

免疫調節技術對於魚類養殖的應用

張景盛¹、吳育昇¹、陳秀男^{1,2,3}

¹ 國立臺灣大學漁業科學研究所

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

水產相關產業一直是一種高價且優質的傳統產業，但是隨著生態保育意識的興起加上資源枯竭等現實條件，早期以捕撈方式的漁業生產正受到嚴重的衝擊，產量早已無法滿足目前全球市場需求，透過人工繁養殖的水產品，已成為重要的食品供應產業。近年來消費者對於食品健康、食品衛生安全等需求與日劇增，同樣對於水產養殖產業產生重大影響。全球高經濟水產養殖產業普遍面臨的問題，主要在於“產量不足”與“疾病防治成效不彰”兩大方面。過去對於養殖技術與疾病管理的概念，在目前食品安全與永續經營的考量下，面臨嚴峻的挑戰，因此，如何建構新式的養殖管理模式與健康管理策略，將成為未來水產養殖產業重要的關鍵技術。商業化生產關鍵在於如何有效降低成本與提高產量，只有滿足這樣的需求才能創造利潤，這是所有產業重要的基本常識。過去水產養殖產業中，為了創造最大效益，往往一昧追求高密度育成技術與快速疾病治療技術，這樣的發展方向，的確創造了較高的利潤，也促進了整體產業的發展，但是在這樣發展過程的背後，卻需要付出高昂的成本，包括：環境破壞、食品安全危機、病原物抗藥性突變，這些後果往往導致產業一夕崩解。以台灣的水產養殖例子來看，草蝦養殖產業正是這樣惡性循環下的最佳範例，而這樣的例子現在正在全球各地不斷上演。

水產養殖產業是一種跟水、環境、氣候與生物相生共存的產業，所以它跟一般工業化生產的產業具有截然不同的特性，由於生產過程中未知的變數過高，以至於無法有效預估產量，這也是目前所有農業產業所共同面對的艱巨挑戰。台灣由於地少人稠以及土地成本高昂，為了取得最大的利益，許多水產養殖業者必須長期進行高密度放養，而無法讓環境得以休息恢復，使得養殖池中各種有機物質與無機物質長期堆積，例如：殘餌、死亡的生物、排泄物、化學藥物等，甚至是水源中的不同物質與污染物質，這樣不僅對池塘養殖環境造成不良影響，且對養殖生物本身也存在極高的風險。所以要如何穩定提供一個適合養殖生物生存的環境，將成為水產養殖產業最重要的工作，而透過穩定環境方式，的確有效降低了疾病的肆虐與減低養殖生物的緊迫，有效提高產量。

除了環境的挑戰外，疾病問題一直是動物飼育產業中最嚴重的困擾，為了降低疾病感染的風險，過去的管理策略往往偏重藥物使用的技術與新藥物的研發。不可否認，在商業化高密度養殖過程中，以藥物作為疾病控制技術是必須的，但是，在使用過程中對於藥物的效力、使用藥物的方法，甚至劑量的評估都必須非常小心；加上水生生物與陸生生物之間不管在生活環境或是生體條件上都存在著極大的差異，使得水生生物不易以注射方法進行藥物使用，大多改以口服或是浸泡的方式投藥，這樣的過程除了容易產生服藥量不均，加上水生生物必須生活在水中，而水體中的藻類、微生物、或者水中的物質，都有可能直接或間接影響到藥物的效力，所以藥物的用量與使用方法變得難以掌握。這也造成了許多藥物在使用劑量與使用過程的風險，除了藥物殘留影響食品安全之外，對於病原物質抗藥性的誘發、以及對於環境或其他生物的傷害，都難以避免。而這樣的困擾，也造成了在水產養殖產業疾病防治上的重大缺口，除了嚴重影響到產業產值之外，更對於環境與資源的永續利用與消費者的健康造成不可彌補的傷害。

為了解決目前水產養殖產業的困境，不論在養殖技術、水質管理、飼料配方、藥物應用、有益微生物、免疫調節等領域，都有許多新的研究正如火如荼的進行中。在這些不同研究領域中也發現：高密度養殖條件下的水生生物，因不同原因的緊迫交互影響，使得養殖生物的生理機能嚴重失調，這樣不但影響成長，也大幅降低生物本身的免疫能力。在這樣不健康的環境中，養殖生物對於環境與疾病的耐受度自然低落，疾病的威脅也日益提升，自然也難以有效達成預期產值與產量。為了解決這樣的問題，近年來不論是對於免疫調控技術的研究或是免疫調節產品的開發，便成為水產養殖疾病控制與健康管理策略中的顯學。在許多研究中發現，一旦有效提高養殖生物非特異免疫與專一性免疫機能，對於養殖生物在存活率、成長率、以及抗病能力上都有正面的影響，透過許多田間應用實驗證實，這樣的技術或產品可以有效地應用在實際生產過程，而且達到預期的效果。

目前常見的水產養殖免疫調節技術當中，最受矚目的是疫苗的應用。水生生物可以以注射、浸泡、或餵食等方式與陸生生物一樣應用疫苗。但是由於水生生物與陸生生物先天條件上的差異，許多免疫控制技術在水生生物上並無法有效地發揮成效。以疫苗為例，近年來許多研究團隊紛紛針對不同水生生物疾病研發疫苗，不論是不活化疫苗、減毒疫苗、或是新式的基因重組疫苗，都有很好的研發成效。但是至今為止，仍然只有少數水產養殖產業得以應用而且具有良好成果，最好的例子就是挪威鮭魚的養殖過程，使用IPNV不活化疫苗，有效降低死亡率。但是在其他魚類養殖卻難有相同的成果，其最大的問題在於疫苗的使用過程繁瑣費時，往往對魚隻造成嚴重的緊迫。特別是如果需要在魚苗階段使用注射疫苗，由於魚苗數量龐大，加上體型過小不易注射，往往在施打疫苗後，因為緊迫導致大量死亡，而難以達到成效。至於在口服疫苗或浸泡疫苗的研發上，則因為效果不彰或是成本過高而無法有效應用。

在水產養殖產業中，最常應用的免疫調節技術，就是使用有益微生物。有益微生物一直是有效的免疫調控策略，在水產養殖環境中大量使用有益微生物，不但可以調節養殖魚類生理機能，提高免疫能力，而且不同的操作模式甚至可以有效控制水質，穩定養殖環境。使用有益微生物在魚類養殖過程中，主要有兩種模式：其一是可以利用特定微生物添加於養殖水體中；利用微生物穩定水質，透過添加有益微生物與水體中其他微生物競爭或是抑制的途徑，達到減少有害菌量的目標，同時有效降低養殖水體中的有機質。另外一個途徑，可以利用飼料中或是水體中添加有益微生物；利用微生物的特性，穩定魚體內腸道菌相提高免疫能力，透過競爭抑制有害細菌在腸道內滋生，以降低疾病發生的風險，這是一種非常安全而且有效的免疫調節策略。在幼苗培育階段，使用有益微生物具有高度的安全性，而且具有免疫調節的能力，加上微生物本身可以作為營養的來源之一，所以使用有益微生物已經成為目前水產生物養殖的重要工具。

此外，近年來發展的免疫調控策略，就是利用禽鳥類卵黃中的免疫球蛋白（Immunoglobulin of egg yolk；IgY），又稱卵黃抗體。IgY非常類似於哺乳動物的IgG，卵黃抗體主要是由家禽血液經由被動運輸方式到蛋黃中。利用抗體抗原專一性結合之特性，可有效預防與治療因細菌或病毒引起之疾病。只要利用家禽注射水生生物細菌性與病毒性疾病特定抗原，便可生產特異性的抗體並移轉於蛋黃中，這些特定的抗體可以透過口服的方式進入其他動物腸胃道內，在腸胃道內破壞或是中和這些細菌或是病毒，以降低水生生物罹病的風險。這樣的概念可以有效降低水產動物受到細菌性疾病與病毒性疾病感染的風險，甚至可以達到治療的效果。

近年來隨著對於藥物使用的疑慮，如何提高養殖生物自身免疫能力以降低疾病感染的風險，成為許多研究團隊共同的目標。不可諱言，藥物的確可以有效控制細菌性疾病與寄生蟲性疾病，但是，藥物使用所引發的食品安全與環境破壞的後果，卻難以如預期地被控制，更遑論濫用藥物引發病原物質抗藥性突變的困擾。這些問題

嚴重影響到消費者對於食品安全的信心與產業的生存。近年來，隨著免疫調節物質 (Immunomodulator) 或免疫激活物質 (Immunostimulants) 的研究日益完整，利用免疫調節物質進行水產養殖生物的免疫調控，已經成為目前解決疾病問題的重要趨勢。一般而言，免疫調節物質可主要包括：化學合成物的免疫刺激物、真菌或細菌的代謝產物、不同的多醣類、動植物萃取物質、特殊的營養因子、賀爾蒙與細胞激素等六大類。而在這些免疫調節物質當中又以多醣類的葡聚多醣目前最受矚目。目前常見的葡聚多醣免疫調節物主要萃取自燕麥、酵母菌與菇蕈類。葡聚多醣可以有效調控不同生物的免疫反應，並可以輕易透過口服的模式達到免疫調節的目的。同時更有研究指出，使用葡聚多醣可以與疫苗或是其他的免疫操作技術相輔相成，所以葡聚多醣是一種在飼育動物過程中極佳的免疫調控技術。但是過去由於萃取成本高昂，加上生產與應用模式不夠成熟，使得葡聚多醣在應用上仍然有許多瓶頸需要克服。

葡聚多醣之所以會成為目前在健康食品與動物飼育中重要的免疫調節物質，很大的原因除了在取得方式比起某些特殊免疫調節物質容易之外，最大的優勢就是葡聚多醣具有高度的免疫調節活性，而且許多研究中發現，不論在非特異免疫與專一性免疫上，都可以顯著發現葡聚多醣對於免疫系統的調控能力。這些不同來源的葡聚多醣中，又以菇蕈所萃取的葡聚多醣最受矚目。菇蕈所萃取的葡聚多醣非常複雜，一般來說其由許多不同構型的葡聚醣所組成 (例如： β -(1→3)-glucans、 β -(1→6)-glucans、 α -(1→3)(1→6)-glucans)。菇蕈所產生葡聚多醣具有高分子的特性，較其他來源的葡聚多醣有著顯著差異，具有較高的免疫調節活性，使得應用菇蕈葡聚多醣，被視為未來動物飼育產業中重要的免疫調節技術。

由於目前對於菇蕈培養技術的成熟，加上菌絲體階段可以利用液態醱酵的培養模式，大量生產並萃取葡聚多醣，這樣的生產效率，遠高於過去經由子實體所萃取的效率。使得菇蕈中 β -葡聚多醣可以應用工廠化的生產技術大量生產，遠較其他葡聚多醣容易取得。但是由於菇蕈醱酵與萃取技術的差異，使得所生產菇蕈葡聚多

醣的生物活性有極大的差異，菇蕈葡聚多醣受到的純度、水溶性、分子大小、分支率及構型等影響，其生物活性也有顯著差異。葡聚多醣對於不同生物免疫機能調節，調節與修復生理機能的相關研究可以發現，葡聚多醣具有優異的免疫調節能力，而且由於其不具毒性，是一種非常優異的免疫調節物質。在水生生物的研究上也普遍發現葡聚多醣可以有效調節生理機能，提高對細菌性疾病的抵抗能力。透過浸泡、注射及投餵葡聚多醣等方式，提高非特異性免疫反應，活化吞噬細胞或單核球的吞噬能力，同時活化補體系統，進而提高對於細菌性疾病的抵抗能力，提高水生生物的存活率。而且菇蕈葡聚多醣對於高溫也具有優異的耐受性，可以直接在商用飼料中添加，大幅減少操作的困擾與成本。

而近年來的研究發現，包括石斑魚、台灣鯛、鱸魚、海鱺、鰻魚等，不同淡水與海水的養殖魚類，以及包括草蝦、白蝦、九孔等不同的養殖生物，使用菇蕈葡聚多醣對於其非特異免疫反應與抗病力均有助益。而且可以透過口服的模式調節免疫能力，實際在現場養殖過程中使用，所以菇蕈葡聚多醣已然成為目前水產養殖上重要的免疫調節物質。在不同的現場應用評估中發現：在石斑魚中間育成階段，使用菇蕈葡聚多醣可以提高將近兩成的育成率。在加州鱸魚的養殖過程中也發現，飼料中添加菇蕈葡聚多醣可以提高大約26%的育成率。在箱網養殖海鱺上也發現，若是在魚苗入箱網的階段使用菇蕈葡聚多醣，可以有效降低巴斯德桿菌的威脅，提高夏季魚苗存活率15%以上。

雖然目前已經有不同的免疫調節技術來降低水產養殖的風險，但是不可否認，在現場應用上仍然有許多的瓶頸，例如：疫苗的效果與施打的成本難以平衡；口服疫苗的發展遲緩，無法達到足夠的免疫能力；蛋黃抗體對於高溫與環境的耐受度過低，難以為現場應用；有益微生物的活性不易控制；菌種使用成本過高；菇蕈葡聚多醣價格紊亂；市面上商品的功效差異很大。儘管有這些的問題，但是這些免疫調節物質的研發與應用的技術，卻為未來水產養殖產業指出了一道新的方向。由於食品安全觀念的提升，台灣水產

養殖產業目前最重要的課題便是如何改變生產技術，建立安全甚至完全無藥物使用的養殖環境與技術。但是對於大量商業化的生產過程，要做到完全無藥物使用勢必得降低飼養密度，同時提高生產風險，所以最佳的平衡便是如何提高養殖生物的健康條件。免疫調節技術恰可以作為未來水產養殖的新技術，雖然不同的免疫調節技術與產品都有其功效，但是不論疫苗，抗體，有益微生物，免疫調節物質，這些不同的產品跟操作模式都有最佳的使用時機與操作方式。而如何透過不同技術的發展，以最經濟的方式進行免疫調節，應是未來整體水產養殖產業重要課題。以石斑魚養殖為例：魚苗中間育成階段，使用口服疫苗搭配菇蕈葡聚多醣，有效強化專一性免疫與非特異免疫能力，減少病毒性與細菌性疾病的感染。也可以在這個階段使用特定病毒或細菌免疫的雞蛋蛋黃抗體，這樣可以減少被特定病原物質感染的風險。而在後段養殖階段，使用低劑量的菇蕈葡聚多醣添加於飼料中，調節魚隻生理機能與提高免疫能力，搭配使用有益微生物穩定水質提高魚隻免疫能力。透過這樣組合的模式，不但可以降低成本，且全面性減少魚隻罹病的風險，提高整體育成率。這樣經過初步估算，使用口服疫苗、雞蛋蛋黃抗體、菇蕈葡聚多醣等不同技術，全程養殖成本提高12%，可是最後的總體收益卻可以提高26%。全球高經濟水產養殖產業所普遍面臨的問題主要在於產量不足，對於高價水產品競爭激烈的國際貿易市場上，透過這樣免疫調節技術建立的新式水產養殖健康管理模式，也將徹底改變我國水產養殖產業，朝向永續經營的方向發展。

參考文獻

- 冉繁華 (2007). 石斑, 台灣漁業經濟發展協會 行政院農業委員會.
行政院農業委員會漁業署 (2013). 101年漁業署年報.
- Ai, Q., K. Mai, L. Zhang, B. Tan, W. Zhang, W. Xu and H. Li (2007).
"Effects of dietary beta-1, 3 glucan on innate immune response of
large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*." *Fish Shellfish
Immunol* 22(4): 394-402.
- Austin, B. and D. A. Austin (2007). *Bacterial fish pathogens: diseases
of farmed and wild fish*. 4th.
- Bricknell, I. and R. A. Dalmo (2005). "The use of immunostimulants in
fish larval aquaculture." *Fish Shellfish Immunol* 19(5): 457-472.
- Chang, C. S., S. L. Huang, S. Chen and S. N. Chen (2013). "Innate
immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan
mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*,
aquaculture." *Fish & Shellfish Immunology* 35(1): 115-125.
- Dalmo, R. A. and J. Bogwald (2008). "beta-glucans as conductors of
immune symphonies." *Fish Shellfish Immunol* 25(4): 384-396.
- Das, B. K., C. Debnath, P. Patnaik, D. K. Swain, K. Kumar and B. K.
Misrhra (2009). "Effect of beta-glucan on immunity and survival
of early stage of *Anabas testudineus* (Bloch)." *Fish Shellfish
Immunol* 27(6): 678-683.
- El-Boshy, M. E., A. M. El-Ashram, F. M. AbdelHamid and H. A.
Gadalla (2010). "Immunomodulatory effect of dietary
Saccharomyces cerevisiae, beta-glucan and laminaran in mercuric
chloride treated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and
experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*." *Fish
Shellfish Immunol* 28(5-6): 802-808.

- Franke, A., O. Roth and C. Clemmesen (2013). "Early stimulation of the immune system of an important aquaculture fish species: Probiotic application in European sea bass juveniles." *Fish & Shellfish Immunology* 34(6): 1707-1707.
- Ghosh, K., S. K. Sen and A. K. Ray (2003). "Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *Bacillus circulans*, in formulated diets for rohu, *Labeo rohita*, fingerlings." *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 55(1): 13-21.
- Hseu, J., F. Lu, H. Su, L. Wang, C. Tsai and P. Hwang (2003). Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* 218(1-4): 251-263.
- Jin, L. J., X. Y. Li, D. L. Zou, S. Y. Li, W. Q. Song and Y. P. Xu (2013). "Protection of crucian carp (*Carassius auratus* Gibelio) against septicaemia caused by *Aeromonas hydrophila* using specific egg yolk immunoglobulins." *Aquaculture Research* 44(6): 928-936.
- Kim, W. S., T. Nishizawa and M. Yoshimizu (2007). "Non-specific adsorption of fish immunoglobulin M (IgM) to blocking reagents on ELISA plate wells." *Dis Aquat Organ* 78(1): 55-59.
- Kumar, S. R., V. Parameswaran, V. P. I. Ahmed, S. S. Musthaq and A. S. S. Hameed (2007). "Protective efficiency of DNA vaccination in Asian seabass (*Lates calcarifer*) against *Vibrio anguillarum*." *Fish & Shellfish Immunology* 23(2): 316-326.
- Magnadottir, B. (2006). "Innate immunity of fish (overview)." *Fish Shellfish Immunol* 20(2): 137-151.
- Mohapatra, S., T. Chakraborty, V. Kumar, G. DeBoeck and K. N. Mohanta (2013). "Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention." *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 97(3): 405-430.

- Oh, M. J., H. J. Gye and T. Nishizawa (2013). "Assessment of the sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus* with a live nervous necrosis virus (NNV) vaccine at natural seawater temperature." *Vaccine* 31(16): 2025-2027.
- Olivier, G., C. A. Eaton and N. Campbell (1986). "Interaction between *Aeromonas salmonicida* and peritoneal macrophages of brook trout (*Salvelinus fontinalis*)." *Vet Immunol Immunopathol* 12(1-4): 223-234.
- PC, H. and R. JE (1993). "Groupers of the world." *FAO Species Catalogue* 125: 382.
- Ruiz-Herrera, J. (1991). "Biosynthesis of beta-glucans in fungi." *Antonie Van Leeuwenhoek* 60(2): 72-81.
- Sakai, M. (1999). "Current research status of fish immunostimulants." *Aquaculture* 172(1-2): 63-92.
- Soltanian, S., E. Stuyven, E. Cox, P. Sorgeloos and P. Bossier (2009). "Beta-glucans as immunostimulant in vertebrates and invertebrates." *Crit Rev Microbiol* 35(2): 109-138.
- Toranzo, A., B. Magarinos and J. Romalde (2005). "A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems." *Aquaculture* 246(1-4): 37-61.
- Valenzuela, B., M. Imarai, R. Torres and B. Modak (2013). "Immunomodulatory effects of the aromatic geranyl derivative filifolinone tested by the induction of cytokine expression." *Developmental and Comparative Immunology* 41(4): 675-682.
- Vine, N. G., W. D. Leukes, H. Kaiser, S. Daya, J. Baxter and T. Hecht (2004). "Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and pathogenic bacteria on fish intestinal mucus." *Journal of Fish Diseases* 27(6): 319-326.

Wasser, S. P. (2002). "Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides." *Appl Microbiol Biotechnol* 60(3): 258-274.

Young, C. A., F. G. Silversides and S. R. M. Jones (2007). "Chicken-derived IgY recognizes developing and mature stages of *Loma salmonae* (Microsporidia) in Pacific salmon, *Oncorhynchus* spp." *Aquaculture* 273(4): 398-404.