

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 農業與食品學科

第三名

052206

從水資源再利用到農業應用——植物源生物刺
激素助攻抗鹽逆境

學校名稱：慈濟學校財團法人臺南市私立慈濟高級中
學

作者：	指導老師：
高二 陳宣合	林佳蓉
高二 舒珞晴	林家琪
高二 蔡宗寬	

關鍵詞：植物源生物刺激素、水資源再生、小球藻

摘要

為因應氣候變遷造成的淡水資源短缺問題，本研究以可吸收廢水中營養與重金屬的小球藻，探討水資源再利用的可行性。實驗發現小球藻在 6% 畜牧廢水中為最佳生長濃度，且添加黃耆作為植物源生物刺激素，顯著提升小球藻葉綠素含量與耐鹽性。在海水環境下，小球藻經黃耆處理後，其細胞數與葉綠素含量分別為對照組的 175% 與 173%。此外，利用培養過小球藻的廢水灌溉青江菜，種植第 4 天時，根長與莖長分別為對照組的 129% 與 146%，且減少青江菜根部細胞受損。推測黃耆與小球藻皆可透過分泌次級代謝物，作為生物刺激素，促進植物生長與鹽逆境耐受力。期望本研究可解決農業汙染與淡水資源不足等問題，並拓展小球藻的利用價值。

壹、前言

一、文獻回顧

(一) 小球藻 *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris 為淡水小球藻之一種（台灣水產試驗所, n.d.），常見於湖泊、池塘和河流，小球藻屬適合的鹽濃度約為 0.1M，能夠適應 0.5 M 以下的鹽濃度，而高於 0.65 M 時生長顯著受限(Talebi et al.,2013)。目前已經有研究證明小球藻可以吸附廢水中的重金屬和廢物，增加可利用的淡水資源，且小球藻目前也有被利用在保健食品中的製作，具有營養價值。

(二) 中藥

黃耆(*Astragalus membranaceus*)在傳統中醫藥中，黃耆被視為重要的補氣藥材，具有增強免疫力、抗炎和抗氧化等功效。黃耆中較多的成分有多醣類、皂苷類與黃酮類，有幫助抗逆境、抗氧化與促進養分吸收的功效。研究顯示，某些黃酮類可促進吲哚乙酸 (IAA, 植物生長素) 的合成，影響細胞分裂與生長，進而促進植物生長。黃耆多醣(APS)在動植物中都被證實具有免疫調節與耐逆性增強作用(Li, X.,2022)。在植物中，它可能類似植物多醣（如果膠），提升水分保持能力與抗旱性。多醣還能影響土壤微生物群落，促進有益菌生長，提高養分供應。某些皂苷類物質已被證明能誘導植物產生系統性抗病性(ISR)，提升對病原菌與環境壓力的耐受性。

雷公根(*Centella asiatica*)屬於繖形科積雪草屬，是一種多年生草本植物，廣泛分布於亞洲熱帶和亞熱帶地區，包括中國、印度、斯里蘭卡等地。在臺灣，雷公根常見於田邊、溝邊等低濕處，並有多種別名，如積雪草、崩大碗、蚶殼草、馬蹄草等。其含有多種活性成分，主

要包括：五環三萜皂苷，如積雪草苷(Asiaticoside)、羥基積雪草苷(Madecassoside)等。五環三萜酸類，如積雪草酸(Asiatic acid)。雷公根富含三萜類化合物，如積雪草酸、羥基積雪草酸等，這些成分具有抗氧化、抗炎等特性，有助於促進傷口癒合和清除自由基。

白花蛇舌草(*Hedysarum diffusa*)又稱蛇舌草，是茜草科的一年生草本植物，廣泛分佈於中國、日本和印度等亞洲地區。白花蛇舌草含有多種活性成分，包括黃酮類、多醣類、蒽醌類和三萜類等。其中，多醣類成分被認為具有免疫調節和抗腫瘤活性。

(三) 鹽逆境

鹽逆境(Salt Stress) 指的是植物或微生物暴露在高鹽環境下所承受的生理壓力。這種壓力通常由土壤或水體中過量的鈉離子(Na^+)和氯離子(Cl^-)引起，會嚴重影響生物的生長、代謝和生理功能。在全球範圍內，約 20% 的耕地和 33% 的灌溉農地受到鹽害影響(Munns & Tester, 2008)，使土壤鹽化成為一個重要的農業與生態問題。

(四) 畜牧廢水處理

臺灣畜牧廢水佔總污染量近十分之一，主要來自豬糞尿廢水，每日產量約 20 萬公噸。雖使用三段式處理系統，廢水中仍含高濃度氮、磷及鹽類，對環境造成衝擊。小球藻因能吸收碳、氮、磷，具淨化豬糞尿廢水的潛力，藻液更可作為農地肥料而無酸化問題，並可發酵成高價值液態肥料，展現兼具環保與經濟效益的前瞻技術。（國立成功大學研究發展處,n.d）

二、研究動機

我們居住的地球正接受全球氣候變遷的洗禮，極端氣候頻繁發生，導致水資源分布越來越不均。乾旱地區的水資源短缺問題日益嚴重，而工業、農業與日常生活對淡水的需求仍在持續上升。為了減少淡水資源的過度消耗，我們應積極尋找替代水源，如回收再利用廢水、海水淡化、推廣雨水收集系統，以提高水資源利用效率。此外，使用經過處理的畜牧廢水進行灌溉，也能在降低淡水使用量的同時，減少環境污染。水是生命的根本，唯有珍惜並合理利用，才能確保未來世代仍能擁有乾淨的水資源。

面對此嚴峻課題，2019 年聯合國氣候行動峰會上，紐西蘭與中國共同提出「NbS」自然

解方(United Nations Environment Programme, 2019)，意指透過保育、恢復、永續經營管理與利用生物多樣性和生態系統功能來解決社會環境的問題。聯合國環境大會第5屆會議中，與會近兩百個成員國通過的「支持永續」，促請會員國執行該決議，凸顯其在達成永續發展目標、因應氣候變遷等挑戰的重要地位。自然解方主要針對氣候變化的緩解和適應、水資源與安全、糧食供應與安全、人體健康、生物多樣性喪失、以及災害風險的管理與預防。同時NbS也是國家邁向淨零轉型，建構風險因應能力的重要解決方案。

水資源再利用以及碳排放議題變得越來越受關注，我們因為好奇查詢相關資料時，發現小球藻因為有吸收營養鹽、重金屬的能力好、快速生長、能行光合作用吸收二氧化碳釋放氧氣以及油脂含量高等優點，除了被應用於淨化廢水，還可進一步製作成生物燃料。廢水因為污染而無法直接利用，濃度太高時除了會影響小球藻生長之外，也無法作為乾淨水資源運用於農業。因此我們找尋相關文獻，發現中藥萃取物可提高植物的生長以及抗逆境能力。於是我們想研究中藥是否能當作天然的植物源生物刺激素，幫助小球藻在廢水中的生長以及提升抗逆境、去除有害物質、吸附重金屬、利用營養物的能力，了解其解決廢水問題的運用範圍與潛力，進而解決淡水資源不足的問題。另外可利用的水資源就是海水，目前有的海水淡化技術不僅貴而且較繁瑣，因此我們想試試利用中藥及小球藻能不能達到與淨化廢水相同的結果，做簡易的水質改善，增加可用水資源，達到中藥幫助小球藻生長及淨化水資源的雙贏局面，為解決環境問題提供更天然、有效的方法。

三、實驗目的

- (一) 小球藻在不同培養液生長發育的情形。
- (二) 研究哪些中藥種類可以促進小球藻生長發育。
- (三) 研究小球藻在逆境下的生長及葉綠素含量的變化。
- (四) 研究黃耆是否可以幫助小球藻抗鹽逆境。
- (五) 研究小球藻在海水環境加入黃耆的生長狀況。
- (六) 觀察養過小球藻的畜牧廢水，灌溉農作物，是否能提升農作物的發芽或生長狀況。
- (七) 觀察養過小球藻的水，灌溉農作物，是否能提升農作物的發芽或生長狀況，及是否幫助作物抗鹽逆境。

貳、研究設備與器材

一、研究物種：

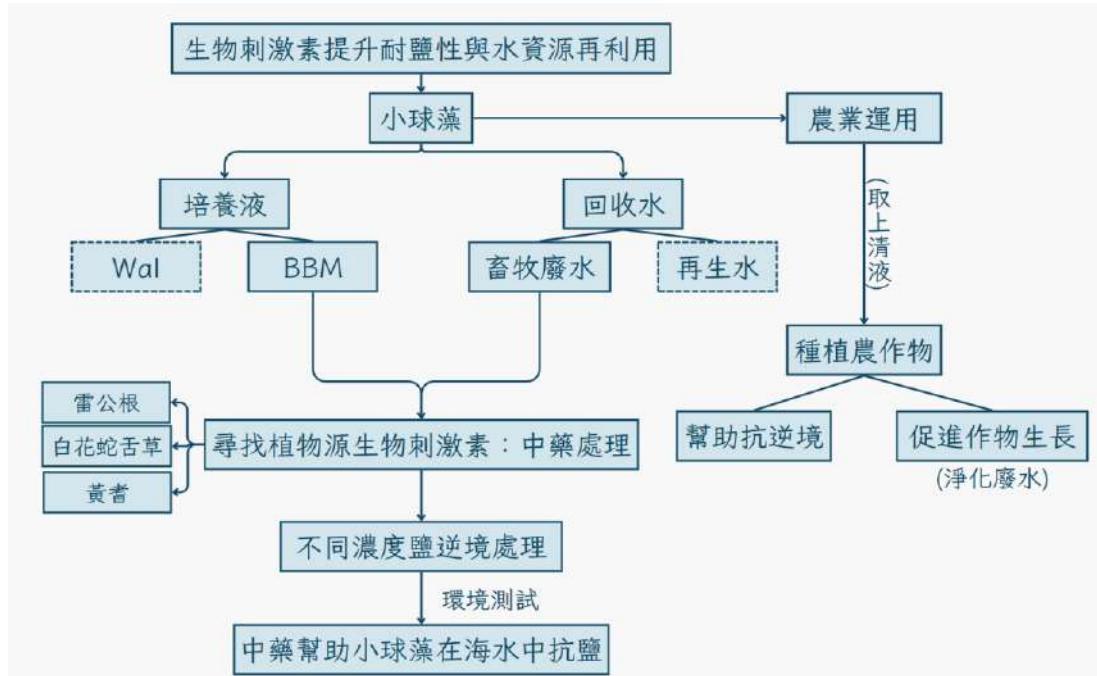
淡水小球藻 *Chlorella vulgaris* (購自屏東大洋藻公司)、黃耆 (*Astragalus membranaceus*)、雷公根 (*Centella asiatica*)、白花蛇舌草(*Hedyotis diffusa*)、)、雷公根 (*Centella asiatica*)、白花蛇舌草 (*Hedyotis diffusa*)、青梗白菜/青江菜 (*Brassica chinensis*)

二、實驗器材：

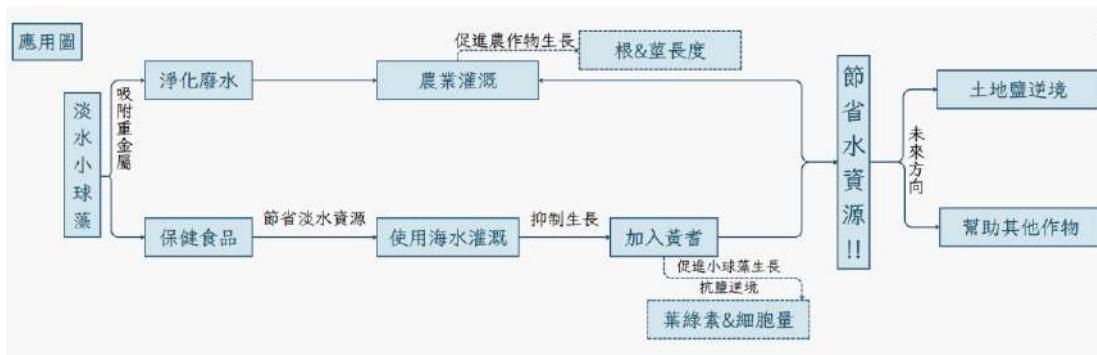
BBM(Bold's Basal Medium, Modified)培養基、Wal 培養基、畜牧廢水（來自台糖畜牧場）、再生水（來自官田汙水廠）、去離子水(ddH₂O)、海水（來自漁光島沙灘）、濾紙(5.5cm、9cm、12cm)、微量滴管(P1000、P200、P20) 及 tips、恆溫培養室（27 度、8.5k lux、16 小時照光/8 小時黑暗）、培養震盪器、相機、電子天秤、秤量紙、鑷子、血清瓶、分光光度計、比色管、離心機、乾浴槽、50ml 離心管、15ml 離心管、1.5ml 微量離心管、甲醇、結晶皿、PP 聚丙烯塑膠杯、手持式攪拌棒、Parafilm、NaCl、Image J、Plant Genomic DNA Mini Kit、Evans Blue、Sodium dodecyl sulfate

參、研究過程與方法

一、研究架構



圖(0-1) 研究架構圖（作者自行製作）



圖(0-2) 研究應用圖（作者自行製作）

二、實驗方法：

(一) 確認小球藻物種(*Chlorella vulgaris*)

1. 以顯微鏡觀察稀釋藻液，大部分藻體皆為 *Chlorella vulgaris*。
2. 萃取 DNA。

3. 進行 PCR 分析並送檢。
4. 對比基因庫(NCBI)並確認物種。

(二) 萃取 DNA

1. 用 dd H₂O 沖洗小球藻。
2. 使用 Geneaid 廠牌的 Plant Genomic DNA Mini Kit 進行萃取。

(三) 聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR)

1. 加入 DNA 2 μL 至 1.5 ml Eppendorf。
2. 再加入 Forward primer 4 μL。
3. 再加入 Reverse primer 4 μL。
4. 再加入 2X PCR Taq Premix 4 μL。
5. 將 Eppendorf 放至乾浴槽，94°C，2 min。
6. 將以下溫度進行 30 個循環。
 - (1) 94°C，30 sec。
 - (2) 50°C，1 min。
 - (3) 72°C，90 sec。
7. 72°C，10 min。
8. 15°C，至開始電泳。

(四) 培養小球藻

1. 將溶液調整至固定濃度。
 - (1) 小球藻 10%。
 - (2) BBM 10%（若同組實驗條件中有營養源則不加）。
 - (3) 中藥 0.01% / 0.05% / 0.1%。
 - (4) 中藥最佳濃度為 0.05%。
 - (5) 再生水 10%。
 - (6) 畜牧廢水 6%。
 - (7) 鹽水 0.6M / 0.9M（原液為 1.2M）。
 - (8) 若有加海水就以海水加至培養總量。
 - (9) 加 dd H₂O 加至溶液總量。

2. 放入放入恆溫培養室培養（攝氏 27 度、8.5k lux）。

(五) 中藥溶液配製方法（黃耆、雷公根、白花蛇舌草）

1. 量 1g 中藥（黃耆、雷公根、白花蛇舌草）加入血清瓶。
2. 加入 100°C 热水 100ml。
3. 靜置一小時。
4. 用濾紙過濾，製成 1% 原液。

(六) 測量小球藻細胞數（比較值）

1. 搖晃小球藻使其均勻。
2. 將小球藻用微量吸管吸取 1 ml 至比色管中。
3. 將分光光度計參數調整為 682 nm。
4. 將比色管放入分光光度計，並蓋上蓋子，待數據穩定後記錄。

(七) 測量並計算葉綠素 a、葉綠素 b 及總葉綠素含量

(Khatiwada J. R. et al., 2023).

1. 將培養的小球藻用微量吸管吸取 1.5 ml 至微量離心管中。
2. 將微量離心管放入離心機，轉速 13000rpm、25°C，持續 10 分鐘。
3. 將微量離心管取出，倒出上清液。
4. 加入 1.5 ml 90% 甲醇至微量離心管，並用均質機使沉澱物與甲醇混和均勻。
5. 用 Parafilm 封起，放置於高溫(60-70 攝氏度)環境 10 分鐘。
6. 再次以相同條件離心 10 分鐘。
7. 將上層甲醇溶液用微量吸管吸取 1 ml 至比色管中。
8. 將參數調整為 652/665 nm。
9. 將比色管放入分光光度計，並蓋上蓋子，待數據穩定後記錄。

(八) 作物栽培

1. 將養過小球藻的溶液以 2500 rpm，攝氏 25 度，離心 5 分鐘，取得上清液。
2. 調配出原液（與上清液比例相同）。
3. 在布丁杯中放入直徑 50 mm 的濾紙。

4. 加入 5 ml 溶液。
5. 將種子以間距 0.9 cm 排成 4×4 的方形共 16 顆。
6. 放入紙箱（黑暗環境），在恆溫培養室培養 (27 度、8.5k lux)。
7. 經過 24 小時後，取出照光培養。

(九) 根尖細胞損傷程度觀察 (Evans Blue)

1. 將幼苗擺至 12-well plate 中。
2. 加入 3 ml 的 0.25% Evans Blue。
3. 蓋上濾紙，在黑暗中反應 30 min。
4. 將幼苗取出並以 dd H₂O 過洗，最後放置於裝 dd H₂O 水培養皿中浸泡一晚。
5. 取出幼苗，擺於白盤上並拍照，以 image J 測量其根長與葉片面積大小。
6. 以解剖顯微鏡觀察並拍照。
7. 取下 1 cm 根尖放進 Eppendorf。
8. 加入萃取液 (50% 甲醇、1% Sodium dodecyl sulfate)。
9. 放入 55°C 的乾浴槽 1hr。
10. 以波長 595 nm 測量吸光值並記錄。

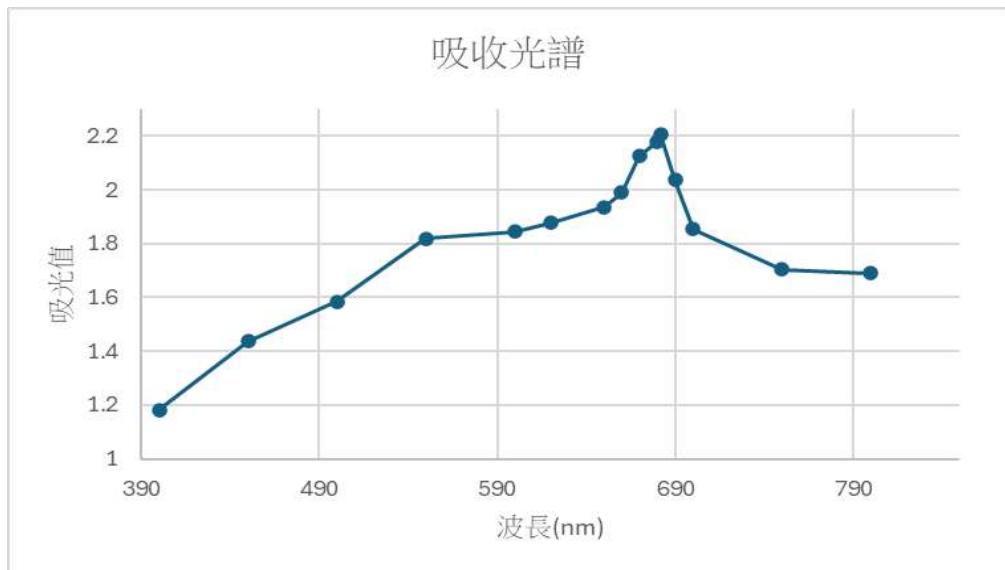
(十) 統計方法(Excel)

1. 使用 Excel 內建的函數計算細胞數量、葉綠素含量等數據。
2. T.TEST：使用 Excel 內建的函數(T.TEST)。tails：雙尾檢定，type：雙樣本等變異數 T 檢定。星號標示顯著性差異： $*p \leq 0.05$ ， $**p \leq 0.01$ ， $***p \leq 0.005$ 。

肆、研究結果

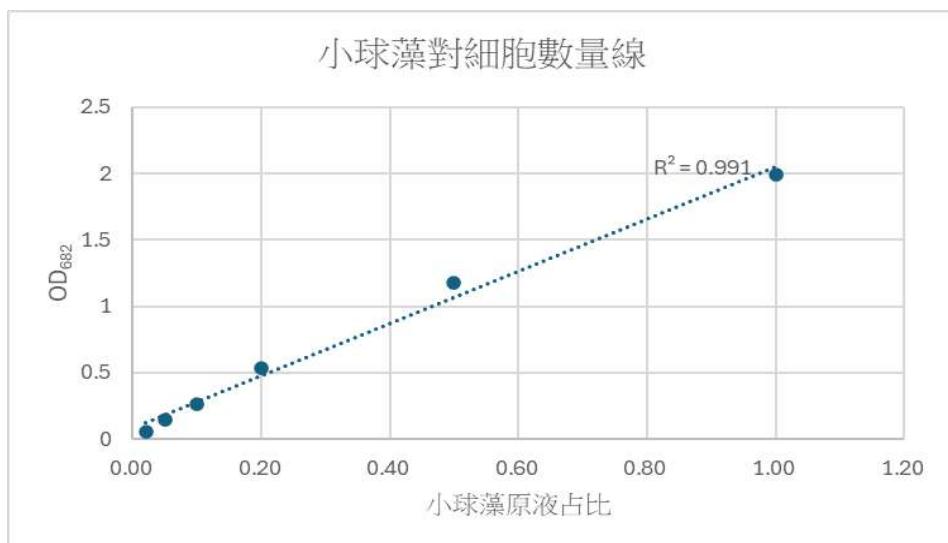
一、小球藻的生長比較量化——確定小球藻細胞的最佳吸收光譜

小球藻細胞中的色素能吸收特定波長的光。當細胞濃度增加時，更多的光被細胞吸收或散射，使 OD 值上升。目前已知葉綠素的主要吸收光譜約落在 660~680 nm，因此我們測量了小球藻的吸收光譜，找出其峰值，並確認波長與細胞數的相關性，以作為我們日後測量的標準。



圖(1-1) 小球藻細胞的吸收光譜（作者自行製作）

由圖(1-1)可知，小球藻細胞的吸收光譜峰值為 682 nm。



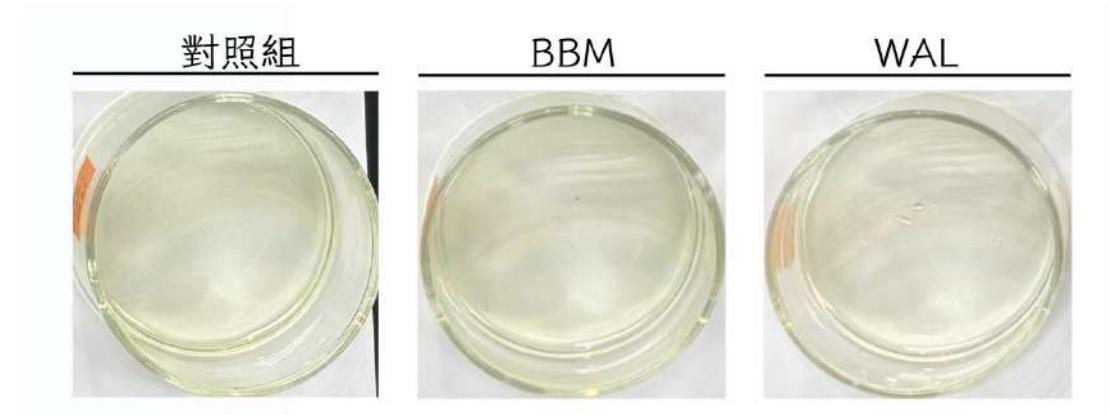
圖(1-2) 小球藻對細胞數量線（作者自行製作）

由圖(1-2)可知小球藻原液占的比例和波長 682 nm 時的吸光值呈高度正相關。 $R^2 = 0.991$ 表示光密度(OD_{682})與小球藻濃度之間高度線性相關，表示 682 nm 是適合的吸光度測量波長，因此可以用 OD_{682} 來間接推估小球藻的細胞數量。

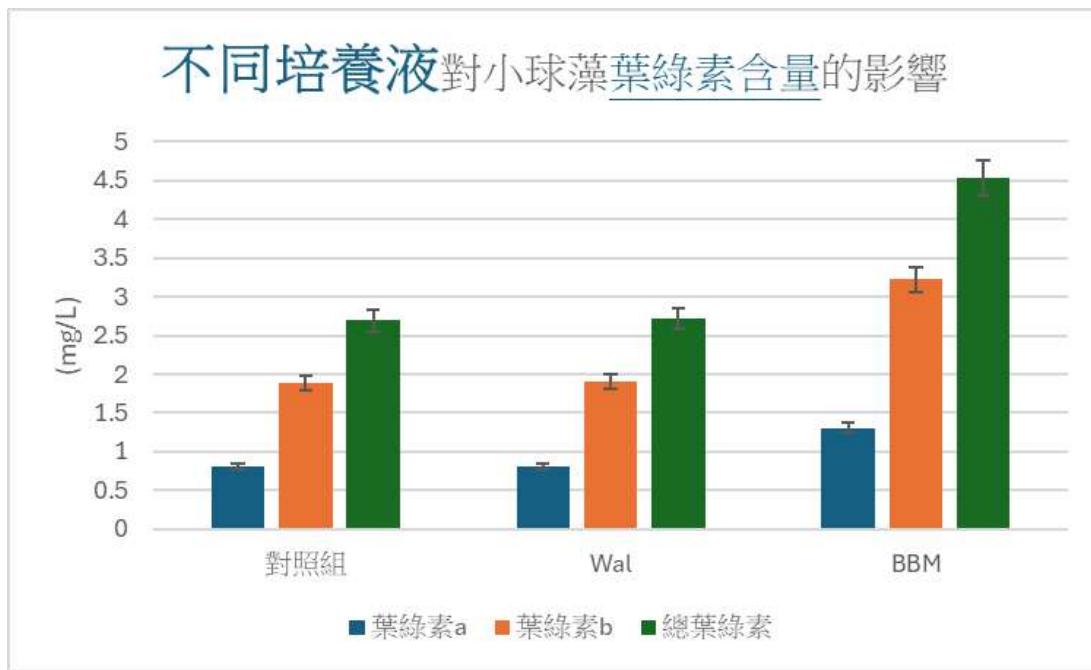
二、小球藻在不同的培養液下的生長發育狀況

(一) BBM& WAL 培養液

我們想知道在實驗室中是否能培養小球藻。於是我們在查詢資料並找現有資源後，選用 BBM 和 Wal 進行培養，觀察其生長狀況。



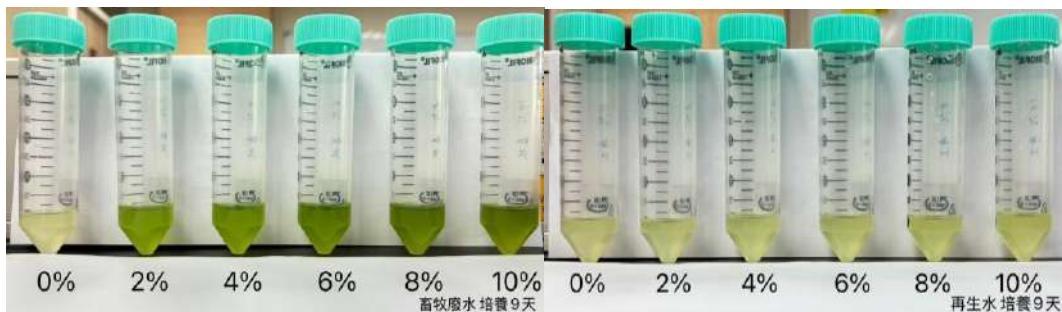
圖(2-1) 在 BBM & Wal 培養液中小球藻顏色差異（作者自行拍攝）



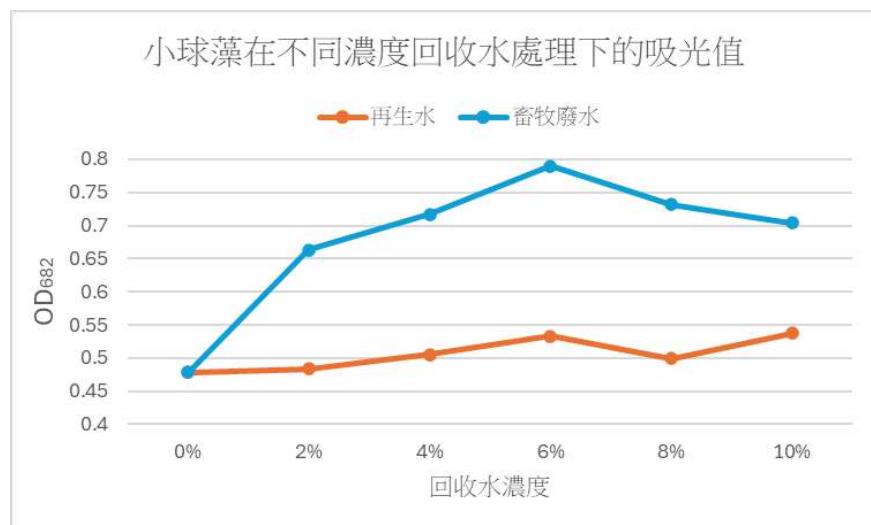
圖(2-2) 在 BBM & Wal 培養液中小球藻葉綠素含量差異（作者自行製作）

- 由實驗結果圖（2-1）我們發現，利用 BBM 培養基培養的小球藻，肉眼可看出顏色較對照組及 Wal 組的深。以分光光度計分析過後製成圖（2-2），可看出 BBM 組的葉綠素 a、葉綠素 b 及總葉綠素都較其他兩組高。
- 查詢相關文獻後，我們推測是因為 BBM 中的營養成分較適合小球藻生長，可知小球藻在實驗室中是能正常培養的，於是我們進行活動二，使用再生水、畜牧廢水當作培養基培養。

（二）小球藻在不同濃度的再生水、畜牧廢水下的生長狀況



圖(2-3) 小球藻在不同濃度的畜牧廢水&再生水中之生長情形（作者自行拍攝）



圖(2-4) 小球藻在不同濃度回收水處理下的吸光值（作者自行製作）

- 可以從圖（2-4）中發現小球藻生長量:畜牧廢水>再生水>水（0%）。
- 最佳生長濃度：6%畜牧廢水、10%再生水。6%畜牧廢水生長狀況最佳，我們推測是因為畜牧廢水中富含營養物質，利於小球藻生長，但也含有許多鹽分及重金屬，所以廢水濃度太高反而會抑制小球藻的生長。

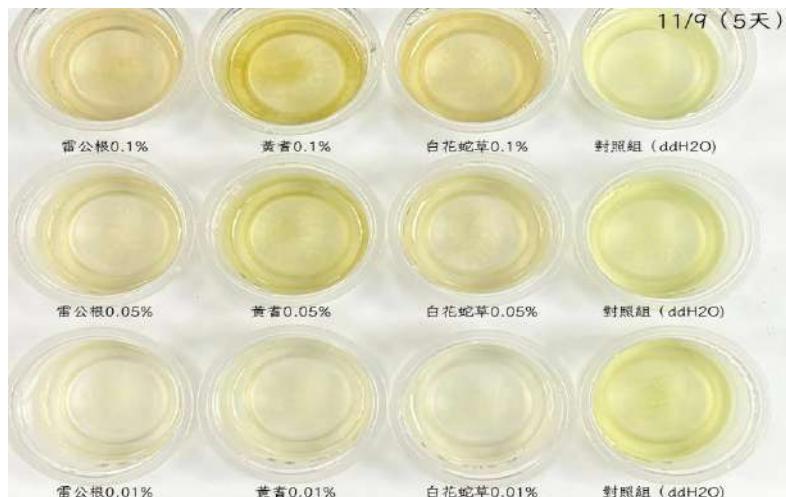
3. 小球藻在兩種回收水處理下皆有吸光值增加的趨勢，且使用畜牧廢水培養的小球藻吸光值較高。

由實驗結果可知小球藻除了可用小球藻常用的培養液培養外，還可用再生水及畜牧廢水培養，其中以 BBM 及畜牧廢水為佳。因此以下實驗用 BBM 跟畜牧廢水為培養液繼續研究。

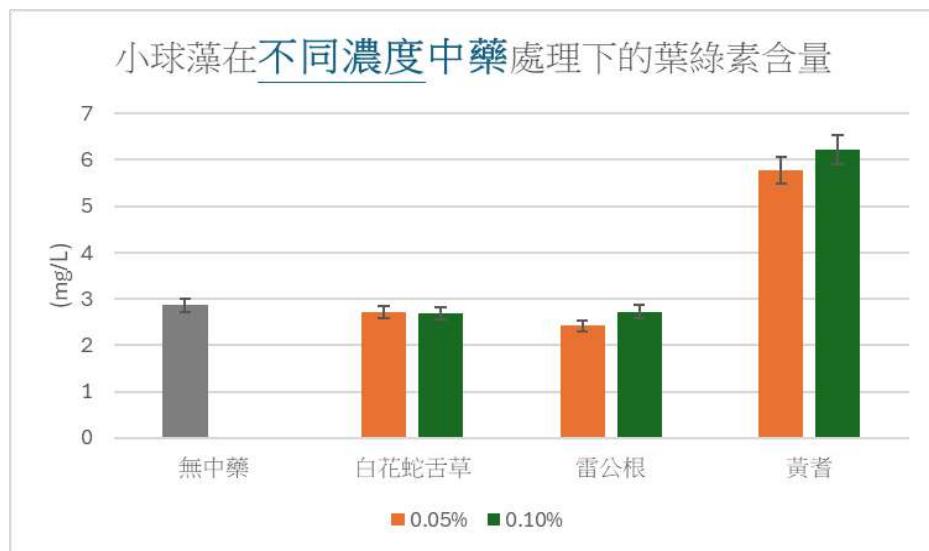
三、不同中藥處理下的小球藻

(一) 小球藻用 BBM 培養液下，用不同中藥處理的生長發育狀況

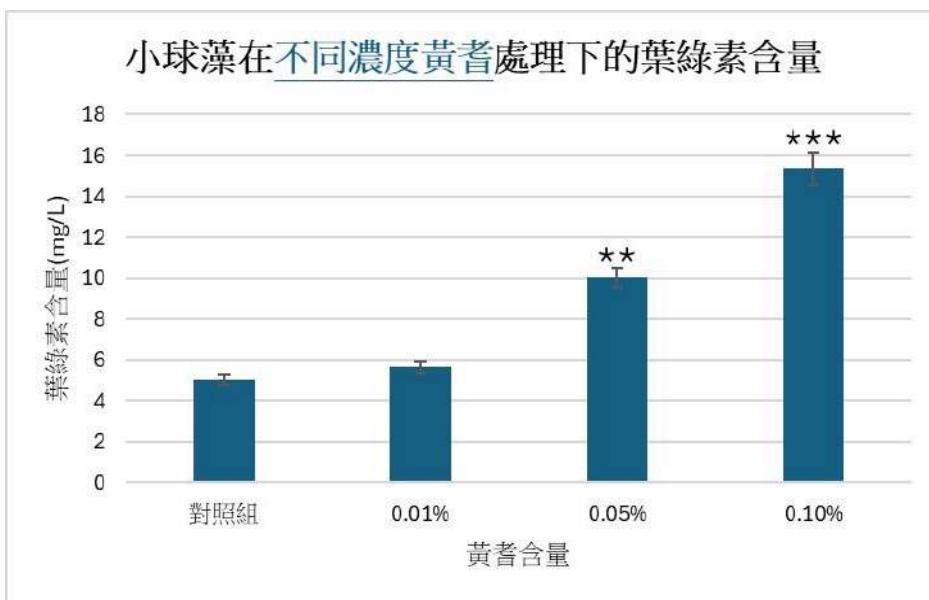
根據前一個實驗結果，BBM 適合當做小球藻的培養基，因此我們想在此基礎上研究中藥對其的影響，故設計以下實驗。我們藉由改變中藥濃度及種類，找出最佳濃度（最低明顯有效濃度）。



圖(3-1) 小球藻在不同濃度的黃耆/雷公根/白花蛇舌草下小球藻之生長情形（作者自行拍攝）



圖(3-2) 在不同中藥處理下小球藻葉綠素含量差異（作者自行製作）

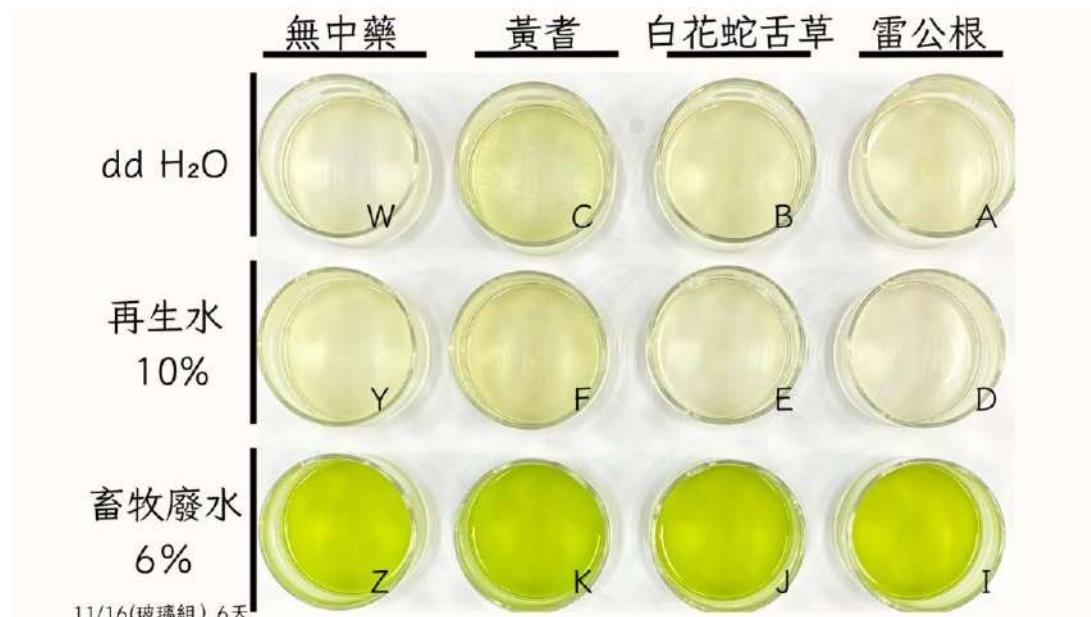


圖(3-3) 在不同濃度的黃耆處理下小球藻葉綠素含量差異（作者自行製作）

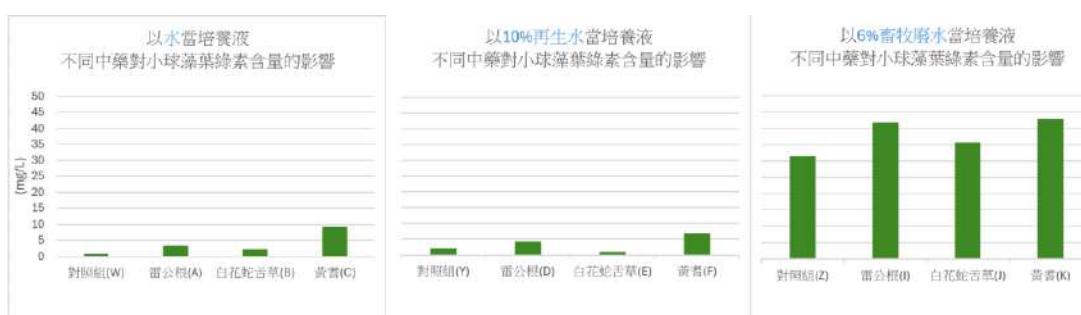
- 從圖(3-2) 可看出三種中藥中，黃耆處理使小球藻葉綠素含量增加的最多，其餘皆沒有明顯影響。
- 從圖(3-3) 可看出 0.05% 及 0.1% 的黃耆處理與無添加黃耆的對照組葉綠素含量有顯著差異。
- 從趨勢看出 0.05% 為三種濃度中有顯著差異的最低濃度，我們將其設為最低有效濃度。
- 小球藻在 BBM 中培養時，黃耆可幫助小球藻生長。

(二) 小球藻用再生水、畜牧廢水培養，用不同中藥處理的生長發育狀況

我們想看看加入中藥對小球藻在廢水中的表現有何影響，觀察其是否能促進小球藻生長。我們使用實驗三所測出的最佳濃度（6%畜牧廢水、10%再生水）作為廢水濃度，中藥則是實驗二的最低有效濃度（0.05%）。



圖(3-4) 小球藻在不同廢水和不同中藥處理下的生長情形（作者自行拍攝）



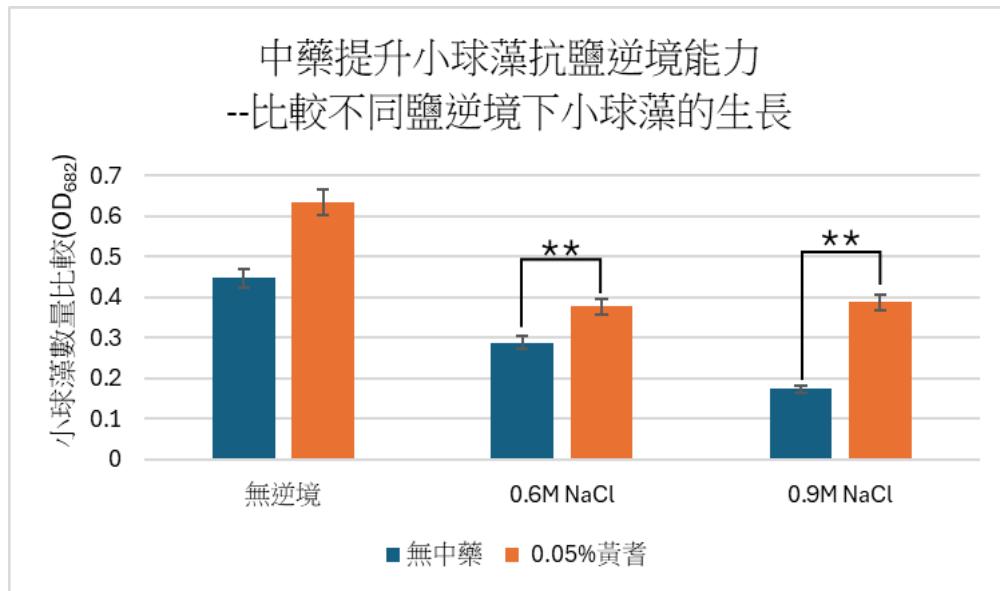
圖(3-5) 在不同廢水和不同中藥處理下小球藻葉綠素含量差異（作者自行製作）

- 由實驗結果，我們發現不同水源處理下的小球藻葉綠素含量程度：6%畜牧廢水 > 10%再生水 > 水，與實驗三的結果相同。
- 可看出以畜牧廢水處理的小球藻葉綠素含量高於其他組別、再生水的趨勢則不明顯。此外，在水及再生水中加入黃耆可以有效幫助小球藻增加葉綠素含量。

四、鹽逆境下添加黃耆作為生物刺激素，對小球藻生長的影響

我們想觀察黃耆在逆境中是否能發揮同樣的作用。在多數廢水中，鹽害是最為常見的一種，因此我們在鹽逆境中加入黃耆，觀察其生長發育狀況。我們在文獻中(Farkas, A.,2023)看到大約需要重量百分濃度為 0.65M 以上的鹽逆境，才能對小球藻造成顯著的抑制影響。所以我們以 0.6M、0.9M 的鹽逆境培養小球藻，研究黃耆是否能幫助小球藻抗鹽逆境。

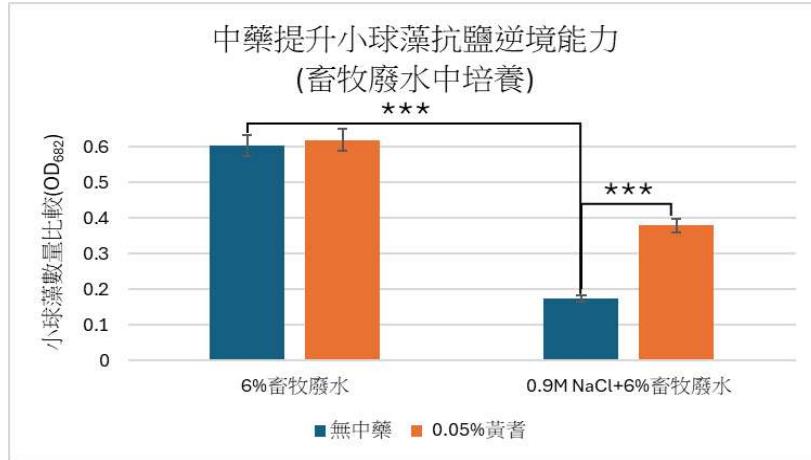
(一) 鹽逆境及加入中藥對小球藻生長發育狀況的影響



圖(4-1) 小球藻在不同濃度的鹽逆境處理下並加入黃耆的生長情形（作者自行製作）

由圖(4-1)可知，無中藥組的小球藻隨著鹽逆境濃度增加，細胞數量越少。還可以發現在有添加 0.05% 黃耆的組別中，小球藻的數量對於無中藥的組別有顯著的提升。還可以看出隨著鹽濃度的上升，黃耆組的細胞數量上升幅度越大，這表示黃耆能促進小球藻生長除了是因為提供營養源外，還能幫助其抗鹽逆境。

(二) 鹽逆境在畜牧廢水中加中藥的小球藻



圖(4-2)以畜牧廢水培養的小球藻在鹽逆境處理下並加入黃耆的生長情形（作者自行製作）

畜牧廢水中含有大量的鹽，所以我們想觀察以畜牧廢水培養的小球藻，在鹽逆境處理下加入黃耆後的生長狀況。在上個實驗中我們發現 0.9M 鹽逆境對抑制小球藻生長的效果較顯著，所以本實驗使用 0.9M 鹽逆境。在圖(4-2) 中可發現小球藻即使已培養在富含營養源的畜牧廢水中，0.9M 鹽逆境仍然表現出明顯抑制的效果，且加入黃耆能顯著提升小球藻的數量改善 0.9M 鹽逆境所帶來的影響。

實驗四總結：

- 由實驗結果看見，在 0.6M、0.9M 鹽逆境培養下，小球藻的生長會被抑制，還可觀察到加入黃耆溶液培養的小球藻數量會有顯著提升。
- 在抑制狀況下黃耆可幫助小球藻抗逆境，促進其生長。
- 雖然黃耆的作用不足以完全抵銷鹽逆境所帶來的細胞傷害，但在不同的環境中皆表現出黃耆可提供穩定的正向效應。

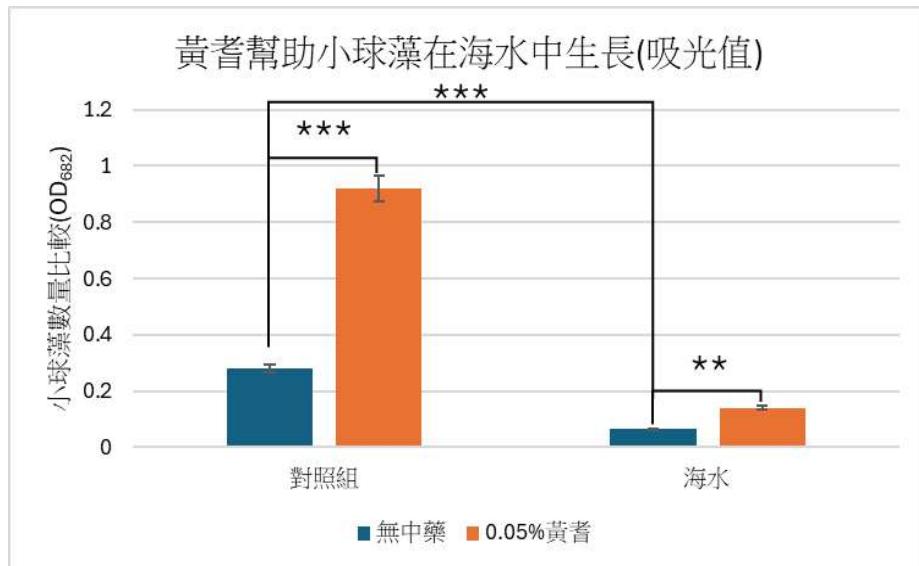
五、小球藻幫助淨化畜牧廢水（實驗進行中）

為了確認小球藻是否真的能淨化畜牧廢水以及觀察其淨化能力，我們未來會將藻體以及上清液送去專業機構檢測總氮、磷或重金屬，以檢查小球藻在生長的同時吸附了多少汙染物，以及加入黃耆促進小球藻生長是否能增加其淨水效率。

（未處理完成）

六、在自然海水中小球藻的生長狀況

除了廢水以外，海水也能作為可利用的水資源之一，而且幾乎是源源不絕的。海水對於我們所選用的小球藻為鹽逆境，因此我們嘗試以黃耆幫助小球藻適應海水環境，培養小球藻，以模擬自然環境與實際運用。



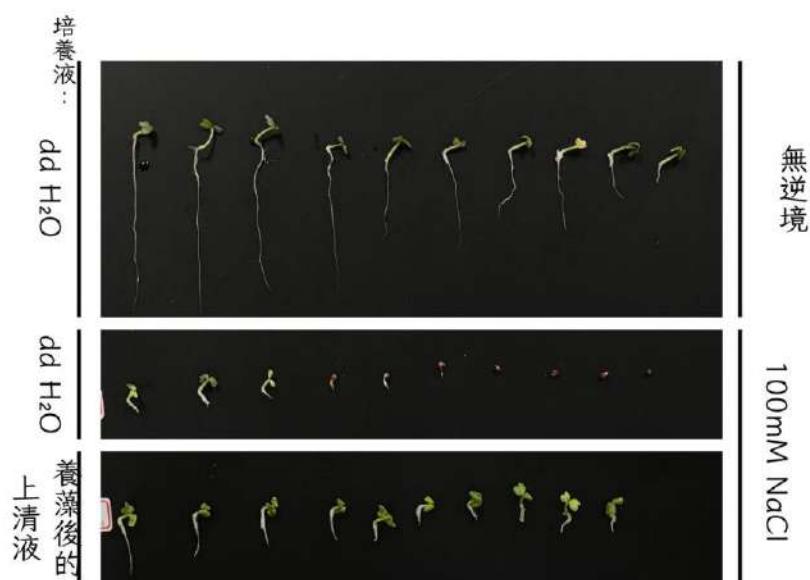
圖(6-1) 黃耆幫助小球藻在海水中生長的細胞數量（作者自行製作）

我們推測海水中除了鹽逆境之外還可能含有其他逆境，例如微生物或是其他重金屬。由圖(6-2)可以發現在海水會顯著抑制小球藻的生長，使其低於對照組（去離子水）。不管有無海水，黃耆皆會顯著促進其生長，雖然在海水環境中影響較去離子水小，但仍有其實用價值。

七、藻類上清液對於植物生長的影響

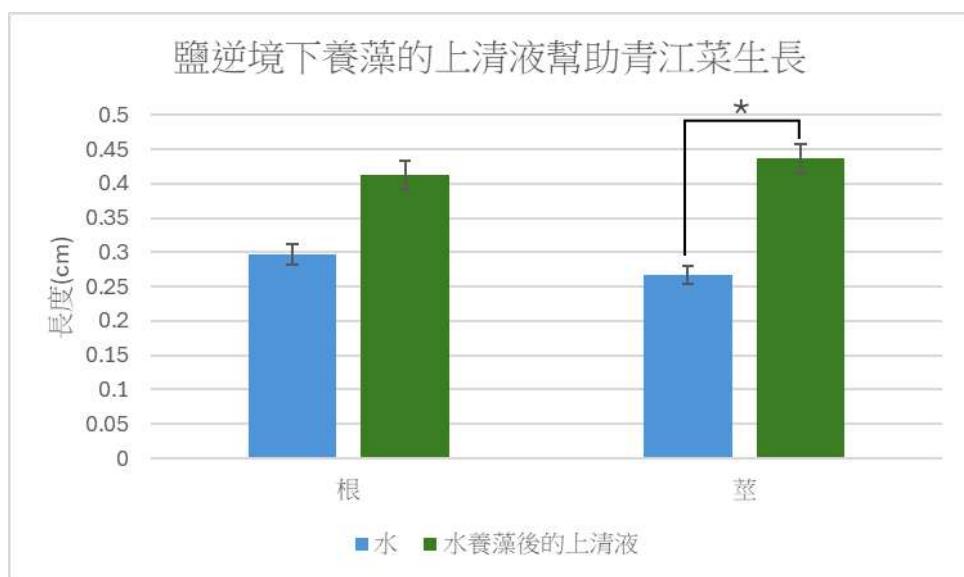
有文獻(Bispo, R. L. B., 2023)指出，藻類的次級代謝物能幫助植物生長，小球藻上清液含有IAA，能促進植物根系發育，有效提升植物對養分的吸收與早期生長表現。因此我們以養過藻的上清液培養青梗白菜（青江菜），並在培養四天後，將植物移到0.1 M 鹽逆境中2小時，接著染色觀察根部細胞受損情形，以探討上清液處理過的植物是否能增加抗逆境的能力。

(一) 0.1M 鹽逆境與藻類上清液對青梗白菜根、莖、葉的影響

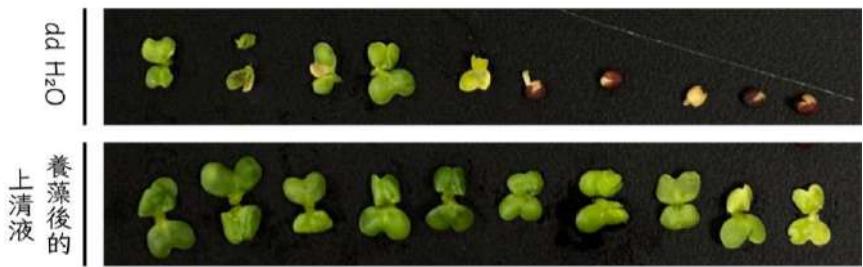


圖(7-1) 種植 4 天後 (作者自行拍攝)

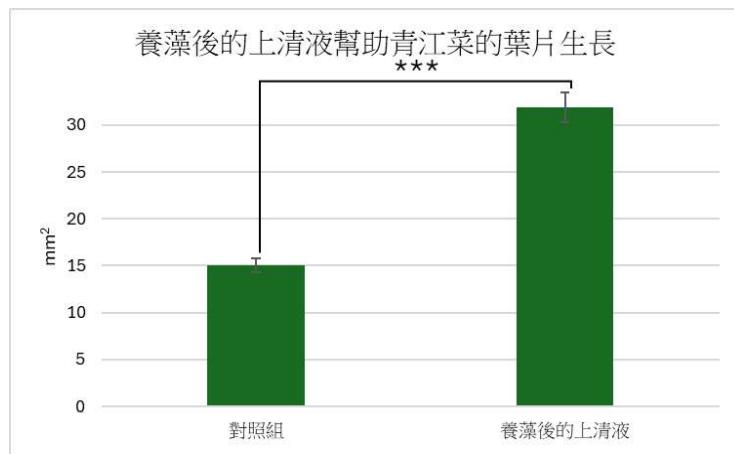
由圖(7-1)可看出 0.1M 的鹽逆境會抑制青梗白菜的生長且養藻後的上清液可幫助青梗白菜抗逆境，提升其根莖長。



圖(7-2) 在 0.1M 鹽逆境中加入不同培養液對根、莖長的影響 (作者自行製作)



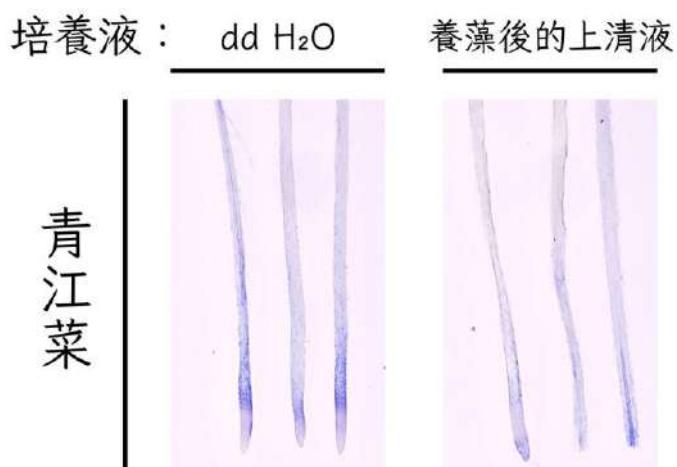
圖(7-3) 在 0.1M 鹽逆境中加入不同培養液的葉片生長情形（作者自行拍攝）



圖(7-4) 鹽逆境與藻類上清液對青梗白菜葉片面積的影響（作者自行製作）

由圖(7-4)可以看出以水培養的小球藻上清液可以幫助青梗白菜根莖的發育，且對於莖長有顯著提升。

(二) 2 小時鹽逆境對於根的影響

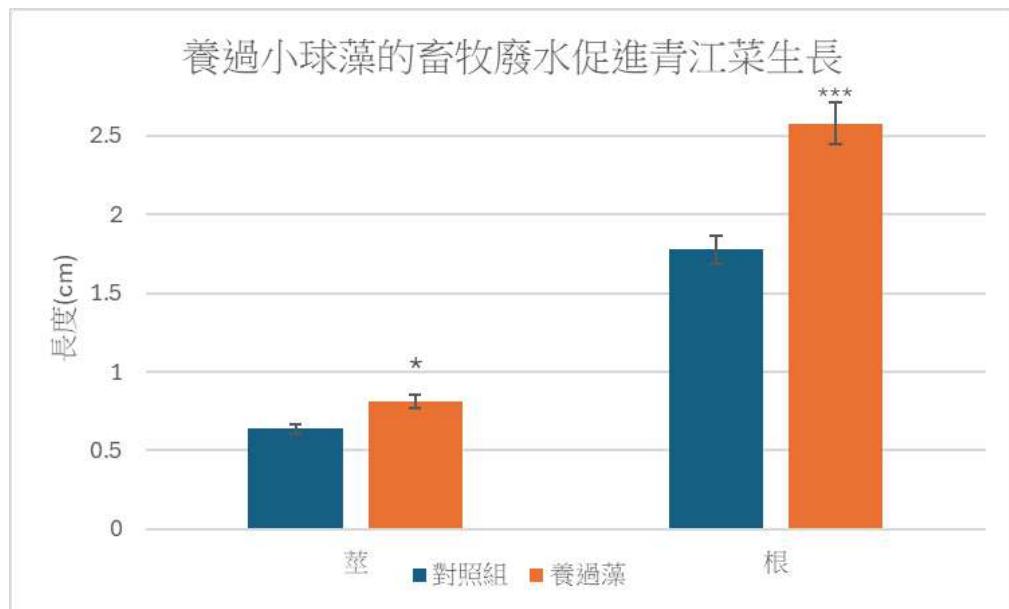


圖(7-5) 2 小時鹽逆境對青梗白菜根部的影響（作者自行拍攝）

由圖(7-5)可以看出以水養藻後的上清液培養青梗白菜可以幫助植株抗鹽逆境。

八、實際運用球藻淨化過的廢水

我們想檢查小球藻淨化過的廢水是否可以利用於農業培養，因此我們選用青梗白菜 (*Brassica chinensis*) 作為實驗對象，觀察其發芽率與生長狀況。青梗白菜對重金屬較敏感，可觀察小球藻去除重金屬的效果，廢水中的氮 (N)、磷 (P)、鉀 (K) 是葉菜類 (青梗白菜) 生長的重要養分，可檢測其營養供應效果。



圖(8-1) 養過小球藻的畜牧廢水促進青梗白菜生長（作者自行製作）

對照組：使用 6% 畜牧廢水種植。

養過藻：使用 6% 畜牧廢水培養小球藻之上清液（無藻體）種植。

由圖(8-1) 可以發現經過養藻處理的畜牧廢水培養青梗白菜，其根與莖的長度都有顯著提升，可知培養過小球藻的畜牧廢水有利於青梗白菜的生長，我們推測是因為小球藻吸附了廢水中的有害物質，因此比對照組的生長狀況佳。

伍、討論

一、鹽逆境影響其生長可能的機制

我們從文獻中(Zhao, S.,2021)發現，鹽逆境會讓植物的滲透壓改變，並導致鈉離子累積過多，影響離子的吸收並抑制其生長，例如會減少葉綠素的合成、降低水分吸收，甚至影響營養鹽的運輸。研究發現，小球藻在鹽逆境下會透過脯胺酸累積來提高植物的滲透壓，減少鹽逆境帶來的影響（臺北市立第一女子高級中學，民 89）。同時，鹽逆境還會導致植物體內的活性氧(ROS)增加過多，引發氧化壓力。為了應對這種壓力，植物和小球藻會啟動自身的抗氧化防禦系統（陳香蓮.，2015）。例如增加超氧化物歧化酶(SOD)、過氧化氫酶(CAT)和過氧化物酶(POD)等抗氧化酶的活性，以減少ROS造成的損害(Apel & Hirt, 2004; Foyer & Noctor, 2005; Gill & Tuteja, 2010)。為了更了解小球藻對抗鹽逆境的機制，我們未來會檢測小球藻的抗氧化酵素活性及脯胺酸含量。

二、黃耆成分幫助小球藻抗逆境可能的機制

我們透過找尋文獻發現黃酮類、多醣類、皂苷類可影響植物的抗逆境作用。黃酮類可以當作抗氧化劑，提供電子去中和自由基，減少氧化壓力(Zhang, X.,2023)。多醣類可幫助植物提升可溶性糖的含量（類似於脯胺酸的功能）(Zou et al., 2019)，讓植物能去提高滲透壓，讓細胞膜跟細胞壁保持穩定。皂苷類能幫助植物細胞膜流動和穩定性增加，防止鈉離子在細胞內累積過多，還能增加抗氧化酶的活性(Mona H. et al., 2019)。而我們利用水萃取的方式得到的黃耆萃取液可得到部分的水溶性黃酮類，以及部分的多醣類及皂苷類，因此我們推測，加入了黃耆溶液能幫助小球藻生長發育的原因是因為這些成分去減緩小球藻在鹽逆境中的氧化壓力，讓小球藻的生長發育狀況較佳。

三、由小球藻淨化過的汙水可用於農業灌溉

我們透過實驗發現，養過小球藻並離心處理過的畜牧廢水（上清液）有助於青梗白菜生長，且未培養過小球藻的畜牧廢水會抑制青梗白菜生長。我們推測是因為小球藻吸收了廢水

中有害的成分，像是降低水中的鹽分、吸附有害的重金屬等，且畜牧廢水本來營養源就比較多，可提供良好的環境讓植物生長。我們後來還用離心機分離出畜牧廢水中的小球藻（藻體）並加水成為藻液去種植小白菜，發現藻液對小白菜生長有明顯的抑制，可以去推測是小球藻吸附了廢水的有害物質，導致重新溶出的藻液會抑制作物生長。

四、小球藻對海水環境的適應性

本研究發現小球藻在純海水中生長受抑制，然而，添加 0.05% 黃耆後，小球藻的葉綠素含量及細胞數量均明顯回升。推測黃耆中富含的活性成分（如黃酮類與多醣類）發揮了抗鹽害作用，緩解了海水鹽濃度過高帶來的生長抑制。

文獻指出，一些微藻（如 *Scenedesmus* sp.）在鹽逆境下可累積脯胺酸等影響滲透壓的成分來提升耐鹽性。推測小球藻在海水中的耐鹽機制也可能與此種調節機制相關，而黃耆可能加強了此過程。

五、小球藻作為液態有機肥料

我們發現使用養過小球藻的水能促進植物生長，並幫助其抗鹽逆境。有文獻指出(Bispo, R. L. B., 2023)小球藻藻液富含氮、磷、鉀等營養元素，且有說明其含有 IAA 等植物激素可促進植物生長。因此我們可以推論小球藻分泌的物質對植物是有幫助的，在我們的實驗中還看到抗鹽逆境的效果。未來希望能將其推廣於農業灌溉，在節省水資源的同時，也提供作物生長所需的營養。

六、未來展望與實際應用

(一) 黃耆作為植物源生物刺激素之潛力

我們認為黃耆作為植物源生物刺激素具有很大的發展潛力，我們推論黃耆不只能增強小球藻對逆境的適應能力，還可以促進植物生長。且相較於化學農藥，以植物黃耆作為天

然的植物源生物刺激素，不僅能降低對環境的污染，還可以讓我們利用自然解方，達成永續農業。

在未來的研究中，我們會進一步研究黃耆活性成分是如何影響抗氧化酵素的活性與抗逆境機制，了解如何更有效的利用黃耆，也可以擴展在生物技術和環境保護等領域的應用。

(二) 結合綠能技術製作微藻生質燃料

小球藻油脂含量高，經過適當處理可轉化為生物柴油。未來可研究在水質淨化過程中能否同步累積油脂，達到廢水處理與能源生產的雙重效益。

陸、結論

一、黃耆可作為植物源生物刺激素，促進小球藻生長並提升其總葉綠素含量 198%及細胞數量 127%。

二、濃度為 0.6M、0.9M 的鹽逆境會顯著抑制小球藻細胞數量使其減少為對照組的 64.4%、38.7%。

三、在 0.6M、0.9M 鹽逆境中，黃耆可作為促進生長與幫助抗逆境的植物源生物刺激素，使小球藻細胞數顯著提升至對照組的 131%與 223%。

四、海水處理會顯著抑制小球藻生長，而加入黃耆可幫助其生長發育，使小球藻細胞數量顯著提升，其中小球藻細胞數量是無中藥組的 220%。

五、養過小球藻的畜牧廢水可以種植青梗白菜，並且幫助其生長。種植第四天時，青江菜根長與莖長分別是對照組的 145%與 127%。

六、養過小球藻的去離子水可以幫助青梗白菜在 0.1M 鹽逆境中生長，種植第四天時，青江菜根長與莖長分別是對照組的 139%與 163%，葉片面積增大到 212%。

柒、參考文獻資料

1. 全國中小學科展作品：藥你長得好－探討肉桂對植物生長的影響 楊俐玟;蔡欣妤. 取自 <https://www.ntsec.edu.tw/science/detail.aspx?a=21&cat=16344&sid=16398>
2. 台灣水產試驗所. (n.d.). 小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 在水產養殖的應用. 台灣水產試驗所. 取自 https://www.tfrin.gov.tw/theme_data.php?theme=qa&sub_theme=fishery&id=111
3. 陳香蓮. (2015). 重金屬處理對四種植物抗氧化防禦系統的影響。 國立臺灣大學生物資源暨農學院森林環境暨資源學。
4. 黃美開、陳瑞昌、李俊州、顏丹鳳、黃淑琪等十六名 (1978)。利用天然海水培養淡水中綠藻的研究。第 18 屆全國中小學科學展覽會。
5. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology, 55(1), 373-399.
6. Farkas, A., Zsuga, L., Czégény, G., Fekete, A., & Bánhegyi, Z. (2023). Salinity stress provokes diverse physiological responses of eukaryotic unicellular microalgae. Algal Research, 73, 103155. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103155>
7. Foyer, C. H., & Noctor, G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. The Plant Cell, 17(7), 1866-1875.
8. Soliman, M. H., Abdulmajeed, A. M., Alhaithloul, H., Alharbi, B. M., El-Esawi, M. A., Hasanuzzaman, M., & Elkelish, A. (2020). Saponin bioprimer positively stimulates antioxidants defense, osmolytes metabolism and ionic status to confer salt stress tolerance in soybean. Acta Physiologiae Plantarum, 42, 1-13.
9. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12), 909-930.
10. Khatiwada, J. R., Madsen, C., Warwick, C., Shrestha, S., Chio, C., & Qin, W. (2023). Interaction between polyethylene terephthalate (PET) microplastic and microalgae (**Scenedesmus** spp.):

- Effect on the growth, chlorophyll content, and hetero-aggregation. *Environmental Advances, 13*, 100399.
11. Zou, P., Lu, X., Zhao, H., Yuan, Y., Meng, L., Zhang, C., & Li, Y. (2019). Polysaccharides derived from the brown algae *Lessonia nigrescens* enhance salt stress tolerance to wheat seedlings by enhancing the antioxidant system and modulating intracellular ion concentration. *Frontiers in plant science*, 10, 48.
 12. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
 13. Bispo, R. L. B., Ceccato-Antonini, S. R., Takita, M. A., & Rosa-Magri, M. M. (2023). Exogenous Indole-3-Acetic Acid Production and Phosphate Solubilization by *Chlorella vulgaris Beijerinck* in Heterotrophic Conditions. *Fermentation*, 9(2), 116.
 14. Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651 – 681.
 15. Ni, L., Wu, H., Du, C., Li, X., Li, Y., Xu, C., Wang, P., Li, S., Zhang, J., & Chen, X. (2021). Effects of allelochemical artemisinin in **Artemisia annua** on **Microcystis aeruginosa**: Growth, death mode, and microcystin-LR changes. *Environmental Science and Pollution Research*, 28*(33), 45253 – 45265.
 16. Qian, H., Xu, X., Chen, W., Jiang, H., Jin, Y., Liu, W., & Fu, Z. (2009). Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in **Chlorella vulgaris**. *Chemosphere*, 75*(3), 368 – 375.
 17. 臺北市立第一女子高級中學（民 89）。台北市立第一女子高級中學數理資賦優異班學生專題研究專輯。臺北市：臺北市立第一女子高級中學。
 18. Shah, A., & Smith, D. L. (2020). Flavonoids in agriculture: Chemistry and roles in biotic and abiotic stress responses, and microbial associations. *Agronomy*, 10(8), 1209.
 19. Talebi, A. F., Tabatabaei, M., Mohtashami, S. K., Tohidfar, M., & Moradi, F. (2013). Comparative salt stress study on intracellular ion concentration in marine and salt-adapted freshwater strains of

- microalgae. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(3), 309 – 315.
20. Wong, B. Y.-K., Chen, Y.-H., Cui, K.-H., Zhou, H.-C., Li, F.-L., Tam, N. F.-Y., Lee, F. W.-F., & Xu, S. J.-L. (2024). Differential allelopathic effects of mangrove plants *Kandelia obovata* and *Aegiceras corniculatum* on harmful algal species: Potential applications in algal bloom control. *Marine Pollution Bulletin*, 207, 116874.
21. Zhang, X., Liu, Y., Wang, J., & Li, H. (2023). Effects of reclaimed wastewater irrigation on soil microbial communities and crop growth: A meta-analysis. *Environmental and Experimental Botany*, 205, 105228.
22. Zhao, Y., Wang, Q., Gu, D., Huang, F., Liu, J., Yu, L., & Yu, X. (2024). Melatonin, a phytohormone for enhancing the accumulation of high-value metabolites and stress tolerance in microalgae: Applications, mechanisms, and challenges. **Bioresource Technology*, 393*, 130093.
23. Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4609.
24. Zhang, Z., Xu, M., Fan, Y., Zhang, L., & Wang, H. (2024). Using microalgae to reduce the use of conventional fertilizers in hydroponics and soil-based cultivation. **Science of the Total Environment*, 912*, 169424.

【評語】052206

隨著氣候變遷導致的淡水資源短缺，該研究主要在探討如何利用小球藻（Chlorella vulgaris）吸收廢水中的營養與重金屬，並提升其在農業中的應用潛力。本針對氣候變遷導致的水資源短缺問題，探索了小球藻在廢水處理和農業應用中的潛力，具有實際的社會意義和環保價值。將植物源生物刺激素與小球藻結合，研究其在鹽逆境下的生長表現，展示了創新的思維，並為解決農業污染提供了新思路。

科學文字的撰寫需要再加斟酌：例如裝入紙箱（黑暗環境），於恆溫培養室培養（ 27°C ，8.5Klux）」，為何還要照光？裝入紙箱（黑暗環境），於恆溫培養室培養（ 27°C ，8.5Klux）」，為何還要照光？另外 Fig7-2 根是否要再確認有顯著差異，Fig7-4 應為葉片生長而非根莖之發育或莖長提升。

以畜牧廢水培養之小球藻，若要作為其他動物或人類食用，應先確保其組成與食用安全性。

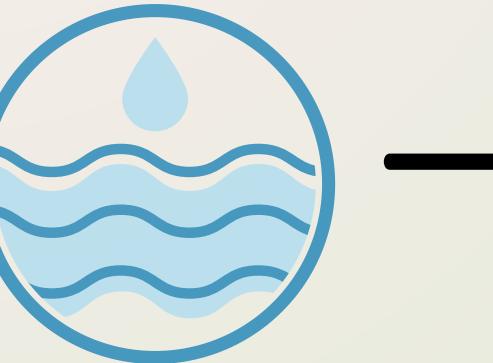
雖然發現黃耆對小球藻的促進作用，但對其具體的生物刺激機制仍需進一步研究，以便更好地理解其作用。

測試植物的生长期太短，比較容易忽略持續澆灌的影響。

本研究在水資源再利用及植物源生物刺激素的應用方面展現了良好的潛力，並在實驗設計及數據分析上達到了一定的水準。希望未來能在上述方面進一步改善，使研究成果更加完善，並能夠推向更廣泛的應用。

作品海報

從水資源再利用到農業應用 ——植物源生物刺激素助攻克鹽逆境



摘要

為因應氣候變遷造成的淡水資源短缺問題，本研究以可吸收廢水中營養與重金屬的小球藻，探討水資源再利用的可行性。實驗發現小球藻在6%畜牧廢水中為最佳生長濃度，且添加黃耆作為植物源生物刺激素，顯著提升小球藻葉綠素含量與耐鹽性。在海水環境下，小球藻經黃耆處理後，其細胞數與葉綠素含量分別為對照組的175%與173%。此外，利用培養過小球藻的廢水灌溉青江菜，種植第4天時，根長與莖長分別為對照組的129%與146%，且減少青江菜根部細胞受損。推測黃耆與小球藻皆可釋出次級代謝物作為生物刺激素，促進植物生長與鹽逆境耐受力。期望本研究可解決農業汙染與淡水資源不足等問題，並拓展小球藻的利用價值。

壹、研究動機

氣候變遷造成淡水資源短缺，進而導致農業受到影響，因此我們想尋找替代水源及廢水再利用的方法。

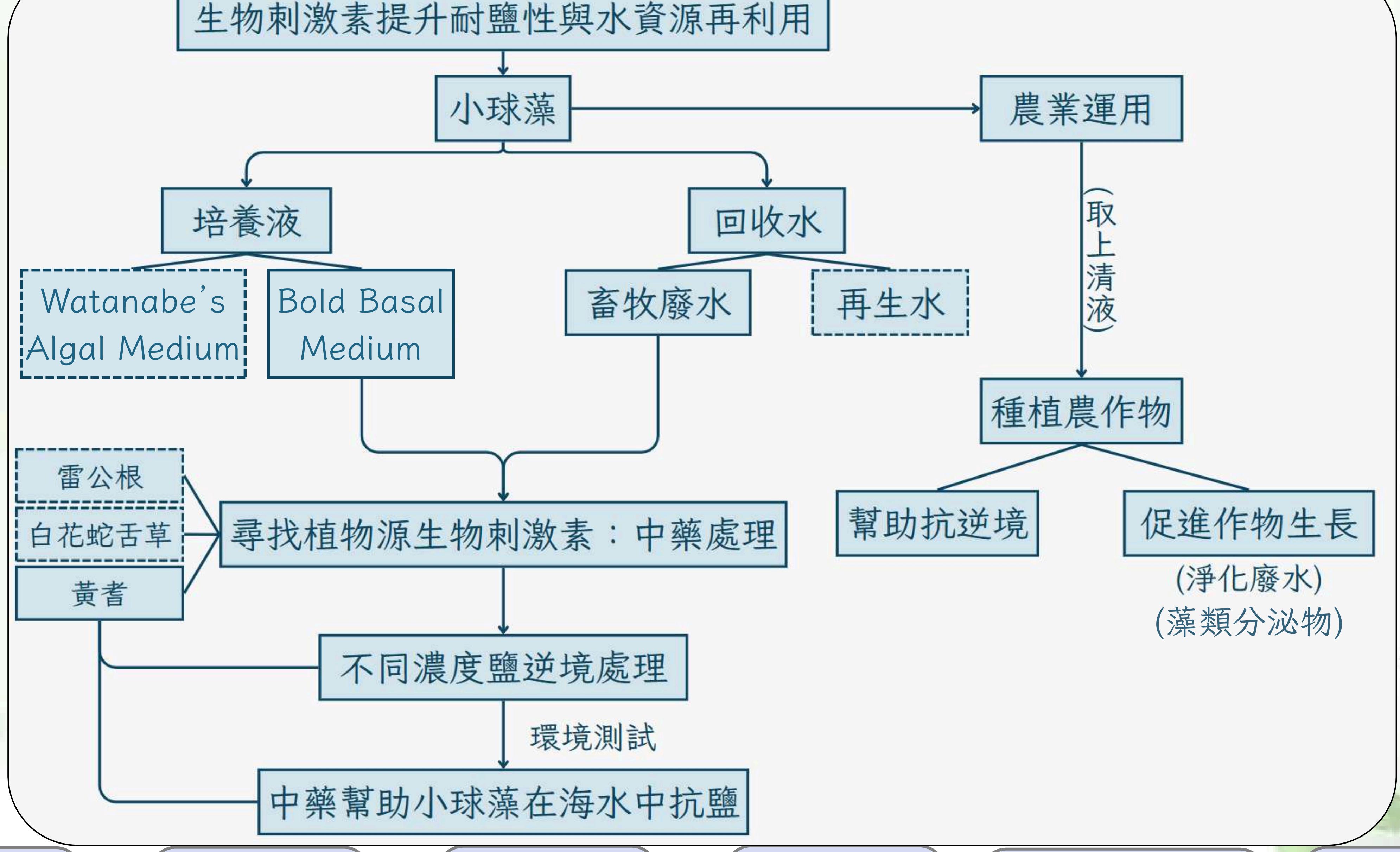
小球藻因具吸收重金屬、快速生長、油脂含量高等特性，可用於淨水並製成生物燃料。文獻顯示，中藥有助於植物生長及抗逆境。因此，我們想探討中藥能否提升小球藻在廢水中的生長及淨水效果。此外，現在海水淡化技術昂貴繁瑣，我們嘗試利用中藥與小球藻做簡易的提升水質，達到促進小球藻生長及淨水的雙贏，為水資源再利用提供天然、有效的解方。

貳、研究目的

- 一、小球藻在不同培養液生長發育的情形。
- 二、研究哪些中藥種類可以促進小球藻生長發育。
- 三、研究小球藻在鹽逆境下的生長及葉綠素含量的變化。
- 四、研究黃耆是否可以幫助小球藻抗鹽逆境
- 五、研究小球藻在海水環境加入黃耆的生長狀況。
- 六、觀察養過小球藻的上清液，灌溉農作物，是否能提升農作物的發芽或生長狀況，及是否幫助作物抗鹽逆境。

參、研究過程

註：所有圖表皆為作者自行拍攝或製作



黃耆

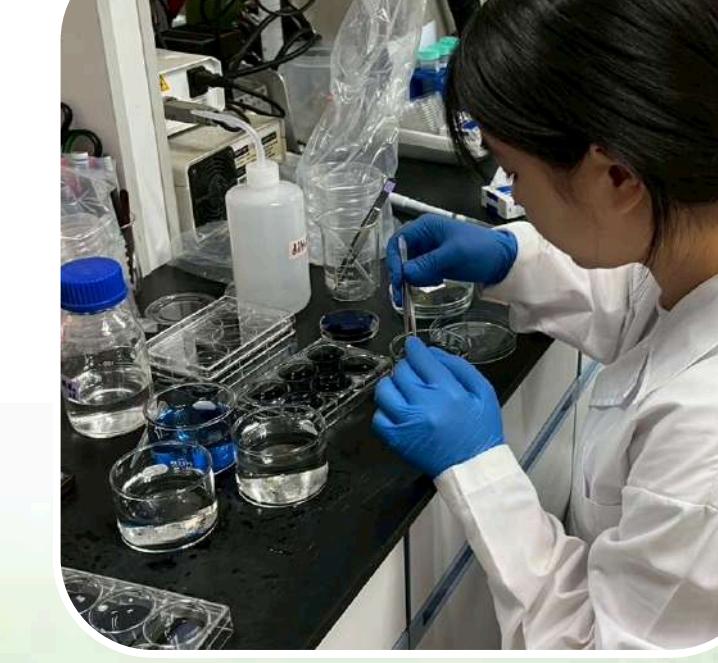
白花蛇舌草

雷公根

離心

EVANS BLUE

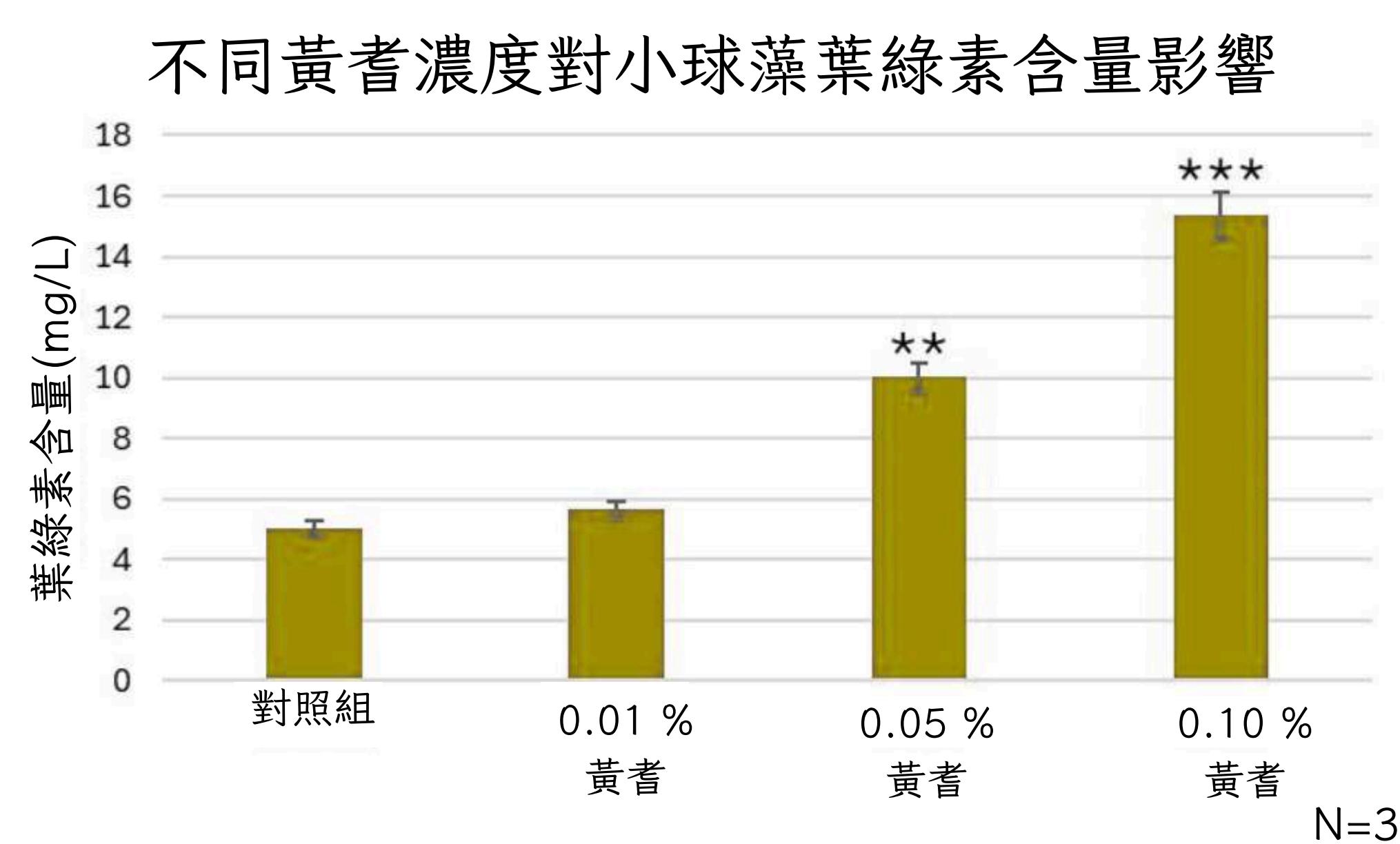
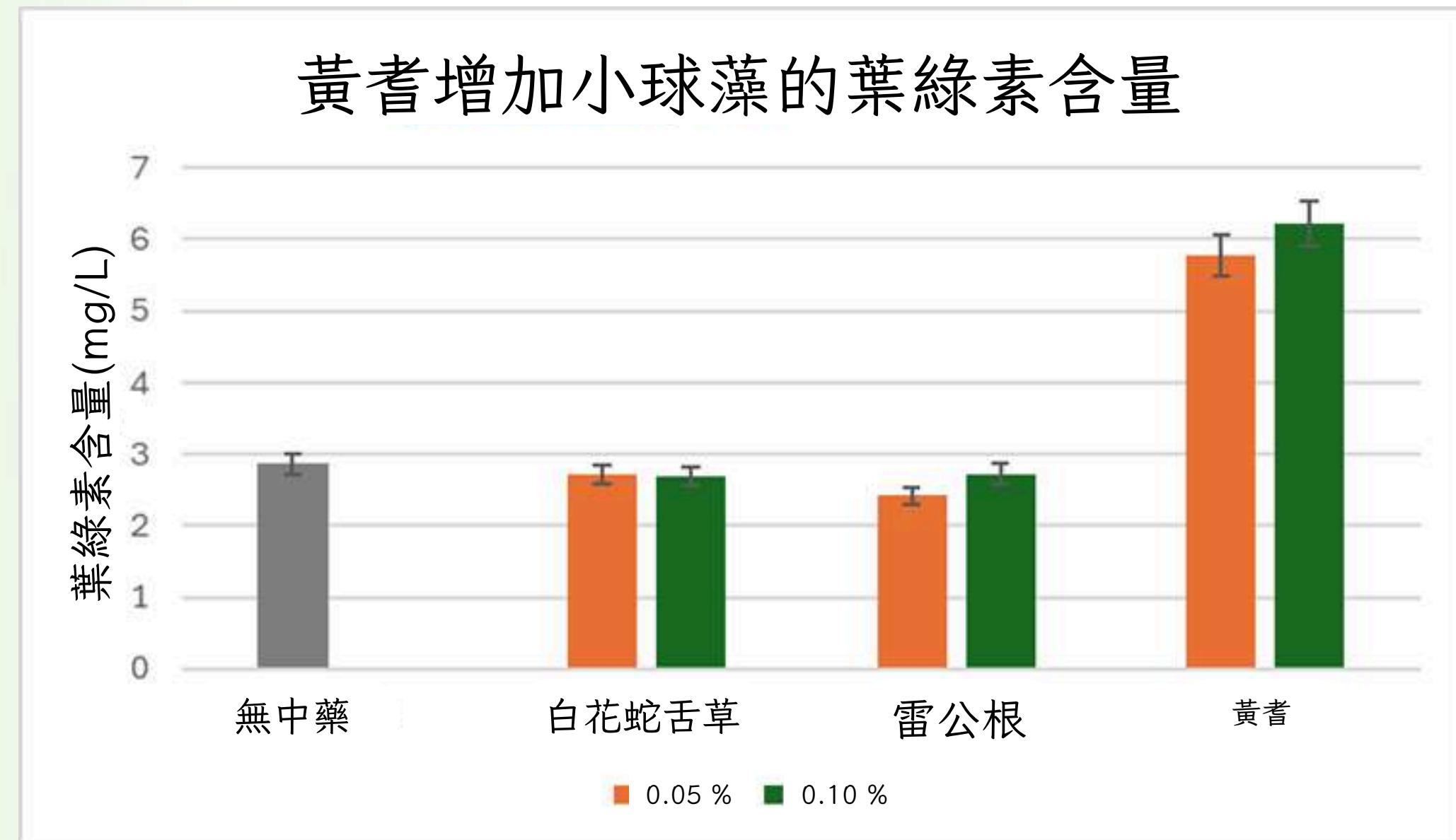
各種培養液



四、研究結果與討論

一、不同中藥處理下的小球藻

(一) 小球藻在BBM培養液下，用不同中藥處理的生長發育狀況

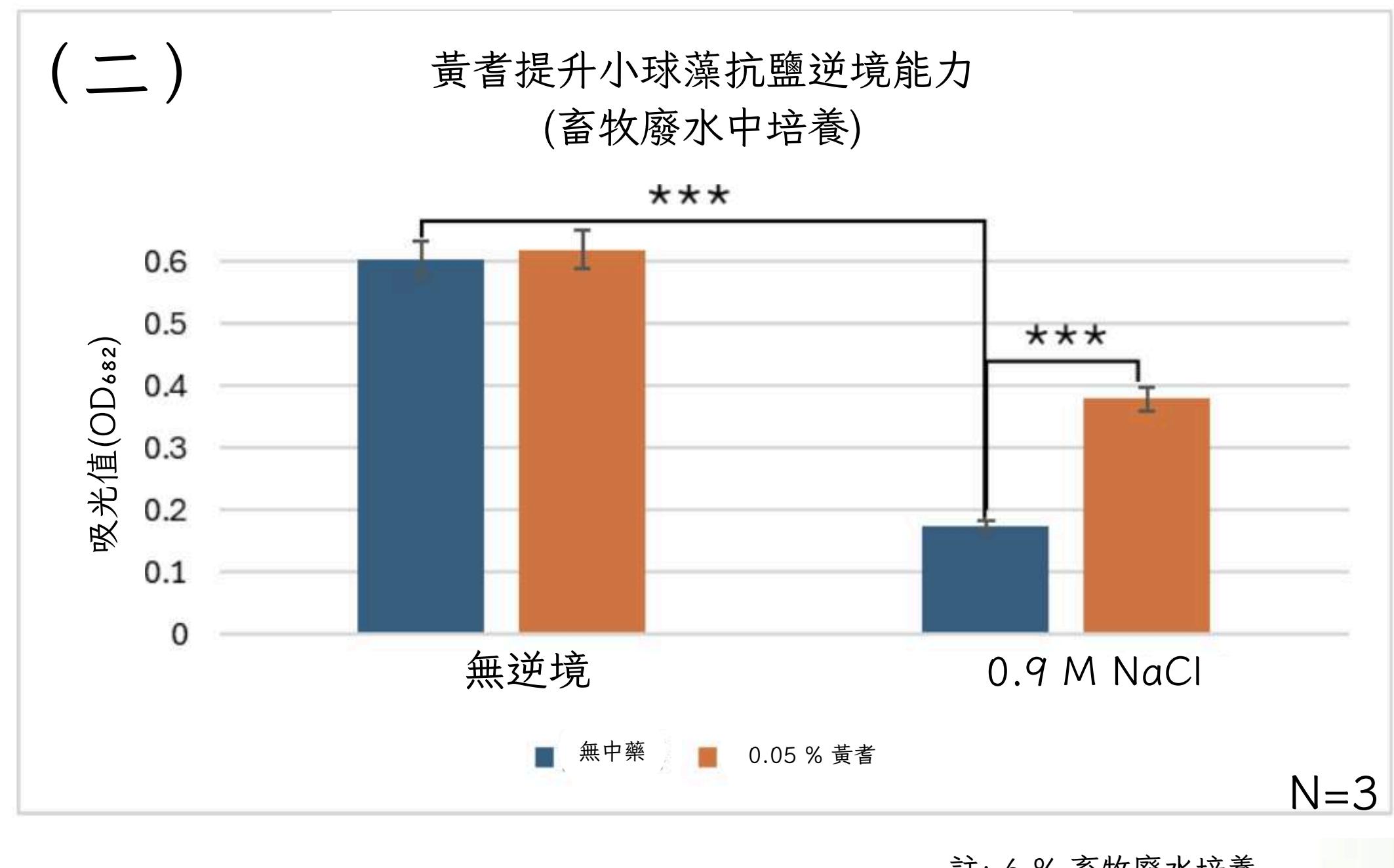
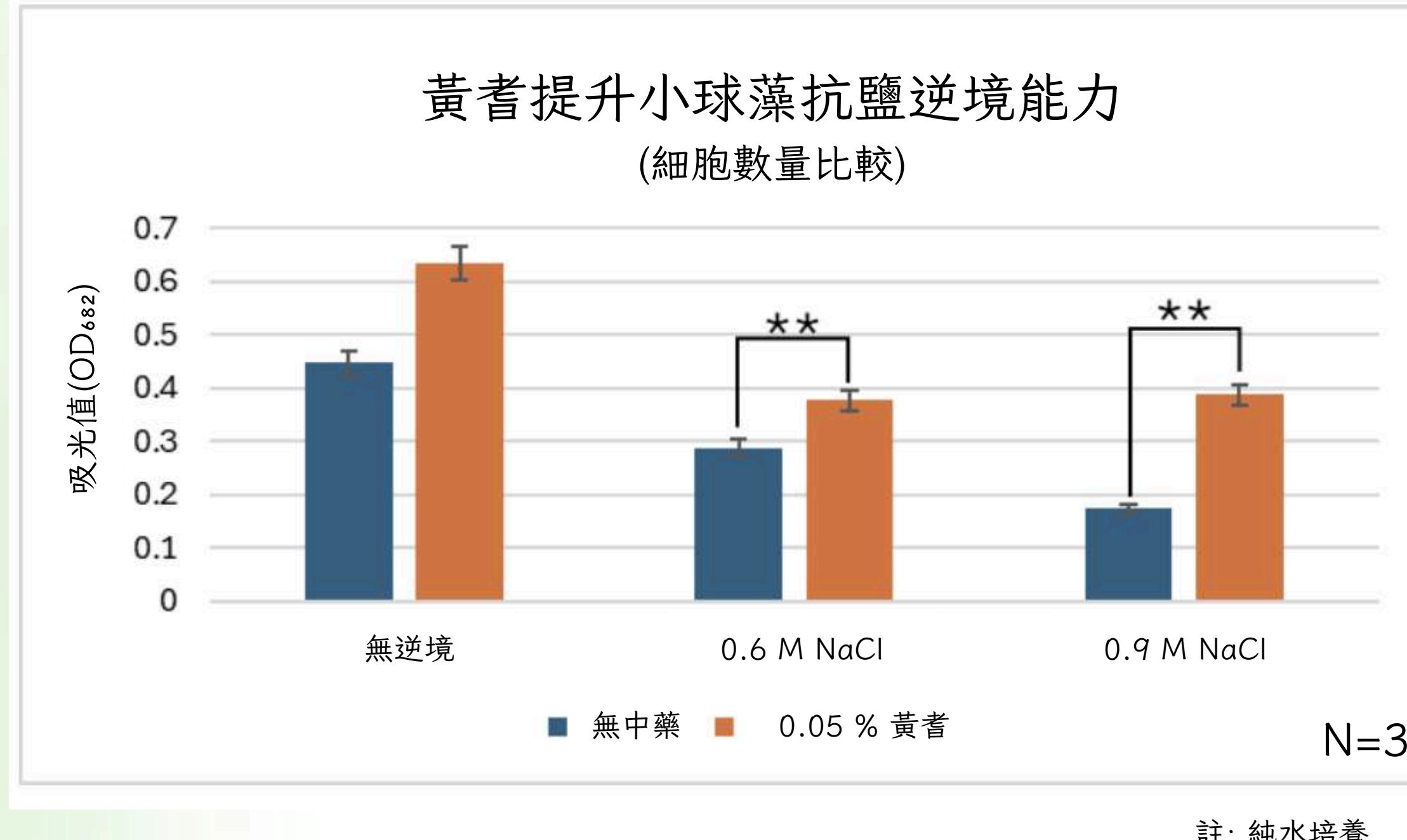


結果：

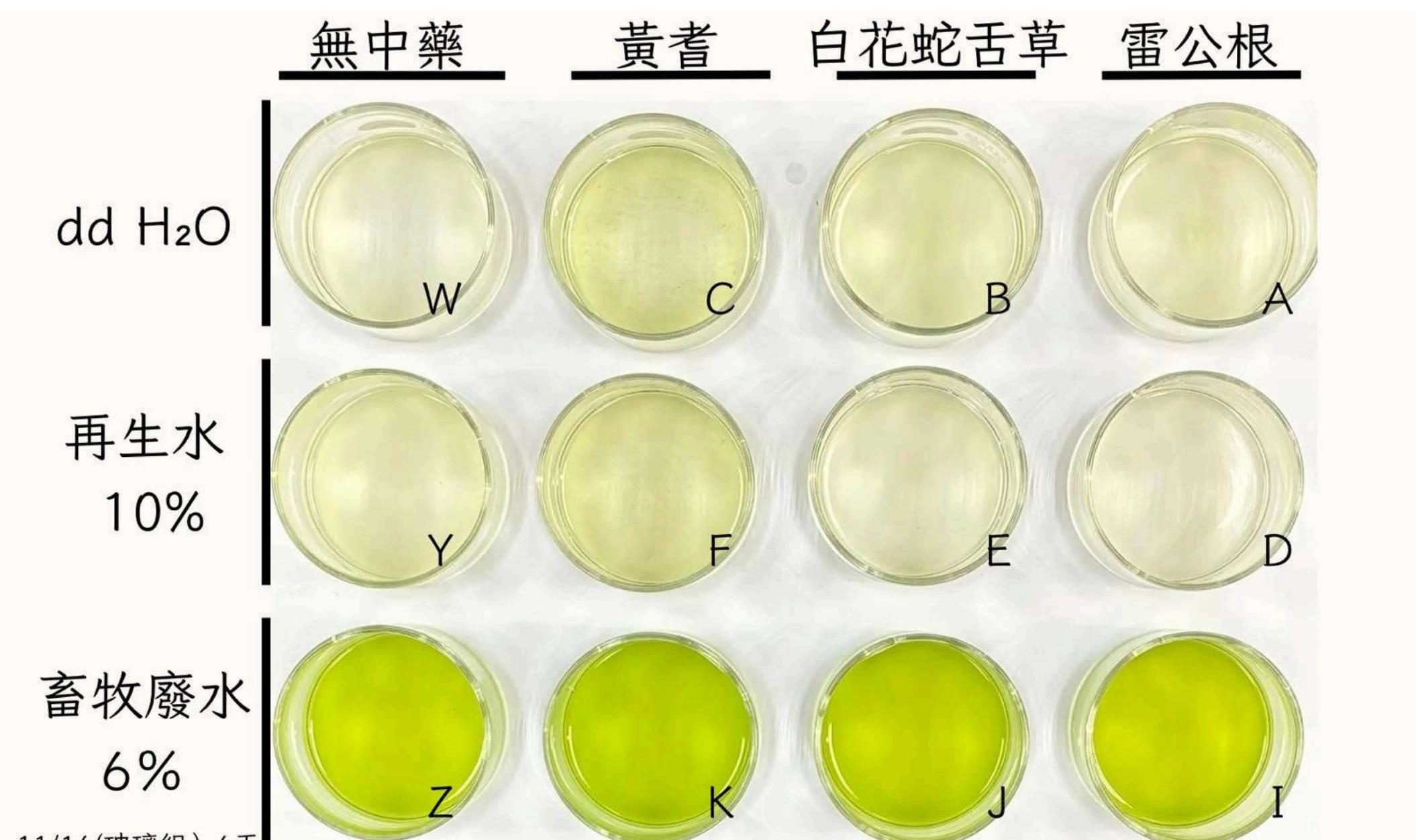
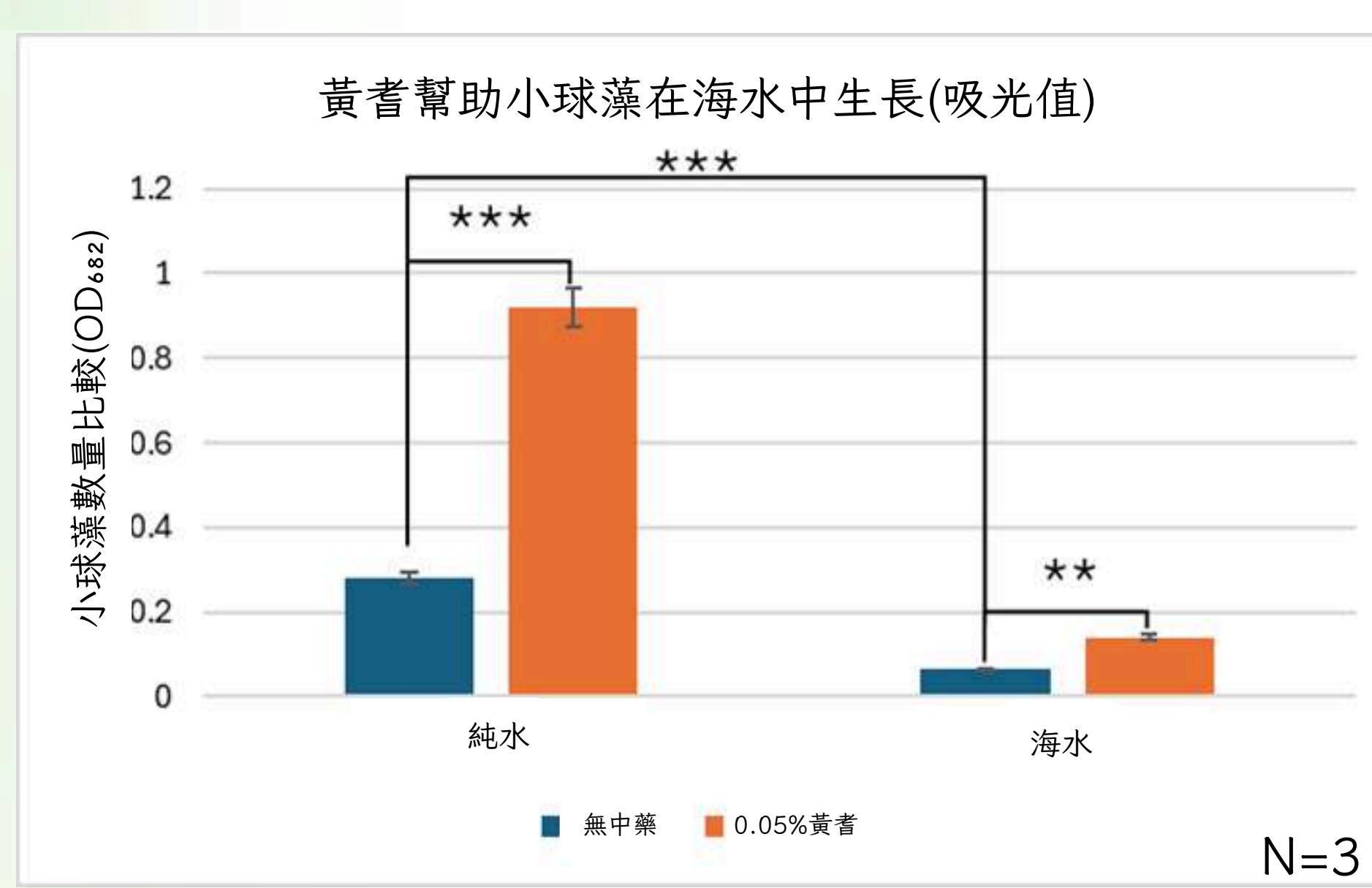
**我們由之前的實驗得知BBM是最適合小球藻生長的培養基

研究顯示在三種中藥中，黃耆能幫助小球藻提升其葉綠素含量，其中又以黃耆溶液濃度0.05%時為最低明顯有效濃度

二、鹽逆境下添加黃耆作為生物刺激素，對小球藻生長的影響



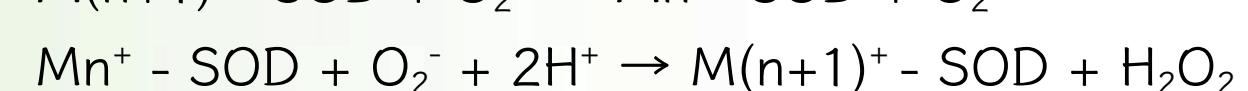
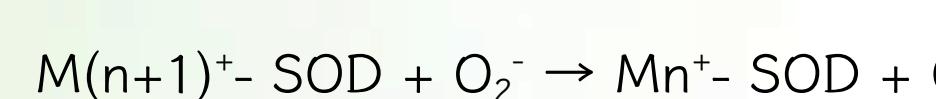
三、在自然海水中小球藻的生長狀況



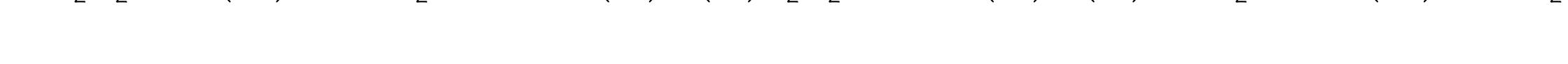
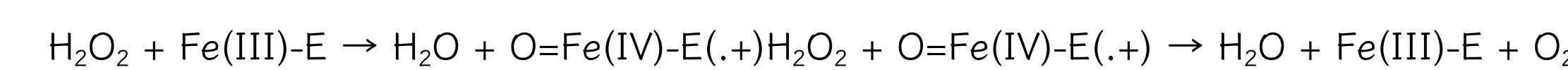
討論一、鹽逆境影響其生長可能的機制

- 使植物的滲透壓改變，並導致鈉離子累積過多，影響離子的吸收並抑制其生長。
- 小球藻會透過脯胺酸累積來提高植物的滲透壓，減少鹽逆境帶來的影響。
- 導致植物體內的活性氧 (ROS) 累積過多，引發氧化壓力，使細胞受到傷害。為了應對這種壓力，植物和小球藻會啟動自身的抗氧化防禦系統。
- 為了解小球藻對抗鹽逆境的機制，我們未來會檢測小球藻的抗氧化酵素活性及脯胺酸含量。

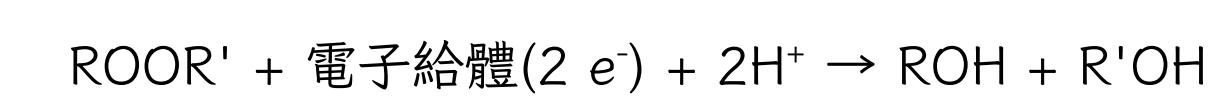
SOD



CAT

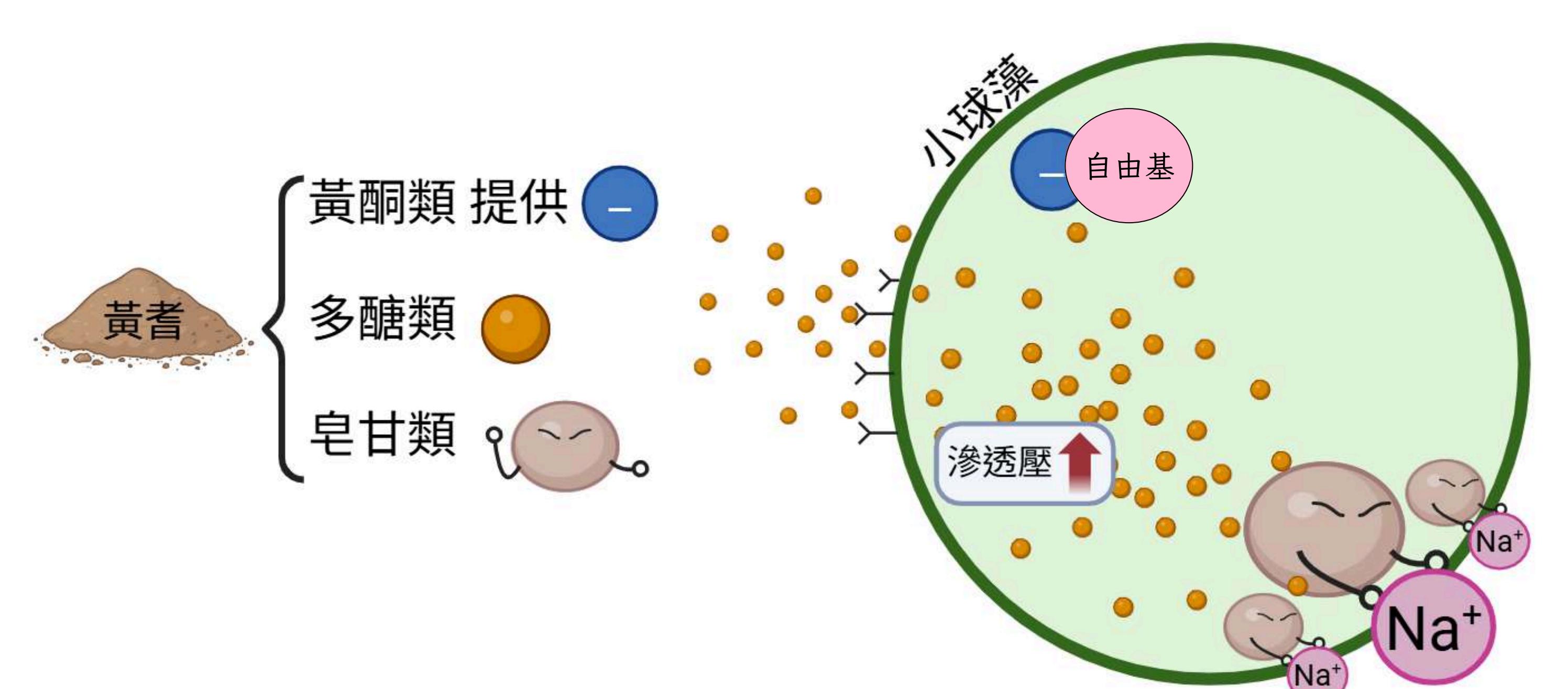


POD

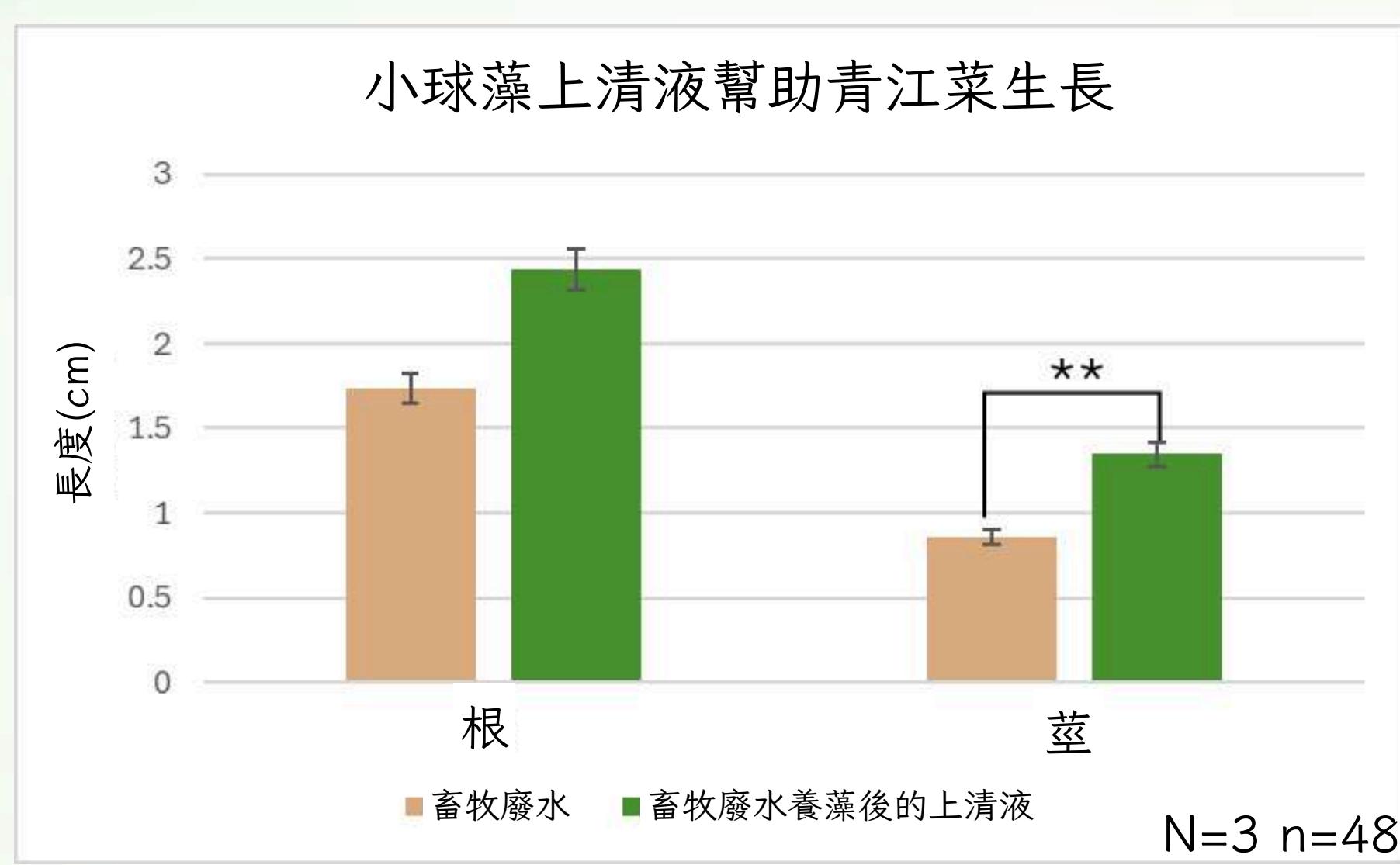


討論二、黃耆成分幫助小球藻抗逆境可能的機制

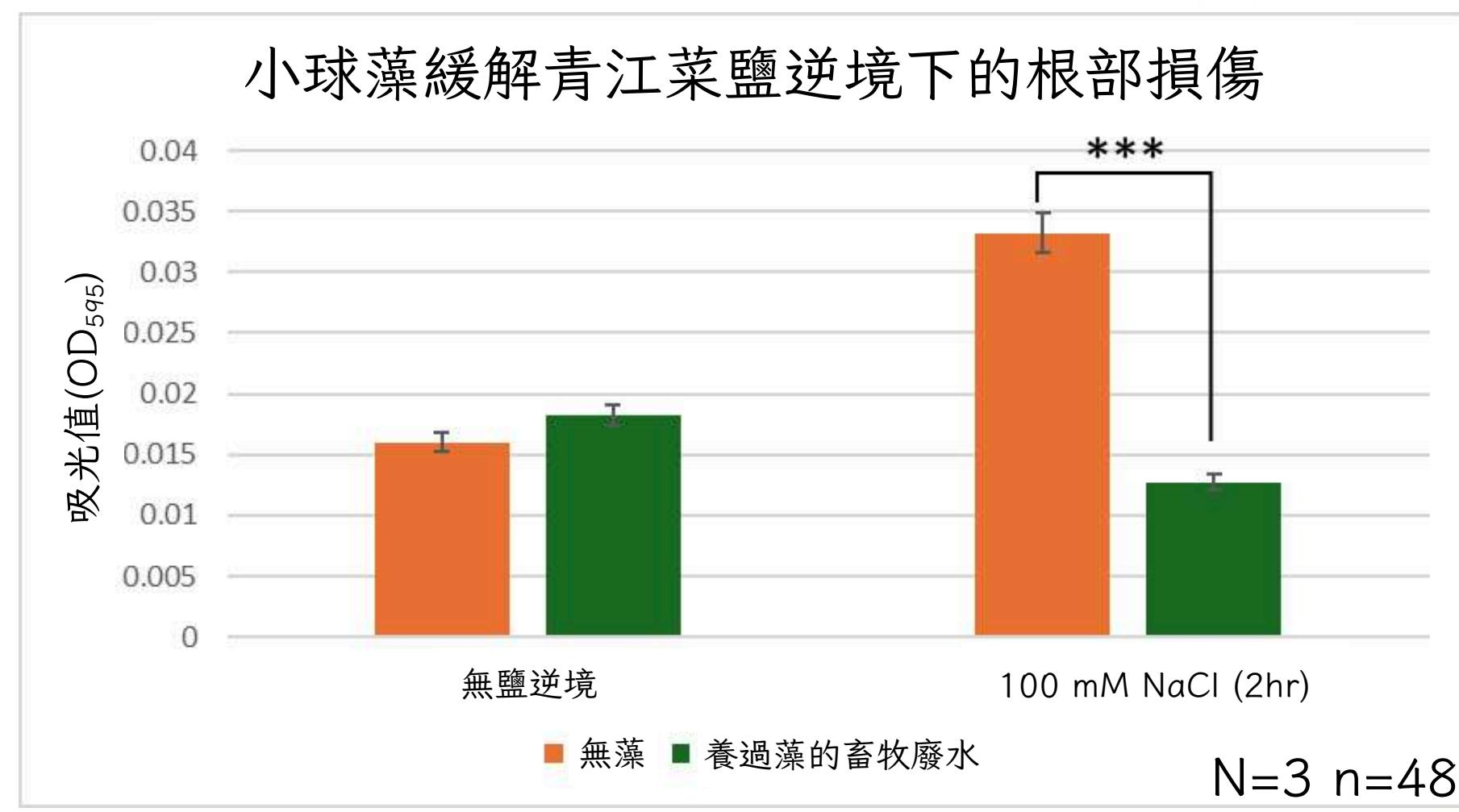
- 黃酮類可以當作抗氧化劑，提供電子去中和自由基，減少氧化壓力。
- 多醣類可幫助植物提升可溶性醣的含量（類似於脯胺酸的功能），讓植物能去提高滲透壓，讓細胞膜跟細胞壁保持穩定。
- 皂苷類能幫助植物細胞膜流動和穩定性增加，防止鈉離子在細胞內累積過多，還能增加抗氧化酶的活性。



四、養過小球藻的廢水培養作物

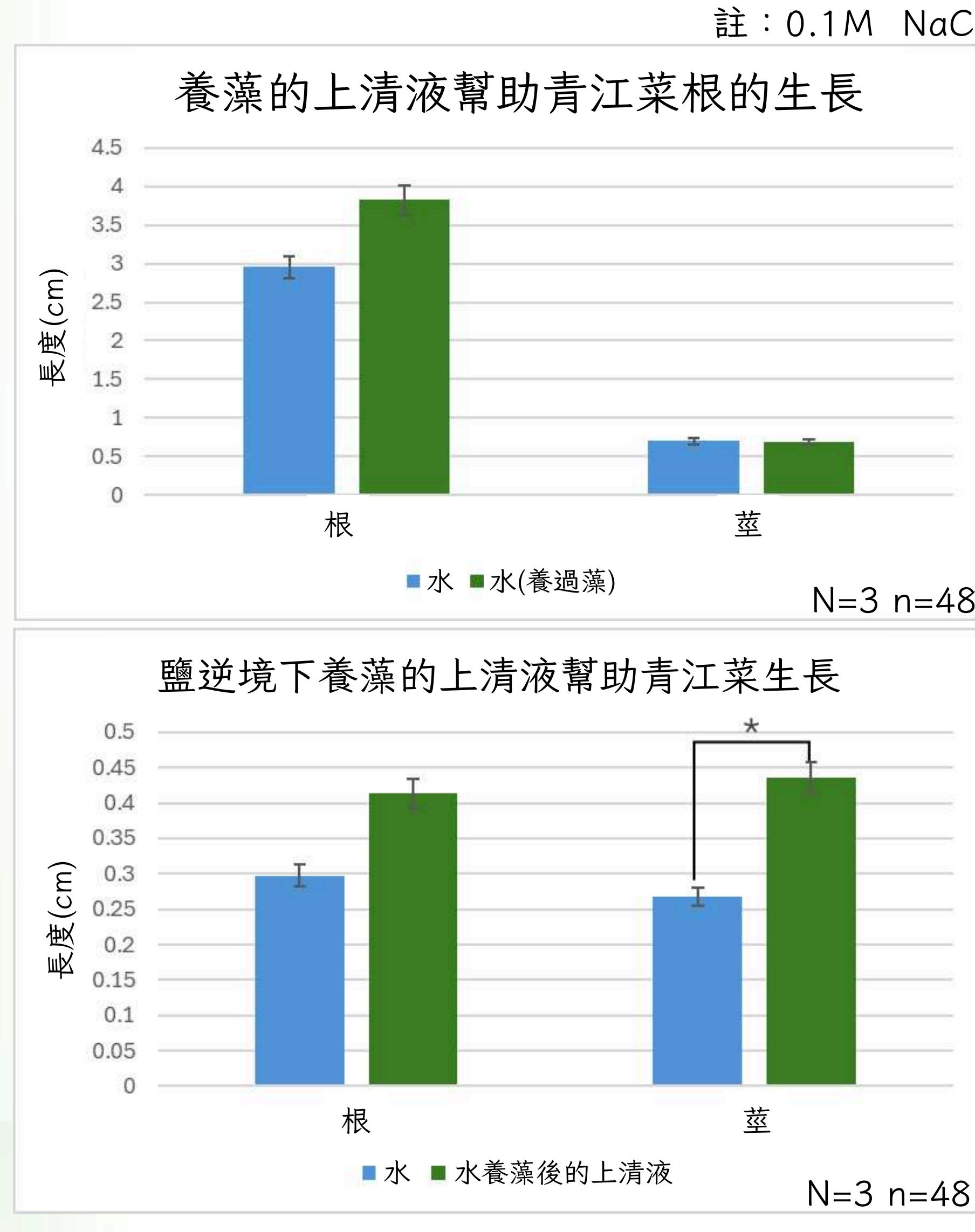


(二) 2小時鹽逆境對於根的影響

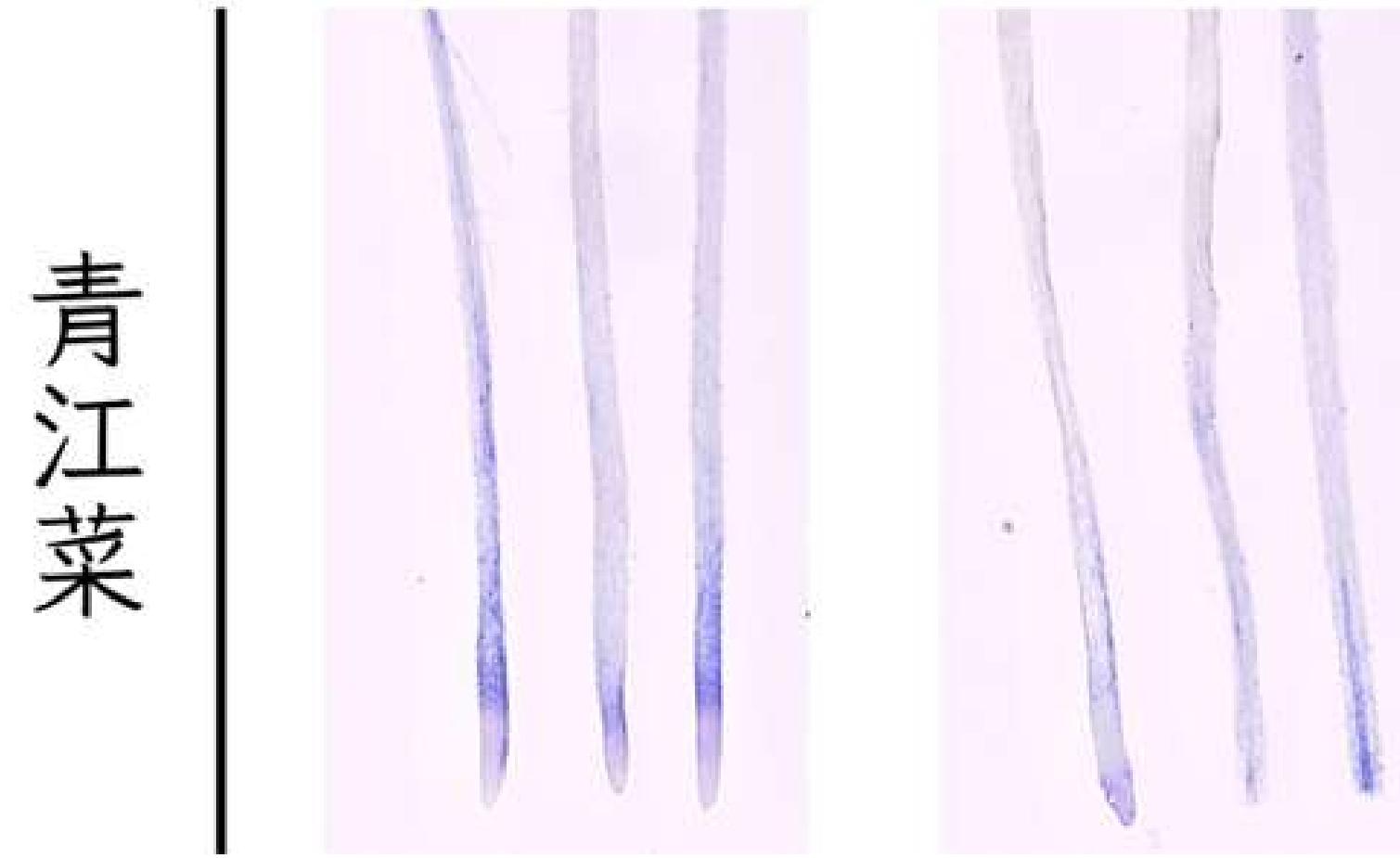


五、藻類上清液增加作物抗逆境

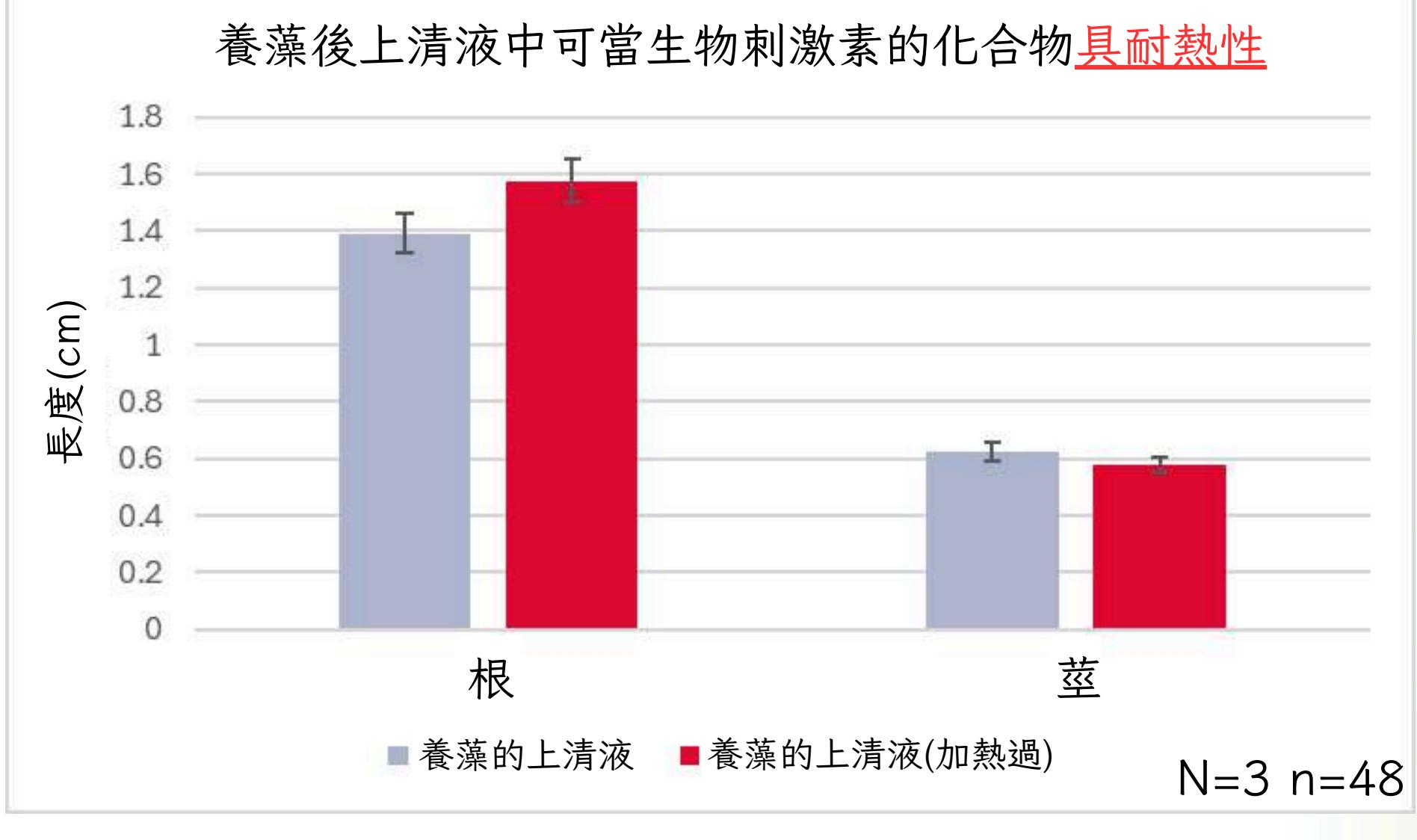
(一) 鹽逆境下藻類上清液對青江菜生長的影響



培養液：dd H₂O 養藻後的上清液

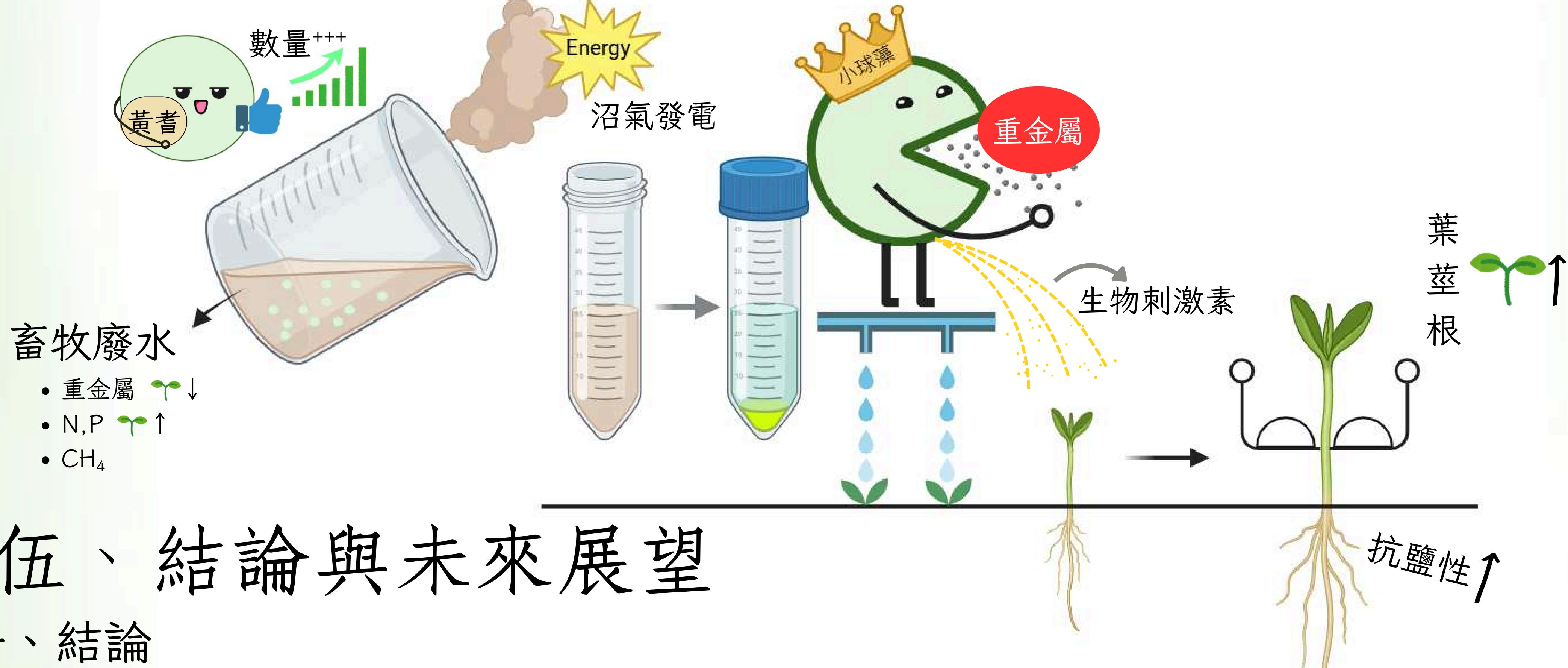


(三) 初步分析藻類分泌物是否為蛋白質



討論三、小球藻上清液幫助作物生長及抗逆境可能的機制

- 小球藻內部有特殊官能基能**吸附重金屬**，使上清液中的有害物質減少。
- 小球藻分泌物可能含有類似植物激素的成分能當作**生物刺激素**幫助作物生長及抗逆境。
- 加熱過的上清液仍可幫助作物生長，可推測幫助作物生長的物質**不是蛋白質**。



伍、結論與未來展望

一、結論

- 黃耆可作為**植物源生物刺激素**，促進小球藻生長並提升其總葉綠素含量。
- 濃度為0.6M、0.9M的鹽逆境會**顯著抑制**小球藻細胞數量。
- 在0.6M、0.9M鹽逆境中，黃耆可作為**促進生長**與**幫助抗鹽逆境**的植物源生物刺激素，使小球藻細胞數顯著**提升**。
- 海水處理會**顯著抑制**小球藻生長，而加入黃耆可幫助其生長發育，使小球藻細胞數量顯著**提升**。
- 養過小球藻的**畜牧廢水**可以種植青梗白菜，並且**幫助其生長**。
- 養過小球藻的**去離子水**可以**幫助**青梗白菜在0.1M鹽逆境中**生長**。

二、未來展望

- 使用淨化過的畜牧廢水灌溉作物 以海水稀釋畜牧廢水
- 進一步研究小球藻的廢水淨化機制 測量脯胺酸、水中氮磷殘餘量
- 探索其他植物源生刺激素
- 結合綠能技術製作微藻生質燃料 油脂含量高、轉化為生物柴油
- 使用黃耆幫助小球藻生長作為保健食品 能提高產量及營養價值

陸、參考文獻

- 楊俐玟、蔡欣好 (2020)。藥你長得好：探討肉桂對植物生長的影響。全國中小學科展作品。
- 黃美開、陳瑞昌、李俊州、顏丹鳳、黃淑琪等十六名 (1978)。利用天然海水培養淡水中綠藻的研究。第18屆全國中小學科學展覽會。
- Zhang, X., Liu, Y., Wang, J., & Li, H. (2023). Effects of reclaimed wastewater irrigation on soil microbial communities and crop growth: A meta-analysis. Environmental and Experimental Botany, 205, 105228.