



甲殼素及多醣體增進鰻魚免疫能力之研究

黃世鈴、楊豐隆、劉富光
淡水繁養殖研究中心

飼料中添加甲殼素及多醣體，目的在於提昇試驗魚巨噬細胞的防衛能力，提高防衛細胞對抗細菌侵入的活性。將細菌疫苗與甲殼素或多醣體併用，研究不同因子對魚體保護的能力及其差異性，以運用免疫學的方法，預防養殖魚類細菌性疾病的發生，或病害發生後適當增加療效。

以成鰻浮性粒狀飼料為基礎，配製懸浮液並均勻噴灑於其上 (1KG pellet + Ng Chitosan (Glucan) in 100 mL water)，待飼料吸收後噴灑 coating 溶液 (2 g agar (或食品級 gelatin) in 50 mL water)，測試 agar 和 gelatin 的被覆 (coating) 效果，進行飼育試驗測試鰻魚的喜好情形。結果顯示食品級 gelatin 的被覆效果較好，鰻魚攝食情形也較好，爾後飼料全部以 gelatin 進行 coating。鰻魚投餌量為 1% 體重。

進行血液中分離巨噬細胞試驗，結果顯示，分離介質包括 Ficoll-Paque™ Plus、Histopaque、Percoll gradient (25/51%、31%、34/48%、34%、25/34%、34/51%) 等均未能從鰻魚血液中順利進行分離出巨噬細胞，僅 25/48% Percoll gradient 可以從鰻魚血液中順利

分離出巨噬細胞。從脾臟組織中分離巨噬細胞試驗，分離介質包括 Ficoll-Paque™ Plus、Percoll gradient (25/51%、31%、25/48%、34%、25/34%、34/51%) 等均未能從鰻魚血液中順利分離出巨噬細胞，僅 Histopaque 和 34/48% Percoll gradient 可以從鰻魚脾臟組織中順利分離出巨噬細胞 (圖 1、2)。

飼料中分別添加 0.5% 和 1% 的甲殼素，隨機計算該二組之 100 個巨噬細胞吞噬 Latex bead 的數量。其中 0.5% 組平均吞噬數量為 5.8 個，1% 組及對照組平均吞噬數量均為 6.1 個。

在飼料中分別添加 0.1%、0.5%、1% 及 2% 的 β -glucan，隨機計算各組之 100 個巨噬細胞吞噬 Latex bead 的數量，結果 0.1% β -glucan 飼育組平均吞噬數量為 15.2 個，0.5% 22.2 個，1% 組及 2% 組平均吞噬數量超過 25 個 (量大難以用目視計算)，對照組平均吞噬數量為 5.8 個。各試驗組巨噬細胞吞噬 *Staphylococcus epidermidis* 的數量約略與 Latex bead 者相同 (圖 3、4)。



圖 1 鰻魚血液用 25/48% Percoll gradient 離心，可以在界面取出巨噬細胞



圖 2 將純化分離的巨噬細胞放入 4 well flask 中培養，圖中細胞呈均一的外觀，尚未附著在底部



圖 3 投餵未添加 β -glucan 飼料之對照組的鰻魚的巨噬細胞吞噬 Latex bead 之數量約為 5.8 個



圖 4 2% β -glucan 飼育組，巨噬細胞平均吞噬數量超過 25 個