

DOI: 10.12264/JFSC2020-0215

褐篮子鱼鳃寄生多唇虫病的病原鉴定及其病理观察

吴建绍^{1,2}, 杨求华^{1,2}, 陆振³, 许朝辉^{1,2}, 朱志煌^{1,2}, 周宸^{1,2}, 葛辉^{1,2}

1. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361013;
2. 福建省海洋生物增殖与高值化利用重点实验室, 福建 厦门 361013;
3. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005

摘要: 2019 年 10—11 月, 福建省海水鱼类苗种繁育科研中试基地池塘养殖的褐篮子鱼(*Siganus fuscus*)暴发以鳃苍白为主要症状的马氏多唇虫病。濒死病鱼体表外观完好, 缓游或浮于水面, 有时间歇性快速游动, 最后身体失衡死亡。临床解剖显示: 病鱼鳃丝发白, 镜检可见鳃丝上有大量寄生虫, 鳃、肝、心脏、脾、肾和肌肉呈现出贫血状态。组织病理观察发现: 病鱼的鳃、肝、心脏、脾、肾脏等组织器官均发生病理变化, 组织器官内几乎无红细胞。经形态学观察, 虫体呈近纺锤形披针状, 具有 2 排微杯型吸钩的高度特化后吸器, 交接器为圆锥形几丁质管结构。基于虫体形态特征和 28S rDNA 序列分析, 结果显示病原虫体为马氏多唇虫相似种(*Polylabris cf. mamaevi*)。结合该病的流行病学调查、临床解剖、病原形态学观察、28S rDNA 序列分析和组织病理观察, 确定此次褐篮子鱼暴发的“白鳃病”由马氏多唇虫相似种大量寄生感染引起的。本研究为褐篮子鱼养殖过程中出现的疾病诊断与防治提供了参考依据。

关键词: 褐篮子鱼; 白鳃病; 马氏多唇虫相似种; 病原鉴定; 组织病理

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)03-0355-09

褐篮子鱼(*Siganus fuscus*), 俗称臭肚、泥魮, 属于鲈形目、篮子鱼科、篮子鱼属, 广泛分布于中国东海、南海及太平洋、印度洋等海域^[1-2]; 其肉质细嫩、肉味鲜美, 深受消费者喜爱^[3]。褐篮子鱼属于偏藻食性的杂食性鱼类, 多与其他养殖品种混养于网箱或池塘中, 可有效清除网箱网衣附着藻类或池塘杂藻; 同时其具有生长速度快、适应能力强等特点, 为福建、浙江、广东主要的海水混养鱼类品种^[4-5]。近年来, 随着褐篮子鱼人工养殖规模扩大, 病害问题也越来越严重。目前国内有关褐篮子鱼疾病方面的研究较少, 仅见虹彩病毒引起褐篮子鱼“黑身病”的报道^[6]。近年来, 在池塘养殖篮子鱼出现了一种以鳃苍白为主要症状的疾病, 养殖户称其为“白鳃病”, 严重时可导致大量死亡。每年 5—6 月和 10—11 月褐篮子鱼都会发生该病, 病鱼主要表现为: 病鱼体表外观

完好, 打开鳃盖可发现病鱼鳃丝发白, 呈极度贫血状态, 解剖病鱼观察内脏器官也呈贫血状态。

2019 年 10—11 月福建省海水鱼类苗种繁育科研中试基地池塘养殖的褐篮子鱼大规模暴发以“白鳃”为主要临床症状疾病。为了确认该病发生病因, 本研究采集了该病病鱼样本, 通过流行病学调查、病原学和组织病理学等研究, 并结合分子生物学诊断技术, 确认了褐篮子鱼“白鳃病”发病的病原。该研究成果可为褐篮子鱼养殖过程中出现的“白鳃病”的诊断与防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

患病的褐篮子鱼于 2019 年 11 月采集自福建省海水鱼类苗种繁育科研中试基地海水养殖的池塘, 病鱼体长(16.5±1.0) cm、体重(75.25±3.00) g。

收稿日期: 2020-07-19; **修订日期:** 2020-12-03.

基金项目: 福建省种业创新与产业化工程项目(2017FJSCZY03).

作者简介: 吴建绍(1976–), 男, 副研究员, 研究方向为水生生物病害防治. E-mail: 924356863@qq.com

选取 30 尾临床症状典型的病鱼(濒死)做实验鱼;另取 3 尾健康鱼做对照。

95%酒精和 100%酒精由西陇科学股份有限公司生产,常规海水细菌培养基 2216E、弧菌选择性培养基(TCBS)由北京陆桥技术股份有限公司生产, DNA 抽提试剂盒购自上海捷瑞生物工程有限公司, PCR 扩增引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成,组织固定液购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 流行病学调查及解剖观察 调查该病发病时间、发病鱼大小、病鱼感染情况、死亡情况及发病池塘水温、盐度等水质理化情况;观察病鱼在养殖池塘中活动情况。取临床症状典型的病鱼(濒死)解剖观察,观察病鱼体表体征、鳃及内脏器官情况,描述体表、鳃丝及脏器典型性表观病理特征。

1.2.2 细菌检查 先用 70%酒精棉擦拭病鱼体,再用灭菌海水清洗病鱼体表,然后无菌操作条件下从病鱼的肝脏、脾脏、肾脏和鳃等器官组织分离细菌,划线接种于常规海水细菌培养基 2216E 平板和弧菌选择性培养基(TCBS)上,置 28 °C 恒温箱倒置培养 24~48 h,观察细菌菌落生长情况。

1.2.3 病鱼寄生虫检查 取临床症状典型的病鱼(濒死)体表黏液、鳃、鳍条及胃肠道内容物等制成水浸片,显微镜下观察寄生虫情况,确定大量单殖吸虫寄生于鳃丝,剪取 30 尾病鱼半鳃,置 Olympus (SZX12)解剖镜下检查虫体并采集,按文献[7]的方法统计病鱼鳃虫感染强度。

1.2.4 病原虫体形态学观察及特征鉴定 病鱼半鳃片经 25%乙醇处理后,在解剖镜下随机轻挑拨离微麻醉的单殖吸虫成体,用吸管吸取虫体置于玻片,制成水浸片置莱卡光学显微镜(Lw200-20T)下观察并拍照,描述虫体形态特征,并测量虫体、交接器、吸铗等分类特征的大小(括号前数值为测量平均值,括号内为测量度量范围, n 为测量虫体数)。

1.2.5 病原虫 28S rDNA 序列扩增及序列分析 依形态学鉴定结果,随机选取 95%乙醇保存的采集虫体,清洗, TE 缓冲液(pH 8.0)浸泡过夜后,分

别装入 1.5 mL 离心管中,使用捷瑞 DNA 抽提试剂盒(GK4002-100),按说明书提取虫体基因组 DNA,并以其作为模板,采用核糖体基因的 28S rDNA 序列扩增,扩增引物系列如下: C1-28S-F: 5'-ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3', D2-28S-R: 5'-TGGTCCGTGTTTCAAGAC-3'。PCR 扩增反应体系(50 μ L): DNA 模板 2 μ L, PCRMix 25 μ L, 引物(C1-28S-F) 2 μ L, 引物(D2-28S-R) 2 μ L, dd H₂O 19 μ L。PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 进行 35 个循环;最后 72 °C 温育 7 min, 4 °C 保存。1.5%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物大小,扩增产物纯化后送至 Invitrogen 公司进行测序。将测序结果上传 NCBI,与核酸数据库(GenBank)中已知核酸序列经 BLAST 程序进行比对分析;基于 28S rDNA 序列从 GenBank 数据库选取相似、相近的单殖吸虫序列(含本研究测得序列),利用 ClustalX 1.83 软件对选取序列进行多重匹配比对并聚类分析,用 MEGA 7.0 软件邻接法(Neighbor-Joining)构建系统发育树。

1.2.6 组织病理观察 分别取发病鱼和健康鱼的鳃、肝、心脏、肾、脾等组织于组织固定液固定,常规梯度酒精脱水、二甲苯溶液透明处理,石蜡包埋后切片,脱蜡后苏木精-伊红染色法(HE)染色,经干燥后中性树胶封片,然后在莱卡光学显微镜下观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 流行发病情况和病鱼解剖观察

褐篮子鱼“白鳃病”可在每年 5—6 月和 10—11 月发病,发病温度范围 22~28 °C,盐度 1.019~1.022,且发病鱼一般为成鱼。发病初期,褐篮子鱼少量零星死亡;发病高峰期,每天死亡可达 100 多尾,高峰期感染率可达 90%以上;如果未采取防控措施,该病累计死亡率可达 60%以上。发病时病鱼活动情况为:在池塘边缓游或浮在水面,偶尔打转沉底,有时间歇性快速游动,最后无力游动、身体失衡死亡。濒死病鱼体表外观完好,无溃疡、缺损等其他异常病征,解剖时剪断鳃弓主动脉未见出血(图 1A);病鱼鳃丝发白,心脏



图1 褐篮子鱼“白鳃病”临床症状

A. 发病鱼体表外观; B、C. 病鱼解剖图。

Fig. 1 Clinical symptoms of white-gill disease in *Siganus fuscus*

A. Surface appearance of diseased fish; B and C. anatomy of diseased fish.

浅红, 胃肠空、积液, 肝脏呈黄白色, 脾脏和肾脏暗灰色, 肌肉苍白无血色(图 1B, 图 1C)。

2.2 细菌分离培养

采用 2216E 平板和 TCBS 培养基对病鱼的鳃、肝、脾和肾等器官组织进行细菌分离培养, 28 °C 培养 48 h 后接种的培养基未观察到优势致病菌。

2.3 寄生虫检查

取鳃置于带自然海水的培养皿中, 肉眼可见病鱼鳃片发白, 鳃丝末端有白色虫体活动(图 2A), 剪取小块鳃组织镜检, 发现有大量虫体用后吸器吸附于鳃片外区的鳃丝末端, 虫体扁平而长, 不

断地伸缩活动, 鳃片区黏液多(图 2B)。鳃经 25% 乙醇处理后, 培养皿中发白鳃丝有的崩解(图 2C), 并有大量虫体从鳃脱落, 解剖镜下虫体呈披针状(图 2D)。在所检查的 30 尾病鱼, 虫体感染率为 100%, 病鱼半鳃感染强度为 852~1142 枚/尾, 平均半鳃感染强度为 1026 枚/尾, 属于重度感染。取病鱼体表黏液、鳍条及胃肠道内容物和内脏器官等组织显微镜检, 未发现有其他病原体寄生。结合病鱼发病特征、寄生虫体形态和鳃虫感染数量情况, 确认褐篮子鱼暴发“白鳃病”是由单殖吸虫引起的。

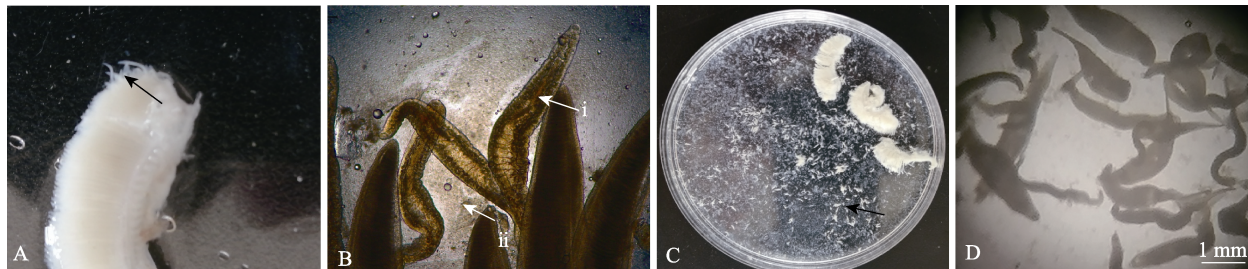


图2 病鱼鳃部寄生虫感染情况

A. 鳃丝末端有白色虫体; B. 虫体吸附鳃末端, 鳃区黏液多(i. 虫体; ii. 黏液); C. 经 25%乙醇处理后, 有大量虫体脱落; D. 解剖镜下虫体呈披针状。

Fig. 2 Infection of worms in diseased fish gills

A. White worms at the end of gill filaments; B. the worm body adsorbs the end of the gills, and much mucus in the gills (i. worm body; ii. mucus); C. after 25% ethanol treatment, a large number of worms fell off; D. lanceolate worms under the dissecting microscope.

2.4 虫体形态学鉴定

显微观察虫体, 虫体略扁呈近纺锤形披针状, 腹面观两侧对称, 成体体长为 3.152 mm (2.850~4.152, $n=30$)(图 3A)。虫体前端狭窄, 具 1 对分隔的椭圆形口吸盘, 长度为 0.060 mm (0.048~0.076, $n=40$), 宽度为 0.056 mm (0.046~0.070, $n=40$)(图 3B); 咽近圆形, 后接食道; 肠在交接器水平分叉,

末端伸至后吸器后部; 卵黄腺沿肠支分布于身体两侧; 体中部宽, 最宽处为 0.508 mm (0.420~0.650, $n=30$); 体后端与前体部区分明显, 具一高度特化后吸器(图 3C), 长 0.940 mm (0.725~1.250, $n=30$), 约占全长的 1/3, 后吸器上两侧边缘排列着一行无柄微杯形吸铗, 吸铗由 2 片可张合的铗片组成(图 3D), 吸铗总数为 72~92 个($n=30$), 前中部的吸

缺较大,末端的吸缺较小。交接器为圆锥形几丁质管结构,外包装几丁质鞘,高 0.055 mm (0.045~0.062, $n=30$),基部膨大,直径为 0.032 mm (0.026~0.034, $n=30$),其两侧接有一对中等大小的前列腺管与前列腺囊;输精管远端弯曲呈“S”形,末端接入交接器基底(图 3E)。卵巢多数形如问号;睾丸

在卵巢之后,位于体中部稍后区域,数量为 9~15 个($n=30$);虫卵呈梭形,表面光整,虫卵长为 0.192 mm (0.180~0.210, $n=6$),宽为 0.080 mm (0.066~0.088, $n=6$),两端具极丝,前端极丝细长弯曲且末稍缠绕成团,后端极丝短且较粗壮(图 3F,图 3G)。

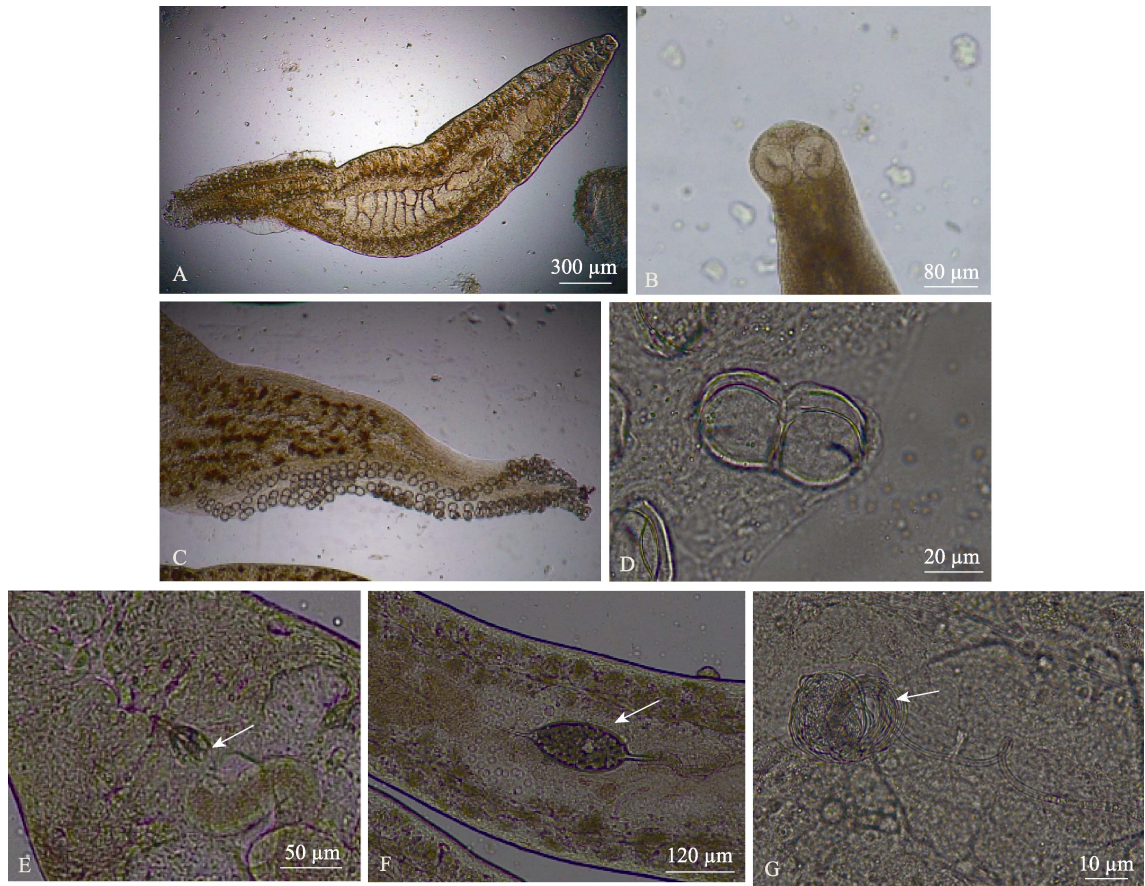


图 3 褐篮子鱼“白鳃病”病原寄生虫形态学观察
A. 虫体整体腹面观; B. 口吸盘; C. 后吸器; D. 吸缺; E. 交接器; F. 虫卵; G. 长极丝末梢缠绕成团.
Fig. 3 Morphological observation on the pathogenic worm of white-gill disease in *Siganus fuscus*
A. Dorsal view of a whole worm; B. sucker; C. haptor; D. clamp; E. copulatory organ; F. egg;
G. opercular filament with long and distally end winding.

该虫体形态特征与多唇虫属种类最相似,具有高度特化后吸器,后吸器左右对称且具 2 排微杯形吸缺,交接器为几丁质管结构。通过与已报到相似的多唇虫测量数值进行比对(表 1),发现本研究发现虫种与文献[8]描述的马氏多唇虫相似种(*Polylabris cf. mamaevi*)最相似,虫体大小相近,吸缺和睾丸数目也相近,交接器都为圆锥形几丁质管结构且量度相近。故认为二者是同一种,该

虫体属于马氏多唇虫相似种,隶属于微杯虫科(*Microcotylidae*)、多唇虫属(*Polylabris*)^[11]。

2.5 虫体 28S rDNA 序列分析

经测虫体 DCC-2019#的 28S rDNA (C1-D2 区)核酸片段长度为 908 bp,上传待测序列至 NCBI 数据库,获得序列登录号为 MT680612.1。将获得序列在数据库进行 BLAST 比对,结果显示虫体 DCC-2019#与数据库中马氏多唇虫相似种(*P. cf.*

表 1 不同的多唇虫形态特征比较

Tab. 1 The morphological comparison of of different polychilia sp.

项目 item	多唇虫(本研究) <i>Polylabris</i> sp.(this study)	马氏多唇虫相似种 ^[8] <i>Polylabris</i> cf. <i>mamaevi</i>	银鲈多唇虫 ^[9] <i>Polylabris</i> <i>gerres</i>	海猪多唇虫 ^[10] <i>Polylabris</i> <i>halichoeres</i>
宿主 host	褐篮子鱼 <i>Siganus fuscassens</i>	褐篮子鱼 <i>Siganus fuscassens</i>	长体银鲈 <i>Gerres marcrosoma</i>	云斑海猪鱼 <i>Takifugu bimaculatus</i>
体长 body length	3.152 (2.850-4.152)	2.811 (1.837-4.122)	2.079 (1.000-2.750)	2.59-3.42
最大体宽 greatest body width	0.508 (0.420-0.650)	0.446 (0.359-0.595)	0.294 (0.250-0.450)	0.51-0.61
后吸器长 haptor length	0.940 (0.725-1.250)	—	0.817 (0.450-1.150)	0.69-0.98
口吸盘长 sucker length	0.060 (0.048-0.076)	0.061 (0.049-0.074)	0.059 (0.050-0.075)	0.055-0.061
口吸盘宽 sucker width	0.056 (0.046-0.070)	0.057 (0.049-0.072)	0.045 (0.030-0.052)	0.040-0.043
吸袂数目 number of clamp	72-92	54-94	68-112	56-64
睾丸数目 number of testes	9-15	9-14	10-16	9-13
交接器高 copulatory organ height	0.055 (0.045-0.062)	0.053 (0.046-0.060)	0.042 (0.025-0.068)	0.037-0.045
交接器直径 copulatory organ diameter	0.032 (0.026-0.034)	0.033 (0.027-0.037)	0.008-0.013	—
卵本体长 egg length	0.192 (0.180-0.210)	0.208 (0.194-0.218)	0.173	—
卵本体宽 egg width	0.080 (0.066-0.088)	0.064 (0.055-0.076)	0.080	—

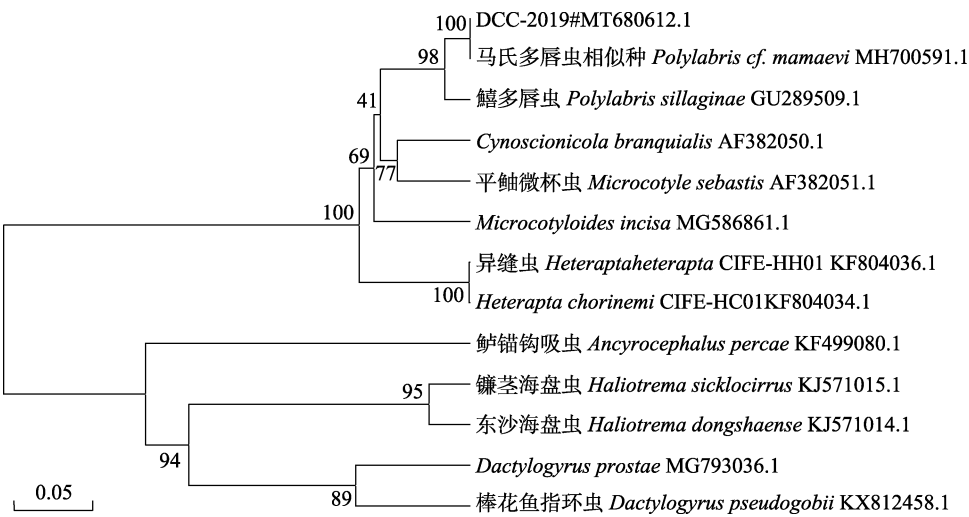


图 4 基于 28S rDNA 序列(C1-D2 区)构建的多唇虫及其他外类群系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of *Polylabris* spp. and relevant species based on the gene sequence of 28S rDNA (C1-D2 region)

mamaevi) (登录号 MH700591.1) 基因序列相似, 相似度达 100%, 而与 *P. sillaginae* (登录号 GU289509.1)相似度达 97.3%; 选取相似度相近的单殖吸虫 28S rDNA 序列构建系统发育树(图 4), 系统发育树显示虫体 DCC-2019#与马氏多唇虫相似种 *P. cf. mamaevi* 聚为一支, 置信度 100%, 故将虫体鉴定为马氏多唇虫相似种 *P. cf. mamaevi*。从而确认本次褐篮子鱼暴发“白鳃病”是由马氏多唇虫相似种寄生感染引起的。

2.6 组织病理学观察

组织病理学观察, 发现褐篮子鱼病鱼(濒死)主要器官鳃、肝、心脏、脾、肾等均发生了不同程度的病理变化。病理切片观察显示, 发生“白鳃病”的褐篮子鱼病变最严重的器官是鳃, 病鱼整个鳃丝和鳃小片崩解(图 5A), 鳃血管和鳃小片毛细血管未见有红细胞(图 5B); 而健康褐篮子鱼鳃丝和鳃小片规律排列, 结构清晰、完整(图 5C), 鳃血管可见大量红细胞(图 5D)。

病鱼肝组织出现退行性变化,各肝细胞间界限模糊,细胞核固缩,肝内血管未见到红细胞(图 5E);而健康鱼肝细胞呈多边形,排列均匀有规则,肝内血管可见大量红细胞(图 5F)。

病鱼脾血窦和脾血管缺血,未见到红细胞(图 5G),而健康褐篮子鱼脾组织、脾窦和脾血管可见

大量红细胞(图 5H)。

病鱼心脏组织缺血,心肌间只见少量红细胞(图 5I),而健康褐篮子鱼心肌间可见大量红细胞(图 5J)。

病鱼肾组织和肾血窦也未见有红细胞(图 5K),而健康褐篮子鱼肾组织、肾血窦含有大量红细胞(图 5L)。

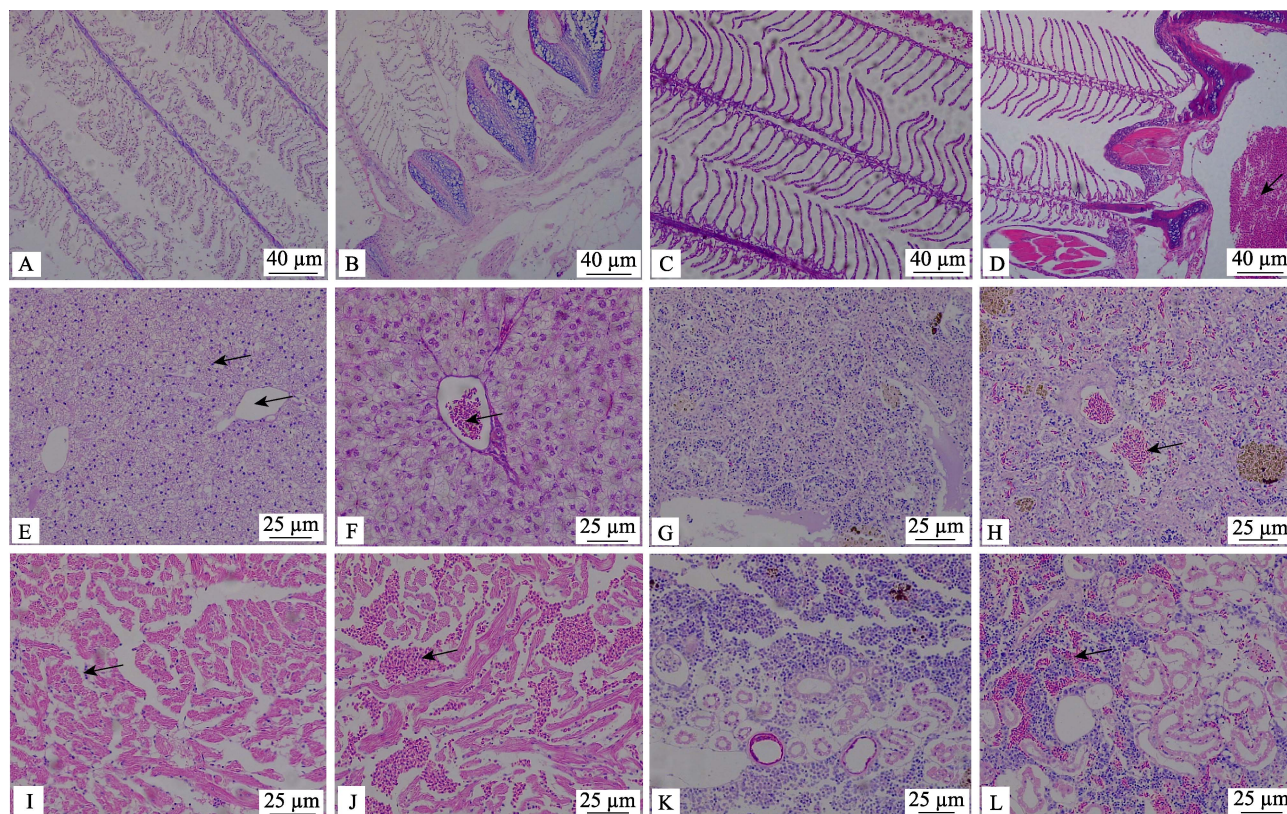


图 5 褐篮子鱼组织器官病理切片图

A. 患病鱼鳃丝和鳃小片崩解; B. 患病鱼鳃血管无红细胞; C. 健康鱼鳃丝和鳃小片规律排列, 结构完整; D. 健康鱼鳃血管有大量红细胞; E. 患病鱼肝细胞之间界限模糊, 细胞核固缩, 肝内血管未见红细胞; F. 健康鱼肝细胞呈多边形均匀排列, 肝内血管可见大量红细胞; G. 患病鱼脾窦和脾血管未见红细胞; H. 健康鱼脾窦和脾血管可见大量红细胞; I. 患病鱼心肌间只见少量红细胞; J. 健康鱼心肌间有大量红细胞; K. 患病鱼肾组织未见红细胞; L. 健康鱼肾组织有大量红细胞。

Fig. 5 Histopathological examination of tissues of diseased *Siganus fuscescens*

A. Disintegration of gill filaments and lamella of diseased fish; B. gill vessels of diseased fish without red blood cells; C. gill filaments and lamella of healthy fish with regularly arrangement and clearly structure; D. gill vessels of healthy fish with a large number of red blood cells; E. in the diseased fish, the boundary between the hepatic cells was blurred; hepatocytes karyopyknosis, and no red blood cells were found in hepatic vessels; F. in the healthy fish, polygonal liver cells were evenly arranged, and there were a large number of red blood cells in hepatic vessels; G. no red blood cells were found in the splenic sinus and blood vessels of diseased fish; H. a large number of red blood cells were found in the splenic sinus and blood vessels of healthy fish; I. very few red blood cells were found in the heart tissue of diseased fish; J. a large number of red blood cells were found in the heart tissue of healthy fish; K. no red blood cells were found in the kidney tissue of diseased fish; L. a large number of red blood cells were found in the kidney tissue of healthy fish.

3 讨论

本研究通过褐篮子鱼“白鳃病”流行病学调

查、发病症状、寄生虫学检查及虫体形态学特征和分子生物学诊断, 确认福建省海水鱼类苗种繁育科研中试基地池塘养殖的褐篮子鱼暴发“白鳃

病”是由马氏多唇虫相似种大量寄生感染引起的。有关多唇虫寄生篮子鱼的研究已有大量报道,包括多唇虫虫体形态学^[8,10-12]、系统发育^[9]、种群生态学等研究^[13-14],但马氏多唇虫相似种大量寄生能引起褐篮子鱼“白鳃病”发生属首次报道。

多唇虫属虫种的虫体形态特征非常相近,传统区分多唇虫属内种级特征主要依靠吸铗数量、睾丸数量和交接器结构等,截至目前共报道有22种多唇虫属虫体^[9]。由于该属虫体形态特征非常相近,单纯依托形态学特征鉴别比较困难和耗时,利用分子生物学诊断可给予多唇虫属虫种更好辅助鉴定。本研究采用虫体形态学特征分析、28S rDNA 序列分析和系统发育树构建等手段将褐篮子鱼“白鳃病”病原鉴定确认为马氏多唇虫相似种。马氏多唇虫相似种最早被 Mamaev 等^[15]描述记录于1976年,初命名为银鲈多唇虫(*P. gerres*),宿主为点篮子鱼(*S. stellatus*)和黄斑篮子鱼(*S. oramin*);而 Ogawa 等^[16]研究认为 Mamaev 鉴定有误,将寄生于点篮子鱼的多唇虫虫种重命名为新种马氏多唇虫(*P. mamaevi*);国内学者杨廷宝等^[8]发现寄生在褐篮子鱼虫种与 Mamaev 等^[15]采集自黄斑篮子鱼的多唇虫标本为同一虫体,认为其形态与寄生于点篮子鱼的马氏多唇虫相似,故将该虫种命名为马氏多唇虫相似种;而邹小梅^[9]以马氏多唇虫相似种、银鲈多唇虫、黄鳍鲷多唇虫(*P. angifer*)三者虫体形态特征相近,且28S rDNA 和 ITS1 的序列核苷酸差异值为0,认为它们属同一虫种,只是同物异名。因本研究未采集到银鲈多唇虫和黄鳍鲷多唇虫虫种,无法验证它们是否为同一多唇虫虫种,故虫种仍按杨廷宝的研究结果命名,确认该虫种为马氏多唇虫相似种。同时,本研究还发现同一池塘养殖的石斑鱼和笛鲷并未发生该病,鳃也未检出该虫,表明马氏多唇虫相似种对褐篮子鱼具有宿主特异性。

鱼鳃是由鳃丝、鳃弓和鳃耙组成的,鳃丝上密布着毛细血管,是鱼类最重要的呼吸器官。健康活鱼的鳃为鲜红色,而“白鳃”主要以鳃丝发白为临床特征,发病时病鱼呈极度贫血状态,是一种海水养殖鱼类常见的疾病症状。研究表明,不

同的病原(包括病毒、细菌、孢子虫和单殖吸虫等)都能引起鱼类“白鳃”发生,杨小强^[17]发现虹彩病毒能引起大黄鱼(*Larimichthys crocea*)“白鳃病”发生;范文辉等^[18]报道了哈维氏弧菌引发大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)溃疡,从而继发感染引起白鳃、贫血;施慧等^[19]发现寄生性黏孢子虫也能引起网箱养殖的大黄鱼出现“白鳃”症状;张剑英等^[20]报道寡钩类单殖吸虫大量寄生可引起鱼类出现“白鳃”症状。研究表明,不同病原导致的鱼类“白鳃”病因存在差异,其中病毒、细菌、孢子虫等病原大量感染鱼类过程中,主要是破坏鱼类的造血器官,引发病鱼障碍性贫血,从而导致“白鳃”的发生,此时病鱼的脾脏、肾脏等多表现为肿大^[17-19],而嗜血性寡钩类单殖吸虫主要是通过大量吸食宿主血液,从而造成宿主出现“白鳃”症状,此时宿主内脏器官如脾、肾等不出现肿大,而是因失血呈现为褪色贫血状态^[21]。本研究临床解剖显示,患“白鳃”褐篮子鱼的鳃、肝、心脏、脾、肾、肌肉等组织器官均呈现出贫血状态,组织病理观察显示病鱼鳃、肝、脾、肾等器官未发现红细胞,病鱼呈现大量失血,与嗜血性寡钩类单殖吸虫引发的宿主疾病症状相同,表明马氏多唇虫相似种是引起此次篮子鱼“白鳃”的主要病因。

“白鳃病”是褐篮子鱼养殖生产上主要致死性病害之一,其由马氏多唇虫相似种大量寄生引发的。马氏多唇虫相似种通过后吸器吸铗固着宿主鳃丝上,然后大量吸取宿主血液,引起宿主鳃和内脏贫血。从组织切片观察可知,鳃是该病变最严重的器官,所以马氏多唇虫相似种大量寄生对褐篮子鱼鳃部损伤是致命的,一方面虫体大量寄生于褐篮子鱼鳃丝远端,吸食血液造成鳃损伤,如 Geets 等^[22]认为鳃丝远端处薄有利于嗜血性单殖吸虫刺穿损伤吸血;另一方面,大量虫体在鳃丝爬行或用发达后吸器吸铗固着,会造成褐篮子鱼鳃丝严重损伤,引起鳃溃烂。故生产上利用甲苯咪唑溶液(国标渔药)或渔用敌百虫等抗单殖吸虫药物(敏感鱼类慎用)对马氏多唇虫相似种引发的“白鳃病”防治时,还需要伴饲投喂抗生素,以防止篮子鱼病后继发细菌性烂鳃。因本研究发现

的马氏多唇虫相似种尚未能离体培养,故有关其感染引发褐篮子鱼“白鳃病”发生进程及感染机制都还有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Hu Z H, Xu J Z, Chai X J, et al. Study on biological characteristics and distribution of *Siganus fuscescens* (Houttuyn) along the coastal waters of Zhejiang Province[J]. Modern Fisheries Information, 2008, 23(12): 13-15. [胡则辉, 徐君卓, 柴学军, 等. 褐篮子鱼 *Siganus fuscescens* (Houttuyn) 的生物学特性及浙江沿海分布[J]. 现代渔业信息, 2008, 23(12): 13-15.]
- [2] Feng G P, Zhang L Z, Zhuang P, et al. Status quo and prospects of studies on biology and aquaculture technology of Siganidae [J]. Fishery Modernization, 2009, 36(2): 43-46, 42. [冯广朋, 章龙珍, 庄平, 等. 篮子鱼生物学与养殖技术研究现状及展望[J]. 渔业现代化, 2009, 36(2): 43-46, 42.]
- [3] Ma Q, Liu J. Introduction and prospect of the systematics study of Siganidae in China[J]. South China Fisheries Science, 2006, 2(4): 68-74. [马强, 刘静. 篮子鱼科的系统研究概况及我国篮子鱼科的研究展望[J]. 南方水产科学, 2006, 2(4): 68-74.]
- [4] Shao J S. Experimental study on the twice mixed culture of *Ruditapes philippinarum*, shrimp and *Siganus fuscescens* in shrimp pond[J]. Journal of Fisheries Research, 2007, 29(4): 17-19, 43. [邵锦淑. 虾池双茬菲律宾蛤仔和对虾、褐篮子鱼混养实验研究[J]. 福建水产, 2007, 29(4): 17-19, 43.]
- [5] Hu Z H, Xu J Z, Chai X J, et al. Preliminary study on monoculture and polyculture modes for *Siganus fuscescens* in sea net cage[J]. Fishery Modernization, 2008, 35(6): 26-28. [胡则辉, 徐君卓, 柴学军, 等. 海水网箱单养及混养褐篮子鱼试验效果初探[J]. 渔业现代化, 2008, 35(6): 26-28.]
- [6] Lei Y, Qi R R, Tang S L, et al. Diagnosis of iridovirus disease in spinefoot *Siganus fuscescens*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2014, 29(3): 236-240. [雷燕, 戚瑞荣, 唐绍林, 等. 褐篮子鱼虹彩病毒病的诊断[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(3): 236-240.]
- [7] Li H Y, Xiang Y Y. Gill histopathology of *Heteronchleius* (Monogenea: Ancyrocephalidae) infection in *Macropodus opercularis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(5): 829-833. [李海燕, 香咏瑜. 叉尾斗鱼关睾虫(单殖亚纲)病的鳃组织病理学研究[J]. 中国水产科学, 2006, 13(5): 829-833.]
- [8] Yang T B, Kritsky D C, Pan J. *Polylabris lingaoensis* sp. n. and *Polylabris* cf. *mamaevi* Ogawa et Egusa, 1980 (Monogenea: Microcotylidae) from perciform fishes in the Gulf of Tonkin, South China Sea[J]. Folia Parasitologica, 2007, 54: 27-33.
- [9] Zou X M. Taxonomy and phylogenetic analyses of Microcotylidae Monogenea in the South China Sea[D]. Guangzhou: South China Normal University, 2014: 27-78. [邹小梅. 南海微杯科单殖吸虫的分类及系统学研究[D]. 广州: 华南师范大学, 2014: 27-78.]
- [10] Wang W B, Zhang H F. A new species of the genus *Polylabris* (Mazocroeidea: Microcotylidae)[J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 1998, 30(4): 83-86. [王文彬, 张海发. 多唇虫属(*Polylabris*)一新种的记述(钩铁虫目: 微杯虫科)[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 1998, 30(4): 83-86.]
- [11] Zhang J Y, Yang T B, Liu L, et al. Monogenea of Chinese Marine Fishes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001: 319-326. [张剑英, 杨廷宝, 刘琳, 等. 中国海洋鱼类单殖吸虫[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 319-326.]
- [12] Sailaja B, Madhavi R. *Polylabris bengalensis* sp. nov. (Monogenea, Microcotylidae) from siganid fishes of the Visakhapatnam Coast, Bay of Bengal, India[J]. Acta Parasitologica, 2011, 56(3): 290-295.
- [13] Liu J F. Studies on population ecology of Monogeneans from *Siganus fuscescens* in the Xiaozhizhou Island sea area, Zhuhai[D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2003: 24-70. [刘继芳. 珠海小蠓洲海域褐篮子鱼寄生单殖吸虫种群生态研究[D]. 广州: 中山大学, 2003: 24-70.]
- [14] Wang J Y. Studies on biodiversity and population ecology of the parasites from *Siganus fuscescens* in Zhanjiang sea area [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2010: 59-73. [王金艺. 湛江海域褐篮子鱼寄生虫多样性调查及种群生态学研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2010: 59-73.]
- [15] Mamaev Y L, Parukhin A M. The genus *Polylabris* Euzet et Cauwet, 1976 and some closely related species of microcotylids (Monogenea: Microcotylidae)[J]. Parazitologiya (Leningrad), 1976, 10: 245-254.
- [16] Ogawa K, Egusa S. Two species of microcotylid monogeneans collected from black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker) (Teleostei: Sparidae)[J]. Japanese Journal of Parasitology, 1980, 29: 455-462.
- [17] Yang X Q. PCR detection of cage cultured large yellow croaker Iridovirus in the Luoyuan Bay, Fujian Province[J]. Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2013, 35(2): 5-8. [杨小强. 罗源湾养殖大黄鱼虹彩病毒的PCR检测[J]. 福建畜牧兽医, 2013, 35(2): 5-8.]
- [18] Fan W H, Huang J, Wang X H, et al. Identification and phylogenetic study of pathogenic bacteria causing ulcer disease of cultured Turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(5): 665-670. [范文辉, 黄健,

- 王秀华, 等. 养殖大菱鲃溃疡症病原菌的分离鉴定及系统发育分析[J]. 微生物学报, 2005, 45(5): 665-670.]
- [19] Shi H, Chen Z, Ding H X, et al. Preliminary study on the histopathology and detection methods of a Myxosporea parasite that causes white-gill disease in cultured *Larimichthys crocea*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(1): 203-213. [施慧, 陈卓, 丁慧昕, 等. 养殖大黄鱼一种黏孢子虫病的组织病理学及检测方法初探[J]. 中国水产科学, 2019, 26(1): 203-213.]
- [20] Zhang J Y, Qiu Z Z, Ding X J, et al. Parasites and Parasitic Diseases of Fishes[M]. Beijing: Science Press, 1999: 205-280. [张剑英, 邱兆祉, 丁雪娟, 等. 鱼类寄生虫与寄生虫病[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 205-280.]
- [21] Meng Q X. Diseases of Mariculture Animals[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996: 116-119. [孟庆显. 海水养殖动物病害学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 116-119.]
- [22] Geets A, Coene H, Ollevier F. Ectoparasite of the whitespotted rabbiffish, *Siganus sutor* (Valenciennes, 1835) off the Kenyan coast: Distribution within the host population and site selection on the gills[J]. Parasitology, 1997, 115(1): 69-79.

Pathogen identification and histopathological observation of polyabrisosis in mottled spinefoot, *Siganus fuscescens*

WU Jianshao^{1,2}, YANG Qihua^{1,2}, LU Zhen³, XU Zhaohui^{1,2}, ZHU Zhihuang^{1,2}, ZHOU Chen^{1,2}, GE Hui^{1,2}

1. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361013, China;

2. Key Laboratory of Cultivation and High-Value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Xiamen 361013, China;

3. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China

Abstract: From October to November 2019, a disease characterized by the appearance of pale gills as the main symptom was recorded in mottled spinefoot (*Siganus fuscescens*) cultured in a pond at the Pilot Research Base for Marine Fish Seed Breeding in Fujian Province, China. The aim of this study was to investigate the pathogens that caused this disease in spinefoot through clinical, anatomical, histopathological, and morphological observations, as well as 28S rDNA sequence analysis. External clinical signs included slow and impaired swimming, along with intermittent quick swimming, and subsequent death. The gill filaments of the diseased fish were whitish, and numerous worms were observed on the gill filaments. Gross signs of anemia were observed in the gills, liver, heart, spleen, kidneys, and muscles. Histopathological analysis found that very few red blood cells were found in the gills, liver, heart, spleen, kidney, and other tissues of the diseased fish. The worms isolated from the diseased fish were nearly spindle-shaped and lanceolate, with a highly specialized haptor of two parallel rows, each comprised of 36–46 microcotylid clamps, and the copulatory organ was a conical chitin tube structure with an average height of 0.055 mm (range: 0.045 to 0.062) and an average base diameter of 0.032 (range: 0.026 to 0.034). The results of the 28S rDNA (C1-D2 region) sequencing analysis showed a high similarity (100% identity) to other available *Polylabris cf. mamaevi* sequences in the GenBank database. Based on the morphological characteristics and genomic DNA sequencing, the worms were identified as *P. cf. mamaevi*, a parasite that causes white-gill disease in spinefoot. Our results provided a reference for the diagnosis, prevention, and control of diseases in cultured mottled spinefoot.

Key words: *Siganus fuscescens*; white-gill disease; *Polylabris cf. mamaevi*; pathogen identification; histopathological observation

Corresponding author: WU Jianshao. E-mail: 924356863@qq.com