

我們的R&D

溫鹽效應對石斑魚眼胞期胚體發育之影響

葉信利・朱永桐・許晉榮・丁雲源

台南分所

一、前言

目前，石斑魚育苗發生高死亡率之危險期皆能判斷，然引起之原因卻仍未明，一般多認為與營養上不飽和脂肪酸缺乏(Dhert et al., 1990)、餌料生物不足、水質管理不當與氣候劇變有關(Hussain et al., 1990)。另外，有人發現石斑苗特殊生態習性如喜陰暗處、隨成長改變棲息水深與無法忍受壓力劇變或操作不當亦可能導致低成功率(Ukawa et al., 1966; Kayano et al., 1986a; 1986b)。這些研究幾乎全集中於稚魚或魚花之培育上，忽略了在胚體發育過程中受精卵更容易受到環境因子之壓迫(stress)所產生的影響，而此影響往往是造成魚花未孵化就已大量死亡及以後育苗之高畸形、低孵化、不攝餌、低成功率之主因。特別是溫、鹽度對胚體發育之刺激對孵化率及以後育苗之成功率有很大關係。通常魚類之眼胞期胚體對外界因子變化非常敏感，常因一小刺激導致胚體發育中斷或死亡。所以，先就石斑魚胚體之發育受外界因子影響著手，選擇眼胞期(optic vesicle)胚體配合溫、鹽度之不同刺激以瞭解環境因子對胚體發育之影響，冀藉此瞭解石斑魚胚體發育對溫、鹽度變化之忍受力及調整溫、鹽度能否有助於胚體之孵化與育苗成功率。

二、材料與方法

本試驗係以溫、鹽度兩因子刺激點帶石斑(*Epinephelus coioides*)眼胞期胚體，以進行環境因子刺激試驗，並觀察其孵化情形及畸形率。溫度分為17、20、ambient、29°C等4組，以恆溫水槽控溫，其中ambient組則不控溫，隨室溫改變溫度，試驗時室溫約25°C。鹽度則分為10、35、50 ppt等3組，並與各溫度配合成12處理組，每種溫、鹽度組合採3重複試

驗。試水量為800 ml裝於1000 ml燒杯中，不打氣，置50個眼胞胚體發育期之受精卵。同時以上述條件之溫、鹽處理各1組，使用較多卵量作為定時觀察胚體孵化過程及時間之用。整個試驗以魚花孵出後24小時為計算點，試驗結果以雙因子變方分析(two factor ANOVA)分析，結果平均值差異則採Tukey多重比較(Tukey multiple comparsion test)，顯著水準為95%。

三、結果與討論

(一) 溫、鹽度對胚體孵化時間之影響

溫、鹽度對石斑魚眼胞期胚體孵化時間之影響如表1所示，由4種溫度及3種鹽度組合之12處理組中，以29°C鹽度10 ppt組最快停止發育，之後為其他溫度之10 ppt組全在13小時內死亡。能孵化的胚體以高溫(29°C)之35及50 ppt組之13小時最快，其次為常溫(ambient)之35及50 ppt組之17小時，最長為20及17°C組需時39小時。由上述結果顯示高溫(ambient以上之溫度)及高鹽(35 ppt以上之鹽度)對孵化時間影響甚鉅，能縮短胚體孵化之時間；反之低鹽(10 ppt)則在任何溫度下對石斑魚眼胞期胚體之孵化皆造成很大傷害，低溫處理只能延後其死亡時間及進行到較後期發育而已，無助於胚體之孵化。

由試驗得知鹽度對胚體發育期之影響在不同溫度作用下，亦導致孵化進行之差異，石斑魚對於鹽度變化適應極廣，可以生活在11—41 ppt範圍內，以往葉等(1992)曾以不同發育階段之受精卵置於10—45 ppt鹽度中，發現在所選之原腸期(gastrula)、4體節期(4 somites)、9體節期(9 somites)及19體節期(19 somites)等之胚胎中，以19體節期之胚胎在以後之孵化率最佳，而以原腸期較差。另鹽度高

表1 溫、鹽度對石斑魚眼胞期(optic vesicle)胚體刺激之胚體發育時間(小時)

TEMPERATURE SALINITY(ppt)	10	17°C			20°C			AMBIENT		29°C		
		35	50	10	35	50	10	35	50	10	35	50
Closure of blastopore	3											
Seven somites	5	3 5	3	3 5				3				
Auditory placodes	7		5		3 5	3	5 7	3 5	3	--	3	3
Auditory vesicle	9	7	7	7					5			
Kupffer's vesicle disappear	11	9	9 11		7	5 7		7	7	5	5	
Lenses formed	13	11		9	9	9	---	9	9			
Elongation of tail	---	13 22	---	11 22	11 13	11 13				7	7	
Motility of embryo	26.5 30.5		26.5 30.5	22 30.5	---			11 13	11 13	9	9	
Pre-hatching								15	15	11	11	
Hatching	39		39	39				17	17	13	13	

低亦影響到胚胎孵化時間之長短，低鹽度之胚胎發育或孵化所需時間皆較長。就石斑魚而言，其受精卵雖為浮性卵，但在鹽度25 ppt時已大部分下沉，要在鹽度30 ppt以上時浮性卵才會增加，甚至孵化出之魚苗也大多具此類似特性，本次試驗鹽度影響之結果亦有相似現象。

(二)溫、鹽度對胚體孵化影響

溫、鹽度對眼胞期胚體發育之影響以孵化率(正常、異常、死亡魚花)及未孵化率(不正常、正孵化、死卵)等結果來分析。孵化率在溫、鹽兩因子不同作用下經雙向變方分析其交互作用，結果顯示具有顯著差異($p<0.05$)，溫度及鹽度對胚體孵化率之影響亦同樣有顯著差異($P<0.05$)；未孵化率統計分析結果與孵化率之結果相同。各處理組間平均孵化率之差異比較(tukey test)，在17°C組中鹽度10及35 ppt間無差異，20°C及29°C組中3種鹽度間皆有差異，常溫組(ambient)則高鹽度(35及50 ppt)之間無顯著差異(圖1)。各處理組之平均孵化率，最高為常溫鹽度35ppt組的90.55%，其次為同溫度50ppt組之85%與29°C鹽度50ppt組之82%，而低溫情形(20°C以下)之孵化率全未達46%。

總孵化率之正常孵化率之比較如圖2所示，以常溫(ambient)常鹽(35 ppt)組之85%最高，其次為高溫(29°C)常鹽(35 ppt)組之28%，其餘皆在7%以下，而17°C之各處理組無正常孵化之魚花。此現象由圖3及圖4可看出各處理組具有高總孵化率而正常孵化率卻低之原因，在於這些處理組雖胚體能孵化(低鹽組)，但孵化後之魚花異常率偏高(圖3)，幾乎與總孵化率(圖1)相近。另部分處理組(高鹽組)低正常孵化率之原因為孵化後魚花大量死亡(圖4)，尤其是在溫度較高(常溫以上)又高鹽之情形特別顯著。

未孵化胚體之情形分不正常、正孵化、死卵3種，不正常未孵化之胚體只出現於最低及最高溫組(圖5)，又以最低溫組(17°C)之鹽度35 ppt組的24%及10 ppt組之14%偏高。未孵化之正孵化胚體亦只出現在低溫組(20°C以下組)，而且為低鹽情形下才會發生(圖6)。在17及20°C之鹽度10 ppt組其值為21.4%及25%，只佔整個未孵化之小比例。然發生死卵之各處理組，死卵佔總未孵化之比例則甚高，由圖7顯示除低溫低鹽處理組外，其餘則兩者數據非常接近，尤其高鹽組更明顯，顯示未孵出之

胚體在以後大部分仍無法活存，特別是又受到高鹽刺激者。從整個試驗未孵化結果組成看，眼胞期胚體對溫、鹽度之刺激非常敏感，特別是低溫高鹽更造成嚴重之壓迫(stress)。

四、結論

石斑魚種苗培育研究經這幾年來不斷努力，雌雄種魚雖能在養殖池自然交配繁殖，對於受精卵之取得亦比以往容易，但是育苗之成功

率仍然很低，育苗技術成為其另一重要關鍵。溫、鹽度之變化是石斑魚適應環境的重要限制因子，且對胚體發育之刺激可能關係到魚苗孵化率及以後育苗之成功率。從試驗結果得知石斑魚眼胞期胚體在不同溫、鹽度之刺激下對胚體發育影響甚鉅，其忍受力強弱及借助調控溫、鹽度能否有助於胚體之孵化及育苗成功率實有繼續深入探討之必要。

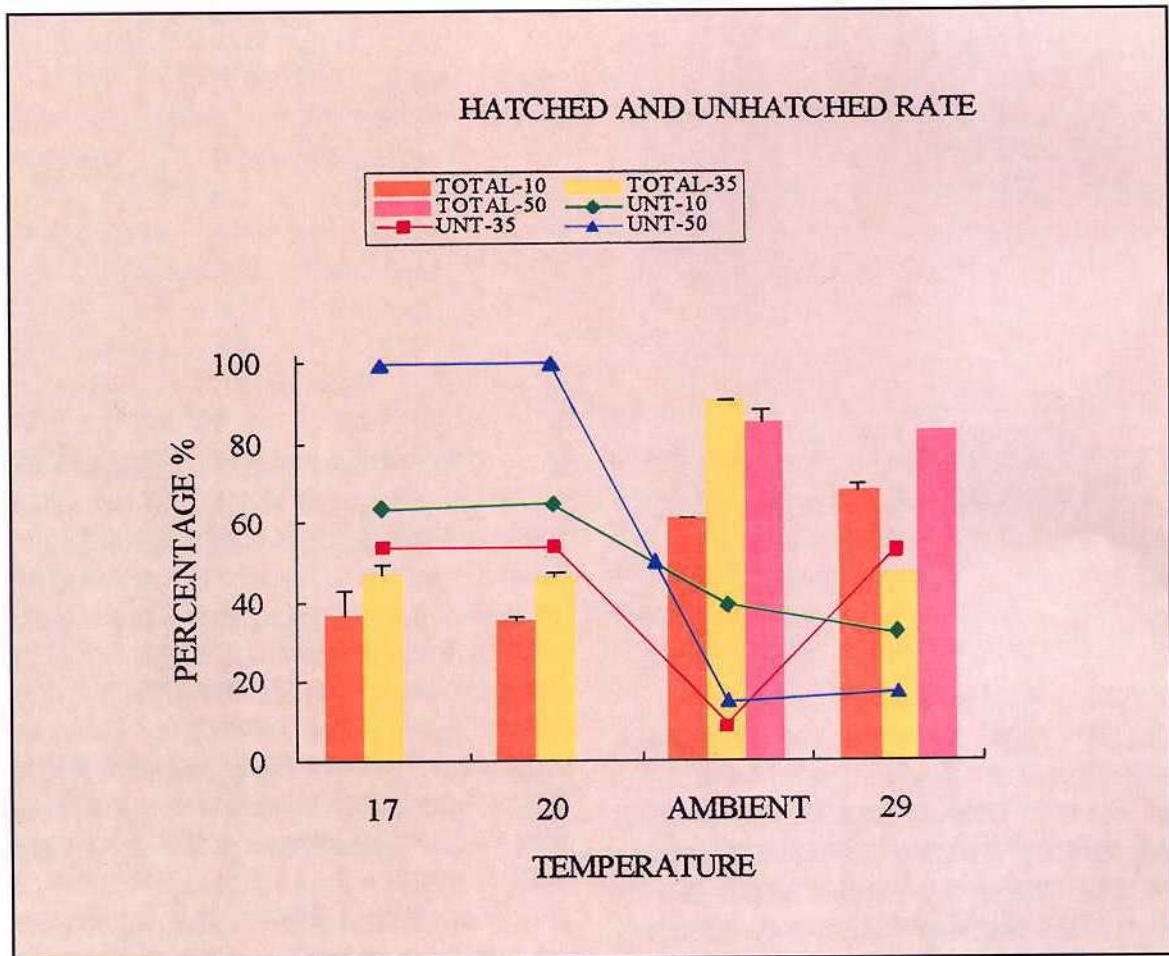


圖 1 石斑魚眼胞期胚體受溫、鹽度刺激之總孵化率及總未孵化率

Total-10: 鹽度10 ppt之總孵化率

Total-35: 鹽度35 ppt之總孵化率

Total-50: 鹽度50 ppt之總孵化率

UNT-10: 鹽度10 ppt之總未孵化率

UNT-35: 鹽度35 ppt之總未孵化率

UNT-50: 鹽度50 ppt之總未孵化率

資料表示 $M(X) \pm SEM$

-- * -- ($p < 0.05$)

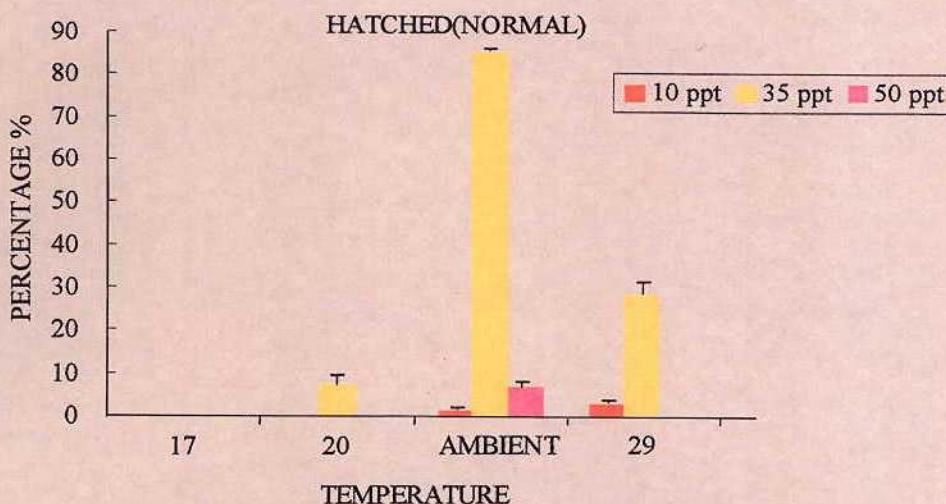


圖 2 石斑魚眼胞期胚體受溫、鹽度刺激之正常魚花孵化率

10 ppt:鹽度10 ppt之正常魚花孵化率

35 ppt:鹽度35 ppt之正常魚花孵化率

50 ppt:鹽度50 ppt之正常魚花孵化率

資料表示 $M(X) \pm SEM$

-- * -- ($p < 0.05$)

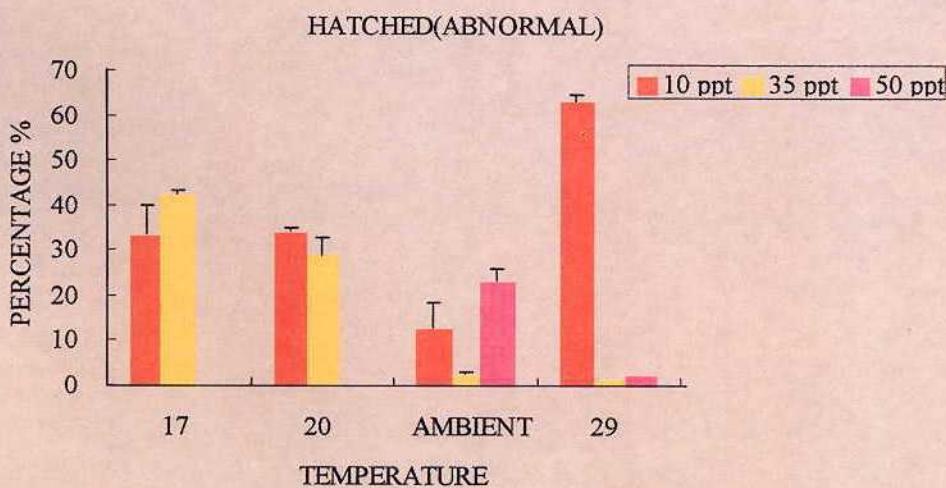


圖 3 石斑魚眼胞期胚體受溫、鹽度刺激之孵化不正常魚花率

10 ppt:鹽度10 ppt之孵化不正常魚花率

35 ppt:鹽度35 ppt之孵化不正常魚花率

50 ppt:鹽度50 ppt之孵化不正常魚花率

資料表示 $M(X) \pm SEM$

-- * -- ($p < 0.05$)

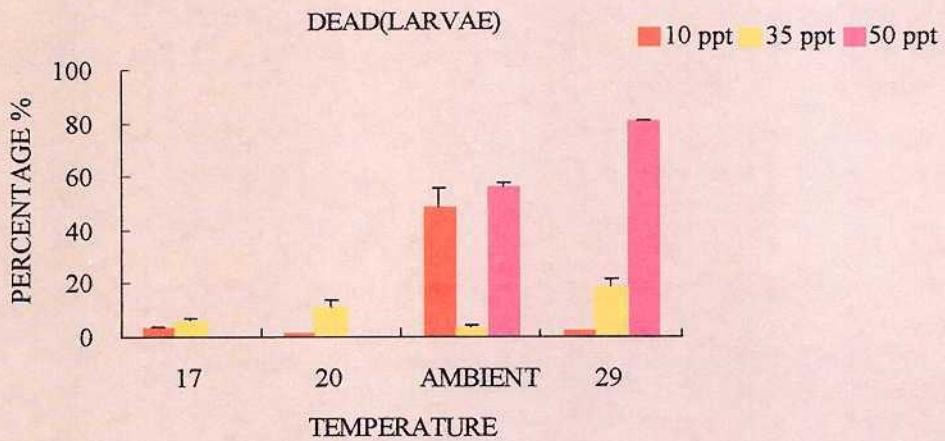


圖 4 石斑魚眼胞期胚體受溫、鹽度刺激之孵化後死亡魚花率

10 ppt: 鹽度10 ppt之孵化後死亡魚花率

35 ppt: 鹽度35 ppt之孵化後死亡魚花率

50 ppt: 鹽度50 ppt之孵化後死亡魚花率

資料表示 $M(X) \pm SEM$

-- * -- ($p < 0.05$)

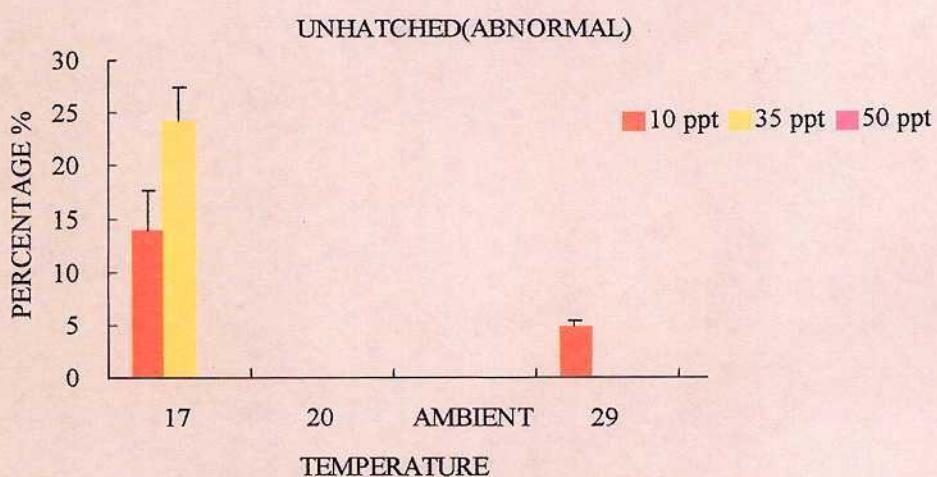


圖 5 石斑魚眼胞期胚體受溫、鹽度刺激之未孵化不正常卵率

10 ppt: 鹽度10 ppt之未孵化不正常卵率

35 ppt: 鹽度35 ppt之未孵化不正常卵率

50 ppt: 鹽度50 ppt之未孵化不正常卵率

資料表示 $M(X) \pm SEM$

-- * -- ($p < 0.05$)

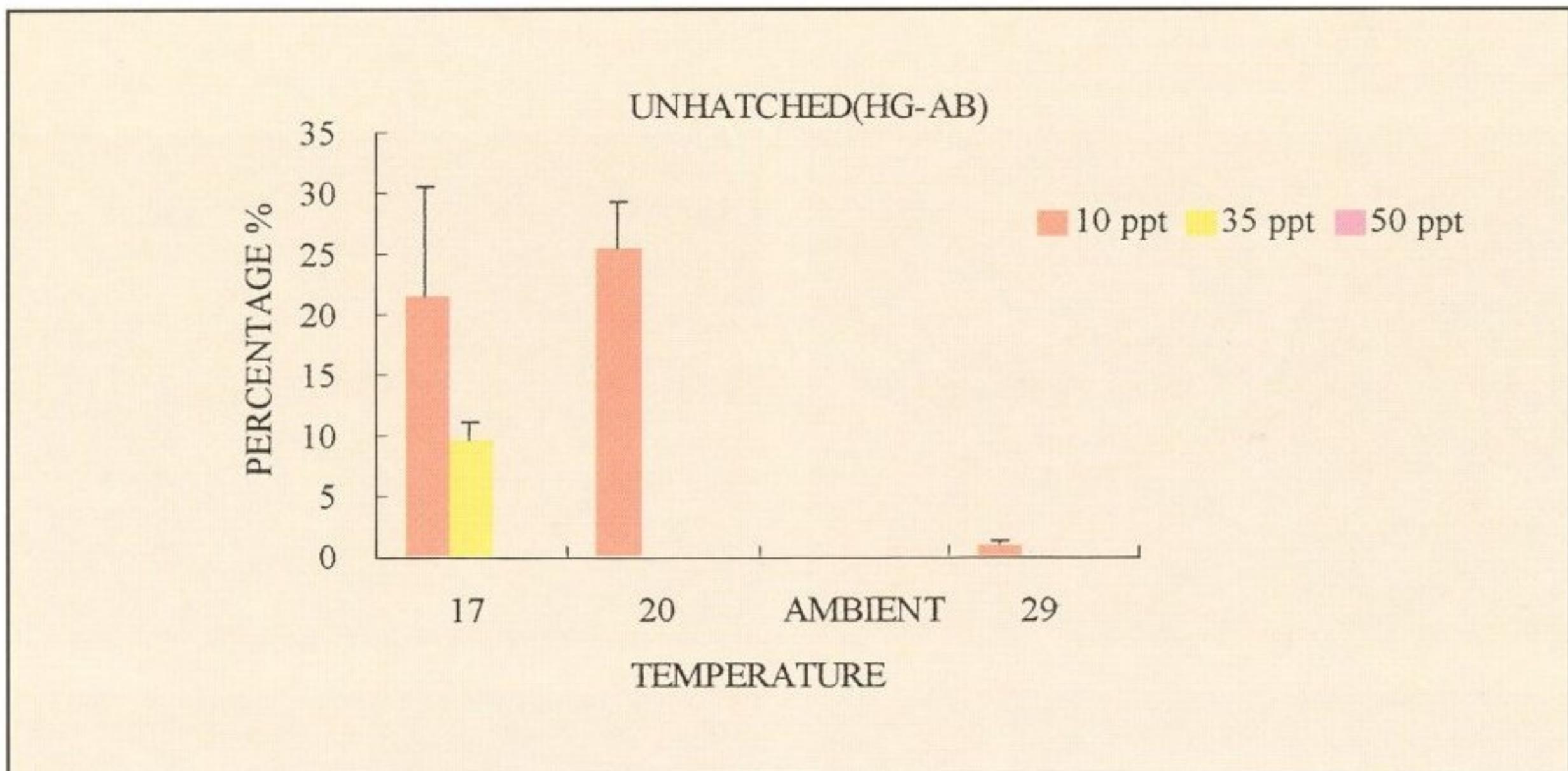


圖 6 石斑魚眼胞期胚體受溫、鹽度刺激之正孵化不正常卵率

10 ppt: 鹽度10 ppt之正孵化不正常卵率

35 ppt: 鹽度35 ppt之正孵化不正常卵率

50 ppt: 鹽度50 ppt之正孵化不正常卵率

資料表示 $M(X) \pm SEM$

-- * -- ($p < 0.05$)

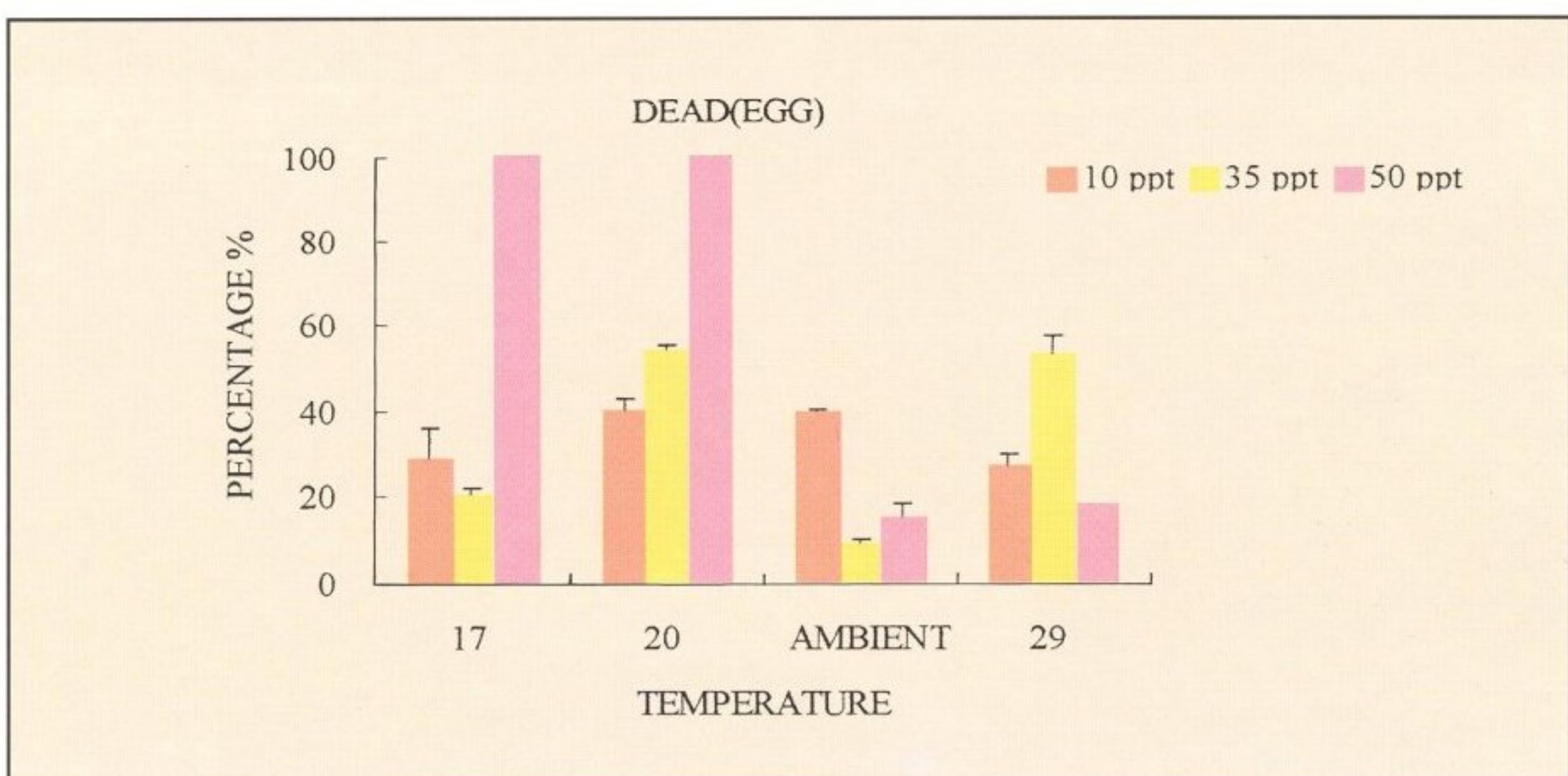


圖 7 石斑魚眼胞期胚體受溫、鹽度刺激之發育中止死卵率

10 ppt: 鹽度10 ppt之發育中止死卵率

35 ppt: 鹽度35 ppt之發育中止死卵率

50 ppt: 鹽度50 ppt之發育中止死卵率

資料表示 $M(X) \pm SEM$

-- * -- ($p < 0.05$)