

## 第十一章 益生菌在養殖管理系統的研發與應用

冉繁華<sup>1</sup>、陳秀男<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 國立台灣海洋大學水產養殖學系

<sup>2</sup> 國立台灣大學漁業科學研究所

### 一、水產養殖疾病防治新觀念與技術

台灣在 1988 年養殖草蝦大量死亡和 1992 年養殖斑節蝦和草蝦又因病原的感染事件發生後，亞洲各國也先後受到蝦病的感染而造成蝦業生產量急速下降，各國學者專家都在苦思良謀，希望解決蝦病的問題。近幾年來我們的研究結果顯示，1987 - 1990 年間養殖蝦類大量死亡的主要原因，是遭受草蝦桿狀病毒和弧菌等的雙重病原嚴重感染，因而導致肝胰臟及消化道的壞死；然而，到了 1991 年養殖的斑節蝦、草蝦和紅尾蝦一旦罹病後，迅速發生大量的死亡，快則 1 - 3 天，慢則 1 個星期就可能全數死亡，病蝦軀體殼上會出現明顯的白斑症狀，經鑑定後為病毒感染造成，由於此病毒對上皮細胞和淋巴造血組織等具特異性感染，引發白斑病狀之特殊性，因此將此病稱為白斑病毒。這些年來，台灣及亞洲各國家養殖蝦類大量死亡的發生，白斑病毒雖然扮演重要的角色和因素，但是我們曾調查台灣及東南亞國家超過數十個發生白斑病的蝦場中，幾乎在 75% 以上除了有發生白斑病外，且又可於瀕死的蝦體組織分離出病原性弧菌，尤其是以螢光弧菌 (*Vibrio harveyi*) 和溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*) 等佔最多數。但是，我們也同時發現許多發生白斑病的蝦場，雖然受到白斑病的感染，卻在小心照顧和細心正確的管理技術下，仍然可以有很好的收成和產量。這些案例卻給了我們一個很大啟示，任何水產養殖種類的環境在病原無法根除和病原充斥在養殖水體中時，如仔細做好放養前的處理工作，同時使用正確的管理觀念和養殖技術，相信要有一個良好收成應該不是困難的，然而什麼是正確的管理觀念和養殖技術？

我們分析養殖生物罹病必須同時具備三個基本的條件：(1)要有病原體的存在；(2)一定量的病原體；(3)蝦體免疫力低落。

然而，我們進一步探討後可知，要在養殖環境和水體中完全沒有病原體的存在是不可能的，同時為了要達到此一目的而使用藥物和抗生素控制，已經給了我們慘痛的教訓。所以，只有藉由更自然的方法和產物，控制病原體在一定的安全濃度下，同時有效提高或刺激養殖生物本身免疫及抗病的能力，才是正確解決疾病與防治疾病之道。

多年來我們努力於疾病病因的研究及治療方法的建立，我們仍認為『預防重於治療』是最重要的防治之道；因此，我們試圖建立一套全面的疾病防治系統，這個系統從養殖的四個面切入，希望從『養殖生物』、『疾病』、『養殖環境』和『飼料營養』四方面，作全面的改進與整合(圖 11.1)：



圖 11.1 全面的疾病防治系統

### (一) 『養殖生物』方面

對於生產用的種源，以高效率、高品質的人工飼料培育，並透過人工飼料強化種源的免疫與抗病能力，同時降低病原的感染，強化種源的健康程度，也利於生產優質的種苗，以解決和防治第一個源頭的問題；對於種苗的培育，絕對不使用高溫、抗生素或濫用藥物來孵化和培育種苗，以免初期即破壞種苗的健康並使病原菌產生抗藥性，同時在孵化和培育的過程中，藉由益生菌對水質環境進行改善與控制，或於飼料中添加益生菌及其產物如免疫激活物質之飼料配方改進，以及利用益生菌抑制病原菌等多管齊下，來預防疾病之發生和強化養殖生物抗病能力。藉由種源、種苗培育管理技術、益生菌和免疫激活物這四個點，建構與解決養殖產業源頭『養殖生物』的層面，以培育出所謂的『優質種苗』。

### (二) 『疾病』方面

我們利用益生菌、免疫激活物和抑菌劑等三個點來形成一個疾病的防治面；這個原理是透過養殖生物罹病必須同時具備三個基本的條件：(1)要有病原體的存在；(2)病原體的量要成長到一定的程度；(3)養殖生物本身免疫力下降等而來的，換言之我們利用益生菌和抑菌劑控制及處理水底質，使病原體的量控制在一定程度之下，同時使用免疫激活物質提高養殖生物免疫與抗病能力，預防病原菌和病毒的感染。當然，這還必須要靠檢驗疾病試劑的開發來作為管理的輔助，雖不能直接解決養殖產業的問題，它是迅速而有效的發掘問題，提供給專家學者或養殖業者，如何建構一條防治之道，所以仍必須靠管理與控制技術的研發，方能做好疾病防治的工作。

### (三) 『養殖環境』方面

我們過去曾長期觀察養殖池和底土的細菌相變化，發現養殖池水和底土中的病原菌族群會很明顯的增加，並成為優勢的菌種，發病的養殖池環境中，病原菌的數目可高達70%以上；相反的，養殖情況良好或未發病的養殖池環境，弧菌僅為多種出現於蝦池的細菌之一，並不會成為優勢的菌種。因此，我們在『養殖環境』這一個面，著重於正確且按步就班的管理策略，同時使用多樣的益生菌合併處理與控制水質、底質，藉由這樣的方式控制好水底質的環境狀況，謹慎的做好飼料投餵管理，以防止病原菌量的突增或成為優勢菌種，讓『養殖環境』在微生物、藻類、動物性浮游生物及水底質四方面的良好動態平衡之下，使得養殖池能永續使用和永續經營。

#### (四) 『飼料營養』方面

過去對於飼料營養的研究多偏重於飼料配方的開發和營養需求的探討，但是現在飼料營養的開發應針對如何讓養殖生物吃的好又不會有負擔；因此，我們針對吃的好是透過飼料中添加益生菌的改進，讓養殖生物對飼料的利用與轉換率能增加；也同時能透過飼料中添加免疫激活物質如葡聚多醣體等的處理，提高養殖生物本身對疾病的抵抗能力；不會有負擔的改進飼料配方，降低對蝦子本身與養殖環境的負荷，朝抗病與環保飼料的方向邁進。

總結以上，水產養殖是一種關係諸多原因，如病原存在、養殖生物健康程度、養殖環境變化和飼料營養互為一體又互相影響的產業，無論是桃拉病毒、白斑病毒或是過去的草蝦桿狀病毒，甚至是病原弧菌都非蝦子的絕對致命病原；在養殖產業如此普遍的今日，這些病毒或細菌都已普遍存在一般的養殖水域中，如果要找尋沒有病原存在或維持一個無菌的養殖水域實在非常的困難。當然，利用檢疫的方法來篩檢沒感染病原的種源或種苗，理論上是具體而可行的方法，但是如何杜絕種苗在進入養殖池後又不再受病原感染，卻又是一項極具困難的技術。因此，我們認為成功的養殖若能從生物體健康的加強（例如使用免疫激活物質或疫苗來增強養殖生物對疾病的抵抗能力），加強養殖環境管理技術的應用（例如使用益生菌控制水底質），或利用添加益生菌改進飼料配方，同時培育健康優質種苗（不用高溫、不用抗生素、不濫用藥物），作一有系統的管理與控制，應該是養殖產業較為可行的方法。養殖水域中存在太多引發疾病的緊迫因子，如何去除或控制這些不良的因素，使蝦體的緊迫減少，方能使養蝦再次成功；如果只是一昧不做詳細評估爭相競養，不注重技術與管理開發，心存僥倖，如何能成功呢？因此，如何開發避免發生大量死亡的養殖管理技術，使養殖產業的損失和風險降至最低，是我們目前水產養殖最急需要突破和研究的工作。

## 二、益生菌之應用

近年來蝦類養殖病變不但發生頻繁而且嚴重，根據研究，造成養殖蝦類大量死亡的最大原因，乃導源於養殖環境的惡變，因而引發環境中有毒物質的增加，或是病原性微生物的優勢化。一般養殖業者進行養蝦工作時，往往較偏重於各項養殖技術的改進，以及養殖池的設計，進而卻忽略了養殖池本身及週遭環境生態平衡之維護（陳，1994），就『疾病管理』來說，不管是預防、控制或治療疾病，養殖戶首先採用的策略就是施加藥物，而其中又以抗生素的濫用最為普遍；雖然不可否認，使用化學性藥物來處理疾病是最直接，亦是最可能立即見效的做法，但其後對生態環境所帶來的副作用與後遺症也相當嚴重。在水產養殖產業當中，藥物的使用對於環境可能帶來的負面衝擊，已經越來越受到重視（Pillay, 1992），除了藥物在養殖生物體內殘留對於食物安全造成顧慮，以及引起病原菌產生抗藥性之外（Austin, 1985；Weston, 1996），更對水、土環境中之營養鹽造成不可逆之影響，長此下去將不再有健康的環境來屏障水產養殖，更無法達到永續的

水產養殖。

近年來養殖技術的開發重心逐漸由養殖技術的探討，轉向於如何防止水質優養或污染技術的開發，同時亦注重於開發保持良好水質的技術，諸如近年來在水產養殖業所普遍推展的循環水技術運用、室內再循環養殖體系之應用、工廠式養魚蝦系統之開發等。無非都是期望利用污染防治體系的開發，來達到成功養殖的目的。深探養殖環境的問題，我們不難發現它的複雜性，近年來我們利用各種改良技術來促進水產養殖環境之品質，以達到增進生產之成果，在諸多運用策略中，益生菌的運用，不失為一種可行的方法；並且由許多國內外的報告結果證明，且隨著益生菌應用技術之進步及田間成果的展現，本項策略的應用，已被認為是可行且近幾年來更蔚為許多現場養殖之管理模式。

#### (一) 何謂益生菌？

在過去，於益生菌最早的研究只在有助於消化道菌相平衡的有機體或物質（Parker, 1974），之後也有人說是指能夠改善陸生動物寄主消化道菌相之『活的微生物』（Fuller, 1989），Gatesoupe 於 1999 年又定義益生菌為能進入消化道中活存且能促進健康的微生物，之後更去除了消化道的限制。因此隨著研究的日益深入與應用層面的增加，廣義而言，在養殖應用中，凡是能夠有益於養殖生物活存的微生物都可稱為益生菌（Gram et al., 1999）。

利用益生菌來改善養殖生態環境，係以漸進方式形成有利的生態平衡，此概念始於十八世紀的發酵工業，而後應用於除臭、工業廢水處理、糞尿廢水處理、污水處理與土地改良等方面，目前則擴大於養殖池水處理上發展（江，1988；羅，1991），是一新興的養殖環境管理策略。

益生菌又稱為生物製劑，其組成包括活性菌體、胞外酵素、緩衝劑、營養鹽及微生物活化劑等組成分，一般製造方式是從環境採樣，接著進行原菌分離與培養，經由馴化或生物技術來達到菌種改良，而後篩選出有用的菌株，經擴大培養及混合增殖以得到大量的菌體，再將此菌體應用於環境處理。活性菌體在利用基質時，必須將有機質分解成小分子化合物，才能通過細胞膜吸收，所以微生物會預先分泌胞外酵素來分解有機質（Ehrlich et al., 1988）；而在生物製劑中額外添加胞外酵素可直接分解有機質；緩衝劑則是用來緩衝 pH，以確保菌體及酵素之活性，常用的緩衝劑有碳酸鹽與磷酸鹽系列；營養鹽是提供增殖作用所需的營養，例如  $\text{Na}_2\text{S}$  的添加可降低微生物的衰退及老化，而  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  可當作活性促進劑；微生物活化劑常以礦石來提供活性化物質，而活性炭及沸石（鋁矽酸鹽）是常用的礦石，具有離子交換的功能。另外也有添加生物可分解的界面活性劑，如乙氧基化苯氧基乙醇，具有乳化油脂、提高脂解酵素的酵素作用。

#### (二) 益生菌的種類

早期對於益生菌的定義僅限於對生物體健康有益處的微生物，隨著不斷的修正，目前對於益生菌的廣泛定義不單單只是增加生物體的健康，其他如提高活存率、處理優養水質、改善免疫機制甚至穩定體內菌相的平衡等都是益生菌的功能，而這些效益對水產養殖的過程非常重要，特別是在幼苗孵育的期間，以益生菌來作為微生物添加劑對提高

水產養殖的產量有很重要的助益。

微生物添加劑通常並不是只有單一菌種，單一菌種在處理養殖環境中會產生一些缺點，單一菌種通常只對某些物質具有處理的能力，而養殖水體中的有機成分極為複雜，若僅以單一菌種處理，雖然在研究數字上會有所變化，但是對整體水質的改善效果並不大，所以複方菌種的添加便成為微生物添加劑的重要概念之一。以不同的菌種處理養殖環境不同的廢棄物，進而達到整體水質淨化跟穩定的目的才是微生物添加劑重要的目標之一。益生菌於養殖中的分類，以目前被廣泛應用的益生菌來區分，可以依據其功效與使用時機來做區分：

(三) 應用於幼苗孵化上的益生菌（表 11-1）

表11-1 廣泛使用在幼苗場的益生菌種類，可以提高養殖生物幼苗的活存率

菌 種	養 殖 種 類
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Shrimp ( <i>Litopenaeus vannamei</i> )
<i>T. utilis</i> (PM-4)	Shrimp ( <i>Penaeus monodon</i> )
<i>Nitrosomonas</i> sp.	Shrimp ( <i>Penaeus monodon</i> and <i>Penaeus penicillatus</i> )
<i>Nitrobacter</i> sp.	Shrimp ( <i>Penaeus monodon</i> and <i>Penaeus penicillatus</i> )
<i>V. harveyi</i>	Shrimp ( <i>Penaeus monodon</i> and <i>Penaeus penicillatus</i> )
<i>Pseudomonas</i> sp.	Shrimp ( <i>Penaeus monodon</i> and <i>Penaeus penicillatus</i> )
<i>Bacillus</i> sp.	Shrimp ( <i>Penaeus monodon</i> and <i>Penaeus penicillatus</i> )
<i>T. utilis</i> (PM-4)	Crab ( <i>Portunus trituberculatus</i> )
<i>V. pelagius</i>	Turbot ( <i>Scophthalmus maximus</i> )
<i>Bacillus toyoi</i>	Turbot via rotifers ( <i>Brachionus plicatilis</i> )
<i>Bacillus</i> sp. spores	Turbot via rotifers ( <i>Brachionus plicatilis</i> )
<i>Lactic bacteria</i>	Turbot via rotifers ( <i>Brachionus plicatilis</i> )
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Turbot via rotifers ( <i>Brachionus plicatilis</i> )
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Turbot via rotifers ( <i>Brachionus plicatilis</i> )
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Turbot via rotifers ( <i>Brachionus plicatilis</i> )
<i>Streptococcus lactis</i>	Turbot via <i>Artemia</i>
<i>Alteromonas</i> sp.	Oyster ( <i>Crassostrea gigas</i> )
<i>Aeromonas media</i>	Oyster
<i>Roseobacter</i> sp. (BS107)	Scallop ( <i>Pecten maximus</i> )
<i>Vibrio</i> sp.	Chilean scallop ( <i>Argopecten purpuratus</i> )

(四) 用於養殖生物養成的益生菌

許多可以應用於養殖生物成體的益生菌其實主要的來源都是這些生物本身，特別是在養殖生物的腸道或黏液當中可以發現的大量益生菌。而將這些菌種加入飼料中或與以投餵都可以發現其對某些養殖生物有良好養殖成果。目前利用大西洋鮭魚的腸道內的細

菌，製成飼料的添加物，已經應用在其他魚種養殖上，而且都有很好的成效（表 11-2）。

除了腸道以外，魚類皮膚的黏膜也是抵抗外來病原菌非常重要的防線之一，在黏膜上除了有大量的酵素以外，黏液內部的物質也具有一定的抗病能力，特別是某些具有殺死微生物能力的蛋白質，並也有許多同樣能力的蛋白質也在腸道與血液中被發現。在魚類黏膜上找到的益生菌目前最被廣泛應用的是 *Fluorescent pseudomonad* F19/3，該菌株的主要功能是增加對鐵離子的競爭力。已經有研究指出，在對鐵離子有較高競爭力的魚體上可以提高對病原菌的抵抗能力；將魚體浸泡在 F19/3 的菌液中，可以降低 *V. anguillarm* 對養殖生物的致死率。

表11-2 由養殖生物的腸道或黏液分離的益生菌及其功效

菌種	養殖生物	成效
<i>Lyophilized Carnobacterium divergens</i>	大西洋鱈魚	減少因 <i>V. anguillarm</i> strain 感染的死亡率
<i>Lyophilized Carnobacterium divergens</i>	大西洋鱈魚	減少因 <i>A. salmonicida</i> 感染的死亡率
<i>Carnobacterium</i> strain K1	比目魚	抑制 <i>V. anguillarm</i> 與 <i>A. salmonicida</i> 的成長
<i>Carnobacterium</i>	比目魚	抑制 <i>V. anguillarm</i> 的成長

#### (五) 環境中篩選出的抗病原益生菌

生物會跟環境產生非常密切的關係，某些物種之所以能在該地大量繁衍，除了氣候跟地理環境的影響外，跟當地微生物環境的互動也是很重要的因素之一。養殖的過程中常常會因為某些特殊益生菌的參予而有非常好的功效，於是篩選優秀養殖環境下的菌種也成為蒐尋益生菌很重要的功能之一（表 11-3）。例如在蝦類幼苗養殖時大量使用的 *Nitrosomonas* sp.、*Nitrobacter* sp. 就是很好的例子。不但可以增加幼苗的活存率，對於高密度養殖環境下具有降低穩定水體氨-氮濃度也有很大的助益。而光合細菌也是由環境中找到的益生菌，甚至許多藻類也有同樣的功效。這些菌株都可以飼料添加的方式投餵或是直接添加於水體，都可以達到預期效果，所以非常方便使用。

表11-3 從環境中篩選出的抗病原益生菌

菌種	養殖生物	效果
<i>Nitrosomonas</i> sp.	蝦苗	提高活存率
<i>Nitrobacter</i> sp.	蝦苗	提高活存率
<i>Bacillus</i> sp.	魚苗與成魚	提高活存率
<i>Fluorescent pseudomonad</i> AH2	虹鱖成魚	增加競爭鐵的能力
<i>Vibrio alginoliticus</i>	成魚	提高對抗 <i>V. anguillarm</i> 與 <i>A. salmonicida</i> 以及 <i>V. ordalii</i> 的攻擊能力
<i>Tetraselmis suecica</i>	大西洋鮭魚成魚	提高對許多病原菌攻擊後的活存率

#### (六) 增加免疫機制的益生菌

許多水產生物的免疫機制並不若高等哺乳動物般完備，由於缺乏產生抗體免疫的主動機制，多數的水產生物非常依賴非特異性的免疫機制。以蝦類而言，一般而言非特異的免疫機制主要包括了血球中的吞噬作用，節癩的形成，胞封作用，以及血漿中其他物質的共同作用，這些則包含了細胞毒素的細胞毒殺作用，補體受到外源凝集素活化的作用，以及 proPO system 的作用與抗菌原蛋白。

這些作用最大的缺點是在兩個部分：一是缺乏記憶性，非特異免疫的機制最大的缺點也在於此，由於缺乏可記憶的專一性，使得重複感染的現象成為養殖產業中很大的負擔。第二個缺點則是某些免疫作用平常並不啟動，它們需要一些特殊的激活物質，例如多醣類的參予才能啟動原本的免疫作用狀態，如此一來反應的時間便延宕了許多，這也是造成幼苗大量猝死的原因之一。

近來許多研究都發現，益生菌的添加可以提高養殖生物的免疫能力，這樣的現象對於水產養殖生物而言有非常大的助益。特別是蝦蟹類的養殖生物，由於牠們主要仰賴非特異的免疫機制，所以如何活化其非特異免疫系統，同時提高其功效便成為養殖管理上很重要的課題。

根據研究報告，利用免疫激活物， $\beta$ -Glucan 等物質可以明顯的刺激許多水產生物的非特異免疫機制，由微生物的二次代謝產物中分離出這些相關的多醣體。這樣的成果引發了許多將相關微生物製作成生物添加劑的念頭，有許多的研究也都確實證實活性酵母菌以及有益桿菌所產生的多醣體的確對提高養殖生物的活存率以及產量上有正面的助益，不論是以添加益生菌或是直接添加多醣類於飼料中的研究都發現對提高養殖生物的抗病力及活存率均有正面的助益。

#### (七) 益生菌的作用

目前益生菌已經應用於處理工業廢水、家庭汙水、排泄物廢水、土壤改良等方面，而使用在養殖環境中其功能則具有：

1. 抑制疾病的發生：有益微生物能夠透過分泌抑制物質、競爭營養鹽、競爭病原體附著細胞之位置等方式，達到抑制病原菌生長的目的。例如光合菌可抑制斑節蝦的爛鰓病、香魚的細菌性與病毒性疾病的發生（Okamoto, 1988；小林，1988；周寬典，1900）。
2. 維持良好水質：添加有益微生物能夠促進有機質的分解或有毒物質的轉換，減少養殖池中有機物質的累積，將具毒性的物質，轉換成毒性較低甚至可供再利用營養鹽，例如將氨經由硝化作用轉變為亞硝酸再轉變為硝酸，可供植物性浮游生物生長利用，具有穩定水質及平衡生態系統的功效。
3. 增進健康與成長：益生菌可以改善養殖生物消化道中的菌相，具有促進養殖生物的消化與吸收能力，能夠幫助養殖生物的健康與成長，進而提高活存率使產量增加。
4. 增加天然餌料：利用光合菌來培養培養動物性浮游生物，可提高豐年蝦的活存率（小林，1966），而添加之菌體除了可作為原生動物的食物，菌體本身也是養殖生物良

好的餌料生物來源，例如 *R. capsulatus* 之蛋白質、維生素及胺基酸的組成分，具有高量的甲硫胺酸及豐富的維生素 B，且經實驗證明 *R. capsulatus* 的添加確實有提高仔魚成長率及活存率的效果。

#### (八) 益生菌之使用

益生菌被使用於養殖環境中的方法有以下幾種：(1)加入人工飼料中；(2)加入養殖池水中；(3)浸泡；(4)經由活餌；(5)經由介質。而其使用方式又包含養殖池施放、飼料中添加及生物廢水處理系統中添加。養殖池施放又可分為養殖前施放及養殖期間施放，前者做為養殖池的整池並建立良好菌相，後者則做為養殖環境的維護；飼料中添加又可分為混合後添加及混合發酵後添加，用以增加生物對營養的消化吸收率，進而減少排泄物及對水質的污染；生物廢水處理系統中添加可算是系統中微生物的植種，可確保系統的水質穩定性並增加處理效果。

利用益生菌來處理水質，最簡單的方法，是將微生物產品直接的投入養殖池中，但這種外來引進的益生菌，要使之變成優勢種才能發揮作用，因此必須每隔時日的持續性添加才能保持其優勢而達到預期的效果，所使用之產品的質與量也應特別與予留意。另外益生菌的效果相當容易受到環境因子的影響，如鹽度、溫度與 pH，因此使用益生菌時最好先經活化，並調整菌種混合液的溫度與池水溫度相近，且由於益生菌本身即為活菌，所以應避免與抗菌劑、磺胺劑、抗生素及消毒水等混合使用，才不會使效果大打折扣。

#### (九) $\beta$ -葡聚糖 ( $\beta$ -glucan) 的作用

多醣體是一種由益生菌如真菌或是菇蕈菌絲體等，利用特殊的技術所精煉萃取出含有高單位活性良好的多醣質。 $\beta$ -glucan 可由酵母菌、細菌、藻類及靈芝細胞壁中萃取出，是種葡聚糖 (poly-glucose  $\beta$ -1,3 或  $\beta$ -1,3 and  $\beta$ -1.6 cross-linkaged compound) (Yano et al., 1989)。在過去已有許多有關於多醣體在水生動物的應用結果：多醣體能有效地藉由注射、浸泡或將  $\beta$ -glucan 添加於飼料中以提高養殖生物非特異性免疫反應的研究，如 Chen and Ainsworth (1992) 發現以 glucan 注射美洲河鱈將有助於其對抗 *E. ictaluri* 而  $\beta$ -glucan 亦能加強魚類巨噬球、淋巴球及自然殺手細胞之毒殺活性 (cytotoxic activities) (Oliver et al., 1986; Engstad et al., 1992)；提高養殖魚類對各種病原性細菌及病毒性疾病的抵抗力，增加養殖魚類之經濟價值。

在甲殼類的研究報告中，對一般甲殼類動物及馬蹄蟹， $\beta$ -glucan 可活化血淋巴液中的 proPO，進而增強殺菌力和吞噬作用等 (Unestam & Söderhäll, 1977) 且能活化凝血作用 (Ohno et al., 1990)。另外，將草蝦浸泡於 0.5 及 1.0 mg/mL 的  $\beta$ -glucan 溶液中亦能增加其對 *V. vulnificus* 的抗病力 (Song et al., 1994)；於白蝦的飼料添加不等量的  $\beta$ -glucan 實驗中，也發現具有提高血淋巴液的免疫指數如  $O_2$  與 proPO 的結果 (圖 11.2、11.3)；此外， $\beta$ -glucan 對養殖海水蝦類的白斑病、黃頭病、桃拉症、弧菌病及淡水長臂大蝦的病原性酵母菌所引起的黃鰓病、白肌症及病毒所引發白尾症也有預防發生之功用。

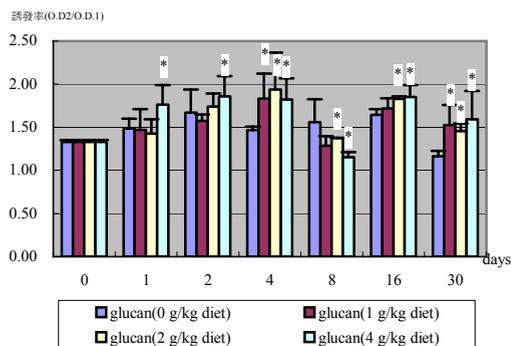


圖 11.2 不同濃度 glucan 對白蝦超氧離子誘發的影響

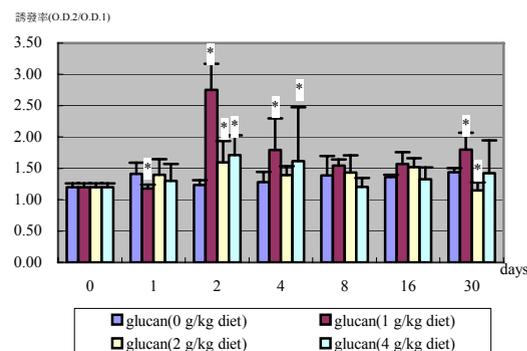


圖 11.3 不同濃度 glucan 對 proPO 誘發的影響

水產養殖在近幾年來面臨很大的衝擊，流行性疾病諸如養殖海水蝦的白斑病、黃頭病及弧菌病，淡水長臂大蝦的酵母菌或病毒感染所引發的大量死亡，幾乎使養殖事業崩潰。當我們探討這些疾病為何發生，發現環境之變化及優養化，與養殖生物本身的不健康，尤其是對病原菌抵抗力之低落為主要的因素。在諸多的疾病的防範措施當中，免疫增強劑的利用被認為是最有應用潛力的方法，尤其是多醣體的利用被認為是健全生物體，防止疾病的良好途徑。過去諸多有關於多醣體在水生動物的應用結果顯示，多醣體能有效地提高養殖魚類對各種病原性細菌及病毒性疾病的抵抗力，增加養殖魚類之經濟價值。近年來許多研究者更著重於特殊多醣體對蝦類免疫系統的影響，而發現多醣體可增強蝦類血球細胞之吞噬能力，並使蝦類血球大量產生如調理素（Opsonin）、殺菌素及多種增強蝦類細胞功能之細胞激素，由於此種特殊多醣體是高分子產物，在腸道中能有較長時間的停留，且具有減低病原感染之能力，使蝦類對疾病之抵抗力隨之而增強。

### 三、益生菌於水產養殖環境使用個案

過去益生菌於水產養殖之應用通常僅以小型的實驗工作成果，根據報告或是一些較小型的結果來探討大型養殖場的使用效果，往往給人覺得較不切實際，基於此，我們多年前展開大型的應用研究，其中雖然這項工作需要較大的經費人力支持，但卻較能落實與反應試驗的實際面。

#### (一) 個案一：草蝦養殖實驗

台南一草蝦養殖場所作的實驗，利用 *Bacillus subtilis* 及 *B. megaterium* 及光合菌 *Rhodospseudomonas* sp.、*Rhodobact* sp.及 *Pseudomonas* sp. 改善其水體環境的實驗結果顯示（表 11-4），在以濃度 50 - 100 ppm 的微生物製劑使用 7 天後，發現池中的 BOD 及 COD 自使用前的 150 及 75 ppm 分別下降至 11 及 4 ppm。而  $\text{NH}_4\text{-N}$  及  $\text{H}_2\text{S}$  的含量，亦從在使用生物製劑前的 16 及 2 ppm 降至 1 及 0.02 ppm。本結果顯示，液態的生物製劑對該養殖池的環境有改善的效果。

表11-4 使用生物製劑前後，草蝦池水中的各種指標變化

水中指標	使用生物製劑前	使用生物製劑7天後
BOD	150 ppm	11 ppm
COD	75 ppm	4 ppm
NH <sub>4</sub> -N	16 ppm	1 ppm
H <sub>2</sub> S	2 ppm	0.02 ppm

(二) 個案二：生物製劑應用於蝦苗繁殖場

生物製劑在蝦苗繁殖場的實驗中，所選取的場地為位於高雄市紅毛港一蝦苗繁殖場進行，結果顯示，在草蝦及南美白蝦蝦苗繁殖池中，每天加入 10 - 20 ppm 的光合細菌及 *Bacillus subtilis*、*B. megaterium*，光合菌可有效地降低病原性細菌的滋生，並可以提昇活存率（表 11-5）。

由表 11-5 的結果發現，事實上無論在草蝦或南美白蝦的繁殖池中，發現有 *Vibrio alginolyticus* 的蝦苗池，其發生大量死亡的機率相當高，而益生菌的持續添加後能加強蝦苗的抗菌能力，並提昇蝦苗之品質，而避免藥物所引發的不良副作用。

表11-5 蝦苗場應用生物製劑後蝦苗活存率之比較

蝦種	細菌每天加入量		加入期間		結 果		
	細菌種類	cfu/mL	起點	終點	最終總菌數	最終弧菌數	活存率
草 蝦	<i>Vibrio alginolyticus</i>	10 <sup>4</sup>	Mysis	PL 3	2.1 × 10 <sup>6</sup>	1.0 × 10 <sup>5</sup>	0%
	<i>Vibrio alginolyticus</i>	10 <sup>4</sup>	Mysis	PL 5	2.1 × 10 <sup>6</sup>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	85%
	<i>Bacillus subtilis</i>	10 <sup>3</sup>					
	<i>Photosynthetic bacteria</i>	10 <sup>3</sup>					
南美白蝦	<i>Vibrio alginolyticus</i>	10 <sup>5</sup>	Mysis	PL 2	2.0 × 10 <sup>6</sup>	5.1 × 10 <sup>4</sup>	0%
	<i>Vibrio alginolyticus</i>	10 <sup>5</sup>	Mysis	PL 3	5.0 × 10 <sup>6</sup>	1.0 × 10 <sup>6</sup>	80%
	<i>Bacillus subtilis</i>	10 <sup>4</sup>					
	<i>Photosynthetic bacteria</i>	10 <sup>4</sup>					

(三) 個案三：生物製劑處理熱帶魚養殖池

利用生物製劑處理熱帶魚養殖池中的環境，選取位於屏東縣內埔鄉一熱帶魚養殖場。此實驗是以 *Bacillus* 為主，而 *Pseudomonas* 光合菌及放射菌為輔，處理一正常運作中的養殖池，以測量池中的 COD 變化，作為淨水的監測指標，為期 15 週。如圖 11.4 所示，兩對照組均在養殖後第 2 週 COD 開始上昇；而從第 2 週到第 7 週其上昇斜率最大（表示 COD 的變化最劇），直到實驗結束時，COD 的值仍於高峰 70 ppm 以上。而兩

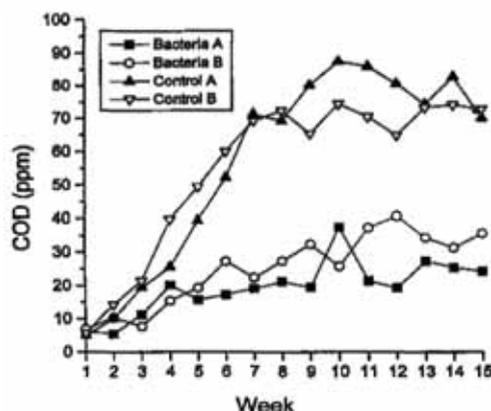


圖 11.4 分別以有益微生物處理養殖池後化學耗氧量 COD 的變化

個處理組 (Bacteria A 及 Bacteria B) 中的 COD 值，雖隨著時間稍增，然其變化不大，且較兩對照組平緩得多，兩組處理組的 COD 值最高為 40 ppm。結果顯示，生物製劑對養殖環境優養化的抑制有很大的幫助。往後本養殖池則增加光合菌及有益微生物菌種，並加以充分的曝氣一週，發現養殖池之 COD 明顯降至 10 ppm 以下。

#### (四) 個案四：粉狀生物製劑田間實驗

粉狀生物製劑的田間實驗是在墨西哥的 Sinaloa 州進行。利用面積約 150 公頃的蝦類養殖作為對照組 (表 11-6 - 11-11)，在這對照組中，各養殖場用作實驗之養殖工作為常規性，飼料是用一般市售飼料，沒有加本實驗用之微生物製劑及葡聚醣，而實驗組則分別每噸飼料添加 3 - 5 kg 的複合酵母菌及桿菌和葡聚多醣體之添加劑。實驗期間實驗成果顯示，對照組的平均收成量約為 624 - 993 公斤/公頃，而在使用有益微生物及葡聚多醣體的試驗組則其收成提昇至 1,067 - 1,596 公斤/公頃 (表 11-12 - 11-14)，約提高 30 - 45% 之生產量，成效顯著。

若將生物製劑及葡聚多醣體分別以 5 公斤/公頃的量添加於飼料，並使用於集約式南美白蝦養殖池中 (表 11-15、11-16)，亦可獲得良好的成效，在於水池的收成每公頃 7,265 公斤之收成量。而淡水池亦有每公頃 4,706 公斤的收成量而在過去的記錄以集約養殖方式的海水池在 Sinaloa 的地區之收成最佳約僅 3,000 公斤/公頃，而淡水池則僅有 1,500 公斤/公頃之生產成績。

表11-6 市售飼料未加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成狀況

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	7.6	20/06/00	120	10.2	12.5	77.80	996	7,566	9,056	1.20
2	5.8	20/06/00	120	11.5	11.7	74.40	1,000	5,805	8,145	1.40
3	6.0	15/06/00	115	11.0	12.8	72.20	1,080	6,316	9,741	1.54
4	5.9	15/06/00	115	12.0	13.5	66.40	1,078	6,364	8,966	1.41
5	12.4	16/06/00	113	8.0	13.0	95.30	996	12,351	15,625	1.27
6	11.1	12/06/00	109	11.2	12.0	58.20	785	8,714	10,957	1.26
7	12.6	19/06/00	115	11.0	14.0	61.10	942	11,866	17,274	1.46
8	7.8	18/06/00	114	11.0	11.6	55.70	711	5,547	8,053	1.45
9	7.5	13/06/00	106	12.1	13.6	75.00	1,242	9,073	8,945	0.99
10	13.1	21/06/00	114	11.0	12.5	64.00	887	11,616	13,550	1.17
11	4.0	24/06/00	117	10.6	16.5	67.80	1,193	4,773	5,953	1.25
12	3.0	22/06/00	118	12.0	13.9	56.50	950	2,850	3,607	1.27
13	4.3	22/06/00	118	12.0	11.5	35.80	494	2,074	2,946	1.42
平均值			114.8	11.1	13.01	66.17	945.54			1.31

魚場名稱：Acuicola Mar de cortex, SA De Cortex CV.

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Maricultura

表11-7 市售飼料未加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成狀況

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	2	29/05/00	78	12	8.00	78	748	1,497	2,025	1.36
2	6	22/06/00	102	12	12.5	74	1,110	6,660	8,925	1.34
3	8	25/06/00	105	12	12.0		1,123	8,985	11,500	1.28
平均值			95	12	10.83	76	993.66			1.32

蝦場名稱：ACUICOLA SILVANO GAXIOLA A區

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Maricultura

表11-8 市售飼料未加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	26.1	25/05/01	96	7.69	11.43	71.6	624.9	16,310	20,675	1.27

蝦場名稱：ACUICOLA SILVANO GAXIOLA B區

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Super Shrimp

表11-9 市售飼料未加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
V3	2.36	27/05/01	96	7.74	12.80	83.30	826	1,950	2025	1.04
E5	8.77	24/05/01	93	7.90	11.24	71.80	661	5,600	6,408	1.14
E6	8.37	24/05/01	93	8.40	10.77	81.20	712	6,155	6,478	1.05
E7	9.90	23/05/01	92	7.05	10.00	76.50	540	5,350	6,178	1.15
E8	6.32	29/05/01	98	6.37	11.80	86.20	648	4,100	5,320	1.30
E9	3.20	29/05/01	98	10.0	9.90	87.40	865	2,770	3,685	1.33
平均值			95	7.91	11.09	81.07	708.67			1.17

蝦場名稱：EXPLORACION ACUICOLA DEL PACIFICO

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Super Shrimp

表11-10 市售飼料並加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	9.50	18/07/00	114	16	12.40	66	1,309	12,435	18,025	1.45
2	10.00	21/07/00	117	16	13.00	67	1,393	13,963	21,175	1.52
3	12.00	16/07/00	112	17	11.80	62	1,243	14,926	20,600	1.38
4	11.00	20/07/00	116	17	12.80	65	1,414	15,558	22,100	1.42
5	7.00	14/07/00	110	15	11.60	47	817	5,724	8,250	1.44
6	9.00	19/07/00	115	17	12.20	50	1,037	9,333	14,372	1.54
平均值			114.0	16.33	12.30	59.0	1202.1			1.45

蝦場名稱：ACUICOLA ACUICOLA DON JORGE

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Maricultura

**表11-11 市售飼料加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成**

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
2	4.4	14/05/00	104	14	8.47	67.00	793	3,489	3,991	1.14
11	3.8	05/06/00	88	13	10.37	68.50	920	3,494	4,288	1.23
15	4.8	04/06/00	107	13	9.24	79.80	946	4,541	5,067	1.12
19	1.9	30/05/00	100	20	10.95	67.20	1,461	2,776	3,467	1.25
20	1.8	30/05/00	100	20	10.84	70.20	1,545	2,781	3,862	1.39
23	5.8	01/06/00	101	15	10.97	60.20	979	5,675	7,696	1.36
25	8	25/05/00	95	12	10.93	71.10	923	7,387	8,820	1.19
平均值			99.29	15.29	10.25	69.14	1,081			1.24

蝦場名稱：ACUICOLA EL MANGLE, S.A. DE. C.V.

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Maricultura

**表11-12 市售飼料並加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成**

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	10.00	18/05/01	104	10.00	11.00	79.0	869	8,690	10,500	1.21
2	5.50	19/05/01	106	15.00	10.70	79.0	1187	6,532	7,600	1.16
3	7.00	20/05/01	107	17.00	12.00	74.0	1550	10,852	14,900	1.37
4	8.00	21/05/01	106	10.00	12.50	73.0	912	7,300	9,600	1.32
5	7.00	25/05/01	105	16.00	11.20	74.0	1326	9,282	13,100	1.41
平均值			105	12.57	11.39	75.0	1067.5			1.29

蝦場名稱：ACUICOLA EL PERIHUETE, S.A DE C.V

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Maricultura

**表11-13 市售飼料並加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成**

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	25.3	14/08/01	95	9.2	16.4	61.1	926	23,434	30,464	1.3
2	18.8	14/08/01	98	8.1	16.3	95.7	1263	23,753	30,879	1.3
3	14.9	23/08/01	101	15.2	16.9	67.8	1746	26,010	33,813	1.3
4	16.2	23/08/01	104	10.9	23	57.4	1441	23,432	25,775	1.1
5	23.1	19/08/01	101	13	17.6	41.8	957	22,108	33,162	1.5
平均值			102	11	18.95	60.93	1193.8	22,181.5		1.33

蝦場名稱：AQUAEXPORT, S.A DE C.V

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

蝦苗來源：Maricultura

表11-14 市售飼料並加入生物製劑及  $\beta$ -glucan 投餵之蝦子收成

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	蝦苗來源	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
8	1	24/07/01	97	15	Aremar S.A CV	14	72.7	1,527	1527	1,800	1.17
9	2	24/07/01	97	15	Aremar S.A CV	14	69.4	1457.5	2915	3,300	1.13
13	2	26/07/01	99	15	Aremar S.A CV	13	72.1	1407.5	2815	3,350	1.19
14	2	26/07/01	99	15	Aremar S.A CV	13	75.7	1477.5	2955	3,450	1.16
15	2	27/07/01	100	15	Aremar S.A CV	13	83.4	1627.5	3255	3,800	1.16
16	2	28/07/01	101	15	Aremar S.A CV	13	91.9	1792.5	3858	4,100	1.14
17	2	29/07/01	102	15	Aremar S.A CV	13	83.5	1630	3260	3,900	1.19
18	2	30/07/01	103	15	Aremar S.A CV	14	88.2	1853.5	3707	4,300	1.15
平均值			100	15		13	79.6	1596.6	3002		1.16

蝦場名稱：Aremar S.A C.V

蝦種：南美白蝦 (*Litopenaeus vannamei*)

表11-15 益生菌及多醣體做為添加劑使用於集約式白蝦養殖之收成

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	2.0	07/06/01	112	50	15.40	88	6,776	13,552	15,500	1.14
2	2.0	07/08/01	114	52	15.70	86	7,021	14,042	16,200	1.15
3	1.5	07/08/01	117	52	16.10	91	7,618	11,472	13,100	1.14
4	2.0	07/10/01	115	50	16.40	90	7,380	14,760	17,200	1.16
5	1.0	07/09/01	114	54	15.50	90	7,533	7,533	8,800	1.17
平均值			114.4	51.6	15.82	89	7,265			1.15

蝦場名稱：ACUICOLA TECUALA

表11-16 益生菌及多醣體為添加劑使用於淡水養殖池之收成

池號	面積	收成日期	養殖天數	密度/m <sup>3</sup>	收成量	活存率%	Kg/ha	總收成量	總投餌量	換肉率
1	1.0	05/23/01	90	25	19.00	95.0	4,512	4,512	4,100	0.91
2	2.0	05/25/01	92	25	19.00	90.0	4,275	8,550	6,900	0.81
3	2.0	05/25/01	94	25	18.50	95.0	4,393	8,787	8,650	0.98
4	2.0	05/26/01	96	25	20.40	94.0	7,794	9,588	9,200	0.96
5	1.0	05/28/01	98	25	22.10	95.0	5,248	5,248	4,900	0.93
6	2.0		100	25	22.30	90.0	5,017	10,035	8,950	0.89
10.0			95	25	20.21	93.1	4,706			0.90

蝦場名稱：GRANJA CAMARONICOLA

有不少的研究報告指出，利用免疫激活物、 $\beta$ -glucan 等物質可以明顯地刺激動物，包括水產生物的非特異性免疫系統之活化及功效加強 (Hadden, 1993; Song and Hsieh, 1993; Song et al., 1994; Wang et al., 1993; Wang and Wang, 1996; Shih, 1996)。在本研究中，可進一步證實活性酵母及有益桿菌加上多醣體之應用，確可顯著地提高養殖蝦之生產量。並由以上個案亦證實，在魚蝦類的繁養殖期間，應用生物製劑處理池水其成功率亦能有顯著的提昇。

#### (五) 討論

益生菌對水產養殖有多元化的應用價值，適當的使用，可降低水中氨、氮含量，且可使水中的化學或生物需氧量降低，而有效的降低水的優養化，改良水質並增進水產養殖成果，但有益微生物在使用的過程中，應該了解所使用微生物的特性，例如桿菌需有適度氧氣的情形下才能成長，而發揮其特有的水質改良效果，而光合菌則可在較缺氧的情形下來使用，根據我們的經驗，在循環水系統中使用活菌，必須保持其最初的水中濃度在  $10^3$  cfu/mL 以上，才能夠發揮它應有的效果。諸多的研究成果顯示，水中高氨 - 氮含量會顯著影響養殖魚類的成長，並引發疾病及死亡 (Chen, 1991)。此現象若能適當的使用益生菌，可有效的達到正面的成效，過去一般的養殖場皆以沸石粉作短暫的降低水中氨-氮含量，但其效果並不顯著。因此益生菌的使用，提供一條可行的途徑，尤其在室內超高密度的養殖池或高污染水質的改進，應可顯示出良好的成效。

水中的透明度是依水中的總懸浮物質的量來決定。而水中的化學氧氣需求量 (COD) 則與水中總懸浮物有關，在魚池中的懸浮物質則大多是有機物質，而過多的有機物質會影響魚蝦的攝餌及成長 (Gregory, 1998)。在水生動物養殖前期，換水及過濾系統的應用，可有效的防止有機質的增加；但到養殖後期，則其成效不彰。根據我們的經驗，益生菌應用於循環系統中，水中的有機顆粒會因微生物的作用而沈澱而使之易於去除，並發生去除水中氨-氮效果，改善水質，使魚蝦能有效的成功養殖。

除了水質的改良外，益生菌中如酵母菌或菇蕈菌絲體的代謝物質或取自酵母的多醣體可用為免疫促進劑，本研究利用酵母及葡聚多醣體，有效的促進蝦類的生產量高達 30 - 45%，此結果顯示，益生菌若能經適當的技術運用，對產業會有關鍵性的影響，其經濟效益亦可預期。

## 四、使用益生菌之養殖管理模式

我們將益生菌在水產養殖的應用進行探討。益生菌經有規劃的使用後得到下述之成果：(1)可有效的降低水中 BOD 及 COD，而達到去除污染的目的；(2)使用益生菌後，養殖生物的產量及活存率有顯著的提昇；(3)高密度養殖的觀賞魚池在使用益生菌後，養殖池的氨氮含量及其化學需氧量非常顯著下降，而魚的觀賞度及商品價值亦相對提昇；(4)以益生菌或其活菌產品作為飼料添加劑，可使中低密度的南美白對蝦養殖場產量明顯提昇。因此，除了瞭解益生菌的功能與如何使用益生菌外，我們也還需要瞭解一般養殖池

中使用益生菌的管理模式。

(一) 益生菌應用於蓄水池及循環用水系統

1. 蓄水池

在水質優養化地區為了淨化或穩定優養化水質，蓄水池設立乃是必要的。養殖場如果能在規劃時就設立蓄水池，則養殖會有較良好而持續的發展。蓄水池是用來供給養殖池使用，所以應有相當大的面積方可達到目的，所謂之蓄水池並非單作為儲水之用途而已，如能適當的於池中蓄養文蛤、淡菜或是少量的魚來控制並維護浮游生物的平衡；同時蓄水池中所蓄養魚類的生存情況，更可預先提供作為養殖池的水質指標。如果在蓄水池內能同時留意良好藻種之維護及添加益生菌，則此水質更有助於疾病之預防。

2. 循環用水系統

循環用水之主要功能，在於利用有限的養殖用水來進行養殖，因此在此體系內，池水必須要有充分的自淨能力；亦即在此體系，水質處理池內必須有能力自行處理優養化的水質，除去有害的物質，使養殖池內的生態能維持平衡。台灣過去養蝦技術的應用，大都建立在大幅換水架構之下，因此，循環用水的養蝦體系往往受到質疑，但是隨著養蝦面積逐漸增加，水質的優養或是污染情形亦會逐日增加，未來可供養蝦的良好水質則會逐漸的缺乏，因此循環用水養蝦體系之建立，對養蝦事業日後的健全發展應有正面的意義。以下提供幾個已建立的循環用水施行模式，供為參考。

(1) 生物處理法

下列之模式為標準的循環用水模式（圖 11.5）：

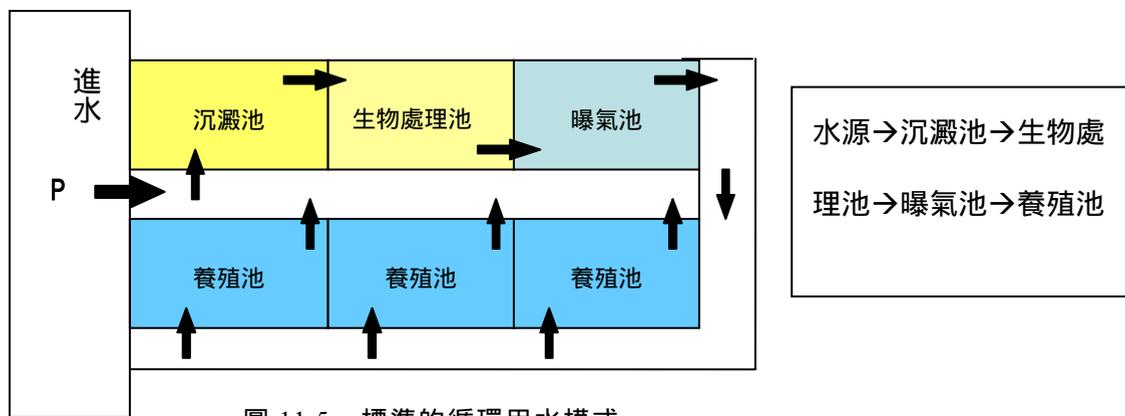


圖 11.5 標準的循環用水模式

沉澱池會將大型顆粒去除，再經生物處理池中培育適量的貝類（如紫貽貝、牡蠣或是西施舌等）、魚類（如虱目魚或是鯰科魚類等）或益生菌使養殖廢水的生態能夠平衡，以達到可供養蝦的程度，並且在生物處理池中所表現出來的“水色”及魚類“活動”、“罹病”之情形，還可預先作為生物指標，蝦池水經生物處理池處理後，再加以充分的曝氣，培育優良的嗜氧性有益性細菌群，用此水質來養蝦，成功率自會大幅提高。

### (2) 微生物處理方法

微生物在環境的自淨上扮養著一個很重要的角色。因此，如果能用人為的方式將有益於蝦類養殖之細菌群（包括桿菌屬、假性單孢菌屬、鏈球菌屬及乳酸菌屬等）導入養蝦體系中，則其養蝦池池水自淨能力將會更為良好。處理過的水質，當會更有益於蝦類養殖，蝦病之罹患情形應會大幅降低。利用微生物來處理各項污物，在工業與家庭廢水中已廣泛的被應用，利用它來處理養殖後的優養化水，並供給蝦池優良的菌相，在水質污染或優養化日劇的今日，應是養蝦產業不可或缺的技术應用。

利用益生菌來處理水質，最簡單的方法，是將微生物產品直接的投入蝦池中，但是這種由外引進池中的有益性微生物，要使之變成優勢種類並發生效用，必須每隔時日的添加才能有活性，而達到預期效果。因此，所應用的產品的質與量應特別予以留意；除此之外，如果能善加利用各種益生菌的特點，則更可發揮利用有益性細菌養蝦之功效，達到成功養蝦之目的。茲舉以下兩例以供參考：

範例一

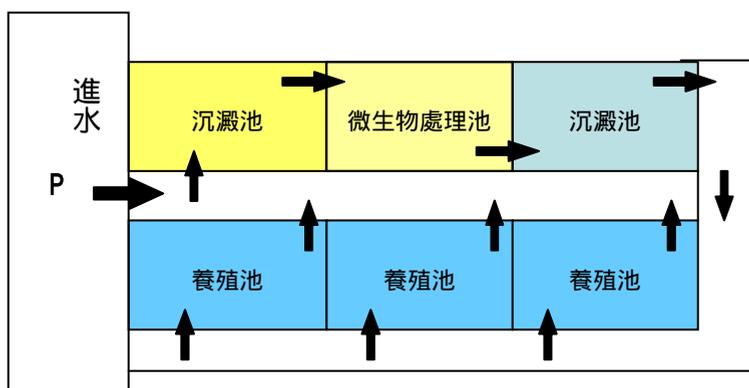


圖 11.6 養殖池→沉澱池（可有限度的自水源進水，亦可利用中央排污系統，將有機廢物排至此池中）→微生物處理池（必須以水車曝氣，使池底及底質成氧化態）→沉澱池→養殖池

或是可以採下列方式處理

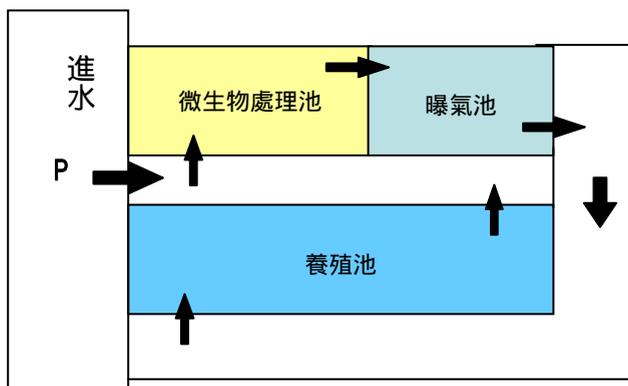


圖 11.7 養殖池→微生物處理池→曝氣池→養殖池

以上兩種微生物處理池乃依水質狀況之不同而設計，若是所引入的水質泥沙顆粒數量多，則應有沉澱池之設計效果較為良好。本系統之設計無論由沉澱池流往微生物處理池，或由微生物處理池流往蝦池的水質，皆以取用上層水較為理想。本系統所應用之微生物可定時投入微生物處理池中。

### 範例二

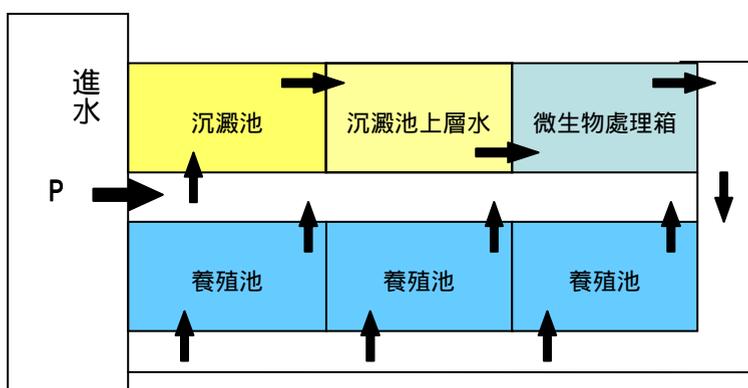


圖 11.8 養殖池→沉澱池(亦可有限度的自水源進水)→取上層水→微生物處理箱(可用微生物球的設計)→養殖池

本系統主要應用之根據，乃在於使蝦池中的污物在微生物的作用下能充分的分解，再回到蝦池中為藻類充分利用，以保持蝦池中生態體系之平衡，在此體系下蝦子所受到的環境衝擊最小，病原性細菌亦不易滋生，使養殖蝦種不易罹病；因此，只要秉持此理念的任何設計，皆可以達到防止蝦病、成功養殖之目的。微生物處理池之設計有許多種形式，比較老式的是以浸水式生物過濾球的設計，其成效較滴流式的生物過濾球之設計遜色。由蝦類之養殖需兼顧水色及水質之穩定，故不必企求在一天內處理完所有的用水，若能於一天內處理 1/5-1/3 之水量，應可以達到淨化蝦池養殖用水、增加養殖成效之目的。

### (3) 使用益生菌改良優養化的養殖環境

在養殖環境適當、水質、底質良好時，以人工方法來進行適當密度養殖，並非難事，但是隨著時間的增長，池中動、植物所製造出來的有機、無機物質；水產養殖人工飼料中含有大量蛋白質、碳水化合物、脂類及其他無機鹽類，長久的累積，致使養殖池底，養殖生物生活存動之環境惡化，更易使疾病爆發，此時若再不求養殖技術上之改進，則無法達成有效經營之目的。因此，針對優養化的水質，我們擬定下列之步驟，並利用益生菌來改善養殖成效，以養蝦為例：

- A. 整池（去除污物）。
- B. 曝曬（翻池，達到殺菌與池底氧化還原的作用）。
- C. 消毒（利用次氯酸鈉或其他無殘留性物質）：可用 50 - 100 ppm 之次氯酸鈉（漂白水或是漂白粉），因這些物質在環境中無殘留性；消毒之步驟可先進水 20 - 30 cm，潑入次氯酸鈉，若可能的話開啟水車使之充分均勻散布，靜置兩到三天後排乾。

- D. 灑布石灰後，添加有益細菌。
  - E. 作水：利用脫脂黃豆粉或是其他含植物性蛋白的物質，加上少量的魚粉並添加少許酵母菌、乳酸菌及假性單胞菌等有益菌，曝氣、發酵後使用，並輔以過磷酸鈣等無機肥分，3 - 5 天內作出水色。
  - F. 放養：放養蝦苗前，測定水中的酸鹼度、溶氧、總鹼度、氨及亞硝酸含量，以確保蝦苗之活存率；放養密度以每甲地不超過 40 萬為原則，持續撒布發酵且含良好菌相的有機肥分，以保持水色。
  - G. 養殖初期：養殖初期水色不宜過分濃稠（透明度約 50 - 60 cm），若水色仍淺則繼續每天潑灑已發酵之黃豆或豆粕及魚粉，必要時可使用無機肥分，於放養兩週後開始進行投餵，投餵量已漸進的方式施行。
  - H. 養殖可視水色、底質及天候之良劣來投餵。發現進餵不足時，切勿一次大量投餵，宜少量多餐。養殖過程中，每天注意水質，並且適時使用益生性細菌（如枯草桿菌、臘桿菌、巨大桿菌、乳酸桿菌、乳鏈球菌、麴菌屬菌類、硝化細菌或是光合菌等）以保持養殖池水及底質品質良好，同時適量由蓄水池中引入新水。於放養一個月後開始進行池底污物之抽取。
  - I. 養殖中後期，蝦池若無有效的中央排污系統，可利用沉水馬達將中間堆積之廢物抽出排除，並持續性的使用益生菌。
  - J. 由於做水不易，業者應考慮以蓄水池或是循環水系統的方式來進行用水管理，引進良好品質之蓄水池的藻水來使用。
  - K. 水質優養化的養殖池除了謹慎的控制水質外，於餌料的選定上也須注意，勿投入大量的生鮮餌料，以免水質與底質惡化，轉而多加利用營養充足的熟化人工飼料。
- (4) 其他使用益生菌的時機與方式
- A. 溶氧不足

除了增加水中的溶氧之外，如何使池底的污物接觸氧氣而充分的氧化，是養蝦很重要的技術應用。因此，在養蝦過程中、後期適度的攪動池底，使池底的還原層變為氧化層，對底棲性的蝦類養殖有很大的好處。在過去我們認為利用魚、蝦或是蝦、蟬的混養而能改善蝦類養殖之成果，是因為魚或是蟬能有效的維持水中生態環境的平衡，並能夠持續性的維持“水色”之良好。經由深入的觀察後認為，魚或是蟬混養在蝦池中的一項功能是在於它們能適度的攪動池底，使養蝦池池底能長時間保持氧化狀態，並可以提供無機質的混濁度，間接抑制絲藻的大量產生。此良好水體狀態的維持，對於養蝦池中的“水色”及“養蝦環境生態平衡”具有很大的穩定效果。同樣的道理，若能利用增氧機（水車），或適時適當的攪動池底，當然會有助於蝦子的成長，亦會有效的防止蝦病的發生。但是攪動池底的技术絕非漫無目的得將池底攪動，因為不當的攪動池底，將會引發池中產生過多對蝦有害的物質，進而引發蝦子的中毒。因此，建議僅在中午前後當蝦池溶氧充足的時候，適當而技巧的攪動靠近岸邊的池底，避免過分的擾動中央部分的池底，因大多數集約式養殖池在水車的攪動後，大部分的污物機會集中於蝦池中央，若是

過分的攪動這些集中的污物，則會使蝦池中突然散布過多的毒性物質，可能會引起蝦子的急速死亡。利用益生菌來改變池底還原狀態，例如在蝦池生態環境不良時或是底質成還原狀態時，適度的降低水位，並添加光合成菌亦可以達到使池底變為氧化態的目的。

#### B. 養殖池水酸鹼度過低

酸鹼值過低：養蝦最適當的酸鹼度為 8.0 - 8.6，在酸鹼度 7.5-9.0 之間的蝦之活動皆會正常。一般而言，蝦池的 pH 值低於 8.0 時，則必須要做適當的處理，處理方式為投放農用石灰是較為可行而且價廉的方式，石灰因為必須在水中之碳酸含量較高時使用較為有效；因此，在養蝦過程中，應於傍晚時分施撒石灰，才能使其發生良好的成效。一般而言，在蝦池 pH 值過低時（低於 7.5），而觀察蝦子仍健康無罹病現象時使用生石灰（或稱為氧化鈣，分子式為  $\text{CaO}$ ），可以快速的達到提高水中 pH 值之效果，但對蝦類所造成之緊迫亦較大；而蝦池水酸鹼值高於 7.5 以上時，則可使用農業石灰（或稱碳酸鈣；其分子式為  $\text{CaCO}_3$ ），緩慢的調整水中 pH 值。在環境的緊迫較為大，蝦體較弱或蝦子有不正常現象時，宜緩慢的提高 pH 值，因之以投放農業石灰較為安全可靠。蝦池若 pH 值太低，則可能意味著蝦池中有機質過多，而發生酸化現象。可於第一天的傍晚適量的撒布農業石灰，並開啟蝦池中現有之所有水車，而後第二天的早上 9 - 10 點鐘，再行撒布 2 ppm 以上有益性細菌或是光合成細菌，則可以有效的改變水質狀況。如果能在處理前，將水位先降低至 80 - 100 cm，再經前述處理，然後可緩慢的增高水位，對於水質改善之效果會更為良好。若能於 7 - 10 天內以相同步驟處理一次，則蝦池之水質可長期維持良好狀態，不需經常的大量換水，而使蝦子能長期保持在良好的環境下。於少量換水之循環養蝦體系，若以有益性細菌或是光合成細菌來處理蝦池，至養殖後期，由於各種污染物質之大幅增加，因此必須縮短使用時間之間隔，才能使其發生確實的效果。

#### C. 動植物浮游生物生長不穩定

近年來亞洲及美洲重要蝦類養殖地區，皆發現到經過一段時間的養殖後，水質會自然的優養化，浮游生物會發生不穩定的成長現象，時而“水色”不易營造，時而“水色”過濃，易於“倒藻”。而“倒藻”後的結果，卻是造成水質不可避免的污染及底質的惡化、還原層的形成，這種環境的驟變，可能會急遽的使池底產生有毒物質，同時亦會引發病原性細菌之優勢化，而使蝦子罹病或急遽死亡之可能性提高。“倒藻”所引發的養殖環境之驟變，其影響程度可能比殘餌或是蝦排泄物的堆積更為大；因為，前者是突發性的，而後者乃是漸進性的。蝦子本身對於環境漸進式的污染可以自我調適，因之養殖至末期，雖已有大量的餌料堆積，若管理得當，則不至於發生任何大量死亡之情事，但是對驟然的“倒藻”卻時常“無法忍受”而易於罹病，引發大量死亡。這種現象在養殖環境已經有相當程度的優養化的池中，更是常見。這幾年來，養殖業者一發現“倒藻”，可能已明示疾病有隨之而來的可能。

養殖業者傳統性的以大幅換水來紓解的“倒藻”現象，而這種方法之應用，亦有其一定的理論根據，也顯示出它一定的成效，但是近年來“換水”的成效似乎越來越少，因為最近海域中所引進“新水”水質並不十分理想；但是如果這些“新水”能利用取自

經維生物處理後的蓄水池水，應會有較良好的成效。

“倒藻”的處理方法除了去除水中過多的“藻屍”外，亦應防止池底還原層的發生或增厚，以及池中的病原性細菌的優勢化。其可行的處理方法，應先降低水位，然後於傍晚時分，對全池撒布石灰，啟動所有的水車，並於隔天中午適度的攪動池底或撈除藻屍來改善底質，再則可利用 2 ppm 以上有益性細菌，或是光合成細菌來改良養蝦池底的品質，然後再適度緩慢的添加來自蓄水池的“新水”，則對於紓解蝦池“倒藻”的壓力，效果應會更為良好。養殖初期良好藻類的培育，亦是養蝦很重要的技術應用；在養殖初期或是水質發生“倒藻”時，如果能引入良好的藻種，並全池撒布無機磷肥、或是氮肥或是發酵的有機肥，皆對蝦子有益。

動植物浮游生物的不均衡現象，不僅反應於“倒藻”之現象，亦可能顯現於動植物浮游生物之過多的現象上。養殖業者有時可能會發現養殖池“水色”過分的澄清，取出池水觀察卻發現，浮游動物密度甚高，由於浮游動物會攝取浮游植物，而使得水色轉為澄清，此現象發生時，雖然蝦苗有充足良好的餌料來源，可使其成長迅速，但卻在動物性浮游生物開始死亡時，就會引發病原性細菌的大量滋長，而導致蝦病的發生。當動物性浮游性生物大幅成長時，可一方面去除過多的動物性浮游生物；同時，減少投餵量，並於池中投入無機鹽類（如過磷酸鈣、尿素等），促使植物性浮游生物的成长；此外，捕捉多餘之動物性浮游生物，可於白天在水車前懸掛浮游生物網而達成。動物性浮游性生物過多時，則不宜或應減少高營養成分的有機肥之使用。

在蝦類的放養之前，若疏於營造“水色”，或者由進水至做出“水色”之時間過長，則會引發絲藻的生長，而導致不良的養殖成果。尤其在過度優養的底質，有過量使用石灰的池子，一旦引進養殖用水，就應盡速作出水色，以免蝦池長出“絲藻”，使養蝦的成果大打折扣。

#### D. 天候驟變

近年來，養蝦業者往往會發現每當颱風、下大雨或是低氣壓來臨時，養殖的池蝦往往會發生相當嚴重的死亡，導致養蝦工作的失敗。這些氣候因素所引起的困擾，是養蝦技術急待突破之瓶頸。大量降雨後所造成的大量死亡，究其原因，除雨水中本身的酸化外，聚集的雨水亦會將大量的有機質帶入蝦池，導致蝦中環境驟變。在熱帶或亞熱帶地區，通常於大雨後往往接著的是一段燠熱的低氣壓天氣，而使得蝦池的溶氧顯著的降低，在此天氣型態下，水中過多的有機質堆積而又不易獲得紓解，會使蝦池突然產生一些對蝦子有毒性作用的物質，亦加速蝦池還原狀態之形成，和病原菌的滋生；同時，降雨後，池水中的鹼度會大幅的降低，當然池子的基礎生產值也會隨之下降，並造成蝦子的緊迫，若再加上其他緊迫因子的增加（如有毒物質的堆積、病原性細菌之優勢化等），對養殖蝦之影響自不問可知。基於上述之理由，在下雨前後，若不對蝦池採行適當措施，則蝦子的罹病及死亡現象必然會發生。

一般的養殖業者往往在下雨後，以撒布石灰或是沸石粉的方式求取改善，殊不知這種事後謀求補救的方法，往往不能收到預期效果。建議在降雨之前，若能先從氣象預告

中得知颱風的或是降雨的消息，則應採取適當的預防措施，最簡單施行的方法是：在降雨前先在池畔或是堤岸邊先行撒布石灰；同時降雨前後一定要嚴格的監視水中 pH 值的變化，或於降雨後有 pH 值降低的現象，則務必全池撒布石灰，同時為了增加池中的總鹼度，可以適時的於池中撒布磷酸一鈣、硫酸鎂或是硝酸鉀、碳酸氫鈉等，並將水車全數打開，使蝦池池底能夠得以充分氧化；在下雨前後應減少蝦子的餌料投餵量或予以禁食，以免增加池底負擔，而引起蝦病的發生，若能於隔天添加有益性細菌，加以處理，則成效將會更為顯著。

降雨後若欲換水，則應特別注意進水的品質，陰雨後的沿岸海水水質所含的有機質或懸浮顆粒會大幅的增加，不良的水質進入蝦池，更可能導致蝦池水質的惡化。因此，若是降雨後要更換蝦池水，則以取自經益生菌處理過之蓄水池池水較為理想，而蓄水池在降雨前，亦應採取與養殖池同樣的防範措施，於岸邊撒布石灰。

夏季低氣壓（吹南風）是養蝦者公認最為危險的天候狀況，因在此情況下，蝦池的溶氧會顯著的降低，池中的氧化現象回趨於緩慢，而池底則易成還原態，導致蝦子的不適、罹病甚或是發生死亡；再次時可全池先撒石灰或是沸石粉等，並開啟所有可應用的水車，然後再進行緩慢的排、進水，但加入養殖池的“新水”亦以取自蓄水池的水質較為理想。如果能夠降低水位及攪動池底，使池底充分氧化，則效果將會更為理想。

## (二) 結論

水產養殖的過程中，由於大量的使用高營養性物質，再加上養殖生物本身之排泄廢物及浮游生物殘體的堆積，會導致大量不良微生物的滋長，若再加上養殖用水本身的優養化，不良微生物的生長會更為加速，養殖生物之罹病率自然會提高。因此，在養殖地區隨著養殖時日的增長，養殖生物罹病的時間會愈形快速，有些地區甚至在放養後 2、3 天，雖目測水色非常良好、種苗品質亦良好，其他的可測出的水中化學條件亦理想的情形下，還會發生嚴重的大量死亡情形，除了不可預測的突發性水中毒物污染外，病原性微生物滋長及優勢化，應是一個很重要的因素。因之，微生物產品於養殖過程中的使用，應以如何造成有益或良性細菌之優勢化為原則，只有在有益細菌的優勢成長時，它才能有效的發揮處理惡化底質，及防止病原性細菌滋長的功能。

微生物產品包括一些消化或硝化性細菌，有些消化性細菌在使用之初期，可能會使水中的氨或硝酸稍微升高，但這些現象生不致使養殖池呈現病變，因這些含氮之代謝產物，會為水中浮游生物有效的利用，這些細菌之應用會使池子底質淨化，亦使池底由還原狀態轉變為氧化狀態，而有助於蝦之活存及成長。

益生菌應用於養殖上，絕不僅是確定微生物產品對養殖生物無病原性，就往池子裡面丟，而必須針對所應用微生物的特性予以充分了解再行應用，例如：一般的消化有機質之細菌，通常是好氧性，並可能將有含氮的有機質分解成亞硝酸或氨，若在池中氧氣不足，而氨或亞硝酸含量過高時，冒然的使用這一類的微生物產品，則可能會引起相反的結果，但是若能在此時使用會利用氨或亞硝酸的細菌，則可很快的收到降低養殖池中有毒氣體含量之功效，對解除養殖生物的緊迫，可收到良好的效果；在池底的硫化氫含

量升高，或還原層增加時，若能適時的使用光合成細菌，亦可降低罹病的機會。

現今於市面上很多用來處理養殖池的生物製劑，原是製造來處理動物排泄，或其他廢棄者，這些產品製造目的，皆設計於沒有大型養殖生物存在的情形下來使用的，若把這些產品，盲目的使用於養殖環境之維護，是否會有「失之桑榆，收之東隅」之慮，值得留意。

益生菌之使用，應在養殖初期整池、養殖池消毒後就應用，而使用時應有持續性，而且使用者應隨時留意產品之活性。產品生產者應確定產品中之有益微生物，及對病原性細菌成長之抑制或拮抗情形予以了解；並明瞭產品中之微生物或微生物群對污物之處理效果，以保證產品之品質。微生物產品的使用者，應有長期配合養殖池的環境條件，做適當處理的觀念，不可期望一次的使用就會發揮其功用。一般而言，有益微生物乃普遍的存在於自然環境中，隨時會選擇適合於本身生長的环境，利用周遭的有機、無機營養物以增殖，並使得週遭的環境得以淨化（圖 11.9）。

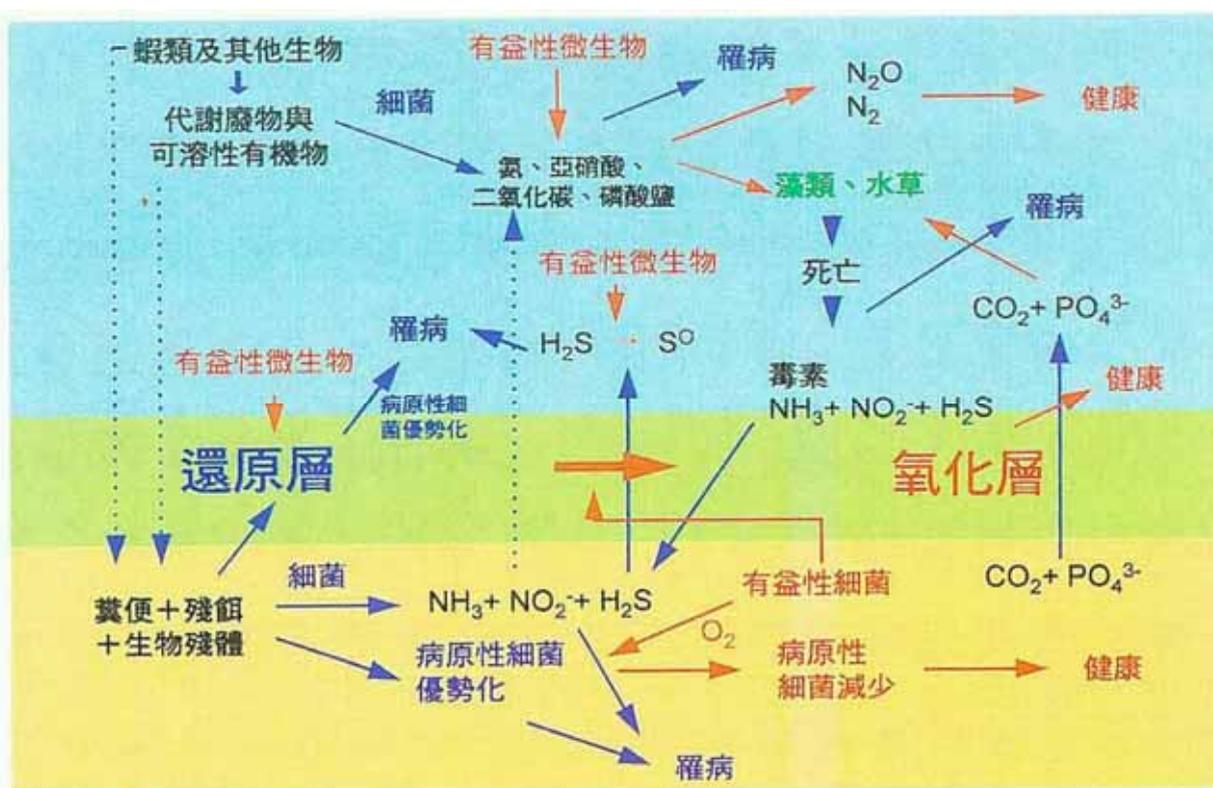


圖 11.9 益生菌利用周遭產物淨化環境

因此，微生物製劑的製造者，如能使用取自養殖池的優良菌種，再配合以適當的使用量，則不難在養殖池內造成優勢的菌相，而達到理想的使用效果，使得污物得以早日淨化，並防病原性細菌之滋長。當然，如果能適當的配合養殖池工程的設計，則微生物產品在水產養殖產業日益衰微的今日，將會扮演一個最重要的角色。

## 參考文獻

1. 北村博 (1984) 光合成細菌之分布存在意義。北村博、森田茂廣、山下仁平 編，光合成細菌學會出版ヤンタ - ，47-61。
2. 小林達治、洪嘉謨 譯 (1988) 光合作用細菌對水產業的效能與利用。中國水產，428: 29-30。
3. 江晃榮 (1988) 生物技術與污染防治。生物技術專題演講論文集，297-331。
4. 周寬典 譯 (1990) 養殖環境之底質改善物質。養魚世界，4: 42-46。
5. 荻野珍吉 (1978) 養魚餌料光合菌的利用。發酵工業，36(10): 836-841。
6. 陳秀男 (1994) 蝦病之管理對策。行政院農業委員會，144 pp。
7. 羅國英 (1991) 國內環保產業生物製劑之銷售及使用現況調查。第三屆環境衛生用生物製劑的研討應用與管理研討會，1-36。
8. Austin, B. (1985) Antibiotics pollution from fish farm: effects on aquatic microflora. Microbiol. Sci., 2(4): 113-7.
9. Ehrlich, K. F., M. C. Cantin and F. L. Horsfall (1988) Bioaugmentation: Biotechnology for improved aquaculture production and environmental protection. Aquaculture engineering technologies for the future B-a-1., Symposium series No.111. Publication series No.66.
10. Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals, a review. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
11. Gatesoupe, E. J. (1999) The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture, 180: 147-165.
12. Gram, L., J. Melchiorsen, B. Spanggaard, I. Huber and T. F. Nielsen (1999) Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. Appl. Environ. Microbiol., 65: 969-973.
13. Okamoto, N., H. Hirotsu, T. Sano and M. Kobayashi (1988) Antiviral activity of the crude extracts of phototrophic bacteria to fish viruses. Nippon Suisan Gakkaishi., 54(12): 2225.
14. Parker, R. B. (1974) Probiotics, the other half of the antimicrobial story. Anim. Nutr. Health, 29: 4-8.
15. Pillay, T. V. R. (1992) Aquaculture and the Environment. Halsted Press. New York, Toronto.
16. Weston, D. P. (1996) Environmental considerations in the use of antibacterial drugs in aquaculture. In: Baird, D., Beveridge, M. V. M., Kelly, L. A., Muir, J. F. (Eds.), Aquaculture and Water Resource Management. Blackwell, Oxford, 140-165.