

草本植物萃取液應用於鱒魚抗親水性 產氣單胞菌之研究

吳豐成、葉信利 摘譯

水產試驗所海水繁養殖研究中心

親水性產氣單胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 是一種機會性格蘭氏陰性 (Gram-negative) 病原菌，常會在淡水魚造成潰瘍性病灶，如出血性敗血病 (hemorrhagic septicemia)、傳染性腹水腫 (infectious abdominal dropsy)、鰭和尾腐爛 (fin and tail rot) 等。當魚類感染病原菌時，養殖業者常會以抗生素來控制病情，但這些來自動物的抗藥基因可能會經由食物鏈擴展至人類的病原菌，進而導致使用抗生素治療一些致命疾病時的失敗機率大增。因此如何避免這些魚類成為人類病原細菌抗藥性的來源，成為目前的研究焦點之一。此外，在使用商業抗生素治療魚類疾病時，也應考量殘留等副效應風險。

疫苗為有效預防及控制疾病的方法之一，然疫苗在異種間，有不同抗原的變數存在，研發上有其複雜性。雖然對抗 *A. hydrophila* 的疫苗已研發成功，但仍未能達商業化階段。因此，免疫促進劑 (immune-stimulants) 成為目前用來控制魚病，提供成本過高或治療效果受限的藥物、化學劑及抗生素等的替代療法。

免疫促進劑可經由強化魚類和動物的特

異性和非特異防禦機制而增加對傳染性疾病的抵抗能力，它們藉由大量增加吞噬細胞 (phagocytes)、提高溶解酵素 (lysozyme) 及補體 (complement) 活性、提高免疫球蛋白 (immunoglobulin) 含量等來增進魚類的免疫狀態。許多草本藥具有免疫促進的功能，可作為魚類的免疫促進劑，目前曾被報導具有促進魚類先天免疫力的草本植物，包括槲寄生 (*Viscum album*)、異株蕁麻 (*Urtica dioica*)、生薑 (*Zingiber officinale*)、黃耆 (*Radix astragalus*)、白芷 (*R. angelicae*)、黃芩 (*Scutellaria radix*)、土牛膝 (*Scutellaria radix*)、白鱧腸 (*Eclipta alba*)、忍冬 (*Lonicera japonica*)、植物巴戟天 (*R. officinale*) 和靈芝 (*Ganoderma lucidum*) 等。另也有學者指出，印度棟 (*Azadirachta indica*)、神羅勒 (*Oscimum sanctum*) 和薑黃 (*Curcuma longa*) 等之水及乙醇的混合萃取液，具有抑制 *A. hydrophila* 生長及促進金魚抗 *A. hydrophila* 的先天性免疫力。

在病原感染時，白血球可提供適時的防護作用，且可反映魚類的免疫狀態。試驗發現，餵養正常飼料且以 *A. hydrophila* 攻毒的

試驗魚 (IU)，其白血球含量顯著高於未以 *A. hydrophila* 攻毒的對照組；然而以 *A. hydrophila* 攻毒後，投餵添加印度棟、神羅勒和薑黃等三種混合草本萃取物 400 和 800 mg/kg 之飼料組魚，它們的白血球在試驗第 2 和 4 週時即恢復到正常值，顯示此時魚體中病原的增殖已被抑制。但將萃取物添加量減至 100 和 200 mg/kg 時，試驗組魚的白血球含量則顯著高於對照組。另也發現，IU 組魚的紅血球量、血紅素濃度和血容積比均減少，顯示因紅血球破壞而導致試驗魚貧血，而投餵含三種草本萃取物 400 和 800 mg/kg 飼料的試驗組魚，其紅血球量、血紅素濃度和血容積比值僅略高於對照組。文獻記載，感染 *A. hydrophila* 和罹患流行潰瘍性綜合症狀之虹鱒和金魚，會有紅血球量、血紅素濃度、血容積比偏低的情形，也證實印度棟和其它草本植物的水萃取物可修補血液的生化學上的性狀，治癒鯉魚和南亞野鯪因感染產氣單胞桿菌屬和水黴所造成的損害。

根據血液生化數值顯示，IU 組試驗魚和攝取含印度棟、神羅勒和薑黃等三種草本萃取物 800 mg/kg 飼料的試驗魚，其血液中的總血漿蛋白、葡萄糖和膽固醇含量均顯著低於對照組，此一結果或許是因紅血球被破壞和細胞合成釋放至血流中所造成。感染弧菌的大西洋鮭和罹患造血組織壞死症的虹鱒也有類似的趨勢。

吞噬作用 (phagocytosis) 為魚類抵禦外侵微生物的細胞性先天免疫系統之重要一環，目前已證實免疫促進劑具有促進吞噬作用及呼吸爆發 (respiratory burst) 的活性。研究證實，以 *A. hydrophila* 攻毒且攝食含印度

棟、神羅勒和薑黃等三種草本混合萃取物飼料，可促進試驗魚的吞噬和呼吸爆發活性。試驗結果顯示，感染 *A. hydrophila* 且攝取含混合三種草本萃取物 100 mg/kg 之飼料的試驗魚，在第 2 及 4 週時，呼吸爆發活性顯著高於對照組，IU 組則顯著低於對照組。感染 *A. hydrophila* 且攝取含混合三種草本萃取物飼料 200、400 和 800 mg/kg 等試驗組魚的呼吸爆發活性均顯著高於對照組。另一方面，與對照組相比較，在試驗第 1 週時，感染 *A. hydrophila* 且餵飼含混合三種草本萃取物 100 和 200 mg/kg 飼料的試驗組魚之吞噬活性並沒有顯著增加；但在第 2 和 4 週時，感染且攝取含混合三種草本萃取物 200、400 和 800 mg/kg 飼料等試驗組魚之吞噬活性顯著高於對照組，然 100 mg/kg 飼料組與對照組間則無統計差異。

綜上可知，攻毒後的試驗魚，佐以餵飼含混合三種草本萃取物 200、400 和 800 mg/kg 的飼料，即可有效調節其吞噬和呼吸爆發活性，但 100 mg/kg 組則無此種功效。類似的結果也見於應用黃芩萃取物調節莫三比克吳郭魚非特異性免疫反應。許多研究曾報導，口服 β -聚葡萄糖 (β -glucan)、幾丁質 (chitin) 和植物萃取物等均具有促進吞噬和呼吸爆發活性的能力；例如生薑之於虹鱒，中草藥之於歐洲鯽魚等。黃耆多醣和黃芩苷也有促進吞噬作用的能力，黃耆多醣為中草藥黃耆最主要的活性成分，目前已證實可增進甲魚的血球吞噬作用，活化罹患塵肺病鼠的肺泡巨噬細胞和增強包括 T 細胞、B 細胞和自然殺手細胞等特異與非特異免疫功能；而黃芩苷為中藥黃芩主要的活性成分之一，

在活體內實驗曾證實，低劑量黃芩苷可促進老鼠腹膜巨噬細胞的吞噬作用，然而劑量過高反而會產生抑制作用。

動物的第一線防禦機制，如血清中的溶菌酶，可抑制微生物在宿主體內的黏著和移生。溶菌酶是魚類保護機制的構成要素，可溶解細菌、活化補體系統和充當調理素（改變細菌表面性質），進而促進吞噬細胞的吞噬作用。溶菌酶是一種陽離子酵素，可裂解細菌細胞壁中的 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰氨基葡萄糖之間的 β -1, 4 糖苷鍵，使細胞壁之不溶性黏多醣分解成可溶性糖狀，導致細胞壁破裂內容物逸出而使細菌溶解，已知此一作用主要在攻擊格蘭氏陽性菌和格蘭氏陰性菌（需結合抗體及補體）。Robertson 等 (2006) 指出，血清溶菌酶量、頭腎吞噬和殺菌活性等與魚類對細菌的抗病力呈正相關；血清溶菌酶量與吞噬活性間也呈現正相關。相關試驗結果顯示，除攝取含 100 mg/kg 草本混合萃取物飼料組魚的溶菌酶活性在第 1 週時與對照組間無顯著差異外（即不具促進溶菌酶活性功效），其它試驗組魚的溶菌酶活性在試驗進行期間均顯著高於對照組者（即可促進溶菌酶活性）；但經攻毒且以正常飼料餵飼的試驗組魚之血清溶菌酶活性則沒有顯著性改變。其它草本萃取物促進溶菌酶活性的類似研究，如攝取黃耆及當歸混合物（比例 5 : 1）20、25 和 30 天後，可有效提高鯉魚與大黃魚的溶菌酶活性；莫三比克吳郭魚攝取菊科白鱧腸萃取物 1、2 或 3 週後，也可提高溶菌酶活性。

印度棟、神羅勒和薑黃等三種混合草本萃取液對促進鯽魚抗 *A. hydrophila* 方面，試

驗魚在經 *A. hydrophila* 攻毒 6 天後，對照組 (IU) 投餵不含混合草本萃取物的一般飼料，試驗組投餵混合草本萃取物的添加量分別為 100、200、400 和 800 mg/kg (w/w) 的飼料。結果顯示，經以 *A. hydrophila* 攻毒且餵飼添加草本萃取物的飼料之任一試驗組魚，其累積死亡率顯著低於 IU 組，其中以 400 及 800 mg/kg 組的死亡率最低。由此可推知，就混合草本萃取物促進鯽魚的抗 *A. hydrophila* 而言，混合草本萃取物的添加量為 400 和 800 mg/kg 者的保護效果優於 100 和 200 mg/kg 者；在累積死亡率方面，以 *A. hydrophila* 攻毒且餵飼正常飼料之 IU 組魚，其 30 天的累積死亡率高達 95%。400 和 800 mg/kg 試驗組魚的死亡率分別為 30% 及 25%；100 和 200 mg/kg 試驗組魚的死亡率則分別提高至 50% 及 45%，顯示攝取印度棟、神羅勒和薑黃等三種混合草本萃取物，確實可有效降低鯽魚的死亡率。

因此，就鯽魚抗 *A. hydrophila* 而言，本研究顯示飼料中含印度棟、神羅勒和薑黃等三種混合草本萃取物 400 或 800 mg/kg，具有修補血液性狀及引發先天性免疫系統的能力。

註：本文摘譯自 Harikrishnan et al. (2010) Fish Shellfish Immunol., 28: 354-361.