

## 水產種苗研究團隊－應用微生物增強魚類對抗疾病能力之研究

黃世鈴、楊豐隆、劉富光

淡水繁養殖研究中心

利用 *Rhodobacter sphaeroides* (photosynthetic bacteria)、*Bacillus subtilis*、*Lactobacillus acidophilus*、*Enterococcus faecalis* 等 4 種菌株進行飼料添加試驗及各項應用性研究。4 種細菌各有最適宜的培養基，*E. faecalis* 可以生長在液態和固態的培養基中 (TSB、TSA)；*B. subtilis* 在 nutrient broth 及含 agar 的固態培養基中均成長得很好；*L. acidophilus* 的生長具有環境選擇性，在嫌氧鋼瓶中使用 AnaeroPak-microanaero 造成微氧環境，*Lactobacilli* MRS broth 可以培養很好，但在固體的培養基中長得較差也長得慢；*R. sphaeroides* 係從王功地

區文蛤場中醱酵池分離出來，此菌生長的速率較慢，可用 NS medium 液態培養基培養，也可用 TSA 固態培養基培養 (表 1)。將 4 種菌株添加在飼料中餵食試驗魚，成長情形為：*L. acidophilus* > *R. sphaeroides*、*B. subtilis*、*E. faecalis* > 對照組，結果顯示餵食 4 種菌株的飼料組，SG、AG、FCR 等成長數值都比對照組好；仔稚魚進行細菌攻擊試驗結果顯示，4 種細菌添加試驗組及對照組的 24 h LC<sub>50</sub> 都 < 10<sup>5</sup> cfu/fish，但 4 種細菌添加試驗組的 lysozyme、superoxide anion、SOD 等測定值都比對照組高 (表 2、3)。

表 1 4 種細菌最適的應用培養基

| 菌株編號      | 細菌種類                  | 適用培養基                   |
|-----------|-----------------------|-------------------------|
| ATCC29212 | <i>E. faecalis</i>    | TSB                     |
| ATCC15695 | <i>B. subtilis</i>    | Nutrient broth          |
| ATCC4356  | <i>L. acidophilus</i> | Lactobacilli MRS broth* |
| LK960606  | <i>R. sphaeroides</i> | NS medium               |

NS medium：供 purple non-sulfur bacteria 培養用

表 2 試驗魚飼育含應用菌株的飼料後，進行巨噬細胞吞噬塑膠乳珠試驗的結果

| 應用細菌菌株                | 巨噬細胞吞噬能力 (particles/cell) |
|-----------------------|---------------------------|
| Normal diet           | 2.52                      |
| <i>R. sphaeroides</i> | 3.12                      |
| <i>E. faecalis</i>    | 3.21                      |
| <i>B. subtilis</i>    | 3.06                      |
| sodium alginate       | 2.88                      |
| <i>L. acidophilus</i> | 3.86                      |

表 3 以應用細菌飼育試驗魚 2 星期後，進行 *V. anguillarum* 攻擊試驗

| 應用細菌菌株                | 24 h LC <sub>50</sub> (cfu/fish) |
|-----------------------|----------------------------------|
| Normal diet           | 1.02×10 <sup>4</sup>             |
| <i>R. sphaeroides</i> | 7.12×10 <sup>4</sup>             |
| <i>E. faecalis</i>    | 6.21×10 <sup>4</sup>             |
| <i>B. subtilis</i>    | 4.06×10 <sup>4</sup>             |
| Sodium alginate       | 2.88×10 <sup>4</sup>             |
| <i>L. acidophilus</i> | 8.86×10 <sup>4</sup>             |