

牡蠣幼苗的附著與變態

黃麗月、葉信利

水產試驗所海水繁養殖研究中心

前言

牡蠣俗稱蚵或蠔，臺灣地區係以西南海域沿岸及澎湖為主要養殖區。其分類地位屬於軟體動物門 (Mollusca)，雙殼綱 (Bivalvia)，瓣鰓目 (Lamellibranchia)，牡蠣科 (Ostreidae)，真牡蠣屬 (*Crassostrea*)。依據蕭 (2009) 利用 DNA 序列比對，台灣養殖的牡蠣為葡萄牙牡蠣 (*Crassostrea angulata*)，與日本、韓國所生產之太平洋牡蠣 (*C. gigas*) 不同。牡蠣行體外受精，於生殖腺飽滿後即開始排卵、放精，尤其於滿月、滿潮時刻最常進行。受精卵發育至貝殼原肌能夠分泌貝殼質，將其身體包裹在裡面的「D 狀幼生」之期間係進行浮游生活，經約 2—3 週「浮游期」，即進入「變態期」。

牡蠣眼點幼苗的變態與固著過程

牡蠣 (眼點幼苗) 於變態期間，其足絲腺、眼點等發達，游泳器官漸告退化，發達的斧足可附著於表面凹凸及易生渦流的地方，再由足絲腺分泌足絲以固定在附著物之上，游泳器官面盤開始退化，斧足逐漸發達並出現眼點，約 2 天後即開始探索適當的基質進行附著，幼苗附著後，不再營浮游生活，足、面盤、眼點等開始退化，而鰓則急速發達。如果環境不適合，就會延長浮游期

間，若在一定時間內沒有找到適當的附著地點，用以固著的黏膠物質就會釋放出來，以後便難以固著了。Henderson (1983) 研究 *C. gigas* 的眼點幼苗附著期約為 2 天；一些熱帶牡蠣如 *C. belcheri* (Tan, 1993) 與 *C. iredalei* (Devakie et al., 1993) 的附著期約為 4 天。在附著期間，眼點幼苗會以斧足在基質上爬行，探索適當的基質，如果找到適當者，足上的足絲腺放出足絲，足絲碰到海水會變得較硬而有韌性，附著時以較大的左鰓先附著其上，然後外套膜就會放出足絲腺固定起來，環境良好只要幾分鐘就可以完成。

影響牡蠣苗附著及變態的因子

研究顯示，影響牡蠣幼苗附著及變態的因子包括幼苗生理狀況、溫度、鹽度、溶氧、流速、光照、附著基質表面粗糙程度及顏色以及自然與人工誘導物等。

溫度和鹽度不僅關係牡蠣的生長及活存，對眼點幼苗的附著變態也有明顯影響，且兩者間具有協調作用 (林等，1989；林和許，1997)。Tan (1993) 指出 *C. belcheri* 在鹽度 18 psu 下有最佳附著率 (38.65%)；Sahavachair et al. (1988) 研究顯示，*C. belcheri* 幼苗最佳附著溫度及鹽度分別為 26—28℃ 及 32—34 psu。Henderson (1983) 指出，*C. gigas* 在溫度 30℃、鹽度 30 psu 下有

最大的附著率 (35—40%)；Lund (1971) 對 *C. gigas* 的試驗指出，在 30℃、22—34 psu 有最佳的附著率；Devakie and Ali (2000) 發現 *C. iredalei* 在 30℃、20 psu 下有最適的附著率 (31.4%)。戴等 (2003) 發現 *C. gigas* 眼點幼苗最適附著溫度、鹽度分別為 26—32℃ 及 15—25 psu (表 1)。

表 1 不同種類牡蠣幼苗最適溫度及鹽度與附著率

牡 蠣	溫度 (°C)	鹽度 (psu)	附著率 (%)	備 註
<i>C. belcheri</i>	-	18	38.65	Tan, 1993
	26-28	32-34	-	Sahavachair et al., 1988
<i>C. gigas</i>	30	30	35-40	Henderson, 1983
	30	22-34	-	Lund, 1971
	26-32	15-25	-	戴等, 2003
<i>C. iredalei</i>	30	20	31.4	Devakie and Ali, 2000

Alagarswami et al. (1983) 指出珍珠牡蠣 (pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould)) 較喜歡附著於光線偏弱的地區；Michener and Kenny (1991) 發現美洲牡蠣 *C. virginica* (Gmelin) 幼苗喜歡在遮蔽陰暗的地方附著；Jin (1992) 發現，黑色基質比紅色基質吸引了更多 *P. martensii* 幼苗附著；Saucedo et al. (2005) 指出，*P. mazatlanica* (Hanley) 的幼苗喜附著於較暗和較少反射光之基質；Zu et al. (2007) 發現 *P. martensii* (Dunker) 幼苗附著行為是屬於趨弱光性，因此附著基質最好選擇深顏色及低反射基質。表面粗糙基質對許多無脊椎動物的幼苗附著均有影響 (Crip, 1974)，Taylor et al. (1998) 指出，*P. maxima* (Jameson) 在粗糙質感的 PVC 板條比光滑表面尼龍有更好的觸覺，可刺激幼苗爬行或分泌黏液；Saucedo et al. (2005) 發現 *P. mazatlanica* (Hanley)

喜好附著於粗纖維質感之漁網；Zu et al. (2007) 研究粗糙基質比光滑基質吸引更多 *P. martensii* (Dunker) 幼苗附著。這種現象可能是粗糙表面有更好的觸覺刺激幼苗固定、爬行及分泌黏液，在粗糙表面有裂縫和凹處可保護幼苗免於微小生物的掠奪 (McGuinness and Underwood, 1986)，以及粗糙的表面比光滑表面會潛在更多樣性的微生物 (Anderson and Underwood, 1994)。

以生態學觀點，同種個體分泌物能促進幼苗的附著與變態，使生物產生群聚行為，增加受精率、提高繁殖成功率，同時群聚能夠提高個體之自我保護能力及競爭力並減少死亡率。Tamburri et al. (1992) 發現牡蠣成體之分泌物(分子量在 500—1000 dalton 之間) 能誘導幼苗附著。Devakie and Ali (2002) 研究 *C. iredalei* (Faustino) 發現，基質上含同種生物之組織萃取液比含不同種類者更能吸引幼苗附著。Zu et al. (2007) 研究發現，*P. martensii* (Dunker) 含同種生物之組織萃取液塑膠薄板基質較易吸引幼苗附著，且附著率顯著高於不含者 ($p < 0.05$)。

由牡蠣附著桶中分離出之海洋細菌，如 *Shewanella colwelliana* 所產生的化合物也會促進牡蠣的附著和變態 (Weiner et al. 1985, Weiner et al. 1989)。一種或更多的溶解物訊息以及 *S. colwelliana* 薄膜的多醣體成分似乎參與附著過程，但是，真正利用細菌的產物誘發機制目前仍不清楚 (Weiner et al., 1989; Bonar et al., 1990)。Fitt et al. (1989) 證明牡蠣幼苗置於幾個種類細菌 (包括 *S. colwelliana*) 的懸浮培養液下均能引發其附著和變態行為。Walch et al. (1999)

將培養 2 天的 *S. colwelliana* 懸浮液以 1 : 3 稀釋後，用以處理眼點幼苗，結果發現幼苗的附著率大為提昇。此外，Taylor et al. (1998) 證明 *P. maxima* (Jameson) 幼苗附著於預先處理生物膜收集器明顯高於未處理者。Zhao et al. (2003) 指出自然生物膜可誘導 *P. maxima* 幼苗附著；Zu et al. (2007) 研究生物膜對 *P. martensii* (Dunker) 附苗率之影響，結果以有生物膜之塑膠薄板附苗率顯著高於無生物膜者。

菌膜除了分泌可溶性誘導物外，所代謝的氨也被證實與牡蠣眼點幼苗附著變態行為有關 (Weiner et al., 1989b; Bonar et al., 1990)。Coon and Walch (1990) 發現在 pH = 8，2.5 mM 以上的 NH_4Cl 能促進牡蠣幼苗附著變態。

L-DOPA、腎上腺素 (Epinephrine) 及正腎上腺素 (norepinephrine) 均是酪胺酸衍生物，屬於神經傳導物質，可誘導牡蠣幼苗的附著與變態 (Coon and Bonar, 1985; Coon et al., 1990; Fitt et al., 1990; Beiras and Widdows, 1995)。Coon et al. (1990) 指出，L-DOPA 可誘導 *C. gigas* 眼點幼苗的附著行為，包括促進其斧足的游泳和爬行能力。Walch et al. (1999) 對 *C. gigas* 眼點幼苗進行附著實驗，以 10^{-4} M L-DOPA 處理眼點幼苗，20 分鐘之內，幾乎 100% 的幼苗均產生附著行為； 10^{-5} M L-DOPA 也會誘發附著行為，但是速度較慢且附著率也較低 (在 30 分鐘以後只達 70%)。另，實驗結果亦發現，在 L-DOPA 處理前利用茶鹼前處理，可提高眼點幼苗附著力。Cooper (1983) 則發現以 L-DOPA 處理，可增加幼苗的變態

率 (比對照組增加 20–30%)，甚至有許多眼點幼苗未經附著就直接發生變態。

Coon and Bonar (1985) 及 Bonar et al. (1990) 發現 L-DOPA 能誘導 *C. gigas* 幼苗附著又能誘導變態，而腎上腺素和正腎上腺素不能誘導其附著但可誘導不固著變態進而產生單體牡蠣。Coon et al. (1985) 利用腎上腺素和正腎上腺素處理 *C. gigas* 眼點幼苗，在濃度 10^{-4} M 處理 1 小時，幼苗的固著變態率分別為 90% 和 65%。鄭等 (1998) 利用濃度 10^{-4} M 處理 1 小時之 *C. gigas* 眼點幼苗，其變態率介於 45–63% 之間。黃等 (2003) 利用濃度 10^{-4} M 處理 1 小時之 *C. gigas* 眼點幼苗變態率為 50%。不同研究者所得之變態率有所差異，可能與實驗條件和處理方法的差異有關。

Coon et al. (1986) 對 *C. virginica* 的眼點幼苗進行試驗，利用濃度 10^{-4} M 腎上腺素處理 24 小時，幼苗之不固著變態率為 65%。王等 (1992) 誘導 *Crassostrea* sp. 眼點幼苗最適之腎上腺素和正腎上腺素濃度為 10^{-4} M，最適處理時間為 3 小時，其不固著變態率分別為 47.7% 和 46.6%。方等 (2000) 比較 *Ostrea cucullata* 和 *C. gigas* 的誘導作用可看出，兩種牡蠣的有效誘導物及最適濃度相當一致，由此可推測這兩種牡蠣可能存在相似的誘導機制，在最適條件下，*C. gigas* 變態率可大於 90%，而 *O. cucullata* 只達 70% 左右，且對藥物誘導變態的反應 *C. gigas* 為快速變態，而 *O. cucullata* 反應較慢。同時還發現，*C. gigas* 幼苗的變態率與誘導處理時機有很大的關係，當幼苗眼點出現後 4–5 天有較高的誘導變態率。

牡蠣附著與變態機制

許多環境因子，包括從牡蠣產地或者從牡蠣組織分離的自然發生化學物質均會影響牡蠣幼苗附著和變態，這些因子間分為促進附著（可逆行為）和誘導變態（不可逆轉形態發生）。牡蠣幼苗經發育至眼點幼苗階段已能夠附著在適當的基質，然後變態成為稚貝。牡蠣附著含括兩個步驟，第一個步驟是搜索（searching phase），此時幼苗具有固定的游泳—爬行行為，可明顯地測試可能附著地點的喜好度，如果發現滿意的地點，幼苗會把自己黏在表面上，然後斧足與面盤消失，鰓與新殼迅速發育。這些過程是由兩個不同的神經路徑控制，第一個路徑附著行為是由一種神經傳導物質，neurotransmitter dopamine，L-dopa 的衍生物所控制；第二個路徑是變態，適宜的環境（化學）因子如殼間質蛋白質、細菌代謝物及微生物產生之多醣類等等會通過幼苗表皮受體刺激神經末梢分泌多巴胺（Dopamine）激活附著行為，進而導致幼苗對外界環境（附著基表面材質、外界化學因子、光照、水流、溫度、鹽度等）敏感度增加，當幼苗感到環境適宜時，體內會分泌腎上腺素或正腎上腺素，作用於組織中的 α -1 型腎上腺素受體，誘導幼苗變態。Bonar et al. (1990) 認為 L-DOPA 並不直接誘導幼苗附著變態，而是先被幼苗吸收後，在體內轉換為多巴胺，再作用於多巴胺受體而引起幼苗附著變態。Coon and Bonar (1986) 分析 *C. gigas* 眼點幼苗的腎上腺素、正腎上腺素和多巴胺含量，發現隨幼苗發育，正腎上腺素含量增加至變態前達高

峰，隨後又下降，而多巴胺在幼苗體內變化不大，因此其正腎上腺素可能參與其幼苗變態調節。

Bonar et al. (1990) 和 Coon et al. (1990) 提出 *C. gigas* 幼苗附著變態模型，此模型根據 *C. gigas* 幼苗對一些誘導物的反應推測出來，只說明 *C. gigas* 幼苗附著變態可能的途徑，對一些具體細節仍有待進一步探討。

結語

牡蠣具有群聚的習性，造成在食物上的競爭，且多個牡蠣固著在一起，生長空間及速度均受影響。單體牡蠣（無固著基牡蠣）由於彼此分開，不會互相擠壓、殼型規則美觀，可依大小控制養殖密度使成長一致，並可在箱網籃中飼養，方便放養與收穫，可以較高經濟價值的帶殼活牡蠣出售。腎上腺素及正腎上腺素皆能誘導牡蠣幼苗變態 (Coon and Bonar, 1985)，因此可用來生產單體牡蠣。腎上腺素對 *C. gigas* 及 *C. virginica* 幼苗誘導效果較正腎上腺素好，其兩種最佳處理濃度為 10^{-4} M，處理時間短則 1 小時內，長可達 24—48 小時，但若濃度超過 10^{-4} M 且處理時間達數日或更長，產生之單體牡蠣生長會被抑制 (Coon et al., 1986)。

菌膜在貝類種苗生產過程中有很大的潛力，比 GABA 和 KCl 具有更大的優點。Weiner et al. (1985) 已將海洋細菌誘導牡蠣幼苗附著變態應用於生產。利用菌膜幫助幼苗附著，以長遠而言，可以利用生物技術篩選出有明顯誘導作用之高效能菌株製造菌膜，將會大大促進牡蠣種苗繁殖業的發展。