

文章编号:1000-0615(2004)04-0438-05

## 青虾“红体病”组织病理学观察

邵晓阳<sup>1</sup>, 叶雪平<sup>2</sup>, 胡建饶<sup>1</sup>, 金 柘<sup>1</sup>

(1. 杭州师范学院生物系, 浙江 杭州 310036; 2. 浙江省淡水水产研究所鱼药厂, 浙江 湖州 313001)

**摘要:**用连续切片的方法对患有红体病的青虾进行组织病理学研究, 结果表明患病青虾鳃部、肌肉组织和肝胰腺部位病症比较明显, 不同患病阶段组织变形差异显著。鳃片细胞在患病初期表现为胞质收缩, 后期则细胞膨胀破裂, 细胞内物质外溢, 细胞边缘界限不完整; 肌肉组织在后期出现肌纤维束之间间隙, 且部分肌纤维有断裂的现象; 中期肝小叶间隔出现空隙和腺细胞变形, 在后期则表现为小叶溃烂。造成青虾因红体病死亡的原因, 初期主要是因为鳃片的组织病变导致呼吸困难, 进而造成青虾生理异常; 后期主要是因为肝胰腺的溃烂造成消化功能全面丧失。

**关键词:**青虾; 红体病; 组织病理学; 拟态弧菌

**中图分类号:**R361+.2; S945.1 **文献标识码:**A

## Observations on the histopathology of red body disease in *Macrobrachium nipponense*

SHAO Xiao-yang<sup>1</sup>, YE Xue-ping<sup>2</sup>, HU Jian-rao<sup>1</sup>, JIN Zhe<sup>1</sup>

(1. Department of Biology, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China;

2. Aquaculture Pharmaceutical Company, Zhejiang Institute of Fresh Water Fisheries, Huzhou 313001, China)

**Abstract:** Red body disease is a common epidemic of the farmed blue shrimp (*Macrobrachium nipponense*). The pathogen is identified as *Vibrio mimicus*. The characteristics of this disease include high infection and mortality as well as causing an outbreak in large areas etc. Histological pathology investigations were conducted by the continuous sections method, together with morphological observation, to analyze the disease mechanisms. Organs samples such as gill, hepatopancreas and muscle were collected from diseased shrimps. Results showed that the histological changes in certain organ of various developmental periods of the disease were significantly different; the external symptoms were much related to the pathological conditions. In the early period of infection, the cytoplasm of gill cells begin to contract, and later the cells become swelling and burst, which cause the substance in the cell to exude through incomplete boundary. Muscle fibers become separated or even fractured in muscular tissue of a typical diseased shrimp; In the middle period of infection, some disconnection areas between hepatic lobules appear, the gland cells become deformed, and finally further infection cause the hepatic lobules to ulcerate. It could be concluded that reasons for shrimp kills are mainly resulted from the pathological changes of gill and hepatopancreas. In the early infectious stage, gills are attacked, leading to respiration difficulty and physiological disorder. In the late period, hepatopancreas ulcer is involved which causes the malfunction of

收稿日期: 2002-12-30

资助项目: 浙江省湖州市科技局重点科技攻关项目(2000GN04)

作者简介: 邵晓阳(1960-), 男, 浙江江山人, 副教授, 主要从事水产养殖动物组织学、生理生态学研究。Tel: 0571-88804115, E-mail: shaoyhz@sohu.com

digestive system. Therefore, using the antibiotics or chemicals in the early stage to control *Vibrio mimicus* infection and prevent the gill and alimentary canal from further infection may be a proper therapy to the red body disease.

**Key words:** *Macrobrachium nipponense*; red body disease; histopathology; *Vibrio mimicus*

青虾 (*Macrobrachium nipponense*) 是一种重要的淡水经济养殖品种,近年来随着青虾养殖规模的扩大,经常有患病情况出现,其中“红体病”就是比较常见的一种病。该病主要危害对象是 4cm 以上的成体青虾,具有传染性强、患病面积广和死亡率高的特点。每年 4-11 月是流行季节,患病高峰为 5-6 月和 9-10 月,患病率在 40%~60%,最高可达 90%。死亡率约为 30%~40%,最高可达 90% 以上。据研究表明,引发青虾红体病的病原体为拟态弧菌 (*Vibrio mimicus*),弧菌的致病作用是因为它们能产生一些胞外毒素和具有酶作用的物质<sup>[1,2]</sup>。有关弧菌对养殖虾蟹的病害研究已有较多的报告,主要侧重于研究弧菌种类、数量及水温等对虾蟹致病率的影响<sup>[3,4]</sup>,组织病理学的研究工作开展相对缺乏<sup>[5-7]</sup>。本文比较不同患病时期青虾主要感染部位鳃、肝胰脏、肌肉的组织病理学特征,分析拟态弧菌的致病机理,为青虾红体病的防治提供理论依据。

## 1 材料与方 法

研究用的患病青虾与正常青虾于 2001 年 5 月至 10 月取自湖州市下昂镇养殖户虾塘(养殖面积为 6.7hm<sup>2</sup>,养殖池水深 50cm,放养密度为 6 × 10<sup>5</sup> ind · hm<sup>-2</sup>) 和云巢乡养殖户虾塘(养殖面积 6.7hm<sup>2</sup>,养殖池水深 50cm,放养密度为 6 × 10<sup>5</sup> ind · hm<sup>-2</sup>)。患病青虾体长 4~6cm。患病时间为 5 月下旬至 9 月上旬,每日病死青虾约 20kg。患病青虾体长 4~6cm,组织病理学研究以青虾的鳃、肌肉、肝胰脏为主,并取同期正常青虾相同部位作为对照。

材料先用 Bouin 氏液固定 24h,然后移至 70% 酒精溶液保存。切片脱水后用 Ehrlich 氏液染色,再用 H-E 复染。使用 Olympus 数码显微成像系统观察感染部位组织结构、细胞形态的变化,照片物镜放大倍数为 40 倍。

## 2 结 果

青虾的鳃为叶鳃,纵向切片,鳃呈丝状,正常

虾的鳃丝完整,其边缘界限清晰,细胞结构正常(图版-1)。患病初期,鳃丝细胞膜有突起,细胞边缘部分因细胞质收缩而呈透明状,但鳃轴组织细胞完整,未见有膨大现象(图版-2)。患病后期,鳃丝细胞明显膨大,组织边缘界限不完整,细胞多数破裂,细胞核有溢出细胞外的现象;鳃丝粗细不均,鳃细胞核也有膨大现象,H-E 染色较对照组颜色要深(图版-3)。

青虾肝胰脏均呈规则小叶状。正常肝胰脏的腺细胞,幼虾期为柱状,细胞核靠近中央静脉区;成体时,腺细胞核多数移至靠近小叶间隔结缔组织,腺细胞中央因具有大型空泡而使肝小叶呈网格状(图版-4)。初期患病青虾的肝小叶仍能够保持正常的完整形状,小叶中央静脉区与结缔组织中的动脉血管仍比较明显,与正常肝小叶不同,小叶间结缔组织出现较大的裂隙,单核分泌细胞明显比多核分泌细胞数量要多,具有空泡的分泌细胞的数量与对照组减少,而且空泡比正常细胞要小(图版-5)。随着青虾红体病的感染程度加剧,小叶间的空隙增大,小叶间结缔组织也逐渐溃解,只能从分泌细胞的排列与中央静脉区的位置辨认小叶的形状。到患病后期,分泌细胞呈分散分布,空泡因破裂已不存在,中央静脉区、小叶间隔的界限不清或消失;细胞核处于残存的细胞质中央,核保持完整。小叶间隔结缔组织中,小叶间隔中的动脉已完全破裂(图版-6)。

在显微图像处理系统中,对初期、中期患病青虾肝小叶间隔的空隙最宽与最窄处的距离用目微尺进行测量,并对测得的数据统计处理(见表 1)。

表 1 青虾肝胰脏小叶间空隙显微测量统计

Tab.1 Micromasure and statistics on the interlobular septum space of *M. nipponense* hepto-pancreas  $\mu\text{m}$

	测量数量 measured no.	患病初期 initial stages (mean ± SD)	患病中期 middle stages (mean ± SD)
最短 shortest distance	14	4.56 ± 0.86	8.35 ± 1.23
最长 longest distance	14	26.29 ± 3.53	40.01 ± 3.64

患病初期与患病中期青虾肝胰脏小叶间空隙最短距离存在极显著差异(ANCOVA,  $F_{1,26} = 82.39, P < 0.01$ );同样患病初期与患病中期青虾肝胰脏小叶间空隙最大距离也存在极显著差异(ANCOVA,  $F_{1,26} = 95.36, P < 0.01$ )。

对照组青虾得的肌束间紧密,肌纤维呈连续排列状。肌肉组织在患病初期就开始部分出现肌束间的分离现象(图版-7)。随患病程度的加重,肌束之间的空隙增加,并出现肌束断裂,横切显示肌束因为断裂而呈块状分散分布(图版-8)。

### 3 讨论

青虾红体病的初期症状主要表现为步足关节外呈浅红色,头部触角有似腐蚀性小黑斑。之后,患病青虾体表出现红斑是该病的典型症状。红斑多为鲜红色,大小不一,少数患病青虾出现紫黑色,红斑多位于后背及两侧甲壳上,尾扇上也时有出现。部分患病青虾的肝胰腺呈红色(在水中呈现红头状)。病重时,虾体全身发红。青虾感染该病后,摄食明显减少,活动迟缓;肌肉色泽混浊,失去光泽。对于青虾红体病目前尚缺乏有效的治疗方法,这与缺少该病的病理学研究,施用的药物针对性不强有关。

与患病青虾形态学观察相结合,进行组织病理学研究青虾患病机理,以确定外部症状与内部组织病理的对应关系。青虾鳃部受拟态弧菌(*Vibrio mimicus*)的侵染最早出现病理异常,这可以从鳃丝在患病初期就出现部分鳃细胞细胞质收缩,细胞边缘部分透明、轻微突起得到证实。患病青虾早期因为鳃丝的组织病变而影响其正常的呼吸代谢,行为上因此表现为活动迟缓。从患病青虾鳃组织的变化可以得出结论:早期患病青虾因感染而死亡的主要原因是拟态弧菌侵染鳃部组织后分泌的物质引起鳃丝细胞胞质异常收缩、细胞膜突起,进而影响虾体的正常呼吸代谢。后期鳃丝细胞膜破裂,表明鳃已完全失去呼吸的功能。

青虾的肝胰脏的主要构成是肝脏组织,胰脏呈弥散型分布在肝组织周围<sup>[8]</sup>。对正常青虾的肝胰脏连续组织切片观察,没有观察到完整的胰脏结构,主要是肝小叶结构。早期患病青虾的肝胰脏组织切片表明:拟态弧菌对肝胰脏的侵染,在早期对肝胰脏组织的损害相对于鳃的损害要轻。所以在早期患病青虾呼吸受影响的情况下,肝胰脏仍

能发挥比较正常的生理功能。形态学观察也表明早期患病青虾仍能进行比较正常的摄食(食量约为正常虾的3/5~4/5)。

但是,由于呼吸受到影响,青虾的摄食会呈现持续减弱趋势,由此导致虾体生理机能的整体衰退。到中后期,由于肝小叶的溃烂,肝细胞破裂,小叶间的空隙不论最小距离还是最大距离,显著大于早期(表1)。青虾在患病后期不能进行正常的消化功能,这是造成后期青虾死亡的主要原因。

拟态弧菌对青虾肌肉的侵染主要表现在患病的中后期,肌束间的空隙增大和大部分肌束呈断裂状是造成青虾后期肌肉组织松软和外观上肌肉浑浊、行为上完全失去运动能力的主要原因。在过去的有关弧菌对甲壳动物的组织病理学研究中均未提到肌肉组织的病理变化。

从青虾的鳃、肌肉和肝胰脏等组织学研究可以表明,拟态弧菌主要是造成鳃部细胞的破裂以及未破裂鳃部细胞的细胞质收缩,对细胞核未形成破坏。拟态弧菌在繁殖、侵染过程中产生一些胞外毒素和具有酶作用的物质是造成肝胰脏小叶间隙的距离增加以及肌肉组织中肌束分离和断裂的主要原因。在患病初期以及中后期逐渐出现在虾壳上的红色斑点,则是拟态弧菌分泌胞外毒素和具有酶作用的物质与色素蛋白结合致使虾壳中的虾红素沉积而成,与青虾的组织病变、青虾的死亡没有直接的关系。但是,虾壳上的红斑数量则基本上可以反映出青虾体内组织受拟态弧菌的侵染程度。

通过对感染“红体病”各病症时期的组织学研究,表明治疗青虾“红体病”只能在早期进行。研制具有抗拟态弧菌的药物,通过施用药饵,使药物进入消化、循环系统,保护鳃部、消化道不受弧菌的进一步侵染,可达到预防和控制病情,防止病害蔓延的效果。

### 参考文献:

- [1] Li T D, Yu J, Yu K K. Studies on pathogenicity of four *Vibrio* strains for *Penaeus chinensis*[J]. *Trans Ocean Limnol*, 1998, 1: 58-59. [李天道, 于佳, 俞开康. 四种弧菌对中国对虾的致病性研究[J]. *海洋湖沼通报*, 1998, 1: 58-59.]
- [2] Johnson P T. Bacterial infection in the blue crab, *Callinectes aspidus*: course of infection and histopathology[J]. *J Invertebr Pathol*, 1996, 35: 90-92.
- [3] Qiao Z G, Geng L K, Liu J, et al. Study on the mimic ecology

- of penaeid shrimp in laboratory during its viral disease period[J]. J Mar Sci, 1998,3: 31-34. [乔振国, 耿隆坤, 刘 键, 等. 对虾暴患病的实验室生态学研究[J]. 海洋科学, 1998,3: 31-34.]
- [4] Deng H, Wang N B, An Y X. Conditional relation on *Penaeus japonicus* suffer *Vibrio* infect with the infection dosage and circumstance temperature[J]. J Fishery Science, 1998,17(2): 3-7. [邓 欢, 王年斌, 安育新. 日本对虾 *Penaeus japonicus* 受弧菌感染的患病情况与感染剂量、温度条件的关系[J]. 水产科学, 1998,17(2):3-7.]
- [5] Fred A P, James T P. Bacteriological survey of the blue crab industry[J]. Applied Microbiology, 1972,24(6):958-966.
- [6] Sizemore R K, Colwell R R, Tubiash S H, et al. Bacterial flora of the hemolymph of the blue crab, *Callinectes sapidus*: numerical taxonomy[J]. Applied Microbiology, 1975,29(3):393-399.
- [7] Brooks K A, Jens M, Sodeman T M. A clinical evaluation of the API microtube system for identification of Enterbacteriaceae[J]. Am J Med Techn, 1974,40:55-61.
- [8] Wang S Y, Wang Z F. Animal histology and embryology[M]. Beijing: China Agriculture Science and Technology Press, 2000. 127-133. [王树迎, 王政富. 动物组织学与胚胎学[M]. 中国农业科技出版社, 2000. 127-133.]

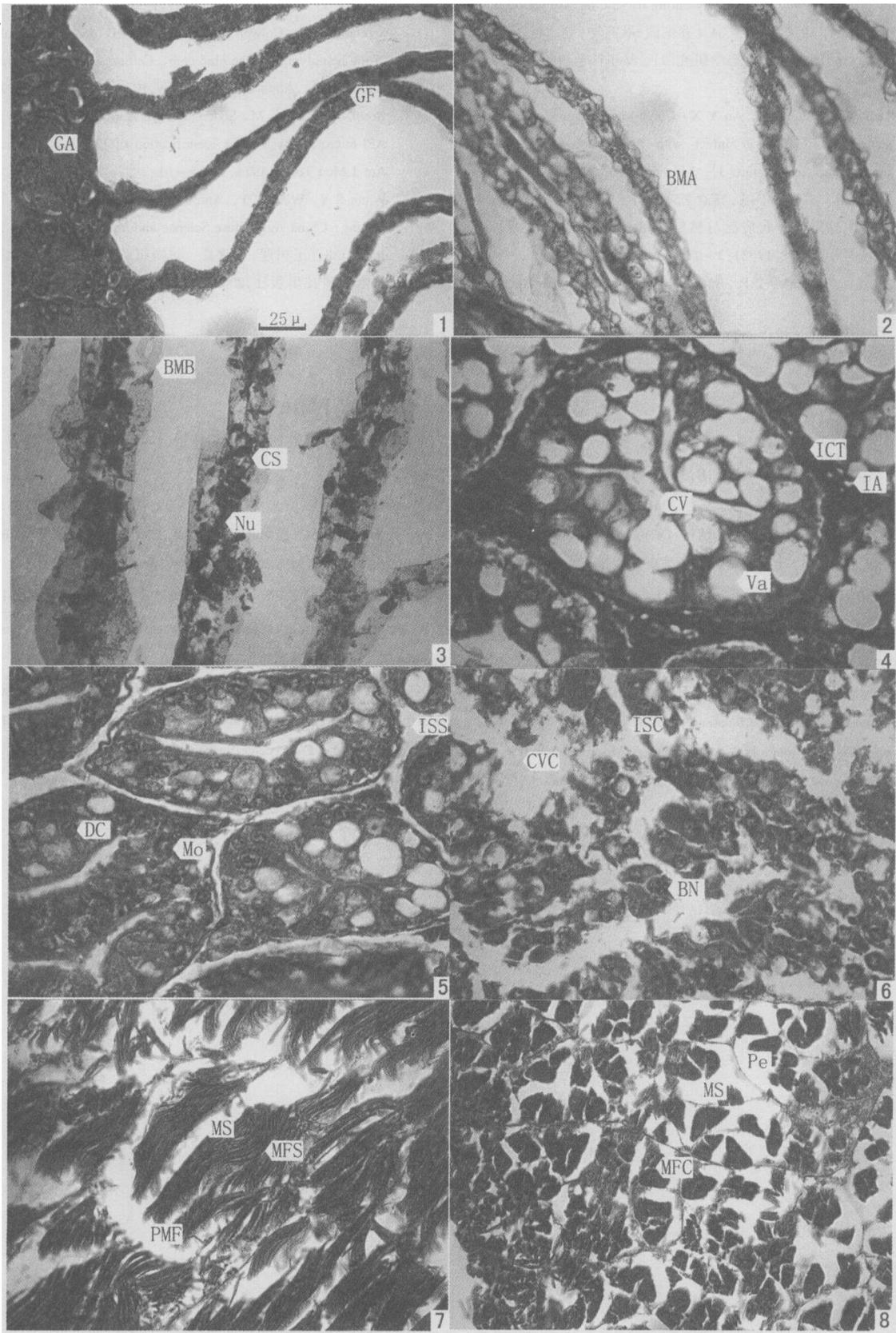
### 图版说明 Explanation of Plate

1. 对照青虾鳃; 2. 患病中期青虾鳃; 3. 患病后期青虾鳃; 4. 正常青虾肝小叶; 5. 患病初期青虾肝小叶; 6. 患病后期青虾肝小叶; 7. 患病中期肌肉组织; 8. 患病后期肌肉组织

GA: 鳃轴, GF: 鳃丝, BMA: 鳃膜突起, BMB: 细胞膜破裂, CS: 细胞质收缩, Nu: 细胞核, CV: 中央静脉血管, ICT: 小叶间结缔组织, IA: 小叶间动脉, Va: 分泌细胞中的泡状结构, DC: 双核细胞, ISS: 小叶间隔裂隙, Mo: 单核细胞, ISC: 溃解的小叶间隔, CVC: 中央静脉崩溃, BN: 细胞核破裂, MFC: 肌纤维束, MS: 肌纤维束间隔裂隙, PMF: 肌纤维束断裂, MFC: 肌纤维束, MS: 肌纤维束间隔裂隙, Pe: 肌束膜

1. The gill construct of contrast; 2. The gill construct in the metaphase disease; 3. The gill construct in the terminal disease; 4. The hepatic lobule of contrast; 5. The hepatic lobule of earlier disease; 6. The hepatic lobule of terminal disease; 7. The muscle tissue of in the metaphase disease; 8. The muscle tissue of in the terminal disease

GA: gill axes, GF: gill filament, BMA: branchial membrane apophysis, CS: cytoplasm shrink of the gill filament, Nu: nucleus of the gill filament, BMB: branchial membrane bursting, CV: central vein, ICT: interlobular connective tissue, IA: interlobular arteries, Va: vacuole of secretory cell, DC: dikaryotic cell, ISS: interlobular septum space, Mo: monocyte, ISC: interlobular septum crash, CVC: central vein crash, BN: bursted nucleus, MFC: muscle fiber cords, MS: myocomma space, PMF: parted muscle fiber cords, MFC: muscle fiber cords, MS: myocomma space, Pe: perimysium



图版 Plate