

第十九屆旺宏科學獎

成果報告書

參賽編號：SA19-357

作品名稱：撲朔醜狸—化學物質對狸藻觸發運動之影響

姓名：洪禎珍

關鍵字：酒精、乙醚、捕蟲囊

摘要

本研究主要是觀察黃花狸藻(*Utricularia aurea*)葉子特化的捕蟲囊觸發運動之影響因子及其吸收物質的情形並以絲葉狸藻(*Utricularia gibba*)做對照。結果我們發現幾種有機溶劑，例如酒精、乙醚、甲醇及丙酮等，在不同時間及濃度作用下影響捕蟲囊的觸發運動，酒精、甲醇及丙酮為促進性作用而乙醚則為抑制性，黃花狸藻對酒精等溶液的敏感度較絲葉狸藻高，且酒精作用於黃花及絲葉狸藻對其消化酶的分泌有明顯抑制現象。硝酸鉀溶液對兩種狸藻的觸發運動皆為促進性，且絲葉狸藻對硝酸鉀溶液的敏感度較黃花狸藻高。另外，狸藻捕蟲囊的吸收主要由分布在內表皮的四爪腺毛基部進入至細胞內，陰離子而言對硝酸根吸收速率較快，大於氯離子的影響，陽離子則是鈉離子較快，其次為鉀離子。若能對狸藻捕蟲囊觸發運動更加了解，將可用於生物防治法利用植物性消化酶減少孑孓病媒蚊孳生，或應用於植物性類神經系統的仿生生物學開發負壓捕蟲的工具。

壹、研究動機

本篇所探討的黃花及絲葉狸藻是台灣本土的物種，具有捕蟲囊的水生食蟲開花植物，其捕食方式為食蟲植物中最快，能用吸取方式捕食孑孓等無脊椎動物，藉著特殊的捕蟲運動，消化及吸收補充氮或磷的來源，類似動物的行為反應與消化生理機制，然而此觸發過程通常被認為是一種機械性的刺激，是否會受化學因子的調控及影響則尚未清楚。我們希望透過對它們的認識與瞭解，進而將它運用在台灣登革熱等相關疾病的預防上。

貳、研究目的

一、目的

- (一)探討黃花及絲葉狸藻捕蟲囊其觸發行為如何受化學物質影響。
- (二)兩種狸藻捕蟲囊吸收代謝受化學物質的影響。
- (三)狸藻消化液的分泌情形及分泌量之探討。

二、相關資料

(一)捕蟲囊型態:從外而內總共可分為二層：

1.外部

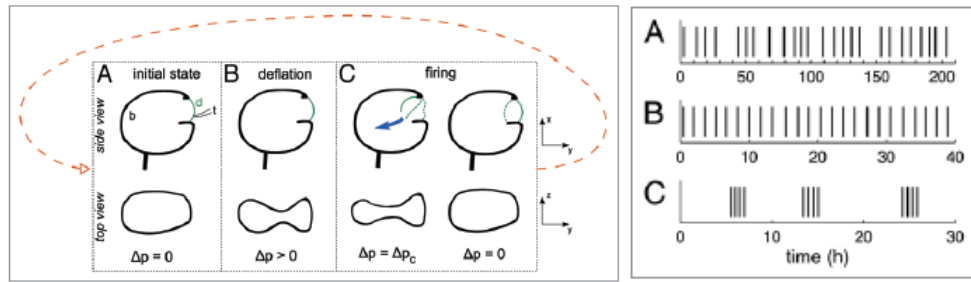
- (1)捕蟲囊囊口：天線細枝、一般細枝。
- (2)絲葉狸藻捕蟲囊外開口內有一支撐瓣膜的觸發毛(莊等人，2019)。
- (3)外層的半球型腺毛細胞向外突起(莊等人，2019)。

2.內部

- (1)二爪腺毛(分佈在瓣蓋開口下方，可阻擋小生物從此處爬出)、三爪腺毛。
- (2)四爪腺毛:由四個長條狀突起與基部細胞組成的向內凸出呈小豆芽狀。

(二)捕蟲囊觸發及吸收方式

- 1.捕蟲囊的消化吸收主要靠囊內壁上的四爪腺毛。可用對細胞無害的食用色素，以 1：15 的比例調配成 20ml 的有色蒸餾水溶液放於培養皿中。將狸藻株放入培養皿，在解剖顯微鏡下以自製頭髮探針刺激觸發毛，使捕蟲囊吸入食用色素。取出狸藻，清水中洗掉外表的食用色素，靜置於清水中觀察並記錄。不同時間手工解剖捕蟲囊，放在複式數位照相顯微鏡下觀察，可清楚看出四爪腺毛細胞質內的有色物質的變化。因此發現食用色素不但成本低，且較螢光染劑有更多的優點，如觀察時間較不受限制等，非常適合用來研究捕蟲囊吸收物質的共質體路徑 (莊，2004；莊和莊，2006)
- 2.葡萄糖、甘油、硝酸鉀、甘胺酸的吸收有不同於水的路徑，色素聚集於四爪腺毛的基部和頂端中間為空白圓圈並推測此處可能為液胞(莊等人，2019)。
- 3.狸藻觸發過程有人認為是規律性的吸水與排水產生負壓(下方左圖)，間隔時間則在不同種間有所差異，並且將觸發週期分為三種(下方右圖)(Vincent et al., 2011)。



(三) 麻醉劑的作用機制

1. 西方麻醉約在十九世紀(1842年)開始使用乙醚作為臨床的氣態吸入式麻醉劑，麻醉成為醫學治療或止痛不可或缺的一環，在動物上也能從神經傳導系統來說明麻醉劑的原理，不同麻醉藥劑有不同作用及代謝速率，有的分子為脂溶性，較容易通過血腦障壁，至於麻醉作用對捕蟲植物類神經網路的傳導則還不是十分清楚。
2. GABA和其相關的GABA A型受體在人類中樞神經為主要的抑制型神經傳導物質接受體。非鴉片類麻醉劑作用於GABA受體上，其分子使GABA的作用於受體上的時間延長，更多的氯離子流通使細胞膜過極化，有些則把鉀離子閘門溝道打開造成過極化，無法產生動作電位而對中樞神經有更大的抑制作用(黃，2008)。

(四) 細胞通道依開閉控制的方式，大略可分為三類：

1. 對電壓敏感，開閉靠膜電位控制者(voltage gated)，如鉀、鈉、鈣及氯通道。有些鉀通道反在膜電位比靜止時更負(超極化)時才開放，引起 K^+ 倒向入流。
2. 受化學物質控制者(chemically gated)。多半存在突觸後膜中，與突觸前神經末梢釋放的傳遞物質結合後便開放，引起膜電位改變。
3. 另一種類的通道長期開放，形成十分穩定的離子通路。例如溝狀交接(gap junction)通道(吳，1985)。

參、研究設備與器材

一、實驗器材：

培養皿(個)、燒杯(數個)、鑷子(支)、蓋玻片(數片)、載玻片(數片)、滴管(數支)、手套(數雙)、解剖顯微鏡(一台)、光學複式顯微鏡(一台)、數位顯微鏡(一台)、手提電腦、黃花狸藻(數十株)、絲葉狸藻(數十株)。離心機、離心管、研磨棒、研磨器、微量吸管、分光光度計、乾浴機、電泳槽、0.45ug PVDF membrane、薄層層析片(TLC 片)。

二、實驗藥品：

水溶性食用色素粉末(紅色六號 New coccin $C_{20}H_{11}O_{10}N_2S_3Na_3$ MW=604.5)、95%酒精(MW=46.07)、乙醚(MW=74.12)、甲醇(MW=32.04)、丙酮(MW=58.08)、硝酸鉀(MW=101.1)、氯化鉀(MW=74.55)、氯化鈉(無加碘)(MW=58.44)、胎牛血清蛋白(BSA)、6X SDS sample buffer dye、Protein ladder、Transfer buffer、7.5% & 10% SDS 膠體、0.1% 麗春紅(Ponceau S)溶液、coomassie brilliant blue R-250 染劑、冰醋酸。中性酯展開液(正戊烷、乙醚、冰醋酸)、植物油(芝麻油)、甲殼素(幾丁聚醣)。

肆、研究方法與過程

一、探討不同化學物質對絲葉狸藻的捕蟲運動之影響

(一)有機溶劑濃度

- 1.食用色素六號以 1 克：30 毫升逆滲透水比例調成紅色素水溶液，再加入逆滲透水：紅色素水溶液= 4：1 則作為對照組觀察。
- 2.溶液種類：酒精、乙醚、甲醇、丙酮
- 3.加入逆滲透水配製四種濃度：5%、10%、15%、20%。再加入不同濃度之有機溶劑：紅色素水溶液= 4：1 作為各實驗組觀察。
- 4.每組取出約有 10 顆捕蟲囊的一段狸藻，置於混合調製的溶液中，在解剖顯微鏡下，分別記錄其觸發吸入上述各種溶液的捕蟲囊比例。放置在溶液中 5~20 分鐘，每隔 5 分鐘將狸藻取出，置於解剖顯微鏡下觀察其吸入紅色素溶液的捕蟲囊數量比例，重複樣本數 $N = 3$ ，以 Excel 軟體作 t-test 分析，若 $P < 0.05$ ，則以

“*” 表示。觸發運動的數目比例 $\% = \frac{\text{觸發後有紅色素捕蟲囊數目}}{\text{觸發前捕蟲囊總數}} \times 100\%$

(二)鹽類濃度

- 1.種類：硝酸鉀、氯化鈉、氯化鉀。濃度：5%、10%、20%、0.5M、1.0M。
- 2.放置在溶液中 5~20 分鐘，每隔 5 分鐘將狸藻取出，置於解剖顯微鏡下，觀察其吸入紅色素溶液(不同濃度之鹽類溶液：紅色素水溶液= 4：1)。
- 3.在顯微鏡下以 40X 的倍率觀察其吸入紅色素溶液的捕蟲囊數量比例，重複樣本數 $N = 3$ ，以 Excel 軟體作 t-test 分析，若 $P < 0.05$ ，以 “*” 表示。

(三)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： $y = ax + b$ ，估計達成 100%所需時間，令 $y = 1$ ，可得 $x = -\frac{1-b}{a}$ 若趨勢線 $y = a \ln(x) + b$ 的 R^2 大於趨勢線 $y = ax + b$ 的 R^2 ，則採用前者來估計達成

100%所需時間，令 $y = 1$ ，可得 $x = e^{\frac{1-b}{a}}$

3. 已知 $y = \sin(ax)$ 的週期是 $\frac{2\pi}{a}$ 。若函數週期為 T ，則 $T = \frac{2\pi}{a}$ ，故所繪函數為 $y = \sin(\frac{2\pi}{T}x)$ 。

二、探討狸藻捕蟲囊的吸收過程受不同溶劑的影響

- (一) 將酒精、乙醚、甲醇、丙酮、鹽類(硝酸鉀、氯化鉀、氯化鈉)等物質分別加入逆滲透水調製成 5-20 % 的水溶液，再將溶液與紅色食用色素以 4 : 1 比例混合調製。
- (二) 每組取出約有 10 顆捕蟲囊的一段狸藻，置於混合調製的溶液中，在解剖顯微鏡下，分別記錄其觸發吸入上述各種溶液的捕蟲囊比例。將狸藻浸入清水洗去多餘紅色色素，後靜置裝有逆滲透水的燒杯。
- (三) 放在燒杯中每隔 8-12 小時觀察記錄一次，吸入紅色素的捕蟲囊顏色消失情形。
- (四) 在顯微鏡下以 40X 的倍率觀察，以 Motic Images Plus 3.0 軟體觀察捕蟲囊的四爪腺毛並拍照。
- (五) 數學模擬預測

若趨勢線為 $y = a \ln(x) + b$ ，如何估計完全吸收所需時間？

令 $y = 0$ ，可得 $x = e^{\frac{-b}{a}}$ 。

三、探討狸藻捕蟲囊內的物質成分

- (一) 以分光光度計於波長 562nm 檢測狸藻中含有蛋白質的量。
 1. 以浸泡過 1 小時 10% 酒精之狸藻為實驗組，24 小時後分別秤取 0.15~0.20g 的實驗組及對照組狸藻置於試管中。
 2. 取 400ul 的溶液將試管中的狸藻磨碎後，以 5500g 在 4°C 離心 15 分鐘。
 3. 取上層溶液稀釋 100 倍，並配置胎牛血清蛋白(BSA)的標準溶液(2000、500、250、125、25、0 ug/ml)。
 4. 取樣本及標準溶液分別加入反應試劑並置入 37°C 反應 30 分鐘。

5.將樣本及標準溶液三重複放入分光光度計中，以波長595nm檢測標準液及樣本液OD值，推得樣本液的蛋白質濃度。

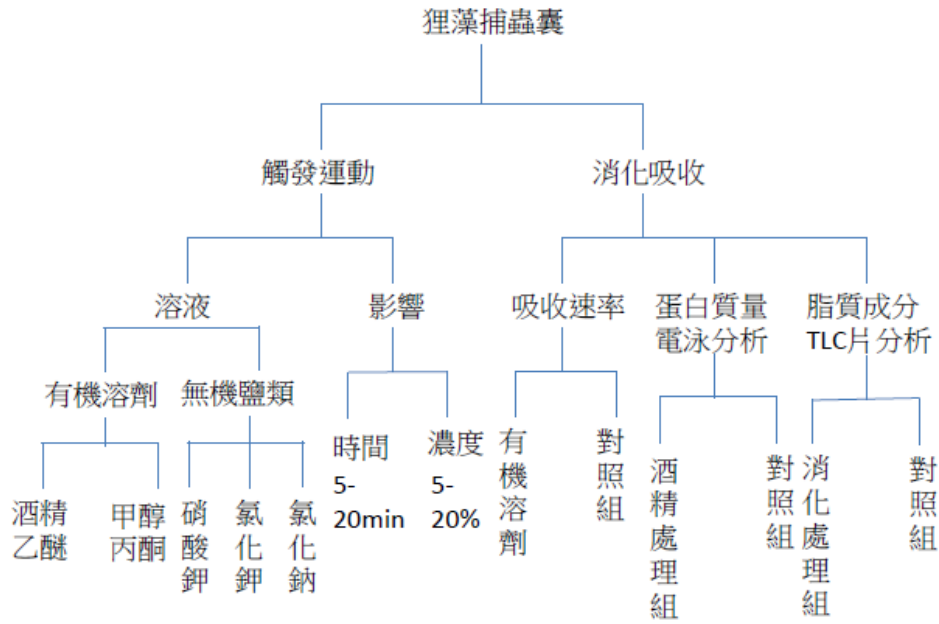
(二)蛋白質電泳：利用SDS-PAGE分析蛋白質種類

- 1.將測得濃度的樣本加入6ul 6X SDS sample buffer dye，並置於65°C乾浴機反應30分鐘將蛋白質變性，分別取黃花與絲葉狸藻樣本15、30、50 ug蛋白樣本，以7.5% SDS膠體進行電泳分析，電泳條件為上膠60伏特30分鐘，下膠100伏特90分鐘。
- 2.利用濕式轉印系統將膠內蛋白轉印到0.45ug PVDF membrane，轉印條件為100伏特55分鐘，轉印後將PVDF membrane浸泡在含有0.1%麗春紅(Ponceau S)溶液中染色5分鐘。

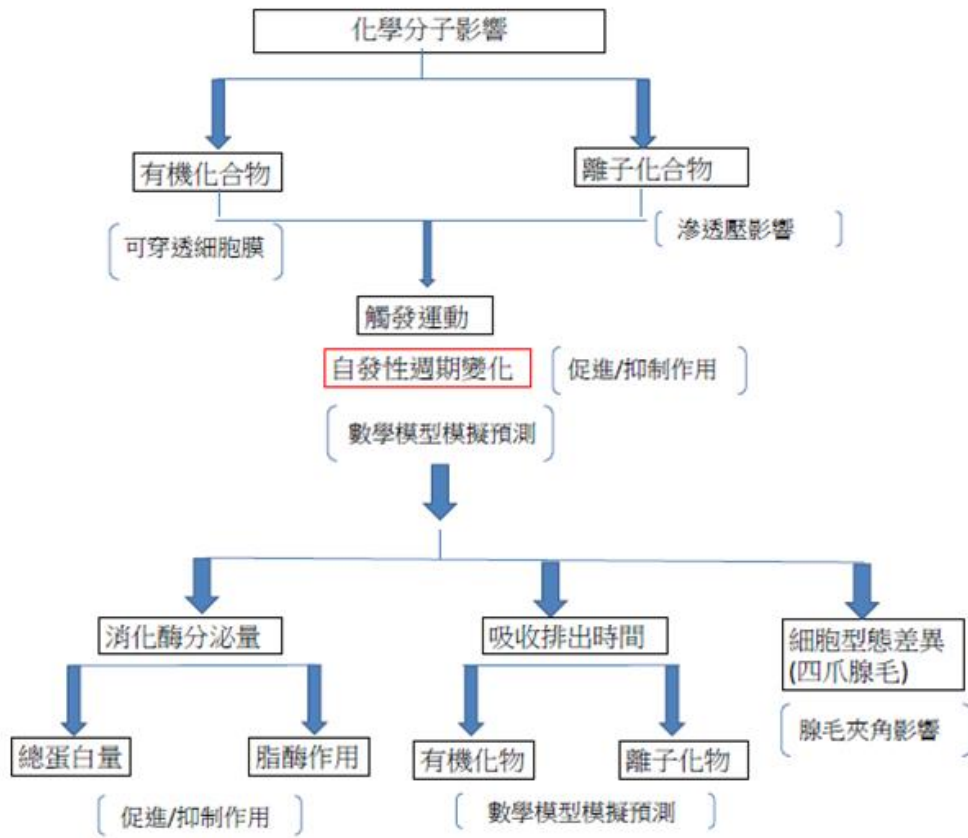
(三)利用TLC檢驗各組的捕蟲囊中性酯

- 1.秤取0.15~0.20g的狸藻，取0.3cc丙酮加入各組捕蟲囊樣品中，用研磨器研磨。
- 2.以毛細管吸附樣品溶液，滴於TLC上，用正己烷:乙醚:冰醋酸=70:30:1中性酯類展開液沖堤。
- 3.在碘蒸氣中顯色觀察結果，並計算其Rf值。

伍、實驗流程圖



實驗架構圖



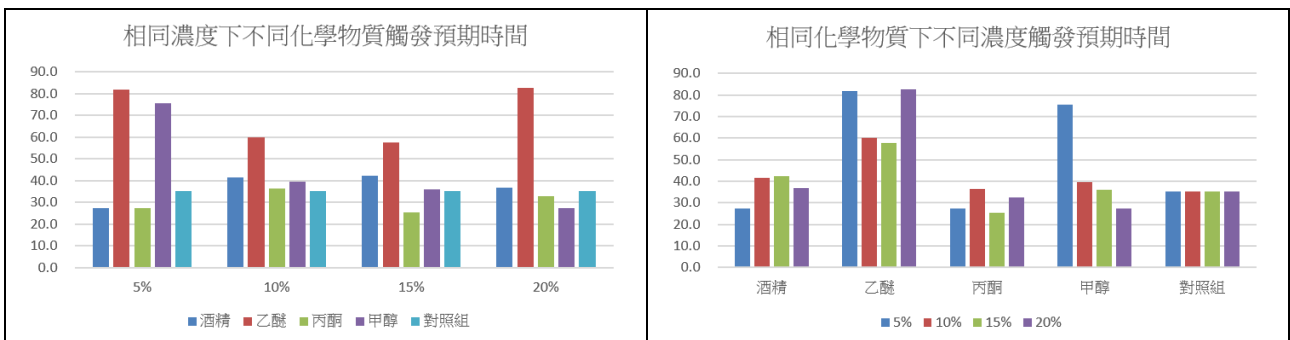
陸、研究結果

一、探討不同化學物質對狸藻的捕蟲運動之影響

(一)有機溶液浸泡時間與濃度對黃花狸藻觸發運動的影響

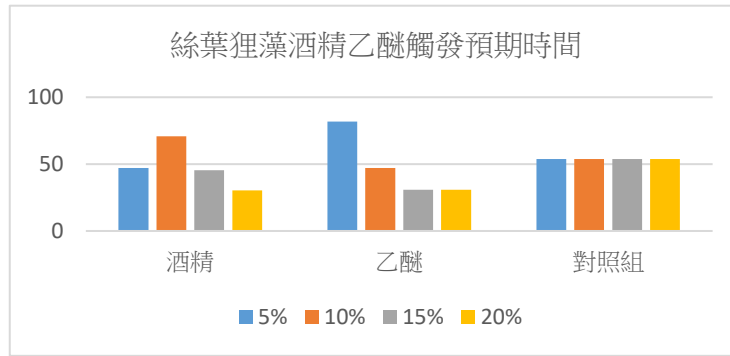
- 1.由附錄一圖中可知隨著浸泡時間變長，吸入紅色素之捕蟲囊數目也增加，大致上呈現正比關係。
- 2.乙醚達到 100%觸發時間顯著較對照組久，為抑制性；酒精、丙酮、甲醇與對照組相較之下大致上有促進觸發運動的趨勢。
- 3.酒精與丙酮在各濃度的捕蟲囊觸發運動比例較對照組數值高，甲醇則是在 10-20%對觸發運動的百分比例較高；丙酮所需時間顯著較對照組短，對黃花狸藻有促進觸發作用的現象較明顯。
- 4.至於乙醚則是在 5%濃度時觸發運動比例數值較低，與對照組相較有顯著差異性。在各濃度有機溶液達 100%觸發預期時間之比較，乙醚所需時間顯著較對照組長，顯示對黃花狸藻觸發運動而言為一抑制劑。

5.不同濃度有機溶液達 100%觸發預期時間比較圖



達 100% 觸發預期時間 (min)	酒精	乙醚	丙酮	甲醇	對照組
5%	27.5	81.8	27.5	75.7	35.4
10%	41.6	60.1	36.4	39.5	35.4
15%	42.4	57.7	25.5	36.2	35.4
20%	36.8	82.8	32.7	27.6	35.4
t-test	0.33156	*0.00694	0.07039	0.22294	

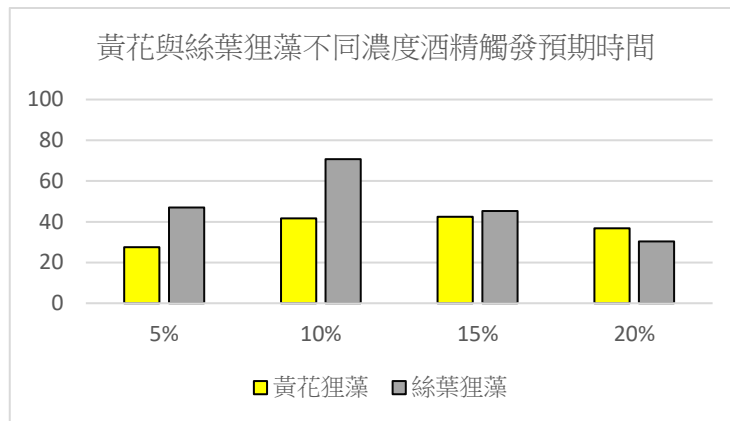
(二)有機溶液浸泡時間及濃度對絲葉狸藻觸發運動的影響



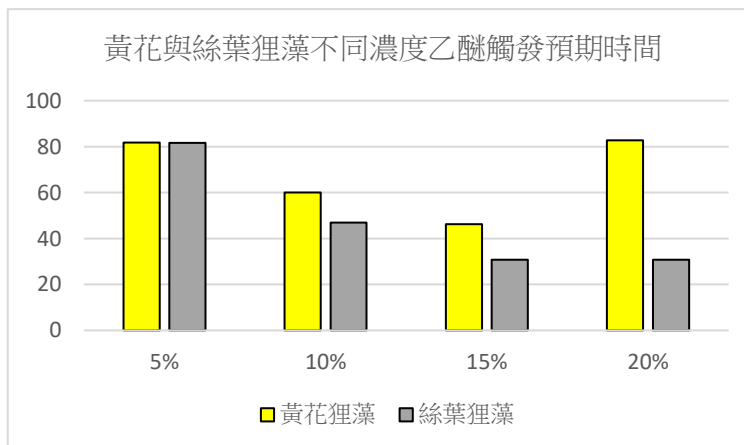
(單位:分鐘)

- 1.由附錄圖中可知隨著浸泡時間變長，絲葉狸藻吸入紅色素之捕蟲囊數目也增加，大致上呈現正比關係。
- 2.酒精在 5%、15-20% 與對照組呈現顯著差異性，多為促進性作用，乙醚則在 5% 與對照組有顯著差異，對觸發運動為抑制性，其他濃度則無顯著差異。

(三)有機溶液對黃花與絲葉狸藻觸發運動的比較



(單位:分鐘)



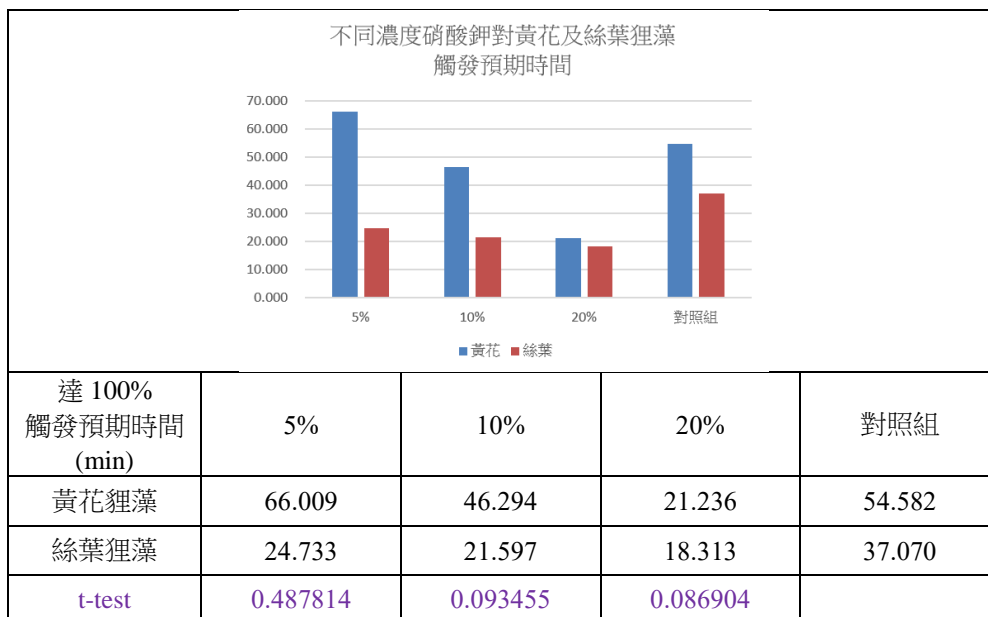
(單位:分鐘)

- 1.10%酒精作用於黃花與絲葉狸藻觸發運動有顯著差異，黃花狸藻觸發運動比例較高，預期達到 100%所需時間顯著較短。

2.乙醚作用於黃花與絲葉狸藻觸發運動有顯著差異，黃花狸藻觸發運動比例較低，預期達到 100%所需時間顯著較長。

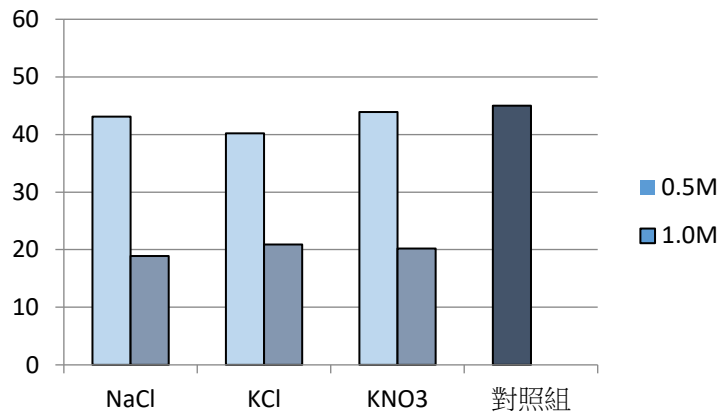
(四)硝酸鉀溶液濃度對黃花及絲葉狸藻觸發運動的影響

- 1.在各濃度硝酸鉀溶液達 100%觸發預期時間之比較，所需時間均顯著較對照組短，顯示對絲葉狸藻觸發運動而言為一促進劑。
- 2.不論黃花或絲葉狸藻達 100%觸發預期時間隨著硝酸鉀溶液濃度成反比，顯示滲透壓為重要影響因子。
- 3.20%硝酸鉀溶液對黃花狸藻觸發反應有促進性，且為顯著差異性，至於絲葉狸藻在各濃度與對照組比較多為顯著差異。
- 4.絲葉相對於黃花狸藻對硝酸鉀溶液影響觸發運動的反應較敏感。



(五)不同鹽類溶液達 100%觸發預期時間

- 1.0.5M 氯化鈉、氯化鉀及 1.0M 氯化鈉、氯化鉀與硝酸鉀溶液對絲葉狸藻觸發反應皆有促進性，且為顯著差異性，達 100%觸發預期時間較對照組短。
- 2.鈉離子(1.0M)及氯離子(0.5M)較鉀離子溶液對絲葉狸藻觸發運動的影響較大。

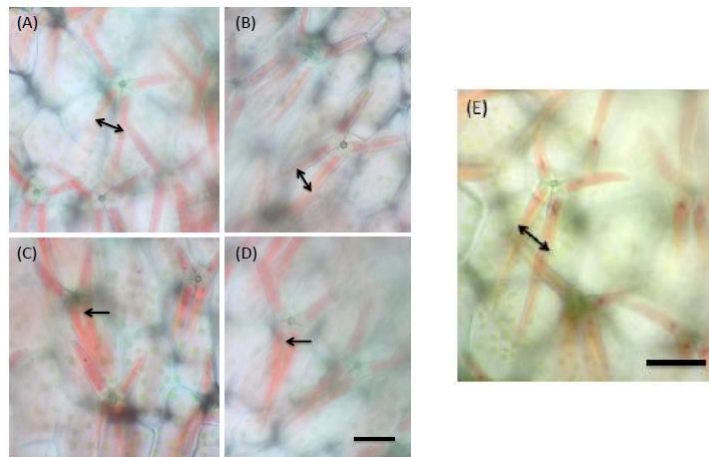


(單位:分鐘)

二、探討狸藻捕蟲囊的吸收過程受不同溶劑的影響

(一)有機溶液對黃花狸藻吸收色素的型態影響

(A)酒精、(B)乙醚之四爪腺毛的兩長臂約 25~30 度角打開，與對照組(E)處理型態類似。相對地(C)丙酮、(D)甲醇之四爪腺毛的兩長臂夾緊，兩短臂的夾角則是沒有改變(比例尺=50 μm)。

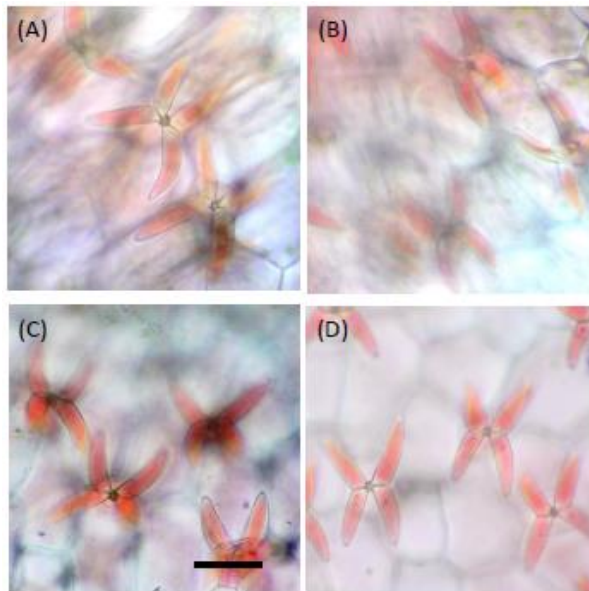


(二)有機溶液對黃花狸藻吸收色素的時間影響

- 1.參考附錄二圖，丙酮對黃花狸藻紅色素吸收代謝的速率最快，約為 8 天，與對照組相較有顯著差異。
- 2.以對數模型模擬曲線變化，可看出切線變化率趨緩，有少數捕蟲囊吸收較慢。

(三)有機溶液對絲葉狸藻吸收色素的型態影響

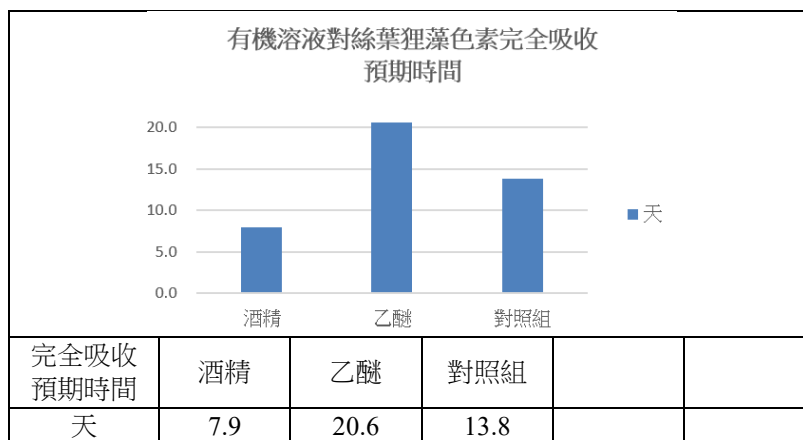
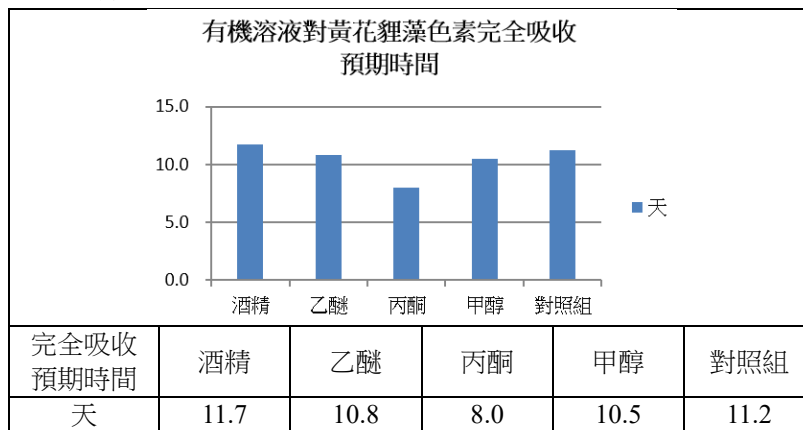
乙醚組(C)與硝酸鉀組(D)四爪腺毛的兩臂打開角度，與對照組(A)處理型態較類似，而酒精組(B)與對照組(A)相較打開角度略小 (比例尺=50 μm)。



(四)有機溶液對絲葉狸藻吸收色素的時間影響

- 1.酒精對絲葉狸藻的紅色素吸收代謝較快，約為 8 天，與對照組相較有顯著差異。
- 2.乙醚對絲葉狸藻的紅色素吸收代謝較慢，約為 21 天。

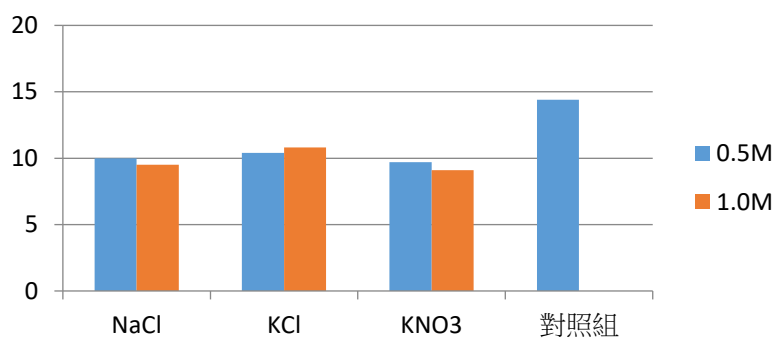
(五)完全吸收預期時間



- 1.黃花狸藻對各種有機溶劑吸收代謝速度較快，尤其是丙酮。
- 2.絲葉狸藻對酒精吸收代謝速度較快，乙醚則有較慢的趨勢。

(六)絲葉狸藻吸收過程受不同鹽類的影響

- 1.絲葉狸藻對各種鹽類吸收代謝速度皆較對照組快，尤其是 KNO₃ 最快，可能有主動運輸參與含氮物質吸收，且 1M 鹽類濃度較 0.5M 吸收更為快速。
- 2.絲葉狸藻對 NaCl 吸收代謝速度較 KCl 快，顯示在淡水中 Na 離子影響性可能較 K 離子重要。

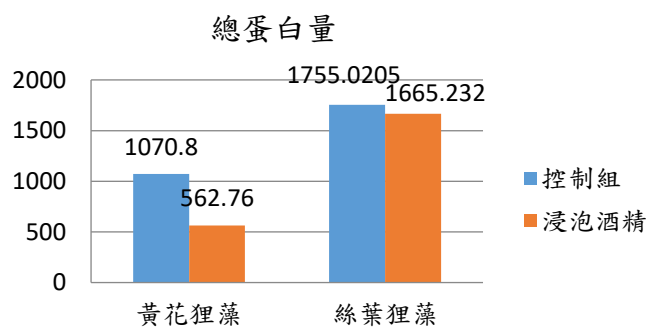


(單位:小時)

三、探討狸藻捕蟲囊內的物質成分

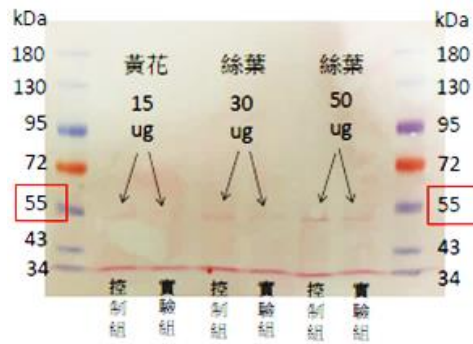
(一)蛋白質量檢測

浸泡 10%酒精一小時，取出並經過一天後測兩種狸藻蛋白質總濃度(ug/ml)，黃花狸藻減少較明顯，且絲葉狸藻也為減少的情形。

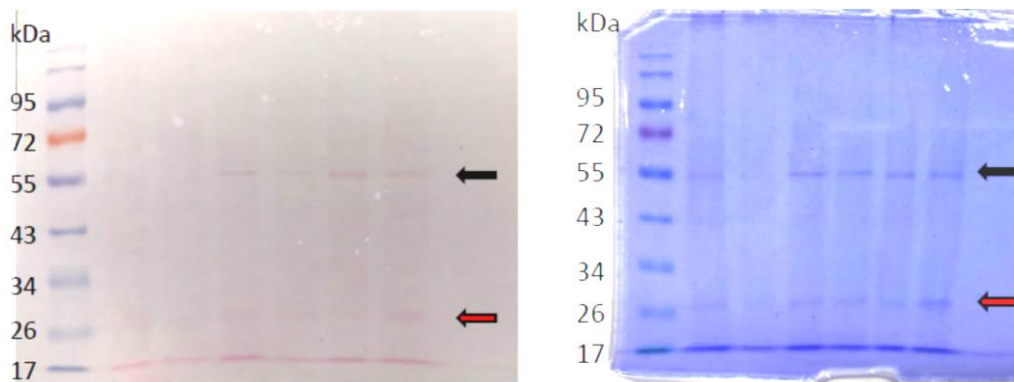


(二)蛋白質電泳分析

- 1.在 7.5%電泳膠中，以 50ug 的蛋白質能呈現較清楚的條紋，酒精浸泡組均呈現較少量的蛋白，蛋白量的減少可能是主要的消化酶分泌較少，蛋白的位置在 55 kDa 處，未來若能用抗體偵測或是進一步送此次處蛋白質檢驗，應能夠更確認此蛋白的名稱。

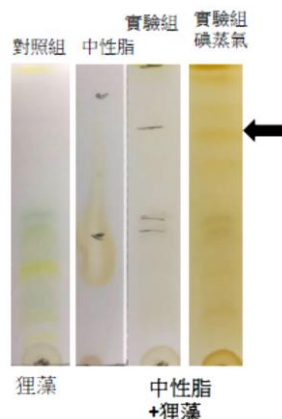


2.在 10%電泳膠中，分別以麗春紅染劑染色 PVDF membrane (左圖)，及以 coomassie blue 染色電泳膠體的情形(右圖)，出現兩個位置的條紋，蛋白的位置主要在 55 kDa 與 28kDa 處，其中又以 55 kDa 位置條紋較明顯。

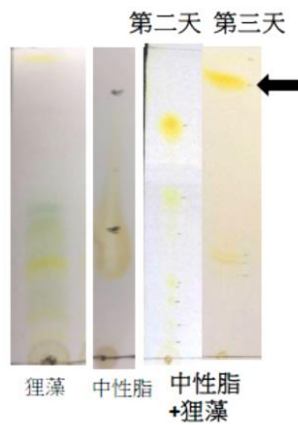


(三)TLC 片分析

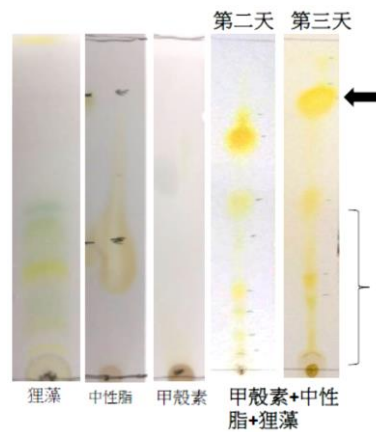
1.初步分析可知絲葉狸藻捕蟲囊中具有脂酶，由實驗組與對照組及中性脂的位置比較後發現，實驗組於較高位置(Rf 值=0.84)有一移動較快物質(如黑色箭頭所指)，可能中性脂已被分解為較小化合物如脂肪酸。



2.比較黃花狸藻第二天與第三天中性脂分解情形，中性脂組主要分布於 Rf= 0.29~0.64，狸藻 Rf= 0.52、0.48、0.33，中性脂+狸藻第二天 Rf= 0.75、0.51，第三天 Rf= 0.87、0.3，主要分布點的 Rf 值有明顯升高的現象(如黑色箭頭所指)。



3.比較黃花狸藻第二天與第三天甲殼素分解情形，中性脂組主要分布於 $R_f=0.29\sim 0.64$ ，狸藻 $R_f=0.52、0.48、0.33$ ，原本甲殼素 $R_f=0$ ，甲殼素+中性脂+狸藻第二天 $R_f=0.7、0.51、0.4$ ，另外下方多出現 $R_f=0.1、0.2、0.24$ 。第三天 $R_f=0.84、0.51$ ，下方多出現了 $R_f=0.14、0.22、0.29$ ，除了值上升並且有拖曳連續性分布的現象(如括號部分)，主要分布點的 R_f 值($0.7、0.84$)有明顯升高的現象(如黑色箭頭所指)。

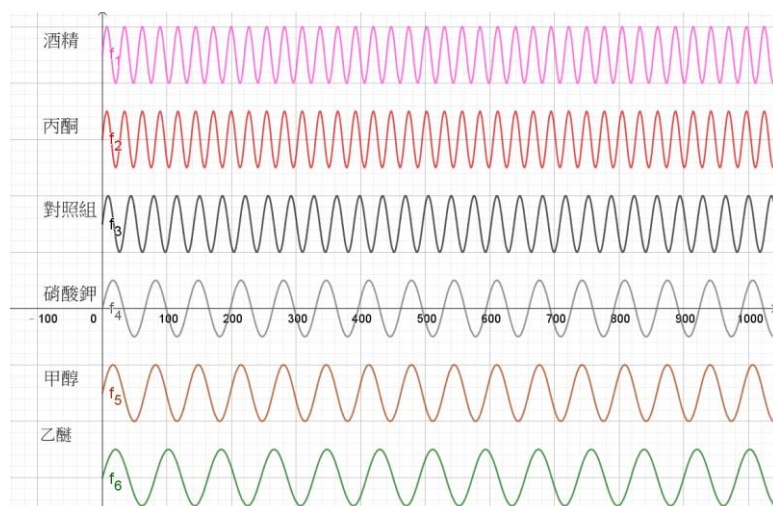


柒、討論

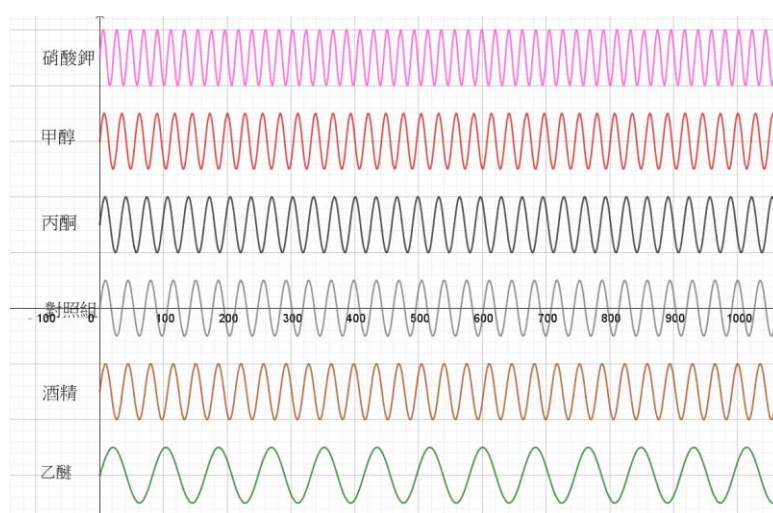
一、探討不同化學物質對狸藻的捕蟲運動之影響

- (一)在開口瓣膜附近的卡樺是主要的觸發機關，類似鼠籠的觸碰點但是位於閘門的外側而非內側，為機械性的觸發。黃花狸藻對不同有機溶液引起觸發運動的現象：丙酮>甲醇>酒精>乙醚。絲葉相對於黃花狸藻對有機溶液則較不敏感，但是可以發現酒精>乙醚反應。酒精有促進性，且為顯著差異性，至於乙醚則傾向於抑制性作用。
- (二)引起狸藻的觸發運動現象，與浸泡時間成正比關係，也與各有機溶液濃度呈現正相關，顯示觸發過程除了受時間也可能同時受滲透壓影響。
- (三)狸藻觸發過程有人認為是規律性的吸水與排水產生負壓，間隔時間則在不同種間有所差異，並且將觸發週期分為三種(Vincent et al., 2011)。我們認為捕蟲囊會自發性的觸發，有一定的階段性時程。由實驗對照組推測自發性觸發時間黃花狸藻大概為 35 分鐘，絲葉狸藻較慢大概為 50 分鐘。
- (四)捕蟲囊細胞內外維持穩定的膜電位，受理化因子刺激後也會產生類似動物的動作電位，我們推測酒精可能降低膜電位使觸發運動更容易進行，而乙醚則提高膜電位而使觸發運動較不易發生，產生較為抑制的現象。
- (五)以數學預測繪出函數圖形，黃花狸藻捕蟲囊在較低濃度(5%)化學物質當中，酒精組及丙酮組的自發性觸發運動周期較短頻率較快，預期達到完全觸發時間為 27.5 分鐘。捕蟲囊在較高濃度(20%)化學物質當中則是鹽類硝酸鉀的自發性觸發運動周期最短頻率最快，預期達到完全觸發時間為 21.2 分鐘，推測在較低濃度下，促進或抑制性的化學分子作用較明顯，而在較高濃度下，離子滲透壓的影響變得較為顯著。

1.較低濃度(5%)



2.較高濃度(20%)



二、探討狸藻捕蟲囊的吸收過程受不同溶液的影響

(一)在吸收方面，我們原本認為酒精等有機溶液非狸藻的需求養分，可能吸收較對照組慢，但是卻發現除丙酮外與對照組速率相當。是否有機溶劑可直接穿透而進出捕蟲囊壁，故不需要再透過捕蟲囊吸收，可能為其吸收消失較快的主要原因，但是色素分子的分解或吸收是否也與有機溶劑一致則需要進一步觀察。

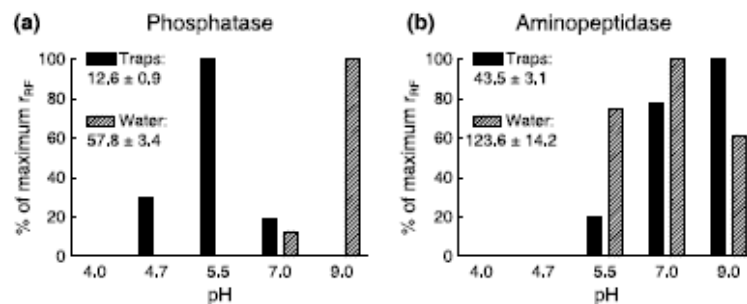
(二)在觀察過程中我們發現，如果捕蟲囊在吸入色素前已經捕捉到獵物(如甲殼類動物或水蚤)，可能捕蟲囊四爪腺毛正分泌消化酶消化獵物，則較不易觸發或觸發後捕蟲囊內色素較淡。

(三)硝酸鉀溶液不但觸發運動顯著較快，吸收也是快速，大約一天內幾個小時紅色素便已吸收代謝完成，可能硝酸鹽類為狸藻所需的含氮養分而有主動運輸參與進行。

(四)將吸收不同有機溶液的黃花狸藻置於顯微鏡下觀察，發現乙醚組的四爪腺毛長臂打開角度與對照組類似，而丙酮組及甲醇組的長臂打開角度較小，絲葉狸藻方面，乙醚組與對照組兩臂打開角度類似，而酒精組打開角度較小，由結果發現打開角度越小吸收速率越快，推測四爪線毛打開角度可能與吸收或排除物質速率有關。

三、探討狸藻捕蟲囊內的物質成分

(一)螢光染色方式染磷酸酶蛋白的位置，結果可觀察到四爪線毛上有螢光反應，可得知磷酸酶的分泌處應在四爪腺毛上，也有測到兩種酶(磷酸酶與胺基酸酶)在不同酸鹼值的活性(Sirová 等人，2003)。另外狸藻捕蟲囊分泌的消化酶已知應該有蛋白酶、酯酶與幾丁質酶，但是對於分泌的量與分泌的持續時間則尚不清楚(Ravee 等人，2018)。



(二)目前對狸藻分泌消化酶的探討並不多，僅有推測蛋白酶應該分布於 34.75 kDa 至 263.53 kDa 之間的位置 (Baehaki 等人，2020)，而我們看到蛋白的位置主要在 55 kDa 與 28kDa 處，發現有更小的蛋白可能參與其重要的生理功能。如果我們能用化學藥劑抑制其分泌，進一步可以比較捕蟲囊分泌消化酶的量，以及其消化分解物質的速率，未來或許可以將植物性消化酶應用於生物防治上。

(三)由實驗組與對照組及中性脂、甲殼素(幾丁聚醣)的位置比較可發現，經過 2-3 天物質已被捕蟲囊分解為分子較小的脂肪酸或不同數目聚合體的乙醯葡萄糖胺鏈，因此

Rf 值由中性脂的 0.29~0.64 轉變為以 0.70~0.87 為主，而甲殼素由 Rf 值為 0 轉變為出現連續拖拉的許多小點 0.10~0.29。由此可證實狸藻可藉著自發性觸發吸取水域環境的有機物質，並且利用消化酶快速分解吸收利用，對水質環境的代謝淨化也能有一定的幫助。

捌、結論

- 一、本報告以食用色素對捕蟲囊進行研究，確認麻醉性物質對狸藻捕蟲囊觸發運動具有影響，酒精為促進性作用而乙醚則為抑制功能。
- 二、狸藻捕蟲囊的消化過程可藉著酒精浸泡達到抑制消化酶分泌的效果，而黃花狸藻對酒精等溶液的敏感度較絲葉狸藻高，且證實消化酶有分解甲殼素和中性脂的功能。
- 三、捕蟲囊的觸發運動為自發性且會受到化學物質及滲透壓的影響。硝酸鉀等鹽類溶液對捕蟲囊觸發運動均為促進性，絲葉狸藻對硝酸鉀溶液的敏感度較黃花狸藻高。
- 四、未來展望：
 - (一)捕蟲囊透過負壓快速吸入囊口生物，再經由腺毛吸收或排出水分的機制，透過仿生技術，可以被應用在減緩空氣汙染問題的防治上。利用這種特性，能過濾空氣中的有害物質，並排出乾淨的空氣。
 - (二)捕蟲囊內分泌植物性的消化酶，可利用生物防治的方法預防病媒蚊幼蟲的孳生，另外，透過生物科技的方式大量生產，或許能應用於分解汙染水域的油脂或有機物質。

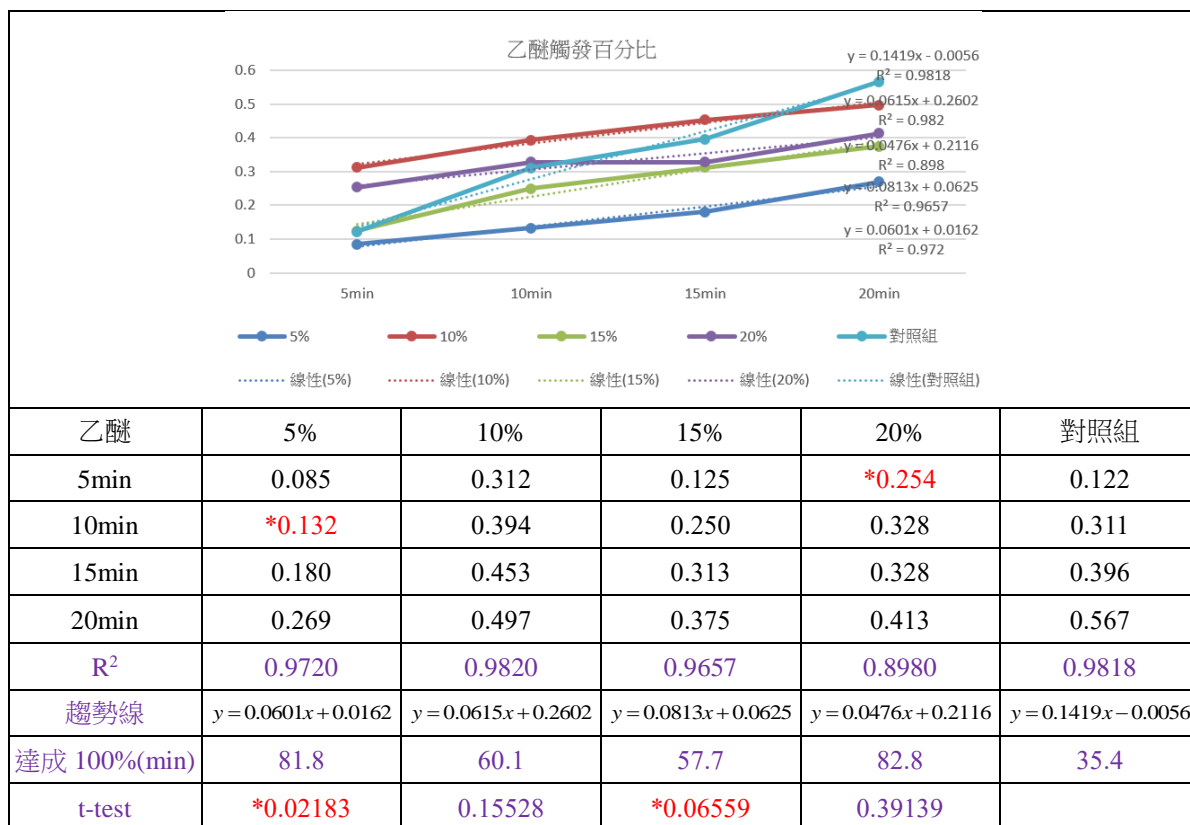
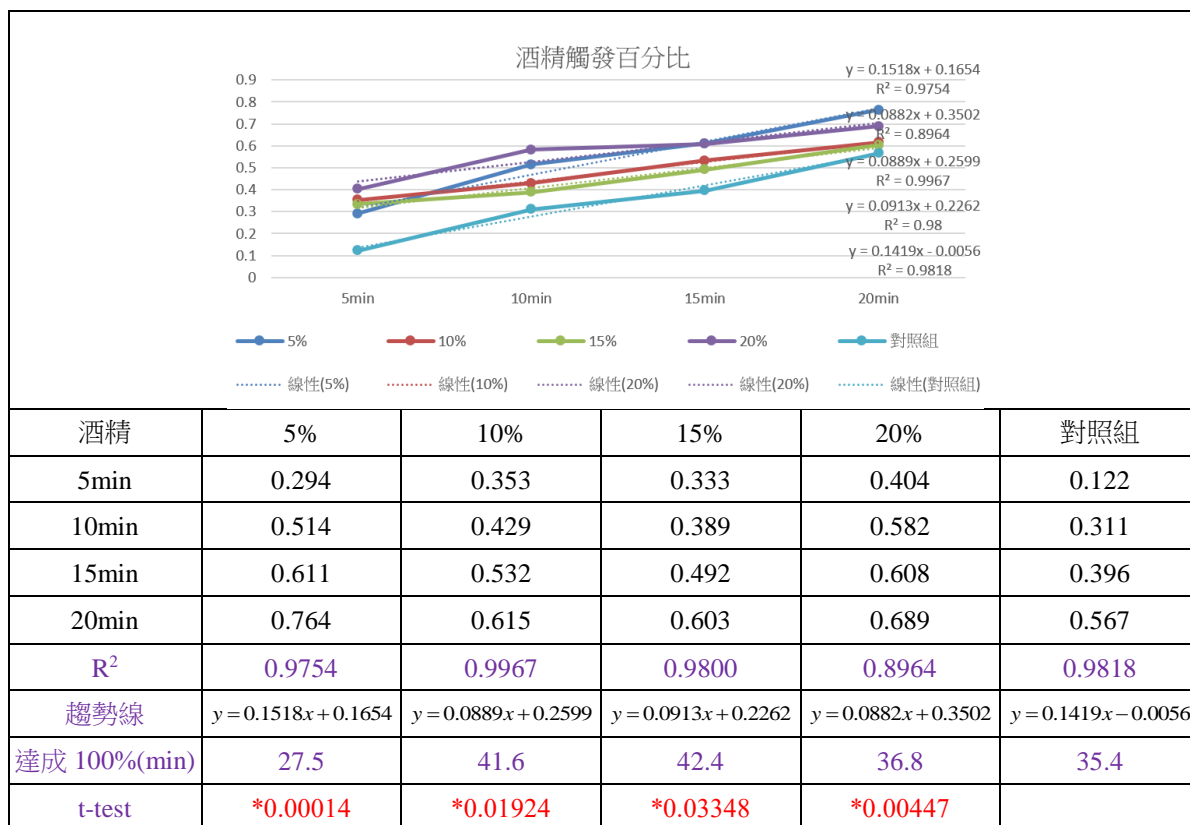
玖、參考資料

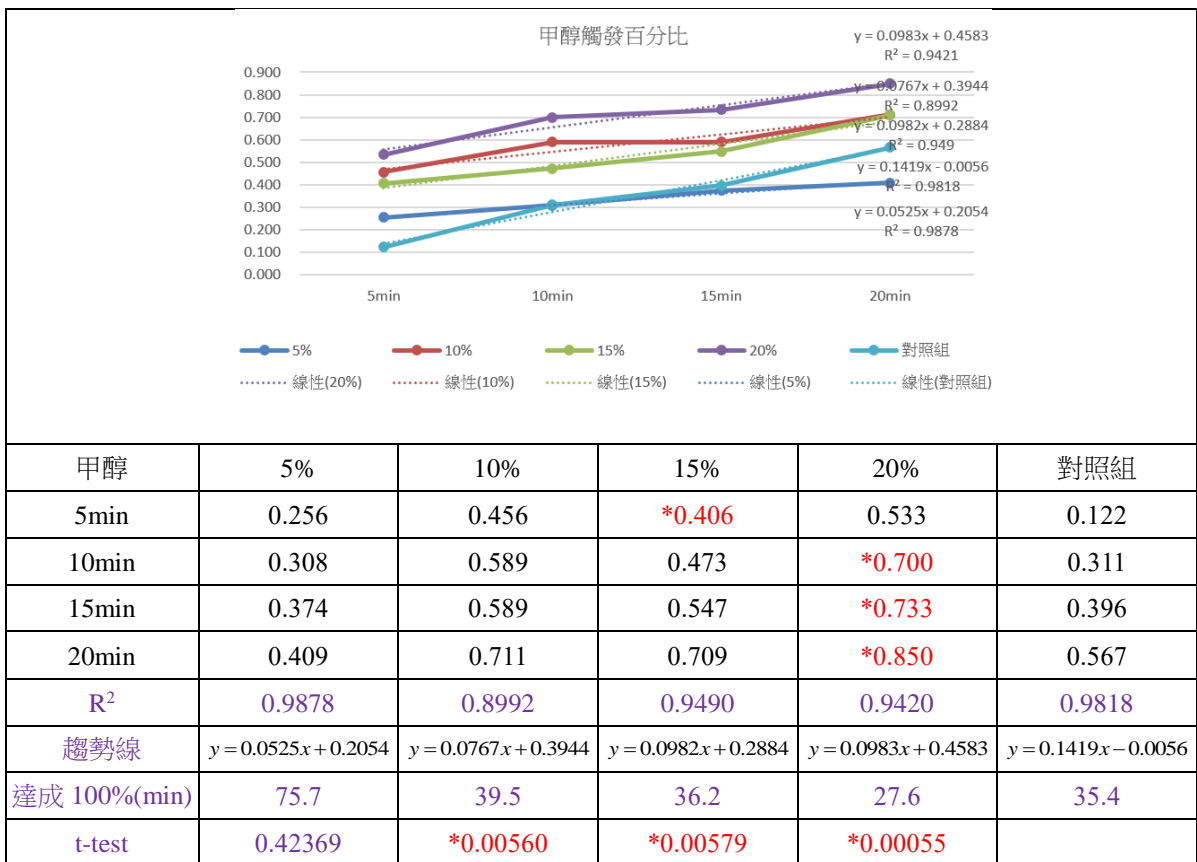
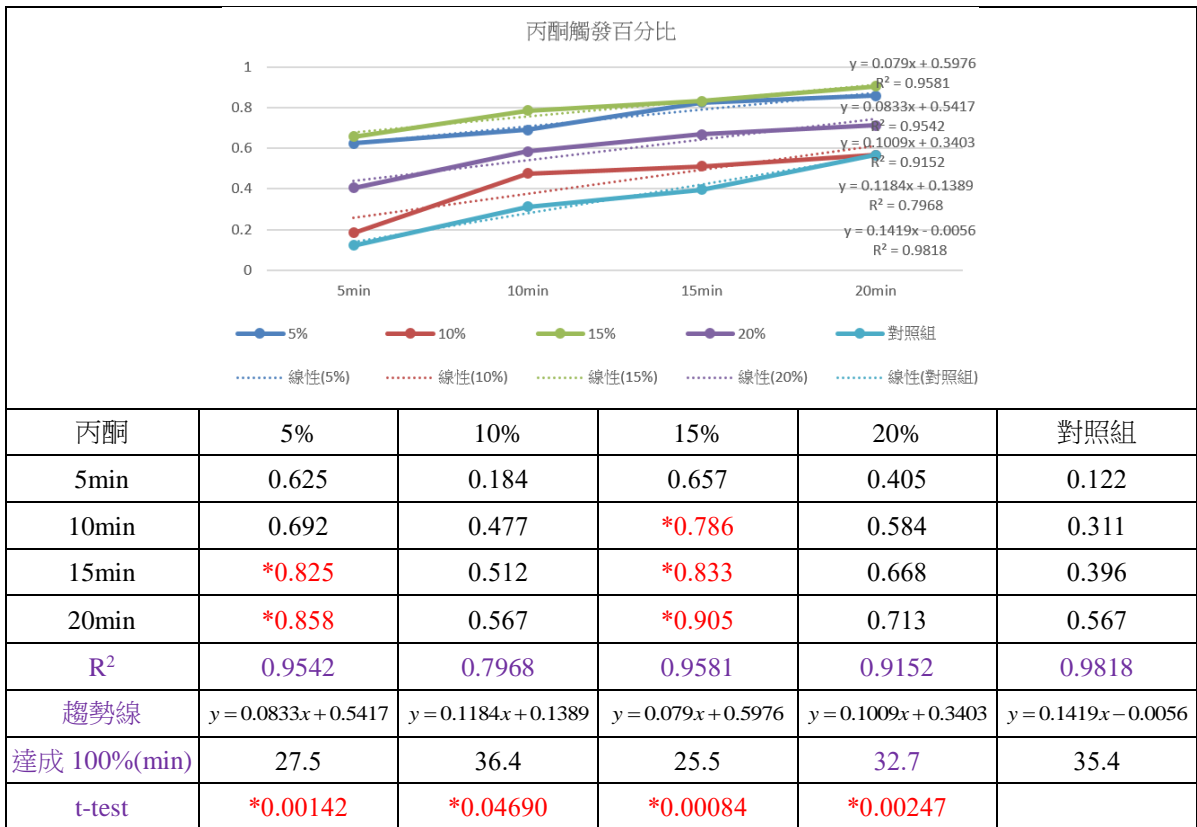
- 一、吳春放(1985)。離子通道及神經系統的功能。科學月刊雜誌 第 191 期。
- 二、洪偉軒、蔡欣樺、陳慧洵、王思楨(2009)水中的吸塵器-黃花狸藻生活史觀察以及捕蟲行為與消化功能研究。第 49 屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 三、莊迪喬(2004)。台灣本土水生食蟲植物—絲葉狸藻的囊裡乾坤。第四十四屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 四、莊迪喬、莊淳喬(2006)。水生開花食蟲植物絲葉狸藻捕蟲囊構造及共質體輸送。台灣 2006 國際科學展覽會。
- 五、莊惟婷、陳馬琿、賴安琦(2019) 水中黑洞-絲葉狸藻捕蟲囊之探討。第五十九屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 六、黃日揚(2008)。麻醉藥劑之作用及原理。生物類小論文作品。
- 七、Baehaki A, Hidayat A, Nopianti R and Gofar N (2020) Production and Characterization of Crude Protease from RS1 Isolate from silage of Floating Bladderwort (*Utricularia gibba*). *Mediterranean Journal of Chemistry* 10(3), 289-293.
- 八、Ravee R, Salleh F I M and Goh H-H. (2018) Discovery of digestive enzymes in carnivorous plants with focus on proteases. *Peer J* 6:e4914; DOI 10.7717/peerj.4914.
- 九、Sirová D, Adamec L and Vrba J (2003) Enzymatic activities in traps of four aquatic species of the carnivorous genus *Utricularia*. *New Phytologist*, **159** : 669–675.
- 十、Vincent O and Marmottant P (2011) Carnivorous *Utricularia* The buckling scenario *Plant Signaling & Behavior* 6 : 11, 1752-1754.

拾、附錄

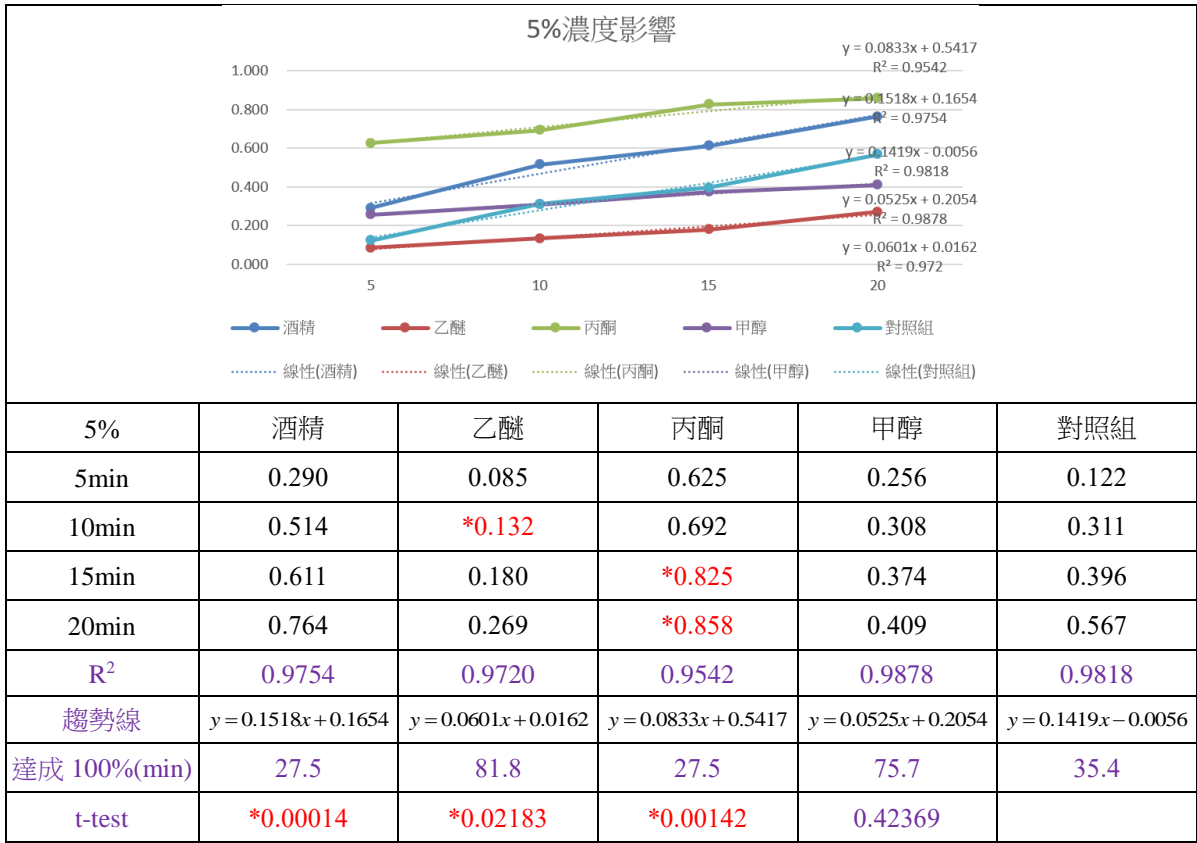
一、探討不同化學物質對狸藻的捕蟲運動之影響

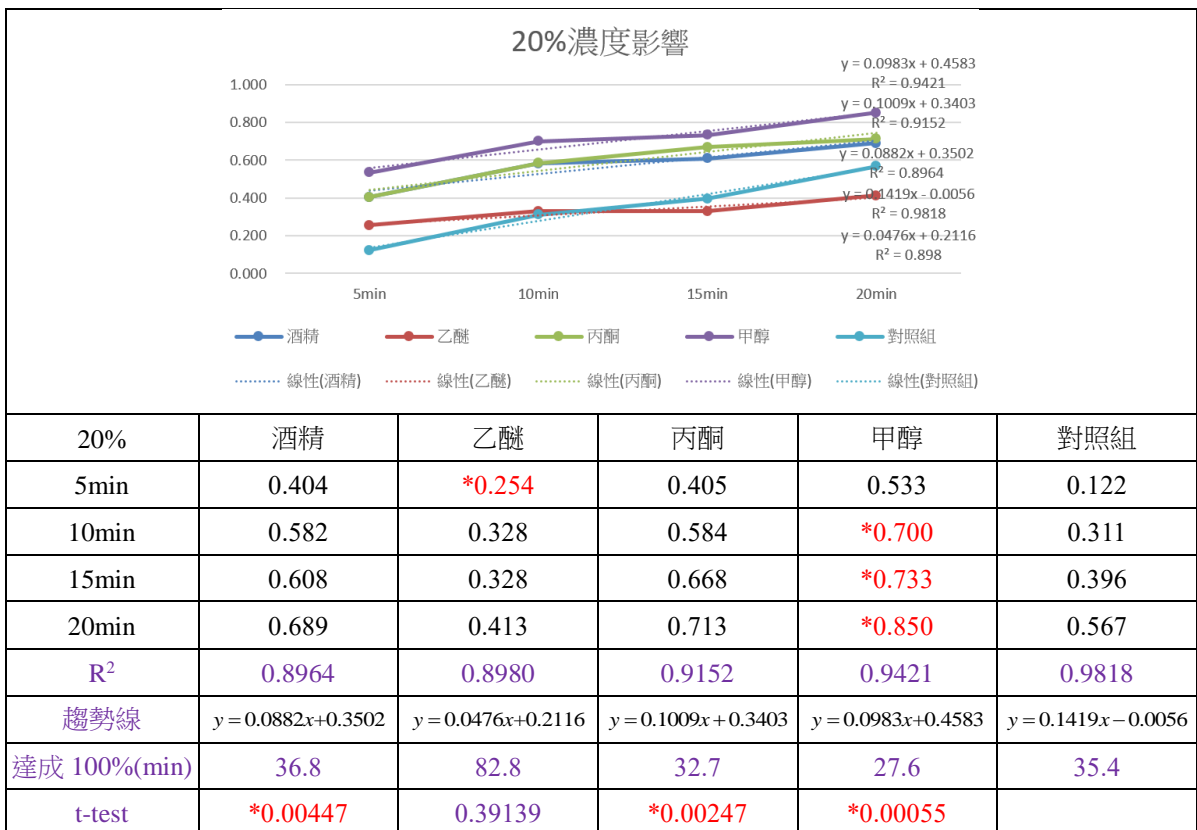
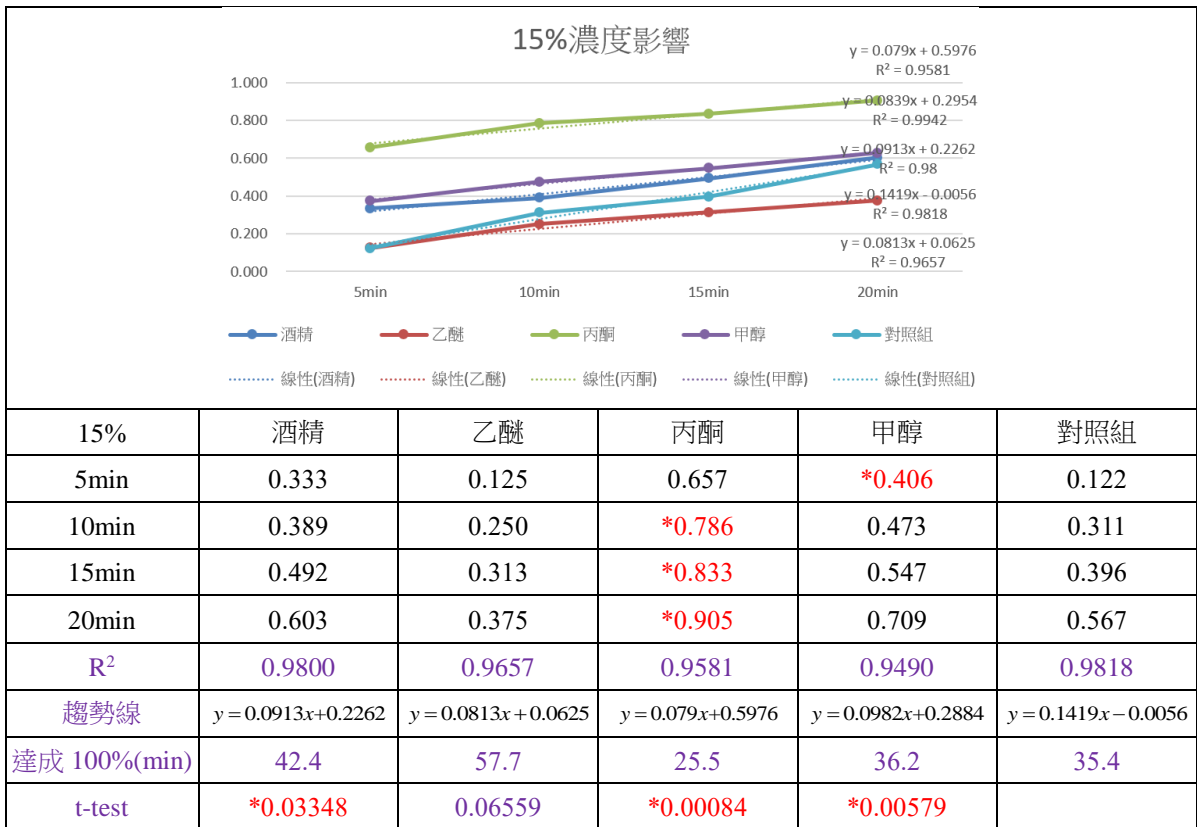
(一)有機溶液浸泡時間對黃花狸藻觸發運動的影響



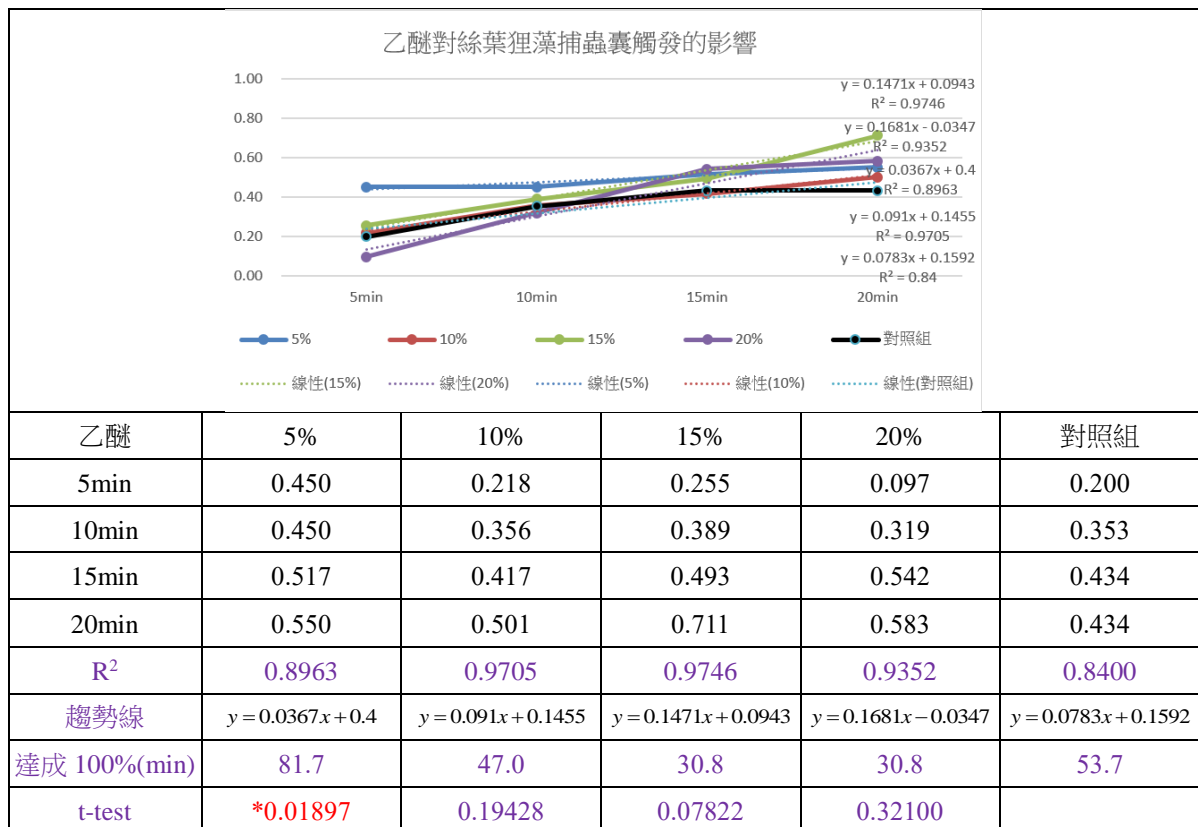
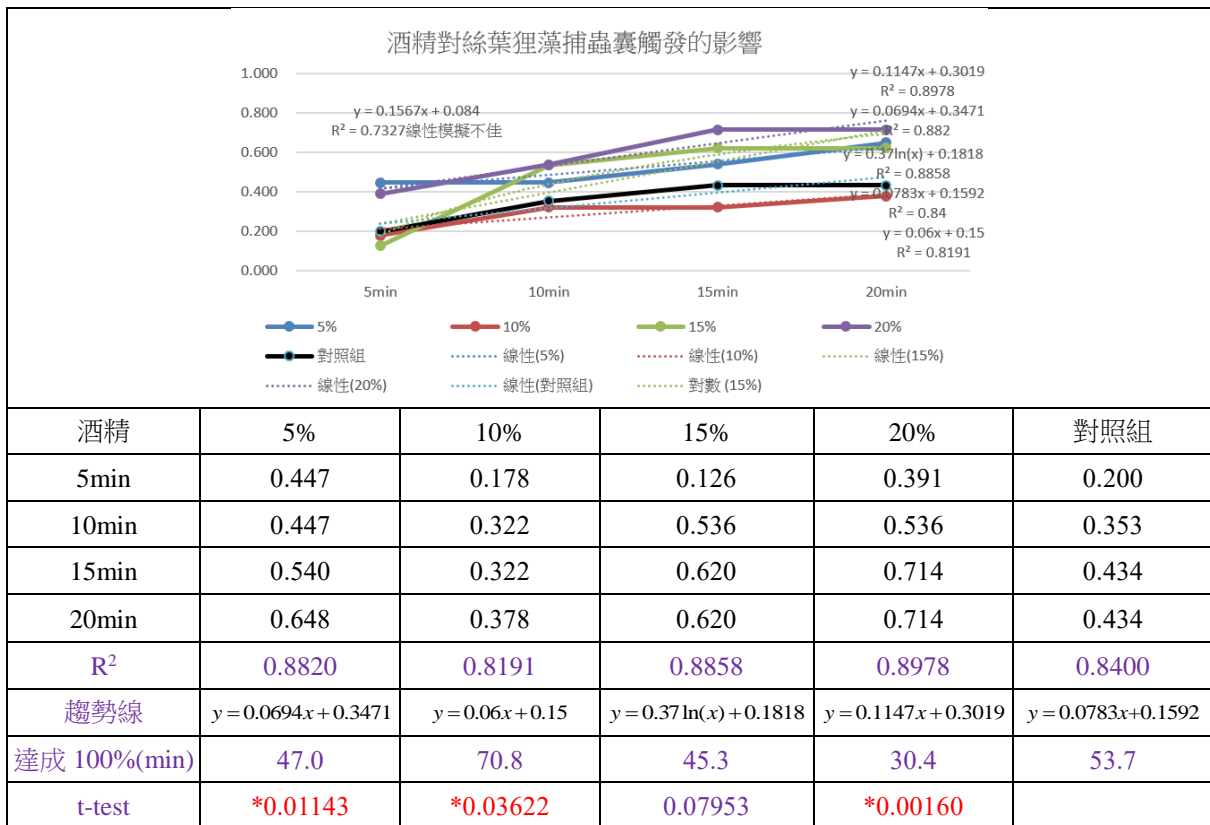


(二)有機溶液濃度對黃花狸藻觸發運動的影響

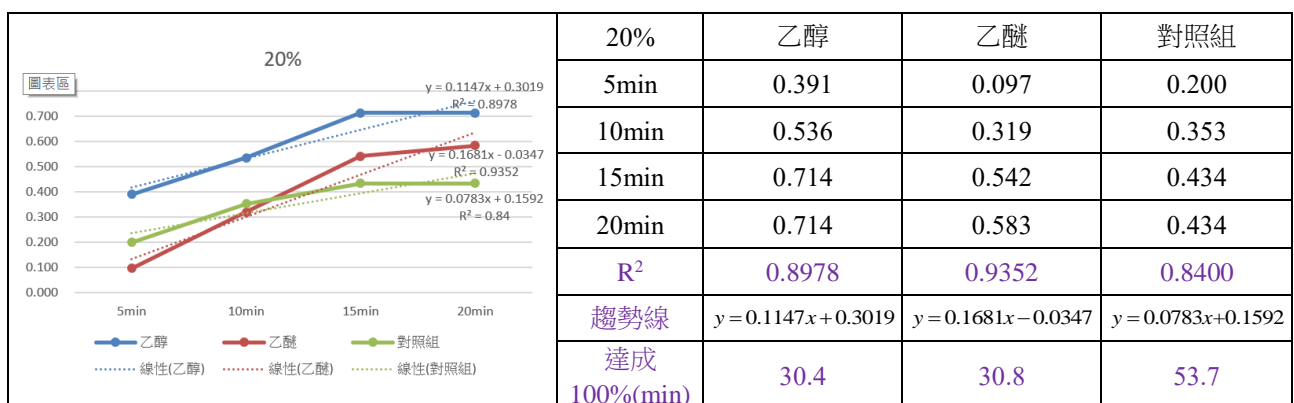
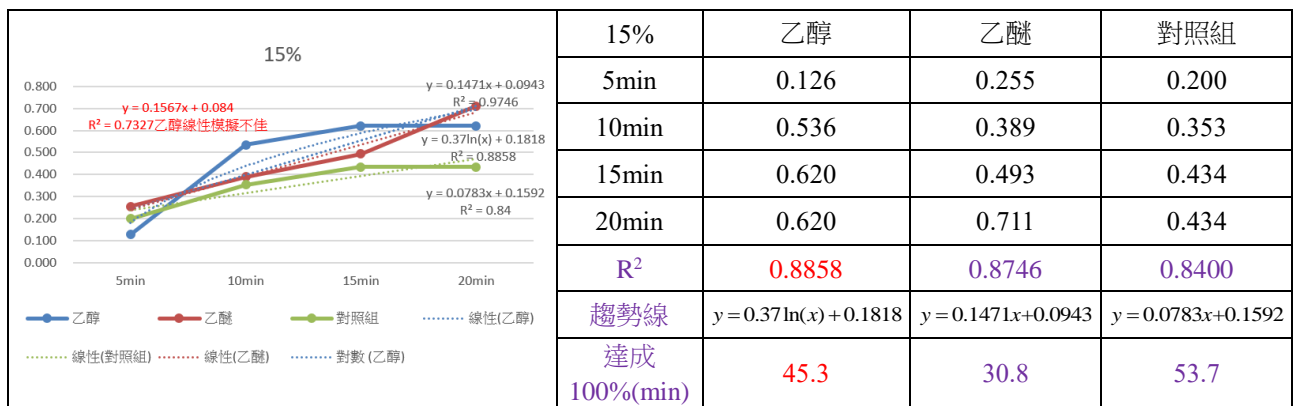
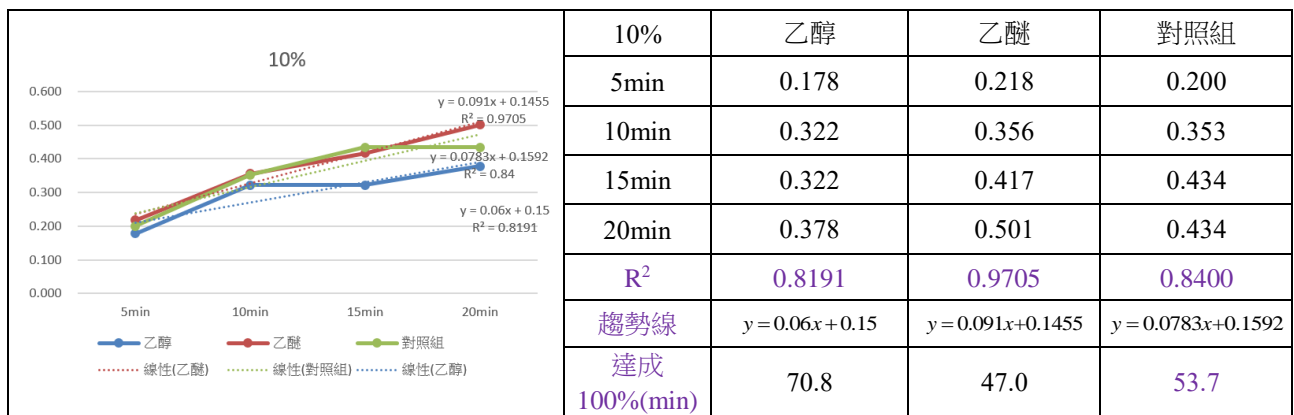
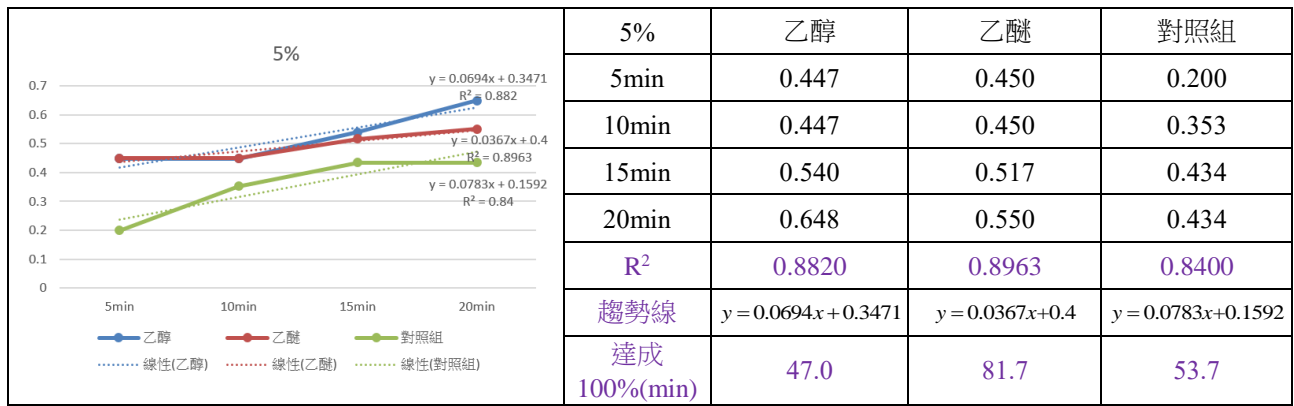




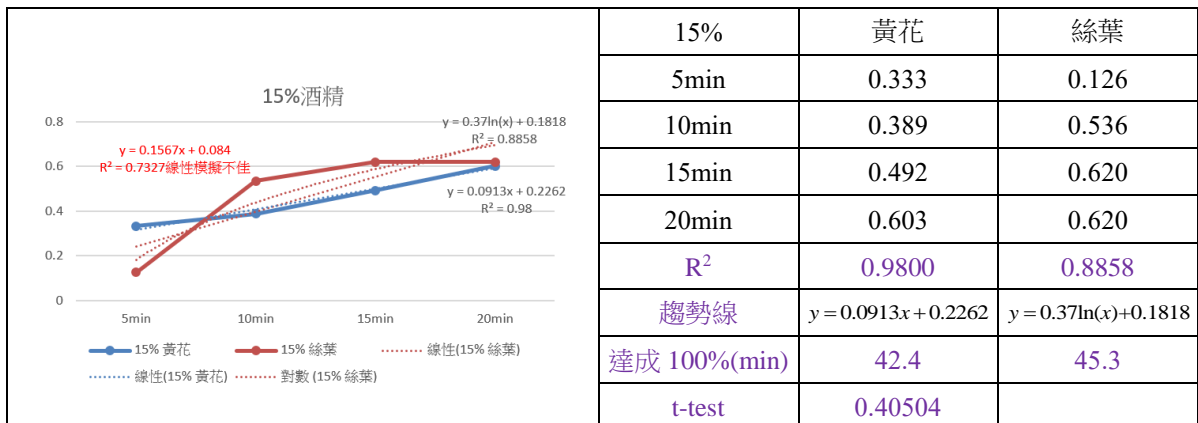
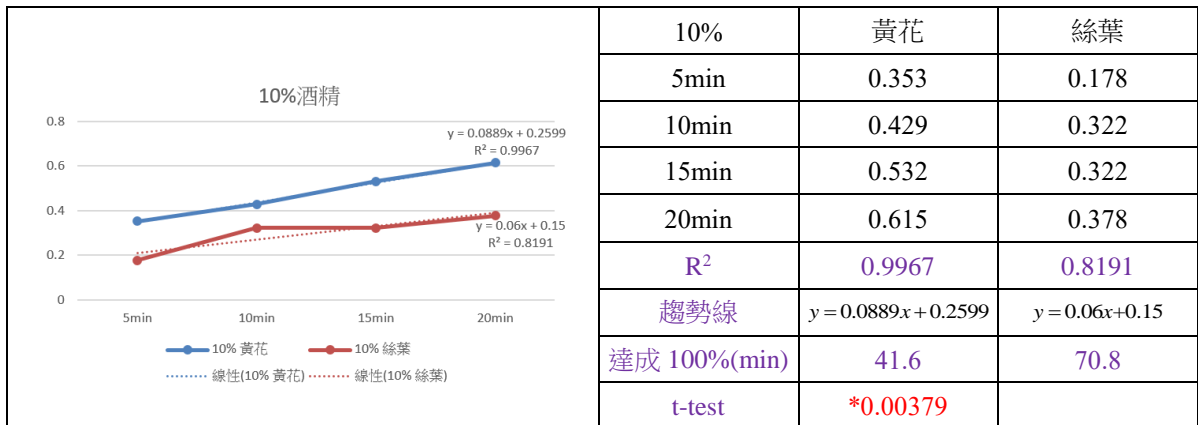
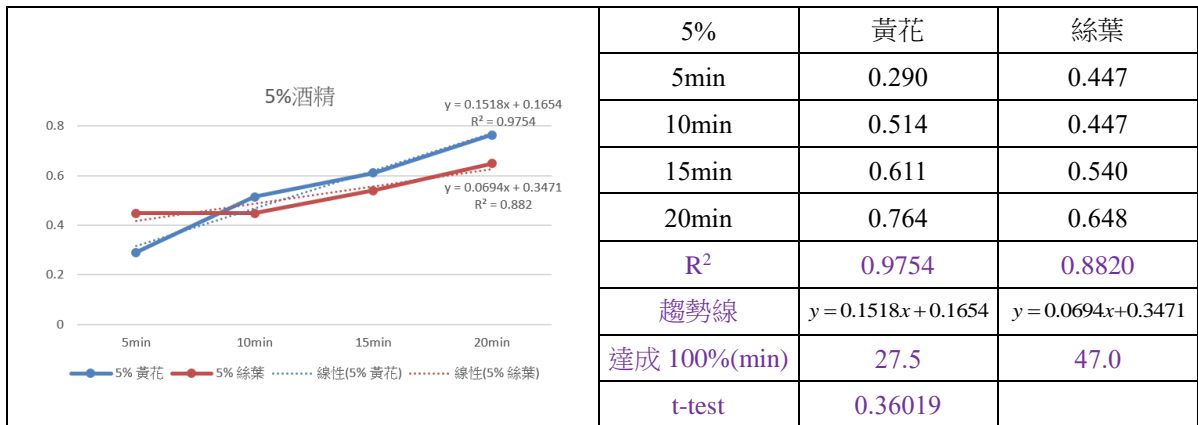
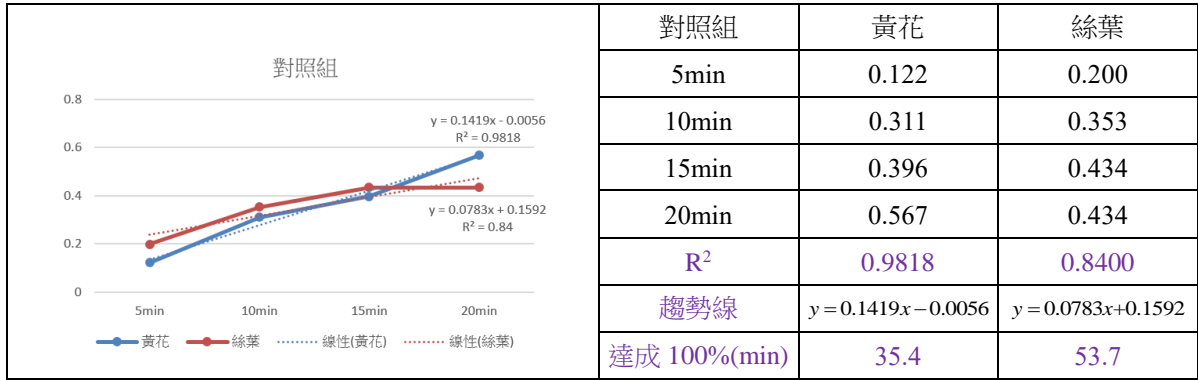
(三)有機溶液浸泡時間對絲葉狸藻觸發運動的影響

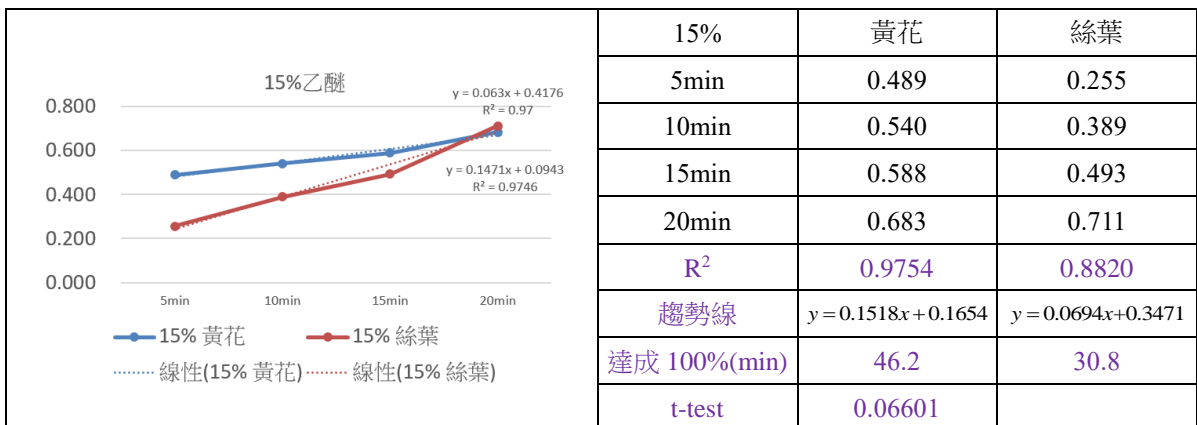
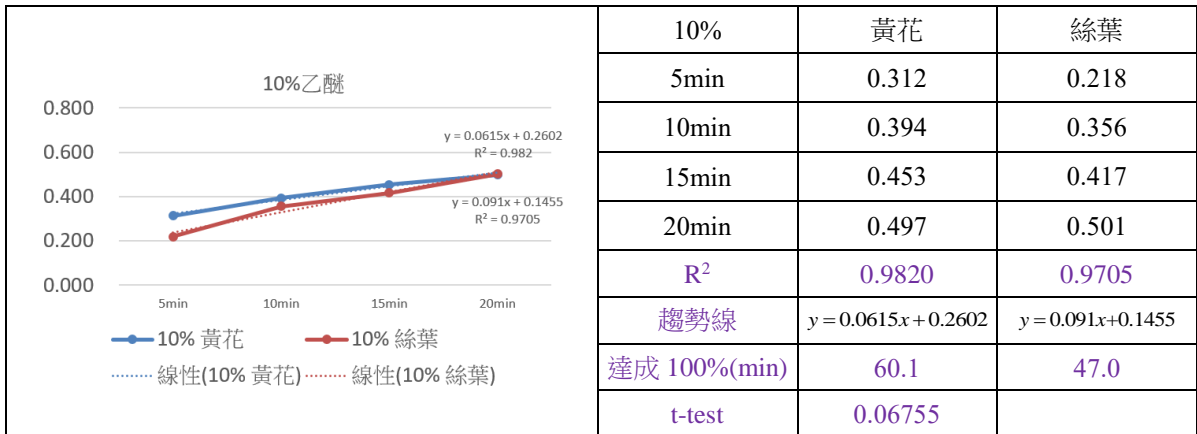
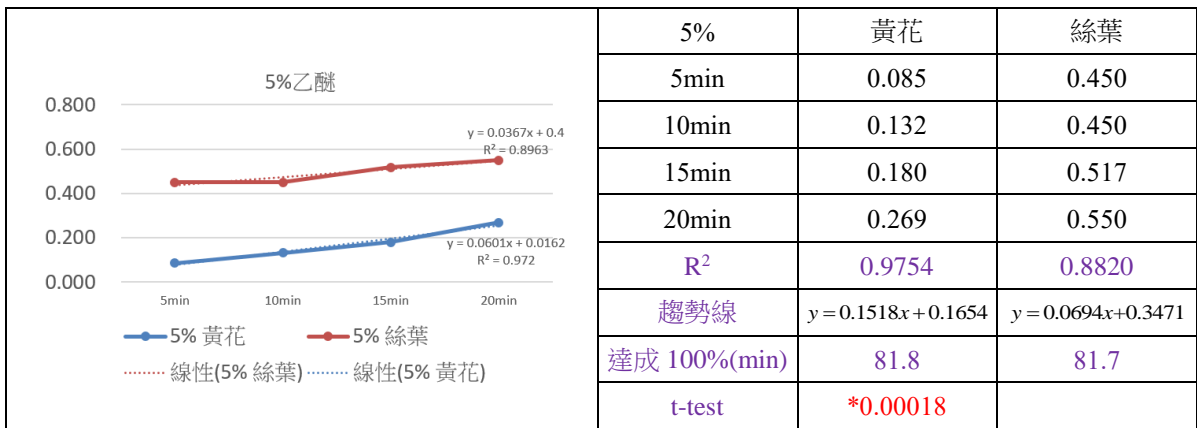
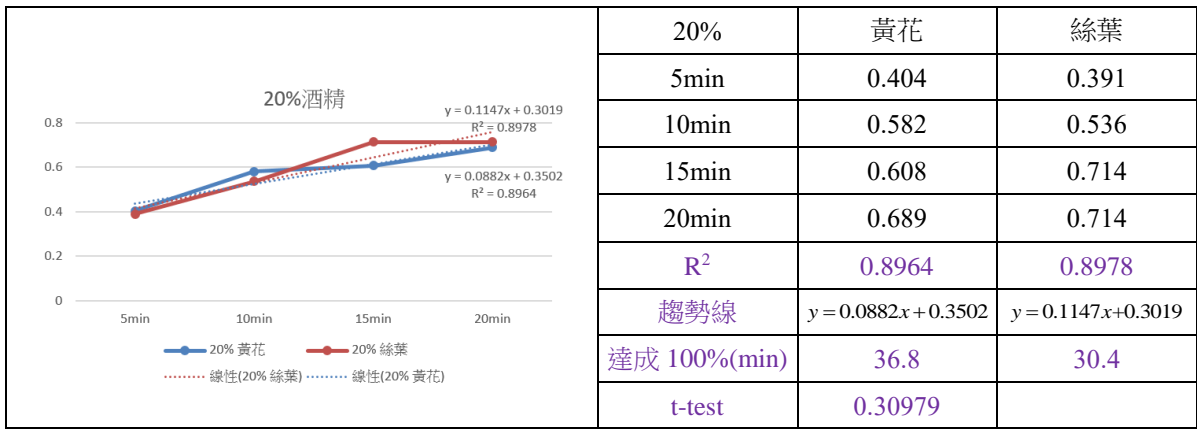


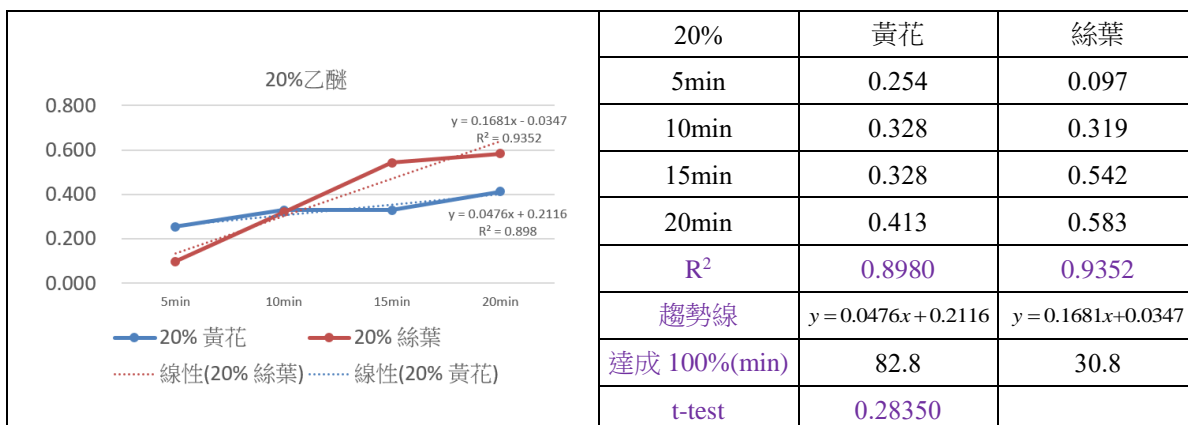
(四)有機溶液濃度對絲葉狸藻觸發運動的影響



(五)有機溶液對黃花與絲葉狸藻觸發運動的比較



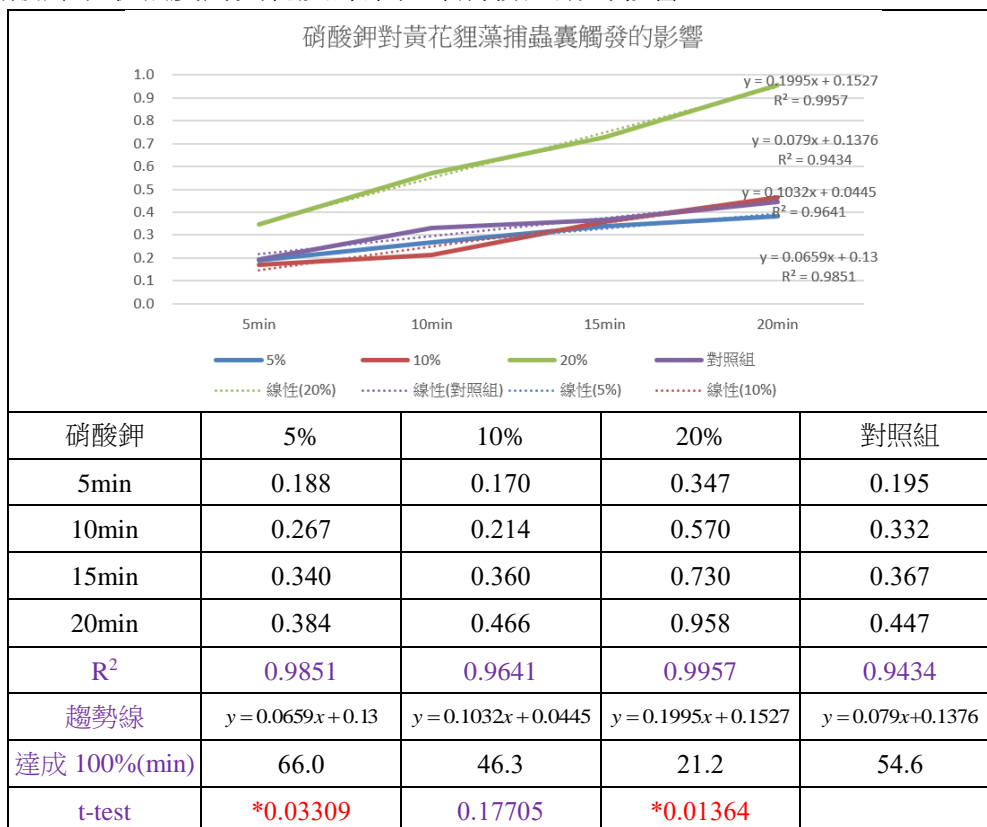


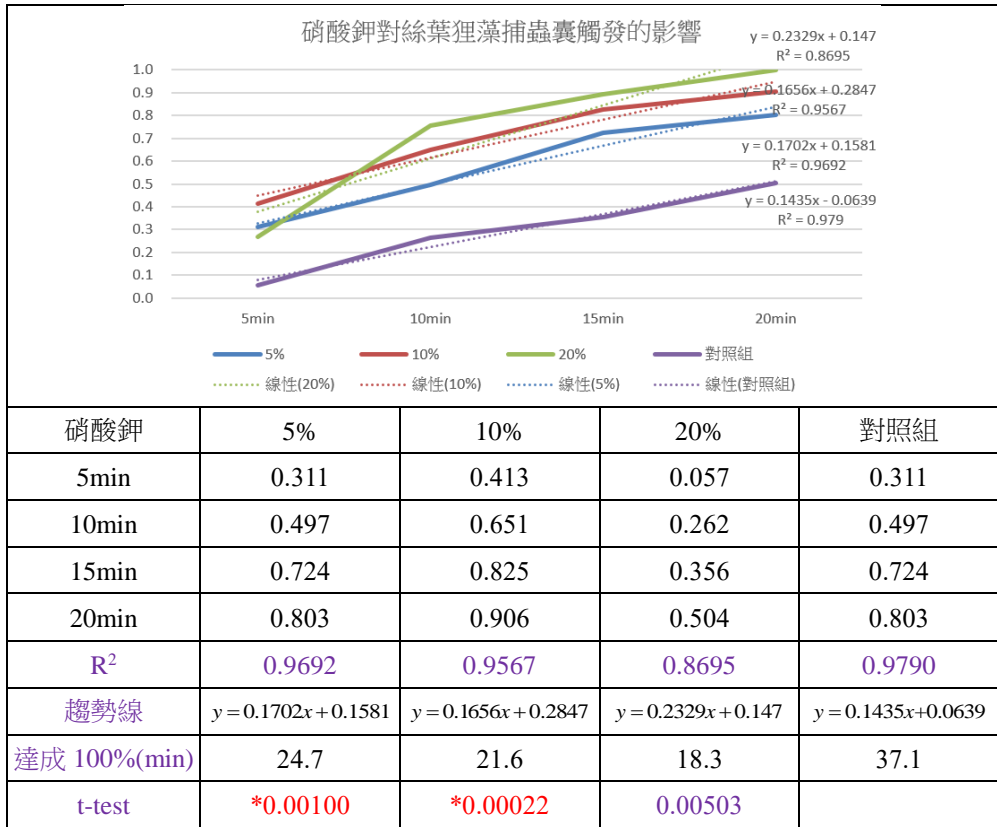


(六)不同濃度有機溶液達 100%觸發預期時間

達 100% 觸發預期時間	酒精	乙醚	丙酮	甲醇	對照組
5%	27.5	81.8	27.5	75.7	35.4
10%	41.6	60.1	36.4	39.5	35.4
15%	42.4	57.7	25.5	36.2	35.4
20%	36.8	82.8	32.7	27.6	35.4
t-test	0.33156	*0.00694	0.07039	0.22294	

(七)硝酸鉀溶液濃度對黃花及絲葉狸藻觸發運動的影響

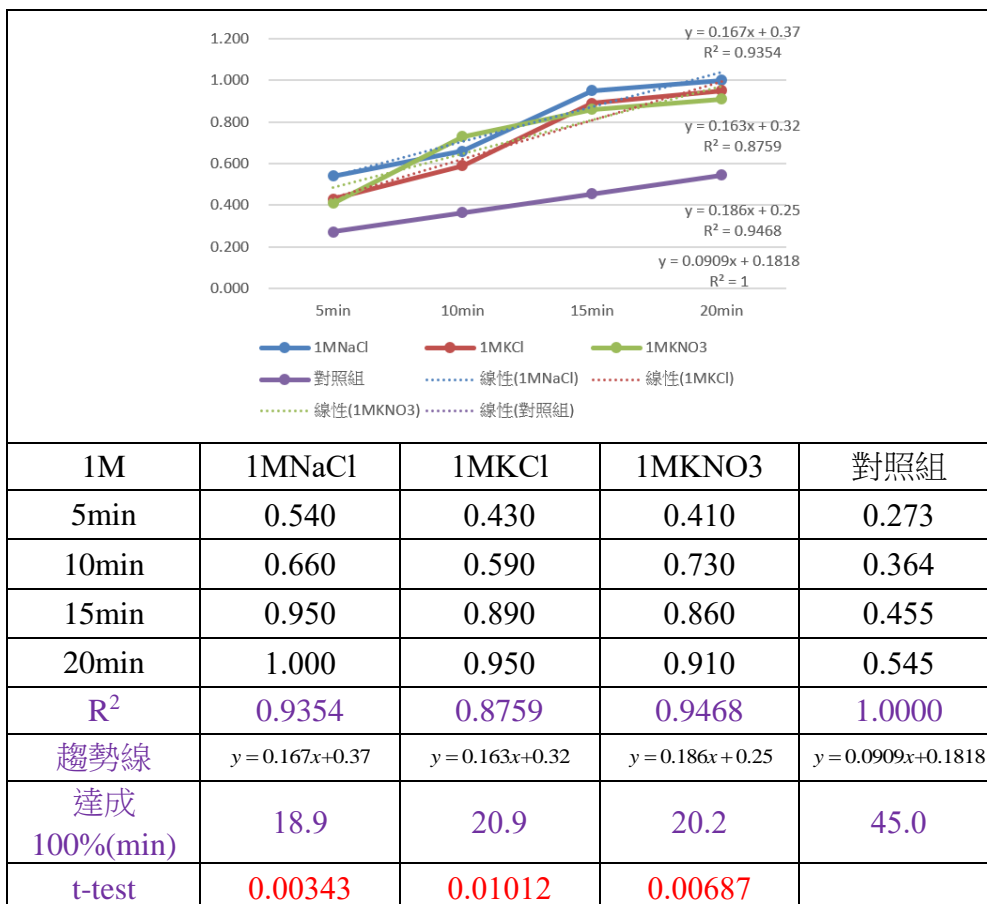
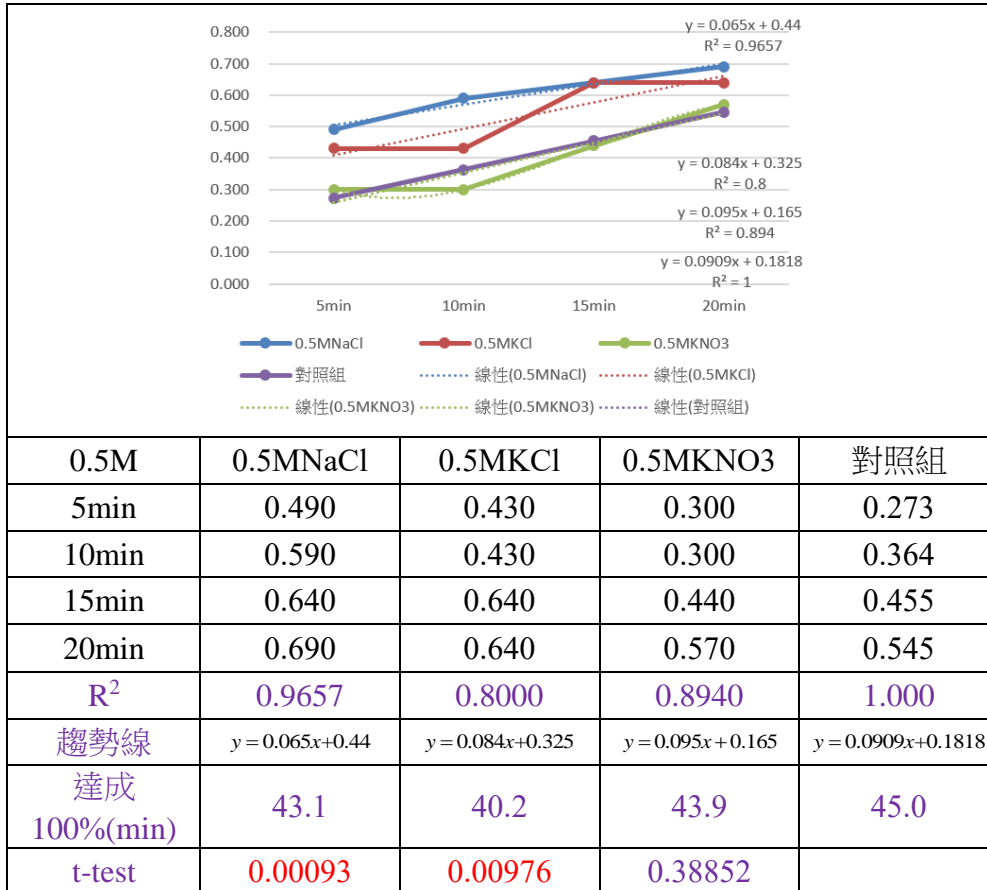




(八)不同濃度硝酸鉀溶液達 100%觸發預期時間

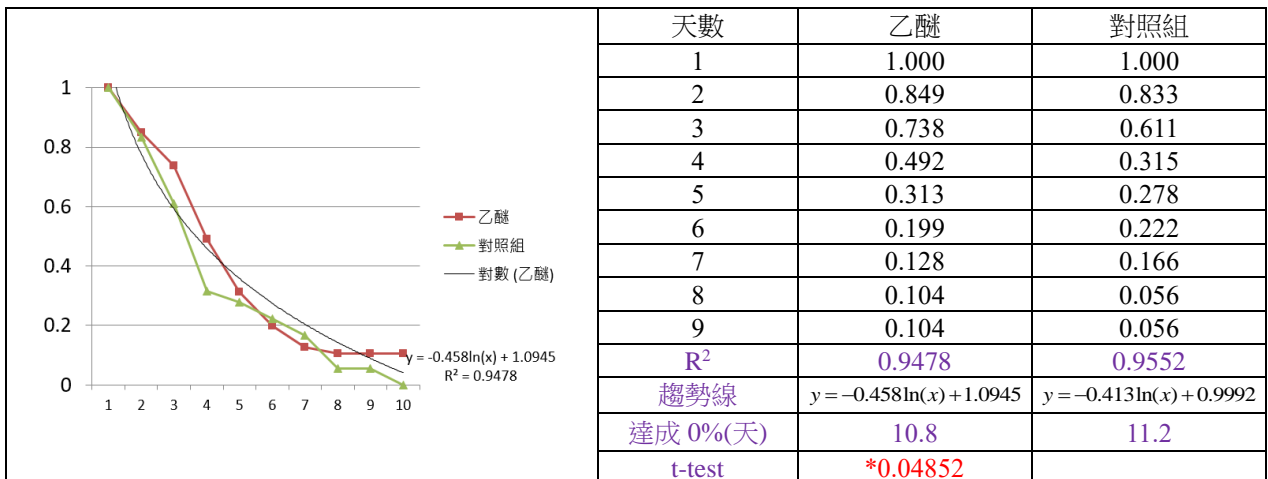
達 100% 觸發預期時間	5%	10%	20%	對照組
黃花狸藻	66.0	46.3	21.2	54.6
絲葉狸藻	24.7	21.6	18.3	37.1
t-test	0.48781	0.09346	0.08690	

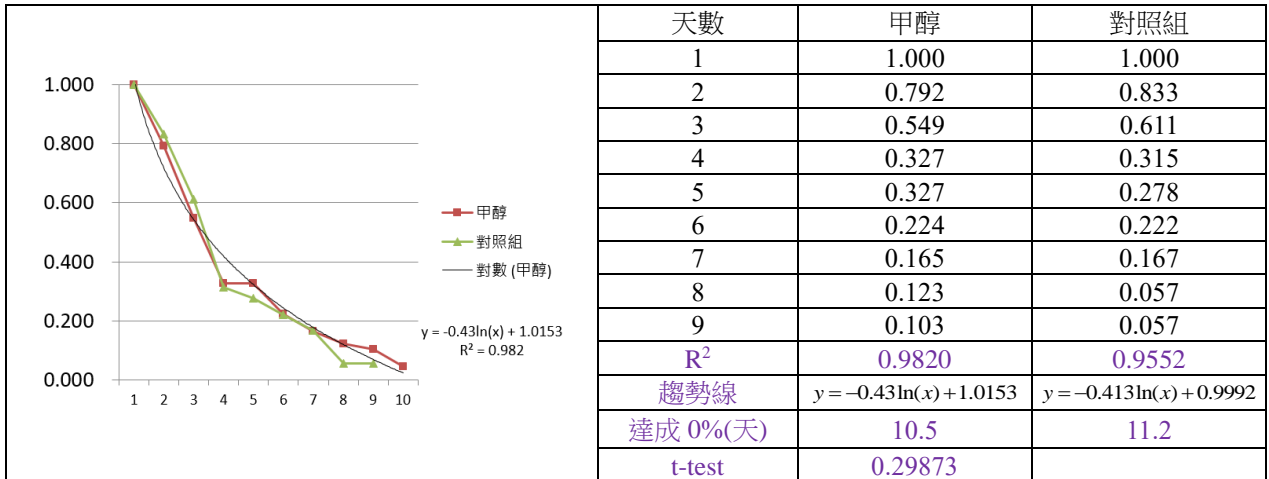
(九)不同鹽類溶液達 100%觸發預期時間



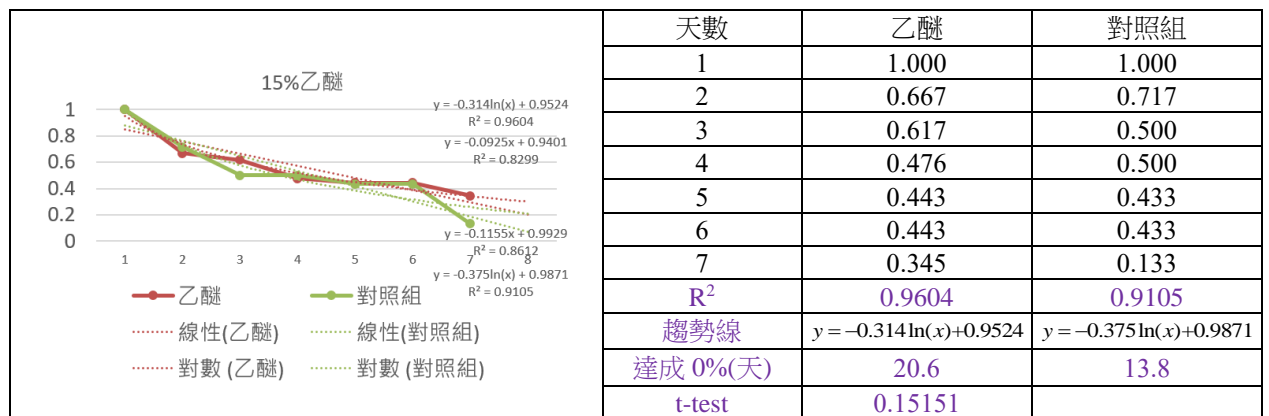
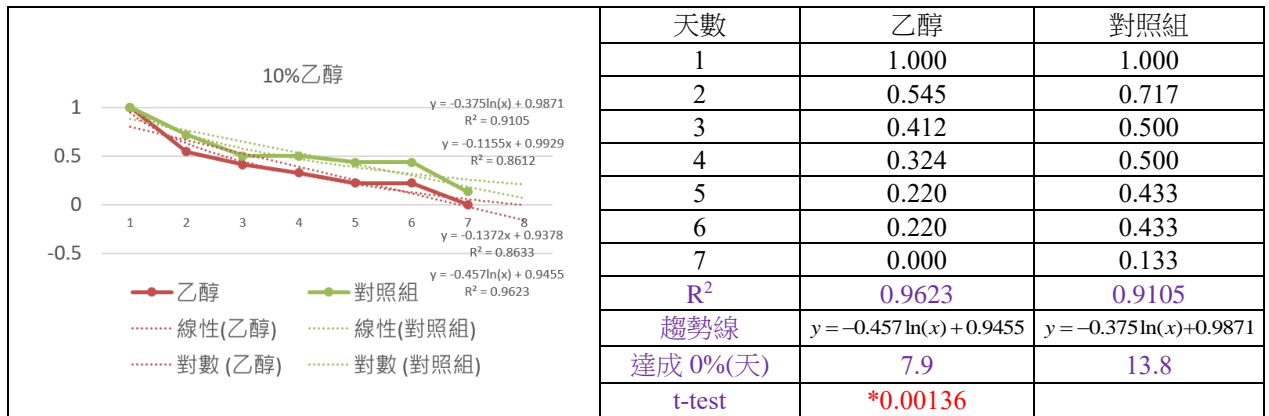
二、探討狸藻捕蟲囊的吸收過程受不同溶劑的影響

(二)有機溶液對黃花狸藻吸收色素的時間影響

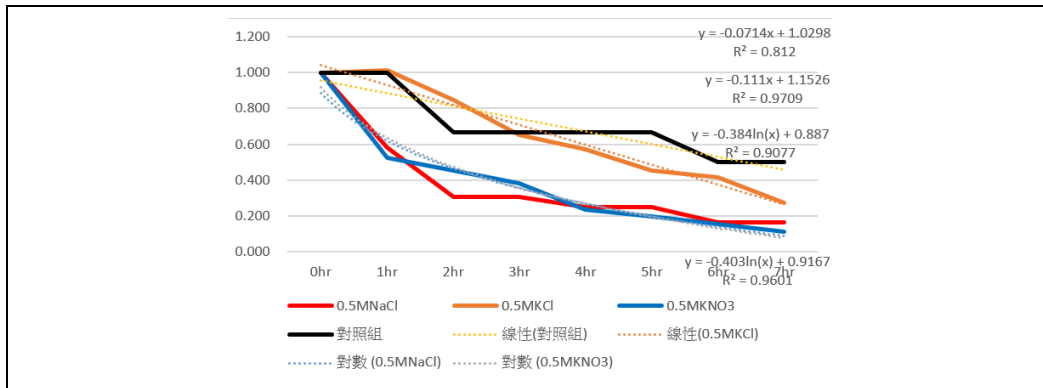




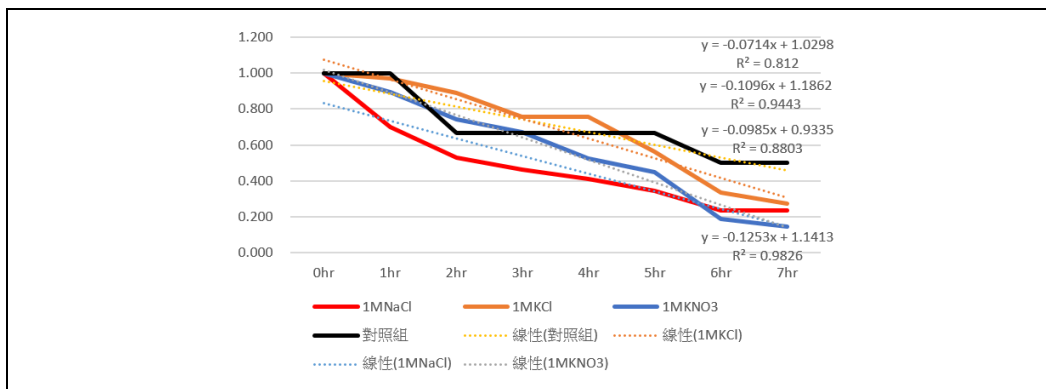
(四)有機溶液對絲葉狸藻吸收色素的時間影響



(六)絲葉狸藻吸收過程受不同鹽類的影響



0.5M	0.5MNaCl	0.5MKCl	0.5MKNO3	對照組
0hr	1.000	1.000	1.000	1.00
1hr	0.583	1.000	0.524	1.00
2hr	0.306	0.845	0.452	0.67
3hr	0.306	0.655	0.381	0.67
4hr	0.250	0.571	0.238	0.67
5hr	0.250	0.452	0.196	0.67
6hr	0.167	0.417	0.155	0.50
7hr	0.167	0.274	0.113	0.50
R ²	0.9077	0.9709	0.9601	0.8120
趨勢線	$y = -0.384\ln(x) + 0.887$	$y = -0.111x + 1.1526$	$y = -0.403\ln(x) + 0.9167$	$y = -0.0714x + 1.0298$
達成%(hr)	10.0	10.4	9.7	14.4
t-test	*0.00013	0.13745	*0.00034	



1M	1MNaCl	1MKCl	1MKNO3	對照組
0hr	1.000	1.000	1.000	1.00
1hr	0.701	0.969	0.893	1.00
2hr	0.528	0.888	0.745	0.67
3hr	0.465	0.756	0.673	0.67
4hr	0.410	0.756	0.525	0.67
5hr	0.347	0.563	0.451	0.67
6hr	0.236	0.338	0.187	0.50
7hr	0.236	0.275	0.148	0.50
R ²	0.8803	0.9443	0.9826	0.8120
趨勢線	$y = -0.0985x + 0.9335$	$y = -0.1096x + 1.1862$	$y = -0.1253x + 1.1413$	$y = -0.0714x + 1.0298$
達成%(hr)	9.5	10.8	9.1	14.4
t-test	*0.00030	0.38823	*0.02457	