

⑤, 8-23, 26

龙虾叶状幼体弧菌病防治的研究* Prevention and Control of *Vibrio* Disease of the Phyllosoma of Lobsters (*Panulirus*)

韦受庆
Wei Shouqing

杨小立
Yang Xiaoli

黄 虾
Huang Xia

5945.12

(广西海洋研究所 北海 536000)
(Guangxi Institute of
Oceanology, Beihai, 536000)

(湛江市郊区水产研究所 湛江 524003)
(Zhanjiang Suburban Institute
of Fisheries, Zhanjiang, 524003)

A

摘要 对龙虾 (*Panulirus*) 叶状幼体弧菌病采用多项措施, 多种药物防治对比试验研究, 总结出用沙-活性炭过滤海水, 减少水体病原菌量。用漂白粉消毒水池和用具, 杜绝污染源。用土霉素药浴亲虾, 避免病原菌由卵带入。选用体格健壮的中青年亲虾, 保证孵化出的叶状幼体有旺盛的生命力。投放光合细菌、金藻、扁藻、丰年虫幼体、文蛤肉喂叶状幼体, 改善叶状幼体营养, 增强叶状幼体抗病力。利用光合细菌加速培育水体中有机物分解, 净化水质, 恶化病原菌生存环境, 以菌抑菌, 以菌治菌的生物防治方法, 并取得较好的防治效果。

关键词 龙虾 (*Panulirus*) 叶状幼体 弧菌病 生物防治

Abstract Many measures and drugs were applied in the control of *Vibrio* disease of the phyllosoma of lobsters *Panulirus*. The result indicated that the biological controllable method involving use of the seawater filtered through sand-charcoal, the pools and tools sterilized with bleaching powder, the berried females bathed with terramycin, the strong middle-aged females and the photosynthetic bacteria, *Dicrateria* sp., *Platymonas* sp., *Artemia salina* nauplii, chopped flesh of *Meretrix meretrix* as food, can effectively prevent and control the *Vibrio* disease of the phyllosoma of lobsters *Panulirus*.

Key words lobster *Panulirus*, phyllosoma, *Vibrio* disease, biological prevention and cure

龙虾 *Panulirus* 生活史中有漫长的叶状幼体期, 叶状幼体在远洋漂浮 9~11 个月后才变态成游龙虾幼体, 游回近岸再变态成稚龙虾定居下来^[1]。由于叶状幼体生活周期长, 经受的生态环境错综复杂, 所以叶状幼体人工培育迄今还是世界性的难题。Dexter 用 114 d 把加里福尼亚

1995-07-05 收稿。

* 国家自然科学基金资助项目。

龙虾 (*Panulirus interruptus*) 叶状幼体培育到第6期^[2]。井上正昭用253 d把日本龙虾 (*Panulirus japonicus*) 叶状幼体培育到第11期^[1]。Kittaka和Kimura用340~391 d把日本龙虾叶状幼体培育变态成游龙虾幼体并获得2尾稚龙虾^[4]。Yamakawa等用307 d把日本龙虾叶状幼体培育变态成游龙虾幼体,也得到1尾稚龙虾^[5]。在他们的文章中都没有论及叶状幼体因患病而死亡问题。而病原菌是广泛存在于海水中,尤其是海水养殖的水体中^[6]。当环境条件恶化,对养殖品种生存不利,而有利于病原菌繁衍时,养殖品种则暴病而死。其中弧菌病 *Vibriosis* 曾给我国对虾养殖业造成巨大的损失^[7~10]。近年来我国东南沿海正兴起斑节对虾 *Penaeus monodon* 养殖热,沿海对虾育苗场星罗棋布。由于检疫不严格,防病措施跟不上,对虾疾病也很快蔓延开来。我们试验场地设在对虾育苗场内,周围又有多个对虾育苗场,并且这些对虾育苗场都是疾病流行严重的场所。育苗场的病原菌随着进排水扩散到附近海区,污染了海水和滩涂泥沙。又因海边风多浪大,病原菌又借助风浪散播到空气中。因此,我们培育的龙虾叶状幼体也就难免受病原菌侵袭。在1993年的试验中曾因弧菌病造成多批叶状幼体死亡。本文报道采用多项措施,多种药物防治龙虾叶状幼体弧菌病对比试验的结果。

1 材料和方法

实验研究在湛江市郊区水产研究所试验站进行。抱卵亲虾购自硇洲岛渔民。使用的药物均为市售。海水经沙滤后再经沙——活性炭过滤。海水比重为1.020~1.024。在室温26~32℃下进行。幼体培育均采用鼓风机充气。

1993年6月28日1尾黄斑龙虾 (*Panulirus polyphagus*) 孵出28万尾叶状幼体,平均分放到7个1.8 m³的水泥池培育。投喂丰年虫 (*Artemia salina*) 无节幼体。很快发现大量叶状幼体死亡。显微镜检查,确认叶状幼体是因患弧菌病而死亡。跟着设计实施治疗叶状幼体弧菌病的对比试验。第1号池不投药物作对照。第2号池投1.5 ppm 呋喃西林,每天1次,连续3 d。第3号池投0.8 ppm P₈₁₀₂复合药,每天1次,连续3 d。第4号池投3 ppm 土霉素,每天1次,连续3 d。第5号池投2 ppm 氯霉素,每天1次,连续3 d;第6号池投3 ppm 呋喃唑酮,每天1次,连续3 d。第7号池投10 ppm 乙二胺四乙酸 (EDTA),每天1次,换水后即投,连续3 d。

1993年8月16日购回4尾黄斑龙虾亲虾进行亲虾消毒试验。分别放在装有20 L海水的4个塑料盘内,第1号盘加10 ppm 土霉素,消毒10 min。第2号盘加40 ppm 呋喃西林,消毒10 min。第3号盘加35 ppm 福尔马林,消毒10 min。第4号盘加5 ppm 高锰酸钾,消毒10 min。消毒后分别放进4个1.8 m³的水泥池育苗。

1993年8月21日1尾黄斑龙虾孵出16万尾叶状幼体,平均分养于8个1.8 m³的水泥池。投喂丰年虫无节幼体。第3天8个池都发现弧菌病。随即设计实施治疗对比试验。第1、5号池不投药作对照池。第2、6号池投20 ppm 福尔马林,6 h后换2/3水,每天1次,连续3 d。第3、7号池投2 ppm 红霉素,每天1次,连续3 d。第4、8号池投60 ppm 光合细菌原液,7 d 1次。

根据上述三次试验的结果和以往取得的经验^[11,12],我们设计实施综合预防龙虾叶状幼体弧菌病的对比试验。1994年4月25日选购1尾体格健壮,腹部卵团丰满,卵粒颜色整齐的中年密毛龙虾 (*Panulirus penicillatus*)。经10 ppm 土霉素药浴10 min后养育于1.8 m³的水泥池。孵化前2 d,准备6个1.8 m³的水泥池。第1、2、3号池用5 ppm 高锰酸钾消毒。第4、

5、6号池用20 ppm漂白粉消毒。4月28日孵出18万尾叶状幼体,平均分养于这6个水泥池,进行综合预防弧菌病对比试验。每个池每天投10 L金藻(*Dicrateria* sp.), 10 L扁藻(*Platymonax* sp.), 每天投喂4次丰年虫无节幼体,每次3 g,第3期以后渗喂少量文蛤(*Meretrix meretrix*)肉。金藻、扁藻培养过程中严格执行无菌操作,避免病原菌感染。丰年虫在孵化前和投喂前均经过福尔马林处理。文蛤肉在剁碎前经福尔马林处理。平时每样工作都要细心操作,避免碰伤叶状幼体。第1、4号池投0.8 ppm P_{8302} 复合药,3 d 1次。第2、5号池投2 ppm土霉素,3 d 1次。第3、6号池投60 ppm光合细菌,7 d 1次。每个池每天检查20尾叶状幼体,主要查看它们的活动情况和摄食情况。

2 结果

1993年6月28日1尾黄斑龙虾孵出28万尾叶状幼体,平均分到7个水池中培育。6月29日上午在7个池都发现有不少变白的叶状幼体死尸。停气观察,发现叶状幼体趋光集群性差,活动能力明显减弱。用烧杯滔起叶状幼体对着阳光观察,发现大部分叶状幼体胃中没有食物,体色混浊。将叶状幼体吸到凹玻片,置于100倍显微镜下观察,发现叶状幼体甲壳内有白色小斑点,白斑的形状和大小都相似,整齐地排在体节两侧。体表粘有污物。附肢变脆,断肢现象较多。把濒死的叶状幼体放在凹玻片,盖上盖玻片,用400倍显微镜观察,发现叶状幼体附肢内、体腔内有大量运动活泼的卵圆形或小杆状细菌,有时整个体腔内充满了蹦跳的细菌。这种现象和王景明等、薛清刚等描述的对虾弧菌病的现象一样^[6,13]。因而确认叶状幼体感染了弧菌病。

在第一次药物治疗对比试验中,第1号池没有施药,弧菌病蔓延迅速。叶状幼体死亡量急剧增加,停气时见到成堆叶状幼体死尸沉积在池底排水处,4 d内叶状幼体全部死亡。第2号池投呋喃西林,药效不显著,叶状幼体死亡现象继续发生,叶状幼体密度很快减少,到第8 d蜕壳时就没有叶状幼体了。第3号池投 P_{8302} 复合药,起初死亡现象有所减轻,第2 d叶状幼体还是继续死亡,连续几天没能控制病情,第8 d蜕壳时仅有0.6%叶状幼体能蜕壳进入第2期。第4号池投土霉素,初时见到叶状幼体死尸稍微少些,但病情还是没有得到控制,叶状幼体仍然死亡,到第8 d仅有79尾叶状幼体蜕壳进入第2期。第5号池投氯霉素,第1 d叶状幼体死亡现象有所减少,有少数叶状幼体恢复摄食,但池中还继续发现叶状幼体死尸,到第8 d仅有162尾叶状幼体能蜕壳进入第2期。第6号池投呋喃唑酮,药效不明显,弧菌病继续蔓延,叶状幼体死尸不断出现,到第7 d叶状幼体累计死亡率达100%。第7号池投EDTA,药效很差,叶状幼体死亡率越来越高,到第6 d就找不到叶状幼体了。由此可见,上述6种药物均不能治愈龙虾叶状幼体弧菌病。

表1为黄斑龙虾抱卵亲虾消毒试验的结果。用10 ppm土霉素,亲虾第1 d不大活动,反应迟钝,不摄食。第2 d开始活动,对刺激有反应。第3 d活动正常,开始摄食。第5 d孵出叶状幼体。用40 ppm呋喃西林,亲虾第1 d反应迟钝,不活动,静卧一处,腹肢摆动缓慢,触角很少摆动。取卵镜检,发现卵内胚胎变黄。第2 d还是静卧不动,腹肢摆动无力,卵块中已有部分胚胎死亡。第3 d亲虾肌肉松弛,用手提起,腹部不能收缩,卵内胚胎全部死亡。第4 d亲虾死亡。用35 ppm福尔马林,亲虾第1 d反应迟钝,不大活动,不摄食,卵内胚胎体色混浊。第2 d中毒现象加深。第3 d亲虾腹肢摆动无力,部分胚胎死亡。第4 d亲虾肌肉松弛,腹肢很少摆动,胚胎全部死亡。第5 d亲虾死亡。用5 ppm高锰酸钾,亲虾反应迟钝,不活动、

不摄食、胚胎消化道变黑。第2 d 天亲虾腹肢摆动无力,部分胚胎死亡。第3 d 亲虾肌肉松弛,腹部不能收缩,全部胚胎死亡。第4 d 亲虾死亡。4种药物中只有土霉素适合于药浴亲虾消毒。

表1 预防黄斑龙虾叶状幼体弧菌病药浴亲虾对比试验

亲虾号	药物	药量 (ppm)	药浴 时间 (min)	亲虾、胚胎反应情况				
				第1 d	第2 d	第3 d	第4 d	第5 d
1	土霉素	10	10	亲虾反应迟钝 胚胎正常	亲虾开始活动	亲虾活动正常、摄食	亲虾、胚胎正常	孵出叶状幼体
2	呋喃西林	40	10	亲虾反应迟钝 胚胎变黄	亲虾不大活动 部分胚胎死亡	亲虾肌肉松弛,全部胚胎死亡	亲虾死亡	
3	福尔马林	35	10	亲虾反应迟钝 胚胎混浊	亲虾不大活动	亲虾静卧不动,部分胚胎死亡	亲虾肌肉松弛全部胚胎死亡	亲虾死亡
4	高锰酸钾	5	10	亲虾反应迟钝 胚胎变黑	亲虾不大活动 部分胚胎死亡	亲虾肌肉松弛全部胚胎死亡	亲虾死亡	

第2次药物治疗对比试验结果见表2,对照池病情迅速恶化,池中出现大量白色叶状幼体死尸,排水时成堆死尸塞住排水网。第1号池到第5 d 找不到叶状幼体了。第5号池仅剩21尾叶状幼体蜕壳进入第2期。第2,6号池没能控制叶状幼体弧菌病,叶状幼体每天死亡率达50%以上,到第5 d 第2号池有60尾叶状幼体蜕壳进入第2期,第6号池剩51尾叶状幼体蜕壳进入第2期。第3,7号池施用2 ppm 红霉素效果较福尔马林好些,但也没能有效地控制弧菌病蔓延,每天还有50%左右叶状幼体死亡,到第5 d 第3号池有181尾叶状幼体活着进入

表2 黄斑龙虾叶状幼体弧菌病第2次药物治疗对比试验

池号	药物	药量 (ppm)	用药 频率	用药 时间	叶状幼体存活率(%)				
					第1 d	第2 d	第3 d	第4 d	第5 d
1	对照				70	30	5	1	0
2	福尔马林	20	每天1次	连续3 d	80	40	15	5	0.3
3	红霉素	2	每天1次	连续3 d	81	45	28	10	0.9
4	光合细菌	60	7天1次		90	86	83	81	79
5	对照				72	35	7	1.2	0.1
6	福尔马林	20	每天1次	连续3 d	80	38	12	5	0.25
7	红霉素	2	每天1次	连续3 d	80	41	27	8	0.8
8	光合细菌	60	7天1次		91	88	85	83	80

第2期,第7号池剩161尾叶状幼体蜕壳进入第2期。第4、8号池施用60 ppm 光合细菌原液,由于光合细菌在水体中迅速繁殖,形成种群优势,很快抑制住弧菌的繁殖,有效地控制弧菌病的蔓延,叶状幼体死亡数迅速减少,到第5 d 第4号池有79%的叶状幼体顺利蜕壳进入第2期,第8号池有80%的叶状幼体进入第2期。叶状幼体每次蜕壳后再施菌,再也没有发现叶状幼体因患弧菌病而死亡的现象。

在综合预防试验中,第1、2、3号池用高锰酸钾消毒水池,水池变黑,不利于观察叶状

幼体。用高锰酸钾消毒用具，用具变黑不易洗干净。第2号池叶状幼体比第5号池提前1天感染弧菌病，可能是因为第2号池残存的弧菌比第5号池多，这就说明高锰酸钾消毒效果不如漂白粉好。表3为综合预防密毛龙虾叶状幼体弧菌病对比试验的结果。第1、4号池叶状幼体表现出中毒现象、游动缓慢、厌食。每次检查20尾叶状幼体中只有5~6尾胃中有鲜黄色

表3 密毛龙虾叶状幼体弧菌病预防对比试验

池号	消毒水池		施药预防			叶状幼体反应情况							
	药物	药量 (ppm)	药物	药量 (ppm)	用药频率	第1d	第2d	第3d	第4d	第5d	第6d	第7d	第8d
1	高锰酸钾	5	P ₄₅₀₂ 复合药	0.8	3天1次	活动慢 30%摄食	活动慢 25%摄食	染弧菌病 死尸多					
2	高锰酸钾	5	土霉素	2	3天1次	活动差 40%摄食	活动差 35%摄食	活动差 40%摄食	活动差 40%摄食	活动正常 40%摄食	活动正常 45%摄食	染弧菌病 死尸多	
3	高锰酸钾	5	光合细菌	60	7天1次	活动正常 95%摄食	活动正常 90%摄食	活动正常 95%摄食	活动正常 95%摄食	活动正常 95%摄食	活动正常 95%摄食	活动正常 95%摄食	90%进入 第二期
4	漂白粉	20	P ₄₅₀₂ 复合药	0.8	3天1次	活动慢 25%摄食	活动差 25%摄食	染弧菌病 死尸多					
5	漂白粉	20	土霉素	2	3天1次	活动差 40%摄食	活动差 35%摄食	活动差 35%摄食	活动差 40%摄食	活动正常 45%摄食	活动正常 50%摄食	活动正常 45%摄食	染弧菌病 死尸多
6	漂白粉	20	光合细菌	60	7天1次	活动正常 95%摄食	91%进入 第二期						

的丰年虫肉。第3d在两个池内都发现有叶状幼体死尸。用400倍显微镜检查垂死的叶状幼体，确定是因患弧菌病而死亡。投2ppm土霉素的两个池中叶状幼体也表现出轻微中毒现象，活动能力差，厌食。每次检查20尾叶状幼体中只有7~9尾胃中有丰年虫肉。第2号池到第7天蜕壳前发现叶状幼体因患弧菌病而死亡。第5号池到第8d蜕壳时发现叶状幼体因患弧菌病而死亡。投60ppm光合细菌的两个池中叶状幼体活泼，上浮力和集群性都强。滔到烧杯观察，叶状幼体肉色透亮，20尾中最少有18尾胃中有鲜黄色的丰年虫肉。有时还见到叶状幼体正在捕食丰年虫幼体的现象。在显微镜下可见到叶状幼体频频排粪，几分钟内就把食物消化完毕。叶状幼体生长发育正常，附肢齐全，游动刚毛清洁。到第8d两个池都有90%以上的叶状幼体顺利蜕壳进入第2期。以后也没有发现叶状幼体因患弧菌病而死亡的现象。

3 讨论

龙虾叶状幼体体质幼嫩，附肢长易折断，形成伤口，利于病原菌入侵。当水体环境稍微恶化，不利于叶状幼体生长发育，而利病原菌繁殖时，叶状幼体就会致病。叶状幼体一旦患病，就难以治愈。对对虾弧菌病有疗效的P₄₅₀₂复合药、土霉素、氯霉素、红霉素、呋喃西林、呋喃唑酮、EDTA、福尔马林^[6,7,9,10,14]，均不能治愈龙虾叶状幼体弧菌病。而且龙虾叶状幼体对药物较敏感，有些药物在灭菌浓度范围内已可使叶状幼体中毒了。同时，养殖水环境中各种抗生素的存在，必然选择性地促进耐药性微生物的生长与繁殖^[14]。在我们的实验中也发现由于长期使用土霉素作预防药物，促进了抗土霉素弧菌的生长和繁殖，在龙虾叶状幼体蜕壳变态的薄弱环节，弧菌趁机大量入侵，使叶状幼体暴发弧菌病。

Dexter 采用经过玻璃纤维——活性炭过滤, 紫外线消毒的封闭循环海水来培育加利福尼亚龙虾叶状幼体^[2]。井上正昭用紫外线消毒过的循环海水培育日本龙虾叶状幼体^[3]。Kittaka 和 Kimura 用 5 μm 陶器过滤, 紫外线消毒海水, 用小球藻 *Chlorella* 活化水质, 以丰年虫、贻贝 *Mytilus edulis* 卵巢作饵料培育日本龙虾叶状幼体^[4]。Yamakawa 等采用褐指藻 *Phaeodactylum* sp. 喂养丰年虫, 以丰年虫、贻贝性腺作饵料培育日本龙虾叶状幼体^[5]。韦受庆等在饵料对比试验中发现投喂金藻、扁藻的叶状幼体比投喂小球藻的提前 2 d 蜕壳^[12]。魏开金指出光合细菌可作为小型甲壳动物的饵料, 并有改良水质, 防治疾病的作用^[15]。郑国兴报道 1 ppm 漂白粉 15 min 内可杀死弧菌^[9]。郑天凌等指出生态防治是解决弧菌病问题的好途径^[14]。韦受庆在研究中国龙虾 (*Panulirus stimpsoni*) 个体发生时注意到胚胎发育好坏与亲虾体质有关, 雌虾的好坏是育苗成败的关键^[11]。借鉴前人的工作, 本研究通过多项措施, 多种药物防治弧菌病对比试验, 结果发现用沙——活性炭过滤海水, 减少养殖水体病原菌量。用漂白粉消毒水池和用具, 杜绝污染源。用土霉素药浴亲虾, 避免病原菌由卵带入, 把培育水体病原菌降到最低限度。选育体格健壮, 抱卵量大的中年亲虾, 保证孵出的叶状幼体具有旺盛的生命力。换水投饵等小心操作, 避免叶状幼体受伤, 减少病原菌入侵的机会。投放金藻、扁藻增加水体中营养, 供丰年虫幼体和龙虾叶状幼体食用。藻类白天进行光合作用, 放出氧气增加水体中溶氧量, 供丰年虫幼体和龙虾叶状幼体呼吸用。投放光合细菌, 加速水体中有机物分解, 净化水质, 恶化病原菌的生存环境。光合细菌还可作为丰年虫幼体和龙虾叶状幼体的饵料。光合细菌菌落在水体中占优势后, 又可抑制病原菌繁殖, 以菌抑菌, 以菌治菌。投喂适龄可口的丰年虫幼体, 适时适量投喂文蛤肉, 改善叶状幼体营养, 增强叶状幼体抗病力。丰年虫幼体和叶状幼体呼吸作用产生二氧化碳, 可作光合细菌, 藻类光合作用的原料。丰年虫幼体, 叶状幼体的粪便和残饵经细菌分解后, 又可作光合细菌、藻类的营养盐, 促进光合细菌和藻类生长繁殖。这样, 培育水体中的微生物、植物和动物相互依存, 相互促进, 处于生态平衡, 因而取得较好的防治弧菌病的效果。

参考文献

- 1 Phillips B F et al. Distribution and dispersal of the phyllosoma larvae of the western rock lobster, *Panulirus cygnus* in the South-eastern Indian Ocean. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.*, 1979, 30 (6): 773~783.
- 2 Dexter D M. Molting and growth in laboratory reared phyllosomes of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *Calif. Fish Game*, 1972, 58 (2): 107~115.
- 3 井上正昭. イセエビ“フィロソ”マの飼育に関する研究—I[■]形态について. *日本水产学会志*, 1978, 44 (5): 457~475.
- 4 Kittaka J, Kimura K. Culture of the Japanese spiny lobster, *Panulirus japonicus* from egg to juvenile stage. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1989, 55 (6): 963~970.
- 5 Yamakawa T et al. Complete larval rearing of the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1989, 55 (4): 745.

(下转第 26 页)