

引用格式:李志惠,裴占阳,李任军,等.水霉菌的分离、鉴定及人工感染后加州鲈生化指标与组织病理学特征的变化[J].福建农林大学学报(自然科学版),2025,54(3):344-354.

LI Z H, PEI Z Y, LI R J, et al. Changes in biochemical indices and histopathological characteristics of *Micropterus salmoides* after artificially infection with isolated *Saprolegnia*[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2025,54(3):344-354.

水霉菌的分离、鉴定及人工感染后加州鲈生化指标与组织病理学特征的变化

李志惠¹, 裴占阳¹, 李任军¹, 张小洪²

(1.贵州农业职业学院畜牧水产系,贵州 贵阳 551400;2.贵州大学动物科学学院,贵州 贵阳 550025)

摘要:【目的】研究水霉菌对加州鲈血清、肾脏、头肾生化指标的影响及其相关病理学机制,为深入探究加州鲈对水霉菌的免疫防御机制提供参考。【方法】从贵州省息烽县某高位池养殖场采集患水霉病的加州鲈,经体表分离、培养得到需要鉴定的菌种,通过形态观察、18S rDNA 测序及生物信息学技术鉴定出水霉菌,同时对健康加州鲈进行人工感染试验。将加州鲈分成对照鱼及人工感染水霉菌的病鱼,观察两组鱼的临床症状和皮肤状态,测定两组鱼血清、肾脏、头肾中的各项生化指标,并对皮肤、肌肉、鳃、肝脏、头肾、肾脏、心脏、脾脏组织进行病理学观察。【结果】水霉菌菌丝细长,呈长棒状,分支较少,中空管状无分隔,呈蔓延式生长及分散状分布。健康加州鲈人工感染水霉菌后,病鱼出现活动减少、食欲减退等状态;体表出现红斑和白色、淡黄色覆盖物;鱼鳞脱落,鳞片退化且排列紊乱,其边缘栉状刺大多消失;表皮脱落,真皮层胶原纤维大面积裸露。病鱼血清的尿酸浓度、谷丙转氨酶活性显著高于对照鱼,总蛋白含量、白蛋白含量、碱性磷酸酶活性、甘油三酯浓度、Ca²⁺浓度、Cl⁻浓度显著低于对照鱼,肌酐浓度、Na⁺浓度极显著低于对照鱼;病鱼血清的谷草转氨酶活性、乳酸脱氢酶活性极显著高于对照鱼,但头肾组织的这两种酶活性极显著低于对照鱼;病鱼肾脏组织的碱性磷酸酶活性、葡萄糖浓度、P⁺浓度均显著低于对照鱼。病鱼多个组织结构发生紊乱,血管淤血,细胞浸润、肿胀、坏死,并伴有炎症。【结论】患病加州鲈的病原为水霉菌,可引起加州鲈体表损伤,血清、肾脏、头肾的生化指标发生变化,体内多个组织发生病理损伤。

关键词:加州鲈;水霉菌;人工感染;生化指标;组织病理

中图分类号: S941.43⁺1

文献标识码: A

文章编号: 1671-5470(2025)03-0344-11

DOI: 10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).202411016



开放科学(资源服务)
标识码(OSID)

Changes in biochemical indices and histopathological characteristics of *Micropterus salmoides* after artificially infection with isolated *Saprolegnia*

LI Zhihui¹, PEI Zhanyang¹, LI Renjun¹, ZHANG Xiaohong²

(1.Department of Animal Husbandry and Aquaculture, Guizhou Vocational College of Agricultural, Guiyang, Guizhou 551400, China; 2.College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: 【Objective】This study focused on the effect of *Saprolegnia* on the biochemical indices of serum, kidney and head-kidney of *Micropterus salmoides* and its related pathological mechanisms to provide a reference for in-depth exploration of the immune defense mechanism of *M. salmoides* against *Saprolegnia*. 【Method】*M. salmoides* infected with *Saprolegnia* were collected from a farm with higher-place ponds in Xifeng County, Guizhou Province. Bacterial strains of *Saprolegnia* were isolated through surface isolation and cultivation, and then identified by morphological observation, 18S rDNA sequencing and bioinformatics techniques. Artificial infection with identified *Saprolegnia* was carried out on healthy *M. salmoides* to compared their clinical symptoms and skin conditions with the control. Meanwhile, various biochemical indices of serum, kidney and head-kidney were measured, and pathological observations were conducted on tissues including the skin, muscle, gill, liver, head-kidney, kidney, heart and spleen tissues. 【Result】

收稿日期:2024-11-12 修回日期:2024-12-14

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2023]一般470)。

通信作者:李任军(1970—),男,教授,博士。研究方向:中兽医学。Email:470528497@qq.com。

The hyphae of *Saprolegnia* were long and slender, with few branches, and hollow and unseparated tubes; they grew in a spreading manner and distributed scatteredly. After artificial infection with *Saprolegnia*, *M. salmoides* exhibited symptoms like reduced activity and decreased appetite, with body surface marked with red patches and white and pale-yellow coverings; fish scales were degenerated, disorderly arranged, and even fallen, with most ctenoid spines disappeared at the scale edges; then the epidermis was peeled, leaving the collagen fibers in the dermis layer exposed over a large area. In terms of biochemical indices, the diseased fish had significantly higher mass fraction of uric acid and alanine aminotransferase (ALT) activity compared to the control, significantly lower mass concentrations of total protein and albumin, alkaline phosphatase (ALP) activity, and concentrations of triglyceride, calcium ion (Ca^{2+}) and chloride ion (Cl^-); and very significantly lower mass concentrations of creatinine and sodium ion (Na^+). The activities of aspartate aminotransferase (AST) and lactic dehydrogenase (LDH) in the serum were extremely significantly higher in the diseased fish than the control, but exhibited the opposite trends in the head-kidney tissue. In the kidney of diseased fish, ALP activity, mass concentrations of glucose and phosphorus (P^+) were all significantly lower than those in the control. Histopathological observation revealed the disordered tissue structures of multiple organs with symptoms such as blood vessel congestion, cell infiltration, swelling, necrosis, and accompanied inflammation in fish infected with *Saprolegnia*. 【Conclusion】The pathogen of diseased *M. salmoides* is *Saprolegnia*, which can cause surface injury, biochemical index changes in serum, kidney and head-kidney, and pathological damages to multiple tissues of *M. salmoides*.

Key words: *Micropterus salmoides*; *Saprolegnia*; artificially infection; biochemical indices; histopathology

加州鲈 (*Micropterus salmoides*) 又名大口黑鲈, 隶属于鲈形目 (Perciformes) 太阳鱼科 (Centrarchidae) 黑鲈属 (*Micropterus*)^[1-2]。随着鲈鱼人工养殖日益增多, 其病害问题也引起更多关注。水霉病俗称“白毛病”, 在淡水渔业中是最常见的真菌寄生性疾病之一^[3]。春、秋季水温波动大, 会引起鱼类热应激, 对免疫力产生负面影响, 增大鱼类对水霉菌的易感性^[4], 这种病原体会影响鱼的胚胎发育及成年阶段的生长。加州鲈轻度感染水霉菌有充血症状; 中度感染后, 其体表出现白色絮状的菌丝体^[5-6]; 重度感染后, 体表出现红肿、溃烂的现象^[7]。水霉病具有发病快和致死率高等特点^[8]。成年鱼重度感染水霉菌可能导致其体表广泛覆盖菌丝^[6,9-10], 对鱼类养殖业的健康发展构成严重威胁^[11]。

鱼类血液学指标的测定常有报道, 但加州鲈感染水霉菌后, 其机体血液学指标结合组织病理学特征变化鲜有报道。鱼体血液的生化指标在正常情况下较稳定^[12]; 感染水霉菌后, 鱼体血液的离子浓度、酶活性以及其他生化指标会发生显著变化, 检测这些生化指标可判断鱼体的身体状况或辅助诊断疾病^[12-13]。本研究对加州鲈血清、肾脏、头肾的生化指标进行测定, 同时取其多个组织进行病理学观察, 研究生化指标与组织病理学特征的关系, 旨在为鱼类水霉病的临床诊断和防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌种 于贵州省息烽县某高位池养殖

场采集患水霉病的加州鲈, 充氧运输至实验室, 经体表分离、培养得到需要鉴定的菌种, 并置于冰箱 (4 °C) 中保存备用。

1.1.2 试验动物 挑选同一养殖场的加州鲈 24 尾, 体长 (26±2) cm, 体质量 (550±100) g, 经肉眼鉴定, 其体表完整、活动和食欲正常, 为健康鱼。

1.2 水霉菌的培养及菌液的制备

1.2.1 水霉菌的培养 采用琼脂平板扩散法培养水霉菌。将经体表分离的水霉菌接种到 PDA 培养基斜面上, 置于 25 °C 恒温培养 5 d^[14], 观察菌落生长情况, 并用灭菌后的镊子取少量菌丝做成装片, 在显微镜下观察水霉菌的形态特征。

1.2.2 菌液的制备 选取带菌丝的小块培养基置于灭菌的培养皿中, 倒入 20 mL 灭菌水, 加入几片煮熟的玉米片 (水沸腾后持续煮 15 min), 置于 25 °C 下诱生、培养孢子。待培养皿中可见大量孢子时, 取出玉米片上携带的菌丝, 用组织研磨仪研磨制成菌液, 并加入孢子液混匀, 每隔 2 h 用血球计数板计数, 直至将水霉菌孢子浓度调节至 $2 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[15]。

1.3 扫描电镜样品处理

1.3.1 前处理 菌丝: 采用娥酸熏蒸法^[16]将带有水霉菌的培养基放入密闭的玻璃容器中, 用体积分数为 2% 的娥酸熏蒸 15 h。

皮肤组织: 经 30%—50%—70%—80%—90%—95%—100%—100% 酒精脱水 (每次 15 min) 后, 再置于乙酸异戊酯中浸泡 15 min, 最后将皮肤组织放入

K850 型临界点干燥仪(英国 Quorum 公司)中进行干燥。

1.3.2 粘样 用导电胶粘取菌丝或皮肤组织粘贴于样品台上。

1.3.3 镀金、观察 将样品表面用 JFC-1600 型离子溅射仪(日本电子株式会社)镀金后,置于 SU8010 型扫描电子显微镜(日本日立公司)下观察菌丝或皮肤组织的形态和结构。

1.4 试验分组

本试验经贵州大学实验动物伦理分委员会批准,编号为 EAE-GZU-2022-T001。随机将 24 尾加州鲈平均分成试验组和对照组,每组各 12 尾。加州鲈在饲养期间,均按正常的饲养条件进行饲养、管理,确保水质和水量一致,每日定时、定量投喂相同饲料。在试验组的水体中加入上述制备的水霉菌液,调节水体中水霉菌孢子浓度为 $2 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ CFU · mL⁻¹,饲养直至试验组加州鲈感染发病。连续观察所有人工感染水霉菌后鱼体的临床症状,并做好记录。轻度患病鱼体表微微充血发红,中度患病鱼体表出现白色棉絮状覆盖物,重度患病鱼鳃盖、胸鳍、臀鳍等部位出现红肿、溃烂和鳞片脱落现象。

1.5 病原菌分子生物学鉴定

用无菌牙签挑取培养 72 h 的菌丝置于无菌管中,采用 Ezup 柱式真菌基因组 DNA 抽提试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司]提取菌株的基因组 DNA,检测浓度后采用琼脂糖凝胶电泳验证 DNA 质量。利用 18S rDNA *ITS* 引物(*ITS*-1 序列为 TCCGTAGGTGAACCTGCGG, *ITS*4-R 序列为 TCCTCCGCTTATTGATATGC),采用 R045A 试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司]对 *ITS* 基因进行 PCR 扩增。PCR 产物采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行序列测定。将 *ITS* 基因序列提交到 NCBI 数据库中,运用 BLAST 工具进行同源性比对,筛选同源性高的序列并利用 Mega 11.0 进化树构建软件中的邻接法(neighbour joining, NJ)构建系统发育树,明确菌株的种类。

1.6 样品制备及其生化指标的测定

1.6.1 血清的制备 采用鱼用安定剂“渔夫宝”(广东渔夫宝水产科技有限公司)对加州鲈进行麻

醉,再使用注射器在鱼尾静脉处采血。血液于 $3\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 后取上清液放入冰箱($4\text{ }^{\circ}\text{C}$)中保存备用。

1.6.2 肾脏、头肾组织的制备 取适量的肾脏、头肾组织,分别用 9 倍生理盐水研磨后于 $3\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。

1.6.3 生化指标的测定 用 718 型全自动生化分析仪(日本日立公司)检测试验组、对照组加州鲈血清、肾脏、头肾组织中的谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)活性、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)活性、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)活性、葡萄糖浓度、总胆固醇浓度、尿素氮含量、甘油三酯浓度、 Ca^{2+} 浓度、 Na^{+} 浓度、 P^{+} 浓度、 Cl^{-} 浓度等生化指标;同时,对血清生化指标的测定增加了总蛋白含量、白蛋白含量、肌酐浓度、尿酸浓度等项目。

1.7 组织切片制作及病理观察

在对照组中选取 3 条体表完整、活动正常的加州鲈,在试验组中选取 3 条具有典型症状的患病鱼,取其皮肤、肌肉、鳃、肝脏、头肾、肾脏、心脏、脾脏等 8 个组织进行病理学观察。常规石蜡切片参考王宁军等^[17]的方法制备。使用 CaseViewer 2.4 软件选取图片进行病理分析。

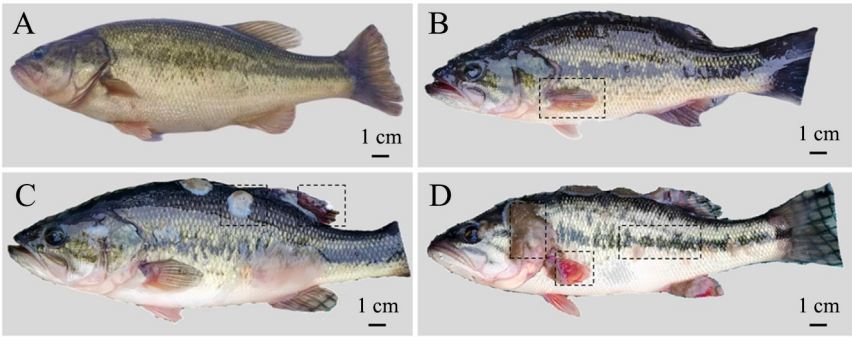
1.8 数据处理与分析

试验数据用“平均值±标准差”表示。数据采用 SPSS 18.0 软件进行处理,采用独立样本 *t* 检验。

2 结果与分析

2.1 患病加州鲈的基本症状

对照组加州鲈,体长(26 ± 2) cm,体表完整,活动和食欲正常,无死亡现象(图 1A)。人工感染水霉菌 3~5 d,轻度患病鱼体表出现红斑,胸鳍充血发红(图 1B);感染 7~10 d,中度患病鱼体表出现白色棉絮状覆盖物或淡黄色黏液状物质,为水霉病典型症状,导致鱼鳞呈环状脱落,背鳍充血、溃烂(图 1C);感染 10~15 d,重度患病鱼鳃盖、胸鳍、臀鳍等部位红肿或溃烂,鳞片脱落(图 1D)。同时观察到水中患病鱼出现上浮、靠边、活动减少、游动异常、食欲减退等状态。



A.对照鱼;B.轻度患病鱼(黑色矩形框示胸鳍处充血发红);C.中度患病鱼(黑色矩形框示鳞片脱落,背鳍充血溃烂);
D.重度患病鱼(黑色矩形框示鳃盖褐化,鱼鳞脱落,胸鳍、臀鳍充血溃烂)。
A.Healthy fish; B.Slightly diseased fish (the black rectangular boxes indicate the congested and red pectoral fin); C.Moderately diseased fish (the black rectangular boxes indicate the shed scales, and congested and ulcerated dorsal fin); D.Severely diseased fish (the black rectangular boxes indicate the browned operculum, shed scales, and congested and ulcerated pectoral and pelvic fins).

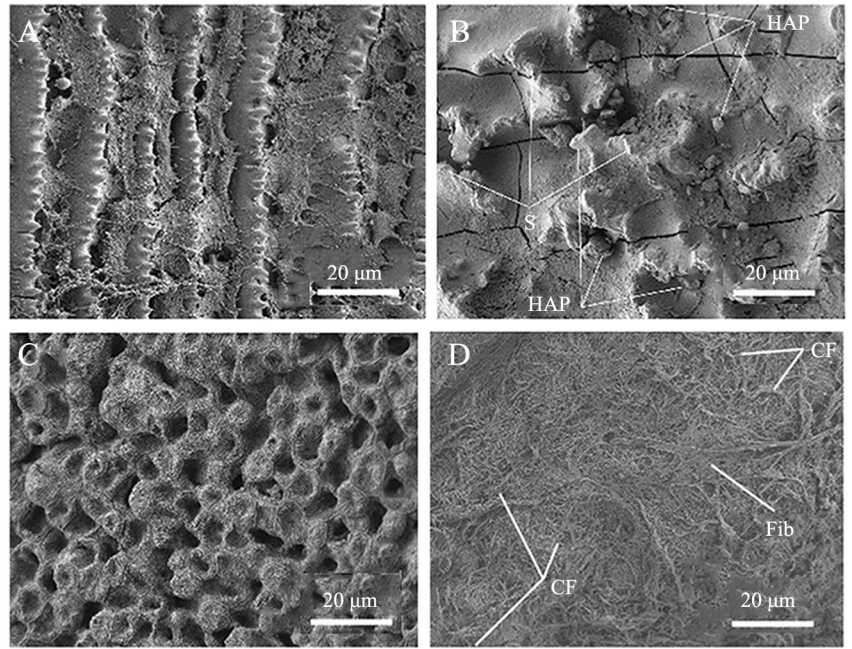
图 1 健康及患病加州鲈的临床症状

Fig.1 Clinical symptoms of healthy and sick *M. salmoides*

2.2 水霉菌对加州鲈皮肤组织的影响

对照鱼鳞片组织结构正常,平行排列整齐,其边缘栉状刺数量较多(图 2A);病鱼鳞片组织结构损伤严重,鳞片大面积退化,排列紊乱,其边缘栉状刺大多消失,鳞片间可见大量羟基磷灰石填充

(图 2B)。对照鱼皮肤组织结构正常,表皮有许多指纹状的微嵴,排列整齐,可见黏液细胞(图 2C);病鱼皮肤组织结构损伤严重,表皮脱落,真皮层胶原纤维大面积裸露,并有少量成纤维细胞(图 2D)。



A.对照鱼鳞片;B.患病鱼鳞片(S 示鳞片退化,HAP 示羟基磷灰石填充);C.对照鱼皮肤;
D.患病鱼皮肤(CF 示皮肤真皮层胶原纤维裸露,Fib 示成纤维细胞)。
A.Scales of healthy fish; B.Scales of diseased fish (S indicates scale degradation, and HAP indicates hydroxyapatite filling); C.Skin of healthy fish; D.Skin of diseased fish (CF indicates the exposure of collagen fibers in the dermis of skin, and Fib indicates fibroblasts).

图 2 健康及患病加州鲈皮肤状态的扫描电镜图

Fig.2 Scanning electron micrographs of skin of healthy and sick *M. salmoides*

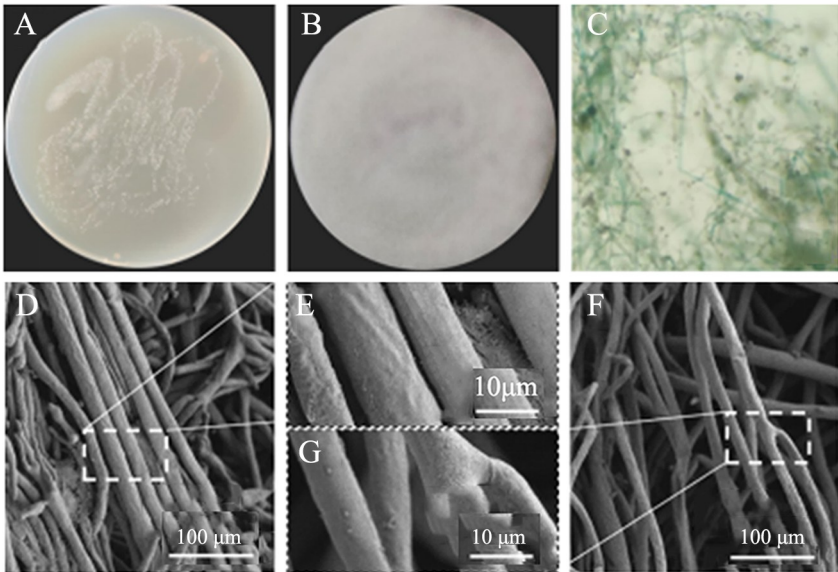
2.3 水霉菌形态鉴定

当试验组加州鲈出现典型症状时即可取样,取样时无死亡现象。取感染部位的白色棉絮物,用 PDA 培养基培养分离、纯化出水霉菌,编号 IS2329。

菌株 IS2329 在 25 ℃ 下培养 24 h 后,形成肉眼可见的乳白色不透明且边缘完整的菌落(图 3A);72 h 后菌落呈白色棉絮状,呈覆盖式生长(图 3B)。培养 72 h 的菌株经乳酸石炭酸棉蓝染色液染色后,

置于光学显微镜下观察,发现菌丝呈蓝绿色且细长,呈蔓延式生长(图 3C);孢子囊大且多,呈分散状分布。菌株经钨酸熏蒸后置于扫描电镜下观察,

发现菌丝呈长棒状(图 3D),中空管状无分隔,菌丝分支较少(图 3F、3G),整体较长,宽 6~12 μm,菌丝表面凹凸不平,有条纹状的线条(图 3E)。



A.培养 24 h 的菌落;B.培养 72 h 的菌落;C.光学显微镜下的菌丝形态 (100×);D.扫描电镜 (500×) 下无分支的菌丝;E.扫描电镜 (3 000×) 下无分支的菌丝;F.扫描电镜 (500×) 下有分支的菌丝;G.扫描电镜 (3 000×) 下有分支的菌丝。
A.Colonies cultured for 24 h; B.Colonies cultured for 72 h; C.Mycelial morphology under optical microscope (100×);
D.Unbranched mycelia under SEM (500×); E.Unbranched mycelia under SEM (3 000×); F.Branched mycelia under SEM (500×); G.Branched mycelia under SEM (3 000×).

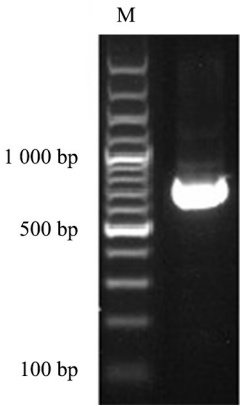
图 3 水霉菌及其菌丝形态

Fig.3 Morphology of *Saprolegnia* and its hyphae

2.4 菌种鉴定

以分离菌株 IS2329 基因组 DNA 为模板,用 ITS 引物进行 PCR 扩增,其长度约为 719 bp(图 4)。

其与 *Saprolegnia parasitica* ATCC 902132 聚于同一分支,同源性高达 97%(图 5)。综合 NJ 发育树及 ITS 序列,最终确定侵染加州鲈的病原菌为水霉属 (*Saprolegnia*) 真菌。



M.DL 3 000 DNA 标记 DL 3 000 DNA marker。

图 4 菌株 IS2329 PCR 扩增结果

Fig.4 PCR amplification result of strain IS2329

根据测序结果,将得到的基因序列与 NCBI 核酸序列数据库中收录的基因序列进行同源性比对。选取数据库中得分最高的序列作为参比对象,菌株 IS2329 的 ITS 序列与 *Saprolegnia* 序列的相似度为 100%,序列比对的一致度为 100%,NJ 发育树显示

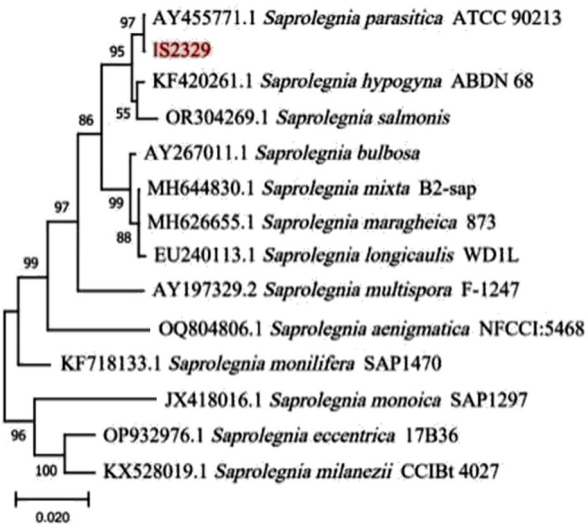


图 5 基于菌株 IS2329 基因序列构建的系统发育树
Fig.5 Phylogenetic tree constructed based on gene sequence of strain IS2329

2.5 水霉菌对加州鲈血清、肾脏、头肾组织中生化指标的影响

由表 1 可以看出:加州鲈感染水霉菌后,其血清的 ALT 活性、尿酸浓度显著高于对照鱼,总蛋白含量、白蛋白含量、ALP 活性、甘油三酯浓度、Ca²⁺ 浓度、Cl⁻ 浓度显著低于对照鱼;AST 活性、LDH 活性极显著高于对照鱼,肌酐浓度、Na⁺ 浓度极显著低

于对照鱼;葡萄糖浓度、总胆固醇浓度、尿素氮含量、P⁺ 浓度与对照鱼的差异不显著。表明水霉菌对加州鲈血清生化指标的影响主要集中在总蛋白含量、白蛋白含量、ALT 活性、ALP 活性、甘油三酯浓度、尿酸浓度、AST 活性、LDH 活性、肌酐浓度、Ca²⁺ 浓度、Na⁺ 浓度、Cl⁻ 浓度上。

表 1 感染水霉菌后,加州鲈血清生化指标的变化¹⁾

Table 1 Changes of serum biochemical indices of <i>M.salmoides</i> after infection with <i>Saprolegnia</i>						
组别 Group	ρ (总蛋白)/ (g · L ⁻¹) Mass concentration of total protein	ρ (白蛋白)/ (g · L ⁻¹) Mass concentration of albumin	ALT 活性/ (U · L ⁻¹) Alanine aminotransferase activity	AST 活性/ (U · L ⁻¹) Aspartate aminotransferase activity	ALP 活性/ (U · L ⁻¹) Alkaline phosphatase activity	LDH 活性/ (U · L ⁻¹) Lactic dehydrogenase activity
对照组 Control	41.78±1.58a	16.91±1.73a	17.96±4.68a	177.34±20.77A	60.60±8.58a	5 638.99±1 333.32A
试验组 Experimental group	33.66±4.42b	12.77±1.56b	80.83±23.98b	507.43±99.66B	42.51±2.72b	11 936.25±1 816.18B

组别 Group	c(葡萄糖)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of glucose	c(总胆固醇)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of total cholesterol	c(甘油三酯)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of triacylglycerol	ρ (尿素氮)/ (mg · L ⁻¹) Mass concentration of urea nitrogen	c(肌酐)/ (μ mol · L ⁻¹) Concentration of creatinine	c(尿酸)/ (μ mol · L ⁻¹) Concentration of uric acid
对照组 Control	35.72±5.22a	9.09±1.52a	11.64±1.09a	29.9±8.5a	227.94±48.12A	88.50±4.01a
试验组 Experimental group	30.58±6.22a	8.02±0.92a	6.88±1.56b	54.2±16.5a	63.81±23.48B	223.54±73.80b

组别 Group	c(Ca ²⁺)/(mmol · L ⁻¹) Concentration of Ca ²⁺	c(Na ⁺)/(mmol · L ⁻¹) Concentration of Na ⁺	c(P ⁺)/(mmol · L ⁻¹) Concentration of P ⁺	c(Cl ⁻)/(mmol · L ⁻¹) Concentration of Cl ⁻
对照组 Control	2.83±0.19a	151.92±3.79A	2.97±0.43a	85.05±4.14a
试验组 Experimental group	2.62±0.28b	113.51±12.53B	3.14±0.62a	61.54±8.21b

¹⁾ 同列数据后附不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$), 附不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Different capital letters behind data within the same column indicate extremely significant differences ($P<0.01$), and different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

由表 2 可以看出,加州鲈感染水霉菌后,其肾脏组织的 ALP 活性、葡萄糖浓度、P⁺ 浓度均显著低于对照鱼,而 ALT 活性、AST 活性、LDH 活性、总胆固醇浓度、尿素氮含量、Ca²⁺ 浓度、Na⁺ 浓度、Cl⁻ 浓度与对照鱼的差异不显著。

由表 3 可以看出,加州鲈感染水霉菌后,其头肾组织的 ALT 活性显著高于对照鱼,葡萄糖浓度、P⁺ 浓度显著低于对照鱼,AST 活性、ALP 活性、LDH 活性极显著低于对照鱼,总胆固醇浓度、尿素氮含量、Ca²⁺ 浓度、Na⁺ 浓度、Cl⁻ 浓度与对照鱼的差异不显著。

2.6 感染水霉菌后,加州鲈多个组织的病理变化

分别取对照组及人工感染水霉菌试验组加州鲈的皮肤、肌肉、鳃、肝脏、头肾、肾脏、心脏、脾脏组织切片进行观察。感染水霉菌后,病鱼多个组织结

构紊乱,淤血,细胞浸润、肿胀、坏死,并伴有炎症等病理特征。对照鱼皮肤组织结构清晰,表皮结构完整(图 6A);病鱼表皮结构紊乱,水霉菌侵入表皮,贯穿整个皮肤组织,导致结缔组织松散、肌层结构不全、少量淋巴细胞浸润(图 6A1)。对照鱼肌肉组织中的肌纤维束边界明显、肌纤维纹理清晰(图 6B);病鱼肌内膜与肌纤维间距增大、排列较疏松,肌原纤维断裂、弯曲不齐(图 6B1)。对照鱼鳃组织中的鳃丝呈梳状排列且数量较多,鳃小片含有丰富的毛细血管(图 6C);病鱼鳃组织中的鳃丝结构紊乱、血管淤血、大量细胞坏死、胞核固缩碎裂,多见淋巴细胞与粒细胞浸润,鳃小片上皮脱落(图 6C1)。对照鱼肝脏细胞结构清晰,呈板状双行排列(图 6D);病鱼肝脏组织中的血管淤血,肝脏细

胞胞质紧密、染色质边集,多见棕黄色色素沉积(图 6D1)。对照鱼头肾组织中的淋巴细胞排列紧密且数量较多(图 6E);病鱼头肾组织中的淋巴细胞排列疏松且数量减少,多见棕黄色色素小灶性沉积、较大范围血窦轻度淤血及血管淤血(图 6E1)。对照鱼肾脏组织中的肾小球分布均匀,其细胞数量正常、基质均匀(图 6F);病鱼肾脏组织中的肾小管萎缩,管腔狭窄或消失,肾小管上皮细胞肿胀、少量

上皮细胞坏死,胞核固缩(图 6F1)。对照鱼心脏组织中的心内外膜和心肌膜结构清晰(图 6G);病鱼心脏组织中的心肌细胞胞质出现空泡、排列不规则,心外膜淋巴细胞与粒细胞浸润,多见间质血管淤血(图 6G1)。对照鱼脾脏组织中的红髓与白髓界限不明显,未见其他明显异常(图 6H);病鱼脾脏组织中细胞坏死,胞核固缩碎裂,粒细胞浸润,多见棕黄色色素小灶性沉积(图 6H1)。

表 2 感染水霉菌后,加州鲈肾脏组织生化指标的变化¹⁾

Table 2 Changes of biochemical indices of kidney in *M.salmoides* after infection with *Saprolegnia*

组别 Group	ALT 活性/(U · L ⁻¹) Alanine aminotransferase activity	AST 活性/(U · L ⁻¹) Aspartate aminotransferase activity	ALP 活性/(U · L ⁻¹) Alkaline phosphatase activity	LDH 活性/(U · L ⁻¹) Lactic dehydrogenase activity	c(葡萄糖)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of glucose
对照组 Control	1 598.25±124.59a	13 442.69±1 327.59a	18 902.68±3 955.06a	25 120.05±1 311.04a	3.15±0.72a
试验组 Experimental group	1 730.04±65.16a	14 502.62±473.55a	8 567.97±143.50b	22 489.56±1 644.02a	1.00±0.39b

组别 Groups	c(总胆固醇)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of total cholesterol	ρ(尿素氮)/ (mg · L ⁻¹) Mass concentration of urea nitrogen	c(Ca ²⁺)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of Ca ²⁺	c(Na ⁺)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of Na ⁺	c(P ⁺)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of P ⁺	c(Cl ⁻)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of Cl ⁻
对照组 Control	0.71±0.08a	85.7±7.8a	1.30±0.08a	7.58±2.32a	2.80±0.16a	34.03±1.15a
试验组 Experimental group	0.80±0.16a	81.6±11.0a	1.28±0.01a	5.32±0.86a	2.29±0.15b	31.35±3.24a

¹⁾ 同列数据后附不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Different lowercase letters behind data indicate significant differences ($P<0.05$).

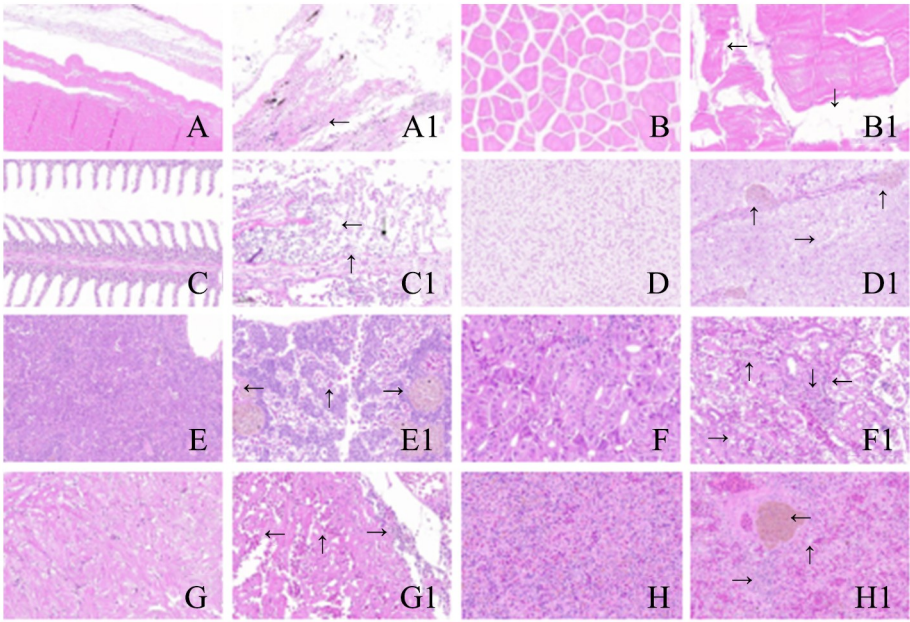
表 3 感染水霉菌后,加州鲈头肾组织生化指标的变化¹⁾

Table 3 Changes of biochemical indices of head-kidney tissue in *M.salmoides* after infection with *Saprolegnia*

组别 Groups	ALT 活性/(U · L ⁻¹) Alanine aminotransferase activity	AST 活性/(U · L ⁻¹) Aspartate aminotransferase activity	ALP 活性/(U · L ⁻¹) Alkaline phosphatase activity	LDH 活性/(U · L ⁻¹) Lactic dehydrogenase activity	c(葡萄糖)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of glucose
对照组 Control	149.10±30.59a	1 536.34±142.91A	3 793.10±229.94A	16 335.96±1 211.85A	2.55±0.62a
试验组 Experimental group	251.35±34.04b	600.75±211.75B	2 610.17±147.19B	10 812.38±1 128.13B	1.18±0.07b

组别 Groups	c(总胆固醇)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of total cholesterol	ρ(尿素氮)/ (mg · L ⁻¹) Mass concentration of urea nitrogen	c(Ca ²⁺)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of Ca ²⁺	c(Na ⁺)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of Na ⁺	c(P ⁺)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of P ⁺	c(Cl ⁻)/ (mmol · L ⁻¹) Concentration of Cl ⁻
对照组 Control	0.78±0.23a	91.0±20.3a	1.24±0.03a	6.95±2.79a	2.81±0.16a	38.58±19.88a
试验组 Experimental group	0.64±0.07a	80.5±15.9a	1.23±0.06a	5.67±1.09a	2.49±0.09b	30.14±5.99a

¹⁾ 同列数据后附不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$), 附不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Different capital letters behind data within the same column indicate extremely significant differences ($P<0.01$), and different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).



A、A1 分别为对照鱼和病鱼的皮肤组织(←示淋巴细胞浸润);B、B1 分别为对照鱼和病鱼的肌肉组织(←示肌原纤维断裂,↓示肌内膜与肌纤维间距增大);C、C1 分别为对照鱼和病鱼的鳃组织(←示鳃小片上皮脱落,↑示淋巴细胞与粒细胞浸润);D、D1 分别为对照鱼和病鱼的肝脏组织(→示肝脏细胞染色质边集,↑示色素沉积);E、E1 分别为对照鱼和病鱼的头肾组织(←示头肾血管淤血,↑示血窦淤血,→示色素沉积);F、F1 分别为对照鱼和病鱼的肾脏组织(↓示肾小管萎缩,↑示管腔消失,→示细胞肿胀,←示细胞坏死);G、G1 分别为对照鱼和病鱼的心脏组织(↑示心肌细胞胞质呈空泡状,→示淋巴细胞与粒细胞浸润,←示间质血管淤血);H、H1 分别为对照鱼和病鱼的脾脏组织(→示脾脏内细胞坏死,↑示粒细胞浸润,←示色素小灶性沉积)。

A and A1 demonstrate the skin of control and diseased fish, respectively (← indicates lymphocyte infiltration); B and B1 show the muscle tissue of control and diseased fish, respectively (← indicates the ruptured myofibrils, and ↓ indicates increased distances between endomysium and muscle fibers); C and C1 show the gills tissues of control and diseased fish, respectively (← indicates the shed epithelial cells of gill filaments, ↑ indicates lymphocyte and granulocyte infiltration); D and D1 demonstrate the hepatic tissues of control and diseased fish, respectively (→ indicates the marginated chromatin of hepatic cells, ↑ indicates pigment deposition); E and E1 show the head-kidney tissue of control and diseased fish, respectively (← indicates the congested blood vessels in the head-kidney diseased fish, ↑ indicates blood sinus congestion, → indicates pigment deposition); F and F1 show the kidney tissue of control and the diseased fish, respectively (↓ indicates the atrophied renal tubules, ↑ denotes disappeared lumen, → indicates swollen cells, ← indicates cell necrosis); G and G1 show the heart tissue of control and diseased fish, respectively (↑ indicates the vacuolated cytoplasm of cardiomyocytes, → indicates lymphocyte and granulocyte infiltration, ← indicates interstitial blood vessel congestion); H and H1 demonstrate the spleen tissue of control and diseased fish, respectively (→ indicates the necrotic cells in the spleen, ↑ indicates granulocyte infiltration, ← indicates pigment focal deposition).

图6 感染水霉菌后,加州鲈皮肤、肌肉、鳃、肝脏、头肾、肾脏、心脏、脾脏组织的病理变化(400×)

Fig.6 Pathological changes of skin, muscle, gills, liver, head-kidney, kidney, heart and spleen tissues of *M.salmoides* after infection with *Saprolegnia* (400×)

3 讨论与结论

3.1 水霉菌对加州鲈肝功能的影响

血液是鱼体的结缔组织,对鱼的新陈代谢和生命活动至关重要,其生化指标常用来判定鱼体是否健康^[18]。如:鱼体血清总蛋白含量、总胆固醇浓度、甘油三酯浓度等指标的变化与肝功能关系密切,这些指标的变化可体现肝功能的健康状况^[13];感染水霉菌后,草鱼血清总蛋白含量、白蛋白含量显著降低^[13,19];感染疾病使鱼类肝脏受损,脂质合成能力下降,导致血清甘油三酯浓度降低^[13]。本研究中,加州鲈感染水霉菌后,其血清总蛋白含量、甘油三酯浓度、白蛋白含量显著下降,可能与肝脏细胞变性、坏死等病变有关。血清 ALT 活性、AST

活性是反映肝脏损伤及肝功能状态最敏感的指标^[13]。健康鱼血清中的 AST 活性、ALT 活性低且相对稳定,检测其活性对了解肝脏状况具有重要作用^[13,19-21]。如:鱼体肝脏受到损伤时,ALT、AST 进入血液后,两种酶的活性显著升高^[22];齐口裂腹鱼感染嗜水气单胞菌后,其 ALT 活性显著升高,感染 48 h 的 ALT 活性比 4 h 提高了 141%^[21];大黄鱼感染哈维氏弧菌后,其肝脏组织受损,血清 ALT 活性、AST 活性显著提高^[23]。本研究中,加州鲈感染水霉菌后,其血清 ALT 活性是对照鱼的 4.5 倍,活性显著升高,AST 活性是对照鱼的 2.8 倍,活性极显著升高;头肾组织的 ALT 活性是对照鱼的 1.7 倍。表明水霉菌侵入鱼体后导致肝脏组织受损,细胞酶

活性增强。

3.2 水霉菌对加州鲈肾功能的影响

硬骨鱼类的头肾是重要的免疫和造血器官^[21]。肾脏是鱼类的主要器官,肌酐、尿素氮最终通过肾脏排出体外,具有维持离子平衡及调节渗透压的重要功能^[24]。本研究中,加州鲈感染水霉菌后,其血清的肌酐浓度、 Na^+ 浓度较对照鱼极显著降低,尿酸浓度较对照鱼显著升高。鱼体血清的 K^+ 浓度、 Na^+ 浓度、 Cl^- 浓度、 P^+ 浓度、 Ca^{2+} 浓度等是反映肾功能的指标,其浓度的变化表明肾小球过滤功能受到了影响,重吸收功能失调,肾功能减弱^[21,24-25]。本研究中,加州鲈感染水霉菌后,其血清的 Na^+ 浓度极显著低于对照鱼, Cl^- 浓度、 Ca^{2+} 浓度较对照鱼显著降低,表明感染水霉菌后,鱼体电解质出现紊乱,酸碱失衡,进一步表明肾功能减弱。

3.3 水霉菌对加州鲈多个组织的影响

本研究中,加州鲈感染水霉菌后,其皮肤、肌肉、鳃、肝脏、头肾、肾脏、心脏组织均有不同程度的受损,病理变化包括结构紊乱、血管淤血、细胞坏死、淋巴细胞浸润、色素沉积等。如:肌肉组织中的肌原纤维断裂;鳃小片上皮脱落;肝脏细胞胞质紧密、染色质边集;头肾组织中的淋巴细胞排列疏松且数量减少,血窦轻度淤血;肾小管萎缩,管腔狭窄或消失,胞核固缩;心脏组织中的心肌细胞胞质出现空泡,排列不规则;脾脏组织中的细胞坏死,胞核固缩碎裂,粒细胞浸润。这些特征提示血清 ALT 活性、AST 活性的升高可能是肝脏、心脏、头肾、肾脏等组织受损导致细胞内的酶分泌到血液中所致;头肾组织 ALT 活性、AST 活性升高表明其活性在病鱼头肾中增强。这与齐口裂腹鱼感染嗜水气单胞菌^[21]和大黄鱼感染哈维氏弧菌^[23]的研究结果相似。本研究中,加州鲈感染水霉菌后,其血清中离子浓度的变化结果与病理解剖结果一致。病鱼肾小管萎缩,管腔狭窄或消失,上皮细胞肿胀或坏死,胞核固缩;头肾组织中淋巴细胞排列疏松且数量减少,存在较大范围血窦轻度淤血、血管淤血的情况。推测病鱼头肾、肾脏组织中 P^+ 浓度的变化趋势呈现显著一致性。

本研究中,加州鲈感染水霉菌后,其体表出现红斑和白色、淡黄色覆盖物,鱼鳞脱落,鳞片退化等症状;血清、肾脏、头肾生化指标发生显著变化,体

内多个组织发生病理损伤。

参考文献(References)

- [1] 赵武义.加州鲈源维氏气单胞菌的鉴定与分析[D].雅安:四川农业大学,2018.
ZHAO W Y. Identincation and whole genome sequencing of *Aeromonas veronii* from *Micropterus salmoides* [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2018.
- [2] 李永娟,霍雅文,杜瑜,等.大口黑鲈营养生物学及配合饲料研究进展[J].饲料研究,2016(23):39-44. DOI: 10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2016.23.009.
LI Y J, HUO Y W, DU Y, et al. Research progress on nutritional biology and compound feed of largemouth bass [J]. Feed Research, 2016(23):39-44. DOI: 10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2016.23.009.
- [3] 汪晓娟,胡青,林岗.百部碱等 5 种植物提取物对水霉菌的抑制作用[J].安徽农学通报,2012,18(23):38-42. DOI: 10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2012.23.079.
WANG X J, HU Q, LIN G. The inhibiting effect of five kinds of plant extracts such as stemonae, cnidium lactone etc on *Saprolegnia*[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2012,18(23):38-42. DOI: 10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2012.23.079.
- [4] TEDESCO P, SARAIVA M, SANDOVAL-SIERRA J V, et al. Impact of abiotic factors and husbandry on *Saprolegnia* in Salmonid farms [J]. Aquaculture, 2022, 561: 738679. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.738679.
- [5] 张平芝.淡水鱼水霉病的发生与防治[J].农业工程技术,2022,42(2):92,96. DOI: 10.16815/j.cnki.11-5436/s.2022.02.056.
ZHANG P Z. The occurrence and prevention of saprolegniasis in freshwater fish[J]. Agricultural Engineering Technology, 2022,42(2):92,96. DOI: 10.16815/j.cnki.11-5436/s.2022.02.056.
- [6] MARKOVSKAJA S, IRŠÉNAITÉ R, KAČERGIUS A, et al. Diversity of fungus-like stramenopilous organisms (Oomycota) in Lithuanian freshwater aquaculture: morphological and molecular analysis, risk to fish health[J]. Journal of Fish Diseases, 2024,47(3):e13903. DOI: 10.1111/jfd.13903.
- [7] 张颖,吕伟华,马波,等.感染水霉病的黑斑原皮肤的组织结构和 Toll-like 受体及其相关信号通路基因在皮肤中的表达[J].水产学杂志,2024,37(5):1-9. DOI: 1005-3832(2024)05-0001-09.
ZHANG Y, LÜ W H, MA B, et al. Histological structure and expression of tolling-like receptor and signal transduc-

- tion pathway genes in skin of *Glyptosternum maculatum* infected with water mold *Saprolegnia parasitica* [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2024, 37(5): 1–9. DOI: 1005–3832 (2024)05–0001–09.
- [8] 许鹏, 卢红, 马强. 水霉病的治疗新技术 [J]. 河北渔业, 2010(7): 21. DOI: 10.3969/j.issn.1004–6755.2010.07.012.
- XU P, LU H, MA Q. New treatment technologies for saprolegniasis [J]. Hebei Fisheries, 2010(7): 21. DOI: 10.3969/j.issn.1004–6755.2010.07.012.
- [9] VAN WEST P. *Saprolegnia parasitica*, an Oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem [J]. Mycologist, 2006, 20(3): 99–104. DOI: 10.1016/j.mycol.2006.06.004.
- [10] ENGBLOM C, LANDOR L, SJÖQVIST C, et al. Identification and genetic characterization of *Saprolegnia parasitica*, isolated from farmed and wild fish in Finland [J]. Journal of Fish Diseases, 2023, 46(8): 849–860. DOI: 10.1111/jfd.13795.
- [11] ELAMEEN A, STUELAND S, KRISTENSEN R, et al. Genetic analyses of *Saprolegnia* strains isolated from Salmonid fish of different geographic origin document the connection between pathogenicity and molecular diversity [J]. Journal of Fungi, 2021, 7(9): 713. DOI: 10.3390/jof7090713.
- [12] 余红卫, 薛良义. 加州鲈血液生理生化指标的测定 [J]. 水利渔业, 2004(4): 41–42. DOI: 10.3969/j.issn.1003–1278.2004.04.016.
- YU H W, XUE L Y. Measurement of physiological and biochemical parameters of *Micropterus salmoides* [J]. Journal of Hydroecology, 2004(4): 41–42. DOI: 10.3969/j.issn.1003–1278.2004.04.016.
- [13] 许娜, 刘馨璐, 刘璐, 等. 水霉病对草鱼血液生化指标和肌肉泛素-蛋白酶体系统的影响 [J]. 中国渔业质量与标准, 2021, 11(2): 44–50. DOI: 10.3969/j.issn.2095–1833.2021.02.007.
- XU N, LIU X L, LIU L, et al. Effects of saprolegniasis on blood biochemical parameters and muscular ubiquitin-proteasome system in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2021, 11(2): 44–50. DOI: 10.3969/j.issn.2095–1833.2021.02.007.
- [14] 任竹玲, 高贤涛. 揭示水霉菌繁殖和侵染过程 [J]. 当代水产, 2022, 47(1): 70–72. DOI: 10.3969/j.issn.1674–9049.2022.01.020.
- REN Z L, GAO X T. Reveal the reproduction and infection processes of *Saprolegnia* [J]. Current Fisheries, 2022, 47(1): 70–72. DOI: 10.3969/j.issn.1674–9049.2022.01.020.
- [15] 陈晓艳, 肖翰, 付晓艳. 55 种中草药对广东乌龟水霉病致病菌的抑制作用 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(33): 18855–18857. DOI: 10.13989/j.cnki.0517–6611.2010.33.156.
- CHEN X Y, XIAO H, FU X Y. Antibacterial activity of 55 chinese herb medicines on *Saprolegnia* in *Chinemys nigricans* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(33): 18855–18857. DOI: 10.13989/j.cnki.0517–6611.2010.33.156.
- [16] 董立学, 蒋明, 陆星, 等. 黑尾近红鲌消化系统的形态与组织学结构研究 [J]. 淡水渔业, 2024, 54(2): 67–74. DOI: 10.13721/j.cnki.dsyy.2024.02.005.
- DONG L X, JIANG M, LU X, et al. Morphological and histological observation of the digestive system in *Ancherythroculter nigrocauda* [J]. Freshwater Fisheries, 2024, 54(2): 67–74. DOI: 10.13721/j.cnki.dsyy.2024.02.005.
- [17] 王宁军, 赵燕, 刘娟. 斑马鱼器官石蜡组织切片制作与观察 [J]. 解剖学研究, 2019, 41(3): 240–241. DOI: 10.20021/j.cnki.1671–0770.2019.03.024.
- WANG N J, ZHAO Y, LIU J. Preparation and observation of paraffin tissue sections of *Danio rerio* organs [J]. Anatomy Research, 2019, 41(3): 240–241. DOI: 10.20021/j.cnki.1671–0770.2019.03.024.
- [18] 黄文庆, 李瑜琬, 黄燕华, 等. 饲料中添加黑水虻酵素对杂交鳊生长性能、体组成、血清生化及肝脏抗氧化指标的影响 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2024, 49(4): 49–53, 90. DOI: 10.19978/j.cnki.xmsy.2024.04.07.
- HUANG W Q, LI Y W, HUANG Y H, et al. Effects of dietary supplementation of black soldier fly enzyme on growth performance, body composition, serum biochemistry, and liver antioxidant indicators of hybrid snakehead [J]. Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science, 2024, 49(4): 49–53, 90. DOI: 10.19978/j.cnki.xmsy.2024.04.07.
- [19] MOHAMMADIZADEH M, AFKHAMI M, BASTAMI K D, et al. Preliminary observations on the plasma composition of *Liza klunzingeri* from the strait of Hormuz (Persian Gulf) [J]. Springer Plus, 2013, 2(1): 1–4. DOI: 10.1186/2193–1801–2–62.
- [20] 谢瑞涛, 刘敏, 王卓铎, 等. 饲料脂肪水平对杉虎斑幼鱼生长性能、体成分、血清生化指标和肝脏酶活性的影响 [J]. 渔业研究, 2024, 46(4): 311–321. DOI: 10.

- 14012/j.jfr.2024004.
- XIE R T, LIU M, WANG Z D, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, body composition, biochemical indices and liver enzyme activities of juvenile *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. polyphekadion* ♂ [J]. Journal of Fisheries Research, 2024, 46 (4): 311–321. DOI: 10.14012/j.jfr.2024004.
- [21] 罗辉, 杨月静, 向梦斌, 等. 齐口裂腹鱼感染嗜水气单胞菌后血液生化指标与组织病理学研究[J]. 淡水渔业, 2017, 47 (4): 44–50. DOI: 10.13721/j.cnki.dsyy.2017.04.007.
- LUO H, YANG Y J, XIANG M B, et al. Blood biochemical indices and histopathology of the *Schizothorax prenanti* during early stage of infection by *Aeromonas hydrophila* [J]. Freshwater Fisheries, 2017, 47 (4): 44–50. DOI: 10.13721/j.cnki.dsyy.2017.04.007.
- [22] LINS R M, DAMASCENO D Z, MARQUES G R L, et al. Reproductive physiology of *Rhamdia quelen* is improved by dietary inclusion of probiotics [J]. Aquaculture Research, 2020, 52 (4): 1677–1687. DOI: 10.1111/ARE.15020.
- [23] 徐晓津, 徐斌, 王军, 等. 大黄鱼感染哈维氏弧菌后血液生化指标的变化及组织病理学观察[J]. 水产学报, 2010, 34 (4): 618–625. DOI: 10.3724/SP.J.1231.2010.06665.
- XU X J, XU B, WANG J, et al. Studies on blood chemistry indices and histopathology of *Pseudosciaena crocea* artificially challenged with *Vibrio harveyi* [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34 (4): 618–625. DOI: 10.3724/SP.J.1231.2010.06665.
- [24] 周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 欧洲鳗鲡“狂游病”血液生化指标研究[J]. 水生生物学报, 2002, 26 (3): 314–316. DOI: 10.3321/j.issn:1000–3207.2002.03.017.
- ZHOU Y, GUO W C, YANG Z G, et al. Studies on the blood biochemical indice of "Madswim Disease" eel, *Anguilla anguilla* L. [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2002, 26 (3): 314–316. DOI: 10.3321/j.issn:1000–3207.2002.03.017.
- [25] 周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 鱼类血液学指标研究的进展[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10 (2): 163–165. DOI: 10.3969/j.issn.1004–7271.2001.02.013.
- ZHOU Y, GUO W C, YANG Z G, et al. Advances in the study of haematological indices of fish [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2001, 10 (2): 163–165. DOI: 10.3969/j.issn.1004–7271.2001.02.013.

(责任编辑: 施晓棠)