

## 植物種子澱粉酶活性測定

### ◆ 實驗目的：

1. 觀察在植物種子萌發的過程中，澱粉酶在種子中的表現及分布。

### ◆ 實驗原理：

#### 1. 植物種子萌發

植物的花完成授粉後，受精卵經過多次細胞分裂與分化形成胚體(包含胚根、胚軸、胚芽和子葉)；胚珠內其他部份的組織也同時發育成胚乳和種皮。種子成熟過程中其含水量逐漸降低至約為種子重量的 5%、種子內細胞代謝速率隨之降低，呈現休眠狀態以利脫離母株獨立存活。

通常種子需要外在環境刺激和內部生理因素相配合才能順利萌發。影響種子萌發的因素主要為水份、溫度和氧氣。以穀粒為例，當種子吸飽水分時，位於胚乳外的糊粉層開始產生  $\alpha$ -澱粉酶及其他酵素以分解處存於胚乳中的澱粉。若在種子吸水前將胚切除，則  $\alpha$ -澱粉酶無法產生。通常植物種子本身不含葉綠體，係利用儲存在胚乳中的養份成長，接受光線激發後才會產生葉綠體並開始進行光合作用。

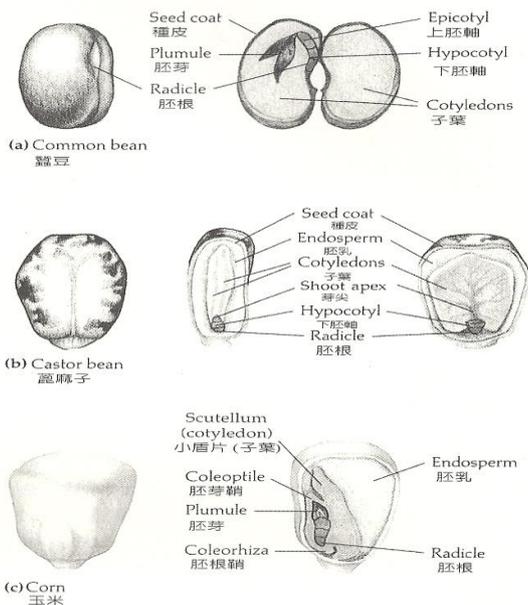


圖 34.7  
種子構造

(a) 雜豆種子肥厚的雙片子葉內貯藏豐富的養分，是在種子發育過程中，自胚乳吸收而來的。(b) 蓖麻子膜片狀的子葉在種子發芽時會吸收胚乳之養分以供生長之需。(c) 玉米是單子葉植物，僅有一片子葉(小盾片)，幼小的胚芽有胚芽鞘被覆。

(Campbell 生物學，中文第四版)

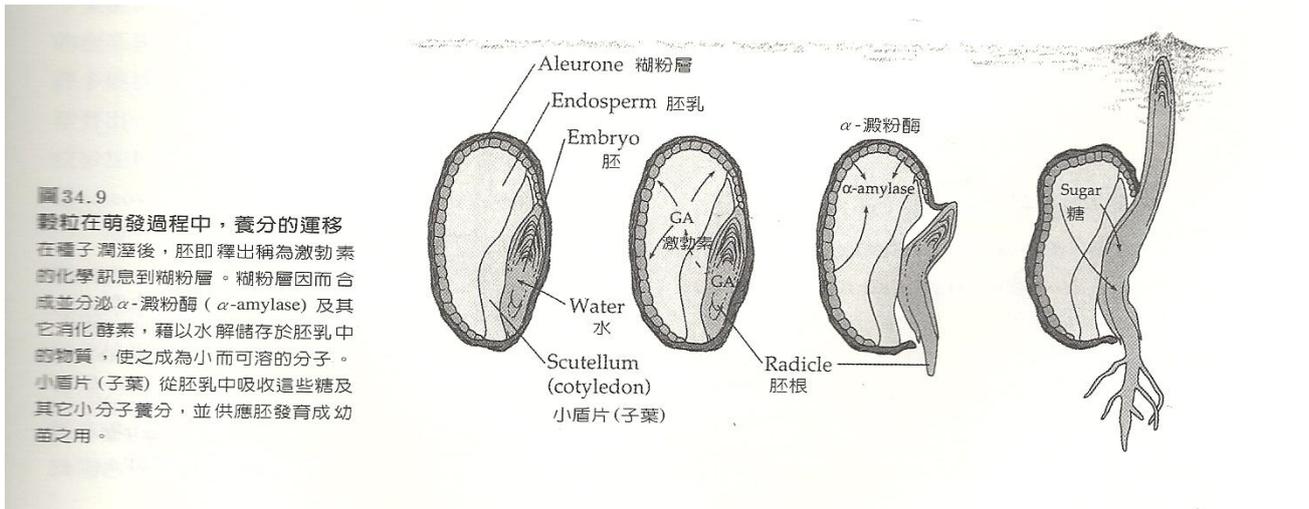


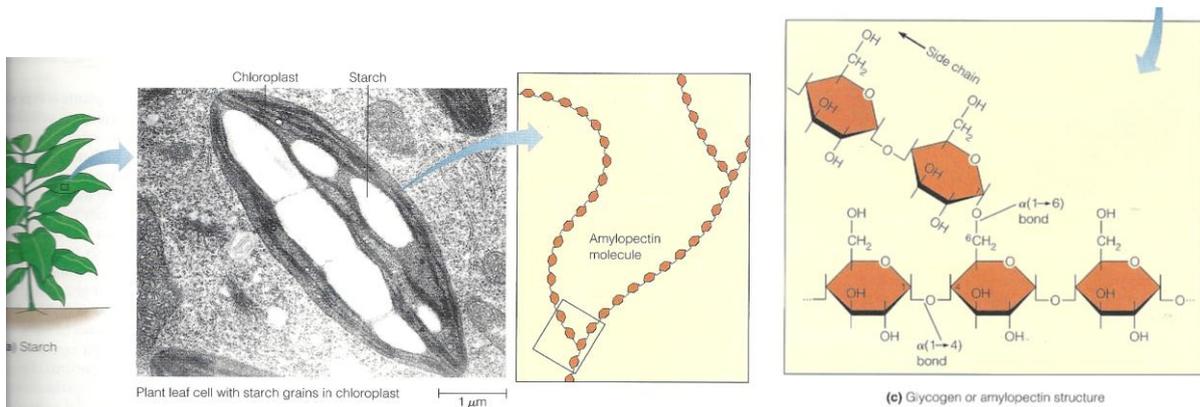
圖 34.9

穀粒在萌發過程中，養分的運移在種子潤溼後，胚即釋出稱為激動素的化學訊息到糊粉層。糊粉層因而合成並分泌  $\alpha$ -澱粉酶 ( $\alpha$ -amylase) 及其它消化酵素，藉以水解儲存於胚乳中的物質，使之成為小而可溶的分子。小盾片(子葉)從胚乳中吸收這些糖及其它小分子養分，並供應胚發育成幼苗之用。

(Campbell 生物學，中文第四版)

## 2. 澱粉與碘液的作用

澱粉是由澱粉醣及膠澱粉組成的大分子化合物。其中澱粉醣 (Amylose) 由葡萄糖分子以  $\alpha(1\rightarrow4)$  直鏈排列構成；膠澱粉 (Amylopectin) 則由含有磷酸根的  $\alpha(1\rightarrow6)$  支鏈構成(如下圖)。碘離子 ( $I_5^-$ ) 能夠與澱粉分子反應形成有色錯合物，與澱粉醣反應的結果呈藍色、與膠澱粉反應的結果呈紅紫色。



(The world of the cell, 6<sup>th</sup> Ed.)

### ◆ 實驗器材：

100 mm 培養皿、單面刀片、小鑷子、1.5%澱粉膠盤、碘溶液( $I_2/KI$ )、植物種子 (花豆、花生、綠豆、黑豆、黃豆)

#### 1.5%澱粉膠盤配製

1. 取 1.5 g 澱粉 (Starch) 與 0.8 g 洋菜膠 (Agar) 溶於 100 mL 去離子水中，將血清瓶置於加熱盤上加熱並攪拌至完全溶解。
2. 將配好的澱粉膠溶液以高溫高壓滅菌，待稍微冷卻後倒入培養皿中(每培養皿約 15 mL，需於無菌操作台中操作)。
3. 將澱粉膠盤放在無菌操作台內，待澱粉膠凝固後便可使用。

**碘溶液**

1. 配置  $I_2/KI$  (0.125% / 1%) 溶液為碘溶液的原液。
2. 將原液加入去離子水稀釋 12 倍後使用。

**◆ 實驗步驟：**

1. 實驗課前五天開始按日將種子泡水或浸濕促使其萌發，使用萌發 1、3、5 天的種子進行實驗。(實驗課時助教會提供材料)
2. 將不同萌發天數的種子和發芽的子葉以不同的切面方式(縱切或橫切)剖開，並切成數個薄片。
3. 將種子的切片按照順序排列在事先準備好的澱粉膠盤中(助教會先幫各位準備)，並於盤底記錄種子種類、萌發天數、切片位置等資料。
4. 將種子靜置於澱粉膠盤 15 分鐘後，將澱粉膠盤上的種子切片移開。
5. 在澱粉膠盤上滴入 2 mL 的碘液，輕輕搖晃 1~2 分鐘使碘液均勻布滿在澱粉膠盤上。
6. 小心地以噴瓶中的去離子水沖掉碘液，將廢液收集在燒杯中。(請勿對著澱粉膠盤中間沖洗，應該將噴嘴對準培養皿邊緣)
7. 觀察並且記錄澱粉膠盤上的染色結果，對照種子切片的相對位置以分析不同種子在不同萌發時間的澱粉水解酶表現位置。
8. 將碘液廢液倒入鹵素廢液桶，清洗燒杯時的水同樣需倒入鹵素廢液桶中。

**◆ 問題討論：**

1. 何種樣品在種子萌發過程中其澱粉水解酶的表現速度最快?
2. 澱粉水解酶在種子中的表現位置順序為何? 澱粉水解酶最可能儲存在種子的哪個部位 (可依據不同種類的種子分別敘述)?
3. 為何碘液中需加入  $I_2$  和  $KI$  兩種碘的化合物?
4. 為何碘液遇到澱粉醣反應的結果呈藍色，與膠澱粉反應的結果呈紅紫色?

**◆ 參考資料：**

1. 生物學，Neil A. Campbell 原著，李家維等編譯，偉明圖書有限公司，ISBN：957-98991-3-4。
2. *The world of the cell*. 6th ed., Becker, W.M., L.J. Kleinsmith, and J. Hardin, 2005, San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, Inc.
3. 基礎生命科學實驗講義，國立清華大學生命科學系主編，2011。
4. 植物生理學實驗，朱廣廉、鐘誨文、張愛琴，百通圖書股份有限公司，1994-06-15，ISBN：9575313674。
5. 生命科學講義，國立台灣師範大學生命科學系主編，國立台灣師範大學，2007 初版。