

# 中華民國第 56 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生物科

第二名

030306

「暗藏殺機的許願池」

-探討硬幣水對浮萍生長的影响及其生存機制

學校名稱：臺南市私立德光高級中學(附設國中)

作者：  國二 蘇榆茜  國二 孫偉哲  國二 周柏仰	指導老師：  鄭楷騰  江芝韻
---	-----------------------------

關鍵詞：浮萍、硬幣水、逆境

## 摘要

本實驗利用各種幣值的硬幣水處理浮萍，我們發現青萍(*Lemna aequinoctialis*)出現葉狀體分離及葉片白化的現象。並針對硬幣中所含的金屬及常見重金屬分別與浮萍進行共培養，都可以看到不同程度的葉狀體分離及葉片白化的情形。此外，我們發現浮萍在受到金屬逆境時體內會累積過氧化物。透過外加鈣離子與雙氧水實驗，探討浮萍葉狀體分離的可能訊息傳遞分子，發現只有在加入雙氧水後，葉狀體會分離，推測可能是過氧化氫間接活化分解細胞壁的酵素而造成葉狀體分離。而葉狀體分離或許是浮萍在演化過程中面對逆境時的重要生存策略之一，藉著分開來增加逃離逆境的機率，提升族群的存活率。未來，可藉由浮萍葉狀體分離與否的現象當做檢測水質是否有受到污染的簡易指標。

## 壹、研究動機

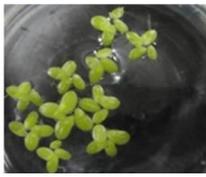
前陣子登革熱發威，古都台南慘遭肆虐，每天總能在新聞上學到五花八門的殺蚊秘方。而我們好奇為什麼戶外的許願池好像都不會孳生蚊子呢？查資料後發現，曾經有人將壹圓硬幣放入水中，便能夠殺死孑孓。於是，我們把一元硬幣丟入家裡的水草缸中，但幾天後，卻發現裡頭原本生長在一旁青翠的浮萍，失去原有的色澤和形狀。許多浮萍都分開成碎片，有些更有黃化甚至白化的現象。究竟是什麼原因，使浮萍生長受到這樣的影響？而使浮萍葉狀體分離的因子到底是什麼？這些都引發我們的好奇心，想要來解開這些疑惑。

## 貳、研究目的

- 一、觀察浮萍的成長歷程。
- 二、探討在不同硬幣及金屬泡水處理下，對浮萍的影響。
- 三、比較不同種類硬幣及金屬處理下，浮萍的生長情形。
- 四、觀察浮萍在銅離子處理下體內過氧化物(ROS)的累積狀況。
- 五、探討浮萍遭遇金屬逆境時，體內可能的訊息傳遞因子。
- 六、綜合數據分析討論。

## 參、研究設備與器材

一、研究材料:青萍(*Lemna aequinoctialis*)、紫萍(*Spirodela polyrhiza*)

	
青萍 ( <i>Lemna aequinoctialis</i> )	紫萍 ( <i>Spirodela polyrhiza</i> )

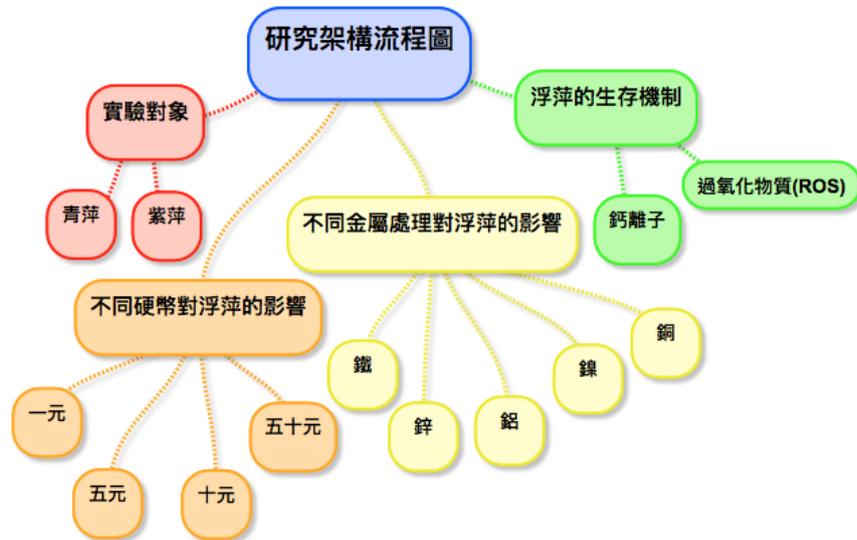
二、實驗器材：玻棒、桌上型電腦、量筒、燒杯、藥劑、浮萍、塑膠血清瓶、1ml 微量分注器、20 $\mu$ l 微量分注器、蒸餾水、鑷子、黑布、數位相機、魚缸、鋁箔紙、打氣機

表二、本實驗所需器材表

			
1ml&20 $\mu$ l微量滴管	實驗燒杯放置台	浮萍養殖箱	桌上型電腦
			
玻棒	燒杯	量筒	蒸餾水
			
打氣機	數位相機	黑布	鋁箔紙
			
氯化鐵&氯化鋅&硫酸銅	鑷子	塑膠血清瓶	氯化鈣&雙氧水

## 肆、研究過程與方法

### 一、研究架構流程圖



### 二、實驗過程：

**實驗一：將青萍與一元硬幣共培養，觀察其生長狀況。**

1. 準備 250ml 燒杯 10 個，並於每個燒杯中加入 100ml ddH<sub>2</sub>O。
2. 準備 110 個一元硬幣。
3. 除了對照組外，在另外 9 個燒杯中，分別放置 1、2、3、4、5、10、15、20、50 個一元硬幣。
4. 於 10 個燒杯中，分別放入 10 株 3 片葉子的青萍。
5. 置於有照燈的室內培養架上，每天觀察其生長狀況並加以紀錄。

表三、一元硬幣實驗流程表

			
1. 準備250ml燒杯10個	2. 加入100ml的蒸餾水	3. 準備10株3片葉子的青萍	4. 準備1元硬幣

**實驗二：將青萍與五元硬幣共培養，觀察其生長狀況。**

- 1.準備 250ml 燒杯 6 個，並於每個燒杯中加入 100ml ddH<sub>2</sub>O。
- 2.準備 21 個五元硬幣
- 3.除了對照組外，在另外 5 個燒杯中，分別放置 1、2、3、5、10 個五元硬幣。
- 4.於 6 個燒杯中，分別放入 10 株 3 片葉子的青萍。
- 5.置於有照燈的室內培養架上，每天觀察其生長狀況並加以紀錄。

			
1.準備250ml燒杯5個	2.加入100ml的蒸餾水	準備10株3片葉子的青萍	準備5元硬幣

**實驗三：將青萍與十元硬幣共培養，觀察其生長狀況。**

- 1.準備 250ml 燒杯 5 個，並於每個燒杯中加入 100ml ddH<sub>2</sub>O。
- 2.準備 10 個十元硬幣
- 3.除了對照組外，在另外 4 個燒杯中，分別放置 1、2、3、4 個十元硬幣。
- 4.於 5 個燒杯中，分別夾入 10 株 3 片葉子的青萍。
- 5.置於有照燈的室內培養架上，每天觀察其生長狀況並加以紀錄。

			
1.準備250ml燒杯5個	2.加入100ml的蒸餾水	3.準備10株3片葉子的青萍	4.準備10元硬幣

**實驗四：將青萍與五十元硬幣共培養，觀察其生長狀況。**

- 1.準備 250ml 燒杯 5 個，並於每個燒杯中加入 100ml ddH<sub>2</sub>O。
- 2.準備 10 個五十元硬幣
- 3.除了對照組外，在另外 4 個燒杯中，分別放置 1、2、3、4 個五十元硬幣。
- 4.於 5 個燒杯中，各放入 10 株 3 片葉子的青萍。
- 5.置於有照燈的室內培養架上，每天觀察其生長狀況並加以紀錄。

			
1.準備250ml燒杯5個	2.加入100ml的蒸餾水	準備10株3片葉子的青萍	準備50元硬幣

**實驗五：將浮萍置於硫酸銅溶液中，觀察其生長狀況**

第一部分：調配不同濃度的 CuSO<sub>4(aq)</sub> 溶液

- 1.將含水硫酸銅(CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O，分子量 249.69)2.4969 公克加至 1L ddH<sub>2</sub>O 調成 0.01M 的 CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O<sub>(aq)</sub>。
- 2.將 0.01M 的 CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O<sub>(aq)</sub> 稀釋調配成 20μM、10μM、5μM、1μM 的 CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O<sub>(aq)</sub>。

第二部分：將青萍、紫萍置入溶液中

- 1.準備 5 個 250ml 燒杯。
- 2.除了對照組外，在另外 4 個燒杯中，分別置入 1μM、5μM、10μM、20μM 的 CuSO<sub>4(aq)</sub> 溶液各 100ml。
- 3.於 5 個燒杯中，各放入 10 株 3 片葉子的青萍、4 片葉子的紫萍。
- 4.置於有照燈的室內培養架上，每天觀察其生長狀況並加以紀錄。

#### **實驗六：將浮萍置於氯化銅溶液中，觀察其生長狀況**

##### 第一部分：調配不同濃度的 $\text{CuCl}_{2(\text{aq})}$ 溶液

- 1.將氯化銅( $\text{CuCl}_2$ ，分子量 134.45)1.3445 公克加至 1L ddH<sub>2</sub>O 調成 0.01M 的  $\text{CuCl}_{2(\text{aq})}$ 。
- 2.將 0.01M 的  $\text{CuCl}_{2(\text{aq})}$  稀釋調配成 20 $\mu\text{M}$ 、10 $\mu\text{M}$ 、5 $\mu\text{M}$ 、1 $\mu\text{M}$  的  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}_{(\text{aq})}$ 。

##### 第二部分：將青萍置入溶液中

(步驟如實驗五第二部份)

#### **實驗七：將浮萍置於氯化鎳，觀察其生長狀況**

##### 第一部分：調配不同濃度的氯化鎳溶液

- 1.將氯化鎳( $\text{NiCl}_2$ ，分子量 129.6)1.296 公克加至 1L ddH<sub>2</sub>O 調成 0.01M 的  $\text{NiCl}_{2(\text{aq})}$ 。
- 2.將 0.01M 的  $\text{NiCl}_{2(\text{aq})}$  稀釋調配成 20 $\mu\text{M}$ 、10 $\mu\text{M}$ 、5 $\mu\text{M}$ 、1 $\mu\text{M}$  的  $\text{NiCl}_{2(\text{aq})}$ 。

##### 第二部分：將青萍置入溶液中

(步驟如實驗五第二部份)

#### **實驗八：將浮萍置於氯化鋁，觀察其生長狀況**

##### 第一部分：調配不同濃度的氯化鋁溶液

- 1.將氯化鋁( $\text{AlCl}_3$ ，分子量 133.34)1.3334 公克加至 1L ddH<sub>2</sub>O 調成 0.01M 的  $\text{AlCl}_{3(\text{aq})}$ 。
- 2.將 0.01M 的  $\text{AlCl}_{3(\text{aq})}$  稀釋調配成 5 $\mu\text{M}$ 、2.5 $\mu\text{M}$ 、1 $\mu\text{M}$  的  $\text{AlCl}_{3(\text{aq})}$ 。

##### 第二部分：將青萍置入溶液中

(步驟如實驗五第二部份)

#### **實驗九：將浮萍置於氯化鋅，觀察其生長狀況**

##### 第一部分：調配不同濃度的氯化鋅溶液

- 1.將氯化鋅( $\text{ZnCl}_2$ ，分子量 136.39)1.3639 公克加至 1L ddH<sub>2</sub>O 調成 0.01M 的  $\text{ZnCl}_{2(\text{aq})}$ 。
- 2.將 0.01M 的  $\text{ZnCl}_{2(\text{aq})}$  稀釋調配成 20 $\mu\text{M}$ 、10 $\mu\text{M}$ 、5 $\mu\text{M}$ 、1 $\mu\text{M}$  的  $\text{ZnCl}_{2(\text{aq})}$ 。

##### 第二部分：將青萍、紫萍置入溶液中

(步驟如實驗五第二部份)

### 實驗十：將浮萍置於氯化鐵，觀察其生長狀況

第一部分：調配不同濃度的氯化鐵溶液

- 1.將含水氯化鐵( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，分子量 270.29)2.7029 公克加至 1L ddH<sub>2</sub>O 調成 0.01M 的  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}_{(\text{aq})}$ 。
- 2.將 0.01M 的  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}_{(\text{aq})}$ 稀釋調配成 20 $\mu\text{M}$ 、10 $\mu\text{M}$ 、5 $\mu\text{M}$ 、1 $\mu\text{M}$  的  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}_{(\text{aq})}$ 。

第二部分：將青萍、紫萍置入溶液中

(步驟如實驗五第二部份)

### 實驗十一：檢測青萍在硫酸銅泡水處理下的體內過氧化物質(ROS)含量

- 1.調配 DAB(3,3'-二氨基聯苯胺 / 3,3'-Diaminobenzidine)0.2g 加至 100ml MES(Morpholine Ethane Sulfonic)緩衝溶液(PH=6.8)。
- 2.將處理硫酸銅 1 天、2 天的青萍和 9ml 的稀釋 DAB<sub>(aq)</sub>藥劑置入 5cm 培養皿中，再用鏡紙覆蓋住。
- 3.將含有青萍與 DAB 藥劑的培養皿置於抽氣幫浦中抽氣 10 分鐘，使藥劑滲入青萍體內。
- 4.將青萍和培養皿放置於陰暗處 8 小時。
- 5.將處理後的葉片置於 99% 的酒精中，再隔水加熱以去除葉綠素。

### 實驗十二：將浮萍置於雙氧水，觀察其生長狀況

第一部分：調配不同濃度的雙氧水溶液

- 1.將 35%雙氧水( $\text{H}_2\text{O}_2$ ，分子量 34.0147 )0.972 公克加 ddH<sub>2</sub>O 至 100ml 調成 100mM 的  $\text{H}_2\text{O}_{2(\text{aq})}$ 。
- 2.將 100mM 的  $\text{H}_2\text{O}_{2(\text{aq})}$ 稀釋調配成 40mM、20mM、10mM、5mM、1mM 的  $\text{H}_2\text{O}_{2(\text{aq})}$ 。

第二部分：將青萍置入溶液中

(步驟如實驗五第二部份)

### 實驗十三：將浮萍置於氯化鈣，觀察其生長狀況

第一部分：調配不同濃度的  $\text{CaCl}_{2(\text{aq})}$

- 1.將氯化鈣( $\text{CaCl}_2$ ，分子量 110.98)1.1098 公克加至 100ml ddH<sub>2</sub>O 調成 100mM 的  $\text{CaCl}_{2(\text{aq})}$ 。
- 2.將 100mM  $\text{CaCl}_{2(\text{aq})}$ 稀釋調配成 40mM、20mM、10mM、5mM、1mM 的  $\text{CaCl}_{2(\text{aq})}$ 。

第二部分：將青萍置入溶液中 (步驟如實驗五第二部份)

## 伍、研究結果

### 一、浮萍外觀：



(圖 1-A)青萍不同方向觀測圖

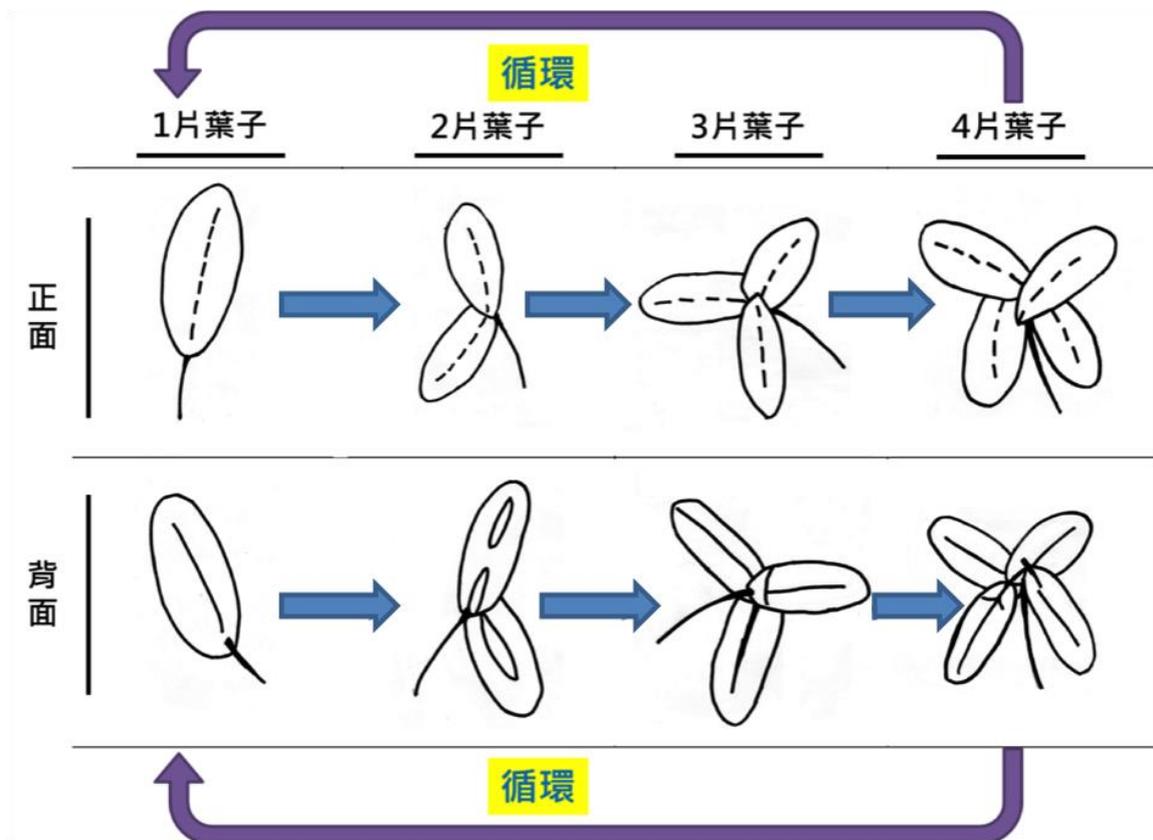


(圖 1-B)紫萍不同方向觀測圖

### 二、浮萍的生長過程：

浮萍大多為無性生殖，當浮萍的葉片成熟時，其葉子會有一區長成分生區，可以長出新的葉狀體(frond)，而新的葉狀體是透過一個管狀構造和母葉相聯接，當新葉成熟時，管狀構造就會斷裂，而新葉會成為新個體，再長出新的群聚。

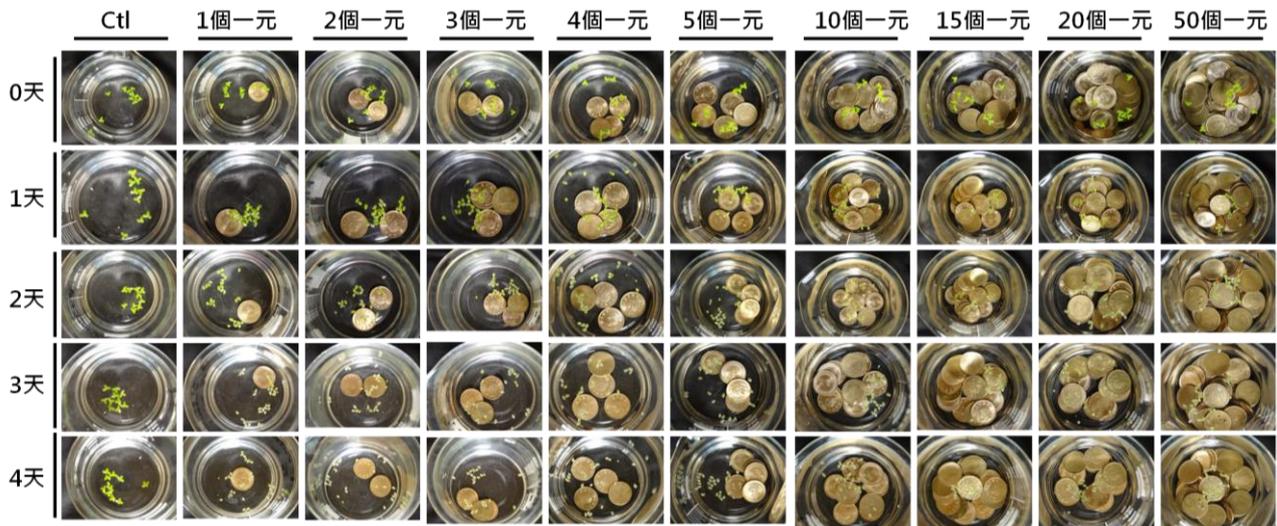
表七、浮萍不同葉片之手繪圖



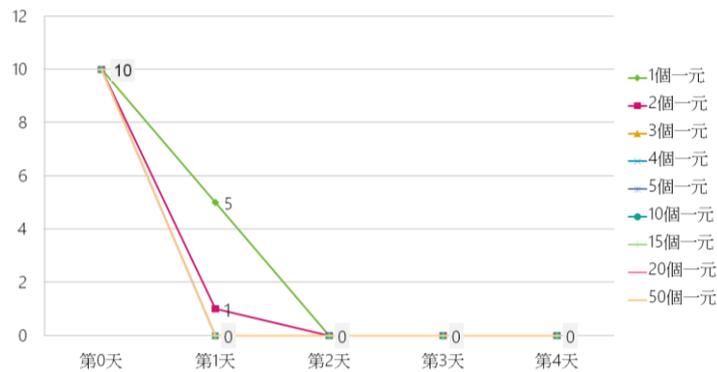
### 三、研究結果圖：

→我們在水草缸中看到許多不同的硬幣放入水中會使原本青翠的浮萍，失去原有的色澤和形狀。於是我們取一元、五元、十元、五十元硬幣觀察對浮萍生長的影響。

#### (一) 青萍與一元硬幣共培養的情況下之生長情形



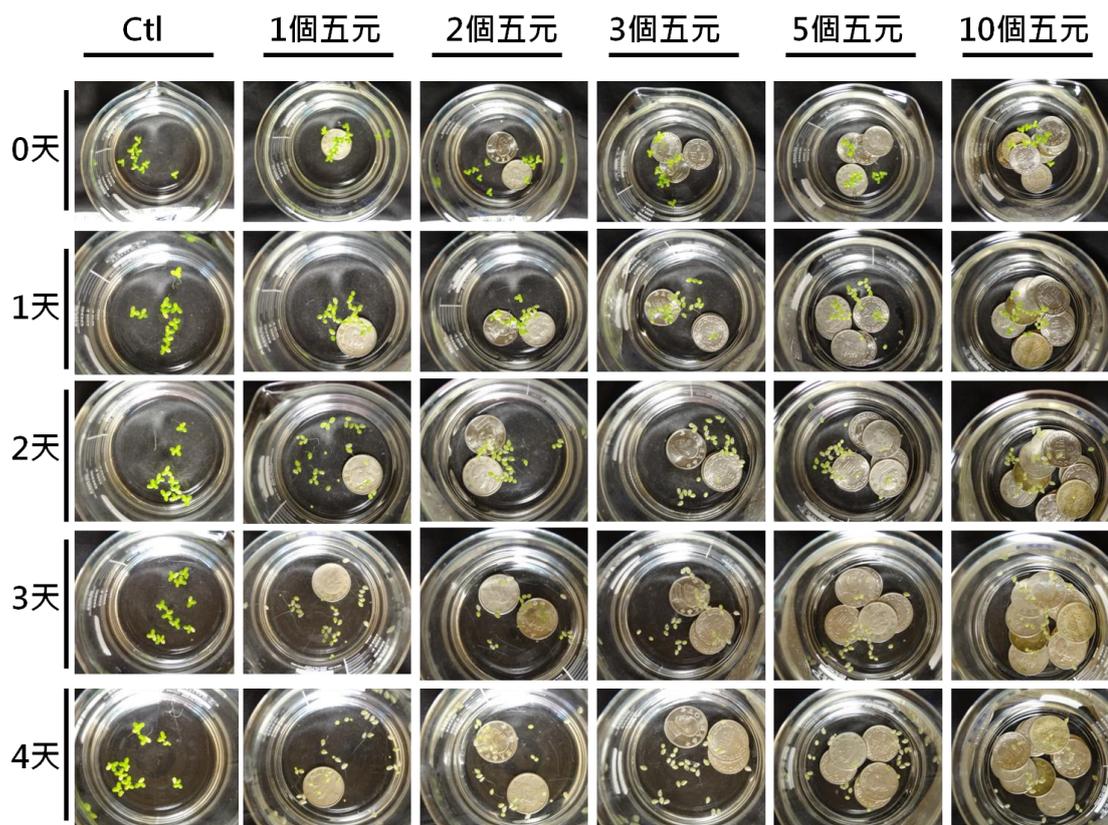
(圖 2-A)青萍與一元硬幣共培養



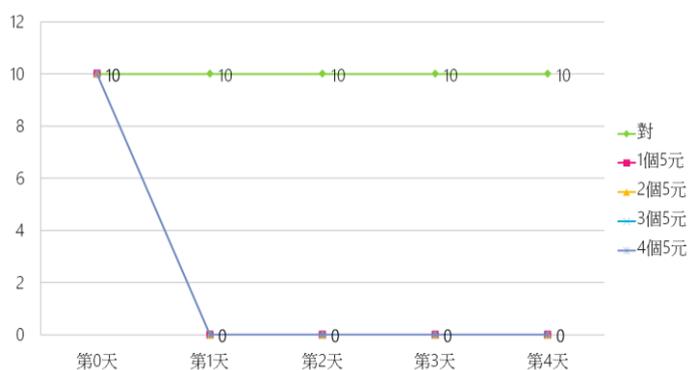
(圖 2-B)青萍在一元硬幣處理下葉狀體未分離株數

由(圖 2-A)可以得知，一元硬幣嚴重抑制青萍的生長，青萍全部皆有葉狀體分離的現象，且在處理越多天後，白化越嚴重。由(圖 2-B)可知，3、4、5、10、15、20、50 個一元造成青萍從一天後就全數葉狀體分離，而在 1 個一元硬幣處理下，一天後只剩下五株，到第二天葉狀體便分離。另外，2 個一元硬幣處理一天後也只剩下一株，到第二天葉狀體就全部分離。

## (二) 青萍與五元硬幣共培養的情況下之生長情形



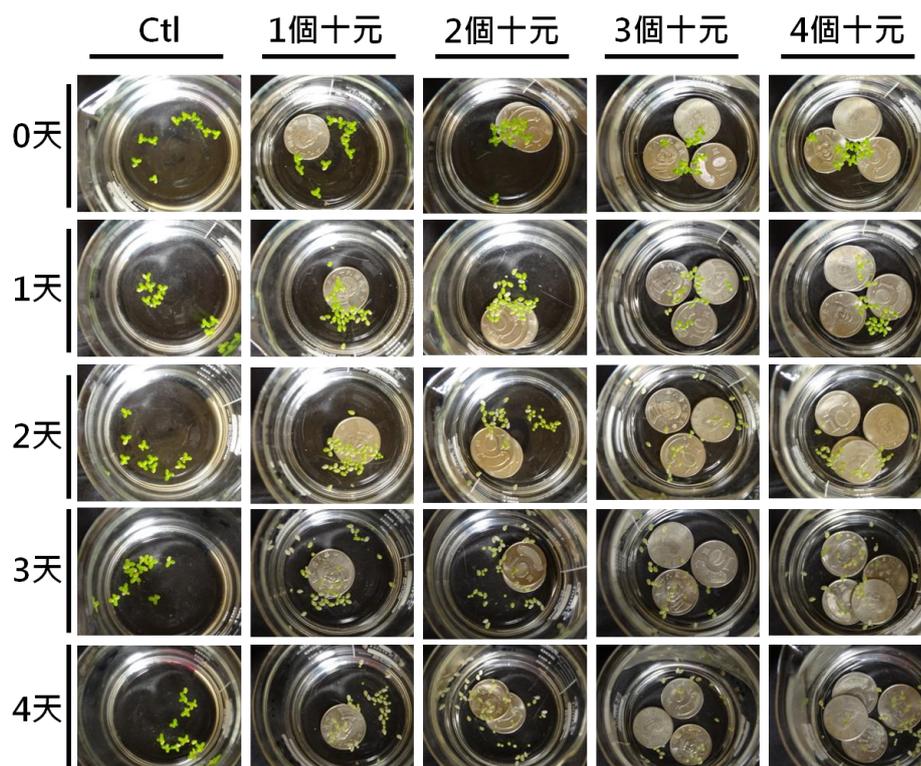
(圖 3-A)青萍與五元硬幣共培養



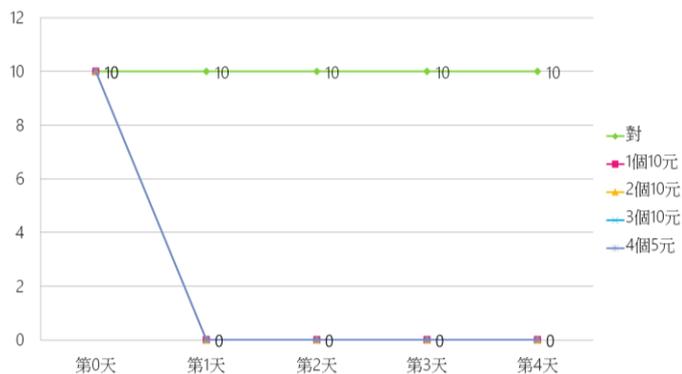
(圖 3-B)青萍在五元硬幣處理下葉狀體未分離株數

由(圖3-A)可以得知，五元硬幣嚴重抑制青萍的生長，而泡越多天後也會漸漸的白化。由(圖3-B)可知，3、5、10個五元處理下的狀況都是從一天後葉狀體就全數分離，而1個、2個五元到一天後只剩下二株，到第二天葉狀體就全部分離

### (三) 青萍與十元硬幣共培養的情況下之生長情形



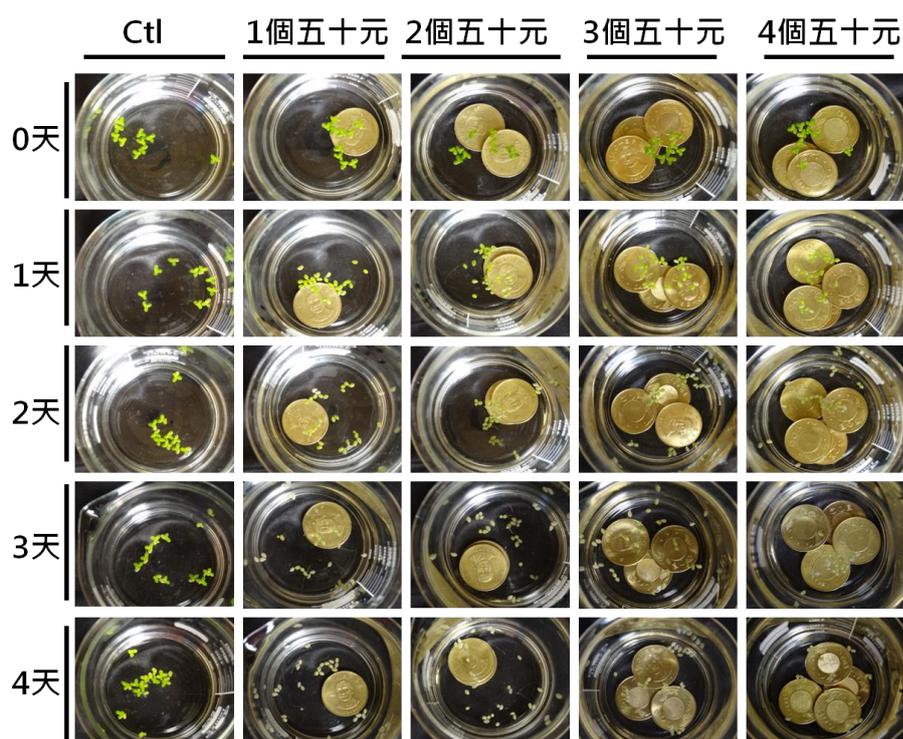
(圖 4-A)青萍與十元硬幣共培養



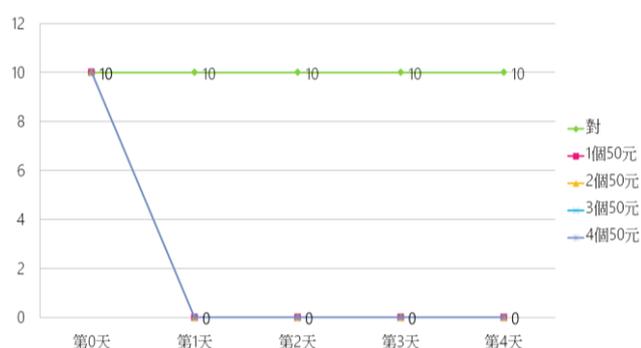
(圖 4-B)青萍在十元硬幣處理下葉狀體未分離株數

由(圖 4-A)可以得知，十元硬幣嚴重抑制青萍的生長。青萍是葉狀體先全部分離後再白化，青萍在泡越多天後白化的情形更加嚴重。由(圖 4-B)可知，1 個、2 個、3 個、4 個十元都是在過一天後，葉狀體便全數分離。

#### (四) 青萍與五十元硬幣共培養的情況下之生長情形



(圖 5-A)青萍與五十元硬幣共培養



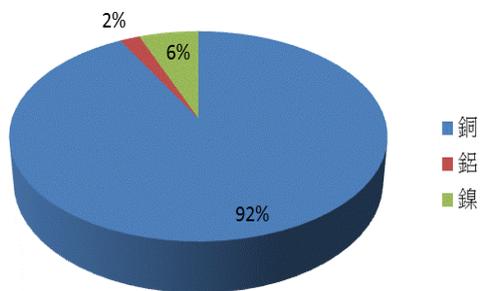
(圖 5-B)青萍在五十元硬幣處理下葉狀體未分離株數

由(圖 5-A)可以得知，五十元硬幣嚴重抑制青萍的生長。結果為：葉狀體先全部分離後再白化，泡越多天後，全部便白化死亡。由(圖 5-B)可知，在 1 個、2 個、3 個、4 個五十元處理下，都是在一天後葉狀體就已全數分離。所以五十元硬幣對於青萍的生長狀況產生很大的影響，甚至會造成浮萍死亡。

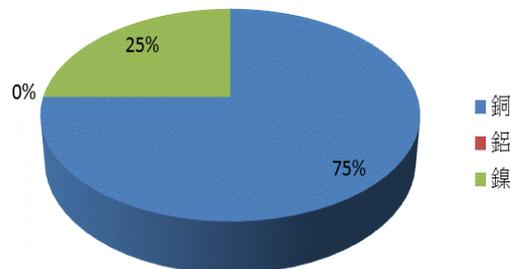
**硬幣處理青萍實驗總結**：由硬幣泡水處理浮萍可以發現，不同種類硬幣皆會使浮萍有葉狀體分離的現象，也會使其嚴重的白化死亡，所以我們推測也許是硬幣釋放出金屬離子到水中，才會造成浮萍葉狀體分離及白化的狀況。

→我們想知道硬幣內到底含有哪些物質會使浮萍葉狀體分離及白化，於是我們上網查詢了硬幣內所含的金屬。

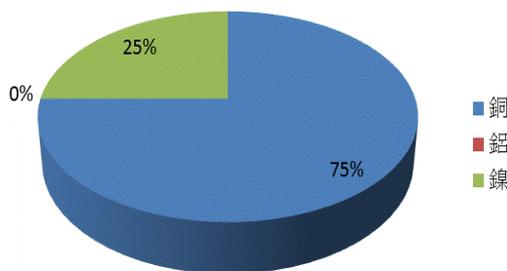
#### (五) 硬幣內含金屬之百分比



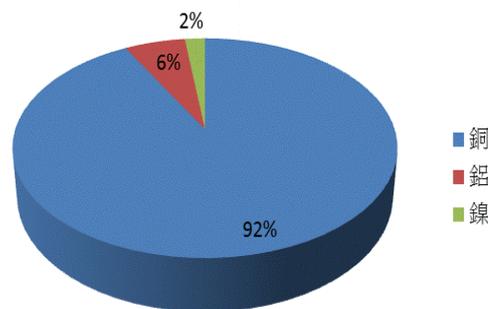
(圖 6-A) 一元硬幣成分



(圖 6-B) 五元硬幣成分



(圖 6-C) 十元硬幣成分

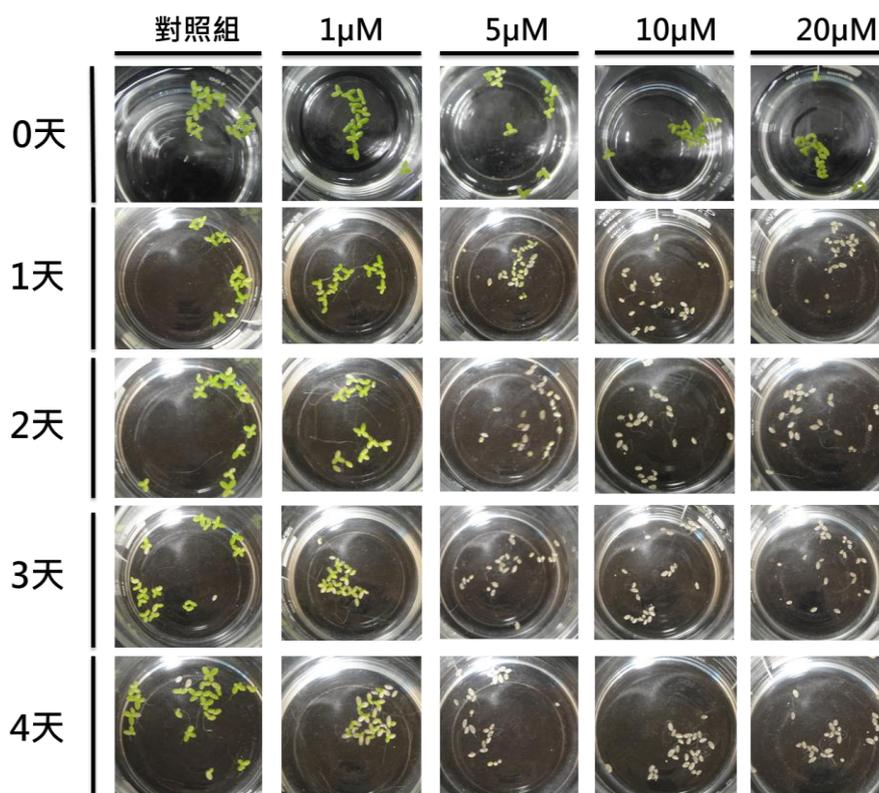


(圖 6-D) 五十元硬幣成分

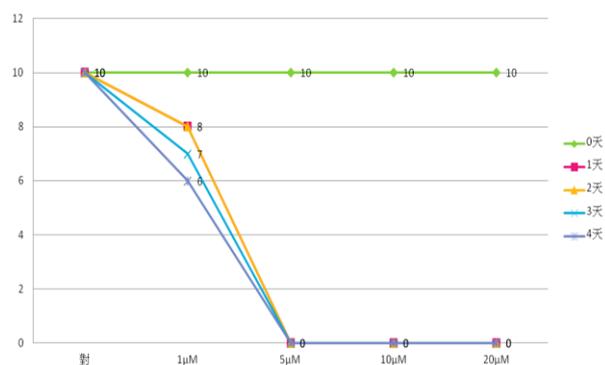
**硬幣成份統整**：而硬幣中的主要成分包括銅、鎳、鋁。在一元硬幣中含量最高的是銅，其次是鎳，最少的則是鋁。五元和十元的成份一樣，銅占的比例也是最多，第二是鎳，但不含鋁。五十元也是銅占最多，第二是鋁，而鎳的含量則最少。

→我們發現原來硬幣中含有大量的銅離子，於是我們選擇先觀察銅離子對於浮萍生長的影響，之後，我們也觀察鎳和鋁對浮萍的生長影響。此外，我們還找了其他常見金屬：鋅及鐵，觀察浮萍是否也產生相同狀況。

(六) 青萍與硫酸銅共培養的情況下之生長情形



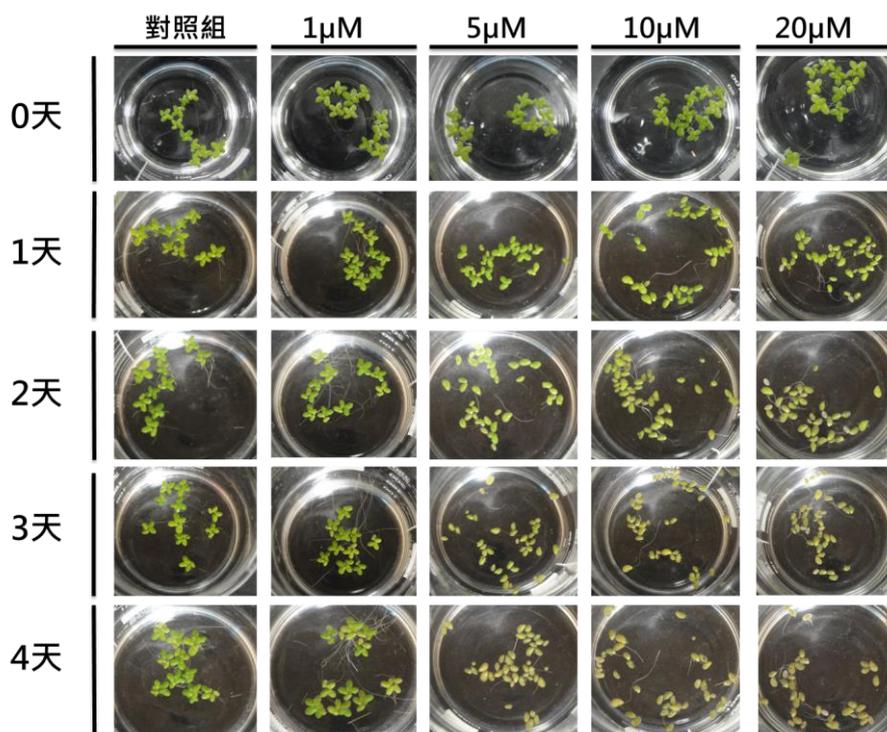
(圖 7-A) 青萍與硫酸銅共培養



(圖 7-B) 青萍在硫酸銅處理下葉狀體未分離株數

由(圖 7-A)可以得知，硫酸銅對青萍的影響非常嚴重，起初，置於 5μM、10μM、20μM 溶液的青萍在一天後葉狀體先全部分離，接著便快速白化。而置於 1μM 溶液裡青萍在一開始似乎沒有太大影響，但經過數天後，仍然逐一白化。由(圖 7-B)可知置於 5μM、10μM、20μM 溶液的青萍都是在一天後便全數分離，而 1μM 的青萍還有完整的六株。

(七) 紫萍與硫酸銅共培養的情況下之生長情形



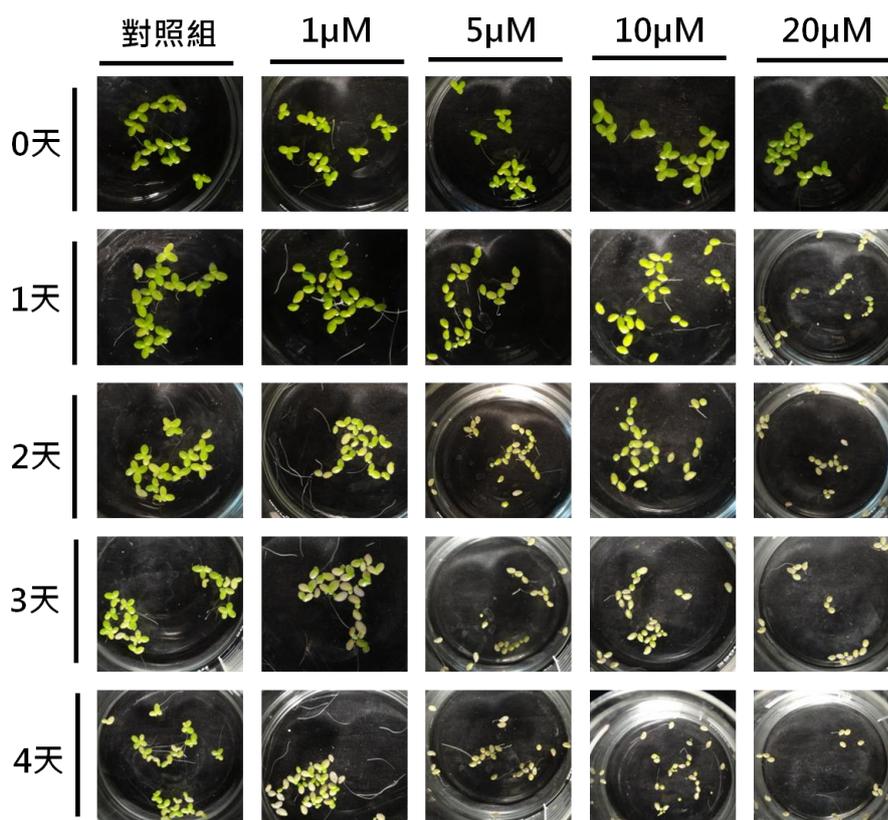
(圖 8-A) 紫萍與硫酸銅共培養



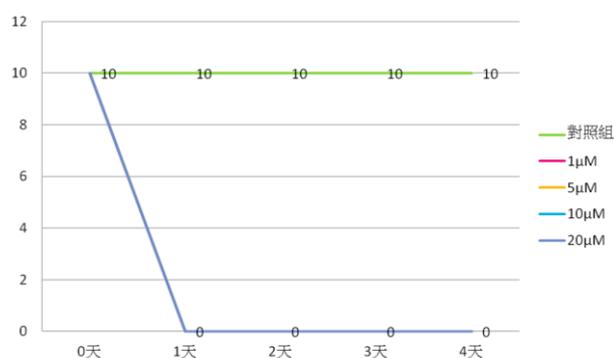
(圖 8-B) 紫萍在硫酸銅處理下葉狀體未分離株數

在(圖 8-A)中，我們看到紫萍只有葉狀體分離，並沒有白化，置於 5μM、10μM、20μM 溶液中的紫萍，經過幾天後便開始轉黃，而置於 1μM 的浮萍卻仍保持良好的翠綠狀態。由(圖 8-B)可知，在第一天，置於 5μM、10μM、20μM 溶液中的紫萍到還剩兩株，而到了第二天，葉狀體便全部分離。另外，置於 1μM 溶液中的紫萍到了第二天則只有一株有葉狀體分離。

### (八) 青萍與氯化銅共培養的情況下之生長情形



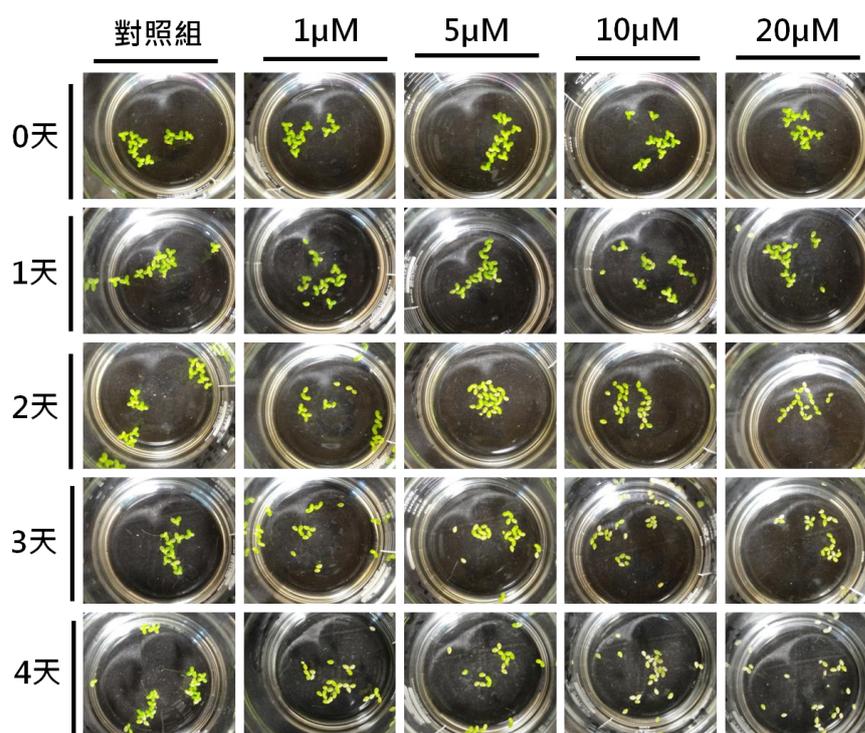
(圖 9-A) 青萍與氯化銅共培養



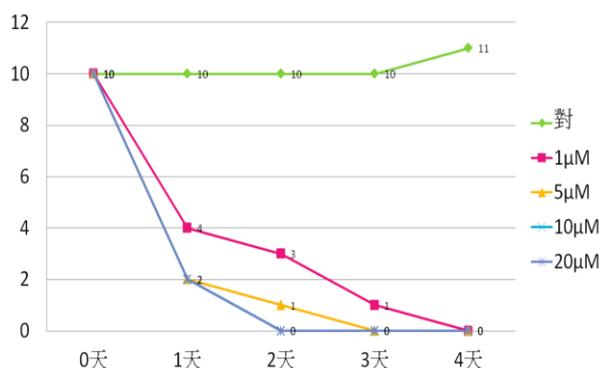
(圖 9-B) 青萍在氯化銅處理下葉狀體未分離株數

在(圖9-A)中，我們可以看到氯化銅對青萍的影響十分嚴重，共培養一天後，青萍便全部出現了葉狀體分離的現象。我們發現，愈高濃度及泡愈多天後，分離株數會愈多，且葉狀體顏色愈白。由(圖9-B)可知，20µM 溶液處理下的青萍在第一天即出現了葉狀體分離及白化的情形，而 1µM、5µM、10µM 溶液處理下的青萍則是在第三天才會有此情形。

### (九) 青萍與氯化鎳共培養的情況下之生長情形



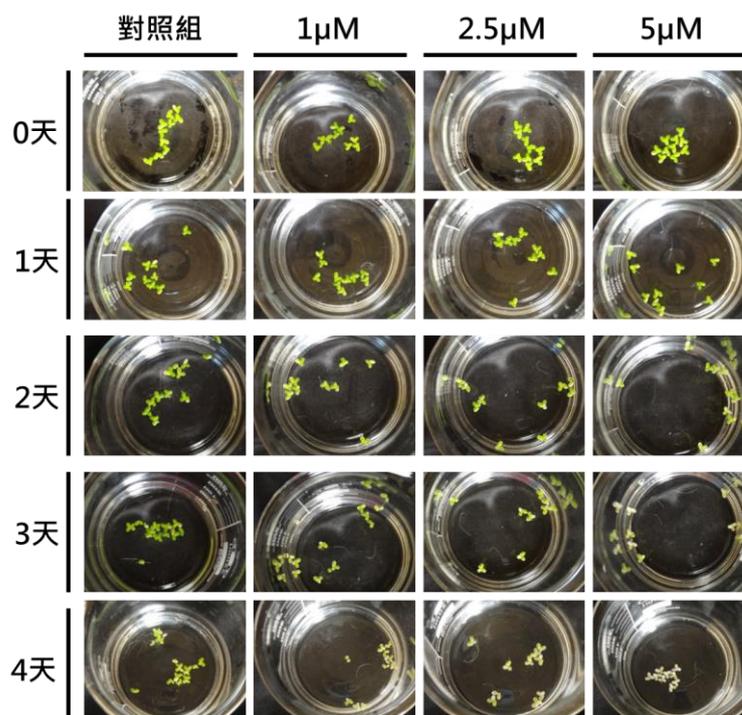
(圖 10-A) 青萍與氯化鎳共培養



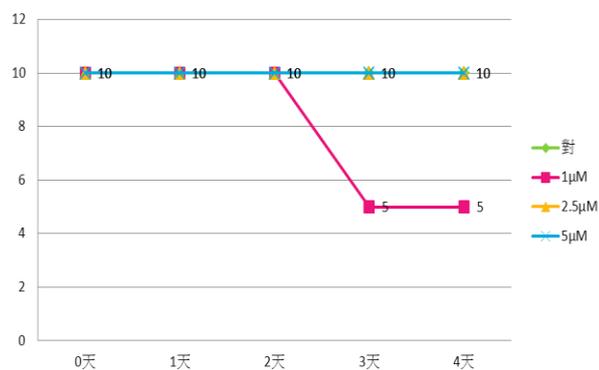
(圖 10-B) 青萍在氯化鎳處理下葉狀體未分離株數

由(圖 10-A)可以得知，氯化鎳使青萍葉狀體先是個別分離，再漸漸白化。我們發現，置於 10μM、20μM 溶液中的青萍，當部分株數已白化時，部分株數仍保持翠綠。而在 1μM、5μM 溶液處理下的青萍，雖然還保持良好的翠綠色，但是葉狀體在第一天就分離。由(圖 10-B)可知，置於 10μM、20μM 溶液中的青萍，一天後只剩兩株，到了第二天便全數分離。另外，置於 5μM 溶液中的青萍在第三天時才產生葉狀體分離，而置於 1μM 溶液的青萍更是到了第四天才全數分離。

(十) 青萍與氯化鋁共培養的情況下之生長情形



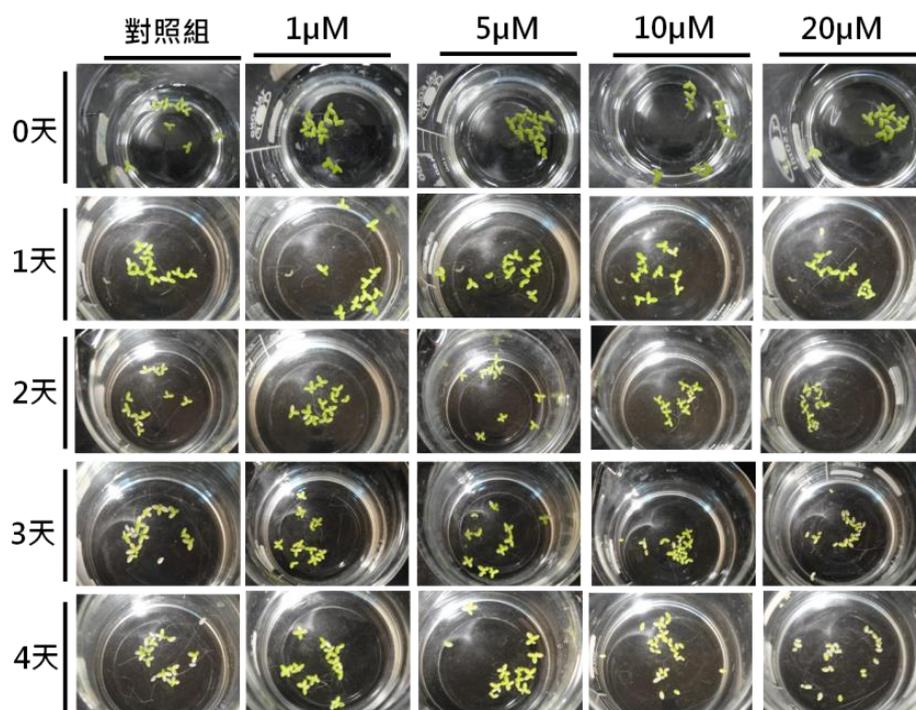
(圖 11-A) 青萍與氯化鋁共培養



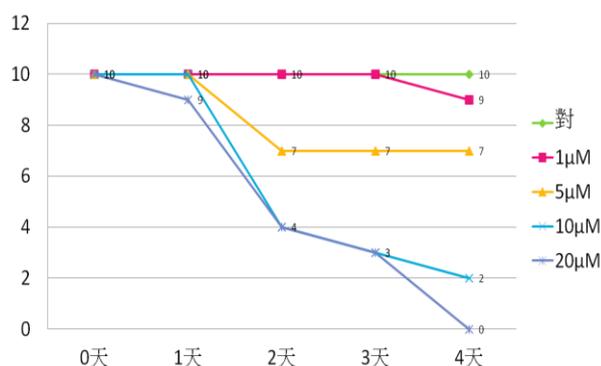
(圖 11-B) 青萍在氯化鋁處理下葉狀體未分離株數

由(圖 11-A)可以得知，置於 2.5μM、5μM 的氯化鋁溶液中，較置於 1μM 溶液中更為嚴重。我們發現到了第四天，在 2.5μM、5μM 溶液中，葉狀體還未分離，就已全數白化死亡。而置於 1μM 溶液中的青萍，則在第三天有產生葉狀體分離的現象。由(圖 11-B)可知 2.5 μM、5μM 雖已白化，但都無葉狀體分離的現象，還是呈現完整的十株。而 1 μM 到第四天剩下五株。

(十一) 青萍與氯化鋅共培養的情況下之生長情形



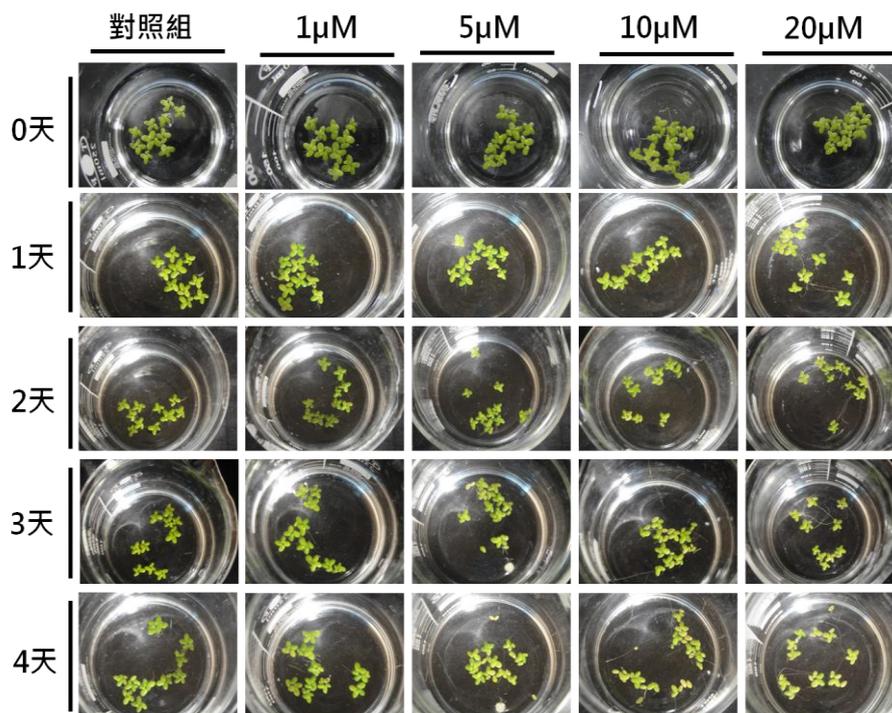
(圖 12-A) 青萍與氯化鋅共培養



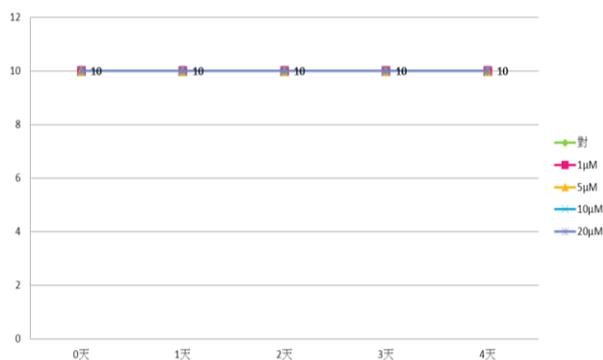
(圖 12-B) 青萍在氯化鋅處理下葉狀體未分離株數

由(圖 12-A)可以得知，置於 10μM、20μM 的溶液，對青萍的影響較置於 1μM、5μM 的溶液中劇烈。置於 1μM、5μM 溶液的青萍，仍然保持良好的翠綠狀態，並未分離。由(圖 12-B)可知，在第四天時，在 20μM 溶液的青萍已全數分裂，而 10μM 只剩下兩株，5μM 和 1μM 的溶液對青萍影響較小：在 5μM 的溶液處理下，還保有完整的七株，而在 1μM 處理下也還有九株。相較其他金屬，鋅對浮萍的影響較小。

## (十二) 紫萍與氯化鋅共培養的情況下之生長情形



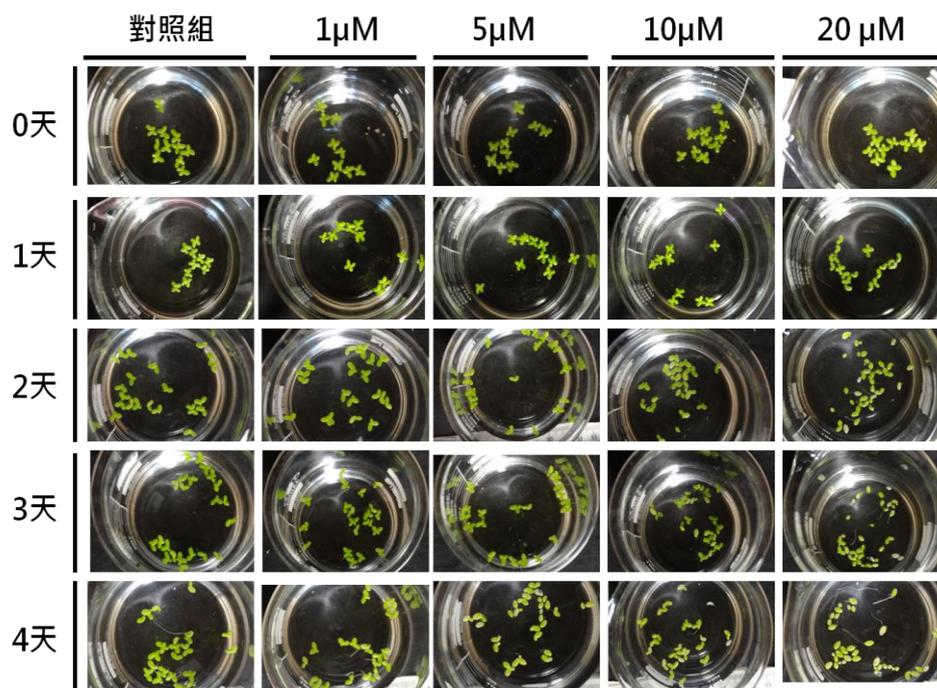
(圖 13-A) 紫萍與氯化鋅共培養



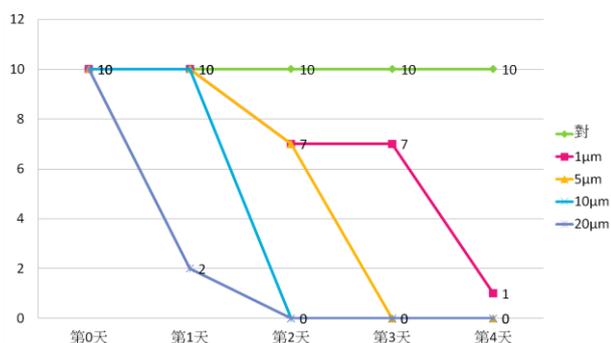
(圖 13-B) 紫萍在氯化鋅處理下葉狀體未分離株數

在(圖 13-A)中，可以看到在 5μM、10μM、20μM 溶液處理下的紫萍，到了第四天才有少部分的轉黃，在 1μM 溶液處理下的紫萍一直都是完整的十株以及翠綠的狀況。由(圖 13-B)可知 20μM、10μM、5μM、1μM 到第四天一樣都還有完整的十株，所以氯化鋅對紫萍似乎沒太大的影響。

### (十三) 青萍與氯化鐵共培養的情況下之生長情形



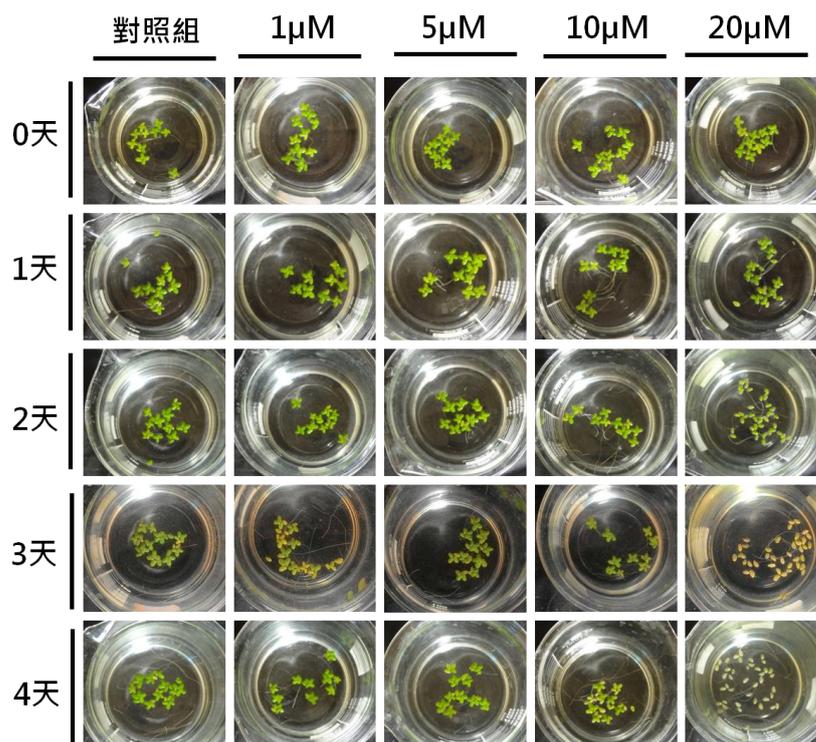
(圖 14-A) 青萍與氯化鐵共培養



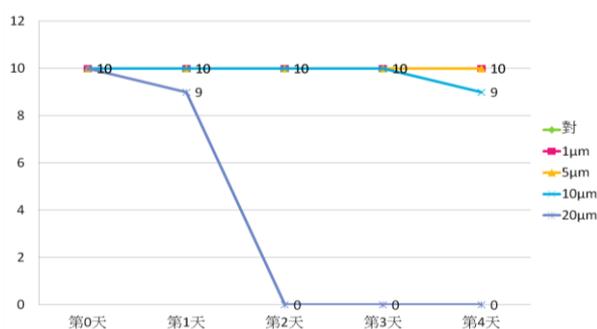
(圖 14-B) 青萍在氯化鐵處理下葉狀體未分離株數

由(圖 14-A)可以得知，氯化鐵對青萍的影響不會很嚴重，雖然都產生葉狀體分離的現象，但在經過四天後，仍然呈現翠綠狀態，並沒有白化。由(14-B)可知置於 20μM 溶液的青萍一天後只剩兩株，二天後就全都葉狀體分離了。置於 10μM 溶液的青萍也從第二天開始葉狀體全部分離。置於 5μM 溶液的青萍在第二天時還有七株，但到第三天便全數分離。置於 1μM 溶液的青萍到第四天也還保有一株。

#### (十四) 紫萍與氯化鐵共培養的情況下之生長情形



(圖 15-A) 青萍與氯化鐵共培養



(圖 15-B) 青萍在氯化鐵處理下葉狀體未分離株數

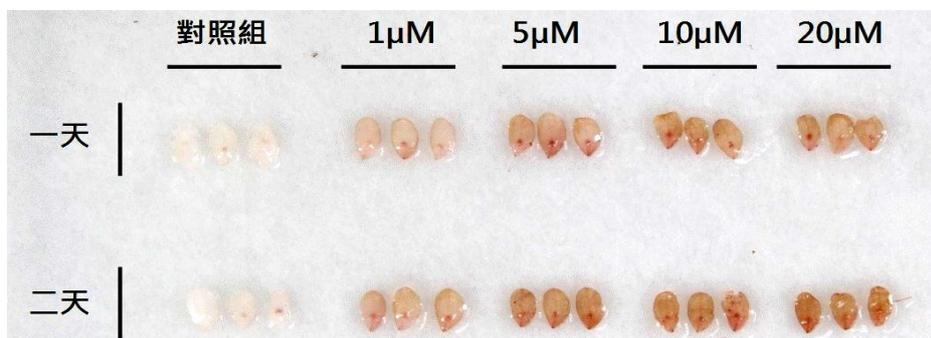
由(圖 15-A)可知，在 20μM 溶液處理下的紫萍全部都有葉狀體分離且白化的現象。相較之下，在 1μM、5μM、10μM 溶液處理下影響較小，依然保持良好的翠綠狀態。從(圖 15-B)，我們得知，紫萍在 20μM 溶液處理下，一天後還有九株，但到了第二天葉狀體就全分離了。另外，10μM、5μM 和 1μM 溶液處理下的紫萍就只有輕微影響，10 μM 溶液中還剩九株，而 5 μM 溶液和 1 μM 溶液還有保持完整的十株。

**金屬處理浮萍實驗總結**：部分金屬會對浮萍的生長狀況造成葉狀體分離及白化，但每種金屬的狀況都不太一樣。浮萍對於銅以及鋁的耐受性較低，因為皆呈現非常嚴重的白化，而浮萍的生長狀況在極低濃度下的鋁就受到抑制，在高濃度下雖葉狀體無分離但全都白化死亡。但

為什麼鋁一下就使青萍白化，卻無葉狀體分離呢？我們猜測也許鋁對浮萍的細胞傷害較大，使得浮萍快速的白化死亡，於是浮萍就來不及分離就直接白化。在銅處理下青萍幾乎全部白化死亡，且葉狀體全部分離，但銅在高濃度下能夠先葉狀體分離再白化，表示銅不會使浮萍馬上致死。且由硫酸銅和氯化銅的實驗結果中，我們發現其結果差異不大，由此我們可以推知陰離子並不是使浮萍生長受抑制的主要關鍵，主要應該是銅離子在影響浮萍。對浮萍影響其次的則是鎳及鐵，雖然都會造成浮萍葉狀體分離，但白化程度比銅還不嚴重，大部分也都呈現翠綠色的葉狀體。而鋅在整體來說是影響最小也較不會使浮萍葉狀體分離，且葉狀體保持著翠綠色。所以我們推測浮萍對於鎳、鐵及鋅的耐受性較高，或許它們不會立即的傷害浮萍，使它不會立即產生白化的現象。

→浮萍在銅、鎳、鋁、鋅、鐵等金屬的處理下，生長狀況都受抑制，於是，我們想進一步檢測其內部的生理狀態是否有受到影響，上網查資料後發現植物在遇到逆境，如金屬、寒冷、鹽...等，體內都會產生過氧化物質(ROS)，所以我們想看看浮萍在銅離子處理下，體內 ROS 的累積狀況。

#### (十五) 觀察青萍在硫酸銅泡水處理下的體內過氧化物質(ROS)的累積狀況



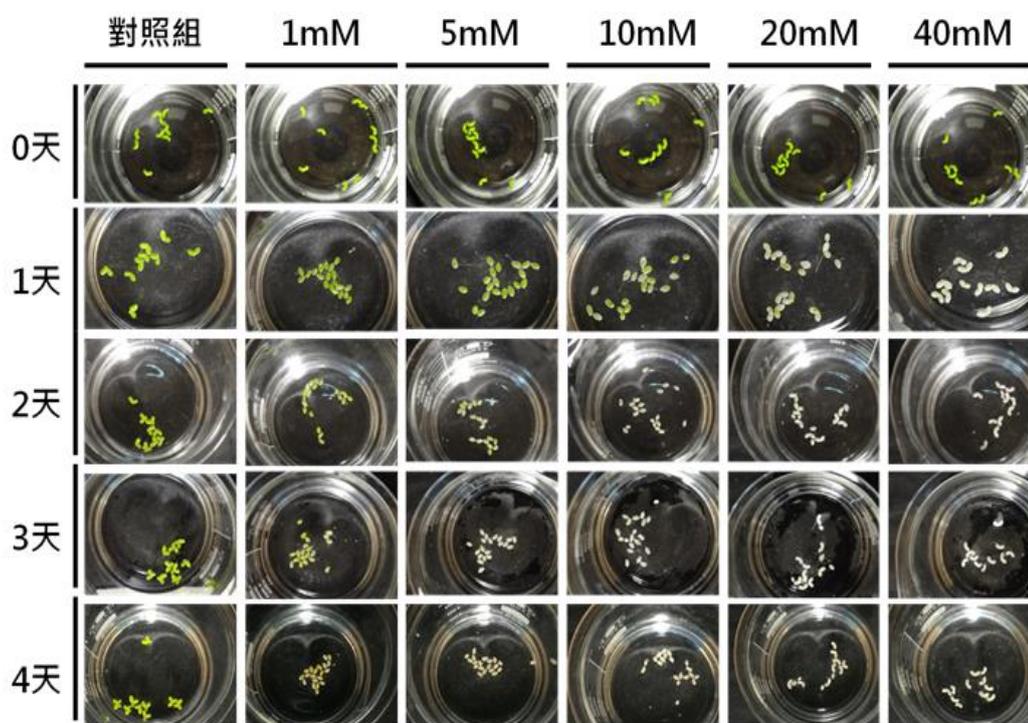
(圖 16) 青萍在 DAB 藥劑下之葉片顏色

由(圖16)可知，在加入 DAB 藥劑的浮萍中，含有越高濃度的過氧化氫( $H_2O_2$ )會使浮萍葉片顏色越深，由這個實驗結果可以發現，浮萍在越高濃度的銅離子處理下，所累積的 ROS 含量越高，葉片顏色也變得較深。所以我們得知浮萍在逆境下會有 ROS 的累積，且 ROS 的含量隨著金屬濃度上升而增加，當金屬濃度提高時，浮萍體內細胞受 ROS 氧化傷害愈嚴重。此外，ROS 分子可能是浮萍在受到逆境時控制葉狀體分離與否的傳訊分子。

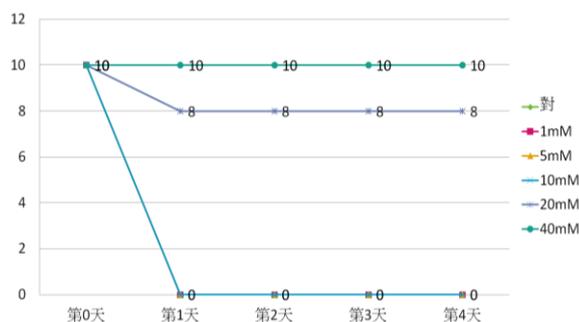
→我們發現浮萍在遇到逆境下會葉狀體分離，但浮萍沒有神經系統，於是我們猜測浮萍體內有告訴浮萍要分離的訊息傳遞因子。經過上網搜尋後，我們發現植物會以鈣離子當做訊息

傳遞因子，且浮萍在逆境下會累積 ROS，於是我們猜測也有可能是過氧化氫，因此我們取雙氧水及氯化鈣處理浮萍。

### (十六) 青萍與雙氧水共培養的情況下之生長情形



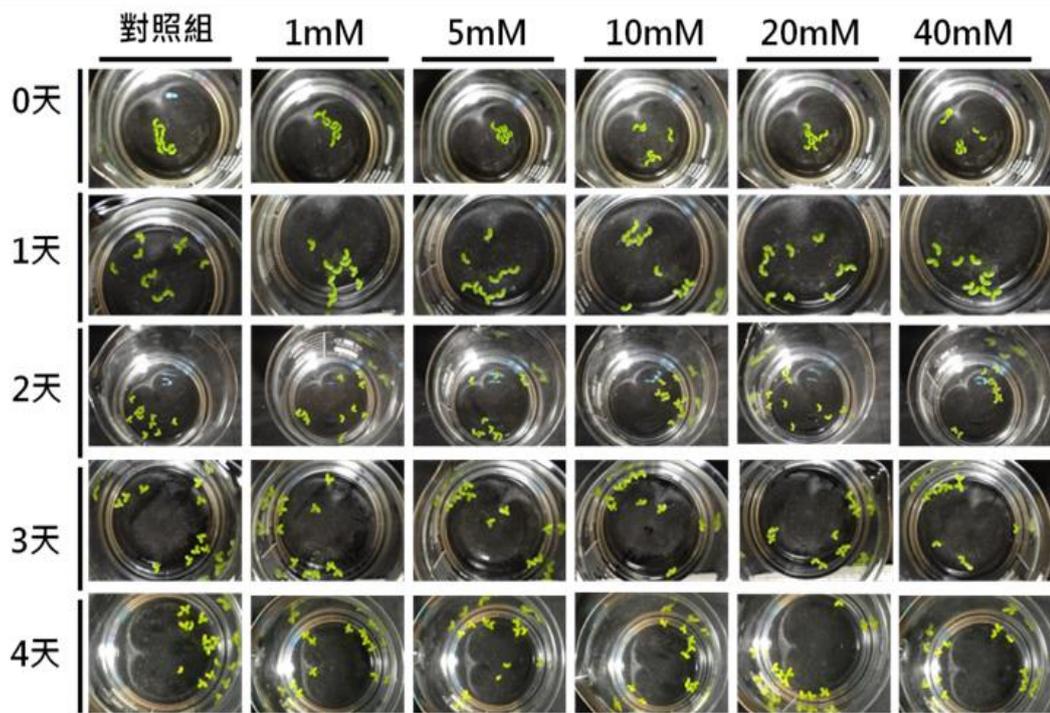
(圖 17-A) 青萍與雙氧水共培養



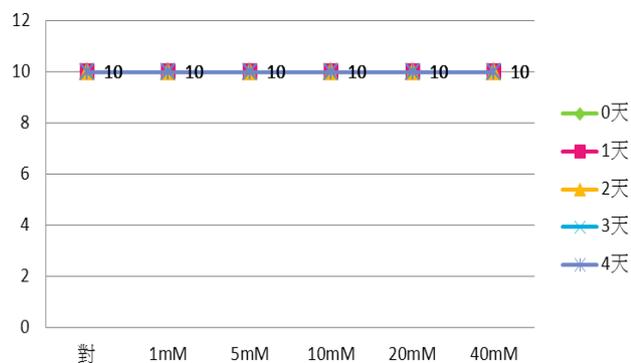
(圖 17-B) 青萍在雙氧水處理下葉狀體未分離株數

由(圖 17-A)可以得知，雙氧水會對青萍產生非常嚴重的白化現象，在 20mM 和 40mM，青萍還未葉狀體分離就已全數白化。而其他濃度處理下在第一天時葉狀體也全部分離，雖然大部分的葉狀體還是維持翠綠色，但到了第四天也全都白化死亡。由(圖 17-B)可知，40mM 處理下的第一天葉狀體雖已白化，但毫無分離，20mM 也是同樣白化死亡，但葉狀體有先分離。而 1mM、5mM、10mM 在第一天葉狀體全部分離，葉狀體還保持著翠綠色，但到第四天全都白化死亡了。

(十七) 青萍與氯化鈣共培養的情況下之生長情形



(圖 18-A) 青萍與氯化鈣共培養



(圖 18-B) 青萍在氯化鈣處理下葉狀體未分離株數

由(圖 18-A)可以得知，氯化鈣對青萍的生長不但不會抑制，反而還有促進的效果，在第零天時只有兩片葉片，而到了第四天大部分都長成了三片，葉片也全都是翠綠色。由(圖 18-B)可知，浮萍在氯化鈣處理下全都保持著完整的十株。所以氯化鈣可以促使青萍的生長。

**驗證浮萍傳訊因子實驗總結**：浮萍在氯化鈣處理下不但沒有葉狀體分離且會促進浮萍的生長；而在低濃度雙氧水處理下能使浮萍葉狀體分離，因此我們認為過氧化物質中的過氧化氫是浮萍的葉狀體分離的傳訊因子。

## 陸、討論

### 一、材料方法之討論

我們的實驗是為了瞭解浮萍在逆境下的生存機制，以及針對浮萍分離的訊息傳遞因子進行探討。我們在實驗的過程中發現，浮萍在尚未死亡的狀態下，會先分離成一株株的單葉葉狀體，我們便不禁好奇為何浮萍會有這樣的反應。蒐集資料後，我們得知：浮萍主要以無性生殖的方式進行繁殖。正常生長狀態下，浮萍的葉狀體通常三或四片葉片組成。當處在逆境時，浮萍內部構造會受到影響，且出現葉狀體分離的情形。因此，我們不禁好奇是什麼原因造成浮萍葉狀體分離，浮萍沒有神經系統，又是如何得知逆境的到來？它是透過甚麼樣的機制，保持著最佳生長狀態？從相關的資料中，我們發現有些植物是以過氧化物和鈣離子作為訊息傳遞因子。接著我們去公園採集了比較常見的浮萍(青萍)來探討浮萍內部的生存機制。也因為浮萍是水生環境中的指標，它的生長狀況能夠反映水池的水質狀況。

俗名	紫萍	<i>Spirodela polyrhiza</i>	青萍	<i>Lemna aequinoctialis</i>
界	植物界	<i>Plantae</i>	植物界	<i>Plantae</i>
門	被子植物門	<i>Angiosperms</i>	被子植物門	<i>Angiosperms</i>
綱	單子葉植物綱	<i>Monocots</i>	單子葉植物綱	<i>Monocots</i>
目	天南星目	<i>Alismatales</i>	天南星目	<i>Alismatales</i>
科	天南星科	<i>Araceae</i>	天南星科	<i>Araceae</i>
屬	紫萍屬	<i>Spirodela</i>	青萍屬	<i>Lemna</i>

## 二、實驗設計之討論

在實驗中，我們選用青萍、紫萍做實驗。我們將青萍、紫萍、30 條魚共養殖於一個魚缸中，且利用魚類糞便(含氮物質)當作其養分。我們將浮萍培養箱置於控溫於 23 度左右的培養箱，照光 24 小時使其行光合作用，一來可以減少變因，二來，可以確保浮萍能夠生長在舒適的環境中。

首先，我們選用 250ml 玻璃燒杯作為觀察浮萍於不同溶劑中生長狀況的容器，每杯放置 10 株浮萍，使燒杯中的浮萍生長環境不會太過擁擠。接著，在進行實驗時，為了避免因為自來水內含化學物質影響實驗的準確度，我們在控制組的燒杯中加入 100ml ddH<sub>2</sub>O 進行實驗。

在「不同幣值的硬幣對於浮萍的影響」實驗中，我們以個數不同的硬幣作為變因，結果發現，1 個一元硬幣，便能對浮萍產生極大的影響。這個結果，讓我們猜測是硬幣內的金屬對浮萍的生長產生影響，使得浮萍生長受抑制。

接著，我們設計出了「不同金屬對於浮萍的影響」的實驗。在這個實驗中，除了使用硬幣中含有的銅、鎳、鋁做實驗，另外還多觀察了其他金屬：鋅和鐵，對於浮萍的影響。在這項實驗中，我們透過不停地嘗試，統整出最適合觀察的濃度。

最後，我們將實驗延伸至探討浮萍的生存機制。我們原本猜測是因為金屬腐蝕葉片，使浮萍產生了葉狀體分離。到後來，我們瞭解這是浮萍的生存機制，且我們發現浮萍在逆境下會累積過氧化物質(ROS)來做為植物內的訊息傳遞因子，並以雙氧水處理浮萍來加以驗證。而鈣離子也是植物常見的傳訊因子，因此我們也觀察浮萍在氯化鈣溶液下的生長狀況。

### 三、研究結果之討論

我們發現壹圓硬幣會抑制浮萍的生長，所以我們用了不同的硬幣處理浮萍，我們發現不同種類的硬幣會對浮萍產生不同程度的生長抑制，還會產生葉狀體分離及白化的現象。所以我們找出硬幣內所含有的金屬，也收集了其他常見的金屬，配製不同的濃度金屬溶液來觀察其對浮萍的影響。一開始我們認為金屬和硬幣一樣都會抑制浮萍的生長，但後來發現有些金屬不會有此情形。例如：鐵離子處理青萍時，葉狀體全都分離卻沒有白化。而其中影響最大的就是鋁離子，它使青萍快速

白化死亡但無葉狀體分離，而銅是硬幣裡含量最高的金屬，其讓浮萍快速葉狀體分離後再白化死亡，另外硬幣裡金屬含量僅次於銅的就是鎳，而鎳離子對青萍也只有造成葉狀體分離以及少部分的白化，不像銅那麼嚴重。因為銅在硬幣裡含量最多，所以我們推論出硬幣會讓浮萍葉狀體嚴重分離的主要因素就是含有大量的銅。

而我們也發現，浮萍在白化前會先產生葉狀體分離，我們也發現了浮萍在遇到逆境下會從原本由三片葉子所構成的個體，分離成單一葉片所構成的個體，提升族群逃出金屬逆境的機率。但是浮萍沒有神經系統或內分泌系統以得知逆境的來臨，那它是如何判斷何時該分離呢？我們查資料後發現：植物體內有許多不同功能的訊息傳遞的因子，而訊息傳遞因子的功能就像是人類的語言或神經系統，當環境變遷時會在植物體內告訴它如何採取應變，這種物質我們稱它為訊息傳遞因子，例如：過氧化物或鈣離子。接著我們把氯化鈣以及雙氧水分別處理浮萍，來確認浮萍葉狀體分離時的訊息傳遞因子是什麼，發現鈣離子不會讓青萍葉狀體分離還會促進它的生長。而高濃度的雙氧水對浮萍產生嚴重的氧化傷害導致浮萍葉片快速白化死亡且無法分離，而低濃度則能使浮萍葉狀體分離，我們猜測也許低濃度的雙氧水能扮演訊息傳遞因子且間接活化分解纖維素的酵素，進而分解浮萍的細胞壁，造成葉狀體分離。且浮萍的葉狀體分離，須在浮萍仍存活時才能進行，若已經白化死亡，就不會有葉狀體分離的現象了。

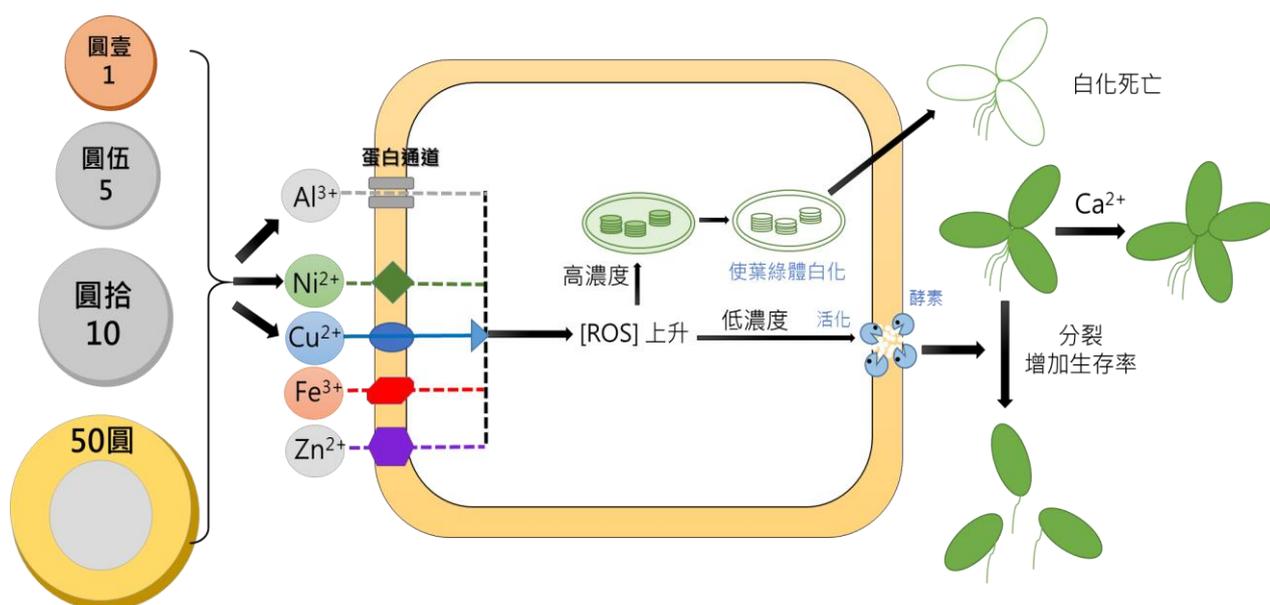
### 四、未來展望之討論

本實驗發現浮萍在金屬含量低的水域中，短時間內，即可觀察到浮萍葉狀體分離與白化的現象。我們想到，未來我們可以在疑似有金屬排放的水域中放入浮萍，觀察浮萍是否有葉狀體分離或白化的現象，來做為該水域環境是否有受到污染的簡易指標。



(圖 18) 浮萍在金屬處理下的生長狀況圖

## 柒、結論



在本次實驗中，我們把青萍與硬幣共培養，並發現硬幣對青萍造成嚴重的葉狀體分離，於是我們針對硬幣內部所含的金屬，觀察其對浮萍的影響。發現鋁離子對浮萍的影響最為嚴重，之後，我們找了其他金屬：鋅和鐵。我們發現，其和銅、鎳、鋁一樣有葉狀體分離的狀況，但白化程度沒有那麼嚴重。浮萍在遇到逆境下內部會累積 ROS，高濃度的 ROS 會使浮萍的葉綠體快速白化並死亡，低濃度則是扮演訊息傳遞因子，活化酵素分解細胞壁，進而使浮萍葉狀體分離。另外，我們觀察到加入鈣離子後並沒有看到葉狀體分離的現象，由此可知鈣離子不是浮萍遇到金屬逆境時，使其葉狀體分離的傳訊因子。

浮萍是無性生殖，在生殖的過程中，會從單片慢慢長成四片葉子的葉狀體，接著會分離成二株兩片葉子的新個體。在實驗中，硬幣越多使浮萍白化越嚴重，而硬幣中含有多種金屬，所以我們陸續用不同金屬泡水處理浮萍，也證實金屬逆境會使浮萍生長受到抑制及葉狀體分離。

過氧化物與鈣離子是植物常見的訊息傳遞因子之一，首先，我們觀察到鈣離子並不會對浮萍產生葉狀體分離或是白化的現象。接著，我們利用 DAB 藥劑檢測浮萍遇到金屬逆境時體內的過氧化物變化，發現在越高濃度的銅離子的處理下，細胞內部會累積越多的過氧化物，因此我們以雙氧水處理浮萍，發現雙氧水會使浮萍葉狀體分離。因此推測，雙氧水是浮萍葉狀體分離的傳訊因子之一。若浮萍葉狀體分離後能流到乾淨的水質，便能夠提升浮萍族群的生存機率。未來，我們想利用浮萍葉狀體分離的現象，作為水質是否受到重金屬污染的指標。

## 捌、參考文獻

1. 水上人家話浮萍兒

<http://web2.nmns.edu.tw/PubLib/NewsLetter/97/253/3.pdf>

2. Krakow, Poland (2001) Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945201004782#>

3. 活性氧物種 (Reactive oxygen species)

<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/p=42974>

4. 鈣離子在植物非生物逆境反應扮演之角色

<http://www.airitilibrary.com/Publication/alDetailedMesh?docid=P20131108002-201205-201311250039-201311250039-201-204>

## 【評語】 030306

本研究探討浮萍在硬幣水中生存的機制，以及面對逆境浮萍葉狀體分離的訊息傳遞分子。作品說明書結構完整，敘述清楚明瞭，且合乎實驗邏輯原則，足見作者投入研究的科學態度。作者從生活中發掘研究的動機，重金屬對浮萍的毒性試驗已發表許多文獻，討論之處宜蒐集之前文獻作品並加以比較和探究，突顯作品的價值性。