

几种理化因子对刺激隐核虫包囊及幼虫活力的影响

郑晓叶, 刘 顺, 周旻曦, 王国良*

(宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 选择温度、盐度等环境因子和不同种类及浓度梯度的化学药剂进行单因素试验, 研究其对刺激隐核虫包囊孵化和幼虫活性的影响。实验结果显示, 温度对刺激隐核虫包囊的孵化具有显著影响; 盐度对刺激隐核虫包囊的孵化和幼虫活性均有显著影响。选择的高锰酸钾、双氧水、硫酸铜、盐水、福尔马林浸泡药物对包囊或幼虫也均有一定影响, 而采用福尔马林结合低盐度海水进行浸泡处理, 既可有效杀灭包囊和幼虫, 又可减少环境污染并降低生产成本。

关键词: 刺激隐核虫; 温度; 盐度; 化学药剂

中图分类号: S942.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2015) 01-0015-06

刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)属原生动物门(Protozoa)前口纲(Prostomatea)前管目(Prorodontida)隐核虫科(Cryptocaryonidae)隐核虫属(*Cryptocaryon*), 是引起海水鱼类致死性疾病如白点病的病原^[1]。它能引起鱼的活动异常、上皮增生、呼吸困难、机械损伤, 继而带来病菌的继发感染^[1-3]。该虫宿主范围广泛, 能感染大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)、斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)、条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)、卵圆鲳鲈(*Trachinotus blochii*)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L)等几乎所有海洋硬骨鱼类^[4-9], 死亡率较高^[2,10]。近年来, 中国东部和南部海水养殖区域每年爆发白点病, 对海水养殖业带来严重的经济损失。刺激隐核虫生活中包囊孕育幼虫, 而幼虫感染鱼体引起危害^[2,8,11-12], 故杀灭或驱赶包囊和幼虫是防治白点病发生的关键。

目前已有学者对该病进行了广泛研究, 主要集中在病原结构、生活史、致病机理、免疫基因表达、病原检测方法和防治等方面^[3,6-20], 而目前针对影响刺激隐核虫包囊发育和幼虫活性的相关研究较少。笔者从福建宁德、福鼎等养殖海区采集患白点病的大黄鱼样本, 分离获得刺激隐核虫的滋养体或包囊, 在实验室孵化和培育后得到大量试验

用材料。对离体刺激隐核虫的包囊和幼虫进行了温度、盐度和化学药剂的影响试验, 以期海水养殖鱼类白点病的防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 灭菌海水

培育刺激隐核虫的滋养体或包囊及药物试验配置用的海水先经过滤, 再进行 121 °C 灭菌 30 min, 使用前加入 100 IU·mL⁻¹ 的青霉素和 100 μL·mL⁻¹ 的链霉素。海水盐度为 25‰。

1.1.2 包囊

从福建宁德等养殖海区采集患病大黄鱼样本, 将鱼处死并剪破心脏放血, 剪下附着明显白点的鳃片, 放入装有灭菌海水的 9 cm 培养皿中, 洗去血污, 用载玻片轻轻地鳃上的滋养体刮下。在显微镜下用吸管选取长径大于 400 μm 的滋养体, 移入每孔装有 2 mL 灭菌海水的 24 孔细胞培养板板孔中, 25 °C 黑暗中培育, 待包囊前体紧贴板底, 发育成为包囊后用于实验。

1.1.3 幼虫

将培育的包囊加入灭菌海水, 在 25 °C 黑暗中

收稿日期: 2013-12-17.

宁波大学学报(理工版) 网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 教育部长江学者与创新团队项目 (IRT0734); 农业部公益性行业科研专项 (200903029); 国家星火重大项目 (2011GA701001); 宁波市科技创新团队项目 (2013B82012)。

第一作者: 郑晓叶 (1988-), 女, 河南叶县人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 鱼病学研究。E-mail: 819053744@qq.com

*通信作者: 王国良 (1955-), 男, 浙江舟山人, 博导/教授, 主要研究方向: 鱼病学研究。E-mail: wangguoliang@nbu.edu.cn

继续培育,当包裹孵化达到高峰释放大量幼虫时,收集幼虫用于实验。

1.2 实验方法

1.2.1 温度试验

采用 24 孔细胞培养板,每孔放置 10 个包裹,在不同温度下培育,温度分别设置为 17、22、27、32、37℃,每个实验组设 4 个平行。培育期间,每天记录包裹的孵化情况并更换培养用海水,连续观察 8 d,统计各实验组包裹的孵化率。

1.2.2 盐度试验

采用 24 孔细胞培养板,每孔放置 10 个包裹,在不同海水盐度下培育,海水盐度分别为 15‰、20‰、25‰、30‰、35‰,实验组设 4 个平行。27℃下培育,每天记录包裹的孵化情况并更换培养用海水,连续观察 8 d,统计各实验组包裹的孵化率。

1.2.3 包裹浸泡药物试验

选择高锰酸钾、双氧水、硫酸铜、低质量浓度盐水、福尔马林作为试验药物,并设置无药对照组进行药物试验。药物用灭菌的纯水配制,根据预实验配制不同浓度梯度药物试验组(表 1)。

表 1 浸泡药物配制

药物	浓度梯度
高锰酸钾组/(mg·L ⁻¹)	1 4 6 9 12 15 17 20
双氧水组/(μL·L ⁻¹)	80 100 120 140 160 180 200 220
硫酸铜组/(mg·L ⁻¹)	1 3 5 7 10 15 20 25
盐水组/‰	0 0.5 1.5 3 4.5 6 7.5 9
福尔马林组/(μL·L ⁻¹)	30 50 70 90 110 130 160 200
无药对照组	不含药液的灭菌海水

采用 96 孔细胞培养板(德国 Greiner bio-one 公司),每孔放置 10 个包裹。按表 1 设计分别加入不同浓度梯度的硫酸铜、盐水和福尔马林,每孔 200 μL,另设无药对照组,每个实验组设 3 个平行,27℃下培育。显微镜下观察孵化情况,死亡包裹略透明,原生质呈黄色;正常发育的包裹原生质不透明且呈黑色,孵化完全的包裹剩下一透明空囊。统计各药物实验组包裹的孵化率。

1.2.4 幼虫浸泡药物试验

幼虫大量脱包时,收集虫液,混匀后吸取 5 份,每份 50 μL,加 10 μL 福尔马林杀死幼虫,显微镜下计数,计算出幼虫的平均浓度。使用灭菌海水调整虫液浓度为 1 000 个·mL⁻¹,作为实验用虫液。

采用 96 孔细胞培养板,按表 1 设计每孔先加入不同浓度梯度的高锰酸钾、双氧水、硫酸铜、盐水和福尔马林药液 100 μL,对照组加灭菌海水,然后分别再加入 100 μL 虫液,每个实验组设 3 个平行,27℃下培育。显微镜下观察,记录幼虫开始死亡时间和全部幼虫死亡所需的时间,取其平均值作为结果。药物的杀灭效果采用 Hirazawa 等^[21]标准,即在 1 h 内该药物能使全部幼虫停止游走并且贴于板底,且虫体完全不动或仅是纤毛微微摆动,则视该药物有效。若处理 1 h 后仍不能达到以上效果,则视该药物无效。

1.3 数据处理

$$\text{孵化率} = \frac{N}{C+N} \times 100\%,$$

其中: N 为显微镜下已经孵化出幼虫的包裹个数, C 为显微镜下未孵化出幼体的包裹个数。

实验数据使用 SPSS 13.0 软件进行处理,并用 Origin 8.0 作分析图形。

2 结果与分析

2.1 温度对刺激隐核虫包裹孵化率的影响

在 17~27℃ 范围内刺激隐核虫包裹孵化率随温度的升高而逐渐增大(图 1)。从图 1 可知,当温度为 17℃ 时,包裹第 6 天后才开始大量萌发,随之孵化率上升亦可达到 80%。温度为 22℃ 时,培养 24 h 包裹内即开始出现分裂相,包裹孵化率缓慢且平稳上升,最终孵化率达到 80%。温度为 27℃ 时,包裹培育 72 h 后逐渐大量释放出幼虫,最终孵化率可达 95%。在 32℃ 的培养温度下,孵化初期包裹出现一个快速孵化过程,而在 72 h 后趋于稳定,但孵化率仅为 60% 左右。温度高达 37℃ 时,刺激隐核虫包裹的孵化率很低,仅为 15% 左右。

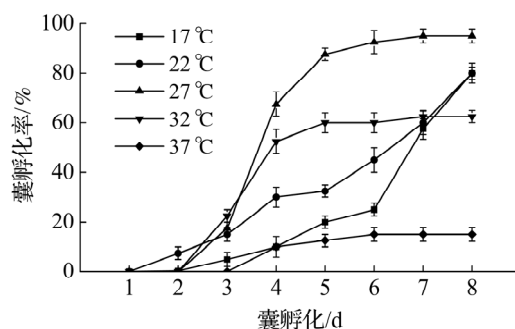


图 1 温度对刺激隐核虫包裹孵化率的影响

2.2 盐度对刺激隐核虫包裹孵化率的影响

图 2 为各盐度梯度实验结果. 从图 2 可知, 适宜刺激隐核虫包裹孵化的盐度范围较宽, 在 15‰~35‰的海水盐度下, 孵化率均可达到 95%以上, 尤以 20‰~25‰最为适宜. 盐度 25‰的海水中包裹的孵化率最高, 海水盐度高于 30‰时, 包裹孵化率相对较低, 盐度低于 15‰时, 包裹孵化率随着盐度的下降而降低. 但从孵化的幼虫活力观察, 反映盐度影响较大, 盐度在 10‰、15‰、30‰的海水中孵化出来的幼虫活力很低, 在 2~3 h 内即停止游动. 由此可见, 盐度为 20‰~25‰海水最为适宜, 有利包裹孵化并保持幼虫较高活力.

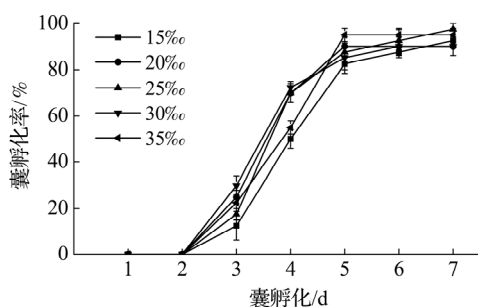


图 2 盐度对刺激隐核虫包裹孵化率的影响

2.3 化学药剂对刺激隐核虫包裹孵化的影响

不同化学药剂对刺激隐核虫包裹孵化的影响如图 3~图 5 所示. 硫酸铜对包裹的孵化有较好的抑制效果, 其质量浓度在 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对包裹发育的影响并不显著, 包裹孵化率仍可达 80%以上, 然而随着硫酸铜质量浓度的升高包裹孵化率呈直线下降趋势, 硫酸铜质量浓度达到 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时包裹孵化率仅为 20%左右, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时包裹孵化率降到 10%以下. 而经低盐度海水浸泡的包裹, 其孵化率也有比较明显下降, 在盐度为 2.0‰的海水中包裹孵化率仅为约 40%, 已有一定的杀灭效果; 当盐度为

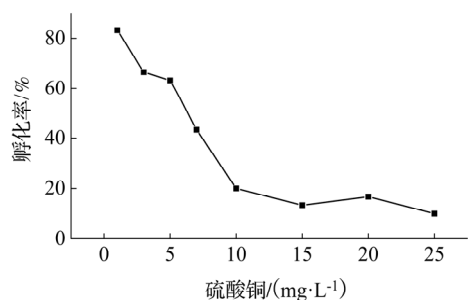


图 3 刺激隐核虫包裹经硫酸铜浸泡后的孵化率

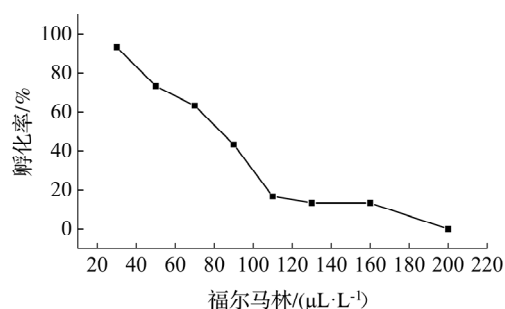


图 4 刺激隐核虫包裹经福尔马林浸泡后的孵化率

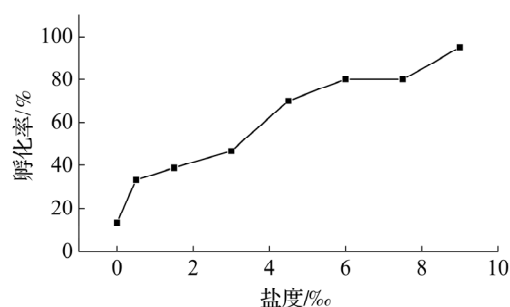


图 5 刺激隐核虫包裹经低盐度海水浸泡后的孵化率

6.0‰时, 包裹的孵化率已达到 80%. 福尔马林体积浓度在 $100 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上对包裹有 50%以上的杀灭效果, 随着福尔马林体积浓度增加, 杀灭效果增强, 当福尔马林达到 $130 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 时刺激隐核虫包裹的孵化率在 20%以下. 对照组包裹孵化率达 85%以上.

2.4 化学药剂对刺激隐核虫幼虫的影响

不同化学药剂对刺激隐核虫幼虫的影响结果见表 2. 高锰酸钾、双氧水、低盐度海水、福尔马林对刺激隐核虫幼虫均有一定的杀灭效果, 而质量浓度 $1 \sim 25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸铜对刺激隐核虫幼虫没有杀灭效果. $9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾在 12 min 左右开始杀灭刺激隐核虫幼虫, 约 24 min 即能有效杀死全部幼虫, 随着浓度升高杀灭时间缩短; 而低于 $9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾则对幼虫无杀灭效果. 从双氧水体积浓度从 $120 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 开始均有较好的杀灭效果, $120 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 双氧水 22 min 左右开始杀灭刺激隐核虫, 58 min 可以杀尽幼虫, $160 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上双氧水可以立即杀灭幼虫. 低盐度海水随着盐度不断降低对幼虫的杀灭效果越好, 盐度为 6.0‰的海水 10 min 幼虫开始死亡, 15 min 即可完全杀死; 而在盐度为 0.5‰的海水几乎立即杀灭所有幼虫. 体积浓度低于 $70 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的福尔马林对刺激隐核虫幼虫没有杀灭效果, $70 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 14 min 开始杀灭幼虫, 32 min

表2 不同化学药剂对刺激隐核虫幼虫的杀灭效果

高锰酸钾			双氧水			海水盐度			福尔马林		
$\rho/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	T_1/min	T_2/min	$\rho/(\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1})$	T_1/min	T_2/min	$\rho/\text{‰}$	T_1/min	T_2/min	$\rho/(\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1})$	T_1/min	T_2/min
1	—	—	80	—	—	0.0	+	1.00	30	—	—
4	—	—	100	—	—	0.5	+	3.50	50	—	—
6	—	—	120	22.67	58.75	1.5	2.56	6.85	70	14.00	32.00
9	12.17	24.27	140	3.45	22.24	3.0	6.83	7.50	90	10.00	18.00
12	8.33	10.67	160	+	3.50	4.5	7.00	7.70	110	5.00	15.00
15	3.50	9.79	180	+	1.09	6.0	10.32	14.55	130	5.00	14.00
17	1.10	8.08	200	+	+	7.5	—	—	160	3.00	11.00
20	0.50	7.00	220	+	+	9.0	—	—	200	+	+

注: ρ 表示浸泡药物浓度; T_1 表示幼虫开始死亡时间; T_2 表示幼虫全部死亡时间; “—”表示该药物在1h内不能完全杀死幼虫, 该组药物视为无效; “+”表示该药物在接触的瞬間杀死全部幼虫。

杀死幼虫全部, 随着浓度升高杀灭幼虫的时间缩短。空白对照组对幼虫没有杀灭作用。

3 讨论

温度对刺激隐核虫包囊发育影响实验结果表明, 水温对刺激隐核虫包囊的发育有明显的影响。从17℃到27℃, 随着温度的升高包囊发育放出幼虫的时间也逐渐缩短。Cheung等^[22]的研究发现随着培养温度的升高在20~25℃时从包囊发育到放出幼虫的时间明显缩短, 与本实验结果一致。在17℃的培养温度下包囊发育期延长可能是由于低温的影响, 包囊进入类似休眠体状态, 需要经过一段较长时间的适应后包囊才能萌发, 这与文献[6,23-25]在研究温度对包囊孵化率影响时得出的结论相似。高温不利于刺激隐核虫包囊的发育且能对其造成损伤。本研究显示, 在32℃时孵化率已经降至60%, 而37℃时孵化率急剧降低至15%。海水养殖鱼类刺激隐核虫感染发病的高峰期是5月下旬至7月上旬和9月下旬至10月下旬2个时段, 通过温度对刺激隐核虫包囊孵化率影响的研究, 可以解释为何病害在这2个时段爆发, 原因是发病高峰期的水温恰是刺激隐核虫包囊孵化的适宜温度, 此时孵化率较高。到了炎热的夏季, 平均温度达30℃以上, 包囊的孵化率明显降低, 刺激隐核虫以静止状态的包囊形式来抵御不良的生存环境。

考虑到我国东海养殖海区的盐度波动范围, 我们选取了5个盐度梯度(15‰、20‰、25‰、30‰、

35‰)进行盐度对刺激隐核虫包囊孵化率的影响实验, 结果表明刺激隐核虫包囊耐受盐度的范围较大。Cheung等^[22]实验显示在30‰盐度时刺激隐核虫发育最好, 而但学明^[12]的实验证明海水盐度在10‰~35‰时包囊的孵化率能达到90%, 与本实验结果相符。表明我国大多养殖海区水体盐度均适宜刺激隐核虫生活, 因此应重视刺激隐核虫感染的危害。

多种药物被用于短期或长期浸泡治疗海水鱼类纤毛虫病, 其中使用最多的为强氧化剂, 如高锰酸钾、双氧水等, 高锰酸钾遇有机物即放出新生态氧, 作用机理是以氧化病原生物体的活性基团(如巯基酶)而发挥杀灭作用^[26]。邱彦涛等^[27-28]研究了高锰酸钾、福尔马林对纤毛门的扇形游仆虫(*Euplotes vannus*)和寡毛双眉虫(*Diophrys oligothrix*)的急性杀灭效果, 结果显示高锰酸钾能够在养殖动物耐受阈内迅速杀灭纤毛虫, 这与本实验中9 mg·L⁻¹高锰酸钾对刺激隐核虫幼虫有较快杀灭的结果相一致。由于高锰酸钾对鱼类的安全质量浓度仅为3.75~4.8 mg·L⁻¹^[29], 用高锰酸钾治疗即使有效也会对养殖动物产生损伤。Tojo等^[30]曾用双氧水来控制鱼体上的寄生虫病取得较好效果, 然而, 本实验显示双氧水虽有一定效果, 但使用剂量较高又需较长时间, 不适合生产应用。硫酸铜是重金属盐类, 水溶液为酸性, 可与蛋白质结合形成蛋白盐沉淀, 从而杀灭虫体。王印庚等^[9]认为硫酸铜可以较好地驱杀刺激隐核虫, 从本实验结果可知, 硫酸铜在质量浓度不高时对包囊的发育只有很小的抑

制作用,难以侵入囊壁抑制其发育,当质量浓度达到 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时具有明显的杀灭效果,然而硫酸铜对鱼体及其他海洋生物的毒性亦较高,且铜离子易与海水中化学物质形成螯合剂而失去药效^[1]。福尔马林是一种强力杀菌剂,对寄生虫亦有良好的杀灭效果,其药理作用为阻止细胞核蛋白的合成,抑制细胞分裂导致病原体死亡。闫茂仓等^[31]使用福尔马林防治鳊(*Miichthys miiuy*)的刺激隐核虫感染。从本实验结果可知,福尔马林在较低体积浓度($60\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$)下对包囊已有一定的抑制效果,而且对自由生活感染期幼虫的抑制作用亦较显著。盐度在 6.0‰ 以下的水对包囊孵化具有明显抑制作用,且在较短时间内即可杀灭幼虫,效率高又可节约大量生产成本。福尔马林具有在较低浓度下即可有效杀死刺激隐核虫包囊和幼虫,且作用时间短,低盐度海水在较短时间内对包囊和幼虫具有明显杀灭效果,而且鱼体在低盐度海水中生存时间长于淡水。因此,笔者建议采用福尔马林结合低盐度海水进行浸泡处理,既可有效杀灭包囊和幼虫,又可减少环境污染和降低生产成本,对刺激隐核虫感染的预防和治疗具有实际应用价值。

研究还表明,当温度低于 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,刺激隐核虫包囊处于休眠状态,且海水盐度的变化又不足以对包囊的休眠产生影响,因而曾经爆发过刺激隐核虫感染引起鱼类“白点病”的养殖海区,来年更容易爆发该病,存活于养殖底泥中处休眠状态的包囊是再次爆发该病病原体的主要来源。因而加强对养殖区域底质清淤和清塘消毒是减少该病爆发的有效途径之一。

参考文献:

- [1] Colomi A, Burgess P. *Cryptocaryon irritans* Brown 1951, the cause of 'white spot disease' in marine fish: An update[J]. *Aquarium Sciences and Conservation*, 1997, 1(4):217-238.
- [2] 陈爱平,江育林,钱东. 刺激隐核虫病[J]. *中国水产*, 2011, 8:39-40.
- [3] 刘振勇,林小金,谢友俭,等. 大黄鱼刺激隐核虫病继发细菌感染致死原因的研究[J]. *福建水产*, 2012, 34(1): 11-15.
- [4] Wilkie D W, Gordin H. Outbreak of cryptocaryoniasis in marine aquaria at scripps institution of oceanography[J]. *Calif Fish Game*, 1969, 55:227-236.
- [5] Colomi A. Biology of cryptocaryon irritans and strategies for its control[J]. *Aquaculture*, 1987, 67(1/2):236-237.
- [6] Colomi A. Aspects as a control measure in of the biology of cultured gilt-head *Cryptocaryon irritans*, and hyposalinity sea bream *sparus aurata*[J]. *Dis Aquat Iraan*, 1985(1): 19-27.
- [7] Burgess P J, Matthews R A. *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora): Acquired protective immunity in the thick-lipped mullet, *Chelon labrosus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1995, 5(6):459-468.
- [8] 滕楠. 刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans* Brown 1951)在卵形鲳(*Trachinotus ovatus*)上的传代及免疫应答反应[D]. 广州: 中山大学, 2005.
- [9] 王印庚,刘志伟,林春媛. 养殖大菱鲆隐核虫病及其治疗[J]. *水产学报*, 2011, 35(7):1105-1112.
- [10] 王国良,周旻曦,徐益军. 刺激隐核虫 LAMP 检测方法的建立[J]. *中国预防兽医学报*, 2013, 35(7):574-577.
- [11] 徐润林,江静波,陈毕生. 刺激隐核虫生活史的光镜观察[J]. *海洋科学*, 1992(3):42-44.
- [12] 但学明. 刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)的传代、保存及刺激隐核虫病的防治研究[D]. 广州: 暨南大学, 2006.
- [13] Yambot A V, Song Y L, Sung H H. Characterization of *Cryptocaryon irritans*, a parasite isolated from marine fishes in Taiwan[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2003, 54(2):147-156.
- [14] 陈小玲,黄志清. 鱼类感染刺激隐核虫的免疫保护机制[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(12):5521-5522.
- [15] 但学明,李安兴,林小涛,等. 卵形鲳对刺激隐核虫的免疫应答和免疫保护研究[J]. *水生生物学报*, 2008, 12(1):13-18.
- [16] Bai J S, Xie M Q, Zhu X Q, et al. Comparative studies on the immunogenicity of theronts, tomonts and trophonts of *Cryptocaryon irritans* in grouper[J]. *Parasitology Research*, 2008, 102(2):307-313.
- [17] Wang F, Li R, Xie M, et al. The serum of rabbitfish (*Siganus oramin*) has antimicrobial activity to some pathogenic organisms and a novel serum l-amino acid oxidase is isolated[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30(4):1095-1108.
- [18] 邱军强,刘玮,杨先乐,等. 刺激隐核虫免疫学研究进展[J]. *中国病原生物学杂志*, 2011, 6(10):787-788.
- [19] Mohd-Shaharuddin N, Mohd-Adnan A, Chu K B, et al. Expression profile of immune-related genes in lates calcarifer infected by *Cryptocaryon irritans*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34 (3):762-769.
- [20] Khoo C K, Abdul-Murad A M, Kua B C, et al.

- Cryptocaryon irritans* infection induces the acute phase response in lates calcarifer: A transcriptomic perspective [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 33(4):788-794.
- [21] Hirazawa N, Goto T, Shirasu K. Killing effect of various treatments on the monogenean heterobothrium okamotoi eggs and oncomiracidia and the ciliate *Cryptocaryon irritans* cysts and theronts[J]. Aquaculture, 2003, 223(1): 1-13.
- [22] Cheung P J, Nigrelli R F, Ruggieri G D. Studies on cryptocaryoniasis in marine fish: Effect of temperature and salinity on the reproductive cycle of *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951[J]. Journal of Fish Diseases, 1979, 2(2):93-97.
- [23] Burgess P J, Matthews R A. *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora): Photoperiod and transmission in marine fish[J]. Mar Biol Assoc UK, 1994(74):535-542.
- [24] 言颖秀. 刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans* Brown 1951)生物学特性的研究[D]. 广州: 中山大学, 2005.
- [25] Dan X M, Li A X, Lin X T, et al. A standardized method to propagate *Cryptocaryon irritans* on a susceptible host pompano *Trachinotus ovatus*[J]. Aquaculture, 2006, 258(1): 127-133.
- [26] 俞开康, 战文斌, 周丽. 海水养殖病害诊断与防治手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000:209-211.
- [27] 邱彦涛, 宋微波. 3种药物对扇形游仆虫 *Euplotes vannus*(纤毛门, 寡毛目)的急性毒性作用[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(6):623-626.
- [28] 邱彦涛, 宋微波. 3种药物对寡毛双眉虫 *Diophrys oligothrix*(纤毛虫门, 腹毛目)的急性毒杀作用[J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(6):623-626.
- [29] 孟庆显. 海水养殖病害学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996:27-39.
- [30] Tojo J, Santamarina M T. Oral pharmacological treatments for parasitic diseases of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. I Hexamita Salmonis Dis Aquat Org, 1998, 33(1):51-56.
- [31] 闫茂仓, 邵鑫斌, 单乐州, 等. 福尔马林防治鲢鱼 *Miichthys miiuy* (Basilewsky)刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)的研究[J]. 现代渔业信息, 2008, 23(11):16-19.

Influence of Environmental Factors and Chemotherapeutants on *Cryptocaryon irritans* Tomont and Theront

ZHENG Xiao-ye, LIU Shun, ZHOU Min-xi, WANG Guo-liang*

(Key Laboratory of Applied Technology of Marine Biology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: In this study, the effects of the temperature and salinity on the hatchability of *Cryptocaryon irritans* tomonts, as well as the cytotoxic effects of different chemotherapeutants on tomonts and theronts were evaluated. The results showed that the hatchability of tomonts was all above 60% in temperatures ranging from 17 °C to 32 °C. However, the hatchability of tomonts decreased to 15% at 37 °C. The hatchability of tomonts was all above 95% in water salinity range from 15‰-35‰ at 27 °C. Interestingly, the highest vitality of the theronts was observed in the groups that the tomonts hatched with salinities being 20‰ and 25‰. The result suggested that the salinity would affect the hatchability of tomonts and the vitality of the theronts. Moreover, some chemotherapeutants exhibited cytotoxic effects on theronts according to the results from this study. It showed that 1-25 mg·L⁻¹ CuSO₄ could effectively inhibit the hatching of tomonts, but had no killing effects on the theronts. The formalin could either inhibit hatching of tomonts or kill the theronts effectively, and these effects were positively correlated with the concentrations. Moreover, the low salinity seawater was found to be also able to inhibit the hatching of tomonts and effectively kill the theronts. According to the results from this study, it suggested that the formalin together with the low salinity seawater could be used as a feasible and effective treatment for the infected fishes.

Key words: *Cryptocaryon irritans*; temperature; salinity; chemotherapeutants

(责任编辑 史小丽)