

枯草桿菌在農業與養殖漁業上的應用

黃世鈴、楊豐隆、黃麗玲

水產試驗所淡水繁養殖研究中心

前言

打造優良自然生態環境和無毒養殖環境，創造無毒的農業和水產養殖生態環境，在自然無毒的生態環境下種植農作物、養殖禽畜及魚蝦貝類等，是目前和未來追求的目標，開發無毒的農作物和禽畜、水產養殖物，提供給消費者是重要的策略，創造優良的生態環境以增進動物福祉，俾能提昇人民食的安全和身體健康。

本文以枯草桿菌為對象，主要介紹其應用範疇，包括在農業、禽畜類及水產養殖魚類等相關領域的應用。枯草桿菌廣泛應用在食品、飼料添加物、酵素、種子保護劑、生物農藥製劑等生技產業上，屬於安全的有益微生物。具有強大的分解酵素（如蛋白質分解酵素、脂肪分解酵素、醣類分解酵素等），可以分解大型有機物質如蛋白質、單醣、雙醣或多醣，因分解蛋白質胺基酸和醣類的能力十分強大，具有強力淨化水質底質或環境的能力。

枯草桿菌廣泛分布在土壤及腐敗的有機物中，枯乾的稻草經浸泡 2—3 天後容易分離篩選到此菌，所以命名為枯草桿菌。枯草桿菌（枯草芽孢桿菌）為芽孢桿菌屬，廣鹽性的革蘭氏陽性菌，細菌大小約為 $0.7-0.8 \times 2-3 \mu\text{m}$ ，無莢膜，有周鞭毛，具運動性，在 TSA 培養基因具運動性有 swarming 的現象

（圖 1、2）。芽孢大小為 $0.6-0.9 \times 1.0-1.5 \mu\text{m}$ ，位於菌體中央或稍偏，形狀呈橢圓形或柱狀，菌落表面粗糙呈乳白色，屬好氧菌，但在微氧的環境下亦可進行醱酵作用，分解有機物產生能量供細菌生長與增殖。



圖 1 枯草桿菌在固態培養基中培養的形態

枯草桿菌在植物及禽畜類的應用

一、在植物的應用

可應用在土壤，對於種植稻米、蔬菜、果樹或其他植栽都有很好的幫助，主要作用的機制包括與病原菌競爭根系中的營養及空間，進而成為優勢菌種，降低病原菌的危害；產生孢子，在不良環境或條件下容易活存、產生對抗病菌的抗生物質、促進及加速土壤中大分子有機物的分解，幫助作物有效吸收

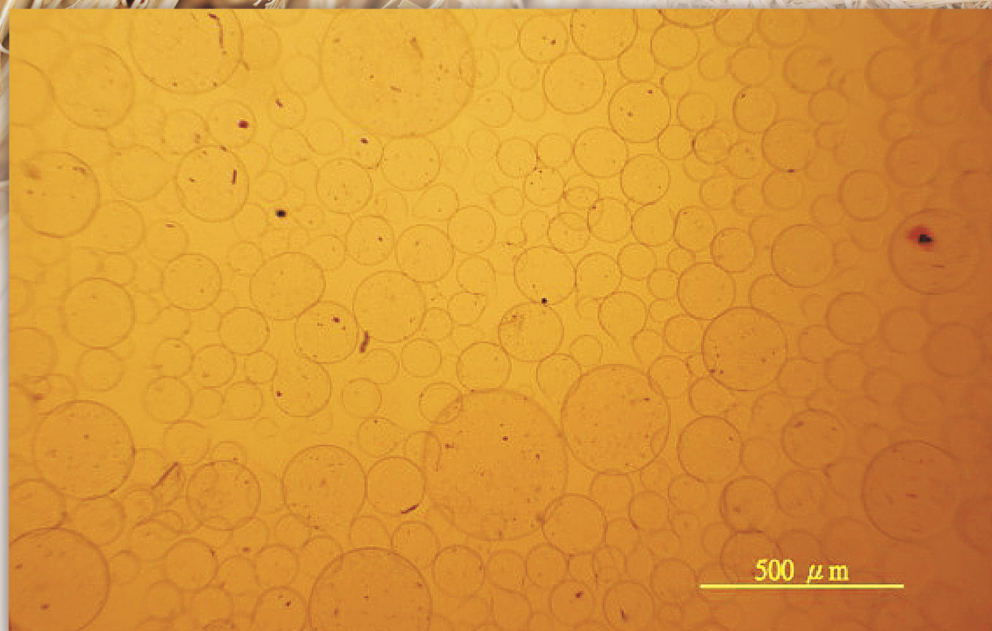


圖 2 海藻酸鈉 sodium alginate 微粒包覆在顯微鏡中的形態

土壤中經分解後的營養元素、改善土壤性質、抑制作物根部病菌生長、促進作物生長及增強抗病性等，當然需要種種相關因素相互搭配，才能達到最好的植物保護功效。對抗農作物的病害，如水稻白葉枯病有很好的防治效果，對於其他病害重要的應用標的，包括康乃馨莖腐病、玉米苗枯病、洋蔥白腐病、菊花莖腐病、蘋果癌腫病、葡萄枝枯病、楓樹黃萎病及柑橘綠黴病等；枯草桿菌可以施用在土壤中或做種子拌種處理，以預防土壤病害傷害農作物的生長，明顯的促進根部發育。許多植物病害都是由土壤或根圈真菌所引發的，目前重要的農業策略在於利用土壤微生物間的拮抗作用，研發抑制真菌生長的生物防治藥劑或生物農藥，例如假單胞菌、枯草桿菌、木黴菌與鏈黴菌等。

枯草桿菌也可直接噴灑在植物葉片上，保護葉部免受真菌病害，例如菜豆銹病，這類製劑不會發生噴灑傳統化學農藥的抗藥性問題，對土壤和生態環境也不會發生不良的負面效應。國內早在 2001 年，即已生產枯草桿菌微生物殺菌劑「台灣寶」，主要在於防治豌豆白粉病。國外商品化的枯草桿菌製劑應用在病害生物防治上，也已行之有年，如 Kodiak TM 製劑，主成分是枯草桿菌內生孢子，應用在種子處理，防治苗期病害。俄羅斯新西伯利亞公司枯草桿菌商品製劑 Bactophyt TM，使用於細菌性病害的防治。

枯草桿菌生長的溫度約在 30—37℃ 左右，但孢子可耐熱 100℃ 以上。具有強大的菌蛋白質分解酵素、醣類分解酵素、與脂肪分解酵素等多種代謝物質，可以應用在固態

發酵有機堆肥或生物肥料上，分解後的有機堆肥具有多種植物需要的營養，屬於長效性的植物營養堆肥，對於作物的成長開花結果等都有很好的效果，並且對於土壤的 pH 值、硬度和氧氣的通透性都有很好的改善功效。篩選及調配適當的雞糞、金針菇廢木屑、米糠等有機材料及用量，再配合接種適量的枯草桿菌及調整水分含量至 60%，利用自走式堆肥翻堆機製作，田間試驗結果顯示，應用於花卉、落花生、鳳梨、番茄、甜柿、梨等作物栽培上，都具有增產與增質之效益。

生物農藥的應用，採用天然物質，不經化學方式精製，也不經化學方式合成，製劑包括天然素材農藥、微生物農藥及生化藥劑等。常見的商品化微生物農藥製劑如木黴菌、枯草桿菌、蘇力菌、蟲生真菌及核多角體病毒等。傳統的化學農藥產業在應用上和產品安全上，已經出現很多的問題，農藥濫用及誤用的情形屢見不鮮，在化學農藥濫用，嚴重破壞自然生態的平衡，直接間接危害人類安全與健康。因此以自然生態環境中的細菌、真菌、病毒或其毒性物質等，開發功能性的生物性農藥，開發出來的產品對自然環境生態影響小，也頗具專一性，針對防治目標物（雜草、病蟲害等），不易產生抗藥性，如蘇力菌等商品化的殺蟲劑為成功的生物農藥製劑，生物農藥在研究上或應用上已被證實成功和具可行性。

二、在禽畜類養殖的應用

枯草桿菌可以利用環境變化催促產生芽孢，經微粒包覆（microcapsuled、微膠囊包被）處理，其孢子很穩定可耐不良環境，如耐氧化，耐擠壓，耐高溫（長期耐 60℃ 高溫，

在 120℃ 溫度下能活存一段時間），噴霧乾燥經過 120℃ 高溫出口，其復活性仍高達 90%，在強酸環境或強鹼環境仍可存活，在胃部酸性環境中能活存並保持活性，可順利達到腸道造成微菌相，對動物進行各種功能性的幫助。枯草桿菌進入消化道後，迅速由休眠狀態復活，短時間內即可大量繁殖成優勢菌群，消耗腸道內大量氧氣造成腸道內低氧的環境，有益厭氧菌得以大量增殖及生長，在腸道中重新建立新的微生物相平衡，經由競爭和抗菌素的效能，抑制有害細菌的生長（如大腸桿菌、沙門氏桿菌），預防腹瀉下痢等腸胃道疾病。

枯草桿菌在動物腸道中快速增殖，大量產生多種維生素、有機酸、氨基酸、蛋白質分解酵素、醣類分解酵素、脂肪分解酵素、澱粉分解酵素等，能有效分解飼料中複雜的有機物，促進消化吸收提高飼料利用率，防止動物消化不良。枯草桿菌製劑安全性高，無藥物殘留的危害，無毒物毒害的副作用，可有效減少抗生素的使用，提高疫苗的免疫力或抗病力。此外，由於枯草桿菌本身具強大的分解酵素，枯草桿菌製劑添加在飼料中餵食動物，能減少糞便中氮磷鈣的排泄量，減輕糞便臭味及有害氣體，減少環境污染，其他的功效如除臭驅蠅，防治細菌性疾病等。添加在禽畜類的飼料中，重建消化道內菌相，改善消化道的健康，強大的酵素幫助動物消化分解飼料的能力，充分吸收利用飼料中營養及天然色素，增強動物本身的抵抗力和免疫力；對於禽畜類其他的功能如具有改善產蛋的量和品質，改善蛋殼的品質和顏色。枯草桿菌製劑如添加在豬隻的飼料中，

同樣的功能如重建消化道內菌相改善消化道的健康，強大的酵素幫助動物消化分解飼料的能力，充分吸收利用飼料中營養及天然色素，增強動物本身的抵抗力和免疫力，改善豬隻皮膚毛色（紅潤發亮），並可以有效增加母豬的泌乳量。

枯草桿菌在養殖魚類的應用

水產養殖上重要的益生菌菌種如枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、微球菌 (*Micrococcus luteus*)、光合菌 (*Rhodobacter* sp.) 和酵母菌 (如 *Saccharomyces cerevisiae*) 等，在促進成長上，可應用在促進成長及改善水質，強大的酵素和強大的增殖能力，短期間內菌相大增，可有效分解池水與池底有機物，淨化水質底質，徹底改善生態環境。進行吳郭魚 (*Oreochromis nilotica*) 病原鏈球菌 (*Strepto. agalactiae* 和 *Strepto. iniae*) 口投免疫的同時，測量各組試驗吳郭魚的成長情形 (如表所示)，以鰻粉為基本飼料，限制給餌的方式餵食，每日餵食 1 次餵食量為魚體重 3.5%，各組為 100 尾試驗吳郭魚，平均體重為 1.6 ± 0.2 g，平均體長為 4.5 ± 0.2 cm，試驗結果顯示，飼料中添加 5 種益生菌對試驗魚的成長與飼料轉換係數 (FCR) 都有很好的助益，餵食 1 個月 (30 日)，試驗吳郭魚餵食 5 種益生菌的飼料轉換係數都比單獨餵食鰻粉好，以枯草桿菌、有糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*)、微球菌等 3 組最佳，其次為渾球紅假單胞菌 (*R. sphaeroides*)、嗜酸乳桿菌 (*Lactococcus acidophilus*)，最差為鰻粉餵食試驗組；對於日成長率 (SGR) 的比較，以有

吳郭魚進行飼料添加鏈球菌疫苗免疫，同時配合餵食不同益生菌，餵食量為魚體重 3.5%，1 及 2 個月後觀察吳郭魚的成長情形

飼料	飼料轉換係數(1-30 天)	日成長率(1-30 天)	日成長率(31-60 天)
鰻粉	2.3	1.6	4.1
鰻粉 + <i>B. subtilis</i>	1.9	1.8	5.6
鰻粉 + <i>R. sphaeroides</i>	2.1	1.7	5.1
鰻粉 + <i>E. faecalis</i>	1.9	3.0	5.8
鰻粉 + <i>L. acidophilus</i>	2.0	2.8	5.5
鰻粉 + <i>M. luteus</i>	1.9	2.2	5.7

飼料轉換係數 (feed conversion ratio, FCR) : feed supplied(g)/(final weight-initial weight)

日成長率 SGR (% day⁻¹)(specific growth rate) : $100 \times (\ln \text{ final weight} - \ln \text{ initial weight})/\text{day}$

糞腸球菌試驗組最佳，為 3.0，其次為嗜酸乳桿菌 > 微球菌 > 枯草桿菌 > 渾球紅假單胞菌，最差為鰻粉試驗組。免疫試驗結束後，第 2 個月各組取 50 尾測量重量後，繼續餵食吳郭魚 5 種益生菌，每日餵食 1 次餵食量為魚體重 3.5% 餵食 1 個月 (30 日)，試驗結果顯示，5 種益生菌添加在飼料中餵食吳郭魚，試驗魚的日成長率都比單獨餵食鰻粉好，以有糞腸球菌最好 (5.8) > 微球菌 (5.7) > 枯草桿菌 (5.6) > 嗜酸乳桿菌 (5.5) > 渾球紅假單胞菌 (5.1) > 不添加益生菌組 (4.1)。非正式實驗結果顯示，如以飽食狀態餵食試驗魚，日成長率更好更明顯。

整體而言，益生菌添加在飼料中餵食試驗魚，可以促進試驗魚的體成長外，也可以有效提高飼料效率，活存率和試驗魚活力表現都很好，直接或間接提高試驗魚的健康和

免疫力，是很好的添加物。

表中第 1 個月的成長情形，試驗魚為小魚，平均體重為 1.6 ± 0.2 g，所攝取的有機物質量較小，所以成長的表現也沒有很明顯，但益生菌添加試驗組都比不添加好。第 2 個月的成長情形則明顯有差異，試驗魚平均體重為 3.9 ± 0.5 g，魚體長大後攝食量增大，攝取的有機物質量多，益生菌在消化道的功效明顯增強，添加益生菌試驗組日成長率明顯增強，以 *L. acidophilus* 與 *M. luteus* 最好，其次為 *B. subtilis* 與 *L. acidophilus*，而 *R. sphaeroides* 的表現稍差，但也比不添加益生菌組好很多，值得一提的是，益生菌 *M. luteus*、*B. subtilis* 與 *R. sphaeroides* 也是環境益生菌，我們曾經發表過多篇報告關於光合菌 (*R. sphaeroides*) 的功效和應用技術，對於養殖水質和底質的維護與淨化，在產業界也得到回響和正面的肯定。

在益生菌的使用方式上，大量培養活菌後短期內立即餵食試驗魚，新鮮活菌保持很好的活力和分泌酵素活性，進入腸道後很快造成優勢菌群，所以短期餵食即可顯出效果，如以菌粉或貯存時間久的益生菌，應先餵食 1—2 星期後，待細菌活化且大量增殖成優勢菌相時，才會顯出效果。改善消化道性質和菌相，增強消化吸收效率、在消化道中與不良細菌競爭，抑制消化道病原菌的增殖、有效減少疾病發生率。將菌體進行促芽孢和藻膠微粒包覆膠囊後，穩定性好，對於外界不良環境具強大抵抗能力（包括耐氧化、耐擠壓、耐高溫、耐酸及耐鹼等），在強大胃酸唾液和膽汁的攻擊下仍能保持活性，枯草桿菌到達大小腸時仍可保持活性，並可

以迅速增殖造成優勢菌相，消耗腸道內氧氣，建立微生態平衡，促進有益厭氧微生物的繁殖，抑制有害細菌的生長，預防腸胃道疾病。枯草桿菌造成優勢菌相後會產生大量的酵素和維生素等，幫助消化分解飼料中複雜的有機物，促進消化吸收，提高飼料利用率。在培養及使用上也是有很多需及克服的包括大量增殖時避免雜菌混入，防止細菌弱化，防止細菌分解酵素弱化等，其他不良的效應包括增殖速率變慢、增殖量變少（世代交替時間變長）、菌體變小變弱、鞭毛或纖毛異常、營養物質利用率變弱及雜菌逐漸變得優勢等問題，所以在連續培養過程中，須隨時可以引種再接再種，才能保持最佳的狀態，長期大量培養具專業性。

過去，我們不認識益生菌，益生菌依然默默地工作，在自然生態中扮演分解者的角色，維護保護自然生態，是自然生態的保姆，在野外或粗放式水產養殖，有機碎屑會附著大量的分解性益生菌，魚蝦貝攝食有機碎屑伴隨食入益生菌，益生菌含各種營養素，直接供給攝食者營養，是池塘生產力的重要來源，同時食入的益生菌幫助消化道消化與吸收營養物質，增進健康和免疫力。現在，多種對農業及水產養殖有益的益生菌已被瞭解並開發應用，生態益生菌可用來保護及淨化生態，消化道益生菌用來穩定改造消化道生態，幫助分解食物幫助吸收營養物質，抑制控制病菌的增生，間接減少病害的發生率和嚴重性。未來，我們應持續努力開發不同種類及功能性的益生菌，廣泛用來保護我們的地球生態，保護我們的土地，進而保護農業、畜牧業及水產業等。