海水网箱养殖高体量弧菌病病理学研究

PATHOLOGICAL STUDIES ON THE VIBRIOSIS OF MARINE CAGE CULTURED SERIOLA DUMERILI

吴后波 潘金培

WU Hou-Bo, PAN Jin-Pei

(中国科学院南海海洋研究所,广州 510301)

(South China Sea Institute of Oceanology, CAS, Guangzhou 510301)

关键词 高体鰤, 弧菌病, 病理学, 网箱

KEYWORDS Seriola dumerili, Vibriosis, Pathology, Cage

高体鰤(Seriola dumerili)弧菌病是流行于广东、海南等沿海地区高体鰤网箱养殖场的一种由弧菌属细菌引起的传染病,每年春夏之交、秋季发病达高峰,严重发病时死亡率可达 90%以上,危害十分严重。我们在调查了其流行规律、明确其致病菌是哈维氏弧菌(Vibrio harveyi)[吴后波和潘金培 1997]的基础上,为了全面查明其发病机理,找到更加有效的防治方法,对其血液病理及组织病理进行了研究。

1 材料与方法

试验用鱼:健康鱼取自广东省深圳市南澳镇东山村海水网箱养殖场,平均体重 45g 体长 14cm, 病鱼由健康鱼经致病菌人工感染所得。

血清的制备:用注射器从心脏穿刺采血,经离心后吸取血清,分装于小指管,低温保存供测试用。

血清生化指标测定: 血清的钠、钾、氯等离子以及葡萄糖、总蛋白含量、尿素氮、乳酸脱氢酶(LDH)、谷 丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)等指标均采用 IL— Monarch—2000型血液生化自动测定仪进行测定。全部数据经生物统计法进行整理。

红细胞计数: 用红细胞稀释液[许学龙等 1982] 将血液稀释 200 倍, 用 Neubauer 计数板计数。用 3.8%的柠檬酸钠作抗凝剂。

白细胞计数及白细胞分类计数:用白细胞稀释液[许学龙等 1982]将血液稀释 200 倍,用 Neubauer 计数板计数。白细胞分类依照细胞的形态以及白细胞核染色后的形态、大小进行。

病理组织切片制备及电镜观察:取病鱼的肝、脾、肾、心脏以及肌肉组织,用戊二醛组织固定液固定。按常规方法超薄切片,并于 CM10—Philips 型透射电子显微镜下观察。

2 结果

2.1 血清生化指标

对健康鱼和病鱼血清主要的生化指标进行测定与比较(表1)。

中国科学院"九五"重点支持项目资助, KZ952—S1—415 号, 广东省自然科学基金重点项目资助, 963029 号。 收稿日期: 1997-12-08

p < 0.050

p < 0.001

Tab. 1 Biochemical comparisons between the serum of healthy and diseased fish			
测定项目	健 康 鱼	鱼 病	Р
	$X \pm SD(10)$	$X \pm SD(10)$	
钠(mmol/L)	220. 16 ± 3 . 01	240.43 ± 40.50	p> 0.050
钾(mmol/L)	6. 88 ± 1.40	8.38 ± 0.20	$p \le 0.001$
氯(mmol/L)	151. 21 ± 18.33	230.35 ± 56.20	p > 0.050
葡萄糖(mmol/L)	17. 35 ± 0.56	4.55 ± 1.12	p< 0.001
尿素氮(mmol/L)	3.35 ± 0.67	4.56 ± 0.11	p< 0.001
总蛋白含量(G/L)	48. $52\pm1.$ 12	15.57 ± 1.30	p< 0.001
乳酸脱氢酶(IU/L)	250. 31 ± 114.01	773.63 ± 74.26	p < 0.050

 15.61 ± 1.59

 170.23 ± 7.56

表 1 健康鱼和病鱼血清主要生化指标比较

2.2 血液有形成分的比较

谷丙转氨酶(IU/L)

谷草转氨酶(IU/L)

病鱼与健康鱼红细胞与白细胞的比较(表2)。

表 2 病鱼与健康鱼红细胞与白细胞的比较

 3.37 ± 1.25

50.55 \pm 18.35

健康鱼 鱼 病 测定项目 P X±SD(10) $X \pm SD(10)$ 红细胞(万/mm²) 180. $33 \pm 11. 21$ 50. 3 ± 7.46 P< 0.05 白细胞(万/mm²) 2.83 ± 0.33 11. 71 ± 0.49 P< 0.001 嗜中性白细胞 54 73 淋巴细胞 99 42 单核细胞 5 4

Tab. 2 The comparisons of the number of RBC and WBC between healthy and diseased fish

注: 表中除红细胞、白细胞外,均以%表示。

2.3 病变组织超微结构观察

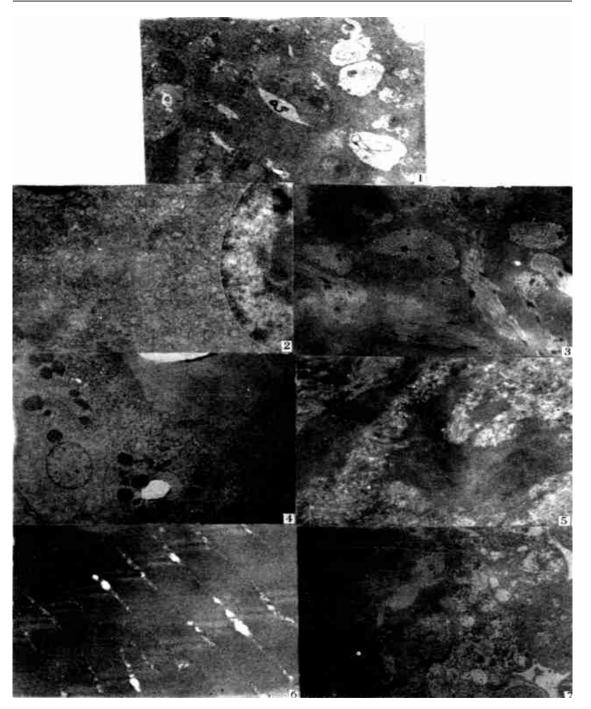
病鱼肝实质结构破坏明显, 肝细胞混浊肿胀, 细胞界限不清, 有的细胞空泡变性; 线粒体数量减少, 常见的改变为嵴变短或断裂且排列紊乱; 初级溶酶体减少, 次级溶酶体增多(图版-1, 图版-2 为对照)。

病鱼的脾脏巨噬细胞增多, 胶原纤维增多, 局部纤维化。有的地方颗粒变性, 淋巴细胞的核固缩。造血组织遭到破坏(图版—3)。

病鱼肾脏的肾小管上皮细胞混浊肿胀,内含大小不等的空泡。间质细胞、红细胞、白细胞、巨噬细胞的数量均减少,溶酶体增多。肾实质中造血组织严重损伤,肾小管上皮细胞游离面刷状缘纤毛排列紊乱、断裂,有的萎缩消失(图版-4)。

正常鱼骨骼肌肌束排列整齐有序,而病鱼骨骼肌肌束排列紊乱,肌纤维肿胀,有的明显死亡,胶原产物和疏松结缔组织成分明显增多,局部发生玻璃样变性(图版-5,图版-6为对照)。

病鱼心肌的肌纤维排列紊乱, 部分坏死, 肌细胞线粒体峭断裂、消失且排列紊乱, 并呈绒团样变性和空泡变性(图版一7)。



图版 Plate

1. 肝细胞空泡变性, \times 2 200。 2. 正常肝细胞, \times 2 200。 3. 脾组织局部纤维化,颗粒变性, \times 6 610。 4. 肾小管上皮细胞混浊肿胀,上皮细胞游离面刷状缘萎缩消失, \times 3 900。 5. 骨骼肌肌束排列紊乱,肌纤维肿胀,胶原产物和疏松结缔组织成分明显增多, \times 6 610。 6. 正常骨骼肌肌束排列情况, \times 6 610。 7. 心肌排列紊乱,部分坏死,线粒体绒团样变性和空泡变性, \times 3 900。

3 讨论

病鱼血清中钾离子以及尿素氮、乳酸脱氢酶(LDH)、谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)等指标均非常显著地高于健康鱼,而葡萄糖与总蛋白含量又明显地低于健康鱼,这表明病鱼的肝、脾、肾等器官的功能不全。通过病变组织超微结构的观察,可以更进一步看到病变组织细胞水平上的结构变化,从而揭示组织病变与血清中电解质病变的因果关系,找到病原菌致死高体鰤的原因。

肝脏是最大的、也是最有用的消化腺。在机体的代谢作用中占相当重要的位置,肝糖元的合成与储存、蛋白质的合成均在肝脏中完成。病鱼的肝组织发生严重的病变,影响到肝糖元与蛋白质的合成,因而病鱼血清中葡萄糖、蛋白质的含量明显低于健康鱼,同时也导致病鱼血清中谷丙转氨酶(GPT)含量的升高。

肾脏是鱼体的排泄器官,同时也参与鱼体内渗透压的调节[朱心玲等 1991]。肾小管发生病变,对钠、氯离子以及尿素氮的滤过与再吸收比例失调,导致血清中钠、氯离子以及尿素氮的浓度过高,这样不仅打破了鱼体内、外的渗透压平衡,而且还引发尿毒症,这可能是加速鱼体死亡的原因之一。

肾脏与脾脏是鱼体的造血器官,病鱼肾脏与脾脏的造血组织均遭到破坏,造血功能衰退,导致贫血。此外,皮肤溃烂的慢性出血以及病原菌可能产生某种强力的溶血性毒素,皆能导致鱼体贫血。贫血可能是加速鱼体死亡的另一个原因。

除肝、脾、肾等器官损伤坏死外,骨骼肌与心肌的肌纤维也部分损伤坏死,这些是导致病鱼血清中乳酸脱氢酶(LDH)、谷草转安酶(GOT)[米瑞芙等 1993]等细胞内酶含量升高的直接原因。

综上所述, 高体鰤受病原菌感染致病后, 不仅产生皮肤溃烂等炎症反应, 而且肝、脾、肾等内部功能器官也发生相应的病变, 鱼体机能代谢紊乱, 导致血清电解质产生病变, 从而引发尿毒症和贫血症的产生, 最终加速 鱼体死亡.

参考文献

朱心玲, 贾丽珠, 张明瑛. 1991. 草鱼血液学的研究 II. 血清电解质和尿素氮的周年变化. 水生生物学报, 15(3); 220~226 许学龙, 熊国强, 缪圣赐(译). 1982. 鱼类血液与循环生理. 上海; 科学技术出版社. 35~36 米瑞芙, 陶炳春, 王晓梅等. 1993. 鲢鱼败血症血液生理指标的变化. 淡水渔业, 23(4); 16~19 吴后波, 潘金培. 1997. 海水网箱养殖高体鰤弧菌病致菌研究. 水产学报, 21(2); 215~220