

水生寡毛類單孔蚓 (*Monopylephorus limosus*)
的生殖和鹽度致死效應

Reproductive Biology and Salinity Tolerance of the
Tubificid Oligochaete *Monopylephorus limosus*

林純如¹ 劉和義² 劉莉蓮^{1,*}

Chwen-Ru Lin¹, Ho-Yih Liu² and Li-Lian Liu^{1,*}

¹ 國立中山大學海洋生物研究所暨亞太海洋研究中心黑潮圈之環境變遷與生物多樣性研究群
高雄市鼓山區蓮海路 70 號

² 國立中山大學生物科學系 高雄市鼓山區蓮海路 70 號

¹ Institute of Marine Biology and Asia-Pacific Ocean Research Center - Kuroshio Research Group,
National Sun Yat-sen University, Kaohsiung, Taiwan

² Department of Biological Sciences, National Sun Yat-sen University, Kaohsiung, Taiwan

* 通訊作者

* Corresponding author

摘 要

單孔蚓 (*Monopylephorus limosus*) 是一種生物學研究甚少的大體型水生寡毛類，本報告探討單孔蚓之生殖生物學和鹽度致死效應。野外採集的蟲體平均體長為 3.4 ± 0.9 cm，其卵繭之平均含卵數為 9 個，多則可達 19 個，平均卵徑為 0.35 ± 0.05 mm；受精卵於實驗室室溫 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 的孵化率達 86%，9 天可發育成幼蚓破繭而出，孵化 1 天內之幼蚓平均體長為 3.5 mm，飼養 90 天即可成為具生殖能力之成熟個體，此結果顯示單孔蚓的生命週期短且孵化率高。鹽度致死效應結果顯示，單孔蚓無法存活於鹽度大於 15 ppt 之環境超過 15 天，與其在野外主要分布於淡水與半淡鹹水河口區之結果相符。

Abstract

Monopylephorus limosus is a large tubificid oligochaete with little known. This study was intended to investigate its reproductive biology and salinity tolerance under laboratory conditions. The experimental worms collected from fields were 3.4 ± 0.9 cm in length. At temperatures of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, numbers of eggs produced per cocoon ranged from 1-19 with an average of 9 eggs. They took 9 days to hatch at a hatching rate of 86%. The 1-day-old hatchlings were about 3.5 mm in length and took about 90 days to reach reproductive maturity. *M. limosus* has a short life cycle but high reproductive potential. Its maximum salinity tolerance under laboratory condition was 15 ppt, corresponding to that found in fields.

關鍵詞：單孔蚓、生殖、鹽度耐受

Key words: *Monopylephorus limosus*, reproduction, salinity tolerance

收件日期：97年3月20日

接受日期：97年6月3日

Received: March 20, 2008

Accepted: June 3, 2008

緒 言

顫蚓亦稱水生絲蚯蚓，憑其遍體通紅、身體細長的外貌，獲得紅蟲這個俗稱，早在二十幾年前，台灣養殖業已大量使用顫蚓為鱒魚苗、鰻苗與幼蝦等經濟物種之生物餌料。顫蚓屬於環節動物門、環帶綱、寡元亞綱、顫蚓目、顫蚓科 (Annelida, Clitellata, Oligochaeta, Tubificida, Tubificidae)，體呈圓柱狀並由多個體節組成，各體節生有剛毛 (chaeta)；廣泛分布於淡水有機質含量高的水域，小部分棲息於半淡鹹水或海水環境 (梁等 1998)，牠們為雌雄同體異體受精的種類，以頭下尾上的方式生活於底質中，底泥中的有機碎屑為其食物來源，例如：植物腐爛的根葉、動物屍體、藻類或細菌等 (Pasteris *et al.* 1994; 梁等 1998)，露

於水中擺動的尾部可增進氧氣之吸收。

當污染物藉由地表逕流水擴散至環境後，多以沈積物的形式長存於水域中，這將直接影響底棲生物，甚至進入食物鏈，造成生物累積效應 (Burton and Landrum 2003)。顫蚓為底棲無脊椎動物中的優勢種類，因此，Leynen 等人即利用顫蚓來建立生物早期警報系統 (biological early warning system)，主要是以顫蚓行為模式之改變程度來判斷水域中污染物之有無及其濃度 (Leynen *et al.* 1999)；此外，顫蚓族群密度與沈積物中有機碳含量呈鐘形曲線反應 (謝等 1998)，在有機質含量愈高的水域，像畜牧場、農地或家庭的廢水排放口，顫蚓數量就愈多，有些地方密度甚至可達 $9,000$ 隻/ m^2 (Kostorek *et al.* 1974)，但當有機質含量過高時，族群數量也可能在瞬間驟降。此外，不同種類

的顫蚓對水域污染的忍受程度亦各異，因此，有學者以單位面積顫蚓的數量作為評估水域污染的指標，像嚴重污染的水域多以顫蚓科的霍甫水絲蚓 (*Limnodrilus hoffmeisteri*) 和正顫蚓 (*Tubifex tubifex*) 為優勢種，而管水蚓 (*Aulodrilus* sp.) 則多出現於中等污染的水域 (梁等 1998)；行政院環保署環境檢驗所於 1992 年出版的台灣河川底棲生物手冊，將顫蚓科列為嚴重污染水域的指標生物。

目前，對顫蚓的瞭解仍以正顫蚓最多，體型較大的單孔蚓 (*Monopylephorus limosus*) 涉獵較少，但本種除了易採集與飼養外，日本、中國、義大利與台灣皆有分布 (Erséus and Hsieh 1997)，極具開發成動物性餌料及應用於環境監測之潛力；因此，本研究探討顫蚓科單孔蚓屬 (*Monopylephorus*) 的單孔蚓之生殖生物學和鹽度致死效應。

材料與方法

於 2004 年 7 月至 2005 年 3 月，自高雄縣鳳山市的路旁大排水溝 (22° 36' 12.9" N, 120° 20' 24.3" E) 採集單孔蚓，水溝寬約 1m，深約 0.6m，主要接收家庭廢水及農地排水，水深約 10-40 cm，底泥呈黑色；於採樣點之上下游各 100m 處以 150 ml 採集瓶分別採 1 瓶水樣，另以採樣罐 (直徑 6.2 cm，高 8.5 cm) 採集採樣點上下游各 100m 處排水溝兩側與中央的表層土。將採集的水、土樣置於冰桶中帶回，水樣分析 pH 值、亞硝酸鹽 (Nitrite)、硝酸鹽 (Nitrate)、導電度 (conductivity)，土樣分析有機碳含量。

單孔蚓多分布在水溝岸邊水淺處，並喜好躲藏於枯葉或雜物等固著物的間隙中，因此野外採集時，可直接挖取岸邊覆蓋著枯葉的底泥。於實驗室中，以篩網 (2 mm 網目) 將野外採回之蟲體與底泥分離後，挑出單孔蚓飼養於水族箱 (27×7.5×6.5 cm) 中，底鋪 2.5 cm 厚

的碎洋菜凍飼養基質使蟲體可潛藏其中，飼養密度為 2 worms/cm³，加入蒸餾水 (pH=7.1±0.1) 約 70 ml，養殖環境的室溫為 25±2°C，光照 12 hr，每日補充因蒸發而減少的水量，每週更換基質且投餵蟲體總重 5 % 之米糠粉為食物。

在解剖顯微鏡下觀察單孔蚓蟲體之形態，初步挑選體長約 2 cm 之成蟲，以 0.2% 2-phenoxyethanol 鬆弛蟲體，再置於 10% 福馬林 (formalin) 固定 24 hr，蟲體經染色與組織透明化等步驟處理 (Erséus and Hsieh 1997)，再於光學顯微鏡下觀察生殖器官之體節位置；另外，將蟲體固定在含 2.5% glutaraldehyde 的 0.1M 磷酸緩衝液 (pH 7.4) 中 2 hr，經磷酸緩衝液洗滌後，以 1% OsO₄ 進行固定 (Milbrink 1983)，經過酒精脫水後，進行臨界點乾燥 (critical point dried)，乾燥後的標本以鍍膜機 (cool-diode sputter coater)，鍍上一層 200 Å 的金膜，並以掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscopy, SEM) 觀察蟲體體節與剛毛形態。

野外採回的成蟲蓄養於實驗室 1 週後，於飼養槽中放入紙片，以供卵繭 (cocoon) 附著，記錄 10 日內收集到的卵繭數及各卵繭之含卵數，並將部分卵繭挑至含蒸餾水 (distilled water) 之培養皿，於室溫 (25±2°C) 繼續培養，每日更換蒸餾水，並於解剖顯微鏡下觀察記錄卵繭內卵粒之孵化率，另將一部分受精卵粒從卵繭中挑出，於解剖顯微鏡下測量受精卵之卵徑。

單孔蚓之生殖週期變化研究，自 2004 年 7 月至 2005 年 3 月，共 8 個月，取已蓄養在實驗室 1 週之單孔蚓，分 3 組，每組 40 隻 (體重 0.288-0.364g)，飼養於 150 ml 容器 (直徑 6 cm)，底鋪 2.5 cm 厚之碎洋菜凍，加蒸餾水約 30 ml，每日補充蒸發減少的水量，每週更換基質且投餵蟲體總重 5 % 之米糠粉，室溫 (25±2°C) 下、光照 12 hr 養殖，每日記錄各組之產卵繭數及各卵繭之含卵數，連續記錄 35

週。

鹽度致死效應研究，於 2005 年 1 月進行採樣與實驗，鹽度處理分別為 0、5、10、15、20 ppt (parts per thousand)，每組 30 隻蟲體，各 3 重複，以 150 ml (直徑 6 cm) 透明塑膠容器飼養，每組加蒸餾水 25 ml，並以白色塑膠小珠子為基質供蟲體依附，以漸進方式調整鹽度，每日增加 3 ppt 至最終鹽度後，再開始進行實驗，記錄單孔蚓死亡情形，實驗期間不予餵食且每日換水 1/2。每日觀察並記錄單孔蚓死亡情形，不同鹽度處理對單孔蚓存活率之影響則以 ANOVA 之 Duncan's multiple comparison 進行比較，以了解單孔蚓之鹽度忍受範圍。

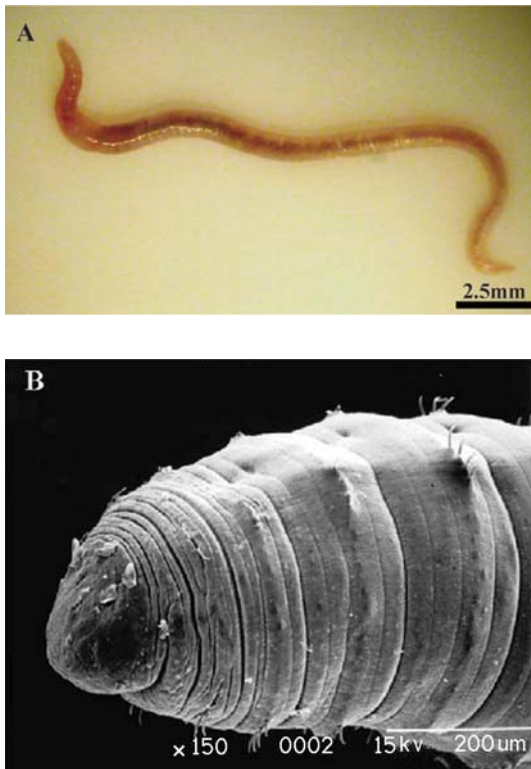


圖 1. 單孔蚓之形態：A, 全貌；B, 頭部掃描式電顯圖。

Fig. 1. *Monopylephorus limosus*: A, external view; B, SEM of head portion (first 5 segments).

結 果

本研究之採樣區為一收納農業與家庭廢水的大排水溝，排水溝底部與兩側堆積相當厚實的沈積物，兩側雜草叢生，常可見螺類、昆蟲屍體與腐爛的落葉埋於底泥中，水量不一但皆呈流動狀。分析 2004 年 12 月採得之水樣，pH 值 7.9-8.0，含 0.11 ± 0.01 mg/l 亞硝酸鹽與 1.07 ± 0.16 mg/l 硝酸鹽，導電度為 932-960 $\mu\text{s}/\text{cm}$ ；不論是排水溝兩側或中央之底泥皆以黏土為主 (66%)，其中有機碳含量為 $3.97 \pm 0.5\%$ ，可明顯聞到其散發出硫化氫 (H_2S) 的氣味。

單孔蚓屬大型顫蚓，體色不如正顫蚓或蘇氏尾鰓蚓 (*Branchiura sowerbyi*) 鮮紅，而偏乳白色，相當易於辨認；野外採集之蟲體，平均體長為 33.8 ± 9.4 mm ($n=50$)，其形態如同 Erséus and Paoletti (1986) 與 Erséus and Hsieh (1997) 所描述，體呈圓柱狀，但尾部則較扁平 (圖

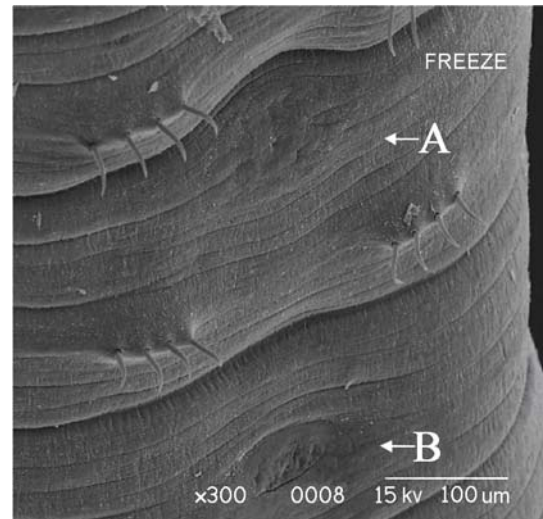


圖 2. 單孔蚓之生殖節腹面形態：A, 第 X 體節之受精囊孔；B, 第 XI 體節之雄性生殖孔。

Fig. 2. SEM of *Monopylephorus limosus*: A, spermathecal pore at segment X; B, male pore at segment XI.

1A), 生殖環帶不明顯, 生殖節位於 X-XI 體節, 受精囊孔與雄性生殖孔小而成對, 分別位於 X 與 XI 體節腹面中線處, 受精囊孔位於 X 體節前端, 而雄性生殖孔則在 XI 體節中央稍後方 (圖 2); 於第二體節起, 每一體節於背腹面各有兩束剛毛, 但第 XI 體節之腹面則無剛毛; 每束剛毛 3-5 根, 但於尾部則為每束 2-3 根; 除了第二體節的剛毛為單枝狀, 其他體節之剛毛皆為雙叉狀, 且上分枝短於下分枝 (圖 3)。

不論在野外或實驗室內, 皆可觀察到單孔蚓將含有受精卵之卵繭產於附著物上 (圖 4)。本研究以碎洋菜凍與紙片為單孔蚓之產卵基質, 能清楚觀察到卵繭包覆的受精卵之發育過程。卵繭為兩端具塞子的透明橢圓形薄膜, 內包著數個受精卵, 以 2004 年 12 月 7 日採集之樣本為例, 10 日內所收集之卵繭, 每個卵繭含卵數由 1-19 個不等, 每個卵繭平均含卵數為 9.2 個 (n=404), 個體之平均每日產卵繭數為 0.05 個, 個體之平均每日產卵數為 0.50 個,

平均卵徑為 0.35 ± 0.05 mm (n=28), 於實驗室狀態下的孵化率達 86 % (n=50); 受精卵於室溫 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 下 9 天可發育成幼蚓破繭而出 (圖 5), 孵化 1 天內之幼蚓平均體長為 3.5 ± 0.39 mm (n=114), 約 90 天即可成為具生殖能力之成熟個體。

實驗室蓄養 35 週 (2004 年 7 月 6 日至 2005 年 3 月 7 日) 之單孔蚓於第 6-9 週及第 35 週皆無蟲體生殖 (n=102) (圖 6), 7 月為生殖高峰期, 其次為 9 月底至 11 月底, 平均產卵繭數最高為含卵數 3 之卵繭 5.33 個 / 組, 各卵繭含卵數普遍為 3-8 個, 少於 2 個或多於 10 個以上皆較少見。

鹽度致死效應實驗結果顯示, 單孔蚓無法存活於鹽度大於 15 ppt 的環境超過 15 天 (圖 7), 在 0-5 ppt 範圍內 21 天之存活率維持在 90%, 而曝露於 10 ppt 15 天內之存活率維持在 90%, 之後逐步降低至 21 天仍有 73 % 的存活率。

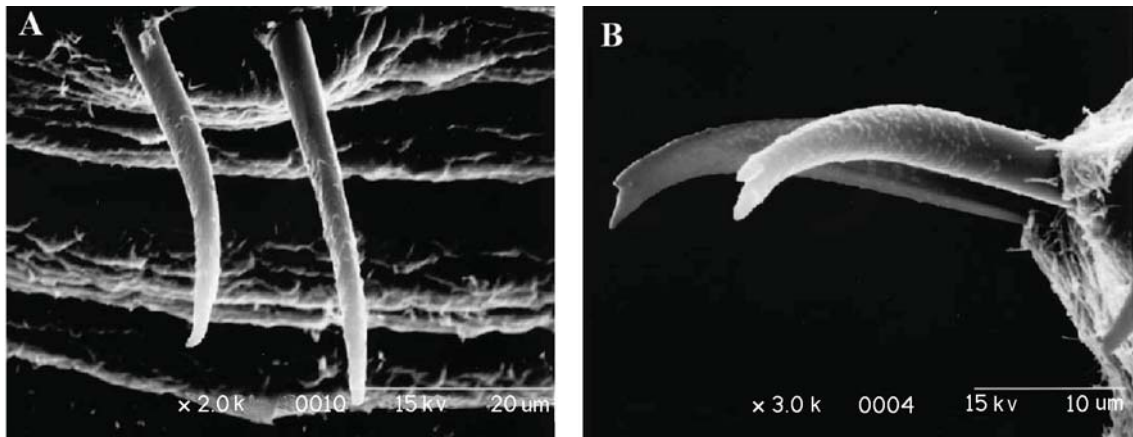


圖 3. 單孔蚓之剛毛形態：A, 第二體節之單枝狀剛毛；B, 雙叉狀剛毛。

Fig. 3. SEM of setae of *Monopylephorus limosus*: A, simple-pointed setae in a bundle at segment II ; B, bifid setae.

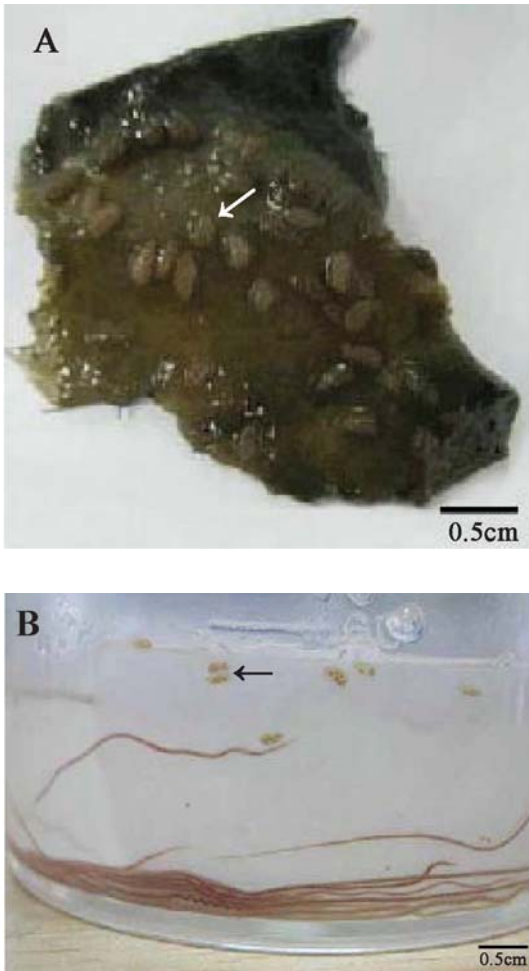


圖 4. 單孔蚓之卵繭形態：A, 野外基質；B, 實驗室洋菜凍基質。

Fig. 4. Cocoons of *Monopylephorus limosus* attached on a field substrate (A) and on an agar plate in the laboratory (B).

討 論

單孔蚓為底棲水生生物，野外成熟個體的體長紀錄為 1.5-7.0 cm，蟲體含 56-150 個體節，剛毛長度在 37-160 μm 之間 (Erséus and Paoletti 1986; Erséus and Hsieh 1997)；本研究於野外採集的蟲體平均體長為 3.4 ± 0.9 cm ($n=50$)，與前人研究結果相似；和正顫蚓與霍

甫水絲蚓的小於 2 cm 相比，本種屬大型顫蚓。

本研究亦發現每個卵繭所包覆的卵數不同，少則僅 1 個卵粒，多則可達 19 個，此和范等 (1989) 之 0-59 個卵數 (平均 10 個) 有差異，但和 Erséus and Paoletti (1986) 的 20 個卵粒相近；和正顫蚓相比則較正顫蚓的 4.15 個卵粒多 (Kostorek 1974)。於實驗中發現卵粒若於卵繭外，即不易順利孵化，故卵繭不僅有附著的功用，更能提供受精卵適當的發育環境。

范等 (1989) 指出單孔蚓之受精卵於 $17 \pm 2^\circ\text{C}$ 下，需 20 天才能孵化，其孵化率為 80%，約 110 天幼蚓可發育至性成熟個體，但本研究所蓄養之單孔蚓，其受精卵於 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 下僅需 9 天即可孵化，且孵化率達 86%，約 90 天即可成為具生殖能力之成熟個體，相較之下，本實驗的高養殖溫度可促使單孔蚓的生命週期縮短。

Erséus and Paoletti (1986) 在義大利的研究指出單孔蚓繁殖期在春夏季，4 至 6 月為生殖高峰期；范等 (1989) 報導單孔蚓繁殖期為 4-10 月，且於 4 月底至 6 月初、8 月底至 10 月初為生殖高峰期，但本實驗於 7 月與 9 月底至 11 月皆可觀察到旺盛的產卵現象，在 12 月至隔年 2 月仍可發現單孔蚓產下之卵繭，此結果明顯和前二者之研究相異，這可能與蓄養溫度有關，本實驗水溫維持在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，而范等 (1989) 蓄養平均溫度在 $6-26^\circ\text{C}$ 之間，當水溫低於 12°C 則無產卵繭之紀錄。

單孔蚓於日本、中國、義大利與台灣皆有分布 (Erséus and Hsieh 1997)，台灣最早記錄的單孔蚓是在北部河口紅樹林底泥中採得 (Cheng 1995)，Erséus and Hsieh (1997) 則是在基隆河口潮間帶 12 ppt 下採集到本種，其棲息環境為半淡鹹水水域，但本實驗之採樣點為淡水排水溝，顯示單孔蚓對鹽度的適應範圍廣，自溝渠到河口，淡水至半淡鹹水皆可發現其蹤跡；而本研究鹽度耐受實驗曝露於 10 ppt 下 21 天仍有 73% 的存活率及 Erséus and Paoletti (1986) 鹽度馴化實驗顯示單孔蚓在 35 ppt 中可存活

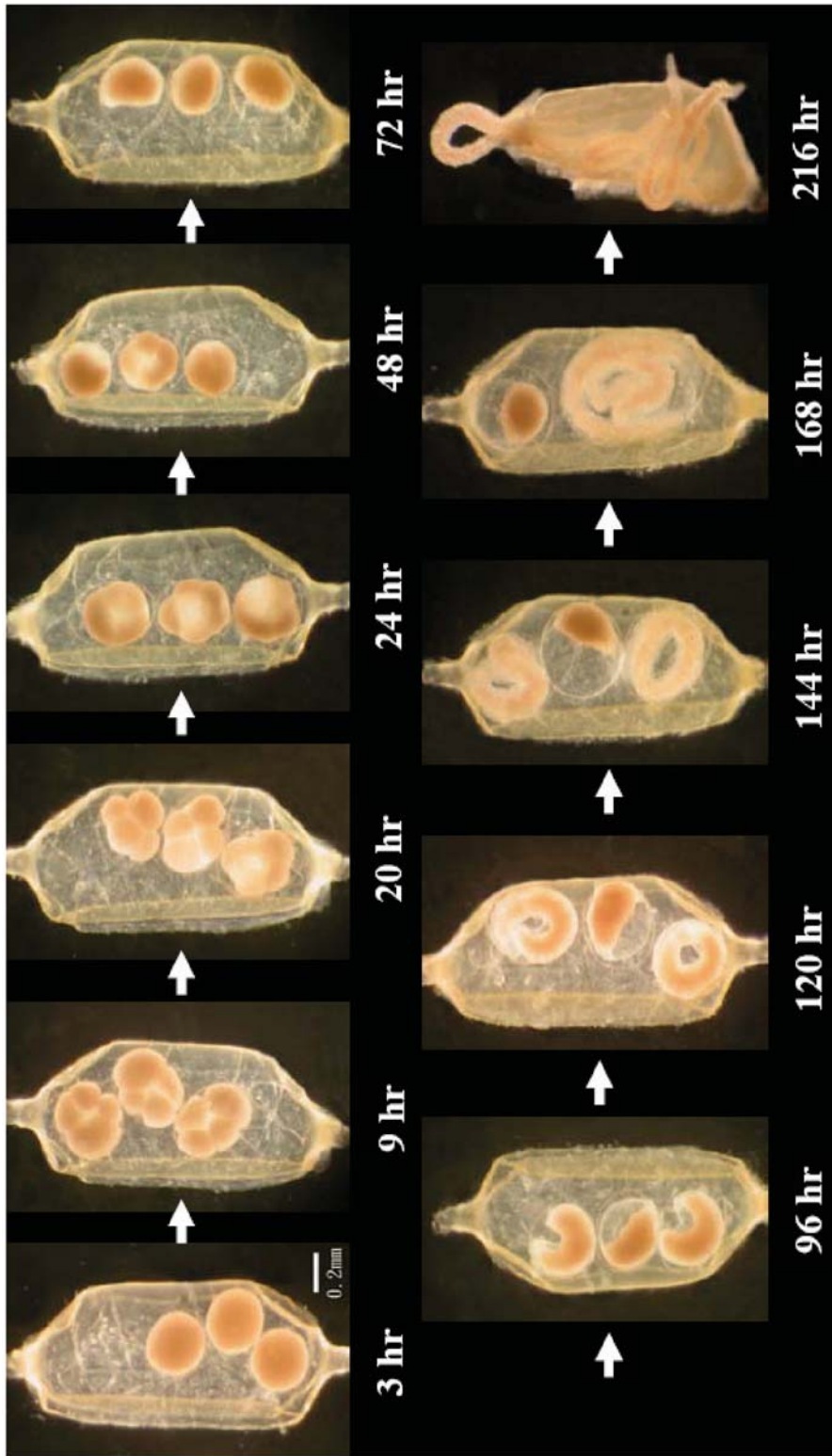


圖 5. 單孔蚓之胚胎發育。
Fig. 5. The larval development of *Monopylephorus limosus* in a cocoon.

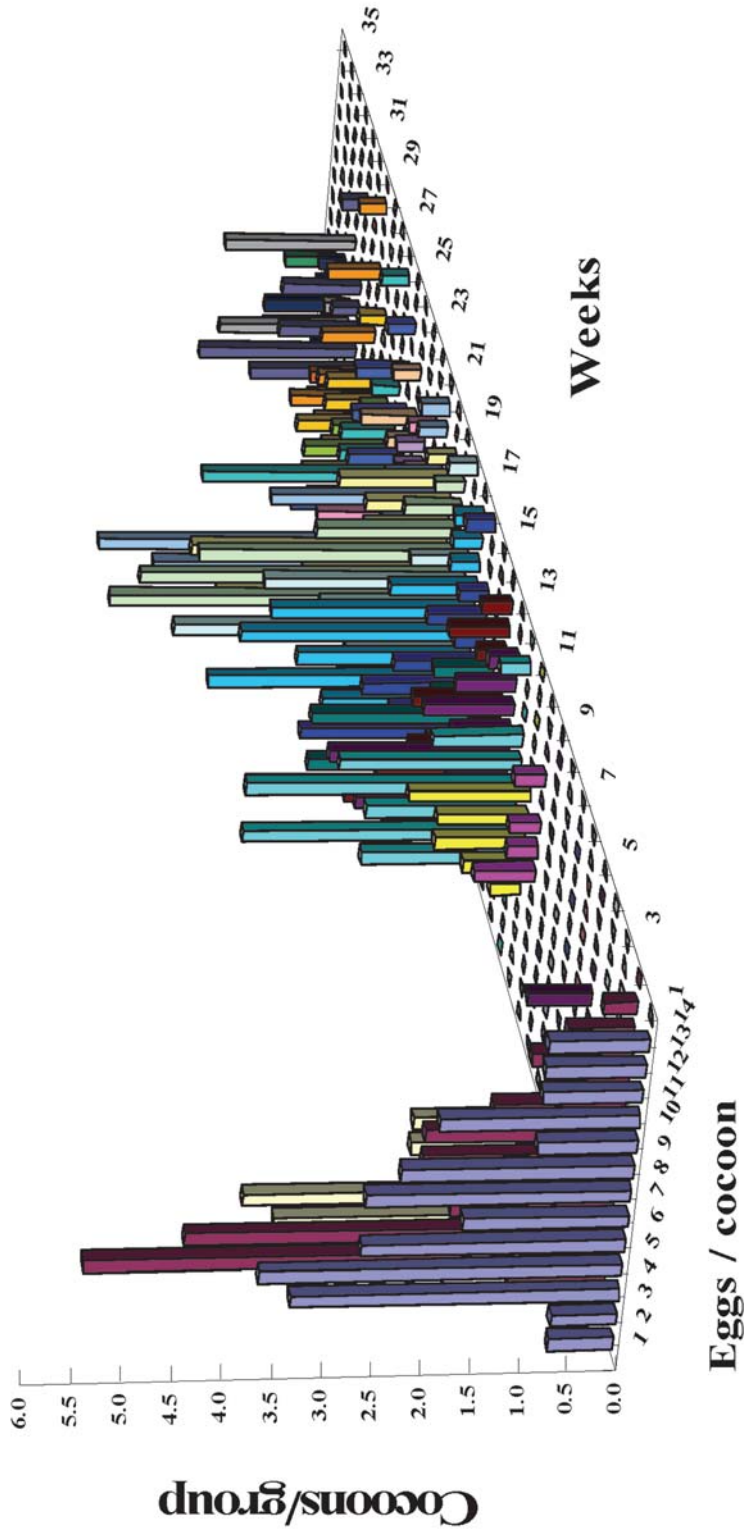


圖 6. 單孔蚓蓄養 35 週 (2004 年 7 月 6 日至 2005 年 3 月 7 日) 之平均產卵繭數。
 Fig. 6. Mean number of cocoons laid by *Monopylephorus limosus* during the 35-week experimental period (July 6, 2004-March 7, 2005).

(存活期限在文中未敘述)，均支持本種為鹽度適應範圍廣之物種，和同科之柔弱膨管蚓 (*Doliodrilus tener*) 及淺絳單孔蚓 (*Monopylephorus*

rubroniveus) 均為廣鹽性物種 (Erséus and Hsieh 1997)。

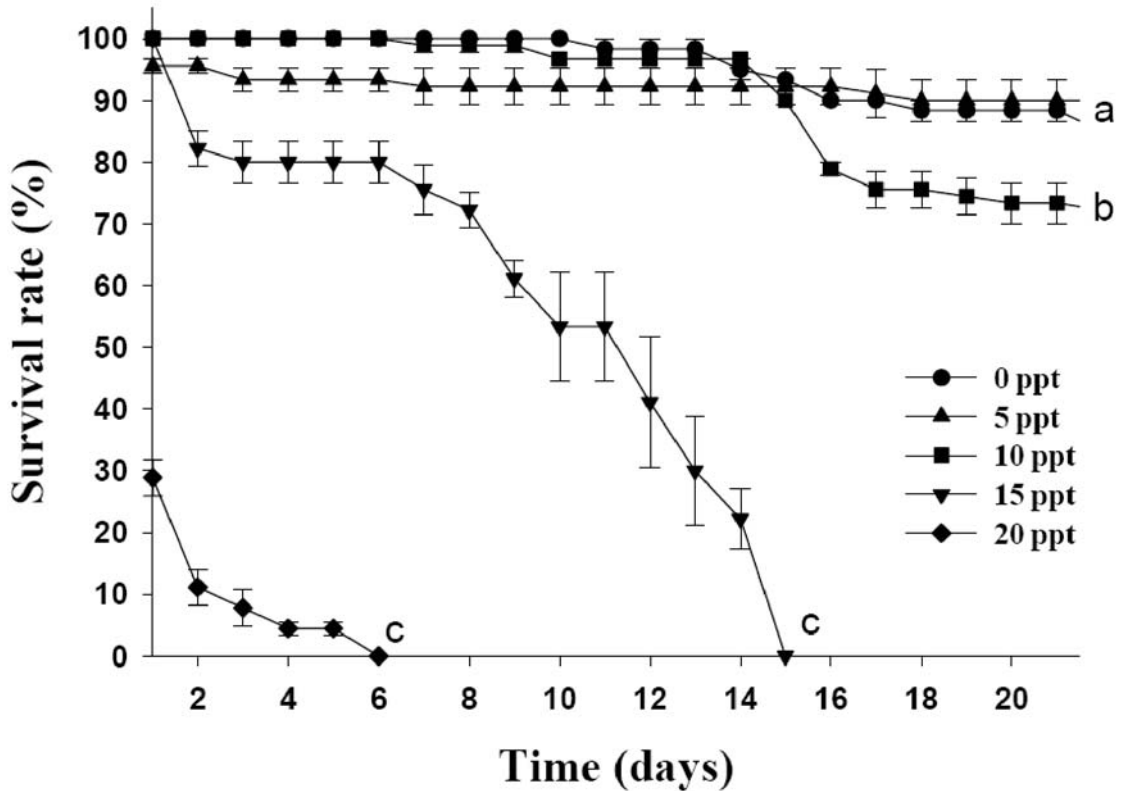


圖 7. 單孔蚓於各鹽度下之存活率。(不同字母表示差異顯著， $p < 0.05$)。

Fig. 7. Survival rates of *Monopylephorus limosus* exposed to five salinity regimes (different letters a, b and c indicating the significant difference at 5% level).

謝 誌

本文得以完成，首先感謝審查委員提供寶貴的意見。感謝周淑華小姐協助野外蟲體收集工作、謝蕙蓮老師花費心力教導實驗操作、Patrick Martin 博士與 Christer Erséus 博士在單孔蚓鑑定上的協助；本研究承蒙國科會計畫 (NSC 96-2621-Z-110 -001)、中山大學亞太海洋研究中心黑潮圈之環境變遷與生物多樣性研

究群及農委會動植物防疫檢疫局提供之經費補助，在此一併致謝。

引用文獻

梁象秋、方紀祖、楊和荃。1998。水生生物學 (形態與分類)。水產出版社。
 范廣鈺、歐陽怡然、徐興林。1989。淡水單孔蚓 *Monopylephorus limosus* 繁殖和發育的

- 研究。浙江水產學院學報 8: 1-7。
- 謝蕙蓮、蔡佩玲、陳瑞賓。1998。第六章、底棲無脊椎動物。陳章波、林志高、楊平世、吳俊宗、邵廣昭、謝蕙蓮、龐元勳撰(編)。淡水河污染整治對生物相群聚動態影響之研究。行政院環境保護署。
- Burton, G. A. and P. F. Landrum. 2003. Toxicity of sediments. pp. 748-751. *In*: G. V. Middleton, M. J. Church, M. Corigilo, L. A. Hardie and F. J. Longstaffe (eds.). Encyclopedia of sediments and sedimentary rocks. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Cheng, I. J. 1995. The temporal changes in benthic abundances and sediment nutrients in a mudflat of the Chuwei Mangrove Forest, Taiwan. *Hydrobiologia* 295: 221-230.
- Erséus, C. and H. L. Hsieh. 1997. Records of estuarine Tubificidae (Oligochaeta) from Taiwan. *Species diversity 2*: 97-104.
- Erséus, C. and A. Paoletti. 1986. An Italian record of the aquatic oligochaete *Monopylephorus limosus* (Tubificidae), previously known only from Japan and China. *Bollettino di Zoologia* 53: 115-118.
- Kostorek, D. 1974. Development cycle of *Tubifex tubifex* in experimental culture. *Polskie Archiwum Hydrobiologia* 21: 411-422.
- Leynen, M., T. Van den Berckt, J. M. Aerts, B. Castelein, D. Berckmans and F. Ollevier. 1999. The use of Tubificidae in a biological early warning system. *Environmental Pollution* 105: 151-154.
- Milbrink, G. 1983. Characteristic deformities in tubificid oligochaetes inhabiting polluted bays of Lake Vänern, Southern Sweden. *Hydrobiologia* 106: 169-184.
- Pasteris, A., C. Bonacina and G. Bonomi. 1994. Observations on cohorts of *Tubifex tubifex* cultured at different food levels, using cellulose substrate. *Hydrobiologia* 278: 315-320.