

黃美瑩¹，廖一久²

¹ 台灣省水產試驗所 水產養殖系

² 台灣省水產試驗所

(1994 月 10 月 8 日接受)



不同鹽度之循環水系統下草蝦飼育水中之菌相變化

摘要

本研究在探討草蝦 (*Penaeus monodon* Fabricius) 幼蝦及中蝦於循環水系統下，不同鹽度及不同飼養期間，其飼育水中之菌相變化。研究結果顯示，草蝦未飼養前，鹽度為 10 及 20 ppt 之飼育水中之最優勢菌屬為 *Moraxella* 及 *Pseudomonas*，30 ppt 者為 *Vibrio*，40 ppt 者以 *Pseudomonas* 最佔優勢，次為 *Moraxella* 及 *Vibrio*，而 50 ppt 者則以 *Pseudomonas* 為首，*Moraxella* 次之。當草蝦幼蝦飼養至第 2 天時，鹽度 10、20 及 30 ppt 的飼育水中，最佔優勢之菌屬為 *Vibrio*，次為 *Pseudomonas*，而 40 及 50 ppt 者，則以 *Pseudomonas* 最佔優勢，其次為 *Vibrio*。隨著飼養時間的拉長，各菌屬之間的消長不一。幼蝦飼養至第 20 天時，鹽度為 10、20、30、40 及 50 ppt 之飼育水中，最佔優勢的菌屬分別為 *Moraxella*、*Vibrio*、*Vibrio*、*Acinetobacter* 及 *Pseudomonas*。至第 50 天時，鹽度 10 ppt 之飼育水中以 *Vibrio* 最佔優勢，次為 *Pseudomonas*，20 ppt 者則以 *Aeromonas* 為主，30 ppt 者之優勢菌為 *Flavobacterium*，40 ppt 以 *Vibrio* 最佔優勢，*Flavobacterium* 則為 50 ppt 飼育水中之優勢菌。而草蝦中蝦飼養至第 2 天，各鹽度飼育水中均以 *Flavobacterium* 所佔比例最高。飼養至第 20 天時，鹽度 10、20 及 30 ppt 的飼育水中仍以 *Flavobacterium* 最佔優勢，而 40 及 50 ppt 者則被 *Vibrio* 取代。當飼養至第 50 天時，各鹽度飼育水中的主要菌屬稍有差異，鹽度為 10 和 20 ppt 者，*Aeromonas* 取代 *Flavobacterium* 成為優勢菌，30 ppt 者以 *Alcaligenes* 所佔比例最高，40 ppt 者則以 *Vibrio* 最佔優勢。*Vibrio* 及 *Pseudomonas* 則為鹽度 50 ppt 者之優勢菌。

關鍵字: 循環水系統、鹽度、草蝦、菌相

在高密度的魚蝦養殖池中，水中生物的排泄物、遺骸及殘留餌料，均會造成大量有機物的累積，這些有機物主要由水中嗜化異營菌 (Heterotrophic bacteria) 降解，而這些微生物可獲得生長的能量及構成物，放出的溶解性有機及無機物則會改變水質⁽¹⁾，同時亦可刺激某些微生物之生長，例如硝化細菌等，有助於改變水域環境狀況⁽²⁾。養殖池中之菌相也可顯示各該環境水質的營養狀況⁽³⁾，可見魚蝦類養殖池中之菌相在養殖環境裡扮演極為重要的角色。近二十年來，養殖事業快速發展，養殖用水隨之增加，在水資源極為有限的情況下，為維持養殖業之持續成長，亟須加強開發節省用水量的養殖技術。

循環水系統則是目前養殖業用以減少水資源浪費的方法之一，該類系統並有延緩養殖池老化、保持水質及水溫穩定的效果⁽⁴⁾。本項研究即探討循環水系統下，不同鹽度的草蝦 (*Penaeus monodon* Fabricius) 飼養槽中之菌相組成，以瞭解不同的鹽度對草蝦 (幼蝦及中蝦) 飼育水中菌相的影響。

材料與方法

一、實驗系統及採樣

本研究將飼育槽中之循環水鹽度分成 10、20、30、40 及 50 ppt 五種。低鹽度海水 (10、20 及

黃美瑩，廖一久 (1994) 不同鹽度之循環水系統下草蝦飼育水中之菌相變化。水產研究, 2(2): 31-40.

30 ppt) 係將經曝氣過之海水添加曝氣過之淡水，高鹽度海水 (40 及 50 ppt) 係將曝氣過之海水添加高鹽度 (粗鹽配製而成之 73 ppt 鹽水) 之海水。本循環水系統共有 10 個飼養槽 (1.64 m × 0.71 m × 0.84 m)，5 個大沈澱曝氣槽 (1.51 m × 0.59 m × 0.71 m) 及 5 個小沈澱曝氣槽 (0.6 m × 0.3 m × 0.39 m)。每一鹽度有 2 個飼養槽。每種鹽度總水量維持於 1180 公升，飼育水於飼養槽、大沈澱曝氣槽及小沈澱曝氣槽間循環，流速每分鐘約 75 公升。每日補充蒸發之水量，以維持鹽度的穩定，水溫則以 400 瓦的加熱器控制水溫在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 範圍。

草蝦之幼蝦及中蝦分別由原來 30 ppt 之鹽度，每天馴化 5 ppt。4 天後各組達到預定鹽度，再經 1 天後，移入各鹽度的飼養槽中。幼蝦平均體重為 0.16 g，每個飼養槽之供試尾數為 60 尾；中蝦平均體重為 13.74 g，每槽 20 尾。依照蝦體重決定投餌市販飼料的量 (15%~3%)，每天分三次，早上 8 點、下午 4 點及晚上 10 點進行投餌。幼蝦及中蝦之飼料成份分別為蛋白質 41.4% 及 54.1%，粗脂肪 7.9% 及 7.4%，粗灰份 14.6% 及 12.7%，粗纖維 2.1% 及 2.6%，水份 8.1% 及 9.6%，鹽酸不溶物為 0.6% 及 0.7%。幼蝦及中蝦供試天數均為 50 天，在飼養前、飼養第 2 天、第 20 天及第 50 天時，每種鹽度選擇一固定槽採水並分析其菌相。

二、方法

以滅菌的吸管於飼養槽之距表層水約 20 公分處取水，然後置於已滅菌的採樣瓶，立即送回實驗室分析。

(一)、好氣性總生菌數⁽⁵⁾

試水經生理食鹽水稀釋後，塗抹於與飼育水相同鹽度的 PCA (plate count agar) 上，於 25°C 恆溫箱中培養 48 小時，然後計數菌落數。

(二)、菌株之分離及純化⁽⁵⁾

自塗有飼育水稀釋液，菌落數在 25 至 250 的培養基上，以亂數表挑出 20 個以上菌落，各菌落劃線培養於含有與原來相同鹽度的 PCA 上，在 25°C 培養 48 小時，連續劃線培養 3 次，最後將各純化菌株培養於各不同鹽分濃度的 NA (nutrient agar, Difco) 上，保存於 5°C 恆溫箱中。

(三)、菌株之鑑定

細菌的鑑定除了顯微鏡的形狀觀察外，配合細菌

生理代謝的分析，比較細菌對各種碳源的反應。本研究的細菌鑑定係採用 Microbact 24E system (Disposable Products Pty. Ltd., Australia)，但傳統方法也一併配合使用。

本研究於鑑定前，先進行革蘭氏染色，將菌株分成革蘭氏陽性及革蘭氏陰性兩大類，然後以 Microbact 24E system 進行鑑定，並以傳統方法輔助之。主要試驗項目包括：(1) 運動性觀察；(2) Cytochrome oxidase、Lysine decarboxylase 及 Ornithine decarboxylase 等試驗；(3) H_2S 之產生；(4) O-nitrophenyl- β -galactopyranoside 之水解；(5) Indole 之產生；(6) Urea 之水解；(7) Acetoin 之產生；(8) Citrate 之利用；(9) Indolepyruvate 之產生；(10) Gelatin 之水解；(11) Arginine dihydrolase 之作用；(12) 各種醣類及醣醇類之發酵情形；(13) Nitrate 還原試驗。

結果

一、不同鹽度之飼育水中之菌相

本循環水系統在草蝦未飼養前，取各鹽度飼育水塗抹在相同鹽度的 PCA 平板上，以亂數表挑出 20 個以上菌落，經純化鑑定後發現，鹽分濃度 10 及 20 ppt 的飼育水中最佔優勢之菌屬為 *Moraxella*，其次為 *Pseudomonas* (Table 1)。30 ppt 者，因有大量擴散性質的 *Vibrio*，生長速度快，計純化得 12 株菌，全部為 *Vibrio*。鹽度 40 ppt 者，以 *Pseudomonas* 最佔優勢，其次為 *Vibrio* 及 *Moraxella*。鹽度為 50 ppt 者，以 *Pseudomonas* 所佔比例較高，次為 *Moraxella*。而 *Moraxella* 在鹽度 40 及 50 ppt 的飼育水中所佔的百分比比較 10 及 20 ppt 者為低。*Vibrio* 在 30 ppt 以上的飼育水中較 10 及 20 ppt 者有增加的趨勢。而 *Pseudomonas* 除了因 30 ppt 者情況特殊外，廣泛存在於 10~50 ppt 的飼育水中，且所佔的比例不低。其它活存在各鹽度水中的菌屬包括：*Acinetobacter*、*Aeromonas*、*Plesiomonas* 及 *Achromobacter* 等 (Table 1)。

二、幼蝦飼養後之飼育水中之菌相

草蝦之幼蝦飼養至第 2 天時，鹽度分別為 10、20 及 30 ppt 的飼育水中，最佔優勢之菌屬為

Table 1. Microflora found in culture water of different salinities.

Genus	Salinity of tank water (ppt)									
	10		20		30		40		50	
	A*	B**	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Aeromonas</i>	0	0.0	1.2X10 ¹	4.8	0	0.0	0	0.0	1.3X10 ²	9.5
<i>Achromobacter</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	6.6X10 ¹	4.8
<i>Acinetobacter</i>	9.5X10 ⁰	13.6	2.3X10 ¹	9.5	0	0.0	6.6X10 ¹	4.8	6.6X10 ¹	4.8
<i>Moraxella</i>	2.9X10 ¹	40.9	1.1X10 ²	47.6	0	0.0	3.3X10 ²	23.8	4.0X10 ²	28.6
<i>Plesiomonas</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	6.6X10 ¹	4.8	0	0.0
<i>Pseudomonas</i>	2.2X10 ¹	31.8	5.8X10 ¹	23.8	0	0.0	4.7X10 ²	33.3	4.7X10 ²	33.3
<i>Vibrio</i>	3.2X10 ⁰	4.5	0	0.0	6.6X10 ²	100.0	4.0X10 ²	28.6	1.3X10 ²	9.5
<i>Unidentified</i>	6.3X10 ⁰	9.1	3.5X10 ¹	14.3	0	0.0	6.6X10 ¹	4.8	1.3X10 ²	9.5
Total	7.0X10 ¹	99.9	2.4X10 ²	100.0	6.6X10 ²	100.0	1.4X10 ³	100.1	1.4X10 ³	100.0

*: Viable counts (CFU/ml)

**: (Viable counts /total viable counts) X100 %.

Table 2. Microflora found in culture water of different salinities in a period of 2 days after prawn larvae transferred.

Genus	Salinity of tank water (ppt)									
	10		20		30		40		50	
	A*	B**	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Aeromonas</i>	2.0X10 ³	9.1	0	0.0	0	0.0	1.0X10 ³	4.3	2.9X10 ³	4.3
<i>Flavobacterium</i>	1.0X10 ³	4.5	1.7X10 ³	22.7	1.1X10 ³	8.7	0	0.0	0	0.0
<i>Moraxella</i>	2.0X10 ³	9.1	3.4X10 ²	4.5	5.8X10 ²	4.3	5.3X10 ³	21.7	8.7X10 ³	13.0
<i>Pasteurella</i>	0	0.0	6.8X10 ²	9.1	1.1X10 ³	8.7	2.1X10 ³	8.7	1.4X10 ⁴	21.7
<i>Pseudomonas</i>	5.1X10 ³	22.7	1.0X10 ³	13.6	1.7X10 ³	13.0	1.0X10 ⁴	43.5	2.0X10 ⁴	30.4
<i>Vibrio</i>	1.2X10 ⁴	54.5	3.7X10 ³	50.0	6.4X10 ³	47.8	4.2X10 ³	17.4	1.7X10 ⁴	26.1
<i>Unidentified</i>	0	0.0	0	0.0	2.3X10 ³	17.4	1.0X10 ³	4.3	2.9X10 ³	4.3
Total	2.2X10 ⁴	99.9	7.4X10 ³	99.9	1.3X10 ⁴	99.9	2.4X10 ⁴	99.9	6.6X10 ⁴	99.8

*, **: Refer to the footnotes of Table 1.

Table 3. Microflora found in culture water of different salinities in a period of 20 days after prawn larvae transferred.

Genus	Salinity of tank water (ppt)									
	10		20		30		40		50	
	A*	B**	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Aeromonas</i>	7.8X10 ¹	4.3	0	0.0	4.2X10 ²	5.0	0	0.0	0	0.0
<i>Acinetobacter</i>	0	0.0	0	0.0	4.2X10 ²	5.0	9.8X10 ³	60.9	0	0.0
<i>Flavobacterium</i>	7.8X10 ¹	4.3	4.8X10 ²	4.3	4.2X10 ²	5.0	2.8X10 ³	17.4	0	0.0
<i>Moraxella</i>	9.3X10 ²	52.2	2.9X10 ³	26.1	1.3X10 ³	15.0	7.1X10 ²	4.3	2.5X10 ⁴	17.4
<i>Pasteurella</i>	2.3X10 ²	13.0	1.9X10 ³	17.4	1.3X10 ³	15.0	0	0.0	0	0.0
<i>Pseudomonas</i>	0	0.0	0	0.0	4.2X10 ²	5.0	2.1X10 ³	13.0	9.1X10 ⁴	65.2
<i>Serratia</i>	0	0.0	0	0.0	4.2X10 ²	5.0	0	0.0	0	0.0
<i>Vibrio</i>	3.9X10 ²	21.7	4.8X10 ³	43.5	2.1X10 ³	25.0	0	0.0	1.2X10 ⁴	8.7
<i>Unidentified</i>	7.8X10 ¹	4.3	9.5X10 ²	8.7	1.7X10 ³	20.0	7.1X10 ²	4.3	1.2X10 ⁴	8.7
Total	1.8X10 ³	99.8	1.1X10 ⁴	100.0	8.3X10 ³	100.0	1.6X10 ⁴	99.9	1.4X10 ⁵	100.0

*, **: Refer to the footnotes of Table 1.

Table 4. Microflora found in culture water of different salinities in a period of 50 days after prawn larvae transferred.

Genus	Salinity of tank water (ppt)									
	10		20		30		40		50	
	A*	B**	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Aeromonas</i>	9.3X10 ³	13.6	2.0X10 ⁴	55.6	0	0.0	2.2X10 ²	9.1	0	0.0
<i>Acinetobacter</i>	0	0.0	2.0X10 ³	5.6	0	0.0	0	0.0	4.3X10 ⁴	18.2
<i>Alcaligenes</i>	0	0.0	4.1X10 ³	11.1	0	0.0	1.1X10 ²	4.5	0	0.0
<i>Flavobacterium</i>	1.6X10 ⁴	22.7	4.1X10 ³	11.1	2.8X10 ³	56.3	3.2X10 ²	13.6	1.9X10 ⁵	81.8
<i>Moraxella</i>	0	0.0	0	0.0	9.3X10 ²	18.8	4.4X10 ²	18.2	0	0.0
<i>Pasteurella</i>	0	0.0	0	0.0	3.1X10 ²	6.3	4.4X10 ²	18.2	0	0.0
<i>Pseudomonas</i>	1.9X10 ⁴	27.3	0	0.0	0	0.0	3.2X10 ²	13.6	0	0.0
<i>Vibrio</i>	2.2X10 ⁴	31.8	2.0X10 ³	5.6	6.3X10 ²	12.5	5.5X10 ²	22.7	0	0.0
<i>Unidentified</i>	3.2X10 ³	4.5	4.1X10 ³	11.1	3.1X10 ²	6.3	0	0.0	0	0.0
Total	6.9X10 ⁴	99.9	3.7X10 ⁴	100.1	5.0X10 ³	100.2	2.4X10 ³	99.9	2.3X10 ⁵	100.0

*, **: Refer to the footnotes of Table 1.

Vibrio，其次為 *Pseudomonas*。而 40 及 50 ppt 者，以 *Pseudomonas* 最佔優勢，次為 *Vibrio* (Table 2)。*Flavobacterium* 在未飼養幼蝦的飼育水中未檢出，而在幼蝦飼養後，於 10、20 及 30 ppt 的飼育水中出現。又，原來廣泛存在飼育水中的 *Moraxella*，其比例反而有下降的趨勢。

幼蝦飼養至第 20 天時，鹽度為 10、20、30、40 及 50 ppt 之飼育水中最佔優勢的分別為 *Moraxella*、*Vibrio*、*Vibrio*、*Acinetobacter* 及 *Pseudomonas* (Table 3)。又，*Vibrio* 在鹽度 10、20 及 30 ppt 的飼育水中，*Pseudomonas* 於鹽度 40 及 50 ppt 的飼育水中仍佔有相當的比例。*Moraxella* 亦普遍出現在五種鹽度的飼育水中，尤其是鹽度 10、20 及 30 ppt 者，此菌屬自幼蝦飼養第 2 天時至第 20 天時，其數量有增加的傾向。

隨著飼養時間的拉長，各菌屬之間的消長不一 (Tables 2、3 及 4)。第 50 天時，各不同鹽度的飼育水中，*Flavobacterium* 菌屬出現的比例有提高的趨勢，且飼養初期佔優勢的 *Vibrio* 及 *Pseudomonas* 的變動則較大 (Table 4)。此時期於鹽度為 10、20、30、40 及 50 ppt 之優勢菌屬分別為 *Vibrio* 與 *Pseudomonas* (10ppt)、*Aeromonas*、*Flavobacterium*、*Vibrio* 及 *Flavobacterium*，而且在鹽度 50 ppt 的飼育水中，*Flavobacterium* 菌屬的數量更高達 81.8 %。

三、中蝦飼養後之飼育水中之菌相

循環水系統在草蝦之中蝦之飼養至第 2 天，分析各鹽度飼育水中的菌相，發現各飼育水中均以 *Flavobacterium* 為最優勢菌，其中又以鹽度為 40 ppt 者，所佔比例 90.9 % 為最高 (Table 5)。原先存在各飼育水中最優勢的 *Moraxella*、*Vibrio* 及 *Pseudomonas*，除了 *Vibrio* 在鹽度為 10 ppt、*Moraxella* 在 20 及 50 ppt 的飼育水中仍佔有相當比例外，此三菌屬在各鹽度飼育水中的比例均下降。

中蝦飼養至第 20 天時，鹽度為 10、20 及 30 ppt 的飼育水中仍以 *Flavobacterium* 最佔優勢，而 40 及 50 ppt 者則被 *Vibrio* 取代之 (Table 6)。*Vibrio* 普遍存在其它鹽度的飼育水中，且鹽度愈高，其所佔比例有上升的趨勢。此外，*Alcaligenes* 及 *Aeromonas* 分別出現在 20 ~ 50 ppt 及 10 ~ 40 ppt 的飼育水中，其比例較第 2 天時有上升的傾向。

當飼養至第 50 天時，各鹽度飼育水中的主要菌屬稍有差異，10 和 20 ppt 者，*Aeromonas* 取代 *Flavobacterium* 成為優勢菌。30 ppt 者，以 *Alcaligenes* 所佔比例最高，次為 *Vibrio*。40 ppt 者，以 *Vibrio* 為主。50 ppt 者，以 *Pseudomonas* 與 *Vibrio* 最佔優勢 (Table 7)。此外，在此飼養階段，各鹽度的飼育水中的 *Pseudomonas* 菌屬出現的比例較初期 (第 2 天及第 20 天) 有上升之勢趨。

討論

一、不同鹽度之飼育水中之菌相

本研究發現鹽度 10 ~ 50 ppt 飼育水中的菌相，在未飼養草蝦前，低鹽度 (10 ~ 20 ppt) 者，主要為 *Moraxella* 及 *Pseudomonas*，高鹽度者 (40 ~ 50 ppt) 則以 *Pseudomonas*、*Moraxella* 及 *Vibrio* 為優勢菌 (Table 1)。不同的鹽度其飼育水中優勢菌的組成很相近。這些菌屬均為海水及淡水的固有菌相⁽⁶⁻⁹⁾。而 Juez 等⁽¹⁰⁾亦指出，鹽度在 150 ppt 以下的池水中之菌屬，有許多為海水固有的，甚至在淡水池中亦可發現。因此，本項結果與前人的研究很類似。研究亦發現，*Moraxella*、*Vibrio* 及 *Pseudomonas* 雖廣泛存在於各鹽度 (10 ~ 50 ppt)，但，*Moraxella* 在低鹽度 (10 ~ 20 ppt) 中的比例較高鹽度 (40 ~ 50 ppt) 者高，而 *Vibrio* 則相反。

二、幼蝦飼養後之飼育水中之菌相

草蝦幼蝦飼養第 2 天時，鹽度為 10、20、30、40 及 50 ppt 之飼育水中，分別以 *Vibrio* 與 *Pseudomonas* 最佔優勢，而且飼育水中之總菌數明顯增加 (Table 2)。Sugita 與 Deguchi⁽¹⁾認為魚蝦類飼養後，投餌的殘餌和魚蝦類之排泄物會造成水中許多有機物的累積，這些累積物主要靠微生物將之礦物化而成為可溶性有機物和無機物。而魚蝦養殖池水中的微生物主要來源包括水中原有的、餌料及魚蝦排泄物、魚蝦體表所帶進來的。Ruangpan 等⁽¹¹⁾指出，健康草蝦的肝胰臟及腸子均以 *Vibrio* 與 *Pseudomonas* 最佔優勢。其它海蝦類的腸道也以該二屬菌為最優勢菌^(12,13)。Sugita 等⁽³⁾亦指出，*Pseudomonas* 及 *Vibrio* 是將殘餌分解的主要菌屬，這二種菌屬在金魚飼養後的池水中，菌數迅

Table 5. Microflora found in culture water of different salinities in a period of 2 days after prawns transferred.

Genus	Salinity of tank water (ppt)									
	10		20		30		40		50	
	A*	B**	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Aeromonas</i>	0	0.0	0.0	0.0	3.7X10 ³	4.3	0	0.0	0	0.0
<i>Acinetobacter</i>	0	0.0	5.8X10 ³	4.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Actinobacillus</i>	0	0.0	0	0.0	2.2X10 ⁴	26.1	0	0.0	0	0.0
<i>Alcaligenes</i>	1.5X10 ⁴	5.0	0	0.0	7.4X10 ³	8.7	2.3X10 ⁴	4.5	2.4X10 ³	4.2
<i>Flavobacterium</i>	1.3X10 ⁵	45.0	6.3X10 ⁴	52.4	3.7X10 ⁴	43.5	4.7X10 ⁵	90.9	2.4X10 ⁴	41.7
<i>Moraxella</i>	1.5X10 ⁴	5.0	4.0X10 ⁴	33.3	1.1X10 ⁴	13.0	0	0.0	2.2X10 ⁴	37.5
<i>Pasteurella</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2.4X10 ³	4.2
<i>Pseudomonas</i>	1.5X10 ⁴	5.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2.4X10 ³	4.2
<i>Vibrio</i>	8.9X10 ⁴	30.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	4.9X10 ³	8.3
<i>Unidentified</i>	3.0X10 ⁴	10.0	1.1X10 ⁴	9.5	3.7X10 ³	4.3	2.3X10 ⁴	4.5	0	0.0
Total	3.0X10 ⁵	100.0	1.2X10 ⁵	100.0	8.5X10 ⁴	99.9	5.2X10 ⁵	99.9	5.9X10 ⁴	100.1

*, **: Refer to the footnotes of Table 1.

Table 6. Microflora found in culture water of different salinities in the period of 20 days after prawns transferred.

Genus	Salinity of tank water (ppt)									
	10		20		30		40		50	
	A*	B**	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Aeromonas</i>	1.1X10 ⁵	16.0	5.2X10 ³	4.0	5.6X10 ³	10.0	7.2X10 ³	18.2	0	0.0
<i>Alcaligenes</i>	0	0.0	2.6X10 ⁴	20.0	1.1X10 ⁴	20.0	3.6X10 ³	9.0	3.0X10 ³	21.7
<i>Flavobacterium</i>	4.2X10 ⁵	60.0	6.8X10 ⁴	52.0	1.4X10 ⁴	25.0	1.1X10 ⁴	27.3	1.8X10 ³	13.0
<i>Moraxella</i>	0	0.0	0	0.0	2.8X10 ³	5.0	0	0.0	1.8X10 ³	13.0
<i>Pseudomonas</i>	5.6X10 ⁴	8.0	1.0X10 ⁴	8.0	2.8X10 ³	5.0	0	0.0	0	0.0
<i>Vibrio</i>	2.8X10 ⁴	4.0	1.5X10 ⁴	12.0	1.1X10 ⁴	20.0	1.4X10 ⁴	36.4	6.0X10 ³	43.5
<i>Unidentified</i>	8.3X10 ⁴	12.0	5.2X10 ³	4.0	8.3X10 ³	15.0	3.6X10 ³	9.0	1.2X10 ³	8.7
Total	7.1X10 ⁵	100.0	1.3X10 ⁵	100.0	5.6X10 ⁴	100.0	4.0X10 ⁴	99.9	1.4X10 ⁴	99.9

*, **: Refer to the footnotes of Table 1.

Table 7. Microflora found in culture water of different salinities in a period of 50 days after prawns transferred.

Genus	Salinity of tank water (ppt)									
	10		20		30		40		50	
	A*	B**	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Aeromonas</i>	1.6X10 ⁵	30.4	8.1X10 ⁴	30.0	1.5X10 ⁴	12.5	5.0X10 ³	14.3	0	0.0
<i>Alcaligenes</i>	9.1X10 ⁴	17.4	2.7X10 ⁴	10.0	5.5X10 ⁴	45.8	1.7X10 ³	4.8	1.9X10 ³	15.0
<i>Flavobacterium</i>	4.6X10 ⁴	8.7	4.1X10 ⁴	15.0	5.0X10 ³	4.2	3.3X10 ³	9.5	6.5X10 ²	5.0
<i>Moraxella</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1.3X10 ³	10.0
<i>Pasteurella</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	6.5X10 ²	5.0
<i>Pseudomonas</i>	1.1X10 ⁵	21.7	1.3X10 ⁴	5.0	5.0X10 ³	4.2	5.0X10 ³	14.3	3.9X10 ³	30.0
<i>Vibrio</i>	4.6X10 ⁴	8.7	6.8X10 ⁴	25.0	3.9X10 ⁴	33.3	1.7X10 ⁴	47.6	3.9X10 ³	30.0
<i>Unidentified</i>	6.9X10 ⁴	13.0	4.1X10 ⁴	15.0	0	0.0	3.3X10 ³	9.5	6.5X10 ²	5.0
Total	5.2X10 ⁵	99.9	2.7X10 ⁵	100.0	1.2X10 ⁵	100.0	3.5X10 ⁴	100.0	1.3X10 ⁴	100.0

*, **: Refer to the footnotes of Table 1.

速增加。*Vibrio* 與 *Pseudomonas* 被認為具有分解多種有機物的能力，包括幾丁質、酪蛋白、三丁三酸甘油酯、澱粉等⁽¹⁴⁾。故，推測本研究在幼蝦飼養後第 2 天，飼育水中即含大量的 *Pseudomonas* 及 *Vibrio* 菌屬。因 *Vibrio* 及 *Pseudomonas* 較其它細菌易於利用大分子的生物成份，其大量繁生的結果，可將大量累積的殘餌及蝦類排泄物等有機物加速分解。而 *Vibrio* 在低鹽度 (10 ~ 30 ppt) 的飼育水中較高鹽度 (40 ~ 50 ppt) 中所佔的比例高，此現象與草蝦未飼養前有差異 (Tables 1、2)，其原因可能是幼蝦或飼料所帶進來的 *Vibrio* 較適合於低鹽度存活所致。

幼蝦飼養至第 20 天時，*Vibrio* 在鹽度為 10、20 及 30 ppt 的飼育水中佔有一定的比例，而 *Pseudomonas* 在鹽度 40 及 50 ppt 的飼育水中也佔有相當份量，在低鹽度 (10 ~ 30 ppt) 者，*Moraxella* 的比例亦有增加的趨勢。Sohier 與 Bianchi⁽¹⁵⁾ 指出 *Pseudomonas* 及 *Moraxella* 是斑節蝦養殖池水中之主要菌屬。而 Paat 等⁽²⁾ 認為 *Pseudomonas* 及 *Moraxella* 為鯉魚池水有機物主要的分解菌之一。因此，推測在草蝦幼蝦飼養至第 20 天時，除了飼養初期的 *Vibrio* 及 *Pseudomonas* 之外，*Moraxella* 也參與殘餌及蝦類排泄物之分解，尤其是低鹽度的飼育水中。而 40 ppt 的飼育水中則以 *Acinetobacter* 最佔優勢，其原因有待進一步的探討。

Paat 等⁽²⁾ 指出，除了 *Pseudomonas*、*Moraxella* 之外，*Flavobacterium* 亦為鯉魚池水有機物主要的分解菌。而 *Aeromonas* 與 *Vibrio* 均屬於弧菌科 (Vibrionaceae)，Sugita 等⁽¹⁸⁾ 指出弧菌科具有很高比例的幾丁質及酪蛋白之水解能力。在金魚養殖池水中，弧菌科是主要分解殘餌的菌科⁽³⁾。本研究在幼蝦飼養至第 50 天時，除了鹽度為 10 及 40 ppt 以 *Vibrio* 為優勢菌外，20 ppt 者則是 *Aeromonas* 取代了 *Vibrio* 所扮演的主要有機物分解菌的角色。而 *Flavobacterium* 亦取代了 *Vibrio* 及 *Pseudomonas* 在鹽度為 30 及 50 ppt 的飼育水中所扮演的有機物分解菌的角色 (Table 4)，可見隨著幼蝦飼養時間的拉長，各鹽度間之優勢菌的消長差異較大。

三、中蝦飼養後之飼育水中之菌相

草蝦之中蝦飼養至第 2 天時，發現各鹽度飼育水中均以 *Flavobacterium* 為最優勢菌，推測本實驗之中蝦在原来的生長環境中以 *Flavobacterium* 最佔優勢，且蝦體上附有大量的 *Flavobacterium*。當草蝦飼養於各鹽度飼育水中之後，由於環境條件適合 *Flavobacterium* 繁生，因此取代了 *Moraxella*、*Vibrio* 及 *Pseudomonas* 而成為優勢菌，該菌屬亦具有水解酪蛋白及幾丁質的能力⁽¹⁶⁾。Sugita 等⁽¹⁷⁾ 研究發現，鹽度為 7.5、15 及 30 ppt 的淡水蝦池水中，

Flavobacterium、*Moraxella* 及 *Pseudomonas* 為優勢菌。因此，該飼養階段，*Flavobacterium* 菌屬可能是殘餌及蝦類排泄物之主要分解者。

中蝦飼養至第 20 天時，低鹽度 (10 ~ 30 ppt) 的飼育水中仍以 *Flavobacterium* 最佔優勢，而較高鹽度 (40 ~ 50 ppt) 者則被 *Vibrio* 取代 (Table 6)。此外，*Alcaligenes* 及 *Aeromonas* 亦廣泛活存於各鹽度之飼育水中。Anderson 等⁽¹⁸⁾指出，淡水蝦 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的池水中之優勢菌包括 *Alcaligenes*，而 Frazier 與 Westhoff⁽¹⁹⁾ 也歸納出該菌屬是蝦類菌相之一，而且該菌屬在 150 ppt 鹽度以下的池水中也佔重要比例⁽¹⁰⁾。Chen 等⁽²⁰⁾探討草蝦菌相時，發現所分出的 *Alcaligenes* 菌屬具有分解蛋白質、澱粉、去氧核糖核酸及核糖核酸等之能力，故推測此菌屬亦有助於分解水中的有機物。因此，本飼養階段以 *Flavobacterium*、*Vibrio*、*Alcaligenes* 及 *Aeromonas* 為主要有機物分解菌。

飼養至第 50 天時，鹽度為 10 和 20 ppt 者，以 *Aeromonas* 為優勢菌。30 ppt 者以 *Alcaligenes* 所佔比例最高，次為 *Vibrio*。40 ppt 者以 *Vibrio* 為主。50 ppt 者以 *Pseudomonas* 與 *Vibrio* 最佔優勢 (Table 7)。趙等⁽²¹⁾指出 *Aeromonas* 為草蝦池水之主要菌屬之一。該菌屬亦有水解有機物的能力⁽¹⁴⁾。推測在此飼育階段，低鹽度 (10 ~ 20 ppt) 的飼育水中以 *Aeromonas* 為主要的有機物分解菌屬。又，*Pseudomonas* 與 *Vibrio* 亦普遍出現在各鹽度的飼育水中，因此，此飼養階段之各飼育水中的環境條件也頗適合該二菌屬大量繁殖。

四、不同鹽度及不同飼養階段之飼育水中的菌相

草蝦未飼養前的各鹽度之飼育水中，其優勢菌的組成差異不大，以 *Moraxella*、*Vibrio* 及 *Pseudomonas* 為主。而草蝦幼蝦飼養至第 2 天時，各鹽度均以 *Vibrio* 及 *Pseudomonas* 最佔優勢。第 20 天時，鹽度介於 10 ~ 30 ppt 者，以 *Vibrio* 及 *Moraxella* 為主，高鹽度者差異較大。第 50 天時，除了鹽度 10 ppt 者仍以 *Vibrio* 最佔優勢外，其它鹽度之飼育水中的優勢菌與飼養至第 2 天時者有明顯差異。而中蝦的飼育水中，在飼養至第 2 天時，均以 *Flavobacterium* 為優勢菌，至第 20 天時，鹽度介

於 10 ~ 30 ppt 之飼育水中，仍以此菌屬為主，而鹽度為 40 及 50 ppt 者則被 *Vibrio* 取代。第 50 天時，鹽度介於 10 ~ 20 ppt 者，則以 *Aeromonas* 為首，鹽度介於 40 ~ 50 ppt 者，仍以 *Vibrio* 為優勢菌。

由本研究得知，草蝦之幼蝦在飼養至第 2 天時，不同之鹽度飼育水中優勢菌之組成具有少許的差異，中蝦亦同。但，相同鹽度時，此二種不同體型的草蝦其優勢菌即顯著不同。第 20 天到第 50 天，各鹽度之優勢菌有明顯差異，且低鹽度 (10 ~ 30 ppt) 與高鹽度 (40 ~ 50 ppt) 之優勢菌有較顯著之不同。黃與葉⁽²²⁾指出，同一地區、同一月份、不同草蝦養殖池 (即使是同一養殖池中) 之菌相組成，也會隨著季節的變動而改變。又，Ueda 等⁽²³⁾指出淡水長腳大蝦及 Yasuda 與 Kitao⁽²⁴⁾指出斑節蝦的池水中之菌相亦受飼養階段及池水鹽度的影響。本研究結果亦發現，草蝦飼育水中之菌相變化，受不同飼養階段及不同鹽度的影響。

謝辭

本研究報告承臺灣大學海洋研究所謝文陽博士提供寶貴意見，在此特誌謝忱。

參考文獻

1. Sugita, H. and Y. Deguchi (1986) Microbes in aquaculture environments: Microbes in water. In: A. Kawi (Ed). Microbiological Aspects in Aquaculture. Koseisha-Koseikaku, Tokyo, pp.58-71.
2. Paat, S., H. Sugita, A. S. Sidik, J. Sugimoto and Y. Deguchi (1989) The water quality and microflora of a carp rearing tank with a recirculating water system. Bull. Coll. Agric. Vet. Med., Nihon Univ., **46**: 28-33.
3. Sugita, H., H. Arai, S. Okada, M. Nagaya and Y. Deguchi (1989) Changes of the bacterial composition of goldfish culture water during the decomposition of food pellets. Nippon Suisan Gakkaishi, **55**(4): 661-668.
4. Rogers, G. L.(1989) Aeration and circulation for effective aquaculture pond management. Aquacult. Eng., **8**: 349-355.
5. Harrigan, W. F. and M. E. McCance (1979) Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press, London. 16pp.

6. Sugita, H., H. Tanaami, T. Kobashi and Y. Deguchi (1981) Bacterial flora of coastal bivalves. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **47**(5): 655-661.
7. Sugita, H. and Y. Deguchi (1983) Media for the isolation of aerobic and facultatively anaerobic bacteria in freshwater environments. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **49**(11): 1737-1740.
8. Sugita, H., T. Noguchi, D. F. Hwang, M. Furuta, T. Motokane, T. Sonoda, K. Hashimoto and Y. Deguchi (1987) Intestinal microflora of coast puffer fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**(12): 2201-2207.
9. Lokabharathi, P. A., S. Nair and D. Chandramohan (1990) Bacterial flora of Dona Paula, India, using numerical profiles. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**(3): 473-476.
10. Juez, A. and G. Imhoit (1985) Variation of environmental features and microbial populations with salt concentrations in a multi-pond saltern. *Microb. Ecol.*, **11**(2): 107-115.
11. Ruangpan, L., R. Tabkaew and K. Sangrungruang (1994) Bacterial flora of intensive cultured black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Suisanzoshoku*, **42**: 485-490.
12. Sugita, H., R. Ueda, L. R. Berger and Y. Deguchi (1987) Microflora in the gut of Japanese coastal crustacea. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**(9): 1647-1655.
13. Harris, J.M., L. J. Seiderer and M.I. Lucas (1991) Gut microflora of two saltmarsh detritivore thalassinid prawns, *Upogebia africana* and *Callinassa kraussi*. *Microb. Ecol.*, **21**: 277-296.
14. Sugita, H., K. Oshima, T. Fushino and Y. Deguchi (1987) Substrate specificity of heterotrophic bacteria in the water and sediment of a carp culture pond. *Aquaculture*, **64**: 39-46.
15. Sohler, L.P. and M.A.G. Bianchi (1985) Development of a heterotrophic bacterial community within a closed prawn aquaculture system. *Microb. Ecol.*, **11**: 353-369.
16. Huang, M.Y. (1992) Hydrolytic ability to casein and chitin of bacteria isolated from the grass prawn rearing water of different salinities. *J. Fish. Soc. Taiwan*, **19**: 141-150.
17. Sugita, H., T. Takahashi, F. I. Kamemoto and Y. Deguchi (1987) Aerobic bacterial flora in the digestive tracts of freshwater shrimp *Palaemon paucidens* acclimated with seawater. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**(3): 511.
18. Anderson, I. G., M. N. Shamsudin and G. Nash (1989) A preliminary study on the aerobic heterotrophic bacterial flora in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, hatcheries in Malaysia. *Aquaculture*, **81**: 213-223.
19. Frazier, W. C. and D. C. Westhoff (1988) *Food Microbiology*. McGraw-Hill, Inc. Singapore. 244, 251, 252 pp.
20. Chen, H. C., M. Y. Huang, M. W. Moody and S. T. Jiang (1991) Distribution and hydrolytic enzyme activities of aerobic, heterotrophic bacteria isolated from grass prawn, *Penaeus monodon*. *J. Fish. Soc. Taiwan*, **18**(4): 301-310.
21. 趙維良, 宋宏紅, 林秀枝 (1991) 蝦類養殖環境中細菌相之調查. 臺灣省水產試驗所, 行政院農委會及臺灣省漁業局合辦蝦池環境研究與改善. 研討會論文摘要. 8 pp.
22. 黃文瑛, 葉寶蓮 (1989) 屏東地區鰻池放射菌與草蝦池細菌相之研究, 養殖環境改善及魚類異味之防止與去除研究 (二). 農委會漁業特刊. **16**: 143-159.
23. Ueda, R., M. Komoriya, M. Hirano, H. Sugita and Y. Deguchi (1993) Changes of bacterial flora of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* associated with its development. *Suisanzoshoku*, **41**: 161-167.
24. Yasuda, K. and T. Kitao (1980) Bacterial flora in the digestive tract of prawns, *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture*, **19**: 229-234.

Mei-Ying Huang¹ and I Chiu Liao²

¹ Department of Aquaculture, Taiwan Fisheries Research Institute
199 Hou-lh Rd., Keelung, Taiwan 202

² Taiwan Fisheries Research Institute

(Accepted 8 October 1994)



A Study on Microflora Found in Grass Prawn Culture Tanks at Different Salinities in a Circulating System

Abstract

Microflora in tank waters of prawn culture at salinity 10, 20, 30, 40, and 50ppt were investigated. Two groups of grass prawn: larvae and middle size of prawn were kept in a tank at different salinity. Water samples were collected before introduction of the prawn, and after introduction in 2, 20, and 50 days. Before the larvae were transferred, *Moraxella* and *Pseudomonas* predominated in salinity 10 and 20ppt, *Vibrio* in 30ppt, *Pseudomonas* in 40ppt, and *Pseudomonas* and *Moraxella* in 50ppt. After larvae introduced in two days later, *Vibrio* and *Pseudomonas* predominated in salinity 10, 20, and 30ppt; but *Pseudomonas* and *Vibrio* in 40 and 50ppt. The predominant genera became *Moraxella* in 10ppt, *Vibrio* in 20 and 30ppt, *Acinetobacter* in 40ppt, and *Pseudomonas* in 50ppt after 20 days. However, the variation changed after 50 days of larvae introduction. *Vibrio* and *Pseudomonas* became dominant in 10ppt. The predominant genera were *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, and *Flavobacterium* in salinity 20, 30, 40, and 50ppt, respectively. The microflora found in tanks holding middle size of grass prawn was relatively stable at the beginning. The predominant genus was *Flavobacterium* in salinity 10, 20 and 30ppt for the first 20 days when the prawns were transferred. However, *Flavobacterium* was replaced by *Vibrio* in 40 and 50ppt in 20 days. After 50 days, the microflora were different. The predominant genera were *Aeromonas* in 10 and 20ppt, *Alcaligenes* in 30ppt, *Vibrio* in 40ppt, and *Vibrio* and *Pseudomonas* in 50ppt.

Key words : Circulating system, Salinities, Grass prawn, Microflora