



SPF 泰國蝦種原篩選及幼苗培育技術建立

蘇皇銘、利淑如、楊明樺、吳豐成

水產試驗所東港生技研究中心

前言

羅氏沼蝦 (*Macrobrachium rosenbergii*) 俗稱淡水長臂大蝦或泰國蝦，是淡水蝦類沼蝦屬 (*Macrobrachium*) 中最具養殖經濟價值的蝦種，亦是體型較大的淡水蝦之一，其分布相當廣泛，從亞熱帶到熱帶地區都有牠的蹤跡。泰國蝦在臺灣的養殖歷史可追溯自1970年7月，由服務於聯合國糧農組織之林紹文博士引進，並由本所東港分所 (今之東港生技研究中心) 於翌年10月人工繁殖成功，隨即開始推廣養殖而成為臺灣重要養殖蝦種之一 (鄭, 2005)，近年來國內養殖年產量約維持在7千公噸上下，年產值約20億元。

養殖泰國蝦曾罹患過多種疾病，例如1992年冬季起爆發酵母菌症 (徐, 1994)，夏季則是遭受乳酸球菌 (*Lactococcus garvieae*) 侵襲，導致產量下降，究其原因是放養密度過高與養殖環境水質不良所致 (Cheng and Chen, 1998a; 1998b)。在蝦苗孵化場中的後期蝦苗因感染泰國蝦諾達病毒 (*Macrobrachium rosenbergii* nodavirus, MrNV, 俗稱白尾症) 而引發大量蝦苗死亡 (董, 1997; Arcier et al., 1999)。其餘病原還包括傳染性皮下及造血組織壞死病毒 (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, IHNV)，皆使泰國蝦產業受到嚴重衝擊，今年又發生十足目虹彩病毒 (decapod iridescent virus 1, DIV1)

等。為了提高泰國蝦育苗及成蝦養殖活存率和產量，須從種蝦開始篩選無上述病原的種苗培育，全程在無特定病原 (specific pathogen free, SPF) 的環境下養成，並建立 SPF 泰國蝦種原庫。此外，應陸續從國內外蒐集優良種原與進行遺傳選育，以確保國內優質種原供應無虞，養殖過程中則需積極配合各項防疫作為，才能避免泰國蝦產業遭受疾病的威脅。

材料與方法

本研究於2020年5月，向屏東的養殖業者購買抱卵初期 (卵呈橘色) 之泰國蝦母蝦60尾，蓄養於1.8噸FRP方形桶，以自製單格體箱網，每格放養一尾母蝦，編號為No 1-60 (圖1)。每尾母蝦剪1泳足作為檢體，利用核酸自動萃取機抽取核酸DNA/RNA，並利用即時定量聚合酶連鎖反應 (real-time PCR) 檢驗MrNV、IHNV和DIV1三種病毒。檢測後呈現陽性反應之母蝦隨即挑出銷毀，其餘母蝦每日投餵管理直至蚤狀幼體 (zoa) 完全產出後即撈出蓄養。每日將產出蚤狀幼體移至1.8噸FRP方形桶繼續進行培育，其密度並無特定，以每天所採苗量集中放養，總共放養5桶，編號1-5號。每日投餵豐年蝦無節幼體，待蝦苗發育至後期幼蟲 (post larva) 時，再次採樣檢測上述三種病毒



圖 1 自製單格箱網，每格放養 1 尾母蝦

及酵母菌 (*Metschnikowia bicuspidate*) 與乳酸球菌。酵母菌以 26S rDNA gene 上的 D1/D2 區域進行增幅，其引子對的序列為 NL-1: 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'; NL-4: 5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'，可增幅出的產物大小為 550 bp；乳酸球菌則以 16S rDNA gene 進行偵測，其序列為 pLG-1: 5'-CATAACAATGAGAATCGC-3'; pLG-2: 5'-GCACCCTCGCGGGTTG-3'，可增幅出 1,100 bp 之預期產物，聚合酶連鎖反應條件如下：94°C、5 分鐘進行 1 個循環；94°C、1 分鐘，55°C、1 分鐘，72°C、1 分鐘進行 35

個循環，最後再以 72°C、10 分鐘進行 1 個循環，接著進行膠體電泳呈現其片段大小。唯有確定上述 3 種病毒與兩種細菌檢測均呈現陰性反應的蝦苗，才放養至池塘。

結果

泰國蝦抱卵母蝦 60 尾以即時定量聚合酶連鎖反應檢測三種病毒結果，其 MrNV、DIV1 均無陽性反應；編號 3、6、21、42 及 45 母蝦檢測出微量 IHHNV，循環閾值 (cycle threshold, Ct 值) 介於 35—37 之間，確定此 5

尾母蝦帶原 IHNV，遂予以銷毀。其他 55 尾母蝦所生產的子代在 5 個 1.8 噸 FRP 方形桶陸續培育至後期幼苗，這 5 批幼苗經 PCR 檢測後，對上述三種病毒及酵母菌均無陽性反應，但養殖後期因水質不佳，編號 4 及 5 號桶蝦苗以 PCR 檢測增幅出 1,100 bp 片段大小，確認受到乳酸菌感染 (圖 2)，乃予以銷毀。經檢測無以上特定病原感染之蝦苗，保留 1,500 尾作為保種族群。

在繁殖過程中，蝦苗初期培育密度每噸水放苗量約為 4—6 萬尾，其中編號 1、2 及 4 號桶放苗量較高 (18.4、19.2 及 16.8 萬尾/1.8 噸桶)，3 及 5 號桶較低 (4 及 6 萬尾/1.8 噸桶)。本次試驗後期蝦苗平均育成率為 55 ± 1%，每噸水生產蝦苗 3 萬尾。其中以 3 及



圖 2 酵母菌、乳酸菌之檢測電泳圖

5 號桶的蝦苗活存率較佳，都達到 7 成以上 (圖 3)。將後期幼苗置於黑色水瓢可清楚觀

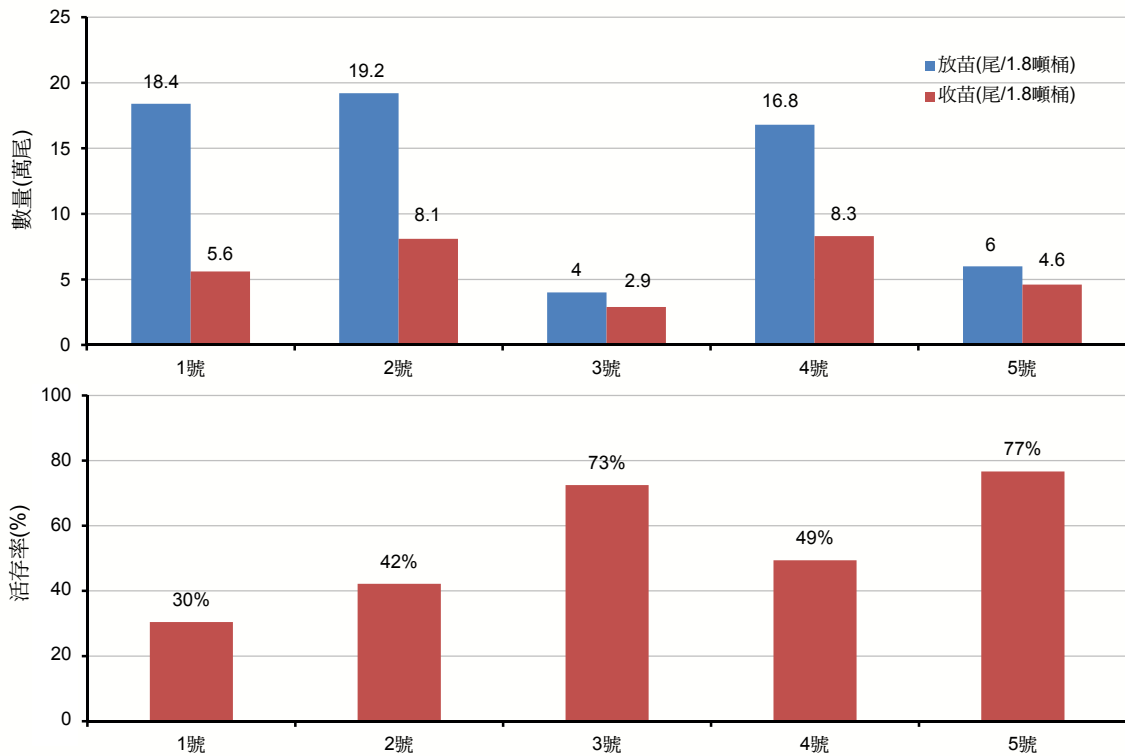


圖 3 各培育桶放苗及收苗尾數 (上) 及活存率 (下)

察其肌肉有無白濁現象，可作為判斷有無帶原泰國蝦諾達病毒（白尾病）以及蝦苗健康程度的依據（圖 4）。



圖 4 以黑色水瓢檢視蝦苗體節肌肉無白濁現象

討論

泰國蝦為亞洲國家重要養殖經濟蝦種，目前全球產量從 1980 年 3,000 公噸增加到 2018 年 23 萬公噸以上 (FAO, 2020)，但隨著養殖規模擴大及高密度養殖模式發展，往往伴隨疾病問題產生，造成養殖業者經濟損失，因此本中心開始著手進行 SPF 泰國蝦種原之篩選及 SPF 繁養殖技術建立，期能透過選育方式篩選 SPF 種原並推廣至業界，有效解決泰國蝦疾病蔓延的問題。

本研究利用分子生物學檢驗方式篩選 SPF 泰國蝦種蝦並繁殖其幼苗，藉以建立本所的泰國蝦種原。未來這批種苗的養殖以及繼代保種仍會持續進行，同時在 SPF 的基礎上進行優良特性選育，以利後續產業推廣。泰國蝦放養時間點在夏天及中秋節前後，蝦苗繁殖業者為加速蝦苗變態會提高繁殖水溫 (33°C 以上)，但易造成蝦苗健康不佳，容易

遭受乳酸球菌感染而爆發白尾病 (鄭, 2012)，若能建立 SPF 養殖環境及保持水質穩定，將有助於蝦苗之育成。

本次試驗結果顯示，放養密度越高其育成率越低，應是在高密度蓄養條件下，高投餌量養殖模式導致水中有機物增生，造成水質不良，加上泰國蝦苗本身殘食性強所導致的結果。幼苗培育直至第 20 天時，桶槽底部已堆積相當多的有機質，這是影響泰國蝦苗變態為後期蝦苗的主要負面因素之一。此外，同批蝦苗脫殼變態的時間點並不一致，如果可以將密度過高的蝦苗分池，以過濾乾淨之水源刺激脫殼，促使蝦苗同時變態成後期幼苗，可降低蝦苗因脫殼後體弱易遭受殘食的機率。另外，放置或增加懸掛物如尼龍網來充當蝦苗隱蔽物及增加其棲息面積，減少蝦苗體能消耗及殘食的機會，亦為提高泰國蝦育成率的可行方法。

結語

泰國蝦在臺灣養殖歷史已有 50 年之久，此蝦種經濟價值高、產地價格穩定，且除了餐廳之外，釣蝦場也有大量需求，因此在臺灣的蝦類養殖上向來佔有一席之地。而在養殖的過程中，白尾症為首的疾病、蝦苗成長緩慢和容易殘食等都是讓業者深感困擾的問題。本中心希望藉由建立 SPF 泰國蝦種原並培育 SPF 泰國蝦苗，一方面推廣業界配合施行防疫式養殖，另一方面則以此為基礎，逐步充實與選育優良品系，進而提高泰國蝦各階段的育成率與產量，以滿足國人對泰國蝦的需求。