

矽藻與種貝對九孔苗育成的影響(2)

蘇惠美、謝隆聲、張銀戀、王淑欣、黃俊翰、陳紫嫻

水產試驗所生物技術組

影響九孔苗附著與變態的因子

誘引鮑（九孔）苗附著的研究很多，鮑黏液 (Seki and Kan-No, 1981; Slattery, 1992; Seki, 1997, Takami et al., 1997; Bryan and Qian, 1998)、矽藻 (Slattery, 1992; Takami et al., 1997; Daume et al., 1999; Gordon et al., 2004)、匍匐型海藻 (crustose or non-geniculate coralline algae) (Kawamura et al., 1995; Daume et al., 2000; Daume and Ryan, 2004b)、微生物膜 (Bryan and Qian, 1998, Roberts, 2001)、迦瑪-氨基丁酸 (Akashige et al., 1981; Bryan and Qian, 1998) 與胺基酸 (康等, 2003; Gordon et al., 2004) 等都可以誘引鮑苗附著。九孔 (Bryan and Qian, 1998)、紅鮑 (*H. rufescens*: Slattery, 1992) 及黑鮑 (Seki, 1997) 均以矽藻與鮑黏液為基質組的附著及變態最佳，而黑唇鮑 (*H. rubra*) 與綠唇鮑 (*H. laevigata*) 則在海藻 *Ulvella lens* 上的附著遠高於矽藻類 (Daume et al., 2000; Daume and Ryan, 2004b)，但附著後的活存與成長卻不如矽藻 *Navicula* sp. (Daume et al., 2000)。

一、鮑黏液

對九孔附著的誘導率，九孔黏液、矽藻膜及 3 株細菌等單一條件，不如混合九孔黏液與矽藻膜組，該組附著後，幼蟲的活存也最佳；誘引附著的正確化學物質並不清楚，但矽膜分離的三株菌中僅有一種有加強效

用，可能藉由細菌，將黏液與矽藻轉化成具附苗功效且具種別性的物質 (Bryan and Qian, 1998)。

二、矽藻

矽藻對鮑苗附著與變態的影響，因藻類及鮑魚種別而有很大的不同。Kawamura and Kikuchi (1992) 試驗 18 種 22 株矽藻對黑鮑苗附著率的影響，發現矽藻密度增加，其附著率亦增加，缺乏矽藻者其附著率低且無法變態；附著形態為匍匐型矽藻者之附著率高，在眉藻、卵形藻、細柱藻、舟形藻與菱形藻種中，以眉藻、卵形藻與菱形藻為較佳。Gordon et al. (2004) 進一步發現在 17 種養殖的矽藻中 (2 種菱形藻、6 種舟形藻、9 種眉藻)，以 1 種菱形藻及 1 種舟形藻，顯著較另 1 種菱形藻、其他 5 種舟形藻及 9 種眉藻，對黑鮑苗更有誘引性。不過，耳鮑對 3 種舟形藻及 2 種菱形藻中之任 1 藻種，附著率均高達 89.8—94.3% (Sawatpeera et al., 2004)。以養殖的一種舟形藻餵養耳鮑 10 天，在附著與變態上，均優於以天然混合藻種來餵養者 (Gallardo and Buen, 2003)。

三、迦瑪-氨基丁酸等化學物質

誘引物質的化性是甚麼？Morse et al. (1980) 首先發現紅鮑偏好附苗的匍匐型紅藻上存有神經傳導物質—迦瑪-氨基丁酸。但 Akashige et al. (1981) 試驗數種神經傳導物質，對黑鮑苗附著與變態的效用，指出 1-100 μM 迦瑪-氨基丁酸會抑制浮游幼蟲纖毛活

動，使其落於底部、短暫爬行後死亡，無法變態。0.1–1 mM 麩胺酸雖不會影響浮游幼蟲纖毛活動，但也不會促其變態，1–100 μ M 血清素 (serotonin)、腎上腺素 (epinephrine)、正腎上腺素 (norepinephrine) 或乙醯膽素 (acetylcholine) 也均不會使其變態。Liu et al. (1986) 對九孔的研究也有相似的結論，以人工海水添加迦瑪-氨基丁酸，100 及 1000 μ M 可誘引較多幼蟲附著，但附著後 72 小時內，幼苗全數死亡，而 1 及 10 μ M 與對照組無差異，均於受精後 12 小時開始附著，48 小時有 90% 以上附著，附著後 4–6 天活存率為 60–70%。然 Bryan and Qian (1998) 則發現低濃度 (10 μ M) 的迦瑪-氨基丁酸雖可誘導附著但變態率低，較高濃度 (100 及 1000 μ M) 則有害；同樣的低濃度 (10 及 20 mM) 氯化鉀也會促進附著行為但變態率也低，高濃度 30 及 40 mM 也一樣有害。另外發現添加 1 μ M 迦瑪-氨基丁酸對紅鮑苗附著無顯著效用，且養殖 11 週後，稚貝全數死亡 (Slattery, 1992)。因此誘引物質對後續稚貝的活存與發育有長期的影響，使用時必需進行較長期的觀察。

四、胺基酸

利用“自助餐”方式，讓鮑苗自由選擇適合的矽藻來進行附著，試驗 17 種單離培養的矽藻，Gordon et al. (2004) 發現黑鮑最喜歡附著的是左彎菱形藻 (*Nitzschia laevis*)，其次為鏡舟形藻和清晰眉藻 (*Amphora luciae*)。鮑苗先附著於震破的藻細胞上，隨著時間增加，會逐漸移動到完整的藻細胞上，顯示鮑苗會選擇單一矽藻來附著，不是受到視覺或物理性的因子影響，而可能是藻細胞所含的某種化學物質所引起；因為藻細胞震破加熱後，並未改變對鮑苗附著的誘引，顯然化學物質不是藻細胞所含的蛋白質 (Gordon et al.,

2004)。進一步試驗 18 種 L 型的胺基酸 (甲硫胺酸、羥丁胺酸、絲胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、甘胺酸、DL-丙胺酸、脯胺酸、甜菜鹼、白胺酸、牛磺酸、纈胺酸、胱胺酸、組胺酸、鳥胺酸、精胺酸、離胺酸、天門冬胺酸)，在 10 mM 濃度對鮑苗的誘引，發現含有天門冬胺酸的培養基附著率最高 (81%)，其餘則均在 10% 以下。康等 (2003) 試驗 15 種胺基酸，也發現天門冬胺酸組附著率最高，其次為麩胺酸組，1–100 μ M 均可促進黑鮑的附著與變態，而以 10 μ M 為最適，但均略低於底棲矽藻組。Akashige et al. (1981) 則發現高濃度 (0.1–1 mM) 麩胺酸，會造成黑鮑苗死亡及低變態率。因此誘導附著的化學物質應有適宜的濃度範圍，天門冬胺酸與麩胺酸對九孔附著與變態的影響可加以探討。

矽藻對鮑苗培育的影響

矽藻對鮑苗培育的影響有幾個層面，第一項如前所示，會產生誘引物質吸引浮游幼蟲附著，而更重要的是作為餌料提供營養物質，促使鮑苗成長發育。在自然環境中，黑鮑苗偏好附著於匍匐型海藻上，該藻之表層黏液、角質層及其上層之內容物和共存的細菌，被認為是野生黑鮑苗早期的食物來源 (Kawamura et al., 1995)。Takami et al. (2000) 研究發現幼苗變態後不予餵食，其中有一批黑鮑苗在 4 天後，活存與成長顯著被抑制，另一批則在停止餵食 5 天後還沒有很大的影響，推論此乃因親貝提供之卵黃量與育苗水中取得之可溶性有機物不同，導致變態後鮑體的營養量不一樣；從內源獲得營養逐漸轉為需由外在食物提供營養，黑鮑苗之大小約 0.5 mm，九孔為 0.8 mm (Onitsuka et al., 2004)。又，若無誘使變態物存在，黑鮑苗一

直處於浮游幼蟲期，則浮游期間愈久，變態後活存降低、成長減緩 (Takami et al., 2002)。因此種貝之品質應會影響九孔苗孵出後忍耐饑餓的能力，推論種貝因子與合適餌藻足量提供的時機，都會影響附苗後之活存與成長。

一、矽藻附著形態分類

河村知彥 (1995) 及 Kawamura and Hirano (1992) 依據矽藻的附著形態：(1)是否成為群體；(2)黏液分泌性；(3)移動性及附著力，將矽藻分為八型 (圖 2)：A 匍匐滑走型；B 匍匐固著型；C 直立不動型；D 帶狀群體型；E 附著柄單體型；F 附著柄群體型；G 管棲群體型及 H 絲狀群體型。相同的附著形態，有一樣的生理生態特徵，各型生物量的季節變化，受到光條件及攝食壓力的影響最大，水溫、鹽度與營養鹽的影響則較小 (Kawamura and Hirano, 1992)。當攝食壓力比較低時，光條件支配附着矽藻群落之藻種組成與生物量；尤其匍匐滑走型矽藻密度的增減與光度增減同步，當日照期加長，其佔全體矽藻群落之比率增加；相對的，匍匐固定型及附著柄單體型，受光條件影響則較小，短日照時佔全體之比率較高 (河村知彥，1995)。迄今的研究發現，適合作為鮑苗初期餌料的矽藻，大多屬匍匐滑走型，如舟形藻、細柱藻及菱形藻，以及匍匐固著型之卵形藻、附著柄單體型之曲殼藻。本所生物技術組自水域分離保存之藻種，含 E 型之曲殼藻 3

種、B 型之卵形藻 1 種及 A 型之舟形藻 2 種、菱形藻 3 種、眉藻 2 種、半舟形 3 種、繭形藻 1 種。

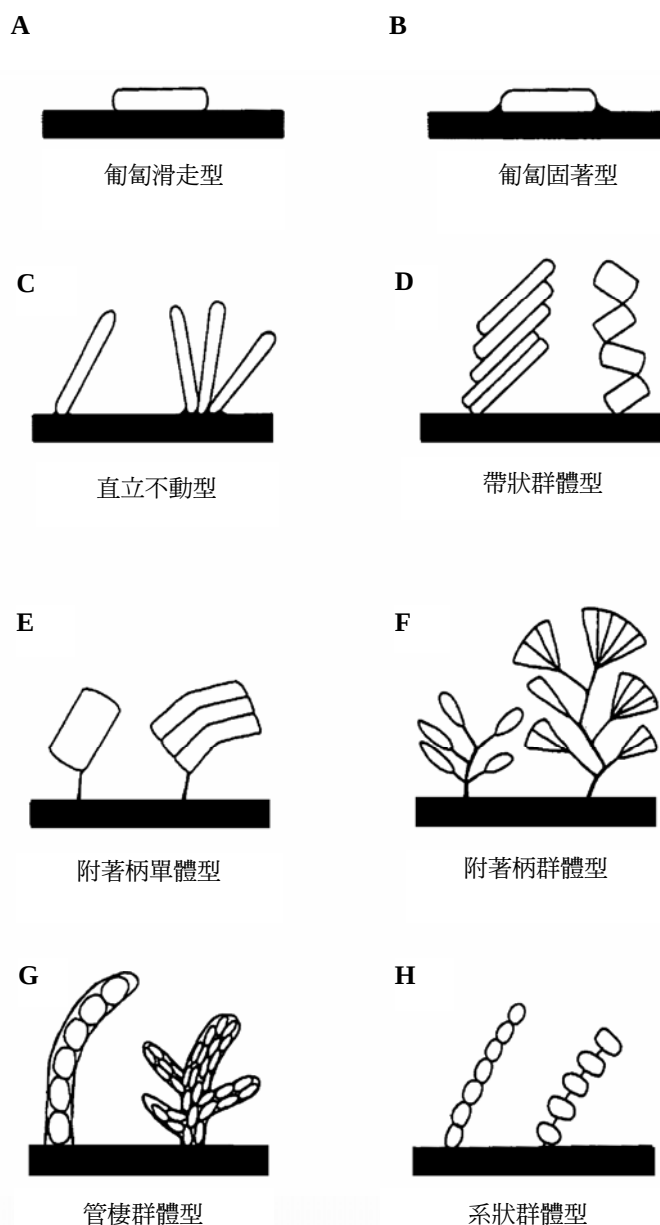


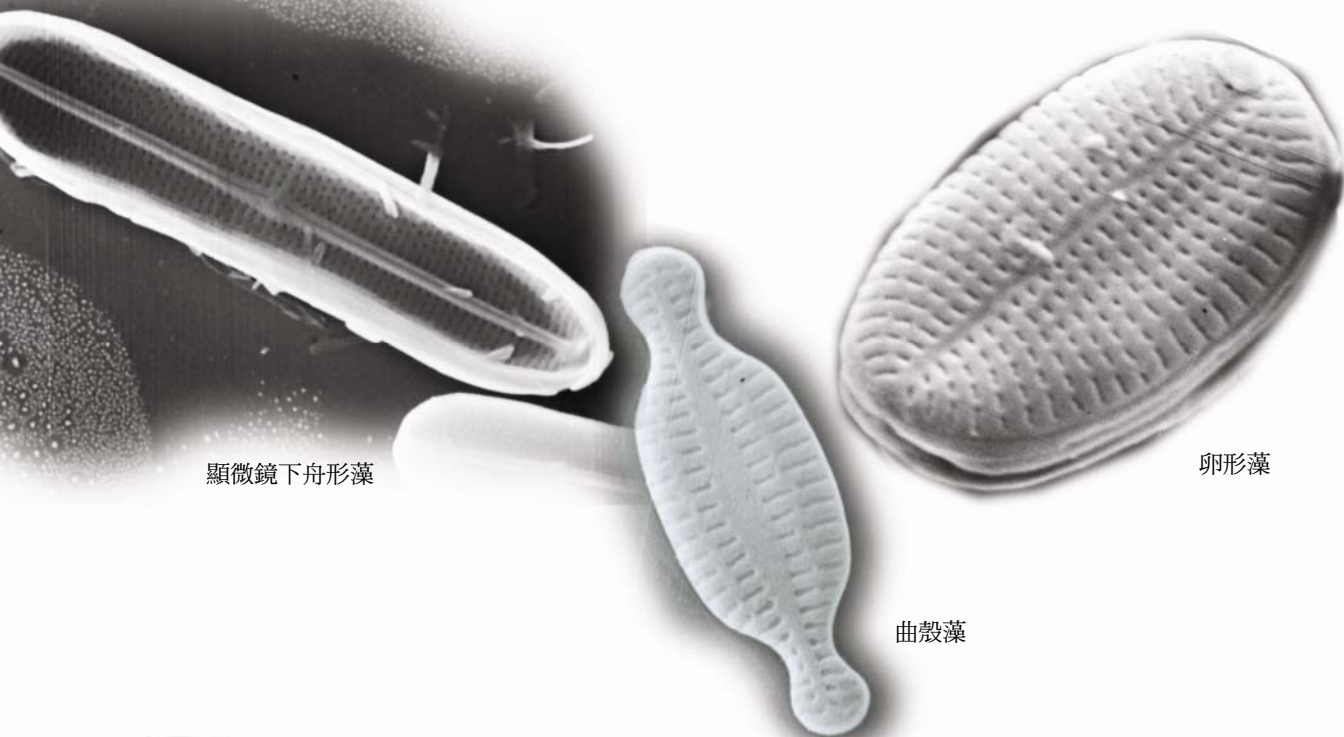
圖 2 矽藻的附著形態 (取自河村，1995)

二、矽藻種類

Kawamura and Takami (1995) 試驗剛變態後養殖 25 天黑鮑苗所需之餌料，發現變態後 24 小時，雖然鮑苗顯現活潑攝餌行為，但其胃中未見藻細胞，因此推論鮑苗小於 0.35 mm 時以溶解性有機質為食物；而投餵盾卵形藻 (*Cocconeis scutellum* var. *parva*) 者，養殖 7 天後活存率最高 (100%)，11 天後成長率反而下降。由於該藻胞外物含量較低，推測當鮑苗小於 0.8 mm 時，以矽藻胞外分泌物為主要食物；大於 0.8 mm 時，則還需要胞內營養物。因此細胞壁薄容易破裂之 A 型新月細柱藻 (*Cylindrotheca closterium*)，以及附著力強而易為齒舌刮破之長柄曲殼藻 (*Achnanthes longipes*) 及盾卵形藻均為 1–2

mm 鮑苗之優良食物；但同為 A 型的單細胞矽藻，如眉藻、聚生舟形藻、菱形藻、斜紋藻及針竿藻雖易被攝食，卻因不易破碎 (聚生舟形藻及縮輻節藻在鮑苗排泄物中仍為活細胞)，難以消化，致餌料效益低 (Kawamura et al., 1995)。

Kawamura et al. (1998) 進一步指出，消化率是決定矽藻作為鮑苗餌料效益的重要因子，而影響矽藻消化率有以下幾個原因：一為附著強度：附著力強的矽藻，鮑苗需要用力才能攝取，並因而撕裂細胞；二為構造強度：某些藻細胞壁易碎，附著力低的矽藻被攝食就破裂；三為細胞形態：細胞大小及附著柄長度使其不易被攝取，特別是剛變態的小幼苗。這些因子的重要性隨鮑苗的成長有



所改變，例如附著力強的假邊卵形藻 (*Cocconeis pseudomarginata*) 及盾卵形藻，虹鮑要在 $> 1\text{ mm}$ 、黑鮑 $> 0.8\text{ mm}$ 、黑唇鮑附著後 18 天，才能利用此藻加速成長；附著力強且有附著柄的日本種長柄曲殼藻 ($31.9 \times 20.6\text{ }\mu\text{m}$)，虹鮑要在 $0.75\text{--}1.3\text{ mm}$ 、黑鮑 $1.5\text{--}2\text{ mm}$ 才能利用，而細胞更大的紐西蘭種長柄曲殼藻 ($76.3 \times 26.7\text{ }\mu\text{m}$)，虹鮑要在 2 mm 時才能攝取；同為附著力弱但易破裂之菱形藻是虹鮑的良好餌料，在胃中仍未破無法被消化的 *Navicula ramosissima*, *Navicula britannica*, *Navicula sp.* 及 *Nitzschia ovalis*，餵食虹鮑的成長則較差。

三、矽藻的營養成分

雖然黑鮑苗最喜歡附著的是左彎菱形藻 (Gordon et al., 2004)，單餵該藻卻無法使鮑苗活存超過二週，添加其他藻種，營養價值也未見加成果效；而單餵附著率略低的清晰雙眉藻或鏡舟形藻，鮑苗的成長和活存率反而較高，混合該二種的效果更佳，附著後 30 天活存率約 50%、殼長 1.4 mm 、成長率 $36\text{ }\mu\text{m}/\text{日}$ (Gordon et al., 2006)。分析這三種矽藻的營養成分，Gordon et al. (2006) 發現總脂質佔乾重 6.4—14.5%、脂肪酸佔總脂質 16—22%。脂肪酸中，多元不飽和脂肪酸 (PUFAs) 佔 39—48%，其中 n-3 型 PUFAs 含量高於 n-6 型，然 PUFAs 中，EPA (20:5n3) 的含量在三藻間之差異不顯著；但三種矽藻之游離胺基酸組成則有很大的不同，左彎菱形藻含高量精胺酸 (arginine，佔總游離胺基酸的 50%)、少量脯胺酸 (proline, 6%) 及麩胺酸 (glutamic acid, 13%)。鏡舟形藻含高量脯胺酸 (47%)、少量精胺酸 (5%) 及中量麩胺酸 (23%)，而清晰雙眉藻則均衡含有精胺酸 (29%)、脯胺酸 (26%) 及麩胺酸 (22%)；與其他二種比較，左彎菱形藻含較高量蛋白質

(38%)，較低量碳水化合物 (18%)。

混合清晰雙眉藻與鏡舟形藻可促進鮑苗的成長及活存率，可能源於這二種矽藻具有互補且均衡的營養特性 (Gordon et al., 2006)。康等 (2003) 的研究報告也指出，天門冬胺酸與麩胺酸含量高的長柄曲殼藻與舟形藻 (*Navicula incerta*) 對促進黑鮑幼蟲的變態效果，較含量略低的另一種舟形藻 (*N. pelliculosa*)、線型雙眉藻 (*Amphora lineate*)、長菱形藻 (*Nitzschia longissima*) 與菱形藻更好；但是單獨用胺基酸難以取代底棲矽藻，顯示藻體所含之胺基酸以外的成分，必需加以研究分析，以究明其對附著與變態的影響。探討培養液之氮含量，對舟形藻 *Navicula sp.* 胺基酸含量，以及餵養黑唇鮑稚貝的影響，Daume et al. (2003) 發現低氮培養者，其胺基酸含量，較以高量或標準量氮培養者少，貝之成長與活存也較差，因此建議監控育苗池之氮含量，維持 2—12 ppm ($0.176\text{--}0.88\text{ mM}$) 之 $\text{NO}_3\text{-N}$ 氮肥。

四、光照

Watson et al. (2004) 試驗卵形藻與舟形藻 *N. jeffreyi* 對綠唇鮑幼苗行為、活存與成長的影響，發現鮑苗之成長在二種藻之間以及高低二光照下均無差異；但鮑苗成長率與舟形藻密度有高度的正相關，而與卵形藻密度無關；此可能因舟形藻之消化利用性及營養較差，故需提供較多生物量，而卵形藻在低照度下所增殖的生物量已提供足夠的營養。高照度 (800 lux) 下，二種藻的密度均增加，但低照度 (200 lux) 下，舟形藻的增殖會受到較大的抑制；另，低照度可分散鮑苗，降低因高放養密度所產生的空間壓力，有利鮑之活動與活存；而高照度時，常出現較多的橈足類。因此，若考慮較低光照及避免發生橈足類，使用卵形藻作餌料可能較合適。