

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

低溫壓迫對魚類能量代謝生理之研究

Energy metabolism of fish under cold shock

計畫編號：NSC 88-2311-B-002-013-B28

執行期限：八十七年八月一日至八十八年七月三十一日

主持人：郭欽明 國立台灣大學漁業科學研究所

一、中文摘要

吳郭魚為台灣重要養殖魚種之一，惟因吳郭魚為熱帶魚種，適於高溫養殖，每在冬季寒流來襲之際，因其耐寒性欠佳而大量凍斃，有鑑於此，就吳郭魚對低溫之生理反應與能量代謝的調節進行全盤性研究，探討本省主要養殖經濟魚種吳郭魚在低溫適應下能量代謝型態及途徑，為本研究之主要目標。馴化於 25 °C 下的吳郭魚，分別以不同的低溫 25 °C、20 °C、15 °C、10 °C 進行刺激，探討其在低溫壓迫下能量利用情形，包括溫度耐受性、耗氧量、24 小時內的血液葡萄糖以及乳酸之時程變化。吳郭魚之耐寒性欠佳，在 15 °C 低溫之急速刺激下，血糖量的增加非常明顯，僅僅在 6hr 內即由 63.91 mg/dL 遽增至 132.04 mg/dL，增加幅度達 2 倍之多。吳郭魚暴露於 10 °C 水溫中，血糖量僅由 41.74 mg/dL，在 1 小時內增加到 57.15 mg/dL，雖然血糖量增加幅度不甚顯著，主要原因在於吳郭魚對 10 °C 之刺激反應，生理已失去調節能力，呈現衰減的結果。血漿中乳酸變動的情形，移入溫度為 15 °C 者，隨著移入時間的延長，乳酸濃度有呈現下降的趨勢，由開始血乳酸濃度 16.54 ± 0.92 mg/dL 下降至 24 hr 的 12.11 ± 0.28 mg/dL，而移入溫度為 10 °C 之個體，濃度移入後 30 分鐘內仍維持在 16.54 ± 0.92 mg/dL，但在移入後一小時，呈現衰減之現象，乳酸量則下降至 9.47 ± 2.24 mg/dL，隨即死亡。至於氧氣消耗量之下降、是與水溫之高低及刺激持續時間呈相關性。

關鍵詞：吳郭魚、生理反應、低溫壓迫

Abstract

Tilapia, an economically important

cultured teleost in Taiwan, has played a significant role in the fisheries development in the past. As a tropical species, they are suitable for culture in the warm waters. However, mass mortality of these cultured tilapia resulted from less tolerable attributes of this species to the cold, has often caused tremendous loss for the tilapia culture industry, when the severe cold current approaches in the winter season. This study is therefore aimed to comprehend the physiological responses of tilapias under the cold shock.

The acclimated tilapias at 25 °C were rapidly exposed to varying temperatures of 25 °C, 20 °C, 15 °C and 10 °C, and the physiological responses were monitored under various cold shocks. The parameters monitored included temperature tolerance, oxygen consumption, time-course changes in plasma glucose and lactate. Remarkable hyperglycemic responses were detected in tilapias under the cold shock at 15 °C, the plasma glucose rapidly increased from 63.91 mg/dl to 132.04 mg/dl in 6 hr, about two-fold increase over the original level. However, a slight elevation in plasma glucose, from 41.74 mg/dl to 57.15 mg/dl in 1 hr, was observed, when the tilapias were exposed acutely to 10 °C. The hyperglycemic response at this lethal temperature was found less pronounced as compared to the previous. The observations suggested that the tilapias under 10 °C cold shock were unable to perform physiological regulation and compensation properly. The stress responses and the exhaustion of regulatory capability were indicated. With respect to the lactocemic responses under 15 °C, the plasma lactate concentration depressed gradually from the initiation of cold shock

treatment, decreased from 16.54 ± 0.92 g/dl down to 12.11 ± 0.28 mg/dl in 24 hr. At the extreme temperature of 10°C , the plasma lactate maintained at the constant level for 30 min, followed by a notable depression down to 9.47 ± 2.24 mg/dl at the end of 1 hr, and eventually physical exhaustion and death. The changes in the oxygen consumption, which is a reliable biological indicator for the stress responses, was found highly correlated with the temperatures employed and sustained duration of cold shock.

Keywords: Tilapia, Physiological responses, Cold shock.

一、緣由與目的

對於溫度變動造成魚類短暫性的調適及長時期的適應，都表現在魚類的行為反應及能量的耗費，以調整生理機能。溫度對於生物的機能影響甚為廣泛，諸如：耗氧量的增加、生理代謝狀況的影響 (Hazel and Prosser, 1974; Sidell, 1987; Johuston and Dunn, 1987)；同時溫度影響代謝反應，會使得組織內酵素質量上的改變和能量代謝途徑的轉移等，例如醣質新生作用、醣解代謝、檸檬酸循環及脂質代謝途徑之間的轉移 (Hochachka and Hayes 1962; Dean 1969; Jones and Sidell 1982)。

溫度影響魚類生理，相當廣泛且錯綜複雜。短期的低溫壓迫下，魚體可藉著神經內分泌系統的調節，以增強生理機能，因應暫時的需要。魚體能否在低溫衝擊下存活，牽涉到它是否能適當運用能量以維持生理機能。魚類發展出的代謝補償機制包括質量的適應策略及調節之適應策略。吳郭魚為熱帶雜食性魚種，成長快速，對病害的抵抗力及環境的適應力都很強，並且能自然繁殖，是適合於養殖的魚種。惟因吳郭魚為熱帶魚種具有不耐寒的特性，當冬季寒流來襲之際，因其耐寒性欠佳而大量凍斃，產業損失甚為嚴重，有鑑於此，就吳郭魚對低溫之生理反應與能量代謝的調節進行全盤性的研究，探討本省主要養

殖經濟魚種吳郭魚在低溫適應下能量代謝形態及途徑的情形，以瞭解吳郭魚耐寒性不足之生理因素，是至為主要之研究課題，經由增進吳郭魚耐寒性技術之建立，將有助於吳郭魚產業之持續發展。

二、結果與討論

1. 吳郭魚溫度耐性試驗與行為觀察

吳郭魚自馴化水溫 25°C 、以 1°C/hr 水溫之速度持續降溫、進行低溫耐性行為的觀察實驗。茲將整個過程中之行為反應綜合於 Fig. 1。水溫低於 15°C 後，吳郭魚呈現明顯的掙扎行為，接近 10°C 時，魚體逐漸失去自主游動的能力，並失去平衡。低於 10°C 後，則呈現瀕死狀態。三尾試驗魚致死溫度皆為 7.5°C ，出現時間分別為 19 小時 20 分、25 分及 30 分、即在短短 10 分鐘內相繼死亡。

生物體在溫度適應過程中，其緊迫反應可以分為三個階段：第一階段為反抗期 (Resistance)，也就是個體在遭受到壓迫因子的刺激時，生物體會產生迴避的行為以逃離此環境所給予的壓迫。第二階段為適應期 (Adaptation)：當個體長期受到低溫刺激時，經由生理的調節，及代謝的補償作用，會逐漸達到新的恆定狀態以適應低溫環境。第三階段則為衰竭期 (Exhaustion)，由於長期處於緊迫狀態下或是低溫刺激中，使魚類無法及時調節生理機制以維持平衡狀態，逐漸消耗所儲存的能量，而使得魚類生長及生殖受抑制，並減少對環境中其他疾病因子的抵抗力，進而造成個體死亡的機率 (Pickering, 1981)。在第一期的反應中，當水溫在 20°C 時，吳郭魚有浮頭掙扎的行為出現，稍微適應後，便靜待池底，僅以胸鰭及尾鰭的擺動，之後 24 小時內並未有死亡情形發生，顯示魚體在此環境條件下達到第二階段的馴化。若溫度持續降低至 9.6°C 時，吳郭魚便失去平衡力，而且在 7.9°C 時，魚體會沈於池底且呈現僵直的狀態，僅能靠著微弱呼吸來維持生命，但此一嚴酷的低溫狀態逐漸已造成魚體的衰竭，而在 7.5°C 時，個體便已

無能調整生理恆定，而進入第三階段的衰竭期。

2、低溫刺激下，吳郭魚的生理反應

A. 耗氧量

不同低溫刺激下，吳郭魚的平均耗氧量變化表示於 Fig. 2，在 25 °C 對照組的耗氧量為 1.424 ± 0.058 mg O₂ /kg/hr，移入溫度為 20 °C、15 °C 及 10 °C 的水域後，其耗氧量分別下降為 1.222 ± 0.032 mg O₂ /kg/hr、 1.143 ± 0.004 mg O₂ /kg/hr 及 1.081 ± 0.005 mg O₂ /kg/hr，相較於對照組之耗氧量，其下降幅度各為 14.2%、19.7% 及 24.1%，隨著移入溫度之降低而耗氧量呈現減少的趨勢。由各實驗組耗氧量測值進行統計分析，發現 20 °C、15 °C 及 10 °C 三組的低溫刺激下之耗氧量相互間並無差異但與對照組的差異顯著，7.5 °C 下之耗氧量遞減程度更為明顯。

由吳郭魚在低溫刺激下所產生的耗氧量變動實驗中，顯示出生物體在應付緊迫壓力下，耗氧量增加乃是為了加速於有氧代謝的進行，藉以產生足夠的能量來調適舒解環境的壓迫，同時在氧氣消耗量的變化上，可發現有隨著水溫之變化而增加的趨勢，並且明顯隨著溫度的下降而減緩。在同一水溫狀態下，亦隨實驗時間的延長而下降的現象，表示生理調適之結果且顯示耗氧量的變化與水溫刺激之顯著的相關性。

B. 血漿中葡萄糖含量變化

將吳郭魚由 25 °C 之馴養水溫迅速移入 20 °C、15 °C 及 10 °C，追蹤其血漿葡萄糖含量之時程變化，結果如 Fig. 3 所示，相對於 25 °C 之測值變化，則表示於 Fig. 4。馴養在 25 °C 下之對照組，在 24 hr 內之魚體血糖測定值，約維持在 41.74 ± 0.79 mg/dL 至 50.72 ± 1.33 mg/dL 之間。移入 10 °C 之所試驗魚，在一小時後皆死亡，血糖濃度則由移入時之 41.74 ± 0.79 mg/dL 上升至 57.15 ± 1.81 mg/dL，由此可見水溫 10 °C 是在吳郭魚可調適溫度範圍之外。水溫 15 °C 及 20 °C 之試驗組，血糖測值確隨著時間

而呈現上揚之勢，其中 20 °C 組者，隨著移入時間之延長，在 3 hr 達到 62.51 ± 1.24 mg/dL 最高值，隨即逐漸降低至 53.33 ± 1.62 mg/dL 至 56.16 ± 2.31 mg/dL 之間，顯示其已逐漸調適之跡象。至於 15 °C 的試驗組，血糖測定值隨著時間而上升的情形更是顯著，在移入後 6 hr 內血糖仍維持在 49.63 ± 0.79 mg/dL 至 64.66 ± 3.36 mg/dL 左右，但 12 hr 後，急遽上升至 132.04 ± 5.67 mg/dL 及 24 hr 的 139.89 ± 2.68 mg/dL。

將移入處理的吳郭魚於不同時間採樣測得血糖測值與對照組吳郭魚血糖量相對比值，除了表示於圖 Fig. 4。結果顯示出在 6 hr 內變化幅度是由遽增而逐漸變少，特別是 20 °C 試驗組，與對照組幾為相近，可能已逐漸調適其所處理的水溫，但 15 °C 者似漸失去恆定，自 6 hr 後持續上升，在 12 hr 達到最高點，而持續維持相當高之血糖量均在對照組的 2.5 倍左右。

C. 吳郭魚血漿中乳酸含量變化

吳郭魚由 25 °C 馴養溫度移入不同低溫環境下，其血漿中乳酸量之變化值表示於 Fig. 5，相對濃度變化則表示於 Fig. 6。對照組的吳郭魚（25 °C）於不同採樣時間所測之乳酸濃度維持於 16.54 ± 0.92 mg/dL 至 19.06 ± 0.62 mg/dL 間，而移入溫度為 10 °C 之個體，濃度移入後 30 分鐘內仍維持在 16.54 ± 0.92 mg/dL，與移入前之測定值變化不大，但在移入後一小時，呈現衰減之現象，血乳酸量即下降至 9.47 ± 2.24 mg/dL，隨即死亡。移入溫度為 15 °C 者，隨著移入時間的延長，乳酸濃度有呈現下降的趨勢，由開始血乳酸濃度 16.54 ± 0.92 mg/dL 下降至 24 hr 的 12.11 ± 0.28 mg/dL，至於水溫 20 °C 的試驗個體，血乳酸量的變化在 1 小時內是相當明顯，移入後 15 分鐘平均血乳酸測值高達 26.25 ± 1.33 mg/dL，在 30 分鐘時達到 30.02 ± 1.62 mg/dL 的最高值，隨後出現逐漸下降的現象。移入 2 hr 後平均測值已降至 17.73 ± 1.43 mg/dL，與對照組魚體的測值相近。

血液中血糖（glycemia）、血乳酸（lacticemia）等反應為壓迫生理之次級反應

(Second response) 指標 (Sun et al, 1992; Chen et al, 1995; Sun, 1995; Sun, 1994; Hunn, 1982; Peters et al, 1981; Barton et al, 1980)。單一或數種緊迫因子(如溫度、耗氧、光照及鹽度等)，造成生理反應的情形，血糖及血乳酸的含量變化是反映出魚類普遍性的緊迫反應 (general stress response)，藉以監測生理調適變化狀況。吳郭魚在 20°C、15°C 及 10°C 的初期低溫壓迫下，葡萄糖的含量均呈現上升的現象，反映在緊迫狀況下，是為了應付環境衝擊而生理調節所需能量之需求量增加所致。透過糖解作用 (glycolysis)，檸檬酸循環 (TCA cycle) 及電子傳遞鏈 (electron transport chain) 的轉移，形成 ATP 而產生能量。體內葡萄糖來源，除了直接從食物獲取之外，有賴糖質新生及肝糖分解等反應，將肝糖、胺基酸、三酸甘油 (triglyceride) 和乳酸 (lactate) 等代謝形成葡萄糖而釋放於血液中 (Cossin and Bowler, 1987)。

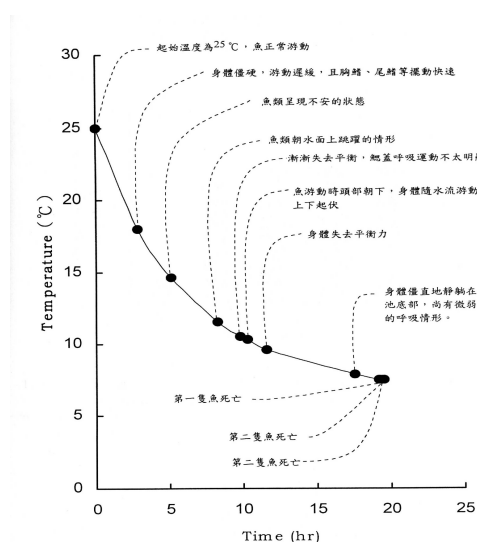


Fig.1. 吳郭魚低溫耐性的行為觀察

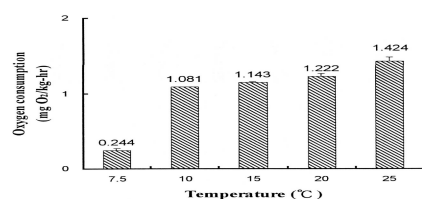


Fig.2. Oxygen consumption of tilapia hybrids, (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) under cold shock.

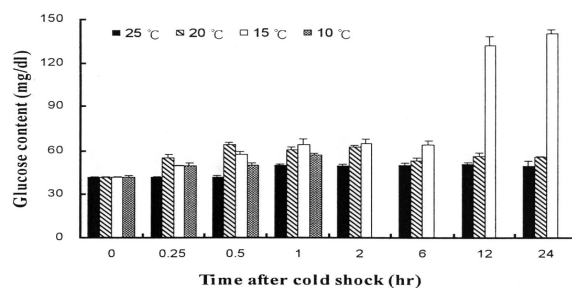


Fig. 3. Time-course changes of plasma glucose content in tilapia hybrids (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) under cold shock.

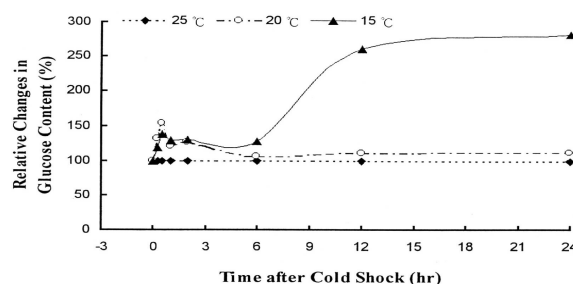


Fig. 4. Relative changes in plasma glucose content of tilapia hybrids (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) under cold shock.

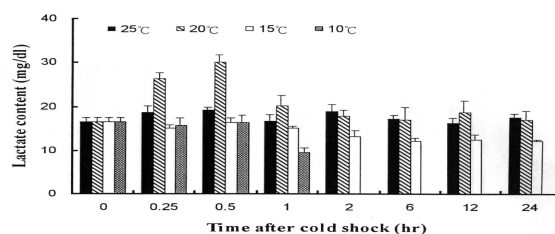


Fig. 5. Time-course changes of plasma lactate in tilapia hybrids (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) under cold shock.

Acknowledgements:

This research was supported by the National Science Council, Republic of China to CMK (grant no. NSC 88-2311-B-002-013-B28)