

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 環境學科

佳作

052606

「藻」出不「塑」之客—狸藻捕蟲囊吸收塑膠微粒之探討

學校名稱：國立潮州高級中學

作者： 高二 王詩妤 高二 蔡孟言 高二 楊宸維	指導老師： 楊勝惠 洪育祥
---	-----------------------------

關鍵詞：狸藻、捕蟲囊、腺毛

摘要

本研究主要是觀察狸藻葉子特化的捕蟲囊。以染色及褪色的方法，來了解是否因吸收聚氯乙烯(PVC)，而改變其觸發速率，發現含有 PVC 的捕蟲囊，其觸發及排出色素的速率皆比未含有的慢。另外，也發現浸泡在不同 PVC 濃度下的捕蟲囊，其觸發及排出速率也不同，浸泡在濃度較低溶液中的捕蟲囊，其觸發、排出速率皆比濃度較高的還快。顯示水中不同濃度的物理性微粒對狸藻捕蟲囊觸發、排出作用有不同程度的影響。此外我們透過抗氧化酵素過氧化酶 POD 活性檢測浸泡 PVC 溶液不同時間的狸藻其生長狀況，發現有 PVC 的組別，體內 POD 含量皆較高且浸泡一天的組別含量最高，顯示 PVC 的確會對狸藻狀況造成明顯氧化壓力。

壹、研究動機

現今這個世代，塑膠製品無所不在，它為我們的生活帶來數不盡的便利，但同時卻在人類不當的利用下，對我們的水資源造成嚴重的破壞，不僅在海洋中充斥著各種不同的塑膠製品，而造成無數海洋生物的死亡，生活周遭的溪流中，也不免於受到塑膠微粒的迫害。所以我們希望藉由對狸藻捕蟲囊的了解及探討，以期能用來清除水中塑膠微粒。

貳、研究目的

一、目的

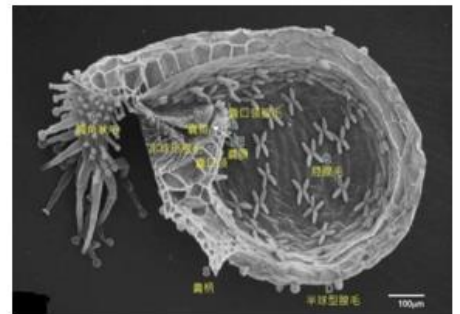
1. 探討染色 PVC 是否能進入捕蟲囊。
2. 以不同的方式觀察染色 PVC。
3. 探討染色 PVC 是否會影響捕蟲囊觸發和排出的速率。
4. 探討 PVC 是否會影響植物的生長狀況。

二、相關資料

(一)狸藻為狸藻屬植物的總稱，種類超過兩百種，有些是水生植物，有些則是生活在濕地的陸生植物，為了能補充貧瘠環境中缺乏的營養元素，演化出捕捉水中孑孓、水蚤等小生物的捕蟲構造(葉綠舒)。其種類繁多，一般都成片生長於濕地、池塘甚至是熱帶雨林長滿苔蘚的樹幹上，多數有漫長花期。狸藻具有細長的匍匐莖枝，捕蟲囊生於匍匐枝或者葉的基部，多數成扁球形半透明狀，開口周圍長有觸角，用以吸引小昆蟲或浮游生物，將獵物吸引到捕蟲囊口(陳和霖和李旺龍)。在開口處有可以開合的膜瓣，膜瓣的外側長有觸發毛。絲葉狸藻(*Utricularia gibba*)屬於多年生小型沉水性食蟲植物，無根，大多漂浮於水面(莊等，2019)。

1.捕蟲囊

外觀呈卵形，長1至2.5公釐，而囊口周圍存在一些較小的附屬物，該附屬物是觸發捕蟲囊釋放真空的結構。具圓端和尖端，囊口及囊內皆有腺毛，表皮有葉綠體，平時呈翠綠色，囊內有物質時則呈深紫黑色，葉發育至後期老化，捕蟲囊會逐漸掉落(圖1)(莊等，2019)。



(圖1)

(1)捕蟲囊囊口：囊瓣為控制物質進出的閥門。

(2)捕蟲囊：外壁具有半球形腺毛，內壁具有四爪腺毛。

2.捕蟲囊食物來源

狸藻等水生或濕生型的食蟲植物以土壤中的線蟲或水中的孑孓和一些微小的浮游動物為食，捕蟲囊內有小動物、藻類、植物花粉(許多來自於水邊的陸生植物)，或是真菌的菌絲、苔蘚的葉狀體及土壤顆粒(莊等，2019)。

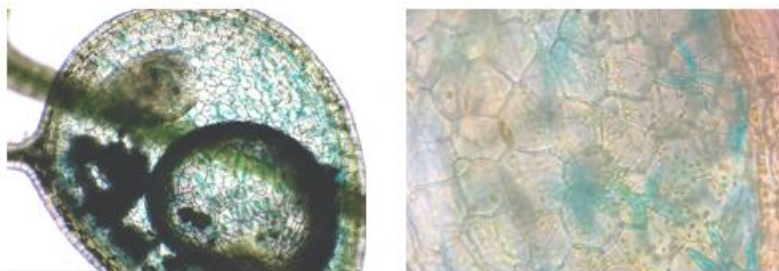
3.捕蟲囊的觸發機制

藉由生物靠近捕蟲囊時，前端的觸發毛一旦被碰觸，原本半扁的捕蟲囊迅速膨脹，形成一股強大的吸力，將囊口的水流連同獵物一起吸入囊中，並迅速關上，小生物越是掙扎越是不能掙脫，整個過程非常迅速(Vincent et al., 2011)。一般只需要幾個小時至數天，獵物就會被消化，營養被捕蟲囊壁吸收，多餘的水份也會被排出，捕蟲囊又恢復原狀。吸入一隻小動物後，若觸

發毛再次被擾動，可能會吸入更多的小動物。待多次捕獵後，剩下的殘渣會在捕蟲囊內累積，使其顏色逐漸變暗，最終腐爛脫落(陳和霖和李旺龍)。

4. 絲葉狸藻的吸收方式：

捕蟲囊的消化吸收機制主要靠囊內壁上的四爪腺毛來運作，可用對細胞較無害的食用色素做觀察(圖 2)。將其置於培養皿中，放置約一段時間後，用鑷子取出，用清水沖洗表面的食用色素，放在複式顯微鏡下觀察，可觀察到四爪腺毛內清楚的染色效果(莊，2004 年；莊和莊，2006 年；洪，2020 年)。



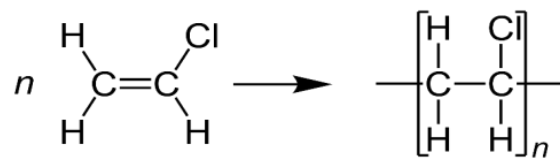
(圖 2)

5. 捕蟲囊的吸收路徑

囊內物質的吸收路徑主要是依序從四爪腺毛尾端藉由共質體路徑進入底層基底表皮細胞，再由離子路徑轉移到周圍的內表皮細胞 (Juang et al., 2011)。

(二) 聚氯乙炔(葉名倉等，2022年)(Polyvinyl Chloride) PVC是一種白色粉末固

體，一般的粉狀微粒大小約為70-150 μm (Peng, 2020)。是由氯乙炔聚合而成的高分子聚合物，是除了聚乙烯、聚丙烯之後，第三種最廣泛生產的合成塑膠聚合物。



(圖片來源：葉名倉等，2022年)

尼羅紅(Wikipedia, 2023, June 7)是一種親脂性染料，其化學式為

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ 。它可以將PVC染色，並且在藍光照射下會發出橘紅色的螢光。

參、研究設備與器材

一、實驗器材：

培養皿(個)、燒杯(數個)、鑷子(支)、剪刀(數隻)、蓋玻片(數片)、載玻片(數片)、滴管(數支)、解剖顯微鏡(一台)、生物複式顯微鏡(一台)、數位顯微鏡(一台)、手提電腦、絲葉狸藻(數十株)、離心機、離心管、微量吸管、藍光燈、魚缸、電子秤、標籤紙、計時器、磁石攪拌器、烘箱、研磨棒、比色管、分光光度計。

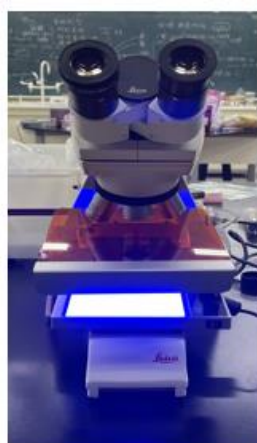
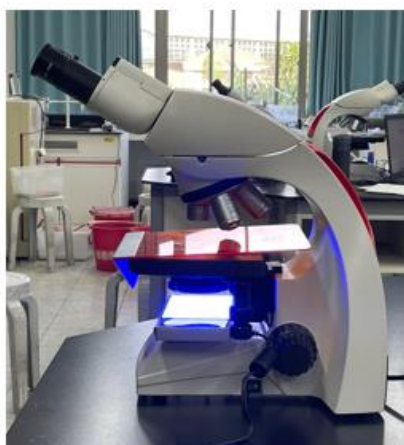
二、實驗藥品：

水溶性藍色食用色素(數瓶)、丙酮、PVC粉、螢光染劑(尼羅紅)、愈創木酚、磷酸一鉀、磷酸二鉀、過氧化氫水溶液。

肆、研究方法與過程

【實驗一】觀察染色後 PVC 是否能進入捕蟲囊內

1. 秤取少量 PVC 放入裝有尼羅紅染劑的燒杯中，靜置一段時間。
2. 再將少許捕蟲囊和已染色 PVC 放入培養皿中。
3. 靜置約一天後，透過顯微鏡直接觀察。
4. 用藍光照射並在複式顯微鏡下觀察(圖 3)。
5. 紀錄並拍照，再利用 Image J 檢測。



(圖 3)

【實驗二】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響其觸發情況

1. 製作粉紅 PVC: 秤取 0.6g PVC，加入 9ml 粉紅染劑(丙酮：尼羅紅染劑=10：0.05)。(尼羅紅染劑的配製: 將尼羅紅以 1mg 加入丙酮 1ml)，放置 20 分鐘後，放到離心管中，離心(3000rpm 4min)後備用(圖 4)。



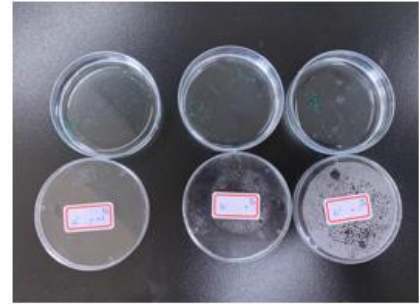
(圖 4)

2. 採集絲葉狸藻捕蟲囊(各有 20 顆)和已染色 PVC(實驗組分別為 0.03、0.05、0.1、0.15、0.2 克)放置於各培養皿，再加入裝有 5cc 藍色色素溶液(色素：水=1:30)於培養皿中。
3. 每 15 分鐘觀察一次，共觀察 5 次，記錄其染色顆數的情況並拍照。
4. 將染色照片用 Image J 分析。

【實驗三】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響其排出狀況及觀察捕蟲囊內的 PVC 面積和分佈位置

【實驗 3-1】

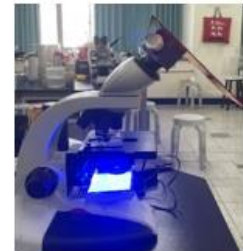
- 1.將浸泡在藍色色素一天後的絲葉狸藻拿出並清洗，記錄其原始染色的顆數。
- 2.將捕蟲囊分別放置於裝有 5cc 水的培養皿中。
- 3.每 15 分鐘觀察一次，共觀察 5 次，記錄其褪色顆數的情況並拍照(圖 5)。
- 4.將褪色照片用 Image J 分析。



(圖 5)

【實驗 3-3】

- 1.將褪色完的狸藻放置約一天後，將各濃度中的捕蟲囊分別取出三顆並清洗。
- 2.將已選取的捕蟲囊製成玻片後，用藍光照射並在複式顯微鏡下觀察(圖 6)。
- 3.紀錄並拍照，用 Image J 分析染色 PVC 在捕蟲囊內的分布位置及面積。



(圖 6)

【實驗四】狸藻過氧化酶(peroxidase, POD)活性檢測

- 1.藥品準備：
 - (1)Potassium phosphate buffer
 - ①量取 400ml 蒸餾水置於玻璃容器中
 - ②加入磷酸二鉀 254.3mg 和磷酸一鉀 3.2g
 - ③加蒸餾水至 500ml
 - ④完成 50mM PH=5.8 的 Potassium phosphate buffer
 - (2)POD activity buffer
 - ①將 39.2mM H₂O₂、愈創木酚及 Potassium phosphate buffer 以 9:10:10 的比例配置成 POD activity buffer
 - ②避光並置於冰上保存
- 2.樣品準備：
 - (1)將定量樣品放置於 1.5ml 離心管中
 - (2)加入 1ml Potassium phosphate buffer
 - (3)以研磨棒將樣品磨碎

(4)以 6000rpm 離心 30 分鐘後置於冰上保存

3.實驗操作：

(1)將 2610 μ L POD activity buffer 加入比色管並與分光光度計中架設好

(2)將 90 μ L 的樣品上清液加入 POD activity buffer 中快速混勻

(3)每一分鐘記錄一次其 OD470 之吸光值

4.數據分析:

(1)用分光光度計測出愈創木酚四聚體的 $\frac{\Delta A}{\Delta t}$ 值，再配合其吸光係數 ϵ

(26.6 $mM^{-1}cm^{-1}$)與比色管長度 1cm(光徑)，以 Beer-Lambert 定律推算出其濃度 c ，再除以樣品重量可得到 POD 活性。

(2)範例：以右表為例，如何算出 38.94 $\frac{nmole}{min \cdot mg}$

①將單位時間吸光度轉換形成的產量

$$c = \frac{\Delta A}{\Delta t(\min) \times \epsilon(mM^{-1}cm^{-1}) \times l(cm)} = \frac{0.725}{14 \times 26.6 \times 1}$$

$$\approx 0.001947(\frac{mM}{min}) \approx 1.947(\frac{\mu M}{min})$$

②單位換算

$$1.947(\frac{\mu M}{min}) = 1.947(\frac{\mu mole}{L \cdot min}) = 1.947(\frac{nmole}{mL \cdot min})$$

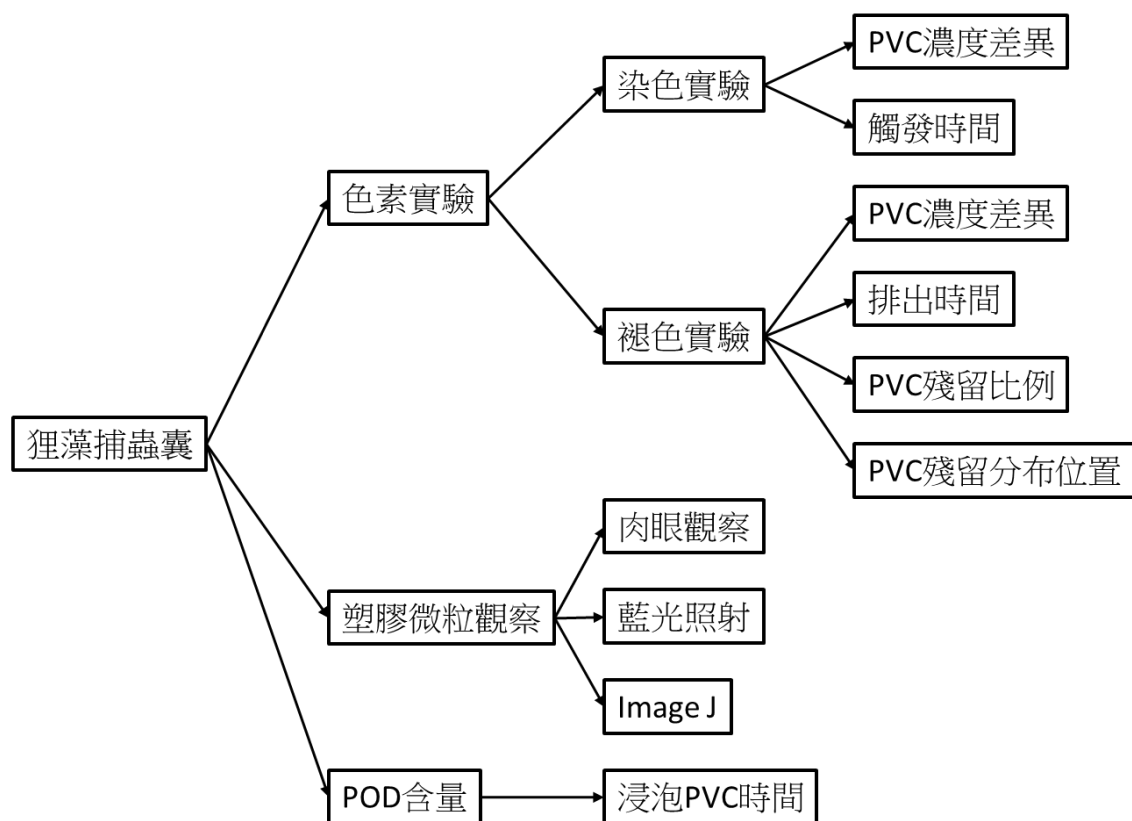
③反應發生的總體積為 2.7 mL，考慮實際參與作用的狸藻中每毫克的

$$POD \text{ 含量} = \frac{1.947(\frac{nmole}{mL \cdot min}) \times 2.7mL}{\frac{0.0015g}{1000\mu L} \times 90\mu L} \approx 38.94 \frac{nmole}{min \cdot mg}$$

(參考 Mitsch and White, 2020 第 6 頁)

分鐘	吸光度
0	0.010
1	0.095
2	0.171
3	0.248
4	0.324
5	0.403
6	0.475
7	0.537
8	0.592
9	0.634
10	0.667
11	0.689
12	0.705
13	0.720
14	0.725

伍、實驗架構圖

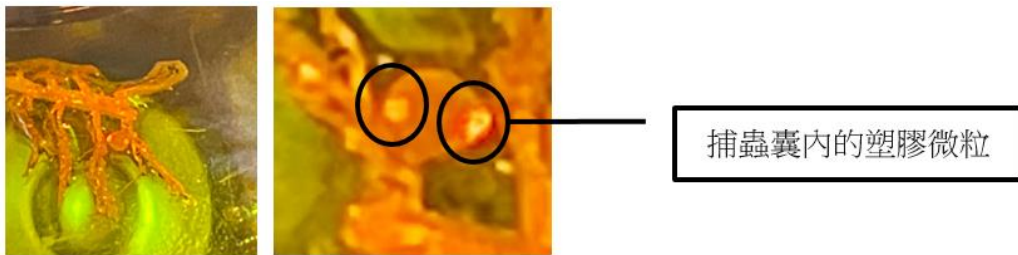


陸、研究結果

【實驗一】觀察染色後 PVC 是否能進入捕蟲囊內

- 1.經過我們的觀察，發現 PVC 能讓捕蟲囊觸發吸收機制，且 PVC 經染色後，利用顯微鏡能找到顆粒較大的 PVC，呈現粉紅色。
- 2.在藍光照射下用肉眼或透過複式顯微鏡皆可見 PVC 呈螢光色。
- 3.透過 Image J 分析照片，可以清楚看到染色 PVC 的分布情形。

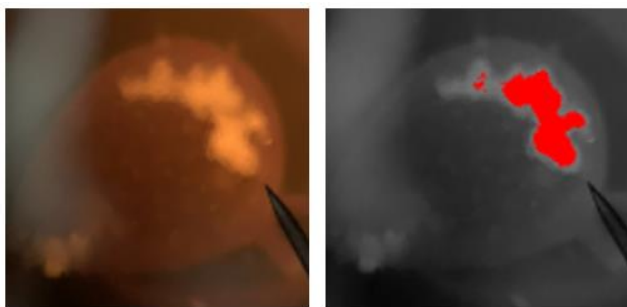
(1)肉眼直接觀察(照藍光與加橘色隔板)植物及捕蟲囊放大圖



(2)複式顯微鏡下(未照藍光)捕蟲囊(100 倍)及表皮細胞放大圖(400 倍)



(3)複式顯微鏡下(照藍光)捕蟲囊及用 Image J 分析 PVC 位置



【實驗二】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響其觸發情況

【實驗 2-1】狸藻顏色判定

1. 肉眼直接觀察並計數，有 13 顆捕蟲囊染色。



2. 以 Image J 輔助判斷，紅色部分為電腦判定已染色的捕蟲囊，經統計與目測數目一致。



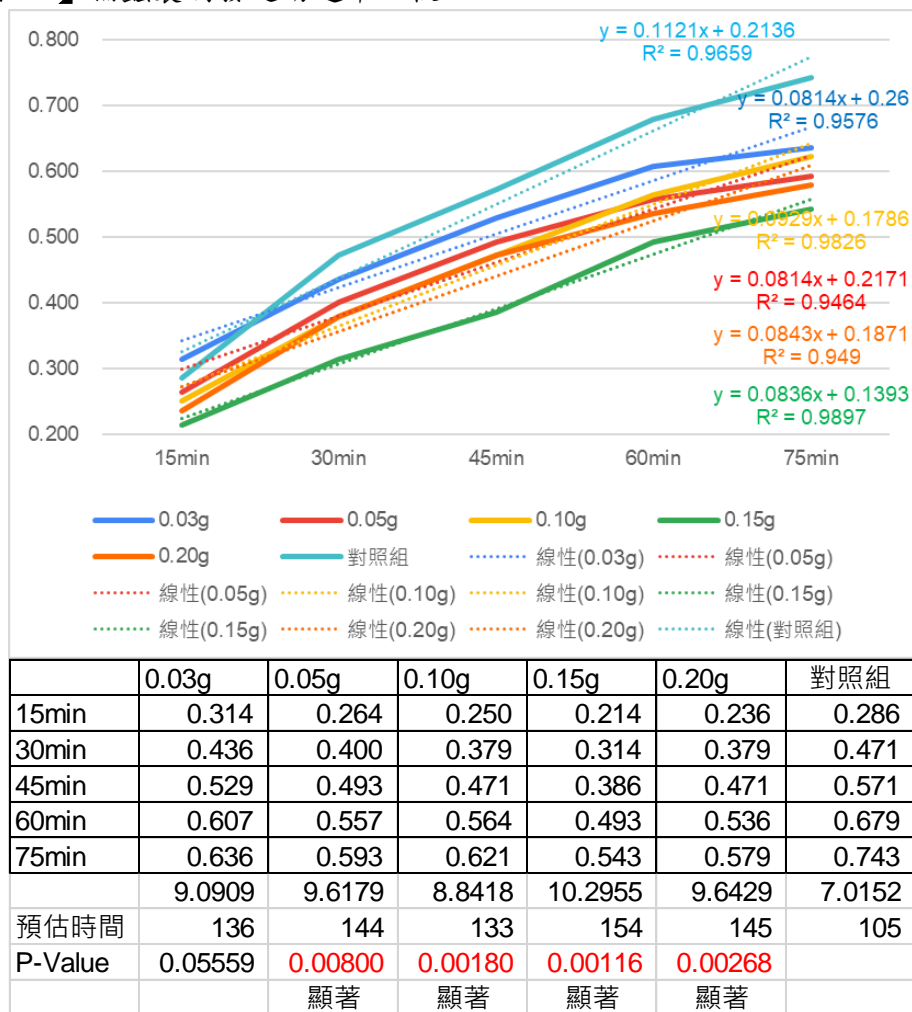
Summary

Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area	Mean	IntDen
image15-1.jpeg	13	40953	3150.231	1.302	97.515	311001.462

Results

Area	Mean	StdDev	IntDen	%Area	RawIntDen
1518	80.966	9.222	122907.000	0	122907.000
4039	100.294	11.259	405089.000	0	405089.000
2490	92.197	13.302	229571.000	0	229571.000
2087	120.185	17.432	250826.000	0	250826.000
2453	87.916	17.210	215657.000	0	215657.000
4395	117.339	11.688	515703.000	0	515703.000
3987	72.782	7.920	290180.000	0	290180.000
1320	100.634	10.855	132837.000	0	132837.000
3976	115.648	17.113	459816.000	0	459816.000
3587	102.630	10.220	368135.000	0	368135.000
2515	85.071	14.367	213954.000	0	213954.000
2464	92.204	14.414	227190.000	0	227190.000
6122	99.829	9.222	611154.000	0	611154.000

【實驗 2-2】捕蟲囊觸發運動速率比較

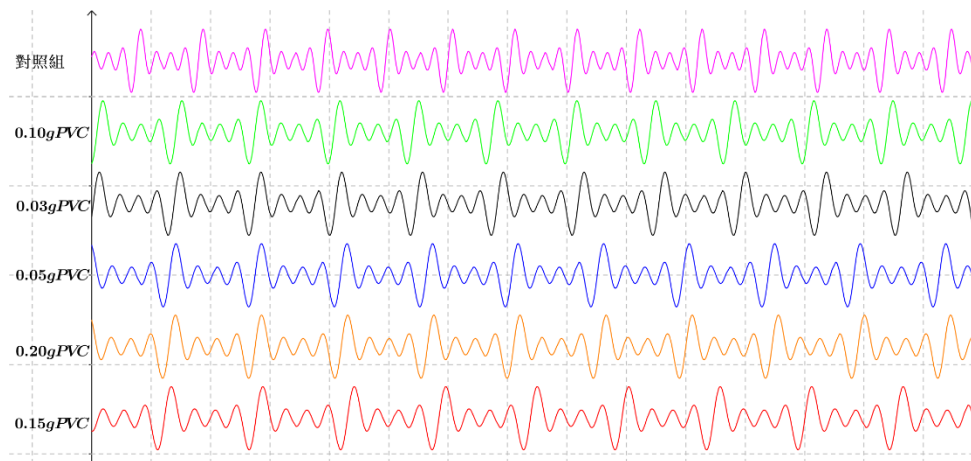


一、探討不同 PVC 濃度對絲葉狸藻的捕蟲運動之影響

(一)數學模擬預測

1. 決定係數 R^2 ：判斷模型的解釋力。
2. 若數據趨勢呈線性分布，假設最適直線為 $y = ax + b$ ，欲估計達成 100% 所需時間，可令 $y = 1$ ，得 $x = \frac{1-b}{a}$ 。
3. 假設 $y = \sin(ax)$ 的週期是 $\frac{2\pi}{a}$ ，若函數週期為 T ，則 $T = \frac{2\pi}{a}$ ，故所繪週期函數為 $y = \sin\left(\frac{2\pi}{T}x\right)$ 。

(二)模式圖



二、不同 PVC 濃度對觸發運動的比較

1. 根據我們的結果，捕蟲囊吸入藍色素的觸發速率，實驗組皆比對照組還慢，對捕蟲囊觸發運動有抑制作用。

2. 泡在有 PVC 的捕蟲囊，不同濃度下色素的觸發狀況也不相同。

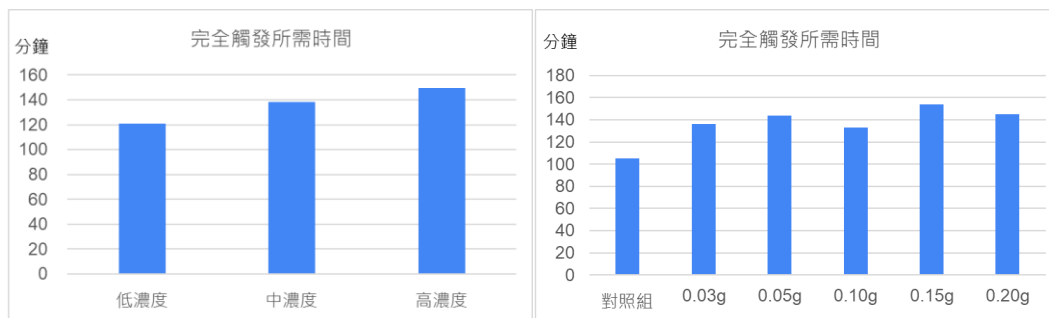
3. 六組資料皆隨著時間，觸發吸入色素的速率變化量逐漸變小。

4. 依據圖形之數學函數模擬預測，達完全觸發所需時間：

對照組需要 105 分鐘最快，0.1g PVC 組需要 133 分鐘，0.03g PVC 組需要 136 分鐘，0.05g PVC 組需要 144 分鐘，0.2g PVC 組需要 145 分鐘，0.15g PVC 組需要 154 分鐘最慢，其中除 0.03g PVC 組外，皆與對照組有顯著差異。

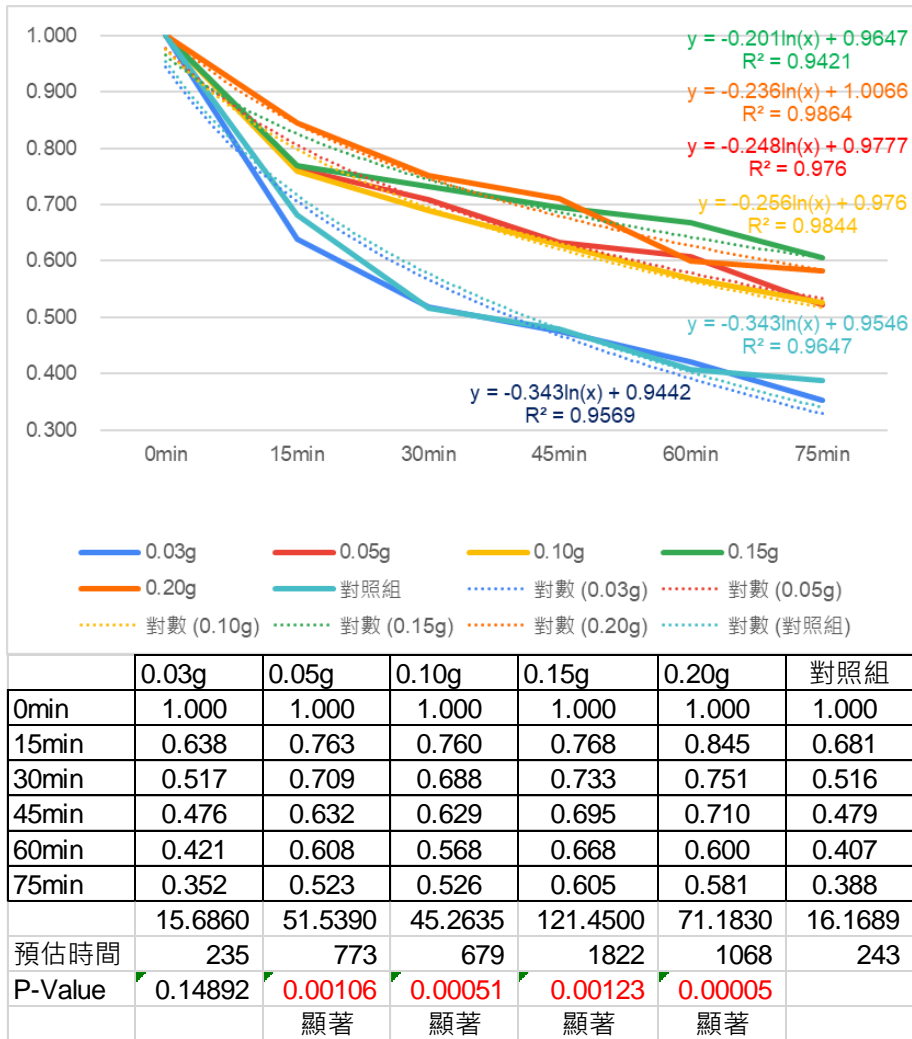
5. 將實驗結果分成三組，以 0 到 0.03g PVC 為低濃度，0.03g PVC 到 0.1g PVC 為中濃度，0.1g PVC 到 0.2g PVC 為高濃度，可以發現完全觸發所需時間為低濃度 < 中濃度 < 高濃度。但進一步分析則為

對照組 < 0.1g PVC < 0.03g PVC < 0.05g PVC < 0.2g PVC < 0.15g PVC。



【實驗三】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響在捕蟲囊內色素的褪色狀況

【實驗 3-1】捕蟲囊褪色速率比較

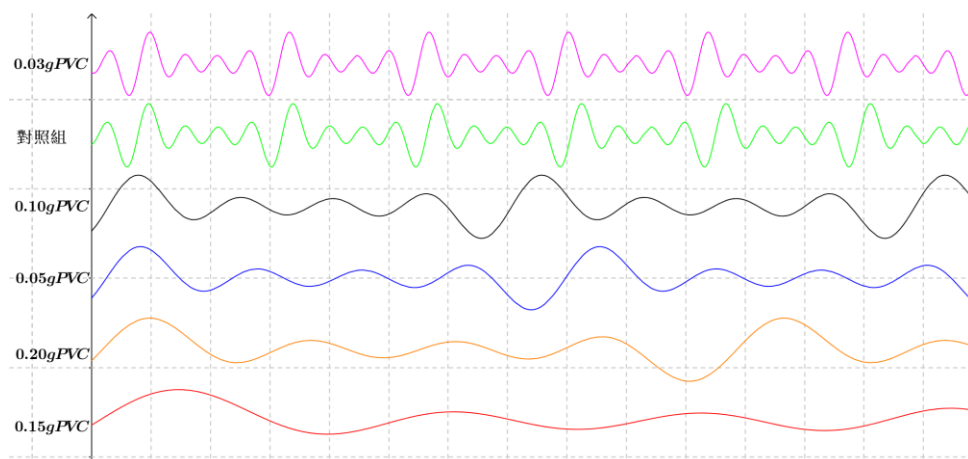


一、探討不同 PVC 濃度對絲葉狸藻的褪色速率的影響

(一)數學模擬預測

1. 決定係數 R^2 ：判斷模型的解釋力。
2. 若數據趨勢呈對數分布，假設函數 $y = a \ln(x) + b$ ，欲估計變成 0% 所需時間，可令 $y = 0$ ，得 $x = e^{-\frac{b}{a}}$ 。
3. 假設 $y = \sin(ax)$ 的週期是 $\frac{2\pi}{a}$ ，若函數週期為 T ，則 $T = \frac{2\pi}{a}$ ，故所繪週期函數為 $y = \sin(\frac{2\pi}{T}x)$ 。

(二)模式圖



二、不同 PVC 濃度在褪色速率的比較

1. 根據實驗結果，我們發現除 0.03g PVC 組外，剩餘實驗組的排出速率皆比對照組還低，且其與對照組皆有顯著差異，其中以 0.1g 排出速率較快。

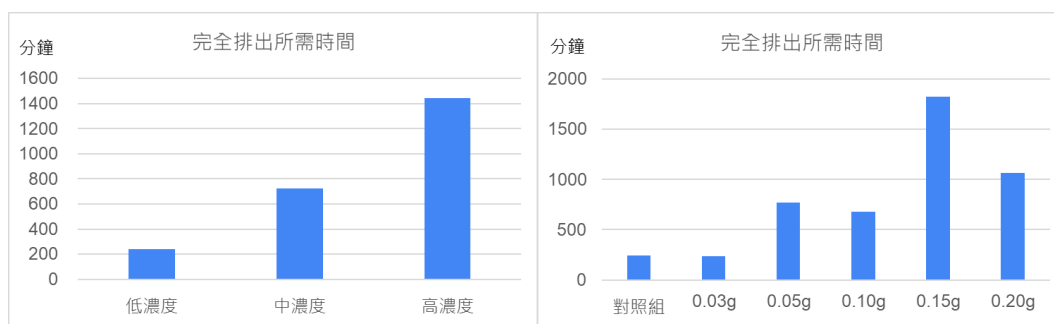
2. 六組資料皆隨著時間，排出色素的速率變化量逐漸變小。

3. 依據圖形之數學函數模擬預測，達完全排出所需時間：

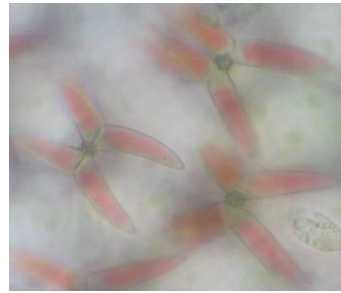
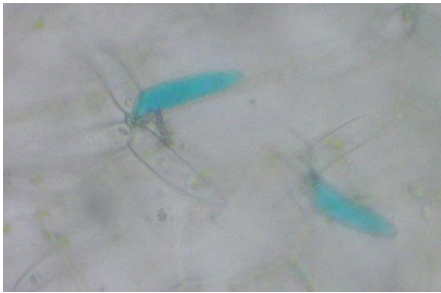
0.03g PVC 需要 235 分鐘最快，對照組需要 243 分鐘，0.1g PVC 組需要 679 分鐘，0.05g PVC 組需要 773 分鐘，0.2g PVC 組需要 1068 分鐘，0.15g PVC 組需要 1822 分鐘，其中除 0.03g PVC 組外，皆與對照組有顯著差異。

4. 將實驗結果分成三組，以 0 到 0.03g PVC 為低濃度，0.03g PVC 到 0.1g PVC 為中濃度，0.1g PVC 到 0.2g PVC 為高濃度，可以發現完全恢復所需時間為低濃度 < 中濃度 < 高濃度。但進一步分析則為

0.03g PVC < 對照組 < 0.1g PVC < 0.05g PVC < 0.2g PVC < 0.15g PVC。



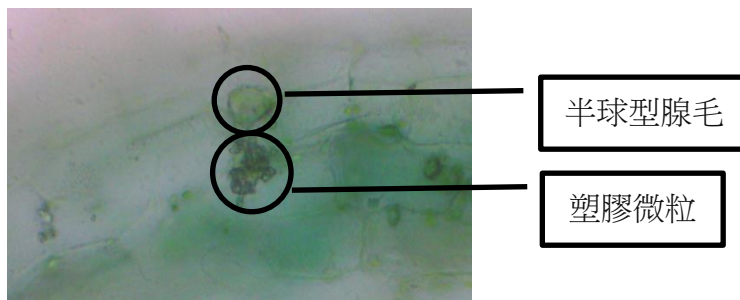
【實驗 3-2】狸藻捕蟲囊腺毛觀察



有 PVC 的四爪腺毛

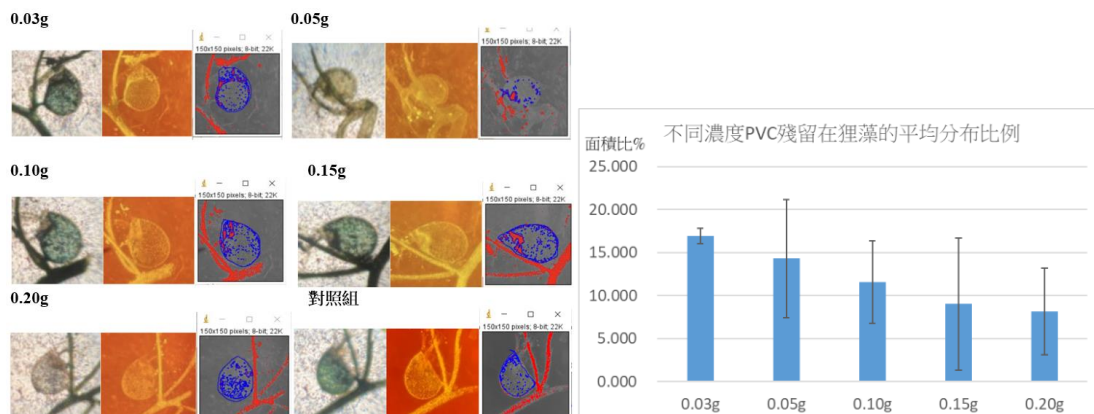
正常情形的四爪腺毛

1. 一般四爪腺毛吸收色素(如右上圖)，為四條腺毛的色素逐漸褪去色素顏色，但加有 PVC 的捕蟲囊內，四爪腺毛卻呈現只有一條腺毛的色素無法排出(左上圖)。
2. 在加有 PVC 的組別，捕蟲囊表皮細胞層的半球型腺毛(下圖)附近可見 PVC 聚集，可能影響水分進出捕蟲囊內部。



【實驗 3-3】染色 PVC 在已褪色捕蟲囊內的分布位置及面積

我們藉由 Image J 分析 PVC 的分布面積，發現放有 0.03g PVC 的捕蟲囊經褪色後，其囊內殘留 PVC 的分布比例較高，且隨著 PVC 濃度上升，其殘留的分布比例有下降的趨勢。另外我們藉由 Image J 分析 PVC 的分布面積，發現在不同濃度的組別中，置於相對較低濃度的捕蟲囊其面積較大，而較高濃度的組別則相對較小。

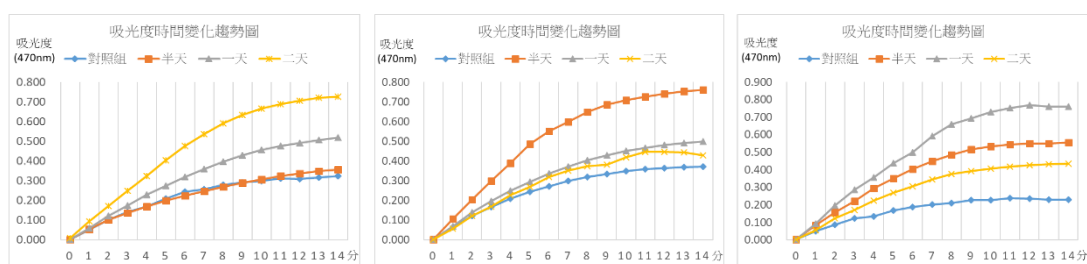


【實驗四】狸藻過氧化酶(POD)活性檢測

經過我們的觀察，發現浸泡在 PVC 溶液中的絲葉狸藻捕蟲囊較易脫落，因此我們透過檢測植物體內 POD 的含量，進而了解植物的生長狀況。

我們透過離心取出狸藻內的 POD，加入等量的過氧化氫水溶液進行反應，藉由反應產生愈創木酚四聚體(紅棕色產物)，此物質主要吸收波長 470 奈米的光，所以透過吸光值的變化，可以計算不同狀況下狸藻體內 POD 的含量。

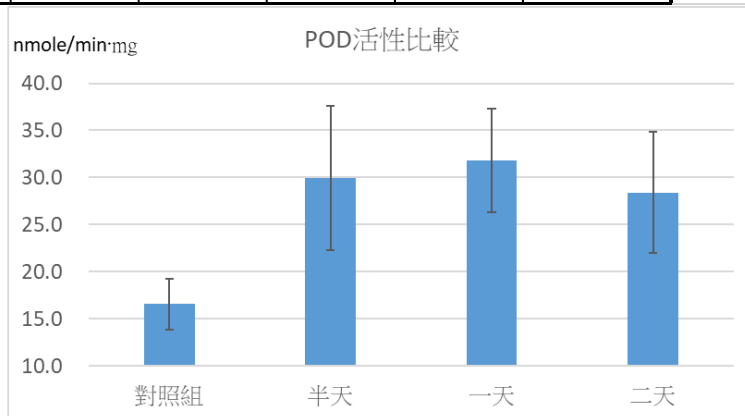
經由實驗結果「對照組 POD 含量恆為最低且實驗組大幅增加」可知，PVC 的確會影響植物的生長狀況，使植物體內 POD 的含量增加，且對照組和實驗組有明顯的差別。



POD活性比較表			POD活性比較表			POD活性比較表		
對照組	17.3469	nmole/min.mg	對照組	19.9248	nmole/min.mg	對照組	12.4060	nmole/min.mg
半天	19.1729	nmole/min.mg	半天	40.8700	nmole/min.mg	半天	29.7530	nmole/min.mg
一天	27.8733	nmole/min.mg	一天	26.7454	nmole/min.mg	一天	40.8163	nmole/min.mg
二天	38.9366	nmole/min.mg	二天	22.9860	nmole/min.mg	二天	23.3083	nmole/min.mg

整理

	N=1	N=2	N=3	平均	標準差	單位
對照組	17.3469	19.9248	12.4060	16.5593	2.7017	nmole/min.mg
半天	19.1729	40.8700	29.7530	29.9320	7.6719	nmole/min.mg
一天	27.8733	26.7454	40.8163	31.8117	5.5286	nmole/min.mg
二天	38.9366	22.9860	23.3083	28.4103	6.4470	nmole/min.mg



柒、討論

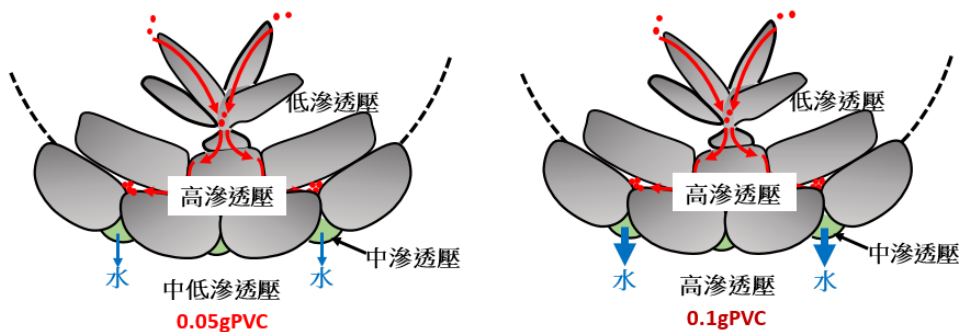
【實驗一】觀察染色後 PVC 是否能進入捕蟲囊內

- 1.因 PVC 呈白色粉末狀，不易觀查其是否有進入捕蟲囊，我們為了方便觀察其進入捕蟲囊的情況，藉由資料顯示，尼羅紅是一種螢光染劑，其性質穩定，在藍光或其他 UV 光照射下可產生螢光的呈色效果。由於尼羅紅染劑原本呈粉末狀，且其無法和強極性溶劑結合，所以我們利用尼羅紅和呈弱極性的丙酮以 1mg/ml 製成液態的染劑，使染劑附著在 PVC 上，藉此區分非塑膠的物質。
- 2.實驗中，我們覺得尼羅紅加丙酮的染劑是否會因為含有丙酮而影響捕蟲囊吸收物質的狀況，且丙酮含量較高時可能影響捕蟲囊的健康狀況，所以我們希望透過離心的方法，利用丙酮與水互溶的特性，藉此分離丙酮及染色的 PVC，降低丙酮可能對植物造成的影響。
- 3.我們為解決染色 PVC 在培養皿中有分布不均的問題，我們利用磁石攪拌器能均勻攪拌溶液中物質的特性，將狸藻及染色的 PVC 加水放在小燒杯中，藉由機器以固定的速率攪拌，希望藉此改善上述的問題。實驗後發現效果不佳，雖然成功地使 PVC 均勻分布，但同時有可能造成捕蟲囊因磁石轉動而掉落。

【實驗二】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響其觸發情況

- 1.根據實驗結果，發現有 PVC 的組別會降低捕蟲囊的觸發速率，我們認為應該是進入捕蟲囊內的 PVC 堵塞其開口所導致。一般的粉狀微粒大小約為 70-150 μm (Peng, 2020)，較小的微粒應該能進入細胞內，或於腺毛附近影響水分進出。
- 2.根據不同濃度實驗結果，把每組中的兩個觸發時間平均，顯示低濃度 < 中濃度 < 高濃度，推測高濃度組因 PVC 含量較高，生理功能逐漸變差，觸發頻率下降，因此達完全觸發所需時間較長，濃度較低則相反。
- 3.我們以中濃度的 0.1g PVC 組、0.05g PVC 組進一步分析，發現 0.1g PVC 觸發速率較 0.05g PVC 快，推論是受到滲透壓的影響。捕蟲囊產生觸發運動主要依靠囊內形成負壓，0.1g PVC 滲透壓較捕蟲囊內高，水分容易

流出，捕蟲囊內容易形成負壓，因此其觸發速率較快，0.05g PVC 則因滲透壓與囊內相差不大，因此，水分無明顯流出。

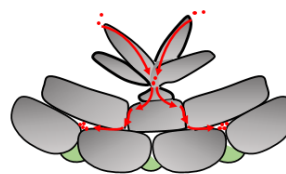


- 4.在實驗中為了降低秤取等量染色後的 PVC 會受部分水重量的影響，因此我們利用烘乾機將水份烘乾，只留下染色的 PVC，希望能更準確對 PVC 進行定量，但經過實驗，我們發現烘乾的 PVC 多數會浮在液面上，減少與狸藻捕蟲囊碰觸之機率，導致 PVC 無法進入到捕蟲囊內，進而影響實驗結果。。

【實驗三】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響其排出狀況及觀察捕蟲囊內的 PVC 面積和分佈位置

- 1.根據不同濃度實驗結果，我們發現 0.03g PVC 組比其他實驗組的排出速率更好，把每組中的兩個排出時間平均，顯示低濃度<中濃度<高濃度。藉由文獻可知，狸藻可能是由捕蟲囊口吸入色素，再由半球型腺毛排出(莊等, 2019)，PVC 進入四爪腺毛後，由共質體路徑進到底層基座細胞及內表皮，再由離質路徑轉移到外表皮，部分 PVC 聚集在半球形線毛附近，使色素無法順利排出，而至於在文獻中發現 (Zhou et al., 2020) 可能也因此造成狸藻的生長受到影響。因此我們推論浸泡在高濃度 PVC 的狸藻濃度過高，容易造成排水系統受阻，生理功能逐漸變差，觸發頻率下降，因此達完全恢復所需時間較長，濃度較低則相反。

四爪腺毛的結構 & 輸送物質的路徑



PVC和水可能遵循以下途徑。首先進入四爪腺毛，再進入基座細胞，從基座細胞吸收的PVC，經共質體路徑(symplast pathway)傳輸到下方的內表皮，部分聚集在半球型腺毛附近。

(莊等，2019)

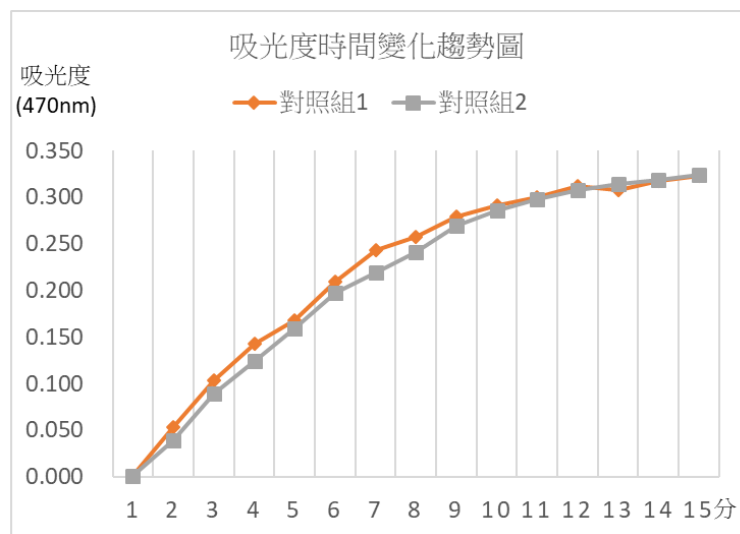
2. 將低濃度進一步探討，發現完全排出所需時間 0.03g PVC 比對照組快，經由結果的圖表顯示 0.03g PVC 濃度太低，與對照組無明顯差異。接著以中濃度的 0.1g PVC 組、0.05g PVC 組進一步分析，0.05g PVC 比 0.1g PVC 慢，主要也受到滲透壓影響，0.1g PVC 組水分排出較快，0.05 g PVC 組則排出較慢，因此其完全排出所需時間較長。
3. 根據實驗 3-3 的結果，0.03g PVC 的捕蟲囊經褪色後，其囊內殘留 PVC 的分布比例最高，推測可能是因為捕蟲囊在較低濃度中，受到 PVC 影響相對較小，因此在一定時間內觸發的頻率較高，進而吸入較多的 PVC；而在濃度較高之下，其觸發的頻率較低，因此在相同時間內吸入的量較少。在分布位置方面，發現除了 0.20g 組之外，其他組殘留的 PVC 大多分布於捕蟲囊前半部。

【實驗四】狸藻過氧化酶(POD)活性檢測

1. 經由實驗結果的圖表可以發現對照組恆為最低，但實驗組每次 POD 含量最高的時間皆有所差異，我們推測可能是每株植物其狀況不同導致細胞開始產生凋亡的時間有所差異。此外，狸藻在浸泡 PVC 兩天後其 POD 含量即開始下降，推測可能是其開始逐步凋亡，無法有適當的環境供酵素作用，因此，愈創木酚四聚體含量會下降至反應達平衡。我們認為浸泡在 PVC 溶液中的絲葉狸藻即處於逆境中，植物體內活性氧類(reactive oxygen species, ROS) 增加，因此，植物體內會增加 POD 的含量，進而加速消除過多的 ROS，進而保護細胞 (Bermudez and Pignata, 2011)。
2. 因離心 30 分鐘且轉速快，導致溫度升高，可能影響 POD 的活性，因此我們將裝有樣品的 1.5ml 離心管置於含有 9ml 結冰蒸餾水的 15ml 離心管

中，藉此降低高溫對植物體內 POD 的影響。

3. 實驗過程中，因組別較多，導致離心完無法全部同時測量，為避免植物體內 POD 被其他物質分解，導致含量降低。我們將離心後尚未測量的離心管置於冰上保存，以降低植物體內酵素的活性。下圖為同一實驗中的兩組對照組，取自同一植株，同時進行離心，但測量吸光值的時間相差一小時，結果顯示兩組吸光值幾乎沒有差異，顯示置於冰上能降低實驗時間差距過大所造成的誤差。



捌、結論

- 一、在 PVC 觀察實驗中，透過三種不同方法來觀察狸藻內的 PVC，分別是顯微鏡觀察、藍光照射、及 Image J 分析，三皆能清楚看到捕蟲囊內的染色 PVC，其中以 Image J 分析的觀察效果最好，且最能清楚判斷狸藻內的物質是否為 PVC。
- 二、捕蟲囊的特殊構造類似小型捕鼠器，捕蟲的速度是食蟲植物中的第一名，色素主要從開口處進入捕蟲囊，再進入四爪腺毛，最後由半球型腺毛排出。藉此我們進一步探究，是否有加 PVC 及不同濃度的 PVC 對色素進入捕蟲囊的影響，結果顯示觸發、排出的速率皆是低濃度>中濃度>高濃度，可知 PVC 會抑制捕蟲囊觸發與排出速率，而在褪色後各濃度 PVC 殘留面積比例為低濃度>中濃度>高濃度，其比例與捕蟲囊觸發的頻率有關。
- 三、植物若處於逆境中，則會增加抗氧化酵素的含量，來維持其生長。因此經由抗氧化酵素含量的檢測可以得知，PVC 的進入會使狸藻活性氧類(ROS)增加，生長狀況變差，導致囊內 POD 含量明顯增加，但浸泡兩天的組別，POD 含量則會有開始下降的趨勢。
- 四、未來展望：
捕蟲囊透過負壓快速吸入囊口生物，再經由半球形腺毛排出水分的機制，可透過仿生技術及模仿狸藻及 PVC 間的關係，製造出含有類似捕蟲囊觸發運動的囊狀機制。在污染防治發展上，塑膠微粒或重工業廢水對河川及水中生物造成極大危害，因此可將此囊狀機制放入受汙染河川中，先由泥沙及汙染物觸發其觸發毛，使此囊狀機制得以吸入含有泥沙及汙染物的水源，並藉由泥沙堵住囊狀機制來防止汙染物流出，使其降低河川汙染物質，希望能對河川污染防治做出貢獻。

玖、參考資料

- 1.洪禎珍 (2020) 撲朔謎狸—化學物質對狸藻觸發運動之影響。第十九屆旺宏科學獎成果報告書。
- 2.莊惟婷、陳馬瑋、賴安琦 (2019) 水中黑洞-絲葉狸藻捕蟲囊之探討。第59屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 3.莊迪喬、莊淳喬(2006)。水生開花食蟲植物絲葉狸藻捕蟲囊構造及共質體輸送。台灣 2006 國際科學展覽會。
- 4.莊迪喬(2004)。台灣本土水生食蟲植物—絲葉狸藻的囊裡乾坤。第四十四屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 5.Bermudez G M A and Pignata M L (2011) Antioxidant Response of Three Tillandsia Species Transplanted to Urban, Agricultural, and Industrial Areas. Arch Environ Contam Toxicol 61:401–413.
- 6.Jingzhe Zhou & Yu Cao & Xiaoning Liu & Hongsheng Jiang & Wei Li. (2020) Bladder entrance of microplastic likely induces toxic effects in carnivorous macrophyte *Utricularia aurea* Lour., Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature.
- 7.Mitsch M and White B (2020) A Simple, Quantitative Peroxidase Assay Demonstrating Enzyme Inhibition with L-cysteine. Advances in Biology Laboratory Education, 41: Article 44.
- 8.Peng, Bo-Yu et al. (2020) Biodegradation of Polyvinyl Chloride (PVC) in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. Environment International 145: 106106.
- 9.Tanya Chun-Chiao Juang, Sonya Di-Chiao Juang, and Zin-Huang Liu (2011) Direct evidence of the symplastic pathway in the trap of the bladderwort *Utricularia gibba* L. Botanical Studies 52: 47-54.
- 10.Vincent O, Weisskopf C, Poppinga S, Masselter T, Speck T, Joyeux M, Quilliet C, Marmottant P (2011) Ultra-fast underwater suction traps. Proceedings of the royal society B: Biological Sciences 278, 2909-2914.
- 11.陳慶霖、李旺龍 靈活的捕蟲囊具超快速吸力: 狸藻
https://scistore.colife.org.tw/management/Upload/dragon/2017010910155499_6_%5B309%5D.pdf
- 12.葉綠舒 (2015 年 01 月 20 日) 【植物百科】狸藻 (bladderwort) 不是肉食性植物 (carnivorous plant) 。<https://case.ntu.edu.tw/blog/?p=20278>
- 13.葉名倉等(民 111 年 12 月初版二刷)。高中化學(V)。臺南市：南一書局
- 14.Nile red 。(2023, June 7) 。Wikipedia 。取自：
https://en.wikipedia.org/wiki/Nile_red

拾、附錄

狸藻觸發整理(百分比)

0.03M	1	2	3	4	5	6	7	平均
15min	0.300	0.100	0.200	0.300	0.650	0.450	0.200	0.314
30min	0.400	0.300	0.350	0.350	0.650	0.500	0.500	0.436
45min	0.600	0.400	0.400	0.450	0.700	0.500	0.650	0.529
60min	0.700	0.500	0.550	0.450	0.750	0.650	0.650	0.607
75min	0.700	0.500	0.550	0.500	0.750	0.650	0.800	0.636
0.05M	1	2	3	4	5	6	7	平均
15min	0.300	0.150	0.200	0.200	0.150	0.450	0.400	0.264
30min	0.550	0.150	0.550	0.250	0.200	0.550	0.550	0.400
45min	0.550	0.350	0.650	0.300	0.250	0.600	0.750	0.493
60min	0.650	0.450	0.700	0.400	0.300	0.650	0.750	0.557
75min	0.650	0.500	0.700	0.400	0.350	0.800	0.750	0.593
0.10M	1	2	3	4	5	6	7	平均
15min	0.400	0.150	0.250	0.100	0.250	0.300	0.300	0.250
30min	0.600	0.150	0.500	0.200	0.250	0.400	0.550	0.379
45min	0.600	0.350	0.550	0.250	0.550	0.400	0.600	0.471
60min	0.600	0.500	0.550	0.300	0.700	0.500	0.800	0.564
75min	0.600	0.550	0.600	0.450	0.700	0.650	0.800	0.621
0.15M	1	2	3	4	5	6	7	平均
15min	0.150	0.100	0.350	0.100	0.400	0.200	0.200	0.214
30min	0.300	0.200	0.400	0.200	0.650	0.200	0.250	0.314
45min	0.450	0.250	0.500	0.300	0.650	0.200	0.350	0.386
60min	0.600	0.250	0.550	0.350	0.650	0.450	0.600	0.493
75min	0.600	0.300	0.650	0.450	0.700	0.500	0.600	0.543
0.20M	1	2	3	4	5	6	7	平均
15min	0.200	0.100	0.050	0.300	0.250	0.300	0.450	0.236
30min	0.300	0.350	0.150	0.500	0.400	0.300	0.650	0.379
45min	0.600	0.400	0.200	0.550	0.500	0.350	0.700	0.471
60min	0.600	0.500	0.350	0.600	0.550	0.450	0.700	0.536
75min	0.650	0.500	0.450	0.700	0.550	0.500	0.700	0.579
對照組	1	2	3	4	5	6	7	平均
15min	0.250	0.250	0.250	0.350	0.100	0.350	0.450	0.286
30min	0.500	0.350	0.500	0.550	0.200	0.650	0.550	0.471
45min	0.600	0.600	0.550	0.600	0.300	0.750	0.600	0.571
60min	0.700	0.700	0.600	0.700	0.500	0.750	0.800	0.679
75min	0.700	0.800	0.650	0.850	0.550	0.850	0.800	0.743

狸藻恢復整理(百分比)

0.03M	1	2	3	4	5	6	7	平均
0min	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
15min	0.571	0.947	0.636	0.900	0.444	0.769	0.200	0.638
30min	0.571	0.895	0.273	0.700	0.444	0.538	0.200	0.517
45min	0.571	0.684	0.273	0.700	0.444	0.462	0.200	0.476
60min	0.571	0.579	0.182	0.700	0.333	0.385	0.200	0.421
75min	0.429	0.526	0.091	0.500	0.333	0.385	0.200	0.352
0.05M	1	2	3	4	5	6	7	平均
0min	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
15min	0.700	1.000	0.889	1.000	0.714	0.750	0.286	0.763
30min	0.600	1.000	0.778	0.900	0.714	0.688	0.286	0.709
45min	0.600	0.818	0.778	0.800	0.714	0.500	0.214	0.632
60min	0.600	0.818	0.778	0.700	0.714	0.500	0.143	0.608
75min	0.500	0.636	0.667	0.500	0.714	0.500	0.143	0.523
0.10M	1	2	3	4	5	6	7	平均
0min	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
15min	0.833	0.933	0.833	0.700	0.636	0.667	0.714	0.760
30min	0.667	0.867	0.750	0.700	0.455	0.667	0.714	0.688
45min	0.667	0.733	0.750	0.500	0.455	0.583	0.714	0.629
60min	0.667	0.733	0.667	0.300	0.455	0.583	0.571	0.568
75min	0.667	0.667	0.583	0.300	0.455	0.583	0.429	0.526
0.15M	1	2	3	4	5	6	7	平均
0min	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
15min	0.714	0.750	0.867	0.714	0.800	0.833	0.700	0.768
30min	0.714	0.750	0.800	0.714	0.700	0.750	0.700	0.733
45min	0.714	0.750	0.800	0.714	0.600	0.583	0.700	0.695
60min	0.714	0.750	0.800	0.714	0.600	0.500	0.600	0.668
75min	0.714	0.750	0.800	0.571	0.500	0.500	0.400	0.605
0.20M	1	2	3	4	5	6	7	平均
0min	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
15min	0.778	0.889	1.000	0.800	0.933	0.846	0.667	0.845
30min	0.667	0.889	0.833	0.733	0.867	0.769	0.500	0.751
45min	0.556	0.778	0.833	0.667	0.867	0.769	0.500	0.710
60min	0.444	0.667	0.500	0.667	0.733	0.692	0.500	0.600
75min	0.444	0.667	0.500	0.600	0.667	0.692	0.500	0.581
對照組	1		3	4	5	6	7	平均
0min	1.000		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
15min	0.818		0.429	0.789	0.500	0.824	0.727	0.681
30min	0.636		0.286	0.684	0.300	0.647	0.545	0.516
45min	0.636		0.286	0.579	0.300	0.529	0.545	0.479
60min	0.636		0.286	0.526	0.100	0.529	0.364	0.407
75min	0.636		0.286	0.474	0.100	0.471	0.364	0.388

狸藻過氧化酶(peroxidase, POD)活性檢測

N=1					N=2					N=3				
時間	對照組	半天	一天	二天	時間	對照組	半天	一天	二天	時間	對照組	半天	一天	二天
0	0.001	0.001	0.001	0.010	0	0.002	0.003	0.001	0.001	0	0.003	0.002	0.001	0.001
1	0.053	0.054	0.060	0.095	1	0.064	0.106	0.069	0.057	1	0.050	0.083	0.093	0.057
2	0.103	0.101	0.122	0.171	2	0.121	0.203	0.139	0.122	2	0.086	0.157	0.196	0.124
3	0.143	0.137	0.174	0.248	3	0.167	0.299	0.197	0.170	3	0.123	0.222	0.285	0.170
4	0.168	0.170	0.228	0.324	4	0.209	0.388	0.250	0.226	4	0.135	0.294	0.357	0.223
5	0.209	0.198	0.275	0.403	5	0.244	0.485	0.295	0.268	5	0.168	0.351	0.437	0.269
6	0.243	0.223	0.319	0.475	6	0.272	0.550	0.337	0.320	6	0.188	0.404	0.499	0.305
7	0.257	0.247	0.360	0.537	7	0.298	0.599	0.372	0.351	7	0.201	0.450	0.593	0.344
8	0.279	0.268	0.397	0.592	8	0.320	0.649	0.403	0.373	8	0.210	0.485	0.660	0.375
9	0.291	0.289	0.429	0.634	9	0.335	0.685	0.430	0.381	9	0.226	0.515	0.693	0.392
10	0.300	0.307	0.455	0.667	10	0.349	0.709	0.450	0.420	10	0.226	0.534	0.728	0.407
11	0.312	0.323	0.476	0.689	11	0.358	0.726	0.467	0.446	11	0.238	0.545	0.753	0.417
12	0.308	0.336	0.491	0.705	12	0.365	0.740	0.480	0.447	12	0.234	0.549	0.769	0.427
13	0.317	0.348	0.507	0.720	13	0.370	0.752	0.491	0.444	13	0.230	0.549	0.761	0.433
14	0.323	0.357	0.519	0.725	14	0.371	0.761	0.498	0.428	14	0.231	0.554	0.760	0.434

【評語】 052606

本作品觀察狸藻葉子的捕蟲囊，探討聚氯乙烯(PVC)微粒是否能進入捕蟲囊，進而改變其觸發速率或會影響植物的生長狀況。實驗結果發現 PVC 對捕蟲囊的觸發及排出色素皆有影響，且 PVC 濃度愈高，影響愈大。研究也透過抗氧化酵素過氧化酶 POD 活性之含量，證明 PVC 確實會對狸藻狀況造成明顯的氧化壓力。但未來展望所提之在污染河水中去污之機制，尚待進一步研究。本研究具有環保與食安之研究屬性。

在不同 PVC 濃度對觸發運動的比較與褪色速率的比較結果中，請說明每個實驗是幾次重複，並標明其標準偏差，較能顯現實驗結果的再現性。

本研究主要是觀察狸藻葉子特化的捕蟲囊。以染色及褪色的方法，來了解是否因吸收聚氯乙烯(PVC)，而改變其觸發速率，發現含有 PVC 的捕蟲囊，其觸發及排出色素的速率皆比未含有的慢。另外，也發現浸泡在不同 PVC 濃度下的捕蟲囊，其觸發及排出速率也不同，浸泡在濃度較低溶液中的捕蟲囊，其觸發、排出速率皆比濃度

較高的還快。顯示水中不同濃度的物理性微粒對狸藻捕蟲囊觸發、排出作用有不同程度的影響。此外我們透過抗氧化酵素過氧化酶 POD 活性檢測浸泡 PVC 溶液不同時間的狸藻其生長狀況，發現有 PVC 的組別，體內 POD 含量皆較高且浸泡一天的組別含量最高，顯示 PVC 的確會對狸藻狀況造成明顯氧化壓力。

整體而言，本研究所欲探討之主題相當清楚，但部分實驗在進行步驟及結果說明或計算公式應再更清楚描述，包括(1)蟲囊內含有 PVC 是否會影響其觸發情況，應詳細說明觸發狀況之評估方式，(2)探討不同 PVC 濃度對絲葉狸藻的捕蟲運動之影響，如何獲得實驗結果(模式圖)即使用公式的緣由，(3)捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響在捕蟲囊內色素的褪色狀況，如何獲得實驗結果(模式圖)即使用公式的緣由，另建議未來若希望應用此評估模式，應考量其他可能造成同樣影響之汙染物質在樣品中是否會影響評估結果。

作品海報

壹、研究動機

現今這個世代，塑膠製品無所不在，它為我們的生活帶來數不盡的便利，但同時卻在人類不當的利用下，對我們的水資源造成嚴重的破壞，不僅在海洋中充斥著各種不同的塑膠製品，而造成無數海洋生物的死亡，生活周遭的溪流中，也不免於受到塑膠微粒的迫害。所以我們希望藉由對狸藻捕蟲囊的了解及探討，以期能用來清除水中塑膠微粒。

貳、研究目的

- (一)探討染色PVC是否能進入捕蟲囊。
- (二)以不同的方式觀察染色PVC。
- (三)探討染色PVC是否會影響捕蟲囊觸發的速率。
- (四)探討PVC是否會影響植物的生長狀況。

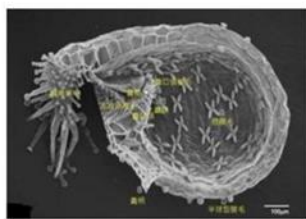
參、背景資料

(一)絲葉狸藻

1.捕蟲囊

外觀呈卵形，長1至2.5公釐，而囊口周圍存在一些較小的附屬物，該附屬物是觸發捕蟲囊釋放真空的結構。具圓端和尖端，囊口及囊內皆有腺毛，表皮有葉綠體，平時呈翠綠色，囊內有物質時則呈深紫黑色，葉發育至後期老化，捕蟲囊會逐漸掉落。(莊惟婷等，2019)。

- (1)捕蟲囊囊口：囊瓣為控制物質進出的閥門。
- (2)捕蟲囊：外壁具有半球形腺毛，內壁具有四爪腺毛。



2.捕蟲囊食物來源

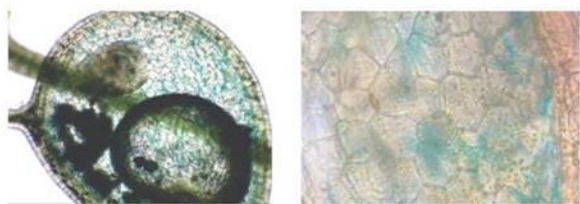
狸藻等水生或濕生型的食蟲植物以土壤中的線蟲或水中的孑孓和一些微小的浮游動物為食，捕蟲囊內有小動物、藻類、植物花粉(許多來自於水邊的陸生植物)，或是真菌的菌絲、苔蘚的葉狀體及土壤顆粒。(莊惟婷等，2019)

3.捕蟲囊的觸發機制

藉由生物靠近捕蟲囊時，前端的觸發毛一旦被碰觸，原本半扁的捕蟲囊迅速膨脹，形成一股強大的吸力，將囊口的水流連同獵物一起吸入囊中，並迅速關上，小生物越是掙扎越是不能掙脫，整個過程非常迅速(Vincent et al., 2011)。一般只需要幾個小時至數天，獵物就會被消化，營養被捕蟲囊壁吸收，多餘的水份也會被排出，捕蟲囊又恢復原狀。吸入一隻小動物後，若觸發毛再次被擾動，可能會吸入更多的小動物。待多次捕獵後，剩下的殘渣會在捕蟲囊內累積，使其顏色逐漸變暗，最終腐爛脫落。(陳和霖和李旺龍)

4.絲葉狸藻的吸收方式：

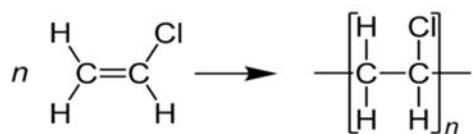
捕蟲囊的消化吸收機制主要靠囊內壁上的四爪腺毛來運作，可用對細胞較無害的食用色素做觀察。將其置於培養皿中，放置約一段時間後，用鑷子取出，用清水沖洗表面的食用色素，放在複式顯微鏡下觀察，可觀察到四爪腺毛內清楚的染色效果(莊，2004年；莊和莊，2006年；洪禎珍，2020)。



5.捕蟲囊的吸收路徑

囊內物質的吸收路徑主要是依序從四爪腺毛尾端藉由共質體路徑進入底層基底表皮細胞，再由離質路徑轉移到周圍的內表皮細胞(Tanya Chun-Chiao JUANG等人，2011)。

(二)聚氯乙稀(Polyvinyl Chloride) PVC是一種白色粉末固體，一般的粉狀微粒大小約為70-150 μm (Peng, 2020)。是由氯乙稀聚合而成的高分子聚合物，是除了聚乙烯、聚丙烯之後，第三種最廣泛生產的合成塑膠聚合物。



尼羅紅(又稱尼羅藍)是一種親脂性染料，其化學式為 $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ 。它可以將PVC染色，並且在藍光照射下會發出橘紅色的螢光。

肆、研究設備與器材

一、實驗器材：

培養皿(個)、燒杯(數個)、鑷子(支)、剪刀(數隻)、蓋玻片(數片)、載玻片(數片)、滴管(數支)、解剖顯微鏡(一台)、生物複式顯微鏡(一台)、數位顯微鏡(一台)、手提電腦、絲葉狸藻(數十株)、離心機、離心管、微量吸管、藍光燈、魚缸、電子秤、標籤紙、計時器、磁石攪拌器、烘箱、研磨棒、比色管、分光光度計。

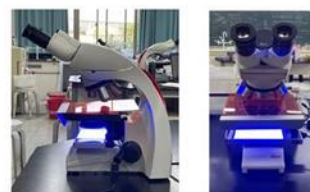
二、實驗藥品：

水溶性藍色食用色素(數瓶)、丙酮、PVC粉、螢光染劑(尼羅紅)、愈創木酚、磷酸一鉀、磷酸二鉀、過氧化氫水溶液

伍、研究方法與過程

【實驗一】觀察染色PVC是否能進入捕蟲囊內

- 1.秤取少量 PVC 放入裝有尼羅紅染劑的燒杯
- 2.再將少許捕蟲囊和已染色 PVC 放入培養皿
- 3.靜置約一天後，透過顯微鏡直接觀察
- 4.用藍光照射並在複式顯微鏡下觀察
- 5.紀錄並拍照，再利用 Image J 檢測



【實驗二】捕蟲囊內含有PVC是否會影響其觸發情況

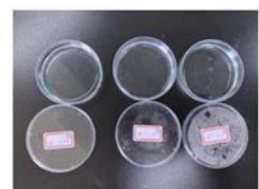
- 1.製作粉紅PVC:秤取0.6g PVC，加入9ml粉紅染劑(丙酮：尼羅紅染劑=10：0.05)。(尼羅紅染劑的配製:將尼羅紅1mg加入丙酮1ml)，放置20分鐘後，放到離心管中，離心3000rpm 4min後備用
- 2.採集絲葉狸藻捕蟲囊(20顆)和已染色PVC(實驗組分別為0.03、0.05、0.1、0.15、0.2克)分別放置於培養皿，再加入裝有5c.c.藍色色素溶液(色素：水=1:30)
- 3.每15分鐘觀察一次，共觀察5次，記錄其染色顆數的情況並拍照
- 4.將染色照片用Image J分析



【實驗三】捕蟲囊內含有PVC是否會影響其排出狀況及觀察捕蟲囊內的PVC面積和分佈位置

【實驗3-1】

- 1.將浸泡在藍色色素一天後的絲葉狸藻拿出並清洗，記錄其原始染色的顆數
- 2.將捕蟲囊分別放置於裝有5cc水的培養皿中。
- 3.每15分鐘觀察一次，共觀察5次，記錄其褪色顆數的情況並拍照
- 4.將褪色照片用Image J分析



【實驗3-3】

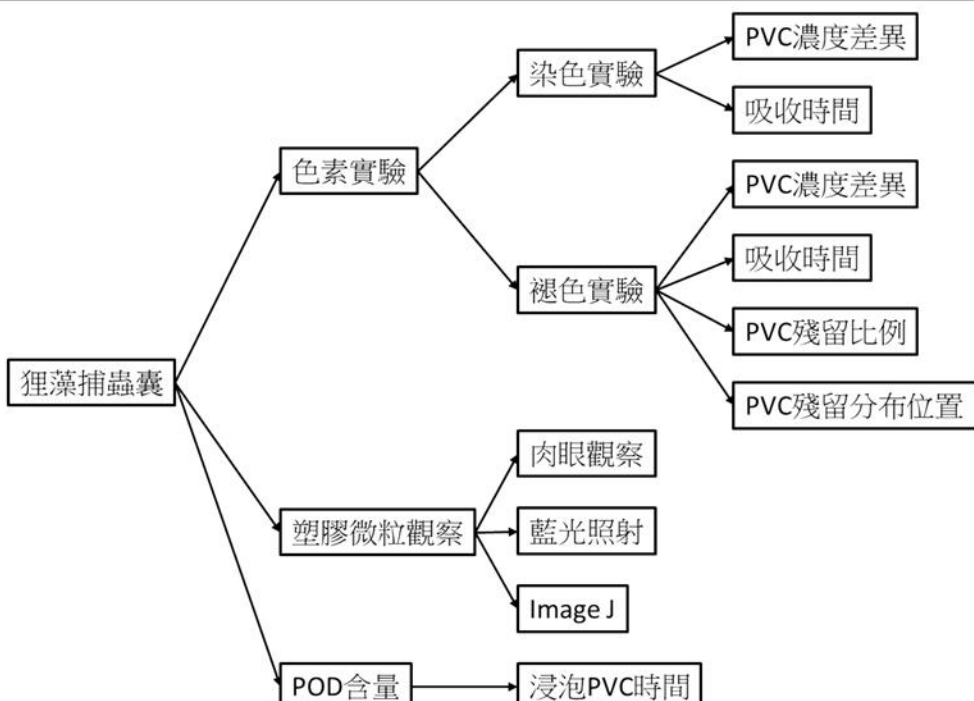
- 1.將褪色完的狸藻放置約一天後，將各濃度中的捕蟲囊分別取出三顆並清洗
- 2.將已選取的捕蟲囊製成玻片後，用藍光照射並在複式顯微鏡下觀察
- 3.紀錄並拍照，用ImageJ分析染色PVC在捕蟲囊內的分佈位置及面積



【實驗四】狸藻生長狀況的測定

- 1.藥品準備：
 - (1)Potassium phosphate buffer
 - ①量取400mL蒸餾水置於玻璃容器中
 - ②加入磷酸二鉀254.3mg和磷酸一鉀3.2g
 - ③加蒸餾水至500ml
 - ④完成50mM PH=5.8的Potassium phosphate buffer
 - (2)POD activity buffer
 - ①將39.2mM H₂O₂、愈創木酚及Potassium phosphate buffer以9:10:10的比例配置成POD activity buffer
 - ②避光並置於冰上保存
- 2.樣品準備：
 - (1)將定量樣品放置於1.5ml離心管中
 - (2)加入1ml Potassium phosphate buffer
 - (3)以研磨棒將樣品磨碎
 - (4)以6000rpm離心30分鐘後置於冰上保存
- 3.實驗操作：
 - (1)將2610 μL POD activity buffer 加入比色管並與分光光度計中架設好。
 - (2)將90 μL 的樣品上清液加入 POD activity buffer 中快速混勻
 - (3)每一分鐘記錄一次其OD470之吸光值，共記錄14分鐘。
- 4.數據分析：
 - (1)用分光光度計測出愈創木酚四聚體的值，再配合其吸光係數 ϵ (26.6mM-1cm-1)與比色管長度1cm(光徑)，以Beer-Lambert定律推算出其濃度C，再除以樣品重量可得到POD活性。
 - (2)範例：以N=1中的二天吸光度0.725，如何得到38.93
 - ①將單位時間吸光度轉換形成的產量 $c = \frac{\Delta A}{\Delta t(\text{min}) \times \epsilon(\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}) \times l(\text{cm})}$
 - ②單位換算 $1(\frac{\mu\text{M}}{\text{min}}) = 1(\frac{\mu\text{mole}}{\text{L} \cdot \text{min}}) = 1(\frac{\text{nmole}}{\text{mL} \cdot \text{min}})$
 - ③反應發生的總體積為2.7 mL，考慮實際參與作用的狸藻中每毫克的POD含量 = $POD = \frac{c \times \text{總體積}}{\text{樣本濃度} \times \text{樣本體積}}$ (Mitsch and White, 2020)

陸、實驗架構圖

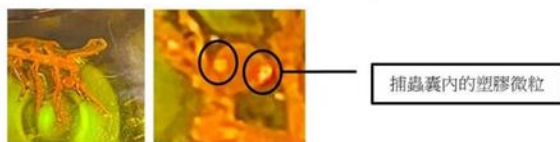


柒、研究結果

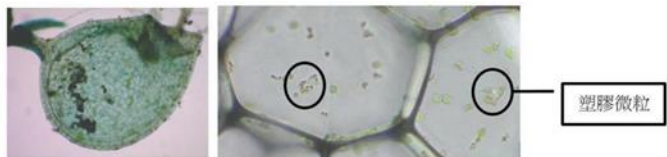
【實驗一】觀察染色後PVC是否能進入捕蟲囊內

- 1.經過我們的觀察，發現PVC能影響捕蟲囊的觸發運動，且PVC經染色後，利用顯微鏡能找到顆粒較大的PVC，呈現粉紅色。
- 2.藍光照射下用肉眼或透過複式顯微鏡皆可見PVC呈螢光色。
- 3.透過Image J分析照片，可清楚看到染色PVC的分布情形

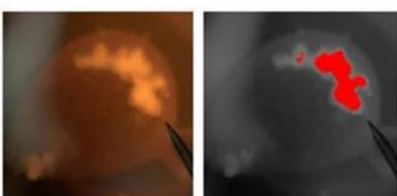
(1)肉眼直接觀察植物及捕蟲囊放大圖 (照藍光與加橘色隔板)



(2)複式顯微鏡下(未照藍光)捕蟲囊放大圖(100倍)及表皮細胞放大圖(400倍)



(3)複式顯微鏡下(照藍光)捕蟲囊及用Image J分析PVC位置



【實驗二】捕蟲囊內含有PVC是否會影響其觸發情況

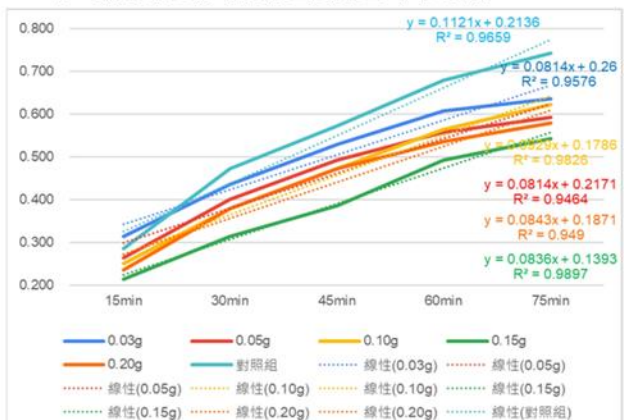
【實驗2-1】狸藻顏色判定

- 1.肉眼直接觀察並計數，有13顆捕蟲囊染色。
- 2.以Image J輔助判斷，紅色部分為電腦判定已染色的捕蟲囊，經統計與目測數目一致。



File	Edit	Results				
Area	Mean	StdDev	IntDen	%Area	RawIntDen	
1	1510	00.966	9.222	122907.000	0	122907.000
2	4039	100.294	11.259	405089.000	0	405089.000
3	2490	92.197	13.302	229571.000	0	229571.000
4	2097	120.185	17.432	250826.000	0	250826.000
5	2453	87.916	17.210	215657.000	0	215657.000
6	4395	117.339	11.688	515703.000	0	515703.000
7	3987	72.782	7.920	290180.000	0	290180.000
8	1320	100.634	10.855	132837.000	0	132837.000
9	5976	115.648	17.113	459816.000	0	459816.000
10	3587	102.630	10.220	368135.000	0	368135.000
11	2515	85.071	14.367	213954.000	0	213954.000
12	2464	92.204	14.414	227190.000	0	227190.000
13	6122	99.829	9.222	611154.000	0	611154.000

【實驗2-2】捕蟲囊觸發運動速率比較



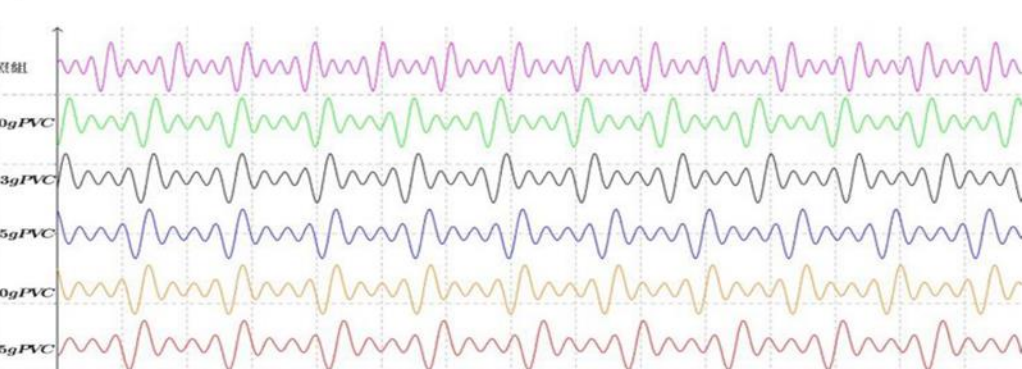
	0.03g	0.05g	0.10g	0.15g	0.20g	對照組
預估時間	136	144	133	154	145	105
P-Value	0.05559	0.00800	0.00180	0.00116	0.00268	
		顯著	顯著	顯著	顯著	

一、探討不同PVC濃度對絲葉狸藻的捕蟲運動之影響

(一)數學模擬預測

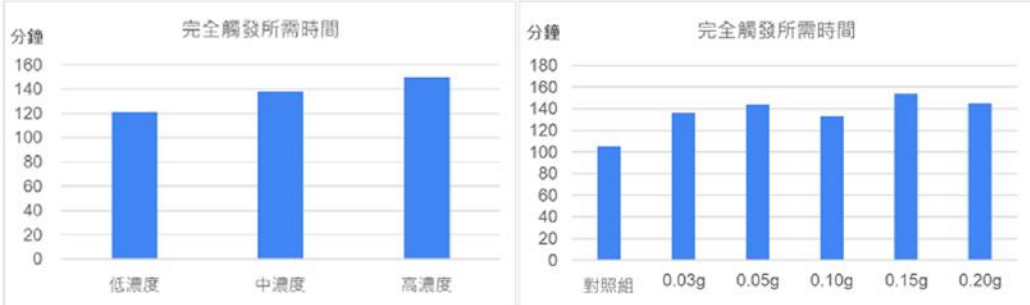
- 1.決定係數 R^2 : 判斷模型的解釋力。
- 2.若數據趨勢呈線性分布，假設最適直線為 $y = ax + b$ ，欲估計達成100%所需時間，可令 $y = 1$ ，得 $x = \frac{1-b}{a}$ 。
- 3.假設 $y = \sin(ax)$ 的週期是 $\frac{2\pi}{a}$ ，若函數週期為 T ，則 $T = \frac{2\pi}{a}$ ，故所繪週期函數為 $y = \sin(\frac{2\pi}{T}x)$ 。

(二)模式圖



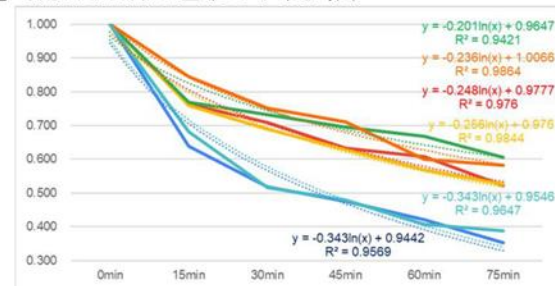
二、不同PVC濃度對觸發運動的比較

- 1.根據我們的結果，捕蟲囊吸入藍色素的觸發速率，實驗組皆比對照組還慢，對捕蟲囊觸發運動有抑制作用。
- 2.六組資料皆隨著時間，觸發吸入色素速率變化量逐漸變小。
- 3.依據圖形之數學函數模擬預測，達完全觸發所需時間：對照組需要105分鐘最快，0.1g組需要133分鐘，0.03g組需要136分鐘，0.05g組需要144分鐘，0.2g組需要145分鐘，0.15g組需要154分鐘最慢，其中除0.03g組外，皆與對照組有顯著差異。
- 4.將實驗結果分成三組，以0到0.03g PVC為低濃度，0.03g到0.1g PVC為中濃度，0.1g到0.2g PVC為高濃度，可以發現完全觸發所需時間為低濃度<中濃度<高濃度。但進一步分析則為對照組<0.1g<0.03g<0.05g<0.2g<0.15g。



【實驗三】捕蟲囊內含有PVC是否會影響其排出狀況及觀察捕蟲囊內的PVC面積和分佈位置

【實驗3-1】捕蟲囊褪色速率比較



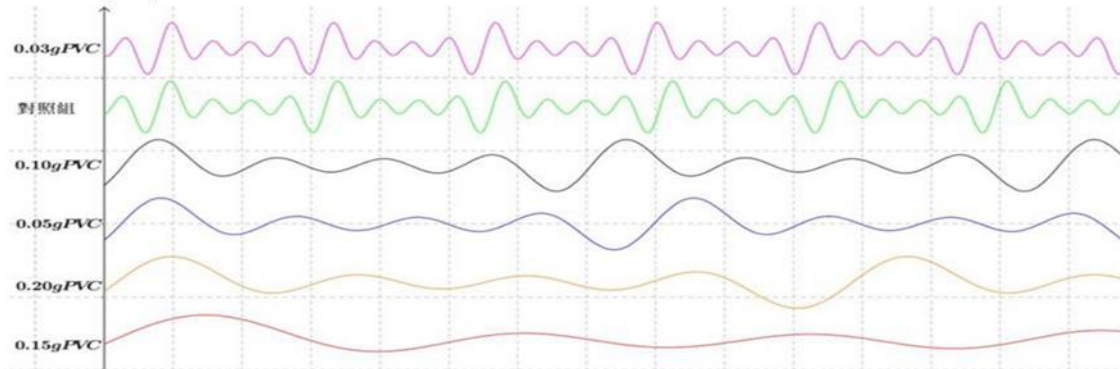
	0.03g	0.05g	0.10g	0.15g	0.20g	對照組
預估時間	235	773	679	1822	1068	243
P-Value	0.14892	0.00106	0.00051	0.00123	0.00005	
		顯著	顯著	顯著	顯著	

一、探討不同PVC濃度對絲葉狸藻的褪色速率的影響

(一)數學模擬預測

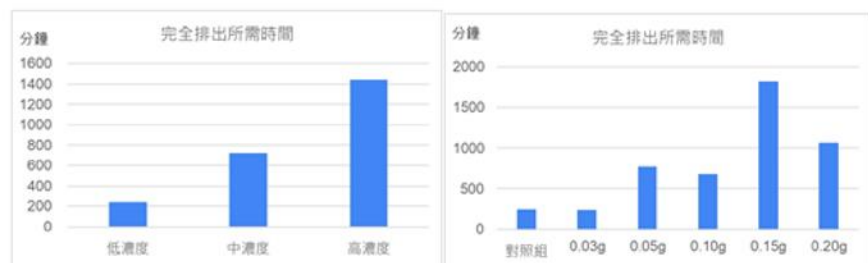
- 1.決定係數 R^2 ：判斷模型的解釋力。
- 2.若數據趨勢呈對數分布，假設函數 $y = a \ln(x) + b$ ，欲估計達成0%所需時間，可令 $y = 0$ ，得 $x = e^{-\frac{b}{a}}$ 。
- 3.假設 $y = \sin(ax)$ 的週期是 $\frac{2\pi}{a}$ ，若函數週期為 T ，則 $T = \frac{2\pi}{a}$ ，故所繪週期函數為 $y = \sin(\frac{2\pi}{T}x)$ 。

(二)模式圖



二、不同PVC濃度對褪色速率的比較

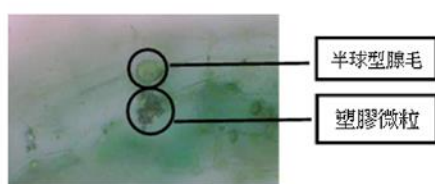
- 1.根據實驗結果，我們發現除0.03g PVC組外，剩餘實驗組的排出速率皆比對照組還慢，且與對照組皆有顯著差異，其中以0.1g排出速率較快。
- 2.六組資料皆隨著時間，排出色素的速率變化量逐漸變小。
- 3.依據圖形之數學函數模擬預測，達完全排出所需時間：0.03g需要235分鐘最快，對照組需要243分鐘，0.1g組需要679分鐘，0.05g組需要773分鐘，0.2g組需要1068分鐘，0.15g組需要1822分鐘，其中除0.03g組外，皆與對照組有顯著差異。
- 4.將實驗結果分成三組，以0到0.03g PVC為低濃度，0.03g到0.1g PVC為中濃度，0.1g到0.2g PVC為高濃度，可以發現完全恢復所需時間為低濃度<中濃度<高濃度。但進一步分析則為0.03g<對照組<0.1g<0.05g<0.2g<0.15g。



【實驗3-2】狸藻捕蟲囊腺毛觀察

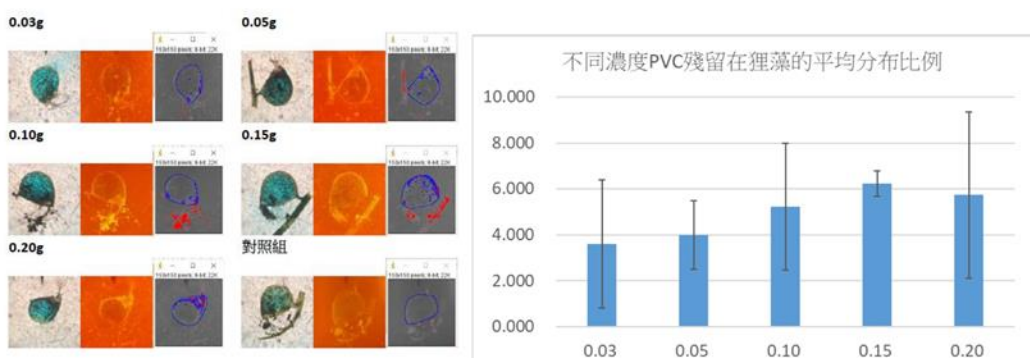


- 1.一般四爪腺毛吸收色素(如右上圖)，為四條腺毛的色素逐漸褪去色素顏色，但加有PVC的捕蟲囊內，四爪腺毛卻呈現有一條腺毛的色素無法順利排出(左上圖)。
- 2.在加有PVC的組別，捕蟲囊表皮細胞層的半球型腺毛(下圖)附近可見PVC聚集，可能影響水分進出捕蟲囊內部。



【實驗3-3】染色PVC在已褪色捕蟲囊內的分布位置及面積

我們藉由Image J分析PVC的分布面積，發現放有0.15g PVC的捕蟲囊經褪色後，其囊內殘留的PVC比例最高，且隨著PVC濃度下降，其殘留的比例有下降的趨勢。另外也發現不同濃度的組別中，置於相對較高濃度的捕蟲囊其面積比例較大，而較低濃度的組別則相對較小。

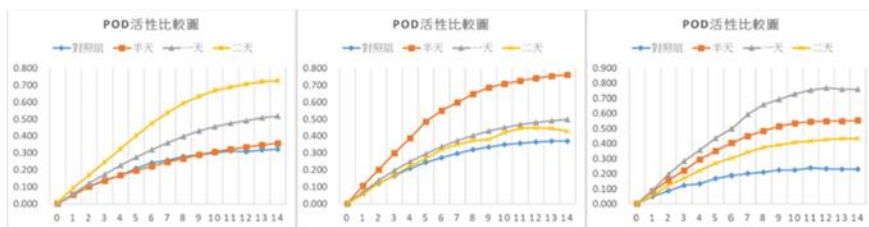


【實驗四】狸藻生長狀況的測定

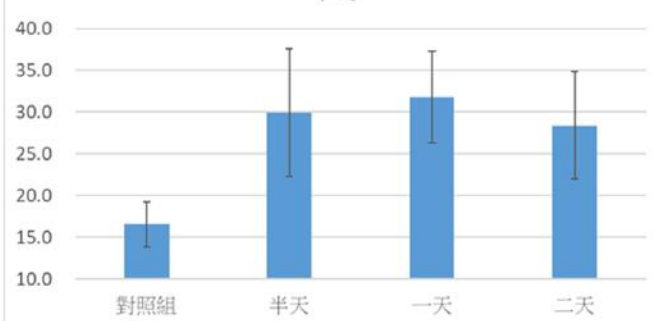
經過我們的觀察，發現浸泡在PVC溶液中的絲葉狸藻捕蟲囊較易脫落，因此我們透過檢測植物體內POD的含量，進而了解植物的生長狀況。

我們認為浸泡在PVC溶液中的絲葉狸藻即處於逆境中，植物體內ROS增加，因此，植物體內會增加POD的含量，進而加速消除過多的ROS。我們透過離心取出狸藻內的POD，加入等量的過氧化氫水溶液進行反應，藉由反應產生愈創木酚四聚體(紅棕色產物)，此物質主要吸收波長470奈米的光，所以透過吸光值的變化，以計算不同狀況下狸藻體內POD的含量。

經由實驗結果，對照組POD含量較低且實驗組大幅增加，可知PVC會影響植物的生長狀況，使植物體內POD的含量增加，且對照組和實驗組有顯著差別。另外，發現狸藻在浸泡PVC兩天後其POD含量即開始下降，推測可能是其開始逐步凋亡，降低酵素產量，因此，愈創木酚四聚體含量會減少。



平均



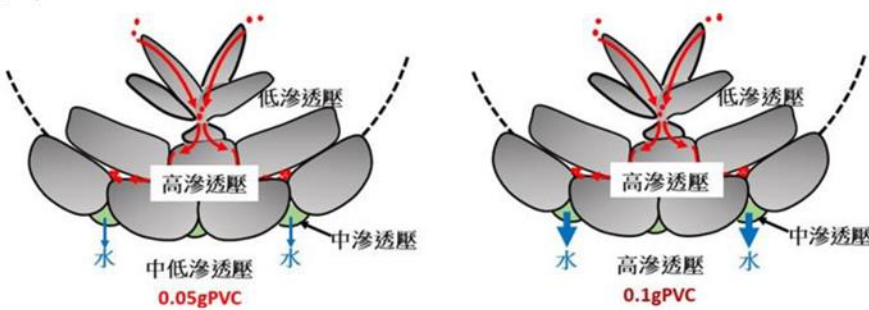
柒、討論

【實驗一】觀察染色後 PVC 是否能進入捕蟲囊內

- 因 PVC 呈白色粉末狀，不易觀察其是否有進入捕蟲囊，我們為了方便觀察其進入捕蟲囊的情況，藉由資料顯示，尼羅紅是一種螢光染劑，其性質穩定，在藍光或其他 UV 光照射下可產生螢光的呈色效果。由於尼羅紅染劑原本呈粉末狀，且其無法和強極性溶劑結合，所以我們利用尼羅紅和呈弱極性的丙酮以 1mg/ml 製成液態的染劑，使染劑附著在 PVC 上，藉此區分非塑膠的物質。
- 實驗中，我們覺得尼羅紅加丙酮的染劑是否會因為含有丙酮而影響捕蟲囊的觸發狀況，且丙酮含量較高時可能影響捕蟲囊的健康狀況，所以我們希望透過離心的方法，利用丙酮與水互溶的特性，藉此分離丙酮及染色的 PVC，降低丙酮可能對植物造成的影響。

【實驗二】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響其觸發情況

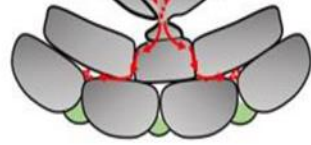
- 根據不同濃度實驗結果，把每組中的兩個觸發時間平均，顯示低濃度 < 中濃度 < 高濃度，推測高濃度組因 PVC 含量較高，生理功能逐漸變差，觸發頻率下降，因此達完全觸發所需時間較長，濃度較低則相反。
- 我們以中濃度的 0.1g PVC 組、0.05g PVC 組進一步分析，發現 0.1g PVC 觸發速率較 0.05g PVC 快，推論是受到滲透壓的影響。捕蟲囊產生觸發運動主要依靠囊內形成負壓，0.1g PVC 滲透壓較捕蟲囊內高，水分容易流出，捕蟲囊內容易形成負壓，因此其觸發速率較快，0.05g PVC 則因滲透壓與囊內相差不大，因此，水分無明顯流出。



【實驗三】捕蟲囊內含有 PVC 是否會影響其排出狀況及觀察捕蟲囊內的 PVC 面積和分佈位置

- 根據不同濃度實驗結果，我們發現 0.03g PVC 組比其他實驗組的排出速率更好，把每組中的兩個排出時間平均，顯示低濃度 < 中濃度 < 高濃度。藉由文獻可知，狸藻可能是由捕蟲囊口吸入色素，再由半球型腺毛排出(莊等, 2019)，PVC 進入四爪腺毛後，由共質體路徑進到底層基座細胞及內表皮，再由離質路徑轉移到外表皮，部分 PVC 聚集在半球形腺毛附近，使色素無法順利排出，而至於在文獻中發現(Zhou et al., 2020)可能也因此造成狸藻的生長受到影響。因此我們推論浸泡在高濃度 PVC 的狸藻，因濃度過高容易造成排水系統受阻，生理功能逐漸變差，觸發頻率下降，因此達完全恢復所需時間較長，濃度較低則相反。

四爪腺毛的結構及輸送物質的路徑

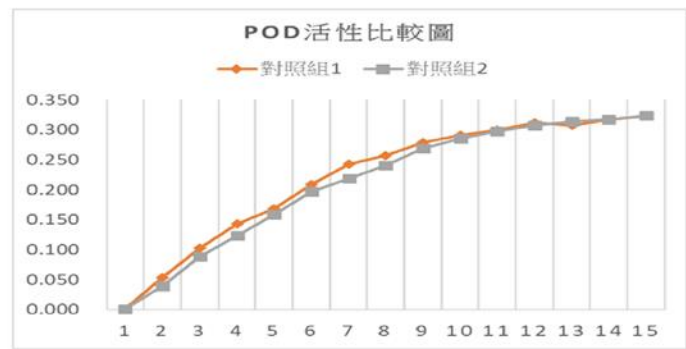


PVC和水可能遵循以下途徑。首先進入四爪腺毛，再進入基座細胞，從基座細胞吸收的PVC，經共質體路徑(symplast pathway)傳到下方的內表皮，部分聚集在半球型腺毛附近。

- 將低濃度進一步探討，發現完全排出所需時間 0.03g PVC 比對照組快，經由結果的圖表顯示 0.03g PVC 濃度太低，與對照組無明顯差異。接著以中濃度的 0.1g PVC 組、0.05g PVC 組進一步分析，0.05g PVC 比 0.1g PVC 慢，主要也受到滲透壓影響，0.1g PVC 組水分排出較快，0.05g PVC 組則排出較慢，因此其完全排出所需時間較長。
- 根據實驗 3-3 的結果，高濃度中的捕蟲囊經褪色後，在一定時間內觸發的頻率較低，但吸入較多的 PVC，所以殘留比例較高；在低濃度中，雖然在一定時間內觸發的頻率較高，但因吸入 PVC 含量少，所以殘留比例較低。在分布位置方面，則發現 PVC 大多分布於捕蟲囊前半部。

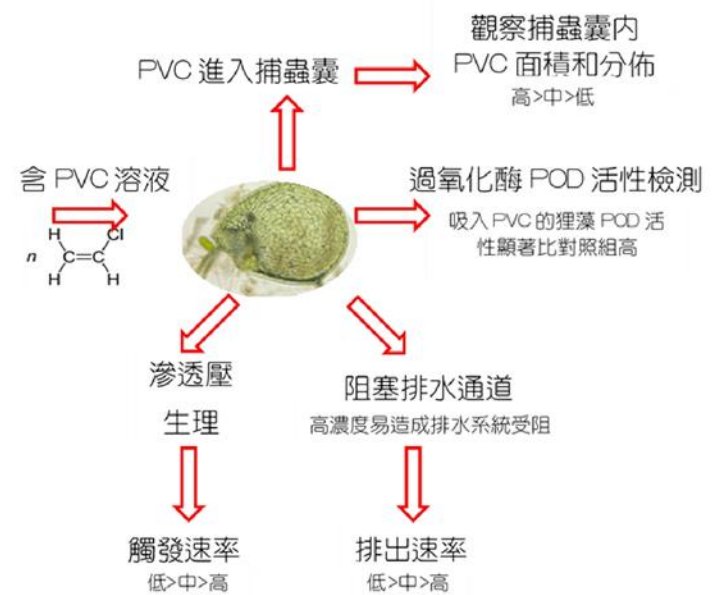
【實驗四】狸藻過氧化酶(POD)活性檢測

- 經由實驗結果的圖表可以發現對照組恆為最低，但實驗組每次 POD 含量最高的時間皆有所差異，我們推測可能是每株植物其狀況不同導致細胞開始產生凋亡的時間有所差異。此外，狸藻在浸泡 PVC 兩天後其 POD 含量即開始下降，推測可能是其開始逐步凋亡，無法有適當的環境供酵素作用，因此，愈創木酚四聚體含量會下降至反應達平衡。我們認為浸泡在 PVC 溶液中的絲葉狸藻即處於逆境中，植物體內活性氧類(reactive oxygen species, ROS) 增加，因此，植物體內會增加 POD 的含量，進而加速消除過多的 ROS，進而保護細胞(蔣永正, 2011)。
- 因離心 30 分鐘且轉速快，導致溫度升高，可能影響 POD 的活性，因此我們將裝有樣品的 1.5ml 離心管置於含有 9ml 結冰蒸餾水的 15ml 離心管中，藉此降低高溫對植物體內 POD 的影響。
- 實驗過程中，因組別較多，導致離心完無法全部同時測量，為避免植物體內 POD 被其他物質分解，導致含量降低。我們將離心後尚未測量的離心管置於冰上保存，以降低植物體內酵素的活性。下圖為同一實驗中的兩組對照組，取自同一植株，同時進行離心，但測量吸光值的時間相差一小時，結果顯示兩組吸光值幾乎沒有差異，顯示置於冰上能降低實驗時間差距過大所造成的誤差。



捌、結論

- 在 PVC 觀察實驗中，透過三種不同方法來觀察狸藻內的 PVC，分別是顯微鏡觀察、藍光照射、及 Image J 分析，三皆能清楚看到捕蟲囊內的染色 PVC，其中以 Image J 分析的觀察效果最好，且最能清楚判斷狸藻內的物質是否為 PVC。
- 捕蟲囊的特殊構造類似小型捕鼠器，捕蟲的速度是食蟲植物中的第一名，色素主要從開口處進入捕蟲囊，再進入四爪腺毛，最後由半球型腺毛排出。藉此我們進一步探究，是否有加 PVC 及不同濃度的 PVC 對色素進入捕蟲囊的影響，結果顯示觸發、排出的速率皆是低濃度 > 中濃度 > 高濃度，可知 PVC 會抑制捕蟲囊觸發與排出速率，而在褪色後各濃度 PVC 殘留面積比例為低濃度 < 中濃度 < 高濃度，其比例與 PVC 濃度有關。
- 植物若處於逆境中，則會增加抗氧化酵素(POD)的含量，來維持其生長。因此經由抗氧化酵素含量的檢測可以得知，PVC 的進入會使狸藻活性氧類(ROS) 增加，生長狀況變差，導致囊內 POD 含量明顯增加，但浸泡兩天的組別，POD 含量則會有開始下降的趨勢。
- 未來展望：
捕蟲囊透過負壓快速吸入囊口生物，再經由半球形腺毛排出水分的機制，可透過仿生技術及模仿狸藻及 PVC 間的關係，製造出含有類似捕蟲囊觸發運動的囊狀機制。在污染防治發展上，塑膠微粒或重工業廢水對河川及水中生物造成極大危害，因此可將此囊狀機制放入受汙染河川中，先由泥沙及汙染物觸發其觸發毛，使此囊狀機制得以吸入含有泥沙及汙染物的水源，並藉由泥沙堵住囊狀機制來防止汙染物流出，使其降低河川汙染物質，希望能對河川污染防治做出貢獻。



玖、參考資料

- 洪禎珍 (2020) 撲朔難厘——化學物質對狸藻觸發運動之影響。第十九屆 旺宏科學獎成果報告書。
- 莊惟婷、陳馬瑋、賴安琦 (2019) 水中黑洞-絲葉狸藻捕蟲囊之探討。第 59 屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 莊迪喬、莊淳喬(2006)。水生開花食蟲植物絲葉狸藻捕蟲囊構造及共質體輸送。台灣 2006 國際科學展覽會。
- 莊迪喬(2004)。台灣本土水生食蟲植物—絲葉狸藻的囊裡乾坤。第四十四屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 蔣永正(2011)。植物對環境逆境之調控與應用。農政與農情，100年9月(第231期)。 <https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=24091> .
- Jingzhe Zhou & Yu Cao & Xiaoning Liu & Hongsheng Jiang & Wei Li. (2020) Bladder entrance of microplastic likely induces toxic effects in carnivorous macrophyte *Utricularia aurea* Lour, Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature.
- Mitsch M and White B (2020) A Simple, Quantitative Peroxidase Assay Demonstrating Enzyme Inhibition with L-cysteine. *Advances in Biology Laboratory Education*, 41: Article 44.
- Peng, Bo-Yu et al. (2020) Biodegradation of Polyvinyl Chloride (PVC) in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Environment International* 145: 106106.
- Tanya Chun-Chiao Juang, Sonya Di-Chiao Juang, and Zin-Huang Liu (2011) Direct evidence of the symplastic pathway in the trap of the bladderwort *Utricularia gibba* L. *Botanical Studies* 52: 47-54.
- Vincent O, Weisskopf C, Poppinga S, Masselter T, Speck T, Joyeux M, Quilliet C, Marmottant P (2011) Ultra-fast underwater suction traps. *Proceedings of the royal society B: Biological Sciences* 278, 2909-2914.
- 陳慶霖、李旺龍 靈活的捕蟲囊具超快速吸力: 狸藻 https://scistore.colife.org.tw/management/Upload/dragon/2017010910155499_6_%5B309%5D.pdf
- 葉綠舒 (2015 年 01 月 20 日)【植物百科】狸藻 (bladderwort) 不是肉食性植物 (carnivorous plant)。 <https://case.ntu.edu.tw/blog/?p=20278>
- 葉名倉等(民 111 年 12 月初版二刷)。高中化學(V)。臺南市：南一書局
- Nile red. (2023, June 7). Wikipedia. 取自: https://en.wikipedia.org/wiki/Nile_red