

## 屏東縣佳冬鄉養殖石斑魚疾病之盛行率研究

張志堅<sup>1,2\*</sup> · 林上海<sup>3</sup> · 黃美瑩<sup>1</sup> · 林金榮<sup>4</sup> · 張錦宜<sup>1</sup> · 賴秀穗<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 行政院農業委員會水產試驗所水產養殖組

<sup>2</sup> 國立臺灣大學獸醫專業學院

<sup>3</sup> 上海水產動物醫院

<sup>4</sup> 行政院農業委員會水產試驗所澎湖海洋生物研究中心

### 摘要

屏東縣佳冬鄉為臺灣養殖石斑養成階段之重鎮，為能忠實呈現臺灣養殖石斑養成階段困擾養殖漁民之魚病問題，本研究於 101 年 1 月至 10 月間，在當地每日受理養殖漁民送檢罹病石斑病例，經水質檢測及例行臨床檢查後，採集樣本並後送至實驗室進行病理學及分子生物學診斷，所有實驗結果進行分析統計後，建立 101 年度養殖石斑疾病盛行率資料。本研究共收集 965 場罹病石斑病例，依水質、寄生蟲性、細菌性、病毒性疾病及其他等 5 個項目進行疾病盛行率分析，結果顯示水質不良佔 47.56%、寄生蟲性疾病佔 45.49%、細菌性疾病佔 36.17%、病毒性疾病佔 6.01%，其他無法確診病例佔 12.75%。水質不良的原因主要為水中亞硝酸濃度、氨濃度、有機質濃度過高及水中酸鹼值不正常；寄生蟲性疾病盛行率由高而低為：海水白點蟲症、指環蟲症、車輪蟲症、海水魚虱侵擾症、魚蛭侵擾症、杯狀蟲侵擾症、卵圓鞭毛蟲症、異形吸蟲侵擾症，除海水白點蟲症好發於低水溫季節外，其他寄生蟲性疾病常伴隨水質不良而發生；細菌性疾病依體外及體內感染而區分為細菌性皮炎及全身性感染，各佔 349 例及 41 例而分別以海水弧菌及鏈球菌感染為主，二者發生率明顯在高水溫季節時為較高；病毒性疾病共有 58 例，包括有虹彩病毒及神經壞死病毒二種病原，因受限於仔稚魚送檢病例數少，故病毒檢出大多為虹彩病毒，而實驗結果指出，虹彩病毒感染症常爆發於高水溫季節。

關鍵詞：石斑魚、盛行率、疾病

### 前言

臺灣為海島國家，擁有得天獨厚的漁業發展優勢，在水產養殖方面已發展完成近 120 種魚貝類之完全養殖並與挪威、日本二國共同列入世界前三大水產養殖王國，而石斑魚為養殖魚種中的高經濟魚種，近年來在政府「石斑魚倍增計畫」的支持下掀起一股石斑魚養殖熱潮，有意願飼養石斑魚的養殖漁民數也激增，使養殖面積增加高達 2,039 公頃且年產值達 3,602 百萬元 (漁業署, 2010)。臺灣石斑養殖產業分工精細，有種魚繁殖

場、白身苗養殖場、吋苗場、成魚養殖場以因應石斑不同生長階段，同時也造就了周邊產業及銷售通路相關行業 (葉等, 2010; 葉與趙, 2010; 余, 2013)，為國內創造大量就業機會。

養殖石斑重要的病毒性疾病有二，常造成養殖石斑的高死亡率，其一為魚苗階段遭受神經壞死病毒 (Nervous necrosis virus, NNV) 感染，其二為石斑體長 2 吋半大至成魚初期階段遭虹彩病毒 (Iridovirus) 感染而引發死亡 (Nagasawa and Cruz-Lacierda, 2004; 黃等, 2006; 李, 2012; 黃, 2012; 余, 2013)。石斑仔稚魚階段若感染 NNV，發病魚之臨床症狀以迴旋游動等神經症狀為主且無明顯肉眼病變，但由罹病魚腦組織及眼睛之組織切片中可發現有特徵性空泡性壞死病灶出現 (蔡等, 2007; Pirarat *et al.*, 2009; 張等, 2010)，經鼻感

\*通訊作者 / 基隆市和一路 199 號, TEL: (02) 2462-2101  
轉 2806; FAX: (02) 2462-8138; E-mail: ccchang02@mail.tfrin.gov.tw

染為其主要感染途徑 (Nopadon *et al.*, 2009)，胃腸道亦為病毒可能入侵魚體的途徑 (Pirarat *et al.*, 2009)。

臺灣田間流行的虹彩病毒為石斑虹彩病毒 (grouper iridovirus, GIV)、嘉鱾魚虹彩病毒 (red sea bream iridovirus, RSIV) 及魚類傳染性脾臟及腎臟壞死虹彩病毒 (infectious spleen and kidney necrosis iridovirus, ISKNV) 三種基因型病毒，均造成養殖石斑之高致死率 (黃, 2012)；臺灣虹彩病毒疫情在 2003 年時以蛙病毒屬 (*Ranavirus*) 為主，直至 2012 年，外來的巨細胞屬 (*Megalocytivirus*) 虹彩病毒檢出率已超出蛙病毒屬高達 4 倍，從而成為臺灣目前田間強勢虹彩病毒 (涂, 2013)。養殖石斑常見細菌疾病為弧菌症 (vibriosis)、鏈球菌感染 (streptococcal infection)、柱狀菌群感染 (*Flexibacter* infection) (Nagasawa and Cruz-Lacierda, 2004)。引發弧菌症病原常見的病原菌為副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)、創傷弧菌 (*V. vulnificus*) 及鯊魚弧菌 (*V. carchariae*)，本病可侵犯仔稚魚、幼齡魚、成魚甚至種魚，常可造成養殖石斑魚高達 50% 的死亡率 (Nagasawa and Cruz-Lacierda, 2004)，臺灣學者針對臺灣雲嘉南地區養殖石斑池水進行細菌檢測，結果以 *V. parahaemolyticus* 分離率最高 (蔡, 2009)。可對養殖石斑造成侵擾 (infestation) 或感染 (infection) 的寄生蟲病原主要有原蟲類寄生蟲 (protozoans)、單殖類吸蟲 (monogeneans)、複殖類吸蟲 (digeneans)、線蟲 (nematodes)、橈足類 (copepods) 寄生蟲及魚蛭 (leeches) (Nagasawa and Cruz-Lacierda, 2004)，石斑在種苗繁殖場及吋苗場階段易遭原蟲性寄生蟲，尤其是纖毛蟲類寄生蟲侵擾，而後移至室外池養成時其搬運及操作所造成的緊迫，常造成原帶原魚體表寄生蟲量激增，尤其是纖毛蟲類寄生蟲，而埋下日後爆發寄生蟲性疾病的種子 (Ihwan *et al.*, 2008)。

國內外針對石斑魚疾病相關研究，大多是病毒性疾病如 NNV 及虹彩病毒之相關研究較多，而疾病盛行率及流行病學相關研究報告資料罕見，僅在中國曾發表福建省箱網養殖石斑爆發急性傳染病的調查研究，其指出疫情發生在每年 4 月下旬，幼魚及成魚均有發生，具明顯季節性特點，其常見細菌性病原為 *V. alginolyticus*、*V.*

*parahaemolyticus* 及河流弧菌 (*V. fluvialis*)，而常見寄生蟲病原主要為微孢子蟲、貝尼登吸蟲，但最主要爆發性傳染病病原為 NNV，累積死亡率可達 70 ~ 90%，NNV 平均檢出率則達 80% (冀等, 2006)。而臺灣類似水產動物疾病資料僅於官方統計數據上顯示 (黃等, 2004; 余, 2013)，但均非完全針對養殖石斑進行疾病盛行率研究，故目前缺乏可供業者直接參考之書面資料。

由於石斑魚成本及售出單價較高，石斑魚養殖業者較其他魚種養殖業者更注重養殖池水質管理及石斑魚疾病問題，但由於國內養殖石斑疾病盛行率之相關研究報告目前無人發表，本研究選定國內石斑養殖重鎮 - 屏東縣佳冬鄉進行臺灣養殖石斑疾病盛行率相關研究，與當地開業水產獸醫師合作每日受理漁民病例送檢，經後續實驗室診斷及資料整理，建立 101 年度臺灣佳冬地區養殖石斑疾病盛行率資料，以提供養殖漁民、水產相關業者及研究人員參考。

## 材料與方法

### 一、收集病例來源及分析方法

本研究之樣品來源為屏東縣佳冬地區漁民送檢魚體及水體，由本所公務獸醫每月前往駐診收集病材，其餘時間則由當地開業水產獸醫師協助收集病材，所有病材經臨床診斷後，進行採樣並寄送總所實驗室進行實驗室診斷。所有養殖漁民送檢資料及臨床初步檢查結果均記錄於病歷表並每月彙整，101 年度各月份平均氣溫則由中央氣象局網站公佈之高雄地區資料為參考值。

### 二、送檢罹病石斑魚之前置處理

接獲檢病例後，依續進行問診、罹病魚泳姿觀察並使用水質檢測專用複合測試組 (compact laboratory for water testing / MColorTest™, Merk) 進行水質檢驗。送檢魚先在水桶中以電擊實施安樂死，再進行體表及鰓絲濕壓片檢查，最後將罹病魚完全解剖，若有肉眼可見病灶則進行抹片染色、釣菌採樣、新鮮樣本採集，以及採集 10% 中性福馬林固定標本。抹片染色以劉氏染色 (ASK® Liu's Stain A and B, 東耀生物科技有限公司) 為

**Table 1** The sequence of molecular diagnostic primer set for grouper disease investigation

Primer	Primer sequence	PCR product size	Reference
<b>Viral diseases</b>			
NNV	Noda F2 5'-CGT GTC AGT CAT GTG TCG CT-3' Noda R3 5'-CGA GTC AAC ACG GGT GAA GA-3'	430 bp	Nishizawa <i>et al.</i> , 1994
Iridovirus	1-F 5'-CTC AAA CAC TCT GGC TCA TC-3' 1-R 5'-GCA CCA ACA CAT CTC CTA TC3'	570 bp	Kurita <i>et al.</i> , 1998
<b>Bacterial disease</b>			
16S rRNA gene	16SDNA20F 5'-AGA GTT TGA TCA TGG CTC AG-3' 16SDNA1500R 5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3'	> 1000 bp	Haug <i>et al.</i> , 2004

主，若出現可疑病原菌時，視情況進行革蘭氏染色 (Gram's Stain Kit with Stabilized Iodine Kit, Polysciences, Inc) 或抗酸染色 (AFB Kinyoun Kit, Polysciences, Inc)，再確認細菌的形態。各染色液之染色時間及步驟，依產品說明書建議方法並視染色實際情況略作調整進行；因考慮某些細菌生長較慢易被忽略 (如鏈球菌)，釣菌採樣以使用較具營養成份之血液培養基 (5% 綿羊血血液培養基 / BBL™, Spark, M.D.) 進行初步釣菌採樣，若抹片檢出抗酸菌時則採用商品化斜面培養基 (Lowenstein-Jensen Medium, Neogen; L-J Medium) 進行釣菌採樣。若懷疑有病毒性疾病感染時，則採取頭腎及脾臟組織置入夾鏈袋再放入 -20°C 冰箱暫存 1 週後，連同其他樣本後送實驗室進行分子生物學診斷。

### 三、病原性細菌純化及鑑定

後送至實驗室之血液培養基樣本立即進行強勢菌落選取，以釣菌環選取單一菌落後於海洋培養基 (Marine Agar 2216 / Difco™, BD) 進行劃菌純化培養，培養箱溫度設定為 25 °C，培養時間視細菌生長情形，若形成較細小菌落則多培養一天。依此法純化三次後收獲純化菌株並挑選單一菌落進行菌種保存，其餘菌落以 2 ml 海洋培養液 (Marine Broth 2216 / Difco™, BD) 沖刷菌落後，收集菌液至 0.2 ml 微量離心管中並保存於 -20 °C 待萃取細菌核酸。為初步了解引發細菌性疾病的細菌菌種盛行率，將已純化菌株之菌液解凍後，取 100 µl 菌液，以 QIA amp® genomic DNA kit 行 DNA 萃取後，以 16S rDNA 引子對 (Table 1) 進行聚合酶鏈鎖反應 (Polymerase Chain Reaction;

PCR) 增幅 16S rRNA 基因，PCR 產物經膠片電泳分析確認片段大小再進行定序。

### 四、病毒性病原鑑定

後送至實驗室之臟器組織進行乳劑研製後，取 100 µl 乳劑以 QIA amp® genomic DNA kit 行 DNA 萃取，另取 100 µl 乳劑以 TRIzol® Reagent (Gibco BRL®, Grand Island, N.Y.) 行 RNA 萃取，並分別以 iridovirus 及 NNV 特異性引子 (Table 1) 行 PCR 及 one step RT-PCR 增幅標的基因，PCR 產物經膠片電泳分析確認增幅標的基因片斷大小，選取陽性 PCR 產物 3 ~ 4 件進行定序並上網比對基因序列正確無誤後，判定為陽性。

### 五、組織病理學診斷

以 10% 中性福馬林固定標本，經水洗後進行修片、水洗、梯度酒精脫水、二甲苯及石蠟浸透、石蠟包埋後進行組織切片製作，蠟塊製成 2.5 µm 厚之蠟片，經展片、熨平、撈片並烘乾後，進行蘇木紫及伊紅染色 (Hematoxylin and Eosin Staining; H&E Stain)，染色、封片、風乾後，於光學顯微鏡下進行形態病理學判讀並拍照記錄其形態學變化，所有具診斷意義之結果均納入病例數據統計。

## 結果與討論

於 101 年 1 月至 10 月底，共分析屏東縣佳冬地區養殖漁民送檢病例共 965 件 (每場送檢

之所有罹病魚列為 1 件病例)。101 年度各月份石斑魚送檢病例數及各月份平均氣溫對照資料如 Fig. 1, 佳冬地區之養殖石斑魚在 1 月份時送檢病例數為 99 件而後逐漸減少, 直至 3 月份時送檢病例數為 70 件, 為 1~10 月份中數據最低值, 3~6 月份均維持較低送檢數量, 直至 7 月份後每月份送檢數逐月提高直至 10 月份, 10 月份送檢數為 129 件, 在 1~10 月份資料中呈最高值。屏東縣佳冬地區近年來氣溫由低溫回暖而後降低的情形有逐年往後延的趨勢, 101 年度 4 月份中旬即逐漸回暖而開始有季節交替的現象並有白天氣溫高夜間氣溫低的情徵, 至 7 月份時白天及夜間均呈現較高氣溫 (平均溫度達 29.5 °C), 此時現場開始發現有夜間養殖池水車打氣不足致使養殖石斑魚因缺氧而浮頭的現象 (此情形為夜間急診例而未列入病例統計), 10 月份時, 白天仍維持較高溫 (平均溫度仍維持在 26.6 °C) 直至晚上才轉涼。1~2 月份送檢數分別為 99 件及 95 件, 而 7~10 月份則在 103 件以上, 此指出這些月份是養殖石斑魚發生狀況較多的季節, 而 3~6 月份則狀況較少, 但 4、7、10 月份送檢病例數突增, 綜合 1~10 月份送檢病例數呈現於圖表後顯示出明顯 “W” 型的 3 波段高峰 (Fig. 1), 此現象與現場疾病統計所見之農曆 3、6、9 月 (大約為國曆 4、7、10 月份) 魚蝦貝類發生疾病及死亡波段高峰 (李等, 2009) 的情形部份相符, 此可能直接與季節交替早晚溫差變化最劇烈有關。

罹病石斑魚送檢病例檢驗結果依水質不良、寄生蟲性疾病、細菌性疾病、病毒性疾病及其他等 5 個項目進行數據分析, 結果詳見 Fig 2, 此次 101 年度研究數據顯示: 水質不良總計 453 件, 為發生率最高的石斑魚致病原因, 而寄生蟲性疾病為 439 件, 為第二高的原因, 而細菌性疾病為 349 件, 病毒性疾病則為 58 件, 其他原因不明者則有 123 件。本研究在進行病例受理時, 養殖漁民有時僅提供罹病石斑魚而無提供養殖池水送驗, 有時則僅提供養殖池水送驗, 此使本研究有關水質分析方面之數據較實際數據略有些許偏差, 但部份病例如亞硝酸中毒症之病魚, 在病理切片下仍能就其鰓薄板上皮間微細血管擴張而呈囊泡之形態學變化研判有無水質不良的證據, 故病理切片研判陽性結果亦納入數據資料中。臺

灣養殖池水質不良常見原因有亞硝酸及總氮濃度過高 (對石斑魚有直接的毒性)、pH 值過高或過低 (不利於石斑魚的生長)、溶氧不足 (餵食甚至死亡)、氣泡病 (血管栓塞及死亡) 及水色不佳 (藻相消失、水質不穩定) 等 (李等, 2009; Noga, 2010a), 本研究為針對養殖石斑魚, 故在水質測定項目中略去硬度及鹼度項目而檢測水中亞硝酸濃度、總氮濃度及 pH 值, 並加上化學需氧量 (chemical oxygen demand, COD) 測定而求出水中有機質的含量, 合計共檢測 4 個項目。增列 COD 檢測的原因為石斑魚養殖池中常因殘餌較多同時加上養殖時間較久, 易造成養殖池水及底土總有機碳 (total organic carbon, TOC) 含量較高而使水中細菌總含量升高 (劉, 2001), 後續又會有水中氨氮含量提高大型藻類過度生長致使水色消失而造成石斑魚緊迫的連鎖反應, 故水中有機質過高亦是造成養殖池水質惡化的重要前置因子。

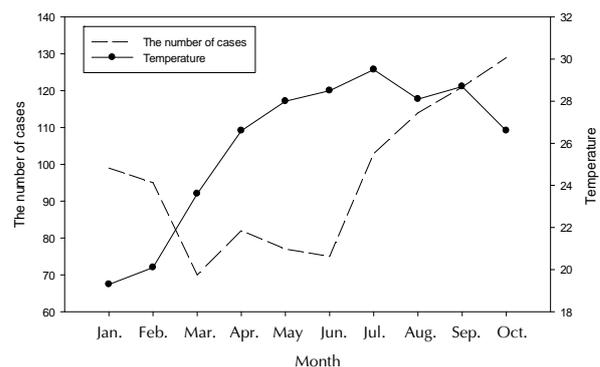


Fig. 1 The cases submitted for inspection and the temperature comparison table.

由 Fig. 2 的資料可見, 養殖池水質不良由 1~10 月份呈現先高後低而又升高的波動變化, 其中在 1、2、8、9、10 月份均呈現較高值, 但 8 月份後數值又開始緩慢下降, 此現象與年度病例送檢數所顯示的波型幾乎呈現正相關 (亦具 W 型波段), 此顯示水質不良與疾病發生有相當的關聯性; 寄生蟲性疾病與水質不良發生的頻度 (水質不良佔 453 例、寄生蟲性疾病佔 439 例) 相較於其他疾病項目, 二者均呈現較高值且二者所顯示的波型亦相當接近, 此一證據亦說明水質不良常伴隨有繼發性養殖池水中寄生蟲數量增多而致使養殖石斑魚遭受寄生蟲的侵擾, 而佳冬地區養殖漁民所困擾之寄生蟲疾病多發生於 1~3 月及 8 月

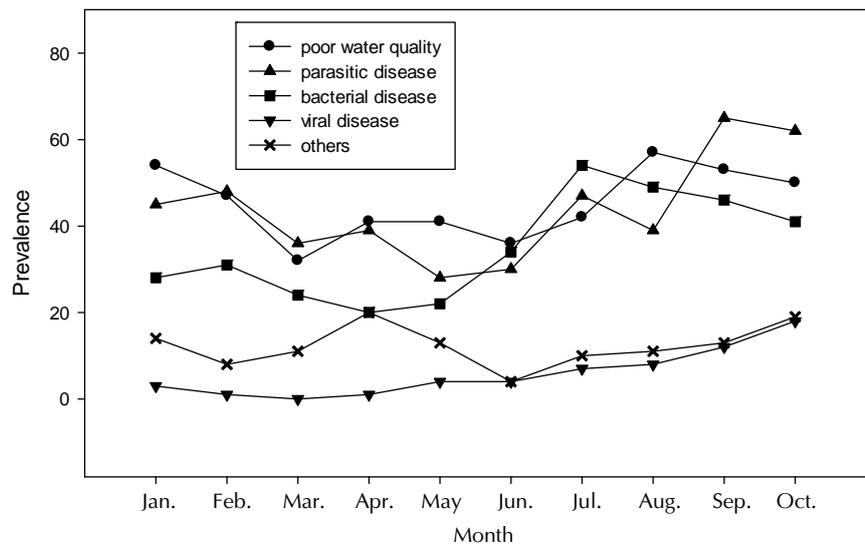


Fig. 2 The prevalences of different diseases in the diseased grouper submitted for inspection.

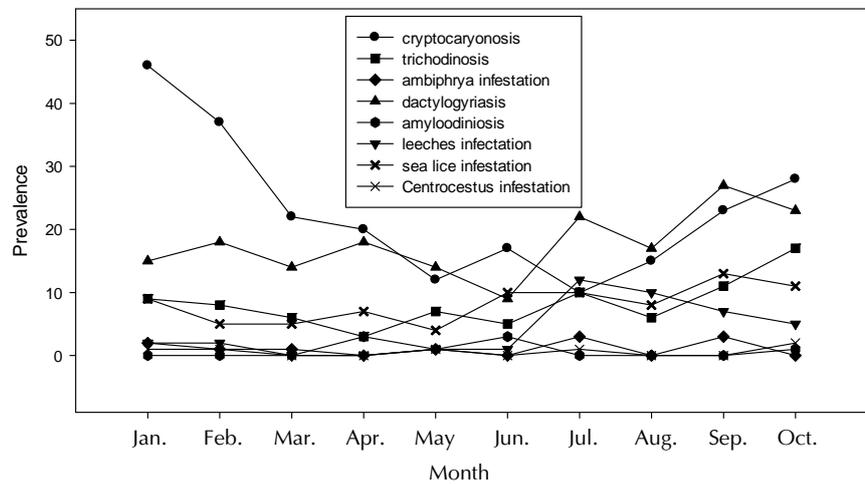


Fig. 3 The prevalences of different parasitic diseases in the diseased grouper submitted for inspection.

份過後。細菌性疾病之波型則較單純且波動小，4月份氣溫為23℃，為1~10月間發生率最低時節，隨氣溫的升高細菌性疾病的發生率也開始提高，而在7月份（氣溫29.5℃）達到1~10月間之最高值，此情形合乎細菌隨溫度升高而加快增殖的特性；病毒性疾病之總發生率偏低且缺乏高低起伏之波型變化，但仍是自4月份開始有發生率升高的趨勢並在10月份時達最高，此證實石斑魚病毒性疾病好發於較高水溫季節。本研究所收集病毒性疾病病材，大多為2吋半以上石斑魚病材，而較小魚苗階段病材因來源問題（佳冬地區生產魚苗養殖戶較少且魚苗一旦發病死亡，養殖漁民均整池放流出排水溝而不送檢）而致使NNV檢出率偏低（僅6件）而造成本研究數據資料顯示以虹彩病毒為主，因此有關NNV方面的資料不足以列入石斑魚病毒性疾病的討論中，意即不具代表性。

寄生蟲疾病依不同寄生蟲種類進行細項分析，詳見 Fig. 3。各種寄生蟲疾病每月發生率均呈現波動情形，其發生數由高而低依序為：海水白點蟲症 (cryptocaryonosis) 計 230 件，指環蟲症 (dactylogyriasis) 計 177 件，車輪蟲症 (trichodinosis) 計 82 件，海水魚虱侵擾症 (sea lice infestation) 82 件，魚蛭侵擾症 (leech infestation) 計 40 件，杯狀蟲侵擾症 (ambiphrya infestation) 計 11 件，卵圓鞭毛蟲症 (amyloodiniosis) 計 8 件，異形吸蟲侵擾症 (centrocestus infestation) 計 6 件。由圖表中可見各種寄生蟲疾病之發生均呈現波動現象，其中海水白點蟲及指環蟲在 1~10 月間其每月發生率相較於其他寄生蟲性疾病均呈現明顯偏高的現象，而車輪蟲症及魚虱侵擾症則屬中等程度發生率之寄生蟲性疾病，其他寄生蟲性疾病則發生較

少。海水白點蟲症發生率所呈現的波型在低水溫季節明顯呈現高值而在高水溫季節則呈現較低值，但仍較其他寄生蟲疾病有較高的發生率，相較一般對海水白點蟲症好發於低水溫的認知而言，海水白點蟲似乎有逐漸適應高水溫季節而呈現全年度發生的現象；指環蟲症則在 1~10 月間均呈高發生率，6 月間發生率最低，但於高水溫季節發生率較高；車輪蟲症每月發生率呈波動現象而在 1、5、7 及 10 月間有高峰出現，在 4 月間發生率則最低，但 4 月後隨水溫升高而發生率隨之提高的現象則較明顯；海水魚虱侵擾症的發生率與車輪蟲症類似，均呈中等程度發生，但發生率波動現象較車輪蟲症和緩，但在高水溫季節發生較多；魚蛭侵擾症的發生率則由 6 月份時開始明顯攀升而在 7 月份達高峰後逐漸減少；其他寄生蟲性疾病因發生病例數較少，而無法求得其每月份發生率趨勢。

細菌性疾病佔 349 例，佔疾病發生頻度的第三位，Fig. 4 顯示細菌性皮膚炎 (bacterial dermatitis) 的發生率明顯高於腹膜炎/敗血症 (peritonitis/septicemia) (以後簡稱腹膜炎)，而二者發生頻度所顯示的波型均類似，顯示出隨溫度升高而發生率升高的特徵性現象，但細菌性皮膚炎的高發生率落於 7 月最高溫季節，而腹膜炎則高峰後移至 8 月份，此可能與體內感染有潛伏期，意即體內病原菌需時間增殖直至總量壓倒魚體免疫系統功能而造成石斑魚發病有關；另一方面而言，石斑魚體表正常即包覆有一層富含由上皮細胞層所分泌多種保護物質的黏液，此黏液在水質惡化或寄生蟲機械性刺激下，會先增多而後減少接著便使病原菌二次性感染的機會大幅度提高，亦可說明養殖石斑魚細菌性皮膚炎的發生源由，但高水溫季節因細菌增殖增快而致使養殖池水中病原菌總量增多而使皮膚炎發生率增多也是不可或缺的重要前置因子之一。

細菌性皮膚炎病例所分離純化之病原菌經 PCR 增幅 16S rRNA 基因後，PCR 產物經基因序列比對後發現，石斑魚感染細菌性皮膚炎病灶處行釣菌所得之樣本細菌，經鑑定後發現大多為海水弧菌，最常見者為哈維氏弧菌 (*V. harveyi*)，佔總檢出率 63.33%；其餘檢出結果依序為 *V. vulnificus* 佔總檢出率 23.33%；*V. parahaemolyticus* 則佔總檢出率 10%，此外，脾

臟釣菌所得樣本經鑑定後發現大多為 *Streptococcus iniae*，此結果說明造成送檢石斑魚皮膚創傷病灶之病原菌主要以哈維氏弧菌為主，而引發石斑魚腹膜炎之主要病原菌則是 *S. iniae* (所有已鑑定結果均為 *S. iniae*)。

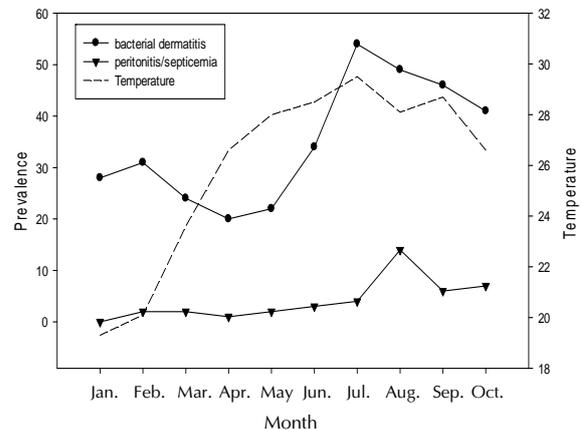


Fig. 4 The prevalences of bacterial diseases in diseased grouper under different temperature conditions.

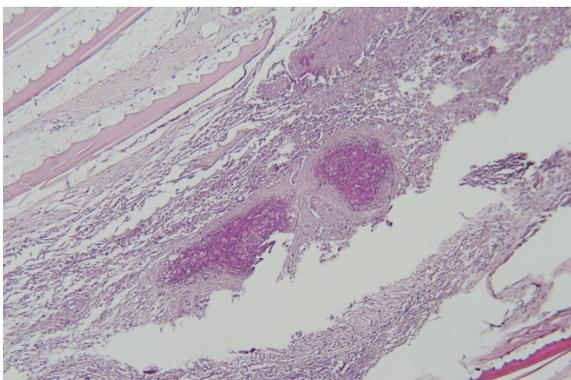
本年度養殖石斑魚疾病研究首度發現一較特殊病例，該病例為分枝桿菌感染養殖石斑魚並引發潰瘍性皮膚炎 (Fig. 5)，該皮膚炎病灶主要出現於石斑魚體表較突出部位，如魚鰭部位、鰓蓋邊緣處、頭尾部及口部，且呈現多發局部性分佈，甚至在口腔內黏膜也可發現大小不一之潰瘍性病灶，該病灶進行塗抹片採樣再行抗酸性染色後，於光學顯微鏡下可發現特徵性肥短樣抗酸性分枝桿菌，皮膚潰瘍病灶部位組織經 10% 中性福馬林固定後製成組織切片觀察，可發現皮膚壞死區域深入至肌肉層，並可見多發局部肉芽腫性炎症 (Fig. 6)，經抗酸染色後發現有陽性分枝桿菌的菌體出現於肉芽腫病灶區內 (Fig. 7)。此類皮膚型分枝桿菌感染病例有別於以往典型內臟型感染，在本研究病例中的罹病石斑魚，體型大多是發生於近 1 斤重 (上市體重) 之青斑與馬拉巴石斑等。

綜觀本研究結果，國曆 4、7、10 月全年溫度波動較大季節時及高水溫季節漁民送檢病例較多，意即此時養殖石斑魚較易遭受病原感染，尤其是虹彩病毒及細菌性疾病更是在高水溫季節頻頻爆發，而水質不良亦常見於高水溫季節，而寄生蟲性疾除海水白點蟲好發於低水溫外，常隨著養殖池水質惡化後接踵而至，此再次指出養殖水

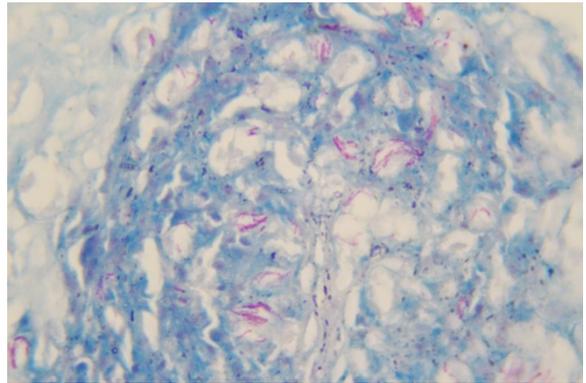
質環境良好與否與寄生蟲性疾甚至其他細菌性及病毒性疾病的發生均有直接的關聯性。由於石斑養殖均需要放養一年左右，而大型石斑如龍膽石斑養殖至上市體型更需要三年左右，而養殖石斑在種苗場及吋苗場即帶有寄生蟲而污染石斑養成池 (Ihwan *et al.*, 2008)，而在石斑養殖後期時，因池底堆積大量有機物而呈老化狀態，且累積大量其他病原，在低水溫期時這些病原除海水白點蟲外，大半呈蛰伏狀態，但隨水溫升高後，底泥有機物上揚至中上水層而促使寄生蟲及細菌大量增殖，造成水質惡化及病原量激增而爆發疫情；而季節交替時節，養殖池內藻類易發生大量死亡而引發水質不穩定，亦造成養殖石斑緊迫而易遭受疾病感染 (Noga, 2010b)，而死亡藻體亦是微生物大量增殖的溫床，此亦是疾病爆發的重要原因 (黃與陳, 2006)，是故季節交替時節及高水溫季節，需慎防傳染性疾病的發生，而冬季則要偏重海水白點蟲的防治。



**Fig. 5** Multifocal ulcerative lesions found on the skin of grouper affected by *Mycobacteria* spp. in 2012.



**Fig. 6** Typical granulomatous inflammation found in ulcerative dermal lesions taken from diseased grouper infected by *Mycobacteria* spp. (200 folds, H&E stain).



**Fig. 7** *Mycobacteria* spp. could be identified in granulomatous lesions after acid-fast staining (1000 folds).

另一問題是石斑吋苗場出貨前的魚體寄生蟲處理與否，此與未來養成階段爆發寄生蟲性疾與否有直接的關聯性，此值得相關業者深思。本研究指出，細菌性病原感染養殖石斑絕大部份為皮膚感染病例，大多以局部至多發局部皮膚糜爛至潰瘍病灶為主，嚴重病例則出現廣泛性病灶，此大多錯過黃金治療期 (發病一週內)，而致治療困難及癒後賣相不佳的後果；而有關於養殖石斑分枝桿菌皮膚感染病例出現，推測可能是魚販收成時，使用遭分枝桿菌污染的網具，污染網具在捕撈過程中先造成石斑魚體表機械性創傷後，再由分枝桿菌在石斑魚皮膚傷口造成繼發性感染，此類病例以往罕見於養殖石斑，而後經筆者持續追蹤後發現，直至 102 年度在此類病例在屏東佳冬地區有愈演愈烈的趨勢，類似病例在宜蘭地區也有出現，但在魚體內臟器發現有粟粒樣結節病灶，該批罹病石斑幼魚由臺灣南部地區購入 (顧等, 2013)，由於高屏地區甚至於北部宜蘭縣均出現石斑感染分枝桿菌，此指出分枝桿感染症如今已經成為臺灣本島養殖石斑魚的地方性流行病，此值得漁政單位、水產試驗研究及學術研究單位、現場養殖及水產獸醫師提高警覺。

由於臺灣石斑魚養殖為分工精細的產業，各階段不同飼養管理模式的養殖漁場承作，可降低疾病的發生以提高石斑魚的育成率，此為「預防重於治療」的概念 (葉及趙, 2010; 葉等, 2011)，因魚類疾病的發生常與水環境的緊迫有關聯性，故養殖魚類的健康及免疫調節完全仰賴養殖漁民的水質管理 (Roberts, 2012)，養殖漁民依照石斑各階段成長需求而做出調整，此大幅度降低石斑魚

環境緊迫因素，也減少由成魚潛伏性感染原傳染幼魚的危險，其實此方式也就是針對藥石罔效的病毒性疾病如NNV及虹彩病毒的特殊養殖策略。國內外學者專家針對上述二種疾病發展出洗卵技術 (Buchan, 2006) 及死毒疫苗進行控制，國內石斑魚產業在洗卵技術業已臻成熟，魚苗產量也因而提高。行政院農業委員會家畜衛生試驗所已於民國100年試製100萬劑虹彩病毒不活化疫苗進行疫苗注射示範推廣，實施至今已3年，成功增加2~3成養殖石斑之育成率 (黃, 2012)，此意味此疫苗已顯現其有效保護力。上述三種病毒防疫策略，再加上國內學者已發表之NNV疫苗研發成果 (Kai *et al.*, 2010) 實際應用於產業界後，相信在不久的未來可解決國內養殖石斑產業仔稚魚階段所困擾的病毒性疾病，並在往後的數年中在養殖石斑族群中逐漸降低其威脅，而後石斑養殖業者將開始正視石斑養成階段疾病的困擾，這也是本研究進行的初衷。體長2吋半後之養殖石斑盛行疾病是本研究探討的重點，此養成階段投入的人力及養殖成本較高、收益較大且有望治癒，故漁民較有意願尋求專業協助並投入治療成本。本研究每日受理養殖石斑病例並將診斷結果分析後得出實驗結果，足可忠實呈現目前國內養殖石斑養成階段之疾病現況，使公務體系及民間專業疾病防治資源較易投入而協助國內石斑養殖產業，此外，除提供魚病警訊外，尚可提供防疫單位及魚病研究單位進行防疫政策修訂及研究應用方向之參考。

## 謝 辭

本研究執行期間，受屏科大獸醫學系謝嘉裕博士及諸多其他校友的協助、本所水產養殖組同仁有關水產動物試驗及養殖經驗之傳授、行政院農業委員會家畜衛生試驗所涂堅組長、黃助理研究員淑敏及動植物防疫檢疫局余技正俊明諸多指導，特此致謝。本研究經費來源為本所科技計畫-「水產種苗研究團隊-石斑魚重要疾病之研究」，計畫編號為101農科-11-3.3-水-A3(3)。

## 參考文獻

- 余俊明 (2013) 石斑魚防疫措施推動之概況. 動植物防疫檢疫, 36: 23-25.
- 李建霖, 陳亮君, 蔡明吉, 盧彥伶 (2009) 養殖管理, 疾病防治與水產品衛生安全. 水產動物疾病防治及正確用藥手冊, 財團法人臺灣養殖漁發展基金會編印, 14.
- 李建霖 (2012) 疾病防治與自主管理. 水產動物養殖管理及疾病防治實用手冊, 財團法人臺灣養殖漁業發展基金會發行, 94-100.
- 涂堅 (2013) 101年水產動物病毒性疾病調查-由疾病調查, 找出水生動物防疫對策. 水產動物防疫簡訊, 22: 2-7.
- 張志堅, 周賢鏘, 謝明昌, 林金榮 (2010) 漫談病毒性神經壞死症. 水試專訊, 31: 25-28.
- 黃淑敏 (2012) 石斑虹彩病毒不活化疫苗之研發與田間應用. 農政與農情, 242: 93-96.
- 黃世鈴, 陳秀男 (2006) 鰻魚養殖要點及池塘清理消毒. 鰻魚養殖之健康管理 (水產試驗所特刊第8號), 行政院農業委員會水產試驗所編印, 基隆, 臺灣, 113-123.
- 黃淑敏, 涂堅, 程建智, 郭舒亭, 林上海, 蕭終融 (2004) 養殖魚類疾病之檢診服務及監測. 行政院農業委員會家畜衛生試驗所研究報告, 40: 9-17.
- 葉信利, 趙嘉本 (2010) 石斑魚繁殖及疾病介紹. 水產動物生產醫學教育訓練專輯 (二). 行政院農業委員會家畜衛生試驗所, 新北市, 臺灣.
- 葉信利, 朱永桐, 林峰右 (2011) 石斑魚養殖健康管理與發展策略. 2010石斑魚精緻養殖研討會論文集 (水產試驗所特刊第12號), 行政院農業委員會水產試驗所編印, 基隆, 臺灣, 1-8.
- 漁業署 (2010) 精緻漁業專章. 中華民國台閩地區漁業年報, 行政院農業委員會漁業署, 台北, 臺灣.
- 劉文御 (2001) 養殖用水的重要化學性質. 水產養殖環境學: 水質, 底質, 循環用水, 魚蝦疾病控制. 行政院農業委員會水產試驗所專著: 001號, 行政院農業委員會水產試驗所編印, 基隆, 臺灣, 29-40.
- 蔡明吉 (2009) 臺灣雲嘉南地區石斑魚養殖池中人畜共通弧菌之流行病學及抗菌劑感受性試驗. 國立嘉義大學獸醫學系研究所碩士論文, 60-64.
- 蔡信雄, 謝嘉裕, 吳宗炳 (2007) 病毒篇. 石斑魚疾病防治, 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局出版, 台北, 臺灣, 1-16.
- 冀艷清, 陳信忠, 王軍, 蘇雅玲, 俞秀霞, 黃麗莎, 蘇永全 (2006) 福建南部養殖石斑魚爆發性流行病流行調查. 福建農林大學學報 (自然科學版), 35 (5).
- 顧有為, 趙從泰, 陳永明, 游志煌, 陳文進 (2013) 石斑魚分枝桿菌感染症. 動物衛生報導, 第14期. 雲

- 林縣動植物防疫所編印, 雲林, 臺灣, 16-23.
- Buchan, K.A.H., D. J. Martin-Robichaud, T. J. Benfey, A. M. Mackinnon and L. Boston (2006) The efficacy of ozonated seawater for surface disinfection of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) eggs against piscine nodavirus. *Aquacul. Eng.*, 35: 102-107.
- Ihwan, M. Z., H. F. Shaharom and M. Kartini (2008) A comparative prevalence study of ectoparasites in wild and cultured grouper before and after transportation. *Nat. Fish. Sym. (NaFis)*, Terengganu, Malaysia.
- 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: 996-1001.
- Kurita, J., K. Nakajima, I. Hirono and T. Aoki (1998) Polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Path.*, 33: 17-23.
- Nagasawa, K. and E. R. Cruz-Lacierda (2004) Disease of Cultured Groupers. Southeast Asian Fisheries Development Center Aquaculture Department, Government of Japan Department, Iloilo, Philippines, 3-56.
- Nishizawa, T., K. Mori, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga (1994) Polymerase chain reaction (PCR) amplification of RNA of striped jack nervous necrosis (SJNNV). *Dis. Aquatic Organ.*, 18: 103-107.
- Noga, E. J. (2010a) The clinical workup. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment* (2nd ed.), Iowa State Univ. Press, Iowa, U.S.A., 13-20.
- Noga, E. J. (2010b) Guidelines for interpreting clinical findings. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment* (2nd ed.), Iowa State Univ. Press, Iowa, U.S.A., 65-68.
- Nopadon, P., P. Aranya, T. Tipaporn, N. Toshihiro, K. Takayuki, M. Masashi and E. Makoto (2009) Nodavirus associated with pathological changes in adult spotted coral groupers (*Plectropomus maculatus*) in Thailand with viral nervous necrosis. *Res. Vet. Sci.*, 87: 97-101.
- Pirarat, N., T. Katagiri, M. Maita, T. Nakai and M. Endo M (2009) Viral encephalopathy and retinopathy in hatchery-reared juvenile thread-sail filefish (*Stephanolepis cirrhifer*). *Aquaculture*, 288: 349-352.
- Roberts, R. J. (2012) The aquatic environment. *Fish Pathology* (4<sup>th</sup> ed.), Blackwell Pub. Ltd., Oxford, UK, 1-17.

## Prevalence Rates of Diseases Among Farmed Grouper in Jiadong Township, Pingtung County

Chih-Chien Chang<sup>1,2\*</sup>, Shang-Hai Lin<sup>3</sup>, Mei-Ying Huang<sup>1</sup>, King-Jung Lin<sup>4</sup>, Chin-I Chang<sup>1</sup>  
and Shioh-Suey Lai<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aquaculture Division, Fisheries Research Institute

<sup>2</sup>Institute of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, National Taiwan University

<sup>3</sup>Shanghai Aquatic Animal Hospital

<sup>4</sup>Penghu Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

### ABSTRACT

Jiadong Township in Pingtung County is a high-density grouper raising area for growing out farmed grouper. In order to determine the disease-related problems that occur during the grow-out phase, we accepted cases for examination submitted by fish farmers from January to October of 2012. After finishing routing water quality measurements and clinical examinations, we also collected and sent samples to the laboratory and carried out subsequent pathological and molecular diagnosis. All the experimental data were analyzed in order to establish farmed grouper disease prevalence data. We collected 965 diseased grouper cases and categorized the data into types of poor water quality, parasitic disease, bacterial disease, viral disease and others. The disease prevalence rates ranging from highest to lowest were poor water quality (47.56%), parasitic disease (45.49%), bacterial disease (36.17%), others (12.75%) and viral (6.01%). The main reasons for the poor water quality were high nitrite concentrations, high ammonium concentrations, high organic matter concentrations and abnormal pH values. The prevalence rates of parasitic diseases from highest to lowest were Cryptocaryonosis, Dactylogyriasis, Trichodinosis, sea lice infestation, leech infestation, Ambiphrya infestation, Amyloodiniosis, and *Centrocestus* infestation. Cryptocaryonosis was commonly found during the low-temperature season, and other kinds of parasitic diseases usually were associated with poor water quality. The bacterial diseases were divided into bacterial dermatitis (349 cases) and systemic infection/peritonitis (41 cases) based on external and internal infections, which were caused by *Vibrio* and *Streptococcus*, respectively. These two bacterial diseases were common during the high-temperature season. The total number of viral disease cases was 58, including cases caused by iridovirus and nervous necrosis virus. Among the cases, most were iridovirus. It also indicated the iridovirus infection commonly breaks out during the high-temperature season.

**Key words:** grouper, prevalence, disease

---

\*Correspondence: Aquaculture Division, Fisheries Research Institute, 199 Hou-lh Rd, Keelung 202, Taiwan. TEL: (02) 2463-3101; FAX: (02) 2462-8138; E-mail: ccchang@mail.tfrin.gov.tw