

# 教育部 109 年度中小學科學教育計畫專案 成果報告

計畫編號：L3208h

計畫名稱：土壤微生物之研究與菌種鑑定--結合生物科技的實作課程

主 持 人：陳玉珊

執行單位：市立臺中女子高級中學

## 目錄

壹、計畫目的及內容 . . . . .	3
表一： 臺中市立臺中女子高級中等學校 109 學年度第一學期 高一多元選修教學計畫	
貳、研究方法及步驟 . . . . .	4
參、研究進展與成果 . . . . .	5
肆、已完成項目 . . . . .	7
伍、討論與建議(含遭遇之困難與解決方法) . . . . .	8
陸、參考文獻資料 . . . . .	8
柒、課程中學生的回饋資料 . . . . .	9
捌、整體課程所帶來的效益 . . . . .	13

## 壹、計畫目的及內容：

本研究主要目的有指導學生進行土壤微生物相關的專題研究與開發一套與「土壤微生物研究與菌種鑑定」相關的課程。

### 一、指導學生進行土壤微生物相關的專題研究

學生專題研究方向為「土壤微生物細菌群中表現類似 *mamA* 基因的探討」。*mamA* 是一個從能感受地磁的趨磁細菌 (*Magnetotactic bacteria*) 中找到的基因，此基因的表現與趨磁細菌感受地磁的能力有關。因學生好奇土壤微生物是如何在下雨過後，被水沖刷、重回適合生存的環境。在查閱相關文獻資料後，發現有趨磁細菌的存在。分布在土壤和水域中的趨磁細菌可透過細胞內磁小體 (Magnetosome) 構造而感知方位，進而重回適合生存的環境。本計畫目的之一是指導學生探討「土壤中細菌能否利用類似磁小體機制重回適合的環境」。

### 二、開發一套約 18 週的「土壤微生物研究與菌種鑑定」相關的課程

本計畫目地是在台中女中建構一套「實作生物科技與土壤微生物 (Hands-on Biotechnology & Microbes) 菌種鑑定」課程。所設計課程內容包括：校園中土壤中細菌培養、菌落型態觀察記錄、細菌染色 (Simple stain、Gram stain)、細菌多種生化代謝測試、抗藥性測試及利用分子生物技術進行細菌菌種鑑定。

首先，參與本課程高一的學生在利用土壤稀釋倍率  $10^{-4}$ ，以選擇性培養基 (NA、LB、KB) 在室溫與  $42^{\circ}\text{C}$  下生長環境下，挑選感興趣的單一細菌菌落。將此細菌進行生化特性分析 (Starch、Lipid、Casein 代謝) 與抗藥性 (Ampicillin, Nalidixic acid, Streptomycin) 測試。之後，學生透過細菌菌種鑑定相關文獻閱讀，採用保留性高的 DNA 引子 (bacterial universal primers) 進行聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 以增量細菌 16S rRNA 基因序列。學生將 PCR 產物經 DNA 凝膠電泳進行分離確認後，切取預期大小的 DNA 條帶送交生物科技公司 (Genomics, 基龍米克斯公司) 進行 DNA 定序。最後，每位學生將所獲得的 DNA 序列，利用美國國家醫學圖書館的國家生物技術資訊中心 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 基因的資料庫進行比對，以鑑定堆估該細菌的菌種，並進行相關文獻資料的閱讀。

透過學生們菌種鑑定結果，除了可讓學生親自操作菌種鑑定課程外，亦可對女中校園內土壤中細菌種類進行普查。若能長期追蹤觀察土壤微生物相隨四季氣候的週期性變化情形，相信日後對研究全球氣候變遷對土壤微生物影響或土壤微生物抗生素的篩選都能提供許多的資訊。

表一：臺中市立臺中女子高級中等學校 109 學年度第一學期 高一多元選修教學計畫

※學生在挑選土壤細菌時的**操作變因**有：**不同校園角落、三種選擇性培養基、培養溫度**

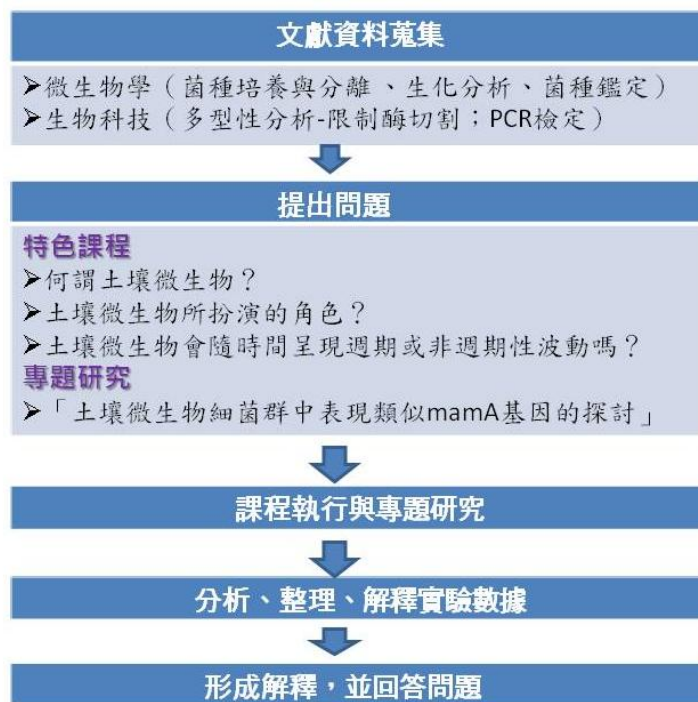
週次	課程日期	教學內容	作業
一	08/31-09/04	課程介紹與微生物的認識	
二	09/07-09/11	微生物培養基的製備 土壤微生物的分離與培養(一)	製備 <b>選擇性培養基 (NA、LB、KB)</b> ； $10^{-2}$ ~ $10^{-4}$ 土壤稀釋倍率的培養； <b>培養溫度 RT 與 <math>42^{\circ}\text{C}</math> 培養</b>
三	09/14-09/18	土壤微生物的分離與培養(二)	劃線平板 (每菌株平均操作 2~3 次)，找到單一菌株；菌種保存

四	09/21-09/25	土壤微生物菌落觀察與染色	Simple Stain& Gram Stain 3%KOH 檢測
五	09/28-10/2	中秋節	
六	10/05-10/09	單一菌株生化特性分析	Starch、Lipid、Casein 代謝
七	10/12-10/16	土壤微生物抗藥性測試	
八	10/19-10/23	期中（口頭）報告	
九	10/26-10/30	菌質體感染	大學講座
十	11/02-11/06	鑑定細菌類類別文獻閱讀	文獻閱讀與資料整理
十一	11/09-11/13	PCR 技術鑑定菌種(一)	萃取細菌基因體 DNA
十二	11/16-11/20	PCR 技術鑑定菌種(二)	確認基因體 DNA
十三	11/23-11/27	第二次期中考	
十四	11/30-12/04	PCR 技術鑑定菌種(三)	聚合酶連鎖反應技術(PCR)
十五	12/07-12/11	PCR 技術鑑定菌種(四)	DNA 凝膠電泳
十六	12/14-12/18	PCR 技術鑑定菌種(五)	NCBI 序列分析與菌種判定
十七	12/21-12/25	研究報告撰寫(一)	
十八	12/28-01/01	研究報告撰寫(二)	
十九	01/04-01/08	成果報告(一)	
二十	01/11-01/15	成果報告(二)	

## 貳、研究方法及步驟：

本計畫所採用的研究方法為使用鷹架策略的指導式科學探究法(Scaffold Guided Inquiry Method)。課程設計是先文獻資料的蒐集，在依據 Hands-on Microbes and Biotechnology 的主題設計課程模組。首先，由授課教師引導學習者將先前經驗轉化為可能的探究問題「如何分離與鑑定土壤微生物的菌種？」。透過階段性的實作，各小組最終能將獲得的單一菌種透過多型性分析（限制酶切割）或 PCR 檢定進行該菌種的鑑定。學習者在科學探究活動中的科學推理與經驗的活化，可幫助學習者對實驗結果做出合理預測並據此提出可行之解決問題的方法。

在科學探究過程中，授課教師與學習者間為一個動態的學習過程。為了提供多元化的、不同類型的學習支持，以幫助學習者專注於學習且避免使學習偏離主題，此研究加入的「教學鷹架策略」包括：將複雜的問題拆解成一個一個簡化的問題、教師提示、教師示範、文獻資料輔助、同儕討論、透過動畫軟體鷹架將討論的原理放在動畫內容中，以引導學習者適合的學習方向，使學習不至於過於雜亂而失焦，並能銜接學習者過去的學習經驗。教學鷹架雖重視由教師提供協助和支援，但學習的責任卻在過程中逐漸的轉移到學生身上。授課教師透過適當的教學引導與師生的互動，讓學生經由高級心智作用將教材內化成自己的知識，然而優秀的學習者不僅有內化能力，還要有主動學習及解決問題的能力。本研究進行步驟如下表：



## 參、研究進展與成果：

- 一、指導學生完成「土壤細菌基因體中 mamA 基因表現探討」階段性專題研究，準備投稿2021年11月份全國高級中等學校小論文寫作比賽。

學生以土壤中常見的 10 種細菌為研究對象。首先，在國家生物技術資訊中心（National Center for Biotechnology Information，簡稱 NCBI）的網站中取得 *mamA* 基因序列，並針對保留性高的區域設計兩對引子，分別可合成出 447 和 298 個鹼基對。其中，有五個菌株有合成出預期 *mamA* 基因長度的片段。將預期大小的 DNA 條帶從 1% 洋菜瓊脂凝膠（agarose gel）截取下來，並送交生技公司（Genomics，基龍米克斯公司）進行 DNA 定序（DNA sequencing）。

將 DNA 定序結果利用 NCBI BLAST（Basic Local Alignment Search Tool，是一種可用來比對 DNA 或蛋白質序列的軟體）進行比對，發現 5 株菌株中與 *mamA* 基因相似程度不高。根據實驗結果，得知實驗所使用的 10 種細菌細菌基因體中普遍不含 *mamA* 基因，推測土壤細菌可能並非透過磁小體（Magnetosome）構造的形成而感知方位，以尋找或回到適合的環境。

BLAST 全名。

- 二、在109-1學期高一特色選修課程中，學生已鑑定出台中女中校園中土壤表層約5~10公分處的7種菌種。根據（表二）結果，以班上18位選修課程學生來編排 strain name：Microbe-1~18；「description」表示分離出的菌種的學名；一致性（identity）表示了兩個序列相同的程度；覆蓋率（coverage）表示序列有多少比例是有被比對到基因庫中的 matched sequences。

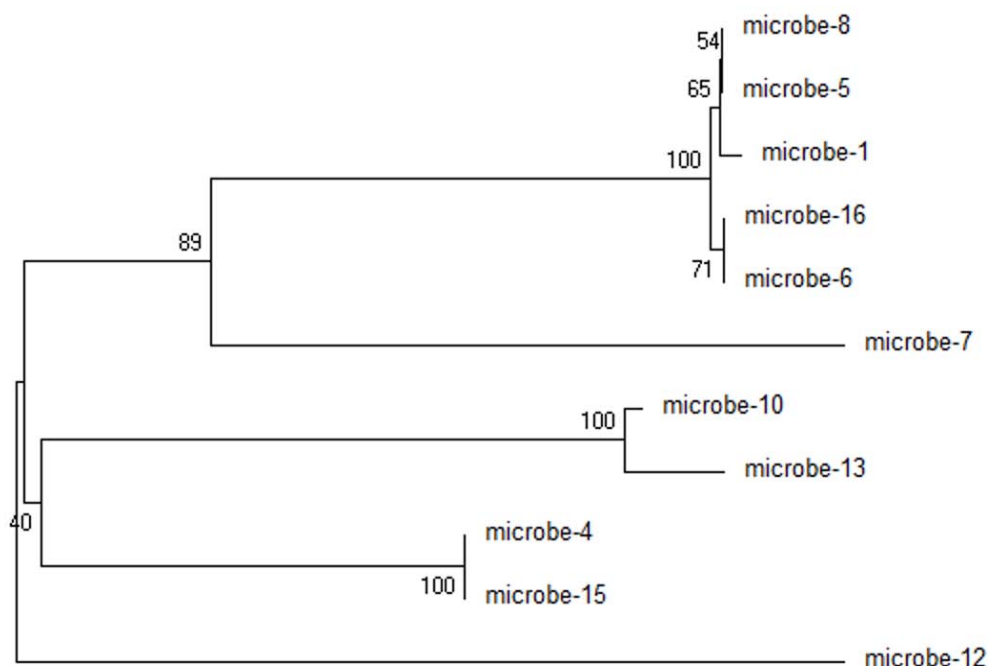
表二：學生所分離出的7種菌株

strain name	description	identity	coverage
Microbe-1	<i>Bacillus aryabhattai</i>	100%	100%
Microbe-4	<i>Bacillus cereus</i>	100%	100%
Microbe-5	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%

Microbe-6	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%
Microbe-7	<i>Bacillus simplex</i>	100%	99%
Microbe-8	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%
Microbe-10	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99.81%	100%
Microbe-11	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99.81%	100%
Microbe-12	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	100%	100%
Microbe-13	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	100%	100%
Microbe-15	<i>Bacillus cereus</i>	100%	100%
Microbe-16	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%
Microbe-17	<i>Bacillus megaterium</i>	99.8%	100%

根據上表分析結果，校園中近表層處的土壤菌種以一種格蘭氏陽性菌-芽孢桿菌 (*Bacillus*) 為主。推測可能是該屬細菌在土壤中所生活的物化環境相似。其中，5 位同學純化出巨大芽孢桿菌 (*Bacillus megaterium*)。在農業上，*Bacillus megaterium* 是有機肥中常用的菌株，可用於土壤中固磷和固鉀的生物性肥料，且對土壤中的有機磷有很好的降解作用。而解澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)，被認為是一種根系中可防止病原菌生長的菌株，在農業和水產養殖中可用於對抗一些植物根部病原體。本計畫在校園土壤中所分離出的 *Bacillus megaterium* 和 *Bacillus amyloliquefaciens* 菌株的來源，推測是學校在進行校園植物栽種時，購買含有可促進植物生長菌株的培養土有關。本人再與學校總務處工友先生確認後，近 2 年學校校園植株摘種已經不使用外面購買的培養土，所以無法取得培養土來進一步分析培養土中的優勢菌種。此外，Microbe-12 是經常造成人類傷口感染的金黃色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*，更是提醒學生們和授課教師土壤細菌中也存在著少量的病原菌，再進行土壤相關研究後請記得手部清潔和相關的防護。

最後，學生們利用美國國家生物技術資訊中心 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中 BLAST 基因序列比對功能進行全班鑑定菌種親緣關係比對，藉此讓同學比較親緣關係近的菌種間生理生化代謝 (Starch、Lipid、Casein 代謝) 的差異性。此結果也同時與高一生物學第三章演化的內容中可以「DNA 序列比對來判斷親緣關係」相驗證。全班學生分析結果 (圖一)。



圖一、學生將所分離出菌種間進行親源關係的比對結果

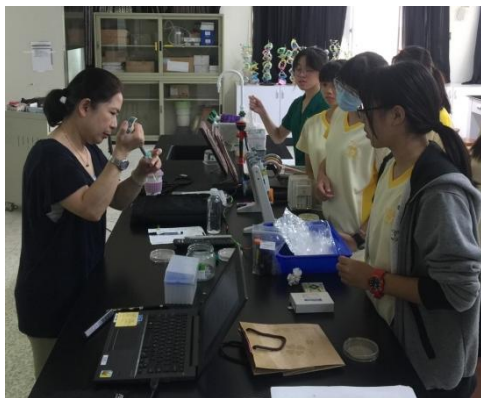


三、在109-1學期高一特色選修課程中，共辦理三場專家學者講座

(一) 2020 年 10 月 13 日，中興大學植物病理學系，鄧文玲教授－「抗生素抑菌測試」

(二) 2020 年 10 月 28 日，中興大學生化所，楊俊逸教授－「菌質體對植物的感染」

(三) 2020 年 10 月 28 日，艾茵生物科技有限公司研發總監，黃逸喬博士－「基因序列比對與親緣關係分析-常用之線上軟體」



▲ 抗生素抑菌測試



▲ 基因序列比對與親緣關係分析-常用之線上軟體



▲ 菌質體對植物的感染課程

## 肆、已完成項目：

下表為甘特圖。V 表示目前已完成項目：

時間	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月
收集文獻資料	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	
發展課程內容		V	V	V	V	V	V	V				
土壤微生物的培養與菌落觀察		V										
土壤微生物的分離與純化(單一)土壤細菌的生化特性分析			V	V								
土壤細菌物種鑑定					V	V						
資料分析整理					V	V	V					
撰寫研究報告					V	V	V	V	V	V	V	
編印研究報告												
專題研究計畫	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	

#### 一、收集文獻資料：

一一檢視 109 學年課程進行時遇到的一些問題，查閱相關文獻。閱讀 *Bacillus* 屬相關文獻，以期對校園土壤的物、化環境有更深的認識。

#### 二、發展課程內容，使本課程更具完整性與系統性。

#### 三、指導學生專題研究計畫並參加 2021 年 11 月份中小學論文比賽。

#### 四、撰寫研究報告和編印研究報告。

### 伍、討論與建議(含遭遇之困難與解決方法)

#### 一、課程前實驗材料準備相當繁瑣，例如：每週需配置（每位）學生所需培養基、使用過培養基需清洗滅菌、實驗不如預期學生想利用課後重作.....。

解決方法：學生可利用課程進行時間，操作完後請立即收拾清洗。教師則利用每日課程的空檔或沒課的空堂，配置培養基和滅菌。

#### 二、高一學生先備知識的不足，又礙於授課時間有限，所以有時僅能提到該技術應用，原理則需小組各自討論。

解決方法：課程進行時，儘量給予（數次的）小組討論時間。學生也可以透過期中和期末報告，整理和弄懂實作過程相關原理和技術。課後，學生亦可利用課程群組（目前使用 Line 群組）和教師進行細部討論。

#### 三、某些課程單元較專精部分（例如：抗生素檢測與基因序列比對與親緣關係分析），高中教師須額外花時間準備。準備後的課程也缺乏可討論的對象。

解決方法：為邀請專家學者到班上上課和帶領學生實作。同時也可提升授課教師的專業知識。

#### 四、部分學生在 109-1 學期課程中未能判別所分離的菌種為何？所以抱著好奇心想要知道答案的學生在 109-2 學期利用中午回到實驗室來繼續完成實驗，因回來的 4 位同學空檔時間不一，加上瑣碎時間無法完成一個完整性的實驗，所以在指導時，反倒有些力不從心。

解決方法：儘量在課程進行時，解決同學們的問題。

### 陸、參考文獻資料

- 沈原民. (2002). 菌核細菌的分類及 PCR 鑑定技術.
- 蔡文城. (2002). 微生物學，ISBN：9789576166556，出版社：藝軒。
- Arash Komeili,\* Hojatollah Vali,† Terrance J. Beveridge, and Dianne K. Newman. 2004. Magnetosome vesicles are present before magnetite formation, and MamA is required for their activation. Proc Natl Acad Sci U S A. 101(11): 3839–3844.
- Freeman, J., E. Ward, C. Calderon and A. McCartney. 2002. A polymerase chain reaction(PCR) assay for the detection of inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum*. Eur. J. Plant Pathol. 108: 877-886.
- Kohn, L. M., D. M. Petsche, S. R. Bailey, L. A. Novak and J. B. Anderson. 1988. Restriction fragment length polymorphisms in nuclear and mitochondrial DNA of *Sclerotinia* species. Phytopathology. 78: 1047-1051.



## 柒、課程中學生的回饋資料：

一、量性分析：資料來源：臺中市立臺中女子高級中等學校 108 課綱課程課程學習感受量表（收回 18 份回饋）

編號	同意程度	
	非常不同意 1分	非常同意 5分
1. 我覺得老師上課能引起我的學習動機		4.7
2. 老師會隨時與學生互動與溝通		4.8
3. 老師上課能重視學生的學習回饋，而不是自己講述課程		4.8
4. 老師會針對上課內容做必要的評量（非限制在紙筆測驗）		4.4
5 老師會對學生不懂的內容做必要的指導		4.8
6. 我覺得這堂課的上課方式，比較適合我		4.6
7. 我能主動與老師或同學討論課堂問題		4.7
8. 我會主動上網或到圖書館查詢資料尋求解答。		4.4
9. 我會利用時間對課堂中的問題進行思考，並尋求解決方法		4.4
10. 我能規劃這門課程的自我學習內容		4.1
11. 我能夠觀察他人（組）作品優缺點並參與討論		4.6
12. 我能主動收集此課程的學習歷程		4.2
13. 我能和同學針對課程互相討論與溝通		4.7
14 當同學面對課堂問題無法解決時，我能主動幫忙		4.6
15. 我能透過課程的學習互動更加瞭解同學		4.7
16. 和同學的討論中我能提出自己的看法		4.6
17. 遇到問題時，我能尋求同學的協助		4.7
18. 選讀此課程能提升我掌握學習的方法		4.4
19. 選讀此課程能增加我和人溝通或合作的技巧		4.7
20. 選讀此課程後，能增加我對此課程領域的興趣		4.7
21. 選讀此課程後，能讓我獲得相關知識		4.7
22. 選讀此課程後，能讓我獲得相關技能		4.8
23. 我覺得課程內容符合我的程度		4.2
24 我覺得課程內容符合我的學習需求與期待		4.7
25. 我覺得課程內容豐富充實		5.0
26. 我覺得課程內容能引起我的學習興趣		4.8
27 上完課程後讓我獲得學習的滿足感		4.7
28 上這門選修課程讓我感到快樂		4.8
29 我喜歡這門選修課程，並且推薦其他人選讀此課程		4.9

## 二、質性分析：資料來源：臺中市立臺中女子高級中等學校 108 課綱課程課程學習感受量表（18 份回饋）

### 1. 選修這門課我確實學到什麼？是否符合我原先選修的期待。

- 培養細菌、基因組純化、DNA 凝膠電泳、DNA 結構抗藥性
- 分子的課程讓我了解生物不是巨觀而已還有微觀的部分，讓我更清楚自己想要學的是自然的哪個面向。
- 跑電泳的原理，如何從微生物到知道他是什麼細菌
- 學到如何培養細菌、如何鑑定物種等等。
- 學到如何培養細菌，和相關儀器的操作
- 除了學習培養細菌的方法，也從中了解細菌判別的能力。
- 我學到了如何進行劃線平板、限制酶切割、凝膠電泳等實驗，還有如何與組員互助實驗、製作 PPT 等技巧。
- 原來期待可以做化學實驗，後來是在養細菌覺得很神奇~確實學到了實驗的細節，理解了從萃取 DNA 到真正確立身分之間有多少的挫折和不確定因素。
- 學習到如何培養細菌，如何分析出這細菌的 DNA，植物嫁接，如何簡單且確實的介紹自己想表達的成果。

### 2. 你認為課程中那個部分最有興趣，我的印象最深刻？

- 基因組純化
- 到實驗室觀察細菌。
- 用顯微鏡看細菌的那堂課最興奮
- 萃取 DNA 的時候
- 剛開始學如何培養的時候，看著自己養的細菌慢慢長出來，覺得很有趣、很有成就感。
- 作劃線平板時，每一週成功的結果都令人頗有成就感
- 從土壤中稀釋挑出細菌，第一次看到了各式各樣的細菌在培養基內的模樣
- 對於 PCR 技術有興趣，因為透過複製的技術就能找到 DNA 片段，十分新奇
- 電泳的時候！真的超酷的
- 在確認細菌的抗藥性和它會分解什麼成分的時候!!有一種我家的細菌(派大星)這麼會吃功能那麼多!
- 菌種鑑定。當看到自己親手培養的細菌就要露出它們的真面目時，內心十分緊張雀躍。
- 最後 PCR 的結果送生技公司化驗得知自己的菌種。

### 3. 我對於選修這門課程的自我學習狀況評估？（認真、主動積極、被動、開心、等）

- 開心、有收穫的
- 做了很多實驗室少有的經驗，也樂在其中。
- 認真、開心
- 開心，會期待上課
- 自己覺得還算積極，每次上課也都有到，和夥伴們相處得也不錯，在學習的過程也覺得很開心
- 開心且非常充實，也對此領域有更深的了解何興趣。
- 有成就感，興趣極高
- 認真、和夥伴合作愉快、主動了解和探索
- 開心、充實、有趣
- 我很主動的想搞清楚實驗原理，覺得和不認識的人一起大大小小翼翼做實驗很開心，但是對於探究細菌的熱情常離開實驗室就沒了，要反省改正，老師人很 nice 居然願意幫我釐清觀念!
- 認真、開心、主動、合作、充足
- 有時候沒有到很專心，但大部分時候都有盡力完成實驗
- 有時候會不太明白老師講的大方向導致上課想睡覺，但開始實驗後再回想老師講的內容就明白了
- 幸福^o^

### 三、學生期末報告心得：資料來源：學生上傳學習歷程檔案時，需經開課老師審核時所摘錄出心得

#### 1.曾○玲同學：

面對挫折的心境也產生很大的改變，實驗本來就失敗多於成功，而且我的失敗次數可能是整個班最多的人，一開始失敗心裡其實很難過，是不是我不適合這門課？但老師說：失敗是常有的事，重要的是從失敗中學習經驗。此後對於不如意的結果我都能坦然面對，重作實驗讓我比同學多一次熟悉的機會，也能從經驗中看到問題所在，獲得獨屬於自己的其他知識，並激發自發尋找答案的能力。挫折並不可怕，可怕的是錯過從中學習的機會。

不只知識、心境獲得增長，人際互動方面也得到很大的進步。實驗雖然是個別的菌落培養，但操縱過程中是以三人小組的方式，學習分工合作、互相溝通，甚至為此培養起默契！因為不能發生污染情況，所以都要一個眼神、一個動作，就要明白對方的意思。我更因此交到兩個要好的隔壁班同學，可謂是另類的收穫呢！

#### 2.林○紫同學：

當初選擇這修這門多元課程的原因是因為我原本以為可以學到基因轉殖，但沒想到其實是培養土壤中的細菌、尋找細菌的生化特性分析、DNA 電泳、抗藥性實驗等等，在經過這些實驗後，我也找到了我未來想讀的科系-國立臺灣大學-醫學檢驗暨生物技術學系。

加入這堂多元選修課後，我的收穫真的很多，全部只有收十八個人，而我卻這麼幸運地，成為了十八分之一。一開始抽到的組員也很對頻，子琳很冷靜，有時候很可愛，還很熱心教我生物。而芋棋也是一個充滿正能量的人，我們能夠在同一組，也是件幸福的事，每次的組員工作分配也都很平均，有事情要去做，總是有人搶著做的感覺真的很棒。

從國中的時候，我就很想要讀與生物科技有關的科系，只是有太多顧慮，直到有一次選修課，我看到一位開了生技公司的學姊，我好像又找回那種，義無反顧的熱誠，一種想要對於台灣生技業的熱誠，我覺得，這是我選修課收穫到最有力量的禮物。

記得有一次基因純化的實驗，我中間可能有發生劑量取錯的問題，導致後來的 DNA 凝膠電泳實驗失敗，但我在段考完的當天，留在學校重新做了一次的基因純化，這一次，我心平氣和地做基因純化，那種感覺，也很棒，一步一步的慢慢進行實驗，讓我覺得，這不是一堂課程，是我在做我所熱愛的事。當一個步驟做完需要靜置的時候，我都會期待著成果，像是父母一樣地，希望它成功。

但其實，我的實驗還發生了另一個漏洞，不能算是完全的成功。

我的細菌-巨大芽孢桿菌，是個革蘭氏陽細菌，而我一開始的革蘭氏實驗，是革蘭氏陰細菌，詢問老師過後，才發現可能是在染色的過程出了差錯，又或許是酒精停留太久，其實我有點失落，我的實驗在一開始就做壞了，才導致我自己其實也不太能確認自己送至生技公司的細菌是不是當初的那個細菌。

牽一髮而動全身，亙古不變的道理，做實驗亦然如此，我很感謝有了這一次的經驗，因為連這種小型的實驗都能出錯，那之後真的考上了台大醫技，再保持這種態度實在不行，最後，希望未來的自己，對於每一件事情都，全神貫注並且對每一項實驗負責，也很感謝玉珊老師開了這門多元選修，讓我對未來，有更多的想法以及規劃。



### 3.阿細同學：

#### 三、這堂課給我的啟發和收穫:

這堂課讓我學到了很多生物課之外的生物知識，例如:生物課有教到DNA的結構，在這堂課中我們更進一步去了解DNA的其他特性，並操作了DNA凝膠電泳，讓我對DNA的了解更加深入。也操作了很多從來沒用過的實驗器材和實驗方式，對未來想要就讀生物相關科系的我是非常有幫助的。

不過我在這堂課中學到最多的是團隊合作的精神和重要性，因為實驗往往是自己一個人無法獨力完成的，需要組員們互相合作和幫忙，有時候遇到問題也需要大家一起解決。除了接受別人的幫助之外，也要常常主動地幫忙別人，當組員遇到困難時盡力的幫她解決，這樣我們的實驗才能夠順利的完成。

我還學到了耐心的重要性，實驗中往往有許多預期之外的因素，我們也無法避免，當我們得不到理想的結果時，沒有其他的捷徑，只能夠有耐心的重複做，直到結果令人滿意為止。

#### 四、我學習到的能力:

##### (1)科學能力-了解科學的原理原則及操作科學事務的能力:

做實驗最重要的是了解實驗的原理和探究每個現象背後的原因，透過一次次的實驗，我學習到了各種科學有關的知識，使我的科學能力增進許多。

##### (2)助人能力-主動關懷需要幫助的人，並能諮詢、協助他人解決困擾或完成任務:

要讓實驗順利的進行，必須時常關心其他組員的情況，並且在遇到困難時主動協助。

#### 五、從這堂課中，我發現自己擁有的特質:

##### (1)探究性-願意突破現狀，接受新的及未知的挑戰、情境或學習內容:

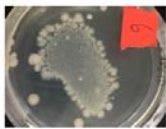

當遇到未知的挑戰時，我能夠勇敢的面對並解決他，例如:有次實驗我們這組不小心將配好的溶液加太多了，最後不夠用，也擔心實驗會失敗，後來我們想了辦法處理，去向其他組要他們剩下的溶液，還好我們當時有想辦法克服而不是放棄，實驗才能順利的完成。

##### (2)堅韌性:專注投入，竭盡全力，有始有終，堅持到底，使命必達:



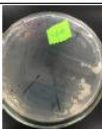

就算實驗做第一次失敗了，我還是會堅持到底，做到成功為止，不中途放棄。

### 四、不如預期結果下的探究精神：引發學生一種追根究柢的態度與熱情

在實驗過程中，某位學生發現某些細菌在培養過程中，菌落由原本的淡黃色因逐代培養後而使菌落漸趨透明。該學生好奇兩個菌落型態差異大的菌落，最後經菌種鑑定後竟為同一種細菌。學生在大量閱讀與土壤細菌文獻資料後，發現環境因子變化（例如：溫度、濕度）會影響細菌菌落形態，尤其是格蘭氏陽性菌。右圖是學生探究過程：

問題與討論	
問題一:原本培養的細菌外觀是乳白色，但最後幾次的實驗裡，卻變成透明的情況，是我在培養過程中受到污染?還是細菌本身的特色呢?	
原本細菌顏色	後來細菌顏色
	

檢測方式		
將培養基中透明和不透明的菌落(上方紅色框部分)分別進行畫線平板，培養後兩個新的培養基中，觀察是否隨著時間兩者外觀變得相同。		
(不透明)	培養三天	(透明)

		
(不透明)	培養一周	(透明)
		
<p>討論一: (1)原本不透明的隨著時間變成透明的菌落，而原本透明的則從乳白色開始轉變為透明，因此我推論它們是同一種細菌，只是外觀隨時間發生改變。</p> <p>(2)請課教授說陽性菌外型很多變，可能因此才變成透明。</p>		

## 捌、整體課程所帶來的效益

### ■ 對學生而言：

開發一套完整的課程，能讓學生了解細菌是怎麼一回事？讓學生能嚴謹操作無菌培養，能讓學生閱讀科學期刊文獻，並與課本知識結合進行驗證。最後，啟發學生在不如預期結果背後的繼續追根究柢的探究精神。

### ■ 對教師而言：

開發一套完整的微生物純化鑑定課程與技術、微生物專業智能的提升、對實驗室安全規則更堅持(與敏感)。此外，教師得時時提醒自己，避免讓學生成為只會做實驗而不動腦的工匠。

### ■ 對學校而言：

高一特色選修課程、參加台中市與全國科展、偵測校園土壤微環境與微生物的多樣性與建立跨校間的合作關係（高雄鳳山高中吳家進教師 2021.01.14 入班參與學生期末成果報告，給予學生許多建設性建議）

### ■ 對世界而言：

學生科學研究的啟蒙、科學公民養成。





# 土壤微生物之研究與菌種鑑定

## 結合生物科技的實作課程

主持人與計畫申請人：台中女中生物科 陳玉珊

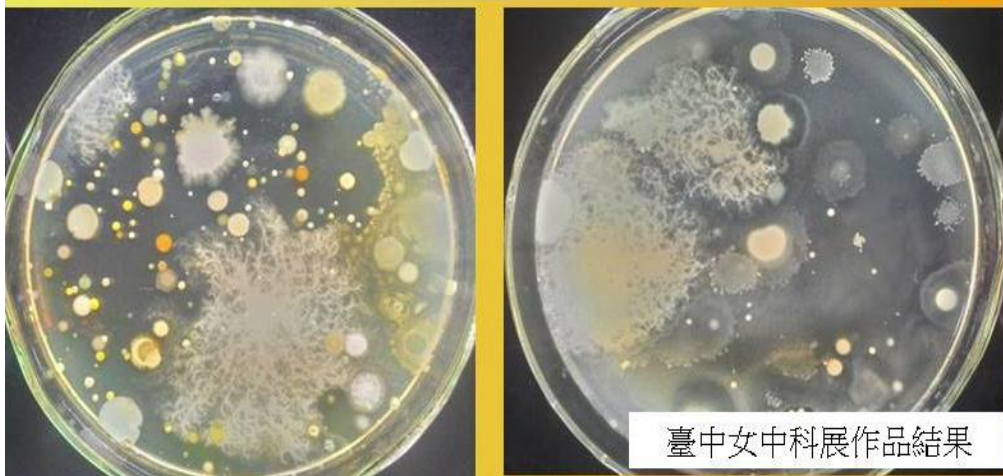
是科教計畫裡的**新生**，雖是一人申請的計畫...

- 幸運的是背後校長、行政端、大學端的大力支持
- 開設109學年度高一特色課程
- 高中生**與生物學科知識的結合、有能力進行更深入的學科探索

## 本計畫緣起

- 本人在104學年度指導學生科展作品「**土壤微生物監控**」  
中區科展「特優」；全國科展「最佳鄉土教材獎」

### 女中校園內甲、乙區微生物相比較



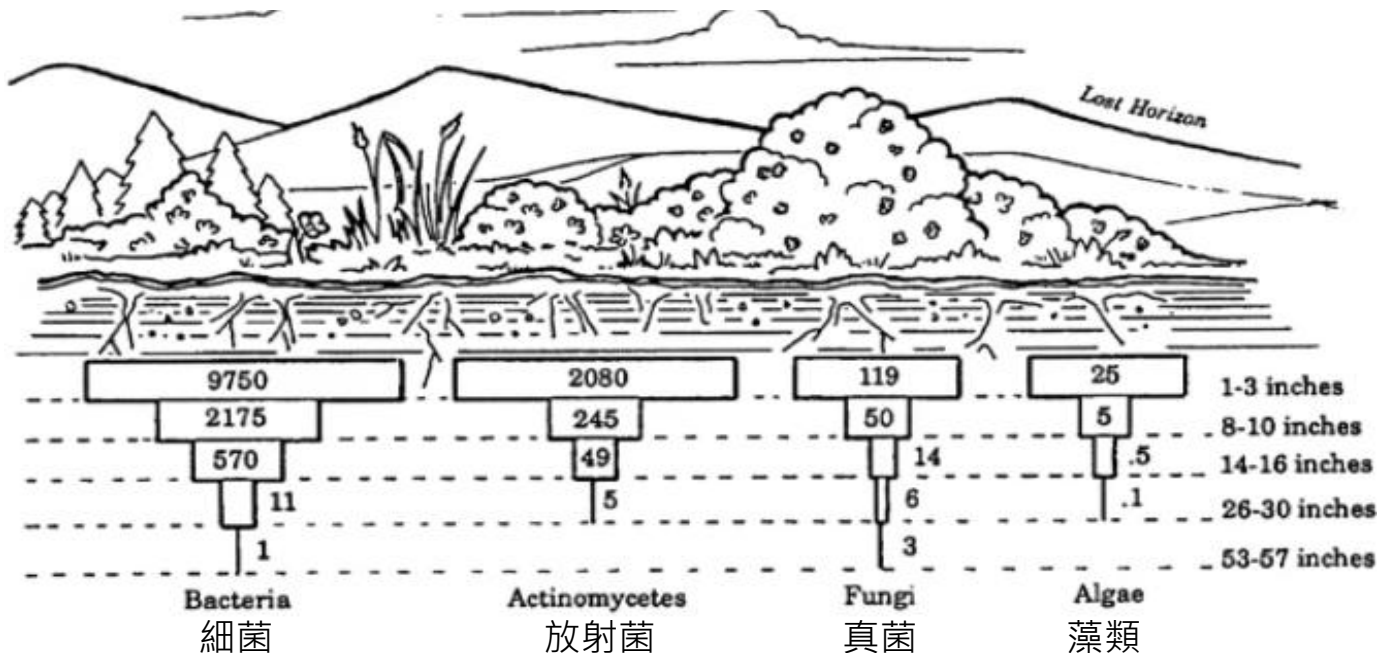
臺中女中科展作品結果

此科展作品研究內容是觀察、記錄台中女中校園內相鄰兩區域的土壤微生物相物種隨時間與環境因子的變化情形。

**細菌菌落**為由單一細菌在**培養基**生成之聚合體，  
**真菌細菌**菌落為單一孢子或菌絲經繁殖聚集所成，**可肉眼觀察之**。

# 土壤生物相 ( Soil Biota )

- 包括：細菌、真菌、藻類、原生動物、線蟲、蟎蟲、蜘蛛等。
- 土壤中生物種類甚至比可以生活在地上動、植物多。
- 土壤生物相的多樣性與植物生長息息相關。



## 研究目的

### Hands-on Bacteria and Biotechnology

結合細菌學與生物科技學

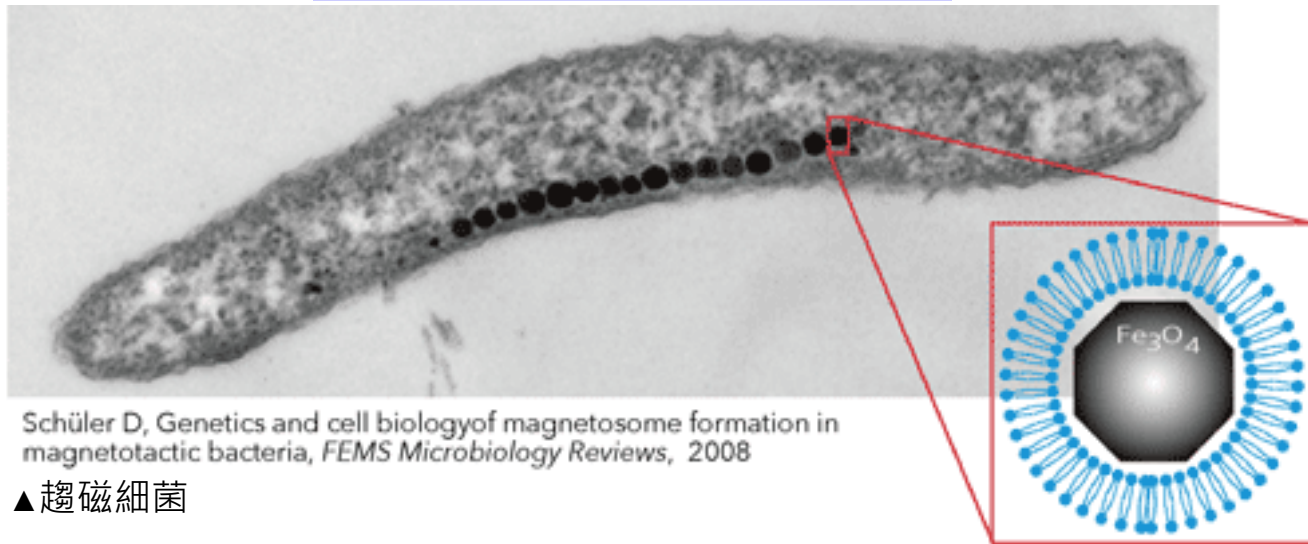
- 指導學生進行土壤微生物相關的專題研究
- 開發一套與「土壤微生物研究與菌種鑑定」相關課程

# 研究目的(一)與成果-專題研究

■研究主題：土壤細菌基因體中*mamA*基因表現探討

準備投稿2021年11月份中小學論文

指導學生探討  
「土壤中細菌  
能否利用類似  
磁小體機制重  
回適合的環  
境」。



▲趨磁細菌

根據實驗結果，將DNA定序結果利用NCBI blast進行比對，發現10株土壤菌株中與*mamA*基因相似程度不高，應是不含*mamA*基因，故土壤細菌可能並非透過磁小體（Magnetosome）構造的形成而感知方位，以尋找或回到適合的環境。

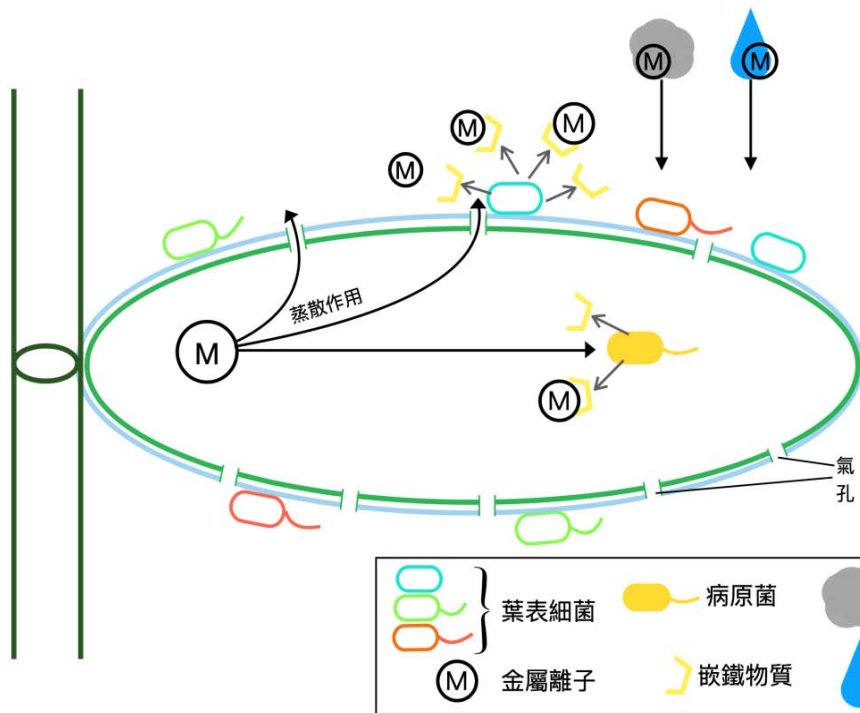


# 研究目的(一)與成果-專題研究

■研究主題：「探討金屬離子對**葉圈**螢光假單胞菌（*Pseudomonas*）之生長與嵌鐵物質產生量的影響」表現探討

獲得109學年度台中市中小學科學展覽植物組第二名

指導學生探討「**葉圈**中的不同種細菌，其分泌嵌鐵物質量的差異與不同金屬離子對細菌生長和嵌鐵物質分泌量的影響。」。



葉圈中的細菌可透過分泌嵌鐵物質與環境中的金屬離子結合以幫助吸收金屬離子。葉圈中金屬離子的來源為植物氣孔的溢出物、灰塵或水滴等。

另一方面，已侵入植物體內的病原菌，因各種金屬離子來源相對穩定，故只需分泌較少的嵌鐵物質即可獲取足夠量的金屬離子。

# 方法及步驟

## ■ 鷹架策略的指導式科學探究法 (Scaffold Guided Inquiry Method)

### 文獻資料蒐集

- 微生物學 (菌種培養與分離、生化分析、菌種鑑定)
- 生物科技 (多型性分析-限制酶切割；PCR檢定)

### 提出問題

#### 特色課程

- 何謂土壤微生物？
- 土壤微生物所扮演的角色？
- 土壤微生物會隨時間呈現週期或非週期性波動嗎？

#### 專題研究

- 「土壤微生物細菌群中表現類似mamA基因的探討」

### 課程執行與專題研究

### 分析、整理、解釋實驗數據

### 形成解釋，並回答問題

授課教師引導學習者將先前生活中的經驗轉化為可能的**探究問題**  
「如何分離與鑑定土壤微生物的菌種？」  
**數個階段性的實作，一一解決問題**

## 研究成果(二)：特色課程

■課程學生已鑑定出**女中校園**中土壤表層約5~10公分處的**7種菌種**

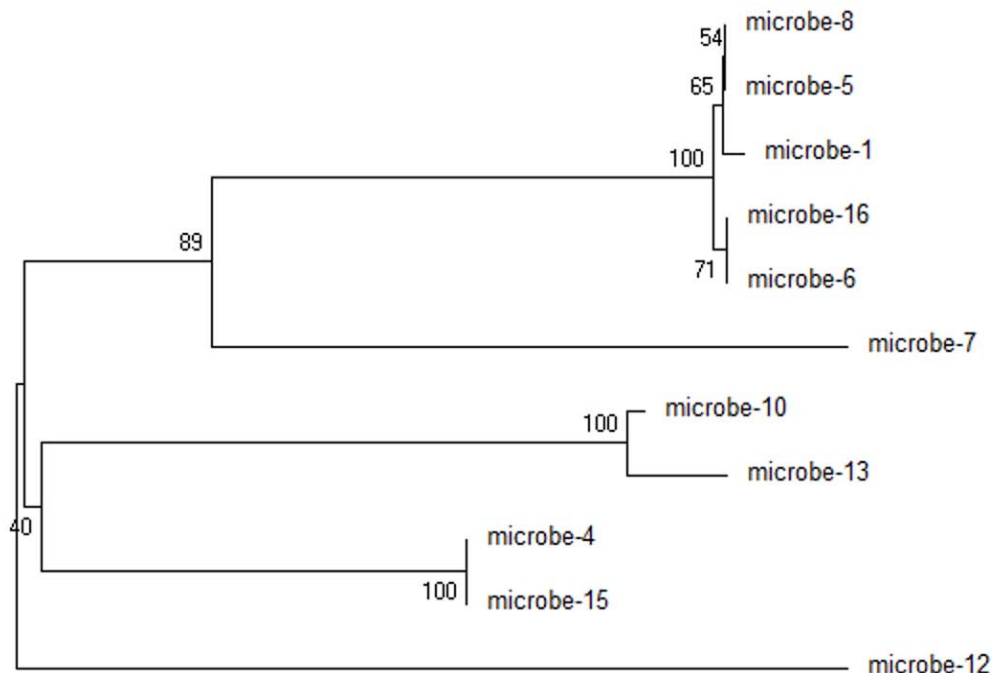
strain name	description	identity	coverage
Microbe-1	<i>Bacillus aryabhatai</i>	100%	100%
Microbe-4	<i>Bacillus cereus</i>	100%	100%
Microbe-5	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%
Microbe-6	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%
Microbe-7	<i>Bacillus simplex</i>	100%	99%
Microbe-8	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%
Microbe-10	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99.81%	100%
Microbe-11	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99.81%	100%
Microbe-12	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	100%	100%
Microbe-13	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	100%	100%
Microbe-15	<i>Bacillus cereus</i>	100%	100%
Microbe-16	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%
Microbe-17	<i>Bacillus megaterium</i>	99.81%	100%

校園中近表層處的土壤菌種以一種格蘭氏陽性菌-芽孢桿菌(*Bacillus*)為主。其中，5位同學同時純化分離出**巨大芽孢桿菌**(*Bacillus megaterium*)是有機肥中常用的菌株，可用於土壤中固磷和固鉀的生物性肥料；2位同學分離出的**解澱粉芽孢桿菌**(*Bacillus amyloliquefaciens*)，是一種根系中可防止病原菌生長的菌株。推測是學校在進行校園植物栽種時，購買含有可促進植物生長菌株的培養土有關。本人再與學校總務處工友先生確認後，近2年學校校園植株摘種已經不使用外面購買的培養土，所以無法取得培養土來進一步分析培養土中的優勢菌種。

## 目前研究成果(二) 特色課程

- 讓學生利用NCBI ( <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> ) 的BLAST功能進行所鑑定菌種親緣關係比對，藉此讓同學比較親緣關係近的菌種間生理生化代謝 ( Starch、Lipid、Casein代謝 ) 的差異性

為高一生物學第三章演化的內容



▲ 利用NCBI ( <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> ) 的BLAST比對菌種間親緣關係

## 目前研究成果(二) 特色課程

### ■ 每個課程單元中的深入探究過程

問題一:原本培養的細菌外觀是乳白色，但最後幾周的實驗裡，卻變成透明的情況。是  
我在培養過程中受到汙染?還是細菌本身的特色呢?

原本細菌顏色



後來細菌顏色



#### 檢測方式

將培養基中透明和不透明的菌落(上方紅色框起部分)分別進行畫線平板，培養進兩個新的培養基中，觀察是否隨著時間兩者外觀變得相同。



## 目前研究成果(二)

### ■在109-1學期已辦理三場**專家學者講座**

- 2020年10月13日，中興大學植物病理學系，[鄧文玲教授](#) - 「**抗生素抑菌測試**」
- 2020年10月28日，中興大學生化所，[楊俊逸教授](#) - 「**菌質體對植物的感染**」
- 2020年10月28日，艾茵生物科技有限公司研發總監，[黃逸喬博士](#) - 「**基因序列比對與親緣關係分析-常用之線上軟體**」



▲ 抗生素抑菌測試

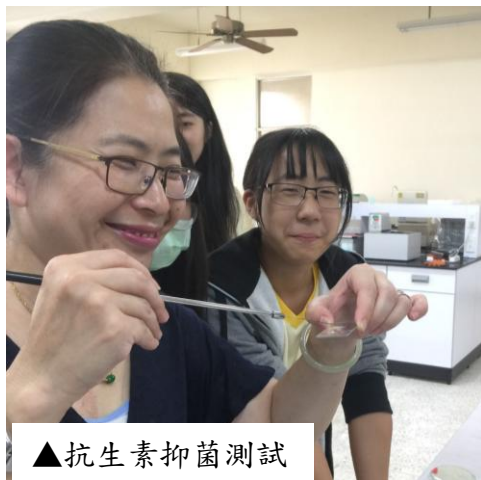


▲ 菌質體對植物的感染



▲ 親緣關係分析-常用之線上軟體

# 課程照片



▲ 抗生素抑菌測試



▲ 全班合影(2021.01.14)



▲ 親緣關係分析-常用之線上軟體



▲ 高雄鳳山高中吳家進教師參訪

- 特色課程
- 實作課程
- 專家學者
- 跨校觀摩



▲ 菌質體對植物的感染

# 回饋與收穫

## ■ 對學生而言：

一套完整的課程（了解細菌是怎麼一回事？、嚴謹操作無菌培養技術、閱讀期刊文獻、課本知識結合與驗證）.....。

在不如預期結果背後的繼續探究精神

## ■ 對教師而言：

開發一套完整的微生物純化鑑定課程與技術與微生物專業智能的提升  
對實驗室安全規則更堅持(與敏感)

得時時提醒自己，避免讓學生成為只會做實驗而不動腦的工匠

## ■ 對學校而言：

高一特色選修課程、參加台中市與全國科展、  
校園土壤微環境與微生物的多樣性

## ■ 對世界而言：

科學研究啟蒙、科學公民養成

## 系統性課程

每個學習階段、  
教學單元與活動都須有連結  
一定難度內容，透過探究過程，  
往往能學習更多

看似“**混亂**”的  
學習場域，往往能...

誘發學生主動思考

## Experience(驚豔)

營造怎樣的學習情境？學生經歷怎樣的學習經驗？  
人在與環境的互動中形成經驗，  
每一次的學習經驗是下一次學習的基礎(大腦迴路)

接觸科學  
認識科學  
實踐科學

生活化且能深度學習課程

## 小型公民科學

因應全球暖化，  
建立一套長期台中女中  
土壤微生物的觀測系統



## 教授們的建議(期中報告時)

### ■ 實驗室安全規則（尤其是當土壤微生物被放大後）：

1st節課實驗室安全守則（需皆在通風櫥內操作）、  
部分細菌有致病力需小心（一開始篩選-42°C高溫或血紅素培養基）

### 110年度課程內容改為研究葉圈

葉圈（phyllosphere）是指在研究微生物時，若微生物的棲息環境是位在(地上部)植物表面的術語。

### ■ 課程內容

微生態環境（溫度、溼度等）與土壤菌種關連性

每個生理、生化、分子生物學分析背後的**學理基礎（Knowledge）**，  
而非僅強調**技術（Technology）**

### ■ ~~不如預期結果下的探究精神~~一種追根究柢的態度與熱情



4 月	5 月	6 月	7 月
V	V	V	

[illegible]

Thank  
You

