

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)内脏白点病 病原分离鉴定及致病性研究*

胡 娇¹ 张 飞¹ 徐晓津¹ 苏永全² 覃映雪¹ 马 英¹
张 艺³ 韩坤煌⁴ 鄢庆枇¹

(1. 集美大学水产学院 农业部东海海水健康养殖重点实验室 厦门 361021; 2. 厦门大学海洋与地球学院 厦门 361005;
3. 宁德市水产技术推广站 宁德 352101; 4. 宁德市富发水产有限公司 宁德 352103)

提要 于 2013 年 4 月从宁德患内脏白点病大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)中分离得到两株优势菌 NZBD9 和 NZBD11, 这两株菌在 16—19°C 条件下回归感染能引起大黄鱼内脏白点病, 而在 7—10°C 和 24—27°C 条件下同样的人工感染不能致病, 从而证实这两株菌为大黄鱼内脏白点病的病原菌。经 16S rDNA 基因的测序和时间飞行质谱微生物鉴定仪分析, NZBD9 和 NZBD11 同为变形假单胞菌。药敏性实验结果显示 NZBD9 对庆大霉素、诺氟沙星和四环素等 7 种药物高度敏感。组织病理学观察结果显示病鱼的肝脏、脾脏、头肾等组织中均出现明显病症, 如变性和坏死。

关键词 大黄鱼; 变形假单胞菌; 内脏白点病; 致病性

中图分类号 S941 doi: 10.11693/hyhz20140300078

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)是我国单一品种养殖量最大的海水鱼类, 被农业部确定为我国六种最具优势出口水产品之一(陈强等, 2007)。目前随着养殖规模的不断扩大, 各种病害的发生也日趋频繁, 新的病害种类也屡有发生。大黄鱼的内脏白点病是近几年网箱养殖大黄鱼的常见病害, 2013 年春季该病发生率和死亡率再创新高, 给闽东地区大黄鱼养殖业带来严重的经济损失。

近年来的 1—4 月为大黄鱼内脏白点病高发季节, 海区水温超过 20°C 后该病就自然消退。病鱼体表无明显症状, 解剖可见肝、脾、肾等内脏有 0.5—3mm 大小不等的白色结节, 故称此病为内脏白点病。王国良等(2006)报道从患内脏白点病的大黄鱼鱼体内分离到鲈鱼诺卡氏菌(*Nocardia serioleae*)。沈锦玉等(2008)和邱杨玉等(2012)认为恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)是引起大黄鱼内脏出现白点的病原。本文首次采用生态模拟的方式从患病内脏白点病大黄鱼体内分离病原并进行其致病性研究, 以期增进对养殖大黄鱼内脏白点

病的认识并为疾病的防治提供有价值的参考。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼

患内脏白点病大黄鱼取自宁德市富发公司大黄鱼养殖渔排, 体重 100g 左右。

健康大黄鱼取自宁德市富发公司大湾渔排, 体重 150g 左右。

1.2 病原菌的分离纯化

无菌操作从病鱼肝脏、脾和肾脏组织中取样, 划线接种于 TSA 平板上, 18°C 培养 24h。挑取优势菌落若干个和其它特征菌落进行划线分离三次, 将纯化的菌落接种于 TSA 斜面 18°C 培养 24h 后用 20% 甘油生理盐水洗脱, -80°C 低温冰箱保存备用。

1.3 回归感染实验

选择从脾脏分离的 2 株优势菌和 4 株非优势菌进行人工感染实验。实验共设 6 个实验组和 1 个对照组, 每组各 10 尾大黄鱼, 在 1 吨的养殖桶中暂养 3d 后开

*公益性行业(农业)科研专项, 200903029 号; 国家自然科学基金项目, 31272699 号, 41176115 号。胡娇, 硕士研究生, E-mail: 550783203@qq.com

通讯作者: 鄢庆枇, 教授, E-mail: yanqp@jmu.edu.cn

收稿日期: 2013-05-29, 收修改稿日期: 2013-07-26

染组的实验鱼出现死亡, NZBD9 和 NZBD11 是优势菌株, 且致病性强, 所以 NZBD9 和 NZBD11 为导致养殖鱼死亡的致病菌。

对菌株 NZBD9 的进一步人工感染实验结果如表 2 所示。在 10^6 cfu/g 的浓度下, 实验鱼无死亡; 在 10^5 cfu/g 的浓度下, 开始出现死亡; 1×10^5 cfu/g 的浓

度下实验鱼的死亡率为 100%; 对照组的实验鱼无死亡。

对菌株 NZBD9 在 3 个温度下的进一步人工感染实验结果如表 3 所示。在 7—10°C 和 24—27°C 水体条件下, 实验鱼无死亡; 在 16—19°C 水体条件下, 死亡率达 50%; 对照组的实验鱼无死亡。

表 2 菌株 NZBD9 人工感染结果
Tab.2 The results of artificial infection of strain NZBD9

组别	感染浓度 (cfu/g)	感染后死亡数(尾)							死亡总数(尾)	死亡率 (%)
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d		
感染组	1×10^6	—	2	3	2	3	—	—	10	100
	1×10^5	—	1	2	3	2	1	1	10	100
	1×10^4	—	1	2	1	2	1	—	7	70
	1×10^3	—	1	—	2	2	—	—	5	50
	1×10^2	—	—	—	—	1	—	—	1	10
	1×10	—	—	—	—	—	—	—	0	0
对照组	0.85% NaCl	—	—	—	—	—	—	—	0	0

表 3 不同温度下菌株 NZBD9 人工感染结果
Tab.3 The results of artificial infection of strain NZBD9 under different temperatures

温度 (°C)	组别	感染浓度 (cfu/g)	感染后死亡数(尾)							死亡总数(尾)	死亡率 (%)
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d		
7—10	感染组	1×10^3	—	—	—	—	—	—	—	0	0
	对照组	0.85% NaCl	—	—	—	—	—	—	—	0	0
16—19	感染组	1×10^3	—	1	2	1	—	1	—	5	50
	对照组	0.85% NaCl	—	—	—	—	—	—	—	0	0
24—27	感染组	1×10^3	—	—	—	—	—	—	—	0	0
	对照组	0.85% NaCl	—	—	—	—	—	—	—	0	0

如图 1 所示, 感染致病菌的大黄鱼肾脏、脾脏出现直径 0.4—1.0mm 的白点, 严重的病鱼肝也会出现白点。从实验死亡鱼分离得到与菌株 NZBD9 和 NZBD11 相同的菌落。

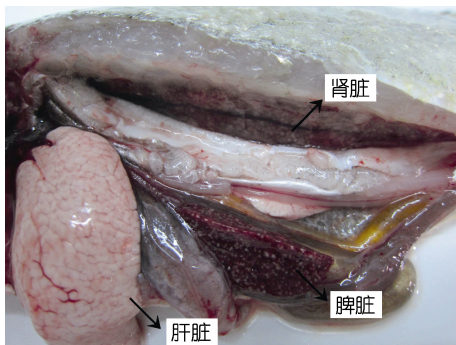


图 1 大黄鱼内脏白点病病征

Fig.1 Symptoms of internal organs white-spots disease of *P. crocea*

2.3 16S rDNA 基因检测结果

菌株 NZBD9 和 NZBD11 的 16S rDNA 基因检测结果如图 2。2 个菌株的 16S rDNA 基因的长度同为 1459bp, 而且序列相同, 可鉴定为同一菌株。

2.4 时间飞行质谱微生物鉴定仪分析结果

菌株 NZBD9 和 NZBD11 在高通量微生物鉴定仪下分析结果如图 3、图 4、图 5。实验结果表明, 菌株 NZBD9 和 NZBD11 同为变形假单胞菌。

2.5 系统发育树构建

Blast 结果发现 2 株致病菌与变形假单胞菌 16S rDNA 的同源性达到 100%, 从构建的系统发育树中可见 NZBD9 菌株与变形假单胞菌聚为一支, 说明 NZBD9 菌株与变形假单胞菌亲缘关系最近, 可将其鉴定为变形假单胞菌。系统发育树如图 6 所示。

2.6 药敏实验结果

菌株 NZBD9 对 19 种抗生素纸片的敏感性测试

```

1   ATTGAACGCT  GGCGGCAGGC  CTAACACATG  CAAGTCGAGC  GGATGACGGG  AGCTTGCTCC
61  TTGATTCAGC  GGCGGACGGG  TGAGTAATGC  CTAGGAATCT  GCCTGGTAGT  GGGGGACAAC
121 GTTTCGAAAAG  GAACGCTAAT  ACCGCATACG  TCCTACGGGA  GAAAGCAGGG  GACCTTCGGG
181 CCTTGCGCTA  TCAGATGAGC  CTAGGTCGGA  TTAGCTAGTT  GGTGGGGTAA  TGGCTCACCA
241 AGGCGACGAT  CCGTAACTGG  TCTGAGAGGA  TGATCAGTCA  CACTGGAACT  GAGACACGGT
301 CCAGACTCCT  ACGGGAGGCA  GCAGTGGGGA  ATATTGGACA  ATGGGCGAAA  GCCTGATCCA
361 GCCATGCCGC  GTGTGTGAAG  AAGGTCTTCG  GATTGTAAAG  CACTTTAAGT  TGGGAGGAAG
421 GGCAGTAAGC  TAATACCTTG  CTGTTTTGAC  GTTACCGACA  GAATAAGCAC  CGGCTAACTC
481 TGTGCCAGCA  GCCGCGGTAA  TACAGAGGGT  GCAAGCGTTA  ATCGGAATTA  CTGGGCGTAA
541 AGCGCGCGTA  GGTGGTTCGT  TAAGTTGGAT  GTGAAAGCCC  CGGGCTCAAC  CTGGGAACTG
601 CATCCAAAAC  TGGCGAGCTA  GAGTACGGTA  GAGGGTGGTG  GAATTTCTTG  TGTAGCGGTG
661 AAATGCGTAG  ATATAGGAAG  GAACACCAGT  GGCGAAGGCG  ACCACCTGGA  CTGATACTGA
721 CACTGAGGTG  CGAAAGCGTG  GGGAGCAAAC  AGGATTAGAT  ACCCTGGTAG  TCCACGCCGT
781 AAACGATGTC  AACTAGCCGT  TGGAATCCTT  GAGATTTTAG  TGGCGCAGCT  AACGCATTA
841 GTTGACCGCC  TGGGGAGTAC  GGCCGCAAGG  TTAAACTCA  AATGAATTGA  CGGGGGCCCG
901 CACAAGCGGT  GGAGCATGTG  GTTTAATTCG  AAGCAACGCG  AAGAACCTTA  CCAGGCCTTG
961 ACATGCAGAG  AACTTTCCAG  AGATGGATTG  GTGCCTTCGG  GAACTCTGAC  ACAGGTGCTG
1021 CATGGCTGTC  GTCAGCTCGT  GTCGTGAGAT  GTTGGGTAA  GTCCCGTAAC  GAGCGCAACC
1081 CTTGTCTTA  GTTACCAGCA  CGTTATGGTG  GGCACCTTAA  GGAGACTGCC  GGTGACAAA
1141 CGGAGGAAGG  TGGGGATGAC  GTCAAGTCAT  CATGGCCCTT  ACGGCCTGGG  CTACACACGT
1201 GCTACAATGG  TCGGTACAGA  GGGTTGCCAA  GCCGCGAGGT  GGAGCTAATC  TCACAAAACC
1261 GATCGTAGTC  CGGATCGCAG  TCTGCAACTC  GACTGCGTGA  AGTCGGAATC  GCTAGTAATC
1321 GCGAATCAGA  ATGTCGCGGT  GAATACGTTC  CCGGGCCTTG  TACACACCGC  CCGTCACACC
1381 ATGGGAGTGG  GTTGCAACAG  AAGTAGCTAG  TCTAACCTTC  GGGAGGACGG  TTACCACGGT
1441 GTGATTCATG  ACTGGGGTG

```

图 2 菌株 NZBD9 和 NZBD11 的 16S rDNA 基因序列

Fig.2 Sequence of 16S rDNA genes of strain NZBD9 and NZBD11

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
11 (++)	c7e18a0a-2c1d-438f-a1e1-4cd6d3f4f941	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> DSM 15088T HAM	2.229	<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 49128 THL	2.022
1101 (+++)	8d171039-4572-45ce-b515-57e345438559	<i>Edwardsiella tarda</i> ATCC 36.1 EGS	2.201	<i>Edwardsiella tarda</i> HL23.1 EGS	2.200
9 (++)	fc887196-4fb2-484e-941a-7c4476987d7e	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> DSM 15088T HAM	2.125	<i>Pseudomonas monteilii</i> DSM 14164T HAM	1.833
HSA:1 (+++)	1368a53d-4251-4537-acc0-b3c2120e599c	<i>Edwardsiella ictaluri</i> CECT 883 EGS	2.107	<i>Edwardsiella ictaluri</i> DSM 13697 HAM	2.040
HSS:1 (++)	87504a08-dc65-46dd-baa4-04425411e0fd	<i>Staphylococcus warneri</i> Mb18796_1 CHB	2.072	<i>Staphylococcus warneri</i> DSM 20316	1.908

图 3 时间飞行质谱鉴定仪对 NZBD9 和 NZBD11 的鉴定结果

Fig.3 Results of strain NZBD9 and NZBD11 identified by Time of Flight Mass Spectrometer

结果见表 4。结果显示, 9 菌株对庆大霉素、诺氟沙星、多粘霉素 B、依诺沙星、四环素、卡那霉素、链霉素、强力霉素、新霉素、新生霉素和氧氟沙星 11 种药物敏感; 对青霉素、复合磺胺、万古霉素、利福平、红霉素、呋喃唑酮、氯霉素和呋喃妥因 8 种药物有抗性。

2.7 石蜡组织切片观察

2.7.1 肾脏 健康大黄鱼的肾脏各细胞结构完整, 质地均匀, 肾小管由单层上皮细胞构成, 上皮细胞排列紧凑, 上皮细胞间界清晰(图 7a)。感染变形假单胞菌后, 肾小管形状较不规则, 肾小管上皮细胞肿胀, 排列较紊乱(图 7c), 管腔变窄或闭塞; 较严

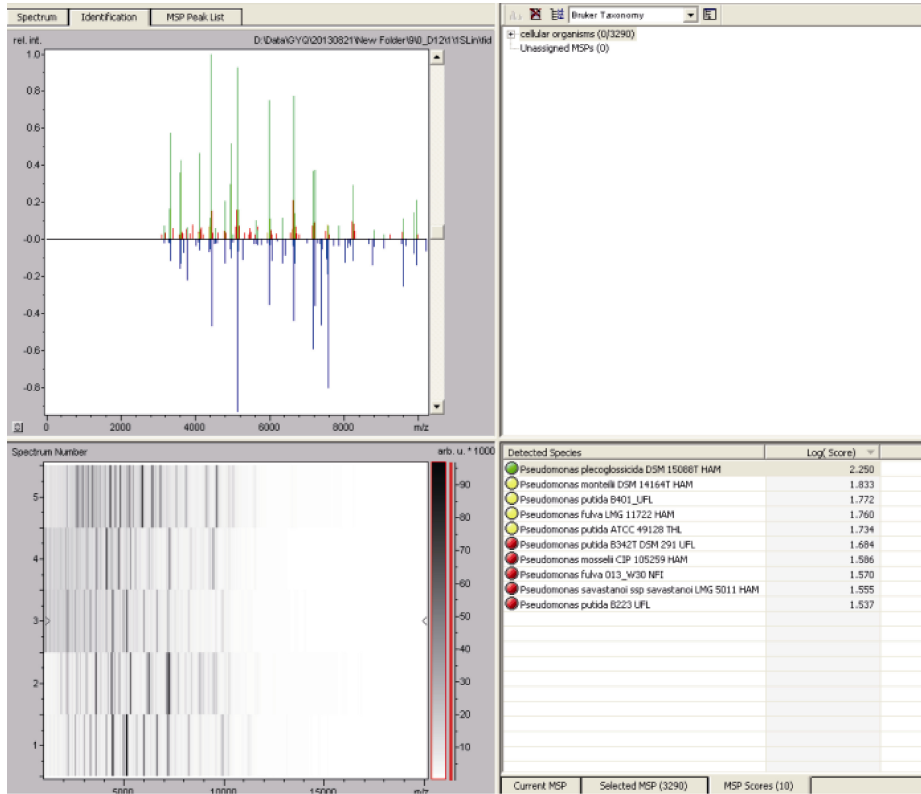


图 4 时间飞行质谱鉴定仪对 NZBD9 的具体鉴定结果

Fig.4 Results in detail of strain NZBD9 identified by Time of Flight Mass Spectrometer

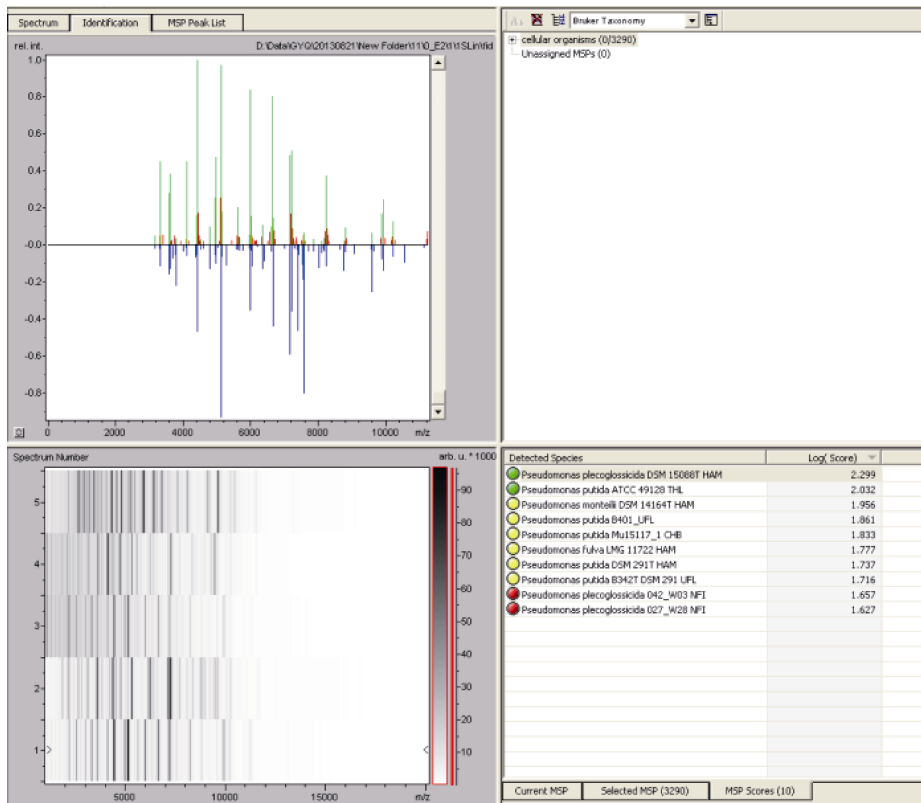


图 5 时间飞行质谱鉴定仪对菌株 NZBD11 的具体鉴定结果

Fig.5 Results in detail of strain NZBD11 identified by Time of Flight Mass Spectrometer

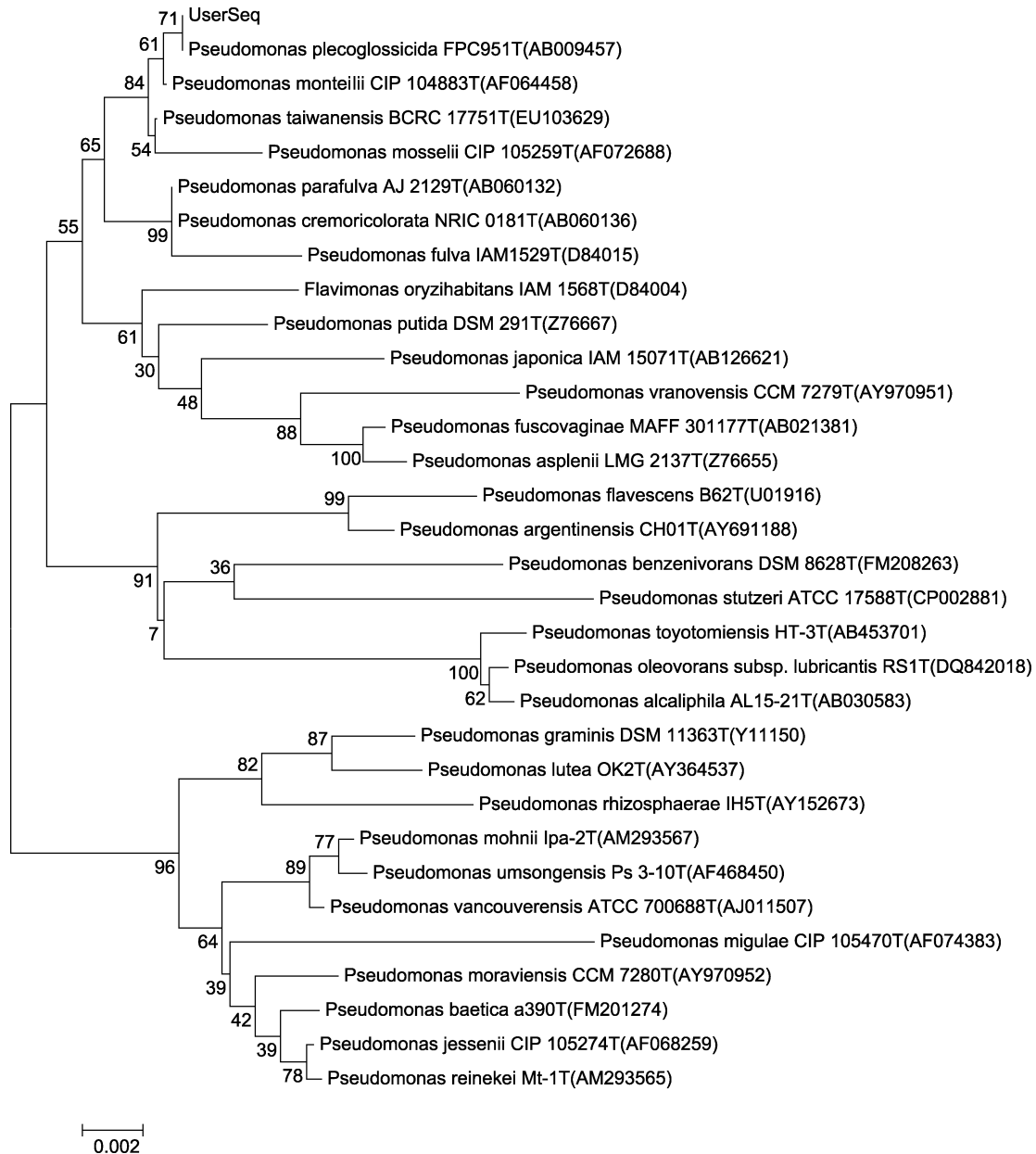


图 6 NZBD9 菌株 16S rDNA 序列的系统发育树

Fig.6 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence of strain NZBD9
 括号中数字代表该序列的 GenBank 登录号

重区域肾小管完全失去原来的组织结构,解体后形成大面积的坏死灶,坏死灶中心区充满解体后的细胞碎片(图 7b)。

2.7.2 脾组织 健康大黄鱼的脾脏由结缔组织网、毛细血管网和间于其中的细胞群组成。细胞的组成有红血球形成细胞、未成熟红血球、成熟红血球、淋巴细胞、单核球、吞噬细胞等,这些细胞密集相间,其中淋巴细胞可聚集成淋巴岛(图 7d)。大黄鱼受变形假单胞菌感染后,脾脏组织恶化、充血,坏死较严重(图

7e);脾组织吞噬一定量菌体后,髓窦内堆积大量含铁血黄素,髓窦周围出现许多空泡(图 7f)。

2.7.3 肝组织 健康大黄鱼肝组织结构清晰,细胞形状比较规则,是略带圆形的多角形细胞,排列较均匀规则,具有球形并带有一个核仁的细胞核,细胞核圆形,位于细胞的中间;细胞质中含有丰富的脂肪和糖原,在石蜡切片中,通过 H.E 染色后,常常呈现许多空泡样结构(图 7g)。患病鱼部分肝细胞坏死严重,细胞萎缩,排列疏松,肝细胞界限模糊不清,空隙较

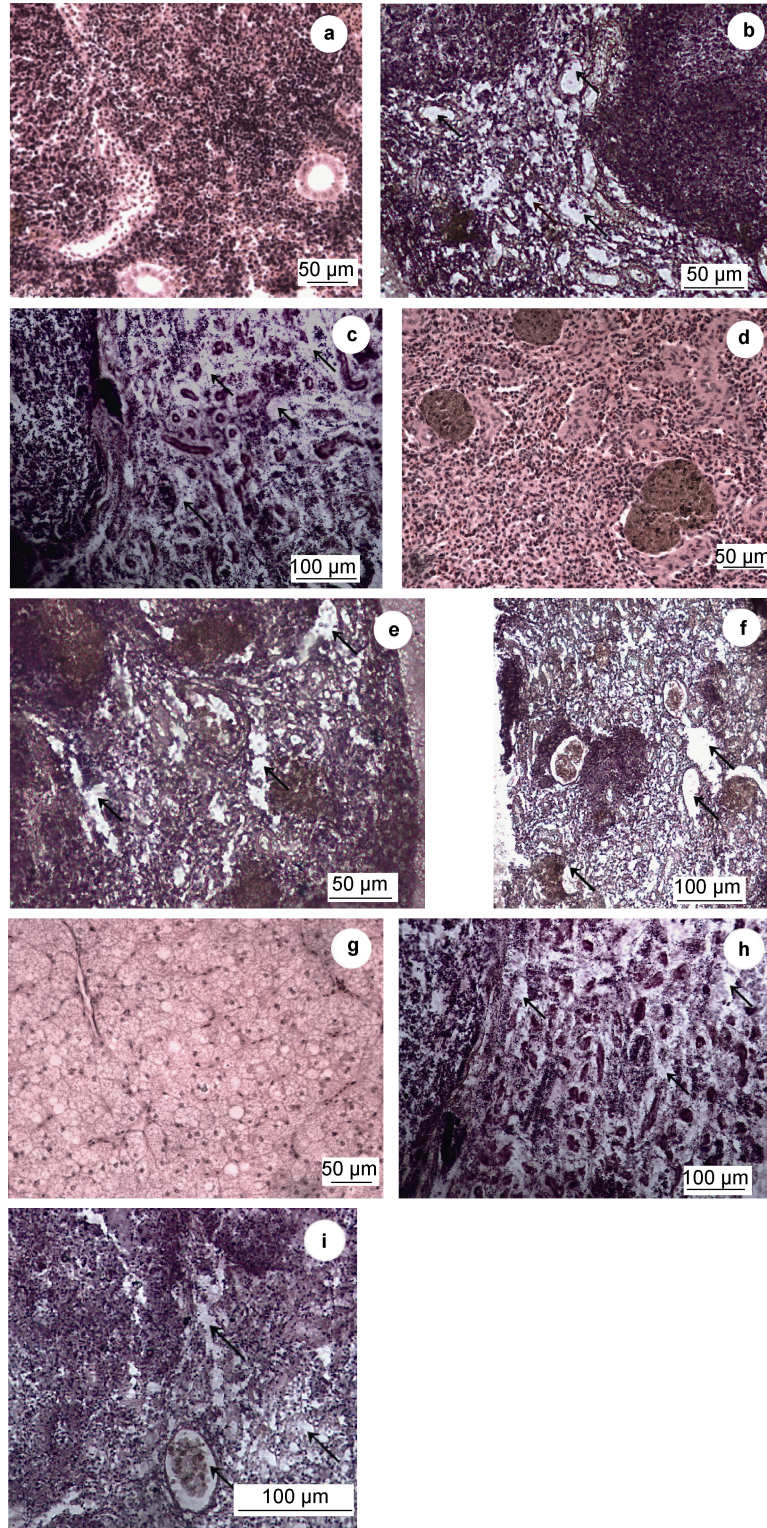


图 7 患病大黄鱼肾脏、脾脏、肝脏组织病变

Fig.7 Pathological changes of kidney, spleen and liver tissues of diseased *P. crocea*

a. 健康大黄鱼肾脏图; b. 病鱼肾脏肾小管完全失去原来的组织结构, 解体后形成大面积的坏死灶, 坏死灶中心区充满解体后的细胞碎片(箭头所示); c. 肾小管形状较不规则, 肾小管上皮细胞肿胀, 排列较紊乱(箭头所示); d. 健康大黄鱼脾脏图; e. 病变脾脏组织脾脏组织恶化、充血, 坏死较严重(箭头所示); f. 髓窦内堆积大量含铁血黄素, 髓窦周围出现许多空泡(箭头所示); g. 健康大黄鱼肝脏图; h. 肝细胞坏死严重, 细胞萎缩, 排列疏松, 肝细胞界限模糊不清, 空隙较明显; i. 肝细胞实质结构遭到破坏, 肝细胞崩解, 呈现空泡化(箭头所示)

表4 菌株 NZBD9 的药敏性实验结果
Tab.4 Results of antibiotic sensitivity test of strain NZBD9

抗生素	单片药物含量 ($\mu\text{g}/\text{片}$)	抑菌圈直径 (mm)	敏感性
庆大霉素	10	20.5	S
青霉素	10	7	R
复合磺胺(TMP/SMZ)	1.25/23.75	7	R
诺氟沙星	10	23	S
强力霉素	30	27	S
万古霉素	30	7	R
新霉素	30	26.5	S
利福平	5	7	R
多粘霉素 B	300	17	S
依诺沙星	10	28	S
四环素	30	19	S
链霉素	10	14	S
红霉素	15	10	R
呋喃唑酮	300	7	R
氯霉素	30	9	R
呋喃妥因	300	7	R
新生霉素	30	7	R
卡那霉素	30	23.5	S
氧氟沙星	5	27	S

R 表示不敏感; S 表示高度敏感

明显(图 7h); 许多肝细胞实质结构遭到破坏, 干细胞崩解, 呈现空泡化(图 7h 和图 7i)。

3 讨论

内脏白点病是养殖大黄鱼的常见病, 多发生在水温较低的春节。内脏白点病已危害养殖大黄鱼多年, 且危害逐年严重。近年来, 许多学者对大黄鱼内脏白点病的病原进行了研究, 但目前尚未有统一的定论。王国良等(2006)认为大黄鱼内脏白点病的病原是诺卡氏菌(Wang *et al.*, 2005), 刘家富等(2004)认为大黄鱼内脏白点病的病原是门多萨假单胞菌和铜绿假单胞菌, 而刘振勇等(2002)认为大黄鱼内脏白点病的病原仅有门多萨假单胞菌。沈锦玉等(2008)和邱杨玉等(2012)认为大黄鱼内脏白点病的病原是恶臭假单胞菌, Blanco 等(2002)、López-Romalde 等(2003)和 Balboa 等(2007)认为大黄鱼内脏白点病的病原是荧光假单胞菌。本文从患内脏白点病大黄鱼的内脏分离到多株细菌, 在进行人工感染的 6 个分离株中只有 2 株对大黄鱼有致病性, 其它 4 株都不致病, 而且致病的 2 株分离株同为变形假单胞菌, 这说明宁德大黄鱼内脏白点病的病原菌为变形假单胞菌。本文从病原分离至人工感染全程模拟自然发病的水温, 分离得到有很强致病性的变形假单胞菌。该菌不仅发病的症状与自然

发病的内脏白点病一致, 发病的水温要求也与自然发病的水温一致, 这进一步证实变形假单胞菌为宁德养殖大黄鱼内脏白点病的病原菌。

变形假单胞菌是自然环境中的常见菌, 对多种污染物有较强的分解能力, 常被用于污水处理(陈亚丽等, 2002; 曹军伟等, 2011)。水产养殖较为常见的致病菌。变形假单胞菌引起水产养殖疾病也有所报道。这种细菌曾在带有细菌性出血性腹水的养殖香鱼上分离得到(Nishimori *et al.*, 2000)。由变形假单胞菌引起的香鱼细菌性出血性腹水病经常在引入自然或人工的鱼苗到养殖池中后短时间内暴发, 并且在养殖时期的任何阶段都可能暴发(Se *et al.*, 2000)。病原菌变形假单胞菌是一种条件致病菌, 但是肌肉注射感染实验表明其对香鱼有极高的毒力, 半致死剂量(LD₅₀)为 10^{1.2} cfu/fish。变形假单胞菌能够在饲养香鱼的淡水水体中生长和繁殖(Se *et al.*, 2000), 变形假单胞菌通过扩散在香鱼养殖水体中, 从而迅速水平传播这种疾病。

本文所分离的变形假单胞菌在 28°C 生长良好, 而大黄鱼内脏白点病仅见于水温 20°C 以下, 本文人工感染的结果也显示变形假单胞菌在 23—27°C 水温对大黄鱼不致病, 其原因可能是由于变形假单胞菌分泌的胞外产物在不同温度下有所不同, 也可能是由于大黄鱼在低温下抗感染免疫力低下, 给变形假单胞菌以可趁之机。本文的研究结果显示: 此次从患病大黄鱼上分离的变形假单胞菌对青霉素、复合磺胺、万古霉素、利福平、红霉素、呋喃唑酮、氯霉素和呋喃妥因等 8 种抗生素已经产生一定的抗药性, 因此对于大黄鱼内脏白点病的防治应该主要考虑提高大黄鱼的抗病免疫力。

参 考 文 献

- 王国良, 袁思平, 金 珊, 2006. 网箱养殖大黄鱼诺卡氏菌病的初步研究. 水产学报, 30(1): 103—107
- 刘振勇, 王兴春, 杨毓环, 2002. 网箱养殖大黄鱼门多萨假单胞菌病的研究. 水产学报, 26(增刊): 77—81
- 刘家富, 余祚渊, 林永添等, 2004. 大黄鱼假单胞菌病的初步研究. 海洋科学, 28(2): 5—7
- 邱杨玉, 郑 磊, 毛芝娟等, 2012. 大黄鱼(*Larimichthys crocea*)内脏白点病的病原分离和组织病理学观察. 微生物学通报, 39(3): 361—370
- 沈锦玉, 余旭平, 潘晓芝等, 2008. 网箱养殖大黄鱼假单胞菌病原的分离与鉴定. 海洋水产研究, 29(1): 1—6
- 陈 强, 鄢庆枇, 邹文政等, 2007. 环境因子对溶藻弧菌

- (*Vibrio alginolyticus*)粘附大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)表皮粘液影响的研究. 海洋与湖沼, 38(4): 361—366
- 陈亚丽, 张先恩, 刘 虹等, 2002. 甲基对硫磷降解菌假单胞菌 WBC-3 的筛选及其降解性能的研究. 微生物学报, 42(4): 490—497
- 曹军伟, 邵宗泽, 曹宏斌等, 2011. 焦化废水中酚降解菌及其降解基因的研究. 环境科学, 32(2): 560—566
- Balboa S, Ferguson H W, Romalde J L, 2007. Phenotypic, serological and genetic characterization of *Pseudomonas anguilliseptica* strains isolated from cod, *Gadus morhua* L., in northern Europe. Journal of Fish Diseases, 30(11): 657—664
- Blanco M M, Gibello A, Vela A I *et al*, 2002. PCR detection and PFGE DNA macrorestriction analyses of clinical isolates of *Pseudomonas anguilliseptica* from winter disease outbreaks in sea bream *Sparus aurata*. Diseases of Aquatic Organisms, 50: 19—27
- L ó pez-Romalde S, Magariños B, Ravelo C *et al*, 2003. Existence of two O-serotypes in the fish pathogen *Pseudomonas anguilliseptica*. Veterinary Microbiology, 94(4): 325—333
- Nishimori E, Kita-Tsukamoto K, Wakabayashi H, 2000. *Pseudomonas plecoglossicida* sp. nov., the causative agent of bacterial haemorrhagic ascites of ayu, *Plecoglossus altivelis*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 50: 83—89
- Se Chang Park, Ichiro Shimamura, Minoru Fukunaga *et al*, 2000. Isolation of bacteriophages specific to a fish pathogen, *Pseudomonas plecoglossicida*, as a candidate for disease control. Appl Environmental Microbiology, 66(4): 1416—1422
- Wang G L, Yuan S P, Jin S, 2005. Nocardiosis in large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Richardson). Journal of Fish Diseases 28: 339—345

ISOLATION, IDENTIFICATION AND VIRULENCE OF THE PATHOGEN OF WHITE-SPOTS DISEASE IN INTERNAL ORGANS OF *PSEUDOSCIAENA CROCEA*

HU Jiao¹, ZHANG Fei¹, XU Xiao-Jin¹, SU Yong-Quan², QIN Ying-Xue¹, MA Ying¹,
ZHANG Yi³, HAN Kun-Huang⁴, YAN Qing-Pi¹

(1. Fisheries College of Jimei University, Key Laboratory in East China Sea Seawater Healthy Aquaculture of the Ministry of Agriculture, Xiamen 361021, China; 2. College of Ocean and Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. Ningde Aquatic Product Technology Promotion Department, Ningde 352101, China; 4. Ningde Fufa Aquatic Product Co. Ltd., Ningde 352103, China)

Abstract Two dominant strains (NZBD9 and NZBD11) were isolated from internal organs of *Pseudosciaena crocea* suffered from white-spots disease in April 2013. Both strains could cause the disease artificially in the internal organs in 16—19°C but at 7—10°C and 24—27°C. The results indicate that the two strains were the causative agent of the disease in farmed *P. crocea*. Both were identified as *Pseudomonas plecoglossicida* by time-of-flight mass spectrometer in 16S rDNA sequences. Experiments in susceptibility showed that NZBD9 is highly sensitive to 7 drugs including gentamicin, norfloxacin, and tetracycline. Histopathological observation showed that affected fish had clear symptoms of degeneration and necrosis in liver, kidney and spleen.

Key words *Pseudosciaena crocea*; *Pseudomonas plecoglossicida*; pathogenicity; internal organs white-spots disease