

特別報導

前往日本研習先進之海水魚類之育種及 防疫技術心得報告



鄭金華、陳紫嬪

水產試驗所東港生技研究中心

本次研習為行政院國科會科發基金 100 年補助計畫「SPF 石斑魚苗之生產應用與推廣」項下核定的工作項目之一，主要目的為透過研習瞭解日方在魚類育種與防疫等之研發現況，以提昇本所相關技術並強化研發成果之應用。茲將主要研習心得列述如下以供參考。

東京海洋大學

此次參訪主要至東京海洋大學品川校區海洋科學系的魚類分子遺傳及分子病理學實驗室，由坂本 崇教授引導參訪。東京海洋大學海洋科學部包括海洋生物資源學科、海洋環境學科、食品生產科學學科及海洋政策文化學科，其中由岡本 信明教授主持之魚類分子遺傳及分子病理學實驗室，在魚類抗病品系之選育上擁有相當傑出的表現，近年來進行鮭魚及比目魚 (*P. olivaceus*) 抗病品系之研發有極顯著之成果。目前該研究室針對日本售價高昂之油斑 (*E. bruneus*) 以及較耐寒之七帶石斑 (*E. septemfasciatus*) 進行分子標記選育，同時開始與泰國學研機構合作進行龍膽石斑 (*E. lanceolatus*) 及虎斑 (*E. fuscoguttatus*) 之分子選育。該研究室的其他研究項目還有：(1)魚類分子遺傳學：包括魚

類 DNA 遺傳圖譜之建構及其中有用遺傳形質之解析、分子遺傳技術之開發；(2)魚類分子病理學：包括水生生物致命疾病及病原致病相關分子生物學研究。坂本教授對研究人員及遺傳育種專業人材培育極為重視，每位人員皆須熟練分子生物萃取、電泳分析等基礎技術後，才能進行其他分子遺傳相關精密儀器之操作與分析，以期訓練完成之人員都具有一定的專業素質與水準。

近畿大學水產研究所

近畿大學多年來致力研發水產生物繁養殖技術，並設立多處實驗場進行種苗繁殖量產、選育及品種改良，以提供產業應用，同時提供學生實務操作的機會及進行論文相關試驗研究的場所，期能培育出符合產業需求之水產專業人才。陸續設立之實驗場有白浜、神浦、御浜、大島、新宮、Susami、富山、奄美等實驗場以及中邊路研究分室。

近畿大學對於水產研究及其產業應用極為重視，不僅成果非凡，影響也十分深遠。例如設立室內繁殖孵化場 (1950 年)、在海灣進行箱網養殖以及鮪魚繁養殖試驗研究 (1970 年) 等，皆是首開先驅，並將技術推展至全球。其中有關鮪魚之繁養殖研究及生產

成果更是成就非凡，例如 1976 年繁殖黃鰭鮪成功、1979 年領先全球首次繁殖黑鮪及孵育幼苗成功、1995 年實施黑鮪人工繁殖幼苗之箱網養殖及標識放流、2002 年黑鮪人工完全養殖成功、2004 年建立黑鮪人工魚苗箱網養殖產業以及 2007 年育成第三代黑鮪人工魚苗等，均廣受全球水產界矚目。日本政府於 2003 年至今，由文部科學省在 21 世紀 COE 計畫項下大力補助並指派近畿大學水產研究所，從事黑鮪魚之繁養殖研究，期能促使日本黑鮪繁養殖技術產業化及國際化。該計畫主持人熊井英水教授所領導的團隊計畫更是日本水產專業人才培育之搖籃。除了亮麗的黑鮪研究成果外，近畿大學水產研究所歷年來還完成了 18 種重要經濟魚類之繁殖量產並建立其生產體系。另外對於魚類之選種育種及雜交育種也有專門及獨到之研究。

此次筆者等的參訪研習安排於目前正在進行鮪魚及石斑魚繁養殖及箱網養殖的白浜、Susami 及大島等實驗場。白浜實驗場近年來以進行重要經濟海水魚類如嘉鱲魚、青甘鯛、紅甘鯛、鸚哥、石鯛、大甲鯛、日本比目魚等之完全養殖和種苗量產為主，同時對於重要經濟海水魚類之選育及雜交改良亦加強進行研究，例如 2010 年所育成之油斑♀與龍膽♂雜交子代，不僅成長快且耐低溫，在 12°C 時仍可活存。而由油斑♀與七帶石斑♂的雜交子代，則較不耐低溫，20°C 以下即停止攝食。

Susami 實驗場著重海水魚種魚培育及幼苗培育，目前可量產之種類有嘉鱲魚、虎河豚、紅甘鯛、大甲鯛、香魚等，場長米島 九司負責引導參觀並詳細解說養殖設施及器材

之使用及討論育苗技術。該實驗場佔地不廣且設施簡單實用，各培育池及繁養殖溫室均能妥善利用。例如其藻類及輪蟲等餌料生物於高位池培育後，利用落差直接輸送至各繁殖溫室應用。繁養殖溫室採光以自然光為主，並輔以燈具提供雨天或特殊需求之光照。溫室之屋頂以透明為主，但依各種魚類及各繁養殖階段之需求，使用不同遮光率之遮光網進行局部或全部之遮光。由於此次參訪期間尚未有黑鮪魚卵產出，因此目前該實驗場以繁殖嘉鱲魚苗及石斑魚苗為主。

大島實驗場以繁殖溫帶及亞熱帶魚種為目的，目前生產之種類有黑鮪、嘉鱲魚、虎河豚、大甲鯛、日本比目魚等，其中以黑鮪之繁殖及箱網養殖為研究重點，也最有成效。此次大島實驗場之黑鮪繁養殖及外海成魚箱網養殖及種魚培育等現場參訪由事業場長岡田 貴彥陪同及解說。

在大島實驗場黑鮪苗之培育方式為：魚卵孵化至 30 天仔魚於 FRP 桶 ($5 \times 5 \times 1.2\text{ m}$) 飼養，成長至 5–6 cm 魚苗後，移至海上進行高密度中間育成至 30 cm 稚魚，再放入大型箱網中養殖 2–3 年至上市體型 (平均約 40–50 kg)。一般箱網養殖黑鮪成長至 20 kg 以上即開使收獲出售以降低養殖密度，收成重量最適合為 40 kg (方便冰運操作及價格較高)。魚苗之運搬以 30 天仔魚最為適合且運搬後活存率最高，以活魚車高密度長途 (6–800 km) 運輸 72 小時，有 90% 活存。由仔魚至稚魚期間，以人工半浮性飼料投餵馴餌。由於鮪魚代謝率快，對維生素之需求較高，因此飼料及活餌均添加高劑量綜合維他命。培育魚苗時，白天時，自動投餌機每隔

特別報導

15 分鐘投餌一次，夜晚則停止投餌。在海上箱網高密度中間育成時，夜間需提供螢光燈 (12 m 箱網 2 盞 40 W 燈)，讓魚苗適應弱光並避免受到漁船突然光照之驚擾。

黑鮪稚魚至上市體型成魚之生餌飼料轉換率約 13–15，黑鮪 30 cm 苗每尾價格約 5,000 日元，目前每年約可生產 20 cm 種苗 50 萬尾左右。利用數個直徑 20–40 m 圓形箱網培育不同年齡的黑鮪種魚 (如 55 尾 200 kg 的種魚係飼養在直徑 30 m 的箱網中)，主要投餵鯖魚和烏賊，並添加高劑量綜合維他命及磷脂質。種魚之 FCR 為 30–50。種魚之產卵受水溫影響極大，水溫升高時，於箱網內自然交配產卵排精。以浮游生物網撈取上浮卵，受精卵移至室內 FRP 桶槽進行孵化，一般有 95% 以上之孵化率。受精卵卵徑為 0.93–1.06 mm，溫度高時，卵徑小孵出之魚苗也小。以圓 FRP 桶 ($5 \times 5 \times 1.2\text{ m}$, 30 公噸) 培育仔稚魚，平均可生產出 7–8 萬 5–6 cm 魚苗，活存率約 10–15%。最初 10 天之魚苗，不控制光照，以擬球藻、輪蟲為初期餌料，此期間之打氣量控制需特別注意，為使黑鮪仔稚魚有足夠之活餌，實驗場每日生產 5 千萬尾石鯛仔魚作為黑鮪仔稚魚活餌。黑鮪從受精卵至 5–6 cm 魚苗 (約 1–10 天) 僅有 5% 活存率，主要為沉降死亡之初期耗損。10 天 (5–6 cm) 至 30 天魚苗會互噬殘食，30 天以上則因衝撞導致死亡。採取底層飼養水排出法，控制打氣量及夜間燈照可降低沉降死亡，10 天內的活存率可由 10% 提高至 50%。對於 10–30 天之互噬殘食，由於黑鮪仔稚魚無法如石斑以篩網分級，目前以開發適合之轉餌人工飼料及加強

馴餌技術等來加以改善。對於養殖時之衝撞死亡，則以加大養殖箱網 (如 6 m 增至 20–30 m 直徑) 及加裝夜間照明設備因應，可提高活存率至 30%。因為該養殖區海水附著生物不多，箱網養殖之網具平均 4 年換 2 次網。

大島實驗場於 2010 年新裝設黑鮪收獲後預冷及冰鮮設施，收獲之 20 kg 以上黑鮪，經放血及去除內臟後，吊入 0°C 海水之密閉冷卻循環 FRP 槽內預冷 1 日，使魚肉冷卻透徹再裝入置有長圓型小冰塊運輸箱中出售。

愛媛縣農林水產研究所

此次參訪之主要目的係為了解愛媛縣農林水產研究所水產研究中心之水產防疫設施、神經壞死症及虹彩病毒疫苗之研發及應用成果等。由愛媛縣農林水產研究所水產研究中心主任研究員山下 浩史博士安排及陪同。進入水產研究中心之設施前，需先更換工作鞋，才能至陸上育苗試驗區及海上箱網養殖區，部分繁養殖區則嚴格執行僅工作人員進入之規定。陸上育苗試驗區的用水乃抽取沿岸 10 m 以下海水，經過 2 個容量 1,000 公噸水泥高塔沙濾系統 (處理水量 6,000 t/day、自動逆洗 1 t/day) 過濾後再提供各試驗區使用。

陸上育苗試驗區以培育高價值之油斑及七帶石斑魚苗為主，同時亦開始進行紅點石斑 (*E. akara*) 之繁殖。油斑及七帶石斑種魚於外海箱網養殖，移入室內種魚池後，以 PCR 檢測病毒感染情形，確定不帶虹彩病毒但帶少量 NNV。石斑種魚先以 LHRHa (15 µg/kg BW) 注射，48 小時後擠卵採精並進行人工

授精。受精卵以海水電解水進行洗卵以去除卵之 NNV。以 anti-NNV 單株抗體洗卵，在小量離體洗卵實驗有去除 NNV 效果，但尚未進行大量田間試驗。

日本對於防疫極為注重，近年來開發海水電解水消毒系統，取代部分紫外線及臭氣殺菌系統之應用。該中心於 2009 年耗資約 2 億日幣，設置了獨立的石斑魚苗培育區。其中石斑魚苗培育池為 4 口並列之 100 公噸(直徑 8 m、深 2 m) 圓形水泥池，採用中央排水、集中且懸吊之水電氣管線，屋頂遮棚僅於中央走道處採光。該石斑魚苗培育系統配備海水電解水殺菌消毒系統、泡沫分離裝置、排水殺菌系統、鍋爐沸水加熱系統、海水冷卻降溫系統、20 支 1,000 W 照明燈及氧氣製造機等。進入魚苗培育池之工作人員需洗手並換上該區配置之工作鞋。排放水需經排水殺菌系統再排出，以防止育苗池廢水排放病原污染海域，確保海域水質及生物安全。育苗試驗區裝設有海水電解水裝置共 3 台，處理水量分別為 50、35、20 t/h。海水經海水電解系統之電極電解並經曝氣、活性碳吸附及珊瑚沙過濾後再使用於魚卵消毒及魚苗培育。經電解消毒處理後之海水含氯量為 0.5 ppm，以 0.3 ppm 洗卵 1 分鐘，對育苗有極好之效果。

培育石斑魚苗時，第 3—5 天 24 小時燈照，第 5 天後由 6 AM 至 6 PM 燈照、夜間則熄燈。由於魚苗有趨光性，照燈能補充自然光以避免照度不均魚苗群聚一處死亡，且能提高魚苗攝食率及活存率。第 0—15 天加入烏賊油 (30 ml/day/pond)，防止魚苗黏著於水面死亡。第 8—15 天則使用油膜去除器去

除表面油脂使魚苗能浮出水面吸取空氣，利於其控制沉浮氣鰓的形成。可投以 0.8—2% 貝化石粉改善底質，培育期間可不換水，而僅於魚苗收成前抽底。飼育水保持 6—7 ppm 溶氧，並持續監測，溶氧不足時啟動氧氣製造機以增加池中溶氧。一般而言，由魚卵至 1 cm 魚苗活存率約 30—50%，畸形率 5—10%。餌料生物培養之海水均經紫外線殺菌系統處理，投餵魚苗 FW chlorella 使用濃度為 2—3,000/ml，而輪蟲為 250/ml。培育石斑稚魚時，使用純氧供給增加溶氧，稚魚密度為 2,500 fish/t。10 cm 以上的稚魚則部分移至海上箱網繼續養殖。稚魚培育時，需經篩網進行大小選別及去除畸形魚。該中心每年至少生產 10 cm 油斑魚苗約 15 萬尾，每尾售價約 400 日元，每年產值高達 6 千萬日元。除了油斑苗外，每年生產嘉鱻魚苗約 40 萬尾，產量佔全國 1%。另外亦生產斑節蝦、七帶石斑、石鯛、珍珠貝等供放流之用。

該中心對於石斑魚 NNV 之防疫檢疫，從(1)改進飼育環境加強生物防疫；(2)研發 VNN 疫苗；(3)選育抗 NNV 抗病品系，生產抗病力佳之魚苗等著手。在石斑魚生活史各階段嚴格執行防疫操作，並以 PCR 檢測病毒，自行培育或自他處移入之帶原種魚及魚苗之篩檢淘汰為防疫必要措施。由於 NNV 在魚體中之價量由高至低分別為腦 > 脊髓 > 腸道 > 生殖腺。在種魚篩選繁殖前，抽取卵及精子進行 NNV 之 PCR 檢測是必要的工作。目前該中心保有 Iridovirus 及 NNV-Free 油斑種魚 4 歲。成熟雌種魚以塑膠管抽取未分離之卵細胞組織進行 PCR 檢測，種魚經 LHRHa 催熟注射後採擣之卵粒，部分亦同時

特別報導

進行 PCR 檢測；成熟雄種魚採取之精液部分採樣進行 PCR 檢測，其餘精子經 anti NNV 單株抗體於 4°C 處理 16–24 小時，確定精卵皆為 NNV-free 再進行人工授精、孵化及育苗。由於 NNV 附著於卵表面，洗卵消除 NNV 是有效的。育苗時，飼育水之消毒處理及嚴格執行僅少數工作人員進入育苗區與出入前洗手換鞋等措施，為 NNV 隔離防疫的重點措施。

在開發 NNV 疫苗上，12 g 七帶石斑進行疫苗注射後，於 14、35 及 74 天後進行 NNV 攻毒，其相對活存率分別為 93、83 及 75%，同時魚體產生之抗體力價 (ND₅₀) 和相對活存率也呈現正相關性。NNV 在大量田間試驗部分也有 85% 相對活存率。NNV 疫苗最小有效劑量為 10⁷ TCID₅₀/fish，最小平均抗體力價為 1 : 200。該中心開發之 NNV 不活化疫苗已取得專利，價值每年 5 千萬日元以上。

有關於魚類遺傳選育，在嘉鱲魚方面選育以植物性蛋白完全取代魚粉而仍具高成長之品系最有成果，目前正進行選育品系 F2 子代之評估。對 NNV 抗病品系之選育方面已應用 microsatellite DNA 分析，篩選出油斑之抗病品系，但在七帶石斑則尚未達成。選育油斑 NNV 抗病品系之作法如下：(1)以 RGNNV 劑量 10^{4.5} TCID₅₀/fish 對 5 尾野生油斑雄魚進行攻毒，評估其對 RGNNV 之抗病毒能力，結果發現編號 662E 之油斑雄魚具有極強之抗病力；(2)從 1 尾人工養殖油斑雌魚採取卵粒，分別和上述 5 尾野生油斑雄魚之精子受精並培育出 5 個家系的魚苗，所有魚苗以小箱網同槽養殖於一個飼育池內。魚苗達 10–13 g 時，以 RGNNV 劑量 10^{7.5}

TCID₅₀/fish 進行攻毒，其中 662E 雄魚之 F1 子代死亡率 0%，呈現完全抗病性狀；(3)以 microsatellite DNA 分析所有親代種魚及 F1 魚苗，進行親子鑑定確認抗病 F1 子代與抗病雄魚 (ID : 662E) 之親緣關係；(4)進行 662E 雄魚之 F1 子代之近親交配 (662E F1♀ × 662E F1♂)，純化及穩定抗病基因表現；(5)F2 子代再以 RGNNV 劑量 10^{7.5} TCID₅₀/fish 進行攻毒，確認其抗病基因表現穩定，藉以培育出對 RGNNV 抗病之品系。其他篩選抗病品系之作法為：(1)經油斑雄魚抗病力之評估後，確認 662E 雄魚具有極強之抗病力；(2)採取 662E 雄魚之精子進行冷凍保存；(3)以雌性荷爾蒙植入 662E 雄魚使其性轉變為雌魚 (ID : 662E♀)，催熟採卵後，以 662E 雄魚之精子進行人工授精，生產及培育 F1 魚苗；(4)以 RGNNV 劑量 10^{7.5} TCID₅₀/fish 對其 F1 子代進行攻毒，子代具完全抗病性狀；(5)F1 子代培育出之 17 尾雌種魚及其 F2 後代均有穩定的抗病基因表現。

愛媛縣水產研究中心之海面箱網養殖區位於研究中心堤岸外內灣，經由水泥突堤碼頭及木作便橋即可到達箱網養殖區，該區水深約 12–15 m，養殖箱網大小為 5 × 5 × 5 m，採用鍍鋅金屬結構外框及鍍鋅金屬菱形格柵網。鍍鋅金屬菱形格柵網耐用年限 10 年，由於寄生蟲不附著於上而廣受箱網養殖業採用。海面箱網養殖區主要為放養成魚及種魚之用。箱網之附著生物可用輪替養殖石鯛加以攝食清除。箱網養殖區配備有自動投餌裝置，電源使用太陽能或一般市電，給餌感應裝置依不同魚種索餌行為而有不同的設計。