

多倍體牡蠣製備策略之比較



鄭元崑、鄭金華、陳紫嫻

水產試驗所東港生技研究中心

多倍體牡蠣細胞中的染色體套數多於兩套，在自然環境中並不常見。多倍體牡蠣可以經由人為操作，於受精時改變物理狀態或加入化學藥物等方式產生。其作用原理為抑制受精卵之極體排放，以獲得具備多套染色體的牡蠣胚胎。其中以細胞鬆弛素 B (cytochalasin B, CB)、6-二甲基氨基嘧啶 (6-dimethylaminopurine, 6-DMAP) 等化學藥物處理所得的結果較佳。

在成功受精之後，牡蠣的卵子才會開始進行減數分裂，並先後形成兩個極體。CB、6-DMAP 等藥物會對細胞骨架 (Cytoskeleton) 造成影響，使得極體的排放受到干擾。Guo 等 (1992) 指出，將 CB 作用於二倍體 (2N) 牡蠣受精卵後，雖然第一次減數分裂仍會進行，但分離後移動到細胞邊緣的染色體群並不會離開細胞形成第一極體 (polar body 1, PB1)，反而會再回到細胞中心，並進行第二次減數分裂。在這個階段，受精卵會因兩群染色體重新聚合與否，以及之後的分離方向而形成不同倍體的胚胎 (圖 1)。大多數的受精卵會以三極點 (tripolar) 進行染色體分離，並依分離前染色體聚集程度差異而形成非整倍體或四倍體 (4N) (圖 1B、C)。另一方面，染色體往雙極點 (bipolar) 方向分離的受精卵則會產生三倍體 (3N) 或四倍體 (圖 1D、E) (Guo et al., 1992)。

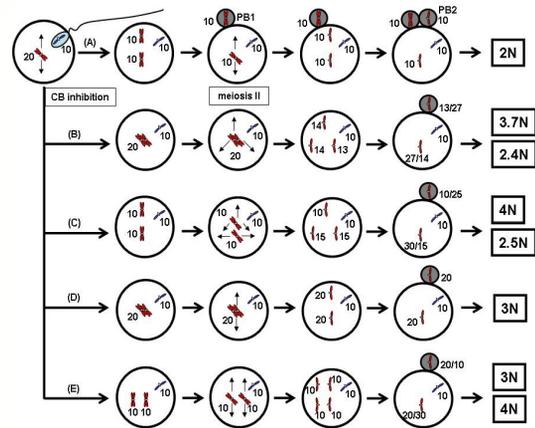


圖 1 正常受精與以 CB 抑制 PB1 時，牡蠣受精卵中染色體分離情形示意圖 (Guo et al., 1992)

3N 牡蠣因具備生長快速、口感提升與含醣量增加等優點，有應用於養殖產業的價值。然而，經藥物處理所產生的 3N 苗，其比例不易達到 100%，且變動幅度大；另外，藥物殘留亦是潛在的危害。因此，現在產業界的作法是將 4N 牡蠣的卵子與 2N 牡蠣的精子交配，即可獲得 100% 3N 苗，惟前提是必需先取得 4N 牡蠣。目前，以 CB 製備 4N 牡蠣主要有三種方法：(1) 雌性 3N × 雄性 2N，以 CB 抑制 PB1，其染色體分離狀況如圖 2。Guo 和 Allen 等 (1994) 的結果顯示，受精後第 7 天 4N 苗成為多數，而受精後 3 個月時比例為 67%，再以此為基礎，成功產生 100% 的 3N 牡蠣苗 (Guo et al., 1996)；(2) 雌性 2N × 雄性 4N，以 CB 抑制第二極體 (polar body 2,

PB2)。其染色體分離狀況如圖 3。孵化率低，受精後 6 個月時 4N 苗比例為 21% (McCombie et al., 2005)；(3)雌性 2N × 雄性 2N，以 CB 抑制 PB1，於受精後 24 小時所得 4N 苗比例為 25–45% (Benabdelmouna & Ledu, 2015)。

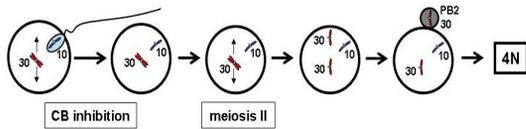


圖 2 雌性 3N × 雄性 2N，以 CB 抑制 PB1，產生 4N 牡蠣受精卵之示意圖

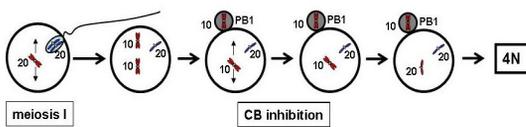


圖 3 雌性 2N × 雄性 4N，以 CB 抑制 PB2，產生 4N 牡蠣受精卵之示意圖

將三種製備 4N 牡蠣方法進行比較 (如表)，在受精後 24 小時，孵化率依序為方法 1 > 方法 3 > 方法 2，4N 苗比例以方法 2 最高，成長速度 (開始附苗的時間) 則是方法 1 最快。然而，由這三種方法所製備之 4N 牡蠣，於 2 年後再度檢測倍體，發現具鑲嵌現象 (mosaic) 的比例有顯著的不同，以方法 1 所得之 4N 最高 (45–50%)，其次為方法 2 的 25%，方法 3 只有 5–7% (Benabdelmouna & Ledu, 2015)。

鑲嵌現象指的是在一生物體中，同時具有不同基因型 (genotype) 的細胞存在，其中包括染色體數目不同。具鑲嵌現象的 4N 牡

以三種方法製備 4N 牡蠣之比較

方 法	孵 化 率 (%)	4N 苗 (%)	開始附苗 (天)	鑲嵌現象 (%)
雌 3N × 雄 2N	30-40	45-60	16	45-50
雌 2N × 雄 4N	4-6	75-80	18	25
雌 2N × 雄 2N	16-26	25-45	20	5-7

蠣可能會產生非整倍體的配子，使得部分的後代為非整倍體。由此可知，製作方法亦會對 4N 牡蠣的遺傳物質穩定性 (cytogenetic stability) 造成差異，影響種貝的生育品質。

此外，經由方法 1 和方法 3 製備所得到的 4N 與 2N 交配後所產生的 3N 牡蠣子代，其相對繁殖力 (relative fecundity) 以方法 3 所得到的 3N 較低 (Gong et al., 2004; Suquet et al., 2016)。由於 3N 牡蠣的生殖腺普遍發育不良，在方法 1 中為了經由 3N 產生 4N 子代，勢必得使用生殖能力較佳的 3N 做為親代。此作法可能會將高生殖力之性狀遺傳給子代，導致大量繁殖而影響生態。相較之下，方法 3 則可盡量避免此情形，較利於產業應用，對環境可能造成的衝擊亦相對較小。

目前，三倍體牡蠣已在美國、法國、澳洲產業化，但其技術都只限於太平洋牡蠣 (*Crassostrea gigas*)。在臺灣，牡蠣的品種已被證實為葡萄牙牡蠣 (*Crassostrea angulata*) (Hsiao et al., 2016)，因此亦有發展多倍體牡蠣產業的空間與價值。