

温室养殖暗纹东方鲀毛霉菌的鉴定、致病性和病理学研究

杨尧劼¹, 陈 辉², 贺艳辉¹

(1. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081; 2. 江苏省水产技术推广站, 江苏 南京 210036)

摘要:取温室养殖的1龄患真菌病暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)进行观察,患病暗纹东方鲀体质量(25 ± 3)g,体表出现点状白斑,变成黄棕色,形成环状苍白圈,病灶中心溃腐糜烂,可延伸至肌肉,死亡率达100%。病原菌分离和培养观察显示,菌丝粗大、无隔、分枝,革兰氏染色呈阳性的真菌菌丝,适宜培养条件为Sabouraud培养基37℃,24h菌丝顶端有淡黄色球形孢子囊;72h出现气生菌丝,孢子囊成熟,释放卵圆形孢囊孢子。根据Ainsworth(1973)真菌分类系统可初步鉴定为毛霉菌(*Mucor* sp.)。人工感染试验表明,该菌孢子可通过注射及创伤感染方式感染健康暗纹东方鲀,出现与自然发病相同的症状,20d死亡率达100%;对实验小鼠有较强的致病力。药敏试验以制霉菌素和两性霉素B最为敏感,抑菌质量浓度为6.0~24 μg/mL;碘化钾和5-氟胞嘧啶其次。病理组织学检查显示,菌丝着色呈蓝色、分支、呈直角;菌丝侵入肌肉组织引起变性坏死、间质水肿;小血管有大量杆状或球状粗大菌丝,引起栓塞。[中国水产科学,2006,13(2): 269~276]

关键词:暗纹东方鲀;毛霉菌;分离鉴定;组织病理

中图分类号:Q959.483 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2006)02-0269-08

暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)属硬骨鱼纲(Osteichthyes),辐鳍亚纲(Actinopterygii),鲈形总目(Percomorpha),鲀亚目(Tetraodontoidei),鲀科(Tetraodontidae),为近海与河川肉食性中、下层洄游性鱼类,有特殊的营养和医用价值。随着暗纹东方鲀人工繁殖技术的日臻完善,其人工养殖业得到了迅速的发展。近年来温室养殖暗纹东方鲀的真菌性疾病危害逐年加重,发病死亡率较高。2003~2005年江苏某河鲀养殖场冬春季连续发生真菌性疾病,病鱼表面出现白点,之后白点逐渐扩大可达数厘米,颜色由白色逐渐变为黄棕色,并形成环状的苍白圈,病灶中心常出现糜烂溃疡,可延伸至肌肉内,该病的死亡率可达100%。国内对水生动物真菌性疾病主要集中于水霉菌和鳃霉菌,唐殿明^[1]、谭振^[2]和岩男昂^[3]对蟹毛霉菌病进行了报道,而相关水生生物真菌性疾病的研究报道较少,对水生动物真菌性疾病的认识远不如对细菌性疾病和寄生虫病那样系统深入。本研究对暗纹东方鲀真菌性疾病进行病原菌分离、鉴定、致病性研究及病理变化观察,旨在为该病的防治和进一步研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品 患病暗纹东方鲀20尾取自江苏某河鲀室内养殖场。健康暗纹东方鲀120尾,选自江苏省中洋水产集团公司,体质量(25 ± 3)g,1龄鱼,实验室暂养7d以上,观察无其他病变后,用于实验。

实验小鼠购自第二军医大学实验动物养殖场,体重20~25g。

1.1.2 培养基、实验药物 Sabouraud培养基、高盐察氏培养基、MH培养基和抗生素药敏纸片购自浙江省军区后勤部卫生防疫检验所。抗真菌药物为常州第二制药厂、南京第二制药厂和西安杨森制药有限公司的产品。

1.1.3 对照菌株 参考菌株AS3.3438购于中国科学研究院微生物研究所,为大毛霉菌(*Mucor mucedo*)。

1.2 实验方法

1.2.1 显微镜检查 无菌挑取濒死暗纹东方鲀溃疡、肌肉、心、肝、脾、肠等组织置载玻片,用20%

收稿日期:2005-06-20; 修订日期:2005-08-05。

基金项目:中国水产科学研究院科研基金项目(2001-2-7)。

作者简介:杨尧劼(1963-),女,助理,从事水生动物病害防治。E-mail:yangyj@ffrc.cn

通讯作者:陈 辉。E-mail:chenhui@jshf.cn

KOH制成湿片待软化、透明后直接镜检,同时用革兰氏染色法检查细菌。

1.2.2 菌落观察 无菌选取病灶组织,分别接种于 Sabouraud 氏琼脂平皿和高盐察氏平皿,置培养箱分别在 25℃、37℃ 和 43℃ 条件下培养 48 h、72 h、96 h 和 120 h 后观察其生长情况。

1.2.3 培养检查 将分离菌株与大毛霉菌 AS 3.3438 分别转接 Sabouraud 培养基,采用孔穴培养法^[4],置 37℃、24 h、48 h 和 72 h 培养后,取下盖玻片,用乳酸酚棉蓝染色法染色,镜检观察生长特征。

1.2.4 孢子溶液制备 将分离菌接种 Sabouraud 氏琼脂斜面,经 37℃、72 h 恒温培养后,每支斜面加入 5 mL 10% 无菌葡萄糖溶液,将培养生长物充分溶于溶液,用法国生物梅里埃公司 Densimat 浊度计比浊,稀释浓度至 0.5 MFC(5 h 内使用)。

1.2.5 感染试验

(1)暗纹东方鲀感染试验。将在实验室水族箱中暂养 1 周以上,无病症的健康暗纹东方鲀,随机分为 6 组,每组 20 尾。分别进行注射感染、创伤感染和浸泡感染。6 组同室养殖,连续观察 3 周。

①注射感染:在鱼体胸鳍基部注射 0.2 mL,浓度为 0.5 MFC 孢子溶液;对照组注射 0.2 mL 10% 无菌葡萄糖溶液。

②创伤感染:将试验鱼体表刮伤,置孢子溶液浓度为 2.5×10^5 CFU/mL 水体中;对照组为体表受伤鱼置于曝气自来水中。

③浸泡感染:将体表无损伤实验鱼置孢子溶液浓度为 2.5×10^5 CFU/mL 水体中;将对照组实验鱼置于曝气自来水中。

(2)小鼠感染试验。将实验小鼠随机分成 2 组,每组 5 只,分别腹腔注射 0.5 mL 浓度为 0.5 MFC 孢子溶液;对照组注射 0.5 mL 的 10% 无菌葡萄糖溶液。每日观察发病情况,连续 3 周。

1.2.6 药物敏感性试验

(1)抗生素药物敏感性试验 采用扩散法(K-B),将浓度为 0.5 MFC 孢子溶液涂布于 Sabouraud 氏琼脂平皿。选择青霉素、链霉素、红霉素、庆大霉素等 24 种常用抗生素药敏纸片,37℃ 培养 7 d 后,测量抑菌圈直径^[4]。

(2)抗真菌药物敏感性试验 采用药基点种法,将 Sabouraud 氏琼脂培养基溶化后温度降至 45~50℃,分装试管,每管 7 mL。在每支试管中分别加入制霉菌素、两性霉素 B、咪康唑、益康唑、酮康唑、5

-氟胞嘧啶、碘化钾 7 种抗真菌药物,配制成含药培养基斜面,其含药量分别为:1.5 μg/mL、3 μg/mL、6 μg/mL、12 μg/mL、24 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、300 μg/mL 和 400 μg/mL。将浓度为 0.5 MFC 孢子溶液 0.05 mL 分别接种于含药培养基斜面上,置 37℃ 培养 7 d 后观察结果。以无菌生长的最低含药斜面培养基中的药物浓度为该药的最低抑菌浓度(MIC)。同时设接种菌液无药物培养基为阳性对照管;含药培养基不接种菌液的为阴性对照管。

1.2.7 病理学检查 对病症明显、濒死暗纹东方鲀进行解剖,取表皮、肌肉、心、肝、脾、肠等组织, Bouin's 液固定 24 h,石蜡包埋,切片,HE 染色,镜检观察。

2 结果

2.1 显微镜检查

濒死鱼溃疡和肌肉组织压片显微镜下观察可见,丝状型粗大、无隔、分枝菌丝,革兰氏染色阳性,呈紫色,细菌检查呈阴性,此症为真菌感染。肝、脾、肠组织未见真菌菌丝,细菌检查革兰氏染色阴性。

2.2 菌落观察

分离菌在 Sabouraud 琼脂 25℃、37℃ 和 43℃ 培养条件下均能生长,以 37℃ 和 25℃ 生长最为适宜。Sabouraud 琼脂平皿 37℃ 培养 48 h 后形成直径 1.8 cm 的灰色菌落,菌落粗糙呈绒毛状;72 h 后菌落直径达 3.8 cm,菌丝体在基质产气生菌丝,高约 0.8 cm,呈灰白色棉花样,培养基底部呈黄色;120 h 后菌落充满平皿,直径 8 cm,菌落高度 1.1 cm。高盐察氏斜面 37℃ 培养 48 h 后有铜钱大小的白色丝状菌落,以后菌落中心逐渐变成黄色,最后变成灰黑色;培养基底部为黄绿色。

2.3 培养检查

采用孔穴培养法经 37℃、24 h 培养染色镜检,无葡萄糖丝和假根,菌丝顶端有单生的球形孢子囊,直径 20~40 μm,呈淡黄色,孢子囊下面无囊托。72 h 孢子囊成熟,囊壁消解,释放出无数卵圆形孢囊孢子,直径 5.8~8.2 μm。孢囊表面有粗糙的圆锥形突起,配子囊柄光滑,无附属丝。上述形态特征与大毛霉菌参考菌株特征相一致,根据 Ainsworth 1973 分类系统初步鉴定此菌株为毛霉科(Mucoraceae)、毛霉属(*Mucor* sp.)真菌^[5]。

2.4 致病性

创伤感染 20 尾鱼从第 11 天起陆续出现明显病症,其症状与自然发病病症相似;第 18~20 天相继出现死亡,死亡率达 100% (表 1)。解剖其内脏组织未见明显变化,创伤感染部位及周围骨肉组织病症显著。注射感染从第 9 天起出现游动缓慢、不吃食等症状,第 19~21 天相继死亡,死亡率 70%,解剖肝、脾、肠等脏器出现充血和黄色结节,发病率达 90%。对感染发病的实验鱼进行真菌分离、菌落观察、病理组织学观察,其结果与自然发病鱼相似。浸泡感染 20 尾健康实验鱼未见明显变化。

小鼠腹腔注射孢子稀释液,3 d 后开始发病,症状主要表现为食欲减退、呼吸困难,后期呈爬卧式、昏迷,粪便带血。实验组 4 只小鼠 7~10 d 相继死

亡,存活 1 只。解剖死亡小鼠,肝脏呈软泥状,肺部表面可见小米粒大小脓样物,肠黏膜充血。病理变化表现为全身多脏器感染,多处局部呈灶性片状坏死,大量炎性细胞浸润,较多菌丝和孢子填充,坏死灶以血管为轴心,有明显的血栓形成。

2.5 药敏试验

菌株对常用抗菌素青霉素、链霉素、红霉素、庆大霉素等 24 种常用抗生素均不敏感。

抗真菌药物对分离到的菌株最低抑菌浓度 (MIC) 以制霉菌素和两性霉素 B 最为敏感,抑菌质量浓度为 6~24 $\mu\text{g}/\text{mL}$;其次为碘化钾和 5-氟胞嘧啶,抑菌质量浓度为 12~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$;益康唑、咪康唑、酮康唑抑菌质量浓度分别为 25~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100~300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 200~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 1 人工感染暗纹东方鲀死亡情况
Tab.1 Mortality of artificially-infected obscure puffer

感染方式 Infected method	n	死亡鱼数/ind Dead number						死亡总数/ind Total dead no.	死亡率/% Mortality rate
		16th day	17th day	18th day	19th day	20th day	21th day		
注射感染 Injection	20	0	0	0	5	7	4	16	80
创伤感染 Wound	20	0	0	4	8	5	3	20	100
浸泡感染 Dipping	20	0	0	0	0	0	0	0	0
对照组 Control	20	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2 抗真菌药物对分离株最低抑菌浓度
Tab.2 Minimal inhibitory concentration of separated strains with anti-fungus medicines

抗真菌药物 Anti-fungus medicine	最低抑菌浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ Minimal inhibitory concentration
制霉菌素 Nystatin	6~24
两性霉素 B Amphotericin B	6~24
咪康唑 Miconazole	100~300
益康唑 Econazole	25~100
酮康唑 Ketoconazole	200~400
5-氟胞嘧啶 5-flucytosine	12~50
碘化钾 KI	12~50

2.6 病理组织学变化

经对患病鱼进行病理组织学观察,心、肝、脾、肠组织有少量炎细胞浸润,但未见明显病理组织变化^[5]。正常的暗纹东方鲀表皮及皮下组织、小血管组织和肌肉组织分别见图版 I-1、2、3、4。体表溃疡处、皮下组织、肌肉组织、小静脉及小血管等组织中有大量炎症细胞,引起溃疡处表皮和皮下组织坏死(图版 I-5);溃疡肉芽组织及扩张小静脉内有大量

量杆状、无隔或球状粗大菌丝(图版 I-6);大量毛霉菌菌丝侵入肌肉组织(图版 II-1);可见分支,呈直角,着色呈蓝色的毛霉菌菌丝(图版 II-2)。从横、纵切面可见毛霉菌菌丝侵入小血管内发生栓塞(图版 II-3 纵切面,图版 II-4 横切面);皮下组织周围水肿,大量炎细胞浸润(图版 II-5);菌丝邻近组织肌肉细胞变性坏死,间质水肿,大量炎细胞浸润(图版 II-6)。

人工感染发病鱼组织病理学变化表现为溃疡性,粗大菌丝穿透黏膜侵入基底组织,侵犯血管引起血栓,并导致血管梗塞,同时引起邻近组织坏死,坏死组织及侵入的菌丝周围有大量炎性细胞。

3 讨论

(1)根据 Ainsworth 真菌分类系统^[6],毛霉菌属接合菌亚门(Zygomycotina)、毛霉纲(Trichomycetes)、毛霉目(Mucorales)、毛霉科(Mucoraceae)、毛霉属(*Mucor*)。毛霉菌广泛存在于空气、水体、土壤及腐败有机体中,是一种常见的污染菌^[7]。通常在机体营养不良、抵抗力低下和体表损伤时侵入,引起各类疾病,是一类致命的条件致病菌^[8]。毛霉菌病常表现为急性炎症,常侵袭血管,并通过血行散播到全身各个脏器,引起血栓和梗死,是死亡率极高的系统性深部真菌感染疾病^[9]。首例人类毛霉菌感染由德国人 Kurchenmeister 1855 年发现于肿瘤病人^[10],目前国内外文献资料大量报道了人类和动物因毛霉菌感染致死的病例^[11-16]。水生动物由真菌感染疾病报道较少,唐殿明^[1]、谭振^[2]和岩男昂^[3]报道了鳖毛霉菌病的病症和实验室检查结果;华元渝^[17]、胡亚丽^[18]、邴旭文^[19]报道了暗纹东方鲀水霉病预防和治疗。本病症是在人工温室养殖暗纹东方鲀中发现的,发病季节多为冬、春季,且尚未在自然条件下发现该病的暴发和流行,该病的发生可能与养殖模式有关。

(2)从流行病学调查和致病性试验结果可见,该菌主要通过血行播散到全身各个脏器,对动物感染病程可分为急性型、亚急性型和慢性型 3 种类型^[20-22]。其中急性型以引起循环障碍为主,也可局限于黏膜及黏膜下层出现炎症、血管壁坏死;亚急性型有较高死亡率,病灶可从表层黏膜向肌肉组织延伸,菌丝可侵入血管内并形成血栓,导致死亡;慢性型以表面溃疡及病灶周围肉芽组织增生为主。根据人工感染及组织病理学研究发现毛霉菌菌丝首先侵袭体表,以腐物寄生形式存在而侵入组织,粗大菌丝极易穿透黏膜侵入基底组织,导致机体病灶中心出现糜烂溃破,引起组织灶性坏死,并有大量炎性细胞浸润。血管是毛霉菌侵袭的重要靶器官,灶性坏死以血管为中心,菌丝侵犯血管后可引起血栓,并导致血管梗塞,同时使周围组织坏死,坏死组织及侵入的菌丝周围有大量炎性细胞。由于坏死组织缺氧呈酸性,为毛霉菌生长提供了适宜的环境,使病变加

剧,最终使鱼体呼吸困难直至死亡。

(3)对分离真菌的药物试验表明,该毛霉菌对抗真菌药物敏感,其中两性霉素 B 和制霉菌素的最低抑菌质量浓度为 6~24 $\mu\text{g/mL}$;但对 24 种常用抗生素均不敏感。由于毛霉菌病的病程发展快,死亡率高,而实验室分离培养时间较长,给疾病的早期诊断带来了一定的困难,因此应通过合理营养,努力提高养殖鱼类的免疫功能,严格控制抗生素、皮质类固醇激素和免疫抑制剂的使用,将会对此病的发生起到积极的预防作用。同时结合养殖生产定期使用三氯异氰尿酸和生物水质改良剂控制水质,对疾病的预防有较好的作用。

参考文献:

- [1] 唐殿明. 从入境幼鳖中检出毛霉菌病[J]. 中国动物检疫, 1995, 12(3): 14-15.
- [2] 谭振. 鳖病防治技术[J]. 河南科技, 1994(12): 15-16.
- [3] 岩男昂, 王士莉译. 甲鱼的两例疾病[J]. 国外水产, 1989(2): 37.
- [4] 唐耀熙, 刘福光. 微生物学及微生物学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 427-428, 464-469, 482-483.
- [5] 里贝林 W E, 三垣 G. 鱼类病理学[M]. 北京: 农业出版社, 1981. 17-67.
- [6] Ainsworth G C, Sparrow F K, Sussman A S. The Fungi: An advanced Treatise[M]. New York: Academic Press, 1973.
- [7] 余 贺. 医学微生物学(第 2 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984. 449.
- [8] 王高松. 临床真菌病学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1984. 163.
- [9] 中山医学院. 病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978. 612.
- [10] 魏振超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [11] 图布丹扎布, 郭秋芳, 曹 跃. 鳖鸡毛霉菌病的病原分离与鉴定[J]. 中国兽医杂志, 1995, 21(1): 20.
- [12] 李国勤. 动物毛霉菌病[J]. 中国兽医学报, 1996, 16(3): 309-312.
- [13] 汪昭贤, 谢毓芬, 秦 晟. 实验动物毛霉菌临床与病理学观察[J]. 西北农业学报, 1999, 8(1): 11-14.
- [14] 汪昭贤, 谢毓芬, 李国勤, 等. 山羊毛霉菌临床与病理学观察[J]. 畜牧兽医学报, 1998, 29(1): 83-87.
- [15] 李德荣, 李瑞秀, 李海艳, 等. 孔雀毛霉菌的诊治[J]. 中国兽医科技, 2000, 30(9): 40.
- [16] 山口直士. 毛霉菌病[J]. 日本兽医师会杂志, 1981, 34(3): 128.
- [17] 华元渝. 暗纹东方鲀健康养殖及安全利用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004. 114-115.
- [18] 胡亚丽. 暗纹东方鲀人工养殖技术[J]. 北京: 中国水产, 2004(6): 34-37.

- [19] 郑旭文. 暗纹东方鲀越冬期易发疾病的防治新法[J]. 畜牧兽医杂志, 2003, 6(22): 38-40.
- [20] Rippon J W. Medical Mycology, 2nd[M]. Philadelphia: W B Saunders. Co. 1982. 615-640.
- [21] 邱震东. 家畜病理解剖学[M]. 长春: 中国人民解放军兽医大学出版社, 1984. 270-271.
- [22] Jalekopoulos C, 明斯 C W. 真菌学概论[M]. 北京: 农业出版社, 1983. 177.

Clinic and pathological observation of glasshouse cultured obscure puffer *Fugu obscurus* infected with Mucormycosis

YANG Yuan-jie¹, CHEN Hui², HE Yan-hui¹

(1. Freshwater Fisheries Research Centre, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 2. Jiangsu Provincial Aquatic Technology Extension Station, Nanjing 210036, China)

Abstract: An observation was made on indoor cultured *Fugu obscurus* infected with epiphyte. There were some white spots on the body surface, which gradually turned yellowish brown and form circular pale circles. The central areas would also get ulcerated and eroded. When section was extended to the muscle, the mortality would reach 100%. The results of microscopic examination, pathogenic separation and culture showed that the hyphae were thick and branching, and the gram-positive mycelium of a fungus had no septum. The hyphae grew at optimum conditions on Sabouraud culture base at 37 °C; the hyphae top showed light yellowish spore sac after 24 h; the hyphae showed grayish floss after 48 h; the hyphae created gas and grow mycelium; spore sac matured and released egg-shaped sporangium and spore after 72 h. Artificial infection examination indicated the spore of these bacteria could further infect healthy obscure puffer by injection and wounding infections and the identical symptom would appear as naturally infected fish with the mortality reaching 100% within 20 days. It had great disease-causing capability to laboratory mouse. Medicine sensitivity examination also showed nystatin and amphotericin B were most sensitive at inhibitory concentration of 6.0-24 µg/mL, and KI and 5-flucytosin were the second sensitive. Histo-pathological examination showed the muscle tissue invaded with hyphae causing necrosis and subsistence edema; the gram-stain of hyphae showed branching and rectangular; there was large amount of big baculine or globular mycelium in small blood vessels causing embolism. Based on G. C. Ainsworth Classification System (1973), our preliminary analysis showed that this strain belonged to a Fungus of *Mucor*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(2): 269-276]

Key words: *Fugu obscurus*; *Mucor*; separation and identification; histo-pathology

Corresponding author: CHEN Hui. E-mail: chenhi@jsbf.cn

图版 I 说明

1:正常表皮及皮下组织($\times 100$);2:正常小血管组织纵切面($\uparrow$)($\times 100$);3:正常肌肉组织横切面($\uparrow$)($\times 100$);4:正常肌肉组织纵切面($\times 100$);5:表皮及皮下组织坏死($\uparrow$)($\times 200$);6:溃疡肉芽组织及扩张小静脉内大量杆状或球状粗大菌丝($\uparrow$)($\times 200$)。

图版 II 说明

1:大量菌丝侵入肌肉组织($\uparrow$)($\times 400$);2:菌丝分支,呈直角,毛霉菌菌丝兰染($\uparrow$)($\times 400$);3:菌丝侵入小血管内发生栓塞(纵切面, $\uparrow$)($\times 200$);4:菌丝侵入小血管内发生栓塞(横切面, $\uparrow$)($\times 400$);5:皮下组织周围水肿($\uparrow$),大量炎细胞浸润($\diamond$)($\times 200$);6:菌丝邻近组织肌肉细胞变性坏死,间质水肿($\uparrow$)($\times 200$)。

Plate I

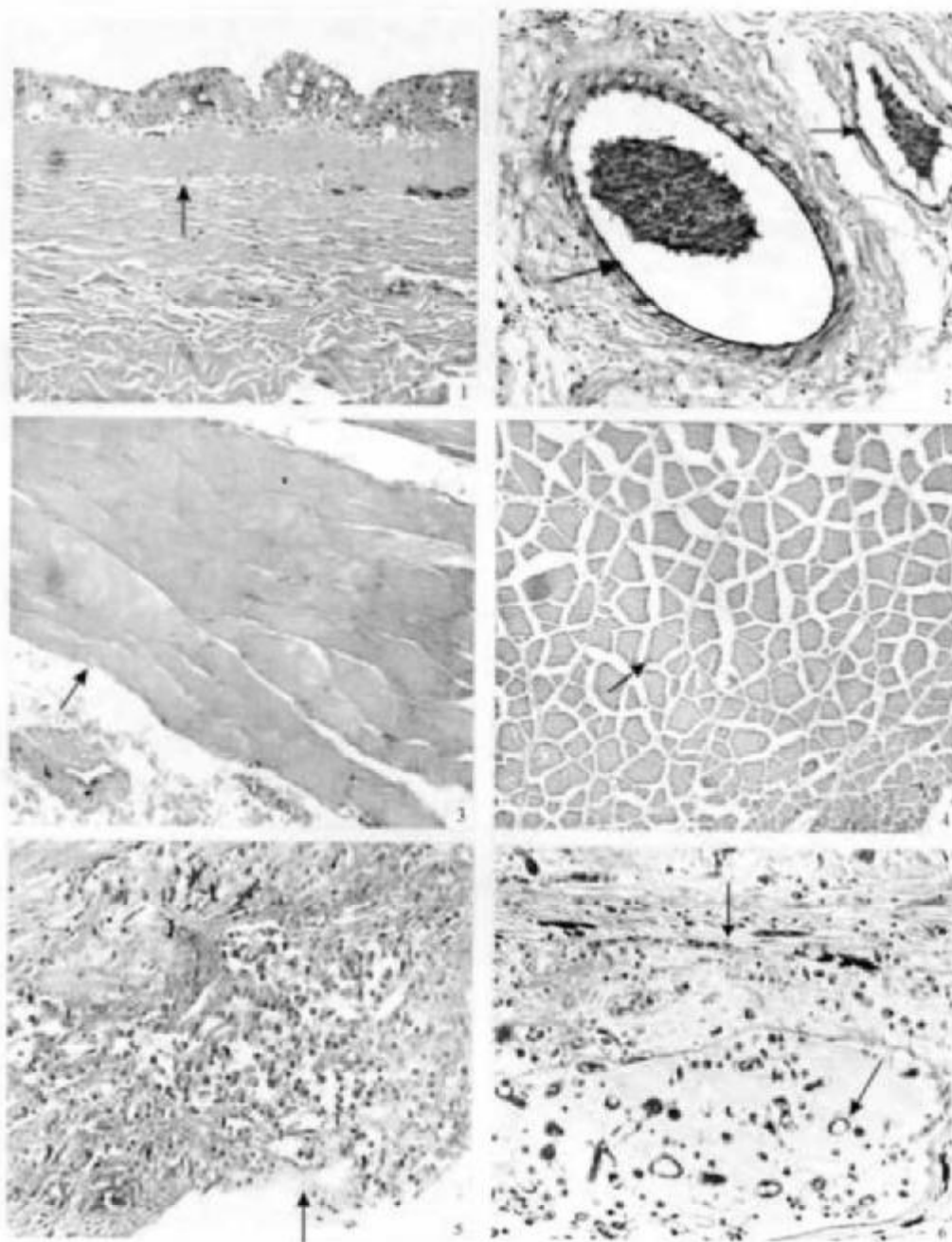
1:Normal epidermis and hypodermis($\times 100$);2:Normal small blood vessel($\uparrow$)(longitudinal section, $\times 100$);3:Normal muscle tissue (transverse section, $\times 100$);4:Normal muscle tissue(longitudinal section, $\times 100$);5:Putrescence of epidermis and hypodermis($\uparrow$)($\times 200$);6:Ulcer in granulation tissue and a large amount of the big baculine or globular mycelium in the expanded small vein($\uparrow$)($\times 200$)。

Plate II

1:Large amount of hyphae invasion in muscle tissue($\uparrow$)($\times 400$);2:Hyphae branching and appearing rectangular in mucormycosis hyphae gram-stain ($\uparrow$)($\times 400$);3:Embolism caused by hyphae invasion in small vessel (longitudinal section)($\uparrow$)($\times 200$);4:Embolism caused by hyphae invasion in small vessel ($\uparrow$)(transverse section, $\times 400$);5:Edema around the hypodermis($\uparrow$),infiltration with a large amount of inflammatory cells ($\diamond$)($\times 200$);6:Necrosis and subsistence edema of the muscle cells near hyphae tissue($\uparrow$)($\times 200$)。

杨嵩劼等:温室养殖暗纹东方鲀毛霉菌的鉴定、致病性和病理学研究

YANG Yuan-jie et al: Clinic and pathological observation of glasshouse cultured obscure puffer *Fugu obscurus* infected with Mucormycosis

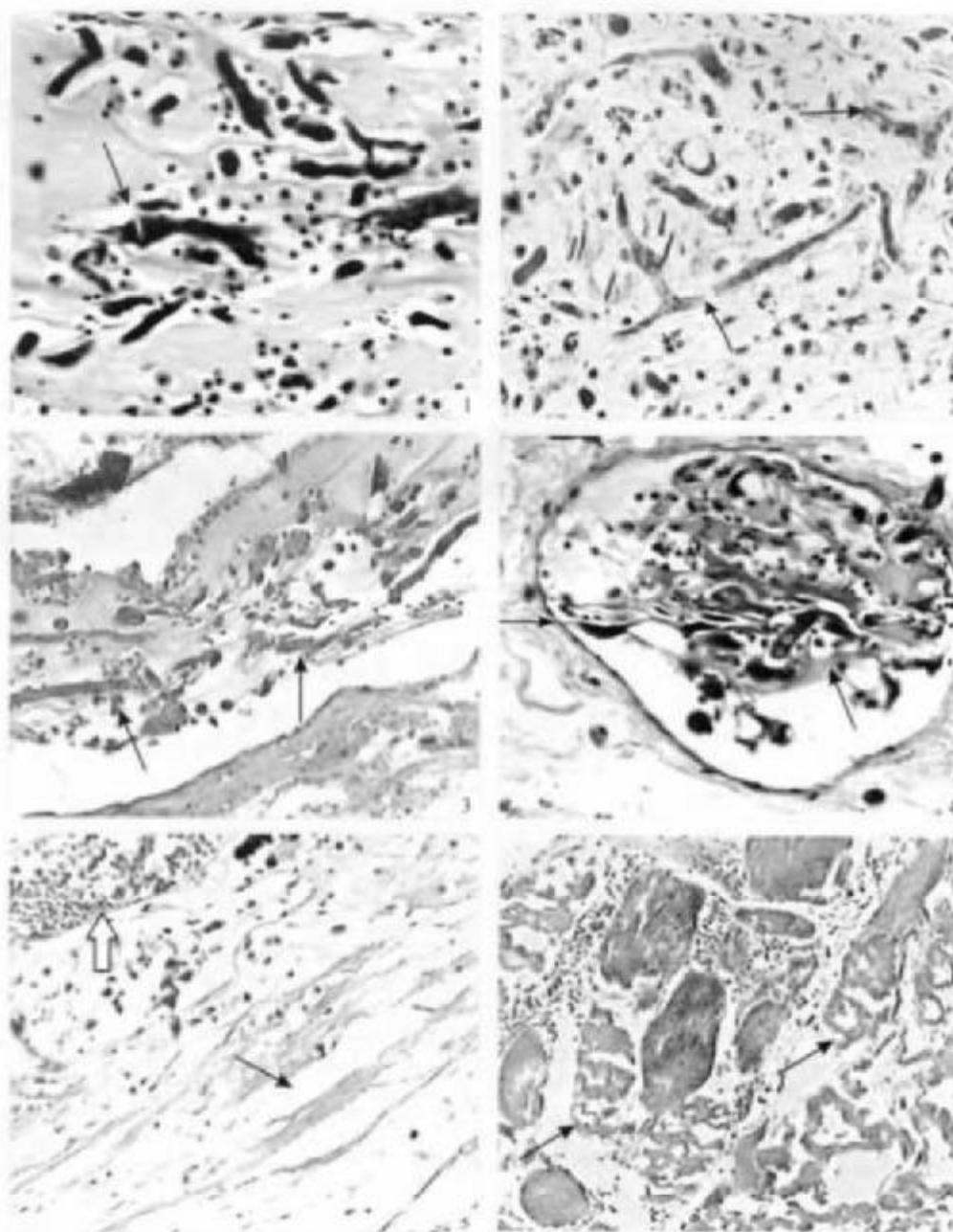


图版 I

(图版 I 说明见第 274 页 Explanation of Plate I at page 274)

杨筠劼等:温室养殖暗纹东方鲀毛霉菌的鉴定、致病性和病理学研究

YANG Yuan-jie et al: Clinic and pathological observation of glasshouse cultured obscure puffer *Fugu obscurus* infected with Mucormycosis



图版 II

(图版 II 说明见第 274 页 Explanation of Plate II at page 274)