

捕撈及運輸對四絲馬鮫緊迫之影響

賴哲翊* · 郭錦朱 · 林如謙 · 張博淵 · 周瑞良 · 吳豐成

行政院農業委員會水產試驗所東港生技研究中心

摘要

四絲馬鮫 (*Eleutheronema tetradactylum*) 隸屬於馬鮫科 (Polynemidae), 是目前臺灣南部沿海地區重要的養殖魚種。由於捕撈及運輸操作對此魚種極易造成緊迫 (stress), 故本研究利用魚類受到緊迫造成體內皮質醇 (plasma cortisol) 上升的現象, 以血漿皮質醇作為指標, 衡量四絲馬鮫經不同處理後所受到的緊迫。四絲馬鮫 (15 g ± 2.9 g) 分別經捕撈離水及運輸處理, 捕撈離水時間設定為 1 min 及 2 min; 運輸時間設定為 60 min, 運輸密度設定為低密度 50 g L⁻¹、中密度 70 g L⁻¹ 及高密度 90 g L⁻¹, 在運輸中定時檢測總氮、pH 及 NH₃ 的變化作為參考。四絲馬鮫經處理後進入 360 min 的恢復階段, 期間定時檢測記錄血漿皮質醇。結果顯示, 捕撈及運輸均會使四絲馬鮫血漿皮質醇上升, 恢復趨勢各有異同。和捕撈後相比, 運輸後四絲馬鮫需要更多的時間進行恢復; 中密度運輸後需要的恢復時間, 比高、低密度運輸後更長。在運輸期間, 水中總氮持續累積且和運輸密度呈正比, 顯示高密度運輸更易使水質惡化; 而 NH₃ 則是因為 pH 的關係和運輸密度呈反比, 顯示偏酸的環境會有較安全的水質。藉由維持水質及給予適當恢復時間當可利於四絲馬鮫的運輸。

關鍵詞：四絲馬鮫、皮質醇、緊迫、水質

前言

四絲馬鮫 (*Eleutheronema tetradactylum*) 英文名 fourfinger threadfin 或 blue threadfin (Zamidi *et al.*, 2012; Ismail *et al.*, 2019), 臺灣稱為午仔魚, 屬於鱸形目 (Perciformes) 鱸亞目 (Percoidei) 馬鮫科 (Polynemidae) (Zhang *et al.*, 2014), 性喜棲息於混濁水域和軟質底土的河口或近海環境, 以甲殼類或多毛類為食, 廣泛分佈於波斯灣、東南亞、巴布亞新幾內亞及澳洲北部等地的沿海海域 (Janekitkarn *et al.* 1999; Newman *et al.*, 2011)。四絲馬鮫為雌雄同體雄性先熟 (protogynous hermaphrodite), 第二年性轉變為雌性, 壽命可達六年以上 (Pember *et al.*, 2005)。具有成長快速的特性, 孵化後 16 - 27 日, 體長即達到 20 mm (Horne *et al.*, 2011; Ballagh *et al.*, 2012), 成魚體型可超過 1 m (Bibby and McPherson, 1997), 其肉質細嫩味道

鮮美, 是高經濟價值的漁業資源 (Motomura *et al.*, 2002)。四絲馬鮫適合成長在熱帶氣候的環境, 目前是臺灣屏東沿海地區重要的養殖魚種之一。

四絲馬鮫對環境變化很敏感, 人員走動都可能會讓其過度反應, 因游泳速度快, 如果在桶槽等較狹小的空間中, 常常會有撞壁的情形發生, 顯示牠很容易受到緊迫 (stress) 而產生驚嚇, 因此是一種不太適合捕撈及活魚運輸的魚種。緊迫反應 (stress response) 所影響的主要是腎上腺功能, 最重要的是下視丘 - 腦下垂體 - 腎上腺軸 (hypothalamic-pituitary- adrenal axis, HPA axis) 機制的運作 (Sayers, 1950), 以達到對抗外界刺激, 維持生物恆定 (homeostatic) 的作用。HPA axis 主要機制起始於外部的刺激經由感覺器官的神經傳導至下視丘, 促使其分泌促腎上腺皮質激素釋放激素 (corticotropin releasing hormone, CRH), CRH 經由刺激腦下垂體, 促使促腎上腺皮質激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 的分泌, 當腎上腺皮質 (adrenal cortex) 接受來自腦下垂體 ACTH 的刺激後, 即會分泌的腎上腺糖皮質激素 (glucocorticoid)。腎上腺糖皮質激素中, 最為主要且

*通訊作者 / 屏東縣東港鎮豐漁街 67 號, TEL: (08) 8324-121 轉 256; FAX: (08) 8320-234; E-mail: jylai@mail.tfrin.gov.tw

重要的莫過於皮質醇 (cortisol)，皮質醇又被稱為壓力荷爾蒙 (King and Hegadoren, 2002)，於動物對應緊迫扮演著關鍵角色。其功能包含了調節血壓、控制醣類、脂肪及蛋白質生成及代謝、控制睡眠及覺醒週期 (Leproult *et al.*, 1997)。然而皮質醇並非可以無限制持續產出，當血液中皮質醇濃度上升，會負向迴饋到下視丘及腦下垂體，抑制 CRH 及 ACTH 的產生，而促使腎上腺減少分泌皮質醇 (Bennett and Whitehead, 1983)。但當長期處於壓力下，會造成 HPA axis 功能紊亂失調，使皮質醇長期分泌，進而引發各種包括心血管疾病、糖尿病、認知能力下降、精神疾病、疲勞及疼痛綜合症等疾病 (Charmandari *et al.*, 2005; Nicolson, 2008)。緊迫反應影響皮質醇分泌的因素很多，包含緊迫源的強度、重複次數、每次持續性、刺激頻率等 (Pitman *et al.*, 1988; Kirschbaum *et al.*, 1995)。但除了緊迫外，晝夜及季節的節律、個體、性別、心理、疾病等因素也會影響皮質醇的分泌 (Robertson *et al.*, 1987; Staufenbiel, 2013)。

當魚類遭受到緊迫時，經由 HPA axis 所產生的皮質醇會在其血漿中上升 (Iversen *et al.*, 1998; Semenkova *et al.*, 1999)，利用這個特性可以經由監測魚類血漿中皮質醇濃度，作為評估其緊迫程度的指標 (Wedemeyer *et al.*, 1990; Barton and Iwama, 1991; Barton and Haukenes, 2003)。當捕撈作業時，對魚類會造成很大的緊迫，而長時間離水的魚隻因受到緊迫會促使體內皮質醇快速上升 (Ramsay *et al.*, 2009)。運輸同樣是重要的緊迫來源之一，不同的運輸時間及密度，都會影響魚隻體內皮質醇的分泌 (Hasan and Bart, 2007; Sampaio and Freire, 2016)。

根據漁業署網站漁業統計年報，四絲馬鮫的養殖產業從 2010 年產值及產量分別約新臺幣 2.9 億元及 1,643 mt，至 2017 年產值及產量分別約新臺幣 22.3 億元及 10,320 mt，成長了 6-7 倍，且有持續成長的趨勢，是目前臺灣重要的高經濟價值養殖魚種之一。因此，不論是進行四絲馬鮫的研究工作或商業販運，進行捕撈或運輸的操作都有其必要性，因此探求四絲馬鮫面對外來干擾時所造成緊迫生理上的變化以找到解決其不易捕撈及運輸的特性，成為了一項極其迫切的研究課題。本研究擬以血漿中皮質醇含量作為指標來衡量四絲

馬鮫經捕撈及運輸所受到的緊迫程度，並以 pH、總氨及 NH₃ 等水質參數之變化作為參考。

材料與方法

一、試驗用魚

試驗魚隻為四絲馬鮫，由屏東枋寮種苗業者處取得後，在本研究中心室內桶槽養成至體重 15.2 ± 2.9 g、體長 9.7 ± 0.6 cm 作為試驗用魚。為避免試驗途中水質遭受汙染及魚隻攝食程度不同造成的差異影響結果，試驗進行前 24 hr 及進行中均停止餵食。

二、血液採樣及血漿皮質醇檢測方法

四絲馬鮫血液時間序列採樣的時間起始點統一設定為 8:00，以避免晝夜差異所引起的誤差。魚隻血液的取得係以針筒由尾柄處抽血約 0.2 ml。為了避免採樣時魚隻掙扎緊迫使血漿中皮質醇升高造成誤差，參考 Ramsay *et al.* (2009) 及 Cunha *et al.* (2010) 做法，抽血前先調配合高劑量丁香酚 (eugenol) 麻醉劑的海水 (200 mg L^{-1})，將魚隻快速撈起置入上述海水中予以麻醉，在 5 sec 內躺倒直至進入麻醉深度第 4 期 (Yoshikawa *et al.*, 1988)，此時期的魚隻已完全喪失游泳能力，鰓蓋動作非常微弱，使魚隻來不及分泌皮質醇，確保試驗數據的準確性。取得四絲馬鮫血液後，以 Hennessy *et al.* (1997) 的方法，在離心取得血漿之前先將血液暫時置於冰上保存，後以 $3000 \times g$ 離心 5 min (Sandodden *et al.*, 2001) 取得血漿。血漿以乙醚 (Merck) 萃取後取上層液，重覆三次，將該三次上層液結合以氮氣吹乾即製得樣品，置入 -80°C 冰箱中備測。採用 Enzo Cortisol Elisa kits (Cat. ADI-900-071, Enzo Life Sciences Inc.) 以酵素聯結免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 檢測樣品中皮質醇含量。

三、捕撈離水後檢測血漿皮質醇試驗

參考 Jentoft *et al.* (2005) 將魚隻撈出水面曝露於空氣中掙扎及採樣。離水時間設定為 1 (M₁) 及 2 min (M₂)，離水結束後將相同處理的魚隻以每桶

各 3 尾分別置入打氣流水獨立桶槽中使其恢復，每種處理各有 8 桶，2 種處理共 16 桶，每個桶槽水量約 150 L，以利後續時間序列採樣血液測量皮質醇之用。試驗環境水溫為 28°C、鹽度為 28 psu。採樣時點設定為入恢復桶後第 0、5、10、20、30、60、120 及 360 min，每一種處理於每個時點均抽血採樣 3 尾魚以進行 3 重覆。

四、運輸試驗

將四絲馬鮫以低密度 50 g L⁻¹ (D_L)、中密度 70 g L⁻¹ (D_M) 及高密度 90 g L⁻¹ (D_H)，分別移入裝有 10 L 海水的塑膠水桶中運輸，每種處理各 3 桶以進行 3 重覆，3 種處理共 9 桶。將塑膠水桶裝載於車上行駛 (Barton, 2000)，在行駛期間均有足夠打氣維持溶氧進行運輸 60 min 進行下列試驗。

(一) 運輸期間檢測水質

在運輸期間水溫為 27.9°C，鹽度為 28 psu，分別在 0、30、60 min 各時間點採集各組別水樣，檢測 pH (pH meter model SP-2300, Suntext, Taiwan)、總氨 (indophenol colorimetric method) 及換算 NH₃ 濃度 (Whitfield, 1974; Khoo *et al.*, 1977; Spotte and Adams, 1983; Rasmussen and Korsgaard, 1996)。

(二) 運輸後檢測血漿皮質醇

不同密度運輸結束後，將魚隻移入桶槽中恢復，每種處理各有 8 桶共 24 桶，每桶 3 尾魚。等待後續時間序列血液採樣及皮質醇檢測，其恢復條件、採樣方式及時點和捕撈離水後檢測血漿皮質醇試驗之步驟相同。

五、統計分析

實驗結果以單因子變異數分析 (one-way ANOVA) 檢定，當檢定結果達顯著差異 ($p < 0.05$) 時，再以鄧肯氏多變域測驗 (Duncan's multiple range test) 檢定各組間是否達顯著差異 ($p < 0.05$)。

結果與討論

四絲馬鮫捕撈離水前後血漿皮質醇變化如 Table 1 所示，M₁ 及 M₂ 二組的血漿皮質醇由捕撈前的含量快速上升達顯著差異 ($p < 0.05$)，M₁ 雖較 M₂ 為高但兩組間並無顯著差異 ($p > 0.05$)。M₂ 離水較 M₁ 為久，理應有較大的緊迫，雖兩者間差異未達顯著，但是 M₂ 卻有較低的血漿皮質醇。

Table 1 The change of plasma cortisol levels of *Eleutheronema tetradactylum* after an one-minute period (M₁) and two-minute period (M₂) of net handling

Recovery period (min)	Plasma cortisol (ng mL ⁻¹)	
	M ₁	M ₂
Control	4.73±0.48 ^a	5.82±2.10 ^{ab}
0	52.86±19.43 ^{b, x}	42.28±11.39 ^{d, x}
5	44.99±18.29 ^b	26.57±9.47 ^c
10	24.41±10.49 ^a	24.67±14.64 ^c
20	21.08±10.55 ^a	21.82±10.35 ^{bc}
30	18.05±6.71 ^a	12.46±9.80 ^{abc}
60	8.23±16.07 ^a	7.42±2.56 ^{ab}
120	5.39±0.62 ^a	6.06±0.45 ^{ab}
360	5.49±0.82 ^a	4.92±0.10 ^a

Data are (n=3) values with different superscripts in the same column (a, b, c and d) or same row (x) are significantly different ($p < 0.05$)

同樣的現象也發生在 Svobodová *et al.* (1999) 以不同的離水時間撈捕鯉魚 (*Cyprinus carpio*)，離水時間長的組別卻也有著較低的血漿皮質醇表現，其可能的原因為魚隻在較長時間離水的過程中，其緊迫反應由初級反應 (primary reaction) 進入到次級反應 (secondary reaction) 甚至有可能達到衰竭階段 (exhaustion stage)，使皮質醇含量下降。從外觀觀察四絲馬鮫的行為，在初離水 1 min 時，其表現具有相當活力的掙扎，隨著時間推進到 2 min，可以觀察到已經失去原先的活力，呈現靜止不動或偶爾一至二下的小跳動，顯然已經精疲力盡。由前人研究和該魚行為推論，四絲馬鮫可能是一種不耐緊迫且容易力竭的魚種。M₁ 及 M₂ 移入恢復桶槽後血漿皮質醇均不再升高，且兩者在恢復期間皮質醇變化趨勢相似，均是隨時間而持

Table 2 The plasma cortisol levels of *Eleutheronema tetradactylum* different recovery periods after 60 min transportation at different densities

Recovery period (min)	Plasma cortisol (ng mL ⁻¹)		
	D _L (50 g L ⁻¹)	D _M (70 g L ⁻¹)	D _H (90 g L ⁻¹)
Control	8.71±2.14 ^a	10.261±5.13 ^a	10.261±5.13 ^a
0	90.94±35.58 ^{bc, x}	90.94±35.58 ^{abc, x}	90.94±35.58 ^{d, y}
5	194.74±55.08 ^d	194.74±55.08 ^{bcd}	194.74±55.08 ^c
10	183.01±39.95 ^{bcd}	183.01±39.95 ^{cd}	183.01±39.95 ^{bc}
20	156.16±53.35 ^{bcd}	156.16±53.35 ^d	156.16±53.35 ^c
30	156.25±28.64 ^{cd}	156.25±28.64 ^d	156.25±28.64 ^{bc}
60	96.04±54.63 ^{bc}	96.04±54.63 ^{cd}	96.04±54.63 ^{bc}
120	21.68±9.28 ^a	21.68±9.28 ^{bcd}	21.68±9.28 ^{ab}
360	36.07±8.33 ^{ab}	36.07±8.33 ^{ab}	36.07±8.33 ^{ab}

Data are (n=3) values with different superscripts in the same column (a, b, c and d) or same row (x and y) are significantly different ($p < 0.05$)

續下降。Ramsay *et al.* (2009) 對斑馬魚 (*Danio rerio*) 進行離水試驗顯示，魚隻在恢復階段最初 15 min 皮質醇呈現上升，之後才下降至初始含量；Jentoft *et al.* (2005) 對虹鱒 (*Oncorhynchus mykiss*) 及歐洲河鱸 (*Perca fluviatilis*) 所進行離水試驗，魚隻皮質醇也有先升後降的趨勢。本試驗的結果和上述兩者所呈現出的趨勢略有差異，其理由尚有待進一步探討。M₁ 在恢復期間的第 10 min 回復到了和對照組含量無顯著差異 ($p > 0.05$)，M₂ 則是到了第 20 min 才回復至對照組含量 ($p > 0.05$)，顯示出 M₂ 比 M₁ 需要較多時間進行回復，推論該現象可能是 M₂ 比 M₁ 受到更大的緊迫所致。

三種密度經 60 min 後，移入恢復桶槽的四絲馬鮫，血漿皮質醇含量的結果如 Table 2 所示，無論何種運輸密度，血漿皮質醇在恢復期間第 0 min 和對照組相比均呈現顯著上升 ($p < 0.05$)。其中，D_H 顯著較 D_M 及 D_L 為高 ($p < 0.05$)，顯示出高密度的運輸對四絲馬鮫產生較大的緊迫。三種運輸密度血漿皮質醇的含量及後續變化也不一樣。D_L 和 D_M 均呈現先上升後下降的趨勢，和 Barton (2000) 對虹鱒、美洲紅點鮭 (*Salvelinus fontinalis*)、突吻紅點鮭 (*Salvelinus namaycush*) 等魚進行運輸後血漿皮質醇先升後降的趨勢相似。而 Barton and Haukenes (2003) 在玻璃梭鱸 (*Stizostedion vitreum*) 運輸及之後的暫養中也發現血漿皮質醇

在最初的 3 hr 呈現上升的趨勢，24 hr 後恢復至初始水準。據上可知，D_L 和 D_M 的血漿皮質醇變化是較典型範例的結果。D_M 血漿皮質醇在移入恢復桶槽的 30 min 達到最高水準，爾後才呈現持續下降的趨勢，而 D_L 血漿皮質醇在移入恢復桶槽後的 5 min 就已達到最高水準，顯示出 D_M 比 D_L 多花費 25 min 血漿皮質醇才上升到最高水準。同樣的，D_L 血漿皮質醇在 120 min 回復至對照組水準 ($p > 0.05$)，而 D_M 卻要到 360 min 才回復至對照組水準 ($p > 0.05$)，顯示出 D_M 比 D_L 在運輸中受到更強的緊迫，因此需要花費更多時間才能回復至對照組水準 (Hasan and Bart, 2007)。然而，D_H 血漿皮質醇卻呈現和 D_M 及 D_L 不同的趨勢，在移入恢復桶槽 5 min 時血漿皮質醇即已顯著降低 ($p < 0.05$)，之後隨時間持續下降直至 120 min 才降至對照組的水準，即使過程有回升均未達顯著差異 ($p > 0.05$)。Iversen *et al.* (1998) 在大西洋鮭 (*Salmo salar*) 的運輸中發現，和中、短程運輸相比，長途運輸的鮭魚在運輸之後皮質醇水準隨著時間呈現持續下降的現象，此和 D_H 血漿皮質醇有著相似的趨勢。然而，本試驗設計並非像 Iversen *et al.* (1998) 以運輸時間的不同比較差異，而是以運輸密度作為比較，但是本試驗的結果和 Iversen *et al.* (1998) 卻相似，逕為比較雖有不妥但仍然有討論之空間。而 Hasan and Bart (2007) 在同時進行運輸密度及運輸時間

試驗中指出，當魚隻在經歷長時間運輸時會受到更為強大的緊迫，高密度運輸也同樣是如此，如果長時間和高密度運輸均是對魚隻造成強大緊迫的原因，恢復期間其血漿皮質醇的趨勢或許會有雷同之處，但仍需要更多的證據支持。據上推論， D_H 在運輸期間所受到的緊迫強度有可能過大，因受到長時間強大緊迫的四絲馬鮫已經習慣了高壓環境，在恢復過程中已不會再感受到更強大的緊迫，血漿皮質醇水準也因此逐漸下降，或有可能高強度的緊迫使魚隻進入到次級反應或衰竭階段 (Svobodová *et al.*, 1999)，有待未來更多的研究佐證。比較四絲馬鮫捕撈試驗及運輸試驗後 (Tables 1&2)，血漿皮質醇恢復至對照組水準所需要的時間， M_1 及 M_2 經恢復 20 min 後，血漿皮質醇水準均已和對照組無顯著差異 ($p > 0.05$)，而 D_H 、 D_M 及 D_L 卻要到 120 min 以後才恢復至對照組的水準 ($p > 0.05$)。此顯示長時間的運輸緊迫可能高於短期離水操作，Schreck *et al.* (1989) 有提到銀鮭 (*Oncorhynchus kisutch*) 經運輸後倘無足夠時間從緊迫中恢復即放流，會有存活率下降的現象。據上，建議四絲馬鮫在進行運輸後應給予充分時間恢復以脫離緊迫狀態，避免連續進行人為操作造成其損傷。

運輸期間水質的變化是魚隻是否能安然到達目的地的關鍵，而且隨著運輸時間的增長，水質的維持更加顯得重要。在 Fig. 1 顯示三種不同密度經 60 min 運輸後的四絲馬鮫，排入水中的總氨不僅和對照組有顯著差異 ($p < 0.05$)，三者彼此間也互有顯著差異 ($p < 0.05$)，且均是隨著運輸時間而上升，其中 D_H 濃度最高， D_M 次之， D_L 為三者中最低，顯示運輸密度越高則累積越多的總氨。

pH 在經 60 min 運輸後，隨著運輸密度較高而有著較低的水準 (Fig. 2)，反之亦然， D_L 、 D_M 及 D_H 和對照組均有顯著差異 ($p < 0.05$)，三者彼此間也互有顯著差異 ($p < 0.05$)，顯示出代謝時排出的 CO_2 使 pH 下降，且運輸密度同樣也影響 pH 的高低。 D_L 、 D_M 及 D_H 的 pH 在運輸期間的第 30 min 時即已達到了穩定狀態，直至 60 min 都沒有太大變動，原因在於本研究採用開放式的運輸系統，持續對運輸水體充氣和外界達到氣體交換平衡，所以相較於 Grottum *et al.* (1997) 的封閉式系統，pH 可以穩定的保持在相同水準。

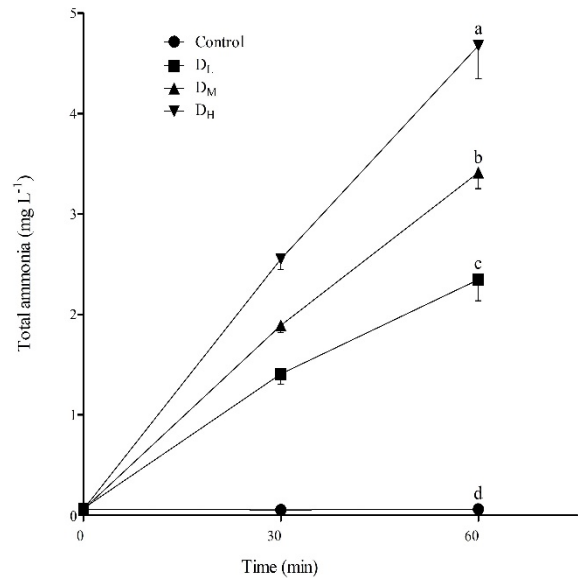


Fig. 1 The change of total ammonia during 60 min simulated transportation of *Eleutheronema tetradactylum* at different densities. Different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

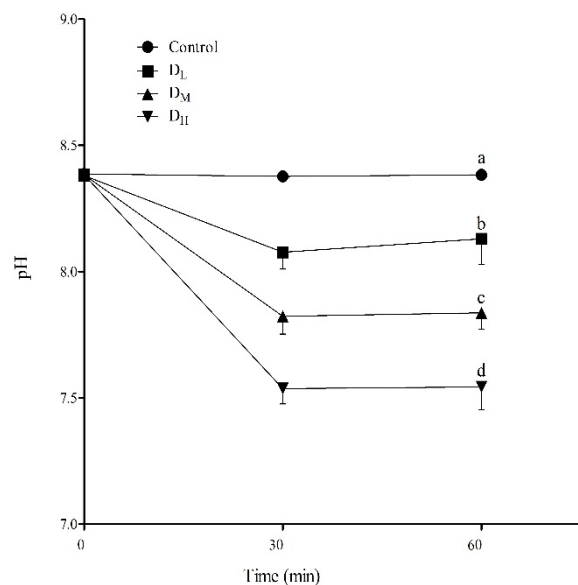


Fig. 2 The change of pH during 60 min simulated transportation of *Eleutheronema tetradactylum* at different densities. Different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

NH_3 又稱非離子氨或游離氨，是對水生動物真正具毒性氨的狀態，經由總氨、鹽度、溫度及 pH 等 4 項參數換算而來。Fig. 3 顯示出在經 60 min 運輸後水中的 NH_3 濃度，三種密度和對照組比較均呈現顯著差異 ($p < 0.05$)， D_L 和 D_H 之間也呈現顯著差異 ($p < 0.05$)，且三者濃度均隨著運輸

時間而增加。所不同的是， NH_3 因為容易在低 pH 環境時解離為 NH_4^+ ，因此當高密度運輸所產生的 CO_2 使 pH 降低，造成了有著較高總氨濃度的 D_H ，其 NH_3 卻反而是三者最低的現象，而 D_L 則是有著最高的 NH_3 ，同樣的情形也出現在 Barton and Haukenes (2003) 和 Gomes *et al.* (2003) 的研究之中。本研究屬於短時間運輸，因此 NH_3 不管是濃度或曝露時間均無法對魚隻造成重大傷害，但是如果是在長時間的運輸下便不可忽略 NH_3 的重要性 (Sampaio and Freire, 2016)，也提供未來關於四絲馬鮫運輸研究的方向或許可以朝麻醉劑的應用 (Sandodden *et al.*, 2001; Suprpto *et al.*, 2017)，降溫處理 (Coyle *et al.*, 2004)，以及降酸處理 (Grøttum *et al.*, 1997) 等方法，利用減緩代謝或降低 NH_3 來維持運輸期間的水質。

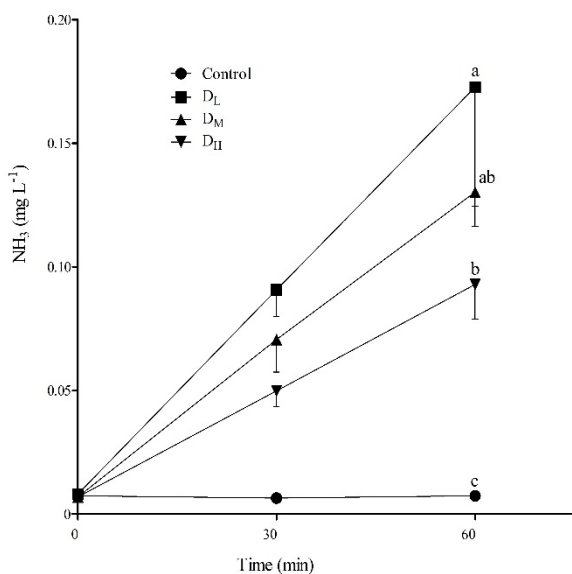


Fig. 3 The change of NH_3 during 60 min simulated transportation of *Eleutheronema tetradactylum* at different densities. Different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

結 論

對四絲馬鮫進行捕撈及運輸等人工操作確實會引起緊迫反應，尤其是運輸後需要更長的時間來緩解緊迫狀態。而運輸期間隨著時間會使總氨累積而造成水質的惡化。因此，對四絲馬鮫進行運輸時應以維持水質並及給予適當恢復時間來取得較好的運輸品質。

參考文獻

- Ballagh, A. C., D. J. Welch, S. J. Newman, Q. Allsop and J. M. Stapley (2012) Stock structure of the blue threadfin (*Eleutheronema tetradactylum*) across northern Australia derived from lifehistory characteristics. *Fish. Res.*, 121-122: 63-72.
- Barton, B. A., R. E. Peter and C. R. Paulencu (1980) Plasma cortisol levels of fingerling rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest, and subjected to handling, confinement, transport, and stocking. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37(5): 805-811.
- Barton, B. A., and G. K. Iwama (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu. Rev. Fish. Dis.*, 1: 3-26.
- Barton, B. A. (2000) Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *N. Am. J. Aquacult.*, 62(1): 12-18.
- Barton, B. A. and A. H. Haukenes (2003) Plasma cortisol and chloride stress responses in juvenile walleyes during capture, transport, and stocking procedures. *N. Am. J. Aquacult.*, 65: 210-219.
- Bennett, G. W., and S. A. Whitehead (1983) *In Mammalian neuroendocrinology* (G. W. Bennett and S. A. Whitehead eds.). Oxford university press, New York, U.S.A., 119-138.
- Bibby, J. M. and G. R. McPherson (1997) Age and growth of five target fish species in the Gulf of Carpentaria inshore gillnet fishery. *In Biology and Harvest of Tropical Fishes in the Queensland Gulf of Carpentaria Gillnet Fishery* (R. N. Garrett ed.), Fisheries Research and Development Corporation final report No. 92/145., Queensland Department of Primary Industries, Queensland, Australia, 61-86.
- Charmandari, E., C. Tsigos and G. Chrousos (2005) Endocrinology of the stress response. *Annu. Rev. Physiol.*, 67: 259-284.
- Coyle, S. D., R. M. Durborow and J. H. Tidwell (2004) Anesthetics in aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center Publication No. 3900, Mississippi State University, Mississippi, U.S.A., 5 pp.
- Cunha, M. A., C. C. Zeppenfeld, L. O. Garcia, V. L. Loro, M. B. Fonseca, T. Emanuelli, A. Veeck, C. E. Copatti and B. Baldisserotto (2010) Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Cienc. Rural.*, 40 (10): 2107-2114.

- Gomes, L. C., R. Roubach, C. Araujo - Lima, A. R. Chippari-Gomes, N. P. Lopes and E. C. Urbinati (2003) Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. J. World. Aquac. Soc., 34(1): 76-84.
- Grøttum, J. A., M. Staurnes and T. Sigholt (1997) Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), kept at high densities during transport. Aquac. Res., 28(2): 159-164.
- Hasan, M., A. N. Bart (2007) Effects of capture, loading density and transport stress on the mortality, physiological responses, bacterial density and growth of rohu *Labeo rohita* fingerlings. Fish. Physiol. Biochem., 33: 241-248.
- Hennessy, M. B., H. N. Davis, M. T. Williams, C. Mellott and C. W. Douglas (1997) Plasma cortisol levels of dogs at a county animal shelter. Physiol. Behav., 62 (3): 485-490.
- Horne, J. B., P. Momigliano, D. J. Welch, S. J. Newman and L. Van Herwerden (2011) Limited ecological population connectivity suggests low demands on self-recruitment in a tropical inshore marine fish (*Eleutheronema tetradactylum*: Polynemidae). Mol. Ecol., 20: 2291-2306.
- Ismail, S., N. Vineesh, R. Peter, P. Vijayagopal and A. Gopalakrishnan (2019) Identification of microsatellite loci, gene ontology and functional gene annotations in Indian salmon (*Eleutheronema tetradactylum*) through next-generation sequencing technology using illumina platform. Ecol. Gene. Genom., 11: 100038.
- Iversen, M., B. Finstad and K. J. Nilssen (1998) Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. Aquaculture, 168 (1-4): 387-394.
- Iversen, M., B. Finstad, R. S. McKinley, R. A. Eliassen, K. T. Carlsen and T. Evjen (2005) Stress responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts during commercial well boat transports, and effects on survival after transfer to sea. Aquaculture, 243(1-4): 373-382.
- Janekitkarn, S., S. Premchareon and P. Vitheesawat (1999) Estuarine fishes of the Tha-Chin river, Samut Sakorn, Thailand. In Proceedings of the 5th Indo-Pacific Fish conference (B. S. Se'ret and J. Y. Sire eds.), Socie'te' Française d'Ichtyologie, Noumea, New Caledonia, 57-64.
- Jentoft, S., A. H. Aastveit, P. A. Torjesen and Ø. Andersen (2005) Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comp. Biochem. Physiol., 141A: 353-358.
- King, S. L. and K. M. Hegadoren (2002) Stress hormones: how do they measure up? . Biol Res Nurs., 4(2): 92-103.
- Kirschbaum, C., J. C. Prussner, A. A. Stone, I. Federenko, J. Gaab, D. Lintz, N. Schommer and D. Hellhammer (1995) Persistent high cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy Men. Psychosom. Med., 57: 468-474
- Khoo, K. H., C. H. Culberson and R. G. Bates (1977) Thermodynamics of the dissociation of ammonium ion in seawater from 5 to 40°C. J. Solution. Chem., 6: 281-290.
- Leproult, R., G. Copinschi, O. Buxton and E. V. Cauter (1997) Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening. Sleep, 20 (10): 865-870.
- Motomura, H., Y. Iwatsuki, S. Kimura and T. Yoshino (2002) Revision of the Indo-West Pacific polynemid fish genus *Eleutheronema* (Teleostei: Perciformes). Ichthyol. Res., 49: 47-61.
- Newman, S. J., M. B. Pember, B. M. Rome, G. E. A. Mitsopoulos and C. L. Skepper (2011) Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* across northern Australia as inferred from stable isotopes in sagittal otolith carbonate. Fisheries. Manag. Ecol., 18: 246-257.
- Nicolson, N. A. (2008) Measurement of cortisol. In Handbook of physiological research methods in health psychology (L. C. Gallo and L. J. Luecken eds.), Sage Publications Inc., New York, U.S.A., 37-74.
- Nikinmaa, M., A. Soivio, T. Nakari and S. Lindgren (1983) Hauling stress in brown trout (*Salmo trutta*): Physiological responses to transport in fresh water or salt water, and recovery in natural brackish water. Aquaculture, 34(1-2): 93-99.
- Pember M. B., S. J. Newman, S. A. Hesp, G. C. Young, C. L. Skepper and N. G. Hall (2005) Biological parameters for managing the fisheries for Blue and King Threadfins, Estuary Rockcod, Malabar Grouper and Mangrove Jack in north-western Australia. Report to FRDC on Project No. 2002/003, Murdoch, Australia, 172 pp.
- Pitman, D. L., J. E. Ottenweller and B. H. Natelson (1988) Plasma corticosterone levels during

- repeated presentation of two intensities of restraint stress: Chronic stress and habituation. *Physiol. Behav.*, 43(1): 47-55.
- Ramsay, J. M., G. W. Feist, Z. M. Varga, M. Westerfield, M. Kent and C. B. Schreck (2009) Whole-body cortisol response of zebrafish to acute net handling stress. *Aquaculture*, 297: 157-162.
- Rasmussen, R. S. and B. Korsgaard (1996) The effect of external ammonia on growth and food utilization of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 205: 35-48.
- Robertson, L., P. Thomas, C. R. Arnold and J. M. Trant (1987) Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. *Prog. Fish-Cult.*, 49(1): 1-12.
- Sampaio, F. F. and C. A. Freire (2016) An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. *Fish. Fish.*, 17: 1055-1072.
- Sandodden, R., B. Finstad and M. Iversen (2001) Transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): anaesthesia and recovery. *Aquac. Res.*, 32: 87-90.
- Sayers, G. (1950) The adrenal cortex and homeostasis. *Physiol. Rev.*, 30: 241-320.
- Schreck, C. B., M. F. Solazzi, S. L. Johnson and T. E. Nickelson (1989) Transportation stress affects performance of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, 82: 15-20.
- Semenkova, T. B., L. V. Bayunova, A. A. Boev and V. P. Dyubin (1999) Effects of stress on serum cortisol levels of sturgeon in aquaculture. *J. Appl. Ichthyol.*, 15: 270-272.
- Specker, J. L. and C. B. Schreck (1980) Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37(5): 765-769.
- Spotte, S. and G. Adams (1983) Estimation of the allowable upper limit of ammonia in saline waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10: 207-210.
- Staufenbiel, S. M., B. Penninx, A. T. Spijker, B. M. Elzinga and E. van Rossum (2013) Hair cortisol, stress exposure, and mental health in humans: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology*, 38: 1220-1235.
- Suprpto, H., S. Sudarno, L. Sulmartiwi and P. D. Wulansari (2017) The effect of clove oil as sedative to hematophysiology of hybrid grouper (*Epinephelus* sp.) in close transportation in tropical country. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, 5(5): 443-446.
- Svobodová, Z., P. Kaláb, L. Dušek, B. Vykusová, J. Kolárová and D. Janoušková (1999) The Effect of Handling and Transport of the Concentration of Glucose and Cortisol in Blood Plasma of Common Carp. *Acta. Vet. Brno.*, 68: 265-274.
- Wedemeyer, G. A., B. A. Barton, and D. J. McLeay (1990) Stress and acclimation. *In Methods for Fish Biology* (C. B. Schreck and P. B. Moyle eds.) American Fisheries Society, Maryland, U.S.A., 451-489
- Whitfield, M. (1974) The hydrolysis of ammonium ions in sea water—a theoretical study. *J. Mar. Biol. Assoc.*, 54: 565-580.
- Yoshikawa, H., Y. Ishida, S. Ueno and H. Mitsuda (1988) Changes in depth of anesthesia of the carp anesthetized with a constant level of CO₂. *Nippon Suisan Gakkai Shi*, 54(3): 457-462.
- Zamidi, I., A. Samat, C. C. Zaidi, A. G. Mazlan, Gazi Mahabubul Alam, A. A. Abul Quasem and K. D. Simon (2012) Fecundity and temporal reproductive cycle of four finger threadfin (*Eleutheronema tetradactylum*) in Malaysian coastal water. *Asian. J. Anim. Vet. Adv.*, 7(11): 1100-1109.
- Zhang, B., Y. Sun and G. Shi (2014) The complete mitochondrial genome of the fourfinger threadfin *Eleutheronema tetradactylum* (Perciforms: Polynemidae) and comparison of light strand replication origin within Percoidae. *Mitochondrial DNA*, 25: 411-413.

Effect of Net Handling and Simulated Transportation on Stress of *Eleutheronema tetradactylum*

Jhe-Yi Lai*, Jiin-Ju Guo, Ju-Chien Lin, Po-Yuan Chang, Ruey-Liang Chou
and Feng-Cheng Wu

Tungkang Biotechnology Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The fourfinger threadfin (*Eleutheronema tetradactylum*) is an important aquacultural species in the southern coastal district of Taiwan, which is easily subjected to capture and transport stress. Due to the stress caused cortisol increase in fish, therefore, the plasma cortisol levels are used as an indicator to measure the stress of different treatments in *E. tetradactylum* ($15 \text{ g} \pm 2.9 \text{ g}$). The trails were an 1min and 2min period of net handling , and a 60 min transportation at different densities (50 g L^{-1} , 70 g L^{-1} , 90 g L^{-1}); during simulated transportation, the water quality parameters (total ammonia, pH, NH_3) were periodic detected during transport . After treatments, fish were moved to the recovery environment and were periodic detected the plasma cortisol levels for 360min duration. The results showed that the treatments of net handling and simulated transportation caused plasma cortisol increase in *E. tetradactylum*, however, the tendencies of recovery were more or less differences. The recovery time of stress in *E. tetradactylum* after transport trail took more time than handling trail; the recovery time at medium density was much more than that at high and low densities. The total ammonia was accumulated continuously during transport and was proportional to stock densities, which revealed that the high density transportation would deteriorate the water quality. In contrast, the NH_3 was inversely proportional to transport densities in term of pH, which showed that the more acidic environment result in better water quality. In conclusion, to maintain good water quality and appropriate recovery time are beneficial to the transport of *E. tetradactylum*.

Key words: *Eleutheronema tetradactylum*, cortisol, stress, water quality

*Correspondence: No. 67, Fongyu St., Tungkang, Pingtung 92845, Taiwan. TEL: (08)8324-121 ext. 256; FAX: (08)8320-234; E-mail: jylai@mail.tfrin.gov.tw