

海水硬骨鱼白点病组织病理学研究^①徐润林 陈毕生¹ 江静波¹

(中山大学生物学系寄生虫学实验室, 广州 510275)

¹中国水产科学院南海水产研究所, 广州 510000)

收稿日期 1991年11月4日

关键词 海水硬骨鱼, 白点病, 刺激隐核虫, 组织病理学

提要 在光镜水平下研究了刺激隐核虫寄生黄鳍鲷和真鲷后引起宿主组织病理学的变化。该寄生虫可在宿主皮肤、鳃上皮和舌上皮的组织内寄生。与正常组织相比, 被寄生的皮肤表皮层明显增厚、粗糙, 其增厚部分主要是粘液细胞层、表皮层与真皮层间的联系被破坏。寄生囊内有较大的空隙。虫体内含有大量的宿主细胞残骸。由于寄生虫的感染, 使得非寄生部位的脏器也出现某些病理变化: 肝细胞萎缩, 窦状隙增大; 脾肾内都有颗粒性沉积。本研究结果还与淡水“白点”病引起的病理组织学变化进行了比较。

随着沿海各省经济价值较高的海水硬骨鱼人工高密度养殖规模的不断扩大, 由此产生的各种海水硬骨鱼寄生虫病也越来越多地引起人们的注意。“白点病”就是其中之一。海水鱼“白点病”的病原体是一种全毛类纤毛虫——刺激隐核虫 *Cryptocaryon irritans*。该病及病原体最初是由 Sikama (1938)^[1]于 1937 年在日本发现的。起初多发生在水族馆的海水观赏鱼中; Nigrelli 和 Ruggieri (1966)^[10]在对捕自世界各大洋的野生鱼类的检查中也发现该病原体的存在。近年来, 有关海水鱼“白点病”的暴发流行常有报道^[2,3,7,9]国内也不断有此病流行。该病流行时, 轻则鱼产量下降, 重则绝收, 造成的经济损失十分严重。

刺激隐核虫生活史包括两个部分: 1. 寄生在宿主体内滋养体的寄生阶段; 2. 成熟滋养体脱离宿主形成包囊进而繁殖后代的自由生活阶

段。目前, 对“白点病”病原体的研究较多集中在自由生活阶段^[4,11](徐润林等, 1991; 待发表), 而对寄生阶段刺激隐核虫对宿主影响的研究较少。本文通过对感染了刺激隐核虫的黄鳍鲷 *Sparus latus* 和真鲷 *Pagrosomus major* 病灶组织活体和染色观察, 进行了“白点病”组织病理学研究。

1 材料及方法

实验所用材料为自然感染的黄鳍鲷, 长 15~20 cm, 为中国水产科学院南海水产研究所, 深圳盐田试验基地提供真鲷, 长 2~2.5 cm, 采集地为广东省水产厅惠阳澳头水产增殖站。

证实感染的方法: 刮取实验鱼皮肤和鳃组织粘液, 置于玻片上, 镜下可看到有刺激隐核虫滋养体游动。对于感染程度较高的个体, 可通过

① 本研究为国家自然科学基金资助项目。

肉眼直接观察鱼体皮肤和鳃组织,确定有无白色点状物存在。

将病灶组织剪下,中性甲醛固定,PBS洗涤,逐级乙醇脱水,常规石蜡包埋,切片(切片厚5 μ m)。染色方法为常规H-E和Feulgen's法。

同时为研究寄生虫对宿主其他脏器有无影响,我们还取患病鱼的肝、脾和肾脏组织,并进行了常规H-E染色,与健康个体的相应组织进行了对照。

2 结果

肉眼观察到的被感染的鱼体、皮肤表面有许多细砂粒般的白色点状物存在(图1:1),剪开病鱼鳃盖骨,在鳃上也可见有明显的点状物存在(图1:2~3)。通过对这些点状物及其周围组织的切片观察,可以看到在皮肤组织的表皮层中有刺激隐核虫滋养体的胞间寄生(图1:4~7)。H-E和Feulgen染色后,显示滋养体的大核呈多块状念珠排列。经与DNA特异反应的Feulgen染色后,可以看到除大核块外,寄生虫体内含有许多Feulgen反应——阳性颗粒(图1:10)。刺激隐核虫除可寄生在鳃上皮和体表皮肤组织外,在真鲷的舌上皮组织上也发现有刺激隐核虫的胞间寄生(图1:8)。由于病原体的寄生,以及寄生虫侵入过程中的机械破坏和可能存在的生化反应,使宿主皮肤组织表皮层与下面的真皮层之间的联系被破坏,常在寄生部位形成空隙(图1:4~8)。当正常皮肤组织相比,病灶部位的皮肤明显增厚,其增厚部分主要是表皮粘液细胞层(图1:8),而且不再象正常皮肤组织那样平滑,而是变的粗糙(图1:4~8)。

与对照切片相比,病鱼肝细胞着色颗粒增加,并有肝细胞萎缩之趋势,使肝脏的窦状隙扩大(图2:12)。病鱼肾脏组织中,肾上管上皮细胞没有明显的变化而在肾脏拟淋巴细胞存在的部位有棕黑色颗粒沉积(图2:14)。脾脏中髓质部分也有棕黑色颗粒沉积,其形态和组成与出

现在肾脏中的相似,众多小颗粒集中在一起组成了大团块沉积。沉积部位宿主组织细胞出现坏死,坏死部位与活体细胞之间产生缝隙(图2:16)。

3 讨论

刺激隐核虫侵入宿主皮肤后引起的皮肤组织病理学变化同Hines(1974)^[8]所描述的多子小瓜虫*Ichthyophthirius multifiliis*引起的淡水“白点”病皮肤组织病理变化很相似。曾有人报道在淡水“白点”病鱼的皮肤病灶中,时常可看到两个以上的多子小瓜虫滋养体寄生(倪达书、李连洋,1960^[1],Ewing等(1988)^[6]利用寄生虫种群统计学研究了这一现象,认为多子小瓜虫滋养体寄生期间有繁殖过程。我们在观察刺激隐核虫滋养体时,发现偶有一个病灶存在着两个滋养体,但未观察到分裂相,故还不能确定它象多子小瓜虫那样可以在滋养体期进行繁殖。由于刺激隐核虫在寄生时是以宿主组织细胞和组织液为食的^[4],因此,滋养体内除大核外的Feulgen反应阳性颗粒一少部分是寄生虫的小核外,绝大部分的阳性颗粒是尚未消化的摄食的寄主细胞的细胞核。这一点通过透射电镜切片得到证实(徐润林,待发表)但在光镜下,不能分辨寄生虫小核和宿主细胞核。在寄生部位,刺激隐核虫除直接摄取宿主的营养外,由于它在宿主皮下的蠕动,使宿主正常组织联系被破坏,这一点在对鳃组织的活检时可看得很清楚。另外,该寄生虫的感染期幼虫前端含有透明质酸酶,这种酶在入侵过程中对宿主组织细胞间的透明质酸产生分解作用^[5]。

淡、海水“白点”病鱼的肝组织变化都出现细胞萎缩和窦状隙扩大的现象,其危害在于迫使病鱼消耗更多的肝脏贮藏能量^[8]。在病鱼的脾、肾二个脏器中,出现病理变化的部位都是免疫系统中淋巴细胞或拟淋巴细胞存在之处,这说明在病过程中,寄生虫产生了某些物质刺激了宿主的免疫系统。病变后出现的颗粒沉积应

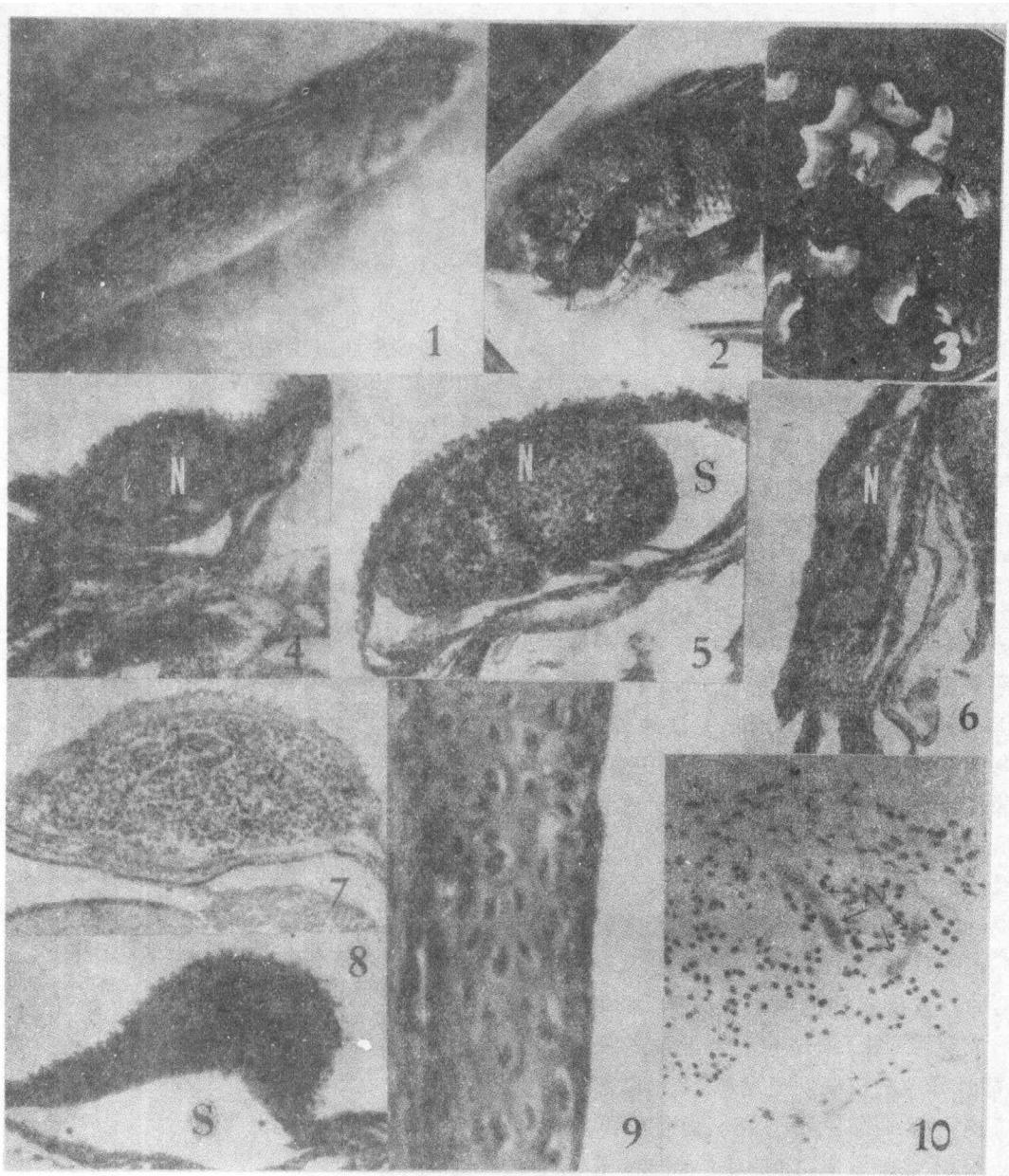


图 1

1. 肉眼观察到的黄鳍鲷“白点病”体征及刺激隐核虫寄生部位(箭头)。2. 3. 寄生在黄鳍鲷鳃上皮组织的刺激隐核虫(箭头)。4. 寄生在黄鳍鲷皮肤组织中的刺激隐核虫切片。N: 大核 H. E 染色; $\times 300$ 。5. 寄生在黄鳍鲷皮肤组织中的刺激隐核虫切片。N: 大核 S: 寄生囊内的空腔。H. E 染色; $\times 400$ 。6. 寄生在黄鳍鲷皮肤组织中的刺激隐核虫切片。N: 大核示表皮层与真皮层间的联系被破坏, H. E 染色; $\times 300$ 。7. 寄生在真鲷舌上皮的刺激隐核虫 H. E 染色; $\times 400$ 。8. 真鲷感染“白点病”后, 病灶处上皮组织明显增厚, 表面粗糙。S: 寄生囊内的空腔。H. E 染色; $\times 400$ 。9. 正常真鲷的皮肤组织。H. E 染色; $\times 1000$ 。

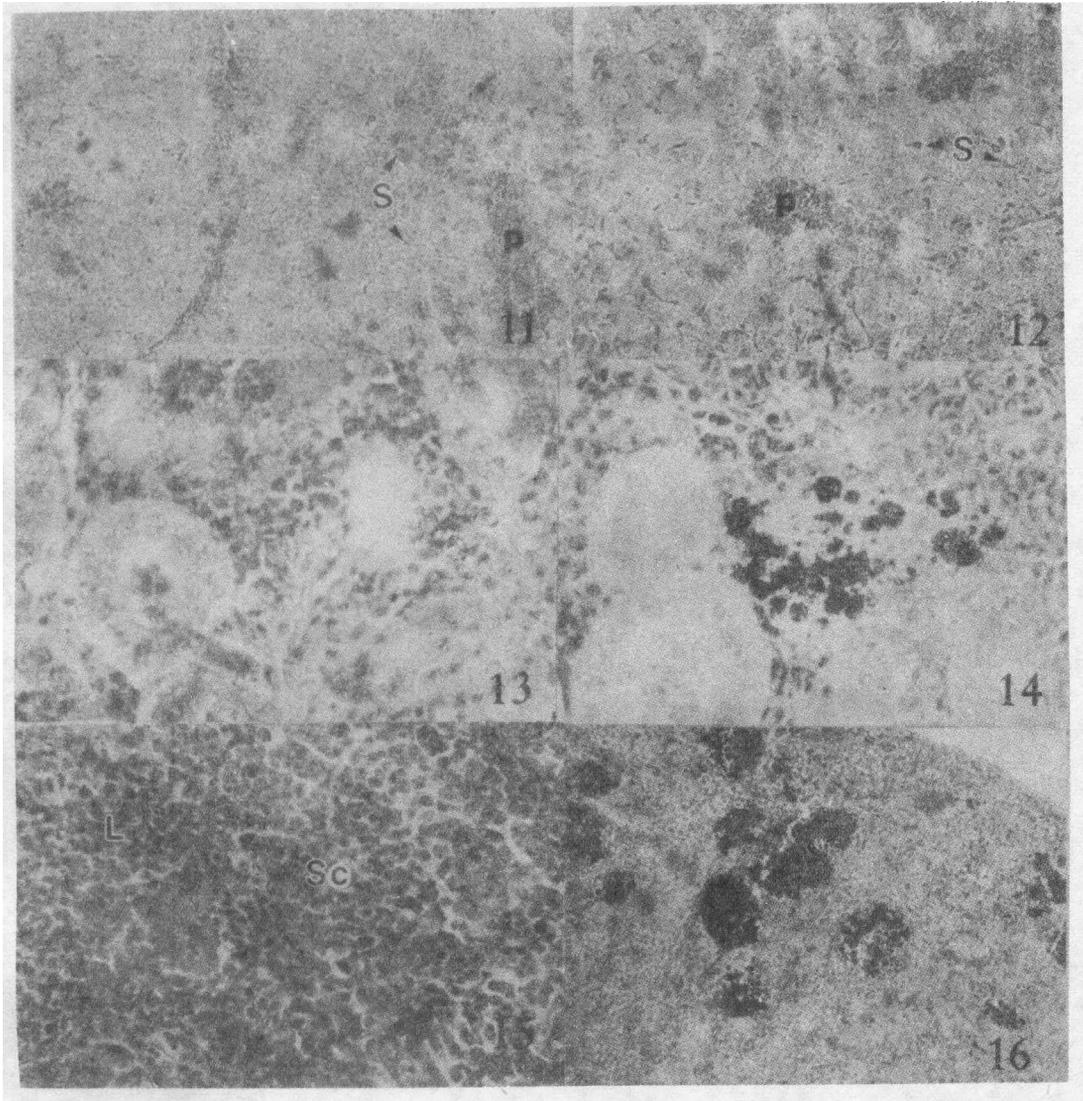


图 2

10. 寄生在真鲷皮肤内的刺激隐核虫, 示众多含核酸颗粒。N: 大核, Feulgen 染色; $\times 600$ 。11. 正常的黄鳍鲷肝切片, S: 窦状隙, P: 胰腺。H. E 染色; $\times 200$ 。12. 感染“白点病”的黄鳍鲷切片, 肝细胞萎缩, 窦状隙增大(S), P: 胰腺。H. E 染色; $\times 200$ 。13. 正常黄鳍鲷肾切片, H. E 染色; $\times 800$ 。14. 感染“白点病”的黄鳍鲷肾切片, 示棕黑色颗粒沉积。H. E 染色; $\times 800$ 。15. 正常黄鳍鲷脾切片, 示脾窦(箭头), 淋巴细胞(L) 和脾细胞(Sc)。H. E 染色; $\times 800$ 。16. 感染“白点病”的黄鳍鲷脾切片, 示棕黑色颗粒沉积。H. E 染色; $\times 200$ 。

是淋巴细胞与抗原性物质反应后的产物。这一点与淡水“白点”病有所不同, 后者中脾脏也出现淋巴细胞的增加, 而肾脏内各类免疫系统中的细胞消失^[8]。对于刺激隐核虫感染宿主后产

生的抗原性物质, 目前尚不能定性, 还需进一步的研究。

参考文献

- [1] 倪达书、李连祥, 1960. 多子小瓜虫形态学和生活史及控制的研究. 水生生物学集刊 2:197~255.
- [2] Cheung, P. J. *et al.*, 1979. Studies on cryptocaryoniasis in marine fish. *J. Fish Dis.* 2:93-97.
- [3] Colomi, A., 1985. Aspects of the biology of *Cryptocaryon irritans*, and hyposalinity as a control measure in cultured gilt-head sea bream *Sparus aurata*. *Dis. aquat. Org.* 1:19-22.
- [4] Colomi, A., 1987. Biology of *Cryptocaryon irritans* and strategies for its control. *Aquaculture* 22:236-237.
- [5] Colomi, A., 1988. New observations on the biology and infection process of *Cryptocaryon irritans*, a pathogen of marine fish. 3rd Internat. Colloq. Pathol. Marine Aquacul., 2-6 Oct. 88, Gloucester Point, VA (U. S. A.). 39-40.
- [6] Ewing, M. S. *et al.*, 1988. *Ichthyophthirius*: population studies suggest reproduction in host epithelium. *J. Protozol* 35:549-552.
- [7] Herwig, N., 1978. Notes on the treatment of *Cryptocaryon*. *Drumond Croaker* 18:6-12.
- [8] Hines, R. S., 1974. *Ichthyophthiriasis* in the mirror carp *Cyprinus carpio* III. Pathology. *J. Fish Biol.* 6:189-196.
- [9] Huff, J. A. *et al.*, 1981. Hypersaline and chemical control of *Cryptocaryon irritans* in red snapper, *Lutjanus campechanus*, monoculture. *Aquaculture* 22:181-184.
- [10] Nigrelli, R. F. & Ruggieri, C. D., 1966. Enzootics in the New York Aquarium caused by *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951. *Zoologica* 51:97-102.
- [11] Sikama, Y., 1983. Über die weisspunktchkrankheit bei see fishen. *The Shanghai Sci. Inst. Sec. III* 4:113-128.

STUDIES ON THE HISTOPATHOLOGY OF 'WHITE SPOT' DISEASE IN MARINE TELEOST^①

Xu Runlin¹, Chen Bisheng² and Jiang Jing-Bo¹

(¹Parasitology Laboratory, Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou, 510275)

(²South China Sea Institute of Fishery, Fishery Academia Sinica, Guangzhou, 510000)

Received: Nov. 11, 1991

Key Words: Marine teleost, 'White spot' disease, *Cryptocaryon irritans*, Histopathology

Abstract

The microscopical histopathology of 'white spot' disease in marine fish is studied in *Sparus latus* and *Pagrosomus major*. The pathogen is *Cryptocaryon irritans*. This parasite can parasitize the epithelial tissues of skin, gill and tongue of the hosts. Compared with normal tissues, the epidermis of infected host skin become thick and rough obviously. The proliferation of skin is in the layer of mucous cells. The combination between epidermis and derma is highly damaged in the hosts. There is a gap around parasite forming cyst-like protrusion. There are large number of host cells not completely digested. After being infected, the viscera which though no parasites are found also show certain pathological changes: The hepatocytes are

^① This project was supported by The National Science Foundation.

atrophied and sinusoidal spaces are abnormally wide; in the spleen and kidney, there are depositions of pellets. The results of our research is compared with that of freshwater fish 'Ich' which is most closely related with the disease here studied.