

## 養殖淡水長腳大蝦感染酵母菌之研究

徐榮彬 劉正義

國立中興大學獸醫學研究所

從 1991 年元月至 1993 年 3 月，於高雄及屏東地區之養殖淡水長腳大蝦，發現感染酵母菌病例。病例發生時間從 10 月至次年的 5 月止，尤以 12 月至次年 2 月的低水溫期感染率最高，佔總病例 68%；而 6 月至 9 月之高水溫期則無病例發生。感染病蝦以成蝦為主佔 75%，其次是中蝦 23%，幼蝦 2%，而蝦苗則無病例。病蝦外觀呈黃褐色，肝胰腺腫脹，全身肌肉及血淋巴液呈白濁。組織病理學檢查可見肝胰腺盲管上皮細胞呈空泡化 (Vacuolization)，肝胰腺盲管間質實質隙中含有大量圓球形酵母菌菌塊，菌塊被覆一層薄膜；肉眼病變區肌肉組織可見局部變性或壞死灶，並且於全身血淋巴液中皆可見出芽的酵母菌。各別病例各組織臟器含酵母菌量試驗，顯示肌肉、血淋巴液、肝胰腺、鰓等組織之含菌量平均值分別為： $1 \times 10^8$  CFU/gm、 $3 \times 10^{10}$  CFU/gm、 $2 \times 10^9$  CFU/gm、 $2 \times 10^5$  CFU/gm。選取酵母菌株 *Debaryomyces hansenii* 行淡水長腳大蝦之肌肉接種試驗，分 15°C、20°C、25°C 及 30°C 等四組，結果 15°C 及 20°C 組死亡率 100%，而 30°C 組皆存活；病死蝦隻其病徵與野外病例所見相似，且經分離培養可回收接種之酵母菌。

### 前 言

本省養殖淡水長腳大蝦主要集中於高屏地區，自從 1987 年以來，養殖業者發現冬季蝦隻成長緩慢死亡率明顯增加。近年來疫情有擴大之勢，業者蒙受重大損失，其中以成蝦的死亡率最高，病蝦呈現游動緩慢，靠岸，體色呈黃褐色，食慾減退或廢絕，剖檢可見血淋巴液和肌肉白濁，肝胰腺腫脹，病蝦經病理學診斷係為病原酵母菌感染症 (Yeast infection)，且全身組織臟器皆可分離到酵母菌。感染陸生動物之酵母菌，主要以念珠菌 (*Candida* sp.) 為主，感染部位通常在消化道及產道之粘膜，通常並不引起明顯之病害，然而，一旦宿主健康情形不良或緊迫時，則此潛在病原將嚴重侵害粘膜組織，甚至可侵入血流並波及其他器官 (Carter 1986)。而水生動物之體表粘液中雖然可分離到酵母菌 (Morris 1975)，但其病原性並不確定。有關蝦類感染病原酵母菌尚欠缺文獻報告。本文係

淡水長腳大蝦感染酵母菌之首次病例報告，並擬就其疫情，病蝦之病理學特徵，及其病原性加以研討。

## 材 料 與 方 法

### 一、 疫學調查與採樣：

#### (一) 採樣

本試驗採自高屏地區八個淡水長腳大蝦養殖場作定點定時採樣，但於發病期間則全面採樣。藉以掌握感染酵母菌之疫情資料檢體自現場採集回來後，即行剖檢、微生物分離、組織固定包埋處理及切片。

#### (二) 特定感染養殖池之水質理化學分析

以屏東縣康姓蝦池為試驗池，於 1 月份及 8 月份，分別定點採取距池邊兩公尺的池底水樣，採集水樣包括健康池 (A 池) 及感染池 (B 池)，然後進行下列水質理化學分析，包括：

##### 1、物理分析：

- (1) 酸鹼值 (pH 值)：以 Suntex pH meter 測定。
- (2) 溶氧 (DO)：以 Suntex DO meter 測定。
- (3) 水色：於養殖場現場觀察測定。
- (4) 透明度：以直徑 25 cm 白色 Sechic disk 測定。
- (5) 水溫：於養殖場現場用溫度測定儀測定 (水溫測定以每月上、中、下旬各測 5 日，再求其平均值)。

##### 2、化學分析：

- (1) 氨態氮 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ )：採用 Phenolhypochlorite 法，以 HITACHI-2000 分光光度計測吸光值。
- (2) 亞硝酸氮 ( $\text{NO}_2\text{-N}$ )：採用 Wood-Armstrong-Richard 法，以 HITACHI-2000 分光光度計測吸光值。

### 二、 酵母菌之分離鑑定

從八個淡水長腳大蝦養殖池中，隨機採樣 100 尾蝦隻，選取游動緩慢，體色黃褐肌肉呈白濁之病蝦，經解剖檢查後，分別從肝胰腺、肌肉及血淋巴液等鈎菌畫線培養於血液

培養基（含 5% 脫纖維血），及 YM 培養基（DIFCO），於 25°C 培養 48 小時，選取疑似酵母菌落，先經革蘭氏染色鏡檢為陽性酵母菌，然後予以純化增菌培養及鑑定。又，新鮮未固定病材，各取其 1 公克肌肉、血淋巴液、肝胰腺、鰓等組織，經研磨後用生理鹽水做 10 倍稀釋計算每公克組織中的含菌量。

### 三、 病理學檢查

(一) 病材以 Davison's solution 固定處理 24 小時以上，經脫水，石蠟浸潤，包埋，切片，再以蘇木紫及伊紅 (Haematoxyline & Eosin; H&E) 染色，並佐以 Periodic Acid-Schiff (PAS)、Grocotl's methenamine silver nitrate (GMS) 及 Masson's Trichrome 等特殊染色，以光學顯微鏡檢查組織病理變化及酵母菌分佈情形。

#### (二) 電子顯微鏡觀察

##### 穿透式電子顯微鏡 (TEM) :

- 1、將野外新鮮病材，取肝胰腺、肌肉等組織，直接放入 2.5% 戊二醛磷酸緩衝溶液 (Glutaraldehyde/0.1 M Phosphate buffer) (GA) 中 4°C 固定二小時。
- 2、取出組織整修至 0.5×0.5 mm<sup>3</sup> 大小，再更換新的 GA，4°C 固定 4 小時以上。
- 3、用 0.1 M pH 7.3 Phosphate buffer (PB) 清洗三次，每次 5 分鐘。
- 4、以 1% Osmium tetroxide 做後固定 1 小時，然後用 PB 清洗三次，每次 5 分鐘。
- 5、使用 30%、50%、70%、90%、95%、100%、100%、100% 酒精脫水，每次 10 分鐘。
- 6、以 Spurr 置換 100% 酒精。
- 7、以新鮮的 100% Spurr 當包埋劑，將組織放入 Beem capsules 中置於 70°C 烘箱，8 至 24 小時即可完全聚合硬化。
- 8、粗切放於玻片上，以 1% Toluidine blue 染色，先用光學顯微鏡觀察。
- 9、超薄切片置於 Grid 上進行醋酸鈾醯及檸檬酸鉛雙重染色。
- 10、使用日立牌 H-600 型穿透式電子顯微鏡觀察，拍照。

##### 掃描式電子顯微鏡 (SEM) :

- 1、病材的採樣和前處理，與 TEM 1~5 項相同，組織可整修至  $5 \times 5 \text{ mm}^3$ 。
- 2、經酒精脫水後，以 Isoamyl acetate 溶液置換三次，每次 20 分鐘，再以液態二氧化碳作臨界點乾燥 (CPD)。
- 3、乾燥後之樣品，置於雙面膠之載體上，行真空黃金被覆 (Coating)。
- 4、使用掃描式電子顯微鏡觀察，拍照。

#### 四、動物接種試驗

##### (一) 供試驗淡水長腳大蝦：

淡水長腳大蝦購自屏東某養殖場，該場未曾有過酵母菌疫情，蝦隻大小重量為 15~24 公克，購回蝦隻先於實驗室中飼養一週，並且隨機採樣，經組織塗抹片染色鏡檢及細菌培養，證明未感染者，才供接種試驗。

##### (二) 供試菌株及製備菌液：

從野外病例所分離到之酵母菌株，選取其中一株經鑑定為 *Debaryomyces hansenii* (PT-68)，供為試驗接種菌株。菌株先畫線培養於 YM Agar 上，於 25 °C 培養箱中培養 3 天以白金耳鈎取少數菌落，於滅菌生理食鹽水中，做成  $4 \times 10^5 \text{ CFU/ml}$  的菌液。

##### (三) 試驗分組及接種：

以上述備妥之菌液 0.3 ml 接種於淡水長腳大蝦的肌肉內，並分別飼養於 15°C、20°C、25°C、30°C 等四組恆溫水槽中每組 10 隻，於接種後十天內，觀察其死亡情形，並做病原菌分離及病理學檢查。

## 結 果

### 一、疫學調查分析

調查養殖淡水長腳大蝦感染酵母菌之疫情地區，包括高屏地區的 8 個養殖場，調查結果顯示感染酵母菌之病例主要集中於冬季，其中以 1 月份所佔的病例數最高，佔全年總病例的 33%，其次依序為 12 月 (20%)、2 月 (15%)、11 月 (13%)、10 月 (8%)、3 月 (7%)、4 月 (3%)、5 月 (1%)，而 6、7、8、9 等四個月，則未蒐集到酵母菌感染病例 (圖 1.)。若以蝦隻的大小做分析，則 20 公克以上的大蝦感染率最高，佔 75%，其次是中蝦 23%，再次是幼蝦 2%，而蝦苗則無病例發現。感染酵母菌發病蝦池不分新池或舊

池，皆會發生。感染酵母菌蝦隻食慾減退或廢絕，靠岸，游動緩慢，體色呈黃褐色，兩三日後陸續死亡，尤其於寒流過後一週內死亡最為嚴重。特定感染池之水質理化學分析結果如表 1.所示。

表 1. 1992 年 1 月及 8 月屏東某淡水長腳大蝦池之水質比較

項 目	A 池 (健康池)		B 池 (感染池)	
	1 月 28 日		8 月 28 日	
水溫 (°C)	18.1	31	18.1	31
水色	綠	綠	綠	綠
透明度 (cm)	45	38	41	35
酸鹼質 (pH)	8.02	8.22	8.15	8.18
溶氧 (mg/l)	9.41	8.64	9.58	8.72
氨態氮 (mg/l)	0.05	0.17	0.08	0.18
亞硝酸氮 (mg/l)	0.01	0.01	0.01 </td <td>0.01</td>	0.01

註：採樣時間為上午 10：00

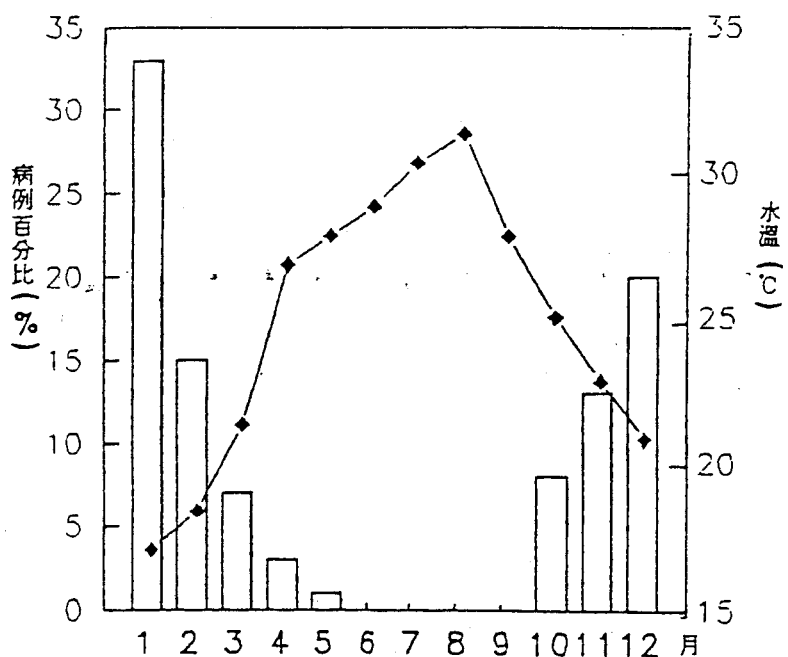


圖 1. 不同月份淡水長腳大蝦感染酵母菌之分佈 (柱狀)，及 1992 年 1 至 12 月屏東某淡水長腳大蝦池每月平均水溫之變化情形 (◆)。

## 二、 酵母菌之分離及鑑定結果

從罹病淡水長腳大蝦之肝胰腺、肌肉及血淋巴液，分別鈎菌畫線培養於血液培養基（含 5% 脫纖維血），及 YM 培養基，於 25°C 培養 48 小時，可見直徑約 0.5 -1 mm，表面平滑，周邊全緣圓形隆起的乳白色菌落。革蘭氏染色陽性，出芽生殖之橢圓形菌。所分離到之酵母菌株，高雄縣有 28 株（KS-1 至 KS-28），屏東縣有 87 株（PT-1 至 PT-87），共 115 分離株。根據無性生殖特徵、孢子特徵、培養生化特性及無任何菌絲或偽菌絲產生等資料，輔以酵母菌電腦程式，及酵母菌染色體電泳圖譜，所分離株鑑定結果可歸屬於 *Debaryomyces hansenii* 及 *Metschnikowia bicuspidata* 兩種酵母菌（有關分離酵母菌株之鑑定，將另文發表）。新鮮病蝦各組織之含酵母菌量試驗，結果肌肉、血淋巴液、肝胰腺、鰓等組織含菌量之平均值分別為  $1 \times 10^8$  CFU/gm、 $3 \times 10^{10}$  CFU/gm、 $2 \times 10^9$  CFU/gm、 $2 \times 10^5$  CFU/gm（圖 2.）。

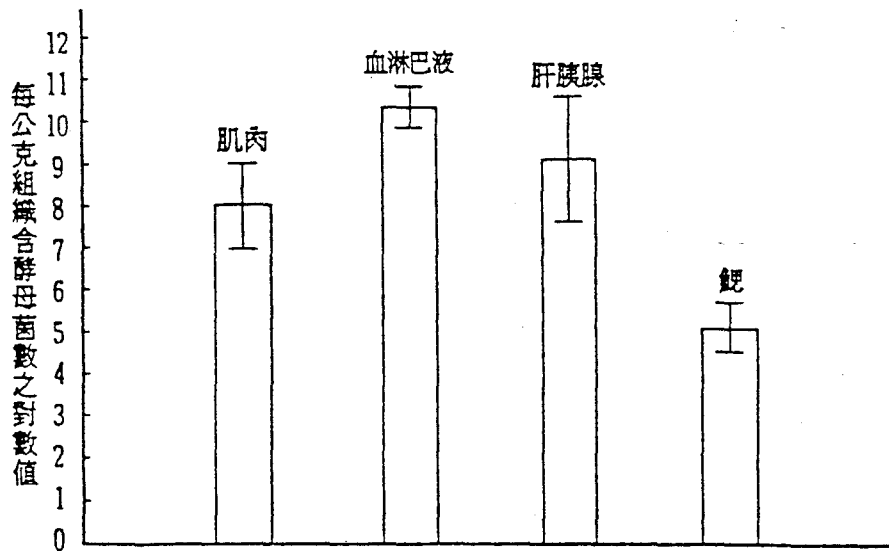


圖 2. 從 50 尾野外感染酵母菌之淡水長腳大蝦，計算各組織臟器中的含菌量。

## 三、 病理學檢驗結果

### (一) 自然感染病蝦之肉眼特徵：

從野外所採集感染酵母菌之病蝦觀察發現，病蝦外觀呈黃褐色，頭胸節與腹節交接處明顯腫脹混濁，眼球輕微混濁白化。病蝦一般活力減退，容易於運輸過程中死亡。剖檢可

見血淋巴液增加，並且呈白濁樣，肝胰腺腫脹呈淡黃色，全身肌肉呈白色混濁（圖 3.）。組織臟器塗抹片染色鏡檢，可見革蘭氏陽性酵母菌（圖 4.）。

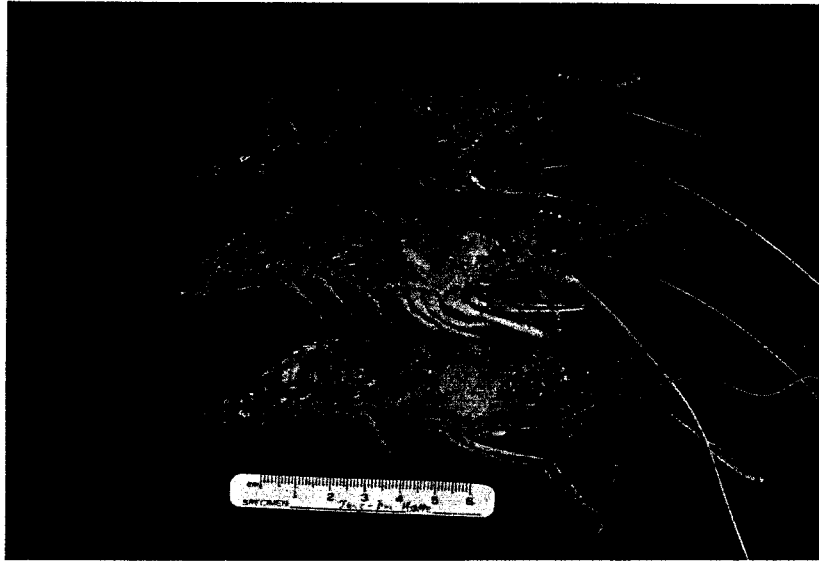


圖 3. 野外感染酵母菌病蝦。剖檢可見肝胰腺腫脹及肌肉白濁。(A)：正常蝦，(B)及(C)：病蝦。

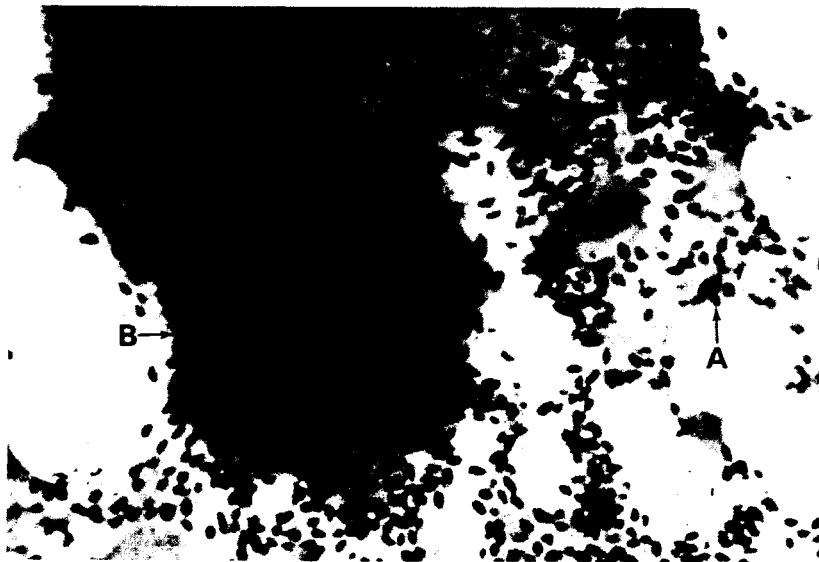


圖 4. 病蝦肝胰腺塗抹片，經革蘭氏染色，酵母菌呈陽性。出芽狀菌體(A)，圓球形菌塊(B)。× 1000.

(二) 組織病理學變化：

- 1、肝胰腺：肝胰腺管柱狀上皮細胞呈空泡變性 (Vacuolation degeneration)，管腔縮小或阻塞，竇狀隙 (Sinusoid) 中充滿酵母菌塊 (圖 5.)。菌塊被一層薄膜所包裹成圓形，此層薄膜於 H & E 染色，酵母菌塊呈粉紅色；PAS 染色，酵母菌塊呈梅紅色；Masson's Trichrome 染色，酵母菌塊呈淺紅色；GMS 染色，酵母菌塊呈黑色；而菌塊薄膜與組織同顏色。
- 2、表皮：表皮層細胞水腫變性，其間有大量酵母菌聚集。
- 3、肌肉：岑克氏變性 (Zenker's degeneration)，肌肉組織橫紋消失呈粉紅色均質樣，局部性肌肉壞死溶解，壞死區內含大量酵母菌。
- 4、心臟：心肌亦呈岑克氏變性，心腔內有大量酵母菌體。
- 5、鰓：初級及次極鰓薄板細胞水腫變性，鰓薄板血管中有大量酵母菌塊。
- 6、眼球：於晶狀體層和視網膜層交接處含酵母菌。

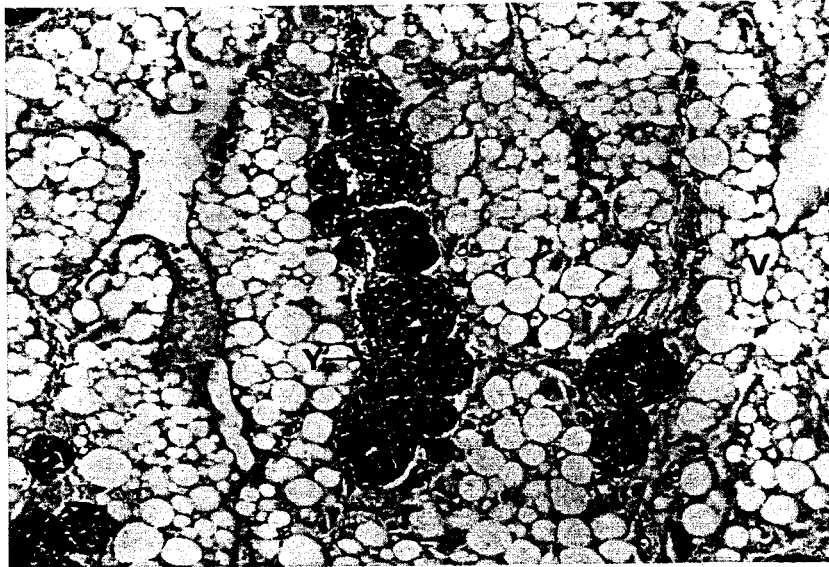


圖 5. 野外感染酵母菌病蝦肝胰腺。腺管柱狀上皮細胞空泡變性 (V)，竇狀隙中充滿圓球形黑色酵母菌塊 (Y)。GMS. ×100.



(三) 描式及穿透式電子顯微鏡下之病變

- 1、肝胰腺：肝胰腺管上皮細胞空泡化，空泡化之上皮細胞，胞器溶解消失，竇狀隙中充滿酵母菌，其菌塊被一層薄膜包裹成圓球形，此薄膜之厚度為 $5\mu\text{m}$ （圖 6、圖 7）。
- 2、肌肉：肌纖維間散佈酵母菌，部份肌肉組織壞死溶解（圖 8）。

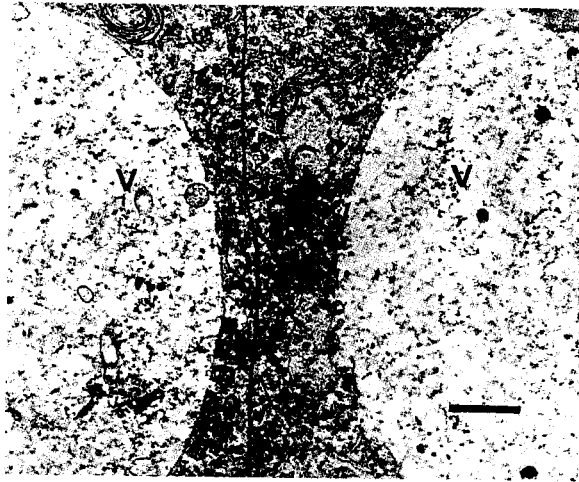


圖 6. 野外感染酵母菌病蝦肝胰腺。以穿透式電子顯微鏡（TEM）觀察，空泡化的上皮細胞之胞器溶解消失（V）。Bar =  $100\mu\text{m}$ 。



圖 7. 野外感染酵母菌病蝦肝胰腺。竇狀隙中之酵母菌塊，以穿透式電子顯微鏡（TEM）觀察，球狀菌塊中之酵母菌（Y），及菌塊外圍之薄膜（M）厚度為 $5\mu\text{m}$ 。Bar =  $40\mu\text{m}$ 。

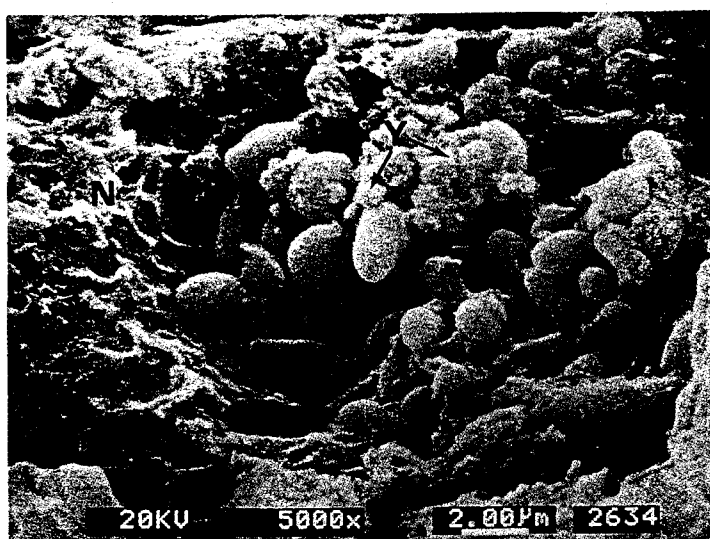


圖 8. 野外感染酵母菌病蝦肌肉。以掃瞄式電子顯微鏡 (SEM) 觀察，肌肉纖維壞死溶解 (N) 其間有出芽酵母菌 (Y)。

#### 四、動物接種試驗結果

動物試驗分 15°C、20°C、25°C、及 30°C 等四組，每組 10 隻淡水長腳大蝦，以 0.3 ml ( $4 \times 10^5$  CFU/ml) 菌液接種於肌肉，觀察 10 天，結果 15°C 組、20°C 組死亡 100%，25°C 組死亡 40%，而 30°C 組及對照組皆存活 (表 2.)。所有接種死亡蝦隻，經組織病理切片鏡檢，肝胰腺上皮細胞輕微空泡變性，肌肉組織輕微玻璃樣變性，全身各組織臟器皆可發現到酵母菌，組織經鈎菌培養於 YM Agar，可回收到同樣之酵母菌。

表 2. *Debaryomyces hansenii* 分離株在不同水溫下對淡水長腳大蝦之接種試驗結果

組別	接種劑量 0.3 ml (CFU/ml)	接種蝦數	接 種 後 死 亡 數 ( 天 )										死亡率 (%)		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
15°C	$4 \times 10^5$	10				2	1	3	3	1					100
20°C	$4 \times 10^5$	10					1	1	4	2			1		100
25°C	$4 \times 10^5$	10								1	2	1			40
30°C	$4 \times 10^5$	10													0
對照組	滅菌蒸餾水	10													0

註：供肌肉接種淡水長腳大蝦 (*Macrobrachium rosenbergi*) 體重為 15~24 gm.

## 討 論

本試驗係針對危害高屏地區淡水長腳大蝦之肌肉白濁症，探討其病因、病徵、病原之特性，以期能找出其防治之道。疫學分析顯示淡水長腳大蝦感染酵母菌之病例主要集中於冬季，其中以 1 月份所佔的病例數最高，佔全年總病例的 33%，而夏季 6、7、8、9 等四個月，則未蒐集到酵母菌感染病例。按淡水長腳大蝦最適合飼養溫度為 22°C~35°C，18°C 以下則停止攝食，15°C 以下則有休克凍斃之危（高屏地區冬季之平均水溫為 17°C~21°C）。另外從水質分析結果得知，發病池與健康池之水質，並無明顯差異，而且冬季與夏季之水質除了水溫有明顯差異外，其他差異甚少。因此較低水溫顯然不適宜此類蝦種之生長，也較有緊迫 (Stress) 之慮，而易於感染病原，包括病原酵母菌。

病蝦之各組織臟器，大都可分離到酵母菌，其中以血淋巴液中之含菌量最高，達  $10^{10}$  CFU/gm，可見本病為酵母菌菌血症，酵母菌隨循環散佈並侵犯全身各組織臟器。

正常淡水長腳大蝦肌肉呈半透明樣，在顯微鏡下可見明暗交替構成的橫紋，而當感染酵母菌時，則發生肌肉白濁，通常由蝦隻外表即可分辨，組織病理切片下可見肌肉組織有不同層度之變性或壞死，並且有大量酵母菌滋生。Lightner (1977) 提出微孢子蟲症，及細菌感染也會造成蝦隻肌肉白濁病變。Nash *et al.* (1987) 曾報告，在集約養殖系統中，由於特發性肌肉壞死使後期幼苗死亡率突增至 60%，其症狀為肌肉呈乳白色，不透明混濁。所以，只憑肉眼觀查蝦隻的病變，無法診斷出蝦隻是感染酵母菌、微孢子蟲或其他細菌。

正常蝦隻的肝胰腺呈盲管構造，管腔內有微絨毛 (Microvilli)，腺管上皮細胞可分為具有大核的 F 細胞，具有大空泡的 B 細胞，和具有小核的 R 細胞，腺管與腺管之間為竇狀隙 (Sinus soid)，為血淋巴循環所經之處 (Thomas and Lightner 1988)。野外感染酵母菌之病蝦，肝胰腺腺管上皮細胞呈嚴重空泡變性，並且管腔縮小或阻塞，竇狀隙中充滿酵母菌塊。Brock and Brooks (1990) 認為養殖淡水長腳大蝦，經長期飼餵不足或飢餓，將造成全身橫紋肌白濁及肝胰腺萎縮，萎縮之肝胰腺腺管上皮細胞充滿脂肪性空泡化細胞 (lipid vacuolation)。本研究所見之野外感染病蝦亦呈現食慾減退或廢絕，惟其病變比 Brock and Brooks (1990) 所述嚴重，因之，野外感染酵母菌病蝦所呈現之病變與酵母菌感染應有直接之關係。

Lightner and Redman (1985) 指出，肝胰腺是貯藏胡蘿蔔素 (Carotene) 的主要部位，若肝胰腺受到傷害則胡蘿蔔素釋出，經由血液循環散佈至全身，致使病蝦變為紅色，本研究所見蝦隻肝胰腺雖受到傷害，但未見蝦體變為紅色。病蝦肝胰腺竇狀隙中之酵母菌

塊呈圓球狀，圓球狀菌塊被一層薄膜所包裹，組織經 GMS 染色鏡檢，菌塊呈黑色，其外膜與週圍組織同為淺綠色；若經 PAS 染色，則菌塊呈梅紅色，其外膜與週圍組織同為淺紅色，由此推論肝胰腺竇狀隙中之酵母菌塊外膜，可能為蝦隻所分泌，用來阻止病原菌之擴散，此功能有如陸生動物遭受化膿菌感染時，於壞死組織外圍所形成之膿瘍膜類似 (Jones *et al.* 1983)。但是除肝胰腺外，其他組織中所見之酵母菌皆呈散佈菌體，無外膜包裹，其原因有待進一步探討。

動物試驗分 15°C、20°C、25°C、及 30°C 等四組。結果 15°C 組於第 4 天開始死亡，至第 8 天全部死亡，20°C 組於第 5 天開始死亡，至第 10 天全部死亡，25°C 組於第 8 天開始死亡，至第 10 天止死亡 40%，而 30°C 組皆存活，惟人工接種試驗所引發之組織病變不如野外自然感染病變明顯。此試驗所得之結果，與野外病例集中於冬季低水溫期之疫情完全吻合，證明了所分離之酵母菌確實具病原性，且該酵母菌之毒力或病原性與溫度有關 (Hsu *et al.*)。此外，在適宜淡水長腳大蝦生存之水溫下，蝦體之抗病力強，也不易感染酵母菌而致病。

## 誌 謝

本研究承行政院農委會計畫 (82科技-2.11-漁-05 (6)) 補助，及屏東縣家畜疾病防治所魚病室同仁之協助，在此一併致謝。

## 參 考 文 獻

- Brock, J. A. and M. J. Brooks (1990) Underfeeding of *Macrobrachium rosenbergii* in production ponds. in : Carl, J. S. and D. V. Lightner. Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture. Elsevier Science Publishing Company INC. p.169 -172.
- Carter, G.R. (1986) Mycoses caused by yeasts or yeast-like fungi. In : Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology. 3rd Ed. Philadelphia. p.232-235.
- Jones, T. C. and R.D. Hunt (1983) Veterinary Pathology. 5th. Ed. Len & Febiger. Philadelphia.

- Hsu, J. P., C. I. Liu, H. T. Huang, W. S. Wang and H. H. Hung. Identification and characteristics of the yeasts isolated from giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). (Unpublished)
- Liao, I. C., N. H. Chao. and L. S. Hsieh (1973) Preliminary report of the experiments on the propagation of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, in Taiwan. J. of Fisheries Soc. of Taiwan. 2(2) : 48-58.
- Lightner, D. V. (1977) Shrimp Diseases. In Sindermann C.J.(ed.), Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture and Fisheries Vol.6. Elsevier Sci. Publ. Co., New York, N. Y. pp 10-77 .
- Lightner, D. V. and R. M. Redman (1985) Necrosis of the hepatopancreas in *Penaeus monodon* and *P. stylirostris* (Arthropoda, Decapoda) with red disease. J. of Fish Disease. 8:181-188.
- Ling, S. W. and T. J. Costello (1976) Review of culture of freshwater prawn. FAO. AQ/Conf/76/R. 29. Kyoto. Japan. p.9. Morris, E. O. (1975) Yeasts from the marine environment. J. Appl. Baci. 38:211-223.

## Studies on Yeast Infection in Cultured Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)

Jung-Pin Hsu Cheng-I Liu

*Department of Veterinary Medicine, National Chung-Hsing University*

A total of 115 yeasts strains were cultured from giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, during January 1991 to March 1993 in Kaoshiung-Pingtung areas of Taiwan. The disease outbreaks occurred mostly in cool season from October to May, especially, from December to February. No isolates was obtained in high temperature months from June to September. The morbidity rates in different age groups were found as 75%, 23%, 2% and 0% in adult, middle size, juvenile, and larvae, respectively. The major gross lesions of infected prawns showed fulvous-colored in general appearance, swollen hepatopancreas, milky muscle and hemolymph. Microscopically, the hepatopancreas appeared vacuolization of tubular epithelial cells and accumulations of yeast clumps in sinusoid which were encapsulated with a thin membrane. Zenker's degeneration and necrosis were found in the affected muscles. Budding of yeasts presented here and there within the hemolymph vessels throughout the whole body. The data of yeast cell concentrations in tissues were shown as  $3 \times 10^{10}$ ,  $2 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^8$  and  $2 \times 10^5$  CFU/gm, in hemolymph, hepatopancreas, muscle and gill, respectively. The giant freshwater prawns experimentally inoculated (i.m.) with the isolated yeast, *Debaryomyces hansenii*, in different temperature groups resulted 100% mortalities in 15°C and 20°C groups, where as no mortalities found in 30°C group. All the diseased prawns were proven to be caused by the inoculated yeast by the disease pattern and re-isolation of the yeast.