

2019年浙江省水生动物病原菌耐药情况分析

梁倩蓉, 朱凝瑜*, 郑晓叶, 陈小明, 丁雪燕, 周凡, 马文君 (浙江省水产技术推广总站, 浙江杭州 310012)

摘要 为规范浙江省水产养殖用药和保障水产品质量安全, 2019年对杭州、湖州、嘉兴、宁波、温州等地区部分养殖点患病中华鳖、大口黑鲈、大黄鱼等主养品种中分离的病原菌进行恩诺沙星、硫酸新霉素、甲矾霉素、氟苯尼考、盐酸多西环素、氟甲喹、磺胺间甲氧嘧啶钠、磺胺甲噁唑+甲氧苄啶等抗生素最低抑菌浓度(MIC值)测定, 比较各药物对菌株最小抑菌浓度的中位值(MIC₅₀)。结果表明, 淡水品种中华鳖、大口黑鲈体内分离的143株病原菌中以气单胞菌(62.2%)为主, 海水品种大黄鱼体内分离的56株病原菌以假单胞菌(55.4%)和哈维氏弧菌(17.9%)为主, 均对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素等药物的耐受浓度较低, 而对磺胺类、氟甲喹、甲矾霉素等药物的耐受浓度较高; 但在氟苯尼考药物上呈现不同的耐受性。淡水养殖地区间病原菌的耐药性一致, 海水养殖宁波地区病原菌耐药性高于温州地区。总体而言, 2019年浙江地区绝大部分水生动物病原菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素等药物较为敏感, 可作为多数病原菌用药首选, 但必须严格按照药敏试验结果和药代动力学原理确定剂量和疗程。

关键词 中华鳖; 大口黑鲈; 大黄鱼; 病原菌耐药; MIC值; 规范用药

中图分类号 S94 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2021)03-0095-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.03.026

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Analysis on the Antibiotic Resistance of Pathogenic Bacteria Separated from the Diseased Aquatic Animals of Zhejiang Province in 2019
LIANG Qian-rong, ZHU Ning-yu, ZHENG Xiao-ye et al (Zhejiang Fisheries Technical Extension Center, Hangzhou, Zhejiang 310012)

Abstract In order to standardize the use of antibiotics in aquaculture industry and ensure the quality and safety of aquatic products in Zhejiang Province, we conducted the minimal inhibitory concentration(MIC) test of antibiotics(enrofloxacin, neomycin sulfate, thiamphenine, florfenicol, doxycycline hydrochloride, flumequine, sulfamonomethoxine sodium, sulfamethoxazole+trimethoprim) on pathogenic bacteria of diseased *Pelodiscus sinensis*, *Micropterus salmoides* and *Larimichthys crocea* (three dominated economic species in Zhejiang Province) from several aquaculture areas in Hangzhou, Huzhou, Jiaxing, Ningbo and Wenzhou in 2019. The median values of minimal inhibitory concentration (MIC₅₀) of antibiotics on the bacteria strains were compared. The results showed that the main pathogenic bacteria isolated from freshwater *P. sinensis* and *M. salmoides* were *Aeromonas* spp. (62.2%) of 143 bacteria strains in total, while the main pathogenic bacteria isolated from seawater *L. crocea* were *Pseudomonas* spp. (55.4%) and *Vibrio harveyi* (17.9%) of 56 bacteria strains in total. The bacteria separated from *P. sinensis*, *M. salmoides* and *L. crocea* were all susceptible to enrofloxacin, doxycycline hydrochloride and neomycin sulfate, while resistant to sulfonamides, flumequine and thiamphenine. However, the resistance to florfenicol was different among three aquatic species. The antibiotic tolerance of bacteria was accordant among three freshwater areas. the drug resistance towards thiamphenine, florfenicol and sulfamonomethoxine of bacteria from Ningbo were generally stronger than that from Wenzhou. Among different seawater monitoring areas, the bacteria isolated from Ningbo area showed higher drug resistance than that in Wenzhou area. In general, most of the aquatic pathogenic bacteria isolated from Zhejiang Province were still susceptible to enrofloxacin, doxycycline hydrochloride and neomycin sulfate in 2019, which could be used as the preferred antibiotics for most of bacteria, but the medication dosage and duration must be carefully and strictly determined according to the antibiotic sensitivity test and the principle of pharmacokinetics.

Key words *Pelodiscus sinensis*; *Micropterus salmoides*; *Larimichthys crocea*; Antibiotic resistance of bacteria; MIC; Accurate medication

水产养殖业一直以来都是浙江省重要的农业支柱产业。据统计, 2017—2018年浙江省水产养殖产量分别为227万和234.2万t, 分别占浙江省水产品总产量的38.2%和39.3%, 较上年均有所增长^[1-2]。水生动物具有众多有别于陆生动物的营养素, 营养价值丰富, 是浙江省居民餐桌上的重要蛋白来源之一。

近年来, 高密度、集约化的养殖模式带来经济利益的同时, 亦带来了突出的病害问题, 这也成为阻遏浙江省水产养殖业绿色健康发展的主要问题^[3]。细菌病一直是困扰浙江省水产养殖业健康发展的主要疾病, 中华鳖穿孔病、腐皮病, 大口黑鲈败血症、烂鳃病、肠炎病、内脏结节病, 大黄鱼内脏白点病、烂皮病等多类疾病均由细菌感染引起^[4-7]。为减少

病害带来的养殖损失, 抗菌药物的使用必不可少, 但是科学用药意识缺乏再加上“病急乱投医”, 往往会造成抗生素的乱用滥用现象, 一方面将导致药物残留问题突出, 严重影响水产品质量安全问题, 另一方面也将引起耐药菌的产生, 对生态安全和公共卫生安全造成严重影响^[8]。掌握水生病原菌的耐药情况, 对于指导水产养殖生产者规范用药、保障水产品质量安全非常必要。

基于加快推进水产养殖业绿色发展的建设要求, 笔者2019年对中华鳖、大口黑鲈、大黄鱼等养殖品种的主要病原菌进行8种水产用抗生素的耐药性分析, 初步了解和掌握重要病原菌的耐药性及其变化规律, 旨在为规范使用渔用抗菌素提供基础数据, 促进水产品质量安全水平的逐步提高。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试剂、材料

1.1.1 试验动物。从杭州、嘉兴、湖州、宁波、温州等地区部分养殖点采集发病中华鳖、大口黑鲈、大黄鱼等, 共50批次, 每批采取具有典型症状的患病个体3只(尾)。

1.1.2 主要试剂与材料。牛脑心浸出液和牛脑心浸出液固

基金项目 浙江省科技厅重点科技研发项目(2019C02060); 国家特色淡水鱼产业技术体系项目(CARS-46); 浙江省农业农村厅“三农六方”科技协作项目(2019SNLF022)。

作者简介 梁倩蓉(1992—), 女, 浙江新昌人, 助理工程师, 硕士, 从事水生动物病害防治研究。*通信作者, 工程师, 硕士, 从事水生动物病害防治研究。

收稿日期 2020-06-13

体培养基(海博,青岛)、无菌生理盐水、VITEK 细菌生理生化鉴定板(梅里埃,法国)、96孔药敏板(菲恩,南京)、一次性无菌接种环等。

1.2 细菌分离与鉴定 常规无菌操作取样品的肝、脾、肾以及其他相关病灶组织,在牛脑心浸出液固体平板上划线接种,28℃培养过夜。挑取优势菌分离纯化后,采用 VITEK 2 Compact 全自动细菌检测仪进行鉴定,并保存在含 20% 甘油-牛脑心浸出液中,置于-80℃冰箱中保存备用。

1.3 药敏试验 将纯化后的菌落用无菌生理盐水调节浓度至 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL,按药敏板说明书稀释后加入 96 孔药敏板,28℃培养 24~28 h。根据培养后孔板的浊度读板,确定恩诺沙星、硫酸新霉素、甲砒霉素、氟苯尼考、盐酸多西环素、氟甲唑、磺胺间甲氧嘧啶钠、磺胺甲噁唑+甲氧苄啶 8 种药物对菌株的最低抑菌浓度(MIC 值),汇总数据计算 MIC_{50} 并分析比较。

2 病原菌分离与鉴定

从淡水养殖品种(中华鳖、大口黑鲈)中共分离获得 143 株细菌,以气单胞菌为主(62.2%);海水养殖品种(大黄鱼)中共分离获得 56 株菌,主要病原菌为假单胞菌(55.4%)和哈维氏弧菌(17.9%)。

2.1 中华鳖 采集患病中华鳖的病症集中表现为活力差,体表溃烂或穿孔或疥疮等,个别也存在腮腺肿大的症状,患病中华鳖体内共分离到 100 株细菌(图 1)。最主要病原菌为气单胞菌属(59.0%),包括嗜水/豚鼠气单胞菌(37.0%)与温和气单胞菌(22.0%)两大类;其他还有柠檬酸杆菌(8.0%)、迟缓爱德华氏菌(3.0%)和摩氏摩根菌(2.0%)等已知常见的中华鳖致病菌以及假单胞菌属(8.0%)、少动鞘氨醇单胞菌(5.0%)、产吡喹金杆菌(5.0%)等潜在致病菌。

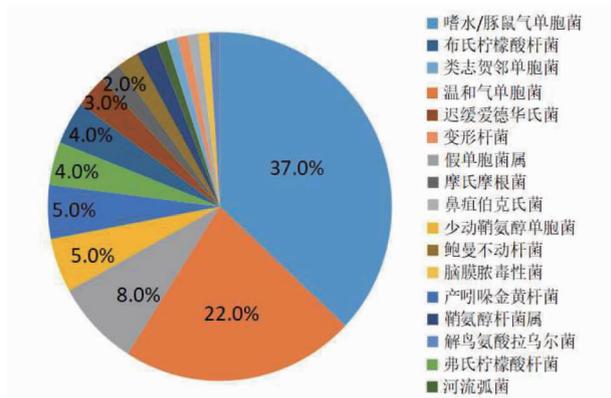


图 1 2019 年中华鳖病原菌的分离情况

Fig. 1 The isolation of bacteria from *P. sinensis* in 2019

2.2 大口黑鲈 采集患病大口黑鲈的病症集中表现为体表溃烂,解剖肝脏、脾脏和肾脏或肿大、或充血,部分病鱼存在内脏结节等情况。患病大口黑鲈体内共分离到病原菌 43 株(图 2)。最主要病原菌为气单胞菌属(69.8%),包括温和气单胞菌(46.5%)、嗜水/豚鼠气单胞菌(21.0%)和维氏气单胞菌(2.3%)三类;其他还有布氏柠檬酸杆菌(2.3%)等已知常见的大口黑鲈致病菌以及类志贺邻单胞菌(11.6%)、拟

诺卡氏菌(4.7%)、不动杆菌属(4.7%)等潜在致病菌。

2.3 大黄鱼 采集患病大黄鱼的病症集中表现为内脏白点、体表和鳃溃烂等症状。患病大黄鱼体内共分离到病原菌 56 株(图 3)。最主要病原菌为假单胞菌属(55.4%),其次是哈维氏弧菌(17.9%)、气单胞菌属(10.7%)以及美人鱼发光杆菌(10.7%)。

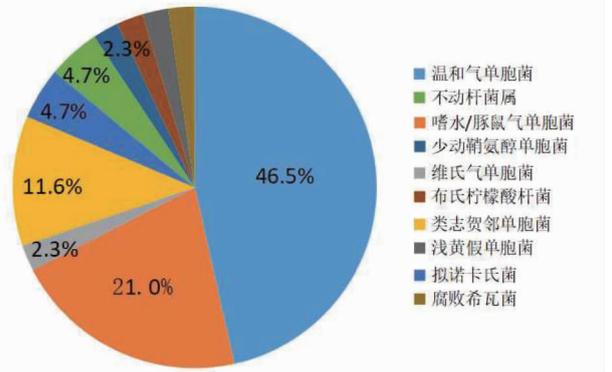


图 2 2019 年大口黑鲈病原菌的分离情况

Fig. 2 The isolation of bacteria from *M. salmoides* in 2019

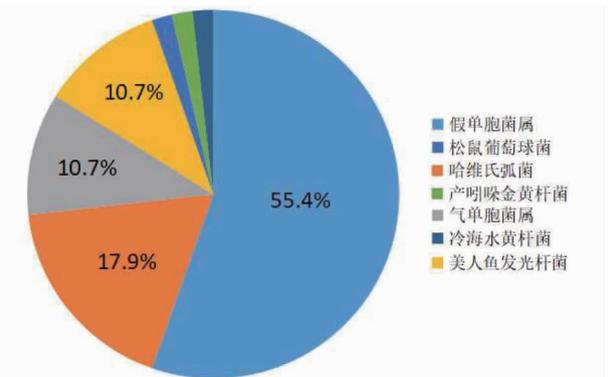


图 3 2019 年大黄鱼病原菌的分离情况

Fig. 3 The isolation of bacteria from *L. crocea* in 2019

3 病原菌耐药分析

3.1 不同动物来源病原菌对抗生素的感受性 如表 1 所示,从中华鳖、大口黑鲈、大黄鱼体内中分离的病原菌总体上对 8 种抗生素呈现相似的规律,对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素等药物的耐受浓度较低($MIC_{50} \leq 6.25 \mu\text{g/mL}$),对磺胺类、氟甲唑、甲砒霉素等药物的耐受浓度较高($MIC_{50} \geq 12.5 \mu\text{g/mL}$);但在氟苯尼考上 3 种不同动物来源病原菌的呈现出不同的耐受性,即大口黑鲈源病原菌的耐受浓度低于中华鳖源与大黄鱼源病原菌。

同属淡水病原菌,对同种抗菌药物的敏感性具有一定的宿主间差异,主要表现为鳖源性致病菌对抗菌药物的耐受程度总体上普遍高于大口黑鲈源性致病菌。

3.1.1 中华鳖源病原菌。患病中华鳖体内分离的绝大多数细菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素的耐受浓度较低($MIC_{50} \leq 6.25 \mu\text{g/mL}$),而普遍对磺胺类药物、氟甲唑、甲砒霉素以及氟苯尼考的耐受浓度较高($MIC_{50} \geq 25.00 \mu\text{g/mL}$)。

3.1.2 大口黑鲈源病原菌。患病大口黑鲈体内分离的绝大多数细菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、氟苯尼考、硫酸新霉素

的耐受浓度较低 ($MIC_{50} \leq 6.25 \mu\text{g/mL}$), 而普遍对磺胺类药物、氟甲喹和甲砒霉素的耐受浓度较高 ($MIC_{50} \geq 12.50 \mu\text{g/mL}$)。

3.1.3 大黄鱼源病原菌。患病大黄鱼体内分离的绝大多数

细菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素的耐受浓度较低 ($MIC_{50} \leq 3.13 \mu\text{g/mL}$), 而普遍对磺胺类药物、氟苯尼考、氟甲喹和甲砒霉素的耐受浓度较高 ($MIC_{50} \geq 50.00 \mu\text{g/mL}$)。

表 1 抗生素对浙江省主养品种分离病原菌的 MIC_{50}

Table 1 MIC_{50} of antibiotics on the bacteria strains isolated from main aquatic animals in Zhejiang Province

养殖品种 Aquatic animals	恩诺沙星 Ennorfloxacin	硫酸新霉素 Neomycin sulfate	甲砒霉素 Thiamphenine	氟苯尼考 Florfenicol	盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	氟甲喹 Flumequine	磺胺间甲氧嘧啶钠 Sulfamonomethoxine sodium	磺胺甲噁唑+甲氧苄啶 Sulfamethoxazole+trimethoprim
中华鳖 <i>P. sinensis</i>	0.39	6.25	200.00	25.00	6.25	200.00	512.00	512.00/102.00
大口黑鲈 <i>M. salmoides</i>	0.20	6.25	12.50	1.56	0.78	200.00	64.00	64.00/12.80
大黄鱼 <i>L. crocea</i>	0.39	3.13	200.00	50.00	1.56	200.00	512.00	512.00/102.00

3.2 不同地区病原菌对抗生素的感受性

3.2.1 淡水养殖地区。按采样地区比较淡水养殖品种分离菌株对 8 种药物耐药性(表 2), 可见杭州、湖州、嘉兴等地区

菌株对试验的抗菌药物耐受性一致, 仅对甲砒霉素、磺胺类药物的感受浓度存在一定差异。

表 2 8 种药物对淡水养殖地区分离菌株的 MIC_{50}

Table 2 MIC_{50} of eight kinds of antibiotics on bacteria strains isolated from freshwater culture area

药物名称 Name of antibiotics	杭州 Hangzhou	湖州 Huzhou	嘉兴 Jiaxing	MIC_{50}
恩诺沙星 Ennorfloxacin	0.20	0.20	0.39	0.20
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	6.25	6.25	6.25	6.25
甲砒霉素 Thiamphenine	200.00	200.00	25.00	200.00
氟苯尼考 Florfenicol	6.25	6.25	6.25	6.25
盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	3.13	0.78	1.56	3.13
氟甲喹 Flumequine	200.00	200.00	200.00	200.00
磺胺间甲氧嘧啶钠 Sulfamonomethoxine sodium	512.00	64.00	512.00	256.00
磺胺甲噁唑+甲氧苄啶 Sulfamethoxazole+trimethoprim	512.00/102.00	32.00/6.40	256.00/51.20	256.00/51.20

3.2.2 海水养殖地区。按采样地区比较大黄鱼体内分离菌株对 8 种药物耐药性(表 3), 可见宁波、温州地区采集的菌株对甲砒霉素、氟苯尼考、氟甲喹和磺胺间甲氧嘧啶钠等药物耐受性存在较大差异, 总体而言宁波地区的菌株对这几类药物耐受性高于温州地区。

表 3 8 种药物对海水养殖地区分离菌株的 MIC_{50}

Table 3 MIC_{50} of eight kinds of antibiotics on bacteria strains isolated from seawater culture area

药物名称 Name of antibiotics	宁波 Ningbo	温州 Wenzhou	MIC_{50}
恩诺沙星 Ennorfloxacin	0.78	0.20	0.39
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	3.13	0.20	3.13
甲砒霉素 thiamphenine	200.00	6.25	200.00
氟苯尼考 Florfenicol	50.00	3.13	50.00
盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	3.13	0.20	1.56
氟甲喹 Flumequine	200.00	6.25	200.00
磺胺间甲氧嘧啶钠 Sulfamonomethoxine sodium	512.00	0.20	512.00
磺胺甲噁唑+甲氧苄啶 Sulfamethoxazole+trimethoprim	512.00/102.00	256.00/51.20	512.00/102.00

3.3 不同种类病原菌对抗生素的感受性 4 种敏感药物对 8 种淡水品种主要致病菌 MIC_{50} 由低至高分别如表 4 所示。

①恩诺沙星: 类志贺邻单胞菌<嗜水/豚鼠气单胞菌=少动鞘氨醇单胞菌<温和气单胞菌<假单胞菌=迟缓爱德华氏菌<柠檬酸杆菌<摩氏摩根菌。②盐酸多西环素: 类志贺邻单胞菌<嗜水/豚鼠气单胞菌=少动鞘氨醇单胞菌<温和气单胞菌<假单胞菌<迟缓爱德华氏菌<柠檬酸杆菌<摩氏摩根菌。③硫

酸新霉素: 类志贺邻单胞菌=嗜水/豚鼠气单胞菌=温和气单胞菌=假单胞菌=柠檬酸杆菌=迟缓爱德华氏菌<少动鞘氨醇单胞菌=摩氏摩根菌。④氟苯尼考: 类志贺邻单胞菌<嗜水/豚鼠气单胞菌=迟缓爱德华氏菌<温和气单胞菌=少动鞘氨醇单胞菌<假单胞菌<柠檬酸杆菌<摩氏摩根菌。

3 种敏感药物对 4 种大黄鱼源主要致病菌 MIC_{50} 由低至高分别如表 5 所示。①恩诺沙星: 假单胞菌=美人鱼发光杆菌<哈维氏弧菌=气单胞菌。②盐酸多西环素: 美人鱼发光杆菌<哈维氏弧菌<假单胞菌<气单胞菌。③硫酸新霉素: 假单胞菌=哈维氏弧菌<美人鱼发光杆菌<气单胞菌。

4 结论与讨论

该研究结果表明, 淡水品种体内分离最主要病原菌是气单胞菌, 气单胞菌能引起水生动物出现溃疡、疥疮、败血等病症, 并能条件致使人急性肠炎乃至严重的腹膜炎以及骨髓炎等^[9-12]。2019 年采集病样多出现体表和鳃(腮)溃烂、疥疮、肝脾充血等病症, 与气单胞菌感染症状相吻合。此外, 在患病大黄鱼体内也分离鉴定到一定比例的气单胞菌, 与多位学者在其他海水动物体内分离结果报道相似^[13-15], 再次提示了气单胞菌不仅存在淡水水域而且较广泛见于海水水域, 具有导致多类海水品种发病的潜在威胁, 需引起关注。海水品种体内分离到最主要病原菌是假单胞菌和哈维氏弧菌, 假单胞菌为引起大黄鱼近年来高发疾病之一的内脏白点病主要病原菌^[16-18], 而哈维氏弧菌具有引起大黄鱼体表溃疡、肝脏肿大以及肠道病变的致病性^[19-20], 与该研究中大黄鱼病症表现及病原菌分离结果相吻合, 表明假单胞菌和弧菌对大黄鱼具

有较强的致病性,因而后续应着重对这两类为主的病原菌展开进行相关研究。

表4 4种敏感抗生素对8种淡水养殖品种主要病原菌的MIC₅₀

Table 4 MIC₅₀ of four kinds of susceptible antibiotics on eight species of main pathogenic bacteria strains isolated from freshwater aquatic animals

药物名称 Name of antibiotics	嗜水/豚鼠 气单胞菌 <i>Aeromonas</i> <i>hydro/caviae</i>	温和气 单胞菌 <i>Aeromonas</i> <i>sobria</i>	假单胞菌 <i>Pseudomonas</i> spp.	类志贺邻 单胞菌 <i>Plesiomonas</i> <i>shigelloides</i>	少动鞘氨醇 单胞菌 <i>Sphingomonas</i> <i>paucimobilis</i>	柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter</i> spp.	摩氏摩根菌 <i>Morganella</i> <i>morganii</i>	迟缓爱德华氏菌 <i>Edwardsiella</i> <i>tarda</i>	MIC ₅₀ μg/mL
恩诺沙星 Ennorfloxacin	0.20	0.39	0.78	0.10	0.20	3.13	200.00	0.78	0.20
盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	0.78	1.56	6.25	0.39	0.78	50.00	200.00	12.50	3.13
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	6.25	6.25	6.25	6.25	12.50	6.25	12.50	6.25	6.25
氟苯尼考 Florfenicol	3.13	6.25	25.00	1.56	6.25	100.00	200.00	3.13	6.25

表5 3种抗生素对4种海水养殖品种主要病原菌的MIC₅₀

Table 5 MIC₅₀ of three kind of antibiotics against four species of main pathogenic bacteria strains isolated from seawater aquatic animals

药物名称 Name of antibiotics	假单胞菌 <i>Pseudomonas</i> spp.	哈维氏弧菌 <i>Vibrio harveyi</i>	气单胞菌 <i>Aeromonas</i> spp.	美人鱼发光杆菌 <i>Photobacterium damsela</i>	MIC ₅₀ μg/mL
恩诺沙星 Ennorfloxacin	0.39	0.78	0.78	0.39	0.39
盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	3.13	1.56	6.25	0.20	1.56
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	3.13	3.13	25.00	12.50	3.13

从病原菌耐药分析结果来看,以中华鳖、大口黑鲈等为主的淡水养殖品种中分离的病原菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素等药物的耐受浓度较低,而对磺胺类、氟甲喹、甲砒霉素等药物的耐受浓度较高。这与文献报道浙江省养殖的中华鳖^[21-22]、大口黑鲈^[23-24]、乌鳢^[25]等水生动物体内分离的多种病原菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素等药中一种或多种敏感,而普遍耐受磺胺类药物结果相同。磺胺类药物因其价廉高效被广泛应用于畜禽饲养、水产养殖和医疗产业,然而近年来在水体环境、水生动物体内常被检出超标^[26-27],推测水生动物病原菌普遍对磺胺类耐药的产生与此类药物频繁使用密切相关。鳖源性致病菌对抗菌药物感受度总体普遍高于大口黑鲈等鱼源性致病菌,推测可能与不同养殖动物、养殖模式以及使用抗菌药物的习惯存在较大差异有关。实地调查发现,浙江省中华鳖主养区鳖苗种质使用仍较为杂乱,温室-大塘养殖是主要养殖模式,细菌性疾病几乎全年均有发生,加上养殖户尚欠缺科学、合理的用药知识,没有做到规范用药,鳖源病原菌耐药形势严峻;相较而言,大口黑鲈种质资源稳定,近些年浙江省主推生长快、抗病强的“优鲈1号”品系^[28],并且大力试点推广池塘循环流水跑道等新型生态养殖模式^[29],细菌性疾病暴发较少,抗生素使用也相应减少,细菌耐药情况也相对较好。不同淡水养殖地区间病原菌对药物的耐受性一致,可能与监测的养殖点均位于浙北地区,养殖条件相似,水域之间联系较为密切等方面原因有关。

以大黄鱼为主的海水养殖品种分离的致病菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素等药物的耐受浓度较低,而对磺胺类、氟苯尼考、氟甲喹、甲砒霉素等抗生素耐受浓度较高。综合浙江省近10年关于大黄鱼病原菌耐药分析报道^[30-31,16],假单胞菌和哈维氏弧菌等对磺胺类药物普遍具有高度耐药性,而较敏感于恩诺沙星、盐酸多西环素等药物,这

也与2019年度淡水品种病原菌耐药结果相似。故今后水产用药建议降低磺胺类药物的使用频率,以减少水体中和水生动物体内磺胺类药物耐药菌的继续产生。宁波地区菌株对甲砒霉素、氟苯尼考、氟甲喹和磺胺间甲氧嘧啶钠等药物耐受性均高于温州地区,推测可能与两地地理位置相距较远、养殖海域联系较少、用药习惯差异等有一定相关联系^[16]。

比较不同细菌对多种抗生素的感受性,发现摩氏摩根菌、柠檬酸杆菌、迟缓爱德华氏菌等致病菌对药物的耐受浓度普遍高于气单胞菌,而嗜水/豚鼠气单胞菌对药物耐受浓度普遍小于温和气单胞菌,这可能与病原菌含有耐药基因种类和数量密切相关^[32],有待深入研究比较。同时,也存在多重耐药的菌株,如摩氏摩根菌等,与前期多位学者对摩氏摩根菌研究结果相似^[33-35],该研究再次提示这类细菌具有特殊的耐药机制,可能与该菌多种耐药基因密切相关^[34-36]。

由此可见,目前恩诺沙星、盐酸多西环素、硫酸新霉素等药物对浙江省多数水生动物致病菌的抑制效果较好,可作为绝大多数病原菌用药首选但并非万选,仍必须严格按照药敏试验结果和药代动力学原理确定剂量和药程对症用药,才能尽可能减少耐药菌的产生并保障水产品质量安全。

参考文献

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2018 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2018:21-37.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2019 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2019:21-37.
- [3] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2019 我国水生动物重要疫病状况分析[M]. 北京:中国农业出版社,2019:289-294.
- [4] 郑天伦,张海琪. 中华鳖腐皮病的病原鉴定与药敏研究[J]. 浙江农业学报,2015,27(1):32-36.
- [5] 叶伟东,郭成,曹海鹏,等. 加州鲈出血嗜水气单胞菌的分离鉴定、致病性和体外抑菌药物研究[J]. 淡水渔业,2018,48(5):54-60.
- [6] 何晟毓,魏文燕,刘韬,等. 大口黑鲈致死性结节病原的分离、鉴定及组织病理学观察[J]. 水产学报,2020,44(2):253-265.
- [7] 张静,施慧,谢建军,等. 网箱养殖鲈鱼内脏白点病原的分离与鉴定

- [J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版),2009,28(2):176-182.
- [8] 冯东岳,王玉堂,汪劲. 我国水生动物病原细菌耐药性监测开展情况及有关建议[J]. 中国水产,2017(5):34-37.
- [9] JANDA J M, ABBOTT S L. The genus *Aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity, and infection[J]. *Clinical microbiology reviews*, 2010, 23(1): 35-73.
- [10] PARKER J L, SHAW J G. *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease[J]. *Journal of infection*, 2011, 62(2): 109-118.
- [11] SENDEROVICH Y, KEN-DROR S, VAINBLAT I, et al. A molecular study on the prevalence and virulence potential of *Aeromonas* spp. recovered from patients suffering from diarrhea in Israel[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): 1-6.
- [12] IGBINOSA I H, IGUMBOR E U, AGHDASI F, et al. Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health[J]. *Scientific world journal*, 2012, 2012: 1-13.
- [13] 杨嘉龙,周丽,邢婧,等. 养殖刺参溃疡病杀鲑气单胞菌的分离、致病性及胞外产物特性分析[J]. 中国水产科学,2007,14(6):981-989.
- [14] 李梅,游卓霖,陈锋,等. 广东省南美白对虾豚鼠气单胞菌的分离鉴定[J]. 上海海洋大学学报,2015,24(4):579-586.
- [15] 李忠琴,张坤,林茂,等. 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)致病性维氏气单胞菌的分离鉴定与药敏特性研究[J]. 海洋与湖沼,2017,48(1):139-147.
- [16] 曹飞飞,朱凝瑜,郑晓叶. 2014—2016 年浙江省大黄鱼养殖病害测报及防治建议[J]. 浙江农业科学,2017,58(6):1043-1047.
- [17] 张杰,毛芝娟. 大黄鱼内脏白点病病原原香假单胞菌及其毒力因子研究进展[J]. 浙江万里学院学报,2015,28(6):69-76,81.
- [18] 胡娇,张飞,徐晓津,等. 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)内脏白点病病原分离鉴定及致病性研究[J]. 海洋与湖沼,2014,45(2):409-417.
- [19] 徐晓津,徐斌,王军,等. 大黄鱼感染哈维氏弧菌后血液生化指标的变化及组织病理学观察[J]. 水产学报,2010,34(4):618-625.
- [20] 吴立婷,廖金轩,庞茂达,等. 大黄鱼中哈维氏弧菌毒力及耐药特性分析[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(8):2111-2119.
- [21] 朱凝瑜,曹飞飞,郑晓叶,等. 中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)迟缓爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)的分离鉴定与药物敏感性分析[J]. 中国渔业质量与标准,2018,8(4):65-71.
- [22] 施礼科,陈凡,叶键,等. 养殖中华鳖源气单胞菌药物敏感性测定及分析[J]. 科学养鱼,2018(5):62-63.
- [23] 郑善坚. 弗氏柠檬酸杆菌引起鱼、蛙溃烂病的防治案例[J]. 科学养鱼,2017(2):68-69.
- [24] 何欣. 三种药物在大口黑鲈体内代谢动力学及代谢组学研究[D]. 杭州:浙江工商大学,2017.
- [25] 朱凝瑜,贝亦江,郑晓叶,等. 乌鳢源气单胞菌的耐药表型与耐药基因研究[J]. 水产科技情报,2020,47(3):145-149.
- [26] 周志洪,吴清柱,王秀娟,等. 环境中抗生素污染现状及检测技术[J]. 分析仪器,2016(6):1-8.
- [27] CABELLO F C, 张红林,何力. 水产养殖业预防性抗生素的大量使用: 一个日益严重的人与动物健康以及环境问题[J]. 淡水渔业,2016,46(6):109-112.
- [28] 周志金,胡大雁,朱强. 浙北地区大口黑鲈“优鲈 1 号”苗种规模化早繁技术[J]. 科学养鱼,2016(2):8-9.
- [29] 周凡,冯双双,姜剑锋,等. 池塘循环流水“跑道”养殖 3 种淡水鱼效益分析[J]. 水产养殖,2020,41(4):39-42.
- [30] 任燕,陈献稿,刘鹏成,等. 大黄鱼假单胞菌病原的分离鉴定及药物敏感试验[J]. 广东农业科学,2012,39(18):151-154.
- [31] 施慧,王庚申,谢建军,等. 2013—2014 年浙江省海水养殖常见致病菌耐药性分析[J]. 科学养鱼,2015(4):54-56.
- [32] 乔毅,万夕和,沈辉. 我国水产用抗菌药物耐药性研究进展[J]. 中国抗生素杂志,2015,40(5):389-395.
- [33] 孔蕾,朱凝瑜,贝亦江,等. 中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)摩氏摩根菌(*Morganella morganii*)的鉴定及致病性研究[J]. 海洋与湖沼,2013,44(3):722-727.
- [34] STOCK I, WIEDEMANN B. Identification and natural antibiotic susceptibility of *Morganella morganii*[J]. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 1998, 30(3):153-165.
- [35] 慕福芹. 多药耐药菌的耐药机制研究[D]. 北京:中国协和医科大学,2010.
- [36] LIU H, ZHU J M, HU Q W, et al. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen[J]. *International journal of infectious diseases*, 2016, 50:10-17.

(上接第 94 页)

为人工培育青斑蝶提供基础数据参考,同时也为其他蝴蝶种群的活动节律研究提供参考。

3.1 卵和幼虫的发育历期 温度对昆虫的发育具有重要影响,低温能延缓昆虫的发育^[10]。这与张岚等^[11]对斐豹蛱蝶的繁殖生态学研究的相关报道相一致;该研究通过人工气候箱控制温度、湿度和光照强度进行青斑蝶卵、幼虫和蛹的培养,结果显示青斑蝶卵和幼虫的适宜条件为温度 25℃,相对湿度 60%,光照强度 1 000 lx,卵和幼虫的平均发育历期分别为 4.08 和 13.03 d;相同湿度及光照强度下,温度设为 30℃,卵无法发育;相较于低温对昆虫卵的发育抑制作用,高温会终止昆虫卵的发育。

3.2 蛹的发育历期 将青斑蝶的蛹在人工气候箱不同条件下培养,结果表明温度、湿度及光照强度对蛹的生长发育各因素之间有交互作用,其中温度对蛹的发育影响极显著($P < 0.01$)。温度 30℃、相对湿度 50%、光照强度 1 000 lx 的培养条件最适宜蛹的发育和羽化,羽化率为 100%,平均发育历期为 6.75 d。温度是影响昆虫发育的最主要因素^[10];在相对湿度 60%、光照强度 1 000 lx 的条件下,与 25、30℃ 的温度条件相比,20℃ 下蛹的发育历期增加 7 d 左右。虽然从统计学上看相对湿度和光照强度对青斑蝶的影响并不显著,但在实际观察中相对湿度和光照强度对青斑蝶蛹的发育具有重要影响,相对湿度和光照强度的改变会严重影响青斑蝶的羽化

率;在温度 30℃、光照强度 1 000 lx 的条件下,相较于相对湿度 50%,在相对湿度 60% 条件下畸形及死亡率更高(20.0%);在温度 25℃、相对湿度 60% 的条件下,相较于 500 lx 的光照强度,在光照强度 1 000 lx 条件下畸形及死亡率提高了 13.3 个百分点。人工养殖青斑蝶时,应注意加强对温度、相对湿度和光照强度的控制,提高青斑蝶的羽化率。

参考文献

- [1] 陈明勇,邹兴淮,邓敏,等. 中国蝴蝶养殖[M]. 昆明:云南科技出版社,2002:2-11.
- [2] 唐宇翀,陈晓鸣,周成理. 蝴蝶资源的开发与利用[C]//云南省昆虫学会 2009 年年会论文集. 北京:科学出版社,2009:331-333.
- [3] AMBROSE D P, RAJ D S. Butterflies of Kalakad-Mundanthurai tiger reserve, Tamil Nadu[J]. *Zoos print journal*, 2005, 20(12):2100-2107.
- [4] 唐宇翀. 青斑蝶对挥发物的取食反应[J]. 安徽农业科学,2016,44(36):171-173.
- [5] 陈晓鸣,周成理,史军义. 中国观赏蝴蝶[M]. 北京:中国林业出版社,2008:208-210.
- [6] 李承哲,王华,唐宇翀,等. 青斑蝶成虫释放诱集研究[J]. 应用昆虫学报,2017,54(2):317-324.
- [7] LI C Z, WANG F Y, CHEN X M, et al. Adult behavior of *Tirumala limniace* (Lepidoptera: Danaidae)[J]. *Journal of insect science*, 2015, 15(1):1-7.
- [8] 程士富. 标准差计算和应用中的一个问题[J]. 内蒙古统计,2007(6):60.
- [9] 袁瑞玲,杨珊,冯丹,等. 温度、湿度、光照对桔小实蝇飞行能力的影响[J]. 环境昆虫学报,2016,38(5):903-911.
- [10] 廖宇. 玉带凤蝶生物学特性研究[D]. 福州:福建农林大学,2009:15-27.
- [11] 张岚,董勇,杨世璋,等. 斐豹蛱蝶的繁殖生物学研究[J]. 应用昆虫学报,2011,48(6):1759-1764.