# 循环水养殖横带髭鲷内脏白点病组织病理观察和超微病理分析

邹京华1,史会来2,平洪领2,张涛2,林慧1,杨淑越1,周群1

1. 浙江海洋大学海洋与渔业研究所, 浙江 舟山 316021;

2. 浙江省海洋水产研究所, 浙江省海水增养殖重点实验室, 浙江 舟山 316021

**摘要:**为探讨横带髭鲷(Hapalogenys mucronatus)内脏白点病的病理特征和发病机理,采用解剖观察法、组织切片以及超薄切片电镜技术对患内脏白点病横带髭鲷的胸腺、脾脏、鳃、肝脏、肾脏、肠道及卵巢 7 种组织器官进行病理学分析。结果显示,横带髭鲷的临床症状为体表出现溃疡灶与出血点,胸鳍、尾鳍、背鳍基部溃烂出血,鱼鳃处有肉眼可见乳白色结节,雌鱼卵巢膜变厚,纤维化严重,脾脏、肝脏、肾脏等内脏有大量白色结节;组织病理显示,脾脏、胸腺、肝脏、肾脏是感染损伤的主要靶器官,出现组织变性坏死,空泡化严重;病变组织均出现病理性结节。超微病理结果显示,患病鱼脾脏、胸腺、肝脏、肾脏细胞超微结构受损严重,尤以线粒体和细胞核损伤明显。线粒体肿胀,嵴断裂消失,空泡化;细胞核萎缩,染色质边缘化;大量病原菌聚集成团。研究结果表明,横带髭鲷内脏白点病的组织细胞病理与超微病理变化特征显示了病原菌的入侵和危害,主要造成呼吸、免疫及生殖相关组织器官的损伤,最终因无法维持正常的生命活动而导致死亡,同时对繁殖能力具有潜在负面影响。

横带髭鲷(Hapalogenys mucronatus)俗称十 六枚,隶属于鲈形目(Perciforms)、石鲈科 (Pomadasyidae)、髭鲷属(Hapalogenys)。横带髭鲷 为近海中下层的鱼类,喜欢栖息于礁岩区或沙泥地 的交汇区域,是一种典型的岛礁性鱼类,以底栖 的甲壳类以及鱼类、贝类为食<sup>[1]</sup>。具有较强盐度 适应性以及耐低温的特性,特别适宜于在浙江沿 海地区进行人工繁育及增养殖。因其具有较高的 经济、营养和观赏价值,有着良好的发展前景<sup>[2-3]</sup>。 目前研究单位已首次实现了横带髭鲷小规模人工 苗种繁育,并相继开展了相关养殖模式实验,但 在进行工厂化循环水养殖过程中出现一些病害问 题,尤其是近期所暴发的内脏白点病,对横带髭 鲷健康养殖造成一定影响,工厂化循环水高密度 养殖受到环境和密度等因素的胁迫,养殖过程病 害发生状况和预防措施也与常规水泥池精养模式 存在较大差别<sup>[4]</sup>。因此亟须开展循环水养殖条件 下的横带髭鲷内脏白点病方面的研究工作。

鱼类的内脏白点病是指以肝脏、脾脏、肾脏 等内脏器官出现白色结节为主要症状的病害。通 常表现出潜伏期长、发病周期长、传染性极强、 死亡率高等特点。目前已有大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)<sup>[5]</sup>、罗非鱼(*Oreochromis* spp)<sup>[6]</sup>、斜带髭鲷 (*Hapalogenys nitens*)<sup>[7]</sup>、尖吻鲈(*Latidae*)<sup>[8]</sup>等鱼类 的内脏白点病相关研究。已有研究表明,能够引 起鱼类内脏白点病的病原很多,如鰤诺卡氏菌 (*Nocardia seriolae*)<sup>[9]</sup>、美人鱼发光杆菌杀鱼亚种 (*Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*)<sup>[10]</sup>、舒

收稿日期: 2024-05-28; 修订日期: 2024-07-24.

基金项目:浙江省重点研发计划项目(2023C02050);浙江省"三农九方"科技协作计划项目(2022SNJF073);浙江省自然科学基金项目(LTGN24C190010);舟山渔业育种育苗科创中心专项(2023Y001-4);浙江省科技厅院所专项(HYS-CZ-202317, HYS-CZ-202407).

作者简介: 邹京华(1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向为海水鱼类循环水健康养殖. E-mail: zoujinghua0311@163.com

通信作者: 平洪领, 工程师, 研究方向为海水鱼类繁育与发育生物学. E-mail: pinghongling@126.com

伯特气单胞菌(Aeromonas schubertii)<sup>[11]</sup>、霍氏鱼 醉菌(Ichthyophonus hoferi)<sup>[12]</sup>、荧光假单胞菌 (Pseudomonas fluorescens)<sup>[13]</sup>、哈维氏弧菌(Vibrio harveyi)<sup>[14]</sup>等病原菌。另外,还有黏孢子虫 (Myxosporea)<sup>[15]</sup>、类立克次体(ickettsia-like organism, RLO)<sup>[16-17]</sup>等非细菌性病原,也可能会 导致鱼类的内脏白点病。目前还未有关于横带髭 鲷内脏白点病的相关研究报道。为深入了解横带 髭鲷内脏白点病,本研究通过对患病横带髭鲷与 正常横带髭鲷的组织病理及超微病理变化进行比 较,探讨循环水养殖条件下横带髭鲷内脏白点病 的病理过程和发病机理,为横带髭鲷内脏白点病 的诊断和防治提供理论基础和依据。

#### 1 材料与方法

# 1.1 实验用鱼

患病鱼于2023年6月采样于浙江省海洋水产研究所西轩试验基地循环水养殖车间,体长 18~25 cm,体重320~500g,选取濒死横带髭鲷 20尾,正常鱼采样于海捕野生横带髭鲷,规格与 患病鱼相近,经检查确认未患病后作为对照组。

# 1.2 实验方法

1.2.1 临床症状与解剖观察 记录患病横带髭鲷 的临床症状。使用光学显微镜检查患病横带髭鲷 体内外是否存在寄生虫。活体解剖具有典型症状 的濒死横带髭鲷,观察病鱼体表与各组织器官的 病变情况,并拍照记录。与健康横带髭鲷进行比 较,对结果进行初步诊断分析,确定患病鱼主要 病变部位与症状。

1.2.2 苏木精-伊红(H.E)染色组织病理学制片及 观察 取患病横带髭鲷与正常横带髭鲷的胸腺、 脾脏、鳃、肝脏、肾脏、肠道、卵巢 7 种组织器 官,用 Bouin's 液固定 24 h,转入 75%乙醇中保存 备用。经脱水、透明、石蜡包埋,切片机连续切 片,切片厚度为 4~6 μm,苏木精和伊红染色,中 性树脂封片,用 Primo Star 显微镜观察并拍照。

1.2.3 超微病理样品制备及观察 取患病横带髭
鲷的胸腺、脾脏、肝脏、肾脏 4 种组织器官,用
2.5%戊二醛溶液于室温避光处固定 2 h,后转入
4 ℃冰箱中保存备用。PBS 缓冲液冲洗,加入四氧

化锇固定液4h,再次用PBS缓冲液漂洗,经梯度 脱水、渗透、包埋、固化12h,用UM10超薄切 片机切片,醋酸铀和柠檬酸铅染色,用 LVEM 25E透射电子显微镜观察并拍照。

# 2 结果与分析

# 2.1 临床症状与解剖观察

横带髭鲷病鱼发病初期主要症状为活力下降, 食欲降低,运动缓慢,偶见体表溃烂,部分出现 眼球突出。患病末期部分鱼体表出现溃疡灶与出血 点(图 1a)、胸鳍、尾鳍、腹鳍基部溃烂出血(图 1b、 图 1c), 鱼鳃处黏液较多且鳃丝粘连成片, 有肉眼 可见乳白色结节(图 1d), 活力与食欲进一步下降, 最终平躺于池底直至死亡。解剖观察显示, 病鱼 腹部内脏相较于正常未患病横带髭鲷略有肿大, 可见肝脏、脾脏、肾脏、胸腺等多处出现直径为 1.0~2.0 mm 的乳白色结节(图 1e、图 1f、图 1g)。 脾脏与胸腺上的乳白色结节最为明显, 在轻微患 病横带髭鲷中首先表现为结节直径较小且数量较 少。随病情加重, 脾脏与胸腺体积增大, 结节也逐 渐增大变多,几乎布满整个脾脏与胸腺(图 1h)。 肝脏处白点主要分布于肝下缘, 且肝脏较正常鱼 颜色更黄。患病雌鱼还会出现卵巢膜增厚,卵巢 严重充血以及卵粒结块的现象(图 1i)。严重患病的 横带髭鲷会有内脏完全被白色结节所覆盖, 内脏 粘连的情况。经显微镜观察、患病横带髭鲷体表、 内脏、鱼鳃处均未发现寄生虫。

#### 2.2 患病横带髭鲷内脏白点病组织病理

患病横带髭鲷的脾脏、肝脏、肾脏、胸腺等 组织器官均表现出明显的组织病理变化(图 2)。患 病横带髭鲷的各个器官普遍存在肉芽肿炎症,炎 症中心滋生大量菌体,组织、细胞变性或坏死,并 伴有充血、脂肪样变性、炎性细胞浸润等现象。

正常横带髭鲷的鳃丝与鳃小片形态完整,扁 平囊状鳃小片在鳃丝两侧排列紧密。鳃丝内有大 量血细胞,扁平上皮细胞广泛分布于鳃丝上皮表 面(图 2a)。患有内脏白点病的横带髭鲷鳃丝排列扭 曲不整齐,鳃小片上皮细胞肿胀增生,有相邻鳃 小片相互融合的现象。鳃小片基部与鳃丝血管道 中感染大量的聚生菌团,鳃丝血管道扩张(图 2b)。



#### 图 1 横带髭鲷内脏白点病病鱼样品临床解剖观察

a. 病鱼体表溃疡与出血点(→); b. 病鱼尾鳍与腹鳍基部溃烂; c. 病鱼胸鳍基部溃烂与白点; d. 病鱼鱼鳃处白点; e. 病鱼肝脏与 脾脏分布白色结节; f. 病鱼后肾脏结节, 形成巨大囊肿, 胸腺处布满白色结节; g. 病鱼胸腺处白色结节; h. 病鱼内脏相互粘连, 肠道、肝脏处布满白色结节; i. 病鱼卵巢膜变厚、卵巢充血、脾脏处有少量结节.

Fig. 1 Clinical anatomical observation of *Hapalogenys mucronatus* samples infected with visceral white spot disease a. Diseased fish body surface ulcer and bleeding point  $(\rightarrow)$ ; b. The base of caudal fin and ventral fin of diseased fish festered  $(\rightarrow)$ ; c. Basal ulceration and white spots of diseased fish pectoral fin  $(\rightarrow)$ ; d. White spots on gills of diseased fish  $(\rightarrow)$ ; e. White nodules were distributed in the liver and spleen of diseased fish  $(\rightarrow)$ ; f. The kidney of the diseased fish was swollen and covered with white nodules, and the thymus was covered with white nodules $(\rightarrow)$ ; g. White nodules in the thymus of diseased fish  $(\rightarrow)$ ; h. The internal organs of the diseased fish were adhered, and the intestine and liver were covered with white nodules; i. The ovarian membrane of the diseased fish became thicker, the ovary was congested, and there were a few nodules in the spleen.

鳃丝组织完整性遭到破坏, 鳃小片局部组织受病 原菌诱导组织细胞增生, 阻碍红细胞流通(图 2c)。

正常横带髭鲷的肝细胞以中央静脉血管为中 心,呈放射状排列。肝脏细胞界限明晰且细胞核 位于细胞的中央。肝血窦清晰可见,胰脏组织分 散于肝脏之间(图 2d)。患病横带髭鲷的肝脏细胞空 泡化严重,部分细胞的细胞核肿胀或萎缩消失, 细胞界限模糊(图 2e)。嵌入肝脏组织中的胰腺组织 细胞部分坏死,肝脏中分布大小不均的结节(图 2f)。

正常横带髭鲷肾脏肾小管排列密集,颈段小管、近曲小管、远曲小管丰富。肾小管上皮细胞 等各细胞之间界限清晰,排列紧密(图 2g)。患病 横带髭鲷的肾脏中分布有由组织碎片以及聚生菌 体组成的肉芽肿坏死灶,其外围与肾脏组织间有 大量的炎性细胞(图 2h)。肾小管上皮细胞肿胀并 且脱落,肾小管萎缩;肾小球中毛细血管球渗血, 肾小囊的内壁和毛细血管壁的内皮细胞分离,之 间形成的囊腔扩张(图 2i)。

正常横带髭鲷的胸腺主要由淋巴细胞与网状 上皮细胞组成,其外皮质区分布有黏液细胞。在 胸腺组织间有黑色素巨噬细胞聚集存在,经 H.E 染色为棕黄色(图 2j)。患病横带髭鲷的胸腺组织 间出现大小不等的结节,结节边缘清晰,在结节 外缘细胞排列疏松,细胞空泡化严重。结节内为 崩解组织碎片与聚生菌体组成的组织坏死结构 (图 2k)。淋巴细胞出现细胞核肿胀、细胞核位置 偏移、细胞破裂现象(图 2l)。

正常横带髭鲷脾脏实质组织是由大面积红髓 和小部分白髓交替分布形成密集的网状结构,在 红髓中可见红细胞排列为脾索,脾索之间为形态 不规则的脾窦结构。脾脏内含红细胞、淋巴细胞、 中性粒细胞和巨噬细胞。黑色素巨噬细胞呈黄褐 色,分散分布于脾脏实质中(图 2m)。患病横带髭 鲷的脾脏病变程度最为严重,脾脏中遍布有大量 的由细胞组织碎片与菌体组成的结节,结节外包 成纤维细胞,几乎占据整个脾脏组织(图 2n)。红 髓与白髓已无法分辨,脾窦和脾索结构不清晰。 细胞间隙明显增大。脾内血管充血,可见大量红 细胞渗出(图 2o)。

正常横带髭鲷的肠道由黏膜层、黏膜下层、 肌层和浆膜层4部分构成。肠道组织结构清晰,肠 绒毛排列紧密整齐,肠道褶壁结构完整无脱落。 上皮细胞细胞核整齐排列在细胞基部,纹状缘完 整(图 2p)。患病横带髭鲷的肠道肌肉层变厚,肠 道绒毛排列疏松。肠道浆膜层破碎脱落,大量柱 状细胞坏死崩解,单层柱状上皮细胞组织间出现 大量的空泡。肠道黏膜下层显著增厚,黏膜上皮 细胞肿大,细胞界限模糊。肠道组织原有结构基 本被破坏(图 2q)。且肠道肌层组织中可见大量由 细胞坏死碎片与聚生菌团一起形成的病灶部位经 H.E 染色为深红色,呈现较强的嗜酸性(图 2r)。

正常横带髭鲷卵巢中初级卵母细胞为卵圆形 或多边形,细胞质经HE染色染成深紫色,其外环 绕一层滤泡膜,体积明显大于卵原细胞(图 2s)。处 于第Ⅱ时相的初级卵母细胞核膜、核仁清晰可见。 患病横带髭鲷卵巢有大量生殖细胞空泡化,及卵



(待续 to be continued)

#### (续图 2 Fig. 2 continued)



#### 图 2 横带髭鲷内脏白点病病鱼样品组织病理学观察

a. 正常横带髭鲷鱼鳃; b. 患病鱼鱼鳃上皮细胞增生, 鳃小片相互融合(●)、血管中大量聚生菌团, 血管扩张(▲); c. 患病鱼鳃鳃 小片上皮细胞增生; d. 正常横带髭鲷肝脏; e. 患病鱼肝脏细胞空泡化(●)、细胞核肿胀或细胞核萎缩消失(→); f. 患病鱼肝脏中 结节(→); g. 正常横带髭鲷肾脏; h.病鱼肾脏中结节; i.病鱼肾小管上皮细胞肿胀(→)、肾小管萎缩脱落、肾小球毛细血管渗血(▲); j. 正常横带髭鲷胸腺; k. 病鱼胸腺内结节; l. 病鱼胸腺结节边缘; m. 正常横带髭鲷脾脏; n. 病鱼脾脏内结节; o. 病鱼脾内血 管出血, 红细胞渗出(→); p. 正常横带髭鲷肠道; q. 病鱼肠道肌层变厚(●)、浆膜层破损脱落(→)、柱状细胞坏死崩解(■); r. 病 鱼肠道肌层内病变结节; s. 正常横带髭鲷卵巢; t. 病鱼病变卵巢, 卵母细胞萎缩(■)、细胞空泡化(→); u. 病鱼卵巢成熟期, 滤 泡膜解体或消失(→).

Fig. 2 Histopathological observation of *Hapalogenys mucronatus* samples infected with visceral white spot disease a. Normal gill of *Hapalogenys mucronatus*; b. The gill epithelial cells of diseased fish proliferated and the gill lamellae fused with each other (•), A large number of aggregated bacteria in blood vessels, vasodilation ( $\blacktriangle$ ); c. The epithelial cells on the gill lamellae of the diseased fish are proliferating; d. Normal liver of *Hapalogenys mucronatus*; e. Liver cell vacuolization of diseased fish (•), Nuclear swelling or nuclear atrophy disappears ( $\rightarrow$ ); f. Nodules in the liver of diseased fish ( $\rightarrow$ ); g. Normal kidney of *Hapalogenys mucronatus*; h. Nodules in the kidney of diseased fish; i. Swelling of renal tubular epithelial cells in diseased fish ( $\rightarrow$ ), Renal tubular atrophy off, Glomerular capillary hemorrhage ( $\blacktriangle$ ); j. Normal thymus of *Hapalogenys mucronatus*; k. Intrathymic nodules of diseased fish; l. The edge of thymus nodules of diseased fish; m. Normal spleen of *Hapalogenys mucronatus*; n. Nodules in the spleen of diseased fish (internal O, external I); o. The blood vessels in the spleen of the diseased fish bleed and red blood cells exudate ( $\rightarrow$ ); p. Normal intestinal tract of *Hapalogenys mucronatus*; q. The intestinal muscle layer of the diseased fish becomes thicker ( $\bullet$ ), Slurry film damage off ( $\rightarrow$ ), Columnar cell necrosis disintegration (**m**); r. Lesion nodules in intestinal muscular layer of diseased fish; s. Normal ovaries of *Hapalogenys mucronatus*; t. Diseased fish ovary, oocyte atrophy (**m**), cell vacuolation ( $\rightarrow$ ); u. The follicular membrane disintegrates or disappears in the ovarian maturity of the diseased fish.

母细胞萎缩的现象,细胞间分布多个聚生菌体(图 2t)。另外,成熟期的卵母细胞滤泡层消失或解体, 细胞排列无序杂乱(图 2u)。

#### 2.3 患病横带髭鲷超微病理

横带髭鲷病鱼的肝脏、脾脏、肾脏及胸腺发 生了严重的组织病变。细胞结构及组织被严重破 坏,细胞内及组织间均发现有大量短杆或球状、 无鞭毛的菌体,长度约为 1.2~1.7 μm,宽度约为 0.3 μm。

患病横带髭鲷中病原菌侵入细胞中,破坏细 胞结构,导致细胞线粒体肿胀、内质网破碎溶解。 肝细胞结构混乱,细胞内出现大量空泡,脂肪滴 增多并聚集。部分细胞内细胞器消失,线粒体肿 胀,嵴断裂。肝细胞内细胞器结构及细胞膜界限 均不清晰。部分细胞核中核仁消失,细胞核中染 色质稀薄或解体(图 3a)。

患病的横带髭鲷中,在细胞间隙可见大量处 于分裂期的病原菌,明显可见病原菌正在入侵或 已经入侵细胞。细胞中有大量溶酶体,吞噬病原 菌。细胞质中可见线粒体嵴发生断裂,内质网部 分溶解,细胞核明显肿大,核仁消失。细胞中有大 量蛋白质附着于膜结构表面(图 3b)。 患病横带髭鲷的胸腺出现细胞凋亡现象,表 现为细胞核染色质集边,细胞器大量增生,线粒 体肿大且嵴断裂,细胞质电子密度高。细胞膜破 损,细胞内容物外流至细胞间隙。胞体内有病原 菌聚生并零散分布脂肪滴,细胞界限模糊(图 3c)。 患病横带髭鲷脾脏中可见细胞中有大小不等 的空泡,内质网溶解消失。细胞核内异染色质边 集,核膜破裂。细胞中有大量溶酶体,线粒体结构 肿大模糊。在细胞间可见大量短杆病原菌聚集, 脾脏细胞结构基本被破坏(图 3d)。



图 3 横带髭鲷内脏白点病病鱼样品肝脏、肾脏、胸腺和脾脏组织超微病理变化

a. 肝脏细胞线粒体肿胀、内质网溶解、细胞内出现大量空泡、细胞核染色质稀薄或解体; 细胞界限模糊、细胞空泡化、胞质 内容物消失; 细胞内及细胞间隙可见大量病原菌(→)、脂肪滴增多; b. 肾脏细胞内质网溶解、线粒体内部嵴断裂、溶酶体增多; c. 胸腺内细胞破裂、细胞核异染色质集边, 细胞结构被完全破坏; d. 脾脏细胞内大量空泡、细胞核萎缩空泡化、内质网溶解 消失. Nc: 细胞核; Ly:溶酶体; Mt: 线粒体; Er: 内质网; Ni: 核仁; Fd: 脂肪滴; Cy: 细胞质; Nm: 细胞膜.

Fig. 3 Ultrapathological changes of liver, kidney, thymus and spleen of Hapalogenys

mucronatus samples infected with visceral white spot disease

a. Mitochondrial swelling, endoplasmic reticulum dissolution, large number of vacuoles in cells, nuclear chromatin thinning or disintegration in liver cells; Cell boundaries blurred, cell vacuolization, cytoplasmic content disappeared; a large number of pathogens  $(\rightarrow)$  and fat droplets increased in the cells and intercellular space; b. Renal cell endoplasmic reticulum dissolution, mitochondrial cristae fracture, lysosomes increased; c. The cells in the thymus were broken, the nuclear heterochromatin was gathered, and the cell structure was completely destroyed; d. A large number of vacuoles in spleen cells, nuclear atrophy and vacuolization, endoplasmic reticulum dissolution disappeared. Nc: nucleus; Ly: lysosome; Mt: mitochondria; Er: endoplasmic reticulum; Ni: nucleoli; Fd: fat droplet; Cy: cytoplasm; Nm: nuclear membrane.

### 3 讨论

目前国内外对于鱼类的内脏白点病研究较为 广泛,但大多研究重点倾向于病原学方面,如揭 示病原致病的关键调控机制<sup>[18-19]</sup>以及鱼类对病原 感染的免疫反应机制<sup>[5]</sup>,而关于鱼类内脏白点病 的病理学研究相对较少。

患病横带髭鲷临床症状主要表现为体表出现 溃疡灶与出血点,鱼鳍基部与鱼尾处有溃烂出 血, 鱼鳃处肉眼可见乳白色结节, 脾脏、肾脏、胸 腺、肝、肠道处有直径为 1.0~2.0 mm 的乳白色结 节。这与由感染杀香假单胞菌引起大黄鱼内脏白 点病<sup>[20]</sup>、感染诺卡氏菌的小黄鱼(Larimichthys polyactis)<sup>[21]</sup>以及感染诺卡氏菌的大口黑鲈 (Micropterus salmoides)<sup>[22-23]</sup>类似, 组织病理特征 都表现为脾脏、肾脏、肝脏等内脏有大量白色结 节。但大黄鱼内脏白点病的临床病症体表并无明 显病症,这与患病横带髭鲷和乌鳢(Ophiocephalus argus, Cantor)<sup>[24]</sup>所表现的体表充血溃烂和出血点 所不同。而患病大口黑鲈鱼鳃处结节为针尖状,横 带髭鲷鱼鳃处结节为点状。黄鳍鲷(Acanthopagrus latus)结节病<sup>[25]</sup>中除了肝脏、脾脏组织上出现结节 外,还表现出的鳞片疏松易于脱落、眼眶常有水 肿,严重时眼球突出或脱落等,这在患病横带髭鲷 与其他患有内脏白点病的海水鱼中却没有表现。

组织病理学研究表明,横带髭鲷内脏白点病 与感染哈维氏弧菌(Vibrio harveyi)的斜带髭鲷<sup>[7]</sup> 的组织病理学方面有相似的病理学特征。横带髭 鲷病变组织中所出现的结节为崩解细胞组织碎片 与聚生菌体组成的组织坏死结构。而在病变组织 的结节之外的其他组织结构中,也有表现出细胞 肿胀、组织萎缩脱落等现象,同时还伴随着脂肪 变性、细胞空泡化等。但因鱼的种类以及致病菌不 同,导致病变程度及器官亦有差异。在患病横带 髭鲷的肠道、胸腺、卵巢等部位也发现了病变,而 在患病加州鲈(Micropterus salmoides)<sup>[26]</sup>、革胡子 鲶(Clarias gariepinus)<sup>[27]</sup>、大黄鱼<sup>[20]</sup>、小黄鱼<sup>[21]</sup>、 乌鳢<sup>[17]</sup>等鱼类中并未出现。在患病横带髭鲷内脏 中肉芽肿普遍存在,但肉芽肿病灶的数量、大小 和对周围其他组织结构破坏程度等均有差异。这 可能与各组织器官对病原菌的抗性有关。其中以 脾脏、胸腺、肾脏病变最为严重,均发现有大量 的结节遍布整个组织。

超微病理学研究表明,患病横带髭鲷的脾 脏、肾脏、胸腺、肝脏细胞均出现严重的超微病 理变化。脾脏、肾脏、胸腺、肝脏细胞中以及细 胞间隙可发现大量病原菌寄生,并对细胞结构进 行了严重破坏。细胞膜破损、线粒体肿胀、嵴断 裂, 空泡化严重、内质网部分溶解、细胞核中染 色质向细胞核边缘聚集、细胞核萎缩变性或消失 等。这与张丹枫等<sup>[20]</sup>所研究的大黄鱼内脏白点病 具有相似的超微病理学特征,但其并未对胸腺进 行超微病理的相关分析。已有研究表明, 鱼类的 胸腺直接参与到机体的体液免疫反应与细胞免 疫<sup>[28-29]</sup>。但白点病病原通过破坏感染胸腺细胞结 构,进而破坏胸腺在鱼类机体中的免疫功能,而 引起鱼内脏白点病的发生。本研究首次从组织病 理学与超微病理学角度对患病鱼的胸腺进行观察 研究, 探究了内脏白点病对胸腺组织造成的病理 变化。横带髭鲷的病原菌呈短杆状,横切面为椭 圆形。这与大黄鱼<sup>[30-31]</sup>结节病病原菌结构相似。 由此可以反映出不同病原体可引起相似的病理变 化特征,但是仅从超微病理观察还无法判定疾病 种类,还需要进行病原体的准确鉴定。

脾脏和肾脏作为硬骨鱼类的主要免疫器官, 也是血细胞发生、抗体生成和粒细胞生成的重要 场所,兼有免疫和造血功能<sup>[26]</sup>。在病原感染的刺 激下,这些组织能诱导淋巴细胞和巨噬细胞等免 疫细胞产生大量的细胞因子,形成有效的防御机 制以抵御病原体的侵入<sup>[32]</sup>。在病原菌的入侵下, 鱼体的组织细胞发生病理变化,造成鱼体的代谢 功能障碍,同时肾脏与脾脏的内分泌调节、造血、 免疫等功能失常。此外,通过横带髭鲷内脏白点 病的临床症状以及对病变组织的病理特征分析, 导致内脏白点病的病原菌毒性可能较小。它并非 依靠分泌毒素危害宿主,而是通过病原菌数量的 快速增殖,对组织器官造成严重损伤。这给该病 的早期诊断和预防带来困难,一旦出现相关病症, 内脏组织器官已经受到严重损害,而难以治愈。因 此开展研究早期诊断技术对于预防和控制该病的 发生和发展具有重要的理论意义和实际应用价值。

## 参考文献:

- Ping H L, Zhang T, Shi H L, et al. Morphometric characteristics of the embryonic and postembryonic development of belted beard grunts, *Hapalogenys mucronatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(3): 276-287. [平洪领, 张涛, 史会来, 等. 横带髭鲷早期生长发育特征 [J]. 中国水产科学, 2021, 28(3): 276-287.]
- [2] Lin H, Shi H L, Zhang T, et al. Ultrastructure and physiological characteristics of sperm in *Hapalogenys mucronatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2024, 31(3): 257-265.
  [林慧, 史会来, 张涛, 等. 横带髭鲷精子超微结构及其生 理特征[J]. 中国水产科学, 2024, 31(3): 257-265.]
- [3] Shi H D, Mao G M, Wang H Y. Effects of temperature and salinity on embryonic development of *Hapalogenys mucronatus*[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2004, 13(3): 230-234. [史海东, 毛国民, 王海岳. 温度和盐度对横带髭 鲷胚胎发育的影响[J]. 上海水产大学学报, 2004, 13(3): 230-234.]
- [4] Zhong Q F, Ye X J, Chen B, et al. Disease characteristics and control strategies of eel's industrial recirculating aquaculture system[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2021, 60(S2): 357-361. [钟全福, 叶小军, 陈斌, 等. 鳗鲡工业化 循环水养殖的病害特点及防控策略[J]. 湖北农业科学, 2021, 60(S2): 357-361.]
- [5] Peng J, Zhang S, Han F, et al. C1QBP is a critical component in the immune response of large yellow croaker (*Larimichthys* crocea) against visceral white spot disease caused by *Pseudomonas plecoglossicida*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2024, 146: 109372.
- [6] Dong H T, Senapin S, Jeamkunakorn C, et al. Natural occurrence of edwardsiellosis caused by *Edwardsiella ictaluri* in farmed hybrid red *Tilapia (Oreochromis* sp.) in Southeast Asia[J]. Aquaculture, 2019, 499: 17-23.
- [7] Li H Y, Yang Q H, Ge H, et al. Isolation, identification and antibiotic sensitivity analysis of bacterial pathogen from *Hapalogenys nitens* with white spot disease in internal organs[J]. Journal of Applied Oceanography, 2023, 42(4): 643-655. [李慧耀,杨求华, 葛辉,等. 斜带髭鲷内脏白点 病病原的分离鉴定及耐药性分析[J]. 应用海洋学学报, 2023, 42(4): 643-655.]
- [8] Sun Y J, Zhu Z M, Weng S P, et al. Characterization of a highly lethal barramundi (*Lates calcarifer*) model of *Pseudomonas plecoglossicida* infection[J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 149: 104516.

- [9] Xia L Q, Wang M, Lai J B, et al. Establishment of a zebrafish model for *Nocardia seriolae* and histopathological study[J]. Journal of Tropical Biology, 2016, 7(4): 409-416.
  [夏立群, 汪美, 赖杰彬, 等. 鰤鱼诺卡氏菌感染斑马鱼模型的建立与组织病理学研究[J]. 热带生物学报, 2016, 7(4): 409-416.]
- [10] Su Y L, Feng J, Guo Z X, et al. Histopathological analysis of golden pompano *Trachinotus ovatus* infected with *Photobacterium damselae* subsp. piscicida[J]. Marine Sciences, 2012, 36(2): 75-81. [苏友禄, 冯娟, 郭志勋, 等. 美人鱼发光杆 菌杀鱼亚种感染卵形鲳鲹的病理学观察[J]. 海洋科学, 2012, 36(2): 75-81.]
- [11] Liu C, Li K B, Wang Q, et al. Isolation, identification and characterization of *Aeromonas schubertii* from hybrid snakehead (*Channa Maculata*♀ × *C.argus*♂)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(7): 1119-1125. [刘春, 李凯彬, 王庆, 等. 杂交鳢(斑鳢♀ × 乌鳢♂)内脏类结节病病原菌的分离、鉴 定与特性分析[J]. 水产学报, 2012, 36(7): 1119-1125.]
- [12] Zeng Q, Zhang J, Cui L Q, et al. Diversity and roles in mariculture environment[J]. Journal of Microbiology, 2023, 43(1): 108-121. [曾琦, 张敬, 崔林青, 等. 海洋养殖环境 微生物多样性及其作用[J]. 微生物学杂志, 2023, 43(1): 108-121.]
- [13] Attia M M, Abdelsalam M, Elgendy M Y, et al. Dactylogyrus extensus and Pseudomonas fluorescens dual infection in farmed common carp (Cyprinus carpio)[J]. Microbial Pathogenesis, 2022, 173: 105867.
- [14] Zhang F P, Peng Z L, Zhang J, et al. Isolation and identification of the pathogenic strain of *Vibrio harveyi* from *Miichthys miiuy*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(3): 304-309. [张凤萍, 彭志兰, 张健, 等. 鮸鱼弧菌病病原菌 (哈维氏弧菌)的分离与鉴定[J]. 微生物学报, 2010, 50(3): 304-309.]
- [15] 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.]
- [16] Guo Q L, Sun X F, Jia W Z, et al. Ultrastructural pathological studies on *Rickettsia*-like organism infection in a cultured fish, ophiocephalus Argus[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(2): 265-271. [郭琼林, 孙晓凤, 贾伟章, 等. 养殖乌鳢类立克次体感染的超微病理学研究[J]. 水生生 物学报, 2007, 31(2): 265-271.]
- [17] Guo Q L, Jia W Z, Sun X F, et al. Histopathological studies

on *Rickettsia*-like organism infection in a cultured fish, ophiocephalus Argus[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(1): 45-52. [郭琼林, 贾伟章, 孙晓凤, 等. 养殖乌鳢类 立克次体感染的组织病理学研究[J]. 水生生物学报, 2007, 31(1): 45-52.]

- [18] Tao Z, Ye H D, Zhang C Z, et al. PvgAS: A novel two-component system that controls type III and type VI secretion systems and virulence in the fish pathogen *Pseudo-monas plecoglossicida*[J]. Aquaculture, 2024, 578: 740102.
- [19] He R C, Wang J J, Lin M Z, et al. Effect of ferredoxin receptor FusA on the virulence mechanism of *Pseudomonas plecoglossicida*[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 808800.
- [20] Zhang D F, An S W, Zhou S M, et al. Histopathology and ultrastructure of visceral white-spots in *Pseudosciaena crocea*[J]. Progress in fishery science, 2017, 38(4): 11-16. [张丹枫, 安树伟,周素明,等. 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)内脏 白点病的组织病理和超微病理分析[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(4): 11-16.]
- [21] Wu D, Ruan Z C, Wang Y B, et al. Isolation and identification of *Nocardia seriolae* in *Larimichthys polyactis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2023, 54(4): 1182-1190.
  [吴迪, 阮泽超, 王跃斌, 等. 小黄鱼(*Larimichthys polyactis*) 鰤鱼诺卡氏菌的分离及鉴定[J]. 海洋与湖沼, 2023, 54(4): 1182-1190.]
- [22] Liu W W, Deng Y T, Zhu X Q, et al. Infection process of primary macrophages derived from kidney of *Micropterus* salmoides by Nocardia seriolae[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2602-2623. [刘文文, 邓玉婷, 朱雪晴, 等. 鰤 诺卡氏菌对大口黑鲈头肾巨噬细胞的侵染过程[J]. 微生 物学通报, 2023, 50(6): 2602-2623.]
- [23] He S Y, Wei W Y, Liu T, et al. Isolation, identification and histopathological study on lethal sarcoidosis of *Micropterus* salmoides[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(2): 253-265. [何晟毓,魏文燕,刘韬,等. 大口黑鲈致死性结 节病病原的分离、鉴定及组织病理学观察[J]. 水产学报, 2020, 44(2): 253-265.]
- [24] Wang Z, Ge M F, Xu Y J, et al. Histopathological and ultrapathological observation on nocardiosis of ophicephalus Argus[J]. Journal of Ningbo University (Natural Science &

Engineering Edition), 2015, 28(2): 13-18. [王桢, 葛明峰, 徐益军, 等. 乌鳢诺卡氏菌病的组织病理和超微病理观察 [J]. 宁波大学学报(理工版), 2015, 28(2): 13-18.]

- [25] Zhang Y J. Histopathological studies on the tuberculosis of black bream, *Sparus latus* houttuyn[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1991, 22(6): 561-565, 601-603. [张永嘉. 黄鳍鲷结节病病理组织学研究[J]. 海洋与湖沼, 1991, 22(6): 561-565, 601-603.]
- [26] Yang N, Huang L, Lin L Y, et al. Characteristics and immunoprotective effects of attenuated *Nocardia seriolae* from largemouth bass indued by continuous passaging[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2024, 48(7): 962-968. [杨娜, 黄 雷, 蔺凌云, 等. 大口黑鲈鰤鱼诺卡氏菌传代弱毒株特性 及免疫效果评价[J]. 水生生物学报, 2024, 48(7): 962-968
- [27] Wang F, Chang O Q, Yan Y Y, et al. Nocardia seriolae infection in the African catfish Clarias gariepinus[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2017, 29(5): 744-750. [王芳, 常 藕琴, 颜远义, 等. 革胡子鲶的鰤诺卡氏菌感染[J]. 浙江 农业学报, 2017, 29(5): 744-750.]
- [28] Kernen L, Rieder J, Duus A, et al. *Thymus* development in the zebrafish (*Danio rerio*) from an ecoimmunology perspective[J]. Journal of Experimental Zoology Part A, Ecological and Integrative Physiology, 2020, 333(10): 805-819.
- [29] Zapata A G. Lympho-hematopoietic microenvironments and fish immune system[J]. Biology, 2022, 11(5): 747.
- [30] Yuan S P, Wang G L, Jin S. Nocardiosis in large yellow croakers, *Pseudosciaena crocea* cultivated in net cages[J]. Fisheries Science, 2005, 24(9): 35-36. [袁思平, 王国良, 金珊. 海水网箱养殖大黄鱼诺卡氏菌病及防治[J]. 水产科学, 2005, 24(9): 35-36.]
- [31] Wang G L, Yuan S P, Jin S. Preliminary study on nocardiosis in cage-reared large croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson)
  [J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(1): 103-107. [王国良,袁思平,金珊. 网箱养殖大黄鱼诺卡氏菌病的初步研究[J]. 水产学报, 2006, 30(1): 103-107.]
- [32] Gao H F, Shao P, Wu Z, et al. Immune effect of Nocardia seriolae caviar vaccine on grouper[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2024, 26(2): 145-152. [高浩峰, 邵 蓬, 武尊, 等. 鰤鱼诺卡氏菌疫苗对石斑鱼免疫效果研究[J]. 中国农业科技导报, 2024, 26(2): 145-152.]

# Observation of visceral white spot disease tissue pathology and ultrastructural pathological analysis in recirculating aquaculture of *Hapalogenys mucronatus*

ZOU Jinghua<sup>1</sup>, SHI Huilai<sup>2</sup>, PING Hongling<sup>2</sup>, ZHANG Tao<sup>2</sup>, LIN Hui<sup>1</sup>, YANG Shuyue<sup>1</sup>, ZHOU Qun<sup>1</sup>

1. Zhejiang Marine Fisheries Research Institute, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316021, China;

2. Zhejiang Province Key Laboratory of Mariculture and Enhancement, Zhejiang Marine Fisheries Research Institute, Zhoushan 316021, China

Abstract: To investigate the pathological characteristics and pathogenesis of visceral white spot disease in Hapalogenys mucronatus, anatomical observations, tissue sectioning, and ultra-thin section electron microscopy were used to conduct a pathological analysis of the thymus, spleen, gills, liver, kidneys, intestines, and ovaries of affected fish. The results showed that clinical symptoms in H. mucronatus included ulceration and hemorrhage on the body surface, ulceration and bleeding at the base of the pectoral, caudal, and dorsal fins, visible whitish nodules in the gills, thickening and severe fibrosis of the ovarian membrane in females, and numerous white nodules in visceral organs such as the spleen, liver, and kidneys. Histopathological examination revealed that the spleen, thymus, liver, and kidneys were the main target organs for infection and injury, showing severe tissue degeneration and necrosis with pronounced vacuolation. Pathological nodules were observed in all the affected tissues. Ultrastructural pathology results showed severe damage to the cellular ultrastructure of the spleen, thymus, liver, and kidneys of the affected fish, particularly mitochondrial and nuclear damage. Mitochondrial swelling, cristae disruption, and vacuolization were observed, along with nuclear shrinkage, chromatin marginalization, and clustering of numerous pathogenic bacteria. The results indicate that tissue cellular pathology and ultrastructural pathological characteristics of visceral white spot disease in H. mucronatus demonstrate the invasion and harm caused by pathogenic bacteria, primarily resulting in damage to respiratory-, immune-, and reproductive-related tissue organs, ultimately leading to death, while potentially exerting a negative impact on reproductive capacity. **Key words:** Hapalogenys mucronatus; visceral white spot disease; tissue pathology; ultrastructural pathology Corresponding author: PING Hongling. E-mail: pinghongling@126.com