

水产动物疾病无公害防治技术应用进展

王维新¹, 张弼² (1. 辽宁医学院畜牧兽医学院, 辽宁锦州 121001; 2. 大连鹤圣丰海产品养殖场, 辽宁大连 116113)

摘要 总结了微生态制剂、免疫增强剂、水产疫苗、中草药、生物渔药、环保型水体消毒方法、健康养殖等水产动物无公害防治技术在水产养殖中的应用, 为水产动物病害的防治提供参考。

关键词 水产动物疾病; 无公害; 防治

中图分类号 S943 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)12-05533-06

Application Progress in Control Techniques of Pollution free in Aquatic Animals Disease

WANG Wei-xin et al (College of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Liaoning Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001)

Abstract The study summarizes the application of micro-ecological agent, immunopotentiator, aquatic vaccine, Chinese herbal medicine, bio-drugs of aquatic, environment-friendly disinfectant, healthy culture technique and other aquatic animal pollution-free control techniques in the aquaculture, it provides some reference for aquatic animal disease control.

Key words Aquatic animal disease; Pollution-free; Control

长期以来我国水产动物病害控制主要依靠各种农药、抗生素、诺酮类、磺胺类、喹啉类等化学药物及各种消毒剂。盲目用药现象较为严重, 不仅使药物的作用效果受到了制约, 延误治病, 造成大量死亡和药物投入的双重损失, 还可诱发细菌基因突变或因转移而产生抗药性, 导致无药可用; 更严重的是药物在养殖动物体内残留和对养殖环境的严重污染。长期滥用药物违背发展无公害食品的宗旨, 危害人体健康, 破坏水体生态环境。因此, 寻找新的环境友好病害防控措施, 使我国的水产养殖业实现可持续发展已迫在眉睫。该文就微生态制剂、免疫增强剂、水产疫苗、中草药、生物渔药等无公害绿色渔药及铜离子发生装置、过氧化氢、臭氧等水体消毒方法在水产动物病害防治中的应用进行了回顾与总结, 以期今后水产病害的防治提供思路。

1 微生态制剂的应用

随着水产养殖业的迅猛发展, 养殖集约化程度的不断提高与养殖水质持续恶化的矛盾日趋尖锐, 已成为制约我国水产养殖业健康可持续发展的桎梏, 已引发了一系列的环境和社会问题。使用微生态制剂是实施水产健康养殖的一项重要技术手段。微生态制剂又称微生态调节剂、益生菌等, 是在微生态理论指导下, 对从养殖动物体内或其生活环境中分离出来的有益微生物, 经特殊工艺而制成的活菌制剂。具有无毒副作用、无污染、无残留和低成本等特点, 可以抑制病原微生物生长, 提高养殖对象的自身免疫力, 维持养殖生态平衡。

1.1 微生态制剂的种类及在水产健康养殖中的应用 微生态制剂按用途可分为两大类: 体内微生态改良剂, 即通过添加到饲料中以改良养殖对象体内微生物群落的组成, 应用较多的有乳酸菌、芽孢杆菌、酵母菌、EM菌等; 水质微生态改良剂, 即通过投放到养殖水环境中以改良底质或水质, 主要有光合细菌、芽孢杆菌、硝化细菌、反硝化细菌、EM菌等。微生态制剂总体的作用可归结为: 分解有机污染物, 净化环境; 补充营养成分, 促进养殖动物健康生长; 抑制病原菌, 提高机体免疫力^[1]。

1.1.1 光合细菌。光合细菌是能进行光合作用但不产氧的

一类细菌。其菌体含有丰富蛋白质、多种维生素以及生物素、类胡萝卜素、辅酶Q等生理活性物质。光合细菌能吸收水体中的氨氮、亚硝基氮、硫化氢和有机酸等有害物质, 抑制病原菌生长^[2]。试验表明, 将光合细菌用于中华绒螯蟹人工育苗中, 浓度为 $1.5 \times 10^9 \sim 2.5 \times 10^9$ 个/ml时, 氨氮和亚硝基氮的去除率可达90%左右, 水体中的化学需氧量也明显下降, 且蟹苗的成活率也比对照池提高了15.7%。

1.1.2 芽孢杆菌。芽孢杆菌为革兰氏染色阳性, 是普遍存在的一类好氧性细菌。芽孢杆菌可以以内孢子的形式存在于水生动物肠道内, 并分泌活性很强的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶, 有效提高饲料利用率, 促进水生动物生长; 也可以通过消灭或减少致病菌影响来改善水质; 还可以分解、吸收水体及底泥中的蛋白质、淀粉、脂肪等有机物改善水质和底质。刘克琳等^[3]用芽孢杆菌做饲料添加剂, 对鲤鱼的生长及免疫功能进行试验, 结果试验组的体重增长比对照组提高11.8%, 饲料系数下降0.24; 试验组鲤鱼的免疫器官胸腺、脾脏生长迅速, T、B淋巴细胞成熟快、数量增多, 产生的抗体增多, 免疫功能增强, 肠粘膜也出现有利于增重、防病、治病的生理变化。

1.1.3 硝化细菌。硝化细菌是亚硝化细菌和硝化细菌的统称, 属于自养性细菌。亚硝化细菌将水体中的氨氮转化为亚硝酸氮, 硝化细菌能将亚硝酸盐氧化为对水生动物无害的硝酸氮。硝化细菌主要与其他细菌一起制成复合微生态制剂使用。试验表明, 用硝化细菌和反硝化细菌处理养殖泥鳅废水24h后, 化学需氧量去除率达80.6%, 亚硝基氮去除率达90.2%, 氨氮去除率达98.5%。

1.1.4 反硝化细菌。反硝化细菌由具有反硝化作用的微生物种群组成, 主要是把硝酸或亚硝酸转变成氮气释放出来, 多用于底泥处理。在养殖池底层溶解氧低于0.5 mg/L、pH值为8~9条件下, 反硝化细菌能利用有机物中的底泥作为碳源, 将底泥中硝化盐转为无害的氮气排入大气中。反硝化过程能大量消耗底层发酵产物和沉积于底层的有机物, 迅速减少底层污泥中有机物和硝酸盐的含量, 有效预防因气候突变引起水质剧变对鱼虾产生影响。

1.1.5 乳酸菌。乳酸菌是一种能使糖类发酵产生乳酸的细菌, 能抑制有害微生物活动、致病菌增殖、有机物腐败。乳酸

作者简介 王维新(1973-), 男, 河北东光人, 讲师, 从事水产动物病害防治的教学与研究。

收稿日期 2009-02-11

菌可以分解在常温下不易分解的木质素和纤维素,使有机物发酵转化成对动植物有效的养分。

1.1.6 酵母菌。酵母菌是一群属于真菌的单细胞生物,含有较多的氨基酸、维生素等营养成分。在有氧条件下,酵母菌将溶于水的糖类转化为二氧化碳和水。在缺氧的条件下,酵母菌利用糖类作为碳源进行发酵和繁殖酵母菌体。所以酵母菌能有效分解溶于池水中的糖类,迅速降低水中生物耗氧量^[4]。

1.1.7 革兰氏阳性放线菌群。革兰氏阳性放线菌属好气性菌群。它能从光合细菌中获得基质,产生各种抗生素及酶,直接抑制病菌,促进有益微生物增殖;和光合细菌混合使用效果更好。放线菌还能分解常态下不易分解的木质素、纤维素、甲壳素物质,有利于动植物吸收。

1.1.8 硫化细菌。硫化细菌是一种能将无机硫化物氧化为硫酸的自养型细菌,并从氧化无机硫中获得能量。硫化细菌广泛分布于池塘底泥和水中,其氧化作用提供了水生植物可利用的硫酸态硫元素,降低池内硫、硫化氢的浓度。

1.1.9 EM 菌。EM 即有效微生物群,是由光合细菌、乳酸菌、酵母菌等多种有益菌复合培养而成的微生物群落,它们能通过共生增殖关系组成复杂而又相对稳定的微生态系统。EM 中的有益微生物经固氮、光合等一系列分解、合成作用,可使水中的有机物质形成各种营养元素,供自身及饵料生物的生长繁殖,同时增加水中的溶解氧,降低氨、硫化氢等有毒物质的含量,维持养殖水环境的平衡。另外,EM 菌在肠道内形成优势菌群还能抑制大肠杆菌的活动,并促进机体对饵料的消化吸收,使排泄物中的氨氮含量减少,起到净化水质、促进生长的作用^[5]。

1.2 使用微生态制剂的注意事项

1.2.1 要降低外界因子的不良影响。水质微生态改良剂的作用易受环境因子的影响,如水温、pH 值、溶氧、光照、有机物含量等,不同菌株受环境因子的影响也有所不同。如阴雨天气使用光合细菌效果不明显;亚硝酸盐和 pH 值偏高的水体使用芽孢杆菌制剂的效果不明显;水体中加入抗生素等物质会降低微生态制剂的作用效果。体内微生态改良剂在产品加工和贮运过程中易受干燥、高温、高压、氧化等因素的影响。因此,使用微生态制剂时应从实际出发选择相应的产品,并通过改进措施,尽量减少外界因子的不良影响。

1.2.2 要尽早、长期使用。微生态制剂在养殖对象的整个生长过程都可以使用,但在幼体期养殖对象体内外微生态平衡尚未完全建立、抵抗疾病的能力较弱时使用,易形成优势菌群,效果最佳。另外,由于有益菌的数量均有一个递增至高峰再递减的生长周期,且微生态制剂的预防作用优于治疗效果,因此要定期补投入微生态制剂,才能长期稳定其种群优势,维持微生态平衡。

1.2.3 要注重微生态制剂的质量。使用微生态制剂时一定要注重有益菌的数量和活力。微生态制剂的作用是通过益生菌的生理活动来体现的。数量不够或活力不强,不能形成优势菌群,难以起到作用。同时,试验证明微生态制剂随着保存期的延长,活菌数量会逐渐减少,即其作用效果也会明显减弱,故保存期不宜过长^[6]。

2 免疫增强剂的应用

免疫增强剂(Immunostimulants) 又称免疫促进剂,是指具有促进或诱发宿主防御反应,增强生物机体抗病能力的一类物质。免疫增强剂主要作用于水产动物的非特异性免疫系统,通过激活机体自身的免疫机能从而达到防御目的,增强其抗病力。免疫增强剂在水产养殖中的应用起步较晚,但发展迅速,开发的种类逐渐增多,应用范围也随之扩大。在养殖生产中应用免疫增强剂提高机体的免疫水平、增强先天性的抵抗力无疑具有重大意义^[7]。

2.1 免疫增强剂的作用机制 鱼类的免疫系统为较低等的特异性免疫系统,分细胞免疫和体液免疫。鱼类的细胞免疫中有吞噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤细胞(NKB) 以及 T、B 淋巴细胞等;体液免疫中有溶菌酶、溶血素、免疫球蛋白及各种补体等。目前认为,甲壳类只有非特异性免疫系统。免疫增强剂作用于这 2 种免疫系统的机理是多方面的,其机理大致体现为:在甲壳动物中,免疫增强剂可活化血淋巴中的吞噬细胞,提高其吞噬病原的能力,刺激血淋巴中抗菌、溶菌活力的产生,激活酚氧化酶原系统,产生识别信号及介导吞噬等;在鱼类中,免疫增强剂可激活嗜中性粒细胞和白细胞的吞噬作用,刺激淋巴细胞的产生或分泌淋巴因子,协助非特异性免疫和体液免疫,诱发抗体的产生及补体的生成等。

2.2 水产上常用的免疫增强剂

2.2.1 左旋咪唑。人工合成药物,是一种有效的人、畜驱虫药。在水产动物体内主要通过提高吞噬细胞和嗜中性粒细胞的活性、提高白细胞的代谢能力以及血清中溶菌酶活力等来增强机体的免疫力。

2.2.2 胞壁酰二肽。即 MDP (Muranl dipeptide),系从分支杆菌属提取获得的低分子肽。这种二肽作为免疫增强剂可以激活巨噬细胞和 B 淋巴细胞及补体,通过给虹鳟注射 MDP,能有效增强巨嗜细胞的活性,有效抵制杀鲑气单胞菌病原的侵扰。

2.2.3 葡聚糖。其中尤以酵母葡聚糖、-1,3 葡聚糖的研究居多。大西洋鲑腹腔注射酵母葡聚糖,能明显增强其对杀鲑弧菌的抵抗力。肌肉注射酵母葡聚糖能增强沟鲈(Ictaurus punctatus) 对疱疹病毒的抵抗力。口服酵母葡聚糖,能有效降低链弧菌病对大西洋鲑的感染率。在甲壳类的应用中,酵母葡聚糖浸泡斑节对虾(0.5 ~1.0 mg/ml),能增加颗粒细胞的吞噬率和吞噬指数,并使得体内的酚氧化酶水平有较大幅度的提高,对抵抗白斑综合征病毒(WSSV) 的感染作用明显。在斑节对虾饲料中添加不同浓度的 -1,3 葡聚糖,能不同程度地提高其增重率、存活率及抗 WSSV 的能力,并降低了饵料系数。

2.2.4 肽聚糖。肽聚糖是细菌细胞壁的主要成分,革兰氏阳性细菌胞壁所含的肽聚糖占干重的 50% ~80%,革兰氏阴性细菌胞壁所含的肽聚糖占干重的 1% ~10%。肽聚糖能激活黄尾鲈白细胞的吞噬活力而起到抵抗嗜产气肠球菌病的作用。肽聚糖在斑节对虾黄头杆状病毒病中的作用,也取得了较为满意的结果。日本对虾口服肽聚糖,试验组比对照组有更高的酶活性和吞噬活力。肽聚糖对中国对虾血淋巴中的溶菌酶、过氧化酶、超氧化物歧化酶均有不同程度的诱导

作用,并在体外证明对酚氧化酶原系统有一定的激活作用。此外,凡纳对虾通过摄食添加肽聚糖的饵料可明显提高血淋巴中的酚氧化酶、酸碱磷酸酶,同时可明显提高凝集素凝集效价。关于肽聚糖在蟹类的应用,已证实了肽聚糖能增强河蟹吞噬细胞的活性和抗菌活力,使抗病能力得以有效提高。

2.2.5 甘露寡聚糖。真菌甘露寡聚糖是通过发酵法从富含甘露寡聚糖的酵母细胞壁中提取的葡甘露寡聚糖蛋白复合体。首先,它能促进动物肠道有益菌群的增殖;第二,它能阻碍细菌在肠道的附着;第三,它能刺激免疫反应。

2.2.6 几丁质。几丁质是从甲壳动物和昆虫外骨骼及一些真菌类细胞壁中提取的一种活性多糖类物质。注射几丁质的虹鳟吞噬细胞活性大大提高,并明显增强对鳃吸虫病的抵抗力。几丁质注射黄尾蚴的结果表明,几丁质能有效提高黄尾蚴对杀鱼巴斯德菌的抵抗力^[8]。

2.2.7 脂多糖。即LPS(Lipopolysaccharide),是一种革兰氏阴性菌的细胞壁产物,它能有效促进B淋巴细胞的再生。LPS能活化吞噬细胞,提高大西洋鲑巨嗜细胞内活性氧的水平,降低疾病的感染,将LPS应用于鲫鱼,也获得了类似的结果。斑节对虾口服LPS能明显提高血淋巴的抗菌活力、酚氧化酶活力和凝集效价。中国对虾经体腔注射LPS 48 h后,血淋巴细胞的吞噬率提高11.4%,吞噬指数提高39.7%;血清中抗菌活力和溶菌活力也比对照组有明显提高,且到96 h仍有较高水平。另外,其血清凝集红细胞的活性也有所增加,证明LPS对中国对虾的非特异性免疫系统有较明显的增强作用。

2.2.8 维生素类。大量试验证明,部分维生素对鱼类具有抗病及促生长作用。Vc是动物生长和维持正常生理机能所必需的营养物质,很多水产动物自身不能合成。Vc对鱼类的体液免疫和非特异性免疫均具有一定的影响。在饲料中适量添加Vc能刺激斑点叉尾鲴体内补体的生成,有效增强斑点叉尾鲴对爱德华氏菌病原的抵抗力。鲑和大菱鲆服用Vc能不同程度地激发吞噬细胞活力和淋巴细胞的活性。在饲料中适量添加Vc能有效增加中国对虾的生长,并明显提高其自身的免疫保护率。V_E是动物重要的营养物质,其功能为抗氧化,保护脂溶性细胞膜和不饱和脂肪酸不被氧化,也是一种能增强细胞免疫和体液免疫的物质。分别用虹鳟和大西洋鲑作服用和不服用V_E的对比试验,结果表明,服用V_E的个体,其体内吞噬细胞活性明显高于对照组。沟鲶口服高剂量的V_E时,能增强介导吞噬作用并促进白细胞中过氧化物阴离子的产生。在B族维生素中,VB₁₂对中国对虾的抗病能力有积极作用。V_A对维持鱼类免疫系统的正常功能是必需的。最近研究证明,大西洋鲑鱼和虹鳟摄入V_A能影响体液和细胞免疫功能。用缺乏V_A的饲料饲喂虹鳟和大西洋鲑,鱼血清抗蛋白酶活力、肾脏白细胞游走活力和巨噬细胞吞噬能力降低。饲料中高水平的V_A能提高鱼体淋巴细胞吞噬能力和血清溶菌酶及补体活力,从而对鱼类免疫功能产生影响^[9]。

2.2.9 乳铁蛋白。乳铁蛋白(Lactoferrin)是一种由单肽链组成的物质,分子量约为87 000,广泛存在于哺乳动物的体液中。乳铁蛋白是一种抗氧化剂,有助于调节铁吸收和吞噬细

胞生长。乳铁蛋白常被视为能增强吞噬作用和抗菌活力的重要因子之一。将乳铁蛋白作为免疫增强剂应用于虹鳟上,能刺激吞噬细胞活力和白细胞中超氧化物阴离子的产生,而且还显示出对溶藻弧菌病原较高的耐受性和抵抗力。口服乳铁蛋白还能增加虹鳟血液中粒细胞和淋巴细胞的数量,并能促进机体黏液的分泌,增强对Gyptocaryoninitans病原的抵抗力。

2.2.10 中草药。一些中草药具有直接杀灭病原的功能,有的是通过提高机体的免疫功能间接促进疾病痊愈。很多中草药具有免疫调节作用,主要是因为含有多种有增强免疫作用的成分,如生物碱、多糖、皂苷、萜类、挥发油、有机酸等,这些物质主要通过激活网状内皮系统和补体,激活巨噬细胞和T、B淋巴细胞,诱生多种细胞因子等途径实现的。根据中草药对动物的免疫增强作用机制,按免疫调节的功能可分为以下几类: 作用于免疫器官的中草药,如冬虫夏草、黄芪类多糖等; 提高淋巴母细胞分化能力的中草药,包括黄连、黄芪、黄芩、蒲公英、金银花、五味子、红花等; 促进抗体生成的中草药,包括香菇、甘草、枸杞、生姜、金银花、黄柏、青蒿、肉桂、大蒜、鱼腥草等; 诱生干扰素和促进产生免疫球蛋白的中草药。

3 疫苗的开发应用

目前,疫苗产品还仅限于鱼类。鱼类虽然是低等的脊椎动物,但仍有较为完善的免疫系统,当机体受到病原生物刺激后,能够产生特异免疫应答,抵御病原入侵。因而可以通过研制、接种疫苗,刺激鱼类免疫系统,获得免疫保护,预防疾病的发生。

3.1 水产疫苗的研究概况 1942年,Diff首次应用灭活的杀鲑产气单胞菌口服免疫硬头鳟获得成功,开创了疫苗在鱼类应用上的新纪元。在20世纪70年代中期,欧美国家积极开展了对渔用疫苗的研制。我国1973年对草鱼出血病组织浆灭活疫苗研究取得成功,从而拉开了我国水产疫苗研制的序幕。据不完全统计,目前获得许可证的水产疫苗有30多种,主要在欧美国家,我国仅有2种。因此,我国水产疫苗的研究与应用还相对滞后。

3.2 水产疫苗的种类

3.2.1 全细胞疫苗。指抗原为完整的细胞体,如菌体、病毒粒子、寄生虫等。

3.2.1.1 弱毒苗。通过人工方法诱导或从自然环境中直接获得的毒力高度减弱或无毒的病原微生物制成的疫苗。该种疫苗用量小,免疫效果好,维持时间长;缺点是不易保存,有效期短,使用安全性差^[10]。

3.2.1.2 灭活苗。用物理化学方法将病原微生物杀死后制成的疫苗。水产上使用的疫苗大多数都是灭活苗,如弧菌疫苗、气单胞菌疫苗、疥疮病疫苗等。灭活苗的优点是使用安全性好,易保存,在4℃下有效期可达1年;缺点是接种量大,接种次数多,免疫效果较弱毒苗差。

3.2.2 无细胞疫苗。或称亚单位疫苗或组分疫苗,指抗原是由致病微生物提取、人工合成或生物工程方法制得的免疫有效成分,如细菌的细胞壁、荚膜成分或病毒的囊膜蛋白等。其免疫效果较高,且无不良反应,但制备较困难,价格贵。

3.2.2.1 基因工程疫苗。利用分子生物学技术克隆出病原的具有免疫保护性基因,将其与表达载体连接,再转入受体菌,对受体菌培养,使保护性基因进行复制和表达,从培养物中提取保护性蛋白,纯化制备得到基因工程疫苗。这种类型的疫苗具有亚单位苗的安全性,又具有活疫苗的效力,可分为多肽或亚单位疫苗、颗粒载体疫苗、病毒活载体疫苗、细菌活载体疫苗、基因重配疫苗、基因缺失疫苗等^[11]。

3.2.2.2 合成肽疫苗。仿特异性抗原的某些肽链或蛋白人工合成的抗原,现今还没有实用于人群或动物的疫苗。

3.2.2.3 抗独特型抗体疫苗。抗独特型抗体(AId)是针对抗体分子V区上的特异抗原表位群(称为独特型)的抗体。AId与原来抗原的决定簇分子互为“内影像”关系,可模拟抗原结构和功能的作用,而可以作为一种新型疫苗。简单地讲,就是以抗体作为疫苗免疫动物后获得的抗体再做为疫苗使用。

3.2.2.4 DNA疫苗。又称核酸疫苗或基因疫苗,它是将外源抗原基因插入细菌质粒,构建成重组质粒,直接接种于动物机体,导入宿主的靶细胞中,DNA则表达特异的蛋白抗原,激活机体免疫系统,从而引发特异性体液免疫和细胞免疫应答,使动物获得保护力的一种新型疫苗。目前,水产用DNA疫苗的应用研究主要集中在对鲑、鳟的传染性造血器官坏死病毒(IHNV)、病毒性出血败血症病毒(VHSV)、鲤春病毒(SHRV)等传染性病毒病的防治上。与常规疫苗相比,DNA疫苗可使机体产生有效的免疫应答,且免疫期长、免疫剂量低。但DNA疫苗的接种多采用肌肉注射,这种方法耗时费力,且不适用鱼苗和经济价值较低的鱼类,在实际生产中有一定的局限性,还有待于技术的进一步完善^[12]。疫苗根据来源、成分、使用方法、给予途径等不同有多种形式,如不用提纯,直接用病灶处理后的组织浆疫苗;用于口服的微胶囊疫苗;包含几个不同抗原成分的多联疫苗;包括同一抗原的不同群、型的多价疫苗等。

3.3 水产疫苗在我国水产养殖中的应用前景

3.3.1 疫苗是预防水产动物疫病发生的有效手段。由于水产养殖业自身的特点,尤其是大水面养殖中,大多数病害的控制更强调防重于治的理念。水产用疫苗在世界水产养殖的发展中已显示出良好的前景,使用疫苗是非常有效的疫病防治手段。例如,水产用疫苗的使用,使挪威鲑鱼产量由20世纪80年代后期的4万t上升到目前的约30万t,而相应抗生素的使用量却由50kg骤降至1kg^[13]。

3.3.2 水产疫苗符合我国发展健康养殖和生产绿色水产品的要求,可消除药物残留隐患。由于药物残留量超标使我国水产品出口受阻的教训极为惨重,而疫苗不存在药物残留问题,防患于未然,减少了病害的发生及治疗的开支。为了保持我国水产养殖业的持续健康发展,生产出安全卫生的绿色水产品,急需水产疫苗的开发应用。

4 中草药在水产养殖病害防治中的应用

长久以来,水产动物疾病的防治药物都是以抗生素、化学药品、农药等为主,这些药物对防治鱼病害虽有一定的疗效,但也带来病原体的抗药性和水产品的药残、药害等问题。而中草药作为绿色药物,具有天然、高效、毒副作用小、抗药性不显著、资源丰富以及性能多样化等优点,在防治鱼病中,

除了兼有药性和营养性外,还具有提高水产动物生产性能和饲料利用率的功效。因此,应用中草药防治鱼病越来越受到人们的关注。早在1000多年前,我们的祖先就应用中草药防治鱼病。北宋大文学家苏轼在《物类相感志》中就有“鱼瘦而生白点者名虱,用枫树皮投水中则愈”的论述;倪达书教授等论证《水生生物学集刊》1960年第2期认为,这是我国最早发现小瓜虫,并采用中草药治疗的记载;明代科学家徐光启在《农政全书》中也有“池瘦伤鱼、令生虱。以松毛遍池中浮之则除。”的记载。长期以来,我国渔民在应用中草药防治鱼病方面积累了丰富的实践经验,总结筛选出许多在生产应用中行之有效的单方、验方,如大蒜治肠炎、五倍子治白尾病、乌桕叶治草鱼烂鲤及生姜、辣椒合剂治小瓜虫病等。近年来,很多地方在对虾养殖中也开始使用以大黄、黄芩、黄柏、板蓝根等中草药合剂来防治一些危害较大的病毒病,并取得较好效果^[14]。实践证明,中草药防治鱼病,疗效好、药残量低,是一种理想的天然、环保型渔药。因此,在提倡健康养殖、打击餐桌污染以及加入WTO后如何应对国际食品安全技术壁垒等新形势下,积极开发、研制、推广中草药防治水产动物疾病,有着十分重要的现实意义和战略意义。

4.1 中草药的化学成分 中草药种类繁多结构复杂且成分多样。研究表明,中草药不但含有大量的生物碱、挥发油、苷类、有机酸、鞣质、多糖、多种免疫活性物质和一些未知的促生长活性物质,而且还含有一定量的蛋白质、氨基酸、糖类、矿物质、维生素、油脂、植物色素等营养物质。这些成分可以促进动物机体的新陈代谢和蛋白质、酶的合成,从而加速水产动物的生长发育,提高免疫力,增强体质,降低发病率和死亡率。

4.2 中草药防治鱼病的作用机理

4.2.1 营养作用。中草药一般含有蛋白质、糖类、脂肪、淀粉、维生素、矿物质、微量元素等营养成分。虽然有的含量较低甚至只是微量,但可起到一定的营养作用。营养作用虽不能直接治疗疾病,但有助于增强体质,对抵抗病害有间接作用。

4.2.2 增强免疫作用。许多中草药如枸杞、甘草等含有各种多糖,具有促进胸腺反应、增强肝脏网状内皮系统的吞噬功能,能提高动物机体特异性抗原免疫反应;苦豆草含有生物碱,能增强体液与细胞免疫功能,刺激巨噬细胞的吞噬功能;黄芪、五加皮、党参、商陆、当归、大蒜素、人参等富含多糖类、有机酸类、生物碱类、甙类、挥发油类等,这些成分均有增强免疫作用,而且无西药类免疫预防剂对动物机体组织有交叉反应等副作用的弊病。

4.2.3 激素样作用。香附、甘草、蛇床子、人参、虫草、附子、细辛、五味子、酸枣仁等中草药虽然本身不是激素,但可达到与激素相似的作用,并能减轻或防止、消除非激素的毒副作用。

4.2.4 维生素样作用。维生素除营养外,对疾病的痊愈有重要作用。许多中草药如陈皮、荞麦等本身含有维生素成分。有些本身不含维生素成分,但也能起到某种维生素样的功能作用,如川芎、当归有维生素E样的作用,小茴香有维生素A样的作用。

4.2.5 抗应激作用。有些中草药能增强动物机体对外界各种(包括物理的、化学的、生物的)有害刺激的防御能力,使紊乱的机能得以恢复。如柴胡、黄芩等具有抗热应激原的作用,刺五加、人参、黄芪等能使机体在恶劣环境中调节自身的生理功能,增强适应能力^[15]。

4.2.6 抗微生物作用。由于中草药本身具有清除和抑制自由基的生成以及提高自由基酶类活性的作用,同时还具有非特异抗病原微生物的作用,所以能直接杀菌、抑菌、抗病毒、抗原虫。试验表明,在常用的600多种中草药中有200多种有杀菌、抑菌作用,有130多种能抗菌,有50多种对病毒有灭活或抑制作用,有10多种能抗真菌,有20多种对原虫有杀灭、驱除作用。如板蓝根、茵陈、金银花、大青叶、蒲公英、黄连等具有提高动物细胞渗出干扰素,提高免疫球蛋白含量以及增强白细胞及肝脏网状内皮系统吞噬作用的功效,从而能有效地抑制病毒的复制;大黄中的大黄酸、大黄素等有很好的抗菌及收敛、增加血小板、促进血液凝固的作用;大蒜中的大蒜辣素具有抗菌止痢作用;黄芩、连翘、龙胆草等对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、溶血性链球菌等革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有杀灭和抑制作用;柳枝木质部含水杨甙、木槿皮含槿皮酸、鞣质均能抗真菌,苦参含苦参碱、白鲜皮含白鲜碱、菖蒲根茎含鞣质、菖蒲甙均能抑制真菌。苦楝树的皮、枝、叶、果含有与山道年作用相似的中性树脂,能使原虫麻醉而驱之;槟榔子含有槟榔碱,能使绦虫引起弛缓性麻痹;南瓜子仁含有脲酶,对绦虫、血吸虫、蛔虫、蛲虫有致瘫作用^[16]。

4.2.7 双向调节作用。有些中草药如生地、麦冬、玄参等,当动物的某一脏腑处于亢奋或抑制时,能对其进行调节,使其恢复正常平衡状态。

另外,很多中草药本身也是香料,具有诱食作用,提高饲料的利用率;还有的中草药被摄食后可改善动物的色泽、风味、品质,提高商品价值。

4.3 存在的问题及对策

4.3.1 存在的问题。

4.3.1.1 水产用中草药基础研究落后。目前,水产养殖用中草药不论是单方或复方制剂,其作用大多借鉴中医药历史资料记载、临床用药经验的累积来确定。但传统中草药理论缺乏对中草药的有效成分、抗菌抗病毒作用机理等方面的研究。到目前为止,研究还未深入到水产养殖用中草药真正作用的机理、动物体内的代谢转化方面,要从药理方面逐一进行试验研究^[17]。

4.3.1.2 剂型单一,影响药效。目前在水产病害防治过程中应用的中草药,主要是以普通粉剂形式存在。中草药大部分品种成分组成基本以粗纤维和几丁质为主,而水产动物特殊的消化结构又决定了其对几丁质与粗纤维的消化吸收效果很差。所以普通散剂由于水产动物消化吸收障碍而显效差、显效慢^[18]。

4.3.1.3 原料质量不稳定。因产地品质存在着很大的差异中草药原料无统一的质量标准,人们在中草药药品生产中只能凭经验从外观来判定其产品质量,给药品生产带来了很大的随机性和不确定性。加上中草药的品质与产地又有着很大的相关性,即同一种原料因产地不同而产生很大的品质

差异。再加上目前中草药大都是像经济作物一样种植,也要施肥、打农药,面临各种污染,其品质已不同于昔日野生种类。故同一个处方因原料采购标准和原料产地的差异会在临床应用中显示出药效的巨大差异性。

4.3.1.4 处方针对性不强,疗效不确切。中草药在水产生物病害防治中的处方大多是源于中草药在人类疾病或畜禽疾病防治中的临床组方,没能真正实现从中草药与水产动物特有的相互作用机理出发,有针对性地组成对水产动物疾病治疗确切的组方,而目前的组方至多是一味或几味中药的罗列和叠加,这就很难在临床应用中显示出确切的疗效和明显的效果。

4.3.2 解决的方法与对策。

4.3.2.1 加强中草药的基础理论研究。目前,有关水产养殖用中草药的研究主要集中在临床应用和部分有效成分的研究上,许多中草药及其复方中草药制剂的有效成分及其含量、结构、提取、药代动力学、有效成分间的相互关系、毒理学等药理学方面均缺乏对水生动物的促生长、疾病防治、诱食、改善水产品品质等的作用,通过深入研究其特性、作用机理,以期筛选出效果良好的水产用中草药。

4.3.2.2 结合水生动物消化吸收的原理,在剂型上给予改变。如超微粉碎或二氧化碳超临界萃取,就大大地提高了其消化利用率,从而提高了疗效。

4.3.2.3 结合定量研究,尽量从小分子水平进行组方。如一些口服液已进行到多糖或寡糖水平的组方,这样就可以更加明确疗效。

4.3.2.4 统一质量标准,严格把握好原料的质量关、产地关,同时避免原料的污染。

4.3.2.5 中、西药结合。弥补中药某些药理显效慢的不足,使组方药效更快、更好^[19]。

5 生物渔药

生物渔药的提法应是借鉴于生物农药的概念。广义的生物渔药指直接利用生物产生的活性物质或生物活体作为渔药,包括发酵产生的抗生素类、活体微生物、植物源或矿物质的中草药、生物工程生产的药物、生物制品和天敌生物等。狭义的生物渔药是指通过某些生物的生理特点或生态习性,去吞噬病原体或抑制病原体栖息的一种活的生物制剂,包括以菌治菌、以菌治虫等。人们已在这方面开始了一些探索,并取得了一些可人的成绩,包括该文中提到的微生态制剂。另外还做过对噬锚头蚤生物的研究,噬菌蛭弧菌的探讨等。生物渔药的研制与应用会推动无公害渔药更好发展。

5.1 蛭弧菌的主要生物学特点 蛭弧菌由 Sdp 等于1962年在德国土壤中发现,并从污水中分离出,由于其能裂解多种细菌以及特殊的生活方式而使之具有生态优势。蛭弧菌生活方式多样,有寄生型,也有兼性寄生,极少数营腐生。寄生型必须在生活宿主细胞或在有其提取物中得到营养或生长因子时才能生长繁殖,并表现出严格的特异性;非寄生型营腐生生活,或者至少是兼性腐生,可在蛋白胨和酵母提取物培养基上生长繁殖,它们中绝大多数都丧失了寄生性,只有十几分之一可恢复寄生性。试验表明,从自然界分离得到的蛭弧菌都是依赖寄生型,迄今为止,还没有直接从自然界

分离得到非寄生型^[20]。蛭弧菌具有一般细菌的特性,革兰氏染色阴性,短杆状,具有极长的单鞭毛,其个体很小,大小为(0.3~0.6) μm ×(0.8~1.2) μm ,或仅为杆菌长度的1/4~1/3。能通过细菌滤器,初步认为蛭弧菌对细菌形成噬斑的适宜pH值为7~8,在液体中生长繁殖的温度范围是20~30℃,在50℃时30 min即失活^[21]。

5.2 蛭弧菌的作用机制 就目前而言,蛭弧菌与其他微生物生态制剂的作用机制不太一样。蛭弧菌首先与宿主细胞激烈碰撞,没有鞭毛的一端吸附到宿主细胞表面,菌体高速转动并释放各种酶,使宿主细胞壁形成小孔,蛭弧菌由此进入宿主体内,接着蛭弧菌失去鞭毛,迅速复制DNA,然后菌体延伸进行均等二分裂形成子代并从宿主细胞体内释放出来,最终导致宿主细胞解体,整个增殖裂解过程在几小时内完成^[22]。

5.3 蛭弧菌在水产养殖中的应用现状 蛭弧菌具有很大的应用价值,是生物防治有害细菌的一种有力武器。最先,较多用于净化水体和清除农业、医学领域等方面的有害细菌。比如,蛭弧菌作为饲料添加剂在畜禽养殖中使用的报道较多,结果显示,蛭弧菌对沙门氏菌、志贺氏菌、埃希氏菌、霍乱弧菌、钩端螺旋体等均有很强裂解能力,特别是对前两者的裂解能力极强,另外在植物保护中反映效果也很好。近几年蛭弧菌微生物制剂也开始在水产养殖上应用。蛭弧菌对鱼类常见病菌中的嗜水气单胞菌可以全部裂解,对肠型点状气单胞菌、荧光假单胞菌、鳃弧菌可以部分裂解。能够改善水质的一些理化指标,如氨氮、COD、硫化物都有不同程度下降,另外蛭弧菌也可裂解海水养殖业中对虾的多种病原菌。

5.4 应用蛭弧菌要注意的问题

(1) 不同来源的蛭弧菌株在不同生态条件下对宿主菌形成噬斑即裂解能力不一致,因此,筛选裂解能力强并对生态条件要求不严的蛭弧菌株很重要。

(2) 在自然水体中蛭弧菌含量很低,且繁殖速度缓慢,仅靠水体自身的蛭弧菌很难有效控制病菌,因此开展蛭弧菌的高效低成本增殖方法研究甚为迫切。

(3) 蛭弧菌对水产动物常见致病菌有较强的清除作用,因而对预防鱼病有一定作用,但若想将其大规模用于水产养殖业,还必须考虑其对水环境、水生生物及鱼类自身有益菌的影响,防止形成新的生态失衡。研究表明,它对一些有益的细菌如固氮菌等亦有裂解作用。

(4) 长期使用蛭弧菌的安全性也应慎重考虑。鉴于自然界中许多细菌都有天然的转化能力,蛭弧菌有可能通过裂解病菌摄取病原菌的致病基因,从而转化成有害菌,产生新的水产病害^[23]。

6 环保型水体消毒方法的应用

6.1 铜离子发生器 近年来,在欧美及日本等地利用铜离子发生装置来控制一些细菌和寄生虫病害。大量研究认为,铜具有杀菌功能是因为带正电的铜离子和带负电的细菌容易结合,并能很容易穿透细菌的细胞壁与细胞内的基因DNA和RNA相结合,破坏细菌的蛋白酶和呼吸酶,造成细菌的死亡和溶解。目前铜银离子技术在美英等发达国家应用普遍,铜、银离子消毒已成为一种成熟技术,特别是应用在比较严格的饮水方面。在日本,铜离子发生装置已应用于海水盾纤

毛虫和刺激隐核虫的防治并取得较好效果^[24]。

6.2 臭氧杀菌装置 臭氧是广谱、高效、快速杀菌剂,可迅速杀灭使人和动物致病各种微生物,臭氧具有强氧化性,可在较短时间内破坏细菌、病毒和其他微生物的生物结构,使之失去生存能力。臭氧溶于水中后有更强、更快的杀菌消毒作用,且没有二次污染,不残存任何有害物质,这是其他杀菌剂无法比拟的优点。从环境安全性和有效性来考虑,臭氧是很好的选择。

臭氧在水产养殖中主要用于水质杀菌消毒,补充水中含氧量,经臭氧处理能明显提高水产养殖品种的成活率和产量,大大减少病害,促进生长发育。臭氧处理水在水产养殖中将发挥越来越重要的作用,利用臭氧消毒技术与泡沫分离技术相结合,在同一个反应塔内充分发挥两者作用,既降低成本又节省空间,还可以有效防止残饵污染水质的问题。尤其在水产育苗和高档水产品的养殖过程中,该项技术将大有发展前景,随着技术的发展,水处理设备将越来越便宜、实用,更多的养殖公司(养殖户)将会使用,养殖过程中将更少使用抗生素等药物,更符合我国无公害水产品的要求,也符合水产养殖可持续发展的要求。

6.3 过氧化氢 过氧化氢(Hydrogen peroxide)又名双氧水,化学式为 H_2O_2 ,属强氧化剂。它能形成氧化能力很强的自由羟基及活性衍生物。在分解过程中释放出异常活泼的新生态氧,能使微生物的细胞膜和原生质破灭而达到灭活的目的。因而,人们借助该特性将其广泛用于医药、农牧渔业等环境中灭菌消毒,是当今国内外公认的一种优良增氧剂和消毒剂。此外,在水产养殖中应用表明, H_2O_2 在防治病害方面具有药效快、药性温和的特点。尤其对那些将死的病危鱼虾起到增氧缓解作用(用刺激性大的氯、溴等消毒剂可加速死亡);加之该剂无残留、无“三致”、成本低、使用方便等,值得提倡应用^[25]。

7 健康养殖

水产动物的健康养殖是指根据养殖对象正常活动、生长、繁殖所需的生理、生态要求,选择科学的养殖模式,将健壮的苗种通过系统的规范化管理技术,使其在人为控制的生态环境中健康快速生长。健康养殖是一种养殖的理念,是一个系统工程,涉及健康的产品、健康的环境、健康的生产经营等几个环节。健康养殖的核心就是在养殖过程中以生态预防、药物预防为主,结合合理的投喂和饲养管理技术,减小病害的发生。随着人们对食品安全的关注,养殖理念也在不断变化,对应于无公害食品、绿色食品和有机食品的不同食品等级,相应的养殖管理规范也越来越严格,已超出了仅仅养殖动物健康不发病的范畴,更多关注食品的安全和营养。

水产动物的健康养殖应满足以下几方面的要求: 能人为控制养殖生态环境条件,环境能尽量满足养殖对象生长、发育的最适条件; 养殖模式(包括各种防疫手段)能使养殖动物正常活动,实行正常的生理机能,并通过养殖对象的免疫系统抵御病原入侵及环境的突然变化; 投喂适当的能完全满足其营养需求的饲料(最好是配合饲料); 上市产品无污染,无药物残留,近似绿色食品; 利用资源最省。

(下转第5560页)

2.1 农业防治 及时修剪茶树,清理茶园,根据茶树年龄和长势,春茶采摘后分别对幼龄茶树进行定型修剪,对成年茶树进行轻修剪和深修剪,对衰老茶树进行重修剪和台割,集中烧毁剪下的残枝,以铲除害虫的生存场所,消灭大量成虫,并在茶树修剪后,结合开沟施肥进行中耕灭蛹,清洁茶园周边环境,减少害虫滋生场所,消灭土壤内的幼虫和蛹,减轻下一年为害。同时要平衡施肥,施足基肥,做到有机肥与化肥配合施用,并尽量控制化学氮肥的施用,促进茶树正常生长,提高茶树抗病虫能力^[5]。在化蛹盛期,结合茶园中耕,消灭大量入土虫蛹,并在茶树根际培土6 cm左右,防止成虫羽化。

2.2 物理防治

2.2.1 人工捕摘。利用茶毛虫幼虫的群集性和假死性,使用人工捕杀或振落捕杀。每年末至次年初摘除越冬卵块,向阳温暖的茶园更应重点防治。利用1~3龄幼虫群聚性强,目标明显,受惊后不会吐丝下垂的特性,摘除有虫叶片,将其踩死或用药液浸杀;对3龄以上幼虫,可利用其吐丝下垂的习性,清晨用盛药容器置于茶丛下方,用小棒振动茶枝,使幼虫落入药液中毒杀^[6]。

2.2.2 诱杀成虫。成虫具有趋光性,在成虫发生期,特别是盛蛾期,晚上7:00~11:00在茶园中用黑光灯诱杀成虫,可有效减少幼虫数量,降低其危害程度。此外,还可利用异性或性激素对其进行诱杀。

2.2.3 保护和利用天敌。茶毛虫的天敌种类很多,应加以保护和利用。如可将人工摘除的卵块置于寄生蜂保护器内,待寄生蜂羽化后将其烧毁。喷药时应尽量选择在无天敌隐蔽期,并注意选用选择性农药。

2.3 化学防治 当害虫发生数量和茶树遭受危害程度达到化学防治指标时,适时进行化学防治。选用高效、低毒、低残

留、安全间隔期短、对茶叶品质无不良影响的农药,严格掌握防治指标、防治时期和农药用量。尽量减少茶园用药次数,降低化学农药用量,促进田间天敌繁殖,充分发挥自然天敌的作用。茶毛虫在信阳茶区1年发生3代,应重点防治第1代幼虫,一般每年春茶生产结束后防治第1代幼虫。可选用2.5%功夫菊酯3 000~4 000倍液,2.5%天王星3 000~4 000倍液,80%敌敌畏1 125~1 500 ml/hm²(800~1 000倍),2.5%溴氰菊酯187.5~225.0 ml/hm²(3 000~4 000倍)。或在3龄幼虫期喷洒90%敌百虫晶体,25%亚胺硫磷乳剂1 000~2 000倍液或50%辛硫磷乳油2 000~3 000倍液。防治时对准发虫中心或重点地块施药,避免全园喷施。喷洒药液时,对害虫危害较严重的茶树、茶蓬上面及2侧应喷匀喷透,提高防治效果。选用农药时不应长期使用同一种或同一类农药,多种农药轮换使用,交替混喷,可防止害虫产生抗药性,增强防治效果。

2.4 生物防治 3龄前幼虫期可用16 000 IU ng B_t制剂10 000倍液,2.5%鱼藤酮乳油300~500倍液或0.36%苦参碱乳油1 000倍液喷雾防治。此外,适宜浓度的杀螟杆菌、青虫菌或自制茶毛虫核多角体病毒,防治效果也很显著。无风阴天或雨后初晴时喷雾效果最佳。

参考文献

- [1] 朱德焰,吕立哲,熊国柱,等.信阳茶区茶园主要害虫综合防治[J].种业导刊,2008(1):30-33.
- [2] 张小霞,梁振普,尹新明,等.茶毛虫及其防治技术[J].河南农业科学,2007(3):63-66.
- [3] 崔林,胡其伟,张丽信.茶毛虫主要生物学习性及其防治技术[J].安徽农学通报,2007,13(24):107.
- [4] 朱德焰,张杰,张丽信.信阳茶区茶毛虫防治技术[J].河南科技,2004(5):19.
- [5] 张云金.茶毛虫发生为害及综合防治[J].中国农技推广,2003(4):54.
- [6] 陈国清,朱建兵.茶毛虫发生的原因及其防治技术措施[J].蚕桑茶叶通讯,2000(3):19.

- 270.

- [13] 单晓枫,高云航,李影,等.鱼用疫苗研究进展[J].水产科技,2005(5):1-4.
- [14] 战文斌.水产动物疾病防治[M].北京:中国农业出版社,2004:1-5.
- [15] 刘朝阳,范士亮.中草药饲料添加剂在水产养殖中的综合应用[J].内陆水产,2007,32(1):6-9.
- [16] 褚衍伟,张太娥.中草药饲料添加剂在鱼类养殖中的应用[J].北京水产,2008(4):57-60.
- [17] 吕欣荣,肖克宇.中草药在水产养殖病害防治中的应用现状[J].内陆水产,2007(9):29-31.
- [18] 李明,董晓慧.中草药在水产养殖中的研究进展[J].饲料研究,2007(2):56-58.
- [19] 郑尧兰.中草药在鱼病防治中的应用[J].福建水产,2008(1):38-41.
- [20] 秦生巨.噬菌蛭弧菌及其微生物生态制剂在水生动物养殖上的应用[J].水产科技情报,2007,34(2):79-81.
- [21] 沈勤,谢荣林,吕伟清,等.噬菌蛭弧菌在水产养殖中的应用及展望[J].河北渔业,2008(10):1.
- [22] 张梁.蛭弧菌在水产养殖中的应用[J].内陆水产,2003(3):41.
- [23] 杜佳垠,等.海水养殖鱼类疾病防治[M].北京:金盾出版社,2007:32-59.
- [24] 宫小明,董静,孙军,等.臭氧在水产养殖中的应用[J].齐鲁渔业,2008(1):32-34.
- [25] 姜礼燧,朱伟.过氧化氢在水产养殖中的应用[J].内陆水产,2006(4):30-31.

(上接第5538页)

参考文献

- [1] 吴小兰,马小能.微生态制剂在水产健康养殖中的应用[J].渔业致富指南,2005(22):23-25.
- [2] 李彦芹,阚振荣,穆淑梅,等.光合细菌研究进展[J].河北大学学报:自然科学版,2005,25(5):554-560.
- [3] 刘克琳,何明清.益生菌对鲤鱼免疫功能影响的研究[J].饲料工业,2000(6):24-25.
- [4] 王晓奕.浅谈微生物制剂在水产养殖中的应用[J].中国水产,2004(4):81.
- [5] 陈永青,林亮,杨莺莺,等.微生态制剂在水产养殖中的应用[J].生态科学,2005,24(1):80-83.
- [6] 胡鲲,杨先乐.我国水产用微生态制剂研究最新进展[J].渔业现代化,2006(6):36-38.
- [7] 肖克宇.水产动物免疫与应用[M].北京:科学出版社,2007:343-370.
- [8] 宋理平,张宇峰,闫大伟.中草药作为免疫增强剂在水产动物上的应用[J].饲料工业,2005,26(6):10-12.
- [9] 周进,黄健,宋晓玲.免疫增强剂在水产养殖中的应用[J].海洋水产研究,2003,24(4):69-70.
- [10] 赵云奎.水产疫苗的研究与应用[J].科学养鱼,2007(11):83.
- [11] 耿晓修.我国水产疫苗的现状及应用前景[J].河北渔业,2005(6):1-5.
- [12] 杨先乐,曹海鹏.我国渔用疫苗的研制[J].水产学报,2006,30(2):265