

(二) 生物技術在水產養殖上之應用研究

促進魚類免疫力和抗病力探討-石斑魚益生菌生物製劑之研發

在傳統的觀念中“益生菌”是指影響腸道菌群的菌種。Fuller 認為益生菌是群添加在飼料中且有益於宿主的活微生物，其可經由改善宿主腸道的微生物平衡。而 Salminen et al.則認為益生菌是指“任一有益於宿主健康的微生物或其產物”。益生菌在水產養殖的運用策略有二，一為添加益生菌到孵化桶或池塘以改變環境菌相，進而使水較乾淨、較沒有致病原和較有增進健康的水化學等。二為在飼料中添加數種混合菌種以改變腸道的菌相。在益生菌的研究中，除發現益生菌可促進魚體健康和抗病外，發現益生菌也具有促進成長及減少藥物的使用等效益。目前台灣的石斑魚人工繁殖技術已漸趨成熟，然自受精卵孵化至 2 吋左右的仔稚魚苗之育成率仍相當低，其原因可能因攝餌或食物的消化不良等造成仔稚魚苗的抗病力低下或對環境的適應能力差，導致病毒或其他病原的感染。因此，本研究主要以石斑魚腸道進行腸道菌項分析及純化，以篩選出腸道有益菌及腸道益生菌之消長情形。自孵化場、育苗池和育成池等採集健康的鞍帶石斑魚花、魚苗和稚魚 (其體長分別為 2.6-3.6 g、12-20 g 和 51-88 g) 等進行腸道菌株，採樣後先以營養培養基和三種腸道菌特定培養基培養菌種，經連續純化培養和純種菌落分離純化後，以 API-20E 鑑定系統進行初步鑑定，最後輔以各種生化分析進行菌種之鑑定。所有的培養溫度均為 27°C。依所採集時魚體的健康情形或成長階段，及根據文獻所述和採樣的結果綜合研判及保存可能具有促進魚體健康及提高仔稚魚活存率的益生菌株。結果顯示石斑魚腸道菌相受其成長階段影響。較大體型之石斑稚魚的腸道菌相較剛變態完的小體型石斑魚苗複雜，且稚魚的腸道中含有 4-6 種乳酸菌屬為石斑魚花所沒有的。剛變態完成的石斑魚腸道菌相比未變態前

者單純，且菌數也較少，顯示對剛變態完成的石斑魚投與腸道益生菌，可提高其活存率。

九孔核糖核酸品質之萃取比較研究

目前對於九孔或其他貝類是否有生長賀爾蒙基因尚無定論，有必要加以釐清。軟體動物有關生長基因的探討文獻不多，因此可供比對以設計起始子 (primer) 的訊息相對減少，致於軟體動物之生長遺傳訊息存於何種組織似乎還不甚了解，1988 年在 nature 上有發表一篇有關在軟體動物 (*Lymnaea stagnalis*) 位於頭部的神經結有 insulin-related peptide 的先驅物 (precursor)，此先驅物是否與生長有關值得探討。欲探討這些與生長有關的轉訊核糖核酸 (mRNA)，首先必須純化總核糖核酸。由於純化核糖核酸的方法有多種，雖然這些方法有適用於不同組織之限定，但對於貝類組織含有多量的多醣類，並不適於以管柱層析法的萃取。其中以沉澱萃取法在質和量都有較佳表現。

由於核糖核酸的萃取很容易受到核糖核酸分解酶 (RNase) 分解，一般魚、蝦或其它動物所純化的 RNA 在電泳膠之表現有兩條帶狀。其中一條分子量為 28S，另一條為 18S。至於九孔以沉澱法萃取之 RNA 在電泳膠之表現只有一條帶狀，此單一帶經比對 RNA 分子量標示比對大小是 18S。此結果經分析可能原因：(1)28S 可能在萃取過程中被降解；(2)有可能貝類在 RNA 的表現只有一帶狀；此點有待證明。至於是否受萃取過程中被降解的可能性，在經過嚴格實驗桌與實驗器具以 DEPC 和 H₂O₂ 處理下，以及一再重複的萃取所得結果亦只有一條帶出現。因此是否貝類的表現只有一帶，此帶是否含有生長基因必須做內交才能得到證明。總結九孔不同組織 RNA 純化量與質，以頭部神經結、鰓和外套膜的表現較佳；肌肉、內臟和生殖巢表現不穩定，而且質與量不佳。

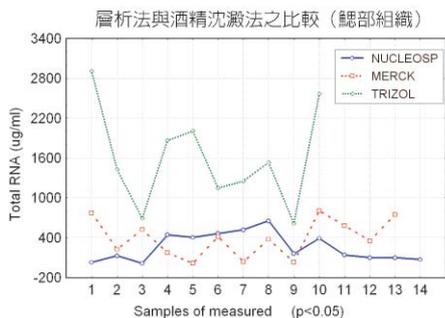


圖 1 不同核酸純化結果之比較

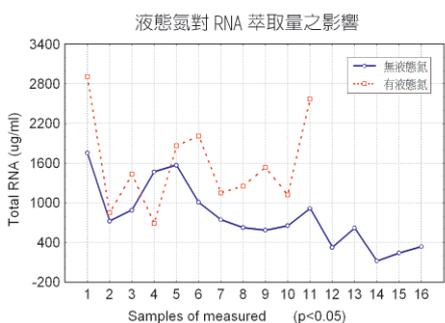


圖 2 以液態氮純化核酸結果之比較

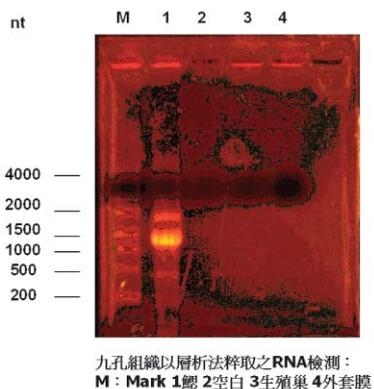


圖 3 九孔核酸之分子量表現 18S

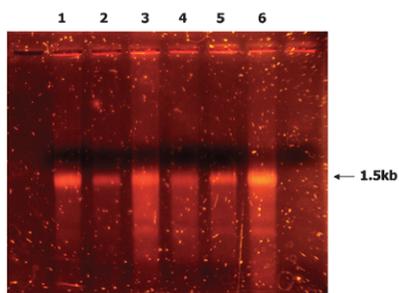


圖 4 九孔各器官核酸分子量表現 1.5 kb

種蝦配合飼料的應用效果

本研究目的為白蝦種蝦飼料開發，是根據 91 年度的結果來修正「南水研 1 號種蝦飼料」的配方，以解決雄種蝦生殖力低下之問題，並測試種蝦飼料應用在產業上的實際成效。

種蝦配合飼料的應用效果 (生產無節幼蟲的效果)，是以投餵鮮餌 (烏賊、蚵肉及南極蝦) + 海蟲培育種蝦的操作方法為對照組，鮮餌 + 人工種蝦飼料 (1.92%) + 海蟲為試驗組 I，鮮餌 + 人工種蝦飼料 (3.36%) 為試驗組 II。實驗進行 4 週，結果種蝦每週平均交配率及月平均單尾母蝦生產無節幼蟲，均以試驗組 II 最高，為 79-96% 及 24.23 萬尾，月平均單日無節幼蟲總生產量，以試驗組 I 44×10^6 最高，對照組均最低。無節幼蟲體長及變態至眼幼蟲期 (Z1) 活存率及卵徑，試驗組均較對照組為佳。

根據本研究試驗結果，「南水研 1 號種蝦飼料」可提高白蝦種蝦交配率、無節幼蟲品質及生產量，並可降低培育種蝦生產成本，提高產業競爭力。

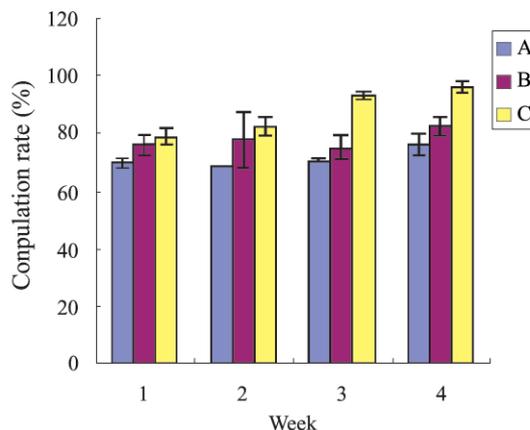


圖 1 The comparison of broodstock average compulation rate
 A : Control : fresh meds (squids, oysters, shrimp) plus seaworms
 B : Experiment I : fresh meds plus artificial diets (1.92%) and seaworms
 C : Experiment II : fresh meds plus artificial diets (3.36%)