海水网箱养殖鲈鱼淋巴囊肿病的初步研究*

薛良义 王国良 徐兴林 李明云

(宁波大学水产系 315211)

提要 在1996年调查的基础上,首次报道了浙江海水网箱养殖鲈鱼淋巴囊肿病的发病情况:发病季节在6~8月,1龄鱼苗发病率70%,死亡率30%。电镜观察表明,体表和鳍上的疣状物主要由淋巴囊肿细胞组成,细胞内充满虹彩病毒颗粒。肝细胞和肠上皮细胞内没有发现病毒颗粒,但溶酶体数量增多,肝细胞结构有部分损伤。本文还描述了虹彩病毒在肥大细胞内的增殖过程。

关键词: 海水网养鲈鱼,淋巴囊肿病,电镜观察

* 鲈鱼(Lateolabrax japonicus)生长快,肉质好,养殖的经济效益高,故近年来浙江省鲈鱼的海水网箱养殖发展很快,仅宁波市1996年的海水养殖鲈鱼已达10000余网箱。但是,随着鲈鱼养殖业的迅速发展,其病害种类、发病频率及其危害性亦逐年增加,给养殖单位造成了重大的经济损失,由虹彩病毒引起的鲈鱼淋巴囊肿病就是一例。有关该病在我国的情况报道甚少,在浙江是首次发现。为此在1996年调查了鲈鱼淋巴囊肿病的发病情况.并对病鱼进行了电镜观察。

1 材料与方法

1.1 材料

鲈鱼取自乐清湾的养殖网箱,体长14~20 cm,体重60~150 g。取材病鱼的体表及鳍条上均有疣状肿块物,个别鱼尾鳍溃烂出血有缺损,内脏无明显病症。

1.2 方法

取病鱼的肝、肠以及体表和鳍条上的疣状肿块用 2.5% 戊二醛固定 2 h,1% 锇酸固定 1 h, 梯度丙酮脱水, Epon 包埋, LKB 超簿切片机切片, 醋酸双氧铀及柠檬酸铅双重染色, 日立 H-300 型电镜观察并摄影。

2 结果

2.1 病症

患病鱼从吻部、鱼体两侧至尾鳍的身体表面散布许多大而易见的单个疣状物,部分鱼有脱鳞、体表充血等症状。病鱼鳍上的疣状物常成群存在,病变严重时,鳍条形成缺损或脱落(图1-1、图1-2)。由于鳍条溃烂充血,以致感染鳍条的疣状物常呈粉红色。体表

两侧的疣状物大多呈白色,中间夹有红色的血丝,用力挤擦疣状物能脱离鱼体,并造成出血。单个疣状物的直径约1~3 mm。取少数疣状物在高倍光镜下观察,可很清楚地观察到典型的肥大细胞,外围具一均质性的透明膜,肥大细胞的直径为330~605 μm。解剖观察,在肠、肝、肾、心脏等内脏器官上没有发现肉眼可见的淋巴囊肿,部分病鱼肠道充血。

2.2 流行情况

调查发现乐清湾和象山港的网箱养殖鲈鱼均有该病发生,患病对象主要是1龄的幼鱼,发病季节在6~8月。象山港养殖鲈鱼的发病情况较轻,病鱼数目较少,时间上也是零星发生,没有暴发性,据介绍1994年6~7月也出现过该症状的病鱼。在乐清湾病情较为严重,如在温岭有一养殖场5月中下旬购进体长约4cm的鱼苗,6月初就出现病鱼,至7月底发病率达70%,死亡率为30%,此时1龄鱼的体长已达16cm左右。而同一海区相邻网箱的红鳍东方鳍则无该病发生。在调查中还发现,2~3龄的鲈鱼也偶而发生该病。当鱼体达20cm左右时,发病时间推迟,以9~11月间的降水温期为多。

2.3 电镜观察

体表和鳍条上的疣状物在电镜下观察,主要是由肿胀的淋巴囊肿细胞即肥大细胞构成,肥大细胞之间分布着毛细血管。肥大细胞外层的均质透明膜厚约 5 ~ 7 μ m,透明膜下有一清晰且增大的细胞核,其直径可达 15 μ m 以上,核内基质清亮,具 1~ 2 个核仁,散

54 海洋科学

^{*} 浙江省自然科学基金和"九五"宁波市渔业攻关科技项目共同资助。 收稿日期: 1997-01-14

布着形态各异的染色质(图 1-3)。细胞质内有许多形状不规则的包涵体,包涵体内有空泡,泡内含数个到数十个病毒颗粒,包涵体外的细胞质基质中分布着大批量的病毒颗粒(图 1-4、图 1-5、图 1-6)。病毒颗粒的形态近似球状,由电子密度中等的衣壳及致密的核心两部分构成,没有囊膜,衣壳直径 200~300 nm,核心140~170 nm(图 1-7)。有些病毒为没有核心的空壳。

病鱼肝细胞中没有见到病毒颗粒,但细胞结构有损,内质网轻微水肿,线粒体内嵴肿胀,少量线粒体瓦解(图1-8)。肠细胞结构正常,没有发现病毒颗粒,但细胞内初级溶酶体数目增多(图1-9),活性增强,初级溶酶体与吞噬泡融合形成多泡体或次级溶酶体(图1-10)。

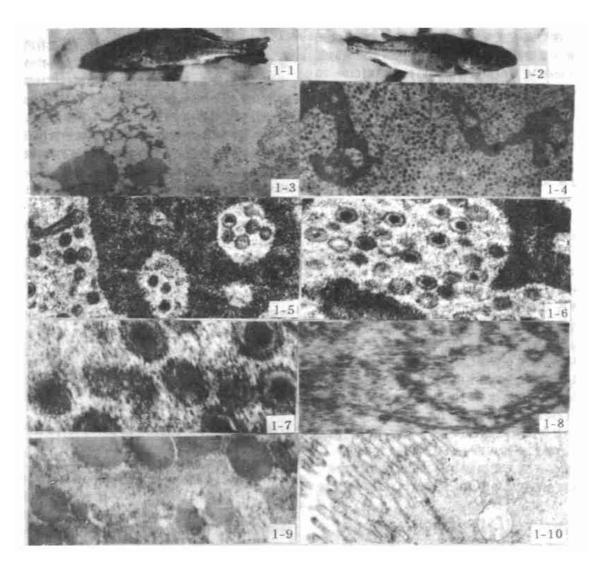


图 1 淋巴囊肿病鲈鱼的外部形态及电镜观察

1-1 病鱼体表及鳍上的疣状物; 1-2 病鱼尾鳍溃烂出血; 1-3 淋巴囊肿细胞核及核仁,× 3 000; 1-4 淋巴囊肿细胞质中病毒包涵体,× 4 000; 1-5 淋巴囊肿细胞质中的病毒包涵体,× 15 000; 1-6 病毒粒子离开包涵体进入胞质,× 20 000; 1-7 淋巴囊肿病毒颗粒,× 50 000; 1-8 肝细胞中部分瓦解的线粒体,× 50 000; 1-9 肠上皮细胞的初级溶酶体增多,× 30 000; 1-10 肠上皮细胞中的多泡体或次级溶酶体,× 20 000

Fig. 1 Morphology and electron microscopic observation of Lateolabrax japonicus with lymphocystis disease

1998年第2期 55

3 讨论

淋巴囊肿病是最早发现的鱼类病毒病,现在知道至少有 42 科 125 种以上的鱼已发现患淋巴囊肿病,日本养殖的鱼师鱼、真鲷、鲈鱼和我国养殖的真鲷都有病例报道[1],台湾也在 1990 年首次发现养殖鲈鱼的淋巴囊肿病[3]。但从流行时间及死亡率来看,本文的结果与其他文献的报道有一些差异,国外文献认为该病是在初夏或夏季的高水温期流行,不造成死亡[2],张永嘉等报道我国广东海区养殖鱼类该病的流行季节是在 10 月份至翌年 5 月的低水温期(10~25℃),苗种发病时死亡率达 30%[1]。作者对浙江海区养殖鲈鱼的研究结果是鲈鱼在 6 月初(水温低于 25 ℃)开始发病,在高水温季节流行,但 1 龄鱼发病时的死亡率与张永嘉等的结果一致,达 30%,严重时超过 30%,这些差异可能与养殖海区的环境有关。调查中还发现,个别患病鱼即使不予治疗也能自行痊愈。

张永嘉等1992年指出,病鱼死亡的原因主要是肾功能衰竭,造成排泄障碍,但继发性的细菌感染也是一个重要因素。虹彩病毒侵入鲈鱼体后,造成鱼体抵抗力降低,易被细菌感染;同时水质恶化以及交换量的不足,必然导致霉菌的发生与繁衍,因而该病的出现常是水霉菌病-弧菌-淋巴囊肿病的并发症。作者在病鱼体表疣状物上分离到了较多的弧菌,同时病鱼肠上皮细胞溶酶体增多,肝细胞结构受损,这些现象可能都与病鱼在病毒侵染后受到细菌的继发性感染有关。该病发生的根本前提是生产操作、运输、倒网捞鱼时造成鱼体体表的损伤,导致病毒的入侵所致。当养殖密度过大,水质恶化,细菌便进一步感染鱼体,则显得该病暴发性强,死亡率增高,难以医治。

鱼类淋巴囊肿病毒一般认为属于虹彩病毒科 (Iridoviridae),是无囊膜的 DNA 病毒,20 面体对称。 对该病毒在鱼体感染细胞内的增殖情况没有见到描述。通过电镜观察,认为病毒侵入鱼体后,首先在受感

染的表皮细胞的细胞质内形成包涵体,同时表皮细胞也开始肿胀,形成淋巴囊肿细胞。包涵体是病毒在细胞内的增殖基地,当病毒粒子在此装配完毕后,脱离包涵体进入胞质(图 1-6)。开始衰老的淋巴囊肿细胞细胞核衰退、消失,细胞质中的包涵体也消失,均质的胞质中只有散在分布的大量病毒颗粒。最终,淋巴囊肿细胞膜破裂,病毒颗粒散发到海水中,继而感染体表受损的健康鱼。

淋巴囊肿病在我国还是刚开始研究, 现有的资料 非常少。从发病情况看,我国南方和北方的养殖鲈鱼 中均有该病发生,与其他严重的鱼类流行病比较,死 亡率并不是最高的,但该病造成的经济损失巨大,丑 陋的外观使得患病鱼出售困难, 几乎完全丧失商品价 值。台湾地区自1990年首次在养殖鲈鱼和石斑鱼发 现淋巴囊肿病例后, 每年均有此病例的陆续报道, 经 调查认为鲈鱼发病与进口的鱼苗有关、这一情况应当 引起水产养殖者和研究人员的重视。淋巴囊肿病的潜 伏期较长,一般鱼被病毒感染后要经过1~2个月才 可在体表上发现症状, 因此在购买鱼苗时需要特别注 意。该病的传播途径主要是以水为媒介,病鱼肥大细 胞破裂后释放的病毒继而感染体表、鳍等受伤的其他 鱼类,因而在发病季节要尽量避免生产操作造成鱼体 表的损伤, 一发现网箱内已有病鱼时要采取隔离措 施, 并施药防止细菌性的继发感染。用诺氟沙星投喂 鲈鱼, 剂量每日每公斤鲈鱼 10 mg, 能有效底抑制病 鱼的细菌性继发感染,降低病鱼的死亡率。

参考文献

- 1 黄琪琰主编。水产动物疾病学,上海:上海科学技术出版 社,1993。84~85
- 2 常建波等。国外水产,1995,3:1~7
- 3 林清龙等。养鱼世界(台),1995, **19**(9):44~47

PRELIMINARY STUDY ON LYMPHOCYSTIS DISEASE OF MARINE CAGE CULTURED Lateolabrax japonicus

XUE Liang-yi, WANG Guo-liang, XU Xing-lin, LIM ing-yun (Department of Fisheries, Ningbo University 315211)

Received: Jan. 14, 1997

Key Words: Marine cage culture, Lateolabrax japonicus, Lymphocystis disease, Electron microscope examination

Abstract

This paper first reports lymphocystis disease of marine cage cultured Lateolabrax japonicus in Zhejiang Province. The disease occurs in seasons of June to August. Infection rate and mortality rate of one-year old fish are 70 % and 30 %, respectively. The electron microscope examination shows that pear-like tumefactions on the skin and fins of diseased fish are composed of lymphocystis cells in which lymphocystis viruses scatter. No viral particle is found in other cells except lymphocystis cells. However, there are an increasing number of primary lysosomes in liver cell and intestinal epithelial cell of infected fish. The paper also describes propagating process of lymphocystis virus in lymphocystis cell.