

中国对虾镰孢菌病及病原生物学的初步研究

吴定虎 曾华伟

(厦门市水产研究所)

镰孢菌又名镰刀菌(*Fusarium*)在对虾等虾类上寄生,并引起虾类大量死亡,日、美等国早有报道。Egusa and Ueda(1972)、Johnson(1974)、福代(1974)、Lighther and Fontaine(1975)、烟井等(1978)、Burns(1979)、Egusa(1981)等。国内仅俞开康等(1987),首次报道了此病在我国河北及浙江的越冬中国对虾亲虾上发现。我们于1988年4月在厦门产后中国对虾亲虾的鳃上也发现该病原体,并引起亲虾死亡。现将病例及病原生物学初步研究的结果报告于下。

材料与方法

材料来自厦门市水产养殖公司对虾育苗场,产后中国对虾亲虾的鳃。发现病原后,进行形态观察,以目测微尺测量其大小。并把寄生有镰孢菌的新鲜鳃取一小块,于酒精灯旁移培培养于Mycobiotic琼脂培养基,在25℃培养箱进行恒温培养。而后按常规微生物学操作,培养。保种。并另外用其它三种真菌培养基、改变Mycobiotic琼脂培养基的盐度等来研究镰孢菌在不氏的培养、生长等条件下的特性。

结果

一、症状及危害性:

病虾鳃呈土黄色,严重时局部或整个鳃

呈淡褐色或黑褐色,尤其鳃丝的末端,表现为黑褐色的斑点,病变部位的鳃组织较正常组织为硬结。在显微镜下观察可见镰孢菌的菌丝体及大小分生孢子充满鳃组织,并伸出鳃组织,使鳃丝末端象“花朵”状。有的病虾头胸部、腹部及附肢基部呈淡褐色或黑褐色。

被寄生的鳃组织受到严重破坏,使鳃的呼吸机能受到阻碍。病虾体色较深,活力差,游动缓慢,反应迟钝,静卧于池底而陆续死亡。

二、病原生物学:

1.病原体的形态特征:病原为镰孢菌(*Fusarium* sp),菌丝细长,菌丝体呈树枝状但分枝不太多。菌丝没有横隔,直径为2.24—6.71微米。繁殖方法主要以形成分生孢子方式进行。但环境不良时,也可形成厚膜孢子,渡过不良环境。被寄生的鳃组织经常可见大量的大分生孢子,少量的小分生孢子及极少数的厚膜孢子。大分生孢子呈镰刀形或新月状,具1—7个横隔,多数为5—6个横隔,个别也有8个横隔。大分生孢子大小为23.84—56.62×3.87—5.96微米;小分生孢子呈椭圆形,肾形或短棒状,多数没有横隔有的具1—3个横隔,其大小为8.2—17.88×2.98—5.66微米;厚膜孢子呈圆形或椭圆形,多数为2—4个连在一起,少数为单个。

厚膜孢子圆形，直径为6.12—9.12微米。大、小分生孢子及厚膜孢子均可萌发形成新菌丝。但是用含有大量分生孢子的病虾鳃组织，在19—23℃水温下感染中国对虾的蚤状幼体、糠虾、仔虾均未能使其感染。

镰孢菌对盐度适应能力很强。人工培养基盐度在0—4%都能良好生长并繁殖，而且盐度高达5%时，也可培养、生长。但盐度10%时培养、生长就很缓慢。

2. 在人工培养基上培养特性：在Mycobiosic培养基，在25℃恒温培养，经24小时培养，便在接种块的周围形成直径0.5厘米，灰白色毛状的菌落。48小时菌落直径达1厘米以上菌落基部变为黄褐色，此时生长的多为菌丝体并逐步成熟、进行繁殖。开始有少量的分生孢子出现，而且多为小分生孢子，大分生孢子很少。培养96小时出现繁殖盛期，菌丝体很少，代之以大量的分生孢子，以大分生孢子居多。此时菌落基部的颜色加深，颜色变化：浅黄→桔红→棕→褐黄→深灰褐色。此培养特性是与病虾鳃上出现的症状相吻合。

在Mycobiotic培养基上生长的菌丝体，当移入天菌海水中，在25℃经10—20小时培养可在菌丝末端形成1—3个连续排列的圆形厚膜孢子直径为6.12—9.12微米。

镰孢菌在PYG液体培养基上，菌丝能很好生长，但不形成大小分生孢子。当移入天菌海水时，经48小时培养即可形成少量的大小分生孢子和许多厚膜孢子。而在Johnson—Sparrow氏培养基上镰孢菌可生长，但生长速度很慢，而且菌落界限不清，菌落基部也不产生色素。而在盐度为0的萨氏培养基，生长速度和成熟、繁殖能力则与在Mycobiotic琼脂培养基类同。

此外，还做了药物对镰孢菌生长的影响。发现用孔雀绿，亚甲基兰两种药物在浓度高达10ppm，28℃下浸24小时的镰孢菌成份（大小分生孢子，菌丝体）只有抑制作用而无全杀死的作用。孔雀绿的明显抑制浓度

需大于1ppm以上，而5ppm即可达满意的抑制效果。亚甲基兰则需5ppm才有抑制作用而且比孔雀绿的抑制效果差得多。

从这些培养特性，可以看出镰孢菌对盐度有很强的适应范围和对药物的抗性。

三、发病情况：

1988年4月9日该场将产后中国对虾亲虾270尾放入7号池(60m²)。入池后便发现陆续死亡，每天死亡3—5尾，多则7—8尾。6天共死亡35尾，死亡率达12.9%（发病后便陆续卖掉）。经镜检镰孢菌感染率达100%，检查13尾病虾（包括死亡或将死），其中严重感染的8尾占61.5%，中度感染的3尾占23.1%，轻位感染的1尾占15.4%。发病亲虾的大小为12.5—16.5厘米。发病池水温20℃，比重1.020，PH8.1。

2月8日曾在该场检查10尾越冬的中国对虾亲虾，则未见此病。此病与海壶菌(Aaliphthros sp)，丝状细菌，绿毛目纤毛虫及爱氏楔形藻卵形变种(Licmophora chembergii var. ovata(W, Sm) Van Heurck)等病并发，使病情加重。

讨论

从中国对虾鳃上分离的镰孢菌与福代(1974)、烟井等(1978)，从日本对虾上分离的马铃薯镰孢菌又称腐皮镰孢菌(F. Solani)形态基本是一致的。所以我们认为中国对虾鳃上感染的镰孢菌与上述是同种，定为腐皮镰孢菌(F. Solani)，与俞开康(1987)从中国对虾鳃上分离的镰孢菌，2个株系中的株系I较相近。是否同种，有待进一步研究。

由于该菌广泛存在于土壤中，引起大豆、花生、马铃薯等陆生作物发病。病原菌可在种子、土壤、残病植株上越冬，而后传播给新的幼苗；其生命力极强，在0—10%氯化钠浓度中均可生长。故传播途径可能是

下转第90页

虾的集中在头天晚上增加。这个方法也可以用来防止海莴苣和绿藻的蔓延，同时也能保持沙层的疏松和干净。在使用水流型时，水压不致伤害对虾。事实上，从初夏直到晚秋的培育期间，通过这种作业，几乎没有对虾遭到伤害或损失。特别在夏天，对虾潜沙深度很浅，当机器与池底一接触，大多数对虾就立即从沙里逃出，逃出的对虾是由于水泵压力的扰动，但过后不久又再潜回沙中。

(2) 喷洒氧化铁：从夏天到秋天，由于底质硫化物硫黄量增加，所以采用硫黄与铁起反应形成硫化铁的方法，来防止硫化氢的形成。1965年和1966年在养殖池中喷洒了大约150吨硅酸铁（约含70% FeO）覆盖了15.3公顷的面积。据发现，1米²面积需硅酸铁约为1公斤。实验用1.8公斤/米²的比例，喷洒三菱金属工业直岛精炼所生产的无机硅铁（商品名）于池中选择的两块各测量为2×10米的小区，发现硫黄的浓度立刻下降，这种化学药品会很快地吸收硫化氢。

根据平野（Hirano）的实验，喷洒了氧化铁的实验池的对虾产量和生长都比对照池好。实验及其结果概括如下：对虾饲养在水质和其他条件都保持相似的两个水池中（3.3米²）。一个水池除了喷洒氧化铁（2公斤）外，其他条件都保持和对照池相似，饲养了60天。比较两个水池的饵料摄食总量，存活率和产量，结果表明喷洒的水池比对照池好得多。很显然，喷洒氧化铁是保持底质良好条件的有效方法，尤其对小虾养殖更为需要。

（选自《海水养殖》88.3）（陈子强 编译）

上接第25页

对虾摄食了含有镰孢菌的豆并，花生并等配制成的饵料而传染，並引起发生，对此有待进一步研究，以确定感染源及传播途径。

镰孢菌不仅生命力强，而且对药物耐受力也极强，烟并、江革（1974）试验了40种药物的感受性，却没有找到一种药物能抑制镰孢菌生长又对好没有毒害。我们做了，孔雀绿及亚甲基若抑菌实验也证实了这点。随着养虾业的发展，天然饵料势必供不应求，必须要投喂人工配合饵料，如果花生并、豆并是感染源，则此病势必会进一步蔓延、发展。因此，必须尽快研究防治方法以免造成重大的经济损失。

附：各种端培养基配方

PYG液体培养基：

1. 蛋白胨1.25g； 酵母膏1.25g；
葡萄糖3.0g； 海水1000ml
青霉素、链霉素各50单位/毫升
2. Mycobiotic琼脂培养基：
蛋白胨10g； 葡萄糖10.5g
琼脂145g； 食盐20g
蒸馏水1000ml 青霉素、链霉素各
100单位/毫升
3. Johnson-Sparrow氏葡糖酵母培养基：
葡萄糖1g； 酵母膏0.1g
琼脂18g； 陈海水1000ml
4. 萨氏(Sabouraud)培养基：
蛋白胨10g； 葡萄糖10g
糖脂115g； 蒸馏水1000ml

（选自《鱼病简讯》88.3-4）