

低溫緊迫對魚類生理的影響及營養調適措施

劉媿媿

水產試驗所淡水養殖研究中心

前言

隨著全球氣候變遷的發生，極端寒冷和極端熱浪的頻率增加，對許多魚類、環境、地區和水產養殖系統造成了影響，中國、越南、孟加拉、埃及和地中海部分地區等主要的水產養殖國家預計將受到極端氣候事件的影響 (Reid et al., 2019)，例如在地中海北部，冬季霜凍的情況更加頻繁，有時氣溫會突然從約 20°C 下降到 10°C 以下 (Besson et al., 2016; Llorente et al., 2013)。儘管全球氣溫近年來呈上升趨勢，但在臺灣冬季仍然會出現低於 15°C 的情況，當養殖魚類長時間處於 15°C 以下的低水溫時，容易凍暈進而產生嚴重的死亡情況。未來極端低溫事件的頻率可能會增加，因此需要採取適當的措施進行預防。常見的禦寒措施包括搭設防風棚、設置越冬溝、灌沖地下水，有些養殖業者甚至會使用魚塢暖氣機來加溫，然而，這些方法仍然存在一些不足之處，例如在嘉義地區，由於地下水資源短缺，無法灌沖地下水，此外，防風棚在靠近沿海地區可能因風力太強而容易倒塌。因此，需要結合其他調節措施以提高禦寒效果，目前已有許多文獻指出，透過飼料營養補充可以提高魚類的低溫耐受能力，然而在此之前需要先了解魚類在低溫時的生理反應，故本文摘錄魚類低溫相關研究文獻，並簡述之。

魚類受緊迫後的反應三階段

大多數變溫硬骨魚類的生存與成長受到環境因子密切影響，魚類為了維持生理的恆定，已發展出一套適應機制來應對，例如行為或生理的改變。而依照受緊迫影響時間，可分為急性與慢性，急性影響的時間為數分鐘到數小時，慢性則為數天至數月，不論何者，魚隻對緊迫的反應皆可分為三個階段，依序為初級 (primary)、次級 (secondary) 與第三級 (tertiary) 反應。在初級反應中，血液的皮質醇 (cortisol) 含量通常會提高，皮質醇又稱為緊迫賀爾蒙，當動物受到刺激時會分泌以進行生理調控；次級反應主要影響的是免疫與代謝層面，例如血糖與乳酸的增加、血漿中游離脂肪酸的變動、熱休克蛋白 (heat shock protein) 增加，而在慢性緊迫的反應中會造成氧化損傷 (oxidative damages) 與離子的失衡；若緊迫持續影響下，則會進入第三級反應，例如魚隻攝食率下降、容易受到驚嚇，在慢性緊迫中甚至會影響成長與生殖表現，魚隻對疾病感受性亦增加，最終造成存活率下降 (圖 1)。

魚類低溫緊迫的生理調控

當魚隻短時間或長時間暴露在亞適 (sub-optimal) 的溫度下，牠們會改變身體的



圖 1 魚隻受緊迫後的生理反應 (參考自 Islam et al., 2021)

三酸甘油酯、主要中性脂質 (neutral lipid) 以及磷脂質的不飽和組成 (Hazel et al., 1988; Zehmer et al., 2005), 包含重塑 (remodelling) 細胞膜上的脂肪酸組成, 以利組織可維持在適合的生理優勢 (Hazel et al., 1995; Guschina et al., 2006)。而在低溫下藉由將脂肪酸去飽和化作用 (desaturation) 可維持細胞膜的流動性, 另藉由調整飽和與不飽和脂肪酸的比例達到細胞膜上脂質的恆定 (Mansilla et al., 2008; Miller et al., 2010) (圖 2)。以冷水魚來說, 牠們能在低水溫的環境下活存及維持正常生理機能, 是因為體組成的脂肪酸主要為不飽和脂肪酸, Velansky 等 (2007) 自日本海蒐集淺色床杜父魚 (*Myoxocephalus jaok*) 與細身寬突鱈 (*Eleginus gracilis*) 等 5 種冷水性魚類的肌

肉、肝臟與鰓, 發現各組織細胞膜上的三個磷脂質種類皆以磷脂膽鹼 (phosphatidylcholine, PC) 最高, 其次是磷脂醯乙醇胺 (phosphatidylethanolamines, PE), 進一步分析磷脂膽鹼上的脂肪酸組成, 皆多以長碳鏈的 n-3 多元不飽和脂肪酸 (n-3 polyunsaturated fatty acids, PUFA) 比例最高, 例如 20:5n-3 (EPA) 與 22:6n-3 (DHA)。

虱目魚 (*Chanos chanos*) 是臺灣重要的經濟性養殖魚種, 分類屬虱目魚亞目、虱目魚科, 僅 1 科 1 種, 為暖水性的廣鹽性硬骨魚, 然而冬季卻容易受到低溫而造成損失。Hsieh 等 (2003) 將虱目魚以每小時下降 0.5°C 的速率, 自 25°C 降溫至 15°C, 並在 15°C 下持續觀察 7 天, 結果發現虱目魚的血醣和乳酸皆在 1 天後達到最高峰, 其中血糖在 2

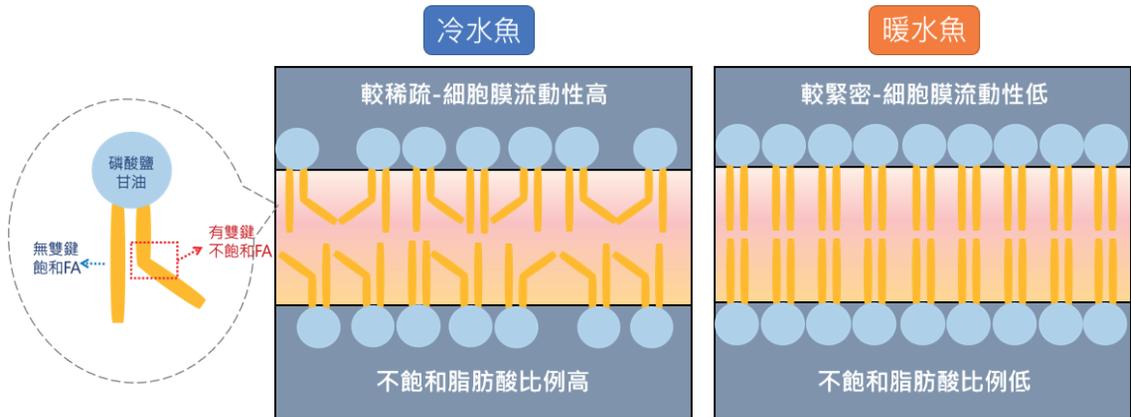


圖 2 不同水溫下細胞膜上的雙層磷脂質組成 (改繪自 Clark et al., 2018; Nagy et al., 2017)

天後急速下降並與對照組 (25°C) 持平，而乳酸則是在 3 天後降到與對照組相同，可見虱目魚為了維持恆定會進行調控以產生所需的能量與維持血液酸鹼值平衡；而肝臟是重要的代謝器官，分析虱目魚肝臟中的脂肪酸去飽和酶 (stearoyl-CoA Desaturase 1, SCD 1) 活性，其是將飽和脂肪酸轉換成不飽和脂肪酸的關鍵酵素，發現低溫 3 天後試驗組 (15°C) 活性明顯高於對照組，進而分析 PUFA 含量發現，試驗組在低溫 2 天後與對照組開始有顯著差異，之後再緩慢下降，因此推論虱目魚在低溫緊迫時，可能需要較多的 PUFA。

有趣的是，不同鹽度下的養殖虱目魚對低溫的耐受能力也會不同，Chang 等 (2021) 以 TUNEL 螢光標記法檢測 (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) 魚隻在低溫下肝細胞的細胞凋亡 (apoptosis) 狀況，發現在相同低溫條件下，淡水養殖虱目魚的肝細胞出現的萎縮程度比海水虱目魚更高，並且對 TUNEL 檢測有更多正反應，凋亡蛋白 (caspase-3) 活化程度也

更高，即細胞凋亡的程度更多，反觀海水虱目魚則沒有觀察到氧化還原失衡和細胞凋亡反應。

溫度變化可能會增加水生生物體內自身產生活性氧化物 (ROS) 的形成速率，尤其是在其最適溫度範圍之外的熱或冷環境中 (Cheng et al., 2015b; Heise et al., 2006; Pörtner et al., 2007; Wu et al., 2015)，而細胞內的 ROS 例如：超氧陰離子 ($\bullet\text{O}_2^-$)、過氧化氫 (H_2O_2) 及氫氧自由基 ($\bullet\text{OH}$) 等，可以被抗氧化酶或分子中和，例如：超氧化物歧化酶 (SOD)、穀胱甘肽過氧化物酶 (GPx)、維生素 C 和 E 等。試驗發現，在 18°C 低溫下淡水虱目魚的 SOD 明顯高於海水虱目魚，因此淡水虱目魚會比海水虱目魚的低溫耐受能力更差，肝臟功能受損的程度也較大。

營養補充的調適措施

功能性和補充性飼料添加物可望幫助魚類應對氣候變遷帶來極端溫度事件 (de Mattos et al., 2019; Hassaan et al., 2019)。例如

可在飼料中補充魚油、亞麻油酸 (18:3n-3)、 γ -次亞麻油酸 (18:3n-6)、蜂膠萃取物 (propolis extract)、維生素 C、E、磷脂質與牛磺酸 (taurine) 等。

一、油脂類

Liu 等 (2001) 以不同油脂組合製成三種微粒飼料並投餵金頭鯛 (*Sparus aurata*) 魚苗 15 天，分別為魚油 + 大豆卵磷脂組、純 DHA 油 + 大豆卵磷脂及魚油 + 棕櫚酸 (palmitic acid) 組，隨後進行低溫 (15°C)、離水 (15 秒) 與耐鹽度 (45 psu) 試驗，結果發現三種緊迫試驗中皆以魚油 + 大豆卵磷脂組活存率最高，在低溫部分活存率可達 65%，魚油與棕櫚酸組合次高。魚油主要由長碳鏈的不飽和脂肪酸 (long-chain polyunsaturated fatty acids, LC-PUFA, \geq C20) 組成，尤其以 n-3 系列居多，因此或許可藉由補充富含 EPA (20:5n-3) 與 DHA (22:6n-3) 的魚油來提高魚隻的耐寒能力。而大豆卵磷脂 (soybean lecithin) 為一複合物，主要成分是磷脂質，磷脂質種類含量由高到低依序為 PC、PE 及磷脂酰肌醇 (Phosphatidylinositol, PI)，其中 PC 是膽鹼 (choline) 的前驅物，它參與了神經傳遞物質乙醯膽鹼 (acetylcholine) 的合成，Hebb 等 (1972) 研究發現，冷適應 (6°C) 的金魚之乙醯膽鹼轉移酶對膽鹼的親和力隨水溫的下降而上升，推測魚隻在低溫下需較多的膽鹼來合成乙醯膽鹼神經傳遞物質。

金目鱸 (*Lates calcarifer*) 最適溫度為 30°C，當溫度低於 22°C 時會影響其成長，藉由控制金目鱸體內的脂質與脂肪酸組成可使其在亞適溫環境生長。Alhazzaa 等 (2013) 在飼料中分別添加藍薊籽油 (echium oil)、菜籽

油 (rapeseed oil) 及魚油餵食金目鱸，藍薊籽油富含 stearidonic (18:4n-3) 與 18:3n-6，菜籽油則缺乏 LC-PUFA，投餵 5 週後降溫至 20°C，結果發現在 30°C 下餵食魚油組可累積 LC-PUFA，然而卻會在溫度降低時快速消耗掉，而藍薊籽油組與菜籽油組則會累積 18 碳的 PUFA 並儲存在各組織，溫度降低時它們先被調動到肝臟，接著再小程度的轉移到肌肉，接著藉由生物轉化路徑形成 LC-PUFA，這使得肌肉與臟器中的細胞膜也因此可以保持流動性，因此推論當飼料中脂肪酸基質更接近 LC-PUFA 時，金目鱸對亞適溫度的耐受性會增強，藉由餵食具有 3 個雙鍵以上的 PUFA 可增加金目鱸對低溫的耐受性。

二、維生素類

維生素 C 又稱為抗壞血酸 (ascorbic acid)，在許多生物體組織中可作為強還原劑 (reducing agent) 或抗氧化劑 (antioxidants)，並參與了許多生理過程，它也是羥化作用 (hydroxylation) 重要的輔酶，是生成皮膚膠原蛋白重要的因子，然而魚隻無法自行形成維生素 C，必須從食物或環境中獲得。冬季除了因低溫造成魚隻昏迷外，甚至會造成體表凍傷，使得滲透壓難以調節，當水溫回溫後也容易造成細菌或真菌感染，Wahli 等 (2003) 研究指出，投餵虹鱒含有維生素 C 的飼料 4 週 (150 mg/kg 以上)，有助於虹鱒因冬季低溫凍傷的傷口癒合，其癒合過程包括血管重建 (revascularisation)、真皮結構與纖維的增生。

大多數魚隻面臨低溫緊迫時，因低溫使細胞中粒線體內的代謝變慢而使 ROS 產量增加，這會造成氧化壓力，Lu 等 (2019) 以

斑馬魚作為模式魚種，將魚隻快速暴露於低溫中，其肝臟的氧化壓力會增加進而造成死亡，在飼料中補充硫辛酸 (α -lipoic acid) 或還原型穀胱甘肽 (reduced glutathione) 等抗氧化劑，投餵斑馬魚 3 週可減少組織損害與氧化壓力；而以斑馬魚肝臟細胞株 (zebrafish liver cell line) 進行體外試驗發現，細胞會受 H_2O_2 (1 μ M) 的影響而使氧化壓力增加，當在細胞中添加維生素 C (25 mM) 後氧化壓力減少，對低溫的耐受性也會復原。

維生素 E 又稱為生育酚 (tocopherol)，屬於脂溶性維生素抗氧化劑，隨著水溫下降，魚隻對維生素 E 的需求量會增加，在飼料中補充維生素 E 可以避免細胞損傷，增加魚隻對低溫抵抗力。Richard 等 (2016) 以磷脂質、維生素 C、E 與牛磺酸製成金頭鯛的冬季飼料，發現可改善魚隻的肝臟內氧化壓力狀態、減少內質網壓力以及具有更高的有氧代謝能力與醣質新生的潛力。

三、其他

左旋肉鹼 (L-carnitine)，一般認為是一種胺基酸，主要功能是將長鏈脂肪酸運送到粒線體中，使粒線體可將脂肪酸氧化以產生能量。在飼料中補充左旋肉鹼對魚類的正面影響包括：(1) 促進魚隻成長，尤其補充在高脂質的飼料中，具有蛋白質節約作用；(2) 提供保護，避免過多的氨氮 (ammonia) 和異型生物質 (xenobiotic) 的傷害；(3) 可減緩因極端水溫所造成的緊迫，並提高適應能力等。在虹鱔冷適應的過程中，除了增加粒線體磷脂質的多元不飽和程度，也提升骨骼肌粒線體氧化丙酮酸和醯基肉鹼 (acylcarnitines) 的氧化能力 (Guderley et al., 1997)；溫度耐受

力部分，在飼料中補充左旋肉鹼餵食暖水性魚矛耙麗魚 (*Pelvicachromis pulcher*)，結果發現不同劑量 500、1,000 和 2,000 mg/kg，皆可提高魚隻在冷攻擊 (cold shock) 中的活存率 (Harpaz et al., 1999)。

蜂膠 (propolis) 是一種由蜜蜂所分泌的植物混合物，具有超過 200 種生物活性物質 (Morsy et al., 2015; Acar, 2018)，具抵抗革蘭氏陽性菌、病毒、真菌和寄生蟲等特性，通常被當作是免疫調節劑和抗發炎，而這些功能主要與其酚類成分有關，如黃酮類化合物 (flavonoids)。以蜂膠萃取物 (propolis extract) 添加入飼料中作為魚類冬季飼料，可提高低溫時的活存率及成長表現與飼料的利用率，並強化低溫時的免疫反應。Ehab 等 (2019) 以蜂膠萃取物製成 1、2、3 與 4 g/kg 不同劑量的吳郭魚飼料，並在 16–19°C 低溫條件下蓄養 8 週，發現以 4 g/kg 組的活存率與成長最佳；而血漿皮質醇與血糖濃度與添加量呈負相關，代表魚類的緊迫與抵抗緊迫所需能量隨劑量增加下降；基因表現方面，肝臟中去飽和 (δ -9-desaturase) 基因的相對表現量隨著添加量增加而增加，添加蜂膠萃取物有利於將飽和脂肪酸轉換成不飽和。

結語

在飼料中添加適當之油脂與營養補充物，可以增強魚類對環境壓力的耐受性，若再配合適當的養殖管理和禦寒措施，並且參考中央氣象署的低溫預報，即早做好應對，將有助於提高魚類對低溫的耐受性以減少經濟損失。