

## 卵形鲳鲹大规模死亡的病原及其防治\*

周永灿<sup>1,2</sup> 朱传华<sup>3</sup> 张本<sup>1</sup> 苏永全<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>海南大学水产系 海口 570228)

(<sup>2</sup>厦门大学海洋系 361005)

(<sup>3</sup>中国水产科学研究院南海水产研究所 广州 510300)

**摘要** 报道了海南海水网箱养殖卵形鲳鲹大规模死亡的病原及其防治方法。对典型患病个体进行病原分离并经回归感染实验表明,引起该病的病原为嗜麦芽假单胞菌。该病原菌对青霉素类药物和呋喃类药物均高度敏感,在生产中应用这些药物对该病进行防治效果良好。

**关键词** 卵形鲳鲹(*Tmchinotus ovatus*),嗜麦芽假单胞菌(*Pseudomonas maltophilia*),疾病,药物防治

卵形鲳鲹(*Tmchinotus ovatus*)属于鲈形目,鲈亚目,鲹科,鲳鲹属,俗称白鲳,分布于印度洋、太平洋和大西洋的热带和温带海域,为我国南方沿海常见的种类<sup>[1]</sup>。近年来,卵形鲳鲹的人工养殖在海南各沿海地区迅速开展,目前已成为海南海水网箱养殖鱼类的主要品种之一,产生了十分良好的经济效益和社会效益。不过,由于海南各地卵形鲳鲹的养殖都采用高密

度的网箱养殖,加上在养殖过程中缺乏合适的病害防治措施,因重大流行病暴发而引起的大规模死亡时有发生,造成了严重的经济损失。为了系统了解海南养

\* 教育部骨干教师基金资助项目。

收稿日期:2000-08-07;修回日期:2000-01-29

殖卵形鲳鲹大规模死亡的病原及其防治方法,本文首次对其进行了研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

1.1.1 患病卵形鲳鲹 于1999年11月现场取自海南振东方集团公司临高海水养殖基地,选取漂游于水面的严重患病活体进行病原检查。

1.1.2 健康卵形鲳鲹 于2000年5月由海南振东方集团公司临高海水养殖基地提供,为该基地刚从台湾购入但尚未在其养殖海域养殖的体长为4~5 cm的健康鱼苗,经实验室内暂养10 d后用于各项实验。

### 1.2 实验方法

1.2.1 细菌分离 现场选取典型患病活体,分别从肌肉、肝、肠及腹水等部位取材,接种于普通海水营养琼脂培养基上,经28℃培养24 h后,挑选单菌落经纯培养后转接于斜面备用。

1.2.2 病原菌确定 将各分离的细菌以 $1 \times 10^7$ 个/ml的浓度分别对4~6 cm的健康卵形鲳鱼苗以浸泡和创伤浸泡的方式回归感染24 h,创伤方法为在实验鱼背鳍附近人为刮去面积为 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 的鳞片。每组实验鱼数为20尾。感染后分别统计10 d内各组实验鱼的成活率,并将实验过程中各组快死亡的或刚死亡的鱼进行细菌分离,根据各组感染成活情况和细菌再次分离情况确定引起养殖卵形鲳鲹大规模死亡的病原菌。

1.2.3 病原菌鉴定 用广东环凯微生物科技公司生产的细菌检测试剂盒检测病原菌的生理生化特征,并根据中国科学院微生物研究所<sup>[2]</sup>以及Krieg等<sup>[8]</sup>的方法确定病原菌的种类,并与标准菌株的有关特征进行比较。

1.2.4 药物敏感试验 以纸片法检测,药敏纸片为中国腹泻病控制上海试剂供应研究中心产品,直径为6 mm。经28℃培养24 h后测量抑菌圈大小并确定其对各种药物的敏感性。

1.2.5 疾病防治试验 根据药敏试验结果,选择合适的药物于现场进行疾病防治,观察记录用药后相关疾病的进展情况,确定合适的疾病防治方法。

## 2 结果

### 2.1 发病概况

本研究取材的患病卵形鲳鲹为海南振东方集团公司临高海水养殖基地从台湾购进的鱼苗,养殖地点位于海南临高县新盈海域,病鱼体长4~6 cm。据该基地负责人介绍,所购鱼苗为台湾的人工繁殖苗,途中

滞留了1 d,但到达海南后依外观检查一切正常,鱼苗未经任何消毒处理就直接置于网箱中养殖。鱼苗放养后前4 d的吃食情况、活动情况及体表色泽等均未发现异常,第5天吃食明显减少,有部分鱼苗零散漂游于水面并开始有少量死亡,第6天后死亡数量急剧增加,日死亡率达10%~15%。取濒死的病鱼和刚死的病鱼检查表明,病鱼体表没有明显的病灶,色泽也很正常,只是有的病鱼有胀腹症状,有的在肛门处有黄色黏稠状液体流出;剖开腹腔后发现,病鱼腹腔内有数量不等的腹水,肠道有严重的溃疡,肝脏颜色变白。类似的死亡情况在该基地1998年的两次进苗中也曾有出现,损失极为惨重。

### 2.2 患病卵形鲳鲹体内的细菌分离

从典型患病卵形鲳鲹的肌肉、肝脏、肠以及腹水等部位取材培养24 h后,在接种肌肉组织的培养平板中长出的细菌数量很少,每平板只有0~10个;而所有接种肝脏、肠以及腹水等组织的培养平板中却都长出了大量的细菌,每平板中细菌的数量达数百至上千个。经挑选单菌落再次用平板划线分离后,根据菌落形态可将从病鱼中分离出的细菌分为3种,其中,BC991101号菌数量最多,占总菌数的80%以上;而BC991102和BC991103号菌则分别只约占总菌数的15%和5%。

### 2.3 患病卵形鲳鲹致病菌的确定

将从患病卵形鲳鲹的肝脏、肠和腹水中分离的3株细菌分别对健康卵形鲳鲹进行浸泡感染和创伤浸泡感染结果表明(表1),BC991101号菌株不论是浸泡感染还是创伤浸泡感染在10 d内的死亡率均为100%,对实验卵形鲳鲹危害严重;而BC991102号菌株和BC991103号菌株虽然在创伤感染中有10%~15%的死亡率,但其结果与没有细菌的对照组相当,说明死亡主要是由于人为创伤引起,而该2株菌株本身对卵形鲳鲹并不造成明显的危害。

从回归感染后卵形鲳鲹所表现的症状来看,因BC991101号菌株感染而患病的鱼所表现的症状与现场取材时病鱼所表现的症状相同,从其肝脏、肠和腹水等部位分离的细菌的菌落形态也与BC991101号菌株相同,说明引起海南临高养殖卵形鲳鲹大规模死亡的病原菌为BC991101号菌。

### 2.4 病原菌的种类鉴定

BC991101致病菌在普通海水营养琼脂培养基上培养24 h后,所形成的菌落直径为3~4 mm,呈近圆形,中央有脐状隆起,边缘较整齐,表面光滑。对该菌的形态及生理生化特征检测结果表明(表2),该菌为具运动性的革兰氏阴性杆菌,化能异养,呼吸代谢,氧

表 1 人工感染从病鱼中分离的不同细菌对健康卵形鲳鲹的影响

Tab.1 The effects of artificial infection of different kinds of bacteria isolated from the ill *Trachinotus ovatus* on the health individuals

菌号	感染方式	数量 (尾)	菌浓度 (个/ml)	感染后各天的死亡数(尾)										总死亡数 (尾)	死亡率 (%)
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
BC-991101	浸泡	20	$1 \times 10^7$	0	0	0	2	5	7	5	1	/	/	20	100
	创伤浸泡	20	$1 \times 10^7$	0	1	7	9	3	/	/	/	/	/	20	100
BC-991102	浸泡	20	$1 \times 10^7$	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	5
	创伤浸泡	20	$1 \times 10^7$	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	3	15
BC-991103	浸泡	20	$1 \times 10^7$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	创伤浸泡	20	$1 \times 10^7$	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	10
对照	浸泡	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	创伤浸泡	20	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	3	15

注:实验水温 27 ~ 30 °C,海水盐度为 30 ~ 32。

表 2 BC-991101 号菌株的形态和生理生化特征

Tab.2 Morphological, physiological and biochemical characteristics of the BC-991101 strain

形态和生理生化 特征	菌株性状		形态和生理生化特征	菌株性状	
	BC-991101	嗜麦芽假单胞菌		BC-991101	嗜麦芽假单胞菌
革兰氏染色	-	-	产淀粉酶	-	-
运动性	+	+	产明胶酶	+	+
固体复杂培养基上滑动	-	-	精氨酸脱羧酶	-	-
直杆	+	+	赖氨酸脱羧酶	-	-
色素:			鸟氨酸脱羧酶	-	-
橘黄色	-	-	ONPG 试验(24h)	+	+
蓝黑色	-	-	在 TCBS 上生长	Y	Y
红色	-	-	D-木糖	+	+
精氨酸双水解酶	-	-	L-阿拉伯糖	-	-
氧化酶	-	-	D-甘露糖	+	+
接触酶	+	+	D-半乳糖	-	-
还原 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 为 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-	-	蔗糖	+	+
发光	-	-	海藻糖	+	+
从 D-葡萄糖产气	-	-	纤维二糖	-	+
V.P.反应	-	-	乳糖	-	+
甲基红(M.R)	-	-	棉子糖	+ W	+
生长在:			水杨素	-	-
4°C	-	-	D-葡萄糖酶	-	-
30°C	+	+	D-甘露醇	-	-
40°C	+	+	D-山梨醇	-	-
吲哚产生	-	-	肌醇	-	-
硝酸盐产气	-	-	卫茅醇	-	-
葡萄糖铵	-	-	L-鼠李糖	-	+
尿素(脲酶产生)	-	-	D-葡萄糖(O/F)	+/-	+/-
丙二酸盐	-	-	D-果糖	-	+
亚硝酸盐产气	-	-	麦芽糖	+	+
H <sub>2</sub> S产生	-	-	七叶苷	+	+
苯丙氨酸脱氨酶	+	+	侧金盏花醇	-	-
柠檬酸盐利用	-	-			

注:“+”示阳性;“-”示阴性;“+/-”示呼吸代谢;“+ W”示弱阳性;“Y”示黄色。其中,BC-991101 的结果为 28 °C 培养 7 d 后观察的结果,即为迟缓性发酵。

化酶阴性,接触酶阳性, M.R 试验和 V.P 试验均为阴性。经检索相关文献并与标准菌相比较<sup>[2,3,8]</sup>,确定

BC-991101 致病菌为嗜麦芽假单胞菌 (*Pseudomonas maltophilia*)。

表 3 卵形鲳鲹致病菌对 20 种抗菌药物的敏感性

Tab.3 The sensitivity of the pathogen of *Trachinotus ovatus* on 20 kinds of antimicrobial agents

抗菌药物	纸片含药量 ( $\mu\text{g}$ )	抑菌圈直径 (mm)	敏感性	抗菌药物	纸片含药量 ( $\mu\text{g}$ )	抑菌圈直径 (mm)	敏感性
青霉素	10	40	++	头孢呋新	30	32	++
链霉素	10	11	-	头孢他啶	30	20	++
红霉素	15	32	++	头孢哌酮	75	33	++
氯霉素	30	32	++	氟喹酸	5	12	-
四环素	30	17	+	氟哌酶	10	13	+
克林霉素	2	21	+	丙氟哌酶	5	19	+
卡那霉素	30	16	+	呋喃妥因	300	26	++
丁胺卡那霉素	30	21	++	磺胺异恶唑	300	0	-
庆大霉素	10	22	++	氨基南	30	0	-
万古霉素	30	23	++	阿齐霉素	15	28	++

注：“++”表示高度敏感，“+”表示中度敏感，“-”表示不敏感。

### 2.5 病原菌对不同化学药物的敏感性

表 3 为从患病卵形鲳鲹分离的致病嗜麦芽假单胞菌对不同化学药物的敏感性检测结果。在所检测的 20 种药物中, 该菌除对链霉素、氟喹酸、磺胺异恶唑和氨基南等少数种类具有抗性外, 对其他 16 种药物均表现为不同程度的敏感性, 其中, 对四环素、卡那霉素和氟哌酶等 5 种药物中度敏感; 对青霉素、氯霉素以及呋喃妥因等 11 种药物高度敏感。

### 2.6 疾病的药物防治结果

根据 2.5 中病原菌对不同化学药物敏感性的试验结果, 选择高度敏感、获得方便、价格相对便宜的青霉素和呋喃妥因原药粉进行现场防治试验。先将患病的卵形鲳鲹鱼苗从养殖网箱中捞出, 在  $50 \times 10^{-6}$  的青霉素溶液中浸泡 30 min 后放回网箱; 同时以每 50 kg 的鱼用 5 g 的呋喃妥因拌料投喂, 连续 5 d。结果表明, 用药后第 2 天, 死鱼数与用药前相当, 病情开始稳定; 用药后第 3 天, 死鱼数明显减少; 用药后第 5 天, 死鱼现象消失, 有效地控制了该病的进一步蔓延。

## 3 讨论

细菌性疾病是海水养殖鱼类的主要传染病, 因其暴发流行对世界各地海水鱼类的养殖均造成了巨大的经济损失<sup>[4]</sup>。在已研究的海水养殖鱼类细菌性病原中, 弧菌 (*Vibrio*)、气单胞菌 (*Aeromonas*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)、爱德华氏菌 (*Edwardsiella*) 和巴斯德氏菌 (*Pasteurella*) 等的许多种类都对海水养殖鱼类造成

了严重危害<sup>[4-6]</sup>。海南是我国海水鱼类人工养殖的主要地区, 细菌性疾病的危害也十分严重, 哈维氏弧菌对海南陵水等地的养殖高体鲷<sup>[7]</sup>以及溶藻弧菌对海南三亚等地的养殖石斑鱼<sup>[4]</sup>等都造成了巨大损失。本文的研究结果表明, 引起海南临高海水养殖卵形鲳鲹幼鱼大规模死亡的病原菌属于假单胞菌属的嗜麦芽假单胞菌。该病原菌对青霉素、氯霉素和呋喃妥因等多种药物均高度敏感, 在生产上应用这些药物防治该病效果显著。

### 参考文献

- 1 《福建鱼类志》编写组. 福建鱼类志. 福州: 福建科学技术出版社, 1985. 88 ~ 89
- 2 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978
- 3 卢振祖. 细菌分类学. 武汉: 武汉大学出版社, 1994. 88 ~ 113
- 4 朱传华, 何建国, 黄志坚. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(增刊): 278 ~ 282
- 5 吴后波. 热带海洋, 1997, 16(4): 99 ~ 102
- 6 孟庆显主编. 海水养殖动物病害学. 北京: 中国农业出版社, 1994. 63 ~ 76
- 7 吴后波, 潘金培. 水产学报, 1997, 21(2): 171 ~ 174
- 8 Krieg N. R., Holt J. G.. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (9th ed.). Baltimore: The Williams and Wilkins Company. 1984

# ISOLATION AND PREVENTION OF THE PATHOGEN CAUSING LARGE SCALE DEATH ON *Trachinotus ovatus*

ZHOU Yong-can<sup>1, 2</sup> ZHU Chuan-hua<sup>3</sup> ZHANG Ben<sup>1</sup> SU Yong-quan<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Fisheries Department, Hainan University, Haikou, 570228)

(<sup>2</sup> Oceanology Department, Xiamen University, 361005)

(<sup>3</sup> South China Sea Fisheries Research Institute, CAFS, Guangzhou, 510300)

**Received:** Aug. 7, 2000

**Key words:** *Trachinotus ovatus*, *Pseudomonas maltophilia*, Disease, Medical Prevention

## Abstract

This paper reported the pathogen and its prevention method of the serious disease which caused large scale death on the cage cultured *Trachinotus ovatus* in Hainan. The pathogen isolated from the ill fish with typical characteristics was identified as *Pseudomonas maltophilia*. This pathogen is sensitive to most of the antimicrobial agents including Penicillin, Chloramphenicol, Nitrofurantoin and Ceftazidime. After these medicines were applied to the ill fish, the disease can be effectively prevented. (本文编辑:刘珊珊)