

暴发性流行病病原对中国对虾越冬亲虾人工感染的研究*

STUDY ON ARTIFICIAL INFECTION OF OVERWINTER BROOD-STOCKS OF *Penaeus chinensis* WITH THE PATHOGENY OF EXPLOSIVE EPIDEMIC DISEASE

王运涛 徐洪涛 李晨曦 相建海

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

从典型的白斑症病虾中,分离出一种杆状病毒,属对虾白斑病杆状病毒^[3]。为了探讨对虾暴发性流行病的发病机理及传播机制,作者于1996~1997年冬季,采用青岛地区当年夏季暴发典型白斑症的病虾,对中国对虾健康的越冬亲虾进行了白斑病杆状病毒的感染试验。

1 材料和方法

1.1 病虾标本与病原分离

* 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究室资助课题 A52943003 号;中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3496 号。

收稿日期:1998-07-14;修回日期:1998-09-03

具典型白斑症状的病虾,于1996年8月取自青岛城阳区红岛邵格庄发病的虾场,保存于-70℃。剥离病虾的胃、肠及鳃组织约10g,加液氮充分研磨,加90ml 0.01 mol/L PBS(0.2 mol/L Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 50 ml, NaCl 24 g,加重蒸水至1 000 ml, pH 7.8)缓冲液,离心7 000 r/min, 10 min(Beckman J2-HS高速离心机, JA-20 转子),上清液用0.45 μm 微孔滤膜过滤除菌,再以15 500 r/min, 35 min(Beckman J2-HS高速离心机, JA-20 转子)离心,取沉淀溶于0.01 mol/L PBS(pH 7.8)中,作为注射液感染越冬亲虾。

1.2 越冬亲虾的来源

试验用虾均取自中国科学院海洋研究所生物培育楼人工养殖的健康中国对虾,平均体长10.58 cm。

1.3 人工感染试验

将试验用虾放至盛有500 L过滤海水的水族缸中,每缸10尾,先暂养两天,每天换过滤海水4/5,并

投喂两次海马牌人工配合饵料。人工感染采用注射法和投喂法。注射法是在虾体侧面第2、3游泳足之间,每尾虾肌肉注射0.1 ml病毒悬液,对照组注射相同剂量的0.01 mol/L 无菌PBS(pH 7.8)缓冲液;投喂法是投喂具有典型白斑病状病虾,对照组改投煮熟的新鲜蛤肉。

人工感染分为两个试验组,第一组在室温9~13℃状态下进行感染试验;第二组是将水温慢慢升高,在18~22℃状态下进行感染试验。

1.4 人工感染病虾组织的电镜观察

剥离经感染后死亡的越冬亲虾的胃、肠及鳃,用2.5%戊二醛固定上述组织,超薄切片,电镜观察。

2 试验结果

室温9~13℃状态下人工感染试验结果见表1。

表1 室温9~13℃状态下人工感染试验结果

试验组别	死亡虾数(尾)					死亡数/总数
	4 d	8 d	12 d	16 d	20 d	
注射组 10 尾	0	0	0	0	0	0/10
投喂组 10 尾	0	0	0	0	0	0/10
注射+投喂组 10 尾	0	0	0	0	0	0/10
对照组 10 尾	0	0	0	0	0	0/10

“0”表示没有死亡虾。

越冬亲虾在9~13℃情况下,摄食不活跃,生长迟缓。与对照组相比,病毒侵染的虾,观察20 d尚无明显变化。3个试验组随机取样,通过电镜观察,感染

病毒的虾体内仅发现少量杆状病毒。

温度在18~22℃状态下人工感染试验结果见表2。

表2 温度18~22℃状态下人工感染试验结果

试验组别	死亡虾数(尾)										死亡数/总数
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	
注射组 10 尾	0	0	0	1	3	2	3	1	—	—	10/10
投喂组 10 尾	0	0	0	1	1	1	3	2	2	—	10/10
注射+投喂组 10 尾	0	0	2	3	2	1	2	—	—	—	10/10
对照组 10 尾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10

“0”表示没有死亡虾;“—”表示试验虾已全部死亡。

由表2可见,(1)在18~22℃温度下,侵染病毒的健康虾,开始前3 d摄食强烈,反应灵敏;到第5天,摄食开始下降,反应迟缓;7 d之后,摄食大减,游动极缓;9 d之内均死亡,部分病死虾头胸甲上出现白斑。无论是注射还是投喂,其死亡率均为100%。(2)注射组比投喂组发病要快,说明注射侵染,病毒直接由肌肉进入虾体内,量大,增殖快,发病快。(3)3个试验组

随机取样,通过电镜观察,感染病虾体内发现大量对虾杆状病毒。

3 讨论

从暴发流行病的中国对虾中分离出一种杆状病毒,通过人工感染方式回接给健康的中国对虾,导致

健康的中国对虾出现典型病症而死亡,说明该杆状病毒即是一种引起对虾暴发性流行病的病原体。

通过不同方式的感染试验,无论是注射还是投喂,9 d 内累积死亡率均为 100 %,说明该杆状病毒的致病力极强,其中,通过消化系统由摄食方式进行的水平传播是该病毒侵染的重要途径。因此,在对虾的养殖过程中,应特别要注意对鲜活饵料的管理和消毒,及时清除病虾和死虾,减少虾病的扩散。

注射感染的虾比投喂感染的虾死亡快,对照组无一死亡,说明肌肉注射对虾体的直接损伤作用较小,主要是由于注射感染的虾体内病毒相对集中、量大、增殖迅速,发病较快。环境温度是诱发对虾暴发性流行病的重要因素。试验结果表明,水温在 9~13 ℃时,感染病毒的健康中国对虾 20 d 之内,尚无发病症状,当升温到 18~22 ℃时,人工感染的健康虾无论采取何种侵染方式在 9 d 之内均发病死亡,说明该病毒的传播和扩增均依赖于一定的环境温度,高温是对虾流

行病暴发的一种重要因素,这与我国每年虾病的暴发时间是吻合的,也与我国每年从南到北的虾病暴发次序是一致的。

试验表明,在冬季越冬亲虾感染病毒而不死亡,成为病毒携带者,有可能通过生殖途径传播给后代造成高温季节虾病的大流行。因此对越冬亲虾进行定期病毒检测是有效防治虾病的不可忽视的环节。

参考文献

- 1 桃山和夫。 *Fish Pathology*, 1989, 24(3):179~181
- 2 中野平等。 *Fish Pathology*, 1994, 29(2):135~139
- 3 Chung-Hsiung Wang *et al.* *Diseases of Aquatic Organisms*, 1995, 23:239~242
- 4 Hsin-Yiu Chou *et al.* *Diseases of Aquatic Organisms*, 1995, 23:165~173
- 5 Kenneth, C. S., Robin, U. O.. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1994, 64, 18~25