

統一編號
2007900045

臺大漁推

FISHERIES EXTENSION NTU



ISSN 1022-6184(平裝)

第22期



國立臺灣大學漁業推廣委員會 中華民國 100 年 12 月

目 錄

目錄

i

- | | | |
|---------------------------|---------------------|----|
| 探討魚類肝臟防衛細胞「庫弗氏細胞」的免疫功能與特性 | 黃世鈴、吳育昇、
陳秀男 | 1 |
| 以乳酸菌防治巴斯德桿菌 | 刑辰馥、方宜鈞、
齊肖琪 | 8 |
| 大漢溪水域魚類爆發黃吸蟲感染 | 謝易廷、李英周、
施秀惠 | 22 |
| 低魚粉飼料對赤鰭笛鯛成長之研究 | 吳仁傑、歐俊男、
葉信利、廖文亮 | 37 |

臺大漁推

第二十二期

發行人：陳秀男

主任委員：陳秀男

推廣教授：陳秀男、施秀惠、齊肖琪、廖文亮

執行秘書：黎錦超

執行編輯：蘇淑貞

發行單位：國立臺灣大學漁業推廣委員會

地址：臺北市羅斯福路四段一號

電話：(02) 33662795

傳真：(02) 23654403

印刷：大進印刷有限公司

地址：臺北市和平西路三段三一八號

電話：(02) 23087600

傳真：(02) 23085673

中華民國一〇〇年十二月出版

版權所有 嚴禁翻印轉載

探討魚類肝臟防衛細胞「庫弗氏細胞」的 免疫功能與特性

黃世鈴¹、吳育昇²、陳秀男^{2,3}

¹ 行政院農業委員會水產試驗所淡水繁養殖研究中心

² 國立臺灣大學漁業科學研究所

³ 國立臺灣大學漁業推廣委員會

追求經濟效益和高品質水產蛋白質的需求下，養殖型態和養殖技術不斷改良，使用精緻化的人工配合飼料，種魚和魚苗國際化的交流和採購，土地的過度利用和池塘老化，病害原從不同地區或不同國家持續引入，逐漸在本地馴化並造成水產生物傳染病，在採用高密度或超高密度的養殖型態下，病害原在池塘中增殖和大量堆積；導致，近年來養殖魚類疾病叢生，養殖產量也無法提升。為了提高養殖產量和減少疾病的損耗，必須增強魚類對抗疾病的能力，各國學者們努力研究魚類的防禦系統，開發各種增強魚類免疫的方法、材料、和途徑等，期能從各種途徑以有效的方法或技術來增強魚類本身的免疫能力，除了帶來對抗疾病的利器外，可以減少使用化學藥物並避免藥物毒害，和養殖上不用化學藥物的契機。

近年來，魚類養殖面臨了產量無法有效提昇的困境，在各界長期的研究和觀察中發現，我們深切瞭解疾病的爆發對於魚類養殖有著重大的關係；從而，學者們深入研究探討魚類的防禦系統，期能提升養殖魚類的防禦系統和其抵抗外來病菌的能力。

魚類防禦系統中，如巨噬細胞等細胞性免疫扮演非常重要的防禦角色，細胞性免疫為水產動物對抗外來病原的主要因子或元素，且巨噬細胞是抗原呈現細胞（Antigen presenting cell）之一種，能將抗原片段表現在細胞表面，能進一步誘導下游細胞，引發一連串的免疫反應。

魚類或水產生物的細胞性免疫（如巨噬細胞）在防禦機制中扮演非常重要的角色，巨噬細胞的重要功能包括吞噬作用（Phagocytosis）、抗原呈現功能（Antigen-presenting）；吞噬細胞對於微生物等侵入性異物的毒殺作用可分為氧化型（oxygen dependent）、和非氧化型（oxygen independent）兩型。氧化型殺菌能力，會產生活性氧化物質（reactive oxygen species, ROS）及活性氮物質（reactive nitrogen species, RNS），活性氧化物質係為吞噬細胞在進行吞噬作用過程中，吞噬細胞會產生呼吸爆（respiratory burst）反應，經由 NADPH oxidase 將氧和 NADPH 轉化成具有殺菌功能的活性物質，包括超氧陰離子、過氧化氫等物質。相關文獻報告指出巨噬細胞除了存在於血液中，各組織間也有許多常駐型的巨噬細胞；肝臟中也發現有巨噬細胞的存在，肝臟的巨噬細胞為庫弗氏細胞（kuppfer cell），肝臟中的庫弗氏細胞為各組織間巨噬細胞最多數量者，約佔總組織間巨噬細胞的 80~90%。庫弗氏細胞呈不規則狀，具有橢圓型的胞核，胞質內含吞噬體、溶菌體、粒線體等；庫弗氏細胞主要位在肝竇中（hepatic sinusoid）中（圖 1-3）。庫弗氏細胞的功能：具有清除由腸道吸收經由肝門脈到肝臟的外來病原菌、內毒素、外毒素、死亡的細胞碎屑及病原菌所衍生出的有害物質。庫弗氏細胞透過吞噬作用移除來自於血液到肝臟中的異物，目前已知庫弗氏細胞的表面抗原可以與這些有害物質或碎屑進行辨識，引發細胞活化吞噬能力，另一方面也會誘導庫弗氏細胞生成細胞激素，如 Tumor necrosis factor、Interleukines；此外庫弗氏細胞產生的活性氧物質（Reactive oxygen species, 簡稱 ROS），用以降低外來有毒物質的毒性。

庫弗氏細胞受到外來物質或是其他刺激後會誘導出許多種類的細胞激素，細胞激素會影響下游的標的細胞，引發種種的生理及免疫反應，已知啟發身體的免疫反應的細胞激素包括，TNF- α 、IL-1、IL-6、IFN- γ 等。此外，庫弗氏細胞也會吞噬體內老化的紅血球，經過肝臟內的一連串的細胞反應，可以將破裂紅血球釋出的血紅素代謝掉。

哺乳類生物體內不同組織間的巨噬細胞有著高特異性的型態與生理特性，目前已有多種不同的組織間巨噬細胞的表面標誌可用以區分組織間巨噬細胞與其他細胞，以下列出庫弗氏細胞已知的表面抗原：(1)CD68：廣泛表現於巨噬細胞上，屬於溶酶體膜蛋白家族（lysosomal-associated membrane protein family，簡稱 LAMP family），包含：肝臟庫弗氏細胞、肺泡巨噬細胞、扁桃腺巨噬細胞、及脾臟紅髓巨噬細胞等，分子量大小約為 110 kDa 的第一型穿膜蛋白。(2)Macrosialin：與 CD68 為同源基因，均屬於溶酶體膜蛋白家族，表現於組織間巨噬細胞與少部分的樹狀細胞。(3)清道夫受器（scavenger receptor）：為一種穿膜糖蛋白，其細胞膜外的部分具有多半胱胺酸區域，膠原纖維區域；其主要表現於脾臟、淋巴結、腹膜、胸腺髓質以及肝臟等組織間巨噬細胞。

參考文獻

- 蔡宜臻 (2004) 小鼠庫氏細胞的來源。國立陽明大學微生物及免疫學研究所論文
- Concetta, C., Marina, S., Nicola, L., Filippo, M. and Giovanni, S. (2000) Characterisation of Kupffer cells in some Amphibia. *J. Anat*, 196: p. 249-261.
- Bouwens, L., M. Baekeland, R. De Zanger, and E. Wisse, (1986) Quantitation, tissue distribution and proliferation kinetics of Kupffer cells in normal rat liver. *Hepatology*, 6(4): p. 718-22.
- Fox, E.S., P. Thomas, and S.A. Broitman, (1987) Comparative studies of endotoxin uptake by isolated rat Kupffer and peritoneal cells. *Infect Immun*, 55(12): p. 2962-6. 15.
- Decker, K. (1990) Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem*, 192(2): p. 245-61.
- Holness, C.L. and D.L. Simmons, (1993) Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. *Blood*, 81(6): p. 1607-13.
- Hughes, D.A., I.P. Fraser, and S. Gordon, (1995) Murine macrophage scavenger receptor: in vivo expression and function as receptor for macrophage adhesion in lymphoid and non-lymphoid organs. *Eur J Immunol*
- Itoh, Y., T. Okanoue, M. Morimoto, Y. Nagao, T. Mori, N. Hori, K. Kagawa, and K. Kashima, (1992) Functional heterogeneity of rat liver macrophages: interleukin-1 secretion and Ia antigen expression in contrast with phagocytic activity. *Liver*, 12(1): p. 26-33.
- McKnight, A. J. and S. Gordon, (1998) Membrane molecules as differentiation antigens of murine macrophages. *Adv Immunol*, 68: p. 271-314.

- Rabinowitz, S.S. and S. Gordon, (1991) Macrosialin, a macrophage-restricted membrane sialoprotein differentially glycosylated in response to inflammatory stimuli. *J Exp Med*, 174(4): p. 827-36.
- Taylor, P.R., L. Martinez-Pomares, M. Stacey, H.H. Lin, G.D. Brown, and S. Gordon, (2005) Macrophage receptors and immune recognition. *Annu Rev Immunol*, 23: p. 901-44.
- Willekens, F.L., J.M. Werre, J.K. Kruijt, B. Roerdinkholder-Stoelwinder, Y.A. Groenen-Dopp, A.G. van den Bos, G.J. Bosman, and T.J. van Berkel, (2005) Liver Kupffer cells rapidly remove red blood cell-derived vesicles from the circulation by scavenger receptors. *Blood*, 105(5): p. 2141-5.

附錄(圖)

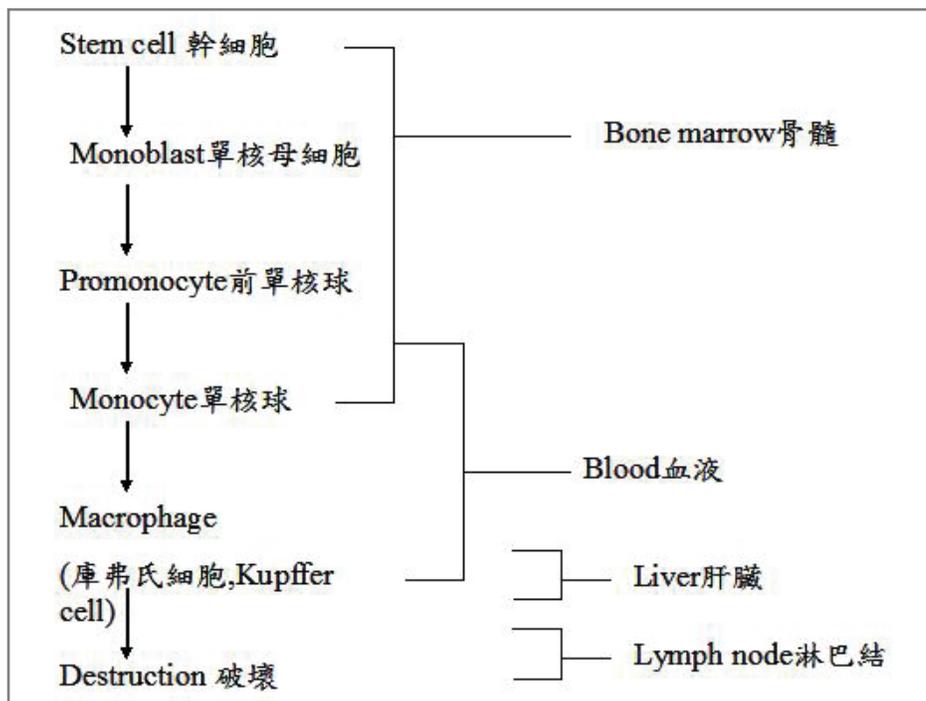


圖 1. 巨噬細胞（包括庫弗氏細胞 Kupffer cell）由骨髓幹細胞的分化圖

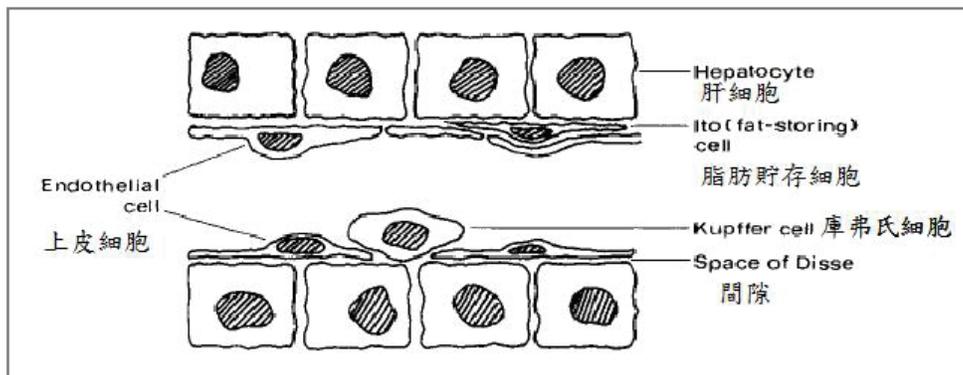


圖 2. 肝竇中主要細胞（肝細胞、庫弗氏細胞、上皮細胞等）的相關分布位置 (Fox, *et al.*, 1987)

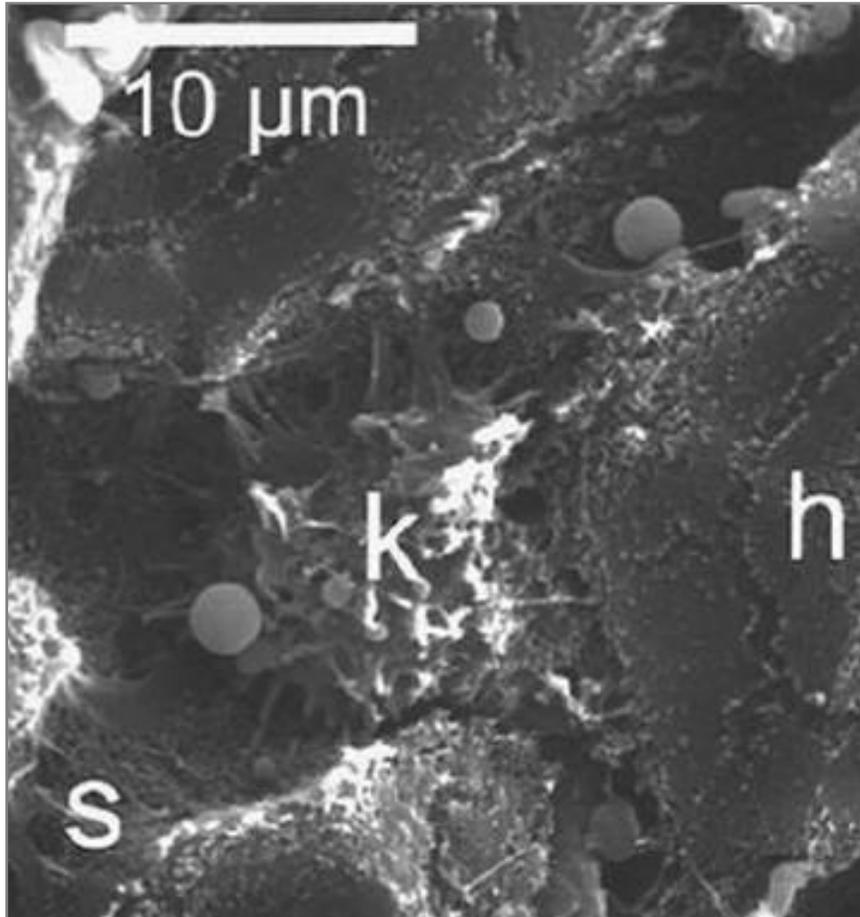


圖 3. 電子顯微鏡觀察，肝臟中庫弗氏細胞分布位置圖，
k: Kupffer cell; h: Hepatocyte; s: sinusoid (Liver International 2006)

以乳酸菌防治巴斯德桿菌

刑辰馥¹、方宜鈞¹、齊肖琪^{1,2,3}

¹ 國立臺灣大學動物學研究所

² 國立臺灣大學生命科學系

³ 國立臺灣大學漁業推廣委員會

一、前言

1. 海鱸 (*Rachycentron cancadum*)

海鱸 (*Rachycentron cancadum*, *Cobia*) 廣泛分佈於熱帶及亞熱帶海域，屬於鱸亞目，以甲殼類和魚類為主食，成長速度快，一年可成長 6~10 公斤，最大體長可至 2 公尺，體重可達近 70 公斤，是非常具有養殖潛力的魚種。臺灣的海鱸養殖，從民國 79 年開始，於 86 年人工繁殖成功後已可完全養殖，主要在春、秋兩季產卵，養殖兩年即可達性成熟，產卵溫度為 23~27°C。由於養殖區域集中及單位密度放養量提高，使得養殖環境惡化，增加海鱸罹病的機會。目前養殖海鱸常見的細菌性病原包括弧菌 (*Vibrio* spp.)、鏈球菌 (*Streptococcus* sp.) 和巴斯德桿菌 (*Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida*)，一般以紅黴素、氯黴素及歐索林酸 (oxolinic acid) 等藥劑治療 (古等, 2000; Liu *et al.*, 2003)。臺灣養殖海鱸最易發病大量死亡的階段，是幼魚自陸上養殖池送至海上箱網養殖的階段，一方面起因於輸送過程緊迫造成免疫力下降，另一方面則是適應新環境的壓力 (劉等, 2005)。

2. 巴斯德桿菌症 (Pasteurellosis)

巴斯德桿菌症是一種廣泛發生於野生海水魚及養殖魚種中的疾病，這種細菌性敗血症又稱為假結核症 (pseudotuberculosis)。感染此病的魚隻外觀病徵不明顯，少數魚隻會有體色變黑、頭部和鰓部輕微出血等症狀 (Tung *et al.*, 1985; Toranzo *et al.*, 1991)，其臨床病徵分為急性和慢性，急性的內部病徵為病魚的肝、腎、脾會有多處組織壞死，微血管跟腸腔的吞噬細胞有細菌菌體聚集的現象 (Tung *et al.*, 1985)；慢性的內部病徵則會在上述器官出現肉芽腫和直徑 0.5~3.5 mm 的白色結節 (Noya *et al.*, 1995)，產生肉芽腫的地方會發現有細菌聚集和壞死的吞噬細胞，表示 *Pdp* 會存活在宿主細胞中而沒被分解。此病在 1963 年首次發現於美國 Calveston Bay 的野生白鱸 (*Morone americanus*) 和條紋鱸 (*Morone saxatilis*) (Snieszko *et al.*, 1964)，當時依據其型態將此分離到的病原菌分在 *Pasteurella* 屬；後來在 1968 年 Janssen 和 Surgalla 認為此菌株之生理及血清特性有別於其他 *Pasteurella* 屬的細菌而將巴斯德桿菌症的病原菌命名為 *Pasteurella piscicida* (Janssen *et al.*, 1968)。巴斯德桿菌症好發於夏季、高水溫 (>23°C)、鹽度 20~30 ppt 和水質不佳的環境。臺灣最早是在淡水養殖鱧魚 (*Ophiocephalus maculatus*, snakehead) 發現巴斯德桿菌症 (Tung *et al.*, 1985)，並在夏季水溫偏高時期易流行於養殖海鱺 (Liu *et al.*, 2003) 與金頭鯛 (gilthead seabream) (Magarinos *et al.*, 2002)。

巴斯德桿菌症的病原體是 *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida* (簡稱 *Pdp*) 是一革蘭氏陰性菌，不具有運動性，可從病魚的肝、腎、脾中分離到，在不同培養條件下其型態呈類球狀 (coccoidal) 或雙極長桿狀，對 oxidase、catalase、arginine dihydrolase 呈陽性反應，而對 indole、urease、gelatinase、amylase

呈陰性反應，具有 lipase 和 phospholipase 活性 (Magariños *et al.*, 1996)，最適生長溫度在 22.5~30°C (Magariños *et al.*, 1992)。Bonet *et al.* (1994) 指出 *Pdp* 可產生莢膜性物質，此物質是由 99.6% 醣類和 0.4% 蛋白質所組成，但 *Pdp* 多醣類的莢膜和其他 *Pasteurella species* 不相似。巴斯德桿菌的宿主範圍很廣泛，包含多種海水魚，自 1990 年代起，開始蔓延地中海區域的養殖魚類和野生魚類，如海鱸、比目魚類及鯛類，其中以法國、義大利、希臘和西班牙等國最為嚴重 (Romalde, 2002)，也造成日本養殖青鮫 (yellowtail) 的大量死亡 (Egusa, 1983)。感染實驗證明對巴斯德桿菌有感受性的魚種有很多，其半致死劑量 LD₅₀ 為 10³-10⁶ cfu/g fish body weight (Magariños *et al.*, 1992b)。有研究指出 gilthead seabream 在不同魚齡時對巴斯德桿菌的感受性不同，小於 5 g 的魚對此菌有感受性，但大於 50 g 時因為免疫系統的成熟，嗜中性球和吞噬細胞能有效吞噬細菌，對 *Pdp* 的感受性降低 (Noya *et al.*, 1995)。Magariños 等 (1992) 以實驗證明，浸泡方式可使 gilthead seabream 和 hybrid striped bass 被感染，因此水是其傳染媒介之一；其它實驗數據則顯示，*Pdp* 可由口、鰓、腸胃道和皮膚感染宿主。

巴斯德桿菌症可使用 chloramphenicol 和 ampicillin 來加以控制；florfenicol、bicozamycin 及 phosphomycin 等藥對此病症亦有不錯的療效。雖然抗生素有良好的治療效果，但是卻無法長期使用，因為菌株一旦產生抗藥性後，不但正常藥量無法控制疾病，且更容易增加流行病學控制上的困難；另一方面抗生素採用口服法常難以達到效果，因為罹病後的魚隻通常食慾不振或是不攝餌，而藥浴法對於廣大的養殖水體或是箱網養殖的水浴場又難以實施。目前 *Pdp* 已對多種抗生素產生抗藥性，如 ampicillin、tetracycline、oxytetracycline 等 (Magarino *et al.*, 1992)，因此使用新藥物 florfenicol 和 phosphomycin 來控制。

魚類在感染巴斯德桿菌期間，巴斯德桿菌會短暫寄生在吞噬細胞內（Kusuda and Salati, 1993），這可解釋為何抗生素治療會產生無效的情形。

近年來有許多關於巴斯德桿菌疫苗的研究，多數以加熱或經福馬林去活化方式製成死毒疫苗（Kusuda and Hamaguchi, 1987; Kusuda and Hamaguchi, 1988），雖然有達到保護效果，但這些實驗結果的再現性並不穩定（Kusuda and Salati, 1993）。另外，使用巴斯德桿菌的脂多醣（LPS）和核酸片段製成的疫苗，其保護效果較好（Fukuda and Kusuda, 1985; Kusuda *et al.*, 1988），但也同樣有再現性不穩定與大量生產上的困難。

3. 乳酸菌

許多報告指出，乳酸菌（Lactic acid bacteria, LAB）可以當作益生菌（probiotics），乳酸菌所產生的有機酸（organic acid）與殺菌素（bacteriocin）能直接抑制或殺死很多種細菌（Mathur *et al.*, 2005）。乳酸菌能耐胃酸與膽鹽而安全進入餵食動物的消化道中（Irianto *et al.*, 2002）。消化道菌叢中約有 1~10% 的細菌具有益生菌的潛力（Sugita *et al.*, 2002）。有些乳酸菌會在動物體內與其他腸內菌競爭宿主消化道的附著空間，或直接抑制一些機會病原菌（opportunistic pathogens）（Balcázar, 2007）。有的益生菌可以促進宿主生理或免疫機能，例如透過其胞外酵素來促進宿主的消化功能（Prieur *et al.*, 1990）。有的益生菌加入養殖池中則能改善水質（Dalmin *et al.*, 2001）。

澎湖海域是海鱷放養箱網養殖的主要地區，近年來分離到的 *Pdp* 菌株已對多種抗生素具有抗藥性，又根據本實驗室對海鱷專一性免疫力的測試，發現接種不活化 *Pdp* 疫苗雖對海鱷苗能產保護效果，但保護期限與追加注射後的免疫反應強度並

不理想，且魚苗一旦下了箱網，就很難進行追加免疫，因此本實驗想在抗生素與疫苗之外，再找一種防治巴斯德桿菌症的方法。自養殖海鱷消化道分離到的三株乳酸菌，經實驗分析，發現三株菌的分泌物皆有抑制巴斯德桿菌生長的能力，再經由活體餵食試驗與 *Pdp* 攻毒試驗，證實其中一株代號為 0409 的乳酸菌，具有防治海鱷巴斯德桿菌症的潛力。

二、海鱷消化道分離之乳酸菌對抗 *Pdp* 之測試

1. 乳酸菌代謝物能抑制 *Pdp* 的生長

本試驗所用之巴斯德桿菌 *Pdp*-P40 是由澎湖科技大學古鎮鈞教授提供，以 brain heart infusion (BHI) 培養液添加 2‰ 鹽度，在 28°C 培養。三株乳酸菌 (0409, 9-33 及 O-3-P) 由澎湖科技大學胡宏熙教授自海鱷消化道分離與鑑定，並經生合生物科技股份有限公司同意後提供，以 MRS 培養液在 37°C 中培養。經 16S RNA 定序鑑菌法 (Weisburg *et al.*, 1991)，確認菌株 0409 分類上屬於 *Pediococcus pentosaceus*，而 9-33 和 O-3-P 菌株分類上則同屬 *Lactobacillus fermentum*。

為了瞭解三株乳酸菌的胞外分泌物，是否對 *Pdp* 的生長有抑制作用，先將三株乳酸菌培養至菌液吸光值 (OD₆₀₀) 為 2，離心去菌體，把三株菌的 MRS 上清液 (pH 5.2)，分別以 1:4 的比例和新鮮 BHI 培養液混合。因為乳酸菌經培養後，菌液的酸鹼值會下降至 5.2，為了瞭解酸鹼值下降是否足以讓 *Pdp* 生長受抑制，因此設計兩個對照組，第一組將無乳酸菌的 MRS 培養液酸鹼值調至 6.2，第二對照組則將無乳酸菌的 MRS 培養液酸鹼值調降至 5.2，再分別以 1:4 的比例和 BHI 培養液混合。之後，將這五組混合好的培養液 (每組 5 ml) 分別加入等量的 *Pdp* (OD₆₀₀ = 1, 100 μl)，然後測量 *Pdp* 在各組培養液中的生長曲線。

結果顯示，只改變酸鹼值 (pH 5.2) 和不改變酸鹼值 (pH 6.2) 之不含乳酸菌分泌物之培養液相比較，對 *Pdp* 生長曲線的影響不大。然而分別含三株乳酸菌分泌物之培養液，對 *Pdp* 的生長曲線則有明顯的抑制效果，其中又以菌株 LAB0409 的抑制效果最大。乳酸菌上清液酸鹼度偏酸 (pH 5.2)，顯示代謝物中含乳酸，但能抑制 *Pdp* 生長不只有 pH 值的改變，還有其他因子在其中。

乳酸菌代謝物中直接或間接有抑菌效果的成份，包括乳酸 (lactic acid)，抗菌素 (bacteriocin)，蛋白酶 (protease)，溶菌酶 (lysozyme) 及過氧化氫 (hydrogen peroxide) 等 (Balcázar *et al.*, 2006)。抗菌素 (bacteriocin) 對 G(+) 菌有抑制效果，但只對外膜遭受破壞之 G(-) 菌才有抑菌效果。*Pdp* 是 G(-) 菌，但 LAB0409 菌液 pH 值會下降至 5.2，顯示其中有乳酸分泌，而乳酸會破壞 G(-) 外膜，所以 LAB0409 分泌之抗菌素有機會對 *Pdp* 產生抑菌效果。

2. 餵食乳酸菌對海鱺苗抗 *Pdp* 之影響

在體外的細菌培養系統中，我們發現三株乳酸菌的代謝物皆有抗 *Pdp* 生長的效果，進而測試餵食三株乳酸菌對提高海鱺苗抗 *Pdp* 之潛力。製備三株乳酸菌培養液，達到相同的菌液濃度後，噴灑在人工餌料上，飼料含菌量為 10^9 CFU/g，放 4°C 保存備用。將購自屏東的海鱺苗 (體重 10 g) 分三組，分別餵食三種乳酸菌株，每天餵食量為體重的 3%，餵食兩週後進行 *Pdp* 浸泡攻毒，然後計算各組攻毒 10 天後的累積死亡率，再計算各組的相對存活率 (Relative percentage of survival, RPS)， $RPS = 1 - [(實驗組的累積死亡率/對照組的累積死亡率)] \times 100$ 。結果顯示，菌株 0409 組的 RPS 值最高 (80)，菌株 LAB9-33 組及 LABO-3-P 組的 RPS 值都小於 20。

雖然三株乳酸菌的培養上清液對培養在試管中的 *Pdp* 生長皆有抑制效果，但活體餵食及 *Pdp* 攻毒試驗結果只有 LAB0409 有保護效果；檢查餵食兩週後魚苗消化道菌，只有餵食 LAB0409 組魚

苗有再分離到相同菌株，其他兩組魚苗消化道則分離不到餵食的菌株，顯示 LAB0409 能成功地在餵食魚苗消化道中吸附生長，然後發揮其抗 *Pdp* 效果，另外兩株或是不耐魚的胃酸或是對腸黏膜附着力較弱，因此不易駐留消化道內而無法發揮抗 *Pdp* 效果。水生生物消化道菌相變動較大，一旦停止餵食特定菌之後，該菌族群就會大幅滑落 (Panigrahi *et al.*, 2004)，在本實驗中，停餵 LAB0409 一週後，魚苗消化道就測不到 LAB0409，所以要持續餵，才有持續抗 *Pdp* 的保護效果。

為了再度確認餵食 LAB0409 能提高海鱺苗抗 *Pdp* 感染，將海鱺苗分兩組，實驗組餵食含 LAB0409 之人工餌料，對照組餵食正常餌料，兩週後兩組魚一起進行 *Pdp* 浸泡攻毒，計算攻毒 10 天之後的累積死亡率，結果顯示，餵食 LAB0409 組的死亡率 (80%) 比對照組 (20%) 低了 60%，再度證實餵食 LAB0409 兩週就有助於抗 *Pdp* 之感染。

3. 餵食乳酸菌 LAB0409 對海鱺生長與先天免力之影響

將體重 4.6 g 的海鱺苗分“實驗組”與“對照組”進行兩週之餵食試驗。實驗組魚苗餵食含有 LAB0409 菌株之人工餌料，對照組則餵食不含 LAB0409 之正常人工餌料，每天餵 5% 體重的飼料量，兩週後兩組魚分別稱重，結果顯示，餵食 LAB0409 組平均體重比對照組多了 12%。

在魚類，益生菌被報導有促進白血球吞噬作用 (phagocytosis)，白血球吞噬後的呼吸爆 (respiratory burst) 活性，活化補體系統 (complement system)，促進血清溶解酶活性 (serum lysozyme)，及提高前發炎反應細胞素 (proinflammatory cytokines) 的表現 (Aly *et al.*, 2008; Arijó *et al.*, 2008; Cammarota *et al.*, 2009; Balcázar *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2006; Nikoskelainen *et al.*, 2003; Panigrahi *et al.*,

2007)。因為 *Pdp* 被白血球吞噬後，不一定會被吞噬細胞殺死，有時 *Pdp* 會潛伏在吞噬細胞內，躲避專一性中和抗體的攻擊，並隨血球細胞散佈至身體其他內臟。因 *Pdp* 對細胞內的氧化物十分敏感 (Barnes *et al.*, 1999)，若吞噬細胞具有高的呼吸爆值，就代表破壞細胞內 *Pdp* 菌的能力高，因此本實驗選擇週邊白血球的呼吸爆值作為評估先天免疫力的指標。

將海鱺苗分餵食 LAB0409 組與對照組，兩週後取週邊白血球進行呼吸爆值測試，方法參考 Choudhury *et al.*, (2005) 的報告。結果顯示，餵食 LAB0409 組魚苗的週邊白血球呼吸爆值顯著比對照組多了 20%，表示餵食組白血球更能破壞所吞噬進來的病原菌。中和抗體只能攻擊自由狀態下的 *Pdp*，無法攻擊潛伏細胞內的 *Pdp*，但提高週邊白血球呼吸爆值卻能補中和抗體防禦之不足。

4. 餵食 LAB0409 菌株對海鱺專一性抗體反應之影響

接種疫苗雖然被當作防治 *Pdp* 感染的有效防治方法，海鱺若在 50 g 以前免疫，則一定要再追加免疫才能維持高免疫力。養殖戶基於購苗費用及運輸魚苗難度，通常都購買 10~30 g 的海鱺苗下箱網養殖，一旦魚苗下箱網，追加注射免疫就變得不可行，免疫效力不足的海鱺苗，在下箱網後的 2~6 個月，經常有感染 *Pdp* 的疫情爆發。有些報告指出，乳酸菌可以促進體液免疫反應 (humoral immune response)，為瞭解餵食 LAB0409 對提升免疫後專一性抗體反應有無促進功效，將魚苗分三組，對照組魚苗 (V-L-) 沒有接種疫苗也沒餵食 LAB0409，另兩組魚苗皆接種去活化之 *Pdp* 疫苗，免疫次日起，一組餵食含 LAB0409 的人工餌料 (V+L+)，另一組則餵正常餌料 (V+L-)。分別在免疫後第二、三、四週後採血，以 ELISA 方法測專一性抗體力價。結果免疫魚的專一性抗體力價會逐週上升，但餵食 0409 (V+L+) 組與沒餵 0409 (V+L-) 組相比較，各週的抗體力價沒有差異，因此說明，餵食 0409 對專一性抗體的提升沒有促進的效果。

5. 接種 *Pdp* 疫苗之海鱺餵食 LAB0409 後對抗 *Pdp* 感染有加成保護效果

雖然免疫 *Pdp* 去活化疫苗後之海鱺苗，經兩週餵食 LAB0409 並不能提高抗 *Pdp* 之抗體量，但餵食 LAB0409 能顯著提高白血球破壞所吞噬之病原菌的能力。因此將魚分三組，第一組沒有免疫也沒餵食 LAB0409 (V-LAB-)，第二組有免疫但沒餵 LAB0409 (V+L-)，第三組有免疫並餵 LAB0409 (V+L+) 兩週之後，三組魚苗進行 *Pdp* 浸泡攻毒，計算 10 天後的累積死亡率。結果單單接種去活化之 *Pdp* 疫苗組(V+L-)的死亡率(25%)比負對照組(V-L-)的累積死亡率(60%)低了 35%，接種疫苗後加餵 LAB0409 組(V+L+)的死亡率只有 5%，所以免疫並餵食 LAB0409 對抗 *Pdp* 感染有加成保護效果。因此，LAB0409 對海鱺而言是一株益生菌，能促進成長及提高抗 *Pdp* 的能力。雖然餵食乳酸菌不一定馬上能提高專一性抗體反應，但有報告指出乳酸菌仍能改進抗原表現細胞 (antigen presenting cells, 如 dendritic cells) 對病原菌的攝取，以及延後疫情的爆發 (Rescigno *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2009)。

三、結語

臺灣養殖的海鱺苗，自陸上養殖池剛移進箱網養殖的前兩個月，最易罹患巴斯德桿菌症而造成嚴重死亡。此症一般以抗生素做為治療方法，但近年來在澎湖地區的養殖魚已分離到許多抗藥性菌株。使用不同條件製備之巴斯德桿菌疫苗，以不同免疫策略皆能使海鱺苗產生免疫力，但疫苗的保護效果在田間試驗及養殖戶實際經驗中並不穩定。本研究自養殖海鱺消化道中所分離到一株代號為 0409 的乳酸菌，混合人工餌料餵海鱺苗兩週後，餵食組魚苗體重比對照組增加 12%，續以 *Pdp* 進行浸泡攻毒試驗，餵食組的相對存活率可高達 80%，又發現餵食組的白血球呼吸爆數值明顯高於對照組，具更高效率殺死可能潛伏在吞噬細胞內的 *Pdp*；海鱺苗接種不活化 *Pdp* 疫苗後再餵食乳酸菌株 LAB0409，對免疫後的魚有加成抗 *Pdp* 感染的效果，故證明乳酸菌株 LAB0409 有潛力成為防治巴斯德桿菌症的益生菌。因此建議，在海鱺苗下箱網前先進行 *Pdp* 疫苗接種，下箱網後則持續餵食含 LAB0409 飼料，對巴斯德桿菌症將有預防的效果。

參考資料

- 古鎮鈞、陳秀男 (2000) 台灣海鱺繁殖、養殖技術現況與評析。
海鱺箱網養殖研討會, 39-49 頁。
- 劉秉忠、蔡俊男、李國誥 (2005) 箱網養殖海鱺細菌性疫苗開發及
有效性研究。漁業署養殖特刊 9 魚病研究專輯 22, 41-50 頁。
- 方宜鈞 (2009) 巴斯德桿菌去活化疫苗不同免疫策略對海鱺專一性
免疫反應之影響。國立臺灣大學動物學研究所碩士論文。
- 刑辰馥 (2010) 餵食乳酸菌對海鱺抗發光桿菌症之保護作用。
國立臺灣大學動物學研究所碩士論文。
- Balcázar, J.L., Vendrell, D., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Gironés, O.
and Múzquiz, J.L. (2007) *In vitro* competitive adhesion and
production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria
against fish pathogens. *Vet Microbiol* 122, 373-380.
- Bonet, R., Magarinos, B., Romalde, J.L., Simon-Pujol, M.D., Toranzo,
A.E. and Congregado, F. (1994) Capsular polysaccharide
expressed by *Pasteurella piscicida* grown *in vitro*. *FEMS
Microbiology Letters* 124, 285-289.
- Dalmin, G., Kathiresan, K. and Purushothaman, A. (2001) Effect of
probiotics on bacterial population and health status of shrimp in
culture pond ecosystem. *Indian J Exp Biol* 39, 939-942.
- Egusa, S. (1983) Disease problems in cultured yellowtail, *Seriola
quinqueradiata*, culture: a review. *Rapports et proces-verbaux
des reunions Conseil International pour l'exploration de la mer*
182, 10-18.
- Fukuda, Y. and Kusuda, R. (1985) Vaccination of yellowtail against
pseudotuberculosis. *Fish Pathol* 20:421-425.
- Irianto, A. and Austin, B. (2002) Probiotics in aquaculture. *J Fish Dis*
25, 633-642.

- Janssen, W.A. and Surgalla, M.J. (1968) Morphology, Physiology, and Serology of a *Pasteurella* Species Pathogenic for White Perch (*Roccus americanus*). *J Bacteriol* 96, 1606-1610.
- Kusuda, R. and Hamaguchi, M. (1987) A comparative study on efficacy of immersion and combination of immersion and oral vaccination methods against pseudotuberculosis in yellowtail. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 53, 1005-1008.
- Kusuda, R. and Hamaguchi, M. (1988) The efficacy of attenuated live bacterin of *Pasteurella piscicida* against pseudotuberculosis in yellowtail. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 8, 51-53.
- Kusuda, R. and Salati F. (1993) Major bacterial diseases affecting mariculture in Japan. In: Faisal M, Hetrick FM (eds) Annual review of fish diseases. Pergamon Press. New York, pp.69-85
- Kusuda, R., Ninomiya, M., Hamaguchi, M. and Muraoka, A. (1988) The efficacy of ribosomal vaccine prepared from *Pasteurella piscicida* against pseudotuberculosis in cultured yellowtail. *Fish Pathol* 23, 191-196.
- Liu, P.C., Lin, J.I.Y. and Lee, K.K. (2003) Virulence of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in cultured cobia *Rachycentron canadum*. *Journal of Basic Microbiology* 43, 499-507.
- Magariños, B., Romalde, J.L., BANDIN, I., FOUZ, B. and Toranzo, A.E. (1992) Phenotypic, Antigenic, and Molecular Characterization of *Pasteurella piscicida* Strains Isolated from Fish. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 3316-3322.
- Mathur, S. and Singh, R. (2005) Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. *Int J Food Microbiol* 105, 281-295.

- Morinigo, M.A., Romalde, J.L., Chabrillon, M., Magarinos, B., Arijo, S., Balebona, M.C. and Toranzo, A.E. (2002) Effectiveness of a divalent vaccine for gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) against *Vibrio alginolyticus* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 22, 298-303.
- Noya, M., Magariños, B., Toranzo, A.E. and Lamas, J. (1995) Sequential pathology of experimental pasteurellosis in gilthead seabream *Sparus aurata*. A light- and electron-microscopic study. *Diseases of Aquatic Organisms* 21, 177-186.
- Prieur, G., Nicolas, J.L., Plusquellec, A. and Vigneulle, M. (1990) Interactions between bivalves molluscs and bacteria in the marine environment. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 28, 227-352.
- Romalde, J.L. (2002) *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*: An integrated view of a bacterial fish pathogen. *International Microbiology* 5, 3-9.
- Singh, V., Singh, K., Amdekar, S., Singh, D.D., Tripathi, P., Sharma, G.L. and Yadav, H. (2009) Innate and specific gut-associated immunity and microbial interference. *FEMS Immunol Med Microbiol* 55, 6-12.
- Snieszko, S.F., Bullock, G.L., Hollis, E. and Boone, J.G. (1964) *Pasteurella* sp. from an epizootic of white perch (*Roccus americanus*) in Chesapeake Bay tidewater areas. *Journal of Bacteriology* 88, 1814-1815.
- Sugita, H., Okano, R., Suzuki, Y., Iwai, S., Mizukami, M., Akiyama, N. and Matsuura, S. (2002) Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larval and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. *Fisheries Sci* 68, 1004-1011.

- Toranzo, A.E., Barreiro, S., Casal, J.F., Figueras, A., Magariños, B. and Barja, J.L. (1991) Pasteurellosis in cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*): first report in Spain. *Aquaculture* 99, 1-15.
- Tung, M.C., Tsai, S.S., Ho, L.F., Huang, S.T. and Chen, S.C. (1985) An acute septicemic infection of *Pasteurella* organism in pond-cultured Formosa snake-head fish (*Channa maculata Lacepede*) in Taiwan. *Fish Pathology* 20, 143-148.
- Weisburg, W., Barns, S., Pelletier, D. and Lane, D. (1991) 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol* 173, 697-703.

大漢溪水域魚類爆發黃吸蟲感染

謝易廷¹、李英周^{2,3}、施秀惠^{1,2,4}

¹ 國立臺灣大學動物學研究所

² 國立臺灣大學生命科學系

³ 國立臺灣大學漁業科學研究所

⁴ 國立臺灣大學漁業推廣委員會

一、緣由

今年二月在某週刊以聳動標題「石門水庫活魚三吃陷危機」報導之前，這件事對經常協助民眾或業者解決魚類寄生蟲問題的本研究室而言，原本只是又一件例行性社會服務案而已，同時整個受委託過程其實並無異於其他案件。情形如後敘述，一月下旬民眾某小姐函電交加，自稱為中研院某研究員之友人，告知從桃園石門水庫後池堰附近溪流內釣到之溪魚體表佈滿泡泡，整批十幾尾皆如此，請我們協助判斷原因並詢問此魚是否仍可食用？其它魚類是否也受影響？由於電郵夾帶的病魚照片只顯現病徵而無從檢視真實病原，遂要求提供魚體標本。

某小姐立即送來一尾完整溪哥，全身佈滿泡狀物。經解剖檢視，確認每個泡泡內各有一隻吸蟲，雖尚不知是何蟲種？是否屬於人畜共通性？但感染強度和密集分布顯示為嚴重感染，所以當時即告知此魚不可食用。同時我們希望檢視更多標本，隔日即獲贈數尾並由另一民眾某先生帶領本研究室學生前往原處採樣，檢查發現所有魚體皆遭同種吸蟲感染。我們對此情況深感興趣，主動著手製作標本並進行鑑定，但與民眾之互動至此則告一段落。

二月初週刊出版，輿論譁然，電子傳媒爭相追蹤報導，筆者（通訊作者）係因同事詢問確切寄生蟲種時始知此事。當日購買週刊閱讀，方理解來龍去脈，該報導之撰稿人即為出面要求協助之某小姐，送樣本與協助採樣之某先生則是某環保團體之重要成員。遺憾的是，由於兩位當事人從未直接徵詢我們對本案之了解與看法，更未正式現身以媒體和環保團體身分進行訪問，而該報導提及之魚種和感染嚴重程度等片斷訊息，皆探詢自同行採樣之研究生，並在文中改以筆者口述、類如採訪之方式呈現。以致報導者實屬初步、不成熟且有待確認之資料，而我們後續研究的結論則修正甚致推翻報導中藉由聊天獲得之訊息。此外，報導中多處冠以「專家」者言之資料來源則皆非本研究室，出面具名受訪之專家亦在寄生蟲種尚未鑑定之前，泛論台灣淡水魚吸蟲感染，以致文中大篇幅論述與本案完全無關之中華肝吸蟲（*Clonorchis sinensis*）。

無論該週刊或其他傳媒皆未訪問徵詢寄生蟲學者專業見解，筆者（通訊作者）專長魚類寄生蟲學且兼任本校「漁業推廣委員會」委員多年，研究團隊長期為消費者和業者（漁產品加工、大型團膳、連鎖餐飲與進口漁產品等）解決漁產品出現寄生蟲之糾紛，經驗豐富且素負令名，此次未經告知而遭誤用資訊，同時不察緣由、未明事理之其他傳媒亦大肆炒作此事件，或許新聞壽命僅數日，但誤導社會大眾及對漁撈與餐飲業者之傷害則不知何所止？筆者（通訊作者）遂主動聯繫經濟部水利署北區水資源局，一方面澄清說明此緣由，同時要求協助採樣，期能清楚解答此次爆發且引起社會關注之寄生蟲疫病問題。

二、解答

首先鑑定引起民眾關切之溪哥（圖 1）體表泡狀物內的寄生蟲種類，根據型態特徵鑑定為扁彎口吸蟲(*Clinostomum complanatum*)之囊狀幼蟲 (metacercaria) (圖 2)，簡稱為囊幼，亦名後尾動幼蟲。其分類地位屬於扁形動物門 (Phylum Platyhelminthes)，吸蟲綱 (Class Trematoda)，複殖吸蟲亞綱 (Subclass Digenea)，鴉形目 (Order Strigeidida)，彎口科 (Family Clinostomidae)，彎口屬 (*Clinostomum*)。活囊幼之色澤偏黃且進行蛭形運動，因而被稱為黃吸蟲 (yellow grub)，魚罹患此症則被稱為扁彎口吸蟲病。鑑種除根據型態特徵外，更進一步利用分子生物學分類法確認：以專一性引子對，經由聚合酶連鎖反應 (PCR) 增幅其小單位核糖體 DNA (small subunit ribosomal DNA)，產生長度為 670 鹼基對之片段 (Dzikowski *et al.*, 2004)。

我們調查採集自石門水庫上游集水區、庫區與後池堰下游等三處水域之魚類標本，發現僅有扁彎口吸蟲囊幼感染，並無包括中華肝吸蟲在內之其他寄生蟲。茲摘述結果如下：

- (1) 集水區內採樣範圍包括 11 處水域，僅在三民溪檢出扁彎口吸蟲囊幼感染，對象包括苦花、石濱與溪哥（圖 3）。三種感染參數為：盛行率 (Prevalence) 溪哥和苦花皆為 100%，石濱則為 83%；平均感染強度 (Mean intensity, 每尾被感染魚體內囊幼平均數量) 溪哥 14.0、苦花 64.3、石濱 6.6 囊幼/魚；平均豐富度 (Mean abundance, 所有魚體內囊幼平均數量) 溪哥 14.0、苦花 64.3、石濱 5.5 囊幼/魚。
- (2) 石門水庫庫區檢視 9 種魚魚類標本各 1 尾，皆未發現吸蟲感染。9 種魚類為：鱧魚、竹篙頭、鯪魚、曲腰、福壽魚、鯽魚、鯉魚、烏鰡與大頭鰱。

(3) 後池堰下游水域魚類標本僅有溪哥遭感染，而其他溪魚如鰻條則無。感染參數為盛行率 81.82%、感染強度 (Intensity, 每尾被感染魚體內囊幼數量) 範圍 2~111 囊幼/魚、平均感染強度 18.7 囊幼/魚、豐富度 (Abundance, 所有魚體內囊幼數量) 範圍 0~111 個囊幼/魚、平均豐富度 15.3 囊幼/魚。

由於初期檢視之溪魚乃俗稱溪哥之平頷鱧 (*Zacco platypus*)，目視已知感染嚴重，解剖後確切驗證。此尾溪哥全身共檢獲 111 個囊幼，意即感染強度為 111 囊幼/魚。數量雖驚人但所有標本中僅此一尾嚴重若此，其餘亦有僅感染 2 個囊幼者，統計平均感染強度則為每尾受感染溪魚體內有 18.7 個囊幼，屬於中度感染。民眾某先生陪同採樣時，全無戒心的學生曾提及此特殊數據，而後周刊報導則逕行鎖定此數字而大肆渲染，同時電子媒體亦競相以「石門恐怖腫瘤魚！長滿百隻寄生蟲」、「畸形魚有蟲？週刊報導：水庫疑遭污染」等聳動標題跟進報導，致使社會大眾誤以為水庫下游大漢溪水域內之溪魚皆遭嚴重感染！

三、扁彎口吸蟲囊幼之來源

俗稱黃吸蟲之扁彎口吸蟲囊幼，臺灣文獻記載之感染首例發生於民國 66 年，水產試驗所竹北分所養殖之泥鰍感染此吸蟲之囊幼；而後在 68 年 10 月同地養殖之香魚亦發生嚴重感染並導致其大量死亡 (羅等, 1987)。本次疫病為臺灣發生在自然環境而非養殖池之首例。

一如其他複殖吸蟲，扁彎口吸蟲之生活史非常複雜，包括三類寄主 (圖 4)，概述如下：終寄主為食魚性之鷺科鳥類，如夜鷺、藍鷺和小白鷺等；中間寄主有二，第一中間寄主為水生螺類，第二中間寄主則為淡水魚類，後者寄主專一性低，意即可廣泛感染多種魚種，至今已知草魚、鯉魚、鯽魚、鰱魚等皆被感染 (Olsen, 1974; Dias *et al.*, 2003)。

此吸蟲成蟲寄生於鷺鳥之咽部或食道上部，當鳥類攝食或涉水時，蟲卵可由鳥喙或隨其糞便進入水中，孵化為自由生活之纖毛幼蟲（簡稱毛幼）。毛幼鑽入水生螺類體內，在其消化道發育為孢狀幼蟲（簡稱孢幼），經母孢幼崩裂釋出子孢幼之幼體繁殖後，成為雷迪幼蟲（簡稱雷幼），最後發育成為有肌肉質尾部、可自由游泳之尾動幼蟲（簡稱尾幼）。尾幼離開螺體，鑽入第二中間寄主魚類，脫去尾部發育成囊狀幼蟲（簡稱囊幼，亦稱後尾動幼蟲）。囊幼主要寄生於魚肉和皮下，刺激寄主形成橘黃色圓形囊體包裹囊幼。鷺鳥攝食含囊幼魚體，囊幼在其胃內脫囊而出，上逆爬行至咽喉處寄生並發育為成蟲（圖4）。

上述生活史有別於週刊報導之極度簡化者，同時無涉於農耕和觀光可能帶來之化肥、農藥與糞便污染。至於該報導中提及之藻華現象，雖與吸蟲來源無關，惟仍可能導致食藻性螺類之大量滋生，以致豐富了此吸蟲之第一中間寄主數量而增強感染，然而此推論仍有待驗證及確認此水域中那些螺類可擔任其寄主。

俗稱黃吸蟲者即為此吸蟲之囊幼階段。囊幼寄生於魚體肌肉或皮下組織，由於外表多呈現黃色泡狀物，內有一或多隻囊幼，因而得名。此明顯黃色泡狀物乃魚類寄主對外來異物產生反應，以結締組織包覆囊幼形成之囊體（cyst），絕非腫瘤（tumor），同時組織學構造上亦與腫瘤全然不同。解剖時發現：囊體壁極薄，略為碰觸即破裂，從包囊溢出之囊幼以口吸盤固定在魚體體表，進行水蛭狀劇烈伸縮運動，此景象勢將引起消費者之噁心厭惡感，漁產品亦全無經濟價值。

本吸蟲屬於魚類傳播（fish-borne）之人畜共通病原體（zoonosis），日本與韓國皆有病例報告，病史悉因生食淡水魚肉所致（Yamashita, 1938; Chung *et al.*, 1995; Park *et al.*, 2009）。患者主訴咽部有異物感且疼痛，而由其後咽部位檢出活蟲。蟲體可能仍維持囊幼階段，亦有已發育為成蟲之病例，顯示人體可擔任此吸蟲之偶然或伺機性終寄主（opportunistic final host）。此症被稱為彎口吸蟲

性咽炎 (*Clinostomum pharyngitis*) 或彎口吸蟲性症 (clinostomiasis)。

週刊大篇幅論述之中華肝吸蟲 (*Clonorchis sinensis*) 固亦為人畜共通病原，但此次普遍感染溪哥之寄生蟲乃扁彎口吸蟲之囊幼，報導中李代桃僵，顯然未盡查證之責。二者除同屬複殖吸蟲亞綱、皆以淡水魚類作為第二中間寄主外，分類地位殊異，致病之嚴重性亦有天壤之別。扁彎口吸蟲屬於鵝形目，終寄主為鳥綱鷺科水鳥，成蟲寄生於其咽或食道上部；偶然感染人類，僅導致咽炎。中華肝吸蟲則屬於後單目，終寄主為包括人類之哺乳綱動物，成蟲寄生於其總膽管與膽囊，患者若遭長期寄生而未經投藥或外科手術治療，可能發生之病程依序為肝炎、肝硬化甚致肝癌，因而中華肝吸蟲久經確認為導致肝臟病變之重要感染性病因。臺灣久已為中華肝吸蟲之疫區，民眾亦較為熟知此吸蟲，臺大醫院家庭醫學科教授陳慶餘醫師曾開設專科門診，筆者（通訊作者）亦曾與陳醫師合作研究此症之血清學診斷方法 (Chen *et al.*, 1987; 1988)。傳媒輕率張冠李戴，混為一談，除誤導視聽外，更引起社會大眾無謂恐慌。

擔任扁彎口吸蟲生活史之三類寄主（水生螺類、淡水魚類和食魚性鷺科鳥類）遍存於石門水庫之集水區、庫區與下游水域，推論此吸蟲可能已久存於臺灣溪流、湖泊、池塘和水庫等淡水生態體系，只因缺乏關注研究而被忽略。探詢長期研究溪流魚類多樣性之學者們而獲知：十餘年前在苗栗中港溪曾多次發現溪哥體表出現此類黃泡病症，同時石濱與日月潭之吻鰕虎等，亦有類似情況，然而皆未進行任何後續研究。

推測此次後池堰水域溪哥之普遍感染，可能肇因於若干環境因子之交互作用，而導致爆發並引發關注。參考解析牛首科複殖吸蟲囊幼嚴重感染鯉科魚類之結果 (Ogawa *et al.*, 2004)，推論可能環境因子如下：本次冬季高溫，蟲卵孵化迅速導致毛幼數量暴增，枯水期間大漢溪水位低，流速緩慢，暫時形成類似池塘之區域性環境，以致此環境中毛幼高密度聚集，因而感染（可能因藻華而大量繁殖

之)螺類，繼而滋生多量尾幼同時聚集於此類水域，終而嚴重感染溪哥，爆發此次疫病。此推論仍有待豐水期採樣調查檢測，方可驗證。

四、防治與建議

目前防治扁彎口吸蟲症之策略皆針對封閉性之養殖魚池，例如施用生石灰或硫酸銅以消滅蟲卵、毛幼和第一中間寄主螺類；綁紮草桿，放置水中，以聚集螺類並焚燒銷毀；驅趕終寄主鷺鳥等，以打斷吸蟲生活史（邱等，1999）。然而，上述方法顯然皆不適用於水庫與河流等開放性自然空間。由於此吸蟲生活史從毛幼開始之各個階段須依序寄生於水生螺類、淡水魚和食魚性鷺科鳥類，而三種寄主彼此屬於食物鏈關係，當此吸蟲已成功進入此食物鏈且寄生適應於各個成員，欲從自然界裡徹底去除消滅此吸蟲，實為不可能之舉措。

庫區內 9 種魚雖皆未檢出吸蟲感染，但由於樣本極少，魚種主要為放養者而未包括苦花、石濱與溪哥等原生種類，因而此次陰性結果並無法排除庫區內魚類亦遭此吸蟲感染之可能。尤有甚者，集水區內上述三種原生魚種之感染盛行率則高達 83~100%，顯示此吸蟲確實已於水庫上下游水域成功建立其生活史。

根據定義，臺灣已成為扁彎口吸蟲之疫區（endemic area），包括溪流、湖泊、池塘與水庫等淡水水域中之魚類，皆有遭受此寄生蟲感染之可能。此次初步調查雖起因於水庫下游魚類之嚴重感染，但同時在集水區範圍之三種魚類亦檢出相同感染，顯見此吸蟲確已存在於大漢溪水域。亟需長期觀測監控，以預先掌控疫情，適時且經由適當途徑主動宣之於眾，除可免遭傳媒渲染誤導，使消費大眾免於驚慌外，亦可確保定期舉辦之「石門活魚節」及「陸客自由行第一或最後一站」推廣活動之關鍵項目—品嚐石門活魚—之順利成功。

食魚性鳥類為生存而捕食淡水魚，同時應無能力區別魚類有無囊幼寄生，以致終難避免成為此吸蟲之終寄主與傳播者。人類吃魚而不致淪於鷺鳥相同角色之前提有二：教育及食品安全檢查。具體策略建議如下：教育一般社會大眾、餐飲與漁撈養殖業者，扁彎口吸蟲和其他以淡水魚為第二中間寄主之複殖吸蟲（如中華肝吸蟲），業經證實已存在於臺灣溪流生態系，徹底滅絕乃不切實際之設想，更無從施行。為維護漁產品品質及其經濟價值，同時保護消費者免遭吸蟲感染，具體可行之道唯有主管食品安全之衛生機關依法查察，教導與告誡業者務須遵循「水產食品業實施食品安全管制系統」之相關規定處理漁產品。

有鑒於扁彎口吸蟲已在臺灣溪流生態系中成功建立其生活史，而臺灣冬季本為枯水期，水位低而流速緩，更由於近年來全球溫室效應下屢屢出現之冬季高溫，有利於蟲卵孵化，導致幼蟲密度增高。綜合各項因素，對吸蟲繁殖而言，實乃天時（暖冬）地利（溪流暫時形成瀉湖或池塘）「人」和（魚群聚集）之理想生長繁殖條件，終而爆發淡水魚類嚴重感染之疫情。乍看此效應似不易出現在生活於龐大水體之庫區魚類，但集水區環境則難以避免。此外，即使如本次事件般，疫情僅現於水庫下游魚群，而不明緣由以致驚恐的社會大眾以及不查真相一味危言聳聽的傳播媒體，顯然仍將歸咎於掌管水庫之各個公務部門。

分析調查結果，9種庫區魚類雖未發現感染，但每種僅一尾之樣本數太少而不宜以偏概全。同時此次調查業已證實集水區之苦花、石濱與溪哥等魚類皆遭扁彎口吸蟲感染，顯見此吸蟲已於此水域成功建立生活史。因而無論此吸蟲自由生活階段之毛幼或尾幼，皆有可能隨水而下，進入庫區；毛幼可經由感染庫區內螺類而間接感染魚，尾幼則可直接感染庫區內魚群。而庫區內放養之魚種可存活多年，同時壽命長者因體型碩大而益增其經濟效益，長期生活在扁彎口吸蟲存在之水體中，庫區魚類實難逃被感染之可能；相較於此次受感染之三種溪魚，差別可能僅在於盛行率與感染強度高低而

已。如此益發顯現前述兩項建議—教育及食品安全檢查，在確保庫區漁產品安全與經濟價值上之關鍵性與重要性。

我們強烈建議應持續監控集水區、庫區與後池堰附近水域魚類感染扁彎口吸蟲之疫情，同時務須體認下列事實：確認庫區魚類健康無蟲，固為漁產品安全性把關，而開放性水域魚類吸蟲疫情則為社會大眾易於察覺並引發關注之焦點。此外，查明此水域中何種軟體動物可擔任此吸蟲之第一中間寄主以及哪些鷺科鳥類可作為終寄主，皆屬學術研究之基本方法，而迫切且有益於解決庫區放養魚類是否安全無虞之策略則為人工感染實驗：針對福壽魚、鯽魚、鯉魚、烏鰡與大頭鰱等庫區經濟性魚種，使其直接接觸吸蟲尾幼或與受染之螺類共養，藉以確認上述魚種是否為此吸蟲之第二中間寄主。

本事件在六月出現新發展，桃園地檢署已分案（「他案」）調查，重點在於溪魚發生黃吸蟲嚴重感染是否肇因於人為效應？職司水庫（經濟部水利署北區水資源局）和魚（桃園縣政府）的相關管理單位是否有所疏失？或應防範而未盡其責？根據前述，扁彎口吸蟲三類寄主之活動、行為與繁衍，諸如水螺聚生、溪魚游行和水鳥飛行棲息等固為自然現象，人力無從亦不宜干涉，但防範吸蟲感染之病魚成為消費者的盤中飧則有賴教育、法規與執法。地檢署日前表示：依據北水局之說明以及我們提供給該局之調查報告，此案將於近期結案歸檔。

臺灣具有為數眾多之天然河川、溪流、池塘以及人工修築之水庫與灌溉渠道，此淡水生態系中生活著溪哥和苦花等原生魚種，同時亦有人工養殖之多種經濟性魚類。由於扁彎口吸蟲之終寄主為善飛翔、以魚類為食之鳥類，如今業已證實大漢河流域為此吸蟲之盛行區域，推測其他鄰近水域甚至全台之淡水生態系恐亦難逃相同命運。基於寄生蟲學觀點，地球上所有脊椎動物和大部分無脊椎動物皆遭寄生蟲感染，寄生蟲亦為驅策寄主演化的天擇（natural selection）之一，因此發現吸蟲之存在與食用性魚類遭受感染並不

可怕，可怕的是無知。無知於寄生蟲久存於地球生物相 (biosphere) 並遍存於各個生態系 (ecosystem) 之事實，一旦發覺其存在，非但不思探索真相與因應之道，反倒直覺地指責相關單位。筆者需重申在剖析海魚有線蟲現象時之呼籲 (施，2004)：政府、專家和媒體應秉持各自之責任與專業而各司其職。媒體固有監督政府施政與維護閱聽大眾「知之權利」的職責，但應提供事實與正確資訊，不宜一味追逐聳人聽聞、譁眾取寵之淺薄報導。專家們理應體察「術業有專攻」之真義，切勿強不知以為知，在真相未明之前，逕行牽強附會，堆砌不相干且誤導民眾之訊息。政府相關部門更應洞燭機先，充分掌握且理解主管業務之所有資訊，廣納專家學者之專業見解，在事件發軔之初，主動調查了解並積極研擬因應策略。

參考文獻

- 邱兆社、李慶奎、趙忠芳、蕭智、劉巍 (1999) 寄生於魚類之複殖吸蟲與複殖吸蟲病。魚類寄生蟲與寄生蟲病，張劍英、邱兆社、丁雪娟等編著，北京科學出版社出版，第 340 至 342 頁。
- 施秀惠 (2004) 海魚線蟲之迷思與剖析。臺大漁推，第 15 期，第 15 至 34 頁。
- 羅竹芳、郭光雄、扈伯爾、劉富光 (1987) 黃吸蟲 *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1819 之研究 I. 寄生香魚(*Plecoglossus alivelis*) 之後搖尾幼蟲。農委會漁業特刊第十一號，魚病研究論文集(二)寄生蟲專輯，第 56 至 63 頁。
- Chen, C.Y., Hseih, W.C., Shih, H.H. and Chen, S.N. (1987) Detection of serum antibody to *Clonorchis sinensis* by enzyme-linked immunosorbent assay. Journal of Formosan Medical Association 86, 706-711.
- Chen, C.Y., Hseih, W.C., Shih, H.H. and Chen, S.N. (1988) Immunodiagnosis of clonorchiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 19, 117-121.
- Chung, D.I., Moon, C.H., Kong H.H., Choi, D.W. and Lim, D.K. (1995) The first human case of *Clinostomum complanatum* (Trematoda: Clinostomidae) infection in Korea. The Korean Journal of Parasitology 33, 219-223.
- Dias, M.L.G.G., Eiras, J.C., Machado, M.H., Souza, G.T.R. and Pavanelli, G.C. (2003) The life cycle of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814 (Digenea, Clinostomidae) on the floodplain of the high Parana river, Brazil. Parasitology Research 89, 506-508.

- Dzikowski, R., Levy, M.G., Poore, M.F., Flowers, J.R. and Paperna, I. (2004) *Clinostomum complanatum* and *Clinostomum marginatum* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Clinostomidae) are separate species based on differences in ribosomal DNA. *The Journal of Parasitology*, 90, 413-414.
- Ogawa, K., Nakatsugawa, T. and Yasuzaki, M. (2004) Heavy metacercarial infections of cyprinid fishes in Uji River. *Fisheries Science* 70, 132-140.
- Olsen, O.W. (1974) Part III Phylum Platyhelminthes. Animal parasite, their life cycles and Ecology, Dover Publications, Inc., New York, pp. 240-244.
- Park, C.W., Kim, J.S., Joo, H.S. and Kim, J. (2009) A human case of *Clinostomum complanatum* infection in Korea. *Korean Journal Parasitology* 47, 401-404.
- Yamashita, J. (1938) *Clinostomum complanatum*, a trematodes parasite new to man. *Annotationes Zoologicae Japonenses* 17, 563-566.

誌謝

感謝複殖吸蟲分類權威、大陸寄生蟲學會前任理事長暨南開大學生物學系教授邱兆祉老師，協助鑑定寄生蟲種。本論文由經濟部水利署北區水資源局協助採樣並支援部分經費，謹此敬申謝忱。

通訊作者：施秀惠

電話：(02) 3366-2504，電郵：shihhh@ntu.edu.tw

附錄 (圖)



圖 1. 後池堰下游罹患扁彎口吸蟲症之溪哥

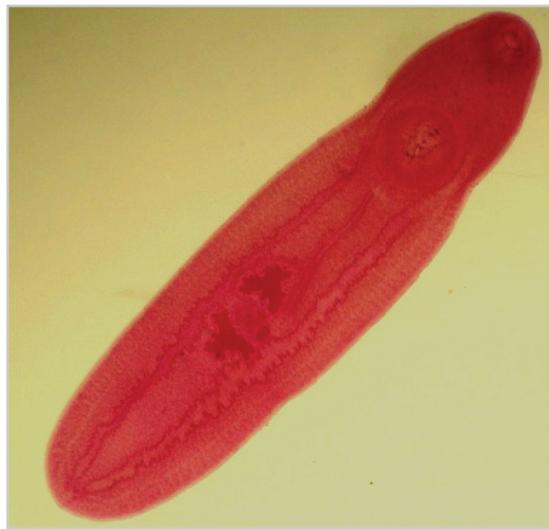


圖 2. 扁彎口吸蟲 (*Clinostomum complanatum*)囊狀幼蟲

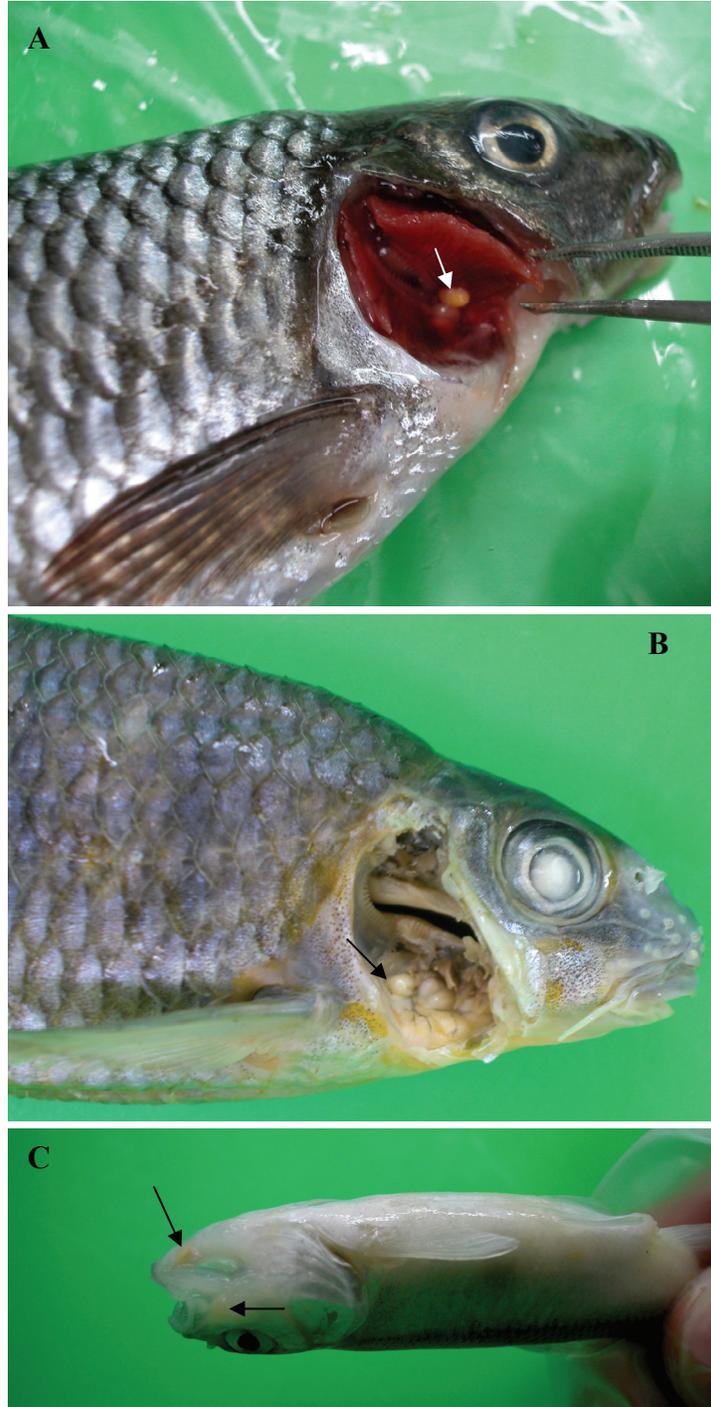


圖 3. 集水區內感染扁彎口吸蟲囊幼（箭頭）之
苦花(A) 石濱(B) 與溪哥(C)

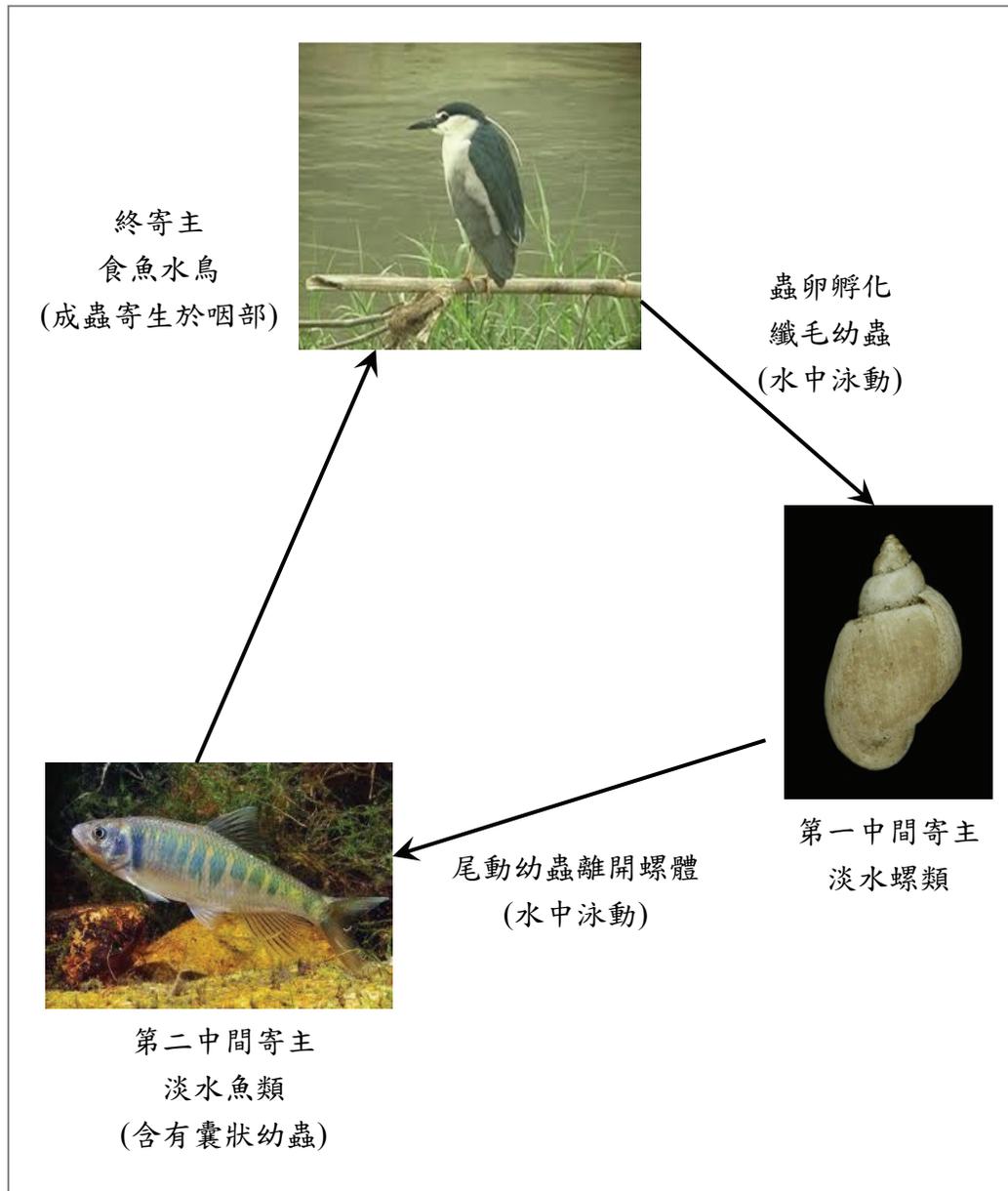


圖 4. 扁彎口吸蟲生活史

低魚粉飼料對赤鰭笛鯛成長之研究

吳仁傑¹、歐俊男¹、葉信利²、廖文亮^{1,3,4}

¹ 國立臺灣大學漁業科學研究所

² 行政院農委會水產試驗所海水繁殖研究中心

³ 國立臺灣大學生命科學系

⁴ 國立臺灣大學漁業推廣委員會

一、前言

赤鰭笛鯛 Red striped snapper (*Lutjanus erythropterus*)，俗稱紅魚、赤海雞或海雞母，分佈於印度西太平洋海域，東至大溪地，西起非洲東岸，南至澳洲北部，北至日本南部。在臺灣主要分佈於西部的澎湖島及南部的高雄及東港海域，一般棲息於水深數 10 公尺處，在水深 200 公尺處亦可發現大魚的蹤跡，最大體長可達 90 公分。習性屬於夜行性魚類，具有群游及底棲穴居之習性。

赤鰭笛鯛是屬於廣溫及廣鹽性的魚類，其適合生長的水溫為 18~32°C，當水溫低於 12°C 時，魚隻會出現凍死的現象，最適合的生長水溫為 25~30°C，在此水溫範圍之內的生長速度最為快速，可適應的鹽度範圍為 5~40‰，一般養殖的鹽度則維持在 20~30‰之間。本魚種經過幾代人工的馴養已能適應漁塢的肥沃水質，因此在漁塢中養殖已不成問題。目前臺灣的養殖漁業已由陸地及沿海漁塢逐漸轉型成海上的箱網養殖，在箱網飼養的種類包括海鱸 (*Rachycentron canadum*)、石斑魚 (*Epinephelus* spp.)、紅魷 (*Seriola dumerili*)、鯛及笛鯛魚類等。

在水產養殖產業中，飼料約佔總生產成本的40~60% (Sarac *et al.*, 1993)，而蛋白質是飼料成本中花費最大的部分。蛋白質是維持魚類生命和生長的重要營養成分，不僅參與了體內各種組織與細胞的構成，同時也在生理機能與新陳代謝中扮演重要的角色。魚粉是被公認為對魚成長的最佳蛋白質來源，但由於高品質的魚粉在水產飼料工業上的供應量不穩定及價格的變動相當大，根據聯合國農糧組織 (FAO) 的統計，從1961年到2001年間，魚粉的產量維持在每年五百萬到七百萬噸左右，而且推估在未來也不會有所增加，在市場供不應求的情形之下造成了魚粉的價格逐年上升。水產飼料勢必要尋找可取代魚粉的蛋白質的原料來源 (Lee, 2002; Watanabe, 2002; Zhou *et al.*, 2004)。在水產飼料的研究中，各種動、植物性蛋白質來源也相繼被使用，以期尋求取代魚粉 (Carter *et al.*, 2000; El-Sayed, 1999; Millamena, 2002; Kaushik *et al.*, 2004; Mundheim *et al.*, 2004)。

本文整理出添加動物性原料的烏賊粉及南極蝦粉配合植物性原料的羽扇豆粉、菜籽粕及玉米蛋白探討低魚粉飼料對赤鰭笛鯛之研究。

二、動物性原料

(一) 烏賊粉

利用烏賊加工後不食用之殘屑以頭與足為主，經乾燥粉碎稱為烏賊粉 (Squid meal)；而烏賊之內臟經發酵、分離油脂，乾燥粉碎後之產品，稱為烏賊內臟粉 (Squid viscera meal)。烏賊粉的胺基酸組成良好，對水產動物具有誘引作用，並含有高度不飽和脂肪酸及膽固醇，為水產蝦、蟹類良好的飼料原料來源。烏賊粉一般用於增進蝦類成長，適當的添加量約在 2~10% 範圍之間。烏賊粉通常無營養限制，但受價格及可用性之限制。某些烏賊種類含有促進成長因子 (Growth promoting factor)，能增進蝦類的

成長 (Cruz-R *et al.*, 1987)。在 Gilthead sea bream 的飼料中添加烏賊粉，可使其產卵率及孵化率效果稍高於魚粉對照組 (Fernández-Palacios *et al.*, 1997)。海鱸飼料中的魚粉取代之研究，於飼料中同時添加烏賊粉及植物性原料取代魚粉時，魚粉含量可由 60% 降至 30% (潘，2006)。赤鰭笛鯛初始平均體重約 3.5 g，經 42 天飼養後，飼料中添加 5% 烏賊粉及植物性原料 20% 羽扇豆粉與 15% 玉米蛋白，使魚粉含量由 60% 降至 30% 成長無顯著性差異 (吳，2006)。

(二) 南極蝦粉

南極蝦粉 (Krill meal) 是乾燥粉碎之蝦廢棄物，包括頭、外甲殼、或者使用全蝦者，商用飼料中蝦之副產物，包括蝦頭粉、蝦殼粉、蝦廢棄物粉與可溶性之蝦頭抽出物，南極蝦粉在使用時應注意其品質及新鮮度。南極蝦粉在商用飼料中之含量通常為 5~15% 之間。一般而言，南極蝦粉為優良的礦物質、幾丁質、膽固醇和磷脂質之來源，南極蝦粉亦可做為飼料中的誘餌物質，具有良好的誘引效果 (Ibrahim and Chiaki, 1984a,b; Ibrahim and Chiaki, 1985)。此外在南極蝦粉中富含有還原蝦紅素 (Astaxanthin)，具有良好著色效果，為魚蝦飼料之揚色劑，對於養殖魚類的體色呈現十分有助益，可避免在養殖過程中發生魚體失色 (dispigmentation) 現象而減低價值，同時有助於提升水產品的市場價值 (曾，2004)。在飼料中，以南極蝦粉取代魚粉飼養 Atlantic cod 實驗中發現，於飼料中可以添加南極蝦粉取代 50% 的魚粉用量，其成長效果跟使用全魚粉的對照組之間沒有差異 (Opstad *et al.*, 2006)。海鱸飼料中的魚粉取代之研究，於飼料中同時添加南極蝦粉及植物性原料取代魚粉時，魚粉含量可由 60% 降至 25% (黎，2006)。赤鰭笛鯛初始平均體重約 3.6 g 經 42 天飼養後飼料中添加 10% 南極蝦粉及植物性原料 20% 羽扇豆粉、15% 玉米蛋白及 10% 菜籽粕，使魚粉含量由 60% 降至 17% (歐，2006)。

三、植物性原料

(一) 羽扇豆粉

本實驗中所使用的植物性蛋白質原料羽扇豆品種為西澳地區栽種之狹葉羽扇 (*Lupinus angustifolius*)，蛋白質含量約 31%，脂肪含量約 5%，每公斤羽扇豆含維他命 E 2.2 毫克，維他命 E 為自然抗氧化劑，羽扇豆磨成粉後，可防止羽扇豆氧化酸敗變質 (Rahman, 1994)。而礦物質的磷含量只有 0.29%，當羽扇豆添加於水產飼料中，符合魚體成長需求的情形下，可減少養殖池磷含量防止水污染 (Burel *et al.*, 1998)。飼料中需要添加黏著劑，因羽扇豆含有豐富的碳水化合物，使飼料的黏著度增加，如此可減少黏著劑的用量，在投入水中餵食水產物時不易鬆散，增加水質安定性。豆科植物含有抗營養因子 (Anti-nutritional factors; ANFs) 羽扇豆粉添加在飼料之前，需經加工方式處理去除抗營養物質，其中抑制胰蛋白酶、皂素及生物鹼等抗營養因子經高溫加熱是可以降低的，而羽扇豆的最佳加熱條件為溫度 120°C，時間 40 分鐘 (陳, 2001)。過去羽扇豆廣泛使用在畜產的飼料中，近十幾年來才有學者嘗試將之做為水產飼料蛋白質來源，例如虹鱒、金頭鯛、草蝦、鰈魚、大西洋鮭魚、吳郭魚及海鱸等，飼料中添加量約 10~20% 為最適量。海鱸飼料中的魚粉取代之研究，於飼料中添加 20% 羽扇豆粉取代魚粉時，魚粉含量可由 65% 降至 51% (王, 2003)。赤鰭笛鯛初始平均體重約 3.5 g 經 42 天飼養後飼料中添加 5% 烏賊粉及植物性原料 20% 羽扇豆粉，使魚粉含量由 60% 降至 45% 成長無顯著性差異 (吳, 2006)。

(二) 菜籽粕

油菜係十字花科植物 (Cruciferae)，適合溫帶氣候栽種，以加拿大栽培最多。油菜籽含油分為 40%，經榨油後之殘渣約為 50%，此殘渣經適當加熱乾燥而為菜籽粕蛋白質含量約 40%。

菜籽粕因蛋白質中胺基酸組成尚均衡，所以被視為良好的飼料植物性蛋白質來源。菜籽粕含有對禽畜和魚類之營養利用有礙之不良因子，主要為含硫配醣體、植酸及單寧。硫配醣體在十字花科植物中最常見，原儲存於植物細胞中，當細胞破損釋出經酵素分解後，產生二次代謝物，此代謝物為甲狀腺腫大物質 (Goitrin)，進而影響成長 (Burel *et al.*, 2000)。植酸常存在於植物種子內，菜籽粕含 2~4% 植酸，植酸化學名稱為肌醇六磷酸酯，是一個親合性強的負價陰離子，此化合物在酸性環境中容易和蛋白質結合形成複合物而不易消化導致成長下降 (Spinelli *et al.*, 1983)。另外植酸能與二價或三價陽離子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{3+} 或 Fe^{3+} 等形成螯合物，降低生物個體對礦物質的使用 (Duffus and Duffus, 1991; El-Batal and Abdel, 2001)。植酸酶 (Myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase EC 3.1.3.8)，為一種可將磷從植酸鹽分子中釋放出來的酵素，使磷被生物所利用，並增加植酸磷 (Phytate-P) 的利用率 (Nelson, 1967)。飼料中添加植酸酶可降低無機磷的補充量，且釋放並分解與植酸結合的營養素，增加蛋白質、胺基酸之消化與蓄積及其他礦物質的利用率 (Mahanna, 1999; Kies *et al.*, 2001; Kornegay *et al.*, 1996)。單寧能與飼料中酵素、礦物質或是蛋白質結合，而降低這些物質的利用率，而且單寧具有苦澀味，造成飼料的嗜口性較差，因而降低水產動物的攝食率。以菜籽粕取代魚粉的研究中有虹鱒、大西洋鮭魚、鱈魚、鯰魚、吳郭魚、金頭鯛及海鱺等魚種。由於上述抗營養物質的影響，菜籽粕在鱈魚約以 30% 為上限 (Burel *et al.*, 2000)。海鱺飼料中的魚粉取代之研究，於飼料中添加 10% 菜籽粕取代魚粉時，魚粉含量可由 65% 降至 59% (黃, 2006)。赤鰭笛鯛初始平均體重約 3.5 g，經 42 天飼養後，飼料中添加 5% 烏賊粉及植物性原料 10% 菜籽粕，使魚粉含量由 60% 降至 52% 成長無顯著性差異 (吳, 2006)。

(三) 玉米蛋白

玉米穀粒可分為胚乳及胚芽，胚乳在分離玉米澱粉後所剩下之蛋白質部份，即為玉米筋質粉 (Corn gluten meal)，俗稱玉米蛋白，玉米蛋白的粗蛋白含量可高達 72%，且幾乎不含抗營養因子，同時富含維生素 B、E 且纖維含量低，為飼料之良好蛋白質原料來源。相較於魚粉而言，玉米蛋白中離胺酸 (Lysine)、甲硫胺酸 (Methionine)、精胺酸 (Arginine) 及色胺酸 (Tryptophan) 必須胺基酸含量較低 (Mente *et al.*, 2003)，其中又以 Lysine 為最低，故添加多量於飼料中需注意必須胺基酸之補充。玉米蛋白應用於水產飼料中有虹鱒、鯉魚、鰈魚、金頭鯛、鰱、真鯛、鯆及海鱸等魚種，在飼料中添加量多在 10~25% 之間。海鱸初始平均體重約 11 g，經 42 天飼養後，飼料中添加 15% 玉米蛋白為最適取代量，使魚粉含量由 65% 降至 50% (黃, 2006)。赤鰭笛鯛初始平均體重約 3.5 g，經 42 天飼養後，飼料中添加 5% 烏賊粉及植物性原料 15% 玉米蛋白，使魚粉含量由 60% 降至 43% 成長無顯著性差異 (吳, 2006)。

四、 結語

根據政府的漁業年報在 2008 年臺灣海面養殖其他鯛生產量合計達 141 噸，生產值達 3800 萬元。海面養殖鯛類大都以飼料投餵，飼料中魚粉含量約 50%，惟魚粉價格昂貴，利用動物性原料的烏賊粉及南極蝦粉，配合植物性原料的羽扇豆粉、菜籽粕及玉米蛋白，探討赤鰭笛鯛飼料中魚粉使用量可降為 17%。日本已探討真鯛無魚粉飼料之研究，未來開發無魚粉的飼料飼養赤鰭笛鯛為重要之研究課題。

參考文獻

- 王育彬 (2003) 飼料中添加羽扇豆粉取代魚粉對海鱺成長之影響。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。73 頁。
- 吳仁傑 (2006) 低魚粉飼料對赤鰭笛鯛成長之影響。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。61 頁。
- 黃海龍 (2006) 飼料中添加不同植物性原料取代魚粉對海鱺成長之研究。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。111 頁。
- 曾偉誠 (2004) 飼料中添加不同類胡蘿蔔素對赤鰭笛鯛體色之影響。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。65 頁。
- 陳佳珍 (2001) 飼料中添加羽扇豆粉及類胰島素成長因子對吳郭魚成長效果之研究。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。68 頁。
- 歐俊男 (2006) 飼料中添加動物性及植物性原料取代魚粉對赤鰭笛鯛成長之影響。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。70 頁。
- 潘慶佑 (2006) 飼料添加烏賊粉及植物性原料取代魚粉對海鱺成長之影響。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。83 頁。
- 黎俊廷 (2006) 飼料中添加南極蝦粉及植物性原料取代魚粉對海鱺成長之影響。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文。68 頁。
- Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S. J., Boeuf, G., Van Der Geyten, S., Mol, K. A. and Kuhn, E. R. (1998) Incorporation of high level of extruded lupin in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): nutritional value and effect on thyroid status. *Aquaculture*, 163:325-345.
- Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S. J., Boeuf, G., Van Der Geyten, S., Mol, K. A., Kuhn, E. R., Quinsac, A., Krouti, M. and Ribaillier, D. (2000) Potential of plant-protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilization and thyroid status. *Aquaculture*, 188:363-382.

- Carter, C. G., Houlihan, D.F. and He, Z.-Y. (2000) Changes in tissue free amino acid concentrations in Atlantic salmon (*Salmo salar* L), after consumption of a low ration. *Fish Physiol. Biochem.*, 23: 295-306.
- Cruz-R., L. E., Guillaume, J., Guzon, G. and AQUACOP, (1987) Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. *J. World Aquacult. Soc.*, 184:209-217.
- Duffus, C. M. and Duffus, J.H. (1991) In: D'Mello, F.J.P., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Eds., *Toxic substances in crop plants*. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge CB4 4WF, Cambridge: pp 1-21.
- El-Batal, A. I. and Abdel Kareem, H. (2001) Phytase production and phytic acid reduction in rapeseed meal by *Aspergillus niger* during solid state fermentation. *Food Res.*, 34:715-720.
- El-Sayed, A.-F.M. (1999) Alternative dietary protein sources for farmed tilapia (*Oreochromis* spp). *Aquaculture*, 179:149-168.
- FAO, (2002) *The State of World Fisheries and Aquaculture*. FAO Fisheries Department, Rome, 159 pp.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. and Montero, D. (1997) The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream. *Aquaculture*, 148:233-246.
- Ibrahim, A. and Chiaki, S. (1984 a) Supplemental effect of the whole body krill meal and the non-muscle krill of *Euphausia superba* in fish diet. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50:815-820
- Ibrahim, A. and Chiaki, S. (1984 b) Extraction of growth promoting fractions from non-muscle krill of *Euphausia superba* its effect on fish growth. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50:821-826
- Ibrahim, A. and Chiaki, S. (1985) Separation of growth promoting factors from non-muscle krill of *Euphausia superba*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51:945-951

- Kaushik, S. J., Cove's, D., Dutto, G. and Blanc, D. (2004) Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 230:391-404.
- Kies, A. K., van Hemert, K. H. F. and Sauer, W. C. (2001) Effect of phytase on protein and amino acid digestibility and energy utilization. *World Poult. Sci.*, 57:109-125.
- Kornegay, E. T., Denbow, D. M. and Ravindran, V. (1996) Response of broilers to grades levels of microbial phytase added to maize-soyabean-meal-based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. *Br. J. Nutr.*, 75:839-852.
- Lee, S.-M. (2002) Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, 207:79-95.
- Mahanna, C. (1999) Changes in zinc and manganese availability in broiler chicks induced by vegetal and microbial phytases. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 77:241-253.
- Mente, E., Deguara, S., Santos, M.B. and Houlihan, D. (2003) White muscle free amino acid concentrations following feeding a maize gluten dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *Aquaculture*, 225:133-147.
- 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.
- Mundheim, H., Aksnes, A. and Hope, B. (2004) Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar L.*) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. *Aquaculture*, 237:315-331.
- Nelson, T. S. (1967) The utilization of phytate-phosphorous by poultry. *Poult. Sci.*, 46:862-871.

- Opstad, I., Suontama, J., Langmyhr, E. and Olsen, R. E. (2006) Growth, survival, and development of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) weaned onto diets containing various sources of marine protein. -ICES J. Marine Sci., 63:320-325.
- Rahman, M. H. (1994) Chemical and nutritional evaluation of lupinus angustifolius sweet lupin seed proteins. Breakthrough, 10:8-9.
- Sarac, H. Z., Thaggard, H., Gravel, M., Saunders, J., Neill, A. and Cowan, R.T. (1993) Observations on the chemical composition of some commercial prawn feeds and associated growth responses in *Penaeus monodon*. Aquaculture, 115: 97-110.
- Spinelli, J., Houle, C. R. and Wekell, J. C. (1983) The effect of phytates on the growth of rainbow trout *Salmo gairdneri* fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. Aquaculture, 30:71-83.
- Watanabe, T. (2002) Strategies for further development of aquatic feeds. Fish. Sci., 68:242-252.
- Zhou, Q. C., Tan, B.P., Mai, K.S. and Liu, Y.J. (2004) Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture, 241:441-451.

附錄(圖)



圖 1. 實驗場地在水產試驗所海水繁養殖中心室外小型浮水箱網。



圖 2. 飼養 42 天後的赤鰭笛鯛平均體重 15~18 克。