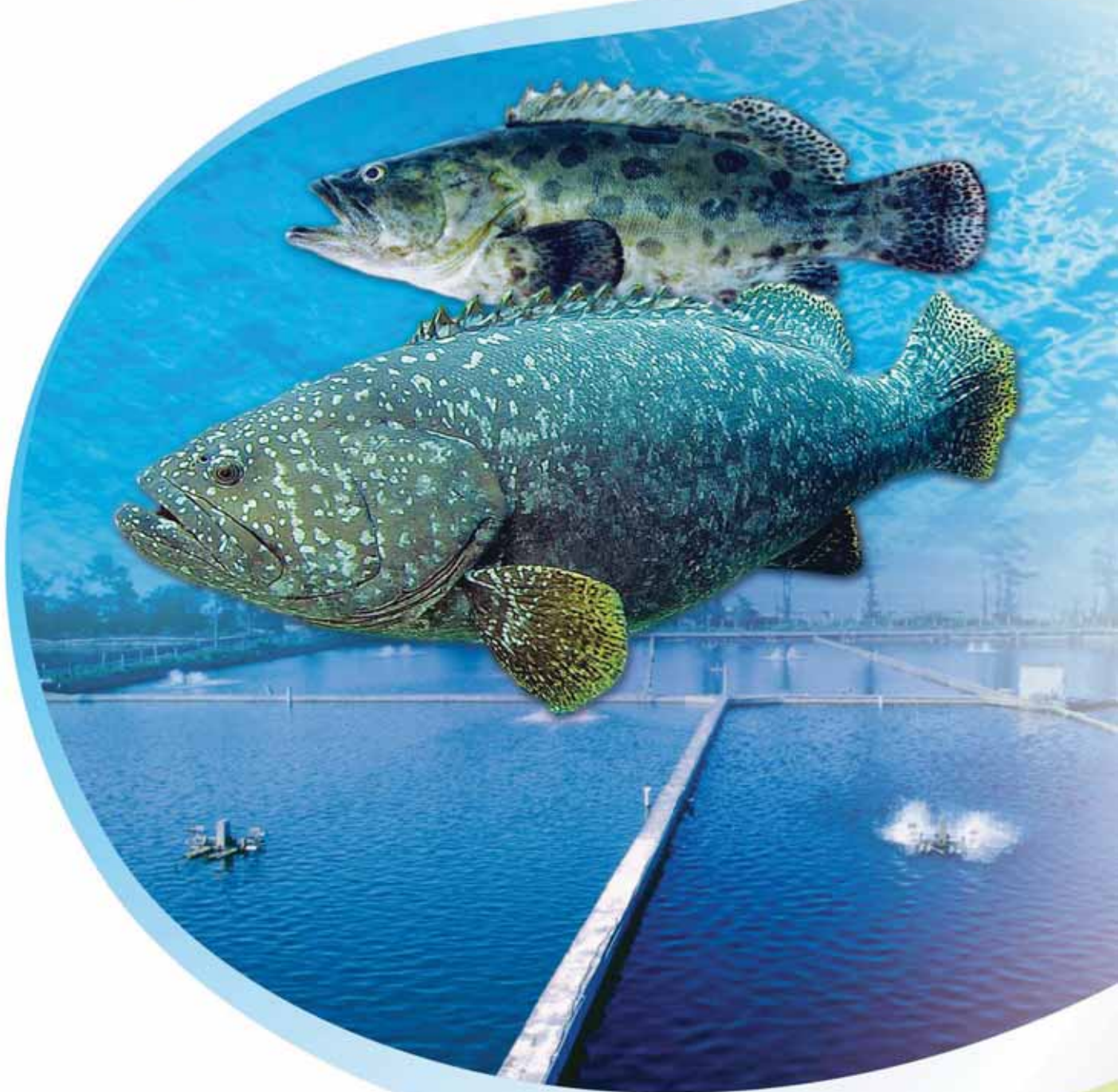


2010

石斑魚精緻養殖研討會論文集

Proceedings of the 2010 Workshop on
Refined Aquaculture of Grouper



2010

石斑魚精緻養殖研討會論文集

Proceedings of the 2010 Workshop on
Refined Aquaculture of Grouper



行政院農業委員會水產試驗所
Fisheries Research Institute, COA

中華民國一百年九月
September 2011

序

石斑魚是亞太地區最重要的養殖魚種，近年來，台灣石斑魚養殖產業蓬勃發展，除了魚苗培育技術獨步東南亞之外，也是魚苗及幼魚的重要輸出國。目前我國已成功確立瑪拉巴石斑、點帶石斑、鞍帶石斑、虎斑、老鼠斑、七星斑、金錢斑、玳瑁石斑等的完全養殖技術，並落實民間應用，有效推動產業的發展，進而提昇台灣的養殖石斑魚在國際間的競爭力。

雖然台灣的石斑魚養殖技冠全球，不過要繼續維持領先優勢，仍有一些問題，諸如：魚苗量產技術的穩定、符合營養需求之人工飼料的開發、疾病防治與疫苗的研發等等需要突破與解決。自1990年起，世界各國的海水魚類陸續傳出感染神經壞死病毒及虹彩病毒之案例，近幾年來更爆發了石斑魚的病毒性疫情，魚苗多半在孵化後的10－60天內發病，死亡率高達九成以上，影響所及，目前石斑魚白身苗的總育成率低落，僅約1%左右，業者損失慘重，產業發展嚴重受阻。本所鑑於此，積極進行相關研究，除透過養殖環境與過程的嚴格管控等策略，以杜絕水平感染外，並透過SPF種魚的篩選、洗卵等途徑，阻斷種魚至受精卵的垂直感染，以儘速建立優質種魚與種苗的生產系統。

近年來生物技術突飛猛進，無論產、學界均累積了許多研發成果及經驗，可資應用於石斑魚苗培育上。水產試驗所舉辦「2010石斑魚精緻養殖研討會」的目的，就是希望藉此促進交流，共同探討石斑魚產業的癥結，分享彼此的經驗及成果，以解決石斑魚養殖面臨的問題。研討會在本所海水繁養殖研究中心全體同仁的全力以赴以及各界的鼎力協助下，圓滿達成任務；是日的議程緊湊而豐富，除了本所海水繁養殖研究中心與澎湖海洋生物研究中心同仁分別就石斑魚種苗生產、養殖管理、殘食行為、飼料營養等主題提出報告外，並特別邀請成大陳宗嶽教授就生物技術應用、海大周信佑教授與台大齊肖琪教授就石斑魚病毒性疾病防治策略、畜試所涂堅研究員就疫苗開發以及高海大蕭世民教授就垂直型養殖在石斑魚中間育成的應用等發表專題演講，主題幾乎涵蓋了石斑魚產業的各個面向。因此本所特將是日之報告內容彙編成冊出版，提供各界參考，冀能有助於解決石斑魚養殖面臨的難題，進而促進產業的永續發展。

行政院農業委員會水產試驗所

所長 蘇偉成 謹識

中華民國一百年九月

Preface

Grouper is recognized by the aquaculture industry as the most important aquaculture species in the Asia-Pacific region. Grouper farming in Taiwan flourishes and its techniques, especially breeding and fry rearing, are the first in Southeast Asia. Taiwan is also an important exporter of fry and juvenile groupers. Currently, more than ten grouper species are cultured in private aqua farms. Also, techniques of full life-cycle aquaculture for species such as malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*), Orange-spotted grouper (*E. coioides*), Giant grouper (*E. lanceolatus*), Brown-marbled grouper (*E. fuscoguttatus*), Humpback grouper (*Cromileptes altivelis*), Leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*), Potato grouper (*E. tukula*), and Longfin grouper (*E. quoyanus*) have been established in order.

However, the grouper industry has faced certain issues, such as feed technology, disease prevention and cure, and other issues. Since 1990, cases of viral nervous necrosis and iridovirus-like infestation have emerged around the world including Taiwan, Japan, Korea, the United States and China. The recent outbreaks of viral disease in grouper fry aquaculture have severely caused economic losses. The disease mainly occurs in the larval stage and the survival rate is less than 1% in total. After 10-60 days of hatch, fry mortality is over 90%. It has hit the grouper industry greatly. In addition to the horizontal infection, the vertical infection from spawner to fertilized egg is also one of major routes. Thus, quality seed production system should focus on the prevention through isolation, disinfection and vaccine to maintain a healthy environment.

In recent years, the development of biotechnology is rapid. The grouper industry and academia also have many achievements and experience available to be used and implemented. The goals of the 2010 Workshop on Refined Aquaculture of Grouper held by the Fisheries Research Institute were to promote technique information exchange between the industry and academia and to know each other's difficulties and owned resources.

Thanks for all of the support to make the Workshop successfully. All papers were compiled as workshop proceedings. Hopefully, it would help to foster sustainable development of grouper aquaculture.



Director General
Fisheries Research Institute, COA

目次 Contents

第一章 石斑魚養殖健康管理與發展策略 葉信利、朱永桐、林峰右

一、前言.....	1
二、養殖管理	3
(一) 種苗生產	3
(二) 養成	4
(三) 環境水質	5
(四) 疾病防治	5
三、發展策略	5
(一) 建構防寒、防疫系統之石斑魚繁養殖模場.....	6
(二) 石斑魚種苗魚病防治及防疫檢疫	6
(三) 石斑魚生殖關鍵技術之研發	7
(四) 建立與國際接軌之管理系統與措施.....	7
(五) 研發及經營人才培訓	7
四、未來展望	7
五、參考文獻	8

第二章 石斑魚苗的殘食行為及預防 許晉榮

一、前言.....	9
二、何謂殘食	9
三、石斑魚的殘食	10
四、抑制石斑魚苗殘食的方法	12
五、結語.....	15
六、參考文獻	15

第三章 石斑魚營養需求與飼料開發 吳豐成

一、前言.....	17
二、飼料養分	18
(一) 水分	19
(二) 灰分	19
(三) 粗蛋白質	19
(四) 粗脂肪.....	19
(五) 粗纖維.....	19
(六) 無氮浸出物.....	19
三、石斑魚之飼料蛋白質需求	20

四、石斑魚之飼料脂肪需求	21
五、石斑魚之維生素 C、E 之需求	23
(一) 維生素 C	23
(二) 維生素 E	24
六、鞍帶石斑之中間育成飼料試驗	25
七、未來發展	25
八、參考文獻	26

第四章 石斑魚的生物技術應用

..... 黃意菱、王廷瑜、徐浩軒、陳怡安、陳永茂、陳宗嶽	
一、前言	27
二、石斑魚簡介	27
三、生物技術在石斑魚產業的應用	28
四、養殖健康管理－石斑魚病原檢測	28
五、基因輔助育種－基因標誌分子檢測	30
六、改進石斑魚養殖技術－提升石斑魚養殖效率	32
七、結語	33
八、參考文獻	33

第五章 豹鱸種苗生產技術..... 許鐘鋼

一、前言	35
二、澎湖野生豹鱸漁獲及單價	36
三、野生豹鱸種原培養流程	37
四、野生豹鱸種魚之養殖	38
五、豹鱸種魚之產卵	39
(一) 豹鱸產卵期	39
(二) 產卵量	39
(三) 平均日產卵量	39
(四) 豹鱸產卵量月變化	39
六、豹鱸胚胎及仔稚魚	40
七、豹鱸不同餌料之成長	40
八、結論	41
九、參考文獻	42

第六章 由水消毒及洗卵之健康管理建立石斑魚病毒之防除策略.....

周信佑

一、前言.....	43
二、養殖用、排水之消毒處理	43
(一) 紫外線殺菌.....	44
(二) 臭氧殺菌	44
(三) 海水電解殺菌	45
三、洗卵之健康管理.....	46
四、結論.....	47
五、參考文獻	47

第七章 石斑魚病毒性神經壞死症的防疫策略.....

齊肖琪

一、前言.....	49
二、病毒性神經壞死症	49
三、病毒傳播途徑	49
四、病毒在宿主體內的散布途徑.....	50
五、診斷方法	50
六、防疫策略	51
七、NNV 疫苗及其免疫方法	52
(一) 石斑魚幼苗的免疫策略.....	52
(二) 石斑魚種魚的免疫策略.....	53
(三) 雞蛋抗體的被動免疫	53
八、益生菌的應用	54
九、尚可努力的方向.....	54
十、參考文獻	55

第八章 魚類疫苗介紹 - 石斑魚病毒性疾病預防策略.....

涂堅

一、疫苗的歷史.....	59
二、疫苗定義	59
三、佐劑.....	60
四、疫苗的種類.....	60

(一) 活毒疫苗	60
(二) 死毒疫苗	60
(三) 次單位疫苗	60
(四) 類毒素疫苗	61
(五) DNA 疫苗	61
五、目前世界各國商用魚類疫苗	61
六、疫苗投予的方式	61
(一) 注射	61
(二) 浸泡	62
(三) 口服	62
七、魚類的免疫系統	62
(一) 體液免疫	62
(二) 細胞免疫：有兩種 T 細胞負責	62
(三) 免疫適期	62
(四) 移行抗體 (maternal antibody)	63
八、石斑稚魚病毒性疾病預防對策	63
(一) 垂直性病毒感染的預防	63
(二) 水平性病毒感染的預防	63
九、參考文獻	64

第九章 垂直型水產養殖在石斑魚中間育成及疾病觀察的應用

..... 蕭世民、梁麗麗、何芝葶、黃清龍、謝欣蓓、王慧婷	
一、前言	65
二、結果	66
(一) 環境因素	66
(二) 垂直型養殖系統養成青斑小魚	66
(三) 垂直型養殖系統養成鞍帶石斑	66
(四) 石斑魚體長與體重的相關變化	67
(五) 病毒及弧菌感染的發病觀察	67
三、討論	70
(一) 垂直養殖中間育成	70
(二) 優質幼魚的供應體系	70

第一章 石斑魚養殖健康管理與發展策略

葉信利、朱永桐、林峰右

水產試驗所海水繁養殖研究中心

一、前言

石斑魚為暖水性魚類，種類繁多全世界約有 400 種，分布於熱帶及亞熱帶海域，台灣常見種類有卅多種。全球養殖石斑魚的地方，除香港與台灣之外，尚有中國福建、廣東沿海、日本、新加坡、菲律賓、印尼、馬來西亞、泰國與科威特等 (Fukuhara, 1989; Pawiro, 1999)。石斑魚是水產養殖界公認亞太地區最重要之養殖魚種，2007 年依 FAO 統計，世界石斑魚養殖產量已超過 7.5 萬公噸，台灣亦為全世界石斑魚主要養殖國家之一 (表 1-1)，產量為 17,234 噸 (佔全世界總產量之 25%)，產值高達 40.8 億元 (佔全世界總產值之 58%)。2008 年台灣養殖產量為 17,024 噸，產值高達 48.75 億元。另據中華民國水產種苗協會調查 2009 年台灣鞍帶石斑吋苗年產量 543 萬尾 (表 1-2)，歷史價格

表 1-2 近年台灣主要養殖石斑魚苗產量

年	種 類	Ind. (×10000)
2005	<i>E. coioides</i> (點帶石斑)	4,600
	<i>E. fuscoguttatus</i> (虎斑)	875
	<i>E. lanceolatus</i> (鞍帶石斑)	218
2006	<i>E. coioides</i>	4,680
	<i>E. fuscoguttatus</i>	470
	<i>E. lanceolatus</i>	504
2007	<i>E. coioides</i>	5,130
	<i>E. fuscoguttatus</i>	157
	<i>E. lanceolatus</i>	170.5
2008	<i>E. coioides</i>	2,890
	<i>E. fuscoguttatus</i>	10
	<i>E. lanceolatus</i>	190.5
2009	<i>E. coioides</i>	4,785
	<i>E. lanceolatus</i>	543

資料來源：Fish Breeding Association

表 1-1 全球養殖石斑魚產量

年	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
中 國				23,453	28,876	34,039	41,994	42,854	45,213
台 灣	5,053	5,386	12,367	11,564	12,512	13,582	9,500	17,234	17,042
印 尼	1,159	3,818	7,057	8,665	6,552	6,883	3,132	6,370	4,268
馬 來 西 亞	1,217	1,101	1,399	1,977	2,284	2,572	4,256	4,208	4,400
泰 國	1,332	1,443	1,170	2,338	3,574	2,582	3,036	2,981	3,105
香 港	523	910	325	832	789	514	525	1,028	918
合 計	9,574	12,905	22,542	49,471	55,008	60,837	63,048	75,406	75,727

單位：噸，資料來源：FAO

* 全球養殖石斑魚產量：75,000 噸 (中國 45,000 噸、台灣 17,000 噸)

* 以中國最多、台灣次之、馬來西亞第三

45 – 60 元，石斑魚苗 (瑪拉巴石斑、點帶石斑) 產量達 4,785 萬尾，歷史價格 4.5 – 10 元。由 1980 年以來，石斑魚之人工繁殖研究即積極進行中 (Huang et al., 1986 ; Lin et al., 1986 ; Huang et al., 1987 ; Yeh et al., 1987, 1989a, 1990)，國內石斑魚種苗培育研究經幾年來不斷努力 (Yeh et al., 1986, 1987 ; Yeh et al., 1988, 1989b ; Yeh et al., 2003abc)，產業分工精細為其主要特點 (圖 1-1)，並先後已建立瑪拉巴石斑、點帶石斑、鞍帶石斑、虎斑、老鼠斑、七星斑、金錢斑、玳瑁石斑等人工完整發展之繁殖及飼養技術 (圖 1-2)，應用於石斑魚繁養殖產業，除在種魚培育節省不少時間及成本外，國際上具有很優勢之競爭力。但自 1990 年起，世界各國包括日本、韓國、美國、中國及我國均傳出海水魚類感染神經壞死病毒及虹彩病毒之案例 (Munday et al., 2002)，受感染的魚類包括短鰭黃臘鯔、鞍帶石斑、虎斑、點帶石斑、川紋笛鯛、海鱸、金錢斑、金目鱸等，其中以石斑魚最為嚴重。並因近年來爆發石斑魚虹彩病毒及神經壞死病毒之病毒性疫情造成魚苗在

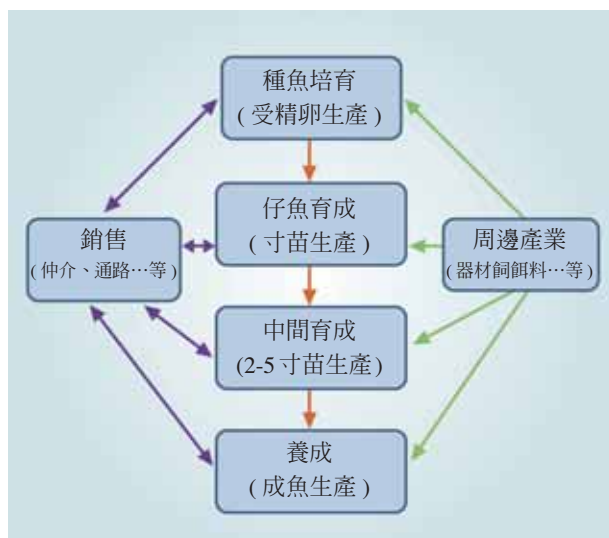


圖 1-1 台灣石斑魚養殖產業分工的現況

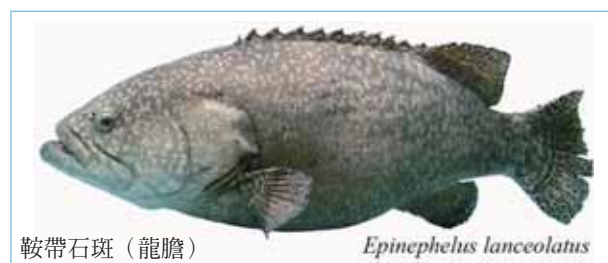
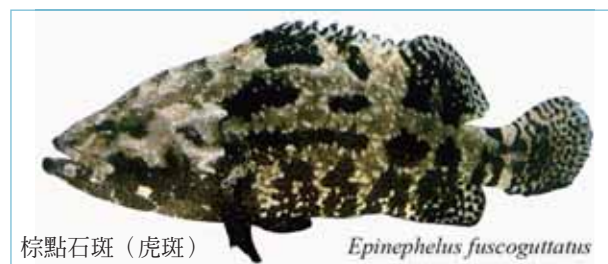


圖 1-2 台灣石斑魚主要養殖與育苗種類

短時間內大量暴斃，造成經濟上的嚴重損失。病毒因子嚴重感染，使目前白身苗總育成率不足 1%，魚苗發病期為孵化後 10 – 60 天，發病死亡率 90% 以上。這些病毒主要發生在仔稚魚階段，使得育苗率非常低，多年來疫情並未獲得有效改善，重創石斑魚繁養殖產業。病毒

致病機制除了水平感染外，種魚至受精卵的垂直感染亦是主要途徑之一（圖 1-3），因此未來疾病的控制應以健康種苗培育環境的消毒及疫苗的預防為方向，為了培育健康的種苗，對於種魚的篩檢與管理是疾病防治對策中極重要的一環。

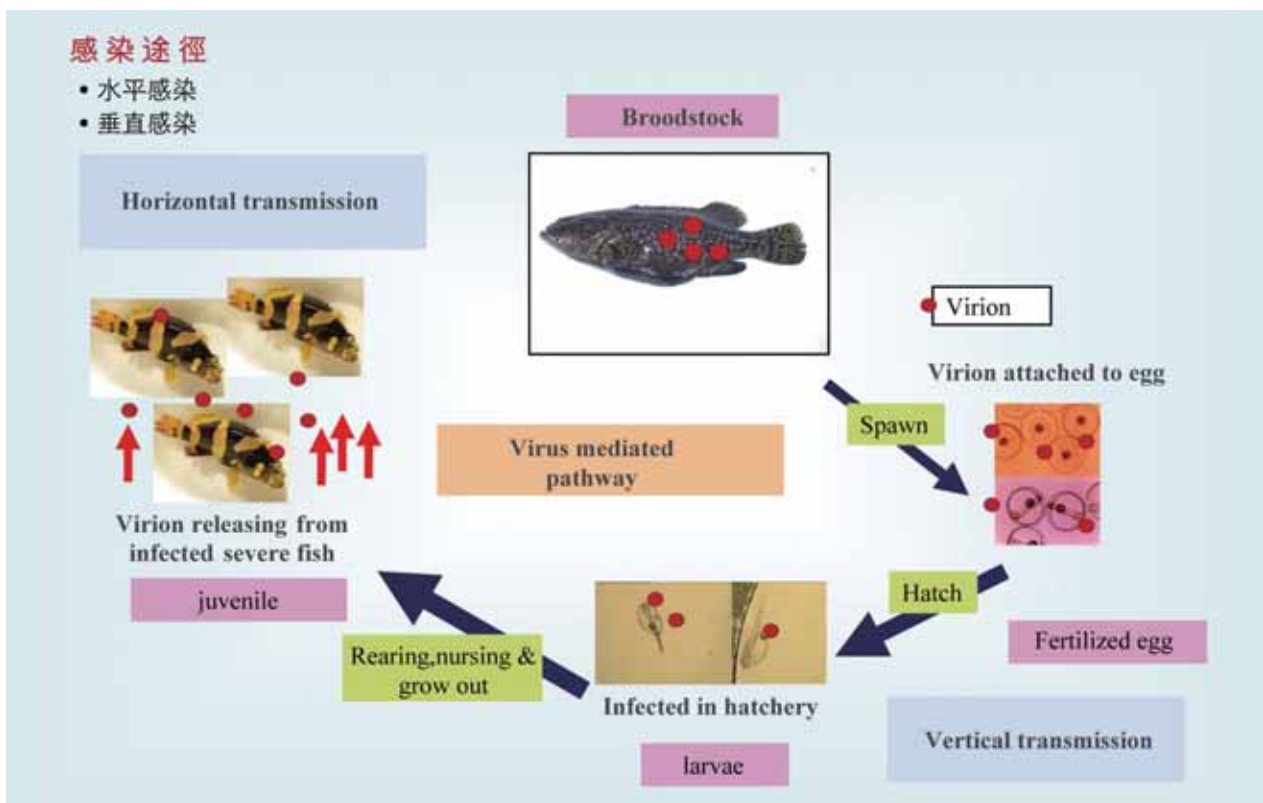


圖 1-3 石斑魚養殖遭受病毒感染途徑

二、養殖管理

石斑魚生產是分工精細之產業，每個階段之管理環環相扣，所以經營上「預防重於治療」，良好的健康管理可以避免養殖魚疾病的發生，降低爆發疫情影響與嚴重性，石斑魚養殖管理除計算經營成本與收益外，主要有種苗生產、養成、環境水質、疾病防治等幾項。

（一）種苗生產

1. 生產受精卵

生產受精卵方式目前大多為自然產卵法，人工授精法已甚少被採用，以自然產卵法取得受精卵較為經濟、方便、品質佳，對種魚損害也輕，但種魚培養數量需較多。自然產卵法係以荷爾蒙催熟親魚或將已成熟之親魚移入產卵池中，讓其自然交配產卵。但若能避免親魚重複注射及減少生殖次數、加強種魚抗體檢查和病毒檢測，將有助於優質卵之取得。

2. 魚花培育 (受精卵~白身)

利用消毒方式來防止病原透過卵傳播到孵化仔魚之垂直感染，及養殖用水與餌料投餵之水平傳染途徑，為魚苗培育健康管理流程之基本要求。通常受精卵在海水鹽度 35 psu、水溫 27℃ 左右時約 24 小時可孵化，石斑仔魚孵化後第 3 天卵黃囊被消耗殆盡開始索餌，投餵仔魚則依魚口徑之大小、運動能力、消化器官和腺體發育程度選擇合適餌料生物，亦利用仔稚魚孵化後天數及魚體大小選用合適餌料，餌料生物投餵採重疊之調配 (表 1-3)，但需避免餌料生物間食物競爭，及餌料生物之病原傳染。

3. 寸苗培育 (白身~二寸苗)

病原水平傳染在寸苗培育階段最容易發生，除需阻斷可能的傳播途徑，室內或室外

培育白身苗至二寸苗所需之管理為：(1) 育苗池處理：室外土底育苗池先除污泥並曝曬池底，再培養魚苗之餌料生物；室內水泥池則沖洗池壁並消毒，後注入乾淨海水。(2) 放養魚苗：先取數尾欲放養魚苗試水及檢疫做觀察，過幾天如一切正常就進魚苗放養。(3) 馴餌：定點投放可供躲避之物集中魚群以便馴餌，飼料大小以魚苗之口徑一半為宜，投餵次數每天約 2—3 次，馴餌期間需注意水質變化。(4) 分養：石斑魚苗有殘食現象，篩選為避免互食之管理技巧，約 3—5 天 1 次，將魚苗分成大、中、小三種規格蓄養。(5) 運輸：依魚苗數量、運送距離及時間長短採活魚箱或魚袋灌氧方式，通常可做 8 小時內之運送。

(二) 養成

養殖場在地點上選擇水質良好，並且要注意溫度、鹽度、pH 等因子及池水交換方便不受污染之處。另交通便利、電力充足、餌料供應來源與安全考慮皆為重要因素。魚池需配備水車，除一般電力系統外需自備發電機與緊急電力自動切換系統，進水設抽水機或水門利用潮差或電力進水，另備冷凍櫃 (庫) 儲存餌 (飼) 料。放養之管理工作分為：(1) 整池與曬池：集約養殖池底常因有機物堆機而老化，另石斑魚易在池底打洞影響排水及收成，需藉著整池改善底質及修護堤岸，並藉著日曬風吹將池底有機物充分氧化。(2) 消毒：長期使用養殖池光靠曬池並無法達到殺死池中微生物或病菌之效果，需使用藥物進行池底消毒與殺菌處理，通常生石灰每 0.1 公頃約放 30 kg 或漂白粉 0.03—0.05 ppm，藥物用時散布於池中浸泡 2—3 天，然後排

表 1-3 石斑魚育苗之時間與餌料生物應用

孵化後時間(天數)	體長(mm)	餌料生物及食物
3-7	< 5	牡蠣受精卵、光合菌
3-10	> 5	牡蠣擔輪幼生、光合菌
7-35	< 10	輪蟲、光合菌
17-40	10 < 15	橈角類、光合菌
30-45	> 13	豐年蝦無節幼生、光合菌
35	> 17	糠蝦、鰻粉、光合菌、切碎魚肉
> 60	> 48	鰻粉、光合菌、切碎魚肉

乾經日曬幾天就可以開始注水。(3) 注水與做水：注水應在短時間注滿避免有害生物繁生，若透明度太高可引入藻類較多之綠水或撒布魚粉及魚漿水當肥料做水。(4) 馴餌與投餵：魚苗放入後對餌料之投放採質，量控制與定時定位之原則，撒投或吊籃方式均可，馴餌處可置些可供隱蔽之物對其成長及活存率皆有正面效果。投餵次數以體長 6 寸以下時每日約 2 次，6 寸以上則每日 1 次就夠，投餵量以 2 小時以內能吃完為準，時間以早上 9 點前及下午日落前餵食完畢，馴餌位置依池塘大小選 1 至 3 處即可。(5) 日常管理：每日巡視養殖池及定時水質測量，注意有無異常狀況及病魚發生。

(三) 環境水質

為使石斑魚成長良好，就必須控制水質得宜，可用來判斷石斑魚養殖水質之因素如溶氧（範圍 > 2 ppm，最適 4 – 8 ppm）、鹽度（範圍 11 – 41 psu）、水溫（範圍 10 – 36°C，最適 22-30°C，攝食減少 15 – 18°C）、pH（範圍 7.0 – 8.4）、氨（範圍 < 0.1 ppm）、亞硝酸（範圍 < 1.0 ppm）等皆適合做為水質管理指標。養殖過程中適宜的控制投餵量，以及參考水質因子指標進行池塘換水是維持良好水質管理的基本方法。換水方式以邊進邊排調節水量，除非特殊狀況需要，否則儘量避免大量換水。

(四) 疾病防治

養殖的石斑魚苗及成魚上已常見許多由白點蟲、車輪蟲、指環蟲、三代蟲、舌杯蟲、魚蝨、魚蛭、異形吸蟲、新貝尼登蟲 (*Neobenedenia girellae*)、微孢子蟲及卵圓鞭毛蟲等引起的疾病日漸嚴重。尤其在魚苗培

育上，病毒性疾病亦發現有淋巴囊腫病、虹彩病毒感染症及病毒性神經壞死症，往往造成嚴重損失。且集約養殖系統在管理失當下容易形成病原菌或有害微生物之優勢環境，加上魚體營養不良或操作時受傷和氣候不適應等因素，都易使疾病發生。對已發生疾病之魚體處理，首先需找出病原，針對病因再施用藥物或藉改變水質環境系統之方式治療，有時需同時施以藥物治療及搬池才能見效。而對抗魚類病毒感染的有效方法，宜採用免疫防治，為了達到完善預防治療之目的，在魚隻不同成長階段針對不同病原體給予各種疫苗接種，配合環境因子控制，不失為可行之策略。積極防止具感受性寄主和病原體的接觸，透過種魚選別阻斷垂直傳播，並同時利用水殺菌預防水平傳播。

三、發展策略

台灣的石斑魚養殖技術，特別是魚苗的孵化部分，居東南亞第一名，也是魚苗及幼魚的重要輸出國。目前台灣約有十餘種石斑魚可供人工養殖，因此要發展石斑魚產業，無病毒種魚篩選培育工作必需列為優先，定期以聚合酶連鎖反應 (PCR) 檢測技術篩檢出未帶原之種魚，再以人工性轉變及繁殖技術縮短種魚培育時間以減低投資成本，並加以營養強化免疫機能，生產出良質受精卵。配合環境的消毒及洗卵方法之進行，塑造防疫之育苗環境及養殖系統，以解決目前產業石斑魚育苗活存率低下及不穩定的問題。具體作為首要建構防寒、防疫系統之石斑魚繁養殖模場，配合建立種魚篩選流程（圖 1-4），

以病毒檢測挑選無帶原 (NNV, TGIV) 種魚，利用生殖力指標 (reproductive index) 去除生育能力差之親魚，逐批篩選快速成長魚苗作為親魚培育候選對象，並以基因標幟 (gene mark) 確定挑選之種魚，以此四大項目作為判斷種魚場優質種魚指標。另石斑魚苗 (卵、白身苗、2 – 3 吋、4 – 6 吋) 優質判斷藉由評量、檢測、觀察並紀錄建立衡量指標 (圖 1-5)，分五大部分 (外部形態觀察、疾病檢測、環境耐受性生理指標、攝食指標、藥物殘留) 建立蓄養前期大型魚苗標準化健康度指標以及蓄養後期生理值指標檢測，可以有效提供養殖戶辨別及選取健康魚苗，提高養殖管理效益，再經標準化培育過程，可以成功的蓄養至 4 – 6 吋階段，並降低魚隻死亡率。利用上述參考指標予以客觀並標準化檢測，減少養殖過程中不必要之損失，成為石斑魚研發產業之重要關鍵技術 (圖 1-6)。

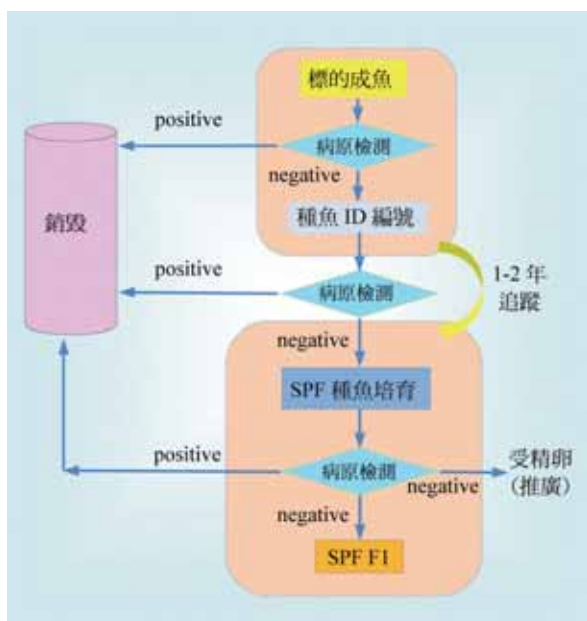


圖 1-4 無特定病原石斑魚種魚篩選流程



圖 1-5 石斑魚健康度評量模式



圖 1-6 優質石斑魚生產管理關鍵技術與系統

(一) 建構防寒、防疫系統之石斑魚繁養殖模場

以量產百萬尾之優質石斑魚苗 (卵、白身苗、2 – 3 吋、4 – 6 吋) 規模為目標，對所需之種魚場、育苗場、中間育成場、養成場、餌料生物場及包裝運輸場分別建構無特定病毒之防疫生產設施及操作流程。

(二) 石斑魚種苗魚病防治及防疫檢疫

結合水試所及各大學或研究機構相關領域之專長，進行石斑魚苗先天免疫系統與開發魚苗免疫刺激添加物及建立石斑魚對抗神經壞死症病毒之疫苗防疫生產模式。

(三) 石斑魚生殖關鍵技術之研發

1. 石斑魚種魚培育及育種開發

應加強項目為性別控制之相關機制生理基礎與應用研究、種魚成熟生理基礎與應用研究、環境緊迫生理基礎與應用研究、種魚營養強化應用研究、抗特定病原 (SPR) 種魚育成、優質種魚大量培育、新魚種開發 (金錢斑、豹鰨、油斑、藍瓜石斑、白瓜石斑、皇帝斑…)，分子生物學工具快速進行選種與育種之研究。

2. 優質魚苗生產技術研發與改進

包括餌料生物開發與量產研究 (圖 1-7)、餌料生物之營養強化研究、餌料生物之運輸與保存研究、石斑魚孵化管理與育苗技術改進、石斑魚中間育成技術改進、魚苗飼料開發與研究、魚苗培育期間之疫苗研發。

3. 石斑魚養殖技術研發與改進管理

則有石斑魚養成飼料營養需求及開發、增強石斑魚抗病之研究。

(四) 建立與國際接軌之管理系統與措施

建立產品符合安全衛生、生態資源保育觀念、善盡社會責任與兼顧動物福祉之養殖管理技術與模式，生產優質石斑魚種苗取得國際品質管理認證。

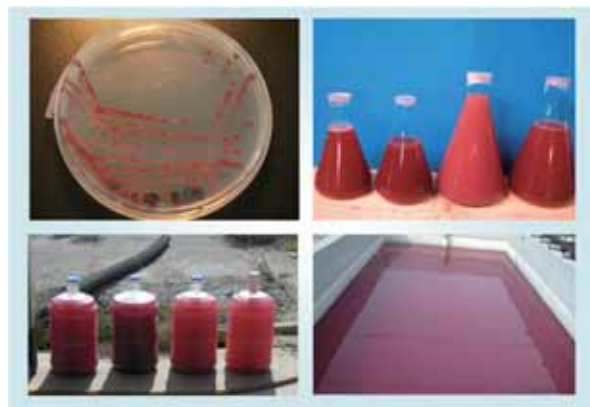


圖 1-7 益生菌做為餌料生物開發與量產研究

(五) 研發及經營人才培訓

研發及經營人才是石斑魚產業未來研發成敗關鍵之一，以目前人力尚不足以滿足現有產業運轉所需，積極進行人才培訓，解決產業界專業人力來源之問題，亦不容忽視。

四、未來展望

由於石斑魚具高經濟價值，養殖發展潛力被看好，特別是在育苗之暴利誘惑下，將吸引更多業者投入。人工繁殖之石斑魚苗除能供應本國所需，亦將外銷至大陸地區及其他各國。因此，魚苗售價降低與魚苗供應充足，勢必引起成魚養殖意願大為增加及競相養殖，相對的緊接而來之魚病、產量過剩、消費市場飽和及進口石斑魚低價競爭等隱憂皆會浮現。只有適宜的市場規化與養殖健康管理，建立養殖面積、生產量、市場需要量等資訊、積極開拓外銷市場、提升養殖魚品質、並在魚病防治研究與種苗生產方面，藉著生產受精卵與魚花培育業者分工合作方式，培育高免疫力之種魚、篩檢無特定病毒之種魚、降低受精卵計畫量產成本、提升育苗活存率及新魚種育種技術之開發，將是石斑魚養殖產業決勝之關鍵 (圖 1-8)。今後，除繼續發揮台灣養殖漁業的科技優勢及經濟地理條件，更仍需及早建立與國際接軌之管理系統與措施，使產品符合安全衛生、生態資源保育觀念、善盡社會責任與兼顧動物福祉之養殖管理技術與模式，生產優質石斑魚種苗取得國際品質管理認證，發展具有國際競爭力及成為外銷主力產業。



圖 1-8 石斑魚優質種苗生產策略

五、參考文獻

1. Fukuhara, O. (1989) A review of the culture of grouper in Japan. Bull. Nansei Reg. Fish. Res. Lab., 22:47-57.
2. Huang, T. S., C. L. Yen and C. Y. Liu (1987) Experiments on the artificial propagation of salmon-like grouper, *Epinephelus salmonoides* (Lacepede)-III. Brood stock nursing induced maturation and spawning. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 42: 317-335.
3. Huang, T. S., K. J. Lin, C. L. Yen, C. Y. Lin and C. L. Chen (1986) Experiments on the artificial propagation of black spotted grouper, *Epinephelus salmonoides* (Lacepede)-I. Hormone treatment, ovulation of spawners and embryonic development. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 40: 241-258.
4. Lin, K. J., C. L. Yen, T. S. Huang, C. Y. Liu and C. L. Chen (1986) Experiment of fry nursing of *Epinephelus salmonoides* (Lacepede) and its morphological study. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 40: 221-240.
5. Munday, B. L., J. Kwang and N. Moody (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: a review. J. Fish Dis., 25: 127-142.
6. Pawiro, S. (1999) Trends in major Asian markets for live grouper. INFOFISH Int., 4: 20-28.
7. Yeh, S. L. and Y. Y. Ting (1990) Studies on the reproduction for broodstock establishment of groupers. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 49: 167-181.
8. Yeh, S. L., C. M. Kuo, Y. Y. Ting and C. F. Chang (2003a) Androgens stimulate sex change in protogynous grouper, *Epinephelus coioides* spawning performance in sex-changed males. Comp. Biochem. Physiol., 135: 375-382.
9. Yeh, S. L., C. M. Kuo, Y. Y. Ting and C. F. Chang (2003b) The effects of exogenous androgens on ovarian development and sex change in female orange-spotted protogynous grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture, 218: 729-739.
10. Yeh, S. L., W. S. Luo and Y. Y. Ting (1986) Studies on the sexual conversion of grouper with hormone treatment. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 41: 241-258.
11. Yeh, S. L., Y. T. Chu, C. M. Kuo, Y. Y. Ting and C. F. Chang (2003c) 17 α -Methyltestosterone Induced sex change in the unilateral ovariectomized protogynous orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. J. Fish. Soc. Taiwan, 30(1): 77-86.
12. Yeh, S. L., Y. Y. Ting and C. M. Kuo (1987) Induced sex reversal and spawning of grouper *Epinephelus salmonoides*, *Epinephelus fario*. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 43: 143-152.
13. Yeh, S. L., Y. Y. Ting and C. M. Kuo (1988) Induced sex reversal of grouper (*Epinephelus salmonoides*, *Epinephelus fario*), after implantation of pellet androgen. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 45: 103-114.
14. Yeh, S. L., Y. Y. Ting and C. M. Kuo (1989a) Induced final maturation and ovulation of grouper (*Epinephelus salmonoides*, *Epinephelus fario*) with HCG or LH-RH analogue. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 47: 221-242.
15. Yeh, S. L., Y. Y. Ting and C. M. Kuo (1989b) Technique of pellet implantation and preparation for induced sex reversal of the groupers *Epinephelus salmonoides*, *Epinephelus fario*. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 47: 213-219.

第二章 石斑魚苗的殘食行為及預防

許晉榮

水產試驗所海水繁養殖研究中心

一、前言

石斑魚 (grouper) 在台灣是一種高經濟的養殖魚類，牠肉質鮮美，不僅深受國人喜愛，也是外銷中國、香港等亞洲國家的重要魚種，因此其生產技術自然也深受海水養殖業者的關注。目前台灣養殖的石斑魚種苗多數已是人工育成苗，常見的有點帶石斑 (*Epinephelus coioides*)、瑪拉巴石斑 (*E. malabaricus*)、虎斑 (*E. fuscoguttatus*) 及鞍帶石斑 (*E. lanceolatus*)，此外亦有少量的豹鰨 (*Plectropomus leopardus*) 以及老鼠斑 (*Cromileptes altivelis*) 苗生產。和其他海水魚類相較，石斑魚種苗的活存率仍屬偏低，因此在種苗的供給上仍不穩定，此可能與石斑魚類的生物特性、疾病抗力及育苗技巧等有關 (Liao et al., 2001)。其中，在育苗過程中經常可以發現的殘食 (cannibalism) 問題亦是造成業者困擾的原因之一。本文即在探討石斑魚類的殘食行為及相關預防方式，期能提供漁民參考運用，冀以降低育苗損失。

二、何謂殘食

其實殘食這個字很容易被誤用，Bombeo-Tuburan et al. (2001) 就曾將石斑魚獵食吳郭魚這種異種間的肉食 (carnivore) 行為當成是殘食。在動物學上，殘食事實上有一個

比較嚴謹且簡單的定義，就是種內的掠食 (intraspecific predation) (Fox, 1975)。更具體地來說，它指一隻魚殺死並食用同種魚大部分或全部身體的行為 (Smith and Reay, 1991; Hecht and Pienaar, 1993)。如果兩隻魚僅是因為打鬥而造成死亡，沒有涉及食用的過程，則只能被視為彼此之間的攻擊行為 (agonistic behavior) (Hecht and Pienaar, 1993)。而腐食 (scavenging) 也不是殘食，因為被攝食的對象早已死亡，並非是被殺死。食卵 (oophagy) 則是較為特殊的情形，殘食者所吃的是卵而非活的動物，但它經常也被視為一種殘食行為 (Elgar and Crespi, 1992)。

對動物而言，殘食行為有好處也有壞處。在風險性方面，殘食者本身在面對體型相當的對手時，本身也冒著被捕食的危險；此外，殘食者也可能因為捕食患病的同種而得到各種疾病；過度的殘食亦可能造成整個年齡群損失過鉅或性比不均，因而使族群崩潰。由殘食所得到的好處，首先，殘食者可以直接獲得食物及營養 (特別是蛋白質)，因此長得快、活得好、生得多，間接地也替自己或子代減少競爭的對手，並得到更多的資源 (例如食物及配偶)；其次，對於一些吃自己卵或幼體的親體而言，殘食是一種能量再生 (energy recycling) 的過程，經由其所獲得的能量可以更成功地繁衍下一代 (Smith and Reay, 1991; Elgar and Crespi, 1992)。

很多魚類在生活史中都被發現具有殘食行為 (Dominey and Blumer, 1984)。由目前的研究看來，殘食行為雖然可能發生在成體之間，但在多數的情形下，犧牲者多半是處於較易受傷害的早期生活史階段，因此殘食的發生多半是卵或仔、稚體被較大的個體所吞噬，或是仔、稚體間彼此的互殘 (Elgar and Crespi, 1992)。更奇特的是在某些胎生的軟骨魚類，還在母親體內的小鯊魚甚至會殘食其未出世的手足。在魚類所發生的這些殘食事件中，殘食者與犧牲者的血緣關係，可以是親子、手足或其他的血親，也可以是完全不相關的陌生者 (Smith and Reay, 1991; Hecht and Pienaar, 1993)。

三、石斑魚的殘食

石斑魚苗的殘食究竟始於何時？盛行於何時？Fukuhara (1989) 認為，在魚苗 8 – 50 mm 都會發生。由石斑魚苗發生過程來看，這約是從變態 (metamorphosis) 前開始“發翅” (亦即背、腹鰭的第二硬棘開始快速增長，長度甚至會超過仔魚的尾部)，持續到變態後 1.7 吋苗。依我們的經驗，8 mm 似乎早了些，因為此時仔魚背、腹鰭延伸，在水中像張開的三腳架一樣，這個“翅膀”的作用，可能是維持仔魚的浮力與抵抗略食者的侵襲 (Fukuhara and Fushimi, 1988; Kusaka et al., 2001)；且此時魚苗的消化道也未發育完畢，應該也不適合攝食其它仔魚 (許等, 2006)。以我們在點帶石斑苗的經驗，仔魚殘食開始約是在平均體長 16 mm 時，此和 Narisawa et al. (1997) 所發現的 13 mm 相近；但它發生較

頻繁之時，應是在變態後，背、腹鰭棘已完全縮短 (即俗稱的“收翅”)，且已沉底，約 25 mm (亦即八分苗左右) 之後。基本上，持續整個育苗階段 (大概到兩吋苗左右)，都可以看到明顯的殘食行為 (Hseu et al., 2003a)。略似的殘食時間也見於鞍帶石斑 (Hseu et al., 2004) 及七帶石斑 (*E. septemfasciatus*) (Sabate et al., 2009)。

雖然也有研究者發現，點帶魚殘食者可能會攻擊犧牲者的腹部，再由尾部將魚苗逐步吞噬 (Takeshita and Soyano, 2009)，但根據觀察，點帶、鞍帶石斑與虎斑殘食者多數是由頭部將犧牲者咬住，再將犧牲者由頭部以水平方式完全吞噬入腹中；如果吞噬失敗，就是兩者皆死亡的慘劇 (Hseu et al., 2003a)。根據此一殘食模式，殘食者要能將犧牲者完全吞噬，理論上，前者的嘴寬 (mouth width, MW) 至少必須等於後者的體高 (body depth, BD)，藉由此觀念，只要分別建立嘴寬及體高與體長 (total length, TL) 的關係式，再將兩者合併，就可以得到殘食者與犧牲者體長之關係式，這是除了直接量測發生殘食時的殘食者與犧牲者體長外，另一種得到兩者體長關係式較方便的方法。經由此法，我們可分別得到點帶石斑及鞍帶石斑苗嘴寬及體高與體長的關係式如下：

$$BD = 0.25 TL + 0.03 \text{ 與 } MW = 0.20 TL - 0.35$$

(點帶) (Hseu et al., 2003a)

$$BD = 0.29 TL - 0.35 \text{ 與 } MW = 0.24 TL - 1.07$$

(龍膽) (Hseu et al., 2004)

經統計結果顯示，兩種魚體高及嘴寬與體長間確實有顯著的線性關係，將上述嘴寬及體高與體長方程式合併即可得殘食者體長

(TL_{cannibal})對犧牲者體長(TL_{prey})的方程式：

$$TL_{prey} = 0.80 TL_{cannibal} - 1.50 \text{ (點帶)}$$

$$TL_{prey} = 0.83 TL_{cannibal} - 2.48 \text{ (龍膽)}$$

由此兩方程式判斷，此兩種石斑魚苗殘食者如果要成功地吞嚥犧牲者，且犧牲者體長在 20 – 50 mm 之間時，點帶石斑殘食者的體長需為犧牲者的 1.34 – 1.29 倍 (Hseu et al., 2003a)，鞍帶石斑則為 1.35 – 1.26 倍 (Hseu et al., 2004)。此結果顯示，點帶及鞍帶石斑苗理論上只要比牠的犧牲者大約 30% 左右，就可以將其吞嚥。這和很多海水魚類比較起來，發生殘食所需的體長差異相對地是較低的 (Hseu et al., 2004)。我們為了證驗上述實驗所推得之體長關係方程式是否正確，乃將不同體型之大小石斑魚配對，再觀察其殘食發生的情形。發現真如所料，發生殘食的配對，除少數例外，殘食者對犧牲者的體長比例多座落於我們所推的關係方程式下方，也就是說，基本上殘食者對犧牲者的體長比例要相等於或大於我們由關係式所推得之值才易發生，有些例外，其比例值也在 1.26 – 1.28，相當接近推測值 (圖 2-1) (Hseu et al., 2007a)，此結果證明了我們上述殘食者與犧牲者體長關係式的合理性。不過我們由上述實際觀察也發現，石斑魚苗的殘食發生率會隨著魚體增長而逐漸降低，到了育苗後期，殘食往往多發生在體型差異較大的情形下 (Hseu et al., 2007a)。

和點帶及鞍帶石斑苗不同，虎斑因為殘食所造成的損失，除了小魚被大魚吞嚥外，還有很大一部分卻是因為虎斑殘食者無法完全吞嚥犧牲者，而出現大、小魚皆亡的悲劇 (Hseu et al., 2007b) (圖 2-2)。為何多數的點

帶及鞍帶石斑殘食者可以將牠們的同伴吞嚥入體內，但虎斑卻容易失敗呢？其原因可能是虎斑苗嘴巴發育的速度比體高發育的速度來得慢，所以牠們在殘食時常常會“卡”住了。依照上述方式測量虎斑變態前仔魚 (16 mm) 到 2 吋半左右稚魚嘴寬及體高與體長的關係式為 (Hseu et al., 2007b)：

$$MW = 0.020TL - 1.25 ; BD = 0.28TL - 0.76$$

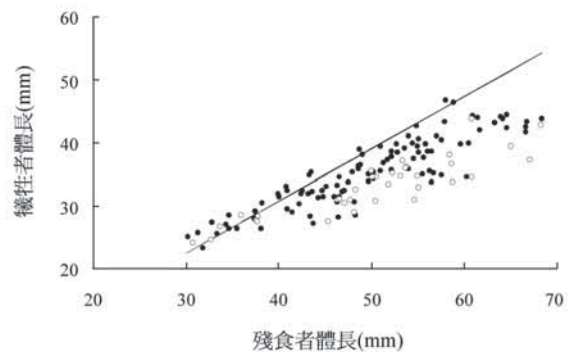


圖 2-1 不同體長之鞍帶石斑配對共處後，發生殘食與否的情形。圖中之實線為不同體長殘食者在 $TL_{PR} = 0.83 TL_{CA} - 2.48$ 公式預測下，所能吞嚥之最大犧牲者體長。實驗中發生殘食者以空心圓 (○) 表示，未發生者以實心圓 (●) 表示 (修改自 Hseu et al., 2004)



圖 2-2 殘食失敗，共亡的虎斑魚苗 (上) 及成功吞嚥同伴的魚苗 (下)

將虎斑的方程式和點帶及鞍帶石斑者比較，就可發現虎斑嘴寬相對體長的斜率（倍數）和點帶石斑的斜率相同（0.20），卻遠小於鞍帶石斑的斜率（0.24）；但體高相對體長的斜率（0.28）卻和鞍帶石斑者（0.29）相近，而遠大於點帶石斑者（0.25）（Hseu et al., 2007b）。這顯示虎斑嘴巴和中型石斑（點帶）發育的速度一樣，但體高發育的速度卻和大型石斑（龍膽）相同，因此牠要吞嚥同伴相對地就較為困難。事實上，當我們將上述兩式合併時，所求得殘食者與被殘食者體長之關係式為： $TL_{prey} = 0.71 TL_{cannibal} - 1.75$

依此方程式，在育苗階段（15 – 64 mm），虎斑殘食者要能完全吞嚥其同伴時，其體長至少須為被殘食者的 1.44 – 1.52 倍，比起點帶及鞍帶石斑苗只需要 1.3 倍左右的門檻值是大多了。換句話說，殘食過程的損失部分是虎斑的“小嘴”造成的！

四、抑制石斑魚苗殘食的方法

很多學者都曾對魚類種苗生產過程的殘食行為及影響原因做過研究，基本上，會誘

發或促進魚苗發生殘食的原因，主要可分為環境及遺傳因子兩大類。前者主要指某些環境限制因子，如餵食策略不當（包括餵食次數太少、餵食不均、餵食餌料不適、餵食時間未配合魚類習性等）、遮蔽物有無、養殖密度、水質環境等；後者則指因遺傳差異造成的不同體型及攻擊傾向（Hecht and Pienaar, 1993; Baras and Jobling, 2002）。對此，專家們多半建議以適當的餵食策略、合理的蓄養密度及定期分級等方法以降低殘食率。然而魚種不同，發育、型態及行為模式也各有差異，適用於一種魚類的處理方式，不見得在另一個種類也會有相同的效果。

對石斑魚苗而言，抑制殘食最有效的方法應是定期分級（Hseu, 2004）（圖 2-3 及表 2-1）。魚苗成長速度不同會造成體型差異，體型差異愈大，發生殘食的機會就愈高（Hseu, 2002; 許，2006）。由上述型態數據求出的體長比例，可作為石斑魚苗分級時的數理依據（Hseu, 2004）。不過，分級很耗時、耗力，有時還會對石斑魚苗造成壓迫及機械性傷害，特別是對還未完全變態的「白身仔」魚苗，牠們對人為操作的耐受性較低，因



圖 2-3 分級石斑魚苗之篩網

表 2-1 永安式篩網分級點帶及鞍帶石斑苗的大小 (修改自 Hseu, 2004)

篩 網	篩網尺寸 (mm)		最大穿過篩網之魚長 (mm) ¹	
	篩網邊長 ²	篩網對邊長	點帶石斑苗	鞍帶石斑苗
八 分	4.85	6.86	27.32	24.85
一 吋	5.31	7.50	29.89	27.07
吋 二	7.02	9.93	39.59	35.44
吋 半	8.35	11.80	47.08	41.90
吋 八	9.29	13.13	52.40	46.48
二 吋	10.03	14.18	56.61	50.11
二吋二	11.33	16.01	63.93	56.43
二吋半	13.49	19.07	76.18	66.98

¹ 最大穿過篩網之魚長：因為一個魚體要能穿過一個篩網上，其體高必須小於篩網對邊長 ($\sqrt{2}$ 篩網邊長)。因此，將該篩網對邊長當作體高輸入體長與體高的線性方程式就可以得到穿過該篩網之最大魚體長。

² 十個網目邊長平均值。

此分級也會造成某些損失 (Doi et al., 1991; Lim, 1993; Liao et al., 2001)。此外，由於虎斑殘食者即使體型差異不足以吞噬犧牲者，仍會進行殘食 (Hseu et al., 2007b)，因此定期分級對牠所產生的抑制效果較小，這是牠和點帶及鞍帶石斑不同之處。

一般來說，石斑魚攝餌的高峰應是在黎明及黃昏 (Parrish, 1987; Tseng and Ho, 1988; Yamamoto, 1996; Shima, 2001)，有些餵食實驗也顯示至少在某些種類的仔、稚魚的確是如此。Yamamoto (1996) 以人工照明模擬光照週期蓄養紅斑 (*E. akaara*) 魚苗，再於不同時間解剖魚苗，點算腸道所攝食的豐年蝦數，藉以判斷其攝餌時間。他發現 10 mm 左右的魚苗在完全無光的情形下是不攝餌的，其攝餌主要在白天，尖峰期是在微亮狀態下的黎明及黃昏時，相同的情形在瑪拉

巴石斑最近也被證實 (Fujii et al., 2007)。Shima (2001) 則是以自動攝餌機來計算雲紋石斑 (*E. bruneus*) 的攝餌日週期，同樣發現 82 日齡及 162 – 226 日齡魚的自發攝餌時間集中在白天，尖峰期也是在光亮後及光暗前 1 小時左右的黎明及黃昏時，特別是光亮後 1 小時的攝餌量是一天中最高的時候。不過有趣的是，到了 274 日齡時，雲紋石斑的自發攝餌時間卻會轉向夜間集中，尖峰期則是在天黑後 1 – 2 小時左右，此種夜間攝食的情形也見於七帶石斑的成魚 (Shima, 2001)。我們也曾調查不同餵食時間 (上午 9 點和下午 3 點、上午 9 點和下午 5 點、上午 7 點和下午 5 點及上午 7 點和下午 3 點餵食組等四個時間組合) 對點帶石斑苗殘食率的影響，但發現這四種餵食時間對殘食率並無顯著之影響 (許等, 2002)。

魚苗由於成長較快，所以往往也會比成魚在相對體重上消耗較多的飼料 (Baras and Jobling, 2002)，因此餵食的頻率必須比成魚來得高。相對於箱網養殖中較大的石斑魚成魚僅需兩天餵食一次即有很好成長及飼料轉換率 (feed conversion rate) (Chua and Teng, 1978)，魚苗的餵食頻率通常要較高些。Kayano et al. (1990, 1993) 在紅斑魚苗 (3.4 – 4.7 cm) 的餵食實驗顯示，從飼料轉換率、體組成、存活率的觀點來看，1 天餵食 4 次較佳。我們實驗發現餵食頻率的確會影響點帶石斑苗的殘食率 ($p < 0.05$)，較高的餵食頻率 (每天 3 – 4 次) 在抑制殘食率方面，明顯地優於較低餵食頻率 (每天 1 – 2 次) 組 (許等, 2002)。

其他可能會影響石斑魚苗殘食率的環境因子方面，陳 (1997) 分析了光照時間對點帶石斑殘食率的影響，發現石斑魚苗在黑暗的環境中殘食率較高，此似乎和 Yamato (1996) 在紅斑魚苗的實驗結果不同，事實上，若考慮石斑魚攝食需要利用視覺來尋找獵物，完全黑暗應不利於殘食才對，此或許需要進一步的實驗來驗證。除了光照時間外，Takeshita and Soyano (2008a) 發現光的強度及養殖桶的顏色也會影響點帶石斑苗的殘食率，石斑魚苗在光度較強 (1000 Lx)、弱 (20 Lx) 的養殖環境下，殘食率均高於對照組 (200 Lx)；另外，養在紅桶內的石斑魚苗死亡率會較低。Hseu (2002) 則分析蓄養密度對殘食率的影響，發現殘食率雖然會隨蓄養密度增高而上升，但差異並未達到顯著水準 ($p > 0.05$)。很多作者相信提供遮蔽物可以降低石斑魚苗的殘食率 (Fukuhara, 1988; Doi

et al., 1991)，但對遮蔽物的種類、規格及效果卻都語焉不詳。我們也嘗試提供遮蔽物 (牡蠣殼及磚塊) 給點帶石斑苗，但卻未發現魚苗的殘食率有受到影響 (許等, 2002)，Takeshita and Soyano (2008b) 甚至發現提供遮蔽物反而會造成魚苗蜷集，提高了牠們被殘食的機會。

除了改變外在的環境外，藉由改變石斑魚內在的生理狀態也能達到降低殘食率的目的。殘食基本上可被視為一種種內的攻擊行為，在脊椎動物中，攻擊行為與多種激素及神經傳遞物質都有關，其中居於中樞地位的是血清動素 (serotonin) (Winberg and Nilsson, 1993; Nelson and Chiavegatto, 2001)。一般來說，增加腦中的血清動素含量，通常會抑制攻擊行為，此在魚類亦然。因此經由提高魚腦中血清動素含量，應可抑制魚苗的殘食行為。而要提高腦中的血清動素含量，可經由餵食血清動素的前驅物－色胺酸 (tryptophan) 而達成 (Winberg et al., 2001; Hseu et al., 2003b; Höglund et al., 2005)，因此只要魚苗能夠攝取含有較多色胺酸的人工餌料，將是一種簡單的抑制魚類攻擊或殘食的方法，此可行性已在鮭魚 (*Oncorhynchus mykiss*)、石斑魚及鱈魚 (*Gadus morhua*) 被證明。我們餵食點帶石斑苗四種不同色胺酸含量的人工飼料 (飼料中乾重的 0、0.25、0.5 及 1%)，發現結果真如預期：石斑魚腦中的血清動素含量隨著飼料中添加之色胺酸含量增加而逐漸升高，兩者呈現明顯的線性關係。而餵食較高量色胺酸者，殘食率及總死亡率基本上也隨著餵食量升高而下降，此顯示降低石斑魚腦中的血清

動素含量的確具有抑制其殘食行為的效果。不過餵食較多色胺酸飼料的石斑魚苗的體型也較小，何以如此？其真正原因仍待進一步追蹤 (Hseu et al., 2003b)。

五、結語

對於石斑魚這種高經濟產業，其種苗的培育自是養殖的基礎。在石斑魚苗養殖過程中所遭遇到的種種問題，如疾病、餌料、殘食等，都是我們極待解決的問題。以殘食行為的研究而言，如何尋找更節省人力、更減少魚苗耗損的方法，都將是我們未來努力的方向。

六、參考文獻

1. 許晉榮 (2006) 點帶石斑魚苗殘食者對不同體型犧牲者之選擇性。水產研究，14(2): 69-74。
2. 許晉榮、吳淑美、朱永桐、葉信利 (2006) 石斑魚類的早期發育與變態過程。水試專訊，13: 5-9。
3. 許晉榮、黃鵬鵬、丁雲源 (2002) 餵食策略及遮蔽物對石斑魚苗殘食之影響。水產研究，10(1&2): 31-40。
4. 陳炯宏 (1997) 點帶石斑魚 (*Epinephelus coioides*) 殘食行為的探討。國立中山大學碩士論文，43 頁。
5. Baras, E. and M. Jobling (2002) Dynamics of intracohort cannibalism in cultured fish. *Aquacult. Res.*, 33: 461-479.
6. Bombeo-Tuburan, I., E. B. Coniza, E. M. Rodriguez and R. F. Agbayani (2001) Culture and economics of wild grouper (*Epinephelus coioides*) using three feed types in ponds. *Aquaculture*, 201: 229-240.
7. Chua, T. E. and S. K. Teng (1978) Effects of feeding frequency on the growth of young estuary grouper, *Epinephelus tauvina* (Forskål), cultured in floating net-cages. *Aquaculture*, 14: 31-47.
8. Doi, M., M. N. Munir, N. L. Nik Razali and T. Zulkifli (1991) Artificial propagation of the grouper, *Epinephelus suillus* at the Marine Finfish Hatchery in Tanjong Demong, Terengganu, Malaysia. Department of Fisheries, Ministry of Agriculture, Kuala Lumpur, 41 pp.
9. Dominey, J. and L. S. Blumer (1984) Cannibalism and early life stages of fishes. In: *Infanticide: comparative and evolutionary perspectives* (eds. by G. Hausfater and S. B. Hardy). Aldine, New York, 43-64.
10. Elgar, M. A. and B. J. Crespi (1992) Ecology and evolution of cannibalism. In: *Cannibalism: ecology and evolution among diverse taxa* (eds. by M. A. Elgar and B. J. Crespi). Oxford University Press, Oxford, 1-12.
11. Fox, L. R. (1975) Cannibalism in natural populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 6: 87-106.
12. Fujii, A., Y. Kurokawa, S. Kawai, K. Yoseda, S. Dan, A. Kai and M. Tanaka (2007) Diurnal variation of tryptic activity in larval stage and development of proteolytic enzyme activities of Malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*) after hatching. *Aquaculture*, 270: 68-76.
13. Fukuhara, O. (1989) A review of the culture of grouper in Japan. *Bull. Nansei Reg. Fish. Res. Lab.*, 22: 47-57.
14. Fukuhara, O. and T. Fushimi (1988) Fin differentiation and squamation of artificially reared grouper, *Epinephelus akaara*. *Aquaculture*, 69: 379-386.
15. Hecht, T. and A. Pienaar (1993) A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 246-261.
16. Höglund, E., M. J. Bakke, Ø. Øverli, S. Winberg and G. E. Nilsson (2005) Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. *Aquaculture*, 249: 525-531.
17. Hseu, J. R. (2002) Effects of size difference and stocking density on cannibalism rate of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish. Sci.*, 68: 1384-1386.
18. Hseu, J. R. (2004) The separating effect of graders used in grouper larviculture. *J. Fish. Soc. Taiwan*, 31(1): 67-71.
19. Hseu, J. R., F. I. Lu, H. M. Su, L. S. Wang, C. L. Tsai and P. P. Hwang (2003b) Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival, and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 218: 251-263.
20. Hseu, J. R., H. F. Chang and Y. Y. Ting (2003a) Morphometric prediction of cannibalism in larviculture of orange-spotted grouper, *Epinephelus*

- coioides*. Aquaculture, 218: 203-207.
21. Hseu, J. R., P. P. Hwang and Y. Y. Ting (2004) Morphometric model and laboratory analysis on intracohort cannibalism in giant grouper *Epinephelus lanceolatus* fry. Fish. Sci., 70: 482-486.
 22. Hseu, J. R., P. S. Shen, W. B. Huang and P. P. Hwang (2007a) Logistic regression analysis applied in cannibalism of giant grouper *Epinephelus lanceolatus* fry. Fish. Sci., 73: 472-474.
 23. Hseu, J. R., W. B. Huang and Y. T. Chu (2007b) What causes cannibalization-associated suffocation in cultured brown-marbled grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)? Aquacult. Res., 38: 1056-1060.
 24. Kayano, Y., D. S. Jeong, T. Oda and H. Nakagawa (1990) Optimum feeding frequency on young red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. Suisanzoshoku, 38: 319-326. (In Japanese with English abstract)
 25. Kayano, Y., S. Yao, S. Yamamoto and H. Nakagawa (1993) Effects of feeding frequency on the growth and body constituents of young red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*. Aquaculture, 110: 271-278.
 26. Kusaka, A., K. Yamaoka, T. Yamada, M. Abe and I. Kinoshita (2001) Early development of dorsal and pelvic fins and their supports in hatchery-reared red-spotted grouper, *Epinephelus akaara* (Perciformes: Serranidae). Ichthyol. Res., 48: 355-360.
 27. Liao, I. C., H. M. Su and E. M. Chang (2001) Techniques in finfish larviculture in Taiwan. Aquaculture, 200: 1-31.
 28. Lim, L. C. (1993) Larviculture of the greasy grouper *Epinephelus tauvina* F. and the brown-marbled grouper *E. fuscoguttatus* F. in Singapore. J. World Aquacult. Soc., 24: 262-274.
 29. Narisawa, Y., H. Kohno and K. Fujita (1997) Development of swimming- and feeding-related characters in the grouper, *Epinephelus coioides*, larvae. J. Tokyo Univ. Fish., 84(2): 75-92.
 30. Nelson, R. J. and S. Chiavegatto (2001) Molecular basis of aggression. Trend. Neurosci., 24: 713-719.
 31. Parrish, J. D. (1987) The trophic biology of snappers and groupers. In: Tropical snappers and groupers: biology and fisheries management (eds. by J. J. Polovina and S. Raltson). Westview Press, Boulder and London, 405-463.
 32. Sabate, F. de la S., Y. Sakakura, M. Shiozaki and A. Hagiwara (2009) Onset and development of aggressive behavior in the early life stages of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. Aquaculture, 290: 97-103.
 33. Shima, T. (2001) Demand-feeding of groupers. In: Demand-feeding in fish-from basic to applied use (ed. by M. Tabata). Kouseishya Kouseikaku, Tokyo, 35-42.
 34. Smith, C. and P. Reay (1991) Cannibalism in teleost fish. Rev. Fish Biol. Fish., 1: 41-64.
 35. Takeshita, A. and K. Soyano (2008a) Effects of light intensity and color of rearing tank on cannibalistic in the juvenile orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). Aquacult. Sci., 56: 175-180.
 36. Takeshita, A. and K. Soyano (2008b) The effect of artificial refuge on mortality by cannibalism in the juvenile orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. Aquacult. Sci., 56: 255-256.
 37. Takeshita, A. and K. Soyano (2009) Effects of fish size and size-grading on cannibalistic mortality in hatchery-reared orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* juveniles. Fish. Sci., 75: 1235-1258.
 38. Tseng, W. Y. T. and S. K. Ho (1988) Ecology. In: Grouper culture: a practical manual. Chien Cheng Pub., Kaoshiung, 94-98.
 39. Winberg, S. and G. E. Nilsson (1993) Roles of brain monoamine neurotransmitters in agnostic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. Comp. Biochem. Physiol., 106C: 597-614.
 40. Winberg, S., Ø. Øverli and O. Lepage (2001) Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. J. Exp. Biol., 204: 3867-3876.
 41. Yamamoto, S. (1996) Diurnal rhythm of feeding activity and estimation of daily ration of the larval red spotted grouper *Epinephelus akaara*. Nippon Suisan Gakkaishi, 62: 399-405.

第三章 石斑魚營養需求與飼料開發

吳豐成

水產試驗所海水繁養殖研究中心

一、前言

魚類為維持自身的生命活動，必須不斷從外界環境中攝取所需要的各種營養素或含有這些營養素的食物。在水產養殖過程中，養殖環境的劇變、水質惡化、食物或營養狀態不佳等因素，都會降低魚類對環境的適應能力和對病原的抵抗力，而存在食物中的許多營養素能直接或間接藉由代謝、神經和內分泌等模式作用在免疫細胞上而影響動物體的免疫反應 (Reddy and Frey, 1992)，這些營養素對維持動物體健康和抵抗疾病的能力是重要而不可忽視的 (Lall and Olivier, 1993)。在水產養殖的過程中，部分或完全利用人工配合飼料取代生物餌料，可達到節省飼（餌）料的貯藏空間、設備、能源及投餌時間等，尤其在集約式的高密度養殖系統中，不僅可提供魚類維持正常成長所需之必需營養素外，也可透過飼料配方的調整促進魚類的免疫反應和抗病力，以預防不特定病原的感染。

FAO 曾報導水產養殖的各項成本項目中，飼料約佔總成本的 40 – 60%，台灣經濟研究院生物科技產業研究中心公布的 2007 年沿近海與養殖漁業經濟調查報告中也指出，石斑魚養殖的單位面積經營成本中，飼料與肥料費用高居 44% (圖 3-1)，因此水產養殖產業和水產飼料的發展息息相關，且應

用人工配合飼料，為該魚種養殖產業發展是否健全的指標之一。台灣在 2002 年修正飼料管理法規及修訂魚類用配合飼料，對飼料產品規範其營養粗成分至少（灰分、水分等）或最高（粗蛋白、粗脂肪等）的標準，以確保飼料能滿足養殖動物的營養需求。

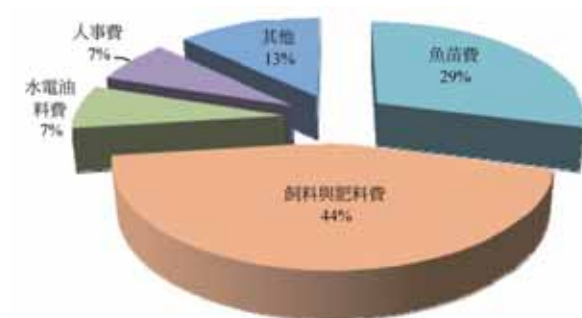


圖 3-1 2007 年石斑魚單位面積經營成本項目 (引自 2007 年沿近海與養殖漁家經濟調查報告，台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理)

全世界的石斑魚種類有 400 多種，具經濟價值的養殖種不到一半。目前台灣養殖的石斑魚分屬石斑魚屬、駝背鱸屬及刺鰾屬等 (圖 3-2)，為暖水魚類，主要分布於熱帶、亞熱帶海域，具有體型肥厚、口部大、移動緩慢等特性。石斑魚除可供食用外，部分魚種也兼具觀賞的價值，一般為夜行性，利用其嗅覺尋覓食物，白天則隱藏於岩穴內，性凶猛，偏肉食性，喜食魚、蝦、蟹類，不喜結群，飢餓時有殘食現象。對鹽度的適應範圍很廣 (11 – 41 psu)，最適水溫為 22 – 28℃，當水溫低於 18℃ 時，食慾會減退，15℃ 以下魚體就會失去平衡。

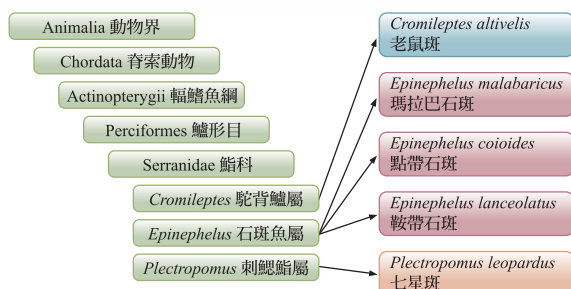


圖 3-2 石斑魚的分類地位

目前台灣地區石斑魚之人工繁殖和育苗技術已漸突破，進而推動了石斑魚養殖產業的興起，迄今仍有部分石斑魚養殖業者以生餌餵食石斑魚，而這些生餌中大多以下雜魚切碎投餵，但下雜魚品質不穩定，且易傳染魚病及污染水質。隨著石斑魚養殖產業的發展，因而迫切需要提供能滿足其生長發育需要的優質配合飼料，以達以配合飼料來完全取代生餌的目標，但目前對石斑魚飼料營養研究仍不完整，尚難以滿足研製生產優質配合飼料的要求，因此全面進行各種石斑魚的飼料營養研究及配合產業開發中間育成優質飼料，對石斑魚養殖產業具有極重要的意義。本文以下將就本所歷年石斑魚飼料營養研發成果，並佐以文獻曾發表的石斑魚飼料營養相關資料加以整理及敘述，以供石斑魚養殖相關產業之參考。

二、飼料養分

魚類爲了生存、生長及繁衍子代等必須從環境中攝取食物，此種可被魚類攝食的食物，稱之爲飼料 (feed, feed stuffs)，飼料中能提供魚類維持生命及正常生長的物質，則稱爲營養素 (nutrients)。自然界中，可被魚類攝食，進而消化及吸收利用，並對該魚類無毒害的物質，都可作爲該魚類的飼料。飼料營養價值的評定方案，目前國際通常採用 Weende 常規飼料一般成分分析方案 (feed proximate analysis)，方案中將飼料中的營養概分爲水分 (moisture)、灰分 (ash)、粗蛋白質 (crude protein, kjehdahl nitrogen)、粗脂肪 (crude fat, ether extract)、粗纖維 (crude fiber) 及無氮浸出物 (nitrogen-free extracts) 等六大類 (圖 3-3)。飼料的粗成分爲應用有關的化學反應、直接測定或通過差異計算估算出的 (如無氮浸出物)，故本分析方案所測得的分析結果實際上爲籠統的各類物質，而不是化學上某種確定的化合物，也不是動物完全可利用的物質，因此稱爲粗成分。本分析方案爲 1862 年德國 Weende 試驗站的 Henneberg 與 Stohmann 所創建，因具有概括

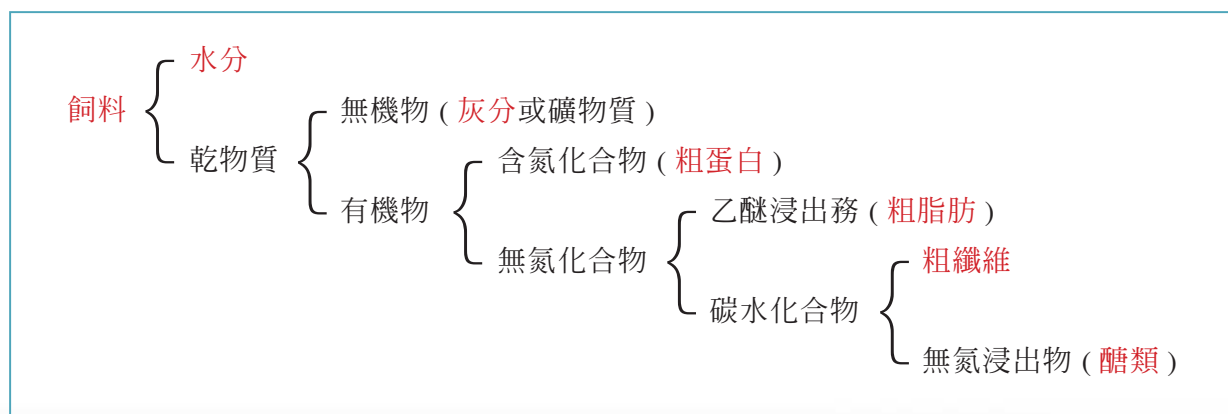


圖 3-3 一般成分與飼料組成之間的關係

性強、簡單及實用等特性，儘管分析中仍存在一些不足，特別是粗纖維分析尚待改進，目前仍為世界各國採用。

(一) 水分

每種飼料都含有水分，其含量差異極大，最高可達 95% 以上，最低可低於 5%。常規飼料分析將飼料中的總水分概分為初水 (primary water) 及吸附水 (absorption water) 兩種，而除去初水和吸附水的飼料，即稱為乾物質 (dry matter)，乾物質可做為衡量飼料中所含養分多寡的基礎。當飼料的水分含量越多，它的乾物質含量越少，相對營養價值也就越低。而飼料的水分含量越多，越不利於飼料的儲存和運輸，一般飼料中水分超過 12.5% 時，發霉機率會相對較高。而飼料粒子間的水分並不是平均分布的，如該飼料含水分 15%，可能有部分的水分含量為 10%，其他為 20%，其中含最多水分的粒子處為最容易長黴菌的部分。因此，一般適宜飼料保存的水分含量，建議以不超過 14% 為宜。

(二) 灰分

灰分是飼料或動物組織在 500 – 600℃ 的高溫爐中將所有的有機物質全部氧化後所剩餘的殘渣。該殘渣中主要為礦物質氧化物或鹽類等無機物質，有時還含有少量泥沙、部分則仍有原來有機物的成分（如蛋白質中的硫和磷），因此稱為灰分。

(三) 粗蛋白質

粗蛋白質是常規飼料分析中用來估計飼料或動物組織中一切含氮物質的指標，它包括真蛋白質和非蛋白質含氮物兩部分，而非蛋白質含氮物則包含游離胺基酸、肽類、酰

類、硝酸鹽、銨鹽等。常規飼料的粗蛋白質分析，是用凱氏定氮法測出飼料樣品中的氮含量 (N) 後，再用 $N \times \text{蛋白質換算係數}$ 計算粗蛋白質含量，其中蛋白質換算係數代表飼料樣品中粗蛋白質的平均含氮量為 16% ($100/16 = 6.25$)，因此一般測定蛋白質都用 6.25 進行計算。

(四) 粗脂肪

粗脂肪是指飼料或動物組織中脂溶性物質的統稱。常規分析是應用乙醚浸提樣品後所得的乙醚浸出物，因此粗脂肪中除真脂肪外，還含有其他溶於乙醚的有機物質，如葉綠素、胡蘿蔔素、有機酸、樹脂、脂溶性維生素等脂溶性物質，故稱該浸出物為粗脂肪或乙醚浸出物。

(五) 粗纖維

粗纖維是植物細胞壁的主要組成成分，包括有纖維素 (cellulose)、半纖維素 (hemicellulose)、木質素 (lignin) 及角質 (horny) 等成分，其中木質素對動物沒有營養價值。常規粗纖維分析過程中，因有部分的纖維素、半纖維素及木質素等也會溶解於酸、鹼中，使得所測定的粗纖維含量偏低，同時也會增加無氮浸出物的計算誤差。為改進粗纖維分析，van Soest (1976) 提出，以中性洗滌纖維、酸性洗滌纖維及酸性洗滌木質素等三種，作為飼料中纖維素類物質的指標。同時將飼料纖維素中的半纖維素、纖維素和木質素等部分分離出來，而能更精確地而能更精確地評定飼料粗纖維的營養價值。

(六) 無氮浸出物

無氮浸出物主要是由易被動物利用的澱粉、雙糖及單糖等可溶性碳水化合物組成。

常規飼料分析中，不能直接分析飼料中無氮浸出物的含量，而是利用計算得到的，其計算式為：無氮浸出物 (%) = 100% - (水分 + 灰分 + 粗蛋白質 + 粗脂肪 + 粗纖維)%。因此無氮浸出物中除碳水化合物外，還包括水溶性維生素等其他成分。

三、石斑魚之飼料蛋白質需求

蛋白質為生命的物質基礎，是構成石斑魚組織細胞不可或缺的營養素，細胞原生質的重要組成成分是蛋白質，它是碳水化合物和脂肪所不可替代的；除此之外，蛋白質也是石斑魚體內生理活性物質（如酶、激素和抗體等）的組成成分，也具有供應組織蛋白更新、修復及維持功能，以及提供部分的能量來源。飼料中提供的蛋白質含量不足時，會造成使魚類成長遲滯、飼料效率變差、食慾減退等現象 (Serrano et al., 1992)；反之當飼料中蛋白質含量過高，魚類會將多餘的蛋白質作為能量來源，造成蛋白質的浪費。另如蛋白質來源不適時，魚類在無法有效利用下，不僅影響其成長，也會將無法消化吸收的蛋白質代謝產物排入養殖池，導致池水含氮廢物過高等不良影響。蛋白質為飼料組成中比例最多的成分，它的含量與品質也是決定養殖效益的重要因素之一。

蛋白質是決定魚類生長的關鍵營養素之一，也是配合飼料成本中花費最大的部分，所以蛋白質是飼料配方和生產中最被大家關注的，而確定配合飼料蛋白質的最適需求，在魚類營養和配合飼料生產上更是重要。對蛋白質需求的意義而言，是魚類維

持基本生命活動所必需的蛋白質含量，亦即維持營養需要的蛋白質含量，一般以能使魚類最大限度地成長或能使魚體內蛋白質沉積達到最大時，飼料中必須達到的最低蛋白質含量，通常稱為最適蛋白質需求量。對做為魚類體內活動能量來源的營養素而言，蛋白質是優於碳水化合物和脂肪，因此魚類對蛋白質的需求較高，一般約為哺乳動物和鳥類的 2－4 倍。然魚類並沒有絕對的蛋白質需求量，而是需要均衡的必需及非必需胺基酸組成，因此，魚類的蛋白質需求量隨其成長體型、年齡、食性、環境溫度與飼料蛋白質品質等因素而有差異，一般而言，肉食性魚類對飼料蛋白質的需求量高於雜食性魚類，雜食性魚類又高於草食性魚類，而同種魚類中對蛋白質的需求，仔稚魚高於幼魚，幼魚又高於成魚，所以魚類配合飼料配方設計時需考量飼養對象及成長階段。依據已發表的文獻報導，一般魚類對蛋白質的需求量約在 30－55%，肉食性魚類（如石斑魚）約為 40－55%（表 3-1）。本所海水繁養殖研究中心研究人員於 2009 年以鞍帶石斑幼魚，分別配製含 35、40、45、50、55 和 60% 等不同蛋白質含量的試驗飼料，進行 8 週的飼育試驗，試驗結果經以 Broken-line 模式分析鞍帶石斑的最適飼料蛋白質營養需求量為 46.7% (95% 信賴區間為 44.5－48%)。Boonyaratpalin (1997) 建議實用石斑魚配合飼料中的經濟有效的蛋白質含量為 40%，但綜合石斑魚蛋白質營養需求量研究及本所的研究結果，石斑魚配合飼料中至少 45% 的蛋白質才足以提供石斑魚成長需求及達到較佳的石斑魚養殖經濟效應。

表 3-1 石斑魚蛋白質營養需求量

種 類	營養需求量 (%)	資 料 來 源	備 註
鱸滑石斑 (<i>E. tauvina</i>)	50	Teng et al. (1977)	維持最大生長
	50	Sukhaongs (1978)	魚體重：20-30 & 60-70g
	47-60	El-dakour et al. (1982)	
鮭形石斑 (<i>E. salmonoides</i>)	40	Teng et al. (1978, 1979)	能量：13.82 MJ/kg P/E：28.92 g/MJ
瑪拉巴石斑 (幼) (<i>E. malabaricus</i>)	47.8	Chen & Tsai (1994)	維持最大生長 初重：3.79g
	44-50.2	Shiau & Lan (1996)	初重：9.22±0.1g 能量：14.2-15.7 MJ/kg
	55-56	Tuan & Williams (2007)	初重：17.0±1.3g
赤點石斑 (<i>E. akaara</i>)	48.4-49.2	陳等 (1995)	初重：126.36 g
青石斑 (<i>E. awoara</i>)	50.9-54.8	陳等 (1995)	初重：39.33 g
點帶石斑 (<i>E. coioides</i>)	48	Luo et al. (2004)	初重：10.7±0.2g
	47	鄭 (2006)	
鞍帶石斑 (<i>E. lanceolatus</i>)	46.7 (44.5-48.9)	水試所海水中心 (2009)	初重：23.5±0.8g

水產飼料蛋白質原料中胺基酸的組成和生物體的胺基酸組成愈接近，該蛋白質原料的營養價就會愈高，而魚粉因含有均衡胺基酸組成、促進飼料誘引效果及一些成長因子，因此對肉食性魚類飼料配方一直是不可或缺的。近年來，由於各魚粉生產地的過度捕撈原料魚，再加上聖嬰現象，使海洋漁獲大量減產，造成魚粉供不應求，此外資源保育觀念抬頭，使得魚粉資源的永續使用備受關注，因此尋求其他蛋白源來取代魚粉，已成為水產飼料營養研究的趨勢。但不同魚種之間對植物性原料取代魚粉的效果，差異很大。飼料中使用大量植物性蛋白源也面臨必需胺基酸組成不平衡的問題。不同蛋白質來源取代魚粉使用量的相關研究，周 (1998) 使用大豆蛋白，並配合添加甲硫胺酸進行取代魚粉試驗，結果顯示大豆蛋白可取代瑪拉巴石斑飼

料中 40 – 60% 的魚粉。另蔡 (2000) 應用雞肉粉及精製大豆蛋白混合物 (1：1 比例混合) 為飼料蛋白來源，發現混合蛋白可取代點帶石斑飼料中 50% 之魚粉。Millamena (2002) 認為肉粉和血粉 (4：1) 混合物可以取代小於 80% 的魚粉，其中以替代 20% 為最好。目前本所海水繁養殖研究中心也正積極研發以植物性蛋白質取代魚粉的相關研究，戮力開發優質的石斑魚飼料。

四、石斑魚之飼料脂肪需求

脂肪在魚類生命代謝過程中具有多種生理功能，是魚類所必需的營養素，脂肪有構成石斑魚體細胞、儲存及提供能量、有助於脂溶性維生素吸收及在魚體內的轉運、提供魚類生長之必需脂肪酸、做為某些激素和維

生素合成之原料等生理功能，另脂肪的密度比水小，因此魚體內的脂肪還能幫助魚類在水中維持平衡和沉降。再者由於脂肪的原料價格低於蛋白質，但所含的能量高於蛋白質，因此在水產飼料中適度添加脂肪作為能量來源，可引發蛋白質的節約效應 (Vergara et al., 1999)，進而可降低飼料的成本。

魚類的脂肪需求量約為 10 – 20%，因此脂肪為飼料中僅次於蛋白質的主要營養素。魚類脂肪的需求因不同的魚種、食性、成長階段、生活環境（溫度、鹽度）、脂肪來源及飼料組成（其他營養素含量）等而有不同的需求。當飼料中脂肪的含量不足或缺乏時，除會引發魚類代謝紊亂，飼料蛋白質利用率下降等，也會影響脂溶性維生素的吸收及其生理功能的正常發揮，進而引發一些併發症；然飼料中脂肪含量過高，則會導致魚體脂肪沉積過多，影響肝臟功能的正常運作，從而導致魚體抵抗疾病的能力降低，同時也不利於飼料的加工成型和儲藏。因此，飼料中含適量的脂肪對魚類生長和飼料生產是很重要的。

一般大多數主要海水養殖魚類對脂肪的最適需求量為 8 – 16%，其中冷水性魚類的脂肪含量可高達 20%，溫水性魚類有 7 – 8% 即可滿足需求。在相同條件下的同一種石斑魚，對脂質的需求也會隨魚體的成長而逐漸減少。New (1987) 指出，石斑魚的飼料最適脂肪含量為 13.5 – 14%，馬 (1996) 則認為飼料中粗脂肪含量為 3 – 4% 時，赤點石斑幼魚的成長較快，青石斑配合飼料中脂肪的適宜含量為 9.87% (周, 1996)。Lin 與 Shiau (2003) 指出，飼料中脂肪含量為 4%

即能滿足點帶石斑的最低脂肪需求，9% 可維持較佳的增重效果。在箱網養殖中，Luo 等 (2005) 建議於飼料中油脂添加 10%，能使點帶石斑達最大的成長效果。另鄭 (2005) 則建議飼料油脂添加 6 – 8% 可使點帶石斑達最佳成長。本所海水繁養殖研究中心於 2010 年的鞍帶石斑之飼料脂肪需求研究中，分別以添加 2、4、6、8、10、12 及 15% 等脂質配製之試驗飼料，進行 8 週的飼育試驗，結果經以 Broken-line 模式分析鞍帶石斑的最適飼料脂肪營養需求量為 7.8% (95% 信賴區間為 5.8 – 9.8%)。而脂肪含量和基因表現相關性結果中，發現攝取含脂質 4、6、8、10% 的鞍帶石斑，其乙醯輔酶 A 羧化酶 (ACC2) 基因的表現與飼料脂質含量呈現負相關，魚體過氧化體增生活化受體 (PPARs) 基因的表現與肝一體重比呈現正相關。

魚類生長所需之必需脂肪酸本身不能合成，必須由飼料直接提供。必需脂肪酸不僅是魚類組織細胞組成成分，對膽固醇代謝、與前列腺素合成及腦活動等也密切相關，對石斑魚生長發育、健康和繁殖也有顯著影響。另生物膜的流動性會受生物膜上磷脂質之脂肪酸組成影響，n-3 系列的脂肪酸在結構上容許較大的不飽和性，因此 n-3 系列的脂肪酸為魚類在低溫環境下維持生物膜上磷脂質之柔軟性和通透性所必需的。

魚類對必需脂肪酸的營養需求，因不同的魚種、成長階段、生活環境和飼料中脂質含量等的不同而有不同的需求，魚類和其他的脊椎動物一樣無法重新合成次亞麻油酸 (18 : 3n-3) 和亞麻油酸 (18 : 2n-6)，因此飼料中需要含有次亞麻油酸或亞麻油酸，魚

類對 18- 碳脂肪酸的去飽和或碳鏈加長的能力，會因魚種而有不同。一般而言，溫水性淡水魚類的必需脂肪酸為次亞麻油酸、亞麻油酸或是兩者；冷水性淡水魚和大部分的海水魚類則需要次亞麻油酸或較長鏈更不飽和的高度不飽和脂肪酸 (HUFA) (如二十碳五烯酸 (EPA) 或二十二碳六烯酸 (DHA))；在冷水性淡水魚類虹鱔的飼料中添加 n-6 多不飽和脂肪酸 (n-6 PUFA)，雖可改善其成長和飼料效率，但仍無法有效滿足其對必需脂肪酸的營養需求。

本所海水繁養殖研究中心在一系列的瑪拉巴石斑稚魚之必需脂肪酸營養研究中發現，飼料中添加適量的 n-3 和 n-6 HUFA 會促進瑪拉巴石斑稚魚的成長與強化免疫反應。實驗一的探討石斑稚魚對飼料 DHA 和 EPA 的需求情形以及其對免疫反應之影響試驗，發現飼料 DHA 可促進石斑稚魚的成長，且其效果優於 EPA；攝取高 DHA/EPA 比例的石斑魚，其 T 細胞的反應和吞噬功能顯著高於攝取低 DHA/EPA 比例者。因此，飼料 DHA 比 EPA 更能強化瑪拉巴石斑稚魚的細胞性免疫反應，且 DHA 有可能是所有 n-3 HUFA 中唯一具有促進石斑魚白血球吞噬功能的必需脂肪酸。探討石斑魚稚魚對次亞麻油酸和亞麻油酸的實驗二中，結果顯示以含次亞麻油酸和亞麻油酸 2% 的飼料餵食石斑稚魚，能有效促進成長與其頭腎白血球吞噬和呼吸爆活性等非特異性細胞免疫反應。實驗三為探討石斑魚的花生四烯酸需求試驗，結果顯示適量的飼料花生四烯酸和 n-3 HUFA 之添加可以促進瑪拉巴石斑稚魚的成長；而深受飼料脂肪酸組成影響的魚

體肝臟 n-6 HUFA 濃度，可以強化石斑稚魚頭腎白血球的吞噬活性、呼吸爆發活性和白血球增生等免疫反應，且當飼料中含適當的 n-3 HUFA 時，花生四烯酸的添加對石斑魚成長的促進顯著優於攝取未添加花生四烯酸者，顯示飼料花生四烯酸對石斑魚有促進成長的效果。綜合一系列試驗的結果，當 n-3 HUFA 中，DHA 與 EPA 的比例為 3 : 1 (wt/wt) 時，瑪拉巴石斑稚魚之飼料必需脂肪酸需求量為 n-3 HUFA 1% 和花生四烯酸 1%，可使石斑稚魚達到最佳成長與其免疫反應受最大的激化。上述的研究結果，本所海水繁養殖研究中心已應用於中間育成飼料開發之研究中，期以開發促進石斑魚健康的優質中間育成飼料。

五、石斑魚之維生素 C、E 之需求

維生素是魚類必需的營養素，雖不能提供熱量，卻為魚體內生化代謝不可或缺的，對維持魚類的正常發育、繁殖和促進健康等重要的生理功能相當重要。一般而言，魚類必需的維生素包括維生素 B 群、維生素 C、維生素 D、維生素 E、維生素 K 等。魚類的維生素需求因其發育階段、生理狀況、環境條件、飼料組成和品質、維生素劑型不同等而有差異，也會因飼料中營養素間的相互作用而不同。目前石斑魚的維生素需求研究，仍無法符合產業的需求，以下茲以文獻曾發表及本所近年發表的石斑魚維生素 C 和維生素 E 需求相關研究，加以整理及敘述。

(一) 維生素 C

維生素 C 不僅可幫助魚體體內金屬離子

的吸收、做為酵素的輔酶、參與抗氧化作用外、也可促進膽固醇合成腎上腺類固醇激素過程中之氫化酶活性，加速腎上腺類固醇激素之合成。除少數魚類（如鯉魚）具有合成維生素 C 的能力外，大部分的魚類因缺乏古酪酮酸內酯氧化酶，而無法合成維生素 C，須從食物中攝取以維持正常的生理功能。

適量維生素 C 能維持魚體內的正常生理功能、促進成長和魚體的免疫反應及疾病抵抗等。當飼（餌）料中維生素 C 缺乏時，不僅魚類的成長遲滯，也會產生維生素 C 缺乏症，如鱸滑石斑會表現出明顯的如食慾減退、鰭條腐爛、眼睛和鰭條出血、眼球突出、腹部腫大、頭骨畸形、脊柱側凸和前彎等維生素 C 缺乏症狀 (Boonyaratpalin et al., 1993)。瑪拉巴石斑則有整個鰓表面之鰓薄板有融合現象發生，且在魚體呼吸道上皮組織發生分離，產生畸形鰓絲，支持之軟骨結構及細胞產生扭曲變形，並且有不規則的形狀 (Phromkunthong et al., 1993)。

魚類所必需之維生素 C 需求量因魚種不同而有不同。如同對單磷酸態維生素 C（含鎂鹽）的需求量，維持鱸滑石斑幼魚正常成長的需求量為 30 mg/kg (Boonyaratpalin et al., 1993)，但瑪拉巴石斑則僅需 17.9 mg/kg (林, 2005)。而同一石斑魚種中，因不同的維生素 C 劑型或衍生物，也會有不同的利用效率及需求。林 (2005) 在探討瑪拉巴石斑的 L-維生素 C 及其衍生物之需求研究中發現 L-維生素 C、單磷酸態維生素 C（含鎂鹽）、單磷酸態維生素 C（含鈉鹽）、磷酸態維生素 C 需求量分別為 45.3、17.9、8.3、46.2 及 17.8 mg/kg，而不同劑型維生素 C 的利用效率也

不同，石斑魚的利用效率大小依序為單磷酸態維生素 C（含鈉鹽）> 磷酸態維生素 C > 單磷酸態維生素 C（含鎂鹽）> L-維生素 C (林, 2005)。由該研究結果顯示，瑪拉巴石斑對含鈉鹽的單磷酸態維生素 C 之利用性最高，其飼料需求量为 8.3 mg/kg。

（二）維生素 E

維生素 E 為硬骨魚類的必需營養素 (Halver, 2002)，其需求量約為 15 – 100 mg/kg，且隨著魚種和飼料中脂肪的含量而有不同。如飼料中脂肪含量由 4% 提高到 9% 時，瑪拉巴石斑之維生素 E 的最適需求量會由 61 – 68 mg/kg 提高至 104 – 115 mg/kg (林, 2005)。維生素 E 除具抗氧化功能外，也可調節魚類的免疫功能，然促進魚類免疫反應所需的維生素 E 濃度遠高於維持正常生理功能的需求，但超量的維生素 E 補充反而會導致魚類成長遲滯、紅血球濃度降低及血容積比減少等病症。林 (2005) 認為飼料中含有適量維生素 E 可降低石斑魚體內之氧化壓力，並增進免疫反應。

本所海水繁養殖研究中心設計一系列的石斑魚的維生素 E 需求研究，探討石斑魚的維生素 E 的營養需求及其促進石斑魚免疫反應之相關研究，研究結果顯示，適量維生素 E 可有效促進石斑魚的免疫反應。石斑魚之維生素 E 系列研究分二試驗，在維生素 E 對點帶石斑稚魚的免疫反應研究中，以添加不同濃度維生素 E (0、50、500、5,000 mg/kg) 的四種試驗飼料餵飼點帶石斑，結果發現，攝取添加維生素 E 飼料的各試驗組石斑魚的成長和頭腎白血球的吞噬活性和增生活性均顯著優於餵飼未添加維生素 E 飼料的石

斑魚，而餵飼添加維生素 E 500 mg/kg 飼料的石斑魚的白血球吞噬活性顯著高於其他試驗組石斑魚。另於鞍帶石斑稚魚之飼料維生素 E 需求及其免疫反應研究，以添加七種不同濃度得維生素 E (0、7.5、15、30、60、120 和 240 mg/kg) 的飼料，餵飼鞍帶石斑稚魚 12 週，結果顯示，飼料中添加維生素 E 顯著影響鞍帶石斑之成長、活存率和肌肉硫巴比妥酸值。攝取添加維生素 E 大於或等於 15 mg/kg 飼料組之試驗魚的頭腎白血球吞噬活性及增生作用顯著高於未添加組，但對白血球的呼吸爆活性則無影響。將成長結果以 Broken-line 模式分析後，可得出鞍帶石斑的維生素 E 需求量為 46 mg/kg (95% 信賴區間為 32.1 – 59.9 mg/kg)。

六、鞍帶石斑之中間育成飼料試驗

本所海水繁養殖研究中心 (2008) 以不同油脂配方來源調配優質飼料，探討促進鞍帶石斑 (體型大小為 3 – 9cm) 免疫力的飼料養殖策略。試驗一：以體型大小為 3 – 9 cm 之石斑魚，依中間育苗過程之體型大小，分前 (3 – 6 cm)、後 (6 – 9 cm)，飼料分 A (加入 2% 鱈魚肝油) 和 B (加入 2% 花生油) 兩種，中間育成過程中，飼料使用之養殖策略為 A-B、B-A、A-A、B-B 等四種。第一階段之餵食試驗結果顯示，添加 2% 鱈魚肝油 (飼料 A) 或 2% 花生油 (飼料 B) 之試驗飼料餵飼石斑魚，其成長率均顯著優於僅餵飼市售鰻魚飼料的對照組，但各組間之活存率則無顯著差異。在整個二階段蓄養試驗結果顯示任一中間育成階段中，攝取含花生油之飼料

組 (B-B、A-B 或 B-A) 魚的成長顯著優於 A-A 試驗組及餵飼鰻魚飼料的對照組；但各試驗組間的活存率則無顯著差異。另石斑魚體的脂肪酸組成完全反映出飼料所含的脂肪酸組成。而全程或中間育成後階段之飼料中添加 2% 花生油可增加石斑魚體內的 n-6 HUFA 和花生四烯酸，這些脂肪酸不僅可促進石斑魚的成長，對石斑魚的非特異性免疫也有正面效果。試驗二：以體型大小為 3 cm 之石斑魚繼續進行飼料配方研發，飼料分 A (2% 花生油)、B (2% 花生油 + 維生素 E)、C (2% 花生油 + 維生素 C) 等三種，以探討促進鞍帶石斑免疫力的飼料養殖策略。由 4 週的餵食結果發現，攝取添加維生素 E 的飼料 B 及添加維生素 C 的飼料 C 兩試驗組魚的成長率顯著高於飼料 A 組者。因此在石斑魚中間育成飼料中同時添加抗氧化維生素 (維生素 C 或維生素 E) 可提高點帶石斑的成長。

七、未來發展

石斑魚的飼料營養相關研究雖然稍有進展，但仍不及石斑魚養殖產業的發展，迄今尚缺乏完整性及全面性，諸多研究仍無法應用於配合飼料的開發，也未滿足石斑魚養殖產業的需求。依石斑魚產業需求，繼續進行各主要石斑魚種飼料營養基礎研究、開發石斑魚的中間育成之配合飼料、加強石斑親魚成熟產卵階段的飼料開發、研發石斑魚配合飼料加工技術等都是未來石斑魚飼料開發的重點，最後相關單位制定石斑魚飼料的國家標準，將是驅使石斑魚養殖達到完全人工配合飼料養殖的終極目標。

八、參考文獻

1. 吳豐成 (2002) 瑪拉巴石斑稚魚之必需脂肪酸營養及其對免疫反應之影響。國立中山大學海洋生物研究所博士論文。
2. 吳豐成、陳敏隆、張丁仁、丁雲源 (2004) 維生素 E 對點帶石斑稚魚的頭腎白血球免疫反應之影響。水產研究, 12(1): 39-47。
3. 吳豐成、葉信利 (2008) 龍膽石斑稚魚之飼料維生素 E 需求及其免疫反應。水產研究, 16(1): 77-85。
4. 周瑞良 (1998) 餌料蛋白質之品質對石斑魚成長及其免疫力的影響。國立中山大學海洋生物研究所碩士論文。
5. 林美芳 (2005) 石斑魚稚魚之維生素 C 需求及其對緊迫與免疫反應相關性之探討。國立台灣海洋大學食品科學系博士論文。
6. 林鈺鴻 (2005) 石斑魚之脂肪、維生素 E 與硒需求及其交互作用對免疫反應之影響。國立台灣海洋大學食品科學系博士論文。
7. 鄭安倉 (2006) 不同能量來源取代魚粉蛋白能量對點帶石斑之效應。國立台灣海洋大學水產養殖學系博士論文。
8. Boonyaratpalin, M. (1997) Nutritional requirements of marine food fish cultured in South-east Asia. Aquaculture, 151: 283-313.
9. Boonyaratpalin, M., J. Wannagowat and C. Borisut (1993) L-ascorbyl-2 phosphate-Mg as a dietary vitamin C source for grouper for grouper. Presented at the seminar on fisheries 1993, Department of Fisheries, 16-17 September.
10. Chen, H. Y. and J. C. Tsai (1994) Optimum dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. Aquaculture, 119: 265-271.
11. Lall, S. P. and G. Olivier (1993) Role of micronutrients in immune response and disease resistance of fish. In: Fish Nutrition in Practice, (Kaushik, S. J. & Luquet, P., editors). Institut National de la Recherche Agronomique, Les Colloques. Biarritz, France, 101-118.
12. Luo, Z., Y. J. Liu, K. S. Mai, L. X. Tian, D. H. Liu and X. Y. Tan (2004) Optimal dietary protein requirement of grouper *Epinephelus coioides* fed isoenergetic diets in floating net cages. Aquacult. Nutr., 10: 247-252.
13. Luo, Z., Y. J. Liu, K. S. Mai, L. X. Tian, D. H. Liu, X. Y. Tan and H. Z. Lin (2005) Effect of dietary lipid level on growth performance and body composition of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages. Aquacult. Int., 13: 257-269.
14. Millamena, O. M. (2002) Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. Aquaculture, 204: 75-84.
15. New, N. B. (1987) Feed and Feeding of Fish and Shrimp. A Manual on the Preparation and Presentation of Compound Feeds for Shrimp and Fish in Aquaculture. United Nations Development Program, FAO, Rome.
16. Reddy, P. G. and R. A. Frey (1992) Nutritional modulation of immunity in domestic food animals. Adv. Vet. Sci. Comp. Med., 35: 255-281.
17. Serrano, J. A., G. R. Nematipour and D. M. Gatlin III (1992) Dietary protein requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*) and relative use of dietary carbohydrate and lipid. Aquaculture, 101: 283-291.
18. Shiau, S. Y. and C. W. Lan (1996) Optimum dietary protein level and protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). Aquaculture, 145: 259-266.
19. Sukhanongs, S., N. Tanakumchup and S. Chungyampin (1978) Feeding experiment on artificial diet for greasy grouper, *Epinephelus tauvina* in nylon cages. Annu. Rep. Songkhla Fish Stn, Dep. Fish, 103-117.
20. Teng, S. K., T. E. Chua and P. E. Lim (1978) Preliminary observation on the dietary protein requirement of estuary grouper, *Epinephelus salmoides* Maxwell, cultured in floating net cages. Aquaculture, 15: 257-271.
21. Tuan, L. A. and K. C. Williams (2007) Optimum dietary protein and lipid specifications for juvenile Malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*). Aquaculture, 267: 129-138.
22. Van Soest, P. J. (1976) Influence of environment on forage composition. In: Proc. Workshop on Nutritional Evaluation of Forages (Mugdal, V.D., editor). Natl. Dairy Res. Inst., Karnal, India, 80.
23. Wu, F. C., Y. Y. Ting and H. Y. Chen (2002) Docosahexaenoic acid is superior to eicosapentaenoic acid as the essential fatty acid for growth of grouper, *Epinephelus malabaricus*. Journal of Nutrition, 132: 72-79.
24. Wu, F. C., Y. Y. Ting and H. Y. Chen (2003) Dietary docosahexaenoic acid is more optimal than eicosapentaenoic acid affecting the level of cellular defense responses of the juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. Fish Shellfish Immun., 14: 223-238.

第四章 石斑魚的生物技術應用

黃意菱、王廷瑜、徐浩軒、陳怡安、陳永茂、陳宗嶽

國立成功大學生物科技研究所、農業生物技術研究中心

一、前言

漁業是台灣重要的初級產業，在戰後迅速發展起來，漁產量由 1952 年 12 萬公噸，增加到 2009 年 108.9 萬餘公噸，產值亦由新台幣 5 億餘元增加到近 850 – 1,000 億元。台灣漁業在經過多年之努力，發展十分快速，但因過去均以生產為目標，任由業者自由發展之策略，造成漁業資源環境及管理上很大的傷害，尤其近年來全球糧食需求增加、環境惡化、污染嚴重、地球暖化氣候變遷、海洋資源過度利用等，讓漁業產量面臨瓶頸；也由於海洋資源枯竭造成捕撈漁獲量逐年遞減，使得養殖漁業已漸漸成為主要的漁產來源（楊等人，2009）。台灣地處於亞熱帶區域，為漁業發展提供了優良條件，根據食品與農業組織的官方報告，台灣出口的漁產由 1997 年的 56 萬公噸成長至 2006 年的 64 萬公噸，在十年內已成為全世界最重要的漁產供應國家之一。台灣在全球漁產量排名位居十六，養殖漁業包括淡水魚塢養殖、鹹水魚塢養殖及淺海養殖海等，年產量約 30 – 32 萬噸，價值 250 億元；養殖海水魚部分主要有虱目魚、石斑魚、海鱺等，根據聯合國糧農組織資料顯示，在 2004 年中石斑魚是台灣第 4 大養殖魚種，而全球石斑魚養殖漁業因侷限於亞洲地區，因此被養殖界公認為亞太地區最重要之經濟魚種（洪等人，2011）。

二、石斑魚簡介

石斑魚類 (*Epinephelus* spp.)，分類上屬於硬骨魚綱 (Osteichthyes)、鱸形目 (Perciformes)、鮨科 (Serranidae)，石斑魚屬 (*Epinephelus*)，俗稱過魚、格仔魚、鱸貓等。在熱帶及亞熱帶海域，種類繁多全世界約有 400 種，喜生活在近岸岩礁分布的海域。台灣目前所發現的記錄為 3 亞科 29 屬 110 種（洪等人，2011），此魚由於肉質細嫩豐美，自古以來就被視為桌上佳餚，也因其生活習性，過去無法以先進的科學技術增加漁獲量。由於市場價值高，所以目前許多東南亞國家如新加坡、印尼、馬來西亞、菲律賓也都盛行養殖石斑魚，因此相當迅速的成為主要養殖魚類台灣因為掌握重要的養殖技術，產量達 17,000 公噸，佔全球養殖產量的 23%，僅次於中國的 44,000 公噸（洪等人，2011），因此台灣在亞洲石斑魚水產養殖科技上為中國及東南亞國家之中心，石斑魚養殖戶也是技術傳播中國及東南亞國家之橋樑。

養殖石斑魚苗在以往皆須經由捕撈取得，再養殖成大魚出售。多年來在台灣養殖業者不斷嘗試及研究改進之下，台灣於 1982 年首度有人以注射荷爾蒙的方式，成功繁殖瑪拉巴石斑魚，自此開啓了台灣石斑魚的完全養殖時代，在飼養管理及種苗生產

上，目前在世界上居於領先的地位，最大的養殖產地為台灣南部的嘉南及高屏沿海。台灣目前主要養殖點帶石斑 (*E. coioides*)、瑪拉巴石斑 (*E. malabaricus*)、和鞍帶石斑 (*E. lanceolatus*)、金錢斑 (*E. tukula*) 等為主 (莊等人, 2006)。一般石斑魚養殖至少需 12 – 14 個月才可達上市體型，但養成率都不高，僅達放養魚卵的 0.3%。除了早期稚魚易遭受病毒及細菌感染而死亡外，養殖期間的天候因素、水質污染問題、餌料生物的選擇與管理方面都會增加業者的風險。因此如何藉由生物科技協助提高養殖魚類的養成速度、縮短上市的時間、降低飼料轉換率、提高抗病力等減低養殖期間可能發生的風險，是值得努力研究的課題。

三、生物技術在石斑魚產業的應用

由於石斑魚養殖產業疾病問題嚴重，神經壞死病毒造成全球漁業養殖的嚴重損失，因此近年來各國不斷思考如何防疫此病害的威脅；另外在現今所可以利用的糧食資源也漸趨短缺，主要作物價格不斷上漲，提升單一面積生產量以及增加附加營養價值或節省成本是世界糧食生產的重要趨勢。因此在目前，生物科技於石斑魚養殖上主要可應用於三個方向：(1) 透過良好的養殖健康管理及健全的防疫制度，研發出具有良好靈敏性、高專一性的病原檢測技術，做為疫病早期快速檢測工具 (陳與陳, 2006)；(2) 發展分子基因標誌，應用於基因輔助篩選 (marker-assisted selection, MAS) 育種技術上，以篩選出具較佳抗病力、孵育率或成長力等特

性之石斑魚優質種苗 (陳與陳, 2009)；(3) 改進石斑魚養殖技術，提升石斑魚養殖效率，藉由生物技術來提高養殖魚類的養成速度、縮短上市的時間或降低飼料成本 (簡, 2007；陳, 2009) 等，養殖出優質石斑魚，提升台灣石斑魚產業競爭力。

因此下面將就石斑病原檢測、基因標誌分子檢測、及提升石斑魚養殖效率等生物技術方法，應用在解決石斑產業上的貢獻進行說明。

四、養殖健康管理－石斑魚病原檢測

環視整個石斑魚水產養殖產業結構，自 1990 年起，全球漁業養殖廣受病原體的侵害，高死亡率是養殖業目前尚待突破之瓶頸，也造成台灣石斑魚養殖產業嚴重的經濟損失。石斑魚養殖特別是種苗養殖為我國重要水產養殖產業，養殖方式主要分為三階段，第一階段為卵至白身，第二階段為白身至 2 吋魚苗，第三階段則為 2 吋魚苗至成魚，魚苗與稚魚的育成多為室內集約式養殖，之後則移至魚塢或海上箱網繼續繁殖，但由於地狹人稠，不論陸上魚塢或海上箱網，多半採取高密度飼養，因此造成石斑魚病害傳播情形相當嚴重。目前台灣石斑魚養殖的病毒性病害以神經壞死病毒 (nervous necrosis virus) 和虹彩病毒 (iridovirus) 為最嚴重，感染往往造成石斑魚苗大量死亡，也嚴重威脅台灣養殖產業 (Chi et al., 1997; Chi et al., 2001)，能否及早發現與解決魚病問題已成為台灣養殖漁業是否能永續發展的關鍵，而現

今常用之檢測方法或曠日廢時或無法早期檢測，造成防疫或檢疫的漏洞。因此開發出可做為池邊或防疫現場早期魚病原快速檢測的方法，以預防各種病原體感染（包含病毒與細菌）或減低各種病原體感染對於我國石斑魚種苗產業生產及輸出之衝擊與經濟損失，為一重要產業發展課題。

目前用以檢測石斑魚是否受到神經壞死病毒感染的方法有：以光學顯微鏡觀察魚的腦部、脊索或視網膜，但是不易觀察；利用電子顯微鏡、血清學方法及分子生物學方法偵測魚體內是否有病毒顆粒、病毒抗原或其核酸存在或是偵測魚血清或體液中是否有抗神經壞死病毒抗體存在，如以重組的病毒鞘蛋白進行 ELISA 檢測 (Husgag et al., 2001)；對病毒進行細胞培養，目前可用的細胞株有可適用於所有基因型病毒的 SSN-1 和可適用於石斑魚神經壞死病毒的 GF-1 (Chi et al., 1999)。最常用來檢測的方法是以免疫學方法偵測魚隻組織中是否有神經壞死病毒抗原存在 (Arimoto et al., 1992)；以及利用 RT-PCR 方法，針對神經壞死病毒的 RNA2 進行 RT-PCR，但是這些方法都有使用之侷限性與靈敏度的限制。

因此利用對於神經壞死病毒生物資訊的建構與瞭解 (陳與陳, 2006)，已經成功發展出螢光即時 PCR 檢測技術，其偵測極限可達到 190 病毒 copies，和傳統 RT-PCR 比較，其靈敏度高過十倍 (Kuo et al., 2011)。藉由此技術，能進行神經壞死病毒組織分布的定量，更進一步了解神經壞死病毒的相關資訊。另外也成功發展出即時病原檢測技術，藉由 PCR 和結合多重引子的方法，經由一次反應

即可同時檢測三種病原與一種石斑魚抗病毒蛋白 (歐, 2006)，並且自 2001 年開始學界也與中華民國水產種苗協會合作，協助種苗業者進行病毒檢測工作，收集台灣南部地區石斑魚種苗檢體，進行多病原的池畔田間病毒鑑定及檢測，以了解台灣石斑魚生長感染情況，作為防治參考。

對於我國水產種苗產業，疾病快速的檢驗及確認對於進出口的檢疫工作扮演著重要的角色，因此良好的病原檢測系統，將可提供檢疫工作一大利器，而多病原檢測技術也可以與機電工程整合，因為微機電系統技術的發達，創造了微流體晶片的無限可能，微流體晶片的特點是將檢測程序所需利用的種種元件，都集中在同一晶片上製作，再藉由外加電壓所產生的電滲流，或利用微小化幫浦或離心力等方式，驅動樣品或試劑在各元件間相連的微管道中移動，以完成檢測 (歐, 2006)。這種一體成型的多功能晶片，也稱之為 lab-on-chip，「實驗室平台晶片」(Wang et al., 2011)。利用微流體方式整合實驗室系統於單一晶片為近年來極受重視的新型技術；其特別之處為把毛细管電泳技術結合至系統晶片上，提高其靈敏度與減少樣本之需求，而利用微流體晶片進行生物醫學檢測或分析具有降低人工操作的實驗誤差、提高系統穩定性、降低耗能及樣品用量、降低能力和節省時間等優點；在目前微流體晶片技術在生物醫學方面應用的主要領域包括基因表現分析、疾病診斷、藥物篩選、基因定序、蛋白質分析等相關應用。在過去的研究中也顯示，利用微流體晶片做聚合酶鏈鎖反應偵測基因表現 (陳等人，

2004) 或偵測病毒 (歐, 2006) 都具有高靈敏度。目前成功大學正在將多病原檢測技術進一步與整合型微流體晶片進行技術結合：以原來做病原檢測時所病原的專一引子對，結合整合型微流體晶片，開發可檢測神經壞死病毒 (GNNV)、虹彩病毒 (iridovirus)、弧菌 (*Vibrio* spp.)、與抗病毒蛋白 Mx 的石斑魚多病原微流體晶片。也因為整合型微流體之毛細管電泳是以雷射系統偵測產物，更可有效提高其靈敏度，提高偵測之極限約一般 RT-PCR 方法的靈敏十倍，因此可利用來做為早期檢測的工具，以及早做出因應。整合型微流體晶片由於體積小、可攜性高、便於池邊或防疫現場進行檢測之工作，實用價值極高，在結合應用之技術平台後更能產生快速及便利之平台，對於檢測技術之提升將具有極大助益，幫助水產養殖產更快速、有效地預防病原體的感染，進而降低產業之損失。

五、基因輔助育種－基因標誌分子檢測

石斑魚在孵育率上有極高的不穩定性，並且自卵孵化到吋苗的這段期間內，小魚又經常會受到神經壞死病毒的感染，而造成極高的死亡率，有時甚至高達 100%，造成養殖業者的極大損失。為迅速重建台灣成為亞太種苗中心，在環視整個石斑魚水產養殖產業結構，死亡率的控制及優質石斑魚種苗的獲得是養殖業亟待突破之瓶頸，若能利用分子基因指標進行品種篩選，篩選出石斑魚優質種魚，並以其作為基礎開發出具較佳抗

病力、孵育率或成長力 (Chen et al., 2006; Chen et al., 2007; Chen et al., 2008; Chen et al., 2010) 之石斑魚優質種苗，將是改善石斑魚種苗競爭力及發展石斑魚種苗產業中，開發關鍵技術維持世界第一的重要關鍵環節。

在許多模式生物基因體計畫完成後，建立了基因體學的相關技術，從基因體學的最新技術，配合基因體資訊的建立，所建構出的研究資訊，對於目標基因之尋找上提供了快速篩選的突破契機與快速捷徑。在日本、歐洲等先進國家在其冷水魚種之養殖已開始利用基因體分析及分子標誌進行品種篩選與防治疾病，如日本 Okamoto 教授團隊已成功利用分子標誌輔助育種技術成功於培育出抗病比目魚品系 (Okamoto et al., 2003)，因此基因體分析及分子標誌篩選技術如能應用於石斑魚類，不但可以有效減少抗生素的使用量，且能有效預防疾病，並提高生長發育效益。

目前台灣所養殖之暖水魚種，除環境與病原和寒帶國家有相當的差異外，其基因體資訊亦大為不同 (陳與陳, 2006)，為研發出適用於暖水魚種的分子標誌篩選技術，過去台灣投注相當心力，並已經在石斑魚分子基因標誌上獲得初步成果。未來希望將基因體分析及分子標誌篩選技術應用於優質石斑種魚與種苗的篩選上，以生產出優質石斑種苗及建立特殊功能品系。另一方面，為有效區分台灣石斑魚養殖族群，確保台灣自有品系，因此利用分子標誌建立石斑魚生物條碼技術來確保台灣優質石斑魚品系之優勢，進而建立品牌競爭優勢 (圖 4-1)，將是台灣力

爭成為亞太種苗中心不可或缺的一環。希望能達到提供免疫成效之追蹤並可增進施用疫苗之成效，同時也可提供優質石斑種苗育成之選育標準，進而培育出具有較佳抗病或成長力之優良石斑魚品系，以長期且普遍性的解決與克服疾病所造成之危害。

目前石斑魚已經成功篩選出抗病力、成長力、與逆境功能標識 (Chen et al., 2006; Chen et al., 2007; Chen et al., 2008; Chen et al., 2010)，成功大學也開發完成石斑魚基因標誌多重檢測方法，並且也與廠商進行計畫合作，進行石斑種魚分子育種篩選工

作，將篩選出具特殊功能的種魚作為基礎，以做為未來開發出具較佳養成速度、較低飼料轉換率、較高抗病力、抗逆境、抗寒力等特質之優質石斑魚種苗品系，進一步長期且普遍性的解決石斑魚種苗的活存率問題，而這樣的基因標識技術對於進一步用於提升石斑魚優質種苗的生產及發展尖端石斑魚種苗產業，具有極大的助益，能提升台灣石斑魚種苗產業整體競爭優勢，進而建立台灣種苗品牌形象，以推動台灣成為亞太種苗中心 (洪等人，2011)。

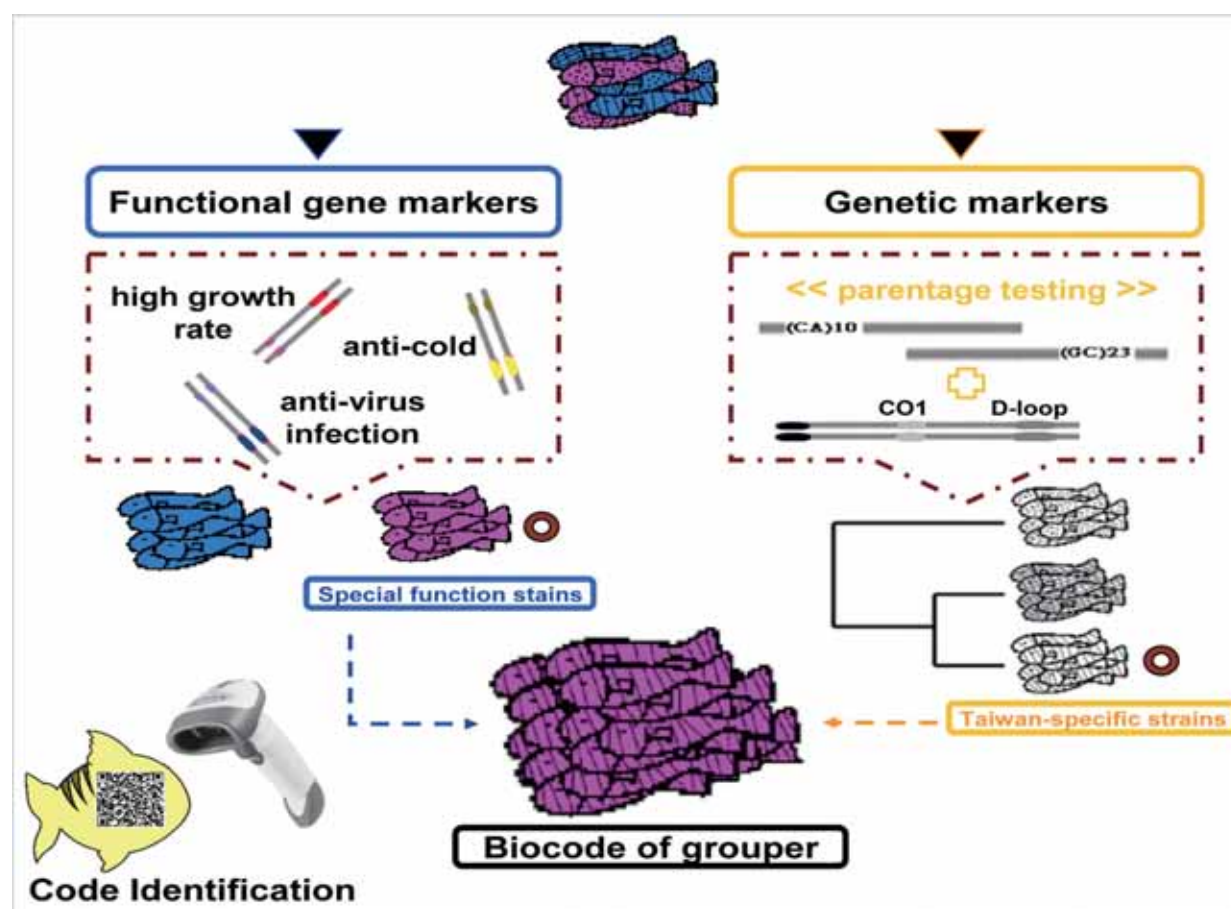


圖 4-1 分子標誌育種篩選石斑魚建立品系

利用基因體分析及分子標誌篩選技術，可篩選出優質石斑魚種魚與種苗，以生產出優質石斑魚種苗及建立特殊功能品系；也能利用分子標誌建立石斑魚生物條碼技術，有效區分台灣石斑魚養殖族群台灣自有品系，確保台灣優質石斑魚品系之優勢，進而建立品牌競爭優勢。

六、改進石斑魚養殖技術－提升石斑魚養殖效率

現今氣候變遷、世界人口成長、糧食作物轉作生質柴油，以及新世界或新興市場的需求等，主要作物價格不斷上漲，而可利用的糧食資源也漸趨短缺，提升單一面積生產量以及增加附加營養價值是世界糧食生產的重要趨勢。在漁業方面，石斑魚養殖技術的改進是養殖業有待突破的瓶頸之一，能如何增進魚隻的經濟價值也是長久以來漁民所想達到的目標。如果能藉由生物技術來養殖出優質石斑魚，提升台灣石斑魚產業競爭力，也是目前相當值得努力的方向。

目前也已找到了石斑魚中的和生長相關的基因－肌肉生長抑制基因 (Chen et al., 2007)，在其他物種上，當肌肉生長抑制基因失去功能時，無法扮演負向調控因子的角色，會造成肌肉倍增的表現型出現。如在新英格蘭醫學期刊中所發表的：在人類物種身上的首次案例，肌肉生長抑制基因功能喪失，導致這個小孩體型異常的壯碩，肌肉是同齡小孩的兩倍 (Schuelke et al., 2004)；也有學者利用 RNA 干擾技術在魚體上進行肌肉生長抑制基因降解，發現魚體有較大的表現型，細項觀測其體重及肌肉纖維的剖面分析，發現皆有增加的趨勢 (Acosta et al., 2005)，此降低內生性肌肉抑制基因之方法，不只可用於人類醫療，若應用於經濟魚種將可提高經濟魚種之養效率。

目前在石斑魚上，利用免疫抑制技術 (圖 4-2)，藉由模仿抗原入侵細胞時啟動的免疫機制引起魚體的體液性免疫反應，

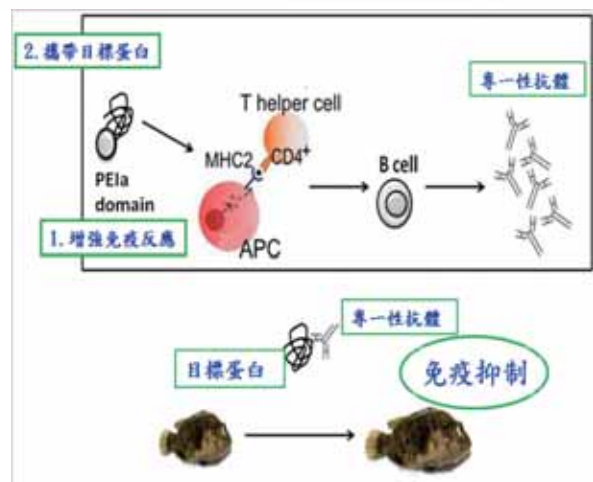


圖 4-2 免疫剔除技術可能誘發的機制圖

利用重組目標蛋白引起點帶石斑魚體內體液性免疫反應，產生高量專一性的抗體。專一性的抗體可與魚體內的內生性專一蛋白進行結合，使其喪失生理功能。

綠膿桿菌外毒素 A 可將與其融合之蛋白質經胞飲作用傳送至溶酶體中 (Chen et al., 1999)，該處為 MHC class II 分子與抗原進行結合的位置，巨噬細胞經過 MHC class II 分子於細胞表面呈現抗原標記，轉變為抗原呈現細胞，可刺激輔助 T 細胞形成，更進一步刺激 B 細胞活化產生免疫反應，促使魚體產生對抗內生性肌肉抑制蛋白之抗體，進而降低魚體內內生性之肌肉生長抑制蛋白的產生。研究中也已證明在石斑魚上，能夠促進魚肉生產量達到肌肉倍增效果 (圖 4-3) 並有較低的飼料轉換率 (簡，2007；陳，2009)；成功在石斑魚上建立一個具有較高生長力及較低成本花費的有力技術。另外脂肪也是魚類生長所必需的一類營養物質，在魚類生命代謝過程中參與多種生理功能，是魚類最佳的能量來源，在石斑魚上也已找出另一個與生長相關基因，並利用免疫抑制技術初步證實和脂肪生合成可能有關聯 (黃，2010)；因此若能利用此特性而達到調節魚

肉的脂肪含量，在養殖漁業上將會具有很高的應用價值。

免疫抑制平台技術除了可以有效縮短石斑魚養殖時間，使其儘早上市，藉以降低養殖期間的成本以及可能所面臨之風險外的優點（簡，2007；陳，2009；黃，2010）；此生物技術是從蛋白質的層次進行抑制，並非基因改造食物，在研發成飼料成分餵食石斑魚後，大眾在食用時也比較不會有安全上的疑慮，魚貨出口或上市也不會受到基因改造食物相關法規的諸多限制，對於提高石斑魚養殖效率指日可待。

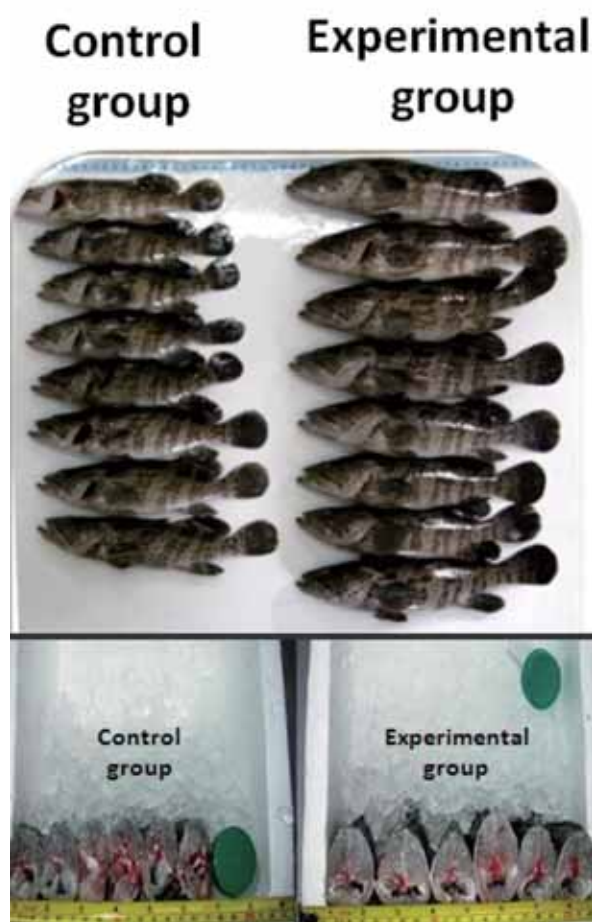


圖 4-3 石斑魚免疫抑制肌肉生長抑制基因後變化情形

在實驗組石斑魚上，具有肌肉倍增情形，可以加速養殖效率，在養殖漁業上具有很高的應用價值。

七、結語

食用石斑魚的國家有 50% 以上的是在亞洲，主要是中國、印尼和台灣（洪等人，2011）。亞洲人的飲食觀念中，活魚代表新鮮且品質佳，石斑魚是高等經濟價值的魚種且需求總是超過產出，若能藉由生物技術方法之利用，可以在未來檢測、養殖上有所突破與持續的發展，將可協助台灣石斑魚養殖產業「安全」及「優質」水產品的形象定位發展，建立強而有力的國際競爭優勢，達到石斑魚養殖產量倍增目標，並提升石斑魚種苗繁養殖的多樣性，以維持繁養殖技術世界第一，引導國際石斑魚養殖產業發展，倍增現有石斑魚產量，以取代海洋野生石斑魚供應市場，建立環保國家形象，達成亞太石斑魚種苗生產產業永續經營發展的終極目標，其價值非僅單純量化數字可以評估的。

八、參考文獻

1. 洪玉靖、黃劭凌、陳永茂、陳宗嶽 (2011) 石斑魚繁養殖倍增策略分析。水產種苗，153: 5-24。
2. 莊蕙菁 (2005) 石斑魚神經壞死症病毒特性及檢測方法之研究。國立成功大學生物科技研究所碩士論文。
3. 莊蕙菁、歐明昌、陳永茂、粘茂偉、陳宗嶽 (2006) 利用生物技術克服病毒對石斑種苗生產的影響。優質種苗與水產養殖，83-96。
4. 陳永茂、陳宗嶽 (2009) 石斑魚種苗養殖。台灣水產，4(2): 12-17。
5. 陳宗嶽、陳永茂 (2006) 神經壞死病毒 (Nervous Necrosis Virus) 的生物資訊蒐集與利用。水產種苗，100: 15-17。
6. 陳宛兒 (2009) 點帶石斑魚肌肉生長抑制基因之功能分析及分子調控。國立成功大學生物科技研究所碩士論文。
7. 黃意菱 (2010) 石斑魚活體內外之 SPARC 蛋白功能分析。國立成功大學生物科技研究所碩士

論文。

8. 楊玉婷、陳葦苧、陳政忻 (2009) 石斑魚產業概況及趨勢。農業生技產業季刊, 19: 24-29。
9. 歐明昌 (2006) 石斑魚神經壞死病毒特性及檢測方法之研究。國立成功大學生物科技研究所碩士論文。
10. 簡正修 (2007) 點帶石斑魚肌肉倍增基因功能分析與其基因啟動子之調節。國立成功大學生物科技研究所碩士論文。
11. Acosta, J., Y. Carpio, I. Borroto, O. González and M. P. Estrada (2005) Myostatin gene silenced by RNAi show a zebrafish giant phenotype. J. Biotechnol., 119: 324-331.
12. Arimoto, M., K. Mushiake, Y. Mizuta, K. Muroga and I. Furusawa (1992) Detection of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Fish Pathol., 27: 191-195.
13. Chen, T.Y., C. P. Lin, C. C. Loa, T. L. Chen, H. F. Shang, J. Hwang and C. F. Hui (1999) A Nontoxic *Pseudomonas* Exotoxin A Induces Active Immunity and Passively Protective Antibody against *Pseudomonas* Exotoxin A Intoxication. J. Biomed. Sci., 6: 357-363.
14. Chen, Y. M., C. E. Kuo, T. Y. Wang, P. S. Shie, W. C. Wang, S. L. Huang, T. J. Tsai., P. P. Chen, J. C. Chen and T. Y. Chen (2010) Cloning of an Orange-spotted Grouper *Epinephelus coioides* Heat Shock Protein 90AB (HSP90AB) and Characterization of Its Expression in Response to Nodavirus. Fish Shellfish Immunol., 28: 895-904.
15. Chen, Y. M., C. Y. Wei, C. H. Chien, H. W. Chang, S. I. Huang, H. L. Yang and T. Y. Chen (2007) Myostatin Gene Organization and Nodavirus-influenced Expression in Orange-spotted Grouper (*Epinephelus coioides*). Comp. Biochem. Physiol. D, Genomics Proteomics, 2: 215-227.
16. Chen, Y. M., Y. L. Su, H. Y. Lin J, H. L. Yang and T. Y. Chen (2006) Cloning of an Orange-spotted Grouper (*Epinephelus coioides*) Mx cDNA and Characterisation of Its Expression in Response to Nodavirus. Fish Shellfish Immunol., 20: 58-71.
17. Chen, Y. M., Y. L. Su, P. S. Shie, H. Y. Lin J, H. L. Yang and T. Y. Chen (2008) Grouper Mx Confers Resistance to Nodavirus and Interacts with Coat Protein. Dev. Comp. Immunol., 32: 825-836.
18. Chi S. C., B. J. Lo and S. C. Lin (2001) Characterization of grouper nervous necrosis virus(GNNV). J Fish Dis., 24: 3-13.
19. Chi, S. C., C. F. Lo, P. S. Chang, S. E. Peng, G. H. Kou and S. N. Chen (1997) Mass mortality associated with viral nervous necrosis (VNN) in two species of hatchery-reared grouper, *Epinephelus fuscogutatus* and *Epinephelus akaara* (Temminck & Schlegel). J Fish Dis., 20: 185-193.
20. Husgag, S., S. Grotmol, B. K. Hjeltne, O. M. Rodseth and E. Biering (2001) Immune response to a recombinant capsid protein of striped jack nervous necrosis virus in turbot *Scophthalmus maximus* and Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*, and evaluation of a vaccine against SJNNV. Dis Aquat Organ., 45: 33-44.
21. Kuo, H. C., T. Y. Wang, P. P. Chen, Y. M. Chen, H. C. Chuang and T. Y. Chen (2011) Real-time Quantitative Polymerase Chain Assay for Monitoring of Nervous Necrosis Virus Infection in Grouper Aquaculture. J. Clin. Microbiol., 49: 1090-1096.
22. Lien, K. Y., S. H. Lee, T. J. Tasi, T. Y. Chen and G. B. Lee (2009) A Microfluidic-based System Using Reverse Transcription Polymerase Chain Reactions for Rapid Detection of Aquaculture Diseases. Microfluid. Nanafluid, 7: 795-806.
23. Munday, B. L., J. Kwang and N. Moody (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: a review. J Fish Dis., 25: 127-142.
24. Ou, M. C., Y. M. Chen, M. F. Jeng, C. J. Chu, H. L. Yang and T. Y. Chen (2007) Identification of Critical Residues in Nervous Necrosis Virus B2 for dsRNA-binding and RNAi-inhibiting Activity through by Bioinformatic Analysis and Mutagenesis. Biochem. Biophys. Res. Commun., 361: 634-640.
25. Schuelke, M., K. R. Wagner, L. E. Stolz, C. Hübner, T. Riebel, W. Kömen, T. Braun, F. T. James and S. J. Lee (2004) Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. N. Engl. J. Med., 350: 2682-2688.
26. Wang, C. H., K. Y. Lien, T. Y. Wang, T. Y. Chen and G. B. Lee (2011) An Integrated Microfluidic Loop-mediated-isothermal-amplification System for Rapid Sample Pre-treatment and Detection of Viruses. Biosen. Bioelectro., 26: 2045-2052.

第五章 豹鰨種苗生產技術

許鐘鋼

水產試驗所澎湖海洋生物研究中心

一、前言

全球人口快速增加，陸上食物生產力將無法完全供應人口成長之消耗，需仰賴海洋漁業資源之供給。近五年全球水產養殖產量已佔全球總漁產量的 37.2%，而台灣五年來則佔總漁產量的 24.3%。一連串的供應鏈，顯示水產養殖重要性在全世界逐年增加；而其中以石斑魚市場價值最高，現為台灣與東南亞國家最主要經濟養殖魚類。在全世界石斑魚養殖產量中，台灣產量就佔了一半之多，約為 13,300 公噸，產值為 21 億元；綜合許多分析數據顯示，水產養殖業儼然已成為國家經濟發展的重要因素之一。

台灣定位為發展亞太地區水產種苗營運中心，主要目標是各種石斑魚養殖技術的研發及優質石斑種原的篩選，以期能建立穩定的繁養殖平台及大量培育優質種苗。因此必須以永續經營的理念，重新檢視現行水產養殖業所面臨的種原弱化及繁殖過程的病原感染問題。豹鰨 (*Plectropomus leopardus*) 是種尚待開發的明星養殖物種，若能加強產業團隊專業分工及管理，將成為台灣具代表性的新興養殖魚類，為台灣水產養殖產業帶來更大之優勢。

豹鰨屬鰨科 (Serranidae) 之石斑亞科 (Epinephelinae)，刺鰨屬 (*Plectropomus*)，別名花斑刺鰨鰭、豹紋豹鰨 (台灣名)、豹紋

鰨棘鱸 (大陸名)。香港市場俗稱東星斑，但台灣俗稱七星斑，而澎湖地區則以「條」、「青條」、「黑條」、「紅條」通稱 (圖 5-1)。是跟石斑魚有相同性轉換特性的雌雄同體，雌性先熟型。



圖 5-1 豹鰨在台灣俗稱七星斑

野生豹鰨肉質滑嫩，體色鮮艷，賣相奇佳。烹煮方式多為清蒸、煮湯或紅燒，頗受市場歡迎，是單價最高之鰨科魚類之一。不僅在台灣，豹鰨亦是日本琉球群島最受歡迎的海鮮魚類，香港亦為僅次於老鼠斑及蘇眉的高級魚種。近年來中國市場需求量突增，造成供不應求的市場榮景。雖然豹鰨養殖存活率低且成長較慢，但因單價飆高，仍具市場開發價值。由於野生豹鰨多以活餌掠食為主，因此漁獲均以一支釣、延繩釣、刺網或魚槍捕獲居多，量不多且有逐年減少的趨勢。由於上市體型之批發單價達 1,000 元/kg 以上，天然海域之漁獲量早已供不應求。又野

生之豹鱸初入人工蓄養環境後，常因捕撈緊迫或是餌料無法適應，容易造成蓄養的高死亡率，因此種魚之培育並不容易。在無法大量取得野生魚苗進行養殖的狀況下，研發其繁養殖技術實是刻不容緩的工作。

二、澎湖野生豹鱸漁獲及單價

在澎湖地區豹鱸俗稱「青條」、「黑條」或「紅條」，時常讓人產生混淆，誤認為這些體色迥異的魚是其他種類。野生豹鱸在水深 20 m 內被捕獲時，通常豹鱸體色較黯淡，通常為褐色或粉紅色居多，因此體表藍點較為明顯，漁民稱之為「青條」、「黑條」；但若捕獲水深較深時，體色呈現鮮紅色，期間可能有白色交錯之橫及縱紋。但是豹鱸經過人工環境飼養一段時間後，其體色可能失去原有之鮮紅色，呈現暗紅、褐或是白色 (圖 5-2)。

澎湖豹鱸因體型大小棲息於不同區域。沿岸水深 20 m 以內所捕獲之豹鱸體型較小，均不超過 1 kg。漁民捕獲方式為刺網、魚槍、一支釣 (表 5-1)。

以刺網捕獲之魚隻多已死亡且體表有網具勒痕，勒痕處鱗片脫落，致使體色呈現不



圖 5-2 經過人工環境飼養一段時間之豹鱸

完整，且鮮度可能較差，其賣價 300 — 400 元 /kg，多在漁港拍賣。潛水人員以魚槍捕獲豹鱸體型較大，超過 1.0 kg 居多。但魚貨均已死亡且體表有明顯魚槍傷口，體色亦不完整，新鮮度普通，通常在澎湖黃昏市場販售，其賣價 400 — 500 元 /kg。漁民多以一支釣來到或高品質的豹鱸，這種漁法或以活餌誘魚，也可能以慢速拖曳的方式進行。由於這種漁法的漁獲要求為活魚，因此船上均有活魚艙妥善養殖漁獲。漁獲多為活體，無明顯傷痕，體色鮮豔，體型為 0.6 — 1.0 kg，正是最佳的上市體型。因為魚隻為活體，鮮度自然不在話下，通常批發單價 800 — 1,000 元 /kg，供不應求。延繩釣漁獲方式僅在澎湖特定海域，由於作業時間較久，魚多已死亡且口部有傷痕，體表完整，但體色鮮豔。此

表 5-1 澎湖沿岸捕獲之豹鱸鮮度、品相及單價

漁獲方式	鮮度	品相	單價 (元 /kg)
魚槍 (潛水)	普通	魚已死亡且體表有傷口，體色不完整	400-500
延繩釣	普通	魚多已死亡且口部有傷痕，體色鮮豔	400-500
一支釣	佳	魚多為活體，無明顯傷痕，體色鮮豔	800-1,000
刺網	差	魚多已死亡且體表有網具勒痕，鱗片脫落	300-400

種漁法捕獲之魚隻體型較大，最大可達 6 – 7 kg。因體型超過一般市場接受太多，故單價 400 – 500 元 /kg。

三、野生豹鱸種原培養流程

澎湖每年在水溫回升之後才開始有野生豹鱸的捕獲，種魚購買為豹鱸繁養殖之第一步，如何挑選可立即成為種魚體型，是每年必須先跟漁民溝通的課題。幾年來的經驗，澎湖豹鱸約在 2 kg 左右會成為成熟的雌魚，4 kg 左右會性轉變為雄魚。因此挑選 2 – 4 kg 體型的種魚，避免買進過多的雄魚。

種魚在漁民的蓄養池中數日，可能會有各種的感染產生。在無法確認的情況下，進行至少為期 14 天的檢疫。檢疫之首要即是蓄養水質之過濾及消毒，經過石英砂、濾心、紫外線殺菌燈等層層的水質處理程序，過程已經去除可能的病原，再導入檢疫池中。豹鱸經過漁民捕撈、活魚運輸等過程，口及體表受傷非常常見，因此細菌性感染的檢疫遂成為首要進行之程序，7 天後再針對寄生性的病原加以處理。

野生豹鱸的馴餌是種原培養流程管理的關鍵。野生豹鱸在海域通常是捕食活魚，碰到不會動而又沉底的冷凍餌料，就是寧死也不攝食。有些豹鱸因為口部受傷或是不明顯的脹鰓，也會拒絕攝食。因此，馴餌須以活餌及冷凍餌料交替運用，達到馴餌的目的。

經過冗長的馴餌過程，豹鱸種魚已經完全接受冷凍餌料，而時節即將進入低溫期，另一個種魚飼養考驗馬上開始。豹鱸

在水溫 20℃ 時食慾是相當低的，有些種魚在冬天幾乎都不進食，瘦到僅剩皮包骨（圖 5-3）。所以冬季蓄養豹鱸種魚必須使用循環系統及加溫設備，避免長期低溫導致魚體過於衰弱。



圖 5-3 有些豹鱸種魚在冬天幾乎不進食瘦到僅剩皮包骨

完成過冬養殖的豹鱸才有機會成為繁殖季生產的種魚。繁殖季來臨前所有新的豹鱸種魚必須進行檢測及標識，其中包括體長及體重的測量、雌雄性別的辨別及魚體的晶片標識。完成這些種魚養殖基本的形質測量及編碼後，進一步登錄為豹鱸種原並進行養殖、生產管理，完成野生豹鱸成為豹鱸種原的流程（圖 5-4）。



圖 5-4 野生豹鱸成為豹鱸種原的流程

四、野生豹鰂種魚之養殖

要將野生豹鰂養殖成可以進行交配繁殖的種魚必須經過 1 年的養殖適應期，因此很多因素影響著養殖活存率。首先是漁民的捕獲過程，是否產生隱性的脹鰓、釣勾是否嚴重傷害魚喙、體表是否因為掙扎而受傷及海陸運輸養殖過程是否有缺氧情況，再再都是野生豹鰂活存的關鍵。因此必須有配合良好的漁民及魚販，才能確保過程無虞的交到養殖場手上。2008－2010 年養殖野生豹鰂的結果（表 5-2）顯示，最早在 2 月底即可捕獲。所購買的豹鰂平均體重約 3 kg 左右，體重分布 1.20－5.10 kg，活存率 58.33－80.43%。豹鰂死亡的原因多為脹鰓及馴餌不成功，這類死亡過程均為慢性且期長。以通氣方式處理脹鰓魚體發現，其臟器早已受損，因此侵入性治療的緊迫常加速魚隻死亡。一般馴餌初期都是先使豹鰂呈現飢餓狀

態，再嘗試以冷凍餌料投餵，若效果不彰再以活餌誘引之。一般來說，以活餌及冷凍餌料交叉投餵，最終大多數豹鰂都會開始習慣冷凍餌料，而達到馴餌的目的。

豹鰂種魚經過冷凍餌料馴餌後，進入室內養殖池進行長時間的養殖管理。由於養殖餌料均為冷凍且同質性高，為避免營養缺乏或消化障礙，規劃數種餌料營養添加物，以維持種魚之健康無虞。豹鰂種魚養殖採間隔 1 日投餵，每週投餵 3 次。每次挑選可讓豹鰂種魚一口吞下之冷凍餌料，投餵前將營養添加之錠劑塞入餌料中，隨餌料進入魚體消化道內。11－4 月非繁殖季以秋刀魚為主（每週 2 次），鱈魚、鯖魚為輔（每週 1 次），希望能以油脂較多的秋刀魚增加孕卵量。5－10 月繁殖季若以油脂含量較高的秋刀魚投餵會導致水質較為黏稠，影響受精卵之卵粒收集及分離，因此均以鱈魚、鯖魚投餵，並增添綜合維他命及維他命 E（表 5-3）。

表 5-2 2008－2010 年 3 年養殖野生豹鰂的結果

年度	日期	批次	數量(尾)	活存數(尾)	平均體重(kg)	體重分布(kg)	活存率(%)
2008	0227-0409	6	72	42	3.10±0.71	1.20-4.70	58.33
2009	0324-0623	7	46	37	2.83±0.62	1.65-4.20	80.43
2010	0323-0506	7	72	52	3.20±0.70	1.60-5.10	72.22

表 5-3 豹鰂種魚餌料及添加物

餌料及添加物	11-4 月			5-10 月		
	星期一	星期三	星期五	星期一	星期三	星期五
鱈魚、鯖魚		※		※	※	※
秋刀魚	※		※			
綜合維他命	※		※	※	※	※
維他命 C		※			※	
維他命 E				※	※	※
乳酸菌及酵素		※			※	

五、豹鱠種魚之產卵

(一) 豹鱠產卵期

豹鱠種魚產卵每年都有季節上的差異，這與水溫有極大的關係。低水溫的養殖期間，豹鱠種魚食慾較差，活動力明顯下降，甚至會縮在池底不游動。3月水溫回升以後，食慾及活動力才漸漸回復。通常要到5－6月才會觀察到種魚有腹部膨大的情形，此時水溫已經超過26℃。2006年產卵時間最早，原因是當年3月底進行較長距離的種魚運輸遷移至新場址，種魚於5月12日即交配產卵，其餘年度均在6－7月才產卵，顯示水溫影響產卵甚鉅。產卵季最晚約在10月底，此時水溫已經開始下降（圖5-5）。

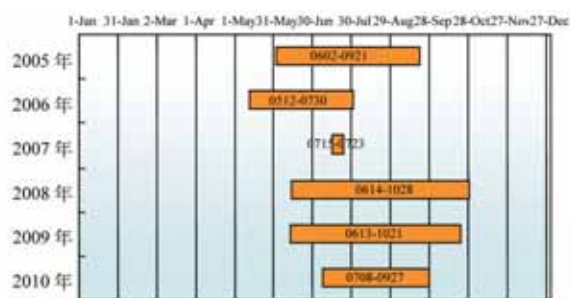


圖 5-5 2005-2010 年豹鱠種魚之產卵期

隨著豹鱠種魚變性或是老化，每年的產卵期及產卵天數都有些差異。2007年可能是雌性種魚已經變性，因此產卵狀況不佳。其餘年度產卵期皆超過80天，最長的產卵期是2008年的137天。產卵天數以2007年的6天最少，2008及2009年的68及69天最多。而產卵天數佔產卵期43.24－66.67%，平均 $50.60 \pm 8.56\%$ （圖5-6）。

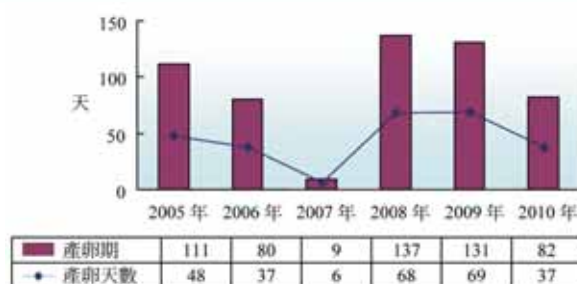


圖 5-6 2005-2010 年豹鱠種魚之產卵天數

(二) 產卵量

豹鱠受精卵之卵徑約0.8 mm，每1 g 受精卵有2,000顆。以2005－2010年豹鱠產卵量來看，2009年產出21.728 kg最多，換算成卵數約4,345.6萬；2005年產出3.245 kg最少，約649萬顆（圖5-7）。

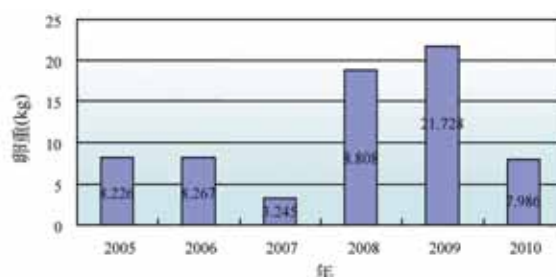


圖 5-7 2005-2010 年豹鱠種魚之產卵量

(三) 平均日產卵量

將每年產卵量與產卵日數平均，除了2007年因為產卵量及日數較少，導致平均產卵量540.83 g特別高外（偏差大），其餘各年之日平均產卵量均在170.38－314.90 g間（圖5-8）。

(四) 豹鱠產卵量月變化

從2005－2010年的6年間，豹鱠的產卵季是每年的5－10月。結果僅有1年（2006年）產卵開始於5月中旬，因此5月的產卵量最少。全年豹鱠產卵的高峰期是在

7月，幾乎每年都有產；其次是8及9月（各有4年），6月（3年），而有兩年豹鰨產卵至10月下旬（圖5-9）。

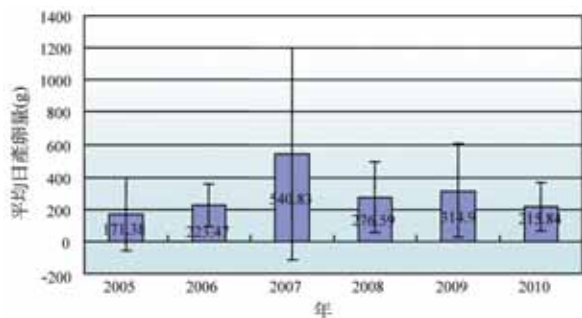


圖 5-8 2005-2010 年豹鰨種魚之日平均產卵量

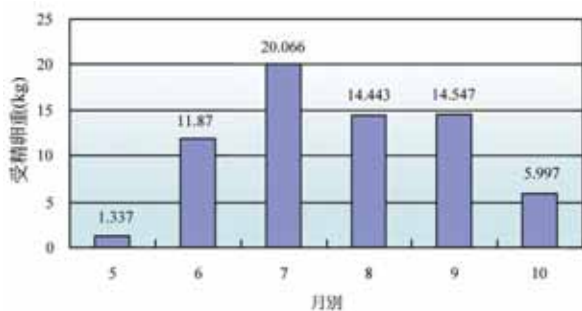


圖 5-9 2005-2010 年豹鰨種魚之產卵量月變化

六、豹鰨胚胎及仔稚魚

豹鰨種魚交配開始在傍晚，有時會聽到游出水面的水花聲，但是若有人為干擾時，豹鰨會停止交配，直到人聲或是腳步震動停止。因此往往為了觀察其豹鰨交配，就必須等到所有人下班後才有機會進行。觀察種魚交配時間約 18:00 – 20:00，此時受精卵經過自動收集網袋收集至少要 4 個小時才能收集完成，此時受精卵卵徑約 0.8 mm（圖 5-10）。受精卵在水溫 28℃ 及鹽度 35 psu 時孵化時間需 20 – 22 小時，時間為隔日 16:00 – 18:00。豹鰨魚苗開口攝餌時間

約 6:00 – 8:00，此時魚苗全長約 2.4 mm（圖 5-11）。魚苗攝餌後第 5 天，胸及背鰭長棘開始突出，此時魚苗全長超過 3 mm（圖 5-12）。第 9 天時，胸及背鰭長棘延長魚苗全長 5.5 mm（圖 5-13）。魚苗攝餌後第 16 天，魚苗體長 9.5 mm（圖 5-14）。魚苗攝餌後第 60 天，魚體呈紅色，體表有許多藍點，魚苗體長 3 – 4 cm（圖 5-15）。



圖 5-10 豹鰨受精卵



圖 5-11 開口第 1 天魚苗



圖 5-12 攝餌第 5 天魚苗



圖 5-13 第 9 天長棘長出



圖 5-14 攝餌後第 16 天魚苗



圖 5-15 攝餌後第 60 天魚苗

七、豹鰨不同餌料之成長

雖然野生豹鰨幾乎不會掠食死餌，經過馴餌的豹鰨種魚也僅會對冷凍餌料產生興趣。然而豹鰨養殖必須能以人工飼料養殖，才能在量產的技術研發上，普為市場所接

受。因此我們自行培育的豹鱸魚苗以鰻粉加水、鰻浮料、鰻粉加魚漿加水及石斑沉料 4 種餌料投餵，希望了解豹鱸對於各種不同型

態餌料的接受度，甚至於初步評估其成長及餌料效率（表 5-4）。以平均體重 13.54 g 的豹鱸魚苗進行 56 天的養殖結果，在日增重

表 5-4 以不同餌料餵食豹鱸魚苗之結果

餌料	平均初重 (g)	平均末重 (g)	日增重 (g/d)	餌料效率 (%)
鰻粉加水	13.54	29.06	0.28	70.61
鰻浮料	13.54	30.06	0.30	84.06
鰻粉加魚漿加水	13.54	29.93	0.29	45.58
石斑沉料	13.54	32.46	0.34	88.71

1. 鰻粉、鰻浮料及石斑沉料之蛋白質含量為 45.5、44.0 及 45.0%
2. 試驗進行 56 天

部分以石斑沉料的 0.34 g/day 最佳，其次為鰻浮料，以鰻粉加水最差。在餌料效率方面，仍以石斑沉料的 88.71% 最佳，鰻浮料居次，鰻粉加魚漿加水最差。試驗結果說明經過馴餌的豹鱸魚苗對於沉料或是浮料都可以接受，所以豹鱸養殖的人工飼料研究有其必要及急迫性。

豹鱸在市場的販售單價很高，吸引眾多業者的目光，至於詢問最多的問題就是豹鱸成長到底有多快，多久養殖時間可以到達上市體型。在室內以人工飼料養殖豹鱸，第一年魚體體重可達 300 g，一年半可達 600 g 的最佳上市體型下限，兩年養殖結束時體重就達到 1,000 g 的最佳上市體型上限。當然了限制豹鱸必須養殖一年半才可達上市體型的關鍵因素應該是水溫，豹鱸在澎湖養殖的問題是高達 4 個月冬天低溫期，其索餌慾望幾乎是隨溫度升降，連帶其成長幾乎是停滯的。若是想在低溫期養殖豹鱸而縮短養殖上

市時間，降低風險，研發高效能且廉價的養殖循環系統是必須的考慮的。

八、結論

豹鱸是一個極具潛力而必須儘快發展的養殖項目，起因於中國市場的高單價及需求量。台灣地區具有種魚飼養、育苗技術、活魚運輸及市場行銷等的石斑魚養殖經驗，要從豹鱸市場著手應不會有太大困難。但是目前石斑魚養殖所遭遇的困難點，如種原篩選及保存未盡人意之結果，導致後續養殖之障礙，如病害之侵擾、繁殖之困難、畸形白子率高及成長之遲緩等，在在突顯基礎研究工作之重要性。由於天然野生種魚有著攜帶特定病原的不確定性，因此，必須經由篩選或人培育工種魚，才能確保有優質之豹鱸種原。而這一項工作成本耗費高，短期不易見到成效，因此民間投入意願不高。但是水產

養殖工作乃百年大計，此時不做，日後勢必落後其他競爭對手。因此，建構規劃完善的豹鱸種魚養殖設施及蓄養模式，以穩定建立 SPF 優質受精卵，提供業界後端繁養殖之使用，才能建立良好的養殖合作體系。

研究顯示，豹鱸可在室內人工養殖環境下自然或人工催熟產卵，但是產卵量及卵質依然有不穩定之情況。綜合數年來的數據及觀察，養殖及交配產卵系統未能根據種魚養殖需求而建構，因此造成種魚養殖的不穩定性高，導致產量不如預期。為求勾勒完整的豹鱸養殖輪廓，必須規劃設計豹鱸優質種原養殖及魚苗生產模廠，以進行優質種魚之培育，俾利種苗大量穩定生產，以攻佔市場佔有率。

量身訂做的豹鱸養殖模廠，可以針對目前豹鱸繁殖季為 5－10 月，以 6－9 月為高峰期的高水溫進行繁養殖調整。盡量提前其繁殖季節，一方面利用合適水溫提升養殖成功率，另一方面利用高水溫期養殖，縮短養殖上市期程。若能配合建立人工飼料研究團隊，對最適之餌料營養條件進行分析研發；考量養殖循環系統在病害及養殖水溫條件的控制，相信可以突破豹鱸養殖成長速度過慢的瓶頸，提升台灣石斑魚產業之市場競爭力。

九、參考文獻

1. 沈世傑等 (1993) 台灣魚類誌。國立台灣大學動物學系，294 pp。
2. 陳春暉 (2003) 澎湖的魚類。行政院農業委員會水產試驗所，75 pp。
3. 于蓓瑾、施河 (1988) 類固醇激素對未成熟豹鱸 *Plectropomus leopardus* 之生殖效應。師大生物學報，23: 221-233。
4. 陳春暉、顏枝麟、林金榮、方玉昆、陳其林 (1989) 豹鱸 *Plectropomus leopardus* 室內水泥池的自然產卵及胚胎發育。台灣省水產試驗所澎湖分所試驗報告彙集，9: 83-84。
5. 葉信利、朱永桐、許晉榮、丁雲源 (1995) 鹽度對點帶石斑器官行程前後期胚體發育之影響。水產研究，3(2): 133-142。
6. 何源興、陳文義、廖一久 (1997) 鞍帶石斑 *Epinephelus lanceolatus* 之人工繁殖。水產研究，5(2): 129-139。
7. 許晉榮、張惠芬、朱永桐、葉信利、丁雲源 (1998) 外加甲狀腺素對點帶石斑卵孵化及初期仔魚發育的影響。水產研究，6(1): 71-78。
8. 何源興、陳哲明、陳文義 (2005) 短鰭黃臘鰻的人工誘導產卵及其初期發育。水產研究，13(2): 25-32。
9. 張海發、劉曉春、王雲新、劉付永忠、黃國光、羅國武、王宏東、林浩然 (2006) 溫度、鹽度及 pH 對斜帶石斑魚受精卵孵化和仔魚活力的影響。熱帶海洋學報，25(2): 31-36。
10. John W. Tucker, Jr. and William J. Fitzgerald (1994) Induced spawning of two western tropical Pacific Groupers, *Plectropomus areolatus* and *Epinephelus fuscoguttatus*, in Palau. Asian Fisheries Science, 7: 57-62.
11. Dirk, C. Z. (1997) Home range and activity patterns of the coral trout *Plectropomus leopardus* (Serranidae). Mar. Ecol. Prog. Ser., 154: 65-77.
12. Elizabeth Fulton, David Kault, Bruce Mapstone and Marcus Sheaves (1999) Spawning season influences on commercial catch rates: computer simulations and *Plectropomus leopardus*, a case in point¹. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 56: 1096-1108.
13. van Herwerden, L., C. R. Davies and J. H. Choat (2002) Phylogenetic and evolutionary perspectives of the Indo-Pacific grouper *Plectropomus* species on the Great Barrier Reef, Australia. Journal of Fish Biology, 60: 1591-1596.
14. van Herwerden, L. J. H. Choat, C. L. Dudgeon, G. Carlos, S. J. Newman, A. Frisch and M. van Oppen (2006) Contrasting patterns of genetics structure in two species of the coral trout *Plectropomus* (Serranidae) from east and west Australia: Introgressive hybridisation or ancestral polymorphisms. Molecular Phylogenetics and Evolution, 41: 420-435.

第六章 由水消毒及洗卵之健康管理建立 石斑魚病毒之防除策略

周信佑^{1、2}

¹ 國立臺灣海洋大學水產養殖學系、² 水產生物科技頂尖研究中心

一、前言

石斑魚類 (*Epinephelus* spp.) 是亞太地區重要的高經濟海水養殖魚類，但由於活魚運輸貿易的快速拓展，加劇了疫病傳播的風險。各種新興傳染症無疑是目前限制石斑魚產業發展的重大瓶頸。而病害中，又以無法用藥物治療的病毒性疾病，如病毒性神經壞死症 (viral nervous necrosis, VNN) 和虹彩病毒感染症 (iridovirus infection) 等最具威脅。魚類的病害防治和家畜類最大的不同，在於養殖漁業是將多數個體集中在一個共同 (或許密閉) 的水體空間，因此疫情爆發時，針對的不僅是個體魚隻，而是整池魚的「個體集團」，除了病原體和寄主間的關係，兩者所存在的水體環境也扮演著左右傳染症發生的重要角色。尤其是海水魚貝類的陸上養殖，都是由沿岸抽取海水，海水中原本就存有的病原微生物進入養殖池中，對養殖生物造成危害。此外，許多病原以水為感染途徑，在病原存在的環境下，加上高密度養殖的緊迫影響，極容易爆發疾病。一旦疾病發生，大量病原微生物增生，如果沒有經過妥善殺菌就將養殖廢水排出，污染的環境水源又被抽去作為養殖用水，如此一來，惡性循環的結果，將導致病原因此藉機四處傳播，

因而爆發更嚴重的疫情。建立病害防除對策是突破目前困境、幫助產業復甦的重要工作，尤其「預防重於治療」，除了種魚的健康狀態以及是否帶原的檢測外，卵的消毒、飼育用水的殺菌、飼育設施消毒的施行等防除病原體入侵的對策，都是其中相當重要的課題。

二、養殖用、排水之消毒處理

養殖飼育用水的殺菌處理法中，最常見的是紫外線、臭氧等殺菌裝置，但是紫外線的效果會因水中懸濁粒子所造成的照射障礙而降低。而臭氧因為和海水中的溴化物反應產生具殺菌能力的氧化物，但副產品的溴酸鹽對養殖生物具有強毒性，必須先以活性炭去除後才可進一步作為飼育用水。除了以上問題點之外，紫外線和臭氧殺菌裝置都無法處理大量水體，因此不適合用來作為飼育排放水殺菌之用 (吉水 & 笠井, 2002)。考慮養殖用水處理的需求，日本方面嘗試導入海水電解裝置並開始評估應用的可行性 (村山, 1999; 笠井等, 2000)。目前，海水電解殺菌裝置已逐漸取代臭氧，廣泛使用於日本各地的海水養殖設施。以下針對紫外線、臭氧及電解海水殺菌裝置之使用做簡單說明。

(一) 紫外線殺菌

紫外線的殺菌功效在 19 世紀被發現，到了 20 世紀，發展出人工紫外線照射裝置，用於手術室以改善空氣媒介的污染情形。紫外線可依波長分為三類，簡稱為 UVA (400 – 320 nm)、UVB (320 – 280 nm) 及 UVC (280 – 230 nm)，目前市售九成的殺菌燈管，放出的是具最大殺菌效力的 253.7 nm 波長。微生物的核酸 (DNA 或 RNA) 會吸收紫外線，導致核酸缺損或者發生交互鍵結，進而喪失原有功能。然而，紫外線的殺菌功效，受到微生物本身構造、數量、生長階段及核苷酸的修復機制等影響。1989 年 Watanabe 的實驗結果證明病毒對紫外線感受性依其結構而有差異，不具被膜的病毒對紫外線抗性比具被膜的病毒來得高。同樣，魚類病毒對紫外線也可分為高感受群，如：傳染性造血器壞死症病毒 (infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV)、比目魚砲彈病毒 (hirame rhabdovirus, HIRRV)、櫻鱒疱疹病毒 (oncorhynchus masou virus, OMV)、淋巴囊腫症病毒 (lymphocystis disease virus, LCDV) 等；和較具抗性的低感受群，如：傳染性胰臟壞死症病毒 (infectious pancreatic necrosis virus, IPNV)、水產呼腸孤病毒 (aquareovirus)、神經壞死症病毒 (japanese flounder nervous necrosis virus, JFNNV；barfin flounder nervous necrosis virus, BFNNV) 等 (Yoshimizu, 2009)。實驗結果也證實，台灣石斑虹彩病毒 (grouper iridovirus of Taiwan, TGIV) 對紫外線敏感，而石斑魚神經壞死症病毒 (grouper nervous necrosis virus, GNNV) 則對紫外線照射有較高的抗

性，必須用 $6.1 \times 10^5 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 以上的照射量才能有效不活化病毒。一般而言， $10^4 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 程度的照射可以不活化高感受性病毒群和革蘭氏陰性菌，而抗性強的病毒、革蘭氏陽性菌、真菌以及寄生蟲的殺菌，則需要 $10^6 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 的照射才能有成效。另外，外在環境因素，如：空氣的灰塵、溼度與有機物質的存等也都會影響紫外線的殺菌效力。因此，利用紫外線作為養殖水消毒裝置時，必須考慮紫外線在水中的穿透率，以及水中懸浮大型粒子的影響，最好以病原體對紫外線的感受性為基準，使用十倍照射劑量才能確保有良好效果。以日本北海道鮭鱒資源管理中心的殺菌裝置為例，養殖用水先以砂槽濾過懸濁物，飼育排水則先以凝集沉澱處理除去殘餌與糞便後，再以流水式中壓紫外線裝置進行殺菌處理，紫外線的照射量則是設定為 $1.0 \times 10^5 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 以上來確保殺菌效果 (吉水 & 笠井, 2008)。

(二) 臭氧殺菌

臭氧 (Ozone) 是由一個氧分子 (O_2) 攜帶一個氧原子 (O) 所組成，單個氧原子具有很強的氧化活性，能直接作用於細菌、病毒等病原體微生物，達到殺菌的功效；同時也能夠氧化氨和亞硝酸，兼具水質淨化的效果。因此臭氧是目前水產養殖中最廣泛被使用的魚病對策裝置。但是，臭氧在海水中會和各種微量鹵元素反應，形成通稱為總殘餘氧化物 (total residual oxidants, TROs) 的有毒副產物，其中溴酸根 (BrO_3^-)、亞溴酸根 (BrO^-) 具有強大的殺菌力。只是這些具殺菌力的 TROs 對魚體也有毒性，必須先通過活性炭槽除去後才可以作為飼育用水。伊藤等

(1997) 測試人工海水中低濃度氧化物對魚類病原微生物的殺菌效果，建議以 0.5 mg/L 的 TROs 處理 5 分鐘，並通過活性炭處理後再作為飼育使用。近年來日本學者們更發現，透過微氣泡生成器 (microbubble generator) 可以提高臭氧在水中的溶解度，同時隨著氣泡微細度的增加，TROs 的生成效率會提高，而臭氧的殺菌效果也會跟著提升。試想如果 TROs 生成效率提高 10 倍，臭氧發生裝置的出力只要原有的 1/10 就可以得到相同的結果，或者同規模的裝置就可以處理 10 倍的水量，這對產業在成本面考量的貢獻相當值得期待。

(三) 海水電解殺菌

海水電解殺菌裝置是利用電解水中氯化鈉 (NaCl) 等鹽類，產生次氯酸 (HOCl)、氯 (Cl₂)、次氯酸鈉 (NaOCl) 與次氯酸根 (OCl⁻) 等遊離有效氯 (free available chlorine)，藉由破壞病原微生物的細胞膜，進而分解蛋白質與核酸，達到快速殺菌的功效。由於電解水具有良好殺菌效果、殘留量低、使用方便、價格低廉等優勢，1997 年，日本厚生省正式批准電解水作為醫療方面的殺菌洗滌用水，2002 年更批准為食品及農產品的加工殺菌用水。目前三洋電機、森永乳業、松下電器等都紛紛開發相關的產品，相關專利高達近 1,500 件。近年來，海水電解裝置被推廣用來維持水產品的新鮮及環境的衛生，另外也應用於處理養殖用水與排水消毒 (Kasai et al., 2002)。

由於病原微生物對遊離有效氯的感受性不同，日本北海道大學吉水守團隊將數種重要魚類病原微生物 (鰻弧菌、癰瘍病原菌、

兩段核糖核酸病毒、砲彈病毒以及野田病毒)，懸浮於 3% 食鹽水，測試電解對殺菌與病毒不活化的效果。結果發現，伴隨著時間以及生成有效氯濃度的增加，殺菌率會跟著上升。細菌部分，有效氯為 0.07 – 0.14 mg/L 濃度處理 1 分鐘；而病毒則是 0.23 – 1.30 mg/L 處理 1 分鐘，可以達到 99.9% 以上的殺菌與不活化率。針對石斑魚兩種重要病原病毒 (TGIV 及 GNNV)，我們自行組裝簡易海水電解裝置，並與行政院農業委員會水產試驗所合作，共同探討簡易海水電解裝置、市售二氧化氯 A&B 劑、以及水試所自行開發燬燒牡蠣殼粉等三種水處理模組之防治效能。結果除了二氧化氯之外，另外兩種水處理模組都有不錯的效果。水中添加 1 : 0.002 殼粉的處理水，以及電解海水中有效游離氯濃度為 5.2 mg/L 作用 1 – 5 分鐘，可使水中 90% 以上 TGIV 和 GNNV 失去感染力。只是石斑虹彩病毒對以上處理的抗性高於神經壞死症病毒，作用時間必須由 1 分鐘延長為 5 分鐘。而我們的結果中，可以有效不活化病毒的有效游離氯濃度遠高於日本方面的數據，這與我們自行組裝海水電解裝置的電極板以及有效氯的分析方法有關。

然而海水電解裝置與前兩種裝置最大的差別，在於可以處理大量水體，因此日本水產總合研究中心厚岸事業場 (元日本栽培漁業協會)，針對斑紋星鰈、太平洋鰱以及毛蟹養殖的排水消毒，進行殺菌效果評估並與紫外線和臭氧做比較。結果發現三者有同樣的殺菌效果，只是實際現場使用時，臭氧殺菌必須使用輔助器具讓臭氧氣體可以和排水充分接觸，而紫外線則必須先去除排水中的

懸濁物，相對之下，電解海水裝置則具有簡便的優點。另外，比較三種裝置的價格與維持費用，紫外線必須經常性的更換燈管，而臭氧裝置本身就屬高價儀器，海水電解裝置雖需要特殊電極板，但電極板可使用數年至十年之久，因此三者中海水電解裝置仍是耗費最低的一種。以厚岸事業場為例，簡單說明實際將海水電解裝置作為大量飼育排水殺菌的作法。針對每小時 $18.5 \text{ m}^3/\text{h}$ 流量的排放水，將其中 $2.0 \text{ m}^3/\text{h}$ 的排水通過海水電解裝置 (H-100 型機，荏原製作所)，再與剩餘的 $16.5 \text{ m}^3/\text{h}$ 排水混合，結果混合水中的殘留有效氯濃度為 0.50 mg/L ，殺菌率可達 99%。由於該裝置的電流量為 100A，次氯酸鈉生成量每小時可達 100 g/h ，依照先前結果，殘留有效氯濃度為 0.50 mg/L ，作用時間 1 分鐘計算，該裝置每小時可以處理 $200 \text{ m}^3/\text{h}$ 的排水量。而厚岸事業場每小時的取水量只有 $100 \text{ m}^3/\text{h}$ ，一台海水電解裝置已經足夠應付對該場的飼育排水消毒。另外，為了避免含殘氯的排放水對環境造成影響，建議電解後的排水必須先經過中和處理或是曝氣，讓氯降低到一般用水的氯濃度 (0.2 mg/L) 才可排放 (吉水 & 笠井，2008)。這些年來海水電解殺菌裝置已逐漸取代臭氧，廣泛使用於日本各地的海水養殖設施。

為了評估海水電解裝置現場應用的可行性，農委會水產試驗所加工組由電費、機械耗損、電極耗損以及流水馬達電費進行費用估算，結果一分地養殖用 1,000 噸水殺菌處理所需費用只需要 310.7 元。由使用簡便性、效果與成本等方面考量，海水電解裝置確實是養殖用、排水消毒的理想對策。只是，目

前國內沒有生產海水電解裝置的廠商，而由國外進口的費用昂貴。期望台灣業者能盡快開發出符合市場需求的海水電解機組，未將來魚病防治對策做準備。

三、洗卵之健康管理

哺乳動物部分，垂直感染必須是母體將病原傳至子宮內的胎兒才稱之。但是在魚類方面，病原體存在卵內或是附著卵表面的判定困難，因此採用較廣義的解釋，也就是只要是透過卵傳播到孵化仔魚的感染都可稱為垂直傳播，所以卵消毒的效果是值得期待的防治重點。針對神經壞死症病毒的防除，日本已廣泛實施卵消毒的對策，而最近利用臭氧處理過海水來消毒大西洋比目魚卵的有效性也有報導。除了傳統用碘、氯 (50 ppm 、 10 min) 以及臭氧 (0.1 ppm 、 2.5 min) 進行卵消毒外，評估用海水電解殺菌裝置來除去病毒，達到預防止疫情的效果。奄美栽培漁業中心用以上對策 (濃度 $0.3 - 0.5 \text{ mg/L}$ 處理黑鮪受精卵 1 分鐘)，成功克服了神經壞死病毒症。

然而，石斑魚卵在孵化階段對外界干擾敏感，因此我們和行政院農業委員會水產試驗所海水繁養殖研究中心合作，先測試了不同孵化時期石斑魚卵對洗卵操作之耐受試驗。結果顯示，前期的囊胚與原腸期對人為操作的耐受性低，孵化率不到五成，之後的眼胞期、胚體形成後期及胚體抽動三期的孵化率則可維持在 85% 以上，建議如果要進行洗卵消毒，最好選擇在眼胞期之後開始施行。而在消毒方法的選擇上，評估過二氧化

氯、煅燒牡蠣殼粉處理水 (1 : 0.002)，電解海水 (0.5 mg/L)，5 分鐘洗卵的孵化率，顯示二氧化氯對魚卵的毒性最強，洗卵處理後魚卵的孵化率不到 60%，而煅燒牡蠣殼粉處理水 (1 : 0.002) 以及電解海水 (0.5 ppm 有效氯) 兩種處理水不僅對魚卵沒有傷害，且可以提高孵化 6 天仔魚的活存率。進一步評估洗卵對石斑虹彩病毒與神經壞死症病毒的防治效能。兩種石斑病毒感染後，不做處理的組別，不僅魚卵孵化率下降，孵化後仔魚也只能活存 3 天。但是，單純用一般海水洗卵，或是使用煅燒牡蠣殼粉處理水和電解海水洗卵，都有優於未處理病毒感染組的孵化率和仔魚活存率結果，顯示，此兩種病毒可能是附著於卵表面，透過洗卵操作，可以降低病毒的感染情形。然而，石斑魚卵相當脆弱、敏感，不當或過度的人為操作都可以影響孵化，甚至導致畸型的發生。因此，洗卵消毒的操作需作更詳細的實驗與評估，並建立標準作業流程 (standard operating procedure, SOP)，以提供業者們現場應用。

四、結論

養殖用排水的消毒及洗卵之健康管理都是魚病防治上相當重要的環節，尤其是養殖排放水的處理與基準，如果沒有嚴格地限制和把關，將導致病害四處傳播，進而危害到整個產業。目前台灣的石斑魚養殖所面臨病害威脅的困境，跟養殖排放水的沒有管制，應該有部分的因果關聯。台灣的石斑魚養殖，雖憑藉著養殖技術與經驗的優勢，在國際市場佔有一席之地，但官產學界對此產業的未

來都感到憂心，建構一個完整的疾病防疫系統、強化養殖戶自主的防疫觀念，透過良好的健康管理與防除對策，降低病害損失，育成無用藥的高品質魚貨，是未來的潮流。近年來，台灣的傳統水產養殖已在科技協助下逐漸轉型，優質種苗生產對擁有技術但地小人稠的台灣而言，將會是最適合發展的水產養殖產業。

五、參考文獻

1. 伊藤慎悟、吉水 守、絵面良男 (1997) 人工海水中における低濃度オキシダントの魚類病原微生物に対する殺菌・不活化効果。日水誌，63: 97-102。
2. 吉水 守、笠井久会 (2002) 総説：設種苗生産施設における用水および排水の殺菌。工業用水，523: 13-26。
3. 村山智正 (1999) 電気殺菌の海生生物付着防止への応用、「電気殺菌による微生物制御」、エヌ・ティー・エス，東京，65-94。
4. 笠井久会、石川麻美、堀 友花、渡辺研一、吉水 守 (2000) 流水式海水電解装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果。日水誌，66(6): 1020-1025。
5. 笠井久会、吉水 守 (2008) 飼育排水の殺菌について、工業用水、研究発表会講演抄録，63-66。
6. Kasai, H., M. Yoshimizu and Y. Ezura (2002) Disinfection of water for aquaculture. Fisheries Science, 68: 821-824.
7. Yoshimizu, M. (2009) Control strategy for viral diseases of salmonid fish, flounders and shrimp at hatchery and seed production facility in Japan. Fish Pathology, 44(1): 9-13.

備註：

本文中日本方面的研究成果與現況，主要參考日本北海道大學吉水守教授研究團隊所發表的一系列論文。

第七章 石斑魚病毒性神經壞死症的防疫策略

齊肖琪

國立臺灣大學生命科學系

一、前言

石斑魚是我國很重要的經濟性魚種之一，惟近年來受到神經壞死病毒 (nervous necrosis virus, NNV) 感染，魚苗育成的成功率不到 10%，造成嚴重的產業困境。欲使石斑魚病毒性疾病得到好的控制，必須對病毒的特性及魚免疫力有基本的瞭解，加上健全的養殖環境監控與管理的概念，從這三方面一起改善，才有機會達到安全生產及永續經營的目標。

二、病毒性神經壞死症

病毒性神經壞死症 (viral nervous necrosis, VNN) 已成為全球性很重要的海水養殖魚或半淡鹹水養殖魚類之病毒性疾病 (Munday et al., 2002)。首次發表於日本，後來大量爆發於東南亞各國。此外，東北亞、澳洲、地中海沿岸國家、以色列及伊朗、西歐與北歐沿海國家、北美西岸與加拿大東岸也都有此病例。

VNN 發病期集中於仔魚 (larvae) 及稚魚 (juvenile) 階段，死亡率接近百分之百。台灣養殖的青斑及鞍帶石斑在孵化後 14 – 50 天期間就出現此感染病例。某些種類的成魚也有死亡率出現，例如歐洲鱸魚、鞍帶石斑及大西洋庸鰈等 (Fukuda et

al., 1996; Le Breton et al., 1997)。急性罹病魚的腦及視網膜組織有嚴重空泡化現象，病魚迴旋游泳、體色加深、食慾不振；有些魚苗還會發生體側彎 (Bloch et al., 1991; Boonyaratpalin et al., 1996; Breuil et al., 1991; Glazebrook et al., 1990; Grotmol et al., 1997; Mori et al., 1992; Mori et al., 1991; Yoshikoshi & Inoue, 1990)。

魚類神經壞死病毒屬於野田病毒科 (Nodaviridae) 的魚類病毒屬 (fish nodavirus or β -nodavirus) (Chi et al., 2001; Comps et al., 1996; Mori et al., 1992; Frerichs et al., 1996)，共有四種基因型 (striped jack NNV, tiger puffer NNV, barfin flounder NNV, red-spotted grouper NNV)，其中 RGNNV 基因型多從溫熱帶魚分離出來，寄主魚種也最多。根據四種基因型病毒抗血清交叉中和反應結果，可分成三種血清型：SJNNV 是一種血清型，TPNNV 為另一種血清型，RGNNV 和 BFNNV 則為同一種血清型 (Mori et al., 2003)。至 2010 年，所有從台灣養殖石斑魚分離出來的 NNV 病毒株都是 RGNNV 基因型。

三、病毒傳播途徑

NNV 的傳播途徑包括水平及垂直傳染兩種，其中水平傳染的病毒來源包括帶有病

毒的其他共養魚、遭病毒污染的餌料生物、養殖水及養殖工具。Arimoto 等 (1993) 利用已感染 SJNNV 的日本條紋鰻魚苗與健康魚苗進行共養，結果健康魚苗在共養 6 天後全數死亡，因此，水平傳染是 NNV 傳播的重要方式。

Mushiake 等人 (1994) 檢測種魚的卵巢、血液及產卵，發現種魚在產卵季初期，生殖線都測不到病毒；但當產卵次數與環境壓力增大時，生殖腺就測到病毒核酸，血液中開始測到 NNV 抗體，所產的卵被檢測到病毒的機率也大幅上升，這些卵孵化為魚苗後，發病比例高且發病時間短，證明垂直傳染的存在。

NNV 的宿主範圍非常廣泛，除了有病癥的養殖魚，在無病癥的養殖魚及野生魚體內也曾測到微量病毒，因此無病癥之帶原魚是散播 NNV 病毒的可能途徑 (Gagne et al., 2004; Gomez et al., 2004; Gomez et al., 2006; Gomez et al., 2008a; Gomez et al., 2008b; Nylund et al., 2008)。除了魚之外，NNV 也會被餌料生物攜帶，如輪蟲 (*Brachionus plicatilis*) 以及豐年蝦 (*Artemia salina*) 中，雖然 NNV 無法在其體內複製，但至少可停留 1 – 2 天，因此可成為傳播 NNV 的載體 (Skliris & Richards, 1998)。從被 NNV 污染魚塢收集而來的餌料生物，檢測得到 NNV 的存在 (Chi et al., 2003)。

四、病毒在宿主體內的散布途徑

Nguyen 等 (1996) 檢測病毒進入病魚體內各組織的順序，一開始出現病變的部位

是泳鰾上方的脊髓，然後至腦部，最後抵視網膜。檢測自然感染的魚苗，則最先發現表皮細胞有病毒訊號，因此推測病毒可由表皮經皮下的感覺或運動神經細胞進入體內。另外，在大西洋比目魚苗的病理研究中，NNV 病毒首先在後腦以及小腸前段被發現，然後散布至其他臟器，顯示 NNV 也可經由消化道感染宿主 (Grotmol et al., 1999)。

NNV 在病魚體內之分布，依魚種不同而有差異。有些魚種只在神經組織發現 NNV (Comps et al., 1996; Nguyen et al., 1996)；在嚴重感染 NNV 的石斑魚魚苗體中，除了神經組織，其他器官及血液中可偵測到 NNV 的存在，因此推測，病毒是經由血液循環造成全身系統性感染 (Chi et al., 2001)。

五、診斷方法

目前最常使用的檢測方法包括：(1) 檢測病毒抗體或病毒蛋白的 Enzyme linked immunosorbant assay (ELISA) (Mushiake et al., 1992; Shieh & Chi, 2005)；(2) 檢測病毒蛋白的快速檢測試劑 (one-step diagnosis kit) (Chi and Chiou, 2006)；(3) 檢測病毒核酸的 RT-PCR 及 nested PCR 方法 (Nishizawa et al., 1994)；(4) 以細胞株檢測並分離具感染力之病毒顆粒 (Chi et al., 1999; Lai et al., 2001b)。這些方法中，以 RT-PCR 配合 nested PCR 的靈敏度最高，可檢測出微量病毒的存在。若是考慮簡便與快速，則為 one-step diagnosis kit，30 分鐘內就能完成檢驗，專一性夠但靈敏度無法達到 nested PCR 的標準。所以當 one-step kit 結果是陽性時，表示一定有

NNV 感染，但結果是陰性時，則要進一步做 nested PCR 的再確認。

六、防疫策略

病毒性疾病尚無藥物可用來醫治病魚，所以要靠好的防疫策略與生產管理。當環境緊迫變大、病原含量變多或毒性變強、加上宿主魚種的免疫力降低時，就很容易爆發疫情。做好養殖場的環境管理，阻斷病原傳染的途徑，提高宿主魚種的免疫力，才能降低疫情爆發的機率。

NNV 會經由帶原種魚傳染至魚卵，然後至孵化苗，發病魚苗又會立刻污染孵化場的環境，因此 NNV 的防疫工作要從種魚做起。Mushiake 等指出，降低條紋鰻種魚在生殖季節所承受的壓力，減少同一生殖季之產卵次數，並篩選無帶原種魚進行產卵，以降低魚苗罹患神經壞死症的機會 (Mushiake et al., 1994)。Breuil 等 (2000) 在海水鱸魚，Watanabe 等 (2000) 在比目魚 (barfin flounder) 也都建議剔除魚群中生殖腺有 NNV 抗原或血液中有 NNV 抗體之種魚作為防疫策略。

石斑魚自卵孵化到寸苗前的這段期間，對 NNV 的感受性非常高，很容易受感染並發病死亡，但這階段魚苗的免疫系統還沒有很成熟，無法及時產生很好的免疫力來抵抗疾病，因此，降低環境遭受病原污染是第一要務。建議卵孵化及寸苗前的蓄養都在室內池進行。NNV 在無宿主可感染的海水中，病毒的穩定度不佳，經過幾天就會自然崩解，所以用蓄養過的海水來孵苗或養魚都將更安

全。自外海灣抽進來的海水都帶有很多病原菌，一定先經過蓄水池的靜置以及沙濾，再行 UV、臭氧或電解海水消毒法處理後使用。徹底執行養殖設備與工具的消毒與操作人員的衛生管理，避免魚具在不同池之間共用，工具用畢後要洗淨消毒，但要注意不同種類消毒藥劑的有效消毒劑量及不影響養殖魚存活的安全劑量，並先測試不同藥劑在不同水溫或鹽度下有無不良變化。養殖場的工作人員要常洗手及清洗消毒所穿的工作靴子。建議所有的缸子或桶子在用之前及之後，都要用稀釋過的漂白水消毒。撈網或刷子可用臭氧水或電解水浸泡消毒，或用漂白水浸泡消毒 30 分鐘。在養殖不同批的魚或者孵化不同批的魚卵之前，場所的再次清潔、乾燥及消毒，皆有助於提供有效保護 (Munday & Nakai, 1997；Yoshimizu 2009)。

幼苗在飼養期間要定期取樣做病毒的檢測與監控。若孵化場出現 VNN 疫情，在出現病癥的早期，立即撈出有病癥的魚苗，增加換水量，降低水溫，各池所使用的工具務必一池一套，如此可以緩和疫情。若疫情控制不住，魚苗發生大量死亡情形時，一定消毒死亡魚隻、魚池及所有工具，切忌將死亡魚苗及池水直接排放於環境中而造成更大養殖區域被病毒污染，如此可減少疫情重複爆發的機會 (Chi et al., 2003)。

石斑魚幼苗各階段需要的不同的餌料生物，最好有可信任的、穩定的來源，確保無 NNV 污染後使用。魚苗長的快，長的好，魚苗的免疫系統就會發育的好，免疫後才能有更好的免疫反應，所以要補充石斑魚幼苗各階段所需要的營養成分，並可使用益生菌

幫助幼苗建立好的消化道腸菌叢，再於適當時機施予口服或浸泡式疫苗，來提高魚苗抗 NNV 的能力。

七、NNV 疫苗及其免疫方法

硬骨魚的免疫系統由免疫器官、免疫細胞以及體液免疫因子所組成。硬骨魚在胚胎中期或孵化成幼苗時，雖已有淋巴器官之形成，但尚未具有免疫能力，須待周邊的表皮細胞、樹突狀細胞以及纖維母細胞發育完全後，才有成熟的後天免疫反應 (Lam et al., 2004)。不同種類的石斑魚苗，其免疫系統發育的時程不完全相同，以瑪拉巴石斑為例，淋巴細胞在孵化後 19 天才出現 (Lin et al., 2008)。

有關 NNV 疫苗的研究，Tanaka 等 (2001) 使用大腸桿菌 (*E. coli*) 表現系統，表現出完整的 SJNNV 的鞘蛋白質，經由肌肉注射免疫後，魚體的中和抗體增高，攻毒試驗後的死亡率明顯降低。Húsgarð 等 (2001) 利用 SJNNV T2 片段表現重組鞘蛋白質，經腹腔注射免疫大西洋比目魚 (Atlantic halibut)，可引起專一性的抗體反應，並有效降低 NNV 攻毒後之死亡率。Sommerset 等 (2001) 利用 *E. coli* 系統分別建構了大西洋比目魚 AHNNV 病毒株及條紋鱸的 SJNNV 病毒株兩種重組蛋白質疫苗。Lin 等 (2001) 用石斑魚 NNV 病毒株製備重組疫苗，以腹腔注射方式免疫石斑魚，中和抗體於第一次免疫後第 4 週開始上升。Liu 等 (2006) 及以原核系統、Thiery 等 (2006) 以真核系統，分別表現 NNV 鞘蛋白似病毒

顆粒 (virus like particle, VLP)，以 VLP 免疫石斑魚及金目鱸，可誘發高中和抗體力價，Thiery 等 (2006) 以金目鱸幼魚進行免疫與活體攻毒測試，結果相對活存率 (RPS) 高達 89%。以上這些試驗皆以幼魚進行，並沒有在早期魚苗階段進行。

(一) 石斑魚幼苗的免疫策略

一般常用的疫苗免疫方式包括注射、口服及浸泡，幼魚及成魚可用注射式免疫，NNV 在幼苗期引起的感染率與死亡率最高，但該時期魚苗只能以浸泡或口服方式來免疫。Lin 等 (2007) 發展出以餌料生物包埋口服疫苗的平台系統，將表現病毒抗原的大腸桿菌，用福馬林殺菌後餵食豐年蝦，藉由豐年蝦的攝食來提高體內病毒抗原濃度，同時減少病毒抗原被魚苗腸胃道酵素破壞。餵食八分苗兩天，每次間隔 12 小時，免疫後一週進行攻毒，結果疫苗組的相對活存率 (RPS) 為 63.6%，證明免疫有效。然而，口服式疫苗要考慮投餵時每隻魚是否都攝入足夠的疫苗量，還要和餌料生物混合後再行餵食，步驟較複雜。

雖然石斑魚苗自孵化後 19 天可以免疫，但免疫系統成熟度以及免疫效果在孵化後 40 – 45 天的七、八分苗階段會更好，此階段免疫所引起保護效果可以維持的時間更長。Kai 等 (2008) 針對石斑魚八分幼苗，研發了浸泡式免疫策略，將去活化後之 NNV 疫苗病毒，以 10^6 TICD₅₀/mL 濃度浸泡魚苗 20 分鐘，30 天後以 10^5 TICD₅₀/mL 病毒劑量浸泡攻毒，結果免疫魚的相對活存率高達 83%，且保護效果可達 3 個月。免疫後 3 個月的青斑，已過了 NNV 最易感染或致死的

階段，對鞍帶石斑而言，魚苗大小也長到可用注射法來進行追加免疫。追加免疫可引發更長效性的保護，之後便可移至下游亞成魚或成魚養殖場進行室外池蓄養。Yamashita 等 (2005) 曾利用去活化的 RGNNV 注射免疫七帶石斑 (*Epinephelus septemfasciatus*) 幼魚，免疫後 10 天出現中和抗體，攻毒後的相對活存率 (RPS) 為 67%，免疫魚移至箱網養殖後的相對活存率為 85%。

(二) 石斑魚種魚的免疫策略

石斑魚要經過很多培育年才能成為種魚，有些種類的石斑魚種魚體型很大，所以在戶外蓄養，又種魚必須達到一定的養殖密度才有交配行為發生，因此要篩選一定數量之無病毒帶原種魚進行繁殖，對養殖戶而言不易遵行；且對碩大體型之種魚做定期病毒篩檢，過程非常耗人力也增加種魚緊迫。絕大多數種魚是群養在戶外，水源、下雜魚飼料、鳥糞等等都可能將病毒帶入，因此很難預料所飼養的種魚何時會感染到 NNV。雖然用某些化學藥劑或是臭氧處理過的養殖水可以有效消毒某些魚類的魚卵，但每一魚種的魚卵對化學消毒法的耐受度是不同的，要兼顧有效消毒與魚卵孵化率需要經過很長的測試過程，且不一定對每種石斑魚卵都能適用。

有鑑於此，本實驗室先進行了石斑魚成魚的疫苗接種，並採血測 NNV 抗體的中和力價變化，石斑魚成魚因免疫系統已成熟，接種疫苗後產生高力價的中和抗體，追加免疫後，高抗體力價至少可以維持 3 – 6 個月，足夠涵蓋石斑魚的產卵季。本實驗室與種魚養殖戶進行合作，於繁殖季節前 1 個月

進行疫苗接種，然後追蹤整季實驗組與對照組之魚卵，用 RT-PCR 及 Nested PCR 檢測魚卵 NNV 的帶原比例，結果負對照組種魚，在生殖季後期所產的卵有測到 NNV 帶原，但接種疫苗組的種魚，整個生殖季所產的卵皆無病毒帶原，顯示以免疫種魚來阻斷垂直感染是有效的。這項防疫策略，並不需要淘汰帶原魚，也不需要建很大的室內種魚養殖場來保護種魚免於病毒感染，對養殖戶來說可行性高 (Kai et al., 2009)。因為 1 個月足以讓種魚體內專一性的抗體量達到高峰，這些抗體又可以有效地中和掉帶原魚體內的 NNV 病毒，因此我們建議，除了降低種魚催熟與產卵次數以降低其緊迫度外，每年在生殖季節前一個月即對所有種魚進行 NNV 疫苗接種，等產卵季開始，可用 RT-PCR 的檢驗方式檢驗每批魚卵，確認卵沒有帶原 NNV，再販售給下游的孵化場，以阻斷 NNV 的垂直傳染。

(三) 雞蛋抗體的被動免疫

近年來有利用抗 NNV 的多源抗體或雞蛋抗體 (Ig Y) 來中和魚卵表面的 NNV。Lai 等 (2001a, 2003) 發展出可抗 YGNNV 的老鼠單源抗體，並構築攜帶單源抗體基因的載體，將其表現在魚細胞株，證實可在魚類細胞株中產生抗 NNV 病毒的單源抗體，大幅降低單源抗體生產的成本，至於單源抗體如何有效地應用在石斑魚苗 NNV 的防疫中，則仍在研發中。高雄大學王俊副教授利用抗 NNV 的雞蛋抗體混在飼料中餵食魚苗，證實餵食後的魚苗體內可以測到抗 NNV 的 IgY，魚苗活存率也提高，因此證明有被動免疫效果。IgY 很適用在免疫系統尚未成熟

的初期石斑魚苗；另外，主動浸泡免疫後的八分苗也需要 2－3 週自身抗體才會達到高峰，才有足夠的保護作用，在這 2－3 週的保護空窗期，亦可考慮用 IgY 來補強。

目前石斑魚孵化場都在魚苗長至七或八分時賣給下游養殖場，販售及搬運過程對魚苗都是緊迫，因此原本看似健康的八分苗，到了下游養殖戶的池子後，沒幾天就發病，其中的責任歸屬難以釐清，魚苗可能原本就輕微帶原，也可能在搬運過程受到 NNV 污染，也可能進了新池子後才受到感染，因此建議，購入八分苗後可先餵 1－2 週 IgY，讓魚苗穩定。被動免疫的缺點是一旦停止餵食 IgY，幾天後魚體內的 IgY 量就會下降，就失去保護效果，所以若要達到長效性的保護效果，用疫苗來引發主動免疫仍有其必要。

八、益生菌的應用

養殖魚的體表與消化道，若有正常的細菌相，則有助於提高魚體對病原的免疫反應或抗病原菌的能力。已有報告指出，很多自環境水體或魚消化道分離出的細菌具有抗病毒能力 (Yoshimizu et al., 1986; Yoshimizu and Ezura, 1999)。但魚在消毒過的水體中孵化及飼養時，所建立的體表或消化道的細菌相是不正常的，因此在孵化苗階段，添加具有抗病毒能力的正常細菌於餌料生物中，再餵食魚苗，則能在魚苗消化道中建立這些菌叢，而提高魚苗抗病毒能力，但這些餌料生物，包括豐年蝦及輪蟲，必須自孵卵階段就在消毒過的海水中進行，然後才能使用

(Yoshimizu, 2009)。Chi (2007) 自石斑魚消化道中分離到具有抗 NNV 之細菌，已完成體外定性測試及活體餵食試驗，證實經由四週餵食可大幅降低 NNV 攻毒試驗中魚苗的死亡率，但如何讓這類細菌在剛開口魚苗消化道中形成長駐菌或是強勢菌叢，則仍待研究。有些益生菌雖然沒有直接抗 NNV 的效果，但對於改善水質有很好的效果，施用於密集蓄養的石斑魚苗池，間接有助於魚苗的成長，提高魚苗的活存率，因此也是防疫策略中重要的一環。

九、尚可努力的方向

自然界中的生物環環相扣，當養殖池水達到生態平衡時，就能讓所有其中的動植物、藻類或微生物都得到最大的生存利益。現今對台灣每一海域不同深度海水所存在的藻類，浮游生物，微生物的組成，以及各種生物的特性，所知仍然有限。若能進一步研究，組合使用有益魚類生存或水質改善的藻類或微生物，則可促成養殖水體的生態穩定度，增進石斑魚苗或幼魚的活存率。石斑魚苗未來也可試用蓄養好的藻水來取代殺菌海水，在養殖區設立幾個池子，儲存抽入的海水，放入合宜的藻類及微生物，等其中的生態達到平衡後，再移至孵化池使用。

石斑魚因為肉食性魚種，在孵化後即開始投餵大量活餌，如輪蟲 (rotifer)、橈角類 (copepod) 及下雜魚等，此階段容易攝入帶有病毒之餌料生物；且石斑魚類殘食性高，易吞食虛弱的帶病魚隻；再加上養殖戶之間進排水位置相鄰等種種原因，都造成近年來

NNV 疫情重覆發生。農委會現在正積極協助研發單位及生技公司將各類石斑魚病原菌的疫苗證照化，好讓國內外的石斑魚養殖業者有疫苗可以購買與使用；政府有關單位也開始列預算整頓臨海地區的海水抽放水管。在政府這些努力之外，還需要養殖業者形成共識與約束力，一起遵守先經合格消毒養殖水後才排放，這樣持續實施，才能使南台灣의 NNV 疫區範圍漸漸縮減。此外，如何規範並獎勵運魚車及其用具在每一趟使用前都先有效消毒，如何鼓勵研究單位開發培養乾淨橈角類等活餌的養殖系統，如何開發台灣以外產銷的國際管道，讓台灣每年都有穩定的、大量的、無特定病原的魚苗可以外銷，這一切都還有待業界、學界與政府一起努力！

十、參考文獻

1. Arimoto, M., Mori, K., Nakai, T., Muroga, K. and I. Furusawa (1993) Pathogenicity of the causative agent of viral nervous necrosis disease in striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloch and Schneider). J. Fish Dis., 16: 461-469.
2. Bloch, B., K. Gravningen and J. L. Larsen (1991) Encephalomyelitis among turbot associated with a picornavirus-like agent. Dis. Aquat. Organ., 10: 65-70.
3. Boonyaratpalin, S., K. Supamattaya, J. Kasornchandra and R. W. Hoffman (1996) Picorna-like virus associated with mortality and a spongiosis encephalopathy in grouper *Epinephelus malabaricus*. Dis. Aquat. Organ., 26: 75-80.
4. Breuil, G., J. R. Bonami, J. F. Pepin and Y. Pichot (1991) Viral infection (picorna-like virus) associated with mass mortalities in hatchery-reared sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae and juveniles. Aquaculture, 97: 109-116.
5. Breuil, G., J. F. Pepin, J. Castric, C. Fauvel and R. Thiery (2000) Detection of serum antibodies against nodavirus in wild and farmed adult sea bass: Application to the screening of broodstock in sea bass hatcheries. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 20: 95-100.
6. Chi, S. C. (2007) Screening and characterization of Bacteria with anti-betanodavirus activity from grouper (*Epinephelus* sp.) intestine. 13th International Conference of the EAFP, September 17-22, Grado, Italy.
7. Chi, S. C., W. W. Hu and B. J. Lo (1999) Establishment and characterization of a continuous cell line (GF-1) derived from grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton): a cell line susceptible to grouper nervous necrosis virus (GNNV). J. Fish Dis., 22: 173-182.
8. Chi, S. C., B. J. Lo and S. C. Lin (2001) Characterization of grouper nervous necrosis virus (GNNV). J. Fish Dis., 24: 3-13.
9. Chi, S. C., J. R. Shieh and S. J. Lin (2003) Genetic and antigenic analysis of betanodaviruses isolated from aquatic organisms in Taiwan. Dis. Aquat. Organ., 55: 221-228.
10. Chi, S. C. and Chiou (2006) Development of one-step diagnosis kit for fish nodavirus. 4th International Veterinary Vaccines and Diagnostics Conference, 2006/6/25-29, Oslo, Norway.
11. Comps, M., M. Trindade and C. Delsert (1996) Investigation of fish encephalitis viruses (FEV) expression in marine fishes using DIG-labelled probes. Aquaculture, 143: 113-121.
12. Frerichs, G. N., H. D. Rodger and Z. Peric (1996) Cell culture isolation of piscine neuropathy nodavirus from juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*. J. Virol., 77: 2067-2071.
13. Fukuda, Y., H. D. Nguyen, M. Furuhashi and T. Nakai (1996) Mass mortality of cultured sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, associated with viral nervous necrosis. Fish Pathol., 31: 165-170.
14. Gagne, N., S. C. Johnson, M. Cook-Versloot, A. M. MacKinnon and G. Olivier (2004) Molecular detection and characterization of nodavirus in several marine fish species from the northeastern Atlantic. Dis. Aquat. Organ., 62: 181-189.
15. Glazebrook, J. S., Heasman, M. P. & de Beer, S. W. (1990) Picornalike viral particles associated with mass mortalities in larval barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch). J. Fish Dis., 13: 245-249.
16. Gomez, D. K., Baeck, G. W., Kim, J. H., Choresca, C. H. and Park, S. C. (2008a) Genetic analysis of betanodaviruses in subclinically infected aquarium fish and invertebrates. Current Microbiology, 56:

- 499-504.
17. Gomez, D. K., G. W. Baeck, J. H. Kim, C. H. Choresca and S. C. Park (2008b) Molecular detection of betanodaviruses from apparently healthy wild marine invertebrates. *J. Invertebr Pathol.*, 97: 197-202.
 18. Gomez, D. K., D. J. Lim, G. W. Baeck, H. J. Youn, N. S. Shin, H. Y. Youn, C. Y. Hwang, J. H. Park and S. C. Park (2006) Detection of betanodaviruses in apparently healthy aquarium fishes and invertebrates. *J. Vet. Sci.*, 7: 369-374.
 19. Gomez, D. K., J. Sato, K. Mushiake, T. Isshiki, Y. Okinaka and T. Nakai (2004) PCR-based detection of betanodaviruses from cultured and wild marine fish with no clinical signs. *J. Fish Dis.*, 27: 603-608.
 20. Grotmol, S., O. Bergh and G. K. Totland (1999) Transmission of viral encephalopathy and retinopathy (VER) to yolk-sac larvae of the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*: occurrence of nodavirus in various organs and a possible route of infection. *Dis. Aquat. Organ.*, 36: 95-106.
 21. Husgaro, S., S. Grotmol, B. K. Hjeltne, O. M. Rodseth and E. Biering (2001) Immune response to a recombinant capsid protein of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) in turbot *Scophthalmus maximus* and Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*, and evaluation of a vaccine against SJNNV. *Dis. Aquat. Organ.*, 45: 33-44.
 22. Kai, Y. H. and S. C. Chi (2008) Efficacies of inactivated vaccines against betanodavirus in grouper larvae (*Epinephelus coioides*) by bath immunization. *Vaccine*, 26: 1450-1457.
 23. Kai, Y. H., H. M. Su, K. T. Tai and S. C. Chi (2009) Vaccination of grouper broodfish (*Epinephelus tukula*) reduces the risk of vertical transmission by nervous necrosis virus. *Vaccine*.
 24. Lai, Y. S., H. C. Chiu, S. Murali, I. C. Guo, S. C. Chen, K. Fang and C. Y. Chang (2001a) In vitro neutralization by monoclonal antibodies against yellow grouper nervous necrosis virus (YGNNV) and immunolocalization of virus infection in yellow grouper, *Epinephelus awoara* (Temminck & Schlegel). *J. Fish Dis.*, 24: 237-244.
 25. Lai, Y. S., J. A. C. John, C. H. Lin, I. C. Guo, S. C. Chen, K. Fang and C. Y. Chang (2003) Establishment of cell lines from a tropical grouper, *Epinephelus awoara* (Temminck & Schlegel), and their susceptibility to grouper irido- and nodaviruses. *J. Fish Dis.*, 26: 31-42.
 26. Lai, Y. S., S. Murali, H. C. Chiu, H. Y. Ju, Y. S. Lin, S. C. Chen, I. C. Guo, K. Fang and C. Y. Chang (2001b) Propagation of yellow grouper nervous necrosis virus (YGNNV) in a new nodavirus-susceptible cell line from yellow grouper, *Epinephelus awoara* (Temminck & Schlegel), brain tissue. *J. Fish Dis.*, 24: 299-309.
 27. Lam, S. H., H. L. Chua, Z. Gong, T. J. Lam and Y. M. Sin (2004) Development and maturation of the immune system in zebrafish, *Danio rerio*: a gene expression profiling, in situ hybridization and immunological study. *Developmental and Comparative Immunology*, 28(1): 9-28.
 28. Le Breton, A., L. Grisez, J. Sweetman and F. Ollevier (1997) Viral nervous necrosis (VNN) associated with mass mortalities in caged-reared sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *J. Fish Dis.*, 20: 145-151.
 29. Lin, C. C., J. H. Y. Lin, M. S. Chen and H. L. Yang (2007) An oral nervous necrosis virus vaccine that induces protective immunity in larvae of grouper (*Epinephelus coioides*). *Aquaculture*, 268: 265-273.
 30. Lin, C. S., M. W. Lu, L. Tang, W. T. Liu, C. B. Chao, C. J. Lin, N. K. Krishna, J. E. Johnson and A. Schneemann (2001) Characterization of virus-like particles assembled in a recombinant baculovirus system expressing the capsid protein of a fish nodavirus. *Virology*, 290: 50-58.
 31. Lin, J. H. Y., H. T. Lin, C. Lopez, T. Y. Chen, M. S. Chen and H. L. Yang (2008) A comparison of the expression of immunity-related rag 1 and ikaros genes with histogenesis of the thymus in *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider). *Aquaculture Research*, 39: 252-262.
 32. Liu, W. T., C. H. Hsu, C. Y. Chang, H. H. Chen and C. S. Lin (2006) Immune response against grouper nervous necrosis virus by vaccination of virus-like particles. *Vaccine*, 24: 6282-6287.
 33. Mori, K., T. Mangyoku, T. Iwamoto, M. Arimoto, S. Tanaka and T. Nakai (2003) Serological relationships among genotypic variants of betanodavirus. *Dis. Aquat. Organ.*, 57: 19-26.
 34. Mori, K., T. Nakai, K. Muroga, M. Arimoto, K. Mushiake and I. Furusawa (1992) Properties of a new virus belonging to nodaviridae found in larval striped jack (*Pseudocaranx dentex*) with nervous necrosis. *Virology*, 187: 368-371.
 35. Mori, K., T. Nakai, M. Nagahara, K. Muroga, T. Mekuchi and T. Kanno (1991) A viral disease in hatchery-reared larvae and juveniles of redspotted grouper. *Fish Pathol.*, 26: 209-210.
 36. Munday, B. L., J. Kwang and N. Moody (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *J. Fish Dis.*, 25: 127-142.
 37. Munday, B. L. and T. Nakai (1997) Nodaviruses

- as pathogens in larval and juvenile marine finfish. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 13: 375-381.
38. Mushiake, K., M. Arimoto, T. Furusawa, I. Furusawa, T. Nakai and K. Muroga (1992) Detection of antibodies against striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) from brood stocks of striped jack. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58: 2351-2235.
 39. Mushiake, K., T. Nishizawa, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga (1994) Control of VNN in striped jack – selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by polymerase chain-reaction (PCR). *Fish Pathol.*, 29: 177-182.
 40. Nguyen, H. D., T. Nakai and K. Muroga (1996) Progression of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) infection in naturally and experimentally infected striped jack *Pseudocaranx dentex* larvae. *Dis. Aquat. Organ.*, 24: 99-105.
 41. Nishizawa, T., K. Mori, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga (1994) Polymerase chain reaction amplification of RNA of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Dis. Aquat. Organ.*, 18: 103-107.
 42. Nylund, A., E. Karlsbakk, S. Nylund, T. E. Isaksen, M. Karlsen, K. Korsnes, S. Handeland, R. Martinsen, T. Mork Pedersen and K. F. Ottem (2008) New clade of betanodaviruses detected in wild and farmed cod (*Gadus morhua*) in Norway. *Arch Virol.*, 153: 541-547.
 43. Shieh, J. R. and S. C. Chi (2005) Production of monoclonal antibodies against grouper nervous necrosis virus (GNNV) and development of an antigen capture ELISA. *Dis. Aquat. Organ.*, 63: 53-60.
 44. Skliris, G. P. and R. H. Richards (1998) Assessment of the susceptibility of the brine shrimp *Artemia salina* and rotifer *Brachionus plicatilis* to experimental nodavirus infections. *Aquaculture*, 169: 133-141.
 45. Sommerset, I., S. Husgaard and A. H. Nerland (2001) Development of vaccines against nodavirus affecting Atlantic Halbut (*Hippoglossus hippoglossus*). Tenth International Conference of European Association of Fish Pathologists, 9-14 September, Dublin.
 46. Tanaka, S., K. Mori, M. Arimoto, T. Iwamoto and T. Nakai (2001) Protective immunity of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* Thunberg, against experimental viral nervous necrosis. *J. Fish Dis.*, 24: 15-22.
 47. Thiery, R., J. Cozien, J. Cabon, F. Lamour, M. Baud and A. Schneemann (2006) Induction of a protective immune response against viral nervous necrosis in the European sea bass *Dicentrarchus labrax* by using betanodavirus virus-like particles. *J. Virol.*, 80: 10201-10207.
 48. Watanabe, K., T. Nishizawa and M. Yoshimizu (2000) Selection of brood stock candidates of barfin flounder using an ELISA system with recombinant protein of barfin flounder nervous necrosis virus. *Dis. Aquat. Organ.*, 41: 219-223.
 49. Yoshikoshi, K. and K. Inoue (1990) Viral nervous necrosis in hatchery-reared larvae and juveniles of Japanese parrotfish, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel). *J. Fish Dis.*, 13: 69-77.
 50. Yoshimizu, M. and Y. Ezura (1999) Biological control of fish viral diseases by anti-viral substance producing bacteria. *Microb Environ*, 14: 269-275.
 51. Yoshimizu, M., H. Takizawa, Y. Kamei and T. Kimura (1986) Interaction between fish pathogenic viruses and microorganisms in fish rearing water: survival and inactivation of infectious parcreatic necrosis virus and *Onchirhynchus masou* virus in rearing water. *Fish Pathol.*, 21: 223-231.
 52. Yoshimizu, M. (2009) Control strategy for viral disease of salmonid fish, flounders and shrimp at hatchery and seed production facility in Japan. *Fish Pathol.*, 44(1): 9-13.

第八章 魚類疫苗介紹 - 石斑魚病毒性疾病預防對略

涂堅

家畜衛生試驗所生物研究組

一、疫苗的歷史

疫苗是人類用來對抗病毒性疾病的唯一方法，因為直到今日人類還是無法有效治療病毒性疾病。最早人類並不懂得如何治療一些致命的疾病（例如天花），但是中國鄉下郎中卻發現一些天花痊癒病人的乾痂皮，接種到健康人類身上，可以免除這些人發生天花，雖然有時會引起接種人類的喪命，這卻是最早的疫苗應用，只是，當時的人們並不瞭解真正原因。1796 年，英國醫生金納 (Edward Jenner) 觀察到擠牛奶的女工初擠奶時，手指頭都會受感染產生膿疱，但痊癒以後再接觸到感染天花的病人，都不會被感染，進而推測可能因為女工感染牛痘，以致產生對抗天花的抗病力，經過他以牛痘的乾痂（尚含有活的牛痘病毒）接種在自己家人身上，發現可使其免除天花感染。自此找到預防天花的方法，這是人類首次發現可以經由接種一種動物來源的物質（當時並不知道是病毒），進而預防人類疾病的方法。反觀現代多數疫苗都是利用感染該種動物的病原做成，這真是一種幸運的發現，利用感染牛隻的牛痘（不會引起牛隻死亡），來接種人類（不會引起人類致命），預防會引起人類致死的人痘（天花）。以上歷史告訴我們，好的疫苗必須能避免接種人產生嚴重副作用（皮膚產生膿疱可以接受；但造成死亡，絕

不能接受），又能有效避免再次感染該種惡疾。

二、疫苗定義

金納發現第一個牛痘疫苗是利用不同動物（牛）感染的類似病原（牛痘病毒），來感染人類讓人類產生抵抗天花病毒感染；為了紀念他的緣故，現今我們稱為疫苗 (vaccine) 的這個英文字就是從牛痘病毒 (vaccinia virus) 的拉丁文轉化而成。雖然牛痘疫苗的例子是利用感染牛的活病毒來預防人的天花，並不是直接對引起人類天花的天花病毒進行處理，降低毒性再接種人類來預防天花，但還是一種利用活毒疫苗（最有效但最難開發的疫苗）來預防病毒性疾病的例子。可是在往後的對抗病原的人類歷史，我們都是採取直接對引起該種疾病的病原加以處理，降低毒性後接種動物讓動物產生抵抗力，達成預防該疾病的目的。所以疫苗就是「透過化學、物理或生物的方法不活化或降低病原（又稱抗原）的病害性（包括細菌、病毒或寄生蟲），然後將它投予生物體，使生物體產生抗體、殺手細胞及「記憶細胞」，下次遭遇相同病原時能「免除疫病」的一種生物製劑」。

魚類疫苗，例如我們所關心的石斑魚虹彩病毒及神經壞死病毒疫苗，還有一些鏈球

菌及弧菌疫苗也都是針對這些病原加以不活化而製成。

三、佐劑

所謂佐劑就是與上述抗原混合在一起製成疫苗，可加強疫苗功效的一種添加劑。科學家發現若能將上述不活化的病原（又稱為抗原）與一些物質（例如不活化的結核菌體、礦油、細菌胞壁的脂多醣體、細菌或動物的萃取物等）混合後製成的疫苗，再免疫動物，可以得到更高的保護力。原因就是抗原被包在油質內，緩慢釋放，可達成延長抗原釋放目的，刺激免疫器官產生更高的保護力。另外那些不活化的菌體、動物及細菌萃取物等則可刺激組織中的 T 細胞及吞噬細胞，加強呈現抗原，使免疫過的動物產生更高的保護力。

魚類疫苗使用的佐劑均沿用陸生動物所使用的佐劑，由於目前佐劑均已商業化，各家廠商均有各家的獨特配方，列為營業秘密，但是基本上均含有油質（植物油）及一些細菌萃取物。

四、疫苗的種類

（一）活毒疫苗

1. 以溫度、不同宿主繼代或自然基因突變篩選得到的減毒疫苗，具感染性，不具病原性，動物接種後，可以在胞內增殖，產生“內源性抗原”。
2. 單劑量就能引發毒殺型 T 細胞為主的免疫。

3. 對抗病毒性疾病有最佳的效果。
4. 目前在魚類病毒方面並無此類的疫苗。但是在鯰魚的 *Edwardsiella ictaluri* 及 *Flavobacterium columnare* 兩個細菌，則有活毒疫苗，分別為 Aquavac-EST 及 Aquavac-COL (Intervet)。在人類有天花疫苗、小兒麻痺的沙賓疫苗。在陸生動物則有豬的兔化豬瘟疫苗，羊的羊痘疫苗及雞的馬力克疫苗、雞痘疫苗及新城病疫苗。

（二）死毒疫苗

1. 將病原以化學或物理方法不活化，失去感染動物、在動物體內增殖能力的疫苗。
2. 是一種外源性的抗原，引起抗體為主的免疫。
3. 引發助手型 T 細胞 Th2 為主。
4. 目前魚類的疫苗均屬此類，例如魚類虹彩病毒疫苗、傳染性胰臟壞死病毒疫苗、神經壞死病毒疫苗、弧菌疫苗、鏈球菌疫苗、發光菌疫苗等。

（三）次單位疫苗

1. 將有抗原性的蛋白基因片段重組於載體，轉殖入細菌、酵母菌或細胞內大量生產抗原的一種疫苗。
2. 可以將數個抗原基因組合在一起表現形成多價疫苗。
3. 也可將細胞激素與抗原基因組合在一起，導引免疫反應為細胞免疫 (IL-12, IL-15, IL-18) 或導引為體液免疫 (IL-10, IL-6)。
4. 也是外源性的抗原，難誘發黏膜免疫及細胞毒殺 T 細胞解決之道為：(1) 可將 T

細胞抗原位與表現抗原組合，誘發 Tc；
(2) 使用脂性載體 (liposome) 或胞膜傳遞蛋白將抗原送入胞質內，誘發 Tc。

- 目前魚類僅有 IPN 的 VP2 次單位疫苗。在人類使用的有 B 型肝炎疫苗及人類乳突病毒疫苗，利用酵母菌平台表現；在陸生動物開發成功的有豬瘟 E2 疫苗及豬胸膜肺炎桿菌疫苗。

(四) 類毒素疫苗

- 細菌分泌的外毒素，經過化學方法不活化後產生的疫苗。
- 魚類無此種疫苗。人類有破傷風疫苗。

(五) DNA 疫苗

- 利用細菌表現質體，攜帶有一段抗原基因片段，當植入動物體內可在動物體內表現並誘發免疫的疫苗。
- 可引發細胞免疫及體液免疫。
- 2005 年 Sommerset 等發現，神經壞死病毒的 DNA 疫苗無法對比目魚產生保護。目前魚類並無任何此類疫苗商品問世，人類及陸生動物亦無此類疫苗。

(pancreas disease) 病毒疫苗 (intervet)；(3) 日本不活化虹彩病毒疫苗 (Bi-Ken)；(4) 不活化 IPN 疫苗及 IPN VP2 次單位疫苗 (intervet)；(5) 挪威不活化傳染性鮭魚貧血病毒疫苗 (pharmaq)。

(五) 現行商品化細菌性疫苗：

國 家	針 對 種 類	使 用 對 象
西 班 牙	滑走菌、弧菌、發光菌、鏈球菌	海 水 魚、 鮭 魚、 鰻 魚
智 利	滑走菌、立克次體、鏈球菌、發光菌、耶氏菌	鮭魚
澳 洲	滑走菌、弧菌、發光菌、鏈球菌、耶氏菌	金目鱸、鮭魚
挪 威	冷水病、弧菌、癰瘡病、耶氏菌、冬季潰瘍症菌	鮭魚、海水魚
美 國	愛德華菌、癰瘡菌、耶氏菌、弧菌症	鯰魚、鮭魚
日 本	弧菌、虹彩病毒、鏈球菌	鮭魚、香魚、青甘

五、目前世界各國商用魚類疫苗

- (一) 主要以不活化病原為主：成本低，製造容易，效果可接受。
- (二) 主要採用浸泡與注射為主：前者易投予，省人力；後者保護效果佳。
- (三) 次單位疫苗少見：因為試驗成效不一致，重現性差。
- (四) 現行商品化病毒性疫苗：(1) 因各國疫苗使用許可不同，並不適用於每一國；(2) Norvax® Compact PD 不活化鮭魚胰臟症

六、疫苗投予的方式

(一) 注射

1. 常用使用在高經濟魚類（如鮭魚、鞍帶石斑、海鱺等），可確認每尾的實際免疫劑量，可合併佐劑使用，為最有效的投與方式。
2. 可有效產生細胞與體液免疫。
3. 須注意魚類免疫系統成熟後使用才有效。
4. 魚隻太小無法使用。

5. 需要使用機器或大量人工，耗時耗力。
6. 易引起魚類緊迫。
7. 會引起局部反應（肉芽腫，腹腔器官粘黏）。

（二）浸泡

1. 可免疫大小不同魚類。
2. 透過皮膚、鰓、側線、腸道吸收。
3. 浸泡時間越久效果越佳。
4. 減少魚類緊迫，減少人力需要。
5. 需使用大量疫苗，成本升高，但僅維持中等時間及中等保護力。
6. 先以高張鹽水浸泡，再浸泡疫苗效果較佳。
7. 先對皮膚進行穿刺再行浸泡（刺青式浸泡）效果佳。
8. 研究指出，先以 1 MHz 超音波處理 1 分鐘，再配合 10 分鐘浸泡（浸泡期間均以 3 MHz 超音波處理），效果佳。
9. 一般作為基礎免疫用。

（三）口服

1. 疫苗必須經過微膠囊或生物包被，以免被消化道消化液消化。
2. 必須與餌料或飼料一起食用，必須重複投予，因無法確定每尾魚免疫劑量。
3. 最省人力及時間的方法。
4. 最少緊迫的方法。
5. 須長期服用，需要大量疫苗，成本增高。
6. 保護時間與保護力最低。

七、魚類的免疫系統

（一）體液免疫

1. 由 B 細胞產生抗體，能中和病毒或細菌，然後由吞噬細胞移除。
2. 與哺乳類相比，魚類的抗體親合性 (avidity) 較低。
3. 二次免疫反應也較哺乳類弱。
4. 魚類的移行抗體低。

（二）細胞免疫：有兩種 T 細胞負責

1. 細胞毒殺 T 細胞 (Tc)，加強吞噬細胞功能。
2. 助手 T 細胞 (Th)，加強抗體產生。
3. 實際上，有時抗體高低與保護力不符，需考慮此種保護應該牽涉細胞免疫。

（三）免疫適期

所謂免疫適期就是找出「何時是最適合接種疫苗的時間」。在魚類有許多疾病是稚魚階段就會感染，例如感染鯛、鱸、石斑魚兩月齡以下的稚魚，破壞魚類腦及視網膜，引起高死亡率的神經壞死病毒就是典型的例子。要預防本病就必須在稚魚階段接種疫苗，才能在病毒感染魚隻前產生保護力，但是孵化後多久才能免疫呢？因為稚魚的免疫器官若沒有成熟就接種疫苗，不僅沒辦法產生保護力，還會造成對這種病原的終身沒抵抗力，在免疫學稱為免疫耐受性 (immune tolerance)，就是一種免疫的麻痺。由於魚類種類太多，因此找出不同魚種稚魚何時免疫器官成熟，是一件很艱苦卻必須做的事情。

要了解何時最適合對石斑魚稚魚進行免疫，必須先針對石斑魚稚魚淋巴器官孵化後發育的情形進行瞭解。2004 年，Kato 等以組織學觀察孵化石斑魚的消化及免疫器官發育，發現油斑 (*Epinephelus bruneus*) 在孵化後 3 天就可觀察到肝、鰾、胰、小腸及直

腸。在 16 天可發現小腸內捲、咽齒及食道上皮黏液細胞開始分化。第 25 天胃盲囊、胃腺幽門盲腸形成。原始的胸腺、腎、脾臟分別出現在第 12、1 及 6 天。小淋巴球在前述淋巴器官出現時間則在第 21、30、33 天。以上淋巴組織出現時間與大多數海水魚類似。2003 年，吳金英等利用組織學觀察點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 稚魚淋巴器官發育情形，水溫維持在 22 – 28℃，孵化第 10 天發現原始頭腎，11 天發現原始脾臟，第 13 天出現原始胸腺。頭腎、脾及胸腺分別於第 25 天、40 天及 18 天觀察到小淋巴球出現。

綜合以上研究數據，胸腺成熟約在 18 – 21 天，頭腎成熟約在 25 – 30 天，脾臟成熟約在 33 – 40 天。因此石斑魚的疫苗投予時間至少要在孵化後 3 週以上 (21 天)，否則無法達成保護作用。但是從孵化到 21 天有段空窗期，此段應該如何保護稚魚免受到病毒侵害則是需要利用高生物安全循環水系統，飼養稚魚避免在免疫前遭受環境病毒污染。

(四) 移行抗體 (maternal antibody)

所謂移行抗體就是「親代動物經免疫後，可將母源性免疫球蛋白垂直傳給子代動物，這些具保護性的母源免疫球蛋白就叫做移行抗體」。一般而言，具有胎盤的動物其移行抗體效果較強，鳥類次之，魚類則較弱。雖然前人研究指出在鯉魚及鰱魚免疫母魚的免疫球蛋白可垂直傳給魚卵，對仔魚進行保護。1996 年報告，針對大西洋鮭種魚持續免疫腸紅嘴病細菌疫苗 (*Yersinia ruckeri* serovar O₂) 然後對其孵化仔魚進行

測試其垂直傳給仔魚的保護作用。他們發現由免疫母魚及未免疫母魚來的卵及仔魚均可測到相同力價的凝集抗體。此外孵化後 1 週小魚即無法測到凝集抗體力價，而且無法耐過活細菌的攻毒試驗，結論是保護力可以從母魚傳給仔魚，但是力價很低不足以保護仔魚。因此想靠如哺乳類動物使用移行抗體保護幼獸的方式，在魚類並不實際。

八、石斑稚魚病毒性疾病預防對策

(一) 垂直性病毒感染的預防

1. 對種魚進行血清抗體的檢測，慎選未被感染的種魚，隔離飼養。
2. 對種魚的精液及卵進行 PCR 檢測，確保無病毒污染，始可混養。
3. 產卵前，2010 年 Kai 等發現對種魚進行重要病毒疫苗 (神經壞死病毒) 的預防注射，可降低潛在帶原母魚因重複產卵緊迫所造成的體內病毒增生，除避免病毒直接垂直感染到卵內，尚可避免排毒污染產道，保護魚卵外表不被污染。相同免疫應用在種魚的虹彩病毒免疫應有類似的效果。

(二) 水平性病毒感染的預防

1. 場區採用高生物安全循環水系統，飼養稚魚避免在免疫前遭受環境污染，並保障魚苗在 45 – 60 天前，勿接觸到環境中的病毒。
2. 孵化魚苗後應飼餵經 PCR 檢查，無病毒污染的餌料生物。
3. 在 21 – 30 天進行免疫，先以浸泡方式進行神經壞死病毒疫苗基礎免疫，等

到 2 吋半 (2 個月) 時再配合施予一劑
肌肉注射的虹彩病毒疫苗。

九、參考文獻

1. 吳金英、林浩然 (2003) 斜帶石斑魚淋巴器官個體發育的組織學。動物學報，49(6): 819-828。
2. A Mor and RR Avtalion (1990) Transfer of antibody activity from immunized mother to embryo in tilapia. Journal of Fish Biology, 37: 249-255.
3. Atle Lillehaug, Sigmund Sevatdal and Torbjørn Endal (1996) Passive transfer of specific maternal immunity does not protect Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry against yersiniosis. Fish and shellfish immunology, 6(7): 521-535.
4. Ingunn Sommerset, Rasmus Skern, Eirik Biering, Hogne Bleie, Ingrid Uglenes Fiksdal, Søren Grove and Audun Helge Nerland (2005) Protection against Atlantic halibut nodavirus in turbot is induced by recombinant capsid protein vaccination but not following DNA vaccination. Fish and Shellfish Immunology, 18(1): 13-29.
5. Kai, Y. H., H. M. Su, K. T. Tai and S. C. Chi (2010) Vaccination of grouper broodfish (*Epinephelus tukula*) reduces the risk of vertical transmission by nervous necrosis virus. Vaccine, 28(4): 996-1001.
6. Keitaro Kato, Katsuya Ishimaru, Yoshifumi Sawada, Junichi Mutsuro, Shigeru Miyashita, Osamu Murata and Hidemi Kumai (2004) Ontogeny of digestive and immune system organs of larval and juvenile kelp grouper *Epinephelus bruneus* reared in the laboratory. Fisheries Sciences, 70(6): 1061-1069.
7. Yukinori Takahashi and Eijiro Kawahara (1987) Maternal immunity in newborn fry of the ovoviparous guppy. Nippon Suisan Gakkaishi, 53: 721-735.

第九章 垂直型水產養殖在石斑魚中間育成及疾病觀察的應用

蕭世民¹、梁麗麗¹、何芝蓁¹、黃清龍²、謝欣蓓²、王慧婷²

高雄海洋科技大學¹ 水產養殖系暨研究所、² 海洋生物技術系暨研究所

一、前言

垂直型水產養殖系統以淺水養殖槽的設計及槽內生態結構的安排促成循環水養殖系統在空間及水體上的立體 (3D) 利用。以岩礁為棲地或在水底棲息的水生物，包括魚類及蝦類等，在具有特定生態結構的養殖水槽中，可生活在十分淺的水中。現有數據顯示白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)、莫三比克吳郭魚 (*Oreochromis mossambicus*)、青斑 (*Epinephelus coioides*) 及鞍帶石斑 (*E. lanceolatus*) 等生物均可生活在水深僅 4 – 15 cm 的環境，分別成長至每尾 25 g、500 g、1,600 g、2,500 g 或更大。

此淺水養殖的扁平水槽可上下推疊，構成一個垂直型，以 3D 方式利用空間的多層次養殖系統。此系統可用商業型零組件做為支撐材料，AABSLab 已發展出可快拆快組的各種垂直型養殖設施，曾運用在教室、實驗室、試量產工廠及活體運輸與展示，除供師生及廠商養成優質魚蝦外，亦嘗試運用在養殖魚的治病及免疫處理。

此多層次養殖設施的每層淺水槽中具有可更換的生態結構，當該結構為多層時，魚類可分層居住其中，以 3D 方式利用水體。一個多孔的生態裝置提供給石斑魚降

低緊迫及殘食機率的棲息環境，魚的群聚行為從緊密聚集改為單層次或多層次分散棲息。循環水在紫外線殺菌燈的使用下，以即時 PCR 絕對定量技術檢測，曾記錄鞍帶石斑小魚的頭部或眼球的神經壞死病毒 (nervous necrosis virus, NNV) 含量逐漸減低的現象。在以細密濾材進行物理過濾情況下，魚體上的寄生蟲在兩個月內可充分移除。

AABSLab 準備以此多層次養殖系統及即時 PCR 絕對定量系統為工作平台，在與其它實驗室合作的情況下，試驗下列四個步驟，以達到供應優質抗病幼魚的目標。(1) 病原檢疫：以即時 PCR 絕對定量系統篩選低病原或無病原之卵、白身苗或幼魚，使其儘早進入 AABSLab 的垂直系統，在育成過程中監控魚體病原之變化。(2) 疫苗免疫：以疫苗浸泡白身苗，幼魚口服或注射疫苗等方式進行免疫處理，增強魚隻抵抗特定病原的免疫力。(3) 免疫促進劑餵食：飼料中添加免疫促進劑餵食幼魚，以增強魚隻一般性主動免疫能力。(4) 魚病治療：使用抗菌蛋白質的注射或餵食，進行病魚的治療，以降低病原量而增加育成率。

本工作報告描述第一步驟的病原檢疫與垂直養殖的成果。

二、結果

(一) 環境因素

養殖過程歷經冬天及夏天，槽內的平均水溫為 21 – 31℃ (圖 9-1)，pH 維持在 6 – 8.5，溶解氧維持在 4.5 – 6.5 mg/L。



圖 9-1 2010 年 1-9 月的水溫 (°C) 變化

(二) 垂直型養殖系統養成青斑小魚

青斑小魚在 2010 年 1 月 29 日購入，在淺水槽養殖 144 天，平均個體重量由 39 g 成長至 139 g (圖 9-2)，活存率 95%，收成時，體重分布多在 101 – 200 g，但仍有超過 10% 的小魚成長較快，達 201 – 350 g (圖 9-3)。

(三) 垂直型養殖系統養成鞍帶石斑

1. 魚苗：兩批鞍帶石斑小魚 A 及 B 組

A 組：2009 年 7 月購入之寸苗，推測為 5 月孵出之魚苗；B 組：2009 年 8 月 7 日購入之白身苗，推測為 6 月孵出之魚苗。

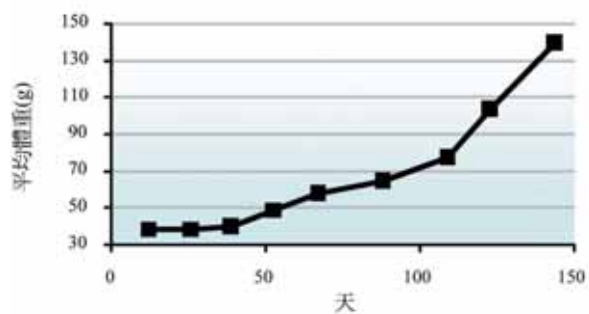


圖 9-2 2010 年 2 月到 6 月青斑小魚的成長曲線

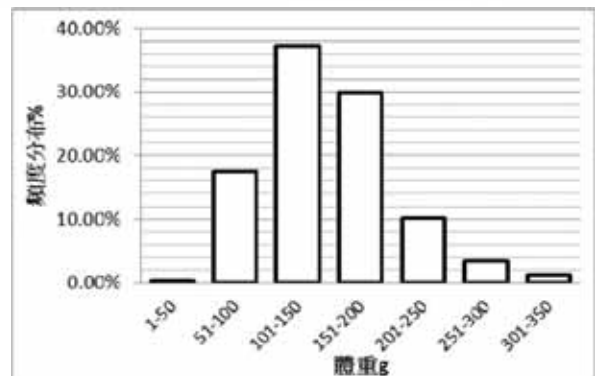


圖 9-3 39 g 青斑小魚養殖 144 天後的體重分布 (n = 311)

2. 體重測量

此兩組鞍帶石斑小魚 A 及 B 組在度過幼魚階段後，自 2009 年 10 月 13 日起，經常採樣以測量體重，A 組在 10 月齡 (3 月 23 日) 及 14 月齡 (7 月 27 日及 8 月 4 日) 時，所有魚體測量體重；B 組在 9 月齡 (3 月 23 日) 及 13 月齡 (7 月 27 月至 8 月 4 日) 時，所有的魚體也測量體重。

3. 成長與體重分布

A 組飼養 7 個月後，10 月齡的體重分布在 154 – 510 g 之間 (n = 26)，體重最大的魚是最小魚的 3.3 倍重量，至 14 月齡，魚群體重分布擴大到 286 – 1,400 g (n = 24)，體重最大的魚是最小魚的 4.9 倍重量，魚體大小不均的現象增加 (圖 9-4)。

B 組飼養 6 個月後，9 月齡的體重分布在 27 – 180 g 之間 (n = 69)，體重最大的魚是最小魚的 6.8 倍，至 13 個月齡，魚群體重分布擴大到 85 – 850 g (n = 60)，體重最大的魚是最小魚重的 10 倍重量，魚體大小不均的現象也增加 (圖 9-5)。

A 組在 10 月齡依體重大於 300 g 的 12 尾及小於 300 g 的 14 尾分為兩批 Aa 及 Ab，分養在不同的淺水槽，B 組在 9 月齡也依體

重大於 100 g 的 28 尾及小於 100 g 的 41 尾各分為 Ba 及 Bb 兩批，分養在不同的淺水槽，成長紀錄呈不同的曲線（圖 9-6 及 9-7）。

（四）石斑魚體長與體重的相關變化

青斑與鞍帶石斑的體長與體重循著指數型的曲線而有相關的變化（圖 9-8 及 9-9）。體重同為 600 g 時，青斑的體長為 32 cm，而鞍帶石斑為 29 cm，體型較為肥滿。

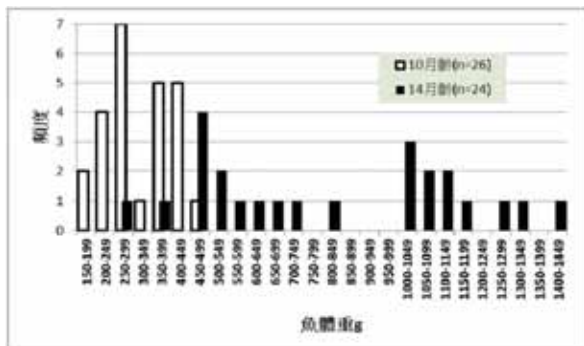


圖 9-4 A 組鞍帶石斑從 10-14 月齡成長為體重不均的族群

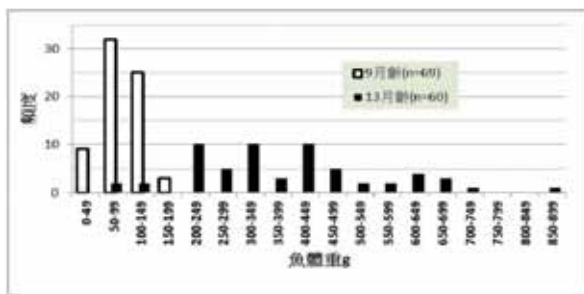


圖 9-5 B 組鞍帶石斑從 9 – 13 月齡成長為體重不均的族群

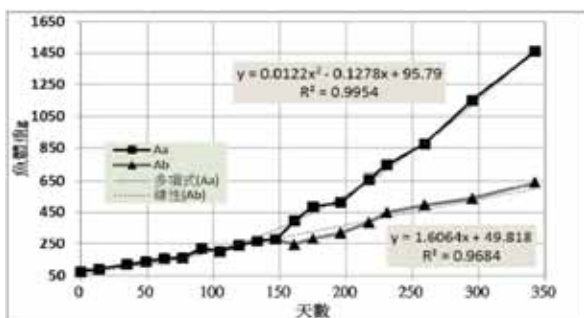


圖 9-6 A 組鞍帶石斑在 10 月齡依體重分養成 Aa 及 Ab 兩群，大型魚 Aa 循多項式成長，小型魚 Ab 循線性公式成長

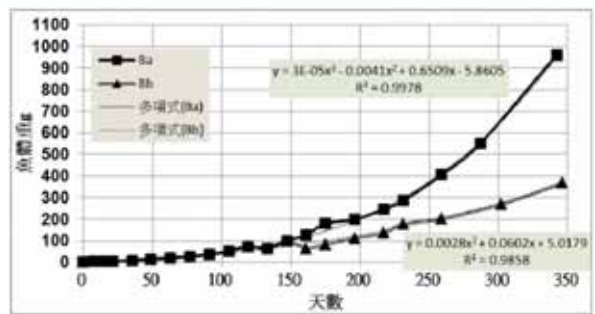


圖 9-7 B 組鞍帶石斑在 9 月齡依體重分養成 Ba 及 Bb 兩群，大型魚 Ba 循多項式成長，小型魚 Bb 也循另一個多項式成長

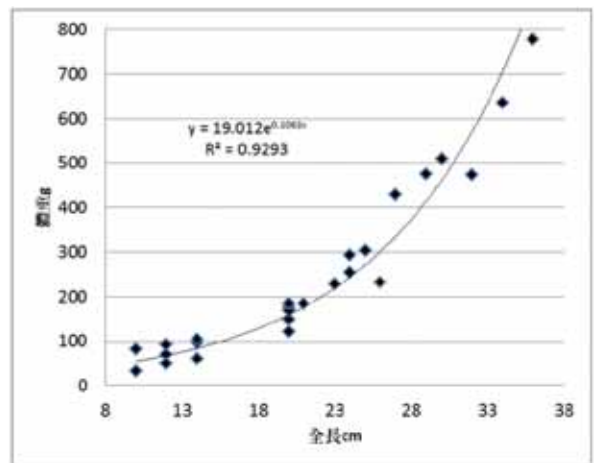


圖 9-8 青斑體重與體長的指數型相關變化

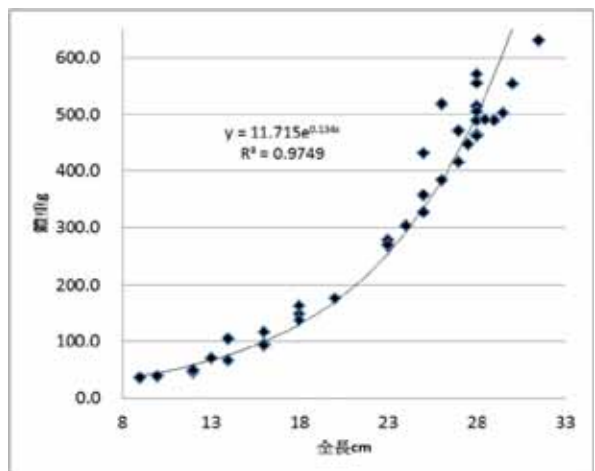


圖 9-9 鞍帶石斑體重與體長的指數型相關變化

（五）病毒及弧菌感染的發病觀察

2009 年多次引入青斑及鞍帶石斑幼魚到實驗室，未有爆發疾病而大量死亡的現

象，如 2009 年 8 月 7 日購入之 B 組鞍帶石斑，70 尾白身苗移入淺水養殖槽後兩個月，以即時 PCR 絕對定量技術測量其頭部的神經壞死病毒量，三尾魚的含量都很低（表 9-1）。

然而 2010 年再度多次引入青斑及鞍帶石斑幼魚到實驗室並進行野外調查，爆發疾病而大量死亡的現象則經常出現。

8 月 7 日在屏東林邊的養殖場，取得一批養殖戶稱為「黑條」的發病鞍帶石斑小魚（圖 9-10），移入垂直養殖系統後，活存的魚均躺臥槽底並陸續死亡，8 月 13 日，經病毒檢測，魚的眼球含大量 NNV 病毒，部分含虹彩病毒（表 9-2）。

9 月起，分別引進青斑小魚及鞍帶石斑小魚各三批。其中兩批青斑小魚在引進前已在養殖場爆發疾病，移入垂直養殖系統後



圖 9-10 養殖戶稱為「黑條」的發病鞍帶石斑小魚

60 天的觀察期間，未爆發疾病。

第一批幼魚購自台南四草許養殖戶（40 天齡白身魚苗），出貨前 20 天爆發疾病，幼魚數目由 2,500 尾減至 7 月 31 日購進時的 245 尾（活存率 9.8%），移入垂直養殖系統後活力良好，能攝食人工幼苗飼料（洪國）。第二批幼魚購自枋寮王養殖戶（45 天齡白身魚苗），出貨前 25 天爆發疾病，幼魚數目由 8 萬尾減至 11 月 16 日購進時的 6,800 尾（活存率 8.5%），移入垂直養殖系統後活力良好，能攝食人工幼苗飼料（洪國），但 NNV 病毒檢測值仍偏高（表 9-3）。

但其它四批（青斑一批及鞍帶石斑三批）購入前是否爆發疾病的情況不明，移入垂直養殖系統後 60 天的觀察期間，均爆發疾病。發病前，青斑及鞍帶石斑幼魚會表現出躲藏在生態結構下的行為（圖 9-11），飼食飼料（長龍及洪國）的能力良好，但若躲藏行為消失，則幼魚出現發病的徵兆。



圖 9-11 未發病的石斑幼魚會明顯表現躲藏在生態結構下的行為

表 9-1 70 尾鞍帶石斑白身苗移入淺水養殖槽兩個月後的神經壞死病毒檢測

日 期	長度 (cm)	NNV* copies	魚 的 狀 況
2009/10/20	3.6-4.3	$6.0 \times 10^2/\text{head}$	飼養兩個月後，受驚嚇，跳出淺水槽死亡
		$3.2 \times 10^2/\text{head}$	
		$4.3 \times 10^2/\text{head}$	

* nervous necrosis virus 神經壞死病毒

表 9-2 林邊一魚苗場黑變鞍帶石斑小魚移入淺水養殖槽後的病毒檢測

日 期	長度 (cm)	NNV* copies	虹彩病毒 Δ	魚 的 狀 況
2010/8/13	6.2	$5.1 \times 10^{10}/\text{eye}$	+	8 月 7 日由屏東林邊一魚苗場帶回，身體已黑變，魚先躺臥而逐日死亡
	6.5	$4.1 \times 10^{10}/\text{eye}$	+	
	6.0	$4.5 \times 10^{10}/\text{eye}$	-	
	5.7	$1.6 \times 10^{10}/\text{eye}$	-	
	5.7	$1.1 \times 10^{10}/\text{eye}$	-	
	5.0		-	

* nervous necrosis virus Δ PCR 檢測：+ 陽性，- 陰性

表 9-3 枋寮王養殖戶白身魚苗移入淺水養殖槽後的病毒檢測採樣

日 期	長度 (cm)	NNV copies	魚 的 狀 況
2010/11/19	3.0	$7.3 \times 10^5/\text{head}$	活力良好，能攝食人工幼苗飼料 (洪國)
	2.8	$7.2 \times 10^5/\text{head}$	
	3.1	$6.7 \times 10^8/\text{head}$	
	4.2	$4.3 \times 10^9/\text{eye}$	
	3.8	$3.0 \times 10^6/\text{eye}$	
	3.6	$6.6 \times 10^9/\text{eye}$	

發病的徵兆依序為：(1) 失去躲藏能力；(2) 失去攝食能力；(3) 逐漸死亡。鞍帶石斑在這個階段體色明顯變黑。部分青斑及鞍帶石斑在倒臥一到兩個月後逐漸復原 (圖 9-12)。

這四批魚的發病觀察：第一批，3 cm 青斑魚苗 700 尾，於 7 月 31 日自台南引進，10 天後開始發病，病死魚的 NNV 病毒量高達 6.7×10^{10} copies/eye，部分帶有虹彩病毒，沒有發病的魚則繼續成長，在 9 月初成長至 7 – 9 cm 長，仍具有高量 NNV 病毒並部分帶有虹彩病毒 (表 9-4)，弧菌則沒有檢出，兩個月後活存率不到 20%。第二、三及第四批，5 – 10 cm 鞍帶石斑小魚於 9 – 10 月間陸續購入，在觀察期間，三批魚皆

發病，多數體色變黑並倒臥，第 39 – 59 天清點，活存率在 13 – 28% (表 9-5)。



圖 9-12 發病的鞍帶石斑小魚有長期躺臥的現象，部分在 1-2 個月後復元

表 9-4 台南購入之白身苗移入淺水養殖槽後的病毒檢測

日 期	長度 (cm)	NNV copies/eye	虹彩病毒 ^Δ	弧菌 ^Δ	魚 的 狀 況
2010/8/20	4.0	5.4×10^{10}	-		由台南帶回，無明顯黑變，逐漸死亡
	3.4	3.7×10^{10}	-		
	4.5	7.9×10^8	-		
	5.2	6.7×10^{10}	+		
2010/9/3	4.1	1.2×10^9	-	-	
	4.0	1.1×10^8	-	-	
	4.0	1.1×10^8	-	-	
2010/9/3	7.5	7.3×10^9	-	-	未發病，活力正常
	9.0	5.5×10^7	+	-	
	7.7	1.5×10^{10}	+	-	

* nervous necrosis virus ^Δ PCR 檢測：+ 陽性，- 陰性

表 9-5 2010 年購入三批 5-10 cm 鞍帶石斑小魚的發病情形

來 源	購入日期	購入尾數	清點日期	觀察天數	活存尾數	倒臥尾數	活 存 率
林園吳太太	9 月 10 日	196	11 月 3 日	54	44	0	22.4%
布袋楊先生	9 月 25 日	316	11 月 3 日	39	42	9	13.3%
佳冬陳先生	10 月 13 日	301	11 月 25 日	43	85	19	28.2%

三、討論

(一) 垂直養殖中間育成

1. 在移入的初期若沒有爆發疾病，青斑及鞍帶石斑小魚可在淺水養殖槽持續成長，活存率在 80 – 90% 以上，由於易於觀察及測量，可篩選快速成長的個體。
2. 幼魚在進入中間育成的早期，經常因爆發疾病而大量死亡，如何提高幼魚在這個階段時的抗病力是重要的課題。
3. 若青斑苗育成至體長 9 cm，可自然具有抗病能力，從白身苗起算，中間育成的時間估計長達 100 天。鞍帶石斑苗育成至體長 15 – 25 cm，若可自然

具有抗病能力，從白身苗起算，中間育成的時間需長達 150 – 250 天。

4. 若疫苗注射能使青斑及鞍帶石斑小魚提早具充分的抗病力，中間育成的時間可以縮短。

(二) 優質幼魚的供應體系

為穩定石斑魚養殖漁業的獲利機會，目前池塘養殖石斑魚在放養後活存率過低（青斑約 30%，鞍帶石斑約 10%）的現象需大幅改善。以 AABSLab 養殖平台，搭配病原檢疫系統、疫苗免疫、免疫促進劑餵食及抗菌蛋白質治療等處理，期望能進一步建立優質幼魚的供應體系。

石斑魚精緻養殖研討會論文集．2010 / 陳世欽總編輯．

-- 基隆市：農委會水試所，民100.09

冊： 公分．

ISBN 978-986-02-9027-1 (平裝)

1. 魚產養殖 2. 文集

438.661

100017389

2010

石斑魚精緻養殖研討會論文集

Proceedings of the 2010 Workshop on
Refined Aquaculture of Grouper

發 行 所：行政院農業委員會水產試驗所

發 行 人：蘇偉成

編輯顧問：蘇茂森、劉燈城、林金榮

總 編 輯：陳世欽

主 編：葉信利

編 輯：李周陵

地 址：基隆市中正區20246和一路199號

電 話：(02)24622101

傳 真：(02)24629388

網 址：<http://www.tfrin.gov.tw>

設計印刷：光隆印刷廠股份有限公司

電 話：(02)23314526

定 價：新台幣150元

出版日期：一〇一〇年九月

展 售 處：

1. 五南文化廣場台中總店

台中市中山路6號

(04)22260330

2. 國家書店

台北市松江路209號1樓

(02)25180207

<http://www.govbooks.com.tw>

GPN 1010002748

ISBN 978-986-02-9027-1



GPN : 1010002748
訂價 : NT\$150