

中国对虾淋巴器官中球形病毒的电镜观察*

汝少国 姜 明 李永祺 贾翠红 丛日山 王 悦

(青岛海洋大学 266003)

提要 应用光镜和电镜对中国对虾淋巴器官的显微结构和超微结构进行观察,结果表明,淋巴器官的盲管主要由内皮细胞和基质细胞构成,细胞间隙内充满着大量的以颗粒细胞为主的血细胞;在淋巴样细胞中发现有球形病毒感染,其直径70~100 nm,有被膜,包涵体多数为球形,外无囊膜,被感染的细胞有明显的病理变化,主要表现为核膜局部扩张,部分破裂,高尔基器与内质网轻度水肿,以及线粒体内嵴的溶解。同时发现在细胞内有支原体共同感染现象。

关键词 中国对虾,淋巴器官,显微结构,超微结构,球形病毒

大多数专家、学者研究认为导致虾病的原因是错综复杂的,病毒病在虾病中占主导地位。Chen SN. 1989年、Hsu YL. 等1989年、Lightner DV. 等1992年报道,国际上自80年代起,开展了对虾病毒病的研究。Chantanachookin C. 1993年报道,在染上“黄头症”的 *Penaeus monodon* 的淋巴样细胞中发现了一种类似颗粒层增殖的病毒致使淋巴器官等部位出现异常;Bonami J. R. 等1992年报道,在观察 *P. vannamei* 的不正常淋巴样细胞的组织学和超微结构时,发现了淋巴样器官空泡形成病毒(LOVV),被其感染的细胞有不同程度的病理变化,如形成大的多细胞球形结构,细胞质液泡化,细胞核固缩等等;厦门大学陈细法^[1]等在斑节对虾的淋巴样细胞及其他多种组织中,发现了斑节对虾球形病毒(MSV)的存在;而陈棣华等1994年报道,在中国对虾淋巴样细胞中尚未见有球形病毒感染的报道。可见,有关对虾淋巴器官免疫功能及其与病毒发生的关系等问题已成为研究的热点^[2]。因此,本文主要进行中国对虾淋巴器官及球形病毒的超微形态观察,拟为虾病的预防和免疫学研究提供基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

中国对虾(*Penaeus chinensis*)于1995年10月取自青岛东风盐厂对虾养殖场,体长在12~15 cm左右。

1.2 方法

取材部位为中国对虾淋巴器官及其周围组织。显微样品用断头和注射法经Davidson氏固定液固定,梯度乙醇脱水,香柏油透明,石蜡包埋,常规石蜡切片,切片厚度为6 μm,苏木精-伊红染色,Olympus显微镜观察、摄影。超微样品取0.5 mm³小块,以2.5%戊二醛和1%锇酸双固定,梯度乙醇脱水,Epon812包埋,用LKB超薄切片机切片,铀和铅盐双染色,日立H-7000透射电子显微镜观察并摄影。

2 结果与分析

2.1 淋巴器官的解剖学

* 国家攀登计划B资助项目PDB6-7-1号。

收稿日期:1998-08-20;修回日期:1999-01-26

中国对虾淋巴器官位于虾体胃的腹侧,前后胃腔相连接,由背前侧发出,紧贴肝胰腺的侧面行走(图

1-1),左右各一叶,长约5~7 mm^[5]。

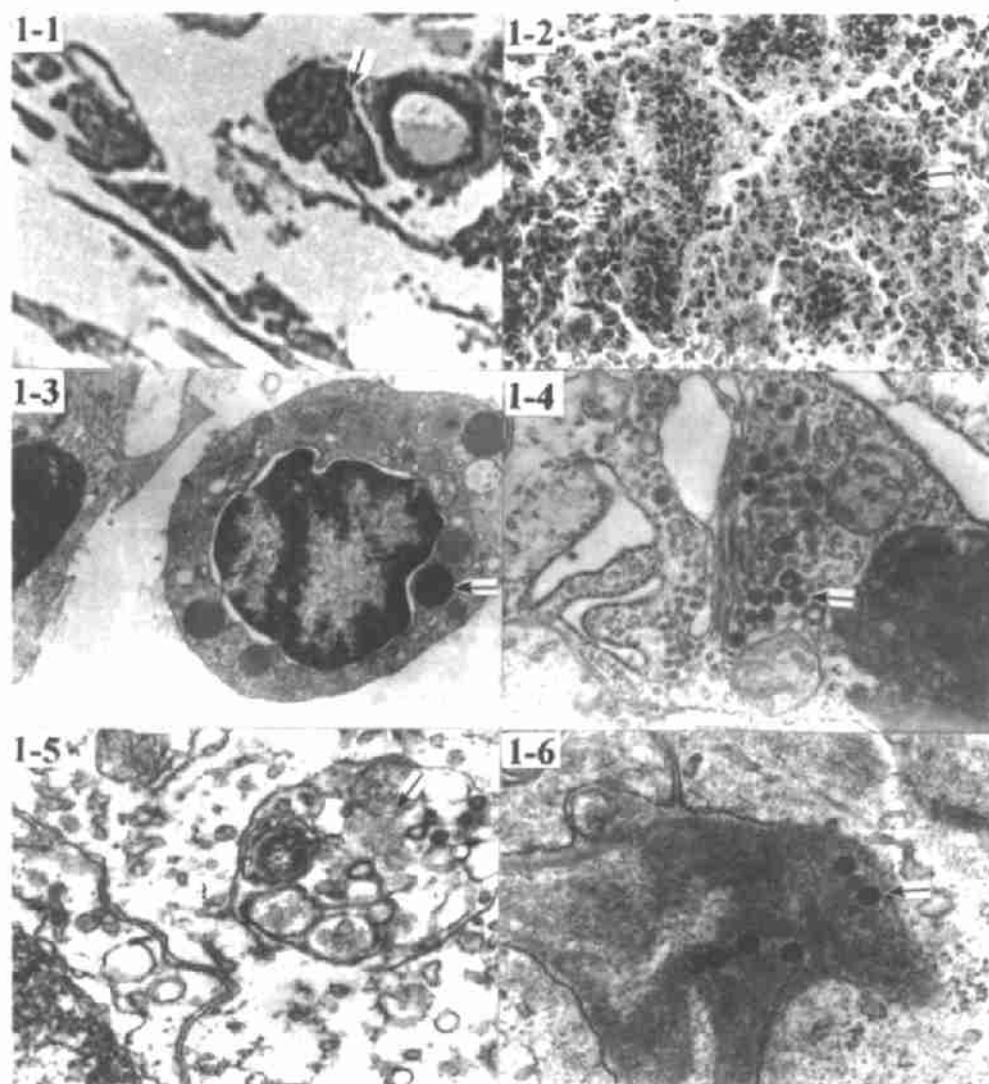


图1 中国对虾淋巴器官中球形病毒的超微结构

Fig. 1 The ultrastructure of spherical virus in lymphoid organ cell of *Penaeus chinensis*

1-1 淋巴器官横切($\times 160$); 1-2 淋巴器官横切($\times 320$); 1-3 颗粒细胞($\times 500$); 1-4 细胞质的球形病毒包涵体($\times 26\ 000$); 1-5 靠近核膜的球形病毒包涵体($\times 26\ 000$); 1-6 细胞质内的球形病毒($\times 26\ 000$)

1-1 The cross section of the lymphoid organ ($\times 160$); 1-2 The cross section of the lymphoid organ ($\times 320$); 1-3 The granular cell ($\times 500$); 1-4 The globose inclusion body in the cytoplasm ($\times 26\ 000$); 1-5 The globose inclusion body near the nuclear membrane ($\times 26\ 000$); 1-6 The virions in the cytoplasm ($\times 26\ 000$)

2.2 淋巴器官的亚显微结构

光镜下,从横切片看(图1-2),淋巴器官由一些相互吻合的管状结构组成,淋巴管腔主要是内皮细胞

和基质细胞。电镜下,内皮细胞呈椭圆形,直径约10 μm ,短径为7 μm ,细胞核大,含有较多的线粒体,但内嵴不发达;基质细胞呈圆形,直径约为9.6 μm ,核大,

含有高尔基器和大量的粗面内质网,但结构简单;大多数血细胞为颗粒细胞(图 1-3),呈圆形,直径为 5.9

μm ,细胞质中含有大小不等的分泌颗粒和大量游离的核糖体及线粒体。

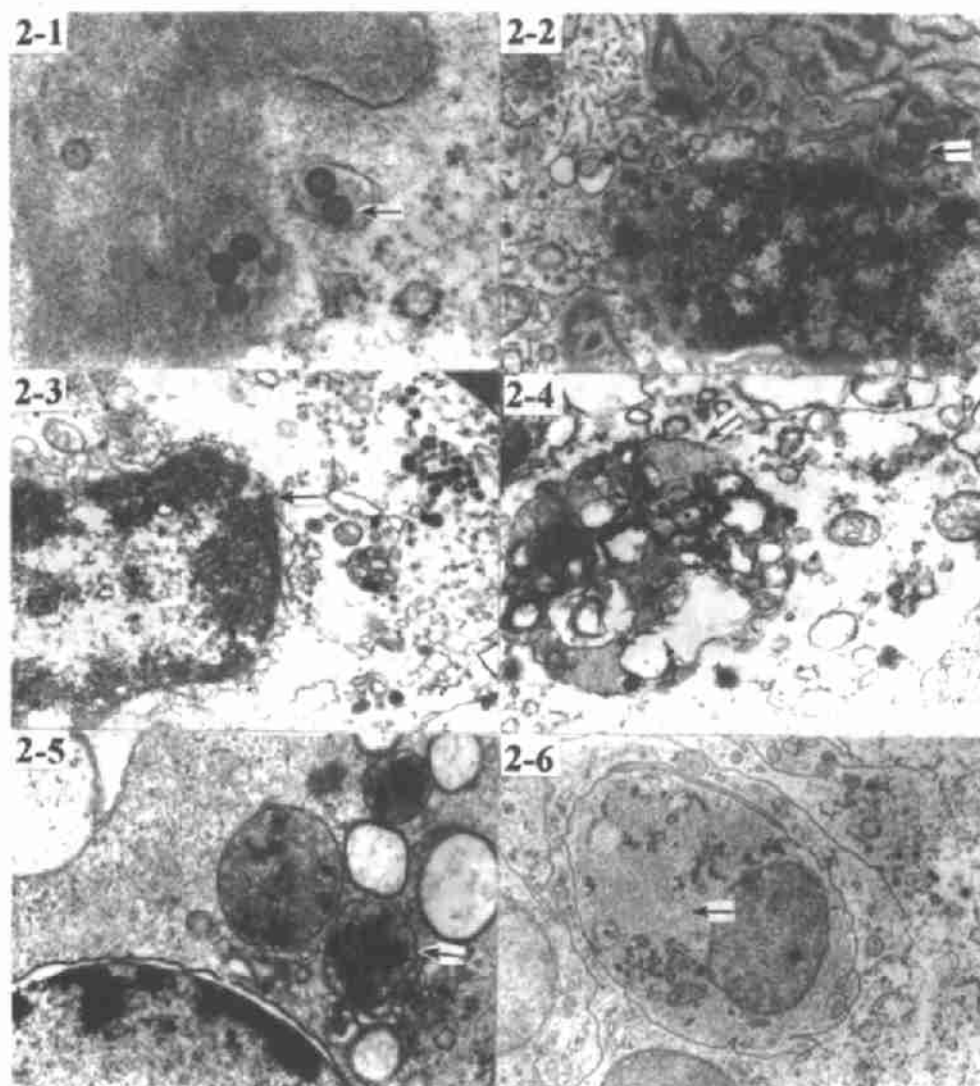


图 2 中国对虾淋巴器官中球形病毒的超微结构

Fig. 2 The ultrastructure of spherical virus in lymphoid organ cell of *Penaeus chinensis*

2-1 细胞质内的球形病毒($\times 39\ 000$); 2-2 核膜破裂及其释放的一些纤维状物质($\times 13\ 000$); 2-3 核膜破裂及其周围的球形病毒($\times 12\ 000$); 2-4 高尔基器、内质网的病理变化及核膜局部破裂($\times 21\ 000$); 2-5 线粒体不同程度的病理变化($\times 13\ 000$); 2-6 充满支原体的细胞($\times 39\ 000$)

2-1 The virions in the cytoplasm ($\times 39\ 000$); 2-2 The disruption of the nuclear membrane and the filamentous materials given out ($\times 13\ 000$); 2-3 The disruption of the nuclear membrane and the surrounded virions ($\times 12\ 000$); 2-4 The cytopathological changes of the Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum, the partial disruption of the nuclear membrane ($\times 21\ 000$); 2-5 The different degrees of the mitochondria's cytopathological changes ($\times 13\ 000$); 2-6 A cell abundant in mycoplasma ($\times 39\ 000$)

2.3 球形病毒超微结构

经电镜观察,淋巴样细胞出现了不同程度的病变,在细胞质中发现有球形病毒(图 1-6,2-1)感染,这种病毒直径 70~100 nm,具有被膜,核心部分呈中等电子密度,病毒发生基质(Virogenic stroma)存在于细胞质中(图 1-4,1-5),由中等电子密度的细颗粒物质聚集而成,体积大小不等,多数为疏松团块,外无被膜,与病毒发生基质伴随存在的有一些电子密度较低的丝状物质,它们可能是组成囊膜和衣壳的蛋白质(图 2-2,2-3)。另外,在细胞质中发现大量支原体(Mycoplasma)存在,与病毒共同感染(图 2-6)。

2.4 细胞的病理变化

病毒感染后,某些重要细胞器的病变具有普遍性。病毒感染后,核膜扭曲变形,核扩大,染色质电子密度不均匀,有的核周间隙充满中等电子密度的物质(图 2-2,2-3);线粒体内嵴部分溶解(图 2-5);粗面内质网有轻度水肿现象。高尔基器变形肿胀,形成许多

囊泡,其周围分布有许多病毒粒子(图 2-4)。

3 讨论

3.1 在淋巴样细胞中发现的这一球形病毒,在形态结构上与汝少国^[4]等在中国对虾肝胰腺等细胞中观察到的球形病毒相一致,类似于中国对虾呼肠孤病毒(REO)。关于 REO,国外学者 Matthews1982 年曾对呼肠孤病毒作过描述,认为它们是一些含有 10~12 个双链 RNA(ds RNA)片段和双层膜二十面体的病毒粒子。Tsing 和 Bonami 1987 年在日本对虾幼体中也曾发现过 REO 的存在。Tsing A. 等 1987 年报道,从病毒结构特点和病理变化等方面进行分析比较看,球形病毒与 MSV,LOVV,LOPV(淋巴样器官细小病毒)^[1,3]等明显不同(表 1),要准确确定其分类地位,尚需要做大量生化和分子生物学的工作。

表 1 对虾淋巴器官球形病毒的基本特征

Tab. 1 Characterization of several spherical viruses in lymphoid organ cells of penaeid shrimps

病毒种类	宿主	主要靶细胞	病毒粒子大小 (nm)	囊膜	包涵体	材料来源
?	中国对虾	淋巴样细胞	70~100	有	球形,外无被膜	本文
MSV	斑节对虾	肝胰腺上皮	28~35	有	质中	陈细法 ^[1]
		中肠腺上皮		表面	球形	
		淋巴样细胞	21~28(衣壳)	光滑	外有被膜	
LOPV	斑节对虾					Owens
	墨吉对虾	淋巴样细胞	25~30	无	?	(1991 年)
	褐虎对虾					
LOVV	万氏对虾	淋巴样细胞	30~55	有,表面有 亚单位	质中,嗜碱性	Bonami (1992 年)

3.2 根据电镜观察结果分析,初步认为对虾淋巴器官是有膜包被的管状器官,由 3 种细胞组成:内皮细胞,基质细胞和血细胞。电子显微镜下内皮细胞的细胞质内含数量较多、结构简单的线粒体;基质细胞的胞质中有大量的粗面内质网、高尔基器和少量的分泌颗粒;血细胞有 3 种类型:无颗粒细胞、小颗粒细胞和颗粒细胞,分别具有免疫功能。由于中国对虾淋巴器官的内皮细胞中线粒体、基质细胞中的高尔基器及粗面内质网结构很简单,远未达到脊椎动物细胞器的完善程度,这表明对虾淋巴器官的功能还不完善。淋巴样器官除具有细胞免疫功能外,还具有着原始的体液免疫作用。因此,病毒感染淋巴样细胞后,造成了一系列的病理变化,使淋巴样器官免疫功能受到

影响,从而降低了对虾机体抗御疾病的能力,会造成其他病原体感染,如观察中发现淋巴样细胞内有支原体共同感染便是个很好的例证。

参考文献

1 陈细法、吴定虎等。台湾海峡,1996,15(2):159~162
2 李光友、王 青。海洋与湖沼,1995,26(6):591~597
3 薛清刚等。海洋与湖沼,1996,27(3):314~318
4 汝少国、李永祺等。青岛海洋大学学报,1997,27(1):45~51
5 贾翠红、汝少国等。中国水产科学,1999,6(1):9~12

THE ELECTRON MICROSCOPE EXAMINATION OF SPHERICAL VIRUS IN LYMPHOID ORGAN CELLS OF *Penaeus chinensis*

RU Shao-guo JIANG Ming LI Yong-qi JIA Cui-hong CONG Ri-shan WANG Yue

(Ocean University of Qingdao, 266003)

Received: Aug. 20, 1998

Key Words: *Penaeus chinensis*, Lymphoid organ, Histological structure, Ultrastructure, Spherical virus

Abstract

With the use of the optical microscope and the electron microscope, the results through observing the histological structure and ultrastructure of lymphoid organ from *Penaeus chinensis* reveal that under the optical microscope, the lymphoid organ consists of many occluded anastomosing tubules, between two tubules are lumens, which are composed of the endothelial cells and the stromal cells. The interstitial sinuses are abundant in lots of hemocytes. And under the electron microscope, the non-nuclear parts of the endothelial cells have processes toward the lumens. The stromal cells have a large number of Golgi apparatus and mitochondria, whose structure are very simple. Moreover, we found a spherical virus in lymphoid organ cells which has an envelope and a diameter of 70-100 nm. The morphological properties of this virus is similar to REO(Reoviridae). Most inclusion bodies are globose and there are no capsulae in outer layer. Infected by the virus, the cellular organs showed serious cytopathological changes, such as the partial dilation, disruption or even complete disappearance of the nuclear membrane, the oedema of the Golgi apparatuses and the endoplasmic reticulum, and the disintegration or denaturation of the mitochondria cristae. Simultaneously, together with the virus, some mycoplasma infected the cells too.