

# 嘉義市第 38 屆國民中小學科學展覽會

## 作品說明書

科別：生 物

組別：國中組

作品名稱：斑馬魚胚胎靜水式急毒性之檢測  
~~以八掌溪水質為例

關鍵詞：斑馬魚胚胎、半致死濃度、靜水式急毒性

編 號：

## 目 錄

摘要.....	3
壹、研究動機.....	3
貳、研究目的.....	3
參、研究設備及器材 .....	3
肆、研究過程與方法.....	5
一、研究流程規劃.....	5
二、生物急毒性試驗，建立斑馬魚胚胎之 LC <sub>50</sub> 值.....	5
三、LC <sub>50</sub> 測定在水質毒性檢測上之應用~以八掌溪檢測為例 .....	10
伍、實驗結果.....	13
陸、討論.....	18
柒、結論.....	19
捌、參考資料.....	20
附錄.....	21

# 斑馬魚胚胎靜水式急毒性之檢測

## ~~以八掌溪水質為例

### 摘要

本實驗是以斑馬魚胚胎為試驗生物，NaCl為參考毒物，用靜水式生物急毒性試驗方法檢測水質，建立96小時半致死濃度（lethal concentration 50%, LC<sub>50</sub>）之反應機制，以提供水質遭受毒性污染之預警參考；實驗過程並前往八掌溪取樣，做靜水式急毒性檢測96hr.-LC<sub>50</sub>值，藉以了解水質是否遭到毒性物質污染。

經檢測得知：(一)以斑馬魚胚胎對NaCl參考毒物做確定試驗，96hr.-LC<sub>50</sub>值為0.5ppm，顯示斑馬魚胚胎對水質毒性之反應靈敏度甚高。(二)另檢測八掌溪中埔橋段之水質96hr.-LC<sub>50</sub>值為80%。可初步判斷該水質已遭受毒性物質污染。

### 壹、研究動機

當今各種產業蓬勃發展使生活水平大幅提升，也因此導致我們周邊出現了越來越多的污染物質，包括農業用藥、工業廢水、塑化劑等，致使環境污染日益加重。尤以污水排放至水體後成分極為複雜，在檢驗分析水中污染物時，往往無法檢測出水中全部的毒性物質，我們嘗試以斑馬魚胚胎做毒性試驗，來探討毒性物質對斑馬魚胚胎成長的影響，作為本次科展的研究主題；於是找興趣相投的同學一起合作，收集資料，在老師的指導下展開了這次的實驗活動。

### 貳、研究目的

- 一、觀察斑馬魚胚胎發育情形。
- 二、以 NaCl 為參考毒物建立斑馬魚胚胎之 LC<sub>50</sub> 值。
- 三、以八掌溪水樣測試魚半致死濃度 LC<sub>50</sub> 以了解水質污染情形。

### 參、研究設備及器材

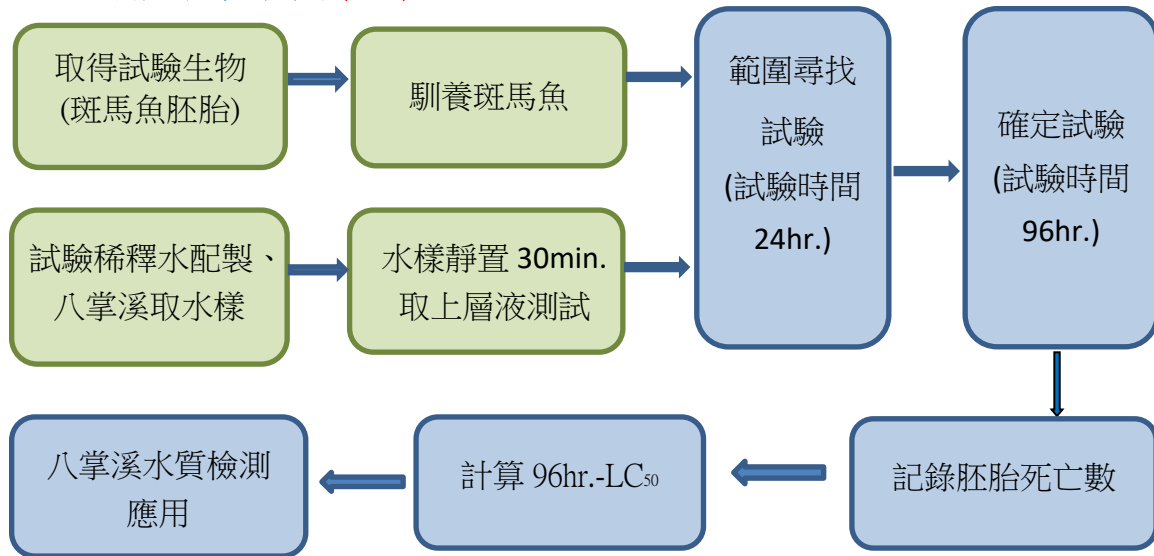
斑馬魚胚胎(*Danio rerio*)、恆溫培養箱、水質檢測計、pH測定計、DO檢測計、電子天平、解剖顯微鏡、RO水製造機、培養盤、繁殖盒、溫度計、塑膠桶、滴管、燒杯、篩網、小漁網、八掌溪水樣、試藥級NaCl、數位相機、筆電。



▲ 圖 1. 儀器設備及實驗藥品

## 肆、研究過程及方法

### 一、研究流程規劃 (圖 2)



▲ 圖 2. 斑馬魚胚胎生物急毒性測試研究流程規劃

### 二、生物急毒性試驗，建立斑馬魚胚胎之 LC<sub>50</sub> 值

#### (一)實驗說明：

使用靜水式生物急毒性試驗方法，以 NaCl 為參考毒物，檢測斑馬魚胚胎胚胎生物急毒性之半數致死濃度(LC<sub>50</sub>)，計算 96 小時之半數致死濃度 (lethal concentration 50%,LC<sub>50</sub>)。

1.試驗水質：用稀釋水。

稀釋水配製如下：

- (1)每 1 L 之試劑水含下列試藥級以上之成分：碳酸氫鈉 96.0 mg，硫酸鎂 123.0 mg，氯化鉀 4.0 mg，硫酸鈣 60.0 mg。
- (2)稀釋至 20L 劇烈曝氣 12hr 後使用，保存勿超過 14 天。

2.試驗魚種：斑馬魚胚胎(*Danio rerio*)，由嘉義大學生物農業科技系實驗室提供。

3. 馴養及毒性試驗室：為獨立空間，通風良好，無化學氣體影響且可屏蔽外界干擾。

4.溫度控制設備：恆溫培養箱(控制在  $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )。

5. 試驗容器：12 孔及 24 孔塑膠培養皿採樣容器。

(二)實驗步驟：(圖 3)

1.試驗準備：

- (1) 準備 12 孔及 24 孔養殖盒各 10 盒。
- (2) 準備隔開養殖的雌、雄各 3 隻。
- (3) 放開隔欄，雌、雄混在一起，會有追逐現象。
- (4) 約 20~30 分鐘左右，母斑馬魚胚胎會產卵，卵會落至養殖箱底部。
- (5) 斑馬魚胚胎會在幾分鐘內形成，準備以細網收集。
- (6) 迅速放入培養皿中，以解剖顯微鏡觀察，吸出已死亡的胚胎。



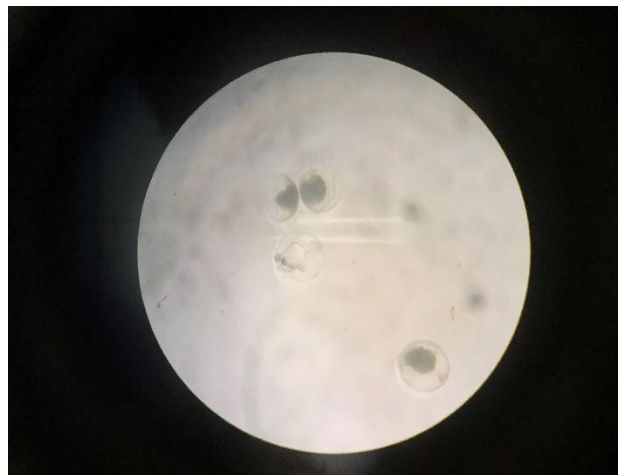
▲ 圖 3a.母斑馬魚產卵很多已形成胚胎落到養殖箱底部



▲ 圖 3b. 在顯微鏡 4x10 倍率下的斑馬魚卵所形成的胚胎之一



▲ 圖 3c.在顯微鏡 4x10 倍率下的斑馬魚卵所形成的胚胎之二



▲ 圖 3d.在顯微鏡 4x10 倍率下的斑馬魚卵所形成的胚胎之三

▲ 圖 3.斑馬魚胚胎形成之情形



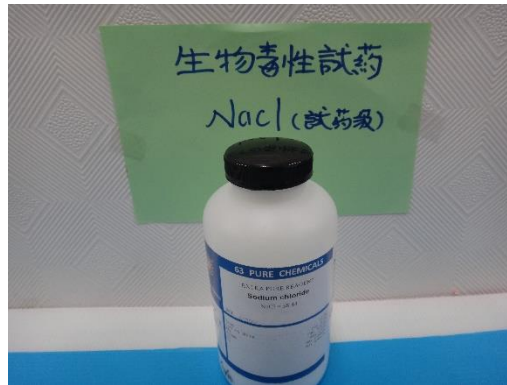
(三)參考毒物 NaCl 之配製：

1.說明：準備 試藥級氯化鈉 1 瓶，先配製範圍尋找試驗 (range-finding test) 用藥，根據檢測需求量配製。

2.範圍尋找試驗用藥：(圖 4a-e.)

(1)以稀釋水配製下列各濃度溶液 12 種，濃度範圍 0.02~200ppm。

(2)濃度分別是 0.02ppm、0.2ppm、2ppm、20ppm、40ppm、60ppm、80ppm、100ppm、120ppm、140ppm、160ppm 及 200ppm。



▲ a.NaCl 生物毒性試藥



▲ b.稀釋水配製用藥



▲ c. 配製好的 NaCl 稀釋用水



▲ d.各濃度之溶液 12 種

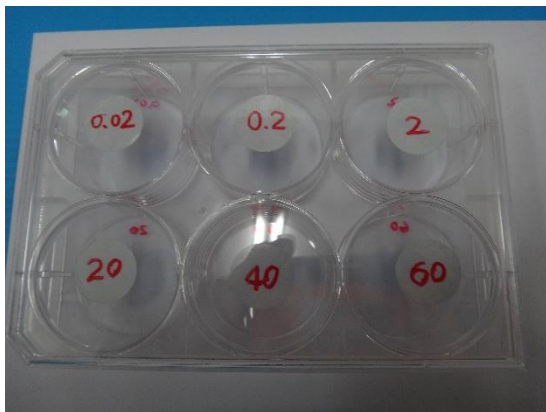


▲ e.各濃度溶液分裝入培養皿中

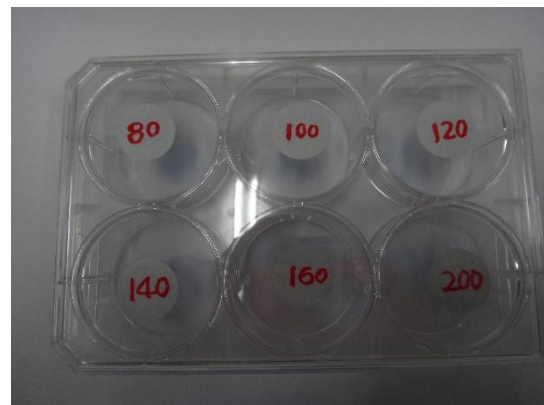
▲ 圖 4. 範圍尋找試驗用藥配製之情形

#### (四)範圍尋找試驗 (range-finding test)

- 1.試驗說明：因不確定樣品之半數致死濃度落在哪一濃度範圍，故先進行範圍尋找試驗。
- 2.試驗步驟：
  - (1) 將環境用藥(試藥級 NaCl)以稀釋水稀釋 12 個濃度  
0.02ppm、0.2ppm、2ppm、20ppm、40ppm、60ppm、80ppm、100ppm、120ppm、140ppm、160ppm 及 200ppm。
  - (2) 12 個濃度分裝入 12 格之培養皿中，放入的水量每格 10ml。
  - (3) 每一濃度之培養皿中，試驗生物(斑馬魚胚胎)數目均為 5 隻。
  - (4) 試驗期間不餵食，水溫控制在 28°C 光照，時間維持每天 14 ± 2 小時。
  - (5) 於 3 小時後，觀察第一次，其餘可每隔 3~6 小時，觀察一次，觀察後記錄斑馬魚胚胎存活數量。
  - (6) 觀察至 24 小時，試驗結果作為確定試驗稀釋濃度之參考。
  - (7) 重複實驗三次，結果取平均值。
- 3.實驗操作情形：(圖 5a-d)



▲ a. 每一濃度培養皿放入 5 個胚胎



▲ b. 80~200ppm 各放入 5 個胚胎



▲ c. 放入培養箱中以 28°C 恆溫培養



▲ d. 以 28°C 恆溫光照培養

▲ 圖 5. 範圍尋找試驗情形



### (五)確定試驗 (definitive test)

1.試驗說明：範圍試驗可測知 LC50 的落點，再縮小濃度範圍以確定 LC50 值。

2.試驗步驟：

(1)將環境用藥(試藥級 NaCl)以稀釋水稀釋六個濃度

0.1ppm、0.3ppm、0.5ppm、1ppm、5ppm、10ppm。

(2)稀釋完成後，檢測最高濃度試驗水樣之 pH、溶氧、導電度及餘氯。

(3)每一濃度之培養皿中，試驗生物(斑馬魚胚胎)數目均為 5 隻。

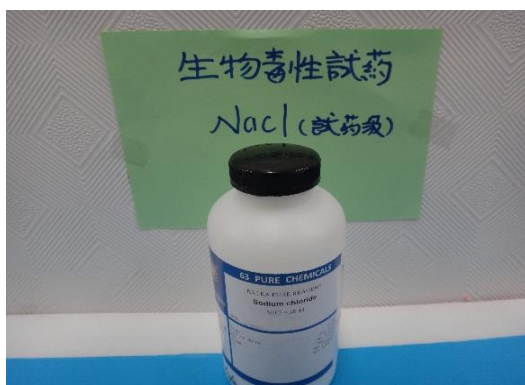
(4)空白試驗則取 3 個試驗容器，分別盛裝 10 mL 之 100%稀釋水，再放入試驗生物 5 隻。

(5)試驗期間為 96 小時，開始試驗後，第 24、48、72 及 96 小時，觀察及移出死亡之胚胎，並記錄數量。

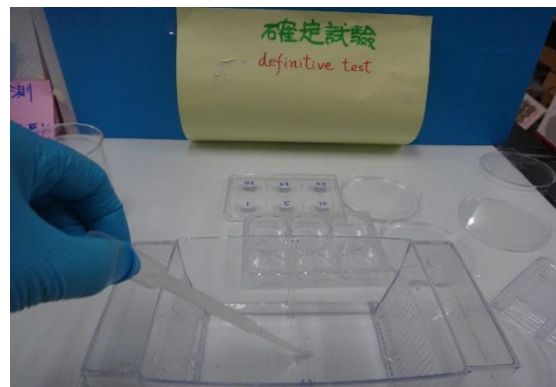
(6)結束試驗後，須測量並記錄最高濃度試驗水樣之溶氧及 pH，並記錄試驗之最高及最低水溫。

(7)判斷 LC<sub>50</sub> 值。

3.實驗操作情形：(圖 6a-d)



▲ a. 以試藥級 NaCl 為參考毒物



▲ b. 以滴管吸取胚胎準備分盤



▲ c. 吸取 5 個胚胎放入各培養皿中



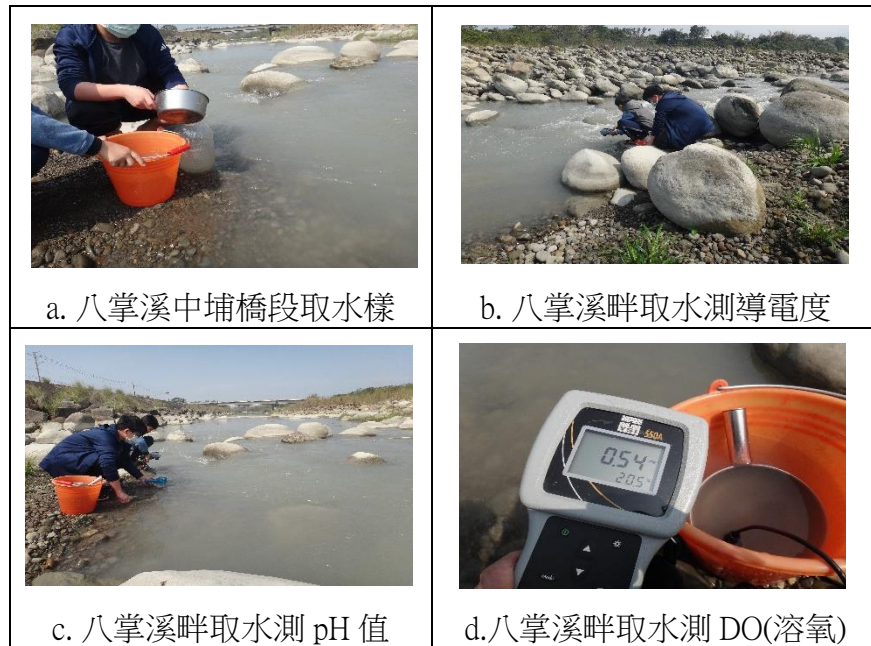
▲ d. 胚胎分盤完畢確定試驗開始計時

▲ 圖.6 以 NaCl 為參考毒物做確定試驗情形

### 三、LC<sub>50</sub>測定在水質毒性檢測上之應用~以八掌溪檢測為例

#### (一)採樣及保存

- 1.至八掌溪中埔橋段採水樣。(圖 7)
- 2.採樣時樣品容器應裝至全滿，以減少揮發性物質散失。採樣後立即避光保存於  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.水樣在採樣後 36 小時內開始於本校科學實驗大樓，進行確定試驗。



▲ 圖 7.至八掌溪中埔橋段採水樣並現場檢測 pH、DO 等

#### (二)實驗流程：(圖 8)

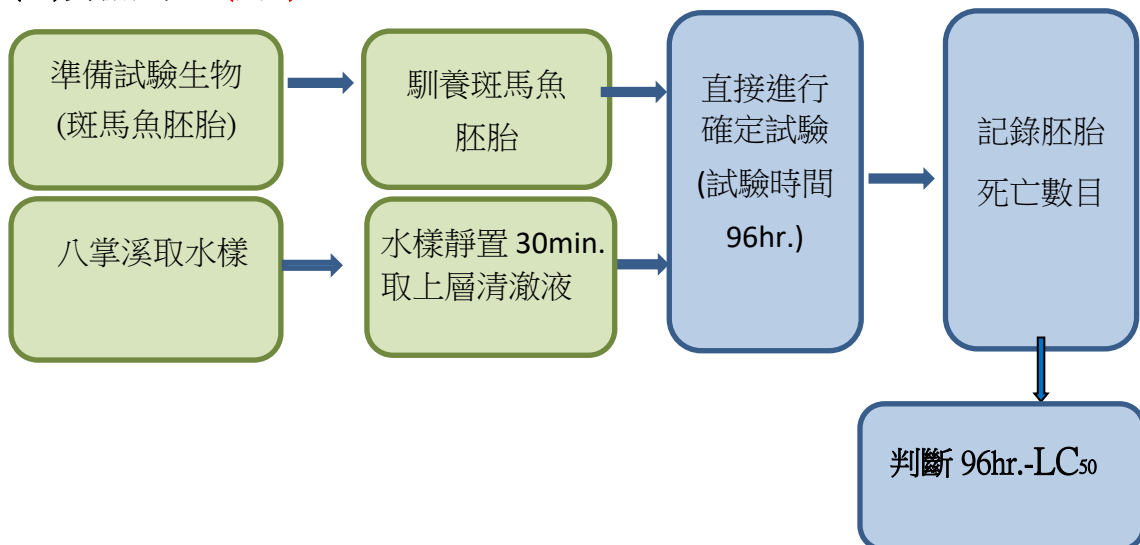


圖 8. 靜水式生物急毒性測試(確定試驗)流程

### (三)試驗說明

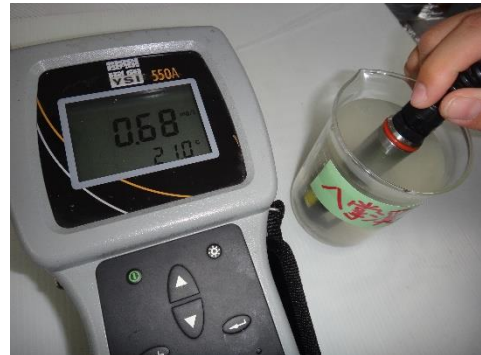
- 1.依生物急毒性檢測方法內容敘述，地面水體、放流水、廢水及污水等不必進行範圍尋找試驗，可直接做確定試驗，測量 LC50 半數致死濃度。
- 2.試驗期間斑馬魚胚胎不須餵食，水溫應控制在 26°C，光照應維持每天 14 ± 2 小時。

### (四)試驗步驟(圖 9)

- 1.取八掌溪水樣，以稀釋水進行稀釋，配製 20%、40%、60%、80%及 100% 五個濃度。每一濃度之試驗水樣，總體積須 100 mL 以上。
- 2.稀釋完成後，檢測最高濃度試驗水樣之 pH、溶氧、導電度及餘氯。
- 3.每一濃度之培養皿中，試驗生物(斑馬魚胚胎)數目均為 5 隻。
- 4.空白試驗則取 3 個試驗容器，分別盛裝 10 mL 之 100%稀釋水，再放入試驗生物 5 隻。
- 5.試驗期間為 96 小時，開始試驗後，至少於第 24、48、72 及 96 小時，觀察及移出死亡之胚胎，並記錄數量。
- 6.結束試驗後，須測量並記錄最高濃度試驗水樣之溶氧及 pH，並記錄試驗之最高及最低水溫。
- 7.判斷 LC<sub>50</sub> 值。



▲ a.從八掌溪中埔橋段採回水樣



▲ b.水樣做溶氧(DO)檢測

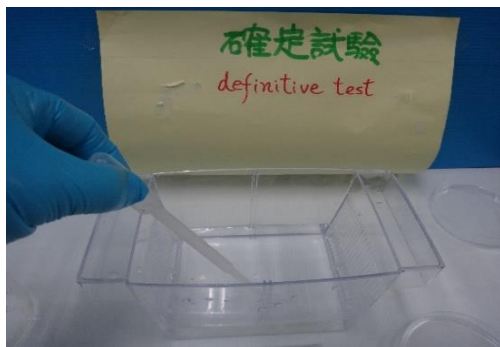


▲ c.做 pH 值檢測及導電度檢測

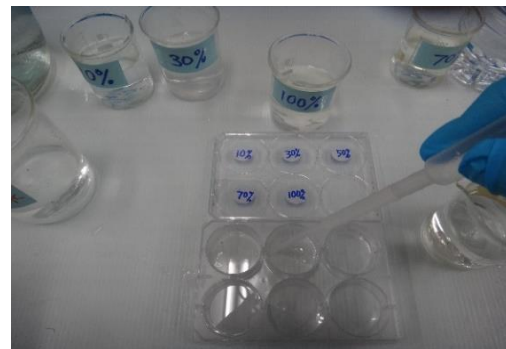


▲以稀釋水配製各濃度八掌溪水樣

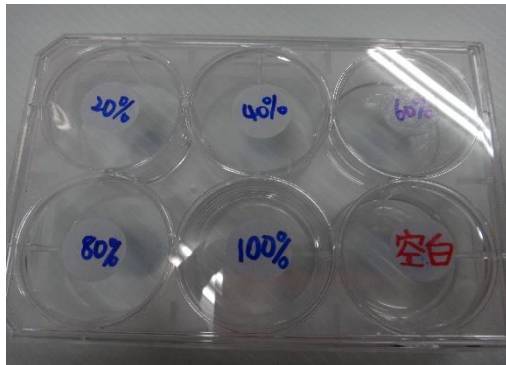




▲ e. 以滴管吸取斑馬魚胚胎



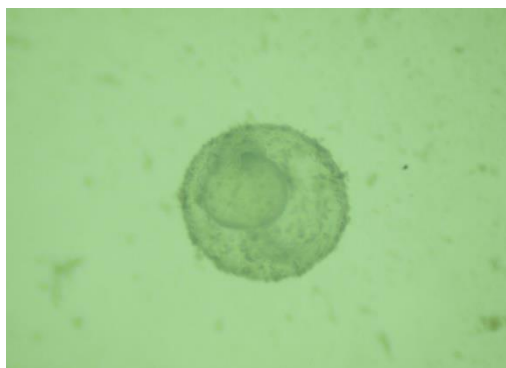
▲ f. 斑馬魚胚胎注入培養皿中



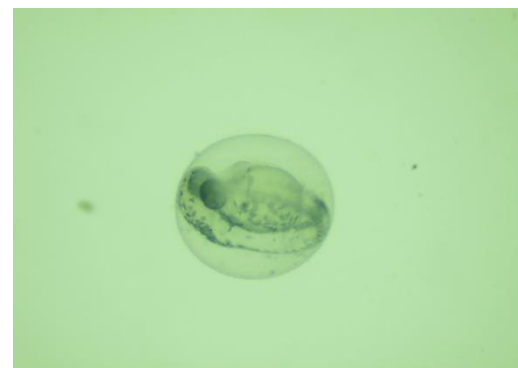
▲ g. 每一濃度培養皿放入 5 隻胚胎



▲ h. 置入 28°C 恆溫相中培養



▲ i. 在顯微鏡 4x10 倍率下的胚胎



▲ j. 胚胎已慢慢發育成長



▲ k. 培養皿中的胚胎已可看見眼



▲ l. 胚胎已孵育有小魚的體態

▲ 圖 9. 溪水靜水式生物急毒性測試(確定試驗)流程

## 伍、研究結果

### 一、對斑馬魚胚胎做靜水式生物急毒性試驗，建立 LC<sub>50</sub> 值

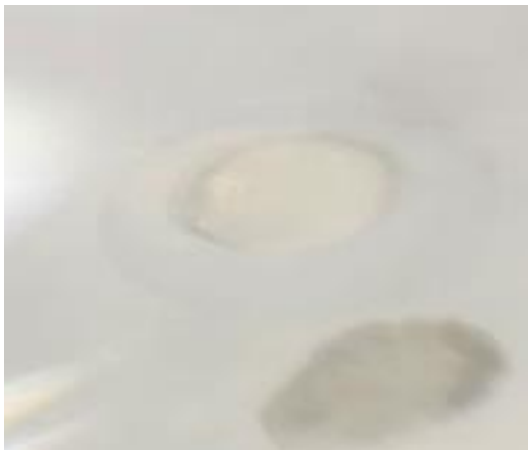
#### (一) 斑馬魚胚胎之孵育過程結果：(圖 9a-b)



▲ a.雄魚、雌魚共箱 20~30min.(追逐)



▲ b.產卵孵化



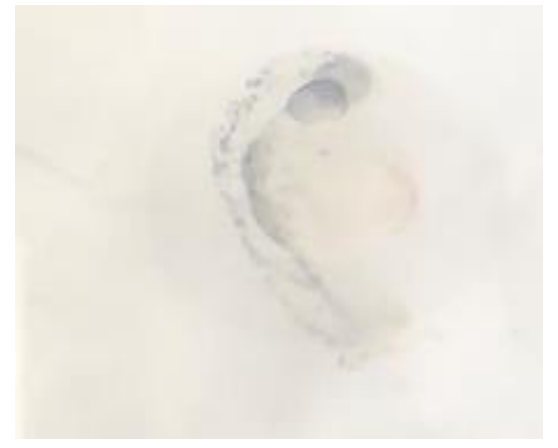
▲ c.胚胎發育情形之一



▲ d.胚胎發育情形之二



▲ e.胚胎發育情形之三



▲ f.胚胎發育情形之四

▲ 圖 9a. 斑馬魚胚胎之孵育概要過程



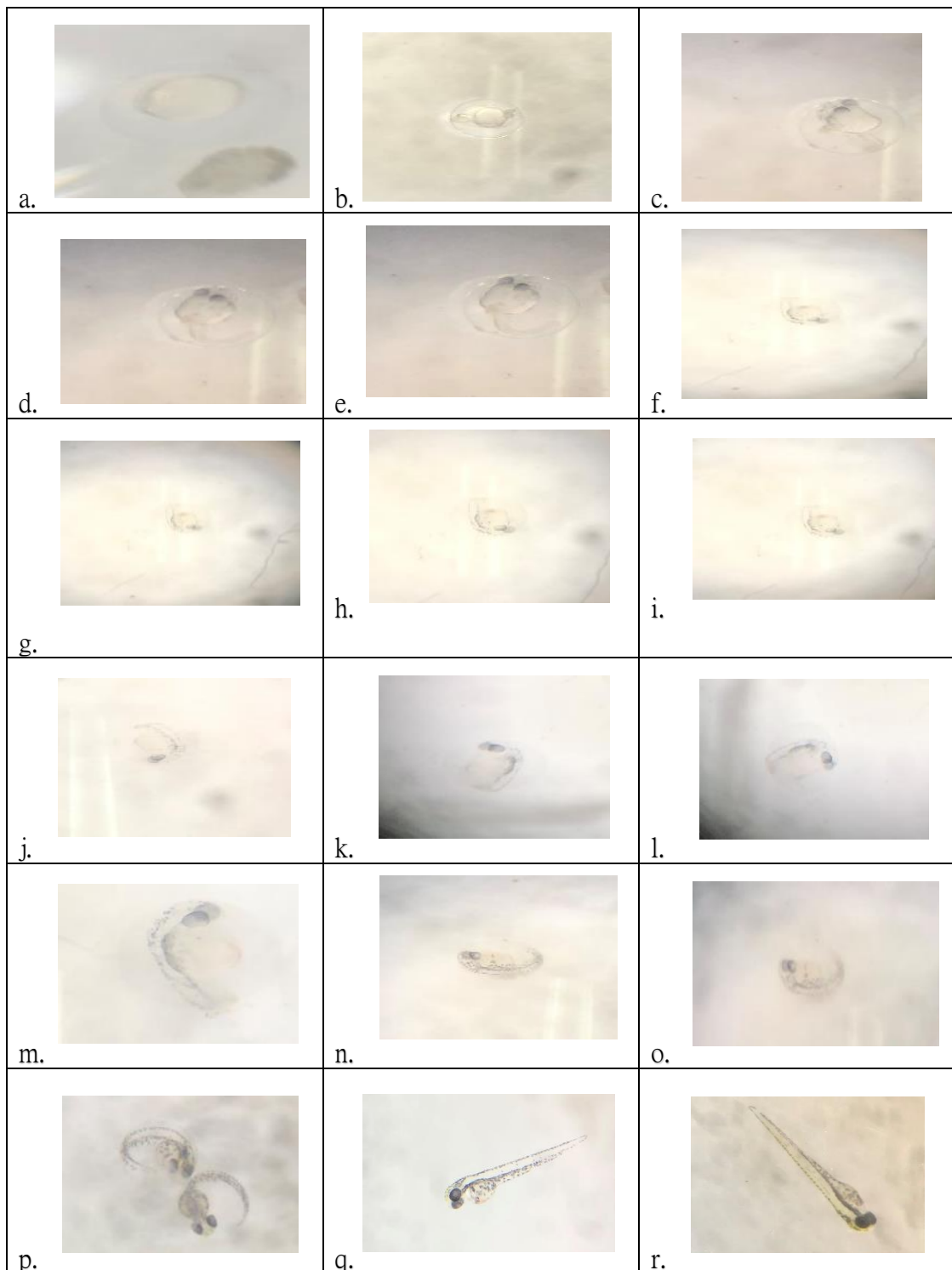


圖 9b. 斑馬魚胚胎之孵育成長過程(a~r)

## (二)、NaCl 為參考毒物之範圍尋找試驗 (range-finding test) 結果

1. 試驗生物：斑馬魚胚胎
2. 試驗生物總數：60 隻(每一濃度 5 隻，共 12 個濃度)。
3. 試驗濃度(ppm)：0.02、0.2、2、20、40、60、80、100、120、140、160、200
4. 觀察時間：24hr.
5. 實驗結果：斑馬魚胚胎對 NaCl 毒物試驗尋找範圍濃度，依(表 1)實驗數據顯示，斑馬魚胚胎死掉一半的最小濃度是 20ppm.，亦即 **LC50 值應該在 20ppm 以下。**

### 6. 實驗記錄：表 1. NaCl 濃度範圍尋找試驗之斑馬魚胚胎死亡數量統計

時間(hr.) 濃度(ppm)	3	6	12	24
空白實驗	0	0	0	0
0.02	0	0	0	1
0.2	0	0	0	1
2	0	1	1	2
20	1	1	3	4
40	1	1	4	4
60	1	1	4	5
80	1	2	3	5
100	1	3	4	5
120	1	4	5	5
140	1	4	5	5
160	3	5	5	5
200	3	5	5	5
胚胎死亡總數	13	27	38	51

(三)、NaCl 為參考毒物之確定試驗 (definitive test)

1. 試驗生物：斑馬魚胚胎
2. 試驗生物總數：30 隻(每一濃度 5 隻，共 6 個濃度)。
3. 試驗濃度(ppm)：0.1、0.3、0.5、1、5、10ppm
4. 觀察時間：96hr.
5. 實驗結果：斑馬魚胚胎對 NaCl 毒物之確定試驗濃度，  
依(表 2)實驗數據顯示，斑馬魚胚胎死掉一半的最小濃度是  
0.5ppm.，亦即 **LC50 值=0.5ppm**。
6. 實驗記錄：表 2. NaCl 各濃度**確定試驗**之斑馬魚胚胎死亡數量統計

時間(hr.) 濃度(ppm)	24	48	72	96
空白實驗	0	0	0	0
0.1	0	0	1	1
0.3	0	1	1	2
0.5	0	1	2	3
1	1	2	2	3
5	1	2	3	4
10	1	3	4	5
胚胎死亡總數	3	9	13	18

表 3.確定試驗 (definitive test) 最高濃度之稀釋水及試驗水各項檢測

水質檢測項目		pH	導電度	溶氧	水溫	餘氯
稀釋水		7.4	520	5.2	21°C	0
試驗水 (最高濃度)	試驗前	7.3	523	5.1	22°C	0
	試驗後	7.3	525	5.0	22°C	0

## 參、LC<sub>50</sub>測定在水質毒性檢測上之應用~以八掌溪檢測為例

### 確定試驗 (definitive test) : 八掌溪水樣檢測

- (一)試驗水樣：八掌溪中埔橋段水樣
- (二)試驗生物：斑馬魚胚胎
- (三)觀察時間：96hr.
- (四)試驗生物總數：每一濃度 5 隻，五個濃度及空白實驗共 30 隻。
- (五)試驗濃度：20%、40%、60%、80%及 100%原水等五個濃度。
- (六)八掌溪水樣確定試驗各濃度**胚胎**死亡數量之統計(表 4)。

表 4.八掌溪水樣確定試驗各濃度**胚胎**死亡數量之統計

測試時程 溪水濃度	2hr.	12hr.	24hr.	96hr
空白實驗	0	0	0	0
20%	0	0	1	2
40%	0	1	2	2
60%	1	2	2	2
80%	2	3	4	5
100%(原水)	4	4	5	5
死亡胚胎總數	7	10	14	16

- (七) 實驗結果：1.斑馬魚胚胎對八掌溪毒物之確定試驗濃度，  
依(表 4)實驗數據顯示，斑馬魚胚胎死掉一半的最小濃度是 80%，亦即 96hr.-LC<sub>50</sub> 為 80%
- 2.半致死濃度越高，代表溪水汙染越輕微，是好現象。

表 5. 八掌溪水樣 確定試驗最高濃度試驗水質檢測

水質檢測項目		pH	導電度	溶氧	水溫
稀釋水		6.9	535	5.0	22°C
試驗水 (最高濃度)	試驗前	6.9	505	5.1	23°C
	試驗後	6.9	526	5.0	23°C

## 陸、討論

【一】、水質監測目的在提供水體品質資訊，使社會各界了解周遭水體環境現況，喚起社會大眾關心水體環境的保育意識，進而達到保障民眾用水安全之目的，因此水質毒性的監測與建立預警機制就更加需要。

【二】、生物毒性測試所採用之試驗生物應具備靈敏性高、明確毒性效應指標、良好的毒性反應、普遍性、容易取得與飼養和符合經濟成本等。常見之放流水生物毒性測試，依據測試時間長短可以分為急毒性和慢毒性兩種，急毒性測試時間一般為 24~96 小時。

【三】、斑馬魚胚胎半靜水式法是以斑馬魚(*Danio rerio*)之胚胎為試驗生物，以半靜水式(semi-static)生物毒性試驗方法，每24小時換水1次，檢測生物胚胎急毒性，計算96 小時之半致死濃度 (Lethal Concentration 50%, LC<sub>50</sub>) 1 °C。若回溫後溶氧低於 3.0 mg/L，應對水樣溫和曝氣，使溶氧升至 3.0 mg/L 以上。

【四】、試驗前之水樣準備應先將水樣靜置半小時，待粗顆粒沈降後，再取上層液進行試驗；試驗前須先測量水樣之溫度、pH 與溶氧。水樣溫度須調整至 26 ± 1 °C。若回溫後溶氧低於 3.0 mg/L，應對水樣溫和曝氣，使溶氧升至 3.0 mg/L 以上。至嘉義八掌溪中埔橋段採樣時，樣品容器須裝至全滿，以減少揮發性物質散失；採樣後立即避光存於 4 ± 2°C 且水樣必須在採樣後 36 小時內開始進行確定試驗，以免水樣變質，影響實驗準確度。

【五】、受精卵收集：在試驗前一日傍晚，將雌魚與雄魚以 1：2 之比例移至產卵容器，雌魚與雄魚須以隔板隔開並停止光照，試驗當日早上移除中間隔板並照光，魚兒會急速追逐旋游，身體碰觸時同時排出精卵。產卵的活動可以一直延續到中午，但產卵多在照光開始 30 分鐘內最多。斑馬魚的卵是沉性卵且不帶黏性，親魚產卵後會吃掉自己的魚卵，所以須在產卵容器中用隔離網，將親魚及魚卵隔開。

【六】、範圍尋找試驗 (range-finding test)：若不確定樣品之半數致死濃度落於哪一濃度範圍，應先進行範圍尋找試驗。放流水生物急毒性檢測則不須進行範圍尋找試驗。建議可將水樣或環境用藥以稀釋水適度進行 10 倍序列稀釋。每一濃度之試驗水樣體積須 1L 以上，以一個試驗容器盛裝，每一濃度之試驗生物



總數均為 5 隻。觀察 8 至 24 小時，記錄胚胎死亡數，試驗結果作為確定試驗稀釋濃度之參考。

#### 【七】、確定試驗 (definitive test)：

將水樣或環境用藥以稀釋水適度稀釋為 5 個濃度，相鄰濃度之稀釋倍數不得超過 2 倍。放流水則以 5 個固定濃度進行試驗 (100%、80%、60%、40% 及 20%)。釋完成後，檢測最高濃度試驗水樣之 pH、溶氧、導電度及餘氯。試驗期間為 96 小時，水溫應控制在  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照時間應維持每天  $14 \pm 2$  小時。

#### 【八】、胚胎出現以下任一種狀況即判定為死亡：

(1)胚胎凝結 (Coagulation of the embryo)凝結之胚胎呈乳白色，在顯微鏡下，會出現各種不透明深色的物質 (附圖 3b)。(2)胚胎構造發育不全 (Lack of somite formation)：在  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ，24 小時後，正常斑馬魚胚胎約形成 20 體節(somites)，一個發育正常的胚胎會出現自主性運動 (身體收縮)，自主性的運動表示體節的形成，若 48 小時仍未發育出體節，則判定胚胎死亡 (附圖 4b)。(3)尾部卵黃囊剝離不全 (Non-detachment of the tail from the yolk sac) (附圖 5b) (4)心臟無跳動(Lack of heartbeat)：正常發育的斑馬魚胚胎在  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ，48 小時後可以觀察到心臟跳動。心跳不規則不應判定為死亡，至少觀察胚胎 1 分鐘心臟無跳動才可判定為死亡。

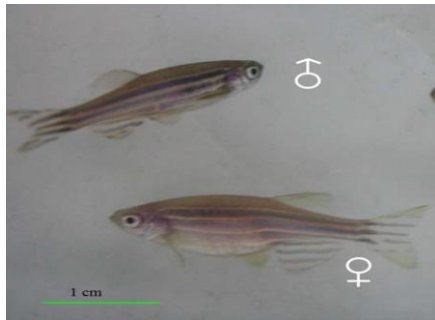
## 柒、結論

生物靜水式急毒性試驗，一般常用來試驗的生物是米蝦或水蚤，我們選擇斑馬魚卵剛孵出的胚胎來做試驗生物，其優勢是試驗的器具簡單，試驗用 12 格或 24 格的培養皿體積小不占空間；另一面胚胎一出生尚不致於受外在環境污染，具備靈敏性高、良好的毒性反應、容易取得與飼養和符合經濟成本等優點；實驗時藉助解剖顯微鏡觀察，僅需 4x10 倍率就可清晰辨別斑馬胚胎的存活或已變成小黑點凋亡或稱死亡。因此對於半致死濃度的尋找試驗或確定試驗，皆可得到很客觀的數據。應用於檢測八掌溪中埔橋段之水樣，測得 96hr-LC50 為 80%，應可視為遭受輕度污染；這些受污染的水質它對水中生物造成危害，若能長期不斷建立完整的 96hr-LC50 檢測大數據資料，提供農業、工業、養殖業、或其他事業用水之參考，則對水質污染問題，可及早防範或整治。

## 捌、參考資料

1. 朱芳琳，2020，國中自然科學 1 下，翰林出版社。
2. 生物急毒性檢測方法－斑馬魚胚胎半靜水式法，中華民國106年3月28日環署檢字第1060021982號公告。
3. 行政院環保署環境檢驗所，2005，原水水質魚類毒性測試規範。
4. 劉貞材，2004，生物指標於水質毒性檢測之相關研究分析，國立成功大學水利及海洋工程研究所碩士論文。
5. 事業放流水採樣方法(NIEA W109)，中華民國 98,5,11 環署檢字第 0980040837 號。

附錄(一)：附圖1~5(參錄自：環署檢字第1060021982號公告 p10~14)。



附圖 1. 斑馬魚雌雄區別



附圖 2. 斑馬魚受精卵



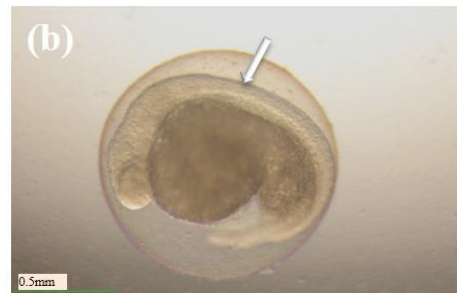
附圖 3a. 正常發育胚胎



附圖 3b. 異常凝結之胚胎



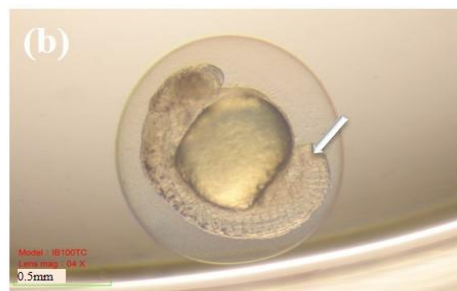
附圖 4a. 正常發育胚胎



附圖 4b. 異常之體節發育不全



附圖 5a. 正常發育胚胎



附圖 5b. 異常發育尾部未剝離胚胎

附圖(二)：斑馬魚胚胎的發育成長過程



### 附圖(三)：脊椎動物研究切結書

#### 脊椎動物研究切結書

學生姓名：葉育成、陳秉強、賴耕培 就讀學校：嘉義高級中學附設國中部

作品名稱：斑馬魚胚胎靜水式急毒性之檢測——以八掌溪水質為例

1. 研究之動物名稱及數量。

斑馬魚野生種，胚胎300顆、成魚20尾。

2. 如何依法取得動物之來源<sup>【註一】</sup>？

從台灣斑馬魚中買進。

3. 簡述研究過程，並說明使用脊椎動物之必要性。

斑馬魚為國際認可的檢量替代生物，我們實驗是以NaCl試藥對斑馬魚胚胎做生物急毒性試驗，建立斑馬魚胚胎之LC50值，並以八掌溪水樣做污水檢測。

4. 是否解剖或傷害動物？是否由合格獸醫師或相關領域之科學家進行相關實驗操作<sup>【註二】</sup>？

請詳述實驗方式及如何將傷害減至最低。

否。

5. 進行實驗地點：

家中；家長簽名 \_\_\_\_\_ 日期： \_\_\_\_\_

學校；指導教師簽名 鍾慧容 日期：108.11.22

大學或研究機構；教授或研究員簽名 \_\_\_\_\_ 日期： \_\_\_\_\_

服務機關：嘉義高級中學 (請蓋機關印信) 電話：05-2761716

地址：嘉義市民權東路45號

【註一】 保育類動物須獲得農委會同意書。

【註二】 需檢附獸醫師或相關領域之科學家證明函。

