

國立臺灣海洋大學

海洋環境與生態研究所

碩士學位論文

指導教授：識名信也 博士

開發在培養皿中飼養珊瑚的技術

Development of techniques for culturing  
stony corals in laboratory dishes

研究生：張宇恩 撰

中華民國 109 年 7 月

開發在培養皿中飼養珊瑚的技術

Development of techniques for culturing stony  
corals in laboratory dishes

研究生：張宇恩

Student : Yu-En Chang

指導教授：識名信也

Advisor : Dr. Shinya Shikina

國立臺灣海洋大學  
海洋環境與生態研究所  
碩士論文

A Thesis  
Submitted to the Institute of Marine Environmental and Ecology  
College of Ocean Science and Resource  
National Taiwan Ocean University  
In partial Fulfillment of the requirements  
For the Degree of  
Master of Science  
In  
Institute of Marine Environmental and Ecology  
July 2020  
Keelung, Taiwan

中華民國 109 年 7 月

## 謝辭

感謝口試委員張清風老師、湯森林老師、識名信也老師對本論文的審查及指導，並給予諸多寶貴建言，在此致上十二萬分的謝意。

感謝湯森林老師對本研究提供的資源及鼓勵。感謝信也老師的耐心指導，在緊張而不知道如何表達時，老師總會引導我思考的方向，在實驗中不僅教導我許多技術也給予許多意見，並且解答在實驗中碰到的問題與疑惑，除此之外，去貢寮照顧珊瑚也讓我學習到非常多的事情，例如：如何照顧珊瑚、架設管線及問題排除，因此，在研究所所學都要感謝老師給予了我這樣一個機會去學習，祝福老師研究順利，身體安康。謝謝妞妞，在我碰到困難時，總是盡你所能的幫助我，在實驗上細心教導我實驗規矩、技術以及原理，在報告上總是給我許多的建議及鼓勵，甚至在論文上幫助我很多，在我失落的時候給我鼓勵，真的非常的感謝你在大小事上的幫助，祝福你能夠盡快順利的畢業，邁向人生的另一個階段。謝謝品萱，在我實驗上的協助，在我疑惑時為我分析問題點，跟我一起分享許多生活大小事，或許因為我們是同鄉，很多的想法都太合拍了，一起講笑話真的是舒壓的一個好管道，還有真的非常的謝謝你真心地教導我很多的事情，讓我真是受益良多。謝謝 Ruby，從我剛進實驗室一直到離開教了我很多的事情，謝謝你是我的熬夜好夥伴，常常陪我吃垃圾食物，一起講屁話，一起去工作，也謝謝你在我實驗上的建議及幫助。謝謝子傑，幫我採樣以及在實驗上的協助，謝謝你常常跟我聊屁話，教我使用健身器材，一起吃築間，祝你未來一年研究順利，然後你如果開店賣蛋糕記得告訴我。謝謝 Solange 在我英文上的指導。

謝謝小組一直以來的陪伴、鼓勵、分享及禱告，謝謝你們陪我玩耍，在我很低潮時鼓勵我，在我迷失時為我禱告，很抱歉在我很壓力的時候燒到你們，謝謝你們包容我，特別感謝 CY 及可樂，從我進海大那天認識了你們，一起出隊、一起服侍、一起分享大大小小的事，和你們總是無話不聊、無所不玩，這幾年和你們聚在一起時光真的很快樂，謝謝如同家人般的你們。謝謝我的家人，不管我做什麼決定都完全的支持我，陪伴我度過每個困難，謝謝你們的鼓勵及代禱，願你們健康、平安喜樂。最後感謝神帶領我每個腳步，不管我往東往西，都與我同在，幫助我在人生中每個階段學習不同的功課。

## 摘要

有著海洋熱帶雨林稱號的珊瑚礁涵養了許多海洋生物，其生物多樣性極高，為地球上重要的生態之一，由於生長環境受到威脅，使得珊瑚礁正在慢慢減少。石珊瑚對於形成珊瑚礁非常的重要，瞭解石珊瑚生物學上的特徵對於減少珊瑚的消失與幫助珊瑚的復育是一項非常重要的前提。在過去研究珊瑚的基礎生物學中，需使用大量的活體珊瑚、花費人力、大量金錢及時間建立培養珊瑚的水族缸系統和照顧珊瑚，在實驗過程中也不容易觀察珊瑚的生理狀態和及時的反應，參考 2016 年 Shapiro 等人建立「coral-on-a-chip」的平台，結合微流控系統其能精確地控制和操控微尺度的流體，在系統中培養細枝鹿角珊瑚的單一珊瑚蟲個體，但此系統使用高級的設備，在一般實驗室中難以建立。本研究目標為在實驗室建立一套於培養皿中培養珊瑚的技術，使用簡單的養殖設備培養珊瑚，並在解剖顯微鏡底下直接觀察珊瑚的狀況，並應用於研究珊瑚的基礎生物研究(無性生殖、珊瑚骨骼形成、珊瑚與共生生物的關係)。參考 2016 年 Shapiro 等人利用提高海水的鹽度使細隻鹿角珊瑚的珊瑚蟲產生脫出現象，本實驗使用萼形柱珊瑚，以提高海水的鹽度獲得脫出的珊瑚蟲，將脫出的珊瑚蟲飼養於培養皿中，觀察到珊瑚蟲附著於培養皿、鈣化作用形成骨骼、珊瑚蟲能攝食豐年蝦、無性生殖產生新的珊瑚蟲、與共生藻共生及與細菌共棲等珊瑚的基本生理功能，但面臨許多困難點，例如：無法有效率地取得大量的珊瑚蟲、珊瑚群體的健康狀況會影響脫出的數量及狀況、操作過程複雜花費時間較長等，因此為了使珊瑚研究的實驗更加順利且簡單容易操作和觀察，將小片段的珊瑚培養在培養皿中，確認是否可以存活、附著、且也具有珊瑚的基本生理功能，將萼形柱珊瑚、微孔珊瑚、細枝鹿角珊瑚、表孔珊瑚、軸孔珊瑚、平滑管孔珊瑚及五邊角菊珊瑚等 7 種珊瑚的小片段飼養在培養皿，發現 7 種珊瑚皆可存活在培養皿中 3 個月以上，且都維持珊瑚的基本生理功能，由結果發現細枝鹿角珊瑚在存活率、附著率、成長倍率都較其他珊瑚物種好，細枝鹿角珊瑚可當作在培養皿中培養的模式物種，進一步測試在培養皿中培養的細枝鹿角珊瑚是否能進行珊瑚基礎生物的研究，使用薄荷醇讓珊瑚進行白化，在 14 天後可觀察到珊瑚身上的共生藻幾乎消失。由以上結果可知，本研究成功建立在培養皿培養珊瑚的技術，並可應用於研究各種珊瑚基礎生物學主題的有效研究平台，使珊瑚的研究更加順利。

關鍵字：珊瑚飼養技術、珊瑚蟲脫出

## Abstract

Coral reefs are one of the most important ecosystem on the earth. However, due to the climate change and anthropogenic impacts, coral reefs are declining during these 4 decades. Stony corals are essential in the formation of the structural framework of coral reefs. Thus, the knowledge of coral biology is thus essential prerequisite for finding out the way to conserve and pass on the present-day corals to the next generation. Rearing experiments were conventionally used for studying the effects of environmental factors (e.g., temperature, light) and biotic factors (e.g., bacteria) on stony corals. However, this requires a number of aquaria, and are both labor-intensive and expensive. A large number of live specimens need to be prepared from wild coral colonies. In addition, it was not easy to observe the physiological state and real-time response of corals during the experiments. Then, the goal of this study is to establish an effective and powerful experimental platform to study the biological and eco-physiological characteristics (e.g., asexual reproduction, coral skeleton formation, the relationship between corals and symbiotic organisms) of stony corals in laboratory. This platform is based on a technique for culturing corals in laboratory dishes, and that will allow us to perform experiments with minimal live specimens, at lower costs, less labor-intensive from molecular and cellular perspectives. Since live corals are in laboratory dishes, the morphological and behavioral changes in coral polyps during the experiments can be immediately monitored by microscopic observation.

By referring to the methodology reported by Shapiro et al. 2016, we have successfully isolated the polyps of *Stylophora pistillata*. The isolated polyps by high salinity stress could be cultured in the petri dish for more than 3 months. The isolated polyps were also shown to retain the basic biological and eco-physiological characteristics (e.g., asexual reproduction, predation, coral skeleton formation, the relationship between corals and symbiotic organisms). However, this method had several drawbacks, such as low survival rates of isolated polyps. To overcome this problem, we attempted to culture small pieces of corals in Petri dishes. The small fragments of 7 species including *Stylophora pistillata*, *Porites* sp., *Pocillopora damicornis*, *Montipora* sp., *Acropora* sp., *Goniopora stutchburyi*, and *Favites pentagona* were cultured in a petri dish. It was found that all 7 species of corals could be maintained for more than 3 months with basic biological physiological functions. *P. damicornis* had high survival rate, attachment rate and growth rate. Bleaching of *P. damicornis* could be induced by menthol treatment. These results clearly demonstrated corals fragments can be maintained under laboratory dishes, and this system will be an effective platform for the coral biology.

**Keywords:** coral culture in laboratory dishes, polyp bail-out