

中華民國第 52 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

第三名

最佳創意獎

030308

「蓮」香「蟪癒」

學校名稱：桃園縣私立新興高級中學(附設國中)

作者： 國二 吳柏辰 國二 黃御宸	指導老師： 陳俐蓉 林哲猷
-------------------------	---------------------

關鍵詞：綠水蟪、石蓮花、組織再生

摘 要

本實驗以綠水螅為研究生物，探討天然萃取物對水螅生殖和傷口癒合影響。結果顯示石蓮花萃取物相較其他天然萃取物，刺激綠水螅體生長明顯，而且提高水螅出芽率和傷口癒合能力；隨著石蓮花萃取物濃度愈高，橫切或縱切水螅體的細胞分裂能力具有濃度效應，傷口癒合程度和細胞分化作用隨之提高。我們進一步發現綠水螅細胞受到紫外線等物理性因子短暫傷害會抑制細胞分裂，但石蓮花萃取物隨即復原水螅再生能力，而且此天然物會抑制植物細胞的老化和枯萎，我們推測石蓮花萃取物含有類似細胞分裂物的成分，我們期望此天然植物性成分可以刺激動物組織再生，作為天然傷口癒合劑，更進一步延緩細胞老化，以期在生物醫療或美容醫學方面具有應用價值性！

壹、 研究動機

本實驗所使用的綠水螅樣本，採集自學校生態池塘(如右圖)，最初是為了採集水蘊草和池塘水體，作為生物實驗課程「觀察水中小生物」的材料。我們將水蘊草放至玻璃缸培養，在無意中發現到水蘊草葉片上附著了許多課本上常提到的水螅，興奮驚訝之餘，我們小心地用滴管將水螅取出培養並繁殖，經與老師討論並翻閱許多文獻報告，決定以綠水螅作為生物材料進行研究探討。



學校的生態池塘

人的手腳一旦失去，就無法重新再長出來！在生物課堂上老師教過，成年的蝾螈即使腳或尾巴斷了，只要經過數個月就可以恢復成原來的模樣了；還有渦蟲可以利用自己身體切成片段進行斷裂生殖，每一段都可以再生成一隻渦蟲，以及行「出芽生殖」的水螅，也是利用再生作為生殖的一種手段，我們好奇水螅身體的每個片段是否都能再生成一隻水螅，全身每一個細胞都可以再生嗎？於是我們以綠水螅作為研究對象，觀察水螅的生殖和再生情形，並進一步我們企圖尋找可以刺激細胞分裂的天然物質，翻閱文獻查得植物體內有許多可以刺激細胞分裂生長的植物性激素，尤其椰子汁和玉米胚乳首先發現細胞分裂素，其可以刺激細胞分裂。我們也好奇植物無性生殖力強的石蓮花和落地生根，其植物體內是否含有可以刺激細胞分裂的細胞分裂素，因此我們以椰子汁、玉米胚乳、石蓮花和落地生根等天然物質處理水螅的傷口，希望可以找出天然植物性萃取物可以刺激動物細胞分裂和組織再生，期待可以應用在生物醫療或美容醫學用途上！

貳、 研究目的

我們企圖利用再生力強的綠水螅做為研究對象，找出天然植物性「促細胞分裂物」以促進動物個體的細胞分裂，進而促進傷口的細胞分裂增生，作為修補傷口之用。

- 一、在實驗室培養綠水螅，進行觀察水螅外部型態和攝食行為。
- 二、討論綠水螅身體體柄的長度和觸手數目、長度的關係。
- 三、連續觀察綠水螅小芽體的生長率，在不同生長時期測量體柄和觸手長度。
- 四、探討天然萃取物對綠水螅再生的影響。
 - (一)椰子汁、玉米胚乳、石蓮花、落地生根萃取物對水螅出芽生殖的影響。
 - (二)不同濃度天然萃取物對水螅出芽、再生的影響。
 - (三)不同濃度天然萃取物對小球藻(共生)繁殖的影響。
- 五、探討石蓮花萃取物對受傷水螅細胞產生修復性作用。
 - (一)短暫紫外線照射導致水螅細胞物理性傷害。
 - (二)石蓮花萃取物復原水螅細胞分裂能力。
- 六、討論石蓮花萃取物刺激組織再生的可能成分。

參、研究設備與器材

一、器材：

(一) 透明水缸	(二) 玻璃滴管、玻璃培養管、量筒
(三) 解剖針	(四) 凹槽玻片、蓋玻片
(五) 透明塑膠培養盒	(六) 拭鏡紙 (擦拭顯微鏡之鏡頭)
(七) 燒杯100ml、200ml、500ml 數個	(八) 微量吸管

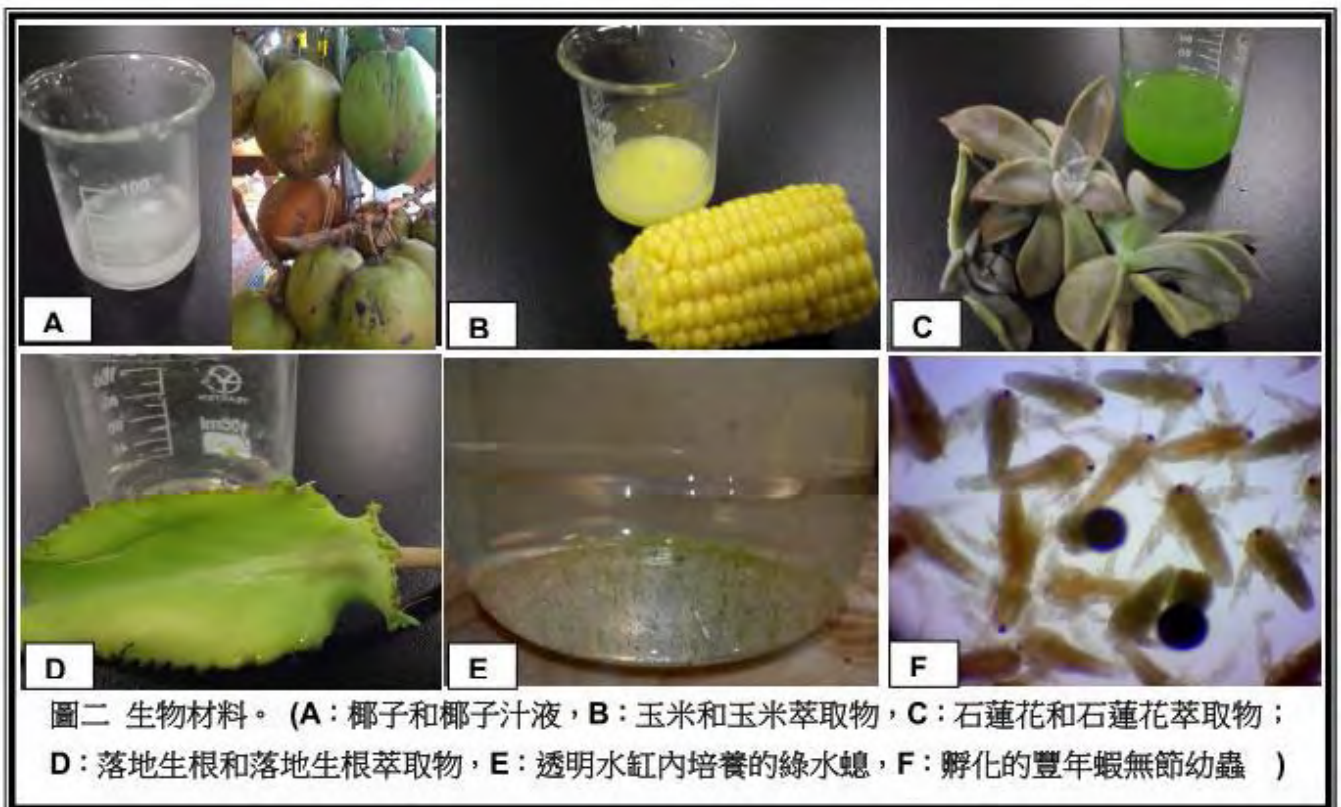
二、設備：

(一) 解剖顯微鏡	(二) 複式光學顯微鏡 (三眼式,C.D)
(三) 數位顯微接目鏡 (DINO LITE, AM423X)	(四) 水族箱打氣馬達
(五) 筆記型電腦	(六) 電子天秤 (DER HER BBX)
(七) 恆溫箱	(八) 檯燈照明裝置
(九) 照相機(Canon-EOS)	(十) 紫外燈管



三、生物材料：綠水螅、玉米、椰子、石蓮花、落地生根、豐年蝦

(一) 綠水螅(Green Hydra ，學名： <i>Hydra viris</i>)，取材自池水
(二) 豐年蝦 (鹵蟲屬，屬名： <i>Artemia</i>)
(三) 椰子 (學名： <i>Cocos nucifera</i>)
(四) 玉米 (學名： <i>Zea mays</i>)
(五) 石蓮花 (學名： <i>Graptopetalum paraguayense</i>)
(六) 落地生根 (學名： <i>Bryophyllum pinnatum</i> 〔Lam〕Kurz)



◎ 綠水螅 (**Green Hydra**) 之介紹：

(1) 學名：*Hydra viridis*

(2) 分類階層：動物界	Animalia
刺細胞動物門	Cnidaria
水螅綱	Hydrozoa
水螅目	Hydroida
水螅科	Hydridae
水螅屬	<i>Hydr</i>

(3) 體制構造：因為有小球藻(*Chlorella*)與其共生的關係而呈現綠色。其體制：體呈輻射對稱。

體壁由內外兩層細胞構成，中間亦有中膠層。水螅因為無骨骼，必需靠體壁的中膠層來支持身體。在外層細胞中：具有數種特化細胞，其中以刺囊細胞為腔腸動物所特有。

在水螅的個體中間央有一有口而無肛門的消化循環腔或稱為腔腸。向外有一開口，即為口，口的周圍有觸手，可做作為運動或捕食的工作。

- (4)攝食與消化：水螅為肉食性，捕食時，觸手伸長纏繞獵物，然後縮回送至口裏。觸手及體裏均有刺絲胞，內有刺絲囊，有些刺絲囊藏有毒液。當水螅受刺激時，囊裏的刺絲管向外翻出，把毒液注入獵物，使其麻醉或死亡。食物吞入消化循環腔後，內層細胞具有腺細胞和鞭毛細胞進行消化工作，腺細胞可分泌酵素至消化腔中，可管理胞外消化；鞭毛細胞可伸出偽足將食物攝入形成食泡，行胞內消化。最後食物渣滓從口排出體外。
- (5)生殖方式：生殖分無性及有性繁殖兩種。無性生殖為出芽生殖，而有性生殖是精卵結合。水螅為雌雄異體，睪丸將精子放於水內；每一卵巢，成熟時僅生一卵，在卵巢內受精，卵發育為實囊幼蟲，唯此時期仍與母體同住。水螅是以無性生殖的出芽法(**budding**)行生殖，即由親代個體分離一小部分而發育成一新的個體。這個個體可以脫離母體而獨立生存，也可以附著在母體上組成群體而自營生活。無性芽體並不變成芽片，但卻生出口及觸手，仍與母體相連，後來成熟與母體分離。
- (6)生活環境：生活在淡水環境，包括溪澗、池塘及湖泊。體型細小(5-8mm長)，圓柱狀，能伸縮，身體上端有口，口周圍有數條細長之觸手，下端依附在水草或其他水底物體之上。水螅可依附物體滑行及作翻斛斗運動。

◎ 椰子 *Cocos nucifera* 之介紹：

1942年 J.van奧弗貝克等在培養曼陀羅幼胚和未受精的卵細胞的實驗中，發現椰子乳明顯促進生長，因此設想椰子乳含有能促進細胞分裂的物質。1948年F.斯古格等發現腺嘌呤及其核苷(腺核苷)不僅能誘導組織培養中煙草切段的細胞分裂，而且能促進芽的形成。後來F.斯科格和C.O.米勒發現久放的或經壓力鍋處理過的 DNA中有強烈促進細胞分裂的物質。經過分離和鑒定,證明是6-糠基-腺嘌呤,並命名為激動素。

◎ 玉米 *Zea mays*之介紹：

1963~1964年D.S.萊薩姆等從幼嫩的玉米種子裏分離出一種細胞分裂素，並鑒定了其化學結構，命名為玉米素。後來還發現了一些在結構上與玉米素稍有不同的活性物質，其中之一是在甜玉米中存在的玉米素的核糖衍生物。1967年證明了椰子乳中主要的活性物質也是玉米素核苷。

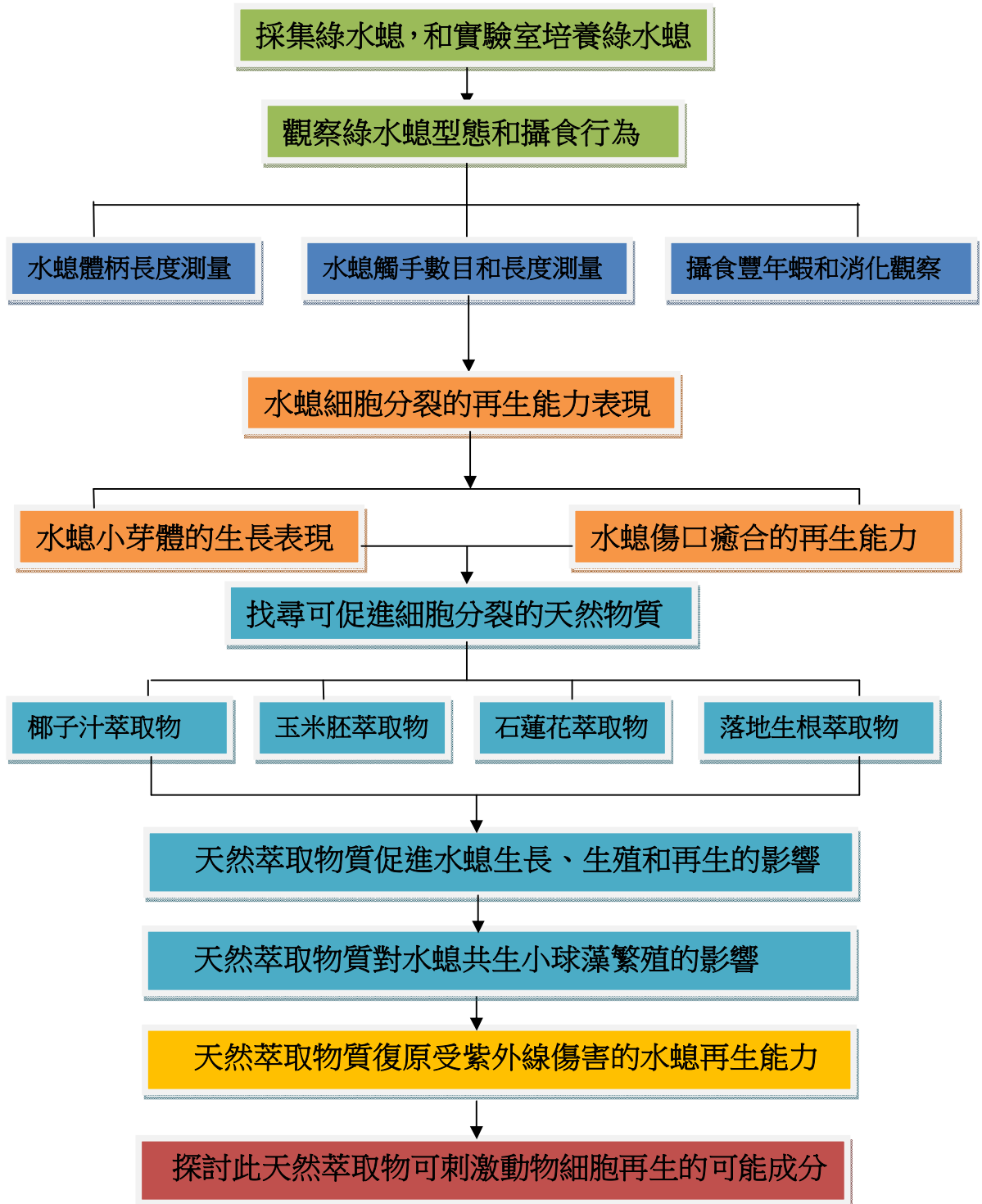
◎石蓮花 *Graptopetalum paraguayense*之介紹：

石蓮花又名寶石花，由於形狀與蓮花座相似，國人俗稱石蓮花。別名：風車草、觀音草、觀音石蓮花、石膽草、蓮座草、東美人、玉蓮。原產墨西哥，屬於景天科植物，風車草屬，屬多年生多肉植物，葉色淡紫或灰綠色，葉片厚實似湯匙狀，因外形狀似蓮花而得名，花梗自葉腋中抽出，呈穗花序，花冠先橙色，先端黃色，花期盛開期為每年三、四月間，其葉片基部可以長出小芽，再生力旺盛的植物體，為營養器官繁殖中的無性生殖。

◎落地生根 *Bryophyllum pinnatum*〔Lam〕 Kurz之介紹：

落地生根，原產地非洲，屬於景天科，落地生根屬。因將葉放在泥土中，葉邊缺刻處的一點即能發芽生長，不必依賴種子繁殖，為營養器官繁殖，若將它屈折或打斷，其葉著地即能生長，故亦有打不死之名，再生能力強。

肆、研究過程與方法：



一、綠水螅飼養方式

(一)培養方法：將採集到的水螅培養於山泉水的透明玻璃缸中，採靜置培養、不打空氣，置於室溫，搭配每天12hr的植物燈照射。每三天換水1/3，每隔一周，餵食一次豐年蝦無節幼蟲，並於餵食完畢後3hr，置換乾淨山泉水，將未被水螅捕食的殘存豐年蝦洗除，以維持培養瓶的水質。

(二)豐年蝦卵孵化：一般市面上所買得到的豐年蝦卵為其休眠卵，需經過外界刺激後才會活化，再孵化成無節幼蟲，孵化過程需注意兩個最重要的因子是鹽度及溫度。(圖三)

(1)燒杯置放 1000ML 水，加入 15 公克的粗鹽(鹽度約 1.5%)，水溫保持在 25~30℃之間，較高的溫度有助於縮短孵化時間，且酸鹼值 pH 需在 7.5~8.5 之間。

(2)倒入適量的豐年蝦卵。

(3)插入打氣軟管至燒杯中，以打氣馬達將水打滾提供足夠的溶氧(近乎飽和)，讓蝦卵在水中翻滾，孵化時間約 24~48 小時，即可達到 80%孵化率。

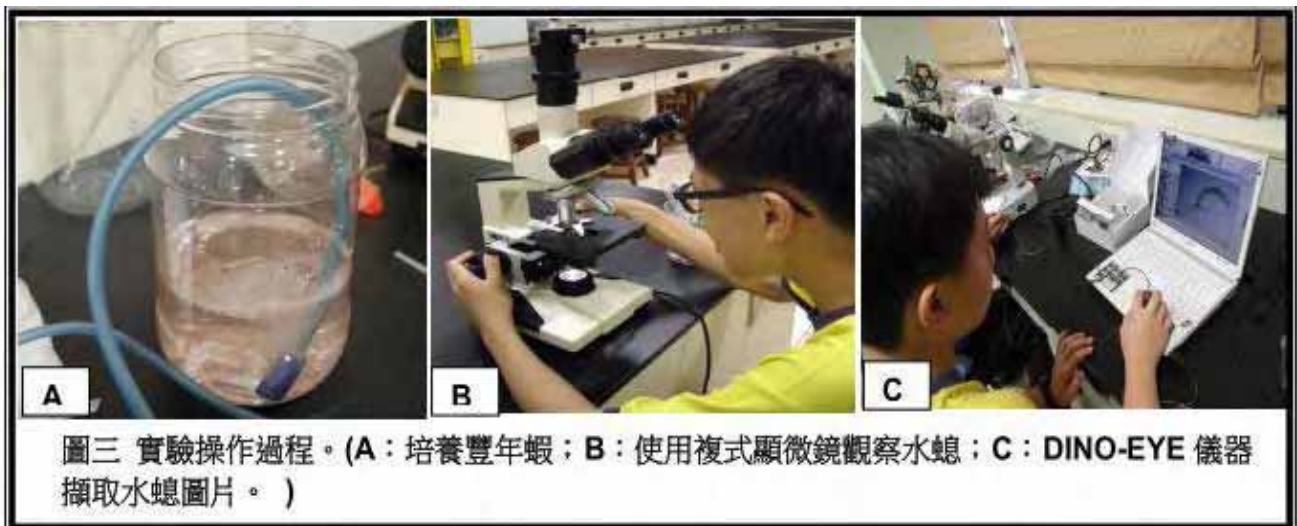
(三)豐年蝦餵養水螅方式：以滴管取出孵化的豐年蝦置於過濾器內，用蒸餾水沖淡稀釋豐年蝦的鹽度後，再以滴管吸取濃縮吸取濃縮豐年蝦至量筒內，加入蒸餾水，靜待 5min 後，殘留的空殼會漂浮在上，豐年蝦則沉於量筒底部，將上層液倒除後，即可得到豐年蝦餵食液，再以滴管吸取豐年蝦至飼養水螅缸中餵食。

二、觀察水螅的型態、和生長情形：

(一) 用乾淨的滴管將水螅放置於凹槽玻片中，並用顯微鏡50X倍率觀察，以DINO-EYE儀器擷取所需之圖片。(圖三)

(二) 利用DINO-Capture軟體，測量水螅柄體長度和觸手長度，以及計數觸手數目。(圖三)

(三) 重複(一)~(二)步驟，計數六十隻水螅，並紀錄之。



三、觀察綠水螅小芽體生長過程：

(一)水螅禁食三天，用乾淨的滴管取出**200**隻未出芽水螅，觸手數為**6**且體柄長介於**5-6mm**的綠水螅個體培養在透明盒中(**5**隻/一格)分別放置於兩組培養盒中，一組置放**100**隻水螅餵食豐年蝦，餵食後並洗去殘留的豐年蝦卵，連續追蹤觀察：捕食過程、捕食後**30min**、**12hr**、**24hr**、**36hr**、**48hr**、**72hr**、**96hr**的水螅出芽變化，另一組置放**100**隻水螅繼續禁食作為對照組。出芽率=水螅出芽隻數/100隻水螅。

(二)待出芽水螅的芽體產生並脫落後，持續追蹤量測**20**隻第一子代**F1**：脫離時**0min**、**24hr**、**48hr**、**72hr**、**96hr**、**120hr**、**144hr**的水螅觸手長及體柄體長的變化。用乾淨的滴管取出**20**隻出芽的水螅放置於塑膠培養盒(編號**1~20**)中，並於解剖顯微鏡**20X**倍率觀察，進一步以**DINO-EYE**電子目鏡擷取小芽體圖片。生長率(mm/hr)=生長長度/時間(所經時間)。

(三)外部形質的量測--影像分析軟體(Dino Capture)

將上述拍照取得的水螅圖片，利用 **Dino Capture** 軟體分析，先以標準量尺校正拍攝倍率後，將電子目鏡放大倍率固定在 **20X**(圖三)。將此倍率輸入後，即可直接透過分析軟體量測水螅相關的外部形質：觸手長和體柄體長。

四、觀察綠水螅傷口癒合的再生過程：

(一)水螅橫切的斷裂生殖之觀察

(1)用乾淨的滴管取出成熟水螅放置於載玻片上，以解剖針進行水螅橫切，於解剖顯微鏡**20X**倍率以**DINO-EYE**電子目鏡擷取切割後的水螅體圖片(圖四)。

(2)每隔**6**小時觀察水螅體的再生癒合情形，並以**DINO-EYE**電子目鏡擷取水螅體圖片。

(3)利用**DINO-Capture**軟體，測量水螅柄體長度和觸手再生情形，以及計數觸手數目。

(4)重複(1)~(3)步驟，實驗二十隻水螅，並紀錄統計之。



(二)水螅縱切的傷口癒合之觀察

(1)用乾淨的滴管取出成熟水螅放置於載玻片上，以解剖針進行水螅縱切，於解剖顯微鏡**20X**倍率以**DINO-EYE**電子目鏡擷取切割後的水螅體圖片。(圖四)

(2)每隔**6**小時觀察水螅體的再生癒合情形，並以**DINO-EYE**電子目鏡擷取水螅體圖片。

五、天然植物性萃取物對綠水螅生長和生殖的影響：

(一)配製天然物萃取液：

(1)取新鮮椰子胚乳、玉米胚、石蓮花、落地生根 10g 加水和丙酮(比率1:1)配成重量濃度 10%溶液，放入研鉢磨碎。

(2)以濾紙分別過濾其濾液(至少過濾兩次以上)，裝入燒杯中。

(3)將各萃取液以保鮮膜密封置入冰箱保存在4°C下。

(二)玉米萃取物、椰子汁、石蓮花萃取物、落地生根萃取物液對水螅出芽生殖影響：

(1)取培養盒，每一格加入下列溶液各5 ml：編號 1~5。

編號	1	2	3	4	5	6
溶液	蒸餾水(控制組) (飢餓水螅)	10%椰子汁	10%玉米胚乳 萃取液	10%石蓮花 萃取液	10%落地生根 萃取液	蒸餾水 (餵食水螅)

(2)編號1~5每一格放入水螅十隻(停止餵食三天)，編號6放入已餵食一小時的水螅十隻置於室溫下，每隔6小時，觀察水螅出芽情形。

(3)重複上述步驟3次，記錄數據並求得各時間點的出芽總數，以EXCEL統計圖作成曲線圖。

(三)不同濃度的石蓮花汁液對水螅出芽生殖和芽體發育的影響：

(1)取培養盒，每一格加入下列溶液各5 ml：編號 1~6。

編號	1	2	3	4	5	6	7	8
溶液	蒸餾水 (飢餓水螅)	0.001%石蓮 花萃取液	0.01%石蓮 花萃取液	0.1%石蓮花 萃取液	1%石蓮花 萃取液	10%石蓮花 萃取液	餵食豐 年蝦	餵食 +10% 石蓮萃

(2)編號1~6組別每一格放入水螅十隻(停止餵食三天)，編號7~8各放入24小時內飽食豐年蝦的水螅十隻，編號7組別以蒸餾水處理，編號8組別以10%石蓮花萃取物處理，置於室溫下每隔6小時，觀察水螅出芽情形。

(3)繼續追蹤脫離母體的水螅幼體之生長情形，計數幼體的體柄長度和觸手長度，並紀錄之。

(4)重複上述步驟3次，記錄數據並求得各時間點的出芽總數，以EXCEL統計圖作成曲線圖。利用DINO-Capture軟體，測量小芽體柄體長度和觸手長度，以及計數觸手數目。

(四)不同濃度的石蓮花汁液對水螅橫切片段的再生影響：

(1)取培養盒，每一格加入下列溶液各5 ml：編號 1~6。

編號	1	2	3	4	5	6
溶液	蒸餾水 (控制組)(飢餓水螅)	0.001%石蓮 花萃取液	0.01%石蓮花 萃取液	0.1%石蓮花 萃取液	1%石蓮花 萃取液	10%石蓮花 萃取液

(2)用乾淨的滴管取出成熟水螅(停止餵食三天)放置於載玻片上，以解剖針進行水螅橫切，於解剖顯微鏡15X倍率以DINO-EYE電子目鏡擷取切割後的水螅體圖片。

(3)編號1~6每一格放入橫切片水螅，(停止餵食三天)每隔12小時觀察水螅體體的再生癒合情形，並以DINO-EYE電子目鏡擷取水螅體圖片。

(4)利用DINO-Capture軟體，測量水螅柄體長度和觸手再生情形，以及計數觸手數目。

(5)重複上述步驟三次，並紀錄整理數據繪製統計圖。

(五)不同濃度的石蓮花物對水螅小片段再生的影響：

(1)取培養盒，每一格加入下列溶液各5 ml：編號 1~6。

編號	1	2	3	4	5	6
溶液	蒸餾水 (控制組)(飢餓水螅)	0.001%石蓮花 花萃取液	0.01%石蓮花 萃取液	0.1%石蓮花 萃取液	1%石蓮花 萃取液	10%石蓮花 萃取液

(2)用乾淨的滴管取出成熟水螅(停止餵食三天)將一隻水螅橫切8~10個片段置於室溫下，每一個片段約1-2mm，每十二小時，觀察水螅再生情形，並以DINO-EYE電子目鏡擷取水螅體圖片

(六)不同濃度的石蓮花萃取物對小球藻繁殖的影響：

(1)分離與水螅共生的小球藻並進行培養之：取20隻成熟的綠水螅以純水洗滌過後，以滴管移至已消毒處理的載玻片上(水微量)，蓋上蓋玻片以相同方向輕壓，直至綠水螅個體被壓碎為止，此時綠水螅共生的小球藻與綠水螅本體分離，將小球藻轉至玻璃培養管進行培養。

(2)培養小球藻：培養環境為28-30℃恆溫水槽，光照黑暗週期14:10hr，培養至培養液(KNO₃、MgSO₄、Na₂HPO₄、FeSO₄和EDTA等)中，培養一星期後，可抽取足夠的量以進行實驗。

(3)觀察不同濃度石蓮花萃取物對小球藻繁殖的影響：每組取1×10⁵cells/mL細胞至玻璃管中分別處理不同溶液，觀察 24、48 小時計數小球藻細胞數，重複實驗三次求取平均值。

編號	1	2
溶液	蒸餾水	10%石蓮花萃取物

六、石蓮花萃取物修復紫外線傷害綠水螅的再生能力：

(一)UVA影響水螅的存活和再生能力：

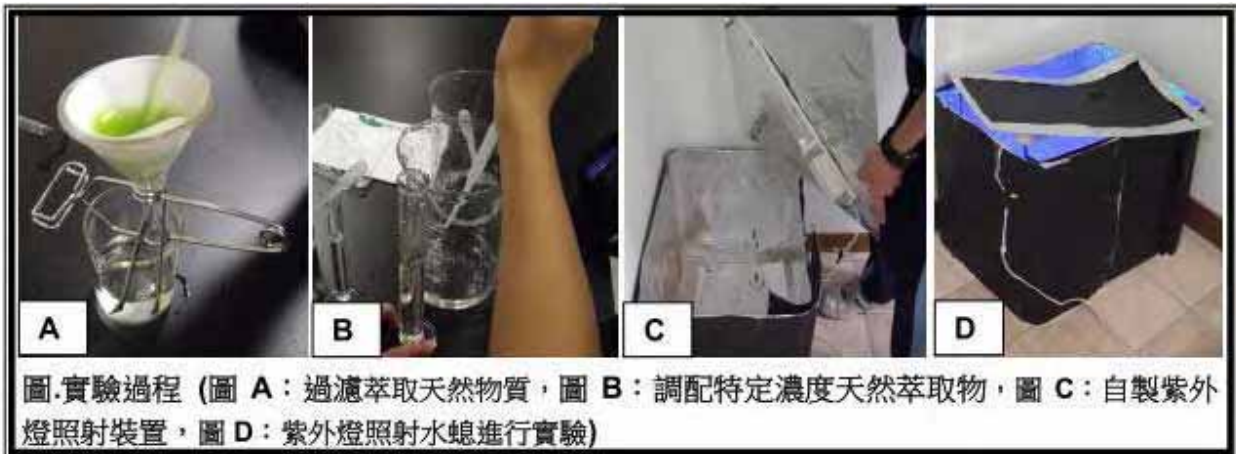
(1)各放五隻水螅(24小時內飽食水螅)至不同編號的培養盒中，架設UV燈管，分別不同處理：

編號	1	2	3	4
處理	5隻飢餓水螅 照射紫外燈5分鐘	5隻飢餓水螅 照射紫外燈15分鐘	5隻飢餓水螅 照射紫外燈30分鐘	5隻飢餓水螅 照射日光燈5分鐘

編號	5	6	7	
處理	5隻飢餓水螅 照射日光燈15分鐘	5隻飢餓水螅 照射日光燈30分鐘	5隻飽食水螅	

(2)置於室溫下在24小時，觀察水螅存活情形。

(3)重複上述步驟3次，記錄數據並求得各時間點的出芽總數，以EXCEL軟體做出統計圖。



(二)石蓮花萃取物修復UV傷害水螅的再生能力：

(1)各放十隻水螅(24小時內飽食水螅)至不同編號的培養盒中，架設UV燈管，分別不同處理：

編號	1	2	3	4	5
前處理	10隻飢餓水螅 (10%石蓮花萃取物中)照射紫外燈 30分鐘	10隻飢餓水螅 (10%石蓮花萃取物中)照射紫外燈 30分鐘	10隻飢餓水螅 (H ₂ O中)照射 紫外燈30分鐘	10隻飢餓水螅 (H ₂ O中)照射日 光燈30分鐘	10隻飢餓水螅 (H ₂ O中)照射日光 燈30分鐘
↓	↓	↓	↓	↓	↓
後處理	水螅換至蒸餾 水中	水螅換至10%石 蓮花萃取物中	水螅換至10%石蓮 花萃取物中	繼續停留至蒸餾 水中	水螅換至10%石蓮 花萃取物中

(2)置於室溫下分別在24和48小時，觀察水螅存活和出芽情形。

(3)水螅存活率=水螅存活數目/實驗總數；出芽率=水螅出芽個體數/實驗總數。

(4)重複上述步驟3次，記錄數據並求得各時間點的出芽總數，以EXCEL統計圖作成曲線圖。

七、探討石蓮花萃取物刺激細胞再生之可能成分：

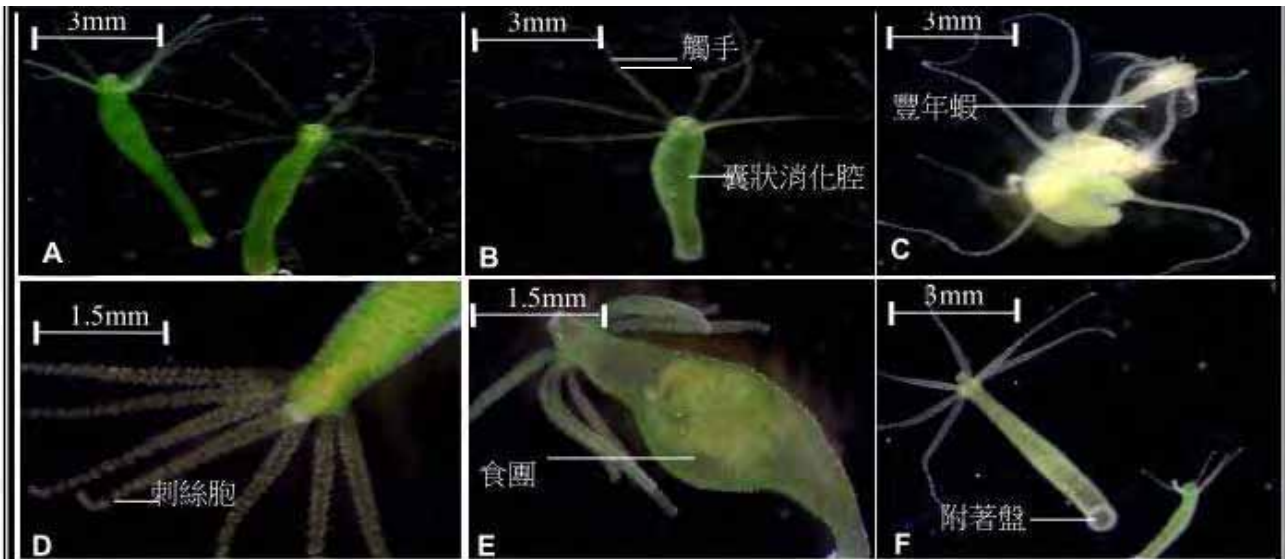
(一)實驗組：取10%石蓮花萃取物5c.c.置放培養皿中，放置新鮮葉片浸泡其中。

(二)對照組：取蒸餾水5c.c.置放培養皿中，放置新鮮葉片浸泡其中。

(三)每隔24小時比較葉片的枯黃程度。

伍、實驗結果：

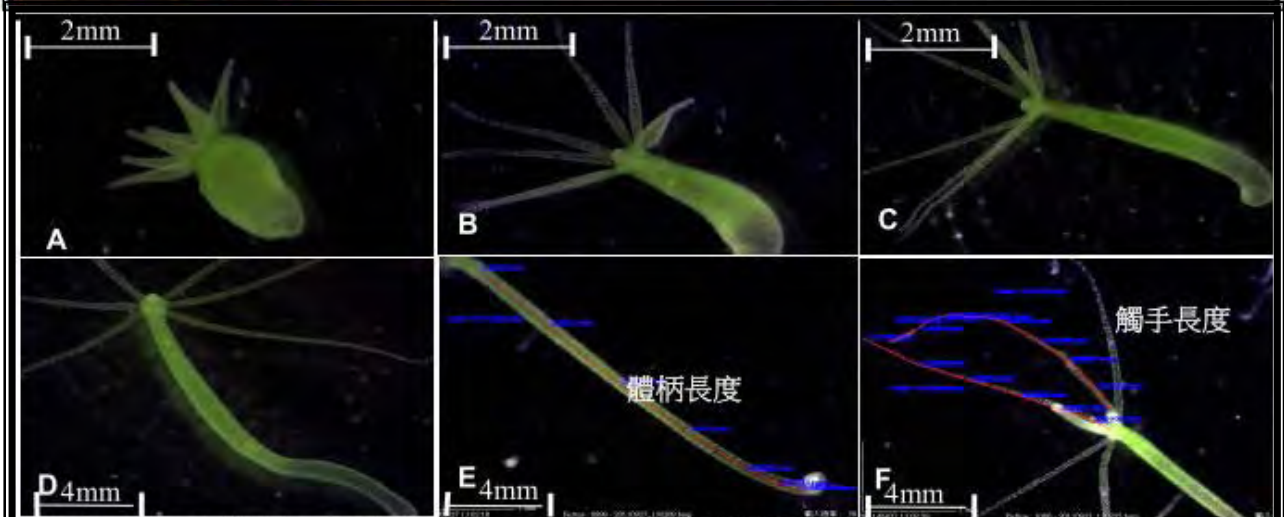
一、綠水螅的型態觀察研究：



圖五.顯微觀察水螅的型態和掠食 (圖 A：綠水螅有小球藻共生，圖 B：水螅的囊狀消化腔，圖 C：綠水螅伸長觸手纏繞獵物，圖 D：觸手上的有刺絲胞，圖 E：囊狀消化腔內食糜，圖 F：基部具附著吸盤)

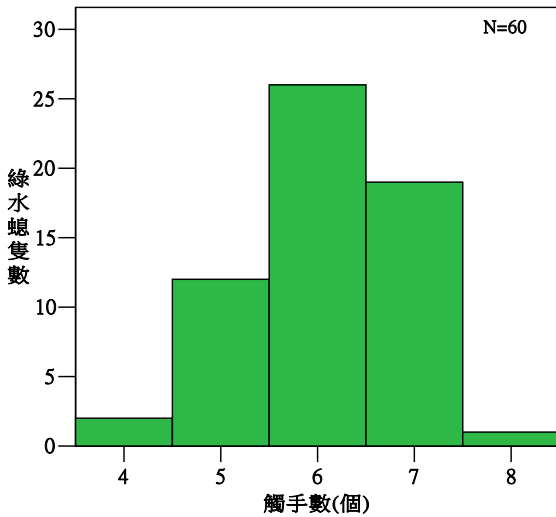
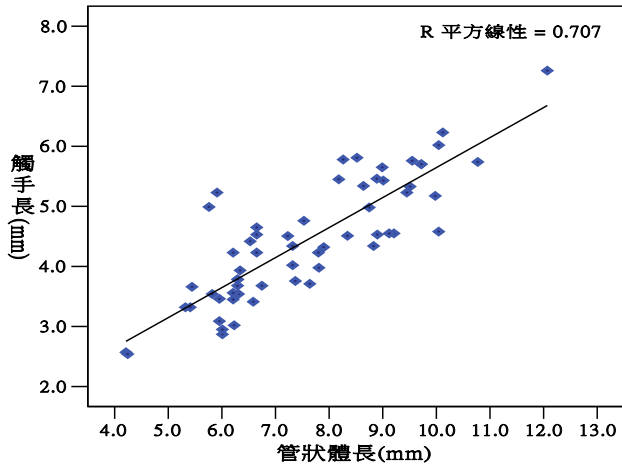


圖六 利用複式顯微鏡觀察水螅的刺絲胞和消化囊內的食團(圖 A：觸手上的刺絲胞，圖 B：水螅囊狀消化腔內的食團，消化後會從口部吐出食物殘渣。)



圖七 測量水螅體柄長和觸手長度。(圖 A→D：水螅活動體柄伸長過程；圖 E：利用 DINO capture 軟體測量體柄之長度；圖 F：利用 DINO capture 軟體測量觸手之長度) (解剖顯微鏡 15x 拍攝)

圖八 水螅形態管狀柄長和觸手長度關係

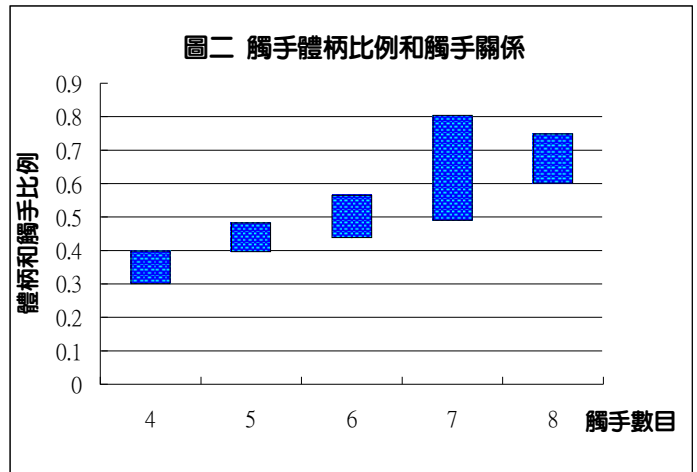


水螅觸手數目次數分布圖

為 1:0.73。以探針測試水螅退縮反射，輕觸管狀體 1/2 處，發現管狀體會先縮短，隨後觸手縮短，最後水螅呈現球體花苞狀(如圖七 A)。

利用顯微測量觸手長度，發現體柄愈長，其觸手數目和長度有增加趨勢(表一、圖九)，且觸手和柄體長度之比值約 0.4~0.6，其比值愈大，水螅觸手數目愈多；而且當水螅捕食時，觸手長度可能伸長至體柄長度以纏繞獵物。(圖五)

圖二 觸手體柄比例和觸手關係

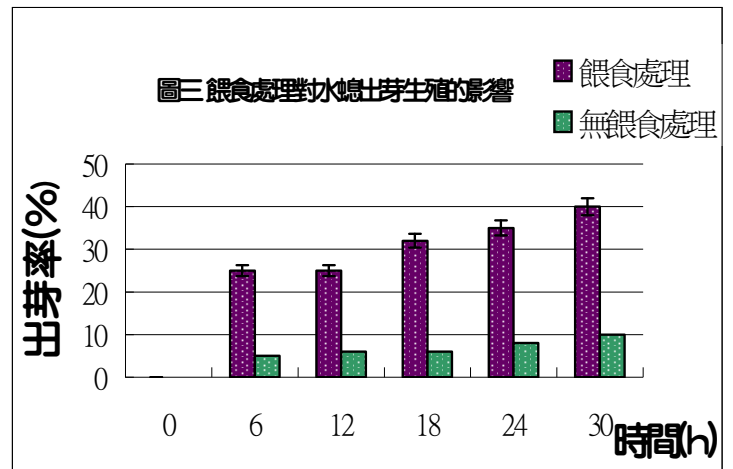


以豐年蝦無節幼蟲餵食水螅，可觀察到水螅觸手活動良好，可以迅速捕捉到豐年蝦(圖五 C)，並且以觸手將獵物捲送入口器，在其囊狀消化腔內進行胞外消化(圖五 E)。以複式顯微鏡觀察水螅，可觀察到綠水螅的觸手、口器、管狀體、附著盤以及體壁的刺絲胞與共生的小球藻(如圖六 A)。隨機取 60 隻水螅計算其觸手數目可知，水螅的觸手數目介於 4-8 個之間，且以 6-7 個觸手為多。綠水螅體柄長伸縮進行活動，在體柄長伸展至最長時，利用顯微測量柄長長度，柄長長度約 4mm~12mm。量測水螅的觸手長度與管狀體長度，分析兩者具有正相關性 ($R^2=0.7787$)，且水螅管狀體與觸手長度的比值約

二、綠水螅小芽體生長之研究：

(一) 餵食處理對水螅出芽生殖影響：

由圖十結果得知，水螅經餵食之後，每隔 6 小時觀察水螅出芽情形，在第 6 小時發現餵食的水螅之出芽率是禁食水螅 5 倍之多，而水螅出芽數多為一個小芽體，我們推知水螅經餵食豐年蝦獲得充足的蛋白質等養分和能量，以促進水螅行出芽生殖，增加更多的個體數目，達到繁殖目的。

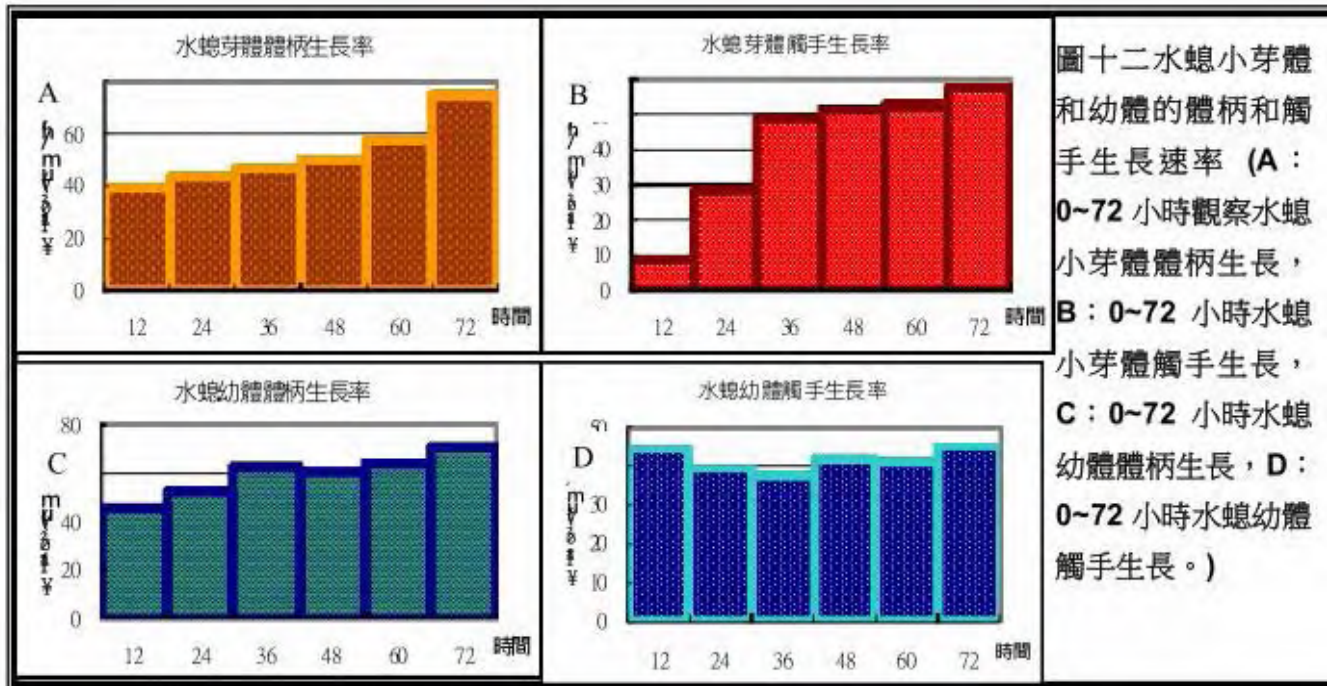


圖十 餵食處理對水螅出芽生殖的影響

(二) 水螅小芽體和幼體的生長速率和標準生長曲線：

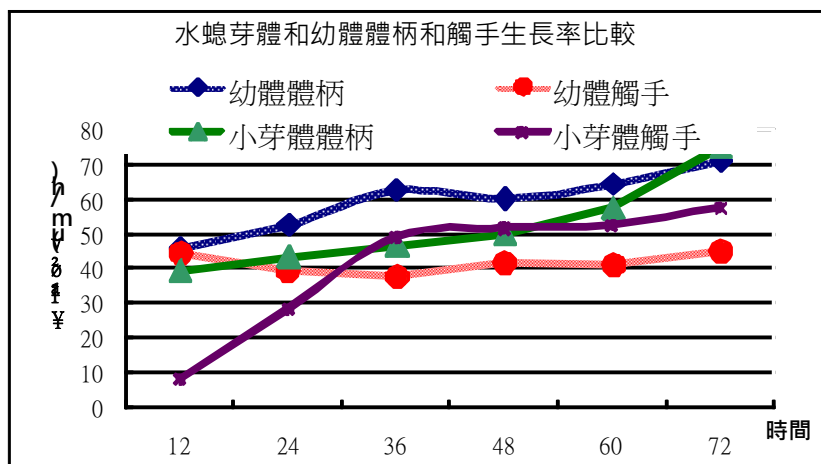


圖十一 水螅出芽生殖和芽體生長發育過程。(圖 A：經餵食的水螅於 12 小時後螅體 2/3 處突出；圖 B：24 小時後突出小體繼續進行分化，小芽體趨明顯；圖 C：小芽體於 36 小時分化出觸手；圖 D：48 小時小芽體的觸手的長度和數目更趨成熟；圖 E：成熟的小芽體在 72 小時脫落母體；圖 F：幼體水螅的螅體長度和觸手長度繼續生長，且觸手具有伸縮反射和捕食能力。



圖十二水螅小芽體和幼體的體柄和觸手生長速率 (A: 0~72 小時觀察水螅小芽體體柄生長, B: 0~72 小時水螅小芽體觸手生長, C: 0~72 小時水螅幼體體柄生長, D: 0~72 小時水螅幼體觸手生長。)

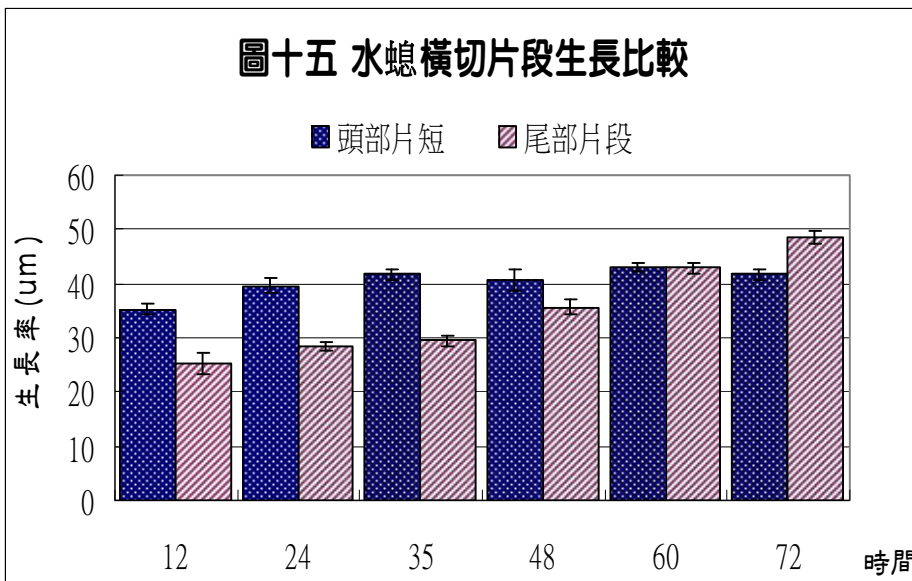
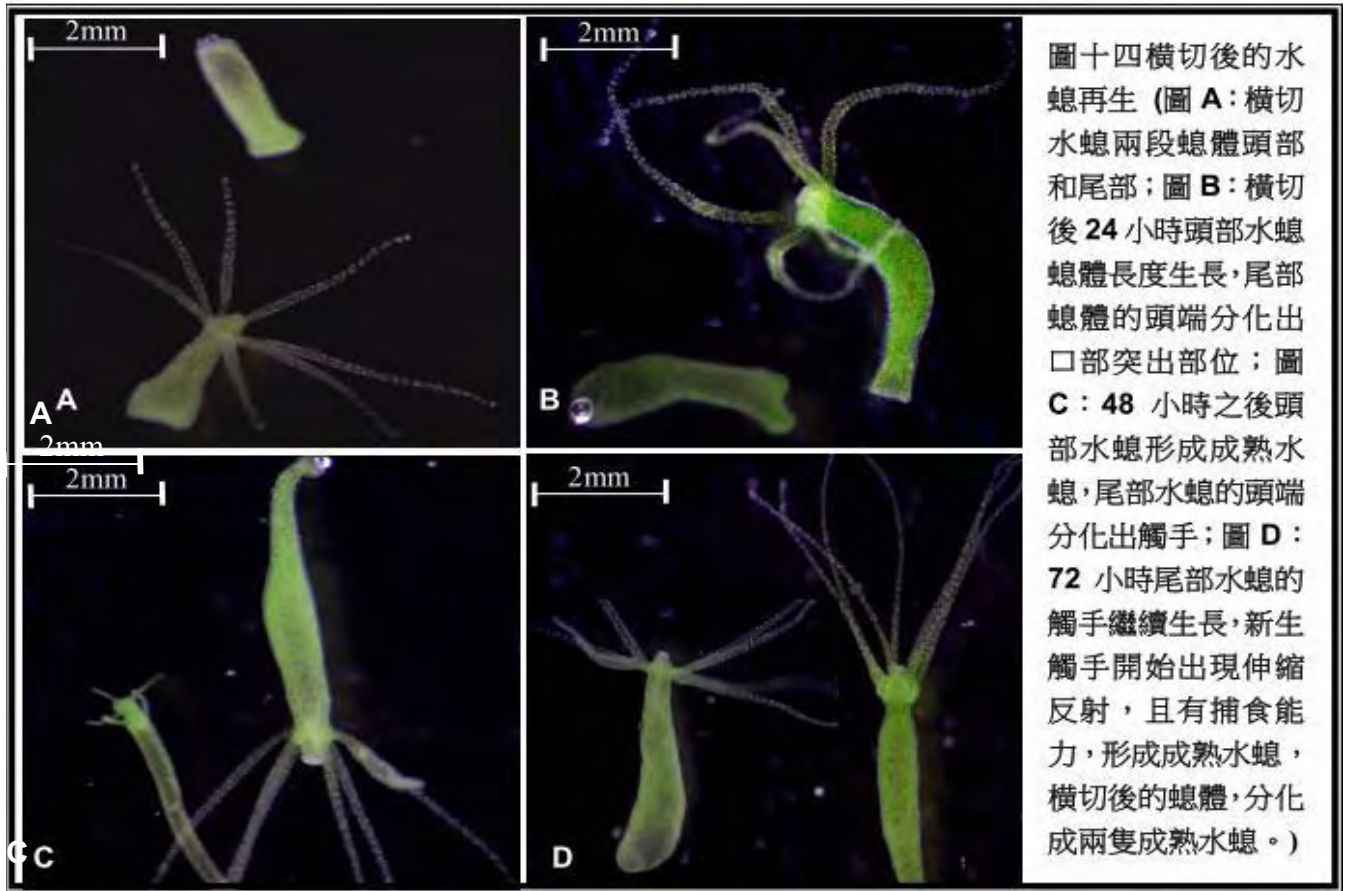
圖十三水螅芽體和幼體體柄、觸手的生長率比較曲線



水螅經過餵食 12 小時之後，豐年蝦已消化完畢，水螅體 2/3 處已突出新的芽體(圖十一 A)，連接母體的小芽體體柄成長率日趨上升，72 小時的生長率(70 $\mu\text{m}/\text{hour}$)是 12 小時(38 $\mu\text{m}/\text{hour}$)近兩倍之多(圖十二)，體柄長度的增長可以促進消化腔的發育，以利進一步成熟發育；而時，觸手未分化出來，36 小時之後才明顯長出觸手，之後觸手長度持續增長(生長率維持在 50 $\mu\text{m}/\text{h}$ 以上)，觸手數目與親代相同，且具有活動力可以自行利用觸手捕食。我們觀察連接母體的小芽體在生長發育 60~72 小時之後會脫離母體獨立生存，而小幼體水螅(第一子代)其體柄長度仍然繼續生長發育，我們觀察第一子代 50 隻水螅再脫離母體 120 小時之後，螞體最長可達 1.0cm 以上，平均長度 0.6~0.8cm，成為成熟水螅。

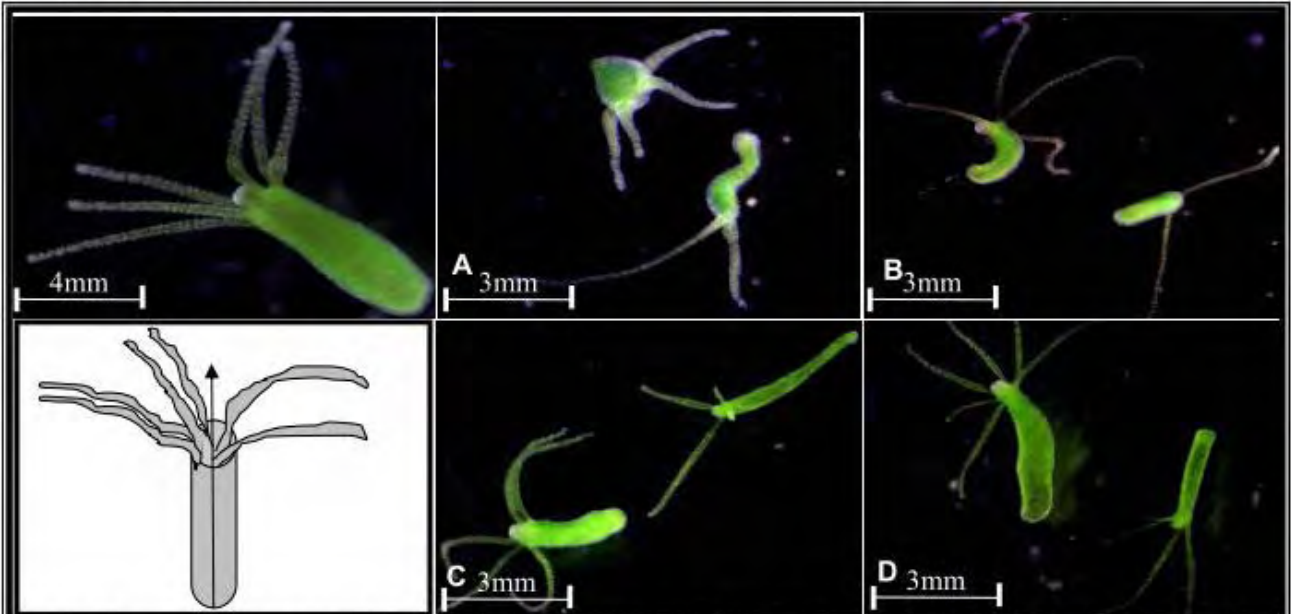
三、綠水螅傷口癒合之再生研究：

(一)觀察橫切水螅的再生：

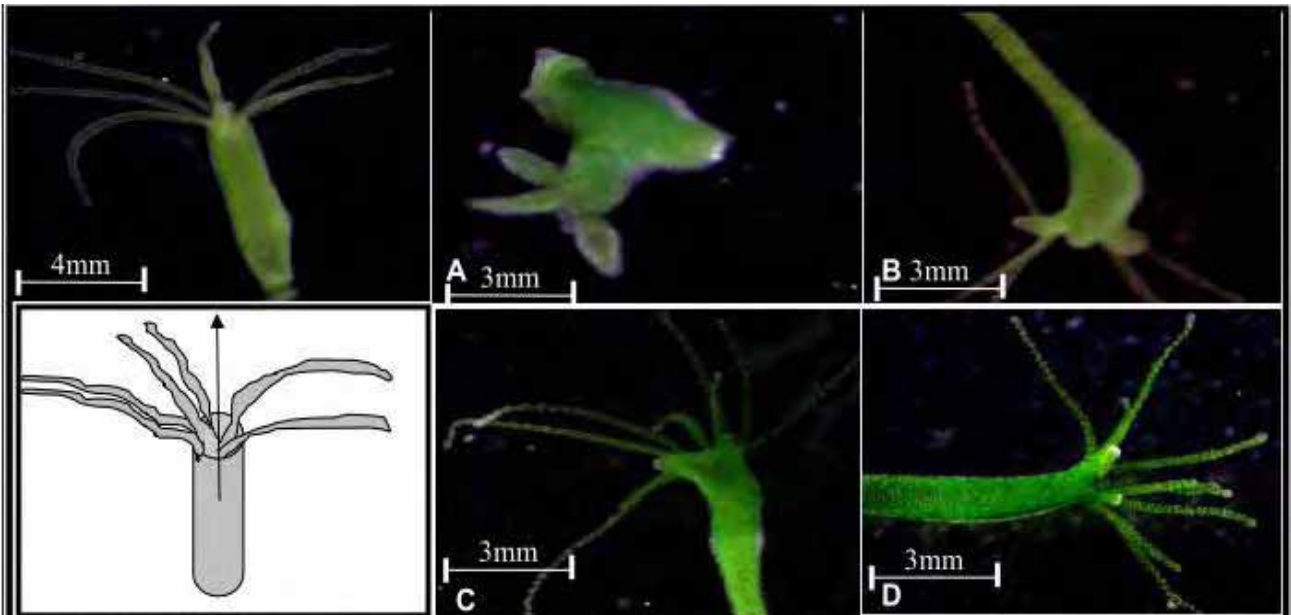


水螅頭部片段保留原有的口部和觸手，攝取充足食物補充養分，以利生長，頭部片段的體柄生長率相較尾部片段的生長率在前時期明顯，隨著時間的拉長，生長率維持水平，頭部片段體柄長度漸長，消化腔漸大，長成成熟水螅體。尾部片段在前時期的生長率慢，可能是分裂出的細胞進行分化，形成口部和觸手，在後時期當觸手成熟，則進行分裂出的細胞長成體柄，水螅成熟。

(二)觀察縱切水螅的再生



圖十六縱切後的水螅再生 (圖 A：縱切水螅兩段螅體；圖 B：縱切後 24 小時螅體生長；圖 C：48 小時之後新生觸手；圖 D：72 小時體柄觸手分化成熟。

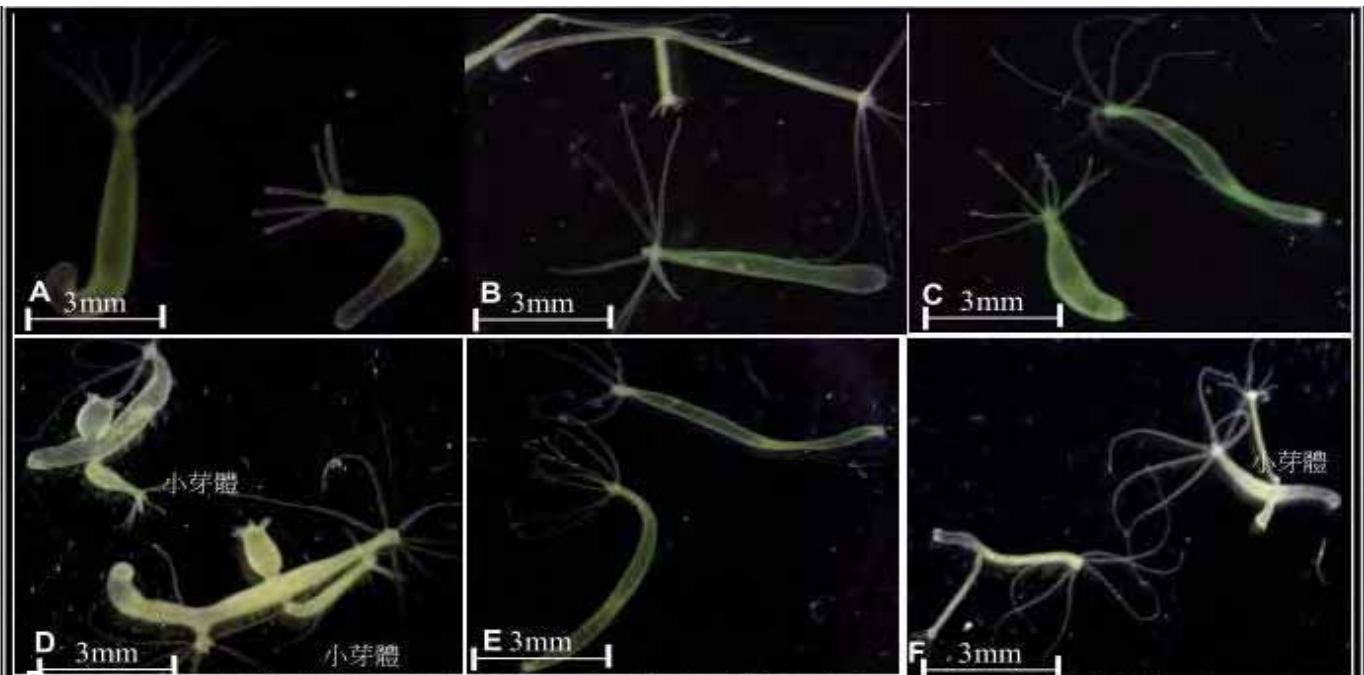
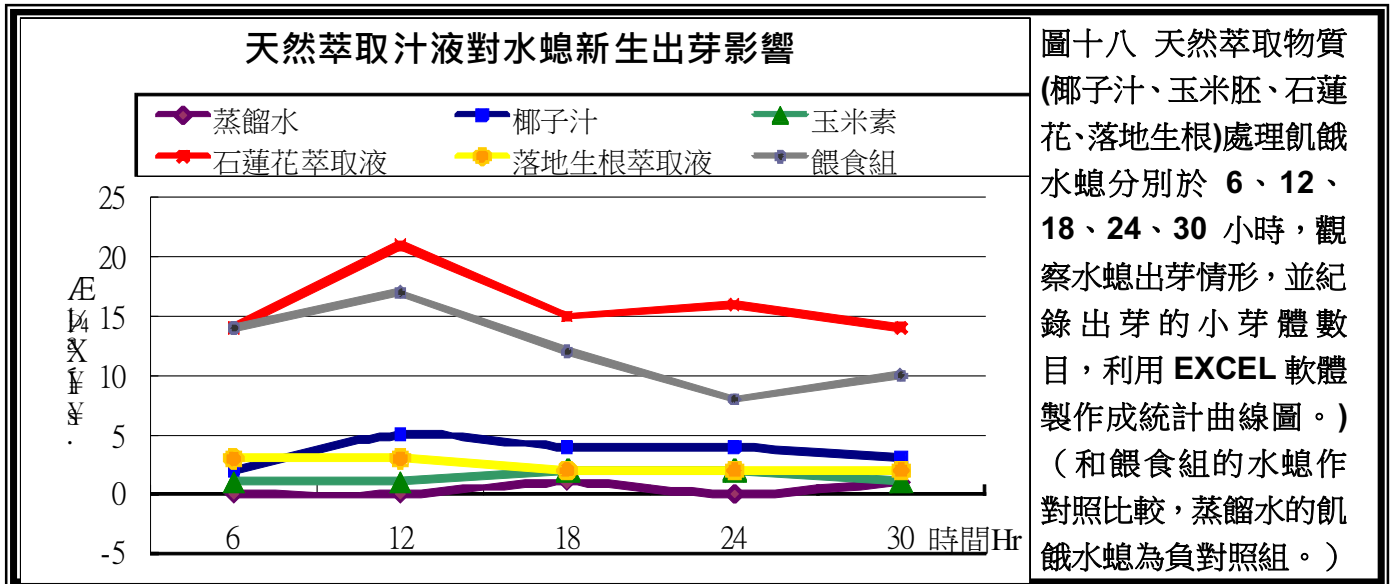


圖十七縱切後的水螅再生 (圖 A：縱切水螅兩段螅體；圖 B：縱切後 24 小時螅體生長；圖 C：48 小時之後新生觸手；圖 D：72 小時體柄觸手分化成熟。

水螅經縱切後成為兩半螅體，進行再生過程中發現，螅體體側壁漸癒合，口部會長出新觸手，增加觸手的數目，生長過程中除了水螅體柄消化腔發育成熟外，觸手長度和數目也增加，但是觸手的數目和原先水螅的觸手數目則不一定相同。如果縱切水螅螅體 1/2，水螅再生出新細胞癒合傷口，但最後仍為兩個口部，且增加新的觸手，最後觸手的數目相較原有的水螅觸手多。

四、天然萃取物質添加水綠水螅體之再生研究：

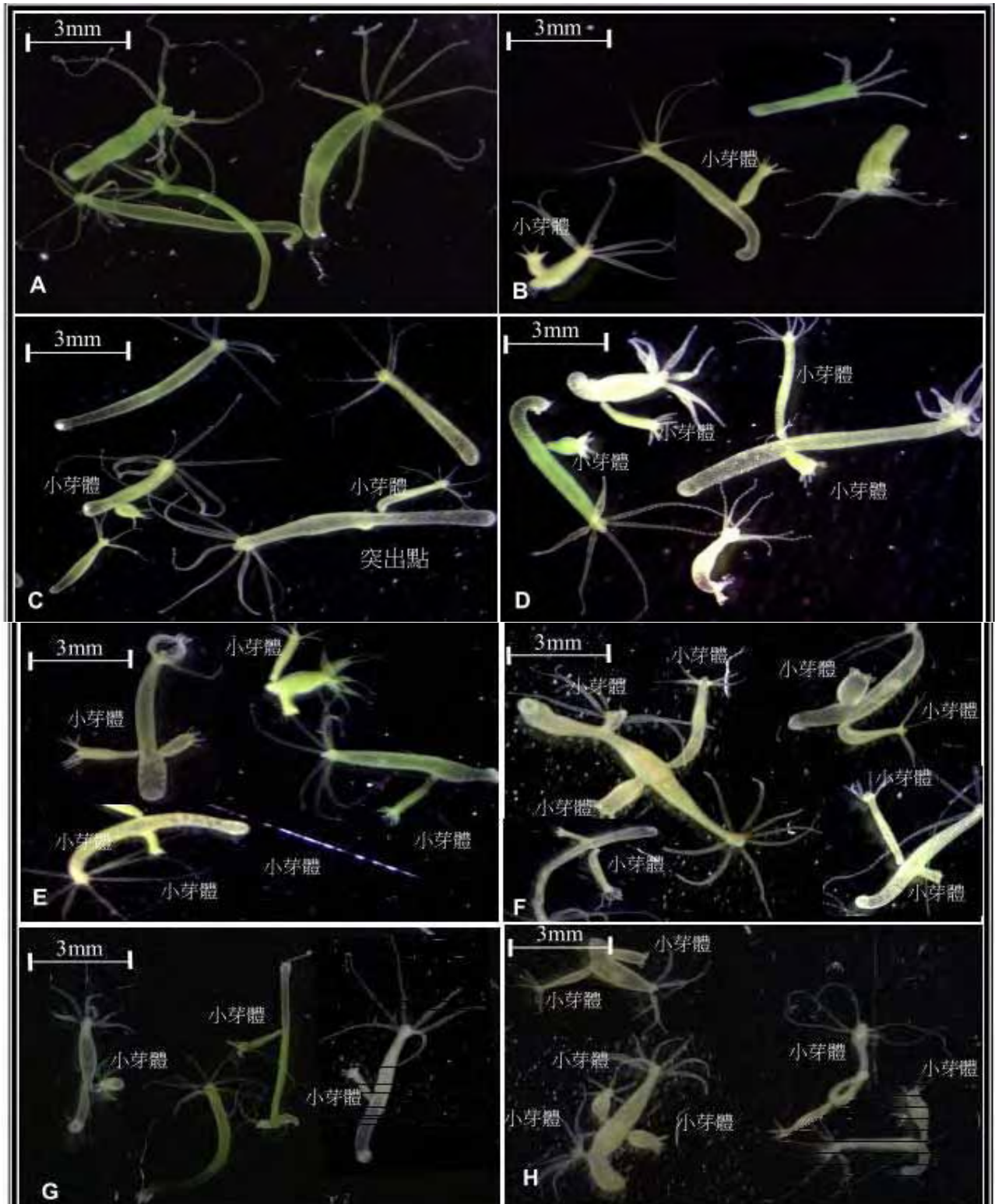
(一)椰子汁液、玉米胚乳萃取物、石蓮花萃取物、落地生根萃取物液對水螅出芽生殖的影響：



圖十九 10%天然萃取物處理飢餓水螅 36 小時的出芽結果。(圖 A：蒸餾水處理，控制組，圖 B：10%椰子汁處理，圖 C：10%玉米胚乳萃取物處理，圖 D：10%石蓮花萃取物處理，圖 E：10%落地生根萃取物處理，圖 F：餵食一小時處理蒸餾水，控制組。)

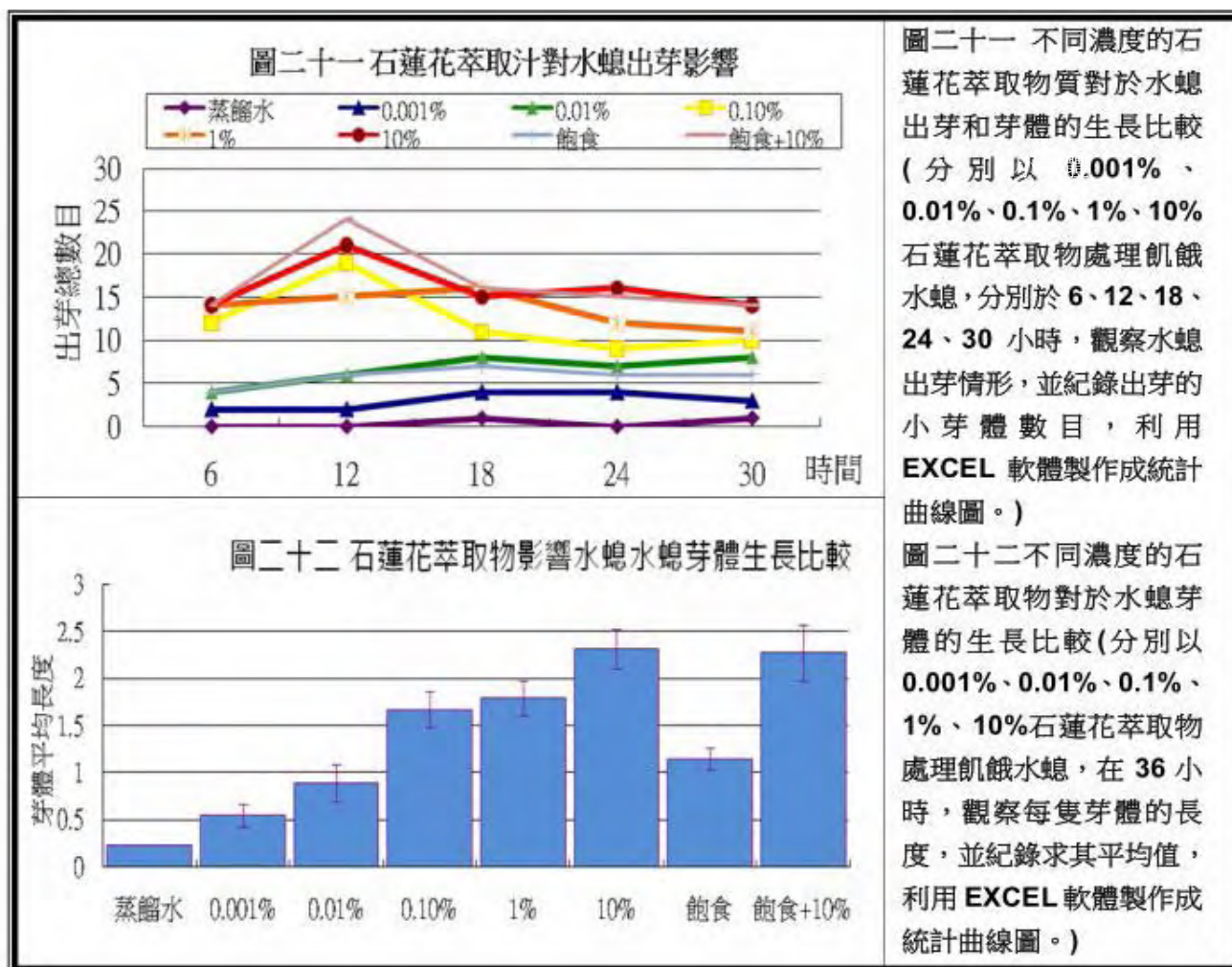
由圖十九結果中得知，椰子汁和玉米胚乳萃取液無法刺激飢餓的水螅進行出芽生殖，而無性生殖力強的落地生根和石蓮花，其萃取物對於水螅出芽生殖的影響，以石蓮花萃取物的促進效果最具有影響力，而且相較餵食的水螅組別，其出芽情形更甚明顯。

(二)不同濃度石蓮花萃取汁對水螅出芽生殖的影響：



圖二十 不同濃度石蓮花萃取物處理飢餓水螅 36 小時的出芽結果。(圖 A：蒸餾水處理(控制組)，圖 B：0.001%石蓮花萃取物處理，圖 C：0.01%石蓮花萃取物處理，圖 D：0.1%石蓮花萃取物處理，圖 E：1%石蓮花萃取物處理，圖 F：10%石蓮花萃取物處理，圖 G：餵食豐年蝦一小時換至蒸餾水處理，圖 H：餵食豐年蝦一小時換至 10%石蓮花萃取物處理。

不同濃度石蓮花萃取汁促進水螅出芽生殖和芽體生長的影响：

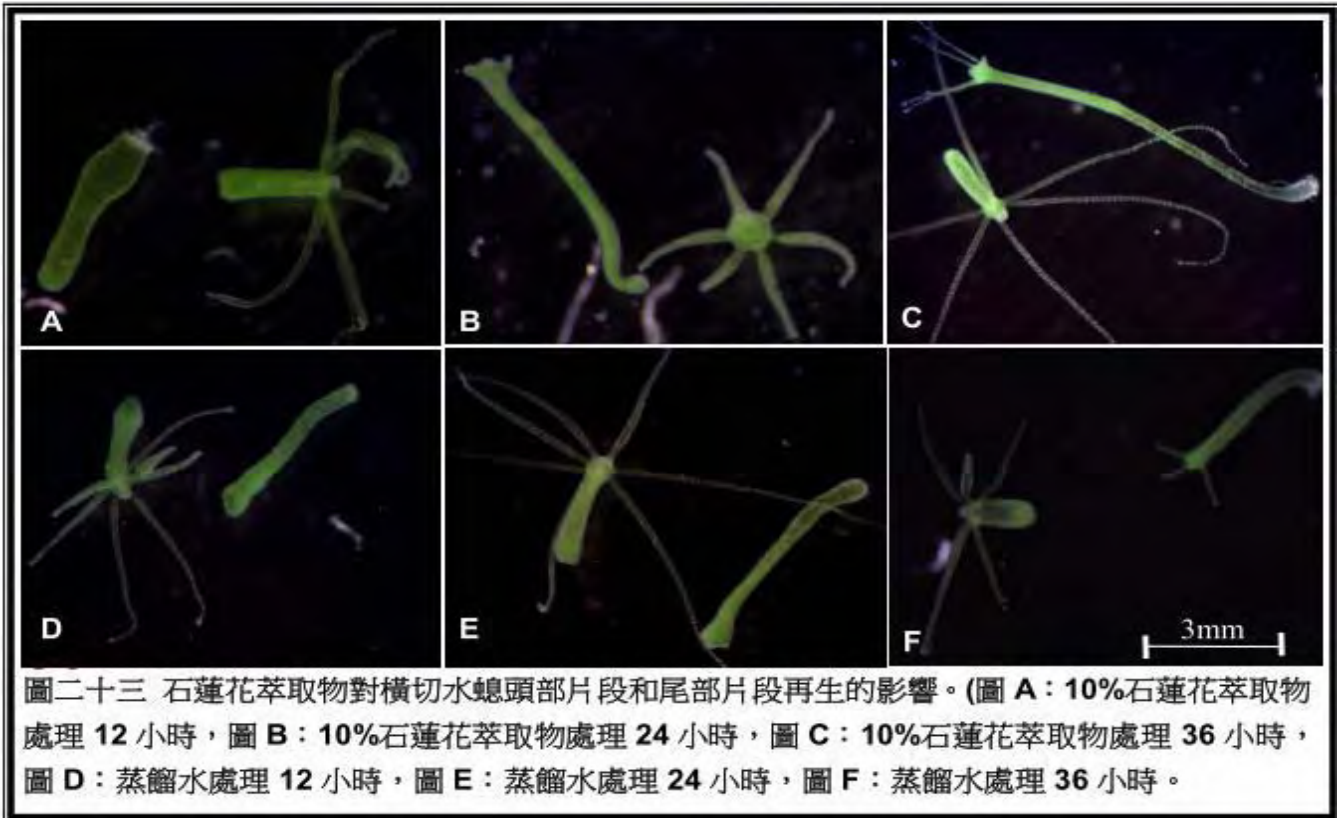


圖二十一 不同濃度的石蓮花萃取物質對於水螅出芽和芽體的生長比較 (分別以 0.001%、0.01%、0.1%、1%、10% 石蓮花萃取物處理飢餓水螅，分別於 6、12、18、24、30 小時，觀察水螅出芽情形，並紀錄出芽的小芽體數目，利用 EXCEL 軟體製作成統計曲線圖。)

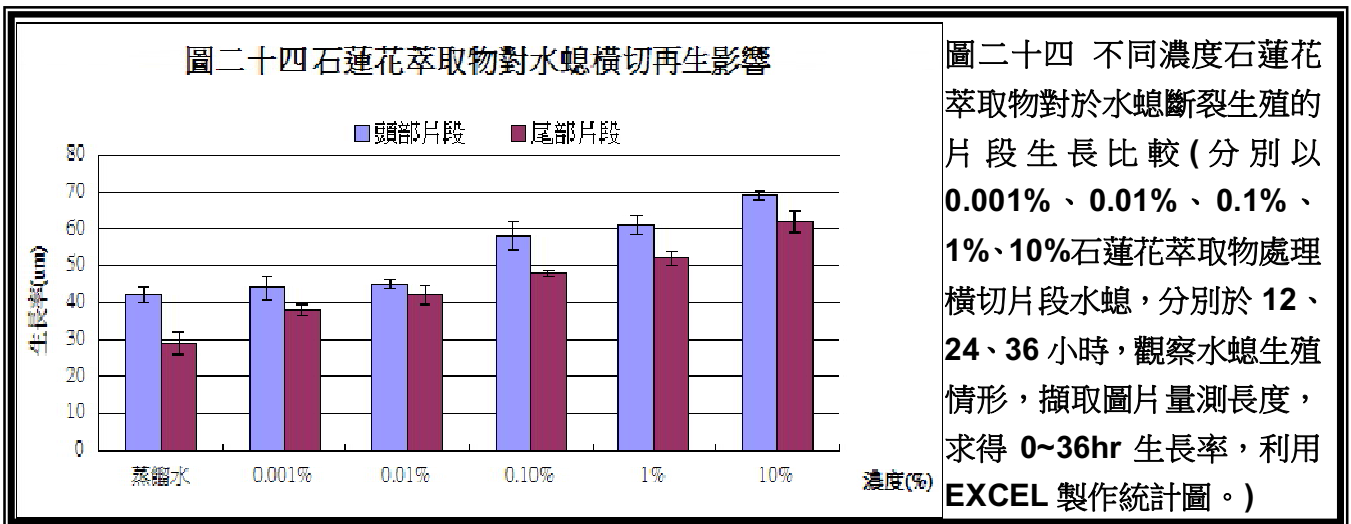
圖二十二不同濃度的石蓮花萃取物對於水螅芽體的生長比較 (分別以 0.001%、0.01%、0.1%、1%、10% 石蓮花萃取物處理飢餓水螅，在 36 小時，觀察每隻芽體的長度，並紀錄求其平均值，利用 EXCEL 軟體製作成統計曲線圖。)

由圖二十一、二十二結果中得知，石蓮花萃取物處理飢餓水螅相較對照組(蒸餾水處理)，水螅有明顯出芽情形，而且隨著濃度的提高，出芽的數目會增加，水螅在一般情形下經餵食之後 24 小時會有出芽情形，而且出芽數目大多長出一個小芽體，但是當我們以高濃度 0.1%、1% 石蓮花萃取物質處理飢餓水螅，過半數水螅出芽數多達兩個小芽體以上，甚至 10% 濃度處理的組別出現罕見的三個小芽體，而且小芽體的生長速度相較低濃度處理組別(0.001%)，在 36 小時發現螅體長度增長近達五倍，而且飽食豐年蝦一小時的水螅以 10% 石蓮花萃取物和以蒸餾水處理處理相比較，水螅出芽數目在 18 小時高達三倍之多，而且芽體長度增長也超過三倍。由此推知，石蓮花萃取物中具有某種物質可以促進飢餓水螅出芽生殖，而且會加快小芽體生長速度，不僅如此 10% 石蓮花萃取物同樣會刺激飽食水螅細胞分裂速度加快以進行出芽生殖。

(三)不同濃度石蓮花萃取汁對橫切水螅再生的影響：



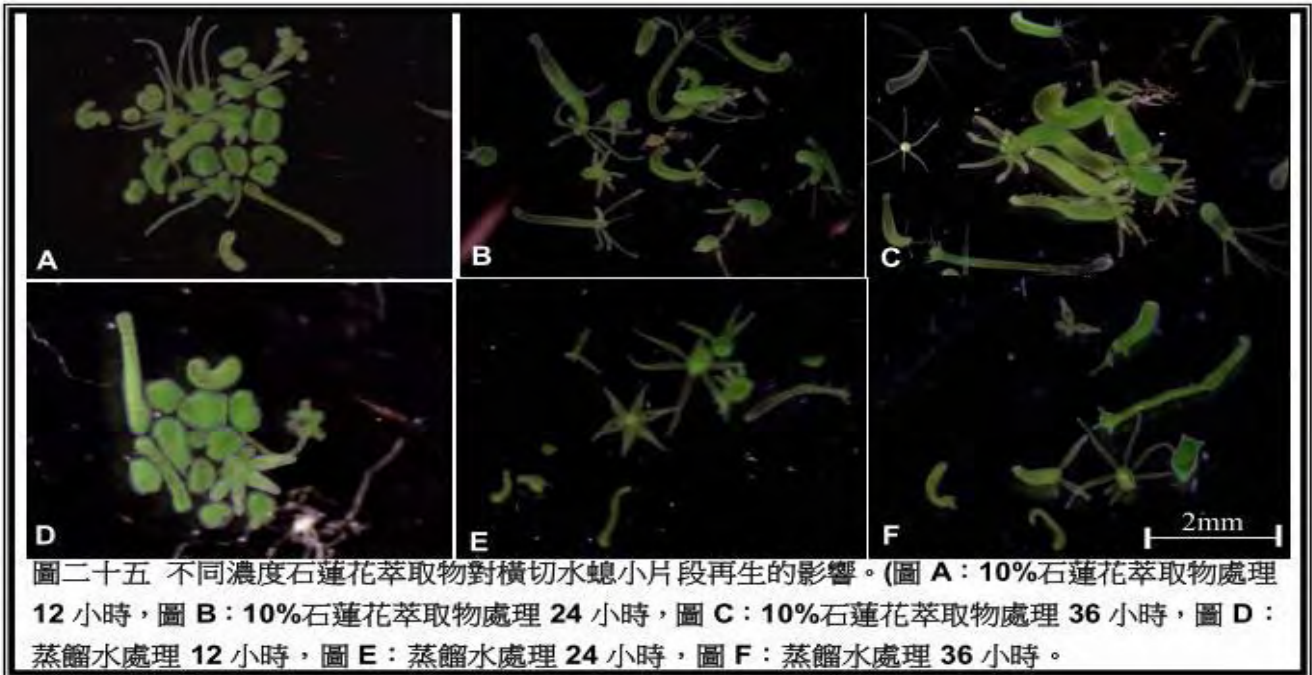
圖二十三 石蓮花萃取物對橫切水螅頭部片段和尾部片段再生的影響。(圖 A：10%石蓮花萃取物處理 12 小時，圖 B：10%石蓮花萃取物處理 24 小時，圖 C：10%石蓮花萃取物處理 36 小時，圖 D：蒸餾水處理 12 小時，圖 E：蒸餾水處理 24 小時，圖 F：蒸餾水處理 36 小時。



圖二十四 不同濃度石蓮花萃取物對於水螅斷裂生殖的片段生長比較(分別以 0.001%、0.01%、0.1%、1%、10%石蓮花萃取物處理橫切片段水螅，分別於 12、24、36 小時，觀察水螅生殖情形，擷取圖片量測長度，求得 0~36hr 生長率，利用 EXCEL 製作統計圖。)

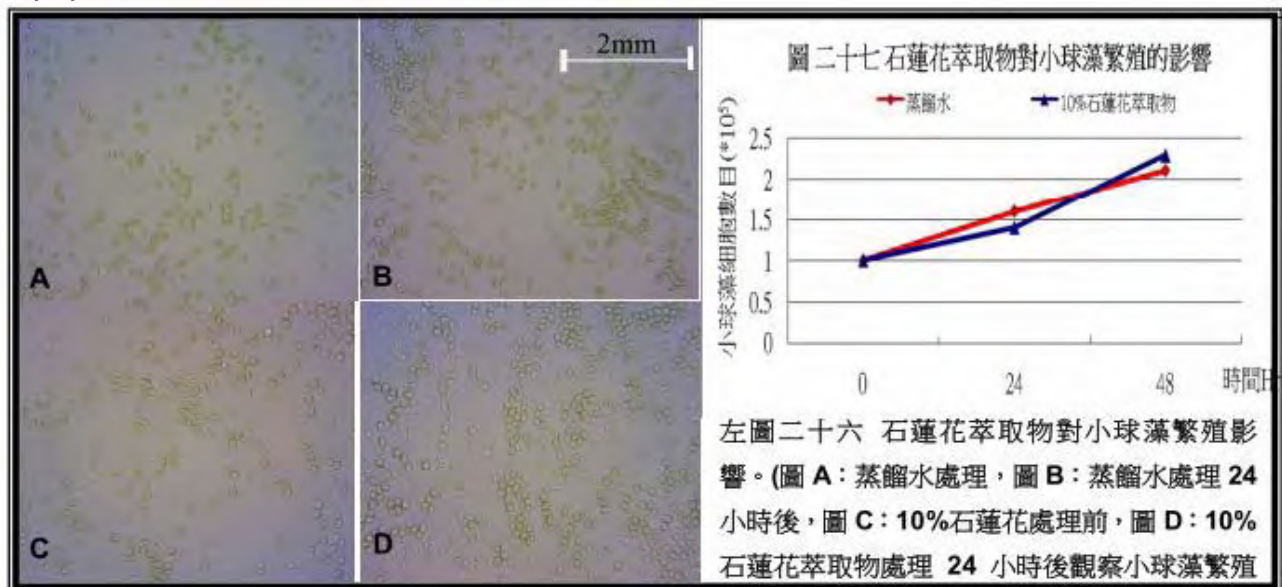
由圖二十三、二十四結果中得知，石蓮花萃取物處理片段水螅相較對照組(蒸餾水處理)，水螅有明顯再生情形，而且隨著濃度的提高，生長率增加，高濃度的石蓮花萃取物處理組別生長率增加 60%之多，因此我們得知石蓮花萃取物可以促進細胞分裂以修補受傷的動物細胞。

(四)不同濃度石蓮花萃取汁對水螅小片段再生的影響：



將一隻水螅橫切數個小片段，經過 24 小時之後，我們發現某些水螅片段可以再生成水螅，甚至無頭無尾的一小段水螅可以長成完整水螅，但是再生成功率達 40%以下，十個片段水螅，可以長成完整水螅者不到 4 隻，其他片段可能無法達成分裂而分解了。但是當我們以石蓮花萃取物處理水螅小片段時，可以再生成完整水螅者達 60%以上，甚至水螅還出芽發育出小芽體。因此我們推測石蓮花萃取物含有可以引發動物細胞分裂的物質，促進組織再生達傷口癒合功效。

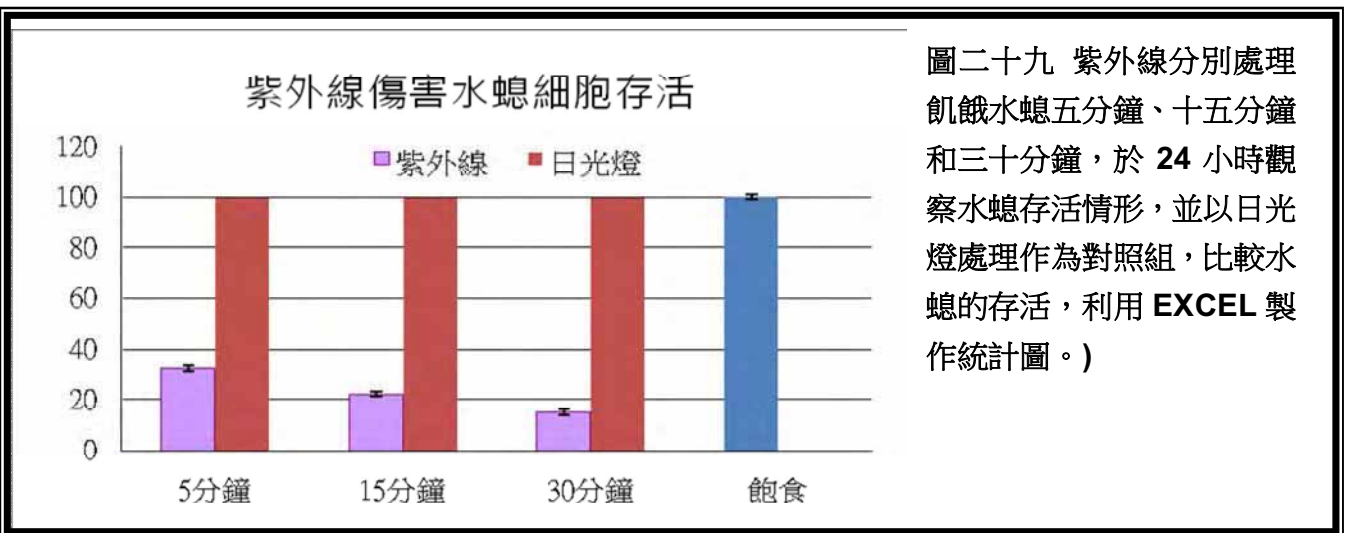
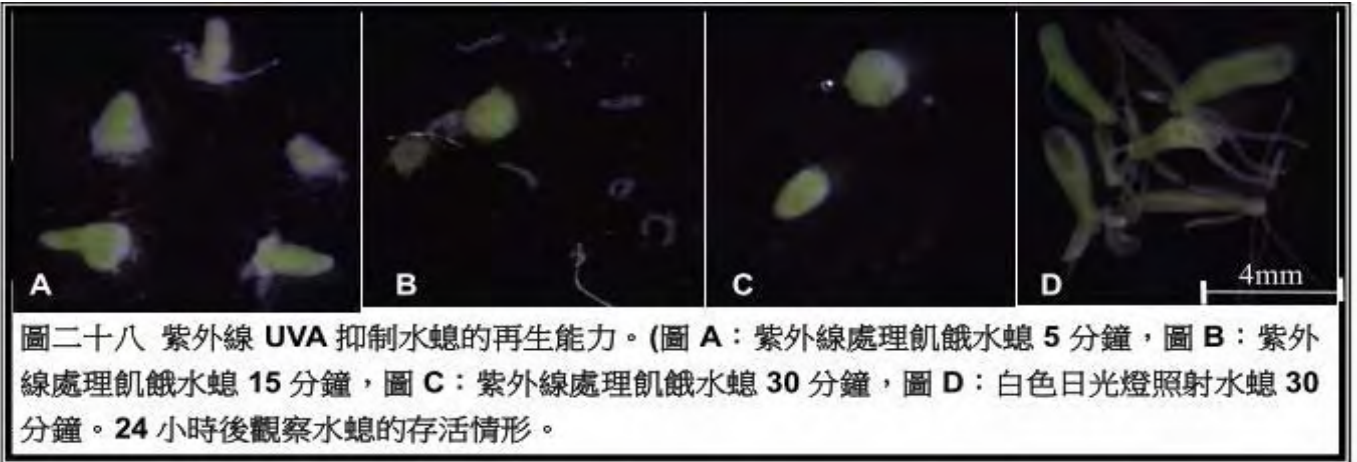
(五)石蓮花萃取物對小球藻繁殖的影響：



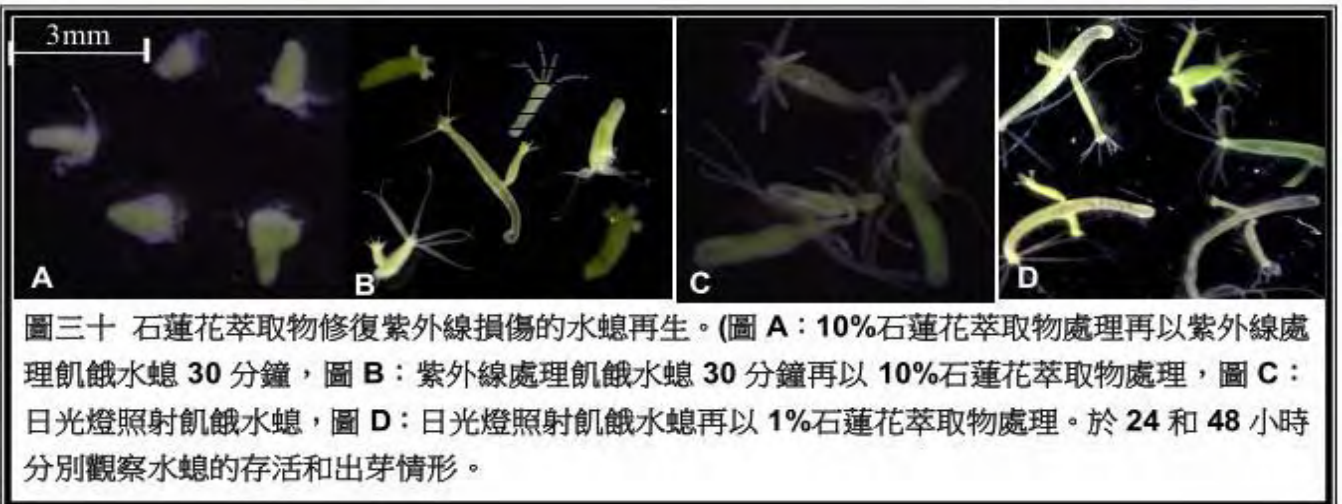
10%石蓮花促進水螅細胞分裂且組織再生力增強，我們好奇是否是因為石蓮花萃取物所含物質刺激水螅共生小球藻繁殖而進一步造成水螅細胞分裂加快，實驗結果顯示石蓮花萃取物並不會影響小球藻的繁殖速度，和蒸餾水處理的對照組比較，小球藻維持正常的繁殖速度。

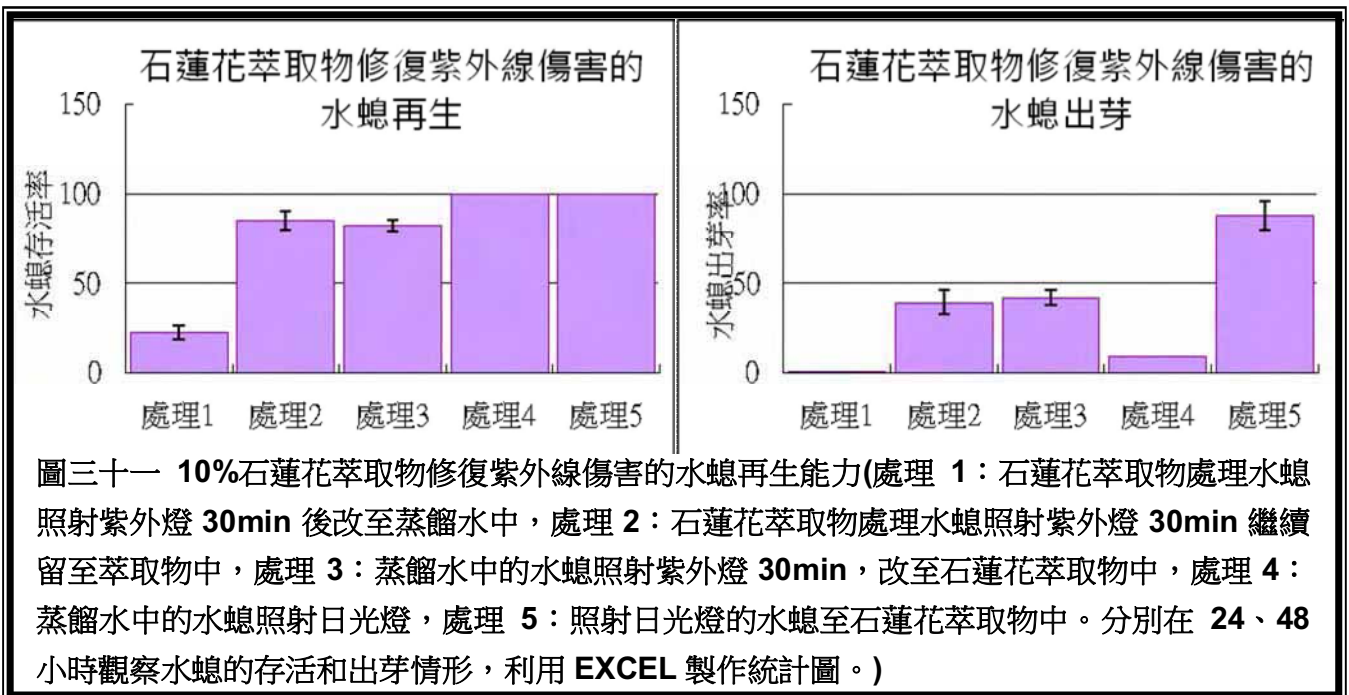
五、石蓮花萃取物修復紫外線傷害的水螅再生能力

(一)紫外線 UVA 短暫處理和長時間連續處理對水螅細胞產生的生長抑制：



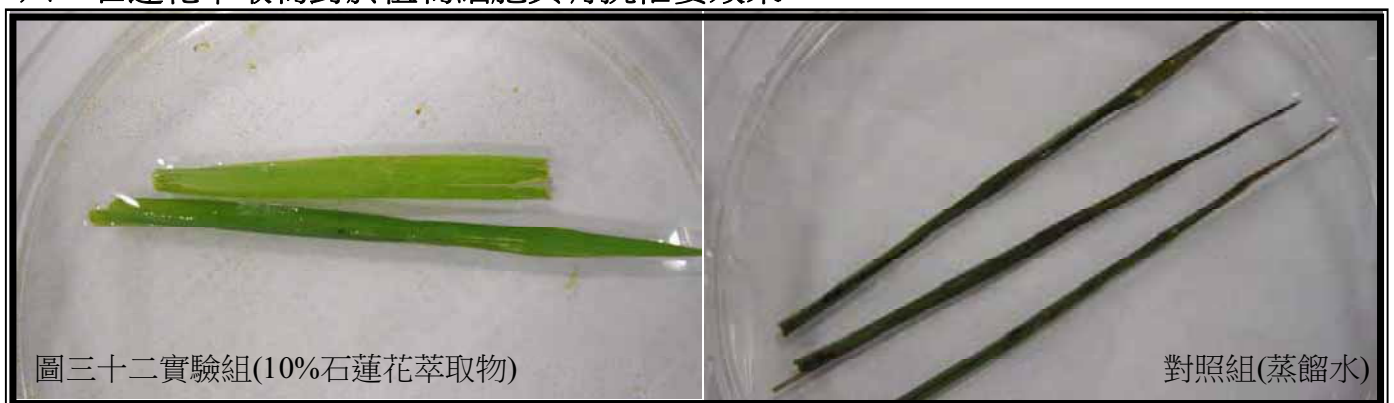
(二)石蓮花萃取物修復紫外線 UVA 傷害水螅的細胞再生：





我們企圖進一步探討石蓮花萃取物是否可以修補受傷的動物細胞。我們發現當水螅細胞被紫外線照射，不論短暫 5 分鐘處理或者連續時間 30 分鐘，水螅在 24 小時出現明顯的自解情形，觸手和體柄分離進一步死亡。但是當水螅照射紫外線之後再以 10%石蓮花萃取物處理，發現水螅細胞不會出現分解死亡狀態，且在 48 小時會有出芽的情形發生；相反如果先以石蓮花萃取物處理再以紫外線照射，則蒸餾水中的水螅不會有出芽發生，甚至死亡率提高。綜合以上結果推測石蓮花萃取物可以復原水螅因為紫外線照射的傷害，恢復水螅的再生能力，但是並沒有預前保護的效果。

六、石蓮花萃取物對於植物細胞具有抗枯萎效果



我們好奇石蓮花萃取物中含有何種成分，可以促進動物細胞的分裂能力。蒐集文獻發現植物體內含有植物激素例如細胞分裂素，具有促進細胞分裂功能，達到延緩細胞老化，因此我們進行實驗討論石蓮花萃取物對於植物細胞是否具有抗枯萎的效果。由結果中發現10%石蓮花萃取物處理新鮮葉片，相較於蒸餾水處理，石蓮花萃取物處理可以保持葉片的新鮮度，延緩葉片的老化和枯萎，我們推測石蓮花萃取物中可能含有和細胞分裂素相關物質，以促進動物細胞分裂的作用。

陸、實驗討論：

一、石蓮花萃取物刺激綠水螅細胞分裂和組織癒合：

(一)停止餵食豐年蝦三天以上的綠水螅，缺乏蛋白質等有機養分的提供，水螅的出芽率低於 10%，但是綠水螅以石蓮花萃取物處理時，其出芽率達 80%以上，且每隻水螅的出芽數多為兩個小芽體，甚至出現極為罕見的三個芽體(圖二十)。除此之外，石蓮花萃取物處理橫切片段的水螅時，促進每個水螅片段細胞分裂、分化成新的水螅的成功率提高(圖二十三)，最小至水螅的十分之一片段都能分化長成水螅(圖二十五)，進一步我們推測石蓮花萃取物可以刺激動物細胞分裂和組織再生，甚至分化。

(二)綠水螅在沒有蛋白質供應之下，石蓮花萃取物可以刺激水螅細胞分裂，我們好奇石蓮花萃取物中是否含有蛋白質等養分可以提高細胞分裂能力。當我們以豐年蝦餵食水螅提供蛋白質養分再以石蓮花萃取物處理，和飽食水螅以蒸餾水處理相比較，發現飽食水螅雖然獲得蛋白質的供應，但是石蓮花萃取物的刺激和對照組相比之下，卻可以讓水螅出芽率又提高兩倍之多(圖二十一)，而且芽體的生長速度也加快(圖二十二)，我們間接推論石蓮花萃取物中可以刺激動物細胞分裂的物質不是蛋白質等養分，而是可以引發細胞分裂的「關鍵性物質」--「促細胞分裂物」。

二、『促細胞分裂物』對於水螅動物組織再生和共生小球藻繁殖的影響：

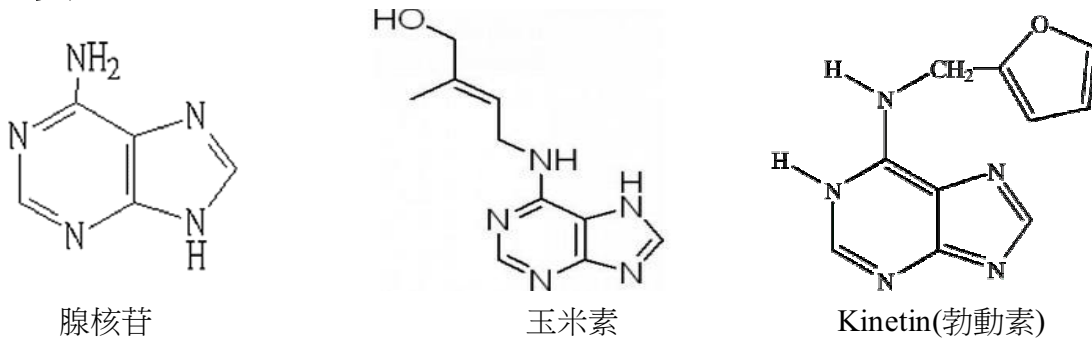
(一)綠水螅和其他水螅不同，是與小球藻的共生現象而導致螅體呈現綠色，一般環境下綠水螅依然可靠捕食浮游生物為食，但環境缺乏食物或氧氣的時候，綠水螅可以靠體內的小球藻獲得生存所需的氧氣和醣類，小球藻則從宿主獲得二氧化碳與磷化物等代謝物(Park, Greenblatt, Mattern, 1967)，小球藻密度在共生水螅上維持穩定平衡關係。我們也發現在自然界中很難發現較大的個體，因此我們不禁假設綠水螅的分裂是否會受到小球藻的細胞分裂周期之限制。我們也觀察到自然界中能形成大個體的水螅為異營性水螅如褐水螅，所以當我們用異營方式以豐年蝦餵養綠水螅，結果發現綠水螅個體會比一般環境下的綠水螅大許多，這似乎在暗示我們綠水螅的生長調控不會只單單受到小球藻密度的限制。

(二)本研究發現石蓮花萃取物可以刺激綠水螅組織再生，提高出芽率和芽體的生長速度，而和綠水螅共生的小球藻其繁殖速度，似乎不受石蓮花萃取物中的「關鍵性物質」(促細胞分裂物)所影響(圖二十六)，因此石蓮花萃取物並非透過刺激小球藻繁殖加快以間接影響水螅的出芽生殖。這暗示我們此天然性萃取物的「關鍵性物質」在動物細胞分裂上，似乎是扮演著「引發開關」的重要性角色，促進細胞分裂進而組織再生以達傷口癒合。

三、石蓮花萃取物可能含有『細胞分裂素』，促進動物細胞分裂、修補組織和傷口癒合：

(一)在植物體中對於生長與分化影響最大的是生長素和細胞分裂素，而使用在動物細胞上目前最常見的則是「細胞分裂素」，而大家聽過的 Kinetin 就是屬於這類成份，細胞分裂素是 1950 年

代所發現的植物生長賀爾蒙，細胞分裂素的化學結構與腺嘌呤相似，目前人工合成和天然的種類約有 200 多種。



1941 年 Johannes Van Overbeek (1882~1947) 發現椰子的水狀胚乳也具有此項功能。1964 年正式在玉米植物中萃取出植物性細胞分裂素--玉米素 (zeatin)，玉米素是常見的活性最強的細胞分裂素。目前市場上已有一些植物性相關激素應用在保養品中。

(二) 本研究發現石蓮花萃取物所含成分對於葉片植物具有抗枯萎效果(圖三十二)，我們推測石蓮花萃取物中可能含有延緩植物細胞老化的成分物質，查詢文獻得知植物體中的植物性激素--「細胞分裂素」具有促進細胞分裂和延緩細胞老化的功能，在植物體中具有刺激細胞分裂、分化的能力，以及促進子葉生長的功能，進一步會抑制葉綠素、蛋白質和核酸的崩解，有延遲細胞老化的功能，防止植物體葉片枯萎等。我們大膽假設石蓮花萃取物中含有類似「細胞分裂素」的相關物質，不僅延緩植物細胞老化，而且可以促進水螅動物細胞分裂和組織再生，同時也能復原紫外線損傷的組織，可能具有傷口癒合的功效。

(三) 查閱文獻得知石蓮花天然成分為槲皮素 3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside-6)、山柰酚 3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside)、山柰酚(Kaempferol)、維生素 C、B1、B2、B6、葉酸、菸鹼酸、β-胡蘿蔔素，磷、鈣、鉀、鈉、鎂、鐵等礦物質、粗纖維粗蛋白、葉綠素等(劉欣怡，民 99 年)，我們假設其天然成分中含有類似「細胞分裂素」結構相關的物質，以「啟動」細胞週期進入細胞分裂時期，增生細胞數目進行組織再生，我們期望在未來作進一步證實。

四、石蓮花的應用價值性：

(一) 目前市場已有許多「石蓮花」相關產品在市售中，例如「石蓮多酚養樂多」、「石蓮蜜汁」、「石蓮麵條」等食品，另外在美容產品方面，也發現有「石蓮身體乳液」、「石蓮皂」等，這說明石蓮花萃取物中含有許多重要物質，對於人體生理機能例如代謝等相關反應有所幫助。基礎醫學研究上對於石蓮花的功能多著重「抗氧化」功能的探討，進一步可能抑制癌細胞的生長，但是對於刺激正常細胞在「細胞週期」中進入「細胞分裂」階段的研究尚未發現，我們的研究可說是一個「重大的起始點」！



石蓮花多酚養樂多



石蓮飲料



石蓮蜜汁



石蓮麵條



石蓮身體乳液

(圖自網路資料)

(二)動物細胞暴露在無所不在的紫外線中，紫外線可分 **UVA**、**UVB** 和 **UVC**，其中 **UVA** 波長最長（315~400nm），穿透力最強，照射到地表的紫外光線 98%為 **UVA**。會深入動物細胞的皮膚深層，造成細胞的老化、皺紋等，所以紫外線造成人類細胞的老化影響甚大。我們實驗結果發現綠水螅細胞會因為紫外線傷害而損傷了水螅的細胞分裂能力(圖二十九)，但是石蓮花萃取物處理之後卻復原了綠水螅的組織再生，證明石蓮花萃取物具有修復損傷細胞的功能，延緩動物細胞老化(圖三十)。由於目前市面上已有一些其他天然植物的相關成份應用在保養品中，尤其抗老產品中把植物生長相關的成分應用在人類皮膚保養上真的是蠻特殊的做法，我們期望石蓮花萃取物在未來可以應用於美容相關產品，甚至在醫療上作為天然的傷口癒合劑。

五、未來展望：

(一)目前許多醫療機構正致力於臨床試驗，也有學術機構正著力於石蓮花的基礎研究，我們希望在未來能夠針對石蓮花的成分有更深入的瞭解，可以在不同層面上發揮其價值。

(二)本研究目前確定石蓮花萃取物對於綠水螅具有促進細胞分裂的功能，進一步提高水螅的出芽生殖和組織再生的能力。但我們好奇對於其他水螅，例如異營性的褐水螅，其是否也會受到石蓮花萃取物的刺激而加速細胞分裂的速度，我們在日前也採集到褐水螅，正積極從事此實驗，進一步確認石蓮花萃取物對於動物細胞的功能，證明刺激動物細胞分裂和組織再生作用具有普遍性。

柒、結論

我們以再生力強的水螅為研究材料，利用天然物質對水螅生殖和傷口癒合影響。我們發現石蓮花萃取物明顯刺激水螅體的細胞分裂，造成水螅出芽率和傷口癒合能力提高；而且隨著處理石蓮花萃取液濃度愈高，片段水螅體的細胞分裂能力愈強。而且當水螅受紫外線傷害而抑制存活時，石蓮花萃取物發揮復原水螅再生能力的效果，更進一步發現石蓮花萃取物可以延緩植物細胞的枯萎老化，推測其中含有細胞分裂素之相關成分物質。未來希望此物質可以應用在醫療用途，作為天然傷口癒合劑，或者在美容醫學上可以延緩細胞老化，刺激細胞的更新再生，發揮其價值！

捌、參考文獻：

- 一、「終極的萬能細胞」(2010)，山中伸彌，**Newton 量子科學雜誌復刊 11 號**，P12~P45。
- 二、「人類斷肢也能再生」(2010)，宗岡賢，**科學人雜誌精彩 100 特輯** P114~P121。
- 三、「神奇的小彈簧手」--水螅，第三十六屆全國科展國中組生物科。
- 四、「再生作用」，黃鈞蕙、郭章儀、張永達，**科學教育月刊**第 251 期，P30~P36。
- 五、**The green hydra symbiosis. Isolation, culture and characteristics of the Chlorella symbiont, New Phytol.81:637-645.**

【評語】 030308

1. 嘗試多種天然植物萃取物對水螅再生的影響。
2. 植物再生能力強的情形如何在植物各部位表現？宜增加參考資料。
3. 未說明：萃取液作法之背後原理；如何排除丙酮對水螅的傷害？
4. 對照組不明確（蒸餾水≠稀釋後萃取液）。
5. 石蓮花應用在促進細胞再生的嘗試值得讚許，建議再多查其作用成分之相關資料。