

患暴发性病毒病的中国对虾肝胰脏病理变化

蔡完其 陆宏达

(上海水产大学水产养殖系, 200090)

提 要 本文报导上海地区患暴发性病毒病的中国对虾肝胰脏病理变化的研究结果。组织病理变化方面,肝胰脏呈以弥漫性坏死为主的变质性病变;在肝胰脏的上皮细胞核内见到2种病毒颗粒,还见到2种球形包涵体,其浮尔根染色反应为阳性。生化病理变化方面,病虾肝胰脏的酯酶(EST)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性显著减弱,表明病虾代谢功能与免疫功能明显衰退。

关键词 中国对虾,肝胰脏,病理,病毒,包涵体,同工酶

自60年代首次报道对虾病毒病以来,由于病毒病已成为当前对虾养殖的最大威胁[Sindermann, 1990],引起了国际上的日益关注。1992年在美国夏威夷召开了亚洲和美国养殖对虾疾病会议。迄今已鉴定的对虾病毒有12种,其中6种病毒病对对虾造成危害[Fulks 和 Main, 1992]。它们是对虾杆状病毒病(BP),草虾杆状病毒病(MBV),中肠腺坏死杆状病毒病(BMN),传染性皮下及造血器官坏死病毒病(IHHN),肝胰腺细小病毒病(HPV)和呼肠弧病毒病(REO)。

1993年6月起,在上海地区大规模地暴发了中国对虾(*Penaeus chinensis*)暴发性病毒病。这是上海地区1980年开展养虾业以来的第一场暴灾。我们对病原和病理进行了同步研究。鉴于该病的临床症状主要表现在肝胰脏,故病理研究着重于肝胰脏。

1 材料和方法

1.1 试验虾来源

病虾取自上海市金山县漕泾养虾场,南汇县泥城养虾场。健康虾取自南汇县滨海养虾场。体长7cm左右。

1.2 方法

1.2.1 光镜病理观察

垂死的病虾和健康虾的肝胰脏用戴维生氏固定液固定[廖一久,1989]。石蜡切片,厚度5~6 μ m。苏木精——伊红染色(H-E)。浮尔根染色以显示包涵体。

1.2.2 电镜病理观察

用锋利的刀片迅速取下垂死病虾和健康虾的肝胰脏,切成1~2mm³的小块,用预冷磷酸缓冲液配成的2.5%戊二醛溶液固定,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600-700 \AA 厚度的超薄切片。醋酸双氧铀——柠檬酸铅双重染色。用

JEM100-[XI]透射电镜观察。

1.2.3 生化病理变化测定

共测定病虾和健康虾各10尾。用聚丙烯酰胺凝胶电泳同板测定病虾和健康虾肝胰脏的酯酶(EST)及超氧化物歧化酶(SOD)的同工酶。用瑞典LKB公司生产的水平电泳仪进行电泳。电泳结果用LKB激光光密度计对同工酶谱带进行扫描、绘图、积分等定量分析[蔡完其, 1990]。

2 结果

2.1 临床症状

对虾在该病潜伏期还能正常游泳和摄食,故不引人注意。到发展期,病虾在池边缓慢游动,反应迟钝,伸手即可捉到。1~2天内便可能全军覆灭,死虾沉底。病虾体表黑色素增多,主要症状是肝胰脏由肿大到萎缩,颜色由正常时的褐色变粉黄,至白色,乃至糜烂。

2.2 组织病理变化

2.2.1 显微观察结果

肝胰脏是以弥漫性坏死为主的变质性病变。肝胰脏上皮细胞肿大,肝小管管腔变小。胞质出现空泡样变性。胞核核膜增厚,核仁固缩、碎裂、溶解,乃至整个肝小管的上皮细胞都破裂、坏死,只留下基底膜(图版-1)。随着病情的进一步发展,肝小管的基底膜也坏死。

肝胰脏的不同上皮细胞核内,见到2种球形的病毒包涵体,数量1~3个。1种为嗜酸性;另1种为嗜碱性(早期嗜酸性)。浮尔根染色反应均为阳性。肝胰脏上皮细胞肿大,核过度肿大,核膜增厚,核仁被包涵体挤在一侧(图版-2)。随着包涵体的增大,包涵体占据了整个核,核仁消失(图版-3)。最后包涵体将细胞撑破而散出于肝管中(图版-4)。

2.2.2 亚显微观察结果

肝胰脏上皮细胞同样可见以坏死为主的变质性病变。

胞核和胞质内均可见2种形状和大小截然不同的病毒颗粒(图版-5,7)。核膜增厚破裂,胞质粗面内质网扩大,核糖体尚清楚(图版-6),进而粗面内质网排列混乱,核糖体脱落。线粒体基质变深,嵴扩大、断裂。由于病毒颗粒的作用,线粒体等胞器成线团状(图版-7)病变,导致整个细胞崩解,胞质内仅有微管残存。

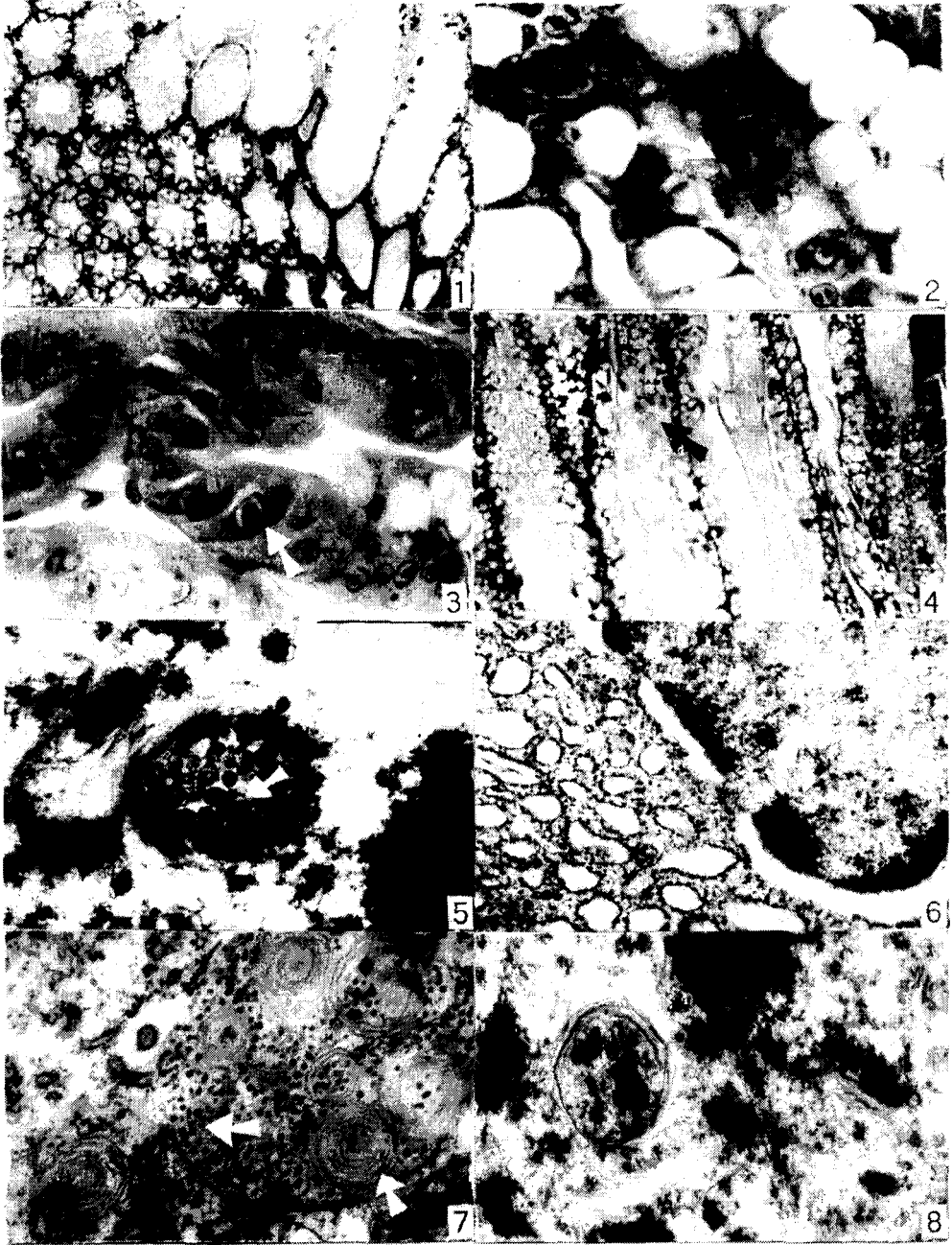
肝胰脏上皮细胞的胞核和胞质中均有病毒包涵体样物质(图版-8),即假包涵体。这是病毒颗粒所引起的细胞的病变反应,外有纤维样结构,内有病毒颗粒,还有染色质及胞器等。

2种病毒的同时存在和危害,可能是1993年上海地区对虾养殖遭受惨重损失的主要原因之一。

2.3 生化病理变化

2.3.1 对虾肝胰脏的酯酶(EST)的表型为多态

健康虾有50%呈3条谱带,50%呈4条谱带。两者区别是,后者在前者的快速带之外,是1条迁移率更快,但活性较弱的谱带。为便于同病虾比较,本文把此弱带并入迁移率略低的谱带,即2种表型均以3条带计算。表示为快速带(I),中速带(II),慢速带(III)。病虾谱带I同II并合,其相对活性为健康虾相应2条带之和的74%(表1,图1)。有显著差异($t > 0.05$) (Zar, 1974)。



图版 Plate

1. 肝胰脏部分上皮细胞水样变性及坏死(横切, $\times 504$); 2. 肝胰脏上皮细胞肿大, 核膜增厚, 核内包涵体(纵切, $\times 2520$); 3. 肝胰脏上皮细胞核内完全被包涵体占据(横切, $\times 2520$); 4. 肝胰脏上皮细胞大部分崩解, 包涵体散入肝管中(纵切, $\times 1000$); 5. 病毒(箭头所示)使肝胰脏上皮细胞核碎裂; 6. 肝胰脏上皮细胞核膜增厚、破裂, 胞质粗面内质网扩大, 核糖体尚清楚($\times 30000$); 7. 病毒(箭头所示)导致肝胰脏上皮细胞内线粒体等胞器成线团状(右下角箭头)($\times 30000$); 8. 肝胰脏上皮细胞核内的假包涵体($\times 20000$)。

表1 健康虾、病虾肝胰脏酯酶(EST)相对活性比较(%)

Table 1 A comparison of relative activity of EST enzyme in the hepatopancreas between the healthy and diseased shrimp by virus

		谱带		
		I	I	II
健康虾	(n=10)	29.67±5.13	27.00±4.45	14.96±3.41
病虾	(n=10)	42.10±7.60		11.25±5.05

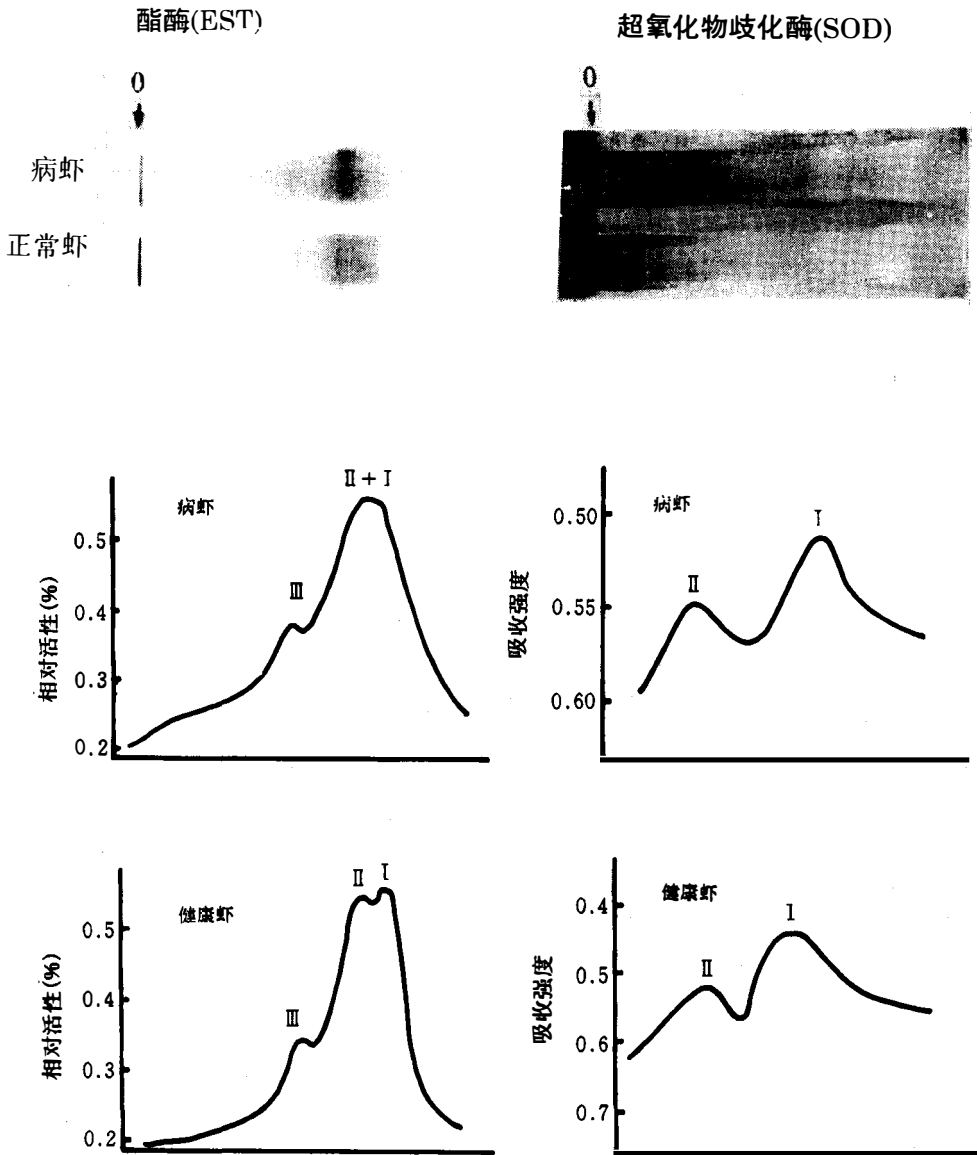


图1 健康虾和患病毒病的中国对虾的两种同工酶的比较

Fig. 1 A comparison of two enzymes between the healthy and diseased shrimp *Panaeus chinensis* by virus

2.3.2 超氧化物歧化酶(SOD)有2条谱带

病虾快带的活性为健康虾的快带的88%(表2,图1)。有显著差异($t > 0.05$)。表2中吸收强度较小的,表示酶活性较强,反之亦然。

这2种同工酶活性的减弱表明,病虾代谢功能均已显著降低。

表2 健康虾、病虾肝胰脏超氧化物歧化酶(SOD)电泳激光扫描吸收强度比较
Table 2 A comparison of absorption of laser scanning of SOD enzyme electrophoretic bands between the healthy and diseased shrimp by virus

		谱 带	
		I	II
健康虾	(n=10)	0.46±0.04	0.54±0.05
病 虾	(n=10)	0.52±0.08	0.55±0.09

3 讨论

在1993年上海地区发生的中国对虾暴发性病毒病虾的肝胰脏上皮细胞中,检查到2种包涵体,2种病毒颗粒,其分类鉴定有待认定。另外在肠道、卵巢都发现了包涵体,尤其同一卵巢内嗜酸性和嗜碱性2种包涵体同时存在,故认为该病系病毒所致。本文仅讨论病虾肝胰脏的病理变化。

2种病毒所引起的肝胰脏的主要病理变化是以弥漫性坏死为主的变质性病变。这种病理变化既不同于弧菌所引起的肝胰脏病理变化,也不同于草虾杆状病毒和弧菌混合感染症引起的肝胰脏病变。弧菌引起的红腿病在肝胰脏中以变质为主,局部坏死(蔡完其、周红,1990)。草虾杆状病毒与弧菌混合症则使肝胰脏上皮细胞形成多发性肉芽肿坏死(廖一久,1989)。而这次上海地区发生的暴发性病毒病,虽在血淋巴中也有少量弧菌检出,但从病变情况看,不同于上述两种病。故认为,该病主要是病毒所致。

酯酶(EST)和超氧化物歧化酶(SOD)是广泛存在于虾体内的活性酶。EST是参予新陈代谢的重要酶类。SOD可清除体内产生过多的有害物质“超氧化物”,从而增强吞噬细胞的防御能力和整个机体的免疫功能。病虾这2种酶的活性的显著降低,表明其代谢功能和免疫能力明显衰退。

国内外对养殖虾类的病毒病的基础理论和防治研究远远跟不上该病的蔓延速度。对这种病的诊断不仅既耗时,又费财,而且只有受过专门训练的人员才能胜任。故此难以监控。根据当前的知识和条件,我们认为应从以下几方面入手:①控制诱发病毒病的环境因子。感染有病毒的对虾不一定发病,病毒病的大规模暴发是感染有病毒的对虾在一定的环境压力下诱发的。故保持良好的养殖生态环境甚为重要。②遗传选育对特定的病毒具有较强抵抗力的品系。比如,范氏对虾(*P. vannamei*)是美国对虾养殖的主要种类。传染性皮下及造血器官坏死病毒(IHHNV)是危害该种对虾的主要病毒。据报道,不带病毒的范氏对虾的亲本和苗种(specific

(1)蔡完其,周红,1990。中国对虾红腿病病理研究。

pathogen-free, SPF)已在美國培育成功并开始推广[Wyban, 1992; Lotz, 1992],但目前成本较高。如何降低不带病毒虾的生产成本,是SPF对虾计划能否实施的关键。③发掘和使用对特定的病毒具有较强抵抗力的虾类。在已知的12种病毒中,有的病毒只对1种或几种对虾感染。例如日本1988年从台湾引入草虾(*P. monodon*),发现带入了草虾杆状病毒(MBV)。幸而日本主要是养殖日本对虾(*P. japonicus*),该种虾对MBV有较强抵抗力(Fukuda等,1988)。由此得到启发,发掘和利用对某种病毒抵抗力较强的对虾,也是值得探索的。

参 考 文 献

- [1] 廖一久(主编),1989. 蝦病防治專輯. 30, 38. 大造印刷有限公司(臺灣)。
- [2] 蔡完其,1990. 患聚縮虫病中国对虾的同工酶及旦白质的初步研究. 水产科技情报, 17(1): 6-8.
- [3] Fukuda, H. *et al.*, 1988. First detection of *Monodon baculovirus* in Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 45-48.
- [4] Fulks, W. and K. L. Main (eds.), 1992. *Diseases of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States. Proceedings of a Workshop in Honolulu, Hawaii*, April 27-30, 1992. The Oceanic Institute, 392pp.
- [5] Lotz, J. M., 1992. Developing specific pathogen-free animal population for aquaculture, a case study for IHNV virus of penaeid shrimp. In W. Fulks and K. L. Main (eds.), *Diseases of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States. Proceedings of a Workshop in Honolulu, Hawaii*, April 27-30, 1992. The Oceanic Institute, 269-284.
- [6] Sindermann, C. J., 1990. *Principal disease of marine fish and shellfish*. Vol. 2(2nd edition). Academic Press, San Diego, 516pp.
- [7] Wyban, J. M., 1992. Selective breeding of specific pathogen-free shrimp for high health and increased growth. In W. Fulks and K. L. Main (eds.), *Diseases of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States. Proceedings of a Workshop in Honolulu, Hawaii*, April 27-30, 1992. The Oceanic Institute, 257-268.
- [8] Zar, J. H., 1974. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Inc., 620pp.

PATHOLOGICAL CHANGES IN THE HEPATOPANCREAS OF *PENAEUS CHINENSIS* WITH BROKENTHROUGH VIRAL DISEASE

Cai Wan - qi and Lu Hong - da

(Department of Aquaculture, SFU, 200090)

ABSTRACT This paper reports the research results of pathology of the hepatopancreas of *Penaeus chinensis* caused by brokenthrough viral disease in Shanghai area. Histopathological changes: The pathological changes in hepatopancreas were mainly characterised by the diffuse necrosis and two kinds of virion and two types of ball-shaped occlusion bodies positively stained by Feulgen Reagent were found in epithelial cell nucleus. Biochemical changes: The relatively decreased activities of EST and SOD in the hepatopancreas of diseased shrimp were indicated that the function of metabolism and immunization decreased significantly by the viral disease.

KEYWORDS *Penaeus chinensis*, hepatopancreas, pathology, virus, occlusion bodies, enzymes

欢迎订阅《水产学报》

《水产学报》是中国水产学主办的水产科学技术刊物，主要刊载渔业资源、水产养殖与增殖、水产捕捞、水产品保鲜与利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器以及水产基础研究的论文、调查报告、研究简报、评述与综述。

为了推广水产领域的最新科研成果和产品，扩大社会效益，本刊还及时报道科技成果与科技新闻，本刊可供水产、生物、海洋与湖沼等专业人员和院校师生参考，对水产饲料加工和专业养殖生产者也有参考价值。

本刊为16开本96页，道林纸印刷，每期单价6.00元全年24元，国内统一刊号CN31-283、国内邮局发行，在全国各邮局均可订阅，邮发代号4-297，欢迎各界读者订阅。读者如在邮局订阅不到，也可直接汇款到本编辑部办理订阅手续。本编辑部地址：上海军工路334号，上海水产大学48信箱，邮政编码200090。

J of SFU, Vol. 2, Nos. 1-4, 1993年勘误表

期	页	行	误	正
1	41	17	SP.	sp.
	43	8	SP.	sp.
	44	倒14	SP.	sp.
2-3	92	13	采用〔除结论〔2〕情况〕	采用〔除结论〔2〕情况〕
2-3	165	倒10行	每公顷净产由1983年的21.5公斤	每公斤净产由1983年的4830公斤
2-3	165	倒9行	提高到39.02公斤，	提高到8775公斤，
2-3	166	8	裡	海里
4	211	10	SP.	sp.