

杀鲑气单胞菌对亚东鲑血液免疫指标的影响

雷宽宽¹,周建设^{2,3,4},王万良^{2,3,4},王壮壮^{2,3,4},周莉⁵,王子位⁵,李明^{1*}

(1.河南农业大学动物科技学院,河南 郑州 450002;2.西藏自治区农牧科学院水产科学研究所,西藏 拉萨 850032;3.西藏土著鱼类繁育与利用工程研究中心,西藏 拉萨 850032;4.西藏自治区渔业与种质资源利用重点实验室,西藏 拉萨 850032;5.河南牧业经济学院,河南 郑州 450046)

摘要:为预防杀鲑气单胞菌在亚东鲑养殖过程中造成的危害,以杀鲑气单胞菌为研究对象,通过感染亚东鲑,检测其对亚东鲑免疫指标的影响。结果表明:GR组亚东鲑血清中白细胞介素1 β (IL-1 β)含量随感染时间增加显著性上升($p<0.05$),免疫球蛋白A(IgA)含量也呈现上升趋势,而转化生长因子 β 1(TGF- β 1)含量则表现出相反趋势,其含量显著性降低($p<0.05$);GR组血常规指标中除血小板分布宽度(PDW)外,其它指标均在48h呈现显著性降低($p<0.05$),除红细胞压积(HCT)外,其它指标均在96h呈现上升趋势。杀鲑气单胞菌能够引发亚东鲑炎症反应,导致IL-1 β 和IgA含量升高,TGF- β 1含量降低;在感染亚东鲑48h能够破坏其免疫系统,导致白细胞、红细胞及血小板等数目显著性减少。

关键词:亚东鲑;杀鲑气单胞菌;血清免疫指标;血常规

中图分类号:S917.4

文献标志码:A

Effects of *Aeromonas Salmonicida* on Blood Immune Indexes of *Salmo Trutta*

LEI Kuankuan¹, ZHOU Jianshe^{2,3,4}, WANG Wanliang^{2,3,4}, WANG Zhuangzhuang^{2,3,4}, ZHOU Li⁵, WANG Ziwei⁵, LI Ming^{1*}

(1.College of Animal Science and Technology, Henan Agricultural University, Henan Zhengzhou 450002, China; 2. Institute of Fisheries Science, Xizang Autonomous Region Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850032, China; 3. Xizang Indigenous Fish Breeding and Utilization Engineering Research Center, Tibet Lhasa 850032, China; 4. Key Laboratory of Fishery and Germplasm Resources Utilization of Xizang Autonomous Region, Tibet Lhasa 850032, China; 5. Henan University of Animal Husbandry and Economy, Henan Zhengzhou 450046, China.)

Abstract: To prevent the harm caused by *Aeromonas salmonicida* in the cultivation of *Salmo trutta*, this study took *Aeromonas salmonicida* as the research object, and detected its effect on the immune indexes of *Salmo trutta* by infecting *Salmo trutta*. The results showed that the serum content of interleukin 1 β (IL-1 β) in the GR group increased significantly with the duration of infection ($p<0.05$). The content of immunoglobulin A (IgA) also showed an upward trend, while the content of transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) showed an opposite trend and decreased significantly ($p<0.05$). In the GR group, all indexes decreased significantly at 48h ($p<0.05$) except platelet distribution width (PDW) and all indexes showed an upward trend at 96h except hematocrit (HCT). *Aeromonas salmonicida* could trigger an inflammatory response in *Salmo trutta*, resulting in increased IL-1 β and IgA levels and decreased TGF- β 1 levels. After 48h of infection, the immune system of *Salmo trutta* was compromised, leading to a significant decrease in the number of white blood cells, red blood cells, and platelets.

Key Words: *Salmo trutta*; *Aeromonas salmonicida*; serum immune index; blood routine examination

亚东鲑(*Salmo trutta*)隶属于鲑形目、鲑科(*Salmoniformes*)、鲑属(*Salmon*),原产于欧洲、西亚等地区,目前西藏日喀则市亚东县有野外群体分布,与

褐鳟和棕鳟属同物异名^[1-2]。因其味道鲜美、肌间刺少、营养丰富等优势,已成为亚东县四大产业之一^[3]。亚东鲑的养殖是推动地方经济发展和乡村振兴的重要手段^[4],但其对水质的要求较高,喜欢生活在无污染、流动的水环境^[5],然而高密度和集约化的养殖模式,往往造成水体恶化和病害频发,使得产业无法达到规模化^[4]。鱼病一直是限制亚东鲑养殖产业发展的主要原因之一,其中细菌性疾病造成的危害越来越严重。孙帅杰等^[6]研究表明,对亚东鲑注射0.3 ml 1×10^8 cfu/ml的杀鲑气单胞

收稿日期:2024-05-22

基金项目:西藏自治区科技计划项目(XZ202101ZY0003N);

国家特色淡水鱼产业技术体系项目(CARS-46)。

作者简介:雷宽宽(1998-),男,硕士研究生,主要从事鱼类营养与遗传育种研究,E-mail: lkk9992022@163.com; *为通信作者:李明(1965-),男,教授,主要从事畜禽遗传资源评估与利用,E-mail: 723414196@qq.com。

菌(*Aeromonas salmonicida*)菌悬液后,第12 d亚东鲑全部死亡,且杀鲑气单胞菌能够在鱼体间进行传染,对亚东鲑的人工养殖危害极大。

杀鲑气单胞菌广泛分布于淡水、河口及沿海水域等环境中,甚至在饮用水及污水中也用发现^[7]。研究表明,杀鲑气单胞菌可使虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、大西洋鲑(*Salmo salar*)、鲫鱼(*Carassius auratus*)等多种水生动物致病,造成巨大经济损失,严重影响水产养殖产业的发展^[8-11]。杀鲑气单胞菌几乎可以感染所有的鲑鳟鱼类,同时随着水质的不断恶化,其宿主范围也在不断扩大,且很少有养殖鱼或野生鱼对其具有免疫力^[12-13]。杀鲑气单胞菌能够引起鲑科鱼类疔疮病,给全球水产养殖业的发展造成阻碍^[14]。刘帅等^[15]研究表明,接种疫苗是预防鱼类细菌性病害的有效途径之一,但目前关于杀鲑气单胞菌的致病机制及防治方法的相关报道较少。本研究开展了杀鲑气单胞菌病原菌的分离及鉴定,并进行感染实验,旨在探究杀鲑气单胞菌对亚东鲑血液免疫指标及免疫功能的影响,分析其作用机制,为有效防治杀鲑气单胞菌所引起的细菌性疾病提供参考依据,为亚东鲑健康养殖提供助力,从而为西藏水产养殖产业的发展提供动力。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及设计

试验用亚东鲑鱼均来自西藏雅鲁藏布江渔业资源繁育基地,2023年9月开展试验,共分为2组,分别为感染组(GR-1、GR-2、GR-3)及对照组(CK),每个平行组8尾。将亚东鲑养殖于直径90 cm,水位高45 cm的圆柱形水桶中,全天持续流水及泵气增氧,水温为12~13℃,溶解氧为6~7 mg/L,试验开展前先进行7 d暂养试验。对GR-1、GR-2及GR-3组中亚东鲑的腹腔注射生理盐水稀释后的0.2 ml 1×10^7 cfu/ml杀鲑气单胞菌菌悬液,CK组注射0.2 ml生理盐水,试验期间每天投喂两次(9:30AM; 18:00PM)。使用2.5 ml注射器随机挑选4尾GR组亚东鲑抽取感染前1 d(0 h)及感染后48 h、96 h、144 h的血液,为减弱试验鱼的应激反应,每次抽取1.5 ml的血液存放于2 ml的冻存管中,在4℃的冰箱过夜后,放置于离心机中离心10 min(3 000 rpm/min),之后将血清进行分装保存,用于检测血常规及血清免疫指标。CK组也同上述操作,采集血清样品,检测免疫指标。

1.2 菌株的分离及鉴定

1.2.1 菌株分离

挑选濒死及症状明显的亚东鲑,在无菌操作台中采集组织溃疡处、鱼鳃、肝脏、肌肉、表皮及尾鳍等部位,采集到的组织置于无菌的1.5 mL离心管中,加入1 mL灭菌生理盐水,使用灭菌后的剪刀剪碎组织并震荡混匀,取500 μ L上清液置于新的无菌离心管中,获得原倍菌悬液,取100 μ L原倍菌悬液用灭菌生理盐水稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 的菌悬液,分别取100 μ L上述3种菌悬液涂布于LB平板上,每种菌悬液做3个重复,22℃下培养24~48 h。用灭菌后的接种环蘸取培养基上形态差异较大的优势菌落,于LB固体培养基上划线,重复2次以上操作,以获得纯化后的单菌落。纯化后的菌落保存于50%甘油(甘油:生理盐水=1:1),放置于-20℃冻存,用于之后细菌鉴定。

1.2.2 菌株鉴定

将分离得到的纯化菌落接种到LB平板上,于22℃下培养24~48 h后观察菌落的形态,挑选出表面光滑、形状规则的菌落,通过16S rDNA的方法进行鉴定,在NCBI数据库中比对,确定YD-皮2冻存菌落为杀鲑气单胞菌,将菌落放置于-80℃进行保存,用于之后的感染试验。

1.2.3 亚东鲑病原菌的分离及鉴定

为验证本研究中的病原菌为杀鲑气单胞菌,试验结束时对GR组中症状明显的病鱼进行采样,采集鱼鳃、肌肉、肝脏及皮肤组织,用于病原菌的分离鉴定。通过分离纯化培养的方法得到优势菌种,通过16S rDNA的方法进行鉴定,并与NCBI中数据相比对,鉴定为杀鲑气单胞菌,以此确定本试验中细菌性鳃病感染原为杀鲑气单胞菌。

1.3 指标测定

1.3.1 血清免疫指标

使用江苏酶免实业有限公司提供的IgA(MM-194102,48T)、IL-1 β (MM-008302,48T)及TGF- β 1(MM-182902,48T)ELISA科研试剂盒,并采用酶联免疫吸附试验(ELISA)的方法检测血清免疫指标。

1.3.2 血常规指标

使用动物版全自动血液分析仪(TEK-VET3)对血常规指标进行分析,主要检测指标包括白细胞数目(WBC)、淋巴细胞数目(Lym#)、红细胞数目(RBC)、红细胞压积(HCT)、血红蛋白(HGB)、中间细胞百分比(Mid%)、中性粒细胞百分比(GR%)、血小板数目(PLT)、大型血小板数目(P_LCC)、平均血

小板体积(MPV)、血小板压积(PCT)、血小板分布宽度(PDW)。

1.4 数据处理

数据采用Excel 2021 进行统计处理,SPSS 24.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),采用Duncan 法进行多重比较,以 $p < 0.05$ 为差异显著, $p > 0.05$ 为差异不显著。

2 结果与分析

2.1 试验用亚东鲑的规格及病鱼的症状

选择规格大小相近的亚东鲑作为试验材料(表1)。试验期间感染了杀鲑气单胞菌的亚东鲑,时常会游到水面,进食量减少,体色变黑,试验结束时对GR组的亚东鲑进行解剖,其表现出鳃丝充血、泄殖孔红肿及腹腔出血等症状。

表1 试验用亚东鲑的规格

组别	体重/g	全长/mm	体长/mm
DZ	109.23±5.24	21.18±0.32	19.14±0.32
GR-1	115.50±5.98	21.30±0.66	19.26±0.62
GR-2	108.69±10.42	21.18±0.77	18.86±0.43
GR-3	108.00±10.97	21.05±0.70	18.74±0.86

2.2 生理盐水对亚东鲑血清生化指标的影响

注射生理盐水 48 h 后,IL-1 β 含量最高,平均值为 31.57±0.05 ng/L,且 48 h 的 IL-1 β 含量显著高于 0 h、96 h、144 h($p < 0.05$),0 h、96 h、144 h 之间无显著性差异($p > 0.05$),其中 144 h 含量最低,平均值为 27.57±0.08 ng/L(表2)。IgA 和 TGF- β 1 含量在 48 h 均为最高,平均值为 6.66±0.04 μ g/mL、70.74±1.87 pg/mL,含量最低均为 0 h,平均值为 6.30±0.32 μ g/mL、68.24±3.93 pg/mL,且 0 h、48 h、96 h、144 h 间均无显著性差异($p > 0.05$)。

表2 注射生理盐水后亚东鲑血清免疫指标的变化

对照组	时间			
	0h	48h	96h	144h
白细胞介素 1 β IL-1 β /ng·L ⁻¹	28.36±1.41 ^b	31.57±0.05 ^a	28.57±1.29 ^b	27.57±0.08 ^b
免疫球蛋白 A IgA / μ g·mL ⁻¹	6.30±0.32	6.66±0.04	6.61±0.18	6.48±0.50
转化生长因子 β 1 TGF- β 1 /pg·mL ⁻¹	68.24±3.93	70.74±1.87	69.61±3.94	70.10±3.52

注:同行数据肩标不同字母代表差异显著($p < 0.05$),相同字母或无字母代表差异不显著($p > 0.05$),下同。

2.3 杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后血清中免疫指标的变化

杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后,其血清中 IL-1 β 含量随着感染时间增加显著性的上升($p < 0.05$),其中 144 h 含量最高,平均值为 42.11±1.94 ng/L,0 h 含量最低,平均值为 31.46±1.45 ng/L(表3)。TGF- β 1 则与 IL-1 β 表现相反的趋势,随着感染时间的增加其含量显著性降低($p < 0.05$)。IgA 表现出与 IL-1 β 相同趋势,其中 144 h 含量最高,平均值为 9.19±0.23 μ g/mL,0 h 含量最低,平均值为 6.64±0.32 μ g/mL,48 h 和 96 h 之间差异不显著($p > 0.05$),其它时间点均存在显著差异($p < 0.05$)。

表3 杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后血清免疫指标的变化

项目	时间			
	0h	48h	96h	144h
白细胞介素 1 β IL-1 β /ng·L ⁻¹	31.46±1.45 ^d	35.75±0.64 ^c	38.51±1.45 ^b	42.11±1.94 ^a
免疫球蛋白 A IgA / μ g·mL ⁻¹	6.64±0.32 ^c	7.98±0.28 ^b	8.05±0.15 ^b	9.19±0.23 ^a
转化生长因子 β 1 TGF- β 1 /pg·mL ⁻¹	65.65±1.93 ^a	51.13±2.64 ^b	44.70±1.80 ^c	36.80±1.94 ^d

2.4 杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后血常规指标的变化

亚东鲑在被感染的 48 h,血液中 WBC、Lym#、RBC、HCT、HGB、Mid%、GR%、PLT、P_LCC、MPV 及 PCT 均显著性降低($p < 0.05$),其中除 HCT 外其它指标均在 96 h 时呈现上升趋势,HCT 在 96 h 含量达到最少,平均值为 (2.83±1.38)%,在 144 h 呈现上升趋势(表4)。GR% 在 144 h 含量最低,平均值为 (12.93±9.56)%,且 96 h 显著低于 144 h($p < 0.05$),其它血常规指标在 96 h 和 144 h 均无显著性差异($p > 0.05$)。PDW 在 0 h 宽度值最小,平均值为 23.75±0.79,144 h 最大,平均值为 24.83±0.35,且两个时间点存在显著性差异($p < 0.05$),PDW 表现出随着时间增加而增加的趋势。

3 讨论与结论

3.1 讨论

3.1.1 杀鲑气单胞菌对亚东鲑血清免疫指标的影响

IL-1 β 是一种重要的促炎症因子,能使机体对感染产生应答,并诱导一系列导致炎症的反应,其在先天免疫中扮演着重要的角色,其在炎症反应中起到关键作用,通过诱导淋巴细胞、血管内皮细胞的生长和增殖,以及刺激免疫和炎症反应效应细胞

表4 杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后血常规指标的变化

项目	时间			
	0h	48h	96h	144h
白细胞数目 WBC/ $10^9 \cdot L^{-1}$	126.90±12.71 ^a	1.63±1.10 ^b	119.60±17.95 ^a	101.13±35.67 ^a
淋巴细胞数目 Lym#/ $10^9 \cdot L^{-1}$	56.38±4.84 ^a	1.20±0.82 ^b	61.38±10.51 ^a	65.08±15.75 ^a
红细胞数目 RBC/ $10^{12} \cdot L^{-1}$	1.23±0.28 ^a	0.47±0.16 ^b	0.57±0.25 ^b	0.61±0.18 ^b
红细胞压积 HCT/%	9.12±2.06 ^a	3.18±0.68 ^b	2.83±1.38 ^b	4.10±2.07 ^b
血红蛋白 HGB/ $g \cdot L^{-1}$	145.00±16.27 ^a	94.75±16.32 ^b	119.75±16.03 ^{ab}	136.75±18.01 ^a
中间细胞百分比 Mid%/%	10.50±0.39 ^a	6.28±0.55 ^b	9.15±1.50 ^a	9.05±2.99 ^a
中性粒细胞百分比 GR%/%	44.10±8.01 ^a	16.43±6.74 ^c	29.40±7.49 ^b	12.93±9.56 ^c
血小板数目 PLT/ $10^9 \cdot L^{-1}$	1515.75±286.02 ^a	240.75±58.09 ^c	305.25±70.23 ^{bc}	555.50±125.71 ^b
大型血小板数目 P_LCC/ $10^9 \cdot L^{-1}$	202.25±60.77 ^a	33.50±5.07 ^c	77.25±6.70 ^{bc}	94.75±26.37 ^b
平均血小板体积 MPV/fL	10.88±0.21 ^a	9.75±0.37 ^b	9.83±0.33 ^b	10.25±1.12 ^{ab}
血小板压积 PCT/%	1.35±0.35 ^a	0.25±0.09 ^c	0.31±0.07 ^{bc}	0.57±0.15 ^b
血小板分布宽度 PDW	23.75±0.79 ^b	24.33±0.78 ^{ab}	24.68±0.43 ^{ab}	24.83±0.35 ^a

来增强细胞介导的免疫^[16-17]。Gabay等^[18]研究表明,机体在受到病原体(PAMPs)刺激时会快速的向细胞外释放出IL-1 β ,从而引发免疫相关细胞向炎症部位的募集并诱导多种其它促炎症因子的释放。本研究中,亚东鲑被杀鲑气单胞菌感染后IL-1 β 含量显著性升高($p < 0.05$),这表明其机体已经发生炎症反应。

TGF- β 1是一种典型的抑炎细胞因子,在预防过度炎症和自身免疫性疾病中发挥核心作用,其可抑制多种T细胞亚群的活化、增殖及功能,保护机体免受过度免疫反应引起的炎症和自身免疫性疾病的侵害^[19]。TGF- β 1能够通过抑制Toll样受体传导的炎症信号,在下调炎症反应的过程中发挥着重要作用^[20-22],这表明TGF- β 1和IL-1 β 可能存在负反馈调节,杨潇等^[23]研究也得出相一致的结果。研究发现TGF- β 1不仅可以抑制IL-1 β 的产生,还能够阻断IL-1 β 依赖的IFN的产生、淋巴细胞的增殖^[24-26],这表明TGF- β 1具有限制IL-1 β 的能力,但

目前关于其背后的机制并不清楚。亚东鲑被杀鲑气单胞菌感染后血清中IL-1 β 含量显著性升高($p < 0.05$),而TGF- β 1含量显著性降低($p < 0.05$),这表明当IL-1 β 含量过高时可能也会抑制TGF- β 1的产生,李泉^[27]的研究也表明,当机体发生病变时,TGF- β 1与IL-1 β 表达呈现相反情况。鱼类体液免疫的基本分子武器是免疫球蛋白(Ig)或抗体(Ab),正是这些分子通过无数的功能作用来保护免受PAMPs的侵害^[28]。

IgA作为Ig家族中的一员,是人体免疫系统中的重要抗体,它主要有两种形式血清型IgA和分泌性IgA。陈美群等^[29]研究发现,杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后,表现出鳃部及肝脏出血等症状。晋怀远等^[30]研究也表明,杀鲑气单胞菌能够引起鲑科鱼类疝病,且致死率和发病率极高。本研究中,亚东鲑被感染后,血清中IgA含量表现出升高的趋势,这表明亚东鲑血清中IgA在抑制杀鲑气单胞菌发病过程中发挥着重要的作用,这与Verburg-van等^[31]

的研究结果相似。由表2可知,在注射生理盐水后,亚东鲑血清中IL-1 β 含量在48 h显著高于0 h、96 h及144 h组($p < 0.05$),但0 h、96 h及144 h间无显著性差异($p > 0.05$),亚东鲑被注射生理盐水48 h后,IL-1 β 含量的显著升高($p < 0.05$),这可能是注射器的使用引起了亚东鲑的应激所导致。IgA和TGF- β 1含量在T1、T2、T4及T6组间均无显著性差异,这表明生理盐水无法引起亚东鲑的炎症反应,杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后细胞因子含量上升是由PAMPs造成的。段亚飞等^[32]对斑节对虾的感染试验和鄢庆彬等^[33]对大黄鱼的感染试验也均用生理盐水作为对照。

3.1.2 杀鲑气单胞菌对亚东鲑免疫功能的影响

鱼体血液中血常规指标的变化,能够反映机体的健康状况,如感染、炎症等。鱼类的健康离不开免疫系统的作用,免疫系统作为宿主抵抗外部刺激的重要屏障,例如抵抗致病性微生物感染,对于宿主而言免疫系统非常重要^[34]。本研究中,亚东鲑被杀鲑气单胞菌感染后的48 h,血液中除PDW、HCT外的其它指标均显著性降低($p < 0.05$),且在96 h增加,这表明杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后,在48 h对机体免疫系统造成了严重破坏,引发一系列的应激反应,导致了WBC、Lym#及RBC等免疫因子含量的下降。Yang等^[35]研究也表明,杀鲑气单胞菌感染克氏原螯虾在48 h能引起大量死亡。WBC在组织再生、先天及适应性免疫应答等过程中发挥着重要功能,其功能异常或调控紊乱会导致免疫性疾病^[36]。在受到PAMPs感染过程中,WBC通过迁移到达损伤或感染部位后,发挥吞噬和免疫作用^[37]。

有研究表明杀鲑单胞菌能够分泌脂肪酶和蛋白酶,并促进胺代谢物的合成,造成机体的腐败^[38-40]。蛋白质是WBC主要组成部分之一,杀鲑气单胞菌分泌的蛋白酶可能破坏了WBC的细胞结构,致使其死亡,导致数量的下降。本研究中,杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后,血液中Lym#、Mid%及GR%在48 h和96 h时均与WBC表现出相同的趋势,这可能与其是WBC组成部分相关,之间存在相互作用。刘倩等^[41]研究表明,细胞因子在面对外源性抗原、内源性抗原及细菌时,会进行信号传导,引发一系列的相互作用,抵御PAMPs的入侵。携氧是RBC最重要的功能,血红素的亚铁离子可以可逆的与氧气分子结合形成氧、HGB及还原型血红蛋白,来实现氧气的运输和释放^[42]。PLT具有黏

附、激活聚集、释放反应等功能^[43]。血管内膜发生损伤,血小板能够与特定的受体结合,从而触发血栓的形成,促进止血^[44]。研究表明,感染杀鲑气单胞菌的亚东鲑会表现出出血的症状^[6,29],这可能是导致RBC和PLT显著性降低($p < 0.05$)的原因。

因杀鲑气单胞菌感染而死亡的亚东鲑,通常表现出鱼嘴大张、鳃盖翘起等缺氧症状,这可能与RBC显著下降相关。有研究表明,红细胞的主要功能是气体运输,在硬骨鱼类中也发现红细胞积极参与抗菌免疫反应,但具体机制尚未阐明。WBC、RBC及HGB等在96 h均高于48 h,这可能是机体的感染应答反应,为抵抗外来病原体的入侵,机体产生大量的免疫因子去抵御外来入侵。

3.2 结论

感染杀鲑气单胞菌后会引发亚东鲑的炎症反应,导致其血清中IL-1 β 和IgA含量的显著性上升($p < 0.05$),TGF- β 1含量的显著性降低($p < 0.05$)。杀鲑气单胞菌在感染亚东鲑后的48 h会破坏其免疫系统,导致血液中免疫因子数量的减少。因此,杀鲑气单胞菌感染亚东鲑后的48 h内为最佳治疗时间段。

参考文献:

- [1]胡江伟,阿地力.我国棕鲟资源研究现状[J].黑龙江水产,2018(5):3-5.
- [2]李琳,张斐然,刘长琳,等.养殖和野生亚东鲑机体成分比较分析[J].渔业科学进展,2023,44(2):77-86.
- [3]王万良,牟振波,曾本和,等.亚东鲑的研究现状及展望[J].西藏农业科技,2019,41(z1):197-200.
- [4]赵竹明,刘长琳,李杰,等.西藏亚东鲑鱼产业发展现状及对策建议[J].中国渔业经济,2022,40(6):20-26.
- [5]张宇雷,倪琦,刘晃,等.挪威大西洋鲑鱼工业化养殖现状及对中国的启示[J].农业工程学报,2020,36(8):310-315.
- [6]孙帅杰,周建设,王万良,等.亚东鲑细菌性鳃病病原菌的分离鉴定[J].水产科学,2023,42(2):288-295.
- [7]PARTE A C, SARDA CARBASSE J, MEIER-KOLTHOFF J P, et al. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN) Moves to the DSMZ[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2020, 70(11):5607-5612.
- [8]刘博,张培,彭嘉琪,等.虹鳟杀鲑气单胞菌耐药性研究与盐酸多西环素给药方案制定[J].淡水渔业,2023,53(6):69-79.
- [9]刘燕云.大西洋鲑感染杀鲑气单胞菌后肠道菌群变化机制的初步研究[D].大连:大连海洋大学,2023.
- [10]令小东.鲫鱼抵御杀鲑气单胞菌感染的分子机制及重组腺病毒候选疫苗的研究[D].兰州:甘肃农业大学,2020.
- [11]杨亚茹.基于群体感应系统分析杀鲑气单胞菌与荧光假单胞菌的共培养研究[D].渤海:渤海大学,2020.

- [12]刘智鹏. 杀鲑气单胞菌的筛选及其细胞毒素的鉴定[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2020.
- [13]CIPRIANO R C, BULLOCK G L. Furunculosis and other Diseases Caused by *Aeromonas salmonicida* [M]. Charles Town, WV: National Fish Health Research Laboratory, 2001.
- [14]刘帅, 卢彤岩, 李绍戊. 冷水性鱼类疫苗研究进展[J]. 中国预防兽医学报, 2017, 39(1): 74-79.
- [15]刘帅. 两种佐剂对虹鳟杀鲑气单胞菌灭活疫苗免疫效果的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- [16]WANG Y, WANG Q, BAOPRASERTKUL P, et al. Genomic Organization, Gene Duplication, and Expression Analysis of Interleukin-1 β in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Molecular immunology, 2006, 43(10): 1653-1664.
- [17]BEN-SASSON S Z, HU-LI J, QUIEL J, et al. IL-1 Acts Directly on CD4 T Cells to Enhance Their Antigen-Driven Expansion and Differentiation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009, 106(17): 7119-7124.
- [18]GABAY C, LAMACCHIA C, PALMER G. IL-1 Pathways in Inflammation and Human Diseases [J]. Nature Reviews Rheumatology, 2010, 6(4): 232-241.
- [19]ZHANG Q, GENG M, LI K, et al. TGF- β 1 Suppresses the T-cell Response in Teleost Fish by Initiating Smad3-and Foxp3-mediated Transcriptional Networks [J]. Journal of Biological Chemistry, 2023, 299(2): 102843.
- [20]HAN J, ULEVITCH R J. Limiting Inflammatory Responses during Activation of Innate Immunity [J]. Nature immunology, 2005, 6(12): 1198-1205.
- [21]YOOSHIMURA A, WAKAHAYASHI Y, MORI T. Cellular and Molecular Basis for the Regulation of Inflammation by TGF- β [J]. The journal of biochemistry, 2010, 147(6): 781-792.
- [22]SERHAN C N, SAVILL J. Resolution of Inflammation: the Beginning Programs the End [J]. Nature immunology, 2005, 6(12): 1191-1197.
- [23]杨潇. 草鱼白细胞介素 1 β 诱导表达的负调控机制及其在炎症反应中的意义[D]. 成都: 电子科技大学, 2014.
- [24]RUSCETTI F, VARESI L, OCHOA A, et al. Pleiotropic Effects of Transforming Growth Factor- β on Cells of the Immune System [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1993, 685: 488-500.
- [25]ELLINGSWORTH L R, NAKAYAMA D, SEGARINA P, et al. Transforming Growth Factor- β s are Equipotent Growth Inhibitors of Interleukin-1-induced Thymocyte Proliferation [J]. Cellular immunology, 1988, 114(1): 41-54.
- [26]DUMONT F J, KASTNER C A. Transforming Growth Factor β 1 Inhibits Interleukin-1-induced but Enhances Ionomycin-induced Interferon- γ Production in at Cell Lymphoma: Comparison with the Effects of Rapamycin [J]. Journal of cellular physiology, 1994, 160(1): 141-153.
- [27]李泉. 转化生长因子 β 1及白介素-1 β 对终板软骨细胞的作用[J]. 北方药学, 2013, 10(4): 77.
- [28]MATZ H, MUNIR D, LOGUE J, et al. The Immunoglobulins of Cartilaginous Fishes [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2021, 115: 103873.
- [29]陈美群, 扎西拉姆, 孙帅杰, 等. 2株亚东鲑源气单胞菌的鉴定及其致病性与药敏特性分析[J]. 中国水产科学, 2022, 29(6): 914-927.
- [30]晋怀远. 杀鲑气单胞菌分离、鉴定和口服微球疫苗的制备[D]. 天津: 天津农学院, 2021.
- [31]VERBURG-VAN KEMENADE B M L, DALY J G, GROENEVELD A, et al. Multiple Regulation of Carp (*Cyprinus carpio* L.) Macrophages and Neutrophilic Granulocytes by Serum Factors: Influence of Infection with Atypical *Aeromonas salmonicida* [J]. Veterinary immunology and immunopathology, 1996, 51(1/2): 189-200.
- [32]段亚飞, 董宏标, 王芸, 等. 鳃弧菌感染对斑节对虾免疫相关指标的影响[J]. 海洋科学, 2015, 39(9): 44-50.
- [33]鄢庆祺, 张俊杰, 邹文政, 等. 人工感染溶藻弧菌对大黄鱼免疫功能的影响[J]. 水产学报, 2007(2): 250-256.
- [34]MAGNODOTTIR B. Immunological Control of Fish Diseases [J]. Marine biotechnology, 2010, 12: 361-379.
- [35]YANG Y, MAO T, XU B, et al. *Aeromonas salmonicida* subsp. *Masoucida* Causes an Emerging Infectious Diseases and Immune Response in Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. Aquaculture, 2024, 578: 740121.
- [36]卢荆澳, 黄春燕, 林芷茵, 等. cd9912基因调控斑马鱼白细胞组织间的迁移机制[J]. 遗传, 2022, 44(9): 798-809.
- [37]NOURSHARGH S, ALON R. Leukocyte Migration into Inflamed Tissues [J]. Immunity, 2014, 41(5): 694-707.
- [38]JIANG Z, MEI J, CHEN A, et al. Pathogenicity of *Aeromonas salmonicida* and Protection Effect of *Bacillus velezensis* on *Macrobrachium nipponense* Against *A. salmonicida* [J]. Aquaculture Reports, 2023, 31: 101677.
- [39]GAO X, TONG S, ZHANG S M, et al. *Aeromonas Veronii* Associated with Red Gill Disease and its Induced Immune Response in *Macrobrachium nipponense* [J]. Aquaculture research, 2020, 51(12): 5163-5174.
- [40]SHAO L, DONG Y, CHEN S, et al. Revealing Extracellular Protein Profile and Excavating Spoilage-related Proteases of *Aeromonas salmonicida* Based on Multi-omics Investigation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 265: 130916.
- [41]刘倩, 黄耀焯. 细胞因子在免疫反应和病毒相互作用中的机能[J]. 微生物学免疫学进展, 1998(3): 74-77.
- [42]李悦, 石莉红. 红细胞免疫调控功能的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2022, 44(1): 59-67.
- [43]JAGADEESWARAN P, SHEEHAN J P, CRAIG F E, et al. Identification and Characterization of Zebrafish Thrombocytes [J]. British journal of haematology, 1999, 107(4): 731-738.
- [44]ANDREWS R K, LOPEZ J A, BERNDT M C. Molecular Mechanisms of Platelet Adhesion and Activation [J]. The international journal of biochemistry & cell biology, 1997, 29(1): 91-105.