

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 植物學科

團隊合作獎

052103

貉不貉胃口－探討貉藻受不同鹽類及物理性微粒的影響

學校名稱： 國立潮州高級中學

作者： 高二 林桂絨 高二 林子薰	指導老師： 楊勝惠 洪育祥
---------------------------------	-----------------------------

關鍵詞： 褪色、鹽類、PVC

摘要

本研究探討不同鹽類與物理性微粒對貉藻褪色現象之影響與物質吸收情形。我們觀察到捕蟲囊表皮細胞有三種主要腺體，分別是內表皮的消化腺轉移細胞、四爪腺毛和外表皮的雙歧毛狀體。從餵食水蚤實驗中發現，貉藻不會主動閉合，因此以離心方式使捕蟲囊閉合住紅墨水，再記錄其褪色比例；過程中並推論捕食、分泌與吸收應為三個不同階段。鹽類半小時內，高濃度環境可加速褪色；實驗中 PVC 被觀察到可能吸附到葉柄，另外，一小時內，囊內、外有中濃度微粒也會加速褪色。由褪色實驗亦可證實外表皮的雙歧毛狀體對外在環境，不論是對鹽類滲透反應或是微粒的擴散作用，都具偵測能力。未來若能深入了解其囊體構造與觸發機制，將有助於仿生開闔裝置之研發。

壹、前言

一、研究動機

在高二的生物課程中，我們接觸到與食蟲植物相關的內容，因而對其產生濃厚興趣，並開始主動搜尋相關資料。過程中，我們發現許多食蟲植物的捕蟲機制相當獨特，特別是貉藻具有像捕蠅草一樣的開闔機制(Elżbieta Król, et al., 2012)，這引起了我們進一步探索的好奇心。同時，我們關注到當前環境污染問題，其中塑膠污染尤為嚴重。根據台灣永續能源研究基金會的報導，2024 年全球 15 大環境問題之一即是塑膠污染。研究顯示，在水樣與水棲昆蟲樣本中，普遍檢測到微塑膠的存在，例如聚氯乙烯 PVC、聚丙烯(Polypropylene, PP)等，這些材料常用於製造塑膠用品，如免洗餐具、塑膠袋與食品容器等。研究中發現貉藻具有吸附 PVC 的現象，為了減少一次性塑膠製品所造成的微塑膠污染，我們希望透過研究食蟲植物，特別是貉藻的捕蟲機制與吸附特性，探索其在環境保護上的潛在應用，進一步尋找解決塑膠污染問題的可能方案。

二、研究目的

- (一)貉藻形態觀察與蛋白酶檢測
- (二)觀察貉藻捕蟲囊的開闔現象
- (三)探討在鹽類環境下，貉藻捕蟲囊的褪色現象
- (四)觀察貉藻對塑膠微粒的吸附情形
- (五)探討在物理性微粒環境下，貉藻捕蟲囊的褪色現象

三、文獻回顧

貉藻(*Aldrovanda vesiculosa* L.)屬於茅膏菜科(Cross, Adam. 2013)，是一種漂浮在水面下、稀有且瀕臨絕種的水生淡水食肉植物，廣泛分布於歐洲、亞洲、非洲和澳洲(Hiro Shimai, Takehiro Ohmori. 2023)。這種植物沒有根，其線狀枝條長約 10 至 30 公分，漂浮於水中，且長有大量葉輪。其捕食結構位於葉子末端，由 5 至 9 個陷阱圍繞莖部呈環狀放射排列，由於外觀類似水車，因此又被稱為「水車植物」(Elżbieta Król, et al., 2012) (Jakšová J, et al., 2021)。貉藻的捕蟲囊內佈有觸發毛，經由碰觸這些觸發毛能迅速捕捉小型無脊椎動物、浮游生物及水蚤，以獲取營養，展現食肉植物的特性(Plachno BJ, et al., 2022)。

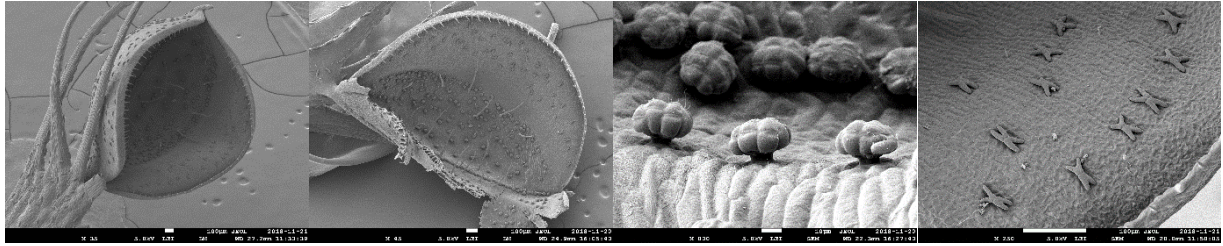


圖 1. 貉藻的腺體分布(取自 Matthias Freund, et al. 2022)

(一)捕蟲囊

長約 2.5 至 6 毫米，由兩片葉片透過中脈相連(Plachno BJ, et al., 2022)，葉由三個細胞層組成：內表皮(上表皮)、中層細胞和外表皮(下表皮)(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)，而內部又可區分為兩個主要區域：中央區域(由兩層表皮細胞與一層葉肉細胞構成，稱為三層區域)與邊緣區域(僅由兩層薄表皮細胞組成，稱為單層)(Jakšová J, et al., 2021)。囊的內、外表面分布著多種類型的毛狀體，各具不同功能，包括雙歧毛狀體、四爪腺毛和消化腺轉移細胞。其中，雙歧毛狀體與四爪腺毛能分泌黏液，以協助捕捉與消化獵物(Plachno BJ, et al., 2022)。位於邊緣下方的觸發毛對機械刺激極為敏感，當獵物碰觸時，陷阱會在約 20 至 100 毫秒內迅速閉合，完成捕食動作(Elżbieta Król, et al., 2012) (Westirmeier Anna S. et al., 2018)。

(二)捕蟲囊上的腺體

1.消化腺轉移細胞：貉藻在捕捉獵物後，可以經由捕蟲囊內累積的茉莉酸來誘發其分泌消化酵素(半胱氨酸蛋白酶)(Jakšová J, et al., 2021)，以此減少消化液的浪費，同時具備吸收與消化獵物的功能。其分布與細胞外的雙歧毛狀體對應，可能存在同步活動的現象(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)。

2.雙歧毛狀體：位於植物捕蟲囊的外表面，其特徵包括頭細胞、柄細胞和基底細胞，其外細胞壁較厚，內部充滿脂類物質，另外頭、柄細胞中含有植物訊號天線的阿拉伯半乳糖聚糖蛋白(AGPs)，而柄、基底細胞周圍則含有水通道蛋白(Plachno, BJ, et al., 2023)，這些特徵表明雙歧能運輸溶質(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)。此外它也能藉由許多構造運輸水分，讓捕蟲囊閉合後，如果沒捕捉到獵物可以再打開；有捕捉到獵物則會變窄與吸收後重新打開(Jakšová J, et al., 2021)。這一過程不僅有助於維持陷阱內部適宜的滲透環境，還可能與植物消化、吸收獵物的機制密切相關。雙歧的存在顯示其對捕蟲囊內、外水分平衡的重要性(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)。

3.四爪腺毛：位於陷阱內表面的邊緣，這個腺體在植物的緩慢運動過程中可能會分泌黏液，而不是單純吸收水分的功能。這種黏液可能有助於捕捉或固定獵物，並可以參與水分的運輸過程(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005) 。

(三)捕蟲囊食物來源

貉藻不能選擇性地捕捉各類無脊椎動物，無論其大小或運動方式，包括底棲動物、食草動物、緩慢游動或快速游動的生物，其中也涵蓋不同種類的水蚤(Westermeier Anna S. et al.,2018)。當陷阱捕獲較小的獵物時，通常會在 5 至 6 天後重新打開。然而，若是體型相對較大的獵物，陷阱則可能無法再次開啟，顯示出捕食行為與獵物大小之間的密切關聯(Jakšová J, et al., 2021)。

(四)捕蟲囊的觸發機制

在捕蟲囊的中央區域，分布著 10 到 20 根觸發毛(每片葉子上)，同時也有許多腺體負責消化獵物(Jakšová J, et al., 2021)。當獵物接近捕蟲囊時，若碰觸到內部表面的觸發毛(位於中央區域)，就會啟動捕捉機制(Westermeier Anna S. et al.,2018)。捕蟲囊由兩片葉子組成，並由中脈連接，而當內部觸發毛受到刺激時，中脈會發生彎曲。這種彎曲會透過運動學耦合讓葉片移動，而不改變葉片本身的曲率，最終導致捕蟲囊閉合(Jakšová J, et al., 2021)。捕蟲囊的閉合是由於鉀離子、鈣離子等陽離子的迅速流失，釋放水分造成膨壓降低所引發(Elżbieta Król,et al., 2012)。捕蟲囊從完全張開的狀態逐漸變為狹窄，再形成緊閉狀態(Jakšová J, et al., 2021)，一段時間後，會因為水通道蛋白參與、滲透壓調節，使捕蟲囊恢復膨壓而重新打開(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005) 。



圖 2.捕蟲囊的開闔現象(作者製作)

(五)貉藻的吸收方式

消化腺轉移細胞主要是貉藻的吸收腺體，此腺體主要分布於內表皮的中脈區域與中脈上；雙歧毛狀體則分布於外表皮的單層細胞區與中脈上，可能透過產生滲透活性化合物來幫助貉藻的陷阱重新打開。兩者在中脈上均沿著中脈呈珠狀排列，而中脈內有維管束，可能有助於加速消化，促進酶的分泌，並提高營養物質的吸收效率(Jakšová J, et al., 2021)。

(六)聚氯乙烯(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 $70\text{-}150\ \mu\text{m}$ (Peng, 2020)。是由氯乙烯聚合而成的高分子聚合物，是除了聚乙烯、聚丙烯($6.5\ \mu\text{m}$)之後，第三種最廣泛生產的合成塑膠聚合物。

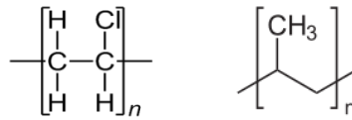


圖3. 聚氯乙烯(左圖)、聚丙烯(右圖)的化學結構(取自葉名倉等，2022)

(七)尼羅紅(Nelle Meyers, et al., 2022)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。

四、實驗設計

(一)以 Image J 計算染色捕蟲囊個數

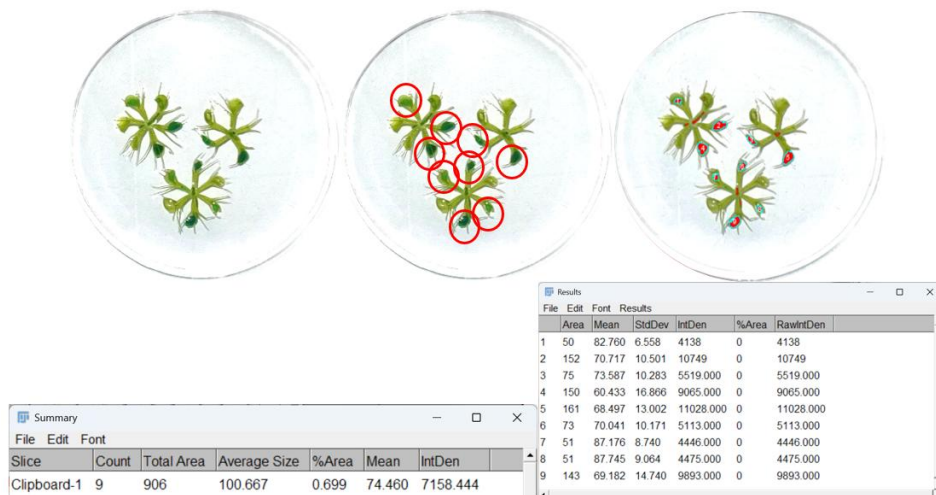


圖 4. 以 Image J 計算染色捕蟲囊個數(作者製作)

(二)以「褪色」作為實驗觀察指標的理由：

- (1)染色實驗顯示，色素可被消化腺轉移細胞吸收，導致濃度改變而顏色變淡。
- (2)當貉藻加入水通道蛋白抑制劑後，其蛋白質結構受到影響，導致捕蟲囊無法完全閉合，呈現半開狀態。
- (3)捕蟲囊因特定生理或環境刺激下而呈現開啟現象。
- (4)觀察到色素溶液從捕蟲囊邊緣滲出來，造成顏色變淡現象。

(三)內低外低、內低外高、內高外低、內高外高的定義：

內、外的區隔以捕蟲囊為界；低、高是指單純溶劑或有添加溶質的溶液。因此捕蟲囊內的環境狀況只有內低或內高，捕蟲囊外的培養皿狀況只有外低或外高。

貳、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、貉藻(購自羅賓水族或小五花水族街)、離心機、離心管、微量吸管、藍光透照儀、水族缸、電子秤、標籤紙、計時器、磁石攪拌器、研磨棒、比色管、分光光度計。

二、實驗藥品：

食用色素紅色六號、藍色一號、黃色四號、丙酮、螢光染劑(尼羅紅)、PVC 粉、PP 粉、氯化鈉、氯化鉀、硝酸鉀、愈創木酚、磷酸一鉀、磷酸二鉀、過氧化氫水溶液。

三、實驗架構

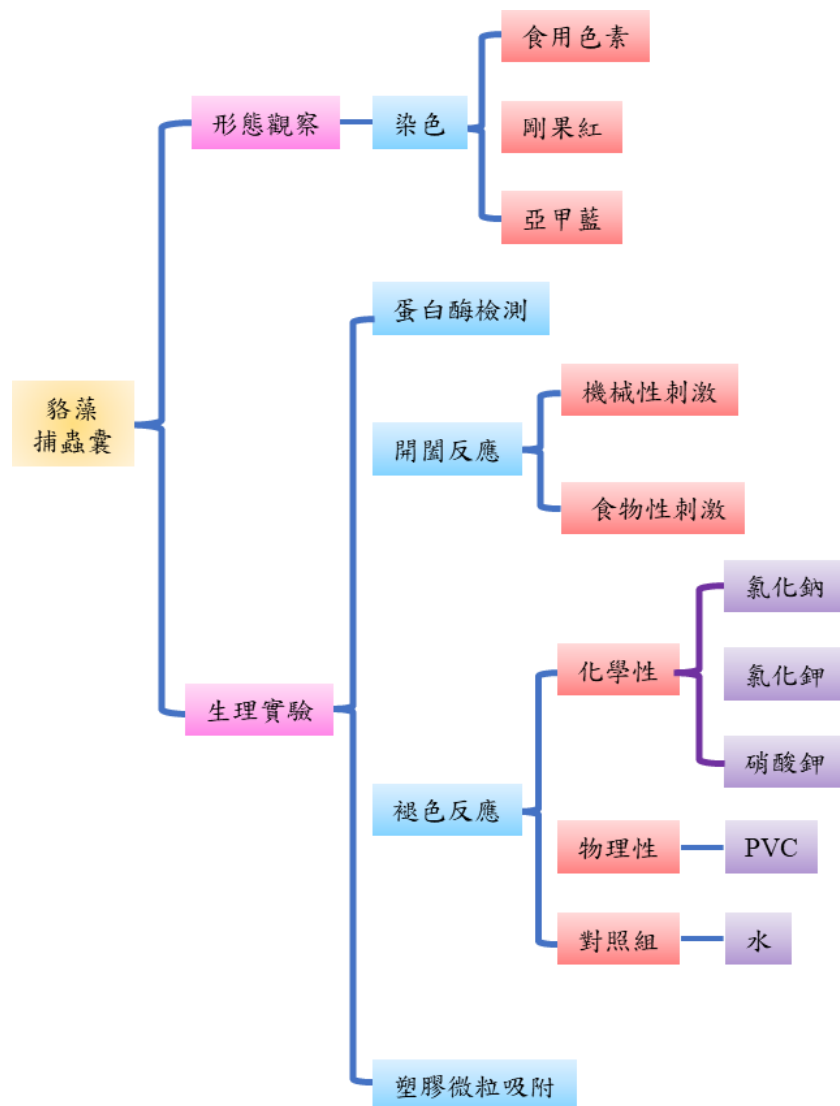


圖 5.實驗流程圖(作者製作)

參、研究過程與方法

實驗一：貉藻形態觀察

實驗 1-1

一、實驗目的：觀察捕蟲囊的重要構造

二、實驗步驟

以解剖顯微鏡與光學顯微鏡進行染色觀察

實驗 1-2

一、實驗目的：以電泳觀察捕蟲囊的蛋白酶成分

二、實驗步驟：

1.分別將貉藻置下列溶劑離心 200 轉 30 秒，使捕蟲囊閉合且包住溶液進行消化作用

(1)對照組

(2)浸泡 10%酒精二小時的貉藻。(酒精 2ml+RO 水 18ml)

(3)浸泡 0.01 mM HgCl_2 二小時的貉藻。(HgCl₂ 1.357 mg 於 500 ml RO 水中)。

(4)浸泡 2mg/ml 牛血清蛋白二小時的貉藻。(牛血清蛋白 0.1g 於 50ml RO 水中)4

(5)浸泡 2mg/ml 甲殼素二小時的貉藻。(甲殼素 0.1g 於 50ml RO 水中)

(6)浸泡 0.01g/10ml PVC 二小時的貉藻。(PVC 0.01g 於 10ml RO 水中)

2.取出貉藻並將貉藻泡在上述溶液兩小時，之後取出置於清水並經過一天後，加上蛋白裂解液，測六種貉藻蛋白質總濃度(ug/ml)。

3.對於組織樣品：

(1)組織塊用預冷 PBS 洗滌，剪成細小碎塊置於勻漿器中。

(2)取 0.05g 貉藻加上 0.75ml 裂解液進行研磨。

(3)將研磨液倒入至 1.5 mL 離心管中，經震盪後冰浴 30 分鐘，期間每 10 分鐘反覆混勻，確保組織細胞完全裂解。

(4)13,300 g 離心 5 分鐘，收集上清液，即為總蛋白溶液

實驗二：觀察貉藻捕蟲囊的開闔現象

一、實驗目的：探討捕蟲囊是否會自行開闔，或是受擾動才會影響其開闔

二、實驗配液：

紅色稀釋液：將食用色素六號以 0.5g：30ml(=1：60)逆滲透水比例調成紅色素水溶液，再配置逆滲透水：紅色素水溶液= 120：30，得紅色稀釋液 150ml。

三、實驗步驟

(1)將貉藻放入裝有水蚤的 10ml 紅色素稀釋液樣品瓶中，隔一段時間後，再將捕食水蚤的貉藻移至清水培養皿觀察。

(2)攝影觀察變化情形。

實驗三：鹽類對貉藻捕蟲囊褪色現象的影響

一、實驗目的：探討捕蟲囊內、外鹽類濃度不同時對褪色的影響

二、實驗配液：

1.紅色稀釋液：將食用色素六號以 0.5g：30ml(=1：60)逆滲透水比例調成紅色素水溶液，再配置逆滲透水：紅色素水溶液= 120：30，得紅色稀釋液 150ml。

2.不同濃度鹽類溶液配置

0.1M、0.3M、0.5M 氯化鈉(分子量 58.5)，分別以 0.059、0.176、0.293g+10ml 溶劑

0.1M、0.3M、0.5M 氯化鉀(分子量 74.5)，分別以 0.075、0.224、0.373g+10ml 溶劑

0.1M、0.3M、0.5M 硝酸鉀(分子量 101)，分別以 0.101、0.303、0.505g+10ml 溶劑

三、分成三種滲透壓情形進行實驗

(一)內低外低(對照組)

內液：8ml 水+2mL 紅色稀釋液

外液：10 mL 水

(1)取 4 輪的健康貉藻，將其置於 3 支裝有內液的離心管，以 500 轉離心 30 秒二次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置樣品瓶，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 30 分鐘內的褪色情形並統計。

(二)內高外低

內液：0.1M、0.3M、0.5M 鹽類溶液(溶劑為 8ml 水+2mL 紅色稀釋液)

外液：10 mL 水

(1)取 4 輪的健康貉藻，將其置於 9 支裝有內液的離心管，以 500 轉離心 30 秒二次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置樣品瓶，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 30 分鐘內的褪色情形並統計。

(三)內低外高

內液：紅色稀釋液 2ml+蒸餾水 8ml

外液：0.1M、0.3M、0.5M 鹽類溶液

(1)取 4 輪的健康貉藻，將其置於 9 支裝有內液的離心管，以 500 轉離心 30 秒二次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置樣品瓶，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 30 分鐘內的褪色情形並統計。

(四)內高外高

內液：0.1M、0.3M、0.5M 鹽類溶液(溶劑為 8ml 水+2mL 紅色稀釋液)

外液：0.1M、0.3M、0.5M 鹽類溶液(溶劑為 10ml 水)

(1)取 4 輪的健康貉藻，將其置於 9 支裝有內液的離心管，以 500 轉離心 30 秒二次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置樣品瓶，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 30 分鐘內的褪色情形並統計。

四、數學模擬預測

1.決定係數 R^2 ：判斷模型的解釋力

2.趨勢線：

(1)線性模擬： $y = ax + b$ ，估計達成 100%所需時間，令 $y = 1$ ，可得 $x = \frac{1-b}{a}$

(2)曲線模擬： $y = a \ln(x) + b$ ，估計達成 100%所需時間，令 $y = 1$ ，可得 $x = e^{\frac{1-b}{a}}$ (e 為自然對數基底)

(3)若趨勢線 $y = a \ln(x) + b$ 的 R^2 大於趨勢線 $y = ax + b$ 的 R^2 ，則採用曲線模擬來估計達成 100%所需時間，令 $y = 1$ ，可得 $x = e^{\frac{1-b}{a}}$ (e 為自然對數基底)，否則以線性模擬來估計達成 100%所需時間。

實驗四：觀察貉藻對塑膠微粒的吸附情形

一、實驗配液：

- 1.製作粉紅 PVC：秤取 0.6g PVC，加入 9ml 尼羅紅染劑(丙酮：尼羅紅粉=60ml：0.3mg(=0.0003g)=200ml：1mg)，將 PVC 放研鉢中逐量加入尼羅紅染劑研磨後備用。
- 2.藍色稀釋液：將食用色素一號以 0.5g：30ml(=1：60)逆滲透水比例調成藍色素水溶液，再配置逆滲透水：藍色素水溶液= 120：30，得藍色稀釋液 150ml。
- 3.不同濃度物理性微粒溶液配置：將 0.15g PVC 及 0.15g PP，分別加入 10ml 溶劑(8ml 水+2ml 藍色稀釋液)

二、實驗步驟

- 1.依序取染過尼羅紅的 0.15g PVC 及 0.15g PP
- 2.將 PVC 及 PP 分別置於裝有藍色稀釋液的離心管，以低速震盪使 PVC 及 PP 均勻分散
- 3.取 3 輪的健康貉藻分別置於震盪後的離心管，以 200 轉離心 30 秒，之後每隔 3 分鐘，離心一次，共離心 4 次。
- 4.將其取出洗淨放置清水中，經過一天將各濃度中的捕蟲囊分別取出三顆清洗並製成玻片，以藍光透射儀照射照射並在手機上拍照觀察。
- 5.紀錄並拍照，用 ImageJ 分析染色 PVC 及 PP 在捕蟲囊內的分布情形。

實驗五：物理性微粒對貉藻捕蟲囊褪色現象的影響

一、實驗目的：探討捕蟲囊內、外 PVC 濃度不同時對褪色有何影響

二、實驗配液：

- 1.製作粉紅 PVC：秤取 0.6g PVC，加入 9ml 尼羅紅染劑(丙酮：尼羅紅粉=60ml：.3mg(=0.0003g)=200ml：1mg)，將 PVC 放研鉢中逐量加入尼羅紅染劑研磨後備用。
- 2.紅色稀釋液：將食用色素六號以 0.5g：30ml(=1：60)逆滲透水比例調成紅色素水溶液，再配置逆滲透水：紅色素水溶液= 120：30，得紅色稀釋液 150ml。
- 3.不同濃度物理性微粒溶液配置
將 0.001、0.01、0.10g PVC，分別加入 10ml 溶劑(8ml 水+2ml 紅色稀釋液)

三、分成三種情形進行實驗

(一)內低外低(對照組)

內液：8ml 水+2mL 紅色稀釋液

外液：10 mL 水

(1)取 3 輪的健康貉藻，將其置於裝有內液的離心管，以 200 轉離心 30 秒一次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置培養皿，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 60 分鐘內的褪色情形並統計。

(二)內高外低

內液：0.001、0.01、0.10g PVC 溶液(溶劑為 8ml 水+2mL 紅色稀釋液)

外液：10 mL 水

(1)取 3 輪的健康貉藻，將其置於裝有內液的離心管，以 200 轉離心 30 秒一次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置培養皿，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 60 分鐘內的褪色情形並統計。

(三)內低外高

內液：紅色稀釋液 2ml+蒸餾水 8ml

外液：0.001、0.01、0.10g PVC 溶液

(1)取 3 輪的健康貉藻，將其置於裝有內液的離心管，以 200 轉離心 30 秒一次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置培養皿，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 60 分鐘內的褪色情形並統計。

(四)內高外高

內液：0.001、0.01、0.10g PVC 溶液(溶劑為 8ml 水+2mL 紅色稀釋液)

外液：0.001、0.01、0.10g PVC 溶液(溶劑為 10ml 水)

(1)取 3 輪的健康貉藻，將其置於裝有內液的離心管，以 200 轉離心 30 秒一次，使多數捕蟲囊關閉。

(2)再將貉藻自離心管取出以清水小心洗淨後，放置培養皿，每 5 分鐘統計一次，觀察貉藻 60 分鐘內的褪色情形並統計。

肆、研究結果

實驗一：貉藻形態觀察

實驗 1-1：貉藻腺體觀察

(一)以食用色素進行染色

以紅色 6 號、藍色 1 號、黃色 4 號食用色料各 100mg，溶於 30cc 的水中，進行染色。

(1)解剖顯微鏡



圖 6.以不同色素染色下的捕蟲囊(作者製作)

(2)光學顯微鏡 100X

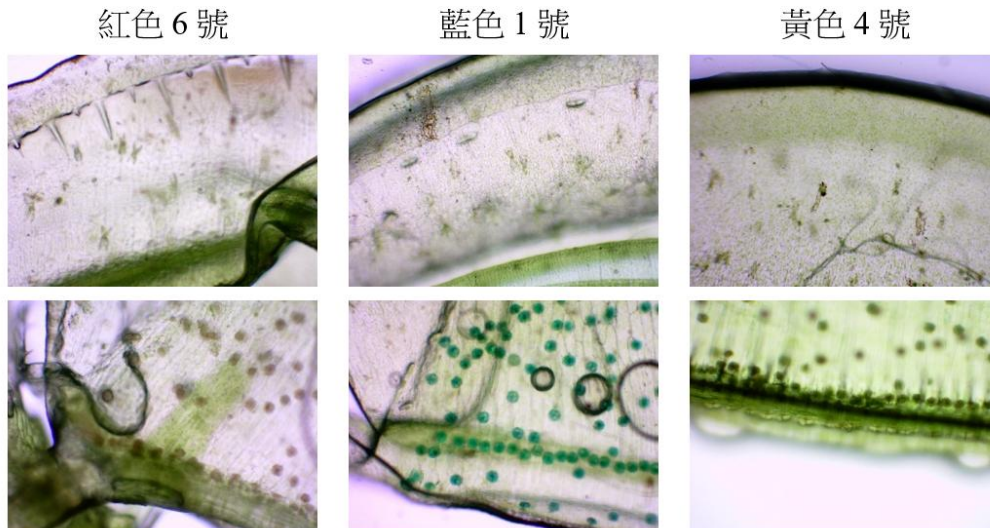


圖 7.觀察不同色素染色下的腺體及其分布位置(100X，作者製作)

(3)光學顯微鏡 400X

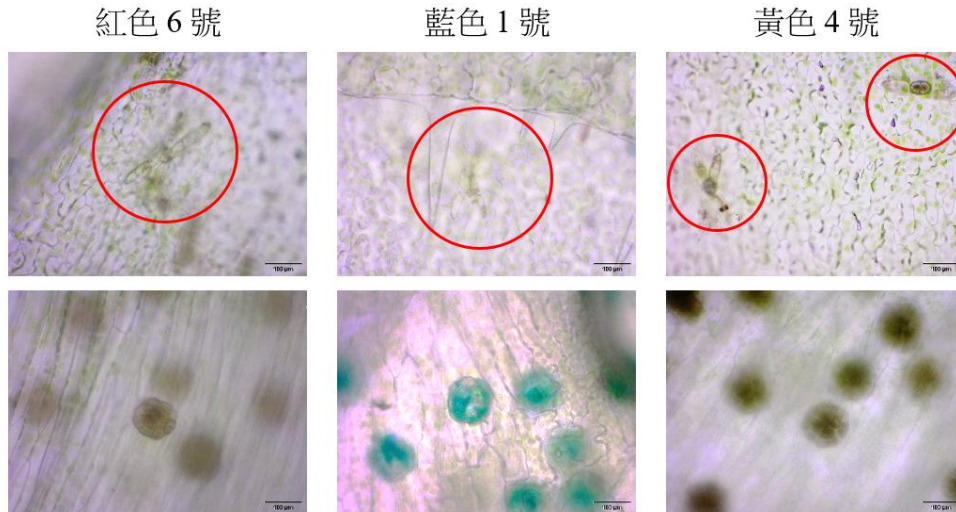


圖 8.以不同色素染色下的腺體(400X，作者製作)

我們發現除消化腺轉移細胞有染色，其他如四爪腺毛、雙歧毛狀體則無明顯染色情形，推論，消化腺轉移細胞應有吸收功能。

(二)以剛果紅進行染色



消化腺轉移細胞

四爪腺毛

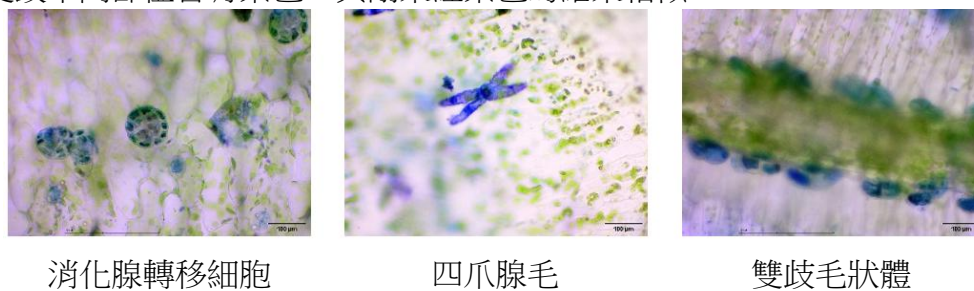
雙歧毛狀體

圖 9.以剛果紅染色下的腺體(400X，作者製作)

剛果紅可對澱粉蛋白(amyloid)著色，我們發現消化腺轉移細胞、四爪腺毛、雙歧毛狀體皆有染色，推測這三種腺體皆含有蛋白。

(三)以亞甲藍進行染色

亞甲藍可以用來染色細胞核，使其染成深藍色，方便觀察細胞。貉藻中這三個腺體的染色最明顯，可能是因為它們有突出的柄所致，整個轉移細胞、四爪腺毛正中間跟臂的中間、雙歧中間部位皆有染色，與剛果紅染色的結果相似。



消化腺轉移細胞

四爪腺毛

雙歧毛狀體

圖 10.以亞甲藍染色下的腺體(400X，作者製作)

實驗 1-2：貉藻蛋白酶檢測

一、對貉藻進行蛋白萃取，並分成對照組與實驗組

(一) BSA 製作標準曲線

牛血清蛋白0.1mg/ml				
μl	μl	$\mu\text{g/ml}$	μl	595nm
BSA	水	蛋白量	Bradford	OD
0	500.0	0	500	0.000
12.5	487.5	2.5	500	0.041
25	475.0	5	500	0.173
50	450.0	10	500	0.321
75	425.0	15	500	0.448
100	400.0	20	500	0.555
125	375.0	25	500	0.660

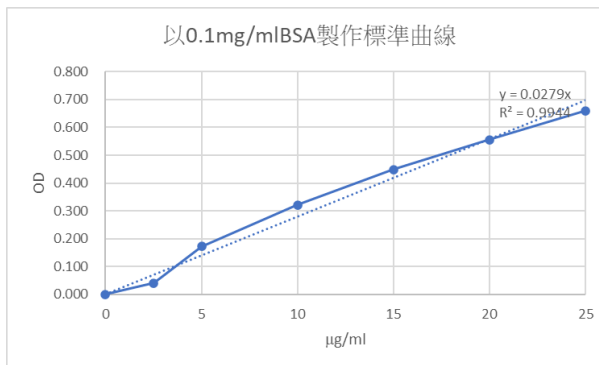


表 1.牛血清蛋白標準曲線(作者製作)

可得 $R^2 \approx 0.9944$ 且最適直線為 $y = 0.0279x$ ，若吸光值為 T ，可求得 $x = \frac{T}{0.0279}$

(二)蛋白質含量之計算：

樣品稀釋倍率為 50 倍，再依分光光度計測得吸光度換算每克植物中的蛋白質含量如下

單位	μl	μl	μl	595nm	mg/g
名稱	樣品液	水	Bradford	OD	蛋白質/克
對照組	10	490	500	0.816	21.9355
酒精	10	490	500	0.720	19.3548
氯化汞	10	490	500	0.620	16.6667
牛血清	10	490	500	0.743	19.9731
甲殼素	10	490	500	0.736	19.7849
PVC	10	490	500	0.771	20.7258

表 2.貉藻對照組與實驗組蛋白含量(作者製作)

二、考馬斯亮藍(Coomassie Brilliant Blue)染色

對照組 酒精 HgCl_2 牛血清 甲殼素 PVC

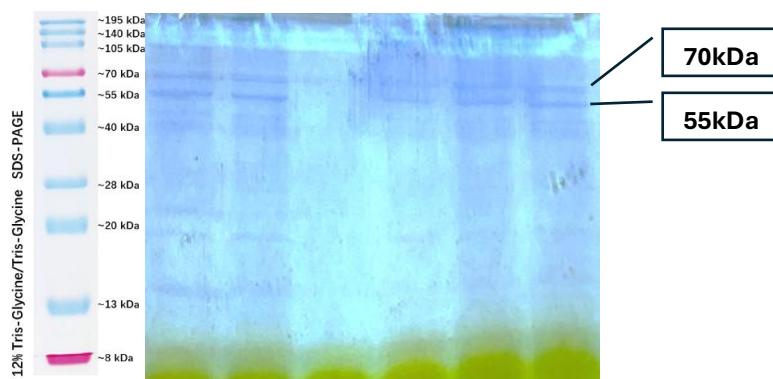


圖 11.貉藻蛋白質電泳圖(作者製作)

由電泳圖結果整理如下：對照組以及捕蟲囊內含有牛血清蛋白、甲殼素的是在 55、70kDa 處出現條紋，推測可能是幾丁質酶，而含有酒精、氯化汞、PVC 的條紋不明顯可能是因為蛋白變性、被抑制活性或有損傷。

實驗二：探討貉藻捕蟲囊的開闔現象

實驗 2-1 機械性刺激



圖 12.機械性刺激(作者製作)

貉藻受到擾動會產生閉合動作，我們試著在牙籤黏上釣魚線並去戳捕蟲囊，發現戳到某個地區會迅速關閉，應該是碰觸到觸發毛才使貉藻快速閉合。

實驗 2-2 食物性刺激

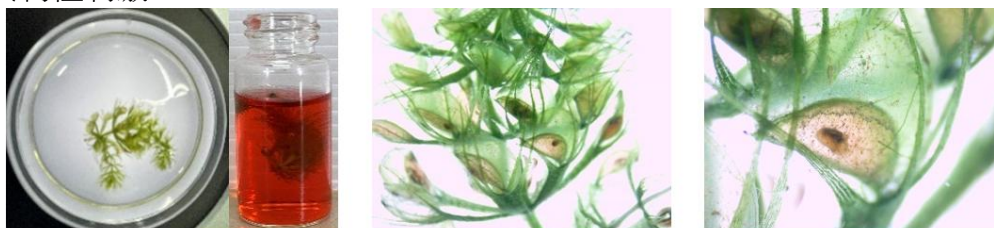


圖 13.食物性刺激(作者製作)

- (1)若已捕食到水蚤，貉藻捕蟲囊會呈現紅色，捕蟲囊會將獵物移至消化腔，消化腔呈封閉狀，顏色才慢慢隨時間淡化。
- (2)未捕獲水蚤的捕蟲囊，則無明顯變色現象，而部分捕蟲囊呈現紅色，是因為將貉藻從樣品瓶移至培養皿的過程中，擾動而造成瞬間閉闔，包住紅墨水所致。

實驗 2-3 探討有機溶劑與鹽類濃度對貉藻觸發運動之影響

紀錄	對照組	有機溶劑				鹽類		
		酒精	乙醚	甲醇	丙酮	硝酸鉀	氯化鈉	氯化鉀
5 分鐘	4	7	3	1	5	3	0	2
10 分鐘	3	5	5	6	4	6	0	4
15 分鐘	3	4	5	6	6	4	0	5
20 分鐘	6	6	8	5	7	6	1	3
25 分鐘	2	3	5	4	6	3	4	2
30 分鐘	6	6	7	6	7	8	3	4

表 3.有機溶劑與鹽類濃度對貉藻觸發(作者製作)

除了機械性刺激與食物刺激，我們也試著加入有機溶劑與無機鹽，觀察捕蟲囊是否會因為這些溶劑而影響的褪色，實驗過程中發現數據起起伏伏，應該是觀察時每 5 分鐘將貉藻移出水面所致，為了藉決擾動問題，我們的實驗設計修改成先利用低速離心使多數捕蟲囊閉合，再進行觀察隨時間增加而影響褪色比例的情形。

實驗三：鹽類對貉藻捕蟲囊褪色現象的討論

(一)內高外低

(1)依濃度討論

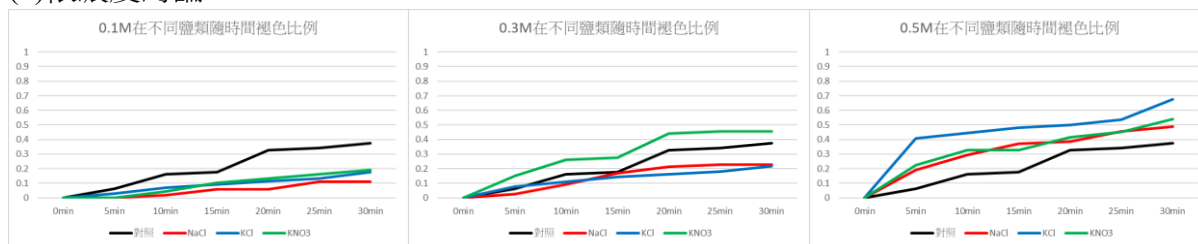


圖 14.鹽類內高外低折線圖(作者製作)

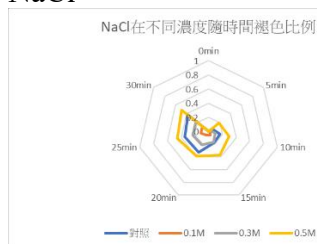
依折線圖觀察，在內高外低的環境，濃度相同的鹽類在 30 分鐘內褪色比例高低為

- 1.低濃度時：褪色比例由高至低依序為對照組、KNO₃、KCl、NaCl
- 2.中濃度時：褪色比例由高至低依序為 KNO₃、對照組、NaCl、KCl
- 3.高濃度時：褪色比例由高至低依序為 KCl、KNO₃、NaCl、對照組

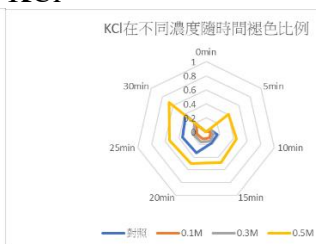
整體而言，KNO₃ 在內高外低時褪色比例較高

(2)依鹽類討論

NaCl



KCl



KNO₃

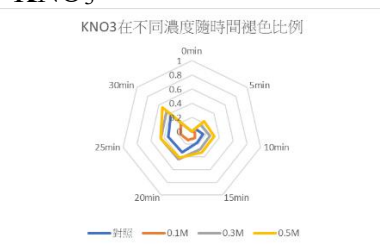


圖 15.鹽類內高外低雷達圖(作者製作)

根據雷達圖觀察，在內高外低的環境中，三種鹽類在 30 分鐘內褪色比例由高至低依序為高濃度、中濃度、低濃度

(二)內低外高

(1)依濃度討論

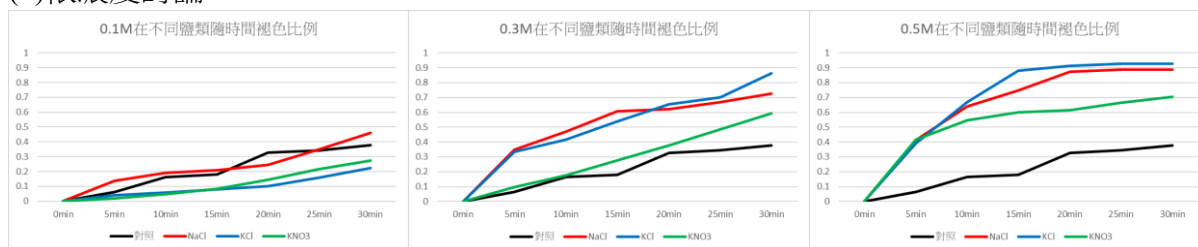


圖 16.鹽類內低外高折線圖(作者製作)

依折線圖觀察，在內低外高的環境，濃度相同的鹽類在 30 分鐘內褪色比例高低為

- 1.低濃度時：褪色比例由高至低依序為 NaCl、對照組、KNO₃、KCl
 - 2.中濃度時：褪色比例由高至低依序為 KCl、NaCl、KNO₃、對照組
 - 3.高濃度時：褪色比例由高至低依序為 KCl、NaCl、KNO₃、對照組
- 整體而言，NaCl 在內低外高時褪色比例較高

(2)依鹽類討論

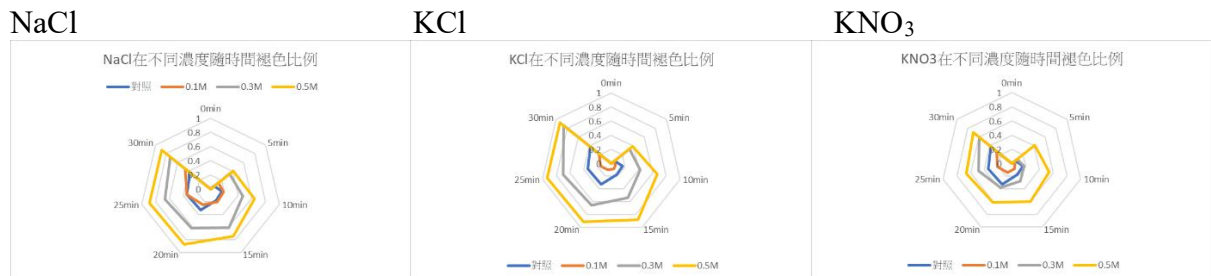


圖 17.鹽類內低外高雷達圖(作者製作)

根據雷達圖觀察，在內低外高的環境中，三種鹽類在 30 分鐘內褪色比例由高至低依序為高濃度、中濃度、低濃度

(三)內高外高

(1)依濃度討論

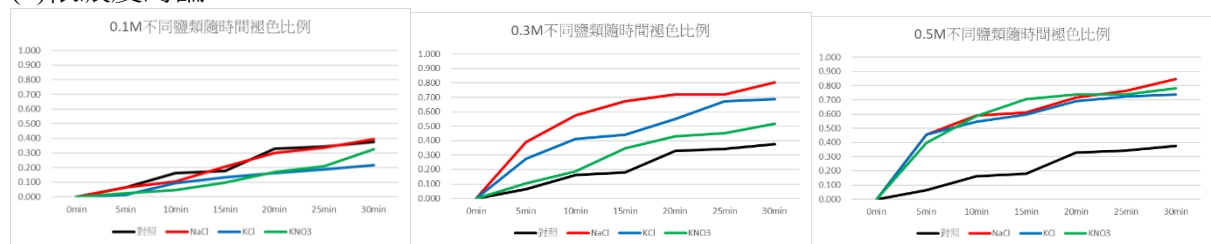


圖 18.鹽類內高外高折線圖(作者製作)

依折線圖觀察，在內高外高的環境，濃度相同的鹽類在 30 分鐘內褪色比例高低為

- 1.低濃度時：褪色比例由高至低依序為 NaCl、對照組、KNO₃、KCl
 - 2.中濃度時：褪色比例由高至低依序為 NaCl、KCl、KNO₃、對照組
 - 3.高濃度時：褪色比例由高至低依序為 NaCl、KNO₃、KCl、對照組
- 整體而言，NaCl 在內高外高時褪色比例較高

(2)依鹽類討論

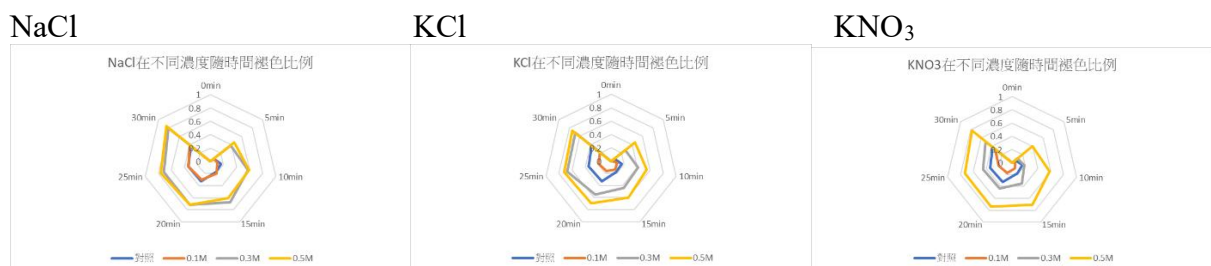
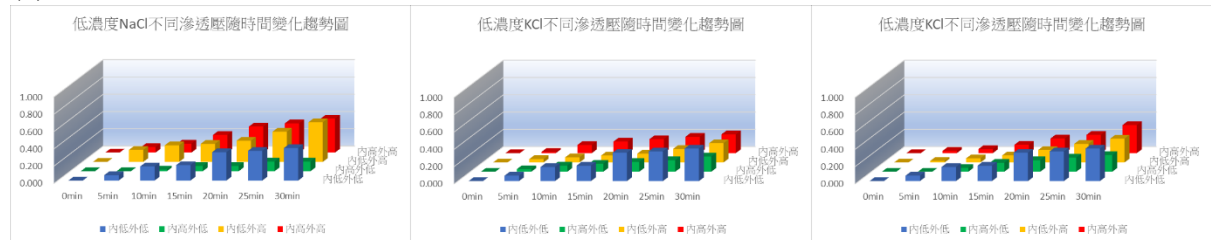


圖 19.鹽類內高外高雷達圖(作者製作)

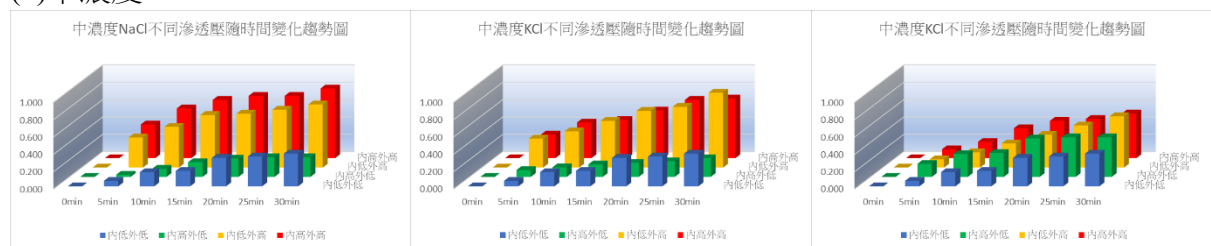
根據雷達圖觀察，在內高外高的環境中，三種鹽類在 30 分鐘內褪色比例由高至低依序為高濃度、中濃度、低濃度。

(四)在不同滲透壓情形下的比較

(1)低濃度



(2)中濃度



(3)高濃度

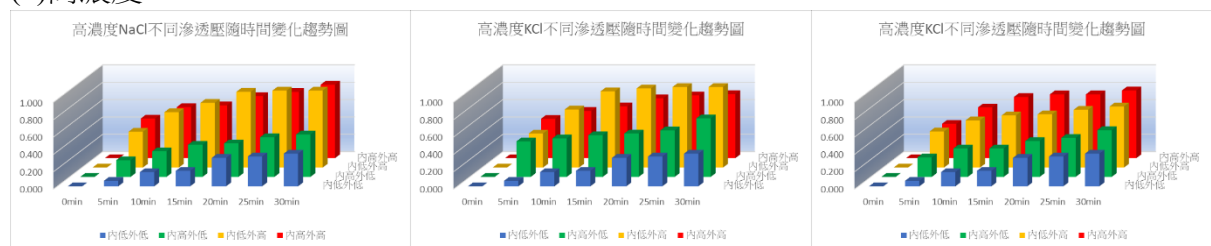


圖 20.不同濃度的鹽類在不同滲透壓環境的褪色表現(作者製作)

(五)比較各種情形達成完全褪色的時間(分鐘)之數學模型

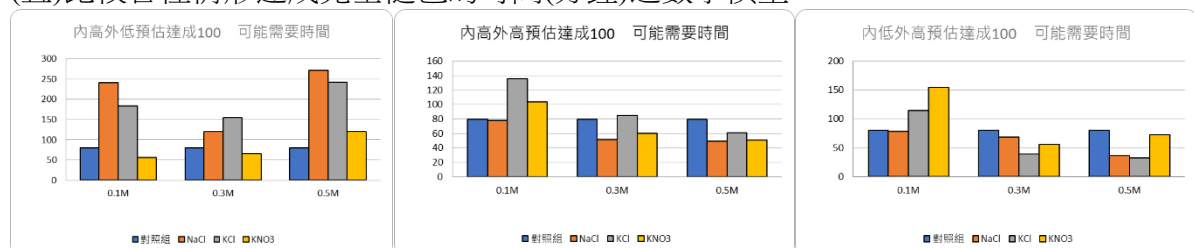


圖 21.模型預測達成完全褪色的時間之長條圖(作者製作)

與對照組的比較結果：

- (1)在內高外低時，隨著捕蟲囊內部濃度增加反而有延遲褪色的情形，顯示這些離子，可能是貉藻成長需要的物質。
- (2)其次，在內低外高、內高外高的情形，當捕蟲囊外部為 0.5M 時，則貉藻褪色的時間反而提早，表示可能需要吸收這些物質。
- (3)由(1)(2)我們合理推測，這些無機鹽應該都是貉藻成長的必要元素，但啟動褪色的機制是哪個腺體，則尚不清楚。

(六)外在感知能力

(1)原始數據的觀察

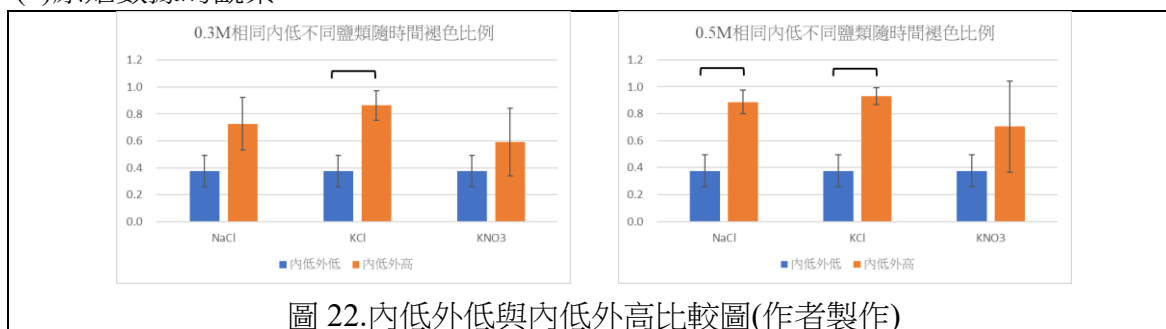


圖 22.內低外低與內低外高比較圖(作者製作)

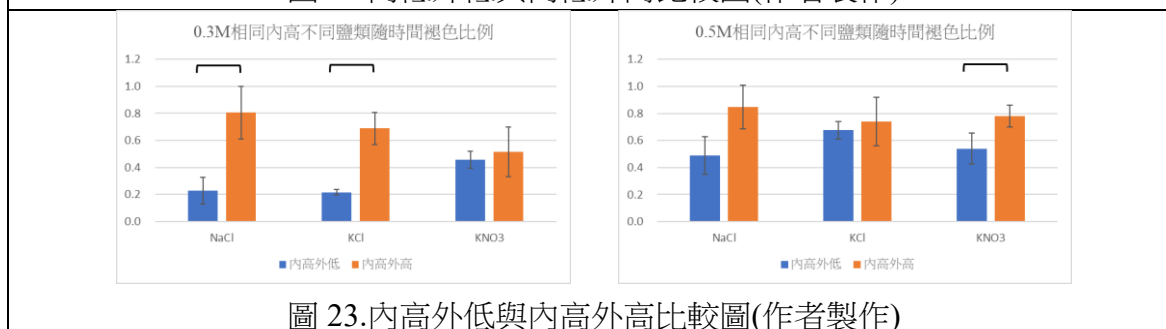


圖 23.內高外低與內高外高比較圖(作者製作)

在外部為 0.3M 與 0.5M 中、高濃度下，不論捕蟲囊內的條件同是內低或內高時，各種鹽類的褪色比例，在外在環境都是高濃度時比低濃度為高。

(2)預估達成完全褪色的時間(分鐘)之數學模型

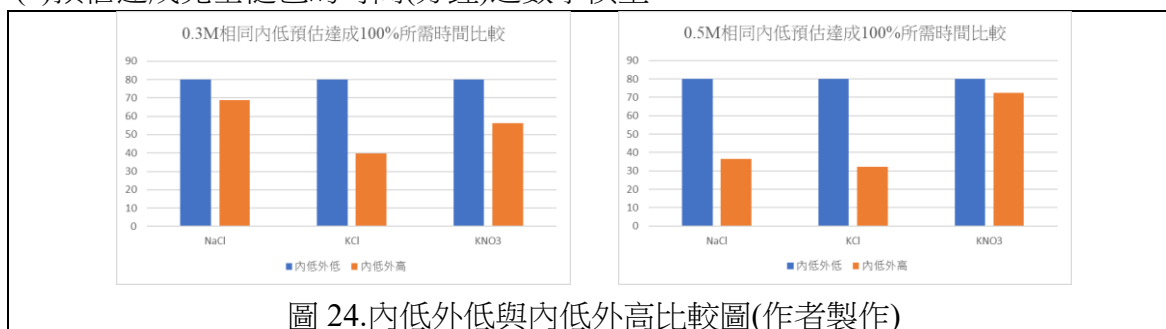


圖 24.內低外低與內低外高比較圖(作者製作)

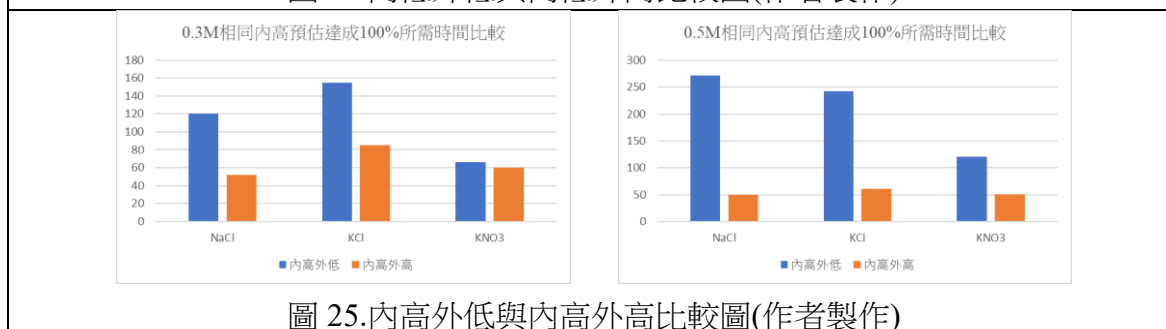


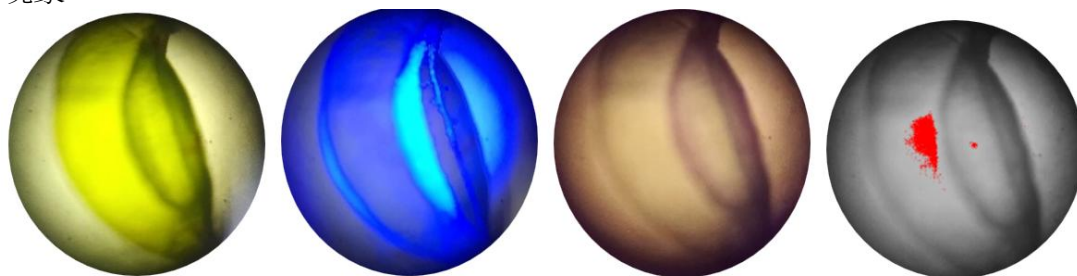
圖 25.內高外低與內高外高比較圖(作者製作)

從預估模型評估，在外部為 0.3M 與 0.5M 中、高濃度時，不論捕蟲囊內的條件同是內低或內高時，各種鹽類的褪色達 100%的預估時間，在外在環境都是高濃度時比低濃度為短，亦即褪色速度較快。

(3)由(1)(2)可推得，當外在環境改變時，會影響褪色的比例，而且在中、高濃度的反應比較明顯，表示貉藻存在外在感知能力，可偵測外在環境的變化。

實驗四：觀察貉藻對塑膠微粒的吸附情形

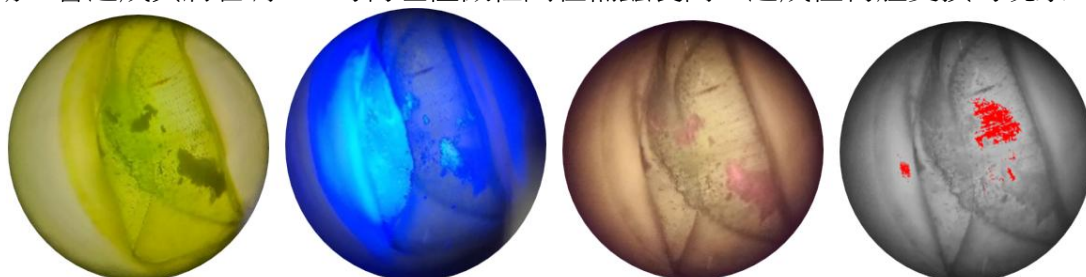
- 一、取在 0.15g/10ml PVC(聚氯乙烯)環境下的貉藻捕蟲囊觀察，圖片依序為原圖→藍光→藍光+濾片→Image J 處理，在閾值 185 有螢光反應，表示貉藻若在 PVC 的環境遇到擾動，會造成其將含有 PVC 的物理性微粒闖入補蟲囊內，造成植物體受損的現象



原圖 → 藍光 → 藍光+濾片 → Image J 處理

圖 26.貉藻捕蟲囊吸附 PVC 的情形(作者製作)

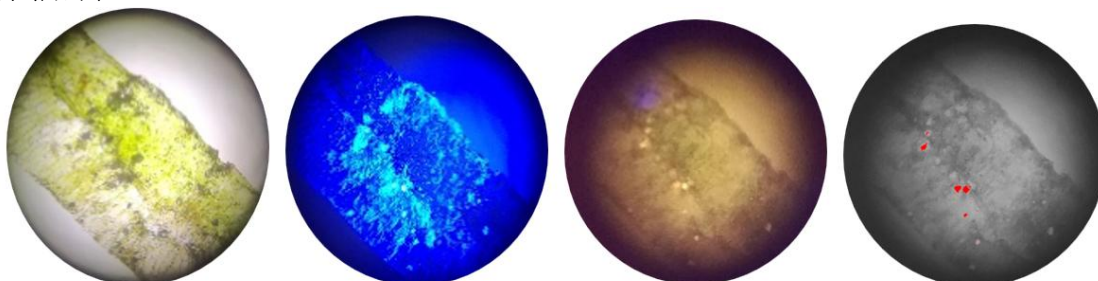
- 二、取在 0.15g/10ml PP(聚丙烯)環境下的貉藻捕蟲囊觀察，圖片依序為原圖→藍光→藍光+濾片→Image J 處理，在閾值 185 有螢光反應，表示貉藻若在 PP 的環境遇到擾動，會造成其將含有 PP 的物理性微粒闖入補蟲囊內，造成植物體受損的現象



原圖 → 藍光 → 藍光+濾片 → Image J 處理

圖 27.貉藻捕蟲囊吸附 PP 的情形(作者製作)

三、葉柄部位



原圖 → 藍光 → 藍光+濾片 → Image J 處理

圖 28.貉藻葉柄的 PVC 反應(作者製作)

(一)(二)經過 image J 的處理，發現在閾值 185 時都有螢光反應，顯示貉藻若在含有 PVC 或 PP 等物理性微粒的環境下，若經機械性刺激或食物刺激，會啟動閉闔現象而將 PVC 或 PP 等吸附在捕蟲囊內。(三)經過了三天後，有可能都跑到葉柄的部位，會對植株本身造成傷害。

實驗五：物理性微粒對貉藻捕蟲囊褪色現象的影響

(一)內高外低

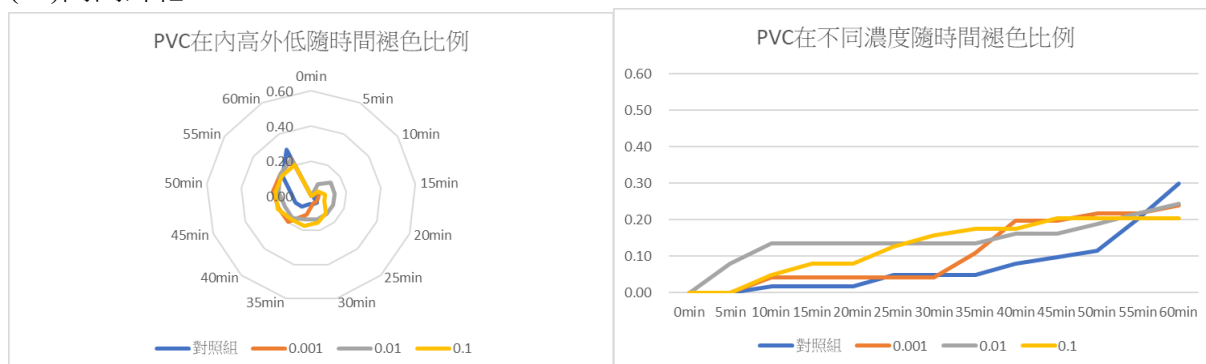


圖 29.PVC 內高外低之雷達圖與折線圖(作者製作)

60 分鐘後，中、低濃度褪色比例較高且相近，高濃度褪色比例較低。低濃度在前 40 分鐘褪色比例最低，之後有明顯褪色反應；中濃度前 20 分鐘，褪色比例最高，之後趨緩，直到 55 分鐘又開始有明顯反應增加；高濃度則反應平緩。

(二)內低外高

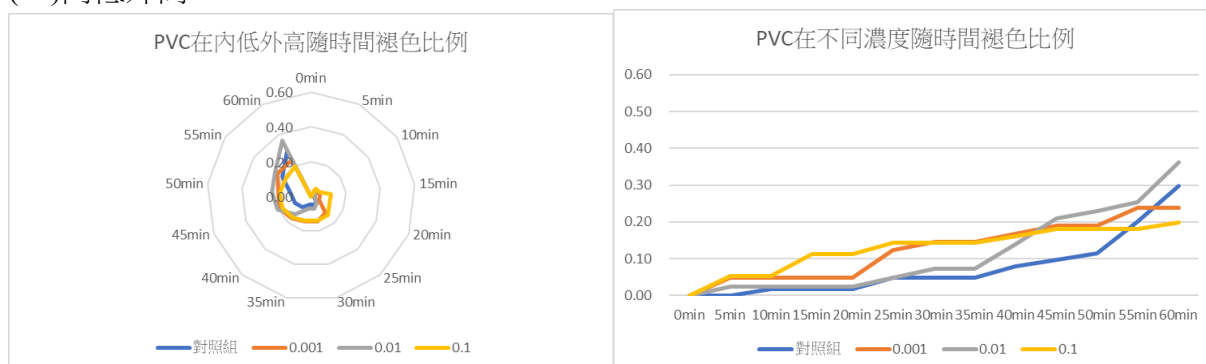


圖 30.PVC 內低外高之雷達圖與折線圖(作者製作)

60 分鐘後，中濃度褪色比例最高，其次是低濃度，高濃度褪色比例最低。低濃度變化平緩；中濃度前 40 分鐘褪色比例較低，但之後反應加快並且超越各濃度；高濃度前 30 分鐘反應比例最高，之後趨緩。

(三)內高外高

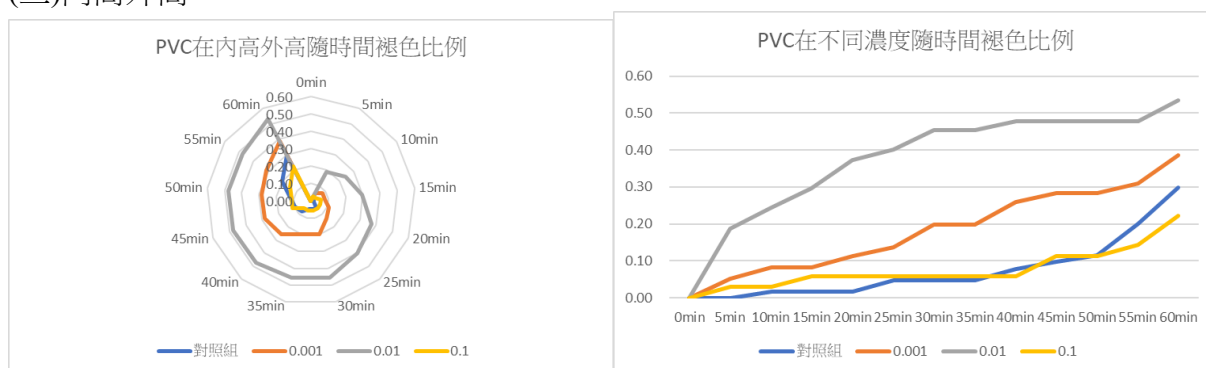


圖 31.PVC 內高外高之雷達圖與折線圖(作者製作)

各濃度褪色趨勢明確，依序是中濃度褪色比例最高，低濃度其次，高濃度最低。在中濃度偏向自然對數函數；低濃度偏向線性函數；高濃度偏向指數函數。

(四)總整理

整體而言所有濃度的顏色都會隨著時間的增加慢慢褪去，而在內外都是中濃度時，是所有褪色比例中最高的。

不論是哪一種狀況，都是中濃度最高、低濃度其次，高濃度最低，顯示貉藻會在一個最佳範圍反應最劇烈。

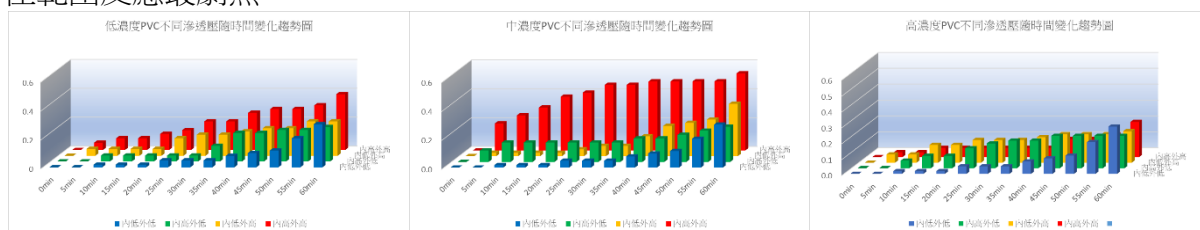


圖 32.不同濃度的 PVC 在不同滲透壓環境的褪色表現(作者製作)

(五)外在感知能力

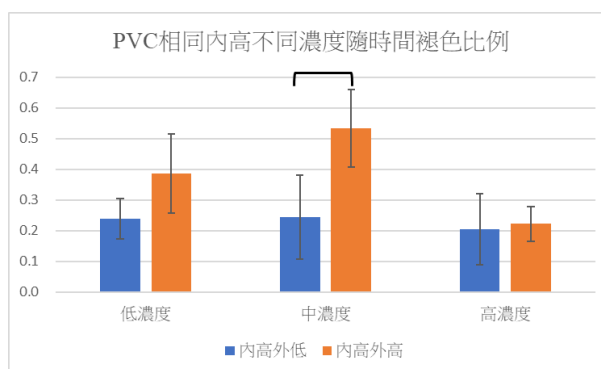
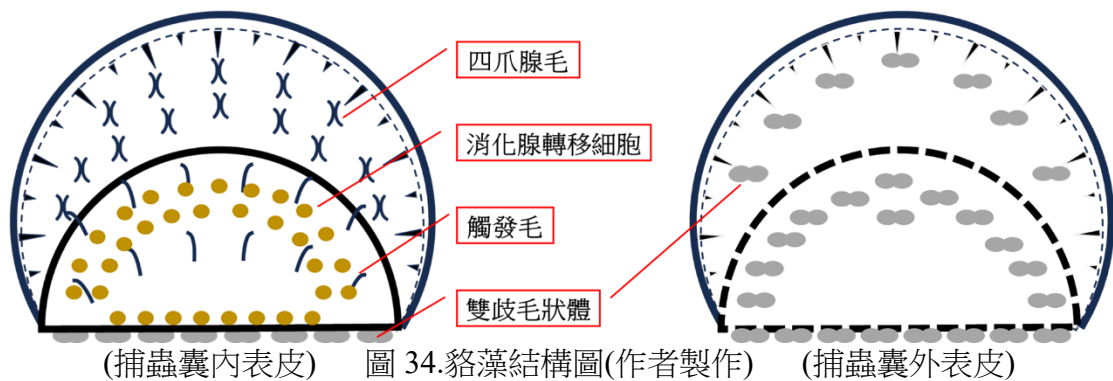


圖 33.內高外低與內高外高(作者製作)

在捕蟲囊內的條件同是內高時，PVC 的褪色比例，在外在環境是有濃度變化時，褪色比例都較對照組高，特別是中濃度明顯差異，表示貉藻存在外在感知能力，可偵測外在環境的變化。

伍、討論



一、形態觀察

(一)由文獻得知整個捕蟲囊由外緣至中脈約可分成六個區域(Ashida, J. 1934)

- 1.邊緣區：此處葉瓣沿邊緣向內摺疊，附近有牙齒以大、小交錯分布。
- 2.四爪腺毛區：此區域內表皮分布四爪腺毛，而外表皮分布雙歧毛狀體。
- 3.光滑區：此處內、外表皮的腺體分布稀疏或無，為單層區域與三層區域交會區。
- 4.密腺區：內表皮密布消化腺轉移細胞，外表皮則有雙歧毛狀體。此區域富含腺體且為三層細胞，故顏色較深。
- 5.稀腺區：內表皮稀疏分布消化腺轉移細胞，外表皮則幾乎無雙歧毛狀體。
- 6.運動區：此處位於中脈附近，為啟動捕蟲囊開闔機制的重要區域。中脈上內部富含消化腺轉移細胞及觸發毛；外部則富含雙歧毛狀體。

我們首先使用食用色素如藍色一號、紅色六號以及黃色四號進行染色，僅能看到消化腺轉移細胞。改以剛果紅與亞甲藍才能清楚分辨內表皮的消化腺轉移細胞、四爪腺毛以及外表皮的雙歧毛狀體，唯觸發毛不易上色，無法判斷其分布位置。

(二)貉藻的開闔週期約可分成閉闔運動與恢復運動(Ashida, J. 1934)。如圖 2，閉闔運動因為貉藻在接受外在刺激後，內表皮瞬間失去膨壓而使捕蟲囊關閉，再因外表皮膨壓漸增，往內關閉力量增加而使捕蟲囊呈現收窄現象。恢復運動則由內表皮逐漸恢復膨壓，而將捕蟲囊撐膨脹成關閉狀態，再因內表皮膨壓漸增而使捕蟲囊恢復成展開情形。

(三)水蚤整個消化過程大約 13、14 天：

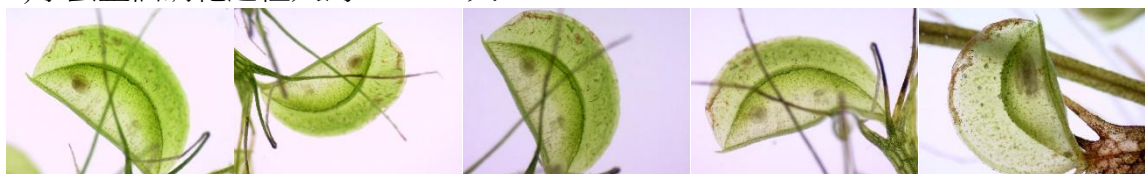


圖 35. 貉藻消化過程(作者製作)

我們餵食水蚤給貉藻(約 0.3cm)，從貉藻確實捕捉到水蚤的第一天到第七天，水蚤都還是有活動力的，但隨著天數的增加水蚤的活動力慢慢下降，在約第十三、十四天時水蚤被消化分解。貉藻在捕食獵物後，捕蟲囊會累積茉莉酸，誘導半胱氨酸蛋白酶(消化酶)的分泌(Jakšová J, et al., 2021)，所以我們推測捕食、分泌及吸收是不一樣的三個階段，這樣有助於減少消化液的浪費。

(四)貉藻因以各種浮游生物及水蚤為食物，所以我們以牛清蛋白及甲殼類模擬食物。

為探討特定蛋白表達的調控作用，我們將實驗組分為兩組：增強功能組，接受誘導性處理，以促進目標蛋白的表達，例如以牛血清蛋白及甲殼素餵食貉藻；抑制功能組，施加抑制條件，預期降低該蛋白質的表達量，例如以酒精及氯化汞素餵食貉藻。並增加 PVC 組以了解 PVC 是否影響蛋白表達。由蛋白質含量看出酒精略抑制，而氯化汞的抑制效果明顯；牛血清蛋白及甲殼素與對照組相近，而 PVC 幾乎不受影響。再將樣品以 SDS-PAGE 分析，檢測貉藻可能具有的蛋白酶。

(五)貉藻的取得會受到季節性影響：

一般在春、夏、秋季，生長最好，但在冬季水溫低下時，會進入休眠狀態，產生休眠芽，這是貉藻普遍適應生態的特徵(Cross, Adam. 2013)。今年冬天特別長，儘管到三月仍有冷氣團南下，以致實驗受到影響。

二、鹽類實驗

(一)水通道蛋白對褪色的影響：

從文獻(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)中我們發現在使用了水通道蛋白抑制劑 HgCl_2 之後，會使得貉藻的內部膨壓變小，導致貉藻關閉；但若先泡在 β -巰基乙醇中 30 分鐘，會破壞蛋白質結構，使得接下來再使用 HgCl_2 時，會使貉藻捕蟲囊呈現半開的現象。

(二)1.鹽類實驗中發現，在 30 分鐘內，數據隨著鹽類濃度增加，褪色比例升高

2.我們會先根據鹽類圖形的趨勢來決定數學模型是採用自然對數函數或是一次函數，再以 R^2 的大小判定模型的擬和度，例如 0.5M 在 30 分鐘的折線圖近似對數函數圖形，所以我們用自然對數函數去擬合，而 0.1M 和 0.3M 的折線圖近似一次函數圖形，所以我們用一次函數去擬合。

3.利用數學模型擬合褪色比例達 100%時的時間，我們發現內高外低的 0.3M 所需時間反而比 0.5M 短，因為用曲線擬合時，有可能趨勢線的斜率最後高於實際值，此時會高估，反之則低估，但模擬推論還是有實用上的需要。

(三)鹽類對貉藻捕蟲囊褪色現象的整理

運動區的內表皮膨壓增加時，會使捕蟲囊呈現張開趨勢；外表皮膨壓增加時，會使捕蟲囊呈現關閉趨勢。如圖 38 內低外高的情形，因內腔濃度低，內腔的水往內表皮移動，膨壓上升，使捕蟲囊呈現打開趨勢；因外圍濃度高，水由外表皮往外圍移動，膨壓下降，使捕蟲囊呈現打開趨勢。故內低外高褪色比例較其他情形為高。

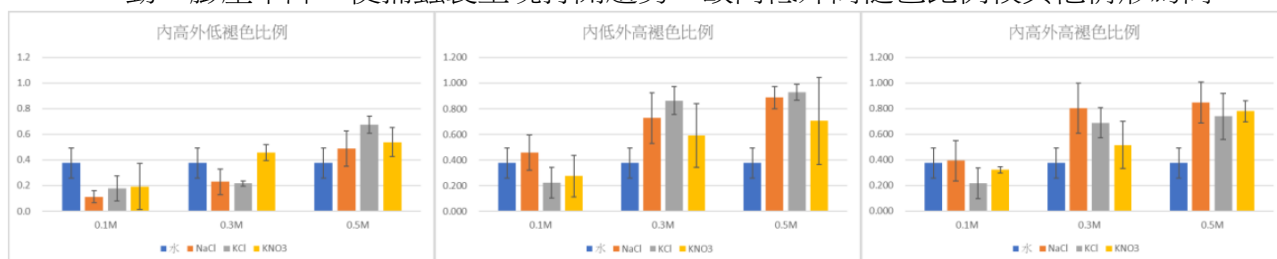


圖 36.鹽類褪色比例整理

三、PVC 實驗

(一)我們發現所有濃度的顏色都會隨著時間的增加慢慢褪去，但在內高外高環境中，中濃度褪色比例最高。因此我們推測影響貉藻褪色的原因，可能不單純只是物理性微粒的濃度高低，而是貉藻捕蟲囊內外環境的平衡。

(二)我們推測 PVC 的濃度差異可能會類似擴散作用，影響水分運輸，造成顏色的改變，而高濃度的 PVC，會對捕蟲囊造成阻塞的狀況，影響捕蟲囊的開闢和生長。貉藻會因為吸附 PVC 導致其生理受到破壞而死亡；而鹽類實驗，也會對貉藻造成傷害，但這些鹽類的離子，其實都是貉藻生存的元素之一，即使會受到一定的影響，但牠會利用長出側芽來繼續存活(如圖 36)。



圖 37.貉藻逆境下的反應(作者製作)

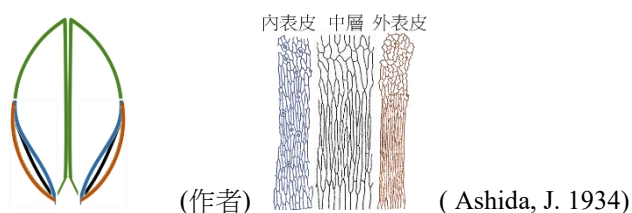


圖 38.貉藻內高外低的情形(作者整理)

四、我們的實驗設計是先將貉藻離心，使捕蟲囊受擾動而閉合，再設計不同環境來測試其反應。我們發現在相同的囊內狀況下，當外在環境改變時，貉藻對高濃度的反應較低濃度大，且有明顯一致的反應。而外表皮上的腺體為雙歧毛狀體，故推得雙歧毛狀體能感受外在環境的變化，不論是對鹽類的滲透壓反應或是 PVC 溶液的擴散反應皆具偵測功能，並間接證明阿拉伯半乳聚醣蛋白(AGPs)在雙歧毛狀體上扮演植物訊息傳遞者 (Płachno, BJ, et al., 2023)。

陸、結論

- 一、我們透過顯微鏡觀察，發現貉藻的內表皮中央區域和中脈附近分布許多消化腺轉移細胞，其功能是分泌及吸收；另外也分布 10 幾根觸發毛，其功能是受到擾動時，啟動關閉機制。四爪腺毛則是在內表皮的邊緣附近，雙歧毛狀體主要是在外表皮的中脈附近。
- 二、影響捕蟲囊褪色與開闔的原因：
 - (一)物理性干擾：例如釣魚線或水蚤刺激捕蟲囊上的觸發毛、離心利用水流擾動，或是 PVC 阻塞運輸通道
 - (二)化學性干擾：鹽類、水通道蛋白抑制劑 HgCl_2
 - (三)生物機制：消化腺轉移細胞吸收、滲透壓、雙歧毛狀體的感知與腺體分泌
- 三、貉藻極易受擾動，稍微移動，就會造成有些關閉，所以無法讓閉闔時間一致。此外從餵食水蚤實驗中發現，貉藻不會主動閉合，因此以離心方式使捕蟲囊閉合住紅墨水，再記錄其褪色比例，是本實驗特別之處。
- 四、實驗中觀察到捕蟲囊在 0.1 秒關閉(Westermeier Anna S. et al.,2018)，水蚤 0 至 7 天可在捕蟲囊內活動，之後 7 至 14 天停止活動並被消化吸收。另外貉藻在捕捉獵物後，可以經由捕蟲囊內累積的茉莉酸來誘發其分泌消化酵素(半胱氨酸蛋白酶)(Jakšová J, et al., 2021)。由觀察與文獻推論捕食、分泌、吸收應為三個不同的階段。
- 五、鹽類半小時的實驗中發現，在高濃度環境褪色比例較高。PVC 一小時的實驗中發現，在內高外高環境中，中濃度褪色比例最高。另外以離心閉合 PVC 的實驗，發現經過三天後 PVC 可能被吸附到葉柄。
- 六、我們的實驗設計是先將貉藻離心，使捕蟲囊受擾動而閉合，再設計不同環境來測試其反應。外表皮上的腺體為雙歧毛狀體，在相同的囊內狀況下，當外在環境改變時，貉藻對高濃度的反應較低濃度大，且有明顯一致的反應。故推得，不論是對鹽類的滲透壓反應或是 PVC 溶液的擴散反應，雙歧毛狀體均能感受外在環境的變化並具偵測功能(Płachno, BJ, et al., 2023)。

七、未來展望

(一)水壩攔水繩可建構 DNA 螺旋性貉藻，將大型垃圾利用水力旋轉至兩旁垃圾集中區，再利用開闔機制先將水中小型垃圾捕獲至捕蟲囊，再透過中脈吸附垃圾，將水中垃圾清除(如圖 39)。

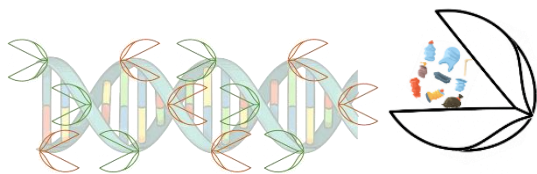


圖 39.仿生攔水繩概念圖(作者製作)

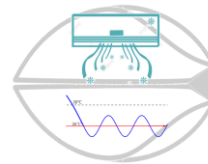


圖 40.以變頻冷氣模擬貉藻高效率捕食運動概念圖(作者製作)

(二)我們推測捕食、分泌消化液(Jakšová J, et al., 2021)及吸收是不一樣的三個階段，這種機制就像是能持續偵測溫度，讓供電頻率彈性變化的變頻冷氣(如圖 40)，可以達到節能的效果，所以貉藻是高效率的水中食肉植物。

(三)適應性建築(adaptive building)的技術發展，此技術概念源自貉藻，利用中脈的彎曲變形得以對兩個葉面進行自由的展開與摺疊(Westermeier Anna S. et al.,2018)，使得原本保護機制的牆面，轉變為具互動調節的建築表層，並賦予建築自由的生物延展特性。如圖 41，黃色方塊表示貉藻闔起而呈現透光情形，藍色方塊表示貉藻打開而呈現不透光情形，取代傳統窗簾只能單向開關；隨著方塊個數增加，將使調節機能更加靈活有變化。

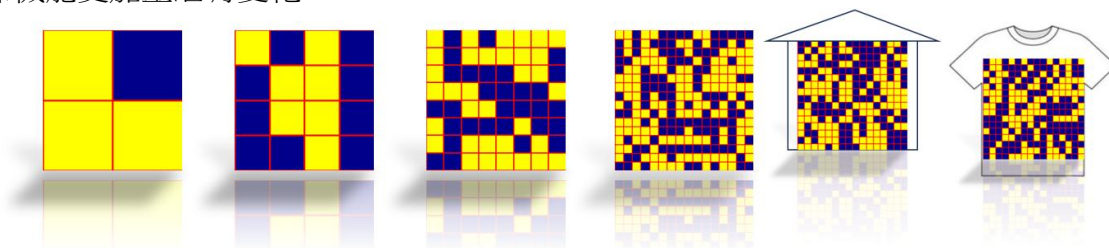


圖 41.仿生適應性建築概念圖(作者製作)

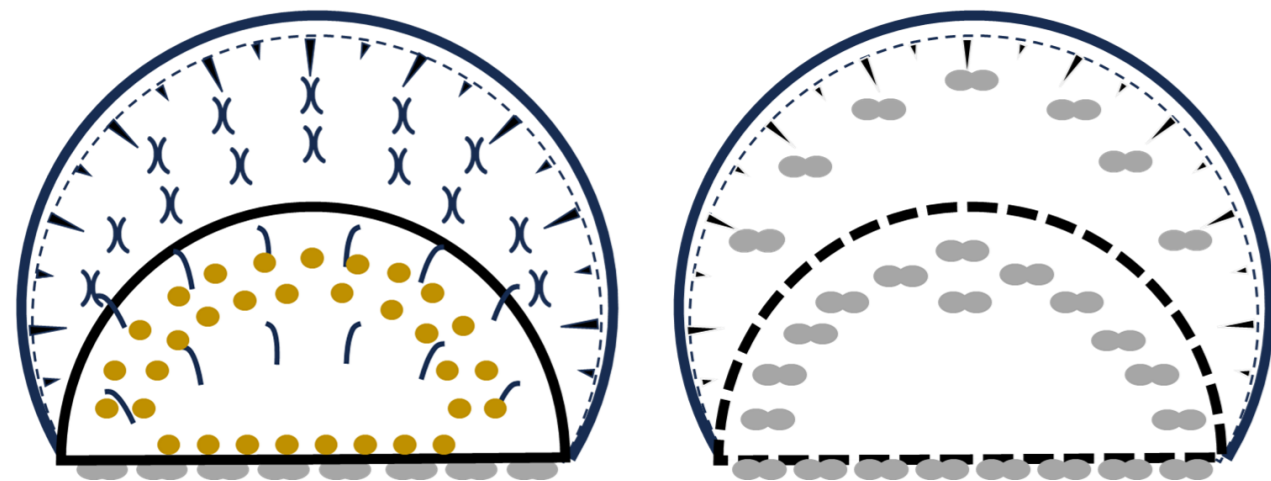
柒、參考文獻

- 1.葉名倉等。(2022)。高中化學(V)。臺南市：南一書局
- 2.洪禎珍。(2020)。撲朔醜狸－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
- 3.Ashida, J. (1934). Studies on the leaf movement of *Aldrovanda vesiculosa* L. I. Process and mechanism of the movement. *Memoirs of the College of Science, Kyoto Imperial University. Series B*, 9, 141–244.
- 4.Cross, A. (2013). Turion development is an ecological trait in all populations of the aquatic carnivorous plant *Aldrovanda vesiculosa* (Droseraceae). *Carnivorous Plant Newsletter*, 42(2), 57–61.
- 5.Król, E., Płachno, B. J., Adamec, L., Stolarz, M., Dziubińska, H., & Trębacz, K. (2012). Quite a few reasons for calling carnivores ‘the most wonderful plants in the world’. *Annals of Botany*, 109(1), 47–64.
- 6.Shimai, H., & Ohmori, T. (2023). Threatened aquatic plant *Aldrovanda vesiculosa* L.: A review of its discovery and extinction in Japan. *Aquatic Botany*, 188, 103521.
- 7.Ivanova, A. N., & Muravnik, L. E. (2005). Pharmaceutical study of *Aldrovanda vesiculosa* trap movement. In XVII International Botanical Congress, Vienna, Austria.
- 8.Jakšová, J., Adamec, L., Petřík, I., Novák, O., Šebela, M., & Pavlovič, A. (2021). Contrasting effect of prey capture on jasmonate accumulation in two genera of aquatic carnivorous plants (*Aldrovanda*, *Utricularia*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 459–465.
- 9.Freund, M., Graus, D., Fleischmann, A., Gilbert, K. J., Lin, Q., Renner, T., Stigloher, C., Albert, V. A., Hedrich, R., & Fukushima, K. (2022). The digestive systems of carnivorous plants. *Plant Physiology*, 190(1), 44–59.
- 10.Meyers, N., Catarino, A. I., Declercq, A. M., Brenan, A., Devriese, L., Vandegheuchte, M., De Witte, B., Janssen, C., & Everaert, G. (2022). Microplastic detection and identification by Nile red staining: Towards a semi-automated, cost- and time-effective technique. *Science of the Total Environment*, 823, 153635.
- 11.Płachno, B. J., Kapusta, M., Stolarczyk, P., & Świątek, P. (2023). Immunocytochemical analysis of bifid trichomes in *Aldrovanda vesiculosa* L. traps. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 4167.
- 12.Płachno, B. J., Kapusta, M., Stolarczyk, P., Świątek, P., Strzemiński, M., & Miranda, V. F. O. (2022). Immunocytochemical analysis of the wall ingrowths in the digestive gland transfer cells in *Aldrovanda vesiculosa* L. (Droseraceae). *Cells*, 11(14), 2218.
- 13.Westermeier, A. S., Sachse, R., Poppinga, S., Vögele, P., Adamec, L., Speck, T., & Bischoff, M. (2018). How the carnivorous waterwheel plant (*Aldrovanda vesiculosa*) snaps. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1880), 20180012.

【評語】 052103

1. 本研究目的在探討不同鹽類與物理性微粒對貉藻褪色現象之影響與物質吸收情形。這項研究結合植物生理與仿生應用，針對貉藻對鹽類與微粒的反應進行觀察，初步指出雙歧毛狀體對外在環境具偵測功能。
2. 仿生應用僅為初步構想，但十分有創意。
3. 實驗設計之嚴謹控制與量化數據仍待加強。如可進一步研究對於 pvc 物質吸收情形，可更符合研究動機。
4. 墨水褪色機制及微粒影響仍待進一步釐清，例如說明褪色現象實驗的設計，是用以觀測貉藻的吸收/消化方式或是捕蟲機制。建議加強機制之驗證。

作品海報



貉不貉胃口~探討貉藻受不同鹽類及物理性微粒的影響

摘要

本研究探討不同鹽類與物理性微粒對貉藻褪色現象之影響與物質吸收情形。我們觀察到捕蟲囊表皮細胞有三種細胞型態，分別是內表皮的消化腺轉移細胞與四爪腺毛，和外表皮的雙歧毛狀體。過程中推論捕食、分泌與吸收應為三個不同階段。從餵食水蚤實驗中發現，貉藻不會主動閉合，因此以離心方式使捕蟲囊閉合住紅墨水，再記錄其褪色比例。鹽類半小時內，高濃度環境可加速褪色；實驗中PVC被觀察到可能吸收到葉柄，另外，一小時內，囊內、外有中濃度微粒也會加速褪色。由褪色實驗亦可證實外表皮的雙歧毛狀體對外在環境，不論是對鹽類滲透反應或是微粒的擴散作用，都具偵測能力。未來若能深入了解其囊體構造與觸發機制，將有助於仿生開闔裝置之研發。

壹、前言

一、研究動機

在高二的生物課程中，我們接觸到與食蟲植物相關的內容，因而對其產生興趣，並開始主動查找相關資料。過程中，我們發現許多食蟲植物的捕蟲機制相當獨特，特別是貉藻具有像捕蠅草一樣的開闔機制。同時，我們關注到當前環境污染問題，其中塑膠污染尤為嚴重。研究顯示，在水樣與水棲昆蟲樣本中，普遍檢測到微塑膠的存在，例如聚氯乙烯PVC、聚丙烯(Polypropylene, PP)等，這些材料常用於製造塑膠用品，如免洗餐具、塑膠袋與食品容器等。研究中發現貉藻有吸附PVC現象，為了減少一次性塑膠製品所造成的微塑膠污染，我們希望透過研究食蟲植物，特別是貉藻的捕蟲機制與吸附特性，探索其在環境保護上的潛在應用，進一步尋找解決塑膠污染問題的可能方案。

二、研究目的

- (一)貉藻形態觀察與蛋白酶檢測
- (二)觀察貉藻捕蟲囊的開闔現象
- (三)探討在鹽類環境下，貉藻捕蟲囊的褪色現象
- (四)觀察貉藻對塑膠微粒的吸附情形
- (五)探討在物理性微粒環境下，貉藻捕蟲囊的褪色現象

三、文獻探討

貉藻(*Aldrovanda vesiculosa* L.)屬於茅膏菜科(Cross, Adam. 2013)，是一種漂浮在水面下的稀有且瀕臨絕種的水生淡水食肉植物，廣泛分布於歐洲、亞洲、非洲和澳洲(Hiro Shimai, Takehiro Ohmori. 2023)。這種植物沒有根，其線狀枝條長約 10 至 30 公分，漂浮於水中，並長有大量葉輪。其捕食結構位於葉子末端，由 5 至 9 個陷阱圍繞莖部呈環狀放射排列，由於外觀類似水車，因此又被稱為「水車植物」(Elżbieta Król, et al., 2012) (Jakšová J, et al., 2021)。貉藻的捕蟲囊內佈有觸發毛，經由碰觸這些觸發毛能迅速捕捉小型無脊椎動物、浮游生物及水蚤，以獲取營養，展現食肉植物的特性(Plachno BJ, et al., 2022)。

(一)捕蟲囊

長約2.5至6毫米，由兩片葉片透過中脈相連(Plachno BJ, et al., 2022)，葉由三個細胞層組成：內表皮(上表皮)、中細胞層和外表皮(下表皮)(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)，而內部又可區分為兩個主要區域：中央區域(由兩層表皮細胞與一層葉肉細胞構成，稱為三層區域)與邊緣區域(僅由兩層薄表皮細胞組成，稱為單層) (Jakšová J, et al., 2021)。囊的內外表皮分布著多種類型的毛狀體，各具不同功能，包括雙歧毛狀體、四爪腺毛和消化腺轉移細胞。其中，雙歧毛狀體與四爪腺毛能分泌黏液，以協助捕捉與消化獵物(Plachno BJ, et al., 2022)。位於邊緣下方的觸發毛對機械刺激極為敏感，當獵物碰觸時，陷阱會在約 20 至 100 毫秒內迅速閉合，完成捕食動作(Elżbieta Król,et al., 2012) (Westersteimer Anna S. et al.,2018)。

(二)捕蟲囊上的腺體

- 消化腺轉移細胞：貉藻在捕捉獵物後，可以經由捕蟲囊內累積的茉莉酸來誘發其分泌消化酵素(半胱氨酸蛋白酶)(Jakšová J, et al., 2021)，以此減少消化液的浪費，同時具備吸收與消化獵物的功能。其分布與細胞外的雙歧毛狀體對應，可能存在同步活動的現象(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)。
- 雙歧毛狀體：位於植物捕蟲囊的外表皮，其細胞壁較厚，內部充滿脂類物質，另外頭、柄細胞含有植物訊號分子的阿拉伯半乳聚糖蛋白(AGPs)，而柄、基細胞周圍含有水通道蛋白(Plachno, BJ, et al., 2023)。其存在對捕蟲囊內、外水分平衡極為重要(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)。
- 四爪腺毛：位於陷阱內表皮的邊緣，這個腺體在植物的緩慢運動過程中可能會分泌黏液，而不是單純吸收水分的功能。這種黏液可能有助於捕捉或固定獵物，並可以參與水分的運輸過程(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)。

(三)捕蟲囊食物來源

貉藻不能選擇性地捕捉各類無脊椎動物，無論其大小或運動方式，包括底棲動物、食草動物、緩慢游動或快速游動的生物，其中也涵蓋不同種類的水蚤(Westersteimer Anna S. et al.,2018)。當陷阱捕獲較小的獵物時，通常會在5至6天後重新打開。然而，若是體型相對較大的獵物，陷阱則可能無法再次開啟，顯示出捕食行為與獵物大小之間的密切關聯(Jakšová J, et al., 2021)。

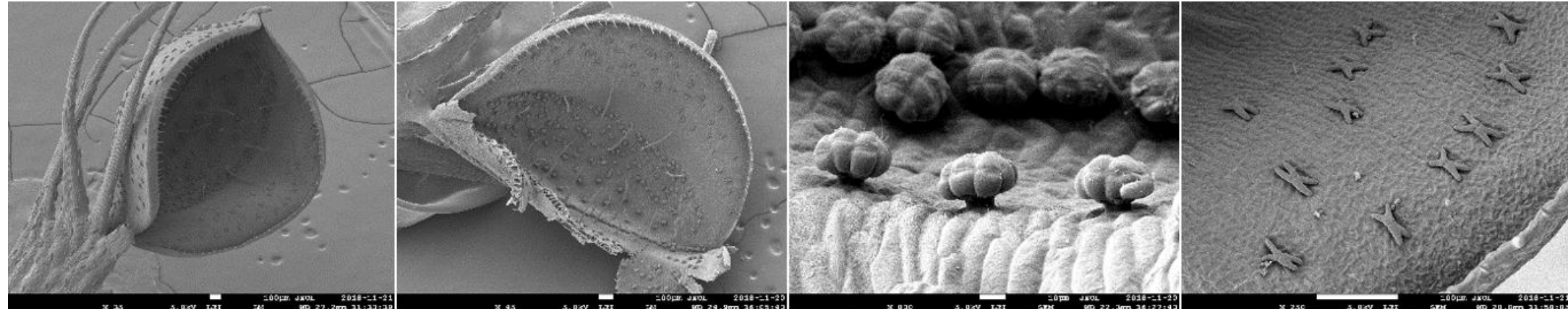


圖1.貉藻的腺體分布(取自 Matthias Freund, et al. 2022)

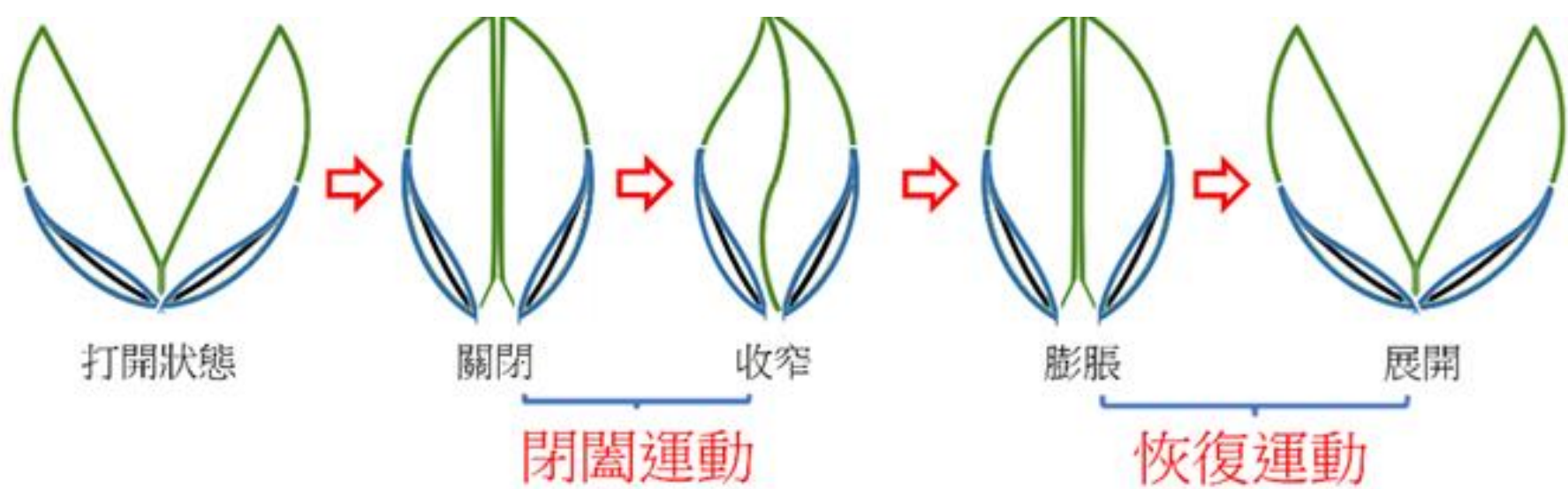


圖2. 捕蟲囊的開闔現象(作者製作)

貳、研究過程與方法

一、實驗流程

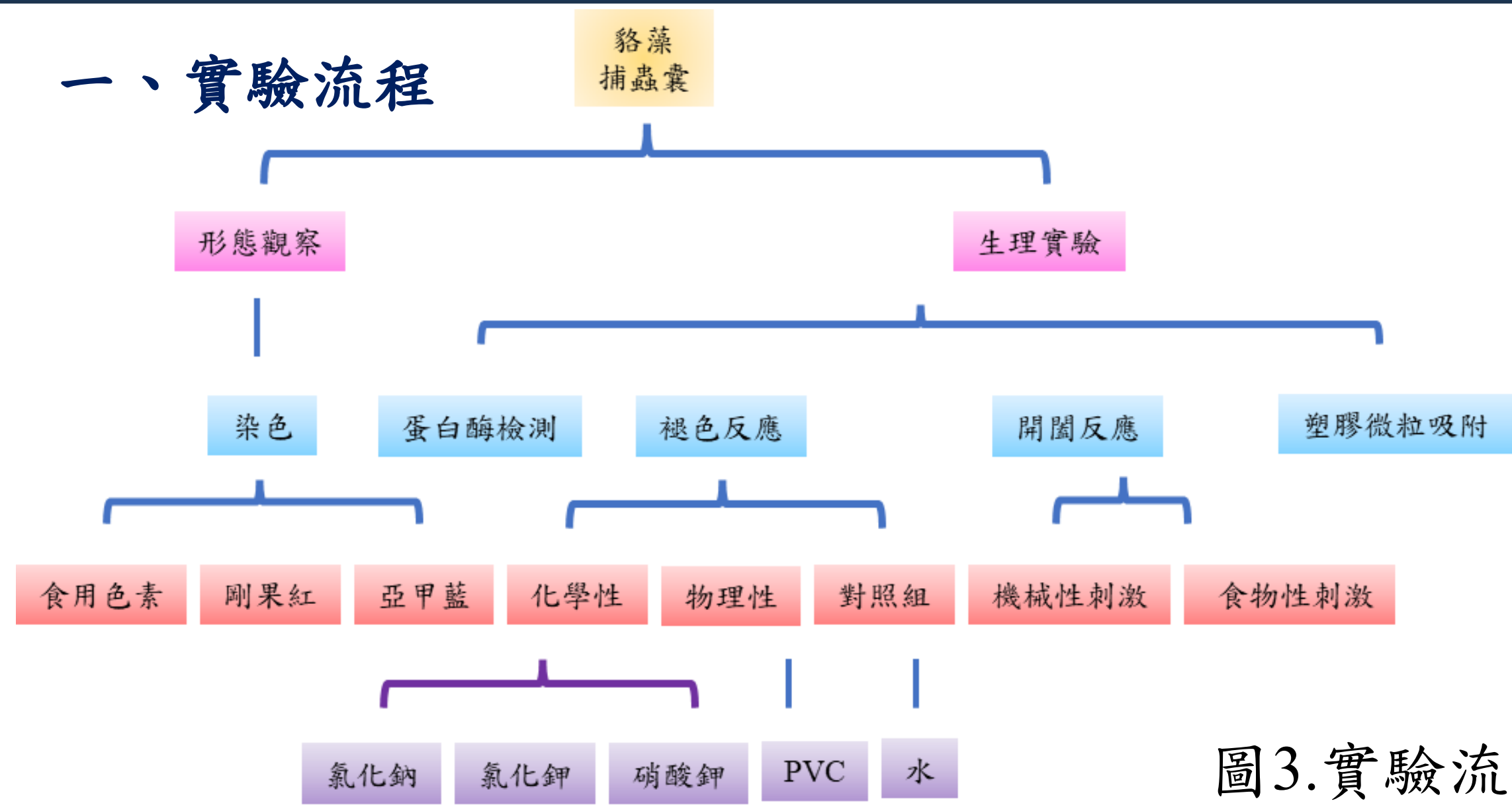


圖3.實驗流程圖(作者製作)

二、研究方法

- 實驗一：貉藻形態觀察
- 實驗二：觀察貉藻捕蟲囊的開闔現象
- 實驗三：鹽類對貉藻捕蟲囊褪色現象的影響
- 實驗四：觀察貉藻對塑膠微粒的吸附情形
- 實驗五：物理性微粒對貉藻捕蟲囊褪色現象的影響

一、型態觀察

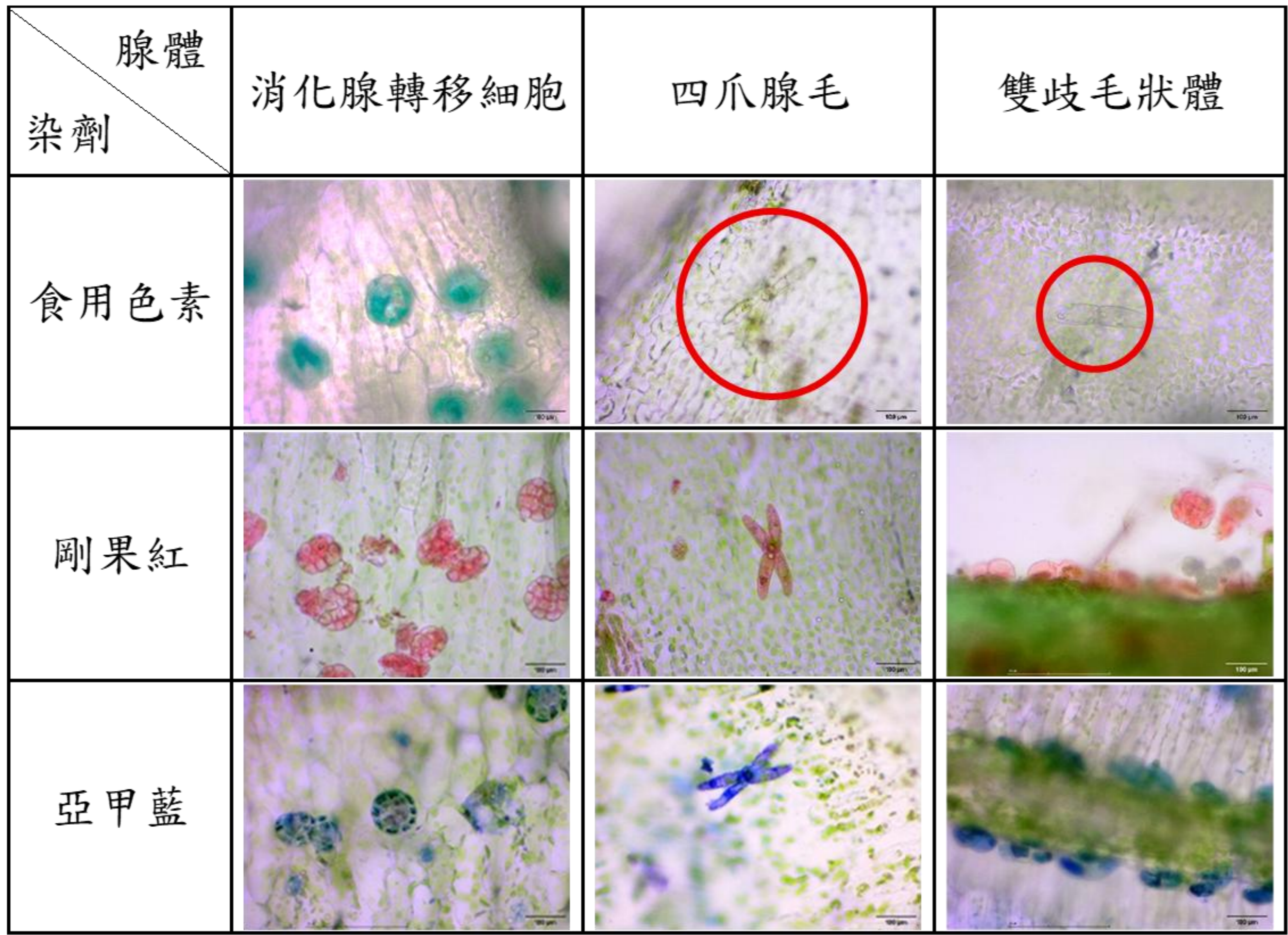


圖4.以不同染劑染色下的腺體(400X，作者製作)

二、貉藻捕蟲囊的開闢現象

(一)機械性刺激



(二)食物性刺激

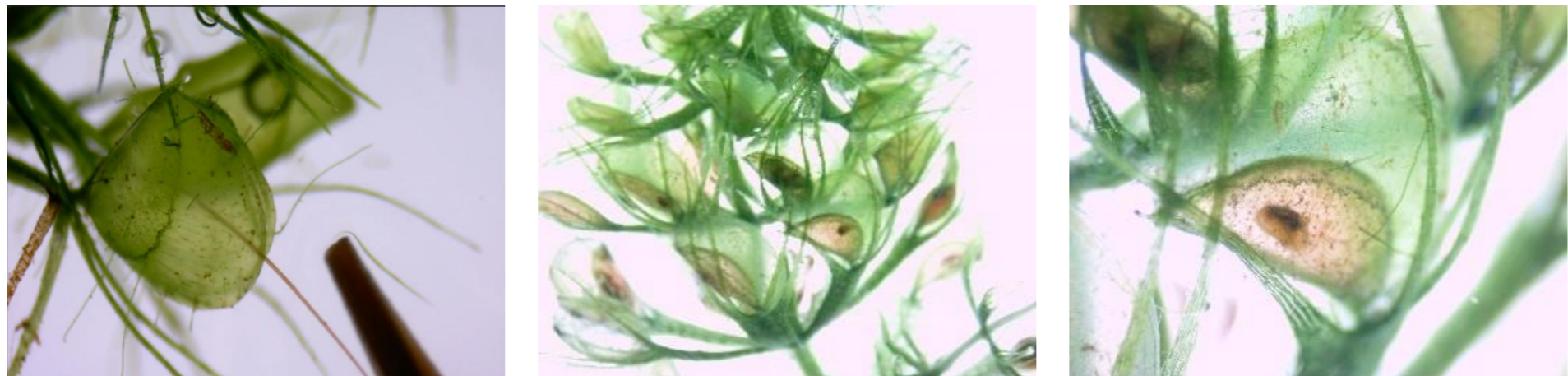


圖5.機械性與食物性刺激(作者製作)



圖6.剛果紅-酵母菌實驗(作者製作)

三、蛋白質電泳

對照組 酒精 HgCl₂ 牛血清甲殼素 PVC

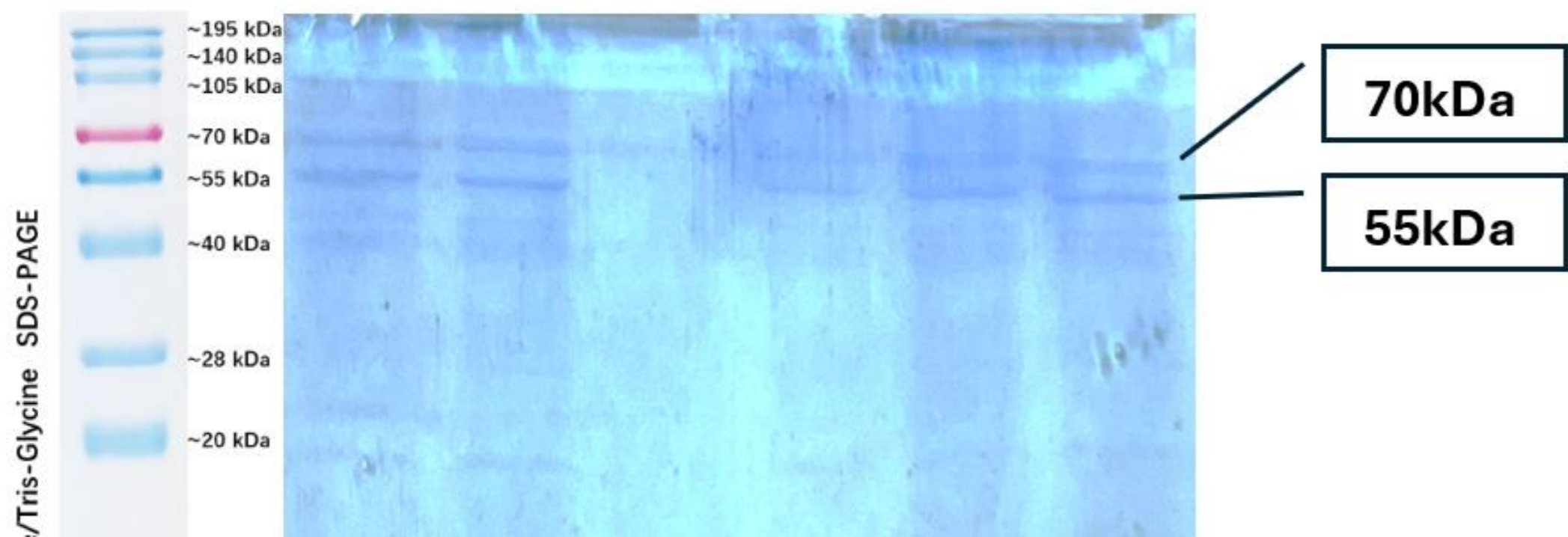
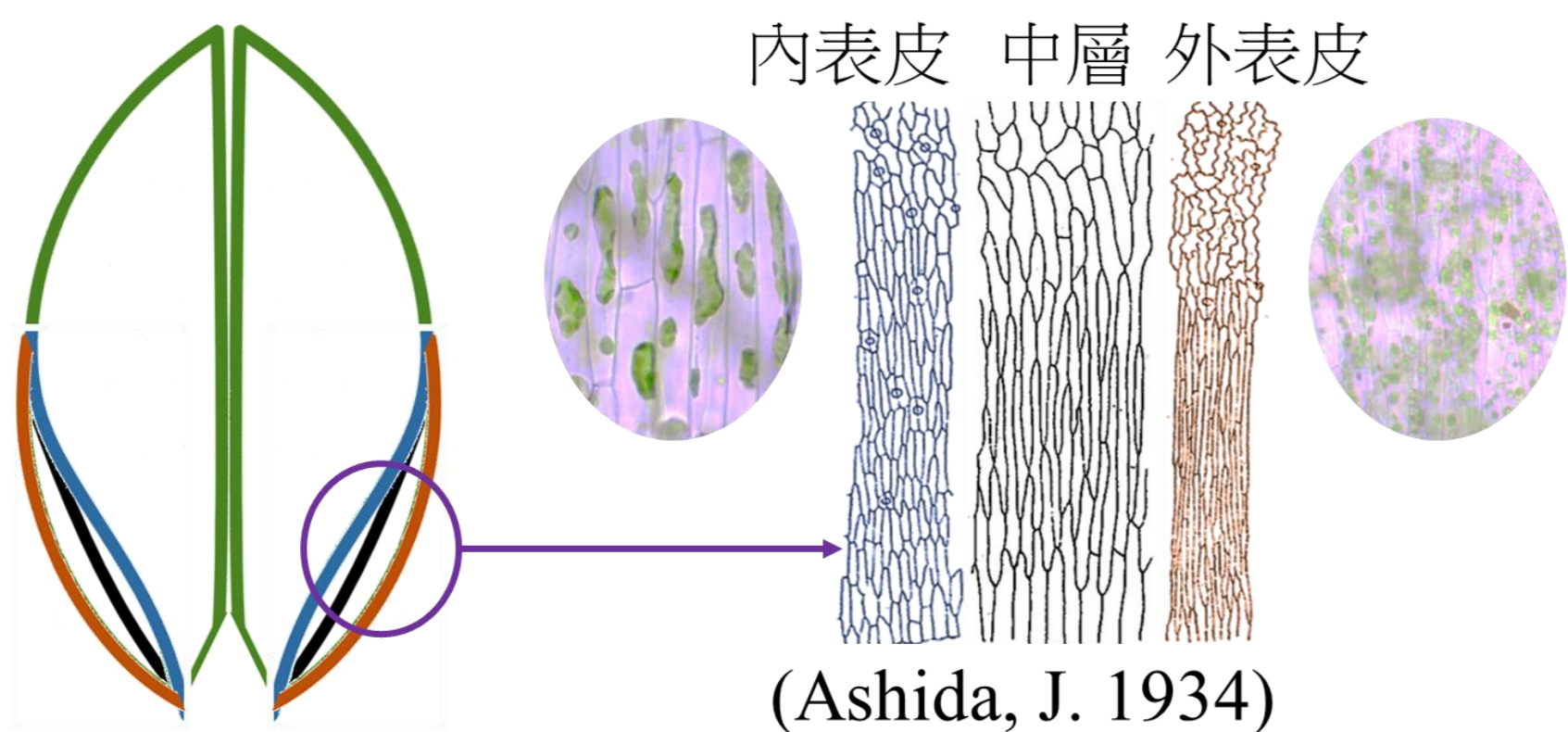


圖7.蛋白質電泳圖(作者製作)

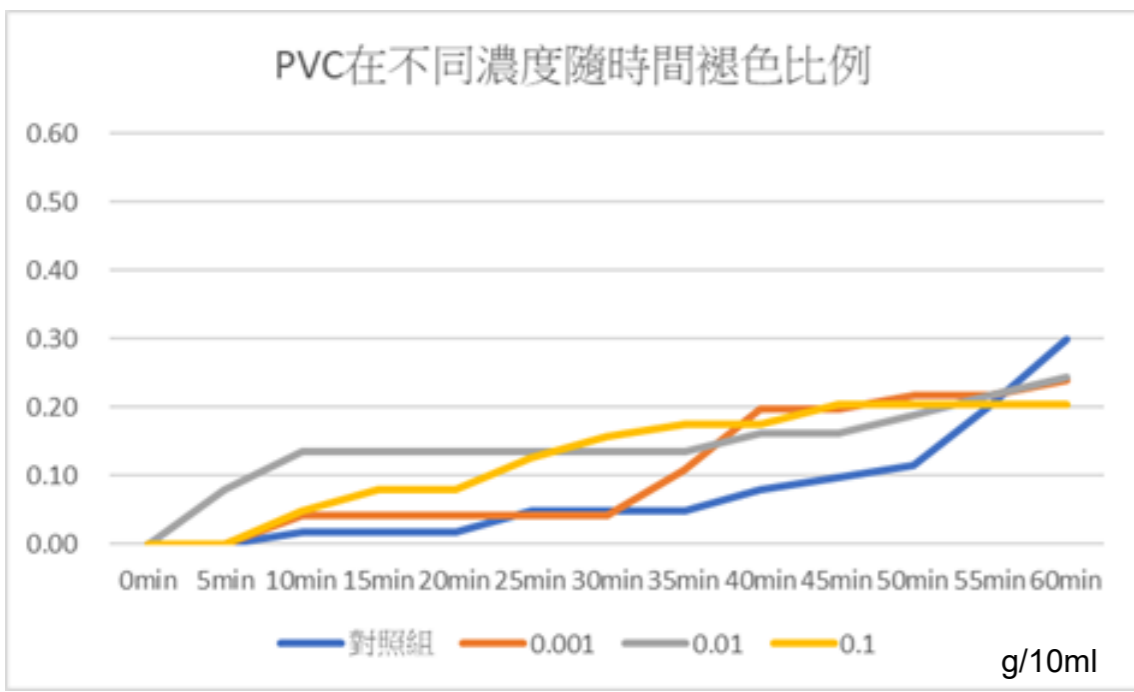


(Ashida, J. 1934)

圖8.貉藻在內低外高的環境示意圖(作者整理)

六、物理性微粒對貉藻捕蟲囊褪色現象的影響

(一)內高外低



(二)內低外高

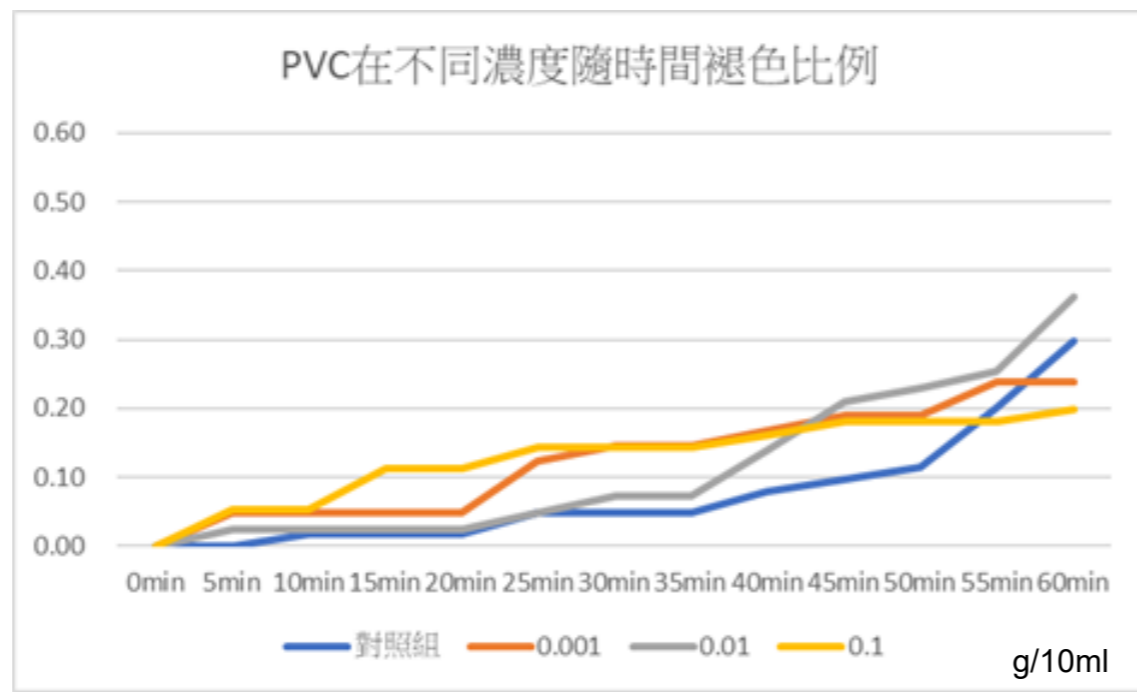


圖16.PVC在不同環境下的折線圖(作者製作)

四、鹽類對貉藻捕蟲囊褪色現象的討論

(一)內高外低

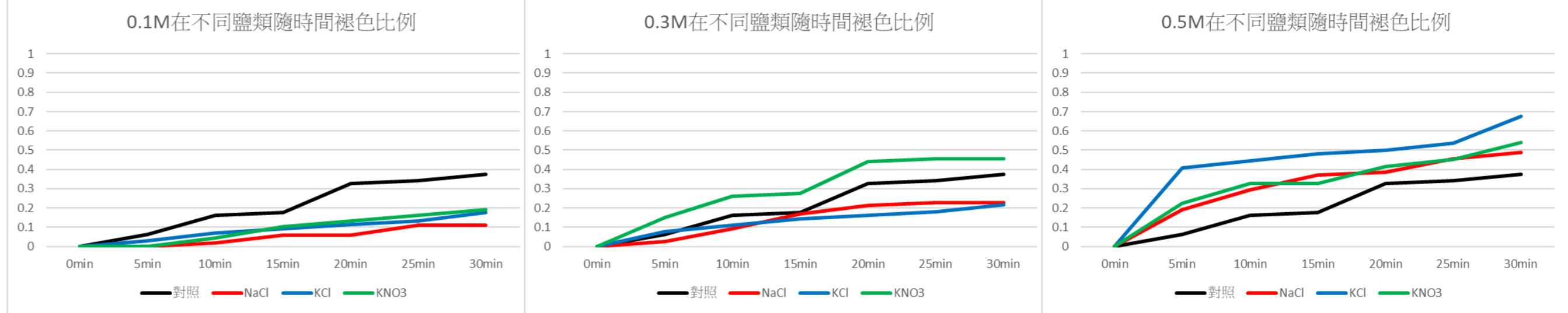


圖 9.鹽類內高外低折線圖(作者製作)

(二)內低外高

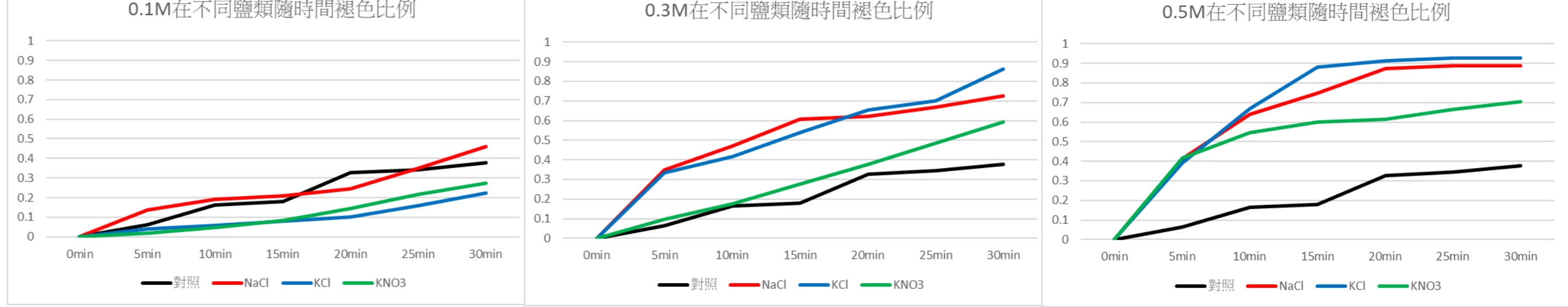


圖10.鹽類內低外高折線圖(作者製作)

(三)內高外高

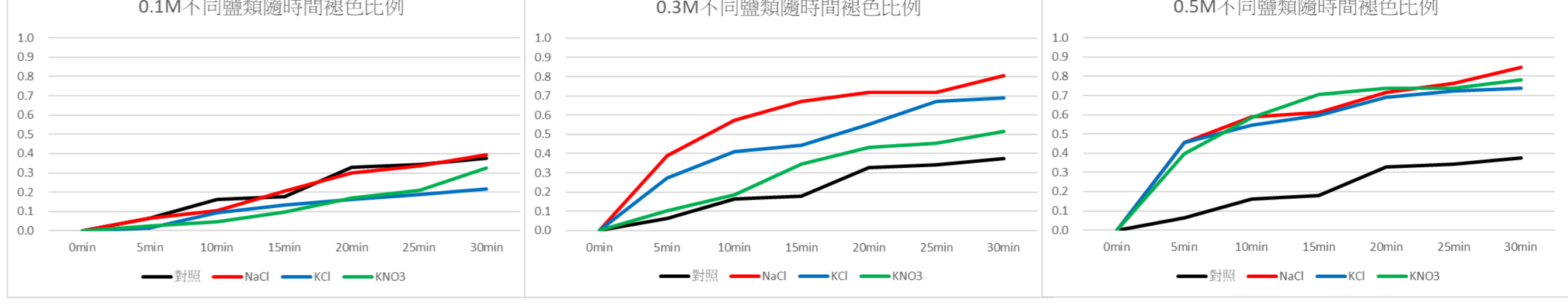


圖11.鹽類內高外高折線圖(作者製作)

(四)鹽類褪色比例

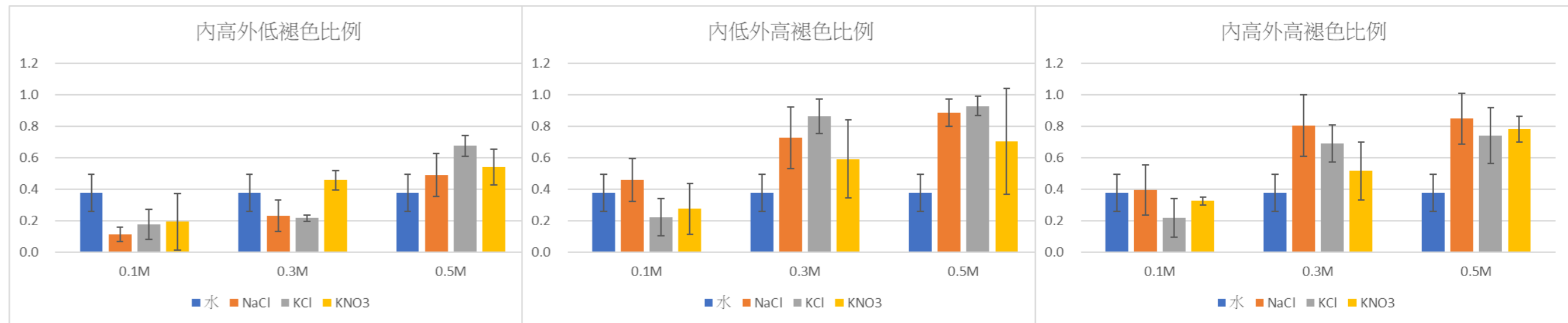


圖12.鹽類褪色比例整理(作者製作)

五、觀察貉藻對塑膠微粒的吸附情形

PVC

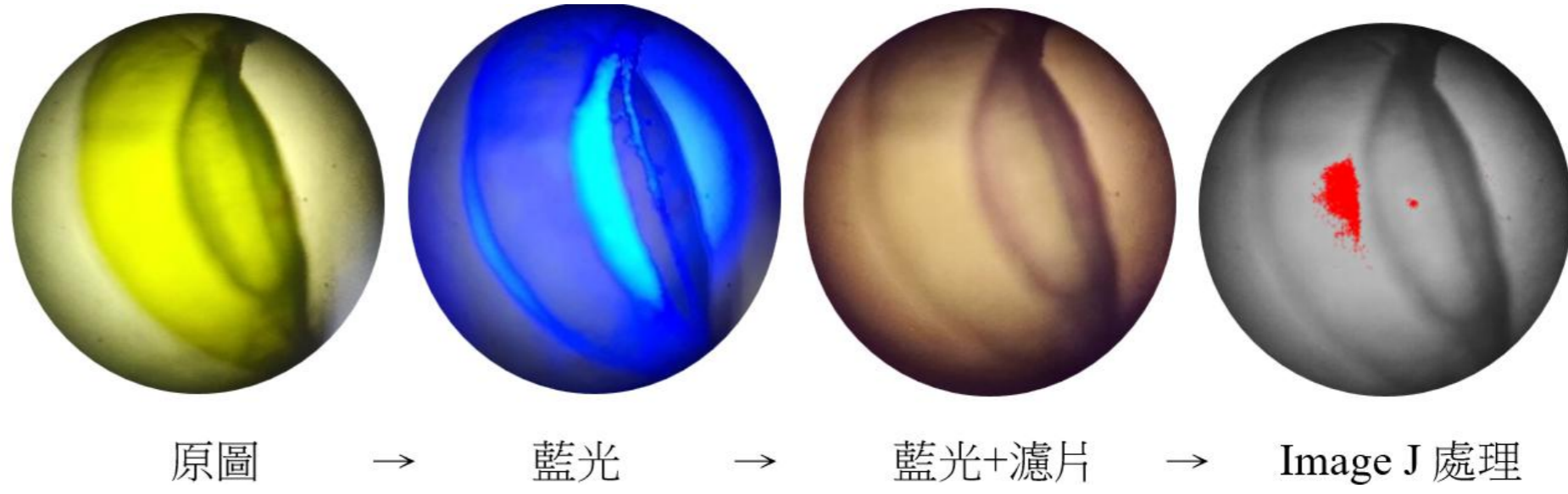


圖13.貉藻捕蟲囊吸附PVC的情形(作者製作)

PP

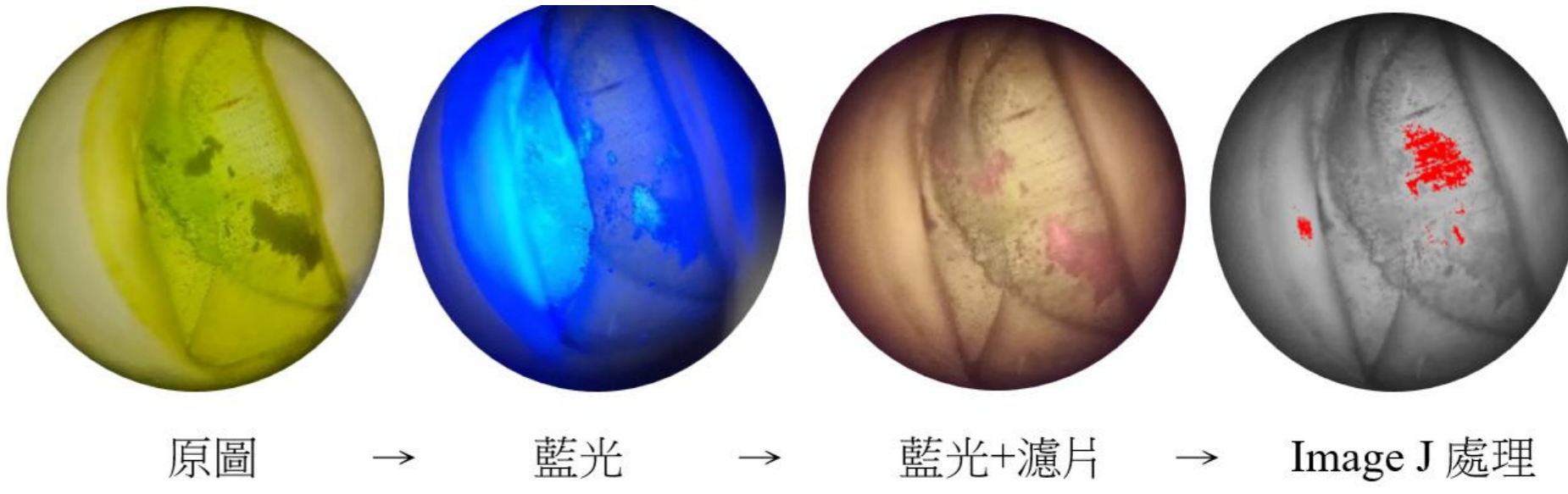


圖14.貉藻捕蟲囊吸附PP的情形(作者製作)

葉柄部位

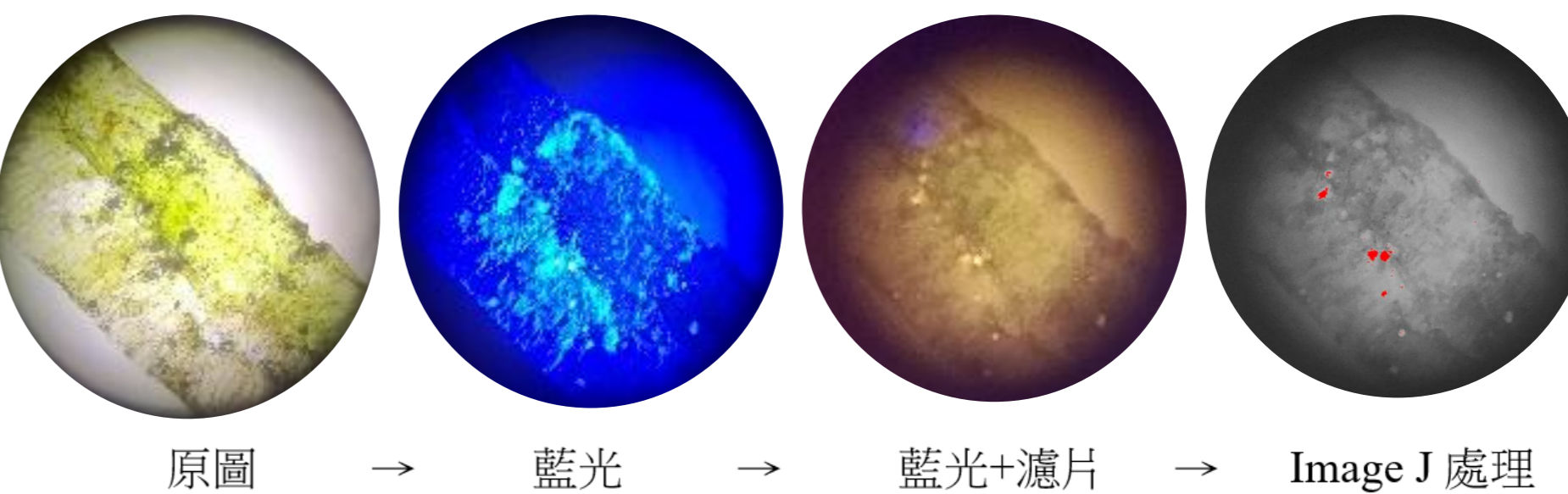
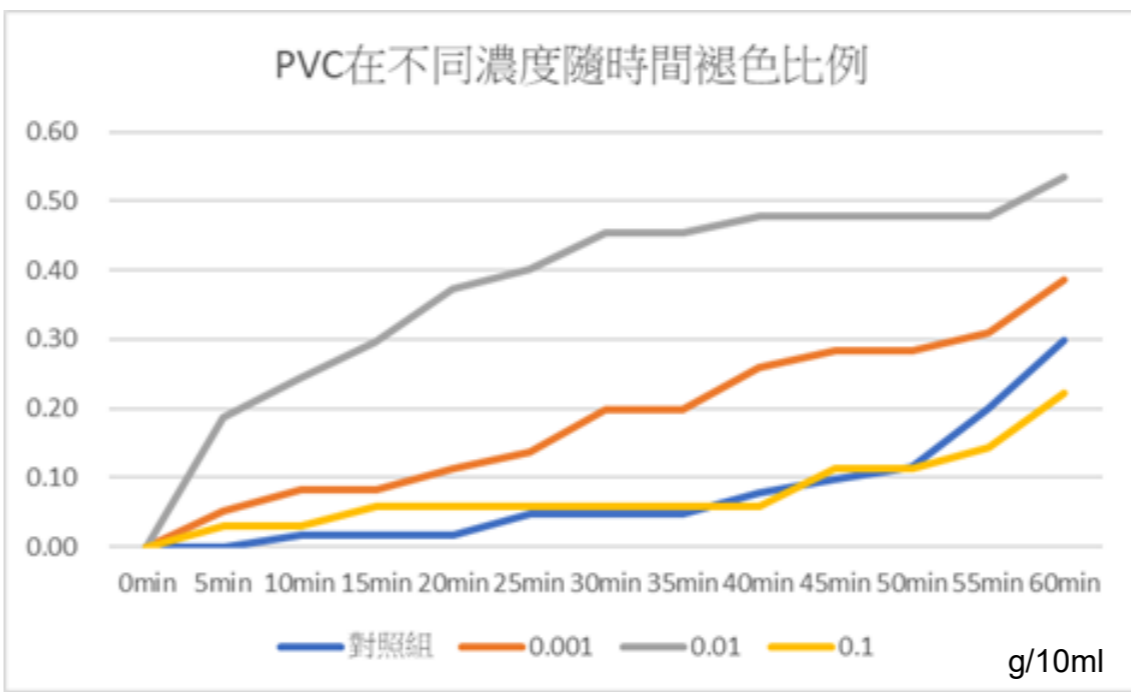


圖15.貉藻葉柄的PVC反應(作者製作)

(三)內高外高



(四)PVC褪色比例

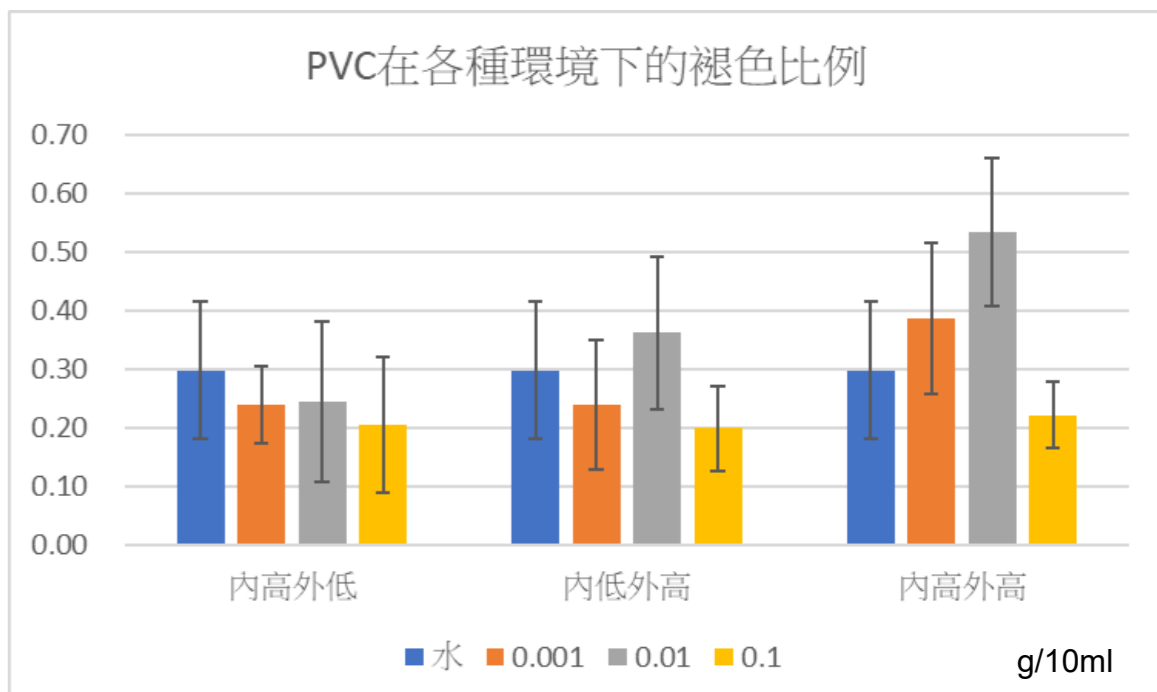


圖17.PVC褪色比例整理(作者製作)

肆、討論

一、型態觀察

1.貉藻圖

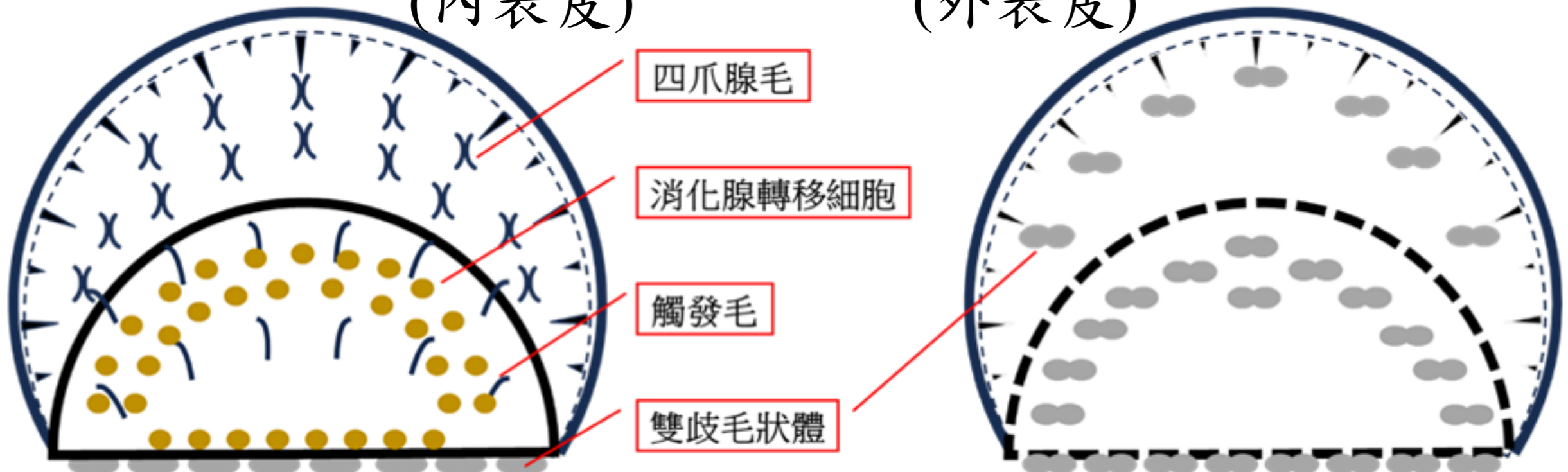


圖18.貉藻內、外表皮腺體分布(作者製作)

2.貉藻在冬季水溫低下時，會進入休眠狀態，產生休眠芽，這是貉藻普遍適應生態的特徵(Cross, Adam. 2013)。

3.在捕蟲囊捕捉水蚤的實驗中，0至7天可見水蚤活動，7至14天停止活動並被消化吸收。由文獻得知貉藻在捕捉獵物後，可經由茉莉酸來誘發其分泌半胱氨酸蛋白酶(Jakšová J, et al., 2021)。再從剛果紅-酵母菌溶液餵食貉藻的實驗中發現，經過3小時多數變藍，再經9小時僅剩一顆捕蟲囊呈現藍色其餘轉紅。由於剛果紅在pH值為3時變成藍色的酸鹼呈色特性，驗證捕食、分泌、吸收應為三階段。

4.本研究以牛血清、甲殼素為食物模擬，作為蛋白表現增強組。以酒精、氯化汞作為抑制組，並增加PVC組以了解PVC是否影響蛋白表達。結果發現對照組、牛血清、甲殼素、酒精及PVC組均有蛋白酶的累積，而氯化汞組則較不明顯。推測可能是汞離子破壞貉藻蛋白結構所致。

二、鹽類實驗

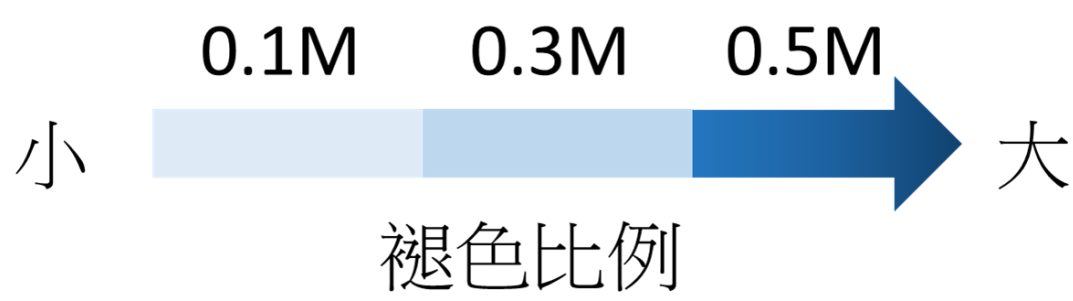
1.水通道蛋白：

從文獻(Ivanova, A.N.; Muravnik, L.E. 2005)中我們發現在使用水通道蛋白抑制劑HgCl₂之後，會使得貉藻的內部膨壓變小，導致貉藻關閉；或是因為破壞蛋白質結構，使得貉藻捕蟲囊呈現半開的現象。

2.以「褪色」作為實驗觀察指標的理由：

- (1)染色實驗顯示，色素可被消化腺轉移細胞吸收，導致濃度改變而顏色變淡。
- (2)當貉藻加入水通道蛋白抑制劑後，其蛋白質結構受到影響，導致捕蟲囊無法完全閉合，呈現半開狀態。
- (3)捕蟲囊因特定生理或環境刺激下而呈現開啟現象。
- (4)觀察到色素溶液從捕蟲囊邊緣滲出來，造成顏色變淡現象。

3.(1)褪色比例



(2)數學模擬預測

趨勢線：

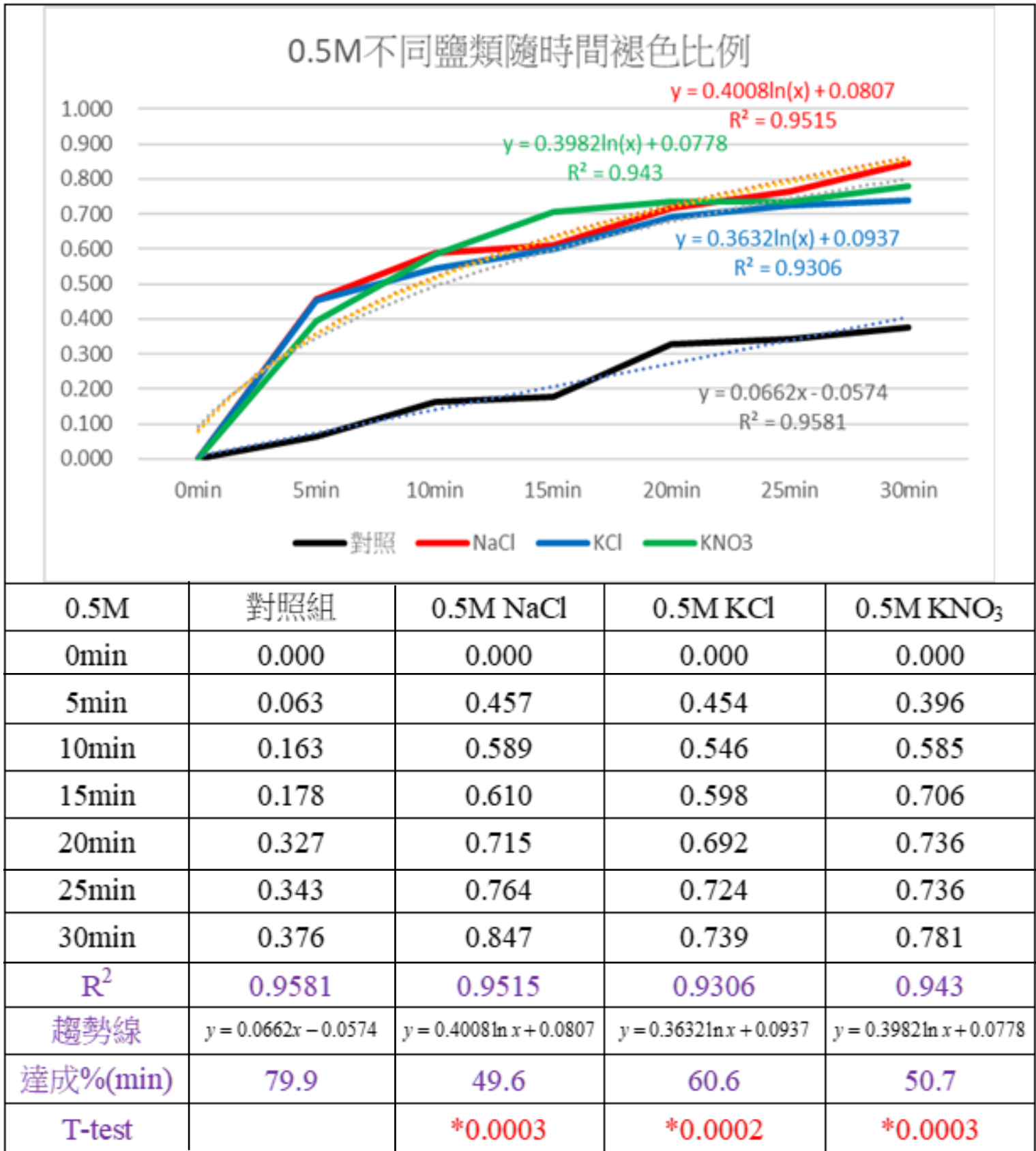
(a)線性模擬： $y = ax + b$

(b)曲線模擬： $y = a \ln(x) + b$

圖19.鹽類褪色比例(作者製作)

(3)鹽類對貉藻捕蟲囊褪色現象的整理

運動區的內表皮膨壓增加時，會使捕蟲囊呈現張開趨勢；外表皮膨壓增加時，會使捕蟲囊呈現關閉趨勢。如圖8內低外高的情形，因內腔濃度低，內腔的水往內表皮移動，膨壓上升，使捕蟲囊呈現打開趨勢；因外圍濃度高，水由外表皮往外圍移動，膨壓下降，使捕蟲囊呈現打開趨勢。故內低外高褪色比例較其他情形為高。



三、PVC實驗

圖20.鹽類趨勢線範例(作者製作)

1.我們發現所有濃度的顏色都會隨著時間的增加慢慢褪去，但在內高外高環境中，中濃度褪色比例最高。因此我們可以知道影響貉藻褪色的原因，可能不單純只是物理性微粒的濃度高低，而是貉藻捕蟲囊內外環境的平衡。

2.我們推測PVC的濃度差異可能會類似於擴散作用，影響水分運輸，造成顏色的改變，而高濃度的PVC，會對捕蟲囊造成阻塞的狀況，影響捕蟲囊的開闔和生長。貉藻會因為吸附 PVC 導致其生理受到破壞而死亡；而鹽類實驗，也會對貉藻造成傷害，但這些鹽類的離子，都是貉藻生存的元素之一，即使會受到一定的影響，但會利用長出側芽來繼續存活。

四、感知能力

在相同的囊內狀況下，當外在環境改變時，貉藻對高濃度的反應較低濃度大，且有明顯一致的反應。因為雙歧毛狀體位於外表皮上，由文獻得知雙歧毛狀體含有阿拉伯半乳聚醣蛋白(AGPs)，而AGPs也是植物信號分子，故推論雙歧毛狀體能感知外在環境的變化(Plachno, BJ, et al., 2023)。

(1)鹽類處理

(2)PVC處理



圖21.貉藻逆境下反應(作者製作)

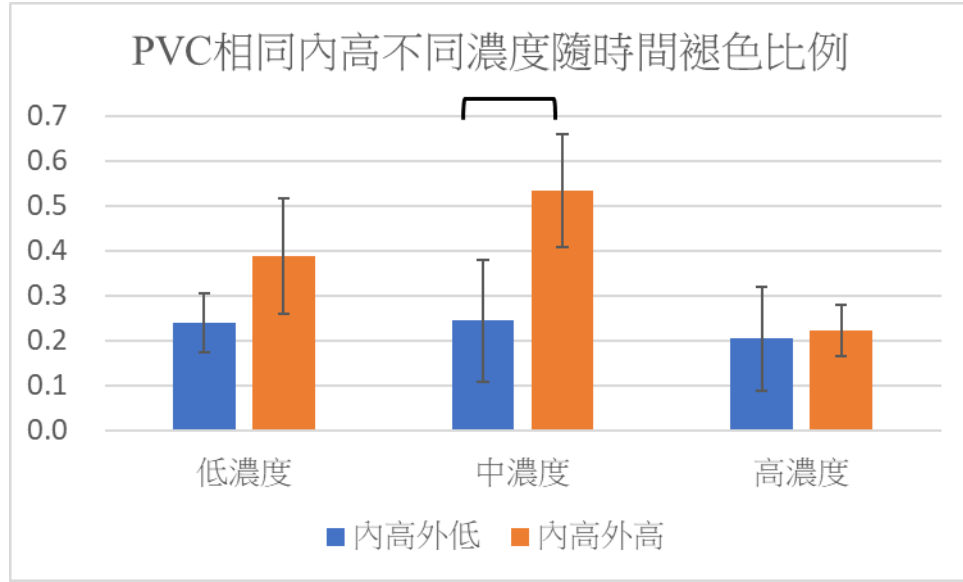


圖22.PVC內高外低與內高外高比較圖(作者製作)

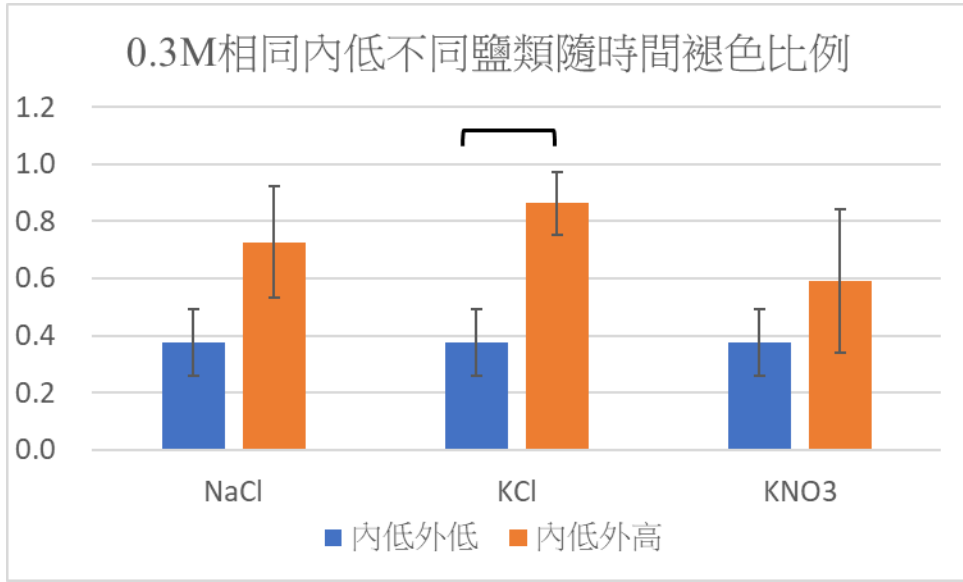


圖23.鹽類內低外低與內低外高比較圖(作者製作)

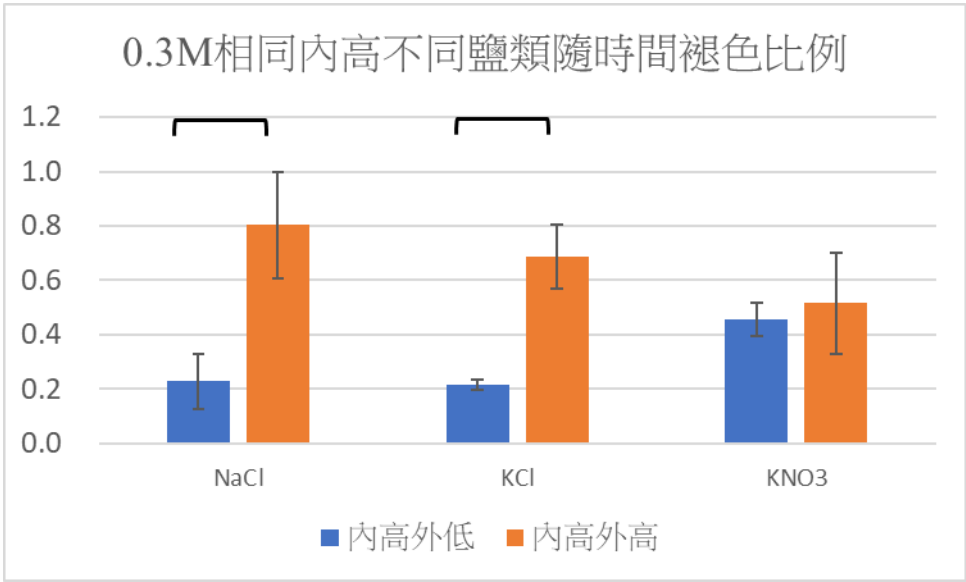
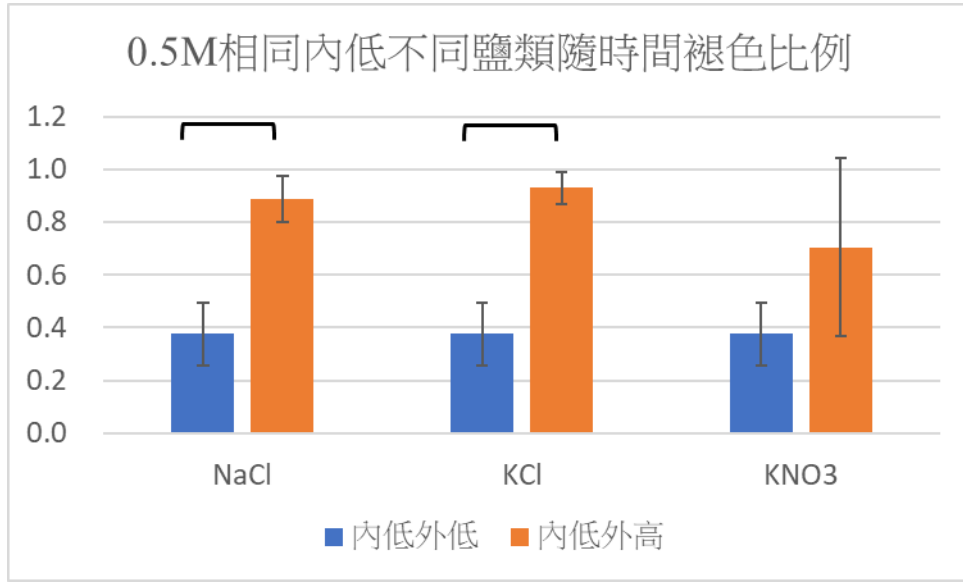
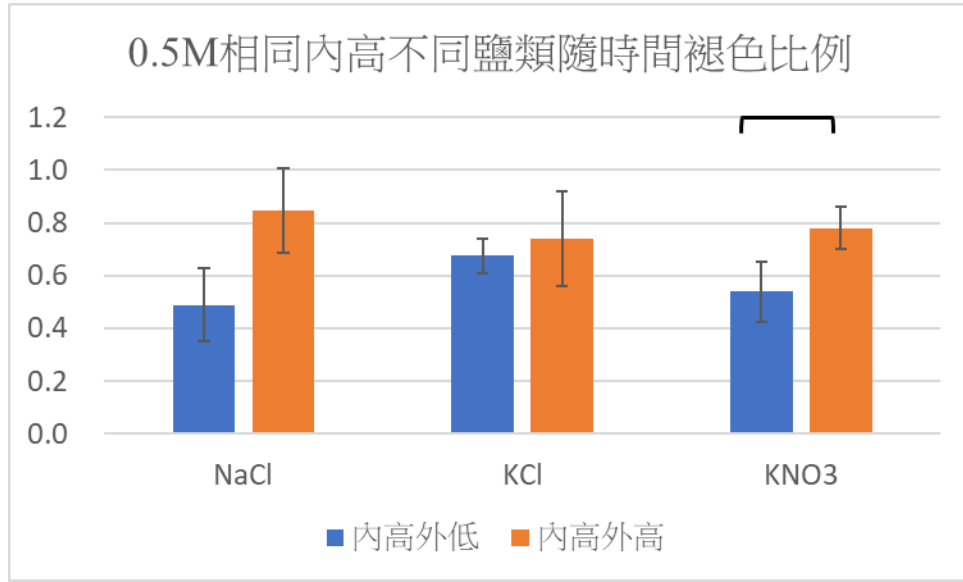


圖24.鹽類內高外低與內高外高比較圖(作者製作)



伍、結論與應用

- 一、貉藻極易受擾動，稍微移動，就會造成有些關閉，所以無法讓閉闔時間一致。此外從機械性和食物性刺激的實驗中發現，貉藻不會主動閉合，因此以離心方式使捕蟲囊閉合住紅墨水，再記錄其褪色比例，是本實驗的特色。
- 二、因貉藻大多處於打開的狀態，若是持續分泌消化液，會造成消化液浪費。而剛果紅除了是植物染劑，也是酸鹼指示劑，利用其顏色變化，得知可分成捕食、分泌、吸收三個階段，使消化液達到最有效率的利用。
- 三、鹽類半小時的實驗中發現，在高濃度環境褪色比例較高，此外在內高外低時，KNO₃褪色比例較高，在內低外高和內高外高時，則是NaCl褪色比例較高。PVC一小時的實驗中發現，在內高外高環境中，0.01g/10ml褪色比例最高。而以離心閉合住PVC的實驗中，發現經過三天PVC被吸收到葉柄。
- 四、由實驗可得，不論是對鹽類的滲透壓反應或是PVC溶液的擴散反應，雙歧毛狀體能感知外在環境的變化並具偵測功能。
- 五、未來展望：

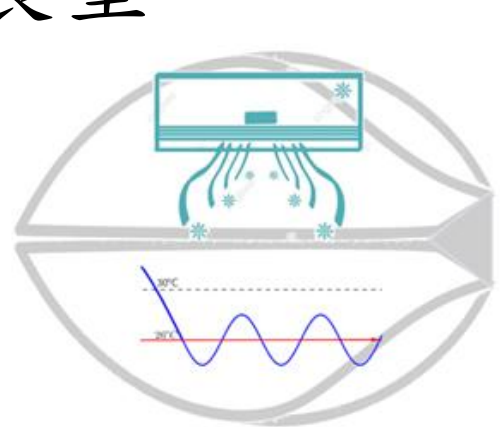


圖25.高效率(作者製作)

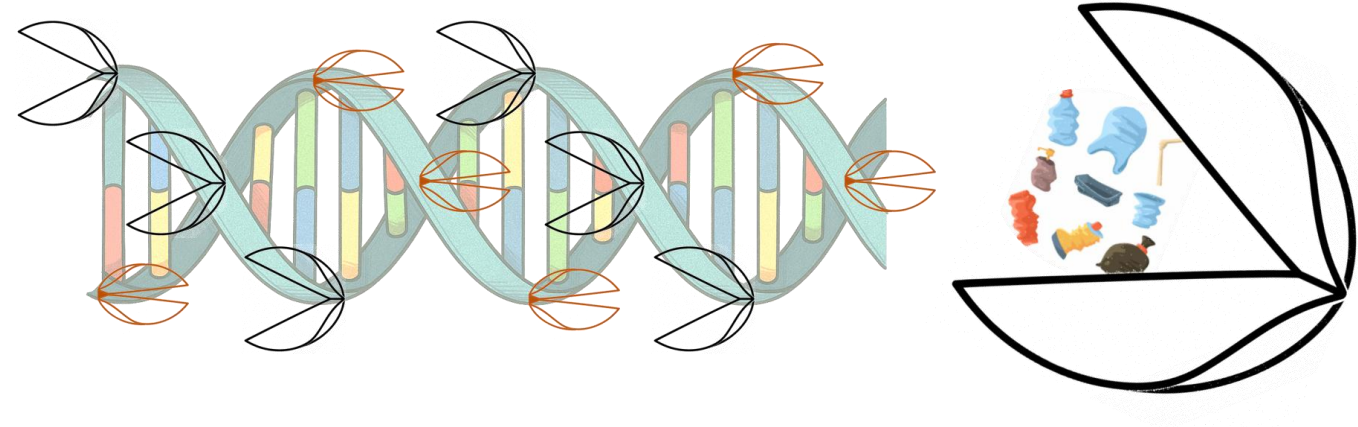


圖26.水壩攔水繩(作者製作)

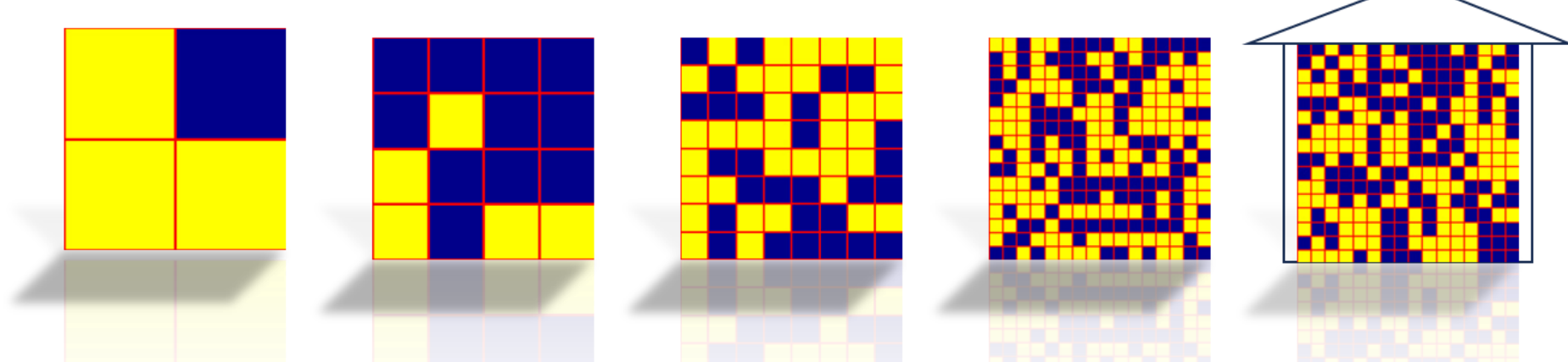


圖27.適應性建築(作者製作)

陸、參考文獻

1.葉名倉等。(2022)。高中化學(V)。臺南市：南一書局
2.洪禎珍。(2020)。撲朔謎離——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
3.Ashida, J. (1934). Studies on the leaf movement of Aldrovanda vesiculosa L. I. Process and mechanism of the movement. Memoirs of the College of Science, Kyoto Imperial University. Series B, 9, 141–244.
4.Cross, A. (2013). Turion development is an ecological trait in all populations of the aquatic carnivorous plant Aldrovanda vesiculosa (Droseraceae). Carnivorous Plant Newsletter, 42(2), 57–61.
5.Król, E., Plachno, B. J., Adamec, L., Stolarz, M., Dziubińska, H., & Trębacz, K. (2012). Quite a few reasons for calling carnivores ‘the most wonderful plants in the world’. Annals of Botany, 109(1), 47–64.
6.Shimai, H., & Ohmori, T. (2023). Threatened aquatic plant Aldrovanda vesiculosa L.: A review of its discovery and extinction in Japan. Aquatic Botany, 188, 103521.
7.Ivanova, A. N., & Muravnik, L. E. (2005). Pharmaceutical study of Aldrovanda vesiculosa trap movement. In XVII International Botanical Congress, Vienna, Austria.
8.Jakšová, J., Adamec, L., Petřík, I., Novák, O., Šebela, M., & Pavlovič, A. (2021). Contrasting effect of prey capture on jasmonate accumulation in two genera of aquatic carnivorous plants (Aldrovanda, Utricularia). Plant Physiology and Biochemistry, 166, 459–465.
9.Matthias Freund, Dorothea Graus, Andreas Fleischmann, Kadeem J Gilbert, Qianshi Lin, Tanya Renner, Christian Stigloher, Victor A Albert, Rainer Hedrich, Kenji Fukushima. (2022). The digestive systems of carnivorous plants, Plant Physiology, Volume 190, Issue 1, September 2022, Pages 44–59.
10.Nelle Meyers, Ana I. Catarino, Annelies M. Declercq, Aisling Brenan, Lisa Devriese, Michiel Vandegehuchte, Bavo De Witte, Colin Janssen, Gert Everaert. (2022). Microplastic detection and identification by Nile red staining: Towards a semi-automated, cost- and time-effective technique, Science of The Total Environment, Volume 823, 2022.
11.Plachno, BJ, Kapusta M., Stolarczyk, P, Świątek P, M., & Świątek, P. (2023). Immunocytochemical analysis of bifid trichomes in Aldrovanda vesiculosa l. traps. International Journal of Molecular Sciences, 24(4).
12.Plachno BJ, Kapusta M, Stolarczyk P, Świątek P, Strzemiński M, Miranda VFO. (2022). Immunocytochemical Analysis of the Wall Ingrowths in the Digestive Gland Transfer Cells in Aldrovanda vesiculosa L. (Droseraceae). Cells. 2022; 11(14):2218.
13.Westermeyer Anna S., Sachse Renate, Poppinga Simon, Vögele Philipp, Adamec Lubomir, Speck Thomas and Bischoff Manfred. (2018). How the carnivorous waterwheel plant (Aldrovanda vesiculosa) snaps. Proc. R. Soc. B.28520180012.