

中国对虾育苗期球形病毒的感染及垂直传播途径的初步探讨*

汝少国 姜明[†] 李永祺 马英杰

(青岛海洋大学海洋生命学院 青岛 266003)

[†](青岛海洋大学测试中心 青岛 266003)

摘要 1994—1995年在山东文登市高岛盐厂对虾育苗池和养虾池,随机和定点采集中国对虾的卵、无节幼体、溞状幼体、糠虾幼体、仔虾及幼虾、成虾样品,利用透射电子显微镜对其进行病毒的检测。结果表明,卵细胞中含有大量的卵黄,没有明显的细胞分化,卵细胞质中有球形病毒感染;无节幼体的肝胰腺和上皮细胞的分化程度较低,有大量球形病毒分布;糠虾幼体已有明显的肝胰腺和上皮细胞的分化,肝胰腺上皮细胞的胞质中发现有球形病毒包涵体和球形病毒存在;仔虾期肝胰腺上皮细胞质内有球形病毒感染;幼、成虾球形病毒感染的主要组织为肝胰腺、中肠、肌肉等组织。球形病毒的直径约为70—100nm,具完整的核衣壳,核衣壳外有不光滑的包膜,形成包涵体。育苗期和养成期对虾均有球形病毒感染,推测中国对虾球形病毒有可能经卵传播给子代。

关键词 中国对虾 球形病毒 垂直传播 透射电子显微镜

学科分类号 Q934

近年来,关于对虾球形病毒的研究已有许多报道,陈细法等(1996)报道了斑节对虾的一种新球形病毒,张立人(1994)、肖连春(1995)报道了中国对虾体内的一种球状病毒。这些报道大多探讨了球形病毒的分类地位和病理变化,而关于球形病毒垂直传播途径的研究尚未见报道。研究对虾病毒的垂直传播,对切断病毒的传播途径、培育健康的对虾种质资源均具有重要的理论和实践意义(Chang *et al*, 1992; Chen *et al*, 1989; Lightner *et al*, 1992)。本文报告中国对虾育苗期球形病毒的感染及垂直传播途径的研究结果,以期为中国对虾球形病毒防治的研究提供资料。

1 材料和方法

1.1 样品采集

中国对虾(*Penaeus chinensis*) (以下简称对虾)样品于1994年7—10月及1995年3—10月取自山东文登市高岛盐厂对虾养殖池和育苗池。卵巢、卵分别取自亲虾;无节幼体、溞状幼体、糠虾幼体、仔虾、幼虾和成虾为随机取样,同时采集弱苗、病苗和病虾。

1.2 对虾病毒的检测

* 国家攀登计划B资助项目,PD B-6-7-1号。汝少国,男,出生于1967年2月,博士,副教授, Fax:0086-0532-2879091

收稿日期: 1998-03-26, 收修改稿日期: 1998-08-18

将采集的对虾亲虾的卵巢、卵细胞及孵化出的无节幼体、溞状幼体、糠虾幼体和仔虾迅速用 2.5% 的戊二醛整体固定,幼、成虾取其肝胰腺、中肠、肌肉,切成 0.5mm³小块固定。样品用 pH = 7.2 的 PBS 洗净,1% 锇酸后固定,梯度乙醇脱水,环氧树脂 Epon-812 包埋, LKB 超薄切片机切片,铀和铅盐双染色、日立 H-7000 型透射电子显微镜观察并摄影。

2 结果与分析

2.1 育苗期和养成期对虾球形病毒的检测

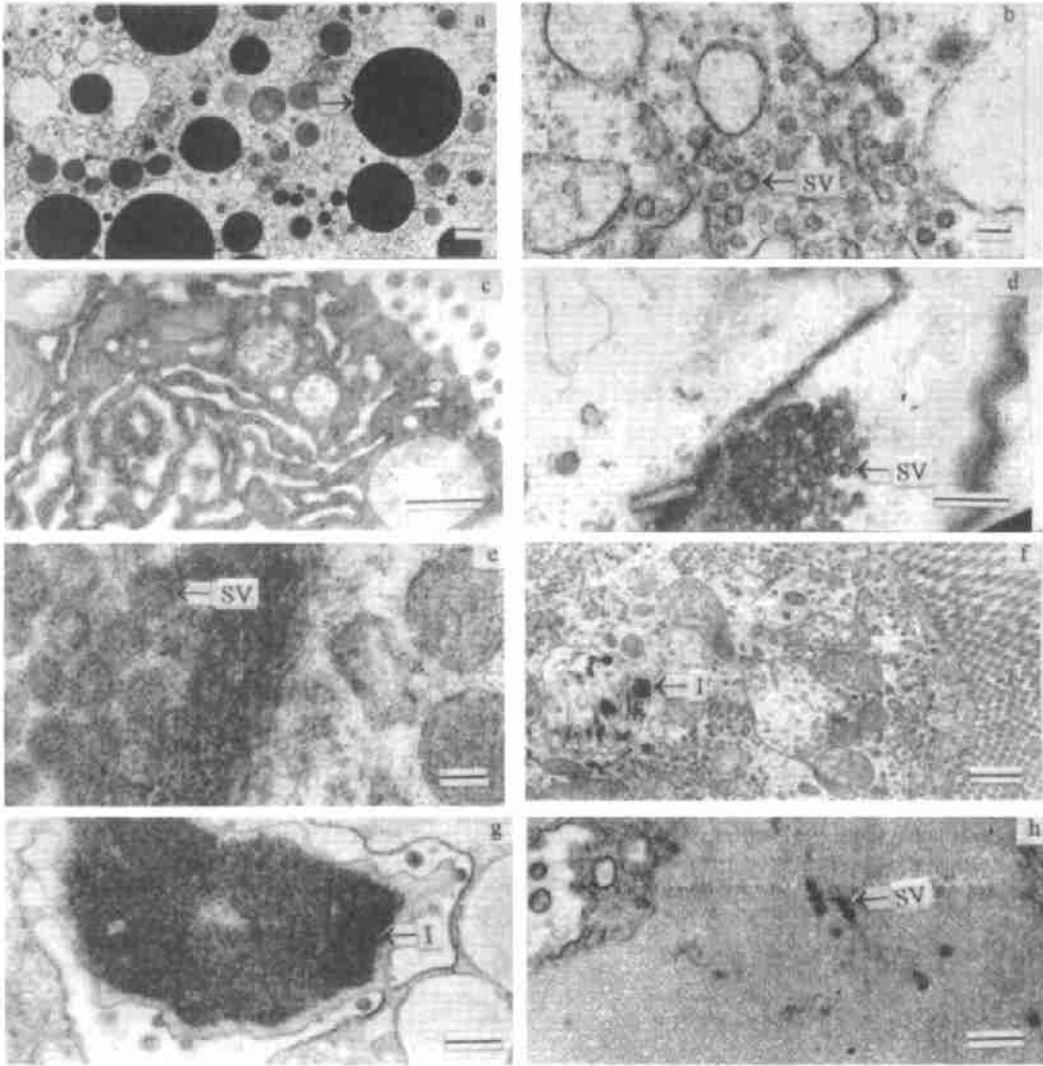


图 1 球形病毒的电镜观察结果(I)

Fig.1 The results (I) of spheroid virus observed by electron microscope

a. 卵细胞中含有大量的卵黄,没有明显的细胞分化(bar=1 000nm); b. 卵细胞的胞质中的球形病毒(bar=100nm); c. 无节幼体肝胰腺和上皮细胞的分化程度较低(bar=500nm); d. 表皮细胞间质中的球形病毒,呈聚集状态(bar=500nm); e. 球形病毒的放大(bar=100nm); f. 糠虾幼体肝胰腺上皮细胞中的球形病毒包涵体(bar=1 000nm); g. 糠虾平滑肌细胞核内的球形病毒包涵体(bar=500nm); h. 糠虾平滑肌细胞质中的球形病毒(bar=500nm). I: 包涵体; SV: 球形病毒

利用透射电子显微镜进行病毒检测的结果表明,亲虾的卵巢、卵细胞和无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体、仔虾及幼、成虾均有球形病毒感染,病毒大小为 70—100nm。

卵细胞:含有大量的卵黄,没有明显的细胞分化(图 1a),卵细胞质中发现有球形病毒感染(图 1b)。

无节幼体:可见有肝胰腺和上皮细胞的分化,但细胞的分化程度较低(图 1c),细胞质

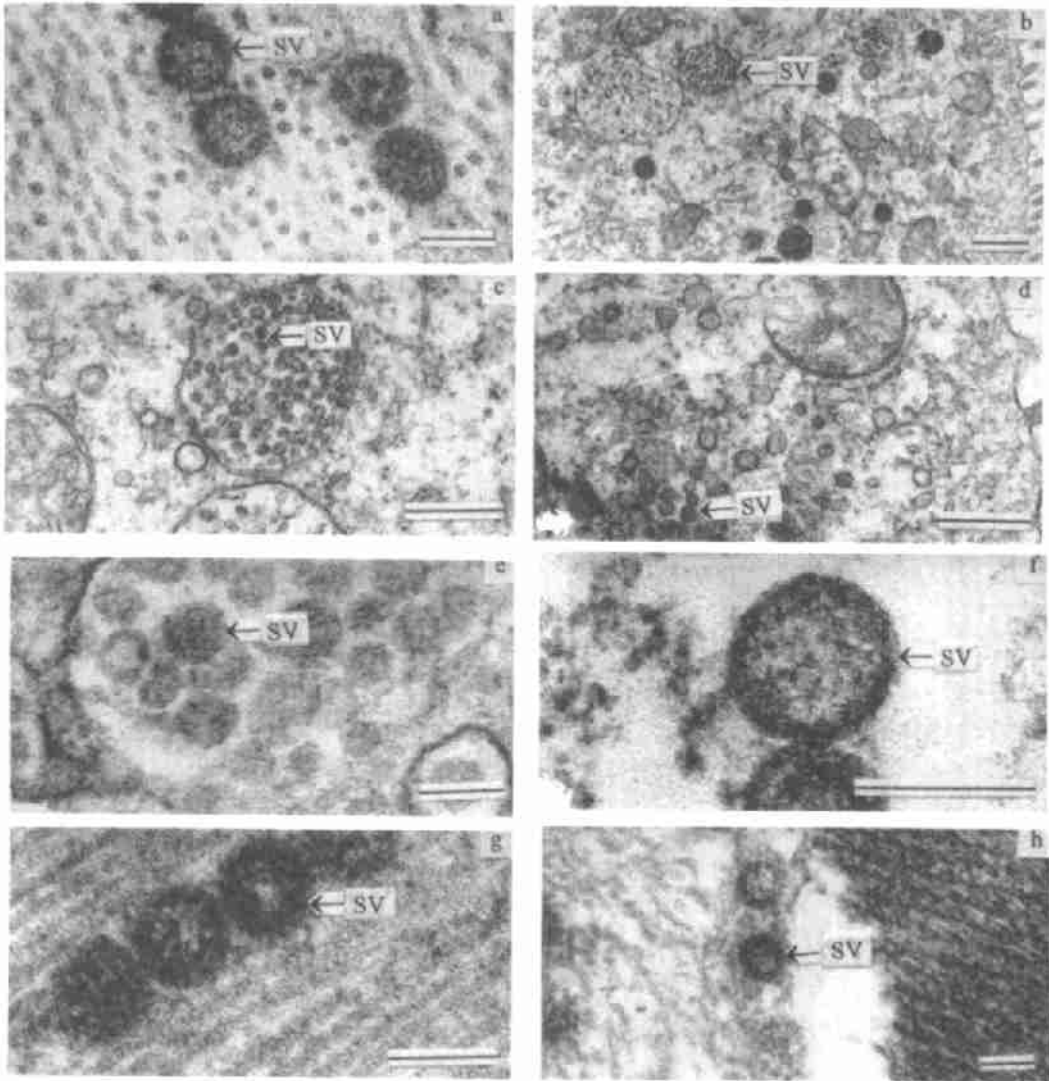


图 2 球形病毒的电镜观察结果(II)

Fig.2 The results (II) of spheroid virus observed by electron microscope

a. 图 1h 的放大(bar=100nm); b. 仔虾肝胰腺上皮细胞的球形病毒(bar=1 000nm); c. b 的放大(bar=500nm); d. 仔虾肝胰腺上皮细胞中游离分布的球形病毒(bar=500nm); e. 球形病毒的放大(bar=100nm); f. 幼成虾肝胰腺上皮细胞质中的球形病毒(bar=100nm); g. 中肠上皮细胞内的球形病毒(bar=100nm); h. 肌细胞中的球形病毒(bar=100nm)。SV: 球形病毒

中有聚集在一起的球形病毒分布,尤其是皮下细胞质中有大量球形病毒存在(图 1d、e)。

蚤状幼体: 由于样品制作不好未能观察

糠虾幼体: 糠虾幼体已有明显的肝胰腺和上皮细胞的分化,线粒体、微绒毛等细胞器的结构清晰,肝胰腺上皮细胞的胞质中疑似包涵体样结构存在(图 1f),肌细胞核内疑似包涵体样结构存在(图 1g),其细胞质中存在大量球形病毒(图 1h,图 2a)。

仔虾: 仔虾期的肝胰腺和上皮细胞的分化已基本完成,内质网、线粒体、微绒毛等细胞器的结构清晰(图 2b),肝胰腺上皮细胞的胞质内球形病毒呈聚集状态(图 2c、e),也有散在状态存在的(图 2d)。

幼虾和成虾: 幼虾和成虾球形病毒感染的主要组织为肝胰腺、中肠、肌肉等组织(汝少国等,1997),其肝胰腺上皮细胞的胞质内有球形病毒感染(图 2f),中肠上皮细胞中有大量球形病毒存在(图 2g),肌细胞的肌质网中也发现球形病毒(图 2h)。

2.2 球形病毒的形态结构

球形病毒感染的组织主要为中肠、肌肉和肝胰腺,分布在各组织细胞的细胞质中,大小一般为 70—100nm,比张红卫等(1995)报道的球形病毒(50—70nm)要大,与严隽箕(1995)在中国对虾未发病前的幼体期(平均体长为 3cm)检测出似痘状病毒形态大小相似。由电镜观察结果可知,球形病毒电子密度较低,具有完整的核衣壳,核衣壳外有不光滑的包膜(图 2a、f、g),具有包涵体,形态结构上与对虾球状病毒(陈晋安等,1996;陈棣华,1994)和呼肠孤病毒相似(薛清刚等,1996)。

3 讨论与结语

1994 年和 1995 年文登市高岛盐厂的对虾养殖病害发生频繁,其主要病原是对虾杆状病毒(汝少国等,1998),球形病毒和细小样病毒的危害亦相当严重。球形病毒一般呈潜伏性感染(汝少国等,1997),致病力远不如杆状病毒,但是,球形病毒与杆状病毒共同感染,加之养殖环境恶化时,对虾死亡率就会显著增高。

目前鱼类病毒垂直传播还存在着经卵巢传播还是卵表传播的争论(江草周三,1994)。据作者 1994—1995 年的超薄切片制样和观察结果,卵巢、卵、无节幼体、糠虾幼体、仔虾的细胞质中均有球形病毒感染,这表明细胞质内的球形病毒可能经卵传递给子代。从不同时期球形病毒的检测情况看,亲虾卵细胞带有球形病毒,表明该病毒可以感染对虾的生殖系统。一般认为,对虾的卵巢和卵细胞具有较强的自我保护能力,不易被病毒感染,但汝少国等(1998)的试验结果表明,对虾的卵巢和卵细胞中有杆状病毒存在;包振民等(1997)也曾报道亲虾卵巢是杆状病毒的靶器官之一。据本文结果,在对虾的无节幼体、糠虾幼体、仔虾期均检测出病毒,但幼体期却很少发生爆发性死亡,表明球形病毒在育苗期呈潜伏状态。近年来沿海地区不少的对虾育苗场虾苗孵化率普遍降低,作者认为这可能与虾卵及幼体等感染并携带病毒有关,这与桃山和夫(1988,1989)对日本对虾育苗期间中肠腺坏死杆状病毒(BMNV)的传染源进行调查结果(BMNV 在日本对虾体内的潜伏感染是其重要的传染源)相一致。因此,作者推测中国对虾球形病毒可能经卵传递给子代。

参 考 文 献

- 包振民, 胡景杰, 姜明等, 1997. 杆状病毒感染越冬亲虾(*Penaeus chinensis*)的研究. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 27(3): 347—351
- 汝少国, 李永祺, 姜明等, 1997. 中国对虾球形病毒的初步研究. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 27(1): 45—50
- 汝少国, 姜明, 李永祺等, 1998. 中国对虾杆状病毒垂直传播途径的初步探讨. 水产学报, 22(1): 49—55
- 严隽箕, 1995. 养殖对虾一种似痘状病毒的电镜观察及其传播途径的推测. 水产科学, 14(1): 3—4
- 张立人, 1994. 中国对虾亲虾体内球状病毒粒子的电镜观察. 广西大学学报, 19(3): 36—37
- 张红卫, 王金星, 于士广等, 1995. 山东中国对虾爆发病原体的研究. 海洋科学, 1: 5—8
- 陈细法, 吴定虎, 黄槐等, 1996. 斑节对虾一种新球形病毒的研究. 台湾海峡, 15(2): 159—162
- 陈晋安, 张驰, 许宏毅等, 1996. 一种新的长毛对虾球状病毒的观察与分离. 厦门大学学报(自然科学版), 35(4): 645—647
- 陈棣华, 1994. 中国对虾中一种球状病毒的分离提纯与检测. 中国病毒学, 9(2): 170—173
- 肖连春, 1995. 中国对虾一种球状病毒的分离提纯及其核酸蛋白特性的研究. 中国病毒学, 10(4): 356—361
- 薛清刚, 宫云浩, 王文兴, 1996. 中国对虾中一种与肝胰腺细小病毒混合感染的呼肠孤病毒的初步鉴定. 海洋与湖沼, 27(3): 314—318
- 江草周三, 1994. 鱼类における垂直传播の机序. 鱼病研究, 29(1): 43—52
- 桃山和夫, 1988. クルマエビの种苗生产時に発生するバキエロウイルス性中肠坏死症(BMN)の传染源. 鱼病研究, 23(2): 105—110
- 桃山和夫, 1989. バキエロウイルス性中肠腺坏死症ウイルス(BMNV)の感染组织および海水中での活性维持. 鱼病研究, 24(3): 179—181
- Chang P S, Wang Y C, Lo C F *et al*, 1992. Purification and biochemical characteristics of occlusion body of *Penaeus monodon*-Type Baculovirus (MBV). *Gyobyo Kenkyu*, 27(3): 127—130
- Chen S N, Chang P S, Kou G H *et al*, 1989. 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*, 24(2): 89—100
- Lightner D V, Redman R M, 1992. *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier Science Publishers B V, 569—588

STUDIES ON THE VERTICAL TRANSMISSION OF SPHEROID VIRUS IN *PENAEUS CHINENSIS*

RU Shao-guo, JIANG Ming[†], LI Yong-qi, MA Ying-jie

(College of Marine Life Sciences, Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

[†] (Center of Analysis, Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

Abstract In 1994 and 1995, eggs and larvae of *Penaeus chinensis* were collected from prawn seedling ponds in Gaodao, Wendeng, Shandong Province. To determine the virus infection, samples of different stages of *P. chinensis* larvae and eggs were observed by a transmission electron microscope. The results show that there is a lot of yolk in the egg, but no remarked cell differentiation, and there is spheroid virus infection in the cytoplasm of eggs. There is slight differentiation in the hepato-pancreatic and epidermal cells, with a lot of spheroid virus in them. There are distinguishable differentiation in the hepato-pancreatic cells and a lot of spheroid virus and its inclusion body in the epidermal cell cytoplasm. Spheroid virus infection occurs in the hepato-pancreatic cells of post larvae. In the juvenile and adult prawns, the spheroid virus mainly infects the hepato-pancreatic tissue, mid-gut, muscles etc. The spheroid virus encysts are scattered in the cytoplasm with a diameter of about 70—100nm. The virus has a complete capsid, with a layer of rough membrane outside the capsid. It has also an inclusion body. That virus was observed in eggs strongly suggests the possibility of vertical transmission by eggs.

Key words *Penaeus chinensis* Spheroid virus Vertical transmission Transmission electron microscope

Subject classification number Q934