

草蝦感染細菌性疾病與養殖條件間的關係

摘要

台東 (A、B 池) 及宜蘭 (C、D 池) 兩地之四口草蝦養殖池，其池水的條件 (如：pH 值、溫度、溶氧、鹽度、氨-氮、ORP 值、硫化氫等) 均在草蝦適宜生長之正常值內。惟，四口採樣池之表層底泥中的平均 ORP 值均為負值，底泥的 COD 值偏高，硫化氫濃度亦同，此一結果顯示，四口試驗池中的底質情況均不理想。分析表層底泥發現，除 C 池的 COD 值稍偏高外，在所有底泥檢測項目中均顯示 A、B 池的底質比 C、D 池差，但是 A、B 池並無蝦病發生而且收穫量正常 (1200 kg 及 900 kg/0.1 ha)，C、D 池卻反之 (45 kg 及 282 kg/0.1 ha)，因此，此次所得之養殖草蝦罹病與否與水質及底質的好壞並無關連。

A 及 B 池之底泥表層所含的好氣異營性總生菌數並無顯著性差異 ($P>0.05$)，C 及 D 池亦同。比較兩地四口採樣池之結果亦同 ($P>0.05$)。A 及 D 池之底泥中未發現弧菌，而 B 及 C 池之底泥中的弧菌數量很少，分別為 1.66% 及 2.85%，弧菌在這四口養殖池中並非優勢菌種。A、B 池之底泥表層的好氣異營性菌相的歧異度介於 1.84-2.93 之間，C、D 池則介於 1.32-2.78 之間；前者歧異度較大，養殖的情況比後者為佳。C、D 二池之草蝦出現了大量死亡的情形，雖然病蝦體表未出現感染白斑病毒所具備的特徵，但是體表有變紅的現象出現。分離體表出現變紅症的病蝦及體表正常的池蝦之肝胰臟內的菌相，結果發現病蝦肝胰臟中出現的菌株有一半以上是病原性弧菌，而體色正常者僅四分之一是病原性弧菌，這些弧菌的種類與近年來感染對蝦類的病原性弧菌相同。

關鍵詞：草蝦養殖、養殖條件、細菌性疾病

台灣的草蝦人工繁殖，於 1968 年首次成功⁽¹⁾。爾後，蝦類養殖開始如雨後春筍般地蓬勃發展，產量逐年俱增，而於 1987 年達到巔峰，年產量高達 95,000 公噸。然而，1988 年之後，養殖草蝦持續受到病毒及病原性弧菌感染而大量死亡，以致養蝦產業遭受前所未有的重挫。為解決此一問題，許多研究人員致力於草蝦養殖池的細菌相研究，唯多集中在養殖池密度較高的西部和宜蘭地區⁽²⁻⁷⁾，對於地理條件比較特殊的東部，則尚未進行研究。因此，本次選擇宜蘭及台東地區的草蝦養殖池，分析水質及表層底泥的物化性質、蝦池之底泥表層的好氣異營性細菌相及其數量、菌相

歧異度等項目，藉以探討這些因素是否與蝦病的發生有關。此外，分離並鑑定飼養後期罹病草蝦肝胰臟中的病原性細菌，並與底泥表層菌相作一比較，藉以探討池蝦罹病可能的原因。

一、材料及方法

採樣地點位於台東興昌，選擇面積大小分別為 0.25 及 0.2 ha 的草蝦養殖池 (A、B)，及位於宜蘭下埔，選擇面積大小分別為 0.8 及 0.4 ha 之草蝦養殖池 (C、D)。A、B 池之蝦苗放養尾數為 20 及 25 萬尾，C、D 池為 20 及 24 萬尾，前者之草蝦飼養期間由

1996 年 3 月 17 日起至 8 月 17 日止, 後者則由 1996 年 6 月 3 日起至 9 月 3 日止。採樣日期 A、B 池由 3 月 18 日起至收穫日止, C、D 池由 3 月 19 日起至收穫日止, 採樣間隔為每 4 週採樣一次。A、B 兩口採樣池係新建, 僅飼養過一季之草蝦, 池底新鋪有 5-10 cm 之海砂; 而 C、D 兩口採樣池係舊池, 已經使用十五年左右, 也飼養過斑節蝦。

採樣位置共五點, 分別在每口蝦池四個角的對角線、距離岸邊 2 m 處及池中央。以採水瓶在水深約 30 cm 處採集水樣, 並立即測定水樣的酸鹼度、溫度、鹽度、溶氧量及 ORP 值, 其他採得之水樣則放入冰箱中保存。以採泥器採取底泥後, 立即測量 ORP 值, 同時取表層 1 至 2 cm 深度之底泥, 裝入封口袋中, 放入冰箱中保存, 這些水樣及底泥均於當日立即攜回實驗室進行相關項目分析。

(一) 水樣之分析項目

水溫、pH 及 ORP 值以 WTW Microprocess pH meter pH96 測定, 鹽度以 WTW Microprocessor Conductivity Meter LF 196 測定, 溶氧量以 WTW Oximeter OXI96 溶氧計測定。氨-氮 (ammonia-N) 以 Phenolhypochlorite 法測定, 亞硝酸-氮 (nitrite-N) 以 Wood-Armstrong-Richard 法測定, 硝酸-氮 (nitrate-N) 以紫外光分光篩選法測定, 使用之分光光度計為 Shimadzu UV-1601, 磷酸-磷 (phosphate-P) 以 Molybdenum blue-Ascorbic acid 法測定, 溶解性硫化物以 Methylene blue 法測定⁽⁸⁾, 並以陳⁽⁹⁾的方法換算成硫化氫的濃度。COD 值則以高錳酸鉀當作強氧化劑的方式測定⁽⁸⁾。

(二) 底泥之分析項目

現場底泥之 ORP 值亦以上述 WTW Microprocess pH Meter 測定, 底泥分析方法為取 20 g 底泥加 10 倍蒸餾水振盪 (200 rpm) 1 小時, 離心後取澄清液, 並測其中所含水溶性氨-氮、亞硝酸-氮、硝酸-氮及磷酸-磷的濃度, 方法與測水樣相同, 濃度單位則以每 100 g 乾土中的含有量 (mg 或 μg) 表示。底泥中如果含有水分則直接測量 pH 值, 如係半濕狀態, 則取濕泥加入等量蒸餾水攪拌, 靜置 1 小時後測定。硫化物則在充滿氮氣的試管中, 加鹽酸使底泥中的硫化物變成硫化氫釋出, 並在另一收集管中加

入醋酸鋅使之產生硫化鋅沉澱, 再依上述測水樣的分析方法測硫化物及換算成硫化氫的濃度, 最後濃度單位係以每 100 g 乾土中含有的硫化氫濃度 (mg) 表示。COD 之測法係將 0.1 g 底泥加上 25 ml 的蒸餾水, 依上述測水樣的分析法測定, 濃度單位以每 1 g 乾土內有多少 mg 的 COD 表示之。水分含量則以烘箱烘乾的方式測定, 即將底泥烘乾後測水份的流失量。

(三) 好氣異營性細菌之鑑定及分析方法

稱取現場採集之底泥樣品 25 g, 加 250 ml 無菌水稀釋, 並以震盪器震盪 1 小時, 速度控制在 200 rpm/hr, 待樣品均質化後取上層液 1 ml, 以連續稀釋 10 倍的方式稀釋 5 次, 取每一稀釋倍數的稀釋液 0.1 ml, 分別滴在海洋瓊脂培養基 (Marine agar 2216; Difco) 上, 後以無菌 L 棒均勻塗抹, 置入 28°C 恆溫培養箱中培養三天, 計數出現的菌落數, 是為總生菌數。在菌落數出現為 25-250 個範圍內的培養皿上, 逢機取兩個菌落, 進行純化及種類鑑定。以 Biolog 自動鑑定系統中的 Non-clinical System 鑑定已純化之菌株至種或屬⁽¹⁰⁾, 無法利用該系統鑑定者, 則進行二十一項形態或生化反應試驗⁽⁴⁾, 並將結果參考 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology^(11,12)及 Textbook of Diagnostic Microbiology⁽¹³⁾, 將菌株鑑定至屬。

參考 Shannon & Weaver 之公式⁽¹⁴⁾ $DI = -\sum P_i \log_2 P_i$, 計算各月份之菌相歧異度指數。DI=歧異度指數, $P_i = N_i/N$, N_i =樣品中的第*i*種菌株的菌數, N 為樣品中的總菌數。

取外表正常或發生變紅症之活體草蝦各 10 尾, 剪開頭胸甲, 並以無菌白金耳穿刺肝胰臟後, 塗抹在 TCBS agar (Difco) 上。將上述培養基置放在 28°C 下培養 24 hr 後, 逢機取兩株菌株予以純化, 並以上述 Biolog Non-clinical System 鑑定菌株。

歧異度指數以 Microsoft Excel 7.0 版軟體⁽¹⁵⁾計算, 統計分析使用 Origin 3.01 版中之 One way ANOVA 軟體, 繪圖亦以同樣的軟體進行⁽¹⁶⁾。

二、結果

(一) 水質分析

A 及 B 池的平均水溫為 27.9°C 及 27.8°C，而 C 及 D 池均為 31.9°C (Table 1)，A 及 B 池的平均鹽度分別為 25.8 及 24.5‰，C 及 D 池則為 13.7 及 13.4‰。A、B、C 及 D 池的平均 pH 值分別為 8.7、8.5、7.9 及 8.5；A 及 B 池之池水在飼養初期的 pH 值較高 (8.6-9.8)，原因係施石灰所造成，不久後即下降至正常範圍。四口採樣池的平均溶氧量均在 5 mg/l 以上，其值分別為 6.7、5.7、5.4 及 6.1 mg/l。將所測得水樣的氨-氮濃度合併當時的水溫及 pH 值換算非離子化氨-氮 (NH₃-N) 的濃度^(17,18)，得 A、B、C 及 D 池非離子化氨-氮的平均值分別為 0.09、0.05、0.03 及 0.03 mg/l，兩地之池水 (A、B 池與 C、D 池) 中的非離子化氨-氮濃度有顯著性差異 ($P<0.05$)。A、B、C 及 D 四池的亞硝酸-氮平均濃度分別為 23.4、131.8、86.3 及 54.4 µg/l，硝酸-氮的平均濃度均相當低，A、B、C 及 D 池分別為 0.6、0.7、0.6 及 0.6 mg/l。COD 平均值分別為 11.6、11.3、7.9 及 11.9 mg/l；A、B 池與 C、D 池之差異不顯著 ($P>0.05$)，原因是 C 池在養殖前曾經整池並客新土之故。至於 COD 值則大都隨飼養時間的增加四口池均有上升的

趨勢，由 8 mg/l 增加到 14 mg/l。

四口池的磷酸-磷之含量亦相當低，A、B、C 及 D 池之平均值分別為 98.3、147.7、115.6 及 47.2 µg/l，磷元素在新池 (A、B) 與舊池 (C、D) 之間之水中濃度的差異不大。水中的 ORP 值均呈正值，四口池的水中幾乎沒有硫化物存在。

(二) 底質分析

四口養蝦池之底泥的 pH 值均為 7.5 左右 (Table 2)。底泥中的可溶性氨-氮，亞硝酸-氮，硝酸-氮及磷酸-磷的平均值，除 A 及 B 池的硝酸-氮為 1.4 及 2.5 mg/100 g (乾燥底泥) 外，其餘項目均在 0.5 mg/100 g 以下；而同一口池子的五個採樣點中，以中間點的數值較高 ($P<0.05$)。養殖期間四口養蝦池之底泥平均 COD 值以 C 池最高，有 5.6 mg/g (乾燥底泥)，A、B 及 D 池則分別為 3.0、2.9 及 2.9 mg/g；而各池的五個採樣點中均以中間點的 COD 值為最高，與四周的採樣點之間有顯著性差異 ($P<0.05$)。

Table 1. Analytical data of cultural pond water of grass prawn from Taitung (pond A and B) and I-Lan area (pond C and D).

Item	Taitung area (pond A and B)	I-Lan area (pond C and D)
Water temp. (°C)	27.9±3.6 ^{a*}	31.9±1.8 ^b
Salinity (‰)	25.1±1.3 ^a	13.5±2.4 ^b
D.O. (mg/l)	6.17±1.6 ^a	5.75±0.79 ^b
pH	8.6±0.6 ^a	8.22±0.4 ^b
ORP (mV)	86.94±58.2 ^a	90.38±33.5 ^a
NH ₄ ⁺ -N (mg/l)	0.38±0.6 ^a	0.26±0.3 ^b
NH ₃ -N (mg/l)	0.07±0.14 ^a	0.03±0.04 ^b
NO ₂ -N (µg/l)	77.6±174.4 ^a	70.4±59.2 ^a
NO ₃ -N (mg/l)	0.67±0.3 ^a	0.59±0.4 ^b
PO ₄ -P (µg/l)	123±124.1 ^a	81.4±107 ^a
H ₂ S (mg/l)	ND ^{**}	ND
C.O.D. (mg/l)	11.45±3.3 ^a	9.91±3.5 ^a

* : Mean ± standard deviation, the letters in the row represent significantly (a, b ; $p<0.05$) or insignificantly (aa or bb ; $p>0.05$) different.

ND: not detected.

Table 2. Analytical data of upper-layer sediments of grass prawn pond from Taitung (pond A and B) and I-Lan area (pond C and D).

Item	Taitung area	I-Lan area
pH	7.52±0.5 ^{a*}	7.52±0.3 ^b
ORP (mV)	-327.2±45.3 ^a	-175.1±109.9 ^b
NH ₄ ⁺ -N (mg/100g)	1.19±0.4 ^a	0.64±0.9 ^b
NH ₃ -N (mg/100g)	0.02±0.03 ^a	0.02±0.05 ^b
NO ₂ -N (ug/100g)	21.54±19.4 ^a	46.05±61.5 ^b
NO ₃ -N (mg/100g)	1.95±3.2 ^a	0.35±0.6 ^a
PO ₄ -P (ug/100g)	374.11±316.7 ^a	202.33±193.8 ^b
H ₂ S (mg/100g)	5.54±5.1 ^a	2.87±5.0 ^a
C.O.D. (mg/g)	2.95±1.6 ^a	4.27±2.9 ^b

* : Abbreviation referring to the footnote of Table 1.

A、B、C 及 D 池的平均 ORP 值分別為 -334.4、-320.0、-170.4 及 -179.8 mV，A、B 池之間及 C、D 池之間之差異並不顯著 ($P>0.05$)，但是新池 (A、B) 與舊池 (C、D) 之間的差異則十分顯著 ($P<0.05$)；雖然 C 及 D 池在飼養初期其 ORP 值較 A 及 B 池高，但飼養至後期時，其數值亦開始降低，尤以中間點最顯著。

各採樣池之底泥的硫化物濃度以當時底泥之 pH 值及溫度，換算成具有毒性的硫化氫時，A、B、C 及 D 池中乾燥底泥的平均硫化氫濃度分別為 4.5、6.6、3.6 及 2.2 mg/100 g，其中以 A、B 池較高。A、B 二池之表層底泥中的硫化氫濃度每個月的平均值之間並無顯著性差異 ($P>0.05$)，C、D 二池亦同。而兩地四口蝦池比較，並無顯著差異 ($P>0.05$)。同一池的五個採樣點中，又以中間點的數值最高，彼此有顯著性差異 ($P<0.05$)，此現象與上述所測得的 COD 值及 ORP 值一致。由以上的結果發現，A、B 二池的底質情況明顯的比 C、D 二池差，但是生產量卻比較高。

(三) 底泥好氣異營性細菌之數量變化

A 池之底泥表層每個月所含好氣異營性細菌的平

均數量介於 $7.2 \times 10^5 \sim 3.2 \times 10^6$ (cfu/g) 間，B 池所含的數量則介於 $2.8 \times 10^5 \sim 2.8 \times 10^6$ (cfu/g) 間；A、B 二池的總生菌數並無顯著性差異 ($P>0.05$)。C 池之底泥表層所含好氣異營性細菌數量介於 $1.2 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^6$ (cfu/g) 間，D 池的數量則介於 $1.2 \times 10^5 \sim 6.4 \times 10^6$ (cfu/g) 間，二池底泥中的總生菌數亦無顯著性差異 ($P>0.05$)。A 池五個底泥採樣點表層生菌數每月之平均值最高出現在六月，B 池則出現在四月，C 池出現在五月，D 池亦出現在五月；而四口池之生菌數之數量出現最少的月份都是在七月 (Fig. 1)。

雖然台東的兩口採樣池為新池，而宜蘭的兩口為舊池，但分析兩者之好氣異營性細菌的數量，並無顯著性差異 ($P>0.05$)。雖然分析底泥表層中的 COD 及 ORP 值，顯示池中央部份之污染比四周嚴重，但是比較池子四個角落表層底泥與池中央好氧性總生菌數，兩者的差異卻並不顯著 ($P>0.05$)。

(四) 好氣異營性細菌之種類組成

分析四口蝦池之底泥表層的好氣異營性細菌相組成，結果在總數 260 株的樣本中，除一株 (702203) 無法鑑定之外，其餘各株均可鑑定至屬。A 池分離出

來的六十株樣本菌株中，按分離出數量的多寡，排列如下：*Acinetobacter*（八株）、*Alcaligenes*（八株）、*Curtobacterium*（七株）、*Kingella*（七株）、*Lampropedia*（六株）等五個屬出現較多，而且並未出現致病性弧菌（Table 3）。B 池則以 *Alcaligenes*（七株）、*Curtobacterium*（七株）、*Acinetobacter*（五株）、*Clavibacter*（五株）及 *Kingella*（五株）等五個屬出現較多，並且在六十株樣本菌株中僅發現一株弧菌，佔 1.66%（Table 3）。C 池中分離出來的七十株

樣本菌株中以 *Alcaligenes*（十一株）、*Kingella*（七株）、*Curtobacterium*（六株）及 *Xanthomonas*（五株）等四屬出現較多，並且在七十株樣本菌株中發現兩株弧菌，佔 2.85%（Table 4）。D 池中分離出來的七十株樣本菌株中以 *Acinetobacter*（八株）、*Kingella*（八株）、*Pseudomonas*（八株）、*Alcaligenes*（六株）、*Clavibacter*（六株）、*Curtobacterium*（七株）及 *Xanthomonas*（六株）等七屬出現較頻繁，但並沒有發現弧菌（Table 4）。

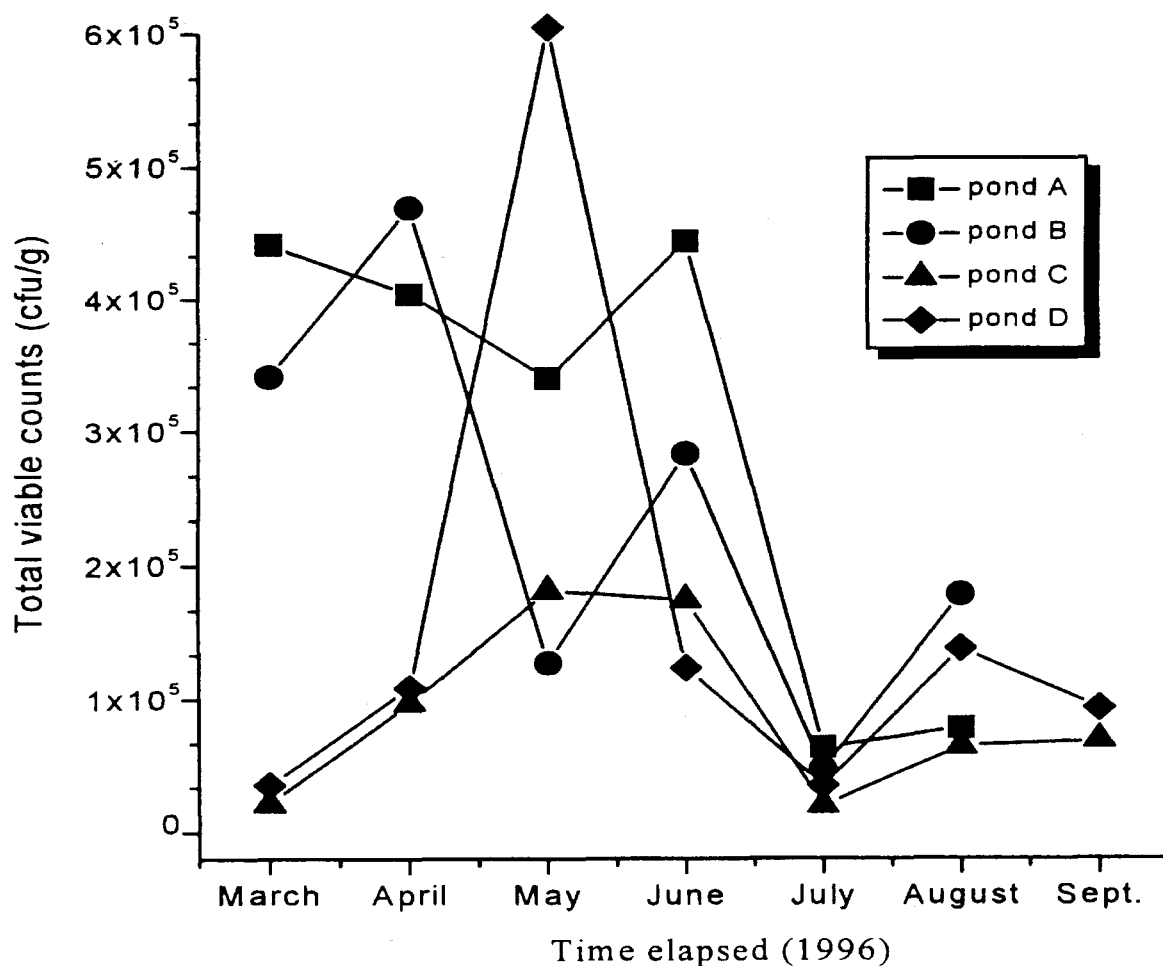


Fig. 1. Monthly variation of average total viable counts from the upper-layer sediment of four grass prawn ponds.

Table 3. Monthly distribution and rate of bacteria isolation from the upper-layer sediment of grass prawn pond A and B.

Pond	Genus of bacteria	No. of bacteria isolated						rate(%)*
		March	April	May	June	July	August	
A	<i>Acinetobacter</i>	4	2	2	-**	-	-	13.33
	<i>Alcaligenes</i>	1	3	1	1	-	2	13.33
	<i>Curtobacterium</i>	-	2	2	2	-	1	11.66
	<i>Kingella</i>	1	-	-	1	3	2	11.66
	<i>Lamporpedia</i>	-	1	2	-	1	1	8.33
	<i>Vibrio</i>	-	-	-	-	-	-	0
B	<i>Alcaligenes</i>	2	2	1	-	1	1	11.66
	<i>Curtobacterium</i>	-	4	2	-	1	1	11.66
	<i>Acinetobacter</i>	-	-	-	2	2	-	8.33
	<i>Clavibacter</i>	-	2	1	-	1	1	8.33
	<i>Kingella</i>	1	-	2	-	1	2	8.33
	<i>Vibrio</i>	-	-	1	-	-	-	1.66

*Total isolates=60; **No isolated.

Table 4. Monthly distribution and rate of bacteria isolation from the upper-layer sediment of grass prawn pond C and D.

Pond	Genus of bacteria	No. of bacteria isolated							rate(%)*
		March	April	May	June	July	August	Sept.	
C	<i>Alcaligenes</i>	1	1	-**	2	4	3	3	15.71
	<i>Kingella</i>	-	1	2	1	1	-	2	10
	<i>Curtobacterium</i>	-	-	2	-	-	3	1	8.57
	<i>Xanthomonas</i>	-	2	1	1	-	1	-	7.14
	<i>Vibrio</i>	-	1	-	-	-	1	-	2.85
D	<i>Kingella</i>	-	-	-	2	4	-	2	11.42
	<i>Acinetobacter</i>	2	-	1	1	1	-	3	11.42
	<i>Alcaligenes</i>	1	2	2	-	-	-	1	6
	<i>Pseudomonas</i>	3	-	3	1	-	1	-	11.42
	<i>Clavibacter</i>	-	4	-	-	-	-	2	8.57
	<i>Curtobacterium</i>	1	1	-	-	2	1	2	10
	<i>Xanthomonas</i>	1	-	2	1	-	2	-	8.57
	<i>Vibrio</i>	-	-	-	-	-	-	-	0

*Total isolates=70; **No isolated.

(五) 底泥菌相的歧異度

A 池底泥菌相的歧異度指數最高值出現在六月 (DI=2.93)，最低出現在七月 (DI=2.2)；B 池的最高值出現在做水期間的三月 (DI=2.91) 及養殖末期的七月 (DI=2.66)、八月 (DI=2.76)，最低值則出現於養殖初期的四月 (DI=1.84) 及中期的六月 (DI=1.84)。C 池底泥的歧異度指數最高值出現在四月 (DI=2.78)，最低則出現在七月 (DI=1.32)；D 池

的最高值出現在養殖中期的六月 (DI=2.68)，最低值則出現於養殖中期的五月 (DI=1.98; Fig. 2)。各池之底泥菌相的平均歧異度分別為：A： 2.49 ± 0.323 ，B： 2.41 ± 0.463 ，C： 2.28 ± 0.52 及 D： 2.23 ± 0.28 。B 池因為放養密度略高，自放養初期至末期水色一直呈淡褐色或褐色，而且池水表面經常浮現死亡的藻類，該池菌相的歧異度指數曾降至 1.84。即使如此，業者平日勤以換水、撈除死藻、控制投餌量等作好池塘管理以利控制水質。

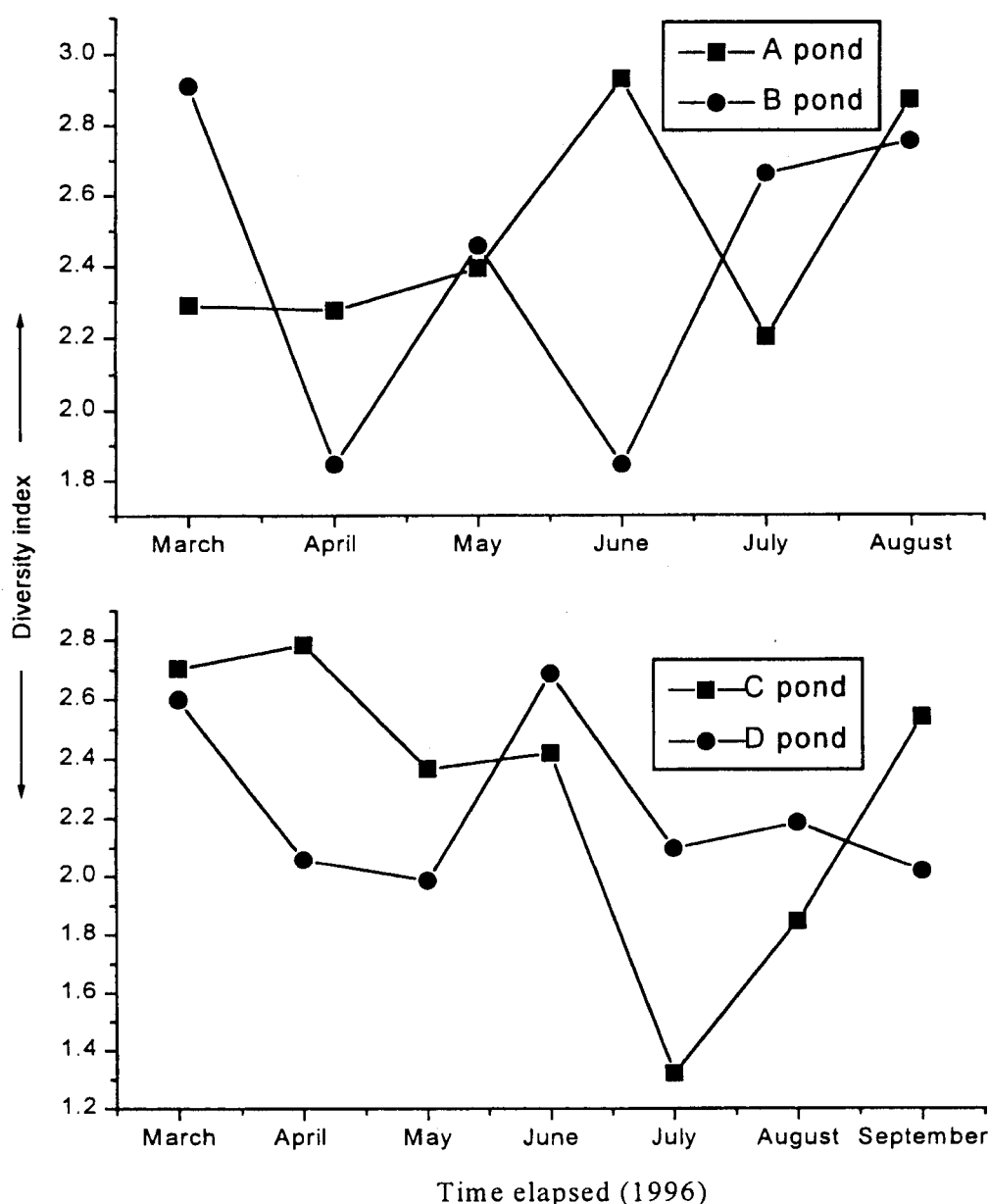


Fig. 2. Temporal variation of diversity index of bacterial genera isolated from the upper-layer sediment of four grass prawn ponds.

當 C 池及 D 池之草蝦產生病變時，該二池之菌相的歧異度指數雖然有變化，但是卻不能據以判定池蝦是否會罹病，因為前者之底泥表層的菌相中並未發現有優勢的病原性弧菌，而後者甚至分離不出弧菌（如 D 池）。

(六) 病蝦肝胰臟內細菌相

由於 C 及 D 池的池蝦在氣候突變後發病，並有大量死亡的現象發生，病蝦體表並未出現白點病毒具

有的特徵，但是有變紅的現象。本試驗選擇 C 池，以篩選弧菌的 TCBS 培養基 (Difco) 分離及鑑定正常的池蝦及出現變紅症的病蝦肝胰臟內的菌相，結果發現產生變紅症的病蝦肝胰臟內的細菌種類中有一半以上為弧菌，而從正常體色的池蝦肝胰臟分離出來的弧菌僅佔 1/4 (Table 5)。這些弧菌的種類與近年來感染對蝦類的弧菌相同，如溶藻弧菌 *V. alginolyticus*、副溶血弧菌 *V. parahaemolyticus*、哈維氏弧菌 *V. harveyi*、瘡傷弧菌 *V. vulnificus* 及 *V. damsela* 等。

Table 5. Results of bacteria isolated from hepatopancreas of diseased and healthy grass prawn of pond C.

Bacterial identification	No. of bacteria isolated	
	Diseased prawn	Healthy prawn
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4	0
<i>V. alginolyticus</i>	2	3
<i>V. vulnificus</i>	1	1
<i>V. carchariae</i>	2	0
<i>V. harveyi</i>	1	0
<i>V. damsela</i>	0	1
<i>V. minicus</i>	1	0
<i>Alcaligenes latus</i>	2	2
<i>Acinetobacter radioresistens</i> / <i>genospecies 12</i>	1	0
<i>Aeromonas DNA II</i>	0	1
Miscellaneous	6	12
Total bacterial isolates	20	20

三、討論

A、B、C 及 D 池的平均水溫、鹽度及 pH 值，均在草蝦生存的適宜範圍內⁽¹⁹⁻²⁵⁾。四口採樣池的平均溶氧量及所測得水樣的非離子化氨氮的平均濃度均在草蝦生長的安全範圍以內^(19,20,26-29)；亞硝酸-氮平均濃度亦在草蝦幼蝦生存的安全濃度範圍內⁽²⁹⁾。平均硝酸-氮的濃度亦均相當低，對池蝦均無不良影響⁽³⁰⁾。至於 COD 值雖然大都隨飼養週數的增加而有上升的趨勢，約從 8 mg/l 增加到 14 mg/l，但在此一範圍比一

般的草蝦、斑節蝦、紅尾蝦池之底泥中所測得的濃度還要低⁽³¹⁾。

磷酸-磷在四口池的水中之含量亦相當低，由於磷酸鹽為蝦池中各種浮游植物生長不可或缺的元素，其濃度隨藻類的消長及底泥中釋放出來的磷離子之量而有變化⁽³²⁾，因此較不規則，而磷元素在新池 (A、B) 與舊池 (C、D) 之間之水中濃度的差異不大。水中的 ORP 值均呈正值，四口池又檢測不出硫化物，因此由水質分析結果並不足以判斷養殖池水與池蝦疾病之間有否關聯。

四口蝦池之底泥的 pH 值並無明顯差異，此與各地

之養蝦池所測得的結果類似^(33,34)。四口池之底泥中的可溶性氨-氮，亞硝酸-氮，硝酸-氮及磷酸-磷濃度的平均值都非常低；新池（A、B）之底泥的 ORP 值明顯的比舊池（C、D）者低，而且在飼養初期就降至 -300 mV 左右。本次分析發現，在高密度養殖的條件下，新池與舊池的 ORP 值都非常低，新池由於放養密度高、投飼量多，底質污染的程度比舊池來得嚴重。斑節蝦池如係鹽田改建，或其中長滿石蓴無法清除者，其底泥各點的 ORP 值都非常低，後者可低至 -460 mV；反之，假如曾經鋪設以新砂者，底泥的 ORP 值一般都會在正值⁽³⁵⁾，因此底泥中有機質的多寡與底泥的 ORP 值有密切的關係。可是本次發現，底質 ORP 值低的蝦池，不僅未罹病，而且產量正常。通常在有氧的狀況下，水及淤泥的 ORP 值約在 +0.4 至 +0.7 V 之間，然而在無氧狀況下，淤泥的 ORP 值則低至 -0.3 V⁽³⁶⁾，此值與本次所測淤泥的 ORP 值相符合。底泥表面如果呈現厭氧狀態，就會對池蝦產生傷害，但是只要水中的溶氧量足夠，底泥與水的界面（Interface）很少會發生還原狀態，相對會減輕對池蝦的傷害⁽³⁶⁾。

A、B、C 及 D 池之底泥中之硫化氫的平均濃度以 A、B 池較高，因該二池的飼養密度較高，投飼量大之故；C 及 D 池在放養蝦苗（六月）前之底泥中的硫化氫濃度頗高，顯示收穫後的蝦池之處理不善。A、B 二池之表層底泥中的硫化氫濃度每個月的平均值之間並無顯著性差異（ $P>0.05$ ），C、D 二池亦同。飼養至中期以後，各池之底泥的硫化氫含量才開始上升，一方面是形成厭氧條件需要花費較長的時間，另一方面由於厭氧菌成長較慢之故。當 ORP 值降至 0~-190 mV 時，理論上就會產生硫化氫⁽³³⁾；本次所測得底質的 ORP 值非常低，表示底泥經常處於還原狀態，因此底泥中之硫化氫的含量很高，但是溶解進入水體中之硫化物的濃度卻非常低，甚至無法測得，因為水中的溶氧量充足之故，也因此對池蝦並無影響⁽³⁶⁾。

本次同時發現，因為底質較差的蝦池之產量卻遠遠地高出很多（各池收穫量如下：A 池：1,200 kg/0.1 ha，B 池：900 kg/0.1 ha，C 池：45 kg/0.1 ha，D 池：282 kg/0.1 ha），所以實在無法單以底質的好壞判斷池蝦是否會罹病及影響產量。

雖然台東與宜蘭兩地的採樣池之池底性質並不相同，但是兩者好氣異營性細菌的數量，並無顯著性差異。因此，池底表層底泥所含的生菌數不會因為養殖池的新舊或池底的材料為砂底、泥底及晒池時間的長

短而有差異。雖然分析底泥表層中的 COD 及 ORP 值，結果顯示池中央部份污染比四周嚴重，但是比較池子四個角落之表層底泥與池中央的好氧性總生菌數，兩者之間之差異並不顯著。

發生蝦病的養殖斑節蝦池中，底泥表面的生菌數（ 10^4 cfu/g）比砂質底表面高（ 10^3 cfu/g），其中仍以病原性弧菌為優勢種⁽⁴⁾。而在印度半集約養殖的印度蝦 *Fenneropenaeus indicus*，池中之底泥表層所含的總生菌數有 $1.82 \times 10^6 \sim 4.72 \times 10^6$ (cfu/g)，其中亦以弧菌為優勢種⁽³⁷⁾。因此，池蝦不能以蝦池內生菌數的多寡作為是否會發病的準繩，應以是否受到病原性弧菌感染的程度而定。

養蝦池之水中可以分離到的代謝不活潑菌（除上述兩株外，尚包括 *Flavobacterium*、*Moraxella*、*Neisseria* 等），常佔總菌數的 70% 以上，但肝胰臟中則無法分離⁽⁷⁾；本次則發現底泥表層的好氣異營性細菌中，以代謝活潑型菌株佔優勢。B 池及 C 池都曾出現少量的弧菌，其餘採樣池則未出現，因此，弧菌在兩地的蝦池中並非優勢種。在已經發生大量死亡的蝦池中，底泥表層內的菌相以病原性弧菌為優勢種，而且水中的情況與底泥相同⁽⁴⁾；海洋中的弧菌係一種常態菌，廣泛的分布在沿岸營養鹽豐富的地方及大洋表面⁽³⁸⁾。

種歧異度指數是反應族群構造的指標之一，當族群中種的個體數多而種類少時，表示水質受到污染、水質不良；反之，種類多而數量少時，水質狀況良好⁽³⁹⁾。例如在嚴重污染的水域，此值小於 1.0，如屬中度污染水域，此值則在 1.0~3.0，在無污染水域，此值則大於 3.0；台灣北部及南部地區各養殖池之浮游動物之平均種歧異度指數均小於 1.0，屬水質差、嚴重污染之水體⁽⁴⁰⁾。當蝦池發生病變或養殖成績不佳時，藻類的歧異度普遍都會降低，反之歧異度高於 2.0 的蝦池，養殖成績都比較理想⁽⁴¹⁾。按照上述標準⁽⁴⁰⁾，本次調查的四口蝦池的底泥均屬中度污染，彼等菌相的歧異度在 2.23-2.49 之間，可是產生病變的蝦池，其底泥表層的菌相中並未發現有優勢的病原性弧菌。

由於水中的動、植物浮游生物的體表或體內均可附著某些特殊的細菌，如在墨西哥沿岸培養矽藻 *Skeletonema costatum* 時，由矽藻體表可分離出數種細菌，如弧菌 *Vibrio* spp. 及氣單胞菌 *Aeromonas* sp.⁽⁴²⁾；單獨培養鞭毛藻類時藻類的成長效果差；反之，培養液中添加兩種細菌則可提高成長率⁽⁴³⁾；海洋中的動、植物浮游生物附著的菌相有 70% 是弧菌及

氣單胞菌, 並且其中有 45% 與海水中存在的相同⁽⁴⁴⁾; 冰島北部海灣中的動物性浮游生物體內的菌相與海灣中的相同, 而且數量十分穩定⁽⁴⁵⁾。因此海水中的動、植物浮游生物可以附著不同的細菌, 而這些細菌相的歧異度如果改變, 就表示細菌相已經開始轉變。假設池蝦罹病是因為天候突變造成倒藻所引起, 死亡的動、植物浮游生物必將沉底、腐敗, 此時原先附著在這些浮游生物體表的弧菌必定會大量繁殖, 底泥表層將會因此而可分離出佔優勢的弧菌。可是本次發現產生病變的 C、D 二池之底泥表層之弧菌出現的比例不高, 並非優勢種, 而且也有分離不出弧菌者(如 D 池)。

分析產生變紅症的草蝦肝胰臟中的病原性弧菌, 發現這些弧菌的種類與近年來感染對蝦類的弧菌相同, 如溶藻弧菌 *V. alginolyticus*、副溶血弧菌 *V. parahaemolyticus*、哈維氏弧菌 *V. harveyi*、瘡傷弧菌 *V. vulnificus* 及 *V. damsela* 等。

四、結 論

雖然在分析水質及底質條件下, 無法找出 C、D 二池池蝦罹病的原因, 但是由病蝦體內分離出許多病原性弧菌, 與前人研究的結果對照有相同的情形, 如: 草蝦及斑節蝦的疾病中以弧菌的感染最為嚴重, 常造成罹病池蝦之大量死亡; 又如: *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* 及 *V. fischeri* 在過去十年間均對斑節蝦養殖造成極為嚴重的打擊, 有時死亡率可高達 100%; 其他的弧菌種類如 *V. anguillarum*、*V. damsela* 也是對蝦類的主要致病的病原菌^(4-6,35,46-55)。三種病原性弧菌以肌肉注射後對斑節蝦造成的死亡率隨劑量及暴露時間的增加可以達到百分之百, 而毒性大小依序為 *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* 及 *V. anguillarum*⁽⁵⁶⁾。前述印度蝦養殖池在飼養的中、後期, 無論是池水、底泥, 蝦體的樣本中, 均以弧菌為優勢種⁽³⁷⁾; 及由感染蝦病的斑節蝦之池表層泥底中分離出來的細菌, 亦以病原性弧菌為優勢種⁽⁴⁾。既然 C、D 二池水中及底土中的弧菌量並不高, 但體內的弧菌量卻偏高, 而據前人研究, 蝦苗繁殖場使用的種蝦或繁殖出來的蝦苗均遭病原性弧菌嚴重感染^(35,47,48,56,57), 因此, 病蝦體內的弧菌有可能來自於蝦苗繁殖場。

五、謝 辭

本文承屏東科技大學獸醫系董明澄教授細心斧正, 宜蘭縣蘇朝聰及台東縣陳晉賢兩位蝦農熱心提供試驗場所, 並協助採集樣本, 作者等在此均表最誠摯的謝意。

六、參考文獻

1. 廖一久, 黃丁郎, 勝谷邦夫 (1969) 草蝦人工繁殖試驗. 農復會漁業叢書, 8: 67-71.
2. 趙維良, 宋宏紅, 林秀枝 (1991) 蝦類養殖環境中細菌相之調查. 蝦類養殖池環境調查及改善研究. 農委會漁業特刊, 28: 103-122.
3. 黃文瑛, 王毓秀 (1991) 屏東地區蝦池水細菌相之調查研究. 蝦類養殖池環境調查及改善研究. 農委會漁業特刊, 28: 285-326.
4. 劉文御, 郭光雄, 陳秀男 (1995) 台灣養殖蝦類疾病調查. 中華微免雜誌, 28(1): 59-69.
5. Rheinheimer, G. (1985) Aquatic microbiology. John Wiley & Sons Ltd, 257 pp.
6. Chen, S. N., S. L. Huang and G. H. Kou (1992) Studies on the epizootiology and pathogenicity of bacterial infections in cultured giant tiger prawns, *Penaeus monodon*, in Taiwan. In Diseases of cultured shrimp in Asia and the United States, (Fulks and Main eds.). The Oceanic Institute, Honolulu Hawaii, 195-205.
7. 張錦宜 (1991) 草蝦 (*Penaeus monodon*), 大正蝦 (*Penaeus chinensis*) 養殖池水及蝦肝胰臟內細菌之數值分類研究. 國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文, 109 pp.
8. Greenberg, A. E., L. S. Clesseri and A. D. Eaton (1992) Standard methods for examination of water and wastewater. American Public Health Association, NW, Washington D.C., USA.
9. 陳建初 (1983) 水質分析. 九大圖書公司, 台北, 台灣, 276pp.
10. Biolog Inc., 3938 Trust Way, Hayward, C. A. 94545, USA.
11. Krieg, N. R. (1984) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.(1). Holt J. G (Editor-in-Chief), Williams & Wilkins, M. D., USA, 71-598.
12. Sneath, P. H. A., N. S. Mair and M. E. Sharpe (1986) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology,

- Vol. (2). Holt, J. G. (Editor-in-Chief), Williams & Wilkins, M. D., USA, 999-1100.
13. Koneman, E. W., S. D. Allen, V. R. Dowell, W. M. Janda, H. M. Sommers and W. C. Winn (1988) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (3rd ed.). J. B. Lippincott Company, Philadelphia, U. S. A., 89-353.
14. Brewer, R., (1979) Principles of ecology. W. B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 168-169.
15. Microsoft Excel for Windows Version 7.0 (中文版) (1995) W. A., USA.
16. MicroCal Origin Version 3.01, (1991-1993) MicroCal Software, Inc. One Roundhouse, Northampton, M. A., USA.
17. Whitfield, M. (1974) The hydrolysis of ammonium ions in sea water - a theoretical study. J. Mar. Biol. Ass. U. K., **54**: 565-580.
18. Whitfield, M. (1978) The hydrolysis of ammonium ions in sea water - experimental confirmation of predicted constants at one atmosphere pressure. J. Mar. Biol. Ass. U. K., **58**: 781-787.
19. Sunndararajan, D., S. Victor Chandra and V. Venkatesan (1979) Monoculture of tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius, in a brackishwater pond at Madras, India. Aquaculture, **16**: 73-75.
20. Chen, J. C., P. C. Liu and Y. S. Lin (1989) Culture of *Penaeus monodon* in a intensified system in Taiwan. Aquaculture, **77**: 319-328.
21. Maguire, G. B. and G. L. Allan (1992) Effects of temperature on growth, food consumption and food conversion of *Penaeus monodon*, *Penaeus plebejus* and *Metapenaeus macleayi*. In Proceedings of the Aquaculture Nutrition Workshop, (Allan G. L and W. Dall eds.). Tasmania Univ. Natl. Key Cent. Teaching and Res. Aquacult., Launceston Tas. 7250, Australia. Salamander Bay, N. S. W. Australia, N. S. W. Fisheries, 97-99.
22. Navas, K. A. and M. J. Sebastian (1989) Effect of low salinities on the survival and growth of *Penaeus monodon* (Fabricius). Indian J. Fish., **36**(3): 257-261.
23. Chen, J. C. and T. C. Wang (1990) Culture of tiger shrimp and red-tailed shrimp in a semi-static system. The second Asia Fisheries Forum, (R. Hirano and I. Hanyu eds.). In Proceeding of the Second Asian Fisheries Forum, Tokyo, Japan, 17-22 April, 1989. 77-80.
24. Chen, J. C. and T. S. Chin (1989) Effect of ammonia at different pH levels on *Penaeus monodon* postlarvae. Asian Fish. Sci., **2**: 233-238.
25. Noor-Hamid, S., R. D. Fortes and F. Parado-Estapa (1994) Effect of pH and ammonia on survival and growth of the early larval stages of *Penaeus monodon* Fabricius. Aquaculture, **125**: 67-72.
26. Liao, I. C. and T. Murai (1986) Effects of dissolved oxygen, temperature and salinity on the oxygen consumption of the grass shrimp, *Penaeus monodon*. In Proceedings of the First Asian Fisheries Forum, (J. L. Maclean, L. B. Dizon, and L. V. Hosillos eds.). Manila, Philippines, 26-31, May, 1986, 641-646.
27. Allan, G. L. and G. B. Maguire (1991) Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. Aquaculture, **94**: 27-37.
28. Allan, G. L., G. B. Maguire and S. J. Hopkins (1990) Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. Aquaculture, **91**: 265-280.
29. Chen, J. C., P. C. Liu and S. C. Lei (1990) Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. Aquaculture, **89**: 127-137.
30. Muir, P. R., D. C. Sutton and L. Owens (1991) Nitrate toxicity to *Penaeus monodon* protozoa. Mar. Biol., **108**: 67-71.
31. 陳瑤湖 (1989) 宜蘭地區草蝦、斑節蝦、紅尾蝦池底質化學之研究。養殖環境改善及魚類異味之防止與去除研究 (二), 養殖環境及魚類異味改善研討會論文集。農委會漁業特刊, **16**: 257-275.
32. Boyd, C. E. (1995) Bottom soils, sediment and pond aquaculture. Chapman and Hale Book Co., 115 Fifth Avenue, New York, NY 10003, 87-94.
33. 楊秋忠, 高又新, 陳仁傑, 陳立夫 (1991) 養蝦池底泥有機物質之研究。農委會漁業特刊, 蝦池環境研究與改善研討會論文集, **28**: 187-225.

34. Rajyalakshmi, T., A. N. Mohanty, P. Ravichandran and S. M. Pillai (1988) The soil and water characteristics of confined brackishwater ponds of Chilka Lake fringe area. *In* Proceedings of the First Indian Fisheries Forum, (M. M. Joseph ed.). 4-8, Dec., 1987, Mangalore, Karnataka, 125-128.
35. Shiguino, K. (1975) Shrimp culture in Japan. Association for International Technical Promotion Tokyo, Japan, 153 pp.
36. Boyd, C. E. (1992) Shrimp pond bottom soil and sediment management. *In* Proceeding of the Special Session on Shrimp Farming, (J. Wyban ed.). World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, U. S. A., 166-181.
37. Sharmila, R., T. J. Abraham and V. Sundararaj (1996) Bacterial flora of semi-intensive pond-reared *Penaeus indicus* (H. Milne Edwards) and the environment, *J. Aquacult. Trop.*, **11**(3): 193-203.
38. Sugahara, I., C. L. Lian and K. H. Kok (1984) Heterotrophic bacterial population in tropical coastal waters. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**(8): 1385-1393.
39. Wilhm, J. L. and T. C. Dorris (1968) Biological parameters for water quality criteria. *BioScience*, **18**: 477-481.
40. 張文炳, 吳鳳麗, 吳金祥, 雷淇祥 (1991) 台灣養蝦池浮游動物相之研究. 蝦池環境研究與改善研討會論文集, 農委會漁業特刊, **28**: 53-76.
41. 吳俊宗, 陸彥妙 (1991) 台灣北部和西南部蝦池藻類和水環境品質的關係. 蝦池環境研究與改善研討會論文集, 農委會漁業特刊, **28**: 27-52.
42. Rico-Mora, R. and D. Voltolina (1995) Effects of bacterial isolates from *Skeletonema costatum* cultures on the survival of *Artemia franciscana* nauplii. *J. Invertebr. Pathol.*, **66**(2): 203-204.
43. Canizares-Villanueva, R. O. and C. Ontiveros-Arredondo (1993) Kinetics of a mixture culture of the marine microalgae *Tetraselmis chuii* and two bacteria species. *Rev. Invest. Mar.*, **14**(1): 86-91.
44. Simidu, U., K. Ashino and E. Kaneko (1971) Bacterial flora of phyto- and zooplankton in the inshore water of Japan. *Can. J. Microbiol.*, **17**: 1157-1160.
45. Bjørnsdottir, R., S. Gunnarsdottir and A. Eyborsdottir (1994) The bacterial flora of zooplankton and ambient seawater in Eyjafjörður, North Iceland. *In* International Symposium on Aquatic Animal Health, Program and Abstracts. The School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, C.A., U. S. A., 35 pp.
46. 陳秀男, 張朴性, 郭光雄 (1991) 台灣養殖斑節蝦之疾病調查. 蝦池環境研究與改善研討會論文集, 農委會漁業特刊, **28**: 123-132.
47. Pitogo, C. L. (1988) Isolation and identification of luminous bacteria causing mortalities in *Penaeus monodon* hatcheries in Panay. *SEAFDEC, Asian Aquacult.*, **5**: 9.
48. Pitogo, C. L., M. C. L. Baticados, E. R. Crus-Lacierda and L. D. De la Pena (1990) Occurrence of luminous bacterial disease of *Penaeus monodon* larvae in Philippines. *Aquaculture*, **91**: 1-13.
49. Boemare, N., F. Cousserans and J. R. Bonami (1978) Epizootie 'a' Vibrionaceae dans les 'elevages' decrevettes Penaeidae. *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, **10**: 227-238.
50. Takahashi, Y., T. Itami, A. Nakagawa, H. Nishimura and T. Abe (1985) Effects of oxytetracycline trial tablets against vibriosis in cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus* Bate. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**: 1639-1643.
51. Sakata, T. and N. Taruno (1987) Ecology studies on microflora in the digestive tract of prawns *Penaeus japonicus* -- I & II. *Suisanzoshoku*, **35**: 147-160.
52. Sindermann, C. J. (1990) Principal Diseases of Marine Fish and Shell-Fish, Academic Press, Inc., 41-70.
53. Lighter, D. V. (1977) Vibrio disease of shrimp. *In* Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture, (C. J. Sindermann ed.). Vol. 6, Elsevier, New York, 19-51.
54. Liao, I. C., M. S. Su and C. F. Chang (1992) Diseases of *Penaeus monodon* in Taiwan: a review from 1977-1991. *In* Diseases of cultured shrimp in Asia and the United States, (Fulks and Main eds.). The Oceanic Institute, Honolulu Hawaii, 113-137.
55. Song, Y. L., W. Cheng and C. H. Wang (1993) Isolation and characterization of *Vibrio damsela* infections for cultured shrimp in Taiwan. *J. Invert. Pathol.*, **61**: 24-31.
56. Vera, P., J. I. Navas and M. C. Quintero (1992)

Experimental study of the virulence of three species of *Vibrio* bacteria in *Penaeus japonicus* (Bate 1881) juveniles. *Aquaculture*, **107**: 119-123.

57. 劉文御, 陳秀男, 郭光雄 (1994) 草蝦 *Penaeus monodon* 繁殖場異營性細菌相之研究. 農委會漁業特刊, 魚病研究專集, 15: 1-20.

Wen-Yu Liu¹, Mei-Ying Huang¹ and I Chiu Liao²

¹Department of Aquaculture, Taiwan Fisheries
Research Institute.

²Taiwan Fisheries Research Institute.

(Accepted 12 June 1998)



The Relationship Between Rearing Condition and Bacterial Disease Infection of Grass Prawn *Penaeus monodon* in Taiwan

Abstract

The physico-chemical characteristics of water quality, upper-layer sediment, and bacterial aspects of four grass prawn (*Penaeus monodon*) ponds, which are located in the Taitung area of eastern Taiwan (A and B ponds) and the I-Lan area of north-east Taiwan (C and D ponds), were studied. The water temperature (°C), dissolved oxygen (DO), pH value, salinity and concentration of chemical oxygen demand (COD), un-ionic ammonia (NH₃-N), nitrite (NO₂-N), nitrate (NO₃-N), hydrogen sulfide (H₂S) and redox potential (ORP) were selected for analysis. Water temperature ranged from 27.9 to 31.9 °C and pH value from 7.9 to 8.7. Salinity was from 13.4 to 25.8‰ and DO was over 5 mg/l. The nitrogen wastes in the culture water were NH₃-N (0.03 to 0.09 mg/l), NO₂-N (23.4 to 131.8 µg/l) and NO₃-N (0.6-0.7 mg/l). In general, the normal growth of cultured shrimp might not be influenced by culture water, in accordance with published reports of previous studies.

The physico-chemical properties of upper-layer sediment were determined by pH value, the concentration of soluble nitrogen substance (ammonia-N, nitrite-N, nitrate-N), orthophosphate-P and ORP value. The average pH value was 7.5, which is suitable for raising shrimp, and the concentrations of soluble ammonia-N, nitrite-N, nitrate-N, orthophosphate-P were at low safe levels. The ORP values in A and B ponds were -334 mV and -320 mV respectively, compared to -170 mV and -180 mV in C and D ponds. The ORP values were significantly different ($P < 0.05$) between the two areas. The H₂S level in upper-layer sediment was higher than in the water, but there was no significant difference among the four investigated ponds ($P > 0.05$). The higher shrimp yield was obtained in A and B ponds (1,200 kg and 900 kg/0.1 ha), although their upper-layer sediment was more seriously contaminated as indicated by the lower ORP value.

Average total viable bacterial counts of upper-layer sediment ranged from 7.2×10^5 to 3.2×10^6 cfu/g in A pond, and 2.8×10^5 to 2.8×10^6 cfu/g in B pond. The amount of 1.2×10^5 to 1.9×10^6 cfu/g and 1.2×10^5 to 6.4×10^6 cfu/g revealed in C pond and D pond, respectively. The bacterial counts in the sediment between two ponds of each area were neither significantly different ($P > 0.05$) nor among the four ponds in the two areas. Some predominantly aerobic heterotrophic bacterial genera, including *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Curtobacterium*, *Kingella*, and *Pseudomonas*, were isolated and identified from the upper-layer sediment in the four ponds. Very low rate of *vibrio* was found in A (0%) and B ponds (1.66%) or in C (2.85%) and D ponds (0%), as detected from 60 samples and from 70 samples, respectively. The diversity index (DI) ranged from 2.2 to 2.93 and 1.84 to 2.91 in A and B ponds, and from 1.32 to 2.78 and 1.98 to 2.68 in C and D ponds. A major finding was that the higher production could be obtained from high DI level ponds (A, B) compared with less affected ponds (C, D).

Red disease had broken out in the lower level production ponds (C: 45 kg and D: 282 kg/0.1 ha.) causing mass mortality to the cultivated shrimp. Bacterial pathogens were isolated and identified from the hepatopancreas of reddish shrimp, including a large quantity of vibriosis pathogens (over 50%), of which *Vibrio alginolyticus*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* formed the dominant species. In the normal shrimp, the quantity of vibrio species was only 25%.

Consequently, water and upper-layer sediment quality was not a sufficient proof to estimate the survival conditions of pond shrimp in association with the vibrio species. This species rarely existed in upper-layer sediment but it could be isolated from the moribund shrimp during the culture period. On the other hand, those pathogens may have originated either from the broodstock possibly acting as vectors or from some unqualified hatcheries.

Key words: Grass prawn *Penaeus monodon*, Rearing condition, Bacterial disease