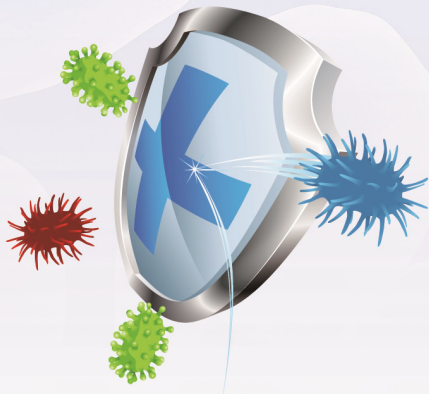


合益素 (synbiotics) 在水產養殖之應用



黃美瑩、張志堅、何書廷、林金榮

水產試驗所水產養殖組

前言

近年來有越來越多的業者嘗試將益生菌 (probiotics) 及益生素 (prebiotics) 應用於水產養殖上。它被認為是另一項生物控制策略，且具有許多的優點，例如：可促進水產養殖生物成長、提升抵抗疾病的能力及產量；而且不像使用抗生素及藥物會產生副作用。

益生菌通常定義為用以提升宿主健康所使用的微生物，而應用於水產的益生菌則尚包括可以改善水質的微生物，其範圍較陸上動物為廣，主要的種類有乳酸菌、枯草菌類 (*Bacillus* spp.) 及酵母菌等。益生素可調節體內細菌以增進健康，目前在市面上已有許多單一或是複合的商業化產品提供給水產養殖使用。

成功使用益生菌造就了益生素的發展，益生素主要為非消化性的碳水化合物，尤其是寡糖類，其可選擇性的刺激體內益菌的生長，進而促進宿主的健康。在水產養殖上有關益生素的研究較多的是為果寡糖 (fructooligosaccharide) 及甘露寡糖 (mannan oligosaccharide)，其它還有少數的半乳寡糖 (galactooligosaccharides)、阿拉伯木寡糖

(arabinoxyloligosaccharide)、木寡糖 (xylooligosaccharide) 及異麥芽寡糖 (isomaltooligosaccharide) 等。

益生菌的作用機制包括：產生抗菌物質抑制其他菌或病毒、抑制細菌穿透腸壁、增加內生性免疫分子、調節免疫反應及增強黏膜屏障功能等。相反的，益生素的可能機制是選擇性的增加/減少腸內特定細菌、調節細胞因子 (cytokine) 及抗體的產生、增加腸道內短鏈脂肪酸的產生量並促進這些脂肪酸結合位於白血球的 G 蛋白偶合受體 (G-protein coupled receptors)、在腸道表皮與免疫細胞的碳水化合物接受器交互作用及益生素會與免疫系統接觸等。

使用益生菌或益生素可以減少機會性病原菌入侵及刺激宿主免疫反應而預防疾病。研究結果也呈現非免疫相關效果，例如增加成長、提高飼料利用率、增強消化酵素活性、提升抗氧化酵素活性、調節基因表現、改變腸道型態、改善腸道菌相、調節壓力反應及提升營養等。雖然水產養殖上有許多報告研究了益生菌或益生素的效益，但結合兩者即合益素的研究仍不多，本報告整理目前水產養殖使用合益素的研究及相關結果，茲綜合敘述如後。

合益素在水產養殖之應用

合益素為結合使用益生菌及益生素，其所產生效益通常比二者單獨使用效果的總和還高，合益素藉著提升添加在腸道活菌的活存率，且選擇性的刺激有益菌的生長及活性，因此能增進宿主健康。

一、對活存率、成長及飼料效率之影響

(一) 活存率

餵食虹鱒 (*Oncorhynchus mykiss*) 含有 *Enterococcus faecalis*、甘露寡醣及 PHB (biopolymer) 的飼料 12 週期間均無死亡 (Rodriguez-Estrada et al., 2009) (如表)。牙鯪 (*Paralichthys olivaceus*) 攝食了添加 *Bacillus clausii*、甘露寡醣及果寡醣飼料 8 週亦無死亡情形 (Ye et al., 2011)。而投餵虹鱒含有合益素 (*E. faecium* 及果寡醣) 的飼料 60 天後，其活存率顯著高於對照組，其中以添加 1 g/kg 者最佳 (Mehrabi et al., 2012)。以分別含有 *B. subtilis* 及果寡醣與 *B. subtilis* 及幾丁聚醣 (chitosan) 的飼料餵食大黃魚 (*Larimichthys crocea*) 與海鱸 (*Rachycentron canadum*)，結果顯示不具提升魚隻活存率的效果 (Ai et al., 2011; Geng et al., 2011)。

(二) 成長

有關成長方面，幾乎所有的相關研究均指出，合益素對於成長均有正面效果。虹鱒餵食 M、EM 及 EMP 等飼料 (如表) 比其他組有明顯較高的體重增加率 (weigh gain rate) 及比成長率 (specific growth rate)，其中以 EM 與 EMP 組效果最佳。至於 E 組及 P 組則與對照組無明顯差異，但 EP 組仍有較佳的體重增加率及比成長率。推測此可能是

因為餵食甘露寡醣可明顯提升虹鱒成長及魚類營養的利用率，且與 *E. faecalis* 共同施用時顯示出加乘的效果 (synergist effect)。而 *E. faecalis* 與 PHB 共用時對於虹鱒僅有稍微增加成長的效益 (Rodriguez-Estrada et al., 2009)。有關牙鯪的研究顯示，對照組的最終體重及體重增加率最低，M、FM、BM 及 BFM 組 (如表) 之魚隻最終體重較重，而 BM 及 BFM 組體重增加率上升。而單獨的 *B. clausii*、果寡醣及甘露寡醣處理組在最終體重及體重增加率則無顯著性差異。此結果顯示，單獨使用 *B. clausii*、果寡醣及甘露寡醣無法提升牙鯪體重增加率，而餵食組合 *B. clausii*、果寡醣及甘露寡醣者，對於體重增加率有正面效果 (Ye et al., 2011)。

以含有 0.05%、0.1%、0.15% 合益素的飼料餵食虹鱒 60 天，各組魚隻較對照組分別增加 50%、59% 及 53% 的體重。其中以添加 0.1% 組有最佳的平均最終體重及體重增加率，且餵食含合益素組有較佳比生長率 (Mehrabi et al., 2012)。

大黃魚飼餵含不同量果寡醣並添加 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis* 之各組飼料 10 週，較無添加 *B. subtilis* 組顯著增加比生長率。此外，二種益生菌含量 (0.42×10^7 及 1.35×10^7 cfu/g) 的飼料額外添加果寡醣，對於大黃魚之比生長率並無明顯增強效果。此研究顯示，添加果寡醣對於大黃魚的成長並無正效率益，而添加 *B. subtilis* 則能提升比生長率 (Ai et al., 2011)。

在海鱸的研究顯示，除了飼餵含 2.0 g/kg *B. subtilis* 及 3.0 g/kg 幾丁聚醣組飼料外，各試驗組均有較對照組高的比生長率。飼餵添

特別報導

加 1.0 或 2.0 g/kg *B. subtilis* 且添加 6.0 g/kg 幾丁聚醣飼料組較添加 3.0 g/kg 幾丁聚醣組的比生長率顯著較高。添加 6.0 g/kg 幾丁聚醣較添加 1.0 g/kg *B. subtilis* 組有較高的比生長率；而最高比生長率為飼餵同時添加 1.0 g/kg *B. subtilis* 及 6.0 g/kg 幾丁聚醣組。此結果顯示，配合 1.0 g/kg *B. subtilis* 及 6.0 g/kg 幾丁聚醣之組合對海鱸的生長有最佳的促進效果 (Geng et al., 2011)。

(三) 飼料效益

Ye et al. (2011) 研究顯示，牙鯉飼食組合 *B. clausii*、果寡醣及甘露寡醣飼料 8 週者，有增加其飼料效益的效果。而虹鱖飼食含有 0.05%、0.1%、0.15% 合益素的飼料 60 天，各組魚隻飼料轉換率 (feed conversion efficiency) 明顯較對照組高 (Mehrabi et al., 2012)。大黃魚飼餵含不同量果寡醣並添加 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis* 之各組飼料 10 週，較無添加 *B. subtilis* 組顯著增加飼料效益。此外，二種益生菌含量 (0.42×10^7 及 1.35×10^7 cfu/g) 的飼料額外添加果寡醣，對於大黃魚飼料效益並無明顯增強效果；此研究顯示，添加果寡醣對於大黃魚飼料效益並無正面效果，而添加 *B. subtilis* 則能提升飼料效益 (Ai et al., 2011)。

二、對體組成之影響

有關體組成方面，虹鱖飼食含益生菌 *E. faecalis*、甘露寡醣及 PHB 的飼料 12 週後，體成分中的水分、粗灰分、粗脂肪及粗蛋白含量與對照組無顯著差異 (Rodriguez-Estrada et al., 2009)。而牙鯉飼食 BF 及 BFM 組 (如表) 有較對照組為高的體蛋白，即飼食添加 *B. clausii* 及果寡醣或 *B. clausii*、果寡

醣及甘露寡醣飼料者，牙鯉體內有較高蛋白質含量。體脂肪含量與體蛋白含量趨勢相反，飼餵 B、BM 及 BFM 組有較對照組為低的體脂肪，至於水分及灰分則無差異 (Ye et al., 2011)。類似的結果也顯示飼食含商業合益素的虹鱖，試驗組體蛋白含量明顯高於對照組 (Mehrabi et al., 2012)。於海鱸試驗，飼食合益素者體蛋白百分比明顯高於對照組，但體脂肪、水分及灰分並無差異 (Geng et al., 2011)。試驗組體內較高的蛋白質質量意味著施用合益素後，消化的食物較有效的轉變為體蛋白，且產生較多的肌肉，這是水產養殖期望的效益。

三、對血液及生化參數之影響

虹鱖飼餵 EM 及 EMP 組較 C、E、M、P 及 EP 組 (如表) 有較高的血球容積比 (hematocrit)，且 E 及 M 組又顯著較 C 及 P 組更高 (Rodriguez-Estrada et al., 2009)。牙鯉飼食含有 *B. clausii*、果寡醣或甘露寡醣的飼料後，除了 M 組外，試驗組血液中有較對照組為低的三酸甘油脂。低密度蛋白質膽固醇 (low-density protein cholesterol, LDL-C) 含量的趨勢類似三酸甘油脂，F、BF 或 BFM 組較對照組有明顯低的 LDL-C。而膽固醇及高密度膽固醇在各試驗組及對照組之間均無明顯差異 (Ye et al., 2011)。飼食含商業合益素的虹鱖試驗顯示，T₂ 及 T₃ 組的血清蛋白質較對照組及其他組為高，白蛋白只在 T₂ 組明顯較高，而血清蛋白的增加顯示，合益素可以誘發虹鱖免疫系統；此外，三酸甘油脂在試驗組及對照組之間並無明顯差異 (Mehrabi et al., 2012)。

四、對消化酵素活性之影響

牙鯪飼食 BM 及 BFM 組 (如表) 8 週後的蛋白酶活性較對照組高, 此結果顯示, 攝食果寡糖並配合甘露寡糖及 *B. clausii* 非造成蛋白酶活性上升的主要因素, 而是以配合甘露寡糖及 *B. clausii* 的 BM 組有較好效果。飼餵 BFM 組有較高的澱粉酶活性, 且顯著高於 FM、B 組及對照組 (Ye et al., 2011)。消化酵素活性提升可以促進宿主分解較多營養素, 增進消化, 因此可能增加體重增加率及飼料效益。

五、對疾病抵抗的效益

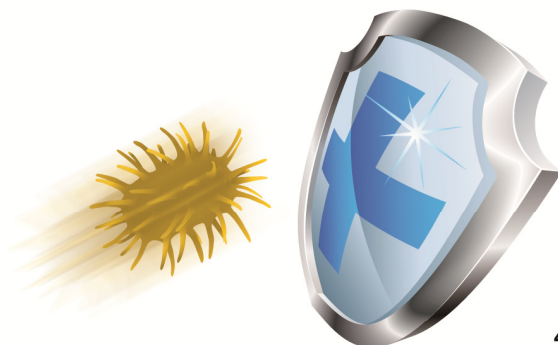
虹鱔飼食含合益素的飼料 12 週後, 以 *Vibrio anguillarum* 攻擊後發現, 試驗組較對照組的活存率高, 尤以 EM 及 EMP 組 (如表) 最明顯 (Rodriguez- Estrada et al., 2009)。大黃魚攝食添加 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis* 飼料 10 週, 以 *V. harveyi* 攻擊後, 試驗組的活存率較對照組高, 但活存率與有無果寡糖的添加無關, 推測飼料中添加 *B. subtilis* 及果寡糖對於抵抗病原菌攻擊能力並無交互作用 (Ai et al., 2011)。而海鱺飼食組合兩種含量益生菌及幾丁聚糖之飼料 8 週, 以 *V. harveyi* 攻擊後發現, 活存率以投餵較高的幾丁聚糖組者為佳, 且配合較高益生菌者也有較高活存率的趨勢, 因此推測配合適當濃度的幾丁聚糖與 *B. subtilis* 對於海鱺抵抗病菌有加乘作用 (Geng et al., 2011)。

結語

近年來, 在水產養殖上應用益生菌及益生素以促進養殖物成長及提升其抗病力已成為重要方法之一。許多研究顯示, 益生菌可

以提升魚隻飼料轉換率、成長及體重增加率, 並增強其免疫系統及抗病力, 而益生素的效益在此方面的研究則比較少見。應用合益素的方式, 係基於提供競爭力優於內在微生物的益生菌, 進而提高它們在腸道中的活存率, 使飼料中添加的活微生物在宿主腸道中增值; 使用合益素應該比單獨使用益生菌較能產生更大的效益。

綜合上述各研究結果顯示, 飼料中添加 *E. faecalis* 配合甘露寡糖可以增加虹鱔成長並活化免疫系統。而牙鯪飼食含 *B. clausii* 及益生素 (果寡糖、甘露寡糖) 飼料, 具有加乘的效用。飼料中添加 *B. subtilis* 不只提升大黃魚的成長及飼料利用情形, 也提高疾病抵抗力, 然而飼餵 *B. subtilis* 及果寡糖並無加乘效果。而飼料中適量的幾丁聚糖及 *B. subtilis* 的添加, 明顯提升海鱺生長及抵抗病菌感染的能力。飼料添加商業的合益素可增加虹鱔成長、活存率、血清總蛋白及白蛋白等, 並能提升飼料效益。由於飼料中使用益生菌及益生素對於促進魚隻生長、飼料利用及增進健康等功效, 可能因魚種、使用期長短、應用劑量及所使用益生菌及益生素種類而不同, 又對於腸道菌相影響、黏膜屏障、細胞是否損傷及作用機制仍未明, 因此, 有關水產養殖應用合益素於不同養殖生物及養殖狀況的效益有必要進一步研究。



特別報導

合益素應用於水產養殖研究之魚種、試驗飼料、使用時間及試驗組整體效果

魚種	飼料組別	益生菌, 益生素種類及濃度			使用期	合益素試驗組 整 體 效 果	參考文獻
虹 鱒		<i>Enterococcus faecalis</i>	甘露寡醣	PHB (biopolimers)	12 週	↑體重增加率 ↑比生長率 ↑血球容積比 ↓病菌攻擊後 之死亡率	Rodriguez- Estrada et al., 2009
	C	0	0	0			
	E	1%	0	0			
	M	0	0.4%	0			
	P	0	0	1%			
	EM	1%	0.4%	0			
	EP	1%	0	1%			
	EMP	1%	0.4%	1%			
牙 鯉		<i>Bacillus clausii</i>	果寡醣	甘露寡醣	8 週	↑體重 ↑體重增加率 ↓飼料效益 ↑粗蛋白 ↓三酸甘油脂 及低密度蛋白 質膽固醇 ↑蛋白酶及澱 粉酶活性	Ye et al., 2011
	C	0	0	0			
	F	0	5 g/kg	0			
	M	0	0	5 g/kg			
	FM	0	2.5 g/kg	2.5 g/kg			
	B	10 ⁷ cells/g	0	0			
	BF	10 ⁷ cells/g	5 g/kg	0			
	BM	10 ⁷ cells/g	0	5 g/kg			
	BFM	10 ⁷ cells/g	2.5 g/kg	2.5 g/kg			
虹 鱒		Biomim IMBO (含 <i>E. faecium</i> 及果寡醣)			60 天	↑存活率 ↑體重 ↑體重增加率 ↑比生長率 ↑飼料轉換率 ↑粗蛋白 ↑血清蛋白	Mehrabi et al., 2012
	T ₁	0.5 g/kg					
	T ₂	1g/kg					
	T ₃	1.5 g/kg					
大黃魚		<i>B. subtilis</i>	果寡醣		10 週	↑比生長率 ↑飼料效益 ↓病菌攻擊後 之死亡率	Ai et al., 2011
	C	0	0				
	F ₁	0	0.2%				
	F ₂	0	0.4%				
	B ₁	0.42×10 ⁷ cfu/g	0				
	B ₁ F ₁	0.42×10 ⁷ cfu/g	0.2%				
	B ₁ F ₂	0.42×10 ⁷ cfu/g	0.4%				
	B ₂	1.35×10 ⁷ cfu/g	0				
	B ₂ F ₁	1.35×10 ⁷ cfu/g	0.2%				
	B ₂ F ₂	1.35×10 ⁷ cfu/g	0.4%				
海 鱸		<i>B. subtilis</i>	幾丁聚醣		8 週	↑比生長率 ↑粗蛋白 ↓病菌攻擊後 之死亡率	Geng et al., 2011
	C	0	0				
	Ch ₁	0	3.0 g/kg				
	Ch ₂	0	6.0 g/kg				
	B ₁ Ch ₁	1.0 g/kg	3.0 g/kg				
	B ₁ Ch ₂	1.0 g/kg	6.0 g/kg				
	B ₂ Ch ₁	2.0 g/kg	3.0 g/kg				
	B ₂ Ch ₂	2.0 g/kg	6.0 g/kg				