

文章编号 1000- 5463(1999)03- 0067- 07

# 鳊细菌性烂鳃病的鳃、肝、肾组织病理研究\*

李海燕\* \* 黄文芳

华南师范大学生物学系 广州 510631

**摘要** 报道鳊(*Siniperca chuatsi*)由柱状屈挠杆菌(*Flexibacter columnaris*)引起的烂鳃病的病理研究结果。病鱼的组织病变可分为慢性和急性两种类型。鳃组织的病理变化,经过炎性水肿、细胞增生和坏死3个进程。慢性型以增生为主。急性型的鳃组织病变,由于病程短,炎性水肿迅速转入坏死,增生不严重或者几乎不出现,以炎性水肿和坏死为主。在鳃组织病变严重时,肝脏、肾脏也发生病变。肝细胞发生颗粒变性、水样变性;肾组织主要发生肾小管上皮细胞与基底膜分离,有些上皮细胞变性,甚至坏死。

**关键词** 鳊;烂鳃病;组织病理

中图分类号 S941

文献标识码 A

80年代以来,我国不少地区先后开展了鳊鱼的人工养殖。目前,已较好地解决了从鳊鱼人工繁殖、苗种培育至商品鱼养殖等一系列技术关键,形成一定的生产规模和产量。主要养殖地区有广东、浙江、江苏、江西、湖南、湖北等省。其中,广东省的养殖规模最大,约占全国养殖面积的20%~40%。近年来,由于人工养殖规模的不断扩大,疾病问题也越来越严重,其中细菌性烂鳃病就是严重危害人工养殖鳊的疾病之一。由于这种病的流行,往往引起养殖鳊的大批死亡,给养殖业造成巨大的经济损失。例如,广东中山横栏镇1994年养殖桂花鱼266 hm<sup>2</sup>,出现病害200 hm<sup>2</sup>,死亡率达70%以上,直接经济损失达4000~5000万元。目前,国内仅陈昌福等<sup>[1~3]</sup>对鳊细菌性烂鳃病的病原及免疫方面进行了一些研究,而病理方面的研究还未见报道。我们从1995年开始对该病进行研究,现已查明其病原之一为柱状屈挠杆菌(另文报导)。为进一步弄清细菌性烂鳃病的病理,为改进防治方法,提供参考,我们对其组织显微病理变化作了研究,结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料鱼的来源

健康鱼、人工感染鱼及自然发病鱼均来自华南师范大学生物系鱼类研究室。

### 1.2 病理组织切片的制备

将自然发病、人工感染而濒于死亡或刚死的病鱼剪去鳃盖,取下一小块病变的鳃组织,经检查证实已呈烂鳃病症状后即将病鱼解剖,分别切取小块病变的鱼鳃和肝、肾组织,用 Bouin's

\* 广东省高教厅重点扶持学科项目

\*\* 97届硕士研究生,现已在广州教育学院生物系工作

收稿日期:1999-03-12

液固定 24 h 或更长时间后, 保存于体积分数为 70% 的酒精中。因鳃弓尚未骨化, 所以对鳃组织切片无需经过脱钙处理, 而直接进入酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片染色和封片。切片用苏木精-伊红染色法(H-E)或吉姆萨染色。切片厚度为 5~7  $\mu\text{m}$ 。同时用健康鱼的鳃、肝、肾作对照。切片置显微镜下观察、拍照。

## 2 结果

### 2.1 临床症状

病鱼体色发黑, 常离群独游水面, 游动缓慢, 对外界的刺激反应迟钝, 呼吸困难, 食欲减退甚至不吃。鱼体浮游水面(头下尾上), 发病急者, 很快死亡。发病缓慢、病程较长者, 鱼体消瘦, 约 3~5 d 后死亡。病鱼鳃瓣表面, 特别是鳃丝的末端弯曲, 粘液很多。取下少许鳃丝, 置于载玻片上, 加数滴清水, 在显微镜下观察, 病鱼鳃丝感染柱状屈挠杆菌其表面可观察到成群的杆状细菌堆集。肉眼观察, 鳃的某些部位因充血而呈暗红色, 而有的部位则因缺血而呈淡红色或灰白色, 严重时鳃小片坏死脱落, 鳃丝末端缺损。在病变鳃丝周围常粘附着坏死脱落的细胞、粘液、细长的杆菌和水中各种杂物, 当这些附着物主要是粘液和柱状屈挠杆菌时则呈淡黄色。大部分鳃丝的边缘腐烂, 基部腐烂的情况少见, 偶尔可观察到病鱼鳃盖骨头中央内侧有一较透明的园形区域, 该处表皮已烂掉。有些病鱼的下颌、鳃盖、鳍条部充血。病鱼肝、肾没有发现异常。

人工感染鱼的症状主要表现在鳃瓣上, 鳃丝末端膨大、弯曲、发白, 鳃小片肿胀、混乱。鳃丝边缘腐烂, 其上粘附大量杂物。鳃上粘液增多, 具典型的烂鳃病症状。肝、肾未见异常。

### 2.2 组织病理变化

#### 2.2.1 鳃组织病理变化

鳃鱼的鳃感染了细菌后, 鳃丝的形态和组织结构发生了明显的变化。

正常鳃丝着生在鳃弓上。其水平切面, 鳃丝排列很整齐, 鳃小片约以 45 度角交互平行排列在鳃丝软骨的两边(图版 I - 1)。感染柱状屈挠杆菌之后, 鳃丝及鳃小片因病理变化而变得软弱, 失去张力, 往往呈现萎缩不整的弯曲。因此, 在病鱼鳃瓣的水平面上, 鳃丝排列很不整齐, 鳃小片也不再是有规则地呈羽状互生排列, 而是有的呈波状扭曲, 呈杂乱无章状态(图版 I - 2)。

通过对病鱼鳃组织切片的观察, 发现鳃组织的病理变化既有慢性类型, 也有急性类型, 病变情况较人工感染的复杂、多样。鳃组织的病理变化过程包括炎性水肿, 增生及坏死三个阶段。这三个阶段不仅在同一条病鱼的不同鳃瓣上出现, 而且常可在同一鳃瓣不同鳃丝上和在同一鳃丝的不同部位出现(图版 I - 2)。

在鳃组织病变早期, 鳃小片发生炎性水肿, 鳃小片上的一部分单层扁平细胞(也称呼吸上皮细胞)肿大变性, 鳃小片中的毛细血管(也称窦状隙)扩张, 充血及渗出(图版 I - 3)。肿大变性的上皮细胞肥大和变圆。病情严重时, 几乎全部的呼吸上皮细胞都肿大变性, 毛细血管进一步充血、渗出, 使原来紧密附着于毛细血管的呼吸上皮全部或部分分离(图版 I - 4、5)。更严重时红细胞也被动地渗出, 造成局部出血(图版 I - 5)。

鳃组织的病变还表现在上皮细胞增生。由于上皮细胞增生, 病变部位的鳃小片之间的隙缝逐渐被上皮细胞所填满(图版 I - 6), 鳃小片融合, 使鳃丝为一条不再分得出鳃小片的棍棒(图版 I - 7)。另外, 粘液细胞也出现增生, 但数量较少, 且多位于表层(图版 I - 8)。

当炎性水肿严重时, 肿大变性的上皮细胞发生坏死脱落, 毛细血管裸露、破坏, 上皮细胞解体脱落, 鳃丝上只剩软骨, 周围有很多由坏死的细胞碎屑及细长的柱状屈挠杆菌等形成的混合物(图版 I - 9, 图版 II - 10, 11). 在棍棒状鳃丝上还可发现炎症细胞浸润, 尤其在棍棒状鳃丝的顶端(图版 II - 12).

急性型鳃鱼细菌性烂鳃病的鳃组织病理变化过程, 基本上只有炎性水肿和坏死二个过程. 病鱼鳃小片上皮细胞很快出现肿大变性, 毛细血管充血、渗出. 由于急性型的烂鳃病发展快, 渗出现象特别严重, 上皮很快破裂而坏死、脱落. 因此, 看不到增生的情况或增生不明显. 其坏死的面积和程度也常比慢性型的大而严重.

人工感染的鳃鱼烂鳃病, 由于感染菌液浓度较高( $3\sim 4\times 10^4$  个/mL), 往往十几小时便使健康鱼患烂鳃病而死亡. 对其鳃组织切片进行观察发现, 鳃组织病变多属急性型, 慢性型较少. 常可观察到鳃小片上皮细胞崩溃、坏死以至脱落, 鳃小片坏死脱落的面积和程度大而严重, 不仅脱落的上皮细胞坏死崩解, 而且毛细血管、结缔组织和软骨等软组织也都坏死崩解, 从而失去其原有的形态结构和染色特性. 有些鳃小片则仅见上皮细胞脱落后留下裸露的毛细血管(图版 II - 13). 较少见到鳃丝仅鳃小片基部粘连, 使其棍棒化的情况(图版 II - 14). 在棍棒化鳃丝的顶端常可见到白细胞及淋巴细胞浸润.

无论是自然发病还是人工感染, 在鳃小片的边缘常可见到少量细长的柱状屈挠杆菌, 而在坏死脱落的鳃小片上皮细胞碎片及其它物质中, 常可看到成堆的柱状屈挠杆菌. 无论在 H-E 还是吉姆萨染色的切片上均可见到(图版 I - 9, 图版 II - 10).

### 2.2.2 肝组织病理变化

鳃鱼细菌性烂鳃病, 不仅使鳃组织发生严重病变, 肝组织也发生病变.

健康鱼肝小叶的细胞排列整齐, 成放射状围绕中央静脉排列. 肝细胞系多角状, 体积虽大小不同, 但形状没什么差异. 细胞具有浓密的细胞浆和丰富的糖原, 每一细胞有一核, 较圆(图版 II - 15).

通过对肝组织切片进行观察发现, 自然发病的病鱼的肝组织的病变最初是部分肝细胞发生颗粒变性及水样变性. 病变的肝细胞肿胀, 比正常的肝细胞体积大很多. 颗粒变性的肝细胞为细胞肿大, 胞浆中出现细小颗粒; 发生水样变性的肝细胞中出现小空泡, 呈蜂窝状, 绝大部分肝细胞核偏向一边. 在肝细胞发生颗粒变性、水样变性的同时, 其核也发生病变, 表现为核染色质移到核膜的边缘, 在光镜下可观察到在病变的肝细胞核膜的边缘有数量不等(一般为 7~11)的嗜碱性颗粒(图版 II - 16). 当病变更严重时, 发生病变的范围扩大, 可观察到肝细胞内的小空泡连成大空泡, 核悬浮在肝细胞的中央, 细胞周界不清晰, 细胞核肿大, 并出现部分肝细胞的核浓缩、破裂、溶解消失(图版 II - 17). 由于肝细胞肿大, 使本来已变得狭窄的肝血窦变得更为狭窄或消失, 在肝细胞间有血细胞浸润.

### 2.2.3 肾组织病理变化

在健康鱼肾组织的切片中, 可看到肾小球、肾小管、连接小管和集合小管. 肾小球为一圆囊, 其中包括一小球, 为血管缠绕所形成, 与肾小球相连的为肾小管, 其上皮细胞为立方状或长方状, 细胞核在细胞的中部, 圆形或稍长. 细胞游离表面有极细的射线, 长短不齐, 形成刷状缘, 每一小管有薄膜包围, 为单层细胞组织, 即是基膜.

连接小管的上皮细胞内缘无刷状缘, 但有薄板状的膜, 嗜伊红, 集合小管上皮细胞多系长柱状, 上皮的基膜外面有粘膜肌层(图版 II - 18).

在光镜下,通过对病鱼肾组织切片观察发现,肾组织中肾小管的病变最为明显,表现为:肾小管水肿,其上皮细胞与基底膜完全分离,形成一空腔,还可见到肾小管的上皮细胞增生,细胞排列不规则,将肾小管的管腔堵塞。肾小管有大量的血细胞浸润,较严重的某些肾小管的上皮细胞发生变性,甚至死亡,仅残留核及细胞碎屑(版图 II-19)。

### 3 讨论

实验结果表明,由柱状屈挠杆菌引起的鳃烂鳃病的组织病理变化。病变的实质是一种炎症反应。鳃组织的病变最为严重,而肝、肾的病变较轻。鳃组织的病变主要表现为变质(包括变性、坏死)、渗出和增生。开始发病时,鳃的损伤较轻,只是处于鳃小片上皮细胞肿胀;鳃小片还未出现粘连时,肝、肾组织并未发现异常。而当病程加重时,鳃受严重损伤,肝和肾也发生病理变化。这是由于鳃严重损伤后,全身缺氧,组织呼吸障碍,产生能量不足,呈现组织器官的机能代谢紊乱。而肝脏和肾脏的功能受到影响,又会加速病鱼的死亡<sup>[4]</sup>。

在实验中我们发现,由于鳃对氧的要求较高,当其鳃受到轻微的损伤时,其呼吸功能受到伤害而表现为缺氧,运动能力减弱,很难捕到饵料鱼而日渐衰弱而死。一旦鳃受到损伤则很难治愈。因此,该病必须以预防为主,从而减少损失。

本研究中,我们进行的有关由柱状屈挠杆菌引起的鳃烂鳃病的鳃、肝、肾的组织病理变化的研究结果与黄琪琰等<sup>[4]</sup>对柱状屈挠杆菌引起的草鱼细菌性烂鳃病的组织病理变化研究结果基本相似,但与 Davis<sup>[5]</sup>和洪雪峰<sup>[6]</sup>的报道有差别。Davis 和洪雪峰认为粘细菌引起的鳃、鳍和体表病变组织,没有增生现象。而在我们的研究和黄琪琰等以及其他作者的报道<sup>[7,8,9]</sup>,均观察到鳃小片及粘液细胞出现增生现象。有关这个问题还有待今后进一步研究。

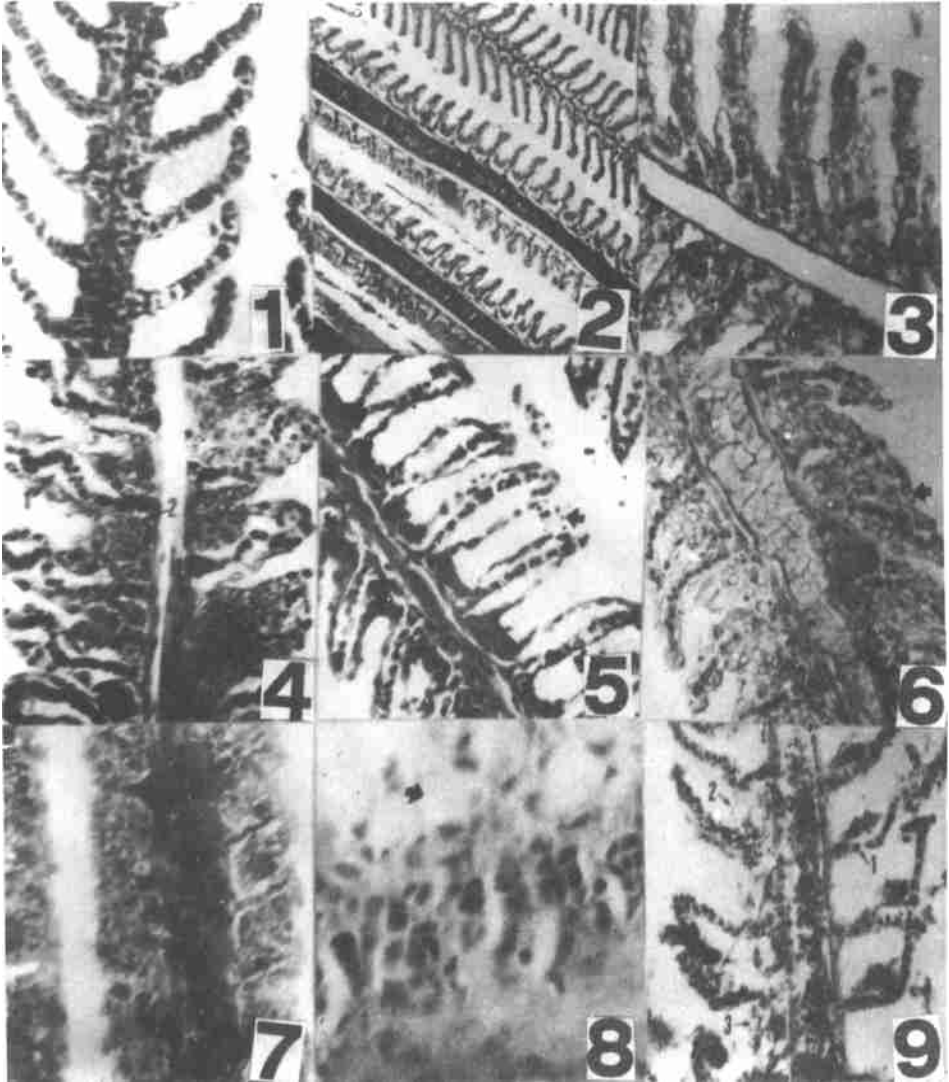
鳃感染柱状屈挠杆菌之后,在病理组织切片中,不易发现菌体。以前的作者已指出,粘细菌不属于组织侵入者,仅着生于上皮细胞上。因此,菌体往往随着坏死的组织而脱落。然而当菌落生长于被侵袭的鳃丝的表面或末端,则成堆的菌体、粘液与崩溃的组织以及坏死了的红细胞、白细胞等混杂在一起,在切片上颇为明显,它们被苏木精染成深兰色<sup>[8,9]</sup>。我们在实验中也发现,在鳃小片上的边缘,较多的是崩溃了的组织以及坏死细胞堆集在一起。在肝、肾组织切片上则没有看到该菌。结果与文献记载的一致<sup>[3,8,9]</sup>。

致谢 本文得到张剑英教授的精心指导和修改,在此谨表谢意。

### 参考文献

- 1 陈昌福等. 翘嘴鳊烂鳃病原菌的分离及初步鉴定[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(3): 263~ 266
- 2 陈昌福等. 翘嘴鳊对柱状嗜纤维菌的免疫反应的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(4): 370~ 380
- 3 陈昌福等. 多种接种途径对翘嘴鳊细菌性烂鳃和败血症的免疫预防效果[J]. 淡水渔业, 1996, 26(3): 3~ 5
- 4 黄琪琰等. 草鱼细菌性烂鳃病的组织病理研究[J]. 水产学报, 1983, 7(2): 95~ 104
- 5 Davis H S. Culture and Diseases of Game Fish[M]. Berkeley, Univ Calif Press, 1953. 332 pp.
- 6 洪雪峰. 草鱼烂鳃病的组织病理学研究. 全国草鱼病研究学术讨论会论文汇编, 1985, 234~ 237
- 7 Brian Austin et Dawn A Austin. Bacterial Fish Pathogens- disease in farmed and wild fish, Second Edition[M]. Ellis Horwood Limited, 1993, 227~ 246

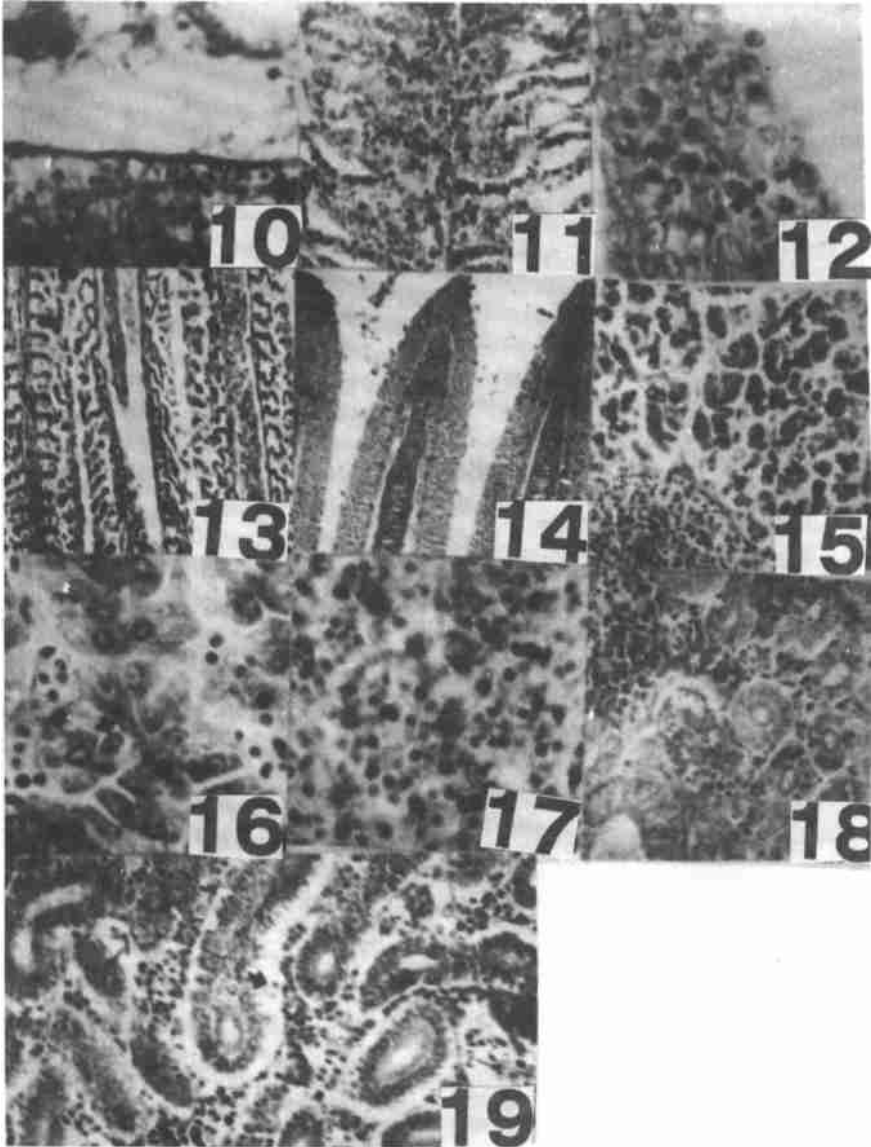
- 8 江草周三等. 魚の感染症[M]. 东京: 恒生社会厚生阁, 1978, 1~ 300  
 9 江草周三等. 魚の病理组织学[M]. 东京: 东京大学出版会, 1979, 1~ 155



图版I 说明

- 1 正常鳃丝. H- E 染色,  $\times 132$ . Healthy mandarinfish gill with intact lamellae. H- E stain,  $\times 132$ .  
 2 示鳃丝的不同病理变化. H- E 染色,  $\times 33$ . Showing different pathological changes of gill. H- E stain,  $\times 33$   
 3 病变早期鳃小片上皮细胞(2)肿大变形, 毛细血管(1)扩张, 轻度充血及渗出. H- E 染色,  $\times 132$ . Lamellae's epithelial cells (2) swollen and deformed, the capillary blood vessel dilation, hyperaemia and effusion at the initial stage of gill disease fish. H- E stain,  $\times 132$ .  
 4 鳃小片上皮细胞与毛细血管分离(1), 鳃小片基部粘连(2). H- E 染色,  $\times 132$ . Lamellae's epithelial cells slightly separated from capillary blood vessel (1), the base of lamellae adhesive (2). H- E stain,  $\times 132$ .  
 5 鳃小片上皮细胞与毛细血管全部分离, 箭头示局部出血. H- E 染色,  $\times 132$ . All epithelial cells in the lamellae separated from capillary blood vessel, (→) showing hemorrhages. H- E stain,  $\times 132$ .

- 6 鳃小片上皮细胞基部开始增生, 逐渐向鳃小片顶端延伸. H- E 染色,  $\times 132$ .  
 Lamellae's epithelial cells hyperplasia. H- E stain,  $\times 132$
- 7 示棍棒状鳃丝. H- E 染色,  $\times 132$ . The lamellases became rod shape. H- E stain,  $\times 132$ .
- 8 示粘液细胞增生. H- E 染色,  $\times 330$ . Mucous cells hyperplasia. H- E stain,  $\times 330$ .
- 9 鳃小片上皮细胞发生坏死脱落, 毛细血管裸露, 其上粘附有细长的细菌. 1- 毛细血管, 2、3- 细菌. H- E 染色,  $\times 132$ . Epithelial cells necrosis and abscission in the lamellae, there are bacteria. 1- capillary blood vessel, 2, 3- bacteria. H- E stain,  $\times 132$ .



图版 II 说明

- 10 鳃小片上皮细胞坏死脱落后的鳃丝只剩软骨, 周围有很多坏死的细胞碎屑及柱状屈挠杆菌. 吉氏染色,  $\times 132$ . Residual cartilages after lamellae's epithelial cells necrosis and abscission, there were many fragmentation of cells and *Flexibacter columnaris* around lamellae. Giemsa stain.  $\times 132$ .

- 11 鳃小片上皮细胞坏死. 1- 核浓缩, 2- 核碎裂. H- E 染色, × 132.  
The lamellae's epithelial cells necrosis. 1- nuclear condensation, 2- nuclear fragmentation. H- E stain, × 132.
- 12 棍棒状鳃丝的顶端, 示炎症细胞浸润. H- E 染色, × 330. The top of rod shaped lamellae, showing the infiltration of inflammatory cells. H- E stain, × 330.
- 13 人工感染, 示鳃小片坏死脱落, 毛细血管裸露. H- E, × 33  
Artificially infected mandarinfish, showing necrotic and deciduous lamellases. H- E stain, × 33.
- 14 人工感染, 示鳃丝棍棒化. H- E 染色, × 132. Artificially infected mandarinfish, showing rod shaped lamellases. H- E stain, × 132.
- 15 健康鱼的肝结构. H- E 染色, × 33. The construction of healthy mandarinfish's liver cells. H- E stain, × 33.
- 16 病鱼肝细胞肿大, 颗粒变性, 水样变性. 箭头示核膜边缘的嗜碱性颗粒. H- E 染色, × 132. The diseased mandarinfish's liver cells turgescence, granular denaturation and vacuolation, (→) showing basophilic granule beside nuclear membrane. H- E stain, × 132.
- 17 病鱼肝细胞水样变性, 某些肝细胞坏死. H- E 染色, × 132. The diseased fish's liver cells vacuolation, some liver cells necrosis. H- E stain, × 132.
- 18 健康鱼肾的结构. H- E 染色, × 33. The construction of healthy fish's kidney. H- E stain, × 33.
- 19 病鱼肾的结构. 箭头示上皮细胞与基底膜分离. 1- 肾小管上皮细胞增生, 将管腔堵塞, 2- 肾小管上皮细胞发生坏死后留下的空腔, 3- 血细胞浸润. H- E 染色, × 132.  
The construction of diseased fish's kidney. (→) showing epithelial cells separated from basal membrane. 1- epithelial cells hyperplasia in the renal tubule, tubule cavity obstructed. 2- showing residual holes after epithelial cells necrosis. 3- infiltration of blood cells. H- E stain, × 132.

## A HISTOPATHOLOGICAL STUDY ON GILL, LIVER AND KIDNEY OF THE BACTERIAL GILL ROT DISEASE IN MANDARINFISH (*SYNIPERCA CHUATSI*)

LI Haiyan    HUANG Wenfang

Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

**Abstract** The pathological results of rotted gill disease in mandarinfish by *Flexibacter columnaris* are reported in this paper. There are two types of histopathological changes: chronic and acuteness. The gill tissue of the chronic generally undergoes three worsening steps, i. e. inflammatory edema, hyperplasia and necrosis. However, the acute one only passes through two steps: edema and necrosis. The liver and kidney of the diseased fish also show histopathological changes. The granular denaturation and vacuolation occur in liver cells. Epithelial cells in the renal tubule separated from basal membrane. Some epithelial cells are denaturated and necrosis.

**Key words** mandarinfish; rotted gill disease; histopathology

【责任编辑 黄玉萍】