

盐度对寄主暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)存活影响及其对车轮虫的杀灭作用*

刘金海^{1,2} 张 正¹ 王印庚^{1①} 郭正龙³ 武宁宁⁴

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;
2. 上海海洋大学 上海 201306; 3. 江苏中洋集团 海安 226600; 4. 青岛市渔业技术推广站 青岛 266001)

摘要 为防治河鲀车轮虫病, 分别设置 0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5、20.0、25.0、30.0、35.0 和 40.0 共 13 个盐度梯度, 对暗纹东方鲀进行了浸浴实验。结果显示, 盐度为 15 以下, 对暗纹东方鲀的存活没有影响; 盐度为 0、2.5、5.0 时, 4 d 内车轮虫的数量没有减少反而有增加趋势; 盐度 7.5 作用 4 d, 盐度 10.0 作用 3.5 d, 盐度 12.5 作用 3 d, 杀虫率可达 95% 以上; 盐度 15.0 作用 32 h, 盐度 17.5 作用 24 h, 盐度 20.0 作用 10 h, 盐度 25.0 作用 4 h, 盐度 30.0 作用 1.5 h, 盐度 35.0 作用 1 h, 盐度 40.0 作用 0.5 h, 对车轮虫的杀虫率均可达 100%。应用 SPSS 软件, 对杀虫盐度和时间进行拟合曲线方程分析, 其数学模型为对数曲线方程 $y=34.19-5.55\ln x$ 。另外, 车轮虫在暗纹东方鲀体表的复活试验显示, 用提高盐度的方法杀灭暗纹东方鲀体表车轮虫后, 再恢复到正常养殖盐度 5.0 的情况下, 暗纹东方鲀的体表车轮虫病不再复发, 说明盐度 7.5 以上能治疗暗纹东方鲀的车轮虫病。结合提高盐度治疗暗纹东方鲀车轮虫病的生产性试验结果, 建议以盐度为 7.5–15.0 作为治疗暗纹东方鲀体表车轮虫的适宜盐度。

关键词 暗纹东方鲀; 盐度; 车轮虫; 灭杀; 存活

中图分类号 S942 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2014)06-0068-08

暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)隶属鲀形目、鲀科、东方鲀属, 俗称河鲀, 它是一种江海徊游性鱼类, 在繁殖季节需经历盐度的急剧变化, 具有很强的渗透压调节能力, 属广盐性生物, 对盐度耐受性力强(严美姣等, 2005)。河鲀作为一种名贵养殖鱼类, 其肉质鲜美、营养丰富, 备受广大消费者青睐(成庆泰等, 1975; 华元渝等, 1996; 李晓川等, 1998; 赵清良等, 1999), 从其肝脏、性腺中提取的河豚毒素(TTX)是一种很强的神经毒素, 在医学、生理学上是阻滞 Na^+ 通道的重要药品, 临床上小剂量使用可以治疗神经系统疾病和减轻晚期癌痛等(施永海等, 2007), 因此河鲀具有较高的食用和药用价值。近年来各地大力发展河鲀的繁殖和养殖(吴剑峰等, 2003; 施永海等, 2007;

郭正龙等, 2011), 且获得了较高的经济效益。然而, 在河鲀人工养殖过程中, 由于水质的污染、饲养管理不当等原因, 经常会出现车轮虫病, 导致鱼类大批死亡, 给养殖业造成了较大的经济损失。

车轮虫有 280 余种, 种类繁多, 在我国发现 5 属近 80 种车轮虫, 它们属寄生性纤毛虫原生动植物(徐奎栋等, 2000; 蔡飞等, 2011), 主要对养殖鱼类的皮肤、鳃丝等组织产生破坏作用。以往, 防治河鲀车轮虫病的方法是频繁使用硫酸铜与硫酸亚铁合剂或甲醛(李莉萍等, 2011), 但是, 这种治疗不能彻底治愈车轮虫病, 而且可造成厌食或鱼体组织损伤, 有时给更多的敌害生物可乘之机, 病情愈加重。加之车轮虫的耐药性大大提高, 上述药物的药效几乎微乎其微。盐度是影

* 国家科技支撑计划课题“海洋水产病害综合防控技术的集成与示范”(2012BAD17B03)资助。刘金海, E-mail: ljh870228@126.com

① 通讯作者: 王印庚, 研究员, E-mail: wangyg@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2013-12-31, 收修改稿日期: 2014-03-11

响水生动物存活、生长的重要环境因子之一(Gilles *et al.*, 2001; Imsland *et al.*, 2008; 董晓亮等, 2013), 关于盐度对鱼类生长的影响已有不少文献报道(Zhang *et al.*, 2010; 李炎璐等, 2013), 盐度变化对车轮虫的杀灭虽有报道(王锐等, 2012), 但缺乏系统的研究。为了进一步研究盐度对淡水车轮虫的灭杀效果, 本研究设定一系列盐度梯度, 通过盐度对车轮虫杀灭及暗纹东方鲀对盐度的耐受性试验, 旨在探索适宜的能够灭杀车轮虫的盐度范围及药浴时间, 为防治暗纹东方鲀车轮虫病提供技术支撑和参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验河鲀 试验于2013年1月在江苏某河鲀养殖场进行, 从中选取体长20–25 cm、患车轮虫病的河鲀。试验期间持续充气, 保证溶氧充足, 水温为15℃, pH 7.3–8.3。

1.1.2 试验材料和工具 聚乙烯塑料桶、充氧泵、YSI556多参数水质检测仪(美国)、Nikon E800光学显微镜(日本)等, 市售粗盐用于调节盐度。

1.2 方法

1.2.1 病鱼检查及病原形态学观察 首先对病鱼样品的体表、鳃丝、内脏器官进行目测观察, 分析具有车轮虫病典型症状的河鲀表现观性病理变化。随后, 取病鱼的体表黏液、溃烂组织、鳃丝以及内脏各组织制成水浸片, 置于Nikon E800显微镜下观察车轮虫的形态。

1.2.2 盐度对寄主河鲀的影响及其对车轮虫的杀灭作用 将河鲀随机分成13组, 每组的河鲀体长(20–25 cm)、健康状态无较大差异。该养殖场河鲀养殖水体的盐度约为5–6, 设定0、2.5、5.0(对照)、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5、20.0、25.0、30.0、35.0、40.0一系列盐度梯度, 用过滤后的自来水和粗盐分别将淡水调节到设定的盐度, 曝气1 d。采用盐度骤变的方法将所有试验鱼从盐度5.0分别转入其他各盐度组中, 每组约25尾。

于0 h、0.25 h、0.5 h、1 h、1.5 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、16 h、24 h、32 h、2 d、3 d、3.5 d、4 d、5 d、6 d、7 d对每组河鲀进行观察, 记录其活动状态、异常生理现象及存活率; 另外, 于第3天从30.0高盐度组选取濒死河鲀, 分别取体积约0.5 cm³的鳃、皮肤、肝、脾、肾、肠等组织, 对其进行组织切片, 显微镜下观察高盐度对河鲀各组织器官的影响。同时, 每

组随机取3尾鱼, 在每尾鱼的体表上刮取面积为4 cm²的体表黏液制成水浸片, 用Nikon E800显微镜在×100倍下观察体表黏液中车轮虫的活力, 选取5个视野, 统计并记录纤毛摆动或可自由运动的车轮虫的数量, 取平均值, 从而判断和比较不同盐度在不同时间阶段对车轮虫的杀灭作用。

试验期间各试验组的水温、pH保持一致, 不投饵、不换水, 保持各盐度组的盐度不变, 若有死亡个体, 及时捞出, 保障水质良好。每次取样刮取的面积基本相同, 均在体表处刮取。取样时河鲀干露时间较少, 保障放回试验桶后不影响它的生存。

1.2.3 车轮虫在河鲀体表的复活 在1.2.2试验进行中, 当盐度组7.5、10.0、12.5、15.0、17.5、20.0、25.0、30.0、35.0、40.0分别浸浴4 d、3.5 d、3 d、32 h、24 h、10 h、4 h、1.5 h、1 h和0.5 h时, 从各盐度组中, 随机取3尾河鲀, 分别放回到盐度为5.0的塑料桶中试验15 d。试验前每组捞取3尾鱼, 每尾鱼刮取面积为4 cm²的体表黏液, 每个盐度组所刮取的体表黏液总面积均为12 cm²(3 cm×4 cm), 制成水浸片, 于×100倍显微镜下, 统计每个盐度组12 cm²体表黏液中车轮虫的总数。试验后, 观察河鲀的健康状态。同样方法观察体表黏液中车轮虫的数量, 以确定车轮虫的复活情况。实验期间, 每天投喂1次, 日投喂量为河鲀体重的5%, 每日换水量为1/2, 并用吸管将河鲀的粪便和残饵吸出, 以保持水质良好。

1.2.4 提高盐度治疗车轮虫病的生产性试验 试验选择在河鲀养殖车间内进行, 选取患车轮虫病严重的4个池子, 每个池子(容积3 m³)盛有河鲀约200尾, 盐度为5.0。试验分两组进行, 一组加粗盐使养殖水盐度从5.0快速提高到15.0。具体操作如下: 称量粗盐31 kg, 把食盐磨碎, 放入200 L的塑料桶内, 加入100 L热水, 充气并搅拌使食盐溶解。把食盐水均匀全池泼洒, 连续浸浴2 d后换水, 使盐度恢复到5.0; 另一组作为对照组, 每个组设1个平行。跟踪观察10 d, 记录鱼的死亡量、摄食和健康活力状况; 同时镜检车轮虫的数量和活力。

1.3 数据处理统计

试验所得数据均以平均值表示, 采用SPSS 19.0软件统计包中的独立样本 t 检验, 当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

杀虫率% (Insecticidal rate %) = $(N_0 - N_T) / N_0 \times 100\%$

式中, N_0 、 N_T 分别为试验开始和结束时车轮虫的数量。

设自变量 x 为杀灭车轮虫所需的时间, 另设依变

量 y 为杀灭车轮虫所用的盐度。对于变量 x 和 y ，通过 SPSS 19.0 进行曲线拟合，本研究选取了 6 种曲线，包括直线方程、对数方程、二次方程、三次方程、幂函数曲线模型以及指数模型，求出对应的曲线方程、决定系数 R^2 (也称拟合优度)、回归显著性检验的 F 值以及 F 值的显著水平 P 值，并进行对比，从中找出最佳的拟合函数方程，即以方程的形式表示杀死车轮虫的盐度和相应时间的关系。

2 结果

2.1 流行病学特征及病原形态学观察

河鲢的苗期、养成期和亲鱼培养期均可发生车轮虫病，发病水温为 20–28℃，一年四季均有发生，4–8 月为发病高峰期，该病感染率高、传染快，流行范围遍布整个江苏地区河鲢养殖场，累积死亡率较高。2012 年 12 月，江苏省某养殖场室内工厂化养殖河鲢，越冬期间大面积暴发车轮虫病，个别池子感染率几乎为 100%，死亡率达 10% 以上。该疾病发生过程中常引起细菌性烂鳃和烂尾并发症。

车轮虫感染的河鲢最典型的症状表现为：早期病鱼体表和鳃丝黏液增多，体色暗浊，似蒙着一层“白雾”；病鱼沿池边游动，时而在池壁上摩擦体表；严重者出现体表红肿、溃疡、烂鳍和机械摩擦损伤；解剖严重感染的鱼体，发现腹腔积水，肝脏充血，肠道充血(图 1-a–图 1-d)；后期出现食欲不振、行动呆滞、离群独游、呼吸困难，直至最后死亡。

取体表黏液镜检可见大量的车轮虫，虫体大小约 20–40 μm ，虫体隆起为口面，相对凹入面为反口面，口面有 1 口沟，两面侧各有 1 排纤毛，有大小核各 1 个，反口面环生 1 圈较长的纤毛，齿环和辐线环是反口面最显著的构造，车轮虫以车轮般旋转方式运动(图 1-e)。

2.2 盐度对寄主河鲢存活的影响

观察试验发现，河鲢刚进入试验桶中时，都表现得十分躁动不安，沿着桶壁快速游动，数小时后，除高盐度组外，其他组的河鲢都慢慢开始适应环境；高盐度组表现极度不适应，河鲢惊慌错乱，快速游动，不时窜出水面或撞击试验桶，大口吐水吸气，对高盐度刺激反应强烈。但随着时间的推移，表现出行动迟缓，应激反应逐渐减弱，最后沉底死亡。死亡的河鲢全身性出血和肿胀(图 2-a)。对高盐度组河鲢的内脏器官进行组织病理分析发现，部分鳃小片末端膨大，

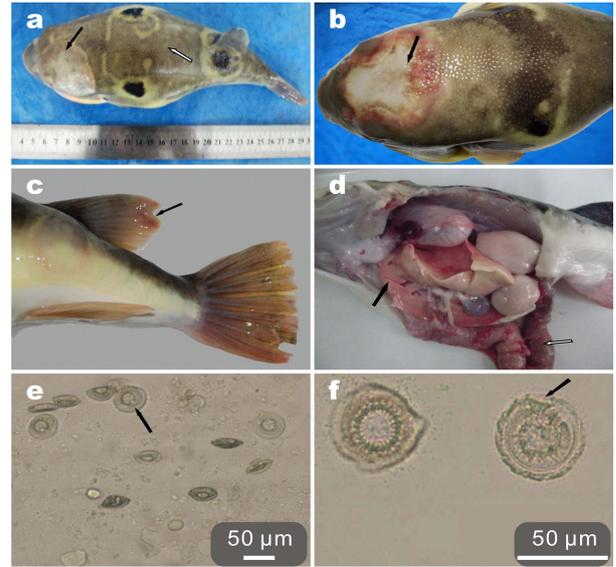


图 1 车轮虫和受感染的河鲢

Fig.1 Parasite *Trichodina* sp. and the infected *T. obscurus*

a: 车轮虫感染的河鲢，病灶区呈红肿、溃疡状态(←)，大面积体表呈“白雾”状(⇐)；b: 严重感染车轮虫的河鲢，出现红肿、溃疡(←)；c: 车轮虫感染的河鲢出现烂鳍(←)；d: 车轮虫感染的河鲢腹腔积水、肝脏充血(←)、肠道充血(⇐)；e: 盐度作用前，体表黏液中大量的车轮虫(←)；f: 盐度作用后，车轮虫的结构不完整，边缘毛糙、模糊，丧失活动力，车轮虫解体死亡(←)

a: The diseased *T. obscurus*, serious lesions area showed swelling and ulceration (←), Large area of body surface appeared white mist condition (⇐); b: The serious effected *T. obscurus*, appeared swelling and ulceration on body surface (←); c: The effected *T. obscurus* showed rot fin (←); d: The effected *T. obscurus* with abdominal effusion, liver congestion (←), intestinal hyperemia (⇐); e: Numerous *Trichodina* in skin mucosa before high salinity exposure (←); f: After high salinity exposure, the structure of *Trichodina* was incomplete, its edge was coarse and fuzzy, lost mobility, finally *Trichodina* was integrated and died (←)

发生融合的现象；肝组织间有充血现象；脾脏铁血黄素增多沉淀；肾小管上皮细胞凝固性坏死，肾小球崩解、坏死；心脏无明显的异常；肠黏膜上皮细胞脱落，微绒毛结构不整齐，缺失甚至消失(图 2-b–图 2-g)。

盐度对河鲢存活的影响见图 3。试验结果表明，盐度为 0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 试验组中，7 d 后河鲢活力依然很好，盐度 12.5 组的存活率最低，为 70%，其他组存活率均达 80% 以上；盐度为 15.0 以上的试验组中，7 d 后河鲢存活率很低；其中盐度为 15.0、17.5 和 20.0 组，2 d 时河鲢的存活率分别为 100%、90% 和 80%，7 d 时存活率分别为 50%、45% 和 40%，并且存活的河鲢活力均很弱；而在 25.0、30.0、35.0、

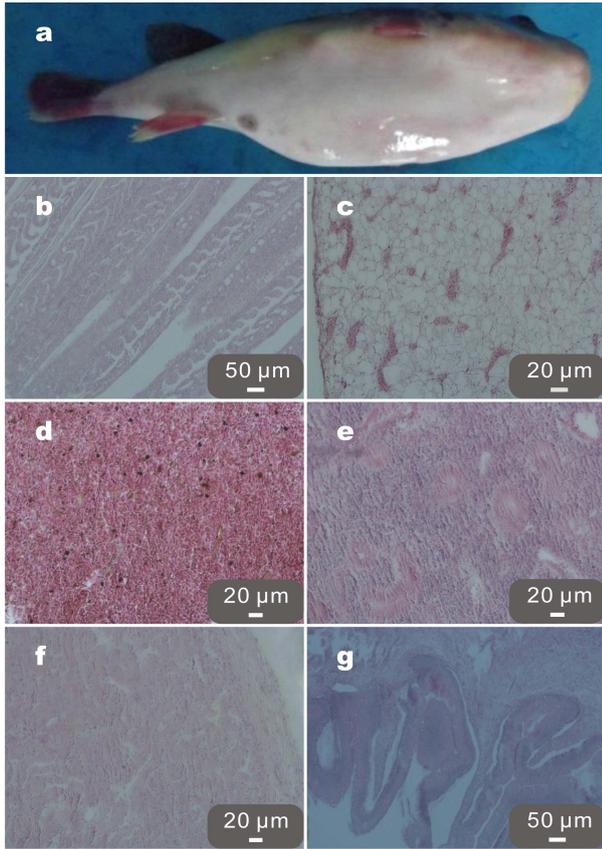


图 2 高盐度作用后的河鲀及内脏器官

Fig.2 Diseased *T. obscurus* and its organs after high salinity exposure

a: 河鲀; b: 鳃; c: 肝脏; d: 脾脏; e: 肾脏;
f: 心脏; g: 肠道
a: Diseased *T. obscurus*; b: Gill; c: Liver; d: Spleen;
e: Kidney; f: Heart; g: Intestine

40.0 盐度组中, 河鲀全部死亡。其中, 在盐度为 35.0 组中, 河鲀 24 h 内全部死亡, 而盐度为 40.0 中, 河鲀 12 h 内就全部死亡, 说明河鲀对盐度的应激反应时间会因为盐度增加而缩短。

2.3 不同盐度对车轮虫的杀灭作用

试验结果显示, 盐度为 0、2.5、5.0 时, 河鲀体表车轮虫的数量没有减少, 反而有增加的趋势, 而且寄生虫活力依然很好, 说明盐度为 0、2.5、5.0 均没有杀虫作用。而盐度为 7.5 及以上的 10 个盐度组对车轮虫均有灭杀作用, 致使车轮虫解体、死亡(图 1-f)。其中盐度 7.5 浸浴 4 d、盐度 10.0 浸浴 3.5 d、盐度 12.5 浸浴 3 d 时的杀虫率均可达 95% 以上; 盐度 15.0 浸浴 32 h, 盐度 17.5 浸浴 24 h, 盐度 20.0 浸浴 10 h, 盐度 25.0 浸浴 4 h, 盐度 30.0 浸浴 1.5 h, 盐度 35.0 浸浴 1 h, 盐度 40.0 浸浴 0.5 h, 其杀虫率均可达到

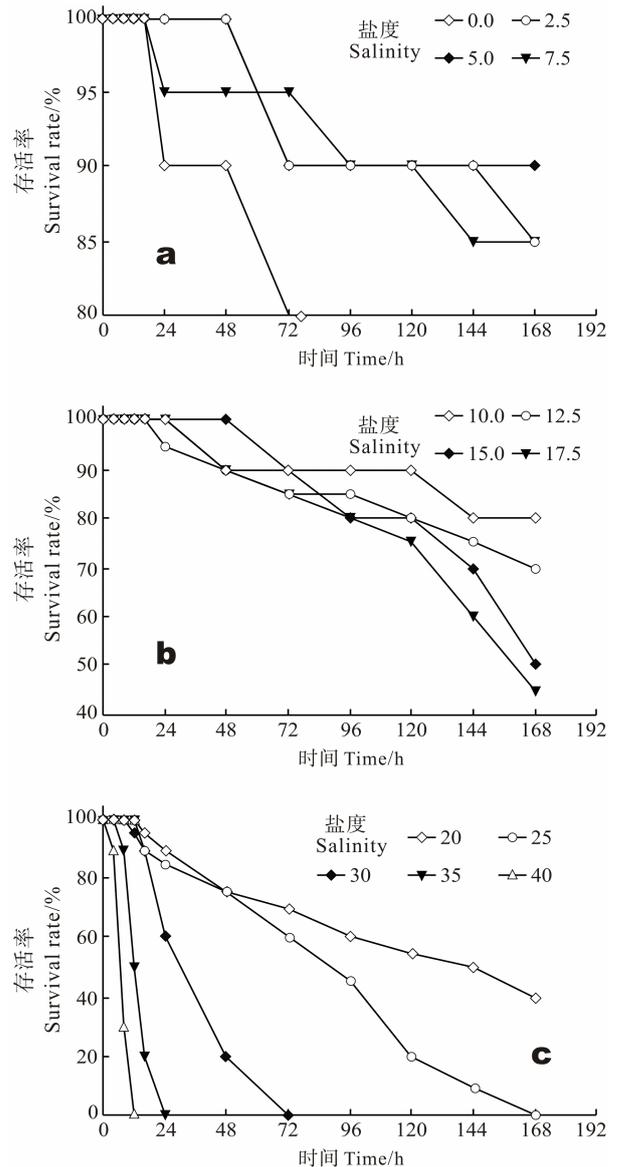


图 3 不同盐度作用下河鲀的存活率

Fig.3 The survival rate of *T. obscurus* under different salinity

100% (表 1、图 4)。

表 2 为各拟合曲线模型的方程式及其参数。 R^2 越大, 表明曲线方程与观察值的拟合回归程度越好。回归的方差分析 F 值越大, F 值的显著水平 P 值越小, 表明曲线拟合的估计值越逼近观察值, 曲线回归的关系越好。在表 2 中, 对数曲线方程的 R^2 达 0.982, F 值为 432.279, P 值为 0 ($P < 0.01$ 为极显著水平标准), 故对数曲线具有极显著相关性。这说明对数曲线对观察数据的拟合回归具有极好的拟合性, 拟合函数方程为 $y = 34.19 - 5.55 \ln x$, 即以方程的形式表示杀死车轮虫的盐度和相应时间的关系。

表1 盐度对车轮虫的杀灭作用

Tab.1 Killing effects of salinity on *Trichodina* sp.

时间 Time	不同盐度下河鲀体表车轮虫的数量变化(个/光镜×100倍视野) Amount of <i>Trichodina</i> on the body surface of <i>T. obscurus</i> at different salinity (ind./×100 times)												
	0	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5	20.0	25.0	30.0	35.0	40.0
0 h	13.8	17.2	14.8	15.2	15.0	14.8	13.2	18.0	21.0	17.2	12.0	14.6	16.2
0.25 h	13.8	17.2	14.8	15.2	15.0	14.8	13.2	18.0	22.0	15.0	10.0	3.4	1.2
0.5 h	13.8	17.2	14.8	15.2	15.0	14.8	13.2	18.0	21.2	11.4	7.2	1.6	0
1 h	13.8	17.2	14.8	15.2	15.0	14.8	13.2	18.0	19.0	7.6	1.6	0	—
1.5 h	13.8	17.2	14.8	15.2	15.0	14.8	13.2	18.0	16.0	3.4	0	—	—
4 h	14.2	17.4	15.2	15.2	15.2	15.2	12.8	15.8	11.6	0	—	—	—
6 h	14.2	17.4	15.2	15.2	15.2	14.8	12.2	14.6	8.0	—	—	—	—
8 h	14.0	17.4	15.0	15.2	14.8	13.6	11.2	13.0	4.2	—	—	—	—
10 h	14.0	17.4	15.0	15.2	14.8	12.8	10.0	11.0	0	—	—	—	—
12 h	13.4	17.8	15.4	15.2	14.4	13.0	9.0	8.0	—	—	—	—	—
16 h	13.4	18.2	15.4	15.2	14.2	12.6	7.0	3.4	—	—	—	—	—
24 h	14.6	18.4	15.8	14.6	14.0	11.2	2.0	0	—	—	—	—	—
32 h	14.8	18.4	16.0	14.2	13.0	9.0	0	—	—	—	—	—	—
2 d	16.0	18.8	16.4	12.6	10.0	6.0	—	—	—	—	—	—	—
3 d	16.2	19.0	17.0	8.2	5.0	0.8	—	—	—	—	—	—	—
3.5 d	16.6	20.0	17.2	5.2	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—
4 d	17.4	20.2	18.0	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
杀虫率 Insecticidal rate (%)				95	96	95	100	100	100	100	100	100	100

注: —表示没有车轮虫 Note: —. no *Trichodina* sp.

表2 各拟合曲线拟合参数

Tab.2 The parameters of different fitting curve

拟合模型 Fitting model	方程 Equation	R^2	F	P
直线 Linear	$y = 29.357 - 0.249x$	0.728	21.406	0.002
对数曲线 Logarithmic	$y = 34.190 - 5.55 \ln x$	0.982	432.279	0
二次曲线 Quadratic	$y = 32.411 - 0.687x + 0.05 x^2$	0.843	18.724	0.002
三次曲线 Cubic	$y = 34.342 - 1.257x + 0.023x^2 - 0.00013x^3$	0.911	20.449	0.001
幂函数曲线 Power	$y = 35.323x^{-0.273}$	0.942	129.518	0
指数曲线 Exponential	$y = 29.245e^{-0.014x}$	0.881	59.171	0

表3 试验前后河鲀体表车轮虫的数量

Tab.3 The number of *Trichodina* on the body surface of *T. obscurus* before and after test

时间 Time	不同盐度组中车轮虫的总数(个/12 cm ² 的体表黏液) Amount of <i>Trichodina</i> on the body surface of <i>T. obscurus</i> at different salinity (ind./12 cm ² skin mucosa)											
	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5	20.0	25.0	30.0	35.0	40.0	平均值 Mean	
试验前 Before test(0 d)	7	5	4	2	2	1	3	3	1	2	3	
试验后 After test(15 d)	1	3	1	2	0	1	2	1	0	1	1.2	

表4 试验前后对车轮虫的数量进行t检验

Tab.4 *t*-test of the amount of *Trichodina* performed before and after test

时间 Time	方差相等的 Levene 检验 Levene's test for equality of variance		均值相等的 <i>t</i> 检验 T-test for equality of means		
	F	P	t	P .双侧 P .2-tail	
试验前后 Before and after test	假设方差相等 Equal variances assumed	3.034	0.099	2.714	0.014
	假设方差不相等 Equal variances not assumed			2.714	0.018

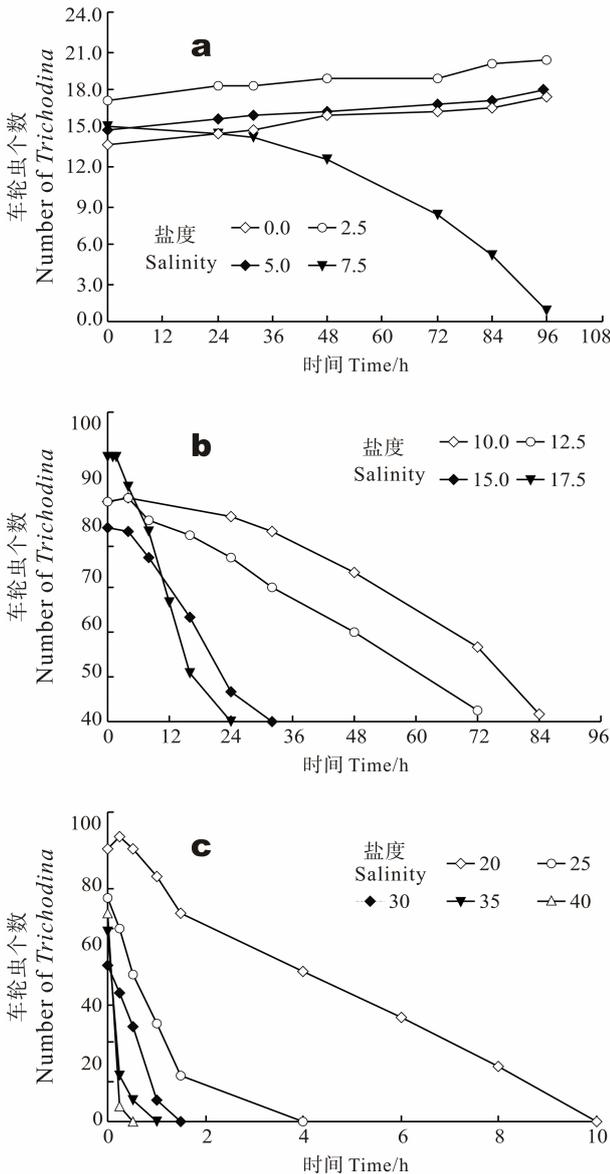


图 4 不同盐度下河鲀体表车轮虫的数量变化(个/光镜 ×100 倍视野)

Fig.4 The number of *Trichodina* sp. on the body surface of *T. obscurus* under different salinity

a: 盐度在 20 以下 ; b: 盐度在 20 以上
a: Salinities below 20; b: Salinities above 20

2.4 车轮虫在河鲀体表的复活

由 1.2.2 试验得知, 盐度大于 7.5 时, 河鲀体表黏液中的车轮虫基本被杀死。分别从盐度为 7.5 以上的 10 个盐度组中, 随机取 3 尾河鲀, 经盐度 5.0 试验 15 d 后观察发现, 河鲀体表、鳃丝的黏液减少, 由车轮虫感染引起的红肿、溃疡、烂鳍现象逐步好转, 体色恢复正常, 呈灰褐色; 摄食正常, 游动活泼, 活力好。盐度 7.5 以上的 10 个盐度组镜检面积为 12 cm² (3 cm×4 cm) 的体表黏液, 试验前, 车轮虫的平均个数

为 3.0 个; 试验 15 d 后, 车轮虫的平均个数为 1.2 个, ×100 倍显微镜下几乎找不到车轮虫, 相比试验前有所降低(表 3)。

由表 4 可知, Levene 方差齐性检验, $F=3.034$, $P=0.099(P > 0.05)$, 可以认为试验前后河鲀体表车轮虫数量的方差相等。进行 t 检验, $t=2.714$, $P=0.014$, 可以认为, 在盐度为 5.0 中试验 15 d 后, 车轮虫的数量会逐渐变少($P < 0.05$), 说明用提高盐度的方法杀灭车轮虫后, 在盐度恢复到正常养殖盐度情况下, 河鲀体表车轮虫不再复活生长。

2.5 提高盐度治疗车轮虫病的生产性试验

经观察发现, 用盐度 15.0 作用的两个试验池中, 2 d 内河鲀死亡 3 尾, 第 3-10 天未出现死亡; 患病河鲀恢复摄食, 游泳活泼, 活力良好。取河鲀体表黏液以及鳃丝镜检, 几乎观察不到车轮虫。两个对照组池中, 2 d 内死亡 9 尾河鲀, 其后每天都有 3-6 尾河鲀死亡; 河鲀行动呆滞, 离群独游, 呼吸困难。取河鲀体表黏液以及鳃丝镜检, 发现大量车轮虫。盐度 15.0 浸浴 2 d, 对杀除河鲀体表和鳃丝的车轮虫效果明显。

3 讨论

盐度是影响水生动物存活、生长的重要环境因子之一, 国内外已研究了盐度对很多水产动物生理方面的影响(Patrick *et al*, 2007; 尹飞等, 2010; Biswaranjan *et al*, 2009)。从盐度对河鲀的存活影响试验可以看出, 河鲀抵御盐度的能力较强, 盐度为 15.0 以下, 河鲀能长时间存活。其中, 盐度为 0-10.0 是河鲀适宜生存的盐度范围; 盐度高于 15.0, 对河鲀的存活显现不利影响。在 15.0 盐度组中, 2 d 时河鲀的存活率为 100%, 7 d 时存活率为 50%; 在 25.0、30.0、35.0、40.0 盐度组中, 7 d 内河鲀全部死亡, 说明盐度对河鲀的影响作用表现为累加效应, 这种影响会随着时间的延长而增加, 并引起死亡。

不同盐度对车轮虫的杀灭作用可以看出, 盐度在 0 和 5.0 时, 车轮虫的数量没有减少, 反而有增加的趋势, 说明盐度 0-5.0 是车轮虫的适宜盐度范围。陈毕生(2003)指出, 盐度 10-30 药浴淡水鱼 15-20 min, 或盐度 30-100 药浴河蟹 15-20 min 可以防治车轮虫病。从试验得到, 盐度高于 7.5 都具有杀灭车轮虫的作用, 并且杀灭效果显著, 杀虫率可达 95% 以上; 同时发现, 盐度对车轮虫的杀灭效果是随着杀灭时间延长而加强的, 试验所得结果和陈毕生(2003)报道的相似, 只是杀灭车轮虫所需要的时间略有不同, 这可能是因为杀灭车轮虫的时间依水温高低、车轮虫种类不

同而定。试验可知,随着盐度的增加,杀虫所需时间越短。通过 SPSS 19.0 软件对杀虫盐度和杀虫所需时间进行分析,即形成回归方程 $y = 34.19 - 5.55 \ln x$, 式中, x 为灭杀车轮虫所需的时间, y 为灭杀车轮虫所用的盐度。根据回归方程,可以通过一个已知变量,求出另一个未知变量,有助于探索适宜的能够杀灭车轮虫的盐度范围及药浴时间,为今后使用提高盐度的办法来防治河鲢车轮虫病提供了理论依据。

另外,在养殖生产中用盐度杀除车轮虫时,应根据养殖条件注意杀虫盐度与杀虫时间的选择。因为盐度长时间高于 15.0 可降低河鲢的存活力。因此,使用盐度为 40.0 杀虫时,建议时间不超过 0.5 h,盐度为 35.0 时浸浴不超过 1 h,盐度 30.0 时浸浴不超过 3 h,盐度 25.0 时浸浴不超过 6 h,盐度 20.0 时浸浴 12 h,盐度 15.0 时浸浴 2 d。盐度为 7.5–12.5,可以长时间浸浴杀车轮虫,且对河鲢的存活率没有影响。

由盐度对河鲢的存活影响试验可知,盐度 15.0 浸浴 2 d 内时河鲢的存活率可达 100%,证明盐度 15.0 浸浴 2 d 对河鲢是安全的;从生产性治疗试验得知,盐度 15.0 能有效杀除河鲢体表和鳃丝的车轮虫,可有效治疗河鲢的车轮虫病;结合车轮虫在河鲢体表的复活试验可知,用提高盐度的方法杀灭河鲢体表车轮虫后,在盐度恢复到正常养殖盐度情况下,河鲢体表车轮虫不再复活生长,说明 7.5 以上盐度能治疗河鲢车轮虫病。综上所述,建议以盐度 7.5–15 作为治疗河鲢体表车轮虫的适宜盐度。

4 结 语

本研究通过在水体中加入粗盐的方式进行车轮虫的治疗,属于化学治疗方法,但又不同于常用的消毒剂,无毒无害、成本低、效果好,便于推广使用。另外,车轮虫种类繁多,约有 280 余种,它们对盐度和药物的敏感程度不同。本次发病案例中,对暗纹东方鲢皮肤上的车轮虫还没有进行鉴定分类。今后,尚需从形态学、分子生物学等方面入手,对寄生暗纹东方鲢的所有车轮虫进行调查研究,进行种属鉴定与分类,为全面了解暗纹东方鲢车轮虫病及其疾病防治提供技术支撑。

参 考 文 献

王锐,黄爱华. 团头鲂车轮虫病防治方法及误区. 科学养鱼, 2012(10): 58

- 尹飞,彭士明,孙鹏,等. 低盐胁迫对银鲳幼鱼肠道消化酶活力的影响. 海洋渔业, 2010, 32(2): 160-165
- 成庆泰,王存信,田明诚,等. 中国东方鲈属鱼类分类研究. 动物学报, 1975, 21(4): 359-378
- 华元渝,陈亚芬,胡亚丽,等. 暗纹东方鲈生殖期两性判别的. 水产学报, 1996, 20(3): 209-214
- 严美姣,李钟杰,熊邦喜. 不同盐度预处理后 I 龄暗纹东方鲈的摄食、生长和饲料利用. 水生生物学报, 2005, 29(2): 142-145
- 李炎璐,王清印,陈超,等. 盐度对云纹石斑鱼(♀)×七带石斑鱼(♂)杂交子一代胚胎发育和仔鱼活力的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(5): 17-22
- 李莉萍,黄娟,林勇. 早春罗非鱼苗暴发车轮虫病、三代虫病的防治. 中国水产, 2011, (1): 62
- 李晓川,林美娇. 河豚鱼及其加工利用. 北京: 中国农业出版社, 1998, 23-29
- 吴剑峰,华元渝,邹宏海. 家化暗纹东方鲈全人工繁殖. 动物学杂志, 2003, 38(1): 59-62
- 陈毕生. 水产动物常见病害防治方法与用药手册. 广州: 广东科技出版社, 2003, 42-43
- 赵清良,赵强,殷宁,等. 养殖三龄暗纹东方性腺发育及其毒性. 南京师大学报, 1999, 22(4): 89-93
- 施永海,张根玉,朱雅珠,等. 菊黄东方鲈河口区海水全人工繁育技术研究. 水产科技情报, 2007, 34(3): 99-102
- 徐奎栋,宋微波. 车轮虫属(原生动物,纤毛门)种类鉴定的方法学. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2000, 30(3): 397-405
- 郭正龙,杨小玉,丁伟,等. 暗纹东方鲈高效健康养殖模式. 渔业现代化, 2011, 38(2): 46-49
- 董晓亮,李成林,赵斌,等. 低盐胁迫对刺参非特异性免疫酶活性及抗菌活力的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 82-87
- 蔡飞,潘连德. 养殖松江鲈鱼车轮虫病的病原种类鉴定. 江苏农业科学, 2011(1): 264-268
- Biswaranjan P, Chainy GBN. Antioxidant defenses and oxidative stress parameters in tissues of mud crab (*Scylla serrata*) with reference to changing salinity. Comp Biochem Physiol, 2009, 151(1): 142-151
- Gilles B, Patreck PH. How should salinity influence fish growth. Comp Biochem Physiol, 2001, 130(4): 411-423
- Imsland AK, Gustavsson A, Gunnarsson S. Effects of reduced salinities on growth, feed conversion efficiency and blood physiology of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 2008, 274(2-4): 254-259
- Patrick S, Sawsan K, Antoine C, et al. Influence of salinity on survival, growth, plasma osmolality and gill Na^+ - K^+ -ATPase activity in the rabbitfish *Siganus rivulatus*. J Exp Mar Biol Ecol, 2007, 348(1-2): 183-190
- Zhang GY, Shi YH, Zhu YZ, et al. Effects of salinity on embryos and larvae of tawny puffer *Takifugu flavidus*. Aquaculture, 2010, 302(1-2): 71-75

(编辑 冯小花)

The Effects of Salinity on the Survival of *Takifugu obscurus* and Annihilation of Its Parasite, *Trichodina* sp.

LIU Jinhai^{1,2}, ZHANG Zheng¹, WANG Yingeng^{1①}, GUO Zhenglong³, WU Ningning⁴

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 3. Jiangsu Zhongyang Group Limited Company, Hai'an 226600; 4. Qingdao Fishery Technology Expansion Station, Qingdao 266001)

Abstract Trichodiniasis is a common fish disease and has recently become a serious issue in fugu fish culture in China. In this study we investigated the effects of salinity on the survival of fugu, *Takifugu obscurus*, and annihilation of the parasites, *Trichodina* sp., on the fish body surface. We set up 13 salinity gradient groups (0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0, 17.5, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0, and 40.0) for the experiment. The results showed that *T. obscurus* could survive safely under salinity 15.0. At low salinity (0, 2.5 or 5.0) *Trichodina* on the body surface was not reduced, and tended to increase in 4 days. However, more than 95% of *Trichodina* could be killed at the salinity 7.5 for 4 days, 10.0 for 3.5 days, or 12.5 for 3 days. The parasites could be completely killed if treated at salinity 15.0 for 32 h, 17.5 for 24 h, 20.0 for 10 h, 25.0 for 4 h, 30.0 for 1.5 h, 35.0 for 1 h, or 40.0 for 0.5 h. A fitting curve equation of salinity and the killing time for *Trichodina* was established using the software SPSS, and the logarithmic curve equation was $y = 34.19 - 5.55 \ln x$. Moreover, according to the resurgence test of *Trichodina* sp. on fish body surface, Trichodiniasis in *T. obscurus* did not reoccur when the salinity returned back to 5.0 during farming if *Trichodina* sp. were entirely killed by the raised salinity. Our results suggested that trichodiniasis in *T. obscurus* could be cured if salinity was maintained higher than 7.5. Salinity between 7.5 and 15.0 could be proper for the treatment of the trichodiniasis in *T. obscurus*. Our study should provide insights and technical supports for clinical treatment of trichodiniasis in fugu farming.

Key words *Takifugu obscurus*; Salinity; *Trichodina*; Kill; Survival

① Corresponding author: WANG Yingeng, E-mail: wangyg@ysfri.ac.cn