

黄颡鱼卵致病性绵霉的分离鉴定与药敏特性

欧仁建^{1△} 曹海鹏^{1△} 郑卫东² 胡鲲¹ 许佳露¹ 杨先乐^{1*}

(1. 上海海洋大学 国家水生动物病原库 上海 201306)

(2. 中国水产科学研究院长江水产研究所 湖北 武汉 430223)

摘要:【目的】对黄颡鱼水霉病病原进行分离鉴定,并对其药敏特性进行研究。【方法】参照传统方法对患水霉病的黄颡鱼卵上的丝状真菌进行分离,通过人工感染实验证实分离菌株的致病性,然后根据形态学特征和 ITS rDNA 序列分析对致病菌株进行鉴定,并进一步采用倍比稀释法研究其药敏特性。【结果】从患水霉病的黄颡鱼卵上分离到 8 株丝状真菌,经人工感染试验证实菌株 YC 对黄颡鱼卵具有致病性,并进一步研究了其形态与药敏特性,开展了 ITS rDNA 序列分析。结果表明,菌株 YC 为透明管状结构,中间无横隔;游动孢子囊多呈圆筒形、棍棒形或穗状,游动孢子发育成熟后不断从孢子囊顶端释放出来,成团聚集在游动孢子囊口,并经过一个时期的静休后,成团脱落或直接分散在水中游动;次生孢子囊具有典型的侧生现象;藏卵器呈球形或梨形,大多与雄器异枝,少数与雄器同枝,含 1–15 个卵孢子;成熟卵孢子中生或亚中生,偏生一个大油球。其 ITS rDNA 序列与 GenBank 基因库中绵霉属菌株自然聚类,同源性高达 99%,与异丝绵霉(*Achlya klebsiana*)菌株 CBS101.49 (GenBank 登录号 AF119579)的亲缘关系最近。结合形态特征与 ITS 序列鉴定的结果,判定菌株 YC 为异丝绵霉(*Achlya klebsiana*)。此外,在实验选用的中草药和消毒剂中,黄连和异噻唑啉酮分别对菌株 YC 的抑菌效果最好,其对菌株 YC 的最小抑菌浓度分别为 256 mg/L 和 2 mg/L。【结论】首次分离了黄颡鱼卵致病性异丝绵霉菌株 YC,并确定了其药敏特性,可以作为该病防治用药的依据。

关键词: 黄颡鱼卵, 绵霉, 鉴定, 最小抑菌浓度

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2011AA10A216); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目(No. CARS-46-12); 公益性行业(农业)科研专项(No. 201203085); 上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2011)第 4–8 号]

*通讯作者: Tel: 86-21-61900453; Fax: 86-21-61900452; ✉: xlyang@shou.edu.cn

△共同第一作者

收稿日期: 2011-12-10; 接受日期: 2012-02-06

Identification and drug susceptibility of a pathogenic *Achlya klebsiana* strain from the eggs of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)

OU Ren-Jian^{1△} CAO Hai-Peng^{1△} ZHENG Wei-Dong² HU Kun¹
XU Jia-Lu¹ YANG Xian-Le^{1*}

(1. National Pathogen Collection Center for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

(2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan, Hubei 430223, China)

Abstract: [Objective] The aim of the present study was to isolate and identify the pathogen of *Pelteobagrus fulvidraco* egg saprolegniasis, and study the drug susceptibility characteristics of the pathogen. **[Methods]** Filamentous fungal strains were first isolated using the traditional method from the *Pelteobagrus fulvidraco* eggs suffering from saprolegniasis, and the pathogenic strain was further confirmed through artificial infection experiment, identified using morphological observation and phylogenetic analysis based on its ITS rDNA sequence. In addition, its drug susceptibility was studied using the doubling dilution method. **[Results]** Eight filamentous fungal strains were isolated from *Pelteobagrus fulvidraco* eggs with saprolegniasis, and strain YC was proved to be pathogenic to *Pelteobagrus fulvidraco* eggs by artificial infection. Thus, morphological characterizations of strain YC were studied, the phylogenetic analysis based on its ITS rDNA sequence and drug susceptibility assay were also further conducted. The experimental results showed that the hyphae of strain YC were aseptate and transparent, its zoosporangia were cylindrical, clavate or fusiform, its zoospores were discharged from the tip of zoosporangia, clumped together and fell off or directly swam into the water after a period of time. The zoosporangia were renewed in basipetalous succession, infrequently in sympodial arrangement. Its oogonia were spherical or obpyriform with frequently diclinous and occasionally monoclinal antheridial branches, and produced one to fifteen oospores, which were centric or subcentric, and laterally generated a big oil body. The ITS rDNA sequences of strain YC was naturally clustered with ITS rDNA sequences of *Achlya* sp. submitted to GenBank with the homology of 99%, and had closest relationship with *Achlya klebsiana* strain CBS101.49 (GenBank accession number AF119579). Combined the morphological characterization with phylogenetic analysis based on ITS rDNA sequence, strain YC was identified as *Achlya klebsiana*. In addition, strain YC was well inhibited by *Coptis chinensis* and isothiazolinone, whose minimum inhibitory concentrations to strain YC were respectively 256 mg/L and 2 mg/L. **[Conclusion]** A pathogenic *Achlya klebsiana* strain YC was isolated for the first time from *Pelteobagrus fulvidraco* eggs suffering from saprolegniasis, and its drug susceptibility was also determined, which could serve as a foundation for its infection in

Pelteobagrus fulvidraco eggs.

Keywords: *Pelteobagrus fulvidraco* eggs, *Achlya klebsiana*, Identification, Minimum inhibitory concentration

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)是一种小型名优淡水鱼类, 味道鲜美, 营养丰富, 深受广大消费者的喜爱, 在日本、韩国、东南亚等国家具有巨大的市场, 是我国出口创汇的优质特种鱼类^[1]。然而, 黄颡鱼在鱼卵孵化过程中因水温等环境因素的变化易患水霉病而大批死亡, 严重影响了苗种生产的规模化进程^[2]。因此, 开展黄颡鱼卵水霉病的病原学研究对其苗种繁殖生产具有重要的意义。然而, 国内外关于黄颡鱼卵水霉病的病原学研究却尚未报道。2011年6月份, 仙桃市沙湖水产技术推广站人工繁殖的黄颡鱼卵发生了严重的水霉病, 引起大量鱼卵死亡, 导致孵化率降低。鉴于此, 本实验对该水霉病进行了病原分析, 从患水霉病的黄颡鱼卵上首次分离了一株致病性异丝绵霉 YC, 并测定了中草药和消毒剂对异丝绵霉 YC 的最小抑菌浓度, 以期丰富水产动物致病绵霉的形态学研究资料, 为绵霉引起的黄颡鱼卵水霉病的防治提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 菌株的分离与纯化

将发病鱼卵用75%酒精浸洗2–3 s, 然后用无菌蒸馏水冲洗数次, 置于加有100 mg/L 链霉素-青霉素的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板上, 在25 °C 恒温培养24 h后立即在长出的菌落边缘放置无菌油菜籽, 在25 °C 恒温继续培养, 待油菜籽上覆盖菌丝后将其取出并置于无菌水中, 于25 °C 培养直至游动孢子释放。无菌操作吸取100 μ L 孢子悬液至PDA平板上均匀涂布, 25 °C 恒温培养并切取单菌落琼脂块到PDA平板上进行纯化培养, 于4 °C 保存待用。

1.2 分离菌株的人工感染试验

将长有菌丝的油菜籽放到灭菌过滤河水中, 于25 °C 恒温培养直至产生大量游动孢子, 然后用3层无菌纱布过滤制成终浓度为 5×10^3 个/mL 的孢子悬液。分别取40粒黄颡鱼卵放入含有孢子悬液的培养皿中, 用吸管多次吹打以充氧, 以不含游动孢子灭菌过滤河水中的卵为对照。黄颡鱼卵在无菌水中清洗后, 镜检没有菌丝或孢子附着才用于试验。在显微镜下观察和记录卵的感染情况, 并计算感染率(%)。以镜检卵膜出现明显菌丝为感染。

1.3 分离菌株的鉴定

1.3.1 分离菌株的形态观察: 将原分离菌株接种于放有无菌油菜籽粒的PDA平板上, 于25 °C 恒温培养直至油菜籽粒上长满菌丝, 然后将长有菌丝的油菜籽转至装有4 mL 无菌水的6孔板中, 于25 °C 恒温分别培养, 连续4周在倒置显微镜下观察游动孢子囊、游动孢子的释放及藏卵器和雄器等形态特征。

1.3.2 分离菌株的 ITS rDNA 序列分析: 参照小丽等^[3]的方法提取分离菌株的基因组DNA, 并对其ITS rDNA 序列进行PCR扩增。PCR产物测序由上海生工生物工程有限公司完成。将测得的ITS rDNA 序列用DNAMAN 软件编辑后, 在NCBI 中利用BLASTn 软件与GenBank 数据库中已知序列进行同源性比较, 选取同源性较高的序列并利用软件BioEdit 7.0 和MEGA 4.0 进行多重比较后通过邻接法构建系统发育树。

1.4 中草药和消毒剂对分离菌株最小抑菌浓度的测定

参照Benger 等^[4]和Stueland 等^[5]的倍比稀释

法测定 31 种中草药和 11 种消毒剂对分离菌株的最小抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC), 其中, 氯化钠、碳酸氢钠、磺基水杨酸、异噻唑啉酮、苯扎溴铵、硫酸铜、戊二醛、双氧水、亚甲基蓝、次氯酸钠、硫酸亚铁等消毒剂均购于北京渔经生物技术有限责任公司; 乌梅、黄连、川楝子、大蒜素、五倍子、土槿皮、丁香、蛇床子、昆布、八角茴香、紫苏、苦参、黄精、紫草、姜黄、黄柏、茵陈、冰片、地肤子、小茴香、白鲜皮、黄芪、使君子、前胡、虎杖、金银花、槟榔、丹皮、菖蒲、大黄、生姜等中草药均

购于国药集团(上海)化学试剂有限公司, 并参照邱庆连等^[6]的方法制备其提取液。

2 结果与分析

2.1 菌株的分离与人工感染试验

从患病黄颡鱼卵上分离了 8 株优势丝状菌, 经过人工感染试验发现菌株 YC 对黄颡鱼卵具有致病性, 感染率为 65% (表 1)。镜检人工感染的卵, 其表面生有明显的菌丝, 将菌丝进行再次分离, 其形态特征与原分离菌株基本一致。因此, 菌株 YC 是该水霉病的致病菌。

表 1 分离菌株对黄颡鱼卵的人工感染情况 Table 1 Artificial infection of the isolates to <i>Pelteobagrus fulvidraco</i> eggs								
菌株 Strain	卵数 Egg number	孢子浓度 Concentration of zoospores (spores/mL)	感染数 Number of infected eggs					感染率 Infection rate (%)
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	
—	40	0	0	0	0	0	0	0
YA	40	5×10 ³	0	0	0	0	0	0
YB	40	5×10 ³	0	0	0	0	0	0
YC	40	5×10 ³	0	6	12	20	26	65
YD	40	5×10 ³	0	0	0	0	0	0
YE	40	5×10 ³	0	0	0	0	0	0
YF	40	5×10 ³	0	0	0	0	0	0
YG	40	5×10 ³	0	0	0	0	0	0
YH	40	5×10 ³	0	0	0	0	0	0

2.2 致病菌株的鉴定

菌株 YC 菌丝发达, 为透明管状结构, 中间无横隔; 其游动孢子囊多呈圆筒形、棍棒形或穗状(图 1A); 游动孢子发育成熟后从孢子囊顶端释放出来(图 1B), 并成团聚集在游动孢子囊口(图 1C), 经过一个时期的静休后, 成团脱落(图 1D), 或直接分散在水中游动; 次生孢子囊具有典型的侧生现象(图 2); 藏卵器呈球形或梨形(图 3A), 含 1–15 个卵孢子, 大多雌雄异枝(图 3B), 少数雌雄同枝(图 3C), 卵孢子中生或亚中生, 成熟卵孢子

内偏生 1 个大油球(图 3D)。这些是绵霉属菌株的典型形态特征^[7]。此外, 通过对菌株 YC 的 ITS 序列进行扩增, 获得 784 bp 大小的片段, 此序列在 GenBank 上的登录号为 JN400035。通过 NCBI 网站对菌株 YC 的 ITS 序列与 GenBank 数据库中已知序列进行同源性比较后发现, 菌株 YC 与 GenBank 基因库中绵霉属的菌株自然聚类, 同源性高达 99%。通过邻接法构建的系统发育树结果(图 4)进一步表明, 菌株 YC 与异丝绵霉(*Achlya klebsiana*)菌株 CBS101.49 (GenBank 登录号

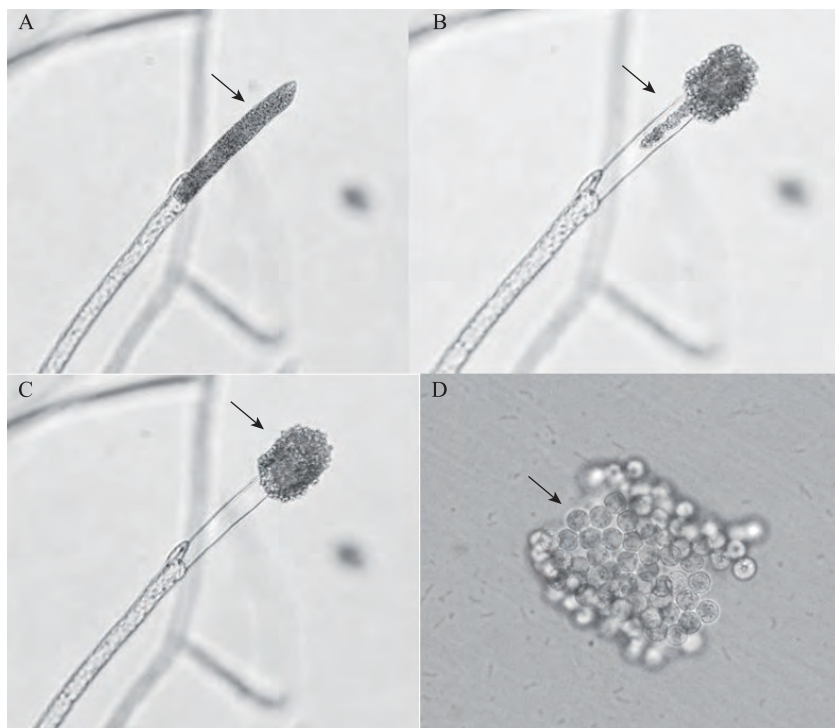


图1 菌株YC的无性繁殖特征

Fig. 1 Morphological characterizations of strain YC in asexual reproduction

注: A: 成熟的游动孢子囊; B: 游动孢子的释放; C: 游动孢子成团聚集在孢子囊口; D: 成团脱落的游动孢子。

Note: A: The mature zoosporangia; B: The discharge of zoospores; C: The zoospores clumping together at the tip of zoosporangia; D: A clump of deciduous zoospores.

AF119579)的亲缘关系最近。结合形态特征与 ITS rDNA 序列系统发育分析的结果,判定菌株YC为异丝绵霉(*Achlya klebsiana*)。

2.3 中草药和消毒剂对致病菌株的最小抑菌浓度

实验结果表明,在31种中草药中,黄连对菌株YC的抑菌效果最好,其对菌株YC的MIC为256 mg/L,其次是大蒜素和土槿皮,其对菌株YC的MIC分别为512 mg/L和1 024 mg/L;乌梅、川楝子、五倍子、菖蒲、大黄、生姜虽然对菌株YC也具有一定的抑菌效果,但其对菌株YC的MIC均不低于4 096 mg/L(表2)。而在11种消毒剂中,异噻唑啉酮对菌株YC的抑菌效果最好,其对菌株YC的MIC为2 mg/L,其次是硫酸铜和亚甲基蓝,其对菌株YC的MIC均为16 mg/L;碘基水杨酸、戊二醛、苯扎溴铵、硫酸亚铁、次氯

酸钠对菌株YC也具有一定的抑菌效果,但其对菌株YC的MIC均不低于128 mg/L(表3)。



图2 菌株YC次生孢子囊的侧生现象

Fig. 2 The new zoosporangium of strain YC renewed laterally from the base of the old one

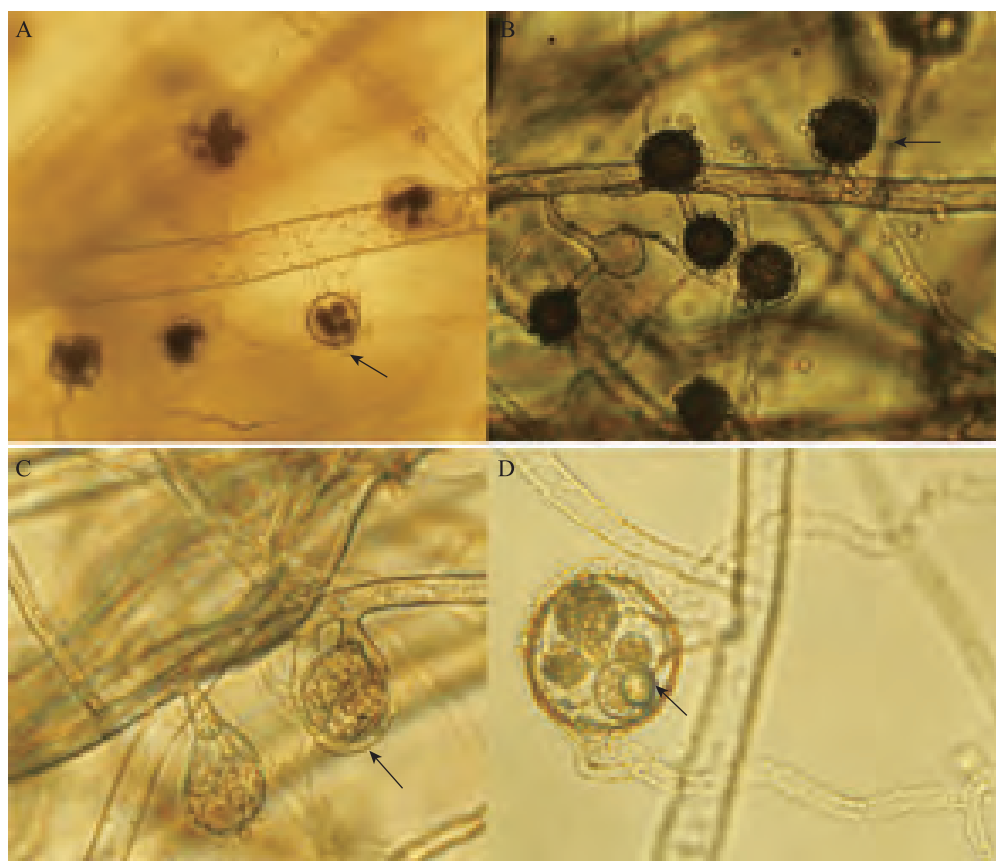


图3 菌株YC的有性繁殖特征

Fig. 3 Morphological characterizations of strain YC in sexual reproduction

注: A: 成熟的藏卵器; B: 藏卵器与雄器异枝; C: 藏卵器与雄器同枝; D: 卵孢子内侧生1个大油球。

Note: A: The mature oogonium; B: Antheridial branches declinuous with the oogonium; C: Antheridium branches monoclinal with the oogonium; D: The oil body laterally forming in the oospore.

3 讨论

绵霉是水产动物水霉病最常见的病原真菌之一,曾引起乌鳢、鲤鱼卵等爆发水霉病^[8-9]。然而,从现有文献资料来看,国内外尚未见到异丝绵霉引起水产动物水霉病及其控制药物的报道。本实验从患水霉病的黄颡鱼卵上分离了致病性异丝绵霉菌株,详细描述了其无性繁殖和有性繁殖的形态学特征,并首次确定了其潜在的控制药物,是异丝绵霉引起鱼卵水霉病病原的首次报道,不仅丰富了水产动物水霉病的病原种类,而且为我国异丝绵霉引起的鱼卵水霉病的防治用药提供

了参考。

目前,关于水霉病病原真菌传统的分类鉴定方法,主要以形态特征为依据,但有些水霉病病原真菌在形态上不稳定,种间存在重叠形状,很难对种进行鉴定和命名^[10]。近年来,基于 ITS rDNA 序列分析的分子生物学鉴定技术进一步弥补了水霉病病原真菌传统分类鉴定方法的不足。由于 ITS 区域具有种内相对一致、种间差异比较明显的保守性,同时具有序列片段较小,易于分析的优点^[3],因而其在水霉病病原真菌的分子鉴定、种群间的系统发育关系分析方面得到了广泛应用。如 Diéguez-Urbeondo 等^[11]通过测定 ITS

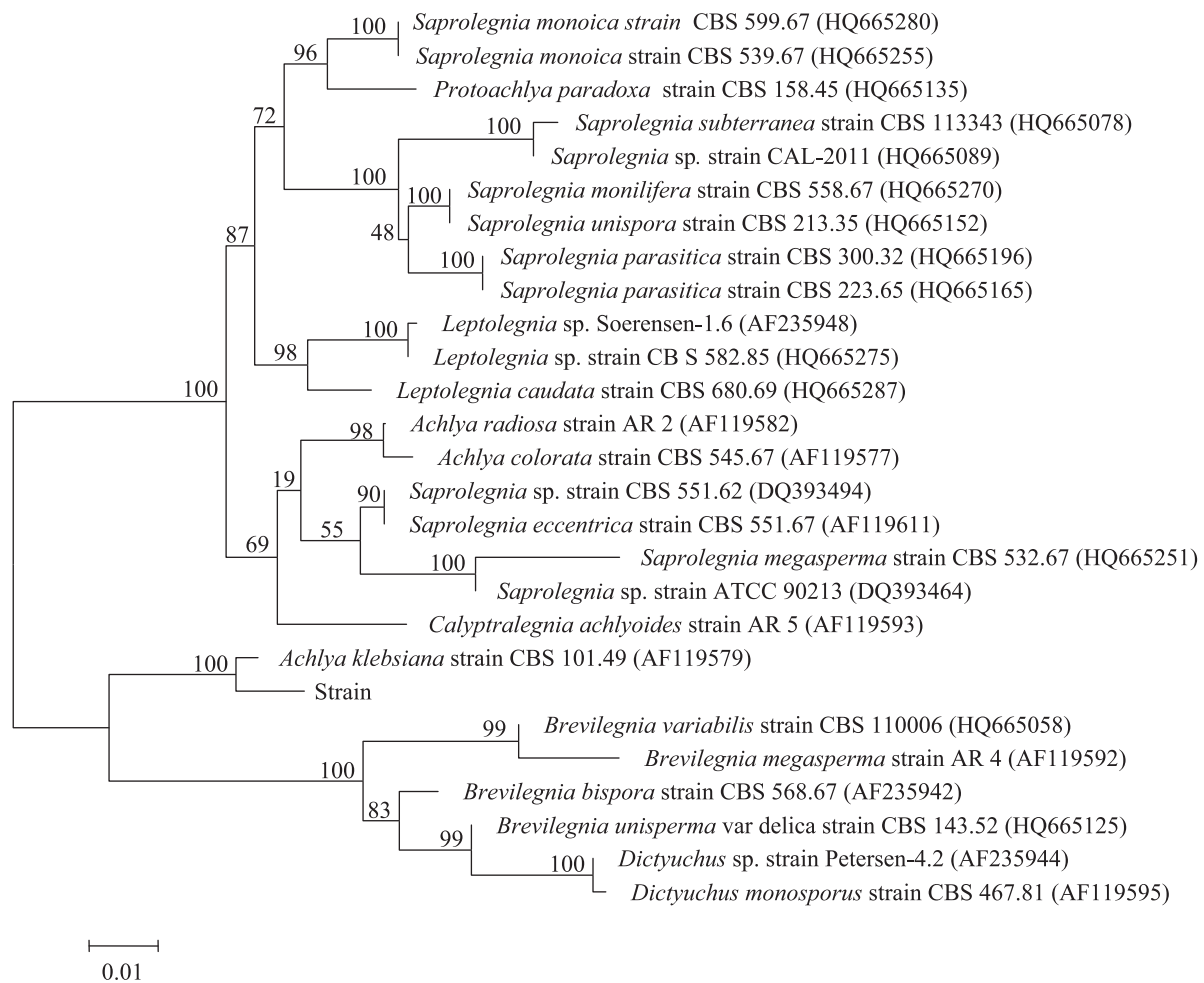


图 4 基于菌株 YC ITS rDNA 序列所构建的系统发育树

Fig. 4 The constructed phylogenetic tree based on the ITS rDNA sequence of isolate YC

注: 分支点上的数字表示 1 000 次 Bootstrap 重抽样分析的支持百分比; 括号中的序号表示 GenBank 数据库中的登录号。
Note: The number at each branch points is percentage supported by bootstrap for 1 000 times; Date in parenthesis is GenBank accession number.

表 2 中草药对菌株 YC 的最小抑菌浓度 Table 2 MICs of Chinese herbs against isolate YC														
中草药种类 Chinese herbs	浓度 Concentration (mg/L)													
	8 192	4 096	2 048	1 024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	0
乌梅 <i>Fructus mume</i>	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
黄连 <i>Rhizoma coptidis</i>	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
川楝子 <i>Fructus toosendan</i>	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
大蒜素 <i>Bulbus allii</i>	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(待续)														

(续表 1)													
五倍子 <i>Galla chinensis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
土槿皮 <i>Cortex pseudolaricis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
丁香 <i>Flos caryophylli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
蛇床子 <i>Fructus cnidii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
昆布 <i>Thallus laminariae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
八角茴香 <i>Illicium verum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
紫苏 <i>Fructus perillae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
苦参 <i>Radix sophorae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
黄精 <i>Polygonatum sibiricum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
紫草 <i>Radix lithospermi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
姜黄 <i>Rhizoma curcumae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
黄柏 <i>Cortex phellodendri</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
茵陈 <i>Herba artemisiae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
冰片 <i>Borneolum syntheticum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
地肤子 <i>Fructus kochiae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
小茴香 <i>Fructus foeniculi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
白鲜皮 <i>Cortex dictamnii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
黄芪 <i>Radix astragali</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
使君子 <i>Fructus quisqualis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
前胡 <i>Radix peucedani</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
虎杖 <i>Radix polygoni</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
金银花 <i>Flos lonicerae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
槟榔 <i>Semen areca</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
丹皮 <i>Cortex moutan</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
菖蒲 <i>Acorus calamus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
大黄 <i>Rheum palmatum</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
生姜 <i>Zingiber officinale</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: +: 菌株 YC 生长; -: 菌株 YC 不生长.

Note: +: Obvious growth of strain YC; -: No obvious growth of strain YC.

表 3 消毒剂对菌株 YC 的最小抑菌浓度
Table 3 MICs of disinfectants against isolate YC

消毒剂种类 Disinfectants	浓度 Concentration (mg/L)													
	1 024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.125	0
氯化钠 Sodium chloride	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
碳酸氢钠 Sodium bicarbonate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
磺基水杨酸 Sulfosalicylic acid	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
异噻唑啉酮 Isothiazolinone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
苯扎溴铵 Bromogeramine	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
硫酸铜 Copper sulfate	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
戊二醛 Glutaraldehyde	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
双氧水 Hydrogen peroxide	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
亚甲基蓝 Methylene blue	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
次氯酸钠 Sodium hypochlorite	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
硫酸亚铁 Ferric sulfate	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: +: 菌株 YC 生长; -: 菌株 YC 不生长。
Note: +: Obvious growth of strain YC; -: No obvious growth of strain YC.

rDNA 序列, 将分离自鲑科鱼类水霉病的致病菌 *Saprolegnia diclina-Saprolegnia parasitica* complex 分为 5 个型; Ke 等^[12]通过形态观察和 ITS rDNA 序列分析相结合的方法成功地将分离于银鲫和斑马鱼水霉病的两个致病菌株 JY 和 BMY 鉴定为多子水霉(*Saprolegnia ferax*)。目前, 国内对水产动物致病性绵霉的形态学研究仍很匮乏, 而且基于 ITS rDNA 序列分析的绵霉分子生物学鉴定研究也处于起步阶段, 仅曾占壮等^[13]、周志明等^[14]做了相关报道。鉴此, 本实验不仅充分结合传统的形态鉴定方法与基于 ITS rDNA 序列分析的分子生物学鉴定技术确定了菌株 YC 为异丝绵霉, 而且首次在国内详细描述了致病性异丝绵霉的无性繁殖和有性繁殖的形态学特征。

自孔雀石绿被禁用以来, 养殖生产上主要使用五倍子、黄连、川楝子、乌梅、氯化钠、碳酸

氢钠、亚甲基蓝等一些中草药和化学药物治疗水霉病^[15-18]。然而, 这些药物对水霉病病原的抑制效果不尽相同。例如, 陈晓燕等^[19]研究表明, 黄连、川楝子、乌梅对乌龟水霉病致病菌株的 MIC 低于 3 130 mg/L, 对乌龟水霉病致病菌株的抑制效果最佳; 本实验结果表明, 虽然黄连对菌株 YC 的抑菌效果与陈晓燕等^[19]的观点相同, 但乌梅、川楝子对菌株 YC 的 MIC 与陈晓燕等^[19]的研究结果具有较大的差异。此外, 本实验还发现, 异噻唑啉酮对菌株 YC 的抑菌效果最好, 虽然与张世奇等^[20]的研究结论相同, 但其他消毒剂对菌株 YC 的抑菌效果与高鹏等^[21]的研究结果却有较大的不同。出现这种现象, 可能与水霉病病原的种类、生存环境及其菌株差异有关。因此, 鉴于水产动物水霉病的病原及其药敏特性均有所不同, 在养殖生产实践过程中对水霉病防治用药

时,切不可盲目对症用药,必须在分离纯化水霉病病原的基础上,针对水霉病病原的药敏特性选用有效药物,只有这样,才能达到及时、有效治疗水霉病的目的。

参 考 文 献

- [1] 黄峰, 严安生, 熊传喜, 等. 黄颡鱼的含肉率及鱼肉营养评价[J]. 淡水渔业, 1999, 29(10): 3-6.
- [2] 宋学宏, 陈葵, 王永玲, 等. EM 及重氢硫酸盐对黄颡鱼卵孵化中水霉的抑制作用[J]. 淡水渔业, 2007, 37(1): 9-13.
- [3] 可小丽, 汪建国, 顾泽茂, 等. 水霉菌的形态及 ITS 区分子鉴定[J]. 水生生物学报, 2010, 34(2): 293-301.
- [4] Benger S, Townsend P, Ashford RL, et al. An *in vitro* study to determine the minimum inhibitory concentration of *Melaleuca alternifolia* against the dermatophyte *Trichophyton rubrum*[J]. The Foot, 2004, 14(2): 86-91.
- [5] Stueland S, Heier BT, Skaar I. A simple *in vitro* screening method to determine the effects of drugs against growth of *Saprolegnia parasitica*[J]. Mycological Progress, 2005, 4(4): 273-279.
- [6] 邱庆连, 潘清清, 张友平, 等. 五倍子、乌梅等45种中草药提取物对锯缘青蟹致病弧菌的抑菌作用研究[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2010, 29(1): 34-38.
- [7] Padgett DE, Seymour RL, Johnson TW Jr. Biology and the systematics of the saprolegniaceae[M]. Wilmington: University of North Carolina, 2003: 452-481.
- [8] Kitancharoen N, Hatai K, Ogihara R, et al. A new record of *Achlya klebsiana* from snakehead, *Channa striatus*, with fungal infection in Myanmar[J]. Mycoscience, 1995, 36(2): 235-238.
- [9] Chukanhom K, Hatai K. Freshwater fungi isolated from eggs of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Thailand[J]. Mycoscience, 2004, 45(1): 42-48.
- [10] 李敏, 张龙, 姚俊杰, 等. 大鲵水霉病的特征及产生原因探究[J]. 现代农业科学, 2008, 15(2): 99-100.
- [11] Diéguez-Urbeondo J, Fregeneda-Grandes JM, Cerenius L, et al. Re-evaluation of the enigmatic species complex *Saprolegnia diclina*-*Saprolegnia parasitica* based on morphological, physiological and molecular data[J]. Fungal Genetics and Biology, 2007, 44(7): 585-601.
- [12] Ke XL, Wang JG, Gu ZM, et al. Morphological and molecular phylogenetic analysis of two *Saprolegnia* sp. (*Oomycetes*) isolated from silver crucian carp and zebra fish[J]. Mycological Research, 2009, 113(5): 637-644.
- [13] 曾占壮, 樊海平, 卓玉琛, 等. 养殖日本鳗鲡腐皮病真菌性病原的分离与鉴定[J]. 水生生物学报, 2011, 35(4): 652-658.
- [14] 周志明, 曹铮, 沈锦玉, 等. 河川沙塘鳢致病真菌的特性及分子生物学鉴定[J]. 淡水渔业, 2011, 41(2): 69-72.
- [15] 张为民. 中草药在鳗病防治中的应用[J]. 广东饲料, 1995, 4(5): 37-39.
- [16] 李川, 何登菊, 牟洪民, 等. 大鲵水霉病中草药治疗试验[J]. 河北渔业, 2010, 38(1): 33-33.
- [17] 刘富强. 在渔业生产上应用亚甲基蓝防治鲤鱼卵水霉病一例[J]. 渔业致富指南, 2009(15): 58-58.
- [18] 熊良伟, 孙继真, 叶建生. 几种药物对沙塘鳢水霉病的室内防治实验[J]. 渔业致富指南, 2009(16): 58-60.
- [19] 陈晓燕, 肖翰, 付晓艳. 55种中草药对广东乌龟水霉病致病菌的抑制作用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(33): 18855-18857.
- [20] 张世奇, 邱军强, 曹海鹏, 等. 防霉剂对水霉菌的抑菌效果研究[J]. 西南农业学报, 2011, 24(4): 1568-1572.
- [21] 高鹏, 杨先乐, 张书俊. 几种常用水产消毒剂对水霉的体外作用效果[J]. 水产科技情报, 2007, 34(6): 247-250.