

國立嘉義大學生命科學院

學生學術研究成果優良海報評選獲獎名單

時間:108年6月5日

學士組

名次	獲獎人姓名	指導教師
生物資源學系		
第一名	石楷	方引平
第二名	張維升	許富雄
第三名	吳崑齊	劉以誠
微生物免疫與生物藥學系		
第一名	李佳穎	翁博群
第二名	余旻樺	劉怡文
第三名	顏宇君	劉怡文
水生生物科學系		
第一名	Sheng-Yen Lin(林聖諺)	賴弘智
第二名	Zhi-You Lin(林芝佑)	黃承輝
第三名	鄭宇勛	陳哲俊

水生生物科學系



飼料中添加丁酸鈉對中華鱉的影響

Zhi-You Lin *, Chen-Huei Huang

Department of Aquatic Biosciences, National Chiayi University, Taiwan

前言

短鏈脂肪酸在過去的實驗中被證實可促進體成長、改變腸道菌叢，還有抗菌的功能。丁酸鈉在動物體內會解離為丁酸根和鈉離子，為腸黏膜細胞提供了75%左右的能量，另外可促進腸道對水和鈉離子的吸收，產生促進黏膜修復的激素，同時提高腸絨毛的增殖，加強吸收飼料的效率，而鱉是經濟價值極高的水生動物，在中藥學具有極高的藥用價值，本實驗將以鱉作為實驗動物，探討不同濃度丁酸鈉作為飼料添加劑，是否也能成功對鱉的成長帶來效益。



實驗設計

Table 1. Feed Ingredients (g/kg)

	Control	1	2
fish meal	420	420	420
soybean meal	260	260	260
Flour	100	100	100
α -Starch	100	100	100
Lipids	40	40	40
Cellulose+ 1% methionine ¹	10	10	10
Vitamin	20	20	20
Mineral	50	50	50
Sodium butyrate	0	0.5	5

¹Methionine was mixed with cellulose at the concentration of 30 mg Methionine/kg diet.

實驗物種: 中華鱉 (*Pelodiscus sinensis*)

➢ 實驗時間: 14 週

➢ 初重: 3.63 ± 0.46 g

➢ 飼料中丁酸鈉添加量: 0, 0.5, 5 g/kg

➢ 餵食機制: 達飽食

➢ 樣本: 每組六重複

結果

Table 2. Initial weight, final weight, weight gain (WG), and survival of juvenile soft-shelled turtles fed diets containing various levels of sodium butyrate for 14 weeks.

Diet (% Butyrate)	Initial weight (g)	Final weight (g)	WG (%)	Survival (%)
0	3.60 ± 0.14	15.57 ± 3.0	338.74 ± 90.23	100
0.5	3.61 ± 0.12	19.44 ± 2.2	442.65 ± 69.77	100
5	3.59 ± 0.12	17.79 ± 3.9	399.47 ± 113.28	100

There is no significant difference among treatment means \pm S.E. (n=6, p>0.05).



Table 2 Crude protein of the soft-shelled turtle among three groups with different levels of sodium butyrate.

Crude protein
43.24 ± 0.052^a
41.84 ± 0.033^c
42.72 ± 0.004^b

Within each column, means \pm S.E. There is a statistically significant difference (n=2, $p \leq 0.01$).

結論

過去的研究曾指出飼料中添加丁酸會促進吳郭魚的成長表現 (Ahmed & Sadek 2015)，但此研究得到，鱉的成長表現沒有明顯受到影響，而體內的粗蛋白含量卻因為丁酸的添加而明顯低於控制組，符合過去以建鯉作為試驗動物的實驗結果，推測可能是因為丁酸是合成體脂的前驅物，提高了粗脂肪的利用，因此蛋白質含量才會隨著丁酸的添加而降低。

參考文獻

Ahmed, Sadek (2015).

Impact of Dietary Supplementation of Sodium Butyrate and/or Protexin on the Growth Performance, Some Blood Parameters, and Immune Response of *Oreochromis Niloticus*.



文蛤(*Meretrix lusoria*)池弧菌(*Vibrio* sp.)性狀分析



Yu-Syun Jheng (鄭宇勳)
指導教授:Chun-Che Chen (陳哲俊)

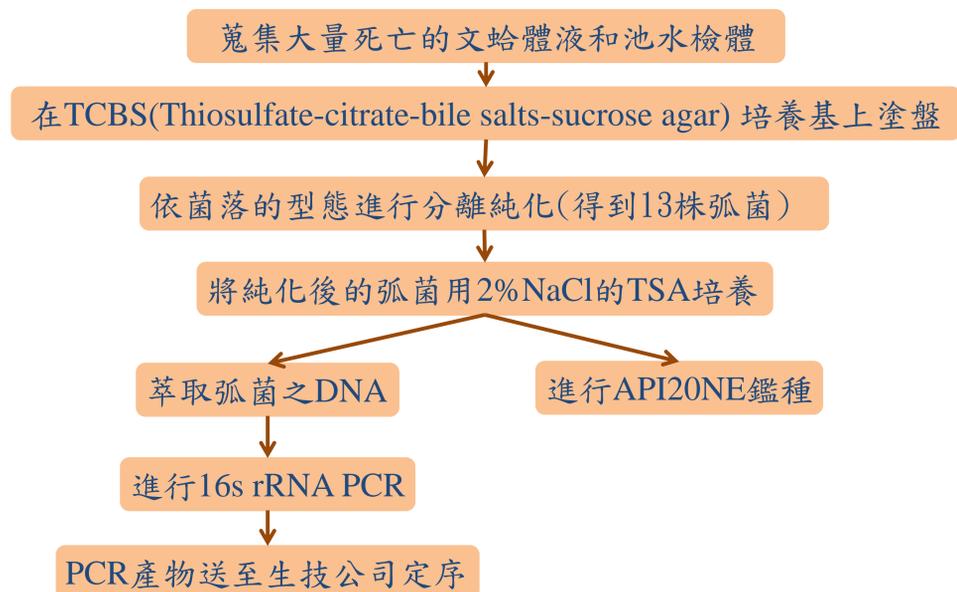
Department of Aquatic Biosciences, National Chiayi University(嘉義大學水生生物科學系)

摘要

近年來台灣地區文蛤(*Meretrix lusoria*)養殖常爆發大量死亡的情形，造成養殖戶的嚴重損失；導致文蛤死亡的原因眾多，其中所造成文蛤的傷害最被關注以弧菌(*Vibrio* sp.)群之細菌為主，而弧菌不只會感染魚、蝦、貝類等養殖生物，更是對人類具有致病性的病原菌；為了能更加了解養殖池出現之弧菌群及可能造成文蛤大量死亡的細菌種類，我們先將蒐集到的樣品進行純化，萃取DNA，利用特定的引子對以PCR增殖技術放大目標片段後，進行序列分析，再進行微生物外表、菌落、生化性狀、DNA序列、各種生化試驗、API20及藥敏試驗的結果，將得到的結果逐一進行整合，讓大家對文蛤池中的弧菌能有更進一步的了解。

材料與方法

第一部分—蒐集菌株



第二部分—生化試驗

使用分離出的單一菌種進行多種生化試驗：

1. 革蘭氏染色：觀察其為革蘭氏陰性菌或陽性菌及弧菌之外觀。
2. 移動性試驗：利用S.I.M medium在30°C下培養18小時後觀察其是否具有移動性。
3. 過氧化氫酶：將3.5%的過氧化氫滴在菌落上觀察是否具有過氧化氫酶。
4. 硝酸鹽還原：在TSB培養液中加入200 ppm的硝酸鈉，30°C下培養18小時後檢驗培養液中是否還有硝酸鹽殘留。
5. 適鹽性試驗：觀察弧菌在0.5%、1%、2%、3%和4%的鹽度下生長情形。

第三部分—藥敏試驗

藥敏試驗的部分使用的是紙錠擴散法(disk diffusion method)，先用MHB(Müller-Hinton broth)培養弧菌到0.5 mcfarland standard的濁度，接著在MHA(Müller-Hinton agar)培養基上進行塗盤，最後將抗生素紙錠放在塗菌後的MHA培養基上並放置於30°C的培養箱培養24小時。

完成後，測量抗生素紙錠的抑菌圈直徑，依照美國臨床實驗室標準化委員會(NCCLS)的標準將抗生素抑菌圈的直徑結果分成:sensitive、intermediate sensitive和resistant，由此得到結果；本實驗中所測試的抗生素總共使用了4種在文蛤養殖池中常使用的抗生素，包括安比西林(Ampicillin,AM)、紅黴素(Erythromycin,E)、羥四環黴素(Oxytetracycline,OT)、氟甲磺氯黴素(Florfenicol,FFC)

分析結果

表1、簡易描述13株菌種的外觀性狀、各項生化試驗、API20NE鑑種測試及藥敏試驗之結果。

菌落特性	菌株編號												
	1-2	2-1	2-2	701G	701G2	701Y	702G	702Y	703G	703Y	C1	C2	C3
TCBS菌落型態	墨綠色 小球狀	黃綠色 球狀	墨綠色 小球狀	黃綠色 圓凸狀	黃綠色 圓凸狀	黃綠色 圓凸狀	墨綠色 小球狀	墨綠色 小球狀	墨綠色 小球狀	暗綠色 球狀	墨綠色 小球狀	墨綠色 小球狀	暗黃色 粒狀
革蘭氏染色	陰性桿狀	陰性桿狀	陰性桿狀	陰性桿狀	陰性彎桿狀	陰性彎桿狀	陰性桿狀	陰性桿狀	陰性桿狀	陰性彎桿狀	陰性桿狀	陰性桿狀	陰性彎桿狀
移動性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
過氧化氫酶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
硝酸鹽還原	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
鹽度													
0.50%	++	+	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
1%	++	+	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
2.00%	++	++	+++	+	++	++	+	+	+	++	+	+	+
3%	++	++	++	+	++	+	++	+	+	++	++	+	++
4%	++	++	++	+	+	+	+	+	++	+	++	++	+
API20NE結果	VP	PP	Va or VV	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP	RR	PP
定序結果	VP	VH-like	VP-like	EN	EC	EC	VH	VH	VH	VO-like	VP	VH	VM
抗生素													
AM	15(I)	18(S)	14(I)	17(S)	18.5(S)	15.5(I)	15(I)	13.5(I)	14.5(I)	13.5(I)	15(I)	12.5(R)	16(I)
E	14.5(I)	10(R)	15.5(I)	11(R)	10.5(R)	10.5(R)	34(S)	10(R)	19.5(I)	11.5(R)	15(I)	19.5(I)	10.5(R)
OT	23.75(I)	6(R)	24(I)	6(R)	6(R)	6(R)	24(I)	6(R)	26.5(S)	6.5(R)	7(R)	10.5(R)	7(R)
FFC	27(S)	22.5(S)	27(S)	22.5(S)	22.5(S)	22(S)	38.5(S)	18.5(I)	28.5(S)	33(S)	33(S)	32(S)	20.5(S)

菌種:VP=*Vibrio parahaemolyticus*, PP=*Pasteurella pneumotropica*, RR=*Rhizobium radiobacter*, VA=*Vibro alginolyticus*, VV=*Vibrio vulnificus*, VH=*Vibrio harveyi*, EN=*Entrovibrio nigricans*, EC=*Entrovibrio coralli*, VO=*Vibrio Owensii*, VM=*Vibrio Mediterranei* ;
抗生素:AM=Ampicillin, E=Erythromycin, OT=Oxytetracycline, FFC=Florfenicol, S=sensitive, I=intermediate sensitive, R=resistant
+=正反應, +越多反應越強; -=負反應

結論

1. 在發生文蛤大量死亡的養殖池水中均有檢測出多種弧菌落，但TCBS出現菌落也可能包含其他非弧菌群之細菌。
2. 從整合這些基本的性狀、特性來對文蛤池中的弧菌有更多的了解，即使是同種的弧菌也會有不一樣的性狀差異。
3. 依據藥敏試驗的結果評估文蛤養殖上所使用抗生素的情形。
4. API20的數據庫弧菌資料不足導致判讀上有所差距。
5. 2-2, 2-2, 703Y 定序的基因序列與資料庫中的弧菌序列有較大差異而只能確定至弧菌屬，無法確定至種。