

銘傳大學 斑馬魚飼養規範

民國 110 年 12 月 29 日實驗動物照護及使用委員會議通過

1. 說明

斑馬魚學名：*Danio rerio* (F. Hamilton, 1822)，一種原產於亞洲南部的熱帶水域魚種(tropical fish)，為一新興生命科學研究之模式物種。基於服膺動保法的規定，考量斑馬魚在科學使用上的福祉及合理性，特訂定此規範，作為本校相關應用的準則依據。

2. 斑馬魚硬體飼養環境

- 1.1 環境溫度：斑馬魚為熱帶性魚類，依據其對水溫的適應性^[1,2]，飼養環境應具備溫度控制(包括透過加溫棒與空調等設施)，使水溫維持在 24-32°C 之間。
- 1.2 環境照度：飼養環境需提供適當的光照強度，
- 1.3 飼養溫度：水溫維持 22-32°C 之間。
- 1.4 提供適宜光照強度:約為 54-324 lux 為佳。
- 1.5 避免噪音。水很容易傳導噪音及震動，可使用隔離襯墊減少地板傳來的震動噪音。
- 1.6 插座應遠離水並設有漏電保護斷路器，維生系統應使用不斷電或有緊急電源之插座。
- 1.7 地板:應易於排水且有防滑為佳(表面如粗顆粒的 epoxy)。
- 1.8 環境須定期清潔。

2 飼養微環境

- 2.1 魚缸材質:應為無毒並可消毒之材質。
- 2.2 水質 pH 值應控制在 7.0-8.0。
- 2.3 光照明週期: 14 小時白天/10 小時黑暗為佳。
- 2.4 生物過濾器得有足夠的容量能夠處理進入系統之生物負荷(有機質、含氮廢棄物的數量)。
- 2.5 定期執行水質檢驗(如水質標準如硬度、pH、和硝化系統)。填寫斑馬魚系統養殖缸水質紀錄(表 L06)

3 飼育空間與條件

- 3.1 提供動物正常的生理和行為需求，包括排泄功能、維持和控制體溫、正常的移動和姿勢調整及繁殖需求。
- 3.2 允許同種物種間的社交互動(例如魚種間之群聚行為)。
- 3.3 提供適當的水質及特性，並允許對水的監測、充填、再次充填及更換。
- 3.4 允許取得足夠的食物並有餵食資訊(食物的提供與接受度)、未過期食物的供給紀錄(營養成份確認)，注意飼料之儲藏及使用期限。
- 3.5 避免動物其附肢意外受困之情形發生。
- 3.6 允許在最低干擾狀態下進行動物觀察。
- 3.7 採用無毒性之材質建構，因而不會發生有毒害或化學物質滲入水中。
- 3.8 環境中不應出現直接或間接之電力危害。
- 3.9 提供多樣化食物來源，如豐年蝦及粉狀、片狀食物。
- 3.10 一日 2 餐制:餵食時以少量多次，以避免過多食物殘留。

- 3.11 依不同大小及年紀使用不同食物。
- 3.12 飼養設施應依現場狀況定期予以清洗和消毒。
- 3.13 氯和大多數的化學消毒劑對有飼養動物的維生系統是不適當的，當被用來消毒整個系統或其配件時，得檢測殘餘的氯、化學品及具活性的副產物，以確認被中和或移除，並提供消毒後檢測紀錄。

4 其它注意事項:

- 4.1 為避免對皮膚保護黏膜層的傷害與對免疫功能的負面影響，得儘量減少對魚類抓取。
- 4.2 撈網得經過適當清洗和消毒，且得儘可能專用於相同健康狀態的動物。

5 特定作業程序:

5.1 水質（每週測量一次）:

1. pH = 7.0 ~8.0，使用緩衝溶液調整。
2. 氨/胺 (NH₃/NH₄⁺)含量應少於 2ppm (mg/L)，過高則換水。
3. 亞硝酸鹽 (Nitrite, NO₂) 含量應少於 1ppm (mg/L)，過高則換水。
4. 硝酸鹽 (Nitrate, NO₃) 含量應少於 40ppm (mg/L)，過高則換水

6 斑馬魚使用及管理

- 6.1 確實紀錄種原來源、系統中種原數量、死亡、疾病、動物在設施內或設施間移動、受精/孵育資訊。填寫斑馬魚數量紀錄表 (L01)、斑馬魚生病或死亡紀錄表 (L04)。每月統計死亡率並列入記錄追蹤。
- 6.2 系統缸內有疑似病魚，應立即移入獨立缸內，該動物應標示為隔離區。該動物視其健康狀況儘快使用或施行安樂死 (IACUC 安樂死評估與紀錄表)，必要時採取檢體送檢驗。該魚缸出清後，應全面消毒始得再使用。無論任何時候，發現死魚應立即移除。
- 6.2 定期進行巡檢，填寫每日巡視紀錄表 (L02)。
- 6.3 餵食紀錄確實填寫幼/成魚餵食時間記錄 (L03)。
- 6.4 斑馬魚循環系統的維護和管理，確實紀錄清潔與水質。填寫系統養殖缸清潔紀錄表 (L05)、斑馬魚系統養殖缸水質紀錄 (L06)。

參考：

- 1 · <http://www.zfish.cn/inforscan/251.html>
- 2 · 陽明大學實驗動物照護委員會斑馬魚相關規範
5. Cortemeglia C, Beitinger TL, Temperature tolerances of wild-type and red transgenic zebra danios. Trans. Am. Fish. Soc. 2005; 134: 1431 - 1437.
6. Westerfield M, The Zebrafish Book. A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio) (3rd edition). University of Oregon Press, Eugene, OR, 1995, p. 385.

銘傳大學

斑馬魚系統缸平常餵食、數據檢測及清潔 SOP

目錄

1. 斑馬魚系統缸環境說明

- 1-1 斑馬魚系統缸位置圖說
- 1-2 斑馬魚系統缸日常環境整潔及巡視
- 1-3 斑馬魚系統缸環境巡視 SOP

2. 斑馬魚系統缸硬體設備

- 2-1 斑馬魚系統缸硬體設備圖說
- 2-2 斑馬魚系統缸硬體設備清潔及日常維護
- 2-3 斑馬魚系統缸硬體設備確認 SOP

3. 斑馬魚飼養環境及飼養缸之整潔

- 3-1 斑馬魚種源標記及數量紀錄
- 3-2 斑馬魚飼養環境數據檢測(溫度、酸鹼值、總氨氮、亞硝酸鹽及硝酸鹽。)
- 3-3 斑馬魚飼料餵食方法及次數
- 3-4 斑馬魚飼養缸整理
- 3-5 斑馬魚飼養 SOP

4. 斑馬魚使用及管理

- 4-1 填寫斑馬魚種源、數量及位置紀錄表(L01)
- 4-2 定期進行巡檢，填寫每日巡視紀錄表(L02)。
- 4-3 餵食紀錄確實填寫幼/成魚餵食時間記錄(L03)。
- 4-4 斑馬魚生病或死亡紀錄表(L04)。
- 4-5 填寫系統養殖缸清潔紀錄表 (L05)。
- 4-6 斑馬魚系統養殖缸水質數據檢測紀錄(L06)。

1. 斑馬魚系統缸環境說明

1-1 斑馬魚系統缸位置圖說

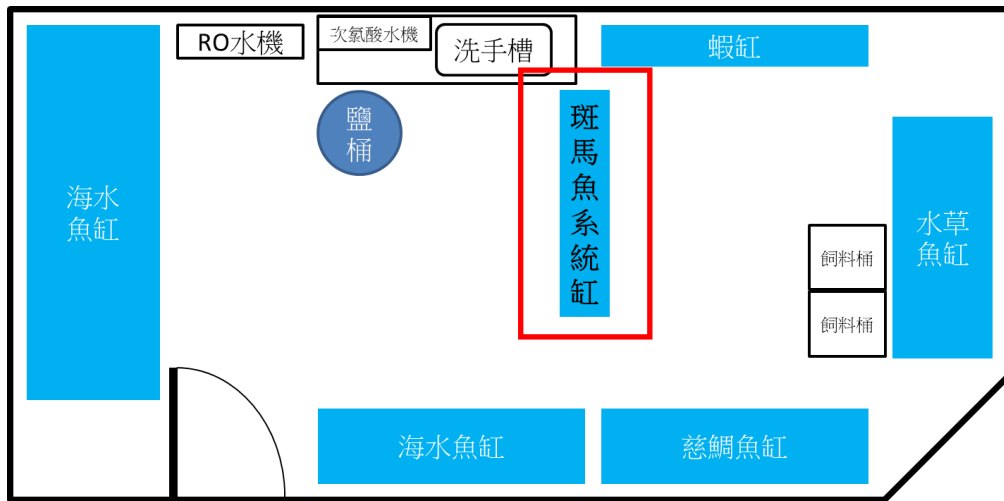


Fig1. 斑馬魚系統缸位於 24HR 供應冷氣(24°C)的魚坊內

1-2 斑馬魚系統缸日常環境整潔及巡視

斑馬魚系統缸環境應為 24°C~28°C 且操作走道之地板應為乾燥乾淨無積水，每日應早上 10:30 前及 16:00 後進行環境巡視，完成後填寫每日巡視紀錄表(L02)。

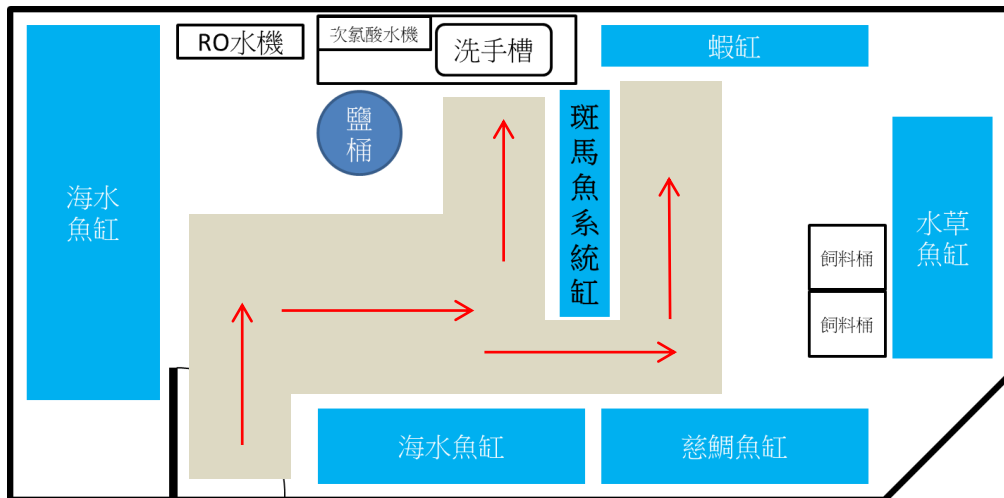
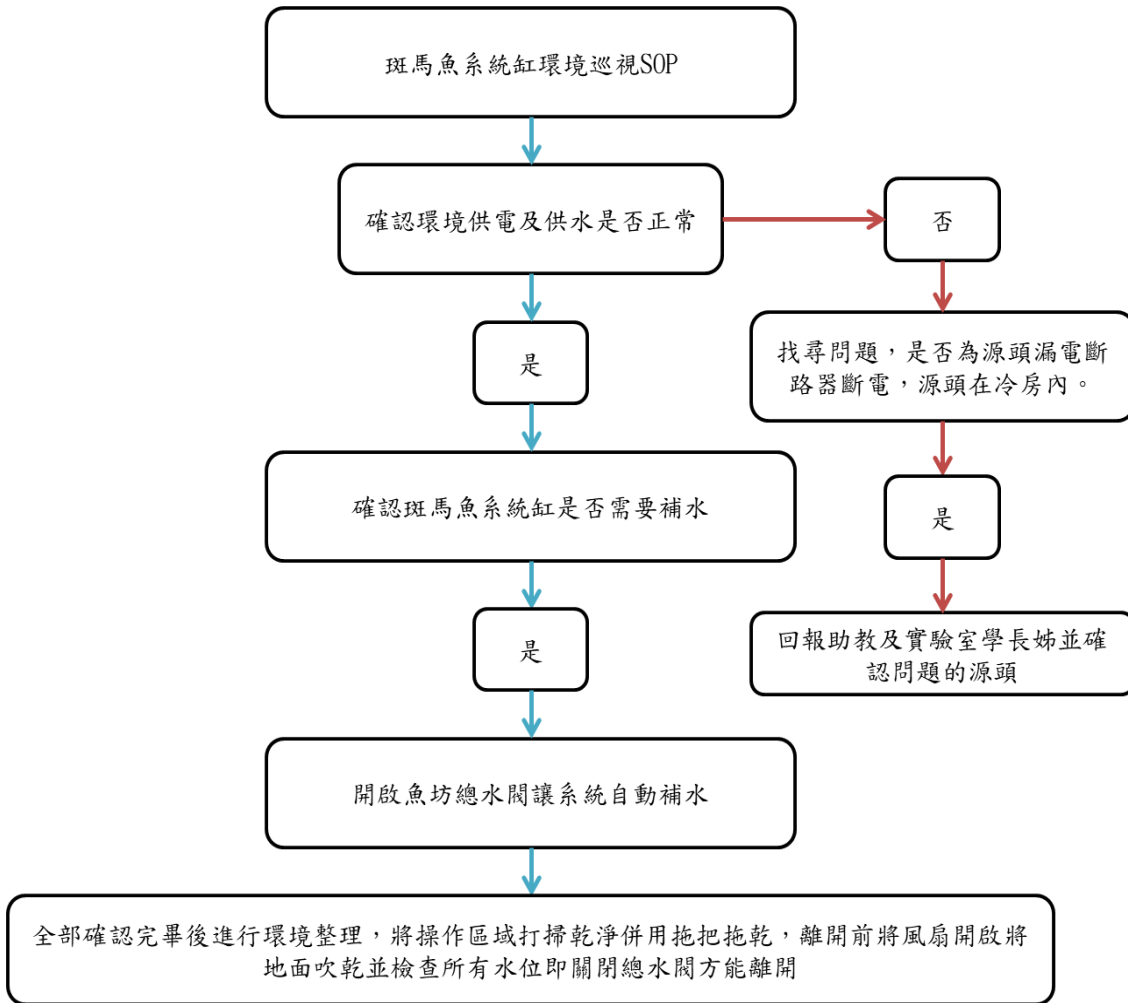


Fig2. 紅色箭頭為走道，灰色區塊為操作區域，此區域物必為乾燥 乾淨且無積水。

1-3 斑馬魚系統缸環境巡視 SOP



2. 斑馬魚系統缸硬體設備

採用邨港科技股份有限公司-斑馬魚系統缸。

詳情請見附錄一。

2-1 斑馬魚系統缸硬體設備圖說

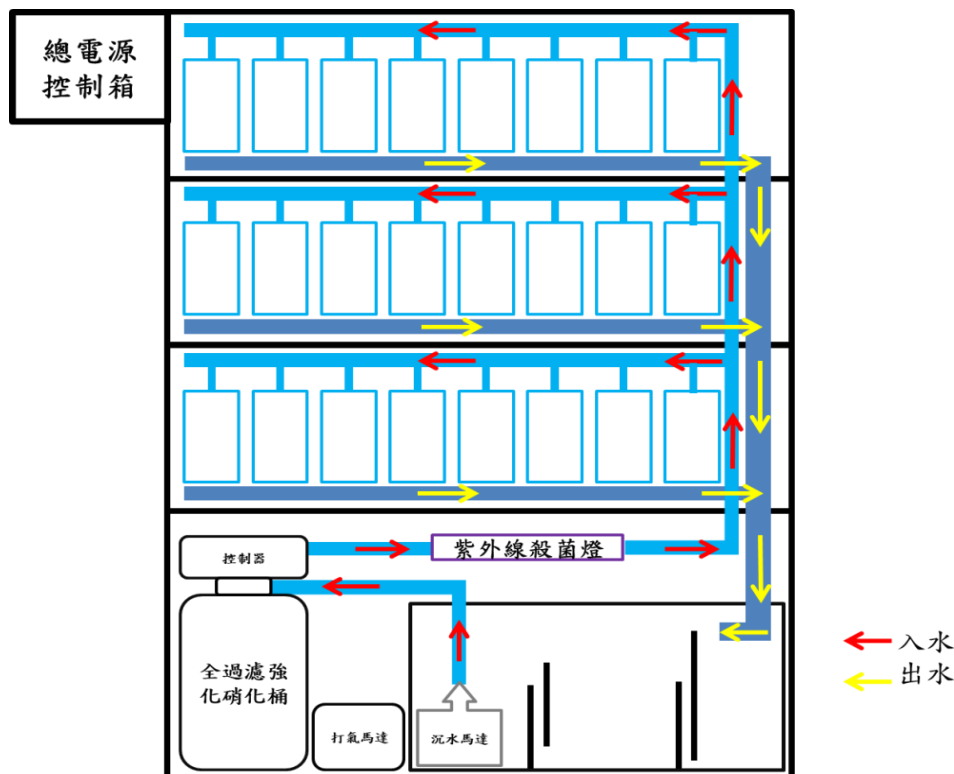
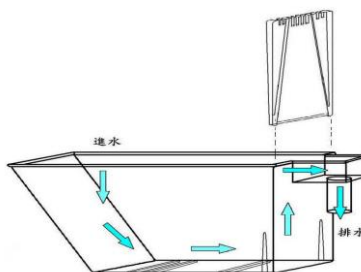
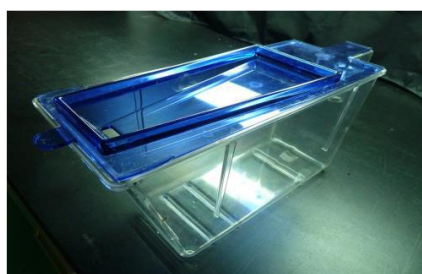


Fig3. 此斑馬魚系統缸為三層養殖系統，最底層從右至左分別為集水區、過濾區、回水區及全自動強化過濾硝化桶。詳情請見附錄 1。

A. 台灣製造斑馬魚房飼養槽組

(1) 3L 飼養槽、上蓋及擋板。



(2) 3L 飼養槽最多可飼養 10 尾斑馬魚成魚。

(3) 皆為一體成型聚碳酸酯材質(PC)厚度 3mm。

(4) 可使用滅菌釜高溫壓。

(5) 藍色上蓋與擋板可減少因光照引起的藻類生長，並可清楚辨識有無放置好擋板及上蓋，使魚隻安全在飼養槽內。

(6)易掀式的上蓋，方便操作，減少魚隻受到驚嚇。

B. 控制電箱

(1)控制電箱防塵防水等級 IP65，可以完全防止粉塵進入及表面潑水無任何傷害。
內具有漏電斷路裝置，可感測系統不正常的漏電。。

C. 沉水馬達

(1)使用 Dio 沉水馬達來達到飼養槽每小時 10 次的換水率。

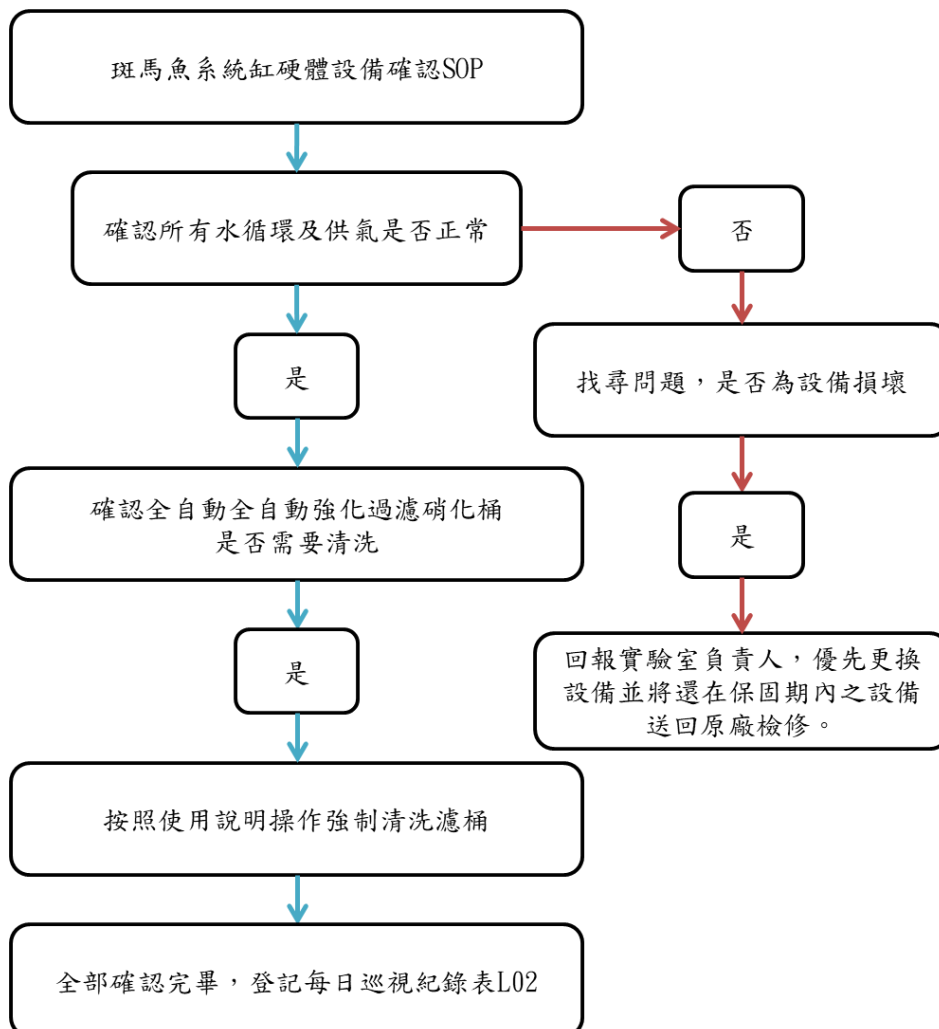
D. 打氣幫浦

(1)每座循環架備有獨立打氣馬達，分流打氣入預流水槽
(2)在回水區及各個飼養槽配有散氣管，採用 EPDM (乙烯丙橡膠)材質製造，可承受高酸、鹼之污水質。供應養殖足夠氧氣。

E. LED 燈具

(1)配置中央安定器，可連接 110~220V 電源，具有過熱保護裝置。
(2)使用定時器設定光週期為 14 小時光照/10 小時黑暗位。
(3)照度為 150~200lux

2-2 斑馬魚系統缸硬體設備確認 SOP



硬體設備確認完畢請登記每日巡視紀錄表 L02

3. 斑馬魚飼養環境及飼養缸之整潔

3-1 斑馬魚種源標記及數量紀錄

(1)清楚標示每一個斑馬魚之種魚來源，並在每一格飼養槽上貼上標籤，標籤上應

清楚標示：

1. 種源品系
2. 飼養時間
3. 公/母
4. 成魚/幼魚
5. 魚隻數量

並登記在斑馬魚數量紀錄表 L01。

3-2 斑馬魚飼養環境數據檢測(溫度、酸鹼值、總氨、亞硝酸鹽及硝酸鹽。) 環境數據檢測每週測量一次。

(1) 溫度記錄，將感測器上的溫度進行記錄

(2) pH =7.0~8.0，使用緩衝溶液調整。

(過低時使用碳酸氫鈉提升，過高時使用檸檬酸降低)

(3) 氨/銨 ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$)含量毒性判斷應配合 pH 檢測結果進行毒性判斷，pH7.0~8.0 所檢測出來的氨/銨 ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$)含量不應高於 2ppm，過高可通過將飼養密度降低、去除底缸淤泥及強制清洗底部全自動強化過濾硝化桶來進行改善。

(採用邨港生技 $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ 氨/銨測試劑檢測，比色應為無色。)

(4) 亞硝酸鹽 (Nitrite, NO_2) 含量應少於 1ppm(mg/L)。過高可通過將飼養密度降低、增強溶氧、去除底缸淤泥及強制清洗底部全自動強化過濾硝化桶來進行改善。

(採用荷蘭 Salifert NO_2 亞硝酸鹽測試劑，比色應為無色。)

(5) 硝酸鹽 (Nitrate, NO_3) 含量應少於 40ppm(mg/L)。過高則換水

(採用荷蘭 Salifert NO_3 硝酸鹽測試劑，比色應為淡粉色。)

環境數據檢測完畢應填寫斑馬魚系統養殖缸水質紀錄表 L06。

3-3 斑馬魚飼料餵食方法及次數

(1) 斑馬魚餵食應分成一日 2 餐制，早上 10:30 前及 16:00 後各餵食一次。

(2) 斑馬魚之餵食量以缸中飼養總重的 2% 為準並將其分成兩次餵食，飼料量以 5 分鐘吃完為準。

3-4 斑馬魚飼養缸整理

A. 斑馬魚飼養槽維護

(1) 飼養槽若有大量藻類滋生且明顯影響觀察生物狀況下，則需將槽內斑馬魚移至乾淨並消毒完成之飼養槽後歸回原位，並將髒的飼養槽清洗後放入高溫高壓滅菌府進行消毒。

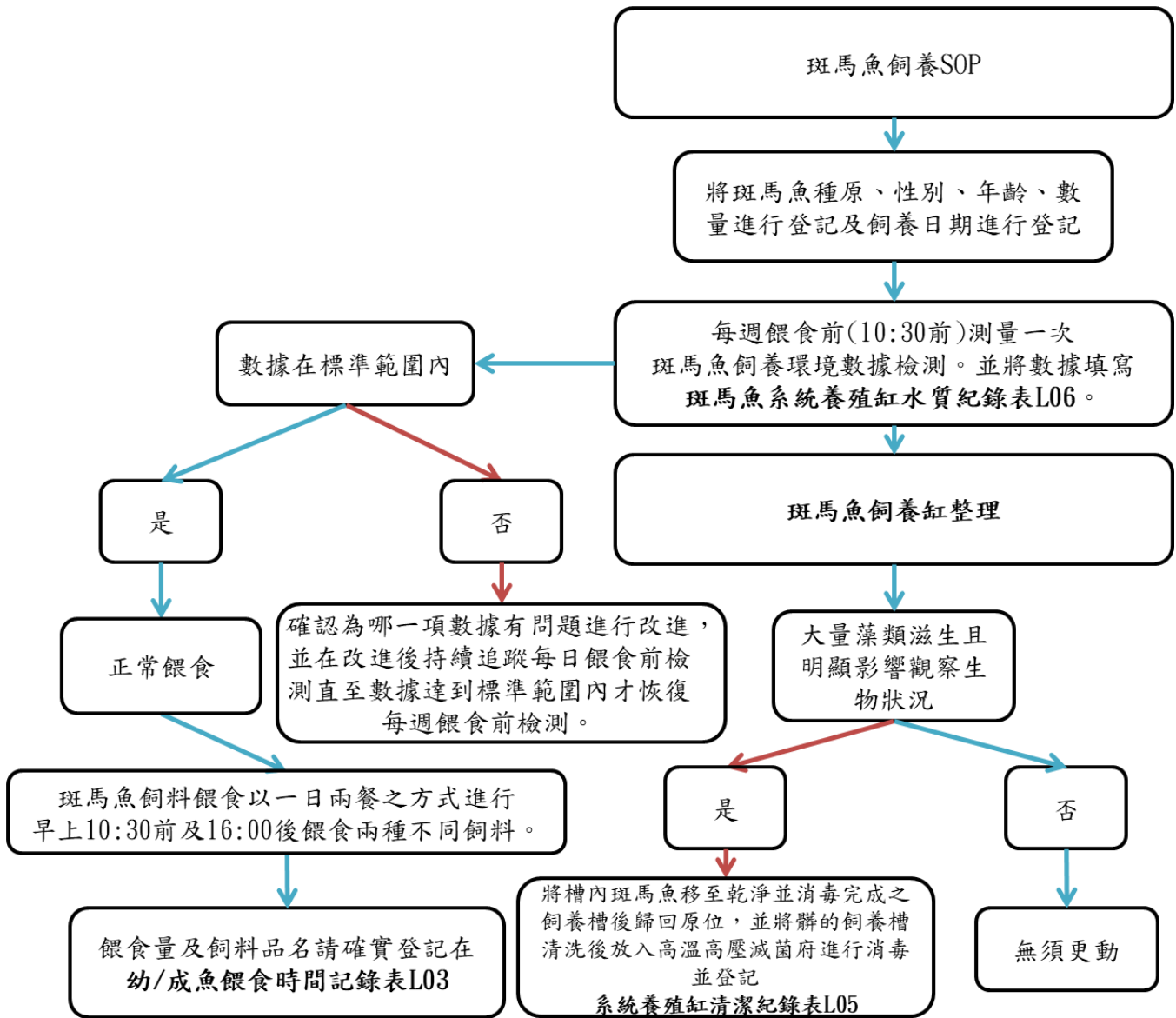
B. 底缸濾棉整理

(1) 底缸所放置白棉若堵塞需進行更換。

C. 溝槽清潔

(1) 每周應使用乾淨抹布將所有硬體設備上的水漬及灰塵整理乾淨

3-5 斑馬魚飼養 SOP



表L01

斑馬魚數量紀錄表

IACUC 核可No:

____頁

品系：							
日期	魚缸 編號	新增	死亡	淘汰	其他	魚隻 總數	簽名
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	
年 月 日		公： 母：	公： 母：	公： 母：		公： 母：	

紀錄表應放置於飼養區供查閱，計畫結束後繳交實驗動物照護及管理委員會

日期: 年 月

工作項目		日期	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
硬體環境	室溫24-32°C之間																																	
	光照強度: 為 54-324 lux																																	
	地板乾燥無溼滑																																	
	環境有定期清潔																																	
飼養微環境	水質pH值為																																	
	照明週期: 14時白天/10時黑暗																																	
	生物過濾器正常運作																																	
	給予足夠的食物																																	
	餵食頻率																																	
	確認缸內水足夠、添加更換																																	
	飼料之儲藏及使用未過期																																	
	最低干擾狀態下進行動物觀察																																	
	飼養設施定期清洗和消毒																																	
	無附肢意外受困之情形發生																																	
動物臨床觀察	個體活力視察																																	
	魚鰭有規律地正常擺動，鱗片完整																																	
	儘量減少對魚類抓取																																	
	避免對皮膚保護黏膜層的傷害																																	
	屍體移除並依規定安放																																	
行為	積極進食、平衡地游泳。 有很好的群體互動																																	
	其他備註 (維修計錄)																																	
巡視人員簽名																																		

紀錄表應放置於飼養區供查閱，計畫結束後繳交實驗動物照護及管理委員會

表L03

幼/成魚餵食時間記錄

IACUC 核可 No: _____

頁

餵食	幼/成魚餵食時間記錄		餵食	幼/成魚餵食時間記錄	
	餵食2次飼料/天			餵食2次飼料/天	
	10:00	16:00		10:00	16:00
	邨港配方飼料	Hikari高夠力飼料		邨港配方飼料	Hikari高夠力飼料
1			1		
2			2		
3			3		
4			4		
5			5		
6			6		
7			7		
8			8		
9			9		
10			10		
11			11		
12			12		
13			13		
14			14		
15			15		
16			16		
17			17		
18			18		
19			19		
20			20		
21			21		
22			22		
23			23		
24			24		
25			25		
26			26		
27			27		
28			28		
29			29		
30			30		
31			31		

紀錄表應放置於飼養區供查閱，計畫結束後繳交實驗動物照護及管理委員會

斑馬魚飼養標示卡

IACUC No.		期間	
品系		公/母	
數量		成魚/幼魚	
計畫主持人		緊急連人	