促進海水養殖生物健康之微生物製劑開發

黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋、許晉榮
水產養殖組

本計畫的目標在篩選可產生免疫激活物質-聚糖類 (dextran) 之益生菌，並研發增強養殖魚蝦貝類免疫力之微生物製劑。首先自魚隻腸道篩選具有產生葡聚糖能力之細菌，估算其葡聚糖產生量及分析其所產葡聚糖之結構特性並鑑定該葡聚糖產生細菌之種類以及測試菌株的抗生素敏感性。試驗結果顯示，從美洲大嘴鱸魚 (*Micropterus salmoides*) 腸道中篩選出 1 株具有合成葡聚糖能力之細菌 (B4)，該 B4 菌株於含有 20% 蔗糖之液體培養基中培養 48 小時 (28℃)，約可產生 50 mg/ml 葡聚糖，其分子量為 9.5 × 10^5 Da。該葡聚糖以酸液熱水解處理後，發現其單糖組成分中以葡萄糖為主 (圖 1)。

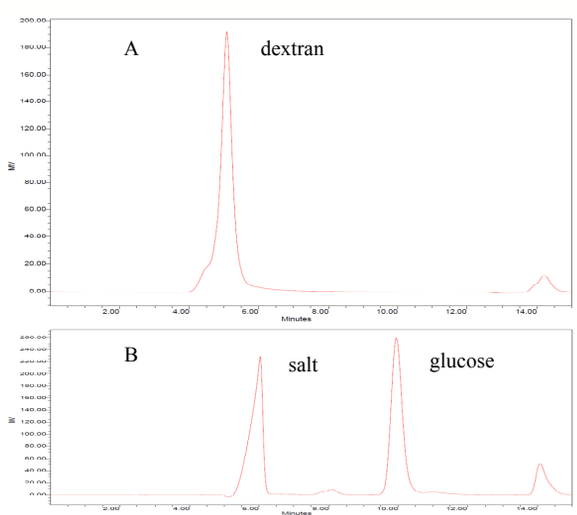

圖 1　A：*Leuconostoc mesenteroides* B4 於含有 20% 蔗糖之液體培養基培養 48 小時(28℃)，所產葡聚糖及 B：其水解產物之 HPLC 圖譜

B4 菌株經 16S rRNA 基因分析鑑定，證實為 *Leuconostoc mesenteroides*，因此將其命名為 *L. mesenteroides* B4 (圖 2)。進一步測試 *L. mesenteroides* B4 對 15 種水產常用抗生素耐受性，結果顯示，除了對 flumeguine、oxolinic acid 、 sulphamethoxazole/trimethoprim 及 pencillin G 具抵抗力外，對於其他 11 種抗生素均為敏感性 (如表)。

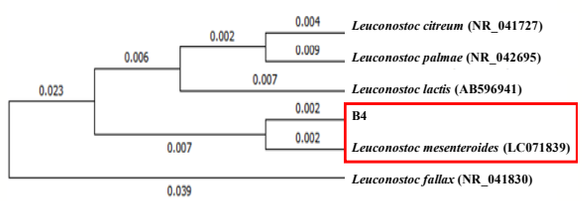

圖 2　*Leuconostoc mesenteroides* B4 之 16S rRNA 基因鑑定分析結果

Leuconostoc mesenteroides B4 對不同抗生素之耐受性

抗　生　素	劑　量	抑制圈(cm)
水產常用		
Ampicillin	25 μg	1.1
Amoxycillin	25 μg	0.7
Doxycycline	30 μg	1.1
Erythromycin	15 μg	1.8
Florfenicol	30 μg	1.1
Flumeguine	30 μg	0
Lincomycin	10 μg	0.9
Oxytetracycline	30 μg	1.0
Oxolinic acid	2 μg	0
Spiramycin	100 μg	1.2
其他		
Ciprofloxacin	5 μg	0.6
Pencillin G	10 unit	0
Sulphamethoxazole/ trimethoprim	25 μg	0
Tetracycline	30 μg	0.9
Vancomycin	30 μg	0.6