



中国水产学会鱼病专业委员会 2025年学术年会

论文摘要集

福建农林大学

中国·福州

2025年10月11-14日

目 录

第一专题 水生动物病原生物学

溶藻弧菌中由转录因子 VA3545 介导的局部 c-di-GMP 信号调控胞外多糖合成的分子机制研究.....	1
杀鲑气单胞菌 (<i>Aeromonas salmonicida</i>) AseJ 蛋白双重分泌途径及其功能研究 2	
首例黄鳊源鳊鱼诺卡氏菌的分离鉴定、致病性及传播溯源研究.....	3
<i>tetR</i> 基因在嗜水气单胞菌耐四环素中的功能研究	4
多子小瓜虫的桡足类捕食天敌及其摄食效能研究.....	5
东星斑烂身病病原的分离鉴定及其生物学特性研究.....	6
FUSK-FUSR 感应碳源调控杀鱼爱德华氏菌毒力的作用机理	7
患病斑点叉尾鮰杯状病毒的鉴定及组织病理学观察.....	8
新疆河鲈源嗜水气单胞菌生物学特性及全基因组分析.....	9
非 O1/O139 群霍乱弧菌 HapR 介导的群体感应调控机制	10
鲟源海分枝杆菌的分离鉴定及免疫防控研究.....	11
Slp 介导溶藻弧菌 (<i>Vibrio alginolyticus</i>) 生物被膜形成及 D-葡萄糖抑制机制研究	12
GCRV-II 病毒分离鉴定及敏感细胞系构建	13
GCRV-II 病毒感染草鱼 (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>) 脑诱导行为异常的作用机制研究.....	14
坏鳃指环虫趋光性研究.....	15
草鱼源嗜冷黄杆菌的生物学特性及全基因组测序分析.....	16
一株具有拮抗活性和肠道定殖特性的乳酸乳球菌.....	17
来源于三代虫排泄/分泌产物的丝氨酸蛋白酶抑制剂的鉴定与功能研究	18
基于全基因组序列的鳊诺卡氏菌遗传进化与分子特征分析.....	19
卵形鲳鲹新发弹状病毒的分离鉴定与检测技术的开发.....	20
GCRV-II 感染草鱼后不同肠道片段免疫响应和微生物变化研究	21
八种鱼类卵巢寄生微孢子虫分子系统发育研究.....	22
刺激隐核虫 (<i>Cryptocaryon irritans</i>) cathepsin B 基因的毕赤酵母表达与活性研究	23
碘泡科粘孢子虫孢子形态演化研究.....	24
杀鱼爱德华氏菌 DotU 蛋白的生物学活性鉴定及其毒力作用探究.....	25

蛋白乙酰化修饰对嗜水气单胞菌气溶素 AerA 毒力调控机制及其靶向治疗策略研究.....	26
全棘异钩棘头虫 (<i>Heterosentis holospinus</i>) 的线粒体基因组特征及其系统发育分析.....	27
无乳链球菌毒力因子抑制剂的筛选及应用.....	28
溶藻弧菌 <i>QseB/QseC</i> 基因功能研究.....	29
石斑鱼肠孢子感染对鱼体肠道组织结构和菌群组成的影响.....	30
乌鳢源停乳链球菌全基因组测序与比较基因组分析.....	31
扬子单极虫 (粘孢子虫纲: 碘泡科) 不同株系比较分析研究.....	32
一例草鱼细菌性败血症病原分离鉴定与药敏分析.....	33
环境耐受型新型嗜水气单胞菌噬菌体初步应用研究.....	34
米尔伊丽莎白菌在巨噬细胞内存活必须基因的筛选及功能验证.....	35
无乳链球菌 VII 型分泌系统 (T7SS) 通过调控镁离子的转运促进荚膜的完整性.....	36
米尔伊丽莎白菌 Nanoluc 荧光素酶标记菌株的构建及其感染示踪研究.....	37
长江中下游地区养殖鲫类粘孢子虫调查及鲫霍氏虫引起金鱼肾肿大病的首次报道.....	38
一种寄生于近邻剑水蚤脂肪细胞的微孢子虫形态学和系统发育研究.....	39
长肢新扇孢虫形态学和系统发育研究.....	40
黄鳢源维氏气单胞菌的分离鉴定及其拮抗菌的筛选.....	41
鲫锥虫(<i>Trypanosoma carassii</i>)大黄鱼分离株感染锦鲤的病理特征	42
梭子蟹肌孢虫孢原质的形态学、蛋白质组学和代谢组学特征分析.....	43
传染性造血器官坏死病毒的分离与分子特性分析.....	44
水滴伪康纤虫 <i>PpCaMK1</i> 基因克隆及生物学特征分析	45
单细胞转录组学解码硬骨鱼肉芽肿是一种古老的抗顽固病原的免疫策略.....	46
乌鲁木齐市某海鲜市场海产品中副溶血性弧菌的分离与检测.....	47
我国线虫新纪录种管状胃瘤线虫 (<i>Eustrongylides tubifex</i>) 的形态重述及分子测定.....	48
浙江省养殖大黄鱼锥体虫的鉴定及 TaqMan MGB qPCR 检测技术的建立与应用.....	49
罗氏沼虾新发疫病白体综合症潜在病原分离与鉴定.....	50

多鳞白甲鱼寄生水霉的分离与鉴定.....	51
鳊花斑病病原菌的分离与鉴定.....	52
一株日本对虾致病镰刀菌的分离鉴定及生长特性研究.....	53
Prolonged Starvation Drives Epigenetic Remodeling: Insights from DNA Methylation Profiling in the Aquatic Pathogen <i>Flavobacterium columnare</i>	54
Bacterial anti-toxin HigA dysregulates host intestinal serotonin homeostasis in a T6SS-dependent manner	55
<i>Aeromonas hydrophila</i> two-component system BlrAB regulates class D β -lactamases against meropenem	56
The PorY/PorX-SigP signaling pathway regulates <i>Flavobacterium psychrophilum</i> T9SS and virulence	57
An alternative strategy of transportation and long-term preservation of <i>Flavobacterium columnare</i> : storage conditions and the underlying adaptive mechanism	58
Unraveling the Molecular and Physiological Roles of Signal Peptide Peptidase A in <i>Flavobacterium columnare</i>	59
Whole-genome sequencing and comparative genomics of multidrug-resistant <i>Aeromonas veronii</i> Y6 from Xinjiang.....	60
Characterization and Comparative Functional Analysis of the Toll-like Receptor 5S Gene of <i>Siniperca chuatsi</i> and <i>Siniperca scherzeri</i> in Response to <i>Aeromonas veronii</i> Infection	61
Characterization of a novel <i>Vibrio parahaemolyticus</i> JD2305 and comparative genomics of the Tc toxin mobilome in <i>Vibrio</i> pathogens associated with translucent postlarva disease	62
Epidemiology and Influencing Factors of ISKNV and LMBV in <i>Micropterus salmoides</i> in the Pearl River Delta.....	63
 第二专题 水生动物病原的致病机理	
杀鱼爱德华氏菌通过分泌效应物诱导铁自噬以逃逸鱼类天然免疫的机制探究..	64
虹鳉传染性造血器官坏死病病毒致病机制研究新进展.....	65
神经坏死病毒 NNV 感染淡水与海水鱼的分子机制比较研究.....	66
溶藻弧菌鞭毛调控基因在免疫逃逸中作用机制研究.....	67

黄河鲤 OPTN 通过抑制细胞自噬和先天免疫促进嗜水气单胞菌定植	68
GCRV “劫持” IL-6/STAT3 轴通过抑制I型干扰素信号通路以温度依赖性方式促进病毒复制.....	69
草鱼 TRPV1 蛋白在促进 GCRV 感染中的鉴定及功能分析	70
细胞外基质纤连蛋白 (fibronectin, FN) 在草鱼呼肠孤病毒 (grass carp reovirus, GCRV) 温度依赖性感染中的作用及机制研究	71
大口黑鲈虹彩病毒 (LMBV) 通过炎症抑制与氧化损伤加重斑马鱼感染.....	72
斑马鱼鳃黏膜免疫及共生菌群在鲤春病毒血症病毒 (SVCV) 局部侵染过程中的响应特征.....	73
EcCXCR4b 通过与 RGNNV 衣壳蛋白相互作用影响 RGNNV 的增殖.....	74
凝结芽孢杆菌抗 SVCV 的作用机制研究.....	75
大口黑鲈虹彩病毒 MCP 基因重组乳酸乳球菌疫苗的构建及免疫效果评价	76
无乳链球菌通过其 GDH 介导的谷氨酸代谢重编程抑制宿主自噬以促进感染...77	
无乳链球菌纤维连接蛋白结合蛋白 SfbA 在血脑屏障入侵和脑膜炎发展中的作用.....	78
II 型草鱼呼肠孤病毒致病机制解析	79
GCRVII主要外壳蛋白 VP4 调控 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬并泛素化降解 p62 促进病毒复制.....	80
眼点淀粉卵涡鞭虫感染黄鳍棘鲷的生活史及致病特性研究.....	81
马口鱼病原不规则毛霉的鉴定、致病性及转录组学研究.....	82
梭子蟹肌孢虫核苷酸转运蛋白 ApNTTs “偷窃” 宿主核苷酸的分子机制研究 ..83	
梭子蟹肌孢虫 (<i>Ameson portunus</i>) 劫持宿主脂质代谢促进 RK13 细胞内增殖 ..84	
对虾急性肝胰腺坏死病 (AHPND) 的致病机制及其在虾体内介导的免疫响应85	
嗜水气单胞菌感染诱导草鱼 CD3 ϵ + T 细胞增殖及与巨噬细胞互作.....	86
鱼类疱疹病毒 CyHV-2 编码立即早期蛋白 ORF121 介导宿主 c-Myc/mTOR 通路促进复制机制研究.....	87
β -整合素介导 GCRV-II入侵宿主的分子机制研究	88
宿主泛素-蛋白酶体系统参与鱼类疱疹病毒 CyHV-2 复制机制研究	89
CyHV-3 在 EPC 细胞中建立潜伏感染的研究	90
牛蛙脑膜炎的潜在机制-NOD/Toll 样受体信号通路介导的免疫激活和炎症反应	91

转录组和肠道菌群联合分析海豚链球菌对西伯利亚鲟 (<i>Acipenser baerii</i>) 瓣肠的影响.....	92
虾传染性早熟病毒抑制性 vcDNA 发现与复制转录机制研究	93
GCRV 与草鱼互作形成环状 RNA 和嵌合 RNA 调控病毒感染的新策略.....	94
以细胞泛凋亡为靶点的鱼类新型抗病免疫策略.....	95
温度胁迫水生拉恩菌基因表达及 OmpA/W 和 narH/J 基因功能研究	96
水生拉恩菌鞭毛制动蛋白 YcgR 基因缺失突变株的构建及其生物学特性研究 ..	97
DIV1 对罗氏沼虾的致病性及溶酶体相关膜蛋白 1 在病毒侵染中的功能	98
孢壁蛋白 12 通过与宿主转铁蛋白受体 1 互作介导梭子蟹肌孢子虫入侵.....	99
Grouper SphK1 通过与 VP020 相互作用抑制 TBK1 介导的抗病毒信号传导来促进 SGIV 复制, 并作为抗病毒治疗的治疗靶点	100
双组分系统 PvgAS 调控杀香鱼假单胞菌 T6SS-1 表达与致病作用	101
牙鲆弹状病毒磷蛋白靶向 TBK1-IRF3 信号轴促进病毒免疫逃逸的分子机制研究	102
鱼类病毒与宿主相互作用及防治技术.....	103
Eng 介导草鱼呼肠孤病毒 II 入侵宿主细胞的分子机制研究	104
大菱鲆“出血病”: 一种鱼类圆环病毒引发的急性出血症.....	105
Isolation, Genomic Characterization, and Control Strategies for Scale Drop Disease Virus: Development of Vaccines and Diagnostic Antibodies	106
Identification of Key Receptors for Fish Viruses and Discovery of Targeted Antiviral Compounds	107
Identification, genomic analysis, and pathogenicity of a novel highly virulent strain of infectious spleen and kidney necrosis virus isolated from the Humpback grouper, <i>Cromileptes altivelis</i>	108
<i>Aeromonas hydrophila</i> inhibits the JAK2/STAT3 pathway by activating SOCS3s in Common carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	109
Identification and functional characterization of grass carp TRPV1 in facilitating GCRV infection	110
The role of extracellular matrix fibronectin (FN) in temperature-dependent grass carp reovirus (GCRV) infection: elucidating the underlying mechanisms.....	111
SGIV+RGNNV Co-Infection Increases Mortality in Leopard Coral Grouper Through	

Overactivated Immune Responses and Metabolic Alterations	112
SGIV VP101 facilitated viral replication by involving in viral assembly and avoiding the STING-TBK1-mediated antiviral response	113
Role of chitin synthases CHS1 and CHS2 in biosynthesis of the cyst wall of <i>Cryptocaryon irritans</i>	114
EcCXCR4b Influences RGNNV Proliferation by Interacting with the RGNNV Capsid Protein	115
Study on the mechanism of <i>Bacillus coagulans</i> against SVCV	116
Oral immunization with <i>L. lactis</i> expressing the major capsid protein of largemouth bass ranavirus (LMBV) enhanced the immune response of largemouth bass against LMBV infection.....	117
PDIA3 is used as a entry receptor by type II grass carp reovirus (GCRV-II)	118
Comparison of the host-pathogen interactions between <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> and <i>Nocardia seriolea</i> in a cell line derived from head kidney of yellow large croaker	119
VPAHPND Pathogenesis and Its Mediated Immune Response in Shrimp	120
CTD proteins secreted by the type IX secretion system are virulence factors in the fish pathogen <i>Flavobacterium psychrophilum</i>	121
Ultrastructure and tissue tropism of <i>Trypanosoma larimichthysi</i> in large yellow croaker (<i>Larimichthys crocea</i>).....	122
Molecular mechanisms of grass carp reovirus entry, replication, and immune evasion	123
 第三专题 鱼类抗病毒感染机制	
大黄鱼虹彩病毒感染后大黄鱼脾脏和肝脏转录组分析.....	124
一株抗石斑鱼虹彩病毒的解淀粉芽孢杆菌的筛选与机制研究.....	125
IL-17B 负调控 novel-m0270-5p 靶向 TRAF2 调节抗病毒免疫的功能及作用机制研究.....	126
黄河鲤 ATG5 的分子特征及在 SVCV 复制中的功能	127
斑马鱼 OPTN 降解 SVCV 病毒 G 蛋白的分子机制研究.....	128
鱼类新型 TRIM 蛋白 FTR14 通过靶向 TBK1-IRF3 和 TRAF4-TRAF6 负向调控宿主免疫反应.....	129

ISG15 通过降解 NS79 和 VP41 蛋白抑制 II 型草鱼呼肠孤病毒的复制	130
草鱼 IgM 的母源免疫功能研究	131
肠道微生物调节鲤春病毒血症病毒温度敏感性的机制研究	132
彭泽鲫 Caspase8 抑制 RIPK1-TBK1 相互作用调节鱼类先天免疫	133
彭泽鲫 eIF4A3 抑制 IRF3 磷酸化调节先天免疫	134
鱼类 STAT3 通过抑制 PKZ-eIF2 α 通路而抑制细胞自噬	135
草鱼 (<i>Ctenopharyngodon idella</i>) CAPN1、CAPN2 通过内源性途径诱导细胞凋亡	136
鱼类 IgM 介导的抗病毒免疫应答机制	137
饥饿诱导 OPTN 增强鱼类抗病毒能力的机制研究	138
鲑科鱼类 DDX3 对 IHNV 复制的影响及其调控 RIG-I 信号通路的分子机制研究	139
神经坏死病毒 RGNNV 通过 VDAC1 介导线粒体自噬影响病毒复制	140
石斑鱼受体相互作用蛋白激酶 3(RIP3)及其靶标激酶 MLKL 对 SGIV 感染的调控机制研究	141
鲤 cGAS 的鉴定和功能分析揭示了其在抗病毒免疫中的关键作用	142
草鱼 (<i>Ctenopharyngodon idella</i>) IFITs 抑制 GCRV 感染的功能研究	143
斑马鱼 DHX15-PKZ 信号轴调控 I 型干扰素表达	144
斑马鱼 DAPK3 通过调控 STING 进而激活 IFN I 免疫反应	145
彭泽鲫 SIRT2 通过去乙酰化 G3BP1 抑制 IRF3 介导的 IFN I 表达	146
花鲈 NK-lysin 衍生肽 NKLj27 抗 SVCV 活性及作用机制研究	147
转录组分析揭示重组干扰素 γ 诱导的许氏平鲷 (<i>Sebastes schlegelii</i>) 全面免疫应答网络及抗病毒蛋白 Mx2 的功能鉴定	148
草鱼 Metrn1-a 在抗病毒天然免疫中的作用	149
一种新型 IFN- γ 拮抗受体的结构与调控功能	150
斑马鱼 Metrn1-a 在抗病毒天然免疫中的作用及调控机制研究	151
中链脂肪酸拮抗鲤疱疹病毒 II 型及其囊膜作用研究	152
低氧及低氧诱导基因在鱼类抗病毒病和细菌病过程中的调控机制	153
鲤形目鱼类干扰素的全基因组发掘与抗病毒功能研究	154
多聚免疫球蛋白受体 (pIgR) 的抗病毒功能研究	155
姜黄素抗新加坡石斑鱼虹彩病毒 SGIV 感染作用及机制研究	156

P300/RNA polymerase II mediates induction of the teleost viral RNA sensor MDA5 through the interferon regulatory factor IRF11	157
The Function and Mechanism of IL-17B in Negatively Regulating Antiviral Immunity via Novel-m0270-5p Targeting TRAF2	158
HnRNPC triggers degradation of MITA to suppress interferon mediated antiviral response.....	159
The AF1 Structure of EcPPARs Plays a Significant Role in Antiviral	160
Research on the Dynamic Process and Mechanisms of Infection by Largemouth Bass Virus.....	161
Calicivirus Manipulates Host Immunity for Replication in <i>Pelteobagrus fulvidraco</i> : A Transcriptomic Study	162
Hypoxic stress triggers ranavirus replication through hypoxia–NF-κB–viral-κB axis	163
Association of NLRP3 Gene SNPs with the Grass Carp Resistance to Grass Carp Reovirus (GCRV).....	164
Whole-Transcriptome Analysis of Head Kidney Tissue in Largemouth Bass Infected with LMBV	165
A novel SOCS1-mediated negative feedback regulation of type I interferon antiviral response in vertebrates	166
Establishment and Functional Characterization of a Nile Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) Skin Epithelial Cell Line (TSE-04): Applications in Transgenics, Viral Susceptibility, and Ecotoxicological Stress Responses	167
Red-spotted grouper nervous necrosis virusregulates viral replication through VDAC1-mediated mitochondrial autophagy	168
Interferon regulatory factor 6 gene from <i>Oreochromis niloticus</i> is involved in resistance against tilapia lake virus.....	169
Identification and functional characterization of <i>Cyprinus carpio</i> cGAS reveals its pivotal role against viral infection	170
MiR-122 exerts its regulatory effect on SGIV replication by targeting SGIV163. ...	171
Dual role of envelope protein VP088 during SGIV infection: recruiting VP156 for virus assembly, and abrogating TBK1-induced interferon response via p62-dependent	

autophagic degradation	172
Insulin receptor isoform b is an essential factor for the entry of spring viremia of carp virus.....	173
Identification, expression profiles and antiviral activities of a type I IFN from <i>Cyprinus carpio</i>	174
Functional Characterization of TLR Adaptors in Mandarin Fish (<i>Siniperca chuatsi</i>)	175
ISG15 inhibits replication of type II grass carp reovirus (GCRV-II) by degrading viral NS79 and VP41 proteins.....	176
Molecular characterization of CcATG5 and its role in SVCV Replication.	177
Preliminary Investigation on the Regulatory Effects of Interferon IFN α and IFN Receptor CRFB3 and CRFB4 on NNV Replication in Orange-spotted Grouper.....	178
 第四专题 水生动物疫苗学、病理学理论及技术创新	
多子小瓜虫感染黄鳝引起的组织病理学变化及其遗传多样性.....	179
嗜水气单胞菌 (<i>Aeromonas hydrophila</i>) 壳聚糖纳米疫苗的研制及其对长江鲟 (<i>Acipenser dabryanus</i>) 免疫保护效力的评价.....	180
益生菌递送的多联口服疫苗对锦鲤免疫、肠道微生物群和抗病力的影响.....	181
串联表达草鱼呼肠弧病毒 VP6—维氏气单胞菌 OmpAII 的重组工程菌规模化培养条件优化.....	182
蓝鳃太阳鱼脑细胞系的建立及传染性脾肾坏死病毒和弹状病毒二联灭活疫苗的研制.....	183
基于自组装铁蛋白的石斑鱼黏膜疫苗研究.....	184
草鱼呼肠弧病毒衣壳蛋白的原核融合表达及其微囊稳定性研究.....	185
灭活纤毛虫疫苗对锦鲤抗多子小瓜虫感染的免疫应答及交叉保护效果研究....	186
Production and characterization of nervous necrosis virus vaccine antigens in wild type and CRISPR/Cas9 genome edited <i>Nicotiana benthamiana</i> and lettuce <i>Lactuca sativa</i>	187
Characterization of CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , and CD8 ⁺ T Cell dynamics in rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) following vaccination with a G protein-mutant IHNV vaccine	188
The effects of two rainbow trout TRIM proteins as immunostimulants on the	

immunization efficacy of inactivated IHNV vaccine	189
Constructing an IgM Prokaryotic Expression Vector for the Channel Catfish and Preparing Antibodies.....	190
Sustainable Vaccination Strategy: Oral Attenuated Vaccine Reduces Pathogenicity and Mortality in <i>Aeromonas hydrophila</i> -Challenged Largemouth Bass	191
Functional characterization of conserved transcription factor Akirin2 in innate immunity of Silver Pomfret (<i>Pampus argenteus</i>)	192
Zebrafish skin induces strong adaptive immune response after bath immunization .	193
Effects of a probiotic-delivered multiplex oral vaccine on immunity, gut microbiota and disease resistance in koi carp	194

第五专题 鱼类抗细菌和寄生虫感染机制

青鱼 (<i>Mylopharyngodon piceus</i>) Toll 样受体 (<i>TLRs</i>) 的全基因组鉴定及 TLR1 在抗嗜水气单胞菌感染中的作用.....	196
驼背鲈凋亡因子 Bad 的功能及其在机体抗哈维氏弧菌感染中的效应	197
卵形鲳鲹半胱天冬蛋白酶-3 (<i>TroCaspase3</i>) 参与机体抗病免疫的功能分析 ...	198
驼背鲈 C 型凝集素 4E (CaCTL4E) 参与机体抗细菌免疫的功能分析	199
驼背鲈 (<i>Cromileptes altivelis</i>) 白细胞介素 IL8 的分子特征及其抗菌功能.....	200
鲤 P65 基因克隆与生物信息学分析	201
鲤 I κ B α 基因克隆及生物信息学分析	202
赤眼鳟两个 IL-10 基因的分子特征及功能分化	203
鱼类 T 细胞免疫与病害防控	204
尼罗罗非鱼 (<i>Oreochromis niloticus</i>) 颗粒酶家族基因鉴定及其功能探究	205
尼罗罗非鱼寡聚体 MBL 抵御无乳链球菌感染的作用机制	206
大口黑鲈 NLRP3 炎性小体激活细胞焦亡以限制鳗诺卡氏菌在其体内定植的作用 机制.....	207
细胞因子 LECT2-b 通过受体 CD209 促进草鱼 IgM+ B 细胞吞噬的机制研究 ..	208
鱼类呼吸道微生物在寄生虫感染过程中的响应及抗虫机制.....	209
大黄鱼脂质运载蛋白成员 LcApoM _AGPRP 的免疫学功能研究	210
噬菌体与宿主嗜水气单胞菌互作的研究.....	211
溶藻弧菌噬菌体裂解酶 lysV208 的重组表达和活性的研究	212
铁调素相关的免疫代谢交互作用与分子表征揭示杀鱼爱德华氏菌感染许氏平鲈	

(<i>Sebastes schlegeli</i>) 的铁死亡机制.....	213
<i>Enterospora epinepheli</i> 的基因组揭示其适应核内寄生和快速感染的机制	214
花鲈急性期相关蛋白的分子鉴定.....	215
大口黑鲈源鳊诺卡氏菌的分离鉴定及中草药对其体外抑菌效果研究.....	216
两株宿主来源不同的鲤春病毒血症病毒的比较及其灭活疫苗的制备.....	217
灭活鳗弧菌免疫后牙鲆黏膜相关淋巴组织的免疫应答特征.....	218
牙鲆腹腔源外泌体在 T 细胞活化及疫苗免疫应答中的作用机制研究	219
牙鲆肠黏膜微皱褶细胞的鉴定及其抗原摄取功能研究.....	220
牙鲆黏蛋白 Muc2 和 Muc5ac: 黏膜免疫的关键守护者	221
草鱼呼肠孤病毒 II 型 VLP 疫苗的研制	222
基于转录组和代谢组解析卵形鲳鲹抗刺激隐核虫调控机制.....	223
淡水鱼细菌性败血症重组亚单位疫苗的设计与评价.....	224
FasL 驱动鱼类 CD8 ⁺ T 细胞效应功能与抗菌免疫的新机制	225
基于“肠道菌群/SCFAs/HIF-1 α /IL-22”轴揭示黄颡鱼响应低氧胁迫的分子机制研究.....	226
新型 BEST4 ⁺ 细胞在鱼类肠道黏液形成中的功能研究	227
大口黑鲈巨噬细胞迁移抑制因子及其受体的分子鉴定及表达分析.....	228
草鱼出血病益生菌口服疫苗的研究.....	229
claudin-3 基因在尼罗罗非鱼抗无乳链球菌感染血脑屏障中的防御作用	230
鲤 IL-17B 基因克隆及免疫学功能研究.....	231
鲤 Wnt/ β -catenin 信号通路在炎症调控中的作用研究.....	232
CD22 acts as an inhibitory co-receptor on B cells and plays an important role in regulating the innate immune response in <i>Oreochromis niloticus</i>	233
Mechanisms of IL-20 family cytokines (IL-20, IL-22, IL-26) in gut mucosal immunity of teleost fish: Insights from <i>Carassius cuvieri</i> $\times$ <i>Carassius auratus</i> red var.	234
Characterization of type 2 interleukin-1 receptor (IL-1R2) as an inhibitory regulator of trained immunity in teleost.....	235
SAP Modulates Opsonophagocytosis and Inflammatory Responses in Macrophages through Interaction with Fc γ RIIa in Nile Tilapia.....	236
Study on interaction between phage and its host <i>Aeromonas hydrophila</i>	237

<i>fliC</i> mediates <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> 's hijack of inflammatory immunity and glucose metabolism in the large yellow croaker	238
LncRNA432-miR-21-y-DAPK2 ceRNA crosstalk regulates antibacterial response in hypoxia stress through mediating mitochondrial apoptosis in teleost fish	239
Expression Characteristics of PRMT1 and Its Regulatory Role in Antibacterial Inflammatory Response in <i>Hexagrammos otakii</i>	240
Single-Cell Transcriptome Profiling Reveals Conserved IFN γ -IL8 Signaling-Induced Antibacterial Neutrophil States During Bacterial Infection	241
Targeted blockade of IL-23 receptor by engineered IgY antibody attenuates bacterial enteritis via reprogramming gut microbiota-immune axis in grass carp (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	242
Isolation, identification, and histopathological observations of <i>Vibrio harveyi</i> associated with mass mortality of Chu's croaker (<i>Nibea coibor</i>)	243
Effect of ectoparasite <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> on the histopathology and gill and gut microbiota of goldfish (<i>Carassius auratus</i>)	244
Effects of hypoxia stress in <i>Pelteobagrus fulvidraco</i> based on "intestinal microbiota/SCFAs/HIF-1 α /IL-22" axis	245
The isolation and identification of a novel flavivirus from diseased Chinese soft-shelled turtle (<i>Pelodiscus sinensis</i>)	246
Cell death-mediated unconventional secretion of proinflammatory cytokines in teleost	247
Novel C-type lectin mediated Non-specific cytotoxic cells killing activity through NCCRP-1 in Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	248
第六专题 水生无脊椎及其他动物免疫学及病害防控	
IHHNV 和 EHP 共感染凡纳滨对虾的协同作用研究	249
sRNA063 “劫持”刺参 ATG2 蛋白促进病原侵染的分子机制研究	250
发热温度通过 HSP70-Toll4 信号途径增强对虾对白斑综合症病毒的抵抗力	251
氨胁迫抑制对虾抗病毒系统进而增强白斑综合症病毒感染	252
不同贝类养殖模式下牡蛎疱疹病毒 (OsHV-1) 陆海传播途径差异与防控措施研究	253
甘草提取物对牛蛙 (<i>Aquarana catesbeiana</i>) 的生长性能和肝肠健康的影响 ...	254

细胞自噬介导的罗氏沼虾抗菌防御分子机制研究.....	255
对虾高致病弧菌 VHLVD 的致病机制及毒力变异研究.....	256
长牡蛎 (<i>Crassostrea gigas</i>) 免疫致敏中特异性增强的细胞免疫与体液免疫...257	
饲喂维生素 D ₃ 对生长期草鱼生长性能、肠道健康及抗病能力的影响研究 ...258	
克氏原螯虾 Vago 家族基因特征分析及其抗白斑综合征病毒的研究	259
福建牡蛎致病菌沙氏弧菌的分离鉴定及全基因组分析.....	260
WSSV 介导 Nrf2 调控对虾 ROS 动态促进病毒复制的机制	261
凡纳滨对虾 caspase Dronc-like 影响溶藻弧菌感染的作用机制研究	262
凡纳滨对虾 caspase-1-A like 分子特征及对溶藻弧菌感染的影响研究	263
Rab5 参与克氏原螯虾 JAK/STAT 信号通路抗菌免疫调控的作用研究	264
克氏原螯虾 (<i>Procambarus clarkii</i>) 不同类型抗脂多糖因子的抗菌作用研究 ..265	
拟穴青蟹 HO-1、KEAP1 的克隆及其在抗弧菌感染中的作用	266
白化综合征影响下罗氏沼虾肠道微生物菌群多样性及结构差异探究.....	267
发热温度通过 HSP70-Toll4 信号途径增强对虾白斑综合症病毒的抵抗力	268
对虾白斑综合症病毒新型受体的筛选与鉴定研究.....	269
不同形态二尖梅奇酵母 (<i>Metschnikowia bicuspidata</i>) 培养方法建立及其在中华绒 螯蟹 (<i>Eriocheir sinensis</i>) 中的致病性研究.....	270
小檗碱碳点的合成及其对二尖梅奇酵母菌(<i>Metschnikowia bicuspidata</i>)的抗菌机 制.....	271
青虾病原拟态弧菌的基因组特征及 rpoS 基因的功能研究	272
ATG12-ATG5-ATG16L1 复合体调控罗氏沼虾抗维氏气单胞菌感染的分子机制	273
糖酵解介导的组蛋白乳酸化抑制甲壳动物抗病毒免疫.....	274
基于转录组解析 OsHV-1 与毛蚶幼虫互作的动态机制	275
DM9CP-integrin-RhoA pathway promotes the haemocyte phagocytosis in the immune priming of <i>Crassostrea gigas</i>	276
Morphologic, cytometric, quantitative transcriptomic and functional characterisation provide insights into the haemocyte immune responses of Pacific abalone (<i>Haliotis discus hannai</i>)	277
Sulforaphane repairs oxidative stress damage induced by oxidized fish oil by activating Nrf2 in <i>Litopenaeus vannamei</i>	279

Integrated time-series transcriptomics and metabolomics uncover key metabolites and pathways in American Bullfrog (<i>Aquarana catesbeiana</i>) response to <i>Elizabethkingia miricola</i> infection.....	280
Delta/Notch signaling regulates hemocyte proliferation and intestinal inflammatory responses in <i>Eriocheir sinensis</i>	281
Study on the Antimicrobial Effects of Different Types of Anti-Lipopolysaccharide Factors in <i>Procambarus clarkii</i> (crayfish)	282
Isolation and genomic characterization of multi-drug resistant <i>Morganella morganii</i> strain from Chinese Soft-Shell Turtle <i>Pelodiscus sinensis</i>	283
Dynamic Adaptations: Unraveling the Skin Microbiome of Bullfrogs (<i>Rana catesbeiana</i>) Under Bacterial Disease Stress.....	284
Hijacking of host Src-PI3K-Akt signaling by WSSV IE1 protein suppresses apoptotic and autophagic defenses to facilitate viral proliferation	285
Synthesis of Berberine-loaded Carbon Dots and their Antimicrobial Mechanism against <i>Metschnikowia bicuspidata</i> : Insights from Transcriptomic Analysis.....	286
The effects of overwintering starvation on the hepatopancreas of Chinese mitten crabs (<i>Eriocheir sinensis</i>) based on histological and transcriptome analysis	287
AHPND-causing <i>Vibrio Parahaemolyticus</i> infection interferes with lipid metabolism in shrimp	288
PXN AND CLL SUPPRESS WSSV INFECTION BY REGULATING THE ACTIVATION OF AP1 AND DORSAL	289
SQSTM1/p62 from <i>Litopenaeus vannamei</i> is involved in the immune response to <i>Vibrio</i> infection	290

第七专题 渔药与水产健康养殖

尼罗罗非鱼 MT 基因克隆及其在重金属 Cr 胁迫下的表达分析.....	291
氟苯尼考纳米乳制备及其防治罗非鱼链球菌病效果研究.....	292
防治罗非鱼链球菌病的中药方剂筛选.....	293
山药多糖通过促进 TFR1b 的泛素化缓解嗜水气单胞菌诱导的鲤细胞铁死亡 ..	294
益生菌对草鱼肠道的保护作用.....	295
天然小分子化合物 CHE 作用三代虫靶标蛋白鉴定及确证.....	296
运输应激诱发水霉病的机制及防控研究.....	297

慢性应激诱发斑马鱼抑郁的脑肠轴机制研究.....	298
过度投喂通过抑制索氏鲸杆菌-花生四烯酸-环氧二十碳三烯酸轴加剧大口黑鲈虹彩病毒感染.....	299
间歇性禁食辅以功能添加剂补充改善长吻鮠肌肉品质与健康.....	300
口服毕赤酵母胞内表达草鱼趋化因子 CXCL20a 显著抑制草鱼呼肠孤病毒感染.....	301
原花青素对多子小瓜虫的在体和离体抗虫效果.....	302
溶珊瑚弧菌对米氏凯伦藻趋化机制及其相关基因作用研究.....	303
斑点叉尾鮰 Rrp44 蛋白及其突变体的表达与酶动力学特性分析.....	304
丙硫菌唑（PTA）对斑马鱼视觉系统的毒性机制研究	305
月桂酸及月桂酸单甘油酯抑制 CyHV-2 效果及机制研究	306
鱼源气单胞菌拮抗菌贝莱斯芽孢杆菌的筛选与安全性分析.....	307
环境相关浓度地西洋暴露诱导斑马鱼幼鱼先天免疫毒性.....	308
养殖模式（RFFM）对黄颡鱼肌肉营养成分、肝脏代谢组学及肠道菌群的影响.....	309
一株大黄鱼虹彩病毒的基因组和蛋白质组学分析.....	310
玫瑰草油及有效成分对单殖吸虫的杀虫效果.....	311
香芹酚对杀鱼爱德华氏菌的体外抑菌作用.....	312
贝莱斯芽孢杆菌对牛蛙（ <i>Aquarana catesbeiana</i> ）生长性能、肠道健康和抗病能力的影响.....	313
代谢介导琥珀酰化修饰逆转细菌耐药性.....	314
珍珠龙胆石斑鱼中草药免疫增强剂的筛选及其非特异性免疫增强效果研究....	315
Na-NQR 通过调控丙氨酸代谢影响溶藻弧菌氨基糖苷类抗生素的耐药性	316
天然小分子通过干扰病毒复制早期阶段抵御弹状病毒感染.....	317
牛磺酸抑制炎症因子风暴发挥抗病毒活性研究.....	318
丙戊酸（VPA）通过抑制自噬和 DNA 损伤反应抑制 SPIV 病毒复制的分子机制.....	319
硼替佐米抗新加坡石斑鱼虹彩病毒感染的分子机制.....	320
牛磺脱氧胆酸通过 JNK/Nrf2 介导的炎症反应与抗氧化活性抑制新加坡石斑鱼虹彩病毒复制.....	321
基于 Pickering 乳液的姜黄素聚乳酸微球制备及其抗多子小瓜虫效果研究	322

大蒜 E 素对嗜水气单胞菌的抑菌活性及机制研究	323
恩诺沙星暴露对金鱼感染鲤疱疹病毒 II 型的影响	324
阿卡波糖对大口黑鲈高碳水化合物日粮性肝损伤的影响	325
白藜芦醇对维氏气单胞菌的体外抑菌作用及其对鲟鱼的保护作用	326
基于人工智能与纳米技术的抗小瓜虫药物设计与制剂开发研究	327
乌梅水提物通过肝肠轴保护斑马鱼增强抗嗜水气单胞菌感染的作用机制	328
甲苯咪唑对小林三代虫和坏鳃指环虫的杀虫效果比较	329
中草药自组装超分子 GA/Re@En 的制备及其抗菌增效机制研究	330
果糖促进氨苄西林杀死耐药无乳链球菌	331
肌肽增强硫酸新霉素作用的研究	332
饲料中添加枯草芽孢杆菌对大口黑鲈生长、免疫以及肠道菌群的影响	333
大豆球蛋白诱发水产动物食源性肠道炎症的机制与营养干预策略	334
日本对虾对致病弧菌 <i>Vp_{AHPND}</i> 与 <i>Vp_{HLVD}</i> 的敏感性研究	335
Pharmacokinetics of honokiol in <i>Trachinotus ovatus</i> following administration of honokiol monomer and <i>Magnolia officinalis</i> extracts	337
Hesperetin inhibits channel catfish virus by blocking viral internalization and early replication in CCO cells	338
Microbial and hadrochemical shifts in farmed sea bass ponds: nitrite accumulation as a key stressor during disease episodes	339
Fraxetin as a Promising Natural Agent for Controlling White Spot Syndrome Virus: Mechanistic Insights and Application Potential	340
The role of Terminalia chebula Retz. as a Dietary Immunomodulator for Metaflammation Symptomes and Pathogen-Disease Resistance in Fish	341
The Effects of Picria fel-terrae Lour. on Ameliorating Hepatic Metaflammation whilst Modulating Mucosal Immunity in Fish	342
Characterization of a novel prophage-derived endolysin Lys2305 encoded from <i>Vibrio parahaemolyticus</i> JD2305 associated with translucent postlarva disease (TPD)	343
Single nucleotide polymorphism of GADD45b and its association with resistance/susceptibility to largemouth bass ranavirus (LMBV) in <i>Micropterus Salmoides</i>	344
Astragalus polysaccharides alleviate oxidative damage by activating the Keap1-Nrf2	

antioxidant pathway through miR-183 in a fish cell model.....	345
Cloning and functional analysis of NQO1 gene from Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>): a quinone oxidoreductase that can alleviate oxidative stress induced by CuSO ₄ 5H ₂ O.....	346
Efficacy of a Probiotic Fermented Herb in the Prevention and Treatment of Fish Nocardiosis	347
<i>Vibrio alginolyticus</i> PEPCCK Mediates Florfenicol Resistance through Lysine Succinylation Modification.....	348
Linalool combats <i>Saprolegnia parasitica</i> infections through direct killing of microbes and modulation of host immune system	349
Quinolone Resistance and Prevalence of the Related Genes in <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i> Recovered from Diseased Fish in Eastern China.....	350
Fructose promotes ampicillin killing of antibiotic-resistant <i>Streptococcus Agalactiae</i>	351
Study on the Enhancing Effect of Carnosine on Neomycin Sulfate	352
Effect of host-derived <i>Bacillus velezensis</i> on the intestinal structure, antioxidant capacity, and pathogen resistance of American bullfrog (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	353
Lycorine provides antiviral activities against mandarin fish ranavirus via suppressing apoptosis and activating type I interferon pathway	354
Naringenin attenuates Mandarin fish ranavirus (MRV)-induced hyperinflammation through the inhibition of MAPK and NF- κ B signaling pathways.....	355
第八专题 渔业病害防控的新技术、新方法、新模式	
鮠新本尼登虫 (<i>Neobenedenia girellae</i>) ERA-LFD 检测方法的建立和应用	356
基于机器视觉和深度学习的鲤春病毒血症检测研究.....	357
副溶血弧菌噬菌体与宿主菌的互作及其临床应用效果评估.....	358
草鱼 GCRV-II 抗原速测胶体金试剂盒研发与应用	359
副溶血弧菌、白斑综合征病毒和传染性皮下及造血组织坏死病毒三种核酸检测技术的建立及多重 RPA 技术的应用	360
鲤疱疹病毒 II 型及 III 型双重荧光定量 PCR 检测方法的建立与应用.....	361
低温等离子体技术灭活水体病毒及其在水产养殖中的应用.....	362
合成微生物群落驱动的宿主抗性保护鲫免受病原菌感染.....	363

宏组学技术在动物病原鉴定中的实践与探索.....	364
纳米载体递送拉帕醇抗多子小瓜虫的效果评价及增效机制研究.....	365
基于药效团拼合策略的新型萘醌衍生物的设计、合成及抗小瓜虫活性研究....	366
基于 3D-QSAR 模型的百里醌类似物设计、合成及其抗多子小瓜虫的活性评价	367
一株具有替抗潜力的贝莱斯芽孢杆菌 LMT 菌株发酵工艺的优化	368
II型 GCRV 衣壳蛋白 VP4 的人工合成及其在植物细胞中的表达特征研究	369
彭泽鲫 MyoG 基因启动子活性及转录调控元件分析	370
大口黑鲈弹状病毒 RT-MIRA-LFD 现场快速检测方法的建立	371
鱼类蛋白酶体 β 亚基的进化分析	372
鱼类自然悬浮细胞系——欧洲鳗鲡 (<i>Anguilla Anguilla</i>) 皮肤细胞系 ES 的建立及 其在水产病毒研究中的应用.....	373
鳗鲡正呼肠孤病毒的分离、鉴定及其检测.....	374
鳗鲡疱疹病毒特异性卵黄抗体 (IgY) 的制备及其对美洲鳗鲡 (<i>Anguilla rostrata</i>) 的被动免疫保护作用.....	375
巨骨舌鱼 (<i>Arapaima gigas</i>) II 型干扰素及其受体的克隆鉴定	376
基于鱼类行为的寄生虫病早期预警技术研究.....	377
石斑鱼肠孢虫(<i>Enterospora epinepheli</i>)环介导等温扩增(LAMP)检测方法的建立及 应用.....	378
基于 RPA-CRISPR/Cas12a 的海分支杆菌快速检测方法建立	379
缺氧诱导刺激隐核虫代谢重编程介导的铁死亡作用机制研究.....	380
基于机器学习的抗菌肽定向进化研究.....	381
Development of rapid visual isothermal amplication assays (LAMP, RAA-LFD, RPA-CRISPR/Cas12a) for on-site detection of Anguillid herpesvirus (AngHV)	382
Development and validation of a double-antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) for detection of Anguillid herpesvirus	383
Interaction between <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Phage and Host Bacteria and Evaluation of Its Clinical Application Effects.....	384
A Rapid and Portable Dual-Mode RAA-CRISPR/Cas12a System for One-Pot Detection of Spring viraemia of carp virus (SVCV)	385
Aggregation-Induced Emission Probes Empowered Aptasensor for Aquatic	

Pathogenic Virus Fluorescence Sensing	386
Harnessing <i>Bacteroidota</i> : A natural solution for aquaculture disease control	387
Strategies for combating <i>Flavobacterium psychrophilum</i> and bacterial cold-water disease: Current progress and future perspectives	388
IgY antibodies as a non-antibiotic approach to combat <i>Vibrio vulnificus</i> infection and gut microbiota dysbiosis in zebrafish	389
QuickProt: A Fast and Accurate Homology-Based Protein Annotation Tool for Non-Model Organism Genomes to Advance Comparative Genomics	390
Dietary <i>Enterococcus faecalis</i> F2 enhances growth and alleviates hepatic and intestinal dysfunction in hybrid grouper under high-fat diet stress	391
Segment-specific immune responses and microbial dynamics in the gut of largemouth bass (<i>Micropterus salmoides</i>) following viral infection	392
Gill tissue-specific expression strategy of the neutralizing antibody gene for continuous antiviral activity.....	393
Siglec7 functions as an inhibitory receptor of non-specific cytotoxic cells and can regulate the innate immune responses in a primitive vertebrate (<i>Oreochromis niloticus</i>)	394
Rapid visual detection of <i>Micropterus salmoides</i> rhabdovirus by reverse transcription multienzyme isothermal rapid amplification combined with lateral flow dipstick ...	395
Sex-specific disease resistance and gut microbiota dynamics in juvenile common carp (<i>Cyprinus carpio</i>) following viral infection.....	396
Dual-CRISPR/Cas12a-assisted RT-RAA visualization system for rapid on-site detection of nervous necrosis virus (NNV)	397
Catalase is a critical virulence factor in <i>Aeromonas schubertii</i> infection of Snakehead Fish (<i>Channa argus</i>)	398
IL-6/STAT3 axis is hijacked by GCRV to facilitate viral replication via suppressing type I IFN signaling	399

溶藻弧菌中由转录因子 VA3545 介导的局部 c-di-GMP 信号 调控胞外多糖合成的分子机制研究

巩笑笑, 曾艳华, 龙昊, 谢珍玉*

海南大学南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口 570228

摘要: 溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 是一种条件致病菌, 由其引发的弧菌病已导致多种海洋动物致病, 给全球水产养殖业造成了巨大的经济损失。胞外多糖 (EPS) 是弧菌的重要毒力因子, 其合成受环二鸟苷酸 (c-di-GMP) 的正调控。由 c-di-GMP 受体与 c-di-GMP 代谢蛋白互作的“局部信号”调控模式, 是一种广泛存在的 c-di-GMP 特异性调控分子机制。然而, 迄今为止, 仍未从蛋白互作角度, 阐明弧菌 c-di-GMP 特异性调控 EPS 合成的分子机制。在本研究中, 基于前期发现的调控 EPS 合成簇 *vpsQ-wcaJ* 表达的正调节子 VA3545 的研究基础, 作者采用 SPR 试验, 证实转录因子 VA3545 为 c-di-GMP 受体; 然后, 利用转录组测序, 挖掘出 2 个关键的由 VA3545 调控的 c-di-GMP 基因, 进一步利用基因敲除和 LC-MS/MS 等技术, 表明这两个基因在由 VA3545 介导的调控生物被膜形成过程中发挥关键作用; 最终利用生物信息学分析并结合细菌双杂交试验, 鉴定了 VA3545 的互作蛋白。课题结果将从蛋白互作角度, 揭示溶藻弧菌中局部 c-di-GMP 信号调控 EPS 合成的分子机制, 为今后解析其生物被膜形成的分子机制奠定关键基础。

关键词: 溶藻弧菌; c-di-GMP; 蛋白互作; EPS; 局部信号

杀鲑气单胞菌 (*Aeromonas salmonicida*) AseJ 蛋白双重分泌途径及其功能研究

何思美,胡胜标*

湖南师范大学, 长沙 410081

摘要: 杀鲑气单胞菌 (*Aeromonas salmonicida*) 是一种重要的鱼类病原菌, 主要感染鲑科鱼类导致其大量死亡, 而III型分泌系统 (T3SS) 是杀鲑气单胞菌最核心的毒力因子之一。一般而言, 一种胞外蛋白由9种细菌分泌系统 (即T1SS~T9SS) 中某种特定的分泌系统分泌, 其中T3SS是细菌与宿主或环境相互作用的关键途径, 承担各种致病、共生等相关效应蛋白的分泌和转运。我们在草鱼肠道分离出一株无质粒、不携带T3SS基因簇的杀鲑气单胞菌, 并对草鱼肝脏细胞、鲤鱼上皮细胞无毒性。在杀鲑气单胞菌中功能性合成来自发光杆菌 (*Photobacterium luminescens*) 的T3SS基因簇, 鉴定到一个具有T2SS和T3SS双重分泌途径的分泌蛋白AseJ——当杀鲑气单胞菌中缺失T3SS时, AseJ蛋白可以分泌到胞外; 当存在T3SS时, AseJ蛋白的分泌量显著增加。AseJ效应蛋白N端存在Sec信号肽, 在伴侣蛋白DsbA协助下, 通过T2SS系统分泌到胞外; 其N端18aa同时是III型效应蛋白信号元件, 经T3SS分泌到胞外。通过T2SS和T3SS串联的双重分泌途径运输的AseJ蛋白具有外毒素和效应物的双重作用, 可能有助于杀鲑气单胞菌在鱼体感染过程中发挥毒力作用。此外, 我们发现AseJ蛋白与SGNH/GDSL水解酶存在较高同源性, 该类水解酶作为毒力因子在病原菌破坏宿主组织、免疫逃避、调控生物膜形成等方面都发挥重要作用。AseJ蛋白“双重分泌途径”的现象可能是细菌通过多途径分泌毒力因子的适应性策略, 从而增强杀鲑气单胞菌在不同环境下的适应性和毒力, 是细菌在进化中高度适应性的表现。这项研究将有助于深化对水产动物病原菌中毒力因子多种分泌途径的认识, 为研究其他水生动物病原菌中毒素多重分泌途径提供新思路。

关键词: 杀鲑气单胞菌; AseJ效应蛋白; III型分泌系统; II型分泌系统

首例黄鳝源鳊鱼诺卡氏菌的分离鉴定、致病性及传播溯源研究

田甜甜, 阎丙真, 周辉, 张永安*, 周洋*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 本研究于 2024 年 9 月在江西南昌和上饶多家养殖场进行黄鳝流行病学调查, 结果发现, 部分养殖黄鳝出现肛门红肿及内脏白色结节样病变。组织病理学分析表明, 病鱼内脏组织呈现典型的坏死性肉芽肿结构, 类似诺卡氏菌引起的结节病变。为明确致病病原, 本研究自发病黄鳝病灶组织中分离到均一的浅黄色、沙粒状、干燥菌落, 革兰氏染色可见紫色细长分支状细菌。通过全基因组测序及系统发育分析鉴定其为鳊鱼诺卡氏菌 (*Nocardia seriola*), 并命名为 HZAU2505。流行病学统计显示, 发病养殖场黄鳝感染率为 22.86% (8/35)。进一步对感染来源进行追溯, 从发病养殖场采集的 11 份黄鳝饵料冰鲜鱼样品进行鳊鱼诺卡氏菌检测, 检出阳性率达到 90.9% (10/11), 提示饵料冰鲜鱼可能为潜在感染源。药敏结果显示, HZAU2505 菌株对多西环素、新霉素和环丙沙星敏感, 但对恩诺沙星耐药。回归感染实验结果表明 HZAU2505 菌株对健康黄鳝具有致病性, 感染剂量为 10^7 CFU/尾时, 黄鳝死亡率为 80%, 感染个体表现为反应迟钝、摄食减少、肛门突出及内脏白色结节等临床症状, 与自然发病的黄鳝症状相似。持续监测显示, 感染 21 天后黄鳝增重率下降 17.7%, 并伴有血清甘油三酯水平显著升高, 提示该感染严重影响黄鳝生长代谢及健康状态。本研究首次发现了黄鳝感染鳊鱼诺卡氏菌, 且冰鲜饵料鱼是重要的感染源, 并开展了药敏试验和回归感染实验, 研究结果在“药物残留问题攻坚治理”的大背景下将为黄鳝细菌病的精准防控提供重要的科学依据。

关键词: 黄鳝; 鳊鱼诺卡氏菌; 回归感染; 全基因组测序; 耐药性

***tetR* 基因在嗜水气单胞菌耐四环素中的功能研究**

沈南南^{1,2}, 秦婷², 陈凯², 潘良坤², 谢骏², 习丙文^{1,2*}

1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;
2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081

摘要: TetR 家族转录调控因子(TetR family transcriptional regulators, TFRs)在细菌中广泛存在, 参与大肠杆菌经典的四环素耐药调控, 动态调控外排泵基因的表达。为探究外排泵介导嗜水气单胞菌耐四环素的作用机制, 本研究以对四环素敏感的嗜水气单胞菌 NJ-35 为研究对象, 采用 RNAi 技术构建 *tetR* 稳定沉默株 AH*tetR*, 并利用 qRT-PCR 检测基因沉默效果。通过测定野生株 NJ-35 与沉默株 AH*tetR* 对四环素类抗生素的药物敏感性、生物膜形成能力和外排泵功能, 初步探究 *tetR* 在嗜水气单胞菌耐四环素中的作用。结果表明, 与野生株 NJ-35 相比, 沉默株 AH*tetR* 的 mRNA 的表达量降低了 65%。药物敏感性试验表明, 沉默株 AH*tetR* 对四环素类抗生素(四环素、多西环素和米诺环素)的耐药性均增加。生物膜形成能力测定结果显示, 野生株 NJ-35 与沉默株 AH*tetR* 的生物膜形成能力没有显著差异($P > 0.05$)。罗丹明 B 外排试验结果显示, 与野生株 NJ-35 相比, 沉默株 AH*tetR* 罗丹明 B 荧光强度显著降低($P < 0.05$), 表明沉默株 AH*tetR* 的外排泵活性增强。此外, RNA-seq 和非靶向代谢组联合分析发现了参与 *tetR* 介导的嗜水气单胞菌耐药性相关的重要功能基因和代谢通路。综上, 本研究验证了环境中的嗜水气单胞菌获得四环素类抗生素耐药性与 *tetR* 基因有关。

关键词: 嗜水气单胞菌; TetR家族转录调控因子; 四环素耐药; 代谢通路

多子小瓜虫的桡足类捕食天敌及其摄食效能研究

王立军^{1,2}, 李金龙^{1,2}, 刁丙文^{1,2*}, 秦婷², 陈凯², 谢骏²

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

摘要: 多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 是一种广泛分布的高致病性淡水鱼类寄生纤毛虫, 对全球水产养殖业构成严重威胁。现有防控方法在效果和安全性上的局限, 使生物防治成为可行的替代方案。本研究利用荧光标记活体掠食体、PCR 以及 eDNA 宏条形码技术在池塘原位环境中鉴定出多种小瓜虫的天然桡足类捕食者, 其中近邻剑水蚤 (*Cyclops vicinus*) 最为优势, 台湾温剑水蚤 (*Thermocyclops taihokuensis*) 次之。通过室内捕食实验评估了两种剑水蚤对小瓜虫掠食体的捕食效率。结果显示, 两种剑水蚤均能显著降低不同梯度培养液中的掠食体密度, 摄食率随掠食体浓度增加而升高, 摄食功能符合 Holling II 模型; 光照显著提高了近邻剑水蚤的摄食率, 而对台湾温剑水蚤无明显影响。在高掠食体浓度下 (133.3~166.7 cell/mL), 近邻剑水蚤的摄食率显著高于台湾温剑水蚤, 表明其在捕食掠食体时更具优势。基于 18S rDNA 宏条形码技术进一步揭示了近邻剑水蚤的杂食性特征, 并发现其对纤毛虫 ($E=0.34$) 具有正向摄食选择。综上所述, 近邻剑水蚤作为生物防治因子对多子小瓜虫具有显著潜力, 对水产养殖病害的可持续管理具有重要意义。

关键词: 多子小瓜虫; 近邻剑水蚤; 台湾温剑水蚤; 宏条形码技术; 生物防治

东星斑烂身病病原的分离鉴定及其生物学特性研究

修云吉 1,2, 林小婉 2, 姜力榕 1, 林依萍 1, 王磊 2, 陈松林 2,*

¹ 青岛农业大学, 海洋科学与工程学院, 青岛, 266109

² 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室, 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛, 266071

摘要: 豹纹鳃棘鲈 (*Plectropomus leopardus*), 又名东星斑, 为名贵海水养殖鱼类, 近年来其养殖范围和规模正逐渐扩大。然而, 东星斑养殖过程中病害频发, 尤其以烂身病最为严重, 造成巨大经济损失。因此, 烂身病病原的分离鉴定及其生物学特性研究已成为东星斑养殖业的迫切需求。本研究开展了组织病理学检查、宏病毒组学测序、流行病学调查、回归感染实验、细菌基因组测序比较、药敏实验和血清型分析, 对潜在致病原进行了分离鉴定, 并对其生物学特性进行研究。患病鱼肝脏和脾脏表现出明显的组织病变, DNA 宏病毒组学和 RNA 宏病毒组学测序并未发现潜在致病原。从万宁、文昌等海南省多地分离出 97 株细菌, 包括 56 株哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*)、17 株欧文氏弧菌 (*Vibrio owensii*)、16 株轮虫弧菌 (*Vibrio rotiferianus*) 以及 8 株美人鱼发光杆菌美人鱼亚种 (*P. damsela subsp. damsela*), 回归感染重复出了与自然发病鱼相似的症状。哈维氏弧菌强毒株和弱毒株基因组测序比较发现, 强毒株携带更多质粒, 强毒株中普遍携带荚膜多糖基因簇 (*cps cluster*) 等。药敏实验结果表明, 哈维氏弧菌对阿莫西林、氟甲喹、强力霉素、磺胺间甲氧嘧啶钠高度耐药; 对硫酸新霉素、甲砒霉素、复方新诺明部分耐药, 对恩诺沙星、氟苯尼考相对敏感, 抑制效果较突出。上述哈维氏弧菌至少存在两种血清型, 其中 60.7% 的哈维氏弧菌属于 OVH-2409 血清型。综上所述, 本研究分离鉴定了东星斑烂身病病原, 并对其生物学特性进行了深入研究, 为后续东星斑烂身病防控提供重要理论依据和实践指导。

关键词: 东星斑, 烂身病, 哈维氏弧菌, 药物敏感性, 血清型

FUSK-FUSR 感应碳源调控杀鱼爱德华氏菌毒力的作用机理

刘文文, 慕翠敏, 于兰萍, 王雪鹏*

山东农业大学动物医学院, 泰安 271000

摘要: 杀鱼爱德华氏菌 (*Edwardsiella piscicida*) 是一种重要的水产病原菌, 具有显著的致病性和广泛的宿主谱, 对养殖业构成严重威胁。双组分系统 (Two-component systems, TCSs) 作为细菌响应环境变化的重要信号转导机制, 在病原菌的毒力调控和适应性过程中发挥关键作用。本研究围绕 FUSK-FUSR 双组分系统展开, 初步探讨了其在细菌碳源利用、毒力因子调控、跨膜信号感知等方面的潜在功能, 并构建相关基因缺失株开展系统功能分析。该研究为进一步揭示 *E. piscicida* 的致病机制及其环境适应策略提供了理论基础和研究思路。

关键词: 杀鱼爱德华氏菌; 双组份系统; 毒力调控; 信号转导

患病斑点叉尾鮰杯状病毒的鉴定及组织病理学观察

李若冰¹，刘文枝²，胡田¹，杨嘉¹，王浩^{1,*}

¹上海海洋大学水产与生命学院，上海 201306

²中国水产科学院长江水产研究所，武汉 430000

摘要：斑点叉尾鮰（简称鮰鱼）作为我国重要的淡水养殖经济鱼类，《2024 中国渔业统计年鉴》数据显示鮰鱼 2023 年养殖产量约 44.1 万吨，加工量约为 4.65 万吨。近年来，鮰鱼养殖出现春季暴发性疾病（有部分文献报道称为越冬综合征），该病最先于 2004 年 4 月在四川、重庆、贵州和湖北等地开始流行，具有发病急、发病面积广、死亡率高、传播快等特点，且常规药物治疗往往效果较差。2017 年春季，江苏沿海地区也开始大面积暴发该病，且发病率和死亡率也呈逐年递增的趋势。盐城地区某规模化养殖场自 2019 年转养鮰鱼后，在 2022 年也爆发该病，造成重大经济损失。本研究从该养殖场收集到患病濒死斑点叉尾鮰样品，临床症状表现为头部、口腔、下颌和鳍基部出血。采集病鱼肝、脾、肾、鳃组织进行病原检测，PCR 与 qPCR 检测结果显示杯状病毒呈现阳性，通过宏病毒组学测序经 BLAST 比对分析进一步证实患病斑点叉尾鮰存在杯状病毒感染。宏病毒组测序数据显示，杯状病毒序列 RPKM 占全部 RNA 病毒序列 RPKM 的 6.94%，其中占已鉴定 RNA 病毒序列 RPKM 的 99.91%。组织病理学结果显示，病鱼脾脏出现骨髓空泡化、萎缩，同时伴有骨髓增生，且淋巴细胞增多并聚集，呈现核大质边缘的特征；肾小球、近曲小管等结构出现病变，存在核固缩现象，还可见空泡形成。同时，利用透射电子显微镜观察到病鱼脾脏和肾脏中疑似的杯状病毒粒子，呈圆形，直径约 50 nm，无囊膜。此外，我们利用斑点叉尾鮰肾细胞（CCK）分离并纯化出杯状病毒粒子，并构建体内攻毒模型，接种健康斑点叉尾鮰观察发病症状与病程，评估体内致病效应，为后续开展斑点叉尾鮰杯状病毒的致病机制的研究、开发防控技术及保障产业健康发展提供理论依据。

关键词：斑点叉尾鮰；越冬综合征；杯状病毒；宏病毒组；分离鉴定

新疆河鲈源嗜水气单胞菌生物学特性及全基因组分析

马玉兰¹ 孙赫¹ 李志恒¹ 杨钰盟¹ 柳方¹ 夏深圳¹ 杨圆圆¹

岳城¹ 郝翠兰^{1,2*}

1.新疆农业大学动物医学学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆草食动物新药研究与创制重点实验室, 乌鲁木齐 830052

摘要: 为探究新疆患病河鲈体内分离的致病性嗜水气单胞菌的病原及特征, 从患病河鲈分离病原。结合细菌形态特征、生化试验、16S rRNA 基因测序进行鉴定, 通过 pcr、药敏试验、全基因组序列等对菌株进行耐药性、致病性、功能分析。结果显示: 从患病河鲈的肝、脾、肾脏中分离得到 1 株优势菌, 命名为 XJAUHY, 为革兰氏阴性短杆菌, 其甘露醇、蔗糖、阿拉伯糖等试验呈阳性, 肌醇等试验呈阴性, 经生化和 16S rRNA 试验鉴定出该菌为嗜水气单胞菌。检测到 ast、Ahp、Aer、fla、Act 等几种毒力基因; 嗜水气单胞菌 XJAUHY 对多粘菌素 B、米诺环素、阿米卡星、氟苯尼考等药物表现敏感, 对万古霉素、头孢氨苄、氨苄西林、青霉素、恩诺沙星等药物表现耐药; 其全基因序列总长度为 2 038 838 934 bp, GC 含量为 60.69%, 共预测到 4878 个编码基因; 比对到 1341 个与黏附、侵入以及免疫调节等相关的毒力因子; 预测到嗜水气单胞菌 XJAUHY 携带氨基糖苷类、磺胺类、四环素类等 26 个耐药基因; 试验明确了嗜水气单胞菌 XJAUHY 的生物学特性, 预测了其毒力因子及耐药基因携带情况, 分析了各基因的功能, 提出使用氟苯尼考粉(水产用)的用药建议, 为嗜水气单胞菌功能基因组学、基因工程疫苗方面的研究提供基础数据。

关键词: 嗜水气单胞菌; 全基因组; 毒力基因; 耐药基因;

非 O1/O139 群霍乱弧菌 HapR 介导的群体感应调控机制

陈安婷, 高晓建, 张晓君*

扬州大学动物科学与技术学院, 扬州, 225009

摘要: 非 O1/O139 群霍乱弧菌 (non-O1/O139 *Vibrio cholerae*) 是水产养殖中重要的致病菌, 该菌能在不良环境胁迫下长期存活, 导致疾病持续且反复暴发。群体感应系统 (Quorum Sensing, QS) 在细菌适应多种环境胁迫过程中扮演关键角色, 其中 *hapR* 是霍乱弧菌群体感应系统核心的泛调控基因, 对细菌的逆境存活能力及致病性等多方面具有重要调控作用。为探究 *hapR* 基因在非 O1/O139 群霍乱弧菌逆境生存及毒力调控中发挥的关键作用, 本研究通过同源重组技术构建了 *hapR* 缺失株 ($\Delta hapR$) 及其回补株 ($\Delta hapR::pBBR1-hapR$), 对三者的生长、环境胁迫下、存活率、运动能力、生物膜形成能力、自凝集能力以及致病性进行了测定, 结果表明, *hapR* 基因缺失对正常培养条件下细菌生长未产生显著影响; $\Delta hapR$ 菌株的运动能力显著下降, 且在不同 H_2O_2 、乙醇、盐度浓度和寡营养条件下, $\Delta hapR$ 生长受到明显抑制; 但生物膜的形成量和自凝集能力显著增加, 通过非 O1/O139 群霍乱弧菌人工感染罗氏沼虾, 结果显示, *hapR* 缺失后菌株毒力增加, *hapR* 可以抑制非 O1/O139 群霍乱弧菌的毒力。为了进一步探究 *hapR* 基因的调控机制, 通过 $\Delta hapR$ 与野生株 WT 进行转录组测序分析, 结果表明 *rpoS* 等环境应答调节基因及鞭毛组装相关显著下调表达, 而溶血素、六型分泌系统、白细胞素家族成孔毒素等毒力相关基因显著上调表达。表型研究和 RNA-Seq 测序分析, 表明 *hapR* 基因通过下调非 O1/O139 群霍乱弧菌生存以运动相关基因的表达, 进而导致其对抗环境胁迫和运动能力下降, 通过上调毒力相关基因的表达, 导致其毒力增加, 表明 *hapR* 可以抑制毒力基因的激活。研究结果表明 *hapR* 在非 O1/O139 群霍乱弧菌逆境生存、毒力及感染宿主过程发挥重要调控作用, 为有效控制非 O1/O139 群霍乱弧菌的传播与感染提供理论基础。

关键词: 非 O1/O139 群霍乱弧菌; 群体感应; *hapR* 基因; 毒力

鲟源海分枝杆菌的分离鉴定及免疫防控研究

胡思美, 李骞, 谢梦, 丁广义, 余佩佩, 龚可立, 杨硕, 许巧情*

长江大学中华鲟病害研究所, 荆州 434020

摘要: 针对鲟鱼养殖中海分枝杆菌 (*Mycobacterium marinum*) 引发的“鱼结核病”问题, 本研究旨在分离鉴定病原菌, 阐明其致病机制, 并探索免疫防控策略。从患病中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 腹腔积液中分离病原菌, 通过形态学、16S rRNA 系统进化及全基因组测序进行鉴定; 通过体内和体外感染模型结合组织病理学、免疫基因表达分析研究致病性; 原核表达毒力蛋白 ESPK, 筛选其宿主互作蛋白并解析免疫调控机制; 基于 IFN- γ 全血 ELISA 建立快速检测方法; 研究 IFN- γ 、IFNf 及其活性多肽 IFNf- $\alpha 4$ 的免疫调控与抗菌机制; 从健康鲟肠道筛选有抑菌效果的芽孢杆菌。成功分离鉴定一株海分枝杆菌 (16S rRNA 同源性 99%), 感染后导致多器官肉芽肿病变, 90 天存活率仅为 44.5%, 促炎因子和干扰素 IFN $\epsilon 1$ 调控机体早期炎症反应。毒力蛋白 ESPK 通过激活 NF- κ B、TNF 等通路及上调 I 型 IFN 调控免疫反应, 并与 44 个宿主蛋白互作。建立的 IFN- γ ELISA 检测方法 (cutoff 值 ≥ 14 pg/mL) 可快速诊断感染。IFN- γ 能够增强巨噬细胞杀菌能力, IFNf 能够上调免疫基因表达, IFNf- $\alpha 4$ 可以直接破坏病原菌, 提高感染鲟鱼存活率至 78.8%。筛选出的南海假芽孢杆菌对病原菌具有显著抑制效果。本研究明确了海分枝杆菌较强的致病性, 建立了快速检测方法, 并证实 IFN- γ 、IFNf、IFNf- $\alpha 4$ 多肽及南海假芽孢杆菌可有效防控该病, 为鲟鱼结核病的综合防控提供了新策略。

关键词: 海分枝杆菌; 致病性; 干扰素; 芽孢杆菌; 免疫防控

Slp 介导溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 生物被膜形成及 D-葡萄糖抑制机制研究

史伟卜, 李亚, 孙子豪, 陶震, 张卫卫*

浙江海洋大学水产学院, 舟山 316022

摘要: 溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 是水产养殖环境中普遍存在的条件性致病菌, 生物被膜可增强溶藻弧菌对宿主组织的黏附能力、环境适应及抗生素耐药性。尽管生物被膜在溶藻弧菌致病过程中扮演关键角色, 但其形成的分子调控机制仍存在诸多未知。本研究以前期筛选出的强生物被膜菌株溶藻弧菌 R9 为研究对象, 通过甲基磺酸乙酯 (EMS) 化学诱变获得生物被膜缺陷突变株 R9-12, 利用单核苷酸多态性 (SNP) 分析筛选得到与生物被膜形成有关的饥饿诱导外膜脂蛋白 (Slp)。进一步通过基因敲除、回补及细菌双杂交实验, 证实了 Slp 蛋白通过介导菌体自聚集促进生物被膜形成。外源添加 Slp 蛋白不仅可明显恢复 *slp* 敲除株的生物被膜量, 还明显促进突变株 R9-12 的生物被膜形成。启动子活性及凝胶滞缓实验 (EMSA) 实验证明, Slp 表达受 cAMP-CRP 信号通路调控, Crp 蛋白可直接结合 *slp* 启动子并激活 *slp* 基因的转录。另外, 还对 5 种碳源影响生物被膜的活性进行了测定, 结果发现 D-葡萄糖可显著抑制溶藻弧菌生物被膜形成, 抑制率高达 87.2%。实时荧光定量和酶活测定实验表明, D-葡萄糖主要通过抑制 *slp* 表达、降低 AceA 活性抑制生物被膜的形成。进一步对虾感染实验表明, 饲料中添加 0.5%D-葡萄糖可使凡纳对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 感染存活率提升 47.4%, 肠道弧菌定殖量减少, 并缓解了肠道组织病理损伤。本研究揭示了关键基因在溶藻弧菌生物被膜形成中的功能与调控机制, 为开发新型抗生物被膜抑制剂提供了理论依据与新的靶位点, 为水产养殖病害防控技术的发展奠定了基础。

关键词: 溶藻弧菌; 生物被膜; Slp; D-葡萄糖

GCRV-II 病毒分离鉴定及敏感细胞系构建

丁广义, 孔维光, 朱宇超, 张秋实, 张环宇, 徐镇*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 出血病 (GCHD) 是一种危害性极强的病毒性疾病, 对淡水养殖业造成重大经济损失。本研究调查了一起大规模养殖草鱼的 GCHD 暴发事件, 并确诊其病原为草鱼呼肠孤病毒 II 型 (GCRV-II) 感染。值得注意的是, 苏木精-伊红 (H&E) 染色显示患病鱼的脾脏、头肾、鳃和肠道组织出现严重病理学变化。进一步对病毒分离株进行全基因组测序, 通过多序列比对和系统发育树分析表明该毒株为 GCRV-II 的新型变异株, 名为 GCRV-YX246。通过人工感染实验证实 GCRV-YX246 具有强致病性和高致死率, 导致感染鱼出现严重的病理损伤, 并在脑组织中具有高病毒载量。但是关于 GCRV-II 病毒入侵机制尚不清晰, 究其主要原因是缺乏相关敏感细胞系。鉴于草鱼脑是 GCRV-II 的嗜性组织, 我们采用脑组织块迁移法, 分离培养, 筛选出 1 株高敏感的脑细胞株。通过 qPCR 和病毒滴度检测, 发现其最高拷贝数高达 10^9 copies/ μ g RNA 和 5.93×10^5 TCID₅₀/mL。本研究首次鉴定出中国大规模养殖草鱼中新型呼肠孤病毒的存在并建立一株高敏感的草鱼脑细胞株, 为 GCRV-II 感染入侵机制研究和草鱼出血病疫苗研制研究提供了重要生物材料。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒, 病毒鉴定, 致病性, 敏感细胞系

GCRV-II 病毒感染草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 脑诱导行为异常的作用机制研究

杨鹏, 孔维光, 蔡畅, 石勇, 蒋志豪, 丁广义, 程高锋, 张秋实, 徐镇*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 草鱼呼肠孤病毒 (Grass Carp Reovirus, GCRV) 引起的草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 出血病是危害草鱼养殖的主要疫病, 受感染个体常表现出周期性的旋转、身体失衡、翻滚及反应迟钝等一系列特征性行为异常。然而, 其背后的致病机制, 特别是病毒如何影响中枢神经系统并导致行为障碍, 尚不明确。

本研究旨在系统性解析 GCRV-II 病毒诱导草鱼行为异常的作用机制。我们首先通过高速摄像与轨迹追踪软件, 对感染病鱼的行为进行了量化分析, 精准定义了其异常运动模式。随后, 我们应用单细胞转录组测序 (scRNA-seq) 技术, 对不同感染时期的草鱼脑组织进行了高分辨率解析, 旨在绘制病毒侵染过程中的脑部细胞图谱和动态转录调控网络。我们的研究发现: (1) GCRV-II 病毒能够有效突破血脑屏障, 入侵中枢神经系统; (2) scRNA-seq 分析揭示, 病毒入侵影响了脑内的胶质细胞 (如星形胶质细胞、小胶质细胞等), 而非神经元, 并引发胶质细胞的剧烈炎症反应和功能损伤; (3) 病毒经由 ErbB 信号通路损伤破坏了胶质细胞的微环境稳态和正常的神经信号传导, 这被认为是导致行为异常的主要原因。为验证这一机制, 我们进一步通过敲降干扰胶质细胞功能, 模拟病毒感染导致的行为异常表型; 另外, 使用保护性药物缓解胶质细胞损伤, 探究其是否减轻病鱼的行为障碍。

本研究从单细胞分辨率层面揭示了 GCRV-II 病毒侵染中枢神经系统并诱发行为异常的细胞和分子机制。研究成果将为开发阻断病毒入脑的精准防控策略提供新颖的理论靶点, 提供选育抗 GCRV 病毒的草鱼优良品种的关键分子标记, 为保障养殖动物的健康与福利提供了核心科技支撑。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒 (GCRV-II); 行为异常; 血脑屏障; 单细胞转录组; 胶质细胞; 致病机制

坏鳃指环虫趋光性研究

程厚达, 汤雨欣, 王桂堂, 李文祥*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 坏鳃指环虫 (*Dactylogyrus vastator*) 是一种常见于鲤 (*Cyprinus carpio*) 与鲫 (*Carassius auratus*) 鳃部的单殖吸虫, 其幼虫虽被认为具有趋光性, 但相关行为机制缺乏系统研究。为此, 我们利用自制实验装置, 探讨了坏鳃指环虫幼虫的趋光行为及其在宿主感染中的作用。在趋光性实验中, 我们将 40 只幼虫均匀置于实验装置 (8cm × 2cm × 2cm) 的四个区域, 并于装置一端施加不同强度的光照, 以分析光照强度与虫龄对其趋光行为的影响。结果显示, 坏鳃指环虫幼虫表现出正趋光性, 其趋光反应随光照强度的增强而增强。同时, 趋光行为随幼虫虫龄变化呈先增强后减弱的趋势, 在孵化后第 2 小时达到峰值, 之后逐渐减弱, 直至第 72 小时仍未出现负趋光性; 在单侧光感染实验中, 我们将幼虫投入鱼缸 (1.2m × 0.4m × 0.4m) 中间, 鱼缸一侧放置宿主, 另一侧设置 9000lx 的光源, 以评估趋光性在感染过程中的作用。结果显示, 光照组感染率显著高于黑暗组 ($p < 0.05$), 感染丰度也大于黑暗组。结果表明, 尽管坏鳃指环虫幼虫对强光表现出强烈的正趋光行为, 但强光并不能将其诱导至无宿主侧; 相反, 与黑暗条件相比, 光照显著提高了幼虫的感染率与感染丰度。本研究深化了对坏鳃指环虫幼虫趋光行为及其生态功能的理解, 为该虫的生态防控提供了理论依据。

关键词: 坏鳃指环虫; 光照; 虫龄; 宿主感染; 趋光性

草鱼源嗜冷黄杆菌的生物学特性及全基因组测序分析

莫绪兵, 刘丽娟, 任燕, 王庆, 余胜, 张德锋 *

中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部渔用药物创制重点实验室, 广东省水产动物免疫与绿色养殖重点实验室, 广东广州 510380

摘要: 本研究从具有典型越冬综合症的患病草鱼体内分离到 1 株潜在病原菌 Ci2402 株, 通过对其生物学特性和全基因组测序分析, 为今后该菌引起的疾病防控提供科学依据。从患病草鱼体内分离一株优势菌株 Ci2402, 通过 16S rRNA 基因测序判定菌株的种属关系, 测定分离菌株 Ci2402 的运动性、胞外蛋白酶活性、溶血活性等生物学特性, 采用多重 PCR 技术分析 Ci2402 菌株的血清基因型, 采用药敏纸片法和微量稀释法测定 Ci2402 菌株的药物敏感性, 采用肌肉注射方式测定 Ci2402 菌株的致病性, 通过全基因组测序分析 Ci2402 菌株的基因型、分泌系统、毒力基因以及遗传进化关系。结果显示, 分离菌株 Ci2402 被鉴定为嗜冷黄杆菌 (*Flavobacterium psychrophilum*), 该菌具有滑动能力、胞外蛋白酶活性以及溶血活性, 血清基因型为 Type 1 型 (血清 Fd 型)。Ci2402 菌株对恩诺沙星、氟苯尼考、新霉素、四环素、多西环素、甲氧苄啶+磺胺甲噁唑、红霉素和青霉素等药物敏感, 但是对万古霉素、庆大霉素和妥布霉素耐药。致病性试验结果显示 Ci2402 菌株在高剂量 ($\geq 10^8$ CFU/尾) 感染条件下对草鱼具有致病性, 在低剂量感染条件下对草鱼致死率低。全基因组测序分析结果显示 Ci2402 菌株存在 Sec 分泌系统和 T9SS 分泌系统, 以及胶原酶、蛋白酶、溶血素、嗜冷金属蛋白酶 Fpp1、TonB 依赖受体等毒力相关基因。Ci2402 菌株 MLST 分析结果显示为 ST51 型, 全基因组序列的系统进化分析结果显示 Ci2402 菌株与鲫源嗜冷黄杆菌 NJ01 的亲缘关系最近, 且具有极高的共线性关系。本研究通过对 Ci2402 的生物学特性和全基因组测序分析, 为草鱼越冬综合症的病原学和致病机制研究奠定了基础。

关键词: 草鱼; 越冬综合症; 嗜冷黄杆菌; 基因组; MLST

一株具有拮抗活性和肠道定殖特性的乳酸乳球菌

陆虹羽, 王亚军, 任燕, 莫绪兵, 詹裕添, 王庆, 张德锋*

中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部渔用药物创制重点实验室, 广东省水产动物免疫与绿色养殖重点实验室, 广东广州 510380

摘要: 本研究为获得用于防控鱼类细菌病的水生动物源益生菌, 从健康草鱼肠道和体表黏液中筛选出生物安全性高、拮抗抑菌活性强和益生特性好的乳酸菌。采集健康草鱼肠道以及体表黏液, 利用 MRS 培养基分离纯化乳酸菌。通过测定分离菌株的拮抗活性、溶血活性, 从肠道中筛选出候选菌株 GCC10, 并分析菌株的形态特征和分类学地位, 测定其胞外酶活性、药物敏感性、胆汁耐受能力、肠道定殖能力和生物安全性。通过全基因组测序分析评估 GCC10 菌株的生物安全性和潜在的益生功能。结果显示分离菌株 GCC10 为革兰氏阳性, 菌体单个或成对排列, 根据分子生物学分析被鉴定为乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)。该菌无溶血活性, 且具有胞外蛋白酶活性、耐受胆汁能力和肠道定殖能力, 可在草鱼肠道定殖 7 d 以上。致病性试验结果显示 GCC10 菌株腹腔注射和灌胃两种方式感染草鱼均表现出良好的安全性。药敏试验结果显示 GCC10 菌株对四环素、多西环素、红霉素、氯霉素、恩诺沙星、氟苯尼考、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑+甲氧苄啶等抗菌药物均敏感。全基因组测序分析表明 GCC10 菌株不含有 *cylA*、*gelE*、*esp*、*agg*、*gelE*、*hyl* 和 *ace* 等毒力基因, 但是含有与应对冷热压力、耐胆酸盐、耐酸、免疫调节、蛋白水解和黏附因子等基因以及产乳球菌素相关的基因簇。生防作用评价显示该菌对气单胞菌引起的细菌性败血症具有较好的保护效果。本研究筛选出一株生物安全性良好、拮抗抑菌活性强且能够肠道定殖的乳酸乳球菌 GCC10, 该菌表现出优良的益生特性, 为防控鱼类细菌病提供了一种优良的种质资源, 作为水产动物减抗替抗用防控新产品具有较好的开发应用潜力。

关键词: 乳酸乳球菌; 拮抗活性; 肠道定殖; 基因组

来源于三代虫排泄/分泌产物的丝氨酸蛋白酶抑制剂的鉴定与功能研究

陈劲松*¹, 骆磊, 庄景裕, 黄盛丰, 杨廷宝

中山大学生命科学院, 广州 510275

摘要: 寄生虫是我国养殖鱼类三大病害之一, 给养殖业带来巨大经济损失。已有研究表明, 多种寄生虫在寄生过程中可通过排泄/分泌蛋白来调节宿主的免疫反应, 从而实现免疫逃逸。我们的前期研究已在丽鱼三代虫的排泄/分泌产物中鉴定到多个可能与寄生虫免疫逃逸相关的蛋白, 其中包括 serpin 和 kunitz 两种丝氨酸蛋白酶抑制剂, 本研究对丽鱼三代虫的 serpin(GcSerp)和 kunitz(GcKSI)进行了基因克隆与原核表达, 制备了相应的多克隆抗体, 对其进行了基本的功能研究, 并初步评估了其作为疫苗靶点的潜力, 主要得到如下结果。

GcSerp 基因 cDNA 全长 1396bp, 开放阅读框编码 376 个氨基酸, 分子量大小 42.662 kDa; *GcKSI* 基因 cDNA 全长 585bp, 可编码 140 个氨基酸, 预估分子量为 15.768 kDa。免疫组化结果表明, *GcSerp* 主要分布于丽鱼三代虫的头器、口咽以及肠道等部位, 而 *GcKSI* 主要在肠道分布较多。重组表达的 r*GcSerp* 蛋白活性良好, 对于多种丝氨酸蛋白酶(如胰蛋白酶和糜蛋白酶)活性具有抑制作用, 其中 5 μ M 的 r*GcSerp* 可以抑制糜蛋白酶 80%以上的活性; 而 r*GcKSI* 则活性一般, 仅对凝血酶和 FXa 因子具有微弱抑制作用。Western blot 结果表明 *GcKSI* 和 *GcSerp* 在丽鱼三代虫的总蛋白和排泄/分泌蛋白中均大量存在, 并且在被三代虫感染的罗非鱼的体表粘液中, 检测到的 *GcSerp* 含量与三代虫的感染丰度成正比。qPCR 结果表明, 在体感染状态下的三代虫的 *GcKSI* 和 *GcSerp* 表达量, 要比水中游离状态下的三代虫中高出 5 倍以上, 证明在三代虫感染宿主鱼过程中 *GcKSI* 和 *GcSerp* 的表达量会显著升高。我们通过体外实验证明, r*GcSerp* 和 r*GcKSI* 对于罗非鱼补体活性均具有显著的抑制作用, 10 μ M 的 r*GcSerp* 可以抑制罗非鱼补体 50%以上的活性。随后的体外实验与在体感染实验均表明, r*GcSerp* 和 r*GcKSI* 可以显著抑制罗非鱼血清或粘液中的补体对于丽鱼三代虫的杀伤作用, 提升三代虫感染效率 50%以上, 而相反抗体 Anti-*GcSerp* 则显著降低了三代虫感染效率。将 r*GcSerp* 和 r*GcKSI* 通过腹腔注射的方式对罗非鱼进行两次免疫, 在第二次免疫后的第 7 天和第 14 天, 罗非鱼血清和体表粘液中的 IgM 含量均显著高于对照组; 在之后进行的三代虫感染实验中, r*GcSerp* 和 r*GcKSI* 组的三代虫平均感染丰度均极显著低于对照组 5 倍以上, r*GcSerp* 组在感染初期的死亡率相比对照组减少了 50%以上。综上所述, 丽鱼三代虫可以通过排泄/分泌 *GcSerp* 和 *GcKSI* 来抑制宿主鱼的补体活性, 从而帮助其实现免疫逃逸, 并且我们初步证实 *GcSerp* 和 *GcKSI* 具有作为三代虫疫苗靶点的潜力。

关键词: 三代虫; 排泄/分泌蛋白; 丝氨酸蛋白酶抑制剂; 免疫逃逸; 疫苗

基于全基因组序列的鳊诺卡氏菌遗传进化与分子特征分析

杨搏^{1,2}, 赵飞¹, 谭爱萍¹, 王飞飞¹, 巩华¹, 赖迎迢¹, 邓玉婷^{1*}

1 中国水产科学研究院珠江水产研究所 农业农村部渔用药物创制重点实验室 广东省水产动物免疫与绿色养殖重点实验室, 广州 510380

2 天津农学院水产学院, 天津, 300384

摘要: 鳊诺卡氏菌是制约我国水产养殖业可持续发展的重要条件致病菌, 基于基因组学的系统研究不足, 限制了对该菌遗传进化和致病/耐药分子机制的深入认识。本研究旨在通过全基因组测序和比较基因组学分析, 揭示不同地理区域和宿主种类来源鳊诺卡氏菌的遗传进化关系及分子特征, 为后续分子流行病学和致病/耐药机制研究提供参考。选取 10 株我国具有地域和宿主代表性的鳊诺卡氏菌, 采用 DNBSEQ 技术进行全基因组测序。数据经 SPAdes 组装、Prokka 注释后, 利用 roary、snippy、SnpSift、mummer、ISEScan 及 PADLOC 等工具分析菌株的基因组结构组成、单核苷酸多态性、插入序列元件及防御系统, 并构建系统发育树, 了解不同来源鳊诺卡氏菌之间的种群进化关系; 通过毒力/耐药基因数据库的序列比对及文献检索, 筛查潜在毒力/耐药基因的类型及预测其基因功能; 通过药物敏感性试验及耐药基因型比对, 分析耐药表型与基因型的相关性。10 株鳊诺卡氏菌的基因组大小为 7.73~7.94Mbp, GC 含量平均为 67.9%, 基因数为 7,252~7,457 个, 均不含外源质粒; 单核苷酸多态性变异为 390~5,566 个, 均呈现"基因间区突变>错义突变>同义突变>无义突变"的梯度模式; 携带 11~15 个家族的插入序列元件及 10 种类型的防御系统。10 株鳊诺卡氏菌及 4 株 NCBI 发表的鳊诺卡氏菌的全基因组同源性超过 99%, 不同来源的鳊诺卡氏菌可分为三个主要分支, 淡水鱼和海水鱼来源的菌株分别聚类。10 株鳊诺卡氏菌均携带相似类型和功能的毒力基因和耐药基因; 除磺胺间甲氧嘧啶外, 10 株受试菌对 5 种渔用抗菌药物基本敏感; 3 株菌对利福平耐药可能与其利福平结合位点 RpoB2 发生氨基酸突变有关。鳊诺卡氏菌基因组高度保守, 具有遗传稳定性, 本研究不仅深化了我们对鳊诺卡氏菌基因组多样性和进化机制的理解, 还有助于研发针对性的防控技术和治疗手段。

关键词: 鳊诺卡氏菌; 全基因组测序; 遗传进化; 单核苷酸多态性; 毒力基因; 耐药基因

卵形鲳鲹新发弹状病毒的分离鉴定与检测技术的开发

孙恒,王浩宇,黄洁,黄致远,陈小凤,黄郁葱*

广东海洋大学水产学院, 湛江 524088

摘要: 2023 年 8 月至 11 月, 广东省湛江市近海养殖的金鲳鱼 (*Trachinotus ovatus*) 爆发了严重的金鲳鱼动物疫情, 累计死亡率达 65%-82%。患病鱼在大规模死亡前表现出嗜睡、厌食、旋转游动以及鳍基和上下颌出血等临床症状。利用 FHM 细胞成功分离出一株弹状病毒, 命名为 CARPV2023。病鱼组织滤液在 FHM 细胞和 EPC 细胞上产生的细胞病变效应表现为细胞变圆、葡萄状聚集、脱落和裂解。组织病理学检查发现, 自然感染和实验感染的金鲳鱼的脾脏、肝脏、躯干肾和肠道组织出现充血、出血和坏死。电子显微镜观察显示, 从细胞膜出芽或在受感染的 FHM 细胞周围聚集的子弹状病毒颗粒, 长度为 183.5-217.6nm, 宽度为 57.3-82.7nm。该病毒在 33℃下可存活至少 7 天, 在高温时复制速度最快。全基因组测序及系统发育分析进一步表明, CARPV2023 株是一种新的鲤鱼弹状病毒 (CARPV), 与 *Novirhabdoviruses* 弹状病毒同属, 但目前尚未分类。通过腹腔注射和浸泡感染实验发现, 受感染的金鲳鱼 3-4 日内死亡率高达 100%。荧光原位杂交显示, 感染鱼的多个组织中 RNA 呈阳性反应。通过 RT-qPCR 证实脾脏和心脏中的病毒含量最高, 这是首次报道海水鱼中自然感染 CARPV。同时, 为满足快速准确诊断的迫切需求, 开发了基于 TaqMan 探针、靶向病毒 G 蛋白基因且性能优异的定量 PCR (qPCR) 检测方法。特异性测试表明, 该方法与其他水生病原体无交叉反应。对临床和环境样本的广泛验证显示, 两步法和一步法 qPCR 的检测灵敏度均高于常规 PCR。在多个地理位置和采样时期的可靠表现证实了其强大的诊断可靠性, 且对不同水产养殖环境具有良好的适应性。总体而言, 两步法和一步法 qPCR 均为稳健、灵敏且适用于现场的诊断平台, 在疾病监测、疫情早期预警、发病机制研究和水产养殖生物安全方面具有广泛应用。为卵形鲳鲹弹状病毒的综合防控技术奠定基础。

关键词: 卵形鲳鲹; 弹状病毒; 病毒分离鉴定; TaqMan 检测技术;

GCRV-II 感染草鱼后不同肠道片段免疫响应和微生物变化研究

杨欣仪^{1, 2}, 丁广义², 许巧情¹, 孔维光², 徐镇^{2*}

1.长江大学动物科学技术学院, 荆州 434023

2.中国科学院水生生物研究所, 武汉 430070

摘要: 本研究旨在探究草鱼呼肠孤病毒 (GCRV) 感染草鱼后不同肠道区段 (前肠、中肠、后肠) 的免疫应答及微生物群落变化。肠道黏膜免疫系统中, 免疫因子与微生物通过协同作用抵御病原入侵并增强屏障功能, 然而, 不同肠段中微生物与免疫因子所介导的应答差异尚不明确。基于此, 通过系统比较感染后各肠段的病毒载量、组织病理学变化、转录组及微生物组特征, 揭示了其免疫响应机制与菌群结构动态。结果显示, 感染第 7 天为疾病发展关键期, 死亡率与病毒载量达到峰值, 并伴随显著的组织病理损伤和基因表达变化。此时, 各肠段 IgM、IgT 等免疫相关基因及变形菌门 (Proteobacteria) 均显著上调。结果表明, 各肠段对 GCRV 的免疫应答呈现明显的时空梯度与功能特异性。感染初期, 抗病毒免疫应答强度由前向后依次递减 (前肠 > 中肠 > 后肠)。至感染末期, 后肠的抗菌清除功能显著增强, 并优于其他肠段, 体现了肠道免疫在应对感染不同阶段的功能动态转换与区段化分工策略。上述发现首次阐明了草鱼不同肠段在抗 GCRV 免疫中的分工与协同机制, 为深入解析鱼类肠段特异性免疫信号转导途径提供了重要理论基础。

关键词: GCRV, 草鱼, 肠道分段免疫, 转录组, 微生物组

八种鱼类卵巢寄生微孢子虫分子系统发育研究

刘越川¹, 尹琪¹, 刘宇路¹, 戴文静¹, 余建波¹, 刘新华¹

¹ 湖南农业大学水产学院, 长沙, 410128

摘要: 微孢子虫是一类具孢子形成能力的真核专性胞内寄生虫, 宿主范围涵盖几乎所有动物类群, 在养蚕业和水产业中造成严重危害。目前全球已报道微孢子虫超过 200 余属 1800 余种, 近半数寄生于水生生物, 但我国在该领域的研究相对匮乏。为填补这一研究空白, 本团队于 2024 年 10 月在洞庭湖与资江流域开展微孢子虫多样性调查。在花鲢、翘嘴鲌、银飘鱼、鳊、赤眼鳟、细鳞鲴、蒙古鲌和鲂的卵巢中均发现大小各异的白色孢囊。经镜检, 为微孢子虫感染所致。基于 18S rDNA 的比较分析发现, 8 种鱼类卵巢寄生微孢子虫的 18S rDNA 序列与拟卡巴塔那虫 (*Pseudokabatana alburnus*) 相似度最高, 分别达到 99.06%、94.13%、99.35%、96.68%、96.09%、96.61%、96.53% 和 96.25%。组织病理学观察表明, 寄生于花鲢、赤眼鳟、银飘鱼、细鳞鲴和鳊卵巢的微孢子虫主要定殖于卵巢结缔组织内, 且未引发明显的炎症反应。系统发育分析结果显示, 寄生花鲢和银飘鱼卵巢的微孢子虫与拟卡巴塔那虫处于同一进化分枝, 而其余 6 种鱼类卵巢寄生的微孢子虫形成另一分枝, 但仍与前者聚为一个大分支; 这表明 8 种鱼类卵巢寄生的微孢子虫在亲缘关系上极为相近。

刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*) cathepsin B 基因的毕赤酵母表达与活性研究

池洪树, 江秋欢, 潘滢, 刘晓东, 林能锋, 龚晖*

福建省农业科学院生物技术研究所, 福州, 350003

摘要: 刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*) 是养殖海水鱼面临的最具危害性的寄生虫之一, 其组织蛋白酶 B (cathepsin B, CSTB) 可能在寄生与侵染过程中发挥关键作用。为明确刺激隐核虫组织蛋白酶 B (*CiCSTB*) 的特性, 本研究对该基因进行密码子优化, 构建至 pPICZαA 载体并转化毕赤酵母 (*Pichia pastoris*) X33 菌株实现真核表达, 经镍柱亲和层析纯化目的蛋白, 并通过 SDS-PAGE 和 Western Blot 验证。利用纯化的 y*CiCSTB* 蛋白免疫小鼠制备多克隆抗体血清, 借助激光共聚焦技术观察 *CiCSTB* 在幼虫体内的定位分布, 采用明胶酶谱法初步验证蛋白酶活性, 并基于荧光底物 (Z-Arg-Arg-AMC) 测定 y*CiCSTB* 的酶动力学参数 (K_m 、 V_{max})。同时分析了不同 pH、温度、金属离子环境以及抑制剂 E-64、抗 y*CiCSTB* 血清作用下的相对酶活力。SDS-PAGE 与 Western Blot 分析表明, 纯化的 y*CiCSTB* 蛋白分子量约为 50.19 kDa。激光共聚焦结果显示 *CiCSTB* 主要分布于幼虫胞质内; 明胶酶谱证实 y*CiCSTB* 在含还原剂的 pH 5.2 溶液中可有效降解明胶; 其酶动力学参数 V_{max} 为 5.02 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$, K_m 值为 262.2 μM 。y*CiCSTB* 在 pH 5.0 时酶活力最高, pH > 6.5 时相对酶活显著受抑 (<2.1%)。不同温度下相对酶活力分别为: 16°C (42.12%)、28°C (85.83%)、37°C (88.41%)、45°C (100%)、55°C (76.06%)、65°C (9.65%)。Mg²⁺ (0.5 mM) 可提升酶活性, 而 0.5 mM Cu²⁺ 则完全抑制蛋白酶活性。抑制剂 E-64 及抗 y*CiCSTB* 血清均能显著抑制 y*CiCSTB* 酶活性, 且抑制效果呈浓度依赖性。本研究成功实现 *CiCSTB* 蛋白的真核表达并解析其酶学特征, 为深入探究该蛋白在刺激隐核虫侵染和寄生过程中的功能奠定了基础。

关键词: 刺激隐核虫; 组织蛋白酶 B; 酵母表达; 酶活性

碘泡科粘孢子虫孢子形态演化研究

赵晓静, 戴文静, 杨医静, 刘新华*

湖南农业大学水产学院, 长沙 410128

摘要: 作为一种起源于刺胞动物（水母、水螅、珊瑚等）的微小寄生生物，粘孢子虫物种多样性及其在长期适应寄生生活的过程中所发生的演化事件一直都是本领域研究前沿热点。粘孢子虫种类丰富，孢子形态多样，孢子形态是粘孢子虫重要分类衍征之一，关于孢子形态多样性及其在不同科、属间演化历程至今缺乏解析。本研究选取粘孢子虫中物种最为丰富的碘泡科（*Myxobolidae*）为研究对象，综合运用传统形态学、几何形态学、分子生物学等方法，理清碘泡科粘孢子虫孢子形态多样性及其演化历程。结果显示：（1）基于我们采集与已有文献记载的碘泡科物种（共 1061 种），传统形态学记载的孢子形态类型共 63 种，可视化聚类分析表明原始描述的孢子形态类型分布交叉混乱，许多孢子形态类型间差异不显著，存在许多冗余的孢子形态类型。运用传统形态学与几何形态测量学相结合的方法，将孢子形态类型重新聚类分析，发现碘泡科粘孢子虫孢子形态类型应为 10 种，除了短梨形与长梨形两种孢子形态存在少数种类重叠，其它孢子形态类型差异显著。（2）基于单基因与多基因联合矩阵构建系统发育树发现，碘泡科祖先孢子形态为椭圆形，孢子形态的演化具有 8 条不同的演化路径；碘泡虫与单极虫间孢子形态的演化主要通过椭圆形碘泡虫直接演变为长梨形或短梨形的单极虫，再演变为其他各种形态的单极虫；碘泡虫与尾孢虫间孢子形态的演化主要通过椭圆形碘泡虫先演化为长梨形尾孢虫，再由长梨形尾孢虫演变为其它不同形态的尾孢虫或不同形态的碘泡虫。本研究的完成将有助于我们更好地理解粘孢子虫物种多样性产生机制，为准确评估孢子形态在分类中的贡献，建立更加科学合理的碘泡科分类系统与系统发育关系奠定基础。

杀鱼爱德华氏菌 DotU 蛋白的生物学活性鉴定及其毒力作用探究

王哲, 刘清清, 熊丹, 朱明隽, 刘佳喜, 汪新艳, 张安英, 周红*

电子科技大学生命科学与技术学院, 成都 610054

摘要: 杀鱼爱德华氏菌 (*Edwardsiella piscicida*, *E. piscicida*) 是水产养殖中的重要致病菌, 可引起多种经济鱼类的系统性出血性败血症和器官坏死, 严重威胁养殖业发展。全面解析其毒力因子的功能对于防控策略制定具有重要意义。鉴于 VI 型分泌系统 (T6SS) 与细菌毒力密切相关, 本研究聚焦其核心组分 DotU 蛋白, 探究其在 *E. piscicida* 致病过程中的作用。结果显示, DotU 蛋白与鲮爱德华氏菌及鳊爱德华氏菌同源蛋白相似性分别为 86.11% 和 82.87%, 提示其可能具有类似致病功能。通过同源重组构建 DotU 缺失株 (Δ DotU), 发现与野生型菌株相比, 其生长、运动及生物膜形成均未受影响, 但抗血清杀菌能力显著减弱。同时其在 EPC 细胞中的黏附与入侵能力明显下降, 说明 DotU 蛋白缺失对 *E. piscicida* 致病性有显著影响。进一步, 以草鱼单核/巨噬细胞和斑马鱼为模型, 发现 Δ DotU 在草鱼单核/巨噬细胞中的存活率降低, 并显著降低 *E. piscicida* 对宿主细胞 LDH 的释放。在斑马鱼中, Δ DotU 的半致死剂量 (LD_{50}) 显著高于野生株, 提示毒力明显下降。综上所述, 本研究揭示了 DotU 蛋白在 *E. piscicida* 感染中的致病作用, 为揭示其致病机制及防治新靶点提供了依据。

关键词: 杀鱼爱德华氏菌; VI 型分泌系统; DotU; 毒力作用

蛋白乙酰化修饰对嗜水气单胞菌气溶素 AerA 毒力调控机制及其靶向治疗策略研究

张丽珊，林向民*

福建农林大学生命科学学院，福州 350002

摘要：蛋白赖氨酸乙酰化（Kac）是一种保守的翻译后修饰，可调控细菌毒力。然而，目前对于这种修饰在分泌型毒素功能中的作用及其靶向治疗潜力仍知之甚少。本研究首先利用定量乙酰化组学分析和分子实验评估，发现嗜水气单胞菌气溶素 AerA 中 K328 是调控细菌致病性的一个关键乙酰化位点。该位点的去乙酰化会破坏 AerA 七聚体组装、显著降低溶血活性，并使其感染斑马鱼的毒性显著减弱；其次，利用酵母双杂交实验证实 GNAT 家族乙酰转移酶 ORF02336 与去乙酰化酶 CobB 可能调控该位点的乙酰化修饰水平；最后，利用基于 AI 的虚拟筛选结合湿实验方法，从 82 万种化合物中进行成功筛选出纳摩尔级抑制剂 F3222-5884。该化合物能选择性结合乙酰化 K328 结构口袋、降低细菌的溶血活性，并显著降低斑马鱼感染的死亡率。本研究揭示了赖氨酸乙酰化介导嗜水气单胞菌调控毒力的分子机制，并为抗耐药菌感染提供具有前景的靶向治疗策略。

关键词：嗜水气单胞菌；气溶素；赖氨酸乙酰化修饰；毒力调控；抗毒力治疗

全棘异钩棘头虫 (*Heterosentis holospinus*) 的线粒体基因组特征及其系统发育分析

陈飞洛¹, 吴浩², 谢敏², 熊珍珍², 蔡佳¹, 黄瑜¹, 金霄¹, 阳灿², 高金伟^{1, 2*}, 宋锐

^{1, 2*}

¹ 广东海洋大学水产学院, 湛江 524088

² 湖南省水产研究所 (湖南省水产原种场), 长沙 410153

摘要: 棘头虫 (*Acanthocephala*) 是一类严重危害水产养殖的专性内寄生虫, 其分类与系统发育关系长期以来主要依赖形态学特征, 存在一定争议。全棘异钩棘头虫 (*Heterosentis holospinus*) 由 Amin 等人于 2011 年首次描述, 已知可寄生于线纹鳗鲡 (*Plotosus lineatus*) 和短棘马鲛 (*Leiognathus equulus*)。本研究旨在解析该虫的线粒体基因组结构, 探讨其系统发育地位, 并为该物种及棘头动物门的分子鉴定与分类提供基础数据。

本研究从广东省湛江市渔人码头采集的双线舌鲷 (*Cynoglossus bilineatus*) 肠道中分离虫体, 通过形态学观察和 *cox1* 基因序列分析完成物种鉴定。采用基于保守区的长片段 PCR 结合引物步移 Sanger 测序策略, 辅以纳米孔测序验证重复区域, 成功获得其完整线粒体基因组序列并注释。

结果表明, 该线粒体基因组全长为 16,560 bp (GenBank: PQ675784), 包含 36 个基因 (12 个蛋白编码基因、22 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因), 缺失 *atp8* 基因, 存在 2 个非编码区。其中包含一段较长的串联重复序列, 这也使其成为目前棘头虫中已报道的线粒体基因组中最长的之一。基因组 A+T 含量为 61.5%, 基因排列顺序与同属物种黄颡异钩棘头虫 (*H. pseudobagri*) 一致。基于 12 个串联的蛋白编码基因构建的最大似然系统发育树结果显示, 全棘异钩棘头虫与黄颡异钩棘头虫形成高支持率的姐妹群, 支持异钩属的单系性, 并且该属与伪棘头虫属 (*Pseudoacanthocephalus*) 具有较近的亲缘关系。在生态学方面, 本研究首次确认双线舌鲷为其新终末宿主, 扩展了其宿主范围, 提示该虫在近海与河口生态系统中具备较强的适应与扩张潜力。

关键词: 全棘异钩棘头虫; 线粒体基因组; 系统发育; 双线舌鲷; 寄生虫

无乳链球菌毒力因子抑制剂的筛选及应用

李桂华, 向明丽, 王菲, 刘少龙, 郭伟良*

海南大学海洋生物与水产学院, 三亚南繁研究院, 海洋科学与技术协同创新中心, 海南海口

570228

摘要: 毒力因子在病原定植、入侵、免疫逃避、激发炎症、干扰宿主细胞信号传导和损伤宿主等疾病发生中发挥重要作用。毒力因子抑制剂可在不造成病原生存压力的情况下降低其致病力, 减少耐药的产生。本研究采用微孔板法从 80 种天然化合物中筛选罗非鱼源无乳链球菌重要毒力因子抑制剂。其中 30 种天然化合物显著抑制无乳链球菌 β -溶血/溶细胞 (β -h/c) 活性, 甘草查尔酮 A、黄腐酚、科罗索酸、黄芩苷和异黄腐酚对 β -h/c 活性的半数抑制浓度 (HIC_{50}) 最低, 分别达到 1.97 ± 0.73 、 2.926 ± 0.127 、 4.88 ± 0.08 、 5.39 ± 0.55 和 9.039 ± 0.273 $\mu\text{g/mL}$; 23 种天然化合物显著抑制无乳链球菌生物膜的形成, 在同时具有抑制 β -h/c 活性的天然化合物中, 黄腐酚、异黄腐酚和科罗索酸对无乳链球菌的生物膜形成的半数抑制 (BIC_{50}) 最低, 分别达到 14.901 ± 0.668 、 6.887 ± 0.340 和 6.03 ± 1.09 $\mu\text{g/mL}$; 11 种天然化合物显著抑制无乳链球菌透明质酸酶活性, 其中 4 $\mu\text{g/mL}$ 黄芩苷对无乳链球菌透明质酸酶活性抑制率为 100%。综合筛选化合物对 β -h/c 活性、生物膜形成和透明质酸酶活性的抑制效果, 选择黄腐酚、科罗索酸和黄芩苷进行活体实验。对罗非鱼的急性毒性结果表明, 分别灌胃 2000 mg/kg (药物质量/鱼重) 的黄腐酚、科罗索酸和黄芩苷均未出现中毒症状。连续拌料投喂含 0.356% 黄芩苷、0.200% 科罗索酸和 0.400% 黄腐酚 14 d, 对感染无乳链球菌罗非鱼的相对保护率分别达 90.32%、77.3% 和 79.17%。以上研究结果表明, 黄腐酚、科罗索酸和黄芩苷通过抑制无乳链球菌重要毒力因子降低其致病力, 其在防治罗非鱼无乳链球菌病方面具有巨大应用潜力。

关键词: 无乳链球菌; 毒力抑制剂; 毒力因子; β -溶血/溶细胞素; 天然化合物

溶藻弧菌 *QseB/QseC* 基因功能研究

梁远莹^{1,2,3}, 谢珍玉^{1,2,3}, 龙昊^{1,2,3*}

(1.海南大学南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口, 570228; 2.海南大学海南省热带水生生物与生物技术重点实验室, 海口, 570228; 3.海南大学海洋生物与水产学院, 海口, 570228)

摘要: 细菌 *QseB/QseC* (TCS) 是一种双组分系统, 通过调节群体感应、致病性和抗生素耐药性等参与多种细菌行为。而 *QseB* 是 *QseBC* 双组分系统的应答调节因子, 与群体感应相关, 是鞭毛、生物被膜和毒力的全局调节因子。*QseB* 具有双重调控功能, 它根据磷酸化状态结合到目标启动子的不同位点, 从而抑制或促进基因表达。本研究为探究 *QseB* 和 *QseC* 基因在溶藻弧菌中的功能, 成功构建了溶藻弧菌 HN08155 菌株的单基因敲除株 $\Delta QseB$ 和 $\Delta QseC$, 双基因敲除株 $\Delta QseBQseC$ 。同时构建了 *QseB* 基因回补株 pBAD-*QseB*, 以及 2 个具有磷酸化位点氨基酸突变的 *QseB* 基因回补株 pBAD-*QseB-Glu*、pBAD-*QseB-Ala*。

生物被膜测定结果显示: 所有菌株均在培养 6h 后达到生物被膜最大量。 $\Delta QseB$ 与野生型菌株 (WT) 相比生物被膜量无显著变化, $\Delta QseC$ 与 WT 相比生物被膜形成量增多, $\Delta QseBQseC$ 与 WT 相比生物被膜量减少。实验结果表明: *QseB* 基因存在时, *QseC* 基因抑制溶藻弧菌生物被膜的形成, *QseB* 基因缺失时, *QseC* 基因促进溶藻弧菌生物被膜的形成。*QseB* 基因回补株 pBAD-*QseB*、pBAD-*QseB-Glu* 与 WT 相比生物膜量略微增多, 但 pBAD-*QseB-Ala* 与 WT 相比生物膜量显著降低。结果表明 *QseB* 蛋白的磷酸化影响溶藻弧菌生物被膜的形成。

溶藻弧菌运动能力测试结果表明: *QseB* 基因缺失和 *QseBQseC* 基因双缺失都会增强菌株的运动能力; 而 *QseC* 的缺失株与 WT 相比无显著变化。回补株 pBAD-*QseB-Ala* 与 WT 相比泳动能力增强, 而 pBAD-*QseB*、pBAD-*QseB-Glu* 与 WT 相比无明显差异。实验结果表明 *QseB* 基因具有调控溶藻弧菌运动能力的功能且与其蛋白特定位点的磷酸化相关。

本研究初步分析了溶藻弧菌 *QseB* 和 *QseC* 在生物被膜形成和运动能力调控中的功能, 为全面解析溶藻弧菌致病机制以及开发海水养殖弧菌防控措施奠定理论基础。

关键词: 溶藻弧菌; *QseB/QseC* (TCS); 基因敲除; 生物被膜; 泳动

石斑鱼肠孢子感染对鱼体肠道组织结构和菌群组成的影响

姚铁辉, 张明垚, 周永灿, 张冬冬*

海南大学海洋与水产学院, 海口 570100

摘要: 石斑鱼肠孢子虫 (*Enterospora epinepheli*) 是一类专性细胞内寄生的微孢子虫, 近年来对石斑鱼养殖业构成了严重威胁, 感染导致石斑鱼出现严重瘦身, 直至最终死亡。本研究旨在探讨肠孢子虫感染对石斑鱼肠道组织病理学及肠道菌群结构的影响。通过组织切片 (改良吉姆萨染色) 观察发现, 重度感染组石斑鱼的肠道组织出现了严重的病理损伤, 包括肠绒毛萎缩、脱落、排列紊乱, 固有层大量炎性细胞浸润, 具有分泌功能的杯状细胞几乎不可见, 肠道基本功能完全丧失。肠上皮细胞内还存在大量卵囊, 内含多个孢子。透射电镜结果显示, 细胞内存在大量不同发育时期的裂殖体, 卵囊和成熟孢子。此外, 利用感染组和对照组各 10 份样品的 16S rRNA 高通量测序对肠道菌群进行分析, 结果显示感染组石斑鱼肠道菌群 α 多样性 Shannon 指数显著降低, 表明菌群丰富度和均匀度下降。在菌群结构 β 多样性上, 感染组与健康对照组形成了显著分离, 群落组成发生根本性改变。感染石斑鱼肠孢子虫后, 具有潜在益生功能的菌门如厚壁菌门 Firmicutes 和拟杆菌门 Bacteroidetes 相对丰度显著下降, 而条件致病菌如变形菌门 Proteobacteria 的丰度显著上升。特别的, 在属水平上, 感染组中丰度较高的优势菌属为不动杆菌属 *Acinetobacter* (45.83%), 说明在肠孢子虫的感染中, 其可能是影响珍珠龙胆石斑鱼健康的关键菌。结论: 肠孢子虫感染不仅对石斑鱼肠道造成严重的物理结构破坏, 引发炎症反应, 还导致肠道菌群结构失调, 破坏了菌群的稳定与平衡, 这可能是导致宿主停止进食、营养吸收障碍、免疫力下降直至最终死亡的重要原因。本研究为深入理解肠孢子虫的致病机制及后续开展综合防治策略提供了重要的理论依据。

关键词: 石斑鱼肠孢子虫; 组织病理; 肠道菌群

乌鳢源停乳链球菌全基因组测序与比较基因组分析

马晓晴, 唐良玉, 孔祥会, 李莉*

河南师范大学水产学院, 新乡 453007

摘要: 停乳链球菌 (*Streptococcus dysgalactiae*) 是一种广泛分布于自然环境中的革兰氏阳性菌, 引发陆生和水生动物患病。本研究从河南某养殖场的乌鳢 (*Channa argus*) 肌肉脓肿病灶分离到 *S. dysgalactiae* 弱毒株 HNSD-01, 在研究其生物学特性基础上, 经全基因组测序和比较基因组分析, 对不同来源 *S. dysgalactiae* 的基因组结构和核心基因组特征进行比较分析。结果显示: (1) 从患病乌鳢病灶分离出优势菌 HNSD-01, 综合生理生化特征和分子生物学鉴定结果, 确定为 *S. dysgalactiae*。人工感染显示 HNSD-01 为弱毒株, 以 10^8 CFU/mL 对乌鳢腹腔注射后, 48 h 死亡率低于 50%。HNSD-01 对氨基糖苷类、多肽类、磺胺类等抗生素耐药, 对青霉素、阿莫西林、氧氟沙星等 13 种药物敏感; (2) 使用 PacBio Sequel II 测序系统对 HNSD-01 进行全基因组测序, 其基因组大小 2106191 bp, GC 含量 39.96%。预测到 2045 个可编码基因, 5 大基础功能数据库 NR、SwissProt、COG、GO、KEGG 共注释到 2017 个蛋白, 6 大特定功能数据库 CAZy、PHI、VFDB、CARD、TCDB、RMS 共注释 1113 个蛋白。预测到 118 个 Sec/SPI 型分泌蛋白和 201 个 III 型分泌系统效应蛋白。MLST 分析显示鱼源 *S. dysgalactiae* 均属于 ST246 型, 菌株间 SNP 具有一定差异性。对 4 株鱼源 *S. dysgalactiae* 进行比较基因组分析, 其共有的核心基因簇数量为 1643 个, 其中 HNSD-01 与 Kdys0611 菌株的共线性较好, 基因组构成具有较好的一致性, 仅存在小片段的插入、缺失、倒位和易位。4 株菌的毒力基因和耐药基因数量与种类大致相同, 主要毒力基因 *GAPDH*、*HA*、 *α -enolase*、*sagB*、*spegg*、*sof-FD* 的同源性为 94.69%~100%。通过比较基因组学分析, 进一步探讨不同宿主来源 *S. dysgalactiae* 的基因组结构和核心基因组特征, 以期对 *S. dysgalactiae* 的致病机理, 耐药机制和进化等研究奠定基础。

关键词: 乌鳢; 停乳链球菌; 全基因组; 比较基因组

扬子单极虫（粘孢子虫纲：碘泡科）不同株系比较分析研究

刘宇路 1, 尹琪 1, 戴文静 1, 刘越川 1, 李德亮 1, 刘新华 1

湖南农业大学水产学院, 长沙 410128

摘要: 粘孢子虫是一类重要的后生动物寄生虫, 隶属于刺胞动物门粘孢子虫纲。组织趋向性是绝大多数粘孢子虫重要的分类衍征之一, 尤其是碘泡科粘孢子虫。早期由于技术手段的限制, 仅依赖于传统形态学观察而将形态相似的物种鉴定为同种, 造成许多被鉴定为同种的种类可能是多个物种的复合体。本研究以早期记载多部位寄生的扬子单极虫 (*Thelohanellus yangziensis* Chen, 1974) 为例, 综合运用形态学特征、生态学特征 (寄主与寄生部位) 以及分子生物学特征 (18S rDNA、ITS、28S rDNA) 对采集获得的 7 个部位的疑似扬子单极虫进行比较分析, 分析结果如下: (1) 在形态学上, 寄生于肠、心脏、卵巢、鳃、肝胰脏、肾脏和腹腔的单极虫样品均与扬子单极虫形态特征相似, 不同部位间形态差异不显著, 均在种内变异范围内; (2) 分子生物学比较分析发现, 不同寄生部位分离株在 18S rDNA 相似性范围为 98.09%-99.59% 之间, 其中腹腔、肠道、肝脏分离株间相似性在 99% 以上, 卵巢与鳃分离株间相似性在 99% 以上, 心脏与肾脏分离株与其他分离株间相似性在 98% 以下; 在 ITS 上为 96.03%-98.94%, 其中腹腔、肠道、肝脏分离株间相似性均为 98.94%, 卵巢与鳃分离株间相似性为 98.54%, 心脏与肾脏分离株与其他分离株间相似性在 96% 以下; 在 28S rDNA 序列相似性结果与 18S rDNA 序列分析结果类似。系统发育关系分析表明腹腔、肠道与肝脏分离株聚为一支, 卵巢与鳃分离株聚为一支, 心脏与肾脏分离株聚在以上两支之外。综上所述, 寄生于腹腔、肠道与肝脏的分离株应为扬子单极虫同种, 卵巢与鳃分离株为单极虫一新种, 心脏、肾脏分离株为两种不同的单极虫新种。

一例草鱼细菌性败血症病原分离鉴定与药敏分析

钟慧, 俞涛, 廖永康, 刘思文, 毛思源, 王宁湘, 罗玉双*

湖南文理学院生命与环境科学学院, 环洞庭湖水产健康养殖及加工湖南省重点实验室, 水生动物重要疫病分子免疫技术湖南省重点实验室, 水产生物资源与环境生态湖南省工程研究中心, 常德 415000

摘要: 草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)细菌性败血症是一种急性传染病, 往往在水环境恶化、养殖密度过大和营养配方不均衡的条件下发生, 因其发病周期长及死亡率高严重制约草鱼养殖业的健康发展。本研究从湖南省常德市西洞庭管理区草鱼新品系养殖示范基地采集病料, 开展对草鱼细菌性败血症的病原分离鉴定与耐药分析, 旨在为草鱼新品系养殖过程中细菌性败血症的有效防控, 以及后续草鱼新品系的推广示范提供技术支持。本实验采用平板划线分离法分离纯化病原菌, 采用注射和浸泡攻毒方法确证病原菌对草鱼的毒性, 采用革兰氏染色形态观察、生理生化鉴定及 16S rDNA 序列分析方法鉴定病原菌种属, 采用药敏纸片扩散法分析其耐药性。结果表明:从发病草鱼腹水中成功分离纯化出一株病原细菌, 命名为 XCF24; 经 28℃恒温培养 24h 后, XCF24 菌落呈圆形、直径 2~3mm、表面光滑隆起、乳白色半透明、革兰氏阴性、短杆状。综合生理生化鉴定及 16S rDNA 序列分析, XCF24 被鉴定为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)。XCF24 菌注射攻毒草鱼鱼种, 发病草鱼出现腹部肿胀、大量腹水和肠道出血等细菌性败血症类似症状; XCF24 菌浸泡攻毒草鱼夏花, 在水质良好和水质污染(即氨氮和亚硝酸盐超标)情况下, 鱼苗 72h 死亡率分别达 56.67%和 100%。药敏试验结果显示:XCF24 菌株对多西环素、恩诺沙星和氟苯尼考敏感, 抑菌圈直径分别为 25、22 和 30mm, 对卡那霉素和新霉素耐药性中介。本研究揭示了湖南省常德市西洞庭管理区草鱼新品系细菌性败血症病原为嗜水气单胞菌, 氨氮和亚硝酸盐胁迫能增强其致病性, 药敏分析结果可为该地区草鱼新品系的细菌性败血症的精准用药及有效防控提供科学依据。

关键词: 草鱼; 细菌性败血症; 嗜水气单胞菌; 病原分离鉴定; 药敏分析

环境耐受型新型嗜水气单胞菌噬菌体初步应用研究

陈愿,张永安*,周洋*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 近年来水产养殖业病害暴发频繁, 其中嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 是我国水产养殖中的常见病原菌, 其耐药性问题也逐渐显现, 亟需开发新的抗菌策略。噬菌体是一种能特异性感染并裂解细菌的病毒, 具有宿主专一性强、易于开发、天然无污染和安全性高等优点, 具备开发为新型抗菌制剂的潜力。噬菌体的环境耐受性对其应用至关重要, 本研究筛选到一株具有良好环境耐受性的嗜水气单胞菌噬菌体ZPAH14, 该噬菌体在pH 3–11范围内及60°C高温下仍能保持稳定的活性。经鉴定, ZPAH14属于Chaseviridae科中的一个新属, 被命名为“Shantouvirus”, 该分类已获ICTV (国际病毒分类委员会) 收录。全基因组测序显示, ZPAH14的基因组大小为57,429 bp, 共预测出71个开放阅读框(ORF), 其中34个具有功能注释, 其余为假想蛋白。基因组中未检出毒力因子、耐药基因及溶源相关基因, 表明其具有较高的安全性。进一步评估了ZPAH14在环境应用及动物预防与治疗中的潜力。结果显示, ZPAH14对嗜水气单胞菌生物被膜具有显著的破坏与清除作用, 在 10^7 PFU/mL浓度下作用12小时后, 生物被膜清除率达到54.14%。斑马鱼活体实验中, 预防组在MOI=1时相对保护率达100%; 治疗组中, 攻毒1小时后干预(MOI=1)及攻毒24小时后干预(MOI=10)均可使斑马鱼相对存活率达到100%。本研究为嗜水气单胞菌噬菌体在水产行业的应用提供了候选材料与科学依据, 也为其他水生动物病原菌噬菌体的研究提供了参考。

关键词: 噬菌体; 嗜水气单胞菌; 环境耐受; 噬菌体应用

米尔伊丽莎白菌在巨噬细胞内存活必须基因的筛选及功能验证

胡瑞雪^{1,2,3,4}, 刘芳园^{1,2,3,4}, 陈丹^{1,2,3,4}, 何发发^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4*}

1.华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2.湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

3.农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070

4.湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 米尔伊丽莎白菌(*Elizabethkingia miricola*)能导致蛙脑膜炎败血症(俗称歪头病), 严重危害我国蛙类养殖。目前关于该菌的致病机制及毒力因子的研究十分匮乏。巨噬细胞作为非特异性免疫的重要防线, 是机体发挥免疫清除作用的关键, 我们在前期研究中发现 *E. miricola* 能够在巨噬细胞内存活并复制, 但其逃避巨噬细胞杀伤的分子机制尚不清楚。本研究明确了 *E. miricola* 在巨噬细胞内存活的存活动态, 利用转座子插入测序技术(Tn-seq)系统筛选了 *E. miricola* 胞内存活的必需基因, 并解析了关键基因介导 *E. miricola* 胞内存活的分子机制。结果显示: *E. miricola* 能够在 RAW264.7 巨噬细胞内持续存活超过 48 h, 可逃逸吞噬体进入胞质中存活并增殖。利用 Tn-seq 共鉴定出 218 个 *E. miricola* 在巨噬细胞内存活的条件必需基因 ($P < 0.05$, $\log_2FC < -2$), 这些基因功能主要富集于细胞壁/膜/包膜生物合成(17%), 蛋白修饰/分子伴侣(15.1%), 能量的产生与转化(10.6%), 无机离子转运(9.6%)等类别。利用同源重组法构建 *wcaG*、*clpB*、*tbdT* 及 *bamA* 单基因缺失株, 各缺失株在巨噬细胞内存活能力较野生株显著下降 ($P < 0.001$); 通过体外模拟巨噬细胞杀伤条件的实验进一步表明, 各缺失株对氧化应激、酸性环境及铁限制的适应能力出现不同程度减弱, 其中, $\Delta clpB$ 和 $\Delta tbdT$ 株的抗氧化和耐酸能力极显著降低 ($P < 0.01$), $\Delta tbdT$ 在铁限制条件下的生长速率显著低于野生型 ($P < 0.001$)。综上, *E. miricola* 有较强的胞内存活能力, 其毒力基因 *wcaG*、*clpB*、*tbdT* 和 *bamA* 通过增强细菌对胞内氧化杀伤、吞噬体酸性环境及铁限制的抵抗能力, 促进其在胞内存活与持续感染。本研究为解析 *E. miricola* 免疫逃避机制和寻找有效的药物靶标提供了重要参考。

关键词: 米尔伊丽莎白菌; 胞内存活; 转座子插入测序; 毒力基因

无乳链球菌 VII 型分泌系统 (T7SS) 通过调控镁离子的转运促进荚膜的完整性

李凤阳,刘嘉仪,彭苏予,马维一,张永安*,曾辉*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: VII 型分泌系统 (Type VII secretion systems, T7SS) 目前已经在无乳链球菌中被鉴定, 它在阳性菌中可以分泌多种效应因子参与细菌的金属离子转运、荚膜稳定性、种间竞争、宿主互作、免疫逃逸和毒力等功能, 但其具体机制目前还不清楚。为了探究无乳链球菌 T7SS 调控毒力的具体机制, 首先构建了无乳链球菌 HN016 T7SS 核心组分 *essC* 的缺失株 ($\Delta essC$) 以及回补株 ($C\Delta essC$), 发现在低浓度镁离子条件下 $\Delta essC$ 生长较为缓慢, 且胞内镁离子浓度也显著下降。根据转录组数据分析, *essC* 缺失后细菌荚膜相关蛋白表达量显著下调, 然后通过去垢剂 genapolx-080 清洗链球菌的荚膜发现 $\Delta essC$ 的荚膜不稳定, 并通过透射电镜验证了这一结果。为了进一步推断胞内镁离子的减少是否影响链球菌荚膜的稳定性, 又构建了经典镁离子转运蛋白 *corA₂* 的缺失株 ($\Delta corA_2$)、回补株 ($C\Delta corA_2$)、镁离子通道打开氨基酸位点突变株 (GGGG) 和镁离子通道给关闭氨基酸位点突变株 (E206K), $\Delta corA_2$ 和 E206K 的荚膜都减少了, 表明了胞内镁离子是调控荚膜合成的关键。最后, 在细胞水平和罗非鱼活体水平检测了 $\Delta essC$ 的毒力, 在小鼠巨噬细胞 RAW264.7 和鱼脑细胞 TIB 中发现 $\Delta essC$ 的细胞毒性降低, 并且是依赖于接触的, 且黏附能力和吞噬存活能力也是显著降低的; 在罗非鱼感染模型中, $\Delta essC$ 感染后罗非鱼的死亡率、组织载菌量和组织病理损伤都是明显降低的, 且突破血脑屏障的能力也显著下降。本研究主要揭示无乳链球菌 T7SS 调控胞内镁离子的转运促进荚膜的完整性, 进而发挥毒力的机制, 为进一步开发抗菌药物提供新靶标。

关键词: VII 型分泌系统; 无乳链球菌; 镁离子; 荚膜; 毒力

米尔伊丽莎白菌 Nanoluc 荧光素酶标记菌株的构建及其感染示踪研究

刘芳园^{1,2,3,4}, 胡瑞雪^{1,2,3,4}, 何发发^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4*}

1.华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2.湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

3.农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070

4.湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 米尔伊丽莎白菌 (*Elizabethkingia miricola*) 可感染多种养殖和野生蛙类, 引起蛙类“歪头病”, 该病严重危害我国蛙类养殖业。目前, 米尔伊丽莎白菌的感染途径、定殖特性和迁移变化规律尚不清楚。本研究利用同源重组技术构建了表达 Nanoluc 荧光素酶的 *E. miricola* 标记菌株, 利用非洲爪蟾感染模型, 实现在活体蛙中对 *E. miricola* 感染过程的实时可视化监测, 探究 *E. miricola* 在蛙体内的时空动态分布和感染规律。结果显示: Nanoluc 荧光素酶基因可成功整合至 *E. miricola* FL160902 株染色体中, 标记菌株具有良好的遗传稳定性, 其生长速率和致病性与野生株无显著差异。标记菌株生物发光强度与菌落数量 (CFU) 呈线性相关 ($R^2=0.9998$), 菌株体外检测灵敏度可达 100 CFU。在非洲爪蟾感染模型中, 注射底物后 35 分钟内体内发光信号保持稳定。感染后 1-7 天活体成像结果显示, 动物腹部区域发光信号在感染 1-5 天逐渐上升, 至第 7 天时有所减弱, 而脑部区域信号随感染进程持续增强, 并于第 7 天达到峰值, 此时脑部总发光强度显著高于腹部。离体器官成像分析显示, 肝、脾、肾、和脑的发光强度在感染过程中均逐渐增强, 至第 7 天时脑组织的平均发光强度为 1.99×10^6 p/s, 显著高于肝、脾、肾的平均强度 ($2.02 \times 10^5 \sim 3.53 \times 10^5$ p/s)。组织载菌量计数结果显示, 感染 1、3、5 和 7 天的脑组织载菌量范围为 $4.37 \times 10^1 \sim 1.00 \times 10^4$ CFU/mg, 其与发光强度呈线性正相关 ($R^2=0.8162$)。本研究构建的 Nanoluc 报告菌株生物学性状良好, 发光性能稳定、检测灵敏度高, 实现了米尔伊丽莎白菌在动物体内感染过程的动态示踪, 为解析米尔伊丽莎白菌的感染机制奠定基础, 也为活体水平抗菌药物的筛选提供了技术平台。

关键词: 米尔伊丽莎白菌; Nanoluc 荧光素酶; 感染示踪

长江中下游地区养殖鲫类粘孢子虫调查及鲫霍氏虫引起金鱼肾肿大病的首次报道

沈宇航^{1,2,3,4}, 杨浩^{1,2,3,4}, 张波^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070
2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070
3. 农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070
4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 粘孢子虫是一类个体微小、结构简单的鱼类寄生虫, 对全球水产养殖业构成严重威胁。鲫 (*Carassius spp.*) 是我国重要的经济与观赏鱼类, 常因粘孢子虫感染遭受严重的经济损失。然而, 大多数粘孢子虫种类尚未得到充分鉴定, 导致难以准确阐明其寄生方式及确定致病性。在对长江中下游地区养殖鲫类的寄生虫学调查中, 从异育银鲫和金鱼中共分离到 7 种粘孢子虫。基于形态特征和 SSU rDNA 分子序列比对, 其中 6 种被鉴定为已在我国广泛报道的种类, 包括瓶囊碘泡虫 (*Myxobolus ampullicapsulatus*)、武汉单极虫 (*Thelohanellus wuhanensis*)、洪湖碘泡虫 (*M. honghuensis*)、透镜碘泡虫 (*M. lentisuturalis*)、普氏碘泡虫 (*M. pronini*) 和吴李碘泡虫 (*M. wulii*)。此外, 在上海地区养殖的金鱼肾脏中发现一种粘孢子虫, 其寄生于肾脏并形成白色椭圆形孢囊, 经形态学鉴定为鲫霍氏虫 (*Hoferellus carassii*)。分子分析显示, 该虫株与鲫霍氏虫捷克株系的 SSU rDNA 序列相似度最高, 但存在 5.3%–6.4% 的差异。系统发育分析表明, 该虫株虽位于鲫霍氏虫分支内且支持率较高, 但与捷克株系明显分离, 表明鲫霍氏虫可能存在地理种群分化。组织病理学分析显示, 鲫霍氏虫寄生于肾集合管、肾小管及肾间质, 引起肾小管严重囊性病变及间质组织退化, 对宿主生存构成直接威胁。综上, 本研究证实了寄生于鲫的粘孢子虫种类多样性, 首次在我国金鱼养殖中发现由鲫霍氏虫引起的肾肿大病, 并揭示了鲫霍氏虫存在显著的地理遗传分化。

关键词: 粘孢子虫; 异育银鲫; 金鱼; 鲫霍氏虫; 肾肿大病

一种寄生于近邻剑水蚤脂肪细胞的微孢子虫形态学和系统发育研究

杨传正,张晨曦,翁美其*

江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 连云港 222005

摘要: 微孢子虫是一类与真菌亲缘关系较近的、成孢子的真核寄生虫。早期微孢子虫分类主要基于孢子形态、不同发育阶段超微结构特征进行。随着微孢子虫形态可塑性的报道,早期基于孢子形态不同发育阶段超微结构特征的传统微孢子虫分类产生大量冗余种属。因此急需采用基于孢子形态、不同发育阶段超微结构特征及分子特征的整合分类学方法对已报道物种进行分类学厘定。本研究对一种寄生于近邻剑水蚤的微孢子虫进行形态学观察和系统发育研究。该微孢子虫感染近邻剑水蚤脂肪细胞。成熟孢子梨形,长 $5.18\pm 0.17\ \mu\text{m}$,宽 $3.10\pm 0.10\ \mu\text{m}$ 。透射电镜观察显示早期发育阶段为单核的裂质体与宿主细胞质直接接触。成熟孢子具有两部分的极质体包括前部分的片层和后部分管状。同型极丝10圈,排列成2-3列。外胞壁5层。BLAST比对分析显示,该微孢子虫与Genbank数据库中已有的序列均不匹配,与米氏哈扎德孢虫(AY090067)序列相似度最高,为86.33%。基于SSU rDNA序列的系统发育分析显示,该微孢子虫与滴状毛突氏孢虫聚类,形成一个单独的分支。综上所述,基于其形态特征和分子特征与已报道的物种不同,我们将其鉴定为毛突氏孢虫属一新种,并命名为近邻毛突氏孢虫。

关键词: 微孢子虫; 近邻剑水蚤; 形态学; 系统发育

长肢新扇孢虫形态学和系统发育研究

杨传正,张晨曦,翁美其*

江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 连云港 222005

摘要: 微孢子虫是一类泛在的、成孢子的、专性细胞内寄生的真核生物, 宿主范围广泛、可寄生于无脊椎动物到脊椎动物几乎所有动物类群, 包括人类。迄今已有1800余种200属微孢子虫被报道, 然而水生微孢子虫多样性仍然被严重低估。本研究对一种寄生于长肢秀体蚤脂肪细胞的微孢子虫进行形态学和系统发育研究。感染的长肢秀体蚤由于大量孢子聚集在脂肪细胞, 导致其在显微镜下呈现不透明。透射电镜观察显示早期发育阶段为单核的裂质体与宿主细胞质直接接触。多核产孢原质团通过原质团分裂的方式发育为单核的孢子母细胞。成熟孢子卵圆形, 长 4.80 ± 0.37 (4.09–5.23) μm , 宽 2.64 ± 0.15 (2.34–3.01) μm 。两部分极质体包括前部分紧密的片层和后部分管状。同型极丝9-10圈, 排列成2-3列。外胞壁具有管状的凸起, 分为3层。扩增测序获得其SSU rDNA序列片段, 长度为1363 bp。序列分析显示其与模糊新扇孢虫 (OP859152) 相似度最高, 为97.8%。基于SSU rDNA序列的系统发育分析显示, 长肢新扇孢虫与新扇孢虫属物种以及一种分离自土壤的未定种聚集在一起形成一个单独的分枝。经形态学观察及系统发育研究, 我们将本研究物种鉴定为新扇孢虫属一新种, 并命名为长肢新扇孢虫。此外, 产孢囊先前被认为是新扇孢虫属的诊断特征之一。长肢新扇孢虫所有发育阶段均与宿主细胞质直接接触, 无产孢囊结构, 表明产孢囊不是新扇孢虫属的诊断特征。本研究结果不仅丰富了对水生微孢子虫多样性的认识, 并对新扇孢虫属的诊断特征进行了修订。

关键词: 微孢子虫; 长肢新扇孢虫; 形态学; 系统发育

黄鳝源维氏气单胞菌的分离鉴定及其拮抗菌的筛选

张锦华, 刘玉洁, 王自蕊, 万方林, 熊焱焱, 周秋白*

(江西农业大学动物科学技术学院, 江西南昌, 330045)

摘要: 黄鳝出血病以体表溃烂出血、肛门红肿、头部充血等为主要临床症状, 具有较高死亡率, 其致病病原复杂多样。本研究基于黄鳝出血病的微生态学与病理学诊断, 鉴定其主要病原菌, 并以其为指示菌, 从健康黄鳝肠道、水体及相关养殖环境中分离筛选具有拮抗作用的益生菌株, 进一步将其与多种益生菌及中草药复配, 开发可用于预防黄鳝出血病的复合微生态制剂替代抗生素产品。

研究首先通过细菌 16S rDNA 高通量测序技术对比分析患病与健康黄鳝的菌群结构, 并采用传统方法从病鱼肝脏中分离得到一株致病菌 W20。经革兰染色、生化特性分析、16S rRNA 基因测序及感染回归试验, 鉴定该菌为维氏气单胞菌 (*Aeromonas veronii*, Avn), 且具有较强的致病性, 与出血病发生密切相关。

随后, 从健康黄鳝养殖水体中分离出 137 株乳酸菌, 通过体外抑菌试验筛选到一株抑菌效果显著的菌株 1-N5, 该菌对 Avn 的抑菌效果较为明显。将 1-N5 与实验室保藏的 3 株益生菌按 3:3:2:1 比例混合发酵, 再与大黄、黄芪、黄芩、黄柏、山香圆叶、大青叶、蒲公英等七种中草药配伍, 制成复合微生态制剂。经动物安全性评价后, 开展体外抑菌及临床试验, 结果表明该制剂对 Avn 具有明显抑制效果, 并在一定程度上提高黄鳝生产性能、肠道消化酶活性、增强免疫力, 同时可有效降低水体中亚硝酸盐、氨氮含量及气单胞菌数量。经试验验证该制剂可有效改善水质, 对黄鳝出血病具有预防与治疗作用。

鲫锥虫(*Trypanosoma carassii*)大黄鱼分离株感染锦鲤的病理特征

刘乃成, 冀晓蓉, 信召哲, 薛思佳, 章晋勇*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛, 266237

摘要: 锥虫是一类单细胞寄生性原生动物, 可感染多种脊椎动物, 大黄鱼锥虫病是新近发生的由鲫锥虫大黄鱼分离株感染引起的爆发性病害, 为了深入探究其在不同宿主中的感染进程本研究首先建立了鲫锥虫大黄鱼分离株的体外培养系统, 并利用锦鲤成功构建其在体感染模型, 对鲫锥虫感染锦鲤的血液学分析、组织病理观察与免疫基因的表达等研究, 发现感染鲫锥虫大黄鱼分离株的锦鲤血液生化指标发生了显著变化, 感染组的红细胞数量显著降低, 由 $5.1 \pm 0.51 \times 10^{11} \text{ ind/L}$ 降低至 $1.5 \pm 0.33 \times 10^{10} \text{ ind/L}$ 、白细胞数量显著升高, 由 $1.6 \pm 0.24 \times 10^8 \text{ ind/L}$ 升高到 $7.1 \pm 0.22 \times 10^9 \text{ ind/L}$, 血红蛋白 (HGB) 显著降低 ($54.4 \pm 0.11 \text{ g/L}$ 降低至 $17.5 \pm 0.22 \text{ g/L}$)、粒细胞百分比 (GR%) 由 $2.2 \pm 0.21\%$ 上升至 $17.5 \pm 0.33\%$ 、中间细胞数目 (Mid) 由 $0.45 \pm 0.11\%$ 上升至 $6.58 \pm 0.31\%$ 、淋巴细胞百分比 (Lym%) 由 $5.3 \pm 0.21\%$ 上升至 $20.1 \pm 0.14\%$ 。感染鲫锥虫的锦鲤病理观察表明锥虫的入侵导致锦鲤心肌细胞的弥散, 间隙变大, 肾脏出现肾小球病变, 血液减少, 炎症细胞增多, 脾脏的血管收缩, 炎症细胞增多。与健康锦鲤相比, 鲫锥虫感染锦鲤后免疫基因 $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{IFN}\gamma$ 、 IgM 、 IgD 都出现了随着锥虫数量增多而表达上升的趋势。结果表明锦鲤在感染鲫锥虫后出现贫血, 血液的理化特性发生了明显的改变, 由于鲫锥虫的入侵激活了锦鲤的先天性免疫以及适应性免疫导致了部分相关免疫基因出现显著上调。本研究首次揭示其跨盐度宿主适应的进化潜力, 构建了锦鲤鲫锥虫注射感染模型, 为后续关于鲫锥虫入侵宿主与防治提供了数据支撑。

关键词: 鲫锥虫大黄鱼分离株, 锦鲤, 免疫反应, 病理特征

梭子蟹肌孢虫孢原质的形态学、蛋白质组学和代谢组学特征分析

徐雅丽 信召哲* 章晋勇*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛, 266237

摘要: 微孢子虫是一类专性细胞内寄生的单细胞真核生物, 几乎寄生于从原生动物到哺乳动物 (包括人类) 的所有动物群体中。梭子蟹肌孢虫 (*Ameson portunus*) 是导致三疣梭子蟹“牙膏病”和拟穴青蟹“浆蟹症”的重要致病原。微孢子虫由休眠状态转变为活化状态, 最为明显的特征就是弹出极管释放孢原质。感染性孢原质是微孢子虫体内生存和繁殖的第一阶段, 但迄今对其生物学特征了解很少, 严重限制对微孢子虫侵染机制与胞内生存发育的了解。在本研究中, 我们成功地对梭子蟹肌孢虫进行了体外萌发, 并首次成功分离和纯化了这种水生微孢子虫的孢原质。形态学观察显示, 孢原质呈球形, 无折射, 与成熟孢子大小相似。进一步的超微结构观察表明, 孢原质被单层膜包裹, 含有单个细胞核, 相对颗粒状且均匀细胞质覆盖单核细胞核。对孢原质与成熟孢子的比较蛋白质组和代谢组分析显示, 有 214 种差异表达蛋白和 198 种差异代谢物可能参与了孢子的萌发过程。其中, 参与糖酵解、磷酸戊糖途径、氨基酰 tRNA 合成、核苷酸代谢以及核糖体相关通路的多种差异表达蛋白在孢原质中显著上调。值得注意的是, 多种转运蛋白的表达在孢原质中也明显升高。相应地, 一些参与氨基酰 tRNA 合成、核苷酸代谢及氨基酸生物合成途径的代谢物在孢原质中则表现为下调。我们研究结果表明, 体外获得的梭子蟹肌孢虫孢原质已经启动了显著的代谢活动, 包括能量代谢、核苷酸合成和蛋白质合成等, 为寄生虫从休眠阶段向活跃感染阶段的转变做好了准备。

关键词: 梭子蟹肌孢虫; 孢原质; 形态学; 蛋白质组; 代谢组

传染性造血器官坏死病毒的分离与分子特性分析

潘凤凰, 许丹蕾, 于晓清, 刁菁*

山东省海洋科学研究院, 青岛 266104

摘要: 传染性造血器官坏死病 (IHN) 是由传染性造血器官坏死病毒 (IHNV) 引起的全球性鱼类疾病, 对多种海洋和淡水鱼类构成严重威胁。本研究从疑似感染 IHNV 的虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 内脏组织中成功分离出一株病毒。分离的病毒分别在 EPC、FHM 和 CHSE-214 细胞系中进行增殖, 均诱导显著的细胞病变效应。病毒滴度测定结果显示, EPC、FHM 和 CHSE-214 细胞系中的病毒滴度分别为 $10^{6.8}$ TCID₅₀/mL、 $10^{7.6}$ TCID₅₀/mL 和 $10^{7.2}$ TCID₅₀/mL, 其中 EPC 细胞系表现出较高的病毒增殖效率, 表明其为 IHNV 增殖的优选细胞系。通过高通量测序技术, 获得了该病毒株的全基因组序列, 基因组全长 11,206 bp, GC 含量为 58.75%, 包含 6 个开放阅读框 (ORF)。通过序列比对和系统进化分析, 该病毒株的糖蛋白基因与已知 IHNV 株进行比对, 结果显示其属于基因 J 型, 与中国株 GS2014 亲缘关系最近, 命名为 IHNV-CN0m2018。基于 IHNV 核蛋白 (N) 基因, 构建了质粒 IHNV-N-007, 并建立了绝对定量荧光 PCR 标准曲线, 线性方程为 $y = -0.2943x + 10.599$, $R^2 = 0.9994$, 显示出极高的线性相关性, 适用于 IHNV 病原载量检测。此外, 通过对虹鳟幼鱼 (70 ± 5 g) 进行病毒攻毒实验, 分析累积死亡率并绘制死亡曲线, 计算得到病毒半致死量为 5×10^6 copies/尾。本研究为 IHNV 的分子生物学特性、病原检测及致病性研究提供了重要数据支持。

关键词: 传染性造血器官坏死病毒; 虹鳟; 全基因组测序; 绝对定量 PCR; 病毒致病性

水滴伪康纤虫 *PpCaMK1* 基因克隆及生物学特征分析

吕艳红¹, 曾红^{1*}, 林童¹, 林能锋^{2*}

1. 福建师范大学生命科学学院, 福建福州 350002; 2. 福建省农业科学院生物技术研究所以,
福建福州 350002

摘要:【目的】钙调素依赖蛋白激酶 (calmodulin-dependent protein kinases, CaMKs) 是钙离子介导的信号转导通路中的关键组成部分, 有可能成为治疗盾纤虫病的药物靶点和选择育种的目标基因。本研究通过克隆水滴伪康纤虫 (*Pseudocohnilembus persalinus*) 的钙调素依赖蛋白激酶基因, 分析其蛋白结构、功能, 并基于该蛋白的氨基酸序列构建相关纤毛虫的系统进化树, 以阐明水滴伪康纤虫 CaMK 的进化特征及与相关纤毛虫的系统发育关系。【方法】利用 RACE 技术获得水滴伪康纤虫钙调素依赖蛋白激酶基因的全长 cDNA 序列, 将其命名为 *PpCaMK1*; 应用生物信息学方法对该基因的序列特征、基因结构进行分析, 预测该基因编码蛋白的理化性质、结构域及蛋白结构等, 并构建其与相关纤毛虫 CaMK 的系统发育树。【结果】*PpCaMK1* 基因包含有 9 个外显子和 8 个内含子, 其 cDNA 全长为 1 737 bp (GenBank 序列号: PQ278249), 其 5'-UTR 长度为 56 bp, 3'-UTR 长度为 307 bp, ORF 总长度为 1 374 bp, 编码 457 个氨基酸残基。*PpCaMK1* 总亲水性平均值为-0.802, 不稳定指数为 54.78, 为亲水性不稳定蛋白。亚细胞定位预测分析表明 *PpCaMK1* 存在于细胞质-细胞核中。该蛋白无跨膜结构域, 无信号肽。蛋白质的二级结构分析结果显示该蛋白含有的无规卷曲占比达 50.33%。构建的系统发育树显示, 水滴伪康纤虫 *PpCaMK1* 与寡膜纲纤毛虫同源蛋白具有较近的亲缘关系。【结论】本研究克隆了水滴伪康纤虫 *PpCaMK1* 基因的全长 cDNA, 阐明该基因的结构, 并初步分析 *PpCaMK1* 蛋白的基本理化性质及结构特征, 结果可作为进一步研究 *PpCaMK1* 功能的基础, 并为深入探究钙调素依赖蛋白激酶在盾纤毛虫药物靶点筛选及基因选择育种方面的应用提供重要参考。

关键词: 水滴伪康纤虫; CaMK; 基因克隆; 生物信息学

单细胞转录组学解码硬骨鱼肉芽肿是一种古老的抗顽固病原的免疫策略

周正杨, 路晨旺, 简正冉, 白尚杰, 刘韬*

西北农林科技大学动物科技学院, 水产病害防控与抗病生物育种创新实验室,

杨凌, 陕西 712100

摘要: 肉芽肿作为机体应对难降解病原的独特免疫策略, 其形成依赖于巨噬细胞的“上皮样极化”(Epithelioid Polarization)。然而, 当前对肉芽肿中巨噬细胞极化机制的理解主要集中于哺乳动物模型, 缺乏对这一免疫策略在进化早期脊椎动物(如硬骨鱼)中的系统性研究, 尤其是在单细胞水平上对肉芽肿内细胞异质性和分子机制的深入解析。为此, 本研究结合病理学、超微结构分析与单细胞测序技术, 系统性探讨了硬骨鱼肉芽肿中巨噬细胞上皮样极化的分子机制及其进化保守性。首先, 我们构建了大口黑鲈诺卡氏菌感染性肉芽肿模型, 通过病理学观察发现, 肉芽肿干酪样坏死区外的巨噬细胞聚集并形成上皮样排列。超微结构分析进一步揭示, 上皮样巨噬细胞间存在紧密细胞连接等上皮样特征, 印证了其极化状态。单细胞测序结果表明, 肉芽肿内存在多种巨噬细胞亚群, 其中上皮样巨噬细胞尤为突出, 其特征是上皮相关基因(如 E-cadherin、ZO-1 和 Occludin)的表达显著上调。拟时序分析展现了从经典巨噬细胞到上皮样巨噬细胞的动态极化路径, 这一过程由关键转录因子(如 STAT-6、wt1b)调控。细胞通讯分析显示, 上皮样巨噬细胞通过与多种免疫细胞的广泛相互作用, 调控了肉芽肿的微环境。这些发现均提示了上皮样极化对肉芽肿结构形成和病原体遏制功能的重要性。值得注意的是, 这一机制在硬骨鱼中已然存在, 揭示肉芽肿作为一种免疫策略在脊椎动物进化中具有深远根源。单细胞测序技术的应用, 结合病理学和超微结构证据, 使我们得以解码肉芽肿内复杂的细胞动态, 为理解慢性炎症反应提供了新视角。综上所述, 本研究表明, 肉芽肿是一种依赖巨噬细胞上皮样极化的保守免疫策略。通过在硬骨鱼中整合单细胞测序、病理学和超微结构分析, 我们不仅验证了这一机制的古老起源, 还为研究肉芽肿相关疾病(如兽医和人类医学中的慢性炎症病症)提供了理论基础和潜在的治疗启示。

关键词: 肉芽肿; 上皮样巨噬细胞; 慢性炎症; 免疫策略; 单细胞测序

乌鲁木齐市某海鲜市场海产品中副溶血性弧菌的分离与检测

王宏丹, 热沙来提·吐孙江, 阿卜杜克尤木·如则麦麦提, 阿卜力孜·阿卜都热合曼,
如鲜古丽·奥布力, 凯迪日耶·艾孜热提玉麦尔, 买买提·艾孜子*

新疆农业大学动物医学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052

摘要: 研究旨在了解乌鲁木齐市某海鲜市场副溶血性弧菌对海产品污染情况。在乌鲁木齐市某海鲜市场采集石斑鱼心、鳃、肝脏、肉、肠、鳞共 18 份样品, 梭子蟹心、胃、肉、鳃共 20 份样品, 南美白对虾的虾脑、虾肉及虾线共 60 份样品, 对样品进行细菌分离培养、生化鉴定, 利用 PCR 技术检测副溶血性弧菌菌株 BL1S 16S 核糖体 RNA 基因部分序列。结果显示: 梭子蟹和石斑鱼样品中未检出副溶血性弧菌, 南美白对虾样品中副溶血性弧菌阳性率为 30% (18/60)。共 23 份培养基上可见圆形、蓝绿色、半透明、微浑浊的菌落, 挑取单菌落进行生化鉴定, 副溶血性弧菌阳性率 100% (23/23)。除去重复部位送检 18 份疑似菌, 经检测均为副溶血性弧菌。其中, 虾肉阳性率 30% (6/20)、虾线阳性率 15% (3/20)、虾脑阳性率 45% (9/20)。本次采样数量有限且采样地点不够广泛, 其结果存在一定具有局限性, 但足以说明乌鲁木齐海鲜市场部分海产品中存在副溶血性弧菌污染的情况。建议消费者食用海鲜尤其是虾类时要完全煮熟, 切勿生吃以免造成副溶血性弧菌感染, 其研究成果将为我们的公共卫生事业提供重要的支撑和帮助。新疆特色水产养殖业虽处于起步阶段, 具有一定的发展基础, 2024 年, 新疆水产品产量 19.65 万吨, 新疆海鲜将成为全国人民餐桌上的“新宠”。进一步研究新疆海鲜产品副溶血弧菌感染情况, 鉴定其基因型并判断其血清型和毒力基因, 通过药敏试验选择最佳抗菌药物, 不仅有助于我们更深入地了解这一细菌的生物学特性, 还能为未来的防控和治疗策略提供坚实的科学依据。

关键词: 副溶血性弧菌; 南美白对虾; 细菌分离鉴定; 海产品; 乌鲁木齐市

我国线虫新纪录种管状胃瘤线虫(*Eustrongylides tubifex*)的形态重述及分子测定

夏深圳¹ 孙赫¹ 杨圆圆¹ 李志恒¹ 马玉兰¹ 柳方¹ 杨钰盟¹ 时伟琦¹ 岳城¹
郭威^{2,3} 郝翠兰^{1,4*}

1. 新疆农业大学动物医学学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业大学生命科学学院, 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆极端环境生物生态适应与进化重点实验室, 乌鲁木齐 830052; 4. 新疆草食动物新药研究与创制重点实验室, 乌鲁木齐 830052

摘要: 为明确新疆吐鲁番地区大草湖细眼高原鳅(*Triplophysa microphthalm*)肠道内寄生的线虫幼虫的种类及其分类地位, 将含有线虫幼虫的细眼高原鳅肠道组织整体投喂实验鸭, 11 天后解剖实验鸭, 从其腺胃中收集到线虫成虫样品 13 条。经形态学鉴定, 本研究所获线虫成虫的头部外圈乳突显著大于内圈乳突, 与管状胃瘤线虫(*Eustrongylides tubifex*)一致, 同时, 首次获得我国管状胃瘤线虫(*Eustrongylides tubifex*)的 ITS 基因序列, 其测序长度为 945 bp, 经 BLAST 比对, 未发现一致序列, 与已公开胃瘤线虫未定种(*Eustrongylides sp.*)序列 (GenBank: GQ215544) 的同源性最高, 为 97.39%。基于 ITS 序列的系统发育显示, 本研究所鉴定的管状胃瘤线虫与胃瘤线虫属的物种均聚为一支。其中与伊格诺图斯胃瘤线虫(*Eustrongylides ignotus*)的亲缘关系最近, 遗传距离为 0.022。本次调查首次在细眼高原鳅体内发现管状胃瘤线虫(*E. tubifex*), 为胃瘤线虫的中间宿主范围补充了基础资料, 并为胃瘤线虫属的分类地位提供了理论基础。

关键词: 管状胃瘤线虫; 形态; ITS 基因; 新纪录

浙江省养殖大黄鱼锥体虫的鉴定及 TaqMan MGB qPCR 检测技术的建立与应用

魏珊珊¹, 翁歆之², 许昊川¹, 罗华明², 贺洁², 白斐¹, 黄蒋晔³, 徐盛威³, 钱冬^{1*}

1、宁波大学海洋学院, 2、浙江省台州市水产技术推广站; 3、宁波市海洋与渔业研究院

摘要: 锥体虫 (*Trypanosoma* spp.) 是一类危害严重的鱼类血液寄生虫, 可引发宿主贫血、消瘦及继发性感染, 对水产养殖业造成重大经济损失。2023 年 9 月, 大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 锥体虫病首次在福建省大黄鱼养殖区暴发, 2024 年蔓延至浙江、广东等省, 造成养殖大黄鱼严重经济损失。为早期发现和预防大黄鱼锥体虫 (*T. larimichthysi*) 感染, 避免锥体虫病暴发, 本研究对大黄鱼感染锥体虫 18S rDNA 基因特异序列为目标基因, 建立了大黄鱼锥体虫 TaqMan MGB 探针实时荧光定量 PCR 检测方法, 结果显示: 本研究建立的 qPCR 方法, 循环阈值 (Ct 值) 与锥体虫目标基因浓度 ($1.54 \times 10^2 \sim 1.54 \times 10^8$ copies/ μ L) 呈显著线性回归关系, R^2 为 0.9971, 扩增效率 E 为 110%; 检测下限为 154 copies, 组内和组间重复试验变异系数小于 2%, 具良好重复性; 对养殖场及实验室主要大黄鱼感染病原无扩增反应, 特异性良好; 比普通 PCR 具更高检测率。表明本研究建立方法具良好灵敏度、重复性和特异性, 可为大黄鱼亲鱼、鱼苗的锥体虫早期预警检疫提供重要的检测技术, 避免锥体虫在大黄鱼养殖群体中的传播和扩散。

关键词: 大黄鱼; 锥体虫; 18S rDNA 基因; TaqMan MGB 探针; 实时荧光定量 PCR

罗氏沼虾新发疫病白体综合症潜在病原分离与鉴定

黄雷^{1#} 褚宽^{1#} 蔡雪¹ 陈静¹ 彭先启¹ 步夏莲¹ 牛晨¹ 张海琪¹ 孙伟杰^{2*}
姚嘉赞^{5*}

1. 浙江省淡水水产研究所, 农业农村部淡水渔业健康养殖重点实验室, 浙江省鱼类健康与营养重点实验室, 湖州市渔业环境与水产品质量安全重点实验室, 湖州 313001; 2. 嘉兴市农业科学研究院桐乡农业科学研究所, 嘉兴 314500

摘要: 为探明罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)新发疫病“白体病”(暂命名)的病因及防控策略, 通过流行病学调查研究了该病的典型症状与潜在病原, 并进一步筛选了其防治药物。结果发现, 该病主要流行于罗氏沼虾种虾养殖场, 其临床症状为体色发白、肌肉混浊及肝胰腺萎缩, 组织病理特征包括肌肉组织破裂、肝胰腺上皮细胞坏死、肠道壁细胞溶解及鳃炎症细胞增多。经病虾肝胰腺组织液回感试验证实致病菌存在, 并从6个养殖场的病虾中分离出8株优势菌株, 鉴定为葡萄牙柠檬酸杆菌(*Citrobacter portucalensis*)和产气克雷伯氏菌(*Klebsiella aerogenes*)。人工感染试验表明, 所有分离菌株均对罗氏沼虾具致病性, 其中葡萄牙柠檬酸杆菌 XN241202 和产气克雷伯氏菌 GY241001 致死率最高。研究将该病命名为罗氏沼虾白体综合症(White Syndrome, WS)。体外抑菌试验显示, 头孢哌酮、恩诺沙星、氟苯尼考等抗生素以及百里酚、牛至油、白屈菜红碱、藿香提取物等植物源药物对菌株 XN241202 和 GY241001 具有显著抑菌效果。体内试验表明, 饲料中添加 1 mg/kg 的恩诺沙星、氟苯尼考或牛至油可显著降低 WS 罗氏沼虾的死亡率($P<0.05$)。研究结果为罗氏沼虾 WS 防控提供了重要科学依据, 对保障罗氏沼虾种业安全具有重要意义。

关键词: 白体综合症; 葡萄牙柠檬酸杆菌; 产气克雷伯氏菌; 中草药; 罗氏沼虾

多鳞白甲鱼寄生水霉的分离与鉴定

韩蓉, 陶欣, 李明*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 多鳞白甲鱼 (*Onychostoma macrolepis*) 是鲤科白甲鱼属珍稀鱼类, 为“中国五大名鱼”之一, 具有很高的食用价值与保健作用。目前, 其野外种群被列为国家二级保护动物。多鳞白甲鱼在人工驯养和繁育过程中, 常因患水霉病而造成严重损失。水霉是一类广泛存在于淡水环境中的真菌, 能寄生于鱼类体表伤口或薄弱组织, 形成白色棉絮状菌丝, 导致鱼体组织溃烂、活动异常甚至死亡。为明确多鳞白甲鱼寄生水霉的种类及生物学特性, 本研究从患水霉病的多鳞白甲鱼病灶处分离水霉菌株, 采用马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基, 并利用灭菌油菜籽进行菌株纯化与扩大培养, 结合形态学观察与分子生物学鉴定对菌株进行分类确认。结果显示, 分离得到的水霉菌株在 PDA 培养基上生长旺盛, 菌丝呈白色透明状, 无横隔, 生长后期形成大量分枝, 符合水霉属真菌的典型形态特征; 与已知水霉属物种的 ITS 序列进行同源性比对分析, 结果表明该菌株与水霉属寄生腐霉 (*Saprolegnia parasitica*) 同源性达 99% 以上, 确定为该种水霉。本研究分离并鉴定了多鳞白甲鱼水霉病的病原种类, 为后续针对性地筛选高效抗多鳞白甲鱼水霉病药物奠定了基础。

关键词: 多鳞白甲鱼; 寄生水霉; 水霉病

鳊花斑病病原菌的分离与鉴定

陶欣^{1,2}, 吴山功^{1,2}

1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 鳊 (*Siniperca chuatsi*) 是我国水产养殖业近十年来发展迅速、具有良好发展前景的淡水养殖品种之一, 但是春季花斑造成了养殖鳊的大量死亡。花斑是指鱼身体两侧出现不规则的白斑或颜色淡化的区域。为寻找春季鳊花斑病的病原, 采用组织压片、组织切片、HE 常规染色法和 Grocott 六胺银染色法、真菌分离纯化及 ITS 序列分析等对春季患花斑病鳊进行了病原学与病理学研究。病变肌肉组织压片可见丝状菌体; HE 染色可见患病肌肉肌纤维直径变小, 形状不规则, 胞质内出现嗜酸性粒颗粒增多, 且大小不一的空泡、并伴随水肿、炎性细胞浸润 (上皮样细胞、巨噬细胞有肉芽肿); Grocott 六胺银染色可见肌肉内真菌被染成黑色。分离培养可观察到链格孢; 真菌 ITS 序列分析表明其与链格孢菌 (*Alternaria destruens*) 同源性为 100%。通过回感实验将分离到的链格孢菌接种到健康鳊, 3d 后健康鳊出现与野外患病鳊鱼相似的花斑症状, 而发病部位的病原分离也得到相同的真菌菌株, 说明 *Alternaria destruens* 是春季鳊花斑病的病原。我们的研究为春季鳊花斑病流行病学调查和综合防治的研究奠定基础。

关键词: 鳊; 花斑病; 链格孢; 病理形态学

一株日本对虾致病镰刀菌的分离鉴定及生长特性研究

范集壮, 江友威, 杨丰, 李钊*

自然资源部第三海洋研究所, 厦门 361005

摘要: 2024 年 12 月, 福建省部分虾场的日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 出现鳃部发黑症状, 发病后对虾持续死亡, 后期死亡率显著升高。为明确病因, 从患病对虾黑鳃组织中分离到一株潜在病原真菌, 经形态学与分子生物学鉴定, 该菌株为角膜镰刀菌 (*Fusarium keratoplasticum*)。通过人工感染实验, 证实其孢子悬液浸泡可诱导日本对虾出现相同症状, 表明该菌是导致黑鳃病的病原菌。为进一步探究养殖环境中理化因子对该镰刀菌生长的影响, 本研究测定了温度、pH、低温冷冻及冻融循环处理对其菌株生长与孢子萌发的影响。结果表明, 该菌在 20–35°C、pH 5–10 范围内均可正常生长; 低温处理可显著抑制孢子萌发, 但不能完全杀灭; 反复冻融处理对孢子萌发率无显著影响。本研究明确了该致病性镰刀菌的分类地位、致病性及其生长特性, 为日本对虾黑鳃病的早期防控提供了理论依据。

关键词: 日本对虾; 病原分离鉴定; 角膜镰刀菌; 环境因子

Prolonged Starvation Drives Epigenetic Remodeling: Insights from DNA Methylation Profiling in the Aquatic Pathogen *Flavobacterium columnare*

Yuxuan Zhang^{a,b}, Yanwen Shao^a, Shengnan Gao^{a,b}, Runsheng Li^{a*} and Wenlong Cai^{a,b,c*}

^aDepartment of Infectious Diseases and Public Health, Jockey Club College of Veterinary Medicine and Life Sciences, City University of Hong Kong, Kowloon Tong, Hong Kong SAR, China

^bState Key Lab of Marine Pollution, City University of Hong Kong, Kowloon Tong, Hong Kong, China

^cShenzhen Research Institute of City University of Hong Kong, Shenzhen, 518000, China

Abstract: Nutrient scarcity is a common environmental stressor encountered by bacteria. Despite its significance in bacterial virulence and physiology, the underlying epigenetic mechanisms of bacterial adaptation to prolonged starvation remain poorly understood. In this study, we utilized the latest Nanopore R10.4.1 sequencing technology to comprehensively characterize the genome-wide methylation landscape of the freshwater fish pathogen *Flavobacterium columnare* following long-term starvation at different temperatures. Our results revealed significant methylation plasticity under starvation conditions, characterized by distinct motif-dependent patterns. Notably, demethylation of the 6mA-modified CAYNNNNNRTG motif emerged as a robust epigenetic signature of starvation adaptation, with functional enrichment of genes involved in pathways for translation and metabolism, suggesting the role of this methylase in regulating essential cellular functions under starvation stress. Additionally, another 6mA-modified GCAGA motif exhibited temperature-dependent variation, indicating its potential role in temperature-specific response. Together, this study provides novel insights into the epigenetic mechanisms underlying the bacterial adaptation to nutrient deprivation and establishes a valuable methodological reference for bacterial epigenetics analysis utilizing advanced Nanopore sequencing technologies.

Keywords: Aquatic bacteria; *Flavobacterium*; Starvation adaption; DNA methylation; Nanopore R10.4.1

Bacterial anti-toxin HigA dysregulates host intestinal serotonin homeostasis in a T6SS-dependent manner

Chunli Li, Boya Zhang, Yuanxing Zhang, Qiyao Wang, Shuai Shao[#]

State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai, China;

Laboratory of Aquatic Animal Diseases of MARA, Shanghai, China;

Shanghai Engineering Research Center of Maricultured Animal Vaccines, Shanghai, China.

Abstract: Intestinal serotonin not only plays crucial roles in the gut-brain axis but also participates in host-microbial interactions. However, the underlying mechanism of serotonin level fluctuations remains elusive. Here, we demonstrated that host intestinal serotonin levels are elevated during the early stage of *Edwardsiella piscicida* infection. Upon perceiving serotonin, HigA, an anti-toxin protein, is translocated into the host nucleus in a T6SS-dependent manner as a cross-kingdom effector. HigA directly binds to the promoter region of the main rate-limiting enzyme IDO1 and upregulates its expression, facilitating the diversion of tryptophan metabolism to kynurenine pathway, which impairs serotonin production. Moreover, the decreased intestinal serotonin exacerbates host histological damage and promotes *Edwardsiella* infection. Furthermore, HigA homolog modulates serotonin metabolism and intestinal histological damage in *Salmonella*-infected murine model. Overall, our study elucidates the serotonin-involved host-pathogen interaction, in which pathogens intelligently modulate host intestinal serotonin to achieve systemic infection, given the widespread presence of T6SS-HigA-Serotonin axis.

Keywords: anti-toxin HigA; serotonin; T6SS effector; Marker; *Edwardsiella* infection

***Aeromonas hydrophila* two-component system BlrAB regulates class D β -lactamases against meropenem**

Zhihao Wu, Hui Zeng, Yong-An Zhang*, Yang Zhou*

National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Hubei Hongshan Laboratory, Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education; Shenzhen Institute of Nutrition and Health; College of Fisheries, Huazhong Agriculture University, Wuhan, China

Abstract: *Aeromonas*, a ubiquitous taxon in water environments, is emerging as antibiotic resistance pathogen of concern that remains understudied and under-reported. β -lactams are widely used antibiotics due to their strong bactericidal activity, low toxicity, broad range of applications, and effective clinical outcomes. The related compounds of β -lactam, such as carbapenems are regard as the last-line antibiotics for treating severe and/or resistant bacterial infections. In addition, the mechanism of *Aeromonas* sense and response to carbapenems pressure is also limited. Two-component systems (TCSs) play an indispensable role in bacteria respond to environment stress. In this study, carbapenem resistant *A. hydrophila* ZYAH72 was introduced to complement the *Aeromonas* resistance against β -lactam. To identify specific TCS that regulated *A. hydrophila* drug resistance, in-frame deletions of each 33 TCSs were generated and the mutants were analyzed for antibiotic susceptibility and resistance to antibiotics. The TCS BlrAB was discovered that plays a role in *A. hydrophila* resistant to only meropenem of carbapenems. BlrAB regulated serine- β -lactamase(BlaOXA) rather than metallo- β -lactamase expression exhibiting meropenem tolerance. BlrB sensed the meropenem stimulate through the phosphorylation of histidine at position 11, and transport the phosphate group to BlrA then regulating the serine beta-lactamase BlaOXA expression. Our work provides an insight into how BlrAB precisely adjust the *A. hydrophila* against carbapenem and the mechanism underlying TCS contribute to drug signal transduction against changes in the environment.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*; β -lactams resistance; Two-component systems; serine- β -lactamase

The PorY/PorX-SigP signaling pathway regulates *Flavobacterium psychrophilum* T9SS and virulence

Lin Su,¹ Ran Zhao,^{2,3} Shuhan Lin,¹ Xinwei Ge,¹ Yuying Xun,¹ Di Wang,^{2,3} Shaowu Li,^{2,3} Yongtao Zhu^{1*}

¹Department of Biosciences and Bioinformatics, School of Science, Xi'an Jiaotong-Liverpool University, Suzhou, Jiangsu, China

²Department of Aquatic Animal Health, Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin, China

³Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Immune Technology of Heilongjiang Province, Harbin, China

Abstract: The type IX secretion system (T9SS) is essential for the virulence of *Flavobacterium psychrophilum*, a causative agent of bacterial cold-water disease (BCWD) that threatens salmonid aquaculture worldwide. Previous studies implied that the PorX/PorY two-component system (TCS) and an extracytoplasmic function sigma factor SigP formed a regulatory cascade to control T9SS in *Porphyromonas gingivitis*. However, the regulatory mechanisms of T9SS expression remain unclear in *F. psychrophilum* and other members of *Bacteroidota*. Bioinformatic analysis revealed that the conservation of the PorY/PorX-SigP system closely mirrors the distribution of T9SS components, suggesting their functional interdependence and co-evolution across *Bacteroidota*. Here, we constructed deleted mutants of *porX*, *porY* and *sigP* in *F. psychrophilum* strain CSF259-93 and performed phenotypic characterization and virulence analysis. We demonstrated that the *porY* deletion mutant exhibited a complete loss of gliding motility and a significant reduce of extracellular proteolytic activity, similar to the mutant lacking *gldN*, a core component of the T9SS. Whereas the *porX* and *sigP* deletion caused partial reduction in motility and little if any changes in proteolytic activities. Proteomic analysis revealed alterations in extracellular protein profiles among the mutants, indicating PorX, PorY, and SigP influence the T9SS secreted proteins including potential virulence factors. qRT-PCR confirmed the downregulation of T9SS-related genes in these mutants. *In vivo* assays further demonstrated that deletion of *porX*, *porY*, or *sigP* significantly down-regulated the bacterial pathogenicity and increased the survival rates of rainbow trout after immunization by these mutant *F. psychrophilum* strains. These findings elucidate the regulatory network of T9SS in *F. psychrophilum*, offering valuable insights for the development of live attenuated vaccines against BCWD or other control strategies.

Keywords: *Flavobacterium psychrophilum*; Bacterial cold-water disease; Type IX secretion system; Two component system; Virulence factors

An alternative strategy of transportation and long-term preservation of *Flavobacterium columnare*: storage conditions and the underlying adaptive mechanism

Shengnan Gao, Liang Zhong, Yuxuan Zhang, Ruoxi Zhu, Wenlong Cai*

Department of Infectious Diseases and Public Health, Jockey Club College of Veterinary Medicine and Life Sciences, City University of Hong Kong, Kowloon Tong, Hong Kong Special Administrative Region, China; State Key Lab of Marine Pollution, City University of Hong Kong, Kowloon Tong, Hong Kong Special Administrative Region, China.

Abstract: Transportation and long-term preservation are essential for laboratory and practical applications of *Flavobacterium columnare* (*F. columnare*). The survival of *F. columnare* after long-term preservation implied an adaptive mechanism to starvation conditions that remains incompletely understood. In this study, four preservation mediums and three preservation temperatures were adopted to store the *F. columnare* for 52 weeks. The optimal preservation strategy was determined by statistical analysis of bacterial viability and virulence maintenance. Subsequently, investigations into adaptive mechanism of the surviving cells to starvation at genomic, epigenetic and transcriptomic levels were conducted. Double distilled water (ddH₂O) was proven to be an effective strategy for the long-term preservation of *F. columnare* under selected temperatures (22°C & 28°C). Starvation induced a transition in colony morphology from a rhizoid to a smooth morphotype. According to the nanopore sequencing results, no significant mutations were found at genomic level. Whereas epigenetic study revealed that the **CAYNNNNRTG motif was significantly decreased in DNA methylation** level in the smooth-shape group compared with the rhizoid-shape group. Furthermore, transcriptomic analysis identified 851 (418 up-regulated and 433 down-regulated) differentially expressed genes (DEGs) in the smooth-shape group compared with the rhizoid-shape group. Notably, all of the DEGs related to the denitrification process (e.g., *narT*, *CuNir*, *norD*) and transposase across multiple transposon families (e.g., ISL3, IS1182) were significantly up-regulated, while all of the DEGs of ribosomal proteins and type VI secretion systems were significantly down-regulated in the smooth-shape group. Therefore, it could conclude that *F. columnare* prioritized viability and essential functions in response to starvation. It enhanced cellular defences, initiated anaerobic growth, and activated transposon mobilization to maintain survival and genomic plasticity. Combined analysis of the DNA methylome and transcriptome demonstrated CAYNNNNRTG motif hypomethylation as a *rapid response* to nutrient stress, preferentially targeting regulatory regions of targeted genes (i.e., transposase) to remodel gene expression networks. Our results not only provided a straightforward and effective strategy for the rapid preservation of *F. columnare* but also provided insights for the adaptive response of *F. columnare* to prolonged starvation. These results could aid in developing targeted interventions strategies to disrupt these adaptive mechanisms, potentially reducing the bacterium's capacity for nutrient deprivation tolerance in the natural environment.

Keywords: Columnaris disease; Bacteria preservation; Colony morphology; Starvation mechanism

Unraveling the Molecular and Physiological Roles of Signal Peptide Peptidase A in *Flavobacterium columnare*

Ruoxi Zhu, Liang Zhong, Yuying Xun, Shucheng Zheng, Yongtao Zhu, Wenlong Cai*

Department of Infectious Disease and Public Health, Jockey Club College of Veterinary Medicine and Life Science, City University of Hong Kong, Kowloon Tong, Hong Kong SAR, China

Abstract: Columnaris disease, caused by *Flavobacterium columnare*, represents one of the most economically devastating bacterial infections in global freshwater aquaculture. Despite its significant impact, the molecular mechanisms underlying *F. columnare* pathogenesis remain largely unexplored. Signal peptide peptidase A (SppA) plays a crucial role in bacterial protein secretion by degrading residual signal peptides after protein translocation, yet its function in *F. columnare* physiology and virulence has not been characterized. Here, we employed a targeted gene deletion approach to investigate the role of *sppA* in *F. columnare*. The Δ *sppA* mutant exhibited pleiotropic phenotypes including increased outer membrane vesicle (OMV) production (3.8-fold higher compared to the wild type), reduced growth rates, impaired biofilm formation capacity, and loss of gliding motility. Transcriptomic profiling of the Δ *sppA* mutant revealed significant upregulation of genes involved in membrane stress response, including the genes in the MacAB-TolC efflux system, *algU*, and *osmC*, compared to the wild-type state. Importantly, survival assays demonstrated its significantly attenuated virulence in freshwater Medaka (*Oryzias latipes*), with a 20% higher survival rate of fish compared to the wild type. Our findings reveal that SppA is essential for maintaining membrane homeostasis and normal cellular physiology in *F. columnare* and exhibits partially reduced virulence in columnaris infection in freshwater Medaka. These results provide important insights into the biological function of the *sppA* gene in *F. columnare* and highlight the complex relationship between bacterial protein secretion, membrane integrity, and pathogenesis.

Keywords: Bacterial virulence, SppA, outer membrane vesicle, Columnaris disease, aquatic pathogen, sustainable aquaculture, fish health

Whole-genome sequencing and comparative genomics of multidrug-resistant *Aeromonas veronii* Y6 from Xinjiang

Jian qi¹; Yingyu Liu^{1*}; ChengYue¹; Cuilan¹; HaoBaili¹; Zheng¹

¹College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, China

Abstract: *Aeromonas veronii* (*A. veronii*) is a significant opportunistic pathogen capable of infecting multiple host species and transmitting antimicrobial resistance (AMR) genes, posing substantial threats to aquaculture production and public health security. This study investigated the prevalence and antimicrobial resistance profiles of *A. veronii* isolated from diseased perch in the Xinjiang region. Results revealed an isolation rate of 46.43%, with 85.62% of isolates exhibiting multidrug resistance, demonstrating high resistance levels to amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin, and sulfamethoxazole. Pathogenicity experiments on strains with the highest resistance levels identified a highly virulent, multidrug-resistant *A. veronii* strain (Y6). Histopathological examination revealed that Y6 induced significant tissue damage in perch muscle, liver, intestine, spleen, and kidney. Whole-genome sequencing of Y6 and comparative analysis with 48 complete *A. veronii* genomes published in the NCBI database identified 5,055 virulence-associated genes and 350 AMR genes, with integrons detected in 21 *A. veronii* strains. Identical resistance gene cassettes were observed in the integron 1 of Y6 and the integrons of strains ANYA 19170 and SW3814. Further phylogenetic analysis suggested that integron 2 (composite transposon) of Y6 likely originated from *Pseudomonas* plasmids. Overall, these findings indicate widespread *A. veronii* contamination in perch aquaculture in the Xinjiang region, with highly pathogenic multidrug-resistant strains presenting cross-host transmission risk and resistance dissemination via gene cassettes carried on mobile genetic elements such as integrons. Therefore, strengthening pathogen surveillance and implementing antimicrobial stewardship during perch aquaculture in the Xinjiang region is essential to reduce economic losses and mitigate potential public health threats.

Keywords: *Aeromonas veronii*; Xinjiang; Whole-genome sequencing; integron

Characterization and Comparative Functional Analysis of the Toll-like Receptor 5S Gene of *Siniperca chuatsi* and *Siniperca scherzeri* in Response to *Aeromonas veronii* Infection

Xinhai Zhu ^a, Liying Zhou ^a, Xiaojian Gao ^a, Qun Jiang ^a, Xiaojun Zhang ^{a*}

^a College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, 225009, China

Abstract: Toll-like Receptor 5 is a pattern recognition receptor that play a crucial role in innate immunity, including a membrane-bound form and a soluble form (TLR5S) in teleost fish. The latter lacks the transmembrane and Toll/IL-1 receptor (TIR) domains but can bind flagellin to amplify immune signaling. Our previous studies have shown that *Siniperca scherzeri* exhibit lower susceptibility to *Aeromonas veronii* infection than *S. chuatsi*, along with higher *TLR5* expression in transcriptomic level. In this study, *TLR5S* genes were cloned from *S. chuatsi* and *S. scherzeri*, and designated *ScTLR5S* and *SsTLR5S*, respectively. Both *ScTLR5S* and *SsTLR5S* were ubiquitous expressed in immune tissues, with highest levels in the head kidney, and significant up-regulated following *A. veronii* challenge. RNAi experiment results reveal that many inflammation- and immunity-related genes were significant down-regulated after *ScTLR5S* and *SsTLR5S* silencing, with more pronounced reductions in transcripts observed in *S. scherzeri* despite its higher basal expression in artificial infection. Moreover, TLR5S silencing followed by *A. veronii* challenge significantly increased mortality in both species. Although *S. scherzeri* exhibited a higher absolute survival rate than *S. chuatsi*, *S. scherzeri* showed a greater decline in survival rate than *S. chuatsi*. Co-immunoprecipitation (Co-IP) and quantitative Real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) assays further demonstrated that *SsTLR5S* exhibits stronger flagellin-binding activity and elicits a more robust inflammatory response than *ScTLR5S*. These findings suggest that *S. scherzeri* exhibits more efficient recognition of flagellin by TLR5S and triggers stronger activation of downstream signaling pathways following the formation of the flagellin-TLR5S complex compared to *S. chuatsi*, highlighting the important role of TLR5S in mediating innate immune responses in mandarin fish.

Keywords: *Siniperca chuatsi*, *Siniperca scherzeri*; *Aeromonas veronii*; *TLR5S*; RNAi, innate immunity

Characterization of a novel *Vibrio parahaemolyticus* JD2305 and comparative genomics of the Tc toxin mobilome in *Vibrio* pathogens associated with translucent postlarva disease

Laizhuang Jin^{1,2}, Qianhui Song¹, Na Ying¹, Liguang Yang¹, Letian Li¹, Lei Feng¹,
Xinshu Li², Wenhong Fang^{1*}

¹ Key Laboratory of East China Sea Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

² Jiangsu Key Laboratory of Marine Bioresources and Environment, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;

Abstract: Translucent Postlarva Disease (TPD), an emerging shrimp disease causing acute mass mortality in postlarvae, is associated *Vibrio* species producing Tc toxins. This study identifies the novel pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* strain JD2305 as a causative agent of TPD, demonstrating high virulence (100% within 24 h at 1.52×10^5 CFU/mL). Genomic sequencing and comparative analysis revealed that mobile genetic elements (MGEs) harboring Tc toxin genes were present in diverse *Vibrio* strains, and these isolates were predominantly obtained from Asia. Comparative genomics indicated that these MGEs encoded a rich repertoire of MGE-associated functional proteins, including transposases and insertion sequence elements, and that the virulence plasmid pJD23B carried by strain JD2305 was the smallest known MGE among these related elements. Furthermore, two distinct types of type IV secretion system (T4SS) gene clusters were identified on these MGEs. Classification and comparative analysis based on the presence and type of T4SS revealed that MGEs within each category shared high average nucleotide identity (ANI) and structural similarity. Phylogenetic analysis of the Tc toxin genes further suggested that the Tc toxin in JD2305 may have evolved from *V. campbellii*. Collectively, we proposed that the virulence plasmid pJD23B likely evolved via streamlining from a more complex ancestral MGE carrying Tc toxin genes. This study provided novel insights into the evolutionary origins and transmission mechanisms underlying TPD.

Keywords: Translucent Postlarva Disease (TPD); Tc toxins; *Vibrio parahaemolyticus* strain JD2305; Mobile genetic elements (MGEs); Comparative genomics; Streamlined evolution

Epidemiology and Influencing Factors of ISKNV and LMBV in *Micropterus salmoides* in the Pearl River Delta

Jiancheng He, Mingda Chen, Zihong, Guo, Jiahao Zhang, Erhao Zou, Youlu Su*,
Biao jiang *

College of Animal Sciences and Technology, Zhongkai University of Agriculture and
Engineering, Guangzhou 510225, China

Abstract: Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) and largemouth bass ranavirus (LMBV) are two viral pathogens that severely threaten the aquaculture industry of *Micropterus salmoides* in China. To investigate the epidemic characteristics of ISKNV and LMBV in *M. salmoides* in the Pearl River Delta region, clarify the influencing factors of the two viruses, and provide theoretical support for their prevention and control, this study conducted a systematic epidemiological survey of ISKNV and LMBV viral diseases in the *M. salmoides* culture area of the Pearl River Delta from 2023 to 2024. The epidemic law of the two viruses in the Pearl River Delta region from 2023 to 2024 was clarified, and the potential effects of different growth stages, meteorological conditions and mixed infection on the epidemic trend of ISKNV and LMBV were revealed. The results showed that the main clinical symptoms of *M. salmoides* infected with ISKNV in the Pearl River Delta region from 2023 to 2024 were black body color, white gill filaments, bleeding fins, hepatomegaly, yellowing or white, splenomegaly and black, kidney congestion, etc.; the main clinical symptoms of LMBV infection were body surface or caudal fin ulceration, eye turbidity, liver congestion, a few fish liver white spots, spleen enlargement and blackening. There was no obvious regularity in the infection rate of ISKNV during 2023 and 2024, while the infection rate of LMBV showed obvious seasonality. The epidemic time was from May to September, and May to June was the peak period of infection. The infection rate of LMBV was positively correlated with average temperature and rainfall days. There was no significant difference in the ISKNV-positive rate among *M. salmoides* of different size classes, while the LMBV-positive rate in larger-sized *M. salmoides* was significantly higher than in smaller-sized individuals. The investigation revealed a relatively severe occurrence of mixed infections in *M. salmoides* aquaculture areas within the Pearl River Delta region, where multiple pathogenic microorganisms were found to co-infect *M. salmoides* along with ISKNV and LMBV. Logistic regression analysis of multiple co-infecting pathogens revealed that *Micropterus salmoides* rhabdovirus (MSRV) acted as a protective factor influencing LMBV infection in *M. salmoides* (OR=0.217, 95%CI: 0.108-0.437, $P<0.01$), while *Dactylogyrus* spp. was identified as a risk factor affecting LMBV infection in *M. salmoides* (OR=2.021, 95%CI: 1.447-2.821, $P<0.01$).

Keywords: *Micropterus salmoides*; ISKNV; LMBV; epidemiology; influencing factors

杀鱼爱德华氏菌通过分泌效应物诱导铁自噬以逃逸鱼类天然免疫的机制探究

任靖琦, 王哲, 马晓雨, 汪新艳, 张安英, 周红*

电子科技大学生命科学与技术学院, 成都 610054

摘要: 杀鱼爱德华氏菌 (*Edwardsiella piscicida*, *E. piscicida*) 是水产养殖的重要致病菌之一, 其定殖胞内特性使得常规抗生素药物治疗难以发挥作用, 给水产养殖业带来巨大经济损失。全面解析杀鱼爱德华氏菌在鱼类细胞中的免疫逃逸机制有利于丰富杀鱼爱德华氏菌的防治策略。鉴于铁元素是宿主细胞和病原菌存活必需营养素之一, 本研究探究杀鱼爱德华氏菌对鱼细胞铁稳态的影响, 并阐述了相应的分子机制。结果显示, *E. piscicida* 通过自噬途径显著降低草鱼单核/巨噬细胞中铁蛋白 (ferritin) 丰度, 增加胞内铁离子含量, 而铁螯合剂去铁胺降低胞内菌的载量, 提示该菌诱导的铁紊乱促进其胞内生长。同时, 参与上述反应的 *E. piscicida* 效应物 EseD 被鉴定, 揭示其通过促进 ferritin 与自噬小体共定位及相应自噬途径降低 ferritin 蛋白, 并且 EseD 通过诱导依赖于 NCOA4 的铁自噬干扰鱼细胞铁稳态, 进而利于细菌的胞内增殖。机制方面, EseD 不仅促进 NCOA4 与溶酶体结合, 而且通过识别 NCOA4 和 ferritin 促进形成 NCOA4-ferritin 铁自噬复合体。进一步的研究发现, 干扰素刺激因子 (Stimulator of interferon genes, STING) 与 EseD 互作并参与 NCOA4-ferritin 复合体形成, 特别提示鱼类 STING 作为互作分子介导 EseD 诱导的铁自噬。综上所述, *E. piscicida* 通过分泌效应分子 EseD 促进 Ncoa4-ferritin-Sting 复合物的形成, 介导的铁自噬降解 ferritin 并释放铁离子, 从而干扰硬骨鱼细胞的铁稳态, 促进其胞内存活。这些结果揭示营养免疫如铁代谢在 *E. piscicida* 和硬骨鱼细胞互作中的重要地位, 为杀鱼爱德华氏菌的防治策略提供了思路和靶点。

关键词: 杀鱼爱德华氏菌; EseD; 铁自噬; NCOA4; STING

虹鳟传染性造血器官坏死病病毒致病机制研究新进展

黄静雯, 李秋稷, 周鑫玥, 赵宏颖, 曹永生*

东北农业大学动物医学学院, 哈尔滨 150030

摘要: 虹鳟传染性造血器官坏死病病毒 (IHNV) 是感染虹鳟等冷水鱼类的强致死性病原, 其所导致的疾病已成为制约我国虹鳟苗种繁育的重要病害。为深入解析IHNV的致病机制, 我们针对虹鳟干扰素 (IFN) 系统的功能特点及IHNV调控IFN的作用开展了系统研究, 取得如下重要进展: 证实虹鳟IFN具有显著的抗IHNV保护作用, 但IHNV可通上调miR-146a-3p表达、挟持IFN负调控因子SOCS-1、或利用病毒蛋白P与宿主蛋白DDX5互作等多种方式限制IFN的抗病毒作用而有效建立感染。这些研究揭示了IHNV免疫逃逸的新机制, 为抗病毒靶向策略及疫苗研发提供了坚实的理论支撑。

关键词: 传染性造血器官坏死病病毒IHNV; 调控; 干扰素; 免疫逃逸

神经坏死病毒NNV感染淡水与海水鱼的分子机制比较研究

覃婵霞^{1,2}, 冯海清³, 陈金平^{1, **}, 俞也频^{1, *}

1. 广东省科学院动物研究所, 广州 510642

2. 广西大学, 南宁 530004

3. 华南农业大学, 广州 510640

摘要: 神经坏死病毒 (nervous necrosis virus, NNV) 长期以来主要流行于海水鱼类, 已有研究证实, 石斑鱼 (*Epinephelus spp.*)、欧洲鲈鱼 (*Dicentrarchus labrax*)、金头鲷 (*Sparus aurata*) 等多种海水鱼均感染NNV。然而, 近期研究发现, 典型淡水鱼鳊鱼 (*Siniperca chuatsi*) 同样可被NNV感染, 这为探究NNV跨盐度感染机制提供新方向。为深入解析NNV的感染机制, 明确其感染淡水鱼与海水鱼的分子机制差异, 本研究以鳊鱼脑细胞系 (Chinese Perch Brain, CPB) 为体外研究模型, 利用RNA-seq技术系统分析NNV感染后CPB细胞的转录组变化; 同时将所得数据与已报道的欧洲鲈鱼、金头鲷NNV感染转录组数据进行跨物种比较, 并在鳊鱼活体实验中对关键差异表达基因的功能进行进一步验证。研究结果显示, *krt13*基因的表达量在NNV感染的鳊鱼中显著上调, 而在感染的海水鱼 (欧洲鲈鱼、金头鲷) 中显著下调, 该结果首次提示角质蛋白家族成员可能参与盐度依赖的宿主屏障功能调控或细胞应激反应, 为解释 NNV 跨盐度感染差异提供了新线索。此外, *cybb*、*trim16*和*hdhd5*基因的表达模式呈现物种特异性: 在鳊鱼和金头鲷中显著上调, 而在欧洲鲈鱼中显著下调, 提示鳊鱼与金头鲷可能存在相似的NNV抗性分子机制。进一步的差异表达基因交集分析发现, 鳊鱼与金头鲷在NNV感染后共有8个差异表达基因 (*cmpk2*、*dhx58*、*rsad2*、*nlrc5*、*epsti1*、*ifih1*、*rbck1*、*parp9*), 其中*cmpk2*已被前期研究证实具有抗NNV功能。为明确*cmpk2*在鳊鱼抗 NNV 中的作用机制, 本研究在CPB细胞中进行*cmpk2*过表达实验, 结果表明: *cmpk2*可通过调控I型干扰素通路中的关键分子 (IRF3、RNF213、IFN- γ) 的表达, 进而发挥抑制NNV复制的作用。综上, 本研究不仅解释了鳊鱼应对NNV感染的关键分子通路, 通过跨盐度鱼类的转录组比较, 明确了NNV感染机制的物种差异, 为深入理解NNV的宿主适应性进化及淡水鱼NNV病害的防控提供了重要的分子依据。

关键词: 鳊鱼; NNV; RNA-seq; *cmpk2*; 抗病毒机制

溶藻弧菌鞭毛调控基因在免疫逃逸中作用机制研究

龙昊, 张静文, 谢珍玉*

海南大学海洋生物与水产学院, 海口 570228

摘要: 溶藻弧菌是水产养殖常见的一种致病性弧菌, 其鞭毛是一种重要的毒力因子, 其鞭毛数量受到*flhG*和*flhF*这2个基因协同调控。溶藻弧菌是否通过调控其鞭毛数量或其它相关表型来实现在宿主内的免疫逃逸还未有深入研究。本研究首先构建了溶藻弧菌*flhG*和*flhF*基因的敲除株和回补株。通过扫描电镜观察发现, 敲除*flhG*基因后, 溶藻弧菌呈现多鞭毛状态, 而敲除*flhF*基因后, 溶藻弧菌则会缺失鞭毛。另外, 在低营养条件下, 野生型溶藻弧菌会舍弃极性鞭毛结构, 而*flhG*基因敲除株仍然保持多鞭毛状态。这些结果表明在特定的条件下, 溶藻弧菌通过*flhG*基因负调控极性鞭毛数量, 在感染宿主后也可能通过减少鞭毛的合成来逃逸宿主的免疫识别。在低营养条件下, *flhG*基因显著促进溶藻弧菌运动, *flhF*基因对运动无明显影响; 同时, 在低营养条件下, *flhG*基因在抵抗低盐胁迫以及高温胁迫中发挥作用并且参与抑制生物膜形成的过程。利用具有有多鞭毛结构的*flhG*基因缺失株感染凡纳滨对虾后, 对虾肝胰腺中的C型凝集素和TRAF6通路基因表达显著上调, 表明凡纳滨对虾可能通过C型凝集素识别溶藻弧菌的鞭毛机构并通过TRAF6通路激活免疫系统。本项目研究为揭示溶藻弧菌致病机制和逃逸宿主免疫识别机制奠定了理论基础, 为开发水产养殖弧菌病害防控技术提供了新的思路。

关键词: 溶藻弧菌; 细菌鞭毛; 免疫逃逸; 凡纳滨对虾

黄河鲤OPTN通过抑制细胞自噬和先天免疫促进嗜水气单胞菌定植

张云丽,李趁,孔祥会*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 河南 新乡, 453007

摘要: OPTN (Optineurin) 是一种多功能蛋白, 参与多种细胞功能, 在细胞自噬和先天免疫中均发挥重要作用。本研究从黄河鲤 (*Cyprinus carpio*) 中克隆了两个OPTN基因, 即CcOPTN-1和CcOPTN-2。生物信息学分析发现黄河鲤OPTN与其他鱼类具有高度同源性, 且OPTN结构域在不同物种中高度相似。实验结果表明, 在正常生理状态下, CcOPTNs下调NF- κ B、IFN等炎症和干扰素因子, 上调LC3-II蛋白表达水平, 即CcOPTNs负调控NF- κ B等先天免疫通路, 并促进细胞自噬的发生。嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 为条件致病菌, 是典型的人-兽-鱼共患病病原菌。嗜水气单胞菌可感染多种鱼类, 使其爆发细菌性败血症, 导致养殖鱼类大量死亡, 已严重制约水产养殖业可持续发展。对其与宿主相互作用的全面分析可为鱼类疾病预防和治疗提供重要见解。因此, 我们建立了嗜水气单胞菌感染模型, 经嗜水气单胞菌刺激后, CcOPTNs的表达水平总体呈现上调趋势, 提示CcOPTNs可能参与嗜水气单胞菌刺激的免疫响应。此外, CcOPTNs通过抑制细胞自噬和损害先天免疫反应来促进嗜水气单胞菌定植, 从而降低鲤存活率。综上所述, 我们的研究结果表明, CcOPTNs是细胞自噬和先天免疫的关键调节因子, 在对嗜水气单胞菌感染的免疫反应中发挥着关键作用, 这一结果为鱼病细菌性疾病的防治提供了新的理论参考。

关键词: 细胞自噬; 选择性自噬受体; 炎症反应; 先天免疫

GCRV “劫持” IL-6/STAT3轴通过抑制I型干扰素信号通路以温度依赖性方式促进病毒复制

胡亮,徐杨,肖调义,王红权,李军华*

湖南农业大学水产学院, 湖南 长沙, 410128

摘要: 草鱼呼肠孤病毒 (grass carp reovirus, GCRV) 感染及其所致草鱼出血病 (grass carp hemorrhagic disease, GCHD) 的暴发具有典型的季节性和温度依赖性, 然而其潜在的分子机制尚未完全阐明。本研究综合运用多组学分析、实时荧光定量PCR、蛋白质免疫印迹、免疫荧光、双荧光素酶报告系统、免疫共沉淀及分子对接等技术, 系统揭示GCRV通过利用温度依赖性的IL-6/STAT3 (interleukin 6/signal transducer and activator of transcription 3) 轴抑制I型干扰素 (interferon, IFN) 通路, 从而促进病毒复制的分子机制。研究结果显示, GCRV感染显著上调IL-6和STAT3的表达, 且其转录水平、STAT3磷酸化程度及病毒基因组复制在28℃ (易感温度) 条件下均显著高于18℃ (非易感温度)。温度转换实验进一步表明, IL-6/STAT3轴的激活受温度应激调控。功能实验表明, 激活IL-6/STAT3轴显著促进GCRV复制并抑制IFN表达; 相反, 抑制该轴则显著削弱病毒复制并促进IFN产生。在机制层面, STAT3通过与IRF3 (interferon regulatory factor 3) 直接结合, 抑制其核转位, 从而下调IFN-I的转录水平及启动子活性。本研究首次从分子水平阐明GCRV借助温度依赖的IL-6/STAT3轴调控宿主先天免疫应答, 为GCHD的靶向防控提供理论依据。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒; 温度依赖性; IL-6/STAT3轴; I型干扰素

草鱼 TRPV1 蛋白在促进 GCRV 感染中的鉴定及功能分析

谢紫钰¹, 徐杨¹, 张秋实, 刘智明, 胡亮, 王威, 肖调义, 李德亮, 梁新宇*, 李军华*

湖南农业大学水产学院, 长沙 410128

摘要: 瞬时受体电位香草酸亚型 (TRPV) 通道相关研究译文瞬时受体电位香草酸亚型 (TRPV) 通道是一类独特的感觉信号介导因子, 负责传递来自内、外环境刺激的信号。水生病毒性疾病 (如由草鱼呼肠孤病毒, GCRV, 感染引起的草鱼出血病, GCHD) 的暴发通常具有季节性和温度依赖性, 但其温度依赖性背后的分子机制仍大多不明确。本研究探究并阐明了草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 的 CiTRPVs 在应对 GCRV 感染中的作用。结果显示, CiTRPVs 在所有检测的组织中均有广泛表达, 且在经 GCRV 或病原体相关分子模式 (PAMPs) 刺激后, 其表达水平显著上调。温度梯度感染实验和温度应激感染实验发现, GCRV 以温度依赖的方式诱导 CiTRPV1 的表达, 其中 28°C 的适宜温度可同时促进 CiTRPV1 的表达和 GCRV 的增殖。进一步的免疫荧光分析表明, CiTRPV1 在细胞内分布广泛, 而病毒感染会增强其寡聚化, 并促进其与线粒体 (Mit) 和内质网 (ER) 的共定位。此外, 通过 CiTRPV1 过表达、小干扰 RNA (siRNA) 敲低以及药物抑制/激活实验证实, CiTRPV1 可促进 GCRV 的复制。最后研究发现, CiTRPV1 通过诱导热休克蛋白 (HSP70 和 HSP90)、炎症因子 (白细胞介素 6, IL6) 和膜受体 (整合素) 来促进 GCRV 感染。本研究揭示了水生病毒利用感觉 TRP 通道增强病毒感染的免疫逃逸机制, 为通过使用 CiTRPV1 抑制剂针对性预防和治疗草鱼出血病 (GCHD) 提供了潜在策略, 同时也强调了环境因素在水生病毒性疾病发生发展中的关键作用。

关键词: 草鱼; 草鱼出血病病毒, 草鱼瞬时受体电位香草酸 1; 温度; 病毒复制

细胞外基质纤连蛋白（fibronectin, FN）在草鱼呼肠孤病毒（grass carp reovirus, GCRV）温度依赖性感染中的作用及机制研究

徐杨,胡亮,张秋实,王红权,肖调义,李军华*

湖南农业大学水产学院, 长沙 410128

摘要: 草鱼呼肠孤病毒（grass carp reovirus, GCRV）引发的草鱼出血病（grass carp hemorrhagic disease, GCHD）具有典型的季节性和温度依赖性特征，是制约草鱼养殖业健康可持续发展的关键因素之一。本研究以GCRV为主要模型，综合运用多组学分析、实时荧光定量PCR、蛋白质免疫印迹、免疫荧光、扫描与透射电镜、CRISPR/Cas9基因编辑、双荧光素酶报告系统、免疫共沉淀、Pull-down及分子对接等技术，系统解析细胞外基质关键组分纤连蛋白（Fibronectin, FN）在介导病毒温度依赖性感染中的作用及其分子机制。研究结果表明，GCRV感染显著诱导FN表达，且FN丰度与病毒复制效率均呈现明显的温度依赖性，在28℃条件下显著高于18℃。通过外源蛋白孵育、激动剂/拮抗剂处理、抗体阻断及基因敲降/敲除等实验，分别从正向和反向验证FN对病毒感染和复制的促进作用。机制研究进一步揭示，FN通过激活NF- κ B信号通路、诱导细胞骨架重排，并与宿主细胞膜受体整合素（integrins）及病毒外衣壳蛋白VP7等相互作用，从而正向调控病毒复制过程。本研究首次系统阐明FN在GCRV温度依赖性感染中的关键功能，为GCHD及其他水生动物病毒性疾病的靶向防控策略提供了重要理论依据。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒；纤连蛋白；温度依赖性；NF- κ B信号；细胞骨架

大口黑鲈虹彩病毒（LMBV）通过炎症抑制与氧化损伤加重斑马鱼感染

管凌峰,张欣悦,余婷,刘洋,许正泓,李懿,秦启伟*,王劭雯*

华南农业大学海洋学院, 广州 510642

摘要: 大口黑鲈虹彩病毒 (Largemouth bass virus, LMBV) 是典型的大分子 DNA 病毒, 具有流行范围广、致病性强等特点, 严重危害全球大口黑鲈的健康养殖。然而, 目前有关 LMBV 的感染致病机制仍未明确。模式生物斑马鱼具有繁殖力强、遗传背景清晰、幼体透明且免疫机制与多数养殖鱼类具有较高同源性等优势, 在水产病原的侵染途径和宿主免疫应答机制等研究中发挥关键的桥梁作用, 并为疾病防控策略的制定提供重要理论依据。因此, 本研究利用 TU 品系斑马鱼建立 LMBV 感染模型, 并结合体外细胞实验深入分析 LMBV 感染宿主的分子机制。结果显示, LMBV 能够感染 TU 品系斑马鱼, 并在鱼体中复制引起组织病理变化和运动异常, 导致约 40% 的死亡率。转录组学数据分析显示, 脾脏中共有 6713 个基因表达上调, 2524 个基因表达下调, 富集在与细胞死亡和免疫应答等相关通路。其中, 炎症因子如 JunB、MMP9 和 PIK3R3, 核质运输及翻译相关的 Ran、Nup43 和 EIF4E 等在 LMBV 感染后显著下调。基于 LMBV-ZF4 细胞体外感染模型, 我们发现 LMBV 感染细胞后, 通过阻断 p38 MAPK 和 Nrf2 的核转运, 同步发挥双重调控作用: 一方面, p38 MAPK 核转运受阻抑制炎症通路 (NF- κ B/ERK-MAPK), 导致促炎细胞因子表达下降, 从而抑制细胞炎症反应; 另一方面, Nrf2 核转运受阻削弱细胞抗氧化能力 (GPX、SOD 减少), 无法清除病原诱导升高的 ROS, 最终使病原实现免疫逃逸并加剧细胞损伤。综上, 我们揭示了 LMBV 通过抑制炎症和促进氧化损伤协同增强致病性的分子机制, 为进一步阐明宿主-病毒互作及药物靶点筛选提供了新思路。

关键词: LMBV; 斑马鱼; 炎症反应; 氧化损伤

斑马鱼鳃黏膜免疫及共生菌群在鲤春病毒血症病毒(SVCoV)局部侵染过程中的响应特征

胡长柏, 于永耀*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 鳃不仅是鱼类进行气体交换的重要器官, 也是病毒入侵的主要门户。为有效应对病毒入侵, 鳃黏膜通过激活先天免疫与适应性免疫应答构筑抗病毒防线。除此之外, 鳃黏膜表面还存在复杂的共生菌群, 对鳃黏膜调节免疫微环境中发挥重要作用。为了探究鱼类鳃黏膜免疫及其共生菌群在病毒侵染过程中的响应特征, 我们以斑马鱼 (*Danio rerio*) 为研究对象, 构建鲤春病毒血症病毒 (SVCoV) 鳃局部侵染模型, 分析感染后不同时间点 (1、4、7和14天) 斑马鱼鳃组织病理、病毒载量和免疫相关基因表达变化情况, 并基于转录组和16S-rRNA测序进一步探究斑马鱼鳃黏膜免疫相关基因和表面菌群在急性感染期 (感染后第4天) 和恢复期 (感染后第14天) 的变化。研究发现, SVCoV感染后呼吸上皮细胞空泡变性脱落, 鳃小片末端肿大弯曲, 基底部水肿破损。在急性感染期抗病毒基因 (*ifn- γ* 、*mxr*) 和促炎因子 (*tnfa*、*il1 β*) 显著上调, 发生强烈的炎症反应。转录组测序结果显示感染后第4天鳃组织促炎因子 (如*il6*) 和I型干扰素表达上调, 除此之外, 与细菌感染相关的Toll样受体途径被激活, 这提示在鳃黏膜组织在病毒感染后继发细菌感染。16S-rRNA测序结果表明鳃黏膜菌群紊乱, 条件致病菌 (如假单胞菌属等) 丰度显著增加, 而在感染后第14天鳃黏膜菌群多样性及群落结构部分恢复。总之, 我们的研究表明SVCoV经鳃感染不仅直接损伤鳃物理屏障, 更通过扰乱菌群稳态诱发继发性细菌感染, 凸显了鳃黏膜免疫-菌群协同防御的重要性。

关键词: 鲤春病毒血症病毒 (SVCoV); 斑马鱼; 鳃黏膜免疫; 共生菌群

EcCXCR4b 通过与 RGNNV 衣壳蛋白相互作用影响 RGNNV 的增殖

花晓静^{1,2}, 李陈^{1,2}, 余艳枝^{1,2}, 刘学芹^{1,2*}

1. 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

摘要: 赤点石斑鱼神经坏死病毒 (Red grouper neuron necrosis virus, RGNNV) 是一种致病性极强的养殖鱼类病原体, 能够感染全球范围内的多种海水和淡水养殖品种, 给水产养殖业造成严重的经济损失。RGNNV 的衣壳蛋白 (Capsid protein, CP) 作为病毒表面唯一的结构蛋白, 在介导病毒与易感宿主细胞的结合过程中发挥关键作用。本研究采用免疫沉淀-质谱联用技术 (IP-MS) 筛选与 RGNNV-CP 相互作用的候选蛋白, 发现 *Epinephelus coioides* CXC 趋化因子受体 4b (*EcCXCR4b*) 主要定位于 RGNNV 敏感细胞系 GS 的细胞膜上, 并通过免疫共沉淀及间接免疫荧光验证其为 RGNNV-CP 的互作蛋白。进一步研究显示, 在宿主细胞中过表达 *EcCXCR4b* 可增强 RGNNV 的黏附与入侵, 而沉默 *EcCXCR4b* 的表达则显著抑制 RGNNV 的复制并减少病毒的入侵。此外, 用抗 CXCR4 抗体处理细胞以阻断细胞膜表面的 *EcCXCR4b*, 或用 *EcCXCR4b* 重组蛋白预处理 RGNNV 病毒粒子, 均能有效抑制 RGNNV 与 GS 细胞的结合。在体内试验中, 使用 *EcCXCR4b* 重组蛋白与 RGNNV 混合腹腔注射石斑鱼后可显著提高 RGNNV 感染石斑鱼的存活率。值得注意的是, 外源过表达 *EcCXCR4b* 能促进 RGNNV 在不易感的人肺癌细胞 (A549) 中的内化, 且发现 *EcCXCR4b* 通过网格蛋白介导的内吞途径协助 RGNNV 进入宿主细胞。研究结果表明, *EcCXCR4b* 是 RGNNV 入侵宿主细胞所必需的因子, 有望成为防控 RGNNV 感染的潜在治疗靶点。

关键词: RGNNV; 衣壳蛋白; *EcCXCR4b*; 相互作用蛋白; 病毒入侵

凝结芽孢杆菌抗SVCV的作用机制研究

赵伟杨^{1,2}, 李陈^{1,2}, 刘学芹^{1,2*}

1. 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 华中农业大学水产学院, 武汉430070

2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

摘要: 鲤春病毒血症病毒 (Spring viremia of carp virus, SVCV) 可对鲤及其他鲤科鱼类造成严重危害, 发病鱼典型临床特征为组织细胞坏死、斑点样出血等。然而, 目前尚无特异性商用药物或疫苗来控制SVCV感染。在本研究中, 从鲫肠道中分离到一株凝结芽孢杆菌WH20 (*Bacillus coagulans* WH20), 研究发现, 饲喂*B. coagulans*可以显著提高斑马鱼感染SVCV的存活率, 并抑制各脏器炎症反应及组织损伤。该菌株的细胞裂解物 (Cell lysate, CL) 具有高效的抗SVCV活性。在浓度为80 mg/L时, CL有效降低EPC细胞中*svc-v-g*转录水平, 并显著降低SVCV G蛋白表达水平。然而, CL的抗病毒效果并非通过干扰素信号通路。研究发现, CL对SVCV具有良好的治疗效果, 并且可以阻断SVCV组装释放。随后, 验证了CL的热稳定性, 发现CL经-80℃、-20℃、24℃和85℃处理后仍具有较强的抗病毒活性。综上所述, 本研究揭示了*B. coagulans* WH20及其裂解物具有良好的抗SVCV活性, 有望成为水产养殖中防控SVCV的新策略, 为开发SVCV相关疾病的治疗方案提供了新线索。

关键词: 鲤春病毒血症病毒; 凝结芽孢杆菌WH20; 细胞裂解物; 抗病毒活性

大口黑鲈虹彩病毒MCP基因重组乳酸乳球菌疫苗的构建及免疫效果评价

杜豪其^{1,2},花晓静^{1,2},张浩宇^{1,2},张艳^{1,2},鲁元安³,刘学芹^{1,2*}

1.农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2.湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

3.美国夏威夷大学公共卫生学院环境卫生学科系, 夏威夷 96822

摘要: 大口黑鲈虹彩病毒 (Largemouth bass *ranavirus*, LMBV) 是虹彩病毒属的重要病原体, 对大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 养殖业造成重大经济损失。食品级乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*, *L. lactis*) 食品级菌株因其安全性、便利性以及能够直接作用于肠道而成为一种很有前景的口服疫苗载体。本研究采用乳酸乳球菌NZ3900 (*lacF*缺陷型菌株) 和含*lacF*的质粒pNZ8149作为递送载体, 构建了基于乳酸乳球菌素可控表达 (NICE) 系统的重组菌株 pNZ8149-Usp45-MCP-6His/ *L. lactis* NZ3900, 以表达LMBV的主衣壳蛋白 (MCP)。实验结果表明, 该菌株在大口黑鲈肠道环境中至少能保持72小时的活性。通过拌料口服免疫大口黑鲈, 重组乳酸乳球菌显著上调了实验鱼脾脏、肝脏和头肾中免疫相关基因的表达。在LMBV攻毒后, 重组乳酸乳球菌组大口黑鲈的存活率达到73.3%, 显著高于PBS对照组 (13.3%) 和空载体组 (40%)。此外, 免疫组鱼的各组织病毒载量显著降低, 且病理学分析表明其脾脏、肝脏和头肾未出现明显病变, 而对照组则观察到典型的细胞空泡化和间质增宽等病理损伤。因此, 本研究证实, 基于乳酸乳球菌的口服疫苗可有效诱导大口黑鲈的全身免疫应答, 并对LMBV感染提供显著保护, 为水产养殖病毒病的防控提供了新的策略。

关键词: 大口黑鲈; 大口黑鲈虹彩病毒; 主衣壳蛋白; 口服疫苗; 乳酸乳球菌

无乳链球菌通过其GDH介导的谷氨酸代谢重编程抑制宿主自噬以促进感染

林建浩, 张永安*, 曾辉*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 无乳链球菌 (GBS) 是一种重要的致病菌, 其逃逸宿主免疫清除的机制尚未完全阐明。自噬是细胞抵御胞内菌的关键防御机制, 近期研究结果表明, 感染过程中细胞的代谢重编程以影响细胞自噬。为探究GBS是否通过劫持宿主细胞代谢以干扰自噬通路, 我们使用无乳链球菌感染RAW264.7巨噬细胞。结果表明, GBS感染导致细胞内谷氨酸水平显著下降和宿主*glud1*表达下调, 显著促进了巨噬细胞的自噬激活, 补充外源谷氨酸可抑制自噬激活。GBS在感染过程中上调其*gdh*表达, 上调谷氨酸水平以抑制自噬。GDH有助于GBS在低谷氨酸浓度环境中的生长能力, 同时介导产生氨帮助细菌抵抗ROS和溶酶体环境压力, 促进其胞内存活。动物实验表明, Δgdh 突变株对于罗非鱼毒力显著减弱, 对于小鼠的致病能力无显著下降, 但小鼠肝、脾、脑、肾中的载菌量显著降低。本研究利用代谢组学和转录组学筛选GBS感染巨噬细胞过程中关键代谢改变, 系统阐述GBS通过GDH劫持宿主谷氨酸代谢抑制细胞自噬并促进细菌胞内存活能力。研究结果提示靶向细菌GDH或干扰宿主谷氨酸代谢可能为抗GBS提供新的治疗思路。

关键词: 无乳链球菌; 自噬; 谷氨酸代谢; 谷氨酸脱氢酶 (GDH); 免疫逃逸

无乳链球菌纤维连接蛋白结合蛋白 SfbA 在血脑屏障入侵和脑膜炎发展中的作用

刘欣, 张永安*, 曾辉*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*) 是罗非鱼最主要的细菌性病原体, 也可感染人类及其他多种脊椎动物。该菌能够侵入血脑屏障, 感染中枢神经系统, 进而引起脑膜炎等严重疾病。然而, 其穿越血脑屏障的具体分子机制尚不完全清楚。近年研究发现, 细菌表面蛋白和多糖在侵袭血脑屏障及介导脑膜炎发生中发挥关键作用。其中, 链球菌纤连蛋白结合蛋白 A (SfbA) 可与宿主纤连蛋白 (FN) 结合, 不仅促进细菌对宿主细胞的黏附, 还作为毒力因子参与致病过程。因此, SfbA 可能在无乳链球菌侵袭脑内皮细胞及引发链球菌性脑膜炎的机制中起重要作用。为深入探究 SfbA 在介导血脑屏障穿透及脑膜炎发病过程中的功能, 本研究成功构建无乳链球菌 HN016 的 *sfbA* 缺失株 ($\Delta sfbA$) 及回补株 ($C\Delta sfbA$), 实验结果表明, SfbA 除作为粘附素外, 还可通过直接结合显著抑制纤连蛋白的表达。值得注意的是, 纤连蛋白的表达对限制细菌入侵具有重要作用。缺失 *sfbA* 后, 无乳链球菌在体外和体内模型中穿越血脑屏障的能力均显著降低。上述结果提示, SfbA 可能通过下调纤连蛋白的表达增强细菌的侵袭能力, 进而促进无乳链球菌突破血脑屏障并引发脑膜炎。本研究为阐明无乳链球菌中枢神经系统侵袭的分子机制提供了重要依据, 也为以 SfbA 为靶点开发抗感染策略奠定了理论基础。

关键词: 血脑屏障; 细胞外基质; 纤连蛋白; 整合素; 腺苷

II型草鱼呼肠孤病毒致病机制解析

夏宁, 杨玲, 朱文涛, 蒋锐, 梁博, 杨春荣, 苏建国*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: II型草鱼呼肠孤病毒 (Grass carp reovirus type II, GCRV-II) 引起的草鱼出血病给草鱼养殖业造成了巨大经济损失。本文阐述了 GCRV-II 入侵门口、传播途径、感染血细胞类型、侵入单核/巨噬细胞促进病毒增殖、潜伏感染及再激活、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 诱导血管内皮细胞凋亡而出血等。在自然感染过程中, GCRV-II 以水媒介, 迅速入侵鼻腔、鳃、头部皮肤, 通过鼻腔-嗅球-嗅束进入脑, 经血液中白细胞带至全身; 通过鳃和头部皮肤进入血液, 一方面通过血浆运输, 另一方面入侵白细胞, 通过白细胞带至全身。GCRV-II 能够感染白细胞, 而不感染红细胞和血栓细胞。GCRV-II 入侵单核/巨噬细胞, 诱导其极化和凋亡, 从而促进病毒复制和传播。温度降低 GCRV-II 在脑中潜伏, 温度升高草鱼由潜伏感染开始发病。GCRV-II 感染血管内皮细胞, iNOS 表达升高, 诱导线粒体凋亡, 释放细胞色素 C, 激活 Caspase, 导致血管内皮细胞凋亡, 从而引起出血。iNOS 抑制剂 SMT(S-methylisothiurea sulfate, 甲基异硫脲硫酸盐)能够抑制出血病的发生。这些研究为疾病防控提供了理论支撑。

关键词: 草鱼出血病; 草鱼呼肠孤病毒; 入侵门口; 入侵细胞; 潜伏感染

GCRV II主要外壳蛋白VP4调控PINK1/Parkin介导的线粒体自噬并泛素化降解p62促进病毒复制

赵凯文, 胡成钰^{*8}

南昌师范学院生命科学学院, 南昌, 330032

摘要: 线粒体自噬是一种高度选择性的自噬过程, 它通过自噬溶酶体途径特异性地识别和清除受损或功能障碍的线粒体, 从而维持线粒体的质量控制和细胞稳态。该过程主要受PINK1/Parkin信号通路调控。本研究阐明了病毒蛋白4 (VP4) 通过促进PINK1/Parkin介导的线粒体自噬来增强II型草鱼呼肠孤病毒 (GCRV II) 感染过程中病毒复制的机制。通过蛋白质组学分析发现p62是一个与VP4相互作用的蛋白, 并揭示VP4通过泛素蛋白酶体和自噬溶酶体途径诱导p62降解。在*C. idellus*肾细胞 (CIK) 中过表达VP4, PINK1、Parkin和LC3-II的蛋白水平显著上调。Western blot和共定位实验表明, VP4与p62和Parkin在细胞质中共定位, 并通过K27和K29连接的泛素链促进p62泛素化, 从而增强病毒复制。相反, 用3MA抑制自噬可抑制GCRV II的复制。敲低Parkin可减弱VP4诱导的p62泛素化和降解, 证实VP4劫持Parkin促进p62泛素化。截短p62的三个功能结构域后, VP4主要通过N-terminal Phox1 and Bem1p (PB1) 结构域和Ubiquitin-associated (UBA) 结构域介导p62泛素化, 特异性靶向K6、K223、K468和K473赖氨酸残基。总之, VP4募集E3泛素连接酶Parkin通过K27和K29连接泛素化p62, 促进线粒体自噬并增强病毒复制。

关键词: GCRV II; VP4; 线粒体自噬; 泛素化; p62

眼点淀粉卵涡鞭虫感染黄鳍棘鲷的生活史及致病特性研究

李志成^{a,b}, 李安兴^{b*}, 尹飞^{a*}

^a宁波大学海洋学院, 宁波 315832

^b中山大学生命科学学院, 广州 510275

摘要: 眼点淀粉卵涡鞭虫 (*Amyloodinium ocellatum*) 是一种寄生性甲藻, 主要侵染海水鱼类鳃、皮肤和口腔等体表黏膜组织, 严重感染时可导致宿主迅速死亡, 造成重大的经济损失。为明确眼点淀粉卵涡鞭虫的生活史及致病特性, 本研究以黄鳍棘鲷 (*Acanthopagrus latus*) 为动物模型, 在实验室条件下建立了眼点淀粉卵涡鞭虫标准化人工感染方法, 并评估了其感染特征, 包括生活史、易感性、宿主耐受性、感染稳定性及寄生偏好性等。眼点淀粉卵涡鞭虫以黄鳍棘鲷为宿主, 在水温26~28℃、盐度30‰的环境下, 完成一个生活史周期需4~5天。本研究优化了虫株的低温保存方法, 包囊保存3个月后孵化率为 $46.38 \pm 4.63\%$ 。构建黄鳍棘鲷鳃细胞系 (ALG) 并成功将其应用于眼点淀粉卵涡鞭虫体外感染, 感染率为 $37.23 \pm 5.75\%$ 。通过局部感染实验, 明确鳃严重感染和病变是导致黄鳍棘鲷死亡的关键, 感染鱼鳃丝结构紊乱, 出现与滋养体寄生相关的病变, 包括上皮细胞变性、增生导致的相邻鳃小片融合, 鳃丝上皮细胞脱落以及部分鳃小片缩短甚至消失。使用多组学技术, 进一步探究了致病靶器官的分子致病机理, 明确眼点淀粉卵涡鞭虫通过诱导鳃组织氧化应激、炎症反应和细胞凋亡等分子机制参与宿主死亡的病理过程。

关键词: 眼点淀粉卵涡鞭虫; 黄鳍棘鲷; 生活史; 致病特性

马口鱼病原不规则毛霉的鉴定、致病性及转录组学研究

许昊川, 魏珊珊, 白斐, 钱冬*

宁波大学海洋学院, 浙江 宁波, 315000

摘要: 2023年11月, 宁波市某马口鱼养殖场发生持续性马口鱼死亡, 造成较大经济损失。采集发病场典型症状病鱼, 进行病原分离鉴定、病原致病性分析及马口鱼感染前后转录组学分析。结果表明: 1、从发病马口鱼分离到4株真菌(OB1-OB4), 经形态及分子生物学分析, 均为不规则毛霉; 回归感染健康马口鱼, 7天内出现与自然发病鱼类类似症状, 初步确定为本次马口鱼持续性死亡病原; 2、不规则毛霉分离株对制霉菌素、克霉唑、两性霉素B敏感; 3、不规则毛霉分离株OB1浸泡感染马口鱼半数致死量(LD₅₀)为 1.58×10^6 孢子/尾; 注射感染马口鱼的LD₅₀为 3.98×10^5 孢子/尾; 4、实验感染水温下(14-28℃), 随着感染温度上升, 感染不规则毛霉对马口鱼的死亡率相应升高、感染鱼存活时间也相应缩短; 5、感染鱼鳃、肝、脾、肠、肾等组织均检测到不规则毛霉; 6、组织切片表明感染不规则毛霉感染马口鱼可出现鳃小片缩短及鳃上皮增生、肝脏呈空泡化与坏死性病变、肠道固增厚等组织病理变化; 6、马口鱼感染不规则毛霉后转录组学测定表明: 感染马口鱼脾脏组织共鉴定到3418个差异表达基因, 其中1342个基因感染后表达上调, 2076个基因感染后表达量下调。KEEG富集分析发现主要发生富集通路为细胞色素P450介导的外源物质代谢、PPAR信号通路、药物代谢-细胞色素P450、类固醇生物合成等信号通路。本研究首次从大规模持续性死亡马口鱼中分离到致病性不规则毛霉, 并确认为宁波市马口鱼持续性死亡的病原, 该菌株对马口鱼具较强毒力、并对马口鱼内脏器官具广泛侵袭力。

关键词: 马口鱼; 不规则毛霉; 病原鉴定; 致病机理; 转录组学

梭子蟹肌胞虫核苷酸转运蛋白ApNTTs “偷窃” 宿主核苷酸的分子机制研究

信召哲^{1*} 章晋勇^{1*}

1 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛, 266237

摘要:微孢子虫是一类专性营胞内或核内寄生的原虫, 其宿主范围广泛, 能够感染从无脊椎到脊椎动物的几乎所有动物宿主。其已完全丢失核苷酸合成能力, 依赖从宿主获取核苷酸以满足其胞内生存繁殖所需的核酸合成与能量供应。核苷酸转运蛋白被证实是微孢子虫从宿主“偷窃”核苷酸的主要执行者, 然而, 我们对其转运能力、底物特异性及转运机制知之甚少。本项目拟以梭子蟹肌胞虫 (*Ameson portunus*, Ap) 为研究对象, 基于其高质量基因组利用 Blastp 和 HMMER 鉴定到两个核苷酸转运蛋白 ApNTT1 和 ApNTT2。两个 NTT 蛋白位于基因组相近位置, 疏水性很强, 含有特征性 NTT 蛋白质二级结构元件, 包括 12 个 α 螺旋跨膜结构域及相关细胞内外区域, 含有 4 个保守氨基酸残基 K155, E245, E385 和 K527, 在相关研究中这 4 个氨基酸残基已被证明在转运 ATP 过程中发挥重要作用。单个核苷酸转运蛋白通过从细菌水平转移到微孢子虫共同祖先中获得, 随后经历谱系特异性基因扩张和收缩, 以产生在微孢子虫基因组中发现的核苷酸转运蛋白基因多拷贝。AlphaFold3 预测两个 NTT 蛋白与 ATP, GTP, ADP 和 GDP 以很高的置信度结合在一起。制备多克隆抗体进行亚细胞定位发现两个 NTT 蛋白主要位于宿主细胞细胞质, 说明 Ap 侵染宿主细胞后主要在宿主细胞质中发挥作用。进行 RNAi 实验发现, 在 Ap 侵染 RK13 细胞 24h 内, ApNTT1 和 ApNTT2 表达量显著下降, 之后缓慢上升, 说明两个 NTT 蛋白在孢子胞内增殖过程中发挥重要作用。我们尝试对 NTT1 的 ATP/ADP 转运能力进行实验验证, 并且已经完成了其在大肠杆菌中的异源表达部分, 实验结果表明 NTT1 能够在大肠杆菌中表达, 并且在其外膜表达, 这为后续转运能力验证实验奠定了基础。

关键词: 梭子蟹肌胞虫; 核苷酸转运蛋白; 亚细胞定位, RNAi, 转运能力验证

梭子蟹肌孢虫 (*Ameson portunus*) 劫持宿主脂质代谢促进 RK13 细胞内增殖

周敏, 杨子轩, 信召哲, 薛思佳, 章晋勇*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛 266237

摘要: 梭子蟹肌孢虫 (*Ameson portunus*, AP) 是导致三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) “牙膏病”和拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) “浆蟹症”的致病原, 严重威胁我国海水蟹养殖业, 迄今尚无有效防控措施。尽管微孢子虫进化出复杂机制获取宿主营养以支持其高效胞内增殖广为所知, 但对其分子基础仍知之甚少, 严重制约了对微孢子虫病精准干预策略的开发。本研究基于建立的 AP-RK13 细胞感染模型, 系统探讨其通过“劫持”宿主脂质代谢促进自身增殖的机制。首先对 AP 的感染和增殖特征进行时序分析, 界定 0-24 h 为初始感染期, 1-14 d 为线性增殖期, 据此选取感染后 2、4、6、8 和 14 d 作为关键研究节点。尼罗红染色和透射电镜结果发现, 感染后 2 和 4 d 的 RK13 细胞中脂滴面积显著减少, 8 和 14 d 则显著增加; 甘油三酯含量也在 2 和 4 d 降低, 在 6、8 和 14 d 升高。共聚焦和电镜观察发现, 早期和晚期增殖的 AP 都与宿主脂滴有紧密接触, 部分脂滴甚至内陷于 AP 外形成的膜结构中; 且脂肪酶抑制剂奥利司他 (Orlistat) 处理显著抑制早期胞内 AP 的增殖和后期孢子的释放, 表明 AP 的整个增殖过程都依赖酯解作用。荧光脂肪酸 BODIPY-C12 脉冲标记实验进一步显示脂肪酸与 AP 共定位, 且纯化的孢子带有荧光信号, 同时孢子数量也显著增加, 表明 AP 依赖甘油三酯的水解并可主动摄取其水解产物促进增殖。为进一步揭示 AP 获取宿主脂肪酸的分子机制, 通过对其基因组分析发现, AP 仅编码一个长链脂酰辅酶 A 连接酶 (ApACSL), 免疫荧光表明其在孢子增殖期分泌至宿主细胞质中, 并与脂肪酸共定位; 酶学实验证明其可催化棕榈酸和油酸生成相应的酰基辅酶 A。ApACSL 过表达可显著促进 AP 增殖, 而特异性抑制剂 Triacsin C 处理则显著抑制 AP 增殖。综上, 我们认为 AP 能重构 RK13 细胞脂滴生产与空间分布, 并通过在孢子增殖期分泌 ApACSL 以获取宿主细胞脂滴中甘油三酯水解产生的脂肪酸合成酰基辅酶 A, 从而促进自身增殖。本研究首次揭示了微孢子虫“劫持”宿主脂滴并利用脂肪酸促进胞内增殖的分子机制, 为微孢子虫病精准防控策略的开发提供理论依据。

关键词: 梭子蟹肌孢虫, 脂质代谢, 长链脂酰辅酶 A 连接酶, RK13 细胞

对虾急性肝胰腺坏死病（AHPND）的致病机制及其在虾体内介导的免疫响应

刘厚荣^{1, 2*}, 林俊锦¹, 郭达¹, 江礼捷¹, 李新苍^{2*}

1. 上海海关学院, 上海 201204; 2. 中国水产科学研究所东海水产研究所, 上海 200090

摘要: 对虾养殖是全球海产品供应的重要支柱, 却长期受到急性肝胰腺坏死病（AHPND）的严重威胁。AHPND的主要致病菌为AHPND致病型副溶血弧菌亚（VP_{AHPND}），要阐明AHPND的致病机制并解析对虾的免疫应答, 必须将其置于多学科交叉的综合框架内。本报告系统梳理了以下研究进展: VP_{AHPND}及其毒素（PirA^{VP}、PirB^{VP}、PirAB^{VP}）的毒力特征与致病机理; 对虾主要免疫器官的应答模式, 以及miRNA、热休克蛋白和小GTPase在调控抗VP_{AHPND}免疫中的关键作用; 对虾对PirA^{VP}、PirB^{VP}和PirAB^{VP}毒素的分子响应最新发现; 不同弧菌菌株的毒力差异及其对疾病发生的影响; 多种甲壳类动物对副溶血性弧菌诱导AHPND的易感性差异。尽管现有研究已取得阶段性成果, 但AHPND病原体的分子致病通路和免疫逃逸策略仍有待深入。本文进一步总结了AHPND触发的免疫反应, 兼顾基础研究与应用前景, 为后续防控策略的优化提供理论与实验依据。

关键词: VP_{AHPND}发病机制; 对虾; 免疫反应; 分子机制

嗜水气单胞菌感染诱导草鱼CD3 ϵ ⁺ T细胞增殖及与巨噬细胞互作

高娃¹, 岑经¹, 王邦杰¹, 朱丽雯¹, 徐兢¹, 闫慧¹, 纪月双¹, 鲁圣彬¹, 潘林熹¹,
冯建华¹, 张艳维¹, 贾钊¹, 王俊亚¹, 邹钧^{1*}

¹上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海, 201306

摘要: T细胞在脊椎动物适应性免疫中发挥核心作用, 在哺乳类动物中已有大量报道, 但其在硬骨鱼类中的研究仍非常有限。本研究制备了草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) CD3 ϵ 的单克隆抗体, 通过免疫印迹、流式细胞术和免疫荧光分析发现该抗体可特异性识别天然CD3 ϵ 分子。流式分析结果显示, CD3 ϵ ⁺ T细胞在草鱼脾脏、头肾和外周血原代白细胞中所占比例分别为4.8%, 3.9%和2.5%。在感染嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 后, 草鱼脾脏、头肾和后肠中CD3 ϵ ⁺细胞显著增加, 且T细胞标记基因如*Cd3 ϵ* 、*Tcr- β* 和*Lck*的mRNA表达水平亦显著上调, 表明CD3 ϵ ⁺ T细胞参与宿主抵御细菌感染的免疫反应。值得注意的是, 在感染后的脾脏和头肾中观察到CD3 ϵ ⁺ T细胞与 MCSFR⁺巨噬细胞共定位于同一区域, 提示二者可能存在细胞间相互作用。本研究为深入解析硬骨鱼类在细菌感染过程中T细胞与抗原递呈细胞 (如巨噬细胞) 间的互作机制提供了初步实验依据。

关键词: CD3 ϵ ; 单克隆抗体; 嗜水气单胞菌; 巨噬细胞; 草鱼

鱼类疱疹病毒CyHV-2编码立即早期蛋白ORF121介导宿主c-Myc/mTOR通路促进复制机制研究

杨嘉, 闻金萱, 肖思民, 吕利群, 王浩*

上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 疱疹病毒复制始于立即早期(IE)基因的表达, 这些基因能够在没有新蛋白质合成的情况下进行转录。IE蛋白能够调控病毒基因的表达, 并劫持宿主的转录机制作为疱疹病毒复制的策略。然而, 其背后的机制, 特别是在鱼类疱疹病毒中尚不明晰。由于鱼类疱疹病毒具有复杂的感染特性和宿主特异性, 给水产养殖带来重大挑战。本文将感染鲤科鱼类的鲤疱疹病毒2型(CyHV-2)作为研究对象, 以阐明其IE蛋白ORF121与宿主机理相互作用进而调控病毒复制的机制。首先, 我们利用酵母双杂交系统鉴定到c-Myc为ORF121的宿主结合靶标, 随后进行了实验验证, 并进一步表明这两个蛋白在细胞核中共定位。接着利用一系列特异性抑制剂, 我们证实c-Myc/mTOR通路对于CyHV-2复制是必需的。在机制上, c-Myc与ORF121互作以介导mTOR磷酸化, 从而促进病毒复制。然而, ORF121蛋白具有双面作用, 其单独表达足以抑制c-Myc/mTOR通路, 进一步敲除c-Myc促进了ORF121表达并重新激活了mTOR通路, 这种机制可能与疱疹病毒复制的防御策略有关。总之, 这些发现揭示了一种新的分子机制, 即鱼类疱疹病毒CyHV-2编码的IE蛋白通过介导c-Myc/mTOR通路来调节病毒-宿主互作, 为抗病毒靶点提供了潜在的依据。

关键词: 鱼类疱疹病毒; CyHV-2; 立即早期蛋白; c-Myc; mTOR

β -整合素介导GCRV-II入侵宿主的分子机制研究

闫慧¹, 高娃¹, 冯建华¹, 徐兢¹, 鲁圣彬¹, 吴海霞¹, 潘林熹¹, 陈康勇¹, 陈舒焕¹, 焦婧娴¹, 王俊亚¹, 邹钧^{1*}

¹上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海, 201306

摘要: β -整合素 (Integrin beta, ITGB) 是细胞黏附受体超家族成员, 能够与多种细胞外基质、细胞表面及可溶性配体结合。尽管已有研究表明, ITGBs可作为多种病毒的受体, 但其是否参与呼肠孤病毒的侵染过程尚不明确。本研究发现在草鱼呼肠孤病毒 (GCRV-II) 感染后草鱼ITGB1b和ITGB2表达显著上调, 且与GCRV-II衣壳蛋白VP35和VP56之间存在相互作用。此外, ITGB1b和ITGB2也能与GCRV-I的VP7蛋白结合, 提示其可能作为非特异性受体参与病毒入侵过程。免疫共沉淀结果显示, 在GCRV-II 感染的稀有鮕鲫鳃和后肠中, ITGB1b与VP35由同一细胞表达, 进一步提示ITGB1b参与病毒感染过程。在EPC细胞中过表达ITGB1b和ITGB2的胞外区段可有效阻断GCRV-II的感染, 证实其与靶细胞ITGB1b竞争结合病毒。此外, ITGB1b和ITGB2能促进GCRV-II对非易感宿主细胞的吸附, 进一步说明它们在病毒吸附阶段发挥关键作用。综上所述, 本研究证实ITGB1b和ITGB2为介导GCRV-II入侵宿主细胞的关键受体, 为草鱼抗出血病分子育种提供了潜在的基因编辑靶点。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒; β -整合素; 受体; 基因敲除; 吸附

宿主泛素-蛋白酶体系统参与鱼类疱疹病毒CyHV-2复制机制研究

杨嘉, 王浩*, 李梦娟, 张也, 吕利群

上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 鱼类疱疹病毒因其复杂的感染特性及宿主特异性, 给水产养殖带来巨大挑战。这些病毒能够利用宿主的泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 来促进自身复制并逃避宿主的免疫反应。鲤疱疹病毒2型 (CyHV-2) 能够感染鲫和金鱼罹患疱疹病毒性造血器官坏死病 (HVHN), 具有高感染率和高死亡率, 2022年被农业农村部列为二类动物疫病, 该病毒在世界范围内流行。由于缺乏CyHV-2感染机制的有关信息, 靶向抗病毒药物及疫苗的开发受到阻碍, 本研究聚焦于探究宿主UPS是否参与CyHV-2复制过程。通过转录组分析发现, CyHV-2感染显著激活了宿主UPS。使用MG132和TAK-243分别特异性抑制宿主蛋白酶体和E1泛素激活酶后, 能够显著抑制病毒的复制及其基因转录。此外, 我们通过全基因组测序掌握了多个CyHV-2流行株的基因组信息并发现其编码一个高度保守的C3HC4型RING-finger基因家族 (又称RING-HC), 其中ORF150编码成员在病毒感染过程显著上调, 我们证实其具有E3泛素连接酶活性, 且存在低E2泛素结合酶特异性, 同时RING-HC结构域对其功能至关重要。这些发现为宿主UPS对鱼类疱疹病毒CyHV-2复制的必要性提供了关键的分子证据, 并表明病毒编码的E3泛素连接酶可能在病毒与宿主互作中发挥关键作用, 这为探寻抗病毒靶点提供了潜在依据。

关键词: 鱼类疱疹病毒; CyHV-2; 蛋白酶体; E3泛素连接酶; ORF150

CyHV-3在EPC细胞中建立潜伏感染的研究

陈芬, 周永恒, 耿毅, 黄小丽, 陈德芳, 欧阳萍*

四川农业大学动物医学院, 四川成都 611130

摘要: 鲤上皮瘤 (EPC) 细胞系被广泛用于多种水生动物病毒的培养。然而, 先前的研究报道称, EPC 细胞不允许鲤疱疹病毒 3 型 (CyHV-3) 复制。在本研究中, 将 CyHV-3 接种到 EPC 细胞中, 进行了细胞病变效应 (CPE) 观察、用于病毒基因检测和载量定量的 PCR 及实时定量 PCR、用于观察病毒粒子形成的电子显微镜检查、用于探究感染机制的转录组测序 (RNA-seq) 以及用于评估细胞周期变化的流式细胞术。结果显示, 感染 CyHV-3 的 EPC 细胞在感染后 24 小时、48 小时、72 小时、96 小时、7 天和 14 天都未出现 CPE。虽然在细胞沉淀中检测到了病毒 DNA 以及即刻早期 (IE)、早期 (E) 和晚期 (L) 基因的转录本, 但在上清液或无细胞组分中未发现病毒基因或 cDNA。逆转录实时定量 PCR 证实, 在所有时间点病毒载量都较低 ($<10^3$ 拷贝 / 5ng), 且通过透射电子显微镜未观察到病毒粒子, 这些共同表明存在潜伏感染。对感染后 96 小时的 EPC 细胞进行转录组分析, 发现了 607 个差异表达基因 (DEGs)。基因本体 (GO) 富集分析将这些差异表达基因分为生物过程 (BP)、分子功能 (MF) 和细胞组分 (CC), 主要与细胞区室、结合、代谢过程、催化活性和生物调控相关。京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析显示, 这些基因在固醇生物合成、细胞周期、类萜骨架合成和 DNA 复制等通路中富集。流式细胞术显示, CyHV-3 感染导致 EPC 细胞发生 S 期阻滞, 且阻滞细胞的比例随时间增加。这些发现表明, CyHV-3 可能通过调节宿主细胞周期相关基因的表达来建立潜伏感染。

关键词: 鲤疱疹病毒 3 型 (CyHV-3); EPC 细胞; 潜伏感染; 持续性感染

牛蛙脑膜炎的潜在机制-NOD/Toll 样受体信号通路介导的免疫激活和炎症反应

刘玮铭, 薄晓龙, 曹燕好, 黄小丽*

四川农业大学动物科技学院, 四川省成都市, 613000

摘要: 米氏伊丽莎白菌 (*Elizabethkingia miricola*) 是一种新兴机会致病菌, 在免疫功能低下的人类和动物体内均具有高致病性。该病菌引发的疾病一旦发生, 治疗难度极大。因此, 深入了解米氏伊丽莎白菌的致病机制, 是防控其引发疾病的关键。本研究从表现出皮肤发黑、四肢无力、颈部扭曲及白内障症状的牛蛙体内分离出致病菌, 通过后续的形态学观察与 16S rRNA 基因序列分析, 将该致病菌鉴定为米氏伊丽莎白菌。组织病理学观察与透射电镜分析结果显示, 脑是该病菌的主要靶器官。基于此, 本研究选取患病牛蛙与健康牛蛙的大脑样本进行 RNA 测序 (RNA-Seq) 分析。比较转录组分析表明, 患病牛蛙大脑的核心特征为免疫激活与炎症反应, 且这两种反应主要通过 “NOD 样受体信号通路” 和 “Toll 样受体信号通路” 介导。为进一步验证转录组数据的可靠性, 研究还采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 检测了炎症相关基因的表达模式, 结果证实了转录组数据的可信度。综上, 本研究得出结论: 米氏伊丽莎白菌感染的牛蛙大脑中, 主导免疫激活与炎症反应的 NOD/Toll 样受体相关网络被激活。该研究为牛蛙脑膜炎治疗靶点的筛选提供了方向, 同时也为制定牛蛙脑膜炎的有效防控措施奠定了基础。

关键词: 米氏伊丽莎白菌; 牛蛙; 细菌性脑膜炎; NOD 样受体信号通路; TOLL样受体信号通路;

转录组和肠道菌群联合分析海豚链球菌对西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*) 瓣肠的影响

朱浩¹, 彭爽¹, 刘佳喜¹, 陈德芳^{1, 2, *}, 耿毅³

1. 四川农业大学动物科技学院水产系, 成都, 611130

2. 水产健康与智慧养殖四川省重点实验室, 成都, 611130

3. 四川农业大学动物医学院基础兽医系, 成都, 611130

摘要: 随着鲟养殖产业的快速发展, 由海豚链球菌 (*Streptococcus iniae*) 引起的鲟感染和死亡在高温季节频发, 造成严重经济损失。为阐明其影响机理, 本研究基于前期工作, 以 2.0×10^7 CFU/mL 的鲟源 *S. iniae* 经肠感染西伯利亚鲟, 通过死亡率、髓过氧化物酶、黏液细胞、组织病理学和超微病理学指标揭示, 感染后第4天瓣肠表现为变质性肠炎, 个体开始出现死亡, 提示第4天为疾病进展的关键节点。在此时间窗, 本研究将瓣肠组织及其肠道内容物分别进行转录组测序和16S rRNA测序, 并进行多组学联合分析以解析宿主-微生物互作在病程转折期的分子与群落学特征, 通过PCA降维聚类, DESeq2和EdgeR筛选差异表达基因, GO和KEGG进行功能富集分析, glmQLFit筛选差异表达菌群, Pearson计算差异基因与差异菌群的相关性系数。结果表明, 共有74个核心基因下调表达, 富集到149个GO词条和47个KEGG通路, 其中参与宿主T细胞分化、活化和响应病原体入侵的相关基因表达量极显著下调 ($p < 0.0001$); 另有74个核心基因上调表达, 富集到50个GO词条和2个KEGG通路, 其中参与离子运输和稳态维持等相关基因表达量极显著上调 ($p < 0.01$)。维持肠道屏障功能和抵抗病原体侵袭的肠道梭菌属 (*Candidatus arthromitus*) 以及产丁酸的厌氧短杆菌属 (*Anaerotruncus*) 相对丰度显著降低 ($p < 0.01$), 与免疫相关基因TLR9、CLDN4和TNFRSF19L等14个基因变化呈强相关性 ($|r| > 0.7$)。参与能量代谢的柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*) 和参与胆汁酸代谢的拟杆菌属 (*Bacteroides*) 相对丰度显著上升 ($p < 0.05$), 与代谢相关基因CEL、CPA1和CTRB等变化呈强相关性 ($|r| > 0.7$)。综上, 本研究揭示了在 *S. iniae* 可能通过诱导西伯利亚鲟免疫抑制和菌群失衡引发变质性肠炎阶段, 通过宿主通过维持基本离子稳态和增强代谢以应对病原体的侵袭, 研究为解析鲟链球菌肠炎治疗靶点奠定基础。

关键词: 西伯利亚鲟; 海豚链球菌; 转录组; 肠道菌群; 联合分析

虾传染性早熟病毒抑制性vcDNA发现与复制转录机制研究

齐燕玲¹, 胡小龙^{1,2}, 朱敏^{1,2}, 贡成良^{1,2*}

¹苏州大学苏州医学院生命科学学院, 江苏省苏州市 215123; ²江苏省泥鳅遗传与育种重点实验室, 江苏省苏州市 215123

摘要: 虾传染性早熟病毒 (*Infectious precocity virus*, IPV) 是黄病毒科 (*Flaviviridae*) 成员, 可引起罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 早熟综合征, 造成水产养殖业严重损失。目前IPV编码的分子类型尚未完全明确, 本研究通过PCR在罗氏沼虾的组织中鉴定出9种IPV来源的环状 DNA (vcDNA), 其中1种vcDNA的序列对应于病毒SSL2基因的邻近区域, 命名为ipv-SSL2-vcDNA。通过PCR产物的Sanger测序、滚环扩增及原位杂交证实了ipv-SSL2-vcDNA的真实性。qPCR和Western blot试验证明ipv-SSL2-vcDNA可显著抑制病毒的增殖。进一步, 通过限制性内切酶切割、qPCR和免疫荧光试验证明, ipv-SSL2-vcDNA能以滚环机制进行复制, ipv-SSL2-vcDNA能以无终止滚环方式进行转录。用RNA聚合酶 I的抑制剂POL1-IN-1处理细胞可抑制ipv-SSL2-vcDNA的转录, 推测ipv-SSL2-vcDNA转录依赖于RNA聚合酶 I。本研究首次证明黄病毒在感染过程中可形成抑制病毒感染的具有复制与转录活性的vcDNA, 为理解病毒通过形成“自我抑制型”环状DNA调控感染进程的分子机制提供了关键证据, 为理解病毒与宿主互作提供了新的线索。

关键词: 虾传染性早熟病毒 (IPV); vcDNA; 复制; 转录

GCRV与草鱼互作形成环状RNA和嵌合RNA调控病毒感染的策略

沈泽恩^{1,2}, 齐燕玲¹, 李浏洋¹, 章益阳¹, 胡小龙¹, 贡成良^{1*}

¹苏州大学, 苏州医学院生命科学学院, 江苏 苏州, 215123

² 江苏科技大学, 生物技术学院, 江苏 镇江, 215600

摘要: 除编码病毒蛋白外, 病毒也可以产生非编码RNA。草鱼呼肠孤病毒 (Grass carp reovirus, GCRV) 感染引起的草鱼出血病是阻碍草鱼养殖业健康发展的主要危害, 针对GCRV免疫逃逸机制研究局限于病毒编码蛋白的现状, 我们聚集于GCRV起源的新型RNA分子的鉴定与功能机制研究, 发现在GCRV的感染过程中可通过形成病毒环状RNA (Circular RNA, circRNA) 和GCRV-草鱼嵌合RNA调控自身复制。

1. GCRV 起源的circRNA的新型调控机制: 我们在GCRV感染的CIK细胞中鉴定到32种GCRV起源circRNAs, 发现分别起源于病毒基因组S7、S8节段负链的circ_20和circRNA-13具延缓病毒复制的功能, 其中, circ_20通过其51-102 nt区域特异性结合宿主分子伴侣免疫球蛋白重链结合蛋白 (Immunoglobulin heavy chain-binding protein, BIP), 451-502和514-565 nt区域与蛋白激酶R-样内质网激酶 (Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase, PERK) 结合, 形成circ_20-BIP-PERK三元复合物, 增强BIP-PERK互作, 从而抑制内质网应激、阻断PERK通路并降低活性氧水平, 最终延缓病毒复制。

2. 病毒-宿主嵌合RNA调节GCRV复制: 我们在GCRV感染的CIK细胞中鉴定到88条非冗余的GCRV-草鱼嵌合RNAs, 发现GCRV S5节段的RNA与草鱼早期生长反应因子 (Early growth response 1, EGR1) 形成嵌合RNA S5-AGUGA-EGR1, 其形成无需病毒RNA依赖性RNA聚合酶 (RNA-dependent RNA polymerase, RdRp) 但依赖于两个亲本RNA断裂位点处的短重复序列AGUGA。进一步研究证实, GCRV通过形成S5-AGUGA-EGR1抑制EGR1基因的表达, 促进病毒复制; 嵌合RNA可编码GCRV-草鱼嵌合蛋白VP5-c。

这些发现揭示了GCRV利用通过形成病毒circRNA与GCRV-草鱼嵌合RNA调控感染进程的全新范式, 并为理解病毒-宿主相互作用提供了新线索。

关键词: GCRV; 环状RNA; 嵌合RNA; 内质网应激; EGR1

以细胞泛凋亡为靶点的鱼类新型抗病免疫策略

刘晓冉, 胡秀彩, 吕爱军*

天津农学院 水产学院

天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300392

摘要: 泛凋亡 (PANoptosis) 是近年来发现的一种新型炎症性程序性细胞死亡 (PCD), 整合了焦亡、凋亡和坏死性细胞死亡的关键特征, 是一种超越任何单一死亡途径的、高度协同的免疫防御网络。泛凋亡对于改变病原体胞内生态位, 控制细胞融合, 清除病原体 and 限制感染等至关重要。目前, 泛凋亡在哺乳动物中的研究已揭示其是宿主对抗感染的关键机制, 然而在低等脊椎动物, 特别是在鱼类病原免疫中的作用仍处于探索的初级阶段。本研究系统阐述了泛凋亡在鱼类抗感染免疫中的作用机制以及前沿进展, 探究了鱼类基因组中介导泛凋亡的关键同源基因、多种死亡途径之间广泛的交互作用网络及病原宿主相互作用过程中泛凋亡的核心调控机制。值得一提的是, 深入挖掘鱼类泛凋亡的调控网络、揭示其与不同病原相互作用的分子机制以及发现更多新靶点以调节泛凋亡途径之间的相互作用, 有望改变感染细胞的命运决策, 具有重大科学价值与应用潜力。靶向泛凋亡通路为鱼类疾病防控提供了新型思路, 即通过合理操纵这一免疫机制, 有效清除病原并避免过度炎症损伤, 建立绿色高效治疗措施。这对减少水产病害、保障养殖业可持续发展有现实意义, 也为理解脊椎动物先天免疫进化提供了新视角。

关键词: 鱼类泛凋亡; 调控网络; 病原-宿主互作; 免疫防控; 水产养殖

温度胁迫水生拉恩菌基因表达及OmpA/W和narH/J基因功能研究

杨孝恬, 胡秀彩, 吕爱军*

天津农学院 水产学院

天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300392

摘要: 水生拉恩菌 (*Rahnella aquatilis*) 是一种广泛分布于水生环境中的革兰氏阴性菌, 近年来作为条件致病菌在水产养殖中引发了多起鱼类感染事件, 导致严重的经济损失。本研究以水生拉恩菌KCL-5致病株为研究对象, 通过分感染病理学、细胞组学及分子水平等相关研究, 主要包括环境因子胁迫生长和感染细胞病原的比较转录组分析, 及其基因克隆与原核/真核表达分析, 试图揭示该菌在温度胁迫下的生理响应规律, 并深入解析了高温胁迫对其毒力增强的分子机制。通过温度胁迫KCL-5转录组分析, 发现硝酸盐还原酶相关基因 $narH$ 和 $narJ$ 显著达差异表, 但对水生拉恩菌 $narH/J$ 基因功能仍不清楚。进一步基因克隆 $narH$ 和 $narJ$ 构建真核表达载体, 将重组质粒转入HEK 293T细胞利用荧光对基因进行瞬时表达定位研究。结果成功构建了pEGFP-N3- $narH$ 和pDsRed-N1- $narJ$ 重组质粒, 转染293T细胞进行瞬时表达, 荧光显微镜观察显示 $narH$ -EGFP融合蛋白在胞质中广泛分布, 并导致细胞贴壁性丧失, 提示其可能通过氧化应激或代谢干扰引发细胞毒性。 $narJ$ -DsRed蛋白定位于细胞核周围, 推测其功能可能与酶复合体组装相关。对KCL-5感染鲫毒力相关基因进行qRT-PCR分析, 检测 $narJ$ 基因在肝、脾和肾组织中的时序表达, 发现35°C培养的水生拉恩菌在肝组织中显著上调 $narJ$ 表达 (72h达182.10倍), 提示高温通过激活硝酸盐代谢适应肝脏低氧微环境; 而脾组织中T35组 $narJ$ 表达普遍低于T25组及对照组, 反映了温度与组织微环境协同调控病原体代谢通路的动态平衡机制。以上研究结果, 不仅有助于深入理解水生拉恩菌对环境应答及分子致病机制, 而且为水产养殖中该细菌引起的疾病防治提供理论依据和新思路。

关键词: 水生拉恩菌; 高温胁迫; 细菌转录组; 外膜蛋白; nar 基因

水生拉恩菌鞭毛制动蛋白YcgR基因缺失突变株的构建及其生物学特性研究

刘晓冉，胡秀彩，吕爱军*

天津农学院 水产学院

天津市水产生态及养殖重点实验室，天津 300392

摘要：水生拉恩菌（*Rahnella aquatilis*）是一种新兴的水生动物病原菌，其感染宿主后可引发细菌性败血症，对我国水产养殖业的健康发展构成严重威胁。该菌的运动系统在其致病过程中发挥着关键作用，鞭毛驱动水生拉恩菌在宿主体内快速扩散和定植，加剧感染症状并促进疾病发展。根据以往研究，YcgR蛋白作为细菌中广泛存在的第二信使c-di-GMP的效应蛋白，能够作用于鞭毛马达蛋白，降低转子转速，抑制鞭毛运动，起到类似"刹车"的作用。然而，2025年最新研究发现，c-di-GMP信号系统与PUT群体感应（QS）系统间存在双向调控机制：c-di-GMP通过YcgR蛋白激活SpeA酶促进PUT合成，同时又能反馈抑制该过程，形成自我调节的闭环系统。因此在这项研究中，为了探索水生拉恩菌YcgR蛋白对其生物学特性的具体影响，使用同源重组的方法构建了YcgR缺失突变株（ Δ YcgR）和以pBAD33质粒为载体的回补株（c- Δ YcgR），结果表明，YcgR蛋白显著影响水生拉恩菌的多种生物学特性，包括鞭毛形态、运动能力、生物被膜形成及环境应激响应等。此外，YcgR的缺失还导致菌株对宿主的感染毒力明显降低。这些发现不仅为阐明YcgR蛋白的生物学功能提供了新的实验证据，同时也为深入理解水生拉恩菌的致病机制奠定了重要的理论基础。

关键词：水生拉恩菌；鞭毛；YcgR突变株；运动性；毒力

DIV1对罗氏沼虾的致病性及溶酶体相关膜蛋白1在病毒侵染中的功能

钱且奇, 朱鑫海, 周丽颖, 陈婷婷, 高晓建, 姜群, 张晓君*

扬州大学, 扬州 225000

摘要:近年来,虹彩病毒病在我国罗氏沼虾养殖中广泛发生,传播速度快且致死率高。本研究对扬州地区患病虾进行病原分离鉴定,结果发现患病个体肝胰腺、额剑白点处以及鳃组织中存在大量二十面体的病毒颗粒,经测序证实为十足目虹彩病毒1 (DIV1)。DIV1基因组DNA全长为167,330 bp,开放阅读框有181个,其中168L是虹彩病毒核心基因编码蛋白--虹彩病毒囊膜蛋白。罗氏沼虾感染DIV1后,病毒载量在血细胞和肝胰腺组织中最高,表明血细胞和肝胰腺对DIV1最为敏感。病毒增殖适宜温度为25°C-28°C,高温环境可显著抑制病毒增殖,表明DIV1在罗氏沼虾组织中的增殖具有温度依赖性。为进一步探究罗氏沼虾对DIV1的免疫反应,本研究进行了转录组测序,结果显示DIV1感染可激活罗氏沼虾体内溶酶体途径、吞噬体途径等关键免疫相关通路,显著上调溶酶体相关膜蛋白1 (*Lamp1*)、热休克蛋白 (*HSP70*) 等免疫相关基因的表达。溶酶体相关膜蛋白 *Lamp1*作为高度糖基化的I型跨膜蛋白,在内吞体、溶酶体和细胞质膜的循环分布,可作为病毒的细胞膜受体协助病毒侵染。本实验利用RACE技术克隆了罗氏沼虾*Lamp1*基因,并通过RNAi敲降罗氏沼虾体内*Lamp1*的表达,结果发现DIV1增殖速率和宿主死亡率均降低,过表达增强罗氏沼虾体内*Lamp1*的表达,结果发现增殖速率和宿主死亡率均升高,推测DIV1可能通过劫持*Lamp1*依赖性的网格膜介导内吞途径实现免疫逃逸。本研究结果为理解DIV1的致病机理提供了一定的理论支撑,未来将进一步探索*Lamp1*作为抗病毒治疗靶点的潜在应用价值。

关键词: 十足目虹彩病毒1; 罗氏沼虾; 溶酶体相关膜蛋白1

孢壁蛋白12通过与宿主转铁蛋白受体1互作介导梭子蟹肌孢虫入侵

朱志强¹ 信召哲^{1*} 章晋勇¹

1 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛, 266237

摘要: 微孢子虫是一类专性细胞内寄生的单细胞真核生物, 宿主范围广泛, 可感染包括人类在内的绝大多数无脊椎动物和脊椎动物, 并对宿主造成不同程度的病理损伤。梭子蟹肌孢虫 (*Ameson portunus*, AP) 是三疣梭子蟹“牙膏病”病原体 and 锯缘青蟹“浆蟹症”的致病原, 迄今尚无有效防控对策。前期研究发现, 除极管蛋白外, 孢壁蛋白可能参与了微孢子虫对宿主细胞的黏附与侵染。本研究以AP为对象, 探索其孢壁蛋白12 (APswp12) 的生物学功能以深入了解微孢子虫的侵染机制, 也为科学防控水产微孢子虫病奠定理论基础。首先, 基于AP高质量基因组利用 Blastp 和 HMMER 鉴定了其假定APswp12, 进而利用制备的多克隆抗体进行亚细胞定位, 确定了APswp12分布为成熟孢子孢壁。AlphaFold3预测发现APswp12与宿主细胞膜表面蛋白转铁蛋白受体1 (Tfr1) 存在潜在互作, 进一步利用免疫共沉淀 (Co-IP) 证实了两者的互作。通过抗体封闭APswp12 或Tfr1均显著抑制AP的侵染; 过表达Tfr1显著提高AP对RK13的侵染, 而RNAi降低Tfr1表达后, AP对RK13的侵染显著降低。综上, 我们证实了孢壁蛋白12与宿主细胞转铁蛋白受体1互作介导了梭子蟹肌孢虫对RK13的入侵。此外, 鉴于之前报道发现Tfr1与极管蛋白4互作介导海伦微微孢子虫入侵RK13, 提示不同微孢子虫进化出差异化的入侵机制, 宿主细胞Tfr1是微孢子虫入侵宿主细胞的重要受体。

关键词: 梭子蟹肌孢虫; 孢壁蛋白12; 转铁蛋白受体1; 互作; 入侵

Grouper SphK1通过与VP020相互作用抑制TBK1介导的抗病毒信号传导来促进SGIV复制，并作为抗病毒治疗的治疗靶点

席凯涛¹，林龙¹，黄晓红^{1,2}，黄友华^{1,2}，张娅^{1,2**}，秦启伟^{1,2,3**}，

¹华南农业大学海洋学院，广州 510642

²华南农业大学南沙渔业研究院，广州 510642

³南方海洋科学与工程广东省实验室，珠海519082

摘要：新加坡石斑鱼虹彩病毒（SGIV）是一种大型双链DNA病毒，在水产养殖中造成了巨大的经济损失，目前还没有有效的控制措施。鞘氨醇激酶1（SphK1）是一种多功能调节因子，参与免疫反应、炎症和鞘脂代谢。本研究探讨了石斑鱼SphK1（EcSphK1）在鱼类病毒感染和干扰素免疫反应中的作用及其作为治疗靶点的潜力。我们发现，敲除EcSphK1可以降低病毒感染，而EcSphK1的过表达通过抑制IFN1、IFN3和ISRE的启动子活性显著增强SGIV复制，并下调多种干扰素相关基因的表达。机制研究表明，EcSphK1与STING、TBK1和IRF3相互作用并降解其表达，从而抑制IFN1、IFN3和ISRE启动子活性。此外，质谱分析确定了EcSphK1和几种SGIV编码蛋白之间的相互作用。有趣的是，EcSphK1与病毒蛋白VP020合作介导TBK1降解，表明EcSphK1可以招募病毒蛋白来抑制干扰素免疫反应。药理学干预进一步证明，SphK1激活剂K6PC-5促进了病毒基因表达和蛋白质合成，而特异性抑制剂PF-543抑制了SGIV复制，证明了其在体外具有强大的抗病毒作用。总之，我们的研究结果表明，SphK1是鱼类病毒感染和干扰素免疫反应的关键调节因子，并强调SphK1抑制剂可能是潜在抗病毒治疗的候选者。

关键词：石斑鱼；SphK1；SGIV；STING；TBK1；免疫反应

双组分系统 PvgAS 调控杀香鱼假单胞菌T6SS-1表达与致病作用

叶浩达^{1,2}, 陶震^{2*}

1. 宁波大学海洋学院, 宁波 315832; 2. 浙江海洋大学水产学院, 舟山 316022

摘要: 杀香鱼假单胞菌 (*Pseudomonas plecoglossicida*) 是一种革兰氏阴性细菌, 可引发鱼类慢性肉芽肿性疾病, 其致病分子机制尚未完全阐明。本研究鉴定了一个新型双组分信号转导系统, 命名为 PvgAS, 并系统解析了其在毒力表达调控中的作用。转录组分析显示, PvgAS可显著上调多种功能基因的表达, 涵盖 VI 型分泌系统-1 (T6SS-1)、III 型分泌系统 (T3SS) 以及若干代谢与应激相关通路。在宿主模型大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 中, PvgAS 的缺失显著削弱菌株的致病力, 主要通过抑制 T6SS-1 的表达与功能, 进而影响细菌在宿主组织中的定植能力及胞内存活率; 而 T3SS 并非该过程的关键因子。进一步通过 qRT-PCR、*lacZ*融合报告系统和免疫印迹等手段, 从转录及蛋白表达水平验证了 PvgAS 对 T6SS-1 的直接正向调控作用。研究结果明确了 PvgAS 在 *P. plecoglossicida* 感染致病过程中的关键调控地位, 为深入理解该菌毒力调控网络提供了新视角, 并为靶向干预策略的开发提供了潜在靶点。

关键词: 杀香鱼假单胞菌; 双组分系统; PvgAS; 毒力; T6SS

牙鲆弹状病毒磷蛋白靶向TBK1-IRF3信号轴促进病毒免疫逃逸的分子机制研究

荣飞翔，唐小千*，战文斌

水产动物病害与免疫学实验室，中国海洋大学，青岛 266003

摘要：牙鲆弹状病毒（HIRRV）感染呈现出强传染性与高致死率的特点，而这与病毒拮抗宿主天然免疫能力密切相关。已有研究表明，弹状病毒的磷蛋白（P 蛋白）不仅作为病毒RNA 依赖性 RNA 聚合酶的辅助因子，参与基因组的复制，还可能在调控宿主抗病毒免疫中发挥重要作用。然而，HIRRV-P 蛋白在病毒感染过程中的功能特性尚未阐明。本研究发现，在HIRRV 感染的牙鲆胚胎细胞（HINAE）中，P 蛋白主要定位于细胞质中，且其表达水平在病毒感染的 48 h 内持续升高。转录组分析表明，P 蛋白可调控免疫应答、信号转导、细胞周期调控及代谢过程相关基因的表达，尤其是显著抑制了模式识别受体信号通路中的关键分子（例如 *MDA5*、*LGP2*、*TRIM25*、*IRF3*等）的表达。进一步研究发现，P 蛋白能够与牙鲆 TBK1 结合并抑制 IRF3 的磷酸化，从而阻碍干扰素的产生，促进病毒的免疫逃逸。研究结果为深入解析牙鲆弹状病毒的致病机制提供了科学数据与理论基础，并为抗病毒策略的研发提供了新思路。

关键词：HIRRV；磷蛋白；RIG-I信号通路；病毒免疫逃逸

鱼类病毒与宿主相互作用及防治技术

李顺

中国科学院水生生物研究所，武汉 430072

摘要：鱼类病毒病是水产养殖中的一大难题，为了解决这一难题，我们从4个方面进行了理论研究和探索。挖掘多个IFN负调控因子，在分子机理上阐述其特异性作用机制，通过基因编辑获得抗病毒银鲫突变体。针对鱼类病毒致病机理，探索多种鱼类病毒的免疫逃逸机制，利用小分子化合物阻断病毒增殖过程，其中部分技术成果成功进行转化。通过血液指标分析，找出代表鱼类疾病发生的特异指标，并初步制作出鱼病快速检测仪。通过对病毒病暴发机制的研究，初步成功建立预防策略。以上研究，初步突破了鱼类病毒病“无药可治”的瓶颈。

关键词：病毒；干扰素；治疗；预防

Eng介导草鱼呼肠孤病毒II入侵宿主细胞的分子机制研究

李雨晴, 孔维光, 丁广义, 杨欣仪, 徐镇*

中国科学院水生生物研究所, 武汉, 430072

摘要: II型草鱼呼肠孤病毒 (GCRV-II) 是草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 养殖过程中主要的病毒性病原, 给草鱼养殖业造成重大经济损失。研究病毒受体及作用机制对建立免疫防控策略至关重要。Eng (Endoglin) 是主要表达于血管内皮细胞的I型跨膜糖蛋白。前期研究发现Eng作为潜在受体参与GCRV-II入侵草鱼脑细胞, 但具体入侵机制尚不清晰。本研究发现, Eng在草鱼脑组织和GCRV-II敏感细胞系B75中高表达, 并和GCRV-II存在共定位, 过表达Eng能显著促进GCRV-II在非敏感细胞中的感染与复制; 而在敏感细胞系B75中敲降Eng则显著降低GCRV-II的感染水平。此外, 非允许细胞系HEK293T中重建Eng表达能显著提高GCRV-II的黏附和入侵, 该过程能被可溶性Eng蛋白及多克隆抗体以剂量依赖性方式抑制, 表明Eng是GCRV-II黏附入侵的重要分子。利用分子对接及结构域解析, 我们发现Eng的胞外结构域能够特异性结合GCRV-II外衣壳蛋白VP4, 其中Eng孤儿结构域和ZP结构域主要负责与VP4的N端区域相互作用, 并通过ZP结构域发挥受体功能。综上所述, 本研究首次揭示Eng作为介导GCRV-II入侵的关键受体分子, 为阐明其致病机制及开发防控策略提供了关键分子依据。

关键词: II型草鱼呼肠孤病毒; Eng; 受体; 入侵途径; 草鱼

大菱鲆“出血病”：一种鱼类圆环病毒引发的急性出血症

王会林¹, 姜敬哲², 秦启伟³, 王启要⁴, 黄智慧¹, 徐黎明⁵, 周勇⁶, 魏京广³, 肖志忠⁷, 李杰^{1,8}

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266007; 2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300; 3. 华南农业大学, 广东 广州 510642; 华东理工大学, 上海 200237; 5. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070; 6. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430233; 7. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266003; 8. 中国水产流通与加工协会大菱鲆分会, 北京 100125

摘要：大菱鲆“出血病”是近年来影响大菱鲆产业最为严重的传染性疾病，自2019年11月被发现以来，很快传播至国内各个主养区，发病鱼死亡率接近100%，造成严重的经济损失。通过病毒组分析，在发病鱼体内发现了一种全新的病毒-大菱鲆圆环病毒（Turbot Circovirus, TCV），基因组全长1774 bp。建立了TCV的绝对定量检测方法，发现在发病阶段病毒拷贝数持续上升。对400余份临床样品分析发现，发病鱼体内均可检测到病毒，其中肾脏病毒含量最高。进一步分析发现，急性出血只是TCV感染后的临床症状之一，大部分携带TCV的大菱鲆体表无明显症状，但免疫力下降，表现为对病原的敏感度增强，部分疫苗保护效果下降。以TCV的Cap蛋白制备的疫苗对TCV感染具有显著免疫保护效果，并可降低带毒鱼体内的病毒拷贝数。

关键词：大菱鲆；急性出血症；圆环病毒；检测；疫苗

Isolation, Genomic Characterization, and Control Strategies for Scale Drop Disease Virus: Development of Vaccines and Diagnostic Antibodies

Yuting Fu, Yong Li, Jianfei Wan, Shaoping Weng, Jianguo He, Chuanfu Dong*

State Key Laboratory of Biocontrol (SKLBC, Guangzhou)/Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (SML, Zhuhai), School of Life Sciences of Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510275 China

Abstract: Scale drop disease virus (SDDV), a novel member of the genus *Megalocytivirus* (species *Megalocytivirus lates1*), poses a major threat to marine aquaculture in Asia, particularly affecting Asian seabass (*Lates calcarifer*) and yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*). Here, we report the isolation and characterization of an SDDV strain, ZH-06/20, from diseased yellowfin seabream in South China. The virions exhibited typical icosahedral morphology with a diameter of ~140 nm. Complete genome sequencing revealed a 131,893-bp double-stranded DNA genome encoding 143 predicted proteins, of which 113 were identified by virion proteomics. Experimental infection caused 100% mortality in yellowfin seabream, accompanied by severe ascites but without scale drop lesions. To develop control strategies, we evaluated vaccine efficacy. A formalin-inactivated SDDV vaccine conferred >97% protection in mandarin fish and >90% protection in field trials with yellowfin seabream. Furthermore, a bivalent inactivated vaccine containing ISKNV-I and SDDV provided robust cross-protection in Asian seabass against multiple megalocytivirus subtypes, achieving relative percent survival above 85%. For diagnostics, ten monoclonal antibodies (mAbs) targeting the SDDV major capsid protein were generated. All mAbs specifically recognized SDDV without cross-reactivity to other fish viruses. Selected mAbs bound intact virions and detected viral antigens in naturally infected tissues, enabling their application in ELISA and lateral flow assays for rapid detection. Together, these findings advance understanding of SDDV biology and pathogenesis and establish effective vaccines and diagnostic reagents to mitigate the impact of this emerging pathogen in aquaculture.

Identification of Key Receptors for Fish Viruses and Discovery of Targeted Antiviral Compounds

Wanwan Zhang¹, Lan Yao¹, Meisheng Yi¹, Kuntong Jia^{1,*}

¹School of Marine Sciences, Sun Yat-sen University, Guangdong, 510275, China

Abstract: *Nodaviridae* and *Rhabdoviridae* infections cause severe mortality in fish, yet the host receptors for their entry and targeted antiviral agents remain unclear. This study identified key fish virus receptors and a targeted antiviral compound. For red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV, a Nodavirus), two novel entry receptors were identified: 1) Marine medaka myosin light chain 3, which directly binds RGNNV capsid protein (CP) via its EF-hand2 domain and facilitates RGNNV internalization through the IGF1R-Rac1/Cdc42-axis-mediated macropinocytosis; 2) Marine medaka heat shock protein 90ab1, which interacts with RGNNV CP via its NM domain, and promotes RGNNV entry through clathrin-mediated endocytosis. For rhabdoviruses (VHSV, SCR, and VSV), tetraspanin CD9 from *Lateolabrax japonicus* (LjCD9) was identified as a cross-genera common receptor: LjCD9's large extracellular loop binds VHSV glycoprotein G's domain IV, mediating VHSV entry via clathrin- and caveolae-mediated endocytosis, with LjCD9 and human CD9 serving as SCR and VSV receptor, respectively. Additionally, the FDA-approved small molecule nitazoxanide was found to disrupt CD9-virus G protein interaction, exerting broad-spectrum inhibition against VHSV, SCR, and VSV. These findings clarify key fish virus receptors and provide a targeted antiviral small molecule, laying a foundation for antiviral development.

Keywords: Receptor; *Nodaviridae*; *Rhabdoviridae*; Antiviral Compound

Identification, genomic analysis, and pathogenicity of a novel highly virulent strain of infectious spleen and kidney necrosis virus isolated from the Humpback grouper, *Cromileptes altivelis*

CaoYing Wei, Chen Zhang, Jinge Wang, Min Yang, YongCan Zhou, ZhenJie Cao,
Yun Sun*

Hainan Provincial Key laboratory for Tropical Hydrobiology and Biotechnology, School of
Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou 570228, China

Abstract: Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) cause a high mortality disease which brings substantial economic losses to the freshwater fish and marine fish culture industry in China. In this study, a new strain of ISKNV was isolated from diseased humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) in Wenchang, Hainan Province, China, and named ISKNV-HN. The comprehensive whole genome of ISKNV-HN, comprising 111,957 base pairs and encoding 127 open reading frames, was sequenced, assembled, and annotated using the Illumina Novaseq system. Genomic collinearity analysis demonstrated that the gene sequences and spacing of the core genes of iridoviruses were conserved between ISKNV-HN and ISKNV-ASB-23. The high pathogenicity of ISKNV-HN was evaluated *in vitro* and *in vivo*. Basophilic hypertrophic cells were a characteristic presence observed following megalocytivirus infection and were also present in the tissues of infected humpback groupers. *Cromileptes altivelis* kidney (CAK) cells show typical cytopathic effects at 6 h post ISKNV-HN infection. Additionally, immune-related genes, including *p53*, *IFN-γ*, and *ISG15* were significantly upregulated in ISKNV-HN infected CAK cells. Therefore, our study successfully isolated, and identified a novel highly virulent strain of ISKNV-HN (an ISKNV-type megalocytivirus) from the humpback grouper.

Keywords: Infectious spleen and kidney necrosis virus; isolation and identification; genomic analysis; pathogenicity; humpback grouper

***Aeromonas hydrophila* inhibits the JAK2/STAT3 pathway by activating SOCS3s in Common carp (*Cyprinus carpio*)**

Ying Zhang, Yanjing Zhao, Feng Gao, Xianghui Kong*

Henan Engineering Laboratory for Control of Aquatic Animal Diseases, College of Fisheries,
Henan Normal University, Xinxiang 453007, China.

Abstract: The suppressor of cytokine signaling (SOCS) plays a crucial role in the regulation of inflammatory responses by influencing various signaling pathways, including the JAK/STAT. Although numerous members of the SOCS protein family have been identified in teleosts, their functional characteristics in non-mammalian vertebrates have not been extensively studied. To further understand the function of SOCS3 in teleosts, we identified and characterized the SOCS3a and SOCS3b of the Common carp huanghe. Bioinformatics analysis revealed that they exhibit high sequence and domain conservation with mammals and other teleosts, and are expressed in multiple tissues of the Common carp huanghe, with particularly high expression in the gills, spleen, and head kidney. We found that they could be upregulated by *Aeromonas hydrophila* in the tissues examined, and their overexpression in Common carp huanghe increased the bacterial load in tissues and reduced the survival rate. Furthermore, through interference and overexpression experiments in carp EPC cells, we discovered that SOCS3a and SOCS3b inhibit JAK2 and suppress the nuclear expression and phosphorylation of STAT3 induced by *A. hydrophila*. We are the first to identify the SOCS3a and SOCS3b in Common carp huanghe and found that *A. hydrophila* inhibits the JAK2/STAT3 pathway by upregulating SOCS3a and SOCS3b, thereby disrupting the immune balance of the organism. These results provide the first evidence that SOCS3s are effective inhibitors of the *A. hydrophila*-mediated JAK-STAT signaling in teleosts.

Keywords: SOCS3; JAK/STAT signaling; *Cyprinus carpio*

Identification and functional characterization of grass carp TRPV1 in facilitating GCRV infection

Zi-Yu Xie¹, Yang Xu¹, Qiu-Shi Zhang, Zhi-Ming Liu, Liang Hu, Wei Wang, Tiao-Yi Xiao, De-Liang Li, Xin-Yu Liang*, Jun-Hua Li*

College of Fisheries, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: The transient receptor potential vanilloid (TRPV) channels constitute a distinct category of sensory signal mediators, responsible for transmitting signals from both internal and external environmental stimulus. The outbreaks of aquatic viral diseases, such as grass carp haemorrhagic disease (GCHD) caused by grass carp reovirus (GCRV) infection, are typically seasonal and temperature-dependent, while the molecular mechanism underlying this temperature dependence remains largely unknown. In this study, we investigated and characterized the roles of CiTRPVs from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) in response to GCRV infection. CiTRPVs were ubiquitously expressed across all examined tissues and exhibit significant upregulation in expression levels following stimulation with GCRV or pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Temperature-gradient infection and temperature-stress infection experiments discovered that GCRV induces the expression of CiTRPV1 in a temperature-dependent manner, with the permissive temperature 28 °C promoting both the expression of CiTRPV1 and the proliferation of GCRV. Further immunofluorescence analysis revealed that CiTRPV1 exhibits a widespread cellular distribution, while viral infection enhances its oligomerization and co-localization with mitochondria (Mit) and endoplasmic reticulum (ER). Additionally, the overexpression of CiTRPV1, knockdown using small interfering RNA (siRNA), and pharmacological inhibition/activation approaches demonstrated that CiTRPV1 facilitated GCRV replication. Lastly, CiTRPV1 promoted GCRV infection by inducing heat shock proteins (HSP70 and HSP90), inflammatory factors (interleukin 6, IL6), and membrane receptors (integrin). This study elucidated the immune evasion mechanism whereby aquatic viruses exploit sensory TRP channels to enhance viral infection, offering potential targeted prevention and treatment strategies for GCHD through the use of CiTRPV1 inhibitors, while highlighting the crucial role of environmental factors in the development of aquatic viral diseases.

Keywords: Grass carp; GCRV; CiTRPV1; Temperature; Viral replication

The role of extracellular matrix fibronectin (FN) in temperature-dependent grass carp reovirus (GCRV) infection: elucidating the underlying mechanisms

Yang Xu, Liang Hu, Qiushi Zhang, Hongquan Wang, Tiaoyi Xiao, Junhua Li*

College of Fisheries, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: Grass carp hemorrhagic disease (GCHD), caused by grass carp reovirus (GCRV), demonstrates a distinct temperature-dependent pattern and poses a persistent challenge to sustainable grass carp aquaculture. Through an integrative approach combining multi-omics analysis with molecular techniques, including quantitative real-time PCR, Western blot, immunofluorescence, scanning and transmission electron microscopy, CRISPR/Cas9 gene editing, dual-luciferase reporter assays, co-immunoprecipitation, pull-down assays, and molecular docking, this study systematically elucidated the role and underlying mechanisms of fibronectin (FN), a crucial extracellular matrix protein, in facilitating temperature-dependent GCRV infection. The results revealed that GCRV infection significantly upregulates FN expression, with both FN abundance and viral replication exhibiting temperature sensitivity, showing markedly elevated levels at 28°C compared to 18°C. The proviral role of FN was robustly validated through complementary gain- and loss-of-function experiments, comprising exogenous FN incubation, agonist or antagonist treatments, antibody blocking, and gene knockdown or knockout. Mechanistic investigations further demonstrated that FN promotes viral replication through activation of NF- κ B signaling pathway, induction of cytoskeletal rearrangement, and interactions with host membrane receptors such as integrins and viral outer capsid proteins like VP7. This study provides the first comprehensive insight into the critical involvement of FN in the temperature-dependent infection of GCRV, establishing a theoretical basis for developing targeted interventions against GCHD and other viral diseases in aquatic species.

Keywords: grass carp reovirus; fibronectin; temperature-dependent; NF- κ B signaling; cytoskeleton

SGIV+RGNNV Co-Infection Increases Mortality in Leopard Coral Grouper Through Overactivated Immune Responses and Metabolic Alterations

Jinpeng Chen, Qiwei Qi*, Min Yang*

College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Guangzhou, 510642, China.

Abstract: Singapore grouper iridovirus (SGIV) and red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV) are two major pathogens that severely threaten the aquaculture of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*), but host responses to their co-infection remain insufficiently characterized. In this study, juvenile groupers were experimentally exposed to SGIV, RGNNV, or a combined challenge. Fish in the co-infection group exhibited markedly higher mortality (~8% survival) and more severe pathological changes, including splenic enlargement and pronounced neuronal vacuolation, compared with single-virus infections. RNA-seq of brain and spleen samples collected 72 h post-infection showed that co-infection induced substantially more upregulated than downregulated differentially expressed genes (DEGs), reflecting a stronger activation-type transcriptional response. Venn analysis revealed 498 shared DEGs in the brain and 698 in the spleen among all infected groups. Functional enrichment demonstrated that co-infection enhanced the expression of immune-related pathways in the brain (TNF, NF- κ B, cytokine–cytokine receptor interaction, apoptosis) and both immune and metabolic pathways in the spleen (oxidative phosphorylation, lysosome, antigen processing and presentation, general metabolism). Representative genes included *NFKB2*, *IL16*, *CD40*, and *FADD* in the brain, and *UCP2*, *B2M*, *HK2*, and *SIRT3* in the spleen. Together, these findings indicate that SGIV+RGNNV co-infection exacerbates tissue damage and host mortality by amplifying antiviral and inflammatory signaling in the brain and driving concurrent immune activation and metabolic shifts in the spleen. This work provides new insights into the synergistic pathogenicity of viral co-infections in groupers and contributes to a better understanding of host–virus interactions in aquaculture species.

Keywords: *Plectropomus leopardus*; SGIV; RGNNV; Co-infection; RNA-Seq

SGIV VP101 facilitated viral replication by involving in viral assembly and avoiding the STING-TBK1-mediated antiviral response

Yin Zhao^{a#}, Youhua Huang^{a, b#}, Long Lin^a, Kaitao Xi^a, Mengdi Yuan^a, Qiwei Qin^{a,b,c}, Ya Zhang^{a,b**}, Xiaohong Huang^{a,b*}

^a College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

^b Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory, Zhuhai 519082, China

Abstract: Singapore grouper iridovirus (SGIV), as a highly pathogenic and infectious pathogen, has become a serious threat to aquaculture industry. However, the virulence genes of SGIV and their functions during virus infection still remained largely uncertain. Our study found that VP101 facilitated viral replication by involving in viral assembly and negatively regulating the STING-TBK1-mediated interferon (IFN) signaling pathway. Firstly, As an viral early gene, VP101 facilitated viral protein synthesis and progeny virus production. Mechanistically, Overexpression of VP101 inhibited IFN1 promoter or ISRE activity stimulated by MDA5, MAVS, STING and TBK1. VP101 interacted with STIGN and TBK1 and impaired STING-TBK1 complex formation. VP101 degraded targeted proteins in ubiquitin-proteasome or autophagy-lysosome dependent manners, thereby weakening STING- or TBK1-induced antiviral effects. In addition, the newly synthesized VP101 was found to transport into virus assembly sites, and VP101 interacted with endogenous or exogenous major capsid protein (MCP) during SGIV infection. Furthermore, VP101 participated in viral replication along with other viral proteins, such as VP156 and VP46. Overall, our findings indicated that VP101 exerted bifunction during SGIV infection via abrogating STING-TBK1-mediated antiviral response and participating in virus assembly, which will provide new strategies for treatment and prevention of grouper iridoviral disease.

Key words: SGIV; Assembly; STING; TBK1; Degradation

Role of chitin synthases CHS1 and CHS2 in biosynthesis of the cyst wall of *Cryptocaryon irritans*

Huicheng Wu, Yihao Cen, Yipei Lu, Yanwei Li, Xueming Dan*, Zequan Mo*

University Joint Laboratory of Guangdong Province, Hong Kong and Macao Region on Marine

Bioresource Conservation and Exploitation, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern

Agriculture, College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou

510642, China

Abstract: *Cryptocaryon irritans*, a protozoan parasite that infects marine fish, is characterized by a complex life cycle that includes a cyst-forming reproductive phase. However, the composition of the cyst wall and mechanism of its formation remain unclear. In this study, we identified chitin as a key component of the cyst wall using calcofluor white and wheat germ agglutinin, with Fourier-transform infrared spectroscopy confirming its β -form structure. Two chitin synthase genes, *CHS1* and *CHS2*, were identified as being expressed throughout the life cycle and show close phylogenetic relationships with chitin synthase from ciliates. Incubation with specific anti-CHS1 and -CHS2 antibodies significantly reduced both the thickness and chitin content of the cyst wall, highlighting the critical role of these enzymes in chitin biosynthesis. Treatment with benzoylureas, which inhibit chitin synthesis, caused thinning of the cyst wall and downregulation of *CHS* gene expression, resulting in an 84 % reduction in the hatching rate after treatment with 0.01 mM CuSO₄ compared with control tomonts. Western blot analysis demonstrated that recombinant CHS proteins are immunogenic, and tomonts from CHS-immunized grouper exhibited reduced size. These findings bridge a crucial knowledge gap in understanding of the *C. irritans* cyst wall and highlight promising targets for infection prevention and control strategies.

Keywords: Chitin synthase; Cyst wall; *Cryptocaryon irritans*; Chitin

EcCXCR4b Influences RGNNV Proliferation by Interacting with the RGNNV Capsid Protein

Xiaojing Hua^{1,2}, Chen Li^{1,2}, Yanzhi Yu^{1,2}, Xueqin Liu^{1,2*}

1. National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

2. Hubei Engineering Technology Research Center for Aquatic Animal Diseases Control and Prevention, Wuhan 430070, Hubei, China

Abstract: Red grouper neuron necrosis virus (RGNNV) is an intensely virulent pathogen affecting cultured fish, which cause severe financial losses in the aquaculture business. The viral surface's sole structural protein of capsid protein (CP) is essential for mediating RGNNV binding to susceptible host cells. In this study, immunoprecipitation-mass spectrometry (IP-MS) was employed to screen for candidate proteins that could interact with RGNNV-CP. The *Epinephelus coioides* CXC chemokine receptor 4b (*EcCXCR4b*) was found to be primarily localized on the cell membrane of grouper spleen (GS) cells, and was identified as an interaction protein of RGNNV-CP by immunoprecipitation and immunofluorescence analysis. Furthermore, overexpression of *EcCXCR4b* in host cells enhanced RGNNV attachment and internalization, whereas silencing *EcCXCR4b* expression significantly inhibited replication of RGNNV and reduced viral entry. Additionally, treating cells with anti-CXCR4 antibodies to block cell surface *EcCXCR4b*, or pretreating RGNNV virions with recombinant *EcCXCR4b* protein effectively inhibited RGNNV binding to GS cells. *In vivo*, administering recombinant *EcCXCR4b* protein significantly increased the survival rate of RGNNV-infected groupers. Moreover, exogenous overexpression of *EcCXCR4b* facilitated RGNNV internalization in typically non-susceptible human lung adenocarcinoma cells (A549). Notably, we discovered that the clathrin endocytosis pathway was the mechanism by which *EcCXCR4b* mediated RGNNV entrance into host cells. The results suggest that *EcCXCR4b* is essential for RGNNV entry into host cells, and could potentially serve as a therapeutic target for interventions against RGNNV infections.

Keywords: RGNNV; capsid protein; *EcCXCR4b*; interaction protein; internalization

Study on the mechanism of *Bacillus coagulans* against SVCV

Weiyang Zhao^{1,2}, Chen Li^{1,2}, Xueqin Liu^{1,2*}

1. National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Fisheries of Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China
2. Hubei Engineering Technology Research Center for Aquatic Animal Disease Control and Prevention, Wuhan 430070, China

Abstract: Spring viremia of carp virus (SVCV) can cause severe harm to carp and other cyprinid fish. The typical clinical symptoms of infected fish include tissue cell necrosis and spot-like hemorrhage. However, there is currently no specific commercial drug or vaccine to control SVCV infection. In this study, a strain of *Bacillus coagulans* WH20 was isolated from the intestine of crucian carp. Research found that feeding *B. coagulans* can significantly improve the survival rate of zebrafish infected with SVCV and inhibit inflammatory responses and tissue damage in various organs. The cell lysate (CL) of this strain exhibits potent anti-SVCV activity. At a concentration of 80 mg/L, CL effectively reduces the *svc-v-g* transcription level in EPC cells and significantly decreases the expression level of SVCV G protein. However, the antiviral effect of CL is not through the interferon signaling pathway. The study found that CL has good therapeutic effects on SVCV and can block SVCV assembly and release. Subsequently, the thermal stability of CL was verified, and it was found to retain strong antiviral activity after treatment at -80°C, -20°C, 24°C, and 85°C. In summary, this study reveals that *B. coagulans* WH20 and its lysate exhibit good anti-SVCV activity, holding promise as a new strategy for preventing and controlling SVCV in aquaculture. It provides new clues for the development of treatment options for SVCV-related diseases.

Keywords: SVCV; *Bacillus coagulans* WH20; cell lysate; antiviral activity

Oral immunization with *L. lactis* expressing the major capsid protein of largemouth bass ranavirus (LMBV) enhanced the immune response of largemouth bass against LMBV infection

Haoqi Du^{1,2}, Xiaojing Hua^{1,2}, Haoyu Zhang^{1,2}, Yan Zhang^{1,2}, Yuanan Lu³, Xueqin Liu^{1,2*}

1. National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

2. Hubei Engineering Technology Research Center for Aquatic Animal Diseases Control and Prevention, Wuhan 430070, Hubei, China

3. Department of Public Health Sciences, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii 96822, USA

Abstract: Largemouth bass *ranavirus* (LMBV), a member of the genus *Iridovirus*, poses a serious threat to the largemouth bass (*Micropterus salmoides*) aquaculture, causing significant economic losses. Food-grade *Lactococcus lactis* (*L. lactis*) has emerged as a promising oral vaccine vector due to its safety, convenience, and ability to directly target the intestinal tract. In this study, a Nisin controlled expression system - comprising the *lacF* deficient strain *L. lactis* NZ3900 and the *lacF* containing plasmid pNZ8149 was used to express the major capsid protein (MCP) of LMBV. The recombinant strain pNZ8149-Usp45-MCP-6His/*L. lactis* NZ3900 (recombinant *L. lactis*) was successfully constructed and maintained viability for at least 72 h within the intestinal environment of largemouth bass. Oral administration of recombinant *L. lactis* via feed significantly upregulated immune-related gene expression in the spleen, liver, and head kidney compared to fish fed PBS or the empty vector strain (pNZ8149/*L. lactis*). Following LMBV challenge, the survival rate of largemouth bass in the recombinant *L. lactis* group reached 73.3%, significantly higher than the PBS group (13.3%) and the empty vector group (40%). Moreover, the viral load in multiple organs of surviving fish were markedly reduced in recombinant *L. lactis* group. Histopathological analysis revealed no apparent lesions in spleen, liver, or head kidney of largemouth bass receiving recombinant *L. lactis*, while pathological changes such as cellular vacuolization and widened interstitial spaces were observed in the control groups. Therefore, these findings demonstrate that oral immunization with recombinant *L. lactis* expressing LMBV MCP effectively induces systemic immune responses in largemouth bass and confers significant protection against LMBV infection.

Keywords: Largemouth bass, Largemouth bass *ranavirus*, Major capsid protein, Oral vaccines, *Lactococcus lactis*

PDIA3 is used as a entry receptor by type II grass carp reovirus (GCRV-II)

Jiawei Li¹, Yong-An Zhang^{1*}, Jiagang Tu^{1*}

¹College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China.

Abstract: Grass carp reovirus type II (GCRV-II) is a highly virulent pathogen causing severe economic losses in aquaculture. The mechanism of GCRV-II entry, including the specific host receptors for its outer capsid proteins, remains incompletely characterized. In this study, using the eukaryotic-purified Fc-Flag-VP35 fusion protein as bait to screen for interacting host membrane proteins, we identified protein disulfide isomerase A3 (PDIA3) as a co-receptor for GCRV-II entry. Through membrane-specific immunofluorescence, flow cytometry, and confocal imaging, PDIA3 was demonstrated to localize on the cell surface, supporting its potential role as a viral receptor. PDIA3 directly interacts with the viral outer capsid proteins VP35 through its N-terminal domain binding to the N and M domains of VP35. Furthermore, PDIA3 also associates with VP56 via its M domain. Functionally, knockdown or inhibition of PDIA3 significantly suppressed GCRV-II entry into susceptible cells, whereas its overexpression promoted viral entry, even in non-susceptible cells. Consistent with these findings, in vitro neutralization assays using anti-PDIA3 antibodies or soluble recombinant PDIA3 protein potently blocked GCRV-II infection. Furthermore, in vivo studies confirmed that administration of recombinant PDIA3 and its functional domains (N and M) significantly increased survival rates and reduced viral loads in GCRV-II-infected grass carp. Collectively, these findings establish PDIA3 as a key co-receptor for GCRV-II entry, providing new insights into the pathogenesis of GCRV-II and identifying a potential target for developing novel antiviral strategies.

Keywords: PDIA3, grass carp reovirus, VP35, viral entry, receptor

Comparison of the host-pathogen interactions between *Pseudomonas plecoglossicida* and *Nocardia seriolae* in a cell line derived from head kidney of yellow large croaker

Li-Yun Jin^a, Shu-Ya Li^a, Fei Yin^a, Zhen Tao^b, Xiao Xie^a, Su-Ming Zhou^{a*}

^aKey Laboratory of the Ministry of Education for Applied Marine Biotechnology, School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China

^bSchool of Fisheries, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, 316022, China

Abstract: *Nocardia seriolae* and *Pseudomonas plecoglossicida* are two important pathogenic bacterial species in aquaculture, causing visceral granulomatous disease in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) and other economically important fish species. However, the difference of host-pathogen interactions between these two bacteria have not been well defined. In present study, ultrastructural changes, cell cytotoxicity, production of reactive oxygen species (ROS), apoptosis, ferroptosis, and transcriptomic profiles induced by *P. plecoglossicida* and *N. seriolae* were evaluated in a head kidney originating cell line from yellow large croaker (LYC-hK). Transmission electron microscope showed that both *P. plecoglossicida* and *N. seriolae* were able to invade into and multiply intracellularly, but display different intracellular ultrastructural changes upon bacterial infection. Lactate dehydrogenase assay showed that both two bacteria had low cell cytotoxicity toward LYC-hK cell, compared to the cytotoxic positive bacterium, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*. Flow cytometry detection showed that *N. seriolae* had significant stronger ability to trigger ROS production and apoptosis in LYC-hK than that of *P. plecoglossicida*. Intracellular reduced glutathione (GSH), total glutathione (GSH + GSSG) and Fe²⁺ measurements showed that *N. seriolae* infection led to an extremely low GSH or GSH + GSSG level and significant higher Fe²⁺ level in LYC-hK. Moreover, comparative transcriptomes by RNA-sequencing revealed some same and different cellular and molecular responses in LYC-hK after *N. seriolae* or *P. plecoglossicida* infection. These findings will provide new insight into understanding the pathogenesis of fish visceral granulomatous disease caused by these two bacterial pathogens.

Keywords: Visceral granulomatous disease; *Nocardia seriolae*; *Pseudomonas plecoglossicida*; Host-pathogen cell interactions; RNA-Sequencing

VPAHPND Pathogenesis and Its Mediated Immune Response in Shrimp

Hourong Liu^{1,2} *, Junjin Lin¹, Da Guo¹, Lijie Jiang¹, Xincang Li², *

1 Customs Inspection and Quarantine Department, Shanghai Customs University, Shanghai
201204, China

2 East China Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai
200090, China

Abstract: Shrimp aquaculture is vital for global seafood production but is severely threatened by diseases like Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND). Understanding AHPND-mediated immunity in shrimp requires an integrated approach drawing from various research contexts. This work described here include 1) the pathogenicity of VP_{AHPND}, PirA^{vp}, PirB^{vp} and PirAB^{vp} toxins, 2) the immune responses of shrimp's main immune organs, the role of miRNAs in regulating immune-related genes against VP_{AHPND}, heat shock proteins and small GTPases in combating VP_{AHPND}, 3) current knowledge on shrimp response toward PirA^{vp}, PirB^{vp}, and PirAB^{vp} Toxins, 4) knowledge of the virulence of different *Vibrio* spps., 5) the differential responses of various crustacean species to *V. parahaemolyticus* induced AHPND. Despite advances, gaps remain in understanding the molecular pathways and immune evasion strategies of AHPND pathogens. We provide an overview of functional reports on AHPND induced immune response benefits fundamental and applied studies.

Keywords: VP_{AHPND} Pathogenesis; shrimp; immune response; molecular mechanism

CTD proteins secreted by the type IX secretion system are virulence factors in the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*

Shuhan Lin,¹ Lin Su,¹ Ran Zhao,^{2,3} Xinwei Ge,¹ Yihuan Chang,¹ Siqi Sun,¹ Di Wang,^{2,3} Shaowu Li,^{2,3} Yongtao Zhu^{1*}

¹Department of Biosciences and Bioinformatics, School of Science, Xi'an Jiaotong-Liverpool University, Suzhou, Jiangsu, China

²Department of Aquatic Animal Health, Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin, China

³Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Immune Technology of Heilongjiang Province, Harbin, China

Abstract: Bacterial cold-water disease (BCWD), caused by *Flavobacterium psychrophilum*, leads to significant fish mortality and poses a serious threat to the aquaculture industry. The type IX secretion system (T9SS) has been confirmed to be closely associated with the pathogenicity of *F. psychrophilum*. Numerous extracellular enzymes such as proteases and nucleases are predicted to be secreted via T9SS, which have a conserved C-terminal domain (CTD). These enzymes are hypothesized to function as virulence factors. In this study, we constructed mutant strains lacking different CTD proteins in *F. psychrophilum* CSF259-93, including proteases and endonucleases, using a markerless gene deletion strategy by homologous recombination. Skim milk assay and azocasein assay were used to analyze protease activities of the mutants. It was found that the $\Delta fpp1$ & $\Delta fpp2$ double deletion mutant exhibited significant decrease in protease activity compared to the wild-type strain, while $\Delta fpp5$ and $\Delta fpp6$ each showed minor decrease in protease activity. DNase activity assay showed that $\Delta endo71$ & $\Delta endo96$ double deletion mutant exhibited significantly reduced endonuclease activity compared to the wild-type. Finally, rainbow trout challenge experiment indicated that deletion of the endonuclease genes (*endo71* & *endo96*) resulted in attenuated virulence, comparable to that of a *gldN* mutant (a T9SS-deficient control). In contrast, protease gene deletions ($\Delta fpp1$ & $\Delta fpp2$) did not significantly affect the virulence. These findings highlight endonucleases secreted by the T9SS as key virulence factors in *F. psychrophilum* and provide molecular insights crucial for developing effective vaccines or control strategies against BCWD.

Keywords: *Flavobacterium psychrophilum*; Bacterial cold-water disease; Type IX secretion system; Protease; Endonuclease

Ultrastructure and tissue tropism of *Trypanosoma larimichthysi* in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

Zhang QingWei¹, Wang Yanjie², Xie Jianjun³, Yan Xiaojun², Fu Peipei^{2*}, Tao Zhen^{1*}

1 School of Fisheries, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022, PR China

2 National Engineering Research Center of Marine Facilities Aquaculture, Marine Science and Technology College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022, PR China

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

Abstract: Trypanosomiasis caused by *Trypanosoma larimichthysi* is a significant parasitic disease in cultured large yellow croaker (*Larimichthys crocea*), leading to severe anemia, tissue damage, and high mortality. However, its ultrastructure and tissue tropism remain poorly understood. In this study, ultrastructural characterization was conducted using scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM) and fluorescent staining, while quantitative PCR (qPCR) was employed to assess parasite loads across multiple host tissues. The parasite exhibited typical trypanosome features, including an elongated trypomastigote body, undulating membrane, anterior flagellum, and subpellicular microtubules. qPCR analysis revealed distinct tissue tropism, with the highest parasite burdens in the heart and nasopharyngeal mucosa, followed by the kidney, spleen, and brain, whereas muscle exhibited the lowest levels. These findings provide novel insights into the pathogenesis of *T. larimichthysi*, explain the clinical manifestations observed in infected fish, and identify key target tissues for the development of effective prevention and control strategies in marine aquaculture.

Keywords: *Trypanosoma larimichthysi*, *Larimichthys crocea*, tissue tropism, ultrastructure

Molecular mechanisms of grass carp reovirus entry, replication, and immune evasion

Libo He*, Qian Wang, Yongming Li, Lanjie Liao, Zuoyan Zhu, Fei Ke, Yaping Wang*

State Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China

Abstract: Grass carp is the most important freshwater aquaculture species in China, accounting for 21.43% of the nation's total freshwater fish production and holding significant economic value. Grass carp reovirus (GCRV), the causative agent of grass carp hemorrhagic disease, leads to mortality rates exceeding 80% in juvenile fish, resulting in direct annual economic losses of more than 2 billion RMB. Currently, effective measures for the prevention and control of hemorrhagic disease remain lacking. Therefore, elucidating the mechanisms of GCRV entry, replication, and viral immune evasion is of great importance for disease control and the breeding of resistant strains. This study focuses on the “virus–host interaction” axis and, for the first time, identifies sialic acid as a functional receptor for GCRV, while also characterizing heparan sulfate as an attachment receptor, thus providing key molecular targets for disease prevention and selective breeding. Moreover, we demonstrate that lipid droplets serve as the platform for GCRV replication and assembly, and further reveal the spatiotemporal dynamics underlying the formation of distinct types of GCRV viral factories. In addition, we elucidate the interplay between GCRV and the host immune system, uncovering the molecular mechanism by which the virus modulates autophagy for immune evasion. Collectively, our findings provide valuable insights into the prevention and control of hemorrhagic disease and offer important molecular guidance for the development of GCRV-resistant grass carp strains.

Keywords: grass carp reovirus; entry; replication; immune evasion

大黄鱼虹彩病毒感染后大黄鱼脾脏和肝脏转录组分析

潘滢, 池洪树, 郑在予, 陈秀霞, 林能锋, 江秋欢, 刘晓东, 龚晖*

福建省农业科学院生物技术研究所, 福州, 350004

摘要: 大黄鱼虹彩病毒病是大黄鱼养殖高温季节主要流行的病毒性病害之一, 为初步揭示大黄鱼在病毒感染条件下的免疫应答规律, 本研究以全长约 5cm 的健康大黄鱼幼鱼为感染对象, 通过腹腔注射的方式进行病毒人工感染。病毒注射剂量为 10^9 copies, 感染期间水温始终保持为 27°C。结果显示病毒感染后第 6d 大黄鱼出现死亡, 第 8d 死亡达到高峰, 10d 后大黄鱼不再出现死亡, 病鱼的症状主要体现为脾脏肿大和肝脏发红, 与自然海区发病的症状基本一致, 感染的累计死亡率为 37.14%。脾脏和肝脏组织病毒含量检测结果显示, 脾脏和肝脏组织的病毒含量均在感染病毒后第 4d 最高, 第 6d 略微降低, 至第 12d 不再检出。病鱼脾脏组织可发现较多的嗜碱性肿大细胞, 透射电镜可发现到直径约 150nm 的病毒粒子。病毒感染后 0d、4d、8d 和 12d 的脾脏转录组分析结果表明, 7 个通路仅在病毒感染后 4d 和 8d 被显著富集, 且这些通路均与免疫反应相关, 包括 Toll 样受体通路、NOD 样受体通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、C 型凝集素受体通路等。对这些通路共同涉及的免疫相关差异表达基因进行分析, 获得了 10 个潜在的关键抗病毒候选基因, 其中 *IFN-I*、*IFNAR2*、*Mx*、*CCL4*、*IL10* 等 8 个基因在感染后 4d 和 8d 表达量均呈现显著下调, 而 *TLR2* 和 *NLRP6* 基因的表达水平却在感染后 4d 和 8d 出现显著上调。肝脏转录组分析结果显示, Nod 样受体通路、Toll 样受体等通路同样在肝脏组织显著富集。这些结果表明, 多种模式识别受体通路协同参与了大黄鱼抗病毒免疫应答过程。

关键词: 大黄鱼; 大黄鱼虹彩病毒; 人工感染; 脾脏和肝脏转录组; 模式识别受体通路; 关键抗病毒基因

一株抗石斑鱼虹彩病毒的解淀粉芽孢杆菌的筛选与机制研究

高艳侠^a, 李鹏飞^{a*}

^a 广西海洋科学院 (广西红树林研究中心), 广西, 530007

*Email: pfli2014@126.com

摘要: 石斑鱼是我国重要的经济养殖品种之一, 病害频发尤其是病毒性疾病严重制约石斑鱼养殖业的可持续发展, 其中新加坡石斑鱼虹彩病毒 (Singapore grouper iridovirus, SGIV) 危害尤为突出, 且尚无有效的防治策略。本研究旨在从石斑鱼肠道筛选出具有抗 SGIV 活性的益生菌, 对其进行鉴定和生物学特性研究。同时, 利用光学显微镜观察、结晶紫、实时荧光定量 PCR 技术、流式细胞术和 WB 等方法评估益生菌代谢物对 SGIV 的抗病毒效果及作用机制。结果表明, 益生菌 E35 具有抗 SGIV 活性, 经形态学观察、生理生化和分子生物生物学综合鉴定其为解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)。菌株 E35 具有产淀粉酶、纤维素酶和蛋白酶的能力, 且具有较强的耐酸、耐盐和耐胆盐能力, 在 pH 值为 4.0、60‰盐度和 0.2%胆盐中均可生长; 对阿莫西林等 20 中常见的抗生素敏感, 且具有良好的生物安全性。菌株 E35 代谢粗提物质量浓度 $\leq 0.5\text{mg/mL}$ 时对石斑鱼脾脏细胞 (Grouper spleen cells, GS) 活力和形态结构无显著影响, 且能以浓度依赖方式抑制 SGIV 感染。E35 粗提物可与 SGIV 病毒粒子相互作用, 使衣壳蛋白基因 (*mcp*) 和囊膜蛋白基因 (*vp19*) 相对表达量显著降低 ($p < 0.01$)、病毒滴度显著下降 ($p < 0.05$); 在 SGIV 感染细胞的吸附、侵入与复制阶段使用 E35 粗提物处理细胞发现, SGIV 在细胞中的含量显著低于未用 E35 粗提物处理的细胞, 且 E35 粗提物的抗病毒作用在 SGIV 吸附细胞阶段最为显著。综上, E35 粗提物对 SGIV 具有良好的体外抗病毒效果, 在 SGIV 侵染宿主细胞的吸附、侵入和复制阶段中均起到干扰作用, 有抗 SGIV 感染作用, 具有成为安全、高效的抗 SGIV 新型绿色生物渔药的潜力。

关键词: 新加坡石斑鱼虹彩病毒; 解淀粉芽孢杆菌; 体外抗病毒作用; 抗病毒机制; 生物渔药

IL-17B 负调控 novel-m0270-5p 靶向 TRAF2 调节抗病毒免疫的功能及作用机制研究

丁谊,杨莉,宋云杰,肖贺贺,孔祥会*,蒋昕彧*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程中心, 河南 新乡, 453007

摘要: IL-17B是IL-17家族成员, 在哺乳动物中, IL-17B能够调控炎症反应, 并参与抵御病原微生物入侵的免疫反应。MicroRNA (miRNA) 是一类重要的非编码RNA, 通过抑制mRNA的翻译或促进其降解, 参与调控多种生物学过程。Novel-m0270-5p是一种新发现的miRNA, 在机体免疫应答过程中的功能尚不清楚。本研究在IL-17B孵育的鲤 (*Cyprinus carpio*) 头肾原代细胞的转录本中, 发现 novel-m0270-5p 的表达显著下调。并且体内过表达 IL-17B 能明显抑制 novel-m0270-5p 的表达。通过分析转录组数据, 可知TRAF2是novel-m0270-5p潜在的靶向基因, 双荧光素酶报告基因实验结果显示, novel-m0270-5p能够直接结合TRAF2的3'UTR区, 在EPC细胞系中过表达 novel-m0270-5p能够同时抑制TRAF2的蛋白和mRNA的表达水平, 下调干扰素 (IFN) 和干扰素刺激基因 (ISGs) 的表达水平, 增强细胞内鲤春病毒血症病毒 (SVCV) 的复制能力。而抑制 novel-m0270-5p 的表达则能够显著增强TRAF2的表达水平, 同时降低SVCV在EPC细胞系中的复制。本研究探索了IL-17B-novel-m0270-5p-TRAF2轴在硬骨鱼类抗病毒免疫应答中的作用, 为水产养殖病毒病的防控提供了新的潜在分子靶点。

关键词: IL-17B; novel-m0270-5p; TRAF2; 抗病毒免疫

黄河鲤 ATG5 的分子特征及在 SVCV 复制中的功能

张梦茜, 李趁, 齐松洁, 张云丽, 裴超, 孔祥会*¹

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 河南 新乡 453007

摘要: 自噬相关基因 5 (Autophagy related gene 5, Atg5) 编码自噬体形成的核心蛋白之一, 在哺乳动物中参与调节自噬活动、干扰素 (IFN) 反应及炎症反应。本研究从黄河鲤 (*Cyprinus carpio*) 中克隆并鉴定了 Atg5 同源基因 (*CcAtg5*)。CcAtg5 编码一个 275 个氨基酸的蛋白, 分别与鲫 (*Carassius gibelio*) 和智人 (*Homo sapiens*) 具有 98.55% 和 81.09% 的同源性。CcATG5 包含一个保守的 APG5 结构域、两个泛素样结构域和一个富螺旋结构域。CcATG5 在黄河鲤多个组织中均有表达, 在脾、头肾等免疫组织中表达量较高。亚细胞定位显示 CcATG5 在细胞核和细胞质中均有分布。在功能研究方面, CcATG5 上调 LC3-II 水平, 增强自噬活动。CcATG5 过表达促进鲤春病毒血症病毒 (spring viremia of carp virus, SVCV) 的粘附、入侵、病毒基因转录、病毒蛋白合成以及子代病毒产量。此外, 过表达 CcATG5 降低 *IRF3*、*IRF7*、*IFIM1*、*IFIM3*、*IL-6* 和 *IL-1 β* 的表达水平以及 IFN, 干扰素敏感反应元件 (ISRE), 和核转录因子 (NF- κ B) 的启动子活性。利用 siRNA 敲降 *CcAtg5* 后, 上述结果出现相反的趋势。因此, CcATG5 的促病毒功能通过促进自噬、负调控先天抗病毒免疫以及促进病毒早期进入来实现。综上所述, CcATG5 对 SVCV 复制的促进源于其自噬和非自噬功能的共同作用。

关键词: 鲤; 自噬; ATG5; SVCV; 非自噬功能

斑马鱼 OPTN 降解 SVCV 病毒 G 蛋白的分子机制研究

赵辰帆, 李卓聪, 徐筱, 陆龙凤, 李顺, 孔祥会

河南师范大学水产学院, 河南 新乡, 453007

摘要: 视神经蛋白 (OPTN) 作为重要的选择性自噬受体之一, 在维持细胞内环境稳态和免疫调节中发挥关键作用。鱼类 OPTN 在病毒感染中的具体作用尚未可知。本研究发现, SVCV 感染后诱导细胞 OPTN 表达上调, OPTN 能够增强细胞的抗病毒能力。分子机制方面, OPTN 与 SVCV 病毒编码蛋白 G 具有相互作用, 并通过自噬溶酶体途径降解 G 蛋白。具体地, OPTN 与 P62 协同作用, 将 G 蛋白转移到自噬小体并降解, 最终导致病毒清除。上述研究解析了 OPTN 降解 SVCV 病毒 G 蛋白的分子机制, 为了解 SVCV 感染后的病毒-宿主相互作用过程提供了参考。

关键词: OPTN; G; 自噬

鱼类新型 TRIM 蛋白 FTR14 通过靶向 TBK1-IRF3 和 TRAF4-TRAF6 负向调控宿主免疫反应

植林勇, 袁梦迪, 马益婷, 刘姍杏, 秦启伟, 黄晓红*, 黄友华*

华南农业大学海洋学院, 广州 510642

摘要: 越来越多的证据表明, 三重基序蛋白 (Tripartite motif, TRIM) 家族成员在宿主抗病毒防御中发挥关键作用。然而, 在哺乳动物中没有真正直系同源物的鱼类特异性 TRIM (FTR, 也称为 finTRIM) 亚科的作用在很大程度上仍未知。本研究从斜带石斑鱼 (*Epinephelus* spp.) 中鉴定出一种新型 FTR 基因 (EcFTR14), 并研究其对鱼类病毒感染和宿主干扰素反应的影响。EcFTR14 包含 RING、B-Box 和 PRY-SPRY 结构域, 与斑马鱼 (*Danio rerio*) FTR14 具有 54.81% 的相似性。新加坡石斑鱼虹彩病毒 (Singapore grouper iridovirus, SGIV) 或神经坏死症病毒 (Red-spotted grouper nervous necrosis virus, RGNNV) 感染显著上调细胞中 EcFTR14 的表达量。EcFTR14 在细胞质中呈点状或聚集性分布。EcFTR14 的过表达可显著增强 SGIV 或 RGNNV 的复制。此外, EcFTR14 的过表达降低了 IFN 相关免疫信号分子的 mRNA 水平, 提示 EcFTR14 的促病毒作用是由于对 IFN 反应的负调控所致。EcFTR14 与 EcTBK1、EcIRF3 和 EcIRF7 相互作用, 但不与 EcSTING 相互作用。EcFTR14 的过表达可以剂量依赖性方式降解 EcTBK1、EcIRF3 和 EcIRF7, 并抑制靶标蛋白的抗病毒活性。进一步通过酵母双杂交筛选和免疫共沉淀 (Co-IP) 证实, 发现 EcFTR14 通过靶向 EcTRAF4 和 EcTRAF6, 负向调控宿主的炎症反应, 从而影响靶标蛋白对抗病毒免疫反应的调控作用。总的来说, 我们的研究结果表明, EcFTR14 充当多效性免疫调节剂, 靶向 TBK1-IRF3-IFN 信号传导和 TRAF6/TRAF4-NF- κ B 信号传导, 以重塑鱼类的抗病毒免疫反应。

关键词: TRIM; FTR14; 干扰素应答; TBK1; IRF3

ISG15通过降解NS79和VP41蛋白抑制II型草鱼呼肠孤病毒的复制

姜慧¹, 程鹏¹, 邬长松¹, 冯浩², 张永安^{1*}, 涂加钢^{1*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2. 湖南师范大学生命科学学院, 长沙 410081

摘要: 草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 出血病主要由II型草鱼呼肠孤病毒 (GCRV-II) 引起, 对草鱼养殖业造成重大经济损失。干扰素刺激基因 (ISGs) 在宿主抵御病毒感染过程中发挥重要作用, 然而, 在 GCRV-II感染的草鱼中, 哪些 ISGs 被诱导并发挥抗病毒功能以及其潜在的抗病毒机制尚不清楚。在本研究中, 我们分析了感染和未感染 GCRV-II的草鱼肾脏的在线转录组数据, 并确定了 9 个与 GCRV-II感染相关的 ISGs。随后, 我们发现 9 个 ISGs 中有 7 个具有抗 GCRV-II的能力, 其中包括两个 ISG15 同源物 (ISG15s), 分别命名为 ISG15-1 和 ISG15-2。进一步的研究表明, 缺乏 ISGylation 修饰活性的 ISG15s 突变体表现出与野生型 ISG15s 相当的抗 GCRV-II能力, 表明 ISG15s 主要通过游离形式抑制 GCRV-II的复制。机制上, 游离 ISG15s 与 GCRV-II的 NS79、VP41 和 NS38 蛋白相互作用, 并通过自噬-溶酶体途径降解 NS79 和 VP41 蛋白。并且作为对策, GCRV-II利用 NS38 蛋白通过竞争性结合 ISG15s 破坏其与 VP41 的相互作用, 从而挽救 VP41 的降解。本研究揭示了草鱼 ISG15s 抗 GCRV-II 的机制, 并为 GCRV-II 的免疫逃逸提供了新的策略, 这将有助于开发抗 GCRV-II 感染的抗病毒药物。

关键词: ISG15; 抗病毒活性; GCRV; 免疫逃避; 草鱼

草鱼 IgM 的母源免疫功能研究

刘彬, 张永安*, 张旭杰*

华中农业大学农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 华中农业大学水产学院, 武汉
430070

摘要: 母源免疫是脊椎动物早期免疫防御的关键机制之一, 在保护脆弱的子代免受病原侵袭中发挥了重要作用。在众多的母源免疫分子中, 抗体发挥着重要的功能。硬骨鱼类具有 3 类抗体, 即 IgM、IgD 和 IgT, 其中 IgM 是发现最早且含量最丰富的抗体类型, 然而, 硬骨鱼类 IgM 的母源免疫功能尚无深入研究。在本研究中, 我们发现 IgM 是草鱼重要的母源抗体类型, 其在卵膜周围及卵黄中均有分布, 形成了“免疫保护圈”; 此外, 多聚免疫球蛋白受体 (pIgR) 可与卵中的 IgM 结合, 可能参与母源 IgM 向卵内的转运过程。用灭活基因 II 型草鱼呼肠孤病毒 (GCRV-II) 免疫草鱼母本, 发现 GCRV-II 特异性 IgM 可母源传递, 卵中 IgM 总含量明显升高, 且卵中 IgM 多聚体的比例明显升高; 此外, 免疫后的卵子裂解液可有效中和 GCRV-II, 提高感染草鱼苗的存活率, 而当去除卵子裂解液中的 IgM 后, 草鱼苗的存活率显著下降。最后, 母源免疫实验显示, 灭活 GCRV-II 免疫后母本的子代比对照组具有更强的 GCRV-II 抗性, GCRV-II 浸泡感染后存活率更高。综上所述, 本研究系统揭示了草鱼 IgM 的母源免疫功能, 研究结果不仅拓展了对硬骨鱼类 IgM 免疫功能的认知, 更为鱼类苗种期病害防控与免疫增强策略提供了理论依据。

关键词: IgM; 母源免疫; GCRV-II; 草鱼

肠道微生物调节鲤春病毒血症病毒温度敏感性的机制研究

张玉军^{1,2} 刘学芹^{1,2} 于永耀^{1,2} *

1. 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

摘要: 大多数鱼类病毒病都有季节性流行的特点, 疾病的发生与温度密切相关。鲤春病毒血症病毒 (Spring viremia of carp virus, SVCV) 可致多种鲤科鱼类发生鲤春病毒血症 (Spring Viraemia of Carp, SVC), 其感染谱广, 死亡率高。该病毒在春季水温 10-17°C 时可导致感染鱼发病, 当水温超过 22°C 不易致病。SVCV 这种低温致病、高温不易致病的独特温度敏感性现象背后的科学机制亟待揭示。前期研究发现不同温度 (16°C/28°C) 下, 斑马鱼感染 SVCV 的存活率有着显著差异, 同时发现高温富集的狄氏副拟杆菌可通过产生次级胆汁酸 (去氧胆酸、DCA) 有效降低斑马鱼感染 SVCV 的死亡率。去氧胆酸添加鲤后显著提高了 SVCV 感染的存活率, 为了探究去氧胆酸抑制 SVCV 增殖的适应性免疫机制, DCA 口服添加鲤后流式细胞术检测脾脏中 B 细胞的比例, 结果显示脾脏组织中的 IgM⁺ B 细胞的比例显著提高。DCA 添加鲤后注射感染 SVCV, DCA 添加组感染后 IgM⁺ B 细胞的比例相较对照感染组显著上调。使用 ELISA 检测 SVCV 病毒特异性的效价, 同时使用鲤 IgM 特异性抗体耗竭血清中的抗体时, 发现 DCA 可以增强 IgM 抗体对 SVCV 的中和作用抑制 SVCV 增殖。与此同时, DCA 显著增强 CD8⁺ T 细胞体外抗病毒的能力, 穿孔素、Fas 和 FasL 等 CD8⁺ T 细胞的效应分子在病毒感染后均会上调, 但是 DCA 组 SVCV 感染上调的幅度更高, 说明 DCA 有效的增强 SVCV 感染后 CD8⁺ T 细胞的效应功能。解析肠道微生物产物去氧胆酸调控 SVCV 温度敏感性的免疫机制, 为寻找 SVCV 及鱼类其他温度敏感性病毒防控新策略提供科学支撑。

关键词: 鲤春病毒血症病毒; 温度; 去氧胆酸; IgM⁺ B 细胞; CD8⁺ T 细胞

彭泽鲫 Caspase8 抑制 RIPK1-TBK1 相互作用调节鱼类先天免疫

付智鑫, 王尚洪^{*1}

(南昌大学生命科学学院 江西南昌 330031)

摘要: Caspase-8 (cysteinyI aspartate specific proteinase 8) 是一种含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶, 是炎症、细胞死亡和 I 型 IFN 产生的关键调节因子, 但半胱天冬酶在调节 I 型 IFN 稳态信号传导中的作用机制尚未明确。本文主要研究彭泽鲫的 caspase8 在先天免疫信号通路中作用机制。首先, 我们从彭泽鲫组织中同源克隆得到 caspase8 基因并构建了相关表达载体。通过 qPCR 实验检测了 caspase8 的表达, 发现 poly (I:C) 刺激后 caspase8 在组织和鲫鱼囊胚细胞 (CAB cells) 均有一定的响应。过表达实验发现, caspase8 可以在 CAB 细胞中抑制 IFN I, ISG15, Mx2 的表达, 而通过双荧光素酶实验发现 caspase8 抑制 IFN I 启动子和 ISRE 元件的活性。蛋白实验发现, Caspase8 通过剪切 RIPK1 抑制了其 TBK1 的相互作用, 并且负调控 TBK1 的磷酸化从而使得 IFN 表达水平降低。总体而言, 本研究明确 caspase8 在鱼类特别是在彭泽鲫中调节 IFN I 的一种机制。

关键词: caspase8; 彭泽鲫; 先天免疫; IFN I;

彭泽鲫 eIF4A3 抑制 IRF3 磷酸化调节先天免疫

胡梦蕾, 王尚洪^{*1}

南昌大学生命科学学院, 南昌, 330031

摘要: eIF4A3 是真核翻译起始因子, 属于 DEAD box 家族, 具有 RNA 依赖的 ATP 酶和 RNA 解旋酶的能力。eIF4A3 是核质穿梭蛋白, 参与剪接、核 mRNA 输出、翻译和无义介导的 mRNA 降解。研究发现在哺乳动物中通过抑制 IRF3 的入核及磷酸化水平, 负调控先天免疫。但 eIF4A3 在鱼类当中研究较少, 因此我们对彭泽鲫 eIF4A3 在先天免疫中的分子机制开展研究。首先通过同源克隆的方法克隆 eIF4A3 并构建 eIF4A3 相关真核表达质粒。通过 qPCR 实验检测彭泽鲫个体和 CAB 细胞在 PolyI:C 刺激不同时间段 eIF4A3 的表达量, 发现 eIF4A3 均能响应 polyI:C 的刺激。CAB 细胞中过表达 eIF4A3, 发现 IFN I 的 mRNA 水平和启动子活性下降。激光共聚焦显示 eIF4A3 核质都有并且在胞质中与 IRF3 互作。通过 Western Blot 验证在 GCRV 刺激下, IRF3 的入核减少, 且 IRF3 的磷酸化水平降低。综上, eIF4A3 能够与 IRF3 互作并抑制 IRF3 的入核和降低 IRF3 的磷酸化从而负调控先天免疫。

关键词: 彭泽鲫; eIF4A3; IRF3; 先天免疫

鱼类 STAT3 通过抑制 PKZ-eIF2 α 通路而抑制细胞自噬

李苗苗, 徐小文, 胡成钰*

南昌大学生命科学学院, 南昌, 330031

摘要: PKZ (Protein kinase containing Z-DNA binding domain)是鱼类一种特异的 eIF2 α 激酶, 它在免疫识别、细胞凋亡、抗病毒等方面发挥重要的功能, 然而关于 PKZ 的活性调控机制及是否还参与其它通路的功能还不清楚。本研究通过质谱分析发现 PKZ 能与自噬调控因子 STAT3 发生互作, 并且 PKZ 特异性诱导分子 Z-DNA 能够激活细胞自噬, Z-DNA 刺激下抑制了 STAT3 的 708 位酪氨酸磷酸化, 促进 PKZ 磷酸化, 进而促进细胞的自噬。这就表明 STAT3 与 PKZ 可能共同调控了 Z-DNA 诱导的自噬通路。随后, 我们发现过表达 STAT3 能够显著抑制细胞自噬, 而使用 STAT3 抑制剂 (Stattic) 作用细胞或干扰 STAT3 后能激活细胞自噬; 免疫共沉淀实验进一步证明 STAT3 与 PKZ 能发生互作, 并且依赖于 STAT3 的 CCD 和 DBD 结构域; 过表达 PKZ 会激活细胞自噬, 而敲降 PKZ 则抑制细胞自噬; 并且 STAT3 抑制细胞自噬是通过抑制 PKZ 和 eIF2 α 的磷酸化来实现的。因此, 本研究揭示了一个鱼类新的自噬调控机制, 即 STAT3 通过抑制 Z-DNA 诱导下的 PKZ-eIF2 α 信号通路而抑制细胞自噬。

关键词: 鱼类; STAT3; PKZ; Z-DNA; 细胞自噬

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) CAPN1、CAPN2 通过内源性途径诱导细胞凋亡

袁梦玉, 胡宝庆*

南昌大学生命科学学院, 南昌 330031

摘要: 钙蛋白酶 (calpain, CAPN) 是一类广泛表达的细胞内半胱氨酸蛋白酶, calpain1 和 calpain2 是研究最为广泛的两种, 由一个大的 (80 kD) 催化亚基和一个小的 (30 kD) 调节亚基组成, 大亚基分别由 CAPN1 和 CAPN2 基因编码, 小亚基均由 CAPNS1 基因编码。在哺乳动物中, CAPN 通过内源性凋亡途径诱导细胞凋亡, 但在鱼类中是否也如此还不得而知。为探究 CAPN 在鱼类细胞凋亡中的功能, 本研究克隆了草鱼 CAPN1 和 CAPN2 基因, 并分析了其在细胞凋亡中的功能。结果表明: CiCAPN1 CDS 区全长 2115bp, 预测编码 704 个氨基酸, 分子量为 79.9KDa, CiCAPN2 CDS 区全长 2097bp, 预测编码 698 个氨基酸, 分子量为 78.2KDa。LPS 和 poly (I:C) 刺激后, CiCAPN1 和 CiCAPN2 在草鱼肝、脾、肾、鳃中的表达量均显著上升, 在刺激后 12h 达到最大值。CO-IP 实验表明 CAPN1、CAPN2 均能够和 Bcl-2 家族中的促凋亡蛋白 BID 相互结合。在草鱼 CIK 细胞中过表达 CiCAPN1 和 CiCAPN2 后, CiBID、CiBAX、CiBcl-2、CiCyto c、CiAPAF-1、CiCaspase-9、CiCaspase-3 基因的表达以及 BAX 和 Bcl-2 蛋白含量均显著上升, 而 RNAi 干扰后, 上述基因的表达及 BAX/Bcl-2 蛋白含量均显著下降; TUNEL 和流式细胞术检测发现, 过表达 CiCAPN1 和 CiCAPN2 后, 凋亡细胞数量显著增加; RNAi 干扰后, 凋亡细胞数量显著减少。这些结果表明 CiCAPN1 和 CiCAPN2 通过内源性途径诱导草鱼 CIK 细胞凋亡。

关键词: 草鱼、CAPN1、CAPN2、凋亡、内源性途径

鱼类 IgM 介导的抗病毒免疫应答机制

孔维光, 王辛酉, 丁广义, 杨鹏, 石勇, 蔡畅, 杨欣仪, 程高锋, 徐镇*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: IgM 起源于 5 亿年前的脊椎动物, 是进化上最保守的抗体类别。虽然其在恒温脊椎动物抗病毒中的作用已被广泛研究, 但 IgM 在早期脊椎动物中的抗病毒功能与机制仍知之甚少。本研究通过建立病毒感染模型和 IgM⁺ B 细胞耗竭模型, 发现感染后存活鱼的肠道和头肾中 IgM⁺ B 细胞数量显著上升, 同时血清和肠道黏液中病毒特异性 IgM 抗体滴度也明显增加。在耗竭 IgM⁺ B 细胞后, 系统免疫组织 (如头肾和脾脏) 和黏膜免疫组织 (如肠道) 中的病毒载量上升, 死亡率显著提高。这一发现挑战了 IgM 和 IgT 分别特异于系统免疫和黏膜免疫的范式。进一步的实验表明, 病毒特异性 IgM 能够有效中和病毒并阻止其侵入上皮细胞。更重要的是, 本研究证实鱼类 IgM 可直接作用于病毒颗粒, 使其丧失感染能力, 从而实现中和作用。该研究不仅揭示了鱼类 IgM 中和病毒的新机制, 也拓展了人们对鱼类抗体功能的认识。

关键词: 鱼类; IgM; 中和病毒; 黏膜免疫

饥饿诱导 OPTN 增强鱼类抗病毒能力的机制研究

李卓聪

中国科学院水生生物研究所，武汉，430072

摘要：鱼类感染病毒后往往出现主动减少摄食的典型症状，其背后的原因一直不清楚，探索这一行为与鱼类抗病毒之间的关系有助于实施病毒病的科学防控。本研究发现，饥饿能显著增强草鱼、银鲫等鱼类的抗病毒能力。在这一过程中，选择性自噬受体 OPTN 特异性高表达，OPTN 与干扰素信号通路重要激酶 TBK1 相互作用并增强干扰素反应。具体分子机制方面，OPTN 通过自噬-溶酶体途径降解 TBK1 的 E3 泛素连接酶 DTX4，减少 TBK1 的 K11 位多聚泛素化，稳定 TBK1 的表达，进而增强干扰素反应。以上研究解析了饥饿增强鱼类抗病毒能力的分子机制，为了解病毒感染下鱼类行为变化的生理意义提供了参考。

关键词：饥饿；干扰素；OPTN；TBK1

鲑科鱼类 DDX3 对 IHNV 复制的影响及其调控 RIG-I 信号通路的分子机制研究

韩冰, 何慧琳, 彭思璇, 张祖威, 刘悦, 刘敏, 施雯*

东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030

摘要: 鲑科鱼类作为重要经济物种, 在我国冷水鱼产业中占据核心地位。然而, 近年来病毒性疾病的频发对鲑鳟养殖业造成了严重威胁。其中, 传染性造血坏死病毒 (Infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV) 作为高度致病性病原体, 其引发的宿主抗病毒免疫应答机制仍有待系统解析。在哺乳动物研究中, DEAD-box RNA 解旋酶 (DDX) 家族的多个成员已被证实对调控 RIG-I 信号通路介导的天然免疫应答具有重要作用, 而在鱼类相关研究中尚不明确。本研究探讨了鲑科鱼类 DDX3 对 IHNV 复制的影响, 并深入解析了其调控 RIG-I 信号通路的分子网络途径。通过细胞病变效应观察、免疫荧光检测、病毒一步生长曲线分析表明, DDX3 能够抑制 IHNV 的复制; 探究 DDX3 介导抗病毒作用的机制发现, DDX3 通过靶向 RIG-I 通路下游信号转导枢纽 MAVS, 驱动 IRF3 的磷酸化与核转位, 诱导 IFN1 及抗病毒细胞因子的表达, 从而发挥抗病毒功能; 进一步研究 DDX3 调控 RIG-I 信号通路的靶向分子及其关键功能域, 发现 DDX3 通过其 DEXDc 结构域靶向结合 MAVS, 促进 MAVS 分子的聚集, 进而激活 RIG-I 信号通路, 介导宿主的先天性免疫应答反应。构建 DEXDc 结构域缺失突变体 (mDDX3 Δ DEXDc), 进一步证实 DEXDc 缺失导致 IRF3 磷酸化效率下降及核转位受阻, 同时加剧细胞病变程度、抗原阳性细胞比例增加及病毒载量升高, 表明 DEXDc 结构域缺失显著削弱了 DDX3 对 IHNV 复制的抑制能力。本研究阐明了鲑科鱼类 DDX3 对 IHNV 复制的抑制作用, 揭示了 DDX3 通过其 DEXDc 结构域特异性结合并活化 MAVS 分子, 进而激活 RIG-I 信号通路, 促进 IRF3 的磷酸化及核转位, 诱导 I 型干扰素及效应分子的上调表达, 介导宿主抗病毒免疫的分子机制。该研究成果为鲑科鱼类抗病毒免疫策略的分子设计提供了原创性理论支撑, 对构建水产动物疫病防控技术体系具有重要的科学价值与产业意义。

关键词: DDX3; 传染性造血器官坏死病毒; RIG-I 信号通路; MAVS; 干扰素

神经坏死病毒 RGNNV 通过 VDAC1 介导线粒体自噬影响病毒复制

梁映^{1,2}, 赵志文^{1,3}, 刘嘉昕¹, 俞也频^{1,**}, 陈金平^{1,*}

1. 广东省科学院动物研究所, 510642

2. 中国科学院华南植物园, 510650

3. 仲恺农业工程学院, 510225

摘要: 一些病毒具备编码蛋白激酶和蛋白磷酸酶类似物的能力, 可直接或间接调控病毒和宿主蛋白磷酸化水平, 调节病毒周期以适应细胞内环境, 更可影响宿主蛋白磷酸化网络, 篡夺对某些细胞过程的主导权, 干扰宿主细胞的防御机制, 逃避宿主的免疫监视。本研究通过免疫沉淀-质谱联用技术 (IP-MS) 对神经坏死病毒 RGNNV (Red-spotted grouper nervous necrosis virus) 感染诱导的宿主蛋白磷酸化蛋白质谱进行分析, 鉴定了多个磷酸化水平受 RGNNV 感染所调控的宿主蛋白, 并针对线粒体自噬过程的关键蛋白线粒体电压依赖性阴离子通道蛋白 1 (VDAC1) 展开相关研究。结果表明, RGNNV 感染可诱导 VDAC1 去磷酸化, 从而导致其寡聚化水平降低, 从而维持线粒体膜稳定性并促进病毒能量供应, 为病毒复制创造有利环境。此外, 通过虚拟筛选靶向 VDAC1 的小分子化合物, 发现石榴皮提取物中的山奈酚 (Kaempferol) 和槲皮素 (Quercetin) 能够特异性结合 VDAC1, 这两种化合物可显著降低 RGNNV 的复制效率, 并有效缓解病毒诱导的细胞病变效应 (CPE)。本研究结果为揭示病毒挟持宿主线粒体自噬途径的免疫逃逸策略提供重要线索, 同时为神经坏死病毒的防治提供理论基础和重要靶标。

关键词: 神经坏死病毒、线粒体自噬、蛋白磷酸化

石斑鱼受体相互作用蛋白激酶 3(RIP3)及其靶标激酶 MLKL 对 SGIV 感染的调控机制研究

陈翠菊^{1,2}, 谢珍玉^{1,2}, 张馨^{1,2*}

(1.海南大学南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口, 570228; 2.海南大学海洋生物与水产学院, 海口, 570228)

摘要: 石斑鱼是我国南方沿海地区以及东南亚各国最名贵的海水养殖鱼类之一。然而, 在高密度集约化养殖条件下, 以虹彩病毒病为代表的病害频发。受体相互作用蛋白激酶 3 (RIP3) 和混合谱系激酶结构域样蛋白 (MLKL) 的激活都被证明是坏死性凋亡的生物标志物, 它们在宿主对病毒的免疫防御中发挥着重要作用。为了探究石斑鱼 RIP3 和 MLKL 是否通过驱动坏死性凋亡而影响 SGIV 的复制和传播, 本研究克隆鉴定了石斑鱼 RIP3 (命名为 *EcRIP3*) 及其下游靶标假激酶 MLKL (命名为 *EcMLKL*) 基因。

生物信息学分析结果显示, *EcRIP3* 和 *EcMLKL* 的全长 cDNA 分别包含 1486、1396 个碱基对(bp), 编码 509、476 个氨基酸。多物种氨基酸比对结果表明 *EcRIP3* 和 *EcMLKL* 序列与其他石斑鱼的序列具有较高的相似性, 与褐点石斑鱼 (XP_049423743.1) 相似性均 96% 以上。病原刺激结果显示, SGIV 感染后的 GS 细胞中, *EcRIP3* 和 *EcMLKL* 的转录水平被显著上调, 但 UV-SGIV 刺激对 *EcRIP3* 和 *EcMLKL* 的表达没有影响。且亚细胞定位表明石斑鱼 RIP3 在脾细胞中成点状聚集形式分布于胞质中, MLKL 呈胞质弥散分布, 感染 SGIV 后移至细胞膜, 同时在与 RIP3 共转染 GS 细胞后, MLKL 的定位同样移位至细胞膜, 表明石斑鱼 RIP3 可能促使 MLKL 破坏细胞膜的完整性, 介导了 GS 细胞坏死性凋亡, 并随时间响应 SGIV 的感染。此外, *EcRIP3* 和 *EcMLKL* 共表达可抑制 SGIV 的 ICP18、MCP、VP19 基因转录及 MCP 蛋白表达, 阻碍病毒复制。在 GS 细胞转染 *EcRIP3* 和 *EcMLKL* 真核表达质粒以及共转染 36h 后, 细胞培养基中 LDH 含量显著增加, 表明 LDH 可能释放到细胞外, 过表达 *EcRIP3* 和 *EcMLKL* 破坏了细胞膜的完整性, 可能引起细胞坏死性凋亡。SGIV 感染后 36h 协同增强细胞损伤, 导致 LDH 活性显著升高, 同时诱导 IL-8、IL-6、IL-1 β 等炎症因子表达显著上调, 表明 *EcRIP3* 与 *EcMLKL* 可能参与 SGIV 诱导的细胞损伤调控, 并通过调控炎症反应参与 SGIV 感染后的病理生理过程。

本研究通过过表达 *EcRIP3* 与 *EcMLKL*, 探究石斑鱼 RIP3 和 MLKL 的分子特性及其在抗 SGIV 感染中的免疫调控功能, 为深入解析 RIP3-MLKL 介导的坏死性凋亡通路在石斑鱼抗病毒免疫中的作用机制提供理论依据。

关键词: 石斑鱼; RIP3; MLKL; 新加坡石斑鱼虹彩病毒 (SGIV); 坏死性凋亡

鲤 cGAS 的鉴定和功能分析揭示了其在抗病毒免疫中的关键作用

李纯, 侯国力, 胡亮, 徐杨, 李军华*

湖南农业大学水产学院, 湖南 长沙 410128

摘要: 哺乳动物环鸟苷酸-腺苷酸合成酶 (cGAS) 通过识别病毒 DNA 并激活 cGAS-STING 通路, 在抗病毒感染的天然免疫应答中发挥关键作用, 该通路可触发 I 型干扰素 (IFN-I) 的产生。尽管 cGAS 在哺乳动物中已得到广泛研究, 但其在低等脊椎动物 (特别是硬骨鱼类) 中的功能仍知之甚少。本研究从鲤鱼中鉴定出一个 cGAS 同源基因 (命名为 *c-cGAS*), 并通过功能分析探究其参与免疫激活及病毒应答的机制。序列分析、结构预测与进化比较表明, *c-cGAS* 与其他硬骨鱼类 cGAS 蛋白具有显著同源性。功能实验证实 *c-cGAS* 通过 cGAS-STING 通路激活 IFN β 启动子以响应病毒感染, 其结构完整性对该功能至关重要。此外, 我们发现 IL-6/STAT3 轴在鲤疱疹病毒 3 型 (CyHV-3) 和鲤春病毒血症病毒 (SVCV) 感染过程中调控 cGAS-STING 通路并促进病毒增殖。这些发现表明 cGAS-STING 通路在抵御 CyHV-3 和 SVCV 的免疫防御中起关键作用, 同时揭示了该通路在调控病毒复制中的复杂性。本研究首次完成了鲤鱼 cGAS 的功能解析, 为低等脊椎动物 cGAS-STING 通路的进化与功能研究提供了新见解。

关键词: 鲤; *c-cGAS*; cGAS-STING 信号通路; β 干扰素; 病毒感染;

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) IFITs 抑制 GCRV 感染的功能研究

孔晓聪, 胡宝庆*

南昌大学生命科学学院, 南昌 330031

摘要: 干扰素诱导的四联重复序列的蛋白 (Interferon-induced proteins with tetratricopeptide repeats, IFITs) 是一类重要的抗病毒蛋白, 包括 4 个成员: IS56/IFIT1、ISG54/IFIT2、ISG60/IFIT3 和 ISG58/IFIT5, 它们在 I 型干扰素 (IFN) 刺激下被强烈诱导, 在限制病毒感染及调节免疫应答方面发挥着重要作用。主要以三种方式发挥功能: 1) 直接结合到病毒 RNA 上并抑制病毒蛋白的翻译。2) 与宿主蛋白或病毒蛋白结合并抑制其正常功能。3) IFITs 参与抗病毒免疫信号转导, 激活或抑制其他病毒蛋白的合成。

本研究发现草鱼基因组包含 11 个 IFITs 基因家族成员, 它们分别位于 5 号染色体 1 个 (IFIT5A)、12 号染色体 3 个 (IFIT12A、IFIT12B、IFIT12C) 和 17 号染色体 7 个 (IFIT17A、IFIT17B、IFIT17C、IFIT17D、IFIT17E、IFIT17F、IFIT17G)。从基因结构上可分为两类: 一类基因序列较长 (IFIT5A), 包含多个外显子, 可能通过复杂的选择性剪接机制产生多种转录本以适应不同免疫功能需求; 另一类序列较短 (IFIT12A-C、IFIT17A-G), 外显子数量较少, 结构紧凑, 与哺乳动物典型 IFIT 基因相似, 可快速响应病原入侵, 可能承担核心抗病毒功能。基因启动子区域含有防御与胁迫响应元件、伤口响应元件及水杨酸 (SA) 响应元件等调控元件, 表明它们可响应多种环境胁迫。蛋白结构预测表明它们包含 5-9 个 TPR 结构域。三维结构上 IFIT5A、IFIT12A-C 是由单结构域折叠形成的球状构象, 它们可能执行基础结合功能; IFIT17A-G 由多结构域组装形成, 各结构域通过柔性连接肽连接, 可能参与复杂蛋白互作和免疫调控网络。基因共线性分析发现, 草鱼 IFIT12C 与人类 IFIT2 及鸡 IFIT5 存在共线性关系, IFIT12A 与小鼠 IFIT1BL1 存在共线性; 草鱼 IFIT5A 与斑马鱼 IFIT5, 草鱼 IFIT12C 与斑马鱼 IFIT12, 草鱼 IFIT12A 与斑马鱼 IFIT11, 草鱼 IFIT12B 与斑马鱼 IFIT16 存在共线性。草鱼 IFIT12B、IFIT12C 与鲤鱼 IFIT5-like 存在共线性, 草鱼 IFIT17B 与鲤鱼 IFIT1B-like 存在共线性; 草鱼 IFIT12A、12C 与大西洋鲑 IFIT5, 草鱼 IFIT12C、17B 与大西洋鲑 IFIT1 存在共线性; 草鱼 IFIT12C 与虹鳟 IFIT5, 草鱼 IFIT17B 与虹鳟 IFIT1-like 存在共线性。

qPCR 检测 IFIT17D 和 IFIT12A 的组织分布发现: 两者在草鱼肝、脾、肾、鳃、肠、脑、心、肌肉和皮肤中均有表达, 其中脾脏表达量最高, 肝脏次之。LPS、polyI:C 和 GCRV 刺激草鱼及 GCRV 感染草鱼肾细胞 (CIK) 后, IFIT17D 和 IFIT12A 表达均显著上调。功能实验证实, 在 CIK 中过表达 IFIT17D/IFIT12A 可降低 GCRV 攻毒后的细胞病变效应、病毒滴度及病毒蛋白表达水平, 而 RNA 干扰 IFIT17D 和 IFIT12A 后, 上述抑制效应被显著逆转, 表明 IFIT17D 和 IFIT12A 能够抑制 GCRV 复制。此外, 过表达 IFIT17D/IFIT12A 的 CIK 在 GCRV 感染后表现出更高的线粒体膜电位和更低的细胞凋亡率, 表明二者可以通过维持线粒体功能稳定和抑制细胞凋亡来发挥抗病毒功能。

关键词: GCRV; IFIT17D; IFIT12A; 干扰素

斑马鱼 DHX15-PKZ 信号轴调控 I 型干扰素表达

刘济伟, 徐小文*¹

南昌大学生命科学学院江西南昌 330031

摘要: DHX15 作为 RNA 解旋酶家族成员之一, 既能参与 RNA 代谢, 又能通过其 C 端的解旋酶结构域与 polyI:C 或病毒的 dsRNA 结合, 并激活抗病毒信号通路。PKZ 是鱼类特异的抗病毒蛋白激酶, 它属于 eIF2 α 激酶家族成员, 负责识别并结合胞质中的外源核酸分子。在本研究中, 我们发现, 斑马鱼 DHX15 可与 PKZ 发生互作, 在 RNA 病毒或 polyI:C 刺激下, 能通过促进 PKZ 的磷酸化调控 PKZ 的活性, 进而通过 PKZ 依赖信号通路而激活 I 型干扰素和干扰素刺激基因的表达, 最后增强宿主抗病毒免疫应答。这些结果表明斑马鱼 DHX15 是 PKZ 在抗病毒先天免疫信号通路中的正调控因子。这些发现解析了斑马鱼 DHX15 调控 PKZ 介导的抗病毒免疫通路, 完善并搭建 PKZ 介导下的抗病毒信号通路网络, 为研发基于 PKZ 为靶点的鱼类抗病毒制剂提供重要的科学依据。

关键词: DHX15; PKZ; IFN I; 磷酸化

斑马鱼 DAPK3 通过调控 STING 进而激活 IFN I 免疫反应

于婷婷, 胡成钰^{*1}

南昌大学生命科学学院, 南昌, 330031

摘要: 在鱼类免疫反应中, STING (干扰素基因刺激因子) 依赖的信号通路是细胞内重要的抗病毒传导途径, 已被广泛研究。本课题研究了 DAPK3 (死亡相关蛋白激酶 3) 在调控 STING 依赖通路中的功能, 包括 STING 磷酸化的调控机制, I 型干扰素的表达调控。我们的研究发现, 斑马鱼 DAPK3 能够响应病毒 (GCRV, SVCV) 及病毒类似物 (B-DNA, Z-DNA) 刺激, 并且 B-DNA 可增强 DAPK3 磷酸化。斑马鱼 DAPK3 可与 STING 结合并通过其 Ser21 和 Thr87 磷酸化 STING, DAPK3 通过结合并磷酸化 TRIM32, 促进 STING K63 连接的多聚泛素化, 被激活的 STING 通过招募 TBK1-IRF3 而激活 IFN I 的表达。同时, 我们还发现斑马鱼胚胎中敲降 DAPK3 后虽能提高斑马鱼成活率, 但 IFN I 的表达受到抑制。总之, 我们的研究表明, 斑马鱼 DAPK3 通过 STING-TBK1-IRF3 依赖的途径促进 IFN I 表达。DAPK3 通过 STING 调控 IFN I 的信号转导, 可能为理解病毒逃逸机制以及开发新的免疫疗法提供新的理论依据。

关键词: 鱼类; DAPK3; STING; IFN I; 免疫调控

彭泽鲫 SIRT2 通过去乙酰化 G3BP1 抑制 IRF3 介导的 IFN I 表达

张宾超, 毛慧玲^{*1}

南昌大学生命科学学院 江西南昌 330031

摘要: SIRT2 属于 Sirtuin 家族的成员, 是一种典型的 NAD⁺依赖性蛋白质去乙酰化酶。SIRT2 作为该家族唯一主要存在于细胞质的基因, 广泛参与细胞周期调控、氧化应激、炎症、免疫、肿瘤发生等过程。然而 SIRT2 在鱼类先天免疫中的作用和机制尚不清楚。本研究发现, 草鱼呼肠孤病毒(GCRV)刺激鲫鱼囊胚细胞(CAB)后, SIRT2 的表达量会发生变化, 这表明 SIRT2 可以响应病毒刺激。随后, 我们构建了彭泽鲫 SIRT2 相关的真核表达载体, 通过免疫共沉淀、免疫荧光共定位发现 SIRT2 可以与 G3BP1 发生互作, 并在草鱼呼肠孤病毒(GCRV)刺激会与 G3BP1 发生解离, 导致 G3BP1 的乙酰化水平升高, 高度乙酰化的 G3BP1 导致 IRF3 磷酸化水平升高, 最终诱导 I 型干扰素 (IFN I) 的表达。本研究揭示了一个鱼类应对病毒感染新的先天免疫机制, 即 SIRT2 通过 G3BP1 去乙酰化负调控 IRF3 磷酸化的水平, 抑制 IFN I 的表达。

关键词: 鱼类; 先天免疫; GCRV; SIRT2; G3BP1

花鲈 NK-lysin 衍生肽 NKLj27 抗 SVCV 活性及作用机制研究

陈紫玥, 王兵, 王光花, 井浩, 杨凯, 孙诺, 祝志姝, 张敏*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛 266109

摘要: 鲤春病毒血症病毒 (SVCV) 对淡水鱼类尤其鲤科鱼类危害巨大, 目前尚无有效防控措施。NK-lysin 是一类由自然杀伤细胞分泌, 兼具抗菌、抗病毒及免疫调节功能的天然抗微生物多肽。基于此, 本研究探索了花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 源 NK-lysin 衍生肽 NKLj27 对 SVCV 的抗病毒活性及作用机制, 主要研究结果如下: 首先, NKLj27 在 5 μM 至 160 μM 浓度下对鲤上皮瘤 (Epithelioma papulosum cyprini, EPC) 细胞无明显毒性; 随后发现, NKLj27 可显著抑制 SVCV 对 EPC 细胞的侵染, 减少 EPC 细胞病变和空斑效应的产生, 同时降低 SVCV 诱导的细胞凋亡。对其抗病毒机制的初步研究表明, NKLj27 既可直接作用于 SVCV, 也可通过作用于 EPC 细胞抑制病毒粘附和入侵; 对 NKLj27 和 EPC 细胞的互作研究表明, NKLj27 可结合于 EPC 细胞表面, 并部分内化至细胞内部; NKLj27 可显著上调多个抗病毒基因包括 IFN- α 、IRF3、Mx1 和 ISG15 等的表达水平, 进一步用 JAK 抑制剂 Baricitinib 阻断 IFN 信号传导, 结果显示, NKLj27 可部分逆转 Baricitinib 对细胞抗病毒防御的抑制, 同时说明 NKLj27 的抗 SVCV 作用机制还存在其他作用途径。最后, 体内实验结果显示, NKLj27 在鲤鱼体内具显著抗 SVCV 活性。这些研究结果为水产动物抗病毒活性肽的研究提供了新的见解, 并为鱼类 SVCV 病害防控提供了新的途径。

关键词: 抗病毒多肽; SVCV; NKLj27; 抗病毒机制

转录组分析揭示重组干扰素 γ 诱导的许氏平鲷 (*Sebastes schlegelii*) 全面免疫应答网络及抗病毒蛋白 Mx2 的功能鉴定

井浩, 杨凯, 王越, 陈紫玥, 孙诺, 祝志姝, 王光花, 张敏*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛 266109

摘要: 干扰素 γ (IFN γ) 是硬骨鱼类中一种关键的免疫调节因子, 但其分子免疫机制以及下游效应因子仍知之甚少。基于此, 本研究探讨了许氏平鲷 (*Sebastes schlegelii*) 重组 IFN γ (rSsIFN γ) 对许氏平鲷肠道细胞 (SSICs) 的免疫调节作用, 并鉴定出抗病毒的黏液病毒抵抗蛋白 2 (SsMx2) 作为关键的下游效应因子。转录组分析显示, rSsIFN γ 刺激在 SSICs 中诱导了 7,231 个差异基因的表达 (3,600 个上调, 3,631 个下调), 主成分分析显示处理组出现了明显的分离。KEGG 通路富集分析识别出 96 个显著富集的通路, 主要涉及抗原加工与呈递、JAK-STAT 信号传导、TNF 信号传导及模式识别受体通路。网络分析显示, 作为关键的调控枢纽, JAK-STAT、TNF 和抗原呈递通路之间存在广泛的相互作用。另外, rSsIFN γ 处理还显著上调了多个关键信号因子, 包括多种 MHC I 类和 II 类变体、NF- κ B、TNF α 、IFN α 、JAKs 和 STATs, 以及下游抗菌效应因子, 包括铁调素、溶菌酶 C、补体成分 (C2/3/4/7/9)、五种 Mx 变体、14 种 IFIT1 变体和促炎性细胞因子 (IL-1 β 、IL-8) 的表达水平。此外, 我们克隆了完整的 SsMx2 的 cDNA 序列 (2,326 bp), 该序列编码 641 个氨基酸, 具有保守的 GTPase 和效应器结构域; 系统发育分析证实了其与硬骨鱼 Mx 蛋白的密切进化关系及高度序列保守性; SsMx2 在血液中表现出最高的基础表达水平, 并在病原体感染及 rSsIFN γ 刺激后, 在全身组织和 SSICs 中均出现显著上调; 亚细胞定位分析证实其主要分布于细胞质。这些结果表明, rSsIFN γ 通过激活多个免疫信号通路, 在肠道免疫细胞中调控全面的转录重编程, 并确定了 SsMx2 属关键的干扰素诱导型抗病毒效应蛋白, 在水产动物病害防控中具有潜在应用价值。

关键词: 许氏平鲷; 干扰素 γ ; 转录组; 调控机制; Mx2

草鱼 Metrnl-a 在抗病毒天然免疫中的作用

陈舒焕¹, 焦静娴¹, 徐兢¹, 高娃¹, 冯建华¹, 邹钧¹, 王俊亚^{1*}

¹ 上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海, 201306

摘要: Meteorin 样因子 (Meteorin like, Metrnl) 又被称为 IL (Interleukin) -41, 最初在哺乳类中被发现, 是具有多效免疫调节功能的新型细胞因子。目前, 其在抗病毒天然免疫中的作用尚未有报道。本研究首次发现草鱼 Metrnl-a 可被聚肌胞苷酸 (poly(I:C)) 诱导表达, 并在感染草鱼呼肠孤病毒 (GCRV-II) 后头肾 (感染 3 天) 和脾 (感染 7 天) 中表达量显著上调; 随后, 我们在 CHO-S 细胞中成功表达并纯化了草鱼 Metrnl-a 真核重组蛋白 (约 35kD), 该蛋白能够显著上调草鱼原代头肾细胞中 I 型干扰素反应相关基因 (IFN-1、MX-1、Viperin、RIG-I、MDA5、LGP2、IRF3 和 IRF7) 的表达, 提示 Metrnl-a 参与宿主抗病毒免疫反应; 为深入探究其功能, 我们利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术在稀有鮕鲫中构建了 Metrnl-a 基因敲除品系, 并获得了一个缺失 10 个碱基对的纯合突变体。后续将基于该突变体开展体内外实验, 通过分析病毒感染前后病毒基因拷贝数、抗病毒基因表达及病毒载量变化, 进一步明确 Metrnl-a 在抗病毒免疫中的功能。

关键词: 草鱼; 细胞因子; Metrnl; 基因敲除; 抗病毒反应;

一种新型 IFN- γ 拮抗受体的结构与调控功能

冯建华¹, 张琴¹, 张畅¹, 高娃¹, 贾钊¹, 徐兢¹, 黄颖豪¹, 谢大伟¹, 陶欣然¹, 张甜甜, 吴海霞¹, 黄文吉¹, 赵欣¹, 陈康勇¹, 胡鹏¹, 聂品², 王俊亚¹, 邹钧^{1*}

1 上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海, 201306

2 青岛农业大学, 海洋科学与工程学院, 青岛, 266109

摘要: II 型干扰素 (Interferon, IFN- γ) 可驱动炎症和抗病毒反应, 但其负调控机制仍知之甚少。本研究鉴定了一种尚未报道的 IFN- γ 受体拮抗因子 (IFN- γ receptor antagonist, IFN- γ RA), 并解析了其晶体结构和负调控 IFN- γ 功能的分子机制。IFN- γ RA 是一种单体蛋白, 其结构由七个 α 螺旋构成, 具有白细胞介素 (Interleukin, IL) 10 家族成员经典结构特征, 且与 IFN- γ 和 IL-22 结构最为相似。单细胞 RNA 测序数据分析表明, IFN- γ RA 和 IFN- γ 由不同 T 细胞亚群产生。IFN- γ RA 通过与 IFN- γ 竞争激活受体, 有效抑制 IFN- γ 诱导的 STAT1 磷酸化及其下游基因表达, 从而阻遏 IFN- γ 抗病毒效应。本研究首次在受体水平揭示了一种负调控 IFN- γ 信号传导的新机制, 为深入阐明 IFN- γ 的调控网络提供新视角。

关键词: 干扰素 γ ; 受体; 拮抗因子; 磷酸化; 抗病毒

斑马鱼 *Metrl*-a 在抗病毒天然免疫中的作用及调控机制研究

袁高亮¹, 焦静娴¹, 陈舒焕¹, 赵卫华¹, 贾钊¹, 徐兢¹, 邹钧¹, 王俊亚^{1*}

¹ 上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海, 201306

摘要: 细胞因子在宿主抵御病原体感染中发挥关键调节作用。Meteorin 样因子 (Meteorin like, *Metrl*) 是一种新近发现的多效性细胞因子, 参与机体免疫应答。然而, 其在抗病毒天然免疫中的作用及其机制尚未有报道。本研究发现, 斑马鱼 *Metrl* 为病毒诱导基因, 可被鲤春病毒血症病毒 (SVCV) 和聚肌胞苷酸 (poly(I:C)) 诱导表达。斑马鱼 *Metrl*-a 不仅可诱导 ZF4 细胞和 EPC 细胞中抗病毒相关基因的表达, 显著激活 IFN ϕ 1 和 ISRE 启动子的活性, 还可有效抑制 SVCV 的复制。相反, 敲降 *Metrl*-a 显著抑制了 SVCV 感染所诱导的 IFN ϕ 1 和 ISGs 的表达, 从而促进了 SVCV 的复制。进一步机制研究表明, *Metrl* 以剂量依赖的方式促进 STAT1 的磷酸化, 并诱导其从胞质转位至细胞核, 进而激活细胞抗病毒反应并抑制病毒复制。综上所述, 本研究系统揭示了 *Metrl* 通过增强 STAT1 活性正向调控抗病毒免疫应答的作用机制, 填补了 *Metrl* 在抗病毒免疫调控中的理论空白, 为鱼类病毒性疾病的免疫防控策略提供了新思路。

关键词: 斑马鱼; *Metrl*; 新型细胞因子; 抗病毒反应; STAT1

中链脂肪酸拮抗鲤疱疹病毒II型及其囊膜作用研究

俞晨伟, 张家骅, 周佳辰, 吕利群, 许 丹*

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 国家水生动物病原库, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源与利用重点实验室, 上海 201306;

摘要: 月桂酸 (Lauric acid, LA) 和月桂酸单甘油酯 (Glycerol Monolaurate, GML) 均属于中链脂肪酸 (Medium-chain fatty acids, MCFA), 广泛存在天然植物油如椰油、棕榈仁油、母乳中。目前被广泛应用于生猪养殖, 研究证实其具有抗猪繁殖呼吸综合征病毒 (PPRSV)、猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 和非洲猪瘟病毒 (ASFV) 的作用。其主要通过破坏囊膜病毒的脂质双分子层结构影响其传染性, 也可破坏病毒与宿主细胞融合、病毒复制和重组及破坏保护病毒 RNA 或 DNA 所需的蛋白质结构, 导致病毒复制能力减弱或丧失, 或激发机体产生相应的抗体起到抗病毒的作用。由鲤疱疹病毒II型 (Cyprinid herpesvirus 2, CyHV-2) 引起的疱疹病毒性造血器官坏死病 (Herpesviral haematopoietic necrosis, HVHN) 给我国重要的淡水经济养殖鱼类鲫养殖产业带来了巨大的损失, 目前尚无商品化的药物或疫苗可用于 CyHV-2。因此, 本研究探索 LA 和 GML 与 CyHV-2 的作用并评估了这两种药物对病毒及囊膜的作用。首先, 本研究确定其最大无毒浓度均为 $20\mu\text{g/mL}$, 且研究发现共处理 2h 药物均可以显著抑制 CyHV-2 的复制, 且 $20\mu\text{g/mL}$ 组抑制效率最高, 抑制率分别达到了 56.64% 和 61.97%。而且在 LA 和 GML 作用下, CyHV-2 病毒滴度也显著下降, 由 $10^{6.22}\text{Tcd}_{50}/\text{mL}$ 分别下降至 $10^{4.68}\text{Tcd}_{50}/\text{mL}$ 和 $10^{4.05}\text{Tcd}_{50}/\text{mL}$ 。其次, 针对 CyHV-2、CyHV-2 囊膜和脂质体囊泡, 使用 $20\mu\text{g/mL}$ 的 LA 和 GML 处理后, 发现其粒径和 GP 值均显著减小约 50%。CyHV-2 和 CyHV-2 囊膜的 Zeta 电位显著下降, 分别由 -6.88 下降至 -10.49 和 -9.24 以及由 -5.19 下降至 -12.38 和 -22.36; 而脂质体囊泡的 Zeta 电位显著升高, 由 -27.66 上升至 -26.14 和 -23.50。通过透射电子显微镜观察病毒囊膜结构出现了明显的形变、皱缩和破裂。以上结论证明 LA 和 GML 处理破坏了 CyHV-2 的囊膜结构, 改变了病毒囊膜的理化性质, 降低了病毒囊膜的稳定性, 证实 LA 和 GML 作用于病毒囊膜作用机制, 为 LA 和 GML 用于应用于疱疹病毒性造血器官坏死病的防控提供有效的理论基础, 为鲫养殖业的健康养殖和防控策略提供有效的新思路。

关键词: 月桂酸; 月桂酸单甘油酯; 鲤疱疹病毒II型; 囊膜; 脂质体囊泡

低氧及低氧诱导基因在鱼类抗病毒病和细菌病过程中的调控机制

张子瑜, 刘慧敏, 全睿, 肖武汉, 蔡孝廉*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 充足的水体溶解氧是鱼类生存不可或缺的物质基础, 它直接参与并保障着鱼类能量代谢、生长发育等一系列核心生理活动的正常进行。在前期的研究中, 我们发现鱼类一旦感染病毒或细菌, 会表现出浮头、往高氧浓度水域聚集等类似缺氧的行为, 表明水体氧浓度对鱼类抵抗病毒感染或细菌感染等过程至关重要。通过设置不同水体氧浓度梯度, 可知水体氧浓度的下降会显著降低鱼类抗病毒感染或者细菌感染的能力, 并且抑制干扰素、白介素等基因的表达。为了解析低氧如何抑制鱼类抗病能力, 我们筛选并鉴定到能够受低氧上调表达的基因 *mmp13*, 在鱼类抗病过程中具有重要的调控作用。*mmp13* 能够抑制鱼类响应病毒感染的 RLR 信号通路中的 *rig-i* 和响应细菌感染的 NF- κ B 信号通路中的 *ikkb*, 从而抑制鱼类抗病能力。利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除 *mmp13*, 能够显著提高鱼类抵抗鲤春病毒(svcv)、迟缓爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)和柱状黄杆菌(*Flavobacterium columnare*)感染的能力。本研究通过系统解析低氧及低氧诱导基因在鱼类抗病毒病和细菌病过程中的调控机制, 为抗病鱼类新品种的培育提供了优异的分子靶点和科学的理论依据。

关键词: 缺氧; 鱼类; 病毒感染; 细菌感染; 先天免疫

鲤形目鱼类干扰素的全基因组发掘与抗病毒功能研究

黄玉, 张磊, 杨欣怡, 李雨晴, 李泽宇, 张倩倩, 徐镇*

水产品种创制与高效养殖全国重点实验室, 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 干扰素 (Interferons, IFNs) 是鱼类等脊椎动物先天免疫系统重的关键细胞因子, 通常分为 I 型、II 型和 III 型。鲤形目 (Cypriniformes) 是物种多样性最高的淡水鱼类群, 其 I 型干扰素组成尤为复杂。前期研究已鉴定出七个 I 型干扰素成员。本研究基于 25 种鲤形目鱼类的全基因组比较分析, 鉴定出该基因家族中的一个新亚型——IFNf, 将鲤形目 I 型干扰素的数量扩充至八个。系统发育分析表明, IFNf 在干扰素家族中起源较早, 并形成独立的进化分支。尽管其核苷酸及氨基酸序列与其它亚型的相似性较低, 但仍保留了典型的基因结构和三维构象特征。功能研究显示, 草鱼在感染呼肠孤病毒 (GCRV) 后, IFNf 在多种免疫组织中显著诱导, 且激活幅度在八种 I 型干扰素中最高; 体外实验进一步证实, 过表达草鱼 IFNf 能够有效抑制 GCRV 在 GOC 细胞系中的复制。此外, 草鱼和斑马鱼 IFNf 蛋白中的部分 α -螺旋肽段具有类抗菌肽 (AMPs) 活性, 可直接抑制多种细菌和真菌的生长。综上, 本研究首次在鲤形目中系统鉴定了 IFNf, 揭示其兼具抗病毒与抗菌的双重作用。这一发现不仅确立了 IFNf 在鱼类等脊椎动物先天免疫中的重要地位, 也为水产养殖中抗病毒和抗菌策略的制定提供了新的理论依据。

关键词: 基因组; 鲤形目; 干扰素; IFNf; 抗病毒

多聚免疫球蛋白受体（pIgR）的抗病毒功能研究

陈小云, 黄玉, 孔维光, 李泽宇, 石勇, 程高峰, 徐镇*

水产品种创制与高效养殖全国重点实验室, 中科院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 多聚免疫球蛋白受体（pIgR）是转运多聚免疫球蛋白的核心受体, 在宿主抗病毒防御中发挥重要作用, 但 pIgR 在不依赖免疫球蛋白的情况下, 是否依然发挥抗病毒功能尚不清楚。本研究发现, 在缺乏免疫球蛋白的斑马鱼中, pIgR 的敲除能显著促进鲤春病毒血症病毒（SVCV）的感染。进一步 Co-IP、domain-IP 和蛋白免疫印迹试验等实验证明, pIgR 能与 SVCV-G 蛋白相互作用并特异性降解 SVCV-G 蛋白。通过 RNA 干扰、过表达及药物阻断等分子生物学手段, 揭示 pIgR 与 SVCV-G 蛋白的结合可增强自噬受体 tollip 对 SVCV-G 蛋白的识别与降解。此外, 基于 pIgR 的进化保守性, 本研究还发现哺乳动物 PIGR 能特异性降解同属弹状病毒科的水疱性口炎病毒（VSV）G 蛋白。综上, 本研究从活体-细胞-分子水平系统解析了 pIgR 在不依赖免疫球蛋白的情况下发挥抗病毒感染的作用机制, 丰富了 pIgR 在抗病原感染中的功能, 深化了对免疫学理论的认识, 并为鱼类病毒病的防治提供重要的科学依据。

关键词: 抗病毒; 多聚免疫球蛋白受体; 鲤春病毒血症病毒; 调控机制

姜黄素抗新加坡石斑鱼虹彩病毒 SGIV 感染作用及机制研究

王钥萱,魏世娜,秦启伟*

华南农业大学海洋学院, 广州 510642

摘要: 新加坡石斑鱼虹彩病毒 (SGIV) 是一种高致病性虹彩病毒。姜黄素是一种从传统中药材姜黄中提取的多酚化合物, 其抗炎、抗氧化、抗病毒等生物活性受到研究者的广泛关注。为了探究姜黄素抗 SGIV 感染作用及其机制, 我们选用石斑鱼脾脏 (GS) 细胞系和胖头鲤 (FHM) 细胞系作为 SGIV 感染模型, 用适当浓度的姜黄素孵育后感染 SGIV, 随后检测病毒含量、细胞内抗病毒因子、凋亡和自噬的相关指标变化。在体内实验中, 用特定浓度的姜黄素溶液处理斜带石斑鱼后感染 SGIV, 记录石斑鱼每日死亡数并统计累积死亡率。体外实验结果显示 20 μ M 姜黄素显著抑制 SGIV 感染, 进一步研究发现姜黄素抑制 SGIV 病毒粒子在细胞膜的粘附并正向调节细胞内干扰素相关因子的表达。另一方面, 姜黄素减少了 SGIV 诱导的 FHM 细胞 caspase 依赖型凋亡, 并通过抑制 AKT-mTOR 信号通路提高感染 SGIV 的 GS 细胞中的自噬水平。同时, 体内实验的结果显示, 与对照组相比, 40 mg/L 姜黄素处理组中的石斑鱼在感染 SGIV 后死亡率下降。我们的研究在海水鱼类中揭示了姜黄素的抗病毒作用机制, 评估其在石斑鱼病毒性疾病预防中的应用前景, 为发掘石斑鱼抗病毒策略和防控提供新思路。

关键词: 新加坡石斑鱼虹彩病毒 (SGIV); 姜黄素; 抗病毒; 程序性细胞死亡; 死亡率

P300/RNA polymerase II mediates induction of the teleost viral RNA sensor MDA5 through the interferon regulatory factor IRF11

Wenxing li, Yuan Feng, Yan Teng, Yuanyuan Zhou, Xiangyang Zhang, Jingqun Ao,
Xinhua Chen

College of Marine Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, 350000, China

Abstract: Melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) initiates type I interferon (IFN) production by detecting cytosolic viral RNA. Teleost MDA5 also induces type I IFN production in response to viruses, yet its regulation remains largely unexplored. This study used the large yellow croaker *Larimichthys crocea* (*Lc*) as a model organism and revealed that a type I IFN (*Lc*IFN α) triggers the expression of *Lc*MDA5 through the JAK-STAT signaling pathway, which involves phosphorylation of *Lc*IRF11. *Lc*MDA5 was transcriptionally regulated by *Lc*IRF11. Mechanistically, *Lc*IRF11 interacts with the IFN-stimulated response element (ISRE) within the *Lc*MDA5 promoter, via α 3 helix and loop1, and loop2 and loop3 in its DNA binding domain. Overexpression of *Lc*IRF11 recruits p300 and RNA polymerase II (Pol II) to the *Lc*MDA5 promoter region. Pull-down analysis further confirmed the interaction of *Lc*IRF11 with these two proteins. This recruitment was accompanied by increased levels of histone H3K27 acetylation (H3K27ac) and histone H3K4 trimethylation (H3K4me3), both of which are strongly associated with active transcription. Conversely, silencing *Lc*IRF11 reduced p300 and Pol II recruitments and hindered the enrichment of H3K27ac/H3K4me3 modifications at the *Lc*MDA5 promoter. Thus, here we present the first report of IRF11 orchestrating the activation of MDA5 transcription by binding to the ISRE of MDA5 promoter and forming a transcriptional complex with p300 and Pol II. Our results revealed an ancient regulatory mechanism of MDA5 in lower vertebrates, providing insights into its function and evolution.

The Function and Mechanism of IL-17B in Negatively Regulating Antiviral Immunity via Novel-m0270-5p Targeting TRAF2

Yi Ding ,Li Yang , Yunjie Song ,Hehe Xiao , Xianghui Kong*, Xinyu Jiang*

College of Fisheries, Henan Normal University, Zhanjiang 453007, China

Abstract: IL-17B is a member of the IL-17 cytokine family. In mammals, it plays a role in regulating inflammation and participates in immune responses against pathogenic microbial infections. MicroRNA (miRNA) are an important class of non-coding RNAs that regulate various biological processes by inhibiting mRNA translation or promoting its degradation. Novel-m0270-5p is a newly identified miRNA whose function in the immune response remains unclear. In this study, the expression of novel-m0270-5p was significantly downregulated in transcripts from IL-17B-incubated primary head kidney cells of common carp (*Cyprinus carpio*). In vivo, overexpression of IL-17B also markedly suppressed novel-m0270-5p expression. Transcriptome analysis suggested that TRAF2 is a potential target gene of novel-m0270-5p. Dual-luciferase reporter assays confirmed that novel-m0270-5p directly binds to the 3'UTR region of TRAF2. Overexpression of novel-m0270-5p in EPC cell lines inhibited both TRAF2 mRNA and protein expression, downregulated the expression of interferon (IFN) and interferon-stimulated genes (ISGs), and enhanced the replication of spring viremia of carp virus (SVCV). Conversely, inhibition of novel-m0270-5p significantly increased TRAF2 expression and reduced SVCV replication in EPC cells. This study reveals the role of the IL-17B–novel-m0270-5p–TRAF2 axis in the antiviral immune response of teleost fish, providing a potential molecular target for the prevention and control of viral diseases in aquaculture.

Keywords: IL-17B; novel-m0270-5p; TRAF2; Antiviral immunity

HnRNPC triggers degradation of MITA to suppress interferon mediated antiviral response

Yanwei Zhang^{1,2}, Zhao Jia¹, Gaoliang Yuan¹, Kangyong Chen¹, Jing Cen¹, Junya Wang¹, Hao Feng³, Mikolaj Adamek⁴, Jun Zou^{1*}

¹ Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306, China

² School of Fisheries, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 464000, China

³ State Key Laboratory of Developmental Biology of Freshwater Fish, College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha, 410081, China

⁴ Fish Disease Research Unit, Institute for Parasitology, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany

Abstract: Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs) are a group of nuclear proteins of 34-120 kDa, and have recently reported to participate in virus replication. The hnRNP family contains approximately 20 members, including hnRNP A1, hnRNP A2, hnRNP A2B1, hnRNPC, hnRNPD and hnRNPK. HnRNPC plays important roles in RNA biology including expression, stability, mRNA splicing, nonspecific sequence exportation and 3'-end processing; however, the mechanisms underlying the regulatory roles of hnRNPC have not been fully understood. Here, we found that zebrafish hnRNPC promoted Spring viraemia of carp virus (SVCV) replication by increasing stability of SVCV phosphoprotein whilst inhibiting the K48-linked ubiquitination of virus phosphoprotein, thereby suppressing type I interferon (IFN) response. Mechanistically, hnRNPC could interact with the mediator of interferon regulatory factor 3 activation (MITA) to activate the K48-linked ubiquitination for MITA degradation through engaging the C-terminal domain of hnRNPC. We also showed that human hnRNPC could interact with MITA, and that overexpression of human hnRNPC decreased the protein level of MITA in the HEK293 cells, suggesting that the negative regulatory roles of hnRNPC on type I IFN response are evolutionarily conserved. Collectively, our data indicate that hnRNPC promotes virus replication by suppressing IFN production activated by MITA and increasing the availability of viral proteins. Our work reveals an evolutionarily conserved mechanism that controls IFN mediated antiviral response by a member of hnRNP family in vertebrates.

Keywords: HnRNPC, interferon, antiviral response, MITA, ubiquitination

The AF1 Structure of EcPPARs Plays a Significant Role in Antiviral

Xinshuai Li, Qiwei Qin*, Min Yang*

College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Guangzhou, 510642, China.

Abstract: Singapore grouper iridovirus (SGIV) and red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV) cause significant harm to both adult and juvenile grouper. However, the pathogenesis of both viruses and the molecular mechanisms of virus-host interactions remain incompletely elucidated. This study aims to construct PPARs lacking the AF1 domain (EcPPAR α ΔN, EcPPAR δ ΔN) and chimeric vectors (AF1 domain exchange between different PPARs subtypes, (EcPPAR δ / α , EcPPAR α / δ)), to investigate their immunological mechanisms. (1) EcPPAR α is distributed throughout the cell, whilst EcPPAR α ΔN and EcPPAR δ / α exhibit nuclear distribution. Overexpression of EcPPAR α promotes replication of both SGIV and RGNNV, whereas EcPPAR α ΔN and EcPPAR δ / α inhibit their replication, with EcPPAR δ / α exhibiting a more inhibitory effect. Meanwhile, EcPPAR α ΔN or EcPPAR δ / α could all increase promoter activities of IFN1, IFN3, ISRE and NF κ B, and EcPPAR δ / α showed a more significant effect. (2) EcPPAR δ and EcPPAR α / δ are distributed throughout cells, while EcPPAR δ ΔN is distributed in the cell nucleus. Overexpression of EcPPAR δ or EcPPAR δ ΔN both inhibit the replication of SGIV and RGNNV, whereas EcPPAR α / δ promotes the replication of both viruses respectively. Meanwhile, EcPPAR δ ΔN significantly enhances promoter activities of IFN1, IFN3, ISRE and NF κ B, whereas EcPPAR α / δ inhibits the promoter activity of IFN3. Together, these findings indicate that the AF1 domains of different PPARs subtypes exert distinct regulatory effects on interferon, thereby playing varying roles in antiviral immune responses. This work will contribute to further elucidating host antiviral mechanisms, and provide a theoretical basis for the scientific formulation of antiviral control strategies.

Keywords: Grouper; SGIV; RGNNV; EcPPAR α ; EcPPAR δ

Research on the Dynamic Process and Mechanisms of Infection by Largemouth Bass Virus

Xinyue Zhang^{1,2}, Lingfeng Guan¹, Zihan Zhang¹, Hanchuan Wang¹, Lukun Zhang¹,

Qiwei Qin^{1,2*}, Shaowen Wang^{1*},

¹College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou, 510642, China

²Nansha-South China Agricultural University Fishery Research Institute, Guangdong, 511464, China

Abstract: Largemouth bass ranavirus (LMBV) is a major viral pathogen threatening the healthy aquaculture of largemouth bass, exhibiting broad prevalence and high mortality rates. However, the mechanisms underlying LMBV infection and pathogenesis remain poorly understood. By *in vitro* and *in vivo* imaging, the dynamic process of LMBV infection was monitored in real time for the first time. At the cellular level, our results demonstrate that LMBV entry is mediated by two distinct endocytic pathways—clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis—and that the subsequent trafficking of LMBV proceeds via the canonical endolysosomal pathway, which depends on actin and microtubules. Importantly, our results provided direct visual evidence for the *in vivo* infection route: LMBV initially invades zebrafish through the caudal fin, then disseminates systemically and gradually accumulates in the visceral mass. We further found that LMBV specifically induced the activation of neutrophils and the targeted recruitment of macrophages to virus-enriched regions—suggesting a coordinated host defense against viral spread. Collectively, these findings not only unravel the multi-scale mechanisms of LMBV infection but also offer novel insights into iridovirus infection, laying a foundation for the development of targeted antiviral strategies.

Keywords: LMBV; Virus infection; Single particle tracking; *In vivo* imaging

Calicivirus Manipulates Host Immunity for Replication in *Pelteobagrus fulvidraco*: A Transcriptomic Study

Siyu Liu^{a,b#}, Linyun Lin^{b#}, Yue Zou^{a,b}, Dong Liu^{a,b}, Chu Xin^b, Jinyu Shen^{a,b},
Xiaoyi Pan^{a,b*}

^a College of Fishery, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China

^b Agriculture Ministry Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China

Abstract: Yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*), an economically significant aquaculture species in East Asia, faces substantial threats from pathogens, with yellow catfish calicivirus (YcCV) being the primary causative agent of spring outbreaks leading to massive mortality and economic losses. Although the YcCV genome has been fully characterized, the immune response mechanisms of *P. fulvidraco* during infection remain poorly understood. Here, we conducted histopathological and transcriptomic analyses of head kidney tissues from YcCV-infected fish at 1 and 5 days post-infection (dpi). Compared to controls, 142 and 3402 differentially expressed genes (DEGs) were identified at 1 dpi and 5 dpi, respectively. GO and KEGG enrichment analyses revealed these DEGs were predominantly involved in signal transduction, cellular growth, apoptosis, immune responses, and metabolic processes. Notably, significant upregulation of *IL4i1* suggested its potential role in modulating host immunity to control viral replication. siRNA-mediated knockdown of *IL4i1* in yellow catfish brain cells suppressed YcCV replication, as evidenced by reduced viral load and mRNA levels, indicating a proviral regulatory function of *IL4i1*. Collectively, these findings provide novel insights into virus-host interactions, advancing our understanding of YcCV pathogenesis and informing future antiviral strategies.

Keywords: calicivirus; *picornavirus*; yellow catfish; *Pelteobagrus fulvidraco*; transcriptome analysis; infection mechanism; RNA interference

Hypoxic stress triggers ranavirus replication through hypoxia–NF- κ B–viral- κ B axis

Zhipeng Zhan ^{#,1}, Mincong Liang ^{#,1}, Yang Yu ¹, Yangchi Cui ¹, Zhimin Li ¹, Kun Wu ¹,
Shaoping Weng ¹, Jianguo He ^{1,*}, Changjun Guo ^{1,*}

¹ State Key Laboratory for Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University,

Guangzhou 510275, Guangdong, China

Abstract: Hypoxia serves as an important regulator in both physiological and pathological processes. Viral pathogenesis is profoundly influenced by the host microenvironment, with hypoxia playing a critical factor in viral replication. However, the molecular mechanisms underlying hypoxia-triggered viral replication remain poorly understood. Herein, we investigated the mechanism by which hypoxia promoted NF- κ B activation to enhance the mandarin fish ranavirus (MRV) replication. Under hypoxia, MRV replication increased, and the survival rate of infected mandarin fish decreased. Dual-luciferase reporter assays and in vivo zebrafish knockout experiments showed that both hypoxia and factor inhibiting HIF (FIH) overexpression activated the NF- κ B pathway. Activated NF- κ B upregulated the expression of inflammatory factors and simultaneously promoted MRV replication. Genomic analyses revealed that activated NF- κ B bound to the viral κ B motifs, upregulating viral gene expression and promoting viral replication. Application of an NF- κ B inhibitor rescued the hypoxia-induced increased in viral replication. Furthermore, we verified that the hypoxia–NF- κ B–viral- κ B signal axis also regulated herpes simplex virus-1 (HSV-1) replication in BHK-21 cells. Both activation of NF- κ B by hypoxia or PMA facilitated HSV-1 replication. Our work elucidated a potential conserved molecular mechanism of the hypoxia–NF- κ B–viral- κ B axis in environment–host–virus interaction and identified promising antiviral targets for disease control.

Keywords: Hypoxia; FIH; NF- κ B; Ranavirus; HSV-1

Association of NLRP3 Gene SNPs with the Grass Carp Resistance to Grass Carp Reovirus (GCRV)

Fu jiaojiao, Xiao tiaoyi*, Lv zhao*

Hunan Agricultural University

Abstract: Understanding the genetic mechanisms underlying disease resistance is crucial for breeding grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) with enhanced resistance to grass carp reovirus (GCRV) via molecular marker-assisted selection. In this study, we selected 27 surviving grass carp as the resistant group and 27 deceased individuals as the susceptible group following GCRV challenge. Bulk segregant analysis (BSA) was employed to investigate the genetic basis of GCRV resistance. Sequencing revealed a total of 583,964 high-quality single nucleotide polymorphism (SNP) markers in the grass carp population. Association analysis between these SNPs and GCRV resistance was performed using the Euclidean distance (ED) algorithm, which identified ten genomic regions significantly associated with resistance. Further analysis using the SNP-index method in combination with the ED approach revealed 11 candidate genes within the 95% confidence intervals. At the 99% confidence level, only the NLRP3 gene was significantly associated with GCRV resistance. Analysis of SNP variations within the NLRP3 gene identified 23 loci, among which seven showed strong associations with resistance ($\Delta\text{SNP-index} \geq 0.3$). Most of these loci were located in non-coding regions. These results provide valuable insights and genetic resources for marker-assisted selection aimed at improving GCRV resistance in grass carp.

Keywords: Grass carp; Grass carp reovirus; BSA; NLRP3; SNP

Whole-Transcriptome Analysis of Head Kidney Tissue in Largemouth Bass Infected with LMBV

Dingzhe Zou, Tianmei Hu, Run Yang, ..., Weiwei Zeng*

Foshan University, Foshan 528231, China

Abstract: An increasing body of evidence suggests that long non-coding RNAs (lncRNAs) play important roles in the regulation of cellular differentiation by acting as competitive endogenous RNAs (ceRNAs). However, the regulatory mechanisms involving lncRNAs in the head kidney tissue of largemouth bass infected with LMBV, as well as the associated lncRNA-related ceRNA networks, remain unclear. Therefore, we performed deep sequencing of twelve head kidney tissue samples from largemouth bass following LMBV infection using Illumina HiSeq sequencing technology. We subsequently identified differentially expressed lncRNAs (DELs), miRNAs (DEMs), and mRNAs (DEMs) in the head kidney tissues of largemouth bass at 24, 48, and 72 hours post-LMBV infection. In addition, we constructed lncRNA-associated ceRNA networks based on correlation analyses of gene expression for DELs, DEMs, and DEMs, combined with target prediction. Finally, we identified nine candidate lncRNA–miRNA–mRNA interactions from the lncRNA-related ceRNA network. Five of these interactions were validated by RT-qPCR, indicating their potential roles in modulating LMBV infection in the head kidney of largemouth bass. The five interaction pairs—MSTRG.4391.5-miR-146-x-TIRAP, MSTRG.4391.5-miR-155-x-AKT3, MSTRG.6882.1-miR-155-x-ANGPT4, MSTRG.11433.4-miR-155-x-ANGPT4, and MSTRG.11433.4-miR-146-x-TIRAP—may contribute to immune suppression. Our results not only provide new insights into the ceRNA functions of lncRNAs during LMBV infection of largemouth bass head kidney tissue, but also contribute to a better understanding of the mechanisms underlying LMBV infection in largemouth bass.

Keywords: LMBV; Largemouth bass; Long noncoding RNA; Immune; Competing endogenous RNA network

A novel SOCS1-mediated negative feedback regulation of type I interferon antiviral response in vertebrates

Huazhi Chen^{a, 1}, Jiamei Liu^{a, 1}, Wenxing Li^a, You Chen^a, Jingqun Ao^a, Yinnan Mu^{a, *},
Xinhua Chen^{a, b, *}

^a State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province, College of Marine Sciences, College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, 350002, China

^b Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao, China

*Correspondence: Yinnan Mu and Xinhua Chen, State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province, College of Marine Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, 15 Shangxiadian Road, Fuzhou, Fujian 350002, China.

E-mails: muiyinnan@163.com (Y. M.); chenxinhua@tio.org.cn (X. C.).

¹ Huazhi Chen and Jiamei Liu contributed equally to this work.

Abstract: Controlling type I interferon (IFN) signaling is essential for vertebrates to combat viral infections and prevent autoimmune diseases, yet the mechanisms regulating type I IFN responses are poorly understood. Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) is a negative regulator of type I IFN-activated JAK-STAT pathway, primarily through ubiquitinating and degrading JAKs. Here, in both large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) and humans (*Homo sapiens*), type I IFN induces SOCS1 expression via a STAT1-mediated pathway, which depends on interaction of STAT1-N455 with the T9 base of the antisense strand of ISRE within SOCS1 promoter. The produced SOCS1 subsequently binds to STAT1 and promotes K63-linked polyubiquitination of STAT1 for proteasomal degradation. Reduced STAT1 inhibits the type I IFN responses. These findings reveal a novel negative feedback mechanism whereby SOCS1, activated by STAT1, suppresses STAT1-mediated type I IFN signaling, providing a foundation for potential therapeutic strategies that aim to fine-tune type I IFN responses to enhance antiviral immunity or mitigate IFN-driven autoimmune diseases.

Keywords: Type I interferon, SOCS1, STAT1, negative feedback regulation, ubiquitination, antiviral response

Establishment and Functional Characterization of a Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Skin Epithelial Cell Line (TSE-04): Applications in Transgenics, Viral Susceptibility, and Ecotoxicological Stress Responses

Yanghui Chen, Junliang Luo, Shaoling Jin, Yuan Li, Yu Huang, Jia Cai, Dongneng

Jiang, Jichang Jian, Bei Wang^{a*}

(Fisheries College of Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture & Key Laboratory of Control for Disease of Aquatic Animals of Guangdong Higher Education Institutes, Zhanjiang, China)

Corresponding author E-mail: wong19820204@126.com

Abstract: Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) has become one of the most important fish species in 21st-century aquaculture because of its significant contribution in meeting the growing demand for animal protein. Fish cell lines serve as ideal tools for advancing research in virology and toxicology. As the primary defensive barrier which interfaces directly with external harmful substances, the skin plays a critical role in investigating the effects of various toxic agents on the organism. However, to date, no continuous skin cell line has been developed from *O. niloticus*. In this study, a novel skin-derived cell line from *O. niloticus*, exhibiting a typical epithelioid morphology was successfully established, characterized, and designated as TSE-04 cell line. TSE-04 expresses cytokeratin 8, a marker predominantly expressed in epithelial cells. Furthermore, its potential applications in transgenics, virology, and toxicology were demonstrated through successful transfection with the pGFP-N1 plasmid, sensitivity to Singapore grouper iridovirus, and responsiveness to ammonia-nitrogen and heavy-metal stress, respectively. The study also demonstrated that ammonia-nitrogen stress can induce significant oxidative stress and apoptosis in TSE-04. Additionally, chromium (Cr), copper (Cu), zinc (Zn), and manganese (Mn) resulted in varying degrees of cell damage and inflammatory responses in TSE-04. In conclusion, the TSE-04 cell line serves as a good *in vitro* model for studies in fish virology and toxicology.

Keywords: Virus challenge; environmental stress; heavy metal pollution; skin epithelial cell line

Red-spotted grouper nervous necrosis virus regulates viral replication through VDAC1-mediated mitochondrial autophagy

Liang Ying^{1,2}, Zhao Zhiwen^{1,3}, Jiaxin Liu¹, Yu Yepin^{1,**}, Chen Jinping^{1,*}

1、Institute of Zoology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510642, China

2、South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China

3、Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China

Abstract: Some viruses encode protein kinase and phosphatase analogs, enabling them to directly or indirectly modulate the phosphorylation levels of viral and host proteins. This regulation adjusts the viral life cycle to adapt to the intracellular environment, disrupts the host phosphorylation network, hijacks control over certain cellular processes, interferes with host defense mechanisms, and evades immune surveillance. In this study, we employed immunoprecipitation-mass spectrometry (IP-MS) to analyze the host phosphoproteome induced by red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV) infection. Several host proteins with altered phosphorylation levels upon RGNNV infection were identified, with a focus on the key mitochondrial autophagy protein, voltage-dependent anion channel 1 (VDAC1). The results demonstrated that RGNNV infection induces VDAC1 dephosphorylation, leading to reduced oligomerization, thereby maintaining mitochondrial membrane stability and promoting viral energy supply to create a favorable environment for viral replication. Furthermore, through virtual screening of small-molecule compounds targeting VDAC1, we identified kaempferol and quercetin, derived from pomegranate peel extract, as specific binders of VDAC1. These compounds significantly inhibited RGNNV replication and effectively alleviated virus-induced cytopathic effects (CPE). Our findings provide critical insights into the viral immune evasion strategy by hijacking host mitochondrial autophagy pathways and offer a theoretical foundation and potential therapeutic targets for combating nervous necrosis virus infections. **Keywords:** Nervous Necrosis Virus, Mitophagy, Protein Phosphorylation, Immune Evasion.

Keywords: nervous necrosis virus, mitochondrial autophagy, protein phosphorylation

Interferon regulatory factor 6 gene from *Oreochromis niloticus* is involved in resistance against tilapia lake virus

Mingyang Feng¹, Qi Liu¹, Biao Li¹, Shanshan Shang¹, Jie Li¹, Zhihai Li¹, Jingjing He¹, Jiyu Hu¹, Weiliang Guo^{1,2}, Yongcan Zhou^{1,2*}, Hengwei Deng^{1,2*}

¹ School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou, China

² Collaborative Innovation Center of Marine Science and Technology, Hainan University, Haikou, China

Abstract: Tilapia lake virus (TiLV) is an emerging virus that seriously threatens the tilapia industries worldwide. Interferon regulatory factors (IRFs) are the crucial mediators regulating the response of interferon (IFN) to combat invading viruses. Here, IRF6 homologs from tilapia (*Oreochromis niloticus*) were characterized and analyzed. The full length of *OnIRF6* mRNA contains a 249 bp 5' untranslated region (UTR), an open reading frame (ORF) of 1473 bp and a 3' UTR of 1209 bp. The *OnIRF6* typically shared the conserved domains and phylogenetic relationship with IRF homologs of other species and showed 61%-98% identity and 50%-80% similarity to other IRF protein domains, respectively. The mRNA of *OnIRF6* was high expressed in gill, spleen and kidney and low expressed in the brain and heart. *OnIRF6* was dispersedly presented in the cytoplasm except for a small amount in the nucleus, and could be activated by Poly(I:C) and TiLV to translocate to the nucleus of E11 and 293T cells. Furthermore, expression of *OnIRF6* was significantly responsive to challenges by TiLV, Poly(I:C) and *Streptococcus agalactiae*. Overexpression of IRF6 in E11 cells significantly inhibited TiLV propagation. More importantly, *OnIRF6* significantly enhanced the promoter activity of type I interferon- α 3 (IFN α 3) in E11 and 293T cells, suggesting that *OnIRF6* serve as positive regulators in activating IFN α 3. Furthermore, silencing of *OnIRF6* *in vivo* increased the mortality of TiLV infected tilapia and the viral load in tissues and down-regulated the expression of multiple components of Toll and JAK-STAT pathways and almost all the examined immune effector genes. These results suggested that *OnIRF6* could play an important role in defense against TiLV via activating interferon- α 3 in tilapia.

Keywords: IRF6, Tilapia, Interferon, tilapia lake virus, antiviral immune

Identification and functional characterization of *Cyprinus carpio* cGAS reveals its pivotal role against viral infection

Chun Li^a, Guoli Hou^a, Liang Hu^a, Yang Xu^a, Junhua Li^{a,*}

^a College of Fisheries, Hunan Agricultural University, Changsha, 410128, China;

Abstract: Mammalian cyclic GMP-AMP synthetase (cGAS) exerts a pivotal role in innate immune response to viral infection by detecting viral DNA and activating the cGAS-STING pathway, which triggers type I interferon (IFN-I) production. Although cGAS has been widely investigated in mammals, its function in lower vertebrates, especially teleost fish, remains poorly understood. Herein, a cGAS homolog (termed *c-cGAS*) in common carp was identified and functionally characterized to explore its involvement in immune activation and viral response. Sequence analysis, structural predictions, and evolutionary comparisons revealed that *c-cGAS* shares significant homology with cGAS proteins from other teleost species. Functional assays demonstrated that *c-cGAS* activates the IFN β promoter via cGAS-STING pathway for responding to viral infection, with its structural integrity being essential for this activity. Furthermore, we found that the IL-6/STAT3 axis regulates cGAS-STING pathway and promotes viral proliferation during Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3)/Spring viremia of carp virus (SVCV) infection. These findings indicate that cGAS-STING pathway is pivotal in regulating immune defenses against CyHV-3 and SVCV, highlighting its complex role in controlling viral replication. This study provides the first functional characterization of cGAS in common carp, offering new light on the evolutionary and functional aspects of the cGAS-STING pathway in lower vertebrates.

Keywords: common carp; *c-cGAS*; cGAS-STING pathway; IFN β ; viral infection;

MiR-122 exerts its regulatory effect on SGIV replication by targeting SGIV163.

Yu-Rong Lei, Jia-Yang He, Wen-Feng Yang, Qi-Wei Qin, Hong-Yan Sun

College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou, 510642,

Guangdong Province, PR China

Abstract: MiR-122 is a type of single-stranded small non-coding RNA, measuring 22 nucleotides in length, that plays a vital role in various biological processes in mammals. It is intricately involved in organ development, cell differentiation, proliferation, and apoptosis, and is closely linked to numerous diseases. In our study, we identified a target sequence for miR-122 within the SGIV genome, designated *SGIV163*. To explore the mechanistic role of miR-122 in relation to SGIV, we constructed a recombinant virus that lacks this specific sequence. Our experimental findings revealed that overexpression of *SGIV163* actually promotes SGIV replication; moreover, it functions as an early gene of the virus and exhibits a widespread cellular distribution. Intriguingly, we found that miR-122 enhances the expression of *SGIV163*, supporting our earlier observations that miR-122 can facilitate SGIV replication. Additionally, we engineered a recombinant virus, $\Delta 163$ -SGIV, that is devoid of the *SGIV163* gene. Following the overexpression of miR-122 in fish and subsequent viral injection, we observed a significantly lower mortality rate compared to those injected with the wild-type SGIV. These results collectively suggest that miR-122 modulates viral replication through its targeting of *SGIV163*, highlighting its potential regulatory role in the viral life cycle.

Keywords: *Epinephelus coioides*, SGIV163, miR-122, viral infection

Dual role of envelope protein VP088 during SGIV infection: recruiting VP156 for virus assembly, and abrogating TBK1-induced interferon response via p62-dependent autophagic degradation

Mengdi Yuan¹, Ya Zhang¹, Xiaolin Gao¹, Wenji Wang^{1,2}, Yin Zhao¹, Qiwei Qin^{1,2,3}, Xiaohong Huang^{1,2**}, Youhua Huang^{1,2*}

¹College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

²Nansha-South China Agricultural University Fishery Research Institute, Guangzhou 511464, China

³Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory, Zhuhai 519082, China

Abstract: Singapore grouper iridovirus (SGIV), a novel member of the genus *Ranavirus*, family Iridoviridae, always causes high mortality rate in grouper aquaculture. Although previous findings have demonstrated that SGIV envelope protein VP088 was crucial for its infectivity, the potential mechanism still remained largely uncertain. Here, using IP-MS analysis, we identified the potential VP088 interacted viral proteins during SGIV infection. Co-immunoprecipitation assays verified the interactions between VP088 and VP018, VP068 or VP156 *in vitro*. Confocal microscopy analysis showed that VP088 altered the intracellular localization of VP018 and VP068 in co-transfected cells, and finally translocated into virus assembly sites. Differently, VP156 mostly co-localized with VP088 in co-transfected cells, and almost simultaneously translocated into the virus assembly sites during SGIV infection, suggested that VP088 recruited VP156 for virus assembly. Interestingly, VP088 also abrogated cGAS-STING and TBK1 induced host IFN response. Co-IP assay showed that VP088 interacted with cGAS, STING, TBK1 or IRF3, while only degraded TBK1 via p62 mediated autophagic degradation. Moreover, VP088 not only reduced the phosphorylation level of endogenous IRF3, but also decreased TBK1-induced IRF3 phosphorylation and nuclear translocation. Finally, VP088 overexpression attenuated the antiviral function of STING/TBK1/IRF3 against RGNNV infection. Thus, our results not only identified the recruitment components of anchor protein VP088 during virus assembly, but also firstly demonstrated that an iridoviral envelope protein also functioned as an immune evasion protein via abrogating TBK1-induced interferon response.

Keywords: Iridovirus, Envelope protein, VP088, TBK1, Autophagic degradation

Insulin receptor isoform b is an essential factor for the entry of spring viremia of carp virus

Yuxia Hou, Yanan Liu, Ling Shao*

Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai
200433, China

Abstract: Spring viraemia of carp virus (SVCV) causes the infectious and haemorrhagic disease spring viraemia of carp in cyprinids. Receptors determine the initiation of viral infection. However, the SVCV receptor remains unknown. The external glycoproteins (G proteins) of rhabdoviruses facilitate viral entry. In this study, using immunoprecipitation followed by mass spectrometry, insulin receptor isoform b (Insr_b) was found to interact with the SVCV G protein. Immunoprecipitation and immunofluorescence assays further confirmed that Insr_b interacts with SVCV G protein at the cell membrane. SVCV infection promoted Insr_b expression both in vitro and in vivo. Insr_b overexpression enhanced SVCV infection, whereas Insr_b knockdown by siRNAs induced a marked reduction in the entry of SVCV into host cells. Treatment with the Insr_b inhibitor NVP-ADW742 or Insr_b antibodies effectively blocked SVCV infection. Moreover, NVP-ADW742 protected the common carp from SVCV infection in vivo. The results of this study demonstrated that Insr_b is an essential factor for the cellular entry of SVCV. These findings deepen our understanding of the cell entry mechanism of SVCV and provide a promising therapeutic target against infection.

Keywords: Spring viraemia of carp virus, Glycoprotein, Viral entry, Insulin receptor isoform b, NVP-ADW742.

Identification, expression profiles and antiviral activities of a type I IFN from *Cyprinus carpio*

Xiaonan Li, Qiunan Li, Yubing Zhu, Fen Chen, Bowen Liu, Defang Chen, Xiaoli Huang, Yi Geng, Ping Ouyang *

Department of Basic Veterinary, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China; Department of Aquaculture, College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

Abstract: Interferons (IFNs) are broad-spectrum antiviral glycoproteins secreted by the host, among which type I IFNs constitute the first line of defense against pathogens by inducing cellular antiviral responses and regulating innate/adaptive immunity. In this study, common carp (*Cyprinus carpio*) IFN ϕ 3 gene was analyzed using bioinformatics, and the recombinant protein rCcIFN ϕ 3 was prepared via prokaryotic expression in *Escherichia coli*. The full-length cDNA of this gene consists of 483 nucleotides, encoding a protein of 161 amino acids. Its transcripts were distributed across all examined tissues in common carp, with the highest expression in the spleen. Moreover, after poly(I:C) stimulation, the gene expression was significantly up-regulated in the liver, spleen (most markedly), and other tissues. In in vitro experiments, rCcIFN ϕ 3 inhibited spring viremia of carp virus (SVCV) in epithelioma papulosum cyprini (EPC) cells in a dose-dependent manner, reduced the necrosis rate of EPC cells, decreased the copy number of the SVCV-G gene, and elevated the transcriptional levels of interferon-stimulated genes (ISGs), thereby enhancing the antiviral capacity of the cells. In in vivo experiments, common carp were intraperitoneally injected with rCcIFN ϕ 3 and infected with SVCV 12 hours later. The results showed a survival rate of 55% in the treated group (compared to 35% in the control group), along with a significant reduction in viral load in the fish tissues. Furthermore, rCcIFN ϕ 3 reduced oxidative stress levels, enhanced non-specific immune indicators (acid phosphatase ACP and alkaline phosphatase AKP activities), and promoted the expression of interferon- and immune-related genes, thereby improving both non-specific and adaptive immune functions in fish. These results demonstrate that common carp IFN ϕ 3 (CcIFN ϕ 3) plays a critical role in its antiviral immunity.

Keyword: Common Carp; SVCV; IFN ϕ 3; Type I IFN; Immune response; Antiviral activity

Functional Characterization of TLR Adaptors in Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*)

Kai Lun Wang^{a, b}, Pin Nie^{a, c, d, *}

^a State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, and Key Laboratory of Aquaculture Disease Control, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, Hubei Province, 430072, China

^b University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China

^c Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao, Shandong Province, 266237, China

^d School of Marine Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong Province, 266109, China

Abstract: Toll-like receptor (TLR) signaling in teleosts relies on adaptors to orchestrate immune responses. This study identified five TLR adaptors in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*): MyD88, TRIF, MAL, SARM and BCAP. These adaptors were widely expressed across tissues and localized predominantly in the cytoplasm. They responded vigorously to pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) stimulation. Functional analyses revealed that overexpression of MyD88, TRIF, and MAL significantly activated NF- κ B, ISRE, and type I IFN promoters, thereby inhibiting SVCV replication. In contrast, SARM interacted with MyD88, TRIF and MAL to negatively regulate TLR signaling pathways. BCAP exerted dual regulation by suppressing NF- κ B/IFN pathways through binding MyD88 and MAL, while engaging p85 α to activate the PI3K-AKT pathway. These findings elucidate the immune regulatory mechanisms of TIR-domain-containing adaptors in mandarin fish and provide novel insights into the maintenance of immune homeostasis in fish.

Keywords: TLR adaptor; Immune regulation; Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)

ISG15 inhibits replication of type II grass carp reovirus (GCRV-II) by degrading viral NS79 and VP41 proteins

Hui Jiang¹, Changsong Wu¹, Hao Feng², Yong-An Zhang^{1*}, Jiagang Tu^{1*}

¹College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China.

²College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha, China.

Abstract: Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) hemorrhagic disease, mainly caused by type II grass carp reovirus (GCRV-II), leads to substantial economic losses in grass carp aquaculture. Interferon-stimulated genes (ISGs) play crucial roles in host defense against viral infection. However, which ISGs of grass carp are induced upon GCRV-II infection to act as antiviral factors and the underlying antiviral mechanisms remain largely unclear. In this study, we analyzed the online transcriptome data from grass carp kidneys with or without GCRV-II infection and identified nine ISGs in response to GCRV-II infection. Subsequently, we found that seven of the nine ISGs exhibited anti-GCRV-II ability, including two ISG15 homologs (ISG15s) named ISG15-1 and ISG15-2. Further investigation showed that mutants of ISG15s lacking the ISGylation activity exhibited comparable anti-GCRV-II efficacy to the wild-type ISG15s, indicating that ISG15s inhibited GCRV-II replication mainly through the free form, but not the ISGylation form. Mechanistically, free ISG15s interacted with NS79, VP41, and NS38 proteins of GCRV-II and degraded the NS79 and VP41 through the autophagy-lysosomal pathway. As a countermeasure, GCRV-II utilized NS38 to rescue VP41 degradation by disrupting ISG15s-VP41 interactions via competitively binding to ISG15s. Our findings provide detailed anti-GCRV-II mechanism of grass carp ISG15s and a novel immune evasion strategy of GCRV-II, which will be helpful for the development of anti-viral drugs against GCRV-II infection.

Keywords: ISG15, anti-viral activity, GCRV, immune evasion, grass carp

Molecular characterization of CcATG5 and its role in SVCV Replication.

Mengxi Zhang, Chen Li, Songjie Qi, Yunli Zhang, Chao Pei, Xianghui Kong*

Henan Engineering Laboratory for Control of Aquatic Animal Diseases, College of Fisheries,
Henan Normal University, Xinxiang 453007, China.

Abstract: Autophagy-related gene 5 (Atg5) encodes a core protein essential for autophagosome formation, and is involved in autophagy activity, interferon (IFN) response, and inflammatory response in mammals. In this study, the Atg5 homologous gene (*CcAtg5*) was cloned and identified from the Yellow River carp (*Cyprinus carpio*). *CcAtg5* encodes a protein consisting of 275 amino acids, showing 98.55% and 81.09% homology with *Carassius gibelio* and *Homo sapiens*, respectively. *CcATG5* contains a conserved APG5 domain, two ubiquitin-like domains, and a helical domain. The experimental results showed that *CcATG5* is expressed in multiple tissues of the Yellow River carp, with higher expression levels in immune tissues such as the spleen and head kidney. *CcATG5* is distributed in both the nucleus and the cytoplasm. *CcATG5* upregulates the level of LC3-II and enhances LC3 fluorescent puncta. Overexpression of *CcATG5* promotes the replication of spring viremia of carp virus (SVCV), as evidenced by increased viral attachment and entry, viral gene transcription, viral protein synthesis, and viral yield. In addition, overexpression of *CcATG5* negatively regulates the expression levels of *IRF3*, *IRF7*, *IFIM1*, *IFIM3*, *IL-6*, and *IL-1 β* , reducing the promoter activities of Interferon (IFN), Interferon-sensitive response element (ISRE), and Nuclear factor kappa-B (NF- κ B). These results were reversed when *CcAtg5* transcription was inhibited by siRNA. In summary, its proviral function is achieved by promoting autophagy, negatively regulating innate antiviral immunity, and facilitating early viral replication. This study demonstrates that the promoting effect of *CcATG5* on SVCV replication stems from the combined action of its autophagic and nonautophagic functions.

Keywords: *Cyprinus carpio*; Autophagy, ATG5; SVCV; nonautophagic functions.

Preliminary Investigation on the Regulatory Effects of Interferon IFN η and IFN Receptor CRFB3 and CRFB4 on NNV Replication in Orange-spotted Grouper

Siyu Huang 1, Rui Zheng 1, Yiling Kang , Linwei Yang , Jie Gao , Qingqing Liu ,
Shaoping Weng , Jianguo He , Junfeng Xie*

State Key Laboratory of Biocontrol, Southern Marine Science and Engineering Guangdong
Laboratory (Zhuhai), China-ASEAN Belt and Road Joint Laboratory on Mariculture Technology,
Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences,
Sun Yat-sen University, Guangzhou, China

Abstract: Orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) is an economically important aquaculture species which has faced serious economic losses due to the viral pathogen, NNV. On microbial invasion, PRRs detect the PAMPs, initiate a cascade of signaling events, and lead to IFN production. IFN-Is recognize and bind IFNR, inducing ISGs production to establish an antiviral state. To reveal the role of IFN and IFNRs in orange-spotted grouper, EcIFN η and two members of CRFB were cloned from GB cells. The mRNA levels of EcIFN η , EcCRFB3 and EcCRFB4 were upregulated after NNV infection. The promoter of EcIFN η was significantly activated by EcMDA5, EcMAVS, EcSTING, EcIRF3, and EcIRF7. Both intracellular overexpression and administration of recombinant protein of EcIFN η effectively inhibited NNV replication and enhanced the expression of ISGs. On the other hand, EcCRFB3 or EcCRFB4 exhibited contrasting effects. When overexpressed, they inhibited ISGs expression and facilitated NNV replication. Our findings suggest the potential application of EcIFN η as a novel immune activator, enrich the understanding of IFNRs functions, and will enhance our knowledge of the fish IFN system.

Keywords: *Epinephelus coioides*, IFN η , NNV, CRFB

多子小瓜虫感染黄鳝引起的组织病理学变化及其遗传多样性

郑春茹^{1,2,3,4}, 孟佑致^{1,2,3,4}, 沈宇航^{1,2,3,4}, 杨浩^{1,2,3,4},
涂笑^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070
2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070
3. 农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070
4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 作为一种对世界水产养殖业具有严重危害性的鱼类寄生虫, 其遗传多样性主要受寄生宿主种类和地理位置的影响, 我国重要的特色淡水养殖鱼类黄鳝 (*Monopterus albus*) 在养殖过程中也极易受到小瓜虫的侵害, 但小瓜虫对其所造成的病理学损伤却尚不清楚。因此, 为阐明多子小瓜虫的种群遗传多样性及其感染黄鳝 (*Monopterus albus*) 引起的组织病理学变化, 本研究对自然感染小瓜虫的黄鳝进行了组织病理学分析, 并基于线粒体 *cox-1* 和 *nad1_b* 串联序列分析了我国小瓜虫种群的遗传结构和遗传差异。组织病理学分析结果显示, 小瓜虫主要寄生于黄鳝体表及咽部表皮基底层, 引起表皮隆起与破损、基部出血、粘液细胞代偿性肥大以及表皮层与真皮层间界限模糊不清等特征性病变。多重序列比对结果显示, 黄鳝源小瓜虫 HB12 与已报道的 40 个小瓜虫种群间存在 91 个核苷酸变异位点和 32 种单倍型, 其中 HB12 属于新单倍型 (Hap_1)。群体遗传多样性参数结果显示, 引入 HB12 后, 我国小瓜虫群体的单倍型多样性 (Hd) 为 1.0、核苷酸多样性 (Pi) 从 0.01335 降低至 0.01318, 总体呈现出高单倍型多样性 (Hd>0.5) 和高核苷酸多样性 (Pi>0.01)。系统发育树和单倍型网络图分析结果显示, HB12 与采集于中国湖北省的小瓜虫群体 (HB6、HB10、HB11、HB3、HB2) 聚为一枝, 并与其它地理群体显著分离, 表明寄生宿主的地理差异是驱动小瓜虫种群遗传结构分化的主要因素。本研究首次揭示了小瓜虫对黄鳝的致病特征及其种群遗传结构特征, 为解析小瓜虫病的发生规律及其跨地区传播防控提供了科学依据。

关键词: 多子小瓜虫; 黄鳝; 组织病理; 遗传多样性

嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 壳聚糖纳米疫苗的研制及其对长江鲟 (*Acipenser dabryanus*) 免疫保护效力的评价

陈奕宁, 周佳辰, 俞晨伟, 胡亚成, 杨元金, 许 丹*

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 国家水生动物病原库, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源与利用重点实验室, 上海 201306; 4. 中国长江三峡集团有限公司中华鲟研究所, 宜昌 443100

摘要: 嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 是威胁养殖鱼类包括鲟鱼养殖的重要病原, 可引发严重暴发性肠炎和高死亡率, 已成为限制种群恢复与人工培育的主要障碍之一。传统灭活疫苗虽然在一定程度上能够降低病害发生, 但因免疫反应相对较弱、接种方式应激强等局限, 难以应用于珍稀濒危水生动物。因此, 探索新型高效、低应激的免疫策略具有重要意义。本研究与中华鲟近缘物种长江鲟 (*Acipenser dabryanus*) 为实验动物, 研发并系统评价了一种基于壳聚糖的嗜水气单胞菌纳米疫苗。研究首先利用灭活 Ah-221212 株菌株, 结合离子电凝胶法制备壳聚糖纳米疫苗, 其理化性质表征显示, 该疫苗粒径均匀, 表面带较强正电荷, 具备良好的纳米递送特性。在免疫试验中, 健康长江鲟被随机分组, 分别接受浸泡免疫、注射免疫及对照处理。免疫后 28 天内, 定期采集血清和组织样本, 综合评估疫苗的安全性与免疫原性。安全性检测结果表明, 接种疫苗未引起鱼体死亡或组织损伤, 血清生化指标与对照组无显著差异, 显示该疫苗具有良好的生物安全性。免疫原性分析结果显示, 接种组尤其是浸泡免疫组的血清特异性 IgM 水平显著升高, 后期峰值为对照组的 4.1 倍; 部分免疫酶 (如 AKP) 活性呈上升趋势; 脾脏免疫相关基因 (IL-1 β 、TNF- α 、MHCI、IgM) 表达量明显上调, 提示疫苗能够有效激发宿主免疫反应。免疫 28 天后的实验鱼经半致死浓度 (3×10^6 CFU/mL) 嗜水气单胞菌攻毒 14 天后, 浸泡免疫组和注射免疫组的相对免疫保护率 (RPS) 分别达到 77.78% 和 75%, 且免疫组的发病和死亡过程显著推迟。综上, 本研究成功研制出一种基于壳聚糖的嗜水气单胞菌纳米疫苗, 该疫苗具有良好的安全性和显著的免疫保护效力。尤其是浸泡免疫途径, 在无需个体注射操作的情况下即可诱导较强免疫应答, 为濒危鲟类等难以实施常规免疫措施的水生动物提供了切实可行的防控方案。本研究不仅验证了壳聚糖纳米疫苗在鱼类病害防治中的应用潜力, 更为长江鲟的种群保护和健康养殖提供了新的技术路径, 对推动水产养殖业的可持续发展和水生生物多样性保护具有重要的理论价值与应用前景。

关键词: 长江鲟; 嗜水气单胞菌; 纳米载体疫苗; 壳聚糖

益生菌递送的多联口服疫苗对锦鲤免疫、肠道微生物群和抗病力的影响

夏冬梅^{1,2}, 于哲¹, 徐小轻¹, 张震¹, 杨雅麟¹, 冉超¹, 丁倩雯¹, 梁慧^{1,3}, 黎明¹, Alain Vanderplasschen², 药园园^{1*}, 周志刚^{1*}

1. 中国农业科学院饲料研究所中挪鱼类肠道微生物联合实验室, 中国 北京, 10081;

2. 列日大学动物与健康基础和应用研究 (FARAH) 免疫学-疫苗学系, 比利时 列日, B-4000;

3. 中国农业科学院生物技术研究所, 中国 北京, 100081.

摘要: 为预防锦鲤病原体混合感染, 创制了递送不同病原体抗原的 5 株重组益生菌复合菌剂, 将其梯度添加到商业膨化饲料中经过固体发酵后制得 2 个多联口服疫苗: 低剂量组 (LD) 和高剂量组 (HD)。继而在锦鲤中开展了为期 5 周的口服免疫试验, 对照组投喂商业饲料 (3 餐/天), 免疫组每日第 3 餐投喂口服疫苗饲料, 其余 2 餐投喂商业饲料。实验结果表明, HD 组肠道抗氧化酶 (CAT, SOD) 和 MDA 含量分别显著高于和低于对照组 ($P<0.05$), 表明口服疫苗显著提高了肠道抗氧化能力。与对照组相比, HD 组肠道 IgT 水平, 脾脏 IFN I、CD8⁺、CD4⁺ 的 mRNA 相对表达量均显著升高 ($P<0.05$), 表明口服免疫提高了锦鲤粘膜免疫力, 并激活了脾脏非特异和细胞免疫反应。病毒和细菌的联合攻毒实验表明 HD 组锦鲤的存活率显著高于 LD 组和对照组 ($P<0.05$), LD 组存活率显著高于对照组 ($P<0.05$), 证实了口服疫苗的有效性。肠道菌群结构分析结果表明, 随着疫苗免疫剂量的增加, 变形菌门和疣微菌门的相对丰度分别呈线性降低和升高趋势, 利用无菌斑马鱼模型证明 HD 组菌群转接的无菌斑马鱼的存活率显著高于对照组菌群转接组 ($P<0.05$)。进一步地分析了锦鲤攻毒存活率和肠道菌群的相关性, 结果表明, 变形菌门 *g__unclassified__f__Rhodobacteraceae* 和疣微菌门 *g__norank__f__cvE6* 的相对丰度与锦鲤存活率分别呈强负相关 (-0.94017) 和强正相关 (0.940175) 关系, 表明肠道菌群有助于提升疫苗的免疫效力。综上所述, 以益生菌为载体制备的多联口服疫苗可有效保护锦鲤免受多病原混合感染, 揭示了肠道菌群结构在调控疫苗免疫应答中的关键作用, 为水产疫苗的研发提供了新的理论依据和实践方向。

关键词: 益生菌载体; 多联口服疫苗; 肠道菌群; 锦鲤

串联表达草鱼呼肠弧病毒 VP6—维氏气单胞菌 OmpAII 的重组工程菌规模化培养条件优化

彭依烽^{1,2}, 孙承文^{1,4}, 张德锋¹, 王庆¹, 任燕^{*1}

1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所/农业农村部渔用药物创制重点实验室/广东省水产动物免疫与绿色养殖重点实验室
2. 上海海洋大学水产与生命学院

摘要: 为了从基因工程重组大肠杆菌 pET32a-VP6-OmpAII / BL21 得到大量优质的重组蛋白 VP6-OmpAII, 本团队开展了重组工程菌规模化培养条件优化研究。采用单因素实验方法筛选对规模化培养有关键影响的参数, 再通过 $L_9(3^4)$ 的正交试验设计重组工程菌的规模化培养参数, 以细菌湿重、总蛋白含量、重组蛋白表达量作为评价指标, 通过熵权法和极差方差分析, 在 7 L 发酵罐中优化表达 VP6-OmpAII 的重组工程菌的培养条件, 并在 50 L 发酵罐中进行放大培养。研究结果表明, 优化并确定了串联表达 VP6-OmpAII 的重组工程菌规模化培养条件和工艺, 即以营养肉汤作为培养基、温度 32℃、pH 值 7.2、接种量 9 %、溶氧 25 %进行发酵, 发酵 2 h 后分别加入 IPTG (终浓度 0.1 mmol/L) 诱导和营养肉汤补料 (补料终浓度 26.0 g/L), 累计培养时长 10 h。在 7 L 发酵罐中培养, 每升发酵菌液可获得菌体 15.11 ± 0.24 g, 比优化前提升 146.09 %; 总蛋白 3.21 ± 0.14 g, 比优化前提升 132.61 %; 重组蛋白 0.87 ± 0.11 g, 较优化前提升了 135.14 %。在 50 L 发酵罐中放大培养, 每升发酵菌液可获得菌体 15.12 ± 0.28 g, 总蛋白 3.12 ± 0.18 g, 重组蛋白 0.84 ± 0.18 g。可见, 重组工程菌的规模化培养条件和工艺稳定、可行。

关键词: 重组蛋白 VP6-OmpAII; 7L 发酵罐培养; 50 L 发酵罐培养; 培养条件优化

蓝鳃太阳鱼脑细胞系的建立及传染性脾肾坏死病毒和弹状病毒二联灭活疫苗的研制

陈海月¹, 吴宝周¹, 郝曙光¹, 姚华佳¹, 徐王倩¹, 邹鼎哲¹, 田莹¹, 李逸飞¹,
周洁¹, 杨润², 谷雨杰², 林裕城¹, 田湘钰¹, 曾伟伟^{15*}

1.佛山大学动物科技学院 佛山 528225; 2.华中农业大学水产学院 武汉 430070

摘要: 蓝鳃太阳鱼因其营养价值高、生长速度快、肉质鲜美而广受市场欢迎, 现已成为中国南方地区重要的养殖品种。然而, 随着集约化养殖模式的发展, 该鱼类的病害问题日益突出。2024 年 7 月, 广东省佛山市某养殖基地出现蓝鳃太阳鱼大规模发病和死亡现象。在排除细菌、寄生虫及鲈形目鱼类常见病毒感染的可能性后, 推测其病原为某种新型病毒。本研究通过将病鱼组织匀浆液接种至自建蓝鳃太阳鱼脑细胞系(LMB)中进行病毒分离, 该细胞系使用含 10%胎牛血清的 L15 培养基在 28℃条件下培养, 并已成功传代至 30 代。利用电镜观察、间接免疫荧光试验和人工感染实验等实验对分离的病毒进行鉴定, 最终首次从蓝鳃太阳鱼中分离出一株弹状病毒及一株传染性脾肾坏死病毒强毒株, 分别命名为 LMRV 与 LMMV。在此基础上, 开展了针对上述两株病毒的二联灭活疫苗研制工作。确定了甲醛灭活的最佳条件, 最佳抗原配比为 1:1, LMRV 与 LMMV 免疫按 2 倍稀释浓度配伍的疫苗免疫保护率最高, 分别达到 93.3%和 96.7%。进一步对免疫后的蓝鳃太阳鱼进行抗体水平、免疫酶活性及免疫因子表达量的检测, 结果显示疫苗能够诱导显著的免疫应答。本研究的成功开展, 将为蓝鳃太阳鱼病毒病的防控提供一种全新的关键技术产品, 对保障蓝鳃太阳鱼产业健康、可持续发展具有重要意义。

关键词: 蓝鳃太阳鱼; 细胞系; 传染性脾肾坏死病毒; 弹状病毒; 二联灭活疫苗

基于自组装铁蛋白的石斑鱼黏膜疫苗研究

刘欣欣, 张晨, 吴莹, 曹贞洁, 周永灿, 孙云*

海南大学海洋生物与水产学院, 海南海口 570228

摘要: 鱼类的黏膜表面是大部分水产病原体入侵鱼体的首要部位。经黏膜途径接种的疫苗不仅能够诱导机体产生系统性免疫应答, 还能诱导机体产生黏膜免疫应答, 在病原的入侵部位构筑防线, 阻断其感染。但是黏膜递送过程需要克服主要由黏液、降解酶和紧密连接的上皮细胞层等组成的生理屏障。本研究以哈维氏弧菌为模型, 设计并制备了一种新型石斑鱼黏膜纳米疫苗。利用生物信息学工具, 从 17 种哈维氏弧菌抗原蛋白中鉴定出 15 个 T 细胞表位和 16 个 B 细胞表位, 通过连接肽整合为多表位抗原(MAE)。将 MAE 和石斑鱼 H 链去铁铁蛋白(HFn)通过连接肽进行串联, 通过基因工程技术制备了纳米疫苗 (MAE@HFn), 再利用 PEG2000 对纳米疫苗进行功能化修饰制备黏膜纳米疫苗 (MAE@HFn-PEG_{2k})。在细胞水平和个体水平, 验证该疫苗的生物安全性; 通过 Transwell 实验、流式细胞术和活体成像技术验证该疫苗对黏膜屏障的穿透能力并揭示其跨膜转运规律; 以石斑鱼为研究对象, 采用浸浴的方式进行疫苗免疫, 评价疫苗对哈维氏弧菌的预防效果。研究表明, 制备的 MAE@HFn-PEG_{2k} 疫苗能在中性溶液中自组装成粒径约 20 nm 的纳米笼状结构; 在 40 mg/L 浓度内, MAE@HFn-PEG_{2k} 疫苗具有较高的生物安全性; 构建的 MAE@HFn-PEG_{2k} 疫苗能够高效突破黏膜屏障, 进一步发现该疫苗主要通过网格蛋白介导的内吞途径进入细胞; 浸泡免疫后, MAE@HFn-PEG_{2k} 疫苗可显著提高石斑鱼黏液和血清中补体 C3、超氧化物歧化酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性, 增强鳃和脾中免疫相关基因表达水平, 促进鳃和脾中抗原呈递细胞活化, 诱导 MAE@HFn-PEG_{2k} 黏液、鳃、血清和脾中特异性抗体 IgT 和 IgM 表达, 显著提高对哈维氏弧菌的预防效果, 免疫保护率达 86%。该项研究不仅可以为鱼类黏膜疫苗的研究和应用奠定理论基础, 对有效防控水产病毒性疾病的暴发和保障水产养殖健康发展具有重要意义。

关键词: 黏膜疫苗; 多表位疫苗; 免疫效果; 细菌疾病; 哈维氏弧菌

草鱼呼肠孤病毒衣壳蛋白的原核融合表达及其微囊稳定性研究

韩玉行, 王林熙, 王桐桐, 张秋胜*

鲁东大学水产学院, 烟台 264025

摘要: 草鱼呼肠孤病毒(grass carp reovirus, GCRV)是一种严重危害水产养殖业健康发展的病毒。免疫接种疫苗是预防 GCRV 的有效途径, 而口服免疫接种对生活在水中的鱼类, 是一种理想的接种方式。GCRV 衣壳蛋白 VP7 具有较好的免疫原性。霍乱毒素 B 亚基(cholera toxin B subunit, CTB)是一种较好的黏膜佐剂。本研究将 CTB 和 VP7 基因进行柔性融合, 获得 CTB-VP7 融合基因, 构建该融合基因的原核重组表达载体并进行融合蛋白的纯化, 将纯化的 CTB-VP7 融合蛋白利用微囊技术制造了海藻酸钠-壳聚糖(Sodium alginate - Chitosan, SA-CS)复合微囊。经过单因素实验我们探索出了最优微囊各组分的配方为海藻酸钠浓度 1.5%、溶液和液体石蜡比例 4:6、CaCl₂ 浓度 8%、壳聚糖浓度 0.8%。在此条件下制备的 CTB-VP7 复合微囊的平均包封率达到 89.72%, 粒径大小范围 12 μm~83 μm。通经过鱼体模拟释放实验表明, 在鱼体肠液中, 微囊可缓慢并长期释放蛋白, 24 h 的蛋白释放率约为 36.9%, 证明微囊具有较好的缓释作用; 草鱼体内稳定性实验表明, 微囊大大降低了融合蛋白的降解速率。草鱼口服灌胃 5 h 后, 肠道中仍可检测到的 CTB-VP7 蛋白(OD₄₅₀=1.331)远高于对照非微囊组(OD₄₅₀=0.181), 证明所制备的口服微囊疫苗具有明显的抗降解作用, 具有实践应用性。该研究为 GCRV 口服疫苗的研制奠定了基础。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒(GCRV); 霍乱毒素 B 亚基(cholera toxin B subunit, CTB); VP7; 微囊

灭活纤毛虫疫苗对锦鲤抗多子小瓜虫感染的免疫应答及交叉保护效果研究

潘杨杨, 黄可, 赵威山, 李文祥, 邹红, 吴山功, 王桂堂, 李明*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430000

摘要: 小瓜虫病是一种由纤毛门原生动物多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 引起的全球性淡水鱼类寄生虫病, 严重危害淡水养殖业。纤毛虫抗原主要分布于虫体表面 (如纤毛、膜蛋白) 及分泌产物中, 多子小瓜虫、钩刺斜管虫 (*Chilodonella uncinata*) 和嗜热四膜虫 (*Tetrahymena thermophila*) 同属纤毛门, 推测存在抗原同源性, 可能激发鱼类的交叉免疫应答。本研究通过制备上述三种虫体的灭活全虫疫苗, 经腹腔注射免疫锦鲤 (*Cyprinus carpio*), 评估疫苗诱导锦鲤产生的免疫应答及对多子小瓜虫感染的保护效果。结果显示: 与对照组相比, 接种三种疫苗的锦鲤血清中补体 C3、免疫球蛋白 IgM 和 IgT 含量以及肝脏中超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性均显著上升; 头肾、脾脏和肝脏中免疫相关基因 (包括 *IgM*、*MHCII β* 、*ifn-g*、*il-1 β* 、*il-4*、*il-10*、*Tnf- α* 和 *TLR-21*) 呈现差异表达, 且头肾与脾脏中 IgM⁺B 淋巴细胞比例显著增加, 不同疫苗组间上述指标存在差异, 表明三种灭活疫苗均能有效激活锦鲤的免疫应答。免疫 28 天后进行人工感染实验, 每尾感染 20000 个多子小瓜虫掠食体, 结果显示: 疫苗组相对存活率均显著高于对照组, 且组间存在差异; 低剂量多子小瓜虫疫苗组的保护效果优于钩刺斜管虫和嗜热四膜虫疫苗组, 而高剂量钩刺斜管虫疫苗组保护率可达 100%, 嗜热四膜虫疫苗组的保护效率也随剂量增加显著提升。综上所述, 三种灭活疫苗均能有效诱导锦鲤产生免疫应答并且以剂量依赖方式对多子小瓜虫感染产生交叉保护作用, 为开发广谱性鱼类抗寄生虫疫苗提供了新思路。

关键词: 锦鲤; 多子小瓜虫; 钩刺斜管虫; 嗜热四膜虫; 灭活全虫疫苗; 免疫应答; 交叉保护效果

Production and characterization of nervous necrosis virus vaccine antigens in wild type and CRISPR/Cas9 genome edited *Nicotiana benthamiana* and lettuce *Lactuca sativa*

Iva Andrasevic^{a,b}, Hang Su^{b,*}, Espen Rimstad^{a,*}, Jihong Liu Clarke^{b,*}

^aFaculty of Veterinary Medicine, Norwegian University of Life Sciences (NMBU), Ås, Norway

^bNIBIO - Norwegian Institute of Bioeconomy Research, Ås, Norway

Abstract: Aquaculture constitutes an important source of protein, essential omega-3 fatty acids and bioavailable micronutrients for humans. The increasing demand for aquatic food products has resulted in more intensive farming practices leading to negative impacts on aquaculture organisms and marine ecosystems. Disease outbreaks cause more than 6 billion USD loss worldwide annually and possess high risks of spreading to the wild fauna especially by viral infections. Vaccination has been proved to be effective to mitigate these problems and widely used as prophylaxis in aquaculture, but available vaccines against viral nervous necrosis (VNN) are limited currently. Plant platforms have several advantages and have been proposed as an alternative biomanufacturing method for vaccine antigens. In the present study, we report: (1) selection and design of recombinant plasmids encoding the capsid proteins (CPs) of two genotypes of NNV, red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV) and striped jack nervous necrosis virus (SJNNV); (2) design and optimization of plasmids for transient expression of NNV vaccine antigens in wild type *Nicotiana benthamiana*, CRISPR/Cas9 genome edited *Nicotiana benthamiana* and *Lactuca sativa*; (3) test of different *Agrobacterium* strains (LBA4404 and AGL1) for effective production of NNVCs; (4) the expression patterns of NNVCs over time post infiltration for different plants and cultivars; (5) successful production of NNV antigens in *N. benthamiana* lines and lettuce cultivars, indicating the potential of the plants as antigen producers in plant-based vaccine against VNN.

Keywords: Nervous necrosis virus (NNV); Plant made fish vaccine candidate; CRISPR/Cas9 genome edited *Nicotiana benthamiana*; Lettuce *Lactuca sativa*
Funding: Research Council of Norway (RCN) and National Natural Science Foundation of China in the co-funded Feed2Food project Grant No. 319693; RCN-funded SiNorAMR project Grant No. 336168; EEA Grants 2014–2021

Characterization of CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T Cell dynamics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following vaccination with a G protein-mutant IHNv vaccine

Shuaibo Li, Yulu Ma, Futing Zhang, Rui Ao, Xinja Lv *, Min Liu *

College of animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

Abstract: The effectiveness of attenuated vaccines is largely influenced by the level of antigen expression and the magnitude of the host immune response. In our earlier research, the IHNv glycosylation site 438 mutation attenuated vaccine (rIHNv-GN438A) has been shown to provide good protection against IHNv infection. To accurately characterize the cellular immune response triggered by this vaccine, a rabbit anti-rainbow trout CD3 ζ polyclonal antibody was prepared and a refined flow cytometry protocol was established for the precise phenotyping of T cell subsets. Juvenile rainbow trout were intraperitoneally administered with the vaccine. Survival rates (SR) were counted, followed by sampling of injected fish on days 1, 3, 5, 7, 14, and 21 post-inoculation (dpi). The immune responses were then investigated at cellular and genetic levels by flow cytometry (FCM) and RT-qPCR. Our results demonstrated that a rabbit anti-rainbow trout CD3 ζ polyclonal antibody with high specificity and sensitivity had been successfully prepared. Using an optimized intracellular staining method for CD3 ζ , we observed that apart from two specific time points, the rIHNv-GN438A-immunized group exhibited markedly elevated percentages of CD3⁺CD4⁺ and CD3⁺CD8⁺ T lymphocytes in the blood, spleen, and kidney, compared to the control groups. Furthermore, the rIHNv-GN438A-immunized fish displayed markedly upregulated transcription of IL-10, IL-6, TNF- α , IL-1 β , and IFN1 at most sampling time points. In addition, the rIHNv-GN438A group had higher levels of CD4 and CD8 mRNA expression and relatively low tissue viral loads. In conclusion, rIHNv-GN438A induced a robust and effective immune response, characterized by the activation of T cell subsets, which could be a primary reason for the vaccine's efficacy in preventing IHNv infections and reducing mortality.

Keywords: Cellular immunity; IHNv; Rainbow trout; T lymphocytes subpopulations; Viral infection

The effects of two rainbow trout TRIM proteins as immunostimulants on the immunization efficacy of inactivated IHNV vaccine

Guangqing Wu, Yanxue Shi, Rui Ao, Yulu Ma, Min Liu *, Xinjia Lv *

College of animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030,
China

Abstract: Infectious Haematopoietic Necrosis Virus (IHNV), a pathogen affecting salmon and trout species, has caused substantial economic losses in the aquaculture industry. Vaccination remains a crucial preventive measure against IHNV infection. Immunostimulants enhance innate and adaptive immunity through non-specific mechanisms by activating immune cell functions and boosting antibody production. This study investigated the immunostimulatory effects of rainbow trout-derived TRIM23 and TRIM32 proteins with IHNV HLJ-09 inactivated vaccine. By co-administering these recombinant proteins with IHNV HLJ-09 inactivated vaccine to Healthy juvenile rainbow, we analyzed mortality rates post-inoculation, calculated relative immune protection rates, and measured serum antibody levels, IHNV viral load in tissues, and immune-related cytokine expression. Through optimizing induction parameters including time, temperature, and reagent concentration, we identified optimal conditions for TRIM32 induction. Post-inoculation mortality rates and relative protection rates were statistically evaluated, while IgM antibody expression levels were assessed using indirect ELISA methods. Intravenous immunization with TRIM23 and TRIM32 proteins combined with IHNV HLJ-09 inactivated vaccine at day 21 post-immunization, followed by intraperitoneal infection of rainbow trout larvae with IHNV HLJ-09, demonstrated that the combination of 1 µg per tail TRIM32 protein and IHNV HLJ-09 inactivated vaccine exhibited the most effective antiviral efficacy. Significantly, cytokines associated with TLR and RLR signaling pathways were extensively expressed. This study provides a theoretical foundation for developing novel fish immune enhancers, laying the groundwork for immunological prevention and control of infectious hematopoietic necrosis.

Keywords: TRIM23; TRIM32; IHNV; inactivated vaccine; immunopotentiator

Constructing an IgM Prokaryotic Expression Vector for the Channel Catfish and Preparing Antibodies

Lizhu Niu, Guojun Guo, Xudong Li, Wenyan Xu, Jingran Wu, Mengmeng Zhang*

1. College of Animal Science and Technology, Henan University of Animal Husbandry and Economics, Zhengzhou 450000, China
2. Fishery Technology Extension Station of Henan Province, Zhengzhou 450008, China

Abstract: In this study, it is proposed to construct a prokaryotic expression system for Channel Catfish IgM and subsequently prepare polyclonal antibodies capable of recognizing native IgM. According to bioinformatics analysis based on the IgM gene sequence of the Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*), the constant region and antigenic epitope region were identified. The sequence was amplified and cloned into pET-30a(+), and recombinant plasmid pET-30a-IgM was obtained. The recombinant plasmid was transformed into *E.coli* Rosetta (DE3) to express soluble fusion proteins. Proteins were purified using Ni²⁺-NTA affinity chromatography. Purified proteins were repeatedly immunized in rabbits to collect serum and obtain polyclonal antibodies. The results showed that the prepared polyclonal antibody against channel catfish (*Ictalurus punctatus*) IgM exhibited an ELISA titer of 1:256,000 and could specifically recognize both native IgM in serum and the recombinant protein. This study represents the first successful high-level soluble expression of the channel catfish IgM constant region in a prokaryotic system and the generation of high-affinity, high-specificity polyclonal antibodies, thereby providing essential reagents and technical support for immune monitoring, vaccine evaluation, and disease diagnosis in channel catfish.

Keywords: *Ictalurus punctatus*; IgM; Prokaryotic system; Polyclonal Antibodies

Sustainable Vaccination Strategy: Oral Attenuated Vaccine Reduces Pathogenicity and Mortality in *Aeromonas hydrophila*-Challenged Largemouth Bass

Dandan Wang, Zheng Cui, Yong-An Zhang*, Yang Zhou*

College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China.

Abstract: The rise of antibiotic-resistant *Aeromonas hydrophila* poses a serious threat to global aquaculture, endangering both biosecurity and the economic sustainability of key fish species. To address this challenge, we evaluated the efficacy of an oral attenuated vaccine (AHM15) in largemouth bass, a high-value aquaculture species. AHM15 exhibited significant attenuation, demonstrating enhanced susceptibility to bactericidal activity in both fish blood and skin mucus. *In vivo* fluorescence imaging confirmed gastric transit of the oral attenuated vaccine, with intestinal localization achieved within 3 hours, followed by progressive systemic elimination over a 72-hour observation period. Oral immunization induced robust systemic and mucosal immune responses, evidenced by elevated serum antibody titers (1:512 post-boost) and significant upregulation of immune-related genes (*MHCI*, *MHCII*, *CD4*, *CD8 α* , *IgT*, *IgM*, and *IL-1 β*) in immune tissues. The vaccine conferred high protection, with relative percent survival (RPS) rates of 80% and 100% against challenges with 2.8×10^6 and 2.8×10^4 CFU/fish of wild-type *A. hydrophila* ZYAH72, respectively. Histopathological analysis revealed reduced tissue damage in vaccinated fish, while bacterial load assays showed marked pathogen clearance in the spleen, head kidney, and liver. These findings highlight AHM15 as a sustainable, non-stressful alternative to antibiotics, offering comprehensive protection against *A. hydrophila* infections in largemouth bass.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*; largemouth bass; oral attenuated vaccine; vaccination

Functional characterization of conserved transcription factor Akirin2 in innate immunity of Silver Pomfret (*Pampus argenteus*)

Kejing Huang, Xianqin Chen, Jingyi Liu, Yue Yu, Chenxi Huang, Jiasong Xie*

Key Laboratory of Aquacultural Biotechnology, School of Marine Sciences, Ningbo University,
Ningbo 315211, China

Abstract: Akirin2, a conserved nuclear factor mediating innate immunity via NF- κ B, is crucial for defense against pathogens. The commercially important silver pomfret (*Pampus argenteus*), which faces increasing pathogens like *Cryptocaryon irritans*, causing alterations in the head kidney transcriptome. We cloned *P. argenteus* Akirin2 (*PaAkirin2*) from the head kidney and characterized its function using RNA interference and overexpression. To investigate its role in the NF- κ B signaling, we examined interactions with pathway components, using *PaIL-6* and *PaMyD88* for validation. LPS stimulation induced early *PaAkirin2* and *PaIL-6* responses in immune organs, followed by delayed *PaMyD88* upregulation in the liver. Functional studies in *P. argenteus* liver cells showed that *PaAkirin2* overexpression activates NF- κ B, whereas its knockdown suppresses both NF- κ B and *PaIL-6* expression. Dual-luciferase assays confirmed that overexpression of either *PaAkirin2* or *PaMyD88* enhance NF- κ B activity and *IL-6* expression. Mutagenesis analysis identified AP-1 and NF- κ B binding sites as essential for *PaIL-6* transcription. Collectively, *PaAkirin2* functions as a nuclear regulator of the NF- κ B pathway, directing immune defenses via transcriptional control of *PaIL-6* and synergistic coordination with *PaMyD88*, providing the first mechanistic framework for Akirin2-mediated immunoregulation in teleosts for aquaculture disease management.

Keywords: Silver pomfret; Akirin2; NF- κ B; *Cryptocaryon irritans*; LPS

Zebrafish skin induces strong adaptive immune response after bath immunization

Zhao Zhao, Xue-Feng Wei, Liang Zhao, Jun-Yao Xia, Yi-Jun Jia, Yu-Ya Li, Bin Zhu*

College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, China

Abstract: The skin of fish has been found to contain a variety of immune cells. As the first line of defense against the external environment, it becomes an ideal target for vaccination strategies. However, the processes of vaccine uptake and immune response in which the skin is involved after immersion immunization still need further exploration. In this study, zebrafish were immunized by bath immunization with the G3 protein of Spring Viremia of Carp Virus (SVCV), the results of *in vivo* imaging showed that obvious fluorescent signals were consistently observed on the skin of zebrafish within 24 hours after immersion immunization. Furthermore, fluorescence microscopy revealed that within 6 hours after immunization, the vaccine was mainly distributed in the epidermis and dermis. As time passed, obvious fluorescence was gradually observed in the dermis and muscles. The observation of AB staining of skin mucous cells revealed that more mucous cells could be observed 3 days and 7 days after immunization, indicating that the skin tissue induces immune response. Subsequently, a significant increase in IgZ antibody levels was detected in the skin, along with a notable increase in IgZ⁺B cells. Finally, a SVCV challenge experiment was conducted on zebrafish immunized for 3 and 7 days, which showed a higher survival rate and significantly lower viral load compared to the control group. In summary, this study indicates that skin tissue can effectively uptake a substantial amount of the G3 vaccine into the body after immersion immunization, rapidly inducing adaptive immune response.

Keywords: spring viremia of carp virus; skin; adaptive immunity; immune response

Effects of a probiotic-delivered multiplex oral vaccine on immunity, gut microbiota and disease resistance in koi carp

Dongmei Xia^{1,2}, Zhe Yu¹, Xiaoqing Xu¹, ZhenZhang¹, Yalin Yang¹, Chao Ran¹,
Qianwen Ding¹, Hui Liang^{1,3}, Ming Li¹, Alain Vanderplasschen², Yuanyuan Yao^{1*},
Zhigang Zhou^{1*}

1. China-Norway Joint Lab on Fish Gut Microbiota, Institute of Feed Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 10081, PR China
2. Immunology-Vaccinology Faculty of Veterinary Medicine, Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARAH), University of Liège, Liège, B-4000, Belgium
3. Institute of Biotechnology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 10081, PR China

Abstract: To prevent mixture infections in koi carp, the complexes of five recombinant probiotics delivering distinct pathogen antigens were prepared, and sequentially incorporated into commercial expand feeds, yielding two multiplex oral vaccines after solid fermentation: a low-dose group (LD) and a high-dose group (HD). A five-week oral immunisation experiment was conducted in koi carp. The control group was fed the commercial feed (3 diets/day), while the immunised groups were fed the oral vaccine at the third meal and commercial feed at the remaining two meals. The results indicated that the intestinal antioxidant enzymes (CAT, SOD) and MDA in the HD group were significantly higher and lower than those in the control group, respectively ($P<0.05$), demonstrating that the oral vaccination significantly improved the intestinal antioxidant capacity. Compared with the control group, the intestinal IgT level and the relative mRNA expression of IFN I, CD8⁺ and CD4⁺ in the spleen of the HD group were significantly increased ($P<0.05$), indicating that oral immunisation improved the mucosal immunity and activated the non-specific and cellular immune responses in the spleen. The viral and bacterial co-challenging trial demonstrated that the survival rate of koi carp in the HD group was significantly higher than that of the LD group and the control group ($P<0.05$), and that of the LD group significantly higher than that of the control group ($P<0.05$), confirming the efficacy of the oral vaccine. Analysis of gut microbiota composition revealed that, with increasing vaccine dosage, the relative abundance of Proteobacteria and Verrucomicrobiota

exhibited linear decreasing and increasing trends, respectively. Utilising a germ-free zebrafish model, it was demonstrated that the survival rate of germ-free zebrafish transferred with intestinal microbiota from the HD group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). Furthermore, the correlation between survival rate and gut microbiota were analyzed and showed that the relative abundance of g__unclassified__f__Rhodobacteraceae (Proteobacteria) and g__norank__f__cvE6 (Verrucomicrobiota) exhibited a strong negative correlation (-0.94017) and strong positive correlation (0.940175) respectively with survival rates of koi carp, indicating that gut microbiota contributes to enhancing vaccine immunogenicity. In summary, the multiplex oral vaccine using probiotics as carriers effectively protected koi carp against mixture infections, and thereby revealed the pivotal role of gut microbiota in regulating vaccine immune responses, providing novel theoretical foundations and practical directions for aquatic vaccine development.

Keywords: Probiotic-vectored; Multiplex oral vaccine; Intestinal microbiota; Koi carp

青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) Toll 样受体 (TLRs) 的全基因组鉴定及 TLR1 在抗嗜水气单胞菌感染中的作用

吕毛琳, 苏建国*

华中农业大学水产学院, 武汉, 430070

摘要: 作为我国主要淡水经济鱼类之一, 青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 长期面临着疾病的严重威胁。Toll 样受体 (TLRs) 作为一类重要的模式识别受体, 在鱼类免疫应答中发挥着重要作用。本研究通过全基因组分析系统鉴定了青鱼 TLR 基因家族, 共发现 21 个成员, 这些成员不均匀分布于 11 条染色体上, 在鲤科鱼类中显示出进化保守的同线性关系。系统进化分析、序列比对及选择压力评估结果表明, 各 TLR 亚家族均具有较高的序列与结构保守性, 并受到强烈的纯化选择作用。组织转录组分析显示 TLR 基因在青鱼各组织中广泛表达, 其中多个成员在嗜水气单胞菌抗性群体与易感群体间呈现显著差异表达。我们选取在抗性群体中表达上调最为显著的 TLR1 进行功能研究, 发现敲低该基因导致青鱼在嗜水气单胞菌感染后死亡率上升, 并加剧组织病理损伤。机制研究表明, 抑制 TLR1 表达会显著降低抗氧化酶活性 (总抗氧化能力与超氧化物歧化酶)、补体 C3 含量及溶菌酶活性, 并下调促炎细胞因子 (TNF- α 、IFN- γ 和 IL-6)、补体 C3 以及抗菌肽 (铁调素和肝脏表达抗菌肽 2) 的 mRNA 表达水平。本研究系统解析了青鱼 TLR 家族的分子特征与表达模式, 并阐明 TLR1 通过调控抗氧化防御与炎症反应在抗细菌免疫中发挥重要作用。

关键词: 青鱼; Toll 样受体; mRNA 表达; 嗜水气单胞菌; 酶活性

驼背鲈凋亡因子 Bad 的功能及其在机体抗哈维氏弧菌感染中的效应

张津荧, 刘兵洋, 孙云, 周永灿, 曹贞洁*

海南大学海洋生物与水产学院, 海口 570200

摘要: Bcl-2 相关的细胞死亡激动因子 (*Bcl-2 associated agonist of cell death, Bad*) 是 Bcl-2 家族中的促凋亡亚家族成员, 在生物体细胞凋亡、免疫应答等过程中发挥重要作用。为探究驼背鲈 (*Cromileptes altivelis*) Bad (*CaBad*) 的功能, 本文首先将 *CaBad* 转染入驼背鲈脑细胞系 (CAB), 然后经哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 重组鞭毛蛋白 rFlaB 刺激, 检测 *CaBad* 在细胞凋亡中的作用。流式细胞术检测结果显示, *CaBad* 转染组的细胞凋亡率显著高于对照组, 表明 *CaBad* 可促进细胞凋亡。JC-1 法和 TUNEL 法检测结果显示, *CaBad* 可促进细胞线粒体膜电位的丢失和细胞 DNA 的损伤。qRT-PCR 结果显示, 过表达 *CaBad* 后抗凋亡基因 *Bcl-2* 的表达量显著下调, 而线粒体凋亡通路关键因子 *p53*、细胞色素 c (*Cyt c*)、促凋亡基因 *Bax* 及凋亡效应因子 *Caspase-3*、*Caspase-9* 的表达均显著上调, 表明 *CaBad* 可能通过激活线粒体凋亡通路发挥促细胞凋亡的效应。进一步将 *CaBad* 过表达质粒注射入驼背鲈体内, 经哈维氏弧菌攻毒后检测组织细菌载量的变化。结果显示, 相较于对照组, *CaBad* 过表达组的肝、脾和头肾的载菌量均显著降低, 表明 *CaBad* 能增强鱼体抵抗哈维氏弧菌的能力, 在鱼体抗病免疫应答中发挥重要作用。

关键词: 驼背鲈; Bad; 线粒体凋亡; 抗菌免疫应答

卵形鲳鲅半胱天冬蛋白酶-3 (*TroCaspase3*) 参与机体抗病免疫的功能分析

刘兵洋, 孙云, 周永灿, 曹贞洁*

海南大学海洋生物与水产学院, 海口 570200

摘要: 细胞凋亡, 又被称为程序性细胞死亡, 是细胞一种主动的、高度有序的、基因控制的“自杀”过程。与细胞凋亡密切相关的 Caspase 家族是一组高效蛋白水解酶, 通过激活 Caspases 可以实现细胞的凋亡, 其中 Caspase3 是最为关键的效应蛋白酶。本文以卵形鲳鲅 (*Trachinotus ovatus*) Caspase3 为研究对象, 主要探讨了 *TroCaspase3* 在调控细胞凋亡中的作用。首先采用过量表达技术在卵形鲳鲅吻细胞 (GPS) 中转染 *TroCaspase3*, 检测哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 重组鞭毛蛋白 rFlaB 刺激后的细胞凋亡率。流式细胞仪检测结果显示, *TroCaspase3* 组的细胞凋亡率显著高于对照组和 pCN3, 表明 *TroCaspase3* 可促进细胞凋亡。进一步研究 *TroCaspase3* 对线粒体膜电位、DNA 完整性的影响, JC-1 荧光法检测线粒体膜电位的结果显示 *TroCaspase3* 可促进线粒体膜电位下降。TUNEL 法检测 DNA 完整性的结果发现 *TroCaspase3* 可促进 DNA 的损伤。为探索 *TroCaspase3* 在卵形鲳鲅抗细菌感染过程中的作用, 将 *TroCaspase3* 过表达质粒及干扰表达 RNA 注射入卵形鲳鲅体内, 经哈维氏弧菌攻毒后检测组织细菌载量的变化。结果显示, 过量表达 *TroCaspase3* 组鱼体的肝脏、脾脏和肾脏中哈维氏弧菌的数量显著低于对照组, 而 *TroCaspase3* 干扰表达组鱼体组织中哈维氏弧菌的数量均显著高于对照组, 表明 *TroCaspase3* 显著增强了鱼体抗哈维氏弧菌的能力, 在鱼体抗病免疫应答中发挥重要作用。

关键词: 卵形鲳鲅; Caspase3; 细胞凋亡; 抗菌免疫

驼背鲈 C 型凝集素 4E (CaCTL4E) 参与机体抗细菌免疫的功能分析

曹贞洁¹, 刘志如¹, 张津荧, 张竞, 吴清宇, 康爱娥, 吴莹, 张晨, 周永灿,
孙云*

海南大学海洋生物与水产学院, 海口 570228

摘要: C 型凝集素 (CTLs) 作为模式识别受体 (PRRs) 在先天免疫系统中起着至关重要的作用。然而在硬骨鱼中, CTLs 介导的免疫识别和应答的潜在机制尚不十分明确。本研究在驼背鲈中鉴定了一个 C 型凝集素成员 *CaCTL4E*, 分析了其生物学功能及其在抗细菌感染中的作用。*CaCTL4E* 基因全长 765 bp, 编码 254 个氨基酸, 具有典型的 C 型凝集素结构特征, 包括一个碳水化合物识别结构域 (CRD)、6 个保守的半胱氨酸残基、一个 WIGL 基序和一个预测的甘露糖结合 EPN 基序。在健康驼背鲈中, *CaCTL4E* 在多种组织中均有不同程度的表达, 且在肝脏中表达量最高。在哈维氏弧菌刺激下, *CaCTL4E* 在脾脏和头肾中的表达量均显著上调, 表明其可能参与了机体的抗菌免疫应答过程。重组 *CaCTL4E* 蛋白 (rCaCTL4E) 具有凝集红细胞和多种细菌 (哈维氏弧菌、迟缓爱德华氏菌、无乳链球菌和金黄色葡萄球菌) 的能力, 并能结合这些细菌及其病原相关分子模式 (PAMPs: 脂多糖、肽聚糖、甘露糖和半乳糖), 同时 PAMPs 可竞争性地抑制 rCaCTL4E 的细菌结合和凝集活性。另外, rCaCTL4E 表现出直接抑制细菌生长的功能。此外, rCaCTL4E 还通过增强驼背鲈头肾巨噬细胞的吞噬活性表现出免疫调节特性。体内实验结果显示, *CaCTL4E* 在鱼体内过表达或敲低分别导致免疫相关组织中细菌载量的减少或增加。这些结果提供了 *CaCTL4E* 作为重要 PRR 的证据, 为进一步了解 *CaCTL4E* 参与致病性感染免疫应答的过程奠定了基础。

关键词: 驼背鲈; C 型凝集素; 模式识别受体; 抗菌免疫

驼背鲈 (*Cromileptes altivelis*) 白细胞介素 IL8 的分子特征及其抗菌功能

王金阁, 吴莹, 曹贞洁, 张晨, 周永灿, 孙云*

摘要: 白细胞介素 8 (Interleukin-8, IL8) 是促进和调节脊椎动物炎症和免疫反应的关键因子。在本研究中, 成功克隆并鉴定了驼背鲈 (*Cromileptes altivelis*) 的白细胞介素 8 (*CaIL8*)。该基因包含一个 375 bp 的开放阅读框, 编码由 124 个氨基酸组成的蛋白质, 分子量约为 11.2 kDa, 并含有与其他已知 IL8 共有的四个保守半胱氨酸残基。系统发育分析表明, *CaIL8* 与鞍带石斑鱼 (*Epinephelus lanceolatus*) 的 IL8 最为接近, 两者都属于鱼类特有 IL8 分支。组织表达分析显示, *CaIL8* 在健康驼背鲈的所有检测组织中均有表达, 在血液、肠道、大脑和肝脏中表达水平较高。感染哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 后, *CaIL8* 在多种组织中表达上调, 重组蛋白 *CaIL8* (r*CaIL8*) 对检测菌株表现出显著的结合和抗菌活性。此外, r*CaIL8* 增强了头肾淋巴细胞的趋化活性和增殖活性, 并增加了巨噬细胞的吞噬活性。体内实验表明, 过量表达 *CaIL8* 增强了鱼体抑制哈维氏弧菌复制的能力, 而敲低则降低了鱼体的抗菌能力。这表明在硬骨鱼类中, *CaIL8* 作为促炎细胞因子, 能够激活免疫细胞对抗细菌的感染。

关键词: 驼背鲈; 白细胞介素 8; 抗细菌免疫

鲤 P65 基因克隆与生物信息学分析

郭救彤, 刘一晨, 赵燕静, 孔祥会*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 新乡 453007

摘要: RELA (P65) 是 NF- κ B 蛋白家族的一员, 通常与 P50 形成异源二聚体 (P50/P65) 参与 NF- κ B 经典信号通路的信号传递。当细胞受到脂多糖、细胞因子等刺激时, IKK 被激活并磷酸化 I κ B, 使其泛素化降解。P65 与受调控生成的 P50 形成转入细胞核, 结合靶基因启动子区域的 κ B 位点, 调控炎症因子表达, 在炎症反应中发挥重要作用。本研究克隆得到两个鲤 P65 同源序列, 并将其命名为 CcP65-A 和 CcP65-B。CcP65-A 的开放阅读框为 1692bp, 编码 563 个氨基酸, 预测其相对分子质量为 62.28 kDa, 等电点为 5.63。CcP65-B 的开放阅读框为 1662bp, 编码 553 个氨基酸, 预测其相对分子质量为 61.02 kDa, 等电点为 5.5。CcP65-A 含有 RHD 结构域 (28aa-196aa) 和 IPT_NF-kappa B 结构域 (203aa-299aa), 由 42 个 α 螺旋和 8 个 β 折叠构成。CcP65-B 同样含有 RHD 结构域 (18aa-186aa) 和 IPT_NF-kappa B 结构域 (193aa-289aa), 由 33 个 α 螺旋和 8 个 β 折叠构成。多序列比对发现, CcP65-A 和 CcP65-B 的序列相似性为 96.86%, 且 P65 序列均存在保守的 NLS 序列, S536 和 S276 为高度保守的磷酸化位点, 其中 S536 的磷酸化激活是 P65 激活的重要标志。K122 和 K310 为保守的乙酰化位点。基因共线性分析显示 RELA 基因在基因组中的相对位置和转录方向与其在鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)、人 (*Homo sapiens*)、小鼠 (*Mus musculus*) 中均一致, 表明 RELA 具有保守的基因共线性。以上研究结果为探究 RELA 的免疫功能奠定理论基础。

关键词: 鲤; RELA; NF- κ B

鲤 IkB α 基因克隆及生物信息学分析

刘一晨, 郭敦彤, 赵燕静, 孔祥会*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 河南 新乡 453007

摘要: 核因子 κ B 抑制蛋白 α (Inhibitor of Nuclear Factor κ B Alpha, IkB α) 是 IkB 家族的核心成员之一, 作为一种关键细胞内蛋白, 其主要功能是通过抑制核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路的激活, 在炎症反应、免疫调节及细胞凋亡等生理过程中发挥重要作用。本研究以鲤为研究对象, 成功克隆获得三个 IkB α 基因的同源序列, 分别命名为 IkB α -A、IkB α -B 和 IkB α -C。它们的开放阅读框 (ORF) 长度分别为 936 bp、939 bp 和 1173 bp, 分别编码 311、312 和 390 个氨基酸。生物信息学分析显示, 预测的 IkB α -A、IkB α -B 和 IkB α -C 的相对分子量分别为 35.29 kDa、34.71 kDa 和 42.89 kDa。结构域分析显示, IkB α -A 和 IkB α -C 均包含 6 个 ANK 结构域, 而 IkB α -B 仅含 5 个 ANK 结构域; IkB α -A 由 18 个 α 螺旋组成, IkB α -B 由 19 个 α 螺旋和 2 个 β 折叠构成, IkB α -C 则由 18 个 α 螺旋和 8 个 β 折叠组成。IkB α -A、IkB α -B 和 IkB α -C 同源序列均具有 2 个磷酸化位点。基因共线性分析表明, 鲤 IkB α 基因在基因组中的位置、转录方向及邻近基因的位置和转录方向与其在斑马鱼和人类中一致, 提示该基因在染色体上具有基因共线性。序列一致性分析显示, 三个 IkB α 同源序列间的氨基酸一致性仅为 40.88%。其中, IkB α -A 与斑马鱼 IkB α 同源性最高 (78.59%), IkB α -B 次之 (55.38%)。系统进化分析显示, IkB α -A 和 IkB α -B 首先与鲫及斑马鱼 IkB α 聚为一支, 再与 IkB α -C 汇聚, 说明 IkB α 三个同源序列可能存在进化差异。以上研究结果为探究 IkB α 基因的免疫功能奠定理论基础。

关键词: 鲤; IkB α ; 炎症反应

赤眼鳟两个 IL-10 基因的分子特征及功能分化

阳鸿, 秦贝贝, 傅娇娇, 张梦媛, 王红权, 肖调义, 吕钊*

湖南农业大学; 湖南省水产研究所 (湖南省水产原种场)

摘要: 白细胞介素-10 (IL-10) 是一种重要的抗炎细胞因子, 在鱼类感染性疾病中起着重要的炎症调节作用。本研究在赤眼鳟 (*Squaliobarbus curriculus*) 中鉴定出两个 IL-10 基因拷贝, 分别命名为 ScIL-10A 和 ScIL-10B。基因共线性分析显示, 这两个基因位于不同的染色体上, 且仅 ScIL-10A 与其他脊椎动物 IL-10 基因位于保守的基因区块中。序列分析显示, ScIL-10A 和 ScIL-10B 均具备典型的 IL-10 蛋白结构域, 且与其他鲤科鱼类 IL-10 蛋白具有较高的序列同源性。亚细胞定位预测及在 CHO-S 细胞中的表达结果表明, ScIL-10A 编码分泌型蛋白, 而 ScIL-10B 编码膜蛋白。组织表达谱分析显示, ScIL-10A 主要在免疫相关组织 (如脾脏和头肾) 中表达, 而 ScIL-10B 则在所有检测组织中广泛表达。经 LPS 刺激后, ScIL-10A 和 ScIL-10B 的 mRNA 表达均显著上调, 且表现出相似的表达趋势。转录组数据分析发现, 在赤眼鳟肾 (SCK) 细胞中过表达 ScIL-10A 和 ScIL-10B 分别调控了不同的基因表达, ScIL-10B 的过表达显著抑制了多个促炎介质 (包括 CXCL8、CXCL11、IL-8 和 IL-34) 的表达, 而 ScIL-10A 的过表达对这些因子影响较小。然而, 在 LPS 刺激后, 过表达 ScIL-10A 或 ScIL-10B 均能显著降低促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 的蛋白水平, 提示二者在炎症调控中可能具有协同效应。本研究首次系统阐述了赤眼鳟两个 IL-10 基因的分子特性与功能分化, 为理解 IL-10 的进化生物学及鱼类抗炎机制的多样性提供了新的见解。

关键词: 赤眼鳟; 白细胞介素-10; 分子特征; 功能分化

鱼类 T 细胞免疫与病害防控

杨嘉龙*

华东师范大学生命科学学院, 上海 200241

摘要: T细胞是宿主抵御病原感染的重要武器。虽然, 近二十年的研究初步揭示了鱼类T细胞的类群、分布和功能, 但其免疫机制远未被充分阐明, 如何基于T细胞原理开发病害防控策略亦不得而知。近年来, 本团队以罗非鱼为对象, 聚焦T细胞免疫的过程、功能和调控, 开展了系统的研究工作。单细胞转录组表明, 罗非鱼T细胞参与宿主抗细菌感染的免疫应答。为了深入解析鱼类T细胞免疫, 研发了一系列罗非鱼T细胞的单抗, 实现了鱼类T细胞及其亚群的鉴定。研究发现, 罗非鱼CD4⁺T细胞分化为Th1和Th17亚群, 分别抵御胞内和胞外细菌感染; CD8⁺T细胞则依赖FasL执行细胞毒性功能。在肠道中, T细胞还通过鲸杆菌维持微生物群落和免疫稳态, 增强抗感染免疫。机制方面, 罗非鱼T细胞活化后发生显著的代谢重编程, 其利用脂联素受体、ERK1/2、GSK3- β 调控的糖酵解途径, 以及mTORC1-c-Myc轴介导的谷氨酰胺代谢途径, 共同促进T细胞免疫。有趣的是, 罗非鱼还通过短期禁食、行为发烧等主动行为, 增强T细胞免疫, 抵御病原感染。此外, 我们发现PRMT2通过甲基化KEAP1, 阻碍NRF2入核, 从而抑制ROS清除、损伤T细胞免疫; 而敲除PRMT2能够增强T细胞的功能和存活, 赋予罗非鱼更强的抗感染免疫能力。这些工作系统阐明了罗非鱼T细胞免疫的过程、功能和机制, 并在此基础上构建了基于行为发烧、短期禁食、PRMT2敲除等的病害防控策略, 显著提高了鱼类抵御细菌感染的能力。研究结果发表在PNAS、Advanced Science、PLoS Pathogens、CMLS等期刊。

关键词: 鱼类; 适应性免疫; T细胞; 调控机制; 病害防控

尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 颗粒酶家族基因鉴定及其功能探究

柴怡雯, 施玮恒, 陈钦涛, 林雨晴, 郭彦希, 吴丽婷*, 叶剑敏*

华南师范大学现代水产科学与工程研究院, 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631

摘要: 颗粒酶 (Granzymes) 是由杀伤性 T 细胞和自然杀伤细胞 (NK 细胞) 释放的一类丝氨酸蛋白酶, 主要用于杀灭细菌、防止病毒复制, 并在诱导靶细胞死亡和清除感染细胞中发挥关键作用。硬骨鱼作为低等脊椎动物, 其颗粒酶家族的种类和数量尚不明确, 研究主要集中在少数颗粒酶成员的基因结构和功能探讨。本研究采用基因克隆技术, 鉴定了尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 15 个颗粒酶家族基因 (*OnGzms*), 分别命名为 *OnGzmA-1/2*, *OnGzmK-1/2*, *OnGzmB-1/2/3/4/5*, *OnGzmH-1/2*, *OnGzmG*, *OnGzmE*, *OnGzmF*, *OnGzm-like*。生物信息学分析结果显示: (1) 所有基因符合颗粒酶的内含子和外显子结构, 具备催化三联体残基; (2) 根据染色体分布, 将颗粒酶分为胰蛋白酶、天冬氨酸酶和糜酶三类; (3) 系统发育分析显示, 颗粒酶可分为 4 个进化群: *OnGzmA/K*, *OnGzmB/H*, *OnGzmG/E*, *OnGzmF/Gzm-like*; (4) *OnGzmA/K* 在功能位点上较为保守, 且在系统发育树中聚为一支。颗粒酶家族在尼罗罗非鱼各组织中广泛分布, 鳃部表达水平较高, 而肌肉较低。通过表达重组 IL-2 (r*OnIL-2*) 并刺激不同组织来源的白细胞, 发现颗粒酶转录水平普遍上调, 表明颗粒酶家族成员可能在 T 细胞活化和细胞毒作用过程中起重要作用。研究结果初步揭示了尼罗罗非鱼颗粒酶家族分子的生物学特征及其在免疫反应中的作用, 为完善鱼类颗粒酶的免疫学理论提供了科学依据。

关键词: 尼罗罗非鱼; 颗粒酶家族; 分子特征; IL-2; 细胞毒作用

尼罗罗非鱼寡聚体 MBL 抵御无乳链球菌感染的作用机制

木亮亮*,李嘉东,林湛曜,曾庆梁,邓璐,武思琪,尹晓雪*,叶剑敏*

华南师范大学,生命科学学院,广州510631

摘要: 尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 是一种全球性养殖的重要经济鱼类。近年来,细菌疾病(如链球菌病)的爆发使罗非鱼养殖产业面临极大威胁。从鱼类自身免疫系统的研究入手,进行硬骨鱼关键免疫因子及机制的深入探究,将有助于提高机体抵御病原微生物的感染。甘露糖结合凝集素(Mannose-binding lectin, MBL)作为先天免疫的关键模式识别分子,在宿主防御中发挥着重要作用。然而,MBL的寡聚体结构特征及其在低等脊椎动物中免疫调控机制的研究仍较匮乏。本研究以尼罗罗非鱼为研究模型,从MBL的寡聚体结构切入,系统且深入的探究了寡聚体MBL的功能特征及其调控巨噬细胞吞噬的分子机制。研究发现罗非鱼MBL分子存在单体、二聚体、三聚体和四聚体等多种寡聚体结构形式,在无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)感染后,其三聚体和四聚体含量显著增加。进一步研究表明罗非鱼MBL的寡聚化程度越高,其结合和吞噬细菌的能力越强。另外,罗非鱼寡聚体MBL能够与丝氨酸蛋白酶MASP-1/3相互作用来启动和调节补体凝集素途径的激活,并且CRT或CD91a通过与MBL的相互作用竞争减少补体介导的溶血。同时,MBL与CRT及CD91a协同作用增强巨噬细胞的吞噬,促进吞噬溶酶体的形成,进而溶破和清除摄入的病原菌。更重要的是,我们发现MBL/CRT/CD91a在促进巨噬细胞吞噬杀伤过程中,触发了AKT/NF- κ B/Rab5A信号轴介导的正反馈通路来增强机体的抗菌免疫反应,从而揭示了罗非鱼寡聚体MBL介导巨噬细胞吞噬病原菌的一种调控机制。本研究为从全新的视角揭示水产经济养殖鱼类先天性抗菌免疫的调控机制,以及了解先天性免疫系统的进化提供了重要的证据和参考。

关键词: MBL; 寡聚体结构差异; 吞噬作用; AKT/NF- κ B/Rab5A 轴

大口黑鲈 NLRP3 炎症小体激活细胞焦亡以限制鳗诺卡氏菌在其体内定植的作用机制

唐伟俊, 陈振威, 邹佳宏, 任惠娟, 王庆超*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 是我国重要的名特优养殖鱼类, 然而鳗诺卡氏菌 (*Nocardia seriolae*) 引发的肉芽肿性结节病造成巨大经济损失, 阐明肉芽肿形成与慢性炎症的分子机制对疾病防控至关重要。本研究中鳗诺卡氏菌感染大口黑鲈诱发肝脏出现明显肉芽肿病变, 同时上调 *nlrp3*、*caspase-1*、*il-1 β* 及 *gsdme* 等 mRNA 和蛋白表达水平, 表明激活了细胞焦亡。为验证大口黑鲈 NLRP3 炎症小体及细胞焦亡在抵抗细菌感染中作用机制, 首先向其体内注射 NLRP3 过表达质粒, 可在多个组织和血清中检测到 *il-1 β* 的 mRNA 表达及蛋白分泌水平显著增加; 同时在感染鳗鱼诺卡氏菌后, 其肝脏、脾脏和头肾中细菌载量显著降低。随后构建 GFP-NLRP3、BFP-ASC 和 RFP-Caspase-1 三种质粒, 以不同组合形式转染至 HEK293T 细胞, 通过荧光共定位与免疫共沉淀实验证实, NLRP3 可募集 ASC 并进一步招募 Caspase-1 形成 NLRP3 炎症小体; 其中 Caspase-1 被活化后可进一步激活 GSDME 和 IL-1 β , 伴随着乳酸脱氢酶 (LDH) 活性升高。最后将 GSDME 全长、C 端和 N 端片段分别转化至大肠杆菌, 发现经 IPTG 诱导后, 转化 GSDME-NT 的大肠杆菌生长曲线显现出明显抑制, 并且在平板培养中表现出显著的杀菌活性; 而转染 GSDME-NT 的 HEK293T 细胞的 LDH 活性也显著升高。综上所述, NLRP3 炎症小体激活细胞焦亡和炎症反应在大口黑鲈清除鳗诺卡氏菌中发挥关键作用。

关键词: 大口黑鲈; NLRP3 炎症小体; 细胞焦亡; 鳗诺卡氏菌; 细菌定植

细胞因子 LECT2-b 通过受体 CD209 促进草鱼 IgM⁺ B 细胞吞噬的机制研究

汪婷, 张永安*, 张旭杰*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 已有研究表明, 硬骨鱼类 B 细胞是原始多能 B 细胞, 具有强吞噬活性, 但调控其吞噬活性的分子及相关机制尚待深入解析。白细胞衍生趋化因子 2 (LECT2) 是一种多功能细胞因子, 哺乳动物 LECT2 可通过 CD209 等受体调控免疫反应, 然而其能否调控鱼类 B 细胞的免疫功能, 特别是吞噬功能, 尚属空白。在实验室前期发现草鱼 LECT2 两个亚型 (LECT2-a 和 LECT2-b) 的基础上, 本研究发现 LECT2-b 能显著增强 IgM⁺ B 细胞的吞噬活性, 而抗体阻断 CD209 则可有效抑制 LECT2-b 的促吞噬活性。机制研究表明, LECT2-b 通过结合 CD209 受体, 激活了下游的 AKT-mTOR 信号通路, 从而驱动了 IgM⁺ B 细胞的吞噬。随后, 本研究发现 LECT2-b 作为灭活嗜水气单胞菌疫苗的佐剂可以促进特异性抗体的产生, 并显著提高疫苗的免疫保护率。综上所述, 本研究首次揭示了 LECT2-b/CD209/AKT/mTOR 信号轴在正向调控鱼类 B 细胞吞噬功能中的关键作用, 为深入理解鱼类 B 细胞的吞噬活性及其诱导机制提供了新视角, 同时也为开发靶向鱼类 B 细胞的疫苗增效策略奠定了理论基础。

关键词: LECT2-b; IgM⁺ B 细胞; CD209 受体; 吞噬作用

鱼类呼吸道微生物在寄生虫感染过程中的响应及抗虫机制

吴正彝,于永耀*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 黏膜组织作为宿主与环境交互的首要界面,不仅是多种微生物定植的生态位点,也维持着复杂的微生态平衡。病原体感染可打破这种平衡,进而引出一个看似矛盾的问题:微生物群在应对病原体感染时所发生的变化,究竟是会促进病原进一步入侵,还是能保护黏膜表面抵御感染?为探究这一核心问题,我们以虹鳉鱼鳃黏膜为载体,用黏膜病原体多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 构建感染模型,并系统分析了微生物与病原体之间的互作关系。研究发现,病原感染期间黏膜表面微生物群发生紊乱并出现易位,从而引发炎症反应;与此同时,微杆菌属 (*Microbacterium*) 和分枝杆菌属 (*Mycobacterium*) 等机会性病原体侵入内脏组织,造成继发性损伤。值得注意的是,在宿主初次遭遇病原时,黏膜微生物群起到了抵御寄生虫感染的重要屏障作用。有趣的是,尽管机会性病原体在感染期间可引起继发感染,存活下来的宿主仍能够建立新的微生态平衡。通过抗菌实验及微生物定植转移实验,我们发现存活个体的微生物群通过定植更多有益菌以提升生物多样性,从而发展出更强的抵抗病原入侵的能力。此外,我们从中分离出 4 株德尔福特菌 (*Delftia tsuruhatensis*, DT)。进一步研究发现,其中 DT19 菌株能够在宿主黏膜表面有效定植,并通过产生香草醛这一活性代谢产物,显著抑制多子小瓜虫的感染过程,从而增强宿主对寄生虫的抵抗能力。综上所述,我们的研究表明,鳃共生菌在寄生虫感染中的响应:既协同病原体加剧疾病,又通过重建稳态发挥保护作用抵抗再感染。

关键词: 小瓜虫; 微生物群; 存活鱼; *Delftia tsuruhatensis*; 香草醛

大黄鱼脂质运载蛋白成员 LcApoM_AGPRP 的免疫学功能研究

黄如钰, 张东玲*

集美大学, 水产学院, 福建厦门, 361000

摘要: 脂质运载蛋白 (Lipocalin) 家族在脊椎动物免疫防御中发挥重要作用, 但其在硬骨鱼类中的功能机制尚不明确。本研究以重要经济鱼种大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 为模型, 聚焦其新型脂质运载蛋白成员 LcApoM_AGPRP, 探究其在免疫应答中的生物学功能。在本研究中, 鉴定了大黄鱼的一个假定抗菌蛋白 LcAMRP1, 它包含一个 β 桶状结构与一个配体结合腔。通过 qPCR 发现, 其在大黄鱼肝脏和头肾中表达量最高。亚细胞定位表明 LcAMRP1 主要分布在溶酶体和线粒体中, 暗示其参与细胞器介导的免疫防御。LPS 和 poly I: C 刺激实验证明, LcAMRP1 在应对细菌和病毒感染时显著上调, 突出了其在先天免疫中的重要作用。功能分析显示, LcAMRP1 具有广谱抗菌活性, 可有效破坏革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的细胞壁和细胞膜。本研究首次对 LcAMRP1 进行了系统的鉴定和功能研究, 为硬骨鱼类的先天性免疫提供了新的见解。未来的研究将致力于阐明其分泌的调控机制以及与其他免疫蛋白的相互作用, 旨在为水产动物疾病的防控寻找新的分子靶标。

关键词: 大黄鱼; 载脂蛋白 M; 假定蛋白; 先天性免疫

噬菌体与宿主嗜水气单胞菌互作研究

郭雨鑫, 余沂源, 陈文涛, 蔡鸿娇, 林茂*

(集美大学水产学院, 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心, 福建 厦门 361021)

摘要: 研究针对一株噬菌体 *phiA008* 及其宿主嗜水气单胞菌 *MX16A* 开展了噬菌体-宿主互作研究。首先将二者共同培养筛选得到了一株气单胞菌的抗噬菌体突变株 *MX16A_R1*, 通过比较 *MX16A* 与 *MX16A_R1* 的吸附能力、裂解特性及基因组序列的差异, 发现与 *MX16A* 相比, 抗性菌株 *MX16A_R1* 的外膜蛋白 *LamB* 的基因发生了无义突变。进而构建基因缺失株对 *lamB* 基因的功能进行了验证, 证明了 *lamB* 基因的缺失是造成气单胞菌对 *phiA008* 产生抗性的根本原因, 同时也推断出气单胞菌的 *LamB* 蛋白是 *phiA008* 与宿主互作的关键受体。此外, 论文还研究了抗性菌株由于 *lamB* 基因突变在生物膜形成能力、运动性、毒力、抗生素敏感性等方面产生的适应性变化; 评价了针对宿主菌不同吸附受体的两种噬菌体联合使用的协同效应; 摸索了 *lamB* 基因突变事件在多株嗜水气单胞菌中的发生概率和突变点偏好。研究结果为噬菌体治疗嗜水气单胞菌疾病提供更加充分的理论依据。

关键词: 嗜水气单胞菌; 噬菌体; 受体; 互作; *lamB*

溶藻弧菌噬菌体裂解酶 lysV208 的重组表达和活性的研究

余沂源¹, 叶莹莹¹, 陈文涛¹, 童桂香², 韦信贤², 林茂^{17*}

1. 集美大学水产学院, 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心, 福建 厦门 361021
2. 广西水产科学研究院/广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 南宁, 530021

摘要: 目的: 为了挖掘高活性、高稳定性的噬菌体来源裂解酶, 对 lysV208 进行了异源重组表达及酶学性质的研究。溶藻弧菌噬菌体 phiV208 全基因组注释结果显示 lysV208 为胞壁酸酶作用位点为 N-乙酰胞壁酸。lysV208 可在大肠杆菌 BL21 (DE3) 中高效可溶性表达, 经 IPTG (0.25 mmol/L) 诱导 16 h 后的表达量达 204 µg/mL, 与 EDTA (0.5 mmol/L) 协同作用时溶菌活性可从 24.17 % 大幅提高至 68.05%。酶学性质研究发现, lysV208 的最适作用温度为 45°C, 其在 30~45 °C 范围内具有较强的活性。在 pH 7~8 的弱碱条件下, 酶活可以保留 90% 以上, 适应常见海洋水域环境。反应体系中二价金属离子 (Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+}) 浓度在 0.1~1 mmol/L 之间皆可不同程度的促进 lysV208 的活性。除此之外重组酶 lysV208 具有裂解噬菌体 phiV208 宿主菌以外的其它细菌的能力。重组裂解酶 lysV208 具有稳定的体外抑菌活性, 具有比原噬菌体更宽的裂解谱。在控制病原细菌感染与噬菌体与裂解酶联合试剂的开发等卫生领域具有潜在的应用价值。

关键词: 溶藻弧菌; 噬菌体; 裂解酶; 重组表达; 溶菌活性

铁调素相关的免疫代谢交互作用与分子表征揭示杀鱼爱德华氏菌感染许氏平鲷 (*Sebastes schlegeli*) 的铁死亡机制

井浩, 王光花, 杨凯, 祝志姝, 王越, 陈紫玥, 孙诺, 张敏*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛 266109

摘要: 杀鱼爱德华氏菌 (*Edwardsiella piscicida*) 是水产养殖业面临的重大病原威胁, 然而宿主-病原体相互作用的分子机制尚未完全阐明。本研究通过整合免疫代谢分析和分子表征方法, 探究了许氏平鲷 (*Sebastes schlegeli*) 对杀鱼爱德华氏菌感染的病理生理反应。结果显示, 受感染鱼类表现出严重的病理症状, 包括黑色素沉积、内脏肿胀以及广泛的肝脏损伤, 感染后第 15 天死亡率高达 80%。转录组分析鉴定出 5,363 个差异表达基因, 代谢组学分析则揭示了 194 种代谢物的变化。整合分析这些数据表明, 关键代谢通路发生了显著扰动, 包括谷胱甘肽代谢、核苷酸代谢和能量代谢, 凸显了宿主为应对感染而进行的代谢重编程。值得注意的是, 我们鉴定出铁死亡 (ferroptosis) 是杀鱼爱德华氏菌诱导组织损伤的关键机制, 其特征为谷胱甘肽耗竭和铁稳态相关基因的失调。此外, 我们鉴定并表征了两个铁调素 (hepcidin) 基因 (*Sshepcidin 1* 和 *Sshepcidin 2*), 它们表现出组织特异性表达模式, 并在细菌攻毒后显著上调。合成的 2 个成熟肽对多种细菌病原表现出广谱抗菌活性, 其中 mSshep 1 的总体抗菌效应高于 mSshep 2。这些发现为全面了解许氏平鲷响应杀鱼爱德华氏菌感染的分子机制提供了新见解, 并为相关疾病防控提供了潜在的治疗干预靶点。

关键词: 杀鱼爱德华氏菌; 转录组; 代谢组; 铁调素; 铁死亡

***Enterospora epinepheli* 的基因组揭示其适应核内寄生和快速感染的机制**

孟丽慧¹, 位战飞², 张新桐¹, 吴怡¹, 张雨涵¹, 周敏¹, 章晋勇^{*1}

1 青岛农业大学, 海洋科学与工程学院, 水生寄生虫学与微生物资源实验室, 青岛, 266237

2 中国水产科学院黄海水产研究所, 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室, 青岛,

266071

摘要: *Enterospora epinepheli* (*E. epinepheli*) 是一种专性细胞核寄生的微孢子虫, 主要感染人工养殖的石斑鱼 (*Epinephelus* 属) 幼鱼, 给石斑鱼养殖业带来严重的经济损失。然而, 由于缺乏有效的体外培养体系和基因组信息, *E. epinepheli* 的生物学特性及其核内寄生的适应性进化机制仍未被充分揭示。本研究首次利用 ECGI-21 细胞系成功建立了 *E. epinepheli* 的体外培养模型。通过实时定量 PCR (qPCR)、电镜观察和荧光染色分析, 我们发现 *E. epinepheli* 的成熟孢子能够迅速侵入 ECGI-21 细胞的胞质, 继而进入胞核, 并在感染后的 4 小时内完成核内增殖。基因组组装和分析显示, *E. epinepheli* 拥有微孢子虫中最小的基因组 (2.05 Mb), 其基因组在适应核内寄生生活过程中经历了极端的简化, 表现为转座元件的大量减少以及多种代谢途径的丧失。因此, 本研究推测 *E. epinepheli* 的极度简化基因组是由其专性核内寄生的适应性进化所驱动。此外, 比较基因组分析还揭示了六个可能与其细胞核寄生适应相关的正向选择基因。综上所述, 本研究建立的体外培养体系和基因组数据为深入探索宿主-微孢子虫相互作用提供了宝贵的基础, 并为微孢子虫核内寄生的适应性进化机制提供了新的见解。

关键词: 石斑鱼肠孢虫; 体外模型; ECGI-21 细胞; 基因组进化; 核内寄生适应性

花鲈急性期相关蛋白的分子鉴定

谢玉帅, 高谦*

上海海洋大学, 上海, 201306

摘要: 急性期蛋白 (Acute phase proteins) 在机体因感染、组织损伤或免疫紊乱引发的急性期反应中发挥重要作用。本研究克隆获得了花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 的四个急性期蛋白基因, 即 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、血清淀粉样蛋白 P (serum amyloid P component, SAP)、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶 ($\alpha 1$ -antitrypsin, AAT) 和血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A, SAA), 其 cDNA 全长分别为 1709 bp、1188 bp、1664 bp 和 505 bp, 其开放阅读框 (Open Reading Frame, ORF) 分别编码 230、224、404 和 121 个氨基酸。CRP、SAP、AAT 和 SAA 的 N 端均存在信号肽, 且分别与其他硬骨鱼的同源物具有相似的蛋白结构域、较高的序列一致性及密切的进化关系。实时荧光定量分析结果显示, 这 4 个基因在所有检测组织中均有表达, AAT 和 SAA 基因在肝脏中的表达水平最高, CRP 和 SAP 基因分别在脑和脾脏中的表达水平最高。腹腔注射脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 和迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 显著诱导了这 4 个基因在头肾、脾脏、鳃和肠道中的表达。AAT 和 CRP 主要定位于 HEK-293T 细胞的质膜, SAA 和 SAP 则主要在细胞核中表达。此外, 过表达 CRP 的花鲈脑细胞系其 $\text{TNF}\alpha$ 基因表达量显著下降、 $\text{NF-}\kappa\text{B1}$ 的表达量显著升高; SAP 过表达则上调 IL-4 和 $\text{NF-}\kappa\text{B1}$ 的表达, 但对 $\text{TNF}\alpha$ 基因表达量没有显著性影响; AAT 过表达则显著上调 $\text{TNF}\alpha$ 基因的表达、下调 $\text{NF-}\kappa\text{B1}$ 的表达; SAA 过表达的花鲈脑细胞其炎症相关基因的表达量没有显著性变化。本研究为进一步探究花鲈急性反应蛋白的免疫功能和调节机制奠定了基础。

关键词: 花鲈; 急性反应蛋白; 抗菌免疫; 炎症

大口黑鲈源鳘诺卡氏菌的分离鉴定及中草药对其体外抑菌效果研究

张小明, 安伟, 邵玲*

(上海市水产研究所, 上海市水产技术推广站, 上海 200433)

摘要: 为探究上海某养殖场患病大口黑鲈暴发性死亡的原因, 对患病鱼体组织进行病原菌分离, 通过形态学特征、革兰氏染色、16S rRNA 及生理生化特性对分离菌进行鉴定。采用人工回归感染实验确定其致病性, 并开展药物敏感性及 18 种中草药对其体外抑菌效果研究。结果表明: 患病鱼体表未检出寄生虫, 组织病理可见脾脏血细胞淤积, 形成了血铁沉淀, 在肝脏、脾脏和肾脏可见明显的病理性肉芽肿。从肝脏和肾脏均分离到同一株优势菌, 综合细菌形态、理化特性和 16S rRNA 基因序列及系统发育分析结果, 鉴定为鳘诺卡氏菌 (*Nocardia seriolae*), 命名为 SH07。分离菌回归感染实验表明该菌具有较强的致病性, 可引起大口黑鲈发病死亡, LD_{50} 为 5.6×10^5 CFU/mL。药敏试验显示, SH07 对环丙沙星、氟苯尼考、新霉素等 12 种药物敏感, 对阿奇霉素、恩诺沙星、氟甲喹等 16 种药物耐药。18 种中草药体外抑菌试验显示, 黄连水提取物对鳘诺卡氏菌的抑菌效果最好, 最小抑菌质量浓度 (MIC) 为 0.97 mg/ml, 最小杀菌质量浓度 (MBC) 为 3.91 mg/ml, 苏木、乌梅、黄芩的抑菌效果次之。本研究结果将为实际生产中大口黑鲈鳘诺卡氏菌病的科学防控和治疗提供理论依据。

关键词: 大口黑鲈; 鳘诺卡氏菌; 中草药; 体外抑菌效果

两株宿主来源不同的鲤春病毒血症病毒的比较及其灭活疫苗的制备

刘博文, 李书含, 耿毅, 陈德芳, 黄小丽, 欧阳萍*

四川农业大学动物医学院, 四川成都 611130

摘要: 鲤春病毒血症 (SVC) 是高致病性、需上报的疫病, 尚无特效药及商品疫苗, 研究不同宿主 SVCV 差异对拓宽疫苗抗原谱至关重要。本研究以鲈鲤源 SVCV-2016 和鲤源 SVCV-2022 为对象, 开展两方面研究:

两毒株毒力与基因组比较, 两毒株接种 EPC 细胞均出现典型病变, 但 SVCV-2016 增殖能力更强 (拷贝数 4570.88copies/ μ L、TCID₅₀ 7.94 $\times 10^6$ TCID₅₀/mL, 均高于 SVCV-2022 的 2454.71copies/ μ L、2.51 $\times 10^5$ TCID₅₀/mL); 对鲤致死率 SVCV-2016 (70%) 显著高于 SVCV-2022 (40%), 且其在鲤肝脾中病毒载量更高。基因组上, 两毒株同属亚洲分支 (一致性 96.7%), 但 SVCV-2016 单独成支, M、G、P 蛋白氨基酸序列分别有 9、18、19 个非同义替换。

灭活疫苗制备与效果评价, 经筛选, 采用 0.3% β -丙内酯 4 $^{\circ}$ C处理 48h 灭活病毒, 加弗氏佐剂制油包水型疫苗。结果显示: 两疫苗均显著提升鲤血清 IgM; SVCV-2016 疫苗还能增强 SOD 活力、提高 ACP/ AKP 浓度, 并上调脾脏 IgM、IFN- α 等免疫基因表达。攻毒保护率上, SVCV-2016 疫苗对两毒株保护率为 88.89%、81.25%, 优于 SVCV-2022 疫苗的 72.22%、75.00%。

综上, 鲈鲤源 SVCV-2016 毒力更强、增殖更佳, 其制备的灭活疫苗免疫效力更优, 为 SVCV 分子流行病学研究及商品化疫苗开发提供理论与实验基础。

关键词: 鲤春病毒血症病毒 (SVCV); 毒力; 基因组; 灭活疫苗; 免疫效果; 相对保护率

灭活鳎弧菌免疫后牙鲆黏膜相关淋巴组织的免疫应答特征

刘英钦, 绳秀珍*, 战文斌

中国海洋大学水产动物病害与免疫学实验室, 青岛 266003

摘要: 鱼类生活的水环境复杂多变, 肠、鳃、皮肤等鱼类黏膜相关淋巴组织作为隔绝鱼类与外界环境接触的第一道防线, 在鱼类免疫防御中发挥着重要的作用。黏膜免疫应答的过程复杂, 涉及多种免疫细胞和分子的协同作用, 阐明黏膜免疫应答的细胞与分子调控网络可为深入理解鱼类黏膜免疫防御机制提供基础。本研究利用灭活鳎弧菌注射/浸泡免疫牙鲆, 于免疫后 1 天和 7 天收集牙鲆后肠、鳃和皮肤组织, 利用转录组测序技术分析牙鲆黏膜相关淋巴组织的免疫应答特征。结果表明, 免疫后牙鲆黏膜淋巴组织形成以自然杀伤细胞介导的细胞毒性信号通路和 NOD 样受体 (NLRs) 信号通路为核心, 胞质 DNA 传感通路为主要应答通路的非特异性免疫应答, 以及以 T/B 细胞受体信号通路为核心, IgA 产生的肠道免疫网络为主要应答通路的特异性免疫应答。浸泡免疫能更早引起黏膜免疫应答, 鳃和皮肤组织的应答变化更剧烈; 注射免疫可诱发更长时间的应答, 后肠和鳃组织的应答变化更剧烈。T/B 淋巴细胞、凝集素、NLRs、Toll 样受体、溶菌酶、干扰素、白介素和细胞凋亡等相关因子在黏膜免疫应答中起重要作用; 且注射和浸泡免疫方式诱导的黏膜免疫应答具有组织差异性。研究结果丰富了硬骨鱼类黏膜免疫的基础理论, 为深入理解硬骨鱼类黏膜免疫防御机制, 以及鱼类新型黏膜疫苗开发及应用策略提供了基础依据, 具有重要的科学意义。

关键词: 牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*); 黏膜相关淋巴组织; 黏膜免疫; 转录组

牙鲆腹腔源外泌体在 T 细胞活化及疫苗免疫应答中的作用 机制研究

石雪燕, 迟恒*, 唐小千, 邢婧, 绳秀珍, 战文斌

中国海洋大学水产学院, 青岛 266003

摘要: 外泌体因其在细胞间通讯中的作用及携带生物活性物质的能力, 已成为极具潜力的疫苗候选载体。然而, 其在特异性免疫应答激活中的具体机制尚不明确。本研究旨在探究牙鲆腹腔细胞源外泌体在调控 T 细胞活化及疫苗诱导的免疫应答中的作用机制。通过差速离心法分别从经灭活鳃弧菌免疫及未免疫的牙鲆腹腔细胞中分离外泌体, 并利用小动物活体成像、荧光显微镜与流式细胞术对 DiO 标记外泌体的体内分布与细胞靶向性进行系统分析。结果显示, 免疫后腹腔细胞外泌体分泌量显著增加, 且该类外泌体能够与腹腔细胞发生融合, 不仅促进局部微环境中抗原呈递分子的转运, 还可特异性归巢至脾脏、头肾等重要淋巴器官。流式细胞术与 CFSE 增殖实验进一步证实腹腔源外泌体对 T 细胞活化具有显著增强作用。为深入阐释其分子机制, 本研究整合蛋白质组、转录组及小 RNA 组进行多组学联合分析, 发现免疫后腹腔源外泌体中高表达 MHCII 和 CD80/86 分子, 并特异性富集与 T 细胞活化相关的 mRNA (jun、p38a) 及 miRNA (novel-m0034-3p)。这些功能分子经外泌体递送进入靶细胞后, 可激活下游信号通路, 从而精确调控 CD4⁺T 细胞的活化进程。此外, 将免疫后的腹腔源外泌体与疫苗联用, 可显著提高 CD4⁺T 细胞比例及抗体产生水平, 表明腹腔源外泌体具有增强疫苗免疫保护效果的潜力。本研究从低等脊椎动物模型入手, 揭示了外泌体直接参与疫苗诱导的免疫应答, 为理解外泌体介导的免疫调控机制提供了新见解, 该机制可能在高等脊椎动物 (包括人类) 中同样存在, 具有重要的理论价值与潜在应用前景。

关键词: 外泌体; 腹腔细胞; T 细胞; 疫苗; 牙鲆

牙鲆肠黏膜微皱褶细胞的鉴定及其抗原摄取功能研究

孙甲松, 绳秀珍*, 唐小千, 邢婧, 迟恒, 战文斌

中国海洋大学水产学院, 青岛 266003

摘要: 哺乳动物的微皱褶细胞 (microfold cells, 简称 M 细胞) 作为黏膜组织中特化的上皮细胞, 能够摄取黏膜表面抗原并将其传递给抗原递呈细胞, 从而引发免疫应答, 是黏膜相关淋巴组织中免疫激活的初始效应位点。阐明 M 细胞的抗原摄取机制对于新型黏膜疫苗的开发具有重要意义。然而, 目前有关硬骨鱼类 M 细胞的研究资料较少, 缺乏通用的 M 细胞标记分子及特异性抗体, 且 M 细胞介导的免疫应答机制尚不明确。本研究采用荆豆凝集素-1 (*Ulex europaeus* agglutinin-1, UEA-1)、麦胚凝集素 (wheat germ agglutinin, WGA) 以及识别小鼠 M 细胞的单克隆抗体 NKM16-2-4 进行共染, 首次鉴定出牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 肠黏膜中存在两种 M 细胞亚群: NKM16-2-4⁺/WGA⁺和 NKM16-2-4⁺/UEA-1⁺, 或 UEA-1⁺/WGA⁺和 UEA-1⁺/WGA⁻。进一步通过凝集素化学染色确认 NKM16-2-4⁺/WGA⁺细胞对应 UEA-1⁺/WGA⁺细胞。酸性磷酸酶与碱性磷酸酶染色表明, UEA-1⁺细胞 (含 UEA-1⁺/WGA⁺细胞) 酸性磷酸酶活性低且缺乏碱性磷酸酶, 表现出与哺乳动物 M 细胞一致的生化特征。功能上, 通过向牙鲆灌胃灭活鳃弧菌及荧光标记微球, 在 UEA-1⁺细胞的基底部和细胞内观察到抗原荧光信号, 表明 UEA-1⁺细胞具有摄取颗粒性抗原的能力, 确认 UEA-1⁺细胞为牙鲆肠道 M 细胞。且 UEA-1⁺/WGA⁻ M 细胞的抗原摄取能力显著高于 UEA-1⁺/WGA⁺ M 细胞。扫描电镜及透射电镜观察显示, 牙鲆 M 细胞顶区具有短而不规则微绒毛, 基底部聚集有巨噬细胞和淋巴细胞。为探讨 M 细胞与免疫相关细胞的空间及功能联系, 采用鼠抗牙鲆 MHC II、IgM 及 CD83 抗体进行共染, 发现这些免疫相关细胞聚集于 M 细胞基底部; 在灭活鳃弧菌灌胃 6 小时后, 在 M 细胞基底部的 MHC II⁺细胞中发现鳃弧菌的存在, 表明抗原成功转运至抗原递呈细胞。这些结果表明硬骨鱼类肠黏膜 M 细胞是颗粒状抗原穿越上皮屏障的关键通道, 为针对硬骨鱼类 M 细胞的新型黏膜疫苗开发提供了重要理论依据和数据支撑。

关键词: 牙鲆; 微皱褶细胞; 抗原摄取; 肠黏膜相关淋巴组织; 黏膜免疫

牙鲈黏蛋白 Muc2 和 Muc5ac：黏膜免疫的关键守护者

王锦诚，绳秀珍*，唐小千，邢婧，迟恒，战文斌

中国海洋大学水产学院，青岛 266003

摘要：鱼类黏膜表面直接暴露于水环境中，黏液细胞（即杯状细胞）散布在上皮层中，通过分泌各种聚合黏蛋白形成黏液层来抵御病原体侵袭，维持黏膜稳态。与哺乳动物相比，鱼类对黏蛋白的依赖性更为显著。然而，在鱼类中，有关黏蛋白基因克隆和表达分析的信息却十分有限，由于缺乏特异性识别鱼类黏蛋白的抗体，黏蛋白的结构和免疫功能在硬骨鱼中尚不明确。本研究克隆表达了牙鲈（*Palichthys olivaceus*）两种典型分泌型黏蛋白 Muc2 和 Muc5ac，并对其理化性质、蛋白结构和进化保守性进行了分析。首次制备了牙鲈 Muc2 和 Muc5ac 的特异性抗体。在基因和蛋白水平上证实，Muc2 在后肠和鳃中表达，而在皮肤中不表达；Muc5ac 在皮肤和鳃中表达，在后肠中不表达。灭活迟缓爱德华氏菌（*Edwardsiella tarda*）浸泡免疫牙鲈后，Muc2 和 Muc5ac 的基因表达和黏液中蛋白水平均显著上调，检测到 Muc2⁺/Muc5ac⁺黏液细胞增殖，Muc2 和 Muc5ac 分泌增加。迟缓爱德华氏菌灭活疫苗可被 Muc2 和 Muc5ac 捕获而保留于黏液中，并在短时间内（24 小时）被快速清除。这些结果揭示了硬骨鱼黏蛋白 Muc2 和 Muc5ac 在蛋白水平上的特性，阐明了黏蛋白作为维持黏液屏障的关键守护者的作用，加深了对硬骨鱼黏膜屏障的认识。

关键词：牙鲈；黏蛋白 2（Muc2）；黏蛋白 5ac（Muc5ac）；黏膜免疫；黏液细胞

草鱼呼肠孤病毒 II 型 VLP 疫苗的研制

张环宇, 孔维光, 蔡畅, 徐镇*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 是我国重要的淡水养殖物种, 年产量约 590 万吨, 占全国淡水养殖总量的 20%以上。然而, 草鱼呼肠孤病毒 (Grass Carp Reovirus, GCRV), 尤其是 GCRV-II 型毒株引发的出血病每年造成巨大经济损失, 目前尚无针对该型病毒的有效疫苗。病毒样颗粒 (Virus-like Particles, VLPs) 疫苗通过病毒结构蛋白自组装形成空心颗粒, 能模拟天然病毒的空间构象并保留关键抗原表位, 同时不含遗传物质, 兼具良好的生物安全性与免疫原性, 可有效激活体液免疫和细胞免疫应答。本研究采用杆状病毒表达载体系统 (Baculovirus Expression Vector System, BEVS) 作为 VLPs 构建平台, 该系统具备多外源蛋白共表达和翻译后修饰能力, 已在人用及兽用疫苗领域广泛应用, 但在水产疫苗中仍处于探索阶段。报告人长期致力于杆状病毒基础研究, 已成功构建多种兽用 VLPs 疫苗的高产杆状病毒毒株。本研究将基于上述工作基础, 利用 BEVS 平台进行 GCRV-II VLPs 的理性构建与优化, 并最终对其免疫保护效果进行评价, 以期开发高效 GCRV-II 型病毒疫苗提供理论依据与技术支撑。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒 (GCRV-II); 杆状病毒; VLP 疫苗; 免疫保护效果

基于转录组和代谢组解析卵形鲳鲅抗刺激隐核虫调控机制

刘波^{a,b}, 刘宝锁^a, 郭华阳^a, 张殿昌^{a*}

^a 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广州 510300

^b 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 卵形鲳鲅 (*Trachinotus ovatus*) 是中国南方沿海重要的经济鱼类, 然而刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*) 的侵染严重制约了其养殖产业的健康可持续发展。为解析卵形鲳鲅抗虫性状的遗传基础, 本研究基于转录组和代谢组学, 比较分析了刺激隐核虫敏感组和抗性组的差异。转录组分析结果显示, 敏感组与抗性组间共鉴定出 2031 个差异表达基因 (DEGs), 其中 1004 个基因表达上调, 107 个基因表达下调。GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析表明, 这些差异基因主要富集于脂质代谢和氨基酸代谢等通路。非靶向代谢组学分析共鉴定出 461 种显著差异代谢物, 包括 295 种上调代谢物和 166 种下调代谢物。ES 组与 RS 组间存在显著的代谢物差异, 同样主要涉及脂质代谢和氨基酸代谢。进一步的 KEGG 通路富集分析揭示, 类固醇激素生物合成、 α -亚麻酸代谢和花生四烯酸代谢是受感染影响最显著的代谢通路。本研究通过整合转录组与代谢组学数据, 揭示了卵形鲳鲅在应对刺激隐核虫感染时, 敏感个体与抵抗个体在基因表达和代谢物水平上存在显著差异。这些差异主要集中在脂质代谢 (特别是类固醇激素生物合成、 α -亚麻酸代谢和花生四烯酸代谢) 和氨基酸代谢通路, 表明这些代谢过程在宿主抗性/易感性形成中可能发挥关键作用。

关键词: 卵形鲳鲅; 刺激隐核虫; 转录组; 代谢组

淡水鱼细菌性败血症重组亚单位疫苗的设计与评价

任燕^{1*}, 刘小芳^{1,2}, 张振德^{1,2}, 彭依烽^{1,2}, 莫绪兵¹, 王庆¹, 张德锋^{1*}

中国水产科学研究院珠江水产研究所/农业农村部渔用药物创制重点实验室/广东省水产动物免疫与绿色养殖重点实验室/上海海洋大学水产与生命学院

摘要: 淡水鱼细菌性败血症是农业农村部认定的二类动物疫病, 其严重危害各种淡水养殖鱼类, 流行病学调查表明维氏气单胞菌和嗜水气单胞菌为主要病原菌。本研究通过免疫印迹和蛋白质谱分析, 从维氏气单胞菌和嗜水气单胞菌的外膜蛋白中寻找共同保护性抗原, 并通过基因克隆表达、免疫印迹评价重组蛋白的抗原性。进一步, 将佐剂 ISA 763A 与 rPorin 蛋白溶液 1:1 乳化制备油包水型 rPorin-ISA 763A 疫苗, 腹腔注射接种草鱼鱼种, 同时设 PBS-ISA 763 对照组和 PBS 对照组, 通过活菌攻毒评价疫苗的免疫效果。结果表明, 获得维氏气单胞菌和嗜水气单胞菌共有的一种外膜蛋白 Porin OmpA。维氏气单胞菌 AVCA07 的 *porin ompA* 开放阅读框为 1035 bp, 其编码 344 aa, 分子量约 37 kDa(含信号肽), 成熟蛋白分子量约 35 kDa。维氏气单胞菌 AVCA07 的外膜蛋白 Omps 的兔抗血清能够识别重组的 Porin OmpA (rPorin)。rPorin-ISA 763A 组的血清抗体效价 14 d 达到 1:400, 21 d 上升为 1:6400, 28 d 为 1:3200, 56 d 的效价为 1:1600; 其血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和溶菌酶活性 (LSZ) 显著高于 PBS 对照组, 且 28 d 的活性最高。免疫 28 d 后, 分别用维氏气单胞菌菌株 AVCA07 及嗜水气单胞菌菌株 Hn099 攻毒各试验组, rPorin-ISA 763A 组的相对保护率 (RPS) 分别达到 80.0%和 88.9%。可见, 重组蛋白 rPorin 具有良好的抗原性, 可作为细菌性败血症基因工程亚单位疫苗开发。

关键词: 淡水鱼细菌性败血症; 重组外膜蛋白; 抗原性; 免疫效果; 草鱼

FasL 驱动鱼类 CD8⁺ T 细胞效应功能与抗菌免疫的新机制

李康, 韦秀梅, 杨嘉龙*

华东师范大学生命科学学院, 上海 200241

摘要: CD8⁺ T细胞是鱼类抵御病原感染的关键武器, 然而其调控机制尚不明确。本研究以尼罗罗非鱼为模型, 探究了鱼类CD8⁺ T细胞的效应功能和调控机制。我们首先研发了CD8 α 单抗, 鉴定了罗非鱼CD8⁺ T细胞, 并发现耗竭CD8⁺ T细胞削弱了杀鱼爱德华氏菌 (*Edwardsiella piscicida*) 感染后鱼体的病原清除和存活, 明确了其在抗感染免疫中的关键地位。利用siRNA分别干扰FasL途径和穿孔素/颗粒酶途径, 均损害了CD8⁺ T细胞的效应功能, 加剧了鱼体死亡, 表明与哺乳动物主要依赖穿孔素/颗粒酶的策略不同, 鱼类CD8⁺ T细胞的效应功能同时依赖FasL和穿孔素/颗粒酶途径。进一步的研究表明, 细菌感染诱导了CD8⁺ T细胞中FasL的表达, 而重组FasL蛋白刺激和FasL⁺CD8⁺ T细胞的过继转移均诱导了靶细胞的强烈凋亡, 证实FasL通过触发凋亡信号增强罗非鱼CD8⁺ T细胞的细胞毒性。同时, 罗非鱼FasL也触发了T细胞自身凋亡以维持免疫稳态。相较于哺乳动物中FasL主要参与T细胞稳态调控而非直接效应功能或抗感染免疫的传统认知, 我们由此提出FasL在鱼类中具有执行效应功能和维持稳态的双重独特功能。机制上, 罗非鱼T细胞通过mTORC1/c-Myc轴促进病原体诱导的FasL表达, 其与Fas结合后激活caspase-8/caspase-3通路, 介导靶细胞及T细胞自身凋亡; 而抑制mTORC1、c-Myc或caspase-8的活性均会削弱FasL依赖的凋亡信号。总之, 我们的研究结果揭示了支撑鱼类CD8⁺ T细胞效应功能的新机制, 证实CD8⁺ T细胞在进化过程中重塑了FasL依赖性策略, 从而增强了适应性免疫应答的精确性与特异性。

关键词: 适应性免疫; CD8⁺ T细胞; 凋亡; FasL; 罗非鱼

基于“肠道菌群/SCFAs/HIF-1 α /IL-22”轴揭示黄颡鱼响应低氧胁迫的分子机制研究

张宇飞, 宦恒庆, 钱子昂, 丁玉兵, 暨杰, 宁先会, 尹绍武*, 张凯*

南京师范大学海洋科学与工程学院, 江苏 南京 210023

摘要: 在集约化水产养殖中, 缺氧引发的肠道炎症严重危害黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 健康。本研究首先发现缺氧通过激活HIF-1 α 信号通路, 结合IL-22基因启动子的缺氧响应元件, 显著上调黄颡鱼IL-22表达。IL-22通过调控Th17细胞分化通路发挥双重功能: 既可缓解缺氧导致的肠道固有层疏松和空泡化等组织损伤, 又能诱导促炎因子IL-1 β 和TNF- α 表达。为开发针对性防控策略, 本研究进一步从黄颡鱼肠道分离出丁酸梭菌B3 (*Clostridium butyricum* B3), 其16S rDNA与野生型同源性达99%。该菌株耐受性强, 24 h内高效产乙酸与丁酸, 并对嗜水气单胞菌等病原体具有抑制作用。饲喂实验表明, 添加 3.0×10^7 CFU/g B3 30天后, 幼鱼特定生长率提升61.5%以上, 肠道胰蛋白酶、 α -淀粉酶和脂肪酶活性显著增强, 同时酸性磷酸酶 (ACP) 活性提高25%、丙二醛含量降低38.5%。组织学显示肝细胞密度增加、杯状细胞增殖, 且肠道菌群多样性上升而丰度下降。分子机制证实B3通过激活脂代谢相关基因 (*grhpr*、*enpp2*) 及过氧化物酶体增殖物激活受体通路, 协同改善免疫与代谢功能。综上, HIF-1 α /IL-22轴是缺氧性肠炎的关键调控靶点, 而丁酸梭菌B3可作为益生制剂增强黄颡鱼抗逆能力, 为水产养殖疾病防控和绿色育种提供新方案。

关键词: 丁酸梭菌; HIF-1 α /IL-22轴; 低氧胁迫; 肠道炎症; 黄颡鱼

新型 BEST4⁺细胞在鱼类肠道黏液形成中的功能研究

刘瑜萍, 王艳敏, 张新宇, 薛亭*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛, 266237

摘要: 肠道黏液层作为鱼类肠道抵御外界侵害的首要物理化学屏障, 亦是抗生素、疫苗、益生菌及功能性饲料添加剂等常用肠道疾病防控手段发挥功能的作用位点, 其持续且稳定的形成对肠道抵御外界侵害至关重要。然而, 目前对鱼类肠道黏液层形成的分子调控机制仍缺乏系统性认识。哺乳动物研究表明, 黏蛋白由杯状细胞分泌后, 需依赖 HCO_3^- 、 Cl^- 和 H^+ 等离子发生解聚与水合, 膨胀超过 1000 倍形成黏液, 但这些离子在鱼类肠道中的具体来源尚未明确, 严重制约了鱼类肠道疾病防控技术的发展与创新。近期, 我们首次在经济鱼类许氏平鲈 (*Sebastes schlegeli*) 肠道中发现一类新型细胞亚群, 因其特异性表达 Best4 蛋白, 命名为 BEST4⁺细胞。该类细胞具备两个显著特征: 第一, 其高表达的 Best4、Cftr、Otop2、Ca²⁺ 及 Guca2a/b 等蛋白, 均与黏液形成所必需的离子的来源与转运密切相关; 第二, 该细胞在空间分布上紧密围绕杯状细胞, 提示其在鱼类肠道黏液形成过程中发挥至关重要的作用。通过 YFP-H148Q/I152L 荧光淬灭动力学实验, 我们证实 Best4 与 Cftr 蛋白确实具备 Cl^- 转运功能; 在 BEST4⁺细胞特异性基因缺失的斑马鱼模型中, 观察到肠道黏液结构异常、肠梗阻现象发生, 并伴随杯状细胞数量增多, 进一步提示 BEST4⁺细胞或许是破解鱼类肠道黏液形成机制的关键。本研究初步揭示了 BEST4⁺细胞在鱼类肠道黏液屏障建立中的重要作用, 不仅为解析黏液形成机制提供了新视角, 也为开发基于黏液调控的新型肠道疾病防控策略奠定了重要理论基础。

关键词: BEST4⁺细胞; 肠道; 黏蛋白; 黏液形成; 离子

大口黑鲈巨噬细胞迁移抑制因子及其受体的分子鉴定及表达分析

鲍尔沁, 高谦*

上海海洋大学, 上海, 201306

摘要: 巨噬细胞迁移抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是一类在炎症和免疫反应中起着重要作用的多效细胞因子。已有研究表明, MIF 在高等脊椎动物中与许多感染性、炎症性和免疫性疾病相关。MIF 通过与其细胞表面受体 II 类主要组织相容性复合体不变链 (major histocompatibility complex, class II invariant chain, CD74) 结合, 可刺激细胞外信号调节蛋白激酶 1/2

(Extracellular regulated protein kinases 1/2, ERK1/2) 和蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 信号通路, 从而调节细胞增殖和存活。目前, MIF 和 CD74 已在虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)、斑马鱼 (*Danio rerio*)、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 等多种硬骨鱼中被克隆和研究, 但仍有许多鱼类未被探索。本研究以大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 为研究对象, 克隆获得了大口黑鲈的 MIF 和 CD74 基因。MIF 和 CD74 的 cDNA 全长分别为 598 bp 和 1779 bp, 其开放阅读框 (Open Reading Frame, ORF) 分别编码 114 个和 282 个氨基酸, 相对分子质量分别为 12.24 kDa 和 31.59 kDa, 理论等电点分别为 6.70 和 7.56。预测的 CD74 跨膜结构域包含 23 个氨基酸, 而 MIF 没有跨膜结构域。多序列比对和系统发育树显示, MIF 和 CD74 与鱼类同源基因具有较高的相似性; 两者分别与硬骨鱼类的同源蛋白聚成一簇, 而与哺乳动物、鸟类、爬行类及两栖类动物分开。荧光定量表达分析结果显示, 大口黑鲈所检测的 8 种组织 (脑、头肾、脾脏、肝、肠、鳃、肌肉、皮肤) 中, MIF 基因在脑中的表达量最高, 其次是脾脏和肠, 在肝中最低; 而 CD74 基因在脾脏中的表达量最高, 其次是头肾和鳃, 在肝中最低。在聚肌胞苷酸 (polyinosinic-polycytidylic acid, Poly(I:C))、迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 和鳜诺卡氏菌 (*Nocardia seriolae*) 刺激后, 大口黑鲈 MIF 基因在脾脏、头肾这几个与免疫相关的组织中的表达量均显著上调; 而 CD74 基因在头肾和脾脏中在鳜诺卡氏菌感染后 12 h 的表达最高, 且表达量的变化呈先上升后下降的趋势, 说明 CD74 基因的表达与鳜诺卡氏菌刺激诱导产生的免疫反应密切相关。本研究虽然丰富了 MIF 和 CD74 在鱼类免疫反应中的认识, 但 MIF 如何通过受体 CD74 影响巨噬细胞的趋化性招募尚未可知。后续将对 MIF 和 CD74 参与细菌感染大口黑鲈后的免疫调节作用进行研究, 以期阐明其在鱼类免疫中行使功能的信号途径和作用机制。

关键词: 大口黑鲈; MIF; CD74; 基因表达

草鱼出血病益生菌口服疫苗的研究

王庆, 王楠, 吴辉亮, 李威, 王英英, 郑树城, 尹纪元*

中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广州

摘要: 由基因 II 型草鱼呼肠孤病毒(Grass Carp Reovirus, GCRV)感染引起的草鱼出血病由于死亡率高、流行范围广给我国水产养殖业造成了巨大危害。疫苗免疫是目前预防草鱼出血病发生的最有效方法,但是水产动物注射免疫操作繁琐,难以大规模推广应用。本研究以乳酸菌为递送载体,选择 GCRV 的关键中和 VP6 蛋白作为免疫原,为进一步提高免疫保护效果,将强效黏膜免疫佐剂 LTB 和气单胞菌外膜蛋白 OmpAII 与 VP6 串联,构建了一种融合展示表达重组蛋白的草鱼出血病乳酸菌黏膜免疫口服疫苗。经发酵培养后对实验动物进行口服免疫,实验结果表明:VP6 经口服免疫后能够同时诱导局部黏膜免疫系统和系统免疫器官产生特异性和非特异性免疫应答,在免疫后第 14 天特异性抗体水平显著升高,免疫后感染存活率显著提高。LTB 能够调节 VP6 诱导的黏膜免疫反应,进而提高鱼体的先天免疫和获得性免疫水平,并进一步提高了疫苗的免疫保护率。OmpAII 不仅可以介导鱼体产生对嗜水气单胞菌的特异性免疫保护,还可以通过活化 TLR-MHC II-IgM 信号轴快速诱导鱼体产生体液免疫应答,缩短免疫应答时间,提高免疫保护效果。本研究为免疫预防草鱼出血病的发生提供新方向,同时也为鱼类黏膜免疫和口服疫苗的研究奠定了基础。

关键词: 草鱼出血病; VP6; LTB; OmpAII; 口服疫苗

claudin-3 基因在尼罗罗非鱼抗无乳链球菌感染血脑屏障中的防御作用

金绍玲^{1,2}, 陈杨慧^{1,2}, 李 可^{1,2}, 刘蛟徐弋^{1,2}, 李 闯¹, 蔡 佳^{1,2,3},
黄 瑜^{1,2}, 汪志文^{1,2}, 简纪常^{1,2}, 王 蓓^{1,2*}

¹广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524088; ²广东省水产动物病害防控与健康养殖重点实验室/水产经济动物病害控制广东省普通高校重点实验室, 广东湛江 524088; ³广东海洋大学深圳研究院, 广东深圳 518120

摘要:【目的】克隆尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*) *claudin-3*基因并结合体内体外分析其在无乳链球菌刺激后的表达情况, 为探究*claudin-3*基因在尼罗罗非鱼抗无乳链球菌感染过程中的作用提供基础资料。【方法】根据NCBI已公布的尼罗罗非鱼*claudin-3*基因序列(GenBank登录号XM_005465025.4)应用Primer 5.0设计引物对*claudin-3*基因进行克隆, 利用生物信息学对On-*claudin-3*进行分析, 运用荧光定量PCR分析其组织分布情况及在无乳链球菌刺激下的各组织表达模式; 通过尼罗罗非鱼脑微血管内皮细胞TVEC-01和脑星形胶质细胞TA-02构建尼罗罗非鱼体外血脑屏障模型, 进一步分析该基因在无乳链球菌突破血脑屏障引发脑膜炎过程中发挥的功能及作用。【结果】通过基因克隆获得*claudin-3*基因全长序列为648 bp, 编码216个氨基酸。On-*claudin-3*理论分子量为23.3 kD, 理论等电点为8.12。On-*claudin-3*氨基酸序列与奥尼罗非鱼聚为一支, 二者亲缘关系较近, 同源性高。On-*claudin-3*在肝脏、头肾和脑等组织的表达量较高, 在肠道和脾脏的表达水平相对较低, 说明On-*claudin-3*的分布具有一定的组织特异性。在无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)强毒株ZQ0910刺激后, 尼罗罗非鱼*claudin-3*在皮肤、肝脏、脾脏、肠道的表达量呈现为先上升、后下调、继而上升的变化趋势, 而在脑、肌肉、头肾*claudin-3*表达量是先下降后上升的变化趋势。【结论】尼罗罗非鱼*claudin-3*基因复杂的变化趋势体现了病原与宿主之间复杂的相互作用。此外, 该基因上调表达也说明其在抵抗无乳链球菌入侵宿主的过程中发挥极其重要的作用, 尤其体现在血脑屏障对无乳链球菌侵袭的防御作用上, 以此来保障中枢神经系统内环境的稳定。

关键词: 尼罗罗非鱼; *claudin-3*基因; 无乳链球菌; 血脑屏障; 防御

鲤 IL-17B 基因克隆及免疫学功能研究

杨莉, 高萌婕, 丁谊, 孔祥会*, 蒋昕彧*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 河南 新乡, 453007

摘要:近年来种质资源退化、病害频发等因素严重制约了我国鲤养殖业的可持续发展。维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)是引起细菌性败血症的主要病原体,广泛分布在养殖水体中,能够感染人、兽和水生生物,并造成严重的经济损失。白细胞介素 17B(Interleukin 17B, IL-17B)属于 IL-17 家族,在 Th17 介导的抗菌免疫应答过程中发挥重要作用。在硬骨鱼类中存在相对完整且保守的 IL-17B 基因序列,但是 IL-17B 生物学功能相关的研究报道较少,在抵御细菌感染中发挥的作用尚不明确。本研究克隆了鲤 IL-17B 基因(*CcIL-17B*)的 CDS 序列,对其序列特征进行生物信息学分析。构建 *CcIL-17B* 原核表达载体,利用大肠杆菌(*Escherichia coli*)表达系统,表达纯化鲤 IL-17B 重组蛋白(Recombinant *Cyprinus carpio* IL-17B, r*CcIL-17B*),将其作为福尔马林灭活疫苗佐剂,检测免疫后血清抗体效价以及病原感染后鲤存活率和组织载菌量。体内过表达 IL-17B,检测 *A.veronii* 攻毒后组织载菌量和鱼体存活率,并检测了 r*CcIL-17B* 在头肾原代细胞中对炎症细胞因子(IL1 β 、IL10、IFN γ 、TNF α)表达水平的影响,同时研究了 r*CcIL-17B* 对免疫细胞趋化作用和吞噬能力的影响。研究结果显示,IL-17B 在脾脏中表达水平较高, *A.veronii* 可以有效诱导 IL-17B 在肝脏和头肾中的表达。r*CcIL-17B* 相比于弗氏完全佐剂(Freund's Complete Adjuvant, FCA)能更快、更有效地诱导特异性抗体产生。IL-17B 过表达能够显著降低头肾、肝脏和脾的载菌量,并提高存活率。r*CcIL-17B* 能够调控炎症细胞因子的 mRNA 表达水平,提高吞噬细胞的吞噬活性。Transwell 实验结果显示, r*CcIL-17B* 对免疫细胞无直接趋化效果,但其孵育原代细胞后的培养基上清能显著趋化头肾原代细胞。本研究克隆鉴定了鲤 IL-17B 分子,并对其免疫功能进行了初步探索,实验结果为硬骨鱼类细胞因子作用网络的绘制提供了依据,为水产养殖免疫防控技术的建立提供了思路和新视角。

关键词: 鲤; 免疫应答; 疫苗佐剂; IL-17B

鲤 Wnt/ β -catenin 信号通路在炎症调控中的作用研究

贾晏阳, 刘浩, 路植杰, 候利波*, 孔祥会*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 河南 新乡, 453007

摘要: 嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 是鲤 (*Cyprinus carpio*) 最常见的细菌性病原之一, 其感染极易引起鲤发生炎症反应, 为了探究鲤 Wnt/ β -catenin 信号通路在炎症调控中的免疫相关作用, 本实验首先克隆 CcWnt3a 和 Cc β -Catenin 的 cDNA 全长序列并对其序列特点进行分析, 发现其在进化上高度保守。qRT-PCR 结果显示该基因在鲤各组织中广泛分布, 且成功诱导原核表达蛋白并制备了多克隆抗体。体内外免疫响应结果显示 *A. hydrophila* 感染后, CcWnt3a 和 Cc β -Catenin 的表达水平均显著上调, 表明鲤经 *A. hydrophila* 感染后促进 CcWnt3a 和 Cc β -catenin 的表达。其次, 分别在个体和细胞水平上, 使用特异性激活剂 (BIO) 处理宿主激活 Wnt/ β -catenin 信号通路后, qRT-PCR 结果显示, 促炎因子肿瘤坏死因子 (TNF) 和干扰素 (IFN) 显著下调, 特异性抑制剂 (FH535) 处理结果与此相反。在体外鲤上皮瘤细胞系 (EPC) 中分别过表达 GFP-CcWnt3a 和 GFP-Cc β -catenin 后, qRT-PCR 结果显示促炎因子 TNF 和 IFN 也显著下调。该部分结果说明激活该信号通路可以调控促炎因子 TNF 和 IFN 的表达。为了探究 Wnt/ β -catenin 信号通路在鲤 *A. hydrophila* 感染时的作用机制, 分别在个体和细胞水平上过表达 GFP-CcWnt3a 和 GFP-Cc β -catenin 后经 *A. hydrophila* 感染, 发现促炎因子 TNF 和 IFN 的表达均显著下调。同时在个体水平上, 分别过表达 GFP-CcWnt3a 和 GFP-Cc β -catenin 后经 *A. hydrophila* 感染发现宿主的死亡率显著下降; 在细胞水平上, 在 EPC 细胞中过表达 GFP-CcWnt3a 和 GFP-Cc β -catenin 后经 *A. hydrophila* 感染发现宿主抵抗病原菌的能力显著增强, BIO 处理结果与此相同, FH535 处理结果与此相反。上述结果说明在 *A. hydrophila* 感染宿主时, 鲤 Wnt/ β -catenin 通路可以通过调控促炎因子 TNF 和 IFN 的表达抑制炎症的发生, 进而增加宿主应对病原感染的能力。

关键词: 鲤; Wnt3a; β -Catenin; 嗜水气单胞菌; 炎症

CD22 acts as an inhibitory co-receptor on B cells and plays an important role in regulating the innate immune response in *Oreochromis niloticus*

Qi Ye, Jimin Niu,, Yu Huang, Jichang Jian*

广东海洋大学大学, 水产学院, Zhanjiang 524088

Abstract: CD22 (Siglec-2), is a member of the sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin (SIGLEC) family and is expressed exclusively on cells of B-cell lineage. It is involved in B cell activation, signaling, and immune regulation of mammals. Nevertheless, the study of immune defenses and mechanisms of CD22 in early vertebrates remains scarce. In our study, the sequence of CD22 (OnCD22) was first reported in a study by Molecular cloning with an open reading frame of 1071bp for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Using quantitative profiling, we detected widespread OnCD22 expression in the healthy tilapia, with higher transcript abundance observed in hematopoietic tissues (head kidney and blood) and lower detection was reported for integumentary systems (skin). Pathogen challenge by intraperitoneal injection with the *Streptococcus agalactiae* elicited substantial ($p<0.01$) transcriptional induction in ten tissue systems, including robust upregulation in well-defined immunologically active sites. Additionally, experimental findings indicated that OnCD22 inhibits the IFN1/IFN3 cascade and activates the STAT1 pathway simultaneously. Taken together, these results establish OnCD22 as a multifaceted immune regulator that controls teleost innate immunity.

Keywords: Nile tilapia; CD22; Immune functions and mechanisms; Signal pathwa

Mechanisms of IL-20 family cytokines (IL-20, IL-22, IL-26) in gut mucosal immunity of teleost fish: Insights from *Carassius cuvieri* × *Carassius auratus* red var.

Yiyang Tang, Zejun Zhou*

College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha, 410081, Hunan, China

Abstract: *Carassius cuvieri* × *Carassius auratus* red var. has become an important farmed fish with high economic value in China. In this study, we identified and characterized IL-22, IL-20, IL-26 in this fish, all of which exhibit evolutionary conservation and structural domains homologous to higher vertebrates. Following *Aeromonas hydrophila* infection, these cytokines were significantly upregulated in the gut. Co-immunoprecipitation assays confirmed interactions between IL-22/IL-26 and their receptor complexes (IL-10R2/IL-22RA1 for IL-22; IL-10R2/IL-20R1 for IL-26). Functional studies demonstrated that IL-20, IL-22 and IL-26 activate the JAK1-STAT3 signaling axis, enhancing gut barrier integrity and reducing bacterial colonization. Conversely, soluble receptor IL-22BP or knockdown of transmembrane receptors (e.g., IL-10R2, IL-22RA1, IL-20R1) inhibited JAK1-STAT3 activation and exacerbated infection. These findings reveal conserved yet specialized functions of IL-20 family cytokines in teleost gut mucosal immunity, highlighting their potential as therapeutic targets for bacterial infections in aquaculture.

Keywords: IL-20 family cytokines; Gut mucosal immunity; *Aeromonas hydrophila*; Teleost

Characterization of type 2 interleukin-1 receptor (IL-1R2) as an inhibitory regulator of trained immunity in teleost

Shu Cui, Qiuxi Yang, Yuanxing Zhang, Qin Liu, Dahai Yang, Zhuang Wang *

State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

Abstract: Trained immunity refers to the immune memory of innate immune cells, which is driven by metabolic rewiring and epigenetic reprogramming after initial stimulation. Several endogenous inducers of trained immunity have been reported, such as oxidized low-density lipoprotein (oxLDL), interleukin, and interferon. However, the negative regulatory molecules of trained immunity remain largely elusive. In this study, we identify a member of IL-1 family receptors, interleukin-1 receptor 2 (IL-1R2), as a potential inhibitory regulator of trained immunity in turbot. Pre-incubating recombinant IL-1R2 protein (rIL-1R2) with turbot neutrophils could inhibit β -glucan-induced training phenotypes. Specifically, rIL-1R2 incubation significantly decreases the expression of genes involved in the TLR/IL-1R and downstream MAPK/NF- κ B signaling pathway in trained neutrophils, and further reversing the elevated expression of pro-inflammatory cytokines such as IL-6 and TNF- α in response to bacterial reinfection. Moreover, rIL-1R2 inhibits the increasing production of intracellular reactive oxygen (ROS), myeloperoxidase (MPO) activity and neutrophil extracellular traps (NETs) in trained neutrophils, ultimately impairing the bacterial killing ability. Taken together, our work demonstrates that the decoy receptor IL-1R2 could negatively regulate trained immunity activation in turbot neutrophils. These findings enrich the theory of trained immunity in teleost fish and provide a potential target for disease prevention and treatment in aquaculture.

Keywords: Trained immunity; Neutrophils; IL-1R2; Bactericidal activity; Turbot

SAP Modulates Opsonophagocytosis and Inflammatory Responses in Macrophages through Interaction with FcγRIIa in Nile Tilapia

Jiadong Li, Yansong Wang, Junjie Xu, Xiaoxue Yin, Liangliang Mu, Jianmin Ye*

School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou, 510631, P. R. China.

Abstract: Pentraxins are considered to have originated before the evolution of adaptive immunity and are referred to as “innate antibodies” in mammals. However, the mechanisms supporting the “innate antibodies” hypothesis remain unclear in primitive vertebrates. In this study, *Oreochromis niloticus* PTX2/SAP (OnSAP) was successfully purified from the serum. We demonstrated that OnSAP binds to and agglutinates two significant pathogens of tilapia, *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus agalactiae*, thereby directly inhibiting their proliferation. *In vivo* experiments involving *OnSAP* interference and protein injection confirmed that OnSAP significantly suppresses the growth of pathogenic bacteria while enhancing the inflammatory response. Additionally, OnSAP was found to enhance macrophage phagocytosis of bacteria and promote the production of inflammatory factors. This process was shown to be mediated by the macrophages surface receptor Immunoglobulin G Fc receptor (FcγRIIa) and its downstream antibody-FcR signaling pathways, as identified through transcriptomic analysis. Consequently, this enhances macrophage activity and antibacterial immune responses *in vivo*. These findings provide the first evidence that SAP can utilize this evolutionary mechanism to combat bacterial infections in primitive vertebrates that lack IgG, while also retaining its ancestral functions observed in invertebrates. This research provides new insights into the role of pentraxins as “innate antibodies”.

Keyword: Nile tilapia;Pentraxin;Fcγ Receptor;Opsonophagocytosis;Macrop

Study on interaction between phage and its host *Aeromonas hydrophila*

Yuxin Guo , Yiyuan Yu, Wentao Chen, Hongjiao Cai, Mao Lin*

Fisheries College, Jimei University, Engineering Research Center of the Modern Technology for Eel Industry, Ministry of Education, 361021, China

Abstract: Phage-host interaction between phage phiA008 and its host bacteria *Aeromonas hydrophila* MX16A was studied. At first, a mutant phage-resistant strain MX16A_R1 was obtained by co-culturing of phage phiA008 and *A. hydrophila* MX16A, and the differences between MX16A and MX16A_R1 in terms of adsorption ability, lysis characteristics, and whole genome were compared. It was found that compared with MX16A, the resistant strain MX16A_R1 had a nonsense mutation in the gene for the outer membrane protein LamB, and a gene-deleted strain was constructed to verify the function of the *lamB* gene. It was proved that the deletion of the *lamB* gene was the root cause of the *A. hydrophila*'s resistance to phiA008, and it was also inferred that the LamB protein of the *A. hydrophila* is the key receptor for the interaction between phiA008 and the host. In addition, the thesis also studied the adaptive changes in biofilm formation, motility, virulence, and antibiotic sensitivity of the resistant strain due to the *lamB* gene mutation; Evaluated the synergistic effect of using two bacteriophages targeting different host adsorption receptors; And explored the occurrence probability and mutation point preference of the *lamB* gene mutation event in multiple *A. hydrophila*. The results of this study provide a more adequate theoretical basis for the treatment of *Aeromonas hydrophila* disease by phages.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*; Bacteriophage; Receptor; Interaction; lamB

***fliC* mediates *Pseudomonas plecoglossicida*'s hijack of inflammatory immunity and glucose metabolism in the large yellow croaker**

Peng Xizhi, Sun Yujia, Tan Huanjiao, Pang Huanying, Zhao Caiyuan, Yan Qingpi*

Fisheries College, Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of

Agriculture, Jimei University, Xiamen 361021, China

Abstract: The bacterial flagellum plays a crucial role in pathogenesis. However, the mechanism by which the flagellum interferes with host energy metabolism remains unclear. In this study, we confirmed that deletion of the *fliC* gene resulted in a 30% reduction in the virulence of *Pseudomonas plecoglossicida* against large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). Compared to the wild-type strain (WT) infection group, the $\Delta fliC$ infection group exhibited a 29.54% decrease in the number of vacuolar degeneration hepatocytes and a 50.83% higher liver glycogen content. Furthermore, infection led to decreased mitochondrial complex V activity, reduced NAD⁺/NADH ratio, lower levels of reduced glutathione (GSH), and increased lipid peroxide levels; however, these metabolic perturbations were significantly ameliorated in the $\Delta fliC$ group compared to the WT group. Proteomic analysis revealed that the dysregulation of the complement cascade and core carbon metabolic pathways observed in the WT infection group liver was significantly alleviated in the $\Delta fliC$ infection group. Additionally, in the $\Delta fliC$ infection group, pro-inflammatory genes (such as *Tlr5*, *Tnfa*, *Il1 β*) were downregulated, while lipid metabolism-related genes (such as *Acox1*, *Cpt1a*, *Ppara*) were upregulated, suggested suppression of the Tlr5/NF- κ B immune signaling axis and enhanced fatty acid β -oxidation. Collectively, *fliC* may mediate the disruption of host glucose and lipid metabolism homeostasis through a Tlr5-triggered immunometabolic regulatory axis. In conclusion, this study demonstrates that bacterial flagella modulate host energy metabolism, expanding our understanding of flagellum-mediated pathogenesis.

Keywords: *Pseudomonas plecoglossicida*, *fliC*, large yellow croaker, flagella, Tlr5/NF- κ B, glucose metabolism.

LncRNA432-miR-21-y-DAPK2 ceRNA crosstalk regulates antibacterial response in hypoxia stress through mediating mitochondrial apoptosis in teleost fish

Bing Han, Linxin Zhou, Yaxuan Shi, Jie Ji, Kai Zhang, Shaowu Yin, Xianhui Ning*

College of Marine Science and Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China

Abstract: As cold-blooded vertebrates, fish are sensitive to environmental changes. The outcome of pathogen infections in fish therefore is highly shaped by hypoxia. The epigenetic regulation of competitive endogenous RNA (ceRNA) bridging non-coding RNAs and mRNAs represents a promising mechanism modulating antibacterial response plus environmental stress. Here, we for the first time systematically analyzed the ceRNA crosstalk in fish response to the combined stimulation of hypoxia and bacterial infection (HB) dual-stimulation. We found that mitochondrial apoptosis initiated by loss of mitochondrial membrane potential was the main causative for liver damage induced by HB challenge in fish. Accordingly, an apoptosis-associated ceRNA network was constructed, based on which a key crosstalk consisting of lnc432, miR-21-y and DAPK2 was identified. Mechanistically, DAPK2 acted as a positive regulator, knockdown of which significantly increased the bacterial burden during hypoxia by promoting mitochondrial apoptosis. MiR-21-y inhibited DAPK2 expression at both mRNA and protein levels by interacting with its 3'UTR, thereby enhancing DAPK2-mediated apoptosis determinations, and exacerbating bacterial infection during hypoxia. Lnc432 knockdown significantly increased miR-21-y and decreased DAPK2, and substantially promoted the expression of genes associated with mitochondrial apoptosis and enhanced the bacterial load during hypoxia stress. Finally, we revealed that lnc432 sponged miR-21-y to alleviate its suppression on DAPK2 in the ceRNA regulatory way. Our findings reveal that lnc432-miR-21-y-DAPK2 ceRNA crosstalk occurs in fish response to bacterial infection during hypoxic stress through mediating mitochondrial apoptosis. This study provides novel insights into the mechanism underlying the interactions among pathogens, hosts and environmental factors.

Keywords: LncRNA; MiR-21-y; DAPK2; Mitochondrial apoptosis; Antibacterial response

Expression Characteristics of PRMT1 and Its Regulatory Role in Antibacterial Inflammatory Response in *Hexagrammos otakii*

Xiaoqing Yu, Li Li, Youhong Wang, Danlei Xu, Haibin Ye, Jing Diao*

Marine Science research Institute of Shandong Province, Qingdao 266104, China

Abstract: Inflammation constitutes a vital component of the innate immune system in fish, and the balanced regulation of the anti-pathogenic inflammatory response is critical for the fish to efficiently combat different diseases. Protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1) plays a pivotal role in cellular arginine methylation, contributing to the regulation of various cellular biological processes. This study systematically investigated the expression patterns, functions, and roles of PRMT1 in the antibacterial inflammatory response of *H. otakii*. Quantitative PCR and protein analysis revealed significant upregulation of PRMT1 expression in spleen and kidney following infections with *Streptococcus iniae*, *Vibrio harveyi* and *Mycobacterium marinum*, with peak levels observed at 12-24h post-infection. Notably, *S. iniae* induced the highest PRMT1 transcription and protein expression compared to other pathogens. PRMT1 enzyme activity was also elevated in response to bacterial infections and pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), with peptidoglycan (PGN) eliciting the highest activity. Inhibition of PRMT1 with TC-E 5003 significantly reduced the expression of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-8, TNF α) and serum enzyme activities (iNOS, CAT, SOD) in *S. iniae*-infected fish, and caused an increased bacterial loads in spleen tissue. Collectively, these findings indicate that PRMT1 plays an important role in modulating inflammation and immune defense against pathogens in *H. otakii*. The results would provide valuable insights into the biological functions of PRMT1 in fish and offer novel perspectives for disease prevention and control strategies in *H. otakii*.

Keywords: *PRMT1*; *Hexagrammos otakii* ; expression characteristics ; inflammation modulation; immune defense

Single-Cell Transcriptome Profiling Reveals Conserved IFN γ -IL8 Signaling-Induced Antibacterial Neutrophil States During Bacterial Infection

Xue Zhai^{1,2,3,#}, Minghao Zhang^{1,2,3,#}, Kang Li^{4,#}, Wei Li^{1,2,3,#}, Xiaolong Li⁵, Wa Gao^{1,2,3}, Zhaosheng Sun^{1,2,3}, Dan Huang^{1,2,3}, Songqian Huang^{1,2,3}, Mingli Liu^{1,2,3}, Zhichao Wu^{1,2,3}, Jun Zou^{1,2,3}, Liangbiao Chen^{1,2,3}, Jialong Yang^{4*}, Peng Hu^{1,2,3,*}

1Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2International Research Center for Marine Biosciences, Ministry of Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

3Center for Aquacultural Breeding Research, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

4State Key Laboratory of Estuarine and Coastal Research School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200241, China

5The State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730020, China

Abstract: *Streptococcus agalactiae* is a significant pathogen in both humans and animals, yet the immune cell subtype dynamics during infection remain poorly defined. Leveraging the high susceptibility and tractability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), 113,356 single immune cells are profiled from head kidney and spleen across multiple infection time points (0, 1, 5, 10, 75 days post-infection and 3 days post-reinfection). This single-cell transcriptomic and flow cytometry analyses revealed distinct activation and transition patterns among neutrophils, macrophages, T cells, and B cells. Neutrophils exhibited early transcriptional remodeling enriched in inflammatory and interferon gamma (IFN γ) signaling pathways. Cross-species integration identified a conserved IFN γ -driven transition toward il8⁺ neutrophils. Furthermore, recombinant interleukin-8 (IL8) enhanced antibacterial responses in tilapia and human neutrophils, while inhibition of STAT1 reduced IL8 expression. IL8 stimulation increased phagocytosis and reactive oxygen species (ROS) production, supporting its role in neutrophil-mediated bacterial clearance. Together, these findings establish IFN γ -IL8 as a conserved mechanism in vertebrate immunity and a potential target for antibacterial therapies.

Keywords: Neutrophils; IFN γ -IL8; Antibacterial responses; Nile tilapia

Targeted blockade of IL-23 receptor by engineered IgY antibody attenuates bacterial enteritis via reprogramming gut microbiota-immune axis in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

Xiaolong Hu ^{a,c,1}, Pengkun Meng ^{a,1}, Panpan Han ^a, Liuyang Li ^a, Bingyao Sun ^a, Xing Zhang ^{b,*}, Xuehong Song ^{a,c,*}

^a School of Life Sciences, Soochow University, Suzhou 215123, China

^b School of Chemistry and Life Sciences, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China

^c Jiangsu Provincial Key Laboratory of Loach Genetics and Breeding, Suzhou 215123, China

Abstract: Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), a key aquaculture species in China, is severely impacted by bacterial and viral infections, particularly *A. hydrophila*-induced enteritis, gill necrosis, and septicemia, necessitating sustainable alternatives to antibiotic-dependent disease management. In this study, an orally delivered anti-IL-23R IgY antibody (IgYIL-23R) was developed to attenuate bacterial enteritis in grass carp through dual modulation of gut immunity and microbiota. Microencapsulated IgYIL-23R (>1:8,000 titer) was produced by immunizing hens with recombinant grass carp IL-23R and incorporated into fish diets (0.1–0.6%). Optimal growth performance was observed in the 0.3% IgYIL-23R group, with a 28.7% increase in final weight and a 1.8-fold elevation in specific growth rate ($p < 0.01$). Concurrently, key pro-inflammatory genes (IL23R, IL17, TNF- α) were suppressed by 60–75%, and intestinal histoarchitecture was restored. IgYIL-23R administration significantly altered gut microbiota composition, reducing pathogenic *Proteobacteria* (68%) and *Aeromonas* (82%) while enriching beneficial *Bacteroidetes* (3.2-fold) and *Akkermansia* (4.1-fold) ($p < 0.001$). Upon challenge with *A. hydrophila*, fish fed 0.3% IgYIL-23R exhibited a 55% higher survival rate, minimal tissue damage, and enhanced metabolic functions, including antibiotic biosynthesis and α -linolenic acid metabolism. These findings demonstrate that targeted IL-23R blockade via oral IgY reprograms the microbiota-immune axis, providing a sustainable, antibiotic-free strategy for controlling enteritis in aquaculture.

Keywords: Engineered IgY antibody; IL-23R blockade; Grass carp enteritis; Gut microbiota-immune axis; Microbiome modulation

Isolation, identification, and histopathological observations of *Vibrio harveyi* associated with mass mortality of Chu's croaker (*Nibea coibor*)

Liang Zhong^{a, b}, Xiaokang Ye^c, Lin Yan^{b, d}, Kuoqiu Yan^d, and Wenlong Cai^{a, b, *}

^a, State Key Lab of Marine Pollution, City University of Hong Kong, Kowloon Tong, Hong Kong

^b, Department of Infectious Diseases and Public Health, Jockey Club College of Veterinary Medicine and Life Sciences, City University of Hong Kong, Kowloon Tong, Hong Kong

^c, College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

^d, Guangdong Bluegen Marine Biotechnology Co., Ltd, Huizhou 516300

Abstract: During October-November 2024, a sustained mass mortality event affecting cultured Chu's croaker (*Nibea coibor*) occurred in Guangdong Province. To determine the etiology of the disease outbreak, the bacteria were isolated from diseased fish. Necropsy revealed cutaneous ulcerations, clear or blood-red ascites, hemorrhagic swim bladder, white spots of varying sizes in the liver and spleen, and swollen, foodless intestines. Histopathological analysis demonstrated multifocal necrotizing granuloma-like lesions in the liver, spleen, and kidney, along with gill necrosis, hyperplasia, aneurysmal lesions, and necrotizing gastroenteritis. *Vibrio harveyi* was identified as the pathogen responsible for this outbreak through 16S rRNA phylogenetic analysis and fulfilled Koch's postulates via experimental challenge. Antibiotic susceptibility testing revealed the isolates were resistant to a variety of antibiotics, particularly to β -lactams, but were sensitive to gentamicin, florfenicol, and doxycycline, and intermediate to enrofloxacin. In conclusion, *V. harveyi* has emerged as a significant pathogen threatening the culture of Chu's croaker, capable of causing histopathological damage to multiple organs. Our findings provide the first comprehensive insights into the effects of *V. harveyi* on Chu's croaker through epidemiological, bacteriological, and histopathological analysis, offering valuable references for the healthy culture of this species and the prevention and control of related diseases.

Keywords: *Vibrio harveyi*; *Nibea coibor*; Histopathological observations; Antibiotic resistance

Effect of ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis* on the histopathology and gill and gut microbiota of goldfish (*Carassius auratus*)

Xialian Bu^{1,2}, Xianqi Peng^{1,2}, Lei Huang^{1,2}, Yu Zhao¹, Jinbiao Jiao^{1,2}, Jian Zhu¹, Jing Chen^{1,2}, Xiaohong Huang^{1,2}, Aqin Zheng^{1,2}, Huantao Qu¹, Jiayun Yao^{1,2*}

¹Hubei Key Laboratory of Three Gorges Project for Conservation of Fishes, Chinese Sturgeon Research Institute, China Three Gorges Corporation, Yichang 443100, China

²Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China

Abstract: The ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis*, is the pathogen of white spot disease in freshwater fish, which parasitizes on gills, fins, and skins of fish, causing tissue damage and death of host. However, whether it influences gill and gut microbiota is still unknown. In this study, H&E staining and 16S rRNA gene amplicon sequencing were conducted of *I. multifiliis*-infected and uninfected goldfish. Histopathological examination revealed that *I. multifiliis* has induced significant damage to the gills of goldfish, characterized by lamellae fusion, cell hyperplasia, cell hyperaemia, inflammatory infiltration, necrosis and desquamation. 16S rRNA gene sequencing result showed that alpha and beta diversity of gill microbiota was significantly reduced in the *I. multifiliis*-infected group, while no significant changes were observed in gut microbiota. Genus *Candidatus Megaira* exhibited the highest relative abundance in the *I. multifiliis*-infected group. Meanwhile, the abundance of opportunistic pathogens *Aeromonas* and *Achromobacter* were increased in the intestines of *I. multifiliis*-infected goldfish. In summary, this study laid a foundation for further research on the interaction between *I. multifiliis* and host microbiota.

Keywords: *Ichthyophthirius multifiliis*; microbiota; histopathology; opportunistic pathogens

Effects of hypoxia stress in *Pelteobagrus fulvidraco* based on “intestinal microbiota/SCFAs/HIF-1 α /IL-22” axis

Yufei Zhang, Hengqing Huan, Ziang Qian, Yubing Ding, Jie Ji, Xianhui Ning,
Shaowu Yin*, Kai Zhang*

College of Marine Science and Engineering, Nanjing Normal University, Jiangsu 210023

Abstract: In intensive aquaculture, hypoxia-induced intestinal inflammation seriously threatens the health of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). This study first discovered that hypoxia activated the HIF-1 α signaling pathway, which bound to the hypoxia response elements in the IL-22 gene promoter, significantly upregulating the expression of IL-22 in yellow catfish. IL-22 exerts dual functions by regulating the Th17 cell differentiation pathway: on one hand, it alleviates hypoxia-induced tissue damage such as loosening of the intestinal lamina propria and vacuolation; on the other hand, it induces the expression of pro-inflammatory factors IL-1 β and TNF- α . To develop targeted prevention and control strategies, this study further isolated *Clostridium butyricum* B3 from the intestine of yellow catfish, with 99% homology in 16S rDNA to the wild type. This strain has strong tolerance, efficiently produces acetic acid and butyric acid within 24 hours, and inhibits the growth of pathogens such as *Aeromonas hydrophila*. Feeding experiments showed that after adding 3.0×10^7 CFU/g of B3 for 30 consecutive days, the specific growth rate of juvenile fish increased by more than 61.5%, and the activities of intestinal trypsin, α -amylase, and lipase were significantly enhanced. Acid phosphatase (ACP) activity increased by 25%, and malondialdehyde content decreased by 38.5%. Histological examination revealed increased hepatocyte density, goblet cell proliferation, increased intestinal microbial diversity, and decreased abundance. Molecular mechanisms confirmed that B3 activated lipid metabolism-related genes (*grhpr*, *enpp2*) and the peroxisome proliferator-activated receptor pathway, synergistically improving immune and metabolic functions. In summary, the HIF-1 α /IL-22 axis is a key regulatory target for hypoxic enteritis, and B3 can be used as a probiotic preparation to enhance the stress resistance of yellow catfish, providing new solutions for disease prevention and control and green breeding in aquaculture.

Keywords: *Clostridium butyricum*; HIF-1 α /IL-22 axis; Hypoxia stress; Intestinal inflammation; Yellow catfish

The isolation and identification of a novel flavivirus from diseased Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*)

Qi Guo¹, Sunjian Lyu^{1,*}, Weifeng Shen¹, Li Liu^{1,*}, Wenjun Ma², Mingxing Zhang³,
Weishao Bu⁴, Bao Lou¹

1, Institute of Hydrobiology, Zhejiang Academic of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021,
China

2, Zhejiang Aquatic Technology Extension Station, Hangzhou 310021, China

3, Ming Feng Freshwater Farm, Ningbo 315400, China

4, Yunhe County Qingjiang Ecological Trionyx sinensis Breeding Cooperative, Lishui 310018,
China

*, Corresponding author: Liu Li, E-mail: liuli6655@hotmail.com; Lyu Sunjian, E-mail:
lvsunjian@163.com

Abstract: In recent years, mass mortality of *Pelodiscus sinensis* has occurred in many Chinese turtle farms and no etiological research on this disease has been conducted to date. The main clinical manifestation of sick *P. sinensis* was telangiectasis induced bleeding occurred in the limbs, calipash and plastron. After dissection, we found that the blood viscosity was reduced. Typical clinical manifestations included light abdominal cavity effusion, intestine and gastric wall edema and transparency. HE staining showed distinct lesions in liver, intestine, kidney, spleen, heart and lung tissues of infected *P. sinensis*. TEM observation showed that the spherical virions were approximately 30 nm in diameter. Partial genome of the pathogen was obtained by Illumina sequencing and then assembled and annotated. Phylogenetic analysis of the polyprotein amino acid sequences of this pathogen and other flaviviruses showed that it was closely related to Chinese soft-shelled turtle flavivirus isolate HZ-2017. RT-PCR detection of this virus in the sick *P. sinensis* from turtle farms showed a high infection rate. QRT-PCR analysis of viral distribution in *P. sinensis* tissues indicated that the kidney contains the highest amount of virus. The virus was tentatively named “*Pelodiscus sinensis* flavivirus” (PSFV). In this study, the results of PSFV pathological characteristic and genome information laid a good foundation for further study of this virus.

Keywords: *Pelodiscus Sinensis*, flavivirus, clinic pathologic feature, phylogenetic tree

Cell death-mediated unconventional secretion of proinflammatory cytokines in teleost

Xiaotong Jin, Liming Yuan, Shuai Jiang*

Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266000, China

Abstract: Plasma membrane rupture is the final catastrophic event during lytic cell death, e.g., pyroptosis. This process is actively driven by Ninjurin-1, a membrane adhesion protein reported to be involved in nerve injury. We found that Ninjurin-1 acts as an executioner of plasma membrane rupture, causing a rapid breakdown of the cell membrane and the release of cellular contents, which is amplified when co-expressed with gasdermin. This regulated membrane rupture also facilitates the unconventional secretion of other molecules, such as Interleukin-18 (IL-18), an important pro-inflammatory cytokine. Unlike typical cytokines, IL-18 is synthesized as an inactive precursor, pro-IL-18, which is cleaved by caspases into a mature, positively charged form. This mature IL-18 is electrostatically attracted to the negatively charged cytoplasmic membrane. The membrane then extrudes to form microvesicles, which are shed from the cell, allowing the mature IL-18 to be secreted into the extracellular environment. This process highlights a unique, non-classical secretion pathway that is closely linked to cellular membrane dynamics and likely a result of the same inflammatory signals that trigger lytic cell death.

Keywords: Teleost; Programmed cell death; Unconventional secretion; Proinflammatory cytokine; Innate immunity

Novel C-type lectin mediated Non-specific cytotoxic cells killing activity through NCCRP-1 in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Yu Huang^{1,2}, Zhengsi Chen¹, Jiaxuan Zhang¹, Kwaku Amoah¹, Berchie Asiedu³,
Jia Cai^{1,2}, Bei Wang^{1,2}, Jichang Jian^{1,2,*}

¹College of Fishery, Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture, Zhanjiang, China

²Guangdong Provincial Engineering Research Center for Aquatic Animal Health Assessment, Shenzhen, China

³Department of Fisheries and Water Resources, University of Energy and Natural Resources, P.O. Box 214, Sunyani, Ghana

Abstract: Non-specific cytotoxic cells (NCCs) are vital immune cells involved in the nonspecific immune response in teleost. The non-specific cytotoxic cell receptor protein 1 (NCCRP-1) is a receptor molecule on the surface of NCCs and plays a crucial role in mediating their activity. However, there have been limited reports on the signal molecule that transmits signals through NCCRP-1. In this study, we constructed a yeast two-hybrid (Y2H) library of tilapia liver and head kidney and screened it with the bait vector NCCRP-1 of *Oreochromis niloticus* (On-NCCRP-1) to obtain a C-type lectin (On-CTL) with an interacting protein sequence. Subsequently, the full-length sequence of *On-CTL* was cloned and analyzed. Expression analysis revealed that *On-CTL* is highly expressed in the liver and is widely distributed in other tissues. Furthermore, *On-CTL* expression was significantly up-regulated in the brain, intestine, and head kidney following challenges with *Streptococcus agalactiae*. Additionally, a point-to-point Y2H method was used to confirm the binding between On-NCCRP-1 and On-CTL. The recombinant On-CTL (rOn-CTL) protein was purified. In vitro experiments demonstrated that rOn-CTL possesses the capability to upregulate the expression of killer effector molecules in NCCs via its interaction with On-NCCRP-1. Moreover, activation of NCCs by rOn-CTL resulted in a remarkable enhancement in their ability to eliminate fathead minnow cells, indicating that rOn-CTL effectively modulates the killing activity of NCCs through the NCC receptor molecule On-NCCRP-1. These findings significantly contribute to our comprehension of the regulatory mechanisms governing NCC activity, paving the way for future research in this field.

Keywords: CTL, NCCRP-1, Y2H, Nile tilapia, *Streptococcus agalactiae*

IHHNV 和 EHP 共感染凡纳滨对虾的协同作用研究

高杨, 陈采怡, 闫冬春*

鲁东大学水产学院, 烟台 264025

摘要: 传染性皮下及造血组织坏死病毒 (Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, IHHNV) 是一种线性单链 DNA 病毒, 虾肝肠胞虫 (*Enterocytozoon hepatopenaei*, EHP) 是一种细胞内寄生的微孢子虫, 二者均可造成对虾生长迟缓, 给对虾养殖造成严重的经济损失。近五年, 本课题组调查了山东省养殖凡纳滨对虾感染 IHHNV 和 EHP 的情况, 578 个凡纳滨对虾样品中 362 个感染了 IHHNV, 398 个感染了 EHP, 265 个共感染了 IHHNV 和 EHP。采用病例对照研究方法对 578 个凡纳滨对虾样品的检测结果进行了分析, 结果表明, IHHNV 和 EHP 的感染具有正相关性。组织病理学分析结果表明, 凡纳滨对虾共感染 IHHNV 和 EHP 时其组织病变程度比单一感染明显加重。室内人工感染实验表明, 随着攻毒时间的延长, 共感染 IHHNV 和 EHP 的凡纳滨对虾肝胰腺组织受到的损伤更严重。攻毒第 5 天时, IHHNV 和 EHP 共感染组对虾的 IHHNV、EHP 拷贝数均显著高于单一感染组。攻毒第 20 天时, IHHNV 和 EHP 共感染组的对虾体重轻于单一感染组。以上实验结果表明, IHHNV 和 EHP 的感染存在一定的协同效应, 二者共感染会加剧对虾病情, 但 IHHNV 和 EHP 的协同致病机理尚需深入研究。

关键词: 传染性皮下及造血组织坏死病毒; 虾肝肠胞虫; 凡纳滨对虾; 共感染

sRNA063 “劫持”刺参 ATG2 蛋白促进病原侵染的分子机制研究

陶文军，郭明

宁波大学海洋学院，宁波，315000

摘要：细菌非编码小 RNA (sRNA) 是一类存在于原核生物细胞内，长度在 40-500 个核苷酸之间，通常由位于两个开放阅读框之间的非编码序列转录而来。据目前对 sRNA 与细菌致病性关系的研究表明，sRNA 主要通过调控毒力基因表达、群体感应、生物膜形成、外膜蛋白合成以及 LPS 的修饰等途径影响细菌的致病性。前期通过高通量测序获得了 36 个灿烂弧菌的 sRNA，经刺参体腔液处理后发现灿烂弧菌 sRNA063 表达水平最高。鉴于此，构建了灿烂弧菌 sRNA063 的敲除株，并从生长状况、涌动性、死亡率等方面证实了灿烂弧菌 sRNA063 是一个新的毒力因子。进一步检测发现 sRNA063 主要分布于灿烂弧菌分泌的外膜囊泡 (OMV) 中，且通过荧光显微镜和流式细胞术在刺参体腔细胞中检测到了大量 OMV 的存在。上述结果表明：灿烂弧菌 sRNA063 可能通过分泌的 OMV 进入刺参体腔细胞，进而直接调控宿主免疫相关基因或蛋白以实现免疫逃逸。鉴于前期发现，继而合成了特异性的 sRNA063 探针并通过 RNA pulldown-质谱鉴定技术获得了包括刺参 ATG2 (AjATG2) 蛋白在内的多个潜在互作蛋白。进一步检测发现，相比于灿烂弧菌 sRNA063 野生株，灿烂弧菌 sRNA063 敲除株感染刺参后促进了更高的体腔细胞自噬水平和 AjATG2 蛋白表达水平，但 AjATG2 转录水平却没有变化。上述研究结果表明灿烂弧菌 sRNA063 可能通过转录后负调控 AjATG2 蛋白表达，进而抑制刺参体腔细胞自噬效应。在上述与灿烂弧菌 sRNA063 互作的刺参候选蛋白的质谱结果中发现一个 E3 泛素连接酶 PDZRN3 (AjPDZRN3)。通过 Alphafold3 等生物信息学软件预测发现灿烂弧菌 sRNA063、AjATG2 及 AjPDZRN3 具有较强的两两互作的生物学基础，且进一步检测发现灿烂弧菌 sRNA063 显著促进了刺参体腔细胞泛素化水平。基于上述研究基础推测：灿烂弧菌 sRNA063 依赖于招募刺参 E3 泛素连接酶 AjPDZRN3 靶向促进底物 AjATG2 蛋白的降解，进而抑制体腔细胞自噬效应，从而实现灿烂弧菌的免疫逃逸。

关键词：灿烂弧菌；刺参；sRNA063；ATG2 蛋白；E3 泛素连接酶 PDZRN3

发热温度通过 HSP70-Toll4 信号途径增强对虾对白斑综合症病毒的抵抗力

肖邦*¹

1. 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛 266109

摘要: 在水生变温动物中, 温度在生物过程和病毒性疾病的流行中起着关键作用; 然而, 其背后分子机制尚未完全阐明。在本研究中, 我们探究了高温 (32 °C) 对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 抗白斑综合症病毒 (WSSV) 免疫反应的影响。研究表明, 较高的水温, 特别是 32 °C, 可以显著抑制 WSSV 的复制和致病性, 从而提高 WSSV 感染虾的存活率。通过转录组分析和体内实验, 确定了热休克蛋白 70 (HSP70) 是这种免疫热调节的关键因子。在 32 °C 下饲养的对虾, RNAi 敲低 HSP70 的表达, 病毒载量会增加, 存活率也会降低, 这表明 HSP70 在高温下提高了对虾抗 WSSV 的能力。进一步结果也揭示了 HSP70-Toll4-Dorsal-抗菌肽 (AMP) 通路是对虾高温下抗 WSSV 的关键途径。该通路涉及 HSP70 与 Toll4 受体的相互作用, 导致 Dorsal 发生磷酸化, 从而调节 AMPs 的表达, 如抗 LPS 因子 (ALF) 和溶菌酶 (LYZ) 家族表达增加。总之, 这些发现加深了我们对温度在水生变温动物疾病发生的理解, 尤其是 HSP70 在促进虾的先天免疫系统对热应激反应方面的作用, 并提出了在虾养殖中控制 WSSV 的新方法, 如控制养殖环境温度或诱导 HSP70 表达。

关键词: HSP70; WSSV; Toll; 抗菌肽; 对虾

氨胁迫抑制对虾抗病毒系统进而增强白斑综合症病毒感染

王欣欣, 张辉, 高杰*, 王显伟*

山东大学生命科学院, 青岛 266237

摘要: 疾病的发生是宿主、病原体与环境相互作用的结果。氨作为水环境中的关键应激因素, 通常会增加水生动物对病原感染的易感性, 但其分子调控机制仍然很大程度上未知。本研究发现, 氨应激通过热休克因子 1 (Hsf1) 靶向抗病毒分子调控网络, 增加了日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 对白斑综合症病毒 (WSSV) 的易感性。Hsf1 是一种氨诱导的转录因子, 可上调 Cactus 和 Socs2 的表达, 从而分别抑制 NF- κ B 和 Jak/Stat 信号通路, 最终阻断关键抗病毒分子 MjVago-L 的产生与功能, 导致抗病毒免疫力下降。本研究揭示了 Hsf1 是氨应激后抗病毒免疫抑制的核心调控因子, 从分子层面解释了养殖业中长期存在的现象: 处于应激环境中的水生动物更易感染病原体。同时, 本研究为热休克反应潜在的副作用提供了新见解, 并凸显了在应激条件下维持细胞稳态的复杂性。

关键词: 氨; 热休克因子; 干扰素; 虾; 白斑综合症病毒

不同贝类养殖模式下牡蛎疱疹病毒（OsHV-1）陆海传播途径差异与防控措施研究

黄博闻¹, 张翔¹, 康会岗¹, 李培君¹, 倪敬磊¹, 王崇明¹, 白昌明^{*1,2}

1 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室,

农业农村部海水养殖病害防治重点实验室, 青岛 266071

2 崂山实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 青岛 266237

摘要: 牡蛎疱疹病毒 (Ostreid herpesvirus 1, OsHV-1) 自 1991 年首次暴发并导致育苗场长牡蛎幼虫大规模死亡以来, 已在全球范围内感染十余种双壳贝类, 引发大规模死亡事件, 现已成为对双壳贝类养殖业危害最为严重的病毒性疾病。近年来, OsHV-1 在我国主要感染并引起魁蚶、毛蚶与长牡蛎的大规模死亡。尤其值得关注的是, 2025 年 6 月该病毒首次在我国开放海区养殖的长牡蛎幼贝中被监测到, 并引发大范围死亡, 进一步凸显其对我国贝类养殖产业的严重威胁。流行监测数据表明, OsHV-1 的陆海循环传播是导致该病传播与发生的关键因素。针对我国不同贝类养殖模式与场景的监测结果显示: 育苗用水是病毒从海区向陆基长牡蛎和毛蚶种群传播的主要途径; 而隐性感染个体则是病毒从海区向陆基魁蚶种群传播的重要途径。感染发生后, 陆基养殖场未对养殖水体和死亡贝类进行有效无害化处理, 是病毒在魁蚶和毛蚶种群中由陆基向海区传播的主要途径; 而在长牡蛎种群中, 苗种是病毒陆基向海区传播的主要方式。基于不同养殖模式下传播途径的差异, 我们建议采取以下针对性防控措施: 一、位于疫区的育苗场除对育苗用水进行预处理 (如沉淀与砂滤) 外, 应增设精细过滤和紫外消毒等可有效灭活病毒的系统; 二、加强苗种产地检疫及其他入场贝类的病毒检测与检疫; 三、及时发现、报告 OsHV-1 感染事件, 并做好发病后水体与死亡个体的无害化处理。

关键词: 牡蛎疱疹病毒, 长牡蛎, 魁蚶、毛蚶, 育苗期, 苗种产地检疫

甘草提取物对牛蛙 (*Aquarana catesbeiana*) 的生长性能和肝肠健康的影响

柏致翔, 刘春*

仲恺农业工程学院动物科技学院, 广州 510225

摘要: 牛蛙 (*Aquarana catesbeiana*) 的高密度养殖常导致肝脏脂质沉积和肠道损伤。为探究饲料中添加甘草 (*Glycyrrhiza*) 提取物对牛蛙生长性能和肝肠健康的影响, 实验以牛蛙为研究对象, 随机分成 5 个组, 每组 3 个重复, 每个重复 200 只牛蛙, 分别投喂含 0%甘草提取物(对照组)、0.1%(GC0.1)、0.5%(GC0.5)、1%(GC1) 和 1.5%(GC1.5) 甘草提取物的饲料, 实验进行 35 天。结果显示, 饲料中添加低浓度的甘草提取物显著提高牛蛙的增重率和存活率; 提高肠道绒毛高度、杯状细胞密度以及紧密连接蛋白基因 (*zo-1*、*zo-2*、*occludin*、*claudin-7*) 的表达。0.5%的甘草提取物添加显著提高牛蛙肝脏抗氧化能力, 抗氧化酶 (SOD、CAT、GSH-Px) 活性显著升高, 丙二醛 (MDA) 含量显著降低。与对照组相比, 0.5%添加组肝脏脂滴减少, 脂肪生成基因 (*acc1*、*ppary*) 显著下调、脂肪分解基因 (*atgl*) 显著上调。进一步转录组与代谢组联合分析发现, 与对照组相比, 0.5%组差异基因富集于脂肪酸代谢、PI3K-Akt 和 cAMP 信号通路, 可能与缓解肝脏脂质沉积、增强抗氧化能力有关。研究结果表明在饲料中添加 0.5g/kg 的甘草提取物可以提高牛蛙增重率、存活率、肝脏脂质代谢、抗氧化能力, 改善肠道形态。本研究为甘草作为功能性饲料添加剂在牛蛙养殖中的应用提供了科学依据。

关键词: 美洲牛蛙; 甘草提取物; 抗氧化能力; 肝脏脂质代谢; 肠道形态

细胞自噬介导的罗氏沼虾抗菌防御分子机制研究

赵飞*, 王飞飞, 谭爱萍, 邓玉婷, 赖迎迢, 巩华, 黄志斌

中国水产科学研究院珠江水产研究所/农业农村部渔用药物创制重点实验室/广东省水产动物免疫与绿色养殖重点实验室, 广东, 广州, 510380

摘要: 细胞自噬作为机体应对刺激的一种自我保护机制, 在抵抗入侵微生物的先天免疫和适应性免疫中起着至关重要的作用。然而在病原菌感染罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 中的自噬调控模式在很大程度上仍然未知。本研究通过转录组学、分子生物学以及细胞生物学探究了嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 感染下罗氏沼虾的自噬调控机理。首先, 对感染嗜水气单胞菌的罗氏沼虾进行了 miRNA 和 mRNA 转录组分析, 鉴定出 56 种差异表达的 miRNAs (DEMs) 和 1542 种差异表达 mRNA。通过对 miRNA-mRNA 表达的综合分析, 鉴定出 729 个差异预测的 DEM 靶基因 (DETG), 发现 DETGs 中与免疫、凋亡和自噬相关的多种信号通路被显著富集。在罗氏沼虾被嗜水气单胞菌感染期间, 40 个关键的 DEMs 和 22 个 DETG 的相互作用形成了一个复杂的调控网络, 涉及 Toll 和免疫缺陷 (IMD) 信号、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号、溶酶体和细胞凋亡, 所有这些都与免疫和自噬途径有关。接着, 本研究根据蛋白质印迹、qRT-PCR 和透射电子显微镜观察, 证明嗜水气单胞菌感染激活罗氏沼虾的自噬。雷帕霉素处理以激活罗氏沼虾的自噬, 然后用嗜水气单胞菌刺激, 显著降低了罗氏沼虾鳃中嗜水气单胞菌的侵染数量。分析雷帕霉素处理的罗氏沼虾鳃的 RNA-seq 显示, 1684 个上调和 1500 个下调的 DEGs, 其中大部分调节代谢途径。对嗜水气单胞菌感染和雷帕霉素处理的两个转录组数据库的综合联合分析分别确定了 15 个上调和 25 个下调的 DEGs。这些基因通过负调控代谢途径和促进免疫途径来增强罗氏沼虾的免疫防御。进一步, 本研究克隆、分析了罗氏沼虾自噬通路关键分子 (ATG5、Beclin1、LC3、ULK3) 和自噬旁路关键分子 (SGT1、BNIP3) 的分子特征及其在抗菌感染免疫中的功能。研究结果明确了 ATG5 与 Beclin1 相互作用, 通过调控自噬, 并与病原菌结合抑制其生长促进罗氏沼虾抗菌防御力; 解析了 LC3 与 ULK3 相互作用, 通过调控细胞自噬和凋亡减缓病原菌诱导的机体损伤; 阐明了 SGT1 可通过调控自噬和凋亡的动态平衡以提高罗氏沼虾抗氧化系统, 增强抵御病原感染的能力; 证实了 BNIP3 受到 miR-148 和 miR-152 的靶向调控, 上调自噬以抑制病原菌对罗氏沼虾的感染。以上结果, 初步揭示了罗氏沼虾细胞自噬的调控与作用机理, 也为进一步探索罗氏沼虾的抗菌感染机制提供一定的理论依据。

关键词: 罗氏沼虾; 自噬; 细菌感染; 自噬相关基因; 免疫防御

对虾高致病弧菌 VHLVD 的致病机制及毒力变异研究

杨丰, 韩枫, 徐丽美, 李钊*

自然资源部第三海洋研究所, 厦门

摘要: 对虾高致死性弧菌病 (Highly lethal Vibrio disease, HLVD), 又称玻璃苗弧菌病 (Translucent post-larvae disease, TPD), 是一种主要发生在对虾苗期和养殖早期的高致死性疾病。导致 HLVD 的病原是一类能产生 VTc 毒素的高致病弧菌 V_{HLVD} 。感染 V_{HLVD} 的对虾出现空肠空胃、肝胰腺变白等症状并快速死亡。Tc 毒素是关键致病因子, 纯化的 VTc 毒素可直接导致对虾发病, 而缺失 VTc 毒素基因的弧菌丧失导致 HLVD 的能力。VTc 毒素由 VTcA 五聚体及 VTcB、VTcC 亚基构成, 是 Tc 毒素家族的一类新成员。 V_{HLVD} 菌株均携带 1-2 套由质粒编码的 VTc 毒素基因, 并大量表达 VTc 毒素蛋白。此外, V_{HLVD} 菌株带有完备的 T4SS 分泌系统, 并编码其他与基因水平转移相关的元件。提示这些菌株存在活跃的基因水平转移, 有助于它们获取或丢失毒力基因、改变致病性及提高环境适应力。通过对流行株的跟踪分析, 我们发现 V_{HLVD} 菌株的基因组和毒力呈现多样化的变异。在 HLVD 首个爆发年分离的 V_{HLVD} 均携带两个毒质粒 pHLB 和 pHLC。但随后发现了仅携带 pHLC 且产毒量较低的低毒株, 以及同时携带并表达 VTc 及 pirAB 毒素的高毒株。因此, 未来影响对虾养殖的弧菌病可能呈现更为复杂的变化。此外, 在养殖区还存在不少携带 VTc 毒素基因但不带有毒质粒的弧菌菌株, 这类弧菌的 VTc 毒素位于染色体上不能有效表达, 因此不具有致病性。鉴于这一情况, 在对 V_{HLVD} 进行检测时, 应同时检测 VTc 毒素基因及毒质粒片段, 如只以毒素基因为指标可能导致较为严重的假阳性。

关键词: 高致病弧菌; 对虾; 致病机制; 毒力变异

长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 免疫致敏中特异性增强的细胞免疫与体液免疫

左佳俊, 王伟林, 罗盼, 李雪松, 王玲玲, 宋林生*

大连海洋大学海洋科技与环境学院, 大连 116023

摘要: 目前已经在多种无脊椎动物中发现了免疫致敏现象, 其增强的再次免疫防御能力为水产无脊椎动物养殖业中的病害防治提供了新思路, 然而免疫致敏中增强的免疫效应是否具有病原特异性尚无定论。本研究以海水养殖贝类长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 为对象, 分别以灿烂弧菌 (*Vibrio splendidus*) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 进行预刺激, 7 天后用灿烂弧菌进行再次刺激探究其免疫致敏效应的特异性。再次刺激后, 与金黄色葡萄球菌预刺激组相比, 灿烂弧菌预刺激组长牡蛎血淋巴细胞对灿烂弧菌的吞噬率显著提高, 而对金黄色葡萄球菌及荧光微球的吞噬率无显著变化, 其血淋巴对灿烂弧菌生长的抑制作用也更强。再次刺激后, 灿烂弧菌预刺激组血淋巴细胞中细胞吞噬相关基因 *CgβGBP2*、*CgC1qDC-8* 和 *CgRab24* 的 mRNA 表达水平、抗菌肽基因 *CgBigdefensin1* 和 *CgBigdefensin2* 的表达水平及胞内一氧化氮 (NO) 水平均高于金黄色葡萄球菌预刺激组。灿烂弧菌预刺激组血淋巴及肝胰腺中溶菌酶含量也显著高于金黄色葡萄球菌预刺激组。两种菌初次刺激均显著提高了血淋巴细胞中 H3K4me1、H3K4me3、H3K9ac 与 H3K27ac 等组蛋白修饰水平。以上结果表明, 病原菌预刺激能诱导长牡蛎产生一定特异性的免疫记忆, 在再次感染时细胞免疫和体液免疫特异性增强, 研究结果为理解无脊椎动物固有免疫记忆的特异性提供了新线索。

关键词: 长牡蛎; 免疫致敏; 特异性; 细胞免疫; 体液免疫

饲喂维生素 D₃ 对生长期草鱼生长性能、肠道健康及抗病能力的影响研究

马晓雨, 胡恒毅, 叶蓉, 陈莉楠, 张安英, 汪新艳, 周红*

电子科技大学生命科学与技术学院, 成都 610054

摘要: 维生素 D₃ (VD₃) 是鱼类必需的脂溶性营养素, 但草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 生长期的最适需求有待明确。本研究旨在探究膳食 VD₃ 对生长期草鱼 (初始体重 101 ± 2.29 g) 生长性能、肠道菌群及抗病能力的影响。将 540 尾草鱼随机分为 6 组, 饲喂 VD₃ 梯度 (0、600、1200、1800、2400、3000 IU/kg) 60 天, 随后进行嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 攻毒实验。结果表明: VD₃ 补充量 600–1200 IU/kg 显著提高终末体重、增重百分比、特定生长率及肠道长度指数, 并降低饲料转化率。在肠道健康方面, VD₃ 补充 (1200 IU/kg) 显著提升肠道菌群 Alpha 多样性和 Beta 多样性, 降低变形菌门 (*Proteobacteria*) 和肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 相对丰度, 增加放线菌门 (*Actinobacteria*)、红杆菌科 (*Rhodobacteraceae*) 及放线菌属 (*Actinomyces*) 等有益菌丰度, 维持肠道菌群稳态。攻毒实验发现, 补充适量 VD₃ 组的草鱼存活率显著高于缺乏组 (0 IU/kg) 和过量组 (3000 IU/kg), 且降低肠炎发病率。组织学分析显示适量 VD₃ 组能够缓解肠道杯状细胞增生和脾脏铁沉积, 显著提升肠道酸性磷酸酶、超氧化物歧化酶活力, 以及谷胱甘肽、总抗氧化能力水平, 同时降低丙二醛 (MDA) 含量。综上, 适宜 VD₃ 补充可优化生长性能、调节肠道菌群结构、增强抗氧化及免疫能力, 提升草鱼抗病能力, 为生长期草鱼的饲料配方提供了参考依据。

关键词: 维生素 D₃; 生长期草鱼; 生长性能; 肠道健康; 抗病能力

克氏原螯虾 Vago 家族基因特征分析及其抗白斑综合征病毒的研究

刘天海, 蒋昕成, 罗凯, 郭慧芝, 许巧情*

长江大学动物科学技术学院

摘要: 随着场需求激增, 养殖规模的扩大, 克氏原螯虾生活水体环境逐渐恶劣, 克氏原螯虾养殖过程中疾病不断爆发。其中白斑综合征病毒的致病性和致死率最强, 白斑综合征病毒感染小龙虾后, 可在 2-13 d 全部死亡。Vago 是一种干扰素类似物 (Interferon-like, IFN-like), 经研究发现其能发挥与干扰素类似的抗病毒功能。为研究克氏原螯虾 Vago 家族基因特征及其在白斑综合征病毒感染中的免疫功能, 本研究扩增了克氏原螯虾的 6 个 Vago 基因序列, 对其进行生物学信息分析, 发现克氏原螯虾 6 个 Vago 序列均含有单个血管性血友病因子 (Single domain von Willebrand factor type C, SWVC) 结构域; 选择其中一个基因 Vago1, 利用原核表达获得活性蛋白; 利用 Vago1 蛋白注射克氏原螯虾, 研究 Vago1 蛋白在抑制白斑综合征病毒中的功能作用。因此说本研究可以为预防和治疗白斑综合征病毒引发的克氏原螯虾大规模死亡, 减少经济损失。

关键词: 克氏原螯虾; Vago; 白斑综合征病毒

福建牡蛎致病菌沙氏弧菌的分离鉴定及全基因组分析

葛辉¹, 李慧耀¹, 巫旗生¹, 宁岳¹, 祁剑飞¹, 温凭¹, 郭香¹, 潘洁如², 吴丽云¹, 王为刚³, 王晓伟⁴, 李苗苗⁵, 戴燕彬⁶, 林向阳¹, 林琪^{1*}

1. 福建省水产研究所, 福建省海洋生物增养殖与高值化利用重点实验室, 福建 厦门; 361013; 2. 福州市疾病预防控制中心, 福建 福州 350209; 3. 连江县水产技术推广站, 福建 福州 350599; 4. 福建海洋职业技术学校, 福建 宁德, 355212; 5. 福建省水产技术推广总站, 福建 福州 350025; 6. 漳州市水产技术推广站, 福建 漳州 363099

摘要: 对患病福建牡蛎 (*Crassostrea angulata*) 幼虫进行病原分离鉴定和全基因组测序, 以期对牡蛎细菌性疾病的预防和治疗提供科学依据。采用平板分离法进行病原微生物的分离纯化, 结合形态学、生理生化特征和分子生物学对病原进行种属鉴定, 并对分离得到的病原菌进行了基因组测序和药物敏感性试验。从患病牡蛎幼虫分离纯化获得优势菌株 M05, 通过外观形态、生理生化特征和 16S *rRNA* 基因测序判定为沙氏弧菌 (*Vibrio Chagasii*)。回归感染试验证实其可引起牡蛎幼虫发病死亡。基因组测序分析表明, M05 菌株携带副定殖因子 *AcfB*、溶血素和Ⅱ型分泌途径基因 *EpsD* 等毒力基因; 此外, 菌株本身及其携带的质粒中含有大量耐药基因, 药敏试验结果显示菌株对环丙沙星、替加环素和青霉烯类抗生素较为敏感, 对青霉素类、氨基糖苷类和头孢类抗生素均具有较强的耐药性。沙氏弧菌 M05 携带多种致病因子, 可引起福建牡蛎幼虫感染, 且对多种抗生素具有耐药性, 研究结果可为福建牡蛎幼虫病害防控提供科学依据。

关键词: 水产养殖; 福建牡蛎; 沙氏弧菌; 全基因组分析; 药物敏感性试验

WSSV 介导 Nrf2 调控对虾 ROS 动态促进病毒复制的机制

何洪慧, 李朝政*, 陈义烘*, 何建国*

水产动物疫病防控与健康养殖全国重点实验室 (中山大学), 广州 510275

华南师范大学生命科学学院现代水产养殖科学与工程研究所, 广州 510631

海南大学海洋生物与水产学院, 海口 570228

摘要: 宿主的活性氧 (ROS) 广泛参与细胞内信号传导和对抗病原体。病毒通过操纵宿主的活性氧稳态来逃逸其感染后活性氧介导的负面效应, 但其机制尚不清楚。本研究白斑综合征病毒 (WSSV) 调控凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) ROS 动态和增强病毒复制的分子机制。揭示了 WSSV 蛋白 wsv220 通过结合对虾核因子红系 2 相关因子 2 (LvNrf2) 的抑制因子 kelch 样 ech 相关蛋白 1 (LvKeap1), 破坏 LvNrf2/LvKeap1 复合体, 促进 LvNrf2 核易位。LvNrf2 的激活导致抗氧化基因上调, 包括葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (LvG6PDH), 从而增加烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 和谷胱甘肽 (GSH) 的产生, 有效消除宿主产生的过量 ROS。此外, WSSV 利用 LvNrf2 通过上调病毒即时早期基因 wsv051 建立正反馈回路, 进一步增强了 wsv220 的表达。LvNrf2 或 LvG6PDH 的下调可显著抑制 WSSV 复制并增加宿主 ROS 水平。因此, WSSV 通过劫持 LvNrf2 通路维持宿主 ROS 稳态, 并建立正反馈回路促进 WSSV 的复制。本研究揭示了病毒操纵宿主 ROS 动力学的一种新的分子机制, 并提出了针对 LvNrf2 通路的潜在抗病毒策略。

关键词: 白斑综合征病毒; 凡纳滨对虾; 活性氧; Nrf2 通路

凡纳滨对虾 caspase Dronc-like 影响溶藻弧菌感染的作用机制研究

李海僊^{1,2}, 谢珍玉^{1,2}, 张馨^{1,2*}

1.海南大学南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口, 570228; 2.海南大学海洋生物与水产学院, 海口, 570228

摘要:近年来对虾集约化养殖规模的扩大, 导致了弧菌病等多种流行性疾病频发, 其中, 患病凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 的肝胰腺、肠道或白便中通常可检测出大量的溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)。前期通过 KEGG 通路富集分析显示, 感染溶藻弧菌后凡纳滨对虾肝胰腺 1278 个显著上调的基因富集于胞吞作用、癌症、凋亡等与细胞死亡相关信号通路中。细胞凋亡不仅对维持机体稳态至关重要, 还参与抵抗病原体感染并促进机体平衡的免疫应答, 进化保守的 caspases 家族在其中发挥核心作用。该家族成员 Dronc 是模式生物黑腹果蝇中的一种起始 caspases。本研究已从感染溶藻弧菌前后, 凡纳滨对虾肝胰腺组织差异表达基因中鉴定并克隆了 caspase Dronc-like 基因 (命名 *Lvcaspase Dronc-like*)。生物信息学分析结果显示, *Lvcaspase Dronc-like* 的全长 cDNA 包含 908 个碱基对, 编码 266 个氨基酸。采用保守域程序分析得到 *Lvcaspase Dronc-like* 含有一个 caspase 募集结构域。多物种氨基酸比对结果表明 *Lvcaspase Dronc-like* 与黑腹果蝇 Dronc (NP_524017.1) 具有 81% 相似性。构建系统发育树结果显示 *Lvcaspase Dronc-like* 与哺乳动物 caspase-9 亲缘关系最近。*Lvcaspase Dronc-like* 在检测的凡纳滨对虾 12 个组织中广泛分布, 其中眼柄和肝胰腺中表达水平最高。溶藻弧菌感染凡纳滨对虾会显著上调 *Lvcaspase Dronc-like* 在肝胰腺、血液、肌肉、肠道中的表达。亚细胞定位分析表明 *Lvcaspase Dronc-like* 以点状均匀形式分布在果蝇 S2 全细胞中。进一步, 在凡纳滨对虾体内通过干扰 RNA 敲降 *Lvcaspase Dronc-like* 的表达, 感染溶藻弧菌后结果显示, 敲降后凡纳滨对虾体内菌落数目增加, 存活率降低, 表明敲降 *Lvcaspase Dronc-like* 使虾体抗菌防御能力受损。本研究通过体内外沉默或过表达 *Lvcaspase Dronc-like*, 研究其分子特征及抗菌功能, 为全面解析对虾免疫系统与溶藻弧菌的相互作用机制奠定理论基础。

关键词: 凡纳滨对虾; caspase Dronc-like; 溶藻弧菌; 抗菌免疫

凡纳滨对虾 caspase-1-A like 分子特征及对溶藻弧菌感染的影响研究

梁振华^{1,2,3}, 谢珍玉^{1,2,3}, 张馨^{1,2,3*}

1.海南大学南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口, 570228; 2.海南大学海南省热带水生生物与生物技术重点实验室, 海口, 570228; 3.海南大学海洋生物与水产学院, 海口, 570228

摘要: 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 是海南主要养殖品种, 但近年来对虾集约化养殖规模的扩大, 导致了弧菌病等多种流行性疾病频发, 造成了海南养殖对虾的大规模减产和苗种业的巨大经济损失。caspase-1-A like 作为参与炎症与凋亡的相关因子, 推测其可能在对虾应对溶藻弧菌感染的免疫过程中发挥关键作用。为探究其在凡纳滨对虾抗溶藻弧菌免疫中的机制, 本研究从凡纳滨对虾感染溶藻弧菌前后肝胰腺组织差异表达基因中鉴定并克隆了凡纳滨对虾 caspase Dronc-like 基因(命名为 *Lvcaspase-1-A like*)。结果表明, 克隆获得的 *Lvcaspase-1-A like* ORF 全长为 1545bp (LOC113800084), 其编码 514 个氨基酸, 保守域分析显示其含保守的 CAsC 结构域与 ZnF_U1 锌指结构。多物种氨基酸比对结果表明, *Lvcaspase-1-A like* 序列与其他甲壳类动物的序列具有较高的相似性, 与斑节对虾 caspase-1 (XP037785113.1) 具有 72.66% 相似性。表达模式分析显示 *Lvcaspase-1-A like* 在检测的凡纳滨对虾 9 个组织中广泛表达, 其中肝胰腺表达量最高, 肠道次之。溶藻弧菌感染会显著上调 *Lvcaspase-1-A like* 在肝胰腺、肠道、血淋巴的表达, 并分别在 3h、24h、6h 达到表达量高峰, 提示其可能参与调节溶藻弧菌的感染过程。此外, 本研究构建了 pAc5.1-*Lvcaspase-1-A like*-EGFP 真核表达载体, 在果蝇 S2 细胞中过表达 *Lvcaspase-1-A like* 后, 亚细胞定位显示 *Lvcaspase-1-A like* 以点状形式均匀分布于全细胞中。本研究通过过表达凡纳滨对虾 caspase-1-A like, 研究其分子特征及功能, 结果将有助于理解宿主-病原体相互作用和疾病发生机制, 为防控日趋严重的对虾病害提供免疫理论与应用基础。

关键词: 凡纳滨对虾; 溶藻弧菌; caspase-1-A like; 免疫调控

Rab5 参与克氏原螯虾 JAK/STAT 信号通路抗菌免疫调控的作用研究

杜争艳, 杨紫, 朱雷*, 孔祥会*

河南师范大学水产学院, 新乡 453007

摘要: 克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)是我国重要的淡水经济物种, 近年来大规模高密度养殖模式导致其病害频发。作为一种低等无脊椎动物, 克氏原螯虾主要依赖非特异性免疫系统抵御病原入侵。Rab 家族蛋白是一类具有 GTP 酶活性的小分子蛋白, 在细胞囊泡运输过程中起关键调控作用。研究表明, Rab 蛋白可通过调节受体跨膜运输、接头分子转移及相关蛋白活性等方式参与信号转导的调控。在果蝇中, JAK/STAT 信号通路的激活不仅依赖于配体与 Dome 受体的结合, 还需借助网格蛋白依赖的内吞作用将受体复合物内化至细胞内。在此过程中, Rab5 与 Dome 蛋白存在共定位现象, 提示 Rab5 可能参与 Dome 受体的内化调控。前期研究发现, 克氏原螯虾 Rab5 在抵御维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)感染中发挥免疫作用, 抑制 Rab5 表达会导致宿主死亡率上升和死亡速度加快。干扰 Rab5 后, 血淋巴细胞中 STAT 及下游抗菌肽的表达水平显著下降, 表明 Rab5 可能通过调控 JAK/STAT 信号通路参与抗菌免疫反应, 但其具体机制尚不明确。本研究克隆了克氏原螯虾 JAK/STAT 信号通路中 JAK 和 Domeless 的 ORF 序列, 进行了生物信息学分析, 并检测了其在健康组织中的分布及病原感染后的表达变化。进一步构建了 Domeless 和 STAT 的原核表达载体, 利用大肠杆菌表达系统制备并纯化重组蛋白, 成功获得相应多克隆抗体。通过干扰 STAT 和 Domeless 基因, 发现血淋巴细胞的细菌清除能力与宿主存活率均下降, 且吞噬及抗菌肽相关基因的表达显著降低。此外, 研究还发现 Rab5 异常表达会影响 JAK 和 Domeless 的表达水平; 同时干扰 Rab5 与通路相关基因后, 细菌清除能力、宿主存活率以及吞噬和抗菌肽相关基因的表达均进一步下降, 表明 Rab5 在 JAK/STAT 通路中可能具有重要调控功能。

关键词: 克氏原螯虾; JAK/STAT 通路; 信号调控; PcRab5

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 不同类型抗脂多糖因子的抗菌作用研究

杨紫 杜争艳 朱雷* 孔祥会*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 河南 新乡, 453007

摘要: 抗脂多糖因子 (Antilipopolysaccharide factor, ALF) 是甲壳动物中一类重要的天然免疫效应分子, 具有广谱抗菌活性。本研究以克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 为对象, 对其不同亚型 ALF 的抗菌机制进行系统探究。ALF 蛋白通常包含一个由两对保守半胱氨酸残基通过二硫键形成的脂多糖结合域 (LBD), 该结构域与其抗菌功能密切相关。本研究基于序列分析合成了多个 ALF 亚型的 LBD 多肽, 并进行原核表达与初步抗菌筛选。结果表明, 在相同摩尔浓度下, 重组蛋白 rPcALF1 和 rPcALF2 对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均表现出显著且稳定的抑菌活性, 其抑菌圈直径显著大于其他重组 ALF 蛋白。因此, 后续研究聚焦于这两个活性最高的亚型, 旨在深入解析其抗菌动力学、分子机制及对宿主肠道菌群的调控作用。通过 RNA 干扰技术敲低 PcALF1 表达后, 克氏原螯虾对嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 的抵抗力显著下降; 而通过注射重组 rPcALF1 或合成 LBD 多肽进行回补实验, 可部分恢复宿主免疫力, 与感染组相比存活率分别提高 30%和 20%。此外, 研究发现重组蛋白对肠道组织损伤具有修复作用, 并能调节肠道菌群结构, 使菌群组成从病理状态向健康状态逆转。进一步的转录组分析表明, rPcALF1 或 rPcALF2 与嗜水气单胞菌共孵育后, 菌体基因表达发生全局性重编程, 包括细胞膜结构相关基因紊乱、中心代谢途径抑制以及应激响应基因剧烈上调。这表明其抗菌机制是通过“膜攻击—代谢抑制—应激超载”的级联过程实现的: ALF 首先破坏细菌细胞膜, 进而引起代谢网络崩溃与不可逆的应激状态, 最终导致细菌死亡。该多靶点、全局性的作用机制使其具备高效且不易诱导耐药性的特点。综上所述, 重组蛋白 rPcALF1 和 rPcALF2 及其合成多肽在防控克氏原螯虾嗜水气单胞菌感染方面表现出良好的应用潜力, 可作为新型抗菌制剂的重要候选分子。

关键词: 克氏原螯虾; 抗脂多糖因子; 嗜水气单胞菌; 抗菌机制

拟穴青蟹 HO-1、KEAP1 的克隆及其在抗弧菌感染中的作用

黄瑜霞^{1, 2}, 程长洪¹, 马红玲¹, 范嗣刚¹, 李升康³, 郭志勋^{1, 2*}

1. 中国水产科学研究院南海水产研究所/广东省渔业生态环境重点实验室, 广州 510300

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

3. 汕头大学 海洋生物研究所/广东省海洋生物技术重点实验室, 汕头 515063

摘要: 拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) 是我国的主要经济蟹养殖品种。副溶血弧菌作为拟穴青蟹的主要病原菌之一, 其进入养殖环境后, 会干扰青蟹组织细胞的正常代谢活动, 引发炎症反应, 造成氧化应激。Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Keap1)-核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 信号通路作为细胞抗氧化应激反应中的关键通路, 该信号通路上游基因 Keap1 及其下游关键基因血红素加氧酶 (HO-1) 在拟穴青蟹抗弧菌感染中的作用仍不清楚。本文通过 RACE 和 RT-PCR 等技术, 克隆获得了 HO-1 和 Keap1 基因全序列。HO-1 全长为 1967bp, 包含 765 bp 的 ORF, 115 bp 的 5'非编码区(5'-UTR)和 1087 bp 的 3'非编码区(3'-UTR); ORF 共编码 255 个氨基酸, 蛋白理论分子量 29.2 kDa, 理论等电点为 8.43。Keap1 全长 6028bp, 开放阅读框包含 1851bp 核苷酸, 编码 617 个氨基酸, 763bp 的 5'-UTR 和 3414bp 的 3'-UTR, 蛋白理论分子量 69.25 kDa, 理论等电点为 6.30。同源性分析显示, 拟穴青蟹 HO-1、Keap1 与三疣梭子蟹的相似性最高, 分别为 76.68%和 82.99%。荧光定量 PCR 分析发现, HO-1、Keap1 在拟穴青蟹各个组织中均有表达, 在肝胰腺和鳃中表达量最高。并且通过 dsRNA 介导的 RNA 干扰 (RNAi) 在体内敲低 HO-1、Keap1 的表达, 以确定 HO-1、Keap1 在拟穴青蟹抗弧菌感染中的作用。本研究进一步完善拟穴青蟹 KEAP1-Nrf2 信号通路知识, 也为青蟹养殖中的病害防治工作提供了科学依据和理论支持。

关键词: 拟穴青蟹; HO-1; Keap1; RNAi

白化综合征影响下罗氏沼虾肠道微生物菌群多样性及结构差异探究

刘静怡,李雄林,王飞扬,黄柯菁,姜建湖*,解家松*

宁波大学海洋学院,浙江宁波 315211;浙江省淡水水产研究所,浙江湖州 313001

摘要: 作为全球水产养殖重要经济物种中的最大型淡水虾类, 罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 在我国规模化养殖中频发一种以体表白化、肝胰脏萎缩为特征的新型疾病--白化综合征 (White Syndrome, WS), 以育龄雌虾的肉质劣化和繁殖力下降最为显著, 其发病率达 15-25%, 造成严重经济损失。肠道菌群失衡与虾类疾病密切相关, 为探究罗氏沼虾白化综合征的发病机制及影响因素, 首先采集健康组及患病组雌虾肠道样本 (n=4), 通过肠道组织 HE 染色切片观察病理变化、Illumina Nova 平台 16S rRNA 基因 V3-V4 区扩增子测序结合转录组数据分析、PICRUST2 功能预测分析菌群代谢通路差异, 探究罗氏沼虾白化个体肠道微生物菌群多样性及与健康个体对比下的结构差异。结果表明, 组织病理学显示白化虾存在肠道细胞排列松散、坏死等结构异常; 测序结果分析表明白化个体肠道菌群 α 多样性 (Chao1 指数) 显著降低, 厚壁菌门 (*Firmicutes*) 相对丰度升高, 变形菌门 (*Proteobacteria*) 优势减弱, 乳球菌属 (*Lactococcus*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 及气单胞菌属 (*Aeromonas*) 条件致病菌显著富集, 肠道微生物菌群失调; 功能预测表明白化个体在丙二醇降解 (PWY-7003)、甘油代谢 (PWY-6588) 及腐胺降解 (ARGDEG-PWY) 通路上更为活跃 ($P<0.05$), 可能加剧氧化应激及组织损伤。研究结果有助于深入探究水产动物肠道微生物多样性、组织结构及功能的相互关系, 为罗氏沼虾健康养殖提供科学依据。

关键词: 罗氏沼虾; 白化综合征; 肠道微生物; 16S rRNA 测序; 代谢

发热温度通过 HSP70-Toll4 信号途径增强对虾白斑综合症病毒的抵抗力

肖邦*¹

1. 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 青岛 266109

摘要: 在水生变温动物中, 温度在生物过程和病毒性疾病的流行中起着关键作用; 然而, 其背后分子机制尚未完全阐明。在本研究中, 我们探究了高温 (32 °C) 对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 抗白斑综合症病毒 (WSSV) 免疫反应的影响。研究表明, 较高的水温, 特别是 32 °C, 可以显著抑制 WSSV 的复制和致病性, 从而提高 WSSV 感染虾的存活率。通过转录组分析和体内实验, 确定了热休克蛋白 70 (HSP70) 是这种免疫热调节的关键因子。在 32 °C 下饲养的对虾, RNAi 敲低 HSP70 的表达, 病毒载量会增加, 存活率也会降低, 这表明 HSP70 在高温下提高了对虾抗 WSSV 的能力。进一步结果也揭示了 HSP70-Toll4-Dorsal-抗菌肽 (AMP) 通路是对虾高温下抗 WSSV 的关键途径。该通路涉及 HSP70 与 Toll4 受体的相互作用, 导致 Dorsal 发生磷酸化, 从而调节 AMPs 的表达, 如抗 LPS 因子 (ALF) 和溶菌酶 (LYZ) 家族表达增加。总之, 这些发现加深了我们对温度在水生变温动物疾病发生的理解, 尤其是 HSP70 在促进虾的先天免疫系统对热应激反应方面的作用, 并提出了在虾养殖中控制 WSSV 的新方法, 如控制养殖环境温度或诱导 HSP70 表达。

关键词: HSP70; WSSV; Toll; 抗菌肽; 对虾

对虾白斑综合症病毒新型受体的筛选与鉴定研究

周君怡, 张慧敏, 吴高椿, 朱景花, 章跃陵, 姚德福*

汕头大学理学院, 汕头, 515063

摘要: 白斑综合症病毒 (WSSV) 是一种高致病性病毒病原体, 对全球甲壳类水产养殖业构成严重威胁。该病毒具有广泛的宿主范围, 其核心机制在于能够利用多种受体介导病毒颗粒与宿主细胞的附着和入侵过程。然而, 迄今为止 WSSV 的受体尚未被完全鉴定。本研究采用基于生物素邻近标记 (BioID) 的技术, 在凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 中筛选并鉴定出钠钾 ATP 酶 α 亚基 (ATP1A) 为 WSSV 的潜在受体。在病毒感染早期, ATP1A 的表达水平显著上升, 并出现寡聚化、聚集及内化现象; 而敲低 ATP1A 表达后, 病毒的入侵与复制均受到明显抑制。进一步的机制研究表明, ATP1A 通过多个胞外结构域与 WSSV 囊膜蛋白 VP28 发生特异性相互作用; 利用人工合成的 ATP1A 胞外结构域肽段能够有效阻断 WSSV 对宿主细胞的入侵及后续复制。此外, 本研究还发现 ATP1A 并不影响病毒与宿主细胞的附着过程, 而是通过小窝蛋白介导的内吞作用及巨胞饮作用促进病毒的内化。综上所述, 本研究不仅建立了一套可靠的 WSSV 受体筛选体系, 而且首次明确了 ATP1A 作为 WSSV 入侵受体的功能, 为抗 WSSV 防控策略和药物研发提供了新的作用靶点。

关键词: WSSV; 甲壳动物; 病毒受体; ATP1A

不同形态二尖梅奇酵母 (*Metschnikowia bicuspidata*) 培养方法建立及其在中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 中的致病性研究

王玉婷,包杰,丰程程,姜宏波*

沈阳农业大学动物科学与医学学院, 沈阳 110866

摘要:近年来,由二尖梅奇酵母 (*Metschnikowia bicuspidata*) 引起的中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 牛奶病对于河蟹产业危害巨大,在北方其致死率高达30%以上。研究发现,在野生患病河蟹体内可观察到不同形态的二尖梅奇酵母,推测其与致病性有着密切联系,明确其形态特征与致病性差异对于该病的防控具有重要意义。本研究发现了酵母相、假菌丝相和菌丝相的二尖梅奇酵母并建立了稳定的培养方法及酵母相与菌丝相之间的形态转换过程,同时对三者的致病力差异和对河蟹的致病性进行了比较。研究结果表明,在25℃添加了甘露醇和磷酸氢二钾的V8果汁培养基中可以诱导出假菌丝相二尖梅奇酵母,在37℃添加了乙酰葡萄糖胺和血清的YPD液体培养基中诱导出菌丝相二尖梅奇酵母,菌丝相在25℃继续培养时又可以转变为酵母相。在不同菌相的致病性比较中,黏附力酵母相最强,菌丝相的毒力最强,并且其对健康中华绒螯蟹的致病性明显高于酵母相和假菌丝相。菌丝组中华绒螯蟹“牛奶病”患病进程加快,血淋巴白浊程度更为严重。耐药性方面,菌丝相比其他菌相对两性霉素B、氟康唑、伏立康唑、5-氟胞嘧啶药物更为敏感。在河蟹应对二尖梅奇酵母病原入侵过程中,颗粒细胞凋亡量最多,但在第5h时,检测到菌丝组的血细胞均未发生凋亡。透明细胞为主要的吞噬群体,颗粒细胞会包裹并形成结节以防御病原。在此过程中血细胞会产生黑化反应且酵母会转换为菌丝进行免疫逃逸。

关键词: 二尖梅奇酵母; 形态转换; 致病力; 中华绒螯蟹; 免疫逃逸

小檗碱碳点的合成及其对二尖梅奇酵母菌(*Metschnikowia bicuspidata*)的抗菌机制

王月¹, 丰程程^{1,2}, 邓一同¹, 刘俊¹, 包杰^{1,2}, 姜宏波^{1,2*}

1 水产养殖专业, 沈阳农业大学, 110866

2 农业农村部中华绒螯蟹育种与繁育重点实验室, 沈阳农业大学, 110866

摘要: 二尖梅奇酵母菌(*Metschnikowia bicuspidata*)引发的“牛奶病”给中华绒螯蟹养殖的健康养殖带来了严重影响。虽然天然抗菌剂显示出前景, 但其稳定性和溶解度有限。小檗碱通过抑制真菌中麦角甾醇的合成和诱导ROS的产生而表现出抗菌活性, 但其溶解度差和膜穿透率低阻碍了其应用。碳点 (Carbon Dots, CDs) 具有高表面积、可调化学成分和良好的生物相容性, 为药物递送提供了独特的优势。本研究合成了小檗碱碳点 (B-CDs) 并评估了它们对二尖梅奇酵母菌的抗菌活性。B-CDs 是通过水热合成制备的, 表现出优异的纳米结构、分散性和生物相容性。B-CDs的最低抑制浓度为0.031 mg/mL, 低于单独使用小檗碱 (1 mg/mL)。转录组学分析表明, B-CDs通过下调关键糖酵解酶来破坏能量代谢。GO和KEGG富集分析发现差异表达基因参与碳水化合物代谢和信号通路。综上所述, B-CD 可改善溶解度、细胞摄取和 ROS 生成, 从而增强抗菌作用。这种纳米材料显示出水产养殖中可持续病原体控制的前景。

关键词: 二尖梅奇酵母; 小檗碱; 碳点; 中华绒螯蟹; “牛奶病”

青虾病原拟态弧菌的基因组特征及 *rpoS* 基因的功能研究

姜姿妍, 张晓君*

扬州大学食品科学与工程学院, 扬州 225000

摘要: 青虾是我国重要的淡水虾养殖品种之一, 随着养殖规模和密度的增加, 近年来青虾养殖过程中病害频发, 尤其是青虾“红体病”造成大规模死亡。拟态弧菌作为引起青虾“红体病”的主要病原菌, 在水环境剧烈变化的情况下仍能持久存活, 导致青虾反复感染发病。为揭示拟态弧菌反复感染的机制, 本研究对拟态弧菌的致病性及基因组特征进行了分析, 发现拟态弧菌对青虾的致病性较强, 且携带多种毒力和耐药基因, 感染后导致青虾肝胰腺和鳃组织严重损伤。通过饥饿胁迫探索拟态弧菌对环境的适应机制, 筛选出抗胁迫关键基因 *rpoS*。为了揭示 *rpoS* 基因在拟态弧菌抗环境胁迫和毒力的调控机制, 构建拟态弧菌 *rpoS* 缺失株及回补株, 发现该基因缺失导致拟态弧菌运动能力、生物膜形成能力下降, 且其对 H_2O_2 、高温、乙醇和饥饿胁迫的耐受性明显低于野生株。通过转录组学分析揭示 *rpoS* 基因广泛参与鞭毛合成与组装、膜合成与组装以及对各种刺激的响应等过程。将野生株和 *rpoS* 基因缺失株进行青虾感染实验, 发现 *rpoS* 基因缺失导致拟态弧菌对青虾的致病性降低, 且青虾各组织内的细菌载量显著低于野生株。通过进一步转录组学分析发现, *rpoS* 基因缺失前后感染青虾的差异表达基因富集到多条免疫反应相关通路, 包括细胞外基质-受体相互作用、PI3K-Akt 信号通路和局灶性黏附等。其中, 与 Kazal 型丝氨酸蛋白酶抑制剂、S 抗原蛋白、铜锌超氧化物歧化酶等相关的基因表达显著上调。本研究阐明 *rpoS* 基因在拟态弧菌逆境生存、毒力及感染宿主过程中的调控功能, 研究结果为拟态弧菌预防策略的分子靶点选择奠定了理论基础。

关键词: 青虾; 拟态弧菌; *rpoS* 基因; 环境胁迫; 毒力

ATG12-ATG5-ATG16L1 复合体调控罗氏沼虾抗维氏气单胞菌感染的分子机制

周丽颖, 朱鑫海, 蔡小雨, 尹稼, 高晓建, 姜群, 张耀, 张晓君*

扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009

摘要: 自噬作为一种高度保守的细胞生物学过程, 通过自噬相关(ATG)蛋白家族在先天免疫应答中发挥着至关重要的调控功能。维氏气单胞菌 (*Aeromonas veronii*) 是罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 养殖业中最具危害性的病原菌之一, 其感染可导致罗氏沼虾大规模死亡, 给全球罗氏沼虾产业造成重大经济损失。为阐明自噬蛋白在罗氏沼虾抗维氏气单胞菌感染免疫中的分子机制, 通过转录组分析鉴定出三个显著上调表达的核心自噬基因 *MrATG5*、*MrATG12* 和 *MrATG16L1*, 其编码蛋白在甲壳类中具有进化保守性, 进一步免疫荧光共定位实验证实 *MrATG5*、*MrATG12* 和 *MrATG16L1* 蛋白之间存在互作关系。在维氏气单胞菌感染过程中, *MrATG12* 和 *MrATG16L1* 在肝胰腺、鳃、肠等主要免疫组织中呈现显著的上调表达趋势, 而 *MrATG5* 仅在肝胰腺和肠道组织中轻微上调表达。功能研究表明, 沉默任一自噬基因显著抑制自噬通路关键基因 (*MrATG3*、*MrATG4*、*MrATG8* 等) 的表达, 同时导致宿主死亡率显著升高和组织中细菌载量的大幅增加。值得注意的是, 在自噬基因被沉默的情况下, 多种抗菌肽基因 (*MrALF2*、*MrALF4*、*MrCRUSTIN2* 等) 的表达却出现反常性上调, 而 NF- κ B 信号通路抑制基因 I κ B α 的表达水平则显著下调。这一重要发现提示 ATG 蛋白可能通过负调控 NF- κ B 信号通路来抑制抗菌肽的表达。综合这些研究结果, 我们证实 ATG12-ATG5-ATG16L1 蛋白复合体通过协调自噬过程与抗菌肽表达的精细调控, 在罗氏沼虾抗维氏气单胞菌感染的先天免疫防御中发挥核心作用, 为水产甲壳类病害防控提供了新的理论基础。

关键词: 罗氏沼虾; 维氏气单胞菌; ATG12-ATG5-ATG16L1 复合体; 抗菌肽

糖酵解介导的组蛋白乳酸化抑制甲壳动物抗病毒免疫

辛帆, 孙偲聪, 章昕懿, 张远, 崔澳玺, 章晓波*

浙江大学生命科学学院, 杭州 310058

摘要:糖酵解通过组蛋白乳酸化在动物病毒感染过程中发挥关键作用, 这种由乳酸介导的新型表观遗传修饰能够调控宿主先天免疫。然而, 糖酵解及其产生的乳酸在干扰素 (interferon, IFN) 信号通路即先天免疫抵御病毒感染的核心机制中的作用尚不明确。本研究旨在探讨糖酵解和乳酸在白斑综合症病毒 (white spot syndrome virus, WSSV) 感染对虾过程中对宿主干扰素样信号通路的调控作用及机制。结果显示, WSSV 感染日本对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 后, 显著增强虾体糖酵解活性并致使葡萄糖和乳酸含量升高, 糖酵解关键酶 HK、LDH 和 PK 表达上调。糖酵解抑制剂 2-DG 处理对虾, 可显著降低病毒载量, 而糖酵解激活剂 PS48 及乳酸钠处理则促进病毒复制, 结果表明糖酵解及乳酸生成促进了病毒感染。结果显示, 糖酵解产生的乳酸促进特定位点组蛋白乳酸化 (H3K18la 和 H4K12la), 抑制宿主 IFN 样信号通路。H3K18la 和 H4K12la 上调 MDM2 表达以阻断抗病毒信号通路, 同时上调 miR-1 使其通过靶向 Vago5 mRNA 3'非翻译区抑制其表达, 进一步抑制类干扰素生成。本研究揭示了糖酵解通过乳酸介导组蛋白乳酸化调控甲壳动物先天免疫的新机制, 为病毒重编程宿主代谢与抗病毒免疫的关系提供了新见解。

关键词:糖酵解; 病毒感染; 对虾; 组蛋白乳酸化; 类干扰素信号通路

基于转录组解析 OsHV-1 与毛蚶幼虫互作的动态机制

黄博闻¹, 张翔¹, 康会岗¹, 李培君¹, 倪敬磊¹, 王崇明¹, 白昌明^{*1,2}

1 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室,

农业农村部海水养殖病害防治重点实验室, 青岛 266071

2 崂山实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 青岛 266237

摘要: 牡蛎疱疹病毒 (OsHV-1) 是一种感染双壳类软体动物的病毒性病原, 该病毒已被证实是导致包括毛蚶 (*Anadara kagoshimensis*) 在内的十多种经济贝类大规模死亡的主要诱因, 对全球贝类养殖业及自然种群构成严重威胁。目前 OsHV-1 毛蚶分离株的全基因组序列已成功解析, 但病毒与宿主间复杂的相互作用机制仍知之甚少。本研究通过 RNA 测序技术, 系统解析了毛蚶幼虫在自然感染 OsHV-1 过程中的转录组响应特征。结果显示, 宿主免疫应答启动存在显著延迟。在感染早期病毒入侵与快速增殖阶段, 宿主未启动有效免疫防御机制, 反而被病毒挟持并利用其细胞资源。差异表达基因显著富集于泛素介导的蛋白水解、核糖体、NOD 样受体、黏着斑及单纯疱疹病毒 1 型感染信号通路。其中, 除 NOD 样受体信号通路介导干扰素 (IFN- α/β) 转录参与抗病毒免疫应答外, 其他信号通路似乎均被病毒挟持参与其免疫逃逸与复制, 例如, 病毒通过促进免疫效应蛋白泛素化降解以及抗凋亡基因转录以逃逸免疫监视、利用宿主核糖体以及 ECM 受体相互作用促进自身复制和扩散。感染晚期阶段病毒载量显著升高, 幼虫死亡率高达 80%, 表明病毒感染早期低效抗病毒免疫应答未能有效遏制病毒复制进程。然而, 在感染晚期阶段宿主启动强烈免疫反应, 差异基因在 9 个免疫通路中显著富集。为探究转录重编程机制, 结合 16S 扩增子测序发现, 感染后期毛蚶幼虫的细菌群落结构趋向单一化, 潜在致病菌丰度升高, 提示微生物群落失衡可能作为关键调控因素, 通过重塑宿主免疫微环境参与晚期免疫应答。本研究揭示了 OsHV-1 在感染早期的劫持策略及晚期微生物群落对病毒-宿主互作的潜在调控作用, 为解析贝类抗病毒机制及开发新型免疫防控策略提供了理论依据。

关键词: 牡蛎疱疹病毒, 毛蚶, 微生物群落, 先天免疫, 转录组

DM9CP-integrin-RhoA pathway promotes the haemocyte phagocytosis in the immune priming of *Crassostrea gigas*

Weilin Wang, Yu Liu, Xingye Lian, Jiajun Zuo, Lingling Wang*, Linsheng Song*

School of Marine Science and Environment Engineering, Dalian Ocean University, Dalian

116023, China

Abstract: DM9 domain-containing proteins (DM9CPs) constitute a novel family of pattern recognition receptors (PRRs) recognizing specific ligands to initiate downstream immune responses. In the present study, the content of CgDM9CP-1 protein in the cell-free haemolymph of *Crassostrea gigas* was significantly upregulated at 3, 6, and 12 h after *Vibrio splendidus* stimulation, and CgDM9CP-1 was able to interact with CgIntegrin both *in vitro* and *in vivo*. After the expression of CgDM9CP-1 or CgIntegrin was knocked down by RNAi, the mRNA expression levels of CgRhoA and CgcathepsinL1, as well as the levels of reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO), and the phagocytic rate of haemocytes all decreased significantly. Moreover, the modification level of H3K4me3 in CgDM9CP-1 gene promoter increased significantly after the first *V. splendidus* stimulation, and the transcripts of CgDM9CP-1, CgIntegrin, CgRhoA and CgcathepsinL1, as well as the phagocytic rate of haemocytes all increased significantly after the secondary stimulation with *V. splendidus*. When the H3K4me3 modification level of the CgDM9CP-1 promoter was increased by the treatment with histone demethylases inhibitor dimethyl succinate (DMS), the mRNA expression levels of CgDM9CP-1, the phagocytic rate and the ROS level of haemocytes increased after the secondary *V. splendidus* stimulation, while the treatment with histone demethylases activator dimethyl 2-oxoglutarate (DM2O) resulted in opposite effects. These results indicated the CgDM9CP-1-integrin-RhoA pathway regulated haemocyte phagocytosis in the immune priming of oyster.

Keywords: DM9 domain containing protein; phagocytosis; immune priming; Oyster

Morphologic, cytometric, quantitative transcriptomic and functional characterisation provide insights into the haemocyte immune responses of Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*)

Zeyuan Ma^{1†}, Yunlong Wu^{1†}, Yu Zhang¹, Weini Zhang¹, Mingmei Jiang¹, Xiaoyue Shen¹, Hailian Wu¹, Xinhua Chen^{1*} and Guilan Di^{1*}

¹ State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province, Institute of Oceanology, College of Marine Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, China

Abstract: In recent years, the abalone aquaculture industry has been threatened by the bacterial pathogens. The immune responses mechanisms underlying the phagocytosis of haemocytes remain unclear in *Haliotis discus hannai*. It is necessary to investigate the immune mechanism in response to these bacterial pathogens challenges. In this study, the phagocytic activities of haemocytes in *H. discus hannai* were examined by flow cytometry combined with electron microscopy and transcriptomic analyses. The results of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus* and *Staphylococcus aureus* challenge using electron microscopy showed a process during phagosome formation in haemocytes. The phagocytic rate (PP) of *S. aureus* was higher than the other five foreign particles, which was about 63%. The PP of *Vibrio harveyi* was about 43%, the PP peak of *V. alginolyticus* in haemocyte was 63.7% at 1.5 h. After *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* challenge, acid phosphatase, alkaline phosphatase, total superoxide dismutase, lysozyme, total antioxidant capacity, catalase, nitric oxide synthase and glutathione peroxidase activities in haemocytes were measured at different times, differentially expressed genes (DEGs) were identified by quantitative transcriptomic analysis. The identified DEGs after *V. parahaemolyticus* challenge included haemagglutinin/amebocyte aggregation factor-like, supervillin-like isoform X4, calmodulin-like and kyphoscoliosis peptidase-like; the identified DEGs after *V. alginolyticus* challenge included interleukin-6 receptor subunit beta-like, protein turtle homolog B-like, rho GTPase-activating protein 6-like isoform X2, leukocyte surface antigen CD53-like, calponin-1-like, calmodulin-like, troponin C, troponin I-like isoform X4, troponin T-like isoform X18, tumor necrosis factor ligand

superfamily member 10-like, rho-related protein racA-like and haemagglutinin/amebocyte aggregation factor-like. Some immune-related KEGG pathways were significantly up-regulated or down-regulated after challenge, including thyroid hormone synthesis, Th17 cell differentiation signalling pathway, focal adhesion, melanogenesis, leukocyte transendothelial migration, inflammatory mediator regulation of TRP channels, ras signalling pathway, rap1 signalling pathway. This study is the first step towards understanding the *H. discus hannai* immune system by adapting several tools to gastropods and providing a first detailed morpho-functional study of their haemocytes.

Keywords: *Haliotis discus hannai*, transcriptomic, haemocyte, phagocytosis, electron microsc

Sulforaphane repairs oxidative stress damage induced by oxidized fish oil by activating Nrf2 in *Litopenaeus vannamei*

Shiping Yang, Leyuan Feng, Junliang Luo, Jichang Jian, Shuanghu Cai, Huiling Liu *

Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture &

Key Laboratory of Control for Disease of Aquatic Animals of Guangdong Higher Education

Institutes, Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, China

Abstract: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) is an essential component in regulating oxidative stress. Sulforaphane (SFN) is a natural antioxidant and gene *Nrf2* agonist that can increase the antioxidant capacity of the organism and reduce oxidative stress. However, research on the repair of oxidative stress damage by SFN in aquatic animals remains extremely scarce. In order to further explore the function and role of SFN in the repair of oxidative stress injury in aquatic animals, this study took *Litopenaeus vannamei* as the research object. We established an oxidative stress model of *L. vannamei* through 6% oxidized fish oil (OFO) feeding. Methods such as RNA interference (RNAi), qPCR, histopathological analysis, and TUNEL assay were used to detect the changes in the oxidative stress status of *L. vannamei*. The results showed that the expression of *Nrf2* in hepatopancreas of *L. vannamei* in dsRNA-*Nrf2*+SFN group was significantly higher than that in dsRNA-*Nrf2* group and control group at 24h ($p < 0.05$). The transcription levels of antioxidant and autophagy genes in SFN group was significantly higher than that in control group ($p < 0.05$), and the expression of related genes in dsRNA-*Nrf2*+SFN group were also higher than that in dsRNA-*Nrf2* group. Histopathology showed that *Nrf2* knockdown would aggravate hepatopancreatic apoptosis and vacuolation, while SFN treatment after *Nrf2* knock-down could alleviate hepatopancreatic injury and apoptosis caused by OFO. The results indicated that SFN could repair the oxidative stress injury of *L. vannamei* induced by OFO by activating *Nrf2*. This study investigated the role of SFN in alleviating and repairing the oxidative stress damage in *L. vannamei* caused by OFO, aiming to provide a theoretical basis for the research on the antioxidant effect of SFN and the regulation of the antioxidant capacity of shrimp.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; *Nrf2*; Oxidized fish oil; Sulforaphane; Antioxidant

Integrated time-series transcriptomics and metabolomics uncover key metabolites and pathways in American Bullfrog (*Aquarana catesbeiana*) response to *Elizabethkingia miricola* infection

Peikui Yang^{1*,2}, JiaWei Lin¹, Jude Juventus Aweya^{3,4}, Qiongjun Zhao¹, Yuzhong Zheng^{1,2}, Xianghui Zou^{1,2}, Yanjie Sun¹, Yaqun Liu^{1,2}, Shixiong Zhan¹

¹ School of Life Science and Food Engineering, Hanshan Normal University, Chaozhou, 521041, China

² Guangdong Provincial Key Laboratory of Functional Substances in Medicinal Edible Resources and Healthcare Products, Hanshan Normal University, Chaozhou, 521041, China

³ Department of Food and Human Nutritional Sciences, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada

⁴ The Canadian Centre for Agri-Food Research in Health and Medicine, St Boniface Hospital Albrechtsen Research Centre, Winnipeg, MB, Canada

Abstract: *Elizabethkingia miricola* is a widespread zoonotic bacterium that can cause disease in both humans and animals. Understanding the host's response mechanisms to *E. miricola* infection is critical for developing effective control strategies. In this study, American bullfrogs (*Aquarana catesbeiana*) were experimentally infected with *E. miricola*, and transcriptomic and metabolomic changes in the liver and spleen were analyzed at 0, 1, 2, and 3 days post-infection. A total of 3,818 and 4,166 differentially expressed genes (DEGs) were identified in the liver and spleen, respectively, along with 518 and 464 differentially abundant metabolites (DAMs). Short time-series expression miner (STEM) analysis revealed six and seven significant gene expression patterns in the liver and spleen, respectively, with alterations in numerous immune and lipid metabolism pathways identified by gene set enrichment analysis (GSEA). The metabolomic data revealed dysregulation of 86 pathways in the liver and 75 in the spleen, many of which are involved in lipid, amino acid, and carbohydrate metabolism, as well as signal transduction. KEGG enrichment and STEM analysis identified the glycerophospholipid pathway as a key component of the bullfrog's antibacterial defense. This multi-omics study uncovered a complex regulatory network and highlighted stage-specific immune and metabolic responses in bullfrogs during *E. miricola* infection, providing valuable insights into their defense mechanisms.

Keywords: *Elizabethkingia miricola*; *Aquarana catesbeiana*; time-series; transcriptome; metabolomics; bullfrogs

Delta/Notch signaling regulates hemocyte proliferation and intestinal inflammatory responses in *Eriocheir sinensis*

Hao Li, Weijia Liu, Xianghui Kong*

Engineering Lab of Henan Province for Aquatic Animal Disease Control, College of Fisheries,
Henan Normal University, Xinxiang, 453007, China

Abstract: The canonical Notch signaling pathway is an evolutionarily highly conserved cell signaling system that has been extensively demonstrated to play vital roles in diverse processes of innate immunity. However, its function in invertebrates, particularly crustaceans, remains incompletely elucidated. In this study, we discovered that the receptor Notch interacts with its specific ligand Delta, thereby regulating hemocytes proliferation by modulating the expression of cell proliferation-related genes during the innate immune response of the Chinese mitten crab. Furthermore, we determined that the activated Delta/Notch signaling pathway also plays a crucial role in intestinal inflammation by regulating the expression of inflammatory response-associated factors and influencing the composition of the intestinal microbiota, using an established bacterial intestinal inflammation model. Subsequent studies also revealed that this pathway could serve as a therapeutic target for Huang Qin Decoction, a traditional Chinese herbal formula used to treat intestinal inflammation. Taken together, this study revealed a novel role for the Notch receptor and its ligand Delta in the innate immune response of invertebrates, providing an important basis and theoretical guidance for further studies on crustacean immunity and disease control.

Keywords: *Eriocheir sinensis*; Notch signaling; Hemocyte proliferation; Intestinal inflammation

Study on the Antimicrobial Effects of Different Types of Anti-Lipopolysaccharide Factors in *Procambarus clarkii* (crayfish)

Qing Yang, Zhengyan Du, Lei Zhu*, Xianghui Kong*

College of Fisheries, Henan Normal University, Henan Engineering Research Center of Control for Aquatic Animal Diseases, Xinxiang, Henan, 453007, China.

Abstract: Antilipopolysaccharide factors (ALFs), essential innate immune effectors in crustaceans, exhibit broad-spectrum antimicrobial activity. Here, we investigate ALFs isoforms in *Procambarus clarkii*, focusing on a conserved disulfide-stabilized lipopolysaccharide-binding domain (LBD). Through prokaryotic expression and screening, recombinant proteins rPcALF1 and rPcALF2 demonstrated superior antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria compared to other ALFs. Subsequent mechanistic studies revealed that RNAi-mediated PcALF1 knockdown compromised crayfish resistance to *Aeromonas hydrophila*, while supplementation with rPcALF1 or its LBD peptide increased survival by 30% and 20%, respectively. Crucially, treatment repaired intestinal epithelium damage and restored gut microbiota homeostasis from pathological dysbiosis. Transcriptomic profiling established that rPcALF1/2 exposure triggers global gene reprogramming in *A. hydrophila*, characterized by: 1) Disrupted membrane integrity pathways; 2) Suppressed central carbon metabolism; 3) Hyperactivated stress responses. These effects support a three-tiered bactericidal strategy: initial membrane disruption drives metabolic collapse and insurmountable oxidative stress, culminating in cell death. This multitarget mechanism explains both high efficacy and low resistance emergence. Our findings identify rPcALF1 and rPcALF2 as prime candidates for novel aquaculture therapeutics, leveraging dual antimicrobial and microbiota-restorative functions against *A. hydrophila* infections.

Isolation and genomic characterization of multi-drug resistant *Morganella morganii* strain from Chinese Soft-Shell Turtle *Pelodiscus sinensis*

Rong-Hua Wang, Jin-Long Wang, Yu-Shuang Luo, Zhong-Yuan Chen¹⁹

Hunan Provincial Key Laboratory for Molecular Immunity Technology of Aquatic Animal Diseases, College of Life and Environmental Sciences, Hunan University of Arts and Science, Changde, Hunan 415000, China.

Abstract: An outbreak of granulomatous disease in the visceral organs was observed at a Chinese Soft-Shell Turtle (CSST, *Pelodiscus sinensis*) aquaculture facility in Changde, Hunan Province, China. The pathology was primarily characterized by the presence of opalescent nodules in vital organs such as the liver, spleen, and heart. The study involved the isolation and identification of the pathogen responsible for the disease, and analyzed its pathogenicity, drug resistance, and genomic characteristics. Results showed the isolation of a dominant strain, HD0531g, from the liver and spleen of affected CSSTs, identified as *Morganella morganii* through physiological and biochemical tests. Phylogenetic analysis based on 16S rRNA sequences revealed that HD0531g clusters with *M. morganii* strains M11, JCM1672, and NBRC3848. Experimental infection models demonstrated that the median lethal dose (LD₅₀) of strain HD0531g in CSSTs was 1.05×10^6 CFU/mL. Antimicrobial susceptibility testing revealed pronounced antibiotic resistance in HD0531g, except for its susceptibility to gentamicin. Pathological observation revealed numerous nodular lesions in the liver and spleen of CSSTs, accompanied by severe hemorrhage and inflammation. Whole-genome sequencing revealed that the HD0531g strain has a total genomic length of about 3.90 Mb, including a 2,311 bp plasmid and encoding 3,653 genes. Phylogenetic analysis of the entire genome placed HD0531g in the same cluster as the *M. morganii* strain NBRC3848. A virulence factor database query identified the presence of 136 virulence genes in strain HD0531g, representing 47 species across 15 categories and encoding an array of pathogenic proteins including secretion systems, adhesins, and lipooligosaccharides (LOS). Drug resistance gene mapping indicated that HD0531g contains 16 distinct antibiotic resistance genes, most of which are related to antibiotic inactivation and antibiotic efflux. In summary, this study isolated a highly pathogenic, multi-drug resistant strain of *M. morganii* from CSSTs affected by visceral white spot disease. It detailed the distribution of antibiotic resistance and virulence genes in the strain, offering valuable insights for treatment and the rational use of drugs in HD0531g infections in CSSTs.

Keywords: *Pelodiscus sinensis*; Granulomas in internal organs; *Morganella morganii*; Genome analysis

Dynamic Adaptations: Unraveling the Skin Microbiome of Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) Under Bacterial Disease Stress

Shan Hu¹, Lixing Huang^{1*}

State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Fisheries college of Jimei university, Xiamen,
Fujian, PR China.

Abstract: Amphibian skin microbiomes dynamically interact with aquatic and terrestrial environments, serving as critical health and disease indicators. This study investigates skin microbiome dysbiosis in bullfrogs (*Rana catesbeiana*) infected with three prevalent bacterial diseases (red-leg syndrome, edema syndrome, meningitis-like infection) versus healthy cohorts. Using 16S rDNA sequencing, we identified 1,059 ASVs spanning diverse phyla. Bacteroidetes, Proteobacteria, and Firmicutes dominated healthy skin, while disease states exhibited syndrome-specific enrichments: *Acinetobacter*, *Arcobacter*, and *Aeromonas* in edema; *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Pedobacter*, *Arcobacter*, and *Comamonas* in meningitis-like infection; and *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, and *Aeromonas* in red-leg syndrome. Functional analyses revealed distinct metabolic disruptions—including carbohydrate, xenobiotic, and amino acid metabolism in edema; energy metabolism in meningitis-like infection; and protein/nervous system pathways in red-leg syndrome. These findings establish bullfrog skin microbiome composition and function as sensitive biomarkers for bacterial disease diagnosis and potential targets for intervention strategies in aquaculture health management.

Keywords: Bullfrogs; Edema syndrome; Meningitis-like infectious disease; Red-leg syndrome; Skin microbiome

Hijacking of host Src-PI3K-Akt signaling by WSSV IE1 protein suppresses apoptotic and autophagic defenses to facilitate viral proliferation

Kaiyu Lu, Jia Zhang, Jinghua Zhu, Yueling Zhang, Defu Yao*

Institute of Marine Sciences and Guangdong Provincial Key Laboratory of Marine Biology,

Shantou University, Shantou 515063, China

Abstract: The phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-Akt pathway is a key signaling cascade regulating diverse cellular processes, including proliferation, survival, autophagy, translation, and metabolism. White spot syndrome virus (WSSV), a major pathogen devastating global crustacean aquaculture, has been demonstrated to exploit the PI3K-Akt pathway to facilitate its proliferation. However, the precise mechanism underlying this viral modulation remained unclear. In this study, we demonstrate that WSSV infection induces activation of the PI3K-Akt pathway during the early infection stage in *Penaeus vannamei*. Mechanistically, we reveal that the WSSV immediate-early protein IE1 interacts with and activates host Src64B kinase via its Y129FTS tyrosine motif. This specific interaction promotes recruitment of the PI3K regulatory subunit alpha (PI3Kp85 α), thereby triggering the downstream PI3K-Akt signaling. By activating this pathway, WSSV establishes a favorable environment for its proliferation by suppressing host apoptotic and autophagic defenses. Our findings unveil a previously unknown mechanism of WSSV immune evasion through Src-PI3K-Akt signaling hijacking and identify components of this signaling hub as potential therapeutic targets for anti-WSSV strategies.

Keywords: WSSV, Immediate-early protein, Src, PI3K-Akt pathway

Synthesis of Berberine-loaded Carbon Dots and their Antimicrobial Mechanism against *Metschnikowia bicuspidata*: Insights from Transcriptomic Analysis

Wang Yue^a, Feng Chengcheng^{a,b}, Deng Yitong^a, Liu Jun^a, Bao Jie^{a,b*}, Jiang Hongbo^{a,b*}

^a Aquaculture Department, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shenyang

Agricultural University, Shenyang, 110866, China

^b Key Laboratory of Breeding and Reproductive Cultivation of Chinese Mitten Crab, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China

Abstract: The "milk disease" caused by *Metschnikowia bicuspidata* has seriously affected the healthy breeding of *Eriocheir sinensis*. Although natural antibacterial agents show promise, their stability and solubility are limited. Berberine exhibits antibacterial activity by inhibiting the synthesis of ergosterol in fungi and inducing the production of ROS, but its poor solubility and low membrane penetration hinder its application. Carbon dots (CDs) have high surface area, tunable chemical composition and good biocompatibility, providing unique advantages for drug delivery. In this study, berberine carbon dots (B-CDs) were synthesized and their antibacterial activity against *M. bicuspidata* was evaluated. B-CDs are prepared through hydrothermal synthesis and show excellent nanostructure, dispersibility and biocompatibility. The lowest inhibitory concentration of B-CDs was 0.031 mg/mL, which was lower than that of berberine alone (1 mg/mL). Transcriptomic analysis showed that B-CDs disrupt energy metabolism by down-regulating key glycolytic enzymes. GO and KEGG enrichment analysis revealed that differentially expressed genes are involved in carbohydrate metabolism and signaling pathways. In summary, B-CD improves solubility, cellular uptake and ROS production, thereby enhancing antibacterial effects. This nanomaterial shows promise for sustainable pathogen control in aquaculture.

Keywords: *Metschnikowia bicuspidata*; Berberine; carbon dots; *Eriocheir sinensis*; milk disease

The effects of overwintering starvation on the hepatopancreas of Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) based on histological and transcriptome analysis

Ming Xu^{a,1}, Fulong Li^{a,1}, Chen Li^{a,1}, Baipeng Chen^a, Junyang Xu^a, Ping Ouyang^b, Defang Chen^a, Yi Geng^c, Xiaoli Huang^{a,*}

^a Department of Aquaculture, College of Animal Science & Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

^b Department of Basic Veterinary, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

* Corresponding authors. E-mail addresses: hxlscu@126.com (Xiaoli Huang).

¹ These authors contributed to this work equally.

Abstract: Overwintering is a special period in aquaculture. The hepatopancreatic injury caused by lack of food during overwintering in Chinese mitten crab seedlings (*Eriocheir sinensis*) has become an urgent problem. Therefore, this study investigated the effects and potential regulatory mechanisms on the hepatopancreas of *E. sinensis* between natural (starvation group) and fed (control group) conditions under overwintering in Xinghua City, Jiangsu Province, China. The results showed that there were different changes in body weight, adaptability, shell hardness, hepatopancreas color and index in *E. sinensis* after overwintering. Histopathologic observation showed that the hepatopancreas in the starvation group appeared highly vacuolated with blurred borders. The Oil Red O staining showed a significant decrease in hepatopancreatic fat accumulation, an increase in the area ratio of the stellate duct lumen, and atrophy of the hepatopancreas. Furthermore, the hepatopancreatic lipid metabolism was regulated by the CREB family and the gene regulatory pathways of overwintering starvation stress of *E. sinensis* were categorized into a network dominated by Apoptosis and FOXO signaling pathways by RNA-Seq analysis. We also examined the expression profiles of relevant genes in the pathway by qRT-PCR to further validate the reliability of the transcriptome data. In summary, the present study revealed that hepatopancreatic lipid metabolism was reduced under overwintering starvation stress in *E. sinensis* with the environmental adaptation through an apoptosis-dominated gene regulatory network. This study enriches the overwintering management and culture strategy of *E. sinensis*, which is of reference value for realizing high production in practice.

Keywords: *Eriocheir sinensis*, Histopathology, RNA-seq, Hepatopancreas, Apoptosis, qRT-PCR

AHPND-causing *Vibrio Parahaemolyticus* infection interferes with lipid metabolism in shrimp

Xiyu Huang, Jiaxin Zhang, Jieyu Huang, Xinhua Chen, Chuanqi Wang*

State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province, College of Marine Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, 350002, China

Abstract: Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), a severe and debilitating condition in farmed shrimp, is caused by a specific strain of *Vibrio parahaemolyticus* (Vp_{AHPND}) and has led to substantial economic losses in global shrimp aquaculture. Currently, no effective control measures exist due to the limited understanding of Vp_{AHPND} pathogenesis. Recent studies have highlighted the role of infection-induced lipid metabolism disorder in the progression of infectious diseases. Here, we observed that Vp_{AHPND} infection markedly increased the number and size of lipid droplets in the shrimp hepatopancreas. This accumulation facilitated bacterial proliferation and increased host mortality. Furthermore, we demonstrated that the increase in lipid droplets was linked to the downregulation of PLRP2, which led to impaired lipolysis and lipophagy. The suppression of PLRP2 also resulted in reduced fatty acid oxidation, mitochondrial dysfunction, and inhibition of key antibacterial proteins, including Crustin, Panaeidin 3a, and Hemocyanin. Collectively, our study reveals a novel mechanism through which Vp_{AHPND} disrupts host lipid metabolism to evade shrimp immune responses. These findings identify potential targets for developing strategies to control AHPND in shrimp aquaculture.

Keywords: Shrimp, AHPND-causing *Vibrio Parahaemolyticus*, Lipid droplets

PXN AND CLL SUPPRESS WSSV INFECTION BY REGULATING THE ACTIVATION OF AP1 AND DORSAL

Xiaotong Cao, Jiangfeng Lan *

Shandong Provincial Key Laboratory of Animal Biotechnology and Disease Control and Prevention, College of Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Taian, 271018, China

Abstract: The body's recognition of pathogenic microorganisms plays an important role in host resistance to pathogen infection. In this study, PXN was found to be secreted into the hemolymph of crayfish (*Procambarus clarkii*) to recognize VP28 of white spot syndrome virus (WSSV), which then interacts with LPS and β -1,3-glucan binding protein (LGBP) to activate activator protein-1 (AP-1). And PcCLL, which contains a C1q-like sequence and might be involved in antiviral immunity. C1qR located on the cell membrane can recognize WSSV by interacting with VP28. Then, it recruits PcCLL and promotes the nuclear translocation of Dorsal. This process cannot be achieved without SRPK, which is a splicing regulator that can phosphorylate proteins. CLL (C1q-like motif that is part of the globular head of C1q) and C1qR (gC1qR homolog) interact with each other, and they are involved in the antiviral immune response by activating Dorsal. This may be a new mechanism for the host to recognize pathogens.

Keywords: Peroxinectin; White spot syndrome virus; *Procambarus clarkii*; Lectin; Dorsal; Activator protein-1

SQSTM1/p62 from *Litopenaeus vannamei* is involved in the immune response to *Vibrio* infection

Junliang Luo, Wei Lu, Yanghui Chen, Guojian Li, Jinyuan Feng, Yanru Huang, Yu Yu, Shuanghu Cai, Jichang Jian, Shiping Yang*

Fisheries College of Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture & Key Laboratory of Control for Disease of Aquatic Animals of Guangdong Higher Education Institutes, Zhanjiang, China

Corresponding author E-mail: ysp20010@sina.com

Abstract: Sequestosome 1 (SQSTM1 or p62) has multiple functional domains, and it can not only be involved in autophagy process, but also defend against oxidative stress by invoking the Keap1/Nrf2 signaling pathway. However, the role of p62 in the response of Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* to bacterial infection is still unclear. This study successfully identified p62 from *L. vannamei* (Lv-p62). The length of the open reading frame (ORF) of Lv-p62 is 1908bp, which encoded 635 amino acids, and had Phox and Bem1p domain (PB1), Zinc-binding and ubiquitin-associated (UBA) domains. The expression level of Lv-p62 in the hepatopancreas of healthy *L. vannamei* is the highest, and it could be significantly induced under the stimulation of *Vibrio harveyi*. Besides, knocking down Lv-p62 by using RNA interference technology could reduce the expression levels of Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), LC3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3) and autophagy-related gene (ATG3, ATG5 and ATG12). Compared with the stimulation with *V. harveyi* alone, stimulation with *V. harveyi* after knocking down Lv-p62 could reduce the expression of antioxidant-, autophagy- and apoptosis-related genes in *L. vannamei*. Moreover, knocking down Lv-p62 could reduce the apoptosis signal of hepatopancreas and the abnormal tissue structure caused by *V. harveyi*. These results indicated that Lv-p62 is involved in the immune response to *Vibrio* infection in *L. vannamei*, which further enriched the regulatory function of p62 and its role in the innate immunity of shrimp.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; p62/SQSTM1; Autophagy; Apoptosis; *Vibrio harveyi*

尼罗罗非鱼 MT 基因克隆及其在重金属 Cr 胁迫下的表达分析

李可 陈杨慧 金绍玲 张洪瑞 王蓓*

广东海洋大学水产学院, 湛江 524088

摘要:【目的】克隆尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 金属硫蛋白 (Metallothionein, MT) 基因, 研究了其在尼罗罗非鱼的血脑屏障中以及重金属刺激后的表达模式, 为探讨重金属对尼罗罗非鱼的影响奠定基础。【方法】根据 NCBI 已公布的尼罗罗非鱼基因组预测序列 (GenBank 登录号: XM_005473513.4), 选取其 MT 基因的 CDS 区, 设计 MT 基因的克隆及实时荧光定量 PCR 引物, 分析了该基因的编码的序列及其特征, 对其生物结构和功能进行了预测, 采用 qRT-PCR 分析尼罗罗非鱼 MT 在各组织中及重金属 Cr 刺激下的表达模式。【结果】通过 PCR 克隆技术获得尼罗罗非鱼 MT 基因全长序列, 共 183 bp, 编码 60 个氨基酸; 具有 1 个蛋白激酶 C 磷酸化位点; 2 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点; 4 个 N-端豆蔻酰基化位点; 1 个 ATP/GTP 结合位点模体 A 和 1 个脊椎动物金属硫蛋白位点。尼罗罗非鱼与斑点罗非鱼 (*Pelmatolapia mariae*) 的 MT 氨基酸序列相似性高达 93%; 系统发育进化树结果也显示, 二者 MT 氨基酸序列聚为一支, 表明二者具有较近的亲缘关系。经重金属 Cr 刺激后, 尼罗罗非鱼 MT 在脑部的表达呈先下降后上升的趋势, 在 24h 和 48h 表达量都极高, 这与体外 Cr 刺激罗非鱼血脑屏障 MT 基因的表达一致, 其中 MT 在 TVEC-01 和 TA-02 细胞的表达量在 48h 最高, BBB 则是 24h 表达量最高。除脑部外, 尼罗罗非鱼 MT 在其他组织中的总体表达趋势均为先上升后下降再上升的趋势, 且均在 48h 达到峰值。【结论】MT 在尼罗罗非鱼中可能通过多重分子机制响应 Cr 胁迫, 其表达具有组织特异性和时间动态性, 为深入探讨 MT 在重金属解毒与生理保护中的作用提供了依据。

关键词: 尼罗罗非鱼; 金属硫蛋白; 重金属; 血脑屏障;

氟苯尼考纳米乳制备及其防治罗非鱼链球菌病效果研究

王寅峰, 刘龙勋, 杨树敏, 郭伟良*

海南大学海洋生物与水产学院, 三亚南繁研究院, 海洋科学与技术协同创新中心, 海南海口

570228

摘要: 无乳链球菌严重危害罗非鱼养殖业。据报道, 罗非鱼无乳链球菌对氟苯尼考高度敏感, 但氟苯尼考防治罗非鱼链球菌病的口服剂量需高达 15mg/kg, 且随着该药物的反复大量使用, 病原耐药日益增加, 防治效果逐渐降低, 药物残留和环境污染的风险不断增加。本研究以粒径为指标, 采用伪三元相图和星点设计-效应面法, 优化氟苯尼考纳米乳制备工艺, 以提高氟苯尼考防治罗非鱼链球菌病的效果。结果显示氟苯尼考纳米乳最优配方为: Tween-80 64%、PEG400 16%, 大豆油 5%, 去离子水 15%; 最优制备工艺为 138 W 超声 5 min。最优条件下制备氟苯尼考纳米乳平均粒径为 (9.91 ± 0.02) nm, 载药量可达 (53.12 ± 0.42) mg/mL, 多分散系数(PDI)为 (0.05 ± 0.01) , Zeta 电位为 (-15.53 ± 0.21) mV。与氟苯尼考原料药相比, 所制备的氟苯尼考纳米乳对无乳链球菌的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)分别由 160 μ g/mL 和 320 μ g/mL 降低至 40 μ g/mL 和 80 μ g/mL。分别考察连续拌料投喂 14 d 5、10 和 20 mg/kg 氟苯尼考当量的纳米乳剂和氟苯尼考原料药对感染无乳链球菌的罗非鱼的相对保护率(RPS)分别为达 26.7%、50 %、63.3%和 23.33 %、43.33 %、56.67 %。氟苯尼考纳米乳制备工艺简单、稳定好, 显著提高氟苯尼考防治罗非鱼链球菌病效果, 在防控罗非鱼无乳链球菌方面具有良好的开发潜力。

关键词: 氟苯尼考; 纳米乳; 罗非鱼; 无乳链球菌

防治罗非鱼链球菌病的中药方剂筛选

刘龙勋, 王寅峰, 杨树敏, 郭伟良, 周永灿*

海南大学海洋生物与水产学院, 三亚南繁研究院, 海洋科学与技术协同创新中心, 海南海口

570228

摘要: 为筛选出可安全、高效防治罗非鱼链球菌病的中药方剂, 本研究首先以分离自海南患病罗非鱼的无乳链球菌 PBSA0901 为供试菌株, 检测了其耐药基因和耐药谱。随后, 采用微孔板法、琼脂扩散法和微量二倍稀释法, 依次考察了 50 种中药方剂对无乳链球菌 PBSA0901 的抑菌活性。在此基础上, 对筛选出的有效方剂, 通过低浓度药物连续传代培养试验, 以观察菌株是否易对其产生耐药性。然后, 以罗非鱼为试验对象, 通过急性毒性试验评价方剂的安全性, 在确定有效方剂安全无毒后, 将其连续拌饲投喂 14 天, 测定罗非鱼抗氧化与非特异性免疫指标, 并且通过人工攻毒感染试验评估其保护效果。结果显示, 无乳链球菌 PBSA0901 携带 *mcr-1*、*blaNDM-1*、*van(B)*、*ant(6)-Ia*、*blaTEM-1*、*tet(O)*、*blaVIM*、*blaIMP*、*qnrA*、*qepA*、*aph(3')-Ia*、*aac(6')-Ib* 和 *aph(3')-Ib* 13 个耐药基因, 对氨基糖苷类、喹诺酮类、大环内酯类及糖肽类抗生素完全耐药。在 50 种中药方剂中, 有 13 种方剂对无乳链球菌 PBSA0901 存在明显的抑菌效果。连附六一汤的抑菌和杀菌效果最强, 最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 分别为 6.25 和 12.5 mg/mL, 且无乳链球菌 PBSA0901 不易对其产生耐药。急性毒性试验表明, 对罗非鱼分别灌胃 2000、1000 和 500 mg/kg (药物质量/鱼重) 的连附六一汤后, 14 天内均未出现中毒症状。攻毒试验显示, 连续拌料投喂含 1、3 和 5 % 的连附六一汤 14 天后, 5 % 剂量组的相对保护率 (RPS%) 最高为 76.6%。同时连附六一汤可显著减轻感染无乳链球菌罗非鱼的脑组织神经元坏死和肝、脾以及头肾组织的炎症细胞浸润、出血和空泡化等病理损伤。连附六一汤还可显著增强罗非鱼的抗氧化能力与非特异性免疫水平 ($P<0.05$)。尽管 5 % 剂量组在初期抗氧化指标短暂下降, 但所有组别至第 14 天均显著提升, 其中 3 % 和 5 % 剂量的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、总抗氧化能力 (T-AOC) 活性显著升高而丙二醛 (MDA) 显著降低。5 % 剂量组在早期阶段即可快速激活溶菌酶 (LZM)、碱性磷酸酶 (AKP)、酸性磷酸酶 (ACP) 活性, 而 3 % 剂量组则表现为渐进、持续的免疫增强。综上所述, 连附六一汤可有效提高罗非鱼抗病力, 是一种具有良好应用潜力的抗生素替代品。

关键词: 无乳链球菌; 罗非鱼; 中药方剂; 药效评价

山药多糖通过促进 TFR1b 的泛素化缓解嗜水气单胞菌诱导的鲤细胞铁死亡

高峰, 孔祥会*

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物疾病控制工程研究中心, 河南 新乡 453007

摘要:嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)引起的细菌性败血症会引起鲤脾脏坏死和体表出血, 死亡率较高。针对鱼类细菌性疾病防治, 山药多糖是天然的中草药活性成分, 具有抗菌和抗氧化活性, 不产生耐药性, 其在嗜水气单胞菌诱导鲤病理过程中起到什么作用, 潜在机制尚不清楚。本研究采用生物化学、细胞生物学、生物信息学等方法检测了鲤脾脏组织和 EPC 细胞中铁死亡相关因子(MDA、SOD、总铁、GSH、 Fe^{2+} 和 lipid ROS)的变化, 研究了铁死亡标志基因(*CcPTGS2a*、*CcPTGS2a-like*、*CcTF-a*、*CcTF-b*、*CcTFR1a* 和 *CcTFR1b*)的表达量, 并分析了鲤组织中嗜水气单胞菌的含量和鱼体存活率。结果显示, 与对照组相比, 嗜水气单胞菌刺激后鲤脾脏组织 Fe^{3+} 聚集, MDA、SOD 和总铁含量上升, GSH 含量下降, 铁死亡标志基因的 mRNA 和蛋白表达量上升。在 EPC 细胞中, 嗜水气单胞菌处理浓度为 1:1000 (细菌数:细胞), 处理时间为 12 h; 与对照组相比, 嗜水气单胞菌和 Erastin (铁死亡诱导剂)诱导线粒体损伤并降低膜电位, 促进 ROS 和 lipid ROS 产生, 引起 Fe^{2+} 含量升高, 促进铁死亡标志基因 mRNA 和蛋白的表达量升高。添加铁死亡抑制剂 Fer-1 后, 可抑制嗜水气单胞菌诱导的脾脏组织病理变化、炎症反应及铁死亡相关因子的表达。此外, TFR1b 通过泛素-蛋白酶体途径降解, TFR1b-K240R 可显著降低细胞内的 Fe^{2+} , 减少芬顿反应产生的 ROS, 抑制脂质过氧化, 提高细胞存活率和 GSH 的含量。山药多糖和 TFR1b-K240R 减少鲤脾脏组织中嗜水气单胞菌的含量, 提高鲤的存活率, 抑制嗜水气单胞菌诱导的炎症反应。综上所述, 山药多糖可有效抑制嗜水气单胞菌感染诱导的鲤细胞铁死亡, 减轻炎症反应, 可用于防控嗜水气单胞菌感染引起的鱼类疾病。

关键词: 鲤; 铁死亡; 炎症反应; 嗜水气单胞菌; 山药多糖

益生菌对草鱼肠道的保护作用

刘博¹，邱康文¹，阳会军¹，刘永坚¹，田丽霞¹，陈孝煊^{1,2*}

1 广州市诚一水产科技有限公司，2 华中农业大学水产学院

摘要：在草鱼的养殖过程中，肠炎是常见的疾病，特别是春夏季节对草鱼的养殖造成了不小的危害。益生菌在促进水生动物的生长、维持肠道微生态的平衡、提高抗病能力等方面的作用已得到广泛的认可。实验证明，从草鱼肠道中分离的一株芽孢杆菌（*Bacillus*）对草鱼的肠道炎症有明显的修复和改善作用，明显减轻或修复由嗜水气单胞菌（*Aeromonas hydrophila*）感染导致的肠道炎症（肠道黏膜上皮细胞变性、坏死、大量脱落，固有层出血、水肿变粗，大量炎性细胞浸润。超微结构变化表现为紧密连接缝隙明显变宽，相关紧密连接蛋白表达下降；微绒毛萎缩变短，稀疏，排列紊乱；线粒体可见明显肿胀、嵴减少，内质网明显扩张；肠上皮细胞中的微丝呈绿色雾状，微丝荧光强度减弱）；显著降低嗜水气单胞菌对肠上皮细胞的黏附率，提高鱼体的抗氧化能力和抗炎因子表达水平。以该芽孢杆菌为主要成分研发的“康乐畅”系列产品，可修复和改善由 DSS 引起的草鱼肠道炎症，并有明显的预防、保健作用，在草鱼、加州鲈、南美白对虾等养殖生产中具有显著的肠道保健效果。

关键词：益生菌；肠道保健；康乐畅

天然小分子化合物 CHE 作用三代虫靶标蛋白鉴定及确证

陈麒翰^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4}, 涂笑^{1,2,3,4*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070
2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070
3. 农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070
4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 三代虫是一类隶属于吸虫纲 (Trematoda) 单殖亚纲 (Monogenea) 的寄生虫, 由其引起的三代虫病对世界水产养殖业产生了较大危害。目前, 防治三代虫常用的化学药物普遍存在着高毒性的问题。因此, 研究高效、低毒的抗三代虫药物势在必行。在前期研究中, 我们发现天然产物白屈菜红碱 (chelerythrine, CHE) 具有良好的抗三代虫活性和较好的安全性, 但其杀虫机制尚不清楚, 阻碍其进一步开发利用。本研究利用基于活性的蛋白质组分析技术 (Activity-based Protein Profiling, ABPP), 合成白屈菜红碱的活性探针 (CHE-B), 成功钓取了 CHE 作用于小林三代虫的潜在靶标蛋白细胞色素 c 氧化酶亚基 2 (COXII)。进一步通过多种方法明确 CHE 与 COXII 的结合, 确证了 COXII 为 CHE 作用三代虫的靶标蛋白。表面等离子体共振 (SPR) 与微量热泳动 (MST) 结果显示 CHE 与 COXII 的解离常数 (K_d) 值分别为 $2.91\ \mu\text{M}$ 和 $2.65\ \mu\text{M}$; CHE 预孵育后 CHE-B 结合 COXII 含量明显降低; 细胞热转移分析 (CETSA) 实验中, 65°C 条件下未处理组 COXII 条带基本消失, 而 CHE 处理组该蛋白未发生明显降解。综上, 本研究首次将 COXII 确立为抗三代虫的潜在药物靶标, 为后续基于 COXII 的靶标导向药物创制, 以及开发高选择性、高安全性的抗三代虫新药奠定了重要基础。

关键词: 鱼类寄生虫; 天然产物; COXII; 靶标蛋白

运输应激诱发水霉病的机制及防控研究

胡雨柯,任晓峰,杨学芬,杨瑞斌,袁军法*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 水霉病是淡水养殖鱼类中最常见的真菌性疾病, 由寄生水霉 (*Saprolegniosis*) 等致病真菌引起, 常导致鱼类大量死亡, 目前尚缺乏高效防治药物。运输过程中鱼体碰撞、溶解氧含量波动等因素可诱发应激反应, 导致鱼体生理稳态失衡、体表机械损伤及病原易感性增加, 如中华沙塘鳢在运输后 3-7 天内高发水霉病, 其机制未知, 也缺乏有效的处置方法。为此, 本研究旨在探究运输应激诱发中华沙塘鳢水霉病的机制, 探讨可能的生物防控方法, 为水霉病的防控提供科学依据。通过模拟中华沙塘鳢运输发现, 运输会导致鱼体出现急性应激, 表现为 HPI 轴激活、皮质醇水平升高、血糖波动以及炎症反应。同时, 急性应激还会引起鱼体体表微生物群落失衡, 具体表现为真菌拮抗菌的丰度下降。以健康中华沙塘鳢体表微生物为来源, 以寄生水霉为目标病原菌, 采用平板双平行线对峙法从 476 个菌株中筛选出 3 株拮抗水霉的细菌, 分别鉴定为铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)。进一步对这三株菌的上清液和细菌破碎液进行抗真菌活性检测, 结果显示拮抗活性物质主要存在于上清液中。拮抗菌上清液对高温和 pH 变化较为敏感, 温度过高或碱性过强时其拮抗活性完全消失。综上所述, 本研究证实运输应激可通过破坏鱼体生理稳态和体表微生态平衡而增加水霉病易感性, 并成功筛选出三株对寄生水霉具有显著拮抗作用的菌株, 其活性物质存在于上清液中且活性受环境因子影响, 该结果为水霉病的生物防治提供了科学依据。

关键词: 运输应激; 寄生水霉; 拮抗细菌菌株; 发酵上清液; 拮抗活性物质

慢性应激诱发斑马鱼抑郁的脑肠轴机制研究

李雄林,吴梦珂,李莉娟,袁军法*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 大脑与肠道之间通过多种途径进行双向交流。前期研究显示, 鲫慢性捕捞应激会引发神经内分泌改变、肠道损伤及微生物紊乱, 并伴随抑郁样行为。为探究鱼类在慢性捕捞应激下是否出现抑郁样行为及其脑肠轴机制, 本研究以斑马鱼为对象, 采用慢性捕捞应激和慢性不可预测应激, 对斑马鱼进行为期 21 天的应激处理, 评估其行为与生理变化, 通过灌喂食葡萄糖罗斯拜瑞菌 (*Roseburia inulinivoran*) 探究其抗抑郁效果。行为测试显示, 应激后的斑马鱼表现出焦虑增加、探索行为减少和社交障碍。分子水平上, 脑组织中 *pomc*、*crf* 和 *crfbr* 基因表达上升, 而 *gr*、*mc2r* 和 *crfr* 表达下降, 全鱼皮质醇含量显著升高, 提示 HPI 轴功能亢进。同时, 脑与肠道中 5-HT 和 DA 含量降低, *tph*、*5ht1a* 和 *5ht2a* 表达下降, *ido* 表达上升, 表明 5-HT 合成代谢受到抑制。伴随这些变化的还有肠道与中枢炎症反应增强, 小胶质细胞被激活, 促炎因子如 *tnfa*、*il6*、*il1 β* 、*ifn γ* 和 *cox2* 基因表达上调, 抑炎因子 *il10* 和 *il4* 表达下调, 紧密连接蛋白 *zo1* 和 *occludin* 表达减少, 显示肠道屏障和血脑屏障受损。这些结果表明, 慢性捕捞应激与经典的慢性不可预测应激类似, 可诱导斑马鱼抑郁样行为, 并伴随神经递质减少、炎症反应和屏障功能损伤。通过灌喂食葡萄糖罗斯拜瑞菌进行干预后发现, 斑马鱼的抑郁样行为有所改善, 表现为探索行为增加、焦虑减轻和社交行为恢复。全鱼皮质醇含量降低, 脑内 *pomc* 和 *crf* 表达下降, *gr* 表达上升, 显示 HPI 轴功能逐渐恢复正常。神经递质 5-HT 和 DA 含量升高, *tph* 和 *5ht2a* 表达上升, *IDO* 表达下降, 反映 5-HT 合成代谢有所恢复。炎症因子如 *il6*、*il1 β* 、*tnfa* 和 *ifn γ* 的表达下调, 小胶质细胞激活标志物 CD11b 和 cFOS 减少, 肠道屏障修复, 但血脑屏障的修复不明显。综上, 慢性应激会导致斑马鱼出现抑郁行为, 而食葡萄糖罗斯拜瑞菌可在一定程度上治疗慢性应激引发的斑马鱼抑郁。

关键词: 慢性应激; 斑马鱼; 脑肠轴; 抑郁; 炎症

过度投喂通过抑制索氏鲸杆菌-花生四烯酸-环氧二十碳三烯酸轴加剧大口黑鲈虹彩病毒感染

翁泽鵬,李莉娟,袁军法*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 饮食是调控宿主肠道稳态、代谢及免疫微环境的关键因素。暴饮暴食诱发的肠道菌群失调和脂质代谢紊乱与肥胖、炎症及病原感染加剧高度相关。本研究旨在构建大口黑鲈过度投喂模型, 探究过度投喂对大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 生理健康、肠道菌群、代谢稳态和抗病毒免疫的影响及其作用机制。研究结果表明, 与热量限制投喂组相比, 过度投喂 28 d, 大口黑鲈虹彩病毒 (LMBV) 感染加剧, 宿主伴随脂代谢紊乱、肝肠损伤和炎症反应。同时, 过度投喂导致肠道菌群紊乱, 索氏鲸杆菌 (*Cetobacterium somerae*) 丰度显著降低, 花生四烯酸代谢显著下调, 环氧二十碳三烯酸 (EETs) 含量显著降低。体外试验证实, *C. somerae* 可代谢花生四烯酸生成 EETs, 基因组分析显示 *C. somerae* 编码 Patatin-like phospholipase 等花生四烯酸代谢酶。过度投喂全过程添加 *C. somerae* 或花生四烯酸可通过调节脂质代谢和调节肠道菌群来提高 EETs 水平, 抑制炎症, 从而改善大口黑鲈健康状况, 最终降低 LMBV 的感染死亡率。进一步机制研究证实 EETs 通过抑制 NF- κ B 信号通路抑制炎症, 抑制 LMBV 复制。综上所述, 本研究揭示了过度投喂通过抑制索氏鲸杆菌-花生四烯酸-环氧二十碳三烯酸轴促进 LMBV 的感染, 为大口黑鲈的健康养殖提供了理论依据, 也为大口黑鲈虹彩病毒病的防控提供了参考。

关键词: 过度投喂; 大口黑鲈虹彩病毒; 索氏鲸杆菌; 花生四烯酸; 环氧二十碳三烯酸; 大口黑鲈

间歇性禁食辅以功能添加剂补充改善长吻鮠肌肉品质与健康

翁泽鵬,徐静,戴彩姣,曾琪,张凌康,孙悦佳,李莉娟,顾泽茂,杨军,袁军法*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 高密度、集约化养殖方式在保障了水产品供给的同时致使鱼肉使得鱼类脂肪沉积、体型异常、品质下降、鱼腥味严重,致使致鱼肉的食味品质变差。行业普遍采用“瘦身”处理改善风味,但饥饿导致体重剧减、病害暴发甚至大规模死亡,食品安全与养殖效益难以保障。本研究旨在探讨间歇性禁食辅以 L-肉碱等功能添加剂补充对长吻鮠肌肉品质与健康的影响,建立一种有效提升长吻鮠 (*Leiocassis longirostris*) 肌肉品质的暂养提质方法。经过 28 天养殖试验,间歇性禁食辅以功能添加剂补充使得长吻鮠体宽和体高显著降低,腹腔脂肪含量降低 63.33%,体重仅降低 7.77%,血糖、血脂、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、乳酸脱氢酶水平显著降低。与传统的完全禁食“瘦身”养殖模式相比,间歇性禁食辅以 L-肉碱等补充体重损耗显著降低 (14.19% vs 7.77%),肌肉硬度、鲜味氨基酸和粗脂肪含量显著增加,肌纤维生长促进基因 (*myog* 和 *myod*) 显著上调,肌纤维生长抑制基因 (*mstn*) 显著下调,肌肉品质显著提升。机制上,间歇性禁食辅以 L-肉碱等补充通过维持肠道菌群稳态、促进内脏脂肪分解、抑制内脏脂肪合成和减轻炎症反应改善长吻鮠肌肉品质与健康。总之,间歇性禁食辅以功能添加剂补充为改善养殖鱼类肉质提供了一种绿色环保且经济有效的方法,为水产业减量增收和提质增效提供了新途径。

关键词: 间歇性禁食; L-肉碱; 肌肉品质; 健康; 长吻鮠

口服毕赤酵母胞内表达草鱼趋化因子 CXCL20a 显著抑制草鱼呼肠孤病毒感染

李文星, 吕毛琳, 苏建国, 杨春荣*

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要: 草鱼呼肠孤病毒 (Grass carp reovirus, GCRV) 给草鱼养殖业造成了巨大损失。口服抗菌蛋白已被用于病毒性疾病的研究, 但其在体内快速降解限制了其功效。本研究通过密码子优化和多拷贝菌株构建, 显著增强了草鱼趋化因子 CXCL20a (C20a) 在毕赤酵母 (*Pichia pastoris*) 胞内表达 (Pp-C20a)。在三种优化方案中, C20a-b 表现最佳, 且三拷贝菌株的表达效果最好。随后, 确定了最优菌株在以下条件下达到峰值产量: 发酵 96 小时、1.0% 甲醇、pH 8.0、32°C。接着, 我们研究了在 28 天内间歇投喂不同剂量 Pp-C20a (100 毫克/千克、200 毫克/千克和 300 毫克/千克) 对感染 GCRV 的草鱼免疫反应和疾病防护能力的影响。投喂 300 毫克/千克的 Pp-C20a 存活率比阴性对照组提高了 24%, 并且显著上调了头肾、脾脏和肠道中关键免疫相关基因 (IL1 β 、IFN1、IFN γ 2、IgM) 的表达。血清中总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性增强、补体 C3 水平升高, 同时组织病理损伤减轻、病毒复制受到抑制。利用毕赤酵母胞内表达草鱼趋化因子 CXCL20a 并进行拌饲投喂, 为草鱼提供了有效的抗病毒保护, 这代表了水产养殖健康管理中可持续抗病毒生物制药的一种有前景的策略。

关键词: 毕赤酵母; 趋化因子 CXCL20a; 草鱼出血病; 草鱼呼肠孤病毒

原花青素对多子小瓜虫的在体和离体抗虫效果

杨浩^{1,2,3,4}, 孟佑致^{1,2,3,4}, 沈宇航^{1,2,3,4}, 郑春茹^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

3. 农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070

4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 长期以来, 小瓜虫病一直困扰着我国淡水鱼类的苗种及成鱼养殖业, 能引起鱼类的大量死亡, 造成严重的经济损失。目前, 小瓜虫病尚无有效的治疗药物。天然产物具有来源丰富且安全的特点, 是新型渔药开发的重要资源。为筛选有效的抗小瓜虫天然产物, 本研究从天然药物数据库中选择了原花青素、葛根素等 46 种化合物, 通过对掠食体阶段的杀灭效果评估, 发现原花青素 (procyanidin, PAC) 具有最强抗虫活性, 其对掠食体阶段的半数有效浓度 (EC₅₀) 可达 0.10 mg/L。进一步研究了 PAC 对小瓜虫滋养体和包囊的杀灭效果, PAC 小瓜虫滋养体和包囊的 EC₅₀ 分别为 2.99 和 4.65 mg/L; 且当 PAC > 2.0 mg/L 时, 可以显著抑制包囊繁殖产生掠食体的数量 ($p < 0.05$)。安全性实验结果表明, 原花青素在 96 h 对金鱼的半数致死浓度 (LD₅₀) 为 30.20 mg/L。基于离体及安全性结果, 通过构建金鱼同居感染模型评估 0-8 mg/L PAC 浸泡处理后对患病金鱼的治愈率和健康金鱼的保护率, 发现随 PAC 浓度升高, 患病金鱼的治愈率和健康金鱼的存活率均逐渐升高, 在 8.0 mg/L 时, PAC 对健康金鱼保护率达 30%; 同时, 当 PAC > 2.0 mg/L 时, 小瓜虫在健康金鱼上的感染强度显著下降 ($p < 0.05$)。通过对各试验组金鱼组织病理学和应激相关基因 (hsp70、cypla、gst、sod) 的 RT-qPCR 分析发现, PAC < 8 mg/L 时对金鱼各组织无明显病理损伤, 且应激相关基因表达量无显著差异。综上所述, 本研究发现 PAC 是一种抗虫效果优异且对鱼安全的天然化合物, 并在离体和在体水平上补充完善了其抗小瓜虫效果数据, 为其今后开发成为抗小瓜虫药物提供理论基础。

关键词: 多子小瓜虫; 原花青素; 天然产物; 渔药

溶珊瑚弧菌对米氏凯伦藻趋化机制及其相关基因作用研究

王嘉欣 黄力行*

集美大学水产学院, 福建厦门 361021

摘要: 米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 作为一种常见的赤潮藻, 其长时间的爆发不仅污染海域, 影响海洋生态, 产生的鱼毒素和溶血性毒素更是严重危害到养殖产业和人类健康。通过溶藻细菌去除藻华被认为是一种可行的方法。在实验室前期研究中发现一株高效杀米氏凯伦藻菌——溶珊瑚弧菌 (*Vibrio coralliirubri* ACE001), 前期研究中探索到溶藻细菌 ACE001 是通过与米氏凯伦藻直接接触发挥杀藻作用, 并且通过趋化实验发现 ACE001 对米氏凯伦藻细胞膜有很强的吸引作用。本研究通过藻细胞膜成分的分析 and 提取、半固体趋化实验、毛细管趋化实验、基因敲除和回补实验等继续探究藻细胞诱导 ACE001 趋化的物质并鉴定和研究了两个甲基趋化受体 (MCP) 在趋化藻细胞中的功能。结果表明, 米氏凯伦藻的膜蛋白对溶珊瑚弧菌 ACE001 具有强烈的吸引力, 并且明确了藻膜蛋白具有 28 种氨基酸, 通过对这 28 种氨基酸进行毛细管趋化实验发现, ACE001 对含量较高的亮氨酸、丙氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、精氨酸、赖氨酸、脯氨酸、异亮氨酸和组氨酸均具有趋化性。同时从菌藻互作转录组中鉴定了两个表达量较高的甲基趋化受体 MCPA 和 MCPB, 推测其在细菌趋化米氏凯伦藻中发挥识别趋化物作用, 通过 MCPA 和 MCPB 敲除株和回补株发现, $\Delta mcpA$ 和 $\Delta mcpB$ 对藻细胞的趋化能力都有所下调, 其中 $\Delta mcpA$ 所形成的趋化圈只有野生株的 60%, 而在回补后都有所上调; 并且发现 MCPA 主要对苯丙氨酸、脯氨酸、异亮氨酸和组氨酸进行识别, 而 MCPB 在对精氨酸的趋化中发挥作用。本研究表明溶珊瑚弧菌 ACE001 主要通过 MCPA 和 MCPB 来识别米氏凯伦藻细胞膜蛋白中的苯丙氨酸、脯氨酸、精氨酸、异亮氨酸和组氨酸来对米氏凯伦藻进行趋化作用, 这为进一步揭示菌藻关系和赤潮藻的防控奠定了基础。

关键词: 溶珊瑚弧菌 (*V. coralliirubri*); 米氏凯伦藻 (*K. mikimotoi*); 趋化; MCP

斑点叉尾鮰 Rrp44 蛋白及其突变体的表达与酶动力学特性分析

刘洪岩, 程艺, 王明华, 钟立强, 张世勇*, 陈校辉*

江苏省淡水水产研究所, 南京 210017

摘要: 本研究旨在探究斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*) Rrp44 蛋白及其突变体 Rrp44^{N757S} 的催化效率差异。Rrp44 属于 RNase II 家族, 是 RNA 代谢与降解的重要核糖核酸酶, 广泛参与 mRNA、非编码 RNA 与 rRNA 的加工与降解, 对基因表达调控和细胞代谢具有关键作用。我们通过原核表达系统成功构建并纯化了斑点叉尾鮰 Rrp44 蛋白及其单点突变体 Rrp44^{N757S}。利用体外 RNA 降解实验结合 RT-qPCR 定量检测, 分析了不同时间点的 RNA 残余量, 并基于 Michaelis–Menten 方程计算酶动力学参数。结果表明, 野生型 Rrp44 在低底物浓度下具有较高的底物亲和力和更快的催化速率 (K_m 较低, V_{max} 较高), 而突变体 Rrp44^{N757S} 虽在特定条件下表现出较高的催化活性, 但整体降解效率显著低于野生型。研究结果提示, Rrp44 的 rs20 SNP 突变可能通过改变酶活性影响 RNA 代谢与能量调控, 进而作用于斑点叉尾鮰的生长发育。本研究为揭示 Rrp44 在水产养殖鱼类生长调控中的分子机制提供了实验依据。

关键词: 斑点叉尾鮰; Rrp44; RNA 降解; 酶动力学; 突变

丙硫菌唑（PTA）对斑马鱼视觉系统的毒性机制研究

郭辰, 徐小文, 胡成钰^{*1}

南昌大学生命科学学院, 南昌 330031

摘要: 丙硫菌唑（Prothioconazole, PTA）是一种常用的三唑啉硫酮类杀菌剂, 其残留常存在于水生环境中, 且已被证实对鱼类具有毒性和生物累积。本研究采用体外、分子模拟和体内实验, 以斑马鱼为模型评估 PTA 的毒性。研究结果表明, PTA 会对斑马鱼幼鱼的发育产生损害, 具体表现为体长缩短、眼径 / 体长比降低、黑色素含量减少, 以及光视觉运动反应减弱。斑马鱼幼鱼体内 PTA 的累积量随暴露浓度的升高而逐渐增加。PTA 会损伤斑马鱼幼鱼的眼部结构, 包括视网膜色素上皮（RPE）和内网状层（IPL）。此外, PTA 还会下调眼部发育相关基因（如 *mitfa*、*dct*、*otx2a*、*otx2b* 和 *sox10*）的表达, 并破坏 RPE 区域的线粒体结构, 导致线粒体体积缩小、膜密度增加、嵴扩张以及外膜破损。RNA-seq 结果进一步显示, PTA 会影响视觉及感觉相关信号通路。机制研究表明, PTA 会引发斑马鱼幼鱼眼部严重的氧化应激, 并通过直接抑制 *gpx4a* 基因的表达诱发铁死亡; 而铁死亡又会招募巨噬细胞至眼部区域, 并诱导炎症因子表达。相反, 向斑马鱼幼鱼补充谷胱甘肽（GSH）或上调 *gpx4a* 基因表达, 可缓解 PTA 诱导的氧化应激, 减轻小眼症症状, 提高眼部发育相关基因的表达, 并抑制炎症因子的表达。本研究揭示, PTA 会对视觉系统造成严重损伤, 而 *gpx4a* 表达受抑所触发的铁死亡, 是导致该损伤的重要原因之一。

关键词: PTA; 眼部缺陷; 氧化应激; 铁死亡; 斑马鱼

月桂酸及月桂酸单甘油酯抑制 CyHV-2 效果及机制研究

张家骅, 俞晨伟, 许童辉, 周佳辰, 吕利群, 许 丹*

1.上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 国家水生动物病原库, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源与利用重点实验室, 上海 201306;

摘要: 异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 是我国重要的淡水养殖鱼类, 2023 年鲫年产量占全国淡水鱼年产量的 8.3%。鲫鱼造血器官坏死症 (Crucian carp haematopoietic necrosis, CHN) 是鲫鱼养殖过程中非常常见的, 由鲤疱疹病毒 II 型 (Cyprinid herpesvirus 2, CyHV-2) 引起鲫鱼死亡的一种病毒性传染病, 传染性强且死亡率高, 给鲫鱼养殖业造成严重的经济损失, 目前尚无绿色有效的防治方法。中链脂肪酸 (Medium-chain fatty acids, MCFAs) 是碳链含有 6-12 个碳原子的脂肪酸, 广泛存在于天然食物中, 如椰子油、棕榈油等。月桂酸 (Lauric acid, LA) 及月桂酸单甘油酯 (Glycerol Monolaurate, GML) 是常见的中链脂肪酸及单甘油酯衍生物, 已被证实对多种病原菌均有较强的抑制活性, 包括细菌、真菌和囊膜病毒等。目前, LA 和 GML 在抑制非洲猪瘟病毒 (ASFV)、对虾白斑综合征病毒 (WSSV) 等囊膜病毒的应用已得到验证, 但其潜在对 CyHV-2 作用效果及其与宿主作用的机制仍尚未探索。本研究在分析 LA 和 GML 对 CyHV-2 抑制效果的基础上, 通过转录组学探究其与宿主潜在的作用机制。以鲫鱼鳍条细胞 (GiCF) 为感染模型, 研究 LA 和 GML 对 CyHV-2 的抑制效果。使用 LA 和 GML 对 GiCF 细胞进行预处理、与 CyHV-2 共处理和感染 CyHV-2 的后处理, 结果发现 LA 和 GML 预处理对病毒增殖无明显影响, LA 与病毒共孵育后 CyHV-2 拷贝数减少了 56.64%, 后处理减少了 46.88%, GML 共处理 CyHV-2 拷贝数减少了 57.37%, 后处理减少了 49.48%。细胞形态观察和细胞病变效应 (Cytopathic Effect, CPE) 结果也验证了这一结果。使用实验室已构建携带绿色荧光蛋白的 CyHV-2-Δ57-CP 毒株感染 GiCF 细胞构建感染模型, 用 LA 和 GML 处理后观察, 发现两种药物的共处理均能减少绿色荧光的数量, 证实 LA 和 GML 可减缓病毒进入细胞并复制。转录组测序分析 LA 和 GML 后处理后的 GiCF 细胞基因表达信息发现, LA 处理组共鉴定出 1783 个差异表达基因 (Differential Expression Genes, DEGs), 其中 1006 个上调, 777 个下调, KEGG 信号通路富集分析显示 DEGs 主要富集于类固醇生物合成、ECM-受体相互作用、PI3K-Akt 信号通路和 Rap1 等通路; GML 处理组共鉴定出 1610 个 DEGs, 其中 889 个上调, 721 个下调, 主要富集于类固醇生物合成、ECM-受体相互作用、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路和 cAMP 等通路。差异基因聚类显示, LA 和 GML 后处理后, *hsp90*、*lamtor3*、*pdk1* 等基因显著上调, *inpp4b* 显著下调, 说明 LA 和 GML 处理可能通过使 Akt 磷酸化激活 PI3K-Akt 信号通路来增强免疫应答和减少细胞凋亡。该研究证明了 LA 和 GML 对 CyHV-2 的抑制效果并初步探究了潜在的作用机制, 为鲫鱼造血器官坏死症的防治及渔药开发提供了新的思路。

关键词: 月桂酸; 月桂酸单甘油酯; 鲤疱疹病毒 II 型; 异育银鲫; 转录组

鱼源气单胞菌拮抗菌贝莱斯芽孢杆菌的筛选与安全性分析

高晓华, 何兰, 安伟, 于婷, 刘亚楠, 张小明, 邵玲*

上海市水产研究所 上海市水产技术推广站, 上海 200433

摘要: 为筛选和鉴定对鱼源气单胞菌有潜在拮抗作用的安全益生菌, 本研究采集上海某草鱼养殖池塘底泥样品进行细菌分离, 并以 5 株鱼源气单胞菌为指示菌, 采用牛津杯法筛选具有拮抗作用的菌株, 结果显示, 从养殖底泥样品中共分离获得 24 株细菌, 通过筛选获得 1 株对 5 株气单胞菌均具有较强拮抗作用的菌株 PN06。通过形态学观察、生理生化鉴定及 16S rRNA 和 *gyrA* 基因序列分析鉴定菌株 PN06 的种属; 采用牛津杯法测定菌株 PN06 对 9 株水产源病原菌的拮抗作用; 利用血琼脂平板测定其溶血性; 通过 PCR 检测其是否携带 10 种芽孢杆菌常见的毒力基因; 采用 K-B 纸片法检测其对 7 大类 22 种抗菌药物的敏感性。结果显示, 菌株 PN06 为革兰氏阳性短杆菌, 与芽孢杆菌属的生理生化特征一致, 其 16S rRNA 及 *gyrA* 基因序列与贝莱斯芽孢杆菌 ICR-1 株、贝莱斯芽孢杆菌 K01 株的同源性分别达 98.82% 与 100%, 综合菌体形态、生理生化及分子生物学特征, 判定菌株 PN06 为贝莱斯芽孢杆菌。菌株 PN06 对 9 株常见水产病原菌的抑菌圈直径为 16.00~24.00 mm, 且无溶血活性, 不携带肠毒素 *Nhe* 基因 (*nheA*、*nheB* 和 *nheC*)、肠毒素 *T* 基因 *bceT*、*FM* 基因 *entFM*、细胞毒素 *K* 基因 *cytK*、呕吐基因 *ces* 和溶血素 *BL* 基因 (*hblA*、*hblC* 和 *hblD*) 等 10 种毒力基因, 对氟苯尼考、卡那霉素、恩诺沙星等 21 种抗菌药物均敏感, 仅对青霉素耐药。将菌株 PN06 以 $1.5 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^9$ cfu/mL 浓度经腹腔注射感染草鱼, 结果显示, 各感染组草鱼均生长状态良好, 均无死亡。上述结果表明, 贝莱斯芽孢杆菌 PN06 对气单胞菌具有较强的拮抗作用, 且生物安全性高, 可作为鱼源气单胞菌病防治的潜在益生菌。

关键词: 气单胞菌; 贝莱斯芽孢杆菌; 拮抗活性; 安全性

环境相关浓度地西洋暴露诱导斑马鱼幼鱼先天免疫毒性

于婷, 张小明, 黄文吉, 刘亚楠, 万思佳, 邵玲*

上海市水产研究所, 上海市水产技术推广站, 上海, 200433

摘要: 地西洋 (Diazepam, DZP) 俗称安定, 是一种在水生生态系统中频繁检出的精神活性药物, 因其化学性质稳定, 抗光解作用及较低的消除效率而日益引发公众对其潜在健康风险的担忧。目前, DZP 引起的神经毒性及行为障碍已得到了广泛研究。然而, 由于水生生物免疫系统的复杂性以及缺乏标准化的评估方法, 关于 DZP 对水生生物免疫系统发育和病原抵御功能影响的相关研究仍然有限。为评估其生态风险, 本研究开展了斑马鱼 (*Danio rerio*) 胚胎早期 DZP 暴露实验。研究结果显示, 环境相关浓度 DZP 暴露 120 小时显著降低了斑马鱼胚胎孵化率, 并降低了幼鱼对病原体的抵抗力。进一步研究发现, DZP 通过影响免疫相关酶活性以及细胞因子表达谱, 破坏了免疫系统稳态。分子对接分析及转录组结果表明, DZP 与 MAPK 信号通路中的关键蛋白存在较强的结合作用, 提示 DZP 可能通过抑制促炎细胞因子表达及干扰 MAPK 信号传导导致免疫功能障碍。本研究首次提供了 DZP 在斑马鱼关键发育阶段诱导免疫毒性的分子机制, 揭示了其潜在的生态风险, 并强调了对精神活性药物进行环境风险评估的必要性。

关键词: 地西洋; 斑马鱼早期暴露; 环境相关浓度; 免疫毒性; MAPK 通路。

养殖模式（RFFM）对黄颡鱼肌肉营养成分、肝脏代谢组学及肠道菌群的影响

应卓奇, 周亚, 何先林, ..., 王二龙*, 张驰*¹

武汉轻工大学动物科学与营养工程学院, 武汉 430023

摘要: 稻鱼共生是一种生态养殖模式, 可有效改善鱼类肌肉品质与健康状态。本研究检测了稻鱼共生养殖模式（RY 组）与池塘养殖模式（TY 组）下黄颡鱼肌肉营养成分、肝脏代谢组学及肠道菌群的变化。结果表明: RY 组鱼肉中天冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、甘氨酸、丙氨酸、总氨基酸、总鲜味氨基酸、亚麻酸（C18:3n-3）和二十二碳六烯酸（DHA）含量均显著高于 TY 组。两组黄颡鱼肝脏中共检测到 13 种显著差异代谢物, 主要影响氨基酸生物合成和甘油磷脂代谢。肠道菌群分析显示, RY 组黄颡鱼肠道菌群多样性高于 TY 组, 门水平优势菌群为厚壁菌门、变形菌门、梭杆菌门、蓝藻菌门和放线菌门。同时, RY 组 *Cetobacterium* 和 *Clostridium_sensu_stricto_1* 丰度显著高于 TY 组, 而 *Pseudomonas* 丰度变化趋势相反 ($p<0.05$)。综上, 稻鱼共生养殖模式可改善黄颡鱼肌肉营养成分、调节肝脏代谢并提高肠道菌群多样性。相较于池塘养殖模式, 稻鱼共生模式更有利于黄颡鱼的绿色健康养殖。本研究结果将为稻鱼共生养殖模式的后续研究提供理论参考。

关键词: 稻鱼共生; 肌肉营养; 肝脏代谢组学; 肠道菌群; 黄颡鱼

一株大黄鱼虹彩病毒的基因组和蛋白质组学分析

刘晓东^{1,2}, 池洪树^{1,2}, 杨西西^{1,2}, 郑在予^{1,2}, 朱春华³, 吴允昆^{1,2}, 张维仁⁴,
龚晖^{1,2,5*}

1 福建省农业科学院生物技术研究所以,福州 350003; 2 福建省水产病害防治工程技术研究中心, 福州 350003; 3 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福州 350013; 4 美国汉密尔顿学院生物系, 美国纽约州克林顿; 5 海水养殖育种国家重点实验室, 福建宁德。

摘要: 病毒性疾病的流行对大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 养殖业的可持续发展构成了重大挑战, 其中大黄鱼虹彩病毒是影响大黄鱼的主要病毒性病原。为了进一步研究该病毒的致病机制, 我们使用 Illumina HiSeq 2000 对大黄鱼虹彩病毒 FD201807 株进行基因组测序。对纯化病毒颗粒和病毒感染细胞上清液的蛋白进行 label-free 蛋白质组分析。结果表明, FD201807 基因组由 112,214 bp 的双链 DNA 组成, G + C 含量为 53.53%。它包含 130 个潜在的开放阅读框, 编码能力从 41 到 1,293 个氨基酸。全基因组序列的系统发育分析表明, 与 FD201807 亲缘关系最接近的是鲷鱼虹彩病毒 (PIV), 其序列一致性为 98.98%。在病毒感染的细胞培养上清液中鉴定出 27 种病毒蛋白, 在纯化的 FD201807 病毒中鉴定出 46 种病毒蛋白。其中, 在病毒感染的细胞培养上清液和纯化的病毒样本中同时检出的病毒蛋白有 19 种, 而 8 种病毒蛋白仅在病毒感染的细胞培养上清液中检测到。值得注意的是, 来源于培养病毒所用的鳊鱼苗细胞系 (MFF-1) 的细胞色素 c 和泛素激活酶 E1 蛋白同时在病毒感染的细胞培养上清液和纯化的病毒样本中检测到, 这两种宿主蛋白可能与病毒-宿主蛋白相互作用和/或宿主细胞凋亡相关。本研究为阐明大黄鱼虹彩病毒与宿主互作机制的研究以及免疫技术的研发奠定了前期基础。

关键词: 基因组; 大黄鱼虹彩病毒; GO 分析; 蛋白质组; 电镜; 系统发育分析

玫瑰草油及有效成分对单殖吸虫的杀虫效果

倪小玲, 孙新展, 程厚达, 陈然, 王桂堂, 李文祥*

中国科学院水生生物研究所, 湖北武汉 430072

摘要: 由于杀虫药物的大量使用, 寄生虫抗药性问题越来越普遍和严重。水产养殖中, 一般认为中草药因成分复杂不易使寄生虫产生抗药性, 为了比较单殖吸虫对中草药和单一药物成分产生抗药性的差异, 首先研究了中草药与单一药物对单殖吸虫的杀灭效果。本研究以玫瑰草油(*Cymbopogon martini*)为对象, 通过气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术分析发现, 玫瑰草油含 27 种化合物, 对其中 12 种单萜类化合物的离体实验表明, α -蒎烯、 α -水芹烯为其主要活性成分, β -蒎烯对两种单殖吸虫的杀虫效果均为最佳。在体实验中, 单一药物处理下 β -蒎烯仅在 2.5mg/L 浓度下对两种单殖吸虫驱虫效果有显著差异, 玫瑰草油则在 5、10、15mg/L 浓度下均有显著差异; 同浓度下, β -蒎烯治疗坏鳃指环虫(*Dactylogyrus vastator*)更有效(10mg/L 时驱虫活性为 91.85%), 玫瑰草油治疗小林三代虫(*Gyrodactylus kobayashii*)更优(25mg/L 时驱虫活性为 99.85%)。金鱼急性毒性实验显示, 玫瑰草油毒性更低(24h EC_{50} 为 91.38mg/L), β -蒎烯毒性更强(24h EC_{50} 为 79.74mg/L)。综上, 短期杀灭单殖吸虫用单一化合物(如 β -蒎烯)更高效, 从长期养殖安全的角度, 以玫瑰草油为代表的中草药(或联合用药)更具应用价值。

关键词: 玫瑰草油; 单殖吸虫; 驱虫活性; 联合用药

香芹酚对杀鱼爱德华氏菌的体外抑菌作用

秦婷¹, Richline Gedeh Wentee Dowah^{1,2}, 陈凯¹, 潘良坤¹, 谢骏¹, 习丙文^{1,2*}

1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081;

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081

摘要: 细菌耐药性已成为全球公共卫生领域的重大问题, 严重制约着水产养殖的健康可持续发展。杀鱼爱德华氏菌是水产养殖中最常见的重要鱼类病原菌之一, 广泛分布于各种水环境, 感染多种水生生物, 并通过水产品传播给人类, 危害人类健康。该菌对抗生素的耐药性日益增强, 已对水产养殖构成重大威胁。天然植物提取物因其具有良好的抗菌活性、安全性和环境友好性而备受关注。香芹酚是一种活性单萜酚, 普遍存在于牛至、百里香等芳香植物中, 具有多种生物学功效, 常被用作食品防腐剂以控制食物腐败和食源性致病菌。本研究将初步探索香芹酚对杀鱼爱德华氏菌的抑菌作用。研究发现, 香芹酚对杀鱼爱德华氏菌的最小抑菌浓度 (MIC) 为 125 $\mu\text{g/mL}$ 。亚抑菌浓度的香芹酚能够显著抑制杀鱼爱德华氏菌的生物膜形成、自凝集、运动, 以及对 EPC 细胞的粘附和吞噬能力; 但对杀鱼爱德华氏菌的溶血能力呈负相关。qRT-PCR 结果表明, 香芹酚可以显著下调毒力相关基因的表达, 包括鞭毛 (*fimA*、*fliC*、*flgN*)、溶血素 (*ethA*、*ethB*)、群体感应系统 (*luxR*、*qseB*)、T3SS (*esrB*、*esrC*) 和 T6SS (*evpB*、*evpC*)。感染试验表明香芹酚对鱼体宿主具有一定的保护作用。综上, 香芹酚可作为治疗鱼类细菌性疾病的候选抗菌增效剂, 为开发和利用中草药提取物减轻水产养殖细菌耐药性提供理论基础。

关键词: 香芹酚; 杀鱼爱德华氏菌; 生物膜; 溶血活性; 抑菌

贝莱斯芽孢杆菌对牛蛙 (*Aquarana catesbeiana*) 生长性能、肠道健康和抗病能力的影响

谭文森, 刘春*

仲恺农业工程学院动物科技学院, 广州 510225

摘要: 为探究贝莱斯芽孢杆菌对牛蛙生长性能、肠道健康和抗病能力的影响, 本实验以牛蛙为研究对象, 分别投喂基础饲料 (对照组) 和 10^7 、 10^8 、 10^9 CFU/g 贝莱斯芽孢杆菌添加饲料 (分别编号为 BV1、BV2、BV3), 养殖 35 d 后对实验蛙检测分析。结果显示, 饲料中添加贝莱斯芽孢杆菌各组均可提高牛蛙的增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR), 其中 BV3 组显著高于对照组。通过抗氧化相关酶活分析发现, 添加组肠道中的超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化氢酶 (GSH-PX)、过氧化氢酶 (CAT) 均显著提高, 同时丙二醛 (MDA) 含量显著降低。肠道组织切片分析发现, 添加组牛蛙肠绒毛高度、杯状细胞数量均显著增加, 其中 BV2 组肠绒毛高度和杯状细胞数量均最高; 肠道菌群分析发现所有添加组的梭状杆菌门、普雷沃菌属的占比显著升高, 链球菌科的占比显著下降。无乳链球菌攻毒结果显示 BV2 组的存活率最高, 为 60%, 对照组、BV1 组、BV3 组的存活率分别为 0%、20%、35%。以上研究结果表明饲料中添加贝莱斯芽孢杆菌能提高牛蛙生长性能、抗病能力和抗氧化能力, 同时优化肠道结构、增加潜在有益菌种类和丰度、保障肠道健康, 在生产养殖中最佳的添加量为 10^8 CFU/g。

关键词: 贝莱斯芽孢杆菌; 牛蛙; 生长性能; 抗病能力; 肠道健康

代谢介导琥珀酰化修饰逆转细菌耐药性

彭博*

中山大学生命科学学院，广州 510275

摘要：生物体分配资源以维持生物表型的机制目前尚不明确。本研究以介导黏菌素抗性的移动基因mcr-1（通过修饰脂多糖LPS赋予耐药性）为模型，探讨细菌如何重新配置资源以支持mcr-1介导的耐药性。我们发现细菌将糖酵解、丙酮酸循环和LPS生物合成的资源转向甘油磷脂代谢，以生成mcr-1修饰LPS所需的底物磷脂酰乙醇胺，同时减少LPS含量以限制黏菌素结合。这种资源重分配会下调琥珀酰辅酶A水平，降低磷酸丙糖异构酶（TPI）、CpxR和PdhR等蛋白质的琥珀酰化修饰，从而维持耐药性。外源添加琥珀酸盐或 α -酮戊二酸能以琥珀酰辅酶A依赖的方式恢复琥珀酰化修饰：TPI的琥珀酰化使代谢流重新导向糖酵解和丙酮酸循环，而CpxR和PdhR的琥珀酰化则上调LPS生物合成，最终在体外和体内实验中减弱黏菌素抗性。本研究揭示了一种此前未被认识的机制——细菌通过代谢驱动的蛋白质翻译后修饰来调控资源分配，这为应对抗生素耐药性提供了新策略。

关键词：细菌耐药；mcr-1；代谢重编；琥珀酰化；耐药性

珍珠龙胆石斑鱼中草药免疫增强剂的筛选及其非特异性免疫增强效果研究

李刚, 郭伟良*

海南大学海洋生物与水产学院, 海南海口 570228

摘要: 免疫刺激剂正逐渐成为应对弧菌病的最有效模型之一, 弧菌病是对全球水产养殖业的严重威胁, 采用免疫刺激剂有助于实现健康和可持续发展。本文通过 40 种生药量为 100mg/ml 中草药提取液对珍珠龙胆石斑鱼离体白细胞的氧呼吸爆发和吞噬活性的影响, 筛选出大青叶, 车前草, 石榴皮三种中草药, 研究了体外筛选的这三种中草药对珍珠龙胆石斑鱼非特异免疫功能的影响。投喂含 1%生药量的饲料, 对照组投喂不含中药的饲料, 投喂 28d。评估的非特异性免疫参数包括酸性磷酸酶 (ACP) 活性、碱性磷酸酶 (AKP) 活性、过氧化氢酶 (SOD) 活性、吞噬活性、氧呼吸爆发活性、血清总蛋白 (TP)、溶菌酶活性。结果表明, 珍珠龙胆石斑鱼投喂 1%大青叶 7d 时各项指标均显著高于对照组。14d 时氧呼吸爆发活性、血清总蛋白、溶菌酶、总超氧化物歧化酶活性显著高于对照组。21d 时氧呼吸爆发、酸性磷酸酶、过氧化氢酶极显著高于对照组,血清总蛋白显著高于对照组, 28d 时吞噬活性、氧呼吸爆发活性、酸性磷酸酶显著高于对照组。投喂 1%车前草 7d 时吞噬活性显著高于对照组, 14d 时碱性磷酸酶活性, 溶菌酶活性显著高于对照组; 21d 时氧呼吸爆发, 血清总蛋白, 酸性磷酸酶, 碱性磷酸酶显著高于对照组; 28d 时吞噬活性、氧呼吸爆发、血清总蛋白、过氧化氢酶, 溶菌酶活性均显著高于对照组; 投喂 1%石榴皮 7d 时体氧呼吸爆发活性极显著高于对照组, 过氧化氢酶活性显著高于对照组; 14d 时氧吸爆发活性、吞噬活性、过氧化氢酶显著高于对照组。21d 时氧呼吸爆发活性, 血清总蛋白极显著高于对照组, 碱性磷酸酶显著高于对照组。28d 时吞噬活性、溶菌酶活性显著高于对照组。综合对比, 1%大青叶对增强龙胆石斑鱼的非特异性免疫功能的作用最大。评估了不同浓度的大青叶 (0%, 0.5%, 1.0%, 1.5%) 对珍珠龙胆石斑鱼抗病能力的影响。腹腔注射哈维弧菌 ZJ0603 后, 0%、0.5%、1.0%和 1.5%组珍珠龙胆石斑鱼的相对存活率分别达到 33.3%、46%、60%和 73.3%, 显著高于对照组的 33.3%

关键词: 珍珠龙胆石斑鱼; 中草药; 免疫增强剂; 筛选; 相对存活率

Na-NQR 通过调控丙氨酸代谢影响溶藻弧菌氨基糖苷类抗生素的耐药性

蒋明^{1,2}, 吴金秋¹, 李惠², 彭宣宪², 彭博^{2*}

1.湖南师范大学生命科学学院, 长沙, 410081; 2.中山大学生命科学学院, 广州, 510275

摘要: Na-NQR 作为一种独特的氧化还原驱动钠泵, 能够产生膜电位, 此膜电位与氨基糖苷类抗生素耐药性相关。然而, 其是否通过调节其他代谢途径来赋予抗生素耐药性尚不清楚。本研究表明, 敲除 *nqrA* 或 *nqrF* 基因会导致差异化的代谢组特征, 并表现出增强的氨基糖苷类抗生素耐药性。其中, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的代谢水平下降, 且丙氨酸丰度显著降低。进一步的实验数据显示, 在庆大霉素存在时, $\Delta nqrA$ 和 $\Delta nqrF$ 突变株的存活率均高于亲本菌株 ATCC 33787, 但外源补充 L-丙氨酸后其耐药性又得以恢复。其具体涉及的机制如下: *nqrA* 或 *nqrF* 缺失导致膜电位和 ATP 酶活性下降, 进而使细胞内 ATP 和环磷酸腺苷 (cAMP) 水平降低, 从而削弱了 cAMP/CRP (cAMP 受体蛋白) 复合物的活性。cAMP/CRP 复合物活性下降又促进了 L-丙氨酸的分解代谢并抑制了其合成代谢, 导致细胞内丙氨酸水平降低。丙氨酸水平的降低进一步影响了 *Atp* 和 *Mnh* 反向转运蛋白家族基因的表达, 从而决定其对庆大霉素的耐药性。本研究结果揭示了一种全新的机制: Na-NQR 系统通过依赖 cAMP/CRP 复合物的 L-丙氨酸代谢调控抗生素耐药性。

关键词: 溶藻弧菌; 丙氨酸; 氨基糖苷抗生素; 细菌耐药; 代谢

天然小分子通过干扰病毒复制早期阶段抵御弹状病毒感染

周燕^{1,2,3}, 裘天休^{1,2,3}, 胡洋^{1,2,3}, 刘镭^{1,2,3*}, 陈炯^{1,2,3*}

1 农产品质量安全危害因子与风险防控国家重点实验室, 宁波大学, 宁波, 315211

2 生物化学与分子生物实验室, 海洋学院, 梅山校区, 宁波大学, 宁波, 315832

3 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 梅山校区, 宁波大学, 宁波, 315832

摘要: 鲤春病毒血症病毒 (Spring viremia of carp virus, SVCV) 已在世界各地广泛传播, 由于其宿主范围广, 病毒爆发对水生生态和水产养殖业都构成了严重威胁。为了开发能够控制 SVCV 感染的有效药物, 本研究共选择了 16 种天然活性小分子并评估其抗 SVCV 活性。其中, 浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 的双氢青蒿素 (dihydroartemisinin, DHA) 和 16 $\mu\text{mol/L}$ 粉防己碱 ((S, S)-(+)-Tetrandrine, TET) 在 EPC 细胞中表现出较高的抗病毒活性, 对病毒抑制率分别达到 70.11% 和 73.54%。本研究发现它们的抗病毒机制主要包括: 1. DHA 和 TET 预孵育细胞可降低病毒颗粒对细胞的感染性, 这表明采用浸泡的方式可能可以阻断 SVCV 在环境中的传播; 2. DHA 和 TET 对病毒粘附没有影响, 但 TET 干扰了 SVCV 在宿主细胞中的内化过程 (>80%), 这意味着 TET 在病毒复制的早期阶段发挥抗病毒作用。在体实验表明 DHA 和 TET 能够提高 SVCV 感染的斑马鱼的存活率达 53.3%, 降低宿主体内病毒载量, 同时调节抗病毒相关基因的表达, 表明它们可能通过调节宿主的先天免疫反应从而抵御病毒感染。总而言之, DHA 和 TET 可能通过影响病毒复制的早期阶段达到抗病毒作用, 同时它们具有作为免疫刺激剂以降低水产养殖业中弹状病毒病爆发风险的应用潜力。

关键词: 鲤春病毒血症病毒, 天然小分子, 抗病毒作用, 病毒内化, 斑马鱼

牛磺酸抑制炎症因子风暴发挥抗病毒活性研究

刘林¹, 许伟华¹, 萧冬淼¹, 袁梦迪¹, 植林勇¹, 招茵¹, 秦启伟^{1,2,3**},

黄晓红^{1,2**}, 黄友华^{1,2*}

1 华南农业大学海洋学院, 广州 510642

2 华南农业大学南沙渔业研究院, 广州 510642

3 南方海洋科学与工程广东省实验室, 珠海 519082

摘要:近年来, 病毒性疾病的频繁爆发已成为水产养殖业可持续发展的重大威胁。作为虹彩病毒科蛙病毒属的新成员, 新加坡石斑鱼虹彩病毒 (SGIV) 可导致石斑鱼高死亡率并造成巨大经济损失, 目前尚无有效防控手段。本研究发现, SGIV 感染引起石斑鱼脾脏严重出血、肿大及系统性炎症反应, 脾脏和肝脏组织 *TNF α* 、*IL1 β* 、*CXCL10* 等炎症基因转录水平显著升高。多组学联合分析表明, SGIV 感染后石斑鱼脾脏中牛磺酸和亚牛磺酸代谢发生显著变化, 其中牛磺酸含量的降低与促炎细胞因子如 *IL1 β* 、*IL6* 等的上调密切相关。体外实验证实, 牛磺酸可抑制 SGIV 复制并缓解由病毒感染引起的过度炎症反应。牛磺酸可抑制 NF κ B p-65 磷酸化水平、NF κ B 启动子活性及 *TNF α* 、*IL1 β* 、*IL6*、*CCL4* 等基因的表达水平, 从而减轻脂多糖 (LPS) 诱导的炎症反应及 LPS 对 SGIV 复制的促进作用, 同时协同 NF κ B 抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸盐 (PDTC) 抑制病毒复制和炎症反应。体内实验表明, 2%牛磺酸饲喂不仅提高了 SGIV 感染石斑鱼的存活率, 也对 LPS 预处理后感染 SGIV 的石斑鱼具有保护作用。不仅如此, 牛磺酸能显著降低 SGIV 感染后的石斑鱼肝脏组织促炎代谢物如前列腺素 D2 (PGD2)、白三烯 B4 (LTB4) 等的丰度, 缓解感染组及 LPS 处理组的过度炎症反应。本研究首次揭示促炎细胞因子爆发是 SGIV 感染的核心事件, 而牛磺酸通过抑制炎症反应发挥抗病毒作用, 从而减轻脾脏和肝脏损伤。这一发现为鱼类虹彩病毒病的防治提供了新策略。

关键词: 牛磺酸, 抗病毒, 炎症反应, SGIV, 代谢

丙戊酸（VPA）通过抑制自噬和 DNA 损伤反应抑制 SPIV 病毒复制的分子机制

刘梦柯¹, 曾子豪¹, 黄友华¹, 黄晓红^{1,2}, 秦启伟^{1,2,3*}

1 华南农业大学海洋学院, 广州 510642

2 华南农业大学南沙渔业研究院, 广州 510642

3 南方海洋科学与工程广东省实验室, 珠海 519082

摘要: 海鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 是分布于我国沿海地区的重要经济鱼类之一。近年来, 随着海鲈集约化养殖业的快速发展, 病毒性疾病频繁暴发, 给海鲈养殖业造成了巨大的经济损失。其中, 海鲈虹彩病毒 (Sea Perch Iridovirus, SPIV) 是引起海鲈发病死亡的主要病毒性病原之一。SPIV 属于虹彩病毒科细胞肿大病毒属, 是一种直径 150-200 nm 的正十二面体有囊膜的 DNA 病毒。丙戊酸 (Valproic acid, VPA) 是一种带有支链的短链脂肪酸, 也是一种 I 型组蛋白脱乙酰酶 (HDAC) 抑制剂, 常用于治疗神经系统疾病, 具有中断 γ -氨基丁酸 (GABA) 信号传导、调节钠通道活性、抑制糖原合酶激酶 3 和破坏膜脂质代谢的功能。已有研究表明 VPA 能够抑制有囊膜病毒的感染, 而不影响无囊膜病毒感染, 因此本研究探究了 VPA 对 SPIV 病毒复制的影响及其抗病毒感染的分子机制。结果表明 SPIV 感染能够在海鲈鳍条细胞系 LJFin 中诱导细胞自噬, 细胞自噬能够促进 SPIV 病毒复制, 而 24 mM VPA 处理能够下调雷帕霉素诱导的细胞自噬, 显著下调 LC3 II、Beclin 1 的蛋白表达量, 上调 p62 的蛋白表达量, 同时 VPA 处理能够抑制 SPIV 病毒复制及其诱导的细胞自噬。进一步研究表明, VPA 是通过抑制 I 型 HDAC (HDAC1, HDAC2, HDAC3) 的活性并激活磷酸化 AKT、mTOR 的蛋白表达抑制 SPIV 诱导的细胞自噬。而磷酸化的 AKT 通过促进 MDM2 从细胞质转移入细胞核进而负调控 p53 蛋白、DNA 损伤反应及其下游的 ATR/CHK1 通路。随后, 将 VPA 以不同添加比例与商业化饲料混匀后饲喂健康海鲈 28 天后体内感染 SPIV, 观察并统计死亡率 14 天。结果表明以 5g/kg 饲料添加量饲喂后, 相对保护率为 31.6%, 能明显改善由 SPIV 感染导致的病理损伤, 下调病毒基因的转录水平, 且能明显改善由 SPIV 感染导致的肝脏、脾脏、肠道炎症、肝脏脂滴浸润、脾脏 DNA 损伤反应, 增强肠道抗氧化功能及肠道屏障功能。综上, VPA 能够激活 AKT/mTOR 通路, 抑制细胞自噬及 DNA 损伤反应抑制 SPIV 病毒复制。

关键词: SPIV; VPA; 细胞自噬; DNA 损伤

硼替佐米抗新加坡石斑鱼虹彩病毒感染的分子机制

吴思婷, 林宜洁, 魏京广*, 秦启伟*

华南农业大学海洋学院, 广东 广州 510642

摘要: 新加坡石斑鱼虹彩病毒 (Singapore grouper iridovirus, SGIV) 是导致石斑鱼养殖业高死亡率及重大经济损失的重要病原之一。硼替佐米 (Bortezomib) 是一种高选择性 26S 蛋白酶体抑制剂, 通过可逆性抑制糜蛋白酶样活性, 进而阻断泛素-蛋白酶体通路。本研究采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)、蛋白质印迹法 (Western blot) 及荧光信号检测技术, 系统评估了硼替佐米对 SGIV 感染的抑制作用。实验结果显示, 不同浓度硼替佐米处理均可显著抑制 SGIV 的增殖, 并明显降低病毒蛋白的荧光信号强度。qRT-PCR 分析表明, 硼替佐米处理显著下调了病毒主要衣壳蛋白 (MCP) 和包膜蛋白 (VP19) 的转录水平, 并减少了病毒 DNA 及 mRNA 的拷贝数。进一步机制研究表明, 该化合物可有效阻断病毒蛋白的合成。综上所述, 本研究证实 SGIV 对硼替佐米具有敏感性, 其通过抑制蛋白酶体活性发挥抗病毒作用, 表明硼替佐米具备作为抗 SGIV 感染候选药物的潜力。

关键词: 石斑鱼; 硼替佐米; 蛋白酶体抑制剂; 新加坡石斑鱼虹彩病毒; 抗病毒作用

牛磺脱氧胆酸通过 JNK/Nrf2 介导的炎症反应与抗氧化活性抑制新加坡石斑鱼虹彩病毒复制

萧冬淼^{1, #}, 刘林^{1, #}, 袁梦迪¹, 任昕怡¹, 张桂梅¹, 黄友华^{1, 2**}, 黄晓红^{1, 2**}, 秦启伟^{1, 2, 3*}

1 华南农业大学海洋学院, 广州 510642

2 华南农业大学南沙渔业研究院, 广州 511464

3 南方海洋科学与工程广东省实验室, 珠海 519082

摘要: 新加坡石斑鱼虹彩病毒 (SGIV) 作为高致病性病毒, 对全球石斑鱼养殖业构成严重威胁。先前研究表明, SGIV感染的肝脏中牛磺脱氧胆酸 (TDCA) 含量降低。本研究详细探讨了TDCA对SGIV复制的影响及其作用机制。外源性TDCA能以剂量依赖或时间依赖方式抑制SGIV复制, 表现为病毒基因表达及子代病毒产量下降。此外, TDCA可抑制大口黑鲈病毒 (LMBV) 复制, 但对海鲈虹彩病毒 (SPIV) 复制无显著影响。TDCA可减轻SGIV感染诱导的JNK磷酸化水平, 同时抑制NF- κ B和AP-1启动子活性, 并下调*IL6*、*IL15*、*CXCL9*等基因表达。该化合物增强ARE启动子活性及*Nrf2*、*SOD*、*CAT*和*GSH-Px*表达, 在SGIV感染过程中显著降低活性氧生成。另外, TDCA降低了CyclinDs的mRNA水平, 并消除了SGIV诱导的S期阻滞。此外, TDCA饲喂通过维持杯状细胞功能及表达*Claudin-1*、*Claudin-3*和*Claudin-15*, 保护肠道黏膜完整性, 从而降低石斑鱼死亡率。更值得注意的是, TDCA喂养在石斑鱼肠道内感染SGIV后, 下调了促炎介质的表达, 同时上调了Nrf2通路相关基因。综合而言, TDCA通过JNK/Nrf2信号通路缓解了SGIV诱导的过度炎症反应、氧化应激损伤及细胞周期紊乱, 表明TDCA可能成为对抗蛙病毒感染的潜在有效抗病毒药物。

关键词: SGIV; 牛磺去氧胆酸; JNK; Nrf2; 炎症反应; 抗氧化活性

基于 Pickering 乳液的姜黄素聚乳酸微球制备及其抗多子小瓜虫效果研究

付耀武¹, 胡亚丽², 黄诗露², 张其中¹, 张振^{2*}

1. 暨南大学水生生物研究中心, 广州, 510632

2. 华南师范大学华南先进光电子研究院, 广州, 510006

摘要: 淡水鱼类白点病由多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 感染引起, 每年对水产养殖业造成严重经济损失, 急需开发绿色安全高效的防控药物。姜黄素 (Curcumin, Cur) 是一种植物源抗多子小瓜虫天然活性成分, 但其水溶性差、光热稳定性低等缺陷限制了应用。本研究采用纤维素纳米晶 (CNC) 稳定的无表面活性剂 Pickering 乳液模板法, 构建负载姜黄素的聚乳酸 (CurPLA) 微球, 提高姜黄素的稳定性并实现缓释效果。结果显示, 本研究成功制备出粒径均一、球形规整的 CurPLA 微球, 姜黄素被有效包封于 PLA 基质中。与游离姜黄素相比, CurPLA 微球的光稳定性、热稳定性和长期储存稳定性得到显著提升, 储存 35 天后, 姜黄素保留率从 3% 提升至 95%。体外释放实验表明, CurPLA 微球能实现长达 58 天的缓慢释放, 远超游离姜黄素和乳液对照组。CurPLA 微球 30 min 内对多子小瓜虫的杀虫率超过 90%, 且可重复使用, 效果优于游离姜黄素。使用 CurPLA 微球治疗感染白点病的草鱼, 14 天后即可治愈。因此, 本研究开发了一种稳定、长效的姜黄素缓释微球, 为解决姜黄素在实际水产应用中稳定性差的问题提供了新方法, 具有较好的应用前景。

关键词: 纤维素纳米晶; 皮克林乳液; 姜黄素; 聚乳酸微球; 多子小瓜虫

大蒜 E 素对嗜水气单胞菌的抑菌活性及机制研究

李金龙^{1,2}, 陈凯², 潘良坤², 谢骏², 习丙文^{1,2*}

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 水产病害与饲料重点实验室, 江苏 无锡 214081)

摘要: 为探究大蒜 E 素 (ALE) 对嗜水气单胞菌的抑菌活性及作用机制, 通过测定最小抑菌浓度 (MIC)、最小杀菌浓度 (MBC) 和时间杀菌曲线, 评价 ALE 对嗜水气单胞菌的抑菌作用; 基于电镜观察、活性氧 (ROS) 检测、DNA 和蛋白质泄漏量, 分析其对嗜水气单胞菌细胞结构的影响; 采用结晶紫染色法检测其对嗜水气单胞菌生物被膜形成和破坏的影响; 同时通过人工感染异育银鲫试验检测其对鱼体保护作用和对鱼体炎症相关因子基因表达的影响。结果显示, ALE 对嗜水气单胞菌 MIC 和 MBC 值均为 8 μ g/mL, 在 MIC 浓度下, ALE 在 1 小时内可完全杀死细菌。与对照组相比, ALE 处理组细菌体内活性氧积累量, 体外 DNA 和蛋白质泄漏量显著上升 ($P<0.05$); 生物被膜的形成量显著下降 ($P<0.05$)。人工感染实验发现, 与对照组相比, 饲喂含有 16mg/kg ALE 的处理组能延缓异育银鲫的死亡, 显著降低肝脏和肾脏组织的载菌量 ($P<0.05$), 显著降低由嗜水气单胞菌诱导的炎症相关因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-10) mRNA 的表达量 ($P<0.05$)。研究结果表明, ALE 通过破坏嗜水气单胞菌生物膜结构, 促使细胞体内活性氧 (ROS) 积累、DNA 及蛋白质泄漏, 加速细菌死亡, 并且通过降低鱼体的炎症反应, 对感染嗜水气单胞菌的异育银鲫起到一定的保护作用。

关键词: 大蒜 E 素; 嗜水气单胞菌; 异育银鲫; 抗菌机制

恩诺沙星暴露对金鱼感染鲤疱疹病毒 II 型的影响

单思雨, 逢炳惠, 王浩*

上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 抗生素治疗是水产养殖常见的防控细菌性疾病的有效措施, 过量的抗生素使用, 可通过诱导氧化应激等直接或间接地破坏宿主的免疫能力, 从而促进继发性病原的感染。当前, 鲤疱疹病毒 II 型 (Cyprinid herpesvirus 2, CyHV-2) 感染引起的鲫造血器官坏死病, 是鲫的主要病毒性流行疫病。本研究聚焦水产养殖白名单中常用抗生素恩诺沙星胁迫宿主后, 对 CyHV-2 感染宿主影响的问题, 以期水产养殖科学用药提供数据参考。现有数据显示 CyHV-2 宿主谱较窄, 敏感宿主为鲫 (*Carassius auratus*) 和金鱼 (*Carassius auratus*), 金鱼作为世界范围内流行的观赏水族, 本团队建有稳定的无特定病原 (Specific Pathogen Free, SPF) 金鱼感染 CyHV-2 研究模型, 因此本研究选取金鱼作为靶动物探究恩诺沙星暴露对其感染 CyHV-2 后的生理变化的影响。结果表明, 超量浓度 (60 mg/kg) 恩诺沙星暴露显著加速了金鱼感染 CyHV-2 的进程, 存活周期最短 (11 天), CyHV-2 组存活周期为 13 天。水环境病毒载量峰值排序为 H-ENR + CyHV-2 组 ($10^{3.9}$ copies/mL) > L-ENR + CyHV-2 组 ($10^{3.4}$ copies/mL) > CyHV-2 组 ($10^{3.23}$ copies/mL), 其中 H-ENR + CyHV-2 组载量最早上升 (第 5 天) 且峰值最高。氧化应激关键指标显示, 所有实验组的丙二醛 (MDA) 水平均显著升高 ($P < 0.05$), 双重胁迫组 (L-ENR + CyHV-2、H-ENR + CyHV-2) 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性最低 ($P < 0.05$), 表明机体氧化损伤加剧。同时, 在单纯病毒感染组 (CyHV-2) 中, 炎症因子 (TNF- α 、NF- κ B、IL-1 β) 的表达在感染后期才显著上调。而在 ENR 暴露组 (尤其是高剂量组 H-ENR + CyHV-2), 这些因子的表达更早被激活, 且表达水平更高, 表明 ENR 暴露使宿主处于“免疫预警”或“过度激活”状态。综上, 表明 ENR 暴露可能通过破坏宿主的抗氧化防御系统和激活过度的炎症反应来加剧病毒感染的病理过程。本研究为水产养殖实践中多种病原继发感染的抗生素使用提供了参考。

关键词: 恩诺沙星; 鲤疱疹病毒 II 型; 氧化损伤; 免疫应激

阿卡波糖对大口黑鲈高碳水化合物日粮性肝损伤的影响

曹燕好¹, 薄晓龙¹, 刘洪李¹, 黄小丽¹

四川农业大学动物科技学院, 四川省成都市 611130

摘要:【目的】探明阿卡波糖对大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)高碳水化合物日粮性肝损伤的影响, 初筛相似功能治疗药物。【方法】以大口黑鲈为研究对象, 设置正常碳水化合物组(1.3% α -淀粉, 对照)和高碳水化合物组(22.0% α -淀粉高碳水组), 诱导其高碳水化合物日粮性肝损伤, 随后投喂 7.5 mg/kg 初始鱼体质量阿卡波糖, 利用大体病理学、组织病理学、酶学和流式细胞术探究阿卡波糖对高碳水化合物日粮性肝损伤的治疗效果。模拟阿卡波糖的控糖原理, 分析 6 种中草药对高碳水化合物日粮性肝损伤的治疗效果。【结果】持续投喂高碳水化合物 45d 可致大口黑鲈肝脏肿大、颜色发白、肝体比显著增加($P<0.05$)。阿卡波糖治疗 15d 后, 与高碳水组相比, 阿卡波糖组大口黑鲈血糖含量降低 1.77 mol/L, ALT 和 AST 活性分别降低至 42.00、157.67 U/L, 而 ALKP 活性上升, 有恢复到正常值的趋势, 并有效减缓肝细胞空泡化, 降低肝糖原积累。流式细胞术结果显示, 高碳水组肝细胞总凋亡率最高、为 4.64%; 阿卡波糖组则下降至 1.24%, 差异显著 ($P<0.05$)。与对照相比, 高碳水组大口黑鲈肝组织 ROS 含量上升至 30.94%, 而阿卡波糖组降低至 22.35%, 且有恢复至正常水平的趋势。6 种中草药治疗大口黑鲈 15d 后, 均可维护其肝脏形态、降低肝体比, 但各处理间差异不显著 ($P>0.05$), 其中肉桂治疗效果更为明显、肝体比最低(3.35%)。【结论】阿卡波糖能有效缓解高碳水化合物日粮导致的大口黑鲈肝脏肿大、降低肝体比、缓解肝细胞凋亡和空泡化、降低肝糖原积累、减轻机体氧化应激损伤。6 种中草药中, 肉桂治疗效果更佳, 具有与阿卡波糖类似的治疗作用, 可作为治疗大口黑鲈高碳水化合物日粮性肝损伤的候选中草药并进行开发利用。

关键词: 阿卡波糖; 大口黑鲈; 高碳水化合物日粮; 肝损伤; 药物筛选; 细胞凋亡; 细胞增殖

白藜芦醇对维氏气单胞菌的体外抑菌作用及其对鲟鱼的保护作用

王敏敏¹ 李晓楠¹ 刘博文¹ 陈芬¹ 耿毅¹, 黄小丽², 陈德芳², 欧阳萍^{1*}
(1. 四川农业大学动物医学院, 四川 成都, 611130; 2. 四川农业大学动物科技学院, 四川 成都, 611130)

摘要: 维氏气单胞菌是一种人-兽-水生生物共患的条件致病菌, 具有高致病性, 尤以水生变温动物为甚。此病原菌中的某些菌株致病性较强, 可以导致感染该菌的鱼类表现出败血症等多种病症, 严重时会导致死亡。该菌当前已在全球包括我国在内的部分地区对水产养殖造成了较大经济损失。目前针对维氏气单胞菌感染的治疗通常使用抗生素治疗, 但近年来细菌耐药性问题日趋严重, 甚至出现超级细菌, 这对动物疾病防控和人类的健康带来了巨大的威胁。本文研究了白藜芦醇对维氏气单胞菌的体外抑菌效果, 通过电镜、RT-PCR、转录组学和代谢组学等探究了香芹酚的抑菌机制, 并利用动物试验证实白藜芦醇对维氏气单胞菌感染西伯利亚杂交鲟的保护作用。研究发现, 白藜芦醇对维氏气单胞菌有良好的抑制作用, 其最小抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC) 均为 128 $\mu\text{g/mL}$, 通过破坏细菌的细胞膜和细胞壁, 增加细胞膜的通透性, 从而发挥抑菌效果。转录组学和代谢组学研究表明, 白藜芦醇影响了多个生物学过程, 包括抑制细胞壁合成、干扰碳水化合物代谢和膜转运功能等。此外, 在动物试验中发现, 白藜芦醇提高了西伯利亚杂交鲟的存活率, 增强其非特异性免疫, 并减少了由细菌引起的炎症和组织损伤。因此, 白藜芦醇可作为防治维氏气单胞菌病的潜在有效药物。

关键词: 白藜芦醇; 维氏气单胞菌; 抗菌机制; 西伯利亚杂交鲟

基于人工智能与纳米技术的抗小瓜虫药物设计与制剂开发研究

屈伸野 刘洁涛 王高学 凌 飞*

西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌 712100

摘要: 多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 因其分布广泛、宿主非特异性等特点, 对全球淡水养殖业造成严重危害并带来重大经济损失。近年来, 人工智能技术快速发展, 在新药研发领域展现出巨大潜力。将 AI 技术与水产专用抗虫药物研发相结合, 有望显著加速新型杀虫渔药的开发进程, 为小瓜虫病的防治提供新策略。在前期研究中, 我们以天然抗虫分子厚朴酚作为先导化合物, 设计并合成了百余种衍生物, 通过比较分子力场分析 (CoMFA) 与药效团建模, 系统阐明了其活性构效关系与关键药效基团, 并初步探索了其抗虫机制。在此基础上, 本研究整合靶标结构建模、构效关系分析、三维药效团匹配及类药性评价等方法, 构建了适用于抗小瓜虫药物筛选的计算机辅助平台, 成功识别出联苯、儿茶酚等优势抗虫骨架。进一步融合卷积神经网络 (CNN)、深度神经网络 (DNN)、随机森林 (RF)、SHAP 可解释性分析、密度泛函理论 (DFT) 计算、分子动力学 (MD) 模拟及网络药理学等多技术手段, 建立了 AI 驱动的水产抗虫药物理性设计平台, 指导合成了新型抗虫分子(E)-5,5'-二烯丙基-3-[(4-硝基苯基)二氮烯基]-[1,1'-联苯]-2,2'-二醇, 其抗虫活性较先导分子厚朴酚提高约 5 倍。此外, 通过纳米递送技术制备了厚朴酚纳米混悬剂、蛋白复合物及纳米粒子等新型制剂, 显著改善了药物的溶解性与稳定性, 有效提高了口服生物利用度, 展现出良好的应用前景。本研究为 AI 技术在水产抗虫药物研发中的系统应用提供了有益探索, 也为未来绿色渔药的创制提供了重要参考。

关键词: 理性药物设计; AI 制药; 纳米递送技术; 多子小瓜虫

乌梅水提物通过肝肠轴保护斑马鱼增强抗嗜水气单胞菌感染的作用机制

赵蓓蓓, 胡迪, 顾贝贝, 王志铮*

浙江海洋大学水产学院, 浙江 舟山 316022

摘要: 本研究探讨了乌梅水提物对致病性嗜水气单胞菌强毒株 ZHYYZ-1 的体外抑菌效果及亚抑菌浓度对 ZHYYZ-1 运动、溶血活性及毒力相关因子表达的影响, 在此基础上以不同剂量乌梅水提物添加至斑马鱼日粮中, 检测了乌梅水提物对斑马鱼肝脏酶活力、免疫基因表达及肠道菌群、肠道结构等的影响。研究表明: 乌梅水提物对 ZHYYZ-1 的最小抑菌浓度 (MIC) 为 6.25 mg/mL。1/8MIC 乌梅水提物可增强试验菌的运动性, 1/4MIC 乌梅水提物则可显著抑制试验菌的运动。乌梅水提物对试验菌蛋白酶、溶血性及毒力基因 OmpA、Aha、AerA、Fla 的抑制效果以 1/2MIC 最佳, 而对 Act 和 Hly 基因表达的抑制效果以 1/8MIC 最佳。以 1% 乌梅水提物添加至日粮中, 投喂四周后可将受试斑马鱼的存活率从 50.00% 提高至 91.67%。1% 乌梅水提物投喂组 (以下简称乌梅组) 的斑马鱼肝脏过氧化氢酶和溶菌酶活力显著高于对照组, 且肝脏 il-10 表达显著降低, il-6 和 $\text{tgf-}\beta$ 表达显著升高。肠道组织切片显示, 乌梅组斑马鱼肠道绒毛长度和杯状细胞数量显著提高。肠道菌群分析表明, 与对照组相比, 乌梅组梭杆菌门有鲸杆菌属丰度明显增加; KEGG 三个层级和 MetaCyc 通路分析表明乌梅组与对照组在功能组成上存在显著差异。其中, 新陈代谢层级: 乌梅组的 D-丙氨酸代谢、生物素代谢等通路显著上调; 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成等通路显著下调。遗传信息处理层级: 乌梅组的氨基酰基 tRNA 生物合成、碱基切除修复等通路显著上调; 基础转录因子、mRNA 监测途径等通路显著下调。细胞过程层级: 乌梅组的生物膜形成-霍乱弧菌、铁死亡等通路显著上调; 细胞凋亡、自噬—酵母等通路显著下调。以上研究结果可为乌梅水提物应用于水产嗜水气单胞菌的防控提供科学的参考依据。

关键词: 乌梅水提物; 肝肠轴; 斑马鱼; 嗜水气单胞菌

甲苯咪唑对小林三代虫和坏鳃指环虫的杀虫效果比较

陈然, 王桂堂, 李文祥*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要: 小林三代虫 (*Gyrodactylus kobayashii*) 与坏鳃指环虫 (*Dactylogyrus vastator*) 均为严重危害养殖鱼类的单殖吸虫。在生产实践中, 通常认为对指环虫有效的药物对三代虫也有效, 且有效浓度也应相同, 然而在进行药物实验过程中发现并非如此。因此, 本研究通过比较甲苯咪唑对上述两种单殖吸虫的实际杀虫效果, 旨在明确其最佳使用浓度, 为水产养殖中寄生虫病害的精准防治提供科学依据。结果显示, 在体条件下, 甲苯咪唑在 24 h 内杀灭 90% 小林三代虫和坏鳃指环虫所需的浓度分别为 0.05 mg/L 和 0.4 mg/L; 离体条件下, 0.005 mg/L 的甲苯咪唑在 2 h 内对小林三代虫的杀灭效率为 100%, 而坏鳃指环虫在 8 h 后仍有存活个体。扫描电镜和透射电镜观察进一步表明, 造成相同程度结构损伤时, 坏鳃指环虫所需的甲苯咪唑浓度高于小林三代虫。上述结果说明, 甲苯咪唑对三代虫和指环虫均有较好的杀灭效果, 但杀灭三代虫有效药物浓度要低于指环虫的。

关键词: 小林三代虫; 坏鳃指环虫; 甲苯咪唑; 杀虫效果

中草药自组装超分子 GA/Re@En 的制备及其抗菌增效机制研究

陆柳伸¹, 陈凯¹, 李金龙^{1,2}, 习丙文^{1,2,*}

1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081

摘要: 抗生素滥用导致的残留和耐药性问题已成为全球公共卫生挑战。传统抗生素受限于单一作用靶点与生物膜渗透性差等固有缺陷, 难以实现高效杀菌、低残留与控制耐药性的多重目标。针对这一瓶颈, 本项目创新性地融合中草药与纳米技术, 以没食子酸 (GA) 和白藜芦醇 (Re) 为功能单元, 利用 π - π 堆积和氢键非共价相互作用, 成功构建负载恩诺沙星 (En) 的自组装超分子复合物 (GA/Re@En)。该复合物仅负载较低剂量的 En, 却能显著提升抗菌活性, 突破传统药物量效关系的限制。此外, 利用分子对接、转录组测序和生物信息学分析等技术手段, 系统解析 GA/Re@En 在分子水平、细胞代谢和宿主免疫三个层面的抗菌机制。本项目开发的 GA/Re@En 是一种绿色减抗纳米渔药, 可大幅降低抗生素用量和残留, 为解决水产养殖耐药菌感染及药物残留问题提供创新解决方案, 对保障食品安全与生态安全具有重要科学意义。

关键词: 中草药; 自组装; 抗菌; 恩诺沙星; 嗜水气单胞菌

果糖促进氨苄西林杀死耐药无乳链球菌

陈瑄薇, 彭博*

中山大学生命科学学院, 广州 510275

摘要: 无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*, GBS) 是一种可感染水生动物和人类的重要病原菌, 已造成严重的经济损失。随着GBS抗生素耐药性病例的不断增多, 针对该类感染的抗生素治疗面临严峻挑战。因此, 亟需寻找应对GBS耐药性的新策略。本研究采用代谢组学方法, 分析了氨苄西林耐药GBS

(AR-GBS) 的代谢特征。结果显示, AR-GBS中糖酵解过程显著抑制, 而果糖被识别为关键生物标志物。添加外源果糖不仅可逆转AR-GBS对氨苄西林的耐药性, 还可逆转如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 和表达NDM-1的大肠杆菌等临床分离株对氨苄西林的耐药性。斑马鱼感染模型进一步验证了该协同效应。机制研究表明, 果糖的增效作用依赖于糖酵解过程的激活, 该过程可促进氨苄西林的摄取并上调其靶标蛋白——青霉素结合蛋白的表达。本研究为应对GBS抗生素耐药性提供了一种新思路。

关键词: 无乳链球菌; 氨苄青霉素; 果糖; 糖酵解; 代谢

肌肽增强硫酸新霉素作用的研究

张晓琳, 彭博*

中山大学生命科学学院, 广州 510275

摘要: 多重耐药病原菌在水产养殖中的广泛传播已严重威胁养殖产业安全, 开发新型耐药菌防控策略迫在眉睫。在新抗生素研发受限的背景下, 提升现有抗生素杀菌效率成为研究重点。本研究发现, 肌肽可显著增强氨基糖苷类抗生素的杀菌作用, 其中与庆大霉素协同效果最佳, 且与水产养殖常用的硫酸新霉素等抗生素亦存在显著协同效应, 能有效逆转无乳链球菌、嗜水气单胞菌等水产源耐药菌的耐药性。机制研究表明, 肌肽通过促进庆大霉素介导的细菌膜损伤增强杀菌效率, 其核心作用依赖于调控细菌铁载体的生物合成及代谢通路——铁载体通路关键基因的缺失可完全消除肌肽的协同增效作用。本研究揭示, 靶向铁载体可增强氨基糖苷类抗生素对水产耐药菌的活性, 为开发水产专用抗菌增效剂提供了重要思路。

关键词: 多重耐药病原菌; 铁载体; 庆大霉素; 肌肽

饲料中添加枯草芽孢杆菌对大口黑鲈生长、免疫以及肠道菌群的影响

张家豪, 黄伟民, 吴文豪, 苏友禄*

仲恺农业工程学院, 动物科技学院, 广州, 510225, 中国

摘要: 本研究旨在探究饲料中添加枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 对大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 生长性能、免疫功能及肠道菌群的影响。从健康大口黑鲈的肠道中分离得到 49 株细菌 (其中芽孢杆菌 16 株、乳酸菌 33 株), 并通过溶血活性、胞外酶活性、人工胃肠液耐受性、抗菌特性及抗生素敏感性等体外评估, 筛选出 5 株具有潜在益生菌功能的菌株 (YB-4、YB-6、YB-7、YB-12、YB-15), 其中 YB-4 和 YB-15 表现出较强的综合性能。为期 8 周的投喂试验结果表明, 添加 YB-4 和 YB-15 的实验组显著提升了大口黑鲈的抗病能力, 缓解了乙酸诱导的肠道炎症症状, 降低了促炎因子白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的表达水平, 同时上调了抗炎因子白细胞介素-10 (IL-10) 及免疫相关基因免疫球蛋白 M (IgM)、 γ -干扰素 (IFN- γ) 的表达 ($P<0.05$)。在生长性能方面, 实验组的饲料转化率 (FCR) 显著优于对照组, 其中 YB-12 组和 YB-15 组的增重率 (WGR) 分别达到 463.64% 和 401.46%。肠道组织学观察显示, 实验组大口黑鲈的肠绒毛长度和肌肉层厚度显著增加, 有助于促进营养物质吸收。血清及组织免疫酶活性分析结果表明, YB-4 和 YB-15 可显著提高谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、总抗氧化能力 (T-AOC) 等指标水平, 增强鱼体的抗氧化功能及非特异性免疫功能。综上, 在饲料中添加枯草芽孢杆菌 (如 YB-4、YB-15 菌株) 可通过调控大口黑鲈的免疫应答、改善肠道结构及菌群平衡, 安全且有效地提升其生长性能与抗病能力。该研究为水产养殖领域构建替代抗生素的绿色防控策略提供了科学依据

关键词: 大口黑鲈; 枯草芽孢杆菌; 生长指标; 抗病力; 肠道菌群

大豆球蛋白诱发水产动物食源性肠道炎症的机制与营养干预策略

莫爱杰，矣林园，张千，王思如，袁勇超*

华中农业大学水产学院，武汉 430070

摘要：大豆蛋白是水产饲料中最常用且最重要的植物蛋白来源，但其主要抗营养因子大豆球蛋白因含量高且具有较强热稳定性，可能会对水产动物造成潜在危害。本研究以杂交黄颡鱼（*Pelteobagrus fulvidraco* ♀ × *Pelteobagrus. vachelli* ♂）和克氏原螯虾（*Procambarus clarkia*）为研究对象，系统评估大豆球蛋白对其生长性能和肠道健康的影响。结果表明，饲料中添加 3.64%~7.28%大豆球蛋白显著抑制了两种水生动物的生长、存活、摄食及饲料利用，并通过诱导氧化应激和细胞凋亡破坏后肠结构完整性，进而削弱营养消化吸收功能。同时，肠道菌群出现严重失衡，表现为潜在有益菌如梭状芽孢杆菌（*Clostridium clostridioforme*）、拟杆菌（*Bacteroides plebeius*）丰度下降，而条件致病菌如假黄色单胞菌属（*Pseudoxanthomonas*）和产气荚膜梭杆菌（*Clostridium perfringens*）丰度上升。此外，高水平大豆球蛋白可激活 MAPK/NF-κB/WNT 信号通路，上调炎症相关基因（*tgf-β*、*tnf*、*cox2*、*hsp70* 等）及抗菌相关基因的转录。值得注意的是，在饲料中添加 200 mg/kg~400 mg/kg 黑米花青素或 3.29 μg Se/g~10.02 μg Se/g 蛋氨酸硒，可显著增强肠道抗氧化能力，降低活性氧和炎症因子水平，抑制 p38MAPK/NF-κB 通路的激活，从而缓解大豆球蛋白引起的肠道菌群失衡与炎症反应。

关键词：大豆球蛋白；杂交黄颡鱼；克氏原螯虾；肠道炎症；硒代蛋氨酸；花青素

日本对虾对致病弧菌 Vp_{AHPND} 与 Vp_{HLVD} 的敏感性研究

王杰, 杨丰, 李钊*

自然资源部第三海洋研究所, 厦门 361005

摘要: 日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 是我国沿海重要养殖品种, 但其对急性肝胰腺坏死病 (Acute hepatopancreatic necrosis disease, AHPND) 致病弧菌 (Vp_{AHPND}) 以及高致死性弧菌病 (Highly lethal Vibrio disease, HLVD) 致病弧菌 (Vp_{HLVD}) 的敏感性尚不明确。本研究系统地比较了日本对虾和凡纳对虾感染上述两种致病弧菌后, 在病原载量、病理损伤及死亡率方面的差异。结果表明, 在 Vp_{AHPND} (10^6 CFU/mL) 感染 24 h 后, 凡纳对虾即出现严重的消化系统损伤, 表现为肝胰腺小管上皮细胞坏死、脱落, 肠道结构的破坏与大量血细胞浸润等。而在相同感染条件下日本对虾消化道未出现明显异常。至感染 72 h, 凡纳对虾死亡率达到 100%, 而日本对虾死亡率则小于 30%。类似地, 在 Vp_{HLVD} (10^6 CFU/mL) 感染 12 h 后, 凡纳对虾也出现了严重的肝胰腺和肠道病变, 而日本对虾未表现出明显组织损伤。凡纳对虾在感染 24 h 后死亡率达到 100%, 而日本对虾感染 72 h 后死亡率仅约 15%。上述结果表明日本对虾对 Vp_{AHPND} 和 Vp_{HLVD} 两种致病弧菌均不敏感。进一步分析表明, 感染后日本对虾和凡纳对虾体内的两种病原载量均逐步上升, 并在感染 12 h 达到 10^5 copies/mg 组织。这表明 Vp_{AHPND} 和 Vp_{HLVD} 可感染日本对虾和凡纳对虾, 但日本对虾对这两种弧菌均具有较强的耐受性, 不易发病。本研究首次系统评估了日本对虾对两种重要弧菌病原的感染敏感性, 为日本对虾养殖提供了重要参考。

关键词: 日本对虾; 副溶血弧菌; 急性肝胰腺坏死病; 高致死性弧菌病; 耐受性

The application of traditional Chinese medicines in green aquaculture via their immunoregulation activities

Yu-Huan Qiu^{a,b}, Chu-Tong Zhang^a, Qi-Wei Qin^{a,b,*}, Wei-Hui Hu^{a,b,*}

^a College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China.

^b Nansha-South China Agricultural University Fishery Research Institute, Guangzhou 511464, China.

Abstract: With an increasing emphasis on green aquaculture, more and more attention have paid on the application of traditional Chinese medicines (TCMs) regarding the prevention and treatment of serious fish diseases. Compared with various antibiotics, TCMs are environmentally friendly and highly effective with minimal side effects. Singapore grouper iridovirus (SGIV), as a major viral pathogen, is a great threat for the health of groupers with a mortality rate exceeding 90% in juvenile fish. This study was designed to identify certain kinds of TCMs with anti-virus or anti-bacteria activities based on cellular and animal models. Selected TCMs that are traditionally used as remedies for immune-regulation and inflammation prevention were determined and extracted with 50% ethanol. Cytotoxicity of selected herbal extracts and their activities on fish cells and their anti-SGIV or anti-bacterial activities were evaluated by performing relevant biological activities. Two kinds of herbs, *Houttuynia cordata* and *Cirsium setosum*, were identified. Also, the antiviral activities of *Houttuynia cordata* extract in grouper and the anti-bacterial effects of *Cirsium setosum* extract were confirmed by oral administration based on grouper and largemouth bass models. Notably, the application of the two herbs increased fish survival, inhibited of pathogenic gene expressions and attenuation of histopathological damage. These investigations gave supports to the application of TCMs in the prevention and treatment of aquaculture diseases.

Keywords: Singapore grouper iridovirus (SGIV); *Aeromonas veronii*; *Houttuynia cordata*; *Cirsium setosum*; Immunoregulation.

Pharmacokinetics of honokiol in *Trachinotus ovatus* following administration of honokiol monomer and *Magnolia officinalis* extracts

Danyi Wei, Zhihong Zhong *, Yongcan Zhou *

School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou 570228, PR China

Abstract: Honokiol, an active ingredient in *Magnolia officinalis*, has a good efficacy in controlling *Cryptocaryon irritans* infection, which can parasitize in the gill and epidermis of fish and cause mass mortality to marine fish cultures. However, the lack of pharmacokinetic information on honokiol in fish has limited its use. Here, a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for detecting honokiol in fish tissues was developed and used to compare the pharmacokinetics of honokiol following oral administration of pure honokiol (HTS group) and *M. officinalis* extracts (METS group) in *Trachinotus ovatus* at a dose of 12 mg/kg at 27 °C. Honokiol was rapidly absorbed by fish and showed a bimodal phenomenon in the plasma. The maximum concentration ($C_{\max}$) in plasma was at 0.5 h in both the HTS (38.92 µg/mL) and METS groups (14.58 µg/mL). The $C_{\max}$ of honokiol in the gill and epidermis in the HTS group (239.69 µg/g and 46.39 µg/g, respectively) were higher than in the METS group (9.44 µg/g and 14.30 µg/g, respectively). However, the elimination half-life ($t_{1/2}$) of honokiol in the plasma, gill, and epidermis in the HTS group (0.93 h, 1.26 h, and 1.32 h, respectively) were shorter than the METS group (1.12 h, 3.11 h, and 5.14 h, respectively). In both treatment group, honokiol was completely eliminated from all tissues at 12 h post oral administration. Compared with the HTS group, the bioavailability (F_r) of honokiol in the METS group increased in the plasma (105.26 %), liver (489.58 %), and muscle (796.91 %), but decreased in the gill (10.94 %), kidney (74.22 %), and epidermis (93.69 %). This study revealed the pharmacokinetic profile of honokiol and indicates that improved efficacy for controlling *C. irritans* infestation could be obtained by oral administration of pure honokiol rather than with *M. officinalis* extracts.

Keywords: Honokiol, Pharmacokinetics, *Magnolia officinalis*, *Trachinotus ovatus*, *Cryptocaryon irritans*

Hesperetin inhibits channel catfish virus by blocking viral internalization and early replication in CCO cells

Yu Wang, Jie Hua Xu, Fei Yu, Kai Hao^{*}, Zhe Zhao^{*}

Jiangsu Province Engineering Research Center for Marine Bio-resources Sustainable Utilization,
College of Oceanography, Hohai University, Nanjing 210098, China

Abstract: Channel catfish virus (CCV) is an acute and highly contagious pathogen that easily causes large-scale infections and substantial economic losses to the catfish industry. Currently, there are no commercially available licensed prophylactic vaccines or therapeutic agents specifically developed for the treatment and control of CCV infection. In recent years, the use of natural products with antimicrobial properties has attracted increasing attention in aquaculture. Hesperetin is a plant-derived flavonoid monomer and has a wide range of pharmacology effects. Nevertheless, the antiviral effect of hesperetin against CCV needs to be further elucidated. In this study, we evaluated the antiviral efficacy and mechanisms potential of hesperetin against CCV infection in CCO cells. The results demonstrated that hesperetin possessed remarkable anti-CCV properties, effectively inhibiting viral replication and protecting CCO cells from virus-induced cytopathic effects at non-cytotoxic concentration of 500 µg/ml. Further results revealed that hesperetin significantly suppressed viral gene expression and protein synthesis, reduced progeny virus production and preserved normal cellular morphology by a dose-dependent manner, basing on quantitative real-time PCR (RT-qPCR), western blot, viral cytopathic effects, viral titer and plaque assessment. Notably, the hesperetin exhibited a 10-fold safety window, with effective antiviral activity at 50 µg/ml well below its tolerated cytotoxicity level. Mechanistically, time-of-addition assays indicated that hesperetin probably acts at the viral entry process and early replication stage. Furthermore, hesperetin exerted its antiviral activity by specifically interfering with the internalization phase of viral entry, which was evidenced by the expression of viral protein, viral titer and plaque formation in adsorption and penetration assays. Together, these results identity hesperetin as a promising candidate antiviral agent against CCV infection, which shed light on the development of a novel and potent treatment for herpesvirus infection in aquaculture.

Keywords: Channel catfish virus, Hesperetin, Antiviral activity, Antiviral mechanism

Microbial and hadrochemical shifts in farmed sea bass ponds: nitrite accumulation as a key stressor during disease episodes

Yumin Xu, Zheng Zhu, Yun-Xiang Lin, Wu-Lang Luo, Hong-Yan Sun, Qi-Wei Qin

Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, College of Marine Sciences, South

China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: Bacterial communities play a crucial role in water regulation, diseases control and maintaining ecosystem stability. Shifts in bacterial community and environmental factors was investigated during a sea bass *Lateolabrax japonicus* growth cycle. Results showed that *Pseudomonadota* and *Actinomycetota* were dominant in aquatic water, with the sum of both exceeded at least 60.12% in each group. Bacterial community changed greatly in spring and autumn, and diversity of surface water was higher than that of bottom water. *Hcgl_clade* might play an important role in nitrogen cycle, and the interaction of the surface microbial community was mainly positive. Richness of denitrifying bacteria from surface water was lower than that from bottom water. PLS-PM model showed that nitrogen could affect the diversity of denitrifying bacteria by adjusting microbial diversity, thereby affecting denitrification function. Nitrite was the key environmental factor leading to fish disease, and which caused disorder of bacterial community and reduction of denitrifying bacteria.

Keywords: Bacterial community; Denitrifying bacteria; Environmental factors; Nitrite Water

Fraxetin as a Promising Natural Agent for Controlling White Spot Syndrome Virus: Mechanistic Insights and Application Potential

Cheng Chen, Kai-Yuan Lu, Chang-Shuai Liang, Tao Liu, Qing Yu, Peng-Fei Li, Fei Ling*, Gao-Xue Wang*

College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Xinnong Road 22nd, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: Against the backdrop of the rapid growth of the global crustacean aquaculture industry and the increasingly complex and variable farming environments, White Spot Syndrome Virus (WSSV) has emerged as a major bottleneck in the industry, causing White Spot Disease (WSD) and resulting in significant economic losses annually. However, effective control strategies for this highly contagious viral disease are currently lacking. This study focuses on exploring natural medicinal resources and identifies *Fraxinus chinensis* Roxb. from 20 medicinal herbs as an effective inhibitor of WSSV proliferation. Its active compound, fraxetin, demonstrated excellent inhibitory effects (97.29%, 75 mg/kg). Further studies have shown that fraxetin can effectively reduce viral replication in a concentration-dependent manner, downregulate viral gene transcription levels, and significantly increase the survival rate of crayfish infected with WSSV. Additionally, in both preventive/therapeutic administration and static cohabitation models, fraxetin effectively suppresses viral load and blocks horizontal transmission of WSSV, demonstrating its potential as a broad-spectrum control strategy. Mechanistically, fraxetin initially interferes with the expression of viral genes that play a crucial role in initiating WSSV transcription. It also weakens the viral genes' ability to hijack innate immune signaling pathways, thereby disrupting the viral replication cycle. Furthermore, fraxetin modulates various enzyme activities, effectively balancing oxidative stress and inflammatory damage triggered by WSSV infection, promoting the restoration of protein homeostasis, and enhancing its antiviral efficacy within crayfish. Given the established biosynthetic basis for fraxetin, this study provides a solid theoretical foundation for its use as an effective candidate to control WSSV outbreaks, promising significant contributions to the sustainable development of the aquaculture industry.

Keywords: White Spot Disease (WSD); *Fraxinus chinensis* Roxb.; Fraxetin; Anti-WSSV mechanism; Horizontal transmission.

The role of *Terminalia chebula* Retz. as a Dietary Immunomodulator for Metaflammation Symptomes and Pathogen-Disease Resistance in Fish

Jinping Duan², Deinyefa Godfree Igbiriki¹, Junheng Liu¹, Qingsong Zhu¹, Lian Su¹, Nan Wu¹, Yuhang Hu², Jialin Li¹, Yingyin Cheng¹, Wanting Zhang¹, Yaping Wang¹, Xiao-Qin Xia^{1**}

¹Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences; ² College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University

Abstract: *Terminalia chebula* Retz. (TBR) has shown diverse pharmacological properties, yet its molecular mechanisms in aquaculture species remain poorly understood. This study evaluated the immunomodulatory, antibacterial, and antiparasitic effects of TBR in zebrafish (*Danio rerio*) using a soybean meal-induced enteritis model. Dietary supplementation with TBR (0.5%, 1%, 2%) significantly reduced neutrophil, macrophage, and T lymphocyte aggregation in the hindgut, improved villus morphology, increased the villus length–width ratio, and restored acidic mucin secretion. The transcriptomic data shows that in the gut the anti-oxidation related “linoleic acid metabolism” and fatty acid metabolism related “PPAR signaling” were upregulated, and both immunoregulation related “retinal metabolism” and “Biosynthesis of unsaturated fatty acids” were upregulated in either gut or liver. Network pharmacology identified 143 genes involved in inflammatory bowel disease, such as *src*, *ptk2ab*, *stat1a*, *jak1*, and *stat3*. The effective component myristic acid was predicted by Symmap database. As to the microflora, TBR reduced pathogenic *Citrobacter* meanwhile increased the probiotic *Faecalibacterium*. TBR also decreased hepatic CD4⁺ cell infiltration but increased glycogen storage. Further, the immune cell infiltration analysis also demonstrated that TBR enhanced CD4⁺ naïve T cells and resting mast cells while suppressing CD8⁺ cells, NK cells and proinflammatory subsets in both gut and liver. *In vitro*, TBR exhibited dose-dependent lethality against *Ichthyophthirius multifiliis*, with mortality increasing proportionally to concentration and a LC₅₀ of 14.577 mg/L. Also, TBR inhibited *Aeromonas hydrophila* growth *in vitro*, and the dietary inclusion of TBR improved zebrafish survival rates after *A. hydrophila* challenging. Current results indicated TBR’s immunomodulatory, antibacterial, and antiparasitic activities, supporting its potential as a functional feed additive and eco-friendly antibiotic alternative for sustainable aquaculture.

Keywords: zebrafish, myristic acid, fatty acid metabolism, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Aeromonas hydrophila*

The Effects of *Picria fel-terrae* Lour. on Ameliorating Hepatic Metaflammation whilst Modulating Mucosal Immunity in Fish

Lian Su¹, Qingsong Zhu¹, Nan Wu^{1*}, Jialin Li¹, Yuhang Hu², Junheng Liu¹, Jinping Duan², Deinyefa Godfree Igbiriki¹, Yingyin Cheng¹, Wanting Zhang¹, Yaping Wang¹, Xiao-Qin Xia^{1**}

¹Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences; ² College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University

Abstract: This study examined the effects of *Picria fel-terrae* Lour. (PFL) on soybean meal-induced enteritis in zebrafish (*Danio rerio*) and evaluated whether its increased resistance to *Aeromonas hydrophila* using both in vivo and in vitro approaches. Compared to plain soybean meal, the addition of 0.05 %, 0.1 %, or 0.2 % PFL to zebrafish larval diet reduced intestinal neutrophil (0.1 % and 0.2 % PFL), macrophage (0.05 % and 0.1 % PFL), and T cell aggregation (0.01 %, 0.05 % and 0.1 % PFL). Following a six-week feeding trial with 0.1 % PFL, the hindgut of 3-month-old zebrafish showed a higher length/width ratio of intestinal ridges and the regulation of macrophages and CD4⁺ cells compared to fish fed soybean meal. Immune cell infiltration analysis also demonstrated immune modulatory effects of PFL, such as decreased activated memory CD4 T cells and increased M2 macrophages, and we

observed a reduction in nuclear density in the liver, accompanied by an increase in PAS-stained glycogen and p-STAT3 signals. Enrichment analyses revealed that PFL may mitigate intestinal inflammation by upregulating genes involved in DNA replication and downregulating inflammatory processes, such as leukocyte chemotaxis, lysosomes, and phagosomes. The enriched hepatic terms and pathways indicated that PFL facilitated the metabolism of fatty acids and monocarboxylic acids while inhibiting the alteration of tight junctions and the generation of reactive oxygen species by NADPH oxidases. Hexanorcucurbitacin F and its target genes were revealed by network pharmacological analysis and molecular docking, and its target proteins Src and Ptk2ab were related to macrophage function. PFL increased *Bifidobacterium longum* and species of *Faecalitalea*, which may contribute to gut homeostasis. During the *Aeromonas hydrophila* challenge, PFL resulted in a higher survival rate and reduced swelling of the intrabronchial lymphoid tissue compared to soybean meal. PFL water extract also inhibited the growth of *A. hydrophila* in vitro. In conclusion, PFL dietary inclusion restored intestinal immune homeostasis by modulating the function and aggregation of immune cells, stimulating cell regeneration, rebalancing gut flora, and controlling hepatic metaflammation. These findings demonstrate that PFL enhances immune responses across the gut–liver axis and improves mucosal antibacterial defenses in fish, and is a potential functional feed additive.

Keywords: immunoregulation, macrophage, anti-oxidation, autophagy, *Aeromonas hydrophila*

Characterization of a novel prophage-derived endolysin Lys2305 encoded from *Vibrio parahaemolyticus* JD2305 associated with translucent postlarva disease (TPD)

Laizhuang Jin^{1,2}, Qianhui Song¹, Di Fang¹, Letian Li¹, Hui Zhang¹, Lei Feng¹,
Xinshu Li², Mao Lin³, Wenhong Fang^{1*}

1 Key Laboratory of East China Sea Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

2 Jiangsu Key Laboratory of Marine Bioresources and Environment, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;

3 Fisheries College, Engineering Research Center of the Modern Technology for Eel Industry, Ministry of Education, Jimei University, Xiamen 361021, China

Abstract: In recent years, translucent postlarvae disease (TPD), caused by *Vibrio parahaemolyticus*, has become an emerging shrimp disease that caused acute and mass mortality in shrimp postlarvae. In this study, a strain of *V. parahaemolyticus* JD2305 was isolated from TPD shrimp postlarvae in Dafeng, Jiangsu Province. An intact prophage (named phJD23) was identified from *V. parahaemolyticus* strain JD2305, and its homologs were widely distributed across diverse *Vibrio* species. Endolysins encoded by phages or prophages have shown potential for use against pathogenic bacteria. The unique endolysin Lys2305, encoded by phJD23, was obtained by prokaryotic expression. In vitro, Lys2305 demonstrated bactericidal activity against 30 out of 45 tested multidrug-resistant *Vibrio* spp., including *V. parahaemolyticus* (17/24), *V. harveyi* (6/9), *V. anguillarum* (4/6), *V. alginolyticus* (1/3), and *V. cyclitrophicus* (2/3), as evidenced by a reduction in the optical density at 600 nm of susceptible strains from 1.0 to between 0.1 and 0.6 within 2 hours compared to untreated controls. Lys2305 exhibited optimal activity at 28 °C, was acid-sensitive, but showed tolerance to alkaline conditions. The enzyme retained partial lytic activity at 500 mM NaCl. Furthermore, the lytic activity of Lys2305 was enhanced by low concentrations of zinc ions (0.1 mmol/L). These results indicated that Lys2305 is a potential therapeutic agent against multiple pathogenic *Vibrio* species relevant to aquaculture.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus* strain JD2305; Translucent postlarvae disease (TPD); Endolysin Lys2305; prokaryotic expression; bactericidal activity

Single nucleotide polymorphism of GADD45b and its association with resistance/susceptibility to largemouth bass ranavirus (LMBV) in *Micropterus Salmoides*

Xia Luo ^{a#}, Pinhong Li ^{a,b#}, Wenxian Li ^b, Xiaozhe Fu ^a, Qiang Lin ^a, Yinjie Niu ^a, Hongru Liang ^a,
Baofu Ma ^a, Wenwen Xiao ^a, Ningqiu Li ^{a,*}

^a Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Fishery Drug Development, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Province Key Laboratory of Aquatic Animal Immune and Sustainable Aquaculture, Guangzhou, 510380, China

^b College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306, China

These authors contributed equally.

Abstract: Single nucleotide polymorphism (SNP), a molecular marker-assisted breeding technique, has been widely used in disease-resistant breeding in aquaculture. Our previous study preliminarily identified growth arrest and DNA damage 45b (GADD45b) as a candidate gene associated with largemouth bass (*Micropterus salmoides*) resistance to largemouth bass ranavirus (LMBV) infection. In this study, we investigated the correlation between the two SNP loci (SNP1 G>T, SNP2 C>G) of GADD45b and resistance/susceptibility to LMBV. Statistical analysis revealed that two SNPs in GADD45b were significantly associated with LMBV resistance/susceptibility. RT-qPCR analysis revealed distinct expression dynamics of GADD45b and immune-related genes in different genotypes following LMBV infection. Individuals with the GG genotype at SNP1 and CC genotype at SNP2 have advantages in survival time after viral infection. Our research findings demonstrated that the two SNPs in GADD45b may serve as effective molecular markers to facilitate the implementation of disease-resistant breeding programs in largemouth bass.

Keywords: *Micropterus Salmoides*; largemouth bass ranavirus (LMBV); growth arrest and DNA damage 45b (GADD45b); Single nucleotide polymorphisms (SNP)

Astragalus polysaccharides alleviate oxidative damage by activating the Keap1-Nrf2 antioxidant pathway through miR-183 in a fish cell model

Yongyang Wang^{a, 1}, Huimin An^{a, 1}, Fanfan Ma^{a, 1}, Changchang Xia^a, Zufeng Weng^b, Xinhua Chen^{a, c, *}, Weini Zhang^{a, d, *}

^a *State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province, College of Marine Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, PR China*

^b *Pingtang Comprehensive Experimental Zone Marine and Fisheries Law Enforcement Detachment, Pingtan 350400, PR China*

^c *Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266237, PR China*

^d *University Key Lab for Integrated Chinese Traditional and Western Veterinary Medicine and Animal Healthcare in Fujian Province, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, PR China*

Abstract: *Astragalus polysaccharides (APS) get widespread application in healthcare, veterinary, and fishery fields. However, the mechanisms underlying their antioxidative action remain largely unknown. In this study, the protective role of APS in H₂O₂-induced oxidative damage and associated mechanism were investigated in large yellow croaker head kidney (LYCK) cells. We found that APS significantly inhibited H₂O₂-induced cytotoxicity, ROS accumulation, and mitochondrial damage, thereby alleviating subsequent apoptosis and pyroptosis. Further studies showed that APS activated the Keap1-Nrf2 antioxidant signaling pathway, thus up-regulating the downstream antioxidant genes (*SOD-1*, *CAT*, *HO-1*, and *GR*), enhancing SOD-1 and CAT activities and T-AOC level, and decreasing MDA content. Mechanistically, APS activate this antioxidant signaling pathway by inducing the expression of microRNA-183 (miR-183). The produced miR-183 binds to the 3'UTR of Keap1 mRNA and promotes its degradation, leading to consequent Nrf2 activation. Our results therefore unveil the mechanism by which APS alleviate oxidative damage in a fish cell model, and provide the theoretical basis for their application in aquaculture.*

Keywords: *Astragalus polysaccharides (APS); Oxidative damage; Nrf2; miR-183; Large yellow croaker head kidney cells*

Cloning and functional analysis of NQO1 gene from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): a quinone oxidoreductase that can alleviate oxidative stress induced by CuSO₄ 5H₂O

Jinyuan Feng, Yanghui Chen, Junliang Luo, Yu Yu, Jichang Jian, Yu Huang *

(Fisheries College of Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture & Key Laboratory of Control for Disease of Aquatic Animals of Guangdong Higher Education Institutes, Zhanjiang, China)

Corresponding author E-mail: huangyu@gdou.edu.cn

Abstract: Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) has become one of the most important breeding objects in the 21st century because of its advantages of fast growth, low cost and high quality protein. However, heavy metal pollution such as copper brought by intensive farming seriously threatens its sustainable development. Heavy metals can induce excessive generation of reactive oxygen species (ROS), which leads to oxidative stress and damages protein, nucleic acid and membrane structure. *NQO1*, a key antioxidant enzyme downstream of Nrf2/ARE pathway, has been proved to play a detoxification role by scavenging ROS and reducing quinones in many animals, but the research in tilapia is still very limited. In this study, the NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (*OnNQO1*) gene of tilapia was cloned and identified, and its cellular antioxidant function in Cu-induced oxidative stress model was systematically analyzed. The results will provide an important scientific basis for in-depth analysis of the antioxidant mechanism of tilapia, formulation of prevention and control strategies for heavy metal pollution and promotion of healthy farming.

Keywords: Nile tilapia; *NQO1*; Oxidative stress; CuSO₄ 5H₂O

Efficacy of a Probiotic Fermented Herb in the Prevention and Treatment of Fish Nocardiosis

Weifu Li ^a, Yanqi Wu ^a, Qiuxia Su ^a, Xu Kang ^a, Xinxin You ^b, Jianlin Chen ^{a,*}, Yishan Lu ^{a,**}

^a Fisheries College of Guangdong Ocean University, Shenzhen Institute of Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture, Guangdong, China; ^b Shenzhen BGI-Marine Technology Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong Province, 518083, China.

Abstract: Fish nocardiosis, caused by *Nocardia seriolae*, poses a severe threat to the sustainable development in the aquaculture of a virous freshwater as well as marine fish species. In the present study, a herb No. 100 (it has not been made public due to protection) was screened for developing probiotic fermented herb (PFH) using *Bacillus amyloliquefaciens* MS-2 (PP789725), and its efficacy against nocardiosis was evaluated in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) model. The herb No.100 (inhibition zone at 38.24 mm) and *B. amyloliquefaciens* (inhibition zone at 45.56 mm) with inhibitory effects against *N. seriolae* strain NS-23 were screened from 190 herbal extracts and 5 probiotic strains through agar disk diffusion assays. An ideal fermentation parameter was established by single-factor optimization as: 4% (w/v) herbal substrate with 4% (v/v) *B. amyloliquefaciens* inoculum at pH 7.5 for 18 h for achieving maximum viable cell count. A 49-day feeding trial with supplements was conducted that the fish with PFH administration were significantly enhanced weight gain rates at $310.51 \pm 37.44\%$ than that of PBS control, herb extract or probiotic administration. Additionally, the increasing serum enzyme activities (SOD, CAT, ACP, LZM) and nitric oxide (NO) levels, up-regulated tissue-specific expression of immune-related genes (*TNF- α* , *IL-8*, *IL-10*, *IgM*, *IFN- γ* , *IL-1 β*), as well as mounting up gut microbial diversity (especially *Firmicutes* and *Bacteroidetes* species) were observed in PFH-administrated fish in comparison to the other three groups. Furthermore, the challenge tests with *N. seriolae* strain NS-23 was conferred a 77% relative percentage survival (RPS) in the fish with PFH-supplemented diet, and the histopathological analysis confirmed that PFH effectively mitigated multi-organ necrosis and oxidative stress, leading to a complete regression of granulomas in the fish upon artificial challenge. Taken together, this PFH was served as a safe and effective administrator that synergistically enhances growth performance, guts health and immune response against fish nocardiosis, offering a sustainable alternative to antibiotics in aquaculture.

Keywords: Probiotic fermented herb (PFH); *Bacillus amyloliquefaciens*; Fish nocardiosis; *Micropterus salmoides*.

***Vibrio alginolyticus* PEPCK Mediates Florfenicol Resistance through Lysine Succinylation Modification**

Huanying Pang, Weijie Zhang, ..., Wanxin Li*

Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture & Key Laboratory of Control for Diseases of Aquatic Economic Animals of Guangdong Higher Education Institutes, Zhanjiang 524055, China

Abstract: Protein succinylation modification is a common post-translational modification (PTM) that plays an important role in bacterial metabolic regulation. In this study, quantitative analysis was conducted on the succinylated proteome of wild-type and florfenicol-resistant *Vibrio alginolyticus* to investigate the mechanism of succinylation regulating antibiotic resistance. Bioinformatic analysis showed that the differentially succinylated proteins were mainly enriched in energy metabolism, and it was found that the succinylation level of phosphoenolpyruvate carboxyl kinase (PEPCK) was highly expressed in the florfenicol-resistant strain. Site-directed mutagenesis was used to mutate the lysine (K) at the succinylation site of PEPCK to glutamic acid (E) and arginine (R), respectively, to investigate the function of lysine succinylation of PEPCK in the florfenicol resistance of *V. alginolyticus*. The detection of site-directed mutagenesis strain viability under florfenicol revealed that the survival rate of the E mutant was significantly higher than that of the R mutant and wildtype, indicating that succinylation modification of PEPCK protein may affect the resistance of *V. alginolyticus* to florfenicol. This study indicates the important role of PEPCK during *V. alginolyticus* antibiotic-resistance evolution and provides a theoretical basis for the prevention and control of vibriosis and the development of new antibiotics.

Keywords: *Vibrio alginolyticus*, phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), lysine succinylation, florfenicol, antibiotic resistance

Linalool combats *Saprolegnia parasitica* infections through direct killing of microbes and modulation of host immune system

Tao Tang¹, Weiming Zhong¹, Puyu Tang¹, Rongsi Dai¹, Jiajing Guo^{2*} and Zhipeng Gao^{1**}

¹ Fisheries College, Hunan Agricultural University; ² Hunan Agriculture Product Processing Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences

Abstract: *Saprolegnia parasitica* (*S. parasitica*) is one of the most virulent oomycete species in freshwater aquatic environments, causing severe saprolegniasis and leading to significant economic losses in the aquaculture industry. Thus far, the prevention and control of saprolegniasis face a shortage of medications. Linalool, a natural antibiotic alternative found in various essential oils, exhibits promising antimicrobial activity against a wide range of pathogens. In this study, the specific role of linalool in protecting *S. parasitica* infection at both *in vitro* and *in vivo* levels was investigated. Linalool showed multifaceted anti-oomycetes potential by both of antimicrobial efficacy and immunomodulatory efficacy. For *in vitro* test, linalool exhibited strong anti-oomycetes activity and mode of action included: (1) Linalool disrupted the cell membrane of the mycelium, causing the intracellular components leak out; (2) Linalool prohibited ribosome function, thereby inhibiting protein synthesis and ultimately affecting mycelium growth. Surprisingly, meanwhile we found the potential immune protective mechanism of linalool in the *in vivo* test: (1) Linalool enhanced the complement and coagulation system which in turn activated host immune defense and lysate *S. parasitica* cells; (2) Linalool promoted wound healing, tissue repair, and phagocytosis to cope with *S. parasitica* infection; (3) Linalool positively modulated the immune response by increasing the abundance of beneficial Actinobacteriota; (4) Linalool stimulated the production of inflammatory cytokines (*il-1 β* and *il-6*) and chemokines (*ccl19* and *ccl5*) to lyse *S. parasitica* cells. In all, our findings showed that linalool possessed multifaceted anti-oomycetes potential which would be a promising natural antibiotic alternative to cope with *S. parasitica* infection in the aquaculture industry.

Keywords: *Saprolegnia parasitica*, linalool, anti-oomycetes mechanism, immune protective mechanism, antibiotic alternative

Quinolone Resistance and Prevalence of the Related Genes in *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* Recovered from Diseased Fish in Eastern China

Xiangyun Yang, Chen Shen, Suming Zhou*, Liyun Jin, Yajun Wang and Fei Yin*

Key Laboratory of the Ministry of Education for Applied Marine Biotechnology, School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* is a well-recognized marine animal pathogen. Herein, 70 *P. damsela* subsp. *damsela* isolates were investigated for quinolone susceptibility and prevalence of the genes including quinolone resistance-determining regions (QRDRs) and plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes. A total of 18/70 isolates exhibited high-level resistance, and 23/70 isolates exhibited moderate resistance according to the MIC values. QRDR analysis showed that double mutants in both GyrA (Ser⁸³Ile) and ParC (6/17 Ser⁸⁰Phe or 11/17 Ser⁸⁰Tyr) were detected in 94.4% (17/18) high-level quinolone resistance *P. damsela* subsp. *damsela* strains. PMQR detection showed that 60.0% (42/70) carried at least one PMQR (1/42 *qnrB* coexistence with *aac(6')-Ib-cr*, 1/42 *qnrS* coexistence with *aac(6')-Ib-cr*, 44/46 *qnrS*). *QnrA*, *QnrC*, *qnrD* and *qepA* were not detected in all strains. Among the 42 PMQR-positive strains, 24 showed fluoroquinolones MICs ≤ 0.5 mg/L and 13 MICs ≥ 2 mg/L, all carrying QRDR mutations. For the twenty-eight nonPMQR strains, twenty-three showed fluoroquinolone MICs ≤ 0.5 mg/L without QRDR mutations, and five MICs ≥ 2 mg/L carrying QRDR mutations. In conclusion, *qnrS* (*qnrS2* allele) is the major PMQR widespread in *P. damsela* subsp. *damsela* isolated from eastern China; however, QRDR mutation plays a marked role in mediating fluoroquinolone resistance.

Keywords: *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*; quinolones; quinolone resistance determining region (QRDR); plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR)

Fructose promotes ampicillin killing of antibiotic-resistant *Streptococcus Agalactiae*

Xuanwei Chen, Bo Peng*

The School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: *Streptococcus agalactiae* (GBS) is an important pathogenic bacteria that infected both aquatic animals and human beings, causing huge economic loss. The increasing cases of antibiotic-resistant GBS impose challenges to treat such infection by antibiotics. Thus, it is highly demanded for the approach to tackle antibiotic resistance in GBS. In this study, we adopt a metabolomic approach to identify the metabolic signature of ampicillin-resistant GBS (AR-GBS) that ampicillin is the routine choice to treat infection by GBS. We find glycolysis is significantly repressed in AR-GBS, and fructose is the crucial biomarker. Exogenous fructose not only reverses ampicillin resistance in AR-GBS but also in clinic isolates including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and NDM-1 expressing *Escherichia coli*. The synergistic effect is confirmed in a zebrafish infection model. Furthermore, we demonstrate that the potentiation by fructose is dependent on glycolysis that enhances ampicillin uptake and the expression of penicillin-binding proteins, the ampicillin target. Our study demonstrates a novel approach to combat antibiotic resistance in GBS.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*; ampicillin; fructose; glycolysis; metabolism

Study on the Enhancing Effect of Carnosine on Neomycin Sulfate

Xiaolin Zhang, Bo Peng*

School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: The widespread transmission of multidrug-resistant pathogens in aquaculture has severely threatened the safety of the aquaculture industry, making the development of novel strategies for controlling drug-resistant bacteria an urgent priority. As new antibiotic development is struggling, improving the bactericidal efficiency of existing antibiotics has become a research hotspot. This study find that carnosine can enhance the bactericidal effect of aminoglycoside antibiotics,, especially gentamicin,. It also exhibits significant synergism with antibiotics commonly used in aquaculture, such as neomycin sulfate, and can effectively reverse the drug resistance of aquaculture-derived resistant bacteria including *Streptococcus agalactiae* and *Aeromonas hydrophila*. Bacterial survival experiments combined with scanning electron microscopy showed that carnosine can enhance the bactericidal activity by promoting gentamicin-mediated bacterial membrane damage. Further transcriptomics of *Escherichia coli* find that carnosine reverses gentamicin resistance by regulating bacterial siderophore biosynthesis and metabolism pathway. Gene knockout experiments confirm that the loss of key genes in siderophore pathway eliminates this synergistic effect. This study shows that targeting siderophores can enhance aminoglycoside antibiotics' bactericidal activity. It provides a new way to develop antibacterial adjuvants.

Keywords: multidrug resistant bacteria, siderophores, gentamicin, carnosine

Effect of host-derived *Bacillus velezensis* on the intestinal structure, antioxidant capacity, and pathogen resistance of American bullfrog (*Aquarana catesbeiana*)

Yueming Hu, Han Lin, Mengzhen Jiang, Hua Li, Jingyang Sun, Kesong Chen, Biao Jiang, Wei Li, Youlu Su, Chun Liu*

Guangzhou Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Waterfowl Breeding, College of Animal Sciences and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, Guangdong, China

Abstract: The development of host-derived probiotics provides alternative nutritional strategy for aquaculture. The American bullfrog (*Aquarana catesbeiana*) is gaining increasing popularity in worldwide amphibian farming. Nevertheless, research on its host-associated probiotics is still limited. This study aims to evaluate the probiotic potential of *Bacillus velezensis* (BLS) isolated from the intestinal tract of bullfrogs. In the experiment, bullfrogs were fed either a control diet (CON) or CON supplemented with 1×10^8 CFU/g BLS for 7 weeks. The results showed that the addition of BLS significantly improved the growth performance of bullfrogs and remarkably reduced the mortality rate following a challenge with *Streptococcus agalactiae*. Compared to the control group, the BLS group also exhibited enhanced antioxidant enzyme activity in the liver and intestine, increased intestinal villi height and goblet cell count, and improved hepatocyte arrangement and tissue integrity. Furthermore, BLS was found to regulate the gut microbiome by increasing the abundance of Proteobacteria and alpha diversity, thereby lowering the risk of disease. In conclusion, this study suggests that dietary supplementation with *B. velezensis* BLS could enhance pathogen resistance, antioxidant capacity, and intestinal microbiota modulation in bullfrogs, thus promoting intestinal health.

Keywords: Bullfrog; *Bacillus velezensis*; Intestinal health; Antioxidant capacity; Pathogen resistance

Lycorine provides antiviral activities against mandarin fish ranavirus via suppressing apoptosis and activating type I interferon pathway

Mengyan Jia, Yanping Ma, Le Hao, Ziqian Tao, Jingya Wang, Sentai Liao, Hui Guo, Zhenxing Liu*

Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences,
Guangdong Provincial Key Laboratory of Livestock Disease Prevention, Guangzhou,
510640, China;

Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences,
Guangzhou, 510640, China;

College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China

Abstract: Mandarin fish ranavirus (MRV), as an emerging iridescent virus spread rapidly in China. To develop new anti-MRV strategies, *in vitro* and *in vivo* antiviral activities of lycorine were evaluated. *In vitro*, assays were conducted on mandarin fish brain-derived SCB3 cells. We found that lycorine exhibited therapeutic effect to prevent MRV replication, including the reduction of virus titers and suppression of MRV-MCP expression. Then, we sought to decipher the mechanisms underlying lycorine-mediated antiviral activities from the perspective of regulating apoptosis and type I interferon responses. JC-1 staining indicated that lycorine reversed the MRV-triggered collapse of MMP. Furthermore, lycorine defended the MRV-induced up-regulation of pro-apoptotic genes (Bad, Bax and p53) and down-regulation of anti-apoptotic genes (Bcl-2b, Bcl-xL and Mcl). As executor and initiator of apoptosis, caspase-3 and caspase-8 activities were inhibited by lycorine. Moreover, lycorine extinguished MRV-stimulated ROS to normal level. These findings argued that lycorine exerted the anti-MRV activities by regulating the mitochondrial apoptosis pathway. Subsequently, we confirmed that the expression of type I interferon pathway-related genes were activated by lycorine, which provided extra explanations to understand its anti-MRV mechanisms. *In vivo* assays, gavage administration of lycorine at doses above 19 mg/kg increased the survival rate of MRV-challenged mandarin fish from 20.00 % to 52.00 %, alongside with the reduction of MRV loads in spleen and head kidney. In addition, the activation of anti-apoptosis genes versus inhibition of pro-apoptosis genes was also found in the lycorine-treated fish. Overall, our study ascertained the activities of lycorine against MRV infection and provided new insights for discovering anti-MRV drugs.

Keywords: MRV; Lycorine; Apoptosis; Interferon; ROS

Naringenin attenuates Mandarin fish ranavirus (MRV)-induced hyperinflammation through the inhibition of MAPK and NF- κ B signaling pathways

Ziye Zhang, Yanping Ma, Xinru Gao, Chaojiao Hu, Le Hao, Huijie Lu, Yugu L*,
Zhenxing Liu^{1*}

Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences,
Guangdong Provincial Key Laboratory of Livestock Disease Prevention, Guangzhou,
510640, China;

Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences,
Guangzhou, 510640, China;

College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou,
510642, China

Abstract: Mandarin fish ranavirus (MRV) has caused substantial economic losses in the culture of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) in China. The pathogenesis of MRV infection is largely attributed to the systemic hyperinflammation. However, the roles of specific signaling pathways and their activation in driving the excessive triggering of proinflammatory mediators during MRV infection remain inadequately understood. Naringenin, a dihydroflavonoid predominantly found in citrus fruits and tomatoes, demonstrates high intestinal absorption efficiency with multiple bioactivities, including antioxidant, antiviral, and anti-inflammatory activities. In the present study, the up-regulation of inflammation-associated genes (*il-1 β* , *il-8*, *tnf- α* and *inos*) was confirmed in the MRV-infected mandarin fish spleen, accompanied by severe histological lesions. Moreover, the activation of MAPK and NF- κ B pathways was further verified by the up-regulation of *myd88*, *traf6*, *erk*, *p38*, *jnk*, and *nf- κ b p65*, along with the nuclear translocation of NF- κ B p65. Then, we further discovered that the oral administration of naringenin inhibited the activation of MAPK and NF- κ B signaling pathways and restricted MRV replication, correlating with the amelioration of spleen lesions. Ultimately, Naringenin treatment significantly increased the survival of MRV infected fish from 20 % to 60 %. In conclusion, these findings clarify the mechanisms of MRV-induced hyperinflammation and demonstrate that naringenin mitigates this pathology by suppressing MAPK and NF- κ B signaling pathways and viral replication. Our results provide a foundation for therapeutic strategies against MRV infection in aquaculture.

Keywords: MRV; Hyperinflammation; MAPK; NF- κ B; Naringenin

鮟新本尼登虫 (*Neobenedenia girellae*) ERA-LFD 检测方法的建立和应用

曹冰, 周永灿, 骆剑, 王世峰, 郭伟良, 张冬冬*

海南大学海洋生物与水产学院, 海口 570228

摘要: 鮟新本尼登虫 (*Neobenedenia girellae*) 是一种广泛分布于海水养殖业中的单殖吸虫, 其可对宿主造成的皮肤损伤及继发感染, 严重影响养殖业的生产效益。目前针对本尼登虫病的防治, 仍缺乏高效且能广泛应用的方法, 因此感染早期的诊断与预警显得尤为重要。本研究基于鮟新本尼登虫 28S rRNA 基因, 采用酶促恒温扩增技术 (ERA) 结合侧流层析试纸条 (ERA-LFD), 并用自制的核酸快速提取方法提取样品的 DNA 开发了一种快速、高灵敏度的可视化检测方法。该技术不依赖于 PCR 仪器, 操作简便, 能够在恒温条件下, 于 10~15 分钟内完成检测, 极大地提升了检测效率。我们设计并优化了特异性引物和探针, 利用质粒标准品的模板进行灵敏度测试, 结果表明, 该方法能够检测到最低 1×10^1 copies/ μ L 的病原核酸, 且对石斑鱼常见病原如副溶血弧菌、石斑鱼神经坏死病毒、肠孢子虫等没有交叉反应。通过对海南不同地区收集的 21 份石斑鱼和金鲳组织样本以及 19 份水体样本的检测, ERA-LFD 方法与基础型 ERA 检测结果完全一致, 且其灵敏度高于常规 PCR 方法。本研究建立的 ERA-LFD 可视化检测方法在特异性、灵敏度和操作便捷性方面表现出显著优势, 能够快速、准确地检测组织和养殖环境中的鮟新本尼登虫病原。研究成果不仅为鮟新本尼登虫病的防控提供了重要技术支持, 也为其他水产病原体的检测提供了有力的技术参考。

关键词: 鮟新本尼登虫 (*Neobenedenia girellae*), 酶促恒温扩增技术结合侧流层析试纸条 (ERA-LFD), 病原快速检测

基于机器视觉和深度学习的鲤春病毒血症检测研究

潘家骥^{1, 2}, 肖军¹, 冯浩^{1, *}

湖南师范大学生命科学学院生命科学学院, 长沙 410081

湖南师范大学工程与设计学院, 长沙 410081

摘要: 鱼病监测对于控制疫情蔓延至关重要。当前监测主要依赖如 PCR 等分子生物专业检测方法, 这些方法通常需要复杂操作流程和专业操作人员, 成本限制了其在小型水产养殖场的应用。人工智能(AI)技术在现代渔业领域的应用正在迅速兴起。当前有研究采用机器学习或卷积神经网络(CNN)用于检测死鱼、鱼类分类等, 但基于视觉和 AI 早期检测包括鲤春病毒血症(SVC)在内的淡水鱼类疾病的研究较为不足。本文提出了针对 SVC 病鱼检测的改进 AI 中深度学习方法, 称为 NAM-YOLOv7 模型(算法)。该 AI 模型通过图像分析实现对感染 SVC 斑马鱼的检测。该 NAM-YOLOv7 深度学习模型的训练数据集源自鱼群影像提取的信息。考虑到光照条件可能导致病鱼目标域周围环境的对比度降低, 病鱼的鱼体颜色会发生变化等原因, 我们使用 Auto Multi Scale Retinex with Color Restoration(Auto-MSRCR)算法对病鱼图像进行增强以优化病鱼目标的可见性。同时我们也对 YOLO 原始模块进行了改进, 我们将一种 Normalization-based Attention Module (NAMAttention) 与 ELAN 结构相融合, 形成了 N-ELAN 结构, 通过同时运用通道注意力与空间注意力模块, 有效抑制数据集中的无关特征, 从而实现更精准高效的检测方法。同时在该模型中引入 MPDIoU 损失函数, 提升了模型确定目标位置的能力, 减少基于视觉的检测漏检现象。在模型训练后, 测试结果表明 NAM-YOLOv7 达到 95%预测准确率和 93.8%召回率, 优于其他最先进的 YOLO 系列模型, 充分展现 AI 模型优化对 SVC 检测性能的显著提升。在 AI 检测 SVC 工作基础上, 我们进行了一系列不同疾病检测任务的 AI 模型融合、以及 AI 内部模块的优化, 对鱼病智慧检测方法进行了大量创新, 新的 AI 检测方法可以通过物联网部署与检测中心进行实时分析, 使许多养殖户或小型水产养殖公司受益。通过与现有生物检测方法相结合, 有望成为广泛病害监测的重要辅助工具。

关键词: 鲤春病毒血症; 斑马鱼; 深度学习; 机器视觉; 人工智能

副溶血弧菌噬菌体与宿主菌的互作及其临床应用效果评估

王志伟¹, 李祥凯¹, 王慧², 李玉保¹, 陈端端^{1*}

1: 聊城大学噬菌体研发中心, 山东省聊城市东昌府区湖南路 1 号, 邮编 252000

2: 山东农业大学, 山东省泰安市岱宗大街 61 号, 邮编 271000

摘要: 副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 不仅是水产养殖业健康发展的重要制约因素, 更是一种典型的食源性致病菌, 对公共卫生安全构成严重威胁。目前该菌的防治主要依赖抗生素, 然而长期不当使用导致多重耐药性菌株 (MDR) 的出现, 使得传统防治手段效果日益有限。噬菌体 (Phage) 作为一种潜在替代抗生素的生物防治剂, 因其特异性强、自我增殖等特点受到广泛关注。本研究旨在系统性分析中国东部沿海地区弧菌的流行特征、副溶血弧菌的毒力基因分布与耐药性谱, 并完成临床分离株的基因组学解析; 同时分离特异性烈性噬菌体, 评估其生物学特性、体外裂解效能与生物膜清除能力, 并开展比较基因组学分析。通过 RNA-seq 转录组与 LC/MS 代谢组学技术, 结合分子生物学方法深入探究噬菌体-宿主互作机制。在此基础上, 研究建立了副溶血弧菌 LCU-VP2 (携带 *pirA*+与 *pirB*+毒力基因) 感染红螯螯虾 (*Cherax quadricarinatus*) 的动物模型, 综合评价单一噬菌体、噬菌体鸡尾酒 (由 vB_VpaS_SD2 与 vB_VpaS_SD15 组成) 以及抗生素氟苯尼考的治疗效果, 并分析不同处理对螯虾免疫相关基因表达的影响。结果显示: 噬菌体鸡尾酒制剂表现出最优的防治效果, 使感染螯虾的死亡率显著降低 86%, 并有效激活免疫基因的上调表达; 氟苯尼考治疗可使死亡率降低 62%, 效果优于单一噬菌体处理; 单一噬菌体虽具一定治疗效果, 但效力低于上述两组。本研究证实了噬菌体鸡尾酒疗法在防控副溶血弧菌感染方面的应用潜力, 其为替代抗生素、实现绿色水产养殖提供了富有前景的生物防治策略。

关键词: 副溶血弧菌; 噬菌体; 生物学特性; 基因组学; 治疗效果

草鱼 GCRV-II 抗原速测胶体金试剂盒研发与应用

吴海霞¹, 冯建华¹, 芦雅南¹, 高娃¹, 闫慧¹, 许丹¹, 计晓花¹, 吕利群¹, 徐镇², 王俊亚¹, 邹钧^{1*}

1. 上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国科学院水生生物研究所, 水产种质创新与未来渔业发展研究中心, 湖北 武汉 430072

摘要: 本研究旨在构建一种可特异性识别草鱼出血病 II 型病毒 (Grass carp reovirus type II, GCRV-II) 的抗原速测试剂盒。该试剂盒基于识别 GCRV-II 外衣壳蛋白 VP35 的不同表位单克隆抗体 VP35#8 和 VP35#18, 采用双抗体夹心法制备。以 20 nm 胶体金颗粒标记 VP35#8 抗体制备金标垫反应区, VP35#18 抗体包被于硝酸纤维素膜 (NC 膜) T 线作为检测区, 羊抗鼠 IgG 为捕获抗体, 各组分依次组装制得 GCRV-II 胶体金免疫层析试纸条。临床测试表明, 该试剂盒在 10min 内可完成样本检测, 与鲤春病毒血症病毒 (Spring viraemia of carp virus, SVCV)、鲤疱疹病毒 III 型 (Cyprinid herpesvirus 3, CyHV-3) 及草鱼 GCRV-I 均无交叉反应。对 10 尾草鱼样本及 GCRV-II 感染稀有鮡鲫的不同组织的检测结果与国标法 (GB/T 36190-2018) 一致, 表明本试剂盒具有较好的检测准确性。该试剂盒检测灵敏度为 1.76×10^2 virus copies/ μL , 4 °C~25 °C 储存 12 个月后仍保持稳定, 显色正常。综上所述, 经梯度稀释、干扰因子添加及加速破坏实验等多种方式综合评估, 本试剂盒具备精准、高效、便捷的检测优势, 可为我国草鱼出血病的快速诊断与分级防控提供关键技术支撑, 对推动水产病害快速检测技术的发展具有重要实践意义。

关键词: GCRV-II; 草鱼出血病; 胶体金; 快速检测; 单克隆抗体

副溶血弧菌、白斑综合征病毒和传染性皮下及造血组织坏死病毒三种核酸检测技术的建立及多重 RPA 技术的应用

张庆玲, 吴焕鑫, 钱文闻, 崔海刚, 孙兆盛, 高谦*

上海海洋大学水产与生命学院, 上海, 201306

摘要: 随着全球对虾消费需求的持续增长, 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 已成为世界上最重要的高经济价值养殖虾种之一。然而, 病害频发严重制约其养殖业的可持续发展, 其中白斑综合征病毒 (WSSV)、传染性皮下及造血组织坏死病毒 (IHHNV) 和副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 是三类常见且危害严重的病原体, 迫切需要建立便捷、高效、准确的检测技术以支持健康管理和疾病防控。本研究基于以上三种病原的特异性基因序列 (blaCARB-17、VP664 和 NS2), 建立了聚合酶链式反应 (pymerase chain reaction, PCR), 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR), 重组酶聚合酶扩增

(recombinase polymerase amplification, RPA) 这三种核酸检测技术。其中单重与三重 PCR 检测技术灵敏度结果显示, 单重 PCR 对三种病原的检测限介于 6.3×10^3 至 7.4×10^3 copies/ μL , 三重 PCR 为 1×10^4 copies/ μL , 以上两种方法均表现出良好的特异性。所建立 qPCR 检测方法的检测灵敏度达到 10^1 copies/ μL , 较常规 PCR 提升了两个数量级。在此基础上, 本研究还建立了适用于上述病原的单重与三重 RPA 技术, 在等温条件下可在 0.5 h 内完成扩增, 单重与三重 RPA 的检测限分别为 10^2 copies/ μL 和 10^3 copies/ μL 。尽管 RPA 灵敏度略低于 qPCR, 但 RPA 技术具备操作简便、设备依赖低、反应时间短等优势, 非常适合于现场快速筛查和高通量应用。本研究成功构建了 WSSV、IHHNV 和 *V. parahaemolyticus* 的 PCR、qPCR 和 RPA 检测技术, 特别是建立了可同时检测三种病原的三重 PCR 与三重 RPA 方法, 为凡纳滨对虾这三种病原混合感染的快速诊断提供了可靠工具, 也为养殖现场的早期疫病防控提供关键技术支撑。

关键词: 凡纳滨对虾; 副溶血弧菌; 白斑综合征病毒; 传染性皮下及造血组织坏死病毒; 病原检测

鲤疱疹病毒II型及III型双重荧光定量 PCR 检测方法的建立与应用

赵祎晨¹, 苏美珍², 侯泽玮¹, 王浩^{1,*}

1 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

2 广西壮族自治区水产科学研究院, 广西南宁 530000

摘要:为解决当前单一检测效率低、混合感染鉴别难的问题,本研究建立一种可同时快速检测鲤疱疹病毒II型(Cyprinid herpesvirus 2, CyHV-2)和III型(Cyprinid herpesvirus 3, CyHV-3)的双重荧光定量 PCR 方法,实验基于 CyHV-2 的 *ORF71* 基因及 CyHV-3 的 *ORF140* 基因保守区,分别设计筛选 3 对特异性引物,通过优化引物设计、反应体系及条件,验证其特异性、灵敏度及重复性,建立可同时检测 CyHV-2 及 CyHV-3 的双重荧光定量 PCR 方法。结果筛选出了最佳引物组为 CyHV-2-F1&R1 ($T_m = 82.78\text{ }^{\circ}\text{C}$) 和 CyHV-3-F1&R1 ($T_m = 89.22\text{ }^{\circ}\text{C}$),熔解曲线双峰分离清晰,成功建立了 CyHV-2 及 CyHV-3 双重荧光定量 PCR 检测方法。该方法可同时定量检测 CyHV-2 及 CyHV-3, CyHV-2 灵敏度达 $14.8\text{ copies}/\mu\text{L}$, CyHV-3 灵敏度达 $21.9\text{ copies}/\mu\text{L}$;与草鱼呼肠孤病毒I型(GCRV-I)、草鱼呼肠孤病毒II型(GCRV-II)、草鱼呼肠孤病毒III型(GCRV-III)及鲤春病毒血症病毒(SVCV)无交叉反应;Ct 值变异系数 $< 4\%$, T_m 值变异系数 $< 0.2\%$;临床验证检出 CyHV-2 阳性率 22.5% 、CyHV-3 阳性率 25.0% ,具有较高的灵敏度、特异性及重复性。本研究首次建立可同步定量检测 CyHV-2 和 CyHV-3 的双重荧光 PCR 方法,具有快速(2 h 内完成)、精准(双重靶标鉴别)、高敏(检出限 $< 30\text{ copies}/\mu\text{L}$)及重复性好等优点,可用于水产养殖中 CyHV-2 和 CyHV-3 的快速诊断和病情监测,为鲤疱疹病毒的快速鉴别诊断及防控提供可靠工具,并为其他水生病毒多重检测提供参考和借鉴。

关键词: 鲤疱疹病毒II型; 鲤疱疹病毒III型; 双重荧光定量 PCR; 病毒检测

低温等离子体技术灭活水体病毒及其在水产养殖中的应用

刘一航 屈伸野 王高学 凌 飞*

西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌 712100

摘要: 病毒性疾病因其发病迅速、死亡率高, 且无有效治疗措施, 造成了巨大的经济损失。大多数水生病毒都可以通过水平传播造成病害爆发, 因此水处理阻断病毒传播十分重要。低温等离子体技术以其高效和无二次污染等优点受到关注, 但由于等离子体放电的处理范围有限以及灭活机制尚不完全明了, 其实际应用面临挑战。在前期的研究中, 我们发现 PCD (脉冲电晕放电) 和 DBD (介质阻挡放电) 装置均能有效灭活病毒, 但不同装置对病毒损伤的部位存在不同偏好, 并且所产生的活性物质及相关物理、化学效应也有所不同。基于此我们提出了一种 PCD (脉冲电晕放电)-DBD (介质阻挡放电) 联合装置, 旨在利用 PCD 的强电场提供强电穿孔效应和 DBD 稳定的强氧化作用, 成功实现水体病毒的超快灭活。在此基础上, 我们利用 2D PASSkey 仿真、分子动力学模拟、蛋白质组学分析、密度泛函理论计算等技术手段, 明确了 PCD-DBD 协同作用机制及病毒降解途径的分子机制。此外, PCD-DBD 装置在灭活水产细菌及污染物降解等方面也表现出了优异的效果。本研究为水产养殖病毒性疾病的预防及水体消毒提供了新的思路和方法, 也为未来绿色渔业的发展提供了重要参考。

关键词: 低温等离子体; 病毒灭活; 分子机制; 水体消毒

合成微生物群落驱动的宿主抗性保护鲫免受病原菌感染

戚晓舟, 王高学, 凌飞*

西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌, 712100

摘要: 细菌性疾病已成为制约水产养殖可持续发展的主要瓶颈, 其中嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 是危害淡水鱼健康的重要病原体之一。传统治疗手段, 尤其是抗生素的使用, 不仅增加了耐药菌株的风险, 还引发环境与食品安全问题。肠道微生物群在促进宿主生长和维持健康中发挥关键作用。尽管鱼类抗病机制的研究已取得重要进展, 但肠道微生物群在提升水生动物病原抵抗力方面的具体作用仍不清晰。本研究以鲫 (*Carassius auratus*) 为模型, 探讨肠道微生物在调控其对 *A. hydrophila* 抵抗力中的作用。结果显示, 鲫在感染 *A. hydrophila* 后表现出不同的临床表型, 轻症个体与重症个体的肠道微生物组成存在显著差异。粪菌移植 (FMT) 实验表明, 将轻症个体的肠道内容物移植至其他个体, 伴随受体肠道微生物群在组成和功能上的显著改变, 并赋予其更强的抗病能力。进一步分析鉴定出 *Cetobacterium*、*Paraclostridium* 和 *Pseudomonas* 为关键差异菌属, 并据此构建了简化合成微生物群。饲喂实验确认, 该群落显著提高了宿主对 *A. hydrophila* 的抵抗力, 其机制包括激活肠道免疫反应和强化肠屏障功能。总体而言, 本研究强调了微生物群作为水产养殖疾病防控新策略的潜力, 并突出了共生肠道菌群在调节黏膜免疫与维持微生态稳态中的核心作用, 为基于微生物组的鱼类健康管理策略提供了理论依据。

关键词: 肠道共生微生物; 合成微生物群落; 嗜水气单胞菌; 鲫

宏组学技术在动物病原鉴定中的实践与探索

江海英, 陈金平*

广东省科学院动物研究所, 广州 510260

摘要: 随着水产养殖业的集约化发展, 新发和再发疾病对水生动物健康构成持续威胁。传统的病原检测方法通量有限、难以应对未知病原, 尤其在背景知识匮乏的特种养殖动物中局限显著。宏组学技术(如宏基因组学、宏病毒组学等)凭借其非培养依赖、高通量和无偏倚检测等优势, 可作为动物病原鉴定的强大工具体系。本研究通过两例应用实践探讨宏组学技术在水生动物病原鉴定中的有效性。案例一: 我们利用宏分类组学对一批患皮肤病鳄蜥(一种半水生的我国一级保护动物)病灶样本进行分析, 成功鉴定其主要病原为龟嗜皮菌(*Austwickia chelonae*), 并通过分离培养和回归感染实验证实了其致病性及其致死原因。案例二: 我们基于宏病毒组学对一批群体性死亡的病龟内脏进行分析, 发现了其主要病原为Nidovirales目的一种近年新发病毒, 检出率高达51.33%, 该病毒具备经水体水平传播及跨种感染能力, 对水产养殖及野生龟鳖资源安全构成严峻威胁。本研究表明, 宏组学技术可高效、精准支撑水生动物的病原鉴定工作, 尤其是新发病原的发现与确认, 为疾病的精准诊断和防控提供了关键的科学依据, 展现出良好的应用和推广价值。

关键词: 宏组学; 高通量测序; 病原鉴定; 水生动物; 龟

纳米载体递送拉帕醇抗多子小瓜虫的效果评价及增效机制研究

胡嘉歆^{1,2,3,4}, 赵洋乐^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4*}, 涂笑^{1,2,3,4*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

3. 农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070

4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要:小瓜虫病可造成淡水养殖鱼类的大量死亡,目前尚无有效的防治手段。天然产物是研发新型抗小瓜虫药物的理想来源,但存在水溶性差、抗虫效果不佳等缺陷,限制其应用。纳米载体技术以纳米材料为药物载体,具有提高药物水溶性和生物利用度的优势,在医学和农业领域发展迅速,为解决天然产物用药难题提供新途径。本研究以天然萘醌化合物拉帕醇为例,构建了一种新型的基于纳米载体 S 的药物递送系统,评价了药物/载体复合物对小瓜虫离体、在体抗虫效果,初步探究了纳米载体 S 的增效机制。结果显示:纳米载体 S 对拉帕醇的载药率为 $21.14 \pm 3.80\%$;自组装后拉帕醇的粒径由 240.00 ± 54.36 nm 降低至 69.49 ± 17.12 nm,达到纳米级别(<100 nm)。进一步通过等温滴定量热分析(ITC)探究拉帕醇与纳米载体 S 的组装机理,发现二者结合时的吉布斯自由能变(δG)小于 0,表明结合反应自发进行;解离常数(K_d)= 6.588×10^{-6} M,表明拉帕醇与纳米载体 S 间具有较强的结合作用;焓变(δH)与熵变(δS)均小于 0,表明二者主要通过氢键和范德华力相结合。离体抗虫实验表明,纳米载体 S 负载后拉帕醇对小瓜虫掠食体、滋养体和包囊的 EC_{50} 分别从 7.286 mg/L、1.898 mg/L 和 1.415 mg/L 降低至 0.191 mg/L、0.136 mg/L 和 0.823 mg/L,用药量显著降低。在体实验证实,1 mg/L 拉帕醇/S 复合物连续浸泡患病鱼 4 天,可使患病鱼尾鳍小瓜虫感染强度降低 97.21%。转录组与 qPCR 分析发现,复合物显著上调小瓜虫内吞相关基因(如网格蛋白重链、衔接蛋白)表达,表明纳米载体 S 通过促进药物内吞增强抗虫效果。综上所述,纳米载体 S 的引入能够显著提升天然产物拉帕醇的抗虫效果,克服了萘醌类药物在小瓜虫病防治中药效不佳等局限性,为该病的防治提供了新见解。

关键词: 纳米技术; 天然产物; 小瓜虫病; 增效; 分子机制

基于药效团拼合策略的新型茚醌衍生物的设计、合成及抗小瓜虫活性研究

彭靖皓^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4}, 涂笑^{1,2,3,4*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

3. 农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070

4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 由多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 引起的小瓜虫病是危害最严重的淡水鱼类寄生虫病, 可导致养殖鱼类大规模死亡, 目前尚无有效的治疗药物。因此, 研发出高效低毒的抗小瓜虫药物迫在眉睫。我们前期研究发现 1,4-茚醌是一种理想的抗小瓜虫先导化合物, 但其存在类药性差、毒副作用等缺陷。本研究拟采用药效团拼合策略, 在 1,4-茚醌母环结构上引入含氮增效基团-哌嗪, 合成双药效团的新型茚醌衍生物, 以期为其结构合理优化提供支撑。结果如下:

(1) 通过亲核取代等化学反应, 设计并合成了 54 种 1,4-茚醌-哌嗪类衍生物, 经 NMR 等谱学技术验证所有衍生物结构正确; (2) 采用离体药效评价体系对 54 种衍生物进行抗小瓜虫活性筛选: 初筛浓度为 1 mg/L, 结果显示 37 种衍生物对掠食体的杀灭率达 100%。进一步测定 37 种衍生物对掠食体的半数有效浓度 (EC_{50}), 发现有 13 种衍生物的 EC_{50} 优于先导化合物 1,4-茚醌; 随后测定 13 种衍生物对包囊前体和包囊的 EC_{50} , 发现有 10 种衍生物对包囊前体和包囊的 EC_{50} 均优于先导化合物。综上所述, 本研究设计并合成了 54 种 1,4-茚醌-哌嗪类衍生物, 其中有 10 种衍生物对多子小瓜虫离体阶段的抗虫活性优于先导化合物, 具备开发成为抗小瓜虫药物潜力。

关键词: 多子小瓜虫; 茚醌衍生物; 药效团拼合; 抗虫活性

基于 3D-QSAR 模型的百里香类似物设计、合成及其抗多子小瓜虫的活性评价

饶承旭^{1,2,3,4}, 赵洋乐^{1,2,3,4}, 彭靖皓^{1,2,3,4}, 顾泽茂^{1,2,3,4}, 涂笑^{1,2,3,4*}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

2. 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心, 武汉 430070

3. 农业农村部水生动物疫病专业实验室(华中农业大学), 武汉 430070

4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要: 多子小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 引发的小瓜虫病是全球水产养殖业的重大原虫病害之一, 目前缺乏安全有效的治疗药物, 研发新型抗虫药物已经成为产业亟需解决的关键问题。我们前期研究表明, 百里香醌具有良好的抗小瓜虫活性, 且结构简单、可修饰性强, 是理想的抗虫药物先导化合物。本研究以 33 种百里香醌类似物为研究对象构建数据集, 采用 SYBYL-X 2.0 软件构建比较分子场分析 (CoMFA) 模型, 基于模型揭示的构效关系设计并合成 9 种衍生物; 通过离体实验评价其抗小瓜虫活性, 筛选出活性最优的化合物 Q3, 进一步开展 Q3 对金鱼急性毒性与在体抗小瓜虫疗效研究。结果显示, 构建的 3 个生活史阶段的 CoMFA 模型均具有优异的稳定性与预测性优异(交叉验证系数 $q^2 > 0.6$, 非交叉验证系数 $r^2 > 0.9$), 明确苯醌环 2 号位加大取代基可增强抗虫活性; 9 种衍生物对小瓜虫掠食体的 EC_{50} 均优于先导物百里香醌 ($4.59 \mu M$), 其中化合物 Q3 综合活性最优, 其对小瓜虫掠食体、包囊及幼虫的离体 EC_{50} 分别为 0.207、0.619、 $2.663 \mu M$, 对金鱼 96 h- LC_{50} 为 $3.07 \mu M$; 在体实验中, $1.9 \mu M$ Q3 浸泡处理感染小瓜虫的金鱼 4 d 后, 尾鳍小瓜虫感染强度较空白对照组降低 57.9%, 包囊孵化抑制率达 68.9%, 且未见对实验金鱼无明显毒性。综上, 3D-QSAR 模型为百里香醌衍生物结构优化提供精准指导, 化合物 Q3 具高效低毒特性, 有开发为抗小瓜虫新药的潜力; 该研究为小瓜虫病防控药物研发提供技术范式。

关键词: 多子小瓜虫; 百里香醌; 3D-QSAR; 药物合理设计

一株具有替抗潜力的贝莱斯芽孢杆菌 LMT 菌株发酵工艺的优化

罗洪兵, 覃映雪*

集美大学水产学院, 福建厦门 361021

摘要: 抗生素的不规范使用不仅破坏水体微生态系统平衡、产生大量耐药菌株, 还导致水产品中药物残留, 进而严重威胁食品安全和人体健康。开发具有替抗潜力的生物制品对水产养殖业的健康发展具有重要意义。本课题组前期研究筛选到一株对多种水产动物病原菌, 特别是对副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 具有显著抑制作用, 同时对水产动物具有益生效果的贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) LMT 菌株。本研究以该菌株为研究对象, 利用单因素实验、正交实验、Plackett-Burman 试验、最陡爬坡试验和响应面试验对液体发酵的培养基组分和发酵条件进行优化。结果显示, 麸皮、装液量、培养时间为影响 *B. velezensis* LMT 抑菌活性的主要因素, 方程预测最优发酵条件为: 麸皮 25.42 g/L、装液量 62.84 ml、培养 25.93 h, 其他条件分别为: 豆粕 15 g/L、硫酸镁 4 g/L, 接种量 2%、转速 140rpm、初始 pH 自然 (5.75 ± 0.05)、培养温度 34°C。发酵工艺优化后, 抑菌圈直径可达到 62.234 ± 0.370 mm, 与模型的预测值基本吻合, 较优化前抑菌圈直径 43.465 ± 0.482 mm 提高 43.18%; 优化后 LMT 菌株活菌数为 $16.07 \pm 0.64 \times 10^8$ cfu/ml, 较优化前 LMT 菌株活菌数 $2.72 \pm 0.20 \times 10^8$ cfu/ml 提高 4.91 倍。本研究结果为开发基于 *B. velezensis* LMT 菌株微生态制剂的大规模生产及应用奠定基础。

关键词: 贝莱斯芽孢杆菌 (*B. velezensis*); 发酵工艺; 优化; 响应面法; 生物防治

II型 GCRV 衣壳蛋白 VP4 的人工合成及其在植物细胞中的表达特征研究

杨靖楠, 韩玉行, 郭新琦, 张秋胜*

鲁东大学水产学院, 烟台 264025

摘要: 草鱼呼肠孤病毒 (Grass carp reovirus, GCRV) 引起的草鱼出血病严重影响了我国水产养殖业。GCRV 衣壳蛋白 VP4 在病毒组装和感染宿主中发挥了关键作用。本研究采用套合 PCR 法, 结合高保真 DNA 聚合酶, 进行 VP4 基因的人工合成。通过农杆菌侵染水稻愈伤组织细胞, 将 VP4 基因导入植物细胞并对其蛋白结构进行解析。结果表明, 序列优化后的 VP4 基因为 1989 bp, 比原基因 1957 bp 增加了 32bp, 改变了 149 个密码子。新合成的基因与原基因之间的相似率为 91.9%。分段合成比整体合成错误率低, 效率更高。新合成的 VP4 基因能在水稻细胞中的稳定表达。VP4 在基因组中的拷贝数为 1。VP4 表达量占总可溶总蛋白的 0.225-0.358%, 平均为 0.295%。不同水稻株系之间表达量存在差异, 这种差异是与 VP4 基因插入植物基因组中的位置有关。VP4 蛋白的分子量为 72 kDa, 符合预期分子量大小。VP4 蛋白的 N 端不存在糖基化。微粒结构分析, VP4 蛋白在植物细胞中呈病毒样颗粒。本研究为草鱼 GCRV 研究提供了 VP4 基因材料, 也提供了一种分步分区域合成长片段病毒基因的方法。同时也为研制草鱼出血病口服疫苗提供了实验基础。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒 (GCRV); VP4; 水稻愈伤

彭泽鲫 MyoG 基因启动子活性及转录调控元件分析

潘思韵, 朱学春^{*1}

南昌大学生命科学学院 江西南昌 330031

摘要: 肌细胞生成素(Myogenin, MyoG)是生肌决定因子, MyoG 是骨骼肌分化所必需的因子, 其功能不可被其它生肌调节因子所代替, 通过控制成肌细胞的融合和肌纤维的形成来对肌肉的终末分化起关键作用。本研究分析了彭泽鲫 MyoG 基因启动子活性区域和潜在转录因子, 解析了该基因的转录调控机制。本研究首先通过 PCR 扩增彭泽鲫 MyoG 基因 5'侧翼区序列 1349 bp 并对其进行测序和生物信息学分析, 确定启动子区域。其次, 构建不同缺失调控元件的双荧光素酶报告载体。进一步利用在线软件预测启动子区转录因子, 对转录因子结合位点进行定点突变并构建突变报告基因载体, 在 CAB 细胞系内初步鉴定 MyoG 基因核心转录调控因子。最后, 采集彭泽鲫脑、眼、肠、鳃、心、肝、脾、肾、肌肉组织样, 利用荧光定量 PCR 检测 MyoG 基因和转录调控因子的组织表达谱。利用双荧光素酶报告实验检测转录因子对 MyoG 活性的调控。结果为探究 MyoG 基因在彭泽鲫肌肉发育过程的调控机制提供理论依据。

关键词: 彭泽鲫; MyoG 基因; 启动子活性; 点突变; 转录调控

大口黑鲈弹状病毒 RT-MIRA-LFD 现场快速检测方法的建立

许青月¹, 修云吉¹, 周顺^{1,*}

¹ 青岛农业大学, 海洋科学与工程学院, 青岛, 266109

摘要: 大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 是我国重要的淡水养殖经济鱼类。近年来, 由大口黑鲈弹状病毒 (*Micropterus salmoides rhabdovirus*, MSRV) 引发的致死性流行病给大口黑鲈养殖产业造成了巨大经济损失。当前MSRV诊断技术受限于灵敏度与仪器设备, 难以适用于非实验室场景的现场检测。为满足MSRV现场快速检测的需求, 本研究基于逆转录多酶恒温快速扩增技术 (Reverse Transcription-Multienzyme Isothermal Rapid Amplification, RT-MIRA) 结合侧流层析试纸条 (Lateral Flow Dipstick, LFD), 建立了一种可视化现场快速检测MSRV的检测方法。靶向病毒MSRV-N基因的保守序列, 设计RT-MIRA-LFD反应引物; 筛选RT-MIRA-LFD反应的最佳引物和探针; 评价RT-MIRA-LFD检测MSRV的灵敏度、特异度等诊断效能。为适应现场检测需求, 本方法使用磁珠法核酸提取试剂盒配合磁力架进行核酸提取。RT-MIRA酶中可在 37°C 恒温条件下进行, 在 12 分钟内可完成核酸的逆转录和扩增。RT-MIRA-LFD检测方法对MSRV标准质粒DNA的检测限低至 9 拷贝/ μ l, 对MSRV病毒RNA的检测限低至 12 拷贝/ μ l, 同时具备较高特异性, 与其他常见鱼类病毒无交叉反应, 可有效用于MSRV感染诊断。综上, RT-MIRA-LFD方法具有简便快速、灵敏度高与特异性好等优势, 不依赖于实验室仪器和专业人员水平, 能在有限设备资源下提升MSRV现场诊断效率, 对保障大口黑鲈产量、降低产业损失具有重要应用价值。

关键词: 大口黑鲈; 弹状病毒; 多酶恒温扩增技术; 现场快速检测

鱼类蛋白酶体 β 亚基的进化分析

徐兢¹, 贾钊¹, 雷文晶¹, 冯建华¹, 高娃¹, 朱丽雯¹, 闫慧¹, 邹钧¹, 王俊亚

^{1*}

1 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 蛋白酶体 β 亚基 (*Psmb*) 在 MHC I 介导的抗原呈递过程中发挥关键作用, 对适应性免疫至关重要。然而, 其起源与进化鲜有研究。本研究克隆并鉴定了草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 及条纹斑竹鲨 (*Chiloscyllium plagiosum*) 的十个 *Psmb* 基因 (*Psmb1*–*Psmb10*)。序列分析表明, 这些基因编码的蛋白均具有保守的蛋白酶体结构域。系统发育与共线性分析结果显示, *Psmb* 与其他脊椎动物直系同源基因具有高度的进化上保守性。组织表达谱显示, 草鱼 *Psmb* (除 *Psmb8* 和 *Psmb9*) 基因呈组成型表达, 在免疫器官及大脑中表达水平较高。细胞因子 (IFN- α 、IFN- γ)、poly(I:C)刺激及草鱼呼肠孤病毒 (GCRV) 均可上调 *Psmb* 基因的表达, *Psmb8*、*Psmb9* 和 *Psmb10* 上调水平尤为显著, 表明其在免疫调节中可能发挥重要作用。本研究首次对低等脊椎动物 *Psmb* 家族进行了系统分析, 为探究鱼类蛋白酶体的起源与进化及其在抗病毒免疫中的作用机制奠定基础。

关键词: 草鱼; 蛋白酶体; *Psmb*; 基因表达; 进化

鱼类自然悬浮细胞系——欧洲鳗鲡 (*Anguilla Anguilla*) 皮肤细胞系 ES 的建立及其在水产病毒研究中的应用

郑在予¹, 陈斌¹, 刘晓东¹, 郭睿², 池洪树¹, 陈秀霞¹, 潘滢¹, 龚晖^{1*}

1 福建省农业科学院生物技术研究所, 福州 350003;

2 福州市海洋渔业技术中心, 福州 350007

摘要: 悬浮培养能显著提升细胞密度及代谢物产量, 鱼类培养细胞在体外贴壁化倾向较强, 鱼类自然悬浮细胞系长期处于缺失状态。为满足水产行业需求, 通过组织块外生长法和酶消化传代法, 首先建立了欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 皮肤来源的自然悬浮系 ES。该细胞系已在体外连续培养超过 12 个月, 传代 68 次, 是一种异倍体细胞系。在特定温度、血清浓度及接种密度下, ES 细胞无需微载体或特殊添加剂即可实现贴壁与悬浮生长的可逆转换。ES 细胞在 15-37℃温度范围和 3-15%血清浓度下均保持高增殖活性, 接种密度 $\geq 5 \times 10^5$ cells·ml⁻¹ 时能高效转化为悬浮状态。在适宜温度范围内, 随着温度升高, 分别以 20℃和 30℃为代表性节点, 悬浮态 ES 细胞在培液中的生长模式由聚团趋于离散。绿色荧光蛋白 (GFP) 报告基因在 ES 细胞中成功表达。ES 细胞接种鳗疱疹病毒 (AngHV) 和赤点石斑鱼神经坏死病毒 (RGNNV) 后可产生显著的细胞病变 (CPE) 现象, 电镜观察可见 AngHV 在“病毒工厂”区域中进行装配, 而 RGNNV 的装配则散布于胞质中进行。作为自然悬浮的水生动物细胞模型, ES 细胞无需悬浮驯化或载体分离等工序, 有望用于水产疫苗生产、生物制药及细胞农业等领域的实用型技术开发。

关键词: 欧洲鳗鲡; 自然悬浮细胞系; 温控型悬浮生长模式; 鳗疱疹病毒; 赤点石斑鱼神经坏死病

鳗鲡正呼肠孤病毒的分离、鉴定及其检测

杨金先, 李英英, 陈强, 葛均青*

福建省农业科学院生物技术研究所

摘要: 本研究利用鳗鲡卵巢细胞 (EO) 从养殖的美洲鳗鲡 (*Anguilla rostrata*) 中分离出一株新的鱼源正呼肠孤病毒, 根据病毒颗粒超微形态观察、病毒基因组病毒基因组测序, 证实新分离的病毒为正呼肠孤病毒属的一个新种, 并命名为鳗鲡正呼肠孤病毒 (Anguillid orthoreovirus, AORV)。根据 AORV 保守基因序列建立了 TaqMan 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测方法, 并揭示 AORV 在感染的美洲鳗鲡体内呈全身性系统感染。此外, 对 2017 - 2024 年间收集的 39 份美洲鳗鲡病料进行 RT-qPCR 检测, AORV 的阳性率为 28.2%, 提示着 AORV 在我国养殖的美洲鳗鲡种群内呈低烈度、持续感染现状。基于基因组序列的病毒进化关系与分类学研究表明, AORV 与 PRV 聚类成 Orthoreovirus 的一个独立进化分支且与 Aquareovirus 存在共根关系。

关键词: 鳗鲡正呼肠孤病毒; 分离; 鉴定; 检测; 分类

鳗鲡疱疹病毒特异性卵黄抗体（IgY）的制备及其对美洲鳗鲡（*Anguilla rostrata*）的被动免疫保护作用

李英英，陈强，杨金先，葛均青*

福建省农业科学院生物技术研究所

摘要：研究发现，卵黄抗体（IgY）可通过口服方式获取针对细菌和病毒类病原体的保护作用。鳗鲡疱疹病毒（Anguillid herpesvirus, AngHV）是鳗鲡“脱黏败血综合征”的致病病原。本研究，我们用鳗鲡疱疹病毒的灭活疫苗接种产蛋母鸡，制备抗鳗鲡疱疹病毒的特异性 IgY；并通过体外和体内实验，系统评估了该 IgY 对 AngHV 的防护效果。体外实验表明，纯化的 IgY 能够中和 AngHV 病毒。在体内实验中，鳗鲡饲料中添加 6‰的卵黄粉后，未对鳗鲡的生长性能、肠道组织形态、肠道菌群及代谢特征产生负面影响，而感染 AngHV 的鳗鲡发病率从 100%降至 71%，死亡率也从 57.14%下降至 28.57%。此外，皮肤黏液中的 AngHV 含量也显著降低（ $P<0.05$ ）。本研究证实，抗鳗鲡疱疹病毒 IgY 能有效保护鳗鲡免受病毒感染，为利用卵黄粉开发抗 AngHV 的治疗产品奠定了基础。

关键词：鳗鲡疱疹病毒；卵黄抗体；中和作用；保护效果

巨骨舌鱼 (*Arapaima gigas*) II型干扰素及其受体的克隆鉴定

庞安宁,陈善楠,聂品*

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430000

摘要: 在哺乳动物中, II型干扰素 (IFN- γ) 通过其特异性受体IFN- γ R1和IFN- γ R2进行信号传导。本研究在骨舌鱼目巨骨舌鱼 (*Arapaima gigas*) 中鉴定出三种II型干扰素(IFN- γ -like、IFN- γ 和IFN- γ rel)及其四种潜在受体亚基(IFN- γ R1-1、IFN- γ R1-2、IFN- γ R2-1和IFN- γ R2-2)。这三种II型干扰素基因均由四个外显子和三个内含子组成, 均含有IFN- γ 特征基序和信号肽, 其中IFN- γ -like和IFN- γ 还存在潜在核定位信号。受体基因IFN- γ R1-1、IFN- γ R1-2、IFN- γ R2-1和IFN- γ R2-2均包含七个外显子和六个内含子, 预测显示IFN- γ R1-1和IFN- γ R1-2蛋白含有JAK1和STAT1结合位点, 而IFN- γ R2-1和IFN- γ R2-2则含有JAK2结合位点。基因同线性分析表明, 巨骨舌鱼中II型干扰素及其受体基因座存在复制现象。这些基因在所有检测的组织/器官中均组成型表达, 并响应polyI:C刺激。原核重组表达的IFN- γ -like、IFN- γ 和IFN- γ rel蛋白能显著诱导体肾白细胞中免疫相关基因的上调。配体-受体关系鉴定显示, 在异源细胞中过表达原始或嵌合受体时, 重组IFN- γ -like、IFN- γ 和IFN- γ rel分别通过IFN- γ R1-1/IFN- γ R2-1、IFN- γ R1-2/IFN- γ R2-2以及IFN- γ R1-1介导下游信号传导。此外, 细胞内区域的酪氨酸 (tyrosine, Y) 366和Y377可能分别是IFN- γ R1-2和IFN- γ R1-1关键的功能位点。本研究揭示的巨骨舌鱼II型干扰素系统, 为理解脊椎动物II型干扰素配体-受体关系的多样性与进化提供了新的认知。

关键词: 巨骨舌鱼; II型干扰素; IFN- γ ; IFN- γ rel

基于鱼类行为的寄生虫病早期预警技术研究

孙新展^{1,2}, 程厚达¹, 倪小玲¹, 黄可¹, 王桂堂¹, 李文祥^{1*}

1.中国科学院水生生物研究所, 武汉, 430072

2.大连海洋大学水产与生命学院, 大连, 116023

摘要: 传统的寄生虫病诊断方法(如病原镜检、病理学观察)需要依赖专家, 且具有滞后性等缺点。研究表明, 感染初期的病原即可诱发宿主行为发生改变, 宿主行为变化可作为疾病早期发生的敏感且非侵入式指标, 进行早期预警。本研究以金鱼(*Carassius auratus*)为模型, 已成功建立2种寄生虫感染系统——金鱼-坏鳃指环虫(*Dactylogyrus vastator*)和金鱼-多子小瓜虫(*Ichthyophthirius multifiliis*)标准化可控感染模型。搭建行为监测平台(工业级镜头+EthoVision XT深度学习算法), 实现游泳速度、轨迹复杂度、底层停留时间等核心行为指标的精准量化, 并建立健康金鱼行为谱基线。在感染进程中, 同步追踪“行为异常、生理/免疫指标波动”、“病理损伤”三者之间的时序关联性与潜在因果关系, 定期取血液、肝脏、头肾等样本, 检测超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、溶菌酶(LZM)酶等酶活性, 使用相关性分析模型挖掘关键驱动因子。初步观察表明, 在虫体负荷显著升高(qPCR/镜检确认)过程中, 出现摄食响应时间显著延长($p < 0.05$)和游泳轨迹复杂度降低的趋势。部分行为(如: 底层停留时间比例)的变化与血浆皮质醇浓度的升高呈显著正相关($p < 0.05$)。本研究旨在探索并开发一种基于高精度、自动化监测鱼类多维度行为特征的技术框架, 以期在临床症状出现前识别异常行为, 为寄生虫病早期防控提供理论基础。

关键词: 寄生虫病; 鱼类行为; 异常行为; 早期预警

石斑鱼肠孢虫(*Enterospora epinepheli*)环介导等温扩增(LAMP)检测方法的建立及应用

解恩佩^{1,2,3,4}, 万晓媛^{2,3,4}, 要菲^{2,3,4}, 魏京广⁵, 吴成龙¹, 史成银^{2,3,4}, 张庆利^{2,3,4},
谢国驷^{2,3,4*}, 黄捷^{2,3,4}

1.湖州师范学院生命科学学院 浙江 湖州 313000; 2.青岛海洋科学与技术中心 山东 青岛 266237; 3.海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室(中国水产科学研究院黄海水产研究所) 山东 青岛 266071; 4.农业农村部海水养殖病害防治重点实验室, 青岛市海水养殖流行病学与生物安保重点实验室 山东 青岛 266071; 5.华南农业大学海洋学院 广东 广州 510642

摘要: 石斑鱼肠孢虫(*Enterospora epinepheli*)是当前危害石斑鱼养殖产业的重要病原, 但该病原自 2017 年报道以来, 仅有 2 种基于核酸检测方法的报道。本研究以 *E. epinepheli* 的核糖体小亚基 rRNA(small subunit ribosomal RNA, SSU rRNA)基因为靶序列, 设计 3 对环介导等温扩增(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)引物, 建立了该病原的 LAMP 检测方法(LAMP for *E. epinepheli*, *E.ep_LAMP*)。添加 EvaGreen[®]核酸染料的检测体系置于定量 PCR 仪中, 以 2.68×10^2 — 2.68×10^9 拷贝/uL 的重组质粒标准品 pMD18_*E.ep* 为模板, 各浓度均可在 20 min 内完全检测, 其检测灵敏度为 2.68×10^2 拷贝/反应; 分析 pMD18_*E.ep* 中目的基因核酸拷贝数的对数值(x)与其对应 Ct 值(y)的线性关系得到检测方法的标准曲线: $y = -1.7195x + 23.971$ ($R^2 = 0.9962$); 重复性检测中, 其批内和批间检测的变异系数(Coefficient of Variation, CV)值范围分别为 0.22%—3.52% 和 0.24%—1.70%。特异性检测中, *E.ep_LAMP* 与虾肝肠胞虫(*Enterocytozoon hepatopenaei*, EHP)和肌孢虫(*Ameson portunus*), 以及其他 11 种细菌和病毒均无交叉反应。*E.ep_LAMP* 检测体系中使用核酸染料 GeneFinder[®]后, 还可在简易恒温条件下进行现场检测, 具有诊断试剂产品开发的的前景。总体而言, 本研究建立的方法快速、灵敏和特异性强, 兼顾定量和可现场诊断的优点, 可为当前频发的石斑鱼微孢子虫病的诊断及防控提供新的有效检测方法。

关键词: 石斑鱼肠孢虫; 环介导等温扩增; 检测; 核糖体小亚基 rRNA

基于 RPA-CRISPR/Cas12a 的海分支杆菌快速检测方法建立

李红霞^{1,2}, 马红玲¹, 徐力文¹, 邓益琴¹, 郭志勋¹, 冯娟^{1,2*}

中国水产科学研究院南海水产研究所/广东省渔业生态环境重点实验室, 广州 510300

上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 海分支杆菌 (*Mycobacterium Marinum*) 可造成多种海淡水鱼类的lei结节, 被认为是最重要的鱼类病原体, 亦是引起人类机会性感染最常见的非典型分枝杆菌。本研究基于重组酶聚合酶扩增 (Recombinase Polymerase Amplification, RPA) 技术与CRISPR/Cas12a的反式切割原理, 建立了一种海分枝杆菌的快速检测方法。通过筛选 RPA 引物与 crRNA, 优化 RPA 反应条件与 CRISPR/Cas12a 检测体系的, 成功构建了高灵敏度、高特异性的RPA-CRISPR/Cas12a检测体系。结果显示, 该方法的检测灵敏度达到 $4.1 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 且在实际样本检测中与 qPCR方法对比, 符合率为100 %。本研究建立的 RPA-CRISPR/Cas12a-*Marinum* 检测方法具有操作简便、结果可视化等优点, 为海分支杆菌的现场快速检测提供了有效工具, 有望在水产养殖病害监测与防控中发挥重要作用。

关键词: CRISPR/Cas12a; 重组酶聚合酶扩增; 海分支杆菌; 快速检测

缺氧诱导刺激隐核虫代谢重编程介导的铁死亡作用机制研究

王宝屯, 李安兴*

中山大学生命科学学院, 广州 510275

摘要: 刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*) 是一种专性寄生于海水鱼类的纤毛虫, 可引发严重的刺激隐核虫病, 是目前海水养殖鱼类最严重的寄生虫病。刺激隐核虫包囊常黏附于缺氧海底或网箱网衣上, 成为海水网箱养殖中刺激隐核虫病重要感染源。本研究通过代谢组学发现包囊在缺氧下共有2964种差异代谢物, 其中葡萄糖含量显著性升高。代谢酶活性测定和qRT-PCR分析证实, 缺氧可诱导刺激隐核虫包囊代谢重编程, 包括己糖激酶和丙酮酸激酶活性显著性升高, 以及糖酵解相关基因 pgk , $acss$ 和 $glna$ 表达水平显著性上调。缺氧引起刺激隐核虫包囊壁和细胞膜内陷, 线粒体肿胀和空泡化, $NAD^+/NADH$ 比值增高以及乳酸积累。基于缺氧诱导包囊出现代谢紊乱和线粒体损伤, 本研究进一步深入探讨其潜在细胞死亡机制。使用10 μM 铁死亡诱导剂Erastin处理后, 发现缺氧联合Erastin加速包囊死亡, 常氧组, 常氧+Erastin组, 缺氧组和缺氧+Erastin组的包囊孵化率分别是96, 80.3, 70.5和13.9 %, 碘化丙啶染色强度也相应升高。同时, Erastin加剧了缺氧包囊中活性氧积累, 缺氧+Erastin组呈现强烈绿色荧光。联合处理导致包囊线粒体膜电位改变、 Ca^{2+} 与 Fe^{2+} 释放及脂质过氧化。铁死亡相关基因 $p53$, $img5$ 和 $mcar$ 在处理24 h表达量显著性上调, 而 $gpx4$, GS , $nd75$, $cyc1$ 和 $sdhb$ 在处理48 h显著性下调。本研究说明缺氧可诱导刺激隐核虫发生糖酵解代谢重编程与线粒体功能障碍, 而Erastin与缺氧联合胁迫可进一步引发铁死亡, 这些发现为阐明原生动物的缺氧代谢适应机制提供新视角, 并提示铁死亡通路可能成为海水养殖鱼类寄生虫病防控的潜在治疗靶点。

关键词: 刺激隐核虫; 缺氧; 代谢重编程; 铁死亡; 氧化应激

基于机器学习的抗菌肽定向进化研究

高千迪, 葛良军, 王毅涵, 黄家权, 张鹤千*, 秦志伟*

北京师范大学文理学院, 珠海, 519087

摘要: 抗生素药物因抗菌效果显著得以在医学、农业等方面广泛应用乃至滥用, 致使大量细菌对其产生耐药性。抗菌肽因其广谱抗菌活性和多靶点的作用机制, 成为替代抗生素的理想候选分子。抗脂多糖因子 (ALFs) 作为一种对虾抗菌肽, 其核心功能片段为脂多糖结合域 (LBD), 且是宿主对细菌、真菌和病毒的防御的关键组成部分。然而, 天然抗菌肽仍存在抗菌效能不足、代谢半衰期短等问题, 亟需通过定向优化进行改进。近年来, 人工智能辅助的定向进化有效提升了抗菌肽的设计效率和研发成本。基于此, 我们通过蛋白质语言模型构建了融合理化性质以及结构约束的小样本抗菌肽定向进化模型, 实现了LBD抗菌活性的提升。进而通过核磁共振 (NMR) 获得改造肽的溶液核磁结构, 结果表明其整体构象通过C-端和N-端形成的二硫键和Leu15 - Lys18间的 α 螺旋稳定, 序列上的部分正电荷氨基酸极性较强, 推测其可能是破膜的潜在作用位点。分子动力学模拟显示, 改造肽与类脂A之间主要由静电相互作用介导, 其稳定性主要由氢键维持, 而疏水作用会辅助改造肽与类脂A的定位。本项目实现了小数据集的机器学习算法应用, 并为水产养殖业抗生素替代药物的开发提供技术创新和物质基础。

关键词: 抗菌肽; 蛋白质语言模型; 定向进化; 抗菌机制

Development of rapid visual isothermal amplification assays (LAMP, RAA-LFD, RPA-CRISPR/Cas12a) for on-site detection of Anguillid herpesvirus (AngHV)

Bin Sun, Qiang Chen, Lijuan Zhang, Hua Chen, Tieying Song, Junqing Ge*

Institute of Biotechnology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China

Abstract: Anguillid herpesvirus (AngHV), an enveloped double-stranded DNA virus, is the causative agent of “mucus sloughing and haemorrhagic septicaemia” disease of eels, leading to significant economic losses to the eel farming industry in China. Due to the absence of commercially effective drugs and vaccines, early and accurate diagnosis of AngHV is critical for disease prevention and management. However, existing diagnostic methods are often time-consuming or necessitate specialized equipment. In this study, based on isothermal amplification technology, we have successively developed multiple early diagnostic methods for AngHV, including LAMP, RAA-LFD, and RPA-CRISPR/Cas12a system. Among these, LAMP was initially developed and enabled the rapid detection of AngHV at 63 °C within 40 min, achieving a lower detection limit of 10 copies/μL. Subsequently, RAA-LFD was developed to improve the feasibility of on-site diagnosis using lateral flow dipsticks. This method allows for AngHV detection within 20 min at room temperatures (18-45 °C) and achieve a lower detection limit of 100 copies/μL. To eliminate false-positive results from nonspecific amplification, an RPA-CRISPR/Cas12a system was developed by integrating RPA amplification with CRISPR/Cas12a-mediated detection, enabling specific visual readout via blue/UV light or lateral flow strip. This method accurately detects AngHV at 40 °C within 30 min and achieves a detection limit of 50 copies/μL. Notably, all developed methods exhibited no cross-reactivity with other common aquatic viral pathogens and provide a rapid, sensitive, and reliable platform for on-site diagnosis of AngHV, thereby supporting effective disease control in eel aquaculture.

Keywords: Anguillid herpesvirus; On-site; Visual detection; eel

Development and validation of a double-antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) for detection of Anguillid herpesvirus

Hua Chen, Jinxian Yang, Junqing Ge*

Institute of Biotechnology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China

Abstract: Anguillid herpesvirus (AngHV) is a highly pathogenic agent that causes “Mucus sloughing and hemorrhagic septicemia disease” in eels, resulting in high morbidity and cumulative mortality rates. Therefore, accurate diagnosis of AngHV infection is essential for effective clinical management and epidemiological control. In this study, three monoclonal antibodies (mAbs) against AngHV were developed, and their specificity and affinity were validated using western blotting and indirect immunofluorescence assays. Subsequently, a double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) was established for the detection of AngHV, employing mAb 10G8-9F4 as the capture antibody and rabbit polyclonal antibody 9NA (which targets AngHV-ORF95) as the detection antibody. Specificity testing indicated no cross-reactivity with other common aquatic viruses, including Koi herpesvirus (KHV), Grass carp reovirus (GCRV), Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV), and Large yellow croaker iridovirus (LYCI). The developed assay effectively identified AngHV in various tissues of infected eels, including the heart, liver, spleen, kidney, gills, intestines, muscle, skin mucus, and fins. Compared to quantitative real-time PCR (qPCR), the detection limit of this assay was determined to be 10,000 copies of AngHV, with an 88.89% concordance rate observed in the analysis of clinical samples between the results of DAS-ELISA and qPCR, thereby demonstrating the reliability of this immunoassay for detecting AngHV in field samples. Overall, the DAS-ELISA developed in this study demonstrates high reactivity and specificity, serving as a rapid and effective diagnostic tool for the detection and prevention of AngHV in eel populations.

Keywords: Anguillid herpesvirus; detection; monoclonal antibody; ORF95; double-antibody sandwich ELISA

Interaction between *Vibrio parahaemolyticus* Phage and Host Bacteria and Evaluation of Its Clinical Application Effects

Zhiwei Wang¹, Xiangkai Li¹, Hui Wang², Yubao Li¹, Duanduan Chen^{1*}

Phage Research Center, Liaocheng University, No. 1 Hunan Road, Dongchangfu District,
Liaocheng City, Shandong Province, 252000.

Shandong Agricultural University, No. 61 Daizong Street, Tai'an City, Shandong Province,
271000.

Abstract: *Vibrio parahaemolyticus* is not only a major constraint on the sustainable development of aquaculture, but also a significant foodborne pathogen that poses a serious threat to public health. Currently, control of this bacterium relies primarily on antibiotics. However, long-term misuse of antibiotics has led to the emergence of multidrug-resistant strains (MDRs), rendering conventional treatments increasingly ineffective. Bacteriophages (phages), as potential alternatives to antibiotics, have attracted growing attention due to their specificity and self-replicating ability. This study aimed to systematically investigate the epidemiology of *Vibrio* spp. in the eastern coastal regions of China, analyze the distribution of virulence genes and antibiotic resistance profiles of *V. parahaemolyticus*, and perform genomic characterization of clinical isolates. Furthermore, we isolated and characterized lytic phages targeting *V. parahaemolyticus*, evaluating their biological properties, in vitro bacteriolytic efficacy, and biofilm eradication capacity, along with comparative genomic analysis. The phage–host interactions were further elucidated via RNA-seq transcriptomics and LC/MS-based metabolomics. Based on these findings, we established an animal model of *V. parahaemolyticus* LCU-VP2 (carrying *pirA*⁺ and *pirB*⁺ virulence genes) infection in red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). We comprehensively evaluated the therapeutic efficacy of a single phage, a phage cocktail (composed of vB_VpaS_SD2 and vB_VpaS_SD15), and the antibiotic florfenicol. Additionally, we analyzed the effects of each treatment on the expression of immune-related genes in crayfish. The results demonstrated that: The phage cocktail exhibited the highest protective effect, reducing mortality by 86% and significantly upregulating immune gene expression; Florfenicol treatment reduced mortality by 62%, outperforming single phage therapy; Although single phage treatment showed some efficacy, it was less effective than both the cocktail and antibiotic treatments.

This study confirms the potential of phage cocktail therapy in controlling *V. parahaemolyticus* infections. Phage cocktails represent a promising biocontrol strategy that may serve as an alternative to antibiotics, supporting the development of sustainable aquaculture practices.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*; bacteriophage; biological characteristics; phage–host interactions; therapeutic effect

A Rapid and Portable Dual-Mode RAA-CRISPR/Cas12a System for One-Pot Detection of Spring viraemia of carp virus (SVCV)

Tian Hu^{a,b,1}, Zewei Hou^{a,b,1}, Yichen Zhao^{a,b}, Ye Zhang^{a,b}, Yufeng Si^{a,c}, Liquan Lu^{a,b}, Hao Wang^{a,b,*}

^a National Pathogen Collection Center for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, P.R. China

^b Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, P.R. China

^c Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, P.R. China

Abstract: Spring viraemia of carp virus (SVCV), a pathogen with significant economic impacts on global aquaculture, necessitates the development of rapid, sensitive diagnostic tools for effective disease management. This study presents two innovative detection methods that integrate recombinase-aided amplification (RAA) with CRISPR/Cas12a technology: the One-Pot RAA-CRISPR/Cas12a fluorescence assay and the RAA-CRISPR/Cas12a Lateral Flow Dipstick (LFD) assay. By targeting the highly conserved glycoprotein (G) gene of SVCV, optimized RAA primers and CRISPR RNA (crRNA) were designed. Additionally, a sucrose-stabilized biphasic reaction system was developed to facilitate seamless one-pot amplification and detection. The fluorescence-based method exploits trans-cleavage activity of Cas12a to generate detectable fluorescent signals, while the LFD assay employs a FAM-biotin dual-labeled ssDNA probe for visual detection via colloidal gold accumulation on lateral flow strips. Sensitivity analysis revealed detection limits of 10^2 copies/ μ L for the fluorescence assay and 10^0 copies/ μ L for the LFD assay, representing a 10–1000-fold improvement over traditional nested PCR (10^3 copies/ μ L). Specificity testing confirmed no cross-reactivity with common fish pathogens. Clinical validation involving 30 samples yielded 100% concordance with results obtained from the national standard PCR protocol. The dual-modality design—offering both quantitative fluorescence and naked-eye colorimetric readouts—supports the critical objectives of early viral detection, rapid intervention, and biosecurity management, positioning it as a transformative tool for global aquatic disease surveillance.

Keywords: Spring viraemia of carp virus; RAA-CRISPR/Cas12a; lateral flow test strip; rapid detection

Aggregation-Induced Emission Probes Empowered Aptasensor for Aquatic Pathogenic Virus Fluorescence Sensing

Siyu Wang^{1,2}, Ye Zhang^{1,2}, Peiqi Jing^{1,2}, Zhaoyang Ding³, Liqun Lu^{1,2}, Hao Wang^{1,2,*}

¹National Pathogen Collection Center for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

²National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

³Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China

Abstract: Aggregation-induced emission (AIE), a phenomenon first reported by Professor Ben Zhong Tang's group in 2001, describes a photophysical process in which certain luminescent molecules exhibit significantly enhanced emission in the aggregated state compared to their solution phase. In this study, we designed an AIE-based biosensing platform for the detection of an aquatic virus to address the limitations of existing methods for monitoring aquatic pathogens. The biosensor combines the high specificity of a virus-targeting aptamer with the unique properties of AIEgens. Its detection mechanism operates through restriction of intramolecular motion (RIM), triggered by the formation of the aptamer-AIEgen complex upon target binding. This leads to aggregation and a pronounced fluorescence enhancement, enabling both visual and quantitative detection. Spectroscopic analysis revealed a concentration-dependent increase in fluorescence emission within the 440–455 nm range ($\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$). The system delivered optimal performance under specific molar ratio conditions of aptamer to AIEgen. At a detector voltage of 500 V, a distinct fluorescence peak was observed at 454 nm for the target virus, with the intensity reaching 9999 a.u.—more than three times higher than that induced by other non-target aquatic viruses tested. The biosensor demonstrated a limit of detection (LOD) of $1.28 \times 10^3 \text{ copies}/\mu\text{L}$, with a linear relationship between fluorescence intensity and viral load given by $y = -1217.8x + 9660.5$ ($R^2 = 0.9666$). Leveraging a specific "lock-and-key" recognition mechanism between the aptamer and the target aquatic virus, the biosensor achieves high specificity without the need for sample pretreatment, even in turbid media, and produces a detectable fluorescence signal within 20 minutes. This work constitutes the first successful application of AIEgens in the detection of aquatic pathogens, offering a promising tool for rapid diagnosis in aquaculture and broadening the scope of AIE-based probe applications.

Keywords: Aptamer; AIEgens; Aptasensor; Aquatic virus; Rapid virus detection

Harnessing *Bacteroidota*: A natural solution for aquaculture disease control

Yuying Xun,^{1,2} Zhe Hu,¹ Lin Su,¹ Pengbo Ji,¹ Zibo Wei,¹ Hidetoshi Kochi,^{1,2} Yukun Jiang,¹ Xinwei Ge,¹ Yongtao Zhu^{1*}

¹Department of Biosciences and Bioinformatics, School of Science, Xi'an Jiaotong-Liverpool University, Suzhou, Jiangsu, China

²Wisdom Lake Academy of Pharmacy, Xi'an Jiaotong-Liverpool University, Suzhou, Jiangsu, China

Abstract: Antibiotic resistance poses growing challenges to sustainable aquaculture, highlighting the need for environmentally friendly alternatives. *Flavobacterium* spp. and *Chitinophaga* spp., two members of the phylum *Bacteroidota*, were assessed for their potential in fish disease control. Crude culture supernatants showed strong inhibitory activity: addition of 25% (v/v) filtrates completely inhibited the growth of two common fish pathogens *Flavobacterium columnare* and *Flavobacterium psychrophilum*, which are the causative agents of columnaris disease and bacterial cold-water disease, respectively. The culture extracts also inhibited *Aeromonas salmonicida* and filamentous fungi, suggesting broad-spectrum antimicrobial potential. *In vivo* challenge assays confirmed the protective effects of these antimicrobial metabolites. Zebrafish infected with *F. columnare* displayed ~50% mortality in controls, but nearly 100% survival when treated with extracts or live cultures. Genetic analysis further linked these phenotypes to specific biosynthetic gene clusters. In *Flavobacterium* spp., deletion of candidate genes abolished antibacterial activity, while in *Chitinophaga* spp., we established the first gene editing system and deleted an antifungal gene, which eliminated the inhibitory phenotype. Overall, metabolites from *Bacteroidota* strains show broad-spectrum activity, *in vivo* efficacy, and genetically defined mechanisms, providing a promising green alternative to antibiotics in aquaculture.

Keywords: *Bacteroidota*; Aquaculture disease control; Antibiotic alternatives; Secondary metabolites; Genetic tools

Strategies for combating *Flavobacterium psychrophilum* and bacterial cold-water disease: Current progress and future perspectives

Yongtao Zhu*, Lin Su, Yuying Xun, Shuhan Lin, Zhe Hu, Xinwei Ge

Department of Biosciences and Bioinformatics, School of Science, Xi'an Jiaotong-Liverpool

University, Suzhou, Jiangsu, China

Abstract: *Flavobacterium psychrophilum* is the causative agent of bacterial cold-water disease (BCWD), which affects salmonids worldwide and leads to substantial economic losses in aquaculture. Current prevention strategies rely primarily on antibiotics, as no licensed vaccines or novel therapeutic agents are available. Genetic manipulation of *F. psychrophilum* has historically been challenging due to the presence of restriction-modification (R-M) defense systems, limiting advances in understanding its pathogenicity and developing new control measures. To overcome this, we developed a pre-methylation system that bypasses the restriction barriers, enabling efficient DNA transfer and genetic manipulation in multiple *F. psychrophilum* strains. Using this approach, we generated mutants lacking genes related to the type IX secretion system (T9SS), its regulatory pathway, and associated effector proteins. These mutants showed significantly reduced virulence in rainbow trout and represent promising candidates for live attenuated vaccines. Our results also indicate the T9SS and related components are attractive targets for novel antimicrobial drugs. In parallel, we explored the use of natural antimicrobial compounds as a sustainable alternative to conventional antibiotics. We identified several members of the phylum *Bacteroidota* whose metabolites strongly inhibit *F. psychrophilum* growth. These compounds have the potential to replace current antibiotics and mitigate the rise of antibiotic resistance. Collectively, these findings provide a foundation for the development of innovative strategies to control *F. psychrophilum* infections and reduce the impact of BCWD in global aquaculture.

Keywords: *Flavobacterium psychrophilum*; Bacterial cold-water disease; Type IX secretion system; Vaccines; Antimicrobial metabolites

IgY antibodies as a non-antibiotic approach to combat *Vibrio vulnificus* infection and gut microbiota dysbiosis in zebrafish

Duo Chen¹, Jingjing Yu¹, Jiapeng Wang, Zhenlu Li, Chenhuan Dong,

Yuanxin Liang, Yilin Huang, Youqiang Chen, Ting Xue, Chentao Lin *

Center of Engineering Technology Research for Microalga Germplasm Improvement of Fujian, Fujian Key Laboratory of Special Marine Bioresource Sustainable Utilization, The Public Service Platform for Industrialization Development Technology of Marine Biological Medicine and Products of the Department of Natural Resources, Fujian Normal University, Fuzhou, China

Abstract: This study investigates the protective effects of immunoglobulin Y (IgY) antibodies as a targeted treatment against *Vibrio vulnificus* infection in zebrafish (*Danio rerio*), focusing on survival — outcomes and microbiota modulation. IgY antibodies were generated by immunizing hens with inactivated *V. vulnificus*, purified from egg yolks, and administered to zebrafish via intraperitoneal injection, oral feeding, and immersion. Following IgY treatment, zebrafish were exposed to *V. vulnificus*, and survival rates were recorded. Gut microbiota composition was assessed using 16S rRNA gene sequencing. Results showed that IgY treatment significantly enhanced survival rates, with injected groups achieving up to 90 % survival compared to 40 % in untreated controls. Additionally, IgY-treated fish displayed favorable shifts in gut microbiota, including increased *Lactobacillus* and *Faecalibacterium prausnitzii* and reduced pathogenic genera such as *Vibrio* and *Aeromonas*. These findings highlight the dual benefits of IgY: pathogen-specific inhibition and microbiota-friendly modulation, supporting its potential as an antibiotic alternative in aquaculture. Future studies should optimize IgY dosing and evaluate its efficacy across diverse fish species.

Keywords: IgY; *Vibrio vulnificus*; Zebrafish; Gut microbiota; Non-antibiotic therapy

QuickProt: A Fast and Accurate Homology-Based Protein Annotation Tool for Non-Model Organism Genomes to Advance Comparative Genomics

Guisen Chen, Hehe Du, Zhenjie Cao, Ying Wu, Chen Zhang, Yongcan Zhou, Jingqun

Ao, Yun Sun^{*}, Zihao Yuan^{*}

Sanya Institute of Breeding and Multiplication, School of Marine Biology and Fisheries,

Collaborative Innovation Center of Marine Science and Technology, Hainan

University, Hainan, China

Abstract: The rapid growth of genome sequencing has outpaced the development of efficient annotation tools, especially for species lacking transcriptome data. To address this challenge, we present QuickProt, a fast, accurate, and user-friendly homology-based protein annotation tool. QuickProt constructs a non-redundant gene model by aligning homologous proteins from closely related species, offering an accurate and cost-effective solution suitable for large-scale comparative genomic studies. Benchmarking against BRAKER2 and GALBA across reference genomes demonstrated that QuickProt offers high specificity and dramatically improved runtime, while maintaining competitive annotation accuracy. To demonstrate its utility, we applied QuickProt to annotate genomes of Epinephelinae fishes and 11 Rutaceae plants. QuickProt enabled robust phylogenetic reconstruction, identification of conserved orthologs, and discovery of biologically relevant genes and pathways. Notably, it revealed a potential horizontal gene transfer event between groupers and *Vibrio*, and uncovered conserved modules involved in volatile oil biosynthesis and oil gland development in citrus. With its scalability and minimal computational demands, QuickProt provides a powerful platform for genome annotation and evolutionary inference. As the number of sequenced genomes continues to expand, QuickProt is a useful tool for accelerating comparative genomics and functional exploration across the tree of life.

Keyword: Gene prediction, Comparative genomics, Epinephelinae, Rutaceae

Dietary *Enterococcus faecalis* F2 enhances growth and alleviates hepatic and intestinal dysfunction in hybrid grouper under high-fat diet stress

Congjie Han, Shifeng Wang*, Yan Cai*

School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou, 570228, China

Abstract: A 56-day feeding trial was conducted to evaluate the effects of a lipid-lowering probiotic, *Enterococcus faecalis* F2, on growth performance and high-fat diet (HFD)-induced hepatic and intestinal dysfunction in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♂ × *Epinephelus lanceolatus* ♀). A total of 360 juveniles (46.74±9.48 g) were randomly allocated to four groups (three tanks per group, 30 fish per tank): (1) control diet with sterile PBS (C), (2) control diet with *E. faecalis* F2 at 1.0×10^8 CFU/g (CF), (3) HFD with sterile PBS (H), and (4) HFD with *E. faecalis* F2 at 1.0×10^8 CFU/g (HF). Compared to the control group, fish fed the HFD (H group) showed significantly higher final body weight (W_t , $P=0.010$), feed conversion ratio (FCR, $P<0.001$), and viscerosomatic index (VSI, $P<0.001$), along with elevated hepatic lipid accumulation and increased levels of AST ($P<0.001$), ALT, TG, and LDL-c ($P<0.001$). Additionally, intestinal villus length (VL, $P=0.001$) and goblet cell (GC) density ($P<0.001$) were markedly reduced. Dietary *E. faecalis* F2 supplementation significantly decreased FCR and VSI in both CF and HF groups ($P<0.001$). In the HF group, it also enhanced total esterase (TE) activity, HDL-c levels, VL, GC density, and muscularis thickness (all $P<0.001$) compared to the H group. Moderate improvements in liver and intestinal histology were observed in the CF group ($P<0.05$), indicating baseline probiotic benefits. 16S rRNA sequencing revealed that HFD induced gut dysbiosis, with increased abundance of Desulfobacterota and a higher proportion of Gram-negative, biofilm-forming, and potentially pathogenic bacteria (all $P<0.01$). In contrast, *E. faecalis* F2 supplementation significantly enriched beneficial Firmicutes, particularly *Lactobacillus* and *Enterococcus*, while reducing harmful genera such as *Burkholderia*–*Caballeronia*–*Paraburkholderia* ($P<0.05$). Untargeted metabolomic profiling showed that HFD activated ferroptosis-related pathways and suppressed the production of anti-inflammatory tryptophan metabolites, including indole-3-acetaldehyde and kynurenate. These disruptions were significantly reversed in the HF group, suggesting that *E. faecalis* F2 restored intestinal metabolic homeostasis by modulating lipid metabolism, reducing lipid peroxidation, and enhancing tryptophan-mediated mucosal immunity. Overall, these findings highlight *E. faecalis* F2 as a promising functional probiotic for improving metabolic health in intensive aquaculture systems through targeted dietary intervention.

Keywords: high-fat diet, *Enterococcus faecalis* F2, gut microbiota, ferroptosis;

Segment-specific immune responses and microbial dynamics in the gut of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) following viral infection

Jingyun Tian¹, Xinyou Wang², Qiushi Zhang², Gaofeng Cheng², Zhen Xu² and Weiguang Kong^{2*}

¹ Marine Science Research Institute of Shandong Province (National Oceanographic Center, Qingdao); ² Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Science.

Abstract: The intestine serves as a critical organ for both nutrient absorption and immune defense, with distinct functional compartmentalization among foregut, midgut, and hindgut segments. While segment-specific immune-microbiota interactions have been well characterized in mammals, teleost fish are often studied with the intestine treated as a homogeneous organ, leaving the regional immune responses poorly understood. In this study, we investigated the segment-specific immune and microbial alterations in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) following infection with largemouth bass virus (LMBV), a pathogen causing severe economic losses in aquaculture. Using transcriptomic analysis and 16S rRNA sequencing, we systematically characterized the immune responses and gut microbiota composition across the foregut, midgut, and hindgut. The results revealed that hindgut exhibited stronger antibacterial and anti-inflammatory responses, which were beneficial for maintenance of mucosal homeostasis and a more stable microbial community. In contrast, the foregut and midgut exhibited significant alterations in the abundance of metabolism-associated microorganisms. Collectively, our findings revealed distinct immune and microbial profiles across intestinal segments and highlighted their strong correlation. This study provides novel insights into the mucosal immunology of teleost fish, highlighting the importance of intestinal segment-specific responses in pathogen defense. The findings establish a foundation for developing targeted gut health management strategies in aquaculture, with potential applications in preventing LMBV and other enteric infections.

Keywords: Immune response, Gut microbiota, LMBV, Transcriptomics, 16S rRNA sequencing

Gill tissue-specific expression strategy of the neutralizing antibody gene for continuous antiviral activity

Liang Zhao, Xue-Feng Wei, Zhao Zhao, Jun-Yao Xia, Yu-Ya Li, Bin Zhu*

College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University College of Animal Science and Technology, Yangling, 712100, China

Abstract: Fisheries constitute a cornerstone industry for global food security and nutritional supply. The repeated emergence of diseases substantially impacts the supply of high-quality aquatic protein, thereby threatening the stability of the food security system. In this context, we used phage display technology to construct an antibody library and isolate a fish-derived single-chain variable fragment antibody (scFv-1) that exhibits a high affinity for spring viremia of carp virus (SVCV). Evaluations at both cellular and individual levels demonstrated that these antibodies effectively neutralize the virus and enhance survival rates. Furthermore, through bioinformatic analysis and alanine scanning mutagenesis, we identified the specific neutralizing epitopes recognized by these antibodies. Building upon this foundation, we employed CRISPR-Cas9 technology to generate transgenic fish lines capable of gill-specific expression of the *scFv-1* gene. Subsequent viral challenge experiments revealed that the *scFv-1* gene is expressed specifically in the gill tissue, and this expression is heritable and sustained. This approach reinforces the first line of immune defense, resulting in a substantial enhancement in the survival rates of knock-in individuals and their offspring. Crucially, this strategy circumvents the need for repeated passive immunization. These findings not only provide a novel methodology for the prevention and control of aquatic diseases but also offer new perspectives for safeguarding national food security and implementing the all-encompassing approach to food.

Keywords: viral diseases, single-chain antibodies, CRISPR-Cas9, gene therapy

Siglec7 functions as an inhibitory receptor of non-specific cytotoxic cells and can regulate the innate immune responses in a primitive vertebrate (*Oreochromis niloticus*)

Zhiqiang Zhang, Xing Li, Meiling Huang, Yongxiong Huang, Yu Huang, Jichang Jian*

College of Fishery, Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of

Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture, Zhanjiang, China

Abstract: In mammals, siglec7, an integral component of the siglecs, is principally found on the surface of natural killer (NK) cells, macrophages, and monocytes, where it interacts with various pathogens to perform immunological regulatory activities. Nonetheless, the immune defense and mechanism of siglec7 in early vertebrates remain unknown. In this study, we identified siglec7 from *Oreochromis niloticus* (OnSiglec7) and revealed its immune functions. Specifically, OnSiglec7 was abundantly expressed in immune-related tissues of healthy tilapia and its transcription level was strongly activated after being challenged with *A. hydrophila*, *S. agalactiae*, and Poly: IC. Meanwhile, OnSiglec7 protein was purified and analyzed, which could recognize multiple pathogens through binding and agglutinating activity. Moreover, OnSiglec7-positive cells were mainly distributed in non-specific cytotoxic cells (NCC) of tilapia HKLs and showed cell membrane localization. Furthermore, OnSiglec7 blockage affected multiple innate immune responses by regulating the activation of MAPK, NF- κ B, TLR, and JAK-STAT pathways. Finally, OnSiglec7 blockage also greatly enhanced the cytotoxic effect of tilapia NCC. Summarily, this study uncovers immune functions and mechanisms of siglec7 in primitive vertebrates, thereby enhancing our understanding of the systemic evolution and ancient functions of other siglecs within the host's innate immune system (to our knowledge).

Keywords: Siglec7; Nile tilapia; Non-specific cytotoxic cells; Innate immunity

Rapid visual detection of *Micropterus salmoides* rhabdovirus by reverse transcription multienzyme isothermal rapid amplification combined with lateral flow dipstick

Xuemei Yuan¹, Sunjian Lyu², Jing Chen¹, Jinbiao Jiao¹, Lei Huang¹, Lingyun Lin¹, Xiaoyi Pan¹, Xianqi Peng¹, and Jiayun Yao^{1*}

¹Agriculture Ministry Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture, Key Laboratory of Fish Health and Nutrition of Zhejiang Province, Key Laboratory of Fishery Environment and Aquatic Product Quality and Safety of Huzhou City, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou, China

²Institute of Hydrobiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, China

Abstract: Objective: The larvae death caused by the infection of *Micropterus salmoides* rhabdovirus (MSRV) has seriously affected the development of the Largemouth Bass *Micropterus nigricans* industry. Therefore, it is necessary to establish a fast, convenient, and sensitive detection method to detect MSRV-positive fish quickly and control virus transmission.

Methods: In this study, primers and probes were designed based on the G gene of MSRV. Through primer screening, specificity, sensitivity, and repeatability tests, a reverse transcription multienzyme isothermal rapid amplification (RT-MIRA) combined with the lateral flow dipstick (LFD) method was established. Additionally, we applied this method and the published reverse transcription-polymerase chain reaction method to simultaneously detect clinical samples.

Results: The reaction temperature was 42°C, and the total duration of the entire detection process was 35 min. The specificity test revealed that the MSRV could be specifically detected and had no cross-reaction with other common susceptible pathogens of fish. The sensitivity test indicated that the detection limit for recombinant plasmid standard was 10² copies/μL. The repetitive test showed that this method had good reproducibility. There was no significant difference between the results of RT-MIRA-LFD and RT-PCR.

Conclusions: The RT-MIRA-LFD established in this study for detecting MSRV is fast, simple, highly sensitive, and highly specific, without the need for precise or expensive equipment. Therefore, it is suitable for resource-limited laboratories and on-site detection.

Keywords: detection method, lateral flow dipstick, *Micropterus salmoides* rhabdovirus, reverse transcription multienzyme isothermal rapid amplification

Sex-specific disease resistance and gut microbiota dynamics in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) following viral infection

Peng Yang¹, Chang Cai¹, Yong Shi, Guanghui Chen, Qianqian Zhang, Gaofeng Cheng, Gang Zhai, Zhan Yin, Weiguang Kong*, Zhen Xu**

State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology,
Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072, China

Abstract: Sex-specific differences in disease resistance are well-documented in vertebrates, with immune responses often influenced by sex hormones and other physiological factors. However, the relationship between gut microbiota and immunity in driving these differences is not fully understood, particularly in non-mammalian vertebrates such as teleost fish. This study explores the role of sexual dimorphism in gut immunity and microbiota dynamics in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) following infection with the spring viremia of carp virus (SVCV). Using transcriptomic analysis and 16S rRNA sequencing, we assessed gut microbiota and immune responses in male, female, and all-female carps. Females exhibited heightened antiviral and inflammatory responses, which were associated with significant bacterial translocation and microbial dysbiosis. In contrast, males showed greater disease resistance and maintained a more stable gut microbiota. These results emphasize the crucial role of gut microbiota in mediating sex-specific disease resistance and provide valuable insights into the mechanisms underlying immunological dimorphism in teleost fish. These findings hold important implications for improving aquaculture management and developing targeted disease control strategies.

Keywords: sexual dimorphism, immune response, gut microbiota, common carp (*Cyprinus carpio*), transcriptomics, 16S rRNA sequencing

Dual-CRISPR/Cas12a-assisted RT-RAA visualization system for rapid on-site detection of nervous necrosis virus (NNV)

Jie Gao¹, Siyou Huang¹, Jing Jiang, Qijin Miao, Rui Zheng, Yiling Kang, Wanting Tang, Hongliang Zuo, Jianguo He^{**}, Junfeng Xie^{*}

State Key Laboratory of Biocontrol, Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhuhai), China-ASEAN Belt and Road Joint Laboratory on Mariculture Technology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, China

Abstract: Nervous necrosis virus (NNV) poses a severe threat to the aquaculture industry, particularly infecting fish fry with devastating mortality rates and inflicting heavy economic losses. Traditional detection methods, such as cell culture and conventional RT-PCR, are not only time-consuming and require specialized laboratory facilities but also hard to eliminate contamination. Rapid and accurate on-site detection methods in aquaculture settings are crucial for effective control of NNV outbreaks in fish farms. This study developed a one-tube visualization system for rapid and precise identification of NNV in a pond-side setting. This system utilizes the dual-clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/Cas12a-assisted reverse transcription-recombinase aided amplification (RT-RAA) detection method, employing fluorescence intensity to indicate positive results for easy interpretation by field operators. The key to this system involved the meticulous selection of RT-RAA primer sets and CRISPR RNA (crRNA) primer sets targeting two genes of NNV, the capsid protein (CP) and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), distributing on two particles of genomic sequences. The assay demonstrated a speed and efficiency process within 30 min and a detection limit of 0.5 copies/ μ L, achieving 100 % accuracy when compared to qRT-PCR. The practical utility and effectiveness were validated by using 32 field samples. The results underscored the simplicity, rapidity, and reliability of the system, confirming its potential as a robust tool for NNV diagnosis in fish farms. This study introduces the first application of a dual-CRISPR/Cas12a-assisted RT-RAA visualization system for diagnosing NNV infections. The novel approach substantially enhances on-site diagnostic capabilities, offering a rapid, reliable, and cost-effective solution for fish farm operators. This innovation not only streamlines the detection process but also ensures timely intervention, thereby mitigating the impact of NNV on aquaculture.

Keywords: Nervous necrosis viruses (NNV); Dual-CRISPR/Cas12a; RT-RAA; Fluorescent

Catalase is a critical virulence factor in *Aeromonas schubertii* infection of Snakehead Fish (*Channa argus*)

Mengzhen Jiang, Chun Liu*

College of Animal Sciences and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering,
Guangzhou 510225, China

Abstract: *Aeromonas schubertii* is an emerging fish pathogen causing visceral nodules and high mortality in snakehead (*Channa argus*), but the molecular basis of its virulence remains poorly understood. The catalase detoxifies host-derived H₂O₂ and may thus be critical for pathogenesis. Here, we constructed an isogenic catalase-deficient mutant (*Δcat*) and its complemented strain (*C-cat*) to evaluate catalase contribution. The results showed deletion did not affect growth or colony morphology but significantly reduced catalase activity, decreased hydrogen-peroxide tolerance more than 100-fold, and impaired survival at mildly acidic pH 6. In RAW264.7 macrophages, *Δcat* showed 5-fold lower intracellular survival after 6 h, while *C-cat* partially restored this defect. During immersion challenge of juvenile snakehead, cumulative mortalities at 14 days were 75 % for wild-type WL-2, 20 % for *Δcat*, and 55 % for *C-cat*, while histopathology revealed markedly fewer necrotic nodules in *Δcat* -infected fish. These findings demonstrate that CAT-mediated catalase activity is indispensable for oxidative stress resistance, intracellular persistence and full virulence of *A. schubertii*, and highlight catalase as a potential therapeutic target in aquaculture disease control.

Keywords: *Aeromonas schubertii*; Catalase; Snakehead fish; Oxidative stress; Virulence

IL-6/STAT3 axis is hijacked by GCRV to facilitate viral replication via suppressing type I IFN signaling

Liang Hu, Yang Xu, Tiaoyi Xiao, Hongquan Wang, Junhua Li*

College of Fisheries, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: Grass carp reovirus (GCRV) infections and hemorrhagic disease (GCHD) outbreaks are typically seasonally periodic and temperature-dependent, yet the molecular mechanism remains unclear. Herein, we depicted that temperature-dependent IL-6/STAT3 (interleukin 6/signal transducer and activator of transcription 3) axis was exploited by GCRV to facilitate viral replication via suppressing type I IFN (interferon) signaling. Combined multi-omics analysis and quantitative real-time PCR identified IL-6, STAT3, and IRF3 (interferon regulatory factor 3) as potential effector molecules mediating GCRV infection. Deploying GCRV challenge at 18°C and 28°C as models of resistant and permissive infections and switched to the corresponding temperatures as temperature stress models, we illustrated that IL-6 and STAT3 expression, genome level of GCRV, and phosphorylation of STAT3 were temperature dependent and regulated by temperature stress. Further research revealed that activating IL-6/STAT3 axis enhanced GCRV replication and suppressed the expression of IFNs, whereas blocking the axis impaired viral replication. Mechanistically, grass carp STAT3 inhibited IRF3 nuclear translocation via interacting with it, thus down-regulating IFNs expression, restraining transcriptional activation of the IFN promoter, and facilitating GCRV replication. Overall, our work sheds light on an immune evasion mechanism whereby GCRV facilitates viral replication by hijacking IL-6/STAT3 axis to down-regulate IFNs expression, thus providing a valuable reference for targeted prevention and therapy of GCRV.

Keywords: grass carp reovirus; temperature-dependent; IL-6/STAT3 axis; type I IFN

主办单位

中国水产学会

承办单位

中国水产学会鱼病专业委员会

福建农林大学

中国科学院水生生物研究所

农业农村部水产养殖病害防治专家委员会

福建省水产学会

福州市科学技术协会

协办单位

广州利洋水产科技股份有限公司

广东海大集团股份有限公司

福州海马饲料有限公司

海水养殖生物育种全国重点实验室

国家海水鱼产业技术体系

中国移动通信集团福建有限公司

华为技术有限公司福建代表处

支持单位

福建昌永科技发展有限公司

上海海圣生物实验设备有限公司

郑州渔农生物科技有限公司

武汉迈思生物科技有限公司

河北明睿环保设备有限公司

厦门惠盈动保集团有限公司

洛阳希望生物科技有限公司

博格德生物科技（武汉）有限公司

Fish and Shellfish Immunology编辑部

合作媒体

中国新闻社

福建日报

