

中国水产学会鱼病研究会

1999 年学术年会暨鱼病防治产品展示会

论文摘要汇编

1999 年 11 月 9~12 日, 上海

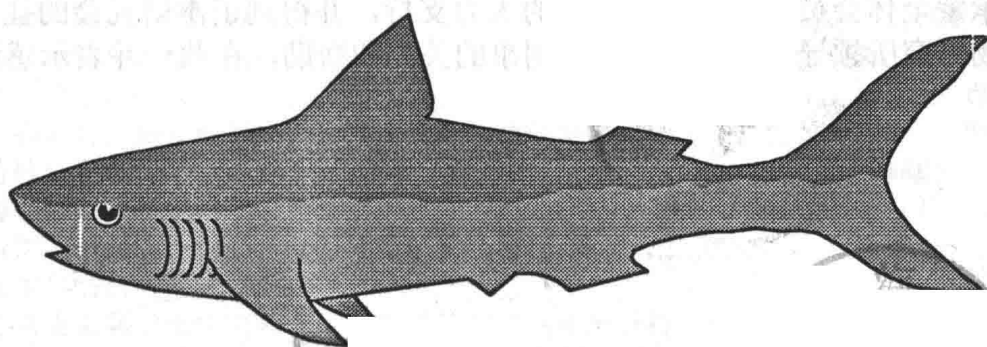
中国水产学会鱼病研究会编

中国水产学会鱼病研究会

1999 年学术年会暨鱼病防治产品展示会

论文摘要汇编

1999 年 11 月 9~12 日, 上海



主办单位: 中国水产学会鱼病研究会

承办单位: 上海水产大学

协办单位: 余姚市天邦饲料科技有限公司

广西贵港富民鱼药有限公司

汉宝科技发展(集团)有限公司

赞助单位: 湖北荆州鱼药厂

福建农大兽药厂

中国水产学会鱼病研究会编

前言

自1997年10月21~24日在深圳市小梅沙召开中国水产学会鱼病研究会第四次会员代表大会暨学术讨论会以来的两年里,我国鱼病学研究又有了很大的进展,从发表的学术论文、获得的科技成果、申报的专利和开发的科技产品中全面地体现了各位同仁为我国鱼病学事业的发展所做出的重大贡献。

根据研究会章程,并应全国同行的要求,中国水产学会鱼病研究会筹备了1999年学术学术年会暨鱼病防治产品展示会,大会于1999年11月9~12日在上海水产大学召开。在大会的筹备过程中,通过各位同行的共同努力,研究会秘书处共收到论文和论文摘要88篇,其中综述2篇,论文34篇,论文摘要54篇。《中国水产学会鱼病研究会1999年学术年会暨鱼病防治产品展示会论文摘要汇编》就是在此基础上编辑而成的。

在《中国水产学会鱼病研究会1999年学术年会暨鱼病防治产品展示会论文摘要汇编》的编辑过程中,承蒙全体会员和鱼病学界同仁的大力支持,并得到了本研究会的挂靠单位—中国科学院水生生物研究所领导和鱼病研究室同事的关心和帮助,在此一并表示感谢。

中国水产学会鱼病研究会秘书处

1999年10月20日

中国水产学会鱼病研究会

1999 年学术年会暨鱼病防治产品展示会论文摘要汇编

目 录

中国水产学会鱼病研究会第四次会员代表大会暨学术讨论会纪要..... (1)

论文

- 暗纹东方鲀的一种病毒性疾病 周 凯 郑国兴 倪 勇 杨 军(3)
- 对虾皮下和造血器官坏死杆状病(HINBV)靶基因克隆及其多重 PCR 检测法的研究..... 夏 春 黄 捷(6)
- 对虾副粘病毒病免疫预防试验研究
.....王玉平 岳玉环 卢 强 王振英 穆占昆 王文东 杨振国 黎诚耀李尊海 张广富(9)
- 嗜水气单胞菌 β -溶血素基因克隆及其套式 PCR 检测法的建立..... 夏 春 马志宏(12)
- 嗜水气单胞菌胞外蛋白酶对鲫鱼的致病性..... 储卫华 陆承平(15)
- 用绿色荧光蛋白标记的细菌研究鱼体吸收颗粒抗原的部位..... 陈 营 陆承平(19)
- 鱼类致病性气单胞菌诊断试剂盒的研究..... 沈素芳 储卫华 陆承平(22)
- 噬菌蛭弧菌对常见鱼类致病菌裂解作用的研究..... 马志宏 丁 文 杨 莉 高 傲 李 海 王秀茹(26)
- 鱼类应激性出血症的病理学研究..... 汪开毓 耿 毅 钟妮娜(30)
- 中华鳖外周血细胞病理显微结构研究..... 刘金兰 汪星慧 杨 广(34)
- 蟹抖病的病理及防治原则探讨..... 肖顺昌 张素芳(37)
- 患多态粘体虫病异育银鲫几种组织的乳酸脱氢酶电泳研究..... 徐海圣 王淑霞(39)
- 红鳍东方鲀苗种期脊椎弯曲症原因分析..... 陈 超 孙曙光 于 宏 孙中之(42)
- 舟山养殖欧鳗疫情调查初报..... 洪青林 杨 勇 朱应伟 马景龙 方文华(44)
- 海水网箱养鱼常用消毒药合剂的试验及应用研究..... 安 东(46)
- 大鲵疾病的发生与防治..... 敖鑫如(50)
- 演艺海豚混合感染大肠埃希氏菌和变形杆菌的检验及其死因分析..... 杨燕忠 许如苏 周铮宇 沈 烨(52)
- 铜制剂在海水鱼病治疗中的作用..... 王士莉(55)
- 锦鲤溃疡病的病原及其防治的研究..... 卢彤岩 杨雨辉 刘 刚 祝景怀 刘 波 杜 刚 屈延阳(57)
- 河鲀红斑病病原初步研究..... 王广和 朱永样 秦桂样(60)
- 养殖欧洲鳗鲡红头病的病原菌研究..... 樊海平(62)
- 沼泽绿牛蛙致病细菌的分离鉴定及理化特性研究..... 汤显春 薛翠峰 高智慧(66)
- 一例急性鳖病的病原分析与研究..... 叶美茜 邹为民(70)
- 淡水育珠蚌(三角帆蚌)疾病流行规律的研究..... 张根芳 方爱萍(73)
- HPLC 法研究磺胺类药物在水产动物体内的代谢和残留..... 王 群 李绍伟(75)
- 水产防病药物使用和发展前景..... 赵建民(80)
- 中国水生生物检疫..... 杨弘诣(83)
- 天津地区水产养殖新品种的引进及疫病控制..... 王玉佩(86)
- 警惕淡水虾瘟传入我国..... 杨弘诣(90)
- 剑尾鱼、斑马鱼、金鱼、白鲢对常用九种体外杀虫抗菌水产药物敏感性的比较研究
.....潘厚军 吴淑勤 黄志斌 石存斌 李凯彬(91)
- 鱼类体内诺氟沙星含量测定方法的研究..... 张雅斌 张祚新 郑 伟 刘艳辉(95)
- 我国渔药产品现有种类、渔药生产技术现状及发展战略..... 李 健 孙修涛 马向东 李绍伟(98)
- 养殖池塘中氨态氮和亚硝酸盐对鱼类的危害及防治措施..... 王景华 李连财(103)
- 北方地区精养池塘鱼类安全越冬技术操作规程应用研究..... 徐广宏 张 鹏 王 军 任泽林 郭 庆(105)

综述

- 水产养殖使用的抗菌药物及细菌耐药性..... 李爱华 王伟俊(107)
- 粘孢子虫(粘体门:粘孢子纲)的研究现状..... 鲁义善 汪建国(111)

淡水养殖鱼类病害研究的现状与发展方向.....曾令兵(116)

抗菌肽转基因鱼的构建.....卢 强 刘维全 岳玉环 马家好 王文东 杨振国 殷 震 梁利群 曹顶臣(116)

鳗鱼冠状病毒的理化特性的研究.....岳玉环 卢 强 王文东 杨振国(116)

水体理化因子与斑节对虾杆状病毒病的发生.....李贵生 何建国 李桂峰 江静波(116)

中华鳖病毒中和试验、免疫扩散和 ELISA 检测方法的建立及其应用.....张奇亚 李正秋(117)

对虾无包埋体病毒在动物模型体内增殖特性研究.....朱建中 陆承平(117)

斑点杂交检测对虾无包埋体病毒在鳖虾体内的动态分布.....朱建中 陆承平(118)

鳗鱼病毒病原及细胞感染特性的研究.....方 勤 艾桃山 邹桂平 喻运珍 刘家欣 田 静(119)

网箱养殖罗非鱼出血病的病原菌研究及其防治.....郑毅艺 黄小辉 周 兵(119)

迟缓爱德华氏菌外膜蛋白某些特性的研究.....黄新新 陆承平(119)

血浆蛋白 AP950™ 对幼鳖抗病力及生长的影响.....杨先乐 杨志美 华 斌(120)

免疫原(菌苗)与环境条件对中华鳖免疫应答因素的影响.....杨先乐 艾晓辉 周建光 柯福恩(120)

鳖的体重、年龄及营养状况对中华鳖免疫应答的影响.....杨先乐 周建光 艾晓辉 柯福恩(120)

鳗鱼腹腔巨噬细胞的分离及其吞噬活性.....张永安 聂 品(121)

九孔鲍大量死亡的病理学初步研究.....宋振荣 纪荣兴 颜素芬 陈昌生 钟幼平 姜永华 倪子锦(121)

牙鲆体表溃烂病的研究.....周 丽 俞开康 战文斌(122)

山东省鲤鱼暴发性流行病发病情况.....马俊岭 轩子群 王志忠 杨德光 米土文 潘小玲 徐海强(122)

中草药对海水养殖鲈鱼病原菌的抑菌试验.....金 珊 王国良 赵青松 陆彤霞(123)

海水网箱养殖鲈鱼溃疡病的流行病学研究.....王国良 薛良义 金 珊 钱云霞(123)

牛蛙温和气单胞菌病病原及防治研究.....叶雪平 顾金华 杨广智 罗毅志(123)

鱼类的非特异性免疫调节及其应用.....钱云霞 王国良 邵健忠(123)

日本鳗春鳃病的流行病学及防治研究.....林 岗(124)

中华鳖冬眠期暴发性死亡症(鳖冬眠期水肿病)的细菌学研究.....夏 春 胡团军(124)

海洋细菌来源抗菌素 thiotropocin 的提取、鉴定及对气单胞菌的敏感性研究.....钱 冬 沈锦玉 曹 铮 陈兆隆(125)

中华绒绒毛蟹“腹水病”病原的研究.....陆宏达 金丽华 范丽萍 薛 美(125)

鱼鳖主要病原菌的药敏试验及联合用药的研究.....夏 春 景 发 秦兰芳(125)

鲢疯狂病病原体鲢碘泡虫营养体细胞化学的研究.....王淑霞 徐海圣(126)

草鱼造血组织和淋巴细胞凝集素结合部位的观察.....郭琼林(127)

中华鳖胸腺、脾脏和血细胞凝集素结合部位的观察.....郭琼林(127)

草鱼和中华鳖淋巴细胞表面特征及其绵羊红细胞受体的检测.....郭琼林(127)

草鱼和中华鳖 T 淋巴细胞抗原的研究及其意义.....郭琼林(127)

欧洲鳗 (*Anguilla anguilla*) “狂游病”血液病理的初步研究.....周 玉 黎诚耀 郭文场 马家好 杨振国 陈东松 李学勤 王振英 王文东(128)

欧洲鳗“狂游病”的流行病学调查.....马家好 岳玉环 卢 强 杨振国 王文东 周 玉 黎诚耀(128)

海水网箱养殖鲈鱼常见病虫害调查.....金 珊 王国良 薛良义 徐兴林(129)

综合防治技术在海水网箱养殖鲈鱼病害防治中的应用试验.....王国良 金 珊 卓华龙 王加邦(129)

鱼药 1 号、2 号对海水鲈鱼的急性毒性试验.....钱云霞 王国良 金 珊(129)

温室环境恶化引起的一种新鳖病.....章 剑(129)

辽宁地区河蟹爆发性流行病原研究.....李文宽 于 翔 闻秀荣 刘德兴 李作生 藏福臣 孙中生(130)

中华绒蟹弗氏柠檬酸杆菌病研究.....李 华 刑殿楼 白国福 李向晖(130)

放射孢子虫在中国的首次发现.....王桂堂 姚卫建 鲁义善 汪建国 聂 品(131)

武汉单极虫在鲫鱼苗种阶段的暴发流行.....王桂堂 姚卫建 鲁义善 汪建国 黄训寒 朱振东(131)

鱼类寄生粘孢子虫三新种.....龚小宁 谢杏人(132)

重庆淡水鱼寄生粘孢子虫二新种(粘孢子纲:双壳目).....张其中(132)

黄海鱼类寄生粘孢子虫—吉陶单极虫(*Thelohanellus kitauei* Egusa & Nakajima, 1981)的记述.....赵元荇 宋微波(133)

史氏鲟小瓜虫病几种治疗方法的初步研究.....曾令兵 庄 平 章龙珍 周剑光 张 涛(133)

河蟹附生纤毛虫的季节变化与用药的关系.....高志慧(134)

红鳍原鲢鳃部寄生单殖吸虫生态研究.....姚卫建(134)

金鱼三代虫病病原的初步研究.....夏晓勤 熊清明 陆承平(135)

扇贝养殖与疾病.....俞开康 战文斌 周 丽 王谦滨 刘建强(135)

论养殖鱼类鳃病及其防病的护理问题.....苏培义(136)

中草药治疗草鱼“三病”效果好(摘要).....张水波(136)

十种农药对锚头蚤卵的孵化影响.....喻运珍 艾桃山 魏富病(137)

中西医结合复方药物对中华鳖疾病防治效果研究.....艾桃山 喻运珍 张萍香 魏朝拜(137)

“水产保护神”消毒灭菌剂的特殊效力.....尹协理(137)

协办单位简介

余姚市天邦饲料科技有限公司.....(139)

广西贵港富民鱼药有限公司简介.....(139)

发展中的汉宝集团.....(139)

赞助单位简介

湖北省荆州市鱼药厂简介.....(140)

福建金谷科技发展有限公司简介.....(140)

广告

余姚市天邦饲料科技有限公司简介.....(141)

中国水产学会鱼病研究会 第四次会员代表大会暨学术讨论会 纪 要

(1997年10月23日通过)

中国水产学会鱼病研究会第四次会员代表大会暨学术讨论会于1997年10月21-24日在深圳市小梅沙大酒店举行。参加会议的代表167名,来自全国21个省、市、自治区的大专院校、科研院所、动植物检验部门和企事业等92个单位。新加坡国立大学陈旭明博士应邀参加了会议。

第三届委员会副主任委员潘金培研究员主持了大会开幕式,第三届委员会主任委员王伟俊研究员致开幕词,副主任委员兼秘书长汪建国副研究员代表第三届委员会作工作报告。中华人民共和国深圳动植物检疫局唐桂章副局长、深圳市农业局黄克基副局长出席了开幕式并向大会致词。

10月23日,在民主协商的基础上,选举产生了由29位委员组成的鱼病研究会第四届委员会。在第四届委员会第一次会议上,推选汪建国为主任委员,江育林、俞开康、聂品为副主任委员,郭琼琳为秘书长,王桂堂为副秘书长。江育林、汪建国、杨先乐、陆承平、陈昌福、张素芳、胡超群、俞开康、聂品、郭琼琳、曾令兵为常务委员(鱼病研究会第四届委员会的组成和分工情况见附表)。

第四届委员会聘请中国科学院水生生物研究所王伟俊研究员和中国科学院南海海洋研究所潘金培研究员为顾问。

在本次代表大会上,马成伦、王云祥、王伟俊、王淑霞、牛鲁棋、毛国良、左文功、卢全章、吕军仪、李焕林、吴定虎、陈锦富、张业下、张念慈、周月秀、黄琪琰、谢杏人、潘金培等18位第三届委员退出了研究会的领导机构,代表们对他们为发展中国鱼病学,为我国水产养殖业所作出的贡献,表示崇高的敬意!对他们长时间地为鱼病研究会的工作所作出的贡献,表示衷心的感谢!他们的功绩将会载入中国鱼病学发展史册的。

二

会前由秘书组编辑了《中国水产学会鱼病研究会第四次会员代表大会暨学术讨论会论文摘要汇编》,共收录论文147篇,其中综述5篇,论文摘要142篇。会议代表带来6篇。会议特别邀请江育林、黄捷、陈昌福、陆承平、王伟俊等五位先生分别作了“水生动物病害控制与检疫”,“我国对虾养殖病害的研究进展及其评价”,“日本国鱼病学的发展历程、成就与问题”,“细菌分子致病机理研究及其应用浅见”和“我国鱼类单殖吸虫和单殖吸虫病的研究进展”等的综述报告。36位代表在大会上报告了他们的研究论文。学术报告精彩,代表们讨论热烈,会议自始至终洋溢着浓厚的学术空气。展示了我国鱼病学研究的新进展。鱼病学研究对象不断扩展,深度不断加强,许多新技术、新方法为鱼病学工作者广泛采用,并取得了可喜的成绩。

1. 水生动物免疫学受到高度重视,免疫酶技术、荧光抗体技术、凝聚试验等免疫学诊断技术得到了广泛的应用,鱼类疫苗的研究已逐渐深入,草鱼出血病细胞灭活疫苗在进一步实验的基础上完成大规模生产工艺流程及生产性免疫试验,基因疫苗的研究取得了新进展。近几年来,鱼类干扰素的检测、理化特性和基因克隆已有了阶段性成果。这些研究对于鱼类病毒病的防治、鱼体防御机理及利用干扰素基因进行抗病育种具有重要意义。除体液免疫继续受到关注外,细胞免疫及淋巴因子的作用进一步得到证实。

2. 鱼类病原细菌和病毒的分子生物学研究又有了新的突破,嗜水气单胞菌在进行了HEC毒素、S层、胞外蛋白酶的研究的基础上,又开展载铁体的提纯及特性等研究,进一步明确了致病的分子基础,与此同时,核酸探针、PCR、基因克隆等新的分子生物学技术已引入鱼病学研究之中,充分显示分子生物学在鱼病病原、病理学理论和实践方面已取得丰硕成果。

3. 研究对象的日益扩大,极大地丰富了水生动物病害研究内容,其中为大家普遍关注的有中华鳖、牛蛙、鳊鲴、对虾、鳊鱼、鲈鱼、贝类等名特优水产养殖品种,其中一部分研究已围绕其病原的形态、理化及分子生物学性质、病理及免疫诊断和防治等展开了较为系统的研究,特别是对虾病原病理和检测

技术方面取得重大突破,为名特优水生动物病害防治提供了理论依据,同时也积累了宝贵的资料与经验,丰富了中国鱼病学内容。

三

这次会议是中国鱼病学界又一次盛会,专家、学者站在科学研究前沿,展示研究成果,协商选举产生了鱼病研究会第四届委员会,是承前启后,为跨入 21 世纪,发展中国鱼病学奠定了一个良好的基础,有全体会员、同仁的共同努力,一定能以豪迈的步伐跨入 21 世纪。

1. 本届委员会继续实施第三届委员会第二次扩大会议修改、补充的《中国水产学会鱼病研究会章程》。

2. 研究会将继续发展会员,壮大中国鱼病学研究队伍。

3. 根据我国水产养殖业的发展情况,继续组织好学术交流活动,为会员提供更多的交流学术研究成果、鱼病防治经验的机会;坚持研究会的正常活动,包括鱼病研究会委员会的年度会议,研究会的专题学术活动,适时举办研讨会、培训班等。

4. 继续办好《鱼类病害研究》会刊,扬长避短,继续努力,使会刊成为联络会员,交流成果的有效工具,继续努力申办公开出版手续。

5. 办好“全国健康养鳖协作网”,尽快召开“全国健康养鳖协作网”第一次大会,进入正常运转。

这次会议的召开,得到深圳动植物检疫局、深圳市农业局和深圳海洋世界有限公司的大力支持,特别是深圳动植物检疫局的同志们,从会议筹备到召开,长时间地辛勤工作,使会议的圆满召开有了人力、物力上的保障,给代表们留下了美好的印象,全体会员代表向他们表示衷心的感谢。

中国水产学会鱼病研究会 第四届委员会的组成和分工情况

主任委员:汪建国

副主任委员(以姓氏笔划为序):

江育林 俞开康 聂品

秘书长:郭琼琳

副秘书长:王桂堂

常务委员(以姓氏笔划为序):

江育林 汪建国 杨先乐 陆承平 陈昌福 张素芳 胡超群 俞开康
聂品 郭琼琳 曾令兵

委员(以姓氏笔划为序):

王玉佩 王桂堂 江育林 刘茂春 汪建国 何筱洁 何建国 岑丰
吴淑勤 李文宽 杨先乐 杨广智 陆承平 邵建忠 郑国兴 陈昌福
张奇亚 张素芳 赵元荇 俞开康 徐兴林 胡超群 聂品 郭琼琳
黄捷 黄耀桐 康惠 曾令兵 黎诚耀 马志宏*

*1998年4月15日中国水产学会六届三次常务理事会上增补。

暗纹东方鲀的一种病毒性疾病

周凯 郑国兴 倪勇

(中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090)

杨军

(江苏省国营如东农场, 226411)

摘要 本文报导了温室养殖暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus* Abe)的一种严重疾病, 病鱼以体表和内脏出血为主要症状, 死亡率可高达 80%以上。体表、鳃丝及肠腔经显微镜检查, 未见寄生虫。病鱼的肝脏和血液中未能分离到病菌。经电镜检查, 在肝脏组织中发现大量球形或多角形病毒颗粒, 核衣壳直径约 85 nm 左右, 双层衣壳, 病毒核心直径 50~60 nm, 无囊膜, 未见包涵体。病毒颗粒常聚集成团, 呈晶格状排列, 聚集团外有包膜; 有的病毒颗粒分散于细胞中。病毒的形态结构及大小与呼肠孤病毒相似, 因此, 将发现的病毒暂归属于呼肠孤病毒科 (Reoviridae)。本文还对该病的防治方法作了讨论。

关键词 暗纹东方鲀, 出血病, 病毒, 电镜观察

近几年来, 我国鳗鱼养殖业由于出口价格低迷以及受病害的困扰, 经济效益显著下降, 不少养鳗者尝试改养其他品种, 如利用养鳗池养鳖, 养河蟹等。暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus* Abe) 肉质鲜美, 营养价值高, 是名贵的水产品; 江苏省部份养鳗场在试养中, 取得了良好的经济效益^[1]。但是由于利用养鳗水泥池进行温室高密度集约化养殖, 疾病的发生率较高^[5-6]。1999 年初江苏省国营如东农场养鳗场养殖的暗纹东方鲀发生严重的疾病, 2.5 万尾鱼苗至 3 月初仅剩下 0.5 万尾, 由于未能找到有效的控制措施, 死亡率不断上升, 而且传染至成鱼池, 造成巨大的经济损失。笔者赴该场进行了调查, 初步诊断是由病毒引起的。有关暗纹东方鲀的病毒病, 迄今为止国内尚未见有报导。现将调查结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 鱼来源

暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus* Abe) 病鱼 1999 年 3 月取自江苏省国营如东农场养鳗场, 一龄鱼体重 112~178 克; 二龄鱼体重 312~379 克。

1.2 细菌分离培养

先将症状典型的病鱼用自来水冲洗干净, 用 80% 酒精棉球将体表反复擦拭消毒, 然后用灭菌剪刀将尾柄剪断, 滴 2~3 滴血液于营养琼脂平板上, L 形玻璃棒涂抹均匀, 于 30℃ 恒温箱中培养。以无菌操作取病肝一小块, 涂抹接种于营养琼脂平板上, 于 30℃ 恒温箱中培养。

1.3 电镜观察

取病鱼肝组织块切成 1~2 立方毫米的小块, 用 2.5% 戊二醛固定, PBS 漂洗, 1% 四氧化锇后固定 2 小时, 梯度丙酮脱水, Epon 812 包埋, LKB 超薄切片机切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染, JEM-1200 型透射电镜观察并摄影。

2 结果

2.1 病症

病鱼飘浮于池边水面上, 反应迟钝, 无食欲。肉眼观察病鱼体色变淡, 口腔、下颌及各鳍基、鳍条充血, 有的尾鳍残缺不齐。腹部出现点状或斑块状淤血。解剖观察, 肝脏颜色变浅, 有点状出血或线条状血丝, 严重者整个肝脏呈黄色或绿色。肠内无食物, 有的肠充血。鳃丝、肠腔及体表经显微镜检查, 未见寄生虫。

2.2 细菌分离培养结果

8 尾病鱼的肝脏和血液在营养琼脂平板上, 进行细菌分离培养, 未见细菌菌落生长。

2.3 电镜观察结果

病鱼肝脏组织超薄切片中均观察到大量形态相同的病毒粒子,病毒粒子为球形或多角形颗粒,核衣壳直径约 85 nm 左右,双层衣壳,病毒核心直径 50~60 nm,无囊膜,未见包涵体。病毒颗粒常聚集成团,呈晶格状排列,聚集团外有包膜;有的病毒颗粒分散于细胞中(图 1 和图 2)。

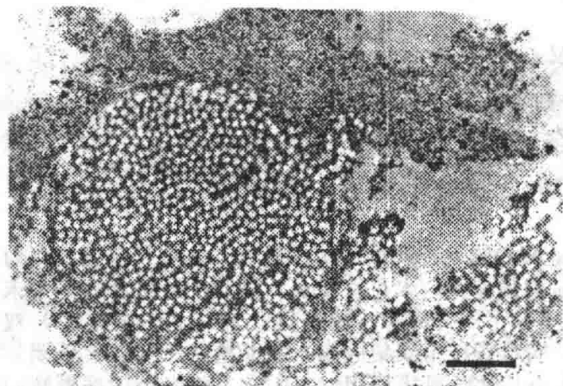


图 1 暗纹东方鲀病鱼肝组织细胞中聚集和分散的病毒粒子,标线=0.75 μm

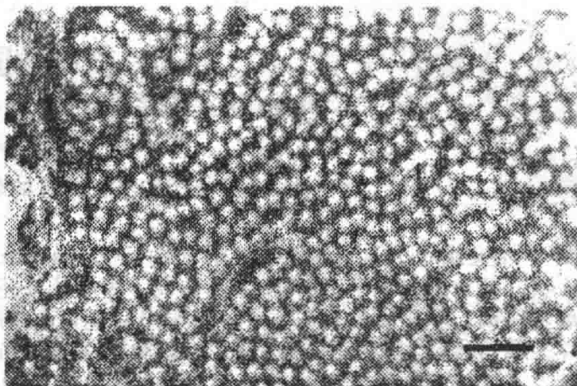


图 2 暗纹东方鲀病鱼肝组织细胞中呈晶格排列的病毒颗粒,标线=0.3 μm

3 讨论

通过对病鱼组织的电镜观察,发现病变肝组织细胞中有大量病毒粒子。8 条病鱼血液和肝组织的细菌培养,未分离到病原菌;体表、鳃及内脏组织的显微镜检查,也未发现寄生虫存在。结合养殖场采用多种抗菌药物进行治疗均无效,说明该病是由病毒引起的。根据病毒的形态结构及大小与呼肠孤病毒相似,因此,将发现的病毒暂归属于呼肠孤病毒科(Reoviridae)。

该养殖场为了净化水质,控制藻类的过度生长,在养殖池中混养了十数尾草鱼,在疾病发生时,混养的草鱼亦发生出血病死亡。暗纹东方鲀病鱼主要症状是胸、腹、臀鳍充血或出血,腹部有点状出血点或块状淤血,有的肠壁充血,肝脏有点状或丝状出血,其症状与草鱼出血病相似。病鱼肝组织超薄切片的电镜观察,发现组织细胞内的病毒粒子的大小、形态结构和排列方式与草鱼出血病的呼肠孤病毒相似^[1,3],两者的关系有待今后进一步深入研究。

80 年代中期,日本对养殖红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)危害严重的病毒病—白口病,作过较详细的研究^[7],该病的主要症状是:病鱼出现异常遨游;口吻部出现溃疡、坏死变白;内部症状是肝脏淤血,丝状出血。经病毒分离培养,人工感染试验及电镜观察,在口吻部上皮细胞质中发现直径约为 30nm 的正二十面体的小核糖核酸病毒(Picornaviridae),在其它病灶部位—肝脏细胞、脊髓和延髓的神经细胞中,也发现相同的病毒颗粒。于士广等^[2]曾报导红鳍东方鲀一种病毒性疾病,暴发病病鱼的主要症状也是以体表和内脏出血或充血。在病鱼肝脏和脾脏细胞中,发现的病毒颗粒是典型的弹状病毒(Rhabdoviridae),病毒大小为 300 nm。有关暗纹东方鲀病毒病尚未见有报导。

目前,对于鱼类的病毒病,尚无有效的治疗方法,应以预防为主。主要措施是保持水质清新,及时排污和更换池水,定期用生石灰或氯制剂对水体进行消毒;投喂优质饲料,把握好投饵时间和投饵量;避免放养密度过高并及时分疏养殖;注意做好水温的调控工作,尤其在度夏期和越冬期;加强疾病监测,及时杀灭各类寄生虫(小瓜虫、指环虫、车轮虫等),发现病鱼,及时捞出销毁。鉴于暗纹东方鲀出血病的症状及病毒病原与草鱼出血病相似,疾病有从草鱼出血病传染的嫌疑。因草鱼出血病是草鱼的常见病,依笔者所见,为安全着想,以不混养草鱼为宜,以免带入病毒病原。此外,免疫方法是预防病毒病的有效手段,今后应积极开展暗纹东方鲀出血病疫苗的研制工作。

参考文献

- [1]丁清泉、余兰芬、王学兰等,1990。草鱼出血病鱼主要器官组织的超薄切片观察及感染力的比较。水产学报,14(1): 66—69。
- [2]于士广、刘昌彬、王金星等,1996。红鳍东方鲀暴发病的细胞病理学研究。海洋科学,(4): 3—6。
- [3]中国科学院水生生物研究所第三室病毒组,1980。草鱼出血病病原的研究 II,电镜观察。水生生物学集刊,7(1): 75—84。
- [4]陈亚芬、陈源高、刘正文等,1999。暗纹东方鲀温室养殖技术及其经济效益分析。海洋湖沼通报,(1): 51—55。
- [5]杨州、华元渝,1999。暗纹东方鲀集约化养殖中的几种常见疾病的诊断、治疗及防治。水产养殖,(2):17—19。
- [6]胡亚丽,1999。暗纹东方鲀的疾病与防治。科学养鱼,(4): 25—26。
- [7]倪勇,1990。日本对红鳍东方鲀白口病的研究。海洋渔业,12(6): 283—284。

A VIRAL DISEASE IN OBSCURE PUFFER *TAKIFUGU OBSCURUS* ABE

Zhou Kai, Zheng Guoxing, Ni Yong

(East China Sea Fisheries Research Institute, Shanghai, 200090)

Yang Jun

(Rudong State Farm of Jiangsu Province, 226411)

Abstract A serious disease in greenhouse cultured *Takifugu obscurus* Abe was reported in this paper. Main symptom of the disease fish was hemorrhage on body surface and in internal organs. The mortality rate reached over 80%. In the diseased fish, parasites were not found on body surface, gill filaments and in enteric cavity by microscope examination; nor pathogenic bacteria were isolated from liver organ and blood. A lot of spherical or polyhedral virus particles were observed in the liver tissue under electron microscope. The virion with a double capsid was about 85nm in diameter, non-envelope, and did not find the inclusion bodies. The diameter of nucleoid was approximately from 50nm to 60nm. Usually, the virions were presented in aggregates or crystalline arrays. And an outer membrane surrounded the aggregation. Some virions dispersed in cells of liver. The morphological characters and size of the virus were similar to those of Reovirus; thus it was tentatively identified as Peoviridae. The paper also discussed the measures of prevention and cure for the disease.

Keyword *Takifugu obscurus* Abe, Hemorrhage disease, Virus, Electron microscopic Observation

对虾皮下和造血器官坏死杆状病(HHNBV)靶基因克隆及其多重 PCR 检测法的研究

夏 春*

(中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

黄 捷

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 本研究采用了 PCR 法克隆了对虾皮下和造血器官坏死杆状病毒(HHNBV)PCR 用靶基因, 定名为 HHNBV-X1A (序号 AB021155)。根据 HHNBV-X1A 和对虾杆状 DNA 病毒 (PRDV) 基因序列设计四个引物 (P1, P2, P3, P4), 分别对 HHNBV 基因组、HHNBV-X1A 片段和 PRDV-JAPAN 片段进行了特异扩增, 建立了多重 PCR 法检测 HHNBV 法。结果可从 ng 级对虾感染 HHNBV 的组织 DNA 中检出 HHNBV。

关键词 皮下和造血器官坏死杆状病毒, 对虾暴发性流行病, 多重 PCR 法

对虾暴发性流行病自 1988 年首次在台湾省海域暴发后, 由福建蔓延到黄海、日本、泰国等南太平洋海域, 逐年都导致了我国养殖对虾暴发性、毁灭性死亡。皮下和造血组织坏死杆状病毒(HHNBV)是引起我国沿海对虾暴发性死亡的病因, 我国学者称由此引起的疾病为对虾暴发性流行病。日本学者认为对虾暴发性死亡的病原是对虾杆状 DNA 病毒 (PRDV), 台湾学者认为是白斑杆状病毒 (WSBV)。这三种病毒在形态上十分相似, 感染对虾后都呈现胃上皮细胞核和淋巴样细胞核肥大, 体表白斑等病理变化。并且, 这三种病毒均不形成一般杆状病毒感染所产生的包含体, 都属杆状病毒属 C 杆状病毒亚群中的新成员。因此, 推测近年来发生在我国、日本和泰国等海域的对虾暴发性流行病都是由同类病毒引起。为了比较 HHNBV 和 PRDV 间的差异、加强对 HHNBV 的预测、诊断和分子流行病学调查, 作者克隆测序了一段 PCR 用靶 DNA, 定名为 HHNBV-X1A。并根据 HHNBV-X1A 和对虾杆状 DNA 病毒 (PRDV) 基因序列设计了多重引物, 确立了多重 PCR 法检测 HHNBV。现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 HHNBV 靶基因克隆与测序

HHNBV 基因组 DNA 从阳性中国对虾胃腺中提取。根据 PRDV 病毒的基因组序列设计正、反两引物。采用 PCR 法扩增 HHNBV 靶 DNA 基因。其中, 正、反引物各添加 100 pmol, 模板 DNA 添加量为 1 μ g, PCR 反应总体积为 50 μ l。PCR 程序是首先 94 $^{\circ}$ C 热变性 1 分钟、然后 55 $^{\circ}$ C 退火 1 分钟、72 $^{\circ}$ C 延伸 1 分钟。PCR 反应均在 HYBAID 公司的 PCRSprint 仪进行 32 个循环。PCR 产物经 1.2%低熔点琼脂糖电泳后, 回收约 980bp 处的 DNA 带, 再与 T-Easy 载体连接, 转化 XL-F'感受态细胞, 经筛选白斑、酶切鉴定。最后, 用 T7 和 SP6 引物、ABI PRISM Dye Primer Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 在 ABI 377 型 DNA 自动测序仪测定克隆全序列。

1.2 多重 PCR 用引物设计

如图 1 所示, 根据 HHNBV-X1A 序列和参考 PRDV 基因序列设计了四个多重 PCR 法用引物 (P1, P2, P3, P4), P1 和 P2 为正引物, P3、P4 为反引物。采用 GENETYX 7.3 软件在 Power Macintosh G3 微机上进行引物序列分析, 四引物间均难以形成多聚体。

1.3 多重 PCR 扩增 HHNBV-X1A 基因

用四个引物 (P1, P2, P3, P4)、五种组合进行多重 PCR 扩增 HHNBV-X1A 基因。正、反引物各 200pmol 等摩尔添加入一反应管内, 参照华美公司 Taq DNA 酶说明进行多重 PCR 扩增。模板 DNA 添加量为 1ng, PCR 反应总体积为 50 μ l。PCR 程序是首先 98 $^{\circ}$ C 热变性 8min, 加入 Taq 酶。再 94 $^{\circ}$ C 热变性 1min、94 $^{\circ}$ C 热变性 1min、然后 55 $^{\circ}$ C 退火 1min、72 $^{\circ}$ C 延伸 1min。PCR 反应均在 HYBAID 公司的 PCRSprint 仪上进行 30 个循环。PCR 产物经 1.0 %琼脂糖电泳后, 采用 Digital Imaging & Analysis Systems (Alpha Innotech Corporation)观察结果。

1.4 多重 PCR 反应条件

从 I~V 种引物组合中选出最适多重 PCR 扩增 HHNBV-X1A 基因的组合 IV(P/P/P)进行。用 MiliQ 纯水器制超纯水, 再采用超纯水稀释 25mM Mg (Promega 公司), 使每 50 μ l PCR 反应管内 Mg 浓度分别为 2.5mM、

2.0mM、1.5mM、1.0mM、0.5mM 和 0 mM。如上述 PCR 扩增条件进行 30 个循环。1%琼脂糖电泳后,观察结果。

再从 0~2.5mM PCR 反应中选出合适多重 PCR 扩增的 Mg 浓度 (1.5mM),按上述 PCR 扩增条件分别进行 25、30、35、40 和 50 个循环。琼脂糖电泳后,观察结果。

1.5 多重 PCR 法的检出界限

采用 PE BIO20 紫外分光光度计测定含 HHNBV-XIA 基因的 T 载体 (Promega) 的浓度,用 TE 缓冲液分别调至 1ng/ μ l、1fg/ μ l、pg/ μ l 和 pfng/ μ l 四个稀释度, Mg 浓度为 1.5mM,引物组合 IV,按前述 PCR 扩增条件分别进行多重 PCR,PCR 反应为 32 个循环。

1.6 多重 PCR 法的应用

取 6 尾 HHNBV 感染的阳性中国对虾内脏匀浆,参照夏春和黄捷的方法提取 DNA 后,分别调至 1 μ g/ μ l、1ng/ μ l 和 1fg/ μ l 三个稀释度,再采用引物 IV 组合,如上述 PCR 扩增条件进行多重 PCR,循环 32 个周期。PCR 产物以 1%琼脂糖凝胶电泳、照相。同时设日本对虾杆状 DNA 病毒 (PRDV) 模板和阴性中国对虾基因组 DNA 为对照。

2 结果

2.1 HHNBV 靶基因序列

HHNBV 靶 DNA 序列如图 2 所示,克隆片段全长 975bp,GC 含量为 38.5%。其中,在 565 位、637 位、644 和 703 位分别存在单一的 Sau 3A1、Hae III、Bst XI 和 Alw 26I 酶切位点;这与 PRDV 靶 DNA 序列是一致的。然而,HHNBV 与 PRDV 靶 DNA 序列比较,核酸序列的同源性为 99.7%,其中 HHNBV 在 510~522 位间减少了 3 核苷酸,即 CAT 序列。即 HHNBV 与 PRDV 间存在缺失或插入变异。这一差异可用于检疫南太平洋各国的对虾暴发性流行病和进行分子流行病学调查(图 2 HHNBV 的 PCR 靶 DNA 序列)。

2.2 多重 PCR 扩增 HHNBV-XIA 基因

I~V 五种引物组合后 PCR 扩增结果如图 3 所示。P1/P3/P4 (IV)最适用多重 PCR,可清晰的扩增出 975bp 和 560bp 两条目的带,并无非特异性杂带。其它四种引物组合结果有杂带等缺陷(图 3 I~V 五种引物组合后多重 PCR 扩增结果)。

2.3 多重 PCR 反应条件

采用引物组合 IV(P/P/P)在各种镁离子浓度下进行多重 PCR 扩增 HHNBV-XIA 结果如图 4 所示。在 1.0 mM~2.5mM 四个反应管内可清晰的扩增出 975bp 和 560bp 两条目的带,并无非特异性杂带。1.5mM 更通用(图 4 各种镁离子浓度下多重 PCR 扩增 HHNBV-XIA 结果)。

在 1.5mM 镁离子浓度下采用 25~50 个循环进行多重 PCR 结果如图 5 所示。30 和 35 个循环间可见清晰的扩增目的带(975bp 和 560bp)。选用 32 个循环合适(图 5 循环数对多重 PCR 结果的影响)。

2.4 多重 PCR 法的检出界限

以 HHNBV-XIA-T 载体为模板进行多重 PCR 扩增结果如图 6 所示。1ng/ μ l、1fg/ μ l 和 pg/ μ l 反应管均可见可两条清晰的目的带,并无非特异性杂带。因此,多重 PCR 法的检出界限为 1pg/ μ l(图 6 多重 PCR 检出界限)。

2.5 多重 PCR 法的应用

多重 PCR 法的应用结果如图 7 所示。即可从 1ng/ μ l 阳性感染的中国对虾 DNA 中检出 HHNBV。同时也能检出日本对虾杆状 DNA 病毒 (PRDV)。并且不与阴性中国对虾基因组 DNA 反应(图 7 多重 PCR 法的应用)。

3 讨论

对虾暴发性流行病是死亡率极高的传染病。其病原对虾皮下和造血器官坏死杆状病毒 HHNBV 与 PRDV 和 WSBV 十分相似,诸如感染对虾胃上皮细胞核和淋巴样细胞核肥大,虾壳上可形成白斑等,且这三种病毒均不形成一般杆状病毒感染所产生的包含体。因此,作者认为发生在我国、日本、泰国等地的对虾暴发性流行病的病原可能是同类病毒或者属同种病毒。我们证实了 HHNBV PCR 靶基因 (HHNBV-XIA) 仅 0.3% 有别于 PRDV。HHNBV-XIA 互补序列中含一个 ORF;我们根据 HHNBV-XIA 序列设计了套式 PCR 法检测 HHNBV,现又进一步创研了单管多重 PCR 法检测中国对虾皮下和造血器官坏死杆状病毒。

I~V 五种引物组合进行 PCR 扩增后,仅 P1/P3/P4 (IV)适用于多重 PCR,其它四种引物组合都有杂带等缺陷。可能是因为多引物更易形成多聚体,也易发生非特异性扩增。因此,我们优化了 PCR 条件。即在 1.0 mM~2.5 mM 四个镁离子浓度下和 25~50 个循环中,1.5mM 镁离子浓度和 32 循环更适用于多重 PCR。

多重 PCR 法检出界限为 pg/ μ l 级 HHNBV-XIA-T 载体。也可从 ng/ μ l 阳性感染的中国对虾 DNA 中检出 HHNBV。同时也能检出日本对虾杆状 DNA 病毒 (PRDV)。并且不与阴性中国对虾基因组 DNA 反应。这些显示出多重 PCR 法良好的特异性和灵敏性。多重 PCR 法既可用于 HHNBV 的早期诊断, 亦可在净化亲虾、太平洋沿岸各国对虾病的分子流行病学调查上起到重大作用。

*通信作者, E-mail: xiachun@public.east.cn.net

参考文献

- [1] 黄捷, 宋晓铃, 于佳等. 对虾暴发性流行病的病原和病理学. 海洋水产研究, 1995, 1:1-7
- [2] Kimura, T., K. Yamano, H. Nakano, et al., Detection of Penaeid Rod-shaped DNA Virus (PRDV) by PCR. *Fish Pathology*, 1996, 31(2): 93-98
- [3] Lo C-F, Leu J-H, Ho C-H, et al. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimp using polymerase chain reaction. *Dis Aquat Org* 1996, 25: 133-141.
- [4] 夏春, 对虾病毒病的研究进展. 世界农业, 1997, 97(10): 40-41
- [5] 夏春, 刘津, PCR 检测对虾暴发性流行病靶基因的克隆和序列分析, 病毒学报 (排版中)。
- [6] 夏春, 黄捷, PCR 法检测对虾皮下和造血组织坏死杆状病毒, 微生物学报, 39(2), 60-71.

对虾副粘病毒病免疫预防试验研究

王玉平 岳玉环 卢强 王振英 穆占昆 王文东 杨振国 黎诚耀

(解放军农牧大学水产动物疾病研究中心, 长春 130062)

李尊海 张广富

(青岛警备区金口养殖场, 青岛 266011)

摘要 用对虾副粘病毒细胞培养灭活疫苗, 于 1998 在疫区内某对虾养殖场, 对日本对虾苗和中国对虾苗(体长 0.8~1 cm)进行了浸泡免疫试验。对虾养殖试验结果表明, 在 5 月 3 日放苗后, 免疫试验组对虾没有发病, 其中单纯用疫苗免疫的日本对虾试验池的对虾规格, 养殖 73 天(至 7 月 15 日)平均达 95 尾/kg, 219 天(至 11 月 8 日)平均达 38 尾/kg, 两次出池合计平均亩产 11.39kg; 单纯用疫苗免疫的中国对虾试验池的对虾规格, 养殖 86 天(至 7 月 28 日)平均达 110 尾/kg, 321 天(至 11 月 10 日)平均达 22 尾/kg, 两次出池合计平均亩产 11.15kg。日本对虾和中国对虾的免疫试验对照池与非免疫试验池的对虾, 分别于 6 月 28 日和 7 月 15 日发生病毒病而死亡。

关键词 对虾副粘病毒病, 免疫预防, 对虾养殖

自 1993 年养殖对虾遭受全国性的病毒病危害以来, 养殖对虾连年发生大规模疫病流行, 导致对虾大面积死亡甚至绝产, 严重制约着对虾养殖生产的发展。本课题组研究发现, 流行于山东与河北等地区的养殖对虾疫病, 其病原主要是对虾副粘病毒样病毒⁽¹⁾。我们在对该病毒成功地进行细胞分离培养的基础上⁽²⁾, 研制了对虾副粘病毒细胞培养灭活疫苗。下面将应用该疫苗, 于 1998 年在青岛地区某对虾养殖场进行的虾苗浸泡免疫预防试验的研究结果报告如下。

1. 材料与方法

1.1 虾苗 日本对虾苗, 体长 1cm, 购自青岛即墨水产局育苗场。中国对虾苗, 体长 0.8cm, 购自青岛即墨田横育苗场。

1.2 对虾副粘病毒细胞培养灭活疫苗 由解放军农牧大学水产动物疾病研究中心提供。

1.3 抗病毒免疫增强剂(中药) 由解放军农牧大学水产动物疾病研究中心提供。按 2% 添加, 用粘合剂粘附于颗粒饲料, 投喂。

1.4 水处理 放苗前, 在三月分水质较好时期, 向虾池内注入海水水深达 0.5m。放苗初期适当加水, 水深达 1.3m。养成期不加水。

放苗前检测池水温度、盐度、pH 值、溶氧、氨氮、化学耗氧量各指标。放苗后每 10 天检测一次前述指标。

1.5 试验分组 试验用 6 个虾池, 均为土池, 其分组与试验编号为 11~16 号, 见表 1。

1.6 虾苗浸泡免疫 将免疫试验组虾苗放入含 30% 疫苗溶液(池水 70 份、疫苗 30 份混合)中, 浸泡 5、6 分钟后入池。每万尾虾苗用 100ml 疫苗。免疫对照池的虾苗不作此处理直接入池。

1.7 对虾养殖 放苗初期以池中繁殖的天然饵料为食; 放苗 15 天后投喂该场生产的配合饲料。投饵量依放苗量与生长期按常规方法计算。

表 1 疫苗免疫试验分组情况

组别	日本对虾试验组			中国对虾试验组		
池号	11	12	15	13	14	16
项目	疫苗浸泡 免疫池	疫苗浸泡与 投喂药饵池	免疫对照 池	疫苗浸泡 免疫池	疫苗浸泡与 投喂药饵池	免疫对 照池
亩数	36	36	35	36	36	35
亩放苗尾	5000	5000	5000	5000	5000	5000
放苗时间	5 月 3 日	5 月 3 日	5 月 3 日	5 月 3 日	5 月 3 日	5 月 3 日

2 结果

2.1 养殖对虾生长情况

免疫试验虾池与对照虾池于 5 月 3 日放苗，并在相同条件下进行养殖。6 月 20 日前虾池水化学指标稳定，雨水与往年基本一样，温度在 22~25℃，pH 值 7.6~8.0，其它水化学指标均符合养殖水质标准。

观察结果表明，单纯疫苗浸泡免疫和疫苗浸泡免疫并结合投喂药饵的试验池的对虾，生长状况良好。日本对虾试验组的对照池，即 15 号池于 6 月 28 日开始发病。中国对虾试验组的对照池，即 16 号池于 7 月 15 日开始发病。相邻的同一天放苗的非试验池以及邻近养殖场虾池也相继发病。相反，经免疫的日本对虾和中国对虾试验池，即 11、12、13、14 号池的对虾一直生长正常，未发病。在对照池的对虾发病 15 天后，将未发病的免疫试验池的对虾出池，以上四个虾池的对虾规格分别平均为 95 尾/kg、150 尾/kg、110 尾/kg 和 106 尾/kg。在出池后，免疫试验组的 11 号池和 13 号池中保留了部分对虾，并继续养殖观察至 11 月 10 日出池，结果这两个虾池的对虾也未发病，其对虾的规格分别平均为 38 尾/kg 和 22 尾/kg。

2.2 免疫试验池与对照池对虾的产量比较

日本对虾试验组，11 号池第一次出池亩产量 6.28kg，第二次出池亩产量 5.11kg，合计亩产量 11.39kg；12 号池亩产量 5.75kg；15 号池亩产量 0.69kg。中国对虾试验组，13 号池第一次出池亩产量 9.48kg，第二次出池亩产量 1.67kg，合计亩产量 11.15kg；14 号池亩产量 10.65kg；16 号池亩产量 6.24kg。免疫试验池与对照池对虾的产量对比分析详见表 2。

2.3 二茬日本对虾养殖情况

在 12、14、15、16 号虾池出池后，于 8 月 10 日放养第二茬未经免疫的日本对虾苗，结果虾苗在养殖期间发病死亡。

3 讨论

业已证明^(3, 4, 5)，对虾具有免疫功能，可以抵抗某些病原的侵害，有一定的免疫保护作用。从本试验的结果也可以初步看出，无论是单纯疫苗浸泡免疫虾苗，还是疫苗浸泡免疫虾苗并结合药饵投喂，在养殖期间均有预防对虾病毒病的效果，但两者间尚未发现有明显差别。

表 2 免疫试验池与对照池产量、产值、效益对比分析

组别 池号	日本对虾试验			中国对虾试验		
	组 11 号池	12 号池	15 号池	组 13 号池	14 号池	16 号池
亩放苗尾	5000	5000	5000	5000	5000	5000
池产量 (kg)	226.2	207.10	24	341.4	383.5	218.4
	184.0			60.0		
亩产量 (kg)	6.28	5.75	0.69	9.48	10.65	6.24
	5.11			1.67		
规格(尾/ kg)	95	150	226	110	106	125
	38			22		
kg 产值 (元)	42	40	20	36	34	31.4
	144			160		
亩产值 (元)	263.76	230.0	13.8	341.28	362.10	195.94
	735.84			267.20		
亩成本 (元)	120	120	120	50	50	50
	30			15		
亩利润 (元)	143.76	110.00	-106.20	291.28	312.10	145.94
	705.84			252.20		
出池日期	7.15	7.15	6.29	7.28	7.28	7.16
	11.8			11.10		
发病日期			6.28			7.15

注：表中每一栏内第一排数字表示 7 月第一次出池时的数值，第二排数字表示 11 月第二次出池时的数值。

在免疫对照池的对虾发病 15 天后，免疫试验池的对虾仍然生长正常的情况下，养殖场为确保生产效益进行了出池，获得了比免疫对照池和非免疫池有明显高的产量与效益。值得重视的是，在 11 号池与 13 号池中，第一次出池后留下的少部分免疫对虾，经换水后继续养殖，观察到 11 月初，一直未发病，并且对虾规格大、产量高，而放养的二茬非免疫日本对虾苗却都发病死亡。这表明，疫苗浸泡免疫虾苗的

免疫作用可持续较长时间。由此, 我们可考虑适当延长免疫对虾的养殖时间, 提高对虾的产量与规格 (见表 2), 以获得更高的经济效益。

资料表明, 我国流行的对虾病毒病的病原主要还有对虾杆状病毒^(6, 7)。本试验初步证明, 对虾副粘病毒细胞培养灭活疫苗, 通过对疫区内日本对虾和中国对虾虾苗浸泡免疫可以达到预防对虾副粘病毒病的目的, 但该疫苗是否对对虾杆状病毒病的预防同样可以起到有效的交叉免疫或非特异免疫作用, 须进一步证明。

参 考 文 献

- [1]黎诚耀, 杨盛华, 岳玉环等. 对虾暴发流行病的一种新病原——对虾副粘病毒样病毒. 中国兽医学报, 1997, 17: 205-206
- [2]岳玉环, 黎诚耀, 杨盛华等. 对虾副粘病毒样病毒的细胞分离培养. 中国兽医学报, 1997, 17: 306-307
- [3]王伟庆, 李爱杰, 兰翠霞等. 用免疫消虫比浊法测定中国对虾血清中的免疫因子. 水产学报, 1998, 22: 20-24
- [4]叶孝经. 对虾弧菌苗免疫的研究. 海洋水产研究丛刊, 1990, 32: 13-18
- [5]Soderhall K., Smith, V. J. and Johansson, M. W. Exocytosis and uptake of bacteria by isolated haemocyte populations of two crustaceans: evidence for cellular cooperation in the defence reactions of arthropods. Cell Tissue Res., 1986, 245:43-49
- [6]蔡生力, 黄捷, 王崇明等. 1993~1994 年对虾暴发病的流行病学研究. 水产学报, 1995, 19: 112-119
- [7]江育林, 张奇亚, 刘荭等. 我国对虾暴发病病因初探. 水生生物学报. 1995, 19: 196-187

EXPERIMENT ON IMMUNOPREPHYLAXIS OF PARAMYXOVIRUS DISEASE IN PENAEID SHRIMP

Wang Yuping, Yue Yuhuan, Wang Zhenying, Mu Zhankun,
Wang Wendong, Lu Qiang, Yang Zhenguo, Li Chengyao

(Research Center of Aquatic Animal Diseases, Changchun University of Agriculture and Animal Sciences, Changchun 130062, P.R. China)

Li Zunhai, Zhang Guangfu

(Jinkou Aquaculture Farm, Qingdao 266011, P.R. China)

Abstract On one Penaeid shrimp culture farm in the epidemic area of paramyxovirus disease in 1998, the killed paramyxovirus vaccine was used to immunize shrimp fingerlings of *Penaeus chinensis* and *Penaeus japonicus* by immersion inoculation. The results of experimental Penaeid shrimp culture showed that after the vaccinated shrimp fingerlings were released in culture pools on May 3, no diseases were found in the immunized Penaeid shrimps in experiment pool during culturing period. The size of *Penaeus japonicus* immunized only by vaccine were grown to 95/kg until 73 days (15 July), 38/kg until 219 days (8 November), the average amount in total by twice shrimping was 11.39 kg/mu*. Similarly, the size of uniquely vaccinated *Penaeus chinensis* were cultured to 110/kg until 86 days (28 July), 22/kg until 321 days (10 November) and the amount by twice shrimping reach to 11.15kg/mu at average in total. However, both kind of the non-immunization Penaeid shrimps in experiment control and other non-experimental neighbour pools were suffered from viral disease and began to dead on 28 June and 5 July, respectively.

Key words paramyxovirus disease, Immunoprephylaxis, Penaeid shrimp culture

*mu means 667m²