

短鰭黃鱸鰱對低溫緊迫耐受性研究

林峰右* · 吳育甄 · 沈子耘 · 許晉榮 · 葉信利

行政院農業委員會水產試驗所海水繁養殖研究中心

摘 要

本研究針對短鰭黃鱸鰱在低水溫耐受性進行相關研究,主要目的是探討短鰭黃鱸鰱對低溫之耐受性;實驗分為兩部份:(一)急速降溫耐受性實驗,結果顯示短鰭黃鱸鰱在急速降溫下,極限耐受水溫為 12°C。(二)緩慢降溫實驗,結果顯示短鰭黃鱸鰱的紅血球數及血球容積比,於降溫達 14°C 後,第 24 h 顯著低於控制組,至 48 h 後漸回升;血紅素在降溫後第 24 h 漸上升,且於 72 h 顯著高於控制組;葡萄糖、乳酸及皮質醇濃度於開始降溫時逐漸上升。

關鍵詞:短鰭黃鱸鰱、緊迫、恆定

前 言

黃鱸鰱(俗名紅衫)在分類學上區分為短鰭黃鱸鰱(又稱卵形鰱鰱)(*Trachinotus ovatus*)以及長鰭黃鱸鰱(又稱布氏鰱鰱)(*T. blochii*)兩種,在台灣有箱網養殖及陸上魚塢養殖兩種方式,是具經濟效益的重要養殖魚種。自 2001 年以來,除了台灣,在大陸的海南、廣東及福建沿岸,黃鱸鰱箱網養殖也相繼快速發展,但皆面臨寒流低溫時大量死亡的問題。以往的研究指出,長鰭黃鱸鰱在水溫降至 14°C 達 2 天時,即有被凍斃的可能,而短鰭黃鱸鰱在相同的低水溫則有較高的耐受度(張, 1995; 何等, 2005),但寒流來臨時,都會大批死亡,難以越冬,造成嚴重的經濟損失(張等, 2000)。

水溫的變化是魚類常見的環境緊迫因子(stress factor)。緊迫的刺激會影響體內神經與內分泌兩大生理調節系統,當環境大幅改變,生理調控及各種機能上造成緊迫,使魚隻恆定狀態(homeostasis)改變,造成魚隻抵抗力降低,發生疾病,甚至是死亡。以虱目魚(*Chanos chanos*)為例,牠是分布於熱帶及亞熱帶地區的魚種,適合生存

的溫度範圍較窄,每在冬季寒流來襲之際,因其耐寒性欠佳,常於溫度驟降時大量死亡(謝, 2002; 施, 2005)。短鰭黃鱸鰱是屬於暖水性的魚類,本研究目的即在探討短鰭黃鱸鰱蓄養,若遭遇寒流導致養殖池水溫驟降,短鰭黃鱸鰱生理及行為變化,希望藉由本實驗能瞭解短鰭黃鱸鰱耐受低溫的能力,改善養殖方法,進而提高短鰭黃鱸鰱養殖發展之潛力,減少經濟上的損失。

材料與方法

一、材料

所使用之短鰭黃鱸鰱購自屏東的養殖場。為避免實驗操作所產生之緊迫,實驗前一週即移至 15 噸海水蓄養池內之浮性箱網(長 125 cm × 寬 95 cm × 高 65 cm)中馴養,以適應環境。池中輔以打氣設備,水溫控制維持在 25 ~ 26°C,鹽度維持在 33 ~ 35 psu,實驗魚隻平均體長為 34.32 ± 7.70 cm,平均體重為 780 ± 58 g。

二、實驗方法

(一)急速降溫耐受性實驗

每次降溫實驗使用之短鰭黃鱸鰱為 7 尾。水溫由 26°C 開始,以每小時 2 ± 0.5°C 速率進行降

*通訊作者 / 台南市七股區三股里海埔四號, TEL: (06) 788-0461 轉 234; FAX: (06) 788-1597; E-mail: mariculture00@gmail.com

Table 1 Stage of cold shock stress (modified from Donaldson *et al.*, 2008)

Stage	Descriptor	Behavioral responses of fish
0	Normal	Reactive to external stimuli; Opercular rate and equilibrium normal
1	Light Responses	Hyperresponsiveness to tactile stimuli; Opercular rate slightly decreased; Equilibrium normal
2	Deep Responses	spontaneous circling Changes in external appearance (eyes, skin, etc.) Slight decrease in opercular rate
3	Partial loss of equilibrium	Began to show uncoordinated swimming; Less sensitive to external stimuli; Slight decrease in opercular rate
4	Total loss of equilibrium	Difficulty maintaining equilibrium; Loss of response to humans handling
5	Loss of reflex reactivity	Complete loss of equilibrium and induction of coma; Opercular movements slow and irregular
6	Medullary collapse (stage of asphyxia)	Opercular movements cease; Cardiac arrest usually follows quickly

溫至 11°C。黃鱸在低溫之行為變化參考 Donaldson *et al.* (2008) 低溫緊迫分期表所列之行為表現 (Table 1)。所有實驗黃鱸在急速降溫下，行為變化呈現喪失部份平衡期 (partial loss of equilibrium)，再回復於常溫，尚能存活的極限低溫，即判定為該魚的急速降溫耐受極限溫度。對照組在溫度 $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ，光照週期 10:14 (光供應時間為 8:00 ~ 18:00)，鹽度 33 ~ 35 psu，穩定環境下蓄養。

(二) 緩慢降溫實驗

緩慢降溫實驗共分為 5 組，每組 7 隻，實驗低溫前處理由實驗第 1 天水溫 26°C 開始降溫，平均每天降溫 4°C ，到實驗第 3 天達設定水溫 14°C 後，開始進行連續魚隻抽血採樣，實驗魚隻先以 500 ppm 2-phenoxyethanol 麻醉，再以潤濕過肝素 (heparin) 的針筒，自尾柄靜脈抽血，於 0.5 h 內進行紅血球計數及血紅素 (hemoglobin) 測定，部分血液以 8,000 xg 離心 5 min 後測定血球容積比 (hematocrit)，其餘血液經 5,000 xg 4°C 離心 15 min 進行後，取上清血漿冷凍於 -80°C 冰箱內，待日後分析葡萄糖 (glucose)、乳酸 (lactate)、皮質醇 (cortisol) 等的生化值。之後每隔 24 h 採樣一次，共採樣 4 次，實驗進行 7 天。對照組在溫度 $26 \pm$

0.5°C ，光照週期 10:14 (光供應時間為 8:00 ~ 18:00)，鹽度 33 ~ 35 psu，穩定環境下蓄養一週，於實驗開始前抽血採樣，對照組於恆定環境下生理值無顯著改變 (謝, 2002)。

1. 血紅素測定

將抽取之血液樣本，利用商業試驗套組 (Instru Chemie) 於室溫下加入 hemoglobin reagent 充分混合 30 sec，利用分光光度儀 (Hitachi, U-200) 於 575 nm 波長下測量數值，再與血紅素標準品所得標準曲線比對，推算血紅素之含量。

2. 葡萄糖測定

葡萄糖測定使用商業試驗套組 (Sigma)，以 540 nm (OD) 波長測量數值，再與葡萄糖標準品所得標準曲線比對，推算葡萄糖之含量。

3. 乳酸濃度測定

乳酸濃度測定使用商業試驗套組 (Sigma)，以 540 nm (OD) 波長測量數值，再與乳酸標準品所得標準曲線比對，推算乳酸之含量。

4. 皮質醇濃度

皮質醇濃度使用商業試驗套組 (ACE)，以 420 nm (OD) 波長測量後再依公式換算出實際數值。

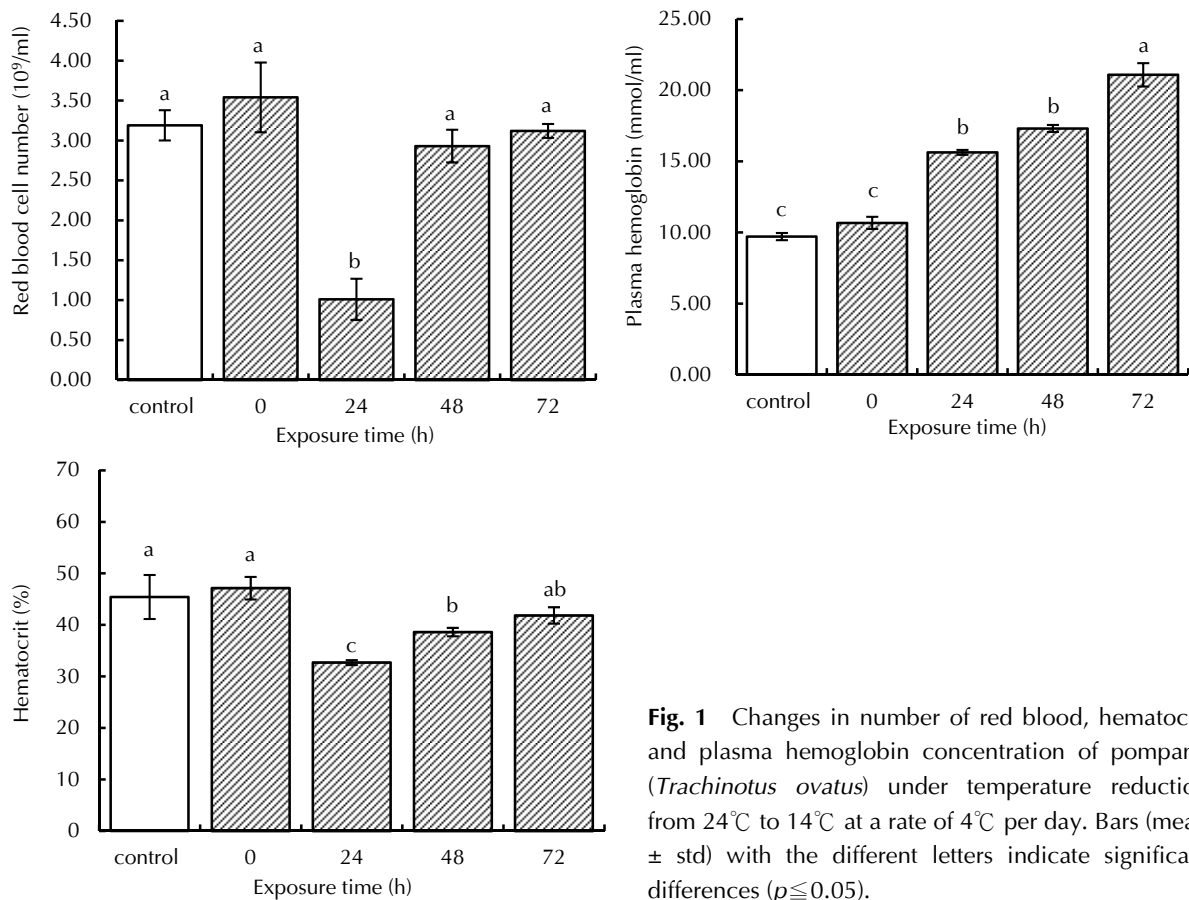


Fig. 1 Changes in number of red blood, hematocrit and plasma hemoglobin concentration of pompano (*Trachinotus ovatus*) under temperature reduction from 24°C to 14°C at a rate of 4°C per day. Bars (mean \pm std) with the different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$).

三、統計分析

實驗結果以變異數分析法 (analysis of variance, ANOVA) 測定各組之間是否有差異，若達顯著水準 ($P \leq 0.05$)，則再以鄧氏多域測驗法 (Duncan's multiple range test) 進行平均值檢定。

結 果

短鰭黃鱸在急速降溫耐受性實驗中，當水溫降至 12°C 時，魚隻陸續呈現喪失部份平衡期，其比率由第 0 h 的 57.14%，逐步提升至第 12 h 為 71.42%，在第 18 h 後即為 100%，顯然的，隨著低溫時間增加，呈現喪失部份平衡期的百分比越高，最後於 24 h 全數死亡。但魚隻在 12°C 中 18 h 再移回原本 26°C 水溫中，所有魚隻皆可再回復正常游動行為，並未死亡。但當降溫低至 11°C 時，第 0 h 魚隻表現無法維持在喪失部分平衡期，會快速繼續表現出反射反應喪失 (loss of reflex reactivity)，

甚至到達延髓崩潰期 (medullary collapse)，停止呼吸，死亡；且持續處在此低溫下的魚隻，再將其置回常溫亦無法回復，仍會死亡。由此可判定短鰭黃鱸在急速降溫下，極限耐受水溫為 12°C。

在緩慢降溫試驗中，短鰭黃鱸處於水溫 26°C 之對照組與到達 14°C 後，各時間點的紅血球數、血球容積比及血紅素變化如 Fig. 1。紅血球數在降溫後第 24 h 顯著低於對照組 ($1.01 \times 10^9/\text{ml}$) ($P \leq 0.05$)，48 及 72 h 則與對照組無顯著差異。血球容積比在第 0 h 與對照組並無顯著差異，在第 24 h (32.7%) 及 48 h (38.6%) 顯著低於對照組，72 h 則與控制組無顯著差異；而血紅素在降溫後第 0 h 與對照組並無顯著差異，24 h (15.63 mmol/ml) 及 48 h (17.31 mmol/ml) 則顯著高於對照組，在 72 h (21.08 mmol/ml) 又更高。

各組葡萄糖、乳酸、皮質醇濃度顯示於 Fig. 2。對照組的葡萄糖濃度與降溫後第 0 小時的實驗組並無顯著差異，但在降溫後第 24 及 48 h 則顯著高於對照組，在 72 h 則下降至 224.44 g/ml，與對照

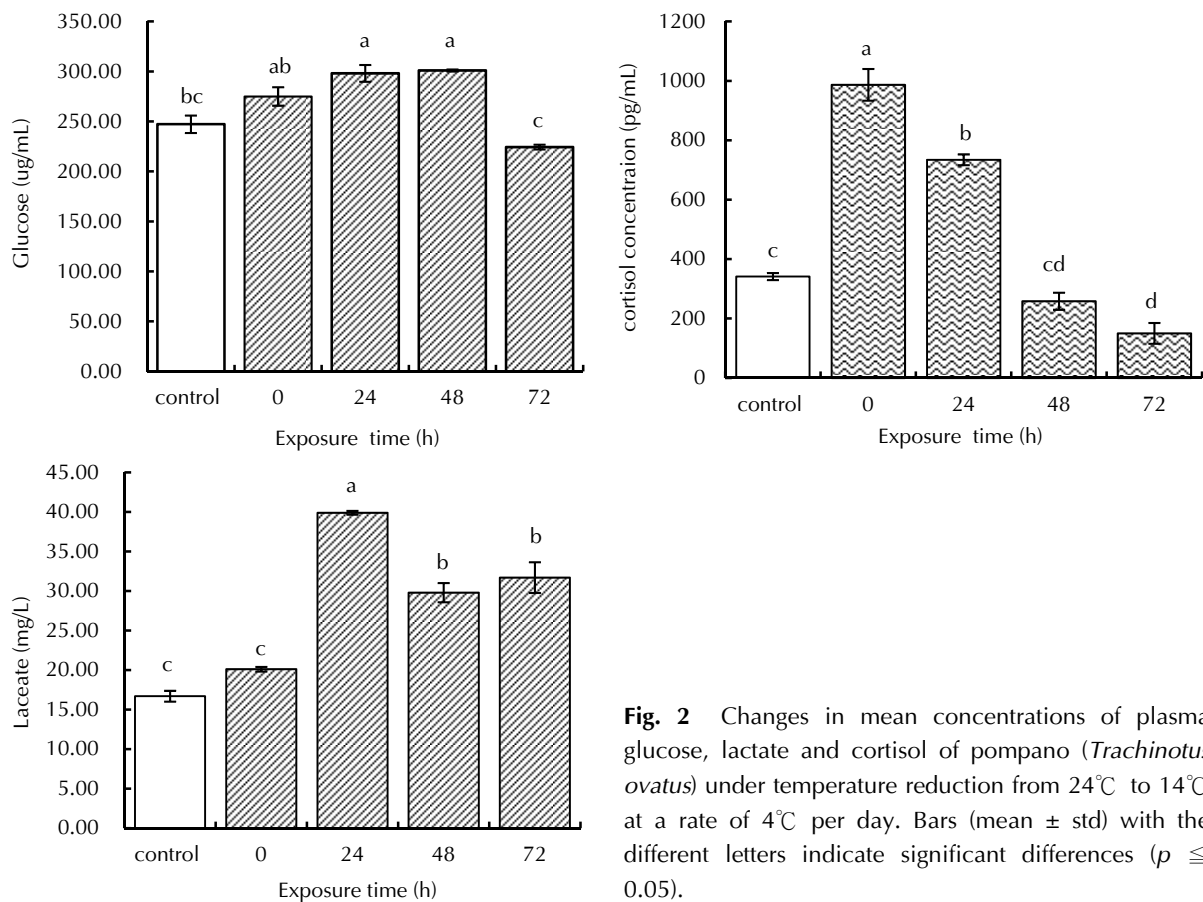


Fig. 2 Changes in mean concentrations of plasma glucose, lactate and cortisol of pompano (*Trachinotus ovatus*) under temperature reduction from 24°C to 14°C at a rate of 4°C per day. Bars (mean ± std) with the different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$).

組並無顯著差異。乳酸濃度結果測量，第 0 h (20.12 g/l) 並無顯著高於對照組，於 24 h (39.9 g/l) 則呈顯著上升，48 及 72 h (29.80 g/l 與 31.70 g/l) 有降低趨勢，但同樣顯著高於第 0 h 及對照組；在皮質醇濃度方面，第 0 h (987.1 pg/l) 顯著增高於其他組別，隨著時間增加，皮質醇濃度愈趨近於對照組 (341.6 pg/l)，72 h (150.4 pg/l) 則顯著低於對照組。

討 論

本急速降溫試驗觀察短鰭黃鱸於低溫環境下之行為表現，係參考 Donaldson *et al.* (2008) 彙整所分之六期。當水溫 20°C 以下時，魚體開始進入第一期，鰓蓋活動稍微減緩，且魚隻行為由群聚游動變成定點停滯，對於人為或外物觸碰刺激會快速游離。當實驗水溫逐漸降低到 12°C 後，0 ~ 6 h 有 57.14% 魚隻喪失部份平衡感且泳姿怪異，呼吸速率也減緩；經過 12 h 有 71.4% 魚隻出現相同行為，最後在 18 h 時，所有魚隻都到達喪失部

份平衡期，至 24 h 全數魚隻死亡。當黃鱸維持在 12°C 中 6 h，魚體的行為變化並無往下一階段的反射反應喪失期或延髓崩潰期進行，且短鰭黃鱸在移除緊迫因子，回復到 26°C 水溫環境後，可回復活動能力；但當水溫降溫低於 11°C 時，短時間內即使魚隻昏迷，且將昏迷之短鰭黃鱸再置回到室溫後則無法回復，最後死亡。因此 12°C 顯然是短鰭黃鱸耐受極限，本結果乎應張 (1995) 與何等 (2005) 的研究結果，他們指出長鰭黃鱸在水溫降至 14°C 達 2 天時，魚隻即有被凍斃的可能，而短鰭黃鱸則對相同的低水溫有較高的耐受度。

緩慢降溫試驗參酌上述短鰭黃鱸在急速降溫試驗中的耐受極限溫度 12°C，追蹤黃鱸於緩慢降溫情況下，於 14°C 水溫環境下血液生理各項參數的變化。結果顯示，紅血球數與血球容積比在剛到達 14°C 時，與常溫對照組並無差異，在第 24 h，則兩者呈現相同的變化趨勢，皆有顯著降低，然後再逐漸回復。至於血容積比方面，則在剛到達 14°C 時，與常溫對照組並無顯著差異，當從第

24 h 開始，數值逐漸上升，數據均顯示高於常溫對照組。此結果與劉 (2003) 在吳郭魚緩慢及急速降溫實驗有部份類似的變化趨勢。當處於 25°C 的吳郭魚以每小時 0.42°C 緩慢降溫至 16°C 時，紅血球數、血球容積比及血紅素於 24 h 有降低趨勢，48 h 後上升回復。在急速降溫試驗，水溫由 24°C 降至 11°C 後持續蓄養，紅血球數及血球容積比於 12 h 先有顯著上升後，24 h 則漸降低回復，但血紅素則於降溫後持續顯著上升。Houston and Rupert (1976) 在金魚的緩慢降溫實驗中發現，以每 2 天降 1°C 的速率，分別於 22°C、18°C、14°C 時採樣，結果於到達 22°C、18°C、14°C 時血紅素濃度與控制組並無顯著差異；但若水溫於 24 h 內急速由 28°C 降至 14°C，血紅素濃度會顯著升高。

一般來說，血液中氧氣的運送會受到紅血球數量及形狀大小的影響，也受血球中血紅素含量變化的影響 (Smit, 1981; Sadler *et al.*, 2000)。黃鱸在低溫緊迫下，體內血液生理調控反應機制啟動，細胞代謝需要更充足的氧氣供應。但在本實驗中，紅血球數、血容積比與血紅素濃度變化並不一致，前二者在第 24 h 下降再逐漸恢復，血紅素含量則持續增加，此可能是因為紅血球細胞在低溫下 24 h 受到緊迫，而產生破裂溶血，造成紅血球數及血球容積比降低，但血紅素卻仍在製造中，因此仍持續增加。但在 48 h 後，魚隻已漸漸適應低水溫環境，紅血球製造逐漸恢復，血球容積比也回復到原來的數值，但因持續處於低溫環境下，血紅素仍持續製造以應付細胞在低溫環境下，對於氧氣輸送的需求。

本研究中，黃鱸血液中的葡萄糖濃度在水溫降到 14°C 時略有上升，但是與常溫對照組並無顯著差異，要到 24 及 48 h 後，葡萄糖濃度才顯著上升，但在 72 h 又恢復。Sun *et al.* (1992, 1995)、Tanck *et al.* (2000) 在吳郭魚的降溫實驗中發現，實驗初期，血漿中的葡萄糖濃度變化並不顯著，要到第 24 h 後，血漿中的葡萄糖濃度才會顯著增加。Suarez and Mommsen (1987) 認為，在硬骨魚類中，高血糖現象是由於葡萄糖代謝路徑活化，如醣質新生作用、醣解作用、肝醣分解作用所致。顯然短鰭黃鱸於低溫環境下，血液中出現葡萄糖濃度增加的生理調節變化，是為了能產生足夠渡過緊迫低溫環境的能量。

Hyvarinen *et al.* (2004) 研究鮭魚在低水溫及回復正常水溫情況下緊迫反應的生理變化，他們將鮭魚由水溫 13.7 ~ 14.1°C 放入 0.2°C 的桶中 10 min，發現剛開始會有驚嚇泳動及拍打尾鰭現象，接著呈現昏迷狀態，血液中皮質醇、乳酸、葡萄糖濃度均顯著升高。本研究水溫降低至 14°C 時，第 0 h 皮質醇顯著增高，而後漸趨降低，與其他研究文獻中之硬骨魚類因溫度變化，血漿中皮質醇生理值之改變相同 (Lankforda, 2003)。在短時間內緊迫，如急速的降溫，血漿中皮質醇會大量增加，但在不造成致死的情況下，隨著生理適應及時間的延長，皮質醇則漸漸回復於正常值。本研究血液中的乳酸在 14°C 下 24 h 有顯著上升，48、72 h 也有顯著高於常溫對照組，Suski *et al.* (2006) 發現鮭魚血液在多變環境緊迫的情況下，如溫度降低或溶氧改變，及本身活動量增加的情形下，乳酸的濃度會顯著增加。Dean and Goodnight (1964) 認為低溫下乳酸量的增加，是因為乳酸擴散通過血球細胞膜速率降低所致。

魚隻於低溫度緊迫時初級生理反應階段為兒茶酚胺及皮質醇作判別並快速產生生理調節；另外次級生理反應階段為血液組織中之葡萄糖、乳糖、乳酸、離子等發生改變 (Donaldson *et al.*, 2008)。綜合本研究結果發現，短鰭黃鱸遭受低溫緊迫時可由血液學測定及生化分析，包括紅血球、乳酸及皮質醇濃度變化作為指標，並配合觀察低溫緊迫行為表現，來瞭解魚隻受緊迫程度。同時瞭解到短鰭黃鱸在未達致死溫度環境下，於低溫滯留時相關生理值所產生之適應。希望這些生理指標，未來可供選殖偵測耐低溫環境等緊迫相關基因研究作參考，提升短鰭黃鱸優質種魚培育之技術。

參考文獻

- 何源興，陳哲明，陳文義 (2005) 短鰭黃鱸的人工誘導產卵及其初期發育。水產研究, 13(2): 25-32。
- 施貽甄 (2005) 以蛋白質體學觀點探討低溫寒害對虱目魚之影響。國立高雄海洋科技大學水產食品科學研究所碩士論文, 1-6。
- 張其永，洪萬樹，邵廣昭 (2000) 網箱養殖卵型鯧鯉和布氏鯧鯉分類性狀的研究。台灣海峽, 19(4): 499-505。

- 張賜玲 (1995) 黃鱸鰻養殖. 台灣農家要覽漁業篇 (增修再訂版), 豐年社, 213-216.
- 陳冠如 (1991) 吳郭魚及鯉魚在低溫下的生理反應. 國立台灣海洋大學水產養殖研究所碩士論文, 30-31.
- 劉德樂 (2003) 低溫與氧化銨緊迫對吳郭魚血液之流變性、脂氧合酶及環氧合酶產物之影響. 國立臺灣大學水產食品科學研究所碩士論文, 32-43.
- 謝淑玲 (2002) 虱目魚和草魚在低溫刺激下之生理反應及調適研究. 國立臺灣大學漁業科學研究所博士論文, 42-47.
- Barton, B. A. (2002) Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biol.*, 42: 517-525.
- Bowser, P. R. (2001) Anesthetic options for fish. *In* Recent Advances in Veterinary Anaesthesia and Analgesia: Companion Animals, International Veterinary Information Service (www.ivis.org) (R. D. Gleed and J. W. Ludders eds.), Ithaca, New York, USA.
- Dean J. K. and C. J. Goodnight (1964) A Comparative study of carbohydrate metabolism in fish as affected by temperature and exercise. *Physiol. Zool.*, 37: 280-299.
- Donaldson M. R., J. S. Cook, D. A. Patterson and J. S. Macdonald (2008) Cold shock and fish. *J. Fish Biol.* 73: 1491-1530.
- Friedlander, M. J., N. Kotchabhakdi and C. L. Prosser (1976) Effects of cold and heat on behavior and cerebellar function in goldfish. *J. Comp. Physiol.*, 112A: 19-45.
- Houston A. H. and R. Rupert (1976) Immediate response of the hemoglobin system of the goldfish, *Carassius auratus* to temperature change. *Can. J. Zool.*, 54: 1737-1741.
- Hyvarinen P., S. Heinimaa and H. Rita (2004) Effects of abrupt cold shock on stress responses and recovery in brown trout exhausted by swimming. *J. Fish Biol.*, 64: 1015-1026.
- Lankford S. E., T. E. Adams and J. J. Cech (2003) Time of day and water temperature modify the physiological stress response in green sturgeon, *Acipenser medirostris*. *Com. Biochem. Physiol.*, 135 A: 291-302.
- Pickering, A. D. (1981) Introduction: the concept of biological stress. *In* Stress and Fish (A. D. Pickering ed.), Academic Press, London, 1-9.
- Sadler, J., R. M. G. Wells, P.M. Pankhurst and N. W. Pankhurst (2000) Blood oxygen transport, rheology and hematological responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon, *Salmosalar*. *Aquaculture*, 184: 349-361.
- Schreck, C. B., W. Contreras-Sanchez and S. M. Fitzpatrick (2001) Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3-24.
- Suarez, R. and T. P. Mommsen (1987) Gluconeogenesis in teleost fishes. *Can. J. Zool.*, 48: 405-421.
- Sun, L. T., G. R. Chen and C. F. Chang (1992) The physiological responses of tilapia exposed to low temperatures. *J. Therm. Biol.*, 17: 149-153.
- Sun, L. T., G. R. Chen and C. F. Chang (1995) Acute responses of blood parameters and comatose effects in salt-acclimated tilapias exposed to low temperatures. *J. Therm. Biol.*, 20: 299-306.
- Smit G. L., J. Hatting and J. T. Ferreira (1981) The physiological responses of blood during thermal adaptation in three freshwater fish species. *J. Fish Biol.*, 19: 147-160
- Suski, C. D., S. S. Killen, J. D. Kieffer and B. L. Tufts (2006) The influence of environmental temperature and oxygen concentration on the recovery of largemouth bass from exercise: implications for live-release angling tournaments. *J. Fish Biol.*, 68: 120-136.
- Tanck, M. W. T., G. H. R. Booms, E. H. Eding, S. E. Wendelaar Bonga and J. Komen (2000) Cold shocks: a stressor for common carp. *J. Fish Biol.*, 57: 881-894.
- Ragg, N. L. C. and H. H. Tayler (2006). Oxygen uptake, diffusion limitation, and diffusing capacity of the bipectinate gills of the abalone, *Haliotis iris* (Mollusca: Prosobranchia). *Comp. Biochem. Physiol.*, 143A: 299-306.
- Siddiqui, N. I., R. F. Akosung and C. Gielens (2006) Location of intrinsic and inducible phenoloxidase activity in molluscan hemocyanin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 348: 1138-1144.
- Travers, M. A., N. Le Goïc, S. Huchette, M. Koken and C. Paillard (2008) Summer immune depression associated with increased susceptibility of the European abalone, *Haliotis tuberculata* to *Vibrio harveyi* infection. *Fish Shellfish Immunol.*, 25: 800-808.
- Xue, J., Y. Xu, L. Jin, G. Liu, Y. Sun, S. Li and J. Zhang (2008) Effects of traditional Chinese medicine on immune responses in abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Fish Shellfish Immunol.*, 24: 752-758.
- Zar, J. H. (1999) *Biostatistical Analysis* (4th ed.) Prentice Hall International, Inc. Upper Saddle River, NJ.

Tolerance of Cold Shock Stress on Pompano (*Trachinotus ovatus*)

Fun-You Lin^{*}, Yu-Chen Wu, Tzu-Yun Shen, Jinn-Rong Hseu and Shinn-Lih Yeh

Mariculture Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

In this study, two experiments were conducted to investigate the tolerances of acute and chronic cold shock stress on pompano. The extreme tolerance of acute cold shock in pompano was 12°C. In the chronic cold shock experiments, the temperature was reduced from 26 °C to 14 °C within three days and then maintained at 14 °C. After 24 hours, the RBC number and hematocrit in the plasma were lower than the control set, and then increased after 48 hours. Hemoglobin increased with time and was higher than the control set after 72 hours. The concentrations of glucose, lactate, and cortisol in the plasma of the fish kept in the cold pond also revealed significantly differences to the control set.

Key words: pompano (*Trachinotus ovatus*), stress, homeostasis

*Correspondence: Mariculture Research Center, Fisheries Research Institute, Cigu, Tainan, Taiwan. TEL: (06) 788-0461 ext. 234; FAX: (06) 7881-597; E-mail: mariculture00@gmail.com