

環境荷爾蒙影響牡蠣（Crassostrea gigas） 受精率及其原因之探討

房樹生 王韶襄 朱育廷 陳柏元 林仕明 唐銘駿
國立路竹高級中學

摘 要

本研究分別以濃度 0ppm、10ppm、100ppm、1000ppm 的環境荷爾蒙（清潔劑、壬基苯酚、及三丁基錫），在室溫處理牡蠣 0hr、1hr、2hr、3hr、4hr 後，分別觀察其牡蠣精子活動力及卵子完整率。

結果證明，清潔劑、壬基苯酚、及三丁基錫等常見的環境荷爾蒙皆會使得精子活動力下降及破壞卵子的完整性，使得牡蠣受精率下降。

關鍵詞：環境荷爾蒙、受精率

前言

21 世紀是個嶄新的時代，在科技日新月異的今天，我們的生活更加地舒適，但接踵而來的污染問題卻深深困擾著人們。環境荷爾蒙，或許對一般人而言是個陌生的名詞，在不久的將來，它卻可能大大地影響你我的生活。

環境荷爾蒙是指環境中會干擾動物體內荷爾蒙作用的物質，例如：戴奧辛、多氯聯苯、多種農藥及多種清潔劑，其中壬基苯酚會造成雄性動物雌性化，三丁基錫會造成雌性動物雄性化。目前的研究已發現，生態系中的許多動物，如蛙類、水獺、鯉魚、蚵蜆等已受到環境荷爾蒙的影響，使得族群減少，性別比例改變，或雌性生出陰莖等等的畸形發生。

在生物課本中，我們學到了「生物放大」現象，像環境荷爾蒙這類的物質，由於動物體無法將它排除，會持續累積在體內，尤其

又以生活在水中的濾食性生物影響最為明顯。

由於一般文獻中大多探討環境荷爾蒙對於動物性器官變異的影響，我們便想利用牡蠣作為材料，探討三種環境荷爾蒙（清潔劑、壬基苯酚、三丁基錫）對牡蠣精卵受精率的影響，是否這些物質也會妨礙精子和卵子的結合，並嘗試探討影響精卵結合的可能原因，以進一步證實環境荷爾蒙對於生態系所帶來的潛在危害。

材料與方法

壹、材料

- 一、生物材料：帶殼新鮮牡蠣（購自傳統市場）。
- 二、顯微器材：光學顯微鏡、顯微照相機、載玻片、蓋玻片、油鏡油。
- 三、化學材料：千分之 35 的人工海水（以粗鹽加蒸餾水調製）、清潔劑（取自學校廚

房)、壬基苯酚、三丁基錫。

四、測量器材：微量吸管、量筒、鹽度計、電子秤、血球計數器。

五、其他：燒杯、解剖器具、打氣機、封口膜、2 尺水族缸、蒸餾水、粗鹽、沉水馬達、滴管、拭鏡紙。

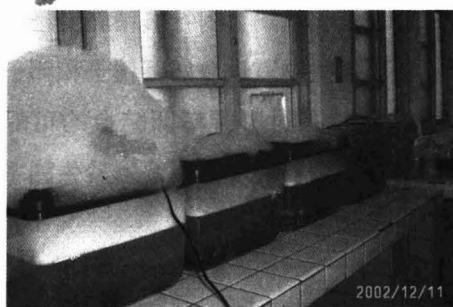
貳、方法

一、三種環境荷爾蒙對牡蠣受精率的影響

步驟 1：調配不同濃度的環境荷爾蒙並馴養牡蠣方法

(1)取 4 個大水缸，其一為對照組，加入 8 公升的千分之 35 的人工海水。另外 3 組實驗組分別加入含濃度 10ppm、100ppm、1000ppm 環境荷爾蒙的人工海水，總體積為 8 公升。

(2)啟動沉水馬達使水流循環後，放入 30 隻帶殼牡蠣至 4 個水缸內馴養(圖一)。



圖一 馴養牡蠣情形

步驟 2：活體解剖牡蠣

(1)共計作 5 個時程，每個時程間隔 1 小時，分別是 0hr、1hr、2hr、3hr、4hr，每次取出 6 隻帶殼牡蠣做活體解剖(圖二)。



圖二 牡蠣活體解剖取精卵情形

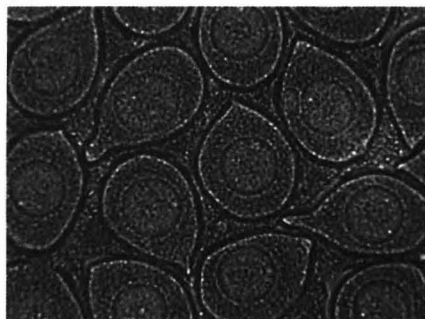
(2)待 6 隻牡蠣解剖完後，用微量吸管吸取精卵 4ul:20ul 的比例至裝有 976ul 人工海水中的燒杯。

(3)靜待 30 分鐘使其受精。

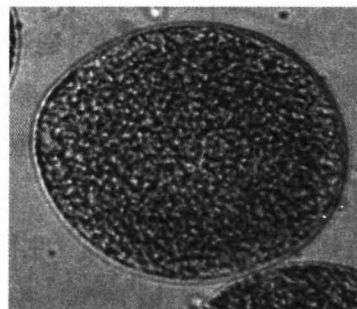
步驟 3：觀察精卵受精情形

(1)30 分鐘後，每組燒杯中的受精卵再用微量吸管吸取 10ul，作成玻片放於顯微鏡下觀察。

(2)在顯微鏡下，用血球計數器分別計算出 3 個視野下，未受精卵(圖三)和受精卵(圖四)的數目，再計算受精率。



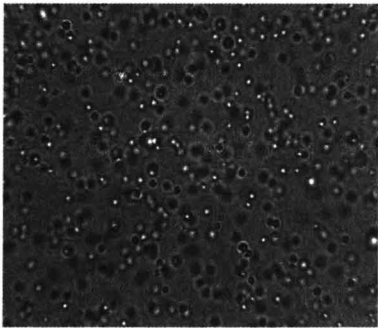
圖三 未受精的牡蠣卵子 (400X)



圖四 已受精的牡蠣卵子 (400X)

二、環境荷爾蒙濃度及處理時間對牡蠣精子活動力的影響。

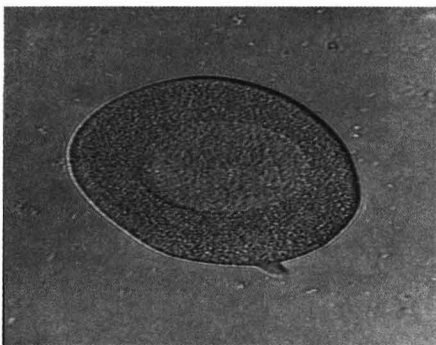
調配方法同上，取牡蠣精子（圖五）觀察，並比較在各種環境荷爾蒙的濃度與處理時間下精子的活性，計算活動的精子與不會活動的精子數目。



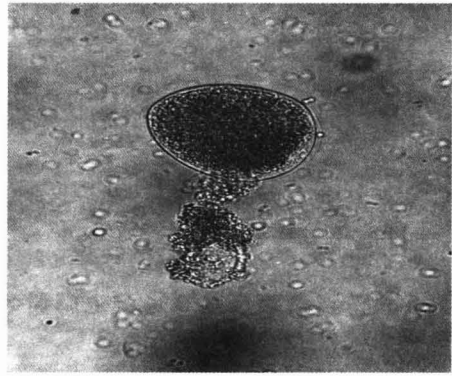
圖五 牡蠣精子 (1000X)

三、環境荷爾蒙濃度及處理時間對牡蠣卵子完整性的影響。

調配方法同上，取牡蠣卵子（圖六）觀察並比較在各種環境荷爾蒙的濃度與處理時間下卵子的完整性，計算完整的卵子數目與不完整的卵子（包括破裂及變形的卵）（圖七）數目。



圖六 完整的卵 (600x)



圖七 破裂的卵 (600x)

四、三種試劑在相同濃度及處理時間下受精率的差異

取方法一的實驗數據作圖比較。

五、三種試劑在相同濃度及處理時間下精子活動力的差異

取方法二的實驗數據作圖比較。

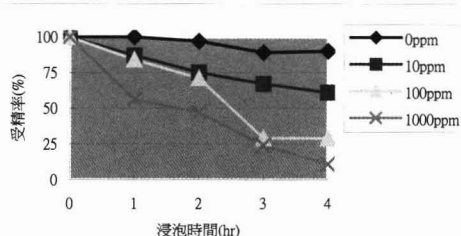
六、三種試劑在相同濃度及處理時間下卵子完整性的差異

取方法三的實驗數據作圖比較。

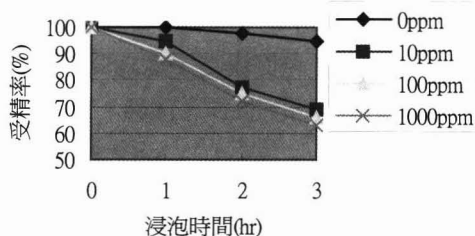
結果與討論

一、三種環境荷爾蒙對牡蠣受精率的影響

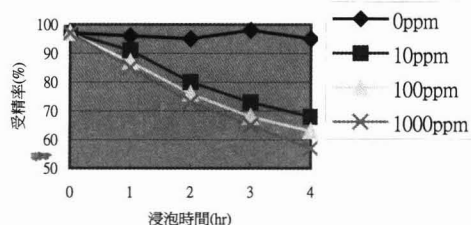
不論何種環境荷爾蒙，以濃度 0ppm、10ppm、100ppm、1000ppm，處理牡蠣 0hr、1hr、2hr、3hr、4hr 後，其受精率的變化如圖八~十（實驗數據請見附錄表一~三），結果證明在相同濃度下，牡蠣接觸試劑的時間較長，則受精率下降較多，而且具有劑量效應（隨著濃度的提高，牡蠣的受精率下降較嚴重）。換言之，本實驗所測試的環境荷爾蒙都會妨礙牡蠣精卵的結合，嚴重影響其繁殖能力。



圖八 各種清潔劑濃度處理與浸泡時間的牡蠣受精率



圖九 各種壬基苯酚濃度處理與浸泡時間的牡蠣受精率

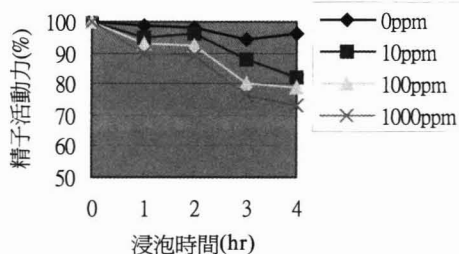


圖十 不同三丁基錫濃度處理與不同浸泡時間的牡蠣受精率曲線

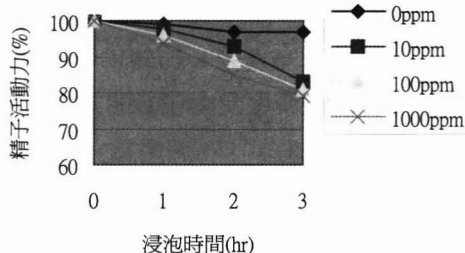
二、環境荷爾蒙對牡蠣精子活動力的影響

爲了探討環境荷爾蒙影響牡蠣受精率的真正原因，我們想環境荷爾蒙是否會影響牡蠣精子的活動力，進而影響其受精率。我們以濃度 0ppm、10ppm、100ppm、1000ppm 的環境荷爾蒙，處理牡蠣 0hr、1hr、2hr、3hr、4hr 後，其精子活動力的變化結果如圖十一~十三（實驗數據請見附錄表四~六）。結果證明在相同的濃度下，牡蠣接觸的時間愈長，其精子活動力下降愈多，而且，隨著濃度提高，牡蠣精

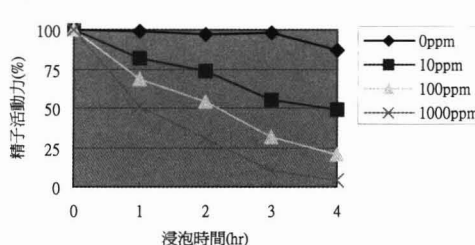
子活動力下降更明顯。因此我們認爲，藥劑影響牡蠣受精率的原因與其影響牡蠣精子的活動力有關。



圖十一 各種清潔劑濃度處理的牡蠣精子活動力



圖十二 各種壬基苯酚濃度處理的牡蠣精子活動力

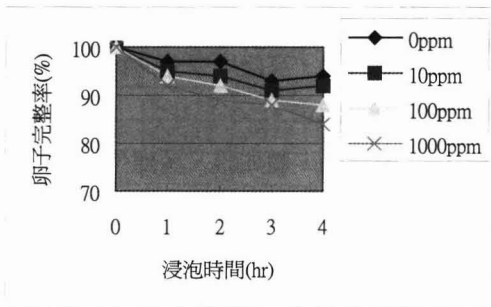


圖十三 各種三丁基錫濃度處理的牡蠣精子活動力

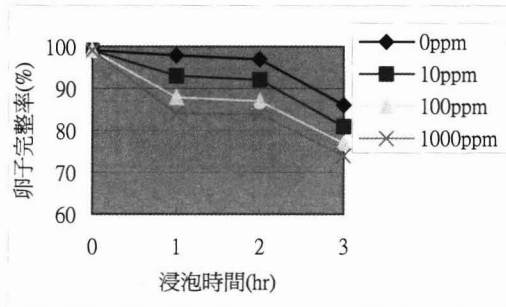
三、環境荷爾蒙對牡蠣卵子完整性的影響

爲了探討環境荷爾蒙影響牡蠣受精率的真正原因，我們想看看環境荷爾蒙是否也會影響牡蠣卵子的完整性，進而影響其受精率。我

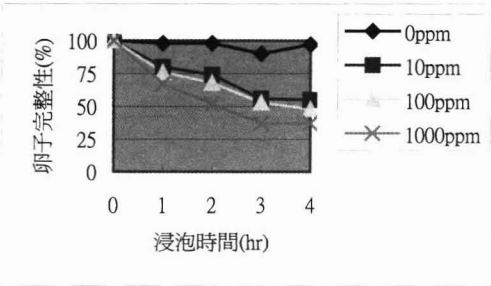
們以濃度 0ppm、10ppm、100ppm、1000ppm 的清潔劑，處理牡蠣 0hr、1hr、2hr、3hr、4hr 後，其卵子完整率的變化如圖十四~十六所示（實驗數據請見附錄表七~九）。結果證明在相同的濃度下，牡蠣接觸的時間愈長，其卵子完整率下降愈多；而且隨著藥劑的濃度提高，牡蠣卵子完整率下降更明顯。因此我們認為，環境荷爾蒙影響牡蠣受精率的原因與其影響牡蠣卵子的完整率有關。



圖十四 各種清潔劑濃度處理的牡蠣卵子完整率



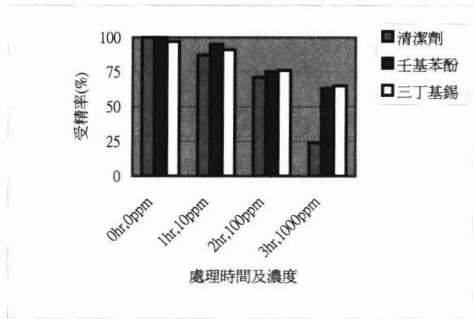
圖十五 各種壬基苯酚濃度處理的牡蠣卵子完整率



圖十六 各種三丁基錫濃度處理的牡蠣卵子完整率

四、三種試劑在相同濃度及處理時間下受精率的差異

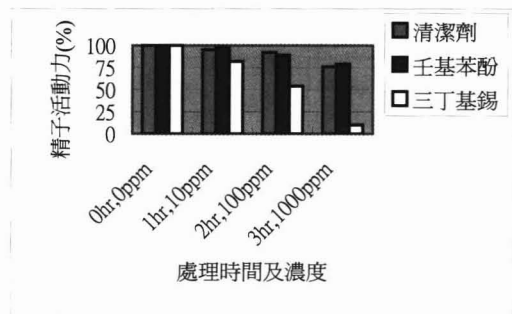
三種試劑在相同濃度及處理時間下受精率的差異，結果如圖十七所示。由圖可看出，清潔劑是三種藥劑中，對受精率具有最明顯劑量效應的環境賀爾蒙。



圖十七 相同浸泡濃度及處理時間下，三種環境荷爾蒙對牡蠣受精率的影響

五、三種試劑在相同濃度及處理時間下精子活動力的差異

三種試劑在相同濃度及處理時間下精子活動力的差異，結果如圖十八所示。由圖可看出，三丁基錫是三種藥劑中，對精子活動力具有最明顯劑量效應的環境賀爾蒙。



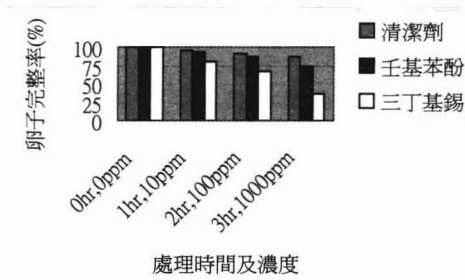
圖十八 相同浸泡濃度及處理時間下，不同環境荷爾蒙對牡蠣精子活動力的影響

六、三種試劑在相同濃度及處理時間下卵子完整性的差異

三種試劑在相同濃度及處理時間下卵子

完整性之差異，結果如圖十九所示。

由圖可看出，三丁基錫是三種藥劑中，對卵子完整性具有最明顯劑量效應的環境荷爾蒙。



圖十九 相同浸泡濃度及處理時間下，不同環境荷爾蒙對牡蠣卵子完整性的影響

結論

由本研究結果，我們得到了很明確的結論：(一)環境荷爾蒙會影響牡蠣的受精率(二)環境荷爾蒙影響牡蠣受精率的原因，是因為它們會影響牡蠣精子活動力及卵子完整性。

附錄

表一 清潔劑濃度及處理時間對牡蠣受精率的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr		4hr	
	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率
0ppm	191/192	100%	177/177	100%	226/239	97%	261/292	89%	136/151	90%
10ppm	191/192	100%	207/237	87%	109/146	75%	196/293	67%	150/247	61%
100ppm	191/192	100%	160/190	84%	175/247	71%	60/210	29%	52/177	29%
1000ppm	191/192	100%	100/180	56%	104/222	47%	70/295	24%	18/160	11%

誌謝

本論文的完成首先要感謝路竹高中林享仁校長，提供了一個優良的教學及研究環境，讓老師們能發揮所長。其次，鍾志輝組長及李宜靜老師對本論文提供了寶貴的建議，戴嘉亨組長提供了充分的設備器材支援，黃壬瑰小姐提供實驗試劑及參考文獻，都是本實驗得以完成的主因，在此一併致上最高的謝意。

參考文獻

1.施河主編，2002，高級中學生命科學下冊，南一書局，第六章。

2.楊宗儒、陳靖昀、蕭如雅、房樹生，2001，科學教育月刊，240：68-72。

3.http://www.taiwanwatch.org.tw/env_news/200004/89040102.htm

4.<http://www.ettoday.com/2002/04/17/91-1291700.htm>

表二 壬基苯酚濃度及處理時間對牡蠣受精率的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr	
	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率
0ppm	245/245	100%	290/290	100%	260/265	98%	247/260	95%
10ppm	245/245	100%	202/212	95%	171/222	77%	258/372	69%
100ppm	245/245	100%	208/231	90%	142/190	75%	174/264	66%
1000ppm	245/245	100%	200/228	88%	164/228	72%	140/224	63%

表三 三丁基錫濃度及處理時間對牡蠣受精率的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr		4hr	
	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率	視野內受精卵/總數	受精率
0ppm	154/158	97%	144/150	96%	190/200	95%	147/150	98%	135/142	95%
10ppm	154/158	97%	144/158	91%	129/164	80%	115/158	73%	105/154	68%
100ppm	154/158	97%	139/160	87%	102/134	76%	100/147	68%	103/163	63%
1000ppm	154/158	97%	132/156	85%	118/162	73%	83/128	65%	85/149	57%

表四 清潔劑濃度及處理時間對牡蠣精子活動力的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr		4hr	
	活動的精子/總數	活動力	活動的精子/總數	活動力	活動的精子/總數	活動力	活動的精子/總數	活動力	活動的精子/總數	活動力
0ppm	724/724	100%	752/754	99%	758/774	98%	600/638	94%	458/477	96%
10ppm	724/724	100%	729/768	95%	731/762	96%	380/432	88%	502/612	82%
100ppm	724/724	100%	624/672	93%	669/728	92%	441/551	80%	563/713	79%
1000ppm	724/724	100%	697/776	90%	653/734	89%	325/428	76%	439/601	73%

表五 壬基苯酚濃度及處理時間對牡蠣精子活動力的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr	
	活動的精子/總數	活動力	活動的精子/總數	活動力	活動的精子/總數	活動力	活動的精子/總數	活動力
0ppm	630/630	100%	712/720	99%	992/1013	97%	752/773	97%
10ppm	630/630	100%	621/633	98%	584/625	93%	543/654	83%
100ppm	630/630	100%	568/588	96%	509/572	89%	500/616	81%
1000ppm	630/630	100%	831/875	94%	702/823	85%	648/821	79%

表六 三丁基錫濃度及處理時間對牡蠣精子活動力的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr		4hr	
	活動的精 子/總數	活動力	活動的精 子/總數	活動力	活動的精 子/總數	活動力	活動的精 子/總數	活動力	活動的精 子/總數	活動力
0ppm	637/637	100%	502/508	99%	452/467	97%	698/715	98%	326/374	87%
10ppm	637/637	100%	470/574	82%	387/531	73%	313/565	55%	421/868	49%
100ppm	637/637	100%	405/596	68%	251/465	54%	264/818	32%	68/332	20%
1000ppm	637/637	100%	269/528	51%	110/357	31%	52/496	10%	13/312	4%

表七 清潔劑濃度及處理時間對牡蠣卵子完整性的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr		4hr	
	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵子/ 總數	完整率	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵 子/總數	完整率
0ppm	234/234	100%	672/692	97%	311/321	97%	619/668	93%	301/321	94%
10ppm	234/234	100%	609/641	95%	196/208	94%	1080/1192	91%	374/406	92%
100ppm	234/234	100%	616/657	94%	257/279	92%	679/764	89%	239/272	88%
1000ppm	234/234	100%	581/632	92%	268/301	89%	828/941	88%	197/234	84%

表八 千基苯酚濃度及處理時間對牡蠣卵子完整性的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr	
	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵子 /總數	完整率	完整的卵子 /總數	完整率
0ppm	473/480	99%	781/800	98%	412/423	97%	647/750	86%
10ppm	473/480	99%	377/407	93%	344/374	92%	827/1025	81%
100ppm	473/480	99%	395/450	88%	284/328	87%	803/1042	77%
1000ppm	473/480	99%	347/413	84%	292/347	84%	462/625	74%

表九 三丁基錫濃度及處理時間對牡蠣卵子完整性的影響

時間 濃度	0hr		1hr		2hr		3hr		4hr	
	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵子 /總數	完整率	完整的卵 子/總數	完整率	完整的卵 子/總數	完整率
0ppm	572/572	100%	616/629	98%	468/478	98%	561/631	90%	450/462	97%
10ppm	572/572	100%	478/598	80%	419/567	74%	451/800	56%	279/508	55%
100ppm	572/572	100%	347/457	76%	408/601	68%	386/734	53%	271/564	48%
1000ppm	572/572	100%	379/567	67%	284/548	52%	268/718	37%	206/694	37%