

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 動物與醫學科

052006

池魚之殃－環境毒物對水生生物的影響，以水蚤為例

學校名稱：臺中市立文華高級中等學校

作者： 高二 詹秉憲 高二 陳淳華	指導老師： 鄭明宜
-------------------------	--------------

關鍵詞：益達胺、水蚤、環境毒性

摘要

本實驗主要研究水生生物水蚤(*Daphnia magna*)在處於不同濃度的環境毒物（農藥）—益達胺時，水蚤的行為、心跳、死亡率是否會受到影響。我們的實驗結果顯示：1.在遠低於文獻記載及市售益達胺建議的最高稀釋倍數下的濃度—極低濃度 0.0001ppm 時，水蚤的移動距離即明顯縮減。2.加入農藥後，水蚤心跳也呈現下降趨勢，顯示其會受農藥影響。3.在 0.05 ppm 時，小水蚤死亡率大幅提高；在加入農藥後，大水蚤的死亡率也大幅提升。且水蚤位於食物鏈底層，若水蚤受到環境中殘留益達胺的影響，即使是極低濃度，也可能使得水蚤族群活性降低甚至死亡，進而可能對上層的掠食者造成危害，並使生態系統失去平衡。

壹、研究動機

農民們為了要增加農作物的收成，使用了育種及肥料來使農作物的食用部份的生長變快、可食部份變多，且為了避免其他動植物影響農作物的生長，使用農藥來除掉害蟲。農藥雖然是大多數農民穩定生產不可或缺的幫手，但是產生的環境毒物卻有可能會對生態環境和人體健康造成傷害。

根據報導指出，在 2006 年末，開始有人們在美國發現蜜蜂失蹤的現象，這種被命名為蜂群崩壞症候群（Colony Collapse Disorder, CCD）的現象，被認為與拜耳公司於 1990 年代所推出的新菸鹼類農藥益達胺有關。

而益達胺在殺滅害蟲之餘，也對非目標生物蜜蜂造成傷害，那這些施用於農地的農藥產生的廢水若排進河川湖泊裡，也極有可能對當地同為非目標生物的水生生物造成影響，進而破壞生態系統平衡（劉俠，2010）。

高中生物的實驗中有一項是要計算水蚤的心跳，在比較熟悉且易取得的前提下，我們決定採用水蚤作為我們的水生生物研究對象，將其放置在低濃度益達胺中，研究牠的心跳、行為以及死亡率來驗證益達胺是否對水中生物水蚤造成傷害。

貳、研究目的

- 一、研究在不同濃度下益達胺對水蚤的行為影響
- 二、研究在不同濃度下益達胺對水蚤的心跳影響
- 三、研究在不同濃度下益達胺對水蚤的死亡率影響

參、文獻探討

一、農藥種類

農藥對生物所產生的影響，主要取決於藥物的性質、劑量、施用時間的長短、毒性的強度等。而農藥依特性可分成接觸性農藥（Contact pesticide）及系統性農藥（Systemic pesticide）。

（一）接觸性農藥

接觸性農藥是指病蟲等害物直接接觸農藥而產生殺滅作用，其在植株中的移行性小，容易附著於植物表面，或累積於臘質結構中，因此，與作物接觸的部位常形成較高殘留量（農夫樂，2013）。

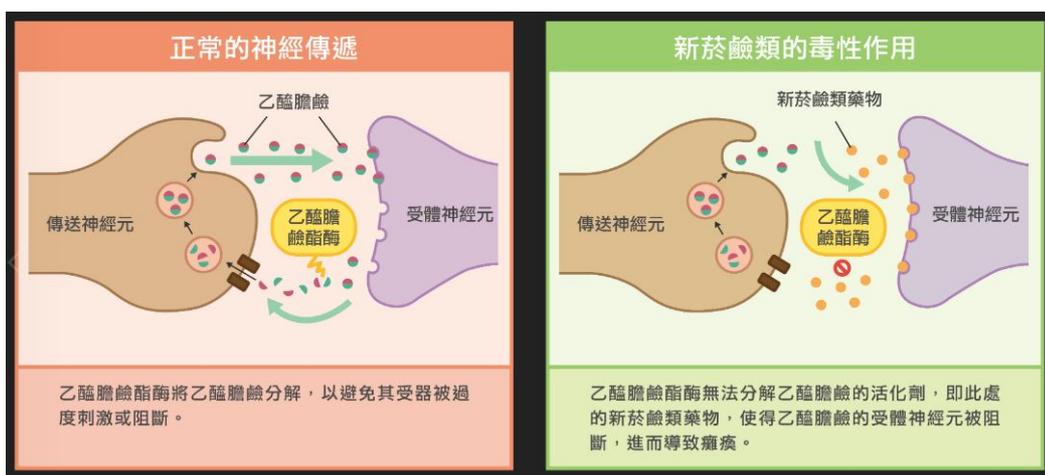
（二）系統性農藥

系統型農藥一般是水溶性的，具有移行性，農藥與作物接觸後，可經由植物施藥部位吸收，從表面、氣孔、水孔或根部吸收後，隨水分之輸送而遍布植物體內，並均勻地散布到植物的體內，在植物體上雖不會造成局部高殘留量，卻常因不易被雨水淋洗等因素影響，藥效可維持較久（農夫樂，2013）。

二、益達胺

益達胺屬於新菸鹼類農藥，又稱類尼古丁類農藥，屬於神經毒之殺蟲劑，是 1990 年代才興起的殺蟲劑。其作用於生物體的尼古丁乙醯膽鹼接受器，因其類似於自然發生信號傳遞的乙醯膽鹼，因此會對生物體造成干擾。

益達胺之物理化學特性使其在施用後能透過植物的木質部傳送至葉部等組織，再透過害蟲的攝食或直接接觸進入害蟲體內，藉由與神經突觸的菸鹼乙醯膽鹼受體結合，佔據其接合位，且無法被乙醯膽鹼酯酶分解，因而干擾生物體的正常神經訊息傳導，導致其攝食行為改變、麻痺，隨後死亡（圖一）。中毒後害蟲迅速停止進食活動，並在 24-48 小時內死亡，因接觸劑量不同也可能在 7 天後死亡（黃基森、薛翔泰、何旻遠，2013）。



圖一、殺蟲機制

資料來源：科學月刊(2018，5月)。蜜蜂與農藥的戰爭——歐盟禁用新菸鹼藥物的始末。

取自：http://scimonth.blogspot.com/2018/06/blog-post_68.html

美國環境保護署將益達胺歸類為第二或第三級(II/ III 級)毒性等級殺蟲劑，也被核定為一般性使用的農藥產品。目前文獻對毒性研究如表一。

表一、益達胺毒性一覽表

水蚤 (<i>Daphnia magna</i>) LC ₅₀ (48 h)	85 mg/L
豐年蝦 (<i>Mysid shrimp</i>) LC ₅₀ (96 h)	37 mg/L
虹鱒 (<i>Rainbow trout</i>) LC ₅₀ (96 h)	211 mg/L
鶉鴉 (<i>Bobwhite quail</i>) LD ₅₀	152 mg/L
野鴨 (<i>Mallard duck</i>) LD ₅₀	283 mg/L
大鼠口服急毒性 (<i>Rat acute oral</i>) LD ₅₀	450 mg/L
大鼠皮膚毒性 (<i>Acute dermal toxicity</i>) LD ₅₀	>1000 mg/L
蜜蜂 (<i>Honeybee</i>) LD ₅₀ (48 h)	0.008 μg /bee
魚類 (<i>golden fish</i>) LC ₅₀ (96 h)	237 mg/kg

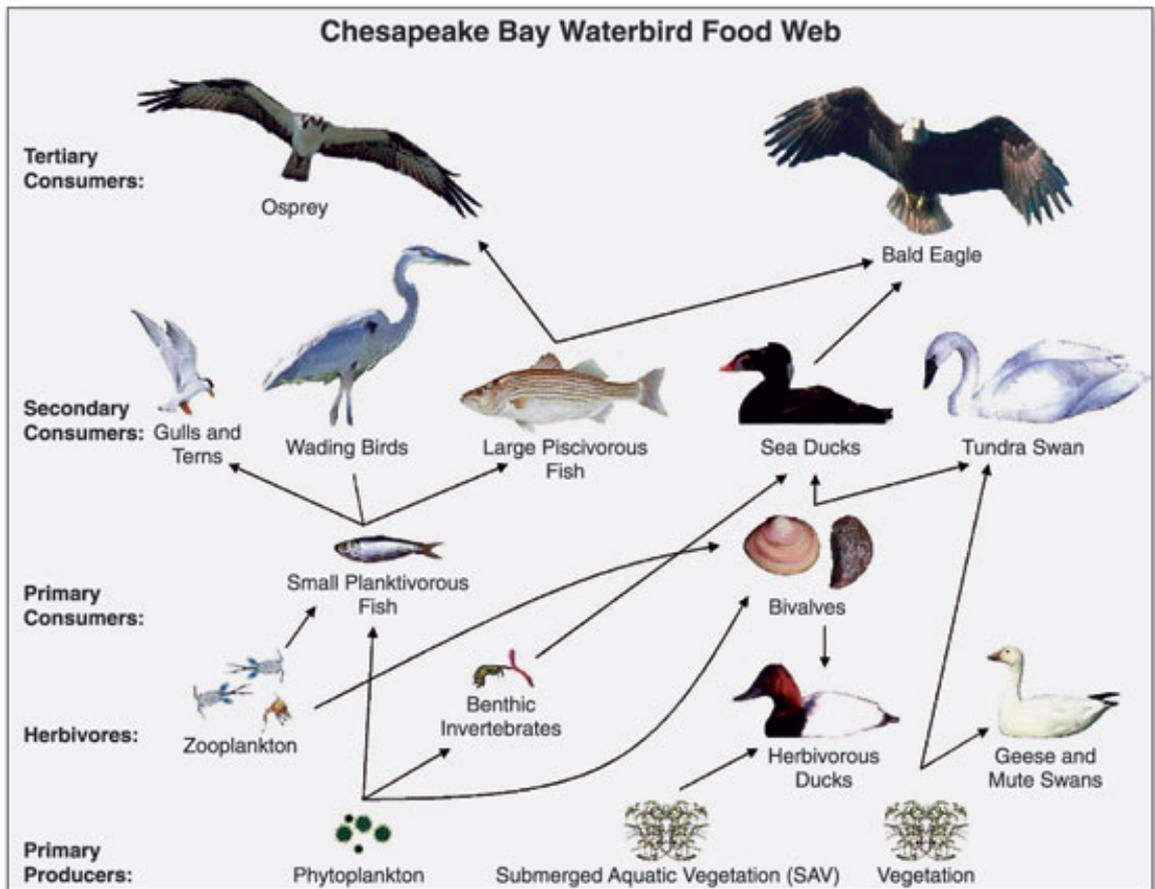
資料來源：黃基森、薛翔泰、何旻遠 (2013)。入侵紅火蟻防治藥劑-益達胺簡介。

取自：<http://163.21.236.12/~fireant/epaper10110/Imidacloprid.pdf>

三、水蚤

水蚤是一種小型的甲殼動物，屬於節肢動物門、甲殼亞門、橈足綱、枝角目。其廣泛分佈於多種水域之中並位於食物鏈的底層為浮游生物（Zooplankton）的一員（圖二）。因此若農田使用了新菸鹼類農藥，影響到水蚤的生存，有可能會破壞食物鏈的結構。

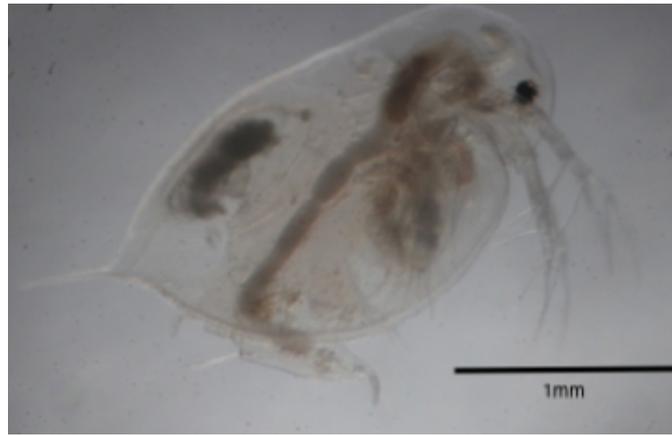
我們決定使用水蚤中的大型蚤(*Daphnia magna*)做為我們實驗中益達胺的施用對象。接下來文中所出現水蚤一詞皆指大型蚤（圖三）。



圖二、食物鏈

資料來源：Matthew C. Perry (2018)。Synthesis of U.S. Geological Survey Science for the Chesapeake Bay Ecosystem and Implications for Environmental Management.

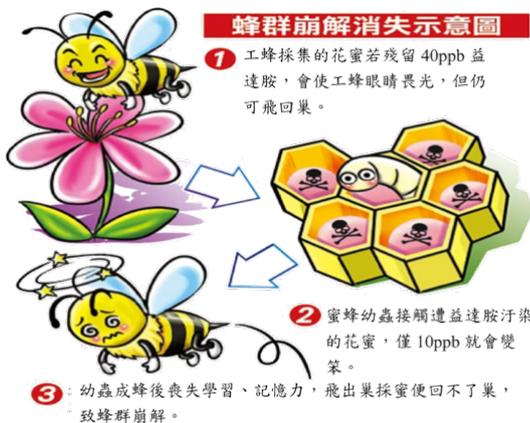
取自：<http://pubs.usgs.gov/circ/circ1316/html/circ1316chap14.html>



圖三、實驗中所用水蚤

四、蜂群崩壞症候群

英文名為 Colony Collapse Disorder，縮寫為 CCD，又稱為蜂群衰竭失調，一詞開始使用於 2007 年，它並不是一種病症的名，而是用來解釋蜜蜂集體消失的怪異現象。從 1971 年至 2006 年，美國野生蜜蜂的數目大幅減少，而養殖場的蜂群數量亦不斷減少，大批蜂巢內的工蜂突然消失、死亡，造成蜜蜂生態崩解（Roxanne Khamsi, 2007）。經過科學家研究，強烈懷疑是由一種叫「益達胺」的農藥引起，而這個殺蟲劑是由拜耳公司製造，1994 年上市的殺蟲劑在世界各地皆可見。有法國及義大利的研究發現，農藥中的「類尼古丁」會誤導蜜蜂的方向感，損害他們的記憶與溝通能力，並引起神經系統失調，最後令蜜蜂癱瘓（圖四、圖五）（黃莉秝、黃湘軒、蘇芸靚，2016）。



圖四、蜂群崩解消失示意圖



圖五、蜜蜂中毒後果

圖四資料來源：黃莉秝、黃湘軒、蘇芸靚（2016）。蜂群衰竭失調。

取自：<https://www.shs.edu.tw/works/essay/2016/11/2016111412585373.pdf>

圖五資料來源：Tsang（2018）。台灣正在消失的蜜蜂。

取自：<http://beestation0531.pixnet.net/blog/post/3758985>

肆、研究設備及器材

一、益達胺

我們採用已配製好濃度為 1000ppm 的益達胺原液，再將其配置成我們所需的濃度。

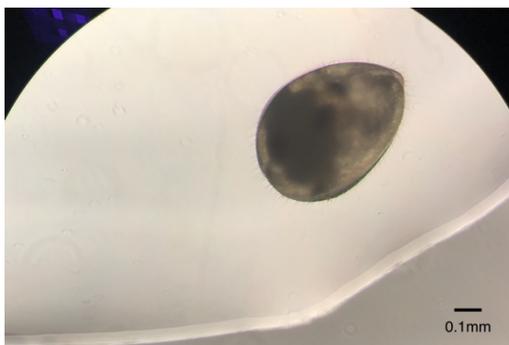
二、水蚤

本研究使用的水蚤來自國立彰化師範大學，屬於大型蚤 (*Daphnia magna*)。

水蚤飼養在系統缸中，系統缸水溫控制在 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ，循環水經過濾棉、活性炭、硝化菌三道過濾、補充的水均經過七天以上的曝氣，以確保水中無氯的殘留。水蚤房光照週期為 14 小時白天，10 小時黑夜。餵食時間為每 3~4 天一次，使用酵母粉以及綠藻水餵食。

水質檢驗每兩週檢測一次，使用 API 五合一測試片，將水中的硝酸鹽 (NO_3^-) 含量維持在 40 mg/L 以下，亞硝酸鹽 (NO_2^-) 含量維持在 0.5 mg/L 以下，水質總硬度 (GH) 維持在 180 mg/L，以及水的酸鹼度維持在 pH 6.0~7.5。

水蚤有體型有大有小，大的為成體，小的為剛孵化不久之水蚤，這對實驗或許會造成影響，因此我們將實驗分做大小水蚤來做。水蚤以體長 2mm 左右做為取用標準；小水蚤選用體長在 0.6mm 左右的進行實驗（圖六、圖七）。

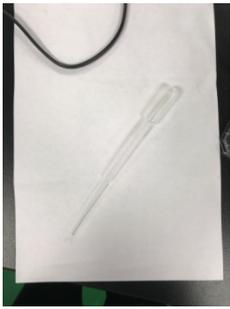


圖六、小水蚤



圖七、大水蚤

三、實驗用品

			
6cm 塑膠培養皿	微量滴管	滴管	50ml 離心管
			
1.5ml 微量離心管	大頭針	脫脂棉	水質測試紙
			
複式顯微鏡	照相顯微鏡	攝影機	益達胺
			
電腦			

圖八、實驗用品照片

四、使用軟體

(一) Ethovision XT 13

一個影像追蹤系統，只要將錄製後的影片匯入此軟體中，就可自動追蹤並分析動物的運動。這個軟體協助我們計算加藥後和加藥前，水蚤的每分鐘平均移動路徑長、移動的速度、停留的位置……等，以利判斷水中水蚤的活動力和停留位置的偏好是否受到益達胺的影響。

(二) Tracker

Tracker 軟體是一個建立於 Open Source Physics (OSP) Java 架構下的影像分析與建模工具。我們使用 Tracker 對水蚤心臟的舒張邊界做標記，利用收縮舒張時定點的影像色差進行心跳圖的繪製。

(三) Microsoft Excel

Microsoft Excel 是電子試算表程式，可進行數字和函數的運算，亦可用來繪製圖表。透過此軟體，我們將分析出的水蚤心跳數、移動路徑和死亡率進行計算，並繪製成圖表觀察水蚤的變化。

(四) ImageJ

ImageJ 軟體是一個建立於 Open Source Physics (OSP) Java 架構下的圖像處理軟體，可在一個窗口裡以多執行緒的形式層疊多個圖像，並列處理，且能進行圖片的區域和像素統計、間距、角度計算等。

伍、研究過程與方法

一、藥品配置

採用已由益達胺粉末配製而成的 1000ppm 益達胺原液，透過以下的比例配製成不同濃度的益達胺溶液（表二），並使用微量滴管以提升準確度。

表二、藥品配置

溶質	溶劑	溶液
1000 ppm 25 cc	一次水 25 cc	500 ppm 50 cc
1000 ppm 20 cc	一次水 30 cc	400 ppm 50 cc
500 ppm 15 cc	一次水 10 cc	300 ppm 25 cc
400 ppm 20 cc	一次水 20 cc	200 ppm 40 cc
1000 ppm 5 cc	一次水 45 cc	100 ppm 50 cc
500 ppm 5 cc	一次水 45 cc	50 ppm 50 cc
100 ppm 5 cc	一次水 45 cc	10 ppm 50 cc
50 ppm 5 cc	一次水 45 cc	5 ppm 50 cc
10 ppm 5 cc	一次水 35 cc	1.25 ppm 40 cc
10 ppm 5 cc	一次水 45 cc	1 ppm 50 cc
1.25 ppm 20 cc	一次水 20 cc	0.625 ppm 40 cc
5 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.5 ppm 50 cc
0.625 ppm 20 cc	一次水 20 cc	0.3125 ppm 40 cc
1 ppm 10 cc	一次水 30 cc	0.25 ppm 40 cc
1 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.1 ppm 50 cc
0.5 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.05 ppm 50 cc
0.1 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.01 ppm 50 cc
0.05 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.005 ppm 50 cc
0.01 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.001 ppm 50 cc
0.005 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.0005 ppm 50 cc
0.001 ppm 5 cc	一次水 45 cc	0.0001 ppm 50 cc

實驗進行時，將實驗所需濃度的農藥以微量滴管取 1ml 加入裝有水蚤的微量離心管中，並確定水蚤有完全浸泡在農藥中，微量離心管的蓋子保持打開。

二、實驗方法

(一) 實驗一：在不同濃度下益達胺對水蚤的行為影響

此項實驗使用水蚤皆為大水蚤。水蚤先置於益達胺水溶液中，計時一小時後取出，再將水蚤分別滴入具有四格分隔長寬高分別為 6mm x16mm x40mm 的透明塑膠盒子，一隻水蚤滴一格，並將農藥水溶液盡量抽乾後，加入曝氣水至八分滿。開始進行為時 5 分鐘的錄影，並使用 EthoVision XT13 程式對所錄下影片進行分析。

(二) 實驗二：在不同濃度下益達胺對水蚤的心跳影響

我們採用實驗一錄影結束的水蚤，將錄影完的水蚤以滴管吸起，連同一滴水滴滴上玻片，並以棉花固定，避免水蚤四處游動，不需蓋上蓋玻片。使用 85 倍放大倍率的顯微鏡進行錄影。先透過目鏡進行觀察，若有心跳或活動，則對水蚤錄影 1 分鐘；若無心跳且不再動彈則對水蚤拍照一張作為紀錄。

使用 tracker 程式對水蚤心臟因跳動而在影片中產生的明暗變化進行做圖，之後再以人工的方式對以色差製作出的心律圖進行計算。計算是取 10 秒的心跳數乘上 6，以得到水蚤一分鐘的心跳。

(三) 實驗三：在不同濃度下益達胺對水蚤的死亡率影響

以滴管取大水蚤滴入培養皿中，一個濃度一個(60 mm)培養皿，每個培養皿各有 10 隻；小水蚤則是一個培養皿有 40 隻，兩者均於滴完水蚤後盡量將水抽乾。將實驗所須濃度的農藥以微量吸管滴入 15ml，並確定沒有水蚤黏在培養皿底部，皆可自由游動。於加入農藥後開始計時 48 小時。使用手機對培養皿錄影，用於粗略觀測其活動是否活躍。

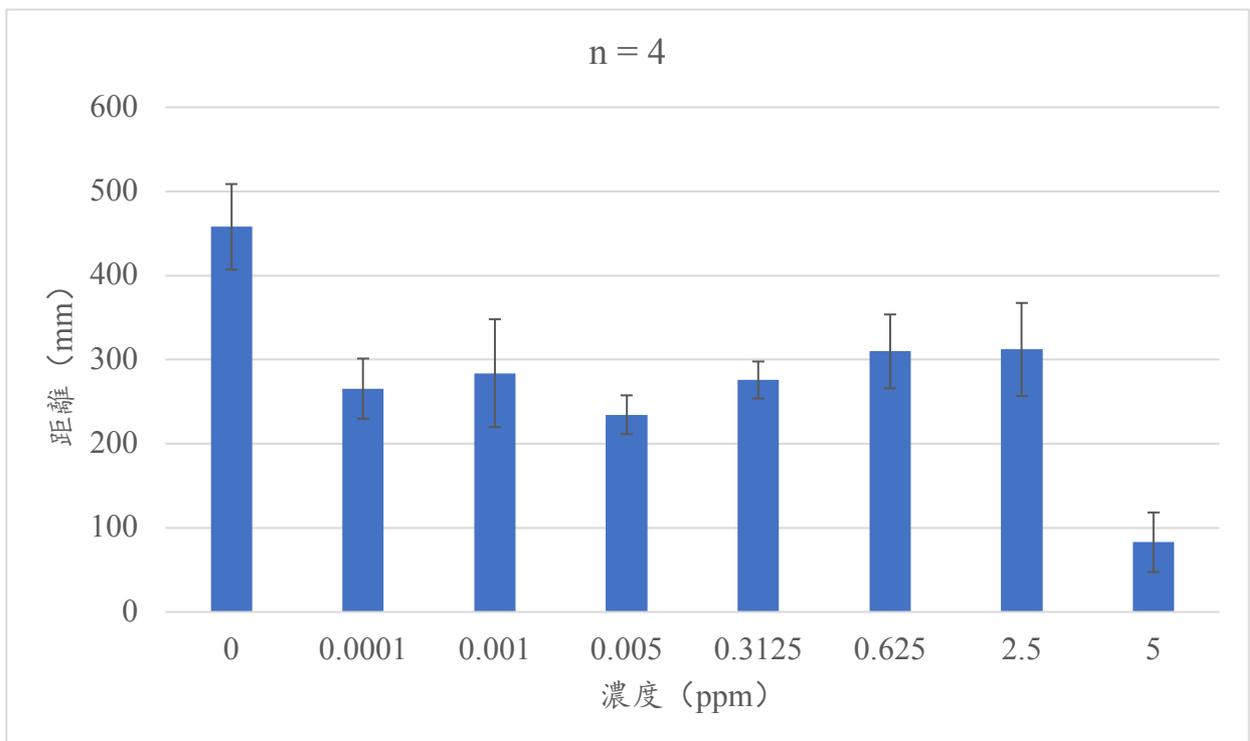
將大水蚤以滴管自培養皿中取出置於玻片上，並以顯微鏡觀察其心跳之有無用來判定其生死；小水蚤則是以大頭針擾動溶液，在依其有無活動做為牠存活的依據。最後再用 Excel 繪製其死亡率圖。

陸、研究結果

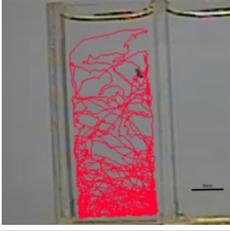
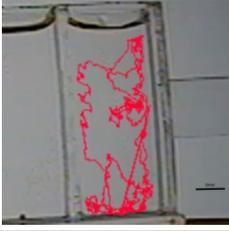
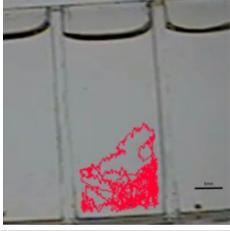
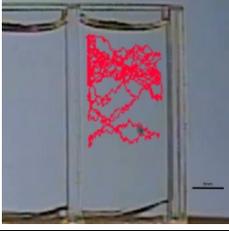
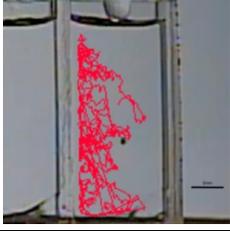
一、實驗一：在不同濃度下益達胺對水蚤的行為影響

將水蚤放在 1c.c.的益達胺溶液中一小時後取出，置於長寬高分別為 6mm × 16mm × 40mm 的容器，並加水至八分滿後錄製路徑得到：在沒有益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 458mm；在 0.0001ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 266mm；在 0.001ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 284mm；在 0.005ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 235mm；在 0.3125ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 276mm；在 0.625ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 310mm；在 2.5ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 312mm；在 5ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均活動距離為 83mm。（圖九、圖十）

可以觀察到，在極低濃度（0.0001）的益達胺下，水蚤的移動路徑都明顯比對照組短，再隨著濃度的提高，牠們的平均每分活動距離也呈現下降的趨勢。



圖九、平均每分活動距離

		
0ppm(control)	0.0001ppm	0.001ppm
		
0.005ppm	0.3125ppm	0.625ppm
		
1.25ppm	50ppm	100ppm
		
200ppm		

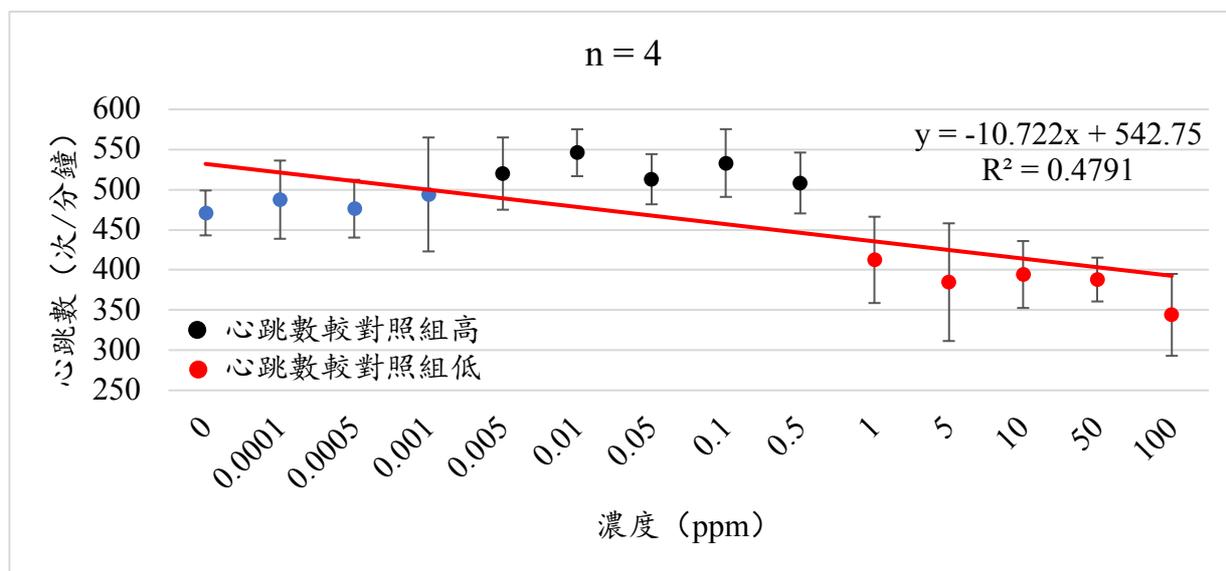
圖十、水蚤在不同濃度益達胺中的移動路徑

二、實驗二：在不同濃度下益達胺對水蚤的心跳影響

將水蚤放在 1c.c.的益達胺溶液中一小時後計算其心跳：在沒有益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 471 下；在 0.0001ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 488 下；在 0.0005ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 476 下；在 0.001ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 494 下；在 0.005ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 520 下；在 0.01ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 546 下；在 0.05ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 513 下；在 0.1ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 533 下；在 0.5ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 508 下；在 1ppm 益達胺的

情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 413 下；在 5ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 385 下；在 10ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 394 下；在 50ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 388 下；在 100ppm 益達胺的情況下，水蚤每分鐘的平均心跳次數為 344 下。(圖十一)

可以觀察到，水蚤的心跳大致上隨著益達胺濃度的增加而呈現下降的趨勢。

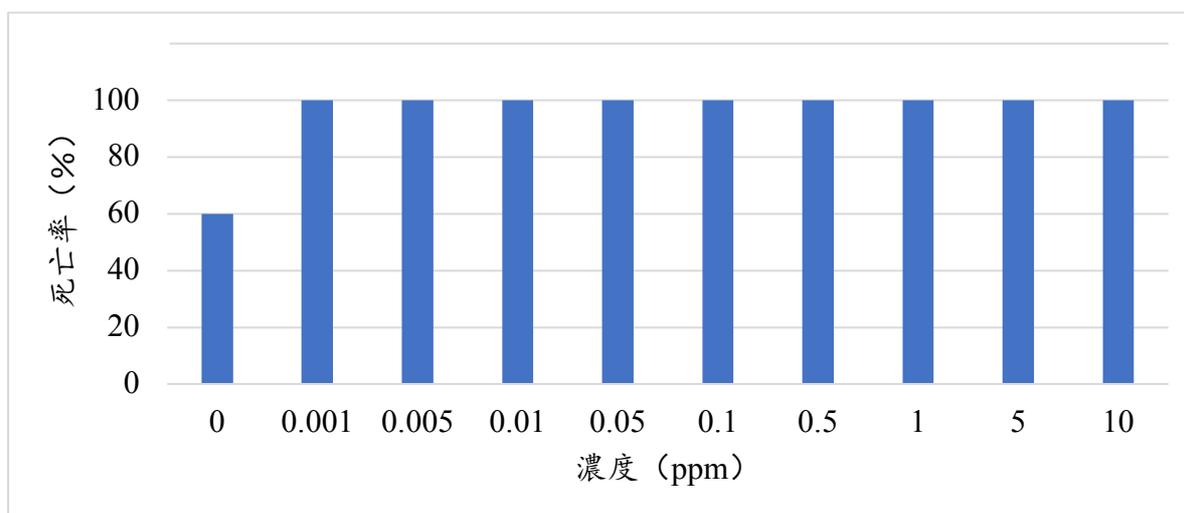


圖十一、每分心跳趨勢

三、在不同濃度下益達胺對水蚤的死亡率影響

(一) 大水蚤

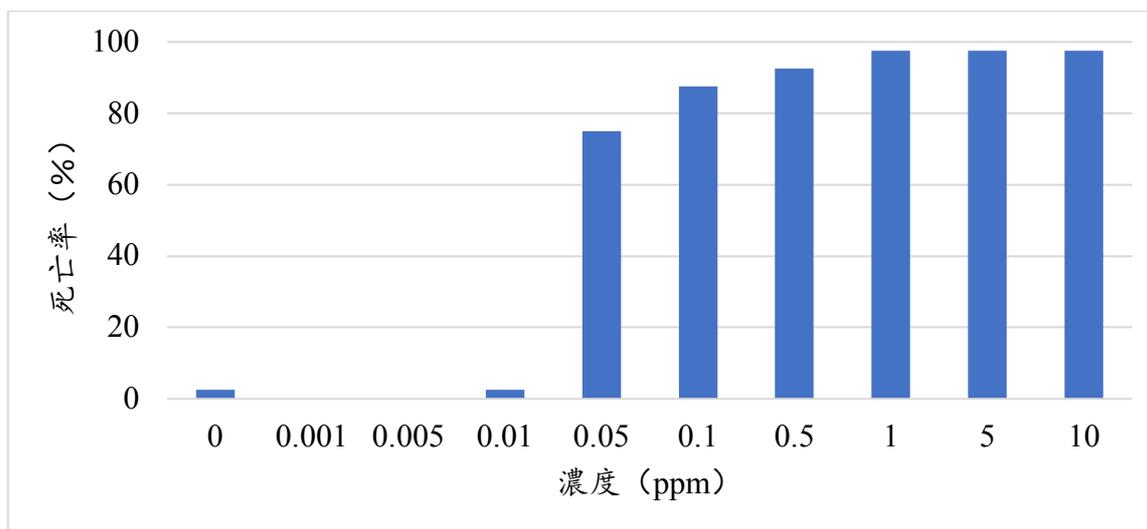
將 10 隻大水蚤放於培養皿中 48 小時後，在沒有益達胺的情況下，大水蚤的死亡率為 60%，接著在使用本實驗中的最低濃度 0.0001ppm 以上的益達胺，大水蚤的死亡率即達到了 100%，這顯示了益達胺會影響大水蚤的死亡率。(圖十二)



圖十二、大水蚤死亡率

(二) 小水蚤

將 40 隻小水蚤放於培養皿中 48 小時後，在 0.01ppm 以下的濃度皆沒有死亡，在 0.05ppm 時，小水蚤的死亡率達到 75%，隨著濃度的提升，死亡率也逐漸地升高，當提高到 1ppm 時，小水蚤的死亡率達到了 97.5%。我們發現益達胺的濃度會影響小水蚤的死亡率，在 0.05ppm 以上，都明顯比控制組的死亡率高。(圖十三)



圖十三、小水蚤死亡率

柒、討論

益達胺會佔據生物體內的乙醯膽鹼在乙醯膽鹼受體上的位置，使乙醯膽鹼在生物體上的作用受到影響。而乙醯膽鹼作用於肌肉上會使肌肉興奮收縮，作用於心臟時則會抑制神經訊息傳遞使心跳變慢。

在實驗一中，我們觀察到水蚤的每分鐘平均移動距離隨著益達胺濃度的增高而下降，這與乙醯膽鹼的作用使肌肉興奮收縮相反，我們推測是益達胺佔據了乙醯膽鹼受體的接合位，使得肌肉無法接收神經釋放的乙醯膽鹼，進而使水蚤在一小時的浸泡後，移動距離隨著濃度的增加而減少。

在實驗二中，我們觀察到水蚤的心跳數在低濃度的益達胺中有略微的增加，我們推測這可能與益達胺作用於乙醯膽鹼受體上，使得乙醯膽鹼無法表現出副交感神經上的作用，使其心跳無法被抑制而略微增加；而在高濃度時，水蚤的心跳數隨著益達胺濃度的增加而減少，我們推測水蚤是在受到益達胺的作用後，部分器官衰竭，導致水蚤的心跳數隨著濃度的增加而呈現下降的趨勢。

在實驗三中，可以看到大水蚤在 0ppm 時死亡率即達到 60%，表示大水蚤本身就有不低的死亡率，我們認為這是因為大水蚤本身就是較成熟的個體，其中部分個體已經老化，故有較高死亡率。大水蚤實驗中加入最低濃度益達胺水溶液 0.0001ppm 時，其死亡率就達到 100%，而小水蚤在益達胺水溶液達 1ppm 時死亡率才到 100%，顯示大水蚤對益達胺的耐受度比小水蚤低了不少，我們推測有可能是與其相對年齡、代謝速率不同有關。

綜合我們的實驗結果可以發現，在市售的益達胺中，常見的濃度為 9.6%，將其依建議的最高稀釋倍數 4000 倍時稀釋後換算所得出的 2.4ppm 濃度，遠高於在我們的實驗中所使用能對水蚤造成影響的濃度 0.0001ppm，而在我們實驗的濃度即對水蚤的平均每分移動路徑長、心跳、死亡率等有顯著影響，這遠比市售稀釋後的農藥濃度（表三）及文獻記載的 85ppm（表一）要低許多。因此我們推論環境中殘留的益達胺極可能會造成水蚤族群的活性降低甚至死亡導致族群數量急遽變化，進而影響到生態系統的食物鏈，破壞了生態系統的平衡。

表三、益達胺使用方法及範圍

作物名稱	病蟲名稱	每公頃每次用藥量	稀釋倍數	ppm
玫瑰	蚜蟲	0.25 公升	4000	2.4
茶	茶黃薊馬	0.5 公升	2000	4.8
花胡椒	南黃薊馬	0.5~0.75 公升	1500	6.53
毛豆	銀葉粉蝨	0.6~0.8 公升	1500	6.53
花椰菜				
冬瓜		0.6~1.2 公升	1500	6.53
蓮（花）	斜紋夜蛾	0.8~1.2 公升	1500	6.53
	小黃薊馬			
亞洲棕櫚	象鼻蟲	2~3 公升	500	19.6

資料來源：農夫樂（2013）。益達胺 9.6% 溶液。

取自：<http://www.eversing.com.tw/index.php?option=product&lang=cht&task=pageinfo&id=62&belongid=18&index=0>

捌、結論

- 一、在行為影響的實驗中，極低濃度（0.0001ppm）的益達胺就已明顯的降低水蚤 50%的移動距離和 50%的速度。
- 二、在心跳實驗中，低濃度（0.005ppm）的益達胺即會略微增加水蚤心跳，但隨濃度增高，水蚤的心跳呈現降低的趨勢。
- 三、在死亡率實驗中，高於濃度 1ppm 的益達胺即造成小水蚤的死亡率接近 100%，而小水蚤的半致死率經換算後為 0.036 ppm；大水蚤則在我們實驗的最低濃度 0.0001ppm 時，已達到死亡率 100%。

我們是第一個研究在如此低濃度的益達胺下是否會對水蚤造成影響的實驗，而在我們的實驗中使用比依據市售農藥低許多的濃度即可對水蚤造成生存的危害，也比我們前面所找的參考文獻記載濃度要低不少。因此我們推論環境中的益達胺即使是極低濃度也可能會造成水蚤族群的活性降低甚至死亡、數量急遽變化，進而影響到生態系統的食物鏈，破壞生態系統的平衡。

玖、未來展望

在益達胺的影響中，人們關注了蜜蜂失蹤的議題，卻忽略了其在環境循環中，亦有可能對水生生物造成危害。

而在本研究中不僅觀察到大水蚤在低濃度的益達胺下，心跳、行為、死亡率皆會受到影響，亦可觀察到在死亡率實驗中小水蚤也會受到益達胺的影響，雖然其承受程度較高，但其濃度範圍仍是比我們所查找的資料要低，因此後續實驗若要繼續進行，或許可以使用小水蚤進行實驗一、二。畢竟一個族群中健康的後代是很重要的，若小水蚤心跳、行為亦受益達胺的影響，那是否會出現另一種以水蚤為主角，類似於蜂群崩壞症候群的情況出現，也是未可知的，而到那時才亡羊補牢或許為時晚矣。

除此之外，當臺灣仍在爭論類尼古丁類農藥對生態是否有影響時，歐盟各國已逐漸禁止在田間使用類尼古丁農藥。因此，臺灣是否要擴大對此種農藥的禁用範圍也值得再思考。

拾、參考資料

- 水野玲子 (2016)。讓蜜蜂檢驗—新菸鹼類農藥真的安心？取自：
<https://info.organic.org.tw/2341/>
- 孔德廉 (2017)。台灣農藥單位面積用量世界冠軍—植病權威曾德賜：植物醫師加處方箋解決用藥困境。取自：
<https://www.newsmarket.com.tw/blog/100092/>
- 吳聲敢、陳麗萍、吳長興 (2011)。4種殺蟲劑對水生生物的急性毒性與安全評價。浙江農業學報 *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2011, 23 (1), 101-106。
- 李全成 (2011)。益達胺—專家概述。取自：
<https://blog.xuite.net/lee2227/twblog/140600962>
- 林宇軒 (2019)。蜜蜂與農藥的戰爭—歐盟禁用新菸鹼藥物的始末。取自：
<https://pansci.asia/archives/166232>
- 邱鈺云 (2017)。以流體化床芬頓程序對去除益達胺操作參數的影響，嘉南藥理大學環境資源管理系碩士論文，未出版，嘉南藥理大學。
- 柯克斯-佛斯特(Diana Cox-Foster)、范安吉斯多(Dennis vanEngelsdorp)、林慧珍 (2009)。蜜蜂消失了。科學人, 87, 38-45。
- 科學月刊 (2018, 5月)。蜜蜂與農藥的戰爭—— 歐盟禁用新菸鹼藥物的始末。取自：
http://scimonth.blogspot.com/2018/06/blog-post_68.html
- 海洋國家公園管理處 (2017)。多采多姿的隱藏版海洋生物多樣性。取自：
<https://www.marine.gov.tw/%E7%92%B0%E5%A2%83%E6%95%99%E8%82%B2/%E7%92%B0%E6%95%99%E5%B0%88%E6%AC%84/2194-%E5%A4%9A%E9%87%87%E5%A4%9A%E5%A7%BF%E7%9A%84%E9%9A%B1%E8%97%8F%E7%89%88%E6%B5%B7%E6%B4%8B%E7%94%9F%E7%89%A9%E5%A4%9A%E6%A8%A3%E6%80%A7>
- 張玉馨 (2019)。極端氣候·蜂群崩壞！去年冬天美國蜜蜂損失率創歷史新高。取自：
<https://www.storm.mg/article/1460838>
- 許家豪、唐善美、陳昀佑 (2014)。生理學。新北市：新文京開發。
- 陳韋名 (2017)。以水蚤毒性試驗評估 UASB 處理含 TMAH 廢水之研究，國立中山大學環境工程研究所碩士論文，未出版，國立中山大學。
- 黃莉秝、黃湘軒、蘇芸靚 (2016)。蜂群衰竭失調。取自：
<https://www.shs.edu.tw/works/essay/2016/11/2016111412585373.pdf>
- 黃基森、薛翔泰、何旻遠 (2013)。入侵紅火蟻防治藥劑-益達胺簡介。取自：
<http://163.21.236.12/~fireant/epaper10110/Imidacloprid.pdf>
- 黃德昌、楊秀珠。農藥種類與特性。取自：
<http://ogserv.tactri.gov.tw/emailcaseLine/upload/%E8%BE%B2%E8%97%A5%E7%89%B9%E6%80%A7%E8%88%87%E7%B0%A1%E4%BB%8B.pdf>
- 楊博熙 (2016)。環境毒物對斑馬魚胚胎的影響，國立嘉義大學農學院生物農業科技學系碩士論文，未出版，國立嘉義大學。
- 農夫樂 (2018)。害物整合管理與農藥合理使用問答集。取自：

<https://www.echiy.com/faq/%E8%BE%B2%E8%97%A5%E7%A8%AE%E9%A1%9E%E5%95%8F%E8%88%87%E7%AD%94.htm>

農業藥物毒性研究所，農藥合理使用問答集--應用篇。取自 <https://www.tactri.gov.tw/76022b9d-3394-4aea-8683-c39835555ea5.pdf>

劉俠 (2010)。愛因斯坦預言：沒有蜜蜂 人類最多活四年。取自：
<https://www.ntdtv.com/b5/2010/04/21/a402114.html>

蔡文珊 (2001)。農藥特性與管理，90年11月(113期)。取自：
<https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=3985>

Cox, Caroline (2011). Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides. *Journal of Pesticide Reform*, Vol. 21, No. 1, pages15-21.

Jennifer C. Grixti, Lisa T. Wong, Sydney A(2009, January). Cameron and Colin Favret in *Biological Conservation*. *American Midwest*, Vol. 142, No. 1, pages 75-84.

Maori E, Paldi N, Shafir S, Kalev H, Tsur E, Glick E, Sela I (2009, February 18). IAPV, a bee-affecting virus associated with Colony Collapse Disorder can be silenced by dsRNA ingestion. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19196347>

Roxanne Khamsi(2007, September 6). Paralysing virus a suspect in disappearing bee mystery. Retrieved from <https://www.newscientist.com/article/dn12605-paralysing-virus-a-suspect-in-disappearing-bee-mystery/>

【評語】 052006

本實驗研究水生生物水蚤(*Daphnia magna*)在處於不同濃度的環境毒物(農藥)－益達胺時，水蚤的行為、心跳、死亡率是否會受到影響。實驗結果顯示(1)在遠低於文獻記載及市售益達胺建議的最高稀釋倍數下的濃度－極低濃度 0.0001ppm 時，水蚤的移動距離即明顯縮減。(2)農藥後，水蚤心跳也呈現下降趨勢，顯示其會受農藥影響。(3)在 0.05ppm 時，小水蚤死亡率大幅提高；在加入農藥後，大水蚤的死亡率也大幅提升，實驗結果與已知益達胺的殺蟲性質並無太大不同。益達胺歸類為第二或第三級(II/ III 級)毒性等級殺蟲劑，高中生不宜操作，實驗數據也應該用統計分析方式呈現。

摘要

人類為避免其他動植物影響農作物的生長，使用農藥來除掉害蟲。但含農藥之廢水可能會傷害人類及水生生物等。本研究的目的為探討農業上常用的農藥（環境毒物）對水生生物之影響。本研究中試驗生物選用水蚤，環境毒物則採用益達胺。分別將水蚤放入不同濃度的益達胺水溶液，經固定的時間後，將試驗的水蚤分別取出並觀察，比較其活動情形、心跳及死亡率。

研究動機

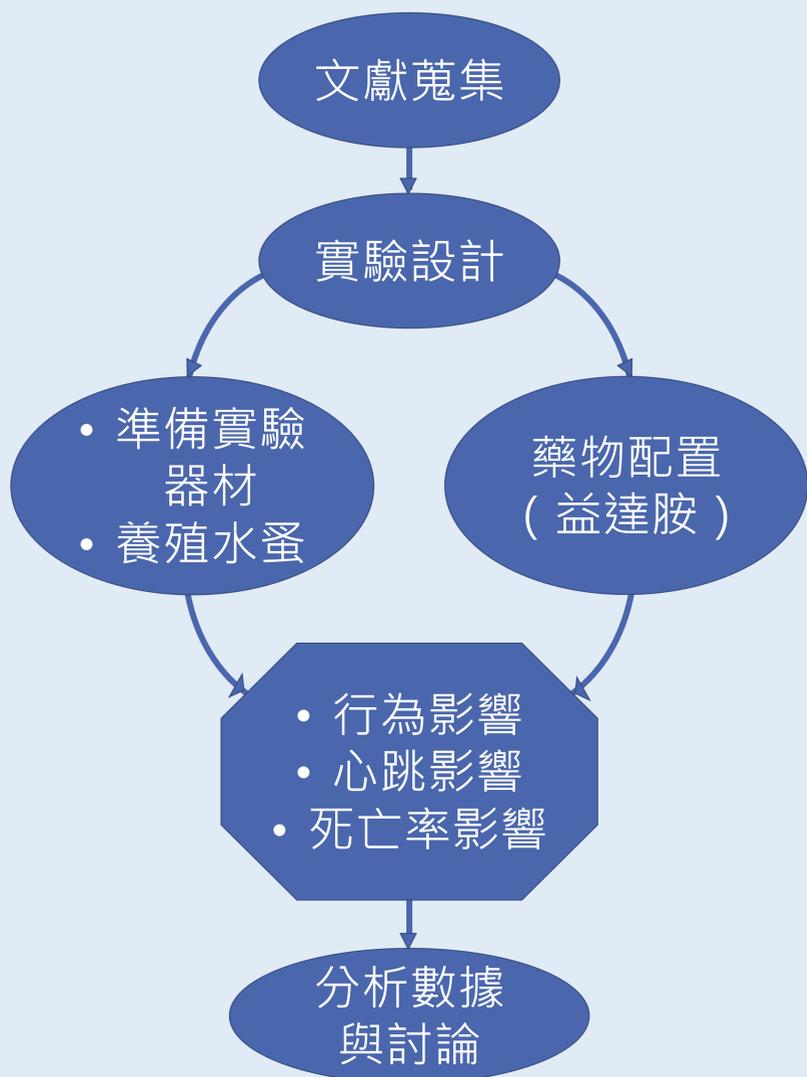
農民們為了增加農作物的收成，避免其他動植物影響農作物的生長，使用農藥來除掉所謂的害蟲。而其中一種於1990年代起廣泛施用於農田之中的農藥益達胺，被認為與近年來所發生的一種蜜蜂失蹤現象，蜂群崩壞症候群有關。

排放到環境中的益達胺使非目標生物長期暴露在低毒環境，進而影響生態。益達胺能對陸域生物昆蟲造成危害，農田灌溉需水，在生態循環中，我們也好奇它是否會對水生生物造成影響，因此我們採用水蚤作為實驗對象，將其放置在低濃度益達胺中，研究牠的心跳、移動方式以及死亡率來驗證益達胺是否會對水中生物造成傷害。

研究目的

- 一、研究在不同濃度下益達胺對水蚤的行為影響
- 二、研究在不同濃度下益達胺對水蚤的心跳影響
- 三、研究在不同濃度下益達胺對水蚤的死亡率影響

研究架構



研究設備與器材

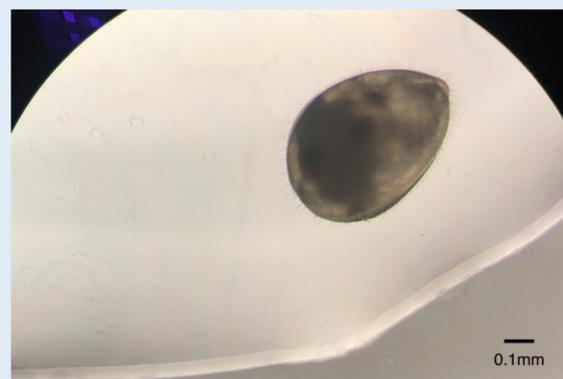
表一、藥品、設備與器材使用表

藥品	益達胺		
電腦	6cm塑膠培養皿		Ethovision XT 13
複式顯微鏡	微量滴管		Tracker
照像顯微鏡	滴管		Microsoft Excel
設備	攝影機	器材	軟體
		50ml離心管	ImageJ
		1.5ml 微量離心管	
		大頭針	
		脫脂棉	
		水質測試紙	

實驗對象

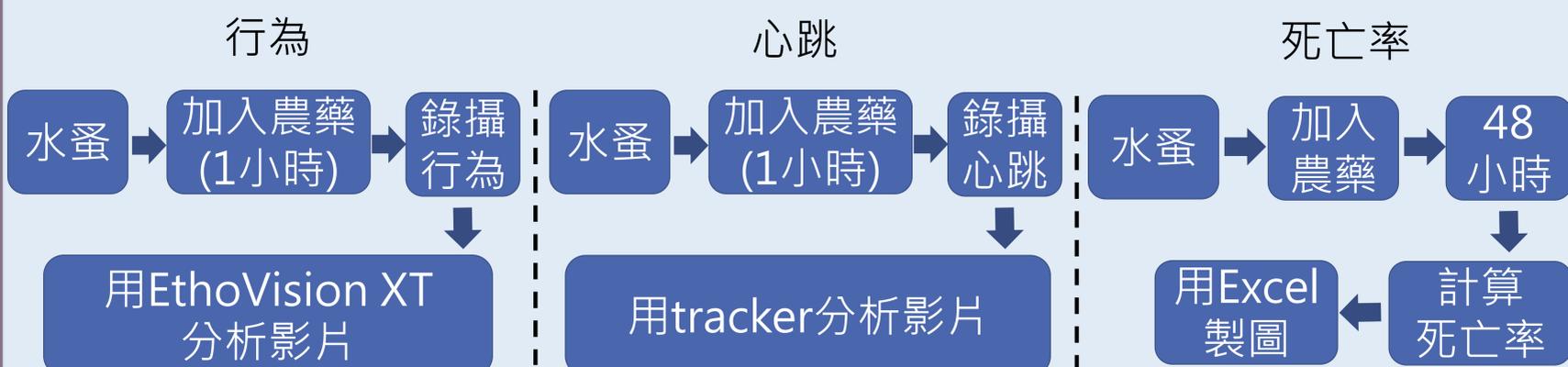


圖一、水蚤成體



圖二、水蚤幼體

實驗流程圖



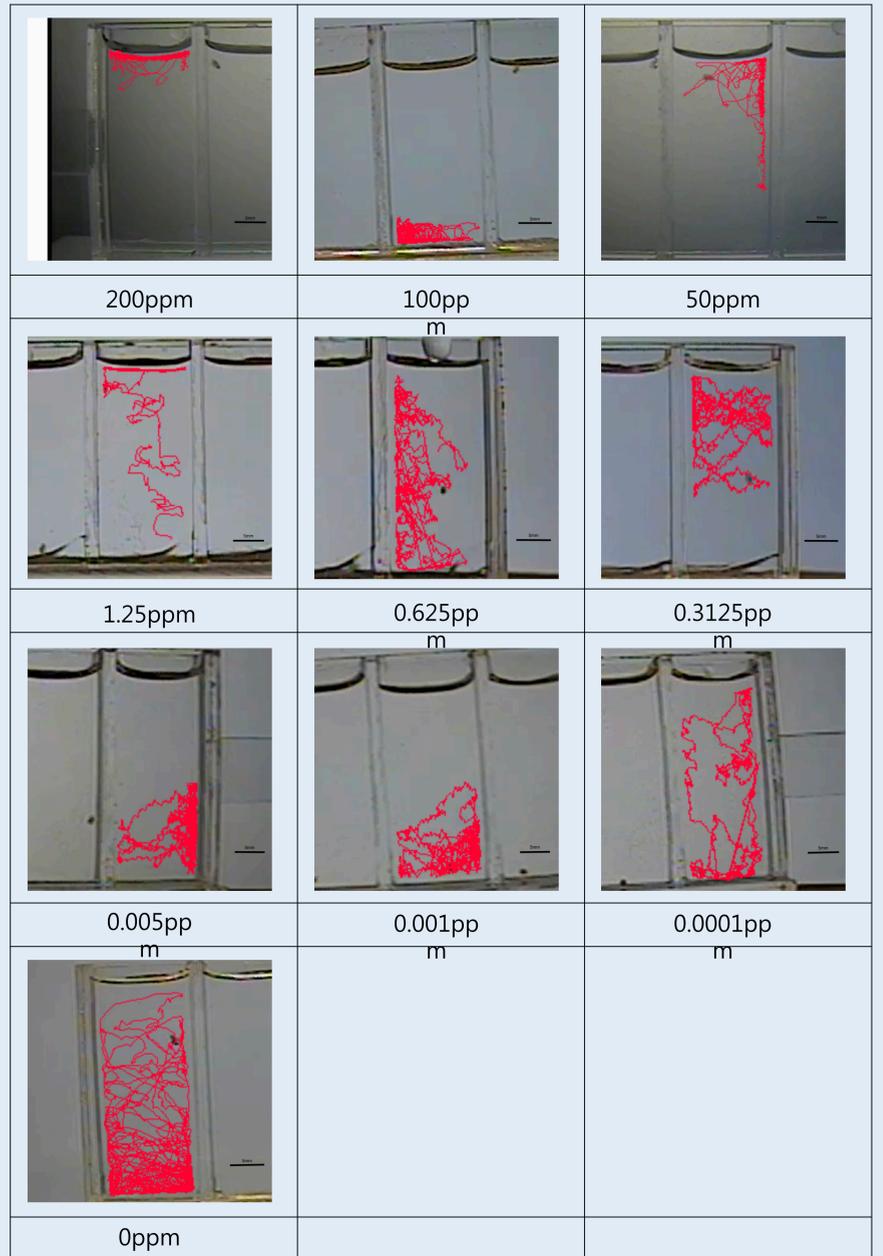
實驗結果

一、不同濃度下益達胺對水蚤的行為影響

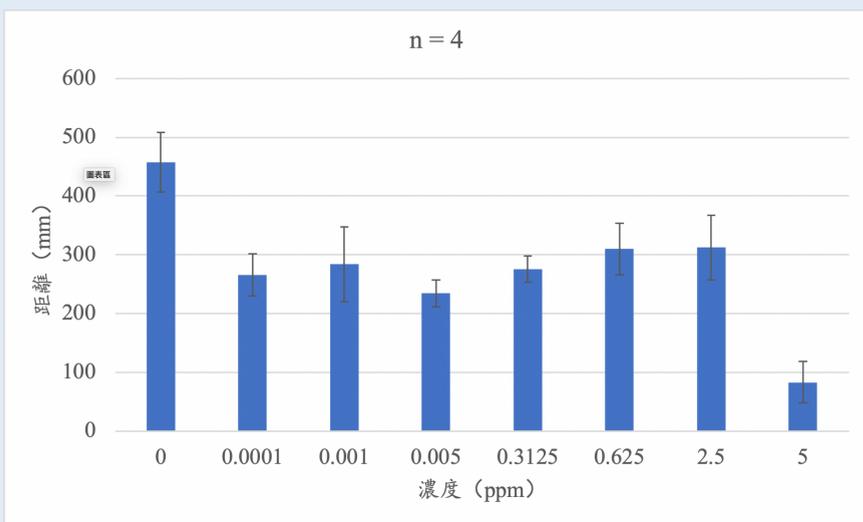
將四隻水蚤分別放在1c.c.得益達胺溶液中一小時後，我們發現益達胺的濃度會影響水蚤的運動，浸泡在0.0001ppm以上，一分鐘內移動路徑長都明顯比對照組少。(表三、圖一、圖二)

表三、平均每分活動距離

濃度 (ppm)	平均每分移動距離 (毫米)	濃度 (ppm)	平均每分移動距離 (毫米)
0	458	0.3125	276
0.0001	247	0.625	310
0.001	284	2.5	312
0.005	232	5	83



圖四、三分鐘路徑圖



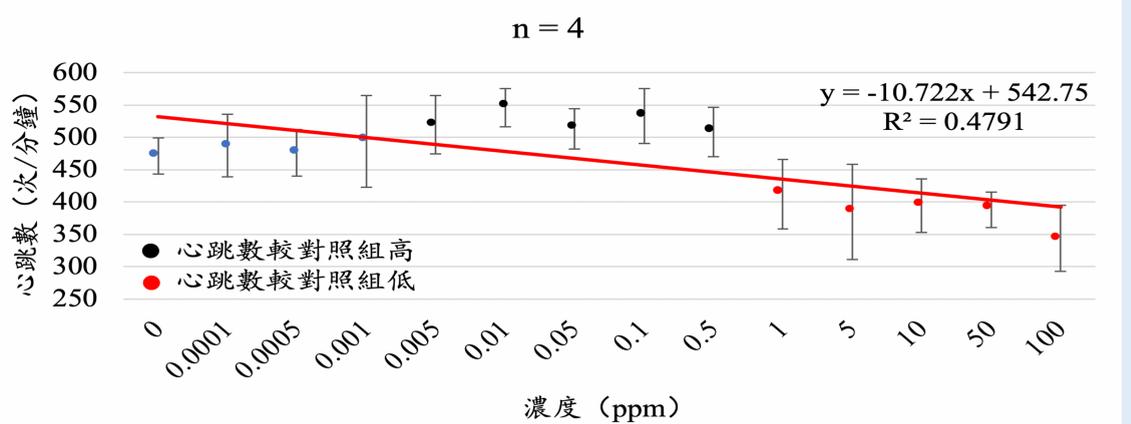
圖三、平均每分活動距離

二、不同濃度下益達胺對水蚤的心跳影響

益達胺的濃度會影響水蚤的心跳數，在1ppm以上，都明顯比控制組的心跳數少。(表四、圖三)

濃度 (ppm)	心跳數 (分/下)	濃度 (ppm)	心跳數 (分/下)	濃度 (ppm)	心跳數 (分/下)
0	471	0.01	546	5	385
0.0001	488	0.05	613	10	394
0.0005	476	0.1	533	50	388
0.001	494	0.5	508	100	344
0.005	520	1	413		

表五、小水蚤48小時死亡率



圖五、水蚤心跳趨勢

三、不同濃度下益達胺對水蚤的死亡率影響

(一) 水蚤 (未打氣) 死亡率

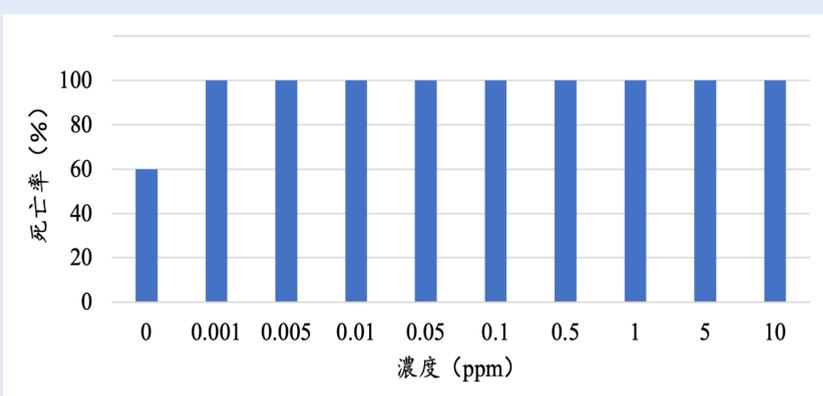
表五、水蚤(未打氣)48小時死亡率

濃度 (ppm)	死亡率 (%)	濃度 (ppm)	死亡率 (%)	濃度 (ppm)	死亡率 (%)
0	60	0.05	100	5	100
0.001	100	0.1	100	10	100
0.005	100	0.5	100		
0.01	100	1	100		

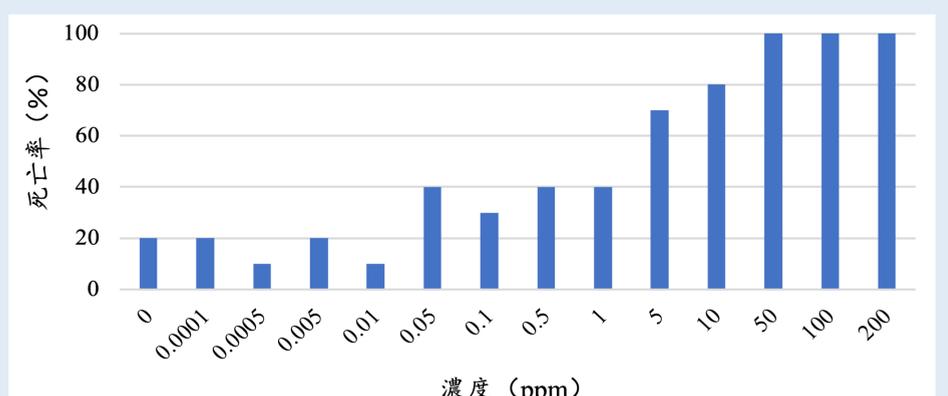
(二) 水蚤 (有打氣) 死亡率

表六、水蚤(有打氣)48小時死亡率

濃度 (ppm)	死亡率 (%)						
0	20	0.01	10	1	40	100	100
0.0001	20	0.05	40	5	70	200	100
0.0005	10	0.1	30	10	80		
0.005	20	0.5	40	50	100		



圖六、水蚤(未打氣)48小時死亡率



圖七、水蚤(有打氣)48小時死亡率

討論

水蚤的每分鐘平均移動距離隨著益達胺濃度的增高而下降，這與乙醯膽鹼的作用使肌肉興奮收縮相反。我們推測是益達胺佔據了乙醯膽鹼受體的接合位，使得肌肉無法接收神經釋放的乙醯膽鹼，進而使水蚤在一小時的浸泡後，移動距離隨著濃度的增加而減少。

水蚤的心跳數在低濃度的益達胺中略微增加，我們推測可能是益達胺作用於乙醯膽鹼受體上，使得乙醯膽鹼無法表現出副交感神經上的作用，使其心跳無法被抑制而略微增加；而在高濃度時，水蚤的心跳數隨著益達胺濃度的增加而減少，我們推測水蚤是在受到益達胺的作用後，部分器官衰竭，導致水蚤的心跳數隨著濃度的增加而呈現下降的趨勢。

在死亡率的實驗中，大水蚤對益達胺的耐受度較小水蚤差，我們推測可能是大水蚤需要的氧氣量較小水蚤多，故在低氧的情況下死亡率較高。而在新的實驗方法中我們為其打入充足的氧氣，即可發現大水蚤對益達胺得耐受度有所提升。

在市售的益達胺中，常見的濃度為9.6%，將其依建議的稀釋倍數稀釋後換算所得出ppm濃度。在最高稀釋倍數4000倍時為2.4ppm濃度；在最低稀釋倍數500倍時為19.2ppm濃度。而於我們的實驗中，益達胺的濃度在0.0001ppm濃度時，對水蚤的平均每分移動路徑長及心跳數皆有顯著影響，遠比市售稀釋後的農藥濃度（表六）要低許多。綜合以上結果，我們推論環境中的益達胺極可能會造成水蚤族群的活性降低甚至死亡、數量急遽變化，影響到生態系統的食物鏈，破壞了生態系統的平衡。

表六、市售益達胺於作物上施用量表

作物名稱	病蟲名稱	每公頃每次用藥量	稀釋倍數	ppm
玫瑰	蚜蟲	0.25公升	4000	2.4
茶	茶黃薊馬	0.5公升	2000	4.8
花胡椒	南黃薊馬	0.5~0.75公升	1500	6.53
毛豆	銀葉粉蝨	0.6~0.8公升	1500	6.53
花椰菜		0.6~1.2公升	1500	6.53
冬瓜	斜紋夜蛾	0.8~1.2公升	1500	6.53
蓮（花）	小黃薊馬	2~3公升	500	19.6
亞洲棕櫚	象鼻蟲			

資料來源：農夫樂（2013）。益達胺9.6%溶液。取自：
<http://www.eversing.com.tw/index.php?option=product&lang=cht&task=pageinfo&id=62&belongid=18&index=0>

結論

- 一、在行為影響的實驗中，極低濃度（0.0001ppm）的益達胺就已明顯的降低水蚤50%的移動距離和50%的速度。
- 二、在心跳實驗中，低濃度（0.0001ppm）的益達胺即會略微增加水蚤心跳，但隨濃度增高，水蚤的心跳呈現降低的趨勢。
- 三、原本在沒有打氣的情況下，水蚤在對照組時死亡率即達到60%，在加入益達胺後死亡率即達到100%，我們推測這可能與水中供氧不足有關，故修正實驗方法為其打氣，於打氣後水蚤在對照組的死亡率降到20%，在5ppm時死亡率才高於50%。在此實驗中也顯示益達胺會對水蚤的死亡率造成影響。

我們是第一個研究極低濃度益達胺是否對水蚤造成影響的實驗，而在我們的實驗中，使用比市售益達胺建議濃度低許多的濃度即可對水蚤造成影響，也比我們前面所找的參考文獻記載濃度要低不少，因此益達胺這類農藥可能對環境造成比我們預想中更大的影響，臺灣的有關單位或許可以研究、思考是否要效法歐盟擴大對益達胺等類尼古丁類農藥的禁用範圍。

參考資料

黃基森、薛翔泰、何旻遠（2013）。入侵紅火蟻防治藥劑-益達胺簡介。取自：

<http://163.21.236.12/~fireant/epaper10110/Imidacloprid.pdf>

許家豪、唐善美、陳昶佑（2014）。生理學。新北市：新文京開發。

蔡文珊（2001）。農藥特性與管理，90年11月（113期）。取自：

<https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=3985>

黃德昌、楊秀珠。農藥種類與特性。取自：

<http://ogserv.tactri.gov.tw/emailcaseLine/upload/%E8%BE%B2%E8%97%A5%E7%89%B9%E6%80%A7%E8%88%87%E7%B0%A1%E4%BB%8B.pdf>

（詳細請見作品說明書）