

流行性肉芽肿性丝囊霉菌病研究进展

彭开松^{1,2,4}, 樊慧敏¹, 马倩倩¹, 唐庆权¹, 许晓牧¹,
程起群³, 朱若林^{1,4}, 祁克宗², 万全¹, 鲍传和^{1,4}

- (1. 安徽农业大学动物科技学院水产系水生健康与公共卫生实验室, 合肥 230036;
2. 安徽农业大学动物科技学院兽医病理生物学与疫病防控安徽省重点实验室, 合肥 230036;
3. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090;
4. 安徽省现代农业产业技术体系水产产业技术体系健康养殖研究室, 合肥 230036)

摘要: 流行性肉芽肿性丝囊霉菌病 (epizootic granulomatous aphanomycosis, EGA), 俗称流行性溃疡综合征 (epizootic ulcerative syndrome, EUS), 是世界动物卫生组织 (OIE) 《水生动物卫生法典》所列的疫病, 也是我国法定的二类动物疫病, 目前危及 4 大洲 20 多个国家的 94 种咸水或淡水鱼类, 造成巨大经济损失。近年国内 EGA 疑似病例日益增加, 但由于该病原分离纯化困难, 导致各界对国内是否存在该病有很大争议。通过从病原学、流行病学、病理生物学、诊断和防控等角度对 EGA 进行综述, 期望有利于该病的研究和控制。

关键词: 丝囊霉菌; 流行病学; 病理生物学; 诊断; 防治

中图分类号: S941

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2018)01-0025-05

Research progress in epizootic granulomatous aphanomycosis

PENG Kaisong^{1,2,4}, FAN Huimin¹, MA Qianqian¹, TANG Qingquan¹, XU Xiaomu¹,
CHENG Qiqun³, ZHU Ruolin^{1,4}, QI Kezong², WAN Quan¹, BAO Chuanhe^{1,4}

- (1. Laboratory of Aquatic Health and Public Health, Department of Fisheries, School of Animal Science and Technology, Anhui Agriculture University, Hefei 230036;
2. Anhui Province Key Laboratory of Veterinary Pathobiology and Disease Control, School of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;
3. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090;
4. Laboratory of Healthy Culture, Anhui Province Modern Agriculture Industry(Aquaculture) Technology System, Hefei 230036)

Abstract: Epizootic granulomatous aphanomycosis(EGA), most commonly known as epizootic ulcerative syndrome(EUS), belongs to class B of fish diseases in OIE Aquatic Animal Health Code and is also the second class animal epidemic disease in China. Currently, EGA has damaged 94 species of freshwater and estuarine fish in more than 20 countries from four continents, causing great economic losses. In recent years, although the suspected cases of EGA have being increased in China, the prevalence of the disease is still controversial because of the difficulty in pathogen isolation. In this paper, the etiology, epidemiology, pathobiology, diagnosis, control and prevention of EGA were reviewed, which will provide useful information for the research and control of this important disease.

Key words: *Aphanomyces invadans*; epidemiology; pathobiology; diagnosis; prevention and treatment

流行性肉芽肿性丝囊霉菌病 (EGA), 由侵袭丝囊霉菌 (*Aphanomyces invadans*, AI) 引起, 以坏死性溃疡和肉芽肿性炎为特征。其同病异名还包括流行性溃疡综合征 (epizootic ulcerative syndrome, EUS)、红点病 (red spot disease)、霉菌性肉芽肿

(mycotic granulomatosis) 和溃疡性霉菌病 (ulcerative mycosis)^[1-2]。该病自 1971 年日本首报后, 对多国的多种咸淡水鱼危害日益严重^[1]。鉴于对国内是否存在该病仍有很大争议, 且本病的全球发病风险日高, 作者对国内外 EGA 研究进行了综

收稿日期: 2017-08-03

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划 (1704g07020123), 安徽省现代农业产业技术体系 (皖农科[2016]84 号), 安徽省省级大学生创新创业训练计划项目 (201610364015) 共同资助。

共同第一作者: 彭开松, 博士, 副教授。E-mail: kaisongpeng@ahau.edu.cn; 樊慧敏, 硕士研究生。E-mail: 553891740@qq.com

述, 以期为相关研究提供借鉴。

1 病原学

EGA 的病原主要为鞭毛菌亚门卵菌纲水霉目的 AI, 目前仅发现 1 个基因型; 但部分 EGA 病例还与外寄生虫、弹状病毒有关; 且体表溃疡后易继发或并发细菌感染^[1-4]。

在宿主体内, AI 形成无隔膜的菌丝结构、初级游动孢子和次级游动孢子。孢子囊顶端的圆形初级游动孢子可转化为侧生双鞭毛的肾形次级游动孢子。游动孢子在条件不适时会变成囊孢; 待条件适宜后, 囊孢又萌发出新菌丝, 并释放三级游动孢子^[1]。周期性囊孢化造成了 EGA 周期性暴发。囊孢在体外试验中可存活 19 d^[2]; 但其在水或非鱼基质中的存活时间还不明确。

2 流行病学

EGA 在北美、南非、亚洲和大洋洲等 4 大洲、20 多国流行^[5-15], 引起野生或养殖的咸水或淡水鱼类的感染和死亡。低水温 (18~22) °C 和暴雨易促使 AI 形成孢子; 低水温 (17~19) °C 时, 鱼对入侵孢子的炎症应答很弱。稚鱼 (juvenile) 或幼鱼 (young adults) 对 AI 易感^[2,16]; 但鱼苗 (fish fry) 或仔鱼 (fish larvae) 未见 EGA 报道。AI 最适生长温度为 20~30 °C, 37 °C 时在宿主体外停止生长。

EGA 患鱼或 AI 携带者是传染源。AI 游动孢子经水在鱼间垂直传播。AI 污染水进入非疫区是导致新发病例的主因。洪水泛滥、观赏鱼引入和水系流动均导致本病扩散^[17]。

在部分流行国, 野生鱼先发病, 然后传给养殖鱼。目前, 有 94 种鱼可自然感染 AI^[1-4]。鲤 (*Cyprinus capio*)、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、虱目鱼 (*Chanos chanos*), 对 AI 感染有天然抗性^[1-4]。虽然印度鲤、厚唇鲃、南亚野鲮和印度鲮能自然感染 AI, 但上述品种的各年龄段鱼对注射感染均有抗性^[1-4]。金鱼注射 AI 易感, 但普通鲤、尼罗罗非鱼、欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 对注射感染有抗性^[1,18]。

EGA 死亡率很高, 发病率与死亡率因鱼而异、且变异大。乌鳢在低水温 (18~22) °C 发生 EGA 时, 其发病率和死亡率均高于 50%。人工感染的玛雅慈鲷 (*Cichlasoma urophthalmus*) 中有部分无症状者, 在寒冷季节结束后会痊愈^[19]。

3 病理生物学

AI 的次级或三级游动孢子黏附到受损皮肤并发

育为菌丝, 向深部皮肤肌肉侵染。健康易感鱼浸泡攻毒后一般无症状。寄生虫、细菌、病毒或水质不良等因素造成的皮肤损伤是 AI 感染的前提。患鱼早期食欲不振、在水面忽上忽下。患鱼体色发黑, 头、鳃盖、体表和尾部出现红点, 继续发展为红色或灰色溃疡、甚至成为棕色坏疽。后期, 患鱼的腹侧或背部会出现大面积皮肤损伤, 且大多数患鱼会死亡。乌鳢等极易感品种, 皮肤受损范围更大, 后背完全糜烂, 或头骨及软组织坏疽而暴露脑部^[5,18,20]。早期的红斑性皮炎组织中并没有卵菌。随着菌丝在骨骼肌中生长, 轻微的慢性皮炎会发展为严重的弥散性坏死性肉芽肿, 并伴有肌肉表面絮状变化。

对 AI 有天然抗性的鱼类的抗性机制涉及吞噬细胞的呼吸爆发、补体及蛋白酶抑制剂^[21]。而热休克蛋白^[22]、Caspase 10^[23]、半乳糖凝集素 CsGal4^[24]、S1 丝氨酸蛋白酶家族 SP-1^[25] 参与了易感鱼对 AI 的抵抗。

4 诊断方法

4.1 临床诊断

低温期或暴雨后, 稻田、河口、湖泊和河流中出现大量死鱼, 且患鱼出现上文描述的典型症状。取红点或溃疡组织显微镜检, 可见真菌菌丝、细菌或寄生虫。取溃疡与健康组织交界处肌肉薄片压片, 显微镜检可见 AI 的无隔膜菌丝 (D12~25) μm。

4.2 实验室诊断

4.2.1 组织病理学诊断 患病活鱼深度麻醉后, 迅速取溃疡与健康组织交接处的皮肤肌肉 (<1 cm³, 一般厚 3~5 mm), 在 10 倍体积的 10% 标准福尔马林溶液或 10% 福尔马林磷酸缓冲液中固定 1~2 d。常规石蜡切片 (5 μm), 苏木精-伊红 (H&E) 染色或真菌染色 (如银染色法) 可显示菌丝和肉芽肿。

4.2.2 病原分离 取有典型症状的患病活鱼 (n=10), 带水活运或冰盒运输; 先找到出现红点或小溃疡的皮肤病灶, 病灶旁或下方的肌肉是分离病原的靶组织。无菌操作对 AI 分离至关重要, AI 生长极慢, 很容易被其他微生物如细菌、其他快速生长的卵菌或真菌污染。病原分离方法有 2 种^[1-4]。

方法 1: 刮去苍白色微凸起病灶外周的鳞片, 经炽热镊子灼烧消毒, 无菌切开皮肤, 取几片肌肉 (约 2 mm³), 贴在含青霉素 (100 IU·mL⁻¹) 和链霉素 (100 μg·mL⁻¹) 的葡萄糖蛋白胨 (Glucose/peptone, GP) (含 3 g·L⁻¹ 的葡萄糖、1 g·L⁻¹ 的蛋白胨、0.128 g·L⁻¹ 的七水合硫酸镁、0.014 g·L⁻¹ 的磷酸二氢钾、0.029 g·L⁻¹ 的二水合氯化钙、2.4 mg·L⁻¹ 的六水合氯

化铁、 $1.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的四水合氯化锰、 $3.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的五水合硫酸铜、 $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的七水合硫酸锌) 琼脂 (1.5%) (GPA-PS) 上, 密封平板, 置室温或 25°C 培养并每日观察。不断将菌丝末梢转移到新鲜 GPA-PS 上, 直到获得纯培养物。

方法 2: 沿体表病灶中间将鱼横切为两段, 取尾段 (< 20 cm) 分离真菌。灼烧刀片消毒肌肉表面, 从病灶下方无菌取 $2\sim 4 \text{ mm}^3$ 的肌肉块, 置 GP-PS 中, 25°C 培养 12 h, 倒置显微镜下观察。不断转移菌丝末梢至 GPA-PS 上, 直至获得纯培养物。或用 GYA (1% 葡萄糖, 0.25% 酵母提取物, 1.5% 琼脂), 25°C 培养, 1~2 周纯化转移 1 代^[2]。

4.2.3 病原鉴定 (1) 属的鉴定。诱导无性生殖结构 (孢子) 可用于丝囊霉菌属的鉴定。取带纯化活菌丝的琼脂块 (直径 $3\sim 4 \text{ mm}$) 放在 GPY (GP+0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酵母提取物) 琼脂上, 20°C 培养 4 d。用灭菌塘水分 5 次依次将琼脂上生长的菌丝洗到 5 个平皿, 20°C 培养 12 h, 原始孢子囊丛形成, 显微镜下可见其释放的运动性次级游动孢子^[2]。

(2) 生物测定。线鳢 (*Channa striata*) 或其他易感鱼肌肉注射 0.1 mL 含 100 个以上运动性游动孢子的悬液, 20°C 养殖。7 d 后, 肌肉中可见直径 $12\sim 25 \mu\text{m}$ 的无隔膜菌丝; $10\sim 14 \text{ d}$ 后可见典型霉菌性肉芽肿^[1]。

(3) 分子鉴定。侵袭丝囊霉菌 DNA 的 PCR 鉴定^[1-2]。

取 GY 肉汤的 4 天培养物或直径 $0.5\sim 1.0 \text{ cm}$ 的琼脂培养物或 $25\sim 50 \text{ mg}$ 的染菌组织^[2], 将菌丝样品转移至 100 mm 培养皿中, PBS 洗 2 次, 吸弃液体。无菌取 $50\sim 250 \text{ mg}$ 菌丝末梢转移至 1.5 mL 离心管提取 DNA。

鉴定 AI 的特异性 PCR 方法有 3 种。

方法 1: 正向引物 Ainvad-2F ($5'$ -TCATTGTGA GTGAAACGGTG- $3'$) 位于近 SSU 小亚基基因的 $3'$ 端, 反向引物 Ainvad-ITSR1 ($5'$ -GGCTAAGGTTT CAGTATGTAG- $3'$) 位于 ITS1 区。50 μL PCR 体系: 正反引物各 $25 \text{ p mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、各种脱氧核苷三磷酸 (dNTP) $2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、高保真 TaqDNA 聚合酶 0.5 U 和染色体 DNA 20 ng。PCR 循环模式: 95°C 预变性 2 min; 95°C 变性 30 s、 56°C 退火 45 s、 72°C 延伸 2.5 min, 35 个循环; 循环结束后 72°C 延伸 5 min。目的片段 234 bp。

方法 2: 正向引物 ITS11 ($5'$ -GCCGAAGTTTC GCAAGAAAC- $3'$), 反向引 ITS23 ($5'$ -CGTATAGA CACAAGCACACCA- $3'$)。25 μL PCR 体系: 正反引

物各 $0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, dNTP $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 氯化镁 $1.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, TaqDNA 聚合酶 0.6 U 和染色体 DNA 20 ng。PCR 循环模式: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 65°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 25 个循环; 循环结束后 72°C 延伸 5 min。目的片段 550 bp。

方法 3: 正向引物 BO73 ($5'$ -CTTGTGCTGAGC TCACACTC- $3'$), 反向引物 BO639 ($5'$ -A CACCAG ATTACACTATCTC- $3'$)。50 μL PCR 体系: 正反引物各 $0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, dNTP $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 氯化镁 $1.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, TaqDNA 聚合酶 0.625 U 和染色体 DNA (或 2.5 μL 组织 DNA 缓冲混悬液) 约 5 ng^[2]。循环模式: 96°C 预变性 5 min; 96°C 变性 1 min, 58°C 退火 1 min, 72°C 延伸 1 min, 35 个循环; 循环结束后 72°C 延伸 5 min。目的片段 564 bp。

上述引物还可克隆到大小相同的虾丝囊霉菌 (小龙虾瘟疫的病原) 的核酸片段, 但可经测序区分。同时, AI 的线粒体 DNA 也可用于分子鉴定^[26]。

荧光原位杂交技术 (FISH)^[1-2]。FISH 法可鉴定易感鱼类组织中的 AI 菌丝体。杂交荧光素 (FLU) 探针 (Ainv-FLU3) 基于 AI 的 rRNA 的小亚基基因序列 (bp 621~635; GenBank acc.AF396684) 设计, 序列为 $5'$ -FLU-GTACTGACATTTTCGT- $3'$ 。

组织样本需尽快固定并杂交。取病灶边缘约 20 mg 组织放入 24 孔板, 加 1 mL 乙醇-盐固定剂 (44 mL 的 95% 乙醇、10 mL 的去离子水、6 mL 的 $25\times$ SET 缓冲液 [$3.75 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠, $25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸, $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三羟甲基氨基甲烷-盐酸, pH 7.8] 和 1.86 mL 的 Tween 20), $30 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 室温孵育 1.5 h。用 0.5 mL 含 3% Tween20 的杂交缓冲液 ($5\times$ SET, 0.1% [V/V] Igepal-CA630 和 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ poly[A]) 漂洗固定组织 2 次, 每次 15 min。用 0.5 mL 含 3% Tween 20 和 $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ainv-FLU3 探针的杂交缓冲液重悬组织。无探针对照组用 0.5 mL 杂交缓冲液或 3% Tween20 孵育。所有样品在暗处 60°C 孵育 1 h 后, 用 1 mL 60°C 预热的含 3% Tween 20 的 $5\times$ SET 缓冲液冲洗 2 次。将组织样品展到预涂多聚赖氨酸的载玻片上, 加一滴抗荧光褪色液, 盖上盖玻片, 在暗背景下经荧光显微镜可见卵菌菌丝发出绿色荧光。

(4) 其他方法。AI 的多克隆抗体与腐生丝囊霉菌间存在交叉反应^[1-2], 不适合本病诊断。基于抗 AI 特异性单抗的免疫荧光法具有高特异性和高灵敏度, 可检测早期感染中的菌丝体^[27]。石墨烯纳米粒制备的电化学免疫感受器^[28]或金纳米粒制备的电化学 DNA 感受器^[29]均可用于检测 AI。

5 预防与控制

5.1 水质和底管理

控制本病传播的有效方法是不从流行区引入受 AI 污染的水。杜绝带菌水流入、用石灰水或农用石灰改善水质、在池水中撒盐（盐度大于 $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 可遏制本病）、常规化学消毒、清除和无害化处理病鱼，能有效降低本病死亡率。采用绿水、水体泼洒石灰和苦楝子可预防 EAG。印楝素、香樟素和姜黄素体外可抑制 AI 生长^[2]。晒池对防控 EGA 也有效。

5.2 鱼卵和幼鱼消毒

鱼卵或幼鱼未见感染 EGA 的报道^[30]。预防水霉的常规消毒可预防鱼卵及幼鱼 EGA 的发生。

5.3 免疫刺激法

乌鳢腹腔注射 Salar-bec(含 $300 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 维生素 C, $150 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 维生素 B 和痕量维生素 B_1 、 B_2 、 B_6 和 B_{12}) 组, 比感染 EGA 的对照组存活率高 59.2% ^[2]。饲料中添加鱼腥草^[31]、四叶萝芙木 (*Rauwolfia tetraphylla*) 叶的酒精提取物^[32]、4%或 6%的沸石粉^[33]、1%甲壳素或壳聚糖^[34], 有助于鱼体抵抗 AI。

5.4 生物制剂和疫苗

抗菌肽合成物 QP13^[35]和干扰素 IRF-1^[36]有望成为抗 AI 的生物制剂。AI 粗提物可诱导乌鳢体液免疫^[1], 可刺激印度鲤和南亚黑鲷的非特异性免疫力^[37], 能提高对 AI 的抵抗。AI 提取物与弗氏不完全佐剂 (1:1, V/V) 混合疫苗也可保护 AI 感染鱼^[38]。

5.5 养殖抗性物种

养殖抗 EGA 品种, 特别是抗 EGA 的本土品种, 是防控 EGA 的有效方法之一。

参考文献:

- [1] KAR D. Epizootic Ulcerative Fish Disease Syndrome [M]. London: Academic Press, 2016.
- [2] OIE. Infection with *Aphanomyces invadans* (Epizootic ulcerative syndrome) [M]. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, 2017. <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/>.
- [3] 世界动物卫生组织 (OIE). 水生动物卫生法典 (2012)[M]. 农业部兽医局, 译. 15 版. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [4] 世界动物卫生组织 (OIE). 水生动物诊断试验手册 [M]. 农业部兽医局, 译. 6 版. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [5] JOHN K R, GEORGE M R. Viruses associated with epizootic ulcerative syndrome: an update [J]. Indian J Virol, 2012, 23(2): 106-113.
- [6] SHARMA P, SIHAG R C, BHRADWAJ A. Isolation and identification of pathogenic bacteria and fungi isolated from skin ulcers of *Cirrhinus mrigala* [J]. Indian J Anim Res, 2013, 47(4): 283-291.
- [7] 中华人民共和国农业部兽医局. 流行性溃疡综合征 [J]. 中国水产, 2011(3): 53.
- [8] BOYS C A, ROWLAND S J, GABOR M, et al. Emergence of epizootic ulcerative syndrome in native fish of the murray-darling river system, Australia: hosts, distribution and possible vectors [J]. PLoS ONE, 2012, 7(4): e35568. doi:10.1371/journal.pone.0035568
- [9] BARUAH A, KAMILYA D, SAHA R K. Epizootic ulcerative syndrome (EUS) in bata, *Labeo bata* (Hamilton 1822) from Tripura, India [J]. Indian J Fish, 2014, 61(4): 141-144.
- [10] GO J, MARSH I, GABOR M, et al. Detection of *Aphanomyces invadans* and epizootic ulcerative syndrome in the Murray-Darling drainage [J]. Aust Vet J, 2012, 90(12): 513-514.
- [11] SAYLOR R K, MILLER D L, VANDERSEA M W, et al. Epizootic ulcerative syndrome caused by *Aphanomyces invadans* in captive bullseye snakehead *Channa marulius* collected from south Florida, USA [J]. Dis Aquat Org, 2010, 88(2):169-75.
- [12] HUCHZERMEYER K D, VDW BC. Epizootic ulcerative syndrome: exotic fish disease threatens Africa's aquatic ecosystems. [J]. J S Afr Vet Assoc, 2012, 83(1): 1-6.
- [13] 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]. Trop Anim Health Prod, 2012, 44(1):179-183.
- [14] PRADHAN P K, RATHORE G, SOOD N, et al. Emergence of epizootic ulcerative syndrome: large-scale mortalities of cultured and wild fish species in Uttar Pradesh, India [J]. Curr Sci, 2014, 106(12):1711-1718.
- [15] KRUGNER-HIGBY L, HAAK D, JOHNSON P T, et al. Ulcerative disease outbreak in crayfish *Orconectes propinquus* linked to *Saprolegnia australis* in big Muskegon Lake, Wisconsin [J]. Dis Aquat Org, 2010, 91(1): 57-66.
- [16] 肖秀娥, HITULA A, TJIHUIKO U. 动物流行性溃疡综合征(EUS)的调查及启示[J]. 中国动物检疫, 2010, 27(6): 52-53.
- [17] PEKALA A, PAŹDZIOR E, KOZIŃSKA A, et al. Studies of the occurrence of the epizootic ulcerative syndrome (EUS) in ornamental fish in Poland [J]. Med Weter, 2013, 69(11): 692-695.
- [18] AFZALI S F, DAUD H H M, SHARIFPOUR I, et al. Experimental infection of *Aphanomyces invadans* and susceptibility in seven species of tropical fish [J]. Vet World, 2015, 8(9): 1038-1044.
- [19] AGUIRRE-AYALA D, VIDAL-MARTINEZ V M. Experimental Infection of the Mayan Cichlid *Cichlasoma urophthalmus* with the oomycete *Aphanomyces invadans* [J]. J Parasitol, 2015, 101(4): 485.
- [20] BARUAH A, SAHA R K, KAMILYA D. Inter-species transmission of the epizootic ulcerative syndrome (EUS) pathogen, *Aphanomyces invadans*, and associated physiological responses [J]. Isr J Aquacult-Bamid, 2012, 64(1): 1-6.
- [21] YADAV M K, PRADHAN P K, SOOD N, et al. Innate immune response against an oomycete pathogen

- Aphanomyces invadans* in common carp (*Cyprinus carpio*), a fish resistant to epizootic ulcerative syndrome [J]. *Acta Trop*, 2015, 155: 71-76.
- [22] SATHYAMOORTHY A, CHAURASIA M K, ARASU M V, et al. Differences in structure and changes in gene regulation of murrel molecular chaperone HSP family during epizootic ulcerative syndrome (EUS) infection. [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2017, 60(1):129-140.
- [23] AROCKIARAJ J, GNANAM A J, MUTHUKRISHNAN D, et al. An upstream initiator caspase 10 of snakehead murrel *Channa striatus*, containing DED, p20 and p10 subunits: Molecular cloning, gene expression and proteolytic activity [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2013, 34(2): 505-513.
- [24] ARASU A, KUMARESAN V, GANESH M R, et al. Bactericidal activity of fish galectin 4 derived membrane-binding peptide tagged with oligotryptophan [J]. *Dev Comp Immunol*, 2017, 71, 37-48.
- [25] AROCKIARAJ J, PALANISAMY R, KUMARESAN V, et al. Striped murrel S1 family serine protease: Immune characterization, antibacterial property and enzyme activities [J]. *Biologia*, 2014, 69(8): 1065-1078.
- [26] MAKKONEN J, VESTERBACKA A, MARTIN F, et al. Mitochondrial genomes and comparative genomics of *Aphanomyces astaci* and *Aphanomyces invadans* [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(6): 36089.
- [27] ADIL B, SHANKAR K M, NAVEEN K B T, et al. Development and standardization of a monoclonal antibody-based rapid flow-through immunoassay for the detection of *Aphanomyces invadans* in the field [J]. *J Vet Sci*, 2013, 14(4): 413-419.
- [28] QI X, CHEN T, LU D, et al. Graphene-Au nanoparticle based electrochemical immunosensor for fish pathogen *Aphanomyces invadans* detection [J]. *Fuller Nanotub Car N*, 2017, 25(1): 12-16.
- [29] KUAN G C, SHENG L P, RIJIRAVANICH P, et al. Gold-nanoparticle based electrochemical DNA sensor for the detection of fish pathogen *Aphanomyces invadans* [J]. *Talanta*, 2013, 117(22):312-7.
- [30] LIU Y, DE B I, JACK A L, et al. Deciphering microbial landscapes of fish eggs to mitigate emerging diseases. [J]. *Isme J*, 2014, 8(10): 2002-2014.
- [31] KUMAR V, ROY S, BARMAN D. Effect of *Mikania cordata* on non-specific immune response and survival of *Labeo rohita* against *Aphanomyces invadans* [J]. *J Anim Plant Sci*, 2016, 26(6): 1833-1842.
- [32] YOGESHWARI G, JAGRUTHI C, ANBAZAHAN S M, et al. Herbal supplementation diet on immune response in *Labeo rohita* against *Aphanomyces invadans* [J]. *Aquaculture*, 2015, 437(437): 351-359.
- [33] JAWAHAR S, NAFAR A, VASANTH K, et al. Dietary supplementation of Zeolite on growth performance, immunological role, and disease resistance in *Channa striatus* against *Aphanomyces invadans* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, 51: 161-169.
- [34] 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 Immunol*, 2014, 39(2): 378-85.
- [35] ARASU A, KUMARESAN V, PALANISAMY R, et al. Bacterial membrane binding and pore formation abilities of carbohydrate recognition domain of fish lectin [J]. *Dev Comp Immunol*, 2016, 67, 202-212.
- [36] AROCKIARAJ J, SATHYAMOORTHY A, KUMARESAN V, et al. A murrel interferon regulatory factor-1: molecular characterization, gene expression and cell protection activity [J]. *Mol Bio Rep*, 2014, 41(8): 5299-5309.
- [37] 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 Immunol*, 2014, 39(2): 524-531.
- [38] SAIKIA D, KAMILYA D. Immune responses and protection in catla (*Catla catla*) vaccinated against epizootic ulcerative syndrome [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2012, 32(2): 353-359.