



L-DOPA 及細菌懸浮培養液 促進牡蠣附著



L-DOPA

黃麗月

水產試驗所海水繁養殖研究中心

牡蠣行體外受精，從受精卵發育長成至其貝殼原肌能分泌貝殼質，將其身體包裹在裡面的「D 狀幼生」之期間係進行浮游生活，其後約再經 14—21 天方能由浮游生活進入附著期。浮游幼生之足絲腺、足、眼點等發達，以面盤的纖毛作游泳運動，找尋到適當的附著物體後，由足絲腺分泌物質固著，進入附著期，此時足、面盤、眼點等開始退化，鰓則急速發育。

牡蠣幼苗的外套膜隨個體的成長持續分泌，形成高鈣質的外殼，以保護其柔軟的身體。其足絲腺分泌物的化學性質尚未明瞭，鹽度、溫度、重金屬離子及水流等，都可能影響其分泌。

牡蠣幼生附著的過程

牡蠣苗附著過程包括兩個步驟，第一個步驟是搜索 (searching phase)。幼生出現眼點與斧足後的 2 天內，會開始找尋適當的基質進行附著，若環境不適合，則會延長浮游期間，如果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。浮游期幼生以斧足在基質上爬行，如果找到合適者，足上的足絲腺便會放出足絲，足絲碰到海水會變得較硬而有韌性，較大的一殼先完全附著，然後外套

膜釋出黏膠物質，將左殼固定，若環境良好只要幾分鐘就可以完成。

第二步驟為固著，幼生把自己黏在表面上，然後斧足與面盤消失，鰓與新殼迅速發育成稚貝。這些過程是由兩個不同的神經路徑控制。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；至於變態則是當幼生在自然環境中接收到適當環境的誘引 (物理因子：表面材質、光線、方向、水流、溫度、鹽度、表面張力；生物因子：體組織抽出液、殼間質蛋白質、貝類肝醣粉、外套腔體液、碘化的有機物、神經傳導物質、細菌分泌物) 並完成附著過程後，在體內釋放出一種神經傳導物質 (可能是腎上腺素或 norepinephrine) 而引發。

以 L-DOPA 提高牡蠣附著率

L-DOPA 誘導牡蠣幼生附著的機制雖然尚未究明，但許多研究結果顯示，它確實能引發 90% 以上的牡蠣眼幼苗的附著行為。Coon et al. (1990) 指出，L-DOPA 可誘導牡蠣眼幼苗的附著行為，包括促進其斧足的游泳和爬行能力。Walch (1999) 對牡蠣眼幼苗進行附著實驗，以 10^{-4} M L-DOPA 處理眼幼苗，20 分鐘之內，幾乎 100% 的幼生均產生

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，Walch (1999) 實驗結果亦發現，在 L-DOPA 處理前利用茶鹼前處理，可提高眼幼苗附著力。茶鹼是咖啡因類似物，可抑制 adenylyl cyclase 酵素活性，導致細胞內有較高 cyclic AMP。然而 cyclic AMP 是否參與調節 L-DOPA 對牡蠣誘導行為反應，尚未被正式證實 (Bonar et al., 1990)；此外，經茶鹼前處理組的幼苗較具“黏性”，牠們比僅以 L-DOPA 處理組者，須要更多時間進行爬行。儘管茶鹼對附著行為可能有所影響，但茶鹼前處理組和 L-DOPA 單獨處理組之總附著率相較之下並無顯著差異。

將眼幼苗用 10^{-4} M L-DOPA 處理 10 分鐘後，置於網袋裡進行貝殼附著試驗，結果發現其附著率比對照組（不添 L-DOPA）增加 30%。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%），甚至有許多眼幼苗未經附著就直接發生變態。

以微生物懸浮液提高牡蠣殼上的附著

微生物表面層薄膜和他們的產物可調整許多海洋無脊椎動物的附著和變態。據報導，包括 scyphozoans 多毛綱蟲、bryozoans 苔蘚蟲類、海膽、牡蠣等，均可利用特別種類細菌的產物誘發其附著和變態。紅色鮑魚 (*Haliotis rubescens*) 可由珊瑚礁外層藻類所產生之代謝物誘導其附著，誘導因素也許是可溶解的化合物如胜肽、蛋白質連結物、脂

肪酸或者是微生物薄膜不能溶解的化合物如多醣類或醣蛋白。對許多種類的眼幼蟲之附著以及變態是否因其與微生物薄膜直接接觸，或對菌體可溶解的釋出有反應，目前仍不清楚。

海洋細菌 *Shewanella colwelliana* 所產生的化合物也會加強牡蠣的附著和變態，這些海洋細菌可從牡蠣附著桶中被分離，一種或更多的溶解物以及 *S. colwelliana* 薄膜的細胞外多醣類似乎參與附著過程；但是利用細菌的產物誘導附著的機制目前尚未究明。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，用以處理眼幼苗，結果發現幼苗的附著率大為提昇，且與對照組呈顯著差異 ($p < 0.01$)。

Dagasan and Weiner (1988)、Walch et al. (1989)、Weiner et al. (1989b) 等研究證明，*S. colwelliana* 代謝產物--氨和 L-DOPA 亦可促進牡蠣眼幼苗的附著行為。由 *S. colwelliana* 實驗室培養的懸浮液能引誘附著的物質已經證實是氨 (Coon et al., 1990b)。

茶鹼前處理對浸泡在 *S. colwelliana* 懸浮液中眼幼苗的行為無顯著影響。*Crassostrea* 幼苗對細菌的培養懸浮液和對 L-DOPA 有類似的反應，但是在懸浮液中主要誘導物質來自薄膜中的氨而非 L-DOPA，然而 L-DOPA 引起的附著行為是感受體間的調節反應，可能涉及 cAMP 作為第二傳訊者。氨誘導的行為對細胞內的酸鹼值變化看來是非特定反應 (Bonar et al., 1990; Coon et al., 1990b)，它對 cAMP 濃度無法感受。