

國立臺灣師範大學地球科學系

台灣養殖牡蠣空腔化影像分析測量之建立

學生：蘇承齊

指導教授：葉孟宛博士

中華民國 110 年 9 月

摘要

目前對空腔化的研究多利用生物性指標來推測殼體是否異常，例如 STI 值 $STI=L/T$ ，還有密度測量法等。而影像分析法則是最直接的方式去測量殼體內部的空腔大小，雖然製作樣品較為耗時，但同時也是較為精確的一種測量法，且目前研究對影像分析的利用甚少，希望透過本次研究證明影像分析的可行性。

目錄

章次	頁次
摘要	i
目錄	ii
一、前言	1
二、正文	2
三、結果	3
四、討論	4
伍、參考文獻	13

壹、前言

一、研究背景與動機

牡蠣空腔化在很早之前就有被發現過，但因為文獻與研究不足，讓大部分的人並不了解空腔化對牡蠣的影響。而養蚵產業在台灣西部淺海地區為重大經濟產業，也因家裡有從事養蚵的行業，發現近年經常會有牡蠣大量死亡的案例，且殼體有發現空腔化，推測是否與新蓋的遊艇港口有關，因為遊艇船底通常會塗上含有機錫的塗料(三丁基錫)，為了去防止像藤壺等海洋生物的附著，但同時也對環境造成影響，雖然文獻沒有指出有機錫與牡蠣的空腔化有正相關，但凡在有機錫污染的地區的牡蠣，空腔化程度與比例均大與其他正常的環境地區。

二、研究目的

牡蠣在生長時，殼體會由霏石 (Aragonite) 與方解石 (Calcite) 交錯形成以及殼內生物蛋白組成的膠狀物質(珍珠層)所組成，霏石的耐磨度較高，在殼體中擔任類似鋼筋的角色，方解石則是充當填充物(圖一)。然而當牡蠣在生長時，因受到環境的影響造成殼體異常增厚、部分方解石的缺失，留下的空洞或腔室我們就稱為空腔化。當牡蠣殼有空腔化的現象時會導致殼體變脆弱，而讓掠食者像是蚵岩螺更容易掠食牡蠣，間接造成經濟損失。目前對造成空腔化的原因了解較少，普遍認為是重金屬汙染或水中濁度太高而導致，雖然沒有研究表明與空腔化有正相關，所以這點值得再深入討論。本次研究主要目的在於利用影像分析的技術，分析牡蠣空腔化的程度。

三、文獻探討

前面說到目前文獻多是利用生物指標來判斷殼體是否空腔化，多有這些指標像是 STI, L : 牡蠣殼長; T =牡蠣殼高，以右殼為準的話，當數值小於 5 就代表不正常增厚，大於 5 以上就屬於正常範圍，當數值越小相對空腔化程度就越大。

貳、正文

一、材料與方法

2-1 樣品的製作與加工

1. 從大鵬灣牡蠣養殖場收集蚶殼，並將附著在牡蠣殼外的所以生物用刷子去除像是藻類等，之後洗淨將蚶殼放置烤箱中(攝氏 55 度)並等待 24 小時，等殼體變乾時，再利用剪刀將較難用刷子移除的生物，例如藤壺等剪掉防止影響之後的灌膠作業以及測量數據。
2. 利用游標尺測量殼體的長度、寬度和厚度(圖二)，用天平秤其重量並記錄下來，用以利用生物指標推測空腔化程度。
3. 為了防止牡蠣殼在切割時會破裂、破損，需要先灌膠固定，首先利用鋁箔紙與紙盒製作模具，再配置 AB 膠的比例，完成後將樣品放置模具中並倒入 ab 膠。之後將烤箱設定為攝氏 70 度烘烤 24 小時。
4. 將樣品從從烤箱拿出來冷卻，拿去切割機沿著殼體中心對半切開(圖三)，並將樣品修整成長方形以便後續的上片。

2-2 殼體薄片的製作

1. 將烤盤設定攝氏 60 度，並調配上片用的 AB 膠，在烤盤上將樣本剖面部分塗上 AB 膠後，蓋上事先用拋盤磨製好的毛玻璃，並仔細地將孔隙和樣本與玻璃之間的氣泡壓除。
2. 成功上片之後，利用精密切割器，將上好片的樣本磨至約 0.3 毫米，再利用拋盤將其表面的切割痕去除。

2-3 薄片拍攝與重建

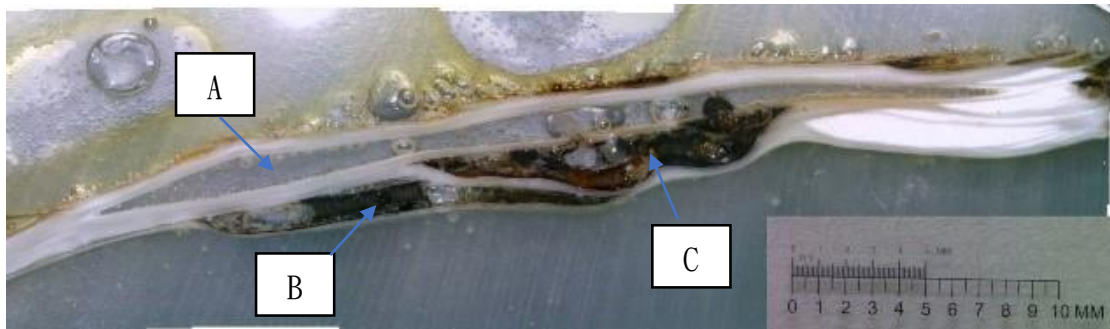
1. 殼體薄片製作好後，利用 Vitiny 的 USB 電子式光學顯微鏡配合軟體進行觀察及拍攝。
2. 將拍好的零散照片利用 Adobe Photoshop 軟體重新拼圖，組裝成完整圖片(圖四)。

2-4 影像分析

1. 把處理好的圖片在 Image Pro Plus 軟體中打開，並開始分析。
2. 利用本次所用的照片(為牡蠣右殼)中附有拍攝時一起拍的比例尺，建立比例尺長度。
3. 選取 AOI(area of interest)範圍，沿著目標空腔邊界描繪(圖五)。
4. 用 Select Colors 功能，選取 AOI 內的空腔並塗色標記，標記後開始計算(圖六)。
5. 再去 Select Measurement 全選各項觀測數據，並輸出到 Excell 就可獲得各項數據。

參、結果

本次所用是牡蠣右殼照片，在製作薄片當中發現此樣本有三個空腔部分，分別將其編號1、2、3及測量，結果發現面積分別為 26.17651mm^2 、 12.21182mm^2 、 17.43323mm^2 總面積則為 199.3076mm^2 ，空腔所占比例約為 28%。總結以上發現此作法大幅提高準確度。



肆、討論

4-1. 處理樣本

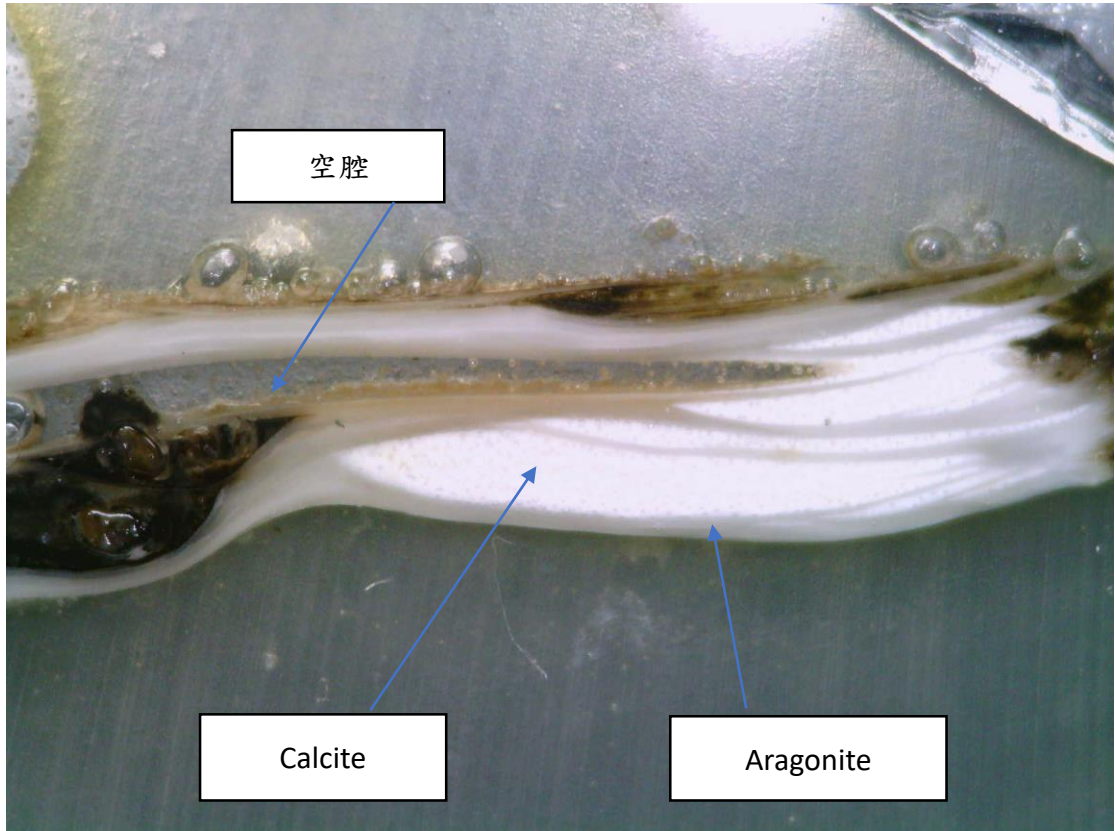
雖然用灌膠方式可以有效固定且保護殼體，但不可避免會在過程中產生很多大氣泡，通常會藏於殼體下層，較不易排出，這些氣泡會造成樣本變脆弱，容易在切割時裂開，所以灌膠後應先靜置一段時間後，去除表面泡沫，並輕輕搖晃模具讓下層氣泡跑上來。另外透過此次實驗發現右殼比左殼更容易發現空腔化的現象，表示右殼更有實驗價值(圖九)。

4-2. 製作薄片

第一步當然是在樣本剖面塗上 AB 膠並蓋上玻璃片，但可能是因為空腔裡的沉積物裡面有許多空隙導致蓋上玻璃片時會產生許多氣泡(圖十)，這些氣泡在進行影像分析時會增加分析難度，所以利用抽真空技術應該是必要的。在磨製薄片時，最困難在於控制樣本厚度，因為殼體本身較軟，如果磨太薄容易一起被磨除，造成樣本損壞而失去真實性；如果磨太厚的在拍照會讓光線透不過去，導致無法成像。不過這次磨製的樣本算是蠻成功，除了保持殼體的完整性，拍出來的照片也很清楚，算是累積了一點經驗。

4-3. 影像分析

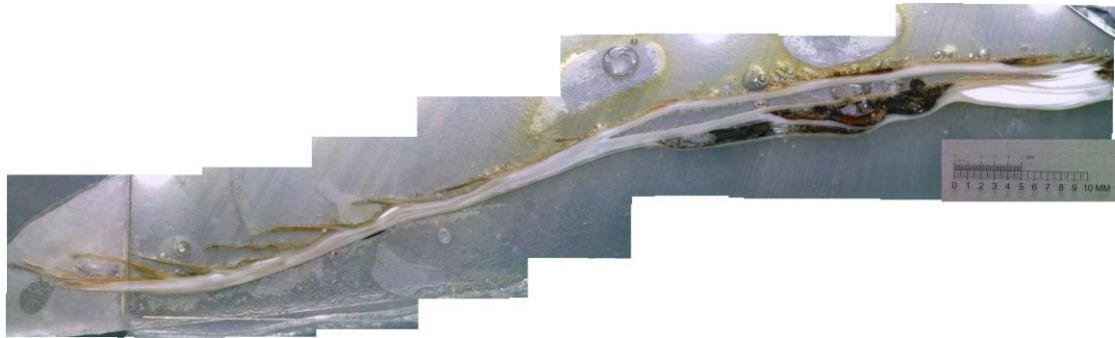
由於 Image Pro Plus 主要適用於目標物小且多的照片(像是動物細胞等)，牡蠣空腔化這種明顯又大的目標物反而不太容易選取，易選到許多過小或不必要的目標，造成運算負擔與誤差，因此在 Count/Size 裡須關掉 Apply Filter 和 Clean Border 這兩個功能，避免系統為了計算小孔隙而製造過多的小數據。



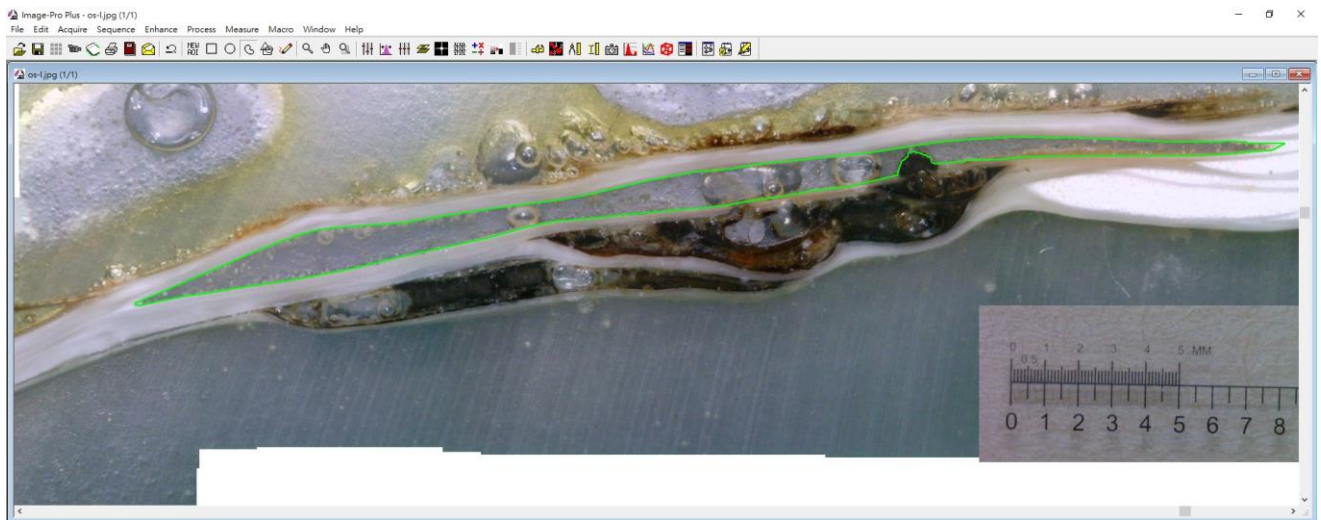
圖一、殼體剖面圖，深色部分為霏石；白色為方解石。



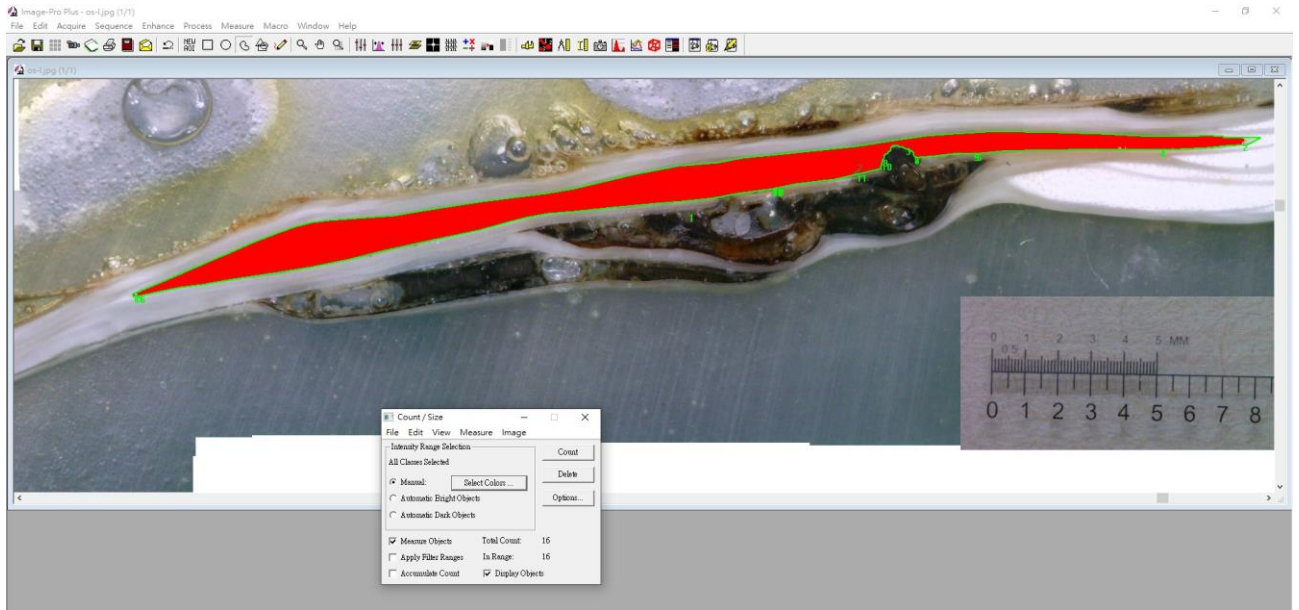
圖三、樣本對切示意圖



圖四、重組後的完整圖片



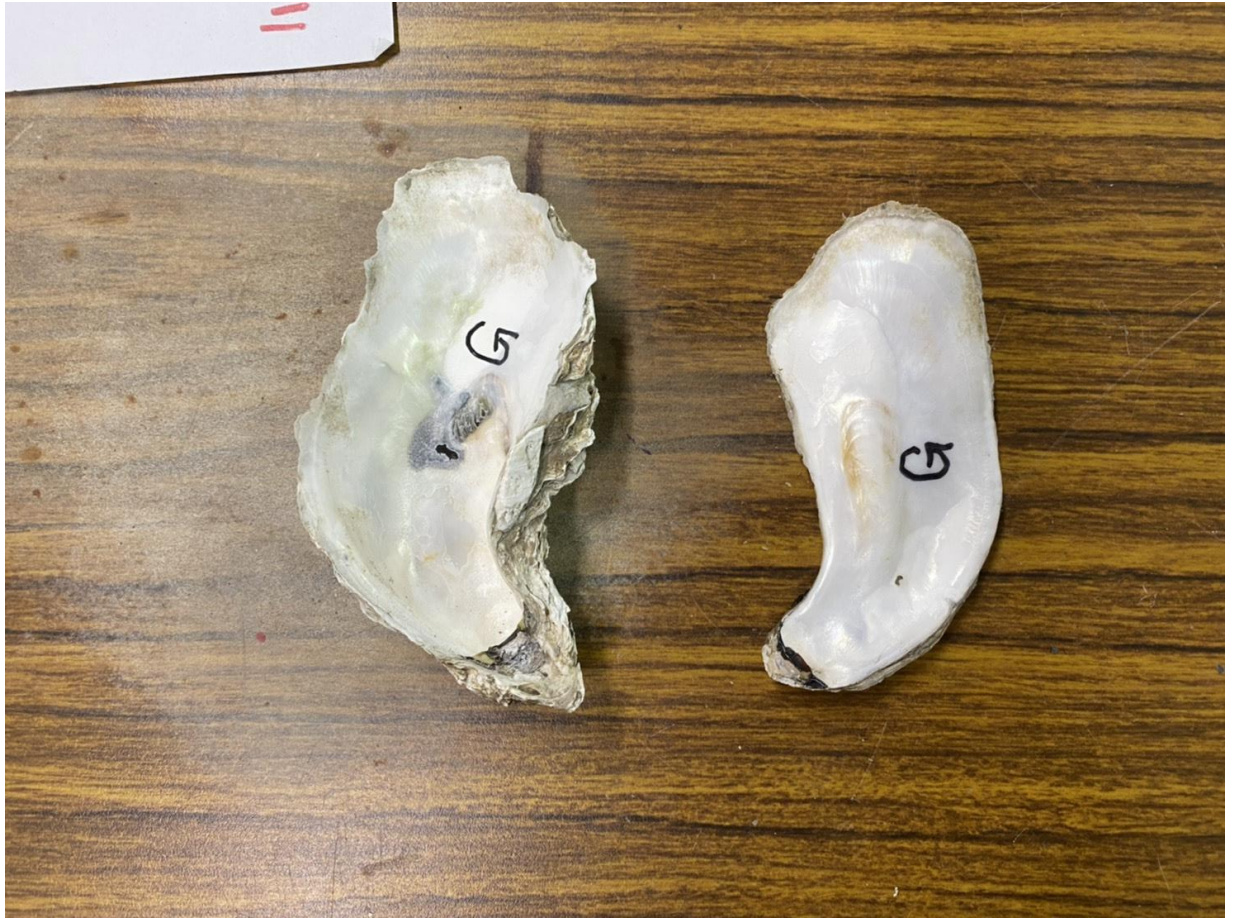
圖五、選取 AOI，圖中綠色線所圍住的地方



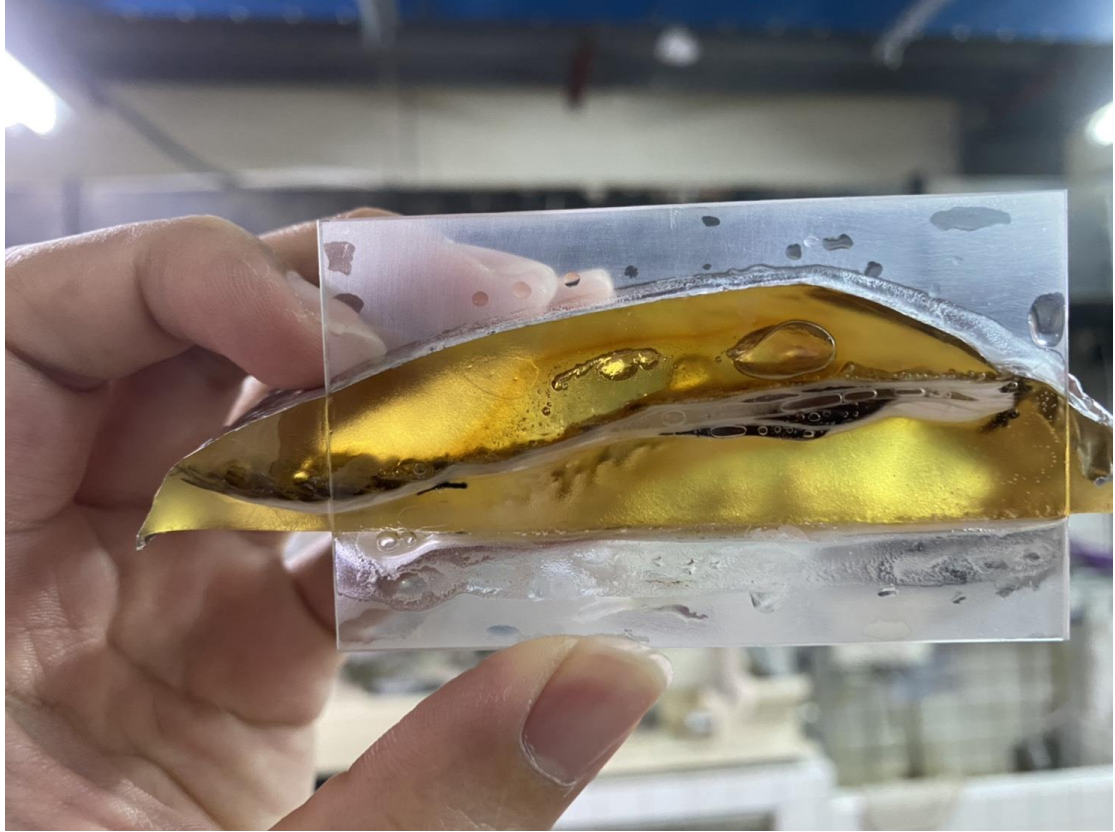
圖六、運用 Select Colors 選取 AOI 區域



圖七、黑色部分為堆積在空腔裡的沉積物，在磨製薄片時沒控制好，導致大部分沉積物被移除。也可以明顯看出空腔裡有許多大小氣泡。



圖八、左邊為左殼、右邊為右殼示意圖。



圖九、蓋上玻璃片後發現空腔裡有許多

伍、參考文獻

- Higuera-Ruiz, R., & Elorza, J. (2011). Shell thickening and chambering in the oyster *Crassostrea gigas*: natural and anthropogenic influence of tributyltin contamination. *Environmental technology*, 32(6), 583-591.
- Waldock, M. J., & Thain, J. E. (1983). Shell thickening in *Crassostrea gigas*: organotin antifouling or sediment induced?. *Marine pollution bulletin*, 14(11), 411-415.
- Zhang, X., Huang, T., Zhang, Y., Gao, H., & Jiang, M. (2015). Image-pro plus analysis of pore structure of concrete.
- Okoshi, K., Mori, K., & Nomura, T. (1987). Characteristics of shell chamber formation between the two local races in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 67(3-4), 313-320.
- Lai, H. L. (2006). Measurement of shell chambering of cultured oyster *Crassostrea gigas* in Tai