

# 大蒜拮抗石斑腸炎弧菌症之效力



郭錦朱、郭誌明、沈昱德、何碧月、周瑞良、陳紫嫻

水產試驗所東港生技研究中心

## 石斑養殖現況

石斑泛指鱸形目 (Perciformes)、鮨科 (Serranidae)、石斑亞科 (Epinephelinae) 內 15 屬 159 種魚，廣布於大西洋及地中海之熱帶及亞熱帶暖水域 (Harikrishnan et al., 2011)，是亞太地區最具經濟價值的養殖魚種。全球對石斑的需求量有逐年攀升之趨勢，其養殖總產量在 2008 年已超過 7.5 萬公噸，中國、台灣、馬來西亞、印尼、泰國、香港、新加坡、菲律賓與科威特等國皆有養殖，產量以中國最多，台灣居次，馬來西亞第三，且以活魚的銷售價格最佳。台灣已相繼確立瑪拉巴石斑（黑點石斑；*Epinephelus malabaricus*）、點帶石斑（紅點石斑；*E. coioides*）、鞍帶石斑（龍膽；*E. lanceolatus*）、棕點石斑（虎斑；*E. fuscoguttatus*）、駝背鱸（老鼠斑；*Cromileptes altivelis*）、豹鱸（七星斑；*Plectropomus leopardus*）、藍身大石斑（金錢斑；*E. tukula*）、玳瑁石斑（花鱸；*E. quoyanus*）等的完全人工繁養殖技術（葉等，2011）。唯自 1990 年起，在高度集約養殖的緊迫壓力下，石斑常遭受病毒、細菌、寄生蟲等傳染性疾病的侵襲而大量死亡，尤以神經壞死病毒 (nervous necrosis viruses, NNV)、虹彩病毒 (iridovirus) 等的水平或垂直感染，或合併弧菌 (*Vibrio* sp.)、鏈球菌

(*Streptococcus* sp.)、海水白點蟲 (*Cryptocaryon irritans*) 等的危害最大，業者損失慘重。為建構友善環境的綠色養殖產業，魚病的防治除遵照水產動物用藥品規範安全使用化學治療劑以外，正積極研發替代的天然療法，期能提供兼顧環境保護及產業永續經營的防治策略。

## 生藥應用於石斑之研發現況

生藥源於自然界，具有多種營養成分和生物活性物質，能全面調節動物體生理機能，兼具營養物質和藥物的雙重功效。近年來，生藥在水產養殖的替代療法廣受各國重視，中國、印度、日本、泰國、墨西哥、土耳其、南韓及台灣等 (Chu, 1999; Citarasu et al., 2002; Hou & Chen, 2005; Bhuvaneshwari & Balasundaram, 2006; Herrero et al., 2006; Yin et al., 2006; Sharma et al., 2010; 郭等, 2010; 黃等, 2010; Harikrishnan et al., 2010, 2011a, 2012) 相繼驗證其在水產動物的應用效力，現今也仍在開發中，對石斑的應用研發近況略摘錄如下。

海藻酸鈉 (sodium alginate) 萃取自褐藻，以 20 mg/kg 魚重的劑量對點帶石斑腹腔注射，除提高魚的非特異性免疫能力以外，也對溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*) 感染症具抗

病力 (Cheng et al., 2007)。若在飼料中添加 1–2 g/kg，投餵點帶石斑 12 天，能提高魚的增重、飼料效率及非特異性免疫能力，並對鏈球菌 (*S. iniae*) 及虹彩病毒感染症具抗病力 (Yeh et al., 2008)；對油斑 (*E. bruneus*) 投餵 2–4 週，也一樣能提高魚的非特異性免疫力及對鏈球菌感染症之拮抗力 (Harikrishnan et al., 2011b)。飼料中添加枇杷 (*Eriobotrya japonica*) 萃出液 1 和 2%，可以有效提升油斑的免疫反應及對抗鮫弧菌 (*V. carchariae*) 感染症的能力 (Kim et al., 2011)。若將萃取自當歸 (*Angelica sinensis*) 的多醣體 (polysaccharide)，在飼料中以劑量 3 g/kg 添加，對瑪拉巴石斑投餵 12 週，能有效降低魚罹愛德華氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染症之死亡率 (Wang et al., 2011)。在飼料中分別添加雲芝 (*Coriolus versicolor*) 萃取物 0.1 及 1%，投餵油斑 30 天，可以有效提升魚的非特異性免疫力及預防鰻弧菌 (*V. anguillarum*，又名 *Listonella anguillarum*) 感染症之能力 (Harikrishnan et al., 2012)。海桐皮 (*Kalopanax pictus*) 萃取物以 0.1 及 1% 分別加入飼料中，投餵油斑 30 天，可以有效提升魚的非特異性免疫力，並預防溶藻弧菌及纖毛蟲 (*Philasterides dicentrarchitrarchi*) 感染症之能力 (Harikrishnan et al., 2011c)。在飼料中添加桑黃菇 (*Phellinus linteus*) 萃取物 1%，投餵油斑 30 天，可有效提高魚的增重、飼料效率、非特異性免疫能力及對鰻弧菌、哈維弧菌 (*V. harveyi*)、溶藻弧菌、鮫弧菌等所引發的弧菌症之抗病力 (Harikrishnan et al., 2011d)。若分別在飼料中添加聖羅勒 (*Ocimum sanctum*)、南非醉茄 (*Withania*

*somnifera*) 及肉荳蔻 (*Myristica fragrans*)，亦可有效提升鱸滑石斑 (*E. tauvina*) 的非特異性免疫能力及對哈維弧菌感染症之抗病力 (Sivaram et al., 2004)。

## 大蒜的功效及在水產養殖的抗菌應用

大蒜 (*Allium sativum*) 俗稱蒜頭，是百合科蔥屬植物，以鱗莖入藥，性辛、辣、溫。從很早以前就被人類當醫藥品應用，具抗菌、制黴、殺蟲等拮抗微生物之活性，同時具備增強免疫力、抗氧化、抗癌、抗腫瘤、抗血栓、降血脂、血糖及血壓等多種生物活性；在水產養殖的應用還包括提高飼料效率、促進成長、強化環境緊迫耐受力、抗寒、除藻、降解重金屬毒害等功效 (郭，2011)。

大蒜在水產養殖防治細菌性疾病的應用研究，有印度對蝦 (*Fenneropenaeus indicus*) 以添加 1% 的大蒜飼料投餵，可有效減少對多種藥物具抗藥性的哈維弧菌感染症之死亡率 (Vaseeharan et al., 2011)。中國對蝦 (大正蝦; *Penaeus chinensis*) 以添加 0.2% 大蒜油飼料投餵，可以有效提高對溶藻弧菌的抵抗力 (Aifang et al., 1997)。海鱸 (*Rachycentron canadum*) 以大蒜 7.2 g/kg 魚重連續投餵 14 天，可以有效降低發光桿菌 (*Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*) 感染症之死亡率 (郭等，2011)。虹鱔 (*Oncorhynchus mykiss*) 以添加大蒜 0.5–1% 的飼料投餵 14 天，對產氣單胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 感染症具抗病效果，相對活存率高達 95% (Nya & Austin, 2009)。吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 以添

加 1% 大蒜飼料投餵 3 個月，對螢光假單胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 感染症具抗病力 (Diab et al., 2008)。鯽魚 (*Carassius auratus*) 以添加 1% 的大蒜飼料投餵，對螢光假單胞菌及產氣單胞菌感染症具抗病效力 (Sasmal et al., 2005)。印度鯉魚 (野鯪; *Labeo rohita*) 以添加 0.1、0.5 及 1% 的大蒜飼料投餵 60 天，對產氣單胞菌具抵抗力，且 0.1 及 0.5% 二組的保護力優於 1% 組 (Das et al., 2007)。Shalaby et al. (2006) 發現，在吳郭魚幼魚飼料中添加 3% 的大蒜，其養殖池水、魚體及小腸的菌量明顯減少，可促進魚體健康，提高抗病力。

## 大蒜拮抗石斑腸炎弧菌症之效力

弧菌感染症是集約養殖魚蝦容易發生的疾病，可發生在任何季節，好發於季節交替等溫度變化較大之時，尤其在飼養環境不佳或伴隨緊迫如密養、捕撈或換池時。魚類感染弧菌症的共同特徵為出血性敗血症，臨床上病魚活力差，攝食減退或停止，外觀呈皮膚褪色，鰭基部、泄殖腔及口部潮紅伴隨單側或雙側性角膜渾濁變白、出血、凸眼與潰瘍，另可見病魚體表有不等程度之充出血、糜爛、潰瘍及壞死等病灶。在弧菌科 (*Vibrionaceae*) 內有 80 種以上的弧菌會引發該症，在海水養殖魚蝦中最常見的機遇性病原弧菌有鰻弧菌、腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*)、溶藻弧菌、創傷弧菌 (*V. vulnificus*) 及哈維弧菌等 (Harikrishnan et al., 2011)。本研究是針對大蒜在石斑體內、外對腸炎弧菌的拮抗效能進行評估。腸炎弧菌又

稱副溶血性弧菌，為弧菌屬、革蘭氏陰性的彎曲短桿菌，可運動，具極鞭毛，不形成孢子，兼性厭氧，嗜鹽性，最適鹽度為 20–30 psu，在 28–37°C 下生長快速。

大蒜在生體外拮抗腸炎弧菌的能力，是以抑菌環 (inhibitory zone)、最小制菌濃度 (minimum inhibitory concentration) 及最小殺菌濃度 (minimum bactericidal concentration) 評估。大蒜主要抗菌活性成分為蒜素 (allicin) 及蒜氨酸 (alliin)，富含蒜素及蒜氨酸的大蒜水液 (圖 1)，以洞擴散法測定它們對腸炎弧菌在生體外的拮抗力。結果發現，含蒜素的大蒜水液之抑菌環直徑為 21 mm (圖 2)，含蒜氨酸的大蒜水液則為 19 mm (圖 3)；顯然含蒜素的大蒜水液的抗菌活性略優於含蒜氨酸者。以大蒜粉 (圖 4) 計量，富含蒜素的大蒜水液對腸炎弧菌 48 小時最小抑菌濃度及殺菌濃度，分別為 2.5 及 5.0 mg/mL。富含蒜氨酸的大蒜水液對腸炎弧菌的 48 小時最小抑菌濃度及殺菌濃度，皆為 57.1 mg/mL。大蒜在生體內對腸炎弧菌的抗病力，是將富含抗菌活性成分為蒜素的新鮮大蒜水萃液及富含蒜氨酸的大蒜粉水液分別加入點帶石斑飼料中，投餵 28 天後，以腸炎弧菌攻擊，評估其抗病效果。結果發現，飼料中添加 12% 的新鮮大蒜可有效降低石斑罹腸炎弧菌感染症的死亡率 ( $p < 0.05$ )，其相對存活率達 51%；而添加 6% 的新鮮大蒜及 3% 大蒜粉水液的抗病效果並不顯著。因此，建議於疾病好發時期，在石斑飼料中，添加 12% 的新鮮大蒜水萃液 (相當於每公斤魚體重 2.4 g 的大蒜)，連續口投 28 天，每日投餌量為魚體重的 2%，俾利增強石斑拮抗腸炎弧菌症之能力。



圖1 大蒜液



圖4 大蒜粉



圖2 富含蒜素的大蒜液抗腸炎弧菌的抑菌環

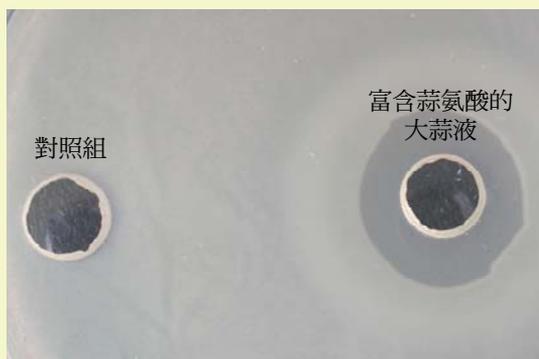


圖3 富含蒜氨酸的大蒜液抗腸炎弧菌的抑菌環

## 結語

大蒜具廣效性拮抗微生物、抗發炎、抗氧化、提高代謝致癌原酵素活性、提供營養、整腸健胃及螯合二價重金屬等生物活性，在水產養殖的應用研究相當廣泛，包括防治微生物感染症、增強免疫力、提升緊迫耐受力、抗寒、誘食、促進成長、提高飼料效率、降解重金屬毒害、殺滅毒藻等，是相當實用、安全、隨手可得又物美價廉的天然生藥。大蒜在盛產期，常價廉傷農，對於遠古就記載在埃及藥典和中藥典籍的萬用生藥，值得積極研發及推廣其在水產養殖的應用功效及策略，拓展大蒜的多面向用途，增加蒜農收益，並使大蒜在發展綠色水產養殖的願景中扮演替代療法的主角。弧菌感染症雖是環境緊迫或病毒或寄生蟲感染時易發的原發性或併發性疾病，但平時若能投餵大蒜防禦，除可提高魚體的抗病力以外，對飼料效率及魚體健康也具促進效果。