

## 草蝦桿狀病毒傳染途徑之研究

陳秀男 張朴性 陳哲俊 郭光雄

國立臺灣大學動物學研究所

草蝦桿狀病毒藉由包容體感染草蝦，使寄主變得體弱及容易引起其他病原二次感染，所以養殖期間的防治是必須的。MBV occlusions在大蝦場經過長時間的曝曬能被消除，但底土必須乾燥，底土經過石灰的作用也可破壞 MBV occlusions，次氯酸鈉、太陽光照將及清潔劑清洗室內池壁都可去除 MBV，由於大蝦場環境因子極為複雜，徹底防治實屬不易，但養殖前的預防工作仍不可忽略。

### 前 言

草蝦乃為一臺灣重要養殖蝦種，自人工育苗技術確立之後，產量快速增加，1987 年產量近十萬公噸，而至 1988 年蝦病的大量出現，造成產量銳減，1989 年產量滑落至八千公噸，其中的原因極須研究，進一步了解改進之道，乃當今之重要課題。

草蝦桿狀病毒 (*Penaeus monodon*-type baculovirus; MBV) 屬於桿狀病毒羣，這羣病毒對於昆蟲和水產甲殼類具有很高的感染率，並可以造成病害，並造成死亡。MBV 會對各時期的草蝦造成不同程度的病害，而對蝦苗及幼蝦具有高感染率及高死亡率。此類病毒對感染蝦的肝胰腺和中腸腺之前段 (Anterior midgut gland) 腺泡上皮細胞和黏膜上皮細胞具有親和性而易造成病灶。

草蝦感染桿狀病毒 (MBV) 可在肝胰腺病灶區發現圓形嗜酸性包涵體，直接行肝胰腺之塗抹片，以 0.05% 的孔雀綠染色，可以見到綠色圓形包涵體，此為初步之檢測。進一步的結果必須藉由組織病理學的方法來確定。

近年來的調查，本省沿海撈捕之種蝦有相當高的 MBV 感染率 (60~80%)，而進口母草蝦 MBV 感染率也有 30% (Chen, *et al.*, 1989)。1988 年調查本省之草蝦苗繁殖場，自後幼生期第二天 (PL2) 開始即可由組織病理檢驗發現 MBV 病毒包容體 (occlusion body)，黑殼場內的蝦苗病毒感染率更高達 80~85%，1986 年以前養殖草蝦並未發生大量死亡，其 MBV 感染率約只 15~17%，1987 年以後感染率劇增，伴隨草蝦流行疾病的發生，實不容忽視，進一步的研究刻不容緩。

本實驗於 1989 年至 1990 年在本省養殖草蝦浩劫期間，自本省南部養蝦集中地區進行養蝦池底泥採樣，主要針對 MBV 包容體殘留之檢驗，其中包括黑殼池和養成池，由於每一場在使用池子之後的處理不盡相同，因此在採樣的同時記錄其處理狀況，以供檢驗結果之參考。

### 材 料 與 方 法

#### 黑殼場及大蝦場之 MBV 調查

1. 採取黑殼場及大蝦場的底土，並記錄曝曬時間、整池方法及消毒藥物使用情形。
2. 採回之底土以過濾及離心法除去雜質，將底土以蒸餾水懸浮，並以 300 網目的浮游生物網過濾，濾出液經 3,000 rpm 20 分鐘離心後去除上層液體，然後抹片於玻片上，直接以光學顯微鏡觀察，記錄其結果。

#### 養殖環境中 MBV 去除研究

1. 撈取草蝦無節幼蟲進行清洗，並以高濃度福馬林進行短時間消毒，步驟參考 (Chen and Chang,

1989)。

- (1)停止打氣 10 分鐘後，以浮游生物網收集剛孵化的無節幼蝦。
- (2)以潔淨海水沖洗 5 分鐘。
- (3)放 400 ppm 福馬林溶液浸泡 30 秒。
- (4)放 0.1 ppm 有機碘溶液浸泡 1 分鐘。
- (5)以潔淨海水沖洗約 5 分鐘。
- (6)置入潔淨海水（經 5 ppm 氯消毒，並充分曝氣之海水）中培育。

2.已完全消毒之無節幼蝦，繁殖無感染 MBV 的草蝦苗至後幼生第 12 期 (PL12)，將之分別蓄養至蓄養池中，蓄養池分別以 1%次氯酸鈉消毒，清潔劑清洗及太陽光曝曬乾燥 3 天以上，並以只用清水沖洗的池子做對照組，另一部分蝦苗放養至室外大蝦池，分別在 PL15、20、25、30 採樣做組織切片，檢驗 MBV 感染，組織病理檢驗參考 Lightner *et al.* (1983)。

## 結 果

### 黑殼場與大蝦場之 MBV 調查

將採自表面及表面以下的底土經過濾及離心後，樣品直接以光學顯微鏡觀察，結果如表一。

表一 草蝦桿狀病毒 (*Penaeus monodon* Baculovirus; MBV) 包涵體殘留於養殖環境調查表

Date	Places	Sampling	MBV	Treatments
1989 Mar.	屏東	大蝦池	—	曬池 5 個月，撒石灰
1989 Mar.	屏東	黑殼池	—	曬池 2 個月
1989 Apr.	屏東	黑殼池	+	清洗，曬池 2 個月
1989 Apr.	屏東	大蝦池	+++	剛收成，未清洗
1989 Apr.	屏東	黑殼池	+++	剛收成，未清洗
1989 Apr.	高雄	大蝦池	—	曬池 2 個月，石灰處理
1989 Apr.	高雄	黑殼池	+	曬池 2 個月
1989 May	臺南	大蝦池	—	曬池 6 個月，石灰處理
1989 May	臺南	大蝦池	+	曬池 2 個月
1990 Apr.	屏東	黑殼池	++	收成 1 星期，未清洗
1990 Apr.	屏東	黑殼池	—	曬池 1 星期，石灰處理
1990 Aug.	高雄	大蝦池	+	剛收成，未清洗
1990 Aug.	高雄	黑殼池	+++	剛收成，未清洗

在表中明確敘述調查的結果，在各養殖場偶有發現 MBV 的殘留，MBV 在蝦苗或大蝦剛收成而未清洗的池底有相當高的含量，有些曬池之後仍然可見 MBV 包涵體的蹤跡，有清洗池底者亦仍會殘留下 MBV 包涵體。在使用生石灰中和處理過之池子未見 MBV 殘留下來。

### 養殖環境中 MBV 去除之情況

經福馬林處理消毒之無節幼蝦，由繁殖場生產之紅筋苗（約 PL12）經檢驗確實無 MBV 病毒感染。將之分別移至室內池子蓄養，這些實驗池子證實為 MBV 污染，分別經 1) 次氯酸鈉溶液、2) 清潔劑及 3) 太陽光曝曬之處理。採樣以組織切片技術檢驗結果如表二。

表二 不同處理因子預防 MBV 再感染試驗

Treatments	Larvae stage				
	PL12	PL15	PL20	PL25	PL30
Sodium hypochloride	—	—	—	—	—
Detergen	—	—	—	—	—
Sunlight	—	—	—	—	—
Control	—	卅	卅	卅	卅
Outdoor ponds	—	卅	卅	卅	卅

—：未感染

+：感染率 20%以上

卅：感染率 50%以上

卅：感染率 80%以上

經完全消毒之實驗組蓄養至 PL 30 仍未受 MBV 感染。而未經處理的對照組則在早期 (PL15) 即受感染。但同一批蝦苗放養到室外大蝦池 (經生石灰消毒底土多次採樣證實無 MBV 殘留)，在四天後採樣檢驗即發現已被 MBV 感染。

## 討 論

桿狀病毒包容體結構特殊，能保護裏面的病毒體不受環境的影響，在感染昆蟲的多種桿狀病毒中有相當多的報告指出，這類病毒殘留在田野間、葉片下或砂土中，經過長時間後仍有感染昆蟲的能力，如 *Trichoplusia ni* NPV 的 PIB 在泥土中仍保有 90% 以上的感染活性 (Jaques, 1969)，但仍有些 NPV 在環境中很脆弱，如 *Malacosoma disstria* NPV 在葉片上 10 小時即完全失去感染力 (Broome *et al.*, 1974)。感染對蝦類目前發現有三種桿狀病毒，BP、BMN 和 MBV，其中 BP 和 BMN 已有類似病毒不活化處理的研究 (Leblanc & Overstreet, 1991; Momoyama 1989a, 1989b)，但其共同點是他們都是利用活體做感染研究，其病毒的處理都是以均質機打碎成組織漿液，沒有考慮到組織漿液內影響的消化酵素、pH 值及細菌分解等因素，所以無法真正看出這些病毒是否真的能在各種環境因子下失去活性，因在實驗過程，MBV 病毒對於肝胰腺內的消化酵素及 pH 值均相當敏感，4°C 下不進行純化處理，包容體的瓦解很快，在五日後包容體即完全純化不到 (亦即已瓦解)。養殖池 MBV 的傳染經證實是藉由互相殘食及糞便傳染為主要途徑，而 Overstreet 與 Momoyama 的研究則證明了死亡的蝦體若短時間內不被殘食而傳染，則死蝦體內病毒很快就失去感染活性，但其忽略了另一傳染途徑……糞便傳染，糞便中的包容體受到酵素的影響少，可以長時間存在海水中 (實驗結果)，在乾燥的地方亦能活一段相當長的時間。

MBV 的去除主要是在繁殖過程時行之，MBV 的傳染主要是藉由糞便中的 MBV 包容體傳染，所以如果生產了無病毒草蝦苗放到養殖場養殖，養殖池又無 MBV 源，則理應這些蝦子長到成蝦不會受 MBV 感染，但往往在養殖場複雜的因子下無病毒蝦苗放養後，經抽驗仍有被感染的例子，如本實驗放養至室外池，雖室外池經曝曬整池及消毒，但仍在放養後會感染 MBV，在採樣調查的過程，大蝦受 MBV 感染尚不至影響養成率，但小蝦感染常影響到成長率及存活率，故預防的工作仍不可少。由結果發現在剛收成的蝦池底常可檢出為數相當多的病毒包容體，這些包容體在曬池之後大多會消失，但如果池子屬潮濕則包容體容易殘留下來，而生石灰的均勻散佈可有效去除這包容體，在此時均勻的散佈和足夠的量很重要，潮濕的池底撒上生石灰，會迅速放出熱及改變 pH 值，對 MBV 有抑制感染活性的作用，所以在在大蝦池預防的 MBV 工作，大致上可分為：(1) 抽除池底污水，(2) 曬池，(3) 撒石灰等。

太陽光中的紫外線、清潔劑，和漂白水，皆對 MBV 去除有良好效果，漂白粉亦可用於大蝦池底整池用，其氧化功能可迅速殺死病毒及病原菌，並氧化底泥，與紫外線的功能同，可用於水無法排乾的地

區，但使用必須在黃昏後無陽光時。

本次試驗只是針對某些因子進行，證實有防治 MBV 的效果，但並未對於蝦池生物相進行調查，因此無法了解是否有其他生物攜帶此種病毒而感染到蝦子，須做進一步之探討。

### 誌 謝

本研究承蒙行政院農委會補助，計畫編號 80 農建-7.1-漁-10(4)，謹此誌謝。

### 參 考 文 獻

- Broome, J. R., Sikorowski, P. P. and Neel, W. W. 1974. Effect of sunlight on the activity of nuclear polyhedrosis virus from *Malacosoma disstria*. J. Econ. Entomol. 67: 135-136.
- Chen, S. N., Chang, P. S. 1989. Methods of detection and application of *Penaeus monodon* Baculovirus (MBV) in the giant tiger prawn (*Penaeus monodon*). Fish World 78(4): 42-52.
- Chen, S. N., Chang, P. S. and Kou G. H. 1989. Observation on pathogenicity and epizootiology of *Penaeus monodon* Baculovirus (MBV) in cultured shrimp in Taiwan. Fish Pathology 24(4): 189-195.
- Chen, S. N., Chang, P. S. and Kou G. H. 1990. Investigation of viral in cultured giant tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Asia, Pro. ROC-JAPAN Symp. Fish Dis.: 166-171.
- Jagus, R. P. 1969. Leaching of the nuclear-polyhedrosis virus of *Trichoplusia ni* from soil. J. Invertebr. Pathol. 13: 256-263.
- Leblanc, B. D. and Overtreet, R. M. 1991. Effect of desiccation-pH, heat and ultraviolet irradiation on viability of *Baculovirus penaei*. J. Invertebr. Pathol. 57: 277-286.
- Lightner, D. V., Redman, R. M. and Bell, T. A. 1983. Observations on the geographic distribution, pathogenesis and morphology of the baculovirus from *Penaeus monodon* Fabricius. Aquaculture 32: 209-233.
- Momoyama, K. 1989a. Virucidal effect of some disinfectants of baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) virus. Fish pathology, 24(1): 47-49.
- Momoyama, K. 1989b. Survival of Baculoviral mid-gut gland necrosis virus (BMNV) in infected tissue and in sea water. Fish pathology, 24 (3): 179-181.
- Momoyama, K. and Sano T. 1989. Developmental stages of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* Bate, highly susceptible to baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) virus. J. Fish disease, 12: 585-589.

## Studies on Infection Pathway of Monodon Baculovirus (MBV)

Shiu-Nan Chen, Poh-Shihng Chang, Che-Chun Chen  
and Guang-Hsiung Kou

*Institute of Zoology, National Taiwan University*

The occlusion body of Monodon Baculovirus (MBV) could infect to *Penaeus monodon* by oral. At larvae stage would become to weakness and sickness. So that prevention and treatment of MBV disease was important and necessary during culture period. MBV occlusion body could be destroyed under sunlight for a long time in growth pond, but in the bottom of the ponds must be dry. If the bottom was humid, quicklime could be used to destroy the MBV still, 1% sodium hypochloride. UV and detergens were used to sterilize the indoor ponds, could get rid of MBV. Because the environmental factors were complex in growth ponds, that prevention of MBV is difficult, and arranged ponds in order still important to prevent shrimp diseases.