

黄泊文, 向菲, 田子琦, 等. 冬春季大口黑鲈溃疡症病原分离鉴定及病理形态学观察 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(4): 549-555.
HUANG Bowen, XIANG Fei, TIAN Ziqi, et al. Pathogen isolation, identification and pathomorphological observation of ulcerative syndrome of largemouth bass in winter and spring[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(4): 549-555.

冬春季大口黑鲈溃疡症病原分离鉴定及病理形态学观察

黄泊文¹, 向菲¹, 田子琦¹, 耿毅¹, 欧阳萍¹, 黄小丽², 陈德芳², 阳涛³

(1 四川农业大学 动物医学院, 四川 成都 611130; 2 四川农业大学 动物科技学院, 四川 成都 611130;

3 通威股份有限公司 动物保健研究所, 四川 成都 610041)

摘要:【目的】近年来, 养殖大口黑鲈 *Micropterus salmoides* 在冬春季流行一种体表形成明显溃疡的疫病, 本研究旨在明确其病因。【方法】从眉山东坡区和洪雅县采集病料, 采用病原学、病理学和分子生物学相结合的方法对患病鱼进行研究。【结果】溃疡组织压片观察到大量直径 10~30 μm 、长丝状且分支较少的菌丝体; 组织病理学上, 肌纤坏死、溶解, 炎性细胞浸润, 病变组织中分布大量由上皮样细胞、纤维细胞及位于中央的菌丝体组成的霉菌性肉芽肿; 六胺银染色 (Periodic acid-silver methenamine, PASM) 发现, 霉菌性肉芽肿中央的菌丝体呈黑色。病变肌肉组织基于侵入丝囊霉菌 *Aphanomyces invadans* ITS 基因的特异性 PCR 检测为阳性。以葡萄糖/蛋白胨 (Glucose and peptone, GP) 琼脂分离培养得到的霉菌纯培养物 (BW1、BW3) 在灭菌池塘水过夜培养 12 h 后, 形成原孢子囊, 符合侵入丝囊霉菌属特征; 两株分离霉菌 ITS 基因序列分析发现, 其与侵入丝囊霉菌 ITS 基因的序列相似性分别为 99.64% 与 99.46%, 在系统发育树上与侵入丝囊霉菌聚类为一支。【结论】确定大口黑鲈冬春季溃疡病是侵入丝囊霉菌感染所致。

关键词: 大口黑鲈; 流行性溃疡综合征; 侵入丝囊霉菌; 组织病理学; 霉菌性肉芽肿

中图分类号: S941.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)04-0549-07

Pathogen isolation, identification and pathomorphological observation of ulcerative syndrome of largemouth bass in winter and spring

HUANG Bowen¹, XIANG Fei¹, TIAN Ziqi¹, GENG Yi¹, OUYANG Ping¹, HUANG Xiaoli², CHEN Defang², YANG Tao³

(1 College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2 Department of

Aquaculture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 3 Animal Health

Research Institute of Tongwei Co., Ltd., Chengdu 610041, China)

Abstract: 【Objective】In recent years, outbreak of an epidemic disease with significant ulcers on the pond-farmed largemouth bass (*Micropterus salmoides*) happen in winter and spring. This study aims to identify the underlying etiology. 【Method】To clarify its etiology, disease fish samples from Dongpo and Hongya District, Meishan were collected and analyzed using pathogenesis, pathology and molecular biology methods. 【Result】A large number of long filamentous and less-branched mycelia with 10–30 μm diameter were observed in the ulcerated tissues. Pathologically, we observed necrosis or lysed muscle fibers, inflammatory cell infiltration in

收稿日期: 2022-08-01 网络首发时间: 2023-05-25 10:37:37

首发网址: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/44.1110.S.20230523.1800.010.html>

作者简介: 黄泊文, 硕士研究生, 主要从事水生动物病原与防治研究, E-mail: 2091783173@qq.com; 通信作者: 耿毅, 教授, 博士, 主要从事动物病原学与病理学研究, E-mail: gengyisicau@126.com

基金项目: 四川省重点研发项目 (2022YFN0012); 四川省淡水鱼产业技术体系创新团队建设项目 (SCCXTD-15)

the muscle tissue, and distribution of numerous fungal granulomas consisting of epithelioid cells, fibroblasts, and central located mycelia in the lesion tissues. By using periodic acid-silver methenamine (PASM) staining, the mycelia in the fungal granulomas center displayed black colour. We confirmed the infection of *Aphanomyces invadans* in the lesion muscle tissues by PCR using species-specific primers that target the *ITS* gene of *A. invadans*. The *A. invadans* (BW1 and BW3) pure cultures were isolated by glucose and peptone (GP) agar and then incubated in sterilized pond water. Prosporangium formation was observed in the culture after 12 h incubation period, which was consistent with the characteristics of *Aphanomyces*. Based on *ITS* gene sequencing of BW1 and BW3, their *ITS* genes were found to have 99.64% and 99.46% sequence similarities with *A. invadans*, and the two strains clustered with *A. invadans* in the phylogenetic tree. 【Conclusion】 The ulcer disease of largemouth bass in winter and spring has been caused by *A. invadans*.

Key words: *Micropterus salmoides*; Epizootic ulcerative syndrome; *Aphanomyces invadans*; Histopathology; Fungal granulomas

流行性溃疡综合征 (Epizootic ulcerative syndrome, EUS) 是由侵入丝囊霉菌 *Aphanomyces invadans* 引起的一种季节性流行性疫病, 最早于 1971 年在日本养殖的香鱼中报道^[1], 目前已在澳大利亚、美国、印度等全球多个国家被发现, 已知可感染 160 多种鱼类^[2], 被世界动物卫生组织 (World Organization for Animal Health, WOAH) 列为法定申报疫病, 我国将其列为二类动物疫病。该病以体表红斑、鳞片掉落及皮肤坏死性溃疡为临床病变特征, 组织学上肌纤维广泛坏死和霉菌性肉芽肿为特征^[1, 3-4], 主要流行于冬春两季, 发病后死亡率最高可达 100%^[5-6], 给鱼类健康造成严重威胁。常藕琴等^[7]2019 年证实在珠江三角洲养殖的杂交鳢溃疡病的病原为侵入丝囊霉菌, 首次确认了流行性溃疡综合征对我国养殖鳢的危害, 目前在我国鲜见其他养殖鱼类感染发病的报道。

大口黑鲈 *Micropterus salmoides*, 又称加州鲈, 具有适应性强、生长快、易起捕、经济价值高等优点, 2019 年被列为我国渔业主导养殖品种, 在全国范围内推广^[8], 养殖面积与产量快速提升, 2020 年全国产量已达 62 万 t, 并有进一步发展的强劲势头。但随着大口黑鲈养殖的快速发展, 出现了如鳃诺卡菌病、运动性气单胞菌病等细菌性疾病; 车轮虫病、斜管虫病等寄生虫病和大口黑鲈病毒病、大口黑鲈肝脾肿大病等病毒性疾病^[9-10], 制约大口黑鲈养殖业健康发展。近年来养殖大口黑鲈在冬春两季发生一种以全身多处溃疡为病变特征的疫病, 给大口黑鲈养殖造成较为严重损失。本研究采集自然发病病例, 采用病原学、病理学和分子生物学相结合的方法进行检测, 以期明

确大口黑鲈冬春季溃疡病的病因, 为有效防控该病提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 病料来源

2020 年 11 月与 2021 年 3 月分别从四川眉山东坡区和洪雅县两地养殖场各采集患病明显的 6 尾大口黑鲈, 体质量均值 (540.3±75.9) g。

1.2 病理剖检与组织压片观察

按照常规方法进行病理剖检, 观察外部与内脏器官的病理变化; 取自然发病鱼溃疡灶, 置于载玻片上, 制做组织压片, 置于显微镜下观察并记录。

1.3 组织病理学观察及基于侵入丝囊霉菌 ITS 基因的特异性 PCR 检测

取溃疡灶与正常交接处组织与各内脏脏器官, 用体积分数为 10% 的福尔马林固定, 按常规石蜡切片的制作方法制作切片, 进行苏木精-伊红染色 (Hematoxylin-eosin staining, HE) 及基底膜六胺银 (Periodic acid-silver methenamine, PASM) 染色, 置于显微镜下观察并记录。用真菌 DNA 提取试剂盒 (Omega bio-tek) 提取患鱼病变肌肉组织 DNA, 作为 PCR 反应的模板, 参考 OIE 水产手册^[11] 侵入丝囊霉菌诊断规程, 合成 ITS11、ITS23 引物, 进行基于霉菌 ITS 基因的 PCR 检测, 预期扩增目的条带 550 bp。PCR 扩增产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 侵入丝囊霉菌的分离培养与形态学观察

真菌分离培养参照 OIE 水产手册^[11] 侵入丝囊霉菌诊断规程, 取溃疡组织置于葡萄糖/蛋白胨 (Glucose and peptone, GP) 琼脂中, 25 ℃ 条件下培

养并每日观察, 多次分离和纯化直到培养物无污染。带菌丝体的琼脂块置于葡萄糖/蛋白胨/酵母 (Glucose peotone and yeast, GPY) 肉汤中于 20 ℃ 条件下孵育。依次在 5 个含灭菌池塘水的培养皿中洗涤培养物后, 于灭菌池塘水 20 ℃ 过夜。约 12 h 后, 在倒置显微镜下观察。

1.5 分离侵入丝囊霉菌 ITS 基因序列分析

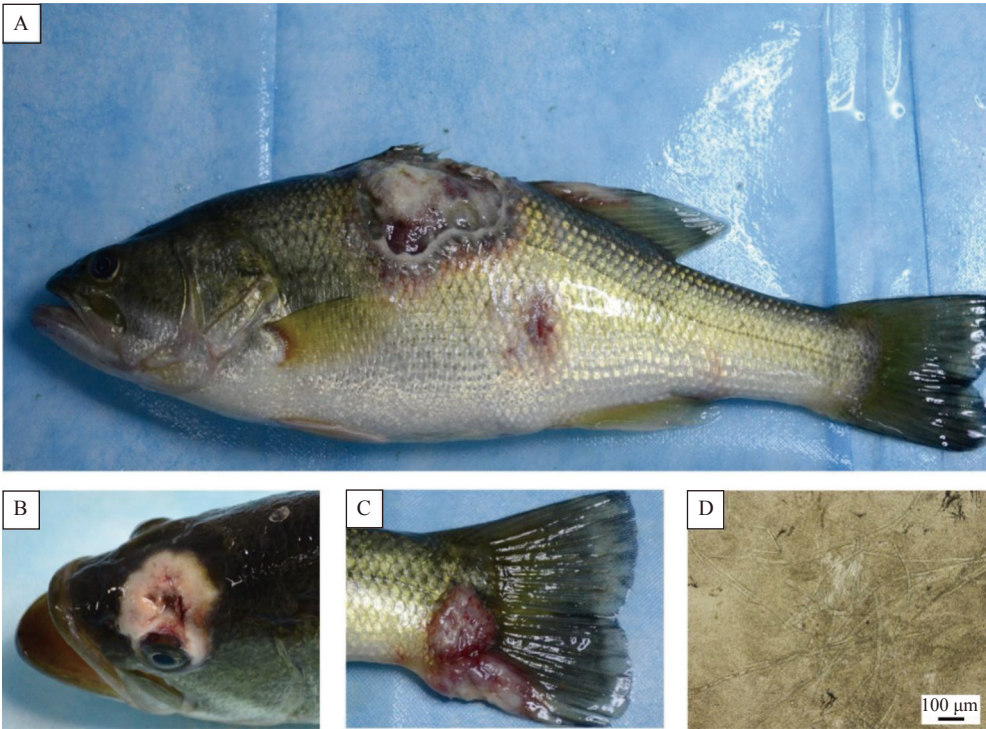
用真菌 DNA 提取试剂盒提取分离霉菌纯培养物 DNA, 作为 PCR 反应的模板, 使用“1.3”中引物序列及 PCR 程序扩增 ITS 部分基因, PCR 扩增产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测后, 目的条带切胶回收, 采用 TA 克隆法, 克隆至 pUCm-T 载体送成都擎科梓熙生物技术有限公司测序, ITS 基

因测序结果同 GenBank 数据库中的序列进行相似性比对分析, 用 Mega 11.0 软件采用邻接法构建系统进化树。

2 结果与分析

2.1 病理剖检及组织压片观察

患病大口黑鲈体表有形态不规则、大小不等的红斑及明显的体表溃疡, 皮肤肌肉坏死、溶解, 出血呈灰白色或血红色 (图 1A), 溃疡主要位于背部与体侧, 但部分病鱼溃疡发生在尾鳍或头部, 头部溃疡导致颅骨破损与穿孔 (图 1B、1C)。鳃与内脏器官除肝色泽呈土黄色外, 其他组织器官无明显的眼观病变。体表溃疡组织压片镜检, 可见大量长杆形、丝状、分支较少的菌丝体在肌肉中分布 (图 1D)。



A: 体表溃疡与红斑; B: 头部溃疡伴随颅骨破损; C: 尾柄基部溃疡; D: 溃疡压片组织中的菌丝体
A: Ulceration and red spot on the body surface; B: Head ulcer with skull breakage; C: Ulceration at the base of the tail fin; D: Mycelia in the squashing tissue

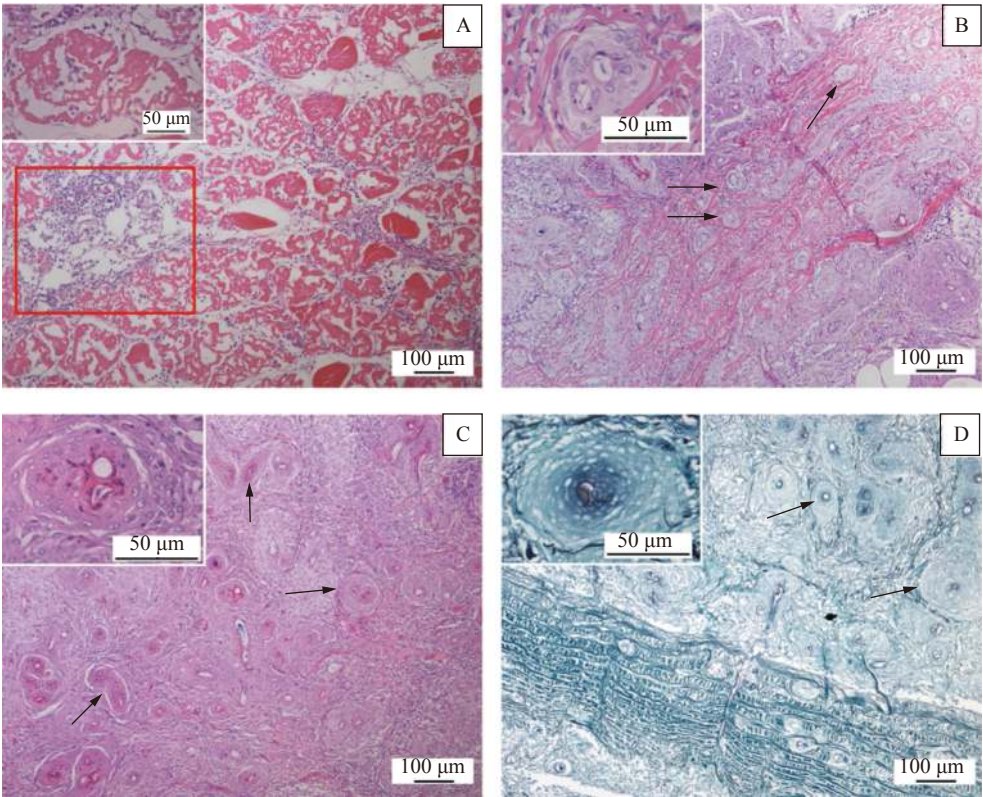
图 1 自然感染大口黑鲈临床症状及压片观察

Fig. 1 Clinical symptoms of naturally infected *Micropterus salmoides* and squashing tissue observation

2.2 组织病理学及基于侵入丝囊霉菌 ITS 基因的特异性 PCR 检测

镜下观察 HE 染色的溃疡组织病理切片, 皮肤表皮坏死、脱落; 骨骼肌广泛性变性、坏死, 肌纤维横纹消失, 肌浆凝固, 均质红染, 甚至断裂、溶解; 肌间隙与坏死的肌纤维内大量炎症细胞浸润 (图 2A)。特征性的病变是在病变的肌肉与皮肤真皮中分布有大量境界清晰的大小不等、圆形或椭圆形的霉菌

性肉芽肿, 肉芽肿中心为菌丝体 (图 2B、2C), PASM 染色呈黑色 (图 2D), 其外由大量上皮样细胞包绕, 再外则是纤维细胞围绕形成境界清晰的肉芽肿结节。除肝有一定程度的空泡变性外, 鳃、脾、肾与心等内脏器官无明显的病变, PASM 染色也未见菌丝体。从两地患病鱼溃疡组织中提取霉菌 DNA, 基于侵入丝囊霉菌 ITS 基因的特异性 PCR 检测, 结果呈阳性 (图 3)。



A: 肌肉坏死, 红框表示肌纤维内大量炎症细胞浸润, 左上角插入图为坏死肌纤维高倍数图, HE 染色; B: 皮肤真皮结缔组织中大量霉菌性肉芽肿 (箭头标记), HE 染色; C: 肌肉组织中大量霉菌性肉芽肿 (箭头标记), HE 染色; D: 真皮与肌肉中的霉菌性肉芽肿, 中心为黑色菌丝体 (箭头标记), PASM 染色; 图 B、C、D 左上角插入图为肉芽肿高倍数图

A: Necrosis of muscle fibers, the red box indicates massive infiltration of inflammatory cells in the muscle fibres, insert at the upper left corner shows high magnification of necrotic muscle fibres, HE stained; B: Massive fungal granulomas in dermal connective tissue (marked by arrow), HE stained; C: Massive fungal granulomas in muscle tissue (marked by arrow), HE stained; D: Fungal granulomas in dermis and muscle, with black mycelia in the center (marked by arrow), PASM stained; Inserts at the upper left corners of figure B, C and D show enlarged granulomas

图 2 大口黑鲈组织病理学变化

Fig. 2 Histopathological lesions of *Micropterus salmoides*

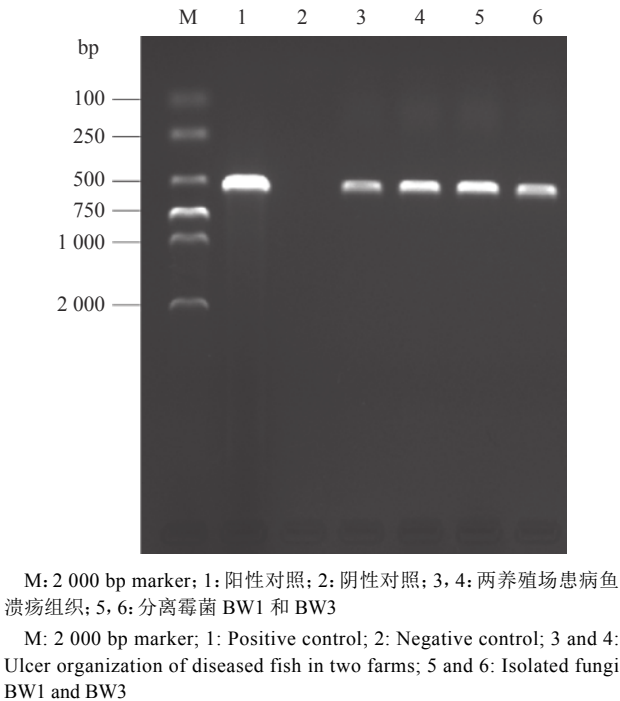


图 3 侵入丝囊霉菌 ITS 基因 PCR 扩增电泳图

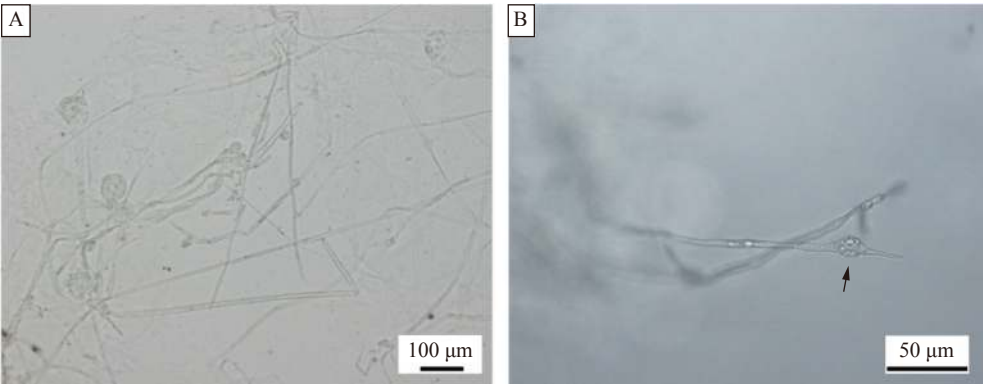
Fig. 3 Electropherogram of the PCR amplification product of *Aphanomyces invadans* ITS gene

2.3 侵入丝囊霉菌的分离与形态学观察

从两地患病鱼溃疡灶取的肌肉块置于 GP 琼脂, 25 ℃ 条件下培养并每日观察, 至肉眼可见有纤细菌丝体在培养基上形成 (分别命名为 BW1 和 BW3), 将分离纯化的菌丝体连带琼脂块转移至 GP 肉汤中。培养 12 h 后在显微镜下观察, 可见形态单一、直径 10~30 nm 的纤细菌丝漂浮在 GP 肉汤中 (图 4A)。将菌丝从琼脂块洗脱后置于无菌池塘水中, 20 ℃ 培养 12 h 后在倒置显微镜下观察, 可见原孢子囊在菌丝体体部形成 (图 4B)。

2.4 分离丝囊霉菌 ITS 基因序列分析

采用真菌 DNA 提取试剂盒提取分离霉菌 BW1 与 BW3 的全基因组 DNA 作为模板, 使用侵入丝囊霉菌特异性引物 PCR 扩增 ITS 基因部分序列, 结果扩增出 550 bp 的预期目的片段 (图 3), TA 克隆测序后上传 GenBank 获得登录号分别为 ON175890 与 ON175891。在以 ITS 部分基因序列及其近缘种的 ITS 序列采用邻接法构建系统发育树 (图 5), BW1(ON175890) 和 BW3(ON175891)



A: 琼脂块压片; B: 纯培养物 (箭头标记处为原孢子囊)
A: Squashing agar block; B: Pure culture (prosporangium is marked by arrow)

图 4 侵入丝囊霉菌形态观察

Fig. 4 Morphology of *Aphanomyces invadans*

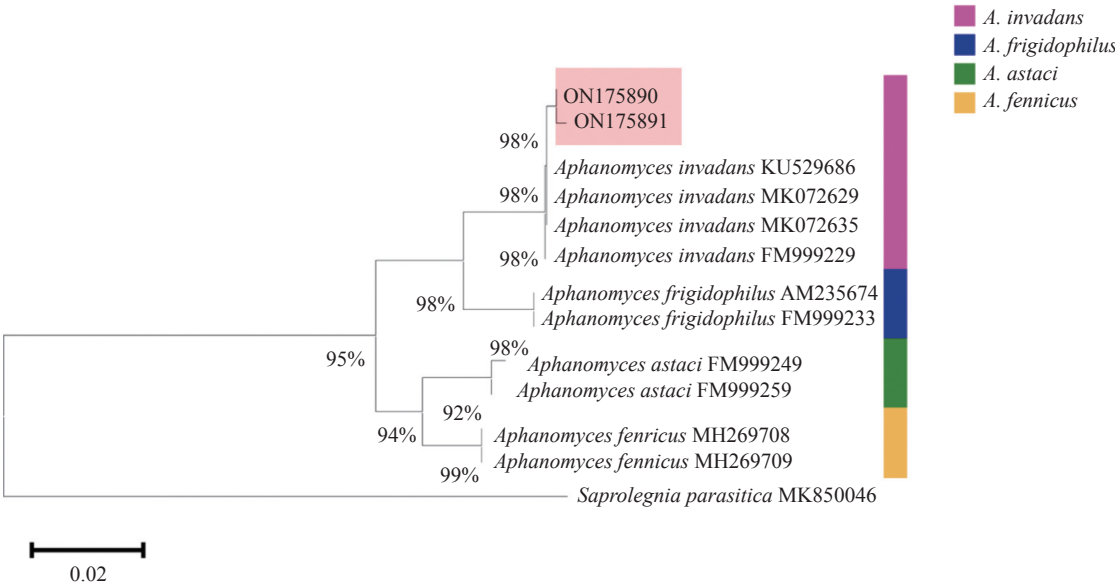


图 5 基于 ITS 基因的分离霉菌 BW1 和 BW3 的系统进化分析

Fig. 5 Phylogenetic tree of the isolated fungal strains BW1 and BW3 based on ITS gene sequences

与侵入丝囊霉菌聚为一支，其 ITS 基因序列相似性分别为 99.64% 和 99.46%。

3 讨论与结论

大口黑鲈作为我国渔业重要主导养殖品种，时常发生以体表溃疡为临床病变特征的疾病给其健康养殖造成威胁，现已报道引发大口黑鲈出现体表溃疡的病原有维氏气单胞菌 *Aeromonas veronii*、温和气单胞菌 *A. sobria*、弗氏柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii*、鲰诺卡菌 *Nocardia seriolae* 和大口黑鲈虹彩病毒 (Largemouth bass ranavirus) 等^[12-14]。近年来养殖大口黑鲈在冬春两季流行一种以溃疡为临床病变特征的疫病，其病因尚不清楚，我们前期进行了已报道相关病原的检测，结果未检出相关病毒，偶尔检出运动性气单胞菌，但并非所有的样本都能

检出。本研究分别于 2020 年 11 月与 2021 年 3 月从四川两养殖场采集自然发病病料，采用病原学、病理学和分子生物学相结合的方法对患病鱼进行研究，所有的患病鱼发现相同的病理损伤特征，也均检出侵入丝囊霉菌，从而证实大口黑鲈冬春季流行的溃疡症是侵入丝囊霉菌感染所致。该结果不仅为大口黑鲈冬春季流行的溃疡症的防控提供了依据，同时也表明侵入丝囊霉菌可自然感染大口黑鲈，并造成较为严重的危害，因此，在大口黑鲈养殖中对侵入丝囊霉菌感染引起的流行性溃疡综合症 (EUS) 应给予高度关注。

自 1971 年在日本报道侵入丝囊霉菌感染养殖香鱼引发 EUS 以来，EUS 已在非洲、澳洲、南亚和美洲等地多个国家流行，已知可感染 160 多种鱼类，被认为是水生动物病原中感染宿主最广的病

原,对养殖与野生鱼类都造成较大危害^[15-16]。在我国尽管不时有疑似 EUS 的报道,但都未确诊,直到 2019 年常藕琴等^[7]发现在珠江三角洲养殖的杂交鳢溃疡病是侵入丝囊霉菌感染所致,从而证实了侵入丝囊霉菌在我国的存在及其对养殖鳢的危害。本研究首次报道了侵入丝囊霉菌对我国养殖大口黑鲈的感染与致病,表明侵入丝囊霉菌不仅危害到我国养殖的杂交鳢,同时对养殖的大口黑鲈也造成危害。有报道表明,在印度 1988 年首次爆发 EUS 后^[17],至 2017 年 EUS 已对 30 多种鱼类造成危害,尤其是印度鲤等的危害较为严重^[18]。我国是世界水产养殖第一大国,水产养殖品种丰富,包括鲇形目、鲤形目与鲈形目的诸多品种,尤其是鲤形目的草鱼、鲤、鲫、鲢鳙与鲇形目的黄颡鱼等在我国水产养殖中具有重要的地位,因此,应开展侵入丝囊霉菌对我国上述重要水产养殖品种的易感性研究,同时开展 EUS 在我国的流行病学调查,以科学评估 EUS 对我国水产养殖的威胁,同时为科学防控 EUS 提供必要的参考。

本研究发现,侵入丝囊霉菌感染时,大口黑鲈肌肉中出现明显的肉芽肿,与鲈诺卡菌感染大口黑鲈相似^[19],但鲈诺卡菌感染不仅在肌肉中出现肉芽肿,同时在肾、脾与肝等内脏器官也很易发生,而前者仅见于肌肉中;另外,鲈诺卡菌感染形成的肉芽肿中心为干酪样坏死^[19],而侵入丝囊霉菌感染中心为菌丝体,形成典型的霉菌性肉芽肿。Lilley 等^[20]提出多核巨细胞和霉菌性肉芽肿是 EUS 病理诊断的金标准,据报道在斑点胡子鲇、欧洲鲇、短棘鲃和斑点叉尾鲃等鱼类与鲈形目的罗非鱼发生 EUS 时确实出现明显的上述病变,但在乌鳢、攀鲈和无鳔石首鱼等鲈形目鱼类则未见多核巨噬细胞,本研究中大口黑鲈感染侵入丝囊霉菌时形成的肉芽肿内也未见多核巨噬细胞,出现这种差异的原因可能与不同种属鱼类的先天免疫应答差异有关^[16,21],因此,鱼类 EUS 的诊断应在溃疡、霉菌性肉芽肿的病理学特征的基础上,结合病原学的检测才更为准确。

鉴于 EUS 的危害性,其已被我国列为动物二类疫病,一旦确诊发生该病应根据《中华人民共和国动物防疫法》的相关要求采取严格控制、扑灭等措施,防止扩散,养殖水体应避免直接向天然水域排放,从而防止侵入性丝囊霉菌的子囊孢子更大范围地传播与扩散^[4]。尽管有研究表明,福尔马林、H₂O₂、ZnO₃ 纳米颗粒与 ClO₂ 在体外具有一定的杀灭侵入性丝囊霉菌的作用^[2,22],但用于临床病例的治疗效果还有待评估,对于 EUS 目前鲜有有效的治

疗方法。另有报道,EUS 暴发时水体 pH 多在 4.5~6.0^[23],同时饲料中添加决明子等中药提取物与壳聚糖等能明显增强鱼类抗侵入丝囊霉菌的能力^[24-25],因此,在大口黑鲈养殖过程中应注重水质的调控,同时在饲料中添加壳聚糖等免疫刺激剂以增强其免疫力,降低 EUS 的发生风险。

参考文献:

[1] SIBANDA S, PFUKENYI D M, BARSON M, et al. Emergence of infection with *Aphanomyces invadans* in fish in some main aquatic ecosystems in Zimbabwe: A threat to national fisheries production[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2018, 65(6): 1648-1656.

[2] PARIA A, DEV A K, PRADHAN P K, et al. Evaluation of therapeutic potential of selected antifungal chemicals and drugs against *Aphanomyces invadans*[J]. *Aquaculture*, 2020, 529: 735643.

[3] SOSA E R, LANDSBERG J H, KIRYU Y, et al. Pathogenicity studies with the fungi *Aphanomyces invadans*, *Achlya bisexualis*, and *Phialemonium dimorphosporum*: Induction of skin ulcers in striped mullet[J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2007, 19(1): 41-48.

[4] IBERAHIM N A, TRUSCH F, VAN WEST P. *Aphanomyces invadans*, the causal agent of epizootic ulcerative syndrome, is a global threat to wild and farmed fish[J]. *Fungal Biology Reviews*, 2018, 32(3): 118-130.

[5] KAR D, SINGHA R, DAS B K, et al. Preliminary epidemiological studies on epizootic ulcerative syndrome (EUS) in freshwater fishes of assam[J]. *International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology*, 2015, 1: 256-263.

[6] IBERAHIM N A, SOOD N, PRADHAN P K, et al. The chaperone Lhs1 contributes to the virulence of the fish-pathogenic oomycete *Aphanomyces invadans*[J]. *Fungal Biology*, 2020, 124(12): 1024-1031.

[7] 常藕琴,石存斌,王亚军,等. 鳢流行性溃疡综合征病原分离鉴定与病理形态学观察[J]. *中国水产科学*, 2019, 26(6): 1213-1220.

[8] 全国水产技术推广总站. 2019 水产新品种推广指南[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019: 3-15.

[9] 夏焱春,曹铮,蔺凌云,等. 大口黑鲈主要病害研究进展[J]. *中国动物检疫*, 2018, 35(9): 72-76.

[10] GRIZZLE J M, ALTINOK I, FRASER W A, et al. First isolation of largemouth bass virus[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2002, 50(3): 233-235.

[11] OIE. Manual of diagnostic tests for aquatic animals[M]. Paris: Office International des Epizooties, 2010: 188-199.

[12] 陈绮梨,常藕琴,张德峰,等. 加州鲈源弗氏柠檬酸杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. *南方农业学报*, 2021, 52(2): 465-474.

[13] 赵武义. 加州鲈源维氏气单胞菌的鉴定与分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2018.

[14] ZHU Q, WANG Y, FENG J. Rapid diagnosis of large-

mouth bass ranavirus in fish samples using the loop-mediated isothermal amplification method[J]. [Molecular and Cellular Probes](#), 2020, 52: 101569.

[15] SONGE M M, HANG OMBE M B, PHIRI H, et al. Field observations of fish species susceptible to epizootic ulcerative syndrome in the Zambezi River Basin in Sesheke District of Zambia[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2012, 44(1): 179-183.

[16] YADAV M K, PRADHAN P K, SOOD N, et al. Innate immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* infected with oomycete pathogen *Aphanomyces invadans*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 39(2): 524-531.

[17] DAS M K, DAS R K. A review of the fish disease epizootic ulcerative syndrome in India[J]. *Environment and Ecology*, 1993, 11(1): 134-145.

[18] PAGRUT N, GANGULY S, JAISWAL V, et al. An overview on epizootic ulcerative syndrome of fishes in India: A comprehensive report[J]. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2017, 5: 1941-1943.

[19] LEI X, ZHAO R, GENG Y, et al. *Nocardia seriolae*: A serious threat to the largemouth bass *Micropterus salmoides* industry in Southwest China[J]. [Diseases of Aquatic Organisms](#), 2020, 142: 13-21.

[20] LILLEY J H, CALLINAN R B, CHINABUT S, et al. Epizootic ulcerative syndrome (EUS) technical handbook[J]. Bangkok: The Aquatic Animal Health Research Institute, 1998.

[21] VERMA D K, PERUZZA L, TRUSCH F, et al. Transcriptome analysis reveals immune pathways underlying resistance in the common carp *Cyprinus carpio* against the oomycete *Aphanomyces invadans*[J]. *Genomics*, 2021, 113(1): 944-956.

[22] KANBUTRA P, HANJAVANIT C, HORIUCHI E, et al. The *in vitro* antifungal effects of chlorine dioxide on water molds[J]. *Aquaculture Science*, 2010, 58(2): 219-224.

[23] CHOONGO K, HANG'OMBE B, SAMUI K L, et al. Environmental and climatic factors associated with epizootic ulcerative syndrome (EUS) in fish from the Zambezi floodplains, Zambia[J]. [Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology](#), 2009, 83(4): 474-478.

[24] BORISUTPETH M, KANBUTRA P, WEERAKHUN S, et al. *In vitro* antifungal activity of *Cassia fistula* L. against selected pathogenic water molds[J]. *International Journal of Phytomedicine*, 2014, 6(2): 237.

[25] SHANTHI MARI L S, JAGRUTHI C, ANBAZAHAN S M, et al. Protective effect of chitin and chitosan enriched diets on immunity and disease resistance in *Cirrhina mrigala* against *Aphanomyces invadans*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 39(2): 378-385.

【责任编辑 庄 延】