

合益素 (synbiotics) 對魚蝦類免疫及抗病力之增強效益



黃美瑩、鄧晶瑩、曾亮璋、張錦宜

水產試驗所水產養殖組

前言

世界水產品有 47% 來自水產養殖 (FAO, 2011)，而疾病導致的大量損失是影響水產品產量的主要因素。當面臨疾病問題時，養殖業者常使用抗生素加以治療，然而抗生素的過量使用容易發生殘留且會污染環境及危害人體健康，因此必須尋求其他方式以維持養殖生物之健康。目前有相當多的研究顯示，適當的使用益生菌 (probiotics) 或益生素 (prebiotics)，對於提升水產生物的健康及疾病的預防與抵抗具有良好的效果。

一、益生菌、益生素與合益素

(一) 益生菌

益生菌通常定義為用以提升宿主健康所使用的微生物，而水產的益生菌尚包括可以改善水質的微生物。水產上使用的益生菌範圍較陸上動物為廣，主要種類為乳酸菌、芽孢桿菌類及酵母菌等。目前常用於水產養殖的益生菌，其主要功能包括：增加營養及改進飼料消化性、提升生物免疫能力、與病原菌競爭進而排斥病菌、改善水質及抵抗病毒等 (Nayak, 2010; Wang et al., 2008; Kesarcodi-Watson et al., 2008)。

(二) 益生素

益生素為非消化性的食物原料，此類原料可選擇性的刺激體內益生菌的生長，進而促進宿主健康。益生素主要是碳水化合物，尤其是寡醣及聚醣類。許多研究報告指出，以益生素作為飼料添加物可有效增進魚蝦類的免疫能力，如：葡聚醣 (glucan)、果聚醣 (levan)、脂多醣 (lipopolysaccharide)、幾丁質 (chitin)、幾丁聚醣 (chitosan) 及寡醣類可增強鯉魚 (*Labeo rohita*)、吳郭魚 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)、虹鱒 (*Oncorhynchus mykiss*)、鮭魚 (*Salmo salar*) 及斑節蝦 (*Penaeus japonicus*) 等對於細菌性疾病的抵抗力 (Gupta et al., 2008; Genc et al., 2007; Itami et al., 1994)。

(三) 合益素

合益素為結合使用益生菌及益生素，其所產生的效益通常比二者單獨使用效果的總和還高。有關合益素對魚類的成長、體組成及消化酵素等之增強效益，已於本刊第 41 期中敘及，本文則整理近年來水產合益素對於魚蝦類免疫相關指標的影響及抗病力的研究成果。

二、合益素對於魚蝦類免疫相關指標的影響

(一) 總白血球數量

錦鯉 (*Cyprinus carpio koi*) 分別餵食對照組、含 0.2% 幾丁寡糖 (chitosan oligosaccharides)、0.1% *Bacillus coagulans* 及合併 0.2% 幾丁寡糖 + 0.1% *B. coagulans* 的飼料 8 週後，試驗組魚隻血液中的總白血球數量顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，其中又以合併組最多 (Lin et al., 2012)。

斑節蝦分別飼餵對照組、含 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (isomaltooligosaccharide) (T1)、 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T2) 及 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T3) 的飼料 8 週，試驗組蝦隻血液中的總白血球數量顯著高於對照組 ($p < 0.05$) (Zhang et al., 2011)。

(二) 白血球吞噬活性

虹鱒分別投餵對照組、添加 1% *Enterococcus faecalis*、0.4% 甘露寡糖 (mannan oligosaccharide) 及 1% *E. faecalis* + 0.4% 甘露寡糖的飼料 12 週後，試驗結果顯示，餵食 *E. faecalis* 或 *E. faecalis* + 甘露寡糖組飼料之虹鱒有較對照組為高的白血球吞噬作用活性，其中尤以 *E. faecalis* + 甘露寡糖組的吞噬活性最高，作者認為 *E. faecalis* + 甘露寡糖係提升虹鱒白血球吞噬活性的重要因子 (Rodriguez-Estrada et al., 2009)。

錦鯉分別餵食對照組、含 0.2% 幾丁寡糖、0.1% *B. coagulans* 及合併 0.2% 幾丁寡糖 + 0.1% *B. coagulans* 的飼料 8 週後，試驗組魚隻的頭腎巨噬細胞的吞噬能力顯著高於

對照組 ($p < 0.05$)，其中又以合併組最高 (Lin et al., 2012)。

牙鯪 (*Paralichthys olivaceus*) 分別投餵對照組、含 10^7 cells/g *B. clausii*、2.5 或 5.0 g/kg 果寡糖、2.5 或 5.0 g/kg 甘露寡糖、 10^7 cells/g *B. clausii* + 2.5 或 5.0 g/kg 果寡糖及 10^7 cells/g *B. clausii* + 2.5 或 5.0 g/kg 甘露寡糖之飼料 8 週的試驗結果顯示，試驗組魚隻白血球之吞噬百分比與對照組相近 (Ye et al., 2011)。

海鱸 (*Rachycentron canadum*) 分別餵食對照組、含 3.0 或 6.0 g/kg 幾丁聚糖及 3.0 或 6.0 g/kg 幾丁聚糖 + 1.0 或 2.0 g/kg *B. subtilis* 飼料 8 週之試驗結果顯示，除了添加 6.0 g/kg 幾丁聚糖組外，其餘試驗組白血球吞噬作用百分比均較對照組為高；最佳的組合為 3.0 g/kg 幾丁聚糖配合 2.0 g/kg *B. subtilis* 者。此結果顯示，配合適當濃度的幾丁聚糖及 *B. subtilis* 對於提升海鱸之白血球吞噬活性具有加乘作用 (Geng et al., 2011)。

(三) 溶菌酶活性

溶菌酶是動物體天生免疫中殺死細菌最重要的酵素之一，是魚類抵抗病原菌的必須防禦機制。虹鱒分別餵食對照組、含 0.5、1.0 及 1.5 g/kg 的商業合益素 Biomin IMBO (含 *E. faecium* 及果寡糖) 飼料 60 天，試驗組魚隻血清中溶菌酶活性顯著高於對照組 ($p < 0.05$) (Firouzbakhsh et al., 2014)。錦鯉分別飼餵對照組、含 0.2% 幾丁寡糖、0.1% *B. coagulans* 及合併 0.2% 幾丁寡糖 + 0.1% *B. coagulans* 的飼料 8 週後，試驗組魚隻血清中溶菌酶活性顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，其中又以合併組最高，約為對照組的 3 倍 (Lin et

al., 2012)。

牙鯨 (*Paralichthys olivaceus*) 分別餵食對照組、含 10^7 cells/g *B. clausii*、2.5 或 5.0 g/kg 果寡糖、2.5 或 5.0 g/kg 甘露寡糖、*B. clausii* + 2.5 或 5.0 g/kg 果寡糖及 *B. clausii* + 2.5 或 5.0 g/kg 甘露寡糖之飼料 8 週的試驗結果顯示，以攝食 *B. clausii* 或 *B. clausii* + 寡糖之飼料組有較對照組為高的溶菌酶，作者推測，飼料中添加 *B. clausii* 可以提升溶菌酶活性，而且溶菌酶活性在合益素組別明顯較單獨施用益生菌或益生素組高，所以作者建議使用 *B. clausii* + 果寡糖或甘露寡糖可有效調節牙鯨之溶菌酶活性 (Ye et al., 2011)。

大黃魚 (*Larimichthys crocea*) 分別投餵對照組、含 0.42×10^7 或 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis*、0.2 或 0.4% 果寡糖及 0.42×10^7 或 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis* + 0.2 或 0.4% 果寡糖之試驗結果顯示，餵食 *B. subtilis* 或 *B. subtilis* + 果寡糖飼料的大黃魚有較對照組為高的溶菌酶活性，但不同濃度的 *B. subtilis* 組別間無差異。這些結果顯示，造成溶菌酶活性增加的主因不是果寡糖而是 *B. subtilis* (Ai et al., 2011)。

Geng et al. (2011) 研究指出，不論是否配合 1.0 或 2.0 g/kg *B. subtilis*，餵食海鱸 6.0 g/kg 的幾丁聚糖組明顯增加溶菌酶活性，而餵食含 3.0 g/kg 幾丁聚糖組則與對照組無差異，作者認為影響海鱸血清中溶菌酶活性之主要因子為幾丁聚糖而非 *B. subtilis*。鮭魚分別餵食對照組、含 3.5 g/kg 的 *Pediococcus acidilactici* + 7 g/kg 的短鏈果寡糖 (short chain fructooligosaccharides) 之飼料 63 天後，試驗組魚隻血清中溶菌酶活性顯著高於

對照組 ($p < 0.05$) (Abid et al., 2012)。

分別投餵斑節蝦對照組、含 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T1)、 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T2) 及 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T3) 的飼料 8 週，結果試驗組蝦隻血清中溶菌酶活性均高於對照組，且 T3 組顯著高於對照組 ($p < 0.05$) (Zhang et al., 2011)。

(四) 超氧歧化酶活性 (superoxide dismutase activity, SOD)

錦鯉分別餵食對照組、含 0.2% 幾丁寡糖、0.1% *B. coagulans* 及合併 0.2% 幾丁寡糖 + 0.1% *B. coagulans* 的飼料 8 週後，試驗組魚隻血清中的超氧歧化酶活性均顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，其中又以合併組最高 (Lin et al., 2012)。

大黃魚試驗中，於飼料中添加果寡糖各組並配合 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis* 時，血清中超氧歧化酶活性明顯上升，而添加 0.42×10^7 cfu/g *B. subtilis* 與未添加益生菌組其超氧歧化酶活性並無差異。又，超氧歧化酶活性在 1.35×10^7 cfu/g 與 0.42×10^7 cfu/g 兩組間亦無差異，這些結果顯示，果寡糖配合較高量的 *B. subtilis* 才能提升大黃魚之超氧歧化酶活性 (Ai et al., 2011)。

斑節蝦分別餵食對照組、含 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T1)、 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T2) 及 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T3) 的飼料 8 週，試驗組蝦隻血清中超氧歧化酶活性均顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，其中又以 T3 組最

高 (Zhang et al., 2011)。

(五) 呼吸爆活性 (respiratory burst activity)

錦鯉分別投餵對照組、含 0.2% 幾丁寡糖、0.1% *B. coagulans* 及合併 0.2% 幾丁寡糖 + 0.1% *B. coagulans* 的飼料 8 週後，試驗組魚隻的頭腎巨噬細胞的呼吸爆活性均顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，其中又以合併組最高 (Lin et al., 2012)。

大黃魚之試驗結果顯示，飼料中添加果寡糖及 *B. subtilis* 並未影響大黃魚之頭腎的白血球呼吸爆活性 (Ai et al., 2011)。海鱸分別餵食對照組、含 *B. subtilis* 及幾丁聚糖之試驗結果顯示，海鱸餵食含低劑量 (3.0 g/kg) 幾丁聚糖的飼料，不論有無添加 *B. subtilis* 均有較對照組為高的呼吸爆活性，且以搭配較低的 *B. subtilis* 有最高的呼吸爆活性；當飼料中添加 6.0 g/kg 幾丁聚糖時，不論配合餵食高低含量的 *B. subtilis* 均有增加呼吸爆活性的現象；此結果顯示，餵食含有適量益生菌及益生素的飼料具有加乘海鱸呼吸爆活性之效果 (Geng et al., 2011)。

斑節蝦分別餵食對照組、含 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T1)、 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T2) 及 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡糖 (T3) 的飼料 8 週，試驗組蝦隻血液中呼吸爆活性均高於對照組，且 T2 組顯著高於對照組 ($p < 0.05$) (Zhang et al., 2011)。

(六) 血清蛋白質

餵食含商業合益素 Biomin IMBO 的虹鱒試驗顯示，攝食含 1.0 g/kg (T₂) 及 1.5 g/kg (T₃) 組魚隻的血清蛋白質較對照組及其他

組為高，顯示合益素可以誘發虹鱒免疫系統 (Mehrabi et al., 2012)。

(七) 替代性補體途徑活性 (alternative complement pathway activity, ACP)

在大黃魚試驗，添加益生菌 (*B. subtilis*) 及益生菌 (果寡糖) 並未影響大黃魚替代性補體途徑活性 (Ai et al., 2011)。在海鱸實驗結果顯示，添加 1.0 g/kg 或 2.0 g/kg *B. subtilis* 配合低量幾丁聚糖 (3.0 g/kg) 飼料組明顯增加海鱸替代性補體途徑活性，但高幾丁聚糖 (6.0 g/kg) 者只有在添加 2.0 g/kg 的 *B. subtilis* 才有較高的替代性補體途徑活性。然而在同時添加 2.0 g/kg *B. subtilis* 及 3.0 g/kg 幾丁聚糖組與添加 2.0 g/kg 的 *B. subtilis* 及 6.0 g/kg 幾丁聚糖組並無明顯差異 (Geng et al., 2011)。

(八) 黏膜的產生

黏膜是魚類阻止病原生物自環境進入體內的第一個屏障，也是一個化學屏障，因為黏膜內含有酵素及抗體，可以殺死入侵的病原生物，同時可以潤滑魚體，加速它們在水中游動，且對於滲透壓的調節也很重要。虹鱒分別投餵對照組、添加 1% *E. faecalis*、0.4% 甘露寡糖及 1% *E. faecalis* + 0.4% 甘露寡糖的飼料 12 週之試驗結果顯示，餵食 *E. faecalis* 或 *E. faecalis* + 甘露寡糖組飼料之虹鱒，與對照組相較，黏膜有明顯增加的現象 (Rodriguez-Estrada et al., 2009)。

三、合益素對於魚蝦類抵抗疾病的效益

合益素對於抵抗入侵病原及保護宿主的綜合效益可以用病原菌攻擊試驗加以評估。虹鱒分別餵食對照組、添加 1% *E. faecalis*、0.4% 甘露寡糖及 1% *E. faecalis* + 0.4% 甘

露寡醣的飼料 12 週，以 *Vibrio anguillarum* 攻擊後發現，試驗組較對照組的活存率高 (Rodriguez-Estrada et al., 2009)。虹鱒分別餵食對照組、含 0.5、1.0 及 1.5 g/kg 合益素 Biomin IMBO 的飼料 60 天後，以水黴菌 *Saprolegnia parasitica* 攻擊後發現，試驗組的活存率顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，其中又以攝食 1.0 g/kg 合益素 Biomin IMBO 組最高 (Firouzbakhsh et al., 2014)。

錦鯉分別餵食對照組、含 0.2% 幾丁寡醣、0.1% *B. coagulans* 及合併 0.2% 幾丁寡醣 + 0.1% *B. coagulans* 的飼料 8 週後，以 *Aeromonas veronii* 攻擊後發現，試驗組的活存率顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，其中又以合併組最高 (Lin et al., 2012)。

大黃魚分別飼餵對照組、含 0.42×10^7 或 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis*、0.2 或 0.4% 果寡醣及 0.42×10^7 或 1.35×10^7 cfu/g *B. subtilis* + 0.2 或 0.4% 果寡醣飼料 10 週，以 *V. harveyi* 攻擊後之結果顯示，試驗組的活存率較對照組高 (Ai et al., 2011)。

海鱸分別餵食對照組、含 3.0 或 6.0 g/kg 幾丁聚醣及 3.0 或 6.0 g/kg 幾丁聚醣 + 1.0 或 2.0 g/kg *B. subtilis* 飼料 8 週，以 *V. harveyi* 攻擊後發現，活存率以投餵較高的幾丁聚醣組為佳，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醣與 *B. subtilis* 對於海鱸抵抗病菌有加乘作用 (Geng et al., 2011)。

斑節蝦分別投餵對照組、含 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 0.2% 異麥芽寡醣 (T1)、 10^8 cfu/g *B. subtilis* + 0.2% 異麥芽寡醣 (T2) 及 10^8 cfu/g *B. licheniformis* + 10^8 cfu/g *B.*

subtilis + 0.2% 異麥芽寡醣 (T3) 的飼料 8 週後，以病原菌 *V. alginolyticus* 攻擊後發現，試驗組的活存率均高於對照組，其中又以攝食 T2 及 T3 組蝦隻的活存率顯著高於對照組 ($p < 0.05$) (Zhang et al., 2011)。

結語

應用結合益生菌及益生素的合益素，係基於同時提供優質益生菌及其所需的營養，提高其在腸道的活存率，使飼料中添加的活微生物在宿主的腸道中快速增殖，相較於單獨使用益生菌所產生的效益更大。綜合上述各研究結果顯示，飼料中添加 *E. faecalis* + 甘露寡醣可以增強虹鱒白血球吞噬活性及抗病力；添加含 *E. faecium* + 果寡醣則可使溶菌酶活性及抗病力顯著提高。錦鯉飼料中添加 *B. coagulans* + 幾丁寡醣可以活化免疫系統並增強抗病力。牙鯉投餵配合 *B. clausii* + 果寡醣或甘露寡醣之飼料可有效增強溶菌酶活性。大黃魚攝食添加 *B. subtilis* + 果寡醣之飼料其溶菌酶、超氧歧化酶活性及抗病力明顯提高。海鱸餵食含有 *B. subtilis* + 幾丁聚醣之飼料可以強化免疫系統並增強抗病力。鮭魚餵食含 *P. acidilactici* 及果寡醣之飼料可以增強魚隻血清中溶菌酶活性。斑節蝦飼料中添加 *B. licheniformis* + *B. subtilis* + 異麥芽寡醣可以強化多項免疫相關指標及抗病力。惟在飼料中添加合益素，對魚蝦之功效可能受到多種因素的影響，因此如何有效應用到不同的養殖生物，未來仍有相當大的研究空間。