



九孔幼生病害原因 調查

楊鴻禧、李榮涼、陳敏隆、丁雲源

水產試驗所海水繁養殖研究中心

前言

2001年宜蘭九孔苗產區在九孔繁殖季節發生九孔大量脫落現象，2002年擴及台東地區及台南及高雄九孔苗產區，僅台南部份地區、高雄永安、苗栗、澎湖及金門倖免於難。九孔種苗脫板現象發生在0~45天，其中以7~15天之頻率為最高，亦有種苗在人工剝板後大量死亡的現象。造成九孔幼生脫落原因，業者眾說紛雲，一般認為水質不良、有毒藻類引起、細菌感染、或餌料不足...等因素所造成。本中心在九孔種苗繁殖期間至高雄、宜蘭、台東等地區初步調查，發現有些養殖場九孔著苗密度太高，有些則是橈腳類大量發生，有些是塑膠板上藻類豐富但藻相混雜或昆蟲繁生，有些則是水質惡化等等。

九孔種苗發生脫落現象不只發生在台灣，自1999年起中國大陸沿海，南至海南島也發生種苗大量脫落現象。由此可見，病害的發生是全面性，而且可能是某一因素所造成。為了解病害的發生是由何原因造成，因此對於幼苗培育池之水質、藻類、細菌和病毒等可能致病因素加以全面性調查，以做為擬定對策之參考。

材料與方法

一、調查地區與時間

調查地區為臺南地區（兩個採樣點）、高雄縣地區（兩個採樣點）、台東場僅於11月份檢測三個採樣點。

調查時間為2002年3月、6月、9月、10月、11月、12月。

二、調查方法

(一) 水質調查

採取養殖池進水水樣，測定因子包括溫度、鹽度、重金屬、營養鹽等項目。

(二) 細菌種類調查

1、養殖池水生菌數、菌相分析：

以滅菌採水瓶採取池水，再以0.95% NaCl 無菌水分別做10倍之連續稀釋液組，再將各組不同倍數稀釋之試水，分別各取 $100 \mu l$ ，以TSA (含2.5% NaCl) 培養基培養 (28°C , 3 days) 後計算菌落數（採雙重覆培養計數），再換算試水每1 ml中的生菌數量。分別選取適當菌落數(20~200)個之培養基，以逢機隨意挑取20株菌落，經3次純化培養後，以革蘭氏染色法染色，再以100倍油鏡鏡檢確定純種後以MICROBACT 24E系統鑑定菌種，分析各池水菌種生菌數量 (CFU/ml) 與菌相組成。

2、九孔苗附著板生菌數、菌相分析：

以無菌棉花棒刮取一定面積苗板上之附著物，將此棉花棒之附著物清洗至0.95% NaCl無菌水試管中，均質後同上述之方法測定生菌數、與菌相，在依所

得生菌數量計算九孔苗附著板單位面積之生菌數 (CFU/cm²)。

3、九孔苗生菌數、菌相分析：

摘取九孔苗腹足含內臟，再以無菌生理食鹽水洗滌，隨即置入含9 ml、0.95% 無菌生理食鹽水試管中，均質後，如同上述方法加於稀釋、培養、計數以了解每隻九孔苗的生菌數量與菌相組成。如遇大型苗可輕易分別處理出腹足肌肉與肝臟，則分別測定其肌肉與肝臟之生菌數量與菌相組成。

(三) 微細藻類調查

採取九孔幼生培育池中之微細藻類，攜回實驗室以高倍顯微鏡檢查、分類並拍照。

(四) 病毒性調查研究

採取塑膠板上之幼生分別儲放於10% 福馬林以及2.5% 戊二醇電顯液中寄至家畜衛生所委託檢驗病毒。

結果與討論

一、水質環境調查

矽酸鹽、磷酸鹽及硝酸鹽是九孔攝食之微細藻類生長必需營養鹽。表1為矽酸鹽調查結果，台南一場年平均1.1000 ppm。台南二場年平均1.2097 ppm。高雄一場

表1 不同養殖區域養殖用水之矽酸鹽最低、最高及年平均含量

區域	最低 (ppm)	最高 (ppm)	年平均 (ppm)
台南一場	0.8064	1.1710	1.1000
台南二場	0.5917	1.7560	1.2097
高雄一場	0.2020	0.8592	0.4768
高雄二場	0.3353	1.3733	0.7050
台東場	三個採樣點平均 0.4143 ppm		

年平均 0.4768 ppm。高雄二場年平均 0.7050 ppm。台東場平均 0.4143 ppm，各地區比較以台南區最高、其次高雄區、台東區最低。

表2 為磷酸鹽之調查結果，臺南一場

年平均 0.0772 ppm。臺南二場年平均 0.0474 ppm。高雄一場年平均 0.0308 ppm。高雄二場年平均 0.0480 ppm、台東場平均 0.0191 ppm，各地區比較以台南區最高、其次高雄區、台東區最低。

表2 不同養殖區域養殖用水之磷酸鹽最低、最高及年平均含量

區域	最低 (ppm)	最高 (ppm)	年平均 (ppm)
臺南一場	0.0066	0.1854	0.0772
臺南二場	0.0108	0.1168	0.0474
高雄一場	0.0016	0.0928	0.0308
高雄二場	0.0058	0.1290	0.0480
台東場	三個採樣點平均 0.0191 ppm		

表3 為硝酸鹽之測定結果，臺南一場年平均 3.8717 ppm。臺南二場年平均 4.0050 ppm。高雄一場年平均 3.8616 ppm

。高雄二場年平均 3.1558 ppm、台東場平均 3.2284 ppm，各地區比較以台南區最高、其次高雄區、台東區最低。

表3 不同養殖區域養殖用水之硝酸鹽最低、最高及年平均含量

區域	最低 (ppm)	最高 (ppm)	年平均 (ppm)
臺南一場	2.1628	5.6891	3.8717
臺南二場	2.5696	6.1908	4.0050
高雄一場	2.5957	5.0333	3.8616
高雄二場	1.6109	4.5351	3.1558
台東場	三個採樣點平均 3.2284 ppm		

氨氮鹽類具有毒性不利九孔生長，經調查在臺南一場年平均 0.0705 ppm。臺南二場年平均 0.1188 ppm。高雄一場年平均 0.1686 ppm。高雄二場年平均 0.1292 ppm（表 4）、台東場平均 1.0890 ppm，各地區比較以高雄區最高、

其次臺南區、台東區最低。

亞硝酸鹽類亦具有毒性，會影響九孔生長，經調查在臺南一場年平均 0.0293 ppm。臺南二場年平均 0.0182 ppm。高雄一場年平均 0.0066 ppm。高雄二場年平均 0.0079 ppm（表 5）、台東場平均

表4 不同養殖區域養殖用水之氨、氮鹽類最低、最高及年平均含量

區域	最低 (ppm)	最高 (ppm)	年平均 (ppm)
臺南一場	0.0103	0.1693	0.0705
臺南二場	0.0346	0.3261	0.1188
高雄一場	0.0281	0.5665	0.1686
高雄二場	0.0080	0.5308	0.1292
台東場	三個採樣點平均 1.0890 ppm		

表5 不同養殖區域養殖用水之亞硝酸鹽最低、最高及年平均含量

區域	最低 (ppm)	最高 (ppm)	年平均 (ppm)
台南一場	0.0040	0.0503	0.0293
台南二場	0.0044	0.0203	0.0182
高雄一場	0.0009	0.0117	0.0066
高雄二場	0.0002	0.0137	0.0079
台東場	三個採樣點平均 0.2850 ppm		

0.2850 ppm，各地區比較以台南區最高、其次台東區、高雄區最低。

重金屬銅含量檢測結果台南一場最高13.50 ppb、台南二場最高8.25 ppb、高雄一場最高20.00 ppb、高雄二場最高16.25 ppb、台東場平均3.83 ppb。以高雄區含量最高。

鎘含量檢測結果台南一場最高2.75 ppb、台南二場最高2.75 ppb、高雄一場最高2.75 ppb、高雄二場最高2.75 ppb、台東場平均2.08 ppb。以高雄區和台南區含量最高。

鋅含量檢測結果台南一場最高43.25 ppb、台南二場最高40.25 ppb、高雄一場最高55.25 ppb、高雄二場最高55.25 ppb、台東場平均19.91 ppb。以高雄區含量最高。

鉛含量檢測結果台南一場最高9.75 ppb、台南二場最高12.25 ppb、高雄一場最高10.75 ppb、高雄二場最高

12.50 ppb、台東場平均8.50 ppb。以高雄區含量最高。

鎳含量檢測結果台南一場最高17.50 ppb、台南二場最高15.00 ppb、高雄一場最高35.00 ppb、高雄二場最高15.00 ppb、台東場平均10.00 ppb。以高雄區含量最高。

水溫年度變化：台南區21~29.5 °C，高雄區24~28.7 °C。鹽度變化：台南區31~34 ppt，高雄區30.5~34 ppt。

總結水質分析結果，以台南區水質最佳、其次是台東區、再次是高雄區。這三區的水質狀況對九孔的生存並不構成威脅，研判九孔幼苗的脫落與水質並沒有相關。但從少數養殖池亦檢測到氨基與亞硝酸含量特高情形，這些只是特例，主要是養殖池管理不善所導致。

二、細菌種類

各區養殖用水總生菌量年度變化，台南一場 $10^2\sim10^3$ ，台南二場 $10^3\sim10^4$ ，高雄

表6 不同養殖區及月份養殖用水之總生菌數 (CFU/ml)

月份	台南一	台南二	高雄一	高雄二
三月	3.5×10^3	3.1×10^3	1.4×10^3	1.0×10^2
六月	5.6×10^3	1.4×10^4	1.2×10^4	3.1×10^3
九月	2.6×10^3	2.0×10^3	2.9×10^2	5.2×10^2
十月	6.3×10^2	5.2×10^3	2.1×10^3	7.0×10^2
十一月	8.0×10^3	9.0×10^3	1.1×10^4	1.5×10^4
十二月	1.0×10^3	4.7×10^3	1.1×10^3	-

一場 $10^2\sim10^4$ ，高雄二場 $10^2\sim10^4$ （表6）。池水菌種分析台南一場僅於6月檢測到一株溶藻弧菌（*Vibrio alginolyticus*），台南二場並沒有檢測到溶藻弧菌，高雄一場僅於6月檢測到一株溶藻弧菌，高雄二場6月檢測到3株溶藻弧菌，12月僅高雄兩場檢測到溶藻弧菌。溶藻弧菌菌株在水中總菌株之比例並不高（表7）。九孔總生菌量變

化從 $10^1\sim10^6$ （表8）。九孔身上溶藻弧菌的檢測以6月及12月含量較高，推測九孔溶藻弧菌的來源應是攝食藻類。但整體而言，在這次調查溶藻弧菌菌株對九孔身上菌株的比率比較（表9），顯然偏低，故推測種苗的脫落應不是溶藻弧菌所造成。

表7 不同養殖區及月份養殖用水之溶藻弧菌菌株在細菌總菌株之比例

月份	台南一	台南二	高雄一	高雄二
三月	0/10	0/10	0/10	0/1
六月	1/10	0/10	1/10	3/10
九月	0/10	0/10	0/10	1/10
十月	0/10	0/10	0/10	0/10
十一月	0/10	0/10	0/10	0/10
十二月	0/10	0/10	4/10	2/10

表8 不同養殖區及月份九孔幼生之總生菌數 (CFU/個)

月份	台南一	台南二	高雄一	高雄二
十月	0	3.6×10^1	2.4×10^2	5.4×10^1
十一月	5.0×10^5	4.4×10^5	8.0×10^4	1.3×10^2
十二月	6.3×10^4	1.1×10^5	1.3×10^6	-

註：0 檢測不到； - 未檢測

表9 不同養殖區及月份九孔幼生之溶藻弧菌菌株在細菌總菌株之比例

月份	台南一	台南二	高雄一	高雄二
三月	0/10	3/10	0/10	0/10
六月	1/10	2/10	1/10	2/10
九月	0/10	0/10	0/10	0/10
十月	0/10	1/10	0/10	0/10
十一月	0/10	0/10	0/10	0/10
十二月	1/10	0/10	4/10	0/10

三、微細藻類

台南地區藻類生長良好，但林園地區藻類生長在不同繁殖場之間有很大差異。台東地區繁殖場藻類生長亦有相同情況。種苗脫落現象有一些共通性就是

塑膠浪板上之矽藻生長不良。藻類生長不良將導致九孔幼生營養不良，對細菌或病毒抵抗能力減弱。在台東場普遍發生藻類生長不良是一個明顯的例子。藻類生長不良雖然與水質之營養鹽有關，

但是橈腳類大量發生對藻類的生長或浮游幼生的存活是嚴重影響因素之一，調查發現此問題普遍存在於各養殖場。著苗密度太高，藻類供應不足，亦是種苗脫落主要原因之一。勘查時發現有些養殖場每塊塑膠板著苗密度高達2,000隻以上，加上矽藻類生長不良，此現象是種苗幼生大量脫落的典型例子。各地區藻種檢查均未發現毒藻，採樣藻類的鏡檢及分類大部分均屬於矽藻類。

四、病毒檢驗

台灣九孔繁殖業者過去十幾年皆自行培育2年貝做為種貝，雖然近年來業者在種貝培育過程中發生大量死亡的現象，使得繁殖者無法培育2年的種貝。因此各繁殖場皆使用1年齡之九孔做為種貝，可能與種苗脫落現象有關。雖有些業者使用1年生種貝而繁殖成功者，這可能與當時養殖池或養殖用水尚未有致病因子存在有關。調查發現成功的繁殖場大部份使用2年生種貝，在抗菌的觀點上，可能與1年生種貝所繁殖之幼生對細菌或病毒之抵抗力較弱有關。

一般業者在人工繁殖期之初期（約8~9月）水溫28~30°C繁殖成功案例較多，但是中晚期約10~12月（水溫21~25°C）繁殖者失敗比率最高，導致病變似乎與水溫有很大的關係。至於九孔成貝養殖，大量死亡通常發生在4~8月間，但尚不致於在短時間內大部份死亡。台大張副教授本恒針對今(92)年1月下旬在台灣東北角發生九孔大量死亡，已檢測出20面球形病毒30 nm是造成大量死亡的主因。

建議

- 1、降低著苗密度，控制在每浪板約500粒以下，並增加浪板間隔距使藻類有更充足的光合作用。
- 2、提供營養鹽以豐育藻類。
- 3、養殖用水先加以過濾，並以UV殺菌處理之後再使用於受精卵之洗卵及孵化。
- 4、建議使用2年齡種貝。
- 5、種苗下板時可以5 ppm漂白水浸泡30分鐘後再置入池中。
- 6、養殖用器具可用120 ppm漂白水消毒。
- 7、採用循環水培育。

參考文獻

1. 李國誥 (2002) 養殖九孔幼苗與稚貝感染細菌性疾病與附著之相關研究。農委會科技計畫91農科-2.5.3-漁-F1(2)。
2. 黃印發、陳信忠、吳文忠、顏江華、倪子綿 (2000) 九孔鮑魚狀病毒病的診斷和防治。福建畜牧獸醫，第4期。
3. 李霞 (1998) 跡紋盤鮑 "裂殼病" 的病原及組織病理研究。水產學報，3: 61-66。
4. 黃印發、陳信忠、吳文忠、顏江華、倪子綿 (1999) 一起毀滅性鮑魚病毒病的調查。福建畜牧獸醫，21(3): 4-5。
5. 吳文忠、黃印發、陳信忠、顏江華、倪子綿 (1999) 九孔鮑魚病毒病的防治試驗。福建畜牧獸醫，21(6): 51-52。
6. 王軍 (1999) 1999年春季東山九孔鮑暴發性病害研究。廈門大學學報，38(5): 641-644。
7. Elston, R. and G. S. Lockwood (1984) Pathogenesis of vibriosis in cultured juvenile red abalone, *Haliotis rufescens*. Aquaculture, 39: 375.