

# 中華民國第 65 屆中小學科學展覽會

## 作品說明書

高級中等學校組 動物與醫學科

052012

「渦」命由天不由「渦」—不同環境因素對渦蟲再生速率之影響

學校名稱： 國立馬公高級中學

作者：	指導老師：
高二 葉騏嘉	林建宏
高二 趙佳倫	
高二 謝宗珉	

關鍵詞： 渦蟲、再生、環境因素

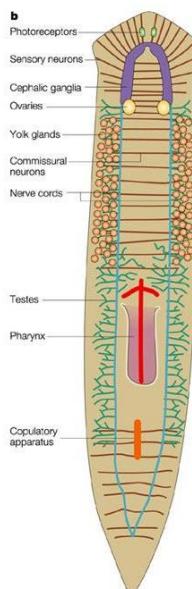
## 摘要

國中時就對渦蟲這種生物有所耳聞，對其最大的了解就是強大的復原能力，為了深入了解這種神奇的功能，我們嘗試幾種不同的環境因素，試著觀察其對渦蟲眼點再生速率之影響。

文獻探討時，發現變動的磁場會對生物體的細胞增殖產生影響，也發現在特定模擬超重力環境下人體細胞增殖會加速，因此我們皆對這兩種情況設計了不同的以渦蟲為實驗，除了驗證之外，也想試著發現論文以外未探討的影響，像是我們也試驗了不同換水頻率、光照強度、光波長、飼養密度下對渦蟲的影響，最後的數據分析和結果討論也總結了這六個實驗的影響，為相關研究提供參考並對日後渦蟲的複製與大量養殖提高了可能性。

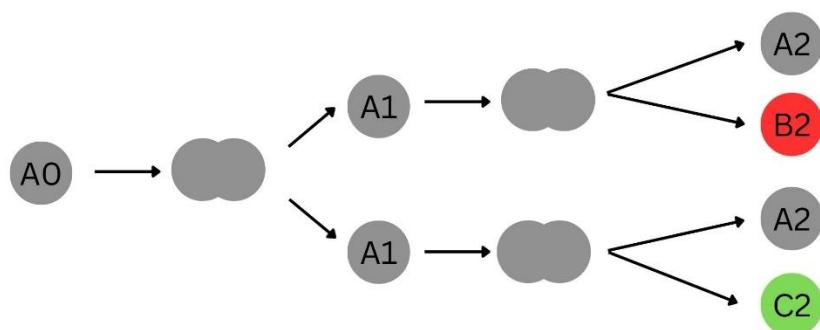
## 壹、前言

渦蟲（渦蟲綱 *Turbellaria*），為三胚層，無體腔動物，因能夠以部分身體部位重新長出任何其他缺失的身體部位而較常作為觀察再生的物種為三腸目(*Tricladida*)的三角渦蟲科(*Dugesiidae*)，其中地中海渦蟲(*Schmidtea mediterranea*)和日本三角渦蟲(*Dugesia japonica*)已經完成基因定序，屬於實驗室常見的模式生物 (Markus Alexander Grohme, 2018; Qingnan Tian et al., 2022)。而作為實驗室常見生物，其解剖學構造也已被完整記錄 (Phillip A. Newmark & Alejandro Sánchez Alvarado 2002，見圖一)。



圖一、 *Schmidtea* 屬渦蟲解剖學構造

研究指出，渦蟲的再生能力是基於成體中存在大量成體幹細胞（名為 Neoblasts）得以分化成任何其他功能性細胞並重新構建出所失去身體部分，該細胞也是渦蟲身體中唯一執行分裂的細胞（Rink, J.C.,2018）。而人體受損後的再生也是依靠各種幹細胞的分化來達成。在發育過程中，細胞經歷單向分化過程，逐漸減少它們可能成為的細胞類型的數量，最後成為功能性細胞後，在身體中發揮功能（Chikara Furusawa et al., 2012），我們的身體也依靠幹細胞增殖的分化產生所需的組成細胞來再生或成長（見圖二）。



（圖二，幹細胞分化簡圖，A：幹細胞，B、C：功能性細胞）

## 貳、研究動機與文獻探討

國中時就曾在生物課本上聽過渦蟲這種生物，以再生能力著稱，是教科書中斷裂生殖的代表。這種能夠再生出損失身體部分的生物，讓組員想起自己那位失去部分肢體的親戚，渦蟲再生研究，是否有可能應用於人類再生醫學，發展新型的治療方法來促進人體組織的再生？這激起我們對生物再生的好奇心。但是當時卻只能從課本上認識渦蟲，實為遺憾，我們便想：如果能讓學生親身接觸渦蟲這種教科書上的經典生物，一定能夠提升學習熱情與成效。而一個生物能否作為教具，考量點之一便是能否大量生產，如果能提升渦蟲斷裂生殖的速率，勢必能提高教具渦蟲的產量，於是以家中水族箱的渦蟲作為研究對象，探討不同環境因素對渦蟲眼點再生速率的影響。

某組員身為熱愛養殖動物的高中生，對生物的生長與適應能力一直充滿好奇。在飼養觀賞蝦的過程中，在移除水族箱中的渦蟲時（渦蟲在蝦缸中屬害蟲），偶然發現渦蟲大多在入夜後才會出來活動，查詢資料發現屬於三角渦蟲科的地中海渦蟲（*Schmidtea mediterranea*）為負趨光性（Robert D. Hinrichsen, 2019）而相似的行為在我們的虎紋渦蟲身上也有發現。又該組員從

魚缸移除的渦蟲理應被丟棄於花圃，但在一次的疏忽下，留了十數隻渦蟲於幾乎無水的杯底，待數天後發現時，幾乎所有渦蟲仍保持活力，該組員頗為驚奇，如果要做為實驗生物，對環境的耐受性是考量點之一。於是我們便想研究不同光照強度以及換水頻率對渦蟲眼點再生的影響。

在進行不同光照強度對渦蟲再生能力的實驗過程中，我們進一步思考除了強度之外，光的波長是否亦會影響其再生速率。文獻指出，某些波長的光可能可以被粒線體的 Cytochrome c oxidase 吸收並透過改變細胞內平衡來影響細胞增殖、活性與代謝等 (Tiina Karu 1999)。研究顯示紅光（波長約 660 nm）不僅增加了細胞增殖和活力，而且還透過加速遷移率來幫助傷口癒合 (Zhao et al., 2016)。因此，我們將透過設計不同波長（紅光、綠光）與其各三組不同的光子通量密度，來探討其對渦蟲眼點再生速率的具體影響。

在觀察各個渦蟲再生實驗的過程中，我們注意到渦蟲在被截斷後後會出現群聚的行為，猜測其間可能存在某種交互作用機制。研究指出，渦蟲可藉由神經內分泌促進群體內部細胞分裂與幹細胞活化，進而加速再生 (Collins et al., 2010)。且渦蟲的黏液也具有先天免疫功能 (Donald G Bocchinfuso et al., 2012)。這顯示，在一定密度條件下，渦蟲之間可能透過產生分泌物而影響個體再生的效率。因此，我們將探討不同飼養密度是否會影響其眼點再生速率。

在翻找相關資料時，我們無意間發現：渦蟲在不同頻率的變換磁場下眼點再生速率會產生變動 (Artem Ermakov, 2022)，且該作者根據 Valery Lednev 的理論 (Valery Lednev, 1991) 認為在環境變動磁場與生物體內離子產生共振時，磁場會對生物產生影響，受到此文的啟發我們便想驗證渦蟲在固定的磁場環境下，其眼點再生是否就不會受到影響。

在前人的研究中，已經指出 C2C12 肌母細胞超重力 (5、10、20g) 下有隨著重力增加的增殖和分化的加速 (Gianni Ciofani, 2012)；也有觀察到 PC12 類神經元細胞在超重力 (50、150g) 下的分化加速 (Giada Graziana Genchi, 2015)。人類脂肪幹細胞的增殖速率也在超重力 (10、20、40、60g) 下有所增長 (Alireza Tavakolinejad et al., 2015)，也有文獻指出超重力會加速人類臍帶靜脈內皮細胞細胞的遷移，但沒有觀察到細胞生長速度改變 (Silvia Versari et al., 2007)。但同時也有文獻發現在超重力 (2~15g) 下，人體真皮纖維母細胞和 A549 肺癌細胞會迎來增殖速度減慢 (Y Gaubin, 1991)。受此啟發，我們決定以向心加速度與其相應機械壓力 (以上文獻均以離心裝置產生加速度來模擬重力加速度，且以 hypergravity 直稱，然向心加速度實非重力加速度，為求嚴謹，本研究雖同以離心來模擬重力加速度，但稱其為向心加速度與其相應機械壓力，以下時簡稱加速度) 作為變因來探討渦蟲在不同的超重力下的眼點再生速率變化。

## 參、研究目的

- 一、探討不同強度的固定磁場條件下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 二、探討白光不同強度光照條件下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 三、探討不同大小之向心加速度與相應機械壓力條件下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 四、探討不同換水頻率下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 五、探討兩種波長（620、545nm）的不同光子通量密度下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 六、探討不同飼養密度下渦蟲眼點再生速率的變化。

## 肆、研究設備及器材

### 一、渦蟲

養殖於60升水箱，該缸已設缸22個月，從無水質敗壞，有異足新米蝦(*Neocaridina davidi*)紅色變種、囊螺(*Physella acuta*)、金魚藻(*Ceratophyllum demersum*)等其他生物，期間渦蟲至少已持續存在15個月，有火山岩底沙及過濾打氣設備，春夏秋季無溫度控制，冬季使用加溫棒控制水溫於22攝氏度，自然光照。每2~3天餵食一次沉底飼料，成分為：「粗蛋白46%以上，粗脂肪10%以上，粗灰分12%以下，粗纖維2%以下，水10%以下」。為求實驗準確，渦蟲進行實驗前均斷食7天安置於20公升魚缸附打氣過濾，且均採用長度11~13mm之渦蟲（長度分布為4~17mm）。

通過比對文獻(王琳雅,2017)，大致確定我們的渦蟲為虎紋三角渦蟲(*Girardia tigrina*，以下簡稱渦蟲)。而根據其耳突與三角頭形，也可以判斷其為三角渦蟲屬(*Dugesiidae*)的一員。



圖三、本研究使用之渦蟲



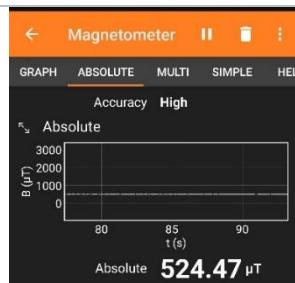
圖四、文獻使用之渦蟲-虎紋三角渦蟲  
*Girardia tigrina*(王琳雅 2018)

本研究所有渦蟲均以 1：2（前半：後半）之比例置於玻片上以雕刻刀橫切，以後半身體進行實驗，實驗時，為避免傷害渦蟲，移動渦蟲時以滴管吸取，以手機「顯微鏡」功能拍攝(倍率 20 倍)。渦蟲身體從被橫切到完成眼點再生可分成 5 個階段（見圖五至九）：

第一階段 圖五、剛橫切	第二階段 圖六、傷口初癒合	第三階段 圖七、長出芽基
第四階段 圖八、初見光感受器 (以下簡稱眼點)	第五階段 圖九、完全復原	

## 二、磁鐵

使用軟質黏貼磁鐵（單層、雙層）、釹鐵硼強力磁鐵，測量之磁場大小如圖十～十二（測量方式：手機應用程式 Phythox）



圖十、單層磁鐵(磁通量密度:524.47 $\mu$ T)

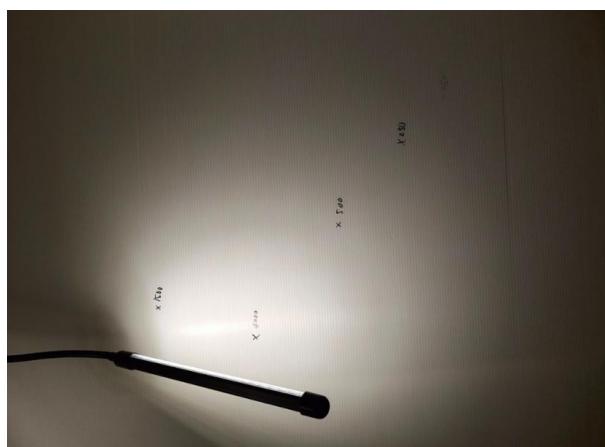
圖十一、雙層磁鐵(磁通量密度:1553.52 $\mu$ T)



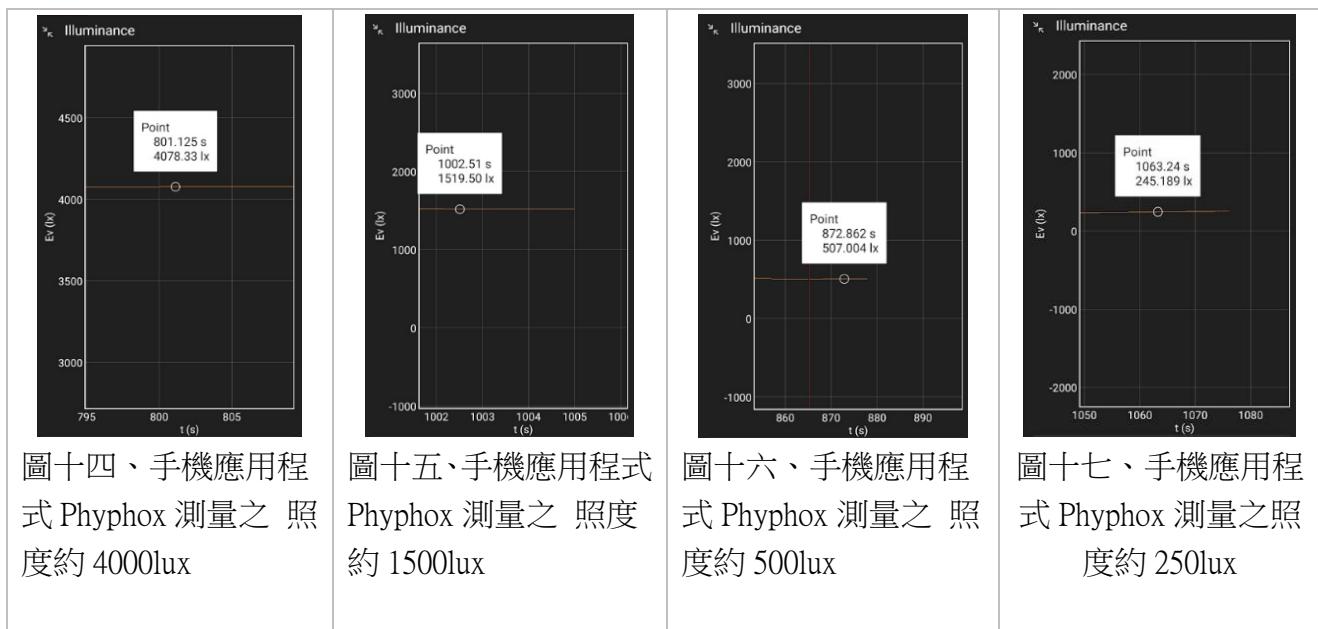
圖十二、強力磁鐵  
(磁通量密度:4423.02 $\mu$ T)

## 三、光照設備

四管全光譜 40 瓦植物燈，以燈管對照射面的距離控制照度，採用之不同照度 250、500、1500、4000lux 等，如圖十三～十七，以手機應用程式 Phythox 作為測量方式。



圖十三、以全光譜 40 瓦植物燈，對照射面的距離控制照度



圖十四、手機應用程式 Phypyox 測量之 照度約 4000lux

圖十五、手機應用程式 Phypyox 測量之 照度約 1500lux

圖十六、手機應用程式 Phypyox 測量之 照度約 500lux

圖十七、手機應用程式 Phypyox 測量之 照度約 250lux

#### 四、離心設備

(一) 自製一離心設備：拆解 60 瓦交流掛扇，於馬達轉軸安裝瓦楞板以固定盛裝渦蟲之容器。(圖十八)

(二) 使用 17 瓦直流立扇，於葉片處黏貼 3 號夾鏈袋以裝載渦蟲容器，(圖十九) 使用水平儀確保水平。



圖十八、自製之 60 瓦交流掛扇  
轉速  $44 \pi/s \sim 56 \pi/s$

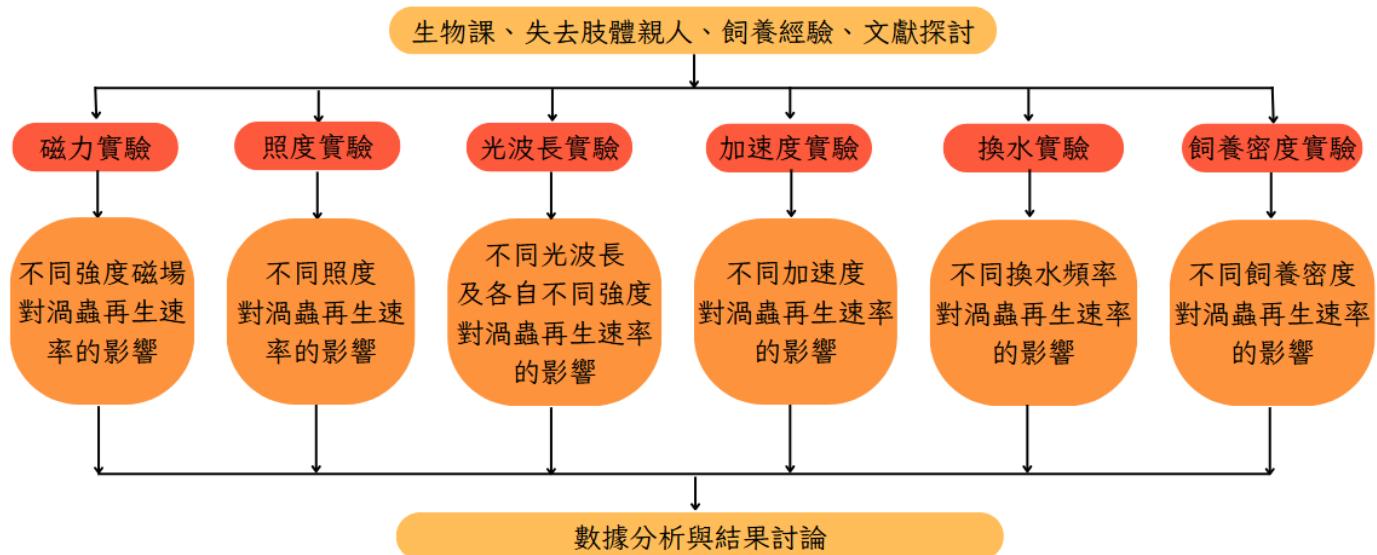


圖十九、17 瓦直流立扇  
轉速  $5.6 \pi/s \sim 21 \pi/s$

五、其他實驗用品: 底圓直徑 4.3 公分 ps 分裝罐、4.5 毫升 ps 密封罐 (底直徑 1.7 公分)、密封罐 (底直徑 4 公分)、管道膠帶、3 號夾鏈袋、不透光禮物盒、斜口雕刻刀、滴管、載玻片、Realme GT Neo5、自製渦蟲陷阱、LED 燈泡(620nm、545nm、460nm)。

## 伍、研究過程及方法

### 一、實驗架構



(圖二十)

### 二、渦蟲眼點再生觀察記錄方式與定義

#### (一) 眼點再生時間：

本研究以觀測渦蟲眼點再生作為再生標準，以渦蟲自被橫切之後身體部分重新長出眼點所費時間定義為「眼點再生時間」。

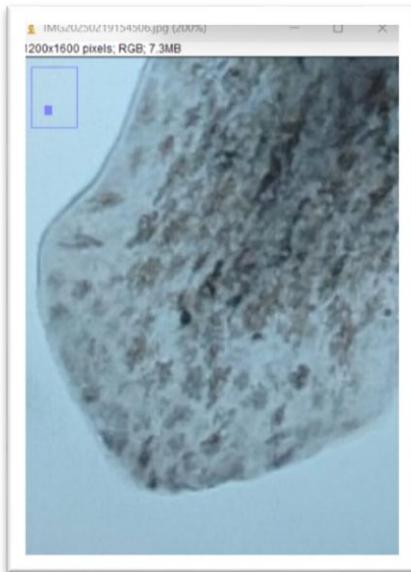
#### (二) 進行實驗：

使用手機拍照紀錄，再用 ImageJ 程式比對渦蟲眼睛黑色及白色的明暗差（黑塊與白塊亮度差  $> 80$  且黑塊與身體其他色素斑亮度差  $> 5$  時定義為長出眼睛）與對稱性（身體兩側均有符合上述條件之眼點），來定義「長出眼睛」，長出眼睛時即紀錄此為渦蟲再生眼點所費時間。

	Area	Mean	Min	Max
1	16	49.688	39	66
2	69	168.754	155	185
3	8	87.250	72	123
4	54	92.333	64	124

剛長出眼點的渦蟲,表格各列之 Mean 值代表亮度 (最深~最淺為 0~225), 分別為：  
 1. 圖中左側渦蟲較大眼點  
 2. 眼點的白色區域  
 3. 圖中右側渦蟲較小眼點  
 4. 身體其他色素斑

圖二十一、ImageJ 照片分析



圖二十二、剛長出眼點的渦蟲

### 三、磁力實驗

(一) 以自製之誘捕容器自飼養箱中誘捕 48 隻渦蟲，斷食結束後將其置於玻片上以 1：2 (前半:後半) 之比例以 75% 酒精消毒過之雕刻刀橫切，取其後半身體進行實驗，將渦蟲放入底圓直徑 3 公分之密封罐並密封，每罐放入 6 隻渦蟲，裝水 6 毫升，全實驗總計共 8 罐，分為 4 組，置於同一空間 (環境亮度約 200lux)，各組分別為：

第一組：0 $\mu$ T (對照組)，進行 1 輪實驗 (屬同一輪之實驗組與對照組為同一時間進行實驗之意)，每一輪實驗使用兩罐，共 12 隻。

第二組：置於單層軟質黏貼磁鐵上，所受磁場大小約 500 $\mu$ T，做 1 輪，每一輪實驗使用兩罐，共 12 隻。

第三組：置於雙層軟質黏貼磁鐵上，所受磁場大小約 1500 $\mu$ T，進行 1 輪實驗，每一輪實驗使用兩罐，共 12 隻。

第四組：用塑膠小杯架高罐子置於強力磁鐵之上控制磁場大小，所受磁場大小約  $4000\mu\text{T}$ ，進行 1 輪實驗，每一輪實驗使用兩罐，共 12 隻。

(二) 每 24 小時換 1/2 水，每 12 小時觀察渦蟲眼點再生情形(6 時、18 時)，拍照並用 ImageJ 程式進行分析再記錄。直至渦蟲長出眼點，完成再生。

#### 四、白光光照實驗

(一) 以自製之誘捕容器自飼養箱中誘捕 54 隻渦蟲，斷食結束後將其置於玻片上以 1：2 (前半：後半) 之比例以消毒過之雕刻刀橫切，取其後半身體進行實驗，將渦蟲置直徑 3 公分分裝罐中，不加蓋避免影響光線，一罐放入 6 隻渦蟲，裝水 6 毫升，全實驗共計 9 罐，分為 5 組，由同一盞白光燈照射，各組與燈具之距離不同而有不同照度，對照組則置於不透光禮物盒中，各組分別為：

第一組：0lux (對照組)，進行 2 輪實驗，一輪一罐，共 12 隻

第二組：250lux，進行 2 輪實驗，每一輪實驗使用一罐，共 12 隻

第三組：500lux，進行 2 輪實驗，每一輪實驗使用一罐，共 12 隻

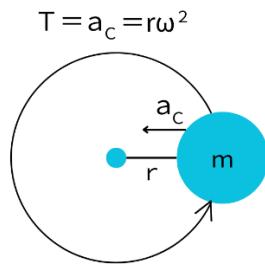
第四組：1500lux，進行 2 輪實驗，每一輪實驗使用一罐，共 12 隻

第五組：4000lux，進行 1 輪實驗，每一輪實驗使用一罐，共 6 隻

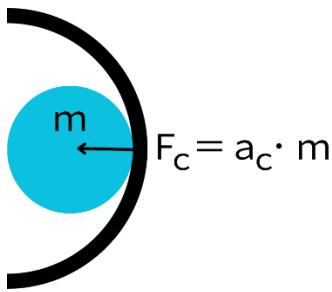
(二) 各組均不間斷照射，每 24 小時換 1/2 水，每 12 小時觀察渦蟲眼點再生情形(6 時、18 時)，拍照並用 ImageJ 程式進行分析再記錄。直至渦蟲長出眼點，完成再生。此為完成一輪實驗，視情況再進行第 2 輪之實驗 (第五組由於第一輪時死傷過於慘重，再重複進行對研究幫助有限且會徒增渦蟲死亡故決定不繼續進行後續實驗，樣本較少)。

#### 五、加速度實驗

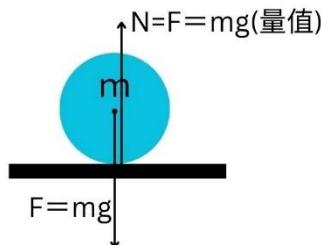
(一) 根據等速圓周運動公式  $a=r\omega^2$  (圖二十三，物體所受向心加速度 = 旋轉半徑 · 角速度<sup>2</sup>)，將裝有渦蟲的罐子裝在自製離心機上，以手機慢鏡頭數出馬達轉速 (圈／秒乘上  $2\pi$  即為角速度  $\omega$ )，並將渦蟲置於扇葉上不同位置 (換算為圓周運動半徑  $r$ )，旋轉時對渦蟲產生一個向圓心的加速度 (來自罐壁) 做為圓周運動所需向心加速度，並可換算為重力加速度當量 ( $1g=9.8\text{m/s}^2$ )。在該圓周運動中，渦蟲會承受額外壓力來自壁面，其會類似於但不等於額外重力下渦蟲受到的額外壓力。



圖二十三、圓周運動簡圖  
圖中  $m$  為密封罐+渦蟲之系統



圖二十四、渦蟲行圓周運動之向心力  
黑色弓形物為罐壁



圖二十五、正向力

當渦蟲在離心機上行等速圓周運動時（圖二十五），必有一向心力施予渦蟲，而該向心力來自於固定於扇葉或瓦楞板上之密封罐罐壁。

（二）以自製之誘捕容器自飼養箱中誘捕 152 隻渦蟲，將其置於玻片上以 1:2（前半：後半）之比例以消毒過之雕刻刀橫切，取其後半身體進行實驗，將渦蟲放入 4.5 毫升之密封罐並密封，一罐放入 2 隻渦蟲，裝水 2 毫升，全實驗共計 76 罐，分為 9 組，置於同一空間（環境亮度約 200lux），各組分別為：

第一組：0g（對照組），進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第二組：約 3g（向心加速度），進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第三組：約 12g，進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第四組：約 26g，進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第五組：約 42g，進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第六組：約 52g，進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第七組：約 65g，進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第八組：約 88g，進行三輪實驗，每一輪實驗使用 3 罐，共 18 隻

第九組：約 140g，進行一輪實驗，每一輪實驗使用 2 罐，共 4 隻

(三)各組均不間斷旋轉，每24小時換1/2水，每12小時觀察渦蟲眼點再生情形(6時、18時)，拍照並用ImageJ程式進行分析再記錄。直至渦蟲長出眼點，完成再生。此為完成一輪實驗，視情況進行2~3輪之實驗(第九組由於第一輪時均全部死亡，再重複進行對研究幫助有限徒增渦蟲死亡，決定不繼續進行後續實驗，故樣本較少)。

## 六、換水實驗

(一)以自製之誘捕容器自飼養箱中誘捕18隻渦蟲，將其置於玻片上以1:2(前半：後半)之比例以消毒過之雕刻刀橫切，取其後半身體進行實驗，分成3組：24小時換一次水、72小時換一次水、完全不換水。置於同一空間(環境亮度約200lux)，實驗均將渦蟲放入底圓直徑3公分之密封罐中並密封，一罐放入6隻渦蟲，裝水6毫升，各組共計三罐，各組分別為：

第一組：24小時換一次水(對照組)，進行1輪實驗，每一輪實驗使用一罐，共6隻。

第二組：72小時換一次水，進行1輪實驗，每一輪實驗使用一罐，共6隻。

第三組：過程完全不換水，進行1輪實驗，每一輪實驗使用一罐，共6隻。

(二)每24小時換1/2水，每12小時觀察渦蟲眼點再生情形(6時、18時)，拍照並用ImageJ程式進行分析再記錄。直至渦蟲長出眼點，完成再生。

## 七、飼養密度實驗

(一)以自製之誘捕容器自飼養箱中誘捕48隻渦蟲，將其置於玻片上以1:2(前半：後半)之比例以消毒過之雕刻刀橫切，取其後半身體進行實驗，分成4組：1罐2毫升1隻、1罐6毫升3隻、一罐12毫升3隻、一杯24毫升12隻。置於同一空間(環境亮度約200lux)，實驗第一組將渦蟲放入4.5毫升之密封罐中並密封，一罐放入1隻渦蟲；實驗第二、三組將渦蟲放入底圓直徑3公分之密封罐中並密封，一罐放入3隻渦蟲；實驗第四、五組將渦蟲放入50毫升之燒杯中，一杯放入12隻渦蟲，各組分別為：

第一組：1隻渦蟲2毫升水，1罐1隻，共12罐12隻(對照組)。

第二組：1隻渦蟲2毫升水，1罐3隻，共4罐12隻。

第三組：1隻渦蟲4毫升水，1罐3隻，共4罐12隻。

第四組：1隻渦蟲2毫升水，1杯12隻，共1杯12隻。

第五組：1隻渦蟲4毫升水，1杯12隻，共1杯12隻。

(二)每24小時換1/2水，每12小時觀察渦蟲眼點再生情形(6時、18時)，拍照並用ImageJ程式進行分析再記錄。直至渦蟲長出眼點，完成再生。

## 八、2種波長光照實驗

(一) 使用紙箱為主材料，包裹鋁箔等材料製作一擋光隔熱暗室，使用波長為 625、545 之燈泡置於暗室，利用距離產生不同強度色光，由手機 lux 計可得出該處照度。但由於 lux 為單位的照度為經過發光函數加權之結果，而本實驗將採用光子通量密度(photon flux 單位：光子數/平方公尺/秒)作為單位，將透過以下公式帶入 lux 與波長即可得出該處 photon flux：

$$\text{公式 : } \Phi_p = \frac{lux \cdot \lambda}{V(\lambda) \cdot K_m \cdot h \cdot c}$$

( $\Phi_p$  為光子通量，單位：光子數/ (平方米·秒)；lux 為照度，單位：lux (lm/m<sup>2</sup>)； $\lambda$  為光波長，單位：米 (m)； $V(\lambda)$  為光度函數值 (無單位)，需查 CIE 標準表； $K_m$  為最大光視效能，值為 683 lm/W；h 為普朗克常數，值為  $6.626 \times 10^{-34}$  J·s；c 為光速，值為  $2.998 \times 10^8$  m/s )

(二) 以自製之誘捕容器自飼養箱中誘捕 120 隻渦蟲，將其置於玻片上以 1:2 (前半：後半) 之比例以消毒過之雕刻刀橫切，取其後半身體進行實驗，分成 10 組：C、R1、R2、R3、G1、G2、G3、B1、B2、B3，一組 12 隻，平分至 2 個直徑 3 公分罐中各組分別為：

C : photon flux 0, 2 罐，1 罐 6 隻 (對照組)

R1 : 波長 620nm, photon flux =  $2.06 \times 10^{18}$  photon/m<sup>2</sup>/s, 2 罐，1 罐 6 隻

R2 : 波長 620nm, photon flux =  $4.12 \times 10^{18}$  photon/m<sup>2</sup>/s, 2 罐，1 罐 6 隻

R3 : 波長 620nm, photon flux =  $1.24 \times 10^{19}$  photon/m<sup>2</sup>/s, 2 罐，1 罐 6 隻

G1 : 波長 545nm, photon flux =  $2.06 \times 10^{18}$  photon/m<sup>2</sup>/s, 2 罐，1 罐 6 隻

G2 : 波長 545nm, photon flux =  $4.12 \times 10^{18}$  photon/m<sup>2</sup>/s, 2 罐，1 罐 6 隻

G3 : 波長 545nm, photon flux =  $1.24 \times 10^{19}$  photon/m<sup>2</sup>/s, 2 罐，1 罐 6 隻

(三) 各組均不間斷照射，每 24 小時換 1/2 水，每 12 小時觀察渦蟲眼點再生情形 (7 時、19 時)，拍照並用 ImageJ 程式進行分析再記錄。直至渦蟲長出眼點，完成再生。

## 九、統計方法

實驗數據以時間（12小時）為單位紀錄後，統整成表計算並使用 one-way analysis of variance（單因子變異數分析，簡稱 one-way ANOVA）檢測顯著性，當  $p < 0.05$  代表達到顯著水準，反之則無。再使用 Dunnett's multiple comparisons test 測試實驗組與對照組的顯著性。ANOVA 和 Dunnett's multiple comparisons test 分析時只分析做完比率（見研究結果）後的數據，不分析單純時間數據。

## 陸、研究結果

### 一、圖表表示方法

#### （一）比率圖

為了方便解讀（數值>1 則該數據再生速率大於對照組平均）及消弭不同輪實驗的其他不可控環境因素的影響（如氣溫等），

實驗組每個樣本都將以  $\frac{\text{對照組再生時間之平均}}{\text{樣本之再生時間}}$  處理成比率，顯著性分析亦以此為數據。

所有實驗結果之圖表的表示方法均為：

縱軸：對照組平均時間與樣本時間之比率（如上式，稱為相對再生速率），比率 $> 1$  代表實驗組再生速率大於對照組。

橫軸：該組實驗之操縱變因。

## (二) 顯著性表示方法：

ns：無顯著性 ( $p>0.05$ )

\*：有顯著性 ( $p<0.05$ )

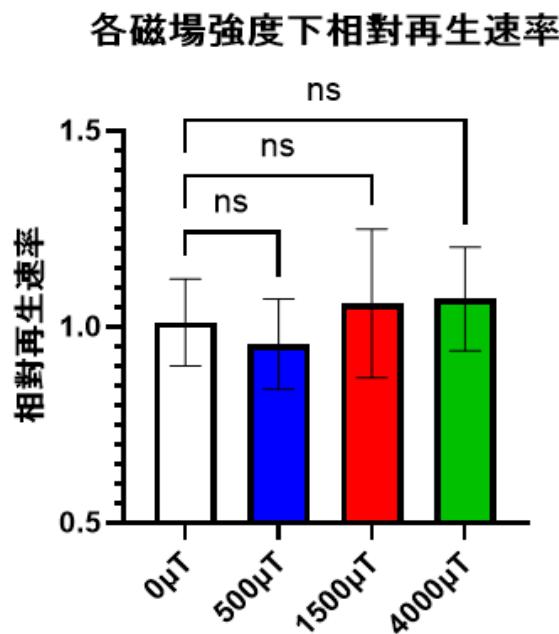
\*\*：很有顯著性 ( $p<0.01$ )

\*\*\*：非常有顯著性 ( $p<0.001$ )

\*\*\*\*：極有顯著性 ( $p<0.0001$ )

## 二、磁場強度對渦蟲眼點再生速率之影響

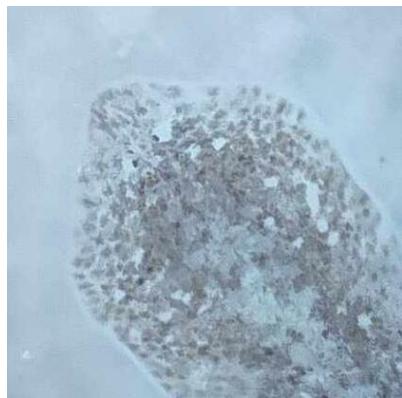
初步處理數據後發現渦蟲在磁力約  $4000\mu\text{T}$  磁場下，其眼點再生較其他組別眼點再生所花時間短，但進一步以 one-way ANOVA 發現：渦蟲在 500 到  $4000\mu\text{T}$  磁場下，眼點再生速率並沒有顯著差異變化 (如表一: $p=0.1873>0.05$ )。



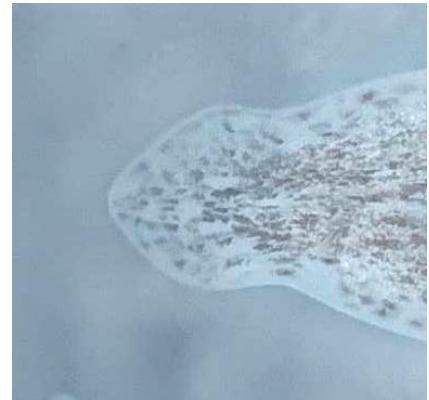
(表一:one-way ANOVA,  $p=0.1873$ , ns)

## 三、白光光照強度對渦蟲眼點再生速率之影響

初步處理數據後，可見渦蟲在照度  $250\text{lux}$  時，渦蟲眼點再生速率最快，而死亡率隨著照度上升而上升 ( $1500\text{lux}$ , 3 隻死亡； $4000\text{lux}$ , 全部死亡)。特別的是，在照度為 0 時，渦蟲長出眼點的速率不升反降，且呈現出徒有頭型而無眼點的情形 (圖二十六、二十七)。

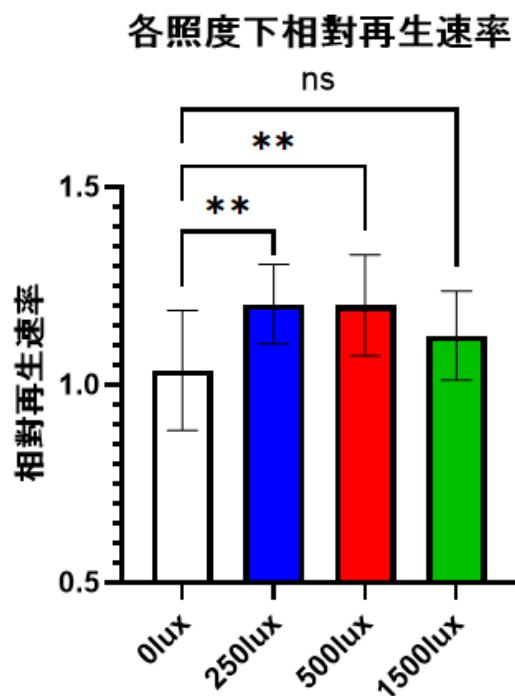


圖二十六、正常再生情形之渦蟲  
眼點應和耳突同時或更早再生完  
成



圖二十七、  
耳突已大致形成且眼點之白區也已形成，  
但不見眼點黑色部分

再進一步以 one-way ANOVA 分析結果可發現顯著差異存在（如表二: $p= 0.006 < 0.01$ ），以 Dunnett's multiple comparisons test 分析，實驗組 250lux 與 500lux 分別對對照組有顯著性( $p < 0.01$ )，1500lux 組對對照組無顯著性 ( $p > 0.05$ )。

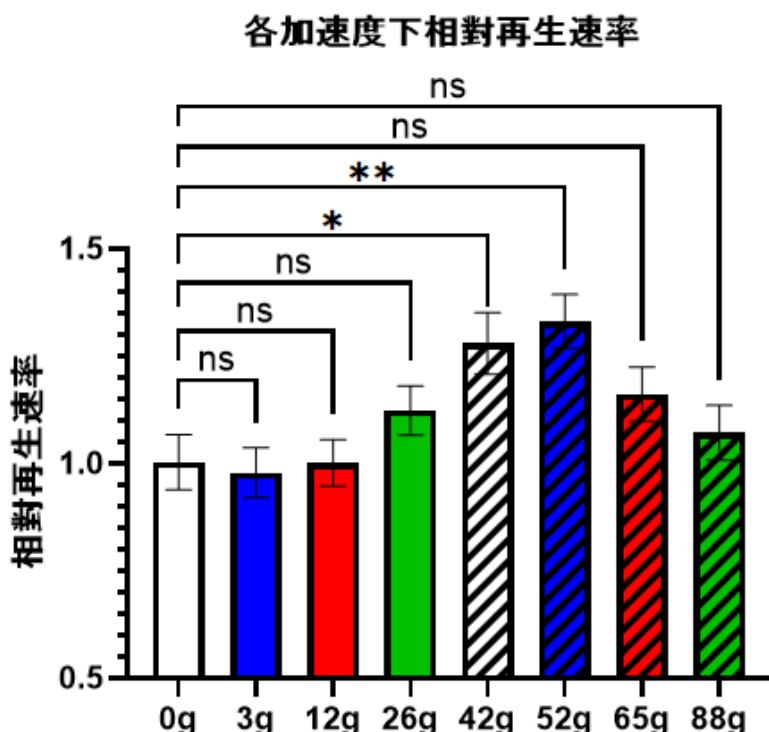


(表二:one-way ANOVA ,  $p=0.006$  , \*\*)

#### 四、向心加速度與相應機械壓力對渦蟲眼點再生速率之影響

初步處理數據後，似乎不同加速度條件對渦蟲再生速率有影響，再生速率以加速度 42g、52g 最快。

再進一步以 one-way ANOVA 分析發現顯著差異（如表三: $p=0.0002<0.001$ ）。在 0g 到 12g 時，再生速率似乎稍微隨加速度大小上升而放慢，但以 Dunnett's multiple comparisons test 分析後發現 3g、12g 和 26g 對對照組都沒有統計顯著性 ( $p>0.05$ )，42g 和 52g 則很有顯著性 ( $p<0.01$ )，65g 無顯著性 ( $p>0.05$ )。當加速度量值達到 140g 時，渦蟲不幸全數死亡。

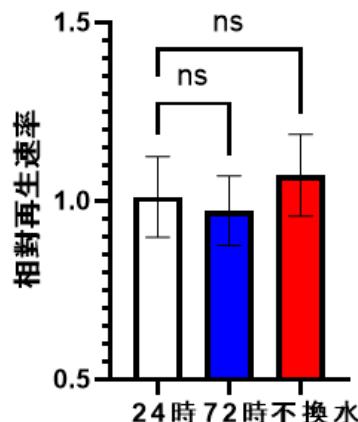


(表三:one-way ANOVA,  $p=0.0002<0.001$ , \*\*\*)

## 五、換水頻率對渦蟲眼點再生之影響

初步處理數據後，似乎換水時間愈長，渦蟲眼點再生愈快，進一步以 one-way ANOVA 分析結果發現並無顯著性（如表四: $p=0.8104>0.05$ ）。

各換水頻率下相對再生速率

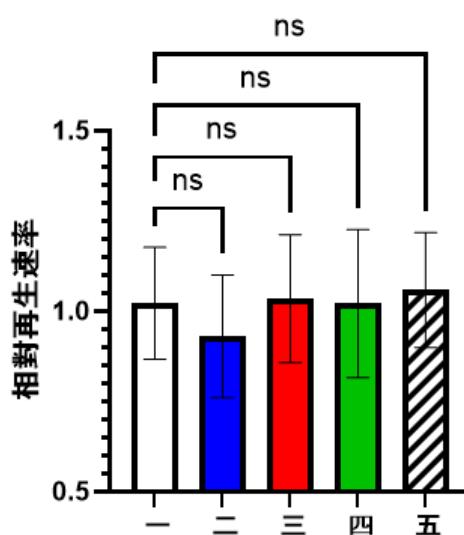


(表四:one-way ANOVA ,  $p= 0.8104$  , ns)

## 六、飼養密度對渦蟲眼點再生速率之影響

初步處理數據後發現渦蟲在第二組，1 隻渦蟲 2 毫升水，1 罐 3 隻條件下，其眼點再生較其他組別眼點再生所花時間長，但進一步以 one-way ANOVA 發現無顯著性（如表五  $p= 0.4472>0.05$  ）。

各飼養密度下相對再生速率



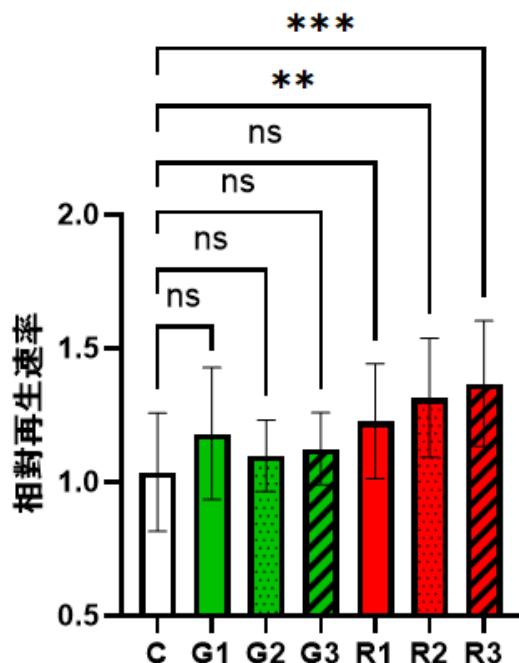
(表五:one-way ANOVA ,  $p=0.4472$  , ns)

## 七、兩種波長光各光子通量密度對渦蟲眼點再生速率之影響

初步處理數據後，似乎不同波長的光子通量密度條件對渦蟲再生速率有影響，再生速率以加速度 R2、R3 最快。

再進一步以 one-way ANOVA 分析發現顯著差異（表六: $p=0.0015 < 0.01$ ）。再以 Dunnett's multiple comparisons test 分析後發現 G1、G2、G3、R1 對對照組都沒有統計顯著性 ( $p > 0.05$ )，R2 有顯著性 ( $p < 0.01$ )，R3 有顯著性 ( $p < 0.001$ )。

### 兩種波長各光子通量密度下相對再生速率



(表六:one-way ANOVA,  $p=0.0015$ , \*\*)

## 柒、討論

### 一、磁力實驗：

根據 Artem Ermakov 等人的研究：「振幅為  $74\mu\text{T}$ 、頻率為  $30\text{Hz}$  的弱組合磁場可使渦蟲頭部芽基的生長加速  $25\%$ ，而頻率在  $27$  至  $33\text{Hz}$  範圍內的改變導致該加速效應完全消失，在頻率為  $16\text{Hz}$  時觀察到最大抑制效果 ( $24\%$ )。但若頻率再進一步降低 (降至  $13\text{Hz}$ ) 會導致抑制效果消失。」(Artem Ermakov, 2022)。我們的研究發現渦蟲在磁場大小  $500\mu\text{T}$  時有眼點再生速率減慢，之後在  $1500\mu\text{T}$  及  $4000\mu\text{T}$  則出現有眼點再生加快趨勢，但以 one-way ANOVA 分析發現：該實驗渦蟲的眼點再生速率沒有統計上的顯著差異，可能是因為固定磁場對渦蟲眼點再生速率影響微小或無影響，也有可能是因為樣本數不足。後續可再增加樣本數、研究更多不同的磁場強度和加上變動磁場並多做幾輪實驗驗證。

### 二、白光光照照度實驗：

根據實驗結果，該白光光線可以直接導致渦蟲死亡，渦蟲的眼點再生速率隨著照度上升而下降，然而在照度=0 時，反而有最低的眼點再生速率。這些可以得出下列 2 個推論：一是渦蟲可以在眼點尚未再生完成前感知光線，二是渦蟲在細胞層級對光線足夠敏感易受光線傷害。與一個定論：是光線是渦蟲長出眼點的刺激因素之一。

在實驗時，我們觀察到未長出眼點的渦蟲有逃避手機手電筒光源的行為，這可以證明渦蟲可以用身體其他部位或是不完全再生的眼點感光的推論。查詢資料後，有研究顯示 *Schmidtea mediterranea* 確實有分布於身體的光感受器 (Nishan Shettigar et al., 2017)。

而如果以演化學的角度來解釋上述所有假設，這種根據光線來決定是否長眼點的性狀可以在沒有必要長出眼點的情況節省能量，又不使用眼點來感光的能力也可以使渦蟲在未再生出眼點前避開可能對細胞產生傷害的光線，該性狀即具有競爭優勢而得到保留。

### 三、加速度與相應機械壓力實驗：

根據實驗結果，渦蟲在  $12\text{g}$  以下的加速度環境下，其以 Dunnett's multiple comparisons test 的檢定結果為變因的影響不顯著，其餘均有顯著性。從  $26\text{g}$  開始到  $42\text{g}$  和  $52\text{g}$  之間，渦蟲的眼點再生速率隨加速度量值增加而上升，但從  $52\text{g}$  到  $88\text{g}$  便呈隨之下降的趨勢，又渦蟲對額外加速度與其相應額外機械壓力之承受極限可以確定在該實驗的  $88\text{g}$  到  $140\text{g}$  之間。

在常理中，額外機械壓力應該對生物造成負擔，就像飛行員 (尤其是戰鬥機飛行員) 在承受額外  $\text{g}$  值後經常產生心血管問題。對於渦蟲為何會在額外壓力下得到眼點再生加速

的效果，我們想到兩種可能：有可能是像人體細胞增殖加速一樣，觸發了某種尺度小於細胞級的生物機制而引發宏觀的再生加速 (Gianni Ciofani, 2012)。也可能是渦蟲神經在感知到機械性的壓力後，調控體內化學物質分泌而加速再生，抑或是出現受到加速度加速的細胞遷移而出現宏觀的眼點再生加速 (Silvia Versari et al., 2007) 。

然而，在查詢資料時發現，有研究發現 *Schmidtea mediterranea* 在 3g、4g、8g 等條件下再生（同樣使用離心機，實驗第 6 或 13 天驗收，主要以免疫染色觀察渦蟲，渦蟲切成頭尾軀幹三部分），認為 4g、8g 會干擾渦蟲再生，理由為在第 5 天時額外 g 組正在有絲分裂 (M 期) 之細胞和對照組差不多，而在第 13 天時 4、8g 組的 M 期細胞較對照組少，且某幾組渦蟲頭部與尾部碎片出現死亡 (Teresa Adell et al., 2014)，這和我們所觀察到的可說是大相逕庭（我們的渦蟲至少可以承受 88g 且外觀正常，事後也沒有異常行為），我們認為這有三種可能，一是渦蟲品種所造成的差異，二是可能實驗時有我們未注意或無法避免的其他環境影響，三是該研究所觀察的 M 期細胞較少可能反而是因為再生完成度較高而產生的結果。

#### 四、換水實驗：

實驗結果顯示：渦蟲不管在有沒有換水的情況下，眼點再生速率變化都沒有統計上的顯著差別。

在實驗時，我們觀察到被截半後的渦蟲經過一段時間後，身體有如凝固一般，身體輪廓變得剛硬，對外來的反應降低到需要有人觸碰或是直接接觸空氣才會重新「解凍」，用滴管製造水流可以使正常渦蟲離開壁面，但「凝固」的渦蟲無論捏滴管出的水流多大，渦蟲都紋絲不動。因此，我們推測渦蟲會通過減少非必要神經活動來預留能量給更能有效運用能量來覓食、繁殖、遷移的再生完成後的自己，導致在再生階段，渦蟲的代謝率大大降低，因此在水質不敗壞的情況下，使換水頻率對渦蟲再生的影響微乎其微。但此推測又和前述實驗之感知外在亮度或是機械壓力來加速再生的推論相悖，除非渦蟲可以通過非神經感知來調整再生的速率和優先級。因此，如果渦蟲真的會在再生時大大減少神經活動，那前述過的假設就可以更具聚焦成：渦蟲的多功能幹細胞本身在細胞增殖分化的環節會直接受到光線與機械力調控。故後續可再進一步研究渦蟲的多功能幹細胞是否可以不通過神經調控來調整再生的速率和優先級，來驗證我們的推測，當然該實驗結果也有可能是因為樣本數不足，未來可以再增加更多樣本。

#### 五、飼養密度實驗：

儘管有觀察到截半後渦蟲有傾向於聚集成群體的行為，且也有研究顯示渦蟲黏液參與先天免疫，然而實驗顯示，在此五種飼養密度下，渦蟲的眼點再生速率變化都沒有統計上

的顯著差別。

對此我們提出三種可能的兩種推論，可能一是黏液對渦蟲的再生加速僅在某特定濃度有最大值，而更多的個體聚在一起僅能加速達到該濃度，可能 12 隻一杯組與 1 隻一罐組之間只是提早 11 分鐘（假設）達到該合適濃度而已，並不會大幅改變再生速率；可能二是渦蟲黏液本身並不會加速再生，而是單純負責隔絕外界異物與病原體，而本實驗使用 R O 水，故隔絕功能無法體現；可能三是一個體的黏液並無法與其他個體共享。可能一可推出一個推論，即渦蟲會嘗試共享黏液促進群體利益；可能二與可能三可推出另一推論，即個體在受傷時會嘗試向群體移動，在自然界中，通常只有在夠安全的地方才能形成群體，而有向群體集中特性的渦蟲自然受演化青睞。

## 六、2 種波長光照實驗：

實驗顯示，渦蟲在  $2.06 \times 10^{18}$ 、 $4.12 \times 10^{18}$  與  $1.24 \times 10^{19}$  photon/m<sup>2</sup>/s 這幾組光子通量密度的 545nm 綠光照射下，沒有顯著再生速率變化；同前述光子通量密度的 620nm 紅光照射下，渦蟲有 光照越強再生速率越快的趨勢。對此可以確定適量紅光照射可以促進渦蟲眼點再生。然 而具體是因為渦蟲可能有相較於綠光對紅光更敏感的感光受器接收訊號後以神經等方式促 進渦蟲眼點再生還是如 Tiina Karu(1999)所述的紅光促進細胞代謝與增殖等。

同時，由於本實驗之紅光需經過罐壁與罐中水才能照射至渦蟲，故透過公式

$$I = I_0 \cdot e^{-\frac{4\pi kx}{\lambda}} \quad (\text{或} I = I_0 \cdot \exp\left(-\frac{4\pi kx}{\lambda}\right)) \quad I: \text{穿透後的光子通量密度，單位為 photon/m}^2/\text{s} ;$$

I<sub>0</sub>:入射光的光子通量密度；k:材料的消光係數，extinction coefficient，與材料對特定波長光的吸收能力有關，無單位；x:材料的厚度，單位為公尺；λ:光的波長，單位為公尺；π:圓周率；e:自然常數，約為 2.718，為自然指數函數的底數) 代入水的

$k = 1.33 \times 10^{-8}$  (hale and Querry 1973) 與厚度 3cm 並計算，再代入 PS 塑膠的

$k = 1.27 \times 10^{-6}$  (Zhang et al., 2020) 與厚度 2mm 並計算，透光率約為 0.9425，也就是說約只有 5% 的光會被水與罐壁阻擋，約可以忽略。

## 捌、結論

### 一、結論：

- (一) 本研究中  $4000\mu\text{T}$  以下的固定磁場對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。
- (二) 本研究之渦蟲的眼點再生速率隨著白光光照強度上升而下降，而死亡率隨著白光光照度上升而上升。
- (三) 本研究之渦蟲眼點再生的條件之一為光線刺激。
- (四) 本研究之渦蟲在特定人造加速度與相應機械壓力下有再生加速情形，眼點再生速率可達原先的 1.3 倍以上。
- (五) 本研究中換水頻率對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。
- (六) 本研究中五組飼養密度對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。
- (七) 本研究中適量紅光 (620nm) 有助於渦蟲眼點再生加速。
- (八) 本研究中使用三種強度綠光 (545nm) 對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。

## 玖、參考資料及圖片來源

- 一、 Grohme, m., schloissnig, s., rozanski, a. et al. (2018). The Genome of Schmidtea Mediterranea and the Evolution of Core Cellular Mechanisms. *Nature*, 554, 56 – 61.  
<https://doi.org/10.1038/nature25473>
- 二、 Tian q, guo q, guo y, luo l, kristiansen k, han z, fang h, zhang s. (2022). Whole-Genome Sequence of the Planarian *Dugesia Japonica* Combining Illumina and PacBio Data. *Genomics*. <https://doi.org/doi:10.1016/j.ygeno.2022.110293>
- 三、 Newmark, P., Alvarado, A. Not your father's planarian: a classic model enters the era of functional genomics. *Nat Rev Genet* 3, 210 – 219 (2002). <https://doi.org/10.1038/nrg759>
- 四、 Rink JC. Stem Cells, Patterning and Regeneration in Planarians: Self-Organization at the Organismal Scale. *Methods Mol Biol*. 2018;1774:57-172. doi: 10.1007/978-1-4939-7802-1\_2. PMID: 29916155.
- 五、 Furusawa c, kaneko k. (2012). A Dynamical-Systems View of Stem Cell Biology. *Science*.  
<https://doi.org/doi: 10.1126/science.1224311>
- 六、 Hinrichsen rd, fabi jl, craig se, rovins ps, cerwensky aj, major rj, ruby cl. (2019). Photoresponsivity and Motility in the Planarian Schmidtea Mediterranea Vary Diurnally. *Chronobiol Int*.  
<https://doi.org/doi: 10.1080/07420528.2019.1683023>
- 七、 Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B*. 1999 Mar;49(1):1-17. doi: 10.1016/S1011-1344(98)00219-X. PMID: 10365442.
- 八、 Zhao, R., Kong, W., Shang, J., Zhi, Y., & Wang, C. (2016). The effect of different wavelengths of light on cell proliferation and apoptosis in human dermal fibroblasts. *Lasers in Medical Science*, 31(3), 437 – 443. <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/5/2437>
- 九、 Collins, J. J., Hou, X., Romanova, E. V., Lambrus, B. G., Miller, C. M., Saberi, A., Sweedler, J. V., & Newmark, P. A. (2010). Genome-wide analyses reveal a role for peptide hormones in planarian germline development. *PLoS Biology*, 8(10), e1000509. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000509>
- 十、 Bocchinfuso DG, Taylor P, Ross E, Ignatchenko A, Ignatchenko V, Kislinger T, Pearson BJ, Moran

MF. Proteomic profiling of the planarian Schmidtea mediterranea and its mucous reveals similarities with human secretions and those predicted for parasitic flatworms. *Mol Cell Proteomics*. 2012 Sep;11(9):681-91. doi: 10.1074/mcp.M112.019026. Epub 2012 May 31. PMID: 22653920; PMCID: PMC3434776.

十一、 Ermakov a, afanasyeva v, ermakova o, blagodatski a, popov a. (2022). Effect of Weak Alternating Magnetic Fields on Planarian Regeneration. *Biochem Biophys Res Commun*. <https://doi.org/doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.096>

十二、 Lednev vv. (1992). Possible Mechanism for the Influence of Weak Magnetic Fields on Biological Systems. *Bioelectromagnetics*. <https://doi.org/doi: 10.1002/bem.2250120202>

十三、 Ciofani g, ricotti l, rigosa j, menciassi a, mattoli v, monici m. (2012). Hypergravity Effects on Myoblast Proliferation and Differentiation. <https://doi.org/doi: 10.1016/j.jbiosc.2011.09.025>

十四、 Genchi gg, cialdai f, monici m, mazzolai b, mattoli v, ciofani g. (2015). Hypergravity Stimulation Enhances PC12 Neuron-like Cell Differentiation. *Biomed Res Int*. <https://doi.org/doi: 10.1155/2015/748121>

十五、 Alireza tavakolinejad, mohsen rabbani, mohsen janmaleki. (2015). Effects of Hypergravity on Adipose-Derived Stem Cell Morphology, Mechanical Property and Proliferation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 464(Issue 2).  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.160>.

十六、 Versari S, Villa A, Bradamante S, Maier JA. Alterations of the actin cytoskeleton and increased nitric oxide synthesis are common features in human primary endothelial cell response to changes in gravity. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Nov;1773(11):1645-52. doi: 10.1016/j.bbamcr.2007.05.014. Epub 2007 Jun 7. PMID: 17609119.

十七、 Gaubin Y, Croute F, Pianezzi B, Prevost MC, Soleilhavoup JP. Effects of hypergravity on adherent human cells. *Microgravity Sci Technol*. 1991 Feb;3(4):246-50. PMID: 11542510.

十八、 王琳雅(2018) 中華民國第 56 屆中小學科學展覽會作品說明書：「孓」戰關鍵—台灣淡水渦蟲捕食蚊幼蟲機制及其黏液探討

十九、 Shettigar N, Joshi A, Dalmeida R, Gopalkrishna R, Chakravarthy A, Patnaik S, Mathew M, Palakodeti D, Gulyani A. Hierarchies in light sensing and dynamic interactions between ocular and extraocular sensory networks in a flatworm. *Sci Adv*. 2017 Jul 28;3(7):e1603025. doi: 10.1126/sciadv.1603025. PMID: 28782018; PMCID: PMC5533540.

二十、 Adell, teresa, saló, emili, van loon, jack j. w. a., auletta, gennaro. (2014). Planarians Sense Simulated Microgravity and Hypergravity. BioMed Research International, 10.  
<https://doi.org/10.1155/2014/679672>

二十一、 Hale GM, Querry MR. Optical Constants of Water in the 200-nm to 200-microm Wavelength Region. Appl Opt. 1973 Mar 1;12(3):555-63. doi: 10.1364/AO.12.000555. PMID: 20125343.

二十二、 Xiaoning Zhang, Jun Qiu, Xingcan Li, Junming Zhao, and Linhua Liu, "Complex refractive indices measurements of polymers in visible and near-infrared bands," Appl. Opt. 59, 2337-2344 (2020)

圖片來源：

圖序	圖片來源
圖一	Newmark, P., Alvarado, A. Not your father's planarian: a classic model enters the era of functional genomics. Nat Rev Genet 3, 210 – 219 (2002)
圖二	由作者製作
圖三	由作者拍攝
圖四	王琳雅(2018)。中華民國第 56 屆中小學科學展覽會作品說明書：「孓」戰關鍵—台灣淡水渦蟲捕食蚊幼蟲機制及其黏液探討
圖五	由作者拍攝
圖六	由作者拍攝
圖七	由作者拍攝
圖八	由作者拍攝
圖九	由作者拍攝
圖十	由作者拍攝
圖十一	由作者拍攝
圖十二	由作者拍攝
圖十三	由作者拍攝
圖十四	由作者拍攝
圖十五	由作者拍攝
圖十六	由作者拍攝
圖十七	由作者拍攝
圖十八	由作者拍攝
圖十九	由作者拍攝
圖二十	由作者製作

圖二十一	由作者拍攝
圖二十二	由作者拍攝及製作
圖二十三	由作者製作
圖二十四	由作者製作
圖二十五	由作者製作
圖二十六	由作者拍攝
圖二十七	由作者拍攝
表一	由作者製作
表二	由作者製作
表三	由作者製作
表四	由作者製作
表五	由作者製作
表六	由作者製作

## 【評語】052012

研究團隊利用虎紋三角渦蟲 (*Girardia tigrina*) 為模式生物，探討六種不同環境因素（固定磁場強度、白光強度、向心加速度/機械壓力、換水頻率、光照波長及光子通量、飼養密度）對渦蟲橫切後眼點再生速率之影響，並以攝影、ImageJ 分析再生標誌、統計學 (ANOVA 與多重比較) 加以驗證。研究結論指出，磁場、換水頻率及飼養密度影響不顯著；適度紅光、特定區間超重力 ( $>26g \sim <88g$ ) 能加快再生速率，白光強度過高反而抑制再生且提高死亡風險，綠光則無明顯影響。渦蟲再生能力為經典生物學題材，結合物理變因、環境因子與應用思考，具教育推廣價值。

有關本研究的建議如下：

1. 研究主要停留在觀察再生速率的宏觀變化層面，但對於這些環境因素如何從分子、細胞或生理層面精確影響渦蟲的再生機制，未進行深入探討。
2. 變異控制與環境一致性：未明確說明所有環境變因（如溫度、微生物污染、魚缸其他生物）是否完全恆定；渦蟲來源為寵物缸分批誘捕，可能存個體體質/年齡差異。

3. 部分統計與「非顯著」解釋可更清楚：如磁場等無顯著結果組，未呈現完整數據分布，僅憑  $p$  值不顯著，對於「微小效應」推論應更保守。

作品海報

「洞」命由天不由「洞」：

不同環境因素對渦蟲再生速率之影響



# 壹、研究動機與文獻探討

渦蟲以強大的再生能力聞名，是教科書中斷裂生殖的代表。這讓我們思考，渦蟲的再生機制是否能應用於再生醫學，幫助受傷或失去肢體的親人？曾在課本上認識渦蟲，卻無法親身接觸，若能提升渦蟲再生速率，成為隨手可得的生物教具，將可提高學習興趣，也許也能在有需要大量複製單一基因渦蟲時提供幫助。

環境影響渦蟲再生速率的文獻不多，綜合文獻探討發現：渦蟲在不同頻率的變換磁場下再生速率會產生變動 ( Artem Ermakov et al., 2022 )，細胞在不同超重力下的分化會加速 ( Gianni Ciofani et al., 2012 ) 或減慢 ( Y Gaubin et al., 1991 )，所以渦蟲在固定的磁場及不同重力下的再生速率變化，尚有待研究討論。

## 貳、研究目的

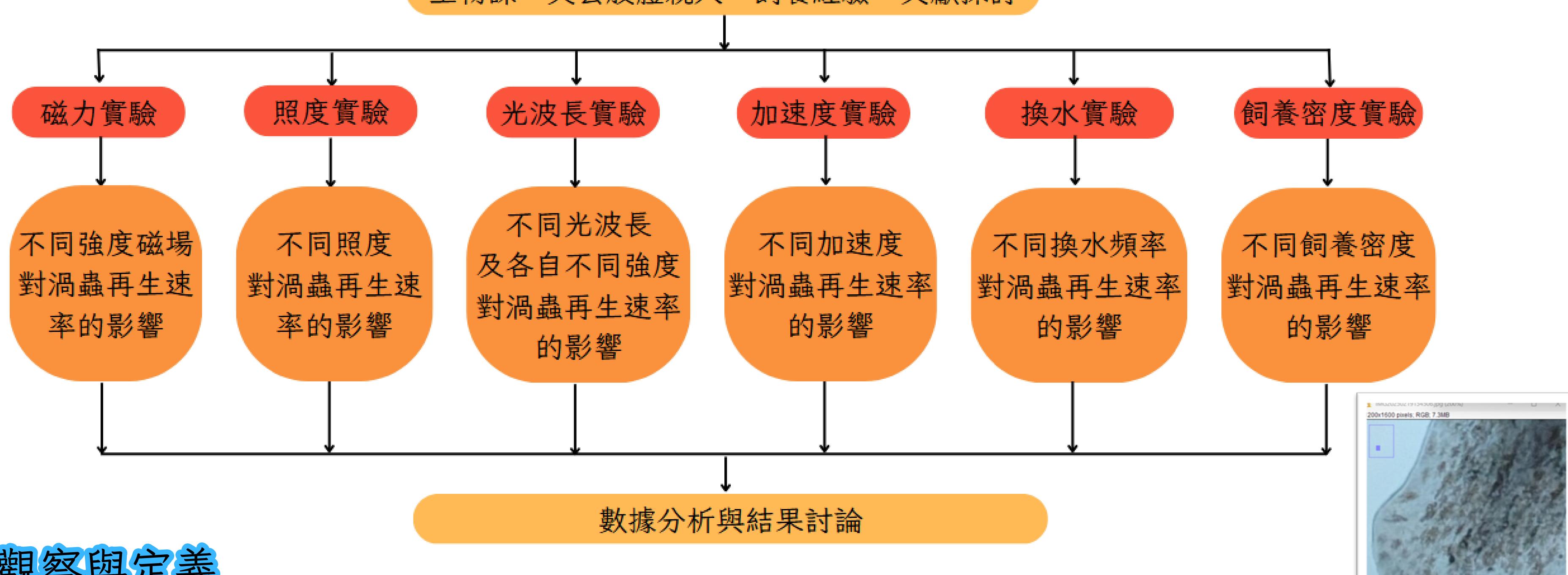
- 一、探討不同強度的固定磁場條件下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 二、探討白光不同強度光照條件下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 三、探討不同大小之向心加速度與相應機械壓力條件下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 四、探討不同換水頻率下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 五、探討兩種波長 ( 620、545nm ) 的不同光子通量密度下渦蟲眼點再生速率的變化。
- 六、探討不同飼養密度下渦蟲眼點再生速率的變化。

## 參、研究設備及器材

<p>渦蟲- 虎紋三角渦蟲 *取自運作兩年以上的水箱 *前1：後2橫切，取後半進行實驗 *再生分成5個階段：1.剛橫切。2.傷口初癒合。3.長出芽基。4.初見光感受器(眼點)。5.完全復原。</p>	<p>*單層磁鐵 (524.47 <math>\mu</math>T) *雙層磁鐵 (1553.52 <math>\mu</math>T) *強力磁鐵 (4423.02 <math>\mu</math>T)</p>	<p>全光譜40瓦植物燈與各波長光燈泡，以燈光對照射面的距離控制光強度</p>	<p>*自製一離心設備 ( 轉速44 <math>\pi</math>/s ~56 <math>\pi</math>/s ) *17瓦直流立扇 ( 轉速5.6 <math>\pi</math>/s ~21 <math>\pi</math>/s )</p>

## 肆、研究過程及方法

### 一、實驗架構



### 二、渦蟲再生觀察與定義

- \*再生時間：以渦蟲自被橫切後身體部分重新長出眼點所費時間定義為「再生時間」。
- \*長出眼睛：用ImageJ程式比對渦蟲眼睛黑色及白色的明暗差與對稱性來定義「長出眼睛」。
- \*每12小時觀察、分析與紀錄一次，直到長出眼點。
- \*渦蟲進行實驗前均斷食 7 天安置於 20 公升魚缸附打氣過濾，且均採用長度 11~13mm 之渦蟲



### 三、磁力實驗

使用48隻渦蟲，分為4組，將渦蟲放入底圓直徑3公分之密封罐並密封，各組分別為：0  $\mu$ T ( 對照組 ) 、置於單層軟質黏貼磁鐵上 ( 磁場約500  $\mu$ T ) 、置於雙層軟質黏貼磁鐵上 ( 磁場約1500  $\mu$ T ) 、置於強力磁鐵之上 ( 磁場約4000  $\mu$ T ) 。

### 四、白光光照實驗

使用54隻渦蟲，分為5組，由同一盞燈照射，將渦蟲置於底直徑4公分分裝罐中，不加蓋避免影響光線，各組與燈具之距離不同而有不同照度：0 ( 對照組 ) 、 250 、 500 、 1500 、 4000lux 。

### 五、加速度實驗

(一) 將裝有渦蟲的罐子裝在自製離心機上，並將渦蟲置於扇葉上不同位置，旋轉時對渦蟲產生一個向圓心的加速度 ( 來自罐壁 ) 做為圓周運動所需向心加速度，並可換算為重力加速度當量 (  $1g=9.8m/s^2$  )。在該圓周運動中，渦蟲會承受額外壓力來自壁面，其會類似於但不等於額外重力下渦蟲受到的額外壓力。當渦蟲在離心機上行等速圓周運動時，必有一向心力施予渦蟲，而該向心力來自於固定於扇葉或瓦楞板上之密封罐罐壁。

(二) 使用152隻渦蟲，分為9組：0g(對照組)、3g、12g、26g、42g、52g、65g、88g、140g

### 六、換水實驗

使用18隻渦蟲，分為3組：24小時換一次水 ( 對照組 ) 、72小時換一次水、完全不換水。將渦蟲放入底圓直徑 3 公分隻密封罐中並密封。

### 七、飼養密度實驗

使用48隻渦蟲，分成4組：1罐2毫升1隻、1罐6毫升3隻、一罐12毫升3隻、一杯24毫升12隻。置於同一空間 ( 環境亮度約200勒克斯 )，各組分別為：1隻渦蟲2毫升水，1罐1隻，共12罐12隻 ( 對照組 )，1隻渦蟲2毫升水，1罐3隻，共4罐12隻，1隻渦蟲4毫升水，1罐3隻，共4罐12隻，1隻渦蟲2毫升水，1杯12隻，共1杯12隻，1隻渦蟲4毫升水，1杯12隻，共1杯12隻。

### 八、紅綠2種波長光照實驗

使用120隻渦蟲，分成10組，一組12隻，平分至2個直徑3公分罐中各組2罐，每罐6隻，分別為：photon flux(PF)=0 ( 對照組 )，波長620nm，PF=2.06e+18 photon/m<sup>2</sup>/s，波長620nm，PF=4.12e+18 photon/m<sup>2</sup>/s，波長620nm，PF=1.24e+19 photon/m<sup>2</sup>/s，波長545nm，PF=2.06e+18 photon/m<sup>2</sup>/s，波長545nm，PF=4.12e+18 photon/m<sup>2</sup>/s，波長545nm，PF=1.24e+19 photon/m<sup>2</sup>/s，

## 七、統計方法

實驗數據以時間(12小時)為單位紀錄後，統整成表計算並使用 one-way analysis of variance (單因子變異數分析，簡稱 one-way ANOVA) 檢測顯著性，當  $p < 0.05$  代表達到顯著水準，反之則無。再使用 Dunnett's multiple comparisons test 測試實驗組與對照組的顯著性。ANOVA 和 Dunnett's multiple comparisons test 分析時只分析做完比率(見研究結果)後的數據，不分析單純時間數據。

## 陸、研究結果

### 一、以圖表示方法

#### (一) 比率圖

為了方便解讀(數值>1則該數據再生速率大於對照組平均)及消弭不同輪實驗的其他不可控環境因素的影響(如氣溫等)，實驗組每個樣本都將以  $\frac{\text{該輪實驗組樣本時間}}{\text{該輪對照組之再生時間}}$  處理成比率，顯著性分析亦以此為數據。

所有實驗結果之圖表的表示方法均為：

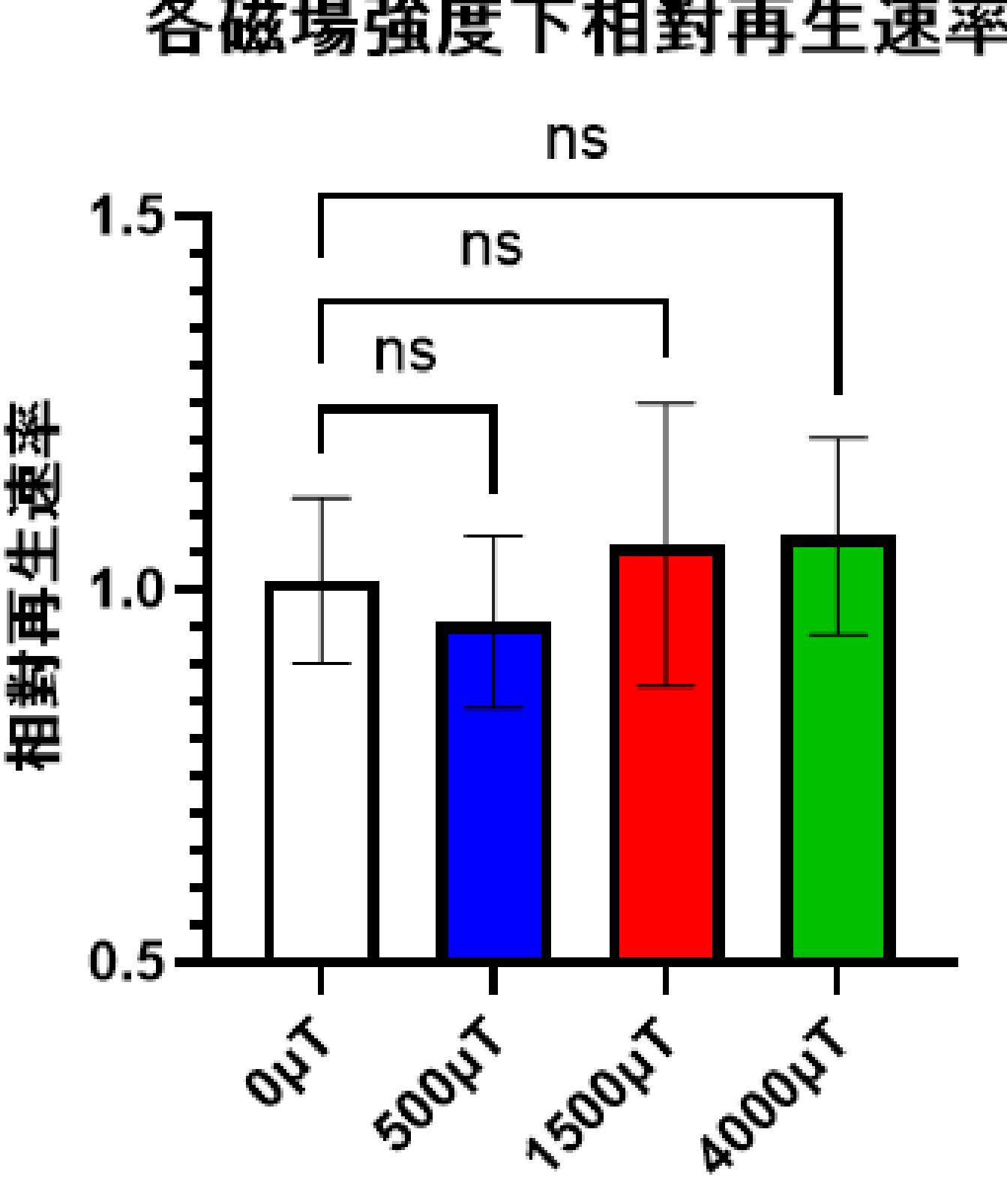
縱軸：對照組平均時間與樣本時間之比率(如上式，稱為相對再生速率)，比率>1代表實驗組再生速率大於對照組。

橫軸：該組實驗之操作變因。

#### (二) 顯著性表示方法

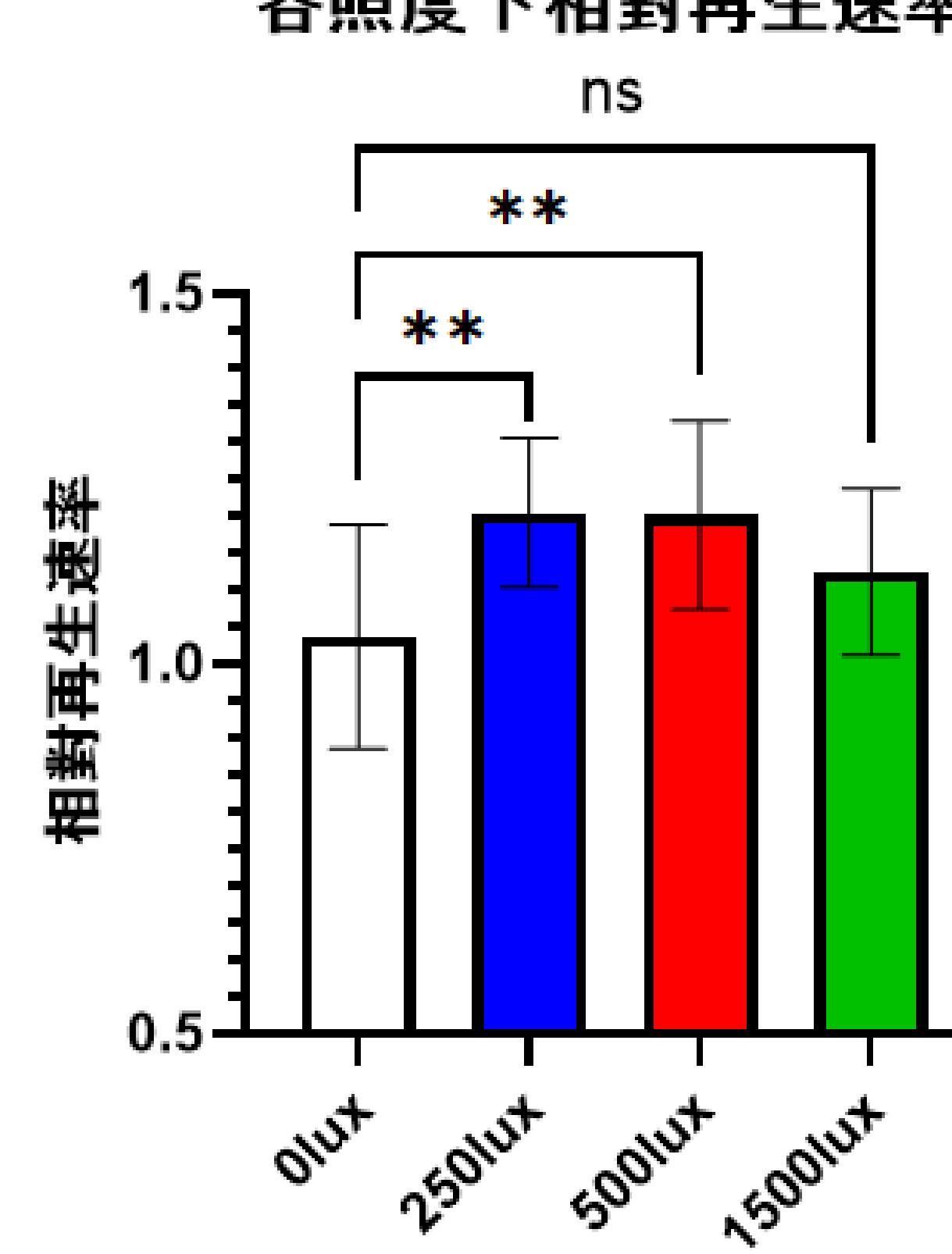
ns：無顯著性( $p > 0.05$ )、\*：有顯著性( $p < 0.05$ )、\*\*：很有顯著性( $p < 0.01$ )、\*\*\*：非常有顯著性( $p < 0.001$ )、\*\*\*\*：極有顯著性( $p < 0.0001$ )

### 二、磁力對渦蟲再生之影響



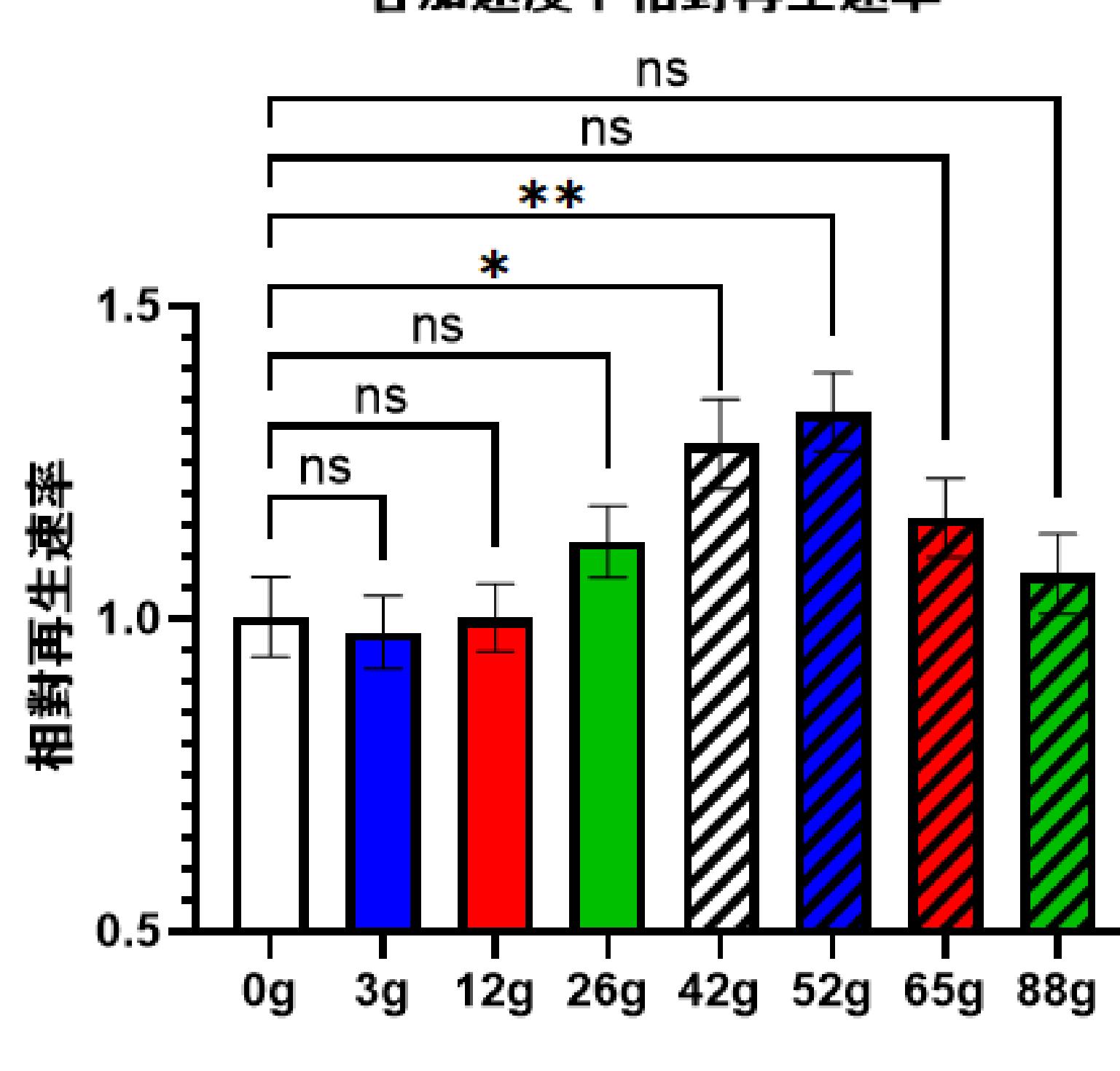
表一:one-way ANOVA, ns

### 三、光照對渦蟲再生之影響



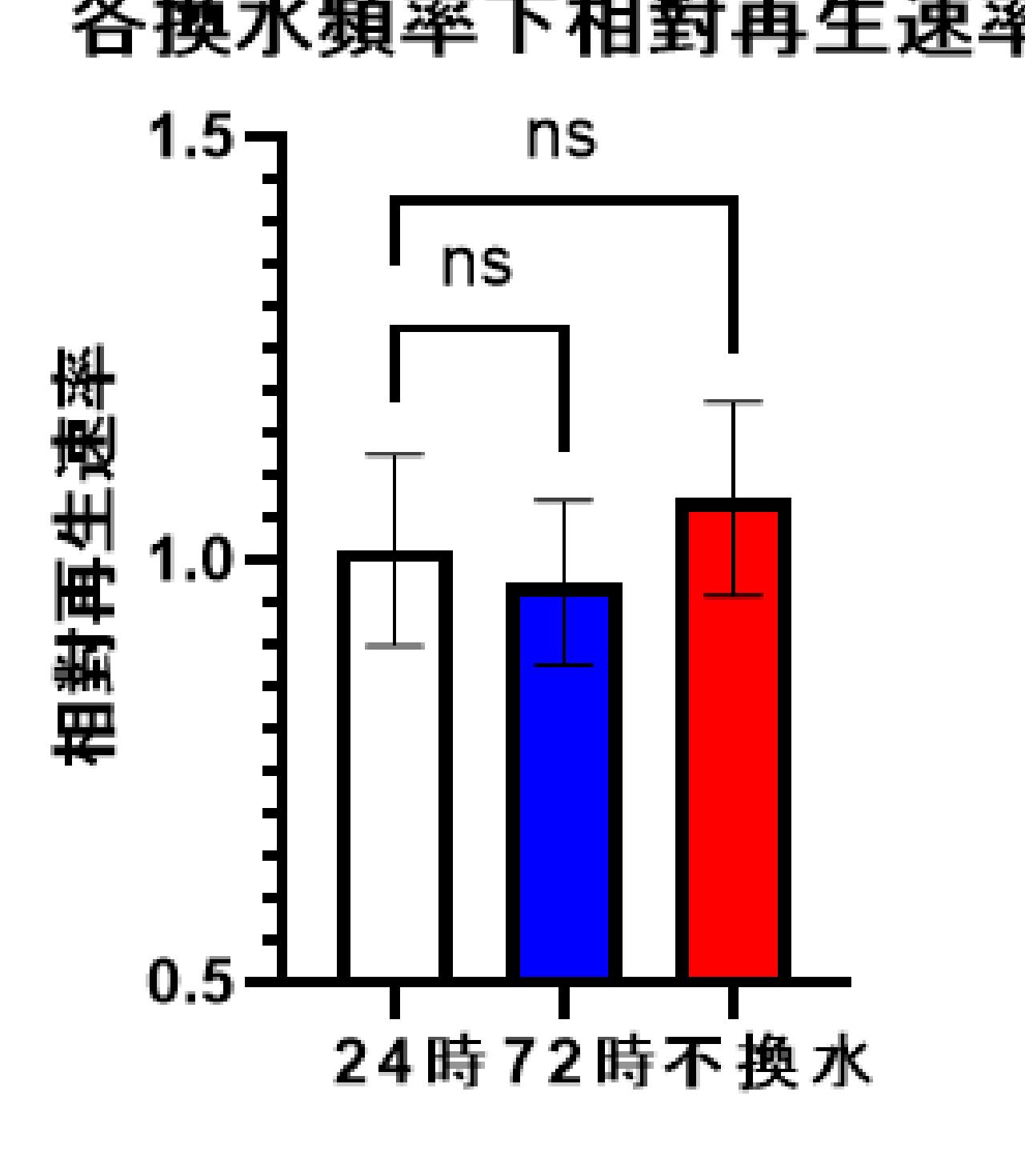
表二:one-way ANOVA, \*\*

### 四、加速度對渦蟲再生之影響



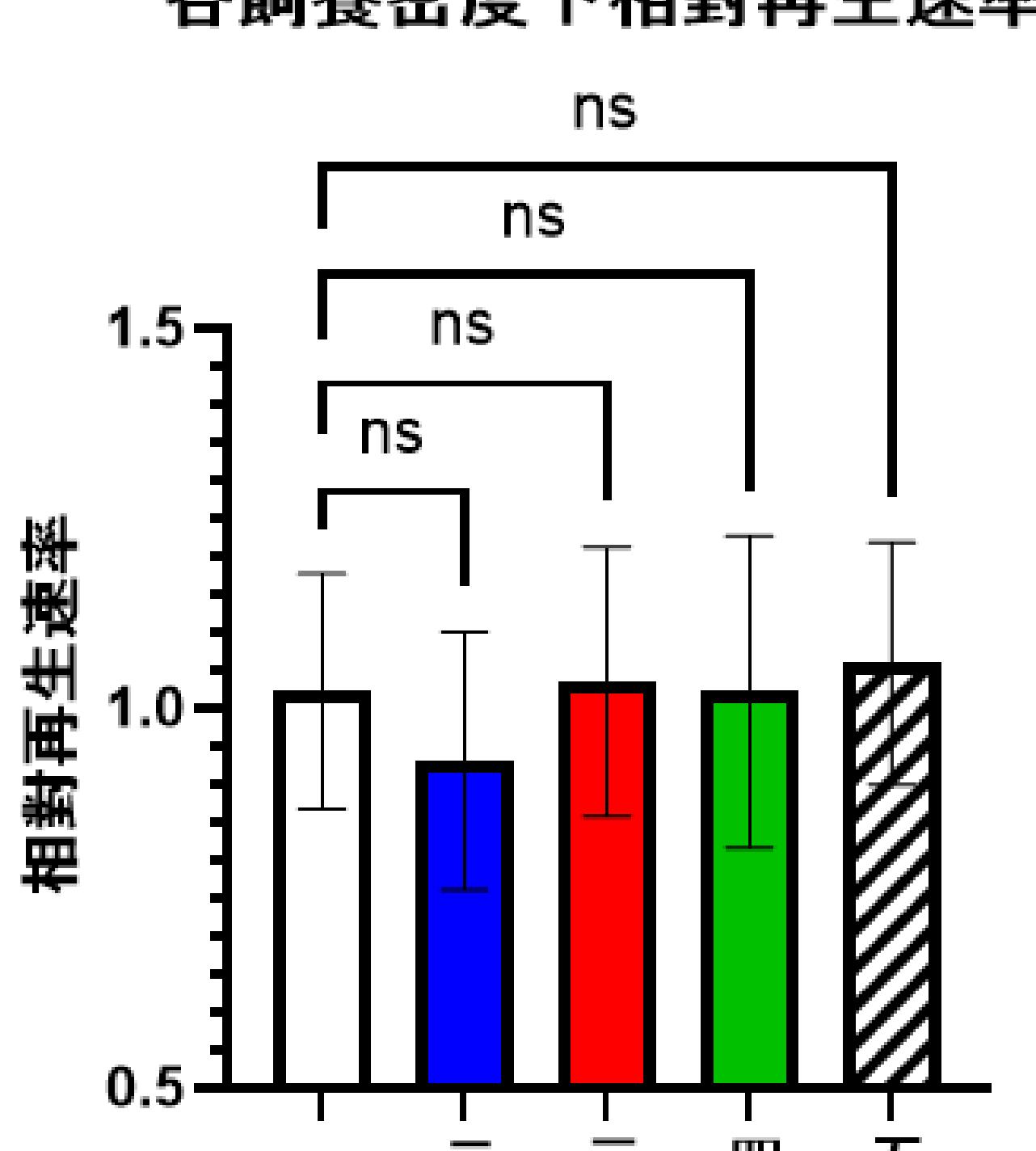
表三:one-way ANOVA, \*\*

### 五、換水頻率對渦蟲再生之影響



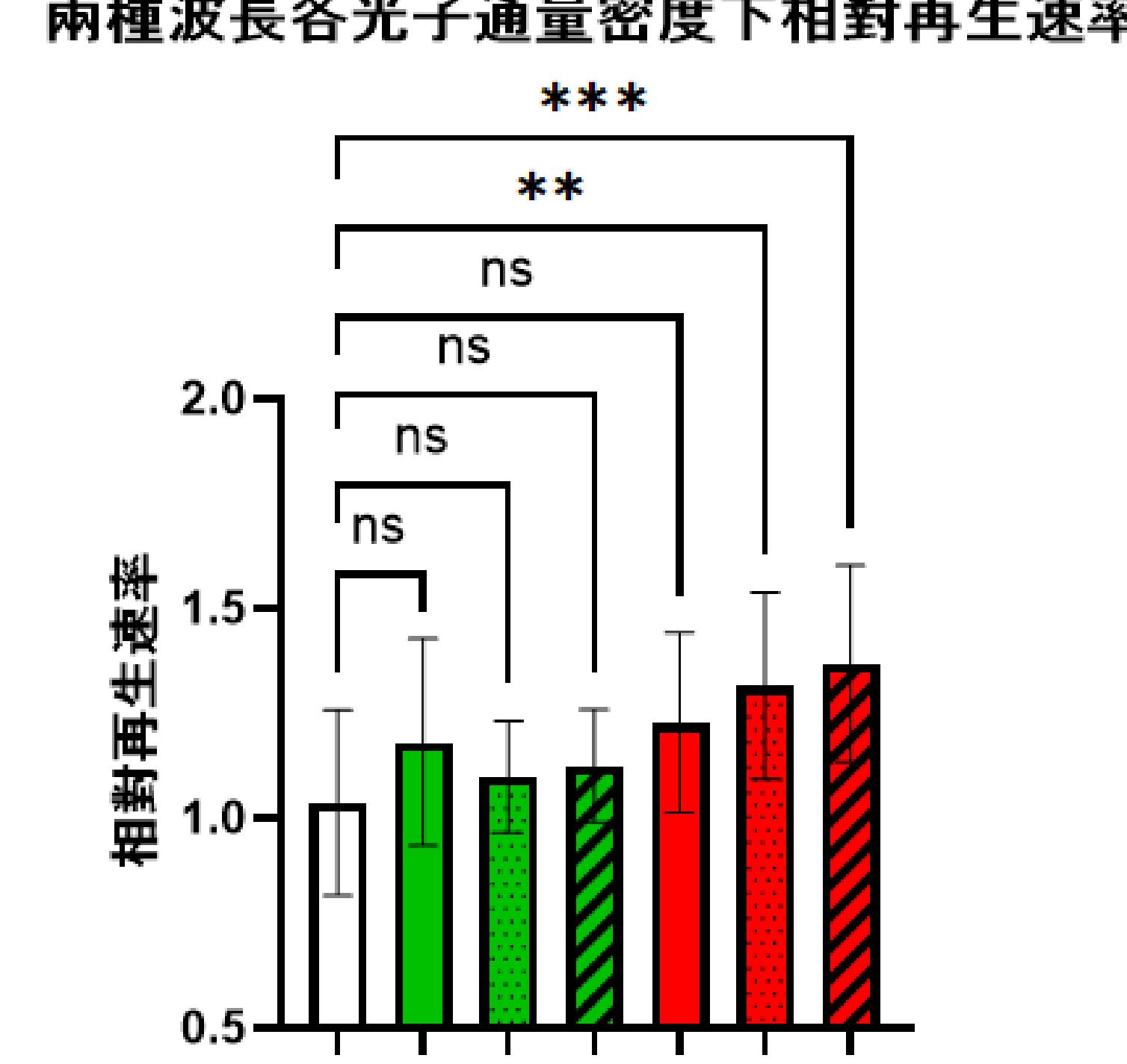
表四:one-way ANOVA, ns

### 六、飼養密度對渦蟲再生之影響



表五:one-way ANOVA, ns

### 七、光子通量密度對渦蟲再生之影響



表六:one-way ANOVA, \*\*\*

## 一、探討在不同強度的固定磁場對渦蟲再生速率的影響

渦蟲在4000 $\mu$ T磁場下，其眼點再生似乎較其他組別眼點再生所花時間短。

以one-way ANOVA分析卻發現：在500、1500、4000 $\mu$ T的固定磁場下，渦蟲的再生速率沒有顯著差異變化。後續可再研究更多不同的磁場強度並多做幾輪實驗驗證。

## 二、探討在不同照度對渦蟲再生速率的影響

實驗結果：渦蟲的眼點再生速率隨著照度上升而下降，但光線超過4000lux會導致渦蟲死亡，而在照度=0時，卻反而有最低的眼點再生速率。

可以得出二個推論：一是渦蟲可以在眼點尚未再生完成前感知光線，二是渦蟲在細胞層級對光線足夠敏感易受光線傷害。與一個定論：是光線是渦蟲長出眼點的刺激因素之一。

未長出眼點的渦蟲有逃避手機手電筒光源的行為，可推論渦蟲可能可以用身體其他部位或是不完全再生的眼點感光。

以演化學的角度來解釋，這種根據光線來決定是否長眼點的性狀可以在沒有必要長出眼點的情況節省能量，又不使用眼點來感光的能力也可以使渦蟲在未再生出眼點前避開可能對細胞產生傷害的光線，該性狀即具有競爭優勢而得到保留。

## 三、探討在不同加速度對渦蟲再生速率的影響

實驗結果：渦蟲的再生速率受加速度與相應機械壓力影響，且再生加速有一峰值。

渦蟲在3、12g的加速度環境下對對照組都沒有統計顯著性( $p > 0.05$ )，其餘均有。

加速度從26g開始到42g和52g之間，渦蟲的再生速率隨加速度量值增加而上升，但從52g到88g便呈隨之下降的趨勢，又渦蟲對額外加速度與其相應額外機械壓力之承受極限可以確定在88g到140g之間。

在常理中，額外機械壓力應該對生物造成負擔，就像飛行員(尤其是戰鬥機飛行員)在承受額外g值後經常產生身體問題。對於渦蟲為何會在額外加速度下得到再生加速的效果，我們推測兩種可能：有可能是像人體細胞增殖加速一樣，觸發了某種尺度小於細胞級的生物機制而引發宏觀的再生加速(Gianni Ciofani et al., 2012)。也可能是渦蟲神經在感知到機械性的壓力後，調控體內化學物質分泌而加速再生，亦或是出現受到加速度加速的細胞遷移而出現宏觀的眼點再生加速(Silvia Versari et al., 2007)。

## 四、探討在不同換水頻率對渦蟲再生速率的影響

我們的實驗結果：不管在有沒有換水的情況下，渦蟲再生速率都沒有統計上的顯著差別。

在實驗時，我們觀察到被截半後的渦蟲經過一段時間後，身體有如凝固一般，身體輪廓變得剛硬，對外來的反應降低到需要有人觸碰或是直接接觸空氣才會重新「解凍」，因此，我們推測渦蟲會通過減少非必要神經活動來預留能量給更能有效運用能量來覓食、繁殖、遷移的再生完成後的自己，導致在再生階段，渦蟲的代謝率大大降低，因此使換水頻率對渦蟲的影響微乎其微。

但此推測又和其他實驗之感知外在亮度或是以機械壓力來加速再生的推論相悖，除非渦蟲可以通過非神經感知來調整再生的速度和優先級。因此，如果渦蟲真的會在再生時大大減少神經活動，那前述過的假設就可以更具聚焦成：渦蟲的多功能幹細胞本身在細胞增殖分化的環節會直接受到光線與機械力調控。故後續可再進一步研究渦蟲的多功能幹細胞是否可以通過非神經感知來調整再生的速率和優先級來驗證推測。

## 五、探討在不同飼養密度對渦蟲再生速率的影響

儘管有觀察到截半後渦蟲有傾向於聚集成群體的行為，且也有研究顯示渦蟲黏液參與先天免疫，然而實驗顯示，在此五種飼養密度下，渦蟲的眼點再生速率變化都沒有統計上的顯著差別。

對此我們提出三種可能的兩種推論，可能一是黏液對渦蟲的再生加速僅在某特定濃度有最大值，而更多的個體聚在一起僅能加速達到該濃度，可能某兩組之間只是提早數分鐘(假設)達到該合適濃度而已，長遠看並不會大幅改變再生速率；可能二是渦蟲黏液本身並不會加速再生，而是單純負責隔絕外界異物與病原體，而本實驗使用RO水，故先天免疫功能無法體現；可能三是一個體的黏液並無法與其他個體共享。可能一可推出一個推論，即渦蟲會嘗試共享黏液促進群體利益；可能二與可能三可推出另一推論，即個體在受傷時會嘗試向群體移動是因為在自然界中通常只有在夠安全的地方才能形成群體，而有向群體集中特性的渦蟲自然受演化青睞。

## 六、探討在兩種波長光照對渦蟲再生速率的影響

實驗顯示，渦蟲在 $2.06e+18$ 、 $4.12e+18$ 與 $1.24e+19$ photon/m<sup>2</sup>/s這幾組光子通量密度的545nm綠光照射下，沒有顯著再生速率變化；同前述光子通量密度的620nm紅光照射下，渦蟲有光照越強再生速率越快的趨勢。對此可以確定適量紅光照射可以促進渦蟲眼點再生。然而具體是因為渦蟲可能有相較於綠光對紅光更敏感的感光受器接收訊號後以神經等方式促進渦蟲眼點再生還是如Tiina Karu(1999)所述的紅光促進細胞代謝與增殖等。

# 柒、研究結論

- 一、本研究中4000 $\mu$ T以下的固定磁場對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。
- 二、本研究之渦蟲的眼點再生速率隨著光照強度上升而下降，而死亡率隨著照度上升而上升。
- 三、本研究之渦蟲眼點再生的條件之一為光線刺激。
- 四、本研究之渦蟲在特定人造加速度與相應機械壓力下有再生加速情形，眼點再生速率可達原先的1.3倍以上。
- 五、本研究中換水頻率對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。
- 六、本研究中五組飼養密度對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。
- 七、本研究中適量紅光(620nm)有助於渦蟲眼點再生加速。
- 八、本研究中使用三種強度綠光(545nm)對渦蟲眼點再生速率影響不顯著。