
認識身旁的小傢伙(14)

--昆蟲包囊作用的觀察

蔡任圃

臺北市立中山女子高級中學

壹、前言

免疫學對高中學子而言，是生物學領域中較為艱深的範圍，其作用機制與原理較為複雜、抽象，其實驗活動的設計亦限制較多，若能透過適當的實驗活動，對學生學習相關知識必為一大利器。免疫學領域的高中生物實驗，長久一來一直只有「人類血型的檢定」：利用抗體的凝集反應，鑑定血液的血型。此實驗需採集學生血液，其結果有時不易判讀(血液凝集結果不明顯)，且有感染風險、不亦操作等缺點，學生透過血液凝集判斷實驗結果，無法直接觀察免疫反應的過程，而是記錄看不見之「分子(抗體)」作用後的巨觀表現(凝血)，對協助學生瞭解免疫相關機制、過程，助益不大。

昆蟲雖不具明顯的專一性免疫，但其非專一性免疫非常發達，尤其是血球細胞的吞噬、包囊等作用，反應明顯、容易觀察，非常適合開發成高中學生進行免疫學實驗的課程活動。本文即以昆蟲的「包囊作用」為主題，設計相關觀察活動與探討電荷對包囊作用之調節作用，提供相關教材、實驗流程與實驗結果，希望能提供高中生物科免疫學實驗的另一個選擇。

貳、昆蟲免疫作用簡介

人體的免疫系統分為先天性(非專一性)與後天性(專一性)免疫，但昆蟲的免疫系統只有先天性(非專一性)免疫作用，目前仍未發現後天性(專一性)免疫的機制。昆蟲的血淋巴佔蟲體體重 15-75%，包含液態的血漿(plasma)與血球細胞(haemocytes)。昆蟲的血淋巴具有許多功能，包含儲存水分與養分、運輸營養物質與激素還有免疫作用等。昆蟲血淋巴參與的免疫作用，包含血淋巴中抗細菌/抗真菌蛋白、水解酶(lysozymes)、凝集素(lectins)、酚氧化酶(phenyloxidases)等體液性免疫，與吞噬作用(phagocytosis)、包囊作用(encapsulation)、凝結作用等細胞性免疫。昆蟲血球細胞的基本功能為吞噬作用，也就是清除蟲體體內外來之細菌等微生物或壞死之組織，主要由漿血細胞與粒血細胞進行，於變態、疾病防禦、創傷修復時扮演重要的角色。對於較大之異物，如線蟲、原生生物、真菌、寄生蟲的卵等，則由許多血球細胞包覆於異物外，防止其危害、擴散，稱為包囊作用，血球細胞所形成的鞘狀構造就稱為包囊(capsule)。受傷時血球細胞參與血淋巴的凝結(即凝

血)，主要由囊血細胞(cystocytes)參與，以防止體液流失與病原體的入侵。

參、實驗所需材料

本實驗活動所需之材料如表 1。

肆、實驗動物標本的準備

將蟑螂或其他大小適合的昆蟲以二氧化碳麻醉(或放入冰箱冷凍庫 5 至 10 分鐘)後，黏貼於蟑螂貼紙上(即市售蟑螂屋中的貼紙)，背面朝上、步足與腹面黏貼於貼紙上，將翅膀張開黏貼於貼紙，使背面露出(圖 1)。

表 1 昆蟲免疫作用之觀察所需的材料

序號	名稱	規格與數量	附註
1	蟑螂或其他昆蟲	每組(兩人或四人)一隻	
2	蟑螂貼紙	每組至少一張	市售蟑螂屋的貼紙
3	鑷子	每組兩支	
4	透明釣魚線	每組一條，長約 5 公分	
5	二氧化碳		麻醉用，也可將成蟲體放入冷凍庫約 5~10 分鐘進行冷凍麻醉
6	多蕊電線	每組一條，長約 10 公分	
7	電池座	可容納兩顆三號乾電池	
8	電池	每組兩顆三號乾電池	
9	亞甲藍液	每組一小瓶	進行細胞染色
10	載玻片	每組若干	
11	蓋玻片	每組若干	
12	複式光學顯微鏡	每組一台	



圖 1 將蟑螂黏於蟑螂屋貼紙的照片

伍、包囊作用與相關血球的觀察

將透明的釣魚線經腹部背面的骨板縫隙插入腹部體腔(插入約 1~1.5 公分)(圖 3C)，待 15 分鐘後，輕輕地將釣魚線拉出，必要時可以鑷子將骨板拉高，以避免沾附於釣魚線上的血球細胞剝落。將釣魚線置於載玻片上，滴一滴亞甲藍液進行染色，約五分鐘後蓋上蓋玻片進行觀

察，可觀察到附著於透明釣魚線上的血球細胞(圖 2)。這些血球細胞視釣魚線為外來異物，附著其上進行包囊作用，以防止異物的入侵、擴散、作用。若釣魚線置於蟲體內的時間過久，則附著的細胞會過多，過厚的細胞團在顯微鏡下無法透光，反而難以觀察，故透過釣魚線「釣細胞」的時間不宜過久。

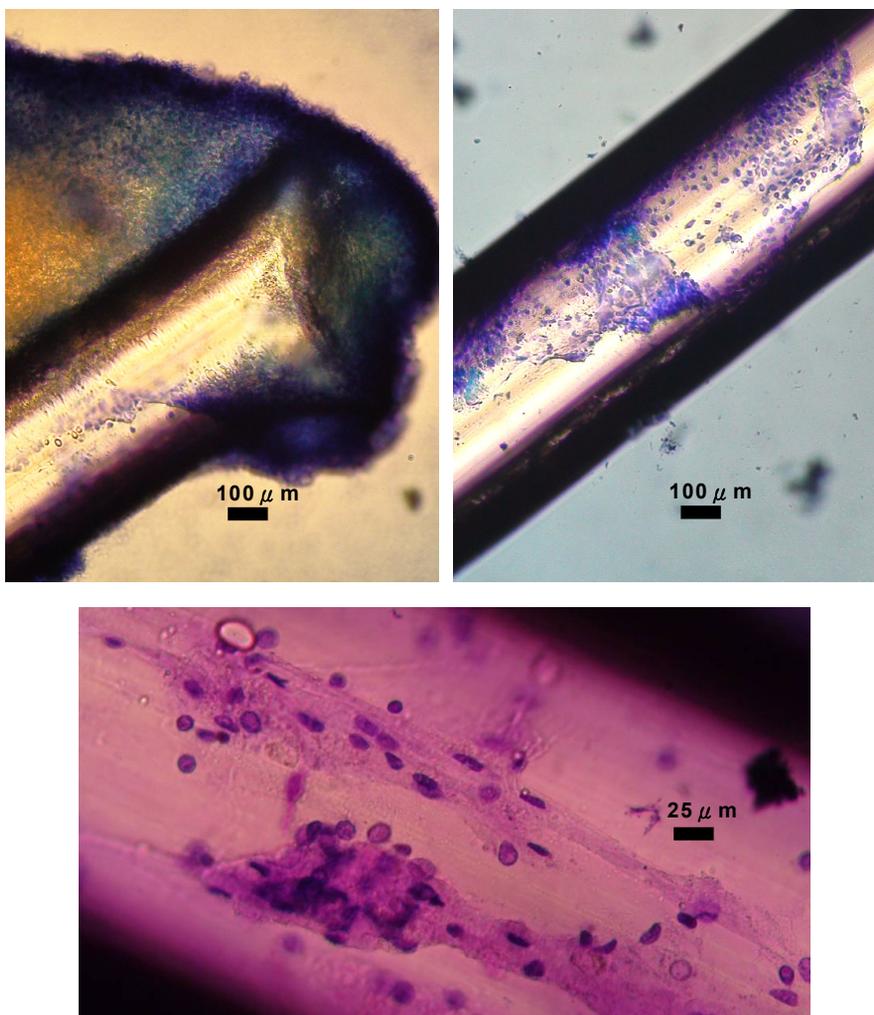


圖 2 於透明釣魚線上所觀察到的血球細胞

陸、「電荷對包裹作用的影響」實驗 步驟

將多蕊電線中的銅絲抽出，將兩根細銅絲分別由左、右兩側插入蟲體腹部(如圖 3a、c)。將左、右銅絲分別連接於電池座(如圖 3b)，接上電池形成通路(可先重複開、關電池座電源，觀察蟲體是否有抽動，以確保形成電流回路)。經 15 分鐘後，將銅絲小心、緩慢地移出(必要時可以鑷子將背板骨片拉起)，避免銅絲與釣魚線上的細胞

被刮除。將正、負極銅絲分別置於載玻片上，輕輕蓋上蓋玻片(不滴水、不染色)後，於顯微鏡下進行觀察。

於 40 倍的倍率下，利用顯微測微器測量正、負極銅絲上包覆物的最大寬度(如圖 4，以顯微測微器的刻度為單位)，記錄於記錄表(表 2)。此實驗可與上述透明釣魚線插入體腔同時進行，即同時插入兩根銅絲與一根釣魚線(圖 3c)，以節省實驗操作時間。

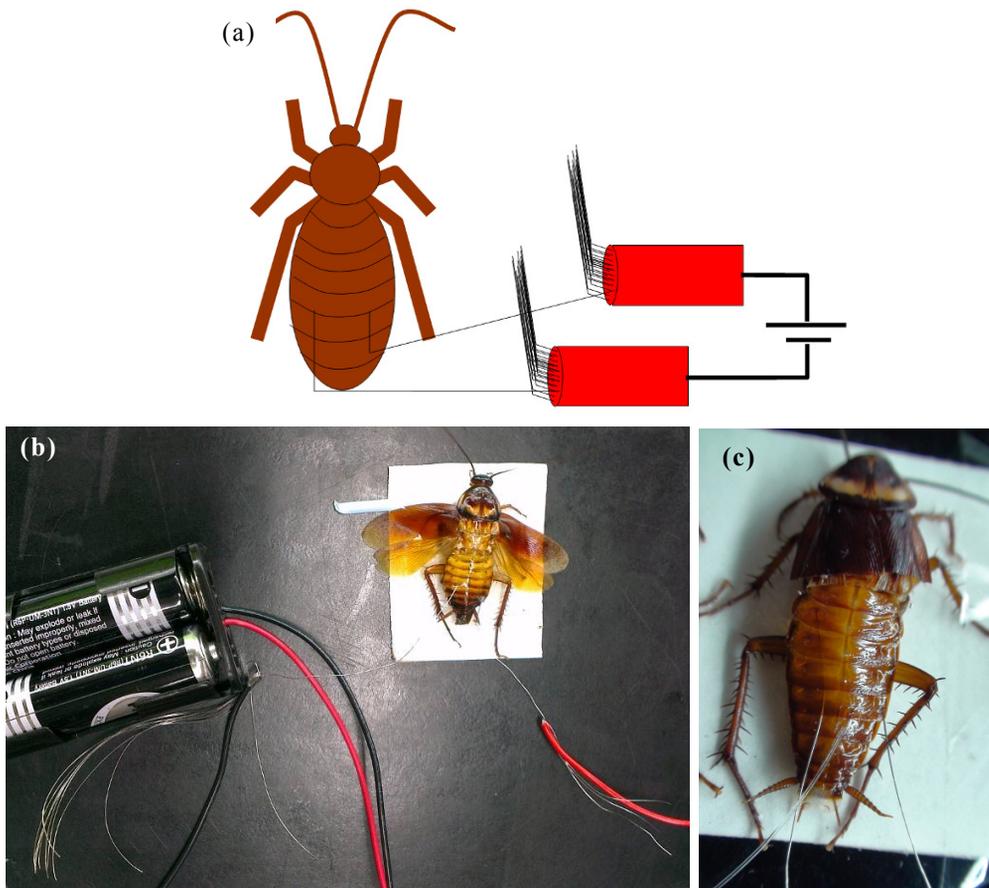


圖 3 於蟑螂腹部插入兩極銅絲與釣魚線的方式

- (a).多蕊電線中選取一根銅絲插入蟑螂腹部示意圖
- (b).兩電線連接電池座，使兩根銅絲一為正極、一為負極
- (c).蟲體腹部插入兩根銅絲與一根釣魚線的相片



圖 4 以顯微測微器測量血球細胞形成包囊的最大直徑(400X)

柒、「電荷對包囊作用的影響」實驗結果

正極銅絲對血球細胞具有吸引作用，故正極銅絲的包囊厚度大於負極銅絲的包囊(圖 5)。若比較不同蟲體間正、負極銅絲包囊寬度之相關係數($r = 0.62$ ，圖 6)，屬中度相關，代表同一隻蟲體若對正極銅絲有較強的包囊作用，對負極銅絲的反應亦會較大。

表 2 正、負極銅絲經包囊作用後的最大寬度(40 倍視野下)

	最大寬度(40 倍視野下，目鏡測微器每格代表 25 μm)		
	測量結果	本組平均	全班平均
正極銅絲			
負極銅絲			

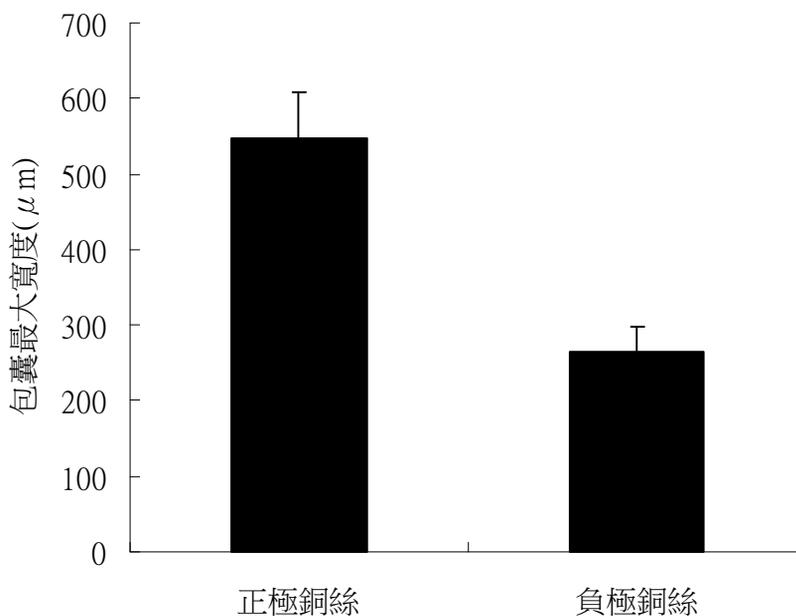


圖 5 正、負極銅絲包囊最大寬度之比較(平均 \pm 標準誤， $n = 67$)。單尾配對 t 檢定， $p < 0.001$ 。

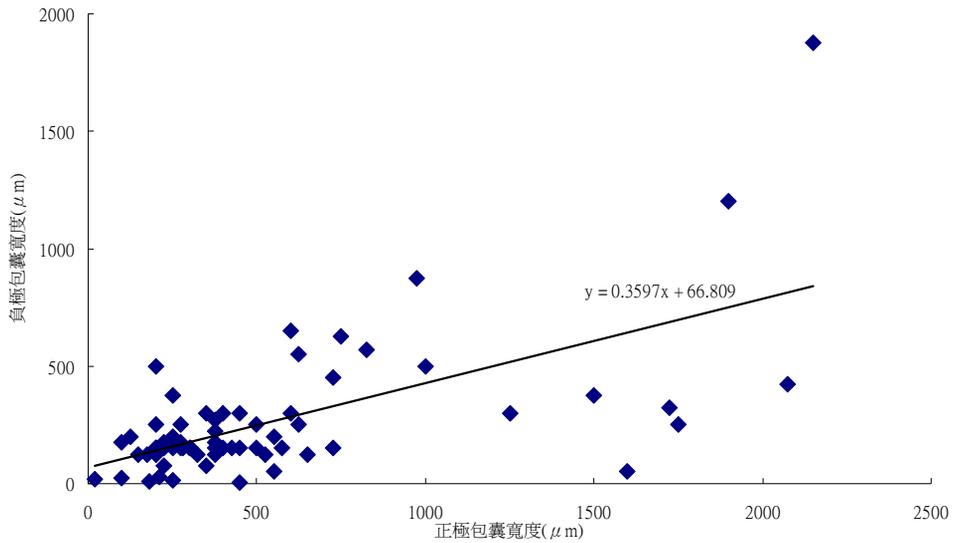


圖 6 正、負極銅絲包囊最大寬度之線性回歸曲線與相關係數($r = 0.62$ ， $n = 67$)比較

捌、試教心得

本實驗課程筆者曾於本校高一選修課程「科學素養培訓課程」(100 與 101 學年度)、高一數理資優班(101 學年度)與高二選修課程「科學家先修班」(102 學年度)實施(圖 7)，也曾於本校舉辦之「蟑螂科學研習營(學員為國中女性學生)」(101 與

102 學年度寒假)實施，具容易觀察、操作簡便、實驗結果明顯等優點，教學成效優良。幾乎所有學生皆能觀察到包囊作用，並測量到正極銅絲引發的包囊作用大於負極銅絲，只有少數組別因銅絲不小心掉到地上而遺失，無法進行觀察與測量。



圖 7 學生進行實驗操作的照片

玖、參考文獻

- Arnold, J. W. 1972. A comparative study of the haemocytes (blood cells) of cockroaches (Insecta: Dictyoptera: Blattaria) with a review of their significance in taxonomy. *Can. Ent.* 104, 309-326.
- Bell, W. J. and Adiyodi, K. G. 1981. *The American Cockroach*. New York: Chapman and Hall.
- Ratcliffe, N. A. and Rowley, A. F. 1975. Cellular defense reactions of insect hemocytes in vitro: phagocytosis in a new suspension culture system. *J. Insect Pathol.* 26, 225-233.
- Wootton, E. C., Dyrinda, E. A. and Ratcliffe, N. A. 2006. Interaction between non-specific electrostatic forces and humoral factors in haemocyte attachment and encapsulation in the edible cockle, *Cerastoderma edule*. *J. Exp. Biol.* 209: 1326-1335.
- 黃常宇、蔡任圃(民 96)。認識身旁的小傢伙(四)—開放式循環與心臟血球觀察方法。科學教育月刊，304，38-48。