

河鲈水霉病病原菌的研究

熊刚, 尹思璐, 梁永增, 王咏星* (新疆大学生命科学与技术学院, 新疆乌鲁木齐 830046)

摘要 [目的]探究新疆地区河鲈(*Perca fluviavilis*)水霉病的病原菌。[方法]从患病河鲈肌肉及体表分离出多株病原菌,经人工感染试验验证其中1株丝状真菌HL01具有高致病性,对该菌株进行了鉴定,并研究了其形态与生长特征。[结果]菌株HL01的菌丝为透明管状结构,无隔,分枝较少;孢子囊呈球状,卵孢子呈肾形,数量在20枚左右。根据形态及生理学特征将菌株HL01鉴定为破囊霉属(*Thraustotheca*)。菌株HL01对氯化钠敏感,氯化钠质量分数为2.5%时可抑制其生长,氯化钠质量分数为1.0%时其生长最好;该菌株生长的适宜温度范围为15~35℃,最适温度为25℃;该菌株生长的适宜pH范围为pH 5~9,生长的最适pH为7。[结论]为确定新疆水霉病病原菌的多样性、大规模调查水霉多样性以建立研究模型以及为进一步研究水霉拮抗菌的多样性提供可靠的指示菌种奠定了基础。

关键词 河鲈;水霉病;鉴定;致病性;新疆地区

中图分类号 S965.211 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)08-03411-03

Study on Pathogenic Bacteria of *Saprolegniasis* from Perch (*Perca fluviavilis*)

XIONG Gang et al (College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046)

Abstract [Objective] The aim was to study the pathogenic bacteria of *Saprolegniasis* from perch (*Perca fluviavilis*) in Xinjiang. [Method] Some filamentous fungal strains were isolated from *P. fluviavilis*, among them strain HL01 was proved to be pathogenic to *Cyprinus carpio* eggs by artificial infection. The strain HL01 was identified, and its morphology and growth characteristics were studied. [Result] The mycelium of strain HL01 was tubular and had no septate and less branches. The shape of sporangium was spherical, and the shape of oospore was kidney-shaped, with the number of about 20. According to the morphological and physiological characteristics, strain HL01 was identified as *Thraustotheca*. The strain HL01 could grow at 15–35℃ and pH 5–9, and its optimum growing temperature and pH were 25℃ and 7, respectively. The strain HL01 could be inhibited by 2.5% NaCl completely, and it could grow in 1.0% NaCl best. [Conclusion] The research results lay a basis for determining the diversity of pathogenic bacteria of *Saprolegniasis* from *P. fluviavilis*, widely investigate the diversity of *Saprolegniasis* to establish study model and provide an indicator for studying the diversity of *Saprolegniasis* antagonistic bacteria.

Key words *Perca fluviavilis*; *Saprolegniasis*; Identification; Pathogenicity; Xinjiang

水霉病为淡水养殖中常见的寄生性疾病,对宿主无明显选择性,在水生生物的各阶段都有发生^[1-2]。其病原菌多为卵菌纲(Oomycetes)中水霉属(*Saprolegmia*)和绵霉属(*Achlya*)的一些种类^[3]。水霉分布范围很广,广泛存在于世界各地的淡水或半咸水水域及潮湿土壤中,对宿主无严格选择性,水产动物及其卵都可被感染。目前对水霉病病原菌全方面的深入研究很少,其分离纯化、鉴定方法都尚未成熟。国内学者仅对花鲈、施氏鲟、彭泽鲫卵等鱼类及其病原进行了初步研究^[4-6]。

由于北方地区气候寒冷,鱼类越冬时抵抗力低下,特别是新疆鱼类生长水质环境的特殊性更是大大增加了水霉病暴发的可能性。因此,研究并解决新疆地区水霉病病原菌的广泛传播势在必行。河鲈是广泛分布于亚欧大陆温带和寒带地区的淡水鱼类,在我国仅产于新疆额尔齐斯河与乌伦古河流域。河鲈肉质鲜嫩、爽滑少刺,富含人体必需的氨基酸,脂肪含量较低,是淡水鱼类中的珍品。鉴于此,笔者对河鲈水霉病病原菌进行了研究,旨在为确定新疆水霉病病原菌的多样性、大规模调查水霉多样性以建立研究模型以及为进一步研究水霉拮抗菌的多样性提供可靠的指示菌种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验鱼。河鲈病鱼采集于新疆五家渠水产养殖基

基金项目 国家自然科学基金项目(31160025);新疆生物资源基因工程重点实验室开放课题(XJDX0201-2013-04);新疆大学生创新性实验计划重点项目(XJU-SRT-2011015)。

作者简介 熊刚(1989-),男,四川内江人,本科生,专业:生物技术。
*通讯作者,副教授,从事水生生物学研究, E-mail: wyxing65@126.com。

收稿日期 2013-03-18

地,体表均覆有白色或黄色菌丝。

1.1.2 试验鱼卵。健康的鲤鱼鱼卵、雅罗鱼鱼卵和河鲈鱼卵采集于新疆五家渠水产养殖基地。

1.1.3 培养基。马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)用于水霉的分离、纯化培养。

1.2 方法

1.2.1 水霉病病原菌的分离与纯化。为了获得一种快速的水霉病病原菌的分离和纯化方法,对张书俊等^[5,7]的方法进行改良。

1.2.1.1 水霉病病原菌的分离。用无菌水冲洗病鱼体表,洗去杂物后用解剖刀割取体表明显覆有白色或黄色丝状物的肌肉,置于加有青霉素-链霉素(100 μg/ml)的PDA平板中央,25℃恒温培养24 h。

1.2.1.2 水霉病病原菌的纯化。取出长有菌丝的培养皿,用解剖刀切取边缘肉眼可见的再外侧菌丝(直径4 mm)接种于新的加有青霉素-链霉素(100 μg/ml)的PDA平板中央,25℃恒温培养24 h。再用相同方法切取含有最外圈菌丝的琼脂块于新的PDA平板中央,25℃恒温培养72 h以上,待菌丝长满平板时即可初步分离和纯化病原菌。

1.2.1.3 水霉病病原菌孢子悬液的制备。取“1.2.1.2”培养好的病原菌培养皿,用解剖刀切取直径0.5 mm的含菌丝体的琼脂块于30 ml含有10 ml无菌水的离心管中,25℃摇床振荡培养20 h,3 000 r/min离心5 min,取1 ml悬液加入灭菌的EP管内,置于4℃冰箱保存备用。

1.2.2 水霉病病原菌的鉴定。

1.2.2.1 活卵攻毒试验(寄主多样性试验)。按照

“1.2.1.3”方法制备病原菌孢子原液,用血球计数板在光学显微镜下计数。再将各株菌孢子液稀释成终浓度为 5×10^3 个/ml的孢子悬液。对夏文伟等^[6]的方法进行改进。分别取20粒健康的鲤鱼、雅罗鱼和河鲈鱼卵(鱼卵用无菌水清洗后,镜检无菌丝或孢子附着)放入装有孢子悬液的6孔板中,加入2 ml 灭菌过滤湖水,用移液枪多次吹打充氧,每组加入10 μ l 上述孢子悬液。每组3个平行,以灭菌过滤湖水(不加孢子)的鱼卵为对照,25 $^{\circ}$ C 恒温培养。观察镜检鱼卵感染情况,并计算感染率。以镜检卵膜出现明显菌丝判断为感染。

1.2.2.2 玉米籽培养试验。取灭菌的完整玉米籽1粒,加入含3 ml 灭菌过滤湖水的6孔板内,加入各菌株孢子悬液10 μ l,25 $^{\circ}$ C 培养至玉米籽表面长出菌丝。于倒置显微镜下观察3 d。

1.2.2.3 孢子及菌丝体的观察淘汰试验。滴1滴乳酸石碳酸棉蓝染液于载玻片上。用食指与拇指粘在一段透明胶带两端,使透明胶带呈U型,胶面朝下。将透明胶带胶面轻轻触及病原菌菌落表面。将粘在透明胶带上方的菌体浸入载玻片上的乳酸石碳酸棉蓝染液中,并将透明胶带两端固定在载玻片两端,用低倍镜和高倍镜镜检。被染成蓝色的为菌丝体,未被着色的是孢子,扩大试验范围,在孢子附近查找孢子囊的存在。

1.2.2.4 电镜观察。对PDA培养基上的菌落直接制样,用扫描电镜观察菌株的卵孢子囊结构。先将双面导电胶粘结在样品座上,再均匀粘取菌落表面,镀上导电膜即可观察。

1.2.3 理化性质试验。

1.2.3.1 温度对水霉菌生长的影响。对夏文伟等^[6,8]的方法进行简化。用灭菌的同一大小规格牙签大头接种在新的灭过菌的PDA培养基中央,然后分别置于15、25、35、45 $^{\circ}$ C 下恒温培养48 h,用十字交叉法测量菌落直径。每株3个平行。

1.2.3.2 pH 对水霉菌生长的影响。配制PDA培养基,常规灭菌后用3 mol/L 盐酸和3 mol/L 氢氧化钠调节pH 分别为5、6、7、8 和9。接种在新的不同pH 的灭过菌的PDA培养基中央,然后置于25 $^{\circ}$ C 下恒温培养48 h,用十字交叉法测量菌落直径。每株3个平行。

1.2.3.3 氯化钠对水霉菌生长的影响。将其分别接种于含氯化钠质量浓度为0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%的PDA平板中央,然后置于25 $^{\circ}$ C 下恒温培养48 h,用十字交叉法测量菌落直径。每株3个平行。

2 结果与分析

2.1 活卵攻毒试验 由表1可知,菌株HL01对鲤鱼鱼卵的感染率为100%;雅罗鱼鱼卵的感染率也较高,在40%~80%;而河鲈鱼卵的感染率较低,在15%~40%。不同的寄主出现了感染的难易情况,初步认为是不同的鱼卵保护机制有差异。鲤鱼鱼卵的体积较雅罗鱼鱼卵小,河鲈鱼卵多有卵带保护。故鲤鱼鱼卵最易感染,河鲈鱼卵不易感染。综上,初步判定菌株HL01为水霉菌。

2.2 光镜及电镜观察鉴定 结果表明,菌株HL01菌丝为透

表1 菌株HL01 寄主多样性的感染情况

菌株	感染数//粒			感染率//%		
	鲤鱼	雅罗鱼	河鲈	鲤鱼	雅罗鱼	河鲈
空白	0	0	0	0	0	0
HL01	20	18	6	100	90	30

注:3种鱼卵数为20粒;孢子浓度为 5×10^3 个/ml;感染数为第4天的数据。

明管状,分支较少,有隔;游动孢子囊呈球形(图1)。菌株HL01的菌丝体为透明管状结构,无隔,分支较少,卵孢子呈肾形,数量约20枚(图2)。

2.3 理化因子对水霉菌生长的影响

2.3.1 温度对水霉菌生长的影响。由图3可知,菌株HL01在15~35 $^{\circ}$ C 范围内均可生长,但在45 $^{\circ}$ C 时均不可生长。最适生长温度为25 $^{\circ}$ C。具体表现在,在15~25 $^{\circ}$ C 范围内菌落的直径随着温度升高而不断增大。

2.3.2 pH 对水霉菌生长的影响。由图4可知,菌株HL01在pH 5~9 范围内均可生长,最适生长pH 为7。在pH 7~9 时其菌落直径随着pH 的增大而缓慢降低。

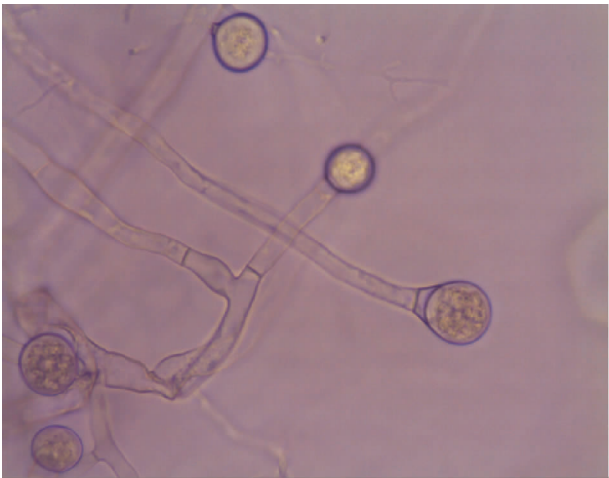


图1 菌株HL01 成熟的孢子囊(×40)

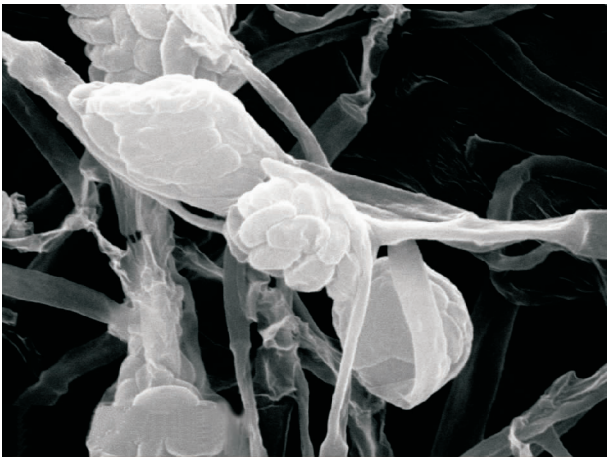


图2 菌株HL01 卵孢子囊扫描电镜结构(×20 000)

2.3.3 氯化钠对水霉菌生长的影响。由图5可知,氯化钠对水霉菌生长影响显著,水霉菌株HL01在氯化钠质量分数为0.5%、1.0%、1.5%、2.0%时水霉菌生长被显著促进,而在氯化钠质量分数为2.5%时水霉菌生长被抑制。最适氯化

钠质量分数为 1.0%。

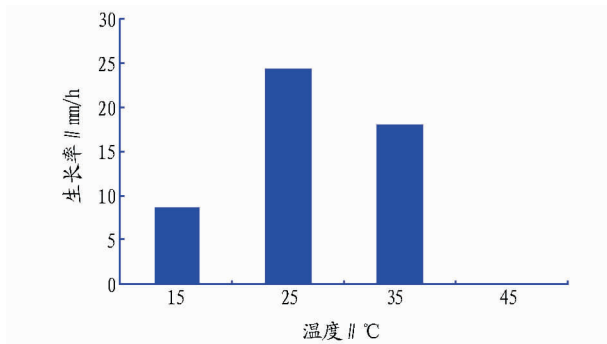


图3 温度对菌株 HL01 生长的影响

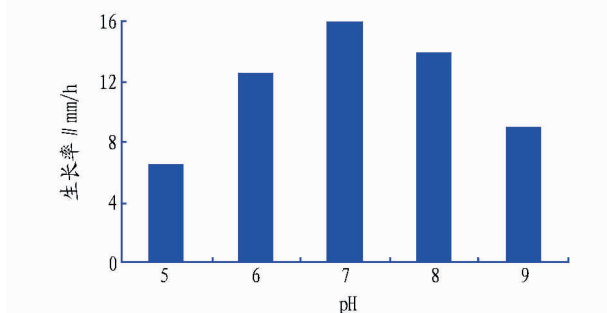


图4 pH 对菌株 HL01 生长的影响

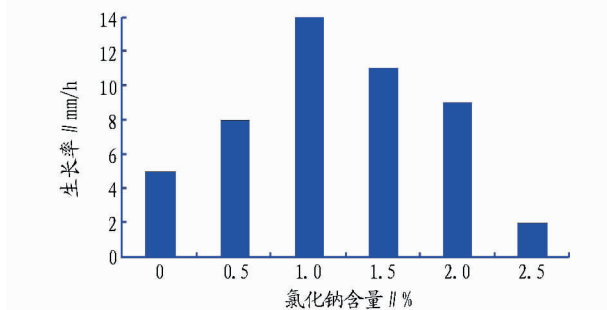


图5 氯化钠对菌株 HL01 生长的影响

3 结论与讨论

水霉病的病原菌多为卵菌纲 (Oomycetes) 中水霉属 (*Saprolegnia*) 和绵霉属 (*Achlya*) 一些种类。其主要通过产生游动孢子传播,最适生长温度为 13~18℃,早春和晚冬为水霉病的高发季节。菌株 HL01 经形态学鉴定为破囊霉属 (*Thraustotheca*)^[9],之前未曾报道过该属。氯化钠对水霉菌生长影响显著,水霉菌株 HL01 在氯化钠质量分数为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 时生长被显著促进,而在氯化钠质量分数为 2.5% 时被抑制。最适氯化钠质量分数为 1.0%。这一结论与前人的研究结果差别较大,分析原因可能是新疆地区水质盐碱含量较多数地区高,所以长期生活在该地区的鱼类适应了较高渗透压下的生活。

水霉分布范围很广,广泛存在于世界各地的淡水或半咸水水域及潮湿土壤中,对宿主无严格选择性,水产动物及其卵都可被感染。国内外对水霉的研究也多为某种病的病原菌的研究,而对于一个确定水体的水霉无系统研究,未能建立水霉多样性菌种库。目前国内外对水霉病的生物防治研

究已迅速开展,已发现一些细菌对水产动物病原菌有拮抗作用。因此,利用生物拮抗作用控制水产动物病害的生物防治也日益受到重视^[10]。但由于尚未找到合适的指示菌,导致研究进展缓慢。

另外,在我国水产动物病害学研究领域一直将水霉归为真菌类。随着对卵菌纲生物研究的不断深入,发现水霉与其他真菌存在很大不同之处。鉴于上述原因,将卵菌纲从真菌界中划出,成为独立的门,与硅藻、褐藻等一并归为茸鞭毛生物界^[11]。从而水霉被描述为具有一些真菌特征但非真菌的类真菌生物^[12-13]。

目前,对于水霉菌的鉴定主要是基于形态学特征,然而形态学特征难以对性状相似的菌株进行鉴定和命名^[14]。近年来,基于 ITS rDNA 序列分析的分子生物学鉴定技术进一步弥补了水霉菌传统分类鉴定方法的不足,由于 ITS 区域具有种内相对一致、种间差异较明显的保守性,同时具有序列片段较小、易于分析的优点^[15]。真菌分类学家越来越倾向利用 ITS 序列分析技术作为水霉菌种间分析和种内鉴定的分子标记^[13,16]。Ke 等^[17]通过分析比较分离自斑马鱼 (*Brachydanio rerio*) 和异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 的 2 株水霉内部转录间隔区 (ITS),包括 5.8S rDNA,确定了 2 株水霉同属于 *S. ferax* 的进化支。因此,对水霉菌的鉴定分类应把形态特征、生理生化特性的研究及分子鉴定相结合,进一步确立水霉的系统分类。

参考文献

- [1] KANIT C, KISHIO H. Freshwater fungi isolated from eggs of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Thailand [J]. *Mycoscience*, 2004, 45 (1): 42-48.
- [2] KITANCHAROEN N, HATAI K. Some biological characteristics of fungi isolated from salmonid eggs [J]. *Mycoscience*, 1998, 39 (2): 249-255.
- [3] 黄琪琰. 水产动物疾病学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 142.
- [4] 李爱华, 聂品, 卢全章. 花鲈水霉病及其病原的初步研究 [J]. *水生生物学报*, 1999, 23 (4): 388-390.
- [5] 张书俊, 杨先乐, 李聘. 施氏鲟水霉病原的初步研究 [J]. *中国水产科学*, 2009, 16 (1): 89-96.
- [6] 夏文伟, 曹海鹏, 王浩, 等. 彭泽鲫卵源致病性水霉的鉴定及其生物学特性 [J]. *微生物学通报*, 2011, 38 (1): 57-62.
- [7] HUANG T S, CERENIUS L, SODERHALL K. Analysis of the genetic diversity in crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*, by random amplification of polymorphic DNA assay [J]. *Aquaculture*, 1994, 26: 1-10.
- [8] HUSSEIN M M A, HATAI K. *In vitro* inhibition of *Saprolegnia* by bacteria isolated from lesions of salmonids with *saprolegniasis* [J]. *Fish Pathology*, 2001, 36 (2): 73-78.
- [9] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 21-22.
- [10] 张书俊, 杨先乐, 李聘, 等. 水霉拮抗菌的筛选及其拮抗作用的初步研究 [J]. *水生生物学报*, 2008, 32 (3): 301-307.
- [11] 刘志恒. 现代微生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 323-331.
- [12] PIETER V W. *Saprolegnia parasitica*, an oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem [J]. *Mycologist*, 2006, 20 (3): 99-104.
- [13] STUELAND S, HATAI K, SKAAR L. Morphological and physiological characteristics of *Saprolegnia* spp. strains pathogenic to *Atlantic salmon*, *Salmo salar* L. [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2005, 28 (8): 445-453.
- [14] DIÉGUEZ-URIBEONDO J, FREGENEDA-GRANDES J M, CERENIUS L, et al. Re-evaluation of the enigmatic species complex *Saprolegnia iclina-Saprolegnia* parasitica based on morphological, physiological and molecular data [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2007, 44 (7): 585-601.
- [15] 陈剑山, 郑服丛. ITS 序列分析在真菌分类鉴定中的应用 [J]. *安徽农业科学*, 2007, 35 (13): 3785-3786, 3792.

Zn 和全氮呈 0.05 水平显著正相关,相关系数为 0.225;Cr 和土壤有机质含量呈 0.05 水平显著正相关,相关系数为 0.265;Cr、Ni 与 pH 呈 0.01 水平显著负相关,相关系数分别为 -0.415、-0.413。

表 5 土壤重金属与理化性质之间的相关性

元素	全磷含量	土壤全氮	有机质	速磷含量	pH
	mg/kg	含量//g/kg		mg/kg	
Mn	0.012	-0.013	-0.099	0.062	0.157
Zn	0.206	0.225 *	0.196	0.096	-0.204
Cu	0.045	-0.028	-0.095	0.009	0.188
Cr	-0.041	0.177	0.265 *	-0.002	-0.415 **
Ni	-0.090	0.072	0.133	-0.182	-0.413 **

注: *、** 分别表示在 0.05、0.01 水平显著性相关(双尾)。

3 结论与讨论

研究表明,多种重金属元素的垂向分布均表现出一致的变化趋势。在 0~20 cm 土层范围内多种重金属元素有明显的富集现象,20 cm 以下土层各元素含量出现波动。根据单因子污染指数结果,Mn、Zn、Cu、Cr、Ni 元素均属于无污染。不同土种中土壤重金属含量不一致。每层剖面中的 Mn 和 Cu 在重壤深位中黑垆土层耕种黄土状碳酸盐褐土里含量都比其他土种高。在 0~20 cm 土层,Zn 在中壤耕种洪积黄土褐土性土里含量最高,Cr 在中壤浅位厚黏化层耕种黄土状碳酸盐褐土里含量最高,Ni 在中壤轻度侵蚀耕种黄土质褐土性土里最高;在 20 cm 以下土层,Zn、Cr、Ni 在不同土种中的含量都发生变化,表明中下层重金属含量有一定的波动。这进一步说明不同土壤类型对重金属的吸附与迁移具有不同的影响。

用 SPSS 软件对 5 种重金属的含量进行相关性分析,发现 Mn 和 Cu、Cr、Ni 呈 0.01 水平显著相关,表明污染土壤中重金属来自于同一污染源如施加农药、化肥等化学物质。各金属元素之间的相关性在一定程度上可以反映这些元素污染程度的相似性或来源的相似性^[12-13]。研究土壤中重金属含量的相关性,可以推测其来源是否相同。若重金属含量呈显著地相关性,说明来源可能相同,否则来源可能不止一个^[14]。土壤磁化率与重金属 Mn、Cu、Cr、Ni 的含量呈 0.01 水平显著相关。土壤磁化率与土壤重金属含量之间存在一定的相关性,说明土壤中磁性增强与重金属富集有密切的联系。用磁学方法,可以监测土壤重金属污染。这与蒋建清等^[15]的研究结果一致。统计结果表明,重金属与理化性质之间有一定的相关性。这可能是由于土壤的机械截留、有机

质的固定、土壤胶体的吸附等对重金属向下迁移有很大的阻滞作用,使得重金属向下迁移缓慢,进一步说明不同土壤类型的土壤质地、pH^[16-17]、有机质含量^[18]等都影响重金属的形态和迁移。

参考文献

[1] 毛大发, 鄢新华. 试论南昌莲塘一带土壤环境地球化学特征及其环境质量[J]. 地质与勘探, 2003, 39(3): 72-77.

[2] 段雪梅, 胡守云. 南京某钢铁公司周边耕作土壤的磁学性质与重金属污染的相关性研究[J]. 中国科学: D 辑, 2009, 39(9): 1304-1312.

[3] 依艳丽, 谷微微. 葫芦岛市土壤磁化率与重金属元素分布规律及其相关性研究[J]. 土壤, 2008, 40(5): 806-811.

[4] 吕达, 郑祥民, 周立昱. 上海崇明岛沉积物重金属污染的磁学研究[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(2): 160-163.

[5] 刘志锋, 杨涛. 武汉市东湖周边近地表土壤磁化率特征及其环境意义[J]. 地质科技情报, 2009, 28(4): 28-29.

[6] HANESCH M, SCHOLGER R, REY D. Mapping dust distribution around an industrial site by magnetic parameters of tree leaves[J]. Atmospheric Environment, 2003, 37: 5125-5133.

[7] BECKWITH P R, ELLIS J B, REVITT D M, et al. Heavy metal and magnetic relationships for urban source sediment[J]. Phys Earth Planet Int, 1986, 42: 6775.

[8] 李西开. 农业常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 125-128.

[9] 王介元, 王昌全. 土壤肥科学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1997.

[10] OLDFIELD F, HUNT A, JONES M D H, et al. Magnetic differentiation of atmospheric dusts[J]. Nature, 1985, 317: 516-518.

[11] 国家环境保护总局. 土壤环境监测技术规范[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 24-25.

[12] 任顺荣, 邵玉翠, 王正祥. 利用畜禽废弃物生产的商品有机肥重金属含量分析[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(S1): 216-218.

[13] 刘荣乐, 李书田, 王秀斌. 我国商品有机肥料和有机废弃物中重金属的含量状况与分析[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(2): 392-397.

[14] STRZYSCZ Z. Magnetic susceptibility of soils in the areas influenced by industrial emissions[C]//Soil Monitoring, Monte Verita. Birkhauser, Basel, 1993: 255-269.

[15] 蒋建清, 吴燕玉. 模拟酸雨对草甸棕壤中重金属迁移的影响[J]. 中国科学院研究生院学报, 1995, 12(2): 185-190.

[16] TURER D G, MAYNARD B J. Heavy metal contamination in highway soils. Comparison of Corpus Christi, Texas and Cincinnati, Ohio shows organic matter is key to mobility[J]. Clean Technologies and Environmental Policy, 2003, 4(4): 235-245.

[17] 陈怀满. 土壤-植物系统中的重金属污染[M]. 北京: 科学出版社, 1996.

[18] 万红友, 周生路, 赵其国. 苏南经济快速发展区土壤 Ni 的形态分布影响因素——以昆山市为例[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(10): 1953-1959.

[19] 王思思, 李凤全, 王志刚, 等. 金华市土壤磁化率与重金属 Pb 含量的关系[J]. 湖南农业科学, 2012(19): 56-59.

[20] 王凌, 张国印, 张小龙, 等. 蔬菜土壤重金属生物有效性及有效态与全量相关性研究[J]. 华北农学报, 2011(S1): 85-88.

[21] 余小芬, 陈军, 彭荣珍, 等. 滇中农用地土壤重金属影响因素研究[J]. 西南农业学报, 2012(5): 1765-1769.

[22] 庞丽蓉, 张福金, 李秀萍, 等. 内蒙古农牧交错区土壤重金属含量及其分异[J]. 内蒙古农业科技, 2010(4): 71-72.

(上接第 3413 页)

[16] PAUL B, STECIOW M M. *Saprolegnia multispora*, a new oomycetes isolated from water samples taken in a river in the Burgundian region of France[J]. FEMS Microbiol Lett, 2004, 237(2): 393-398.

[17] KE X L, WANG J G, GU Z M, et al. Morphological and molecular phylogenetic analysis of two *Saprolegnia* sp. (*Oomycetes*) isolated from silver crucian carp and zebra fish[J]. Mycological Research, 2009, 113(5): 637-644.