

# 中華民國第 60 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生物科

佳作

030313

水中蛟「熊」- 校園水熊蟲分布與種類調查

學校名稱：新北市私立竹林高級中學(附設國中)

作者： 國三 顏健弘	指導老師： 顏嘉怡
---------------	--------------

關鍵詞：水熊蟲、緩步動物、蘚苔植物

## 摘要

水熊蟲 0.25~1.5 mm 不易收集與觀察，為了提高收集效率，因此比較文獻收集方法與自製濕離法，實驗發現自製濕離法可有效收集大量水熊蟲，且最適合採集水熊蟲的環境與時間點：面向東方與東南方、春季和降雨後潮濕的苔類植物。進行水熊蟲與其棲息的蘚苔植物種類鑑定，得知校園水熊蟲為趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬，並棲息於錦苔屬、溼地苔屬捲葉濕地苔、真苔屬、鱗葉苔屬、捲薄苔屬與澤苔屬的蘚苔植物。文獻指出空氣中二氧化硫濃度會影響水熊蟲分佈 (Steiner, 1995)，因此未來將先嘗試飼養水熊蟲，使實驗動物穩定後，探討水熊蟲因空氣汙染後的隱生、死亡或其他生理機制的表現，評估其是否有潛能成為空氣汙染的指標生物。

## 壹、研究動機

### 一、實驗動機

近年來，水熊蟲引起了大家廣泛的關注，科學家指出水熊蟲是一種不畏低溫、高溫、真空和輻射環境的生物 (Miller, 1997)，水熊蟲甚至暴露在宇宙真空長達 10 天後，依然可以生存 (泛科學網, 2015)。水熊蟲遇到對其不利的環境時，會進入隱生 (cryptobiosis) 狀態 (圖 1)，使其能夠度過環境艱困的時期 (Wright, 2001)，如此頑強的生命力促使我想要研究水熊蟲的隱生機制。

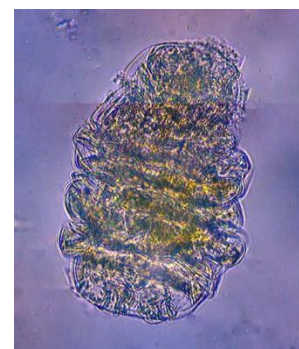


圖 1 隱生水熊蟲  
400X (作者拍攝)

另外 Steiner 於 1995 年的研究指出，水熊蟲數量會受空氣中二氧化硫的濃度而變化，因此本研究也將探討空氣汙染對水熊蟲的影響，評估水熊蟲是否能成為環境汙染的指標生物之一。

由於目前對水熊蟲沒有足夠的認識與瞭解，亦無法輕易取得，因此今年本研究將先調查水熊蟲於校內蘚苔植物分布情形，第二年再針對隱生機制與空氣汙染對水熊蟲影響進行研究。水熊蟲較易在蘚苔植物中出現 (Nelson, 1991a)，但本實驗於校園內採樣的過程中卻常常僅能看到其他生物，甚至花了超過半年的時間才找到水熊蟲；且水熊蟲數量極少，上網查詢他人

採集水熊蟲的經驗後，發現許多人也有相同的困擾，因此本研究比較了不同文獻採集水熊蟲的方式，探討如何設計在有限時間內，收集最多數量水熊蟲的採集方法，使未來實驗過程更有效率。

Horning *et al.* (1978) 與 Degma (2006) 的研究針對紐西蘭與斯洛伐克境內常見苔類植物的水熊蟲物種進行調查，發現水熊蟲棲息在各種苔類植物。由於不同國家的水熊蟲與蘚苔植物種類可能會不同，且一般生物容易受環境因子影響其分布，目前尚未有研究針對台灣的蘚苔植物種類與水熊蟲物種關係進行調查，只有調查水熊蟲種類 (Leong,2019;Li,2008)(李與陰，2010)。因此本研究想調查校園內的蘚苔植物能發現哪些種類的水熊蟲棲息，並探討環境因子是否會影響水熊蟲的數量與分布。

## 二、背景介紹

### (一) 實驗生物簡介

#### 1. 水熊蟲簡介

緩步動物門 *Tardigrada* (圖 2) 俗稱水熊蟲，共約 900 多種類 (Garey *et al.*, 2008)。特徵：八條腿有爪子、大腦和中樞神經系統，嘴巴後方有類似吸盤的咽喉，可以刺穿食物，因此被獨立成一個門 (Nelson, 2002)。根據身體的結構特徵與生活環境，可以將水熊蟲分成真緩步綱、異緩步綱以及中緩步綱 (表 1)，本研究所觀察的水熊蟲為真緩步綱與異緩步綱。

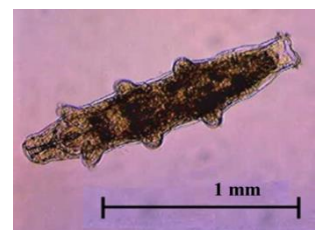


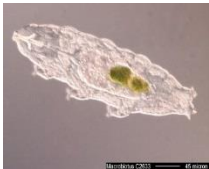

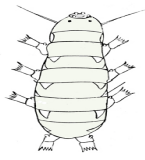
圖 2 水熊蟲

水熊蟲主要分為肉食性與植食性 (Schill, 2011)，肉食性攝食輪蟲、線蟲和其他體型較小的水熊蟲，植食性則會攝食蘚苔植物的假葉與土壤中的藻類，而本研究收集到的水熊蟲種類皆為植食性的水熊蟲。

#### 2. 水熊蟲隱生介紹

水熊蟲在極端環境如：乾燥、低溫、高溫、缺氧、真空、高壓、高輻射會將身體收縮，進入隱生 (cryptobiosis) 狀態，此時水熊蟲體內會以海藻糖 (trehalose) 取代水分並降低代謝速率，使水熊蟲能在極端環境下將傷害降至最低，進而延長其壽命。當水熊蟲重新接觸到充足的水分時，牠的身體就會重新舒展，回復正常狀態 (Keilin, 1959)。

表 1 水熊蟲分類

界 Kingdom	動物界 <i>Animalia</i>		
門 Phylum	緩步動物門 <i>Tardigrada</i>		
綱 Class	真緩步綱 <i>Eutardigrada</i>	異緩步綱 <i>Heterotardigrada</i>	中緩步綱 <sup>註</sup> <i>Mesotardigrada</i>
照片			
棲息地	陸地蘚苔與淡水	多數為海洋 少部分演化至陸地蘚苔植物	溫泉
體腔特徵	體表光滑	體腔具背板 體表有許多觸毛與突起	頭部具有 2 個附屬肢
常見物種	小斑熊蟲、大生熊蟲 小生熊蟲、趾生熊蟲 高生熊蟲、拉氏熊蟲	角端爪熊蟲、端爪熊蟲 泛綠端爪熊蟲、翠綠端爪熊蟲	<i>Thermozodium</i>
圖片來源	Schultze, 1834	Heidemann, 2016	Karen, 1999

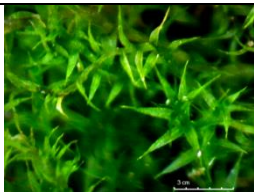


註: 中緩步綱自 1973 年首次發現後, 就未再發現此物種。

### 3. 蘚苔植物 (本研究所採集到的樣本皆為苔類植物)

蘚苔植物在全世界約有 23,000 種, 臺灣則有 2,000 多種。蘚苔植物主要分為蘚類、苔類和角蘚類 (表 2)。蘚苔植物的假莖假葉不具維管束組織, 喜愛潮濕的環境, 主要生長在樹幹、岩壁、葉片、石塊、水池等 (吳等, 2001)。

Ramazzotti 和 Maucci 於 1983 年指出, 蘚苔植物基於以下條件: **1. 具備能使充足氧氣擴散的結構。** **2. 能經歷乾濕交替的環境。** **3. 能提供水熊蟲足夠的食物。** 因此能成為水熊蟲喜愛的棲息地。

表 2 蘚苔植物分類

界 Kingdom	植物界 <i>Plantae</i>		
門 Phylum	苔類植物門 <i>Bryophyta</i>	蘚類植物門 <i>Hepatophyta</i>	角蘚植物門 <i>Anthocerotophyta</i>
照片			
圖片來源	作者拍攝	蔣等, 2000	

## (二) 建立水熊蟲採樣方法

水熊蟲為體長 0.25~1.5 mm 的微動物，要採集與觀察並不容易，本研究在初期使用了 3 種文獻採集的方法（表 3）自蘚苔植物收集水熊蟲，但這些採集方法耗時且無法收集到水熊蟲，因此本研究將會探討這些採集方法的優缺點，在經過分析比較後，設計出一套最有效的採樣方式。

表 3 水熊蟲採集方法介紹

收集方法	優點	缺點
直接採樣法 (楊與賴, 2005)	實驗設備器材簡單	1.需海底撈針尋找水熊蟲 2.無法收集到所有水熊蟲 3.花費時間長
離心法 (Nelson, 2002)	花費時間短	無法收集到所有水熊蟲
濕式漏斗法 (Hohberg, 2006)	1. 可以收集到大部分水熊蟲 2. 隱生狀態水熊蟲可利用此方法分離，並使其恢復正常活動	1.需要花費 1 天以上的時間 2.漏斗水樣多，觀察時間長

## (三) 探討不同季節與水熊蟲分布關聯

季節會影響不同種類水熊蟲族群數量，雙相熊蟲屬與高生熊蟲屬的族群數量會在冬季時達到高峰（圖 3b~d），大生熊蟲屬則會在夏季時有最多的族群數量（圖 3a）(Schuster & Greven, 2007)。由於不同種的水熊蟲在不同季節的數量不同，因此本研究想調查校園中水熊蟲分布季節，以利未來採集樣本能收集大量水熊蟲。

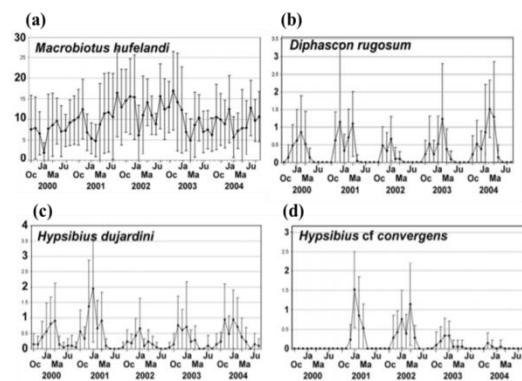


圖 3 水熊蟲於不同季節族群數

縱軸為每平方公分水熊蟲個體數，橫軸為採集年、月份。圖(a)為大生熊蟲屬 *Macrobotis hufelandi*，圖(b)為雙相熊蟲屬 *Diphascoen pingue*，圖(c)與圖(d)為高生熊蟲屬 *Hypsibius dujardini* 與 *Hypsibius cf convergens*。

## (四) 探討氣候乾溼對水熊蟲數量的影響

水熊蟲顧名思義需要生活於有水的環境（鈴, 2017），本研究將探討晴天和降雨後樣區水熊蟲數量是否會改變。水熊蟲不具呼吸與循環系統，牠們需藉由擴散作用使氧氣由周圍的水進入體內，由此可見水熊蟲為了生存，其生活環境必須維持一層薄薄的自由水，

因此本實驗也將探討每個樣區在晴天和雨天時，蘚苔植物葉片上自由水含量與蘚苔植物含水量是否會影響水熊蟲的數量。

### (五) 蘚苔植物基質與水熊蟲分布關聯

本研究採集了附生於樹幹、石塊、土壤以及柏油路的蘚苔植物，而 Sayre 與 Brunson(1971)的研究發現，附生在樹幹上的蘚苔植物最容易發現水熊蟲（圖 4），因此本研究將探討不同基質的水熊蟲數量分布。

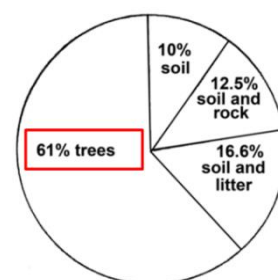


圖 4 蘚苔植物基質與水熊蟲分佈之關聯(Sayre, 1971)

## 三、研究目的

- (一) 比較文獻收集水熊蟲方法，並且設計最有效的採樣方式。
- (二) 調查校園內水熊蟲於蘚苔植物中的分佈情形。
  1. 計數各個樣區水熊蟲族群數量。
  2. 探討環境因子（季節、氣溫、氣候乾溼、棲息地面向方位、蘚苔植物基質、離地高度、樣區水質、蘚苔植物葉片自由水含量與植株含水量）是否會影響水熊蟲數量與分布。
  3. 鑑定校園的蘚苔植物與水熊蟲種類。

## 貳、研究設備及材料

### 實驗設備及器材

名稱	備註
Cat eye 三眼實體顯微鏡	購自瑞光儀器
UPMOST UPG309 影像擷取器	
複式顯微鏡	Motic BA210
Wifi CMOS 彩色相機	Moticam X <sup>2</sup>
Nichipet 微量吸取器	0.5-10 $\mu$ L
Nichipet 微量吸管	0.1-10 $\mu$ L
PASCO PS-2230 測定儀	溶解氧、溫度、pH、導電度

PASCO PS-2122 測定儀	濁度計
離心機	Hsiangtai CN-1040
95 % 乙醇	購自順億化工
Agar powder	購自順億化工
5.5mm 塑膠培養皿	購自 ExtraGene
電子秤	購自瑞光儀器
玻璃漏斗	直徑 90 mm
長尾夾	32 mm
橡皮管	內徑*外徑 3*4.6 mm
脫脂紗布	購自東和衛生材料

## 參、研究過程或方法

### 一、研究架構圖（圖 5）

本研究主要分為兩個部分：比較文獻採集水熊蟲的方法與調查校園中水熊蟲於蘚苔植物中的分布情形。要收集棲息於蘚苔植物內的水熊蟲並沒有想像容易，每次採樣宛如海底撈針，找了好幾週往往都只能發現 1、2 隻水熊蟲。因此將比較文獻中採集水熊蟲的方法，並改善其缺點，自製了濕離法使收集水熊蟲更有效率。建立了採樣方法後，進一步針對校園內的水熊蟲以及其棲息地的蘚苔植物種類進行鑑定。而在觀察水熊蟲的過程中發現，不同季節與時間點所觀察到的水熊蟲族群數量有所差異，因此也將探討各種環境因子如：季節、氣溫、氣候乾溼、棲息地面向方位、蘚苔植物基質、離地高度、水質、蘚苔植物葉片自由水含量與植株含水量對水熊蟲分布與數量的影響進行探討。



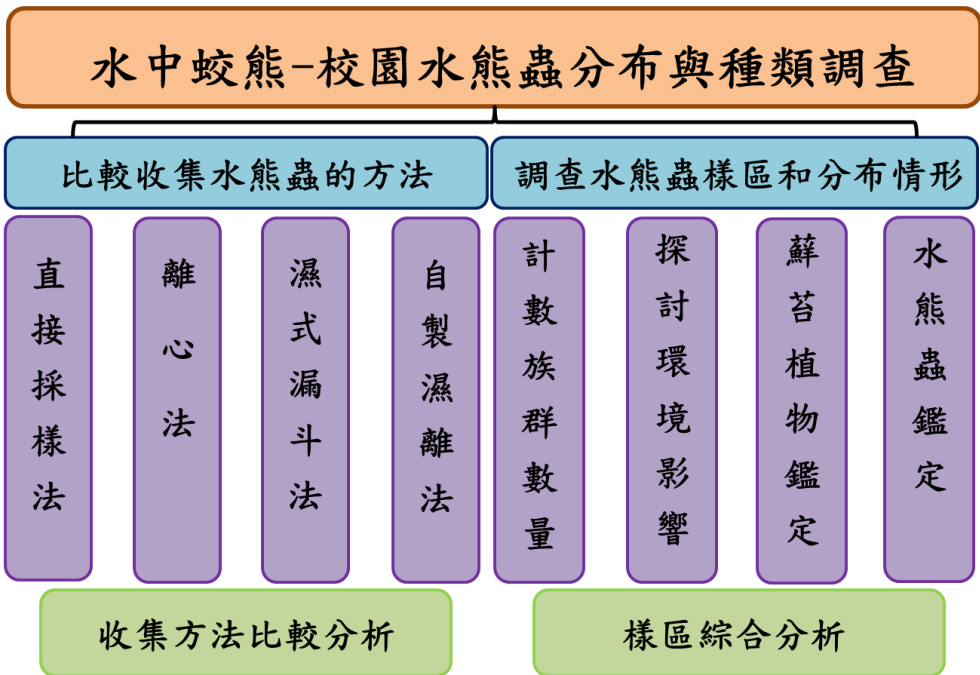


圖 5 研究架構圖

## 二、實驗方法與過程

### (一) 校園採樣樣區編號 (圖 6)

本研究於校園中安排 13 個樣區進行採樣：下操場停車格 (圖 6a)，校門口 (圖 6b)，下操場 (圖 6c)，大葉合歡樹幹 (圖 6d)，農場 (下) (圖 6e)，4 樓花圃 (圖 6f)，農場 (上) (圖 6g)，斜坡牆面 (圖 6h)，龍柏樹幹 a (圖 6i)，龍柏樹幹 b (圖 6j)，龍柏樹幹 c (圖 6k)，上操場花圃 (圖 6l)，斜坡水溝 (圖 6m)。

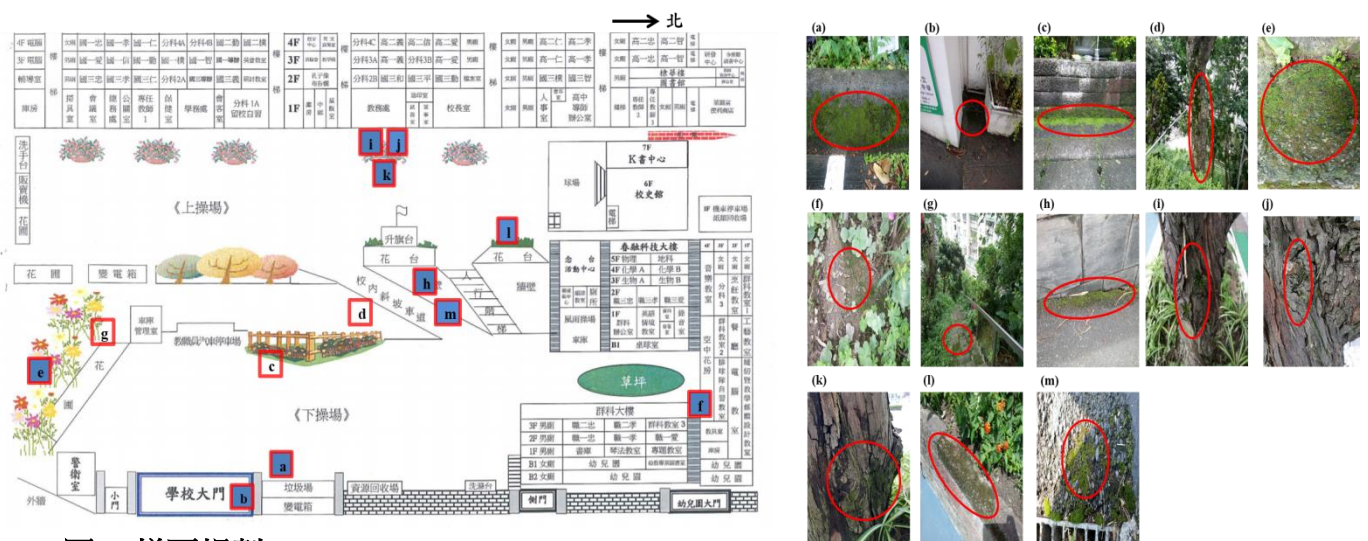


圖 6 樣區規劃

(a)~(m) 為 13 個樣區，紅圈為蘚苔植物採樣區塊。



## (二) 蘚苔植物採樣方法 (圖 7)

為了能使後續水熊蟲隻數計數的實驗在相同蘚苔植物面積的條件進行，設計 16 宮格的透明膠片，以利採集時的定量採樣並記錄座標、海拔高度、氣溫、空氣濕度、照度、蘚苔植物離地高度、面向方位和生長基質等。

### 步驟：

1. 製作 16 cm<sup>2</sup> 透明膠片，分割成 16 個 1 cm<sup>2</sup> 方格，並標上編號。
2. 記錄樣區的座標、海拔高度、氣溫、空氣濕度、照度、蘚苔植物離地高度、面向方位和生長基質。
3. 將透明膠片對應到樣區蘚苔植物上。
4. 隨機抽取 5 個號碼，採取透明膠片所對應到的蘚苔植物區塊。
5. 將蘚苔植物放於培養皿中保存。

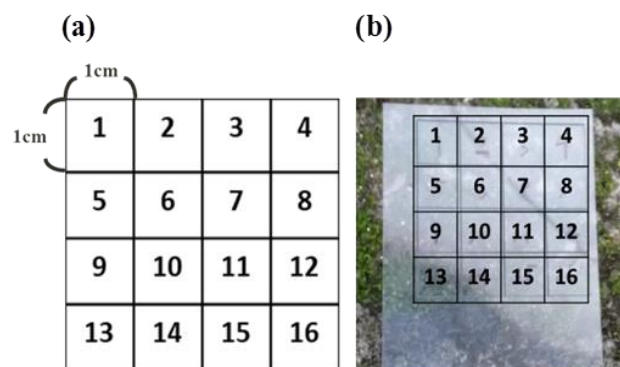


圖 7 透明膠片

(a)為透明膠片方格示意圖；(b)在採樣時會以抽籤的方式隨機抽取五個編號 1~16 的區塊採集。

## (三) 比較文獻收集水熊蟲方法

**預備實驗：**初次採集水熊蟲的季節為秋季，當時嘗試文獻中的直接採樣法、離心法與濕式漏斗法嘗試採集水熊蟲，耗時卻沒有水熊蟲，只見線蟲與蛭形輪蟲，因此將文獻方法加以改善後設計出自製濕離法，在冬季採集水熊蟲。本實驗初期先利用固定克數的蘚苔植物比較採集方法效率，但秤重後發現即使是不同大小的蘚苔植物其重量差異極小，因此本實驗使用固定蘚苔植物面積與水熊蟲隻數。

**正式實驗：**本實驗採集下操場停車場格樣區（穩定水熊蟲隻數與足夠面積）（圖 6a），將該樣區重複採集 4 次蘚苔植物，分別利用直接採樣法、離心法、濕式漏斗法與自製濕離法收集水熊蟲，比較四者尋找到一隻水熊蟲所需面積和 1 毫升水體積下的平均水熊蟲隻數，找出最有效率的收集方法。

### 文獻採集水熊蟲方法：

1. 直接採樣法（楊與賴，2005）步驟：

- (1) 於燒杯中將蘚苔植物與 10 mL 蒸餾水混合 10~15 分鐘。
- (2) 吸取 100  $\mu\text{L}$  沉澱物製作水埋玻片，移至解剖顯微鏡和複式顯微鏡下計數水熊蟲隻數，並詳細記錄其構造、種類與特徵。
- (3) 重複步驟 (2) 製作 10 個水埋玻片(每吸取 100  $\mu\text{L}$  水樣前將燒杯中水樣混合均勻)。

## 2. 離心法 (Nelson, 2002) 步驟：

- (1) 於燒杯中將蘚苔植物與 10 mL 蒸餾水混合。
- (2) 將混和後的水樣平均分至 1.5 mL 離心管中進行離心 (3000 rpm 離心 15 分鐘)。
- (3) 將上清液取出，以 200  $\mu\text{L}$  蒸餾水回溶沉澱物後倒入燒杯中。
- (4) 吸取 100  $\mu\text{L}$  沉澱物製作水埋玻片，移至解剖顯微鏡和複式顯微鏡下計數水熊蟲隻數，並詳細記錄其構造、種類與特徵。
- (5) 重複步驟 (4) 製作 10 個水埋玻片(每吸取 100  $\mu\text{L}$  水樣前將燒杯中水樣混合均勻)。

## 3. 濕式漏斗法 (Hohberg, 2006) (圖 8) 步驟：

- (1) 將漏斗頂部套上紗布，底部以夾子夾上橡膠管 (防止液體流出)。
- (2) 於紗布中放入蘚苔植物樣本，並且以 30 mL 蒸餾水浸泡蘚苔植物體一天 (此時水熊蟲會隨著水體從葉狀體表面掉落到漏斗底部)。
- (3) 將夾子移開，收集流出的液體至燒杯中。
- (4) 吸取 100  $\mu\text{L}$  水樣製作水埋玻片，移至解剖顯微鏡和複式顯微鏡下計算水熊蟲隻數，並詳細記錄其構造、種類與特徵。
- (5) 重複步驟 (4) 製作 10 次水埋玻片(每吸取 100  $\mu\text{L}$  水樣前將燒杯中水樣混合均勻)。

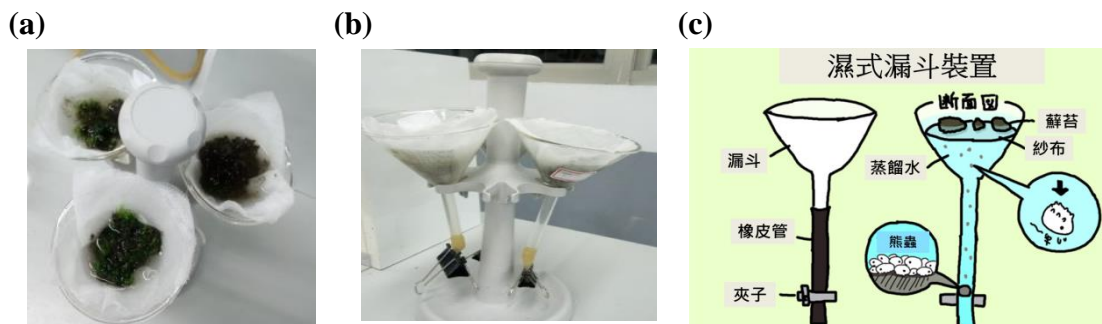


圖 8 濕式漏斗法

(a)~(b) 濕式漏斗裝置，(c) 濕式漏斗法裝置示意圖。

圖 (c) 取自：第 18 回 一網打盡！クマムシ大量捕獲マシン | ナショナルジオグラフィック日本版サイト

<https://natgeo.nikkeibp.co.jp/nng/article/20141118/424927/>

自行設計的水熊蟲採集方法：

#### 4. 自製濕離法（離心法與濕式漏斗法結合）步驟：

- (1) 利用濕式漏斗法放置蘚苔植物樣本一天。
- (2) 將夾子移開收集流出的液體，將水樣平均分至 1.5 mL 離心管中進行離心（4000 rpm 離心 15 分鐘）。
- (3) 將上清液取出，以 200  $\mu$ L 蒸餾水回溶沉澱物後倒入燒杯中。
- (4) 吸取 100  $\mu$ L 沉澱物製作水埋玻片，移至解剖顯微鏡和複式顯微鏡下計數水熊蟲隻數，並詳細記錄其構造、種類與特徵。
- (5) 重複步驟 (4) 製作 10 個水埋玻片（每吸取 100  $\mu$ L 水樣前將燒杯中水樣混合均勻）。

#### 5. 比較不同水熊蟲採集方法效率

**實驗一**：使用**固定面積蘚苔植物**，但**未固定水熊蟲隻數**進行 4 種方法比較。

步驟：

- (1) 於下操場停車格樣區採集 20  $\text{cm}^2$  的蘚苔植物。
- (2) 將蘚苔植物樣本分成 4 組。
- (3) 分別以直接採樣法、離心機法、濕式漏斗法與自製濕離法收集水熊蟲。
- (4) 將 5 個水埋玻片的水熊蟲隻數加總後平均，計算每一種收集方法尋找到 1 隻水熊蟲所需要的面積。

$$\text{公式：} \frac{\text{蓋玻片面積}(3.24 \text{ cm}^2)}{\text{平均水熊蟲隻數}}$$

**實驗二**：使用**固定面積蘚苔植物與水熊蟲隻數**，進行 4 種方法比較。

**實驗一**發現固定蘚苔植物面積而未固定水熊蟲隻數，在利用 4 種方法收集後，直接採樣法與離心法皆無法發現任何 1 隻水熊蟲，導致 2 者間無法比較，因此針對**實驗一**進行修正，在**實驗二**改以固定蘚苔植物面積和水熊蟲隻數，比較 4 種採集水熊蟲的方法，並在操作每一種收集方法時 3 重複，讓實驗結果能夠更精確。

步驟：

- (1)於下操場停車格樣區採集 20  $\text{cm}^2$  的蘚苔植物。

- (2)以濕式漏斗法分離蘚苔植物內生物（確保蘚苔植物內沒有任何生物）。
- (3)將蘚苔植物樣本分成 4 組，每一組放入 10 隻水熊蟲。
- (4)同**實驗一**步驟(3)~(4)操作。
- (5)利用 Excel 計算四種收集水熊蟲方法的標準差。

**實驗三**:使用**固定面積蘚苔植物與水熊蟲隻數**，計數**樣本 1 mL 水樣下水熊蟲平均隻數**。

**實驗一**與**實驗二**皆為 4 種採集方法觀察一隻水熊蟲所需面積不易比較，在**實驗三**將實驗方法改為計數 4 種採集方法於 1 mL 水體積下所觀察到的平均水熊蟲隻數。

**步驟**：

- (1)於下操場停車格樣區採集 20 cm<sup>2</sup> 的蘚苔植物。
- (2)以濕式漏斗法分離蘚苔植物內生物（確保蘚苔植物內沒有任何生物）。
- (3)將蘚苔植物樣本分成 4 組，每一組放入 10 隻水熊蟲。
- (4)分別以直接採樣法、離心機法、濕式漏斗法以及濕離法收集水熊蟲（3 重複）。
- (5)將每一組方法收集完的水樣吸取 1 mL 製成 10 個水樣 100 μL 的水埋玻片。
- (6)計數每一種收集方法觀察到的水熊蟲平均隻數。

#### (四) 校園水熊蟲分布與種類調查

未來需大量水熊蟲評估是否能成為空氣汙染指標生物。今年將先探討校園中哪些樣區與蘚苔植物種類能發現大量的水熊蟲，並探討樣區的環境因子是否會影響水熊蟲的分布與數量。由於部分樣區蘚苔植物數量過少，無法提供實驗進行多次採集，因此以下實驗過程於每季節皆執行 1 重複。

##### 1. 計數各個樣區水熊蟲族群數量

利用自製濕離法採集 13 個樣區蘚苔植物的水熊蟲，計數並比較不同樣區隻數差異。

##### 2. 探討環境因子是否會影響水熊蟲數量與分布

將採集時樣區的季節、氣溫、氣候乾溼、棲息地面向方位、蘚苔植物基質、離地高度、樣區水質、蘚苔植物葉片自由水含量與植株含水量進行記錄後，利用自製濕離法收集水熊蟲並比較這些環境因子是否會影響水熊蟲的族群數量與分布。

### (1)探討季節是否會影響水熊蟲分布與族群數量

本研究初次使用自製濕離法採集水熊蟲樣本的季節為冬季，後續的實驗也針對春季與夏季進行樣本採集，探討不同季節水熊蟲分布樣區數和隻數是否有差異。

### (2)探討氣候乾溼是否會影響水熊蟲分布與族群數量

本研究在夏季的時候將採集實驗分為晴天（持續 1 周末降雨）、降雨 1 周（持續降雨 1 周）和降雨 2 周（持續降雨 2 周），探討氣候的乾溼是否會影響水熊蟲的數量。

### (3)探討蘚苔植物基質是否會影響水熊蟲樣區數與隻數

本實驗將蘚苔植物依生長基質分為樹生、土生、岩生與地生，代入下方 2 個公式，計算水熊蟲在冬、春、夏、夏季降雨 1 周與夏季降雨 2 周棲息於不同蘚苔植物基質的隻數比例以及各種蘚苔植物基質能發現水熊蟲的樣區數比例。

$$\text{公式： 基質水熊蟲隻數比例} = \frac{\text{基質水熊蟲平均隻數}}{\text{基質樣區總數}} \times 100$$

$$\text{公式： 基質水熊蟲樣區數比例} = \frac{\text{基質水熊蟲樣區數}}{\text{基質樣區總數}} \times 100$$

### (4)探討水質是否會影響水熊蟲分布與族群數量

採集樣本後，使用水質監測儀（圖 9）量測水樣的濁度、酸鹼值、導電度、溶解氧濃度以及溫度，探討水質是否會影響水熊蟲的數量。

#### 步驟：

- A. 將蘚苔植物樣本利用濕式漏斗裝置浸泡蒸餾水 30 mL 1 天。
- B. 將浸泡完蘚苔植物的水樣用水質監測儀測定，比較不同樣區與季節的水質數據差異。

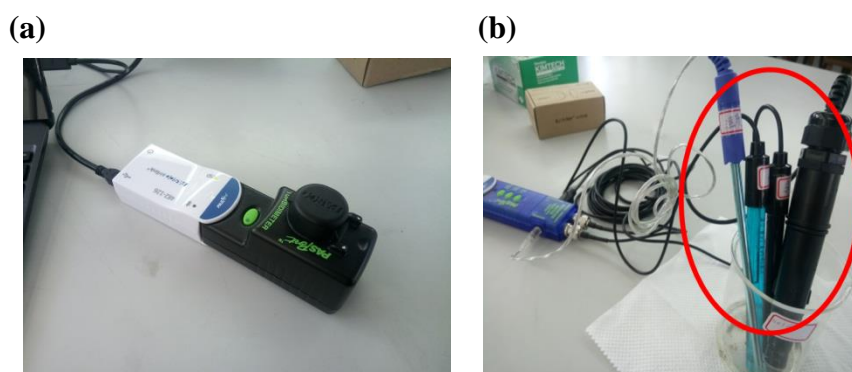


圖 9 水質監測儀

圖(a)為濁度計，圖(b)紅色圈部分由左至右依序為檢測溫度、酸鹼值、導電度和溶解氧濃度的測定儀。

### (5) 探討水熊蟲數量是否會受蘚苔植物葉片自由水含量與植株含水量影響。

水會影響水熊蟲的生存與活動力，此實驗將探討不同樣區蘚苔植物的微環境（含水量）是否會對水熊蟲數量造成影響。

#### **實驗四**：葉片自由水含量測定步驟：

A. 將採集夏季降雨 1 周後的蘚苔植物樣本置於 1.5 mL 的離心管。

B. 秤量離心管與蘚苔植物重量。

C. 使用離心機以 4000 rpm 離心 15 分鐘。

D. 將上清液與離心管內的水分用滴管和長條濾紙吸出。

E. 再次秤量離心管與吸水後的蘚苔植物重量。

F. 計算蘚苔植物的葉片自由水含量。

$$\text{公式：} m1 - m2$$

說明：

m1=離心管+含自由水之蘚苔植物重量(g)

m2=離心管+去自由水之蘚苔植物重

#### **實驗五**：蘚苔植物含水量測定步驟：

(1) 將夏季採集的蘚苔植物樣本至於培養皿中密封。

(2) 秤量培養皿與蘚苔植物重量。

(3) 將蘚苔植物至於烘箱以 105°C 烘乾 6~8 小時。

(4) 再次秤量烘乾脫水後的蘚苔植物重量。

$$\text{公式：} \frac{m1-m2}{m2-m0} \times 100$$

說明：

m0=培養皿重量

m1=培養皿重量+含水蘚苔植物重量

m2=培養皿重量+烘乾後蘚苔植物重量

### 3. 辨識蘚苔植物種類步驟

(1) 以解剖顯微鏡與複式顯微鏡，觀察蘚苔植物的葉片形狀、葉緣、葉細胞。

(2) 參考苔蘚植物簡介（林，1988）與苔類植物圖鑑（蔣等，2000）交叉比對樣本蘚苔植物種類，並諮詢特生中心專家協助初步鑑定物種。

### 4. 辨識水熊蟲種類步驟

(1) 使用解剖顯微鏡觀察到水熊蟲後，使用微量吸取器 100  $\mu$ L 將其移至懸滴玻片。

(2) 將懸滴玻片上的水吸出，改以 20 % 的乙醇浸泡水熊蟲 10 分鐘，此時水熊蟲會被麻醉，其體腔與 4 對足將會伸展開來，方便拍攝觀察。

(3) 以複式顯微鏡觀察水熊蟲的細部特徵，如：口器、爪子和背板，並拍照記錄。

(4) 利用 Illinois Wesleyan University 所建立的網站檢索水熊蟲種類。

### 5. 水熊蟲飼養方法（Leong, 2019）

使用 2 % 洋菜固體培養基加入水熊蟲原生環境藻類與 3 mL 蒸餾水培養。



## 肆、研究結果

一、比較文獻採集水熊蟲的方式，設計出最有效率的方法。

實驗一：使用**固定面積蘚苔植物**，但**未固定水熊蟲隻數**進行 4 種方法比較（圖 10）。

在野外採集固定面積蘚苔植物，利用直接採樣法、離心法、濕式漏斗法和自製濕離法收集水熊蟲後發現，直接採樣法與離心法制作的 5 個水埋玻片中都無法發現任何一隻水熊蟲，而濕離法需  $1.6\text{cm}^2$  就能夠發現一隻水熊蟲，從此實驗得知**自製濕離法**是最有效率的方法。

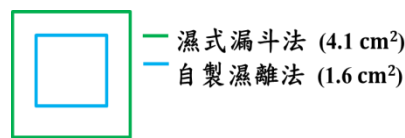


圖 10 尋找一隻水熊蟲所需面積大小

矩形為每一種收集方法觀察到一隻水熊蟲所需要的面積。

實驗二：使用**固定面積蘚苔植物與水熊蟲隻數**，進行 4 種方法比較（圖 11）。

以固定蘚苔植物面積和水熊蟲的隻數，使用 4 種收集水熊蟲方法，發現自製濕離法僅需  $1.52\text{cm}^2$  就能夠發現一隻水熊蟲。利用 Excel 的 STDEV.P 計算標準差得知，在 4 組收集水熊蟲的方法中，自製濕離法的標準差最小 ( $\pm 0.21$ )，因此可以得知**自製濕離法**為目前收集水熊蟲最有效率的方法。

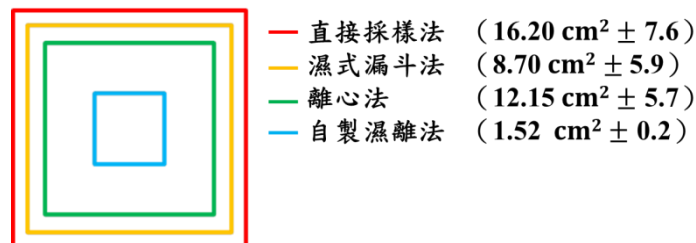


圖 11 尋找一隻水熊蟲所需面積大小 (n=3)

矩形為每一種收集方法觀察到一隻水熊蟲所需要的面積。

實驗三：使用**固定面積蘚苔植物與水熊蟲隻數**，計數 **1 mL 水樣下水熊蟲平均隻數**（圖 12）。

以固定蘚苔植物面積和水熊蟲的隻數，使用 4 種收集水熊蟲方法，發現自製濕離法在 1 mL 水體積下平均能發現 4 隻水熊蟲，因此可以得知**自製濕離法**為目前收集水熊蟲最有效率的方法。

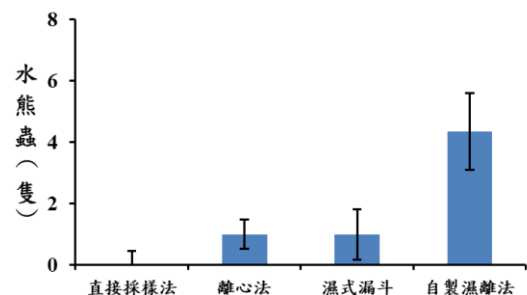


圖 12 1 mL 水體積下水熊蟲平均隻數(n=3)

## 二、調查校園內的水熊蟲分佈在哪些蘚苔植物和樣區，並探討其種類。

### (一) 利用自製濕離法計數各個樣區水熊蟲族群數量

冬季可以發現水熊蟲的樣區有下操場停車格(a)、校門人行道(b)、斜坡牆面(h)和龍柏樹幹 b(j)，春季和夏季新增了農場(下)(e)、4樓花園(f)龍柏樹幹 a(i)、花園(l)和斜坡水溝(m)這 5 個樣區能發現水熊蟲。下操場(c)、大葉合歡樹幹(d)和農場(上)(g)這 3 個樣區無論何時採集，皆只能看到蛭形輪蟲、線蟲或其他生物，無法發現任何水熊蟲(圖 13)。

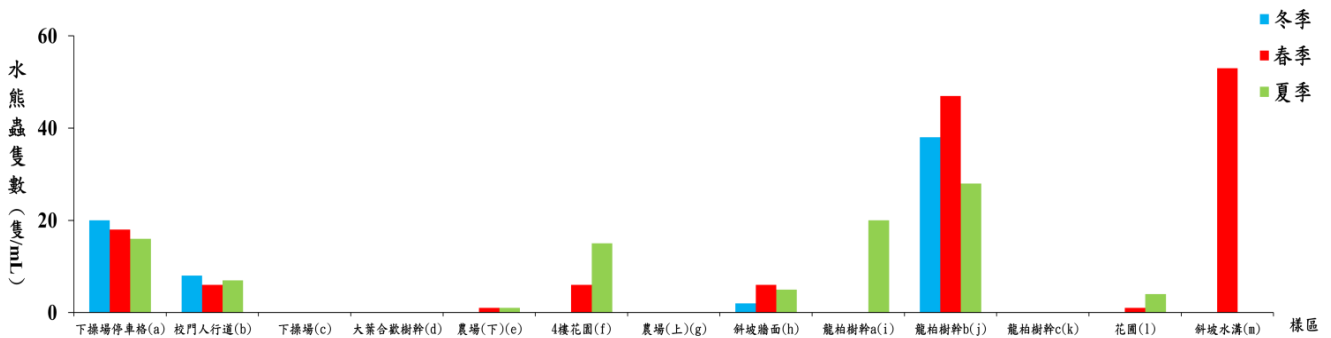


圖 13 校園不同樣區水熊蟲族群數量

龍柏樹幹 a 與龍柏樹幹 c 的樣區於冬春 2 季未進行採集，因此這 2 個樣區皆只提供夏季的數據。

### (二) 探討季節對水熊蟲分布樣區的影響

冬季與春季時，11 個樣區分別有 36% 與 72% 的樣區可以尋找到水熊蟲；夏季時 13 個樣區有 62% 的樣區可以尋找到水熊蟲。由此得知春季水熊蟲分布的樣區數量最多，夏季次之，冬季最少(圖 14)。

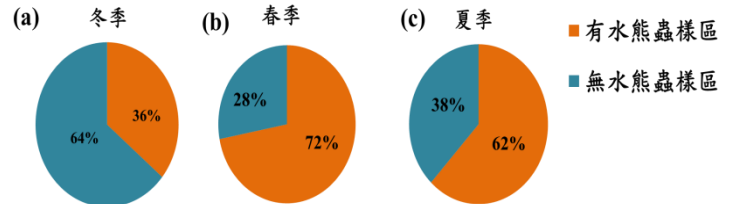


圖 14 不同季節校園水熊蟲分布的樣區數量

$$\text{計算公式} : \frac{\text{水熊蟲樣區數}}{\text{總樣區數}} \times 100$$

### (三) 計數不同季節樣區水熊蟲族群數量

冬季時龍柏樹幹 b(j)的水熊蟲隻數最多；春季時龍柏樹幹 b(j)與斜坡水溝(m)每毫升可發現超過 50 隻水熊蟲，夏季時龍柏樹幹 b(j)水熊蟲數量有下降，但還是夏季全樣區最多(圖 14)。下操場停車格(a)、校門人行道(b)、斜坡牆面(h)與龍柏樹幹 b(j)在 3 個季節皆能穩定發現水熊蟲棲息。

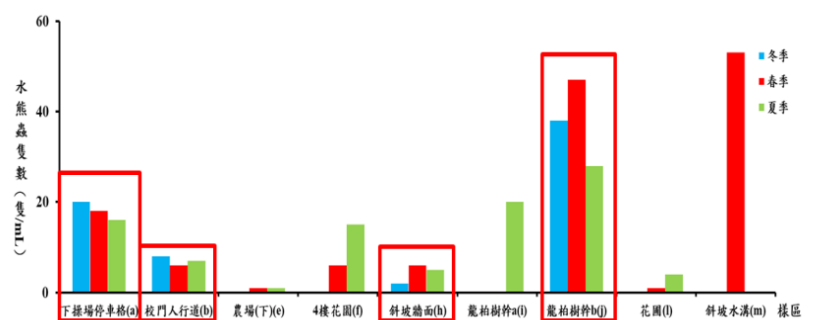


圖 14 冬季、春季與夏季校園水熊蟲分布情形

註：龍柏樹幹 a 的樣區於冬季與春季時未規畫進行採樣。

#### (四) 探討氣溫對水熊蟲的數量影響

所有季節（冬、春、夏）水熊蟲總隻數中，春季氣溫能發現水熊蟲的數量比例最高（圖 15）。

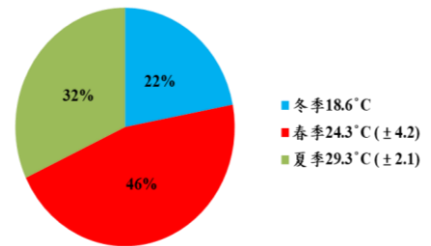


圖 15 氣溫與校園水熊蟲分布關聯

圓餅圖數值為不同季節水熊蟲數量占總隻數的百分比。春季與夏季的氣溫為採樣當日記錄之平均氣溫，冬季時採樣時尚未紀錄當日氣溫，因此參考中央氣象局提供的月均溫數據進行比較。

#### (五) 比較夏季氣候乾溼對水熊蟲的數量影響

相較於晴天 1 周以上，夏天持續降雨 1 周與降雨 2 周後水熊蟲隻數皆有提升，從圖可以發現水熊蟲在降雨後的數量成長以花圃(l)與斜坡水溝(m)樣區最明顯，2 者於降雨後皆發現超過 50 隻水熊蟲（圖 16）。

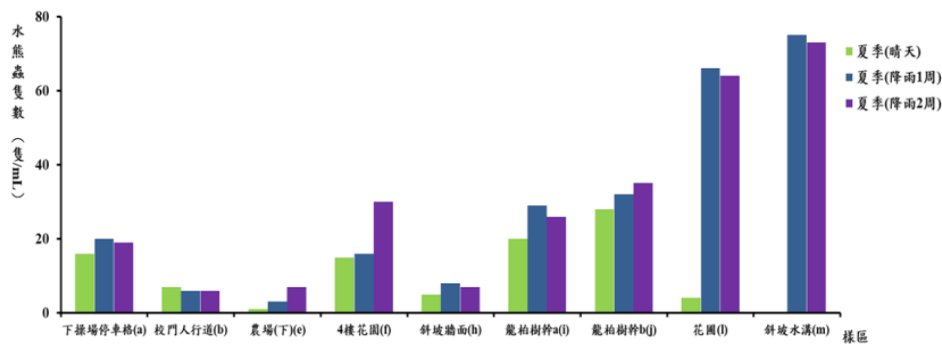


圖 16 晴天和降雨後校園水熊蟲分布情形

#### (六) 比較不同棲息地面向方位的水熊蟲族群數量比較

所有樣區中，面向東方與東南方的蘚苔植物，在 3 個季節皆能發現最穩定族群數量的水熊蟲，面向東南方的蘚苔植物在春季時則可發現每毫升有超過 60 隻的水熊蟲（圖 17）。

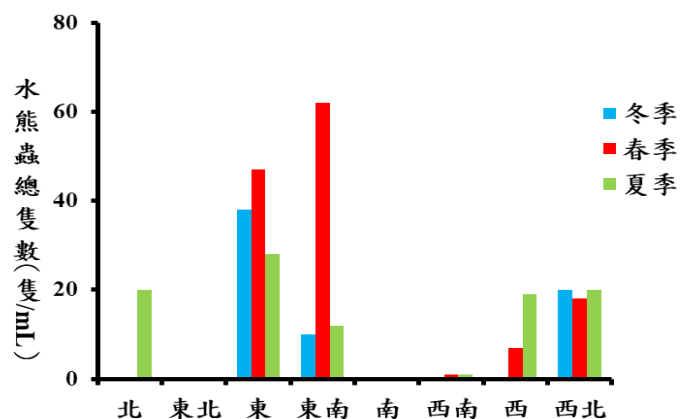


圖 17 校園水熊蟲棲息地面向方位與其總數量比較

縱軸數值為面向方位所有樣區水熊蟲隻數加總。由於部分面向方位並無本實驗採集所需的蘚苔植物，因此未針對面向方位東方與南方進行採樣，北方則於冬季與春季未進行採樣。

(七) 探討蘚苔植物基質是否會影響水熊蟲樣區數與隻數。

1. 觀察不同期間每一種蘚苔植物基質內分布的水熊蟲隻數 (圖 18)

冬季時發現有 68% 的水熊蟲棲息於基質為樹幹的蘚苔植物，而春季時因樣區數與水熊蟲族群數增加，因此在土生、岩生與地生這些基質所發現的水熊蟲數量有逐漸提升。

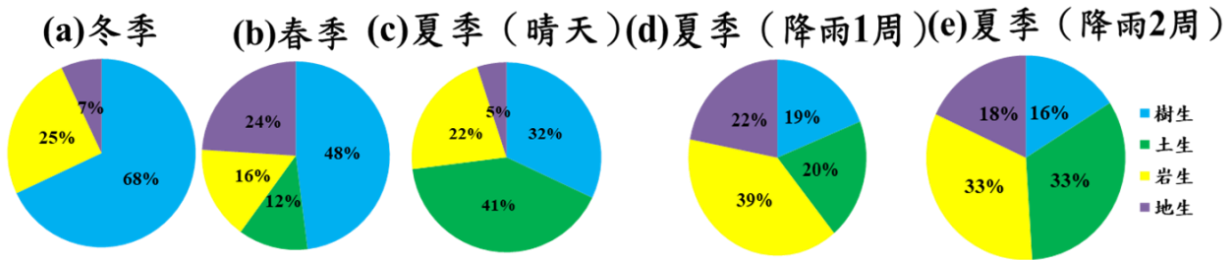


圖 18 不同季節水熊蟲於各種蘚苔植物基質的分布比例

$$\text{公式：} \frac{\text{該基質發現的水熊蟲平均隻數}}{\text{所有基質的樣區總數}} = \text{該基質水熊蟲隻數比例}$$

2. 觀察不同期間每一種蘚苔植物基質可發現水熊蟲的樣區數比例

從圖 19 可以發現樹生基質的蘚苔植物在任何季節皆有一半的樣區可以發現水熊蟲，土生與岩生的蘚苔植物自春季開始每個樣區皆能發現水熊蟲棲息，地生的蘚苔植物在冬、春與夏 3 個季節能發現水熊蟲的樣區數皆有不同。

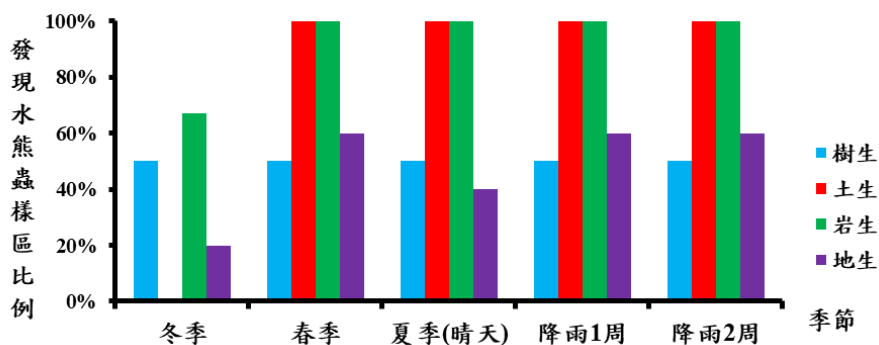


圖 19 各種蘚苔植物基質於不同季節可發現水熊蟲樣區數比例

$$\text{公式：} \frac{\text{該基質發現水熊的樣區數}}{\text{該基質的樣區總數}} \times 100 = \text{該基質發現水熊蟲樣區數比例}$$

### (八) 探討蘚苔植物離地高度是否會影響水熊蟲數量

在離地高度 0 cm 的樣區中，下操場(c)與農場（上）(g)皆無法發現任何水熊蟲，農場（下）(e)雖然在春夏 2 季都能發現水熊蟲，但數量極少，斜坡水溝(m)在春季時可發現大量水熊蟲，夏季與冬季無法發現任何水熊蟲，校門人行道與斜坡牆面則是在 3 個季節都能穩定發現水熊蟲（圖 20）。

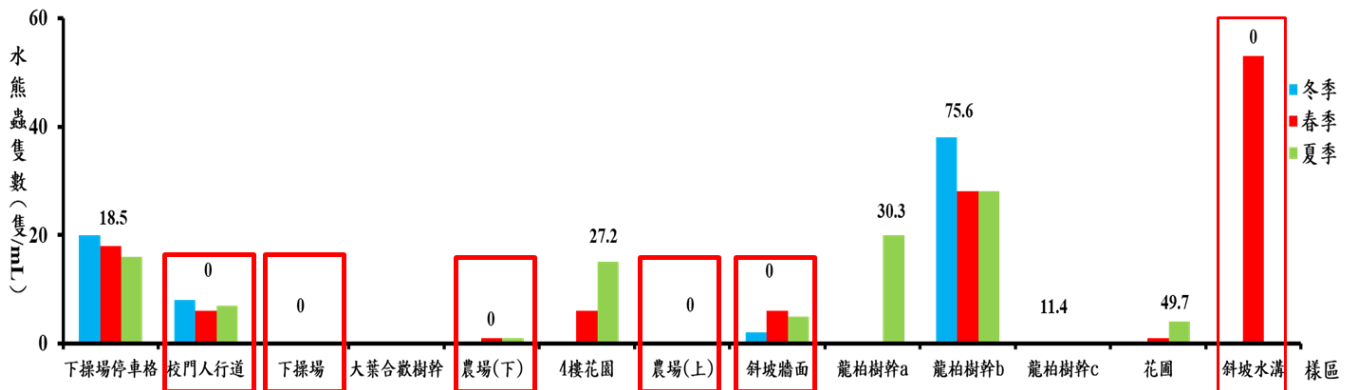


圖 20 樣區離地高度與校園水熊蟲分布關聯

柱狀圖上方數值為樣區蘚苔植物離地高度。大葉合歡樹幹因樣區高度限制無法測量。龍柏樹幹 a 與龍柏樹幹 c 的樣區冬季與春季時未進行採樣。

### (九) 探討水質對水熊蟲數量影響

其他水質檢測溫度、導電度和溶解氧濃度結果未發現差異，在酸鹼值結果發現相較於春季，發現龍柏樹幹 b(j)的水熊蟲數量在夏季時會明顯減少，其 pH 值下降到 6.4（圖 21）。

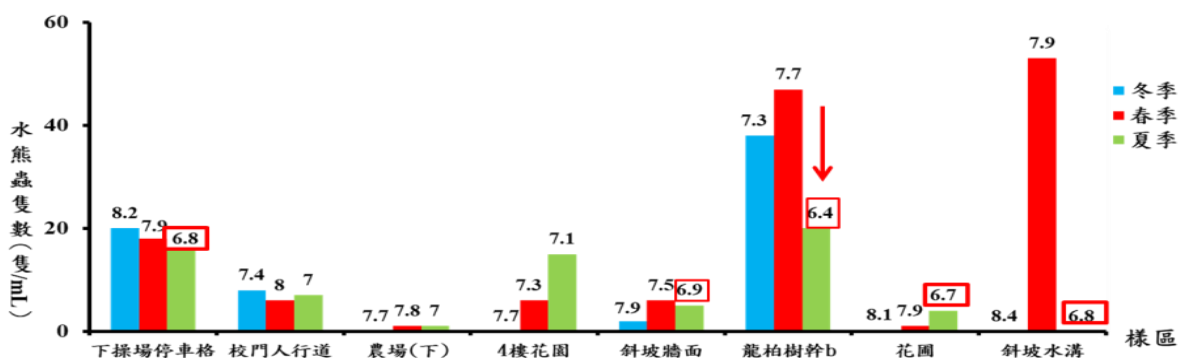


圖 21 不同樣區水樣 pH 值與校園水熊蟲數量關聯

長條圖上方數值為不同季節的 pH 值；將蘚苔植物樣本利用濕式漏斗裝置浸泡蒸餾水 30 mL 1 天測量其水質。

(十) 探討水熊蟲數量是否會受蘚苔植物葉片自由水含量與植株含水量影響

從圖 22 與 23 發現水熊蟲隻數並不會因蘚苔植物葉片自由水含量或植株含水量提高而使其數量增加，由此得知蘚苔植物含水量與葉片自由水含量不會對水熊蟲隻數造成明顯影響。

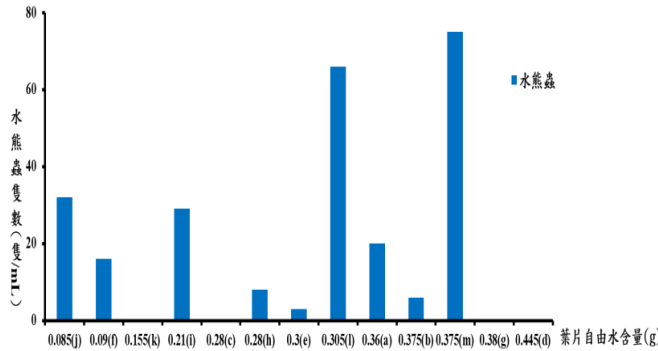


圖 22 蘚苔植物葉片自由水含量與水熊蟲數量

( ) 內字母代表樣區編號

蘚苔植物含水量計算公式： $m1 - m2$

$m1$ =離心管+含自由水之蘚苔植物重量(g)

$m2$ =離心管+去自由水之蘚苔植物重量(g)。

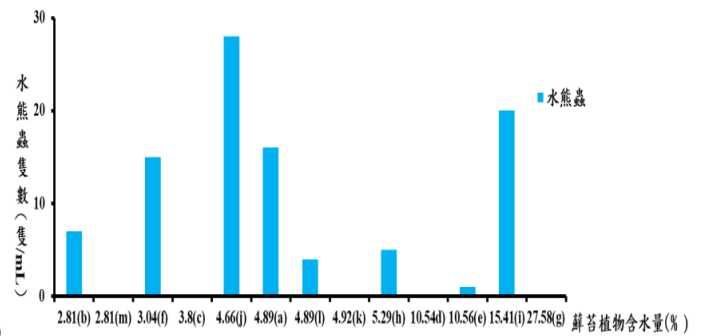


圖 23 蘚苔植物含水量與水熊蟲數量

( ) 內字母代表樣區編號

蘚苔植物含水量計算公式： $\frac{m1-m2}{m2-m0} \times 100$

$m0$ =培養皿重量

$m1$ =培養皿重量+含水蘚苔植物重量

$m2$ =培養皿重量+烘乾後蘚苔植物重量。

(十一) 蘚苔植物與水熊蟲種類鑑定

校園中可以尋找到水熊蟲的蘚苔植物有：龍柏樹幹(a)與(b)的錦苔屬，校門人行道、下操場停車格、上操場花園的溼地苔屬捲葉濕地苔，斜坡水溝的真苔屬，農場（下）的捲薄苔屬與 4 樓花園澤苔屬。在這 9 個樣區皆可發現趾生熊蟲屬的水熊蟲，而端爪熊蟲屬則會棲息於校門人行道的捲葉濕地苔（表 4）。

表 4 蘚苔植物與水熊蟲種類調查

水熊蟲種類	蘚苔植物種類
<b>植食性</b>	
趾生熊蟲屬	溼地苔屬捲葉濕地苔、錦苔屬、真苔屬、鱗葉苔屬、捲薄苔屬、澤苔屬
端爪熊蟲屬	溼地苔屬捲葉濕地苔



## 1. 蘚苔植物種類鑑定

型態分類鑑定參考苔蘚植物簡介（林，1988）與苔類植物圖鑑（蔣等，2000），由於蘚苔的植物體微小不易辨識，因此我們也諮詢了特生中心專家初步協助鑑定蘚苔植物種類。

表 5 蘚苔植物鑑定

界 Kingdom	植物界 <i>Plantae</i>				
門 Phylum	苔蘚植物門 <i>Bryophyta</i>				
綱 Class	苔綱 <i>Bryopsida</i>				
目 Order	灰苔目 <i>Hypnales</i>		真苔目 <i>Bryales</i>		
科 Family	錦苔科 <i>Hypnaceae</i>	叢苔科 <i>Pottiaceae</i>	真苔科 <i>Bryaceae</i>	捲薄苔科 <i>Hypnaceae</i>	珠苔科 <i>Pottiaceae</i>
屬 Genus	錦苔屬 <i>Sematophyllum</i>	濕地苔屬 <i>Hyophila</i>	真苔屬 <i>Bryum</i>	捲薄苔屬 <i>Racopilum</i>	澤苔屬 <i>Hyophila</i>
照片					
特徵 1	葉中肋 2 條 葉呈鐮刀狀彎曲	葉呈舌形 中肋單一	葉呈披針形；中肋 明顯常達尖或突出	葉中肋強；葉呈 卵狀長橢圓形	葉中肋強，近尖或 突出，葉卵披針形 至批針芒狀形
圖片					
特徵 2	葉緣微鋸齒 葉細胞線形	葉緣鋸齒	葉緣全緣	葉緣微鋸齒 中肋近尖或突出	葉緣鋸齒
圖片					
特徵 3	-	葉細胞圓方型至 六邊形細胞具有 疣的構造	葉細胞 6 角形	葉緣全緣 葉細胞圓方型 至六邊形	葉細胞圓方型至 長方形
圖片	-				
採樣環境	樹生	地生、岩生	岩生	地生	土生

## 2.水熊蟲種類鑑定

校園能發現趾生熊蟲屬 (Genus *Dactylobiotus*)與端爪熊蟲屬 (Genus *Echiniscus*) (表 6) 的水熊蟲。分類鑑定主要參考 Illinois Wesleyan University 所建立的網站 (表 7) (表 8)。

表 6 樣本中水熊蟲種類

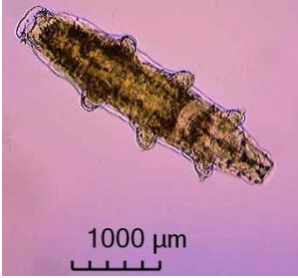
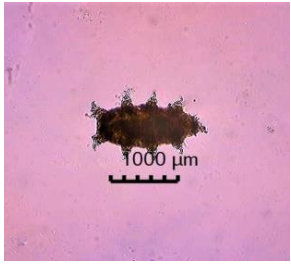
分類階層	照片	分類階層	照片
真緩步綱		異緩步綱	
離爪目		棘甲目	
大生熊蟲科		端爪科	
趾生熊蟲屬		端爪熊蟲屬	

表 7 趾生熊蟲屬形態特徵


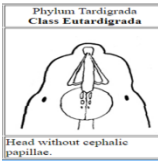
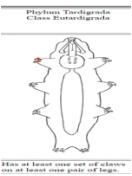
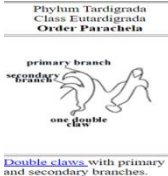
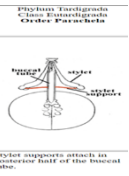
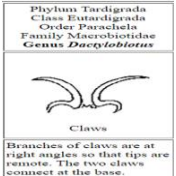
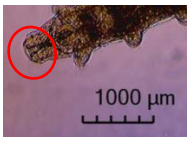

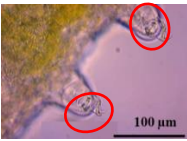
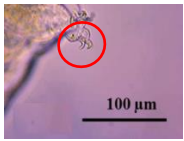

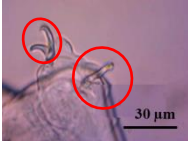
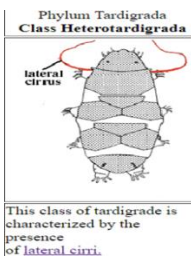
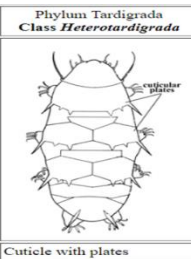
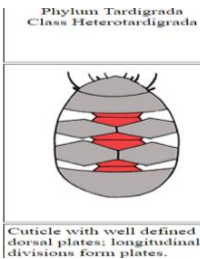
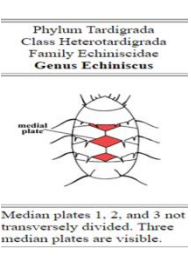
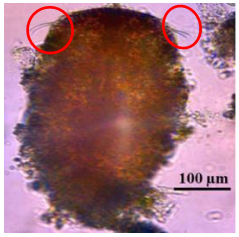
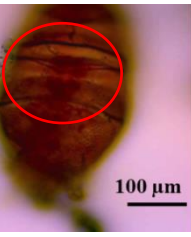
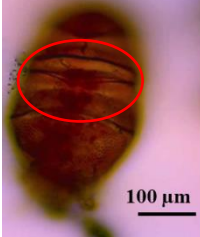
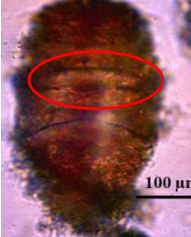
趾生熊蟲屬形態特徵 檢索步驟由左往右檢索						
示意圖						
實際圖						
說明	頭部無側面觸毛 (lateral cirri)	頭部沒有乳頭狀突起 (cephalic papillae)	任一足上至少有一對爪子	足具 2 對爪，每一對爪分為主要分枝與次要分枝	口刺支持器 (stylet support) 靠進口管 (buccal tube) 後半段	爪分支相連於基部，彼此之間垂直

表 8 端爪熊蟲屬形態特徵

端爪熊蟲屬形態特徵 檢索步驟由左往右檢索

示意圖	 <p>Phylum Tardigrada Class Heterotardigrada</p> <p>lateral cirrus</p> <p>This class of tardigrade is characterized by the presence of lateral cirri.</p>	 <p>Phylum Tardigrada Class Heterotardigrada</p> <p>cuticular plates</p> <p>Cuticle with plates</p>	 <p>Phylum Tardigrada Class Heterotardigrada</p> <p>Cuticle with well defined dorsal plates; longitudinal divisions form plates.</p>	 <p>Phylum Tardigrada Class Heterotardigrada Family Echiniscidae Genus Echiniscus</p> <p>median plates</p> <p>Median plates 1, 2, and 3 not transversely divided. Three median plates are visible.</p>
實際圖	 <p>100 μm</p>	 <p>100 μm</p>	 <p>100 μm</p>	 <p>100 μm</p>
說明	頭部有側面觸毛 (lateral cirri)	背部表皮(cuticle)有甲板(plates)構造	具有對稱的橫向甲板	對稱的橫向甲板相連，沒有分開

三、水熊蟲飼養方法

在經過水熊蟲種類鑑定後，得知校園中的水熊蟲為趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬，牠們 2 者皆為植食性的水熊蟲(Schill, 2011)，因此我在培養基中加入牠們原生環境的藻類，讓水熊蟲能夠攝食穩定存活，未來將進一步探討如何使其大量繁殖子代。

伍、討論

一、自製濕離法為採集水熊蟲最有效率的方法(表 9)

直接採樣法(楊與賴, 2005)與離心法(Nelson, 2002)的困難與挑戰在於無法從解剖顯微鏡觀察到部分藏身在土壤或葉腋的水熊蟲，而且收集效率不佳，每次實驗有如海底撈針，花了時間卻難以收集到水熊蟲，而濕式漏斗法(Hohberg, 2006)雖然可以收到大部分水熊蟲但水樣太多也不易觀察。因此先使用濕式漏斗收集水熊蟲後，接著再使用離心機濃縮水樣，讓所有水熊蟲都可以聚集在沉澱物中，本研究自製濕離法大幅改善了直接採樣法與離心法的缺點(表 9)，同時自製濕離法在浸泡蘚苔植物時，也能使隱生狀態的水熊蟲在這過程中恢復正常活動，以利實驗的收集與觀察。

表 9 自製濕離法收集水熊蟲的優缺點

收集方法	優點	缺點
自製濕離法	1.可以收集到大部分水熊蟲 2.離心後水樣減少，方便觀察 3.隱生狀態水熊蟲可利用此方法分離，並使其恢復正常活動	需要花費 1 天以上的時間

## 二、異緩步綱水熊蟲棲息環境

校園能發現水熊蟲的 9 個樣區中，都可以尋找到真緩步綱趾生熊蟲屬的水熊蟲，其中校門口人行道的樣區還發現了異緩步綱端爪熊蟲屬水熊蟲，推測可能為光照影響。

異緩步綱水熊蟲多為海生水熊蟲(Smith, 2012)，生活環境受到較少光線照射，部分種類演化到陸地後，可能會偏好在

光照少的地方生存，由於校門前人行道的蘚苔植物有花盆遮蔽光線（圖 24），故能夠發現異緩步綱的水熊蟲，而另外 8 個樣區皆能受到充足光照，無法發現異緩步綱的水熊蟲。



圖 24 校門口人行道樣

## 三、水熊蟲不會棲息特定的蘚苔植物

首次發現趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬水熊蟲會棲息於校園內的錦苔屬、溼地苔屬捲葉濕地苔、真苔屬、鱗葉苔屬、捲薄苔屬與澤苔屬（表 4）。這是在 Horning *et al.* (1978) 與 Degma (2006) 的研究中未發現這兩屬的水熊蟲棲息在這些苔類植物中，我們推測水熊蟲會廣泛分布在各個種類的蘚苔植物。

## 四、水熊蟲的採集適合在春季進行

發現在冬季、春季與夏季 3 季中，水熊蟲的族群數會在春季時達到最高峰。春季相較於冬季光照增強，此時蘚苔植物的生物量與光合作用速率提升（吳等，2001）（潘，2009）（圖 25），水熊蟲會更適合在樣區棲息繁殖，而夏季的光照強度（10~30 萬 lux）超過了蘚苔植物的需求照度

（1~5 萬 lux）（楊，2019）。蘚苔植物所受的光照時間越長，降低 pH 值的能力也會提升（吳等，2001）。推測夏季蘚苔

植物容易腐敗使 pH 值降低，水熊蟲不易棲息生存導致夏季時的族群數量減少。

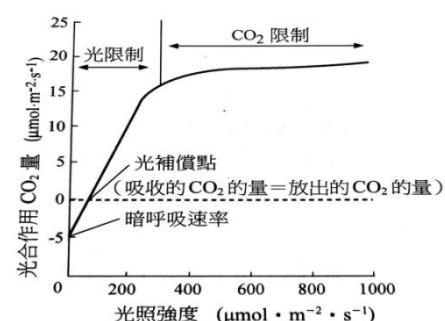


圖 25 光照強度與光合速率關係（潘，2009）



## 五、水熊蟲的數量在降雨後會增加

各樣區在降雨後水熊蟲的數量有增加（圖 16）。查詢文獻後得知水熊蟲主要傳播方式是在隱生後藉由風力傳播(Christenberry & Higgins 1979; Bertolani *et al.* 2009)，綜合文獻與本研究的結果可以推測，乾燥的蘚苔植物易使水熊蟲進入隱生狀態，因此水熊蟲不易附著於蘚苔植物。降雨後蘚苔植物吸收了水份，此時水熊蟲自隱生狀態恢復正常活動且容易附著於蘚苔植物，因此降雨後的水熊蟲數量會相較於乾燥晴天時增加。

## 六、面向方位東方與東南方的蘚苔植物能發現最多水熊蟲

圖 17 顯示面向東方與東南方的蘚苔植物有最多的水熊蟲棲息，東方的水熊蟲族群數不管在哪個季節都相對穩定，東南方則在春季時達到高峰，推測是因東南方的蘚苔植物皆為地生，經常會受到人車汙染影響，因此相較於樣區皆為樹生的東方蘚苔植物，東南方的水熊蟲數量變化較大，由此可以推測不同方位蘚苔植物內的水熊蟲，其族群數量主要還是受蘚苔植物生長基質影響。

## 七、地生蘚苔植物的水熊蟲數量會受人為影響

研究結果(圖 20)發現地生蘚苔植物能發現水熊蟲的樣區數在不同期間皆有所差異，而大部分未發現水熊蟲的樣區離地高度皆為 0 cm。推測是因為地生的樣區經常受到人車踩踏或汙染，因此地生蘚苔植物能發現水熊蟲的樣區數常常會有所改變。

## 八、並非樹生蘚苔植物皆可發現水熊蟲棲息

實驗初期採集了鳳凰木樹幹、大葉合歡樹幹與 2 棵龍柏樹幹的蘚苔植物，發現鳳凰木、大葉合歡與另一棵龍柏樹幹無論如何都無法發現水熊蟲棲息。而同一棵龍柏樹 3 個採樣點中，發現僅有(a)與(b)可以發現水熊蟲棲息，(c)則無法發現任何 1 隻水熊蟲，推測其原因可能為該樣區受建築物遮蔽光線，蘚苔植物生長狀況不佳因此無法提供水熊蟲棲息。

## 九、趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬無法在超過 100°C 的高溫生存

在進行蘚苔植物含水量測定時，發現經過 105°C 高溫烘乾蘚苔植物內的水熊蟲使用濕式漏斗收集後，皆呈現死亡狀態(圖 26)。小斑熊蟲科的水熊蟲於隱生狀態時，可以於最高 110°C 的溫度生存，與本研究同科的大生熊蟲科與端爪熊蟲科於隱生狀態時則無法在超過 100°C 的溫度生存(Hengherr *et al.* 2009)。由此可知並不是每一種水熊蟲皆能如報章雜誌所描述的在超過 100°C 的高溫生存。水熊蟲要耐高溫必須在隱生的條件下進行，其能夠忍受的高溫也會因物種不同而有所差異，未來將探討校園水熊蟲可忍受何種程度之高溫與極端環境。

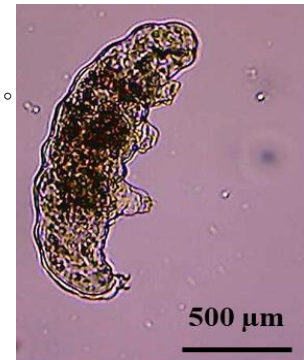


圖 26 死亡水熊蟲

水熊蟲在死亡後體腔拉長，四對足伸展。

## 十、調查校園中水熊蟲的食性

肉食性的水熊蟲主要會攝食輪蟲與線蟲(Schill, 2011)，而本研究所發現的趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬皆為植食性的水熊蟲，在牠們分佈的 9 個樣區中幾乎沒有發現輪蟲與線蟲，推測可能是環境無法提供充足的食物，導致在校園中無發現肉食性的水熊蟲。

## 陸、結論

- 一、本研究比較文獻收集水熊蟲的方法後，自製出了收集水熊蟲最有效率的濕離法。
- 二、校園水熊蟲樣區數與其族群數量會在春季時達到最高峰，夏季次之，冬季最少。
- 三、春季氣溫能發現水熊蟲的數量比例最高。
- 四、相較於降雨前，降雨後潮濕的蘚苔植物水熊蟲數量會增加。
- 五、校園內的水熊蟲多數棲息於面向方位東方與東南方的蘚苔植物。
- 六、樹生蘚苔植物在不同季節皆有一半的樣區可發現水熊蟲，地生蘚苔植物的水熊蟲數量則會隨時間而不斷的變化。
- 七、多數無法發現水熊蟲的樣區離地高度皆為 0 cm (地生)。
- 八、隨著 pH 值下降，部分樣區水熊蟲數量也會受到影響而減少。
- 九、葉片自由水含量與蘚苔植物含水量對水熊蟲數量並無顯著影響。



- 十、在校園中有 9 個樣區可以發現趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬的水熊蟲，樣區蘚苔植物為錦苔屬、溼地苔屬捲葉濕地苔、真苔屬、鱗葉苔屬、捲薄苔屬與澤苔屬。

## 柒、研究貢獻

- 一、本研究改善了文獻收集水熊蟲方法的缺點，自製出了創新的濕離法，使未來研究能在有限的時間內收集到最大數量的實驗動物。
- 二、為了收集大量水熊蟲，本研究在經過多次採集後整理出最適合採集水熊蟲的時間點與環境：1.春季和降雨 1~2 周後最適合採集水熊蟲。2.校園內的水熊蟲多數棲息於面向方位東方與東南方的蘚苔植物。3.校園內有一半的樹生樣區可以發現水熊蟲，地生的水熊蟲數量則會因人車影響而不斷變化。
- 三、本研究設計的實驗讓學生認識水熊蟲同時，還能讓學生了解水熊蟲的生活環境並進一步認識蘚苔植物的種類。

## 捌、未來展望

### 一、建立培養水熊蟲的方法

目前收集的水熊蟲只能依據其食性飼養，尚未了解水熊蟲是否能適應實驗室環境，未來將計算趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬在培養基中的存活率和個體平均增加率，建立適合趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬的培養環境，使其能夠繁殖出大量子代，若未來需要大量水熊蟲進行隱生機制的實驗，就不必花時間至室外收集樣本，實驗進行將更有效率。

### 二、趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬隱生機制的實驗

研究結果發現水熊蟲在經過高溫烘乾後無法生存，樣區水質的 pH 值下降使其數量減少。未來將設定不同溫度的環境與配置各種 pH 值的溶液，探討趾生熊蟲屬與端爪熊蟲屬在不同高溫或 pH 值的隱生狀態或生理機制表現。

### 三、探討空氣污染對水熊蟲的影響

Steiner 於 1995 年的研究中指出環境中二氧化硫濃度會影響水熊蟲分佈。水熊蟲需在水中生存，而二氧化硫溶於水形成亞硫酸。未來將研究不同濃度之亞硫酸對水熊蟲影響，探討牠們是否會隱生、死亡或是有其他的生理機制，評估水熊蟲是否能成為環境污染的指標生物。

## 玖、參考資料及其他

### 一、書籍

- (一) 林善雄 (1988)。苔蘚植物簡介。臺北市：臺灣省立博物館。
- (二) 鈴木忠 (2017)。地表最強熊蟲：不可思議的緩步動物。世茂出版社。
- (三) 蔣鎮宇、牟善傑、許再文、陳建志 (2000)。臺灣苔類植物彩色圖鑑。中華民國行政院農業委員會。
- (四) 潘瑞赤 (2008)。植物生理學。台北市：藝軒圖書出版社。105 頁。

### 二、科展報告

- (一) Weng I Leong(2019)。The diversity of Water bears of Taiwan and Macau.
- (二) 楊惇茹與賴品融 (2005)。臺灣 2005 年國際科學展覽會作品說明書：緩步門的木乃伊-會蟄伏的熊蟲。

### 三、期刊

- (一) 吳玉環，黃國宏，高謙與曹同(2001)。苔蘚植物對環境變化的回應及適應性研究進展. *應用生態學報*, 12(6), 943-946.
- (二) 陰環與李曉晨(2011)。臺灣緩步動物 (緩步動物門) 新紀錄種記述 (Doctoral dissertation).
- (三) Bertolani, R., Altiero, T., & Nelson, D. R. (2009). Tardigrada (Water Bears). In *Encyclopedia of Inland Waters*. Vol. 2. (Ed. GE Likens) pp. 443–455.
- (四) Christenberry, D., & Higgins, R. P. (1979). A new species of *Pseudodiphascon* (Tardigrada) from Alabama. *Transactions of the American Microscopical Society*, 508-514.
- (五) Degma, P. (2006). First records of two *Heterotardigrada* (Tardigrada) species in Slovakia. *Biologia*, 61(5), 501-502.
- (六) Garey, J. R., McInnes, S. J., & Nichols, P. B. (2008). Global diversity of tardigrades (Tardigrada) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595(1), 101-106.
- (七) Heidemann, N. W., Smith, D. K., Hygum, T. L., Stapane, L., Clausen, L. K., Jørgensen,

- A., & Møbjerg, N. (2016). Osmotic stress tolerance in semi-terrestrial tardigrades. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 178(4), 912-918.
- (八) Hengherr, S., Worland, M. R., Reuner, A., Brümmer, F., & Schill, R. O. (2009). High-temperature tolerance in anhydrobiotic tardigrades is limited by glass transition. *Physiological and Biochemical Zoology*, 82(6), 749-755.
- (九) Hohberg, K. (2006). Tardigrade species composition in young soils and some aspects on life history of *Macrobiotus richtersi* J. Murray, 1911. *Pedobiologia* 50: 267-274.
- (十) Horning, D. S., Schuster, R. O., and Grigarick, A. A. (1978). Tardigrada of New Zealand. *N. Zeal. J. Zool.* 5: 185-280.
- (十一) Keilin, D. (1959). The problem of anabiosis or latent life: history and current concept. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 150: 149±191.
- (十二) Li, X., & Li, H. (2008). Tardigrades from Taiwan, with the description of a new species of *Doryphoribius* (Tardigrada, Hypsibiidae). *Zoological science*, 25(5), 554-559.
- (十三) Miller, W. R. (1997). Tardigrades: Bears of the moss. *Kans. School Nat.* 43(3): 3-15.
- (十四) Nelson, D. R. (1991a). Tardigrada. Chapt. 15. In: Thorp, J. H. and Covich, A. P. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. *Academic Press, New York*, pp. 501-521.
- (十五) Nelson, D. R. (2002). Current Status of the Tardigrada: Evolution and Ecology. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 652–659. doi: 10.1093/icb/42.3.652
- (十六) Northcote-Smith, E. (2012). The ecology of tardigrades. *The Plymouth Student Scientist*, 5(2), 569-580.
- (十七) Ramazzotti, G. and Maucci, W. 1983. The phylum Tardigrada – 3rd edition: English translation by C. W. Beasley. Mem. Ist. Ital. Idrobiol. Dott. Marco de Marchi 41: 1B680.
- (十八) Sayre, R. M. and Brunson, L. K. 1971. Microfauna of moss habitats. *Amer. Biol.*

*Teacher Feb.* 1971: 100-102, 105.

- (十九) Schuster, R., & Greven, H. (2007). A long-term study of population dynamics of tardigrades in the moss *Rhytidiadelphus squarrosus* (Hedw.) Warnst. *Journal of Limnology*, 66(1s), 141-151.
- (二十) Schill, R. O., Jönsson, K. I., Pfannkuchen, M., & Brümmer, F. (2011). Food of tardigrades: a case study to understand food choice, intake and digestion. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49, 66-70.
- (二十一) Steiner, W. A. 1995. The influence of air pollution on mossdwelling animals: 5. Fumigation experiments with SO<sub>2</sub> and exposure experiments. *Rev. Suisse Zool.* 102: 13-40.
- (二十二) Wright, J. C. (2001). Cryptobiosis 300 years on from van Leuwenhoek: what have we learned about tardigrades?. *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 240(3-4), 563-582.

#### 四、網站

- (一) Key to Tardigrade Genera. (1999, October 1). Retrieved March 8, 2020, from <https://sun.iwu.edu/~tardisd/p/keypage1.html>
- (二) Macrobiotus C.A.S. Schultze, 1834. (n.d.). Retrieved March 8, 2020, from <https://www.artsdatabanken.no/Taxon/Macrobiotus/142640>
- (三) 泛科學網 (2015,12,02). 整個世界都是我的裝備庫！來看看地表最強的水熊秘訣生活。2019年9月5日，取自：<https://pansci.asia/archives/89390>
- (四) 楊玉鳳 (民 108 年 6 月 7 日)。[苔蘚學堂] 養苔基礎篇 Part 8 光照需求。2020年5月5日取自：<https://reurl.cc/g7onq7>

## 【評語】 030313

本作品本具高的探索性質，針對校園內不同區域的水熊蟲在不同季節、溫度及乾濕度得變化做出一個相當完整的調查，實驗中針對水熊蟲的定量設計出一個較理想的濕離法，值得鼓勵。作者尋找校園中的水熊蟲，探討發生地點的環境與蘚苔植物類群的關係，雖然所得的結論較為侷限，但探究精神可嘉。

# 前言

水熊蟲為體長0.25~1.5 mm的微動物，其分布與生理機制會受到空氣中二氧化硫濃度的影響(Steiner, 1995)。本研究原想評估水熊蟲是否能成為環境污染指標生物之一，但目前我對水熊蟲無足夠的認識與瞭解，且每次採樣宛如大海撈針，無法輕易取得實驗動物，因此今年將比較文獻收集水熊蟲的方式，設計出最佳的收集方法，同時也將探討環境因子對水熊數量與分布的影響，調查校園哪些樣區與蘚苔植物能發現最多水熊蟲，使未來實驗採集能更有效率。

## 研究器材與方法

### 一、研究器材

水熊蟲 (*Tardigrada*)(圖1)、蘚苔植物 (*Bryophyte*)(圖2)、複式顯微鏡、解剖顯微鏡、Wifi CMOS彩色相機 (Motic)、離心機和水質測定儀 (Pasco) 等相關器材。

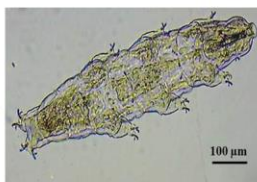


圖1 趾生水熊蟲屬



圖2 蘚苔植物

### 二、實驗架構圖

## 水中蛟「熊」-校園水熊蟲分布與種類調查

### 比較收集水熊蟲的方法

**直接採樣法**  
蘚苔植物浸泡於蒸餾水

**離心法**  
離心機分離蘚苔生物

**濕式漏斗法**  
濕式漏斗過濾蘚苔生物

**自製濕離法**  
濕式漏斗法搭配離心法

### 調查水熊蟲樣區和分布情形

**計數水熊蟲數量**  
比較不同樣區水熊蟲隻數

**探討環境因子影響**  
季節、乾溼、水質等

**蘚苔植物鑑定**  
葉片形狀、葉緣、葉細胞

**水熊蟲鑑定**  
口器、爪子、背板

### 收集方法比較分析

固定蘚苔面積與水熊蟲隻數  
比較收集效率

### 樣區綜合分析

探討環境和水熊蟲數量關聯並  
辨識蘚苔植物、水熊蟲種類

### 三、實驗方法

#### (一) 採樣樣區(圖3、4)

以隨機取樣方式採集蘚苔植物。



圖3 樣區實際圖

(a)-(m) 為13個樣區，紅圈為蘚苔植物區塊。

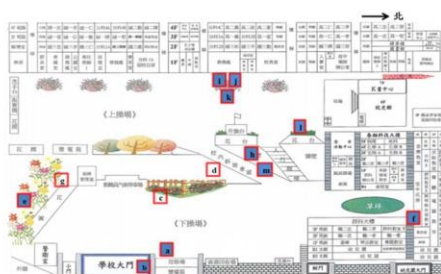


圖4 校園樣區示意圖

(a)-(m) 為13個樣區，藍底方格為發現水熊蟲樣區。

#### (二) 4種收集方法比較分析

比較不同收集方法利用：

- (1) 尋找1隻水熊蟲所需面積。
- (2) 1 mL水體積水熊蟲隻數。

#### (三) 計數水熊蟲數量

利用自製濕離法收集水樣，計數樣區1 mL水體積下水熊蟲總數。

#### (四) 探討環境因子對水熊蟲的影響

比較樣區季節、氣溫、氣候乾溼、棲息地面方向方位、蘚苔植物基質、離地高度、樣區水質、蘚苔植物葉片自由水含量與植株含水量。

#### (五) 蘚苔植物基質與水熊蟲關聯

比較不同蘚苔植物基質發現的水熊蟲隻數比例。

$$\text{水熊蟲隻數比例} = \frac{\text{基質平均隻數}}{\text{基質樣區總數}} \times 100\%$$



## 一、比較收集水熊蟲的方法

### (一) 尋找1隻水熊蟲所需面積 (圖5)

自製濕離法為收集水熊蟲最有效率的方法。



- 直接採樣法 (16.20 ± 7.6 cm<sup>2</sup>)
- 離心法 (12.15 ± 5.7 cm<sup>2</sup>)
- 濕式漏斗法 (8.70 ± 5.9 cm<sup>2</sup>)
- 自製濕離法 (1.52 ± 0.2 cm<sup>2</sup>)

圖5 尋找一隻水熊蟲所需面積 (n=3)

紅、黃、綠、藍線段分別為直接採樣法、離心法、濕式漏斗法和自製濕離法。矩形為4種收集方法觀察一隻水熊蟲所需面積。

### (二) 1 mL水體積下水熊蟲隻數 (圖6)

自製濕離法為收集水熊蟲最有效率的方法。

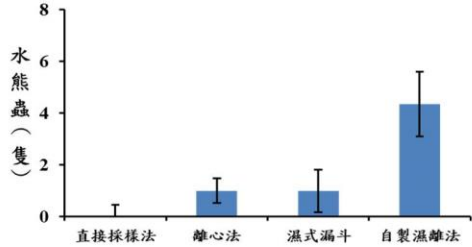


圖6 1 mL水體積下水熊蟲隻數 (n=3)

## 二、調查校園內水熊蟲樣區和分布情形

### (一) 水熊蟲分布樣區 (圖7)

3個季節中，13個樣區總共有9個能發現水熊蟲，春季的水熊蟲隻數最多，夏季次之，冬季數量最少。

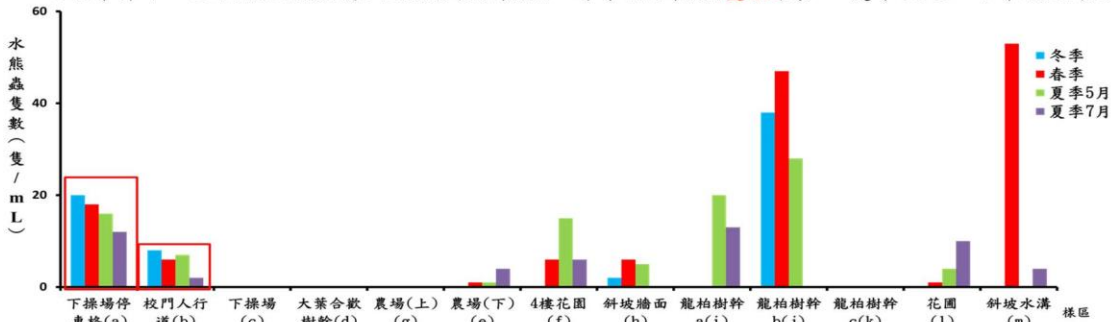


圖7 校園不同樣區水熊蟲族群數量

龍柏樹幹a與c樣區於冬、春季時未規畫進行採樣。將蘚苔植物樣本利用濕式漏斗裝置浸泡蒸餾水30 mL 1天測量其水質。紅色矩形框表示該樣區於4個時段皆可發現水熊蟲。

### (二) 環境因子—季節影響 (圖8)

春季水熊蟲分布樣區數最多，夏季次之，冬季最少。

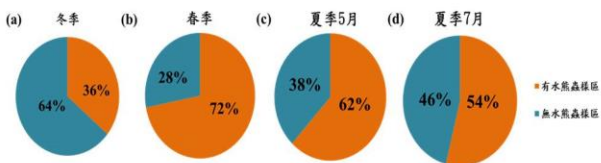


圖8 不同季節校園水熊蟲分布的樣區比例

計算公式： $\frac{\text{水熊蟲樣區數}}{\text{總樣區數}} \times 100\%$

### (三) 環境因子—pH值影響 (圖9)

夏季樣區 pH值小

於7，水熊蟲數量減少。



圖9 pH值小於7對水熊蟲影響

### (四) 環境因子—氣候乾溼影響 (圖10)

降雨後的水熊蟲數量明顯增加。

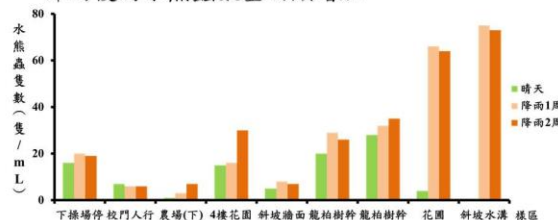


圖10 晴天和降雨後校園水熊蟲分布情形

### (五) 環境因子—蘚苔植物基質 (圖11)

隨著不同季節水熊蟲數量增加，且逐漸均勻分布於各基質中。

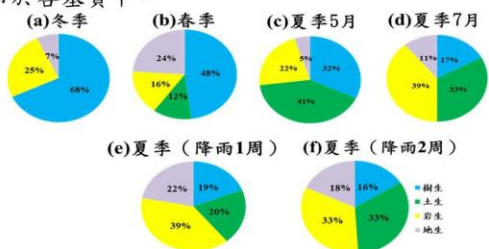


圖11 不同季節水熊蟲分布於各基質的比例

### (六) 水熊蟲與蘚苔植物種類鑑定 (表1、2)

表1 校園水熊蟲種類鑑定

分類階層	真緩步綱 並爪目 大生熊蟲科 趾生熊蟲屬	真緩步綱 並爪目 大生熊蟲科 小生熊蟲屬	真緩步綱 並爪目 大生熊蟲科 無芽熊蟲屬	異緩步綱 棘甲目 端爪科 端爪熊蟲屬
------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-----------------------------

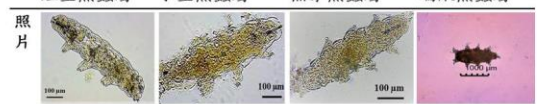


表2 校園水熊蟲分布的蘚苔植物種類

水熊蟲種類	蘚苔植物種類
趾生熊蟲屬	溼地苔屬捲葉濕地苔、錦苔屬、鱗葉苔屬、捲薄苔屬、澤苔屬
小生熊蟲屬	真苔屬
無芽熊蟲屬	溼地苔屬捲葉濕地苔
端爪熊蟲屬	溼地苔屬捲葉濕地苔

## 一、採集水熊蟲最有效率的方法 (表3) 二、臺灣新紀錄種

自製濕離法為採集水熊蟲最有效率方法。

表3 比較各種收集水熊蟲的方式

收集方法	優點	缺點
直接採樣法 (楊與賴, 2005)	實驗設備簡單	1. 海底撈針 2. 無法收集所有水熊蟲 3. 耗時長
離心法 (Nelson, 2002)	花費時間短	無法收集所有水熊蟲
濕式漏斗法 (Hohberg, 2006)	1. 可收集大部分水熊蟲 2. 使隱生水熊蟲恢復正常活動	1. 需耗時1天以上 2. 水樣多, 觀察時間長
自製濕離法	1. 可收集大部分水熊蟲 2. 離心後水樣減少, 方便觀察 3. 使隱生水熊蟲恢復正常活動	需耗時1天以上

趾生水熊蟲屬與無茅熊蟲屬為新紀錄種 (表4)。

表4 水熊蟲種類調查

水熊蟲種類	參考文獻
端爪水熊蟲屬 Genus <i>Echiniscus</i>	李與陰 (2011)
小生水熊蟲屬 Genus <i>Minibiota</i>	Li (2008) Leong (2019)
趾生水熊蟲屬 Genus <i>Dactylobiotus</i>	本研究
無茅熊蟲屬 Genus <i>Adorybiotus</i>	

## 三、基質與水熊蟲分布關聯 (圖12)

推測水熊蟲數量與分布受季節等環境因子影響, 而非蘚苔植物基質。

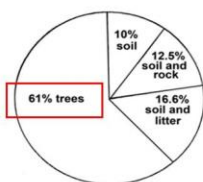


圖12 蘚苔植物基質與水熊蟲分布關聯 (Sayre, 1971)

## 四、水熊蟲採集適合於春季進行

蘚苔植物光合作用

用速率提升, 使春季發現較多水熊蟲 (圖13)。夏季光照強度過強, 蘚苔植物 pH 值下降 (吳等, 2001) 水熊蟲數量減少。

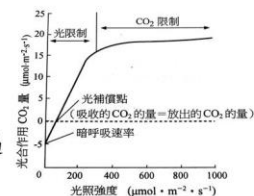


圖13 照度與光合速率關係 (潘, 2009)

## 五、水熊蟲數量在降雨後增加 (圖14)

(a) 受乾燥影響隱生

(b) 風力傳播

(c) 降雨後恢復正常活動

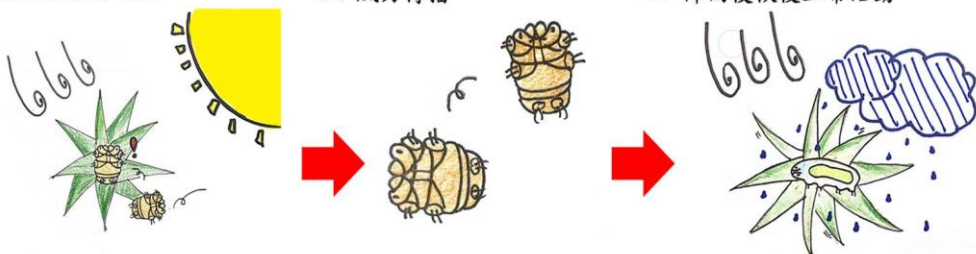


圖14 作者手繪水熊蟲傳播方式 (參考 Christenberry & Higgins 1979 ; Bertolani et al. 2009)

## 六、異緩步綱水熊蟲棲息環境

異緩步綱水熊蟲棲息於陰暗環境 (Smith, 2012), 但花園於7月調查時照度高達33千流明 (圖15), 依然可發現異緩步綱水熊蟲, 故推測其不完全分布於陰暗環境。

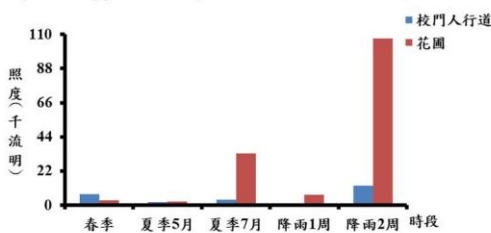
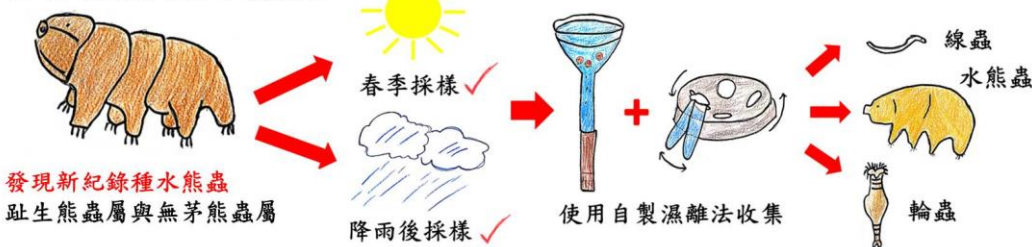


圖15 校門人行道與花園照度比較

## 研究貢獻與結論

如何收集大量水熊蟲?



## 未來展望

- 建立培養水熊蟲方法。
- 探討不同高溫與pH值對校園水熊蟲影響。
- 探討空氣污染對校園水熊蟲的影響。

## 參考資料

- Weng I Leong (2019). The diversity of Water bears of Taiwan and Macau.
- Li, X., & Li, H. (2008). Tardigrades from Taiwan, with the description of a new species of *Doryphoribius* (Tardigrada, Hypsibiidae). *Zoological science*, 25(5), 554-559.  
(詳細請見作品說明書)