

福建省水产研究所

部分研究论文与实验报告合订本

(1995—1996)

5-96)

一九九七年十月

福建省水产研究所

部分研究论文与实验报告合订本

(1995—1996)

目 录

1. 王涵生,1996. 赤点石斑鱼早期仔鱼轮虫日摄食量的研究。水产学报(4):365—369。
2. 王涵生,1996. 赤点石斑鱼人工繁殖的研究之一亲鱼室内自然产卵。海洋科学(6):4—7。
3. 周宸、曾志南、陈木,1996. 对虾杆状病毒组织病理研究。第二届全国人工养殖对虾疾病综合防治和环境管理学术研讨会论文集:15—18。
4. 吴金炉、曾志南、陈月忠、钟硕良、陈碧霞、周宸、林克冰、陈木,1996. 一种杆状病毒及其与细菌对两种养殖对虾的致病性。福建水产(1):5—10。
5. 卢振彬,1996. 福建东山岛海域游泳生物生态和资源评析。海洋学报(5):103—109。
6. 叶孙忠、张壮丽、汪伟洋,1996. 闽南、台湾浅滩渔场条尾鲱鲤的渔业生物学。福建水产(3):11—16
7. 王芳灿,1996. 闽东北外海渔场捕捞中上层类的渔具研究。台湾海峡(4):413—417。
8. Dai Tianyuan et al,1996. An Approach to tuaul Fishery Management inthe Taiwan strait from the Engineering Economic Point of view. FishersResource Uticization Poing WFC, 418—430
9. 方水美、冯森、沈长春、姚桂祥,1995. 荧光网线在单船底拖网上应用的研究。福建水产(4):25—32。
10. 杜琦、吴立峰,1996. 长毛对虾配合饲料中大豆磷脂的适宜添加量。台湾海峡 Vol. 15(增刊):62—66。
11. 许永安、吴成业、叶玫、陈世杰、刘敏,1995. 鲷科鱼类开口饵料的研究。福建省科协第二届青年学术年会优秀论文,563—567。
12. 张农、王勤、李庐峰,1996. 国产中性蛋白酶水解贻贝初探。福建水产(1):53—56。
13. 王小凡,1996. 小型兼作渔船捕捞机械的配备。海洋渔业(1):28—30。
14. 郭明忠、翁黎明、杨火盛、杨和作、游远新,1996. 微型脉冲电赶虾机的研制。渔业机械仪器(4):29—31。

研究简报

赤点石斑鱼早期仔鱼轮虫日摄食量的研究 STUDIES ON THE DAILY CONSUMED NUMBERS OF ROTIFER FED BY THE EARLY LARVAE OF *EPINEPHELUS AKAARA*

王涵生

(福建省水产研究所, 厦门 361005)

Wang Hansheng

(Fujian Fisheries Research Institute, Xiamen 361005)

关键词 赤点石斑鱼, 仔鱼, 轮虫, 日摄食量

KEYWORD *Epinephelus akaara*, Early larval fish, Rotifer, Daily consumed numbers

不少日本学者对真鲷、条石鲷、红鳍东方鲀、鲈鱼和黑鲷等的仔鱼进行了日摄食量的观察研究[日本水产资源保护协会, 1977; 日本水产学会, 1975; 北岛力, 1978; 北岛力和林田豪介, 1984; 福所邦彦, 1979; 南部丰辉, 1977; 岡内正典等, 1980]。萱野泰久等[1990]和岡山水試等[1990]对赤点石斑鱼仔稚鱼日摄食量及适宜投饵次数进行了研究。上述作者进行日摄食量研究时, 大多只进行1天时间的连续观察。对于仔鱼日摄食量的变化、摄食高峰的出现以及是否有其规律性, 则未见有连续几天观察的报道。本文仅就1994年多日在日本对赤点石斑鱼初期仔鱼日摄食量变化同光照的关系、日摄食量变化及摄食高峰出现的规律予以阐述。

1 材料与方法

1.1 供试仔鱼

8月7日从香川县水产试验场采集自然产卵的受精卵。8月8日早上用汽车运至日本栽培渔协玉野事业场。仔鱼于当天下午孵出, 孵化率64.6%。孵化仔鱼收容于1 m³的玻璃钢水槽, 于8月10日下午开口。

1.2 仔鱼的饲养管理

仔鱼以微流水、微充气饲养。充气量为250 mL/分, 流量为200 mL/分。饲养水中保持微绿球藻(*Nanoropsis* sp.) 40~50万个/mL。仔鱼开口前数小时, 投放S型轮虫10个/mL。S型轮虫在饲养池中繁殖很快, 翌日即可达15~18个/mL。以后随着饵料的被摄食减耗及流水损失而适当进行补充, 使之保持在15~25个/mL。饲养场所上方为玻璃钢瓦, 以黑色遮光幕遮光。

1.3 实验内容及观察方法

1.3.1 群摄食率和仔鱼的平均摄食量

试验观察从8月12日9:00开始, 进行到第5天9:00, 共4整天。每天从上午5时开始, 至夜间21时, 每

隔 2 小时取样 20 尾仔鱼,于尼康生物显微镜下,以压片法检查测定每尾仔鱼胃中的轮虫数。轮虫数以未能被消化的轮虫咀嚼器的数量为准进行计数。仔鱼的群摄食率和平均摄食量以下式表示:

$$\text{群摄食率(FR)} = \frac{\text{摄食轮虫的仔鱼数}}{20} \times 100\% \quad \text{平均摄食量(NR)} = \frac{\text{所测得仔鱼胃内轮虫总数}}{20}$$

饱食量:各观察时点所测得的 20 尾仔鱼的轮虫摄食数中,取其最高的几个数值(相差 20% 左右的)的平均值,作为该时点的饱食量。而以各时点饱食量的平均值作为日平均饱食量。

$$\text{日摄食量}(F_d) = \text{日平均饱食量} \times \frac{\text{1天可能的摄食时间}}{\text{消化时间}}$$

1.3.2 环境因子测定

水温:每天上午 8:30 和下午 2:30 各测一次,其值为 27.8~28.7℃。光照度:每隔 2 小时取样时,测量水槽表面的光照度。轮虫密度:每天早上测定一次。盐度:为自然海水盐度,一般在 33.0~35.0。

2 结果

2.1 光照度与仔鱼摄食量的关系

仔鱼的群摄食率及摄食量见表 1,光照度及轮虫密度见图 1。

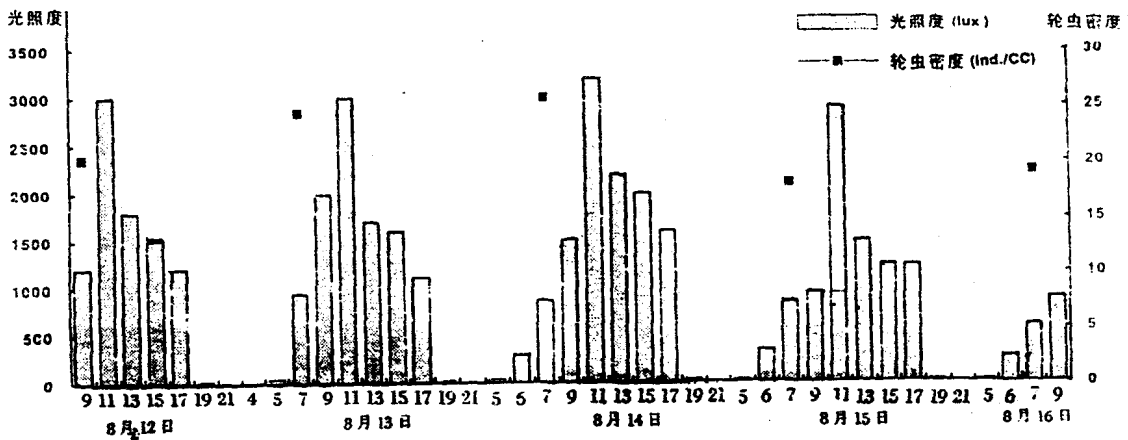


图 1 实验水槽的光照度及轮虫密度

Fig.1 The Lighting density and the density of rotifers in the experimental tank

仔鱼的摄食与光照度有很大关系。凌晨 4:00~5:00 日出前光照度为 0~5 lx,仔鱼随水流的滚动而不规则翻转,不摄食。此时仔鱼的胃肠部收缩成一细长管道,上可见一些纵行的褶皱,压片后在镜下显得单薄,颜色苍白。6:00 时,室内光照度为 280~350 lx,仔鱼已能正位游泳,大部分开始摄食,群摄食率很快即达 60%~80%。但从连续几天的结果看,仔鱼的摄食量不大,大多仔鱼胃内仅 1~3 个轮虫,仅少数个体摄食 10 个以上轮虫。摄食较多的仔鱼胃肠部膨大,有的轮虫轮廓仍依稀可辨,有的已被消化成黄褐色物质。未被消化的咀嚼器清晰可辨。7:00 时,光照度升至 1000 lx 左右,群摄食率也上升到 85% 以上,摄食量也随之增加。9:00 时以后,随着光照度的增大,群摄食率一般都保持在 90%~100%,摄食量也随着增大,有的可高达 40 个以上。从 13:00 到 17:00,光照度从 11:00 的 3000 lx,逐渐减弱至 1500~1000 lx,但其群摄食率一直保持在 100%。摄食量也处于全天的最大时期。4 天的连续观察表明,仔鱼的摄食量随光照的增强而增大。但仔鱼日摄食高峰均非出现在所测光照最强(3000~3500 lx)的近午,而是出现在光照度为 1200~2100 lx 的 15:00 时。随着仔

鱼个体的增大,摄食量也不断增大。8月12日到8月15日,仔鱼平均全长从2.1 mm增大到2.9 mm,其摄食高峰时的平均摄食量从13.7增大到33.7。8月15日13:00~17:00时,最多的1尾胃内有70多个轮虫,其他仔鱼也多数摄食40~50个轮虫。到19:00~21:00,光照度降为30~50 lx,仔鱼的群摄食率和摄食量都不断下降。21:00时,光照度为50 lx,群摄食率降为35%~75%,平均摄食量降为高峰期的1/6~1/3。此时,轮虫多已被消化完毕,仅剩咀嚼器位于直肠附近,胃肠内则充满黄褐色的消化物质。空胃的仔鱼,其胃肠壁在镜下也显得厚实,上面充满半透明的细而多的脂肪滴,与早晨仔鱼空胃时消化道的情况完全不同。另外,在傍晚光照度降到与早晨一样水平或更低的情况下,无论是仔鱼的群摄食率或平均摄食量,一般都比早上相同光照度或更强的光照度下的大。8月15日7:00时,光照度为850 lx,群摄食率和平均摄食量分别为90%和12.5,而在19:00时,光照度仅为29 lx,但群摄食率和平均摄食量却高得多,分别为100%和22.6。

2.2 个体摄食量的差异

从表1看出,仔鱼个体摄食量的差异很大。不仅不同时间、不同光照时的摄食量差异甚大,在同一时间,同一光照下,个体摄食量的差异也相当大。如8月14日7:00,摄食量为1~28。摄食高峰15:00时为14~45。

2.3 仔鱼的饱食量和日间摄食量

仔鱼在早上开始摄食后,少数个体很快即达饱食状态。但各个时点的饱食量差异很大。饱食量随光照增强而变大(表1)。但最大值不是出现在光照最强的中午前,而是在中午后13:00~17:00间。如8月15日6:00时,光照度为350 lx,饱食量为11.7。11:00时,光照度增强到2 900 lx,饱食量增到31.0。到13:00~17:00时,光照度减弱到1 250~1 500 lx,饱食量却增大到48.5~59.4,为全天的最高值。其他几天也出现相同的趋势。另外,随着个体的增大,仔鱼的饱食量也不断增大(表2),从8月12日到8月15日,平均饱食量从19.5变为44.2,增大了一倍多。

3 讨论

3.1 饱食量

连续观察表明,赤点石斑鱼仔鱼一天中各个时刻及同一时刻不同个体间的摄食量差异甚大。可以认为,此时仔鱼各个体处于摄食的各个阶段,其最大值为饱食量,其平均值为半饱食量。

许多日本学者研究过一些海水鱼类仔稚鱼不同发育期的饱食量。对饱食量的确定,他们多于仔稚鱼的各不同发育期取某一时点(如9:00或10:00时)的标本,计算胃内轮虫数,取其上限为其饱食量。北岛力[1978]、伏见澈[1983]认为,真鲷仔稚鱼在早上开始摄食后,30~40分钟即达饱食期。萱野泰久指出赤点石斑鱼第9天平均全长3.9 mm的仔鱼,早上光照度为160 lx时,开始摄食,2小时后大多达饱食状态。而从饱食到消化完成的时间为2.5小时。他观察第9天的仔鱼1天内的摄食高峰出现于9:00时[岡山水試等,1990]。笔者的观察表明:仔鱼的日间摄食高峰出现在15:00时,而一天内最大的饱食量出现在13:00到17:00之间。笔者对鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)和杜氏鲷(*Seriola dumesili*)仔鱼连续4天的观察,也发现了同样的规律。笔者还认为,仔鱼的饱食量应以1天内各个观测时点饱食量的平均值来表示。而各个时点的饱食量应以最高值到此值下浮20%之值间的平均值表示。所测各天及各时点的饱食量如表1、2所示。8月15日第7天仔鱼平均全长3.0 mm(2.3~3.9 mm),平均饱食量为44.2,(最高15:00时为59.4),比萱野泰久[岡山水試等,1990]观察第9天的仔鱼平均全长3.9 mm时的饱食量为27.8(9:00时),大得很多。

表 1 赤点石斑鱼早期仔鱼的轮虫饱食量

Table 1 The saturated numbers of rotifer consumed by the early larvae of *Epinephelus akaara*

日期	时间	光照度	饱食量	摄食量范围	群摄食率
8.12	9:00	1 200	11.5	2~21	85
	11:00	3 000	19.0	1~24	95
	13:00	1 800	25.7	1~34	95
	15:00	1 500	21.3	5~27	100
	17:00	1 200	22.0	2~25	100
	19:00	25	17.3	1~18	85
	21:00	5	—	1~12	35
8.13	4:00	5	0	0	0
	5:00	48	0	0	0
	7:00	940	16.3	1~22	100
	9:00	2 000	10.0	1~11	95
	11:00	3 000	23.3	2~26	85
	13:00	1 700	26.4	2~42	100
	15:00	1 600	26.5	13~31	100
	17:00	1 100	35.0	2~46	100
	19:00	25	24.0	7~24	90
	21:00	5	—	3~12	50
8.14	5:00	35	0	0	0
	6:00	290	11.8	1~12	70
	7:00	870	23.7	1~28	90
	9:00	1 500	24.0	6~30	100
	11:00	3 200	37.3	8~59	100
	13:00	2 500	42.7	11~45	100
	15:00	2 100	38.3	14~45	100
	17:00	1 600	39.5	7~43	100
	19:00	30	38.0	5~43	100
	21:00	5	—	6~20	60
8.15	5:00	25	0	0	0
	6:00	350	11.7	1~14	80
	7:00	850	25.5	2~28	90
	9:00	950	37.3	1~46	95
	11:00	2 900	31.0	4~37	100
	13:00	1 500	48.5	8~77	100
	15:00	1 250	59.4	9~64	100
	17:00	1 250	55.0	3~71	100
	19:00	29	41.3	6~61	100
	21:00	5	—	1~46	75
8.16	5:00	5	0	0	0
	6:00	280	12.3	1~16	60
	7:00	600	35.3	2~43	85
	9:00	900	38.0	3~46	90

表 2 赤点斑鱼仔鱼的日摄食量

Table 2 Daily numbers of rotifer consumed by a larvae of *Epinephelus akaara*

日期	8.12	8.13	8.14	8.15
平均饱食量	19.5	23.1	37.9	44.2
日摄食量	109.0	129.0	212.0	247.8
仔鱼平均全长(mm)	2.1(1.9~2.4)		2.5(1.9~2.9)	2.9(2.0~3.9)

3.2 关于日摄食量

日本作者在研究仔稚鱼日摄食量时使用 2 种方法。一种是直接法,即于水槽中定量投饵,投置对照,经 24 小时后检查水槽中饵料的减少量,以此判断仔鱼的摄食量。另一种为间接法,即检查仔稚鱼消化道内的轮虫量,求其饱食数,再根据饱食数、消化时间及一天内可能的摄食时间推算日间摄食量。

直接法比较简便直观,但易于因饵料密度测定时取样的误差影响准确度。间接法则可准确计算。在真鲷[日本水产资源保护协会,1977]、牙鲆[安永義暢,1971]都用下式计算仔鱼的日摄食量(F_d)。 $F_d = \text{饱食数} \times (1 \text{ 天可能摄食时间} / \text{消化时间})$ (1)。萱野泰久在赤点石斑鱼[岡山水試等,1990],则采用下式计算: $F_d = F(t_{m+i}) - (1 - 1/a) \cdot F(t_{m+i-1})$ (2),式中 t_m 为最初饱食时间, $F(t_{m+i})$ 为 t_{m+i} 时的摄食数, a 为消化时间。

笔者认为(1)式可能更直观些,故采用之。其中 1 天内可能的摄饵时间设定为日出到日落约 14 小时,消化时间为 2.5 小时[北岛力,1978;岡山水試等,1990]。采用上述(1)式,重要的一点在于饱食量及饱食时间的确定。萱野泰久观察第 9 天平均全长 3.9 mm 的赤点石斑鱼仔鱼饱食量(9:00 时)为 27.8,日间摄饵数 117.8 个[岡山水試等,1990]。笔者观察第 7 天(8 月 15 日)平均全长为 2.9 mm 仔鱼,日平均饱食量为 44.2,日间摄饵量为 247.8 个轮虫,比萱野氏的观察结果高出许多。

3.3 人工育苗中的饵料供应

根据以上观察结果,在赤点石斑鱼人工繁殖中,以 100 万仔鱼计算,开口后 1~2 天内每天至少应供给轮虫 1 亿,随着仔鱼的成长,每天的供应量逐渐增加。至第 8 天,每天至少应供给 2.5 亿个轮虫,才能满足仔鱼的摄饵要求。考虑到换水或流水中的饵料流失,供应量应比此值大。

4 结论

赤点石斑鱼早期(第 4~8 天)仔鱼对轮虫的摄食在日出后随光照度的增强而增大。但其摄食高峰出现在 13:00~15:00,光照度为 1 200~2 100 lx 时。早期仔鱼(第 4~8 天)日平均饱食量为 19.6~44.2,日摄食量为 109.6~247.8。饲养 100 万尾仔鱼,从开口到 8 日龄,每天至少要供应 1~2.5 亿个轮虫。

本实验承蒙日本九州大学附属水产试验所北岛力教授的热情介绍,得以在日本栽培渔业协会玉野事业场进行,并得到场长关谷幸生及奥村重治等其他研究人员、工作人员的大力支持,谨此表示真诚的谢意。

参 考 文 献

- [1] 日本水产学会,1975。稚魚の摂餌と發育。水产学シリーズ(8):78~79,恒星社厚生阁。
- [2] 日本水产资源保护协会,1977。マダイ種苗生産技術の現状と問題点。66~76,石崎書店制作。
- [3] 北島力,1978。マダイの采卵と稚魚の産産に関する研究。長崎県水产試験場論文集,(5):51~60。
- [4] 北島力、林田豪介,1984。トラフグ仔魚稚魚のワムシ及びワルテミツ幼生日間攝餌量。長崎県水产試験場研究報告,(10):41~48。
- [5] 安永義暢 1971。ヒラメ稚仔の摂餌生態と成長。東海區水研研報,(68):31~42。
- [6] 伏見徹,1983。稚仔魚の攝餌量。水产学シリーズ,(44):69~98。恒星社厚生阁。
- [7] 岡山水試等,1990。平成 2 年度地域特産種増殖技術開發事業報告書。キシハタ岡,1~9。
- [8] 岡内正典等,1980。クロダイ仔稚魚の日間ワムシ攝餌量。養殖研報,39~45。
- [9] 南部豐揮,1977。スズキの種苗生産に関する試験。昭和 50 年度熊本水試報,224~229。
- [10] 福所邦彦,1979。イシダイの種苗生産に関する基礎的研究。長崎水試論文集,(6):173。
- [11] 萱野泰久等,1990。キシハタ稚魚に對する至適給餌頻度。水产増殖,38(4):319~326。

赤点石斑鱼人工繁殖的研究

I. 亲鱼的室内自然产卵*

STUIDES ON THE ARTIFICIAL PROPAGATION OF *Epinephelus akaara*

I. Natural Spawning of Red Spotted Grouper (*E. akaara*) Under Laboratory Condition

王涵生

(福建省水产研究所 厦门 361012)

作者 1995 年在漳州市东山湾水产增殖中心进行赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)人工繁殖研究时,对亲鱼产卵前及产卵期间的摄饵,每天的产卵量及卵质进行了观察、研究,报道如下:

1 材料与方 法

1.1 亲 鱼

亲鱼共 19 尾,于 1994 年 12 月初购自东山县海上网箱养殖户,系从自然海区钓捕,经 2~3a 养殖的群体。养于海上网箱,日常投喂小杂鱼,并定期投喂一定比例的维生素饲料添加剂。至 1995 年 5 月 21 日测得平均全长 35.9cm,体重 916.5g。5 月 28 日亲鱼移往室内产卵池,经检查雌、雄比为:雌:雄:不明=7:8:4。亲鱼个体大小详见表 1。

1.2 产卵及受精卵测定

产卵池为 4.5m×4.5m 的方形水泥池,水深约 1.5m。池子上方及边上均用遮光幕遮光。亲鱼流水充气饲养,流量为 40~50L/min。

受精卵以溢水法收集。受精卵随溢出的水通过集卵管(直径 5cm)流水池外的集卵网。集卵网于每天下午 4:30 左右张挂,至翌日 8:00 左右收集受精卵。

受精卵收集后,每天计算总卵量及浮上卵量。每次取样 50 粒于万能投影仪下测定其卵径、油球径。取 100 粒卵计算其受精率。受精率以达到原肠期的胚胎为准计数。另取 100 粒受精卵置 500ml 烧杯中,于翌日测定其孵化率、畸形率。孵化率以成形的仔鱼为准计数,畸形的仔鱼指尾部弯曲、油球异位(正常个体油球位于卵黄囊后部)、脊柱弯曲的个体。

1.3 环境因子

产卵期间环境因子均为自然状况,水温为 23.6~28.4℃,但高于 18℃及低于 24℃的时候很少,一般多在 25.5~27.3℃间,盐度一般在 32.0~35.0,pH 值在 7.8~8.5 间。

2 结 果

2.1 亲鱼的摄饵

亲鱼摄饵情况如表 2 所示。产卵前的 4 月 21 日~5 月 27 日,37d 中仅 20d 有摄饵。日摄饵量平均 110.5g,为总体重的 0.6%。在海区,亲鱼还时常摄食进网箱的小鱼、小蟹等。

表 1 赤点石斑鱼亲鱼的个体大小

雌		雄		性别不明	
全长 (cm)	体重 (g)	全长 (cm)	体重 (g)	全长 (cm)	体重 (g)
35.5	1 140	39.5	1 320	39.0	1 130
35.5	1 130	39.5	1 310	36.0	890
35.5	1 100	38.0	1 040	36.0	770
34.0	740	38.0	870	35.5	840
34.0	760	37.0	950	/	/
33.0	660	35.0	750	/	/
32.5	590	35.0	710	/	/
/	/	34.0	710	/	/
平均					
34.1	874.3	37.0	957.5	36.6	907.5

* 本试验进行过程中,承蒙福建漳州市水产局林振太局长,增殖中心叶家松、黄佳鸣、何伟沛、陈建华及其他工作人员提供热情帮助,在中心工作的日本专家大龙胜久和永井显允也热心帮助,提出不少有益的建议,谨此表示真诚的谢意。

收稿日期:1996 年 7 月 1 日

产卵期间,日摄饵量起初较少,以后逐渐增大,最高可达700~800g。产卵后期,摄饵量减少。日平均摄饵量322.5g,为总体重的1.9%。比较表2及表3,日摄饵量与日产卵量间似乎没有显著的相关关系。

2.2 亲鱼的产卵及卵质

亲鱼在海上网箱养至5月上旬,雄鱼开始出现婚装。头部、背部白色及褐色斑纹加深,从眼下至鳃盖,有一白色横“V”形斑纹尤加醒目。雌鱼腹部膨大,体色如常。5月28日将亲鱼移至室内产卵池,当天傍晚即开始产卵。

2.2.1 亲鱼的产卵行为发生于每天傍晚,从17时左右开始,一般持续2h左右。开始是雄鱼追逐雌鱼,以后两鱼靠近,并排、鳃盖相贴,并列环游一小段后,变成急速直线前游,最后“啪”地一起顶出水面数厘米,完成产卵、排精动作。以后雌、雄鱼即各自分开。

2.2.2 亲鱼的产卵自5月29日~7月28日共持续61d,总产卵量 $5\,926 \times 10^3$,浮上卵 $1\,961 \times 10^3$,浮卵率33.1%(表3)。以20d左右为度,可将产卵期分为前期、中期、后期3个阶段。前期20d(5月29日~6月17日)产卵每天连续不断,共产卵 $2\,062 \times 10^3$,浮卵921 000,浮卵率为44.7%,前些天产卵较多,以第3天(5月31日)为最,达510 000,浮卵330 000,浮卵率64.7%。以后产卵量明显减少,大都在100 000甚至50 000以下,前期以后2d不产卵。

中期21d(6月21~7月11日)为产卵盛期,虽然产卵断断续续,但所产之卵占全部的56%,共产卵 320×10^3 ,浮上卵980 000,浮卵率为29.8%。最初的6月21日、23日和25日分别产卵390 000、505 000及450 000,以后产卵量减少到100 000~200 000间。中期后也有2d不产卵。

后期15d(7月14日~7月28日)产卵更加断断续续,不产卵的日子较多,共产卵571 000,浮卵60 000,浮卵率10.5%。除第1天(7月14日)有浮卵外,其余全为沉卵。

2.2.3 卵径及油球径如图1所示,大小很不整齐。前期卵径为730~770 μm ,平均740~750 μm ;油球径为140~175 μm ,平均150~160 μm 。中期大小更为发散,同时趋于变大。卵径为730~800 μm ,平均760~770 μm ;油球径150~180 μm ,平均165~175 μm 。

2.2.4 受精率、孵化率和畸形率如表3所示,前期受精率为0~89.4%,平均47.3%,孵化率为0~89.9%,平均46.5%,畸形率为11.5~35.0%,平均

20.2%。中期受精率、卵化率分别为0~87.6%及0~100%,平均分别为38.5%及63.2%,畸形率为19.0~69.6%,平均28.2%。后期除第1天的受精率、孵化率、畸形率分别为50.5、63.2%及56.2%外,其余全为沉卵。

从表3可以看出,受精率与孵化率间,大致存在一定的正相关关系,但有时也有例外。畸形率与受精率间,则大体上呈负相关关系。

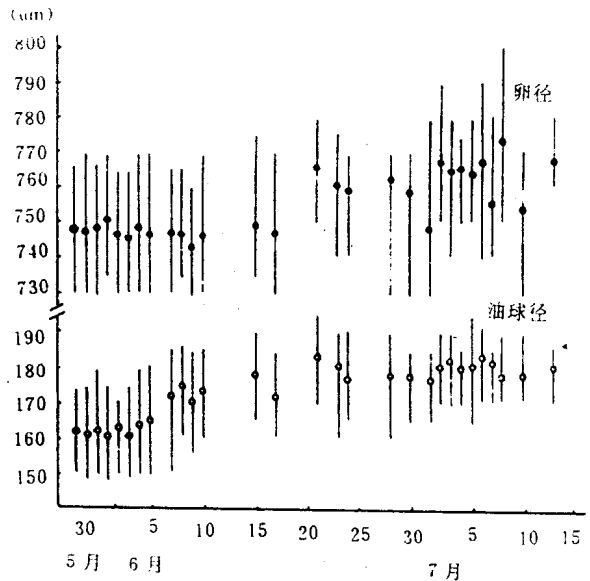


图1 赤点石斑鱼卵的卵径及油球径(μm)

3 讨论

3.1 产卵量

由于亲鱼的来源、大小、饲养条件不同,产卵量也不相同。本试验使用亲鱼19尾,其中雌性鱼7尾,总产卵量 $5\,926 \times 10^3$,平均每尾产卵847 000。在日本的一些研究机关,每尾平均产卵量或为760 000~933 000,或为 $3\,698 \times 10^3 \sim 5\,564 \times 10^3$ 结果都大不相同[7~9]。

3.2 卵质

从本试验结果看,赤点石斑鱼卵的质量(更准确地说是精卵的质量)不佳。表现在:第一是浮卵率低,为33.1%。每天的浮卵率如表3所示,除前期及中期的头几天超过50%,其余多为10~40%,其次是卵的大小相差甚大。卵径为730~800 μm ,油球径为140~180 μm ;在中期及后期,这种情形尤甚(图1)。第三是受精率及孵化率不高,在前期及中期的头些天,受精

率及孵化率可达 60% 以上,有时可达 90% 左右或更高,但多数时候甚低。前期的平均受精率及孵化率分别为 47.4% 及 46.5%,中期为 38.5% 及 63.2%。两期的仔鱼畸形率分别为 19.9% 及 28.2%。后期的卵,

则基本上受精率为 0。在本种及同属其他种,不少作者都报道过精卵质量不佳的问题^[3,4,7-9,11,12]。作者认为应从本种鱼性转化、雌、雄性比及亲鱼营养等几个方面来考虑。

表 2 赤点石斑鱼亲鱼的摄食量

日期 (月.日)	摄饵量 (g)	日期 (月.日)	摄饵量 (g)	日期 (月.日)	摄饵量 (g)	日期 (月.日)	摄饵量 (g)
4.21	450	5.16	400	6.9	490	7.4	250
4.22	0	5.17	100	6.10	500	7.5	100
4.23	0	5.18	0	6.11	500	7.6	545
4.24	0	5.19	0	6.12	100	7.7	346
4.25	430	5.20	320	6.13	400	7.8	160
4.26	200	5.21	150	6.14	450	7.9	0
4.27	0	5.22	200	6.15	300	7.10	610
4.28	200	5.23	80	6.16	550	7.11	530
4.29	50	5.24	0	6.17	0	7.12	240
4.30	0	5.25	290	6.18	200	7.13	630
5.1	0	5.26	50	6.19	260	7.14	650
5.2	0	5.27	50	6.20	470	7.15	0
5.3	0	5.28	150	6.21	600	7.16	0
5.4	0	日平均	110.5	6.22	530	7.17	0
5.5	0	5.29	0	6.23	800	7.18	0
5.6	310	5.30	0	6.24	750	7.19	140
5.7	0	5.31	80	6.25	420	7.21	200
5.8	150	6.1	0	6.26	0	7.21	350
5.9	0	5.2	150	6.27	610	7.22	380
5.10	100	6.3	100	6.28	620	7.23	379
5.11	300	6.4	300	6.29	100	7.24	290
5.12	200	6.5	250	6.30	430	7.25	355
5.13	100	6.6	300	7.1	410	7.26	200
5.14	0	6.7	180	7.2	270	7.27	100
5.15	0	6.8	340	7.3	500	日平均	322.5

3.3 雌、雄同体及性转化

赤点石斑鱼为雌、雄同体,雌性先熟,到一定年龄及大小时,由雌性向雄性转化。在自然海区性转化的年龄为 6 年龄以上。在养殖状况下,一般需 3 龄以上。有时,一些小年龄的个体常在繁殖季节到来时,不经成熟的雌性阶段,直接发育成雄性^[1,6]。而在繁殖季节,也有一些间性的甚至产卵活跃的雌性个体转化为雄性^[5-9]。

本试验所用的雄鱼 8 尾,平均全长 37.0cm,体重 957.5g,7 尾雌鱼较小,平均全长 34.1cm,体重 874.3g,性别不明的 4 尾,平均全长 36.6cm,体重 907.5g,个体大小介于雌、雄鱼之间(表 1)。雄鱼的生殖腺系数很小,据笔者解剖的经验,及其他作者报道,在自然海区,本种鱼雌性个体生殖腺系数在 6.4% 时,雄性

鱼往往只有 0.5~0.6%。养殖的群体更小,仅为 0.1~0.2%^[1,5,13]。本试验用鱼为 3 龄鱼,最大不超过 4 龄,估计雄鱼系刚发育成或刚由雌性转化过来的。这样由于性发育或性转化的不完善,必然导致精子的不成熟和量少。结果造成卵的受精质量不佳。中期的 6 月 24 日,450 000 卵全部不受精,即可说明这一点。

3.4 雌、雄性比

本种鱼的性转化现象,给人工繁殖中雌、雄性比的决定带来很大的困难。雄鱼不足肯定受精不好,但雄鱼过多,其争斗又影响了产卵行为和受精。本试验中后期,可见腹部膨大的雌鱼在池中孤独地环游,没有雄鱼追逐。与此同时,一些身上多少显出婚装的雄鱼却纠缠在一起争斗。中后期卵的受精不好,显然与此有关。在其他石斑鱼,一些作者也报道了类似的情

形,并指出这种争斗现象会严重影响亲鱼的产卵和卵的受精^[3,4,10]。

表 3 赤点石斑鱼产卵量及卵质

日期 (月,日)($\times 10^4$)	产卵量 (%)	浮卵率 (%)	受精率 (%)	孵化率 (%)	仔鱼畸形率 (%)
5.29	6.0	50.0	61.1	76.0	18.5
5.30	6.0	33.3	73.1	76.5	17.5
5.31	51.0	64.7	85.9	81.1	20.2
6.1	11.0	54.5	70.4	75.0	18.2
6.2	18.0	50.5	66.2	78.1	18.0
6.3	20.0	60.0	89.4	71.3	15.5
6.4	8.0	13.3	70.3	76.8	19.1
6.5	13.0	53.8	66.0	72.3	17.6
6.6	2.0	0	0	0	/
6.7	5.0	40.0	62.0	68.8	19.5
6.8	7.0	28.6	0	/	/
6.9	10.0	60.0	85.3	89.9	14.5
6.10	4.0	25.0	74.3	79.0	21.0
6.11	8.0	0	0	0	/
6.12	5.0	0	0	0	/
6.13	10.0	0	0	0	/
6.14	3.0	0	0	0	/
6.15	7.2	63.9	76.8	85.5	27.5
6.16	2.0	0	0	0	/
6.17	10.0	10.0	64.5	73.5	35.5
平均	(206.2)	11.7	17.3	16.5	20.2
6.21	39.0	61.5	87.6	93.0	19.0
6.22	1.0	0	0	/	/
6.23	50.5	51.5	62.9	96.8	25.5
6.24	16.5	72.7	66.0	100	22.5
6.25	45.0	0	0	/	/
6.26	15.0	16.7	0	/	/
6.27	0	/	/	/	/
6.28	18.0	11.1	65.7	89.0	20.5
6.29	0	/	/	/	/
6.30	21.0	11.9	81.4	99.0	20.5
7.1	0	/	/	/	/
7.2	11.0	27.3	19.0	53.2	21.5
7.3	8.0	13.8	45.0	58.0	22.0
7.4	13.0	36.9	16.0	10.0	24.0
7.5	18.0	19.1	31.1	70.6	21.0
7.6	14.0	30.0	67.1	87.6	21.0
7.7	17.0	17.6	14.3	72.1	36.4
7.8	10.0	25.0	46.5	82.1	34.1
7.9	20.0	17.5	26.3	63.9	69.8
7.10	0	/	/	/	/
7.11	12.0	25.0	29.1	69.2	33.3
平均	(329)	29.8	38.5	63.2	28.2

表 3(续)

日期 (月,日)($\times 10^4$)	产卵量 (%)	浮卵率 (%)	受精率 (%)	孵化率 (%)	仔鱼畸形率 (%)
7.14	9.0	66.7	50.5	73.1	56.7
7.15	2.0	0	0	/	/
7.16	2.4	0	0	/	/
7.17	0	/	/	/	/
7.18	0	/	/	/	/
7.19	0	/	/	/	/
7.20	7.8	0	0	/	/
7.21	6.2	0	0	/	/
7.22	0	/	/	/	/
7.23	0	/	/	/	/
7.24	0	/	/	/	/
7.25	0	/	/	/	/
7.26	2.0	0	0	/	/
7.27	10.0	0	0	/	/
7.28	18.0	0	0	/	/
平均	57.4	10.5	/	/	/

另一方面,卵的受精质量不佳似乎也不仅仅是雌、雄性比的问题。日本栽培渔协的玉野和伯方岛事业场以 1:1.4,2.7:1.13:1.1:3.1:4.5.5:1 及 1:1 的雌、雄性比进行采卵,结果浮卵率都不高,分别为 35.0%,23.5%,21.5%,15.5%,17.1%,27.4%及 11.895%。

3.5 亲鱼的营养

笔者认为精卵的质量,很大程度上取决于亲鱼的营养状况,赤点石斑鱼肉食性,性凶猛,在海区捕食小型鱼虾、蟹类。但养殖条件下,只能投喂冰冻杂鱼,鲜度也不好,营养大为欠缺。

亲鱼产卵前的日摄饵量平均 110.5g,仅为鱼体重的 0.6%。加之在网箱投饵,饵料有所流失,实际摄饵量较此为少。产卵前的 1 个多月,正是卵黄内积累各种营养物质的关键时刻,但看来亲鱼对游进网箱的小鱼虾的捕食,很大程度上影响了对人工投饵的摄食,也阻碍了对拌入饵料的各种营养物质及维生素等的吸收,影响了精卵的质量。产卵期间,亲鱼在水泥池内每天平均摄饵 322.5g,为总体重的 1.9%。两者比较,亲鱼在网箱精养,水质稳定,管理方便;在室内精养,饵料营养易于定向控制,两者各有利弊。如何两全其美,保证亲鱼充足的营养,促进优质精卵的形成,亟待今后进一步深入研究。

参考文献

对虾杆状病毒病组织病理研究

周 宸 曾志南 陈 木

(福建省水产研究所, 厦门 301012)

提要 1994年福建省漳浦县东坂垦区养殖的斑节对虾和日本对虾发生了一种杆状病毒病, 病死虾的主要症状表现为甲壳白斑, 尾扇发红, 鳃水肿、糜烂, 肝胰腺轻度肿大、呈白色或淡黄色, 胃肠空, 肠发黄等。组织病理观察发现, 在鳃组织、胃和肠上皮细胞及粘膜下层结缔组织、疏松结缔组织、淋巴器官、触角腺、心脏、肝胰腺浆膜及尾扇等组织器官中发生了不同程度的病变, 其共同的病理特征表现为: 细胞核膨胀、变形, 被苏木精浓染或空泡, 在细胞核和细胞质中未观察到包涵体。通过与已报道的对虾病毒感染的组织病理特征比较, 本文认为该病毒与日本对虾 RV-PJ 病毒引起的组织病理变化相似。

关键词 斑节对虾, 日本对虾, 杆状病毒, 组织病理

1994年福建省漳浦县东坂垦区放养的斑节对虾和日本对虾发生了一种杆状病毒病(病毒的超微结构另文发表)。该病发病快、病程短, 从发现病死虾4、5天内就几乎全部死亡, 死虾遍及整个池底, 发病虾池水突然变清, 藻类沉底, 发病时水温24~31℃。对该病毒的形态特征、理化特性和定位还在进行深入研究。本文着重观察感染该病毒的斑节对虾和日本对虾各组织器官的组织病理变化及其在诊断上的意义。

1 材料与方法

1.1 病虾来源

漳浦县东坂垦区发病虾池的斑节对虾和日本对虾, 体长3.2—6.8cm。

1.2 检查方法

以目检和镜检法在现场进行活体检查; 取主要脏器进行组织病理切片, 光镜检查。

1.3 组织切片制备

取病虾或濒死虾的肝胰腺、鳃组织、胃、肠、淋巴器官、触角腺、结缔组织、造血组织、心脏、肌肉和发红的尾扇等组织器官, 或取整个头胸甲部分和腹节, 用 Bouin 氏液固定, 常规石蜡包埋切片, 切片厚度5~6μm, H-E 染色, 观察各组织的病理变化。

2 结果

2.1 外观症状及解剖观察

斑节对虾发病症状: 病死虾体色晦暗, 斑纹不清, 头胸部及腹部甲壳背面有土黄色

粘着物覆盖,甲壳及尾扇发红;病死虾头胸甲及腹部侧面有白斑,约占39%;鳃水肿、糜烂,呈茶褐色;肝胰腺缺乏弹性,轻度肿大,呈白色或淡黄色;胃肠空,肠发黄。

日本对虾发病症状:病虾白昼常漂游于水面,夜晚多停歇在池底上,对外来刺激反应迟钝,失去潜沙能力。尾扇发红,头胸甲和腹节甲壳白斑或微红,肌肉白浊。鳃水肿、糜烂,呈黄色;胃肠空;肝胰腺轻度肿大。

2.2 组织病理变化

通过对具有甲壳白斑和尾扇发红的斑节对虾和日本对虾的病虾的组织病理观察,结果显示,病变广泛分布于鳃组织、胃和肠上皮细胞及粘膜下层结缔组织、淋巴器官、触角腺、心脏、肝胰腺浆膜、疏松结缔组织及尾扇甲壳下组织等,其共同的病理特征表现为:细胞核膨胀、变形,染色质和核仁着边,被苏木精浓染,或核质缺乏染色质和核仁等正常结构,显示出空泡和被苏木精淡染,在细胞核和细胞质中未观察到包涵体。鳃病变最严重,鳃腔肿胀,呼吸上皮增厚,鳃上皮细胞及结缔组织中都可观察到大量成堆或分散的变性核即细胞核肥大,染色质着边也被苏木精浓染,由于细胞核膨大,导致细胞破裂、坏死(图版 I :1)。胃上皮细胞坏死崩解,呈无层次结构,上皮细胞和粘膜下层结缔组织细胞核肥大,被苏木精浓染(图版 I :2)。肠粘膜层肥厚,上皮细胞核膨胀,核边缘被苏木精浓染,或核膨胀呈空泡状,显示染色质和核仁消失,细胞界限不清,细胞质空泡,直至上皮细胞坏死崩解,粘膜下层结缔组织肿胀,有大量的变性细胞,粘膜肌层坏死(图版 I :3)。淋巴器官异常,鞘结构消失,细胞核肥大或空泡(图版 I :4)。触角腺细胞界限不清,排列混乱,细胞核肥大,为苏木精浓染(图版 I :5)。疏松结缔组织细胞核膨大,为正常细胞核的3~4倍。偶尔观察到心脏组织中细胞核肥大(图版 I :6),心肌坏死,血细胞浸润。肝胰腺浆膜细胞核肥大,被苏木精浓染(图版 I :7),上皮细胞未见细胞核肥大,但病变明显的,表现为空泡变性,细胞质着色较浅或不着色,分泌小管周围血细胞浸润,上皮细胞与基底膜分离等。与此同时仍有一部分斑节对虾肝胰腺上皮细胞受MBV感染,显示出核内嗜酸性包涵体,日本对虾则没有。发红的尾扇甲壳下组织坏死,细胞核肥大,组织受到破坏(图版 I :8)。

3 讨论

3.1

自1974年 Couch 首次发现对虾杆状病毒以来,先后已报道了14种以上对虾病毒,而其中感染对虾组织器官之多,引起对虾发病之快、死亡率之高,只有日本对虾杆状核内病毒(RV-PJ)(井上 洁等,1994)、斑节对虾黄头杆状病毒(YBV)(Boonyaratpalin et al., 1993)和传染性皮下和造血组织坏死病毒(IHHNV)(Lightner et al., 1983)。日本学者对1993年日本对虾的大量死亡进行了电镜观察、组织病理及人工感染等研究,结果认为是一种暂名为RV-PJ(rodshaped nuclear virus of *Penaeus japonicus*)的病毒所引起。该病毒有囊膜,无包涵体,核壳直径 $84 \pm 6\text{nm}$,长 $226 \pm 29\text{nm}$,带囊膜的完整病毒直径 $130 \pm 9\text{nm}$ 。其组织病理变化表现为细胞变性,细胞核膨胀,被苏木精浓染,病毒感染的组织器官为胃上皮细胞、结缔组织、淋巴器官、触角腺、造血组织和神经组织,人工感染和自然感染结果一致;典型的外观症状表现为甲壳白斑、体色发红。受YBV感染的

斑节对虾三天内死亡率达100%，淋巴器官异常，细胞变性和坏死，细胞核增生及大的空泡，细胞质内有嗜碱性类似缩小核的球形体，在肝胰腺间隙组织、中肠粘膜下层结缔组织、心脏组织、鳃组织及造血组织等也发现类似的小体，未提及胃和肠上皮细胞受感染。IHHNV 感染虾后，在外胚层和中胚层起源的组织中造成广泛的组织病理变化，在病变组织中，细胞核变大，染色质着边，核内有嗜酸性 Cowdry A 包涵体；它能引起幼虾急性大量死亡。通过组织病理观察，与已报道的对虾病毒感染的组织病理特征比较，我们认为1994年漳浦县东坂垦区养殖对虾这种杆状病毒病的组织病理特征，与日本学者报道的引起日本对虾大量死亡，被称为 RV-PJ 病毒感染的组织病理变化相似，可能是同一种病毒感染所引起。

3.2

本文所述杆状病毒感染的组织病理变化主要发生于外胚层和中胚层起源的组织器官，引起鳃组织、胃和肠上皮细胞及粘膜下层结缔组织、淋巴器官、触角腺、心脏、肝胰腺浆膜、疏松结缔组织和尾扇甲壳下组织等病变，它同对虾受 MBV, BP, YBV 和 BMNV 等杆状病毒感染引起的组织病理变化有明显的区别。MBV 和 BP 宿主的靶器官主要在肝胰腺上皮细胞，MBV 在细胞核内形成嗜酸性球形包涵体，BP 的包涵体为四面体；而 BMNV 靶器官仅为肝胰腺，并不形成包涵体，受感染的肝胰腺上皮细胞核肥大，染色质着边。显然，由于病毒感染的靶器官不同，引起的组织病理变化及包涵体形态亦不同。在高度特异性和灵敏性的分子生物学和血清学诊断技术尚未完善的情况下，组织病理学方法仍不失为一项简便、实用和易操作的初步诊断方法，在对虾病毒病诊断和检疫上可作为一项重要的参考指标。

3.3

斑节对虾同时还受到 MBV 的感染，其组织病变主要在肝胰腺和中肠上皮细胞，在细胞核内形成球形嗜酸性包涵体，由于受两种病毒的感染，导致斑节对虾几乎全身性的病变，引发斑节对虾大量发病死亡。两种病毒在斑节对虾大量发病死亡过程中是有联系的，但它们各自扮演什么角色，需要进一步研究。对虾受两种病毒感染的国内外报道有：斑节对虾 MBV 和 HPV 混合感染 (Chen et al., 1989)，IHHNV 病中发现对虾弹状病毒 RPS (Rhabdovirus of Penaeid Shrimp, Lu et al., 1991; Nadala et al., 1992)。这说明同一种对虾能够受二种病毒感染，它们之间的相互关系则未见报道。不仅如此，病毒与细菌、病毒与原生动物之间在疾病的发生及病情发展、病程长短上都是相互联系的。因此，对虾病害是一种综合病症，除病原因素外还有诸多环境因素的影响，我们在虾病防治上应进行综合防治。

参 考 文 献

- 陈细法等. 养殖对虾一种病毒的超微结构特点. 电子显微学报, 1994; 13 (5): 357
- Boonyaratpalin S et al. Non-occluded baculo-like virus, the causative agent of yellow head disease in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathology*, 1993; 28: 103-109
- Chen S N et al. Studies on virogenesis and cytopathology of *Penaeus monodon* baculovirus (MBV) in the giant tiger prawn (*Penaeus monodon*) and the red tail prawn (*Penaeus penicillatus*). *Fish Pathology*, 1989; 24 (2): 89-100

- Couch J A. An exootic nuclear polyhedrosis virus of pink shrimp: ultrastructure, prevalence and enhancement. *J. Invertebr. Pathol.* 1974; 24: 311—331
- Fegan D F et al. The occurrence, development and histopathology of monodon baculovirus in *penaeus monodon* in southern Thailand. *Aquaculture*, 1991; 96: 205—217
- Inouye K et al. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp *Penaeus japonicus* in Japan in 1993, electron microscopic evidence of the causative virus. *Fish Pathology*, 1994; 29: 149—158
- Lightner D V, Redman R M, Bell T A. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis, a newly recognized virus disease on penaeid shrimp. *J. Invertebr. Pathol.* 1983; 42: 62—70
- Momoyama K et al. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993, histopathological study. *Fish Pathology*, 1994; 29: 141—148
- Nadala E C B et al. Infection of *Penaeus stylirostris* (Boone) with a rhabdovirus isolated from *Penaeus spp.*. *Fish Pathology* 1992; 27: 143—147
- Nakano H et al. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993, epizootiological survey and infection trials. *Fish Pathology*, 1994; 29: 135—139
- Sano T et al. Baculovirus infection of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathology*, 1981; 15: 185—191
- Takahashi Y et al. Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Fish Pathology*, 1994; 29: 121—125

HISTOPATHOLOGICAL STUDIES ON THE BACULOVIRUS DISEASE OF PENAEID SHRIMP

Zhou Chen, Zheng Zhinan and Chen Mu

(Fisheries Research Institute of Fujian Province, Xiamen 361012)

ABSTRACT

A baculovirus disease among cultured penaeid shrimps, *Penaeus monodon* and *Penaeus japonicus*, occurred in many culture ponds in Zhang Pu of Fujian Province in 1994. The main symptoms of moribund shrimps and diseased shrimps were: white spots on the inside surface of the carapace, reddish tail, rotten gill, swollen hepatopancreas. Histopathological sections show lesions distributed widely in gill, cuticular epidermis, lymphoid organ, antennal gland, heart, connective tissue and reddish tail. Histopathological changes were characterized by the nuclei being hypertrophied, stained with haematoxylin or vacuolated, and by the absence of inclusion body in the nuclei and cytoplasm. Histopathological comparison of this disease with the other known baculovirus diseases of penaeid shrimp suggested that the bacilliform virus is similar to RV—PJ in the aspect of pathological changes.

Key words *Penaeus monodon*, *Penaeus japonicus*, baculovirus, histopathology

一种杆状病毒及其与细菌对两种 养殖对虾的致病性

吴金炉 曾志南 陈月忠 钟硕良
陈碧霞 周 宸 林克冰 陈 木

(福建省水产研究所, 厦门 361012)

摘要 近几年来, 养殖对虾发生了严重流行性虾病, 经对病虾肝胰腺、胃、肠、鳃等部位进行超薄切片电镜观察和分离提纯, 发现有大量杆状病毒和细菌感染。超薄切片显: 病毒粒子短杆状、两端钝圆、具囊膜、大小约 $250-310\text{nm} \times 90-110\text{nm}$, 提纯的核衣壳大小约 $300-320\text{nm} \times 70\text{nm}$ 。将粗提纯的病毒和细菌口饲感染健康的日本对虾和长毛对虾, 可同时引起对虾发病死亡, 病毒感染8天后引起的死亡率分别是50%和41.7%, 病毒与细菌共感染8天后的死亡率比前者高。这些结果说明: 所分离的杆状病毒是日本对虾和长毛对虾的共同病原, 在它们之间具有流行性, 而细菌与这种病毒对虾体的共同侵染, 造成更高死亡率。

日本对虾(*Penaeus japonicus*)和长毛对虾(*P. pericillatus*)为我省主要的养殖品种。1992—1995, 这两种养殖对虾都发生了流行性虾病, 经济损失惨重。1994年7—11月, 我们从福建漳浦采集到发病的长毛对虾和日本对虾, 经过组织切片电镜观察和分离提纯发现其细胞内有杆状病毒和细菌感染。此杆状病毒与我国报道的中国对虾杆状病毒, 日本报道的RV—PJ病毒相似。为了探讨这种病毒及其与细菌共感染对对虾致病性, 把所分离到的杆状病毒和细菌, 通过口服的方法, 进行了人工感染实验, 结果报告如下:

一、材料与方 法

1. 实验材料来源

在对虾大发病高峰期, 分别收集具有典型症状, 濒临死亡的日本对虾和长毛对虾, 分批次经超薄切片电镜检查, 含大量杆状病毒与细菌的对虾样品, 用于以下操作。

(1) 病毒与细菌混合液的制备

取肝胰腺、胃肠、甲壳下组织, 剪碎, 按1:1加入PBS(PH7.6)缓冲液, 在冰浴中研磨匀浆, 以双层纱布过滤, 滤液再用双层普通滤纸过滤。此滤液用于拌饵投喂感染, 或用于下一步制备病毒液。

(2) 病毒粗制液

取上述过滤好的组织匀浆液, 装载于Beckman-J2—ml离心机上, 7700g, 4℃, 离心20min。除去碎片与细菌, 上清液电镜检查发现病毒后, 用于拌饵料投喂。

(3) 病毒的纯化

收集典型患病的日本对虾肝胰腺、胃和肠, 剪碎, 按1:10加入PH7.6的PBS缓冲液和少量饱和的pmsf蛋白酶抑制剂, 参照江育林等的方法进行病毒分离纯化。

2. 电子显微镜技术

(1) 取上述纯化病毒悬浮液, 以适当的浓度滴加在已盖有Formvar—碳膜的铜网上, 待凉干后, 经1%PTA负染色, 用滤纸条吸干后, 在日产H—7000FA电镜中观察。

(2) 分别采集虾池患病濒死对虾, 实验感染组对虾, 实验对照组健康对虾, 取其各种主要器官, 切成1mm³小块, 立即投入戊二醛—福尔马林混合液前固定, 微碱性锇酸后固定, Spurr和环氧树脂618包埋, 制成超薄切片, 在JEM120EX透射电镜中观察。

3. 病原回接感染试验

将50l的玻璃水族箱盛20l过滤海水, 采集无异常体色, 摄食饱满, 活力旺盛, 体长3—4cm的健康对虾, 连续充气喂养。取病毒粗提液、病毒与细菌的混合液分别拌海马2^号饵料, 稍晾干投喂, 感染期间不定期吸污换水, 并进行水质监测控制。对照组对虾饲养在相同条件下, 但不作感染。

二、结果

1. 收集病虾组织超薄切片的电镜观察

经电镜观察, 在肝胰腺、肠、胃、鳃等部位都发现杆状病毒(图1), 并不同程度的损伤和破坏肝胰腺、胃肠和淋巴样细胞, 该病毒不形成包涵体, 病毒粒子的形状为杆状, 具囊膜, 两端钝圆形, 长约250—310nm, 宽约90—110nm, 核衣壳电子密度较深。在我们的观察中还发现: 若此虾受杆状病毒感染, 虾体的细菌含量往往比没有受病毒感染的虾体高。侵入细胞内的细菌数量多存在于肝胰腺组织细胞内, 而鳃, 胃, 肠细胞内反而较少, 多附在鳃表面或游离在肠腔中。图2示电镜观察到的细菌, 从能够检测到大量细菌感染的病虾或死虾中, 都可以观察到有病毒的感染, 即形成合并性感染。

2. 感染实验用健康对虾的超薄切片观察

取健康对虾的相同部位, 切片电镜观察, 没有发现病毒样颗粒, 仅在胃肠内发现极少量细菌, 但组织细胞结构正常。

3. 纯化杆状病毒的电镜观察

电镜观察显示: 从日本对虾和长毛对虾体内分离化的杆状病毒核衣壳蛋白质晶格清晰可见, 核衣壳大小为310—320nm×70nm(图3)。两种虾体内获得的杆状病毒不仅大小一致,