

中華民國第 52 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物（生命科學）科

040714

係『金』入

—綠水螅作為重金屬污染生物指標之研究

學校名稱：桃園縣私立新興高級中學

作者： 高二 陳恩霆 高二 王靖吟 高二 李心懿	指導老師： 林哲猷 陳俐蓉
---	-----------------------------

關鍵詞：綠水螅、重金屬、生物急毒性檢測

摘要

本研究以綠水螅為指標生物，研究綠水螅在鉛、銅、鋅、鎳等重金屬毒性下的生理反應。四種重金屬對綠水螅的 $LC_{50}(30min)$ 分別為：鉛(11.43ppm)、銅(0.78ppm)、鋅(4.40ppm)、鎳(6.12ppm)。各重金屬對綠水螅的致死率隨著濃度的增加而上升，此外重金屬會造成細胞毒性，使綠水螅的觸手及管狀體產生防禦性的退縮反射且活動力減弱，體壁上則有刺絲胞被誘發及皮肌細胞膨脹的現象，顯示體壁細胞已偵測到微量重金屬並產生生理變化。重金屬毒性亦干擾了水螅的再生作用，影響細胞的分裂與個體自癒能力。若混合兩種以上重金屬，會引發加乘的交叉毒性效果，綜合上述結果，可知綠水螅偵測重金屬毒物的敏感度及生理反應的差異性，提出綠水螅作為水質重金屬污染的指標生物。

壹、研究動機

在基礎生物(下)第六章及應用生物第四章的課程中，老師有提到關於重金屬污染的議題，引發我們的興趣，上網查詢資料後，發現台灣許多河川都有遭受到重金屬的污染，工廠違法排放重金屬廢水是其污染的元兇，水中過量的重金屬會造成蝦、蟹、貝類的傷亡，甚至透過生物放大效應，逐漸累積到高級消費者體內，造成生理的病變或死亡，其中也包含人類自己。

台灣曾發生過幾個著名的河川污染實例。民國 73 年發生於桃園縣蘆竹鄉的鎘米事件；民國 75 年，在台南二仁溪流域發生的綠牡蠣事件(王正雄，1993)。上述污染事件爆發後，人們對重金屬危害人體健康的議題更加關注，但是要如何檢測重金屬，為環境品質做把關，是一項相當重要的問題，因此開發簡便、快速的檢測重金屬方法就顯得特別重要。

目前河川的水質檢測方法以化學檢測法為主，指標生物檢測為輔，根據環保署之河川水質污染等級分類方式，把河川污染分成四等級：(一)未受(或稍受)污染。(二)輕度污染。(三)中度污染。(四)嚴重污染(環保署，民 101)。化學檢驗法有其盲點，因河川的水是流動的，所以必須有相當多的樣品數才有其精準度，檢測過程須搭配昂貴的儀器及藥品，和訓練有素的專業檢測人員，檢測費用昂貴且費時。而除了化學方法外，目前尚有採指標生物的生物檢測方法，例如：脊椎動物的羅漢魚、粗首鱺、鯉魚等淨水式法；以及水蚤、米蝦、藻類等淨水法(趙大衛，2000)。

除了上述指標生物外，我們思考是否能開發更便捷、快速的方法來檢測水中重金屬的污染？我們選擇與珊瑚同為刺絲胞動物門的綠水螅(*Hydra viridis*)作為水質重金屬污染的生物指標，綠水螅的優點有：(一)體積小但肉眼可見。(二)易於培養及大量繁殖。(三)成本極低，不需耗費鉅資即可進行水質檢測。(四)綠水螅的構造簡單、生理活動明顯，對水中的環境因子變化，感測快速。因此，我們選擇綠水螅做為這次科展研究的主角，用以探討河川中常見的重金屬污染物對綠水螅的毒性影響，設計實驗來探討綠水螅在重金屬溶液中的生理情況，最後實地以綠水螅進行桃園縣境內南崁溪、新街溪和老街溪等流域的水質檢測。

貳、研究目的

- 一、觀察綠水螅的外觀、顯微構造及生理反射
- 二、探討一般飼養條件下綠水螅的生理、生長及繁殖情況
- 三、探討在重金屬處理下，綠水螅的生長狀況及生理變化
 - (一)重金屬對綠水螅的生物急毒性檢測和 LC_{50} 的計算
 - (二)重金屬對綠水螅體壁刺絲胞及共生藻的影響
 - (三)重金屬對綠水螅擴散退縮反射的影響
 - (四)重金屬對綠水螅電擊退縮反射的影響
 - (五)重金屬對綠水螅捕食能力的影響
 - (六)重金屬對綠水螅再生能力的影響
 - (七)重金屬混合毒性對綠水螅生存的影響
- 四、提出綠水螅作為偵測水質重金屬污染的指標生物
- 五、應用綠水螅進行桃園縣南崁溪、新街溪和老街河流域的水質污染檢測

參、研究設備及材料

一、研究設備

1.解剖顯微鏡	7.照明裝置	13.燒杯	19.絹網過濾裝置	25.解剖探針
2.複式顯微鏡	8.空氣幫浦	14.量筒	20.粗鹽	26.硝酸鉛粉末
3.數位電子目鏡	9.尖頭試管	15.培養皿	21.懸滴玻片組	27.硫酸銅粉末
4.影像分析軟體	10.試管架	16.碼表	22.廢液儲存桶	28.硫酸鋅粉末
5.微量電子天秤	11.微量吸量管	17.培養瓶	23.塑膠滴管	29.氯化鎳粉末
6.恆溫箱	12.微電擊裝置	18.電子加溫器	24.溫度計	30.蒸餾水

二、研究材料

(一)綠水螅

綠水螅(*Hydra viridis*)為多細胞無脊椎動物，分類上屬於腔腸動物門(Cnidaria)、水螅蟲綱(Hydrozoa)、水螅蟲目(Hydroida)、水螅屬(Hydra)。水螅為異營性生物，一般常見於海水中，以水蚤等微生物為食，只有少部分的種類可發現於淡水。綠水螅即是以淡水為生活環境，一般常見於流動緩慢或靜止的水體，如溪流和湖泊，綠水螅會以根部的吸盤附著在植物和石頭上。從顯微鏡的觀察中，可發現綠水螅呈現綠色，此為水螅與小球藻(*Chlorella sp.*)共生的現象。水螅的體壁可分成內外兩層細胞，兩層之間為中膠層，中膠層可支持並維持水螅的形狀。外層細胞則特化為口器附近的觸手、觸手上的刺囊、管狀體和底部吸盤等構造。內層細胞則分化為腺細胞及鞭毛細胞，腺細胞可分泌消化液至腸腔進行食物的消化。繁殖上，水螅通常營出芽繁殖；環境不良時體面上可生出乳頭狀突起，是卵巢和精巢，可藉此進行有性繁殖(邱偉倫，民 98 年)。

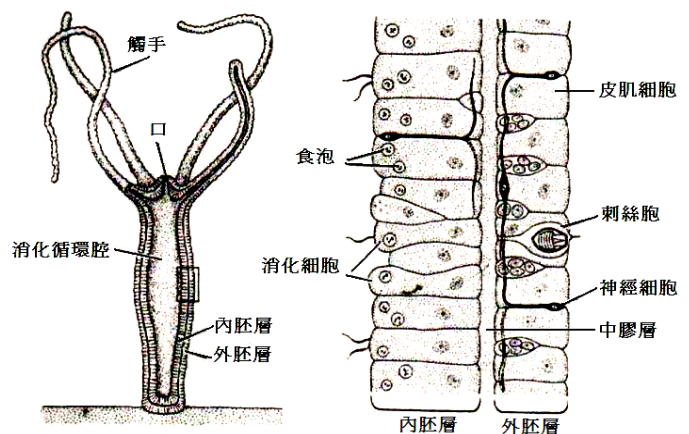
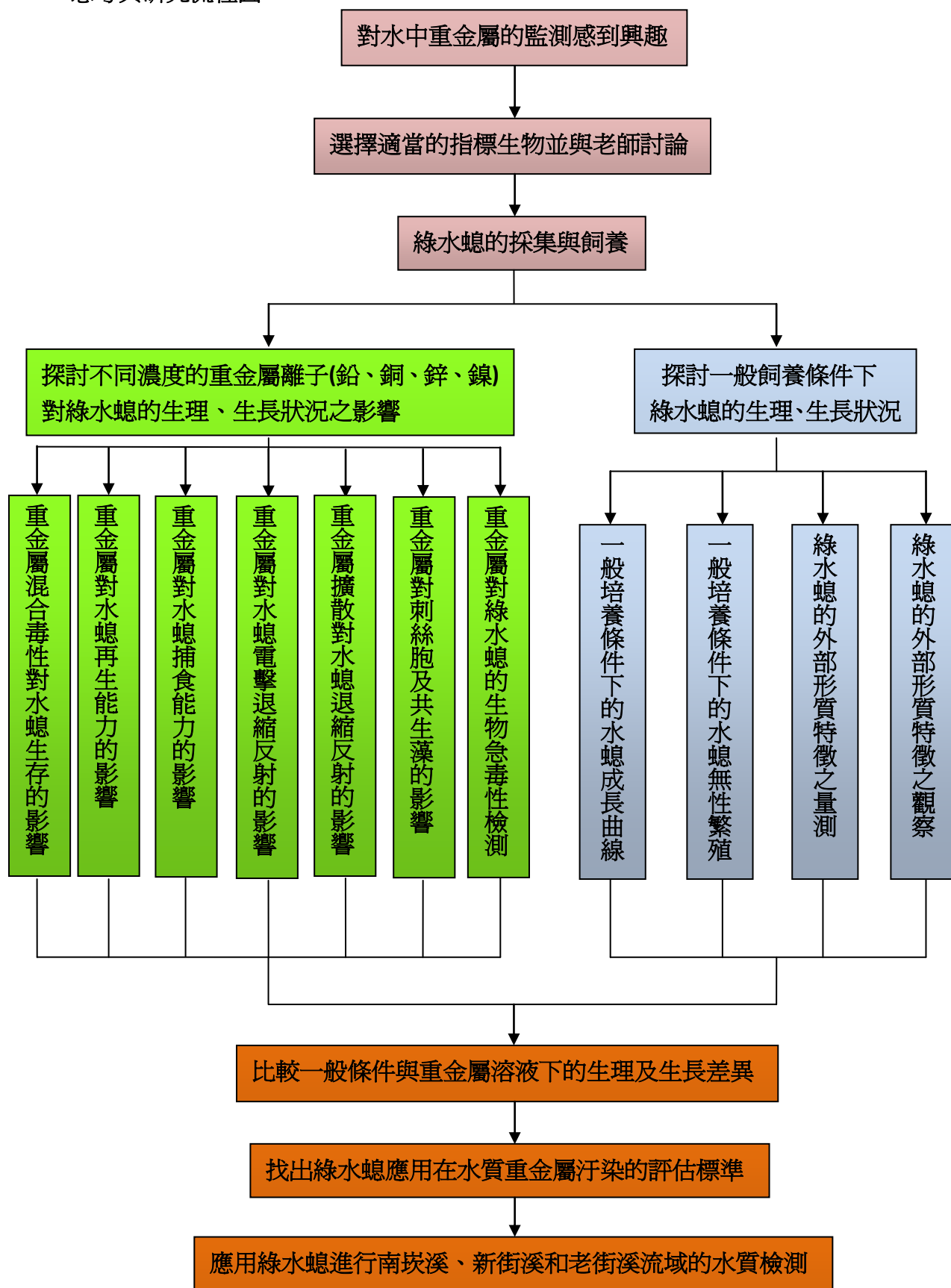


圖 1、水螅體構造示意圖
(圖片修改自「權柏利的水螅蟲」)

肆、研究過程及方法

一、思考與研究流程圖



二、綠水螅的採集與培養

(一)綠水螅的採集

本實驗所使用的綠水螅樣本，採集自台北北投山區田邊的小山澗(如圖 1A)，最初是老師爲了採集野外的水蘊草，作爲授課的教材。取回的水蘊草，靜置於水族箱內，無意中竟發現到水蘊草葉片上附著了許多課本上常提到的水螅，興奮驚訝之餘，在老師的協助下，我們將水螅取出並繁殖，經與老師討論，決定以綠水螅做爲此次科展的題材。



圖 1A、採集到綠水螅的小山澗

(二)綠水螅的培養

1.培養方法：將採集到的水螅置於含山泉水的玻璃瓶中，於室溫下，採靜水式培養，搭配每天 12hr 的植物燈照射。每周餵食一次豐年蝦無節幼蟲，餵食完畢後 3hr，置換乾淨山泉水，將殘存的豐年蝦洗除，以維持培養瓶的水質。

2.豐年蝦的孵化：在綠水螅的繁殖上，我們以餵食仔魚常用的豐年蝦無節幼蟲，作爲水螅的食物。孵化豐年蝦休眠卵的方法爲：取一寶特瓶，以粗鹽調配蒸餾水至鹽度爲 15‰的粗鹽溶液，隨後秤取加入 0.1g 的豐年蝦休眠卵，再用電子加溫棒控溫在 27°C 並以空氣幫浦大量供氧，使溶液充分擾動，以利休眠卵的孵化。靜待 48hr 後，即可達到 80% 以上的孵化率。孵出的豐年蝦，倒入我們自製的絹網過濾杯中，將鹽水過濾，並用蒸餾水沖洗兩三回，再以滴管吸取濃縮豐年蝦至量筒內，加入蒸餾水，靜待 5min 後，殘留的空殼會漂浮在上，豐年蝦則沉於量筒底部，將上層液倒除後，即可得到豐年蝦餵食液。洪昆源(民 100)。



圖 1B、孵化的豐年蝦無節幼蟲

三、綠水螅外部形質的觀察與量測

(一)外部形質的觀察---數位電子目鏡(Dino-Lite)的使用

利用滴管小心地吸取水螅，放入培養皿中，並置於解剖(或複式)顯微鏡下，觀察水螅的外部構造(觸手、口器、管狀體、附著盤)及細微構造(體壁刺絲胞和共生藻)，並以探針輕觸水螅觸手或管狀體，觀察其退縮反射及活動力。結果皆以數位電子目鏡同步記錄並存成圖片或影像檔(如圖 2)。

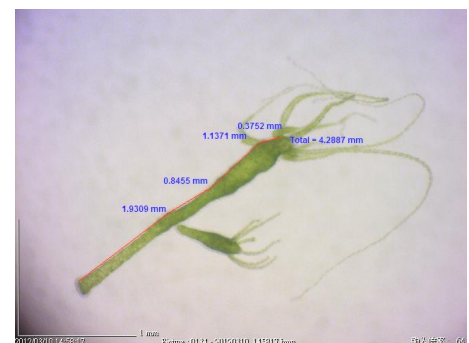


圖 2、Dino Capture 影像分析軟體

(二)外部形質的量測---影像分析軟體(Dino Capture)的使用

將上述拍照取得的水螅圖片，利用 Dino Capture 軟體分析，先以標準量尺校正拍攝倍率後，將電子目鏡放大倍率固定在 64X 及 256X。將此倍率輸入後，即可直接透過分析軟體量測水螅相關的外部形質：觸手長、管狀體長(如圖 2)。

四、綠水螅的無性生殖與標準成長曲線

自培養瓶中挑選出具有 7 根觸手且管狀體長介於 5mm-6mm 的未出芽水螅共 30 隻，置於直徑 3cm 的透明培養皿中(5 隻水螅/個)，於 25°C 恆溫下培養，隨後以豐年蝦餵食，連續追蹤觀察：捕食過程、捕食後 30min、12hr、24hr、36hr、48hr、72hr、96hr 的水螅

變化。待芽體產生並脫落後，持續量測 F1 子代：脫離時 0min、24hr、48hr、72hr、96hr、120hr、144hr 的水螅觸手長及管狀體長的變化，最後繪製出 F1 子代的標準成長曲線。

五、不同濃度的重金屬離子(鉛、銅、鋅、鎳)對水螅的生理、生長狀況之影響

(一)重金屬對綠水螅的生物急毒性實驗和 LC₅₀ 的計算

1.不同濃度的重金屬溶液之配製：

分別調配出硝酸鉛、硫酸銅、硫酸鋅、氯化鎳溶液，濃度為 1000ppm、500ppm、100ppm、75ppm、50ppm、25ppm、10ppm、5ppm、1ppm、0.5ppm、0.1ppm。方法為：利用微量天秤(精準至 0.001g)秤取 0.1g 的重金屬粉末，利用容量瓶並加入蒸餾水，配製成 1000ppm 的重金屬溶液。再以此溶液進行等比例的稀釋，產生各種濃度的稀釋溶液。



圖 3、各種濃度的重金屬溶液

2.生物急毒性檢測：

取同一批，經標準飼養程序且達 F1 成長曲線 120hr 的同質性水螅個體，分別測試在不同種類、濃度的重金屬作用下，對水螅的生存影響與毒性。每組溶液，以 15 隻水螅進行毒性測試，並連續追蹤記錄：0min、30min、24hr、48hr 的個體變化、退縮反射、活動力及存活率(存活總數/測試總數)。

3. LC₅₀ 的計算：

計算重金屬在特定時間內，對水螅的 LC₅₀(半數致死濃度 mg/L，ppm)，方法為：利用 SPSS 軟體，輸入某重金屬，在同一時間、不同濃度處理時的存活率，再用迴歸方法求出該時間的存活率 50%之半數致死濃度 LC₅₀。分別求出四種重金屬在 30min、24hr 和 48hr 的 LC₅₀。

(二)重金屬對綠水螅體壁刺絲胞及共生藻的急毒性實驗

綠水螅的體壁及觸手含有特殊的刺絲胞，可作為捕食或防禦的利器；體內的共生藻則可做為水螅的食物或行光合作用供給養分。當水螅面臨重金屬的威脅時，其體表的刺絲胞及體內的共生藻是否產生影響？我們研究方法為：各取 10 隻達生長階段 120hr 的 F1 個體，測試綠水螅在三種不同濃度：1ppm、10ppm、100ppm 的重金屬下的立即毒性反應。以電子目鏡記錄加入重金屬溶液前後的體表刺絲胞及共生藻的變化。

(三)重金屬毒性擴散實驗

水螅個體在面臨敵害或環境壓力刺激時，常有觸手及管狀體縮短的退縮反射，同樣的生理反應亦常見於海葵或珊瑚等刺絲胞動物。此實驗欲探討當水螅面臨不同濃度的重金屬刺激時，水螅體能否偵測到環境重金屬毒物的存在，並且引發防禦性的退縮反射？方法為：取數個尖頭試管，以滴管將水螅置入於試管底部，並加入 4.5ml 的蒸餾水，靜置後，水螅個體可正常的伸長活動(如圖 4)。



圖 4、毒性擴散退縮反射實驗

隨後以微量吸量管吸取 0.5ml 不同濃度的重金屬溶液(10ppm、100ppm、1000ppm)，由試管頂端小心加入重金屬液，使濃度稀釋為 1ppm、10ppm、100ppm，加入重金

屬液的同时，以碼表計時，計算在該濃度下，水螅偵測水質變化而引發退縮反射所需的時間，每隻水螅只測試一次，每種濃度則重複 10 隻水螅，並做統計分析。

(四)微電擊測試退縮反射實驗

水螅構造簡單，體壁僅由兩層細胞構成，但已經擁有神經細胞並構成散漫神經網絡。重金屬毒物是否對水螅的神經細胞構成傷害進而影響其管狀體的退縮反射活動？研究方法為：各取 10 隻水螅，先浸泡於濃度(0.1ppm、1ppm、10ppm)的重金屬溶液中 30min，隨後利用 3 伏特的直流電裝置(如圖 5)，將電極置入溶液，接近水螅管狀體 1/2 處，開啓電極並同步以碼表開始計時，記錄水螅管狀體產生退縮反射所需時間；隨後關閉電極，記錄管狀體恢復成原來長度所需的時間，最後進行統計分析，比較各重金屬的毒性差異。



圖 5、微電擊實驗裝置

(五)綠水螅捕食能力實驗

水螅屬於異營掠食性動物，觸手搭配其上的刺絲胞，可有效地捕捉到獵物。重金屬的毒性是否影響水螅觸手捕捉獵物的活動力？實驗方法為：各取 10 隻達生長階段 120hr 且觸手數為 7 的水螅，每隻水螅獨立放置於培養皿中，並加入不同種類及濃度(0.1ppm、1ppm、10ppm)的重金屬溶液 5ml，浸泡 30min。隨後，以微量吸量管小心加入混合均勻的豐年蝦無節幼蟲液 1ml(配方：0.1g 豐年蝦卵，經 48hr 孵化並篩選後，加入蒸餾水至總體積為 50ml)。加入豐年蝦的同時，以碼表計時 1min，在解剖顯微鏡之下，以捕捉到的豐年蝦數目作為觸手活動力指標，再進行統計分析。

(六)綠水螅再生能力實驗

水螅個體具有很強的再生能力，切除掉的部分，可由身體其他部位的細胞再次分裂並分化形成。重金屬的毒性是否影響水螅的再生能力？實驗如下：各取 10 隻達生長階段 120hr 的水螅，利用探針從管狀體約 1/2 處進行切割，再加入不同種類及濃度(0.1ppm、1ppm、10ppm)的重金屬溶液 4ml，隨後進行水螅個體變化的觀察與拍照，記錄：切割後 0min、30min、24hr、48hr 的水螅個體再生狀況，並與浸泡於蒸餾水的對照組作比較。

(七)重金屬混合毒性對綠水螅的急毒性實驗

前述實驗僅針對單一重金屬對水螅的各項生理、生存影響，然而野外水質的污染通常涵蓋兩種以上的重金屬污染源，為了瞭解水螅同時暴露於多種重金屬的生理變化，因此設計了重金屬混合毒性實驗，方法如下：各取 15 隻達生長階段 120hr 的水螅，分別加入兩種或三種重金屬的混合液，調整濃度為 1ppm。浸泡 30min 後，觀察並記錄水螅的生理反應及存活狀況。

六、應用綠水螅進行南崁溪、新街溪和老街溪流域水質的測試

桃園的工商活動發達，境內平地主要的溪流河川，面臨家庭及工業廢水污染的威脅，我們選定南崁溪(龜山國中、寵物公園、竹圍崁下橋)、新街溪(天晟醫院、領航南路橋)和老街溪(環北路老街溪橋、大園洽溪、許厝港 1 號橋、許厝港 2 號橋)等採樣點。以玻璃瓶垂降法採集河水樣本，並測其 pH 值，分別在不同日期於同一採樣點採樣三次，每次以 10 隻水螅進行水質毒性檢測，觀察並記錄浸泡 30min、24hr、48hr、72hr 後的水螅生理變化及存活率。

伍、研究結果

一、綠水螅外部形質的觀察量測及生理反射

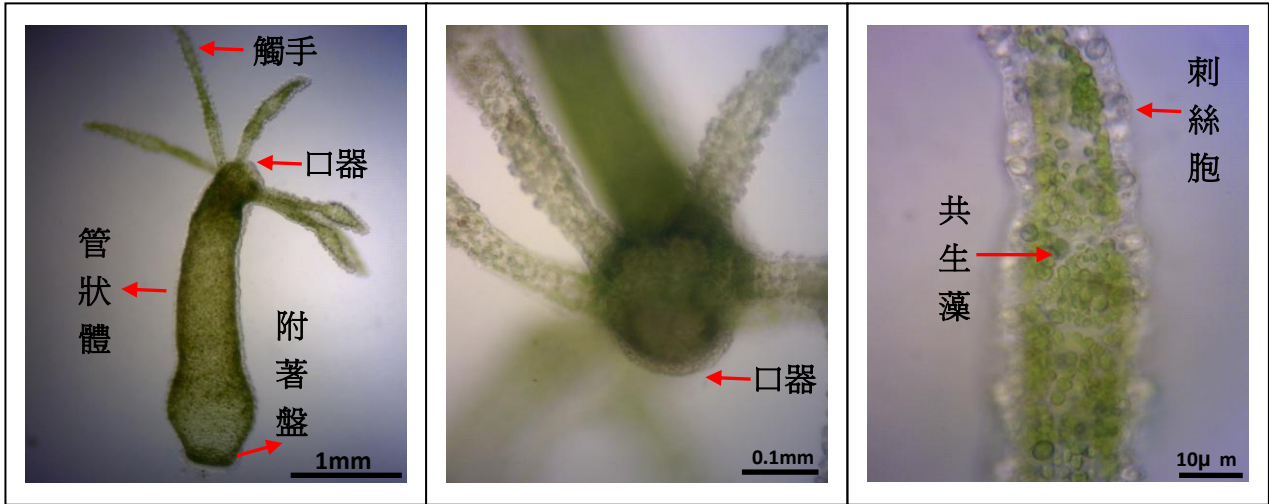


圖 6A、水螅外觀

圖 6B、水螅口器及觸手

圖 6C、刺絲胞與共生藻

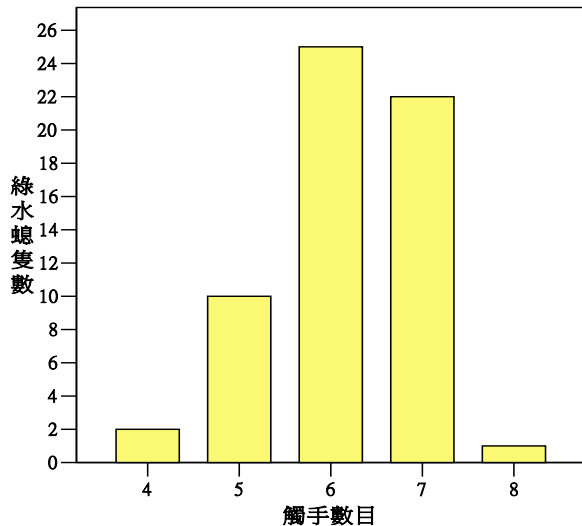


圖 6D、水螅觸手數目次數分布圖

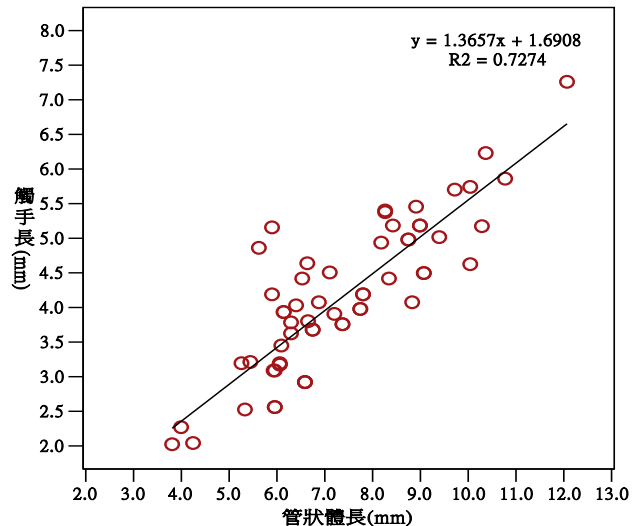


圖 6E、管狀體長與觸手長相關圖

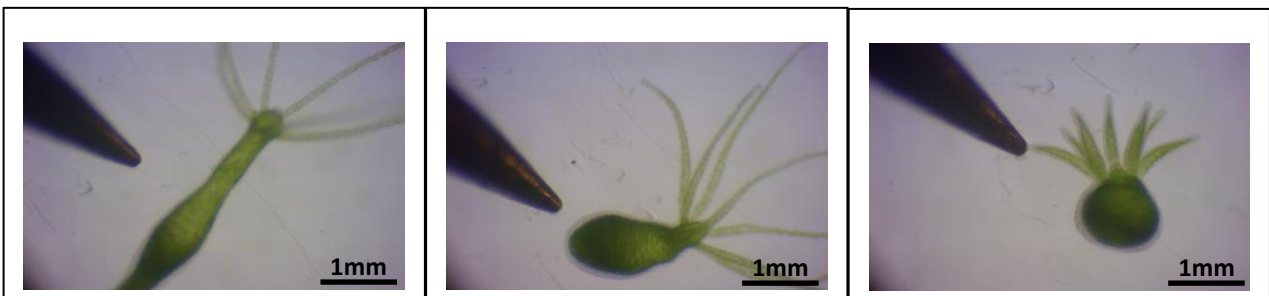
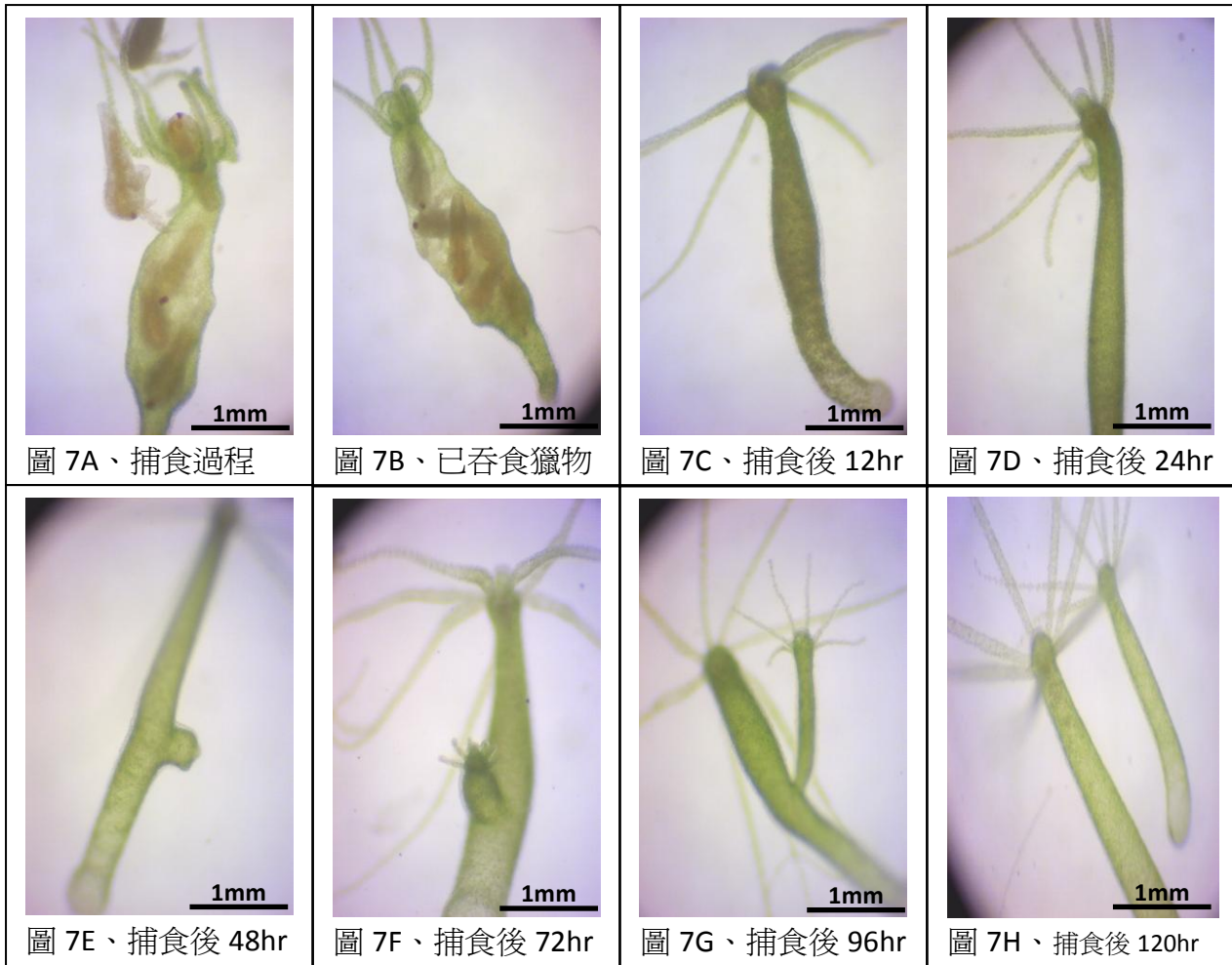


圖 6F、水螅的退縮反射。以自製探針輕觸管狀體 1/2 處，引發水螅防衛性的退縮反射。

以複式顯微鏡觀察綠水螅，可觀察到水螅的觸手、口器、管狀體、附著盤以及體壁的刺絲胞與共生的小球藻(如圖 6A、6B、6C)。隨機取 60 隻水螅計算其觸手數目，可知觸手數目介於 4-8 個之間，且以 6-7 個觸手為多(如圖 6D)。量測觸手與管狀體長度，分析兩者具有正相關性($R^2=0.7274$)，且管狀體與觸手長度的比值約為 1:0.73(如圖 6E)。以探針測試水螅退縮反射，輕觸管狀體 1/2 處，發現管狀體會先縮短，隨後觸手進一步縮短，最後水螅呈現球體花苞狀(如圖 6F)。

二、綠水螅的無性生殖與標準成長曲線



以孵化後的豐年蝦餵食水螅。可觀察到對照組的水螅觸手活動力良好，可迅速捕捉到豐年蝦，並且以觸手將獵物捲送入口器，在其消化腔內進行胞外消化(如圖 7A、7B)。12hr 後觀察，捕捉到的豐年蝦已消化完畢，48hr 時管狀體約 1/3 處已突出新芽體，73hr 的小芽體已長出觸手，觸手數目與親代相同，且已有活動力。到捕食後 120hr，芽體脫離母體獨立生存(如圖 7C-7H)。進一步收集同一批捕食後 120hr 所產生的 F1 子代 50 隻，連續拍照並量測其觸手與管狀體長，可知多數 F1 水螅約脫離母體 120hr 後，管狀體可達 5-6mm 的長度，其生長曲線如圖 7I 所示。

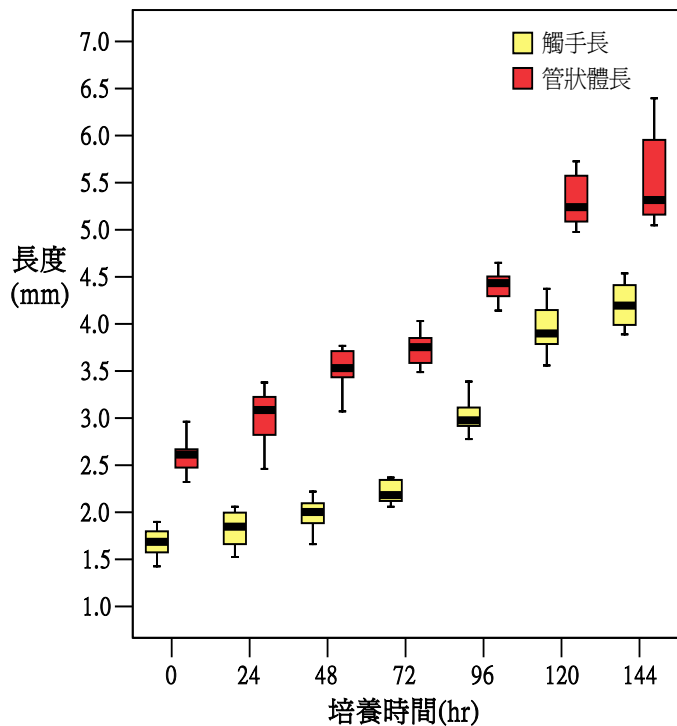
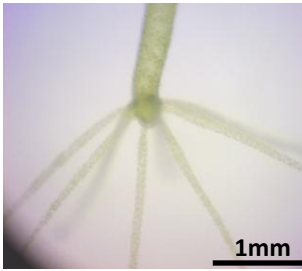

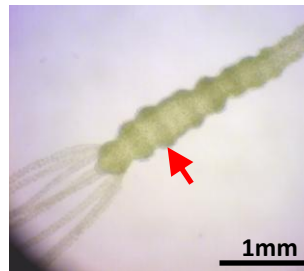

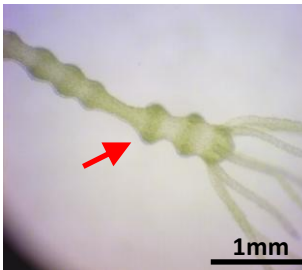





圖 7I、F1 子代標準生長曲線

三、重金屬對綠水螅的生物急毒性檢測和 LC₅₀ 的計算

(一)生物急毒性試驗---硝酸鉛(30min)

 <p>圖 8A、<u>硝酸鉛 0.1ppm</u> (a)外觀正常，仍有退縮反射，觸手活動力無明顯異狀。 (b)存活率 100%</p>	 <p>圖 8B、<u>硝酸鉛 0.5ppm</u> (a)少數個體(3/15)呈半縮狀態，觸手及柄端活動力變差。 (b)存活率 100%</p>	 <p>圖 8C、<u>硝酸鉛 1ppm</u> (a)部分個體(12/15)觸手及柄伸長，柄端出現結節，反射消失。 (b)存活率 100%</p>	 <p>圖 8D、<u>硝酸鉛 5ppm</u> (a)觸手呈半縮狀、柄端出現結節且呈不規則狀，反射消失。 (b)存活率 80%</p>
 <p>圖 8E、<u>硝酸鉛 10ppm</u> (a)觸手呈半縮狀，且有結節出現，活動力無退縮反射。 (b)存活率 40%</p>	 <p>圖 8F、<u>硝酸鉛 25ppm</u> (a)觸手縮短，末梢已開始分解。柄端呈細極差，無退縮反射。 (b)存活率 13%</p>	 <p>圖 8G、<u>硝酸鉛 50ppm</u> (a)觸手縮短，末梢分解，結節減少，尾柄附著盤已無貼附力。 (b)存活率 0%</p>	 <p>圖 8H、<u>硝酸鉛 100ppm</u> (a)觸手縮短，末梢已分解，柄端呈異常膨脹狀，活動力消失。 (b)存活率 0%</p>

以硝酸鉛溶液處理 30 分鐘後，可觀察到低濃度處理(0.1-0.5ppm)，水螅外觀正常，但活動力變差，而浸泡 1-50ppm 濃度者，柄端未縮短，且多數個體呈現異常的結節狀，退縮反射消失，活動力減弱。濃度 25-100ppm 可發現觸手末梢已開始分解，存活率大幅下降(如圖 8A-8H)。

依不同濃度、浸泡時間處理的急毒性試驗，可繪製如圖的存活率曲線，再以迴歸方法計算出存活率 50%的 LC₅₀(ppm)，得到 LC₅₀(30min) 為 11.43ppm；LC₅₀(24hr) 為 0.81ppm；LC₅₀(48hr) 為 0.54ppm。可知浸泡時間越長，低濃度的累積毒性對水螅傷害越大。

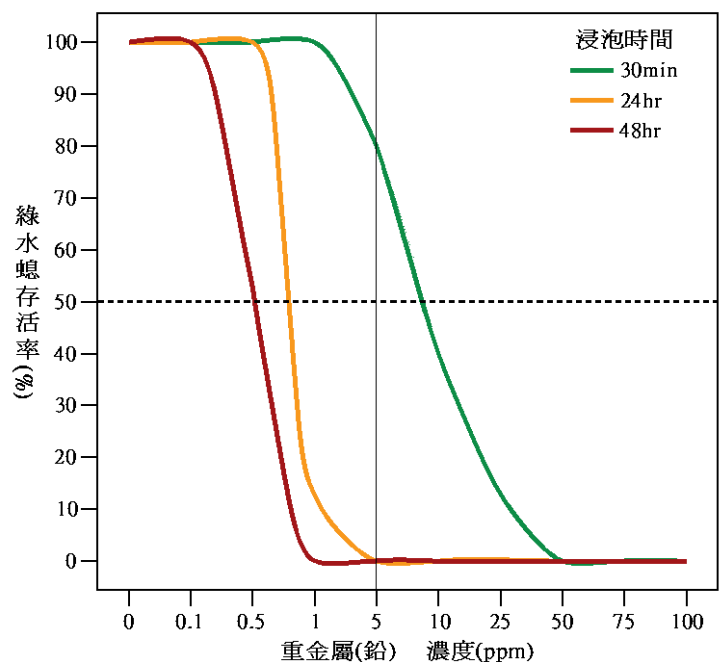










圖 8I、硝酸鉛溶液處理的水螅存活率曲線

(二)生物急毒性試驗---硫酸銅(30min)

			
<p>圖 9A、硫酸銅 0.1ppm (a)柄端退縮反射及活動力正常，觸手縮短呈三角指狀。 (b)存活率 100%</p>	<p>圖 9B、硫酸銅 0.5ppm (a)觸手縮短，柄端體壁出現刺絲胞膨脹現象，活動力變差。 (b)存活率 73%</p>	<p>圖 9C、硫酸銅 1ppm (a)觸手及柄縮短，腸腔異常膨大，觸手末稍分解、反射消失。 (b)存活率 33%</p>	<p>圖 9D、硫酸銅 5ppm (a)部分觸手脫落、體壁細胞分解，全數瓦解死亡。 (b)存活率 0%</p>
			
<p>圖 9E、硫酸銅 10ppm (a)觸手未脫落，體壁細胞已分解，共生藻聚集、分解死亡。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 9F、硫酸銅 25ppm (a)觸手半縮未脫落，已開始分解。共生藻聚集、分解死亡。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 9G、硫酸銅 50ppm (a)觸手半縮未脫落，體壁分解。共生藻聚集、分解死亡。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 9H、硫酸銅 100ppm (a)觸手未縮短，體壁細胞分解，柄端共生藻異常聚集、死亡。 (b)存活率 0%</p>

以硫酸銅溶液處理 30 分鐘後，可觀察到低濃度處理(0.1-1ppm)，水螅的觸手呈縮短三角指狀，活動力變差，且體壁刺絲胞膨脹，活動力變差、反射逐漸消失。而浸泡 5-100ppm 濃度者，觸手僅有半縮，但觸手及體壁細胞皆已開始瓦解，體內的共生藻有異常聚集現象，全數水螅個體皆已死亡(如圖 9A-9H)。

硫酸銅對水螅的 LC_{50} ： $LC_{50}(30min)$ 為 0.78ppm； $LC_{50}(24hr)$ 為 0.13ppm； $LC_{50}(48hr)$ 為 0.09ppm。可知低濃度硫酸銅，在短時間處理下，即會造成水螅的高致死率。

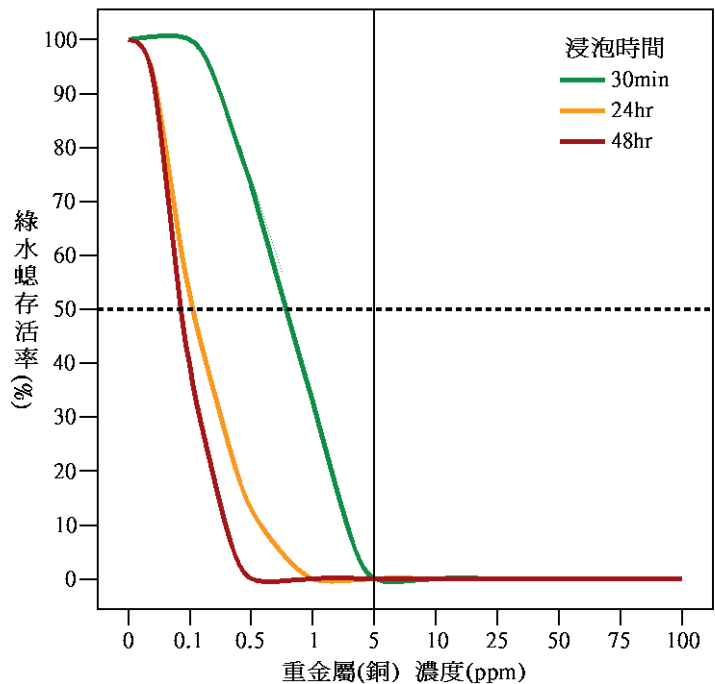

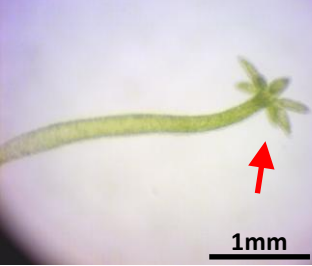








圖 9I、硫酸銅溶液處理的水螅存活率曲線

(三)生物急毒性試驗--硫酸鋅(30min)

			
<p>圖 10A、硫酸鋅 0.1ppm (a)個體外觀、活動力及退縮反射皆正常，少數觸手縮短(3/15)。 (b)存活率 100%</p>	<p>圖 10B、硫酸鋅 0.5ppm (a)部分個體(6/15)觸手縮短呈平舉狀，活動力和反射變差。 (b)存活率 100%</p>	<p>圖 10C、硫酸鋅 1ppm (a)大部分個體(10/15)觸手縮短呈平舉狀，活動力和反射差。 (b)存活率 100%</p>	<p>圖 10D、硫酸鋅 5ppm (a)個體觸手及柄端開始分解，體壁刺絲胞有膨脹狀。 (b)存活率 20%</p>
			
<p>圖 10E、硫酸鋅 10ppm (a)觸手半縮，部分個體觸手脫落，體壁呈膨脹狀，細胞瓦解。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 10F、硫酸鋅 25ppm (a)觸手半縮，部分觸手脫落，體壁細胞瓦解、個體死亡。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 10G、硫酸鋅 50ppm (a)觸手呈半縮狀，體壁刺絲胞膨脹明顯，細胞瓦解、死亡。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 10H、硫酸鋅 100ppm (a)觸手未縮短，體壁刺絲胞膨脹明顯，細胞溶解、個體死亡。 (b)存活率 0%</p>

以硫酸鋅溶液處理 30 分鐘後，可觀察到低濃度處理(0.1-1ppm)，水螅的觸手呈平舉短指狀，活動力及反射變差。而浸泡 5ppm 濃度者，除觸手縮短外，已有細胞溶解且體壁開始出現刺絲胞膨脹現象。浸泡 10ppm 以上濃度者，觸手未明顯縮短，且伴有觸手脫落現象，體壁細胞膨脹明顯，細胞瓦解、個體死亡(如圖 10A-10H)。

硫酸鋅對水螅的 LC_{50} 得到 $LC_{50}(30min)$ 為 4.40ppm； $LC_{50}(24hr)$ 為 1.10ppm； $LC_{50}(48hr)$ 為 0.61ppm。可知 5ppm 以上的硫酸鋅，短時間內，即會造成水螅的高致死率。

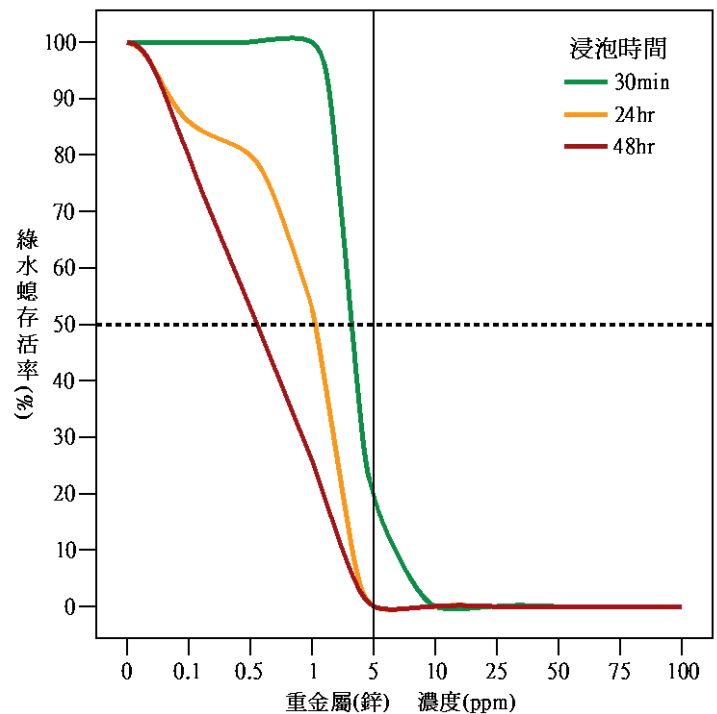








圖 10I、硫酸鋅溶液處理的水螅存活率曲線

(四)生物急毒性試驗--氯化鎳(30min)

			
<p>圖 11A、氯化鎳 0.1ppm (a) 個體外觀、活動力、反射皆正常，無明顯異狀。 (b) 存活率 100%</p>	<p>圖 11B、氯化鎳 0.5ppm (a) 部分個體(4/15)觸手半縮呈指節狀，活動力和反射減弱。 (b) 存活率 100%</p>	<p>圖 11C、氯化鎳 1ppm (a) 觸手縮短呈指狀，柄端縮短為瓶狀，體壁呈曲折膨脹狀。 (b) 存活率 100%</p>	<p>圖 11D、氯化鎳 5ppm (a) 觸手和柄端皆縮短，觸手末梢及體壁細胞開始溶解死亡。 (b) 存活率 60%</p>
			
<p>圖 11E、氯化鎳 10ppm (a) 觸手半縮短，柄端縮短且體壁刺絲胞膨脹明顯，個體死亡。 (b) 存活率 13%</p>	<p>圖 11F、氯化鎳 25ppm (a) 觸手未縮短，但柄端縮短，體壁細胞已瓦解、個體死亡。 (b) 存活率 0%</p>	<p>圖 11G、氯化鎳 50ppm (a) 觸手未縮短，柄端縮短且體壁細胞已經溶解、個體死亡。 (b) 存活率 0%</p>	<p>圖 11H、氯化鎳 100ppm (a) 水螅體細胞已經溶解分離，可見到水螅殘骸及散落細胞。 (b) 存活率 0%</p>

以氯化鎳溶液處理 30 分鐘後，可觀察到低濃度處理(0.1-1ppm)，部分水螅的觸手呈短指狀，活動力及反射減弱。而濃度提高至 5ppm 後，除觸手縮短之外，已出現細胞溶解及體壁膨脹的現象。浸泡 25ppm 以上濃度者，觸手未明顯縮短，但已出現細胞溶解、逐漸分離的現象，個體分解速率隨濃度增加而提升(如圖 11A-11H)。

氯化鎳對水螅的 LC_{50} ，得到 $LC_{50}(30min)$ 為 6.12ppm； $LC_{50}(24hr)$ 為 0.23ppm； $LC_{50}(48hr)$ 為 0.20ppm。可知 10ppm 以上的氯化鎳，短時間內，即會造成水螅的高致死率。

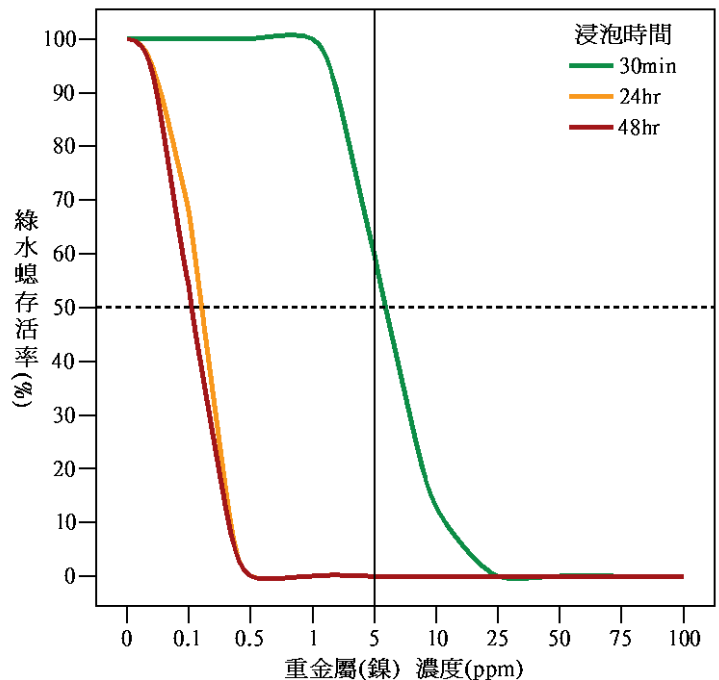


圖 11I、氯化鎳溶液處理的水螅存活率曲線

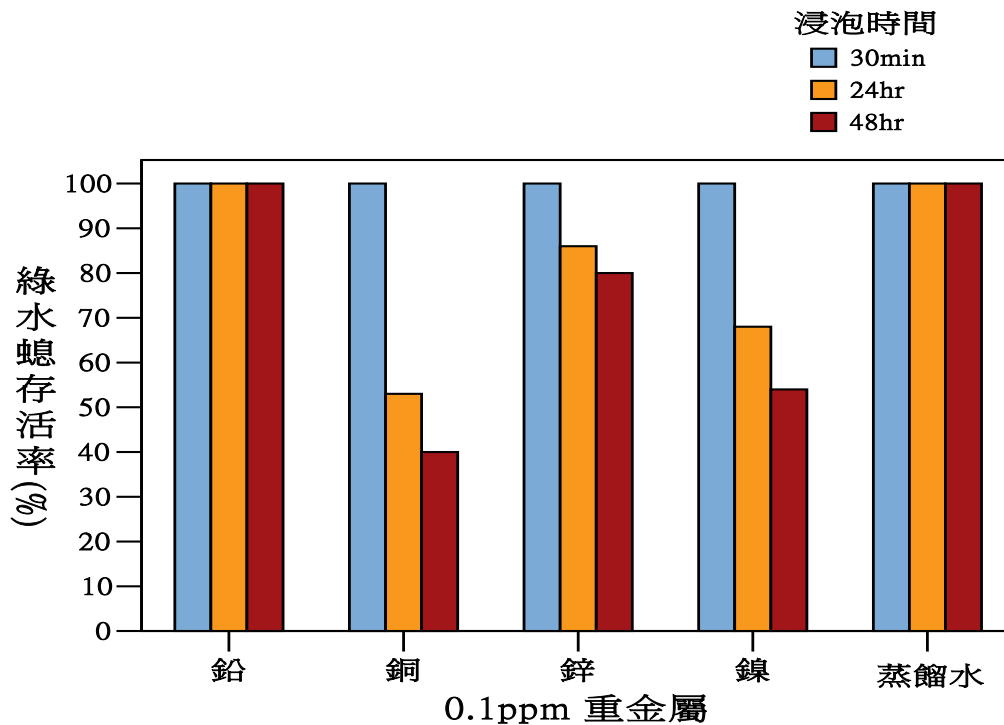


圖 12A、0.1ppm 重金屬溶液對水螳存活率的影響

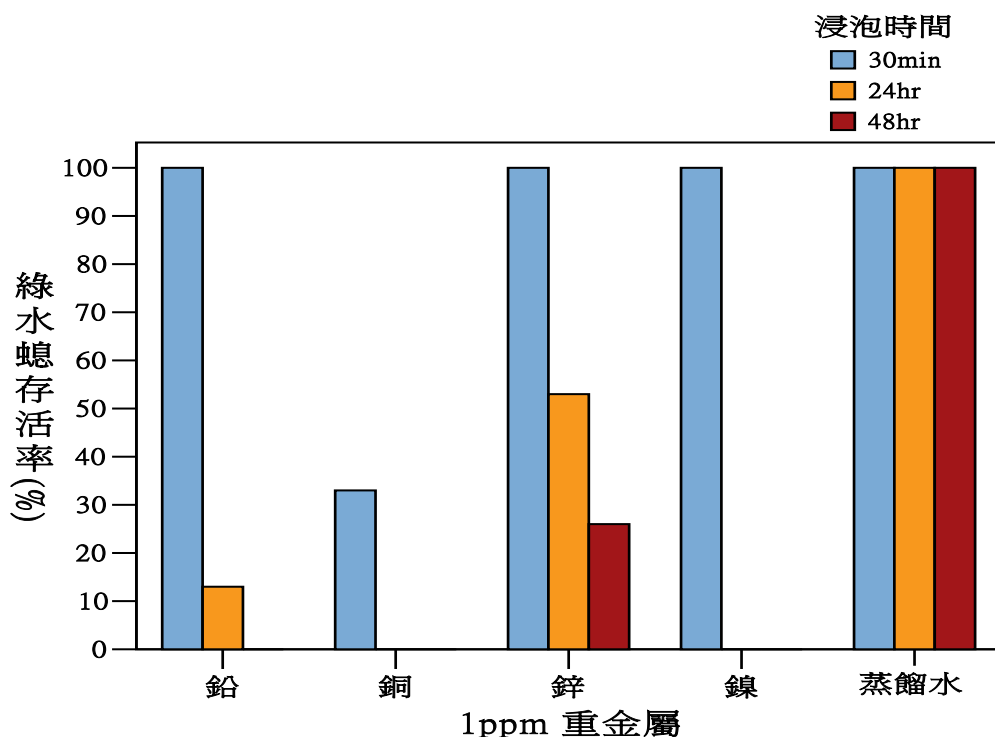


圖 12B、1ppm 重金屬溶液對水螳存活率的影響

上列兩圖為四種重金屬對綠水螳的生物急毒性試驗。從圖 12A 可知，在 0.1ppm 的濃度處理下，鉛離子在 48hr 內對水螳的存活率影響小，而銅、鋅、鎳離子則隨著作用時間的加長，對綠水螳產生明顯的致死效果，綜合比較 0.1ppm 金屬對水螳的毒性：銅 > 鎳 > 鋅 > 鉛。圖 12B 則為 1ppm 重金屬對水螳存活率的影響，可知 30min 時，鉛、鋅、鎳沒有明顯的致死效應，但隨著浸泡時間增長，鉛、銅、鎳對水螳的生物毒性，明顯提升，綜合比較 1ppm 重金屬對水螳的毒性：銅 > 鎳 > 鉛 > 鋅。比較 0.1ppm 及 1ppm 濃度的結果，可知在 24hr 或 48hr 的處理時間下，濃度 1ppm 皆大於 0.1ppm 對水螳的致死毒性。

四、重金屬對綠水螅體壁刺絲胞及共生藻的影響

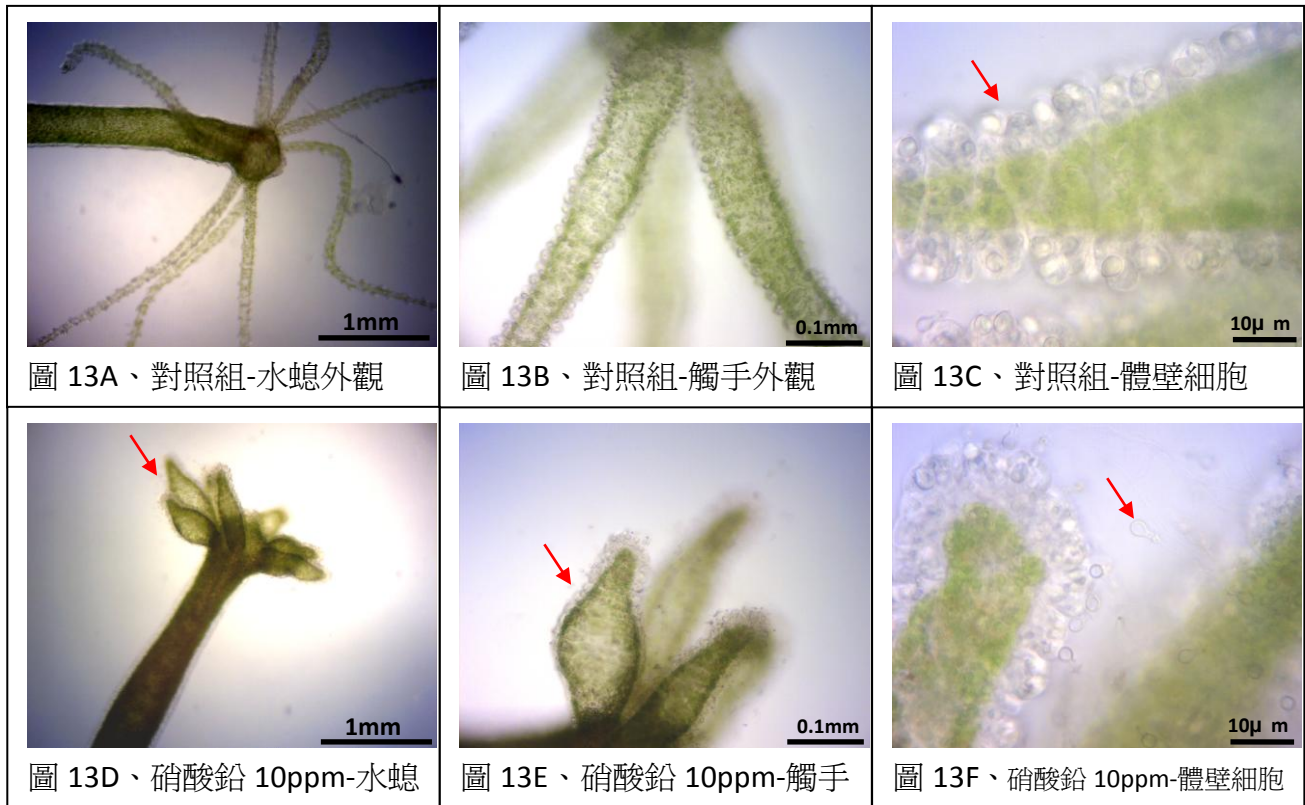


圖 13A、對照組-水螅外觀

圖 13B、對照組-觸手外觀

圖 13C、對照組-體壁細胞

圖 13D、硝酸鉛 10ppm-水螅

圖 13E、硝酸鉛 10ppm-觸手

圖 13F、硝酸鉛 10ppm-體壁細胞

前述重金屬急毒性實驗中，我們觀察到部分重金屬溶液處理下的水螅，其體壁在 256X 的倍率下，呈現溶解或體壁膨脹的狀況，且反射活動減弱，最後瓦解死亡。為了深入探究重金屬對體壁細胞以及共生藻的影響。我們以不同濃度的重金屬溶液(1ppm、10ppm、100ppm)浸泡後立即觀察，發現到以硝酸鉛 10ppm 或 100ppm 處理的水螅，其觸手明顯縮短呈三角指狀(如圖 13D、13E)，且在 600X 物鏡下，可發現到體壁細胞膨脹且伴隨大量刺絲胞發射刺絲的的生理反應(如圖 13F)，1ppm 硝酸鉛處理下的水螅則沒有發現刺絲胞發射現象。而致死毒性強的硫酸銅、硫酸鋅、氯化鎳在 10ppm、100ppm 皆僅有少許刺絲胞被誘發，1ppm 的濃度則皆沒有刺絲胞的誘發。此外，在此實驗處理下，我們沒有觀察到實驗前後共生藻顯著的生理變化。

五、重金屬毒性擴散對水螅退縮反射的影響

---毒性擴散實驗

毒性擴散實驗結果顯示，水螅於不同濃度、種類重金屬刺激下的退縮反射時間，經鄧氏(Duncan)多變量檢定，長條圖上若為不同的英文字母，代表兩者的退縮反射時間有統計上的顯著差異(p<0.05)。結果可知：在高濃度(100ppm)的鉛銅鎳處理下，水螅平均退縮時間皆比低濃度(1ppm)時為快，僅有鋅對水螅的退縮反射時間沒有顯著差異。綜合比較，針對低濃度的重金屬刺激，水螅對水質變化的靈敏度為：鋅=鉛=鎳>銅(如圖 14)。

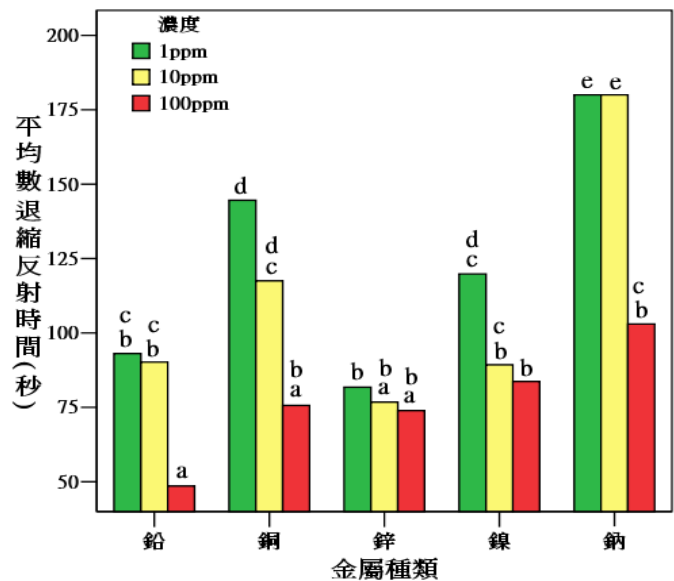


圖 14、重金屬擴散對水螅退縮反射的反應時間

六、重金屬對綠水螅電擊退縮反射的影響---微電擊實驗



圖 15A、電擊測試開始

圖 15B、產生退縮反射

圖 15C、完成退縮反射

從上述急毒性實驗中，我們觀察到重金屬處理後的水螅，部分個體的退縮反射有減弱傾向，為了深入探討不同重金屬對水螅的退縮反射是否產生程度性差異，我們以 3V 的直流電裝置刺激水螅產生退縮反射(如圖 15A-15C)。結果顯示，接受微電擊刺激的水螅退縮反射時間，鉛或鋅的處理下，退縮反射的時間皆隨著濃度的增加而顯著提升($p < 0.05$)；銅的處理則無顯著差異且 10ppm 處理 30min 的水螅已全數死亡，因此沒有反射結果；鎳的處理則沒有反射時間的差異性。綜合分析，與對照組蒸餾水作比較，0.1ppm 的鉛、鋅、鎳與蒸餾水沒有反射時間的顯著差異($p > 0.05$)，但其餘濃度的重金屬處理下，確實會影響水螅產生防禦性的退縮反射(如圖 15D)。

完成退縮反射後，立即移除電擊裝置，持續記錄水螅的管狀體恢復成電擊實驗前長度所需的時間。結果顯示，除了鉛以外的重金屬，高濃度處理皆比低濃度處理下水螅所需的恢復時間較長，且與對照組蒸餾水相比，任一濃度的重金屬處理者，管狀體恢復的時間皆有延長的情況($p < 0.05$)(如圖 15E)。

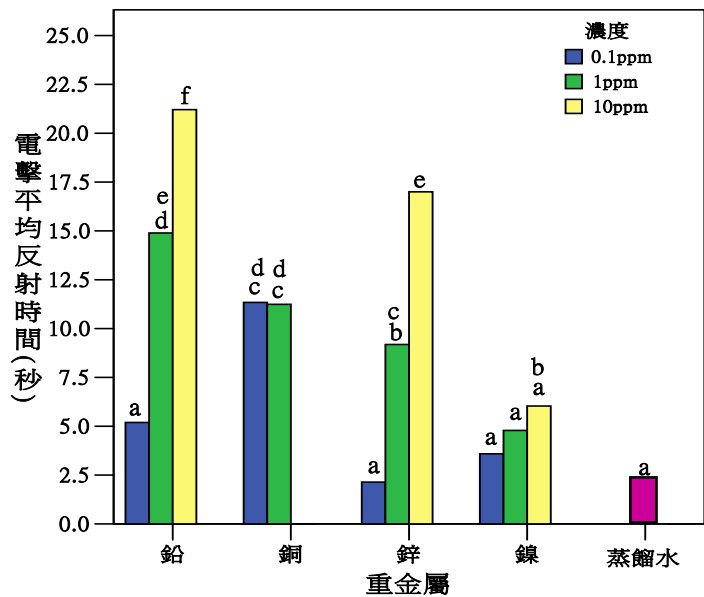


圖 15D、重金屬對水螅退縮反射時間的影響

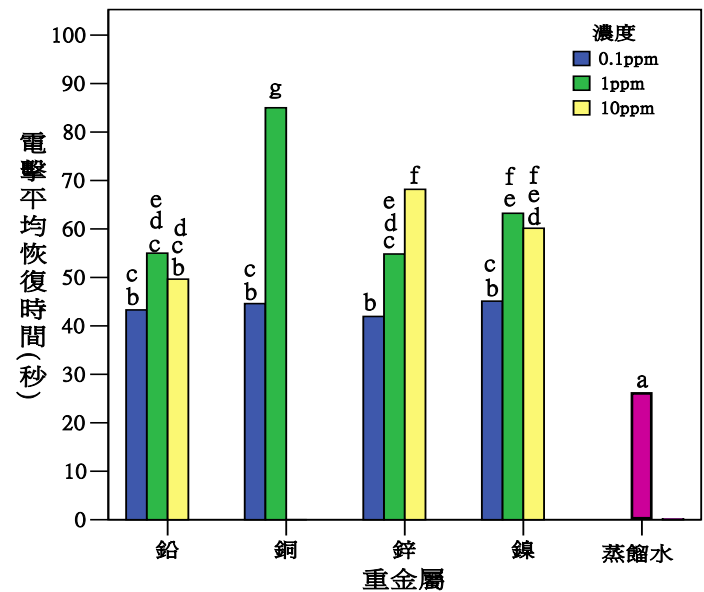


圖 15E、重金屬對水螅管狀體恢復時間的影響

七、重金屬對綠水螅捕食能力的影響

前述急毒性實驗中，我們觀察到部分水螅觸手有明顯縮短或活動力變差的情況。為量化觀察的生理變化，我們以水螅捕捉到的豐年蝦數量，作為評估重金屬影響的標準。結果顯示：鉛、鋅、鎳的處理下，高濃度(10ppm)皆比低濃度(0.1ppm)明顯減弱了水螅觸手的捕捉能力($p < 0.05$)。而在銅處理組，10ppm 銅浸泡 30min 已造成水螅全數死亡，故無數據。綜合比較對照組蒸餾水及 0.1ppm 的各類重金屬，可得捕食能力的強弱順序：蒸餾水、鉛、鋅、鎳、銅(如圖 16)。

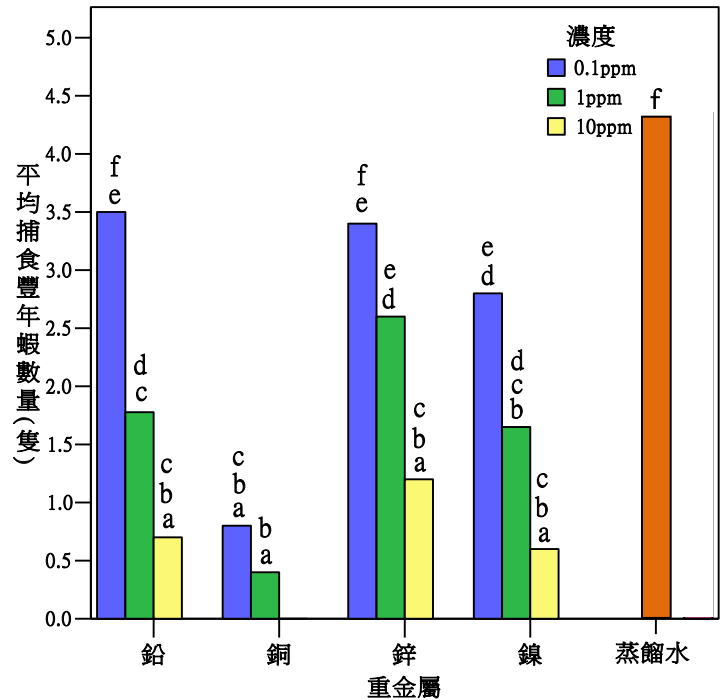
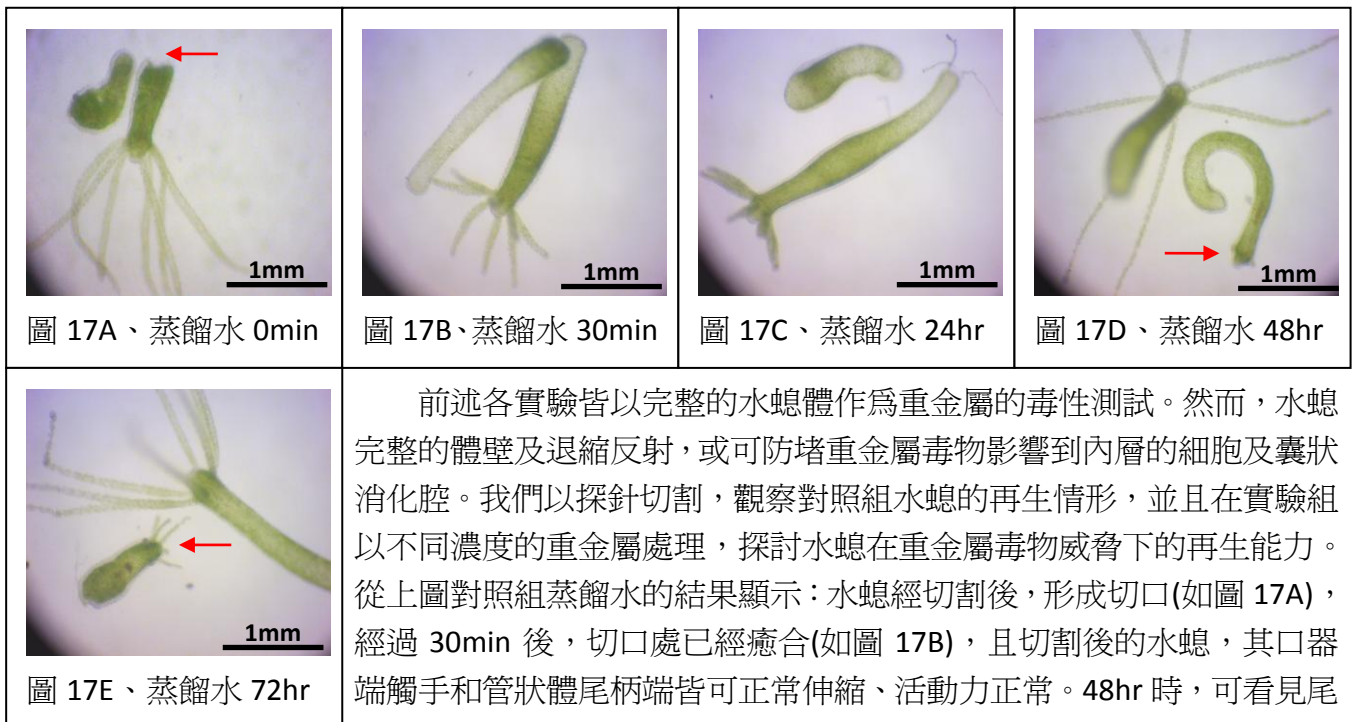


圖 16、重金屬對水螅捕食能力的影響

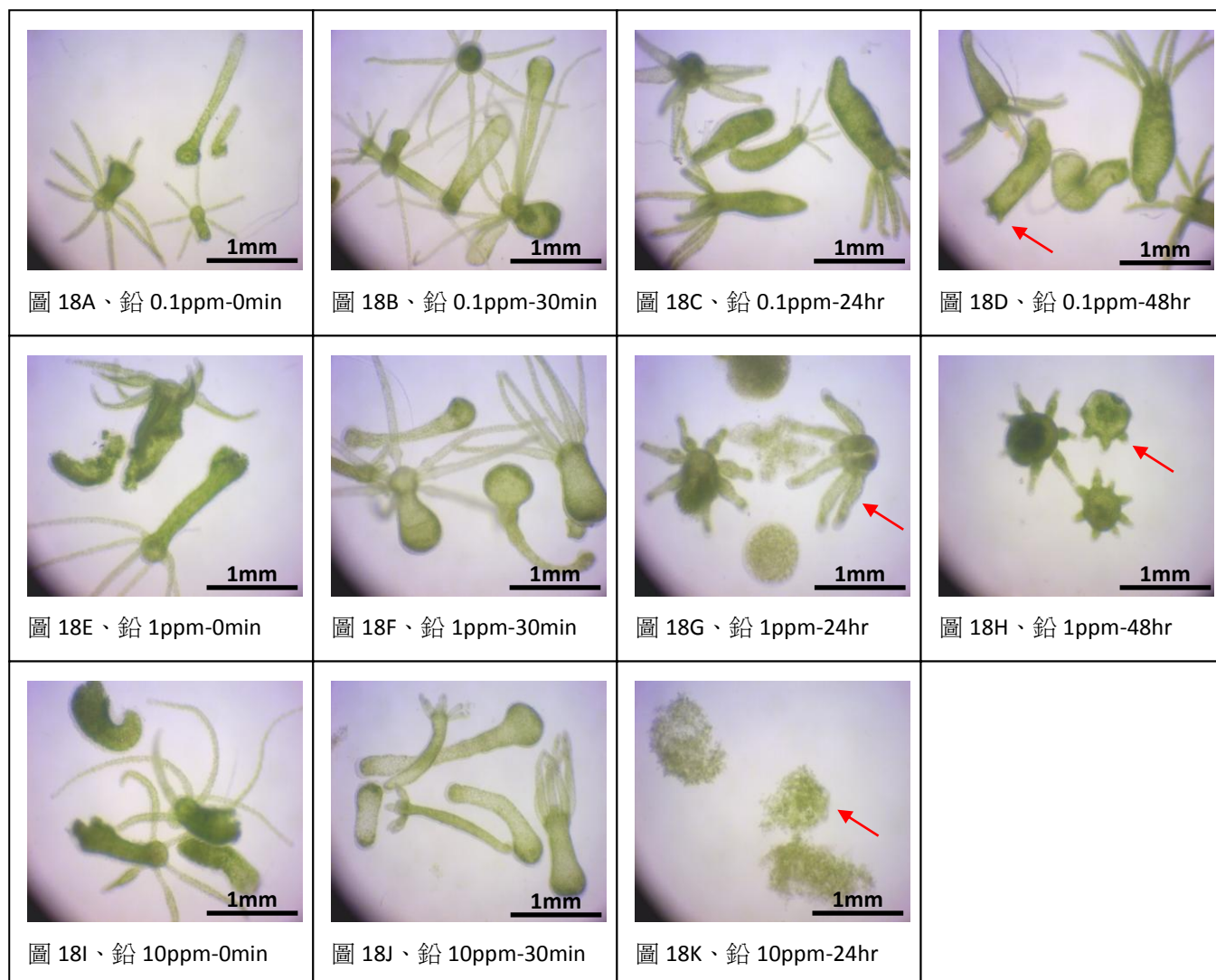
八、重金屬對綠水螅再生能力的影響

(一)再生實驗--對照組(蒸餾水)



前述各實驗皆以完整的水螅體作為重金屬的毒性測試。然而，水螅完整的體壁及退縮反射，或可防堵重金屬毒物影響到內層的細胞及囊狀消化腔。我們以探針切割，觀察對照組水螅的再生情形，並且在實驗組以不同濃度的重金屬處理，探討水螅在重金屬毒物威脅下的再生能力。從上圖對照組蒸餾水的結果顯示：水螅經切割後，形成切口(如圖 17A)，經過 30min 後，切口處已經癒合(如圖 17B)，且切割後的水螅，其口器端觸手和管狀體尾柄端皆可正常伸縮、活動力正常。48hr 時，可看見尾柄端的切口處已再生出觸手芽(如圖 17D)，72hr 時，再生的觸手已經伸長並具有退縮反射和捕捉能力(如圖 17E)。

(二)再生實驗--0.1ppm、1ppm、10ppm 硝酸鉛溶液

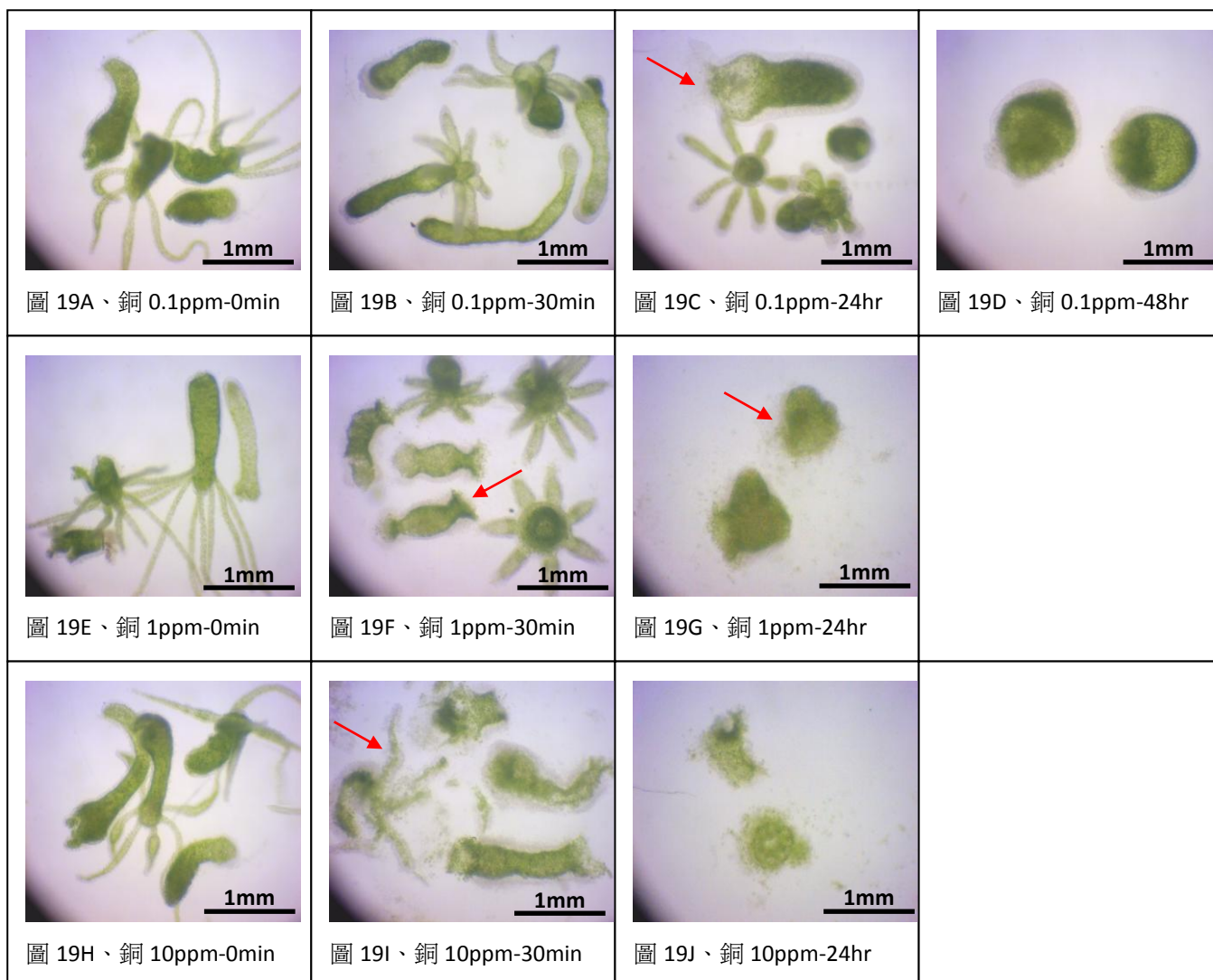


浸泡不同濃度(0.1ppm、1ppm、10ppm)硝酸鉛溶液的水螅再生實驗，結果顯示：

- 1.0.1ppm 硝酸鉛：水螅的切口處可正常癒合，24hr 時，觸手呈現半縮狀，48hr 時，1/3 水螅已死亡，僅存的水螅已再生出觸手芽，退縮反射和觸手活動力皆正常(如圖 18A-D)。
- 2.1ppm 硝酸鉛：切口處可正常癒合，24hr 時，觸手呈現半縮粗指節狀，半數尾柄端已經分解死亡，48hr 時，所有尾柄端皆已瓦解，僅存的口器端，觸手萎縮，反射變差(如圖 18E-H)。
- 3.10ppm 硝酸鉛：30min 時，切口處可正常癒合，但活動力減弱，且口器端的觸手明顯縮短呈粗指狀，24hr 時所有切割片段皆已瓦解死亡(如圖 18I-K)。

綜合上述結果，水螅在 0.1ppm 硝酸鉛處理下，仍可正常行再生作用。而以 1ppm 硝酸鉛處理時，切口雖可癒合，但 24hr 時，尾柄端皆已分解，無法再生，僅存留萎縮的觸手端片段。而在 10ppm 硝酸鉛處理下，切口可癒合，但 24hr 時，鉛的毒性已造成所有切割片段瓦解。

(三)再生實驗-0.1ppm、1ppm、10ppm 硫酸銅溶液



浸泡不同濃度(0.1ppm、1ppm、10ppm)硫酸銅溶液的水螅再生實驗，結果顯示：

- 1.0.1ppm 硫酸銅：30min 時，切口處正常癒合，但口器端觸手縮短，尾柄端體壁呈現不規則曲折狀，且有體壁異常膨大現象，24hr 時，半數水螅死亡(5/10)，殘存者的觸手縮成短圓指狀，反射及活動力差，48hr 時，僅剩少數仍未死亡(1/10)，觸手消失、未長出觸手芽(如圖 19A-D)。
 - 2.1ppm 硫酸銅：30min 時，切口處無法癒合，觸手退縮呈短粗指狀，體壁及觸手皆已開始分解，24hr 時，所有水螅皆已瓦解死亡(如圖 19E-G)。
 - 3.10ppm 硫酸銅：30min 時，切口處無法癒合，觸手未縮短及已斷落、瓦解死亡。
- 綜合上述結果，0.1ppm 的硫酸銅即會影響水螅的再生，且銅對尾柄端的毒性較大，已造成瓦解，殘留的口器端觸手則已經分解。1ppm 硫酸銅處理下，切口無法癒合，且在 24hr 時，殘存的部分已經分解死亡。10ppm 硫酸銅則毒性更高，水螅於 30min 後已經瓦解、死亡(如圖 19H-J)。

(四)再生實驗-0.1ppm、1ppm、10ppm 硫酸鋅溶液



浸泡不同濃度(0.1ppm、1ppm、10ppm)硫酸鋅溶液的水螅再生實驗，結果顯示：

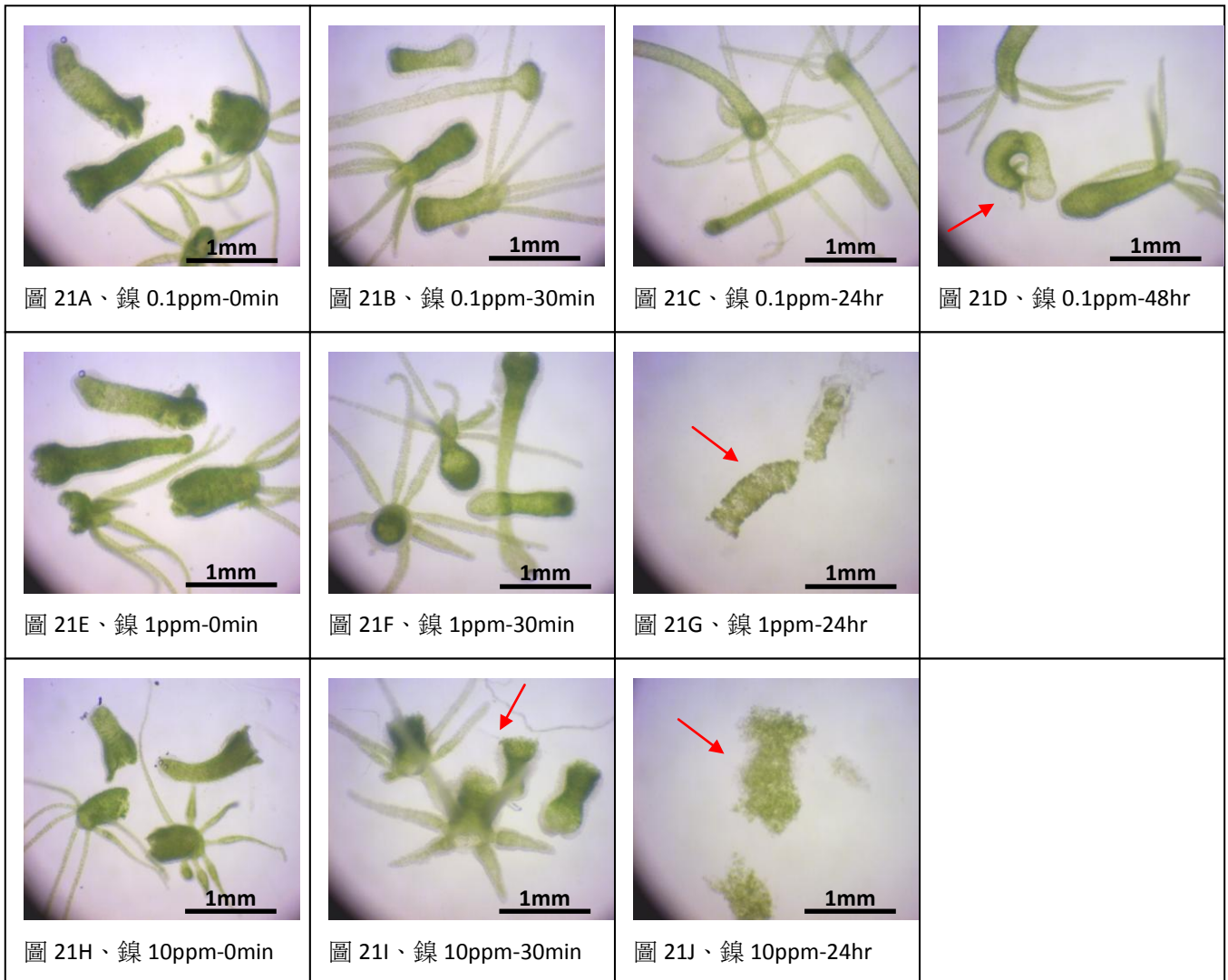
1.0.1ppm 硫酸鋅：切口處正常癒合，24hr 時，觸手呈現半縮狀，48hr 時，部分水螅已死亡(4/9)，僅存的水螅再生出觸手芽，退縮反射和觸手活動力皆正常(如圖 20A-D)。

2.1ppm 硫酸鋅：切口處可正常癒合，24hr 時，部分水螅已死亡(3/9)，存活性觸手呈現半縮狀，48hr 時，死亡水螅增加(5/9)，存活性口器端縮成圓球狀，觸手呈圓短指狀，尾柄端已長出觸手芽(如圖 20E-H)。

3.10ppm 硫酸鋅：30min 時，切口處無法癒合，且觸手縮成指狀，體壁已開始分解死亡。24hr 時，所有水螅已瓦解消失(如圖 20I-K)。

綜合上述結果，0.1ppm 的鋅處理下水螅可正常行再生作用。而 1ppm 鋅的處理，48hr 時可以順利長出觸手芽，但口器端的觸手明顯縮短。另外以 10ppm 的鋅處理，30min 時切口無法癒合，且細胞已瓦解、個體死亡。

(五)再生實驗-0.1ppm、1ppm、10ppm 氯化鎳溶液



浸泡不同濃度(0.1ppm、1ppm、10ppm)氯化鎳溶液的水螅再生實驗，結果顯示：

- 1.0.1ppm 氯化鎳：30min 時，切口處正常癒合，口器端和尾柄端退縮反射及活動力正常，48hr 時，尾柄端水螅已再生出觸手芽，活動力無異狀(如圖 21A-D)。
 - 2.1ppm 氯化鎳：30min 時，切口處可正常癒合，但觸手及體壁皆呈現膨脹鋸齒狀，反射及活動力減弱，24hr 時，所有水螅皆已分解死亡(如圖 21E-G)。
 - 3.10ppm 氯化鎳：30min 時，切口處無法癒合，且個體明顯萎縮、體壁呈現膨脹鋸齒狀，觸手半縮呈粗指狀，體壁和觸手已開始分解。24hr 時，所有水螅已瓦解、死亡(如圖 21H-J)。
- 綜合上述結果：0.1ppm 濃度的鎳，對於水螅的再生作用沒有顯著影響。1ppm 濃度的鎳，切口雖可正常癒合，但 24hr 時，所有切割片段皆已瓦解死亡。10ppm 的鎳處理下，切口無法癒合，且在 24hr 的觀察中，所有片段皆已分解死亡。

九、重金屬混合毒性對綠水螅生存的影響

(一)混合兩種重金屬離子(鉛、銅、鋅、鎳)的交叉毒性(1ppm、30min)

		
<p>圖 22A、鉛+銅 (a)觸手及管狀體半縮，觸手末梢逐漸瓦解，反射消失。 (b)存活率 13%</p>	<p>圖 22B、鉛+鋅 (a)觸手半縮呈指節狀，部分管狀體呈曲折狀，反射弱。 (b)存活率 100%</p>	<p>圖 22C、鉛+鎳 (a)觸手半縮，活動力差，部分管狀體呈瓶狀，反射差。 (b)存活率 80%</p>
		
<p>圖 22D、銅+鋅 (a)觸手半縮，管狀體縮短，觸手末梢漸瓦解，部分觸手脫落。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 22E、銅+鎳 (a)觸手半縮且細胞瓦解明顯，部分觸手已脫落，體壁膨脹。 (b)存活率 0%</p>	<p>圖 22F、鋅+鎳 (a)個體縮短，觸手末梢漸分解，體壁膨脹，反射差。 (b)存活率 26%</p>
 <p>圖 22G、蒸餾水 (a)對照組的水螅活動力及反射皆正常。 (b)存活率 100%</p>	<p>混合兩種重金屬的結果顯示：在濃度 1ppm、浸泡 30min 的處理條件下，各混合重金屬對水螅的致死率為：銅鋅=銅鎳>銅鉛>鋅鎳>鉛鎳>鉛鋅。且在添加重金屬銅的組別中，其致死率明顯高於其他各組，顯示銅離子對水螅的強烈毒性。此外，有添加重金屬鉛的組別，表現出管狀體無法縮短的現象，顯示出，重金屬鉛可能干擾了水螅的退縮反射。以此實驗與前述單一重金屬急毒性實驗相較，混合金屬對水螅的致死效應明顯提升，且造成的生理影響為兩種金屬的綜合效果(圖 22A-G)。</p>	

(二)混合三種重金屬離子(鉛、銅、鋅、鎳)的交叉毒性(1ppm、30min)

將水螅暴露在濃度 1ppm 的三種重金屬混合溶液中 30min，結果顯示，各組對水螅的致死率為：鉛銅鎳=銅鋅鎳>鉛銅鋅>鉛鋅鎳。含有銅離子的組別仍有較高的致死率，且含重金屬鉛的組別，仍然干擾了水螅的退縮反射。此外，從結果中發現到鉛銅鋅與鉛銅鎳兩組的水螅，可看到觸手未明顯縮短且觸手基部有膨脹現象，但末梢已經逐漸瓦解，兩者共同金屬為鉛和銅，此現象亦可在前述的鉛銅實驗中看見(如圖 22A)。最後比較三種重金屬對照兩種重金屬的差異，發現鉛鋅鎳(存活率 33%)的混合毒性比鉛鋅(100%)或鉛鎳(80%)的混合毒性均高，顯示重金屬毒性具有加乘效果(如圖 23A-D)。



圖 23A、鉛+銅+鋅

(a)觸手半縮，基部呈圓球狀，末梢已分解或脫落，體壁細胞膨脹。

(b)存活率 6%

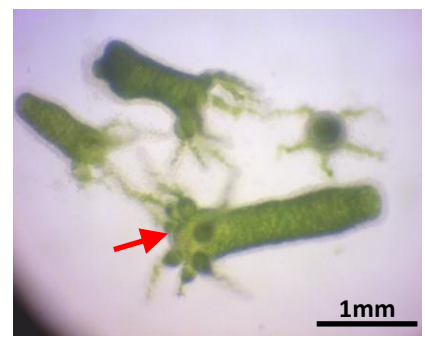


圖 23B、鉛+銅+鎳

(a)觸手半縮，且末梢明顯瓦解，體壁膨脹、個體死亡。

(b)存活率 0%



圖 23C、鉛+鋅+鎳

(a)觸手及管狀體半縮，觸手完整無瓦解狀況，活動力及反射減弱。

(b)存活率 33%

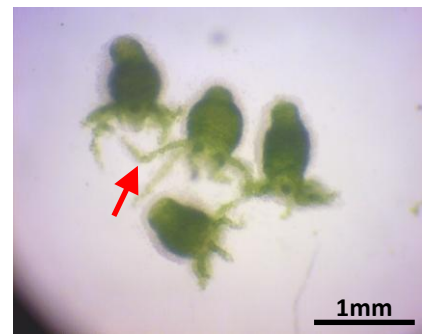


圖 23D、銅+鋅+鎳

(a)觸手半縮、瓦解或已脫落，管狀體縮短為球狀，體壁細胞膨脹。

(b)存活率 0%

十、應用綠水螅進行南崁溪、新街溪和老街溪流域水質測試的結果

(一)採集地點示意圖

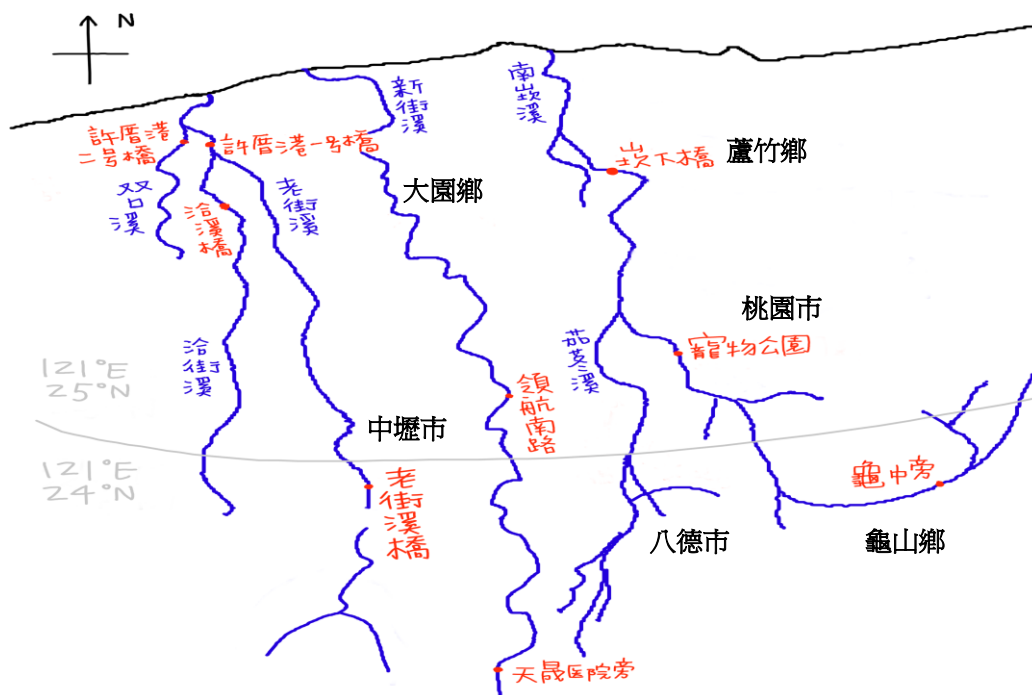


圖 24、老街溪、新街溪和南崁溪流域示意圖

(二)綠水螅水質檢測初步結果

地點	老街溪流域(6/2)	地點	新街溪流域(6/2)	地點	南崁溪流域(5/26)
環北路老街溪橋	(1)整治工程進行中，家庭和商業廢水多，有吳郭魚，附近有水鳥出沒。 (2)浸泡採集液 30min-72hr 的綠水螅，無明顯異狀，存活率 100%。	中壢天晟醫院	(1)河水優養化明顯、吳郭魚多，水鳥出沒，岸邊植物茂盛。 (2)浸泡 30min-72hr 後的綠水螅全數存活。	龜山國中	(1)附近居民多，水質仍屬清澈，水流較急，可見吳郭魚。 (2)浸泡 72hr 後的綠水螅全數存活。
大園洽溪橋	(1)附近居民較少，水質優養化明顯，岸邊植物繁茂。 (2)浸泡採集液 30min-72hr 的綠水螅，無明顯異狀，存活率 100%。	青埔領航南路橋	(1)附近零星工廠與住家，少許吳郭魚和水鳥出沒。 (2)浸泡 72hr 後的綠水螅存活率高(80%)。	桃園市寵物公園	(1)附近多住家，緩水處可見成群吳郭魚，水鳥出沒頻繁。 (2)浸泡 72hr 的綠水螅全數存活。
大園許厝港一號橋	(1)附近工廠林立，空氣瀰漫酸臭味、溪水呈異常的淡紫色。 (2)浸泡採集液 24hr 後的綠水螅，觸手半縮，活動力減弱，存活率低 30%。48hr 後，全數死亡。			竹圍山坎下橋	(1)附近零星住家，河面寬廣、水流量大而湍急，優養化明顯。 (2)浸泡 24hr 後的綠水螅觸手半縮且存活率大減為 20%，48hr 後全數死亡。
大園許厝港二號橋	(1)大型工廠林立，空氣中有明顯刺鼻臭味、溪水呈異常的黑紫色。 (2)浸泡採集液 30min 後的綠水螅，觸手未明顯縮短即全數死亡。				

表 1、野外水質實測記錄表。

陸、討論

一、綠水螅的外觀、顯微構造及生理反射

以顯微鏡觀察綠水螅，構造上可看到 4 至 8 個觸手、管狀體、囊狀消化腔的單一口器和尾端的附著盤，微觀上，可在 600X 下觀察到體壁的外皮肌細胞及鑲嵌其中的刺絲細胞，體內則有小球藻共生，水螅可直接消化小球藻或吸收部分小球藻光合作用的醣類產物(邱偉倫，民 98)。我們觀察到：在每日 12hr 的光照處理下，綠水螅可維持一定比例小球藻而使水螅體呈現鮮綠色，而當置於黑暗處 72hr 後，小球藻有明顯減少的情況，使得水螅的外觀呈現淡白色，顯示光照是影響體內共生藻類數量的重要因素。在水螅活動力及退縮反射方面，培養皿內的水螅，會先以附著盤吸附底部，隨後伸展管狀體和觸手，觸手不時有輪轉擺動的情形，且伴隨管狀體的伸縮，顯示水螅於蒸餾水中的活動力。當以探針輕觸觸手或管狀體時，皆會引發水螅防禦性的退縮反射。

二、一般飼養條件下綠水螅的繁殖情況與標準成長曲線

根據文獻，豐年蝦無節幼蟲體積小、孵化快，又富含蛋白質、無機鹽等養分，是餵食開出生不久的仔魚良好的食餌(洪昆源，民 100)。我們以豐年蝦餵食水螅，對照組的水螅，皆能捕捉到水螅，且於捕捉後 48hr，開始進行出芽生殖，體壁浮出芽體，約在餵食後 120hr，芽體脫離母體並且獨立生存。隨後取同一批水螅親代所產生的 F1 子代，不餵食並連續記錄 F1 子代的觸手與管狀體的長度變化，經分析後，繪製成標準成長曲線，得知 F1 水螅約在脫離母體後 120hr，管狀體可達 5-6mm，而 144hr 時，管狀體的長度已沒有明顯的成長，因此我們選擇 120hr 階段的 F1 個體，作為生物急毒性測試的對象。

三、重金屬對水螅的生物急毒性檢測和 LC₅₀ 的計算

目前環保署訂定的水質生物急毒性檢測方法，係以水蚤、米蝦、鯉魚和羅漢魚檢測之，主管機關稽查時，得選定鯉魚、羅漢魚擇一，及水蚤、米蝦擇一，進行兩種生物檢測，生物檢測法常因生物種類的不同而有差異懸殊的耐受性，因此開發更適合偵測水質，反應水中微量物質的指標生物益顯重要。根據環保署最新公布的放流水標準(如附件一)。事業、污水下水道系統及建築物污水處理設施之廢污水，其中的重金屬排放標準：鉛 <1.0ppm；銅 <3.0ppm；鋅 <5.0ppm；鎳 <1.0ppm。因此我們配製 0.1ppm、0.5ppm、1ppm、5ppm、10ppm、25ppm、50ppm、100ppm、500ppm 等重金屬溶液，涵蓋了放流水標準以及放流水標準 0.1 倍與 100 倍各種濃度，進行生物急毒性檢測。分析各種濃度的重金屬對綠水螅在 30min、24hr、48hr 的半數致死濃度(LC₅₀)及生物急毒性單位 TU_a(Acute Toxic Unit, TU_a 為 LC₅₀ 之倒數，無單位)，整理如下：

	30min		24hr		48hr	
	LC ₅₀	TU _a	LC ₅₀	TU _a	LC ₅₀	TU _a
鉛	11.43 ppm	0.087	0.81 ppm	1.234	0.54 ppm	1.851
銅	0.78 ppm	1.282	0.13 ppm	7.692	0.09 ppm	11.111
鋅	4.40 ppm	0.227	1.10 ppm	0.909	0.61 ppm	1.639
鎳	6.12 ppm	0.163	0.23 ppm	4.347	0.20 ppm	5.000

表 2、四種重金屬溶液對綠水螅的半數致死濃度(LC₅₀)。

由上表及前述結果可知：

(一)重金屬對綠水螅的存活影響：

在相同時間的處理下，重金屬濃度越高，對綠水螅的致死率越高；而在相同濃度處理下，浸泡時間越久，重金屬對綠水螅的致死率越高。四種重金屬的毒性差異：30min(銅>鋅>鎳>鉛)、24hr(銅>鎳>鉛>鋅)、48hr(銅>鎳>鉛>鋅)，顯示銅離子對水螅的致死毒性最高，而鋅在短時間30min處理的致死效應比鎳或鉛皆高，但24hr及48hr的致死效應卻不及鎳鉛，推測可能與鎳鉛的累積毒性有關。意即30min的浸泡時間，水螅細胞受鎳鉛的毒性影響有限，而若延長浸泡的時間為24hr或48hr，鉛鎳於細胞內累積足夠致死劑量，導致長時間處理下，反而提升了低濃度的致死率。

(二)重金屬對綠水螅的生理影響：

浸泡1ppm濃度以下重金屬的水螅，於30min內的存活率高，但都有觸手活動力變差或退縮反射減弱的現象，顯示各類重金屬對水螅細胞有神經毒性，因此，我們以後續的微電擊和捕食實驗量化重金屬對水螅的影響。特別的是，重金屬毒性普遍造成觸手或管狀體的縮短，但不同種類或濃度的重金屬卻有不同效果，可分成：觸手及管狀體皆縮短、觸手縮短但管狀體未縮短、觸手未縮短但管狀體縮短。銅鋅鎳皆造成水螅類似的生理外觀，但唯獨重金屬鉛的處理下，不論低或高濃度，大多數水螅的管狀體均無法正常縮短，且可在管狀體上發現一圈一圈的結節狀構造，顯示鉛的毒性干擾了水螅的退縮反射，推測可能原因是鉛毒阻斷了水螅體壁神經訊息的傳遞，值得進一步深入研究。

四、重金屬對綠水螅體壁刺絲胞及共生藻的影響

由前述的急毒性檢測中，我們發現到某些高濃度重金屬處理下的水螅，其體壁有明顯膨脹的現象，我們以複式顯微鏡觀察浸泡於1ppm、10ppm、100ppm四種重金屬內的水螅。結果發現，在10ppm及100ppm濃度處理時，銅鋅鎳皆會造成水螅體壁細胞的膨脹，而鉛則無明顯差異。但在鉛處理的組別，10ppm和100ppm的鉛，皆會造成大量觸手處的刺絲胞發射細絲狀的刺絲，甚至可看到脫離體壁的刺囊；1ppm的鉛則無此現象；銅鋅鎳在10ppm及100ppm則僅有少量刺絲胞被誘發。顯示出水螅對重金屬鉛反應的獨特性，可精準地以水螅作為偵測鉛污染的指標。而在共生藻方面，從實驗中，我們並無觀察到重金屬對共生藻的具體影響，可能需進一步分離共生藻，以生化方法深入探討重金屬對共生小球藻的影響。

五、重金屬對綠水螅擴散退縮反射的影響

當我們以豐年蝦液餵食水螅時，若未將孵化時加入的鹽分過濾洗淨，可觀察到在加入鹽水豐年蝦液不久，幾乎所有的水螅都感受到鹽度的變化而產生防禦性的退縮反射，因此我們提出構想，是否水螅能偵測到水中微量重金屬的存在，而產生防禦性的退縮反射。從結果可知，除了鋅以外，高濃度的鉛銅鎳(100ppm)能比低濃度者(1ppm)較快引發水螅的退縮反射，而比較低濃度1ppm的四種重金屬，水螅偵測水中重金屬的靈敏度快慢依序為：鋅、鉛、鎳、銅，推測可能是不同種類重金屬對水螅體壁感覺細胞或神經細胞的生理刺激不同所致。

六、重金屬對綠水螅電擊退縮反射的影響

當水螅浸泡在重金屬溶液中一段時間(30min)後，以探針輕觸水螅管狀體，發現多數水螅退縮反射減弱或消失，顯示重金屬已造成細胞毒性。利用直流電簡易裝置，以電擊方法刺激水螅產生退縮反射，在對照組蒸餾水中的水螅，可在短時間內迅速產生反射，且在移除電擊裝置後不久，管狀體恢復回來長度。但以重金屬處理時，鉛鋅在高濃度(10ppm)的退

縮反射時間皆比低濃度(0.1ppm)所需時間久，且在恢復時間上，銅、鋅、鎳亦有類似結果，推論長時間浸泡重金屬溶液，將造成細胞毒性，干擾體壁神經訊息的傳遞或皮膚細胞的收縮，影響退縮反射的產生。

七、重金屬對綠水螅捕食能力的影響

與對照組的水螅相比，1ppm以上濃度重金屬處理後的水螅，其捕捉豐年蝦的能力明顯變差，顯示低濃度1ppm的重金屬已造成水螅的細胞毒性，且在鉛、鋅、鎳之中，高濃度10ppm的影響皆比0.1ppm嚴重，捕食能力與重金屬濃度呈現負相關性，此外0.1ppm或1ppm的銅處理，水螅的捕食能力最差，也應證了前述急毒性檢測的結果。

八、重金屬對綠水螅再生能力的影響

以低濃度0.1ppm的鉛、鋅、鎳處理，水螅皆可正常再生，當隨著濃度提高至1ppm以上，水螅的再生作用明顯受到抑制並且造成切割片段的瓦解死亡。比較四種重金屬在1ppm時對切割片段水螅的毒性，依序為：銅、鎳、鉛、鋅。此再生實驗的結果符合前述24hr與48hr的急毒性檢測結果。

九、重金屬混合毒性對綠水螅生存的影響

探討重金屬間的交叉毒性。結果顯示，混合兩種重金屬，即使在1ppm的低濃度下，短時間(30min)內都會造成比單一金屬處理時更高的致死率。顯示重金屬對水螅細胞的毒性有加乘的效果，獨特的是，凡有添加重金屬鉛的組別，其觸手或管狀體皆無法有效縮短，顯示鉛對水螅細胞特殊的細胞毒性，推測不同的重金屬雖有相近似的毒性反應，但實際影響的細胞種類或毒性作用機制皆有差異，使得水螅體表現出混合形式的急毒性反應。

十、綠水螅進行南崁溪、新街溪和老街河流域的水質檢測

桃園縣的工商活動繁盛，大量的家庭和工業廢水造成溪流的污染，近年來生態保育觀念抬頭(如：觀音鄉海岸珍貴的藻礁生態)，桃園縣水利局亦針對老街河流域有具體的整治措施，利用綠水螅對各流域特定採樣點的水質測試，我們發現南崁溪的水質有明顯的改善，但竹圍附近的崁下橋仍存在致死污染物；新街溪的水質略差、優養化明顯；老街溪水質則是最差，尤以下游的大園許厝港地區，河水呈現肉眼可見的異常黑紫色，以綠水螅測試後，皆造成立即性的傷亡，顯示污染嚴重，疑似與附近眾多的工廠違規排放工業廢水有關，但致死的污染物為何？仍須進一步以化學檢驗法釐清，透過我們的實地採樣測試，可知綠水螅可作為一個良好的水質監測哨兵。

柒、結論

- 一、重金屬對綠水螅的生物急毒性檢測，致死率差異為：30min(銅>鋅>鎳>鉛)、24hr(銅>鎳>鉛>鋅)、48hr(銅>鎳>鉛>鋅)，且同一重金屬處理，濃度越高，致死毒性越大，浸泡時間越長，低濃度的累積毒性越強。急毒性檢測中，水螅觸手及管狀體活動力及反射明顯變差。
- 二、10ppm 與 100ppm 的鉛處理，會造成水螅觸手的刺絲胞大量被誘發，並彈射出透明的刺絲及刺囊。
- 三、水螅偵測水中低濃度重金屬污染物的靈敏度依序為：鋅、鉛、鎳、銅。
- 四、0.1ppm 低濃度的重金屬處理會造成水螅細胞毒性，並延長水螅受電流刺激產生的退縮反射及恢復時間。
- 五、1ppm 以上濃度的重金屬處理水螅，明顯造成細胞毒性，而使水螅捕捉獵物的能力下降。
- 六、1ppm 的重金屬處理水螅，即會影響水螅的再生作用，干擾細胞的分裂、分化，甚至造成片段的瓦解死亡。
- 七、混合兩種或三種重金屬，各金屬對水螅的細胞毒性有加乘的效果，導致在 1ppm 時更高的致死率。
- 八、桃園縣流域水質污染情形為：南崁溪<新街溪<老街溪，且三者的水質，越往下游，有逐漸惡化的現象，應與污染物累積和下游工廠林立，排放廢水有關。
- 九、綠水螅，有下列優點：
 - (一)、容易繁殖、掌控標準生長趨勢
 - (二)、構造簡單、容易觀察
 - (三)、偵測低濃度的重金屬污染敏銳
 - (四)、重金屬毒性反應明顯且獨特
 - (五)、檢測重金屬快速簡便
- 十、透過此研究，我們提出綠水螅為良好的水質重金屬污染生物指標。

捌、參考資料

- 一、全華版，高級中等學校基礎生物(下)冊第六章。
- 二、全華版，高級中等學校應用生物第四章。
- 三、王正雄(1993)。二仁溪表面水及底泥十八種元素分佈關係之比較研究(一)。環境檢驗所調查研究年報(1)：61-92 頁。
- 四、趙大衛(2000)。貝類生物指標在環境變遷及汙染評估上的應用。環境教育季刊(42):67-76。
- 五、行政院環境保護署。全國環境水質監測資訊網 <http://wq.epa.gov.tw>
- 六、邱偉倫(民 98)。綠水螅體內共生藻的親緣性分析。國立清華大學生物資訊與結構生物研究所碩士論文。
- 七、洪昆源(民 100)。豐年蝦孵化裝置。科學發展月刊，2011 年 3 月，459 期，38-41 頁。
- 八、經濟部水利署。<http://www.wra.gov.tw/default.asp>

玖、未來展望

- 一、此次研究是以蒸餾水配置重金屬溶液，pH 值接近 pH7.0，然而野外的水質樣本常為偏弱酸的狀況(pH6-7)，因此，進一步研究在不同酸鹼度下，重金屬毒性對水螅的影響，更能模擬野外的水質狀況，值得深入探討。
- 二、藉由生化方法，進一步探討重金屬對共生小球藻的影響。
- 三、從細胞的層面，深入探討各類重金屬對水螅神經細胞的毒性影響。
- 四、探討水中其他重金屬或有機溶劑毒物對綠水螅的影響。

附件一

放流水標準(節錄)

中華民國100 年12 月1 日行政院環境保護署環署水字第10000103860 號令修正發布第二條條文 第一條 本標準依水污染防治法（以下簡稱本法）第七條第二項規定訂定之。

第二條 事業、污水下水道系統及建築物污水處理設施之放流水標準，其水質項目及限值如下表。但特定業別、區域另有排放標準者，依其規定。

項目	最大限值
溶解性鐵	一〇
溶解性錳	一〇
鎘	〇・〇三
鉛	一・〇
總鉻	二・〇
六價鉻	〇・五
甲基汞	不得檢出
總汞	〇・〇〇五
銅	三・〇
鋅	五・〇
銀	〇・五
鎳	一・〇
硒	〇・五
砷	〇・五
硼	一・〇
硫化物	一・〇
甲醛	三・〇

附件二

[重金屬毒性檢索表]---30min 重金屬急毒性試驗

鉛		銅		鋅		鎳					
0.1 ppm	觸手	正常	0.1 ppm	觸手	縮短三角指狀	0.1 ppm	觸手	正常	0.1 ppm	觸手	正常
	尾柄	正常		尾柄	正常		尾柄	正常		尾柄	正常
	體壁	正常		體壁	正常		體壁	正常		體壁	正常
	反射	正常		反射	正常		反射	正常		反射	正常
	存活	100%		存活	100%		存活	100%		存活	100%
0.5 ppm	觸手	少數半縮	0.5 ppm	觸手	縮短	0.5 ppm	觸手	縮短平舉狀	0.5 ppm	觸手	半縮指節狀
	尾柄	少數半縮		尾柄	縮短		尾柄	正常		尾柄	正常
	體壁	正常		體壁	細胞膨脹		體壁	正常		體壁	正常
	反射	減弱		反射	減弱		反射	減弱		反射	減弱
	存活	100%		存活	73%		存活	100%		存活	100%
1 ppm	觸手	正常	1 ppm	觸手	縮短末梢分解	1 ppm	觸手	縮短平舉狀	1 ppm	觸手	縮短指狀
	尾柄	出現結節		尾柄	縮短		尾柄	正常		尾柄	縮短
	體壁	正常		體壁	細胞膨脹		體壁	正常		體壁	細胞膨脹
	反射	消失		反射	消失		反射	減弱		反射	減弱
	存活	100%		存活	33%		存活	100%		存活	100%
5 ppm	觸手	半縮	5 ppm	觸手	半縮且脫落	5 ppm	觸手	縮短末梢分解	5 ppm	觸手	縮短末梢分解
	尾柄	結節且曲折		尾柄	縮短		尾柄	縮短		尾柄	縮短
	體壁	正常		體壁	瓦解		體壁	細胞膨脹		體壁	細胞膨脹
	反射	消失		反射	消失		反射	減弱		反射	減弱
	存活	80%		存活	0%		存活	20%		存活	60%
10 ppm	觸手	半縮	10 ppm	觸手	半縮未脫落	10 ppm	觸手	半縮且脫落	10 ppm	觸手	半縮
	尾柄	出現結節		尾柄	縮短		尾柄	縮短		尾柄	縮短
	體壁	刺絲胞射出		體壁	瓦解		體壁	細胞膨脹		體壁	細胞膨脹
	反射	消失		反射	消失		反射	消失		反射	消失
	存活	40%		存活	0%		存活	0%		存活	13%
25 ppm	觸手	縮短末梢分解	25 ppm	觸手	半縮未脫落	25 ppm	觸手	半縮且脫落	25 ppm	觸手	未明顯縮短
	尾柄	伸長異常膨大		尾柄	縮短		尾柄	縮短		尾柄	縮短
	體壁	刺絲胞射出		體壁	瓦解		體壁	瓦解		體壁	瓦解
	反射	消失		反射	消失		反射	消失		反射	消失
	存活	13%		存活	0%		存活	0%		存活	0%
50 ppm	觸手	半縮末梢分解	50 ppm	觸手	半縮未脫落	50 ppm	觸手	半縮	50 ppm	觸手	未明顯縮短
	尾柄	伸長有結節		尾柄	縮短		尾柄	縮短		尾柄	縮短
	體壁	刺絲胞射出		體壁	瓦解		體壁	膨脹瓦解		體壁	瓦解
	反射	消失		反射	消失		反射	消失		反射	消失
	存活	0%		存活	0%		存活	0%		存活	0%

【評語】 040714

1. 此作品欲以綠水螅的生理、生長及繁殖狀況，作為環境重金屬污染的生物指標，其創意具有潛在的環保應用性。
2. 建議需評估是否受其他環境污染物的影響。
3. 應用於溪流水質測試時，亦建議要實測該河川之重金屬濃度。