

以 β -1,3-1,6-Glucan 增強養殖海鱺抵抗 巴斯德桿菌感染之 能力的研究

張正芳¹、楊佳宏¹、陳紫娛¹、
蘇茂森²

¹ 水產試驗所生物技術組

² 水產試驗所

目前已確立完全養殖技術之養殖魚類中，海鱺是成長最快速的魚種，比之鮭魚、青魷、紅魷養殖 2 年才可成長達 3 kg，或嘉鱸、鱸魚養殖 1 年成長不到 1 kg，在養殖上具有絕對競爭優勢。養殖海鱺肉質鮮美，肉中脂肪含量可達百分之二十左右，而脂肪所含之高度不飽和脂肪酸 (EPA 與 DHA) 含量高達百分之五左右，遠比鮭魚高，因此海鱺可稱之為健康食品。1999 年，台灣的外海箱網海鱺養殖，年產量已達 3000 公噸左右，其中約有 500 公噸以冰鮮魚外銷日本，發展潛力很大。唯在箱網養殖過程中，常因進行篩選、搬運、移動等工作或魚隻搶食飼料相互擦撞而受傷，再受細菌感染，即引起相當量的死亡。故為克服箱網養殖海鱺遭受病原的侵襲，一則需進一步改進箱網養殖系統，加強育種、飼料、病害防治以及養殖自動化外，另則需強化魚體對病原的抵抗力。台灣的外海箱網海鱺養殖，可望媲美挪威的海上箱網鮭魚養殖，成為最具國際競爭力的養殖產業，可以大幅拓展國際市場，尤其在我國入 WTO 之後，對強化我國水產養殖產業的國際競爭力，將有很大的助益。

近年來，有不少的研究報告指出，對魚蝦類投予免疫賦活物質（例如多醣類）可增強其抗病性。由 *Schizophyllum commune* 抽出之 β -1,3-1,6-glucan 為多醣類的一種，已有研究報告報導對鯉魚、鰱魚、斑節蝦投予 *Schizophyllum* 可增強其對細菌性疾病的抵抗力。本組多年來之試驗已證實，口投自 *Schizophyllum commune* 萃取之 β -1,3-1,6-glucan 可增強草

蝦與草蝦苗對 *Vibrio damsela* 與白點桿狀病毒感染的抵抗力。近一年來，箱網養殖之海鱷經常受到細菌性病原菌，如 *Pasteurella piscicida*、*Streptococcus* sp. 等感染，損失嚴重。本計畫擬針對海鱷，利用 β -1,3-1,6-glucan 進行一系列基礎免疫功能探討與強化免疫能力的研究，以期能增強抵抗細菌感染之能力。本研究探討口投 β -1,3-1,6-glucan 後，海鱷對細菌之抵抗能力變化情形，以找出可行之初步添加量，作為進一步之生長、養殖活存、魚體內免疫殺菌物質等研究之基礎資料。

一、試驗飼料之配製與投飼

本試驗用之 β -1,3-1,6-glucan 係萃取自 *Schizophyllum commune*，為日本台糖株式會社產品，對照組飼料係依據本組自行調配之海鱷魚基礎飼料配方為之。另外，以同樣配方添加不同含量之 β -1,3-1,6-glucan (0、0.1、0.2、0.4、0.8 與 1.6%)，製成粗粒狀飼料，做為試驗組飼料。

二、口投 β -1,3-1,6-glucan 以增強海鱷抵抗巴斯德桿菌 (*Pasteurella piscicida*) 感染能力之試驗

將海鱷隨機分為六組，每組三重覆，放入 15 個長方形 1.5 噸的玻璃纖維桶中，每桶 160 尾。六組海鱷分別餵飼，未添加及不同含量之 β -1,3-1,6-glucan 人工飼料，在第 10、20、30 與 40 天時，各進行一次感染試驗。

每次感染試驗時，15 個桶分別隨機採取 40 尾魚，進行腹腔注射，其中 30 尾

注射同一濃度之菌液 0.1 毫升為感染組；另外 10 尾作為空白組，注射生理食鹽水 0.1 毫升。注射後，以手指輕按注射部位，防止菌液流出。

注射後之海鱷，各組分別放入 0.5 噸的玻璃纖維桶中，內含 360 公升經沙層過濾之海水。每隔 8~12 小時觀察一次，每日依其活動情形決定投餌量，並更換部份飼育水。當海鱷死亡時，立即取出肝、腎臟，先經 70% 酒精浸洗一分鐘，剪碎後塗抹於培養基上，以分離判斷是否為原來注射之菌株。觀察 8~10 天後，將未死亡及空白組之海鱷，隨機取 2~3 尾，分別取出肝、腎臟做細菌培養，確定原先注射之細菌是否仍存在魚體內，以判斷活存魚體之健康情況。

三、結果與討論

(一) 試驗一

以 β -1,3-1,6-glucan 含量 0、0.1、0.2、0.4、0.8 與 1.6% 等六組飼料，餵食海鱷各 10、20、30、40 天後，分別以巴斯德桿菌進行人工感染。第 10 天感染結果，以餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.4 與 0.8% 組，其活存率較高；第 20 天感染結果，以餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.4% 組，其活存率雖然高達 50%，但各組間並無顯著的差異；第 30 天感染結果，以餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.4 與 0.8% 組，其活存率較其它組高 ($p < 0.01$)；第 40 天感染結果，以餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 1.6% 組，活存率 20% 為最低，其餘各組間並無顯著差異。四次感染試驗時之空白組 (注射生理食鹽水)，均無試驗魚死亡。

(二) 試驗二

將 β -1,3-1,6-glucan 之含量改爲 0、0.5、1.0 與 2.0% 等四組飼料，餵食海鱷 10、20 與 40 天後，再分別以巴斯德桿菌進行人工感染。第 10 天感染結果，以餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.5 與 1.0% 組之活存率較高 ($p < 0.01$)；第 20 與 40 天感染結果，餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.5% 組，其活存率 45% 與 40% 均較其它組高 ($p < 0.001$)。三次感染試驗之空白組 (注射生理食鹽水)，均無試驗魚死亡。

對試驗期間感染死亡之試驗魚進行解剖與細菌培養檢查，發現其內臟器官

都可培養出大量之巴斯德桿菌菌株，且受該菌感染後之肝臟與腎臟等器官具有白色結節。感染後未死亡之魚，則無此現象。

由試驗結果可知，以餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.5% 之飼料 10 天以上，可增強海鱷抵抗巴斯德桿菌感染之能力。對於進一步之成長、養成活存率與魚體內免疫酵素反應等研究，獲得明確之目標與劑量。若能適時適量的使用，將可有效增強海鱷抵抗巴斯德桿菌感染之能力，並提升海鱷海上箱網養殖期間之抗菌力與活存率 (圖 1~2)。

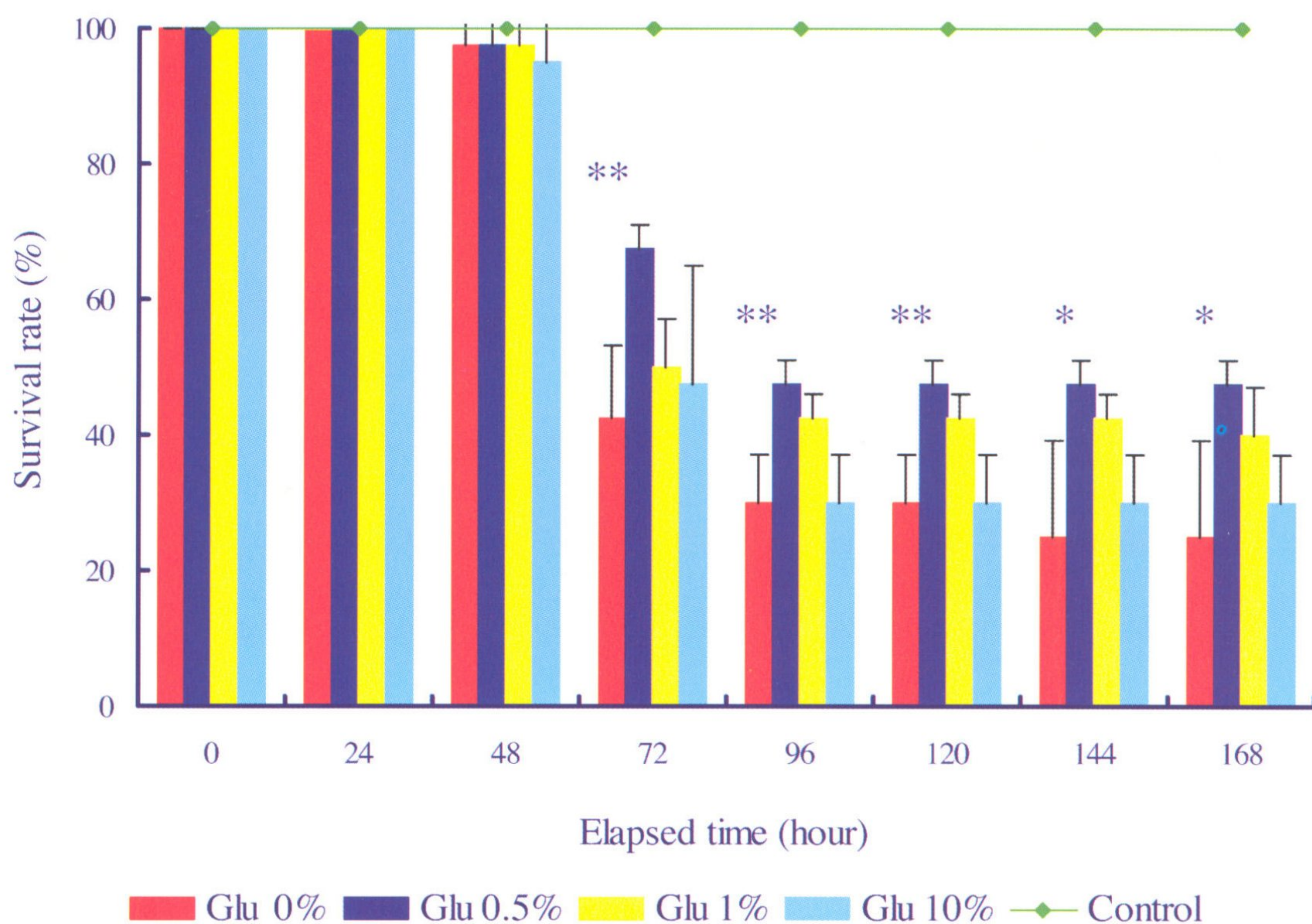


圖 1 餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.5% 之飼料 10 天，可增強海鱷抵抗巴斯德桿菌感染之能力，活存率達 50% 以上 (* : $p < 0.01$; ** : $p < 0.001$)

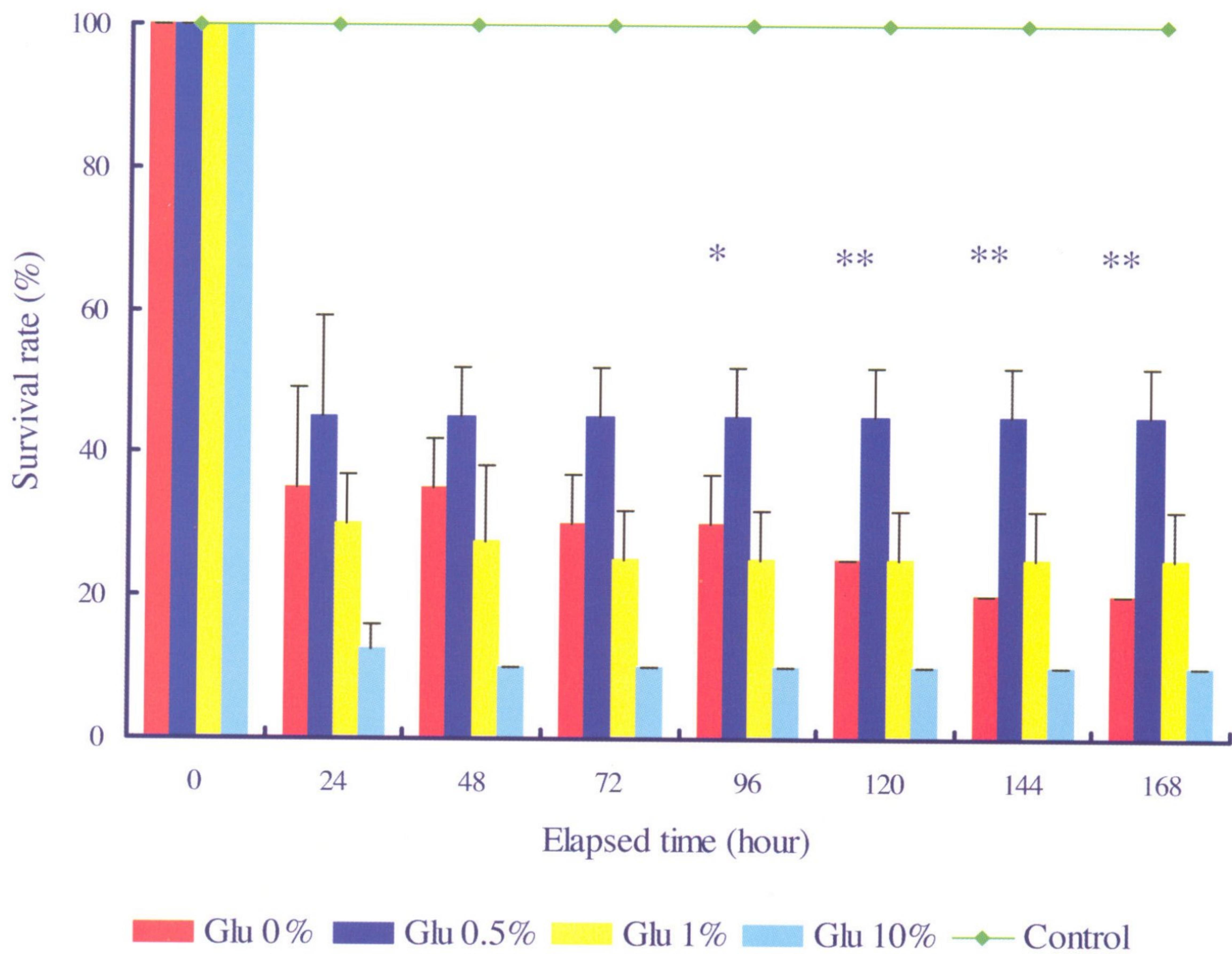


圖 2 餵食 β -1,3-1,6-glucan 含量 0.5% 之飼料 20 天，可增強海鱺抵抗巴斯德桿菌感染之能力，活存率達 50% 以上 (* : $p < 0.01$; ** : $p < 0.001$)