

草鱼中华鱼蚤病的组织病理研究*

郑德崇 黄琪琰 蔡完其 陆宏达

(上海水产学院)

提 要

草鱼中华鱼蚤病是由大中华鱼蚤寄生所引起的鳃病。虫体以其第二对触肢插入鳃组织而牢固地附着于寄主的鳃丝上。病鱼的血浆总蛋白含量和葡萄糖含量、红细胞数、血红蛋白含量以及红细胞比积均低于健康草鱼;红细胞沉降率和白细胞数则高于健康草鱼;白细胞的血式也有明显变化。病鱼鳃上的粘液很多,鳃丝末端膨大成棒槌状,苍白而无血色。鳃组织的病变,主要为炎性水肿和呼吸上皮细胞、粘液细胞及间充质细胞增生,并有大量嗜酸性粒细胞渗出。炎性水肿的发生使鳃小片的呼吸机能受到障碍和破坏;由细胞增生引起的鳃小片融合大大缩小了鳃的气体交换面积,因此当大中华鱼蚤大量寄生时,导致病鱼窒息死亡

由大中华鱼蚤 *Sinergasilus major* (Mark, 1940) 寄生引起的草鱼中华鱼蚤病,是我国的常见鱼病之一。它主要危害2足龄以上的草鱼。当有大量大中华鱼蚤寄生时,能引起病鱼焦躁不安、消瘦以至窒息死亡。

对寄生性鱼蚤的研究工作,在国外开始得很早。十九世纪三十年代以后,就陆续有形态学和分类学方面的报导^[4,7,8]。至二十世纪三十年代,才有人对其中某些种类进行解剖学和生活史的研究^[5,6]。对于由寄生性鱼蚤引起的鱼病的研究工作则晚得多。Halisch (1939)^[1]对 *Ergasilus minor* 的形态学、生理学和由于这种鱼蚤寄生所引起的鱼病防治进行了颇为系统的研究;Щербина(1952)^[10]指出因鱼蚤寄生可引起器官的发炎,因而破坏了气体交换并引起贫血,进一步能引起鳃器官的部分坏死。Лийман (1949)^[9]的看法和Щербина 并无多大差别,他认为鱼蚤的寄生引起鳃组织溃烂、出血、贫血以至死亡。国内对鱼蚤的研究工作是和鱼病的防治密切结合起来的。任云峰等(1953)^[3]解决了中华鱼蚤病的有效防治方法。尹文英(1956)^[2]对鱼蚤的形态、分类、生活史、生活习性以及它对寄主的影响作了系统研究,认为鱼蚤的第二对触肢深深插入寄主的鳃组织使其受到机械损伤,并认为鱼蚤可能使鳃的表皮破坏,引起微生物感染而导致局部性发炎或化脓,严重时可能造成鱼蚤寄生部位鳃组织极度变形。尽管对于鱼蚤及由鱼蚤引起的鱼病的研究报导已经不少,但迄今尚未见到关于由于鱼蚤寄生引起病鱼血液和鳃组织病理变化的详细报告。本文对患有中华鱼蚤病的草鱼的血液和鳃组织病理变化进行了研究,现将研究结果叙述如下。

* 浙江省淡水水产研究所为此项研究提供了工作条件,潮州市第一人民医院生化室帮助代测血浆的总蛋白和葡萄糖含量,本院淡水渔业专业82年毕业生胡益民、刘统锦、杨宁生、李禾参加了部分工作,一并于此志谢。

材 料 和 方 法

1. 实验鱼的来源

用于血液病理研究的病鱼和对照观察的健康鱼,均采自浙江菱湖。病鱼的体重每尾为1.5—2.5公斤(3—4足龄),每尾病鱼的鳃部都有许多大中华鱼蚤寄生。用于鳃组织病理研究的病鱼,除同时采用进行血液病理研究的菱湖病鱼外,还从上海市南汇县取得1足龄的病鱼。

2. 取血和测定方法

(1) 取血 用装有5号或7号针头的注射器,直接从鱼的尾动脉抽取1—2毫升血液,立即注入预先洗净并经1.5%肝素钠盐溶液湿润后在37—40°C恒温箱中烘干的采血瓶中。

(2) 红细胞计数 用红细胞吸管吸取抗凝血至刻度,以0.8%的生理盐水稀释200倍,用Neubauer计数室在显微镜下计数。

(3) 白细胞计数 用白细胞吸管吸取抗凝血至刻度,以改良液^[3]稀释20倍,用Neubauer计数室在显微镜下计数。

(4) 红细胞沉降率和红细胞比积的测定 用毛细吸管吸取抗凝血注入温氏压积管内至刻度“5”处,不使产生气泡。然后固定在45°倾斜的斜面上,室温下静置30分钟,读出红细胞沉降的毫米数,再以3,000转/分的速度离心沉淀30分钟,直到红细胞层的高度不再下降为止,读出红细胞层的高度,计数红细胞沉降率和红细胞比积。

(5) 血红蛋白的测定 用经过校正的沙利氏比色计比色测定。

(6) 血浆总蛋白和葡萄糖含量的测定 将抗凝血吸入洁净的小试管中,以3,000转/分速度离心30分钟,吸取上层淡黄色透明血浆。用双缩脲法测定总蛋白含量,用邻甲苯胺法测定葡萄糖含量。

3. 组织切片的制备

从活的病鱼鳃上,取下数小块有大中华鱼蚤寄生的鳃瓣和单根鳃丝,用Helly氏溶液固定,石蜡包埋切片,切片厚度为5—6 μm ,分别用苏木素和伊红、Mallory氏三色染色法和高碘酸谢夫氏反应(PAS' reaction)等方法染色。

结 果

(一) 血液的病理变化

对病鱼和健康鱼血液测定的结果如表1所示。患中华鱼蚤病的草鱼血浆总蛋白和葡萄糖含量、红细胞数量、血红蛋白含量及红细胞比积等数值都低于健康草鱼,而红细胞沉降率、白细胞数量则较健康草鱼为高;病鱼白细胞血式中的嗜酸粒细胞明显减少,中性粒细胞和单核细胞明显增多,淋巴细胞稍有减少。

表 1 患中华鱼蚤病的草鱼和健康草鱼血液测定平均值的比较

组别	测定项目	红细胞数 (万个/ mm ³)	白细胞数 (千个/ mm ³)	血红蛋白 量 (g%)	红细胞沉 降率 (mm/45°)	红细胞 比积 (%)	血浆总 蛋白 (g%)	血浆葡 萄糖 (mg%)	白细胞血式			
									淋巴细胞 (%)	单核细 胞(%)	中性粒细 胞(%)	嗜酸粒细 胞(%)
病鱼 (尾数)		172.55 (36)	59.2 (33)	8.83 (36)	2.23 (34)	86.51 (34)	2.34 (9)	123.75 (10)	74.41 (20)	3.30 (20)	20.65 (20)	1.72 (20)
健康鱼 (尾数)		197.84 (18)	53.3 (18)	9.65 (18)	1.03 (18)	40.74 (18)	2.39 (5)	137.20 (5)	80.39 (14)	2.21 (14)	13.08 (14)	4.32 (14)

(二) 鳃组织的病理变化

病鱼鳃上的粘液很多，鳃丝的末端膨大成棒槌状，苍白而无血色(图 1)。大中华鱼蚤以其第二对触肢深深地插入鳃组织，牢固附着于鳃丝近末端处(图 2、图 3)。鳃组织的病理变化，主要表现为炎性水肿和细胞增生，



图 1 患中华鱼蚤病的草鱼鳃瓣，鳃丝末端白色膨大成棒槌状

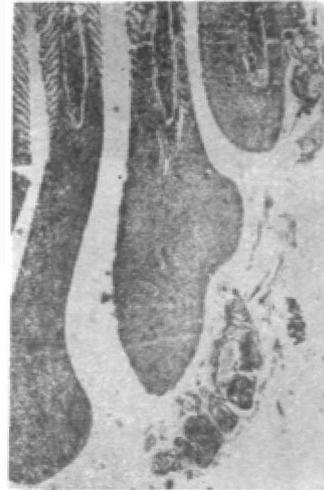


图 2 大中华鱼蚤寄生的鳃丝纵切片。鳃丝末端膨大，右边两根鳃丝上各有一只大中华鱼蚤。

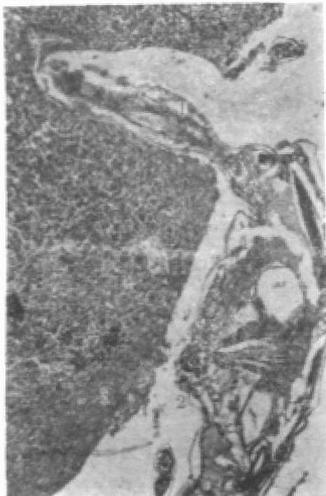


图 3 大中华鱼蚤和它寄生部位鳃组织切片。示鱼蚤第二触肢插入鳃组织。1. 鱼蚤的第二触肢，2. 鱼蚤的口器，3. 细胞大量增生的鳃丝。

1. 炎性水肿

炎性水肿是患中华鱼蚤病的草鱼鳃组织的前期病变。最初表现为鳃小片的部分呼吸上皮细胞肿胀,胞核胀大呈圆形泡状,染色浅淡(变性)(图4)。随着病变加深,有更多的上皮细胞肿胀。并因毛细血管通透性增大,血浆渗出,逐渐使呼吸上皮和毛细血管分离,在它们之间形成腔隙,其中饱含浆液性渗出物(图5)。部分血细胞也渗出,尤其是嗜酸粒细胞大量渗出到组织中。少数鳃小片毛细血管充血,扩大成气泡状,或破裂出血(图6)。鳃条软骨组织也发生轻度变性。

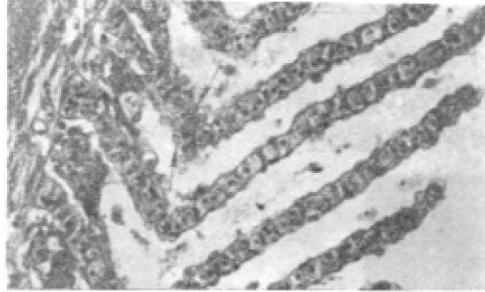


图4 轻度炎性水肿的鳃小片切片,箭头处示部分上皮细胞发生炎性水肿。

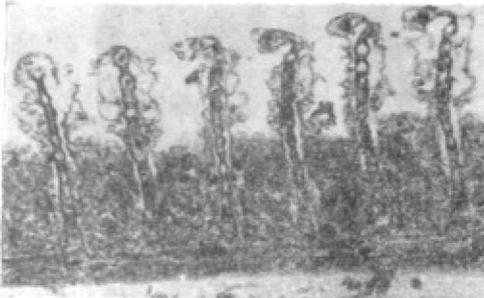


图5 严重炎性水肿的鳃小片切片。示呼吸上皮肿胀和毛细血管分离形成腔隙。

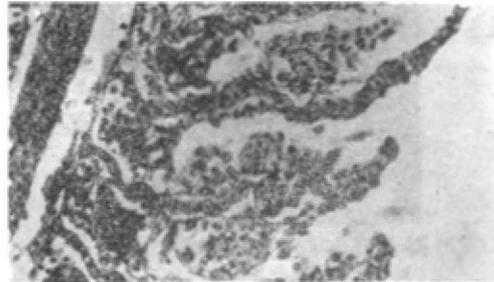


图6 充血和出血的鳃小片切片。

2. 细胞增生

有大中华鱼蚤直接寄生的部位和无大中华鱼蚤寄生的部位,细胞增生的情况是不同的。在大中华鱼蚤寄生的鳃丝末端,出现上皮细胞、粘液细胞和间充质细胞的大量增生,使鳃丝末端因此而膨大成棒槌状。它的表面覆盖着一层粘液细胞,其下是3—4层扁平上皮细胞,再下面是间充质细胞。并有大量嗜酸粒细胞浸润。在没有大中华鱼蚤寄生的部位,也发生细胞增生,但增生的只有上皮细胞和少量粘液细胞而无间充质细胞。

细胞增生的结果使鳃小片融合,毛细血管萎缩以至消失(图7)。这一组织病变情况同肉眼所见棒槌状鳃丝末端苍白无血色是一致的。

增生的间充质细胞呈星形,具有几个突起,相邻的间充质细胞的突起互相连成网状。间充质细胞的胞浆呈弱嗜碱性,有一个卵圆形的细胞核,核仁明显。嗜酸粒细胞呈圆形或卵圆形,胞核较小,染色质致密,着色较深。胞核具有多种形状,偏于细胞的一边。胞浆中

充满粗大的嗜酸性颗粒。这种颗粒能被伊红染成鲜红色，PAS 反应呈阳性为红紫色。在插入鳃组织中的大中华鱼蚤第二触肢的周围，被数层鳃组织的扁平上皮细胞所包围，有大量嗜酸粒细胞浸润，有些嗜酸粒细胞有脱颗粒现象(图 8)。

在未膨大的鳃丝部位，鳃小片也发生变形(图 9)。这些变形的鳃小片中，有的是炎性水肿，有的是细胞增生，有的则二者兼而有之。

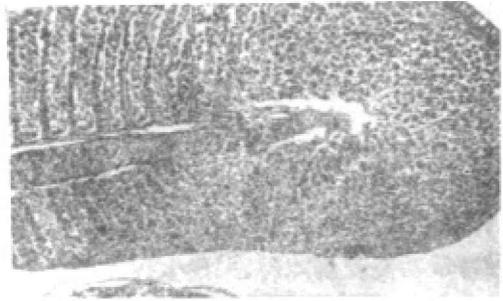


图 7 棒槌状鳃丝末端的纵切面。示表面覆盖一层粘液细胞，鳃小片融合，毛细血管萎缩以至消失。

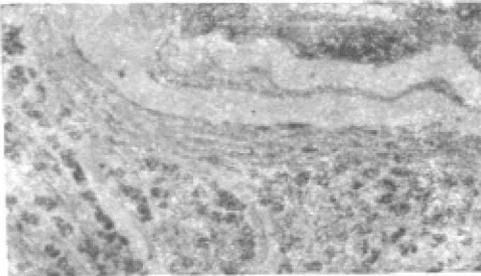


图 8 虫体寄生部位鳃丝纵切面的一小部分的显微照像。示上方是虫体的一部分，下方深色者为嗜酸粒细胞。

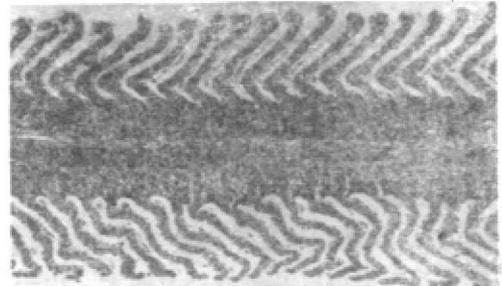


图 9 一根鳃丝的纵切面。示鳃小片变形。

在所观察的大量鳃组织的病理切片中，始终没有发现上皮细胞增生时的有丝分裂相，除了看到数量极少的上皮细胞坏死外，即使是病变严重的鳃组织上也未发现有大量上皮细胞坏死和崩解现象。中华鱼蚤的口器上、下唇很锋利，在和中华鱼蚤口器相对的部位，可以看到鳃丝上皮细胞受损的病灶，而且在其附近有许多细胞碎片，但是这些碎片的轮廓清楚，并无溶解的痕迹。(图 10,11)。

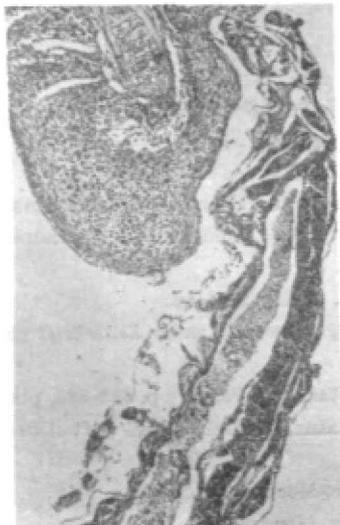


图 10 鳃丝末端和大中华鱼蚤的纵切面



图 11 面对鱼蚤口器的鳃组织切片，左方为鳃小片，右方为鱼蚤口器

讨 论

1. 大中华鱼蚤寄生引起患病草鱼的鳃组织发生炎性水肿和细胞增生,但是,细胞坏死的现象极为少见,更未发现整个鳃小片坏死崩解现象。由此可见中华鱼蚤病的危害,主要是病原寄生引起的直接机械损伤引起的慢性炎症。局部受损伤鳃组织产生的病理变化,使呼吸功能受到障碍,未发生病理变化的部位的鳃组织则仍保持呼吸功能,因此短期内由中华鱼蚤病引起大量草鱼死亡的例子不多。但是当大中华鱼蚤大量寄生,发生炎性水肿和增生的区域过大,影响到鱼类正常生活甚至造成呼吸严重障碍时,则可能导致鱼体消瘦以至窒息死亡。

2. 大中华鱼蚤寄生所引起的鳃组织的病理变化,主要是炎性水肿和细胞增生。在我们所观察到的,有上皮细胞、粘液细胞和间充质细胞增生和嗜酸粒细胞浸润,而不存在化脓现象。凡是细胞增生严重的部位,肉眼可以看到鳃丝粗大、融合成棒槌状,而且呈白色。因此,我们认为,过去有的文献^[1]以为的鱼蚤侵袭化脓现象,恐系误将鳃组织病变为白色棒槌状认为是化脓的结果。

3. 在细胞增生中未发现有细胞的有丝分裂相。无丝分裂能够迅速增加细胞的数量,使受损组织得以及时修补及膨大。由于上皮及间充质细胞的迅速增生,使大中华鱼蚤附着第二触肢周围及鱼蚤口器相对部位的鳃组织,迅速被增生的细胞所包裹充填,得以使血管不直接暴露于伤口,避免了病鱼的大量出血。从此也证明尹文英(1956)关于鱼蚤并非靠直接吸吮寄主血液来得到营养的看法。这和 Halisch(1939)、Щербина(1952)等人认为鱼蚤直接吸血的看法是不一致的。

4. 患中华鱼蚤病的草鱼,红细胞数和血红蛋白含量减少,红细胞沉降率和白细胞数上升,是符合一般炎症引起的病理变化的。在鳃组织中有大量嗜酸粒细胞浸润,符合一般寄生虫病的特点,并同嗜酸粒细胞在循环中的血液里所占的百分比下降有关。

参 考 文 献

- [1] 尹文英, 1956. 中国淡水鱼寄生桡足类鳃科的研究. 水生生物学集刊, 2:47-117.
- [2] 任云峰、徐墨耕, 1958. 硫酸铜硫酸亚铁合剂的时效问题. 水生生物学集刊, 1-8.
- [3] 郭植森, 1980. 一种改良的鱼类血球计数的稀释液. 淡水渔业, (5):35.
- [4] Burmeister, H., 1833. Beschreibung einiger neuen oder weniger bekannten Schmarotzkerrebse, nebst allgemeinen Betrachtungen über die Gruppe; welcher sie angehören. Acta Acad. Caes. Leop. Carol. Nat. Cur. 17: 273-336, pls. 23-25.
- [5] Gurney, R., 1933. British Fresh-water Copepoda. Vol. 3. Ray Society.
- [6] Halisch, W., 1939. Anatomie und Biologie von *Ergasilus minor* Halisch. Zeitschrift parasitenkunde. 11(2-3): 284-330
- [7] Milne-Edwards, H., 1840. Histoire naturelle des Crustacés. 3, Paris, pp. 432-529, pls. 37-41.
- [8] Nordmann, A., 1832. Mikrographische Beiträge zur Naturgeschichte der wirbellosen Thiere, 2, Berlin, pp. 150, pls. 10.
- [9] Лийман, Э. М., 1949. Круго Болезней Рыб. Пищепромиздат, Москва 251-253
- [10] Щербина, А. К., 1952. Болезни Прудовых Рыб. Сельхозгиз, Москва.

THE HISTOPATHOLOGICAL STUDIES ON THE SINERGASILIOSIS OF GRASS CARP

Zheng Dechong Huang Qiyan Cai Wanqi and Lu Hongda

(Shanghai Fisheries Colloge)

Abstract

The synergasiliosis of grass carp is a common gill disease caused by parasiting of *Sinergasilus major* (Mark 1940) which mainly make harms to fish than two years of more. The histopathological changes of the damaged gill cells and blood were observed and examined. In the damaged gill, the epithelial, mucous and maesenchymal cells mass-multiplied and the eosinophils mass-infiltrated, lamellae fused and capillaries atrophied. The ends of gill filaments appear pale and swoller. The other parts of gill filaments and the lamellae are deformed.

As to the blood indices of diseased fish, the quantity of erythrocytes per unit volume, specific volume of erythrocytes, hemoglobin content, plasma glucose content and total plasma protein content were all lower than that of the healthy fish, but the subsidence rate of erythrocytes and the quantity of leukocytes per unit volume were higher than that of the healthy ones. The percentage of lymphocytes and eosinophils reduce in leukocytes, while the monocytes and neutrophils raised.