

## 觀賞魚類研究團隊－觀賞魚產業關鍵技術及其系統研發 (觀賞魚疾病調查資料與防治技術之建立)

陳石柱<sup>1</sup>、蔡明安<sup>1</sup>、何源興<sup>2</sup>、鄭明忠<sup>2</sup>、陳文義<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>屏東科技大學獸醫系、<sup>2</sup>東部海洋生物研究中心

近年來隨著國際觀賞魚消費市場及國內觀賞魚養殖技術的發展，帶動國內觀賞魚產業的蓬勃發展，但隨著越來越多新品種觀賞魚的出現以及觀賞魚高密度的集約式養殖方式，疾病感染的問題也隨之浮現。

光學顯微鏡檢查及病原微生物分離：病材行肉眼病理學檢查，並將體表鱗片、鰓絲與尾鰭進行光學顯微鏡檢查共發現 73 例病例 (圖 1)，其中有 25 例寄生蟲感染病例，發生率為 43.9%，包括白點蟲 (5 例)、指環蟲 (3 例)、四膜原蟲 (3 例)、駝形線蟲 (3 例)、鐘形蟲 (3 例) 等。另有 2 例錦鯉感染水黴菌。細菌性病原則以 TSA、BIHA 或 Cytophaga agar 等培養

基進行病原細菌之分離。

病原微生物鑑定：細菌性病原方面利用市售 API 生化鑑定套組及 16S rDNA 核酸定序鑑定細菌菌種，而病毒性病原則以特異性引子對行聚合酶鏈鎖反應進行診斷。細菌性疾病發生率為 70.2% (40 例)，以 *Aeromonas sorbria* (11 例)、*Mycobacterium* sp. (11 例) 及 *A. hydrophila* (4 例) 所佔比例最高。病毒性疾病的發生率為 10.5% (6 例)，分別為 3 例錦鯉感染 *Koi herpesvirus* 及黑神仙、雀鯛、雙白帶克氏雀鯛感染 *Iridovirus*。

觀賞魚病原 PCR 快速診斷技術之建立：完成 *A. hydrophila*、*Vibrio vulnificus* 與 *Koi herpesvirus* 之 PCR 快速診斷技術之建立，針對上述標的病原進行檢測時，可分別增幅出 685 bp、410 bp 及 332 bp 片段產物。以不同病原 DNA 進行檢測則不會增幅出標的病原之外的 DNA，顯示這些引子對具專一性 (圖 2)。敏感性試驗方面，3 對引子最低可偵測之 DNA 濃度為 20.5 fg–100 pg，而細菌病原引子對最低可偵測之菌數為  $6.5 \times 10^2 - 1.1 \times 10^4$  CFU (colony forming unit)。

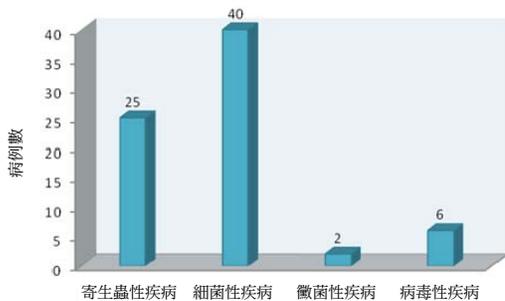


圖 1 99 年台灣觀賞魚養殖場疾病統計圖

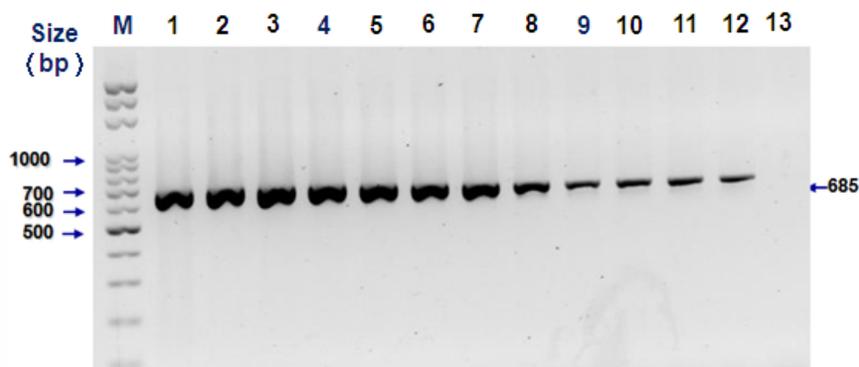


圖 2 將觀賞魚標的細菌 *A. hydrophila* 之 DNA 連續稀釋後以特異性引子對(AH-16S-F&R)行聚合酶鏈鎖反應進行之結果。1: 1µg; 2: 200ng; 3: 40ng; 4: 8ng; 5: 1.6ng; 6: 320pg; 7: 64pg; 8: 12.8pg; 9: 2.56pg; 10: 512fg; 11: 102.4fg; 12: 20.5fg; 13: 4.1fg; M: 100bp DNA ladder