中華民國第 57 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高級中等學校組　動物與醫學學科

052010

別蚤了，我在這—水蚤染色實驗之探究

學校名稱：國立金門高級中學

作者：	指導老師：
高一 陳　瑢 高一 許博宇 高一 曾翔昱	蘇詠晴

關鍵詞：水蚤染色、甲醇、捉放法

摘 要

水蚤是一體型透明的實驗動物，本研究首次發想以食用色素對水蚤進行染色標記。首先，建立簡易的染色方法，水蚤染色 24 小時後，藍、紅色色素仍存留於消化道內。其次，此色素不影響其生理(心搏、存活率)，並利用水蚤被染色後利於影像追蹤之特點，自製運動行為分析裝置，發現染色後對水蚤的運動功能亦無影響。

確立安全且穩定的染色法後，設計以下實驗發展其應用性：

（一）探討甲醇對染色水蚤的生理和運動功能之影響，結果顯示甲醇處理會引起水蚤運動障礙和心搏上升。藉此研究期能應用於發展水蚤作為研究甲醇中毒之動物模式。

（二）應用染色水蚤發展生物族群估算－捉放法，本研究首次利用水蚤取代非活體材料進行操作，以增進學生對學習生物之興趣！

壹、 研究動機

在某次生物實驗課中，老師拿了一些水蚤想給我們觀察，水蚤有體色透明、且易觀察的優點，在顯微鏡底下的水蚤，整個身體的構造一覽無遺。平時水蚤大多用於餵養魚類，因為其含有豐富的蛋白質，是許多養魚愛好者的心頭好，然而，“如何將水蚤養好養滿”便是首要條件。從許多部落客分享的文章瞭解到，水蚤的飼料以綠藻粉及酵母菌為主，當我們將飼養在綠藻水中的水蚤放在顯微鏡下觀察時，看到其腸內充滿綠綠的綠藻，便興起為水蚤染上其他五顏六色的色彩、施點胭脂的念頭。因此我們想到以食用色素將水蚤染色的點子，一經測試後發現，染上色的水蚤，既能以肉眼辨識，色素也不會對其造成傷害，所以讓我們更好奇這上色的小小生物能夠做什麼有趣的實驗與應用呢？

貳、 研究目的

水蚤為高中生物實驗課程常用之動物材料，其體色透明易於觀察，且容易大量飼養，希望利用水蚤之優點設計出更多應用性的實驗內容，供高中生學習生物亦或從事專題研究時，有更多元的設計規劃。

為此，本實驗著重於以下六點：

一、 建立以食用色素進行水蚤染色標記之方法。

二、 探討水蚤染色後的生理變化(心搏、存活率)。

三、 探討水蚤染色後的運動行為表現。

四、 探討不同溫度對消化道內色素廓清之影響。

五、 應用染色水蚤探討環境毒物(甲醇)對水蚤之影響。

六、 應用染色水蚤學習族群估算方法 —捉放法之操作。

參、 研究設備及器材

一、實驗動物

水蚤（Daphnia）無脊椎動物，節肢動物門，甲殼亞綱，枝角目，水蚤科。體型短小，左右側扁，從側面觀看略似橢圓形，成熟個體體長介於 2.0-3.0 mm 間，一般壽命長 9~12 周。水蚤飼養方便，且因其透明之體色易於觀察，是高中生物實驗常用之動物材料，可藉以學習無脊椎動物的內部生理構造。水蚤頭部有兩對長有剛毛的觸角是其在水中游泳的利器，其以觸角的上下擺動在水中移動，且藉由其體附肢的擺動引起水流，能使食物隨水流進到口中濾食，此外，水蚤並沒有胃袋，食物（細菌、藻類、有機物）皆在消化管中進行消化。

水蚤有孤雌生殖與有性生殖兩種繁殖方式，並會將卵置於背上的育兒袋。其中，在環境良好的情況下水蚤會行孤雌生殖產下夏卵；當生存環境惡化時，會生出雄性水蚤，並行有性生殖產下冬卵。冬卵的環境耐受力極強，當環境條件轉良時，冬卵會孵化且皆為母水蚤，約一周後就可繼續進行孤雌生殖，利於大量培養。

此外，行政院環保署於民國 102 年公告，水蚤（Daphnia）可作為水質檢測之試驗生物，以靜水式生物毒性試驗方法檢測生物急毒性，計算 48 小時之半致死濃度（lethal concentration 50%, LC50）或急毒性單位（acute toxic unit, TUa）。適用範圍於陸域地面水體、地下水體、放流水、廢水、污水及環境用藥之生物急毒性檢測。由於這些特性，使得水蚤成為中學生進行科學研究時的常用生物。

圖 1. 水蚤型態

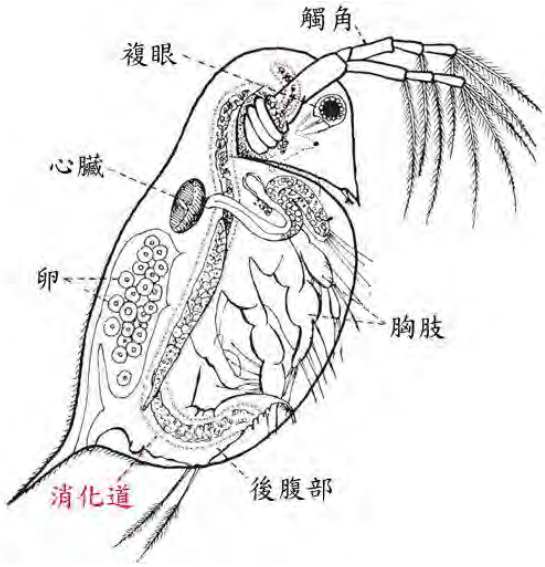


圖2. 枝角目動物構造模式圖

（圖片修改自參考文獻一）

二、實驗藥品與器材

藥品	
名稱	備註
綠藻粉	水蚤飼料，購自麥可貿易公司
食用色素	黃色 4 號、紅色 6 號、藍色 1 號、綠色(黃色 4 號+藍色 1 號)
甲醇	購自 KOGYO

其他共用器材	
名稱	備註
培養皿	直徑 9cm
燒杯	1000ml、500ml、250ml、100ml
量筒	250ml、10ml
懸滴玻片、滴管、鑷子	觀察水蚤用
自製濾網	金屬網格
自製撈網	尼龍網格
溫度計	酒精溫度計
除氯水	以 Brita 過濾之自來水
LED 燈	白光
恆溫培養箱	購自：YIH DER，型號：LE-80RD (0℃~70℃)
水族箱	90 x 150 x 100mm
複式顯微鏡	廠牌：Olympus，型號：CX21FS1
數位相機	廠牌：altek，型號：SY-730　(710 萬畫素)
數位顯微鏡	廠牌：Dino-Lite Pro，型號：AM-413T
石英比色管	12 x 12 x 45mm
筆記型電腦	廠牌：Asus
動物行為分析軟體	Smart3.0、ImageJ

圖 3. 食用色素

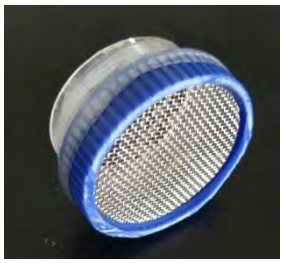


圖 4. 自製濾網

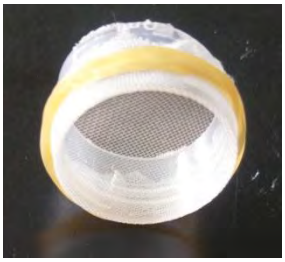


圖 5. 自製撈網

圖 6. 數位顯微鏡

肆、 研究過程與方法

一、實驗架構圖

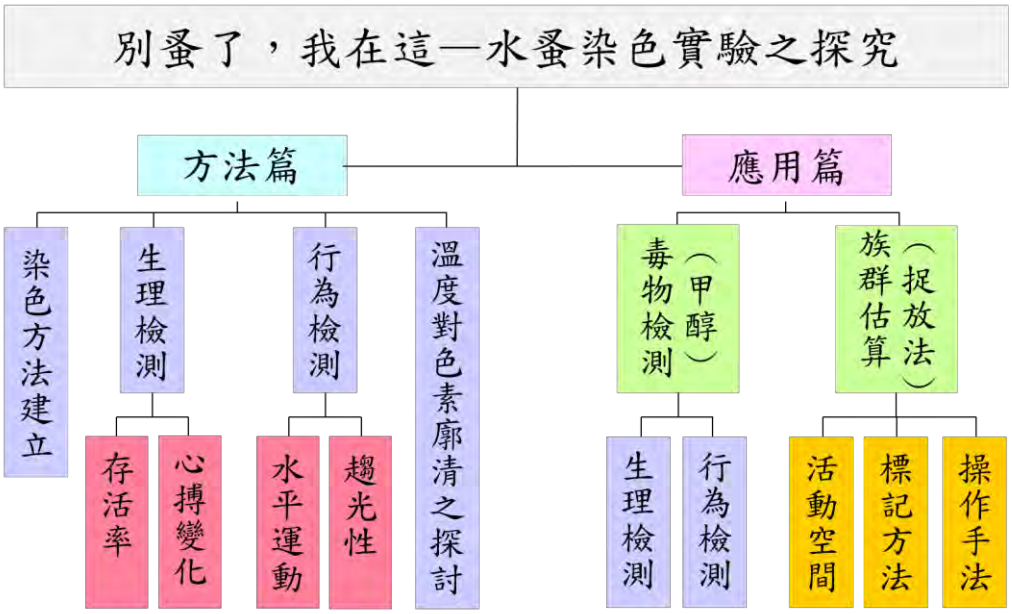


圖 7. 實驗架構圖

二、實驗方法：

實驗一：建立以食用色素進行水蚤染色標記之方法

(一) 說明：水蚤是高中生物實驗常用動物，若能利用簡便的方式將水蚤進行染色標記處理，對於水蚤的應用性將可大幅提升。

(二)實驗步驟：

1. 以滴管吸取水蚤置於培養皿內。
2. 分別滴不同顏色之色素至培養皿中，靜置五分鐘。
3. 以蒸餾水倒進培養皿內沖洗之。
4. 在顯微鏡下觀察確認其消化道內已吸附顏色。

圖 8. 滴加色素染色

圖 9. 以蒸餾水清洗

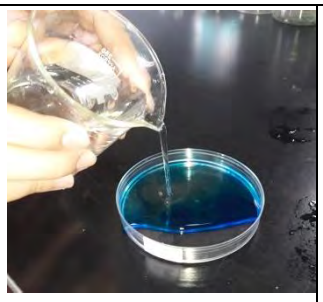


圖 10. 染色後清洗

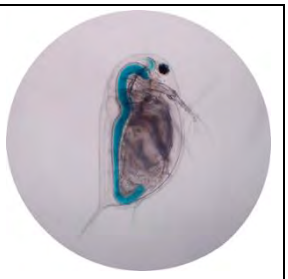


圖 11. 水蚤染色情形

實驗二：探討水蚤染色後的生理變化

(一) 說明：由於實驗一的觀察，發現食用色素會分布在水蚤的消化道內，故觀察染色水蚤的心搏數和存活率，以進一步釐清食用色素是否會對水蚤的生理造成不良影響。

(二) 實驗步驟：

1. 將水蚤置於懸滴玻片上，利用數位相機錄製水蚤的心搏影片，並計算每一隻水蚤 15 秒的心搏數（三重複，取平均)。
2. 依據實驗一的實驗流程對水蚤進行染色處理。
3. 染色完成後，記錄水蚤的存活情形，並在顯微鏡下觀察確認其消化道內已吸附色素，同時計算每一隻水蚤 15 秒的心搏數（三重複，取平均)。
4. 紀錄水蚤染色後之存活率，並分析比較水蚤染色前後心搏變化。

實驗三：探討水蚤染色後的運動行為表現

(一) 說明：實驗二的結果顯示，食用色素對於水蚤的生理現象（存活率和心搏數）並無不良反應，而食用色素是否會影響水蚤的運動情形則是本實驗的研究目的。

(二)實驗步驟：

1. 架設運動行為偵測裝置，紀錄並以軟體(Smart 3.0)分析每一隻水蚤染色前在行為槽內三分鐘的運動情形，對總移動距離(cm)以及平均速度(cm/s)進行紀錄(如圖 13)。
2. 依據實驗一的實驗流程對水蚤進行染色處理。
3. 靜待 5 分鐘後，將染色水蚤再次置入行為槽內三分鐘，對總移動距離(cm)以及平均速度(cm/s)進行紀錄。本實驗各組染色水蚤的個體數為 3 隻。

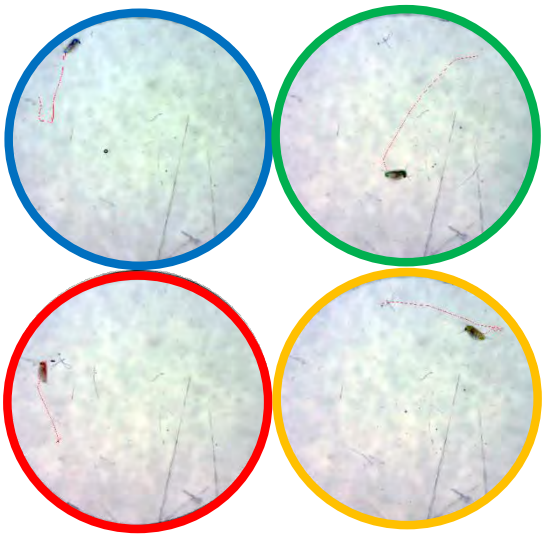


圖 12. 四色標記之水蚤活動軌跡

圖 13. 水平移動軌跡分析裝置

實驗四：探討不同溫度對消化道內色素廓清之影響

(一) 說明：水蚤是水生變溫動物，當環境溫度上升時，水蚤濾食器官的活動頻率也會受到促進。因此推估消化道內物質的移動可能會受到溫度的影響，故本實驗利用食用色素的顏色變化進行觀察，藉此瞭解不同溫度對水蚤消化道內色素廓清之影響。

(二)實驗步驟：

1. 水蚤染色（紅色）後放到顯微鏡下觀察並拍照紀錄。
2. 將水蚤分成三組，每組 4 隻，分別放入不同溫度(10℃、25℃、30℃)的恆溫箱內靜置。三小時和六小時後，將水蚤取出觀察後拍照並記錄其消化道內紅色存在的情形。
3. 最後以影像分析軟體(ImageJ)，進行各組水蚤消化道內顏色變化之分析(如圖 14)。

0 小時	3 小時	6 小時

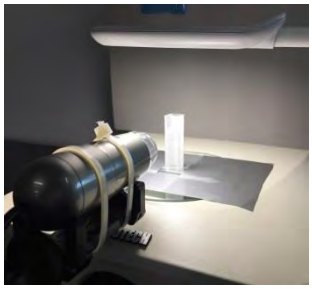
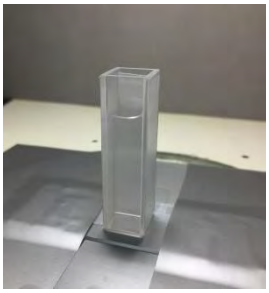
圖 14. 25℃水蚤消化道內殘留顏色隨時間變化的現象

實驗五：應用染色水蚤探討環境毒物(甲醇)對水蚤之影響

(一) 說明：不肖商人利用工業用甲醇添加於酒品中是造成消費者甲醇中毒的主要原因。本實驗運用染色水蚤易於行為觀察的特性，發展水蚤作為研究甲醇中毒的動物模式。

(二) 實驗五—1 步驟：甲醇對水蚤趨光性行為的影響

1. 將水蚤隨機分成三組：對照組(除氯水)、0.5%甲醇、1.0%甲醇，各組為 4 隻水蚤。各組水蚤在特定溶液中靜置 6 小時後，以滴管將水蚤放入趨光行為槽中。
2. 架設動物行為偵測設備(如圖 15)，趨光行為槽是一個長寬高為 1.2 x 1.2 x 4.5 公分的透明石英比色管，水高維持在 3.0 公分高度(如圖 16) 。
3. 利用滴管小心將水蚤移入至比色管中，靜置 1 分鐘，以降低進入比色管前的緊張狀態。本次實驗以觀察水蚤趨光性為目的，故先關燈紀錄 1 分鐘後，再亮燈紀錄 1 分鐘。
4. 行為實驗操作時，比色管側邊的攝影機會進行錄影。隨後，利用 ImageJ 的 MtrackJ 功能對所錄製的影片進行水蚤移動軌跡的量測。
5. 實驗結果以水蚤在比色管上層所花費的時間以及總移動距離表示。

 圖 15. 架設儀器	 圖 16. 石英比色管 (趨光行為槽)	圖 17. 水蚤在行為槽內亮燈前(黑色)後(黃色)的運動軌跡圖

(三) 實驗五—2 步驟：甲醇對水蚤水平移動的影響

1. 將水蚤隨機分成三組：對照組(除氯水)、0.5%甲醇、1.0%甲醇，各組為 4 隻水蚤。
2. 各組水蚤在特定溶液中靜置 6 小時後，以滴管將水蚤放入水平行為槽中，並以軟體(Smart 3.0)記錄每一隻水蚤一分鐘內的水平運動情形，結果以總移動距離(cm)表示。

(四) 實驗五—3 步驟：甲醇對水蚤生理的影響

1. 將水蚤隨機分成三組：對照組(除氯水)、0.5%甲醇、1.0%甲醇，各組為 4 隻水蚤。
2. 各組水蚤在特定溶液中靜置 6 小時後，根據實驗二之方法記錄其心搏數及存活率，並在 24 小時後記錄其存活率。

實驗六：應用染色水蚤學習生態調查方法 —捉放法之操作

(一) 說明：標記再捕捉法，又稱捉放法，是一種估算生物族群個體數的方式。目前在國中實驗，多用豆子、圍棋等來進行捉放法實驗。本實驗以活體動物取代非生物來模擬動物的族群估算，期以更能展現生態調查之現況。

$$\frac{\text{標記總數}}{\text{群體總數}} = \frac{\text{取樣中的標記數}}{\text{取樣總數}}$$

(二) 實驗步驟：

1. 以自製濾網過濾體型相近且適用之水蚤。
2. 同學 1 將已計數好數量的水蚤數放入燒杯中。
3. 其餘兩位同學以目測方式估計燒杯內水蚤隻數並決定標記數目(投入標記數) 。
4. 將欲標記的水蚤從燒杯中取出，染色後放回燒杯內進行捉放法。
5. 同學 2 以自製撈網在燒杯內輕輕地擾動燒杯內的水體。
6. 將撈網從水中拿出，分別計算網中水蚤總數以及標記水蚤數並記錄(重複 5 次)。

(三) 變因設計:

實驗六—1：以空間、標記數、個體數來探究不同變因對捉放法之影響

1. 空間大小：在 1000ml 的燒杯中裝入 500ml 與 1000ml 的水
2. 標記數：標記數為目測預估值的 1/10 或 1/5
3. 族群個體總數：100 隻、180 隻

實驗六—2：探討空間和標記數方法改良法對捉放法之影響

1. 空間大小：在 1000ml 的燒杯中裝入 500ml 與 1000ml 的水
2. 輕輕擾動水體再撈起水蚤，重複 3 次後取每次抓取平均值再乘以 4 倍作為標記數
3. 族群個體總數：220 隻

實驗六—3：以有無均勻擾動為變因來探究此實驗是否會因人為操作手法差異影響

1. 空間-在 1000ml 的燒杯中裝入 500ml 的水
2. 輕輕地均勻擾動水體再撈起水蚤，重複 3 次後取平均值再乘以 4 倍作為標記數
3. 無均勻擾動水體直接撈起水蚤，重複 3 次後取平均值再乘以 4 倍作為標記數
4. 族群個體總數：360 隻

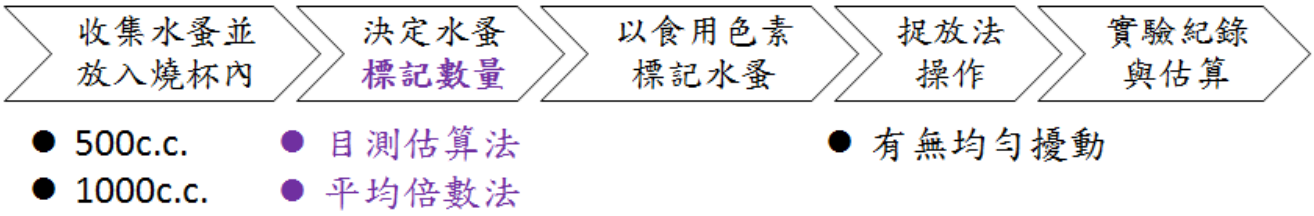
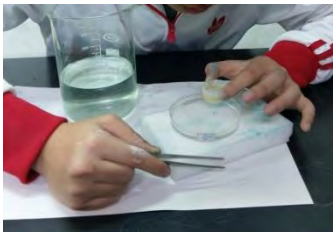
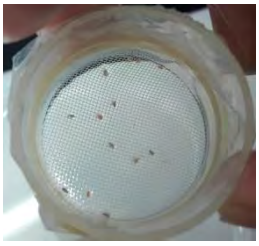


圖 18. 實驗設計流程圖

			
圖 19. 計數水蚤	圖 20. 捉放法操作	圖 21. 計數捕捉個數	圖 22. 撈網上的水蚤

三、統計分析：

本研究利用 GraphPad Prism 軟體進行統計分析。根據不同的實驗規劃，採用單因子、雙因子變異數分析，而多重比較則以 Tukey’s 方法。

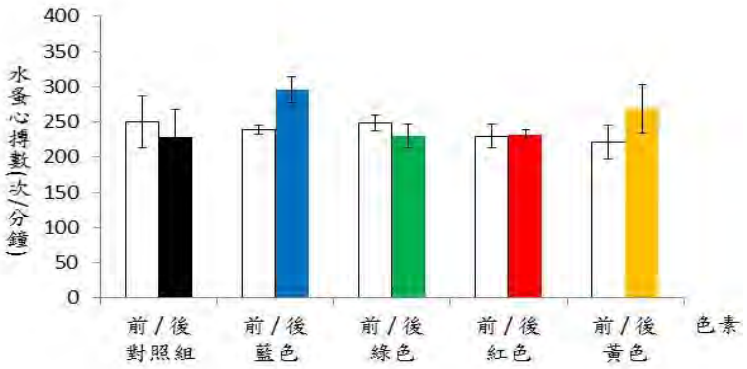
伍、 研究結果

實驗一：建立以食用色素進行水蚤染色標記之方法

圖 23. 不同顏色的染色水蚤其消化道內隨時間的變化圖

➲ 結果分析：由圖 23 可知，水蚤浸泡在色素中 5 分鐘後，四種顏色食用色素皆分布在其消化道內。經 6 小時後，黃色水蚤消化道內的顏色明顯全數褪去。24 小時後，消化道內顏色殘留效果：藍>綠>紅>黃，且各組水蚤存活率均為 100%。

實驗二：探討水蚤染色前的生理(心搏)變化



➲ 結果分析：

由圖 24 可知，除藍色處理外，其餘顏色染色前後水蚤心搏數差異不大，且各顏色表現相近。

圖 24. 水蚤染色前後心搏變化圖

實驗三：探討水蚤染色後的運動行為表現

A.　　B.

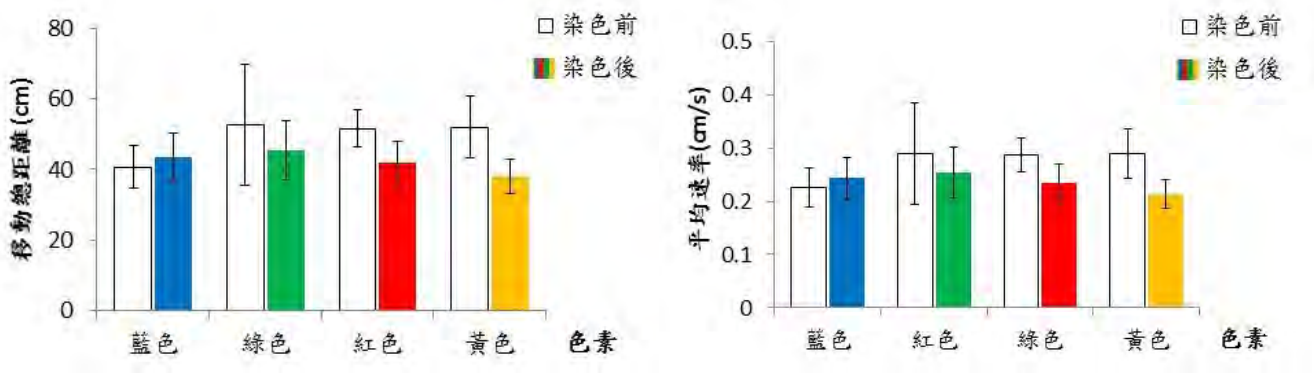


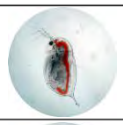
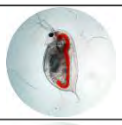
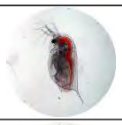
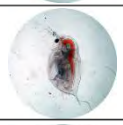
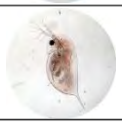
圖 25. 水蚤在水平移動的表現。A. 移動總距離(cm)；B.移動平均速率(cm/s)

➲ 結果分析：由圖可知，水蚤在不同色素染色前後其水平移動的總距離和速度無顯著差異。各組水蚤的總移動距離約為 40-50cm 之間，而平均速率則為 0.2-0.3cm/s 之間。

實驗四：探討不同溫度對消化道內色素廓清之影響

A.

B.

	10℃	25℃	30℃
染色後 **0** 小時			
染色後 **3** 小時			
染色後 **6** 小時			

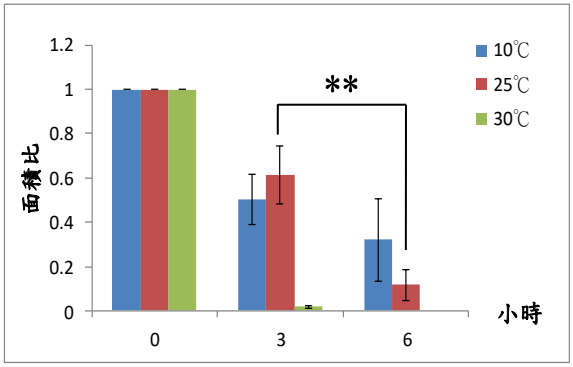


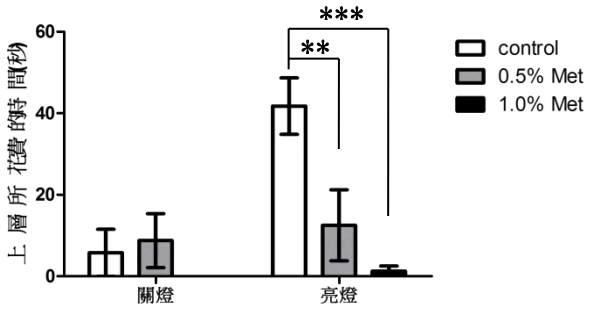
圖 26. 水蚤消化道內紅色色素隨不同環境溫度（10℃、25℃、30℃）的變化情形。A.型態圖；B.分析量化圖，0 小時消化道內紅色面積為基準值，故 0 小時面積比為 1，隨後 3、6 小時的面積比則小於 1。**p< 0.01

➲ 結果分析：由圖 26 可知，溫度對水蚤消化道內色素廓清有所影響。紅色色素會隨著時間的增加而逐漸褪去，此外，溫度的上升也會促進紅色的褪去。但，水溫在 30℃的條件下，水蚤在六小時的時候出現死亡現象。

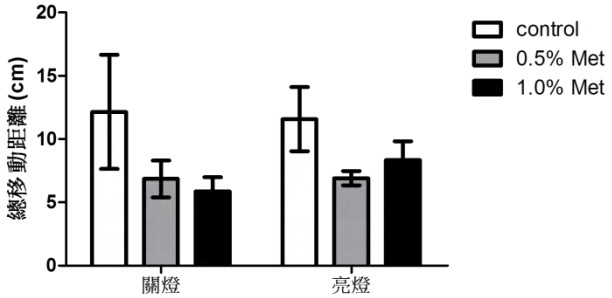
實驗五： 應用染色水蚤探討環境毒物對運動行為之影響

一、實驗五—1：探討甲醇對水蚤趨光性行為的影響

A.



B.



C.

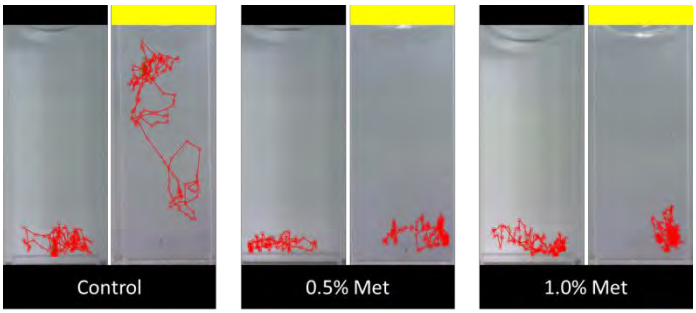
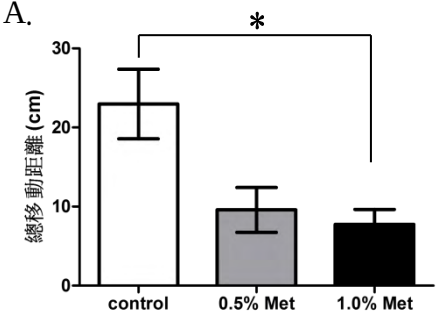


圖 27. 甲醇對水蚤趨光性行為之影響。A.水蚤在石英管上層所花費時間(s)；B.水蚤在石英管內的總移動距離(cm)；C. 趨光行為軌跡圖。**p< 0.01 ***p<0.001

二、實驗五—2：探討甲醇對水蚤水平移動的影響

A.



B.

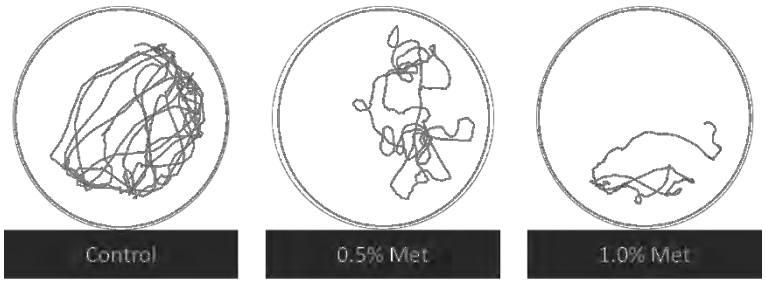


圖 28. 甲醇對水蚤水平運動之影響。A.水蚤在行為槽總移動距離(cm)；B. 水平移動軌跡圖。*p< 0.05

➲ 結果分析：由圖 27A 可知，對照組在裝置開燈後於石英管上半部所待的時間增加，顯示水蚤具有趨光性，而甲醇處理組則沒有差異。由圖 27B 各組在石英管內的總移動距離結果，顯示三組在開燈前後活動力沒有顯著差異，推知光並不會影響水蚤的移動距離，而是使水蚤在上下層分布的時間不同。

由圖 28 結果得知，水蚤經 1%甲醇處理後其水平運動表現和對照組相比顯著下降。

三、實驗五—3 步驟：探討甲醇對水蚤生理的影響

A.

	對照組	0.5% 甲醇	1% 甲醇
0小時	100%	100%	100%
6小時後	100%	100%	100%
24小時後	100%	75%	50%

B

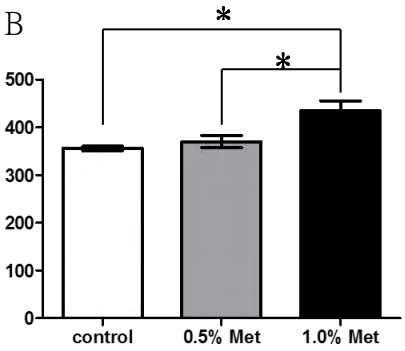


圖 29. 甲醇對水蚤生理之影響。表 A. 存活率；圖 B.心搏數（次／分鐘）。*p< 0.05

➲ 結果分析：由圖 29 可知，以甲醇處理水蚤，在 6 小時各組存活情形不受影響，但至 24 小時可見隨甲醇濃度增加，水蚤的死亡率也隨著增加。且 1%甲醇處理組水蚤的心搏次數顯著快於其他兩組。

實驗六：應用染色水蚤學習生態調查方法 —捉放法之操作

一、實驗六—1：以空間、標記數、個體數來探究不同變因對捉放法之影響

(一) 當族群總個體數 100 隻時：

表1

空間 500cc		
總個體數x(預估100)		
1/10 標記數(10隻)		
撈起總數	標記數	預估值
4	0	0
8	2	40
5	0	0
4	0	0
4	1	40
估計族群數		40

表2

空間500cc		
總個體數x(預估100)		
1/5標記數(20隻)		
撈起總數	標記數	預估值
5	1	100
7	2	70
5	0	0
7	2	70
5	1	100
估計族群數		85

表3

空間1000ml		
總個體數x(預估100)		
標記數1/10(10隻)		
撈起總數	標記數	預估值
1	0	0
0	0	0
1	0	0
2	0	0
1	0	0
估計族群數		0

表4

空間1000ml		
總個體數x(預估100)		
總標記1/5(20隻)		
撈起總數	標記數	預估
2	1	40
1	0	0
1	0	0
3	0	0
2	1	40
估計族群數		40

(二) 當族群總個體數 180 隻時：

表5

空間500ml		
總個體數y(預估200)		
1/10標記數(20隻)		
撈起總數	標記數	預估值
12	2	120
13	2	120
15	2	150
10	1	100
9	1	180
估計族群數		134

表6

空間500ml		
總個體數y(預估200)		
總標記數1/5(40隻)		
撈起總數	標記數	預估值
15	3	200
12	2	240
13	3	173
12	2	240
11	2	220
估計族群數		215

表7

空間1000ml		
總個體數y(預估200)		
總標記1/10(20隻)		
撈起總數	標記數	預估值
7	0	0
7	1	140
8	1	160
8	1	160
7	0	0
估計族群數		153

表8

空間1000ml		
總個體數y(預估200)		
總標記數1/5(40隻)		
撈起總數	標記數	預估值
6	1	240
3	0	0
6	2	120
5	2	100
4	1	160
估計族群數		155

➲ 結果分析：由表 1 至表 4 可知，由於個體數過少，導致多次撈起水蚤之標記數皆呈現 0 的狀態；表 5 至表 8 增加個體數，發現情形獲得改善。然而，在表 7 與表 8 中，依舊有出現標記數為 0 的情況。在探討表 5 至表 6 的過程，以表 6 的數值較為準確，而我們發現，表 6 中每一次撈起總數的總平均數約為標記數的 1/4 倍。接下來的實驗六—2，我們將以每 3 次撈起總數總平均數的 4 倍作為標記數。

二、實驗六—2 改良實驗：探究空間對捉放法之影響

(一) 當族群總個體數 220 隻時：

表9

空間500cc		
標記數4x	84	
撈起總數	標記數	預估值
12	4	174
14	5	163
11	4	160
12	4	174
10	3	193
估計族群數		173

表10

空間1000cc		
標記數	84	
撈起總數	標記數	預估值
6	2	174
7	2	203
5	1	290
7	2	203
6	2	174
估計族群數		209

➲ 結果分析：由表 9、10 可知，空間 500ml 或 1000ml 對於族群個數估算並無顯著差異，但在空間 500ml 條件下，結果較為一致和穩定。

三、實驗六—3：以有無均勻擾動為變因來探究此實驗是否受不同人操作誤差之影響

(一) 當族群總個體數 360 隻時：

表11

有均勻擾動		
空間500cc		
標記數4x	100	
撈起總數	標記數	預估值
18	5	360
25	8	312
26	8	325
18	6	300
18	5	360
估計族群數		331

表12

無擾動		
空間500cc		
標記數4x	100	
撈起總數	標記數	預估值
20	7	285
26	8	325
20	6	400
21	7	300
30	10	300
估計族群數		322

➲ 結果分析：由表 11、12 可知，有無均勻擾動水體對於捉放法並無顯著影響。

陸、討論

一、 水蚤是一種體色透明易於內臟器官觀察的動物，本研究利用此項優勢，嘗試利用食用色素將水蚤進行染色標記。實驗結果顯示，將水蚤浸泡於食用色素中五分鐘，能穩定標記水蚤的消化道。比較不同食用色素對於水蚤染色的持久度，我們發現四色當中以藍色、紅色、以及綠色最佳，因此，我們選定藍色和紅色作為後續水蚤染色應用性實驗的用色。此外，水蚤染色 24 小時後，色素褪去的部位都是集中在消化道中段至末端之間，顯示色素排除體外的過程是受到後腹部擺動所引起。

二、 在探討四種食用色素對水蚤的影響時，首先針對其生理方面，如：存活率、心搏，由實驗二結果顯示染色並不會引起水蚤的死亡，另外，實驗三觀察水蚤染色前後水平運動的移動距離和速率沒有太大的差異，可知染色並不會對其運動功能造成傷害。由實驗二、三所提供的各項數據，皆證實了水蚤的染色處理是安全且可靠的研究方法，更為後續的應用性實驗奠定了基礎。

三、 文獻指出，水蚤的濾食速率與水溫是呈現正相關的變化，因此，推論不同水溫(10℃、25℃、30℃)對於染色水蚤消化道內紅色色素廓清的現象會有影響。實驗四結果顯示，染色水蚤在水溫 30℃飼養 3 小時後，其消化道內紅色殘留量較 10℃和 25℃明顯變少。推測在 30℃水溫中，水蚤的活動量、攝食量以及消化道蠕動速率等可能也會隨之增加，使得色素排出消化道的情況明顯上升。反之，當水溫 10℃時，水蚤的活動力降低，使其消化道內紅色在 6 小時後雖有下降，但與 3 小時相比仍無顯著差異。此外，實驗過程發現水蚤在 30℃環境下處理六小時個體均已死亡，推測此情形是由於水蚤適合生存的環境是 25℃～28℃，因此若水蚤未經過 30℃環境馴養，並不適合讓水蚤在 30℃環境中進行超過 3 小時的實驗操作。

四、 水蚤進行標記後，我們設計兩個方向的實驗欲加以推廣其**應用性**：

水蚤因個體透明可用於器官觀察實驗外，也常用於環境水體中毒物檢測或毒性分析，如重金屬和有機溶液等。一般操作時是將水蚤培養於待測水體 24 或 48 小時後，從觀察水蚤的個體死亡情形，來判斷水質的優劣或物質的毒性。而本研究則是希望設計更多的觀察變項來探討水蚤於水溶性毒物中早期的生理及運動表現，期待能應用於發展水蚤作為研究甲醇中毒的動物模式。

（一）應用染色水蚤探討甲醇對水蚤之影響：

本研究選定甲醇作為此次實驗的水溶性毒物，是因家鄉重要經濟命脈—製酒產業，近年來屢傳假酒事件，許多不肖業者將甲醇替代高粱酒來混合使用以降低成本，造成許多民眾誤飲甲醇，引發人體產生中毒的現象，甲醇中毒的急性症狀包括心跳加速、腹痛、暈眩，和運動協調功能障礙，甚至會造成失明、昏厥、死亡等嚴重後果。因此我們設計了以下幾項實驗方式來探討甲醇是否也會對水蚤產生類似人體的作用與傷害。

經文獻探討，甲醇在進入人體會出現急性甲醇中毒症狀，症狀主要有三點：(1)中樞神經之抑制。(2)嚴重的代謝性酸中毒。(3)視神經變化。其中，代謝性酸中毒會引起心率加快，從實驗五-3 中我們也發現隨著甲醇處理濃度的增加，浸泡於 1%甲醇中的水蚤在於 6 小時水蚤的心搏有明顯上升，且在 24 小時死亡率達 50%。此水蚤受甲醇影響的生理表現(心搏、死亡率)和甲醇對人體的影響相符合。

誤飲甲醇後造成失明是最廣為人知的傷害，因此本研究發想最主要是想探究甲醇是否也會影響水蚤的視覺功能。實驗五-1，我們利用水蚤已知的趨光性行為，設計一項裝置以探討此現象。從實驗結果圖 27A 顯示：對照組水蚤有明顯的趨光性，可知此實驗裝置之可行。此外，實驗結果顯示對照組和 0.5%及 1%甲醇處理組的水蚤在未亮燈前均多待在石英管的下半部，而亮燈後對照組因受光吸引待在上半部的時間有明顯增加，但泡甲醇的水蚤則無，可知甲醇處理後會抑制水蚤的趨光性。在實驗過程中，我們觀察到甲醇處理組的水蚤在運動裝置內的行為表現會因開燈而個體豎立起來，且有不斷轉圈的現象，這與未亮燈前的運動型態有明顯的差異，懷疑甲醇可能影響其肌肉協調性。因而思考甲醇處理後對水蚤趨光性的抑制是否因運動功能異常所致？因此實驗結果圖 27B 和圖 28，我們分別針對水蚤在不同處理後其垂直和水平移動的總距離表現，來探討甲醇對水蚤運動功能的影響，從結果圖 27B 發現，經甲醇處理後，實驗組水蚤在開燈前後其總移動距離表現並無顯著差異，但相對於對照組他們的移動距離有較低的趨勢，為了加以驗證，進而發想了實驗五-2。在實驗五-2 中，我們將水蚤放入行為槽中，因行為槽的水平活動空間較石英管大，更能看出對照組和實驗組的運動差異。圖 28 結果顯示，隨著甲醇濃度的增加，水蚤運動的總距離明顯下降，因此，甲醇確實會引起水蚤的運動障礙。我們從實驗五-1 與五-2 的結果中雖可以確認甲醇對水蚤運動功能的影響，但仍無法確認甲醇對其視覺是否會有影響？

關於甲醇對水蚤視覺功能上的探討，雖從本次實驗結果無法獲得證實，但我們發現將泡過甲醇的水蚤放置於複式顯微鏡下觀察時，可以明顯看出其複眼轉動頻率較對照組少，推測很可能是因為甲醇影響其複眼周邊控制轉動肌肉的功能，進而會對水蚤視覺產生不良反應，這可能類似於人類甲醇中毒後會出現視覺模糊的現象。

甲醇經人體腸胃道的吸收後進入到血液循環中，會被肝臟中的酒精去氫酶(alcoholo dehydrogenase)代謝為甲醛，毒性更高的甲醛會造成人體視覺細胞的酸化以及死亡，引起失明的症狀發生。雖然經前人研究得知，水蚤細胞內擁有與人體同樣的酒精去氫酶，但甲醇是否對水蚤視覺造成如人體一樣嚴重的失明傷害還需要再更多的實驗加以驗證。

(二) 應用染色水蚤學習生態調查方法 —捉放法之操作：

過去在學習捉放法估算族群個體數時，總是使用豆子或是圍棋等非活體生物進行教學，對學生而言總是少了一些真實感，也不免對捉放法的應用價值抱著些懷疑，因此我們希望藉由水蚤能夠標記的特點，來進行活體捉放法的操作，使我們能夠更真切感受動物族群移動群聚等特性，根據實驗結果，我們提出以下幾點以水蚤進行捉放法實驗時之注意事項：

1. 以自製網目大小固定之濾網及撈網，進行實驗水蚤個體大小一致性之篩選，如此可避免水蚤在實驗進行過程中發生孤雌生殖，干擾實驗操作及成熟個體族群數估算。因水蚤的孤雌生殖，瞬間增加個體數的方式，確實會讓人質疑以捉放法估算出該族群個體總數之準確性，但這就是動物有趣的地方，他就是動態的變化，並非一成不變的理想值，因此我們仍認為以水蚤進行捉放法實驗仍有其價值，使後人在進行此實驗後討論誤差時，能夠體驗到族群的變化與波動。

2. 以水蚤進行捉放法實驗之條件建議：

(1) 操作環境建立：

以圓形燒杯作為水蚤總族群放置裝置。因在飼養過程中發現：以方形魚缸飼養水蚤時，其大多都聚集在四個角落(可能因角落聚光，而水蚤有趨光性之故)，因此使用圓形燒杯可避免此情形，使族群可以隨機分布，利用捉放法進行。

(2) 實驗總族群數條件建立：

水蚤在密度過低會因捕捉不到個體，而無法估算族群數量。為了避免捕捉不到水蚤，或是撈出的水蚤都沒有標記，導致實驗結果的族群量是 0，無法估計，所以水蚤的總個體數需大約 200 隻。

(3) 標記條件建立：

根據我們實驗六-1 發現，當標記數量約是每次撈出水蚤數的 3 點多倍時，實驗結果較為理想，因此在實驗六-2 時進行改良將標記數量設定為每次撈出數量的 4 倍，實驗結果確實較為穩定一致，故建議以此法來訂定標記個體數。

(4) 在我們以擾動水體的方式讓水蚤均勻分布後，能夠較準確的預估總數，但由於不同人為手法的操作可能會對捉放法結果造成影響，所以我們最後一個實驗測試在不均勻擾動的狀態下直接捕撈，但條件是每次撈出來的數量必須大於 10 隻，實驗結果才會較準確。

綜合上述的條件歸納，我們建立了一套穩定以水蚤進行捉放法實驗的條件，利用其簡單、便利、容易操作的特點進一步推廣到校園中，能讓更多人體會以動物進行族群估算的難得經驗，增加大家學習生物的樂趣與興趣！

柒、 結論

一、 以食用色素對水蚤進行染色是可行且安全的標記方法，因染色不會對水蚤造成生理及其運動功能的傷害。其中，染色時間至少要五分鐘以上，又以藍、綠、紅色的色素褪色速度比較慢。

二、 溫度上升會促進水蚤消化道內紅色色素廓清的現象。

三、 0.5%以及 1.0%甲醇會引起水蚤的運動障礙，其中 1.0%甲醇同時還會造成心搏數上升。

四、 建立以染色水蚤進行捉放法實驗之條件：

(1) 操作環境：以圓形燒杯作為水蚤總族群放置裝置。

(2) 標記條件：建議以每次捕撈水蚤的數量乘以 4 倍，為較適合的標記數量。

(3) 操作手法：在沒有均勻擾動的狀態下一樣可以進行實驗，但前提是每次捕撈出水蚤的數量要大於 10 隻。

捌、 參考資料及其他

一、Dr. Carl Prophet. (1977) Freshwater zooplankton. *THE KANSAS SCHOOL NATURALIST,* 23(4),3-15.

二、Burns CW. (1969) Relation between filtering rate, temperature, and body size in four species of Daphnia. *Limnology and Oceanography*, 14, 693－700.

三、李佳螢、張碩珍 (2009)。蚤尋活水。2009 年臺灣國際科學展覽會優勝作品專輯。

四、何建勳、盧璟毅 (2008)。千金難買蚤知道。中華民國第 51 屆中小學科學展覽會作品說明書。

五、陳柏蓉、徐瑛鴻、何思賢、邱柏璋 (2005)。多刺裸腹蚤之研究。中華民國第 48 屆中小學科學展覽會作品說明書。

六、洪健耀、陳鈺祥、魏忠毅、姚毅前 (2008)。蚤生貴子-水蚤飼養環境的初步探討。台南縣立大灣高中 97 學年科展。

七、陳又安、陳軒翎 (2014)。水中舞者－水蚤。全國高級中等學校小論文第 1031115 梯次生物類。

八、生物急毒性檢測方法－水蚤靜水式法。中華民國 102 年 8 月 13 日環署檢字第 1020069337 號公告。

九、水蚤-維基百科，自由的百科全書。2016 年 11 月 15 日。取自：https://zh.wikipedia.org/wiki/水蚤

十、水蚤介紹@ 鬥魚。隨意窩 Xuite 日誌。2016 年 11 月 15 日，取自：http://blog.xuite.net/chrys.cc/betta/27808537-水蚤介紹

十一、假酒中的甲醇中毒。綠十字健康網。2017 年 4 月 20 日，取自：http://www.greencross.org.tw/toxin/methanol.htm

【評語】052010

本研究探討以藍、紅色色素對水蚤進行染色標記，方便之後對其的生理與運動的觀察研究，並用甲醇分析對染色水蚤之生理及運動之影響，結果顯示甲醇引起水蚤運動障礙和心搏上升，並應用染色水蚤發展生物族群估算-捉放法，本研究之方法新穎。

創作動機由養殖在綠藻中的水蚤而來，觸類旁通具有創意、接著調查觀測動物行為、經毒性物質甲醇處理後的反應等。作品架構完整，實驗設計符合邏輯具有層次，系統材料簡介良好，背景知識文獻蒐集完善，觀察細心，統計方法符合科學。結論描述水蚤在 1% 甲醇的中毒現象有其意義，未來或許可應用當作水汙染的生物標誌。建議作者們可對水蚤分別處理”乙醇”、”甲醛”、”乙醛”實驗組等，可進一步廓清甲醇對水蚤毒性之機制，讓作品更加完整。

作品海報

壹、研究動機

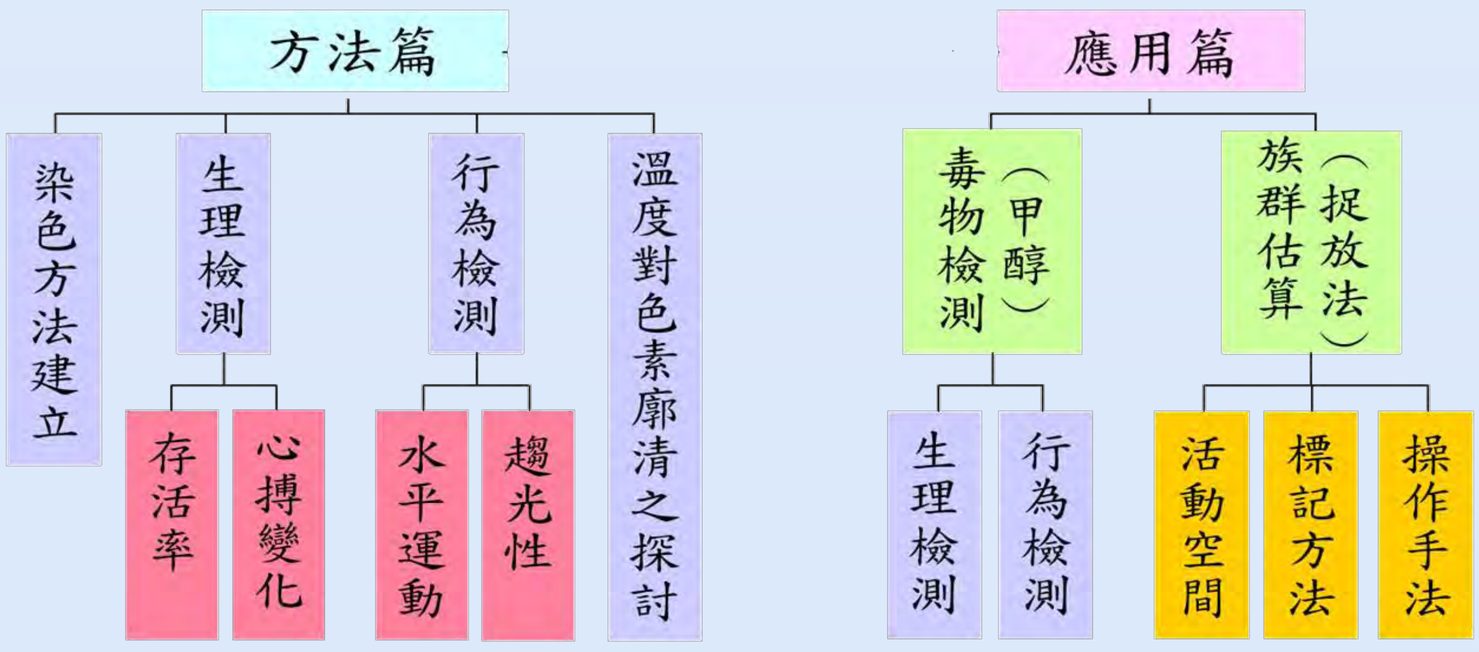
某次生物實驗課中，看到在顯微鏡底下的水蚤腸內充滿綠藻，便想以食用色素將水蚤染色，經測試後發現，染上色的水蚤，既能以肉眼辨識，色素也不會對其造成傷害，所以讓我們更好奇這上色的小小生物能夠做什麼有趣的實驗與應用呢？

貳、研究材料

水蚤

食用色素

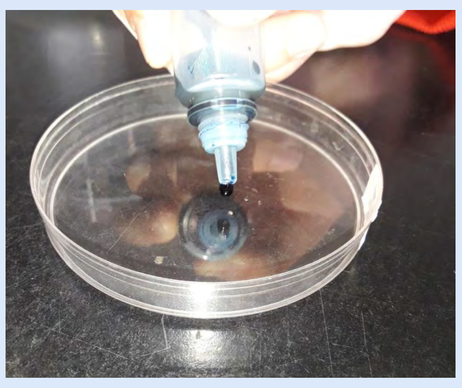
參、研究架構圖



肆、實驗方法與結果

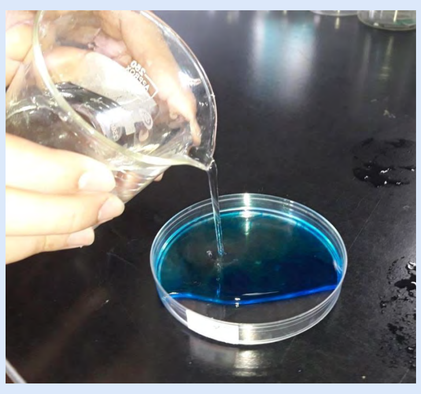
實驗一、二：建立以食用色素對水蚤染色之方法並探討染色後的生理變化

(一)建立水蚤染色方法

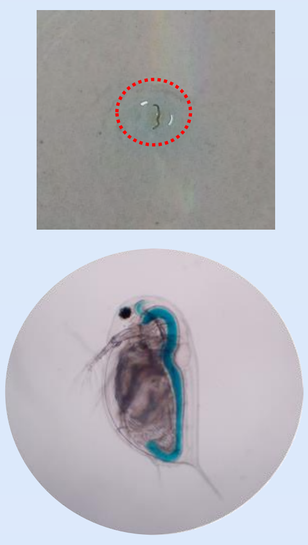


滴加色素染色

5分鐘 →



以蒸餾水清洗 →



肉眼觀察

顯微鏡下確認

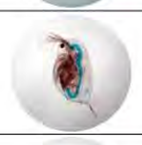
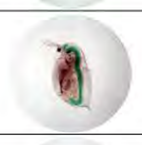
→ 測量並記錄

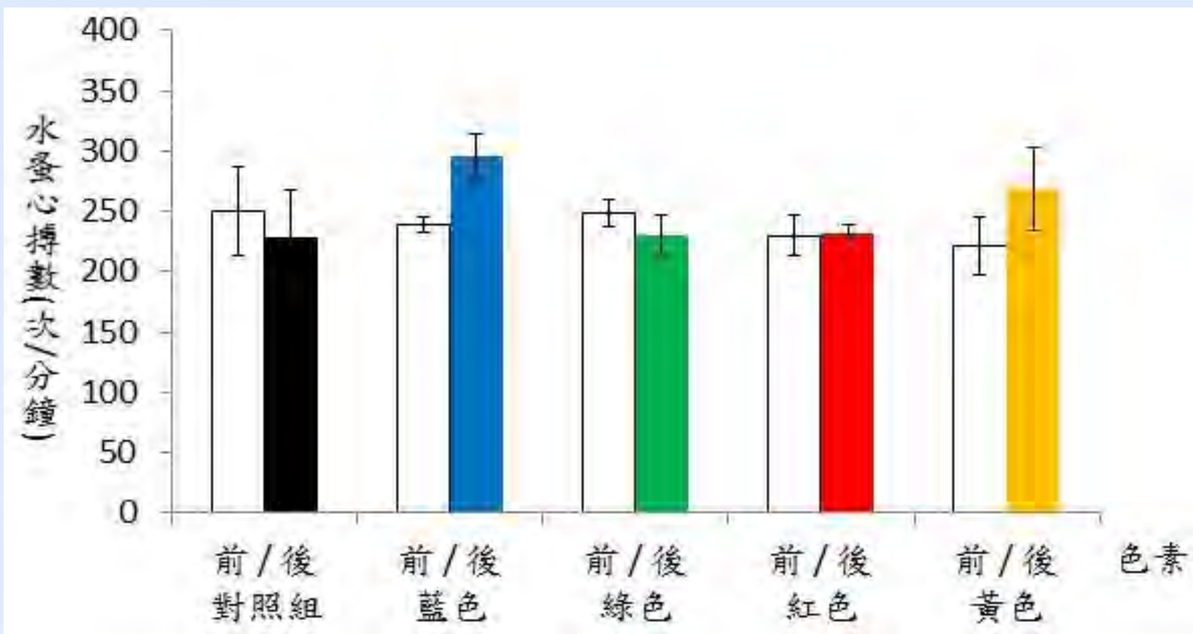
染色前後**存活率**

及染色後**心搏數**

水蚤染色情形

(二)實驗結果

	染藍色食用色素	染綠色食用色素	染紅色食用色素	染黃色食用色素
染色前				
染色後 5分鐘				
染色後 6小時				
染色後 24小時				

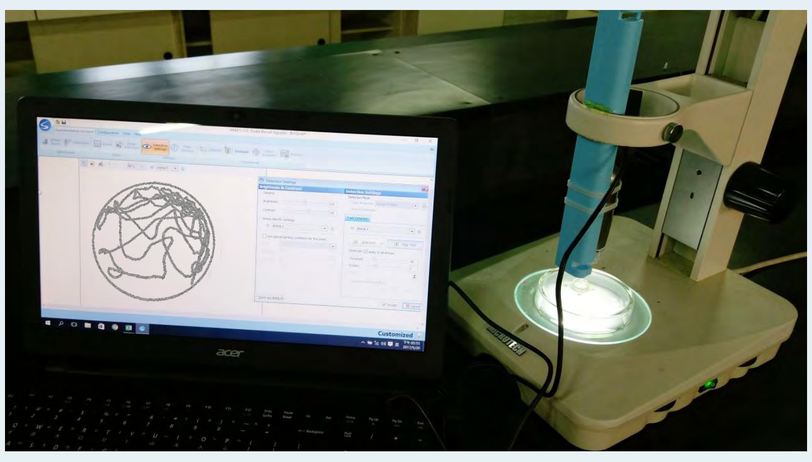


➲結果分析：水蚤浸泡在色素5分鐘後，四種色素皆分布在消化道內。6小時後，黃色水蚤顏色明顯褪去。24小時後，消化道內顏色殘留效果：藍>綠>紅>黃，且**水蚤全數存活**。染色前後除藍色外，其餘顏色水蚤心搏數差異不大，且各顏色表現相近。

實驗三:探討水蚤染色後的運動行為表現

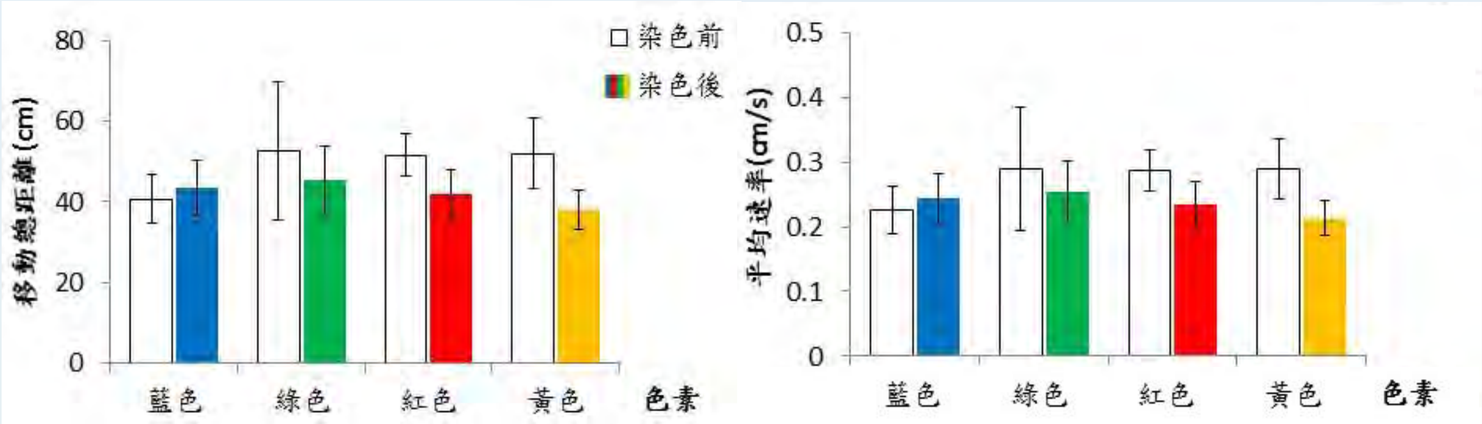
(一)實驗方法與設備

以實驗一方法進行四種色素染色後置於行為裝置，錄影記錄與分析



水平移動軌跡分析裝置

(二)實驗結果



➲結果分析：

水蚤在不同色素染色前後其水平移動的總距離和速度無顯著差異。推知染色並不會對其運動功能造成傷害。

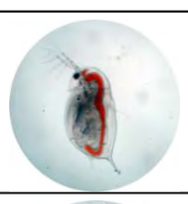
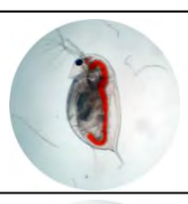
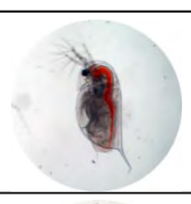
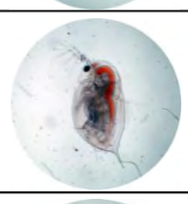
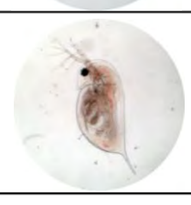
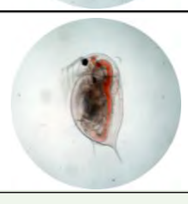
實驗四:探討不同溫度對消化道內色素廓清之影響

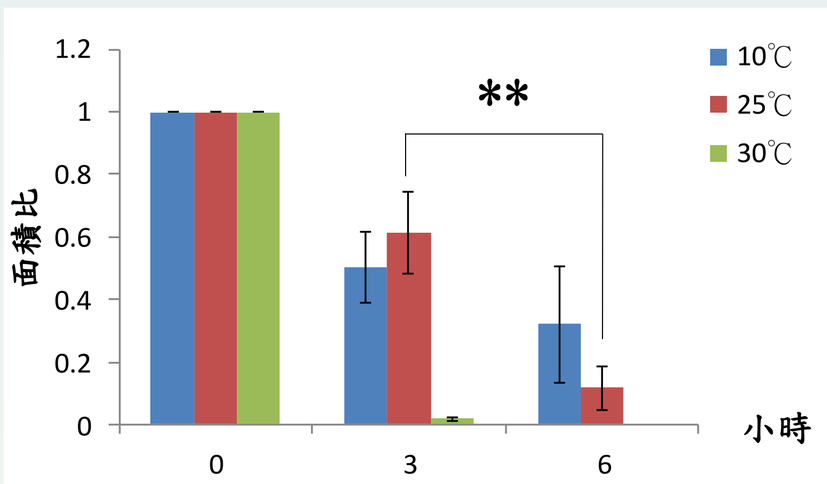
(一)實驗方法與設備

以實驗一方法染色後置於恆溫箱，定時拍照記錄與分析

恆溫箱置放情形

(二)實驗結果

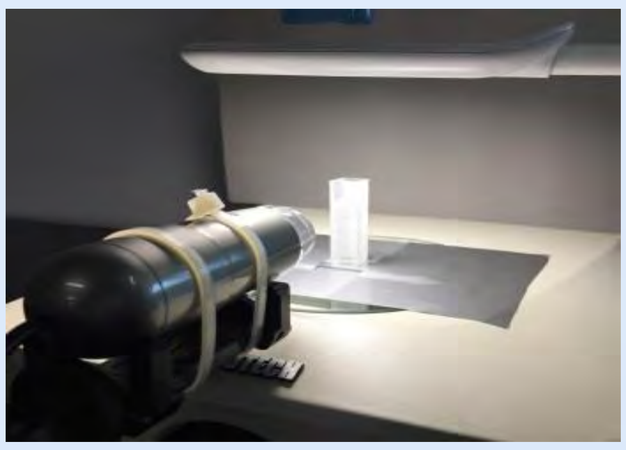
	10℃	25℃	30℃
染色後 0 小時			
染色後 3 小時			
染色後 6 小時			



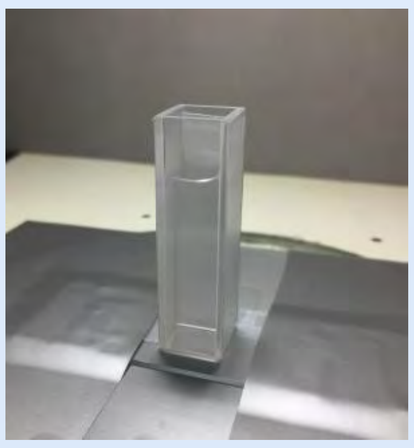
➲結果分析：溫度對水蚤消化道內色素廓清有所影響。紅色色素會隨著時間的增加而逐漸褪去，且溫度上升也會促進紅色褪去。

實驗五：應用染色水蚤探討環境毒物(甲醇)對運動行為之影響

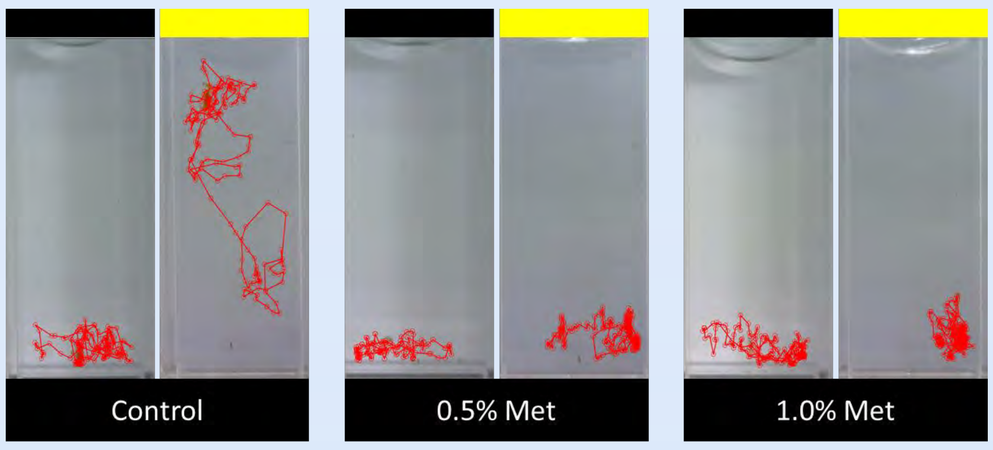
(一)實驗方法與設備



趨光性實驗儀器架設圖



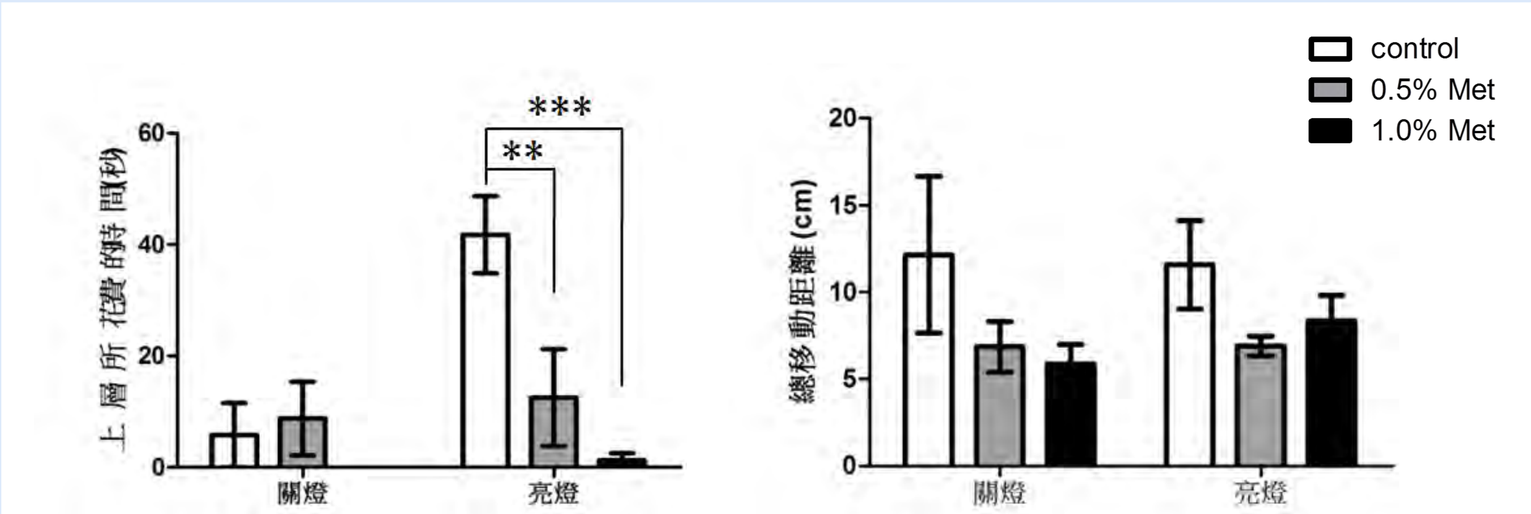
石英比色管(趨光行為槽)



水蚤在行為槽內亮燈前(黑色)後(黃色)的運動軌跡圖

(二)實驗結果

一、實驗五—1：探討甲醇對水蚤『趨光性』行為的影響



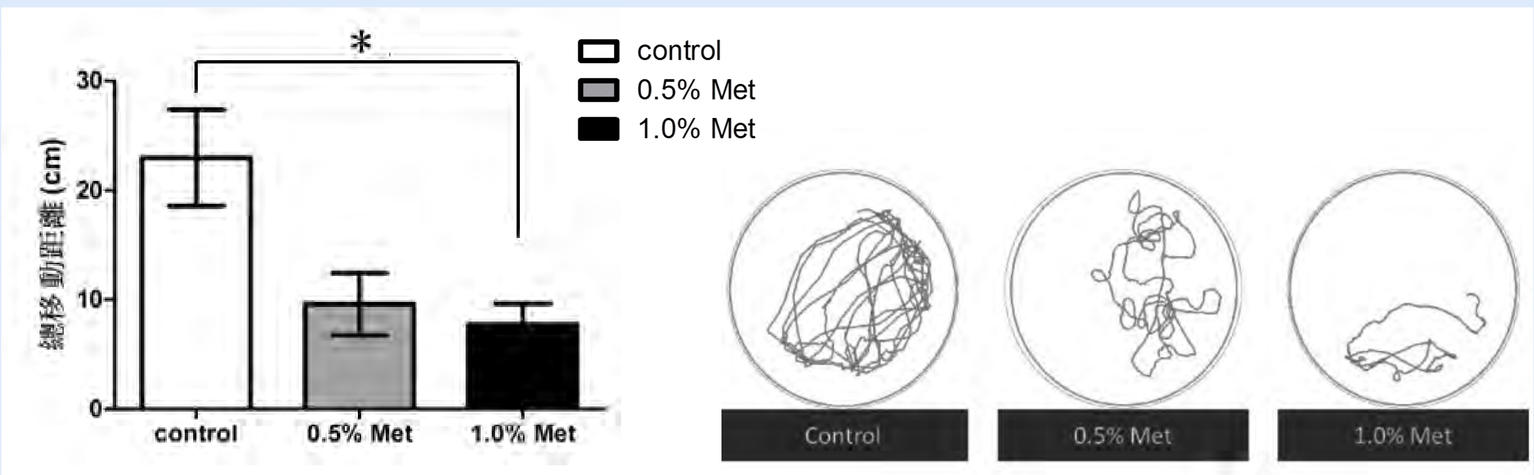
A. 水蚤在石英管上層所花費時間　　B. 水蚤在石英管內的總移動距離

➲ 結果分析：

由圖A知，關燈時各組水蚤在石英管上層的時間無差異，在亮燈後對照組於上層所待的時間明顯增加，顯示水蚤具有趨光性，甲醇組則沒有差異。

由圖B各組在石英管內的總移動距離結果，顯示三組開燈前後活動力沒有顯著差異，推知光並不會影響水蚤的移動距離，而是使水蚤在上下層分布的時間不同。

二、實驗五—2：探討甲醇對水蚤水平運動的影響



C. 水蚤在水平行為槽總移動距離　　D. 各組水蚤在行為槽水平移動軌跡圖

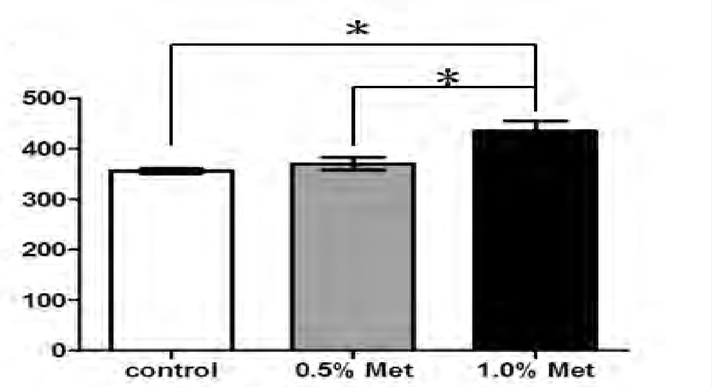
➲ 結果分析：

由實驗五—2結果知，水蚤經1.0%甲醇處理後其水平運動表現和對照組相比顯著下降。

三、實驗五—3：探討甲醇對水蚤生理的影響

	對照組	0.5% 甲醇	1.0% 甲醇
0小時	100%	100%	100%
6小時後	100%	100%	100%
24小時後	100%	75%	50%

E. 存活率



F. 心搏數（次／分鐘）

➲結果分析：

由圖E可知，以甲醇處理水蚤，在6小時各組存活情形不受影響，但至24小時可見隨甲醇濃度增加，水蚤的死亡率也隨著增加。且1.0%甲醇處理組水蚤的心搏次數顯著快於其他兩組。

實驗六：應用染色水蚤學習族群估算方法—捉放法之操作

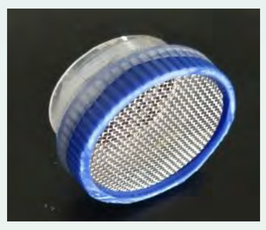
（一）實驗方法與設備

收集水蚤並放入燒杯內 → 決定水蚤標記數量 → 以食用色素標記水蚤 → 捉放法操作 → 實驗紀錄與估算

- 500c.c.
- 1000c.c.

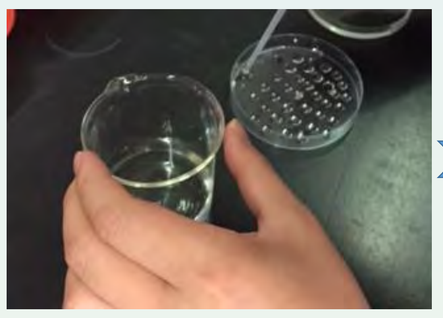
- 目測估算法
- 平均倍數法

- 有無均勻擾動



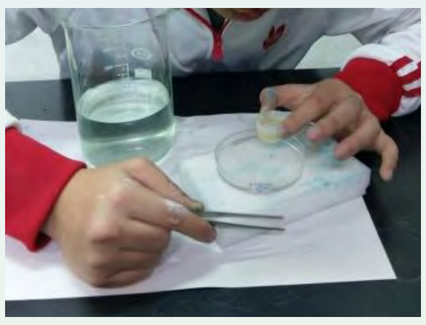
濾網

撈網

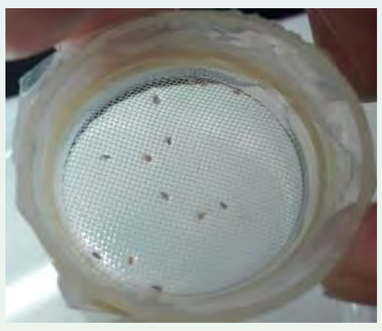


耐心收集計數水蚤

捉放法操作情形



計數每次捕捉個數



撈網上的水蚤情形

柒、參考資料

(一)李佳螢、張碩珍（2009)。蚤尋活水。2009 年臺灣國際科學展覽會優勝作品專輯。
(二)陳柏蓉、徐瑛鴻、何思賢、邱柏璋（2005)。多刺裸腹蚤之研究。中華民國第48 屆中小學科學展覽會作品說明書。
(三)生物急毒性檢測方法－水蚤靜水式法。中華民國102年8月13日環署檢字第1020069337號公告。

(二)實驗結果

一、實驗六-1：以空間、標記數(目測法)、個體數來探究不同變因對捉放法之影響

(一) 當族群總個體數為 **100** 隻時：

表1 （單位：隻）

空間 500cc		
總個體數x(預估100)		
1/10 標記數(10隻)		
撈起總數	標記數	預估值
4	0	0
8	2	40
5	0	0
4	0	0
4	1	40
估計族群數		40

表2 （單位：隻）

空間500cc		
總個體數x(預估100)		
1/5標記數(20隻)		
撈起總數	標記數	預估值
5	1	100
7	2	70
5	0	0
7	2	70
5	1	100
估計族群數		85

表3 （單位：隻）

空間1000cc		
總個體數x(預估100)		
標記數1/10(10隻)		
撈起總數	標記數	預估值
1	0	0
0	0	0
1	0	0
2	0	0
1	0	0
估計族群數		0

表4 （單位：隻）

空間1000cc		
總個體數x(預估100)		
總標記1/5(20隻)		
撈起總數	標記數	預估
2	1	40
1	0	0
1	0	0
3	0	0
2	1	40
估計族群數		40

(二) 當族群總個體數為 **180** 隻時：

表5 （單位：隻）

空間500cc		
總個體數y(預估200)		
1/10標記數(20隻)		
撈起總數	標記數	預估值
12	2	120
13	2	120
15	2	150
10	1	100
9	1	180
估計族群數		134

表6 （單位：隻）

空間500cc		
總個體數y(預估200)		
總標記數1/5(40隻)		
撈起總數	標記數	預估值
15	3	200
12	2	240
13	3	173
12	2	240
11	2	220
估計族群數		215

表7 （單位：隻）

空間1000cc		
總個體數y(預估200)		
總標記1/10(20隻)		
撈起總數	標記數	預估值
7	0	0
7	1	140
8	1	160
8	1	160
7	0	0
估計族群數		153

表8 （單位：隻）

空間1000cc		
總個體數y(預估200)		
總標記數1/5(40隻)		
撈起總數	標記數	預估值
6	1	240
3	0	0
6	2	120
5	2	100
4	1	160
估計族群數		155

➲ 結果分析：由表1-4可知，由於個體數過少，導致多次撈起水蚤之標記數皆呈現0的狀態。表5-8增加個體數，發現情形獲得改善。然而，在表7、8中，仍有出現標記數為0的情況。在探討表5、6的過程，發現以表6的數值較為準確，而表6中每一次撈起總數的總平均數約為標記數的1/4倍。

因此改良實驗六—2，我們將以每三次撈起總數總平均數的4倍作為標記數(平均倍數法)。

二、實驗六-2改良實驗：空間對捉放法影響

(一) 當族群總個體數 **220**隻時：

表9 （單位：隻）

空間500cc		
標記數4x	84	
撈起總數	標記數	預估值
12	4	174
14	5	163
11	4	160
12	4	174
10	3	193
估計族群數		173

表10 （單位：隻）

空間1000cc		
標記數	84	
撈起總數	標記數	預估值
6	2	174
7	2	203
5	1	290
7	2	203
6	2	174
估計族群數		209

➲結果分析：

空間500c.c.或1000c.c.對於族群個數估算並無顯著差異，但在空間500c.c.條件下，結果較為一致和穩定。

三、實驗六-3：以有無均勻擾動來探究是否會因操作手法差異影響

(一) 當族群總個體數 **360**隻時：

表11 （單位：隻）

有均勻擾動		
空間500cc		
標記數4x	100	
撈起總數	標記數	預估值
18	5	360
25	8	312
26	8	325
18	6	300
18	5	360
估計族群數		331

表12 （單位：隻）

無 均勻擾動		
空間500cc		
標記數4x	100	
撈起總數	標記數	預估值
20	7	285
26	8	325
20	6	400
21	7	300
30	10	300
估計族群數		322

➲結果分析：

個人操作手法之有無擾動水體對於捉放法並無顯著影響。

伍、結論

一、以食用色素對水蚤進行染色是可行且安全的標記方法，因染色不會對水蚤造成生理及其運動功能的傷害。其中，染色時間至少要五分鐘以上，又以藍、綠、紅色的色素褪色速度比較慢。

二、溫度上升會促進水蚤消化道內紅色色素廓清的現象。

三、0.5%以及1.0%甲醇會引起水蚤的運動障礙，其中1.0%甲醇同時還會造成心搏數上升。

四、建立以染色水蚤進行捉放法實驗之條件：

(1) 操作環境：以圓形燒杯作為水蚤總族群放置裝置。

(2) 標記條件：建議以每次捕撈水蚤的數量乘以4倍，為較適合的標記數量。

(3) 操作手法：在沒有均勻擾動的狀態下一樣可以進行實驗，但前提是每次捕撈出水蚤的數量要大於10隻。

陸、未來展望

一、本實驗以色素標記水蚤，讓學生體驗以活體進行捉放法，未來可推廣至國高中生物課程，將不再侷限於模擬操作的框架，並利用其可染色的優點，來發展許多創意課程。

二、本實驗中初步以水蚤建立甲醇中毒之動物模式，因其浸泡於甲醇溶液後的表現似於人類，期許未來能以此作為基礎，將水蚤應用在甲醇毒性檢測與藥物開發的相關研究。