

叉尾斗鱼关睾虫(单殖亚纲)病的鳃组织病理学研究

李海燕, 香咏瑜

(广州大学 生命科学学院, 广东 广州 510006)

摘要:对叉尾斗鱼(*Macropodus opercularis*)的大钩关睾虫(*Heteroncholeidus magnihamatus* Zhang et Ji)和小钩关睾虫(*H. buschkei* Bychowsky)病进行了病理学研究。结果表明,关睾虫寄生于叉尾斗鱼的初级鳃丝及鳃小片,轻度感染时,病变不明显,导致部分鳃丝组织完整性受到破坏;中度感染时,鳃丝组织增生、融合,有大量黏液细胞浸润,鳃小片与鳃丝分离,形成空隙;重度感染时,鳃丝组织细胞解离、空泡化,呼吸上皮与毛细血管分离严重,形成空腔。[中国水产科学, 2006, 13(5): 829-833]

关键词:叉尾斗鱼,大钩关睾虫,小钩关睾虫,鳃组织病理学

中图分类号:S941.52 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2006)05-0829-05

叉尾斗鱼(*Macropodus opercularis*)隶属斗鱼科(Belontiidae)斗鱼属(*Macropodus*),分布在中国和越南,是生活在淡水水域的一种小型鱼类,生性好斗,现作为一种观赏鱼进行饲养。目前已记载的寄生在斗鱼鳃上的单殖吸虫为1属2种^[1-2]。

关睾虫隶属于单殖亚纲(Monogenea)锚首虫科(Ancyrocephalidae)关睾虫属(*Heteroncholeidus*),虫体较小,寄生在斗鱼的鳃丝上,为鳃寄生虫。作者在2004年8月至2005年4月在广州清平市场的调查中发现,叉尾斗鱼鳃上的关睾虫的感染率很高,平均感染率为68.3%,平均感染强度为16.8枚/尾。关睾虫通过后吸器上的中央大钩和边缘小钩寄生在斗鱼的鳃丝上,损伤鳃组织,使斗鱼的鳃组织发生病变。为探讨关睾虫对斗鱼鳃丝的致病机理,本研究从组织病理学的角度对叉尾斗鱼鳃丝的病变和危害情况进行了观察研究,旨在为叉尾斗鱼的关睾虫病的防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

用于剖检的叉尾斗鱼在2004年8月~2005年4月期间,购自广州清平市场,共9批,82尾。体长4~6 cm,体质量4~7 g。

1.2 方法

剪取叉尾斗鱼的鳃,取1个半鳃(根据作者以往

的实验观察证明,关睾虫在叉尾斗鱼的2个半鳃上的寄生情况大致相同,无明显偏好性)。在解剖镜下检查,采集虫体并记数,统计感染强度,制片和鉴定。根据调查期间的关睾虫感染强度,按半鳃感染关睾虫的数量,可将感染强度分为轻度感染(半鳃感染量 ≤ 10)、中度感染($10 < \text{半鳃感染量} < 50$)、重度感染(半鳃感染量 ≥ 50)3组。将另一个半鳃用Bouin's液或10%甲醛溶液固定24 h或以上,保存于70%的酒精中,然后用梯度酒精脱水,二甲苯透明,透蜡,包埋,连续切片,切片厚度为7~8 μm ,用HE染色,中性树胶封片,置Olympus BX-51显微镜下观察,拍照。

2 结果

2.1 寄生部位及感染情况

经鉴定发现,寄生在叉尾斗鱼鳃上有2种关睾虫,即小钩关睾虫(*Heteroncholeidus buschkei* Bychowsky)和大钩关睾虫(*H. magnihamatus* Zhang & Ji)(图1、图2)。大钩关睾虫虫体大小为(0.338~0.572) mm $\times$ (0.107~0.164) mm,小钩关睾虫虫体大小为(0.296~0.582) mm $\times$ (0.096~0.133) mm,两种关睾虫后吸器的中央大钩,有3个为指环虫型,另1个中央大钩中途停止发育,无内外突的分化。其中发达的3个中央大钩及7对边缘小钩深深插入叉

收稿日期:2005-08-23; 修订日期:2005-12-12。

基金项目:广州大学2003年科研项目。

作者简介:李海燕(1962-),女,副教授,主要从事鱼类单殖吸虫及水产动物病害的研究。E-mail: hyl6180@sina.com

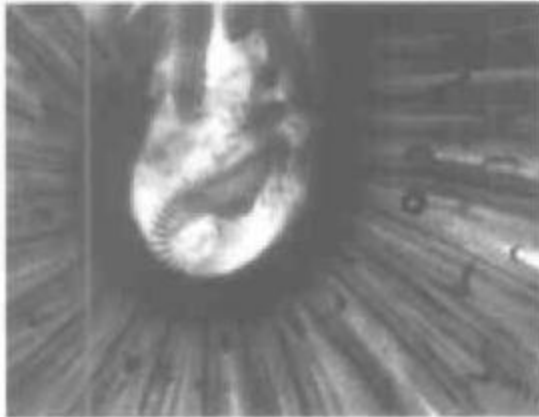


图1 示大钩关睾虫和小钩关睾虫寄生在鳃丝上(10×10)

Fig.1 showing *Heteroncholeoides magnihamatus* and *H. buschkei* of parasitizing on the gill filament (10×10)

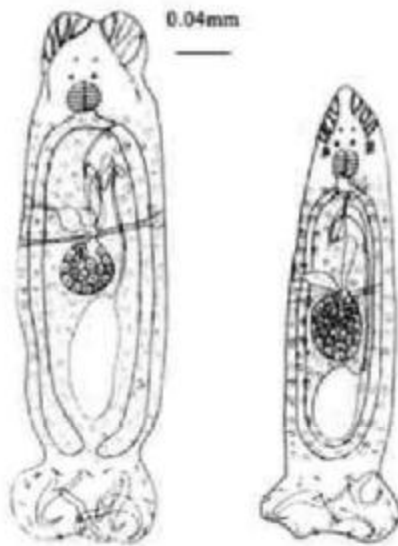


图2 大钩关睾虫(a)与小钩关睾虫(b)

Fig.2 *Heteroncholeoides magnihamatus* and *H. buschkei*

尾斗鱼的鳃丝,中央大钩和边缘小钩钩住鳃丝组织,鳃丝组织紧紧包绕在后吸器周围。轻度感染时,关睾虫分布在靠近次级鳃丝的远端部位;中度感染时关睾虫常分布在次级鳃丝的中段部位;高度感染时,关睾虫在鳃丝上的分布并无选择性,鳃丝的远端及黏液、中段及近段均有虫体寄生。关睾虫在各鳃片上的感染强度以第一、二鳃片最大(鳃各部分命名见文献[3]),其余鳃片均无明显差别。在所调查的82尾叉尾斗鱼中,平均感染率为68.3%,感染强度为

1~142枚/尾,平均感染强度为16.8枚/尾。其中,轻度感染47.6%、中度感染15.9%、重度感染4.9%。

2.2 组织病理变化

2.2.1 正常鳃丝 鳃丝的水平切面排列整齐,鳃小片以45°角交互平行排列在鳃丝软骨的两边(图版I-1)。

2.2.2 轻度感染 鳃丝组织的完整性受到破坏,引起鳃丝局部的机械性损伤。虫体的中央大钩或边缘小钩深深插入初级鳃丝,借助大钩或缘钩固着在鳃小片基部的复层上皮周围,在虫体插入处,初级鳃丝上皮细胞增生,排列混乱、相互融合,复层上皮细胞与鳃丝软骨轻微分离,在鳃小片上的毛细血管(也称窦状隙)肿胀,并且因虫体的机械挤压次级鳃丝发生变形,影响鳃小片的正常排列(图版I-2,3)。单层呼吸上皮细胞膜变形及表面不光滑,细胞间联系不紧密,常有大小不等的空隙,鳃小片中的毛细血管扩张,充血(图版I-4);关睾虫寄生造成的轻度损伤仅影响虫体所在的鳃丝,对邻近的鳃丝及另一侧次级鳃丝无明显影响(图版I-2)。

2.2.3 中度感染 虫体通过中央大钩固着在鳃小片的单层呼吸上皮,中央大钩周围的上皮细胞各自独立或多数细胞坏死解体,结构松散,由于虫体的活动或挤压,虫体寄生周围的鳃小片游离端均有损伤现象,造成单层呼吸上皮脱落,结构不完整,甚至窦状隙裸露(图版I-5);次级鳃丝的毛细血管局部充血严重,多见于远段,虫体寄生数量多时充血及至中段,窦状隙严重充血、渗血或断裂(图版I-6)。大部分初级鳃丝与鳃小片发生病变,低倍镜观察鳃丝周围有大量黏液细胞浸润,鳃小片与鳃丝软骨分离,形成空隙。发病从初级鳃丝的远段开始,严重时及至近段,单层呼吸上皮增生,上皮细胞数目剧增,导致病变部位的鳃小片之间的隙缝逐渐被上皮细胞所填满,鳃小片融合,虫体寄生密度较大时,次级鳃丝远段1/3处出现鳃小片融合成棍棒状,内部血细胞数目明显减少,且在融合的呼吸上皮附近出现大量纤维细胞及黏液细胞,还可见大块组织脱落,致使虫体随之脱离,游离在2条鳃丝之间(图版I-7)。上皮细胞各自独立,无紧密联系,且细胞面积大于正常,细胞内发生空泡化,膜内除细胞核外无其他内容物。

2.2.4 重度感染 重度感染时,肉眼观察,病鱼鳃丝黏液显著增多,鳃丝呈淡红色或灰白色,鳃部明显浮肿,鳃瓣表面分布着许多虫体。对鳃丝的损害同

时兼有轻度感染和中度感染的症状,但其造成损害的范围扩大,由1条初级鳃丝扩大到相邻的几条初级鳃丝,从鳃丝的远段到近段均有病变。虫体寄生附近鳃小片排列无序,单层呼吸上皮与窦状隙分离,或细胞不完整、解离,细胞内空泡化,使窦状隙裸露。大钩及缘钩插入处的鳃小片毛细血管断裂严重,血细胞肿大(图版I-8,9),虫体的数量多时,鳃丝的棍棒化严重,甚至整条初级鳃丝棍棒状,表面形成1层细胞层与外界隔离,该层细胞轻微纤维化,整条鳃丝及相邻的几条鳃丝的毛细血管全部萎缩或消失(图版I-10),呼吸上皮大面积融合,上皮组织与鳃丝软骨分离,形成较大的空腔,有时鳃丝软骨组织消失,鳃小片与鳃丝软骨分离,导致在鳃小片周围出现较大的空腔,鳃丝周围有黏液细胞及纤维化细胞浸润,复层上皮着色较深,表明有轻微炎症反应(图版I-11)。

3 讨论

实验结果表明,关睾虫的致病性和损伤程度主要取决于虫体的感染强度、感染密度。轻度感染时,复层呼吸上皮增生,窦状隙充血;中度感染时,上皮细胞增生、融合,有大量黏液细胞浸润,鳃小片与窦状隙分离,形成空腔;重度感染时,呼吸上皮与鳃丝软骨分离严重,形成空腔,初级鳃丝棍棒化,大部分初级鳃丝病变严重,虫体因寻找食物会在鳃丝多处活动,造成鳃组织多处病变,而且寄生密度越大,病变越严重,越明显。研究结果与李立伟等^[4-5]在花鲈(*Lateolabrax japonicus*)逆转指环虫病病理学研究以及李文宽等^[6]在水库鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)小鞘指环虫病鳃组织病理及其防治的研究结果基本相似。关睾虫属的中央大钩中,有3个是指环虫型的^[1-2],关睾虫与指环虫的感染过程,感染机理及致病情况是否相同,有待进一步研究。

很多学者都观察到在体外寄生虫感染后,鱼体体表或鳃丝的黏液细胞数量和密度有很大变化,并公认黏液细胞的剧增和用尽都是感染后的正常反应^[7-8],黏液排空是鱼体抵抗寄生虫的一种反应。本研究也发现,随着虫体的感染强度上升,黏液细胞也在增多,但中度感染与重度感染的黏液细胞数量无明显差异,推断在感染强度达到一定数量后,黏液细胞的增加已达到最高点。

寄生虫在宿主的鳃上分布是一个值得探讨的问题。寄生在鱼鳃上的单殖吸虫,对鳃片的左右、内外位置和同一鳃片的不同位置可能表现出不同的偏好性^[9]。按 Ramasamy 等^[10]的观点,影响单殖吸虫空间分布的因素可能有3个:(1)种内和种间竞争;(2)流经鳃片表面的水流;(3)单殖吸虫的生殖策略。在整个研究过程中,发现关睾虫对叉尾斗鱼左右两鳃的寄生,并无偏好性,关睾虫在各鳃片上的感染强度以第一、二鳃片最大,轻度感染时,虫体一般寄生在鳃小片基部的复层上皮处;中度感染时,虫体通过后吸器插入鳃小片处;重度感染时,虫体的寄生部位无明显选择性。推测此原因是虫体为了竞争获得更多的营养及食物所致。竞争是生物种群及个体之间的一种重要关系,对寄生虫来说,其生态位较窄,竞争尤其重要。关于寄生在叉尾斗鱼上的两种关睾虫,由于获得虫体多数是小钩关睾虫,推断小钩关睾虫的竞争能力优于大钩关睾虫,此推断有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 吴宝华,郎 所,王伟俊.中国动物志 扁形动物门 单殖吸虫纲[M].北京:科学出版社,2000.495-497.
- [2] 张剑英,邱亮社,丁雪娟,等.鱼类寄生虫与寄生虫病[M].北京:科学出版社,1999.144-145.
- [3] Barne A M. Gill parasites of mummichogs, *Fundulus heteroclitus* (Teleostei: Cyprinodontidae); effects of season, locality, and host sex and size[J]. Journal of Parasitology, 1998, 84(2): 236-244.
- [4] 李立伟,杨文川.花鲈逆转指环虫病病理学研究[J].厦门大学学报(自然科学版),2002(2):234-238.
- [5] 李立伟,杨文川.花鲈的扁基指环虫病病理学研究[J].台湾海峡,2001,20(4):524-528.
- [6] 李文宽,于 翔,阎秀荣,等.水库鲢鱼小鞘指环虫病鳃组织病理及其防治[J].水产学报,1994,18(4):305-311.
- [7] Pickering A D, Willoughby L G. Saprolegnia infections of salmonid fish[A]. Microbial Diseases of Fish(R. J. Roberts, ed.)[M]. London: Academic Press, 1982. 271-297.
- [8] Pottinger T G, Pickering A D, Blackstock N. Ectoparasite induced changes in epidermal of the Brown trout, *Salmo trutta* L. [J]. Journal of Fish Biology, 1984, 25: 123-128.
- [9] 夏晓勤,王伟俊.单殖吸虫生物学及生态学[J].水生生物学报,1997,21(1):75-84.
- [10] Ramasamy P, Ramalingam K, Hanna R E B, et al. Microhabitats of gill parasites (Monogenean and Copepoda) of teleosts (Scomberoides spp.)[J]. International Journal for Parasitology, 1985, 15(4): 385-397.

Gill histopathology of *Heteronchleoides* (Monogenea: Ancyrocephalidae) infection in *Macropodus opercularis*

LI Hai-yan, XIANG Yong-yu

(College of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The histopathological response of *Macropodus opercularis* to *Heteronchleoides magnihamatus* Zhang & Ji and *H. buschkieli* Bychowsky were investigated by serial sectioning the gills of naturally infected fishes. This study indicated *Heteronchleoides* attaches to the primary filament and secondary filament by inserting its haptor deeply into the connective tissue. Infection by these parasites cause breakdown of organic integrity, hyperplasia, leucocyte infiltration, fibrosis and necrosis, fusion of respiratory epithelium, connective tissue necrosis, disintegration and the epithelial cells to be separated from capillary blood vessel. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(5): 829–833]

Key words: *Macropodus opercularis*; *Heteronchleoides magnihamatus*; *H. buschkieli*; gill histopathology

图版 I 关睾虫对叉尾斗鱼的危害

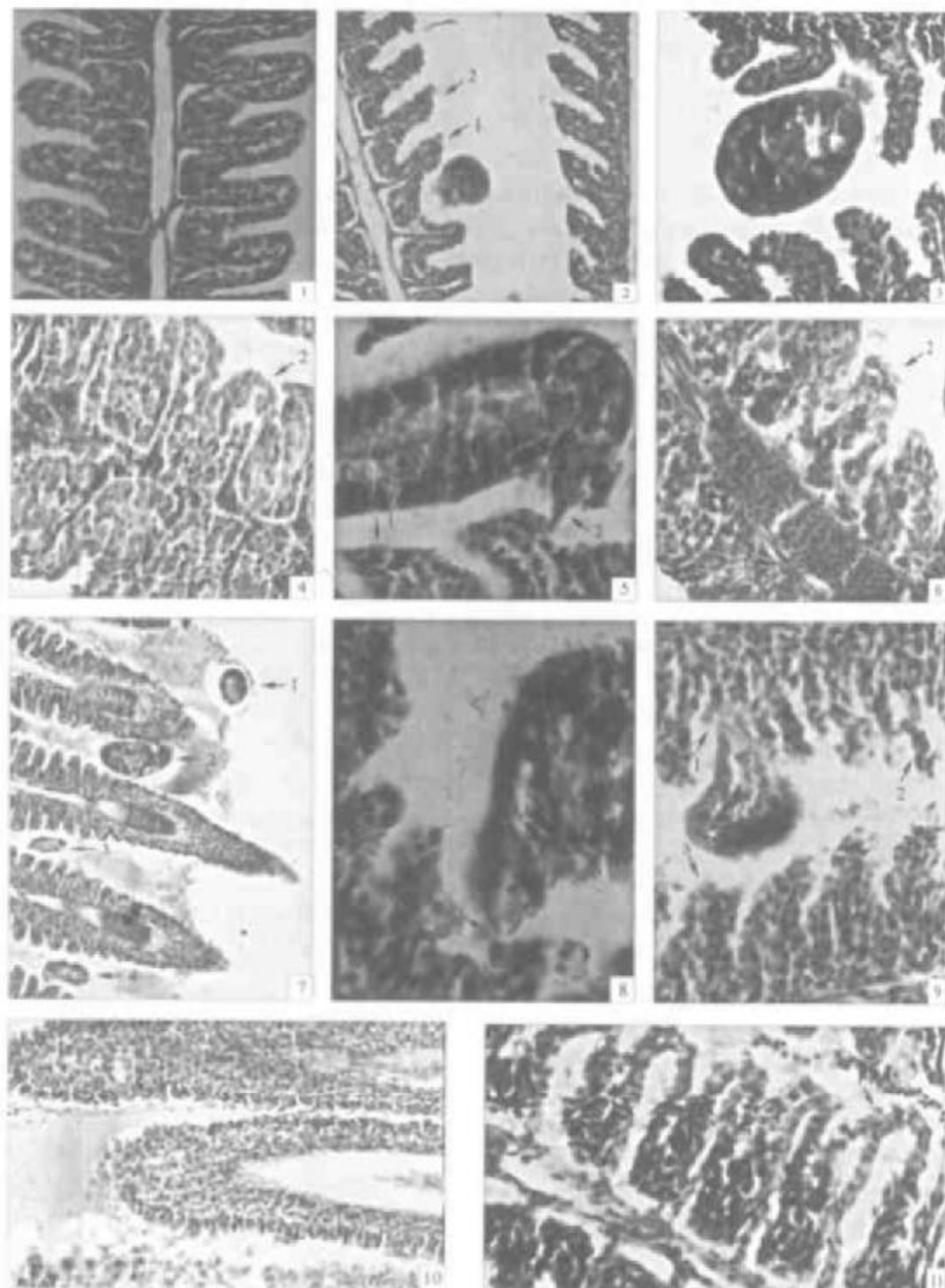
1: 正常鳃丝组织, 示初级鳃丝(箭头 1)和次级鳃丝(箭头 2) $\times 400$ (HE); 2: 轻度感染, 示关睾虫的中央大钩插入鳃小片基部的复层上皮, 造成鳃小片变形(箭头 1), 邻近鳃小片无明显病变(箭头 2), (感染强度: 5) $\times 400$ (HE); 3: 示鳃小片变形, (感染强度: 6) $\times 400$ (HE); 4: 示窦状隙肿胀(箭头 1), 呼吸上皮细胞与窦状隙分离(箭头 2) (感染强度: 12) $\times 400$ (HE); 5: 示鳃小片变形(箭头 1), 中央大钩插入处的上皮细胞解离、空泡化(箭头 2) (感染强度: 31) $\times 1000$ (HE); 6: 示初级鳃丝的毛细血管充血(箭头 1), 鳃小片的单层呼吸上皮细胞解离, 细胞排列呈蜂窝状(箭头 2) (感染强度: 93) $\times 400$ (HE); 7: 示关睾虫寄生在初级鳃丝近段(箭头 3、4), 中段(箭头 2), 远段(箭头 1), 且有大量纤维细胞及黏液细胞浸润, (感染强度: 31) $\times 100$ (HE); 8: 示边缘小钩插入鳃小片(箭头), (感染强度: 124) $\times 100$ (HE); 9: 示中央大钩深插入上皮组织(箭头 1), 上皮细胞解离(箭头 3), 窦状隙断裂或消失(箭头 2、3), (感染强度: 124) $\times 400$ (HE); 10: 示初级鳃丝棍棒化(感染强度: 142) $\times 200$ (HE); 11: 单层上皮细胞与窦状隙分离(箭头 1), 示鳃小片的复层上皮细胞增生, HE 染色着色深(箭头 2)形成空腔(箭头 3), (感染强度: 142) $\times 400$ (HE)

Plate I Damage of *Macropodus opercularis* caused by *Heteronchleoides*

1: Section of uninfected filament showing the primary filament (arrow 1) and secondary filament (arrow 2) $\times 400$ (HE); 2: Section of low-grade infection showing the central anchor of *Heteronchleoides* insert stratified epithelium of gill lamella and made gill basic level become deformed (arrow 1), and gill lamella nearby is not obvious (infectious intensity: 5) $\times 400$ (HE); 3: Section of low-grade infection showing gill lamella is out of shape (infectious intensity: 6) $\times 400$ (HE); 4: Section of low-grade infection showing the swelling of sinusoid (arrow 1), respiratory epithelium cell separate from sinusoid (arrow 2) (infectious intensity: 12) $\times 400$ (HE); 5: Section of middle-grade infection showing the epithelium cell where central anchor inserts disintegration and vacuolation (arrow 2) (infectious intensity: 31) $\times 1000$ (HE); 6: Section of middle-grade infection showing the of capillaries of the primary filament hyperaemia, monostratic respiratory epithelium cell of gill lamella disintegrate, the arrangement of cell become honeycomb (arrow 2) (infectious intensity: 93) $\times 400$ (HE); 7: Section of middle-grade infection showing *Heteronchleoides* parasite on the basal portion (arrow 3, 4), middle portion (arrow 2), distal portion (arrow 1) of the primary filament, and there are many fibrocytes and mucous cells infiltration (infectious intensity: 31) $\times 100$ (HE); 8: Section of high-grade infection showing the marginal hook inserts into gill lamella (arrow) (infectious intensity: 124) $\times 1000$ (HE); 9: Section of high-grade infection showing the central anchor deeply inserts into epithelium tissue (arrow 1), epithelium cell disintegration (arrow 3), sinusoid break or dissolve (arrow 2, 3) (infectious intensity: 124) $\times 400$ (HE); 10: Section of high-grade infection showing the primary filament clubbed (infectious intensity: 142) $\times 200$ (HE); 11: Section of high-grade infection showing monostratic epithelium cell separated from sinusoid (arrow 1), stratified epithelium cell of gill lamella hyperplasia (arrow 2) and form hollow (arrow 3) (infectious intensity: 142) $\times 400$ (HE)

李海燕等:叉尾斗鱼关睾虫(单殖亚纲)病的鳃组织病理学研究

LI Hai-yan et al: Gill histopathology of *Heteronchleidus* (Monogenea: Ancyrocephalidae) infection in *Macropodus opercularis*



图版 I Plate I

(图版 I 说明见第 832 页 Explanation of Plate I at page 832)