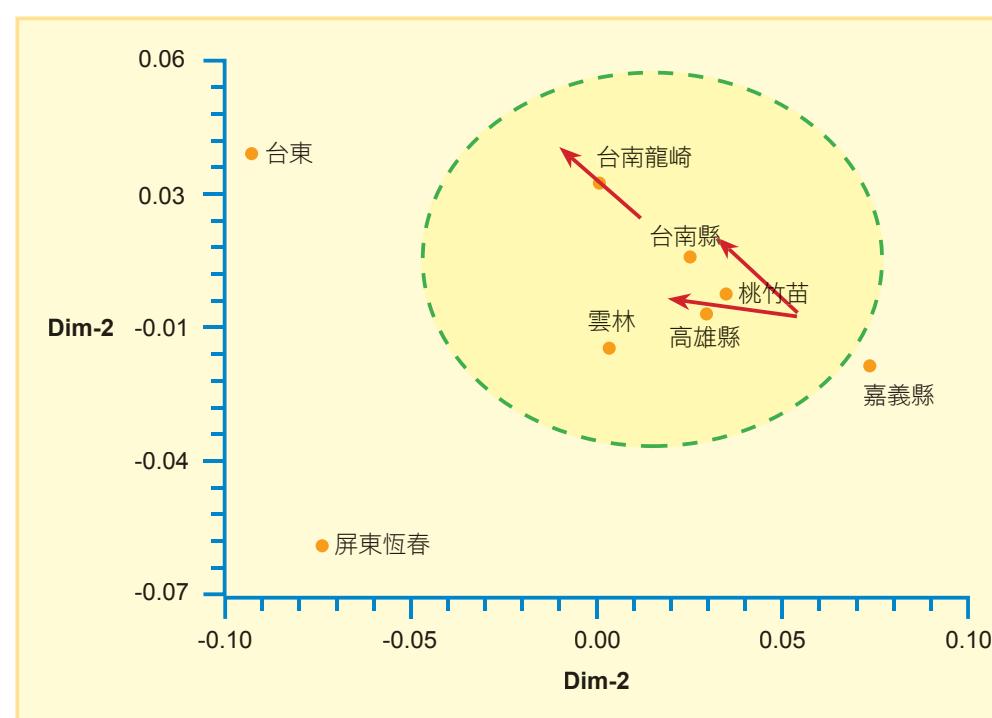


圖5 二維主座標分析座標圖

## C

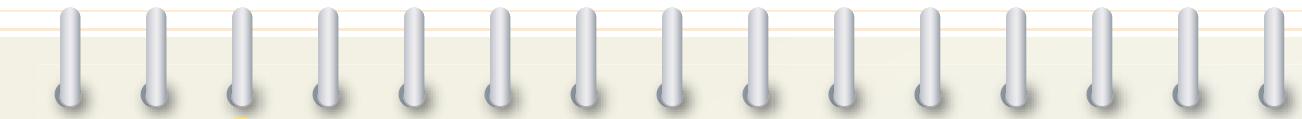
## 結論

台灣刺竹(*Bambusa stenostachia* Hackel)為禾本科(Gramineae)刺竹屬(*Bambusa*)合軸叢生(Sympodial rhizocauls)之原生竹類。應用ISSR分子標誌分析8處分佈地區計56株樣本，使用11個引子進行PCR試驗，獲得127個條帶，多型性條帶有34條(26.77%)。分子變方分析(AMOVA)顯示分佈於東、西及南部確有明顯的分化(變方成分為30.48%)，地區內變方成分較低(16.21%)，大部分分化仍存在於族群樣木內(53.31%)；歸群與主座標分析及地理距離關聯分析結果吻合推論，由於繁殖與環境影響趨於較高的遺傳歧異度(0.30.69)與分化(0.5237)，使基因流較低(0.4548)現象，與族群藉無性分株拓殖遺傳變異可能受到環境及人類墾殖影響。

應用分子標誌探討台灣地區刺竹族群之遺傳多樣性，由其分子變方分析顯示族群已有分化傾向，但大部分變異成分仍存在於族群內。刺竹台灣為蓄積量大之重要竹類資源，由於其族群繁殖系統保持基因變異，藉由開發遷移過程，增加族群適應環境，再由地形隔離造成族群遺傳歧異度與遺傳分化提高。目前族群發展成地區間較低的基因流之遺傳結構，表現族群遺傳多樣性。

本研究推測西部嘉南平原即可能早期開墾之主要區域，而最先引種栽植刺竹，因之其遺傳變異包含所有西部之變異基因，再向四周遷徙發展，乃至西部族群遺傳分化與親緣關係，這符合台灣開拓由南而北之過程，提供了西部嘉南平原早期開墾區域，及推演其拓殖方向，如嘉義可能最先引種栽植，而後向四周遷徙發展，此部分可提供台灣早期開發史之研究參考。





後記

## 刺竹遺傳變異研究 印證台灣先民開拓路線

臺南平原為台灣西部較早開墾之區域，而嘉義高中何維邦同學發現嘉義的刺竹帶有西部刺竹大部分變異基因，可能是西部刺竹的源頭所在，間接與台灣開拓史相互印證。

### 尋找刺竹與台灣先民開拓的淵源

「台灣開拓史」這樣的題目，怎麼聽都不像自然科學的研究主題；不過它對何維邦的科學研究而言，是十分重要的思想源頭。「我國中之前住在嘉義縣民雄的鄉下，菁埔村落周邊，以前圍繞著密密麻麻的刺竹叢。」何維邦說起自己與刺竹的淵源，「我阿公利用它們，做了許多農具。據說村民用它來打日本人，但這是年代久遠的傳說了。」他侃侃談著刺竹，自然地將它置於台灣歷史脈絡當中，好像刺竹本來就該這樣被討論似的。

幼時在鄉村成長的獨特經歷，讓何維邦對刺竹有一份別於其他人的思考。就讀嘉義高中時，碰巧其父親所帶的研究生，正在做溪流間構樹遺傳變異，「我想到台灣開拓史，就像歷史長河，刺竹就是構樹，或許有些印證。」加上卑南族有以「倒竹」做為占卜之用的傳統，似乎說明著刺竹與台灣居民的密切關係。何維邦從這些背景資料，推論刺竹可能在台灣開拓的過程中隨人類遷移，並因此在各地產生遺傳變異，而刺竹特殊的營養繁殖方式，相信更可以明確看出遺傳變異的現象，遂以此做為研究題目。

### 眾人不吝協助 研究過程樂趣多

研究台灣各地刺竹的變異，意味著首先得取得各地的刺竹樣本；林維邦雖然是一個人做這個題目，但採集的過程，同學也給予他很多協助。此外為了做分析，他到嘉義大學育林技術研究室去，在那裡獲得儀器設備之支持，還有研究人員的技術傳授。對這些人的協助，何維邦充滿感謝。當然，他感謝最深的還是李文堂老師和林秀珠兩位指導老師，提供他關於生物遺傳訊息的資料，也從旁協助他的研究，適時給予建議。

和眾多專題研究者一樣，為了做這個研究，何維邦自行找了許多遺傳和演化相關的資料來閱讀，花上很多課餘時間。此外就是一直待在實驗室了。何維邦對於生物和遺傳方面的研究充滿興趣，即使關在實驗室也不以為苦，「我有從中得到研究的樂趣，」他說，「尤其是第一次電泳成果出來的時候，看到DNA出現，心情十分振奮。」目前的他，仍保持這樣的心情，正努力朝醫學研究之路前進著。



## 3-2 生物

科學小論文



## 吃虧就是佔便宜？ 美洲螯蠣社會互動行為與 資源分配關係的探討

臺北市立中山女子高級中學  
胡琬穠