

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

魚類對鹽度之能量代謝反應及調節機制之研究

計畫編號：NSC 89-2313-B-002-231

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：郭欽明 國立台灣大學漁業科學研究所

計畫參與人員：潘婕玉 范惠鳳 陳宥樺 陳以萱 國立台灣大學漁業科學研究所

中文摘要

本研究以急劇的鹽度刺激方式來探討不同鹽度刺激對點帶石斑(*Epinephelus coioides*)之生理反應之影響，包括血液、滲透壓調節及醣類代謝等。馴化於25 ppt之石斑魚，分別移入不同的鹽度5、15、25、35、45 ppt，進行刺激試驗，探討其在急劇鹽度變化下的滲透壓調節情形，包括血容比、血紅素、滲透壓、鈉、鉀、鈣、鎂、氯離子、及鰓絲 Na^+ 、 K^+ -ATPase的變化。在血液中血容比及血紅素含量上並無明顯變化。血漿中滲透壓值於低張環境下(5,15 ppt)其滲透壓值會出現暫時性低滲透壓現象，然後於6小時以後則回復初始值，相反的，於高張環境下(35, 45 ppt)，則出現暫時性高滲透壓現象，於12小時以後，再調降為原來滲透壓值。低鹽度(5 ppt)刺激下之血糖量上升，僅出現在刺激早期，至於高鹽刺激下，48小時內均維持在高血糖(hyperglycemia)現象。說明了鹽度刺激，對石斑魚表現了明顯的壓迫反應及能量需求迫切性。血乳酸值在低鹽(5 ppt)及高鹽(35、45 ppt)的刺激下，1小時其血漿中乳酸含量明顯上升，再隨著時間的持續而有下降的趨勢，意謂著刺激初期以無氧代謝產生能量以應調適所需。

關鍵詞：點帶石斑，壓迫生理反應，鹽度。

Abstract

The physiological responses of the groupers, *Epinephelus coioides* under acute salinity shock were monitored. The study is focused on hematological responses, osmoregulation and carbohydrate metabolism.

The acclimated groupers at the salinity of 25 ppt were directly transferred to varying salinities of 5, 15, 25, 35 and 45 ppt, and the osmoregulation of the groupers under the

salinity shock was monitored. The parameters monitored included hematocrit, hemoglobin, plasma osmolarity and ion composition, and Na^+ - K^+ -activated ATPase activity in the gills.

Under hypoosmotic environment (5 and 15 ppt), hypoosmolarity was characteristic responses in the initial phase of salinity shock, but the plasma osmolarity recovered to the normal level after 6hr. A temporary hyperosmolarity was noted under hyperosmotic environments in the initial period up to 12 hr. Furthermore, Na^+ - K^+ ATPase activity was elevated under hyperosmotic conditions, and vice versa. The physiological responses and regulation were demonstrated in these parameters monitored.

Hyperglycemia was found to be a common indicator for stress response in the groupers exposed to varying salinities. Plasma glucose was elevated within 48 hr under high salinity condition, and only in a short initial phase of low salinity conditions. The observation not only implied the occurrence of stress responses, but also increased demands for energy for physiological regulation and compensation. Hyperlactocemia was another indicator of the stress responses, and significant increase in the plasma lactate was detectable within 1 hr after the shock in all cases, followed by gradual declines thereafter. This suggested that the groupers rely heavily on the energy supplies through anaerobic pathway in the initial phase of physiological compensation.

Key words : *Epinephelus coioides*, Stress responses, Salinity.

緣由及目的

生物在自然環境下生存，不但要維持個體的存活，更需要延續族群的繁衍。生物往往藉著生理機制及行為反應，來適應變

動的生態環境。經由生理指標及調節機制之變化，探討環境變動對生物影響程度及生理調節模式。

水生生物之存活繁衍與環境之關係及極為密切，因此生態環境中任何環境因子的改變，對生存於該環境中的生物造成刺激，使其產生壓迫性的反應，包括各種內在生理和外行為上的變化。鹽度是環境中的重要限制因子之一，鹽度的變化本身也是一種刺激，或稱為會使水生生物產生壓迫性反應。如果刺激是輕微或短暫的，促使生物體應付刺激狀況而調適生理狀況，重新建立新的生理恆定；相反的，若刺激是長期或過度時，可使魚體完全失去生理上的平衡而死亡。然而不論刺激時間的長短或程度上的輕重均會影響至生長、代謝、生殖及健康狀況，因此了解適合成長生存之鹽度範圍，以及鹽度耐性與刺激後之生理反應，將有助於養殖環境之管理。

石斑魚是東南亞地區高貴的經濟養殖魚種，在台灣水產養殖產業中所扮演的角色極為重要，惟石斑魚對環境的需求研究，至今仍極為短缺。標定石斑魚耐鹽性及調節機制之瞭解，是目前重要之研究課題，有助於改進石斑魚養殖技術。

本研究以石斑稚魚為試驗材料，以急劇鹽度刺激方式，探討鹽度變化對點帶石斑血漿中滲透壓、離子及肝臟與肌肉組織中醣類代謝中間產物(肝醣及乳酸)之影響。期以確定點帶石斑魚之可耐鹽度範圍，以建立最適之蓄養環境鹽度，以降低因滲透壓變動而造成石斑魚之生理壓迫，死亡。並減少養殖魚種對滲透調節之能量耗費及負擔，充分利用能量於成長上，以達到最佳成長效果，提高養殖效益。

結果及討論

馴化於 25ppt 下之石斑魚稚魚，直接移至不同鹽度之試驗環境追蹤血容比，血紅素血漿滲透壓，總絲 ATPase 活性，血糖量及血乳酸量之時程變化，綜合表於 Table 1。

1. 紅血球特性之時程變化:

與紅血球特性相關之血容比及血紅素

等，在不同鹽度刺激下，48 hr 與對照組相近，並無統計上之差異性。在低鹽環境適應下嘉臘魚及 *Dicentrarchus labrax* 血容比(Hct)及血紅素(Hb)含量升高(Roche et al.,1989; Ishioka,1980)，即在低鹽環境下，促使造血器官造血能力加強，增加紅血球的數量(Wedemeyer, 1972)。但石斑魚於高，低鹽刺激下，並無明顯變化。其可能原因，乃是急速或緩慢鹽度刺激方式不同。以急速方式進行，無法在短暫時間內誘發紅血球數量之增加。

2. 滲透壓之時程變化:

在對照組 (25 ppt) 下，48 小時內之滲透壓值的變化並不明顯，維持在 $321 \pm 8.83 \sim 327.80 \pm 8.48$ mOsm/Kg 之間。移入 5 及 15 ppt 鹽度環境後滲透壓是隨時間的增長而逐漸下降。35 ppt 試驗組 48 hr 內滲透壓之變化維持在 $323.00 \pm 6.19 \sim 338.83 \pm 4.99$ mOsm 間，與控制組並無明顯差異。45 ppt 試驗組滲透壓值變化，大致上是隨著刺激時間而呈現先升後降之變化趨勢。在 48 hr 內之變化均高於對照組。

3. 總絲 Na^+, K^+ -ATPase 活性變化:

馴養於 25 ppt 之石斑魚於鹽度刺激後總絲之 Na^+, K^+ -ATPase 活性時程變化是隨著刺激鹽度的升高而呈現增強的趨勢。其活性變化維持在 $7.33 \pm 0.68 \sim 7.93 \pm 0.98$ mM /Pi/hr/g protein 之間。低鹽組 5 ppt 及 15 ppt 其 Na^+, K^+ -ATPase 比活性，確有下降之趨勢。至於高鹽組 35、45 ppt 鹽度下，在各採樣時間點之酵素活性明顯高於對照組，但兩高鹽組間活性上並無明顯差異，其活性均維持在 $9.28 \sim 10.74$ mM /Pi/hr/g protein 之間。顯示出高鹽刺激會促使總絲中氣細胞 Na^+, K^+ -ATPase 活性提升，而低鹽則有活性衰減的趨勢，與高張滲透壓調節息息相關。

4. 血糖量(plasma glucose)

在生物體內葡萄糖是相當重要的能量來源之一，亦為生物體受壓迫之重要指標之一。馴養於鹽度 25 ppt 刺激前血糖值為

29.92 ± 1.99 mg/dl，對照組刺激後之時程變化是呈現小幅度的下降而後再上升之趨勢，48 小時間變化在於 7.33~7.93mg/dl 間。高鹽刺激下所誘發石斑魚高血糖現象較其他鹽度處理組明顯，尤其是 45 ppt 處理組其血糖量之增加達對照組約 2 倍，48 小時內之時程變化維持在 32.13 ± 2.94 ~ 37.96 ± 3.35 mg/dl 之間。35 ppt 處理組僅在 3 小時內呈現高血糖的反應現象，隨後血糖量逐漸回復，在 48 小時其血糖量與控制組之差異不顯著。低鹽度刺激下血糖量上升的現象僅出現在刺激之早期。5 ppt 組於 1.0 小時測得較高血糖值(38.84 ± 3.92 mg/dl)，三小時後其血糖值則驟降為 17.80 ± 2.53 mg/dl，15 ppt 組刺激後 1.0 小時血糖值稍升為 27.67 ± 2.68 mg/dl，然後再逐步下降，與對照組並無明顯差異，換言之，15 ppt 之鹽度刺激並未對石斑魚產生明顯的壓迫反應。鹽度變化除了會引起滲透壓變化外，亦會引起高血糖現象且反應相當靈敏。顯示出在鹽度刺激下魚體對於葡萄糖的需求較為殷切，也反應出鹽度的變化亦會造成普遍性的緊迫反應

5. 血乳酸量(plasma lactate):

血漿中乳酸也是重要的緊迫反應指標之一(Wedemeyer *et al.*,1990)。石斑魚在不同鹽度刺激下之血漿乳酸值之時程變化，表示於 Table 1。控制組在各採樣時間點之乳酸值平穩保持在 6.23± 0.33 ~ 6.95 ± 0.84 mg/dl 之間，與刺激前(6.44 ± 0.18 mg/dl)無明顯差異。在低鹽 5 ppt 及高鹽 35、45 ppt 組，經過刺激後的 1.0 小時，其血漿中乳酸含量均有明顯上升，分別為 10.82 ± 1.29、8.70 ± 1.26 及 13.09 ± 1.05 mg/dl，各處理組其乳酸組亦隨著時間的進行，而血乳酸值卻有下降的趨勢，但 45 ppt 組雖有降低最低值為 12 小時的 8.22 ± 1.39 mg/dl，然而血漿乳酸值仍明顯高於對照組及其他鹽度處理組。由此可知，高、低鹽度急速刺激的壓迫性反應，均會迫使石斑魚進行無氧代謝，以獲得能量以應一時之需，血液中乳酸量亦呈現短暫性之上

揚走勢。這表示鹽度變化過程中魚類因急切需要能量而迫使魚類採用以無氧呼吸之代謝途徑獲取能量。

綜合以上所述，石斑稚魚經過高鹽度刺激之後，於 48 小時內滲透壓、氯離子濃度均會出現暫時性的高滲透壓及高氯現象，而在低鹽刺激下會有暫時性的低滲透壓及低氯現象，然後回復趨近於起始值，亦即，在高張與低張環境下藉由滲透壓調節，從危險期調節至穩定期，以達魚體內部生理上之恆定。於生理調適過程當中，血中葡萄糖、乳酸值均有明顯上升的趨勢，顯示出於適應調節過程當中，能量需求的迫切性。

研究成果自評:

本研究就壓迫生理指標判斷，對石斑魚之生理影響較低鹽度為顯著，結果亦確定血漿滲透壓血糖量及乳酸量均為相當敏感之生理指標。

參考文獻:

- Ishioka, H. (1980). Stress reactions induced by environmental salinity changes in red sea bream. Bull. Jap. Soc. Sci.Fish., 46(11): 1323-1331.
- Roche, H., Char, K. and Peres, G. (1989). The effect of a gradual decrease in salinity on the significant constituents of tissue in the sea bass (*Dicentrarchus labrax* fishes). Comp. Biochem. Physiol., 93A: 785-789.
- Wedemeyer, G. A. and Mcleay, D.. J. (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In :Stress and Fish (ed. Pickering, A. D.), London and New York, Academic press. pp.247-275.
- Wedemeyer, G. A. (1972). Some physiological consequences of handling stress in the juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Bd Can., 29: 1780-1783.

	Time (hr)	Salinity (ppt)								
		5		15		25		35		45
Hematocrit (%)	0	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24	36.53 ± 1.24
	1	39.43 ± 1.33	38.95 ± 0.75	35.97 ± 1.83	41.53 ± 1.75	42.14 ± 3.60				
	3	31.43 ± 2.71	33.23 ± 2.53	35.65 ± 2.26	32.62 ± 0.70	34.62 ± 3.76				
	6	37.86 ± 2.81	36.90 ± 1.65	36.95 ± 2.28	36.12 ± 1.58	35.13 ± 1.59				
	12	34.83 ± 1.53	35.07 ± 1.16	35.33 ± 1.72	32.38 ± 1.51	33.70 ± 2.89				
	24	34.57 ± 2.74	32.55 ± 2.69	35.67 ± 2.14	32.57 ± 2.74	35.26 ± 2.39				
	48	32.05 ± 2.50	30.05 ± 2.56	35.64 ± 2.46	36.55 ± 3.31	33.40 ± 2.84				
Hemoglobin (g/dl)	0	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31	8.12 ± 0.31
	1	9.08 ± 0.49	8.58 ± 0.25	7.57 ± 0.58	8.93 ± 0.46	7.70 ± 0.63				
	3	7.79 ± 0.55	8.17 ± 0.47	7.70 ± 0.44	8.06 ± 0.7	7.73 ± 0.76				
	6	7.46 ± 0.38	7.47 ± 0.23	7.50 ± 0.24	7.68 ± 0.24	7.58 ± 0.41				
	12	7.43 ± 0.3	7.28 ± 0.14	7.04 ± 0.33	7.15 ± 0.21	7.04 ± 0.36				
	24	8.09 ± 0.39	7.34 ± 0.52	7.78 ± 0.42	7.05 ± 0.79	7.91 ± 0.27				
	48	7.75 ± 0.57	7.49 ± 0.48	7.79 ± 0.41	7.83 ± 0.41	7.98 ± 0.19				
Plasma osmolarity (mOsmo/kg)	0	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16	330.67 ± 3.16
	1	320.00 ± 4.52	323.83 ± 2.09	321.00 ± 4.83	323.00 ± 6.19	348.00 ± 2.31				
	3	300.40 ± 5.51	318.00 ± 7.04	326.00 ± 3.95	330.40 ± 6.00	339.60 ± 5.28				
	6	286.60 ± 7.39	317.00 ± 5.97	323.50 ± 5.69	335.67 ± 12.29	370.50 ± 7.69				
	12	317.83 ± 7.82	316.17 ± 8.25	327.50 ± 7.24	338.83 ± 4.99	386.00 ± 3.91				
	24	319.20 ± 7.11	321.20 ± 5.62	323.00 ± 5.93	326.20 ± 6.31	344.60 ± 3.75				
	48	322.40 ± 9.16	320.20 ± 4.60	327.80 ± 8.48	338.80 ± 3.84	343.75 ± 6.81				
ATPase (mM Pi/hr/ g protein)	0	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68	7.33 ± 0.68
	1	6.94 ± 0.82	6.98 ± 0.26	7.45 ± 0.19	10.42 ± 0.51	10.49 ± 0.71				
	3	6.63 ± 0.88	7.93 ± 0.92	7.38 ± 0.52	9.78 ± 0.68	10.38 ± 0.73				
	6	5.95 ± 0.41	6.82 ± 0.75	7.52 ± 0.54	10.11 ± 0.71	10.12 ± 0.58				
	12	5.57 ± 0.63	6.64 ± 0.65	7.54 ± 0.59	9.28 ± 0.84	9.88 ± 0.55				
	24	5.73 ± 0.67	6.77 ± 0.70	7.93 ± 0.98	10.74 ± 0.87	10.03 ± 0.85				
	48	5.72 ± 0.69	6.74 ± 0.67	7.68 ± 0.95	10.18 ± 0.74	10.51 ± 0.81				
Plasma glucose (mg/dl)	0	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99	29.92 ± 1.99
	1	38.84 ± 3.92	27.67 ± 2.98	23.67 ± 1.95	36.86 ± 2.71	37.10 ± 3.6				
	3	17.80 ± 2.53	21.72 ± 5.47	20.43 ± 2.48	29.48 ± 2.25	35.52 ± 2.73				
	6	18.22 ± 3.21	16.26 ± 1.99	18.73 ± 1.11	20.33 ± 1.7	37.96 ± 3.35				
	12	18.07 ± 1.99	17.65 ± 1.24	16.46 ± 1.3	23.74 ± 1.81	33.72 ± 3.46				
	24	16.26 ± 1.85	17.69 ± 2.72	16.74 ± 2.68	23.59 ± 1.46	32.13 ± 2.94				
	48	16.46 ± 1.55	16.73 ± 2.51	16.39 ± 3.22	24.32 ± 2.54	34.40 ± 3.12				
Plasma lactate (mg/dl)	0	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18	6.44 ± 0.18
	1	10.82 ± 1.29	6.95 ± 0.75	6.31 ± 0.44	8.70 ± 1.26	13.09 ± 1.05				
	3	8.38 ± 1.86	6.04 ± 1.33	6.70 ± 0.93	7.24 ± 1.78	12.99 ± 0.96				
	6	7.01 ± 0.33	8.03 ± 1.69	6.37 ± 0.24	7.48 ± 1.50	8.25 ± 1.37				
	12	7.11 ± 0.80	7.01 ± 0.10	6.23 ± 0.33	8.03 ± 1.16	8.22 ± 1.39				
	24	7.19 ± 0.71	7.29 ± 0.78	6.61 ± 0.65	7.90 ± 1.40	9.04 ± 0.95				
	48	7.35 ± 0.83	7.57 ± 0.98	6.95 ± 0.84	6.77 ± 0.91	9.71 ± 1.18				