

文章编号: 1004-7271(2000)04-0369-04

·研究简报·

养殖欧洲鳗鲡“狂游病”外周血细胞的病理变化

Pathologic changes of peripheral blood cells of “mad swim disease” associated with cultured European eel, *Anguilla anguilla* L.

周 玉, 郭文场, 杨振国, 邹啸环, 张 凯, 文兴豪, 王铁东

(中国人民解放军军需大学动物科技系, 吉林 长春 130062)

ZHOU Yu, GUO Wen-chang, YANG Zhen-guo, ZOU Xiao-huan, ZHANG Kai, WEN Xing-hao, WANG Tie-dong
(Faculty of Animal Sciences and Veterinary Medicine, The Quartermaster University of PLA, Changchun 130062, China)

关键词: 欧洲鳗鲡; “狂游病”; 血细胞

Key words: European eel; “mad swim disease”; blood cell

中图分类号: S917 文献标识码: A

近年来,在欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)的养殖过程中常发生“狂游病”。发病前,出现食欲极为旺盛,异常抢食现象。数日后离群、不摄食、旋转式游动、侧游或在水面上呈挣扎状急游,数秒后沉入水中,再上浮挣扎状游动,往复进行。2~3天后病鳗出现呼吸困难,对外界刺激反应迟钝,继而随水流集于排污口。死亡数急剧增加。流行季节为5月~10月份,7月~8月份为发病高峰,死亡率达90%以上。当年欧洲鳗鲡(100~200g)和2龄欧洲鳗鲡(400g以上)均易发病死亡,从开始发病到死亡一般只需2周左右,目前尚无良好的治疗方法,给欧洲鳗鲡养殖者带来了巨额的经济损失。有关欧洲鳗鲡“狂游病”病原学已有学者研究^[1],欧洲鳗鲡“狂游病”的组织病理变化已有报道^[2]。本文报道其外周血细胞的显微和亚显微病理变化。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

健康欧洲鳗鲡和“狂游病”欧洲鳗鲡各30尾,体重100~200g,取自福建省莆田市某渔场,塑料袋充氧空运回实验室,放在(20±2)℃水族箱中暂养。

1.2 样品制备

涂片与染色:断尾采血,常规法制做血涂片,Giemsa氏染色。电镜样品制备:取血2mL,12~15g·L⁻¹ EDTA二钠抗凝,1500r·min⁻¹离心10min;除去上清液,4℃2.5%戊二醛固定,挑取白细胞层,PBS漂洗2~3次,切成1mm×1mm×1mm小块,1%锇酸固定2h,乙醇逐级脱水,Epon812环氧树脂浸透、包埋、聚合。NONA-LKB超薄切片机切片,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,JEM-1200EX II透射电镜观察拍照。

1.3 测定项目

、红细胞(RBC)计数用Dacie液,在Neubauer计数板上光镜下计数。白细胞(WBC)计数用醋酸龙胆紫

收稿日期:2000-07-20

作者简介:周 玉(1969-),男,内蒙古赤峰人,讲师,硕士,从事特种水产动物养殖病害的教学和科研工作。

稀释液,在 Neubauer 计数板上光镜下计数。血红蛋白(Hb)用 Sahli 酸化血红蛋白比色法。红细胞比积(Hct)用 0.1mL 比积管,3000r·min⁻¹离心 30min,观察比积值。细胞分类记数(DCL)每尾鱼涂血涂片 4 张,光镜下观察 100 个白细胞,用血细胞分类记数仪记录细胞分类记数值。血细胞(核)大小由血涂片上油镜测定。细胞的长径和短径分别用 C.L. 和 C.S. 表示,细胞核的长短径分别用 N.L. 和 N.S. 表示。

2 结果

“狂游病”欧洲鳗鲡的 RBC、WBC 增多,Hct 增大,而 Hb 明显降低。DLC 方面,单核细胞所占百分比显著升高,小淋巴细胞所占百分比显著降低,同时,具分叶核的嗜中性粒细胞的比例增大(表 1)。“狂游病”欧洲鳗鲡红细胞的长径变短,嗜中性粒细胞及其核明显变小,单核细胞的短径变短,同时大淋巴细胞增大(表 2)。

表 1 “狂游病”欧洲鳗鲡血液常数值的变化
Tab.1 Changes in the blood indices of “mad swim disease” eels

	正常			狂游病			增加%
	平均数±标准差	CV/%	n	平均数±标准差	CV/%	n	
红细胞数 RBC/(10000·mm ⁻³)	128.53±19.79	15.4	30	143.53±33.16*	23.1	30	11.7
白细胞 WBC/(10000·mm ⁻³)	2.14±0.65	30.4	30	2.87±1.29*	44.9	30	34.1
血红蛋白 Hb/g%	6.47±0.88	13.6	30	5.72±0.90*	15.8	30	-11.6
比积 Hct/%	0.36±0.06	15.7	30	0.40±0.07*	17.5	30	11.1
嗜中性粒细胞 (具 1 叶核) Neut(M)	2.87±2.96	103.1	30	3.93±3.71	94.4	30	36.9
嗜中性粒细胞 (具 2 叶核) Neut(Bi)	0.50±0.87	15.54	30	1.33±2.04*	152.9	30	166
单核细胞 Mon	4.17±4.62	11.08	30	17.33±16.48**	95.1	30	315.6
大淋巴细胞 Lym(L)	1.60±1.57	97.9	30	2.60±2.52	97.2	30	62.5
小淋巴细胞 Lym(S)	15.43±9.30	60.3	30	373±3.17**	84.9	30	-75.8
血栓细胞 Thr	75.20±12.97	17.2	30	70.70±18.52	26.2	30	-59

注: * 为差异显著(P<0.05); ** 为差异极显著(P<0.01); CV/% 为变异系数。

2.1 “狂游病”欧洲鳗鲡外周血细胞的超微病理变化

红细胞:线粒体肿大,内嵴消失或仅存残片,核周隙增大(图版-1),部分细胞核内发现 1~2 个染色体较深的管状或棒状结构(图版-2)。

淋巴细胞:空泡高度增大,内有电子密度不等的絮状物;核内可见空泡状、类似脂质的包含物和线粒体样包含物(图版-3)。部分细胞核内出现染色较深的管状结构,异染色质增多,由带状或片状分布为均匀的散状分布,粗面内质网扩张成不规则的空泡状(图版-4)。

单核细胞:伪足样突起明显,胞质内空泡增多、变大,核内出现染色较深的管状结构(图版-5)。部分细胞的细胞质特化为纤毛状或丝状结构。

血栓细胞:核糖体增多,积聚成团;胞质内空泡增多,使整个胞质呈网状,同时出现伪足样突起(图版

-6)。质膜核膜模糊不清或消失,空泡变大。核内出现空泡(图版-7)。

嗜中性粒细胞:核糖体增多,积聚面团(图版-8)。线粒体肿大,内嵴仅存残片或消失(图版-9)。

表 2 “狂游病”欧洲鳗鲡各型血细胞大小的变化(μm)
Tab.2 Changes in the size of different blood cells of “mad swim disease” eels (μm)

		正常			狂游病			增加/%
		平均数 \pm 标准差	CV/%	n	平均数 \pm 标准差	CV/%	n	
红细胞	C.L.	11.80 \pm 0.71	6.1	30	10.97 \pm 0.87**	7.9	30	-7.1
	C.S.	7.83 \pm 0.90	11.5	30	8.05 \pm 0.88	10.9	30	2.8
	N.L.	4.64 \pm 0.61	13.2	30	4.48 \pm 0.74	16.4	30	-3.3
	N.S.	2.71 \pm 0.46	16.9	30	2.57 \pm 0.43	16.6	30	-5.3
嗜中性粒细胞	C.L.	11.73 \pm 1.45	12.4	30	10.78 \pm 0.86**	7.9	30	-8.1
	C.S.	10.73 \pm 1.41	13.2	30	9.23 \pm 1.03**	11.2	30	-13.9
	N.L.	7.23 \pm 1.16	16.0	30	6.72 \pm 0.73*	10.8	30	-7.1
	N.S.	5.37 \pm 0.68	12.7	30	4.87 \pm 0.80*	16.4	30	-9.3
单核细胞	C.L.	10.78 \pm 1.55	14.3	30	10.20 \pm 1.53	15.1	30	-5.4
	C.S.	9.47 \pm 1.75	18.5	30	8.83 \pm 1.37**	15.5	30	-12.0
	N.L.	7.45 \pm 1.49	19.9	30	7.25 \pm 1.03	14.2	30	-2.7
	N.S.	5.35 \pm 0.98	18.2	30	5.10 \pm 0.71	13.9	30	-4.7
大淋巴细胞	C.L.	8.33 \pm 1.21	14.6	30	9.05 \pm 1.42*	15.7	30	8.6
	C.S.	7.43 \pm 1.55	15.5	30	8.03 \pm 1.08*	14.6	30	8.7
	N.L.	6.27 \pm 1.06	16.9	30	6.77 \pm 1.06	15.7	30	7.9
	N.S.	5.63 \pm 1.01	17.9	30	5.67 \pm 0.88	15.6	30	0.6
小淋巴细胞	C.L.	6.03 \pm 1.72	11.9	30	6.32 \pm 1.69	10.9	30	4.7
	C.S.	5.52 \pm 0.88	15.9	30	5.43 \pm 0.72	13.2	30	-1.5
	N.L.	4.93 \pm 0.99	20.1	30	5.05 \pm 0.71	14.1	30	23
	N.S.	4.50 \pm 0.96	21.2	30	4.17 \pm 0.76	18.9	30	-7.4
血栓细胞	C.L.	4.97 \pm 0.71	14.2	30	4.57 \pm 1.05	22.9	30	-8.1
	C.S.	4.02 \pm 0.74	18.6	30	3.67 \pm 0.72	19.7	30	-8.7
	N.L.	3.24 \pm 0.77	23.6	30	3.28 \pm 0.78	23.9	30	1.3
	N.S.	2.68 \pm 0.78	29.2	30	2.63 \pm 0.72	27.3	30	-1.6

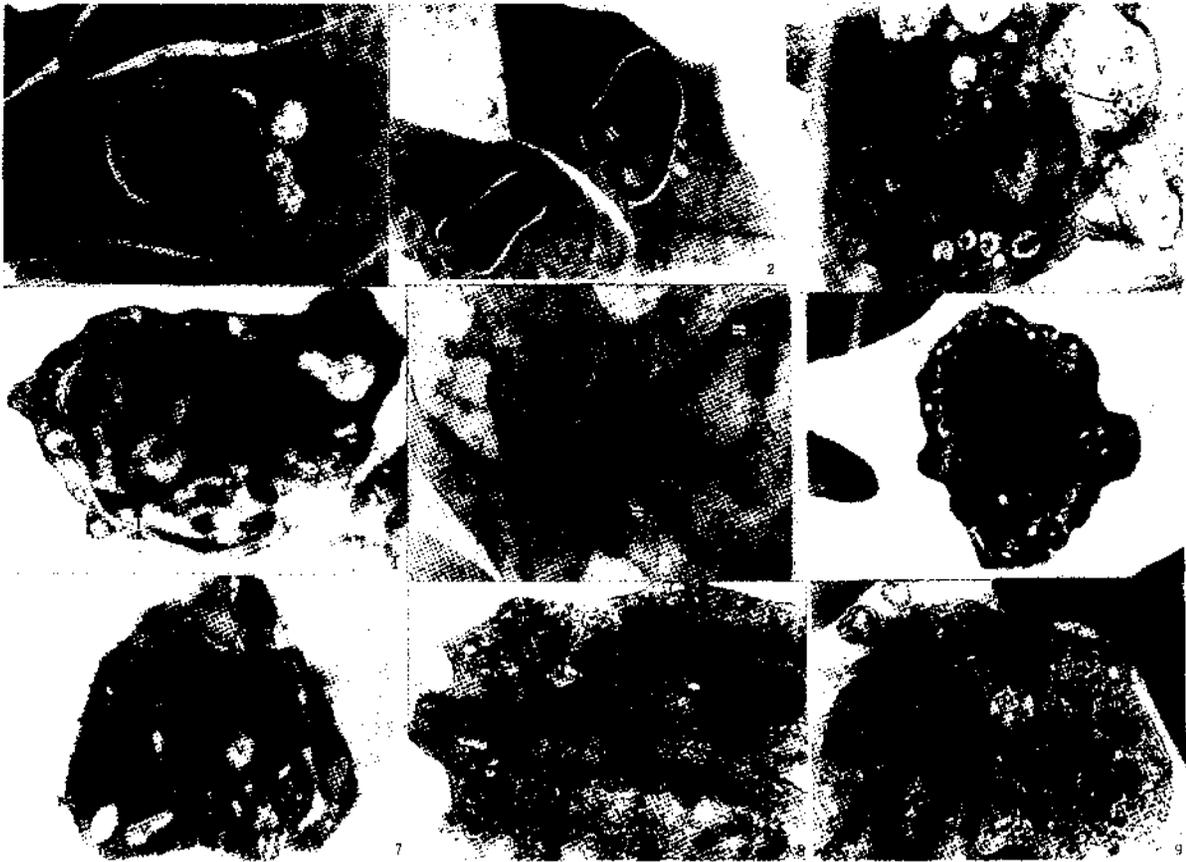
注: * 为差异显著($P < 0.05$); ** 为差异极显著($P < 0.01$)。(C.S.)细胞长(短)径;N.L.(N.S.)细胞核长(短)径;CV/%为变异系数。

3 讨论

RBC 增多, Hct 增大, 可能由缺氧引起^[3], 与患败血症^[4]和狂游病^[5]的鲢以及患赤鳍病的鳗鲡和患 X 病的虹鳟^[6]相同。Hb 减少, 造成贫血。WBC 增多, 表现为嗜中性粒细胞, 特别是单核细胞增多。WBC 增多和 DLC 的变化是病鱼对寄生虫侵袭的一种反应, 机体的非特异性免疫水平提高, 引起淋巴致敏, 调动嗜中性粒细胞进行吞噬作用, 使其在白细胞中的百分比增高^[5]。Lym 增多, 使机体的特异性免疫水平提高。RBC、WBC、Hb 值的变异系数增大, 与患败血症的鲢^[4]相同。嗜中性粒细胞所占百分比的变异系数变小, 与患狂游病的鲢^[5]相同。Hct、小淋巴细胞和血栓细胞所占百分比的变异系数增大, 单核细胞所占百分比的变异系数与健康欧洲鳗鲡相近, 与饥饿和受伤状态的大口鲈^[7]相同。

“狂游病”欧洲鳗鲡不仅红细胞体积变小, 而且红细胞平均血红蛋白含量及红细胞平均血红蛋白浓度都减小, 从而导致红细胞运输氧的能力降低, 组织细胞缺氧, 物质代谢下降, 这与临床上表现的呼吸困难、反应迟钝、食欲降低或停止摄食是一致的。

“狂游病”欧洲鳗鲡不仅产生肌肉、鳃等组织的炎症反应, 同时肝脏、肾脏和心脏等重要内部功能器官也发生病变^[2], 这是“狂游病”欧洲鳗鲡死亡的原因之一。



图版 Plate

1. 红细胞示肿大的线粒体(M), $\times 3\ 000$; 2. 红细胞示核内染色较深的棒状结构(箭头所示), $\times 18\ 000$; 3. 淋巴细胞示增大的空泡(V)和核内空泡(V), $\times 40\ 000$; 4. 淋巴细胞示核内染色较深的管状结构(箭头所示), $\times 22\ 500$; 5. 单细胞示核管状结构(箭头所示)和肿大的细胞膜突起(P), $\times 30\ 000$; 6. 血栓细胞示空泡增多(V)、自由核糖体增多并积聚成团(Rb)、伪足样突起(P), $\times 16\ 000$; 7. 血栓细胞示增大的空泡(V)、细胞膜和核膜破裂, $\times 4\ 000$; 8. 嗜中性粒细胞示自由核糖体增多并积聚成团(Rb), $\times 33\ 700$; 9. 嗜中性粒细胞示线粒体肿大, 内嵴消失或仅存残片, $\times 30\ 000$ 。

参考文献:

- [1] 陶曾思, 黎诚耀, 杨盛华, 等. 鳊鱼“狂游病”病原学[J]. 中国兽医学报, 1997, 17(10): 30-31.
- [2] 樊海平, 徐娟儿, 黄晓凤. 养殖欧洲鳊“狂游病”病理变化的电镜观察[J]. 中国水产科学, 1997, 4(1): 84-87.
- [3] 王义强, 黄世蕉, 赵维信. 鱼类生理学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989. 76.
- [4] 米瑞英, 陶炳春, 王晓梅, 等. 鳊败血症血液生理指标的变化[J]. 淡水渔业, 1993, 23(4): 16-19.
- [5] 余毅, 吴宝华. 白鲢疯狂病血液的研究[A]. 中国水产学会第四次全国代表大会暨学术年会论文集[C]. 1998, 200-203.
- [6] 尾崎久雄. 鱼类血液与循环生理[M]. 上海: 科学技术出版社, 1982. 44.
- [7] 李懋, 万松良, 黄三春. 不同状态下大口鲮血液学研究[J]. 水产科学, 1997, 16(6): 3-7.