

益生菌之篩選

郭錦朱¹、許月娥¹、楊佳諺¹、鄭新鴻¹、劉冠甫¹、張錦宜²、賴俊吉³、陳紫嫻¹

¹ 行政院農業委員會水產試驗所生物技術組、² 水產養殖組

³ 國立高雄第一科技大學環境與安全衛生工程系

為建構與環境和諧共存之水產養殖產業，擬積極開發水產養殖動物適用之益生菌。本研究旨自產氫發酵廢液，利用對病原菌之拮抗活性篩選水產養殖產業適用之益生菌，並評估其對魚體之病原性。結果發現，發酵廢液對 *Vibrio vulnificus*、*Listonella anguillarum*、*Streptococcus* sp. 和 *Photobacterium damsela*

subsp. *piscicida* 等病原確具拮抗活性 (表 1)；且從發酵廢液分離的 3 株單離菌株，有 2 株對病原菌具拮抗作用 (表 2-4)，但其菌液的抗菌效果不顯著；且加入病原菌前，先將單離益生菌培養 4.5 或 24 hr 皆比未先培養者的抗病效果佳。此外，以濃度 10^8-10^9 cfu/mL 的益生菌經口投予海鱺，並不會造成死亡。

表 1 產氫發酵廢液對水產養殖常見病原菌之抗菌活性

採樣時間	組別	病原菌 培養基	12905	12907	12908	12829	12865	S	P	發酵廢液	
			TCBS	TCBS	TCBS	TCBS	TCBS	BA	TSA	TSA	TCBS
0 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0,1	0
	+2-4 × 10 ⁴ cfu/mL 病菌		0	+++	0	0	+++	0	0		
	+2-4 cfu/mL 病菌		0	0	0	0	+	0	0		
	4.5 hr 增殖益菌 + 病菌		3,63	36,8	+	+	+	+	+		
4.5 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	11,+	0
	+2-4 × 10 ⁴ cfu/mL 病菌		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
	+2-4 cfu/mL 病菌		0	43,10	+	+	++	+	+		
24 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	+2-4 × 10 ⁴ cfu/mL 病菌		++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
	+2-4 cfu/mL 病菌		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
	4.5 hr 增殖益菌 + 病菌		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
48 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	+2-4 × 10 ⁴ cfu/mL 病菌		+++	+++	+++	+++	+++	++	+++		
	+2-4 cfu/mL 病菌		+++	++	+++	+++	+++	+++	+++		
	4.5 hr 增殖益菌 + 病菌		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		

12905: *Vibrio vulnificus*; 12907: *V. harveyi*; 12908: *Listonella anguillarum*; 12829: *V. alginolyticus*; 12865: *V. parahaemolyticus*; P: *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*; S: *Streptococcus* sp.

表 2 單離益菌 1 對水產養殖常見病原菌之抗菌活性

採樣時間	組別	病原菌 培養基	12907		12829		12865		S/P		益菌 1	
			TSA	TCBS	TSA	TCBS	TSA	TCBS	BA/TSA	BA/TSA	TSA	TCBS
0 hr	對照組		+	0	+	+	1	0	0	0	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		++	0	+++	0	+++	0	+++	+++		
			(病+益)		(病+益)		(益)		(益)	(益)		
	4.5 hr 增殖-益菌 + 病菌		+++	0	+++	1	+++	0	+++	+++		
			(益)		(病+益)		(益)		(益)	(益)		
4.5 hr	24 hr 增殖-益菌 + 病菌		-	-	-	-	+++ (益)	0	+++ (益)	+++ (益)		
	對照組		+++	+	+++	6	+++	++	42/-	29/-	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++	+	+++	+	+++	+	+++/-	+++/-		
			(病+益)		(病+益)		(病+益)		(益)	(益)		

24 hr	對照組	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++ (益+病)	+++ (益+病)		
	4.5 hr 增殖-益菌 + 病菌	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++/- (益)	+++/- (益)		
48 hr	對照組	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++ (益+病)/ (病)	+++ (益+病)/ (病)		
	4.5 hr 增殖-益菌 + 病菌	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++/- (益+病)	+++/- (益+病)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌	-	-	+++ (病)	+++	+++ (病)	+++	+++ (益+病)	+++ (益+病)		
72 hr	對照組							+++/-	+++/-	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌							+++/-	+++/-		
	4.5 hr 增殖-益菌 + 病菌							+++/- (病)	+++/- (病)		
120 hr	對照組							+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌							+++ (病)	+++ (病)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌							+++ (病)	+++ (病)		

表 3 單離益菌 2 對水產養殖常見病原菌之抗菌活性

採樣 時間	組別	病原菌 培養基	12865		S		P		益菌 2	
			TSA	TCBS	TSA	BA	TSA	TSA	TSA	TCBS
0 hr	對照組		0	0	0	0	0	0	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (益)	0	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌		+++ (益)	0	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
24 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
48 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
120 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		

表 4 單離益菌 3 對水產養殖常見病原菌之抗菌活性

採樣 時間	組別	病原菌 培養基	12865		S		P		益菌 3	
			TSA	TCBS	TSA	BA	TSA	TSA	TSA	TCBS
0 hr	對照組		0	0	0	0	0	0	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (益)	0	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌		+++ (益)	0	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
24 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
48 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (病+益)	+++ (病+益)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)	+++ (益)		
120 hr	對照組		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	未增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (病+益)	+++ (病+益)	+++ (病+益)	+++ (病+益)		
	24 hr 增殖-益菌 + 病菌		+++ (病)	+++	+++ (益)	+++ (益)	+++ (病+益)	+++ (病+益)		