

中華民國第四十七屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

040705

蝦紅素和甲基羣固酮對血鸚鵡呈色之影響

學校名稱：國立基隆女子高級中學

作者： 高二 謝筱媛 高二 呂曼寧 高一 蔡晴雯	指導老師： 曾如玉 郭麗香
-----------------------------------	---------------------

關鍵詞：蝦紅素 甲基羣固酮 血鸚鵡

摘 要

血鸚鵡(blood parrot, *Cichlasoma var.*)為台灣常見觀賞魚，為人工育種產生之魚類，無生殖力，但具有易飼養及容易取得等優點，因此本研究以血鸚鵡為實驗材料，並結合環境中常見之類胡蘿蔔素家族中的蝦紅素，探討食物中混合不同濃度的蝦紅素和甲基翠固酮所組成的 3 × 4 複因子，對血鸚鵡體色的影響。

研究結果顯示蝦紅素和甲基翠固酮對血鸚鵡的成長率及飼料效率沒有影響，但飼養 4 週後，血鸚鵡的體色顯著受到蝦紅素和甲基翠固酮的影響 (P=0.001)，推測甲基翠固酮應能間接促進血鸚鵡於皮膚或肌肉組織中儲存蝦紅素，所以體色才會轉紅，並且亮度降低。

壹、研究動機

生物與環境間的交互作用密不可分，不論是溫度、鹽度、光照、溶氧量、酸鹼值……等，皆會影響到生物的生存、生殖、代謝、遷徙、冬眠……等的活動。而水族館中常見的觀賞魚類：血鸚鵡，便吸引了我們的注意力，再加上近年來相當流行的抗氧化物—蝦紅素的話題正熱，因此，本研究首先想要了解食物中的蝦紅素含量對血鸚鵡呈色的影響。

血鸚鵡(blood parrot, *Cichlasoma* var.)是由南美洲鰈科的慈鯛魚類育種而成，分別由雄的紅魔鬼 (*Cichlasoma citrinellum*) 和雌的紫紅火口 (*Cichlasoma synspilum*) 人工配種繁衍而成的新品種，也是台灣的重要觀賞魚之一，本身不具生殖力，需飼養在弱酸性的軟水中 (李，2005)，而且血鸚鵡具有對環境抵抗力強、方便飼養等優點，因此選用本研究選擇血鸚鵡作為實驗對象。

觀賞魚體表的色澤是決定市場價格的一大指標，而類胡蘿蔔素便是一種優良的揚色色素，目前發現的類胡蘿蔔素共有 750 種，廣泛存在於大自然中，屬於脂溶性色素，顏色以紅、黃、橘為主，例如：茄紅素(Lycopene)、 β -胡蘿蔔素(β -carotene)、葉黃素(Lutein)、玉米黃素(Zeaxanthin)……等，而本次實驗所使用的蝦紅素(Astaxanthin, AS)，正是類胡蘿蔔素家族成員之一。類胡蘿蔔素廣泛存在許多動物體內，而魚類身上也含量豐富，皮膚、魚鱗、肌肉和各組織器官中都有分佈 (陳和吳，2005)。但是動物並無法自行合成類胡蘿蔔素，必須從食物中攝取，例如：藻類。雖然目前並無證據顯示類胡蘿蔔素是水產動物的必需營養物，但是類胡蘿蔔素的強抗氧化能力是無庸置疑的，可有效阻止動物體內的活性氧和自由基，保護白血球免受損傷，是水產動物的強化劑和脂質過氧化的抑制劑，並且有許多相關研究指出類胡蘿蔔素可促進多種水生生物的生長 (廖，2005)、體色增艷 (王，2005；陶，1994；曾，2004) 和抗逆境的能力 (王，2005；李，2004；陶，1994；曾，2007；廖，2005；簡，2004)，包含低溫逆境、鹽度逆境……等 (陳和吳，2005)。

此外，自然界動物中，大多以雄性個體的體色較鮮艷，而人工繁殖而成的血鸚鵡，並無法從外表區分性別，亦或者根本無性別之分。雖然曾 (2007) 也曾經利用蝦紅素對血鸚鵡的呈色進行研究，但只發現控制組和對照組間有差異，至於不同濃度的蝦紅素對血鸚鵡呈色則無顯著差異，因此本研究想進一步利用甲基睪固酮(17 α -methyltestosterone, MT)使血鸚鵡呈偽

雄性，以提升血鸚鵡的皮膚或肌肉組織對蝦紅素的儲存，使其增艷效果加倍。

貳、研究目的

- 一、探討不同濃度的蝦紅素對血鸚鵡呈色的影響
- 二、探討不同濃度的甲基翠固酮對血鸚鵡呈色的影響
- 三、不同濃度的甲基翠固酮及蝦紅素對血鸚鵡呈色的變化

參、研究設備及器材

一、實驗生物

血鸚鵡 (blood parrot, *Cichlasoma var.*) 208 隻

二、化學藥劑

NH_4^+ 測試劑

NO_2^- 測試劑

pH 測定儀 (pH sensor)

三、飼料成分：

(一) 鰻粉：

以鰻粉為基礎飼料，因為含有一般魚類所需足夠之營養，包含大豆粉 25%、魚粉 25%、米糠 10%、玉米澱粉 7%、魚油 5%、角叉菜膠 5%、維他命混合物 2%、及礦物質混合物 6%。因此本實驗以鰻粉為基底飼料，再分別製作 13 種配方的飼料

(表 1)。

(二) 蝦紅素 (Astaxanthin, AS)

由海洋大學水產養殖所提供，蝦紅素外面並包覆有動物膠，作為保護層，使其順利抵達腸道再消化吸收。

(三) 甲基睪固酮 (Methyltestosterone, MT)

(四) 水 300 ml

(五) 酒精 (純度 99%) 50 ml

表 1. 13 種飼料所含之蝦紅素 (AS) 和甲基睪固酮 (MT) 的含量

飼料編號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	對照組
AS (ppm)	100	100	100	100	200	200	200	200	400	400	400	400	0
MT (ppm)	1	2	4	8	1	2	4	8	1	2	4	8	0

四、器材

整理箱(47*35*27cm)	26 個
儲水桶(45L)	8 個
氣泵	1 個
打氣石	10 個
氣動式過濾棉 (Aquarium sponge filter)	26 個
珊瑚砂	少許
加溫棒	26 支
檯燈	
電子秤	
溫度計	
色度計 (Minolta CR-10 hand held chromameter)	

肆、研究過程或方法

一、血鸚鵡的馴化

(一) 馴化環境：

血鸚鵡馴化在白色塑膠整理箱中，缸內置珊瑚砂少許，飼養期間利用加溫棒使水溫維持在 29°C，每缸均有獨立打氣系統，使水保持擾動，保持溶氧量，同時每天均利用虹吸法



圖 1. 血鸚鵡分組蓄養在白色整理箱內

抽除底部排泄物，並換水三分之一。定期監測魚缸內 PH 值、 NH_4^+ 、 NO_2^- 的含量，使魚缸內的環境保持恆定性（圖 1）。

(二) 實驗前馴化：

實驗魚從水族館購回後，先以基礎飼料馴化 20 日，每缸有 8 隻魚，共計 26 缸，共 208 隻魚。

一天餵食基礎飼料兩次，分別是早上 7:00 和下午 17:00。檯燈光照時間為早上 7:00~下午 19:00，共 12 小時。水質維持於 pH 6.5~7.0，使血鸚鵡適應環境及體質健康，可降低實驗之誤差。

二、實驗開始前體重與體色測量

(一) 體重測量：

使用電子秤，秤量每隻魚的乾重（圖 2），並利用變方分析（ANOVA）的鄧肯氏多變域測驗（Duncan's Multiple Range Test），使每缸魚的體重



圖 2. 血鸚鵡秤乾重

均達 0.99 的顯著水準，則每個魚缸之起始點均相同。

(二) 體色測量：

以色度計測量魚的體色，並加以記錄。測量時環境照度約 3900~4000LUX，並將血鸚鵡頭部朝向測量者的左邊，且置於溼布上，使魚體保持濕潤。每隻魚都固定測量腹部（圖 3）的體色。

色度計測量色彩標準：據國際照明委員會（Munsell Color Science Lab）所制定之色彩空間 CIE Lab 系統，將顏色分為三個參數，分別為 L*、a*和 b*值，L*值代表明亮度，愈接近 100 表示樣品愈接近白色，愈接近 0 表示愈接近黑色，a*值代表紅/綠色，a*值愈接近+100 愈紅，愈接近-100 愈綠，b*值代表黃/藍，愈接近+100 愈黃，愈接近-100 則愈藍。

最後，利用變方分析 (ANOVA) 的鄧肯氏多變域測驗 (Duncan's Multiple Range Test)，使每缸魚的紅色值 (a*) 均達 1.00 的顯著水準，則每個魚缸之起始點均相同。

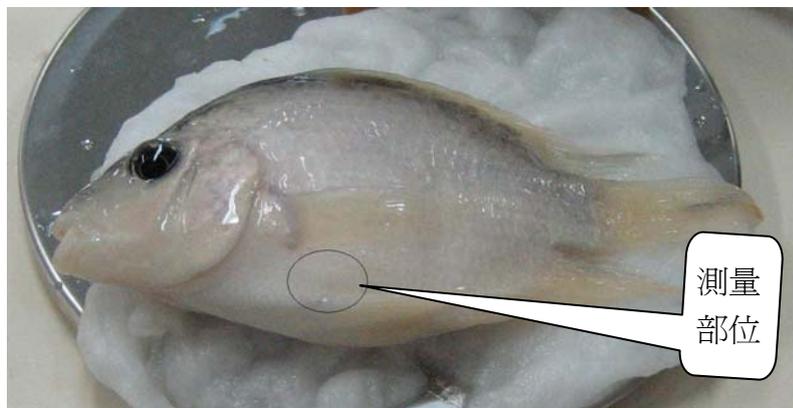


圖 3. 以色度計固定測量每隻血鸚鵡的腹部

三、實驗飼料製作過程

(一) 飼料先加入蝦紅素

秤量三種不同的劑量之蝦紅素，1 克（飼料 1~4 號）、2 克（飼料 5~8 號）、4 克（飼料 9~12 號）各 4 份，每份蝦紅素均利用放大混合法將 1 kg 鰻粉分批逐漸倒入蝦紅素中，並逐次混合均勻。

(二) 飼料中再加入甲基睪固酮

分別秤甲基睪固酮 0.001 克 (飼料 1、5、9 號)、0.002 克 (飼料 2、6、10 號)、0.004 克 (飼料 3、7、11 號) 和 0.008 克 (飼料 4、8、12 號)，因為甲基睪固酮為固醇類激素，因此分別將甲基睪固酮溶於 50ml 的 99% 酒精中，完全溶解後，將溶液倒入 300ml 的水中。



圖 4. 各組飼料分別以攪拌器攪拌均勻。

將已混入設定之蝦紅素濃度的鰻粉，分別放入攪拌器中均勻攪拌 (圖 4)，再逐次加入含有甲基睪固酮的混合溶液，使甲基睪固酮和鰻粉混合均勻。

(三) 將飼料壓粒和烘乾

將各組含蝦紅素和甲基睪固酮的鰻粉，分別經 2mm 直徑的孔隙擠成條狀 (圖 5)，並迅速用手分成小顆粒 (圖 6)，放在篩網上於暗處 35°C 以下烘乾一晚 (圖 7)，以避免飼料中的蝦紅素受光及高溫的破壞，同時也使溶解酒精完全揮發，隔天裝袋冰存於冰箱 -20°C 以確保飼料品質。



圖 5. 將飼料擠成直徑 2mm 的條狀



圖 6. 將剛擠出來的飼料迅速分成小顆粒



圖 7. 飼料至於暗處烘乾一晚

四、實驗過程設計及方法

實驗設計為 3×4 複因子，採二重複進行，第一個因子為蝦紅素：100、200、400ppm，第二個因子為甲基翠固酮：1、2、4 和 8ppm（表 1），最後再利用複因子試驗（Factorial experiments）分析任兩處理間的均值有無差異。

血鸚鵡馴化後，開始投餵實驗飼料，每日餵食飼料為體重的 3%，分 2 次投餵，投餵時間為 7:00 ~7:30 和 17:00~18:00，檯燈光照為 7:00~ 19:00，共 12 小時，其他環境因子均與馴化時相同。每週從每個魚缸中隨機撈取 4 隻魚測量體色（L*、a*、和 b*），共記錄 4 次，再分別換算為色差值（ ΔE ）（註一），並於 4 週後後測量魚的體重，以記錄成長率（Weight gain）（註二）和飼料效率（Feed efficiency rate）（註三）。

註一. 色差 = $[(a - a_c)^2 + (b - b_c)^2 + (L - L_c)^2]^{1/2}$

註二. 成長率 = [增加的體重 (g) ÷ 初始體重 (g)] × 100%

註三. 飼料效率 = [增加的體重 (g) ÷ 餵食飼料重量 (g)] × 100%

伍、研究結果

一、成長

血鸚鵡養殖四週後，體重由初始體重 $15.42 \pm 4.99g$ 顯著增加至 $32.84 \pm 0.53g$ （表 2），顯著水準小於 0.0001。血鸚鵡的平均成長率為 113%，但是不同濃度之蝦紅素和甲基翠固酮對血鸚鵡的成長和飼料效率無顯著影響。

表 2. 血鸚鵡以不同濃度的蝦紅素和甲基翠固酮投餵 4 週後的體重變化、成長率和飼料效率

飼料編號	起始體重 (g)	最後體重 (g)	成長率(%)	飼料效率(%)
1	15.67	33.06	111.0	134.3
2	14.45	33.06	128.8	143.7
3	16.29	32.81	101.4	127.5
4	15.81	33.02	108.9	132.9
5	14.96	32.88	119.8	138.4
6	14.96	32.85	119.6	138.1
7	14.96	32.66	118.3	136.6
8	17.06	32.70	91.6	120.7
9	15.11	32.79	116.9	136.4
10	15.44	32.73	112.0	133.5
11	15.98	32.71	104.7	129.1
12	15.00	32.59	117.3	135.8
對照組	14.74	33.11	124.6	141.8
平均±SD	15.42±4.99	32.84±0.53	113.4	134.5

二、呈色

每週固定從魚缸中抽樣 4 隻魚測量體色，共記錄 4 次（表 3），並於餵食 4 週後每組抽樣一個個體拍照（圖 8）。其中第一週時可能因人為操作色度計不當，使得實驗組和對照組的 a*值均過高，因此最後分析時不討論所有第一週的測量之數據。

a*值（紅色值）和實驗前相比較，於第二週時迅速增加，到第三週時除了第 11 和 12 組以外，其餘各組的 a*值均有下降之趨勢；但持續追蹤紀錄至第四週時，各組 a*值均持續增加（圖 9、圖 10、圖 11、圖 12、圖 13）。以肉眼觀察，也發現魚體表顏色隨時間的增加而逐漸變紅（圖 8）。複因子分析統計分析結果 a*值從第一週到第三週的數據均無顯著差異（第一週 P=0.16、第二週 P=0.12、第三週 P=0.08），顯示蝦紅素和甲基翠固酮的濃度對 a*值的影響還不大；但到第四週時，不同濃度的蝦紅素和甲基翠固酮對 a*值有顯著的影響（P=0.001），尤其是蝦紅素的對 a*值影響（P<0.0001）比甲基翠固酮（P=0.0002）大，同時，隨著飼料中甲基翠固酮越多，蝦紅素越多，則 a*值越大，兩者間有交感（P=0.008）。

餵食三週後實驗組的 L*值（亮度）有降低的趨勢，而對照組則無（圖 14）。

隨著餵食量的增加，實驗組的 b*值（黃色值）有增加的趨勢，而對照組則反而降低（圖 15）。

表 3. 血鸚鵡體色的色彩標準（a*、b*和 L*值）以及和對照組相比的色差（ ΔE ）大小。

飼料 編號	平均 a*值					平均 L*值				
	起始	第一週	第二週	第三週	第四週	起始	第一週	第二週	第三週	第四週
1	1.98	25.33	24.16	13.54	14.28	69.37	70.78	69.31	55.43	53.98
2	2.14	24.33	19.40	16.36	17.85	66.49	68.96	72.08	59.51	53.00
3	2.03	28.91	22.40	17.98	18.86	70.61	70.21	70.71	51.04	52.28
4	2.04	27.00	24.49	18.26	18.80	69.86	71.14	69.53	50.80	51.55
5	2.11	20.90	26.33	19.03	22.41	70.24	70.66	72.46	51.24	51.65
6	1.86	21.38	27.39	20.44	23.40	71.81	71.39	72.10	50.86	51.64
7	1.84	22.50	25.69	21.84	23.78	70.97	72.59	70.61	51.60	51.13
8	1.94	23.28	27.21	23.21	24.60	69.29	69.59	70.06	51.00	49.86
9	2.11	26.59	25.20	23.09	25.49	68.49	69.26	72.84	51.00	48.99
10	2.05	23.24	26.68	26.20	27.30	69.30	70.06	68.81	53.04	48.60
11	1.94	26.19	27.33	31.89	35.11	70.68	69.20	71.48	51.81	48.45
12	1.82	27.11	30.65	35.78	37.70	71.53	67.74	73.41	50.54	44.20
對照組	1.72	18.66	7.53	6.44	5.79	72.22	72.35	69.75	71.66	71.43

表 3 (續). 血鸚鵡體色的色彩標準（a*、b*和 L*值）以及和對照組相比的色差（ ΔE ）大小。

飼料 編號	平均 b*值					色差			
	起始	第一週	第二週	第三週	第四週	第一週	第二週	第三週	第四週
1	17.09	20.53	25.58	25.44	23.59	8.2	19.6	22.6	22.3
2	18.85	24.76	26.03	22.81	23.90	10.9	16.2	19.3	24.8
3	19.33	20.54	26.43	25.51	23.80	11.4	18.6	27.5	25.8
4	18.30	25.09	24.59	21.06	24.05	12.3	19.4	25.8	26.4
5	19.84	17.41	19.58	23.51	24.39	3.1	19.5	26.8	28.4
6	18.46	21.85	23.00	22.74	24.21	6.5	21.5	27.5	28.9
7	20.67	17.61	19.99	23.03	24.76	4.1	18.8	27.8	29.7
8	17.63	22.05	22.31	22.45	25.04	8.0	20.9	28.8	31.2
9	17.69	22.09	18.93	20.41	25.04	10.4	18.3	28.0	32.3
10	17.29	20.08	20.35	23.90	25.85	6.5	19.8	29.9	34.0
11	17.97	20.86	20.13	28.04	31.81	9.5	20.5	36.3	41.9
12	17.01	18.56	21.70	26.50	32.65	9.9	24.3	39.1	46.5
對照組	19.02	16.08	15.23	11.49	12.60	8.2	19.6	22.6	22.3

		
飼料編號 1 (AS 100ppm, MT 1ppm)	飼料編號 2 (AS 100ppm, MT 2ppm)	飼料編號 3 (AS 100ppm, MT 4ppm)
		
飼料編號 4 (AS 100ppm, MT 8ppm)	飼料編號 5 (AS 200ppm, MT 1ppm)	飼料編號 6 (AS 200ppm, MT 2ppm)
		
飼料編號 7 (AS 200ppm, MT 4ppm)	飼料編號 8 (AS 200ppm, MT 8ppm)	飼料編號 9 (AS 400ppm, MT 1ppm)
		
飼料編號 10 (AS 400ppm, MT 2ppm)	飼料編號 11 (AS 400ppm, MT 4ppm)	飼料編號 12 (AS 400ppm, MT 8ppm)
		
控制組 (AS 0 ppm, MT 0 ppm)		

圖 8. 餵食 4 週不同濃度的蝦紅素和甲基羥固酮後，血鸚鵡的體色。

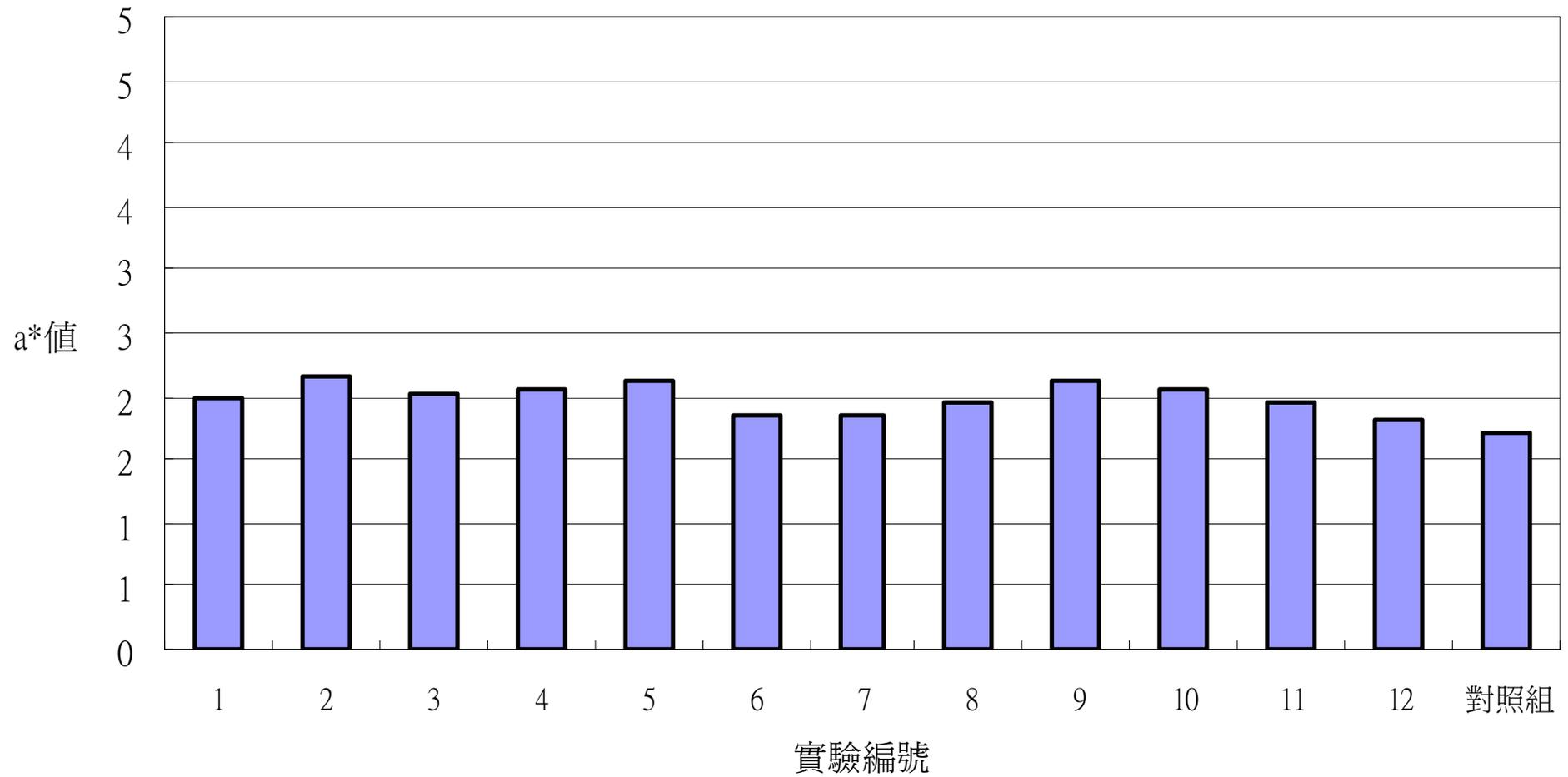


圖 9. 實驗開始前，各實驗組組的平均 a*值，且經變方分析(ANOVA)的鄧肯氏多變域測驗(Duncan's Multiple Range Test)，顯著水準為 1.00。

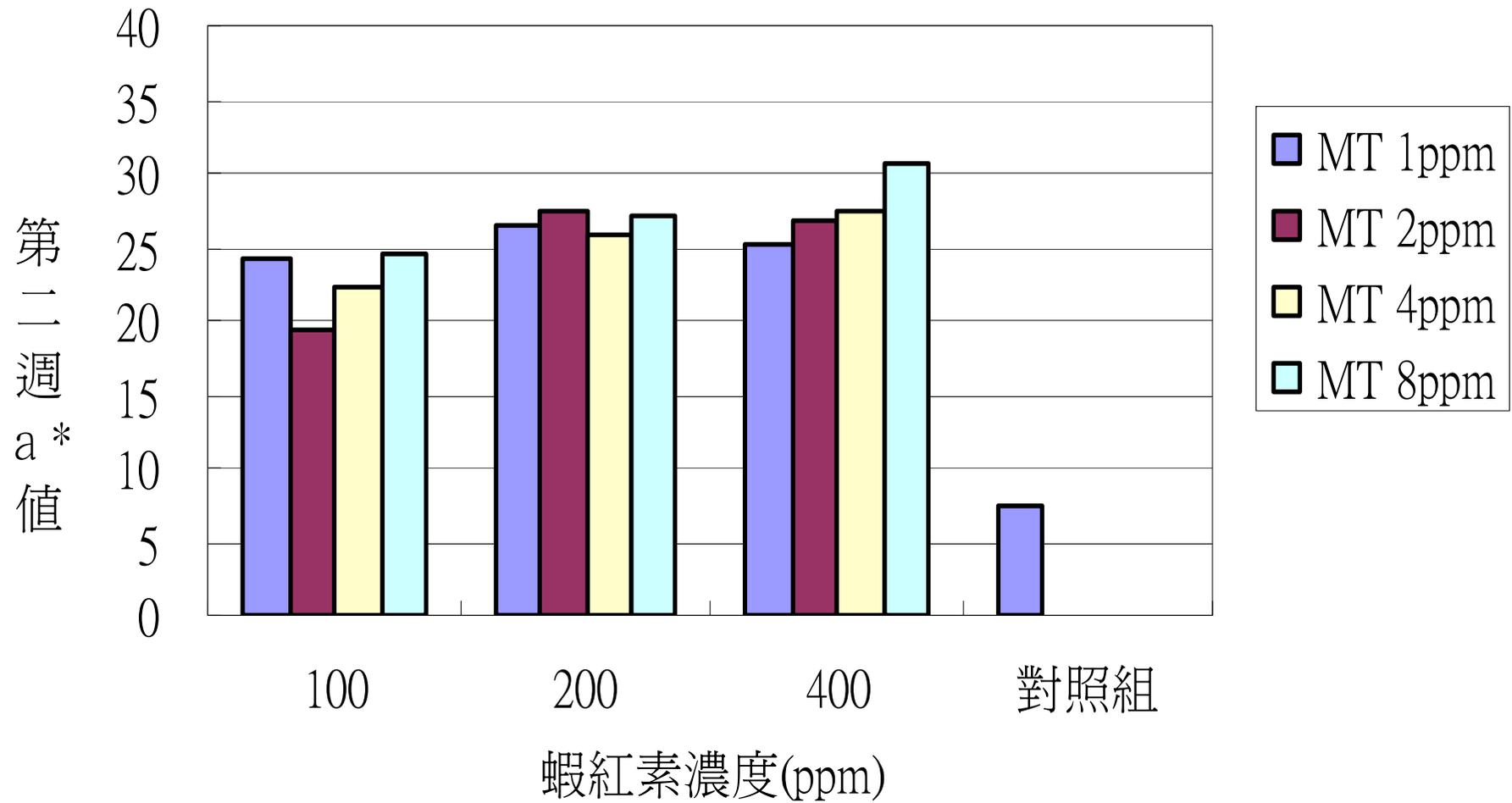


圖 10. 餵食不同濃度蝦紅素(AS)和甲基巰固酮(MT)的飼料二週後，各實驗組組的平均 a* 值，並利用複因子試驗 (Factorial experiments) 分析有顯著差異 (P=0.12)。

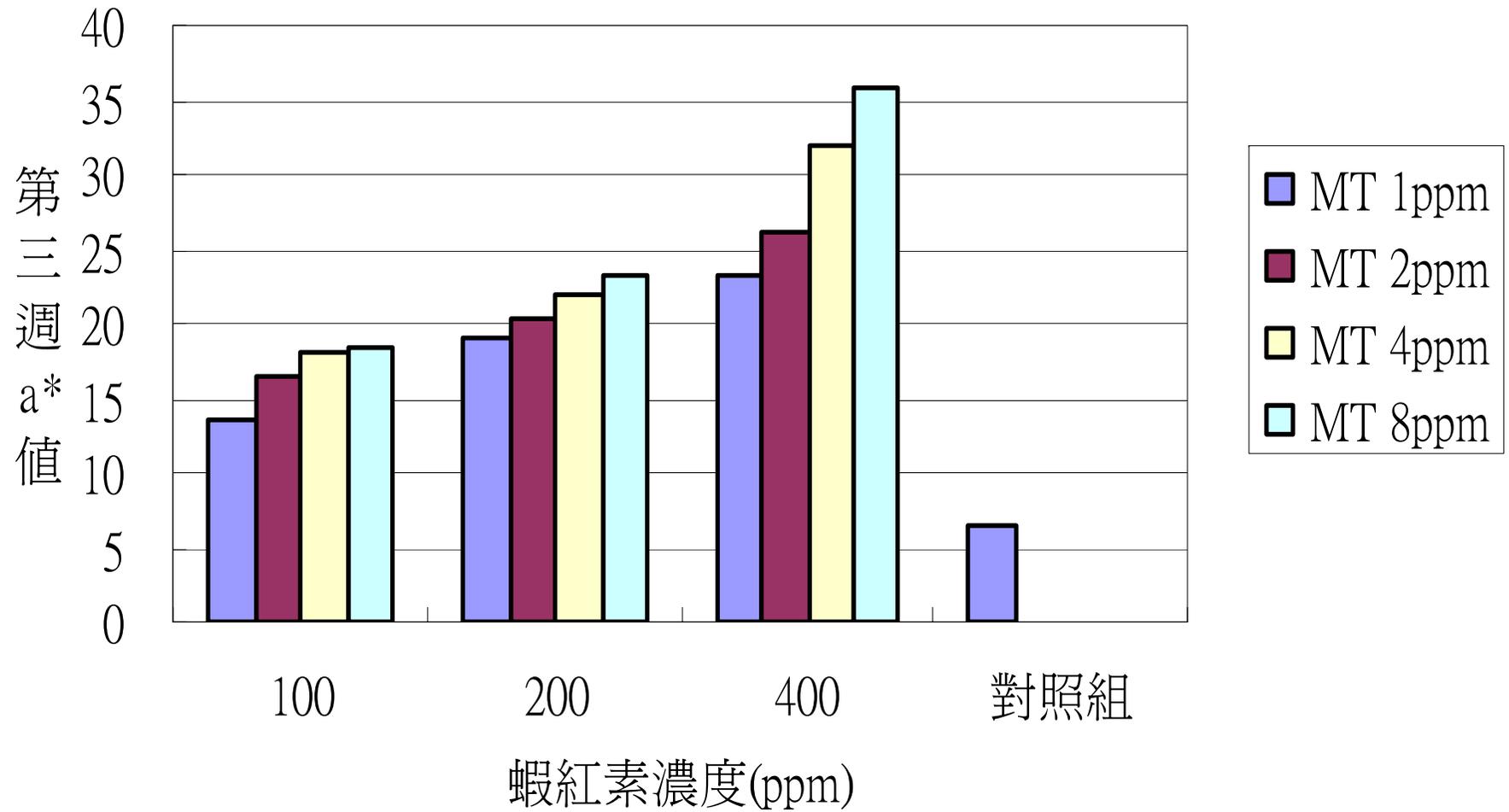


圖 11. 餵食不同濃度蝦紅素(AS)和甲基巯固酮(MT)的飼料三週後，各實驗組組的平均 a^* 值，並利用複因子試驗 (Factorial experiments) 分析無顯著差異($P=0.08$)。

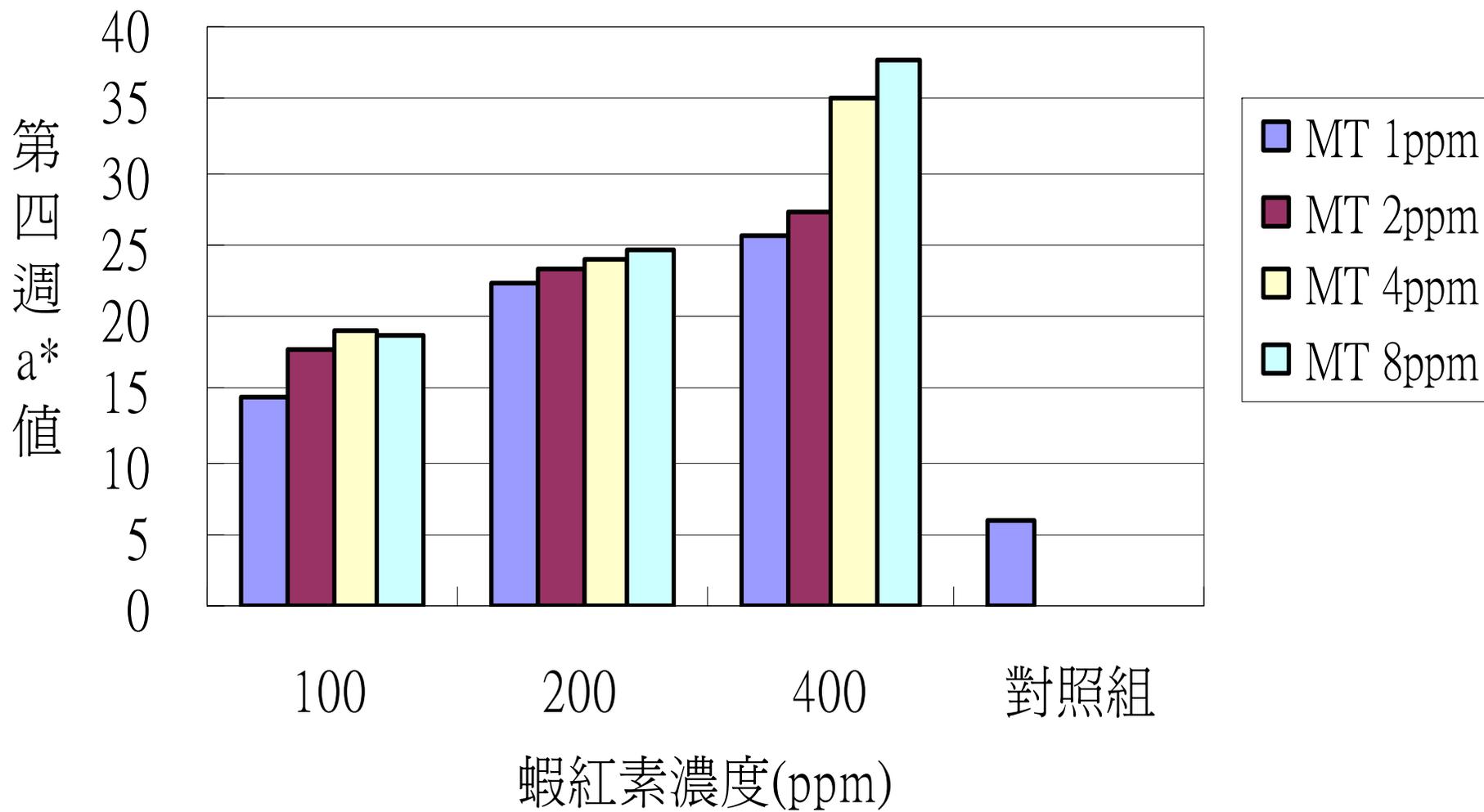


圖 12. 餵食不同濃度蝦紅素(AS)和甲基巯固酮(MT)的飼料四週後，各實驗組組的平均 a^* 值，並利用複因子試驗 (Factorial experiments) 分析有顯著差異 ($P=0.001$)。

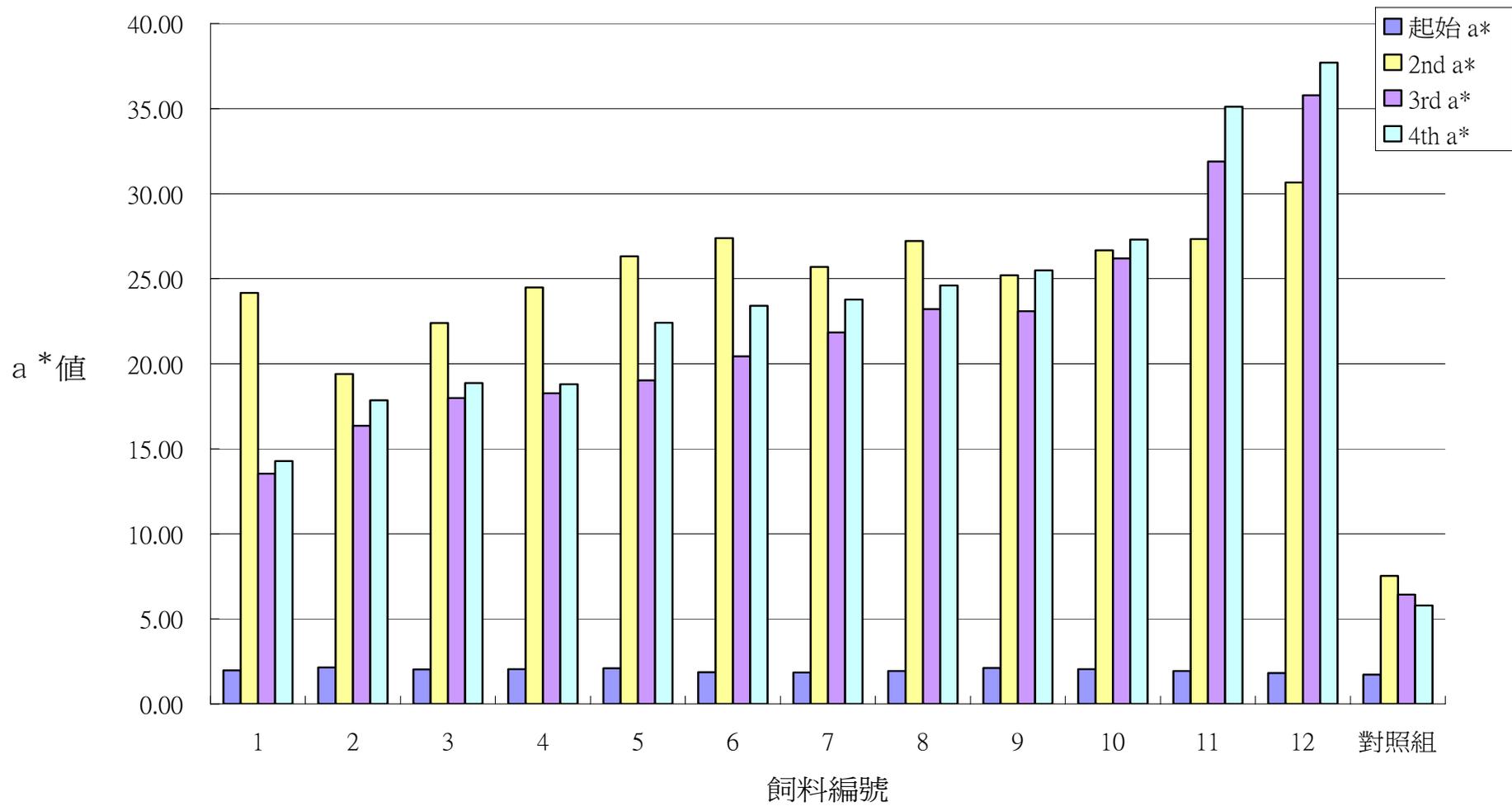


圖 13. 餵食不同濃度的蝦紅素和甲基翠固酮對 a*值（紅色值）的大小變化

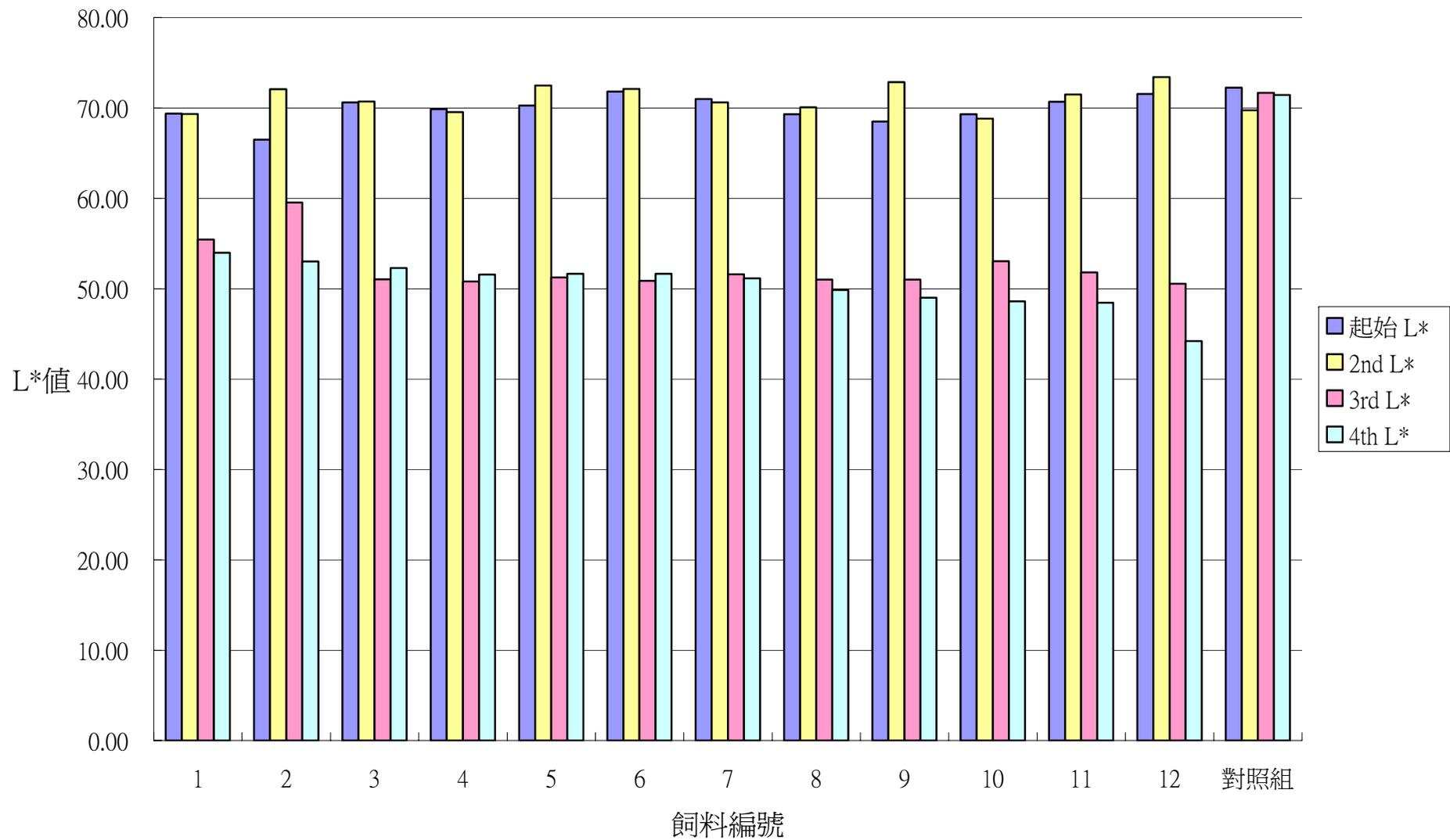


圖 14. 餵食不同濃度的蝦紅素和甲基翠固酮對 L*值（亮度值）的大小變化

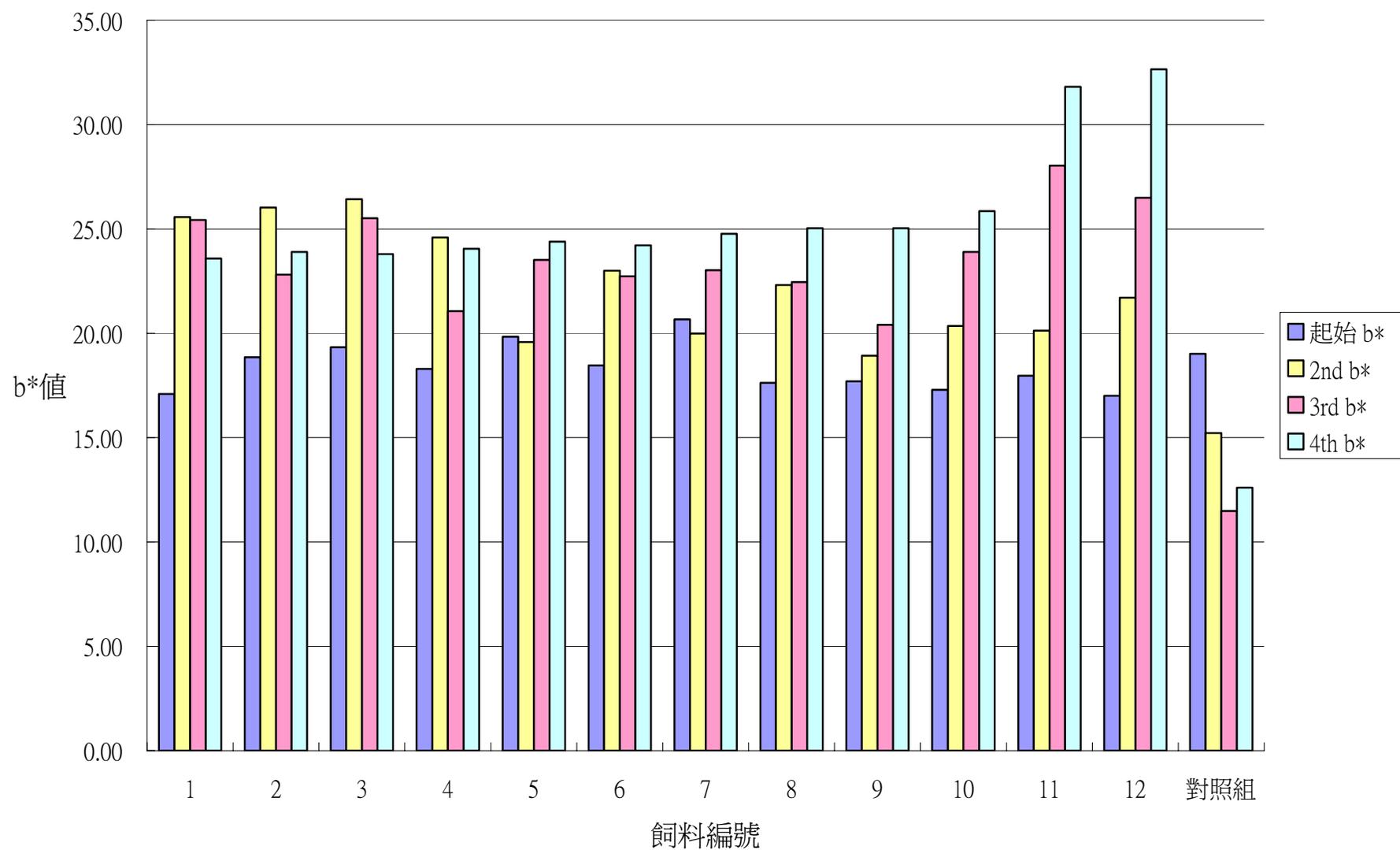


圖 15. 餵食不同濃度的蝦紅素和甲基羥固酮對 b*值（黃色值）的大小變化

陸、討論

一、成長

蝦紅素的濃度並不影響血鸚鵡的生長速度，這點和曾（2007）所作的研究相同，而本研究另外加上不同濃度的甲基睪固酮，也並未影響血鸚鵡的成長率。同時飼料效率也不受蝦紅素和甲基睪固酮的影響。

相較於其他研究，血鸚鵡和紅旗（*Characins, Hyphessobrycon callistus*）（王，2005）及赤鰭笛鯛（red striped snapper, *Lutjanus erythropterus*）（廖，2004）一樣，都未因蝦紅素的投餵而使成長率增加。

然而，血鸚鵡的成長速率和飼料效率都很高，相較於同樣也餵食 4 個星期的赤鰭笛鯛，且赤鰭笛鯛的每日餵食量為個體體重 2~4%，和本研究的餵食量 3% 相仿，然而本研究的血鸚鵡的平均成長率約 113.4%，比赤鰭笛鯛的平均成長率 33.2% 高出很多；血鸚鵡的平均飼料效率 134.5%，也比赤鰭笛鯛的 77.2% 高出許多。

二、呈色

色度計操作時必須注意務必要貼緊測量物的表面才會準確，而且色度計並無法校正環境亮度，所以每次紀錄色彩標準時，必須先固定周圍亮度，以減少實驗誤差。雖然所有的個體在當次測量時都保持相同環境狀況下，然而本研究操作過程中，因為實驗前測量時疏忽環境亮度的問題，於中午時測量，因此推測這是造成實驗前測量所得之 a^* 值偏低的原因；一發現此原因，便從第 3~5 週的測量中使用光度計確定環境照度介於 3900~4000 LUX，才開始使用色度計測量體色，也可由對照組的的數值保持恆定的狀態可以確定之。

本研究以蝦紅素和甲基睪固酮 2 個複因子，對血鸚鵡的呈色進行試驗。據曾（2007）的研究結果可知蝦紅素對血鸚鵡的呈色與麻醉緊迫有影響，但如何能達到蝦紅素最佳呈色效果尚無解答，因此本研究進一步證實少量的甲基睪固酮的確能使蝦紅素在血鸚鵡身上的揚色效果提升。

柒、結論

- 一、不同濃度的蝦紅素對血鸚鵡呈色有顯著影響。
- 二、不同濃度的甲基翠固酮對血鸚鵡的呈色有顯著影響。
- 三、不同濃度的蝦紅素和甲基翠固酮對血鸚鵡的呈色有顯著影響，兩者間有交感。

捌、參考資料及其他

- 王怡君，2005。飼糧中添加類胡蘿蔔素對紅旗活存、成長、呈色與抗物理－化學緊迫之影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。
- 李建忠，2004。以蝦紅素及裸藻酮素滋養豐年蝦及橈足蟲對白蝦及草蝦幼苗抗低溶氧緊迫的影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。
- 李濟臺，2005。水溫、pH 及光照週期對血鸚鵡褪色及成長之研究。國立屏東科技大學水產養殖系碩士論文。
- 陶海山，1994。不同來源及濃度之蝦紅素對於斑節蝦增色、成長、活存及耗氧之影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。
- 陳斌和吳天星，2005。類胡蘿蔔素對水產動物的功能與應用研究進展。水利漁業 25(3), 68-69。
- 曾功智，2007。軟、硬水環境飼糧蝦紅素對血鸚鵡成長、存活、呈色與麻醉緊迫之影響。國立屏東科技大學水產養殖系碩士論文。
- 曾偉誠，2004。飼料中添加不同類胡蘿蔔素對赤鰭笛鯛體色之影響。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。
- 廖苑如，2005。飼糧油脂與類胡蘿蔔素對鬥魚呈色、繁殖表現及仔稚魚抗低溫與紫外線緊迫的影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。
- 簡玉芳，2004。白蝦體內蝦紅素和維生素 A 抗氧化能力之探討。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。
- 國際照明委員會（CIE） <http://www.cie.co.at/cie/>

【評語】 040705 蝦紅素和甲基翠固酮對血鸚鵡呈色之影響

1. 科學實驗適切，數據詳細，可嘉。
2. 作品無創意性，可預知結果。
3. 經濟實用價值，目前可說不合價值。