

石斑魚綜合症(下)

華鼎可

珠海市海水養殖研究中心 廣東 519000

電鏡觀察(Electron microscopy observations)

肝臟 病魚的肝臟，在肝細胞胞質中明顯出現大小不等的電子致密的脂質顆粒，線粒體腫脹空泡化，說明線粒體的解體。肝細胞分離，連接複合體破壞。肝竇擴張(圖8)。嚴重的病魚，肝細胞充塞大小不等電子致密的脂質顆粒，細胞質內細胞器已破壞；只剩下膜質結構。胞質透亮，表示水腫嚴重。細胞核濃縮、深染、壞死(圖11)。

有些外觀正常的魚，內部器官已出現病變。肝臟可反映這種改變，表現在：1. 肝細胞內有大小不等的電子致密的脂質顆粒，表明有漸進性的脂肪變

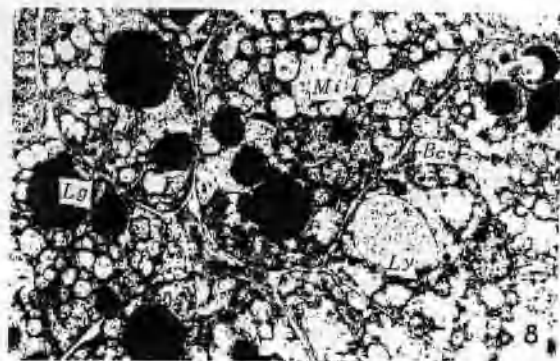


圖8 赤點石斑病魚肝臟，示胞質中出現大小不等的電子致密的脂質顆粒(Lg)，線粒體(Mi)明顯腫脹，嵴破壞消失，肝細胞分離，連接複合體破壞。Ly 溶酶體，變性，Bc. 毛細膽管。× 3000

性；2. 胞質稀疏，較透亮，表示有水腫病變；3. 細胞器被破壞，但細胞核仍正常。

脾臟 病魚脾竇擴張、增寬，內有較多紅細胞，表明脾竇充血，網狀內皮細胞增多(圖9)。有的病魚也見有脂質顆粒。有的病魚成紅細胞內質網、線粒體腫脹，表明有輕度水腫。正常魚、治癒魚的圖象正常。

腎臟 病魚腎小管細胞質中出現大小不一的電子致密的脂質顆粒，胞核上方有大小不一的空泡，即水腫性空泡，表明有輕度水腫、輕度脂肪性變(圖10)。胞核腫脹空泡狀。腎小管頂端微絨毛腫脹崩

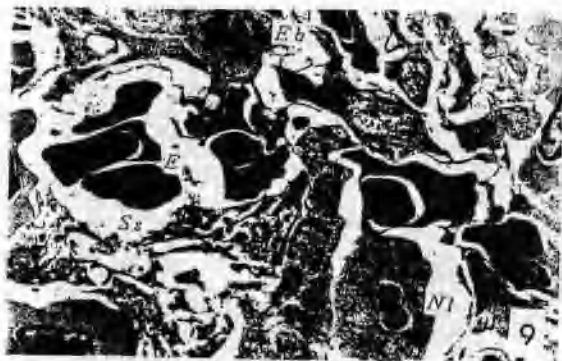


圖9 赤點石斑病魚脾臟，示脾竇(Ss)擴張，有較多紅細胞(E)，示充血。Eb 成紅細胞。N1.(嗜)中性白細胞。× 3000

解，內折管崩解，線粒體濃縮，有部分上皮細胞崩解，結構不清(圖12)。

有些正常魚近曲小管管腔擴張，腔內出現多破碎組織，上皮細胞內出現很多空泡和染色黑密度大的脂滴。

血清生化測定(Serum biochemical dermination)

鑒於肝臟是魚體重要的物質代謝“中樞”，是各種物質得以正常代謝和維持機體內環境穩定的重要場所，因此肝臟產生病變時，肝細胞的正常代謝功能即可發生不同程度的障礙，致使血液中的某些化學成分發生相應的改變。通過分析測定，觀察這些變化，對分析病情、鑒別診斷及評估療效等方面都有作用，為此設想以下有關內容作為主要測定項目，共進行了比肝重、比脂(肪)重、肝脂含量、血清總脂質、血清甘油三酯、血清總膽固醇、血清谷草轉氨酶(GOT)和谷丙轉氨酶(GPT)、血清乳酸脫氫酶(LDH)同工酶、血清脂蛋白等項測定。光密度採用72型分光光度計測定。

結果發現：

1. 不同肝型魚粗脂肪含量等項的測定。正常肝型魚的粗脂肪含量占肝濕重的 $7.51 \pm 1.56\%$ ，而異常肝型魚為 $12.81 \pm 2.71\%$ ，差異性顯著，而不同肝型魚的總脂質、甘油三酯、總膽固醇、GPT、GOT轉氨酶等測項均無顯著差異性。

2. 不同肝型魚的血清 LDH 同工酶測定。用醋酸纖

* 正常肝型與異常肝型魚的區分，見參考文獻4。

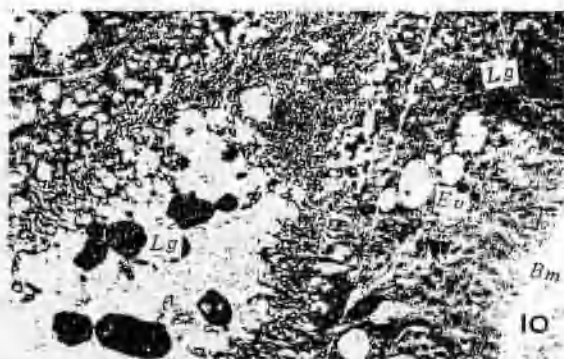


圖10 赤點石斑病魚腎臟，示腎小管上皮細胞胞質中出現電子致密的脂質顆粒(Lg)和大小不一的空泡。Ev 水腫性空泡，Bm 基底膜。×3000

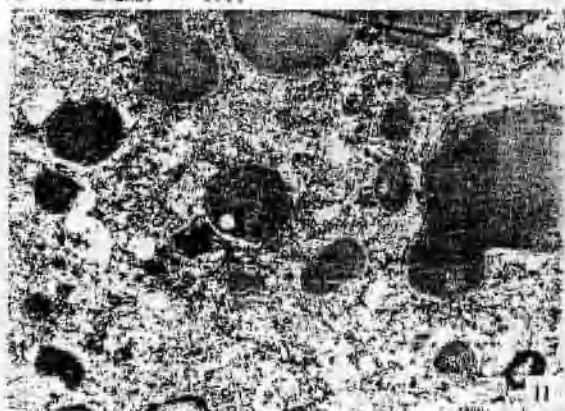


圖11 赤點石斑病魚肝臟，示肝細胞內細胞器崩解，剩下膜質結構，充塞脂質顆粒。胞核濃縮、深染、壞死。胞質透亮示水腫。×4000

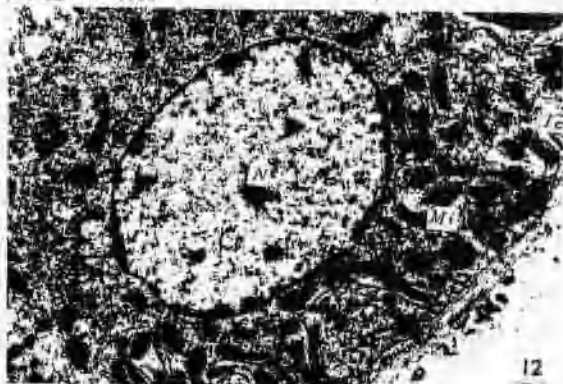


圖12 赤點石斑病魚腎臟，示細胞器被破壞，胞質空亮，微絨毛(Mv)崩解、線粒體(Mi)濃縮、崩解，內折管(Ic)崩解，胞核(N)腫脹。×1000

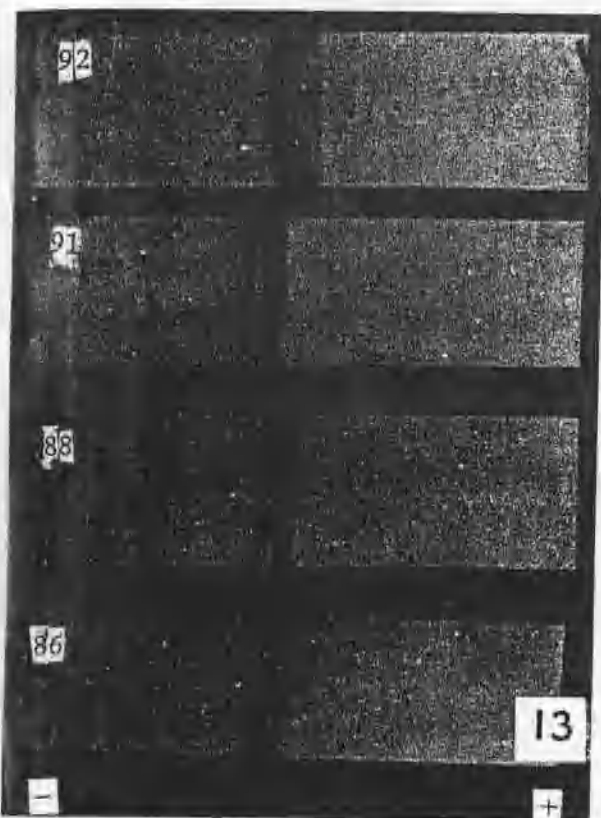


圖 13 赤點石斑的血清 LDH 同工酶譜，86、88、92 為異常魚，91 為正常魚。

維薄膜電泳分離人血清的 LDH 同工酶譜，可見 5 條區帶，而石斑魚類只見 2 條區帶(圖 13)，靠近陽極端的快速部分為 LDH1，其次為 LDH2。測得 LDH1% 異常肝型魚為 $71.52 \pm 9.19\%$ 較正常型 $52.08 \pm 19.7\%$ 為高，差異性顯著，而 LDH2% 異常型 $27.43 \pm 8.82\%$ 較正常型 $47.92 \pm 19.74\%$ 為低。差異性顯著。

3. 不同肝型魚的血清脂蛋白測定。血清脂蛋白的電脈分析，石斑魚的血清譜和人血清譜一樣，可分離出 4 條區帶，靠近陽極的區帶 I 相當於 α -脂蛋

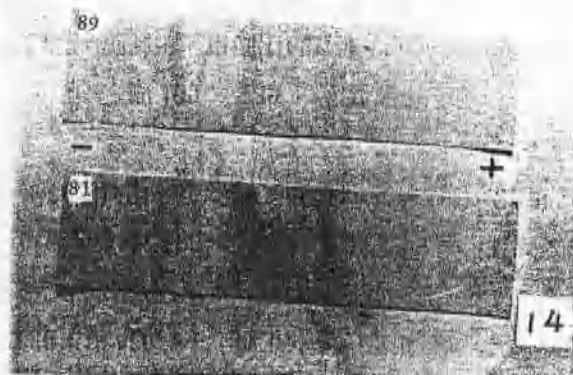


圖 14 赤點石斑的血清脂蛋白電泳譜，81 為正常魚，89 為異常魚。

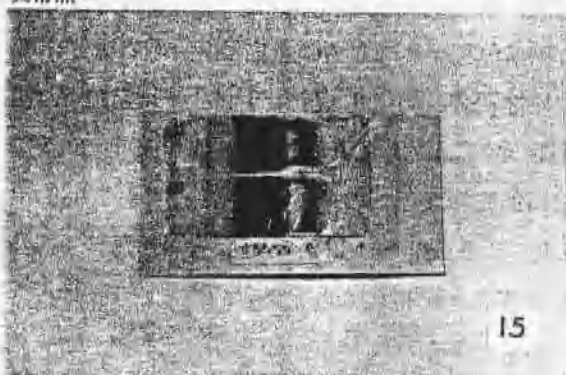


圖 15 赤點石斑的正常魚血清蛋白電泳譜，示相當於 Λ 、 α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2 、 γ 6 條區帶。

白，其次是區帶 II 相當於前 β -脂蛋白，區帶 III 相當於 β -脂蛋白，而乳糜微粒停留在原點不顯色(圖 14)。由於石斑魚的血清蛋白電泳譜和人的 一樣可分離 6 條區帶，相當於人的靠近陽極的快速部分為清蛋白 Λ ，其次為 α_1 、 α_2 球蛋白， β_1 、 β_2 球蛋白，靠近陰極的為 γ 球蛋白(圖 15)，因此本文的血清脂蛋白譜，套用上述名稱。正常和異常不同肝型魚的血清脂蛋白區帶，其光密度和 % 數，均無明顯差異。

4. 正常魚與病魚比肝重等項的測定。正常魚的比

肝重為 $1.96 \pm 0.82\%$ 明顯較病魚 $1.50 \pm 0.49\%$ 為高，差異性顯著，而兩者的比脂重、粗脂肪、總脂質、甘油三脂、總膽固醇、GPT、GOT 測定均無顯著差異性。

5. 正常魚和病魚的 LDH 同工酶測定。兩者總光密度差異性顯著，正常魚 0.088 ± 0.031 ，病魚 0.046 ± 0.021 ，正常魚較病魚為高。LDH1 和 LDH2 光密度差異性顯著，正常魚分別 0.061 ± 0.024 和 0.029 ± 0.014 ，病魚為 0.033 ± 0.017 和 0.015 ± 0.008 ，而兩者 LDH1% 和 LDH2% 無顯著差異性。

6. 正常魚和病魚的血清脂蛋白測定。兩者總光密度差異性顯著，病魚 0.175 ± 0.062 較正常魚 0.270 ± 0.002 為低。兩者在 α -脂蛋白 (I) 和前 β -脂蛋白 (II) 光密度差異性顯著，病魚分別為 0.039 ± 0.021 和 0.039 ± 0.012 ，較正常魚 0.075 ± 0.025 和 0.077 ± 0.025 為低。

防治技術 (Prevention and treatment technology)

在石斑魚綜合徵的防治方法方面，進行了室內外相結合的多次實驗。處理方法，有兩種情況，一種是對於已發病的病魚 (即臨診徵象十分明顯，已不攝食，腹部膨脹的魚) 轉移到實驗室內，我們在室內採用了一些特殊的治療技術，共進行 60 餘例次的實驗；找到最佳治療技術即 G87-0-1 處方，用此處方治療病魚 27 例，有效的 21 例，有效率 77.77%，治癒率平均達 80%，有些達 90% 以上 (記錄數據從略)。

另一種情況是對於在海域網箱中發病魚的防

治方法，我們採用“消脹寧”半成藥拌和餌料投喂，進行生產性大面積實地治療，死亡率顯著下降到 30% 以下，取得滿意結果。(詳情另文報道)

討論 (Discussion)

1. 石斑魚綜合症的主要病變涉及鰾、膽囊、鰾、腎、消化道、心臟、腦、脊髓、卵巢等全身性灶性炎症，肝臟、腎臟、脾臟、脊髓、胃壁的水腫病變，肝臟的脂肪變性和電鏡水平的脾臟、腎臟的脂質顆粒浸潤，以及有小紅細胞性貧血跡象，這是本綜合症病理組織學上的診斷要點。肝臟脂肪變性和水腫病變，心肌炎和腦膜腦炎，都可造成魚體的致命性損傷。從電鏡所見，肝細胞線粒體、內質網等細胞器的崩解，使進入肝細胞的部分脂肪酸的氧化功能受損，肝細胞得不到能量，也不能合成脂蛋白，使肝細胞內脂肪堆積。化學毒物和其他毒素或其代謝產物，能直接或間接通過干擾各種酶系統妨礙細胞正常代謝等因素，對肝臟引起損害，也能引起細胞內液的過多積聚，導致細胞中毒性水腫，引起器官組織機能障礙。上述病變，使糖類、脂類、蛋白質、維生素的合成和分解代謝發生障礙，導致功能性紊亂以致衰竭而死。

2. 本研究發現，一些外觀正常的石斑魚，其實內部組織器官已產生病變，如肝細胞水腫或脂肪變性，腎間質和胃腸道的慢性炎症，鰾、膽組織的病變等，說明本病是一種漸進性特發病。這點對分析本病病因固然十分重要，另外對指導養殖生產，也具有重要意義，如忽視這種潛在帶病魚，不加防範措施，而盲目認為正常健康魚，一旦出現不利的環

境因素(Stress)或毒物毒性的繼續累積,即可加速病程,導致發病死亡。

3. 根據本綜合 5/46 的病理組織學特徵和血清生化測定所得,其病因更接近過氧化脂質中毒。投飼一些脂類成分已敗壞的下腳魚或顆粒飼料時,因這些下腳魚中含有高脂肪含量,在高溫下能加快氧化速度,不飽和脂肪酸在有分子氧或某些能起酶作用而催化自身氧化的一些動物產物的存在下,易於發生氧化變質即敗壞。敗壞的脂質本身具有毒性作用,且能和蛋白質起反應而降低蛋白質生物學價值,並對本身不是抗氧化劑的維生素類具有破壞作用(Cowey et Roberts, 1978)。不飽和脂肪酸的自身氧化作用產生大量的化學物質,包括游離的原子團、過氧化物、氮氧化物、醛、醇和酮。這些活性化合物與飼料中蛋白質、維生素或其他的脂肪起作用,會降低飼料的營養價值和消化利用(Andrews, Bjorksten and Trenk, 1965)。Smith(1979)的研究證明“投飼缺乏某些維生素的酸敗飼料,可導致硬頭鯉的生長抑制、小紅細胞性貧血和肝臟的脂肪變性”。Shepherd(1978)引用 Christensen 的資料說明“用放在溫暖缺氧條件下的下腳魚飼餵鯉魚,患魚有神經不安表現。並迅即死亡”、“這類飼料也可引起肝脂質變性”。

4. 鰾的過度充氣,是本綜合徵特定病變之一。其發病機理 Roberts(1978)提示鰾的特發病產生的鰾膨脹,“與維生素缺乏之類的營養性因素和過量的粉末飼料有關”。Duijn(1973)提及“鰾病可由便秘或其他的內部器官體積增大造成的壓迫所致,也可由於鰾本身組織的脂肪變性所致”。從石斑魚綜合徵的病理切片所見,鰾的過度充氣,顯然與鰾的

功能性障礙和脊髓的神經病變有關。屬於閉鰾類(physoclistous fishes)的石斑魚鰾,其鰾內氣體的調節,主要靠紅腺和卵圓窗的結構進行氣體的分秘和吸收,也受迷走神經和交感神經的雙重調節,前者主分泌,後者主吸收。由於紅腺和卵圓窗的充血發炎,影響卵圓窗括約肌的收縮功能,同時由於肝臟合成產生乙酰膽鹼的功能受阻,脊髓神經纖維的空泡變性和慢性炎症,使交感神經的吸收功能失調,因而損及氣體的再吸收。

5. 關於病毒性病原的問題,我們做了內臟主要器官肝臟、脾臟、腎臟等臟器的超薄切片,進行了仔細的電鏡觀察和搜索,正常魚和病魚均未查見病毒粒子的存在。雖然一般患病毒感染的病魚,在這些臟器內有可能查獲病毒粒子,但本文沒有直接按病毒學方法加以分離培養,這方面工作尚有不足之外,有待進一步證實。

6. 從生化測定的數據分析,可以發現:(1)異常肝型魚內脂肪存積,含量達 $12.81 \pm 2.71\%$,明顯超過正常肝型魚,表明前者患有脂肪肝症。(2)肝重與體重之比即肝體指數,是研究肝臟代謝的一個表現指標,正常魚明顯較病魚為高。(3)病魚血清脂蛋白的總光密度值 0.18 ± 0.06 ,較正常魚值 0.27 ± 0.002 為低,差異性顯著,表明病魚在合成轉化進入肝細胞的部分脂肪酸為脂蛋白的功能受阻。脂蛋白為脂類在血漿中的主要運輸形式,當肝功能受損磷脂缺乏時,脂蛋白合成發生障礙,釋放到血漿中的量也減少,過多的脂肪可在肝細胞內沉積下來,顯示本病為低脂蛋白症。病魚血清的術 α 脂蛋白光密度值和前 β -脂蛋白光密度值,都較正常魚為低,差異性顯著,但其診斷意義有待闡明。(4)

正常魚和病魚的乳酸脫氫酶同工酶測定結果，表明兩者總光密度差異性顯著，LDH1 和 LDH2 光密度值差異性顯著。正常魚值均較病魚為高，表明病魚的血清乳酸脫氫酶同工酶活力下降，可作為鑒別診斷的依據。

致謝

本研究工作得到珠海市委、香洲區科委、桂山鎮鎮政府、桂山海水養殖公司、桂山鎮的領導顏秋新先生和林雅先生的大力支持、廣州仲愷農業技術學院的張志宇老師、湛江水產學院的張永嘉、黎祖福、劉東超等老師，湛江醫學院的黃書偉教授、黃藝強老師、珠海市海水養殖研究中心的蔡妙蘭、徐紹隆諸工程師等都參加了部分工作，作者謹致以衷心的謝忱。

參考文獻

1. 華鼎可、張永嘉、黎祖福、蔡妙蘭、徐紹隆。石斑魚鰾脹病(打轉病)、潰瘍病、爛尾病的防治研究。魚類病害研究 12(4): 26-28。
2. 華鼎可、蔡妙蘭、徐紹隆。(1992)。石斑魚綜合徵的研究 治療技術，海洋科學(5): 7-8。
3. 華鼎可、蔡妙蘭、張志宇(1995)石斑魚綜合徵的研究 I，病原學和病理組織學。仲愷農業技術學報 8(2): 73-80。
4. 華鼎可、張志宇、蔡妙蘭(1996)石斑魚綜合徵的研究 II，血清生化測定。仲愷農業技術學院報 9(1): 73-78。
5. Andrews F., Bjorksten J. & Trenk F. B. (1965)

The reaction of an autooxidized lipid with proteins. Journal of the American Oil Chemists Society, 42: 779-781.

6. Cowey C. B. & Roberts R. J. (1987) Nutritional pathology of teleost. In: Fish Pathology (ed. by R. J. Roberts.) PP 216-226. Bailliere Tindall, London.

7. Duijn C. van Jnr (1973) Diseases of Fishes, pp. 229-238. Iliffe Books, London.

8. Roberts R. J. (1978) The pathophysiology and systematic pathology of teleosts. In: Fish Pathology (ed. by R. J. Roberts) pp 55-91. Bailliere Tindall, London.

9. Shepherd C. J. (1987) The relationship between farming management and fish diseases. In: Fish Pathology (ed. by R. J. Roberts). Bailliere Tindall, London.

10. Smith C. E. (1979) The prevention of liver lipoid degeneration (ceroidosis) and microcytic anaemia in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson fed rancid diets: a preliminary report. Journal of Fish Diseases 2(5): 429-437. ◆

(全文完)