

2023 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號	200015
參展科別	環境工程
作品名稱	利用 qRT-PCR 探討塑膠微粒對中華擬同型蚤 生長和生殖機制的影響
得獎獎項	四等獎

就讀學校 臺北市立麗山高級中學

指導教師 郭瓊華、蔡坤憲

作者姓名 方昕媛

關鍵詞 塑膠微粒、中華擬同型蚤、生長和生殖機制

作者簡介



大家好，我是來自台北市立麗山高級中學三年級的方昕媛。自高一進入生物專題課程，從收集數據資料整理和有條理的訓練口說與報告能力，讓我有系統的學習科學研究。雖然研究過程中，遇到重重瓶頸及疫情肆虐，一路上並不順遂，如今能榮幸參與國際科展，由衷感謝大學指導教授的鼓勵與教導和實驗室學長姐們不辭辛勞的陪伴，也感謝指導老師常與我討論、釐清方向與內容，以及在比賽中給予我許多寶貴意見的評審教授們，讓我在研究的旅途上，接觸到更廣闊的領域。願我在未來能夠持續精進，並且永遠抱持研究熱忱的心！

壹、 研究動機

隨著科技的進步，塑膠產品逐漸在全球遍布，甚至造成許多的環境汙染，其中看似消失的塑膠，其實已被分解為非肉眼可見的塑膠微粒，並且正在影響整個生態，並且在最底層的生物體內累積，透過生物放大作用不停的向生物鏈頂層增加。

探討塑膠微粒與中華擬同型蚤生長和生殖機制的影響。延伸對生殖機制、內分泌系統的影響，產生冬卵的特性，以及與體長、生長抑制、延後抱卵的關係。期望可以透過研究成果類推至生態系中的其他生物，例如魚類、鳥類和人類，進而發展成生物鏈之累積和影響。

貳、 研究目的及研究問題

一、 研究目的

因為塑膠微粒在當前已經對環境造成許多危害，而對於健康的影響，目前尚未有明確的研究分析。若能追蹤研究分析探討塑膠微粒對於生物體生長和生殖機制的影響及了解內分泌基因表現的變化。並且找出塑膠微粒與生物之間的劑量關係，將可以透過生物鏈的方式去探討塑膠微粒對於生物高階層的生物經過放大效應之後造成的影響，以有效率降低人體攝食塑膠微粒所造成的危害程度。

二、 研究問題

我們使用位於生物底層的生物—「水蚤」，餵食塑膠微粒，分析塑膠微粒對於水蚤之間的劑量關係，並且觀察塑膠微粒對於其各內分泌以及生殖之間的基因表現和影響。本實驗採用野外台灣原生種水蚤進行鑑定培養，進行塑膠微粒餵食後去分析其致死率及劑量濃度，進一步去探討其體內多項內分泌的基因表現。

(一) 前導實驗—分子鑑定物種

(二) 分析不同的水樣環境對於水蚤的生殖與存活關係

(三) 分析塑膠微粒粒徑影響水蚤的致死數量關係

(四) 分析塑膠微粒濃度對水蚤體內之生長抑制及生殖特性的影響

(五) 探討塑膠微粒對水蚤內分泌基因 (*gst* 和 *jhe*)、卵黃蛋白基因 (*vtg1*)、解毒基因 (*CYP360A8* 和 *ecra*) 與塑膠微粒暴露劑量之關係

研究過程



圖一、實驗架構圖

(一) 前測

本研究取用台灣北投田間採集的水蚤，為分子鑑定物種，從野採的水蚤經三代培養純化後進行物種確認，透過 COI 序列比對，物種相似度和生長環境比較後，得出此次實驗物種的物種為中華擬同型蚤 (*Daphnia similoides sinensis*)。

(二) 不同水質對於水蚤之影響

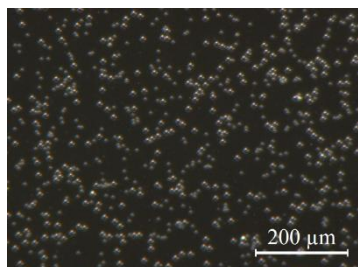
為了解最適合水蚤在實驗時生存的環境，因此選擇四種水域的水體來進行生存率與繁殖子代數量。其中，得出對於水蚤存活及繁殖下最穩定的水樣做為第三階段的樣水環境。

(三) 水蚤在不同粒徑大小的塑膠微粒下對於其生殖機制之影響

透過改變塑膠微粒的粒徑，得到影響母代水蚤在存活及繁殖率下影響最大的種類，已延伸採用至第四個實驗。

(四)分析塑膠微粒濃度對於水蚤影響的關係

經由實驗三得到的結果，利用該種塑膠微粒進行不同濃度對於水蚤在致死以及繁殖子代的關係，求出其有影響下濃度最小的值，塑膠微粒在水蚤身上的分布，以及與內分泌、生長及生殖相關基因之表現做分析。每6小時觀測每格中的子代數量。



圖二、粒徑 10 μm 塑膠微粒



圖三、顯微鏡下水蚤拍攝圖

(五) 不同濃度之塑膠微粒對於水蚤其生殖機制的影響

- (1) 取 10 隻的水蚤至 ddH₂O 靜置一天
- (2) 含塑膠微粒組則放至培養皿中浸泡 1.5 hr
- (3) 置自製培養環境中，採一格一隻到入 2L ddH₂O，分別加入 50ul 綠水、5 μl 酵母菌
- (4) 每 6 小時觀測估算每格中的子代數量



圖四、粒徑 0.87 μm 塑膠微粒



圖五、粒徑 10 μm 塑膠微粒

(六) 不同濃度之塑膠微粒對於水蚤體內基因表現之影響

- (1) 取 40 隻水蚤進行靜置處理一日
- (2) 調製四個濃度的塑膠微粒以及一組對照組以微量移液管分別加入五個裝有 20ml ddH₂O 的閃爍瓶中
- (3) 每隔一段時間紀錄閃爍瓶內死亡的水蚤數量以及時間
- (4) 將死亡的水蚤吸出並且以 ddH₂O 沖去附著於水蚤體外的塑膠微粒
- (5) 分別置於 eppendorf 當中並立刻冰至 -80 度冰箱冰凍

(6) 抽取 RNA 轉 cDNA 並上機進行 qRT-PCR

(七) qRT-PCR 步驟

1. 抽取 RNA

- (1) 將每隻水蚤分別置入 1.5ml 微量離心管加 500 μ l TRIzol，用研磨棒研磨離心 (12000xg, 1min)
- (2) 取上清液 (450 μ l，留 50 μ l 渣渣) 至 1.5ml 微量離心管
- (3) 加等體積 (1:1) 450 μ l ethanol 並震盪
- (4) 準備 Column&Collection Tube，將 (4) 的混合物分兩次 (400 μ l + 450 μ l) 移入，之間以 (16000xg, 30sec + 1min) 離心
- (5) 加入 400 μ l RNA Wash Buffer (16000xg, 1min)，換新的 Tube
- (6) 準備 cocktail (DNase 5 U 5 μ l, DNase/RNase-free water 3 μ l, 10X DNase I Reaction Buffer 8 μ l, RNA Wash Buffer 64 μ l)
- (7) 將 cocktail 配在 1.5ml 微量離心管溫和倒置並加 80 μ l 在 Column 上
- (8) 在烘箱放置 (25-37°C) 放置 15 min，取出離心 (16000xg, 30sec)，換新的 Tube
- (9) 加入 400 μ l RNA PreWash Buffer (16000xg, 1min)，換新的 Tube
- (10) 加入 400 μ l RNA PreWash Buffer (16000xg, 1min)，換新的 Tube
- (11) 加 700 μ l RNA Wash buffer，並離心 (16000xg, 1 min)，倒掉廢液，再離心 (16000xg, 2min)，將 column 移至新的 1.5ml 微量離心管開蓋 1-2min
- (12) 分兩次 (30 μ l + 30 μ l) 加 ddH₂O 在膜上，靜置 2 min，離心 (16000xg, 1 min)
- (13) 可立即使用或冰至 -80°C 冰箱

2. 轉 cDNA

- (1) 計算所需使用的藥劑劑量
(50 μ M Oligo d(T)₂₀ primer, 50 μ M random 1 μ l, 10mM dNTP mix 1 μ l, RNase free water 2 μ l, Template RNA 9 μ l)
- (2) 開啟操作櫃內日光燈和循環，並取藥劑及 RNA 分別震盪和離心，使其混合均勻
- (3) 將 (1) 藥劑依劑量混合均勻震盪離心

- (4) 加熱 65°C, 5 min, 冰浴 1min
- (5) 準備 RT reaction Mix
(5X SSIV Buffer 4 μ l, 100 μ mDTT 1 μ l, RNase DOT Recombinant RNase Inhibitor 1 μ l, Superscript IV Reverse Transcriptase 1 μ l)
- (6) 混合，簡單震盪離心
- (7) 將(7)加入(5)，混合，簡單震盪離心
- (8) 設定 PCR program (23°C, 10min 50-55°C, 10min, 80°C, 10min)
- (9) 可立即使用或保存於-20°C冰箱

3. 配置 PCR Tube 進行 qRT-PCR

- (1) 計算所需使用的藥劑劑量
- (2) 開啟操作櫃內日光燈和循環，並取 primer 試劑及 DNA 分別震盪和離心，使其混合均勻
- (3) 將試劑移至操作櫃內，cDNA 放置小 rack 中，標記每管所要放置的藥劑、primer 名稱，取 1.5ml 微量離心管依表加入藥劑
(先加 ddH₂O，再加 Kapa，每對 primer 多做 NC 組加入 ddH₂O，NC 不加 DNA)
- (4) 將 1.5 ml 微量離心管中的藥劑分裝至收集管，並於收集管蓋內加入 cDNA Sample
- (5) 設定 PCR program (不同 primer 有不一樣的條件設定)

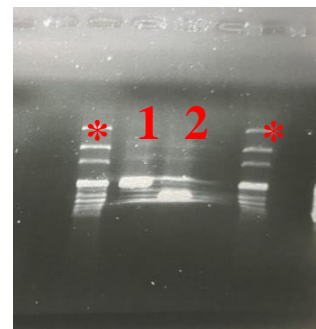
(八) 連續時間水蚤攝食不同濃度塑膠微粒於體內分布位置比較

1. 取 20 隻水蚤進行靜置處理一日
2. 調製四個濃度的塑膠微粒以及一組對照組以微量移液管分別加入五個裝有 20ml ddH₂O 的閃爍瓶中
3. 每隔一段時間紀錄閃爍瓶內死亡的水蚤數量以及時間
4. 將死亡的水蚤吸出並且以 ddH₂O 沖去附著於水蚤體外的塑膠微粒
5. 分別置於裝有 1ml 4% 的福馬林的 eppendorf 當中
6. 分別以解剖顯微鏡以及螢光顯微鏡拍攝並且觀察其分佈位置

參、研究結果與討論

一、前測---鑑定水蚤種類

進行 CO1 序列分析，可得到 DNA 的序列圖，進行比對，我們得到結果：CO1-CO_LCO&CO1-CO_HCO，透過比對後可發現，歸納出此種物種為 *Daphnia similoides sinensis*。

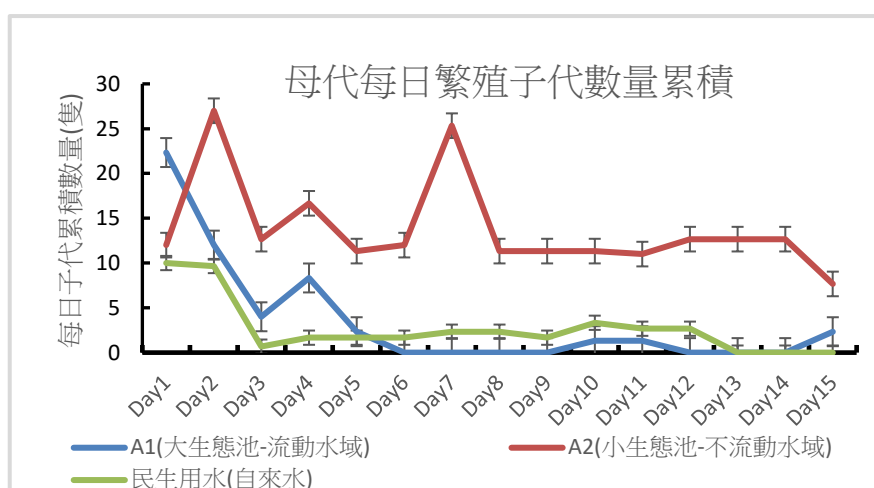


圖六、照 UV 的 DNA 膠片圖

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia sinensis genomic DNA containing mtDNA region isolate RU-TY6-3	Daphnia sinensis	1173	1173	100%	0.0	99.69%	16011	LS991517.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia sinensis genomic DNA containing mtDNA region isolate RU-TY6-1	Daphnia sinensis	1173	1173	100%	0.0	99.69%	15728	LS991516.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia sinensis genomic DNA containing mtDNA region isolate RU-NOV1-01	Daphnia sinensis	1168	1168	100%	0.0	99.53%	16057	LS991514.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia cf. sinensis WM-2017a mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds isolate..	Daphnia cf. sine...	1168	1168	98%	0.0	100.00%	658	LC215470.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia sinensis isolate India cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds, mitochondrial	Daphnia sinensis	1164	1164	99%	0.0	99.69%	642	MT709058.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia sinensis genomic DNA containing mtDNA region isolate RU-TU2-01	Daphnia sinensis	1162	1162	100%	0.0	99.38%	16806	LS991519.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia similis mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit 1, partial cds, haplotype: Ds1	Daphnia similis	1157	1157	98%	0.0	99.68%	658	LC389171.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia carinata cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Daphnia carinata	1157	1157	100%	0.0	99.22%	1537	KJ156363.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia similoides clone 103.LA3Dasi cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Daphnia similoides	1155	1155	99%	0.0	99.37%	666	MG544039.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia similoides clone 102.LA3Dasi cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Daphnia similoides	1155	1155	99%	0.0	99.37%	666	MG544038.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia similoides clone 101.LA3Dasi cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Daphnia similoides	1155	1155	99%	0.0	99.37%	666	MG544037.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia similoides clone 92.LA2Dasi cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Daphnia similoides	1155	1155	99%	0.0	99.37%	666	MG544036.1
<input checked="" type="checkbox"/> Daphnia similoides clone 91.LA2Dasi cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Daphnia similoides	1155	1155	99%	0.0	99.37%	666	MG544035.1

圖七、放上 NCBI 網站進行比對

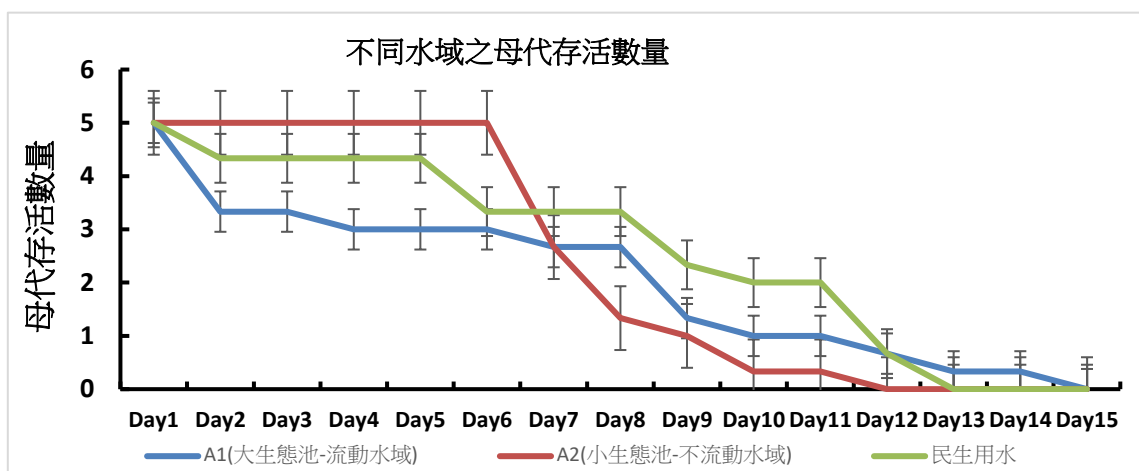
二、不同水質對於水蚤之影響



圖八、不同水質對於母代水蚤繁殖子代數量統計圖

子代累積數量統計如上 (圖八) 所示，顯示三次的實驗結果數據結果呈現大致相同，由累積圖可看出以 A2 水源 (生態池非流動水域) 100ml 作為環境其中的子代累積數量是最

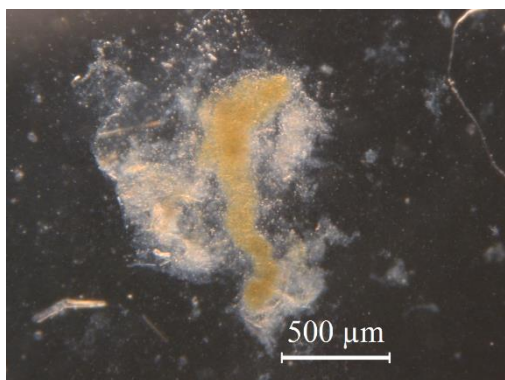
多的，而 A1 水源 (生態池流動水域) 在實驗初期子代累積數量為第二高，不過後階段與民生用水 (自來水) 的結果較雷同。顯示子代的累積數量與母代的存活數有相對的關係。後期三種水樣中成長速度皆不高，是因為母代死亡，因此無法產生較多後代。



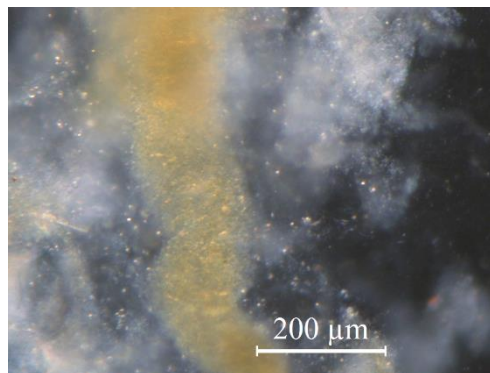
圖九、不同水質對於母代水蚤存活數量統計圖

從圖九當中可以看出在 A2 水域裡母代的存活率較高，因此間接影響子代的累積數量，從圖中可得知民生用水在實驗初期的穩定度為第二高，且在中階段實驗時的趨勢較為平緩，因此最後選擇以民生用水作為最後使用的環境水樣。

A



B

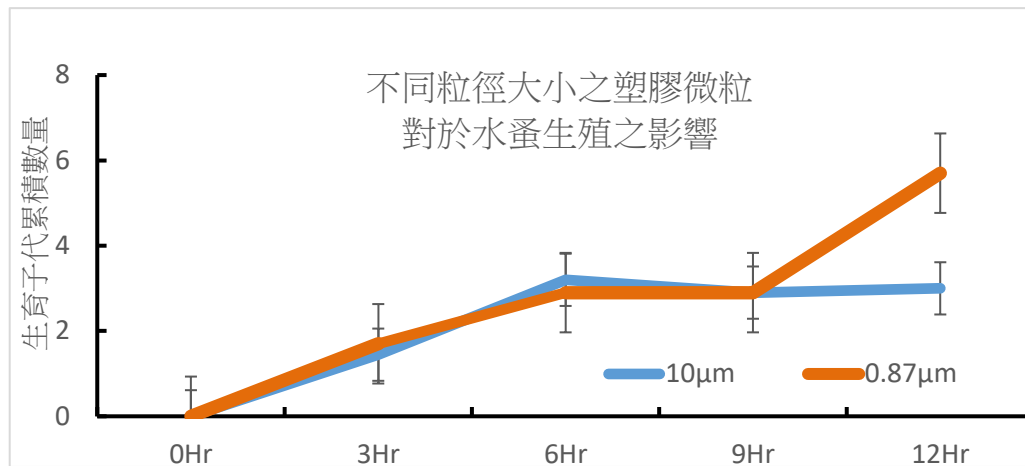


圖

圖十、經攝食塑膠微粒水蚤的腸道 (A, B) 解剖放大圖

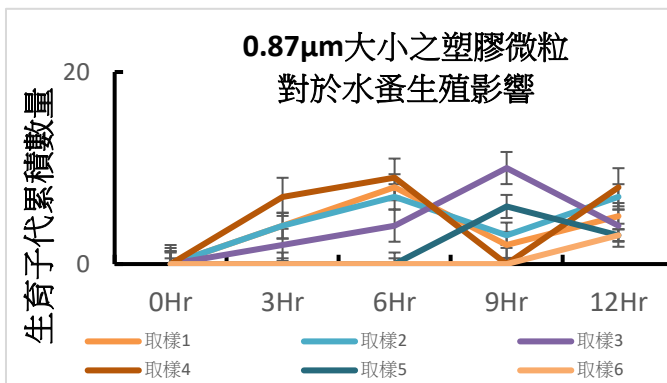
將已攝食塑膠微粒的水蚤置於解剖顯微鏡底下將其腸道解剖，可看出經由浸泡於塑膠微粒溶液的水蚤，可明確看出其腸道內有塑膠微粒的密集分布。

三、水蚤在不同粒徑大小的塑膠微粒下對於其生殖機制之影響

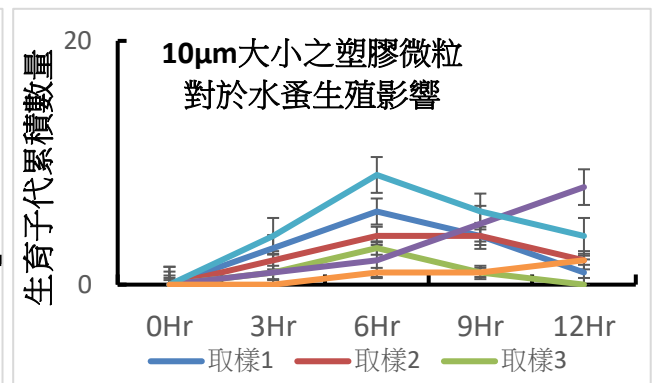


圖十一、不同粒徑大小之塑膠微粒對於母代水蚤繁殖子代數量統計圖

由圖十一可看出，粒徑較小對於母代的繁殖能力影響也較小，不過由於有個體差異，因此在個別的曲線圖(圖十二、十三)當中有部分的子代數量是上升而非下降的，因此取平均的折線圖下降的幅度並不明顯。



圖十二、0.87 µm 塑膠微粒對於母代水蚤繁殖子代數量統計圖

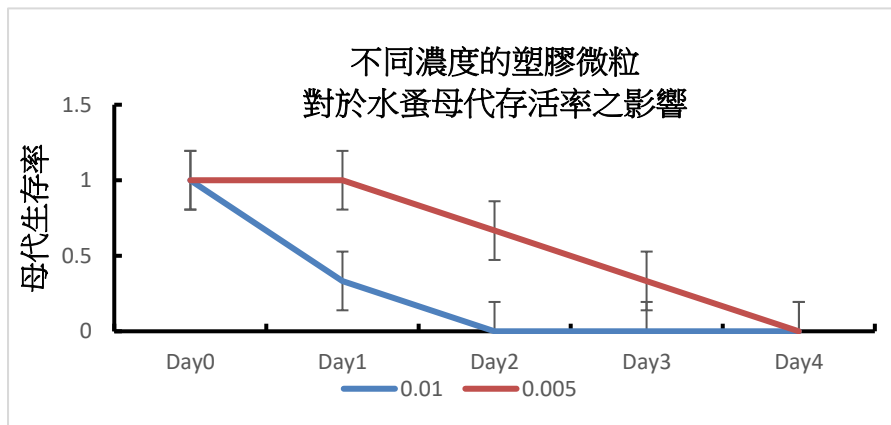


圖十三、10 µm 塑膠微粒對於母代水蚤繁殖子代數量統計圖

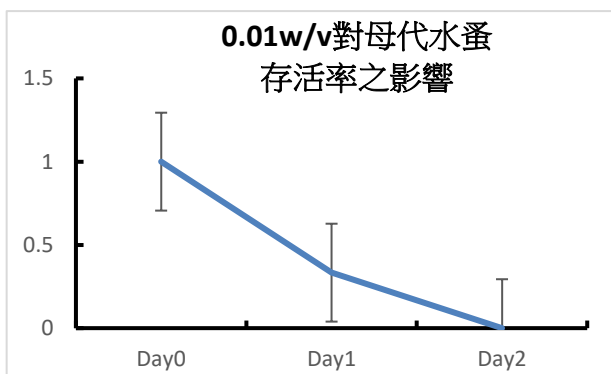
由圖十二可得其中只有取樣 6 是只呈現上升而沒有下降的，而其餘樣本均有急速下降的趨勢，因此代表著塑膠微粒對於水蚤體內的生殖及分泌機制仍是有相當的影響。而圖十三中可發現只有兩個樣本仍有下降後再上升的趨勢，其餘曲線皆無反彈，從兩張圖表作比較可得知，較大的粒徑 (10 µm) 對於母代水蚤生育以及其子代存活的影响較大。

四、水蚤在不同濃度的塑膠微粒下對於其生殖機制之影響

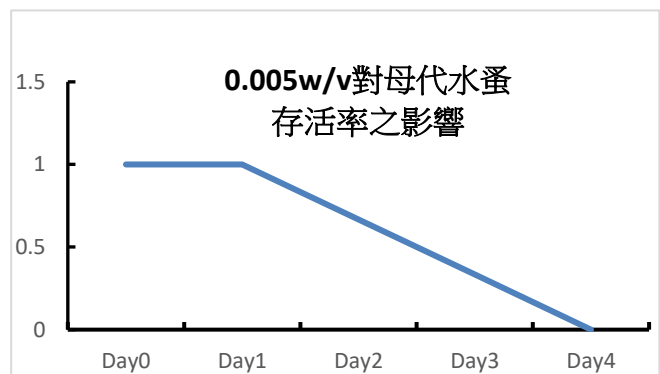
(生殖機制本研究選定存活率及繁殖率當作指標)



圖十四、不同濃度塑膠微粒對於母代水蚤存活率統計圖



圖十五、不同濃度塑膠微粒對於母代水蚤存活率統計圖

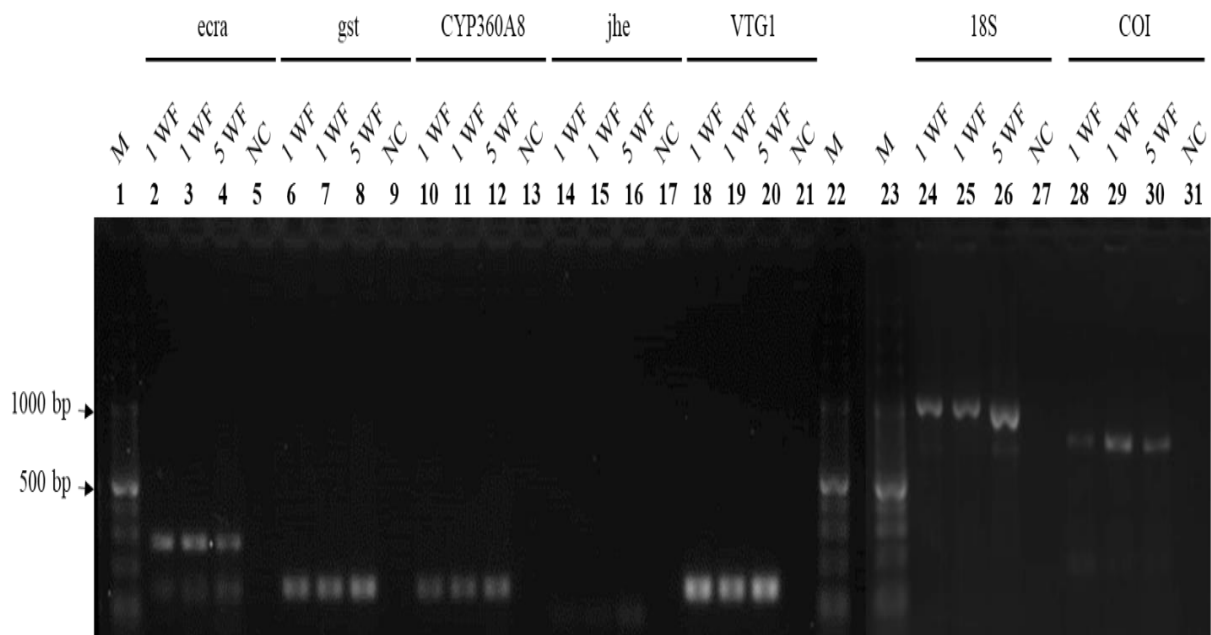


圖十六、不同濃度塑膠微粒對於母代水蚤存活率統計圖

接續第三部分粒徑的實驗結果，因此濃度實驗所使用的塑膠微粒粒徑為 $10\mu\text{m}$ 。從圖 15-1 當中的曲線趨勢來看可得出 0.01w/v (原廠塑膠微粒濃度) 的母代水蚤在第二天時就已達零隻，而 0.005w/v 的母代則於第二天之後逐天下降，因此可以得出濃度較高的塑膠微粒對於母代的存活率影響較大。

五、探討塑膠微粒對於水蚤體內各基因表現之影響

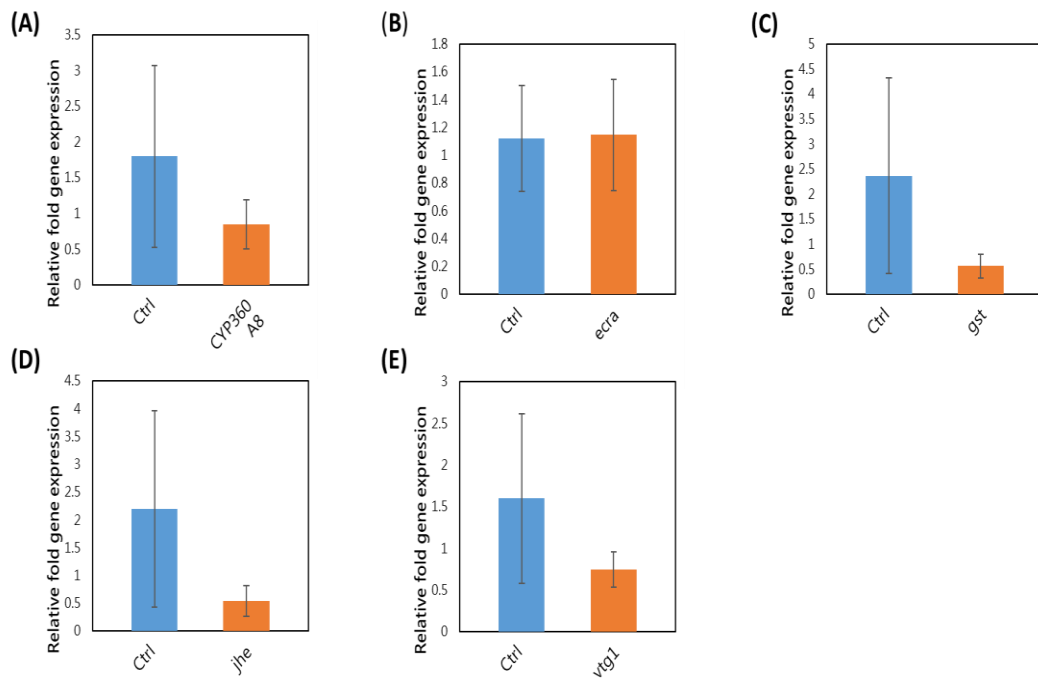
此次實驗增加可篩選數個與水蚤生長或生殖相關的基因，設計引子作為測試，除了之前已完成的 *COI* 之外，又增加 *ecra*、*CYP360A8*、*vtg1*、*jhe*、*gst* 五種不同的引子 (圖 16)。Cytochrome 基因 (*CYP360A8*) 和 glutathione S-transferase (*gst*) 基因與細胞的氧化還原、解毒作用相關；ecdysone receptor A (*ecra*) 和 juvenile hormone esterase (*jhe*) 基因與水蚤生長、蛻皮相關；vitellogenin 1 (*vtg1*) 則與水蚤生殖、胚胎發育相關。



圖十七、以 PCR 分析 *ecra*、*CYP360A8*、*vtg1*、*jhe*、*gst* 基因。

M: 100-bp ladder；1WF：1 隻水蚤；5WF：5 隻水蚤；NC：無菌去離子水控制組。

其中第四組引子 *jhe* 在膠圖上不明顯，而其他皆有取到 DNA，*jhe* 的部分將持續測試改善 PCR 條件。確定引子對可以成功偵測到水蚤生長、生殖相關基因後，進一步以 Q-PCR 分析探討塑膠微粒對於水蚤體內各基因之相對表現。目前已經完成操作一次 Q-PCR，初步結果如圖十八。

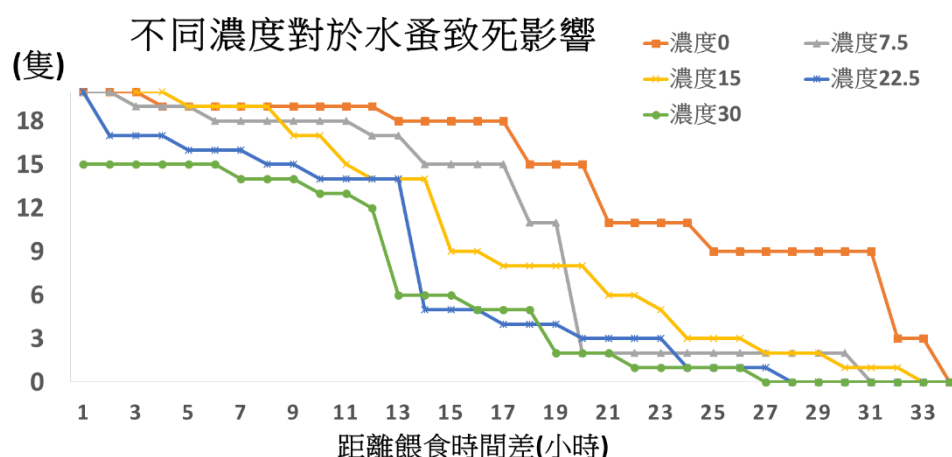


圖十八、塑膠微粒對於水蚤體內各基因之表現。

(A) CYP360A8; (B) *ecra*; (C) *gst*; (D) *jhe*; (E) *vtg1*.

雖然攝入塑膠微粒的水蚤與控制組的水蚤基因表現未達統計差異，但是普遍而言，攝入塑膠微粒的水蚤生長與生殖相關基因表現有下降的趨勢。

六、連續時間攝食不同濃度塑膠微粒水蚤致死討論



圖十九、五種不同濃度下水蚤死亡數量折線圖

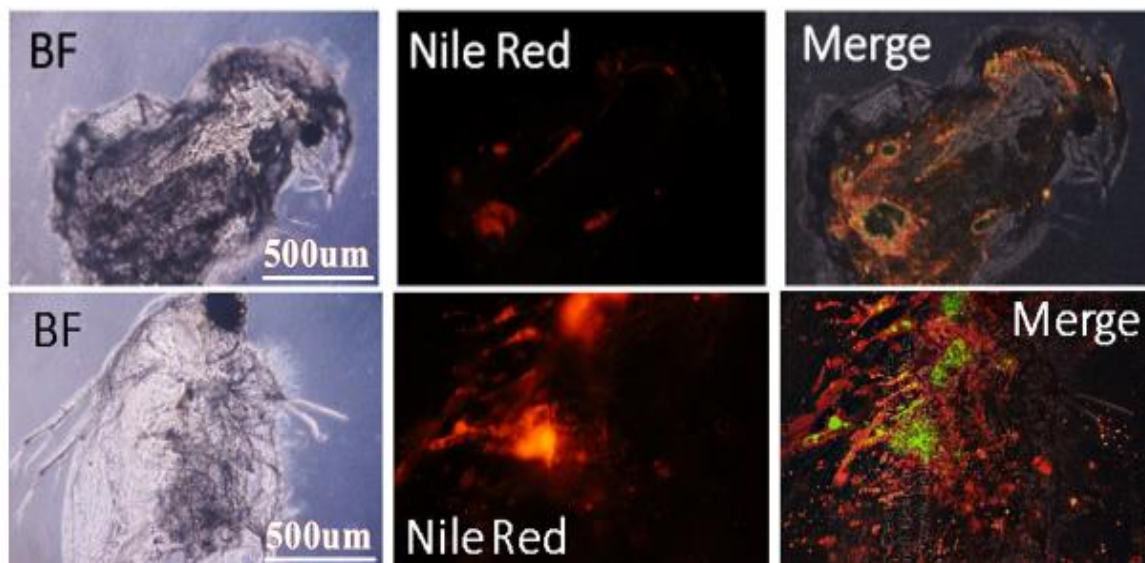
不同濃度中水蚤致死數量如圖十九，濃度 0 為對照組 (NC)，明顯可以看出濃度最高的綠色曲線在實驗前期相較於其他濃度存活的隻數都普遍較低。而在實驗進行 13-15 小時以及 19-21 小時之間每組實驗組都有較多水蚤死亡的情形。從數據統計計算出其 LD_{50} 濃度為 $8.8929 \times 2 = 17.7858$ ，因此以 17.8 作為進行抽取 RNA 水蚤實驗的濃度劑量如圖二十。

LD₅₀ Regression Results [Dataset 1]

Parameter	Value
LD ₅₀	8.8929
Equations	(show alternative)
Equation	$Y = 0.6717 + \frac{0.4125 - 0.6717}{1 + \left(\frac{X}{8.8929}\right)^{10.4582}}$
Equation Form	$Y = \text{Min} + \frac{\text{Max} - \text{Min}}{1 + \left(\frac{X}{LD_{50}}\right)^{\text{Hill coefficient}}}$

圖二十、LD₅₀ 值 (半致死劑量濃度) 結果

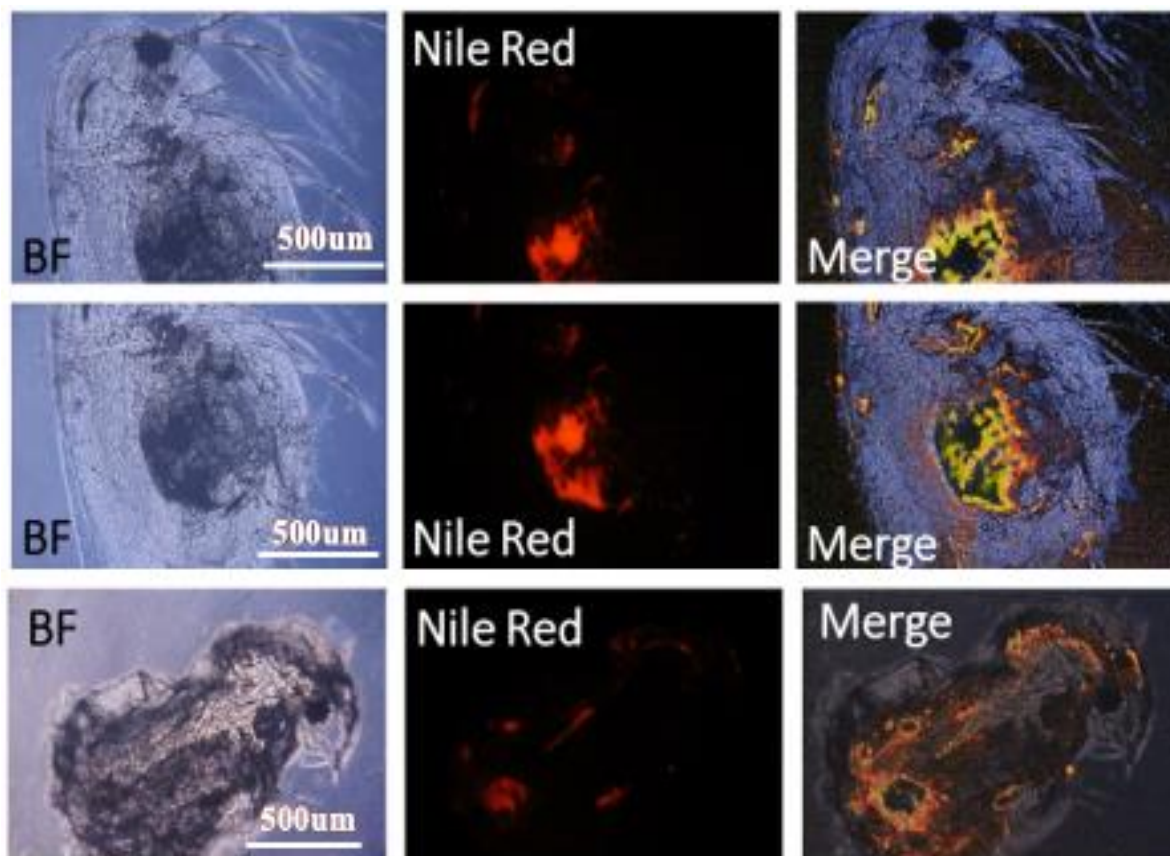
七、連續時間水蚤攝食不同濃度塑膠微粒於體內分布位置比較



u

圖二十一、兩個時間點（上 10 小時；下 14 小時）拍攝塑膠微粒分布圖

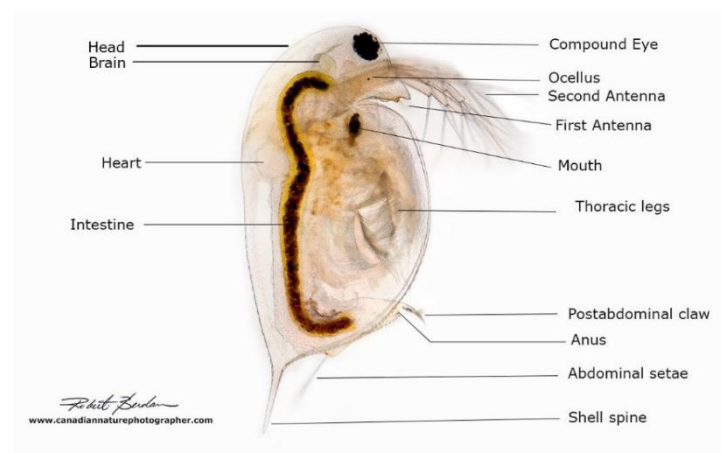
由圖二十一可知：14 個小時後死亡的水蚤體內經過螢光顯微鏡照射後激發出來的紅光相較於 10 個小時後來的亮，也就是體內所含的塑膠微粒數量與時間呈現正相關。且經過疊圖比對之後可以發現塑膠微粒還是普遍分布於水蚤腸道的位置（從眼睛後方沿伸至尾端）



圖二十二、兩個時間點（上、中 7.5×10^2 顆/公升；下 1.5×10^3 顆/公升）拍攝塑膠微粒分布圖

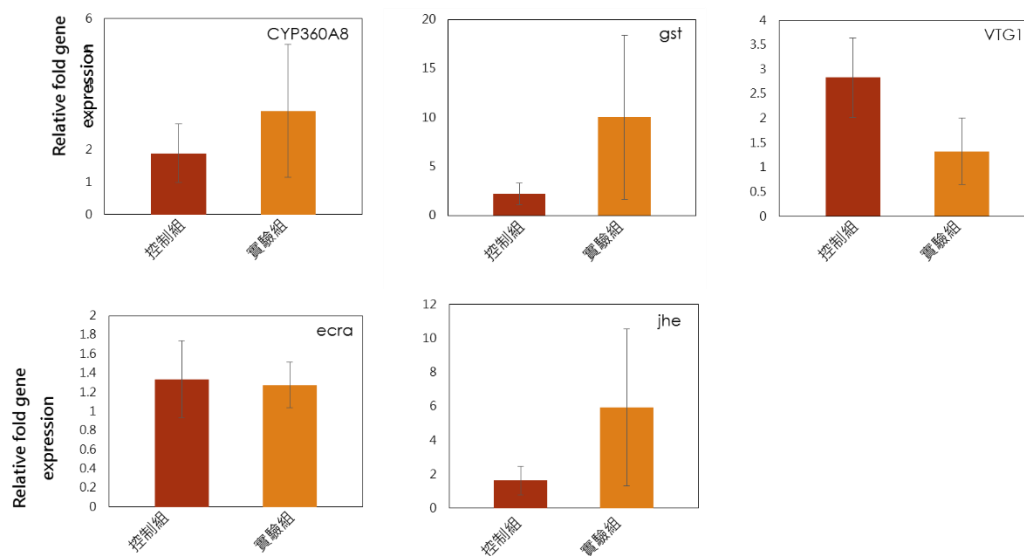
由圖二十二可看出 26.5 個小時後死亡的水蚤體內經過螢光顯微鏡照射後發出來的紅光相較於 10.5 個小時後來的亮，而 35.5 個小時因為原先劑量較少，而且此時所剩存活的隻數只剩一隻，相較於圖 26 螢光亮度大大減低，但也能看出在腸胃附近有些微的螢光點分布著。另外 7.5×10^2 顆/公升的濃度相較於前面濃度較高的疊圖，塑膠微粒的分布範圍也比較集中。

大部分的水蚤塑膠微粒除了較多分布在腸道附近，有些則較集中分布於眼睛後方腦部的位置。對照如圖



圖二十三、水蚤體內各部位名稱

八、不同濃度塑膠微粒對水蚤體內各基因表現之影響



圖二十四、塑膠微粒對於水蚤體內各基因之表現

由統計圖（圖二十四）中得知：塑膠微粒暴露使水蚤保幼激素酯解酶（*jhe*）、細胞色素 P450 家族的 *CYP360A8*、麩胱甘肽硫轉移酶（*gst*）基因表現量上升；蛻皮激素受體 A（*ecra*）表現差異不大；卵黃素（*vtg1*）基因表現量則低於控制組。

肆、 結論

(一)不同水質對於水蚤之影響

1. 單從子代數據分析，A2 水源（生態池非流動水域）對於水蚤的效果是最佳的
2. 加上母代數據討論，民生用水的穩定度是最高的

(二) 不同粒徑大小的塑膠微粒下對於水蚤生殖機制之影響

1. 0.87 μm 的塑膠微粒所累積的子代數量是比 10 μm 高
2. 從子代的數據推斷論 0.87 μm 的塑膠微粒對於母代的影響較小

(三) 水蚤在不同濃度的塑膠微粒下對於其生殖機制之影響

1. 0.01w/v（原廠塑膠微粒濃度）的存活曲線較陡而 0.005w/v 曲線較平緩
2. 濃度較低的塑膠微粒對於水蚤而言影響傷害較小

(四) 連續時間攝食不同濃度塑膠微粒水蚤致死討論

1. 攝食塑膠微粒 13-15 和 19-21 個小時水蚤的死亡率達到高峰
2. 塑膠微粒的半數致死劑量（LD₅₀）為 8.9×10^2 顆/公升。

(五) 分析塑膠微粒濃度對於水蚤影響的關係

1. 塑膠微粒主要累積在腸道，根據光的位置，有的發現在腦部的附近。
2. 水蚤攝食塑膠微粒量隨著時間增加，螢光增強，而攝食濃度越高者，塑膠微粒分布範圍較廣。

(六) 不同濃度塑膠微粒對水蚤體內各基因表現之影響

1. 保幼激素酯解酶（*jhe*）、細胞色素 P450 家族的 *CYP360A8*、麩胱甘肽硫轉移酶（*gst*）基因表現量上升
2. 蛻皮激素受體 A（*ecra*）表現差異不大；卵黃素（*vtg1*）基因表現量則低於控制組。

伍、 參考資料 (文獻) 及其他

- Mateos-Cárdenas, A., O'Halloran, J., van Pelt, F.N.A.M. et al (2020) 。 Rapid fragmentation of microplastics by the freshwater amphipod *Gammarus duebeni* (Lillj.) 。 Scientific Reports 12799 。 <https://www.nature.com/articles/s41598-020-69635-2>
- 顧楊亮、徐磊、林秋奇、Henri J.Dumont、韓博平 (2014) 。新亞種—中華擬同型蚤(*Daphnia similoides sinensis*) 。《生態科學》，2013 年第 3 期，308-312 頁。
<http://yuxiqbs.cgvip.com/Qikan/Article/Detail?id=46685239>
- 綠色和平塑膠專案小組 (2020) 。什麼是塑膠微粒？——正在影響食安、健康的它。專題報導，2020 年 2 月，12 日。
<https://reurl.cc/60ojOV>
- Isabelle Veà (May 29,2017) 。 Male or female in water fleas? Let the hormone decide 。
<https://reurl.cc/1m6XVG>
- Dr. Robert Berdan (July 31, 2018) 。 Photographing Water-fleas *Daphnia* 。
<https://www.canadiannaturephotographer.com/daphnia.html>
- Kenji Toyota , Hitoshi Miyakawa , Chizue Hiruta , Kenjiro Furuta , Yukiko Ogino , Tetsuro Shinoda , Norihisa Tatarazako , Shinichi Miyagawa , Joseph R. Shaw , Taisen Iguch 。 Methyl farnesoate synthesis is necessary for the environmental sex determination in the water flea *Daphnia pulex*(2015) 。 Journal of Insect Physiology 80 (2015) 22 – 30 。
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25721056/>

【評語】 200015

本研究以中華擬同型蚤為模式生物，探討塑膠微粒暴露的影響，並分析水蚤生長、生殖及解毒基因的表現。建議針對測試實驗組別可以多增加不同粒徑塑膠微粒及濃度的組別，以增加實驗比較之完整性。