

中華民國第 62 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

探究精神獎

030315

蘊轉首之鏈

學校名稱：桃園市立平興國民中學

作者： 國二 蔡宜庭	指導老師： 廖俊傑 賴玉芳
---------------	---------------------

關鍵詞：水蘊草、細胞質流

摘要

水蘊草是很重要的實驗材料，我們之前發現溫度約15-20°C、光照約1000 lux 時的葉綠體流動機率最高也最快，且葉綠體流動特性會因細胞形態及外在條件而有差異。本次我們利用縮時攝影檢視水蘊草的細胞質流，發現隨著一天日照強度變化，上午細胞質流會隨時間變快、過中午後會變慢；且中午時葉綠體會聚集成團、流動比例降低。進一步觀察光照強度對水蘊草細胞的影響，發現光線不足時葉綠體靜止不動且均勻分散，讓受光的表面積最大化；隨著光照增加，葉綠體重新排列，移動到細胞邊緣後開始進行細胞質流。細胞質流模式有速度慢、方向不定的紊流及速度快、順逆時針的層流，而強光下葉綠體會出現聚集成堆、流動停滯的現象。不同細胞質流模式會因光照條件而轉換。

壹、前言

一、研究動機

水蘊草(*Egeria densa*)是自然課觀察植物細胞很常用的材料，除了觀察細胞基本結構，例如細胞壁、細胞膜及葉綠體之外，在某些條件下也可以觀察到水蘊草細胞中的葉綠體流動，這種流動就是所謂的細胞質流(cytoplasmic streaming, cyclosis, 又稱為原生質流)。依我們查詢資料及先前做實驗觀察的結果【2】，我們發現室溫大約攝氏15-20度(°C)上下、光照度約1000勒克斯(lux)時，葉綠體流動機率最高、流動速度也最快，因此要觀察到葉綠體流動要在正確的時機點與環境條件下，可以最順利觀察到。但是究竟什麼環境條件才是水蘊草葉綠體流動起始的最關鍵因素？葉綠體從靜止到流動的過程變化如何？以及這個過程的生物意義是什麼？仍是個待探討的現象！

在先前多次觀察中我們發現，水蘊草的葉綠體流動似乎有著一定的時間規律，而細胞內的細胞質流方式有順、逆時鐘以及非順、逆時鐘的模式，這種規律會不會就是植物物質運輸的最初始方式以及關鍵呢？除此之外，我們也懷疑其他可能影響葉綠體在細胞空間中流動的環境及內部條件，例如細胞質空間或細胞完整性，也是細胞質流很關鍵的條件，因此我們進一步觀察細胞收縮或細胞不完整的狀況下，是否仍有水蘊草的細胞質流及規律存在。

二、目的

本研究目的以水蘊草為研究對象，延伸我們先前對水蘊草細胞質流的初步認識，進一步對細胞質流動特性進行探討，以及環境中讓水蘊草產生細胞質流的關鍵因素探討。

(一)水蘊草細胞質流的特性觀察。

1. 水蘊草細胞質流的模式觀察與探討。
2. 水蘊草葉片分區細胞的細胞質流特性探討。

(二)觀察水蘊草一天當中細胞質流的變化。

(三)研究水蘊草細胞質流起始的關鍵條件與前後之變化。

(與教材相關性：國中生物實驗2-1 細胞的觀察、3-3 植物如何製造養分)

三、文獻回顧

水蘊草是從國小到大學就很常被使用來做植物細胞結構觀察的材料，也可以很清楚的觀察到水蘊草細胞中的葉綠體流動，也就是細胞質流；細胞質流是指動物或植物細胞內，液態的原生質(cytoplasm)流動的現象，這種現象於1830年代由生物學家在顯微鏡下第一次觀察到，也讓我們更相信細胞是構成生物的基本單位。研究顯示，細胞質流可以帶動細胞中的物質及胞器等構造流動、加速細胞內及細胞間的物質交換，也可以將養分、代謝物質及基因訊息分散到細胞內的每個角落。而細胞質流的運作方式目前還沒有辦法被完全解析，普遍認為它是藉由三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, 縮寫 ATP)提供能量，使連接在胞器上的肌凝蛋白分子(myosin)擺動、進而帶動胞器等構造沿著細胞內的肌動蛋白纖維(actin fibres)移動，來牽引著胞器和帶動其他細胞內物質朝著相同方向移動【6、9】；但也有相反的理論認為外在水流與細胞質內的物理流體運動，也會影響胞器的流動【10】。

水蘊草葉片只有兩層細胞，依我們先前對水蘊草的研究【2】，我們將葉片區分為葉脈區(或稱中肋區)、葉肉區及葉緣區。葉脈區及葉緣區細胞較細長，葉綠體大多順/逆時針方向流動、流速較快；葉肉區細胞較短胖、葉綠體流動方向較不規律，流速較慢；而水蘊草葉片細胞，可以概分為三個類型：表皮細胞(epidermal cell)、異形細胞(idioblast)與牙細胞(prickle-hair or the marginal-tooth cell)【8】。表皮細胞普遍存在葉片各區，內有大量葉綠體，是行光合作用主要的細胞類型，在近軸面(adaxial side)的表皮細胞是遠軸面(abaxial side)的兩倍寬；異形細胞因為沒有葉綠體所以顏色透明，功能不明，在葉片的近軸或遠軸面都有分布；牙細胞成尖牙狀，位於葉緣，推測應該跟葉片保護有關。環境條件上，室溫約15-20°C、光照約1000 lux 為水蘊草葉綠體流動的較適環境條件，溫度太高或太低、照度過強或太弱，葉綠體流動機率都會降低；而外在水流會讓正常環境條件下葉綠體流

動機率降低。這和前人的研究【1】也能互相印證，但卻還是沒有方法能百分之百有效地讓觀察者可以看到水蘊草細胞質流；我們所觀察到『時來蘊轉』【2】的水蘊草，不外乎受到一日當中環境的因素有關係，由 Campbell biology 中所敘述，細胞質流需要 ATP 供給，而水蘊草產生能量的機制主要為經由光合作用將光能轉變為化學能，再經由呼吸作用將化學能轉變為 ATP，在先前的研究【1】也探討過淨光合作用(net photosynthesis)對細胞質流的影響:光合作用效率要大於呼吸作用時，才會有多餘能量讓細胞質流更容易發生。


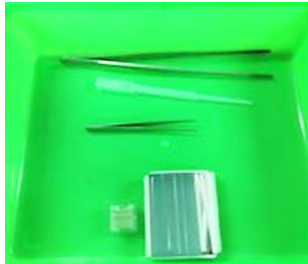


究竟哪一個環境條件才是影響細胞質流的最關鍵因素呢?是光照、溫度、水流還是滲透壓呢?它又是如何作用的?本次希望可以延伸我們之前實驗的結果，用更簡單且直觀的攝影方法，針對水蘊草細胞質流這個有趣的現象，對關鍵因素做更進一步地探討，以提供相關的教學以及研究工作提供參考。

貳、研究設備及器材

一、儀器設備與軟體:

數位式雙目解剖顯微鏡(Cat eye)	複式光學顯微鏡 (Cat eye)	載物台測微尺	iPhone 手機
三軸手機支架 NexYZ	專業級照度計 TES-1339R	電子天平 BH3-600	恆溫水浴槽
測量分析軟體: ImageJ	測量分析軟體: Tracker 6.0.6	統計軟體: Microsoft excel 2016	統計軟體: GraphPad. Prism. v5. 01

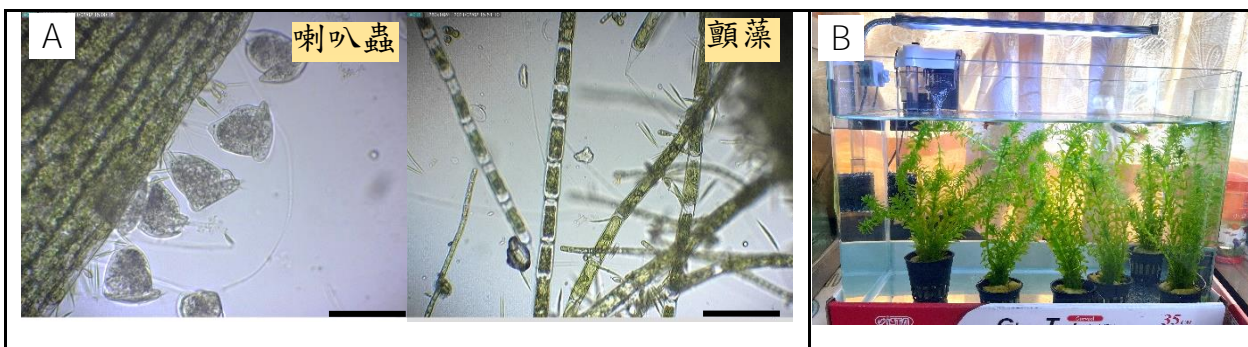
二、研究器材和藥品

10 ml 量筒/1000 ml 燒杯/75 ml 漏斗	鑷子/滴管/載玻片/蓋玻片/培養皿	培養箱及水蘊草	氯化鈉(試藥一級) NS 日本試藥
			

三、生物材料

水蘊草 (*Egeria densa*) 又名蜈蚣草，分類上屬於被子植物門、單子葉植物綱、澤瀉目、水蘊科、水蘊草屬，原生於南美洲氣溫較高的區域，目前在台灣全境平地至山區的溝渠、水田及池塘濕地皆有，為普遍歸化種水生植物，為多年生草本沉水性植物。

水蘊草莖呈圓柱形，可直立或橫生於水中，根部會緊緊插在泥土裡，莖並不會露出水面。水蘊草可生長在水深 4 公尺以內的水域，其莖幹有分節，總長可以長達 2 公尺；葉子為 4-8 枚輪生，長約 1.5~2 公分，寬 0.2~0.3 公分，呈長披針狀線形，具細鋸齒緣，有一主脈。



圖一、水蘊草的馴化與養殖狀況

(A) 水蘊草養殖環境若無水流，容易滋生大量其他水中小生物，包含喇叭蟲、顫藻…等。

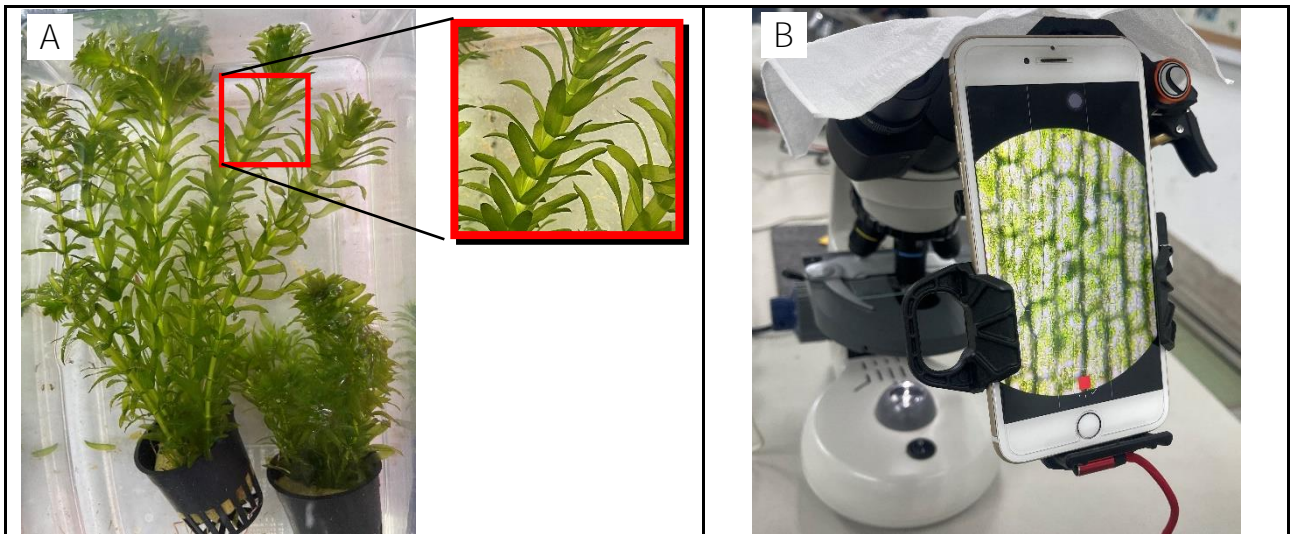
(B) 水蘊草買回來後與孔雀魚馴化共養，維持適當光照及循環水流。

(圖中刻度為 200 微米，單位縮寫為 μm)

水蘊草的養殖可直接將莖枝折斷後，栽植於水中之泥土、放到水池或魚缸中，大概一星期就能發芽、發育成新個體，有淨化及美化水質的功能，常作為實驗、觀賞、養魚的材料，目前在台灣野外也已馴化繁生，可在某些水域看到它的蹤影。我們依水蘊草特性進行馴化與養殖，發現養殖的條件不能太暗、亦不能是太陽直射處，否則會死亡及白化；而遮蔭下的靜止水缸雖然適合，但卻容易繁生單細胞動物或是藻類(圖一 A)，影響後續觀察；我們試過最佳的條件是將水蘊草養在適當日照強度與正常日照週期下、由過濾器產生適當水流，並

與孔雀魚、大肚魚及小蝦等水中動物共養，較可以維持健康的水蘊草品質。

而水蘊草的實驗與觀察部位，因我們之前的觀察發現【2】，葉片細胞有成熟度的差異，因此我們統一選用距離尾端約2-5公分的成熟葉片(圖二 A)來進行實驗；將適當植株葉片經過實驗處理後，以載玻片、蓋玻片進行水埋玻片，放置於顯微鏡下觀察。觀察與紀錄設備以 iPhone 手機輔以電子目鏡(Dinoeye, AM4023X)來進行；電子目鏡則是直接裝設在顯微鏡鏡筒上，手機用三軸手機支架來進行架設、對焦，能真實呈現我們用肉眼在視野下所觀察到的樣子，讓觀察過程更直接(圖二 B)；以手機進行拍照及縮時攝影、紀錄細胞的狀況(見研究過程或方法)。

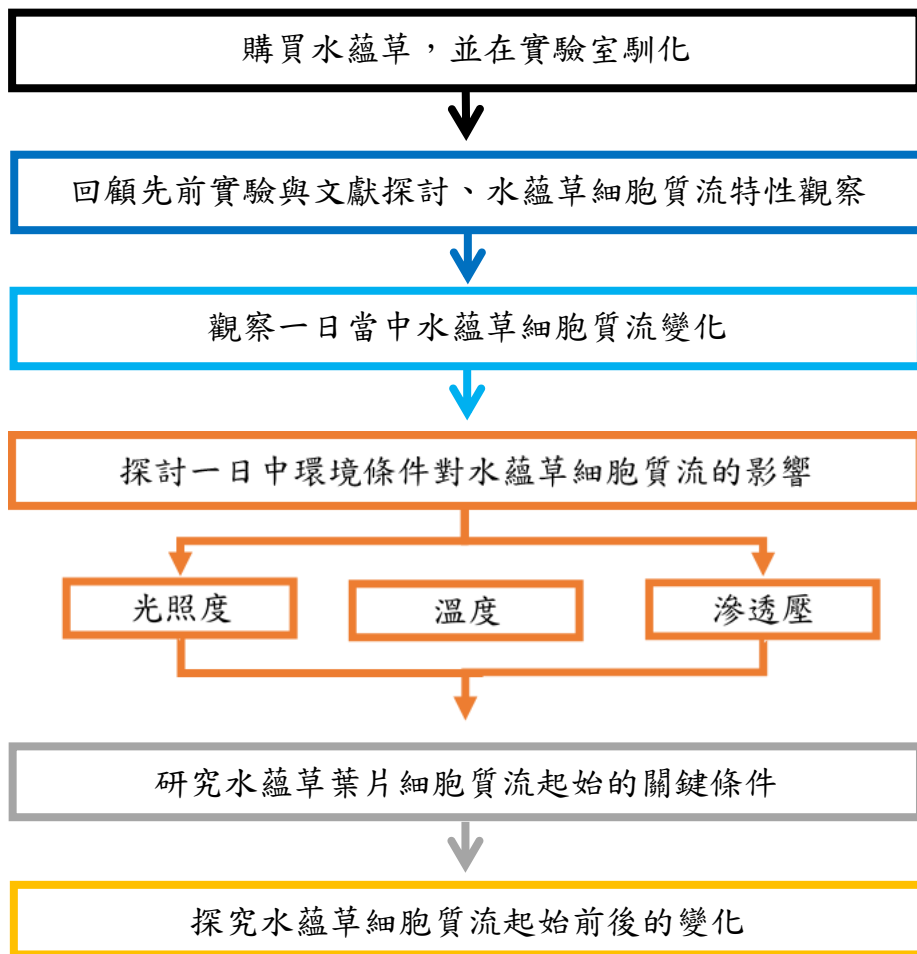


圖二、實驗材料與基本配備

(A)水蘊草取用距離末梢約2-5公分之成熟葉(紅色虛線框處及放大圖)，觀察相同生長時期之葉片細胞。

(B)水蘊草葉片製成水埋玻片後，在複試顯微鏡下觀察，並以三軸手機支架架設手機進行錄影。

參、研究過程或方法



圖三、研究設計基本架構

一、水蘊草基本特性觀察與文獻探討

(一) 水蘊草養殖與基本型態特性觀察：

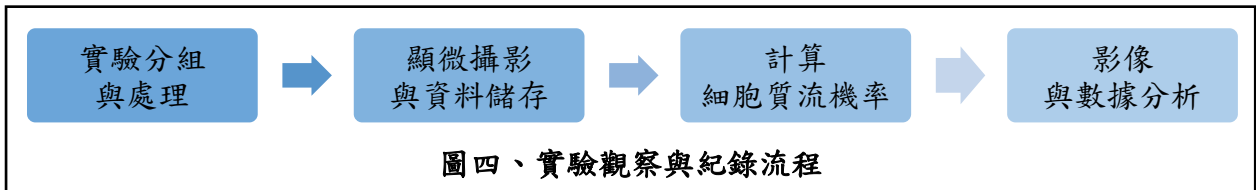
- (1) 水族館購買適量水蘊草，於實驗室與孔雀魚共同養殖、進行馴化，維持室溫約 20°C，固定循環水流及經常性過濾；前一天將水蘊草移至實驗環境，進行適應。
- (2) 觀察水蘊草植株外部型態構造並照相紀錄，影像並以 ImageJ 分別測量水蘊草葉片細胞長、寬與面積，以及測量葉綠體長、寬，並進行相關型態數據計算。
- (3) 取水蘊草植株上的葉片鋪平置於載玻片上，以解剖及複試顯微鏡進行型態觀察，並以 Iphone 手機輔以三軸手機支架，進行照片擷取及錄影。

(二) 水蘊草細胞質流現象觀察與顯微紀錄。

我們以1200萬像素手機相機系統進行拍攝及錄影，攝影以每秒2個影像(2fps, frames per second)進行15倍縮時攝影，以放大400倍觀察視野下細胞狀況。

(三)細胞質流細胞比例以視野下細胞比例計算，細胞質流速度及葉綠體移動路徑以軟體 Tracker 分析錄影之影片。

二、分組實驗觀察與紀錄流程：



(一)實驗分組與處理：

1. 取用相同發育時期水蘊草葉片，在室溫下(約15-20°C)觀察水蘊草葉片的細胞質流動特性。
2. 觀察一天當中不同時間點(小時)水蘊草葉片葉綠體及排列及細胞質流特性的變化。
3. 觀察環境因子:光照強弱、溫度與滲透壓30分鐘後，水蘊草葉片細胞特性與細胞質流的變化。
4. 光照區分為遮光(光照度<100 lux)、正常照光(1000 lux 左右)與強光(太陽光，照度約3-5萬 lux)細胞及細胞質流狀況觀察。
5. 觀察滲透壓對細胞質流的影響，在相同1000±50 lux 以0%、0.25%、0.5%、0.75%、1%、及5% 氯化鈉處理5分鐘，觀察水蘊草細胞大小變化後拍照，並以10分鐘為單位錄影加以紀錄。

(二)計算細胞質流機率：
$$\frac{\text{有細胞質流的細胞數}}{\text{視野下看到的細胞總數}} \times 100\%$$

將顯微鏡視野下看到的細胞總數當作分母，以有細胞質流的細胞數當做分子，算出其細胞質流的機率，並記錄下來。

(三)以軟體 ImageJ 及 Tracker 進行水蘊草基本特性及細胞質流觀察與測量:細胞質流動方向與流速。

三、數據分析比較：

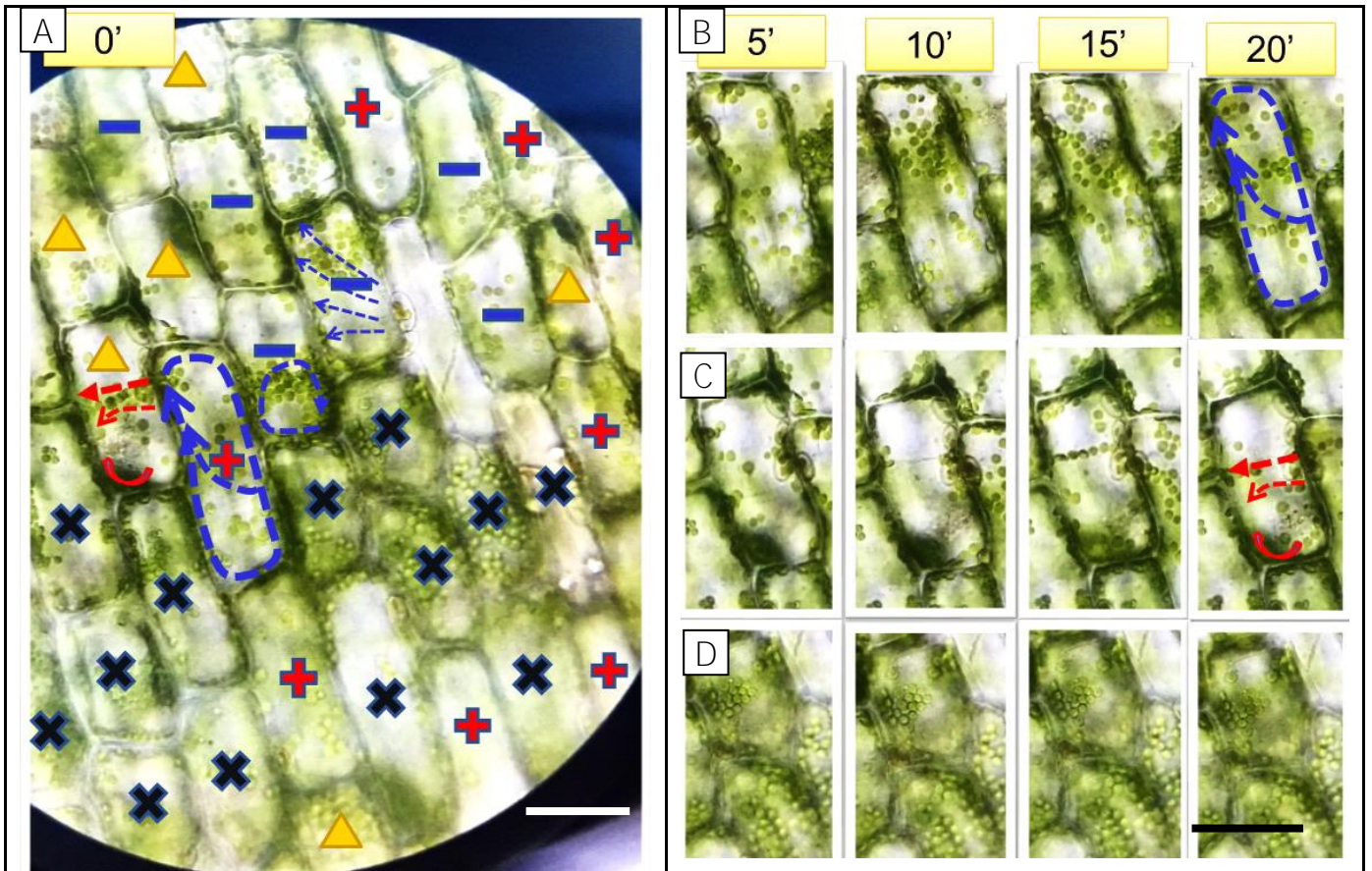
每個樣本區及實驗組別至少進行5次以上觀察，實驗所得數據以 Microsoft excel 2016及 GraphPad.Prism.v5.01進行分析比較及製圖。

肆、研究結果

一、水蘊草細胞質流的特性觀察。

(一) 水蘊草細胞質流的模式觀察與探討

以縮時攝影的影像分析後我們發現，水蘊草的細胞質流方式不完全相同，在同一個視野下可能同時有多種模式(圖五 A)，經過我們整理歸納之後，大概可以分為幾種模式：



圖五、水蘊草細胞質流的不同樣態

(A) 水蘊草的細胞質流模式可概略區分為三種，靜止態以黑色 X (X) 來標示，順時針層流以紅色加號 (+) 標示，逆時針層流以藍色減號 (-) 標示，流動方向較不固定或非順逆時針者為紊流移動，以黃色三角形 (▲) 標示。

(B) 層流移動細胞的細胞質流大多沿著細胞邊緣平行流動(圖中藍色圓虛線)，為順時針或逆時針這兩種相反的方向，但大多的葉綠體都沿同樣的動線流動、速度較快，偶有部分葉綠體會緩緩以其他路徑自行流動(圖中橫向藍色虛線)。

(C) 紊流移動的細胞質流方向較不固定，葉綠體移動路徑有時候會彎彎曲曲、有時候會橫向繞著細胞質邊緣走，例如圖中紅色虛線箭號，代表著葉綠體三條不同路線移動，且為橫向繞行細胞質邊緣。

(D) 靜止態的細胞葉綠體在紀錄的10分鐘內皆未移動，葉綠體排列整齊、細胞顏色呈深綠。

備註1: 圖中比例尺長度為 $50 \mu\text{m}$ ，上標時間 0、5、10、15、20 為拍攝開始之後的分鐘數；

備註2: 環境條件氣溫 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、環境照度 $850 \pm 50 \text{ lux}$ 、顯微鏡照度 3000 lux 。

水蘊草葉片細胞的細胞質流，我們區分出第一種是層流移動(Laminar stream)，葉綠體的移動互相同步，在細胞壁內沿著細胞膜邊緣，與視野平行做順時針或反時針層流(圖五 B 中藍色圓型虛線，方向如箭頭)，但偶有發現，葉綠體的層流會垂直於視野，做橫向流動(圖五 B 中藍色橫向虛線，方向如箭號)；第二種是紊流移動(Turbulence stream)，葉綠體的移動並沒有統一的固定方向，路徑也時有曲折，雖有細胞質流現象發生，但各個葉綠體流動方向較散亂，也有可能互相干擾(圖五 C 三條紅色虛線箭號)；第三種是靜止態(No stream，沒有細胞質流)，葉綠體平均分散在細胞質中且平貼於細胞膜下，因此整個細胞質在視野下看起來特別綠，葉綠體維持靜止不動、完全沒有流動(圖五 D)；由本圖與我們在複式顯微鏡400倍下進行30倍縮時攝影畫面來看，水蘊草葉面、葉肉區細胞影片結果【4】(同圖五 A)可見，相同視野下存在不同的細胞質流模式。在我們觀察的結果中，雖然鄰近的細胞可能同時發生細胞質流，例如圖五 A 中上半部的細胞同時都在進行細胞質流、而下半部的細胞大多為靜止；但同時發生細胞質流的鄰近細胞，葉綠體移動的方式或順/逆時針，卻還沒有一定的規則可循。

(二) 水蘊草不同葉片區域細胞的細胞質流特性探討

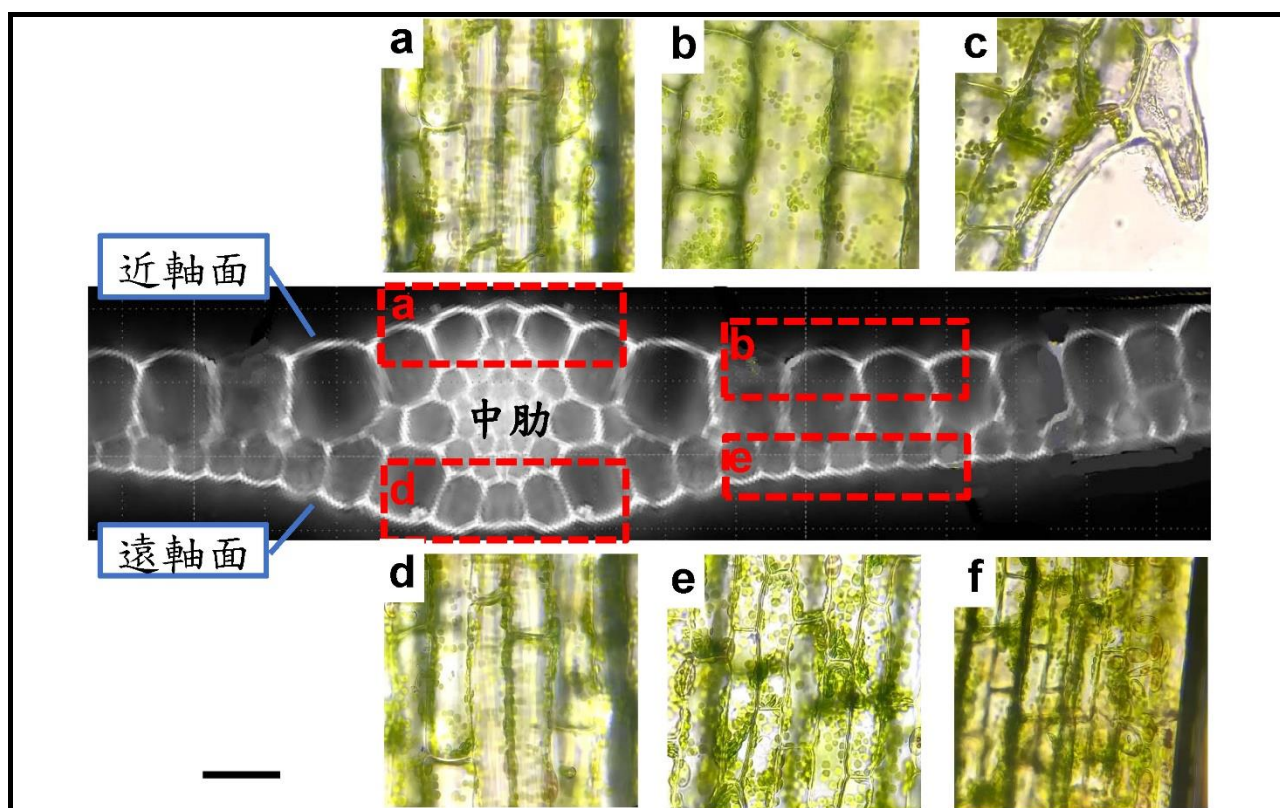
表一:水蘊草葉片細胞大小特性

部位 數值	近軸面		葉脈區	遠軸面	
	葉肉區	葉緣區		葉肉區	葉緣區
長	98.8 ± 14.6	102.3 ± 27.1	<u>142.7 ± 22.1*</u>	97.7 ± 19.2	88.5 ± 20.8†
寬	<u>48.5 ± 3.4*</u>	31.4 ± 7.6	29.9 ± 6.2	22.7 ± 3.8	16.2 ± 2.0†
長/寬	<u>2.0 ± 0.3**</u>	3.6 ± 1.6	4.8 ± 0.9	4.4 ± 1.1	5.5 ± 1.5
細胞 截面積	4748.1 ± 757.1	3180.0 ± 891.7	4400.8 ± 795.4	<u>2110.8</u> <u>± 511.8#</u>	<u>1511.1</u> <u>± 344.9##</u>

備註1:數字表示為平均值±標準差(STEDV. S)，長度單位 μm ，面積單位 μm^2
 備註2:* $p < 0.05$ ，細胞長度或寬度較其他所有區域的細胞大。
 † $p < 0.05$ ，細胞長度較葉脈區短、寬度較其他所有區域的細胞小。
 ** $p < 0.01$ ，細胞長寬比=長/寬，比其他所有區域的細胞都小。
 # $p < 0.05$ ，細胞截面積小於近軸面葉肉區與葉脈區細胞。
 ## $p < 0.01$ ，細胞截面積小於近軸面葉肉區、葉緣區與葉脈區細胞。

依照水蘊草葉片面向或遠離水蘊草軸心的位置，可將葉片區分為近軸面(俗稱葉面)與遠軸面(俗稱葉背)。在我們之前對水蘊草葉片初步的型態觀察【2】，我們將細胞依位置區分為:靠近中肋的葉脈區、葉片邊緣的葉緣區以及兩者之間的葉肉區(圖六)，各種細胞的長度差異不大，平均約100 μm 左右，其中葉脈區細胞較長，長度約平均142 μm ；寬度來說，普遍被用來觀察的近軸面葉肉區細胞寬度最寬，平均約48.5 μm ，葉緣區及葉脈區的細胞寬度約略只有葉肉區的2/3，約30 μm ；而遠軸面的細胞寬度更小，葉肉區的細胞寬度平均約22 μm ，只有近軸面葉肉區細胞的一半(表一 * 與 † 所標示處)。

而以長寬比來說，近軸面葉肉區細胞較寬胖，比例約2左右，明顯較其他區域的長寬比還小；而葉脈區及遠軸面的細胞長寬比，大概在5上下，顯見是較細長型的細胞(表一**所標示處)。而表面積以近軸面的葉肉區及葉脈區較大，而遠軸面細胞明顯是細長且面積較小的(表一#及##)。



圖六:水蘊草葉片細胞的構造特性

水蘊草葉片細胞有兩層，第一個區域是中肋兩側的葉脈區細胞(圖 a 及 d)，不管近軸或遠軸面都是屬於細長且面積大的細胞；第二個區域是葉肉區，近軸面的細胞較寬胖、面積大(圖 b 及紅色虛線框所示)、遠軸面的細胞較窄，呈現較細長型態、截面積也明顯較小(圖 e 及紅色虛線框所示)；而第三個區域是葉緣區，近軸面有較葉肉區細長的表皮細胞及牙細胞(圖 c)，遠軸面葉緣區細胞則是所有細胞當中最細長、截面積最小的(圖 f)。

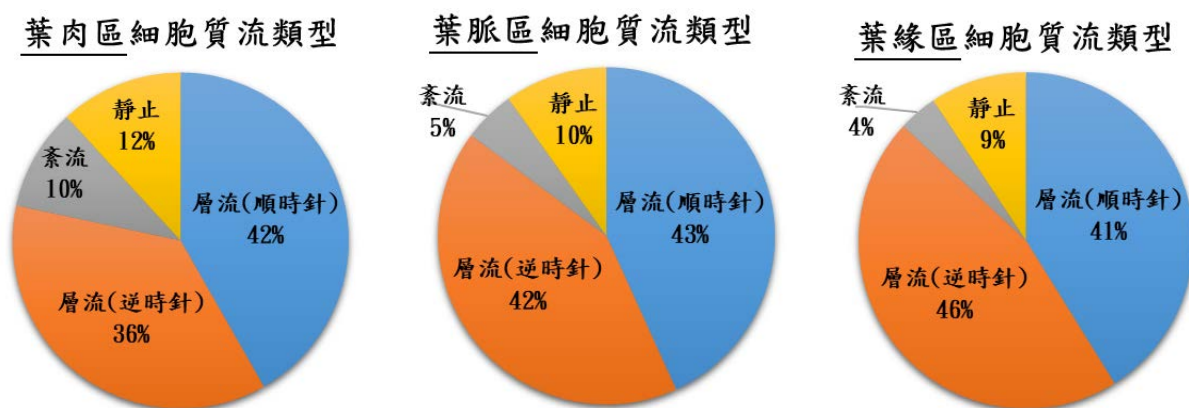
備註1:比例尺長度為50 μm ，中間黑白圖修改自 Hara T, et al., 2015.

備註2:環境條件氣溫20 $^{\circ}\text{C}$ 、環境照度850 lux、顯微鏡照度3000 lux。

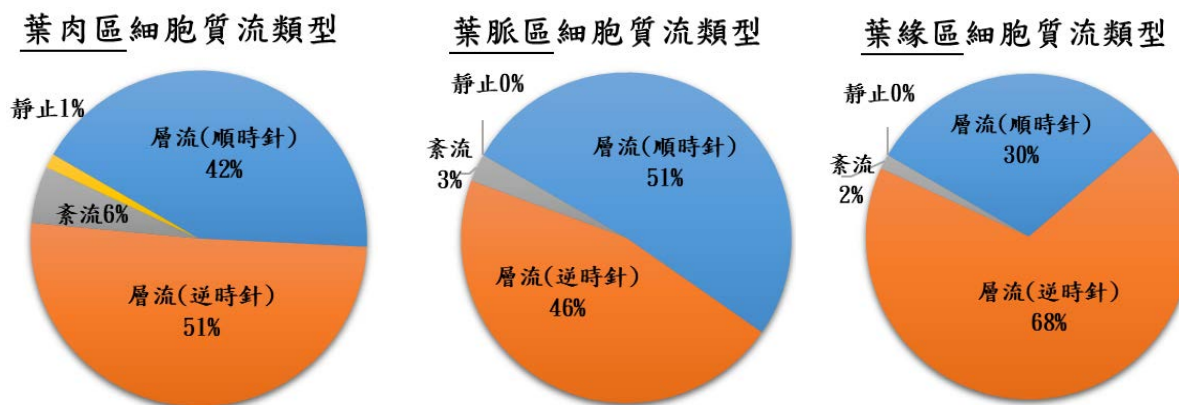
在這些細胞當中，我們分別觀察其細胞質流模式，並計算層流的順逆時針、紊流以及靜止的細胞數，並換算成比例、繪製成圓餅圖(圖七與圖八)。在近軸面的葉肉區細胞，各種細胞質流模式比例:12%靜止、10%紊流、78%層流；葉脈區細胞:10%靜止、5%紊流、85%層流；葉緣區細胞:9%靜止、4%紊流、87%層流(圖七)。整體來說，近軸面的細胞大多是順時針與逆時針的層流細胞，大概在八成左右，少數是紊流及靜止的細胞；尤

其是葉脈及葉緣區細胞，有超過85%是層流細胞，而葉肉區細胞中層流細胞較少、靜止與紊流的細胞比例較其他區域的高；近軸面的細胞質流模式有區域上的差異。

而在遠軸面，除了細胞明顯較為細長、長/寬比值較大之外，各區域細胞質流模式比例，葉肉區:1%靜止、6%紊流、93%層流；葉脈區:0%靜止、3%紊流、93%層流；葉緣區:0%靜止、2%紊流、98%層流(圖八)。整體來說，遠軸面細胞的細胞質流超過九成都是層流，大約5%是紊流，幾乎沒有靜止的細胞，可見遠軸面細胞幾乎都有在進行細胞質流，而且都是沿著細胞邊緣、呈順或逆時針流動的層流流動，區域間差異不大。



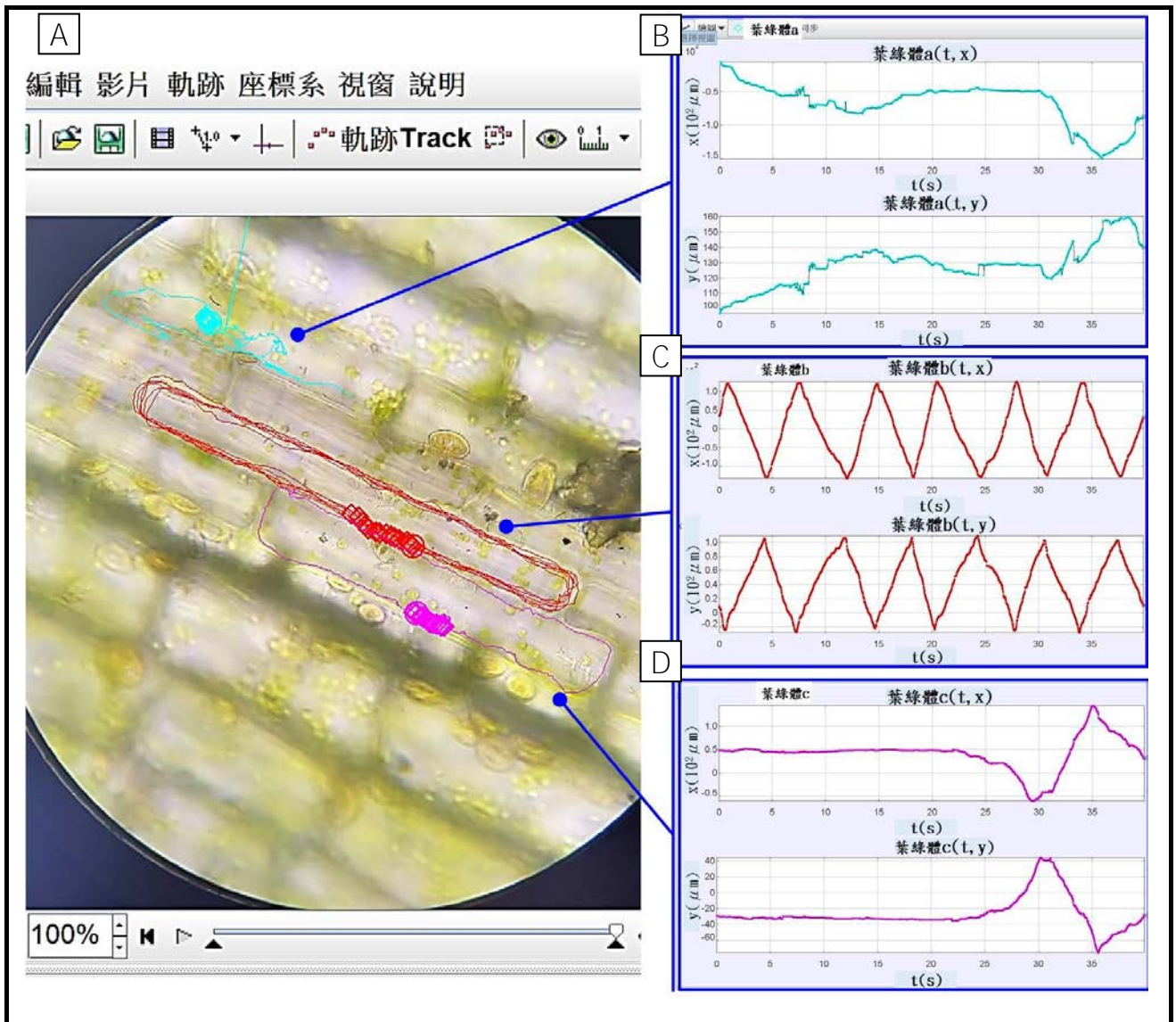
圖七、近軸面水蘊草不同區細胞的細胞質流類型比例



圖八、遠軸面水蘊草不同區細胞的細胞質流類型比例

(三) 不同細胞質流的路徑模式分析

我們以追蹤軟體 Tracker 分析葉綠體移動路徑，將描繪的路徑圖轉為 x-y 座標軸與其他數據，包含速度 v 、加速度 a ... 等等數值的計算，發現不同細胞質流模式的細胞在 x-y 座標上會有不同變化模式，而三種質流模式也會發生在同一個細胞，代表三種細胞質流模式:靜止、紊流跟層流，會因為細胞的狀態而轉換(圖九)。



圖九:水蘊草葉片細胞質流的移動路徑模式

(A) 以物理追蹤軟體 tracker 追蹤葉綠體的流動，分別描繪層流模式(紅色線)、紊流移動(粉紅色線)以及由靜止到層流移動這三種細胞質流狀態；右圖三張圖為 x-y 座標圖，橫軸為觀察時間0-10分鐘，圖中所示0-40秒為縮時攝影後的結果，縱軸分別為 x 與 y 的座標值。三張圖只顯示座標軸變化模式，實際移動速度於本文中說明。

(B) 紊流移動的細胞質流，葉綠體沒有特定移動方向或規律，x-y 座標值忽大忽小。

(C) 層流模式葉綠體會沿著細胞邊緣繞行，x-y 座標值規律增加減少，圖中呈現週期上下。

(D) 葉綠體的移動模式會因環境條件而轉換，圖中0-20秒(縮時15倍，實際約5-6分鐘)為靜止狀態，到25秒(約紀錄第8分鐘)之後開始進行規律的層流模式繞行細胞。

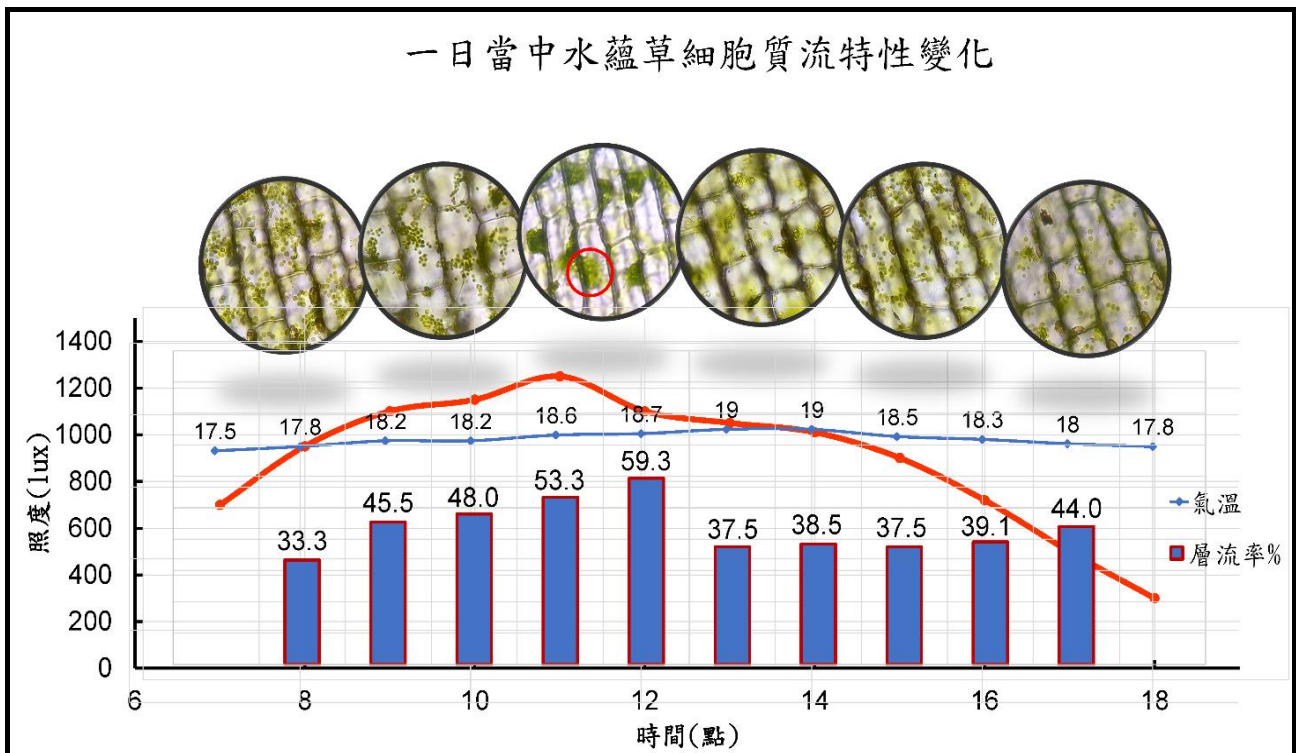
備註1:左圖 A 視野直徑為 $440 \mu m$ ，右圖 B-D 為軟體 tracker 截圖，每一葉綠體以一質點代號代表，橫軸單位為時間 $t(s)$ 、縱軸為長度單位 μm 。

備註2:環境條件氣溫 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 、環境照度 850 lux 、顯微鏡照度 3000 lux

三種細胞質流模式，第一種紊流移動，葉綠體並無規律或特定方向，因此 x-y 座標變化沒有規律、移動距離及方向也不是很固定，相對來說移動距離短(圖九 B)，平均流速為 $1.01 \pm 1.81 \mu\text{m/s}$ (每秒鐘微米)；第二種層流移動，細胞中的葉綠體會規律繞行細胞，其 x-y 座標會隨時間呈現上下規律變化(圖九 C)，這代表葉綠體的位置反覆出現在相同的地方，而且速率平均，在10分鐘縮時攝影狀況下，進行6個來回週期，約100秒繞行細胞一周，平均流速 $5.85 \pm 2.81 \mu\text{m/s}$ ；第三種是靜止，葉綠體的座標不變，但在照光一段時間後，葉綠體座標開始出現週期性移動，移動速度介於紊流和環流之間，約3-4 $\mu\text{m/s}$ ，這代表葉綠體可以由靜止變為規律繞行細胞周邊移動，亦即層流移動。這三種細胞質流模式，以層流移動的流速較快、葉綠體流速除了在轉彎時變化較大之外，其他時間都很穩定以較快的速度流動；而紊流移動則是經常在改變方向、移動也不快，整體流速平均起來明顯比環流慢($p < 0.01$)，而且標準差大。以流向跟流速來說，層流的葉綠體流向一致且流速快，因此效率是比紊流高的。

在我們觀察過程當中，也會發現有些葉綠體一開始是靜止的，後來經過照光之後，慢慢移動到細胞邊緣，然後再順著細胞邊緣繞行，變成順逆時針的層流(圖九 D)，葉綠體移動速度一開始由 $0.4 \pm 0.5 \mu\text{m/s}$ 增加到 $2.6 \pm 1.9 \mu\text{m/s}$ ，增加6~7倍；由此可見，三種細胞質流模式：靜止、紊流移動與層流移動，會隨著細胞所處環境及狀態不同而互相轉換。究竟什麼樣的因素決定細胞質流模式的轉換呢？我們仔細觀察一天當中水蘊草細胞質流的變化。

二、觀察水蘊草一天當中細胞質流的變化



圖十、一天當中水蘊草葉片的細胞質流特性變化

紀錄一天當中氣溫、光照度、水蘊草細胞質流模式比例與顯微照相紀錄，白天氣溫變化不大，溫度在17.5~19°C之間，落差1.5°C；光照度10-12點間最高，平均約1200 lux；型態上，中午有一段時間葉綠體會聚集成堆；而細胞質流中的層流方式細胞比例，12點最高，大約60%，過午突降，到下午又漸漸增加。

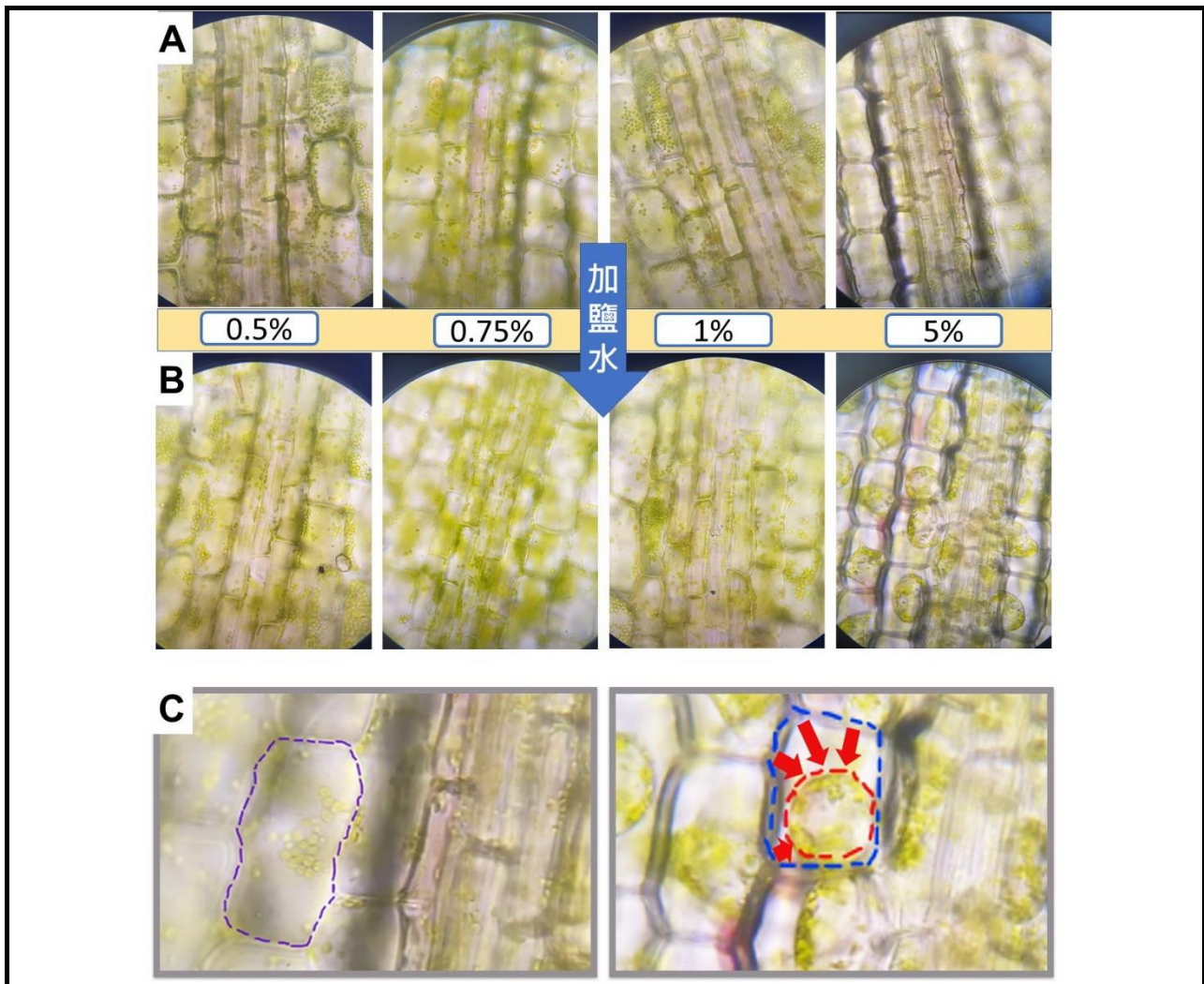
相對於觀察培養在室內約800 lux 的水蘊草，我們將水蘊草放在窗邊做自然日照，紀錄一天的氣溫、光照度與水蘊草細胞質流的縮時攝影紀錄；一天當中白天氣溫變化不大、溫差約1.5-2°C(圖十藍色曲線)，而向南的窗邊光照度，流明數早晨約700 lux、中午1200到3000 lux 左右、傍晚約300 lux，中午時有間歇直接日照，照度可達3萬流明左右(圖十紅色曲線)；而有細胞質流的細胞比例約可達97~98%，因此我們分別計算細胞質流的類型：順、逆時針層流、紊流與靜止，發現在中午前，層流模式會逐漸增加約一倍，但到中午光照強度升高時，甚至有直接日照時，層流模式的細胞比例突然減少，而且有很多葉綠體會集中成團(圖十中顯微照片中紅色圈)，葉綠體流動速度也跟著降低。

作為對照，我們以全光域 LED 燈1000 lux 強度對水蘊草作24小時照光後，觀察水蘊草在相對時間點(上午八點到下午五點、每小時觀察記錄一次)的流動模式與流速，環狀流動模式平均39.4%，且全日維持在40%左右，未隨一日時間週期變化；而細胞質流流速，因細胞質流比例變化不大，因此也沒有太大的差異。

總而言之，一天當中水蘊草的細胞質流模式比例有明顯變化，從早晨八點到中午十二點，環狀層流增加約一倍，到中午又突然減少約一半，後來再慢慢增加；同時我們也觀察到一些形態上的差異，早晨八點時，葉綠體在視野下較多、後來慢慢減少，到傍晚又漸漸增加。而一日紀錄過程當中，以我們所觀察到的溫度及光照度變化幅度來判斷，影響水蘊草細胞質流及葉綠體排列的主要環境因素，應該是光照度，而我們之前的實驗【1】也是有類似的結論：光照度600~1000 lux、溫度15~20 °C對水蘊草的細胞質流最有利，而水流則不利於細胞質流的發生。同時我們也好奇，水域中的滲透壓變化，是否也會干擾細胞質流進行呢？因此，接著我們先驗證滲透壓是否也會影響細胞質流？如何影響？接著以光照度為主要操縱變因，來探討光照強度這種關鍵環境因子，如何扮演水蘊草細胞質流的關鍵角色。

三、探討滲透壓是否影響水蘊草細胞質流

我們以室內光照800-1000 lux、室溫20°C為環境條件培養，實驗時將水蘊草葉片進行水埋玻片後，先在顯微鏡下以相同環境條件進行縮時攝影觀察10分鐘，再以不同濃度氯化鈉溶液進行處理，接著再觀察紀錄10分鐘，實驗重複三次；因為水中氯化鈉(NaCl)鹽度變化很少超過1%重量百分比，在我們以0.25% NaCl 濃度間距測試，0.25~0.75% 沒有明顯質壁分離發生，1% NaCl 平均有23.3%的細胞發生質壁分離，5% NaCl 時則所有細胞皆明顯萎縮(圖十一 A、B)；而細胞膜範圍面積，1% 以下鹽水處理的面積即使有部分質壁分離，但變化皆不大，5% 鹽水處理的細胞膜面積，則會萎縮到只剩40.1% (圖十一 C)。



圖十一、滲透壓對水蘊草細胞與細胞質流質流的影響

(A) 將水蘊草葉片細胞在正常條件下縮時攝影觀察10分鐘；

(B) 以不同濃度氯化鈉溶液處理後觀察細胞質壁分離現象，1% 以後開始有質壁分離現象出現，5% 鹽水下的所有細胞皆明顯萎縮。

(C) 以5% 鹽水處理前後的細胞型態，左圖原本緊貼細胞壁的細胞膜(紫色虛線)，萎縮之後質壁分離(紅色箭號)，細胞膜呈現圓球狀(如紅色虛線所描繪)、葉綠體因空間限縮而被擠壓。

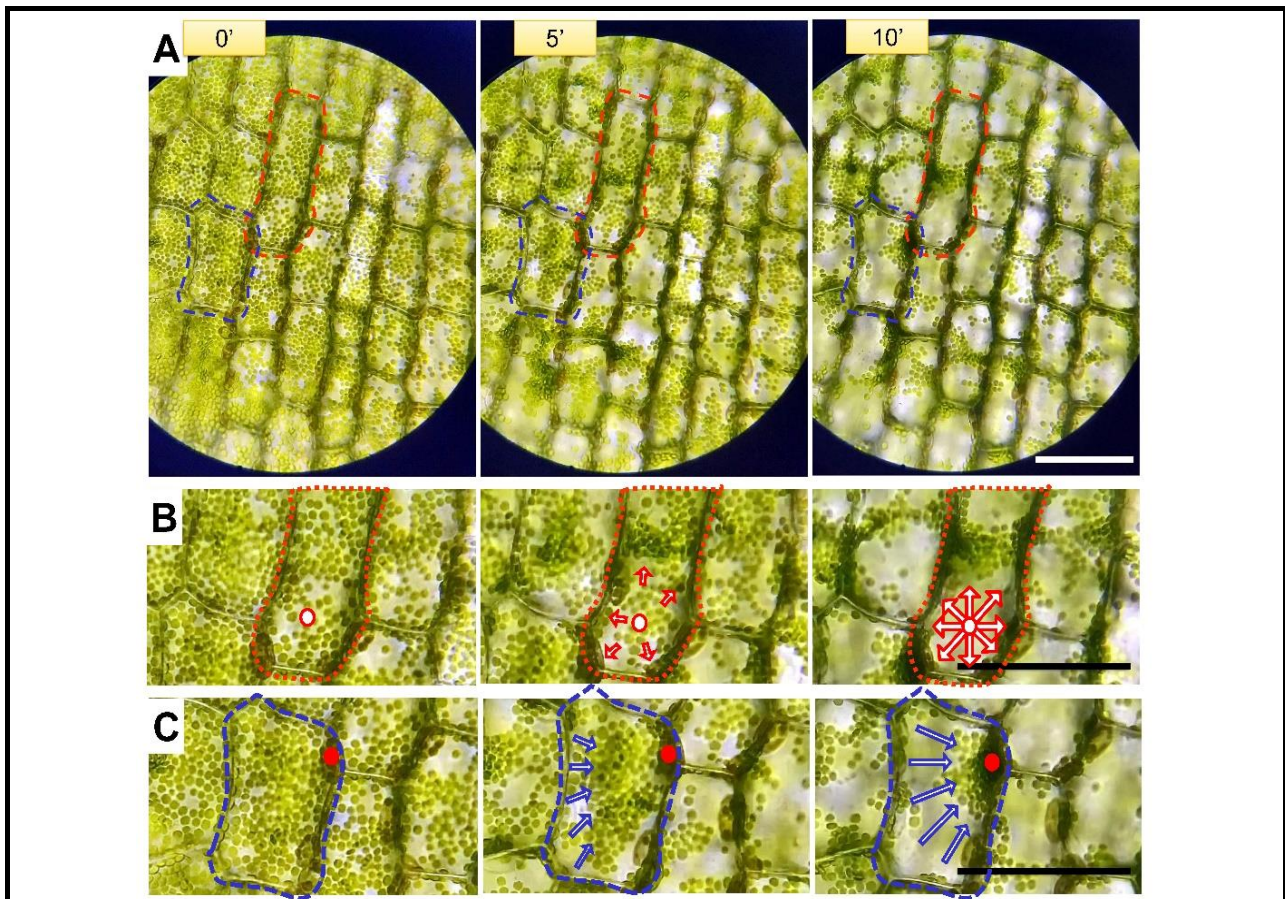
而水蘊草細胞質流是否會受到滲透壓影響呢?在我們觀察的鹽水實驗中，當鹽度小於1%時，細胞質流的模式跟流速在處理前後沒有明顯變化，並未受到不同濃度氯化鈉的影響；但當鹽水濃度超過1%，同前人實驗，質壁分離開始發生、細胞膜範圍慢慢緊縮【3】，對葉綠體來說，可以流動範圍變小時，原本靜止的細胞維持靜止、紊流的細胞紊流範圍也漸漸變小、環流細胞則轉變為紊流模式，最後皆轉變為靜止模式。

由觀察結果可知，氯化鈉本身對細胞質流模式跟流速沒有影響，但滲透壓所導致細胞膜的萎縮，會讓葉綠體可以流動的範圍受到侷限，最後讓流動模式改變:層流轉變為紊流，最後漸趨靜止。

有趣的是，在1%到5%的鹽水處理過程中，細胞萎縮的發生，大多是先發生在細胞的液胞，然後才是細胞膜；在液胞縮小、細胞膜尚未明顯縮小的期間，葉綠體可以流動的範圍短時間內變大，但葉綠體並未流動的更有效率，一樣也有觀察到環流變紊流的現象。以細胞空間與細胞完整性對細胞質流的重要性，我們也曾以外力破壞水蘊草細胞，發現一旦細胞有破損，細胞質流就會完全停止，這似乎也說明了細胞內蛋白質骨架與 ATP 能量對細胞質流的重要性，單就細胞質空間大小與完整性對細胞質流的影響，也是未來可以單獨研究的題材。

四、研究光照對水蘊草細胞質流的起始作用與方式

根據我們先前的研究、參考的文獻【1-3】與本次測試的條件，我們發現一日當中的環境變化條件：光線、溫度、水流與滲透壓，對水蘊草葉片細胞質流影響最關鍵的，應該是光線，因此我們以光照強度作為測試變因進行試驗。首先，在觀察前一天，將水蘊草培養在遮光的暗處隔夜，白天時觀察時再將葉片整片取出，進行水埋玻片觀察，並用穩定照度約3000 lux 的顯微鏡白色全波長光源，模擬太陽光進行照射，並以縮時錄影進行紀錄觀察。



圖十二、水蘊草由黑暗中取出照光之後葉綠體的排列變化

(A)將水蘊草由黑暗中取出後，將葉片進行水埋玻片後以顯微鏡觀察，並以光照處理同時進行縮時攝影觀察。黑暗中剛取出的水蘊草細胞，葉綠體平均分散且靜止排列在細胞質中，在5分鐘及10分鐘時，葉綠體漸漸往周邊移動(紅色虛線框起者)或固定位置聚集(藍

色虛線框者)，並慢慢開始細胞質流；

(B)隨著光線照射，葉綠體由空心圓處往外移動，順紅色空心箭號方向聚集在細胞邊緣；

(C)原本平均分散的葉綠體，隨著光線照射時間，沿著藍色空心箭號方向，往實心圓及細胞邊緣方向聚集。

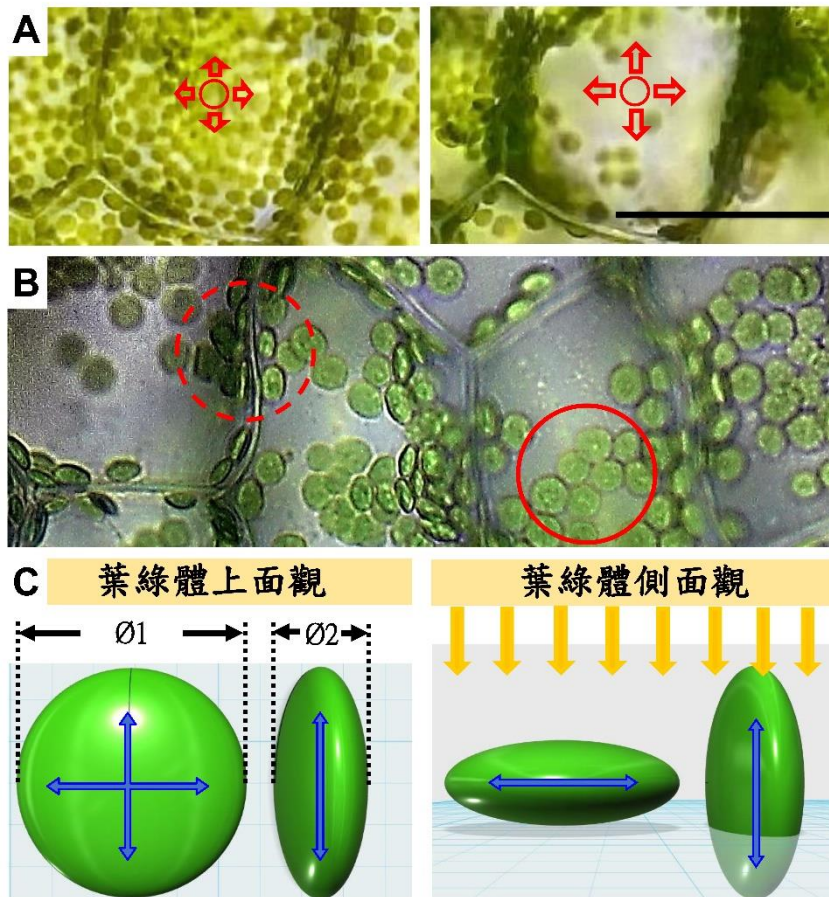
備註：圖上0、5與10代表紀錄的分鐘數；圖中比例尺長度為 $50\ \mu\text{m}$ ；實驗溫度 20°C 、光照度 $3000\ \text{lux}$ 。

實驗後我們發現，在黑暗中的水蘊草葉片，葉綠體沿細胞表面水平密集排列，而葉綠體的大小，在近軸面與遠軸面細胞中，並無明顯差異，成圓餅狀構造，我們以 ImageJ 實際測量，葉綠體的直徑約 $4.3\sim 5.2\ \mu\text{m}$ ，厚度約 $1.6\sim 1.9\ \mu\text{m}$ ，如表二；當照射光線之後10分鐘之內，葉綠體會重新排列、往細胞邊緣移動(圖十二 A)；從無光移到有光的環境過程當中，葉綠體是以紊流方式移動，方向不固定、速度也很緩慢，有些會以分散方式均勻移動往細胞邊緣(圖十二 B)並聚集在細胞邊緣，或是先聚集到特定位置，待就定位之後，便開始進行細胞質流(圖十二 C)。

而這種因遮光與照光所造成的葉綠體排列變化，不管是近軸面、遠軸面，或葉肉區、葉脈區、葉緣區這三個區域，都有一樣的現象發生；尤其是遠軸面的細胞，從黑暗中靜止，到照光之後葉綠體重新排列、開始進行細胞質流，變化的比近軸面更快速與明顯。因本次實驗主要還是以近軸面細胞為主要觀察對象，遠軸面細胞的觀察、比較，相信也是一個很棒的題材。

總而言之，就我們所觀察的葉綠體移動速度，黑暗中的水蘊草細胞質幾乎是沒有細胞質流動的；待照光之後，葉綠體會慢慢移動到固定位置(通常是細胞邊緣)，接著開始進行較快速的細胞質流；葉綠體移動時的方式一開始大多是紊流移動，沒有統一方向，待葉綠體就定位之後，有些就會出現順時針或逆時針的層流方式；在我們觀察的近軸面葉肉區樣本中，十分鐘內大約有20%會出現層流，其他大多還是方向不一致的紊流模式。

值得注意的是，葉綠體在缺乏光線時，是以平貼方式排列在水蘊草細胞、以增加吸光面積；若要開始細胞質流，雖然有少數會貼細胞膜底下水平橫過細胞來流動(圖五 B 藍色箭號)，但大多數葉綠體會轉 90 度角，排列於細胞的垂直面邊緣(圖十三 A)。依據我們縮時攝影的影像觀察與相位差顯微鏡所拍攝的高倍率影像(圖十三 B)，以及我們以 ImageJ 實際測量葉綠體的大小(表二)及長寬比，我們在圖十三 C 中以3D 繪圖軟體:123D，繪製葉綠體，來表示它的上面觀與側面觀，圖中 $\varnothing 1$ 是葉綠體的長直徑、 $\varnothing 2$ 是短直徑，長直徑約 $4.3\sim 5.2\ \mu\text{m}$ ，短直徑也就是表二中的厚度，約 $1.6\sim 1.9\ \mu\text{m}$ ， $\varnothing 1/\varnothing 2$ 約為 $2.5\sim 3.3$ ，葉綠體為圓餅狀構造。



圖十三、照光之後葉綠體的排列與照光角度變化

- (A) 給予足量照光之後的水蘊草細胞，葉綠體會重新排列，往細胞周邊移動(紅色箭頭)；
 (B) 於1000倍相位差顯微鏡拍攝的畫面下，葉綠體成圓餅狀(紅色實線框)，若移動至側邊時會垂直轉90度，視野下變成梭狀(紅色虛線框)；
 (C) 以3D繪圖軟體模擬葉綠體的上面觀與側面觀，藍色箭頭為葉綠體可移動的方向軸，黃色箭頭為陽光照射方向。

(圖中比例尺長度為 $25\mu\text{m}$)

葉綠體長直徑 $\text{Ø}1 \cong 4.3\sim 5.2$ 微米

葉綠體短直徑 $\text{Ø}2 \cong 1.6\sim 1.9$ 微米

$\text{Ø}1/\text{Ø}2 \cong 2.5\sim 3.3$

$$\begin{aligned} \text{圓面積} &= \pi r^2 \\ \text{橢圓面積} &= \pi r_1 r_2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r &= r_1 = \text{Ø}1 \\ r_2 &= \text{Ø}2 \end{aligned}$$

開始細胞質流之後葉綠體受光面積變化：

$$\begin{aligned} \text{橢圓面積}/\text{圓面積} &= \pi r_1 r_2 / \pi r^2 = r_2 / r_1 \\ &= \text{Ø}2 / \text{Ø}1 \cong 30.3\% \sim 40\% \end{aligned}$$

在圖十三 C 側面圖中的黃色箭頭為太陽光照射方向，照射在葉綠體上的面積就是上面觀所看到的面積，依照圓與橢圓的面積公式換算，圓面積 = πr^2 ，橢圓面積為 $\pi r_1 r_2$ ，在這邊 $r = r_1 = \text{Ø}1$ ， $r_2 = \text{Ø}2$ ，因此若單純以葉綠體的受光面積來說，在進入細胞質流之後只會剩下 $\text{Ø}2/\text{Ø}1$ ，也就是大約30% 到40%左右的受光面積。接著我們實際測量結果，驗證是否如此。

我們用 ImageJ 實際描繪量測，近軸面葉肉區細胞葉綠體因排列方式的改變，實際可以接受太陽光照射的面積變化(圖十四)，所得數據如表三所示：細胞面積平均約 $4076.5 \pm 127.0 \mu\text{m}^2$ ，葉綠體面積 $18.3 \pm 3.3 \mu\text{m}^2$ ，都接近於表一的數據；而葉綠體的總面積及相對於細胞面積的百分比，會由 $47.8 \pm 3.8\%$ 在照光十分鐘減少為 $23.1 \pm 0.6\%$ ，減少了一半，有直接照光的葉綠體數量，也會由 108.7 ± 12.7 個減少為 49.7 ± 11.3 個，顯著減少了約一半 ($p < 0.01$)。



圖十四、葉綠體的排列與太陽光照射面積的變化

利用 ImageJ 描繪與測量水蘊草細胞中葉綠體面積，比較葉綠體在光線不足、充足照光5分鐘及10分鐘後，葉綠體照光後重新排列前後的照光面積差異。

(圖中比例尺長度為 $25 \mu\text{m}$)

表三:水蘊草葉片細胞的葉綠體排列與太陽光照射面積的變化

照光時間	葉綠體總面積*	葉綠體/細胞總面積%	葉綠體單位面積	葉綠體總數量	葉綠體數量%
照光0'	1931.3 ± 130.8	47.8 ± 3.8	18.1 ± 2.8	108.7 ± 12.7	100 ± 0
照光5'	$1446.6 \pm 165.0^*$	$36.39 \pm 4.4^*$	16.5 ± 1.5	88.7 ± 15.4	81.1 ± 4.9
照光10'	$921.3 \pm 30.8^*$	$23.1 \pm 0.6^*$	20.4 ± 3.8	$49.7 \pm 11.3^*$	$45.5 \pm 7.2^*$

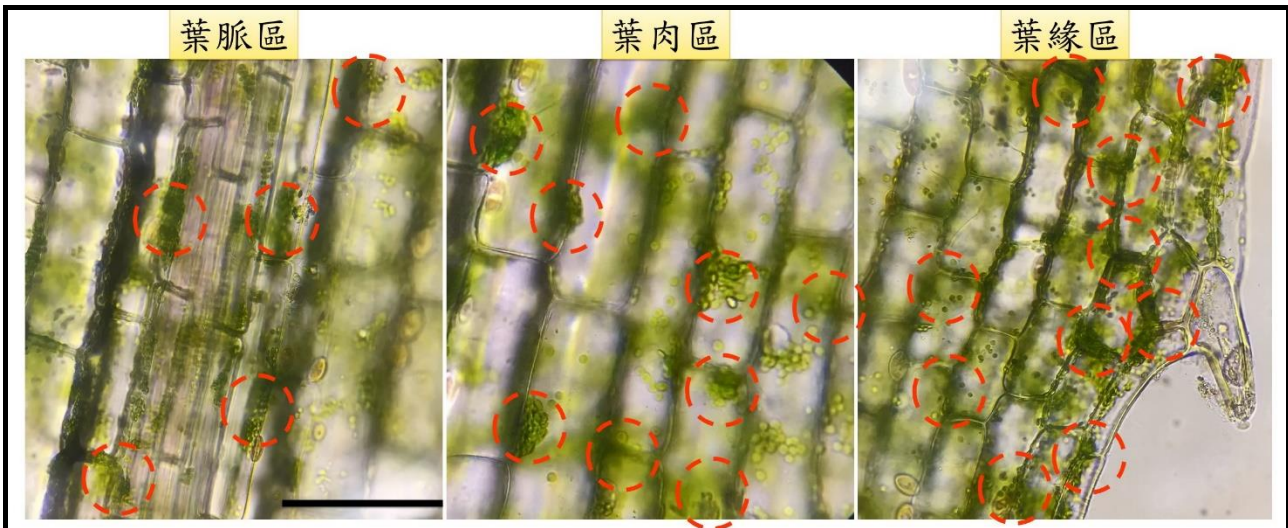
備註1:數字表示為平均值±標準差(STEDV.S)，長度單位 μm ，面積單位 μm^2 ；
 備註2:細胞截面積為 4076.5 ± 127 平方 μm^2 。
 備註3:* $p < 0.05$ ，數據相較於為照光0' 的組別，有明顯差異。

從可以直接照光的葉綠體總面積及數量減半這個現象來看，代表減少的葉綠體都移動到細胞間隔處，呈現直立梭狀、緊貼著細胞相鄰面的細胞膜和液胞間(圖十三C)。

而葉綠體的流動，因受限於植物細胞內的空間，而植物細胞大多數空間被液胞所佔滿，因此細胞質流時葉綠體只能貼於細胞膜跟液胞間的空隙間流動，我們以圖十三C中的藍色箭號來表示，我們用顯微鏡觀察的植物細胞就是圖十三C左側的葉綠體上面觀，平貼的葉綠體表面積大因此只能順著細胞膜前後左右移動，而呈垂直方向狀的葉綠體，一般是貼於細胞垂直面，也就是細胞邊緣，可以前後及上下移動，若統一前後移動，也就是我們觀察到的順時針與逆時針層流；而右圖側面觀，可以觀察到兩種葉綠體角度的受光面積差異，以及可

以移動的方向，必須順著長軸的方向，葉綠體才能順暢的流動不受到空間阻礙。

除了一般光照狀況之外，我們在白天中的水蘊草細胞質流中也曾觀察到一個現象：靠近中午時，會出現葉綠體聚集、環狀層流比例減少的現象(圖十)，我們推測這應該是因為中午時太陽光照特別強的關係；因此我們將水蘊草在超過30,000 lux 的太陽光下照射半小時，再以顯微鏡觀察水蘊草細胞的變化。觀察發現，水蘊草葉片三個區域的細胞，都有出現葉綠體聚集的現象(圖十五紅色虛圈處)，而不管是單個葉綠體或葉綠體團塊，細胞質流動的現象還是有在進行，但大多是紊流移動，不過其流速比正常日照下的紊流要來的快。

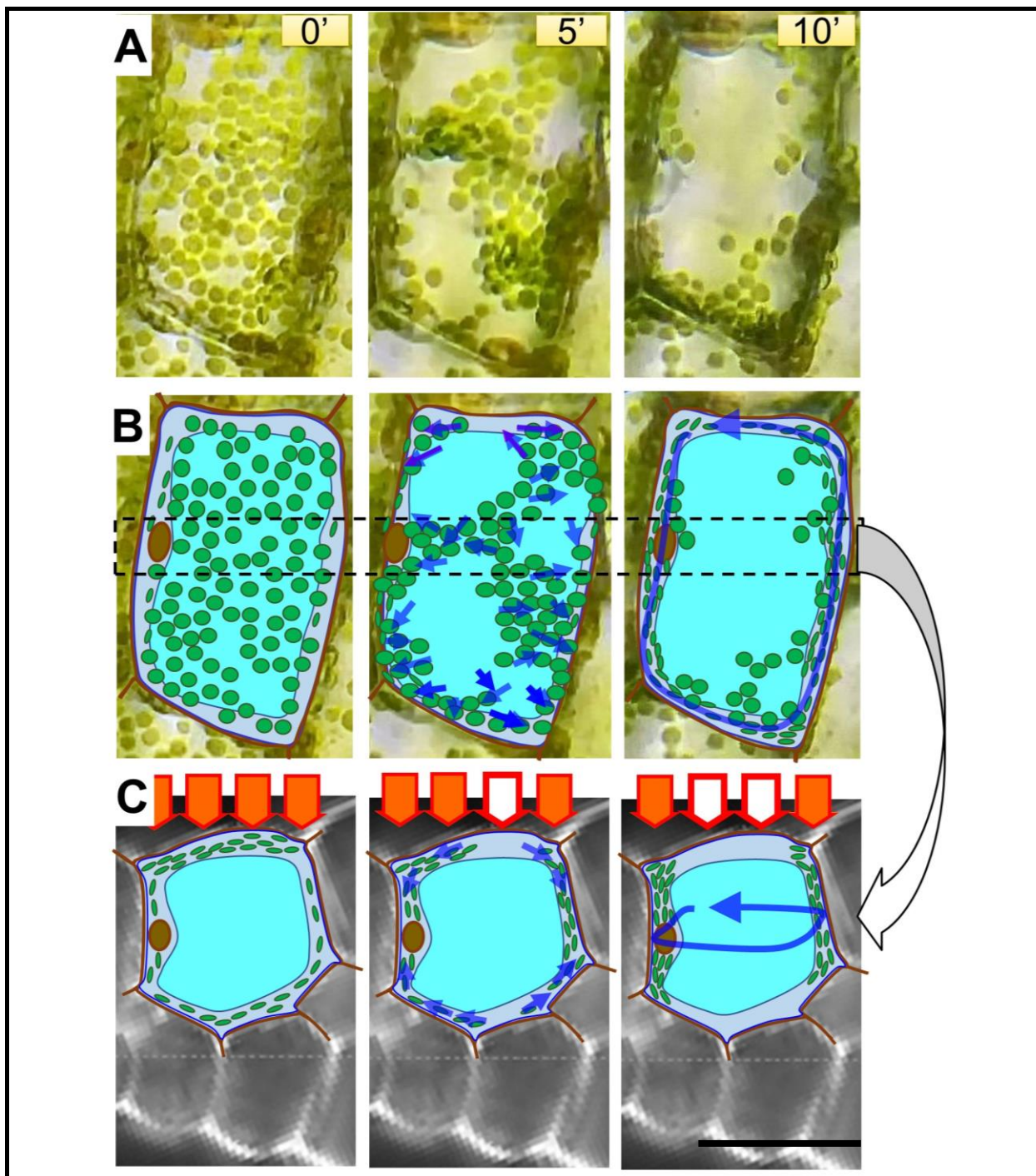


圖十五、過度照光對葉綠體排列與細胞質流的影響

經過半小時高強度日照，在水蘊草葉片的三個區域：葉脈區、葉肉區及葉緣區，都出現葉綠體聚集成團的現象(紅色虛圈)，但此時葉綠體不管是個別還是團塊，都還是有旺盛的細胞質流發生，但大多為較快速的紊流、流動方向並不一致。

(圖中比例尺長度為 $25\mu\text{m}$ ，光照大於30,000 lux，氣溫 20°C)

總而言之，葉綠體的排列會影響到兩個面向：一個是接受光照的面積，一個是葉綠體流動時所受的阻力大小。我們將這樣的現象及原則，繪製成模式圖(圖十六)來表示細胞照光之後，葉綠體排列、紊流移動到環狀層流移動的發生，其順序及發生的前後關係。在光照十分微弱時，葉綠體均勻分布在整個水蘊草細胞，同時水平排列在照光面(圖十六 A-C 0')，此時葉綠體受光面積為100%(圖十六 C 0')；當開始照光，葉綠體紊流移動往細胞邊緣，葉綠體受光面積約為75%(圖十六 A-C 5')；最後，光線提供細胞的能量充足，細胞內葉綠體可轉變圍同步繞著細胞邊緣移動環形移動(圖十六 B-C 藍色箭號)，此時葉綠體受光面積僅剩25%、細胞質流速度與移動效率最高，便是我們所說的環流。既然光照直接影響細胞質流，勢必也會跟光合作用效率、光補償點(light compensation point, LCP)與光飽和點(light saturation point, LSP)相關，我們後面再加以討論。



圖十六、葉綠體排列、受光面積與細胞質流模式變化統整

- (A) 由黑暗中取出進行照光之後，水蘊草細胞的葉綠體會重新排列，葉綠體由平均分散排列，照光五到十分鐘之後，葉綠體移動並往周邊聚集；
- (B) 水蘊草細胞的上面觀，葉綠體一開始均勻分散且靜止不動，照光五分鐘之後，葉綠體紊流方式(藍色短箭號)往邊緣移動；十分鐘時葉綠體聚集於細胞周邊、細胞膜與液胞間隙，有些會開始做整體性的環狀層流；
- (C) 水蘊草細胞側面觀，上層細胞的受光面積(紅色實心箭號代表光線照在葉綠體上、空心箭號代表光線往下穿透)在0' 最大，當葉綠體往側邊移動、進行環狀層流時，葉綠體的照光面積大概減少25% 到 50%。(圖中比例尺長度為 $25\mu\text{m}$ ，藍色箭頭為葉綠體細胞質流方向)

伍、討論

一、溫度對水蘊草細胞質流的影響

我們的先前的實驗【2】發現，水蘊草細胞發生葉綠體流動的最佳溫度大約在15到20°C之間，三個分區細胞質流機率由高到低依序為葉緣區、葉脈區和葉肉區，且三個區域最多約有90%的細胞同時在進行細胞質流；而4°C與30°C的葉綠體流動機率稍低，40°C則完全沒有葉綠體流動。葉綠體的流動以及相關的細胞質流，明顯會受到環境溫度的影響，這個現象跟細胞骨架由ATP供能後產生動力的理論有相契合之處，代表帶動細胞質流的肌凝蛋白的作用溫度，20°C左右最適合、4°C低溫或超過30°C會慢慢下降，若溫度升到40°C則肌凝蛋白不管有沒有光線提供ATP能量，完全無法發揮作用，葉綠體也因此完全停止流動。而40°C是否會讓這些蛋白發生無法恢復的蛋白質變性，還需要做進一步探討。

二、光照強度對水蘊草細胞質流扮演的關鍵角色

光照強度對水蘊草葉片細胞中葉綠體的流動，似乎不只是單純提供能量而已。在自然界中，水蘊草於環境照度約500-1000 lux左右的陰涼處可以生長得最好，光補償點約850 lux，二分之一最大光合作用速率約在3000 lux發生【5】，也曾有研究探討過，水蘊草光合作用效率最高的光照度約2000 lux；但光合作用效率最高的照度不一定就是生物最適合生存的環境，在之前的實驗中【2】，我們以1000 lux及3000 lux的環境做對照，過高強度的光照，可能對水蘊草細胞產生的影響，除了前人研究【8】、讓光合作用效率降低，也會間接影響了葉綠體的流動及細胞質流，甚至可能會有光抑制作用(photo-inhibition)或其他損傷的發生，因此不利於水蘊草的生長及存活；而強光下葉綠體聚集、細胞質流減少或速度減慢，似乎也是光抑制作用的一種，對植物細胞來說，也是保護自身細胞的一種方式【7】。

由此可見，光照對細胞質流的影響確實是很明顯的，在我們這次的實驗觀察中，也證明細胞質流的起始條件中最關鍵的是光照，而光照強度也是調節細胞質流最重要的環境條件之一，因此光照強度、光合作用與細胞質流這三者之間的關聯，也是很值得討論的。

三、光補償點、光飽和點、光合作用效率與水蘊草的細胞質流

生物學上普遍認為，ATP提供細胞質流所需要的能量，而植物獲取能量的最主要方式【9】，就是經由光合作用將光能轉化為化學能，再經由呼吸作用將化學能轉變為ATP；先前的研究【1】也探討過淨光合作用對細胞質流的影響，光合作用效率要大於呼

吸作用時，也就是達到超過光補償點 LCP 時，光合作用製造的有機物質與呼吸作用消耗的物質相平衡時，才會有多餘能量讓細胞質流更容易發生。但查詢資料發現，水蘊草光補償點為850 lux，但我們的實驗觀察發現早晨日照約600 lux 左右就有細胞質流的發生，可見達到光補償點並非細胞質流發生的要件，有達到光合作用光反應的進行、可以產生 ATP 應該就會有細胞質流的發生；但達到光補償點，環狀層流的細胞質流模式比例會增加，亦即細胞質流的流速及效率也會增加。

而過強的光照，例如我們實驗中所觀察到中午時段(圖十)或是用約3萬 lux 的日光直接照射水蘊草(圖十五)，葉綠體會出現聚集成團的現象，這可能是因為日光已超過水蘊草光合作用所需的最大光照度，也就是光飽和點 LSP；因此就算光照強度再增加、光合作用效率也不會再增加；而查詢資料得知水蘊草的1/2光飽和點大約是3000 lux，但過高的光照度，對於細胞質流的發生似乎不利、葉綠體聚集成團，讓細胞質流變得不同步、出現較多紊流移動的現象，使細胞質流效率降低。因此我們的光強度是要控制得宜，必須在光補償點/光飽和點之間，對水蘊草來說大概就是850到3000 lux 之間，太弱或太強的光照對水蘊草都是不利的，這也符合水蘊草的生長特性:適合生長在不會直接日曬的陰涼處，才能避免光抑制作用，甚至是白化、停止生長或更嚴重地死亡。

四、觀察水蘊草葉片細胞的細胞質流在一天當中的變化，主要影響因素應該是光照度(圖十)，細胞質流和光合作用中光反應和暗反應之間的關係討論如下:光線不足時，葉綠體水平均勻排列，讓受光面積最大化；增加照光之後，等光線足夠，葉綠體會慢慢移動到細胞邊緣，開始進行細胞質流、加速原料移動，讓暗反應可以更快的進行。這可以推論應該是光反應產物累積越來越多之後，細胞的暗反應會跟著加快。因此，水蘊草的細胞質流模式，依光線足夠與否，先達到充足的光反應、再開始進行暗反應；細胞質流模式，由黑暗再到充分照光，依序則是由靜止狀態、紊流移動，最後才是順、逆時針的層流模式。

五、水質環境對水生植物細胞質流的影響

觀察水蘊草浸泡在不同濃度鹽水過後的細胞質流變化，發現在0% ~1% 的濃度之間並沒有太大的變化，但濃度加大至5% 就會有明顯的質壁分離，縮小了細胞的體積，進而影響了細胞質流。這可能和水蘊草接受水質的變化大小有一定的相關性：在水質只有些微的變化 (0% -1%)時，水蘊草依舊可以正常進行細胞質流，流速及流動的方向並沒有太大的變化；但水質忽然發生劇烈變化(5%)時，水蘊草就發生質壁分離，無法正常地進行細胞質流，這可能是因為細胞內的空間大小或其他因素，侷限了細胞質流的進行。

因此，水蘊草本身有一定的適應環境變化的能力，但是只要超過了水蘊草的耐受範圍，水蘊草的質壁分離不僅會讓細胞質的體積變小，葉綠體也會聚集在一起，一方面無法進行細胞質流，另一方面也減少了葉綠體受光面積，讓水蘊草細胞無法正常吸收太陽能進行光合作用、產生養分，也可能因此而死亡。

六、關於本實驗所進行的分析，尚有部分形態及數據不足之處，例如葉綠體流動角速度等等，將以 ImageJ 與 Tracker 做進一步測量及分析，做物理學上的探討。

陸、結論

- 一、接續我們先前的實驗，我們利用縮時攝影觀察水蘊草細胞質流，將其流動方式分為：靜止、方向不定的紊流移動與順/逆時針的層流移動；其流速以層流方式最快。
- 二、水蘊草葉片細胞中的近軸面，葉脈區及葉緣區細胞細長、葉綠體大多呈順/逆時針方向的層流移動，葉肉區細胞長短比例小、葉綠體流動方向相較於其他區域，不規律的紊流模式較多；遠軸面的細胞不管哪一區，細胞都是細長型而且幾乎都是以層流方式進行細胞質流。
- 三、水蘊草葉片細胞的細胞質流流速與模式隨時間而異，影響的主要因素是光照。
- 四、光線不足時水蘊草細胞的葉綠體會靜止均勻排列在細胞膜下，加大可照光面積，面積是細胞質流模式下的兩倍。
- 五、充足照射光線後，水平排列的水蘊草葉綠體會慢慢以紊流方式移動至細胞邊緣，開始進行較旺盛的細胞質流；垂直排列在水蘊草細胞邊緣的葉綠體則較多是進行順/逆時針的層流移動。
- 六、水蘊草的細胞質流模式會因環境條件而轉換，應和細胞進行光合作用的效率相對應：光補償點以上開始進行較旺盛細胞質流，超過光飽和點以上則有抑制現象發生。

柒、參考文獻資料

- 【1】 游昕頤(2016)瘋流蘊試—水蘊草的細胞質流機制初探, 第十五屆旺宏科學獎成果報告書
https://www.mxeduc.org.tw/scienceaward/history/projectDoc/15th/doc/SA15-351_final.pdf
- 【2】 蔡宜庭、王巧伶(2021)時來蘊轉, 桃園市第61屆高國中小科學展覽會。
- 【3】 鄭幸昇(2016)看過水蘊草的細胞質流動, 那看過胞質與細胞壁分離嗎?(Cytoplasmic streaming and plasmolysis of *Egeria densa*)
<https://www.youtube.com/watch?v=Iyl6Qo3fmS0>
- 【4】 蘊轉首之鏈-水蘊草細胞質流的不同模式 <https://youtu.be/WePnvs2phjE>
- 【5】 Compensation Point, <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/compensation-point>
- 【6】 Cyclosis / Cytoplasmic streaming in plant cells (*Elodea*) - DIC microscope/ 1250x ,
<https://www.youtube.com/watch?v=BB5rvjZzgFU&list=TLPQMTkwMjIwMjIT0030akUsNw&index=2>
- 【7】 Giacometti G.M. and Morosinotto T. (2013) Encyclopedia of Biological Chemistry III (3rd edition), Volume 2: 384-390.
- 【8】 Hara T, Kobayashi E, Ohtsubo K, Kumada S, Kanazawa M, Abe T, et al. (2015) Organ-Level Analysis of Idioblast Patterning in *Egeria densa* Planch. Leaves. PLoS ONE 10(3): e0118965. doi:10.1371/journal.pone.0118965
- 【9】 Motoki T. and Kohji I. (2015) The molecular mechanism and physiological role of cytoplasmic streaming, Current Opinion in Plant Biology, 27:104-110.
- 【10】 Ondrej Z., Jan F., Lucie J. (2014) Pelletization of Compost for Energy Utilization, IERI Procedia 8:2-10.

【評語】 030315

本研究以水蘊草為實驗材料探討細胞質流動特性以及環境中讓水蘊草產生細胞質流的關鍵因素，發現隨著日照強度變化，上午細胞質流會隨時間變快、過中午後會變慢；且中午時葉綠體會聚集成團、流動比例降低。光線不足時葉綠體靜止不動且均勻分散，隨著光照增加，葉綠體開始進行細胞質流，而強光下葉綠體會出現流動停滯的現象。不同細胞質流模式會因光照條件而轉換。

優點：此為連續性研究，在去年的作品中發現水蘊草具有細胞質葉綠體流動的現象，今年則發現驅動細胞質葉綠體流動的變因是光照程度的改變。學生對同一主題的探討目的性明確，且能有持續且深入的探討研究，值得鼓勵。

建議：

1. 本研究將水蘊草在一天不同時期內部細胞的細胞質流做紀錄。未來或許可以跟更多的後續生理現象進行結合，如聚集或分散時，其光合作用效率為何等等。
2. 應探討葉綠體的流動是否具有特定方向性？朝向光線區較多方向移動或反向？建議可以修正研究方向，探測該移動是否為隨機或是具有特定趨光性
3. 細胞質流動的現象是否具有特定生理學意義應加以討論。

4. 應討論葉綠素的面對光照激發的流動速度與方向有何生理意義？層流或是紊流的增加對於水蘊草的生長或其他生理功能是否有影響？聚集流動行為的背後代表何種機制？可以試著思考並進行延伸的研究。

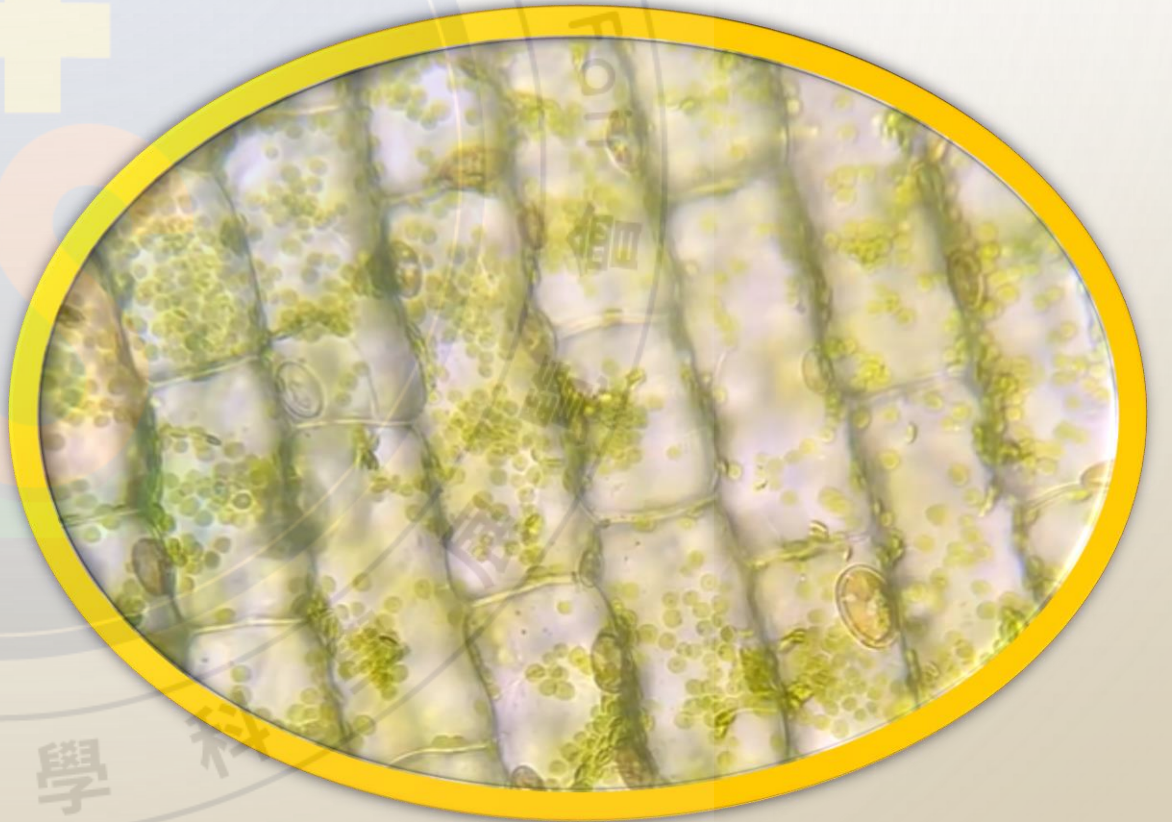
作品簡報

蘊轉首之鏈

組別：國中組

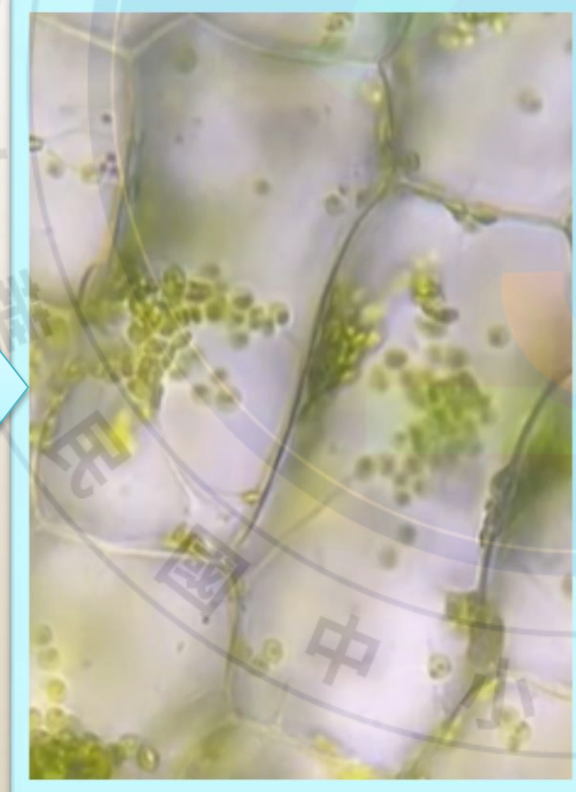
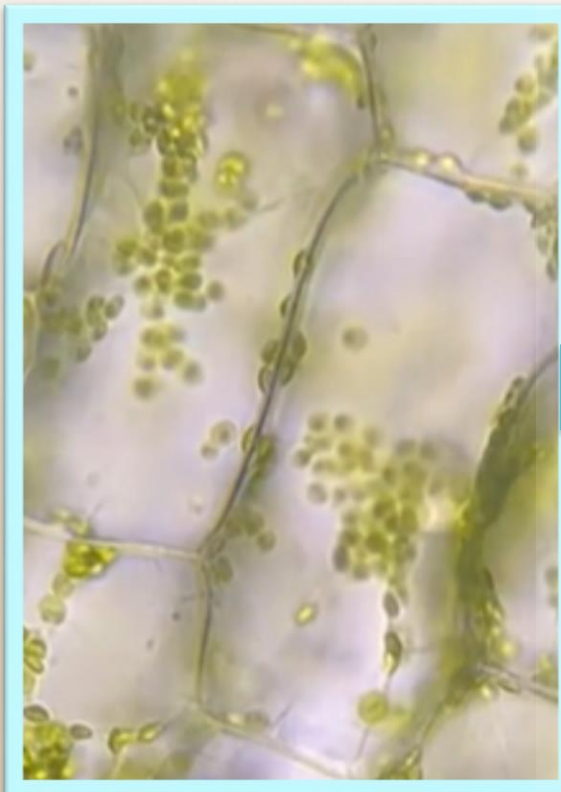
科別：生物科

編號：030315

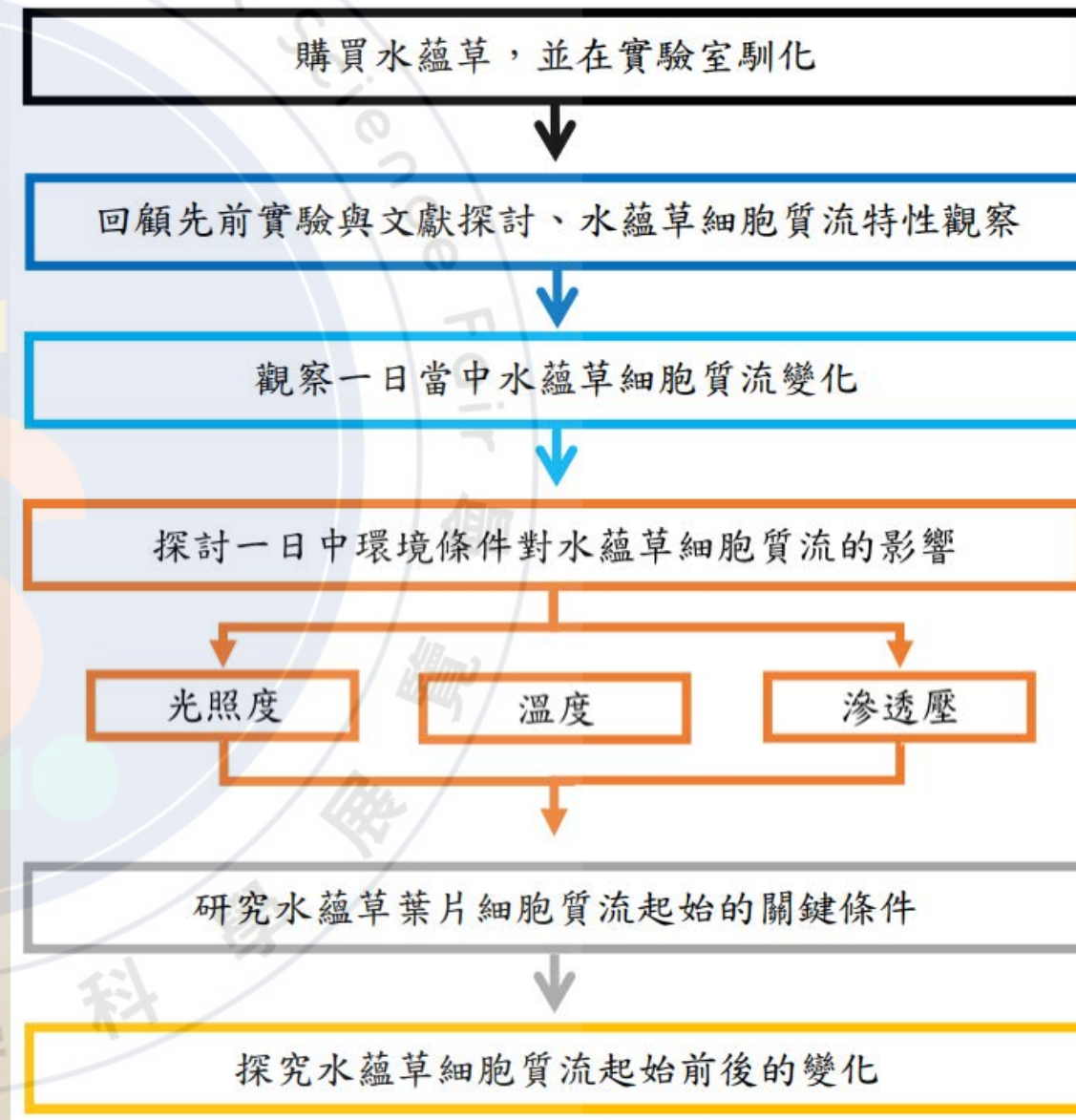


研究動機

究竟什麼環境條件才是水蘊草葉綠體流動起始的最關鍵因素？葉綠體從靜止到流動的過程變化如何？



研究架構

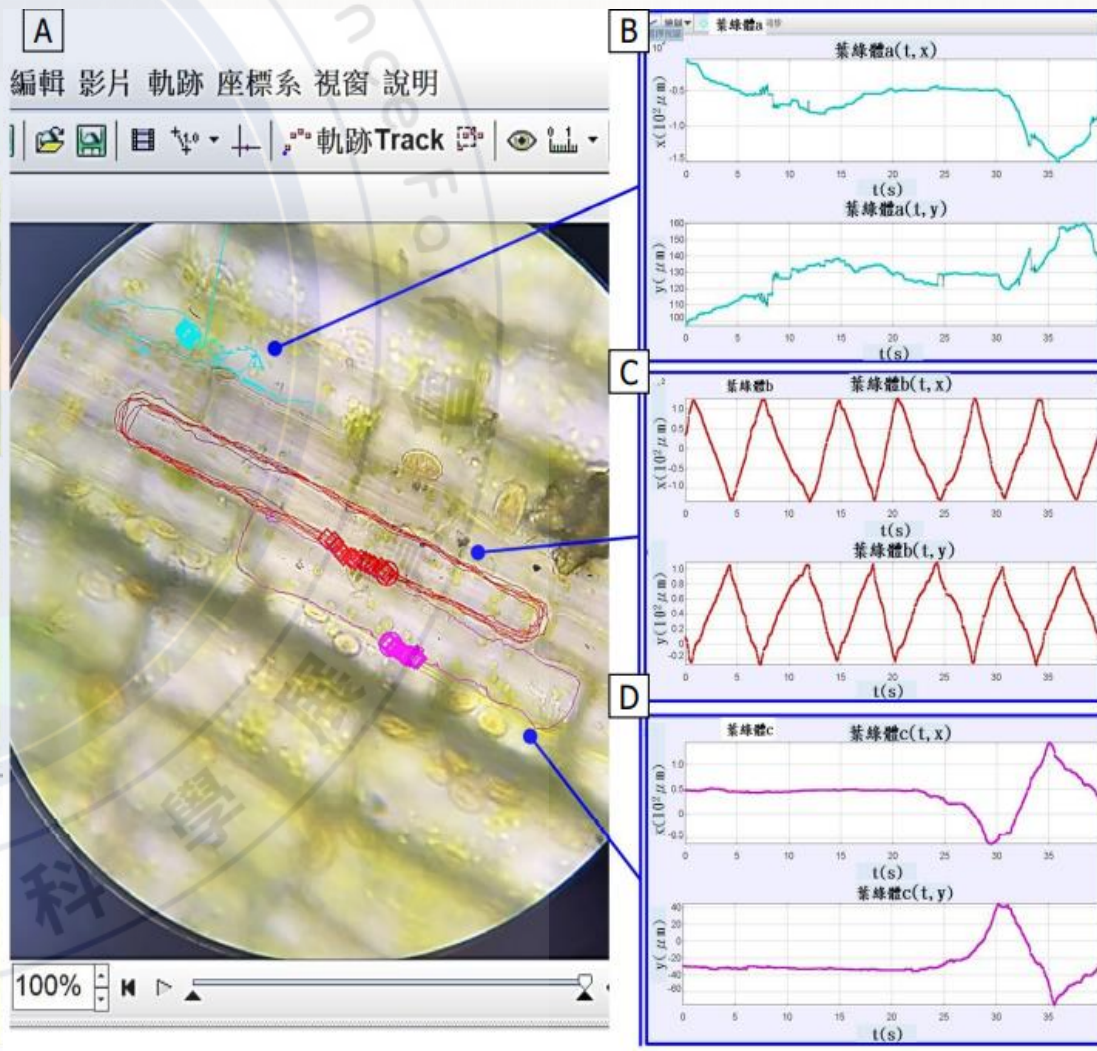
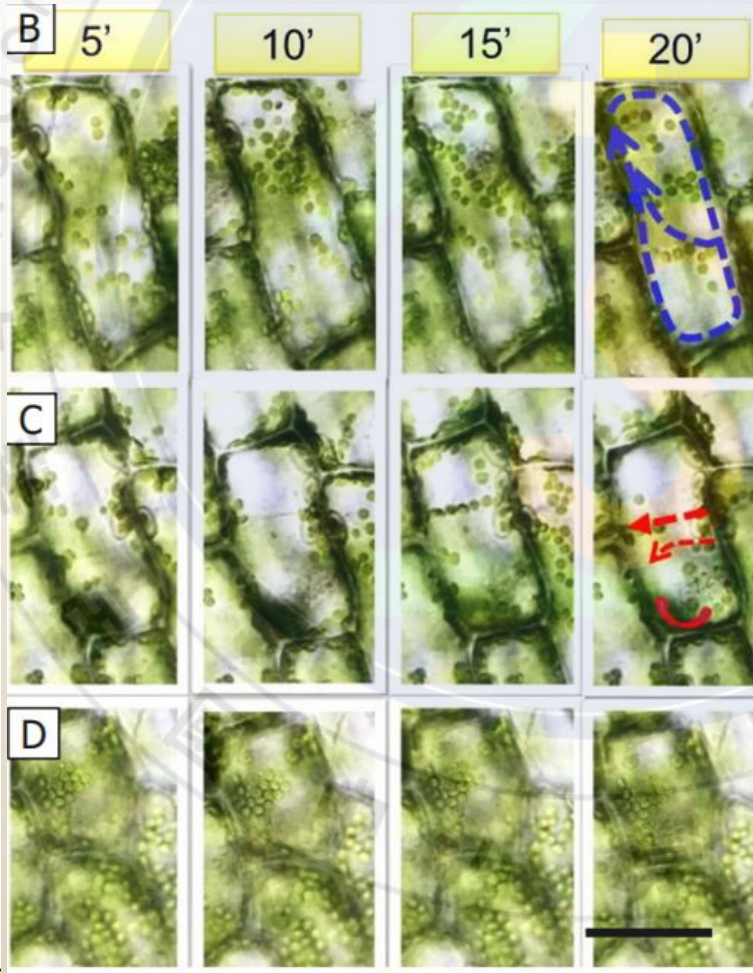


研究結果

水蘊草細胞質流特性觀察

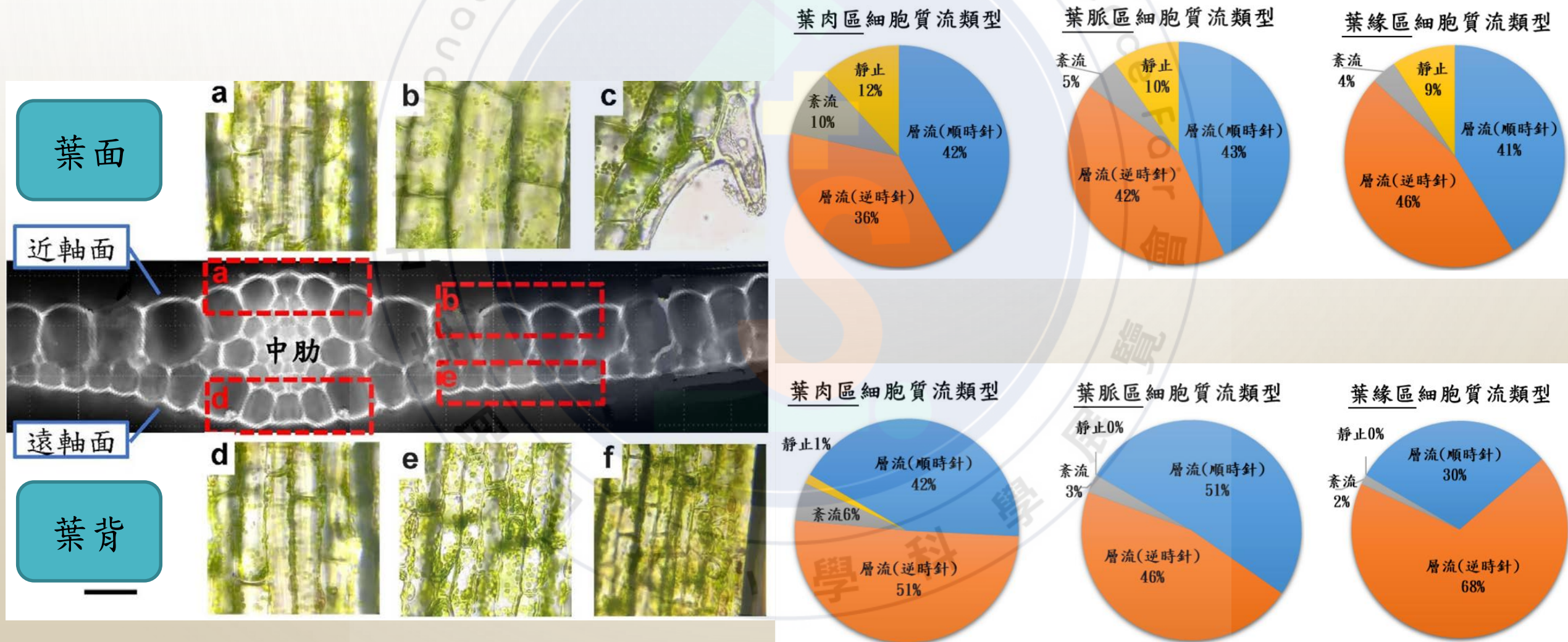
水蘊草的細胞質流模式觀察與探討

不同細胞質流的路徑模式分析

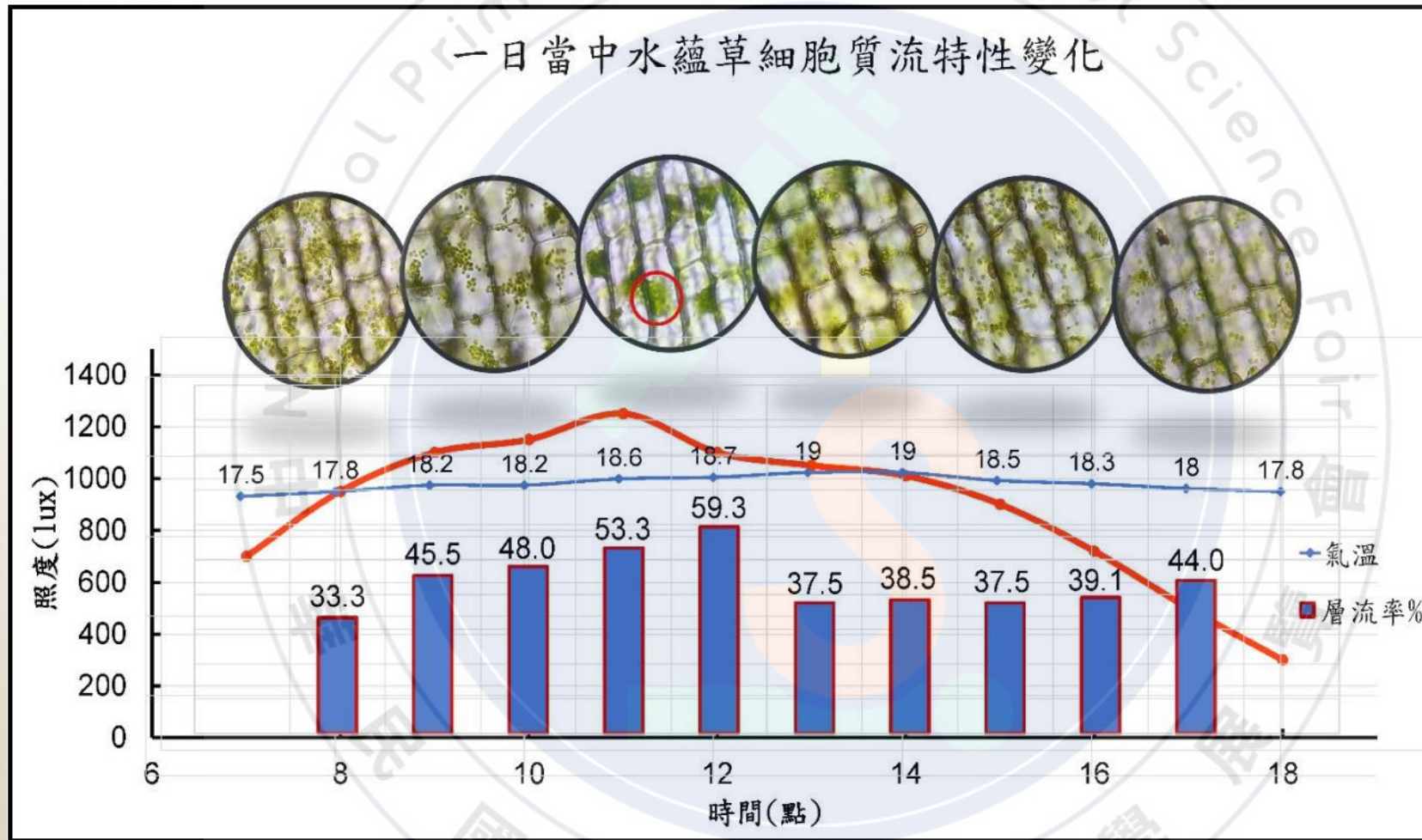


水蘊草細胞質流特性觀察

水蘊草不同葉片區域細胞的細胞質流特性探討



水蘊草一天當中細胞質流變化



操作變因

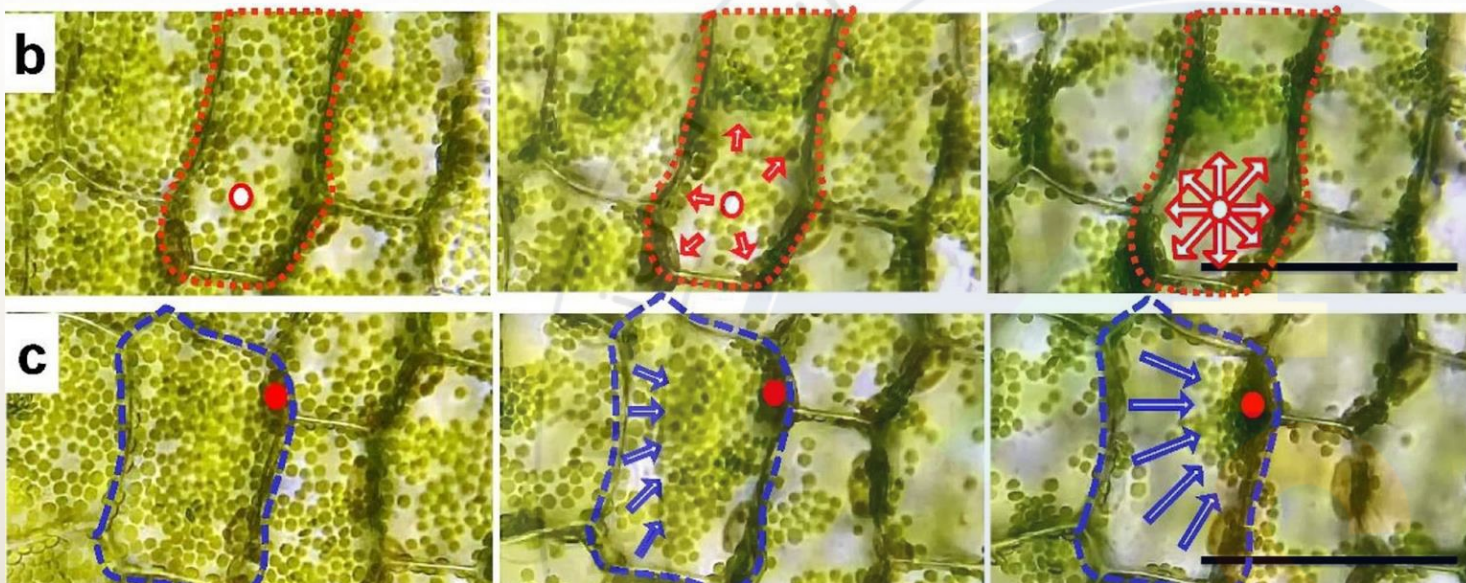
溫度

光照度

滲透壓

橫軸為時間點，縱軸為一日光照度。一天當中的氣溫變化並不大，層流率從八點開始上升，過午之後則忽然下降再漸漸上升。

水蘊草一天當中細胞質流變化



水蘊草由黑暗中照光之後
葉綠體的排列變化

原本平均分散的葉綠體，隨著光線
照射時間會往細胞邊緣方向聚集

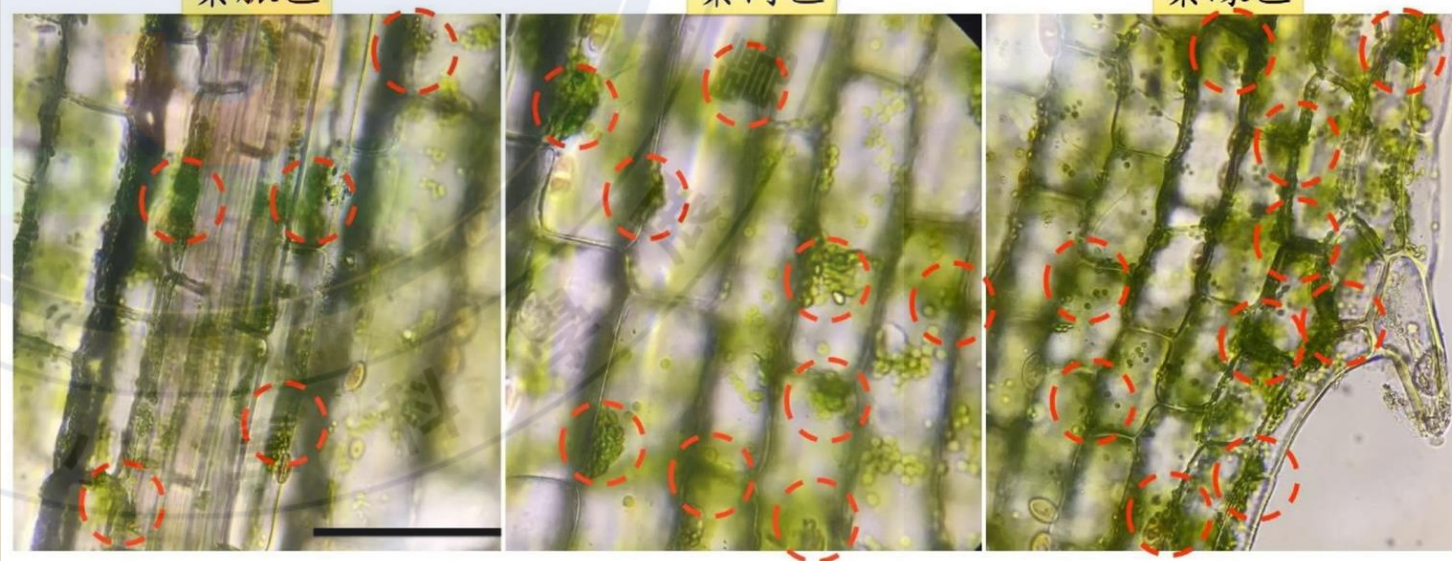
葉脈區

葉肉區

葉緣區

過度照光對葉綠體排
列與細胞質流的影響

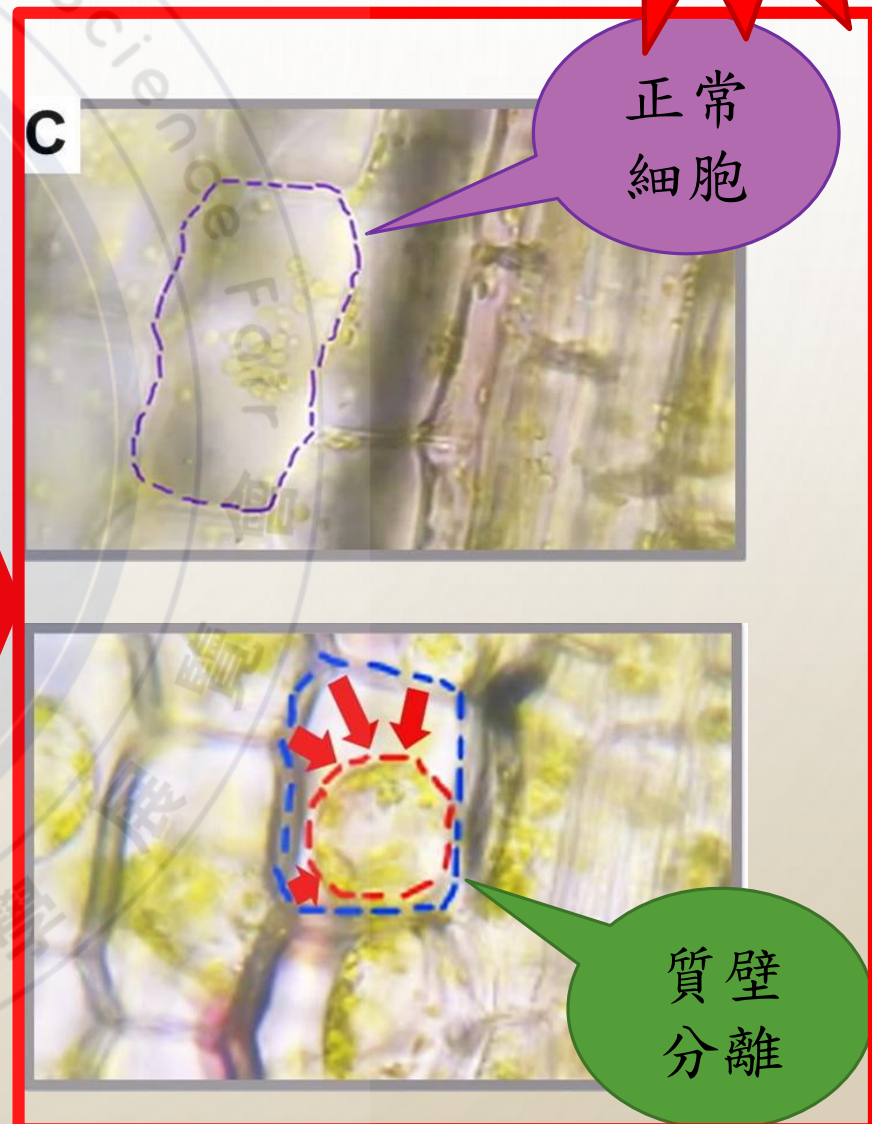
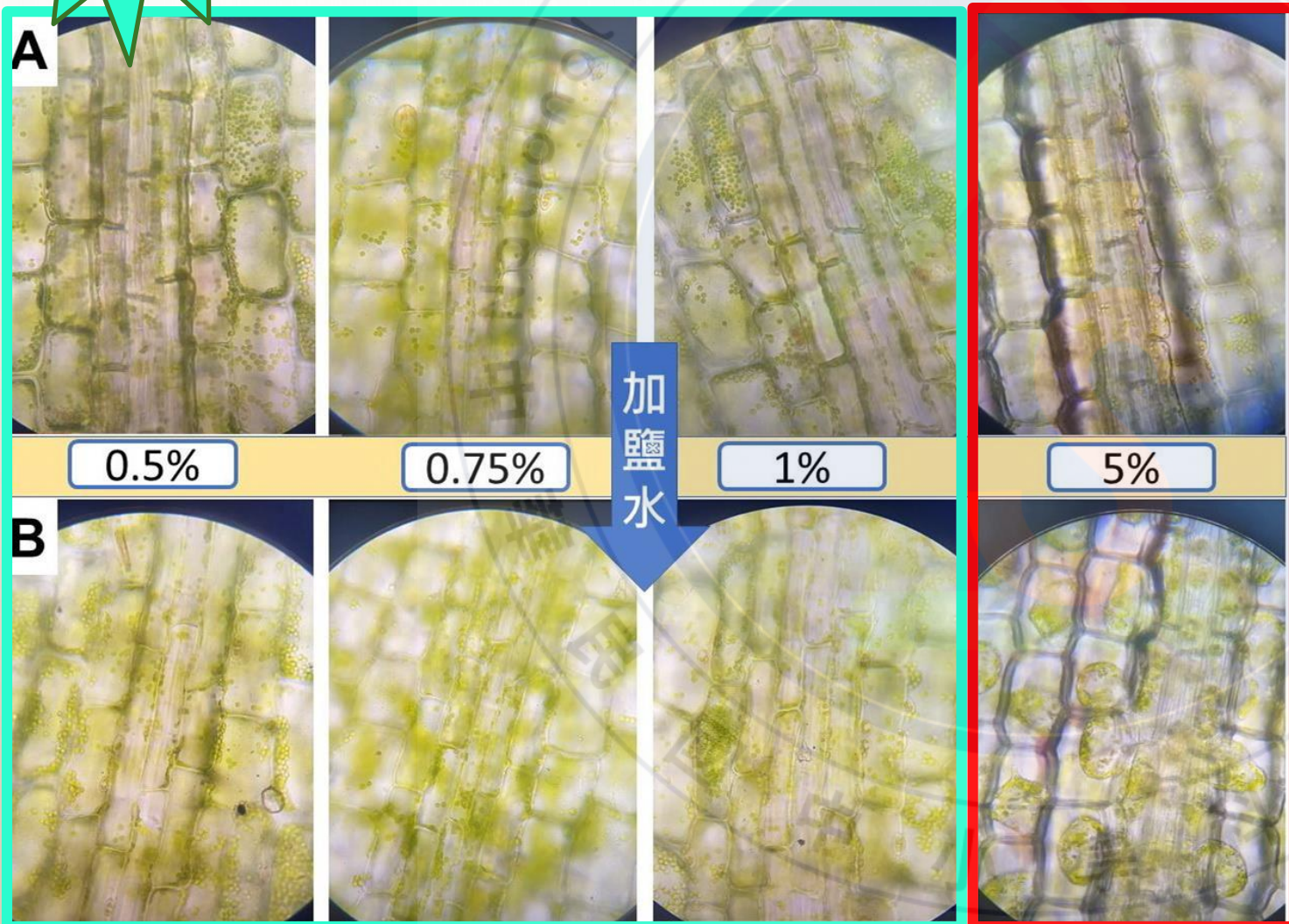
經過半小時過度日照，在水蘊草
葉片的三個區域都出現葉綠體聚
集成團的現象(紅色虛圈)



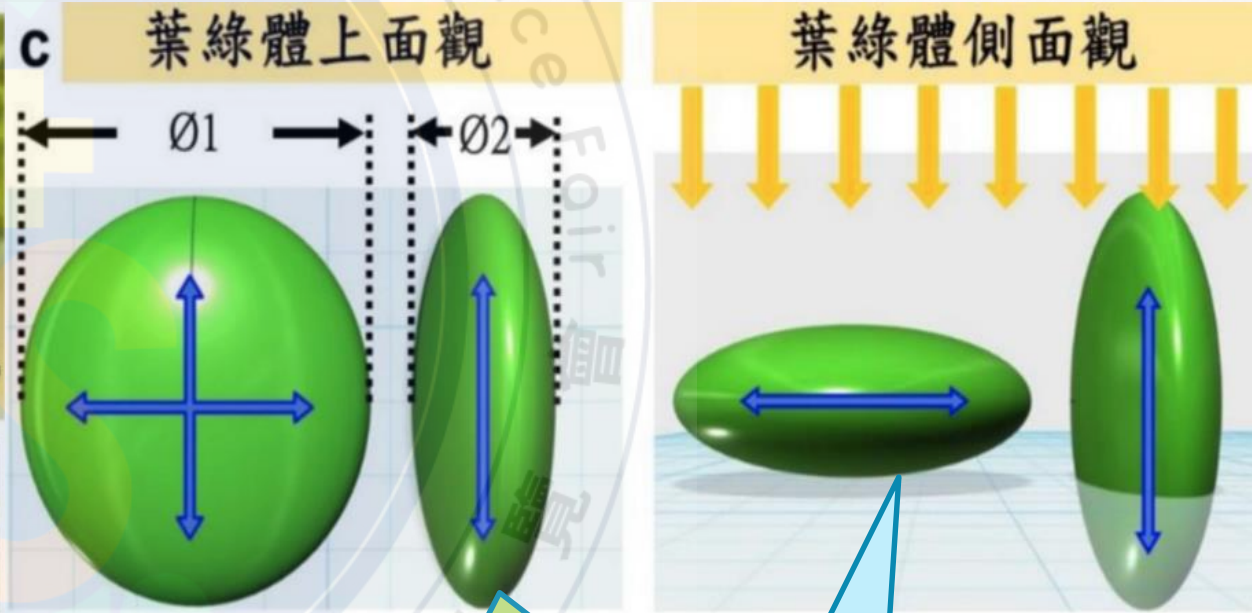
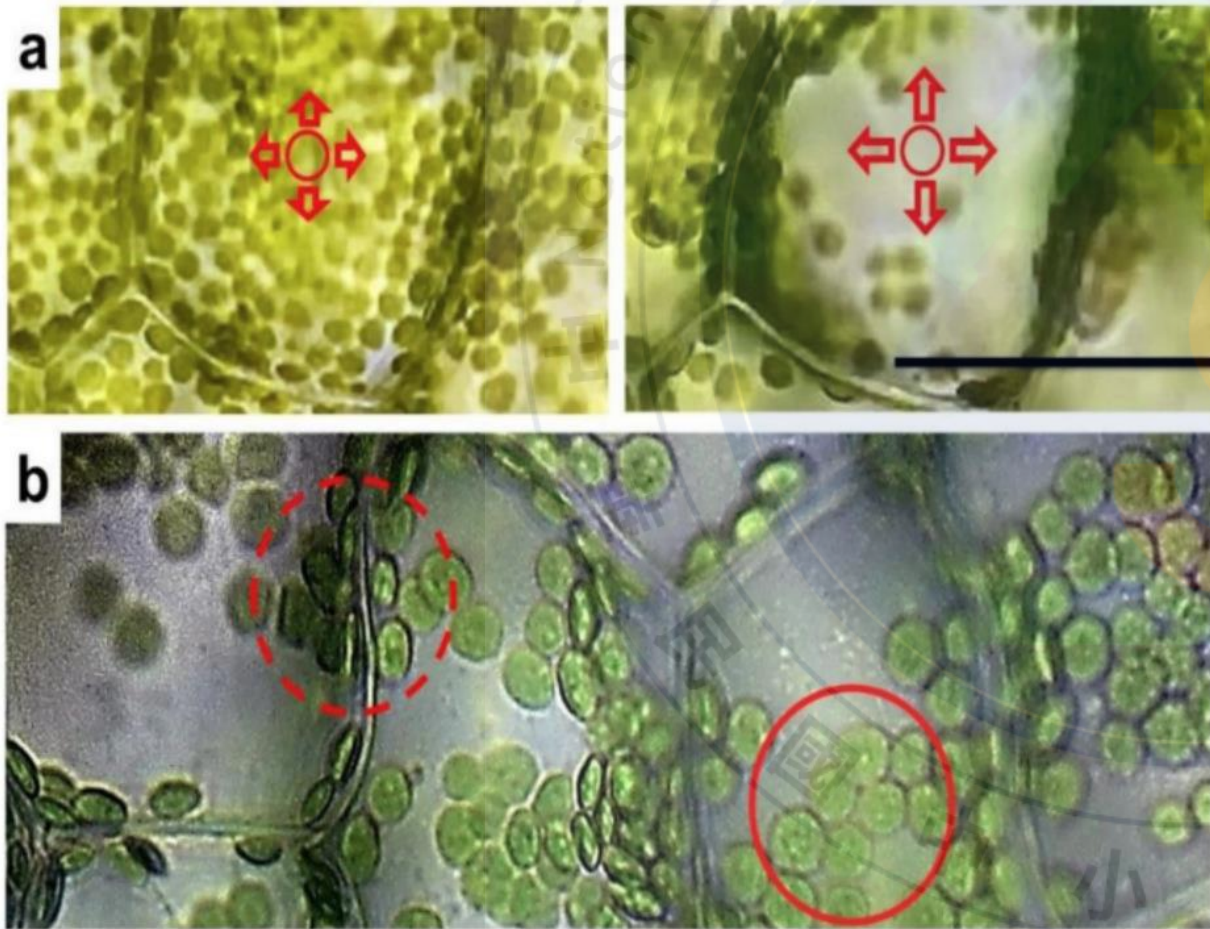
滲透壓對水蘊草細胞質流的影響

無變化

有變化



水蘊草細胞質流起始關鍵條件及前後變化



呈現梭狀以利於流動

圓餅狀增加照光面積

水蘊草細胞質流起始關鍵條件及前後變化



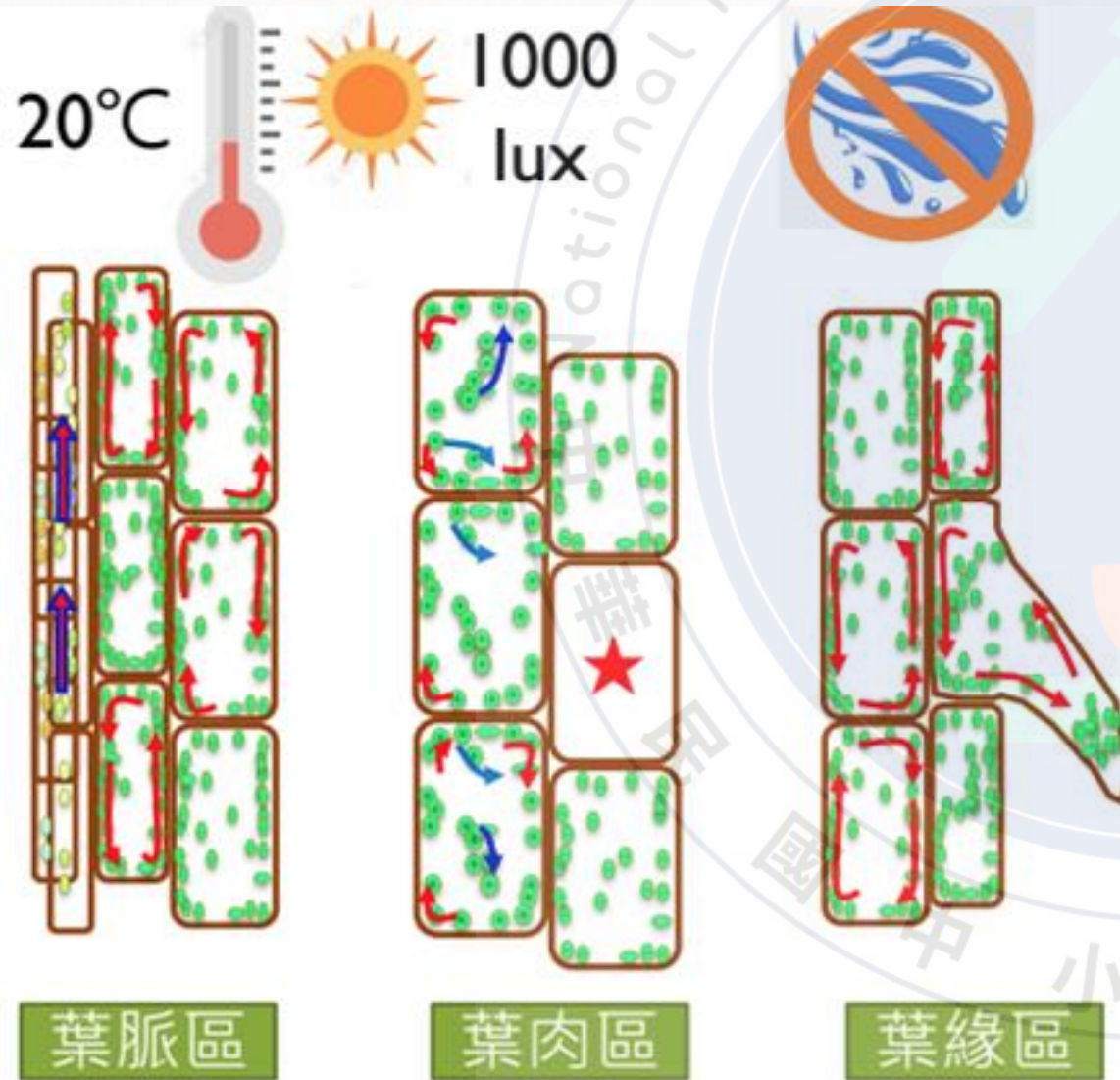
照光時間	葉綠體 總面積*	葉綠體/細胞 總面積% *	葉綠體 單位面積	葉綠體 總數量*	葉綠體 數量% *
照光 0'	1931.3 ± 130.8	47.8 ± 3.8	18.1 ± 2.8	108.7 ± 12.7	100 ± 0
照光 5'	1446.6 ± 165.0	36.39 ± 4.4	16.5 ± 1.5	88.7 ± 15.4	81.1 ± 4.9
照光 10'	921.3 ± 30.8	23.1 ± 0.6	20.4 ± 3.8	49.7 ± 11.3	45.5 ± 7.2

備註 1: 數字表示為平均值±標準差(STEDV.S)，長度單位 um 微米，面積單位 um^2 平方微米；

備註 2: 細胞截面積為 4076.5 ± 127 平方微米。* $p < 0.05$

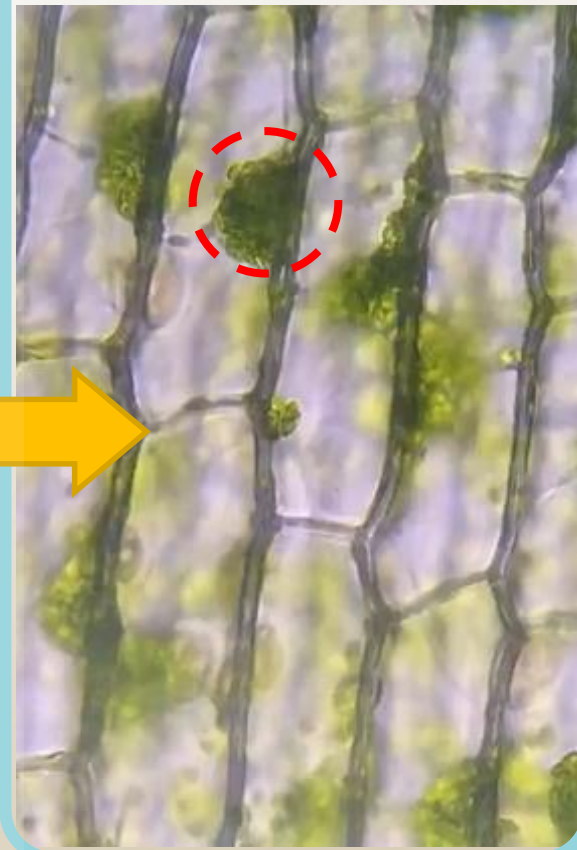
討論

『時來蘊轉』觀察葉綠體流動要找對時機點



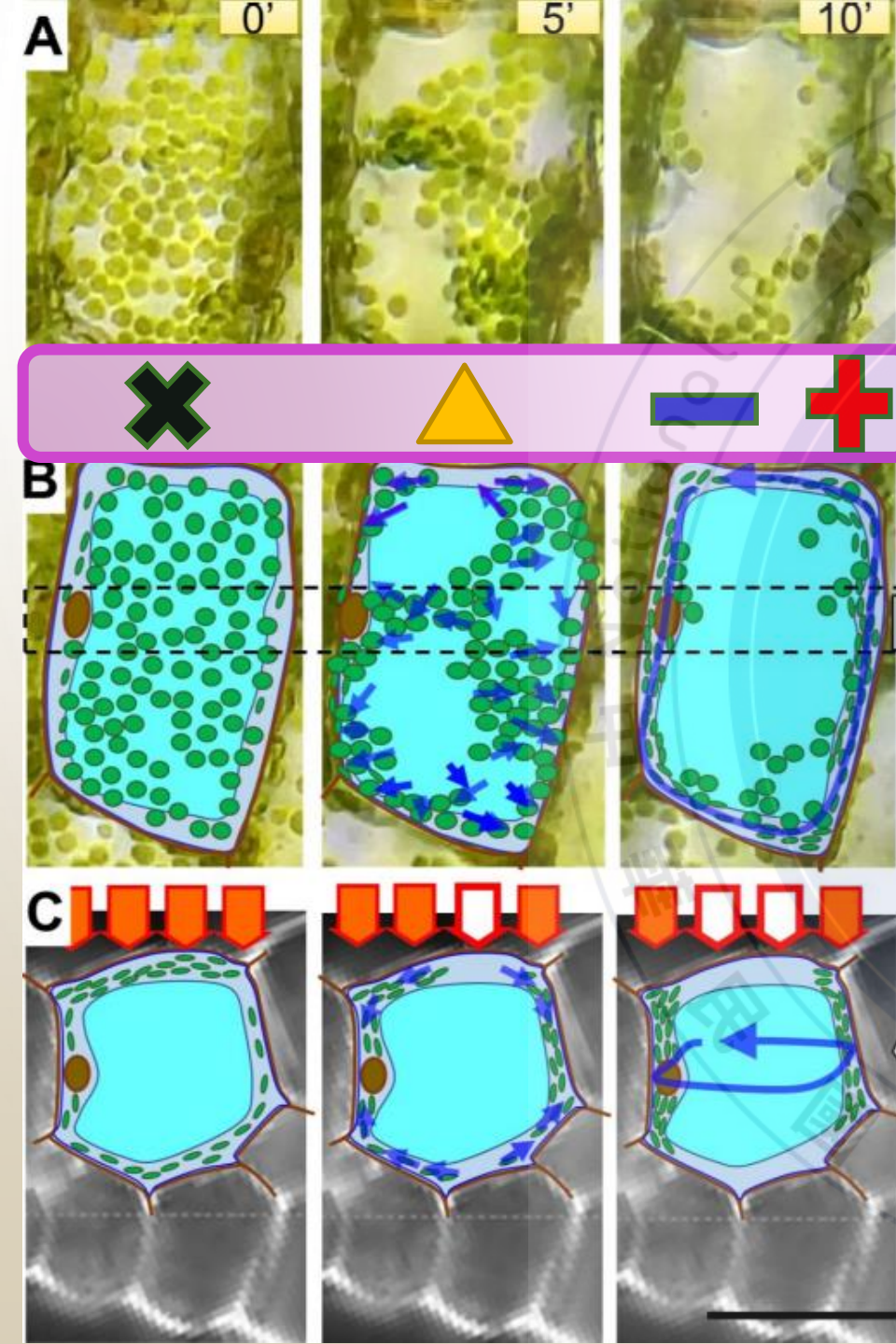
光照較弱時
 光照度約1000-1500lux
 進行細胞質流

大約10-12點時
 光照度最高可達到
 30,000lux以上
 開啟光保護機制



研究結論

- 一、細胞質流流動方式分為：**靜止**、**紊流**、**層流**，其流速以**層流**方式最快。
- 二、近軸面的葉脈區及葉緣區細胞細長，葉綠體大多呈順/逆時針方向的層流移動；遠軸面幾乎都是以層流方式進行細胞質流。
- 三、**光照度**是影響細胞質流的主要因素。
- 四、**光線不足時**葉綠體會均勻水平排列在細胞膜下，**加大可照光面積**至細胞質流模式下的**兩倍**。
- 五、細胞質流的模式會因環境條件而互相轉換。
- 六、**光補償點**以上開始進行較旺盛細胞質流，超過光飽和點則有抑制現象發生。



參考文獻

- 【1】 游昕頤(2016)瘋流蘊試—水蘊草的細胞質流機制初探, 第十五屆旺宏科學獎成果報告書
https://www.mxeduc.org.tw/scienceaward/history/projectDoc/15th/doc/SA15-351_final.pdf
- 【2】 蔡宜庭、王巧伶(2021)時來蘊轉, 桃園市第61屆高國中小科學展覽會。
- 【3】 鄭幸昇(2016)看過水蘊草的細胞質流動, 那看過胞質與細胞壁分離嗎?(Cytoplasmic streaming and plasmolysis of *Egeria densa*)
<https://www.youtube.com/watch?v=Iyl6Qo3fmS0>
- 【4】 蘊轉首之鏈-水蘊草細胞質流的不同模式 <https://youtu.be/WePnvs2phjE>
- 【5】 Compensation Point, <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-andbiological-sciences/compensation-point>
- 【6】 Cyclosis / Cytoplasmic streaming in plant cells (*Elodea*) - DIC microscope/ 1250x ,
<https://www.youtube.com/watch?v=BB5rvjZzgFU&list=TLPQMTkwMjIwMjIT0030akUsNw&index=2>
- 【7】 Giacometti G.M. and Morosinotto T. (2013) Encyclopedia of Biological Chemistry III (3rd edition), Volume 2: 384-390.
- 【8】 Hara T, Kobayashi E, Ohtsubo K, Kumada S, Kanazawa M, Abe T, et al. (2015) Organ-Level Analysis of Idioblast Patterning in *Egeria densa* Planch. Leaves. PLoS ONE 10(3): e0118965. doi:10.1371/journal.pone.0118965
- 【9】 Motoki T. and Kohji I. (2015) The molecular mechanism and physiological role of cytoplasmic streaming, Current Opinion in Plant Biology, 27:104-110.
- 【10】 Ondrej Z., Jan F., Lucie J. (2014) Pelletization of Compost for Energy Utilization, IERI Procedia 8:2-10.