



以皮質醇作為午仔魚緊迫反應指標之評估

賴哲翊、郭錦朱、張博淵、周瑞良、吳豐成

水產試驗所東港生技研究中心

皮質醇與緊迫

皮質醇 (cortisol) 是腎上腺皮質激素的一種，是由下視丘-腦下垂體-腎上腺軸 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA axis) 所產生的激素。當動物受到刺激緊迫時，皮質醇可以急性或慢性的調控代謝來回復體內恆定 (homeostatic)，以因應外界環境變化所帶來的影響 (Bassett, 1968)，因此又被稱作壓力荷爾蒙 (stress hormone)。皮質醇能促進血液循環及新陳代謝，並刺激細胞釋放葡萄糖、脂肪及氨基酸，增加身體能量以應付外來的壓力，同時透過抑制磷脂分泌和降低嗜伊紅性白血球功能等機制，達到緩和發炎反應的目的 (Mavroudis et al., 1999)。適當含量的皮質醇對身體有益，但人若長期處於高壓情緒中，就會導致皮質醇長期升高，除了會造成記憶力 (尤其是短期記憶) 及認知的損傷 (Lupien et al., 1999)、造成免疫功能和骨密度降低、體重和血壓增加等，也會帶來更嚴重的慢性疾病如：心臟病，並增加罹患抑鬱症等精神疾病的風險。因此，可將皮質醇視為衡量壓力的指標，一般係以抽血及唾液採樣方式來檢測其含量，以全面了解 HPA-axis 中樞神經內分泌系統之間的平衡關係。

如同許多脊椎動物一樣，魚類也擁有 HPA

axis，在受到物理或化學性刺激時同樣會分泌皮質醇來平衡體內的恆定狀態，因此許多魚類緊迫的研究都以血液中皮質醇濃度來作為衡量參數。例如，環境緊迫會導致褐鱒 (*Salmo trutta*) 皮質醇慢慢升高 (Pickering, 1993)；莫三鼻克吳郭魚 (*Oreochromis mossambicus*) 因空間擁擠緊迫，造成血漿皮質醇濃度升高並改變體內醣代謝酵素的活性 (Vijayan et al., 1997)。另衡量大西洋鮭 (*Salmo salar*) 因運輸緊迫的存活率 (Iversen et al., 2005) 及不同放養密度對雞魚 (*Orthopristis chrysoptera*) 存活率的影響 (DiMaggio et al., 2014) 等則以血漿皮質醇濃度作為衡量參數。

午仔魚的特性

四絲馬鮫 (*Eleutheronema tetradactylum*) 又名午仔魚，味美、經濟價值高，是臺灣重要的養殖魚種之一。午仔魚對環境極其敏感，些微風吹草動即會受到驚嚇而暴衝。其表皮及鱗片嫩細，當因捕撈而受到驚嚇掙扎時容易受到傷害而造成損失。因此，緊迫程度指標及檢測方法的建立就是首要工作。有鑑於皮質醇是魚體受緊迫時的重要參數，因此本試驗針對午仔魚受離水緊迫或麻醉時，其血液皮質醇的含量變化，並評估皮質醇作

為魚隻緊迫程度指標之可行性。

麻醉深度定義

麻醉係指藉由供給藥物讓人或動物失去知覺，以減少或減緩後續操作所引起不必要的疼痛或不適等的一種手段，適度的麻醉可避免因魚類掙扎所引發的意外狀況，達到保護操作人員安全及維護魚類福祉的效果，但如果麻醉過度則有可能造成魚隻死亡，因此為了正確掌握麻醉程度，依據被麻醉標的呈現的表徵來訂定麻醉深度作為指標以利應用。以魚類為例，本試驗採用 Yoshikawa et al. (1988) 以魚隻平衡感的維持、游泳的能力及鰓蓋的動作等表徵標準，將麻醉深度劃分為 6 期：(1)第 0 期：為正常期，外觀可以觀察到和未麻醉的魚隻並無二致，鰓蓋的動作規律、游泳能力及平衡感均為正常；(2)第 1 期：為部分平衡喪失期，魚隻鰓蓋動作規律，游泳能力正常，但游泳軌跡呈現歪斜不規則狀態；(3)第 2 期：為平衡完全喪失期，魚隻呈現側游、倒游或平躺在底部游動前進，游泳能力尚未完全減損，有時會有暴衝情況發生，鰓蓋的動作在此時期尚未減弱；(4)第 3 期：為部分游泳能力喪失期，魚隻游泳速度明顯減緩，或是平躺在底部進行間歇性的游動，鰓蓋動作變得較為緩慢；(5)第 4 期：為游泳能力完全喪失期，魚隻已不再游動，鰓蓋動作微弱，如果不盡快轉移至乾淨水中進行復甦，很快就會步入第 5 期而造成無法恢復的狀況；(6)第 5 期：為死亡期，此時期魚隻已沒有任何反應，鰓蓋也停止活動，即使將其移入乾淨的水槽中進行強打氣，也無法

復甦。

以均重 80.9 ± 10.1 g 之午仔魚進行麻醉試驗，麻醉劑為丁香酚 (Eugenol, 98%，Merck) 和藥用酒精以 1:1 (v/v) 混合 (Xie, 2010)，再依不同比例將麻醉劑混合海水打入 150 L 桶槽分別配製成 20、40、60、80、100、120 ppm 不同濃度備用。分別將受試魚置入桶槽後開始計時並記錄其麻醉深度時間，進行三重複，得到麻醉劑濃度和麻醉深度時間之關係如圖 1 所示。

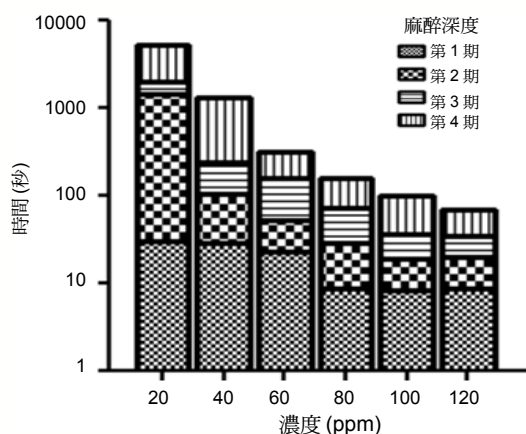


圖 1 午仔魚麻醉劑濃度和麻醉深度時間之關係

離水與麻醉試驗及皮質醇檢測

採用均重 82.5 ± 11.5 g 之午仔魚，分為 4 組，每組 10 尾。麻醉試驗組為 A 及 B 兩組，A 組試驗魚經 60 ppm 麻醉劑處理，B 組魚隻經 120 ppm 麻醉劑處理 (此麻醉濃度下之午仔魚有較佳之操作性，麻醉快速，約 1 分鐘進入第 4 期)，C 組不做麻醉處理，捕撈後即進行採樣。D 組不做麻醉處理，但於捕撈離水後任其掙扎 2 分鐘 (圖 2)。本試驗的麻醉試驗組均在試驗魚達麻醉深度第 4 期後採

樣，以避免魚隻因掙扎而影響試驗結果。各組魚的血液採樣係經尾柄採集（圖 3），血液採集後於室溫靜置 2 小時後以 1,000 g、4℃ 下離心 20 分鐘，取其上清液以酵素聯結免疫吸附分析法（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）檢測皮質醇含量。



圖 2 午仔魚離水後任其掙扎 2 分鐘

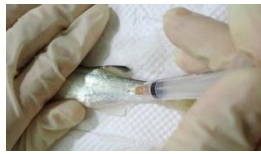


圖 3 由尾柄採取午仔魚血液

指標可行性之評估

B 組係經麻醉劑 120 ppm 處理的試驗組，其血液皮質醇為 2.9 ± 0.6 ng/ml，較其他試驗組魚的濃度低（圖 4），從魚隻行為表現來看，午仔魚接觸麻醉劑後很快即達到麻醉深度第 4 期（約 1 分鐘），所受到的緊迫也最低。A 組係以 60 ppm 麻醉劑處理的組別，因麻醉劑量低，因此在麻醉期間有掙扎及衝撞的表現，到麻醉深度第 4 期的時間約 5 分鐘，其皮質醇濃度為 19.2 ± 2.0 ng/ml，較 B 組高，可推論其緊迫程度也較高。本試驗結果和 Strange and Schreck (1978) 對帝王魴魚 (*Oncorhynchus tshawytscha*) 進行麻醉後檢測皮質醇之結果相類似。C、D 兩試驗組均未經麻醉劑處理，其中 C 組是捕撈後馬上採樣，因此採樣時魚隻有掙扎的行為，導致無法有效維持每尾魚採樣所受之緊迫性流程的相同性，皮質醇含量也因此比其他試驗組者有較大之標準差。D 組魚隻則為捕撈後離水 2 分鐘，任其掙扎後才進行血液採樣，此時

的魚隻已不具有活力但尚未死亡，其皮質醇含量為 9.4 ± 1.9 ng/ml，比 C 組低，甚至低於以麻醉劑 60 ppm 處理的 A 試驗組。將此結果與 Ramsay et al. (2009) 在斑馬魚 (*Danio rerio*) 的連續離水緊迫試驗作比較，斑馬魚皮質醇到達峰值需時 15 分鐘，而到達峰值前均為上升趨勢，下降至初始水準需時 60 分鐘，而午仔魚卻於離水 2 分鐘後皮質醇已出現下降趨勢，其皮質醇變化由高至低有著相似的情形，但在時間進程上有所不同。

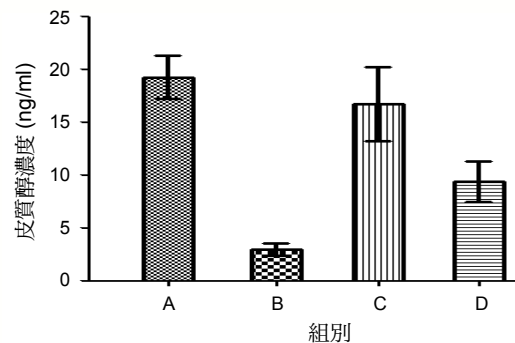


圖 4 午仔魚經不同處理後皮質醇濃度之變化 (A：經 60 ppm 麻醉劑處理；B：經 120 ppm 麻醉劑處理；C：捕撈後即採樣；D：捕撈後任掙扎 2 分鐘後採樣)

由以上的結果，推測午仔魚是屬於急速發生緊迫反應的魚種，但也相當容易力竭而無法有效調控代謝來回應外界環境緊迫，此一結果似乎也反應了午仔魚不耐捕撈的特性。因此，如以丁香酚和藥用酒精以 1:1 (v/v) 混合的麻醉劑 120 ppm 麻醉午仔魚，使魚隻快速進入麻醉深度第四期，可以讓魚隻所受到的操作緊迫降至最低，且不會造成魚隻因操作而死亡。此外，由本試驗的午仔魚因應緊迫的行為反應而言，皮質醇作為午仔魚緊迫程度之評估指標是可行的，但其含量與緊迫程度之相關性仍有待未來的深入探討。