

中国对虾(*Penaeus chinensis*)杆状病毒病的研究*

战文斌 俞开康 孟庆显

(青岛海洋大学, 266003)

摘 要 1993年养殖的中国对虾(*Penaeus chinensis*)发生了暴发性流行病, 经人工感染和电镜观察, 证实是由杆状病毒引起的。病虾活力差, 体色暗淡或微红, 头胸甲上有浅黄色至白色的斑点, 头胸甲与表皮不粘连, 容易剥离, 血淋巴混浊, 淋巴器官和肝胰腺肿大、糜烂。在肝胰腺、淋巴器官、中肠、皮下组织和鳃等组织细胞的核内均发现有大量病毒粒子。病毒粒子杆状, 无包涵体, 具囊膜, 平均长350nm, 宽150nm, 核衣壳长300nm, 宽100nm。暂将这种病毒定名为中国对虾杆状病毒(*Penaeus chinensis baculovirus*, 简称PCBV)。

关键词 中国对虾, 流行病, 中国对虾杆状病毒

前 言

1993年6~8月份, 养殖的中国对虾(*Penaeus chinensis*)发生了严重的暴发性流行病, 其特点是蔓延的范围广, 发病急, 死亡率高。在暴发性流行病发生期间, 作者在山东省昌邑县下营镇对虾养殖场进行了现场观察, 并做了人工感染和电镜观察, 证实暴发性流行病是由一种杆状病毒引起的, 在观察的肝胰腺、淋巴器官、中肠、皮下组织和鳃等组织的细胞核内均发现了这种病毒。

目前对虾的病毒已见于报告的有11种, 发生在21种对虾上。这11种病毒为: BP^[3,4,9]、MBV^[2,4]、BMN^[2,10]、IHHNV^[2,5]、HPV^[6]、LOPV^[8]、REO^[4,11]、LOVV^[1]、TCBV^[2]、HB^[2]和YBV^[7]。毫无疑问随着对虾养殖种类的增加, 养殖年数的增多, 新的对虾病毒病还会不断出现。

材 料 和 方 法

(一)对虾的来源

健康虾取自下营镇裴家虾场, 平均体长8.2cm; 病虾标本取自潍坊市虾场, 平均体长

收稿日期: 1994-09-20。

* 感谢日本东京水产大学福田颀穗教授、美国亚利桑那大学D.V.Lightner教授和美国俄勒冈州立大学J.L.Fryer教授给予的帮助。

6.8cm。

(二)病毒悬液的制备

取 6 尾病虾的肝胰腺和淋巴器官, 用剪刀剪成小块, 研磨成浆, 加入 20ml 灭菌生理盐水, 继续研磨后, 在 3500 转 / 分离心 20 分钟, 取上清液用蔡氏 EK 板 (孔径 450nm) 抽滤, 滤液用于感染试验, 同时将滤液在 2216E 平板上划线接种, 证明无细菌污染。试验中所用的器皿都经灭菌处理。

(三)人工感染试验

1. 注射感染 上述滤液肌肉注射 0.1ml / 尾, 对照组注射同量的灭菌生理盐水。

2. 投喂感染 用病虾组织投喂试验虾, 对照组投喂配合饲料。

试验各组均为 10 尾虾, 试验设二个重复。每组试验水体 100 升, 试验水温 26~27℃, 盐度 30‰, pH8.5, 在整个试验过程中充气, 每天换水量为 100%。

(四)电镜样品制备

将典型病虾的器官组织用 2.5% 戊二醛 (0.1M 的磷酸缓冲液, pH7.4 配成) 固定, 经锇酸二次固定, 树脂包埋, 超薄切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色, 用 H-7000 型透射电子显微镜观察。

结 果

(一)症状

经现场观察, 病虾一般发病前 2 天停止摄食, 消化道内无食物; 活力下降, 反应迟钝, 在池边盲目缓游, 用手容易捉住; 体色暗淡或微红, 头胸甲上有白色至浅黄色小斑点, 进一步发展小斑点会连成片, 形成大斑 (图 1、2); 头胸甲与表皮不粘连, 很易剥离 (图 2), 血淋巴混浊, 凝固性差, 淋巴器官和肝胰腺肿大, 糜烂。



图 1 患病中国对虾, 示头胸甲上的斑点
(将头胸甲剥离在上方)

Fig.1 Moribund *P.chinensis* showing mottled spots on the carapace

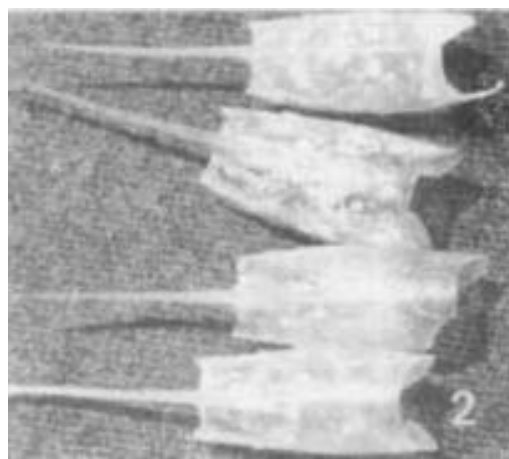


图 2 患病中国对虾的头胸甲, 示白色斑点
Fig.2 Peeled off carapace of diseased *P. chinensis*

(二)人工感染试验

通过肌肉注射病毒悬液和投喂病虾组织的方法感染,结果(表 1 为 3 组结果的平均值)表明感染虾均在 72 小时内死亡,注射感染较投喂感染死亡速度快;感染虾在头胸甲上也表现出白色至浅黄色小斑点,但不如自然感染虾的多而且较小;头胸甲与表皮像自然病虾一样容易剥离;肝胰腺糜烂,淋巴器官肿大。血淋巴和鳃经压片后用显微镜观察未发现细菌。

表 1 肌肉注射和投喂感染试验结果

Table 1 Results of infection tests by intramuscular injection and feeding

感染方法 Infected methods	死亡尾数 Death No.						死亡尾数 Death No. 实验尾数 Test No.
	18	24	36	48	64	72(h)	
注射 Injection	1	3	2	3	1	0	10 / 10
投喂 Feeding	0	0	1	3	2	4	10 / 10
对照 Control	0	0	0	0	0	0	0 / 10

(三)病毒粒子的形态

病毒粒子杆状,平均长 350nm,宽 150nm,核衣壳长 300nm,宽 100nm,有囊膜,无包涵体,纵切面呈杆状,两端圆,横切面呈圆形(图 3~8)。病毒粒子在宿主的细胞核内复制。

(四)病毒感染的组织器官的病理变化

通过电镜观察,在病虾的肝胰腺(图 3)、淋巴器官(图 4)、中肠(图 5, 6)、皮下组织(图 7)、鳃(图 8)发现细胞核内有大量病毒粒子存在。被感染的细胞核肥大,占据细胞的大部分,核仁边移,浓缩成电子密度很大的团块(图 5),有的破碎成几小块,分布在核的边缘,严重感染时核仁消失。病毒粒子大量繁殖时,核膜破裂,部分消失以至完全崩解(图 3),各种细胞器减少以至大量解体,此时整个细胞的轮廓消失,病毒粒子向周围细胞传播感染。

讨 论

在已报告的对虾 11 种病毒中,属于杆状病毒的有 BP、MBV、YBV、BMN、TCBV 和 HB 共 6 种。根据 Lightner^[2],BP、MBV、YBV 具有包涵体,应属于 A 型杆状病毒,其他 3 种无包涵体,应属于 C 型杆状病毒。中国对虾虾体上的杆状病毒无包涵体,亦应属于 C 型,病毒粒子在对虾的杆状病毒中是最大的,并且无特异的靶器官。在肝胰腺、中肠、鳃、皮下组织和淋巴器官等组织内均有发现。在 C 型杆状病毒中,BMN 带被囊的病毒粒子大小为 $72 \times 310\text{nm}$,比中国对虾的杆状病毒小得多,特别是宽度仅为其一半,并且被囊的形状也完全不同;TCBV 和 HB 仅发现在斑节对虾中,未见有详细的形态描述,并且 HB 是寄生在血细胞中,这在对虾的杆状病毒中是特有的。中国对虾虾体上的这种杆状病毒与已报告的各种病毒不同。因此,暂定名为中国对虾杆状病毒(*Penaeus chinensis baculovirus*, 简称为 PCBV)。

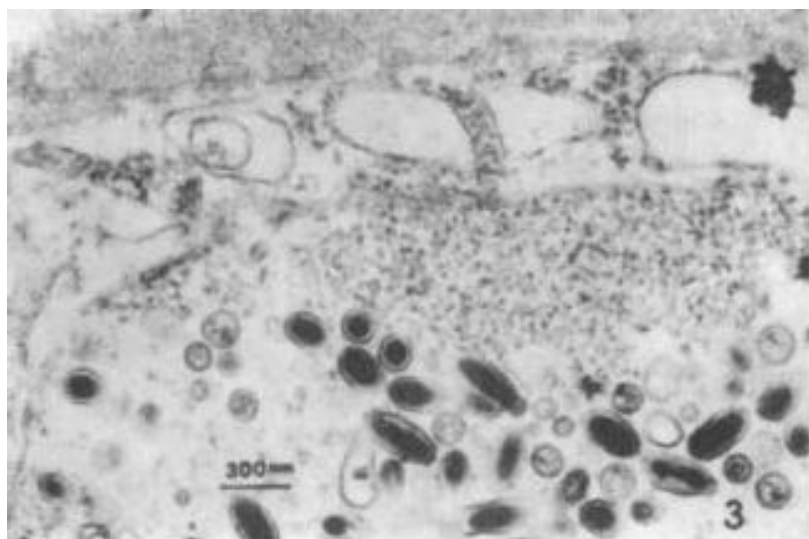


图 3 患病中国对虾的肝胰腺电镜照片，示杆状病毒粒子

Fig.3 Hepatopancreatic cell of diseased *P. chinensis* showing baculovirus virions

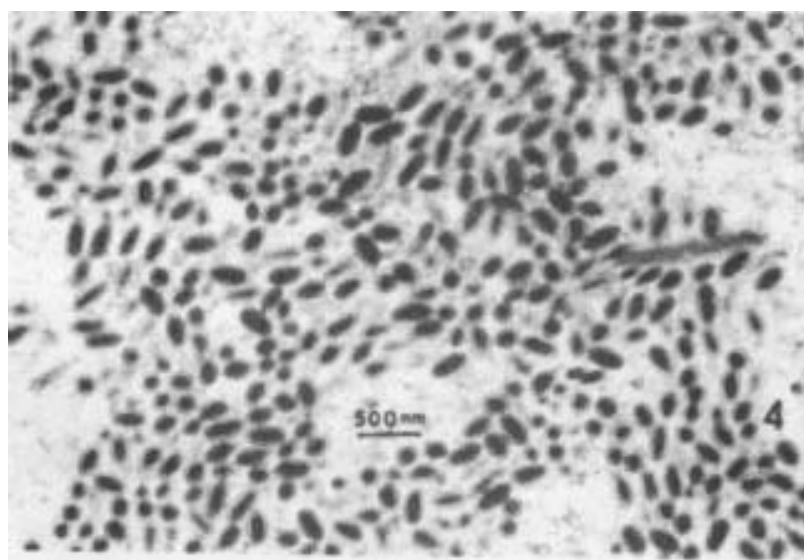


图 4 患病中国对虾的淋巴器官电镜照片，示杆状病毒粒子

Fig.4 Baculovirus virions in lymphoid organ of diseased *P. chinensis*

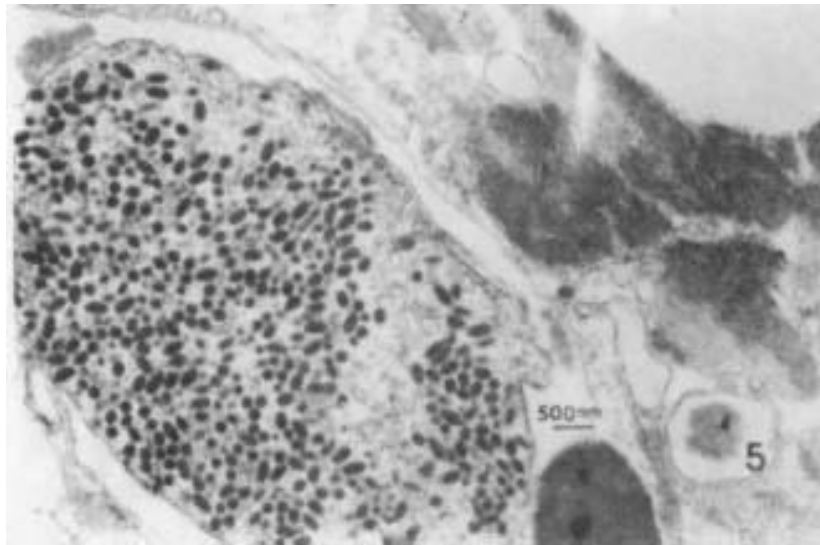


图 5 患病中国对虾的中肠低倍电镜照片，示杆状病毒粒子

Fig.5 Low power microscopic appearance of midgut of diseased *P. chinensis* showing virions in nucleus

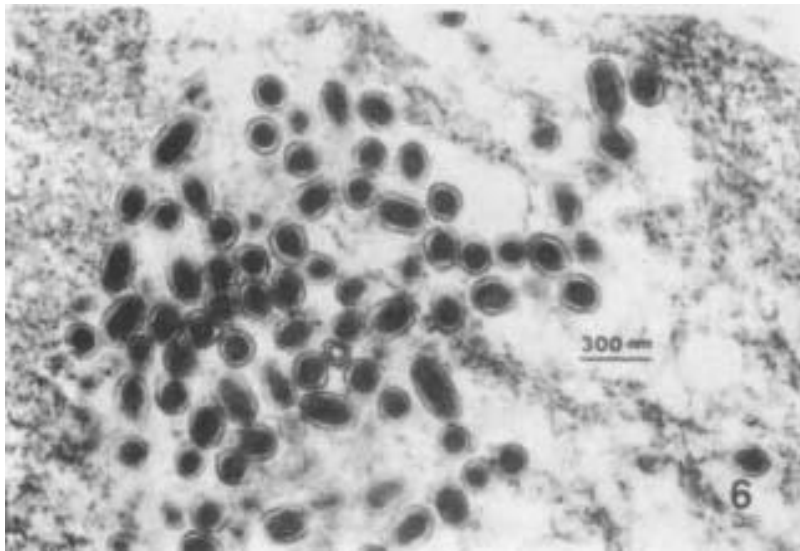


图 6 患病中国对虾的中肠高倍电镜照片，示杆状病毒粒子

Fig.6 High power microscopic appearance of midgut of diseased *P. chinensis* showing baculovirus virions

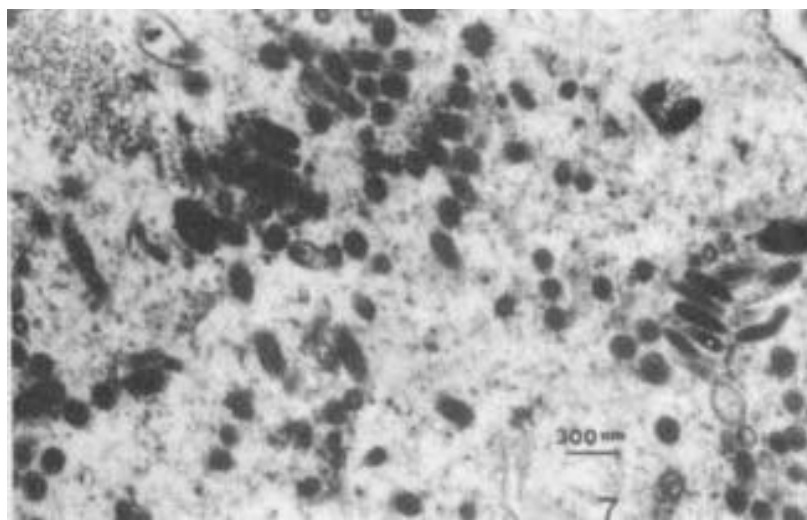


图 7 患病中国对虾的皮下组织电镜照片，示杆状病毒粒子
Fig.7 Baculovirus virions in hypoderm of diseased *P. chinensis*.

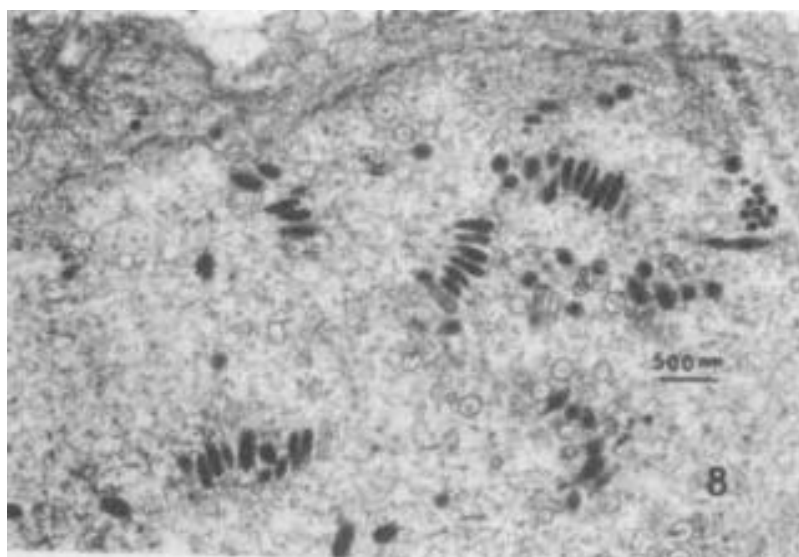


图 8 患病中国对虾的鳃电镜照片，示杆状病毒粒子
Fig.8 Baculovirus virions in gills of diseased *P. chinensis*.

参 考 文 献

- [1] Bonami J.R. *et al.* 1992. Partial characterization of a togavirus (LOVV) associated with histopathological changes of the lymphoid organ of penaeid shrimps. *Diseases of Aquatic Organisms*. 14: 145-152.
- [2] Lightner D. V. 1993. Diseases of cultured penaeid shrimp. In: *Handbook of Mariculture, Crustacean Aquaculture*, Mevey, J. P. Ed. CRC Press, 1: 393-486.
- [3] Lightner D. V. *et al.* 1992. A review of some major diseases of economic significance in penaeid prawns / shrimps of the Americas and Indopacific. In: *Diseases in Asian Aquaculture I*, Shariff M. *et al* Eds, Fish Health Section Asian Fisheries Society, 57-80.
- [4] Lightner D. V. *et al.* 1992. Penaeid virus diseases of the shrimp culture industry of the Americas. In: *Marine Shrimp: Principles and Practices*, Fast A. W. and Lester L. J. Eds. Elsevier Science Publishers B. V. 569-588.
- [5] Lightner D. V. *et al.* 1983. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis, a newly recognized virus disease of penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology* 42:62-70.
- [6] Lightner D. V. *et al.* 1985. A parvo-like virus disease of penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology* 45:47-53.
- [7] Limsuwan C. 1991. *Handbook for cultivation of black tiger prawns*. Tansetakit Co. Ltd, Bangkok, Thailand. pp. 202.
- [8] Owens L. *et al.* 1991. Lymphoidal parvo-like virus in Australian prawns. *Diseases of Aquatic Organisms*. 11:129-133.
- [9] Overstreet R. M. *et al.* 1988. Experimental infections with *Baculovirus penaei* in the white shrimp *Penaeus vannamei* as a bioassay. *Journal of the World Aquaculture Society*. 19(4):175-187.
- [10] Sano T. *et al.* 1981. Baculovirus infection of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathology*. 15(3/4):185-191.
- [11] Tsing A. *et al.* 1987. A new viral disease of the shrimp, *Penaeus japonicus* Bate. *Journal of Fish Diseases*. 10:139-141.

STUDY ON BACULOVIRUS DISEASE OF *PENAEUS CHINENSIS*

Zhan Wenbin Yu Kaikang Meng Qingxian

(Ocean University of Qingdao, 266003)

ABSTRACT In 1993, population of culture shrimp, *Penaeus chinensis*, succumbed to an epizootic. Based on the test of infection and electric microscope observation, it was caused by *Baculovirus*. The infected shrimps showed lethargic and off feed, colourless, white to yellowish spots on the carapace. The carapace was peeled off the cuticle easily, with turbid blood. The hypertrophied lymphoid organ and midgut gland were rotten. The viral virions were observed in midgut gland, lymphoid organ, midgut, hypoderm and gill. The rod-shaped virions. have envelope, but lack inclusion bodies. The average length and diameter of virions were 350nm and 150nm respectively and the average length and diameter of nucleocapsids were 300nm and 100nm respectively. The *Baculovirus* was temporarily designated as *P. chinensis Baculovirus* (PCBV).

KEYWORDS *Penaeus chinensis*, penaeid epizootic, *P. chinensis Baculovirus* (PCBV)