

研究简报

Pseudomonas sp. 引起欧洲鳗鲡烂鳃病的初步研究

樊海平 曾占壮 余培建 李志青

(福建省淡水水产研究所, 福州 350002)

GILL-ROT DISEASE OF EUROPEAN EEL INFECTED BY *PSEUDOMONAS* SP.

FAN Hai-ping, ZENG Zhan-zhuang, YU Pei-jian and LI Zhi-qing

(The Freshwater Fisheries Research Institute of Fujian Province, Fuzhou 350002)

关键词: *Pseudomonas* sp.; 欧洲鳗鲡; 烂鳃病

Key words: *Pseudomonas* sp.; European eel; Gill-rot disease

中图分类号: S941.42 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2001)02-0202-03

欧洲鳗鲡 [*Anguilla anguilla* (L.)] 养殖过程中, 细菌性疾病危害严重, 其中烂鳃病周年发生且发病率。欧洲鳗鲡烂鳃病常与寄生虫病、真菌病并发, 因而给治疗带来了困难。鳗鲡烂鳃病病原主要有柱状屈挠杆菌、噬纤维菌等^[1-3]。本文报告由 *Pseudomonas* sp. 引起的欧洲鳗鲡烂鳃病。

1 材料与方法

1.1 病原菌分离 取无寄生虫与真菌感染, 鳃丝溃烂的濒死病鳗, 用无菌生理盐水冲洗体表三遍, 解剖取出鳃, 经无菌生理盐水充分冲洗后, 捣烂鳃丝, 接种环取样于普通平板培养基划线, 30℃ 培养 24h 后, 挑取形态一致的优势菌落, 进一步划线纯化, 获纯培养后, 移入斜面培养基, 石蜡保存。

1.2 人工感染试验 取体重为 15g 左右的健康鳗, 于水族箱暂养 5d。稳定后供人工感染用。暂养期间不投饵, 连续充气, 日换水 50%, 水温保持 27℃。90L 水族箱放自来水 50L, 曝气 24h 后, 移入试验鳗, 每箱 6 尾一组, 不换水, 连续充气, 试验期间水温恒定 27℃。取 30℃ 培养 24h 的斜面培养物, 用肉汤培养基洗下, 并用肉汤培养基稀释制成 10^{12} cfu/mL 的菌悬液, 根据设计浓度加入水族箱进行感染试验。同期进行创伤感染和浸浴感染, 创伤感染用无菌解剖剪下一小片鳃丝。对照组不加菌液。每日记录死亡结果。对 MS0329 菌株感染出现症状的病鳗分离细菌并进行重复感染分离细菌。

2 结果

2.1 人工感染 分离 3 个菌株, 分别采用不同菌液浓度的创伤 (I)、浸浴 (II) 感染结果 (表 1) 表明: 分离菌株能使欧洲鳗鲡致死, 其致死量与浓度成正比, 说明所分离菌株为欧洲鳗鲡致病菌。人工感染鳗表现为胸鳍及鳃孔周围充血发红, 鳃丝充血, 轻压鳃部流出血色粘液, 鳃丝末端水肿、粘液细胞排列紊乱、脱

收稿日期: 1999-01-14, 修订日期: 2000-11-30

基金项目: “九五”农业部重点课题 (渔 95-A-96-03-02)

作者简介: 樊海平 (1967—), 男, 福建省福州市人; 高级工程师; 主要从事水产养殖动物疾病的防治技术研究

落,体表脱粘,部分鳃鳍充血,这些症状与自然病鳗相同。

表 1 人工感染试验结果
Tab.1 Result of infection test

菌液浓度 Concentration of bacteria Suspension (cell/mL)	组别 Group	死亡数 No. of deads fish	死亡数/试验鱼数 No. of dead fish/ No. of testing fish
9.8×10 ⁶	I	2	2/6
9.8×10 ⁶	II	1	1/6
9.8×10 ⁷	I	4	4/6
9.8×10 ⁷	II	2	2/6
9.8×10 ⁸	I	4	4/6
9.8×10 ⁸	II	2	2/6
9.8×10 ⁶	I	2	2/6
9.8×10 ⁶	II	1	1/6
9.8×10 ⁷	I	4	4/6
9.8×10 ⁷	II	2	2/6
9.8×10 ⁸	I	5	5/6
9.8×10 ⁸	II	3	3/6
4.2×10 ⁶	I	3	3/6
4.2×10 ⁶	II	2	2/6
4.2×10 ⁷	I	4	4/6
4.2×10 ⁷	II	3	3/6
4.2×10 ⁸	I	5	5/6
4.2×10 ⁸	II	3	3/6
对照 Control	I	0	0/6
对照 Control	II	0	0/6

2.2 病原体的分类鉴定 对 5 个菌株(3 株由自然病鳗分离,2 株由人工感染鳗分离)进行形态及生理生化测定(表 2)。病原菌为短杆状、具动力、多根鞭毛,氧化酶、过氧化氢酶阴性,硝酸盐还原、硝酸盐产

表 2 分离菌株的特性

Tab.2 Characteristics of the isolated bacteria

鉴定项目 Characteristics	分离菌株 Isolations	鉴定项目 Characteristics	分离菌株 Isolations
形状 Shape	短杆状 Short rods	果糖 Fructose	+
色素 Pigment	灰白 Greyish	麦芽糖 Maltose	-
鞭毛 Flagella	>1	靛基质 Indole	-
革兰氏染色 Gram-Strain	-	V-P 反应 Voges-Proskauer reaction	-
克氏双糖铁 Kligler Iron	-/-	尿素酶 Urease	-
氧化酶 Oxidase	+ 反应弱	枸橼酸盐 Utilization of sodium citrate	+
过氧化氢酶 Catalase	+	乙酰胺酸 Acetamide acid	-
硝酸盐还原 Nitrate reduction	-	明胶酶 Gelatinase	-
硝酸盐产气 Gas from nitrates	-	赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	-
葡萄糖 Glucose	氧化 Oxida	鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase	-
乳糖 Lactose	-	精氨酸双水解 Arginine dihydrolase	+
木胶糖 Xylose	+		

气阴性, 吡啶反应、V-P 反应阴性, 发酵木糖、果糖、不发酵麦芽糖、乳糖、赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶阴性, 精氨酸双水解阳性。对照伯杰氏系统细菌手册病原菌鉴定为假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)。

2.3 药物敏感性试验 对分离菌株进行 24 种药物敏感性试验(表 3), 其中氟哌酸、妥布霉素、卡那霉素、庆大霉素敏感, 氟哌嗪青霉素、头孢三嗪、头孢呋新、链霉素中度敏感, 其余药品不敏感。

表 3 分离菌株的药物敏感性试验结果

Tab. 3 The sensitivity of the isolated bacteria to the medicine

药品 Medicine	敏感性 Sensitivity	药品 Medicine	敏感性 Sensitivity
卡那霉素 Kanamycin	S	丁胺卡那霉素 Amikacin	I
呋喃妥因 Nitrofurantoin	R	氨苄青霉素 Ampicillin	R
氟哌酸 Norfloxacin	S	羧苄青霉素 Carbenicillin	R
苯唑青霉素 Oxacillin	R	头孢哌酮 Cefoperazone	I
链霉素 Streptomycin	I	头孢呋新 Cefuroxime	R
青霉素 G Penicillin G	R	头孢唑啉 Cephazolin	R
氟哌嗪青霉素 Piperacillin	I	氯霉素 Chloramphenicol	R
利福平 Rifampicin	R	头孢三嗪 Ceftriaxone	I
复方新诺明 SMZ + TMP	R	头孢他定 Ceftazidime	R
四环素 Tetracycline	R	头孢噻肟 Cefotaxime	R
妥布霉素 Tobramycin	S	红霉素 Erythromycin	R
万古霉素 Vancomycin	R	庆大霉素 Gentamycin	S

注: S: 敏感 Sensitivity; I: 中度敏感 Moderate sensitivity; R: 不敏感 Resistance

2.4 讨论 欧洲鳗鲡烂鳃病的发生, 一般具其诱导因子, 如寄生虫感染、真菌感染或水质恶化, 导致鳃组织创伤或功能下降, 使鳗鲡对病原体的抵抗能力下降而暴发烂鳃病。人工感染试验显示, 创伤感染鱼体死亡率明显高于浸浴感染, 菌液浓度升高, 创伤感染及浸浴感染的死亡率升高。这说明病原菌是条件致病菌, 当环境条件适于病原菌生长繁殖, 鱼体对病原抵抗能力减弱时易受病原侵袭而暴发疾病, 环境条件不适于病原菌生长繁殖及鱼体对病原抵抗能力强时, 即使环境中具病原体的存在亦不易导致鳗病的暴发。

欧洲鳗鲡烂鳃病的治疗应首先去除诱发因子, 如寄生虫、真菌、水质条件, 再进行病原菌的杀灭, 方能彻底治愈。如果未去除诱发因子, 易造成重复感染。

参考文献:

- [1] 韩先朴, 郭继娥, 陈光辉. 鳗鱼养殖技术问答[M]. 北京: 科学普及出版社, 1996, 175—176
- [2] Mail Bag, suva Fuji. Induction and development of bacterial gill disease in eel (*Anguilla japonica*) experimentally infected with *Flexibacter columnaris*: pathological in the gill vascular structure and in Cardiac performance [J]. *Aquaculture*, 1989, 78(1): 1—20
- [3] Mellengaard S, Dalgaard I. Disease problems in Danish eel farms [J]. *Aquaculture*, 1987, 67: 139—146