

植物吸血鬼的牙齒——日本菟絲子與平原菟絲子吸器形態與功能之比較

馬瑪宣 林昌恩 林郁翔 黃潛龍 蘇聖維

私立復興實驗高級中學

壹、前言

不論在國中生物或是在高中生物教材，一提到無葉綠體的寄生性植物，總少不了菟絲子。黃澄澄的菟絲子，在盛夏的艷陽下，總是一大片恣意地覆蓋在它選中的寄主上，從莖延長期到開花結果，慢慢的吸乾寄主的養分水分。究竟這種看似纖細柔弱，而卻有強大破壞力的植物，是有怎樣的本事，榮登寄生植物的衛冕者寶座呢？答案就是一吸器。

菟絲子屬 (*Cuscuta*, dodder) 是旋花科 (Convolvaceae) 中唯一的全寄生性植物，它的根與葉退化，能在蔓生的纏繞莖上形成吸器 (haustorium) 穿入宿主植物皮層，與宿主莖內的維管束相連結，從中攔截水分與養分，造成宿主枯萎甚至死亡。它則迅速拓展、蔓延，擴大危害面積。目前台灣發現的菟絲子有澳洲菟絲子 (*C. australis*)、中國菟絲子 (*C. chinensis*)、台灣菟絲子 (*C. japonica* var. *formosana*)、日本菟絲子 (*C. japonica* var. *japonica*) 及平原菟絲子 (*C. campestris*) 等五類，其中以日本菟絲子危害生態最厲害。

本研究欲比較二種北部常見的菟絲

子：日本菟絲子及平原菟絲子外形及吸器形態的差異，以及幫助吸器穿透宿主皮層的酵素－果膠甲酯酶 (pectin methyl esterase, PME) 的活性。我們發現，日本菟絲子可以寄生於喬木，莖比平原菟絲子粗而強韌，植被範圍較高而不易清除。而實驗比較吸器所萃取出果膠甲酯酶的活性，日本菟絲子比平原菟絲子強。結果支持日本菟絲子以較強穿透力的吸器，寄生於較強壯的宿主，得以發育好而不易清除、造成較高的危害。

貳、研究動機及實驗設計

研究資料顯示，日本菟絲子已經對台北木柵地區的自然生態造成了重大災害，而且防治不易。我們從事這個實驗，希望能探索出日本菟絲子所展現攀爬與寄生能力優於一般菟絲子的原因，作為防治參考。既然吸器是菟絲子寄生成功的先決條件，我們的先前觀察發現，日本菟絲子比起其他種類菟絲子，其吸器具有穿透喬木植物木質化表皮的能力，我們就以台灣常見之平原菟絲子為比較對象，研究日本菟絲子與平原菟絲子外觀以及吸器不同之處。



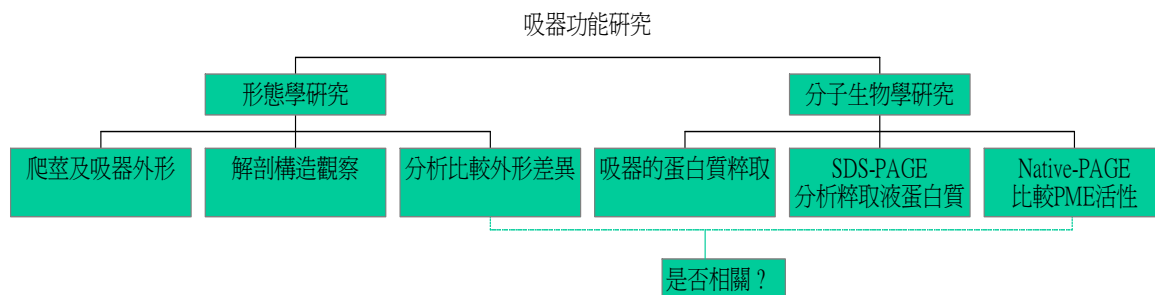
圖 2-1、木柵道南河濱公園堤防外道路島榕被日本菟絲子寄生的情形。



圖 2-2、台大農場金露花被平原菟絲子寄生的情形。

除了吸器形態之外，我們希望也能比較兩種菟絲子吸器侵犯宿主的能力。回顧文獻，菟絲子吸器藉由酵素作用，溶解宿主皮層而侵入莖內。其中一種—果膠甲酯酶（pectin methyl esterase, PME），可以分解宿主皮層的果膠。果膠廣泛存在於高等植物中，是植物初生細胞壁和細胞間層的重要成分，可以黏合植物的細胞組織。果膠甲酯酶可以調控植物細胞壁以及細胞間果膠的含量，與植物多種重要的生長發育過程有關，是目前植物學研究的重要課題。菟絲子的果膠甲酯酶可以把宿主皮層中果膠上的甲基分解，降低果膠間的接合力，軟化宿主植物皮層；同時，分解後含甲基比較少而容易溶解的果膠也會移動，進而在吸器與宿主接合處外緣形成水泥狀膠結物，以強化吸器與宿主的結合。然而，文獻中並沒有不同種類菟絲子間果膠甲酯酶活性的比較，更激發我們研究這一課題。

因此，我們假設日本菟絲子因為吸器中果膠甲酯酶的活性較強，比起其他菟絲子更具穿透喬木植物木質化表皮的能力。一般測定果膠甲酯酶的活性，是利用酶把果膠上的甲基酯解，變成甲醇和羧基，羧基會和釘紅結合變色。相同時間內，相同果膠量，產生的羧基量較多，呈色較紅，表示果膠甲酯酶活性較強。我們計畫萃取吸器中的蛋白質，保持活性，然後加入果膠和釘紅，再觀察顏色的變化。結果遇到極大的困難，因為吸器很小，蛋白質含量也很少，我們收集了很多吸器樣本，結果試管中的溶液變色根本不明顯。



我們走訪台灣大學植物科學研究所，葉所長告訴我們，可以把菟絲子吸器蛋白萃取液中的果膠甲酯酶，在電泳膠上分離出來。我們就用此方法比較果膠甲酯酶的活性，作為吸器功能的指標。

參、研究思路及流程

一、形態學研究：(如上圖)

- (一) 比較兩者攀爬莖及寄生吸器形態。
- (二) 利用解剖顯微鏡觀察比較日本菟絲子及平原菟絲子吸器侵入宿主之形態差異。

二、分子生物學研究：

- (一) 將吸器之蛋白粗萃取出來，以考馬斯亮藍 (Coomassie Brilliant Blue) 法比色測定蛋白質濃度。
- (二) 於等量萃取液蛋白情形下，以十二烷基硫酸鈉－聚丙烯醯胺膠體電泳 (sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 的方法，分析萃取液的蛋白組成，確定蛋白萃取液的品質。
- (三) 再以非變性聚丙烯醯胺膠體電泳

(Native-PAGE)的方法，保持蛋白活性，比較等量萃取液蛋白中果膠甲酯酶 (pectin methyl esterase, PME) 活性的強弱。

藉以了解日本菟絲子為何能寄生於灌木或喬木，而平原菟絲子多寄生於灌木或草本植物之部分原因。

肆、研究思路及流程

一、實驗材料：

- (一) 平原菟絲子 (*Cuscuta campestris* Yunck)
 1. 採集地：台大農場
 2. 宿主：金露花
- (二) 日本菟絲子 (*Cuscuta japonica* Choisy var. *japonica*)
 1. 採集地：木柵道南河濱公園的堤防外道路
 2. 宿主：島榕

二、器皿：

研鉢、燒杯、培養皿、量筒、雙面刀片、載玻片、液態氮冰桶

三、儀器：

- (一) 數位相機一台
- (二) 解剖顯微鏡一台
- (三) 複式顯微鏡一台

四、果膠甲酯酶 (pectin methyl esterase) 活性分析相關器材：

- (一) 離心機保持 4°C
- (二) 吸光儀
- (三) 微量吸管
- (四) 微量天平
- (五) 酸鹼儀
- (六) 4°C 冰櫃
- (七) 蛋白質電泳及相關器材

五、藥品

詳細配方見附錄。

0.1M 檸檬酸	0.2M 磷酸氫二鈉
40% 聚丙烯醯胺 (PolyAcrylamide)	1M 氫氧化鉀 (KOH)
10% APS	50% 甘油
Tris	鈎紅 (Ruthenium red)
1M 氯化鈉	蒸餾水
100% 冰醋酸 (Acetate)	TEMED
磷酸氫二鈉 (Na ₂ HPO ₄)	0.5% 果膠

伍、研究過程與方法

一、材料採集：

- (一) 平原菟絲子採集點：台大農場，連同宿主（金露花）一同採下。

- (二) 日本菟絲子採集點：木柵道南河濱公園堤外道路，連同宿主（島榕）一同採下。

二、於日本菟絲子及平原菟絲子原始生存環境中觀察：

- (一) 菟絲子於宿主纏繞情形。
- (二) 寄生部位宿主莖的特性差異。

三、採集後於實驗室觀察：

- (一) 莖的粗細、顏色、分枝情形、莖上鱗葉等。
- (二) 纏繞寄生一圈菟絲子產生的吸器數量。
- (三) 菟絲子吸器的大小及分布情形，吸器痕。
- (四) 在解剖顯微鏡下以新拆封的雙面刀片，將菟絲子成熟的吸器連同寄主被侵入的部位一同切下，並拍照，比較對照文獻資料標示出吸器的各部分。

四、菟絲子果膠甲酯酶活性測試實驗：

因為果膠甲酯酶於鹼性下有活性，於酸中才無活性，故在反應前應保持儲存環境為酸性。

- (一) 以液態氮預冷研鉢。取新鮮樣品，分 (A) 日本菟絲子或 (B) 平原菟絲子兩組，將一段含吸器的莖，自纏繞莖上分離出來，剪成一段段約 2cm 長，分別放入研鉢，總重約 0.5g。以液態氮冷凍樣品，於研鉢中以研磨棒磨碎至

粉狀。

(二) 待菟絲子吸器樣本回溫成液狀，加入萃取緩衝液萃取。

(三) 先預冷離心機 30 分鐘，以每分鐘 13,000 轉、 -4°C ，離心溶液 15 分鐘。

(四) 取上清液，小心勿因振盪使沈澱物懸浮，若沈澱物懸浮，再重新離心 5 分鐘。

(五) 以考馬斯亮藍 (Coomassie Brilliant Blue) 法比色測定每一管離心後樣本蛋白質濃度。

1. 牛血清白蛋白 (Bovine Serum Albumin, BSA): 10mg/ml 先稀釋成 1mg/ml 即 $1\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ 。考馬斯亮藍顯色劑則稀釋為五倍，依下表於微量離心管加入定量 ($200\mu\text{l}$) 顯色劑與不同量牛血清白蛋白。

牛血清白蛋白 (μl)	顯色劑 (μl)
0	200
1	200
2	200
4	200
8	200
16	200
32	200

2. 微量離心管依牛血清白蛋白濃度增加而由棕色轉藍色，於另一離心管加入樣本，比色推算樣本蛋白質濃度。

(六) 配製 Native-PAGE 【附錄(二)】。

(七) 架好膠台，以吸管注入膠，加上樣本梳 (comb) 作樣本格 (well) 固定，等 15 分鐘。

(八) 添加電泳跑膠緩衝液【附錄(三)】。

(九) 混合 $2.5\mu\text{g}$ 、 $5\mu\text{g}$ 、 $10\mu\text{g}$ 的蛋白樣本 (兩組菟絲子) 與等量體積的樣品緩衝液及 $1\mu\text{l}$ 甲基綠 (methyl green) 追蹤染劑，滴注於膠之樣本格內。因蛋白於甲基綠內帶正電，電泳池電極要反接再通電，在 4°C 下以 100V 跑膠 2 小時。

(十) 在酸性緩衝液中 5 分鐘待膠質達平衡。

(十一) 在 37°C 下與受質溶液進行反應 90 分鐘，以過濾蒸餾水洗淨。

(十二) 以鈎紅染色，以過濾蒸餾水洗淨。觀察呈色量即果膠甲酯酶活性大小。

五、我們於每次實驗萃取後，兩組各取一樣本做 SDS-PAGE，依分子量分離蛋白質，檢查萃取液蛋白的組成品質。最後以 Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBR) 染色。

陸、研究結果

一、平原菟絲子的形態觀察



圖 6-1，平原菟絲子纏繞金露花。

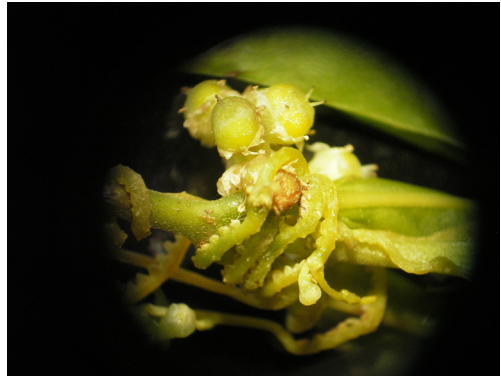


圖 6-4，平原菟絲子在形成吸器處膨大並叢聚開花。



圖 6-2，平原菟絲子在金露花莖上產生五個分枝，且莖呈橘黃色。



圖 6-5，平原菟絲子的吸器，呈乳突狀。



圖 6-3，平原菟絲子的自我寄生現象。

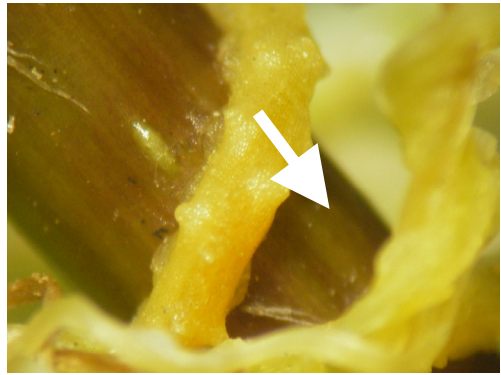


圖 6-6，平原菟絲子纏繞金露花處形成瘤狀凸起（箭頭處）。

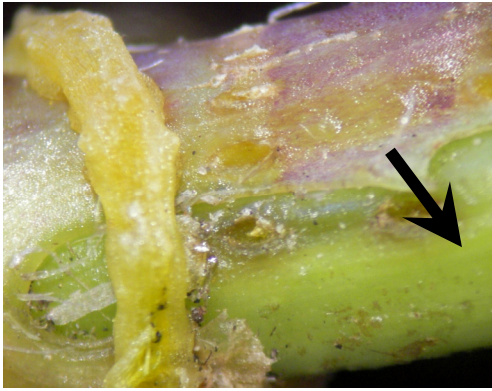


圖 6-7，平原菟絲子纏繞金露花處的吸器痕（箭頭處）。



圖 6-10，平原菟絲子的花側生，成總狀花序。



圖 6-8，平原菟絲子纏繞金露花處的吸器痕（箭頭處）。



圖 6-11，平原菟絲子的花冠裂片，反折呈廣三角形且頂端尖。

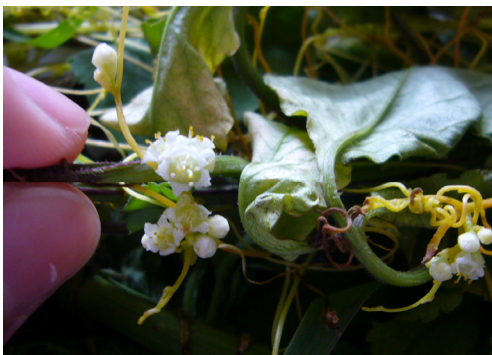


圖 6-9，平原菟絲子花的外觀。



圖 6-12，平原菟絲子的花冠呈短鐘形，為兩性花。



圖 6-13, 平原菟絲子的蒴果顯露不被花冠隱藏, 呈球形。



圖 6-14, 平原菟絲子的蒴果乾熟期。



圖 6-15, 平原菟絲子的蒴果充分成熟後不規則開裂。

二、日本菟絲子的形態觀察

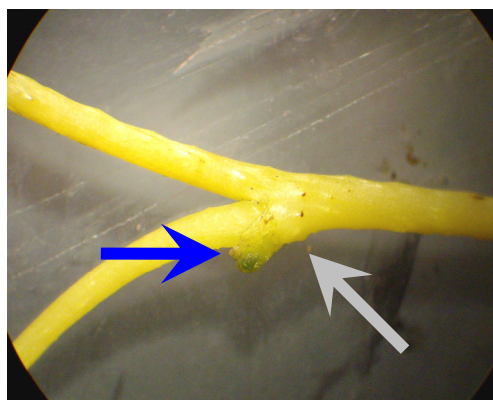


圖 6-16, 日本菟絲子的鱗葉 (灰箭頭) 及分枝 (藍箭頭)。



圖 6-17, 日本菟絲子纏繞島榕, 莖上具紫紅色瘤狀突起



圖 6-18, 日本菟絲子纏繞島榕, 莖分枝且具瘤狀突起。



圖 6-19，比較平原菟絲子（較細）與日本菟絲子的莖（較粗）。

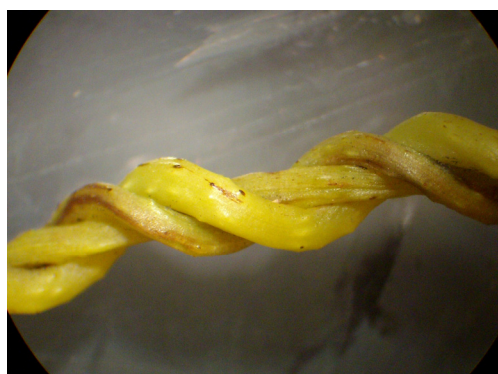


圖 6-20，日本菟絲子的自我寄生現象。



圖 6-21，日本菟絲子於島榕寄生，老莖有木質化的現象，很像樹枝。照片中纏繞樹枝的部分是木質化的老莖，在旁邊較細線作為對照用的是日本菟絲子較嫩的莖。

三、比較平原菟絲子與日本菟絲子的形態與寄生情形。

	平原菟絲子 (<i>C. campestris</i> Yunck)	日本菟絲子 (<i>C. japonica</i> <i>Choisy</i> var. <i>japonica</i>)
莖的粗細	纖細，達 0.1 公分。	較粗，可達 0.4 公分。
莖的顏色	顏色變化多端，呈淡黃、淡黃、黃或金黃色。	呈淡黃、淡紫紅色、紫紅色或淡綠色。
鱗片	大而呈流蘇狀。	匙形，邊緣流蘇狀。
寄生情形	金露花等灌木及草本植物，纏繞較多。	島榕等喬木上，植被高而面積廣。
吸器的分布	有些沒有附上寄主的部份也有長吸器	只在纏繞於寄主處有長吸器。
吸器痕	吸器附著寄主的部份容易分離，吸器痕呈圓形。	吸器附著寄主的部份不容易分離，吸合得很緊密。吸器痕呈梭形。
莖上的瘤狀突起	三角形突起與莖同色。	橢圓形或三角形突起，顏色明顯比莖深很多。
分枝情形	可產生 2-6 個分枝。	可產生 2-4 個分枝。

四、比較平原菟絲子與日本菟絲子的吸器形態

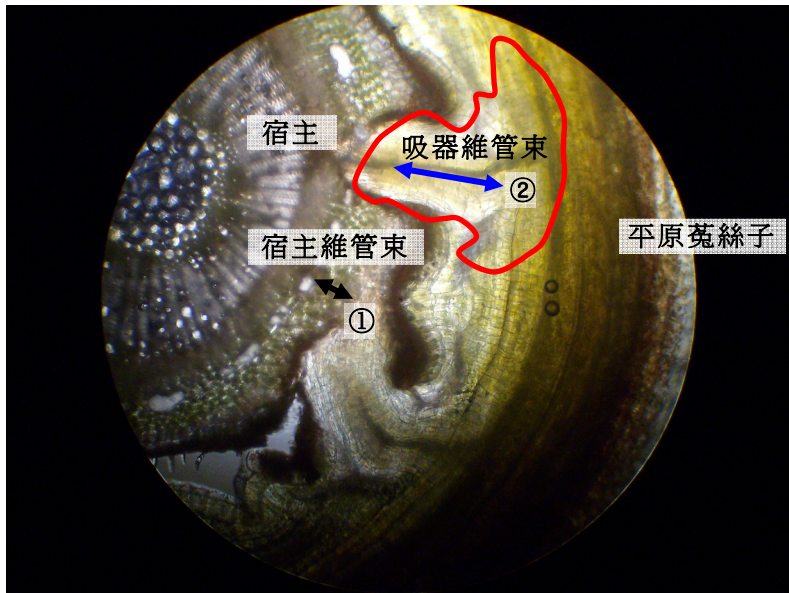


圖 6-23，平原菟絲子的吸器入侵金露花莖部，未染色宿主橫切面圖。於金露花莖部橫切面，可見連續 2 個菟絲子的吸器（紅色粗線段包圍處）侵入宿主的表層組織，連接到宿主維管束（以黑色雙箭頭①標示）。平原菟絲子的吸器入侵宿主的維管束後，吸器內的維管束（以藍色雙箭頭②標示）一端連接到莖部的維管束，另一端與宿主葉柄的維管束連接（倍率 4×10）。

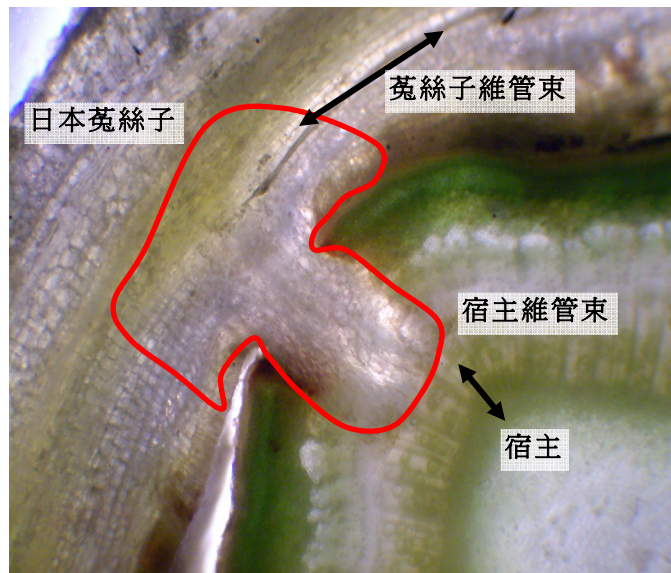


圖 6-24，日本菟絲子的吸器入侵島榕莖部，未染色宿主橫切面圖。於島榕莖部橫切面，可見 1 個菟絲子的吸器（紅色線段包圍處）入侵宿主的表層組織，連接到宿主維管束（以黑色雙箭頭標示）（倍率 10×10）。

- (一) 比較平原菟絲子與日本菟絲子的吸器，間隔及數量均依菟絲子莖本身生長情形而定，兩種菟絲子間並無顯著差異。
- (二) 個別吸器入侵宿主情形，則依宿主的維管束成熟及表層深度而定，同種菟絲子吸器深度在宿主莖上變化很大，但兩種菟絲子之間並無顯著差異。
- (三) 平原菟絲子的吸器附著較不牢固，小心拉扯可完整取下與宿主分離（圖 5-25），但日本菟絲子的吸器入侵島榕莖的部分則非常緊密，拉扯後只能取下菟絲子莖，吸器部分會留在島榕枝條內，必須用刀片取出。

五、比較平原菟絲子與日本菟絲子的果膠甲酯酶之活性。

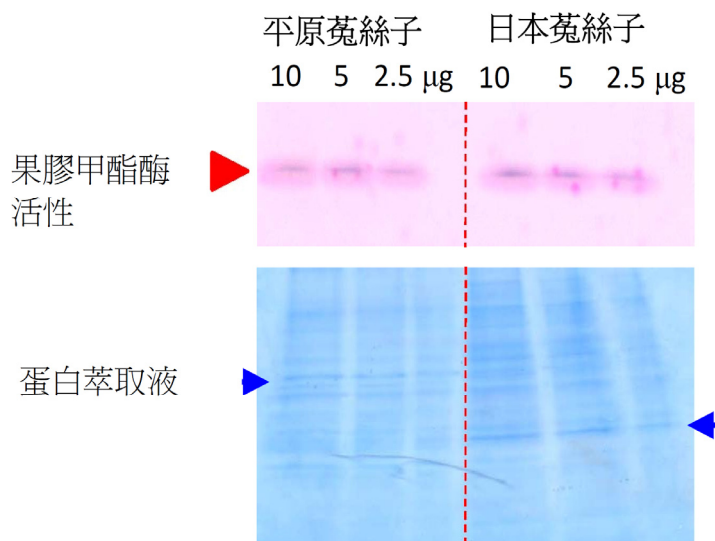


圖 6-25，菟絲子吸器之蛋白萃取液經酸性非變性聚丙烯醯胺連續膠電泳（native-PAGE 上圖）後分析果膠甲酯酶活性（紅色箭頭）及十二烷基硫酸鈉—聚丙烯醯胺膠電泳（SDS-PAGE 下圖）。日本菟絲子的果膠甲酯酶，由右至左，於樣本蛋白依 2.5 μ g、5 μ g、10 μ g 增加，活性分析隨樣本蛋白量增加而繼續變強，仍未到頂點，而且較平原菟絲子的為強。兩者吸器之蛋白萃取液經十二烷基硫酸鈉—聚丙烯醯胺膠電泳（SDS-PAGE）電泳後，顯示多條集中帶，表示蛋白組成成份不同，但兩者吸器之蛋白萃取液，在不同位置均出現一條較粗的集中帶（band，藍色箭頭），可能是吸器的主要蛋白成分，可以再做研究。

柒、討論

- 一、菟絲子屬是典型的寄生植物，本身不能獨立生存，必需寄生在宿主體上，由宿主植物供給營養。菟絲子屬對宿主並無選擇性，不論是蕨類植物、裸子植物、雙子葉植物或單子葉植物，也不管是草本或木本植物，只要是高等植物，均可能是菟絲子屬的宿主，甚至連自己也不例外，但其對同種宿主反而是有選擇性的，喜歡較高營養補充的宿主。
- 二、菟絲子屬的莖柔軟而呈線狀，呈黃綠色，不含葉綠素。能沿逆時針方向纏繞宿主體而令自己向上生長。吸器的尖端能分泌酶，溶解宿主的莖組織。吸器因此能穿過宿主表皮、皮層，進入宿主莖內，從中吸取水分和養料。
- 三、在形態學的比較研究中，我們發現平原菟絲子的莖纖細，約 0.1 公分，顏色變化多端，呈淡黃、淡黃、黃或金黃色，以逆時針方向纏繞宿主，莖上產生吸器，有的是纏繞上寄生後才形成吸器侵入宿主組織，在此部位的莖上有些會產生多數的突起，繼而發展成小枝。而日本菟絲子莖較粗，可達 0.4 公分，呈淡黃、淡紫紅色、紫紅色或淡綠色，常有紫紅色瘤狀斑點，也是以逆時針方向纏繞宿主，莖上產生吸器侵入宿主。菟絲子屬的莖顏色均變化多端，推測是因為光照強度及宿主本身的色素的影響而改變。
- 四、我們發現日本菟絲子因其蔓生的枝條

較大，較少呈現捲曲狀，會爬樹，可以爬上喬木較粗大的莖葉上，而一般平原菟絲子蔓生枝條較細小，頂多只能長到綠籬小灌木或蔓生在草堆上而已。在木柵地區，我們發現有好幾棵島榕因為被寄生的情形太嚴重，而整株枯萎。其他數棵被日本菟絲子的島榕也被大幅修剪，減掉大部分的樹枝頂端。

- 五、菟絲子侵入宿主的決定步驟為吸器植入宿主地上部分。於本實驗中，我們比較平原菟絲子及日本菟絲子二者吸器形態，數目，及兩者吸器的侵入深度。兩者宿主不同，平原菟絲子為金露花（常綠灌木，實驗中不採用草本植物宿主，因其維管束散生，不易比較），日本菟絲子為島榕（喬木）。觀察比較平原菟絲子與日本菟絲子的吸器，間隔及數量，發現兩者均依菟絲子莖本身的生長情形而定，個別吸器入侵宿主情形，則依宿主的維管束成熟的情形及表層的深度而定，同種菟絲子吸器深度在宿主莖上變化很大，有的吸器會與宿主維管束形成通道，端看宿主莖的成熟與生長情形而定，但兩種菟絲子的吸器外形並無顯著差異。
- 六、但是，經非變性聚丙烯醯胺膠體（native-PAGE）電泳分離蛋白而保持活性，進一步比較吸器果膠甲酯酶的活性時，顯示經電泳分析後，某特定萃取蛋白質集中帶具分解果膠上甲

基的能力，證明平原菟絲子與日本菟絲子吸器的蛋白質萃取液中均含有果膠甲酯酶；而結果顯示，相同粗萃取蛋白總量下，日本菟絲子比起平原菟絲子，果膠甲酯酶的活性染色較強。喬木在維管束發育成熟，可以提供寄生植物吸器利用時，其皮層的發育也趨成熟，要寄生在喬木此種宿主上，必須能成功穿透喬木皮層。日本菟絲子果膠甲酯酶活性較強，可以部分解釋日本菟絲子能穿透喬木皮層而成功寄生的原因。

七、我們遇到很多容易使實驗失敗的情形，特別記錄以供日後從事相關研究的人們參考：

- (一) 採集菟絲子一定要新鮮，至少材料採集後馬上進行蛋白質萃取，是為上上策。我們發現把日本菟絲子連同宿主採下，宿主莖插入水中，菟絲子看起來可以活，但不知是否是宿主莖折斷或是維管束內養份減少，一、兩日內菟絲子的吸器蛋白就少了很多。
- (二) 採取吸器時，要採新生的莖和宿主接合，而有吸器侵入宿主皮層的部分。較老的纏繞莖，由其是日本菟絲子，吸器植入宿主內不易連著纏繞莖一起拔出，要用小刀挖出，而且老化的纏繞莖，吸器蛋白也少。
- (三) 植物的細胞壁相當堅硬，以液態氮研磨，材料在液態氮中凍結，以研钵打碎材料後研磨成粉，比較可以保存蛋白質。但特別注意，要磨到完全粉

狀。要用相當大的力量去打破細胞壁，才有助於萃取蛋白。

- (四) 由於果膠甲酯酶於鹼性下有活性，於酸中無活性，故必須在酸性非變性聚丙烯醯胺膠中電泳，但膠中醋酸成分容易變質，使用前才配製，才能保持電泳結果清楚。

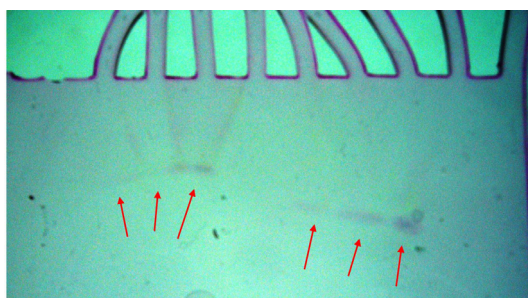


圖 7-1，非變性聚丙烯醯胺連續膠經冷藏一日後才電泳，樣本因為膠體變質而無法等距電泳分離（紅色箭頭）。

- (五) 我們嘗試控制兩組菟絲子吸器的數量，盡量取下吸器集中的部分，但是日本菟絲子的纏繞莖較粗，所以取下時，纏繞莖本身比吸器的量，比起平原菟絲子要多，造成粗萃取蛋白中吸器的蛋白比率會較低。結果雖然是日本菟絲子粗萃取蛋白果膠甲酯酶的活性較強（如果是純吸器的蛋白，強度可能會更高），但是如果可以在解剖顯微鏡下取吸器，結果會更精確。

捌、結論

- 一、本實驗中，我們以形態學及酵素活性檢測方法顯示日本菟絲子比平原菟絲子具有寄生上之競爭優勢。形態學

上，日本菟絲子的莖較粗，攀爬能力較強，兩者吸器雖然形態上沒有顯著差異，但日本菟絲子之果膠甲酯酶活性較強，能寄生於喬木，連帶使日本菟絲子的植被能力隨宿主的生長能力而較強。

二、全寄生植物的競爭優勢有賴於寄生能力與宿主的生長能力。日本菟絲子吸器果膠甲酯酶活性較強，具有穿透宿主莖部木質化皮層的能力，可寄生於喬木。喬木之維管束成熟，輸送營養能力高，也可以解釋為何日本菟絲子的莖可以發育得較粗，使得日本菟絲子的生長耐受力較好。而喬木的支持性及對環境之耐受性，也使得日本菟絲子的宿主優於其他種菟絲子。生物界中形態的不同，往往暗示其生理基礎，例如酵素活性的差異。

玖、致謝

在研究菟絲子實驗一年多來，台大植物所所長葉開溫教授以及實驗室的研究助理沈金輝博士，不論在專業的諮詢或是意見的提供，皆不遺餘力，熱心幫忙，內心由衷感謝。

拾、參考資料

楊國楨。2005。外來植物大車拼（六）嚴重示警！超級植物殺手－菟絲子入侵台灣，綠色世界陷危機。生態台灣季刊 6: 28-29。
廖國嫻（民 93）。台灣產菟絲子屬植物之族群生態學研究。國立中興大學生命科學系博士論文。

廖國嫻、郭長生。1997。菟絲子屬分類形態、寄生行為與生態等研究綜評。中華民國雜草學會會刊 18(2): 111-118。

Liao, G. I., Chen, M. Y., & Kuoh, C. S. (2000) *Cuscuta* L. (Convolvulaceae) in Taiwan. *Taiwania*, 45;226-234.

Markus Albert, Xana Belastegui – Macadam, Marc Bleichwitz, and Ralf Kaldehoff. 2008. *Cuscuta* spp: “Parasitic Plants in the Spotlight of Plant Physiology, Economy and Ecology” *Progress in Botany* 69: 267-277.

台灣的菟絲子。 http://proj.ncku.edu.tw/cuscuta/www/t_morpho.htm

菟絲子。維基百科 <http://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%8F%9F%E7%B5%B2%E5%AD%90>

莊榮輝博士(台灣大學生命科學院副院長)教育網站，酵素純化與分析部分。
<http://juang.bst.ntu.edu.tw/ECX/index.htm>

拾壹、附錄

(一) 萃取緩衝液 (250ml): 0.1M 檸檬酸 (citrate), 0.2M 磷酸氫二鈉 (Na_2HPO_4), 1M 氯化鈉 (NaCl) 混合, pH 值為 5。

(二) 酸性非變性聚丙烯醯胺連續膠 (pH 值為 4.3) (Native-polyacrylamide gel electrophoresis, Native-PAGE) :

成分	兩份膠	最後濃度
蒸餾水	13.748ml	-
40%聚丙烯醯胺 (PolyAcrylamide)	5ml	10%
1M 氫氧化鉀 (KOH)	480 μ l	24mM
100%冰醋酸 (Acetate)	172 μ l	0.86%

成分	兩份膠	最後濃度
TEMED	100 μ l	0.5%
10%過硫酸銨 (APS, Ammonium Persulfate (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈)	500 μ l	0.15%
全部體積	20ml	

(三) 酸性非變性聚丙烯醯胺連續膠 (Native-PAGE) 跑膠緩衝液 (running buffer) :

每份 (500ml) 成分	體積	最後濃度
1M 氫氧化鉀 (KOH)	12 ml	24mM
100%冰醋酸 (Acetate)	4.3 ml	0.86%
蒸餾水	483.7 ml	-

(四) 樣品緩衝液 (sample buffer) :

每份 (15ml) 成分	體積	最後濃度
蒸餾水	11.511 ml	-
50%甘油 (glycerol)	3 ml	10%
1M 氫氧化鉀 (KOH)	360 μ l	24 mM
100%冰醋酸 (Acetate)	129 μ l	0.86%

(五) 酸性緩衝液 (acidic buffer, pH 值為 6.3) :

每份 (500ml) 成分		最後濃度
檸檬酸 (Citrate)	10.507g	0.1M
磷酸氫二鈉 (Na ₂ HPO ₄)	17.799g	0.2M

(六) 受質溶液：0.5% 果膠 (pectin)，緩慢加熱溶解。

(七) 釘紅：Ruthenium red 於蒸餾水，0.02% w/v。

(八) 十二烷基硫酸鈉－聚丙烯醯胺膠 (sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)：與藥品 (二) 類似，但以 Tris (1.8%) 取代氫氧化鉀及冰醋酸，多加了 1% 的 SDS (sodium dodecyl sulfate)。

(九) 十二烷基硫酸鈉－聚丙烯醯胺膠 (SDS-PAGE) 跑膠緩衝液及樣品緩衝液：與藥品 (二) 類似，但以 Tris (1.8%) 取代氫氧化鉀及冰醋酸，多加了 1% 的 SDS (sodium dodecyl sulfate)。