

網紋招潮蟹 (*Uca arcuata*, De Haan) 肝胰臟的離體培養及其耗氧量的測定

史金燾 黃慧如 卓逸民

國立臺灣師範大學生物學系

摘要

台灣省淡水紅樹林沼澤區內雄性網紋招潮蟹的肝胰臟，經離體培養一至四天後，以 Oxygen monitor (YSI, Model 53) 測得其耗氧量為 $0.4735 \pm 0.1311 \text{ mg O}_2 / \text{g of tissue/hr}$ 。雖在不同季節中採取雄蟹的組織測試，其耗氧量並無顯著的差異，文中對此測試系統的建立及應用加以討論。

關鍵詞：*Uca arcuata*, Hepatopancreas, Oxygen consumption.

緒言

甲殼類的肝胰臟是消化道中一個很大的臟器，具有協助消化食物和儲存營養的功能。螃蟹肝胰臟內儲存的脂質和肝糖均甚豐富 (Bahn, 1984; Robinson and Dillaman, 1985)，在雌性螃蟹體內，這些營養又和生殖腺的發育有關，生殖期中，可由肝胰臟供給生殖腺所需的物質 (Kyomo, 1988)。另有報告稱蟹類肝胰臟中有許多與代謝有關的酵素 (Dharale and Masurekar, 1986; Keeran and Lee, 1987; Batel et al, 1988), Sanders (1983a; 1983b) 甚至在龍蝦 (*Homarus americana*) 的肝胰臟中分離出類胰島素的物質 (Insulin-like peptide)，同時發現肝胰臟本身也會受到此激素的刺激而能提升肝糖的合成 (Keller and Andrew, 1973; Sanders, 1983b) 謝 (1984) 也在草蝦 (*Penaeus mondon*) 的肝胰臟中分離出類甲釋素的物質

(Thyrotropin releasing hormone-like substance)，並對老鼠的腦垂體有生物效應。最近 Amiard-Triquet et al, (1986) 更在 *Carcinus maens* 的肝胰臟內發現有類腦啡 (Methionine enkaphalin-like hormone)，其含量會受到重金屬污染的影響。因此，蟹類的肝胰臟實為其重要器官之一，此器官的生理狀況，亦能代表着蟹體的生理狀態。此篇報告是以網紋招潮蟹 (*Uca arcuata*) 的肝胰臟為材料，作組織離體培養 (In vitro)，測定在正常的鹽度、溫度及含氧量狀況下的耗氧量 (Oxygen consumption)，以建立一個測試系統，便於日後判斷各種因子，如激素、重金屬、農藥等對其耗氧量的影響，作為一種簡易而正確的方法和指標。

材料與方法

本實驗採用台灣省淡水 (竹圍) 紅樹林沼澤區內的雄性網紋招潮蟹 (*Uca arcuata*, De Haan)，其背甲寬均在

2.5 - 3.0 cm之間，採集地點在蘇和呂（1984）所定的C及G區內。將蟹攜返實驗室後，置於大型塑膠盆內，盆中有泥沙（採自紅樹林區內）及半鹹水，將盆放在生長箱中（ $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ）至少一天，以待螃蟹的生理狀況趨於穩定。

解剖前先將雄蟹放在冰箱內麻醉（ 4°C ），以小剪刀沿蟹背甲的後緣及左、右側剪開，翻開背甲露出生殖腺及肝胰臟，除去生殖腺後，再將肝胰臟（左、右各一葉）取出，置於生理食鹽水中（Cole, 1941, 25°C ）清洗兩次。將每葉肝胰臟切成二至四片，以濾紙將組織上的水份吸乾，置於鋁鉑紙上稱重，每一小片組織約為40—60 mg。

於培養皿中盛20 ml的生理食鹽水，皿中置2至4片肝胰臟，加蓋後置於生長箱內（ 25°C ），經過不同的培養時間後取出測定其耗氧量。如培養時間超過一天，則每天更換皿中的生理食鹽水。

肝胰臟組織耗氧量的測定，是以Oxygen monitor (YSI, Model 53) 進行。在測試管內先置10 ml的生理食鹽水（ 25°C ），放入攪拌子再插入電極，開動攪拌器以待測試系統穩定及校正儀器。取出電極後立即放入四片組織，裝上電極及開動攪拌器，即刻以記錄儀記下測試管中氧消失的量，通常在40—60分鐘內管內的含氧量已降至20%左右，即完成測試。將數據代入公式，即得組織（單位重量為克）在單位時間內（小時）的耗氧量（mg）。

結果與討論

實驗所用之肝胰臟均採自雌性網紋招潮蟹，因為雄性蟹的肝胰臟的代謝不

致受到季節的影響，此點可由其生殖腺不因季節（例如生殖季節）的改變，而在其重量上有所變化得知（Chang et al., 1988）。相反，雌性蟹肝胰臟的代謝及重量都會受到生殖季節的影響，在生殖期間其肝胰臟的重量即減少（Chang, et. al, 1985 ; Kyomo, 1988），所以未使用雌性蟹的組織作測試。實驗初期，肝胰臟組織自蟹體取出後，切成四片，分別培養0、24、48、96小時，測定培養時間對組織的影響，如圖1所示，第1及2號雄蟹肝胰臟雖經過不同時間的培養，其耗氧量（ $\text{mg O}_2/\text{g of tissue/hr}$ ）並無顯著差異。第3至8號蟹組織是經過24小時培養的結果，組織雖經過一天的時間，其耗氧量與培養前的數值極為接近。不過為避免雄蟹間的個別差異，其他的實驗均以配合方式進行，即將甲、乙、丙、丁四蟹的肝胰臟各切成四片，自各蟹取一片共四片成一組，再作不同時間的組織培養。

蟹肝胰臟組織經過不同時間的培養後，為確定細胞是否仍然有活力，於培養結束時，自組織中取少許碎片以0.1% trypan blue 染色，經顯微鏡的觀察發現培養四天後的細胞並未上色，故知仍有活力，另由圖1中各組的結果，也知組織經培養後之耗氧量幾與實驗前相同，本報告中的實驗均以24小時的培養時間進行。

自民國75年12月起至76年8月止，分別在不同的季節中，以上述的方法測得網紋招潮蟹肝胰臟的耗氧量，結果列於表1中，於冬季時（75年12月），肝胰臟經24小時培養後其耗氧量為 $0.514 \pm 0.1382 \text{ mg O}_2/\text{g of}$

tissue/hr, 76 年春季時的結果是 0.3975 ± 0.4316 , 同年夏季曾測試 19 次之多, 所得平均值為 0.5162 ± 0.1472 。如果將以上三季中的結果平均, 則為 0.4735 ± 0.1311 , 結果顯示以此報告設計的實驗方法, 測試蟹肝胰臟組織的耗氧量尚稱正確。

由於謝 (1984) 發現草蝦的肝胰臟中有類甲釋素物質存在, Cantelmo and Rao (1978) 則報告 *Callinectes sapidus* (螯) 的肝胰臟雖在高濃度的 2,4 dinitrophenol 或 pentachlorophenol 處理下, 雖然氧的消耗被抑制, 但不影響其代謝的正常進行, 而網紋招潮蟹的體液 (hemolymph) 經放射性免疫測定法 (RIA) 檢查, 顯示含有極微量的 T_3 (作者未發表的結果), 因此, 在本報告實驗進行時, 有些肝胰臟的組織曾經 T_3 處理 (5—50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 24 及 48 小時, 但尚未獲得有顯著差異的結果, 故仍有待研究。

誌 謝

實驗進行中, 蒙師大生物學系多位同學協助採集標本, 又本報告部分經費由國科會 NSC-77-0414-BOO3-OIZ 支持, 於此一併致謝。

參考文獻

- Amiard-Triquet, C., J-C. Amiard, R. Ferrand, A.C. Anderson and S.M. P. Duboi, 1986. Disturbance of a methionine enkephalinlike hormone in the hepatopancreas of crabs *Carcinus maens* contaminated by metals. *Ecotoxicol. Environ. SAF.* 11:198-209.
- Babn, D.E. 1984. Biochemical composition of the muscles and hepatopancreas in various stages of molting in the crab *Menippe rumphii*, *Indian J. Comp. Anim. Physiol.* 2:64-71.
- Batel, R., N. Bihari, and R. K. Zahn, 1988. 3 methylcholanthrene does induce mixed function oxidase activity in hepatopancreas of spiny crab *Maja crispata*. *Comp. Biochem. Physiol. C. Comp. Pharmacol. Toxicol.* 90:435-438.
- Cantelmo, A. C., and K. R. Rao, 1978. The effects of pentachlorophenol and 2,4 dinitrophenol on the oxygen consumption of tissues from blue crab *Callinectes sapidus* under different osmotic conditions. *Comp. Biochem. Physiol. C. Comp. Pharmacol.* 60:215-220.
- Cole, W. H., 1941, A perfusing solution for the lobster (*Homarus*) heart and the effects of its institute ions on the heart. *J. Gen. Physiol.* 25:1-6.
- Dharale, D. M. and V. B. Masurekar, 1986. Effect of cadmium exposure on the activity of phosphatases in the hepatopancreas of crab *Scylla serrata*. *Indian J. Mar. Sci.* 15:193-194.
- Keeran, W.S. and R.F. Lee, 1987. The purification and characterization of glutathione s-transferase from the blue crab *Callinectes sapidus*. *Arch. Biochem.*

- Biophys. 255:233-243.
- Keller, R., and E. M. Andrew,
1973. The site of action of the
Crustacean hyperglycemic hormone.
Gen. and Comp. Endocr. 20:572-
578.
- Kyomo, J. 1988. Analysis of the
relationship between gonads and
hepatopancreas in males and fem-
ales of the crab *Sesarma inter-*
media with reference to resource
use and reproduction. Mar. Biol.
(Berl.) 97(1):87-94.
- Robinson, A.G., R.M. Dillaman,
1985. The effect of naphthalene
on the ultrastructure of the hepa-
topancreas of the fiddler crab *Uca*
minax. J. Invertebr. Pathol. 45:
311-323.
- Sanders, B. 1983a. Insulin-like
peptides in the lobster *Homarus*
americanus, I. Insulin immunore-
activity. Gen. Comp. Endocr. 50:
366-373.
- Sanders, B, 1983b. Insulin-like
peptides in the lobster *Homarus*
americanus, II. Insulin-like bio-
logical activity. Gen. Comp.
Endocr. 50:374-377.
- 謝易修、1984. 草蝦肝胰臟中類甲釋
素物質之研究，國立台灣師範
大學生物研究所碩士論文。
- 蘇宏仁、呂光洋、1984. 淡水紅樹林
沼澤區螃蟹分布之調查，師大
生物學報 19:61-70.
- 張滿星、李禎傑、史金燾、1985. 台
灣省淡水紅樹林網紋招潮蟹 (
Uca arcuata) 卵巢的構造，
師大生物學報 20:37-46.
- 張路西、車美華、李禎傑、史金燾，
1988. 台灣省淡水紅樹林網
紋招潮蟹 (*Uca arcuata*) 成
熟精子的構造，師大生物學報
23:107-116.

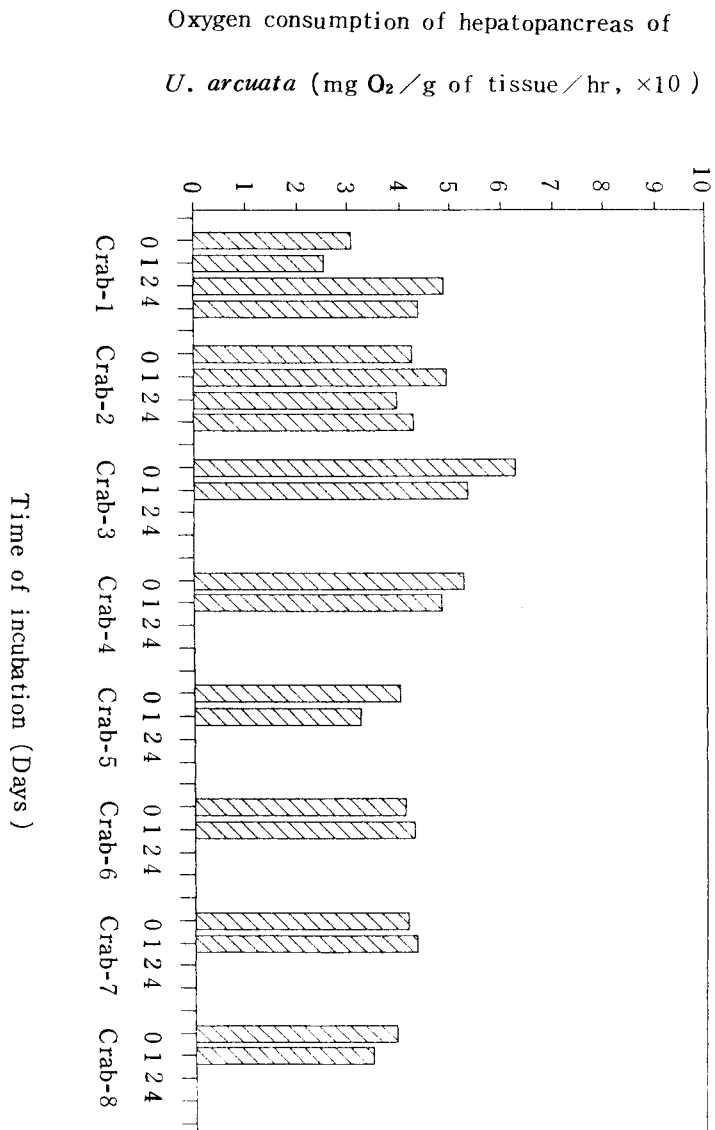


Figure 1. The oxygen consumption of hepatopancreas of *Uca arcuata* in *vitro* for various incubation time. Crab number 1 and 2 were tested in April and May, 1986 respectively. Crab 3 to 8 were done in June, 1986. Each experiment was done with four pieces of hepatopancreas each from one crab.

Table 1. Oxygen consumption of hepatopancreas of *Uca arcuata in vitro**

Date	Experiment No.	Oxygen consumption (mg O ₂ /g of tissue/hr, x10)	Mean±SD of experiments of that month n-1	Mean±SD of all experiments n-1
Dec. 1986	1	3.81	5.140±1.382	4.735±1.311
	2	5.04		
	3	6.57		
March, 1987	4	2.84	3.975±1.605	
	5	5.11		
April, 1987	6	3.91	4.316±0.653	
	7	5.07		
	8	3.97		
June, 1987	9	2.77	5.162±1.472	
	10	4.15		
	11	3.74		
	12	3.69		
	13	6.66		
	14	6.81		
	15	4.51		
	16	5.27		
	17	6.54		
	18	5.79		
	19	6.91		
Aug. 1987	20	3.26	4.337±1.214	
	21	6.81		
	22	4.25		
	23	3.49		
	24	5.42		
	25	3.56		
	26	3.60		
	27	4.31		

* Each Oxygen consumption experiment was done with four pieces of hepatopancreas each from one crab. Incubation time of all experiments was 24 hours. Most experiments were finished within 40 to 55 minutes.

The Study of Oxygen Consumption of Hepatopancreas
of *Uca arcuata* (De Haan)

in vitro

Jin-Taur Shih, Hui-Ju Huang, I-Min Tso

Department of Biology, National Taiwan Normal University

Abstract

The hepatopancreas of *Uca arcuata*, collected from Tan-shui mangrove, Taiwan was used to study its oxygen consumption in vitro. After this tissue was incubated for various time (one to four days), it had an oxygen consumption value of 0.4735 ± 0.1311 mg O₂/g of tissue/hr. Experiments carried out in all seasons did not show significant variation in oxygen consumption. The possible application of the testing system developed in this study is discussed.

Key word: *Uca arcuata*, Hepatopancreas, Oxygen Consumption.