

# 罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)传染性皮下和造血器官坏死病毒(IHHNV)的流行病学调查\*

范东东 魏永伟 苗亮 陈炯

(宁波大学海洋学院 生物化学与分子生物学实验室 宁波 315211)

**摘要** 传染性皮下和造血器官坏死病毒(infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, IHHNV)是对虾养殖的重要病原之一,可感染多种虾种。罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)是中国养殖的重要沼虾品种之一。根据国际兽疫局(Office International des Epizooties, OIE)推荐的 IHHNV 检测方法,在中国大陆地区首次开展 IHHNV 在罗氏沼虾中的感染和流行情况调查。结果显示,在研究区的罗氏沼虾养殖区, IHHNV 广泛流行,阳性率高达 90%;但所有成年罗氏沼虾均未表现出明显的病症,仅表现为病毒的携带。通过基因序列分析显示,检测到的华南地区毒株属于 型感染株,与菲律宾株进化关系较为接近;华东地区毒株属于 型感染株,与东南亚株进化关系较近。本研究为 IHHNV 在罗氏沼虾内的感染、流行和防控提供了详细参考。

**关键词** 传染性皮下和造血器官坏死病毒 (IHHNV); 罗氏沼虾; 感染与流行

中图分类号 S945.4+1 doi: 10.11693/hyhz20150600168

传染性皮下和造血器官坏死病毒(infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, IHHNV)在世界范围内广泛分布,是目前危害对虾养殖的主要病害之一(Kim *et al*, 2012; Rai *et al*, 2012; Macías-Rodríguez *et al*, 2014)。IHHNV 主要感染凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、斑节对虾(*Penaeus monodon*)和细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)。IHHNV 感染凡纳滨对虾和斑节对虾(Rai *et al*, 2009; Saksmerprom *et al*, 2010)后引起患病对虾生长缓慢,生长畸形,导致慢性矮小残缺综合症(runt deformity syndrome, RDS),被感染虾群 30%—90%出现生长滞缓; IHHNV 感染细角滨对虾后死亡率高达 90% (Bell *et al*, 1984)。IHHNV 给对虾养殖带来极大危害,国际兽疫局(Office International des Epizooties)将该病划为必须向其申报的甲壳类重要疾病 (Rai *et al*, 2012)。IHHNV 已广泛流行于世界各地,包括美国(Lightner, 2011)、墨西哥(Macías-Rodríguez *et al*, 2014)、厄瓜多尔(Tang *et al*,

2003)、巴西(Silva *et al*, 2014)、韩国(Flegel, 2012)、印度(Otta *et al*, 2014)、越南(Tang *et al*, 2003)、泰国(Flegel, 1997)、菲律宾等国家。近年来, IHHNV 在国内对虾养殖中也广泛流行,施慧等(2013)对 2009—2010 年间浙江地区近 22 家对虾苗种生产场的对虾苗种携带 IHHNV 情况进行调查,阳性率达 38.98%。林开等(2013)对浙江省 6 个主要南美白对虾养殖地区进行调查,结果显示 IHHNV 阳性率高达 100%。袁颜颜等(2015)用 OIE 公布的 4 对不同引物在中国(华南,华北,华东)的凡纳滨对虾、斑节对虾、中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)和宽沟对虾(*Penaeus latisulcatus*)中均检测到了 IHHNV。这些研究说明 IHHNV 在国内养殖对虾中已较普遍地感染,且在华东和华南地区形成了一定的流行趋势。

IHHNV 除了感染南美白对虾、斑节对虾和细角滨对虾外,亦可感染日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)、加州对虾(*Farfantepenaeus californiensis*)

\* 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目, 2012AA020101 号; 浙江省重大科技专项计划项目, 2013C03045-1 号; 宁波市自然科学基金项目, 2014A610182 号。范东东, 硕士研究生, E-mail: fandongdong95@126.com

通讯作者: 陈炯, 研究员, 博士生导师, E-mail: jchen1975@163.com

收稿日期: 2015-06-23, 收修改稿日期: 2015-07-16

和短沟对虾(*Penaeus semisulcatus*)等(杨冰等, 2005; 白丽蓉等, 2012)。国外及中国的台湾地区曾有报道 IHNV 可感染罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*) (Hsieh *et al.*, 2006)。2009 年在马来西亚的野生罗氏沼虾中也检测到了 IHNV, 阳性率为 20% (Hazreen Nita *et al.*, 2012), 检测阳性的亲虾并未发病。罗氏沼虾又名马来西亚大虾, 是一种大型淡水虾, 原产厄瓜多尔沿岸, 是世界上养殖量最高的三大虾种之一, 它具有生长快、食性广、肉质营养成分好、养殖周期短等优点(Tidwell *et al.*, 2000)。截止到 2012 年, 中国罗氏沼虾养殖面积迅速增长至 13000 hm<sup>2</sup>, 在我国 10 余个省市自治区均有养殖, 主要集中在长江三角洲和珠江三角洲, 年总产量可达 130 000 吨, 经济效益显著(Zhang *et al.*, 2015)。我国已成为罗氏沼虾的重要养殖大国, 但 IHNV 在中国大陆地区罗氏沼虾感染情况目前尚未见报道。本研究在中国大陆地区首次开展了 IHNV 感染罗氏沼虾状况调查。研究发现, IHNV 在我国华东和华南地区的罗氏沼虾养殖区已广泛流行, 但感染病毒的罗氏沼虾并没有表现出显著的临床及病理症状, 仅表现为 IHNV 携带。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

待检样品均为罗氏沼虾成虾, 2013—2014 年间, 随机采集于主要养殖区华东(宁波、杭州、温州)和华南(深圳、佛山、增城、湛江)地区的多个罗氏沼虾养殖场, 样品用于基因组 DNA 提取和组织切片处理, 剩余样品保存于-80℃ 备用。

### 1.2 基因组 DNA 的提取

剪取每尾活体虾的前肠和尾部肌肉组织(Hsieh *et al.*, 2006; Rai *et al.*, 2012)共 50 mg, 按照 Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0 (TaKaRa, 中国大连)说明书提取基因组 DNA, 保存于-20℃ 备用。

### 1.3 PCR 检测

使用国际兽疫局(OIE)推荐的 IHNV 标准检测引物(引物序列 389F: 5'-CGGAACACAACCCGAC TTTA-3'和 389R: 5'-GGCCAAGACCAAATACGAA-3'), 对各地沼虾样品进行检测。PCR 反应体系(25 μL): 去离子无菌水 17.25 μL, 10×Buffer 2.5 μL, dNTP (2.5 mmol/L) 2 μL, 上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, rTaq DNA 聚合酶 0.25 μL, 进行充分混匀, 再加 1 μL 模板。扩增反应在 Mastercycler pro 梯度 PCR 仪(德国 eppendorf 公司)上进行, PCR 反应条件为: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变

性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 共 35 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min, 6℃ 保存。PCR 扩增产物通过 2%的琼脂糖凝胶电泳后, 经 E.B 染色后, 在紫外成像仪下拍照观察。不同地区样品分别取三个目的条带用 Gel Extraction Kit (OMEGA, 美国)切胶回收, 克隆到 pMD19-T-simple (TaKaRa, 中国大连)载体后测序证实。

### 1.4 序列分析

利用 DNASTAR、BLAST、BioEdit 对测序结果进行核苷酸和氨基酸序列同源性分析。从 GenBank 中选取已知核酸序列作为参考毒株, 用 MEGA5.0 构建进化树(the Neighbor-Joining method)。采用 DNASP 5.0 (Rozas *et al.*, 2003)确定序列多态性位点数(number of segregating (polymorphic) sites, *S*)、同义突变位点数(number of synonymous substitutions sites, *NSS*)、非同义突变为点数(number of nonsynonymous substitutions sites, *NNS*)、核苷酸多态性(nucleotide diversity, *P<sub>i</sub>*)、单倍型数(number of haplotypes, *H*)、单倍型多样性(haplotype (gene) diversity, *H<sub>d</sub>*)以及样本中所有单倍型对两两的平均核苷酸差异数(average number of nucleotide differences, *K*)。

### 1.5 组织切片观察

无菌条件下, 取 PCR 检测为阳性罗氏沼虾样品(同时设阴性样品为对照)的前肠和胰腺组织, 置于 4%福尔马林中固定 24 h, 石蜡包埋, 制备病理切片, HE 染色, 显微镜下观察阳性样品组织病理变化。

## 2 结果

### 2.1 PCR 检测不同区域罗氏沼虾 IHNV 感染情况

将采自华东和华南不同地区的待检罗氏沼虾样品, 以提取的基因组 DNA 为模板, 389F/R 为引物进行 PCR 扩增, 产物经 2%的琼脂糖凝胶电泳分析, 多数样品成功扩增出大小约 390 bp 的特异性目的条带, 与预计大小一致, 阴性对照无条带。图 1 示例宁波地区样品检测结果。7 个地区分别取三个独立克隆, 克隆到 pMD19-T-simple 载体后测序, 经 BLAST 比对证实扩增的特异性序列为 IHNV 非结构蛋白-1(NS-1)基因部分序列, 长度为 389 bp。

华东和华南不同地区罗氏沼虾成虾样品 IHNV PCR 检测结果如表 1 所示, 各地区均检出了较高的阳性率, 总阳性率为 90% (99/110)。其中华东地区(宁波、温州、杭州)阳性率为 83.3%, 华南地区(湛江、增城、佛山、深圳)阳性率为 92.5%, 华南地区 IHNV 阳性率高出华东地区 9.2%。

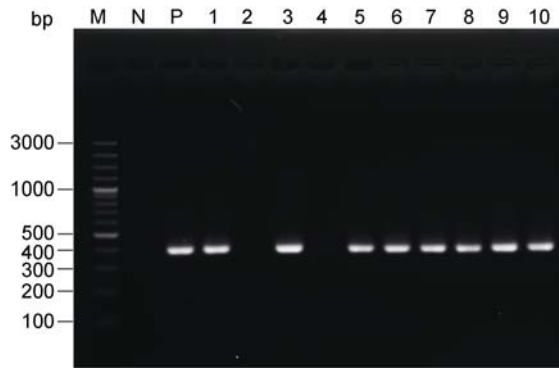


图1 IHHNV-389F/R 检测宁波罗氏沼虾样品中的 IHHNV  
Fig.1 PCR detection of IHHNV using primers IHHNV-389F/R in the DNA extracted from *M. rosenbergii* sampled from Ningbo  
M: 100 bp DNA maker; N: 阴性对照; P: 阳性对照; 1—10: 采集的宁波罗氏沼虾样品

### 2.2 不同地区罗氏沼虾 IHHNV 序列分析

将本研究克隆的 7 个不同地区的罗氏沼虾 IHHNV 基因组片段, 分别进行测序, 并将基因序列分别登录到 GenBank 数据库, 序列号分别为: KR364607 (Ningbo A 株)、KR364608 (Wenzhou 株)、KR364609 (Hangzhou 株)、KR364610 (Shenzhen 株)、KR364611 (Zengcheng 株)、KR364612 (Zhanjiang 株)、KR364613 (Foshan 株)。选取本研究克隆的 7 个不同地区的罗氏沼虾 IHHNV 序列与 GenBank 中不同国家和地区的 15 株 IHHNV 毒株序列, 基于 IHHNV 非结构蛋白-1 (NS-1)基因部分序列进行分析。采用 MEGA5.0 软件构建进化树。如图 2, 华东地区杭州株、宁波株、温州株构成一簇, 在进化关系上较近, 属于 IHHNV 基

表 1 华东和华南罗氏沼虾主产区的 IHHNV 检测结果

Tab.1 Investigation of IHHNV by PCR among *M. rosenbergii* samples from different regions of southern and eastern China

	样品采集地点							总计
	宁波	温州	杭州	湛江	增城	佛山	深圳	
阳性尾数/总检测数	8/10	9/10	8/10	16/20	18/20	20/20	20/20	99/110
阳性率(%)	80	90	80	80	90	100	100	90

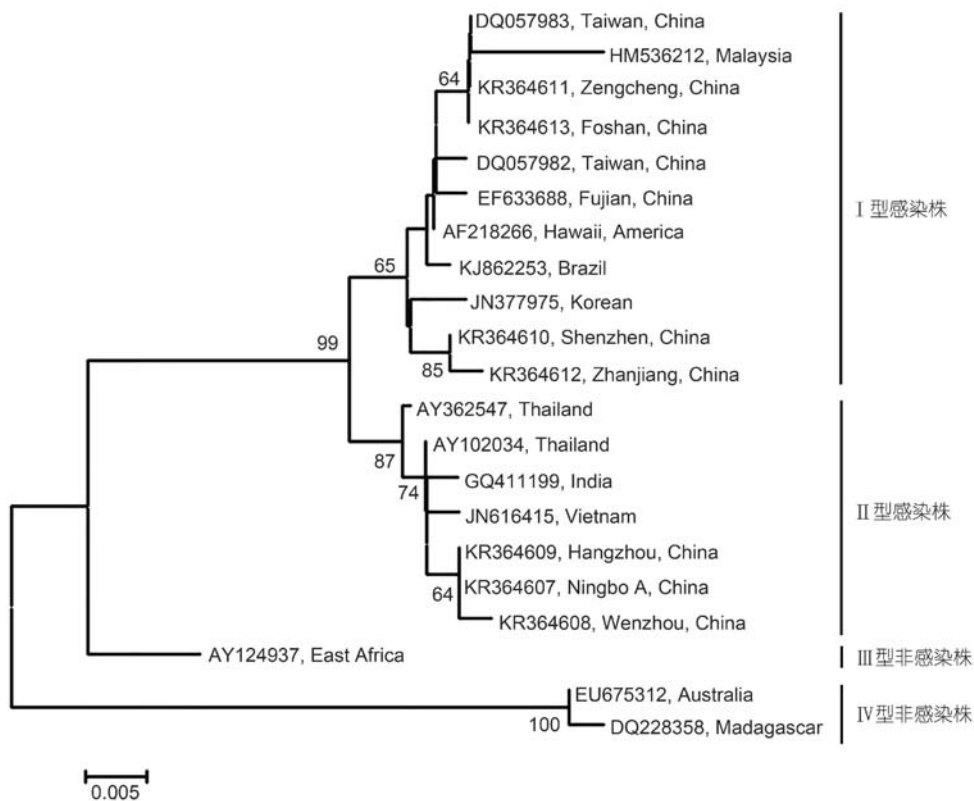


图 2 基于 IHHNV 非结构蛋白-1 基因部分序列(389bp)的系统进化树分析

Fig.2 Phylogenetic tree of partial nucleotide sequence (389 bp) of IHHNV non-structural protein 1 gene using the neighbor-joining method  
分叉处数值表示 1000 次重复抽样所得到的置信度, 只显示置信度 60%以上的数值; 标尺长度表明每个碱基发生 0.005 次置换

因型, 同时与 2011 年分离于越南斑节对虾的毒株 JN616415 以及来自于印度、泰国, 以及中国台湾地区等其它东南亚地区感染性分离株(均分离于斑节对虾)的亲缘关系较近。华南地区的佛山株、增城株、深圳株和湛江株均属于 IHHNV 基因型, 其中佛山株和增城株与 2006 年首次从台湾罗氏沼虾分离的毒株 DQ057983 以及 2009 年马来西亚罗氏沼虾分离株 HM536212 亲缘关系较近。

应用 BioEdit 进行核酸和氨基酸序列同源性分析显示(表 2), 新分离株与型感染株的核苷酸同源性在 96.9%—100%之间, 氨基酸同源性在 94.5%—100%

之间, 与型感染株核苷酸同源性在 98.2%—99.7%之间, 氨基酸同源性在 96.1%—99.2%之间; 与非感染型毒株型和型 IHHNV 相同源性较低, 核酸同源性在 91.7%—95.8%之间, 氨基酸同源性在 88.3%—93.7%之间。其中增城株和佛山株与 2006 年分离于台湾罗氏沼虾的高致死性毒株(DQ057983)核酸和氨基酸序列同源性均高达 100%; 新分离的各地理毒株与最早分离的高致死性 IHHNV 夏威夷株(AF218266)核酸同源性在 98.2%—99.7%之间, 氨基酸同源性在 96.7%—99.2%之间。

表 2 IHHNV 新分离株与参考株的 NS1 基因部分核苷酸序列(389bp)及氨基酸序列同源性比较

Tab.2 Homology comparisons showing % identical nucleotides (nt) or amino acids (aa) in partial non-structural protein 1 (ns1) gene between representative IHHNV strains and new isolates

IHHNV 分型*		WZ	HZ	SZ	ZC	ZJ	FS	型	型	型	型
宁波株 (NB)	nt	99.7	100	98.4	98.2	98.2	98.2	96.9—98.4	99.4—99.7	96.6	92.0—92.2
	aa	99.2	100	96.1	96.1	96.1	96.1	95.3—96.8	98.4—99.2	93.7	88.3—89.7
温州株 (WZ)	nt		99.7	98.2	97.9	97.9	97.9	96.6—98.2	99.2—99.4	96.4	91.7—92.2
	aa		99.2	95.3	95.3	95.3	95.3	94.5—96.1	97.6—98.4	93.0	88.3—87.5
杭州 (HZ)	nt			98.4	98.2	98.2	98.2	96.9—98.4	98.4—98.7	96.6	92.0—92.2
	aa			96.1	96.1	96.1	96.1	95.3—96.8	98.4—99.2	93.7	88.3—89.1
深圳 (SZ)	nt				99.2	99.7	99.2	97.9—99.4	98.4—98.7	96.1	92.0—92.2
	aa				98.4	100	98.4	97.6—99.2	96.1—96.8	93.0	88.3—89.1
增城 (ZC)	nt					98.9	100	98.7—100	98.2—98.7	95.8	92.2—92.5
	aa					98.4	100	98.4—100	96.1—96.8	93.0	88.3—89.1
湛江 (ZJ)	nt						98.9	97.6—99.2	98.2—98.4	95.8	91.7—92.0
	aa						98.4	97.6—99.2	96.1—96.8	93.0	88.3—89.1
佛山 (FS)	nt							98.7—100	98.2—98.7	95.8	92.2—92.5
	aa							98.4—100	96.1—96.8	93.0	88.3—89.1
型	nt							97.6—99.7	96.9—98.9	94.6—96.4	91.0—93.0
	aa							97.6—99.7	95.3—97.6	92.2—93.7	88.3—90.6
型	nt								99.4—99.7	96.6—96.9	92.0—92.8
	aa								99.2—100	93.7—94.5	88.3—89.9
型	nt									—	94.0—94.3
	aa									—	91.4—92.2
型	nt										99.7
	aa										99.2

\*IHHNV 分型参考图 2。型: AF218266, KJ862253, JN377975, EF633688, DQ057983, DQ057982, HM536212; 型: AY102034, GQ411199, AY362547; 型: AY124937; 型: EU675312, DQ228358

应用 DNAsp 5.10.01 对 GenBank 中所有 IHHNV NS-1 基因部分序列(共 37 条)以及本实验从罗氏沼虾中新得到的 7 条 IHHNV 序列, 进行核苷酸多样性和单倍型多样性分析显示如表 3 所示, 从罗氏沼虾中分离的 IHHNV 毒株有 10 个多态性位点数(3 个同义突变; 7 个非同义突变), 有转换和颠换, 没有缺失插入突变; 有 5 个单倍型; 核苷酸多样性为 0.0125, 单倍

型多样性为 0.905; 罗氏沼虾分离株使 IHHNV 总的核酸多态性位点数增加了 5 个, 总的单倍型数增加了 4 个, 总的核苷酸多样性变化不大, 而总的单倍型多样性比原来升高了 0.012。

### 2.3 组织病理分析

通常情况下, IHHNV 感染对虾会引起对虾外胚层和中胚层起源的组织细胞内出现典型的细胞核内

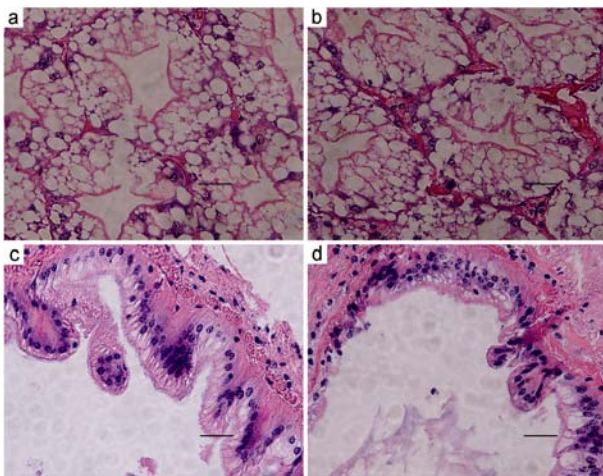
表 3 基于 IHHNV 部分基因组序列的多样性统计参数

Tab.3 Demographic parameters estimated from the partial non-structural protein 1 (ns1) gene of representative IHHNV strains and new isolates

病毒序列来源*	核苷酸多样性				单倍型多样性		
	多态性位点数 $S$	同义突变位点 数 $NSS$	非同义突变位 点 $NNS$	核苷酸多样 度 $P_i$	单倍型数 $H$	单倍型多样度 $H_d$	平均核苷酸差 异数 $K$
中国罗氏沼虾分离株	10	3	7	0.0125	5	0.905	4.857
GenBank-IHHNV 序列	52	18	34	0.0187	21	0.926	7.252
总计	57	20	37	0.0179	25	0.942	6.949

\*中国罗氏沼虾分离株: KR364607, KR364608, KR364609, KR364610, KR364611, KR364612, KR364613; GenBank-IHHNV 序列: KF031144, KC513422, AY355307, AY102034, GQ411199, EU848309, EU518246, AY362547, JN616415, KM593910, KM593909, KM593908, KM593912, KM593911, KM485615, KM485613, KJ830753, KF805629, GQ475529, AF218266, AY355308, AY355306, AY362548, AF273215, KM593913, KJ862253, JX258653, JN377975, EF633688, DQ057983, DQ057982, KF214742, JX840067, HM536212, AY124937, EU675312, DQ228358

Cowry A 型包涵体, 包涵体嗜伊红色, 细胞核肥大, 细胞质分布于细胞膜周围(Lightner *et al*, 1983; Rai *et al*, 2012)。本研究中, 分别解剖 IHHNV PCR 检测为阳性和阴性的罗氏沼虾, 观察各器官病理变化情况。选取胰腺和前肠, 制备组织切片, 经 H.E 染色后, 结果发现各地区阳性样品均未观察到核内包涵体和显著的上述病理学变化, 与对照组(PCR 检测阴性样品)组织情况相近(图 3)。

图 3 IHHNV 感染(a, c)和健康(b, d)的罗氏沼虾肝胰腺和前肠组织切片( $\times 400$ )Fig.3 Histopathological section of hepatopancreas and fore gut of *M. rosenbergii*

标尺长度=100  $\mu\text{m}$ 。a: IHHNV PCR 阳性罗氏沼虾肝胰腺; b: IHHNV PCR 阴性罗氏沼虾肝胰腺; c: IHHNV PCR 阳性罗氏沼虾前肠; d: IHHNV PCR 阴性罗氏沼虾前肠

### 3 讨论

IHHNV 是危害对虾养殖的重要病害之一, 主要感染南美白对虾、细角滨对虾和斑节对虾。早期国外调查显示 IHHNV 在野生和养殖的细角滨对虾、南美

白对虾、斑节对虾等对虾中广泛存在, 并且该病造成夏威夷一些养殖区的细角滨对虾死亡率达 90% (Lightner *et al*, 1983; Lightner, 1996)。目前, 国际上有关罗氏沼虾感染 IHHNV 仅有 2 例报道。其中一例发生在我国台湾省, 2006 年台湾东南部的罗氏沼虾幼体和仔虾感染了 IHHNV, 并导致 80% 的致死率(Hsieh *et al*, 2006); 另一例发生在马来西亚, 2012 年马来西亚野生和养殖罗氏沼虾中检测到 IHHNV, 阳性率为 20%, 但阳性沼虾没有任何患病迹象(Hazreen Nita *et al*, 2012), 这与 Zhang 等(2007)在凡纳滨对虾中调查的情况十分相似, 检测阳性的凡纳滨对虾无病症, 仅表现为携带病毒。在本研究中, 我们首次在中国大陆地区罗氏沼虾中检测到 IHHNV, 并在此基础上开展了 IHHNV 在罗氏沼虾中的流行情况研究, 发现在我国华东和华南地区的罗氏沼虾养殖区, IHHNV 阳性率高达 90%, 但检测阳性罗氏沼虾均未表现病症, 仅携带病毒。

系统进化树分析揭示, 本研究报道的各地新分离株均起源于感染型 IHHNV 毒株(图 2)。前期研究报道表明, IHHNV 亚洲分离株之间有很大差异, 而美洲分离株之间几乎没有差异(Tang *et al*, 2002, 2003), 可将不同地区 IHHNV 分为 4 种基因型: 型, 主要分离自美洲和南亚(主要是菲律宾); 型, 主要分离自东南亚; 型(亦称之 A 型), 主要分离自马达加斯加、印度、毛里求斯, 和澳大利亚; 型(亦称之 B 型), 主要分离自东非、莫桑比克, 和坦桑尼亚(Winton *et al*, 2010)。型和型为感染型(Lightner *et al*, 1983), 型和型为非感染型(Tang *et al*, 2003; Krabsetsve *et al*, 2004; Tang *et al*, 2006)。在本研究中, 我们检测到的华南地区毒株中佛山株和增城株与 2006 年首次从台湾罗氏沼虾分离的毒株(DQ057983)以及 2009 年马

来西亚罗氏沼虾分离株(HM536212)亲缘关系较近,属于Ⅰ型感染株,可能来源于菲律宾(Tang *et al.*, 2002);华东地区毒株与2011年分离于越南斑节对虾的毒株(JN616415)以及来自于印度、泰国,还有中国台湾等其它东南亚地区感染性分离株(均分离于斑节对虾)的亲缘关系较近,属于Ⅰ型感染株,可能来源于东南亚(Tang *et al.*, 2003)。根据序列同源性分析,新分离株与感染型参考株的核苷酸同源性在98.2%—100%之间,氨基酸同源性在94.5%—100%之间;而非感染性参考株马达加斯加分离株(DQ228358)和澳大利亚株(EU675312)相似性较低,核酸同源性在91.7%—92.5%之间,氨基酸同源性在88.3%—89.1%,证明新分离的毒株均属于感染型 IHHNV,同时这些不同区间毒株序列的差异很有可能与地理起源有关(Tang *et al.*, 2002)。

Robles-Sikisaka 等(2010)通过比较不同地理位置的细角滨对虾和斑节对虾中分离的14株病毒序列,分析得到高的核苷酸替代率( $1.39 \times 10^{-4}$ /位点/年),表明 IHHNV 核苷酸多态性比之前报道的要高得多,并且不同地区和宿主,遗传多态性也不一样。本研究揭示,中国大陆地区罗氏沼虾 IHHNV 分离株核苷酸多样性为0.0125,单倍型多样性为0.905,平均核苷酸差异数为4.857,显示了罗氏沼虾新分离株遗传多样性水平较高,丰富了 IHHNV 的遗传多样性;而高的单倍型多样性  $H_d$  值,低的核苷酸多样性  $P_i$  值,这与 Robles-Sikisaka 等(2010)的 IHHNV 多样性研究结果类似,表明尽管该病毒变异导致单倍型的多态性的积累,但核苷酸序列的多样化还未能积累。

早期病理学研究发现, IHHNV 感染对虾会引起对虾外胚层和中胚层起源的组织细胞内出现典型的细胞核内 Cowry A 型包涵体,包涵体嗜伊红色,细胞核肥大,细胞质分布于细胞膜周围(Lightner *et al.*, 1983)。在2006年中国台湾地区报道的 IHHNV 感染幼年罗氏沼虾肝胰腺管状上皮细胞中,同时出现了 Cowry A 型和 B 型包涵体(Hsieh *et al.*, 2006)。本研究中感染 IHHNV 的成年罗氏沼虾肝胰腺和前肠组织切片中均未出现明显的病理变化,推测与马来西亚罗氏沼虾 IHHNV 感染情况相似(Hazreen Nita *et al.*, 2012),仅为 IHHNV 病毒的携带体,并未导致发病,是否有潜在的发病可能性尚不清楚。

#### 4 结论

本研究首次在中国大陆地区的罗氏沼虾中检测

到 IHHNV,同时流行病学检测发现 IHHNV 在我国的华东和华南地区的罗氏沼虾养殖区广泛分布,但病毒在成年罗氏沼虾内仅表现为携带者,并未表现出临床症状和病理变化,然而已有报道显示 IHHNV 可引起罗氏沼虾幼虾发病,所以应引起罗氏沼虾养殖的高度重视,以提前做好 IHHNV 的防控工作。

#### 参 考 文 献

- 白丽蓉,赵志英,2012.对虾传染性皮下与造血组织坏死病毒(IHHNV)的研究进展.中国农学通报,28(14):114—119
- 杨冰,宋晓玲,黄捷等,2005.对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒(IHHNV)的流行病学与检测技术研究进展.中国水产科学,12(4):519—524
- 林开,侯崇林,谢荣辉等,2013.三种对虾病毒在浙江省凡纳滨对虾中的流行性调查研究.水产科学,32(3):161—164
- 施慧,谢建军,许文军等,2013.浙江地区凡纳滨对虾苗3种对虾病毒携带情况研究.浙江海洋学院学报(自然科学版),32(1):25—30
- 袁颜颜,杨冰,万晓媛等,2015.采用OIE标准检测养殖对虾中传染性皮下及造血组织坏死病毒(IHHNV)的PCR检出类型.渔业科学进展,36(1):67—73
- Bell T A, Lightner D V, 1984. IHHN virus: infectivity and pathogenicity studies in *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 38(3): 185—194
- Flegel T W, 1997. Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 13(4): 433—442
- Flegel T W, 2012. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. Journal of Invertebrate Pathology, 110(2): 166—173
- Hazreen Nita M K, Kua B C, Bhasu S *et al.*, 2012. Detection and genetic profiling of infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) infections in wild berried freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* collected for hatchery production. Molecular Biology Reports, 39(4): 3785—3790
- Hsieh C Y, Chuang P C, Chen L C *et al.*, 2006. Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) infections in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 258(1—4): 73—79
- Kim J H, Kim H K, Nguyen V G *et al.*, 2012. Genomic sequence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) KLV-2010-01 originating from the first Korean outbreak in cultured *Litopenaeus vannamei*. Archives of Virology, 157(2): 369—373
- Krabetsve K, Cullen B R, Owens L, 2004. Rediscovery of the Australian strain of infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus. Diseases of Aquatic Organisms, 61(1—2): 153—158
- Lightner D V, 1996. Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas. Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics), 15(2): 579—601
- Lightner D V, 2011. Virus diseases of farmed shrimp in the

- Western Hemisphere (the Americas): a review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 106(1): 110—130
- Lightner D V, Redman R M, Bell T A, 1983. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis, a newly recognized virus disease of penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, 42(1): 62—70
- Macías-Rodríguez N A, Mañón-Ríos N, Romero-Romero J L *et al*, 2014. Prevalence of viral pathogens WSSV and IHHNV in wild organisms at the Pacific coast of Mexico. *Journal of Invertebrate Pathology*, 116: 8—12
- Otta S K, Arulraj R, Praveena P E *et al*, 2014. Association of dual viral infection with mortality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in culture ponds in India. *Virus Disease*, 25(1): 63—68
- Rai P, Pradeep B, Karunasagar I *et al*, 2009. Detection of viruses in *Penaeus monodon* from India showing signs of slow growth syndrome. *Aquaculture*, 289(3—4): 231—235
- Rai P, Safeena M P, Krabsetsve K *et al*, 2012. Genomics, molecular epidemiology and diagnostics of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus. *Indian Journal of Virology*, 23(2): 203—214
- Robles-Sikisaka R, Bohonak A J, McClenaghan Jr L R *et al*, 2010. Genetic signature of rapid IHHNV (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus) expansion in wild *Penaeus* shrimp populations. *PLoS One*, 5(7): e11799
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X *et al*, 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18): 2496—2497
- Saksmerprom V, Puirom O, Noonin C *et al*, 2010. Detection of infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) in farmed Australian *Penaeus monodon* by PCR analysis and DNA sequencing. *Aquaculture*, 298(3): 190—193
- Silva D C D, Nunes A R D, Teixeira D I A *et al*, 2014. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus from Brazil: Sequencing, comparative analysis and PCR detection. *Virus Research*, 189: 136—146
- Tang K F J, Lightner D V, 2002. Low sequence variation among isolates of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) originating from Hawaii and the Americas. *Diseases of Aquatic Organisms*, 49(2): 93—97
- Tang K F J, Lightner D V, 2006. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV)-related sequences in the genome of the black tiger prawn *Penaeus monodon* from Africa and Australia. *Virus Research*, 118(1—2): 185—191
- Tang K F J, Poulos B T, Wang J *et al*, 2003. Geographic variations among infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) isolates and characteristics of their infection. *Diseases of Aquatic Organisms*, 53(2): 91—99
- Tidwell J H, Coyle S, Van Arnum A *et al*, 2000. Production response of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* to increasing amounts of artificial substrate in ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 31(3): 452—458
- Winton J R, Walker P J, 2010. Emerging viral diseases of fish and shrimp. *Veterinary Research*, 41(6): 51—75
- Zhang C, Yuan J F, Shi Z L, 2007. Molecular epidemiological investigation of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus and Taura syndrome virus in *Penaeus vannamei* cultured in China. *Virologica Sinica*, 22(5): 380—388
- Zhang Y F, Ye C X, Wang A L *et al*, 2015. Isolated and combined exposure to ammonia and nitrite in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*): effects on the oxidative stress, antioxidant enzymatic activities and apoptosis in haemocytes. *Ecotoxicology*, 1—10

## EPIDEMIOLOGY OF INFECTIOUS HYPODERMAL AND HEMATOPOIETIC NECROSIS VIRUS IN *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

FAN Dong-Dong, WEI Yong-Wei, MIAO Liang, CHEN Jiong

(Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract** Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) is one of major viral pathogens of penaeid shrimps. Giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* is one of the most important shrimp species in China. However, study and report on IHHNV infection and the epidemiology remain blank in the mainland of China. According to the method recommended by OIE (Office International des Epizooties), infection and epidemiology of IHHNV in *M. rosenbergii* were conducted in the mainland of China. Results show a high positive percentage of IHHNV in *M. rosenbergii* (90%) in the aquiculture, but no samples showed any syndrome of IHHNV infection. Sequence analysis indicated that the collected strains in South China belonged to the lineage I infectious IHHNV group, and had a close evolutionary relationship with the Philippines strains, while the collected strains in East China belonged to the lineage infectious IHHNV group, and had a close evolutionary relationship with the Southeast Asia strains. This study provides an insightful reference to the prevention and control of IHHNV infection in *M. rosenbergii*.

**Key words** infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV); *Macrobrachium rosenbergii*; infection and epidemiology