

大口黑鲈主要病害研究进展

夏焱春, 曹 铮, 蔺凌云, 潘晓艺, 姚嘉赞, 刘忆瀚, 尹文林, 沈锦玉

(浙江省淡水水产研究所, 浙江省鱼类营养与健康重点实验室, 浙江湖州 313001)

摘要: 大口黑鲈 (Largemouth bass, *Micropterus salmoides*) 是我国主要的水产养殖品种, 近年来病害多发, 导致养殖业损失严重。本文从细菌性疾病、病毒性疾病和寄生虫病三方面, 概述了近年来大口黑鲈总体病害情况, 描述了疫病的病原特征、发病时间和主要症状, 并从机体分子机制、疫苗研究、防控方法等方面, 总结了国内外的最新研究进展, 指出未来的病害防控方向可从疫苗和中草药制剂等方面着手, 研发新型、高效、安全的绿色渔药或疫苗。

关键词: 大口黑鲈; 细菌性疾病; 病毒性疾病; 寄生虫病

中图分类号: S855 文献标识码: A 文章编号: 1005-944X (2018) 09-0072-05

DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2018.09.019

Research Progress on Main Diseases of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*)

Xia Yanchun, Cao Zheng, Lin Lingyun, Pan Xiaoyi, Yao Jiayun, Liu Yihan, Yin Wenlin, Shen Jinyu

(Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Key Laboratory of Fish Health and Nutrition of Zhejiang Province, Huzhou, Zhejiang 313001, China)

Abstract: Largemouth bass (*Micropterus salmoides*) is an important aquaculture species in China. In recent years, many diseases have occurred in largemouth bass, often resulting in serious losses of aquaculture industry. In this article, the overall situation of disease outbreak in largemouth bass was summarized from aspects of bacterial, viral and parasitic diseases. The pathogenic characteristics, attack time and main symptoms were specifically described. In addition, the latest research progress in and outside China was introduced from aspects of molecular mechanism, vaccine research and prevention and control method, and it was pointed out that disease prevention and control in the future could start with vaccines and Chinese herbal preparations, so as to develop the new, efficient and safe fishery medicines and vaccines.

Key words: largemouth bass; bacterial disease; viral disease; parasitic disease

大口黑鲈 (Largemouth bass, *Micropterus salmoides*), 俗称加州鲈, 属广温性鱼类, 原产北美洲密西西比河流域。1983年引入广东省, 现主要分布在广东、江苏、浙江、江西、四川和福建等省份。因其生长快、病害少、耐低温、肉质鲜美且易捕捞, 大口黑鲈已成为我国重要的淡水养殖品种, 近年来产量逐年上升, 2016年产量达37.4万吨, 同比增长5.94%^[1-2]。近年来, 由于养殖规模不断扩大, 养殖密度大幅提升, 大口黑鲈生长过程中出现

的病害情况日趋严重, 给养殖户带来重大经济损失。因病害频发, 药物滥用现象越来越普遍, 导致大口黑鲈的质量安全得不到保障, 严重影响其养殖业的可持续发展。本文将大口黑鲈的病害总体分为细菌性疾病、病毒性疾病和寄生虫病, 描述了疫病的病原特征、发病时间和主要症状, 并总结归纳了国内外大口黑鲈免疫相关因子、疫苗研究和防控方法研究的最新进展。

1 细菌性疾病

1.1 柱状黄杆菌

柱状黄杆菌 (*Flavobacterium columnare*)

基金项目: 浙江省科院所扶持专项 (2018F10014)

通信作者: 沈锦玉

属于嗜纤维菌属、黄杆菌属、拟杆菌属类群 (*Cytophaga flavobacterium bacteroides*, CFB)。菌体形态大多呈直杆状,直径 0.5 μm ,体长 6~12 μm ,革兰氏阴性,无鞭毛;25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 1 d,菌落边缘不整齐,呈淡黄色。柱状黄杆菌主要危害鱼种和成鱼,导致烂鳃病^[3]。烂鳃病发病期为 4—6 月份和 9—10 月份,死亡率较高。该病主要症状为病鱼体色黑暗,离群,反应迟缓,鳃瓣通常有腐烂,鳃小片坏死,病鱼口腔表皮发炎充血,严重的会有糜烂;主要防治方法为全池消毒和内服抗菌药物,此外还要保持水质清洁,小心操作避免鱼体受伤等^[2]。目前,已经成功建立了柱状黄杆菌的常规 PCR 检测方法、间接 ELISA 快速检验方法、双抗体夹心 ELISA 检测方法等^[4]。据 Bebak^[5]研究,美国已经研制出柱状黄杆菌疫苗,并且给自然条件下饲料喂养的大口黑鲈鱼苗接种后发现,能显著降低其感染后的死亡风险。之后 Shoemaker 等^[6]又利用利福平削弱柱状黄杆菌毒力,将改良的柱状黄杆菌活疫苗接种大口黑鲈鱼苗,发现能达到很好的保护效果。

1.2 诺卡氏菌

诺卡氏菌 (*Nocardia*) 是鱼类诺卡氏菌病的致病菌,其中鳊鱼诺卡氏菌主要感染大口黑鲈。该菌体呈短杆状,有细长分支,一般直径为 0.2~1.0 μm ,长 2~5 μm ,革兰氏阳性,适宜生长温度为 25~28 $^{\circ}\text{C}$ 。大口黑鲈诺卡氏菌病发病期主要集中在 6—9 月份。由于诺卡氏菌病为慢性疾病,潜伏期长,因此不易被发现。病鱼一般表现不吃食,在环境变化后,如雨后会出现大量死亡。该病主要防治方法为及时有效消毒、科学投喂和内服抗生素^[7-8]。蒋依依等^[9]分离到一株鳊鱼诺卡氏菌,认为它是导致大口黑鲈结节病的病原菌,对其进行药敏试验发现,该菌株对氯霉素、链霉素、卡那霉素、四环素等抗菌药物敏感,但对磺胺类和氨基青霉素有耐药性。目前,大口黑鲈的诺卡氏菌免疫相关因子研究取得了一定进展:Omkar 等^[10]通过超高通量测序平台,发现了大口黑鲈感染诺卡氏菌后,Toll 样受体、趋化因子等各个免疫相关基因的上调表达模式。Ho 等^[11]

成功克隆了大口黑鲈白介素 1 β (IL-1 β),并在感染诺卡氏菌后进行了表达量测定,发现 8 h 后,头肾的 IL-1 β 表达量增加,在第三天达到高峰,而脾脏的表达量在 5 h 后就显著提高,且持续 3 d。这有利于解释细菌感染大口黑鲈后各个基因在免疫应答过程中发挥的作用,从而为未来研发诺卡氏菌疫苗提供理论基础。

2 病毒性疾病

2.1 虹彩病毒

虹彩病毒科 (*Iridoviridae*) 病毒都是正二十面体病毒,直径 120~300 nm,包括 5 个属,其中蛙病毒属 (*Ranavirus*)、细胞肿大病毒属 (*Megalocytivirus*)、淋巴囊肿病毒属 (*Lymphocystivirus*) 可以感染脊椎动物,而虹彩病毒属 (*Iridovirus*)、绿虹彩病毒属 (*Chloriridovirus*) 感染无脊椎动物。虹彩病毒科病毒多是单分子线性双链 DNA 病毒,基因组大小为 170~200 kb,其中主要感染大口黑鲈的为蛙病毒属和细胞肿大病毒属。

2.1.1 蛙病毒 目前研究较多的蛙病毒为大口黑鲈蛙病毒 (*Largemouth bass ranavirus*, LMBV),最早于 1991 年在美国佛罗里达州被发现,1996 年先被归类到虹彩病毒科,后又被归类到蛙病毒属。大口黑鲈感染该病毒后,通常不表现任何症状,呈隐性带毒。但 Deng 等 2008 年从广东省佛山地区分得一株与 LMBV 同源性较高的病毒,肌肉注射后导致大口黑鲈 100% 死亡^[12]。蛙病毒病夏季高发,发病时水温为 25~30 $^{\circ}\text{C}$,危害成鱼,致死率高。LMBV 在两栖类、禽类等天然宿主体内,甚至鱼饵中均可以存活,存在多种传播途径,目前没有有效的治疗药物,只能靠科学饲养和及时消毒来预防^[13]。实验室人工感染条件下,腹腔注射和浸泡都可以使大口黑鲈患病,且鳃、鳃和后肾是最容易受 LMBV 侵袭的器官。而自然环境下,大口黑鲈普遍呈隐性带毒。Inendino 等^[14]研究表明,环境对 LMBV 感染存在影响,水体环境的剧烈变化、饲养密度过大等因素都会导致感染 LMBV 的大口黑鲈病死率上升。这就要求科学控

制大口黑鲈养殖环境,防止出现大规模的 LMBV 感染。根据 Huang 等^[15]研究,LMBV 感染鲤鱼上皮瘤细胞(EPC)后,可以诱导典型的细胞凋亡;凋亡启动因子和终止因子的激活与感染时间显著相关,PI3K 抑制剂可增强 LMBV 感染诱导的细胞凋亡,而 ERK 抑制剂可降低 LMBV 的感染。这为研究 LMBV 感染的分子机制提供了新思路,为研制 LMBV 疫苗提供了依据。

2.1.2 细胞肿大病毒 细胞肿大病毒会导致大口黑鲈的脾、肾等病毒靶器官内出现大量细胞质匀质化且嗜碱性的肿大细胞,从而导致肝脏、脾脏、肾脏肿大,体色变黑。部分严重的病鱼还会出现眼睛突出,肾脏失血而呈灰白色。该病主要危害成鱼,导致其脾肾坏死,一旦暴发,死亡率高达 80%。目前对于该病,尚无有效的治疗手段,只能依靠科学消毒来进行防治。根据 Zhang 等^[17]研究,将细胞肿大病毒的 ORF75 基因制成 DNA 疫苗,免疫细胞后会导致多种免疫基因的上调表达,且经病毒全基因组转录分析,发现敲除 ORF75 后可导致病毒 43 种基因的转录改变,证明 ORF75 编码高度保护性免疫原。这为研发细胞肿大病毒疫苗提供了新思路。

2.1.3 其他研究 研究人员还以鱼类虹彩病毒主要衣壳蛋白(Major capsid protein, MCP)作为保护性抗原,研制基因工程疫苗,来解决虹彩病毒病问题。MCP 蛋白分子量约为 50 kD,占病毒总蛋白的 40%~45%,具有一定免疫原性,可以保护病毒核酸并介导病毒与宿主细胞的结合。马冬梅等^[16]构建重组表达 MCP 蛋白的工程菌,制备基因工程疫苗,发现该疫苗对 LMBV 感染后 20 d 的大口黑鲈保护率最高达 67.7%。

2.2 弹状病毒

大口黑鲈感染的弹状病毒(*Rhabdovirus*)属于水泡性病毒属(*Vesiculovirus*),为线性负链单链 RNA 病毒,病毒粒子大小约为 53 nm×140 nm,形态呈子弹状,具有 5 种主要结构蛋白(RNA 依赖性 RNA 聚合酶蛋白 L、糖蛋白 G、核衣壳蛋白 N、磷蛋白 P、基质蛋白 M)。弹状病毒主要导

致肝、脾、肾肿大或充血,体色发黑,使病鱼表现弯曲身体,螺旋状不规则游动。弹状病毒主要危害鱼苗,发病时间通常为 3—4 月份。该病在水温突然升高或降低时易发,而且传播快、致死率高。本研究小组曾对浙江省主要养殖地区大口黑鲈苗的发病情况进行过调查,发现每年死亡率平均在 40%~50% 之间。针对该病毒引发的疾病,目前还没有有效的治疗药物。但 Chen 等^[18]构建了抗弹状病毒的 G 蛋白质粒,免疫鱼体后,发现 I 型 IFN 抗病毒免疫应答被迅速触发,并且可降低组织器官损害程度并抑制病毒复制。这为开发弹状病毒疫苗提供了新思路。

Gao 等^[19]将大口黑鲈弹状病毒(MSRV)感染大口黑鲈皮肤细胞,利用深度 RNA 测序技术,揭示 MSRV 感染过程中的转录谱,并用定量 PCR 验证几种差异表达基因,发现其可诱导细胞凋亡,激活干扰素信号通路。这为病毒感染其他免疫相关基因的后续研究提供了有用资源。

3 寄生虫病

3.1 车轮虫

车轮虫(*Trichodina*)是车轮虫科(*Trichodinidae claus*)寄生性纤毛虫原生动物的统称。车轮虫科隶属寡膜纲(*Oligohymenophora de puytorac*)。在我国已见报道的车轮虫有 5 个属近 80 种,其中直钩车轮虫主要感染大口黑鲈而导致大口黑鲈车轮虫病。病鱼体色黑暗且消瘦,体表有较多粘液,鳃丝发白腐烂,群游于池边。此病于育苗期间流行,通常为 3—5 月份,对鱼苗、鱼种危害较大,致死率较高,且易发生继发感染。主要防治方法为全池消毒。Meira-filho 等^[20]发现,直接用 476 mg/L 的冰醋酸浸泡鱼体 1 h 可以有效防治车轮虫。李鸞鸞等^[21]认为,目前标准用药效果欠佳,导致一些限制或禁止使用药物被滥用。为达到安全防治的目的,可着力研发药效好、低残留、无抗药性、污染小的中草药。Yao 等^[22]发现利用白屈菜中的白屈菜红碱浸泡可以 100% 去除车轮虫(浓度为 0.8 mg/L)。这都为开发新的抗车轮虫药提供了依据。

3.2 杯体虫

鱼杯体虫 (*Apiosoma piscicola blanchard*) 属于杯体虫属 (*Apiosoma blanchard*)，是一种附着于多种水生生物体表及鳃部的缘毛类纤毛虫。该虫体口围唇具有极强的伸缩性，可将口围纤毛完全缩进体内，身后端有一条吸盘状茸毛器，可借此粘附鱼体。大口黑鲈感染杯体虫后，主要症状为病鱼群游于池边或水面，体表、鳍条有类似水霉的灰白絮状物。该病在3—5月份的育苗期流行，主要危害鱼苗，且容易产生继发感染。防治方法与车轮虫病相似，主要做好水体消毒^[23]。

3.3 斜管虫

斜管虫 (*Chilodonella*) 属斜管科、管口目，主要寄生在淡水鱼的鳃和体表，少量寄生时对鱼体危害不大。大口黑鲈感染斜管虫的主要症状为体色发黑，体表和鳃有较多粘液，消瘦，侧卧池边或漂于水面。该病流行于育苗期，主要危害鱼苗。预防措施主要是用硫酸铜-硫酸亚铁合剂 (5:2) 全池泼洒消毒或用高锰酸钾消毒鱼苗。顾中华等^[24] 研究认为，可以用硫酸铜制剂、高锰酸钾等多种药物进行治疗，但治疗过程中一定要注意配合使用抗菌药物，以预防其他细菌病发生。

3.4 小瓜虫

多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 属小瓜虫属 (*Ichthyophthirius*)、凹口科 (*Ophryoglenidae*)、膜口目 (*Hymenostomatida*)。成虫一般呈卵圆形或球形，乳白色，是目前鱼体上发现的最大的寄生原虫。研究表明，小瓜虫成长过程分为幼虫、成虫和滋养体3个时期，最终成虫发育成的滋养体会脱离鱼体，在水中固着。大口黑鲈感染小瓜虫的主要症状为病鱼反应迟缓，消瘦，浮于水面或集群绕池，肉眼可见病鱼体表和鳃上布满白色点状胞囊。感染严重的病鱼病灶组织增生，分泌大量粘液，会在体表形成一层白色薄膜。该病主要发生在3—5月份，发病水温20~25℃，直接危害种苗。成鱼也可发病，若治疗不及时死亡率较高。近年筛选了一些中草药，如辣椒和生姜等，以及有一定疗效的药物，如硫酸铜、高锰酸钾等。这些药物大多只对幼虫有一定效果，对成虫和滋养体效果不明

显。有学者提出开发抗小瓜虫疫苗来防治小瓜虫，但目前还在研究中^[25]。

4 讨论

大口黑鲈从上世纪引进我国，经过近30年的发展，其养殖已形成产业规模，产业分工划分明确，养殖技术方面也已达到较高水准。白俊杰等^[26] 报道，大口黑鲈本身有较强的抗病力，在全国大多数省份养殖，年总产量在16万~20万吨之间。该鱼的养殖产业一直稳步发展，已成为我国池塘养殖的重要优质鱼类。但是养殖者为了追求产量和效益，不断提高养殖密度，加上种质、饲料、水质和环境等因素影响，致使其病害频发，从而带来了重大经济损失。为保障大口黑鲈养殖产业的可持续发展，政府需加大对大口黑鲈病害研究相关项目的扶持力度，如：建立有效的病害快速检测技术，加快研发病毒性疫苗；加大宣传力度，鼓励养殖户合理规划养殖密度；多使用生态防治技术，减少化学药物使用；科学投喂配合饲料，减少冰鲜鱼的使用。

疫苗免疫、使用中草药是预防和控制传染性疫病的重要措施，也是解决目前大口黑鲈养殖中存在的抗菌药物过度使用、药物残留超标、耐药性增加等食品安全以及环境污染系列问题的关键手段，这符合国家对水产药物研发的发展方向。农业部在《“十三五”农业科技发展规划》(农科教发(2017)4号)文件中，将加强水产养殖用疫苗、禁用药物替代品研发及标准化应用列为重点研究内容之一。但目前水产疫苗仍存在规模化群体免疫实施困难、有效无抗性抗原提呈系统不完善、免疫效果差、免疫机理研究不透彻等难点亟待解决，而且目前中草药的开发和应用也不够深入，缺乏药理和药效方面的研究。未来可以结合现代分子生物学和免疫医学知识，创制绿色、安全、廉价、高效、操作简单的新型渔药，为实现渔业绿色发展，提供技术支撑。

参考文献:

- [1] 郭云峰, 赵文武. 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
- [2] 邓国成, 白俊杰, 李胜杰, 等. 大口黑鲈池塘养殖常见病害及其防治 [J]. 广东农业科学, 2011, 38 (18):

- 102-103.
- [3] 王良发, 谢海侠, 张金, 等. 我国淡水鱼类柱形病原菌柱状黄杆菌的遗传多样性[J]. 水生生物学报, 2010, 34 (2): 367-377.
- [4] 吕娜, 殷晓平, 张虹茜, 等. 柱状黄杆菌双抗体夹心ELISA检测方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(3): 19-23.
- [5] BEBAK J. Survival of vaccinated, feed-trained largemouth bass fry (*Micropterus salmoides floridanus*) during natural exposure to *Flavobacterium columnare* [J]. Vaccine, 2009, 27: 4297-4301.
- [6] SHOEMAKER C A, KLESIUS P H, DRENNAN J D, et al. Efficacy of a modified live *Flavobacterium columnare* vaccine in fish.[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 30 (1): 304-308.
- [7] WANG P C, CHEN S D, TSAI M A, et al. *Nocardia seriolae* infection in the three striped tigerfish, *Terapon jarbua* (*Forsskål*) [J]. Journal of Fish Diseases, 2010, 32 (4): 301-310.
- [8] 杨移斌, 艾晓辉, 董靖, 等. 一例加州鲈诺卡氏菌病诊断及其防控[J]. 渔业致富指南, 2017, (4): 61-62.
- [9] 蒋依依, 李言伟, 周素明, 等. 加州鲈诺卡菌病原的分离与鉴定[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2012, 51 (1): 76-81.
- [10] OMKAR B, CHEN C W, WANG P C, et al. Transcriptome analysis of differential functional gene expression in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) after challenge with *Nocardia seriolae*: [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 53 (8): 124.
- [11] HO P Y, WANG P C, TSAI M A, et al. Molecular cloning of largemouth bass, *Micropterus salmoides*, IL-1 β and its transcriptional profiles during *Nocardia seriolae*, infection[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 34 (6): 1710.
- [12] DENG G, LI S, XIE J, et al. Characterization of a ranavirus isolated from cultured largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in China[J]. Aquaculture, 2011, 312 (1/2/3/4): 198-204.
- [13] 王庆, 李凯彬, 曾伟伟, 等. 大口黑鲈虹彩病毒病研究进展[J]. 动物医学进展, 2011, 32 (2): 73-76.
- [14] INENDINO K R, GRANT E C, PHILIPP D P, et al. Effects of factors related to water quality and population density on the sensitivity of juvenile largemouth bass to mortality induced by viral infection[J]. Journal of Aquatic Animal Health, 2005, 17 (4): 304-314.
- [15] HUANG X, WANG W, HUANG Y, et al. Involvement of the PI3K and ERK signaling pathways in largemouth bass virus-induced apoptosis and viral replication.[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 41 (2): 371-379.
- [16] 马冬梅, 邓国成, 白俊杰, 等. 大口黑鲈溃疡综合征病毒 MCP 基因的原核表达及重组蛋白的免疫效果初步分析[J]. 生物技术通报, 2016, 32 (8): 139-144.
- [17] ZHANG J, LI M F. ORF75 of *megalocytivirus* RBIV-C1: A global transcription regulator and an effective vaccine candidate[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 45 (2): 486.
- [18] CHEN Z Y, LEI X Y, ZHANG Q Y. The antiviral defense mechanisms in mandarin fish induced by DNA vaccination against a rhabdovirus[J]. Veterinary microbiology, 2012, 157 (3/4): 264-275.
- [19] GAO E B, CHEN G. *Micropterus salmoides* rhabdovirus (MSRV) infection induced apoptosis and activated interferon signaling pathway in largemouth bass skin cells. [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 76: 161-166.
- [20] MEIRA-FILHO M R C, RAMIREZ J R B, VIANNA R T, et al. Efficacy of glacial acetic acid in the control of *Trichodina* sp. and *Apiosoma* sp. associated with *Mugil liza*[J]. Aquaculture, 2017, 479: 7-12.
- [21] 李鹭鹭, 张洪玉, 王佳迪, 等. 车轮虫病防治药物及安全性研究进展[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23 (4): 546-555.
- [22] YAO J, LI X, SHEN J, et al. Isolation of bioactive components from *Chelidonium majus* L. with activity against *Trichodina* sp[J]. Aquaculture, 2011, 318 (1/2): 235-238.
- [23] 李明, 汪建国, 章晋勇, 等. 鱼杯体虫 (*Apiosoma piscicola*) 的光镜及透射电镜观察[J]. 水生生物学报, 2007, 31 (2): 208-213.
- [24] 顾中华, 钱红, 于燕光, 等. 斜管虫研究进展[J]. 河北渔业, 2016 (3): 48-54.
- [25] 邓永强, 汪开毓, 黄小丽. 鱼类小瓜虫病的研究进展[J]. 大连海洋大学学报, 2005, 20 (2): 149-153.
- [26] 白俊杰, 李胜杰. 我国大口黑鲈产业现状分析与发展对策[J]. 中国渔业经济, 2013, 31 (5): 104-108.

(责任编辑: 侯文婷)