

{研究简报}

花鲈水霉病及其病原的初步研究*

李爱华 聂品 卢全章

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

A PRIMARY STUDY OF SAPROLEGNIASIS AND ITS PATHOGEN OF *LATEOLABRAX JAPONICUS*

Li Aihua, Nie Pin and Lu Quanzhang

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词 水霉病, 花鲈

Key words Saprolegniasis, *Lateolabrax japonicus* (Japanese sea perch)

山东省高青县水产试验场于1997年11月底开始发生花鲈水霉病, 此后不断有鱼因此病而死亡, 12月中旬达到高峰, 最严重时日死亡率达到1%左右。发病期间水温在5℃以下, 有时水面还有薄冰。虽然水霉病是鱼类越冬期间的一种常见病, 但由于该县地处氯化物水型的盐碱地区, 在这种水体中发生的水霉病国内还未报道。为此, 对该病进行了初步研究。现报道如下:

1 材料与方法

1.1 材料来源 病鱼标本取自山东省高青县水产试验场发病的花鲈(*Lateolabrax japonicus* Cuvier et Valenciennes), 病鱼体长 $17.24 \pm 2.1\text{cm}$ ($n = 9$)。

1.2 分离及培养基 从病鱼体表取少量菌丝, 直接接种到沙堡劳琼脂(Sabouraud dextrose agar)斜面上(1000ml中含蛋白胨10g, 琼脂20g, 葡萄糖40g, 氯霉素125mg, pH5.4); 或将带有菌丝的组织先在75%的酒精中浸泡2—3min后再接种。15℃培养4—6d。

1.3 菌丝生长及孢子发芽的观察 取上述沙堡劳琼脂上生长的真菌的外菌丝, 在灭菌自来水中漂洗3次, 然后转移到30ml灭菌的自来水中, 20℃培养24h后取水样在显微镜下观察菌落生长情况。另外, 洗涤菌丝的自来水3—5滴加到稀释10倍的GY培养基中(1000ml蒸馏水中加入10g葡萄糖、2.5g酵母提取物)。20℃培养3—5d后观察孢子发芽。

真菌形态结构的显微观察采用4%福尔马林固定标本和沙堡劳琼脂上的新鲜培养物。

2 结果与讨论

2.1 池水的水质 Na^+ : 175.44—186.15mg/L; K^+ : 68.3—71.5mg/L; Cl^- : 221—391.7mg/L; SO_4^{2-} :

*“九五”国家重点科技攻关项目

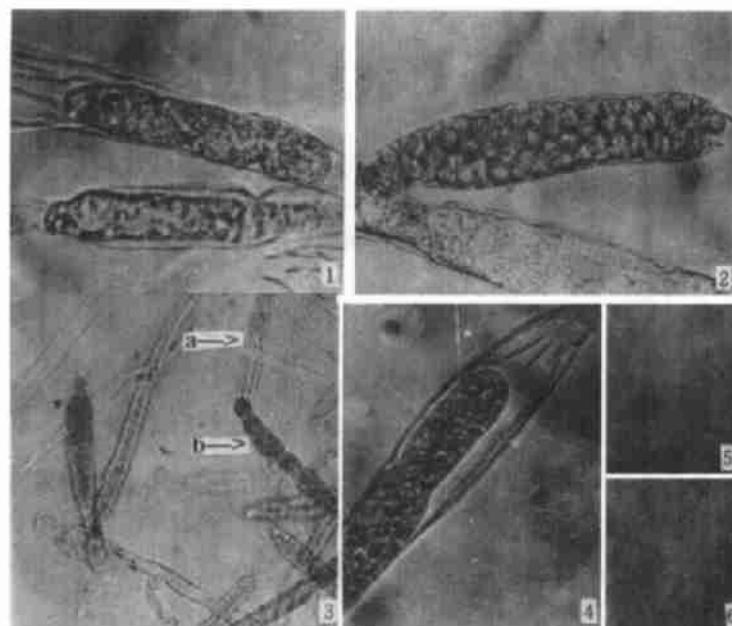
1998-09-28收到; 1999-05-19修回

157.3—221.5mg/L; NH_4^+ : 0.154—0.17mg/L; PO_4^{3-} : 0.033—0.075mg/L, 盐度 3‰, 属于典型的氯化物水型。池塘水深 1.7—2.0m, 发病期间水面有薄冰, 但这种气温条件对病情发展无明显影响, 这说明这种水霉对低温有很强的适应性。

水霉病是淡水鱼类的常见病, 过去一直认为霉菌对盐度非常敏感, 食盐也成为治疗水霉病的常用药物之一^[1-2]。然而这次花鲈水霉病却发生在半咸水域中, 这在国内国外的资料中很少见, 成为本次水霉病发生的一大特点。

2.2 霉菌生长特性 从病鱼体表直接取样接种于沙堡劳培养基, 真菌生长良好。如果在接种前将外菌丝在 70% 酒精中浸泡 2—5min, 有的生长良好, 而有的则不能生长。如果将培养基上的生长物再在相同培养基(含有 125mg/L 的氯霉素)上接种一次, 则菌落生长旺盛, 菌落为乳白色或淡黄色, 有光泽, 但外菌丝不明显。外菌丝可在自来水中发育成孢子囊, 产生动孢子, 动孢子也可在灭菌自来水中发芽, 可在 1/2GY 培养基中发育成外菌丝。

2.3 霉菌的显微结构及鉴定 内菌丝(Mycelia)发达, 纤细而繁多。外菌丝(Hyphae)中等粗壮, 无分隔, 有稀疏分枝。动孢子囊(Zoosporangium)很多, 一般比菌丝稍大, 但直径不等。随着菌丝的发育、加粗, 菌丝内的胞质向其顶端注入, 并逐渐变粗, 内核变大, 颜色加深。菌丝顶部浓缩区与下部出现明显分隔, 动孢子囊进一步变粗, 形成棍棒形或纺锤形, 或哑铃形。随着囊内菌核的分裂和胞质分割, 在动孢子囊的顶端开始形成排放颈(Discharging neck), 最后形成许多大小一致的圆球形动孢子(Zoospore)充满整个孢子囊, 在动孢子囊内排列规则, 最后逸出孢子囊。动孢子在囊内的这种排列方式有别于细囊霉属(*Leptolegnia*)和丝囊霉属(*Aphanomyces*)。孢子囊中的孢子排空后下面又开始出现第二代孢子囊, 并从上一代排空的孢子囊中伸出, 甚至有时可见动孢子囊的两端均为空囊, 而中间又出现一个新形成的动孢



1 成熟的动孢子囊, $\times 26$; 2 新动孢子囊从老囊中部再生, $\times 526$; 3 外菌丝(a); 厚垣孢子(b), $\times 327$;

4 动孢子囊从第一代囊中生长, $\times 526$; 5 动孢子, $\times 441$; 6 动孢子发芽, $\times 441$

1 Mature zoosporangium, $\times 26$; 2 Zoosporangial renewal in the middle of the empty old zoosporangium

$\times 526$; 3 Hyphae (a); Chlamydospore (b), $\times 327$; 4 Zoosporangial renewal, $\times 526$; 5 Cystospore in GY

broth, $\times 441$; 6 Cystospore germination, $\times 441$

子囊。孢子囊的这种更新方式具典型的内增殖型(Internal proliferation),但有时也可见从老囊下面芽生的。此外,有时可见念珠状或一节节的厚垣孢子(Chlamydospore),但不很多(图 I)。未见到象绵霉属(*Achlya*)那样,其动孢子聚集在囊口而不游散的情景。

外菌丝的宽度为8.5—14.6 μm ;未成熟的动孢子囊很长,有的可达438 μm ,宽度为11 μm ;趋于成熟的动孢子囊长60.8—102.2 μm ,平均79.3 μm ,宽度17.0—31.6 μm ,平均23.1 μm ,长宽比例变化很大;动孢子囊排放颈的宽度为6.1—10.9 μm ,平均8.5 μm ,而长度则变化较大;成熟动孢子囊内的孢子直径为6.1 μm ,而排放到孢子囊外的动孢子直径8.5—12.6 μm 。厚垣孢子平均长65.7 μm ;宽34.1 μm 。在福尔马林固定的鱼体标本中未见造卵器和雄器。根据这些特征,应将其定为水霉目水霉科中的水霉属(*Saprolegnia* C. G. Nees)。在这一属中有17个种,对养殖鱼类危害较大的有*S. monoica*、*S. diclina*、*S. parasitica*、*S. ferax*等,它们之间的区别只能依靠造卵器和雄器的结构。本次分离到的水霉由于未能观察到或培养出它的有性生殖器,所以尚难以确定其具体属于水霉属中的哪个种。

2.4 霉菌的病原性 通过对不同感染程度的近30尾病鱼所进行的检查发现,该病的发生有如下规律:病鱼先是出现因其它原因造成的病变,角膜变得混浊,然后此处开始有水霉感染。随着病情的发展,水霉感染的范围不断扩大,向眼睛四周及背鳍基部扩展,最后眼睛被厚厚的棉花状物所覆盖。如果眼睛正常,即使其周围被水霉包围也不会感染。所有病鱼都至少有一只眼睛被水霉感染,如果只有一只眼睛感染,那么其同侧体表的水霉明显多于另一侧。病情严重者可侵袭到鳃部,引起鳃丝轻度溃烂,并有少量水霉生长;内脏多数基本正常或有轻度炎症症状。除此之外,检查的所有病鱼中未发现其它部位有水霉感染,这成为本例水霉病的又一显著特点。这些特点也说明该病的原发病灶在眼部。鉴于在发病前投喂的饵料鱼(罗非鱼)其眼睛也有白内障,由此推断这次花鲈水霉病的发生是由于先感染了某种细菌性病原,在眼睛出现异常后再继发感染而致,在病鱼的血涂片中也发现有杆状细菌。

对于水霉病的病因学远不如对细菌病了解的那么充分,一般认为霉菌属于条件性的,在细菌或病毒感染之后的继发感染^[1,3],然而有些情况下水霉病的暴发确实与其它病原的感染无关,可能是由于水温剧降等应激因素造成鱼体免疫缺陷所致,因此,水霉能否作为原发病原存在不同看法。本次水霉病的发生特点支持水霉作为继发病原的观点。

作者曾将含有动孢子的水样直接加入到水体中,30d后5尾试验鱼均无任何异常,也未见鳞片脱落处或其它部位有水霉感染。其原因可能是多方面的。所用的试验鱼为鲫鱼而非其原宿主花鲈,所用的水为自来水而非氯化物型水,这些都与发病鱼池的情况有较大不同,从而影响了人工感染的成功。特别是水霉感染的条件目前尚不清楚,而且受温度、盐度和有机质等多种因素的影响。从调查的情况分析,水霉似乎只能在细菌感染灶处生长,而除此之外的其它任何部位都未见有水霉感染。Hatai等报道,用从kokanee salmon 背鳍上分离到的一株水霉进行人工感染试验,结果只在 Moon fish 上感染成功,而对 Gold fish 和 White cloud mountain fish 感染均告失败。

对于水霉病的治疗,多年来国内外均无大的进展^[7]。福尔马林、硫酸铜、食盐、孔雀石绿、亚甲蓝等仍是使用或研究的重点药物。在本次水霉病的治疗过程中,使用25mg/L的生石灰及0.7mg/L的硫酸铜,结果水霉病得到了控制,但池鱼因细菌病未加治疗而继续死亡。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院水生生物研究所主编. 湖北省鱼病病原区系图志. 北京:科学出版社, 1973, 32—41
- [2] Kitancharoen N, Ono A, Yamamoto A, et al. The fungistatic effect of NaCl on rainbow trout egg saprolegniasis. *Fish Pathology*, 1997, 32:159—162
- [3] Szalai A J, Durborow R M and Clem L W. Experimental transmission of *Saprolegnia* and *Achlya* to fish. *Aquaculture*, 1987, 64(1):1—7