

中華民國第 59 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

佳作

030309

重金屬逆境對植物生理時鐘影響機制之研究

學校名稱：新北市立林口國民中學

作者： 國二 巫辰媛 國二 梁鈺欣	指導老師： 邱佩璇
-------------------------	--------------

關鍵詞：重金屬逆境、南國田字草、生理時鐘機制

摘要

本研究探討銅、鐵、鋅、鉛、鎳重金屬逆境對南國田字草 (*Marsilea crenata*) 之影響，針對南國田字草睡眠運動的小葉開閉合角度及所需時間進行量化與質性分析。結果顯示，重金屬離子會延遲或縮短小葉開閉合所需時間；重金屬離子影響南國田字草之小葉夾角以鐵離子最為明顯。由實驗可發現南國田字草對重金屬離子皆有吸附性，對於水域環境之重金屬清除具有重要意義。隨著種植時間增加，南國田字草小葉開閉合角度差在重金屬離子濃度 100 ppm 以下多有上升趨勢；在 100 ppm 以上則出現下降趨勢。隨著濃度增加，可發現銅、鐵、鋅、鎳離子皆會使角度差出現下降趨勢。分析植株的生長狀況，可推估南國田字草對不同重金屬離子之耐受度，並藉以判斷重金屬離子影響植物生理時鐘之機制。

壹、研究動機

美國詩人沃爾特·惠特曼曾經提過：「大地給予所有的人是物質的精華，而最後，它從人們那裡得到的回贈卻是這些物質的垃圾。」在我們所生長的環境中有許多的工業區及高科技產業的發展，雖然為人們生活帶來相當地便利性，但同時也可能對於鄰近區域造成極大的危害。其中，重金屬污染蔓延在生活中的每一個角落，若隨土壤、水系進入生態系，就容易由食物鏈傳遞下去並且累積在生物體內難以排除，不只對周遭的生態造成危害，也會影響人體健康。

在參訪中研院時，我們看到了來自葉國楨研究員的成果展示，研究中提及阿拉伯芥的耐鐵基因似乎與其恆定性有關（葉國楨，2018），為探究兩者的關係，我們決定研究植物生理時鐘在重金屬逆境下的生理反應。在實驗選材部分，參考了夏靖雯、蔡政諺、郭雲亭在2010年的研究，報告中提到了蕨類對鋅、銅、鉛、鎳離子的吸收度都很高，而台灣剛好處於亞熱帶地區，濕熱的環境非常適合蕨類生長，若將蕨類運用於清除環境中的重金屬，淨化能力是不容小看的（夏靖雯、蔡政諺、郭雲亭，2010）。而南國田字草 (*Marsilea crenata*) 是水生蕨類、且睡眠運動觀察容易，故選定其作為實驗使用之植株。

貳、研究目的

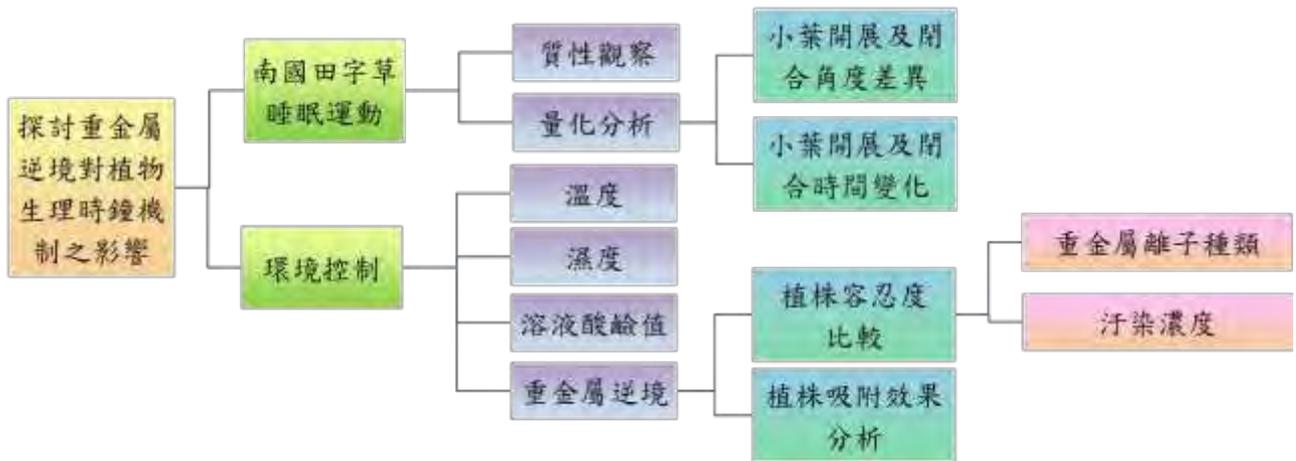
- 一、了解南國田字草的生理時鐘機制。
- 二、探討不同重金屬離子與濃度對南國田字草生理時鐘的影響。
- 三、分析不同重金屬逆境對南國田字草生長狀況之影響。
- 四、探究南國田字草對不同重金屬離子的吸附性與其受影響性之分析。

參、研究設備及器材

表一、實驗用品及器材

名稱	型號或規格	用途	數量
南國田字草	葉片長 1~2 公分	作為觀察對象	約 120~130 株 一組五株
酸鹼計		測量溶液酸鹼值	1 支
空氣品質監測計		測量環境溫溼度	1 臺
夜視機		觀察小葉開展及閉合時間	4 臺
燒杯		盛裝南國田字草及溶液	
滴管		用於轉移少量液體	
滴定管		進行滴定實驗	1 支
量筒		測量溶液體積	
硫酸銅		配置重金屬溶液	10 公克
硫酸鋅		配置重金屬溶液	10 公克
氯化鐵		配置重金屬溶液	10 公克
醋酸鉛		配置重金屬溶液	10 公克
硫酸鎳		配置重金屬溶液	10 公克
赤血鹽		配置赤血鹽溶液	500 公克
量角器		測量角度	三個

肆、研究過程或方法



圖一、研究架構圖

一、文獻探討

透過文獻查詢，了解南國田字草之基本資料，分析植物生理時鐘機制、重金屬逆境對植物之影響及其應對方式。同時參考地下水汙染之標準及相關法規，設計實驗之重金屬溶液濃度。接著比較檢測水溶液中重金屬離子濃度之方法，並擇一最適方法作為實驗測定方式。

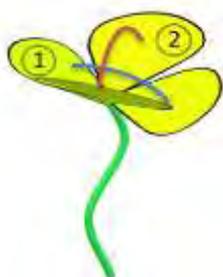
二、了解南國田字草的生理時鐘機制

本研究以南國田字草睡眠運動時所呈現之葉片夾角，作為判定睡眠運動的標準，並記錄葉片開展及閉合的時間。實驗中將對照組及實驗組統一放置在有屋頂遮擋、但開放式的實驗環境，使得植株不會受到雨水干擾，並可感應溫、濕度變化，且可正常接受光照。實驗前先將南國田字草種植於水中一週以適應水中環境。實驗所用的小葉葉片大小限定範圍為一到二公分，每五株分成一組，以水耕方式種植於 250 ml 燒杯中，每星期固定施肥及補充溶液 50 ml，避免南國田字草因營養不良或溶液量過少而死亡，並記錄田字草每天的開閉合角度與開閉合所需時間及時間變化。

(一) 測量田字草開展及閉合角度

1. 開展角度

一株南國田字草會有兩個開展角度（如圖二），因此開展角度為南國田字草在白天時的小葉夾角平均（如圖三）。測量方法如下：將量角器的零度線對準小葉葉背，測量與其相對之小葉夾角，測量時間固定為下午一點。



圖二、南國田字草的小葉開展情形 圖三、南國田字草的開展角度 圖四、南國田字草的閉合角度

2. 閉合角度

為南國田字草在夜晚時的小葉夾角（如圖四）。測量方法如下：將量角器之零度線對準最外側之小葉葉背，測量與其相對最外側小葉葉背之夾角。若南國田字草在晚上並未呈現四片小葉重疊之狀態，則測量方法與開展角度相同，並取平均計算，測量時間固定為晚上七點。

(二) 記錄南國田字草的完全開展及完全閉合時間

透過夜視機全日拍攝南國田字草，每日收取數據進行影像分析，並記錄南國田字草之開閉合所需時間。

1. 完全開展時間之定義：當南國田字草之小葉夾角開展至最大度數、且一個小時內不再增加時，訂為完全開展時間。
2. 完全閉合時間之定義：當南國田字草之小葉夾角閉合至最小度數、且一個小時內不再減少時，訂為完全閉合時間。

(三) 觀察南國田字草小葉從初開到全開、初閉到全閉所需時間

1. 初開時間之定義：當南國田字草的小葉剛開始出現開展情形時（比對前後一分鐘之影片數據判定），定義為初開時間。
2. 初閉時間之定義：當南國田字草的小葉剛開始出現閉合情形時（比對前後一分鐘之影片數據判定），定義為初閉時間。

三、探討不同重金屬離子對南國田字草生理時鐘的影響

本研究選定銅、鐵、鋅、鉛、鎳等重金屬離子對南國田字草進行逆境實驗，環境中常見的重金屬有鉛、汞、鎘、鎳、鉻、砷、銅、鋅、鉛，葉顯銘、陳少燕、黃定鼎與黃浩仁等人（2004）在《清理重金屬污染的植物》中提到，台灣河川的河水本身及底泥都有嚴重的重金屬汙染，其中又以銅、鋅、鉛、鎳及鎘為主要汙染種類。因此我們選擇使用較容易取得的銅、鋅、鉛、鎳進行實驗。葉國楨（2018）的研究提到，植物的耐鐵基因似乎與恆定性有關，因此也挑選了鐵進行實驗。

四、比較不同濃度的重金屬水溶液對南國田字草生理時鐘的影響

本研究參考行政院環保署地下水污染監測標準（如表二），表中第一類指飲用水水源水質保護區內之地下水，第二類則是指第一類以外的地下水。本研究主要以破壞水中生態及周遭環境的最低限度為指標，因此依據第二類地下水監測標準值作為實驗標準，研究中所使用之銅、鐵、鋅、鉛離子，其監測標準值分別為 5、1.5、25 和 0.25 ppm，範圍介於 0.25 至 25 ppm，因此我們將實驗最低濃度選為 1 ppm。此外，為了進一步研究南國田字草對於不同重金屬逆境之耐受程度，研究選定共五種濃度 1、50、100、250、500 ppm。

表二、污染物之監測項目及監測標準值

汙染物監測項目	監測標準值	
	第一類	第二類
重金屬	（單位：毫克／公升）	
砷(As)	0.0250	0.2500
鎘(Cd)	0.0025	0.0250
鉻(Cr)	0.0250	0.2500
銅(Cu)	0.5000	5.0000
鉛(Pb)	0.0250	0.2500
鋅(Zn)	2.5000	25.0000
鐵(Fe)	0.1500	1.5000
錳(Mn)	0.0250	0.2500

（一）重金屬溶液配置過程

在配置溶液的過程中，先調製出濃度較高的重金屬溶液，再加水稀釋，調製出濃度較低的水溶液，不僅能省下測量藥品重量的時間，也能減少測量的誤差；依序配置出 500、250、100、50、1 ppm 之硫酸銅、氯化鐵、硫酸鋅、醋酸鉛、硫酸鎳重金屬溶液。

(二) 分析不同重金屬溶液對南國田字草生理時鐘之影響

將南國田字草以水耕方式種植於燒杯中，定量加入 100 ml 重金屬溶液，觀察在不同濃度之不同重金屬水溶液中生長的南國田字草與對照組（純水）之生長差異，進而了解重金屬離子對南國田字草生理時鐘的影響。

五、分析不同重金屬逆境對南國田字草生長狀況之影響

透過分析照片記錄每天南國田字草的生長情形（包括葉片有無缺損、顏色變化或斑點產生及植株莖部是否有斷裂或下垂情形等），並與當天之溫度、濕度和溶液酸鹼值進行比對，以了解不同重金屬逆境及相關環境因子對南國田字草的影響。

六、探究南國田字草對不同重金屬離子的吸附性與其受影響性之分析

羅聲晴與林哲仁於民國 97 年在《電位測量法之應用》中提到，實驗檢測重金屬離子濃度之方法為滴定法，可分為二種：第一種是使用顯色劑滴入溶液中，將顯色劑變色的狀態定為滴定終點；第二種是使用儀器測量併入滴定劑，利用電位對於滴定劑體積之變化曲線以決定該次滴定的當量點，推算離子濃度。考慮節省金錢及時間，本研究選擇以第一種方式進行測量。

本研究之實驗以滴定法檢測溶液中之重金屬離子濃度，參考周鎂岑與白旻昇於 2008 年在《自製重金屬檢測試紙及檢測流程》之研究中，提到不同種類之顯色劑與不同重金屬離子之呈色效果與最佳顯色濃度，為避免顯色時顏色難以辨認或無呈色效果，決定選擇與實驗所用之重金屬反應後呈色均為深色的赤血鹽作為顯色劑，並挑選最佳顯色濃度 0.25 M 進行實驗。

實驗中將事先調配好之重金屬對照組溶液 30 ml 和南國田字草生長之實驗組溶液進行滴定，記錄每一種重金屬離子濃度所需達滴定終點之顯色劑體積，將對照組結果經過換算後與實驗組進行比較，以判斷南國田字草是否對於重金屬離子有吸附之情形。

伍、研究結果

一、文獻探討

(一) 南國田字草 (*Marsilea crenata*) 基本生理學探討

1. 分類階層

南國田字草為蕨類植物，屬真蕨綱、苹目、苹科、南國田字草種。

2. 生長環境

南國田字草喜好潮濕且光照充足之地區，生長方式有陸生及水生兩種，水生型態分為兩種：在 10~15 公分以下的水深狀態下，植株呈現挺水生長；在 40 公分以上的水深，植株則呈現如睡蓮般的浮葉狀態。陸生植株呈匍匐生長，以走莖沿土壤表面向四周延伸。為臺灣原生種，過去低海拔水田、水溝、沼澤地中常見，由於農藥、除草劑的普遍使用，現已逐漸變少。

3. 植株外觀

葉片四裂，形狀呈現「田」字形，葉片外緣多成波狀或裂片狀，幼葉呈卷旋狀，植株小葉平均長 1~3 公分，葉柄長 8~20 公分。依生長環境不同，可分為水生葉及陸生葉，水生葉又分沉水葉、浮水葉及挺水葉三種。

4. 生長週期

南國田字草主要生長期為 5~10 月，11 月後氣溫較低，南國田字草的生長會逐漸停頓，甚至黃化、凋零，僅剩黑褐色殘莖與葉柄，3 月氣溫開始回升，部分殘餘未死亡的走莖便開始恢復生長，5 月梅雨時期生長狀況最好。

5. 生殖機制

南國田字草主要以孢子繁殖，散播孢子期間為夏、秋雨季，孢子囊果生於葉柄基部，2~3 枚叢生，孢子囊果呈卵形或圓形，直徑 0.2~0.4 公分，內含孢子囊群約 15 個，每個孢子囊群內有大小二種子囊，子囊着生於托部，成熟時裂開伸出散布孢子。

(二) 了解南國田字草的生理時鐘機制

1. 生理時鐘系統

生理時鐘係指生物於正常狀況下生活的規律作息。大多以 24 個小時為一個循環單位，許多生理現象包括葉片開展、開花時間等，均受生理時鐘調控（黃品瑄，2015），植物生理時鐘也稱「晝夜節律 circadian rhythm」。李瑋齡與楊穎淑在 2010 年於《傾聽生物時鐘的滴答聲》報告中提到，一般生理時鐘的系統可以

分三個部份：時鐘設定的訊號輸入路徑（input pathway）、節律調控中心（oscillator）及訊號輸出路徑（output pathway），如圖五。

節律調控中心即是植物的生理時鐘，各種環境變因成為了訊號，植物接收這些訊號後，節律調控中心會改變其生物體內因子的濃度調配再輸出，而產生不同生理反應，相同的訊號日積月累，造就植物一定的生理模式（李瑋齡與楊穎淑，2010）。

生理時鐘系統包含生長週期、繁殖時間及睡眠運動等機制，為了方便於研究中觀察記錄，本研究以睡眠運動判斷南國田字草生理時鐘變化。

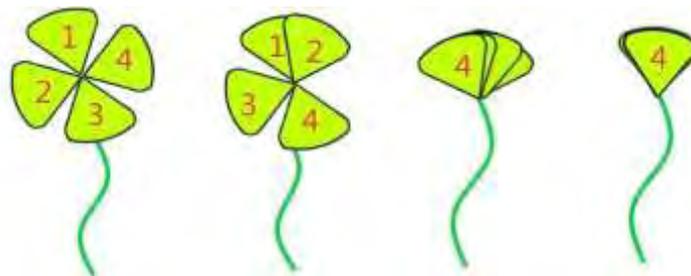


圖五、生物時鐘的系統

2. 南國田字草的生理時鐘機制

本研究以南國田字草作為觀察對象，並且以睡眠運動觀測其生理時鐘機制，一般高等被子植物的睡眠及觸發運動與葉枕細胞有關，當受到碰觸或黑暗時，葉枕細胞就會把水分排入細胞間隙中，造成葉子閉合。而南國田字草是一種蕨類植物，其進行睡眠及觸發運動時將水分排出的方式與被子植物完全不同，南國田字草是利用葉脈將水分送至氣孔排出，因此當小葉葉脈無法進行運輸和氣孔無法讓氣體出入時，即無法進行睡眠及觸發運動（李昱婷、林芷妤與藍宇君，2014）。

南國田字草小葉閉合時，是由上端兩片小葉先閉合，下端兩片小葉再閉合，最後四片小葉重疊，完成閉合（如圖六）。



圖六、南國田字草小葉閉合情形

3. 睡眠運動作用機制

(1) 膨壓運動

張修華與蔡育霖在 2015 年《閉月羞「草」——植物會痛嗎？》報告提到，成熟的植物細胞中多半有個大型液胞，隨著水分進入液胞，使其體積擴大，推擠細胞質，對細胞壁形成壓力。當水分流出葉枕細胞而流入木質部時，葉枕細胞萎縮，膨壓降低；反之則葉枕細胞膨脹；但因為植物有細胞壁，使細胞不易破裂。水分的流出流入與外在因素（例如氣溫、濕度、外力碰觸等）及內在因素（細胞內滲透壓差異、濃度梯度差異等）皆有關。

(2) 鈉鉀幫浦定理

植物細胞可以藉由不同的方式來進行細胞內外的物質交換，其中有一種方式為主動運輸，主動運輸是藉由消耗 ATP 提供細胞膜上的膜蛋白能量，使得細胞內的物質以「逆濃度」的方式進出細胞。目前研究最清楚的主動運輸機轉稱為「鈉鉀幫浦」（Sodium-Potassium Pump），它可以使鈉離子由細胞內移至細胞外，進而造成細胞內外的濃度梯度差，使得細胞外的物質可以進入到細胞中（張修華與蔡育霖，2015）。

(三) 探討不同重金屬離子對南國田字草生理時鐘的影響

重金屬是指比重大於 5.0 g/cm^3 的金屬元素，包括鐵、錳、銅、鎳、鉛、汞、鉻、鎳、鉬、鈷等；雖然砷是一種類重金屬（metalloid），但由於其化學性質、環境行為與重金屬有相似之處，通常歸入重金屬的研究範疇（王松良、陳永快、曹志全與曾志正，2012）。

植物對重金屬的吸收積累情況有兩種，一種為植物的外排機制（exclusion），即植物避免吸收和運輸過量的重金屬，另一種為植物的積累和區隔化機制（accumulation and sequestration），即植物能主動吸收大量重金屬，並把它運輸和儲存到地上部分，其體內具有某種特殊的解毒機制（李影與王友保，2010）。

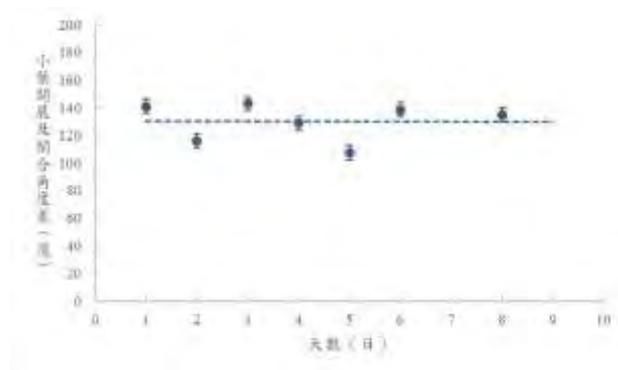
三、比較不同濃度的金屬水溶液對南國田字草生理時鐘的影響

本實驗選取銅、鐵、鋅、鉛、鎳五種金屬離子調配成 1、50、100、250、500 ppm 五個濃度的水溶液，觀察是否對南國田字草之睡眠運動造成影響。

1. 比較不同重金屬離子，在不同濃度下，隨著時間變化，對小葉開閉合角度差的影響

前測實驗中，採用低濃度重金屬水溶液進行實驗，小葉開閉合角度差變化皆小於 20 度。因此，本次實驗中，若南國田字草的小葉開閉合角度差實驗前三天平均和實驗結束前三天平均相差超過 20 度，定義為有趨勢變化。

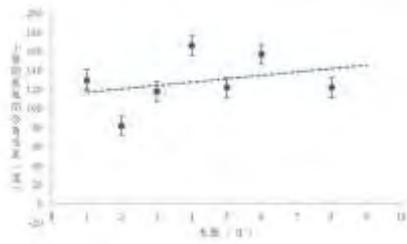
(1) 對照組：



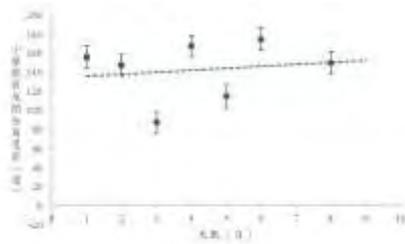
圖七、對照組之小葉開閉合角度差變化

從圖七可以得知，生長於純水中的植株，隨著實驗時間增長，小葉開展及閉合角度差並無明顯變化，大約落在 130 度。

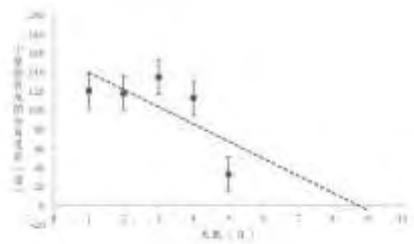
(2) 銅離子溶液：



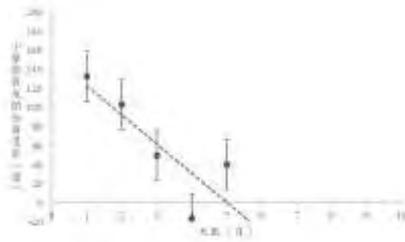
圖八、銅離子濃度 1 ppm 之小葉開閉合角度差變化



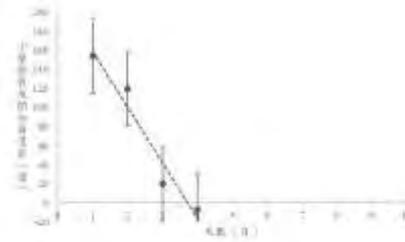
圖九、銅離子濃度 50 ppm 之小葉開閉合角度差變化



圖十、銅離子濃度 100 ppm 之小葉開閉合角度差變化



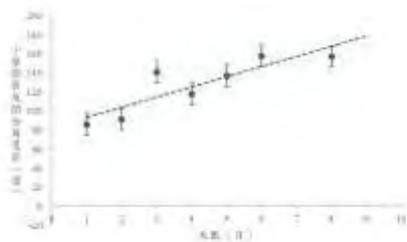
圖十一、銅離子濃度 250 ppm 之小葉開閉合角度差變化



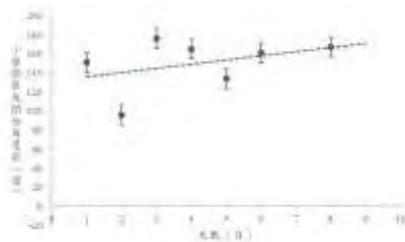
圖十二、銅離子濃度 500 ppm 之小葉開閉合角度差變化

從圖八~十二可得知，隨著實驗時間增長，當銅離子濃度為 1 及 50 ppm 時，小葉開閉合角度差平均為 128 及 143 度，並無明顯變化；在 100、250 及 500 ppm 的濃度中，開閉合角度差會出現明顯下降趨勢。

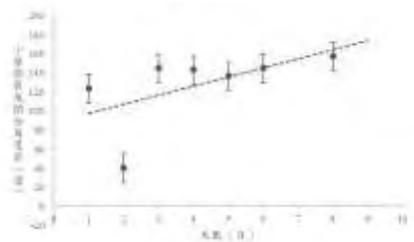
(3) 鐵離子溶液：



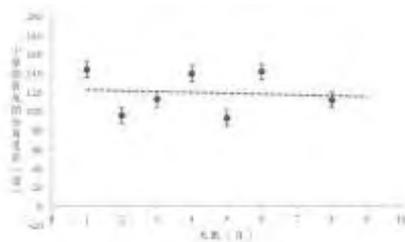
圖十三、鐵離子濃度 1 ppm 之小葉開閉合角度差變化



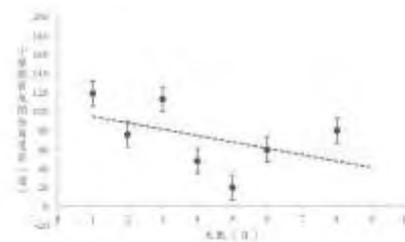
圖十四、鐵離子濃度 50 ppm 之小葉開閉合角度差變化



圖十五、鐵離子濃度 100 ppm 之小葉開閉合角度差變化



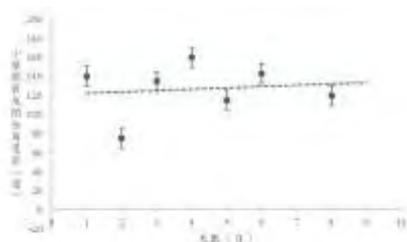
圖十六、鐵離子濃度 250 ppm 之小葉開閉合角度差變化



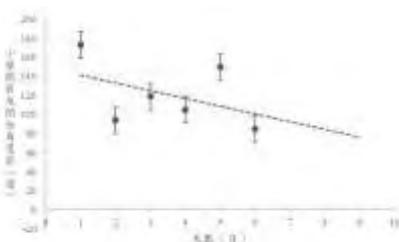
圖十七、鐵離子濃度 500 ppm 之小葉開閉合角度差變化

從圖十三~十七可得知，隨著實驗時間增長，當鐵離子濃度為 50 及 250 ppm 時，小葉開閉合角度差平均為 150 及 120 度，並無明顯變化；在 1 及 100 ppm 的濃度中，開閉合角度差會出現上升趨勢；而在 500 ppm 的濃度中時，開閉合角度差則出現明顯下降趨勢。

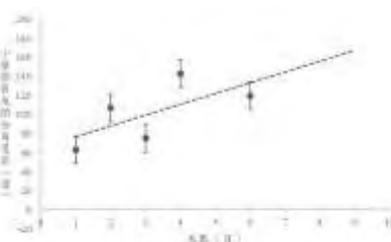
(4) 鋅離子溶液：



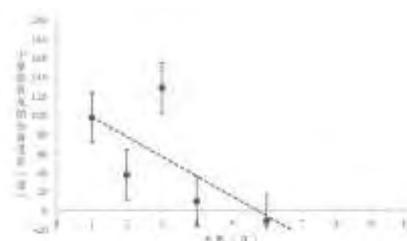
圖十八、鋅離子濃度 1 ppm 之小葉
開閉合角度差變化



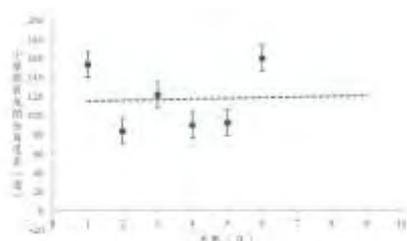
圖十九、鋅離子濃度 50 ppm 之小葉
開閉合角度差變化



圖二十、鋅離子濃度 100 ppm 之小葉
開閉合角度差變化



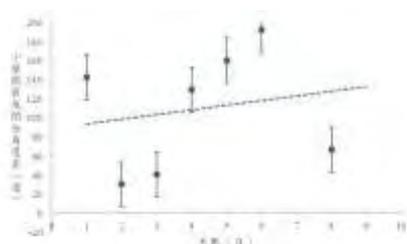
圖二十一、鋅離子濃度 250 ppm 之小葉開閉合角度差變化



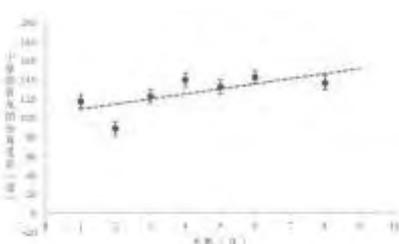
圖二十二、鋅離子濃度 500 ppm 之小葉開閉合角度差變化

從圖十八~二十二可得知，隨著實驗時間增長，當鋅離子濃度為 1 及 500 ppm 時，小葉開閉合角度差平均為 127 和 117 度，並無明顯變化；在 100 ppm 的濃度中，開閉合角度差會出現上升趨勢；而在 50 及 250 ppm 的濃度中，開閉合角度差則出現明顯下降趨勢。

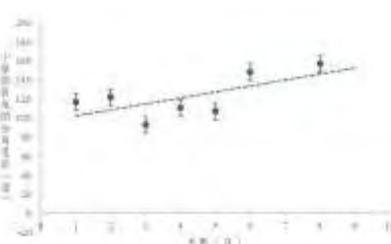
(5) 鉛離子溶液：



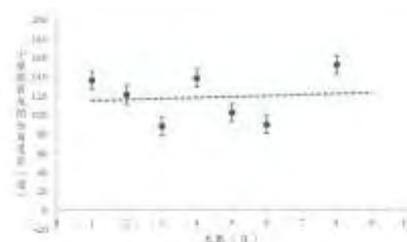
圖二十三、鉛離子濃度 1 ppm 之小葉
開閉合角度差變化



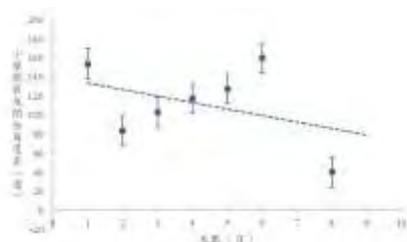
圖二十四、鉛離子濃度 50 ppm 之小葉
開閉合角度差變化



圖二十五、鉛離子濃度 100 ppm 之小葉
開閉合角度差變化



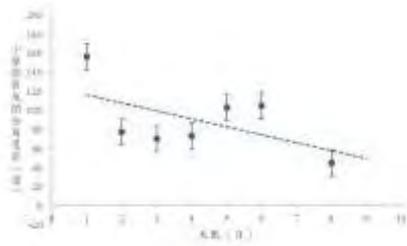
圖二十六、鉛離子濃度 250 ppm 之小葉開閉合角度差變化



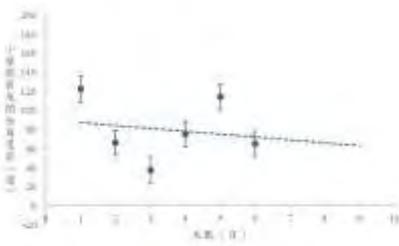
圖二十七、鉛離子濃度 500 ppm 之小葉開閉合角度差變化

從圖二十三~二十七可得知，隨著實驗時間增長，當鉛離子濃度為 250 ppm 時，小葉開閉合角度差平均為 119 度，並無明顯變化；在 1、50 及 100 ppm 的濃度中時，開閉合角度差會出現上升趨勢；而在 500 ppm 的濃度中時，開閉合角度差則出現下降趨勢。

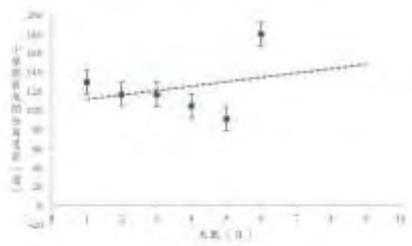
(6) 鎳離子溶液：



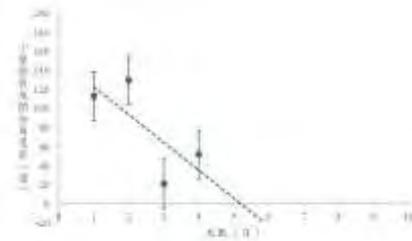
圖二十八、鎳離子濃度 1 ppm 之小葉開閉合角度差變化



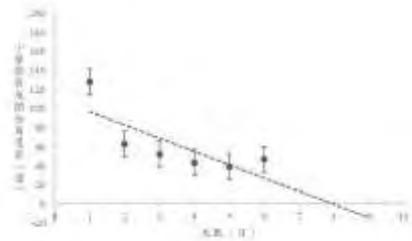
圖二十九、鎳離子濃度 50 ppm 之小葉開閉合角度差變化



圖三十、鎳離子濃度 100 ppm 之小葉開閉合角度差變化



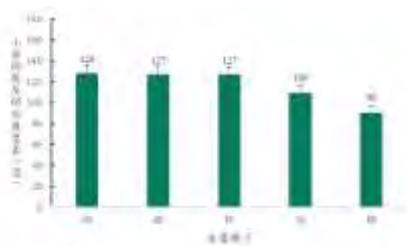
圖三十一、鎳離子濃度 250 ppm 之小葉開閉合角度差變化



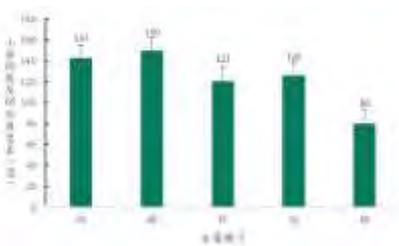
圖三十二、鎳離子濃度 500 ppm 之小葉開閉合角度差變化

從圖二十八~三十二可得知，隨著實驗時間增長，當鎳離子濃度為 50 ppm 時，小葉開閉合角度差平均為 80 度，並無明顯變化；在 100 ppm 的濃度中時，開閉合角度差會出現上升趨勢；在 1、250 及 500 ppm 的濃度中時，開閉合角度差則出現下降趨勢。

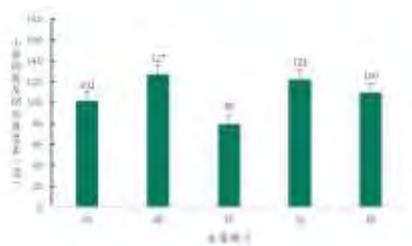
2. 當金屬離子濃度固定時，不同金屬離子對小葉開閉合角度差的影響



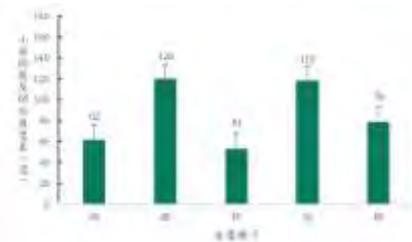
圖三十三、離子濃度 1 ppm 的小葉開閉合角度差



圖三十四、離子濃度 50 ppm 的小葉開閉合角度差



圖三十五、離子濃度 100 ppm 的小葉開閉合角度差



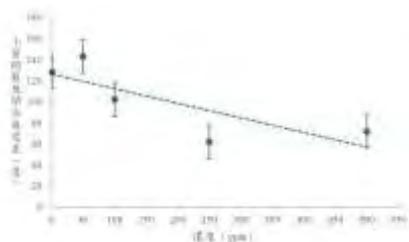
圖三十六、離子濃度 250 ppm 的小葉開閉合角度差



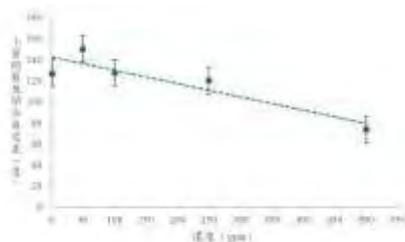
圖三十七、離子濃度 500 ppm 的小葉開閉合角度差

由圖三十三~三十七可知，在小葉開閉合角度差的變化上，當離子濃度為 1 ppm 時，銅離子角度差最大 (128°)，鎳離子最小 (90°)；50 ppm 時，鐵離子角度差最大 (150°)，鎳離子最小 (80°)；100 ppm 時，鐵離子角度差最大 (127°)，鎳離子最小 (80°)；250 ppm 時，鐵離子角度差最大 (120°)，鎳離子最小 (53°)；500 ppm 時，鎳離子角度差最大 (127°)，鎳離子最小 (62°)。

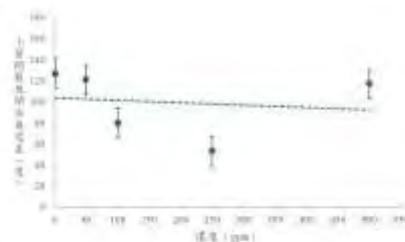
3. 當金屬離子固定時，不同濃度對開展及閉合角度差的影響



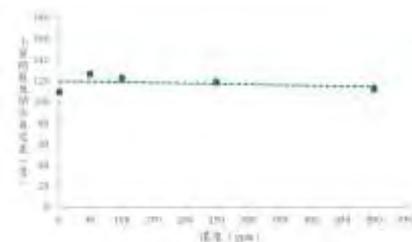
圖三十八、不同銅離子濃度對小葉開閉合角度差



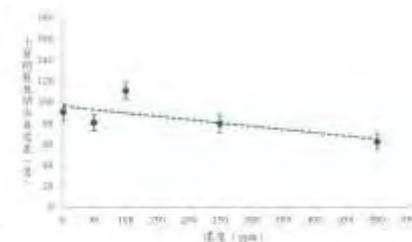
圖三十九、不同鐵離子濃度對小葉開閉合角度差



圖四十、不同鋅離子濃度對小葉開閉合角度差



圖四十一、不同鉛離子濃度對小葉開閉合角度差



圖四十二、不同鎳離子濃度對小葉開閉合角度差

由圖三十八~四十二可以得知，當銅、鐵、鎳離子濃度增加時，其實驗期間之所有數值平均的小葉開閉合角度差呈現下降趨勢；鋅離子及鉛離子濃度增加時，小葉開閉合角度差皆無明顯趨勢變化。

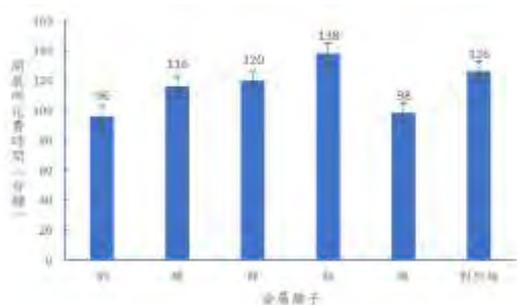
4. 比較不同重金屬離子，不同濃度對南國田字草開展及閉合時間的影響

(1) 南國田字草小葉的開展及閉合時間

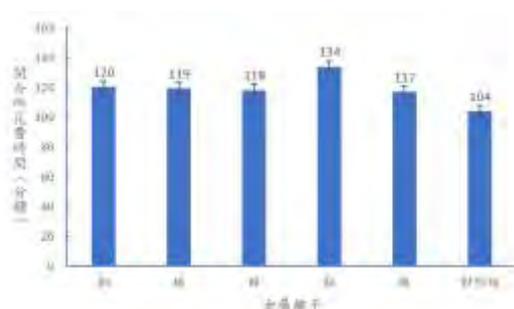
從影像判斷，種植於各個溶液中的南國田字草開展及閉合時間並沒有明顯變化，全開時間大約為早上五點三十分到六點，全閉時間則為晚上六點到七點之間。

(2) 南國田字草小葉開展及閉合所需時間

實驗中挑選中濃度（100 ppm）記錄南國田字草在不同重金屬離子溶液中，計算初開到全開所需時間與初閉到全閉所需時間。



圖四十三、南國田字草開展所需時間



圖四十四、南國田字草閉合所需時間

從圖四十三及四十四中可知，在開展所需時間方面，僅鉛離子（138 分鐘）延遲時間出現高於對照組的情形，而銅、鐵、鋅、鎳皆低於對照組，其中耗時最短為銅離子（96 分鐘）；在閉合所需時間方面，實驗組數值皆高於對照組，尤以鉛離子（134 分鐘）為最高。

四、分析不同重金屬離子在不同濃度對南國田字草生長狀況之影響

(一) 種植南國田字草時的溫度及濕度變化

表三、種植南國田字草時的溫度變化

天數 \ 天氣	1	2	3	4	5	6	7	8	9
溫度 (°C)	15~21	14~17	14~18	11~21	19~23	18~25	15~26	14~17	17~26

如表三，實驗期間除第二、三、八天比較低溫之外，其餘溫度約落在 20~22 °C 左右；有下雨時的溼度約在 90 % 以上，沒有下雨時則在 60~70 % 之間。實驗中，由於所有實驗組及對照組植株皆同時在相同環境下生長，因此溫度及濕度並不會對實驗結果產生太大的影響。

(二) 不同離子、不同濃度的重金屬水溶液實驗期間的酸鹼值變化

對照組及不同離子、不同濃度的重金屬水溶液在實驗期間（第一至九天）酸鹼值皆無明顯變化，平均數據如表四所示，不過各重金屬離子水溶液之酸鹼值均隨著濃度而稍微降低的趨勢，尤以鐵離子酸鹼值之降低幅度最大，從 1 ppm 的 6.9 降低至 500 ppm 的 2.8。

表四、不同離子、不同濃度之重金屬水溶液及對照組的酸鹼值

金屬 \ 濃度	1 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
銅	7.3	6.4	5.5	5.0	4.9
鐵	6.9	4.3	3.5	3.2	2.8
鋅	7.1	6.4	6.4	6.3	6.1
鉛	7.2	7.2	6.3	6.1	5.4
鎳	7.1	6.7	6.6	6.5	6.3
對照組	7.2				

(三) 不同重金屬溶液對南國田字草的生長狀況之影響

觀察實驗期間南國田字草的生長狀況，並記錄植株外觀變化（+：蟲咬；□：葉片黃化；▲：無法正常開展；*：植株莖部下垂；#：枯萎；※：莖部斷裂；#：枯死，實驗中死亡的植株以紅色標記，表格內的符號註記呈現生長狀況異常之部分植株情形，以-標記者則代表燒杯內植株全數死亡）。

1. 銅離子溶液

表五、種植於銅離子溶液中的植株之生長情形

天數 \ 濃度	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 ppm	+□	+□	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*
50 ppm	*	+*	*	*	*	*	*	*	*
100 ppm	*	*#	*	*	*※	-	-	-	-
250 ppm	▲*#	*#	+□	*	□*# #	-	-	-	-
500 ppm	*	+*	+□▲*	+▲*	*# #	-	-	-	-

如表五，種植於銅離子溶液中的南國田字草，幾乎都出現植株莖部下垂的現象，在銅離子濃度 100、250 及 500 ppm 中皆於實驗第五天有植株死亡，第六天全數死亡。

2. 鐵離子溶液

表六、種植於鐵離子溶液中的植株之生長情形

天數 濃度	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 ppm		▲						+	+
50 ppm							▲		
100 ppm	*	▲	※	※	+※	▲※	▲※	▲※	※
250 ppm	□	□	□▲	▲	▲	□▲	▲*	▲*	*
500 ppm		▲	▲*	▲	□▲※	□▲※	□▲※	□▲※	□※

如表六，種植於鐵離子溶液中的南國田字草，當濃度為 100 ppm 時，於實驗第三天出現植株死亡的現象；濃度為 500 ppm 時，則於實驗第五天出現植株死亡的情形。五個濃度皆有出現葉片無法正常開展的現象，在濃度為 100、250 和 500 ppm 時更為嚴重。

3. 鋅離子溶液

表七、種植於鋅離子溶液中的植株之生長情形

天數 濃度	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 ppm	+□	+▲	+	+	+	+	+▲	+	+
50 ppm		+▲*	▲	+▲	▲	▲			-
100 ppm	□▲*	+□*	□▲*	+▲*	*#	*#	*#	-	-
250 ppm	+*	*※	※	※	-	-	-	-	-
500 ppm	▲*	+▲*	*	*	*#	*#	-	-	-

如表七，種植於鋅離子溶液中的南國田字草，在濃度為 100、250 和 500 ppm 時，均出現植株莖部下垂的現象，100 及 500 ppm 溶液中的南國田字草，在實驗第五天出現植株死亡的情形；250 ppm 溶液中則有植株在實驗第二天就已經死亡。

4. 鉛離子溶液

表八、種植於鉛離子溶液中的植株之生長情形

天數 濃度	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 ppm	□	▲	+□	+□	□	□	□▲*	□*	□*
50 ppm	*	□▲	▲	▲	*		▲*		*
100 ppm	□	▲	□▲	▲□	□	□	*#	#	#
250 ppm		▲	▲	▲	▲	▲			
500 ppm	+*	▲		▲			*	*	□*

如表八，種植於鉛離子溶液中的南國田字草，各個濃度均出現葉片無法正常開展的現象，1 及 100 ppm 普遍出現葉片黃化的現象，100 ppm 溶液中的植株，於實驗第七天出現有植株死亡的現象。

5. 鎳離子溶液

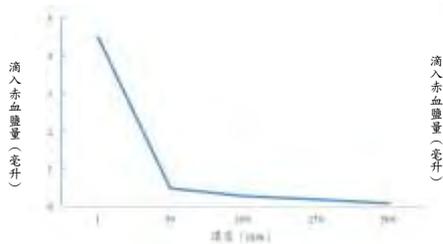
表九、種植於鎳離子溶液中的植株之生長情形

天數 濃度	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 ppm	□*	□▲*	□▲*	□▲*		*#	*#	*#	*#
50 ppm	*	+*	+□*	*	□	*#	*	—	—
100 ppm	*	+□*	*		*※	*※#	*※#	□*※#	□*※#
250 ppm	+*	□*	*	*	*#	—	—	—	—
500 ppm	*	□▲	□▲*	□▲*	□	▲*#	—	—	—

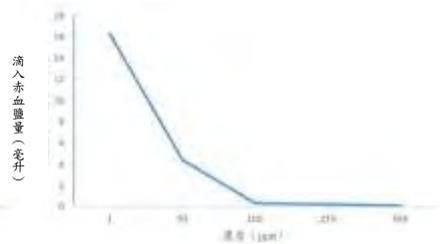
如表九，種植於鎳離子溶液中的南國田字草，幾乎都出現植株莖部下垂的現象，1 及 500 ppm 在實驗第六天出現植株死亡的現象，100 及 250 ppm 則在實驗第五天就有植株死亡。50 ppm 中的植株，於實驗第八天全數死亡；250 ppm 的植株在實驗第六天全數死亡；而濃度 500 ppm 的植株在實驗第七天全數死亡。

五、探究南國田字草對不同重金屬離子的吸附性與其受影響性之分析

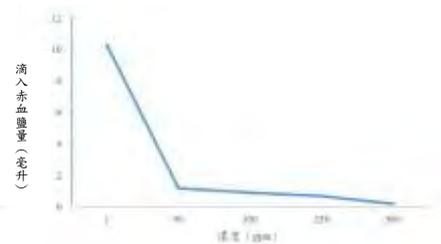
本實驗以滴定法分析南國田字草對不同金屬離子之吸附性，比較對照組（未種植南國田字草的金屬離子溶液）和實驗組（種植過南國田字草的金屬離子溶液）之間的差異，判斷南國田字草於實驗中有無吸附金屬離子。



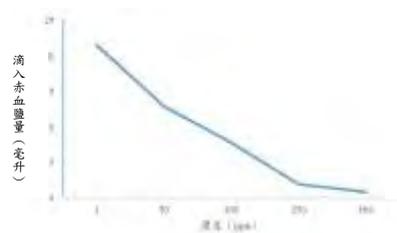
圖四十五、銅離子之對照組溶液滴入赤血鹽量變化



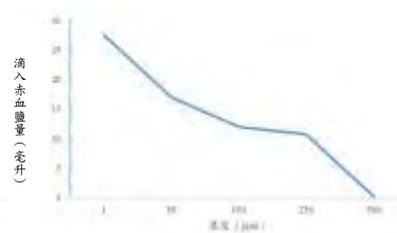
圖四十六、鐵離子之對照組溶液滴入赤血鹽量變化



圖四十七、鋅離子之對照組溶液滴入赤血鹽量變化



圖四十八、鎳離子之對照組溶液滴入赤血鹽量變化



圖四十九、鎳離子之對照組溶液滴入赤血鹽量變化

如圖四十五~四十九，溶液中離子含量越少，就需要滴入越多的赤血鹽才可觀測到沉澱反應，因此滴入的赤血鹽溶液體積就會越多，經過換算後的結果如表九~十三。由表中可得知，實驗組滴入的赤血鹽皆少於對照組，說明實驗中的植株皆有吸附重金屬離子。

(一) 銅離子溶液

表十、滴入銅離子溶液中的赤血鹽體積 (毫升)

濃度 溶液	1 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
實驗組	5.3	1.5	0.4	0.2	0.05
對照組	0.9	0.02	0.04	0.04	0.02

(二) 鐵離子溶液

表十一、滴入鐵離子溶液中的赤血鹽體積 (毫升)

濃度 溶液	1 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
實驗組	43.8	11.5	0.1	0.1	0.1
對照組	3.26	0.88	0.06	0.04	0.02

(三) 鋅離子溶液

表十二、滴入鋅離子溶液中的赤血鹽體積 (毫升)

濃度 溶液	1 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
實驗組	4.7	60.6	20.9	1.5	0.05
對照組	2.06	0.24	0.18	0.14	0.04

(四) 鉛離子溶液

表十三、滴入鉛離子溶液中的赤血鹽體積 (毫升)

濃度 溶液	1 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
實驗組	16.5	9.8	12.2	2.5	0.2
對照組	4.32	2.58	1.56	0.4	0.18

(五) 鎳離子溶液

表十四、滴入鎳離子溶液中的赤血鹽體積 (毫升)

濃度 溶液	1 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
實驗組	27.1	23.4	17.6	11	—
對照組	5.52	3.4	2.4	2.16	0.04

陸、討論

一、探討不同種類、濃度之重金屬離子對南國田字草生理時鐘隨時間影響之變化

從研究結果可發現，生長在銅離子 100、250、500 ppm、鐵離子 500 ppm、鋅離子 50、250 ppm、鉛離子 500 ppm、鎳離子 1、250、500 ppm 溶液中**南國田字草小葉夾角之角度差有下降趨勢**；在鐵離子 1 ppm、鋅離子 100 ppm、鉛離子 1、50、100 ppm、鎳離子 100 ppm 溶液中**南國田字草小葉夾角之角度差有上升趨勢**。

小葉的開閉合是植物**膨壓機制使細胞內外壓力不同**所致，而控制細胞壓力變化之機制主要有三個學說，分別為澱粉—糖轉化學說、無機離子吸收學說及蘋果酸生成學說。其中，多數人支持的學說為**無機離子吸收學說**。該學說認為，細胞的滲透勢是由鉀離子濃度調節，而植物的主動運輸機制—鈉鉀幫浦，會使鈉離子由細胞內移至細胞外，並將鉀離子移至細胞內，進而造成細胞內外的濃度梯度差，使得細胞外的物質可以進入到細胞中，過程中將由一種蛋白質激酶及水解酶參與運輸過程。在孔繁翔、陳穎與章敏（1997）探討《鎳、鋅、鋁對羊角月芽藻生長及酶活性影響》之研究中，提到鎳、鋅、鋁等金屬離子對酶活性有明顯抑制作用，因此我們推斷**若小葉夾角之角度差有下降趨勢，則說明金屬離子抑制植物細胞內酶的活性；若小葉夾角之角度差有上升趨勢，則說明金屬離子激活植物細胞內酶的活性，造成角度差的高低。**

二、比較不同種類、濃度之重金屬離子對南國田字草小葉開閉合角度差之影響

研究結果顯示，鉛離子隨著濃度增加，小葉角度差並沒有出現明顯趨勢。經質性分析後，發現鉛離子溶液出現沉澱的現象，使得植株對鉛離子的吸附量較少，造成結果沒有明顯趨勢。

而隨著濃度增高，銅、鐵、鋅、鎳離子則皆會使小葉開閉合角度差下降，且分析植性結果發現銅、鋅、鎳離子在中、高濃度時皆會導致植株死亡，在參考相關文獻之後，發現銅、鋅、鎳離子皆為植物生長所需的微量元素，但若吸附量超過植物正常生長時所需的量，仍會導致植株健康狀況下降。推測實驗中，**中、高濃度的銅、鋅、鎳重金屬水溶液，已超過植株的耐受度，因而產生角度差下降的情形。**

南國田字草在實驗中對於鐵離子的耐受度佳，但實驗中所配置之鐵離子溶液隨濃度增加有 pH 值明顯偏酸性的情形，而南國田字草偏好生長在鹼性環境，因此在酸性逆境的影響下，鐵離子組的小葉角度差隨濃度增加而有明顯下降趨勢，可知**高濃度的鐵離子會抑制細胞內酶的活性，間接影響植物的鈉鉀幫浦，進而導致小葉開閉合角度差下降。**

葉國楨（2018）在《植物對重金屬逆境之研究與應用》中提到鐵離子容易影響植物生理時鐘，而由本研究發現當鐵離子濃度越高，小葉角度差會出現下降的趨勢，與文獻結果相符。

三、比較不同重金屬離子對南國田字草開閉時間及其所需時間之影響

研究發現重金屬離子對南國田字草之完全開展及閉合時間沒有明顯影響。在開展所需時間的分析中，可以看出鉛離子會明顯延遲開展所需時間，而銅、鎳離子則會縮短花費的時間；在閉合所需時間的分析中，可以看出重金屬離子結會延長閉合所需的時間，其中以鉛離子最為明顯。我們推測開閉合所需時間的長短變化，是重金屬離子促進或抑制膨壓機制的運行導致，代表銅、鎳離子在開展時會加快膨壓機制的進行，而鉛離子則會延遲；在閉合時所有離子皆會影響植株的膨壓機制，其中又以鉛離子最為明顯。

四、探討南國田字草對不同重金屬離子之耐受度

比對質性結果，在銅離子 100 至 500 ppm 時植株出現枯死現象，皆於第六天全數死亡，故推斷南國田字草對銅離子之耐受度在 50 至 100 ppm。

安志裝、王校常、施衛明、嚴蔚東與曹志洪（2006）在《重金屬與營養元素交互作用的植物生理效應》提到，鐵是一種需量較多的植物必需微量營養元素，在植物的許多生理生化過程中都起作用。植物鐵營養狀況明顯受到環境條件的影響，北方大面積的石灰性土壤由於較高的 pH 值常會導致鐵缺乏現象發生；南方某些較高的鐵含量土壤中，在某些（如強還原）條件下，也可能引起鐵毒害症狀。大多數情況下，鐵缺乏症狀比較常見。而本研究中鐵離子溶液 1 至 500 ppm 皆沒有出現植株全數死亡的現象，故推斷南國田字草對鐵離子之耐受度應可達 500 ppm。

從質性結果可發現當鋅離子濃度高於 1 ppm 時植株皆於實驗中死亡，故推斷南國田字草對鋅離子之耐受度介於 1 至 50 ppm。

鉛離子溶液中只有出現莖部斷裂而死亡之植株，且除了 250 ppm，其他濃度皆出現葉片黃化的現象。實驗後發現鉛離子溶液有沉澱的現象，造成植株只吸附了微量的鉛離子，因此無法明確推斷南國田字草對鉛離子之耐受度。

鎳離子 50、250、500 ppm 分別於第八天、第六天、第七天全數死亡，其中生長在 50 ppm 之植株先前無明顯異，卻於第八天死亡，推斷其死亡原因為其他環境因子造成；而 250、500 ppm 之植株卻出現枯死的現象，故推斷南國田字草對鎳離子之耐受度在 100 至 250 ppm。

五、分析重金屬離子及相關環境因子對南國田字草生理機制之影響

銅離子在每種濃度下皆會使植株出現莖部下垂及枯死現象，葉顯銘等人（2004）提出，高濃度的銅會使根部細胞壞死，故推測是植株根部壞死導致水分吸收受到影響，進而造成植株出現異常。

鐵離子在 100 ppm 以上出現植株無法正常開展之現象，推測是膨壓機制受到了影響導致，在 500 ppm 出現嚴重的植株黃化現象。

由生長狀況的分析可以看到許多植株原先並無異狀卻在第八天突然死亡，比對實驗中之溫度記錄可發現第八天相較於其他日天氣溫較低，一方面氣溫過低可能使南國田字草無法正常閉合甚至死亡，再者，長時間的重金屬離子環境對南國田字草生長造成不良影響而死亡。

六、分析南國田字草對不同金屬離子之吸附性

本研究採用沉澱滴定法分析南國田字草其對於重金屬離子之吸附性，赤血鹽會和溶液中的重金屬離子螯合並產生沉澱，當溶液滴入赤血鹽後產生變色或混濁情形，即為滴定終點。當重金屬離子濃度越高，與赤血鹽碰撞並螯合的機率就越高；而重金屬離子濃度越低，與赤血鹽碰撞並螯合的機率就越低。因此當重金屬離子濃度越低，則需要滴入更多的赤血鹽才能產生沉澱並達到滴定終點。本次實驗的結果中，實驗組皆需要滴入比對照組更多的赤血鹽才能達到滴定終點，說明實驗中的每組南國田字草都有吸附重金屬離子。

七、未來展望

本次實驗了解到重金屬離子對植物生理時鐘存在一定影響性，並初步分析南國田字草對重金屬逆境之耐受性，下一步希望能分析植物面對重金屬逆境之應對方式，包括重金屬離子在植物體內部位的累積及細胞內的儲存情形，並分析南國田字草對不同重金屬離子及濃度之吸附性，與其他植物進行比較，進一步找出植物面對重金屬逆境之確切機制並且應用於環境中重金屬離子的清除，而南國田字草對於重金屬離子的吸附情形方面，是水生植物中具有高效能螯合重金屬離子的物種之一(Ahmad, Ghufan, & Zularisam, 2010)，因此可作為生物覆育植材，對於水域環境的重金屬清除具有重要意義。

柒、結論

本研究探討重金屬逆境對植物生理時鐘機制之影響，針對南國田字草睡眠運動時所呈現之小葉夾角進行量化分析，並記錄南國田字草生長情形。試驗結論包括：

1. 雖然光線是影響植物生理時鐘之主要因子，但本次研究發現重金屬離子亦會對植物生理時鐘存在相當影響。
2. 五種重金屬離子皆會延遲小葉閉合所需時間；而在小葉開展所需時間方面，鉛離子有延遲情形；銅、鎳離子則有縮短現象，並影響南國田字草之小葉夾角，其中又以鐵離子最為明顯。尤其越高濃度的鐵離子酸鹼值有明顯下降趨勢，可能也是導致其小葉夾角顯著降低之原因。
3. 從生長狀況觀察（表五至九），發現南國田字草對銅、鐵、鋅、鎳離子之耐受度分別為 50 至 100 ppm、500 ppm、1 至 50 ppm 及 100 至 250 ppm。
4. 由實驗中可得知，南國田字草對於本研究中的重金屬離子皆有吸附情形，可作為良好的生物覆育植材，在清除水域環境中的重金屬汙染可作為指標植物，以期達成環境覆育之效果。

未來希望能進一步分析南國田字草對重金屬離子之吸附性，進行更精準的量化分析，並與其他植物進行比較，了解南國田字草吸附重金屬離子之情形及確切機制。

捌、參考資料及其他

一、參考資料

- (一) Ahmad, A., Ghufuran, R., & Zularisam, A. W. (2010). Phytosequestration of Metals in Selected Plants Growing on a Contaminated Okhla Industrial Areas, Okhla, New Delhi, India. *Water Air Soil Pollut*, 217(1-4), 255-266. doi:10.1007/s11270-010-0584-9.
- (二) 安志裝、王校常、施衛明、嚴蔚東與曹志洪 (2002)。重金屬與營養元素交互作用的植物生理效應。 *土壤與環境*, 11(4), 392-396。
- (三) 葉顯銘、陳少燕、黃定鼎與黃浩仁 (2004)。清理重金屬污染的植物。 *科學發展*, 380, 44-49。
- (四) 吳純宜、莊雅雲、李貽華與徐慈鴻 (2009)。六種重金屬之浮萍毒性試驗。 *植物保護學會會刊*, 51, 69-82。
- (五) 李影與王友保 (2010)。4種蕨類草本植物對 Cu 的吸收和耐性研究。 *草業學報*, 19(3), 191-193。
- (六) 王松良、陳永快、曹志全與曾志正 (2012)。植物對金屬鎘逆境的應答機制及其應用研究進展。 *農林學報*, 61(4), 351-367。
- (七) 葉國楨 (2018)。 *植物對重金屬逆境之研究與應用*。中央研究院。
- (八) 黃品瑄 (2015)。 *阿拉伯芥與蕨類 GIGANTEA 同源基因在處理氧化壓力調節之功能差異*。國立中興大學生物科技學研究所碩士論文。
- (九) 羅聲晴與林哲仁 (民 97)。 *電位測量法之應用*。大學化學普通實驗。第十二版。臺北市：國立臺灣大學出版中心。
- (十) 周鎡岑與白旻昇 (2008)。 *色彩變變變--自製重金屬檢測試紙及檢測流程研究*。中華民國第四十八屆中小學科學展覽會國中組理化科。
- (十一) 劉佩紋、顏苑李、黃亭皓與黃俊富 (2009)。 *水質監測-水生生物與重金屬之分析研究*。中華民國第 49 屆中小學科學展覽會高中組生物 (生命科學) 科。
- (十二) 李昱婷、林芷妤與藍宇君 (2014)。 *「蕨」無僅有-南國田字草的秘密檔案*。中華民國第 54 屆中小學科學展覽會國中組生物科。
- (十三) 張家郡 (2009)。 *綠色奇蹟-植物的秘密生命*。全國高級中等學校小論文。
- (十四) 李瑋齡與楊穎淑 (2010)。 *傾聽生物時鐘的滴答聲*。全國高級中等學校小論文。
- (十五) 張修華與蔡育霖 (2015)。 *閉月羞「草」—植物會痛嗎?*。全國高級中等學校小論文。
- (十六) 夏靖雯、蔡政諺、郭雲亭 (2010)。 *你毒我!? 我吸你*。全國高級中等學校小論文。

【評語】 030309

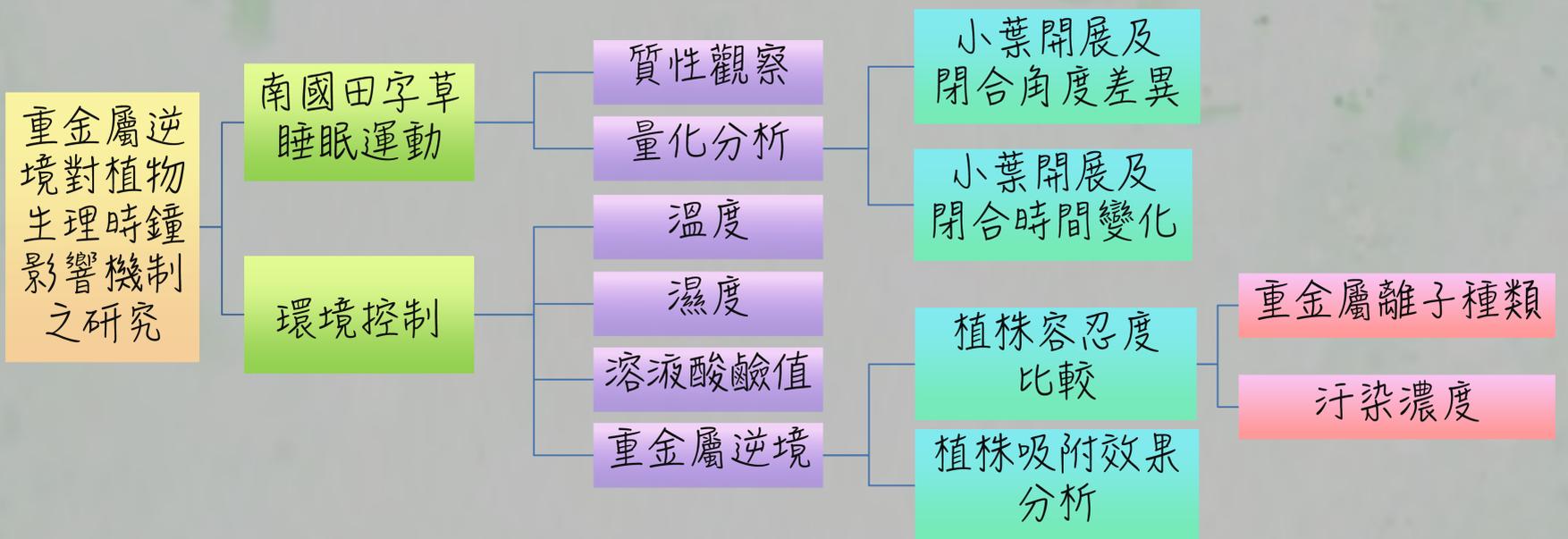
本實驗主要探討銅、鐵、鋅、鉛、鎳等重金屬逆境對南國田字草在進行睡眠運動的小葉開閉合角度及所需時間進行量化與質性分析。結果發現南國田字草本身會吸附重金屬，而隨著重金屬濃度的增加，南國田字草之小葉夾角的閉合角度差會下降。結果發現南國田字草對不同的重金屬的耐受度不同。

1. 報告中在添加不同重金屬於培養液中並觀察南國田字草生長情形的實驗中（例如表五），建議加入一組完全不添加重金屬的對照組作為比較。對照組的呈現是一個實驗結果可性度的一個重要指標。
2. 報告中以小葉夾角的閉合角度差是否可以用來當作生理時鐘的指標具有爭議性，而研究結果顯示種植於各個溶液中的南國田字草開展及閉合時間並沒有明顯變化，而南國田字草開展及閉合時間比較適合當作生理時鐘的變化指標，所以重金屬是否會影響植物生理時鐘的結論需要進一步驗證。此研究所得結果，後續可以再進行相關深入研究規劃，應持續有有意義的結果可作為環境監測指標。

摘要

本研究探討銅、鐵、鋅、鉛、鎳重金屬逆境對南國田字草 (*Marsilea crenata*) 之影響，針對南國田字草睡眠運動的小葉開閉合角度及所需時間進行量化與質性分析。結果顯示，重金屬離子會延遲或縮短小葉開閉合所需時間；重金屬離子影響南國田字草之小葉夾角以鐵離子最為明顯。由實驗可發現南國田字草對重金屬離子皆有吸附性，對於水域環境之重金屬清除具有重要意義。隨著種植時間增加，南國田字草小葉開閉合角度差在重金屬離子濃度100 ppm以下多有上升趨勢；在100 ppm以上則出現下降趨勢。隨著濃度增加，可發現銅、鐵、鋅、鎳離子皆會使角度差出現下降趨勢。分析植株的生長狀況，可推估南國田字草對不同重金屬離子之耐受度，並藉以判斷重金屬離子影響植物生理時鐘之機制。

研究架構



研究目的

- 一、了解南國田字草的生理時鐘機制。
- 二、探討不同重金屬離子與濃度對南國田字草生理時鐘之影響。
- 三、分析不同重金屬逆境對南國田字草生長狀況之影響。
- 四、探究南國田字草對不同重金屬離子的吸附性與其受影響性之分析。

研究過程及方法

環境設置：有屋頂遮擋、但開放式的實驗環境。

植株挑選：植株葉片大小須為1~2公分。

栽種前置：將南國田字草種植於水中一週，以適應水耕環境。

選定重金屬離子：銅、鐵、鋅、鉛、鎳離子。

重金屬離子濃度：1、50、100、250、500 ppm。



量化分析

① 開展角度與閉合角度



圖二、開展情形 圖三、開展角 圖四、閉合角

② 小葉全開及全閉時間

③ 小葉開展及閉合所需時間

質性觀察

以影像及照片記錄南國田字草生長情形，並與溫度、濕度和溶液酸鹼值進行比對。



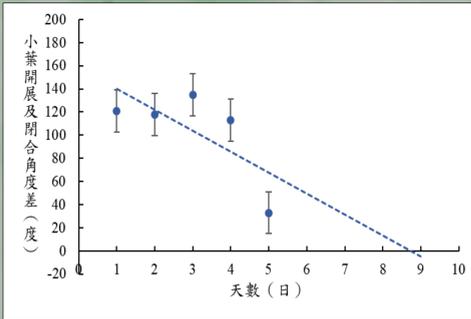
比較植株對重金屬逆境的耐受度

分析南國田字草對重金屬離子之吸附性

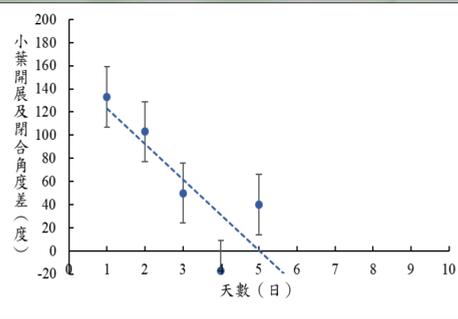
利用赤血鹽進行滴定，用以判斷南國田字草吸附重金屬離子之情形。

研究結果與討論

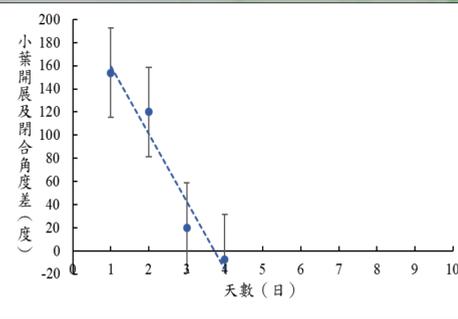
一、探討不同種類、濃度之重金屬離子對南國田字草生理時鐘隨時間影響之變化



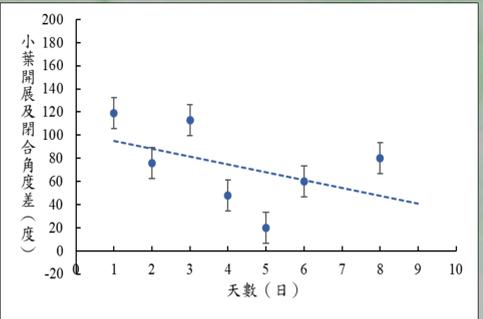
圖五、銅離子100 ppm 之小葉角度差變化



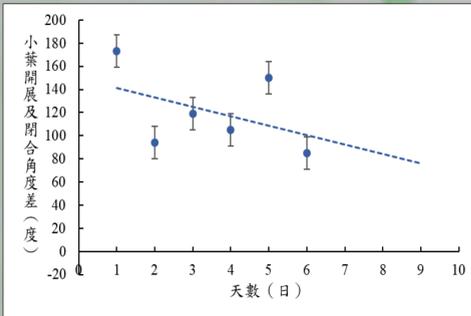
圖六、銅離子250 ppm 之小葉角度差變化



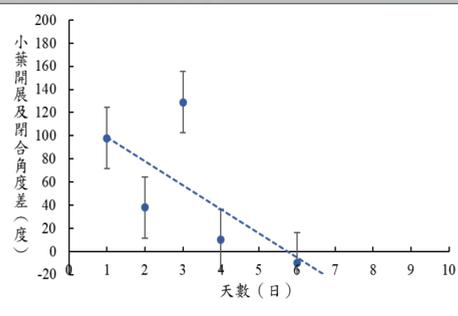
圖七、銅離子500 ppm 之小葉角度差變化



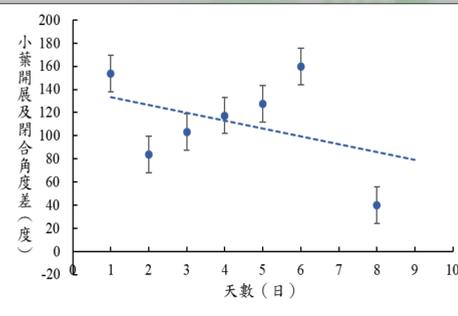
圖八、鐵離子500 ppm 之小葉角度差變化



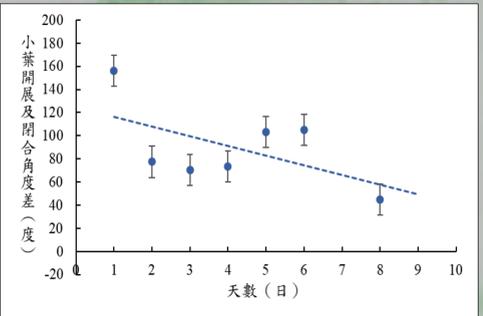
圖九、鋅離子50 ppm 之小葉角度差變化



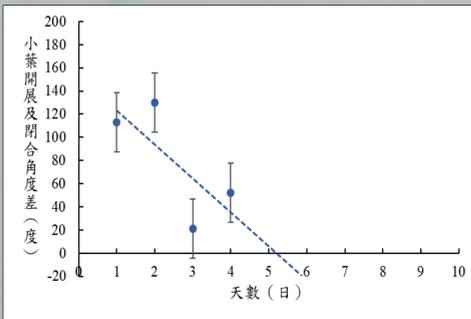
圖十、鋅離子250 ppm 之小葉角度差變化



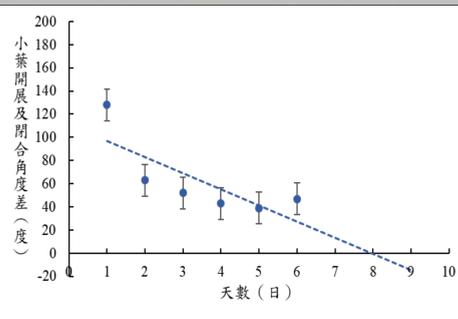
圖十一、鉛離子500 ppm 之小葉角度差變化



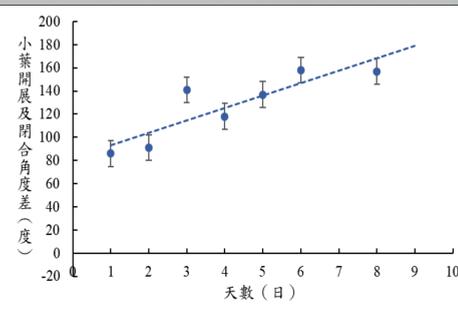
圖十二、鎳離子1 ppm 之小葉角度差變化



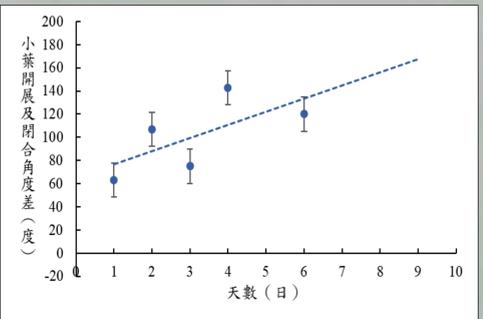
圖十三、鎳離子250 ppm 之小葉角度差變化



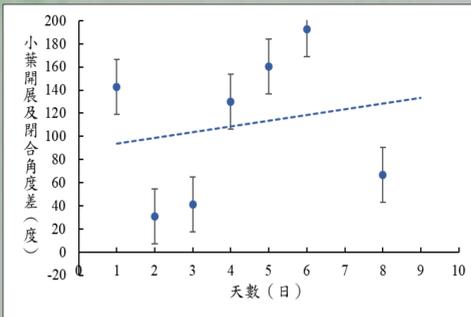
圖十四、鎳離子500 ppm 之小葉角度差變化



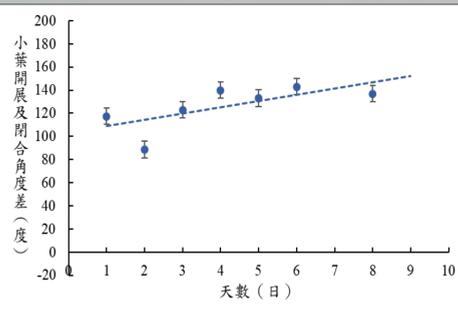
圖十五、鐵離子1 ppm 之小葉角度差變化



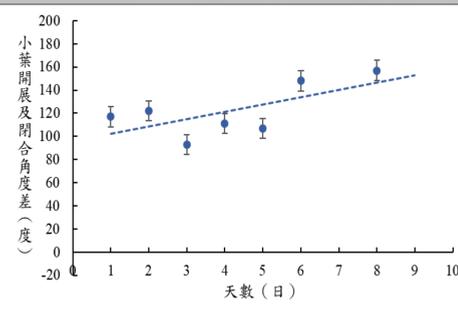
圖十六、鋅離子100 ppm 之小葉角度差變化



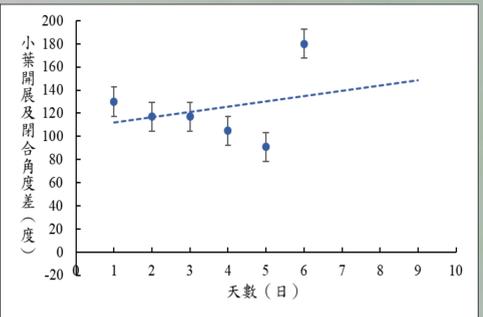
圖十七、鉛離子1 ppm 之小葉角度差變化



圖十八、鉛離子50 ppm 之小葉角度差變化



圖十九、鉛離子100 ppm 之小葉角度差變化



圖二十、鎳離子100 ppm 之小葉角度差變化

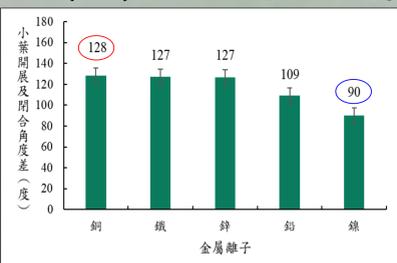
每一種重金屬離子隨時間增加皆會影響小葉夾角之角度差，比對數據可知：植株在中高濃度下，角度差有下降趨勢；在中低濃度下則有上升趨勢。



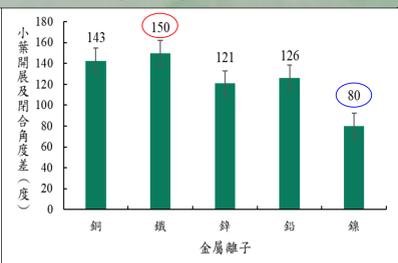
圖二十一、重金屬離子影響小葉開閉合之機制

二、探究不同重金屬離子在不同逆境濃度下對南國田字草小葉開閉合角度差之影響

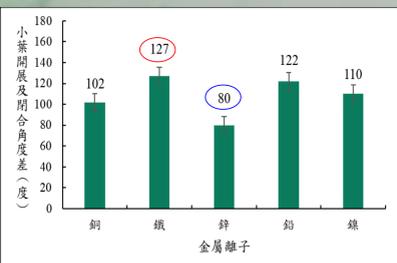
(一) 固定重金屬離子濃度



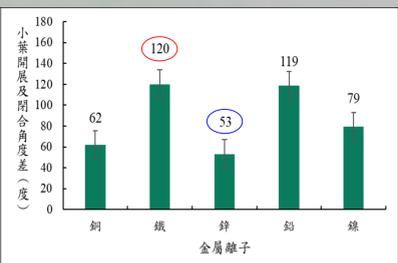
圖二十二、濃度1 ppm 之小葉角度差



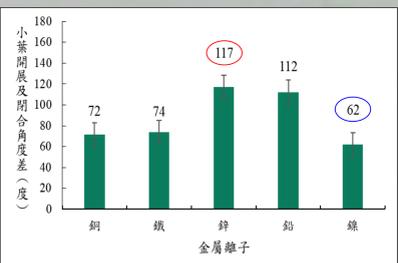
圖二十三、濃度50 ppm 之小葉角度差



圖二十四、濃度100 ppm 之小葉角度差

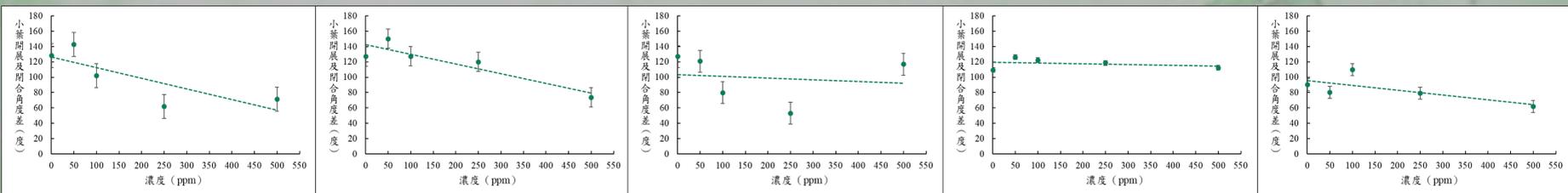


圖二十五、濃度250 ppm 之小葉角度差



圖二十六、濃度500 ppm 之小葉角度差

(二) 固定重金屬離子



圖二十七、銅離子溶液 小葉角度差 圖二十八、鐵離子溶液 小葉角度差 圖二十九、鋅離子溶液 小葉角度差 圖三十、鉛離子溶液 小葉角度差 圖三十一、鎳離子溶液 小葉角度差

由圖二十七~三十一可知，當銅、鐵、鎳離子濃度增加時，小葉開展及閉合角度差呈現下降趨勢；鋅離子及鉛離子濃度增加時，小葉開展及閉合角度差較無明顯趨勢變化。

比較不同重金屬離子在不同逆境濃度的角度差表現

當環境中的銅、鐵離子濃度為50ppm時（圖二十三），會激活植物細胞內酶的活性，使角度差會高於對照組之數值。

推斷南國田字草對不同重金屬離子之耐受度

隨著濃度增高，中高濃度的重金屬水溶液可能已經達到實驗中的南國田字草之負荷極限，產生角度差下降的情形（圖二十七~三十一）。

表一、南國田字草對不同重金屬離子之耐受度

離子	銅	鐵	鋅	鉛	鎳
耐受度(ppm)	50-100	>500	1-50	-	100-250

鉛離子角度差沒有出現明顯趨勢（圖三十），由質性觀察發現，鉛離子溶液有出現沉澱的現象，因此無法推斷耐受度（表一）。

鐵離子影響小葉角度差最明顯，實驗結果與文獻結果相符

葉國楨(2018)在《植物對重金屬逆境之研究與應用》中提到鐵離子容易影響植物生理時鐘，在本研究中亦發現重金屬離子影響角度差以鐵離子最為明顯，且隨濃度上升，角度差有下降趨勢（圖二十八），實驗結果與文獻結果相符。

三、分析不同重金屬離子在不同濃度對南國田字草生長狀況及開閉時間之影響

質性觀察	量化時間	
	完全開閉合時間	小葉開閉合所需時間
生長在重金屬溶液之植株普遍有黃化及莖部下垂的現象	開展：早上9~10點 閉合：晚間6~7點	縮短
		延遲
	銅、鐵、鋅離子（低濃度）	<ul style="list-style-type: none"> 銅、鐵、鋅離子（中高濃度） 鉛離子開展多有延遲

四、分析南國田字草對不同重金屬離子之吸附性

實驗顯示南國田字草對實驗之重金屬離子皆有吸附性，說明實驗中重金屬離子對南國田字草具影響性，且南國田字草可為良好的生物覆育植材，在清除水域環境中的重金屬汙染可作為指標植物。

結論與展望

本研究探討重金屬逆境對植物生理時鐘機制之影響，針對南國田字草睡眠運動之小葉夾角角度及開閉合時間進行量化分析，並記錄其生長情形。結論包括：

- 本次研究發現重金屬離子對於植物生理時鐘存在相當影響。
- 銅、鐵、鋅離子在低濃度會縮短開閉合所需時間；中高濃度則有延遲現象；而鉛離子在小葉開展所需時間方面，多有延遲情形。重金屬離子會影響南國田字草之小葉夾角，其中又以鐵離子最為明顯。尤其越高濃度的鐵離子酸鹼值有明顯下降趨勢，可能也是導致其小葉夾角顯著降低之原因。
- 南國田字草對於銅、鐵、鋅、鎳離子之耐受度分別為 50至100 ppm、500 ppm、1至50 ppm 及 100至250 ppm。

未來希望能進一步精準量化分析南國田字草對重金屬離子之吸附性，並與其他植物進行比較，了解南國田字草吸附重金屬離子之情形及確切機制。