

中華民國第四十八屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

040706

多刺裸腹蚤之研究

學校名稱：嘉義市私立輔仁高級中學

<p>作者：</p> <p>高一 陳柏蓉</p> <p>高一 徐瑛鴻</p> <p>高一 何思賢</p> <p>高一 邱柏璋</p>	<p>指導老師：</p> <p>呂佳璇</p>
--	-------------------------

關鍵詞：孤雌生殖、耐久卵、光質

酒仙刺客—以多刺裸腹蚤進行生物毒物活性檢測與環境耐受性之研究

摘要 (Abstract)

本研究以多刺裸腹蚤 (*Moina macrocopa*) 進行觀察，實驗一對水蚤型態觀察得知：雌雄之差異可從第一觸角及育兒囊辨別；在 3 齡時有抱卵現象，行孤雌生殖。實驗二不同光質對於水蚤生長影響結果：水蚤在紅光、LED 紅光、日光、黑暗組中生長良好，綠光與藍光中生長較差。實驗三水蚤在不同酒精濃度下活動得知：8%以上酒精中會死亡，4%酒精之環境有昏迷甦醒現象，2%酒精無明顯昏迷現象。實驗四進行水蚤體內酒精去氫酶活性測定，檢測體內酒精去氫酶活性顯示：水蚤酒精去氫酶活性隨酒精濃度(0% →4%)明顯降低，推測因代謝酒精會降低或抑制酒精去氫酶活性，避免酒精代謝物對生物體的負面影響。綜合以上結果，藉由酒精去氫酶活性可作微環境耐受性之試驗模式，期望可應用於環境指標之試驗生物。

壹、研究動機 (Motive)：

去年六月，因為參加學校的學術性社團——生物專題研究社，在一次老師介紹水蚤的機會下，瞭解有關台灣研究淡水水蚤的資料很少，但在日本已經有詳細紀錄及水蚤的照片，美國的網站上則是有販售標準化飼養的水蚤，且水蚤的成體與耐久卵，可販賣的錢也有不同，水蚤也是一種餌料食物，因含高蛋白是很好的魚飼料，這可是一個新的經濟價值呢！經過網路上的資料及老師對水蚤更進一步簡介，引起我們很大的好奇心，同時也想累積八掌溪旁水蚤的資料，因此與幾個同好決定要好好研究牠一番！



圖 1、八掌溪河畔

貳、研究目的 (Purpose of the Research) :

- 一、瞭解多刺裸腹蚤的外部型態與微細構造。
- 二、比較不同光質對水蚤生長數量之影響。
- 三、觀察比較水蚤於不同濃度酒精環境中之耐受性。
- 四、瞭解水蚤是否藉調整其酒精去氫酶活性以提高其酒精耐受性。

參、研究背景 (Background):

一、有關淡水水蚤之分類與生態

在水生生物學的分類中，水蚤屬於節肢動物門、甲殼綱、總足亞綱的枝角目(涂，2002)，為淡水浮游動物中重要的組成部分，主要攝食水中的浮游藻類、有機顆粒及細菌等，是水域生態系中的初級消費者，也是魚類與水生昆蟲等次級消費者的重要食物來源。目前拿來作培養研究的枝角類有：淡水的大型蚤 (*Daphnia magna*)、粉紅蚤 (*Daphnia rosea*)、蚤狀蚤 (*Daphnia pulex*)、模糊裸腹蚤 (*Moina dubia*)、多刺裸腹蚤 (*Moina macrocopa*)、近親裸腹蚤 (*Moina affinis*)、直額裸腹蚤 (*Moina rectirostris*)。

在高中生物實驗中因水蚤具有體色透明、生活史短、容易飼養觀察、孤雌生殖等特性，可作為生物觀察影響心搏速率因子實驗的材料，在搜尋資料整理後，發現對於水蚤之研究資料不多，因此我們由八掌溪分離出的多刺裸腹蚤做為研究材料著手(圖 1、圖 2)，進行我們的觀察與實驗。

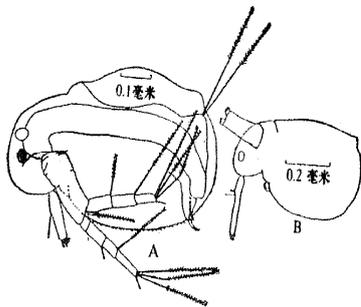


圖 2、多刺裸腹蚤手繪圖(堵，1993)



圖 3、多刺裸腹蚤解剖顯微鏡下的型態

關於水蚤構造的基本資料整理於下：

(一) 頭部

頭部具發達的複眼，除了複眼以外，還有單眼，單眼位於複眼與第一觸角之間，複眼與單眼都具有感覺光線變化的功能，而單眼的有無與形狀依種類而定。在複眼之前的頭部位置稱為額，額向下延伸為鳥喙狀突起稱為吻，而吻的有無、大小與形狀是分類的依據。

(二) 軀部

軀部由胸、腹部組成。胸部有附肢，稱為軀肢，多為攝取食物的器官。雌水蚤的軀部背面有一個育兒囊，也稱孵卵室（雄水蚤不具有育兒囊），是單性卵發育的場所（單性卵是水蚤在適當環境中，行孤雌生殖所產生的一種卵）。而腹部背側有指狀的突起，稱作腹突（卵塞），有阻止卵、胚胎向體外逸出的功用。

二、過去有關水蚤生殖行為之研究

在自然界中會已知會行孤雌生殖的動物種類有輪蟲、水蚤、蚜蟲、蜥蜴等，而其中水蚤的生殖方式與輪蟲相似，兩者皆會行孤雌生殖及兩性生殖。

（一）孤雌生殖

孤雌生殖也稱單性生殖、非混交生殖，是一種不需要靠雄性配子進行受精作用，雌體就可以自行產生下一代的情況（向，1996）。當水蚤行孤雌生殖時，此時雌體所產生的卵稱為夏卵（單性卵），而夏卵會在雌體的育兒囊中孵化成小水蚤後再脫離雌體而獨立生活。

（二）兩性生殖

一般自然界生物多採有性生殖，而有性生殖又稱兩性生殖，與孤雌生殖不同的是：當環境惡劣時，為了渡過這不良的環境，水蚤便會改變其生殖方式，從孤雌生殖改變為有性生殖。雌體會產生耐久卵（保久卵、resting eggs），由於耐久卵有厚壁或卵鞍保護，因而能抵抗惡劣環境免於死亡，而這也是水蚤能保持種族繁衍的主因。水蚤的生活史整理如下：

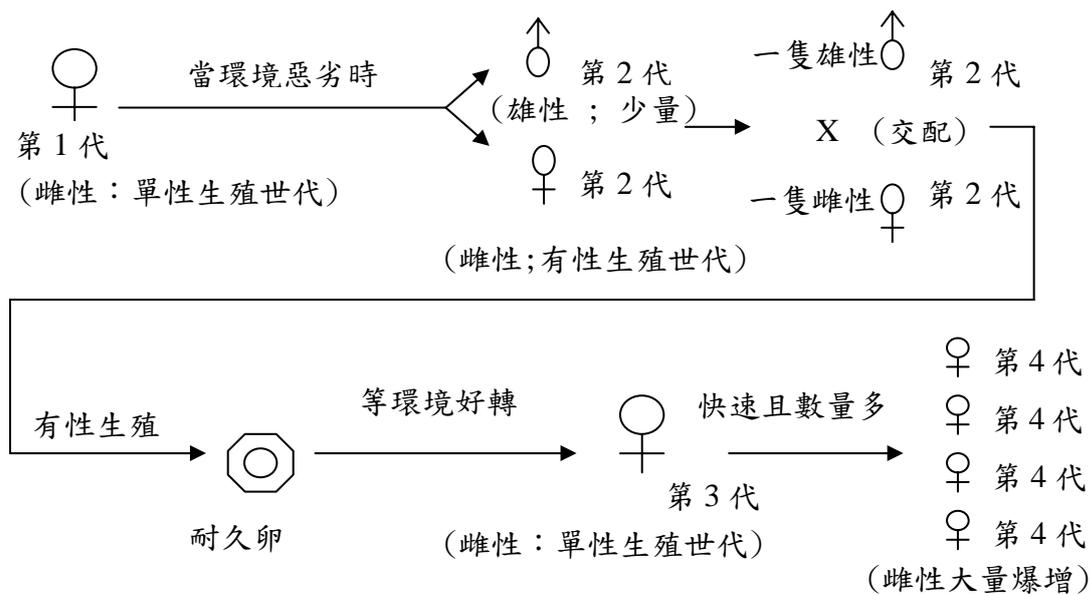


圖 4、淡水多刺裸腹溞的生活史（堵，1993；梁，1995）

(三) 有關水蚤生殖的研究

在外國的一些期刊論文中，看到關於水蚤生殖的研究他們利用青春激素 (fenoxycarb) 去影響雄性幼蚤的繁殖速度，並推測青春激素對於水蚤開始行有性生殖影響的可能性(Oda et al., 2005)。除此之外也有研究人員利用不同的外在條件去影響水蚤生殖量的變化，從溫度、餌料的種類與數量、族群密度、光照等方面著手。

- 1.溫度：據(劉，1990)報告，當水溫在 10~17 °C 時，幼蚤經 9~12 天即達到性成熟，經 13~22 天可產生第一胎幼蚤，以後每隔 4~7 天生殖一次，每次平均產卵 10 個。
- 2.餌料：餌料的種類和數量也是影響水蚤生殖量的重要因素，當水蚤在飽食時與飢餓時其生殖量會有所不同；使用不同的餌料來餵養水蚤，前人實驗水蚤生殖量也不相同。
- 3.族群密度：當族群密度過大時會超過環境的負荷量 (圖 5)，因此水蚤的生殖量也會跟著減少。
- 4.光照：光照條件對水蚤是直接的生理影響或間接的餌料影響，尚有不同的看法，如果是黑暗條件間接地影響藻類的繁殖，因此影響攝食量 (陳，1997)

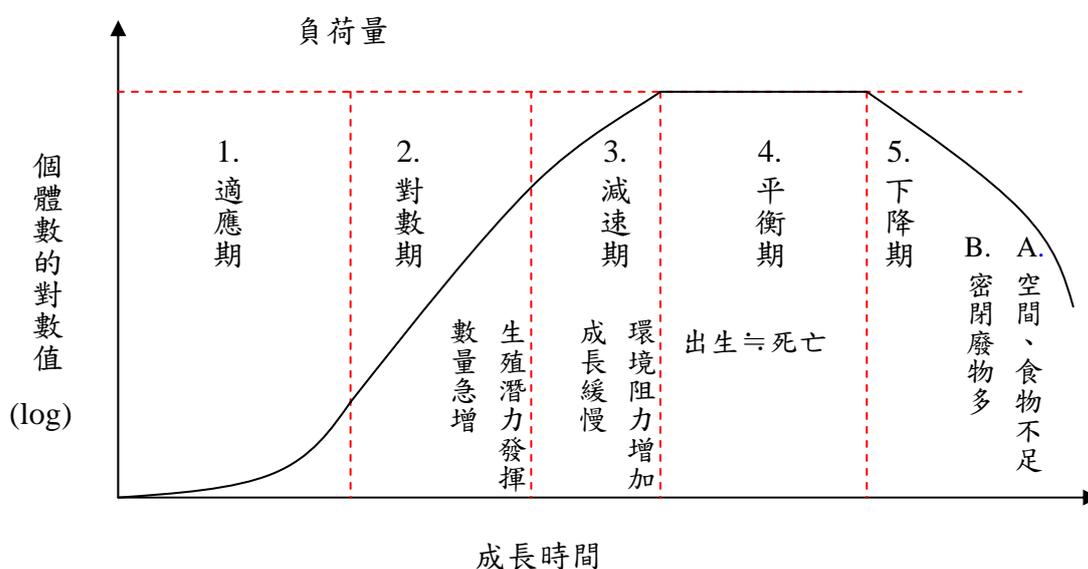


圖 5、生長曲線

三、酒精對生物之影響

眾所周知「喝酒不開車或酒駕太危險」，酒精又稱乙醇，是許多生物的正常代謝物，工業上以酵母菌嫌氣發酵，大量生產形形色色的酒類產品。依據中央警察大學所提供之資料 (聯合報 97 年 1 月 24 日 A11 版) 報導，喝酒過量會傷身，通常人體中酒精濃度高於 2.5 mg/L 時即會致死，若高於 0.5 mg/L 時即會說話含糊腳步不穩，顯示酒精對生物細胞具有很敏感

之影響力。由於，人喝酒到一定量時會酒醉昏睡，此時無法再繼續喝酒，已進入體內之酒醉需藉酒精去氫酶（以肝臟為最重要之解酒器官）之催化分解代謝，才會甦醒恢復正常。

肆、研究材料與設備 (Materials instruments)

一、生物材料的選擇與飼育

1.水蚤的種類：

透過圖鑑特徵的比對，與農委會水試所東港分所蘇惠美博士鑑定，本次水蚤研究的對象為枝角目的多刺裸腹蚤 (*Moina macrocopa*)。

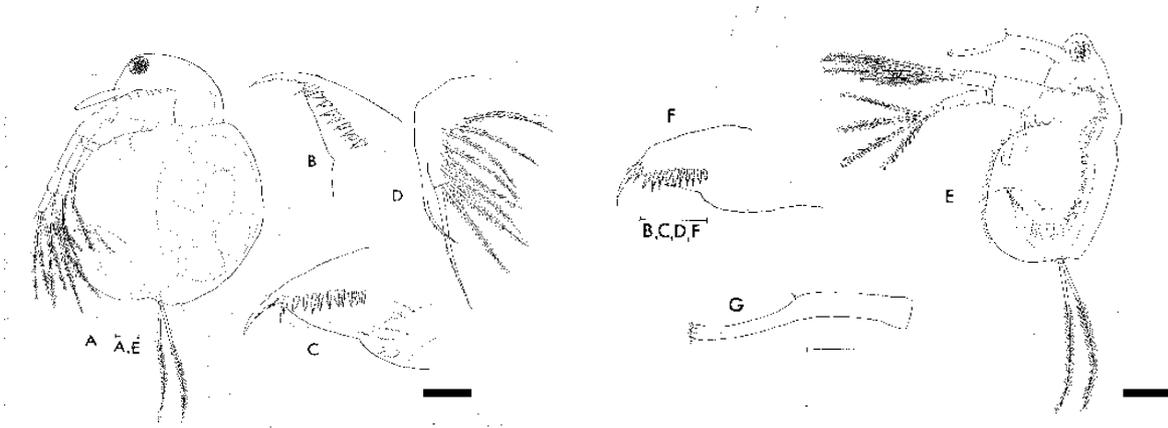


圖 6、由左而右分別為多刺裸腹蚤的雌體與雄體 (Bar=0.1mm) (涂，2002)

表 1、水蚤雌雄外部型態之差異 (陳，1997)

特 徵	雌 性	雄 性
性別		
個體大小	較大	較小
第一觸角	較小	較大，可動，具長剛毛
第二觸角	正常	具鉤或長鞭，或兩者都有
後腹部	正常	改變
生殖腺	通常成對	不成對
育兒囊	有	無
額角	有	無

2.水蚤飼育方面：

培養可行的餌料食物與嘗試使用不同食物餵食，以觀察水蚤餵食不同的食物，其水蚤密度的變化。嘗試餵食的食物有：溶於特定水體積的麵包酵母、酵母、布丁粉、懸浮培養的淡水蛋

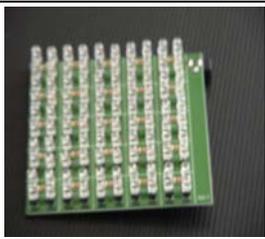
白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)、活酵母。其中淡水小球藻以花寶 2 號為營養液並給予適度的打氣與照光。食物的供給力求標準化，不使用洗米水、茶葉水、蛋黃水等。預備實驗期間每天 24 小時連續通氣以確保培養水體表層與底層水充分交換，溶氧不缺乏，溫度以加熱器 (50W) 控溫在 $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

二、研究設備

1. 實驗藥品及配方：甲基纖維液、95%酒精、甘油、花寶 2 號、啤酒酵母、淡水小球藻、酒精去氫酶活性測試套組(NAD⁺)、蛋白質定量套組 (包括標準牛血清蛋白質 BSA 及 BCA 呈色試劑)

2. 實驗器材：表 2、實驗器材一覽表

項目	品名
1	數位顯微鏡、數位解剖顯微鏡、倒立顯微鏡 (附照相攝影機)、數位攝影機
2	恆溫加熱計 (50W)、魚缸、小型打氣幫浦、綠藻懸浮培養管
3	玻片、懸滴玻片、培養皿、放大鏡、塑膠滴管、移液吸管
4	恆溫生長箱、分光光度計、測光管、吸水紙、液態氮
5	手抄網、濾紙、濾布、標籤、計時器、研钵
6	40mL、100mL 燒杯、10mL 量筒、酒精測度計
7	LED 紅光(640~740nm)、紅色玻璃紙 (630~750nm)、綠色玻璃紙、藍色玻璃紙 (450~520nm)、保鮮膜、鋁箔紙
8	照度計、紫外線燈 (200~400nm)、冷白螢光燈管 (40W)
9	樣品瓶、不鏽鋼鐵盤、小型磅秤
10	離心機、微量吸管、個體計數玻片
11	臨界點乾燥機、離子覆膜機、掃描式電子顯微鏡、光電比色計

			
<p>圖 7、綠藻懸浮培養管</p>	<p>圖 8、個體計數玻片</p>	<p>圖 9、LED 紅光</p>	<p>圖 10、啤酒酵母</p>
			
<p>圖 11、分光光度計</p>	<p>圖 12、酒精測度計</p>	<p>圖 13、光電比色計</p>	<p>圖 14、數位顯微鏡</p>
			
<p>圖 15、離心機</p>	<p>圖 16、離子覆膜機</p>	<p>圖 17、照度計</p>	<p>圖 18、恆溫生長箱</p>

伍、研究方法 (Experimental demonstration)

(一) 第一階段觀察實驗：

實驗一、水蚤外部型態與微細構造之觀察。

(二) 第二階段生理實驗：

實驗二、不同光質對水蚤之生長數量的影響。

實驗三、水蚤於不同酒精濃度環境之耐受力觀察與記錄。

實驗三、水蚤置於含 0, % 2% 及 4% 酒精環境中 3.5 小時後其酒精去氫酶活性測定。

實驗一、水蚤外部型態之觀察實驗

以數位顯微鏡、掃描式電子顯微鏡觀察並照相記錄多刺裸腹蚤的型態特徵，累積有關多刺裸腹蚤的型態資料。

一、數位顯微鏡步驟：

步驟：1. 利用微量吸管吸取水蚤放於凹槽玻片中。

2. 注入蒸餾水加甘油，使活動力下降；先以光學顯微鏡觀察外部型態，再利用數位生物顯微鏡觀察並照相紀錄。

3. 整理分析並呈現其結果。

二、掃描式電子顯微鏡步驟：

1. 前固定：戊二醛 (Glutaraldehyde, GA) 2.5%, pH7, 取 2.5ml GA 以 0.1M Na-phosphate buffer 定量至 25ml。

2. 水洗：0.1M 磷酸緩衝溶液加蔗糖水洗 10min, 3 次，置於 4 °C 冰筒內，隔 5 分鐘搖晃一次。

3. 脫水：(置於冰塊中) 分別以 50%、60%、70%、80%、90%、95% Ethanol (酒精) 10min×3→100% Ethanol 15min×3→100% Acetone (丙酮) 15min×3。

4. 臨界點乾燥：以二氧化碳作為轉換液

5. 鍍膜：先使用離子覆膜機 (coating) 真空抽到 0.02mbar。coating 完畢，使真空解除，

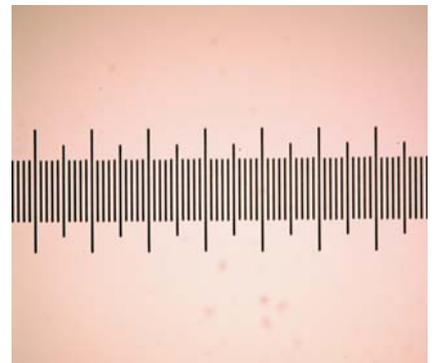


圖 19、數位顯微鏡下之比例尺



圖 20、進行掃描式電顯前需以金箔電鍍

取出樣品照相。

實驗二、比較不同光質對於水蚤生長數量影響之實驗

原理：水蚤本身即具有趨光的特性，所以我們的實驗利用不同光質來探討對水蚤的影響。

在 $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 下，設計 6 種不同光質處理分別是冷白螢光燈、紅光、綠光、藍光、LED 紅光、紫外線燈；對照組為黑暗，各取 3 重複。

步驟：

1. 取 10 隻未孕雌體水蚤，分別放入 100mL 的燒杯，加水至 50mL。
2. 分別以紅、綠、藍玻璃紙包住燒杯（如圖 21）。
3. 冷白螢光燈、LED 紅光（640~740nm）、紫外線燈(280~380nm)則以保鮮膜包住燒杯（如圖 22、23）。
4. 黑暗以鋁箔紙包住燒杯，放入恆溫生長箱，觀察並記錄對水蚤的影響。



圖 21、水蚤紅光、綠光、藍光日光照光實驗中



圖 22、紅色玻璃紙包覆使紅光穿出



圖 23、水蚤紫外光照光實驗中



圖 24、水蚤 LED 紅光照光實驗中

實驗三、水蚤於不同濃度酒精環境耐受力之觀察與記錄

原理與動機：

一般我們會利用酒精來固定要觀察的生物，然而高濃度的酒精會造成生物體的死亡，影響進一步的觀察。在一次實驗中，很偶然地觀察到低濃度的酒精似乎可以先使水蚤昏迷，但經過一段時間後又會回復其活動力，覺得非常好奇。因此，我們設計初步實驗（如表 3）進行實驗後，發現水蚤在 8% 以上之酒精環境中會死亡；在 2% 酒精以下之環境中則沒有明顯昏迷現象；在 4% 酒精環境中則有先昏迷再甦醒之現象。

（一）預備實驗步驟：

1. 使用濾紙過濾水蚤培養液，製備水蚤過濾液 200 mL。
2. 調配 40% 酒精：取 95% 酒精 42.1 mL 再加入水蚤過濾液至 100 mL。
3. 分別取含 5 隻水蚤之水蚤培養液 2 mL，依表 3 之比率，依序加入水蚤過濾液，配製各 10 mL 之試驗體積。利用計時器每隔 5 分鐘觀察其活動情形並紀錄，歷時約 3.5 小時。
4. 結果發現水蚤在 8% 以上酒精環境中會死亡；在 2% 酒精以下之環境中僅觀察到活動力稍為緩和但一直沒有明顯昏迷現象；在 4% 酒精環境中則有昏迷後再逐漸甦醒之現象。



（二）倒立顯微鏡觀察記錄步驟：

1. 依前述相同之步驟製備水蚤過濾液 200 mL 及調配 40% 酒精溶液 100 mL。

圖 25、以倒立顯攝影機及照相機全程觀察及拍攝水蚤於 4% 酒精中昏迷再甦醒之過程。

2. 取 14 mL 水蚤過濾液於 50 mL 燒杯中，加入 2 mL 約含 60 隻水蚤培養液，最後加入 40% 酒精溶液 4 mL，配製含酒精 4% 之試驗體積 20 mL。



（三）肉眼觀察及數位攝影機全程觀察記錄步驟：

1. 依前述相同之步驟製備水蚤過濾液 200 mL 及調配 40% 酒精溶液 100 mL。

圖 26、以數位攝影機全程拍攝水蚤於 4% 酒精中昏迷再甦醒之過程。

2. 取 14 mL 水蚤過濾液於玻璃培養皿中，加入 2 mL 約含 60 隻水蚤培養液，最後加入 40% 酒精溶液 4 mL，配製含酒精 4% 之試驗體積 20 mL。

3.將玻璃培養皿置於數位攝影鏡頭下（如圖 25）全程攝影觀察記錄，歷時約 3.5 小時。

表 3、不同濃度酒精配置一覽表

酒精濃度 (%)	水蚤 (隻/體積)	水蚤過濾液 (mL)	40% 酒精 (mL)
16.0	10/2 mL	4.0	4.0
8.0	10/2 mL	6.0	2.0
4.0	10/2 mL	7.0	1.0
2.0	10/2mL	7.5	0.5
0.0	10/2mL	8.0	0.0

實驗四、水蚤體內酒精去氫酶活性之測定

原理：酒精去氫酶(alcohol dehydrogenase, 簡稱 ADH)主要催化酒精分子轉換為乙醛之化學反應，亦是生物細胞代謝利用酒精之主要生物化學反應。此反應為氧化反應，必須搭配另一還原反應

步驟：

1. 依前述之步驟取大量水蚤及水蚤過濾液，以 250 mL 之燒杯配製 100 mL 含 0, 2 及 4% 酒精之試驗溶液，經 3.5 小時後，利用濾紙過濾後，收集水蚤，經逆滲透水清洗水蚤，並以吸水紙吸乾水蚤周圍的水。另外，以全部水蚤過濾液配製者（0% 酒精）作為對照組，各組進行 2 重複。利用刮片將水蚤刮入研鉢中，加入液態氮瞬間凍結及研磨再加入 1 mL 緩衝液(0.02 M, pH 7.0 sodium phosphate buffer)繼續研磨。

2. 研磨後之細粉回溫液化後，將萃取液利用吸管吸入 1.5 mL



圖 27、利用液態氮研磨

之離心管以離心機於 4°C 離心 12000 rpm 10 min，離心完後

收集上清液置於 1.5 mL 之離心管並以冰浴保存，即為粗酵素液，各取 0.1 mL 以 BCA 呈色方法定量蛋白質，另取 0.6 mL 測定 ADH 酵素活性。

3. BCA 呈色方法定量蛋白質：

- (1) 以牛血清蛋白作為標準蛋白質，經以緩衝液(0.02 M, pH 7.0)配製一系列不同濃度。
- (2) 分別取 0.1 mL 酵素萃取液 2 mL BCA 反應液 (A 液/B 液=50:1) 後，在 37 °C 水溶液中反應 30 分鐘，以光電比色計測定 562 nm 之吸光值。
- (3) 以所配製系列標準蛋白質濃度與其吸光度作圖即為標準檢量線或稱標準曲線。
- (4) 從水蚤體萃取之粗酵素液取定量 BCA 蛋白質呈色法試劑反應後，以光電比色計測定 562 nm 之吸光度。

4. 酒精去氫酶(ADH)活性之測定：

偵測 340nm 下的吸光值，以 30 分鐘內前後所增加之 340 nm 吸光值作為 ADH 之酵素活性。



圖 28、粗酵素液加入呈色劑轉變成紫色



圖 29、利用吸光值作出檢量線，比較酒精去氫酶的含量



圖 30、呈色劑

陸、研究結果

實驗一、水蚤外部形態與微細構造之觀察實驗之結果

一、水蚤的外部型態：

1. 外部構造的觀察—身體短小，左右側扁，從側面觀察略成橢圓形。可分為頭部和軀部兩部分，軀部被兩片殼瓣包被住，而頭部則是裸露於外。複眼位於頭部靠近腹側邊緣，無單眼。第一觸角長棒狀，上緣有鋸齒狀突起；第二觸角粗大強壯，第一胸肢有鋸斷狀剛毛。後腹部寬，背緣有多列細剛毛，具有羽狀肛刺 8~12 個及 1 個叉狀肛刺。尾爪基部腹側有 1~2 個刺狀剛毛。



圖 31、多刺裸腹蚤外部構造名稱

- A. 第一觸角 B. 第二觸角 C. 複眼
D. 孵育囊 E. 腸道 F. 尾爪 G. 尾剛毛 H. 後腹部 I. 胸肢

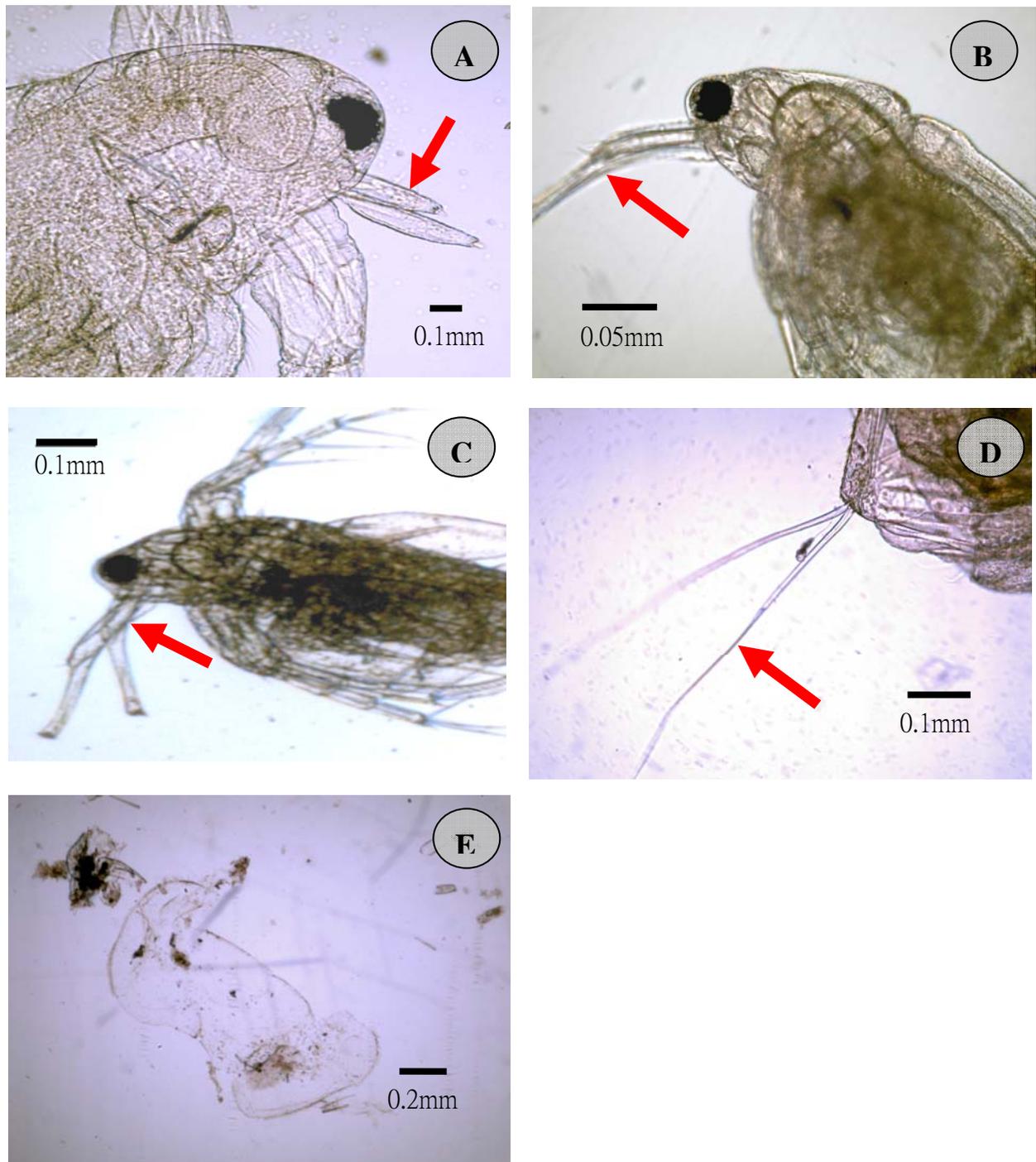


圖 32、枝角類的雌雄區別十分明顯，除個體大小不同外，雌性較大，雄性較小。還表現在第一觸角和第一軀幹的形態上，雌性個體有育兒囊，雄性沒有。第一觸角長度是辨別水蚤雌雄的重要特徵。

A. 雌性水蚤的第一觸角，共 1 節（箭頭處）；B. 雄水蚤的第一觸角，共 2 節（箭頭處）；C. 雄水蚤的第一觸角，共 2 節（箭頭處）；D. 尾剛毛（箭頭處）；E. 水蚤蛻下之殼瓣。

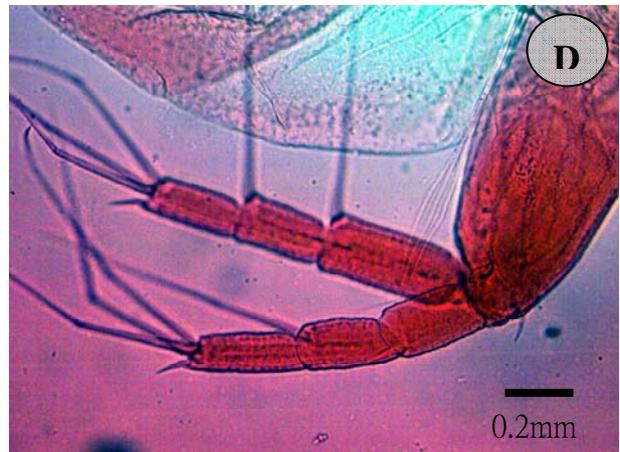
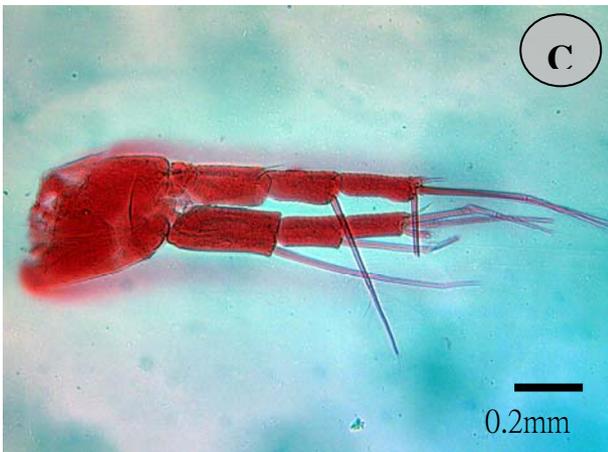
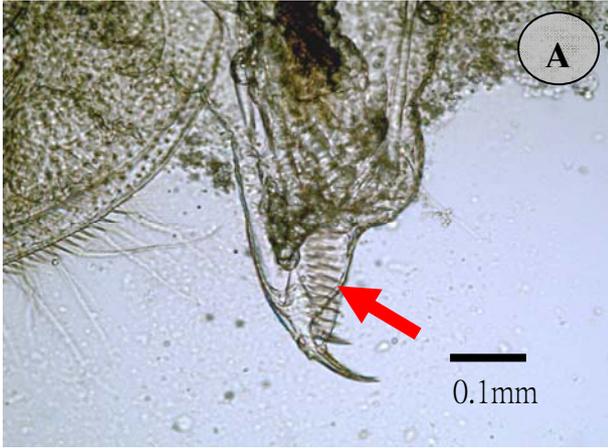


圖 33、多刺裸腹蚤後腹部的羽狀肛刺 8~12 個，是鑑定特徵之一。

- A.後腹部 8~12 個羽狀肛刺（箭頭處）；B. 後腹部 8~12 個羽狀肛刺（箭頭處）；
 C.第二觸角，共三節；D.第二觸角，共三節。

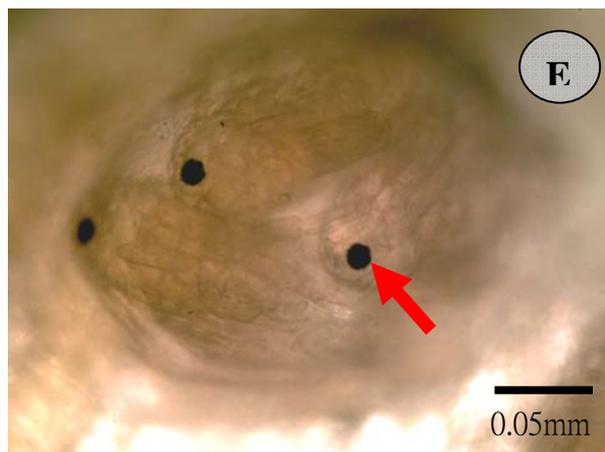
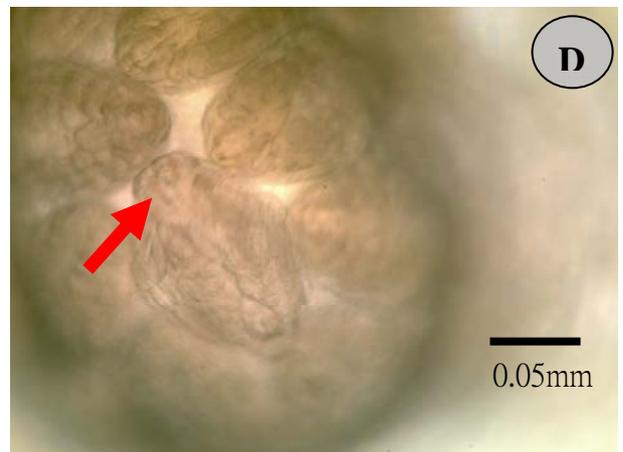
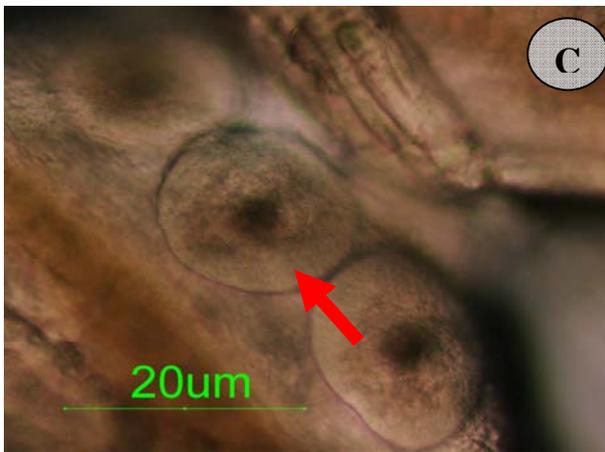
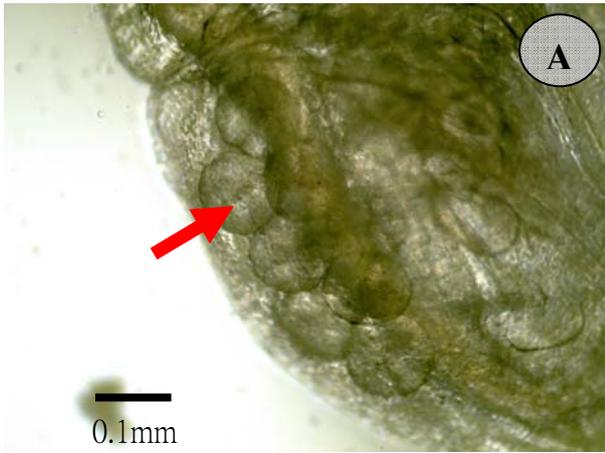


圖 34、多刺裸腹蚤孤雌生殖的現象是屬於無性生殖，稱為單性卵。

A. 孵育囊中有單性卵的雌蚤（箭頭處）；B. 雌蚤背有發育中的單性卵（箭頭處）；C. 雌蚤背有發育中的單性卵（箭頭處）；D. 單性卵孵化出的水蚤幼蟲（箭頭處）；E. 水蚤幼蟲的複眼長出（箭頭處）。

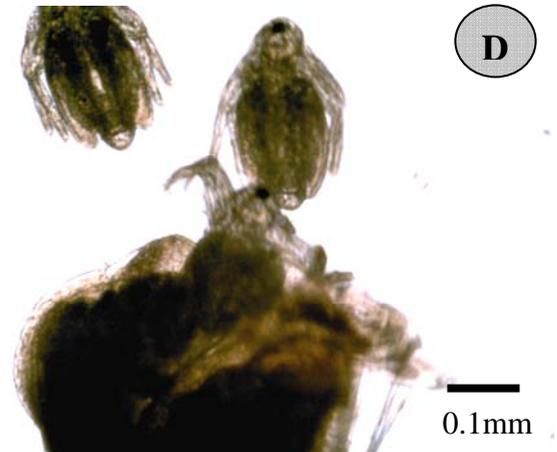
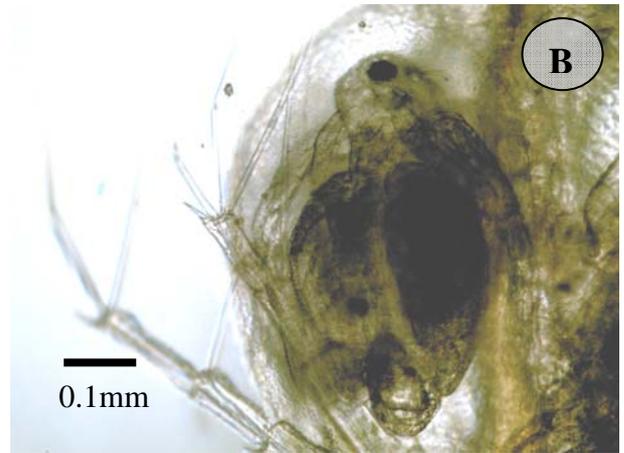
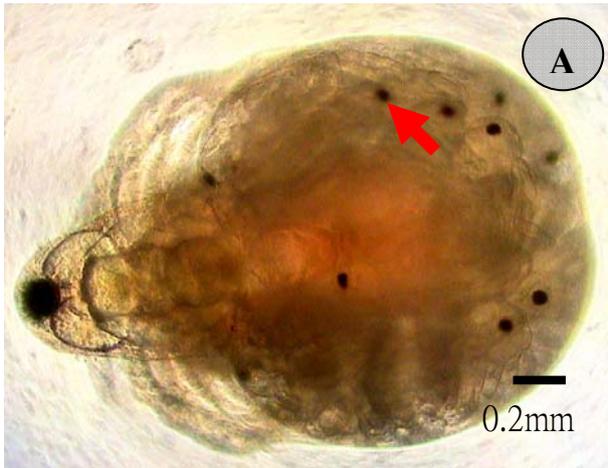


圖 35、A. 雌蚤孵育囊中有數隻待出生的水蚤幼蟲，每個黑點都是幼蟲的複眼(箭頭處)；B. 雌蚤孵育囊中待出生的水蚤幼蟲；C. 雌蚤背有單性卵，可觀察到卵塞(箭頭處)；D. 多刺裸腹蚤的幼蟲由卵塞產出；E. 剛出生的 1 齡幼蟲；F. 剛出生的 2 齡幼蟲。

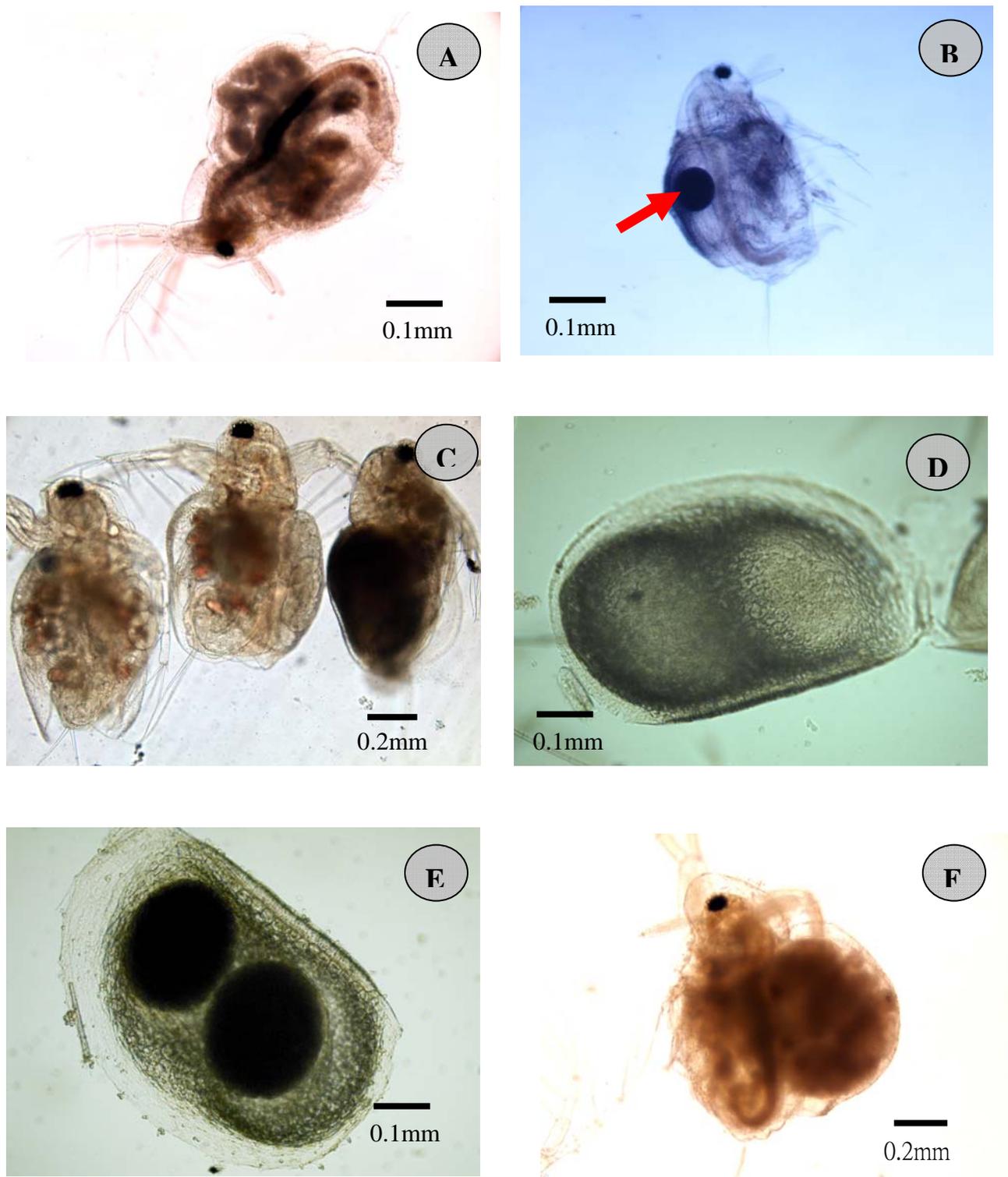
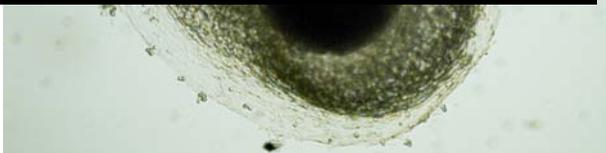
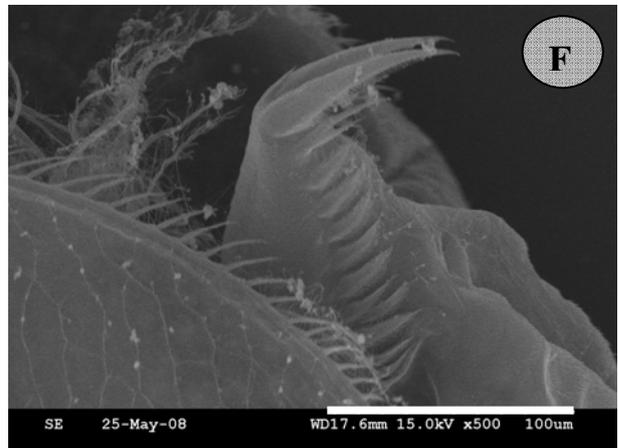
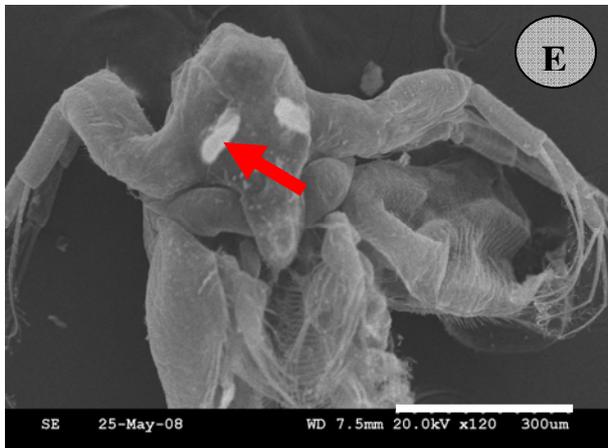
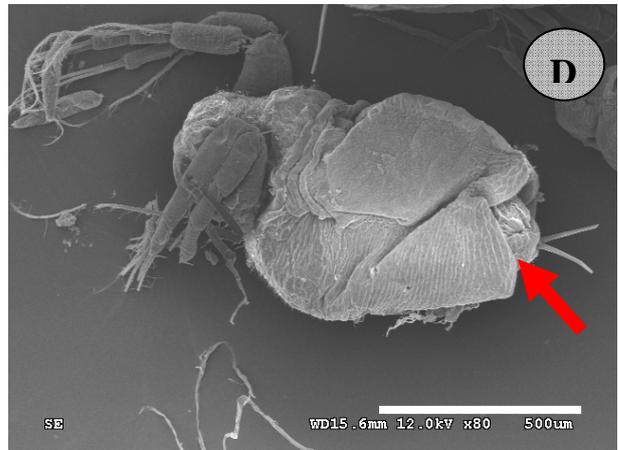
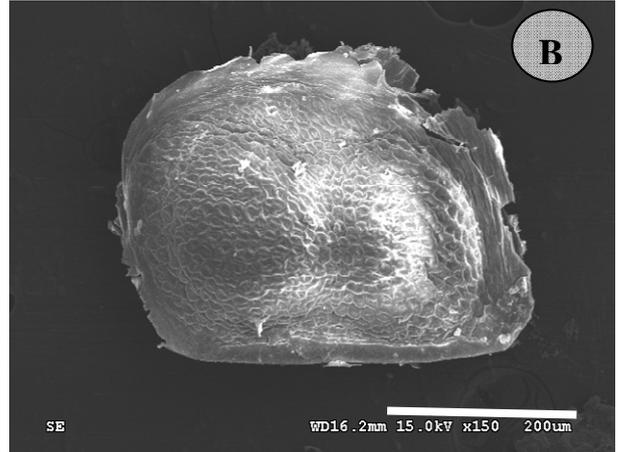


圖 36、A.第二次蛻皮(三齡)抱卵的成蟲；B.多刺裸腹蚤的背部背著耐久卵(箭頭處)；C.由左至右分別為抱單性卵之水蚤、無抱卵之水蚤、抱耐久卵之水蚤；D.紫外線實驗下的空的卵鞘；E.耐久卵的卵鞘中有2個耐久卵；F.出現抱卵的成蟲。



); B. SEM, 耐久卵 (bar = 200 μm); C. SEM, 蟬較短, 後腹部裸露 (bar = 500 μm); E. SEM, 雌蚤的第一對觸角 (bar = 300 μm); F. SEM, 水蚤的後腹部與尾爪 (bar = 100 μm)。

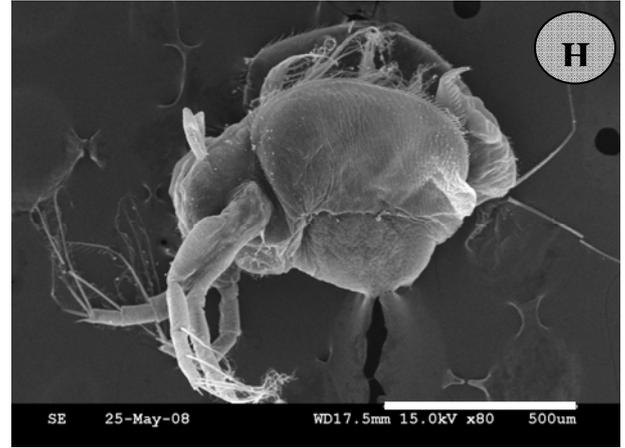
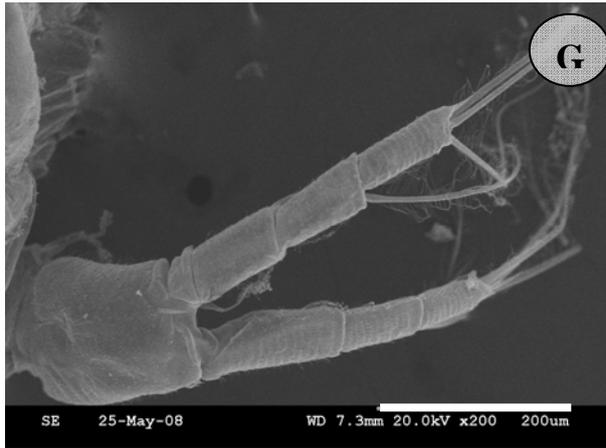


圖 38、G. SEM, 水蚤的第二觸角 (bar=200 μm); H. SEM, 雌體全照 (bar=500 μm)。

實驗二、比較不同光質對於水蚤生長數量實驗之結果

表 4、不同光質對於水蚤生長數量之影響 (單位：隻)

天數 光質(代號)	Day1	Day3	Day6	Day9	Day12	Day15	Day18	Day21
LED 紅光(LR)	10	10	19	19	19	19	30	30
紅光(R)	10	10	18	18	18	27	27	27
藍光(B)	10	10	15	15	15	11	11	11
綠光(G)	10	10	3	3	3	1	3	8
日光(L)	10	10	16	16	16	16	23	23
紫外光 (UV)	10	0	0	0	0	0	0	0
黑暗對照 (D)	10	10	16	16	16	29	29	29

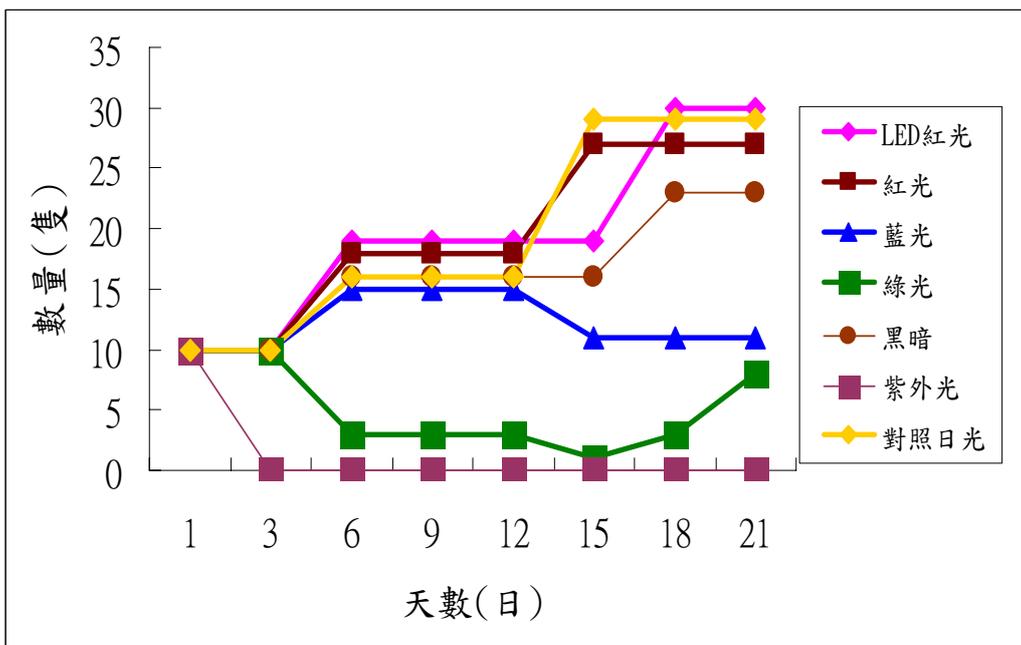


圖 39、不同光質對水蚤繁殖之影響

實驗三、水蚤分別置於含 0、2% 及 4% 酒精之環境中相對活動力之觀察結果與記錄

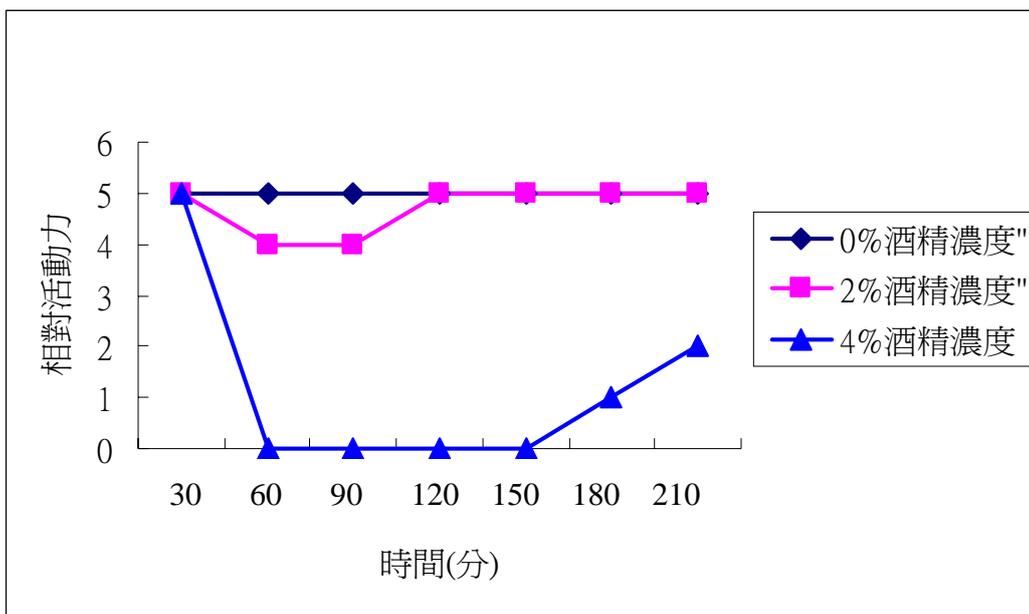


圖 40、水蚤於不同酒精濃度環境中之相對活動力變化

說明：其相對活動力量：5 分代表非常快速活動；3 分代表能自由移動；1 分代表稍顫抖；

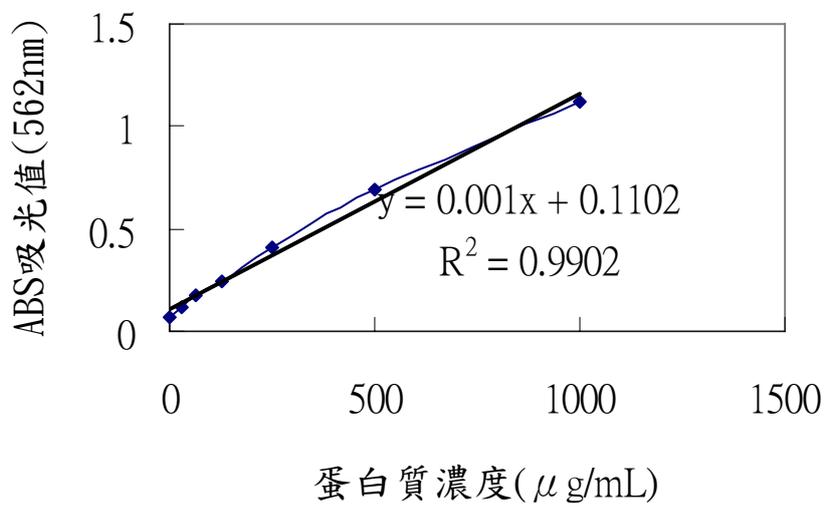
0 分則表示完全不動。水蚤在 2% 酒精以下之環境中沒有明顯的昏迷現象，而在 4% 酒精之環境中則有昏迷再甦醒之現象。

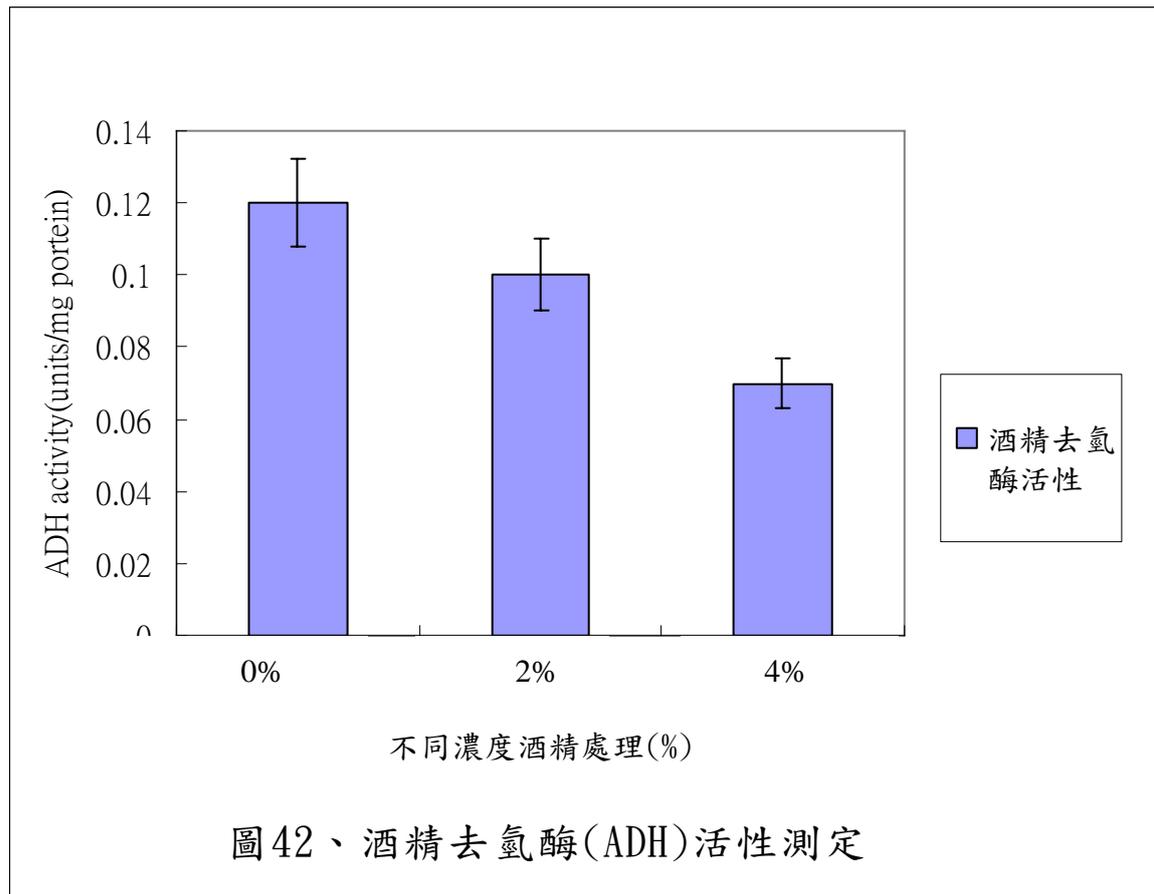
實驗四、酒精去氫酶活性測定生理反應實驗之結果

表 5、牛血清蛋白濃度之檢量表

蛋白質濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	1000	500	250	125	62.5	31.25	0
ABS 吸光值 (562 nm)							
1.119	R						
0.687		R					
0.412			R				
0.248				R			
0.18					R		
0.117						R	
0.068							R

圖41、牛血清蛋白(BSA)濃度之吸光值檢量線





說明：水蚤分別置於0、2%及4%之酒精濃度環境中3.5小時，僅置於4%之水蚤先昏迷再逐漸慢慢甦醒之現象。三者比較其酒精去氫酶活性之差異，水蚤於含4%酒精之環境中先昏迷再慢慢甦醒後，其酒精去氫酶活性很顯然比0及2%者之酒精去氫酶活性低，表示水蚤為了調適4%之酒精環境，可能以降低其酒精去氫酶活性來避免酒精持續不斷從外滲入之酒精所造成的毒害。

柒、討論 (Discussion)

- 一、根據實驗一、水蚤外部型態與微細構造之觀察實驗之結果：其尾爪與腹剛毛之間的後腹部有 8~12 個羽狀肛刺，其殼瓣較短，使後腹部裸露，為其命名之緣由。可配合「剛果紅染色與甘油固定」水蚤觀察效果較佳。
- 二、根據實驗二、不同光質對於水蚤生長數量之影響結果：可知 LED 紅光與紅光的影響差異不顯著；藍光與綠光會干擾生長；日光的生長數量介於紅光與藍綠光間，推測日光中有紅光的補償作用。而紫外光生長數量明顯受到能量太高的物理傷害而死亡，在紫外光中與黑暗對照中，都有發現耐久卵，且紫外線處理下有發現空的卵鞘。
- 三、將水蚤置於含 4% 酒精之環境中，在大約 2.5 小時後，水蚤會逐漸回復活動力，顯然水蚤已調適其內在生理生化能力，而提高其酒精耐受性。實驗後，我們用酒精測度計來測量此時酒精的濃度，發現酒精濃度並沒有明顯下降。
- 四、我們原本假設水蚤在 2% 及 4% 酒精中所產生之酒精去氫酶活性會比以不含酒精處理之對照組水蚤所產生之酵素活性高，但是實際上卻與我們原先所假設的相反 (圖 41)，水蚤於含 2 及 4% 酒精之環境中，其酒精去氫酶活性很顯然比對照組之活性低，尤其以在 4% 酒精環境之水蚤經昏迷再慢慢甦醒後之活性最低。推測水蚤為了調適 4% 之酒精環境，可能以降低其酒精去氫酶活性來避免酒精持續不斷從外滲入之酒精所造成的毒害，因為若代謝乙醇產生太多的乙醛，可能會導致水蚤更強的毒害，因此水蚤會關閉或降低酒精去氫酶活性，以避免自己被乙醛毒害。由於水蚤可能還有其他許多未知的配套機制以提高其酒精耐受性，值得進一步探討。

捌、結論 (Results)

- 一、本次研究的對象為節肢動物門甲殼綱鱧足亞綱枝角目裸腹蚤科裸腹蚤屬之多刺裸腹蚤，其第一觸角雌蚤共 1 節；雄蚤共 2 節，第二觸角雌雄體皆 3 節，頭與軀部分隔明顯，前胸與腹部分隔不明顯，尾剛毛 2 根，其尾爪與腹剛毛之間的後腹部有 8-12 個羽狀肛刺，其殼瓣較短，使後腹部裸露，為多刺裸腹蚤之重要辨認特徵。
- 二、多刺裸腹蚤的生命週期有卵期、幼齡期、成熟期及成齡期，水蚤行孤雌生殖及兩性生殖，三齡幼蟲即可行孤雌生殖。雌蚤行孤雌生殖時，會蠕動其腹部，自腹突產出水蚤並蛻殼；而雌蚤行兩性生殖時，蛻殼並脫離耐久卵。幼蟲歷經兩次蛻皮成為成體，生活史約可以有 7 齡。
- 三、仔細觀察第一觸角、第二觸角、育兒囊在雌雄之差異，就可確定雌雄。水蚤在三齡之後即發現有抱卵的現象。水蚤所抱未孵化之單性卵大小約有 $20\mu\text{m}$ 。
- 四、不論是紅光或 LED 紅光、對水蚤的數量生長都有幫助。然而黑暗與日光的效果其次，以在藍光與綠光中數量生長效果最不明顯。紫外光與黑暗對產生耐久卵有影響，紫外光的能量不易控制，水蚤容易死亡與產生空的卵鞘。
- 五、水蚤在含 4% 酒精之環境中會先陷入昏迷狀態，但經過一段時間之後會逐漸回復其活動力。
- 六、水蚤於含 0、2% 及 4% 酒精之環境中，其酒精去氫酶比活性隨酒精濃度之提高而明顯降低，由此推測，是因代謝酒精而將酒精去氫酶用去。

玖、參考文獻 (Reference)

1. 向高世(1996)。由粒線體核酸序列分析臺灣產攀蜥屬蜥蜴之親緣關係及生物地理。國立中山大學生命科學研究所碩士論文。3 頁。
2. 涂元賢 (2002)。台灣淡水產枝角類之分類研究。國立新竹師範學院數理研究所碩士論文。40-45 頁。
3. 堵南山 (1993)。甲殼動物學。北京：科學出版社。112、121-122 頁。
4. 梁光裕等(1995)。高中生物科實驗教學手冊生物活體培養技術。台灣省教育廳。159—177 頁。
5. 陳明耀 (1997)。生物餌料培養。基隆市：水產出版社。233-257 頁。
6. 劉培槐 (1990)。水蚤培養及實驗應注意的事項。高中生物教材活體培養技術。88~95 頁。教育部中部辦公室。
7. 韓茂森 (1992)。淡水生物學。商業出版社。115-130 頁。
8. Oda, S., *Production of male neonates in four cladoceran species exposed to a juvenile hormone analog, fenoxycarb*. Chemosphere, 2005. **60**(1): 74-78.。

【評語】 040706

由形態構造的觀察，了解生活史情節，再作光質對生長的影響及酒精環境耐受力的測定，循序漸近剖析。唯在生物毒物活性檢測方面仍有更多發展空間。
有關酒精的影響宜多加其他測試。