

草鱼出血病的电镜观察*

郑德崇 黄琪琰 赵立勤 周孝康

(上海水产大学, 200090)

提 要 草鱼出血病是由呼肠孤病毒感染所致的急性传染病, 由于病鱼小血管受损引起全身性出血, 并造成内脏器官和体壁肌肉组织局灶性病变。电镜观察表明病变细胞内各种细胞器的数量较正常细胞显著减少, 形态结构也遭损坏。质膜的三层结构模糊不清, 及至解体消失。与机体代谢密切相关的粗面内质网、滑面内质网、线粒体和高尔基复合体的数量减少及结构受损, 使蛋白质、糖类和脂质合成及分解等一系列细胞代谢活动不能正常进行, 加速了病鱼死亡。

关键词 草鱼, 出血病, 呼肠孤病毒, 电镜

草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 出血病是由呼肠孤病毒 (*Reovirus*) 感染所致的一种急性传染病, 造成池塘养殖的当年稚鱼和一足龄幼鱼大量死亡。这一传染病发病快、流行广、病死率高, 严重影响草鱼的养殖生产。在病原的研究以及预防和治疗等方面已经做了大量工作^[3,4,8], 而在组织病理学方面, 光镜和电镜的研究报告并不多见^[5,6,10,12]。虽然在草鱼出血病的细胞和组织超微结构的研究有过一些报导^[1,2], 但未做较为详尽的阐述。为能对病变组织有更深一层的了解, 我们继病变组织显微结构研究^[9]之后开展了这一研究。本文阐述了草鱼出血病病变细胞超微结构的变化。

材 料 和 方 法

供研究用的材料鱼, 其中包括自然发病的病鱼, 人工感染致病的病鱼, 以及用作对照的健康草鱼, 均取自浙江菱湖地区及浙江省淡水水产研究所池塘养殖的当年草鱼, 体长 12~15cm, 体重 20~40g。自然发病鱼直接取自发病的养鱼池塘, 人工感染发病鱼是由健康鱼注射出血病除菌原毒组织匀浆致病所得。用锋利的刀片迅速取下尚未死亡病鱼的肝脏、脾脏、肠、肾、脾和体壁肌肉, 切成小于 2mm³ 的小块, 用预冷磷酸缓冲液配成的 2.5% 戊二醛溶液做前固定, 并保存于 4℃ 冰箱内, 用装有冰块冷藏瓶带回学校实验室, 然后再用 1% 锇酸固定 1 小时, 用顺浓度梯度酒精逐级脱水, 环氧树脂 618 浸透、包埋。由 LKB-V 超薄切片机切成 600~700Å 厚度的超薄切片, 醋酸双氧铀—柠檬酸铅双重染色^[7,11], 用 JEM100-CXII 透射电镜观察。

结 果

1. 心 脏 受损害心肌纤维的横纹模糊不清, 肌原纤维的 I 带(明带), A 带(暗

*本研究得到浙江省淡水水产研究所大力支持, 本校张敏同志协助扩印照片, 特此一并致谢。

收稿年月: 1990年12月; 1991年5月修改。



图版说明 Explanation of Plate

1. 受损害心肌纤维模糊不清, Z线尚可辨认(↑所指), 局部肌原纤维已解体。线粒体肿胀、解体(↑所指)。×36000
2. 心肌纤维的横纹消失, 肌原纤维的粗丝和细肌排列混乱。×48000
3. 毛细血管内皮细胞的质膜和核膜肿胀, 局部已解体(↑所指), 线粒体, 内质网, 吞饮小泡极其少见。(N为内皮细胞核)。×10000
4. 肝细胞的质膜和核膜肿胀, 局部已解体。细胞质中出现空泡, 线粒体, 内质网肿胀, 数量减少。×10000
5. 病变肝细胞核膜局部解体, 线粒体(M)解体, 内质网肿胀, 有些已解体。×10000
6. 坏死的肠上皮细胞。局部的核膜已解体, 核内染色质稀少呈核溶的状态, 内质网肿胀, 解体形成空腔×10000
7. 肾脏近曲小管上皮细胞。核膜肿胀、解体。线粒体、内质网等细胞器难于见到。细胞质中有病毒颗粒(深黑色小点)。×10000
8. 脾脏中的巨噬细胞, 细胞质中有病毒颗粒。×14000。
9. 病变肾脏肌纤维的横纹难于区分, 局部肌原纤维解体, 肌质网和糖元粒已难于见到。×36000。

带),H带和M线(中线)难于区分开来,局部的肌原纤维解体(图版-1)。有些肌原纤维的粗丝和细丝排列不平行、不整齐(图版-2)。线粒体的数量减少,结构也受损害,有些线粒体肿胀,有些线粒体的外膜和嵴膜已解体,形成空腔。形成闰盘的细胞连接结构也模糊不清。

2. 血管 各脏器的小血管,尤其是毛细血管均受到不同程度的损害。病变毛细血管的内皮细胞最为突出,内皮细胞质膜的三层膜互相不平行,而且膜结构的线条模糊不清,局部的质膜已解体消失。正常内皮细胞所含有的大量吞饮小泡,不仅在远离胞核区的细胞质中不可多见,在核周区细胞质中吞饮小泡也难见到。线粒体和内质网也大为减少,结构受到损害(图版-3)。

3. 肝脏 草鱼的一部分胰腺组织埋藏于肝实质中,把这类肝脏称之为肝胰脏。肝小叶是肝脏的基本单位,小叶间结缔组织很不发达,使小叶分界极不明显。肝细胞结构随病情发展而有不同程度的细胞病理变化。有些肝细胞在细胞质中出现空泡(空泡变性),线粒体、内质网和溶酶体等细胞器显著减少,糖元粒也很少见。(图版-4)。有些肝细胞在细胞质中出现大小不等的脂肪滴。也有一些肝细胞核膜的线条不清晰、不平行,局部核膜已解体。线粒体外膜和嵴膜解体,尚存的痕迹依稀可见。内质网肿胀,有些内质网已解体形成空白区(图版-5)。受损害的胰腺细胞的分泌颗粒(酶元颗粒)已消失。

4. 肠 肠上皮细胞有不同程度的病理变化,线粒体、内质网和溶酶体等细胞器不仅数量减少,结构也遭不同程度的破坏。肠上皮细胞的微绒毛解体,质膜、核膜、和线粒体膜,由肿胀至解体。尤其是内质网极度肿胀,局部内质网解体消失,由于内质网和线粒体的解体消失,在细胞质中出现了大片空白区(图版-6)。

5. 肾 病鱼肾脏也有不同程度的病理变化,近曲小管上皮细胞的病变较为突出,游离面的微绒毛,基底面的质膜内褶,以及其他的膜相结构,有的呈现肿胀,有的已经解体。细胞器的数量显著减少,结构也遭破坏。坏死的近曲小管上皮细胞所有膜相结构,如质膜、核膜、内质网以及线粒体和高尔基复合体的膜结构均解体消失,细胞核仅残留一个痕迹。在一些肾小管上皮细胞的细胞质中有病毒颗粒(图版-7)。

6. 脾 脾脏主要由网状纤维和网状细胞构成海绵状网架,网架间的腔隙有血窦,血窦内有红细胞、粒性白细胞、淋巴细胞和巨噬细胞。网状细胞形状不规则,有突起,细胞核较大,核仁明显。受损害的网状细胞有肿胀,变性,等细胞病理变化。变性的网状细胞,在细胞质中出现空泡,线粒体减少,局部的膜结构肿胀及至解体。内质网肿胀成泡状,局部的内质网解体。网状纤维也发生变性。脾血窦内皮细胞受损,血窦内有坏死的红细胞,并有微血栓形成。巨噬细胞内有病毒颗粒(图版-8)。

7. 骨骼肌 病变骨骼肌的横纹不明显,除了Z线尚能看出之外,I带、A带、H带和M线较难于区分开来。同一肌纤维中,局部的肌原纤维解体,以至横纹消失(图版-9)。细胞质中的线粒体,糖元粒等极其少见。有些骨骼肌纤维已坏死解体。

讨 论

草鱼出血病的组织病理变化,主要是全身性小血管受损伤,鱼体各部组织器官(除脑

和神经组织来取材之外),如心脏、血管、肝胰脏、肠、脾、肾、鳃及体壁肌肉等脏器组织均受其害,形成局灶性细胞组织的变性和坏死。在光学显微镜下还不能察觉出细胞病理变化时,在电镜下已显示出细胞超微结构的变化。病变细胞呈现出细胞器数量显著减少以及结构的损坏,质膜三层结构的线条模糊不清,以至解体。细胞的包涵物如肝糖元以及胰腺的分泌颗粒均大为减少。以至完全消失。细胞间质中的胶原纤维肿胀变性,640A°左右的周期性横纹消失。

由于小血管内皮细胞受损,激活了凝血因子,产生弥漫性血管内凝血,形成微血栓。由于微血栓形成,阻断了该脏器局部的微循环,使氧和营养物质得不到正常供应,代谢废物也得不到及时运送,而导致细胞组织发生梗死样病变。病变细胞的粗面内质网、滑面内质网、高尔基复合体和线粒体等与细胞代谢活动密切相关的细胞器数量减少及结构破损,使蛋白质、糖类和脂质的合成和分解代谢以及能量供应等一系列细胞生命活动均受损害;另一方面由于血管内皮受损,微血栓形成,激活并耗去大量凝血因子,引起出血,使心血管系统中的循环血量大为减少,导致病鱼死亡。

参 考 文 献

- [1] 丁清泉等,1990。草鱼出血病主要器官组织的超薄切片观察及感染力的比较。水产学报,14(1):66—69。
- [2] 毛树坚等,1988。草鱼出血病两种病原病毒的细胞病理学观察。海洋与湖沼,19(5):435—438。
- [3] 中国科学院水生生物研究所第三室病毒组等,1980。草鱼出血病病原研究,II 电镜观察。水生生物学集刊,7:75—79。
- [4] 中国科学院武汉病毒研究所,中国水产科学院长江水产研究所沙市分所草鱼出血病研究协作组,1984。草鱼出血病病毒精细结构的研究。淡水渔业,(3):21—22。
- [5] 吴友吕等,1986。中国对虾复眼细微结构和瞎眼的电镜观察。东海海洋,4(4):63—72。
- [6] 里贝林, W. F. 和三垣, G. (华鼎可、李耀祖编译), 1981。鱼类病理学。15, 23, 37。农业出版社(京)。
- [7] 利怀斯, P. R. 和 D. P. 克奈特 (严共华译), 1981。切片材料的染色方法—电镜技术。人民卫生出版社(京)。
- [8] 陈燕棠、江育林, 1983。草鱼出血病病毒形态结构及其理化特性的研究。科学道报, 28(18): 95—104。
- [9] 郑德崇等, 1986。草鱼出血病的组织病理研究。水产学报, 10(2): 151—159。
- [10] 钟慈声等, 1984。细胞和组织的超微结构。人民卫生出版社(京)。
- [11] 黄立, 1982。电子显微镜生物样品制备技术。江苏科技出版社(宁)。
- [12] Tevuo Miyazaki et al., 1986. A Light and Electron Microscopic Study on Epitheliocystis Disease in Cultured Fishes. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52(2): 199-202.

ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATION ON THE HEMORRHAGE DISEASE OF GRASS CARP

Zheng Dechong, Huang Qiyang, Zhao Liqing and Zhou Xiaokang

(Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT The hemorrhage disease of grass carp *Ctenopharyngodon idellus* is an acute disease caused by *Reovirus* which injure and damage blood capillaries of the viscera and muscular tissur of fish body wall and bleed in varying degrees. Observations under electron microscope indicated: (1) The morphological structures of

diseased cell are abnormal. (2) The amount of organellis in diseased cells are less than that of the normal cells. (3) The demarcations among three layers of plasmalemma structure are blurred and so far as to be disintegrated. (4) The numbers of rough endoplasmic reticula, smooth endoplasmic reticula, Golgi complex and mitochondria that concern metabolism decreased and their structures were seriously damaged obviously.

KEYWORDS grass carp, hemorrhage disease, *Reovirus*, electron microscope

欢 迎 订 阅《水 利 渔 业》

《水利渔业》是由水利部主管、水利部工程管理培训中心主办的技术性期刊,是全国水利系统唯一有关渔业的杂志。旨在宣传党和政府的水利渔业方针政策,交流水利渔业和有关水产生产、科研方面的新技术、新成果,总结经营管理和生产经验,传递国内外水利渔业动态、信息,促进水利渔业的发展。《水利渔业》开设的主要栏目有研究报告、经验交流、综述与专论、国外渔业等。

《水利渔业》为双月刊,逢单月25日出版,单价1.20元。邮发代号38—76;国内统一刊号CN41—1247。漏订者可直接汇款至编辑部邮购。通讯地址:湖北省丹江口市;邮政编码:441900。