

对虾白斑症 I: 病原生物学*

谢数涛, 任 涛, 辛朝安

(华南农业大学动物医学系, 广东 广州 510642)

摘 要: 对虾白斑症是危害亚洲地区对虾养殖业的主要流行病, 其病原是一类有囊膜的杆形 DNA 病毒——白斑症病毒, 本文对白斑症病原的形态结构、基因组、理化特性、致病性、病理学及分类地位等方面的研究进展作了综述.

关键词: 白斑症; 白斑症病毒; 对虾

中图分类号: S945.47 **文献标识码:** A

自 1990 年代亚洲沿海各地大规模暴发对虾流行病以来, 对虾疾病已持续多年造成巨大的经济损失, 在局部地区已开始威胁对虾养殖业的生存, 其中危害最大的对虾疾病就是对虾白斑症 (white spot syndrome, WSS).

白斑症因患此病的对虾甲壳上出现明显的白色斑点而得名, 其病原是一类不形成包涵体 (occlusion body)、有囊膜的杆形 DNA 病毒. 由于白斑症的病原是由一系列学者在不同地区相继发现并报道的, 因此有多种不同的命名, 如: 皮下与造血组织坏死杆状病毒 (hypodermal and hematopoietic necrosis baculovirus, HHNBV)^[1], 日本对虾棒状病毒 (rod-shaped nuclear virus of *Penaeus japonicus*, RV-PJ)^[2], 系统性外胚层和中胚层杆状病毒 (systemic ectodermal and mesodermal baculovirus, SEMBV)^[3] 及白斑杆状病毒 (white spot baculovirus, WSBV)^[4] 等等. 为叙述方便, 本文统一使用白斑症病毒 (white spot syndrome virus, WSSV) 这一名称.

目前, 对虾白斑症的研究不仅是我国海水养殖业的重要课题, 同时也是当前国际水产病害研究的热点. 本文根据近年来有关白斑症病原生物学方面的研究成果作如下综述.

1 WSSV 的形态结构

各地报道的白斑症病原, 均为具囊膜、核衣壳呈杆状的病毒粒子, 这些病毒粒子的外形和大小相近, 它们在电镜切片组织中的大小约 $80 \times 270 \text{ nm}$ ^[5]; 其长宽比约为 3~4:1, 与杆状病毒科的病毒相比, 显得较为粗短.

纯化的 WSSV 负染后电镜下观察, 病毒粒子呈不完全对称的椭圆形, 大小约 $(70 \sim 150) \text{ nm} \times (250 \sim 380) \text{ nm}$ ^[5]. 其一端较平, 另一端略细, 略细的一端延伸出一条象鞭毛一样的“尾”结构^[6-8], “尾”长约 510 nm, 宽 16 nm, 这种鞭毛状的“尾”结构在已知病毒中尚未见报道. 纯化的病毒核衣壳呈杆状, 大小约 $(58 \sim 67) \text{ nm} \times (330 \sim 350) \text{ nm}$ ^[5-10]; 核衣壳两端各有一帽状结构, 帽状结构之间有 13~16 圈衣壳螺旋^[6-10].

* 收稿日期: 2000-09-18; 作者简介: 谢数涛 (1968~), 男, 博士; 研究方向: 水生生物学.

2 WSSV 的基因组

WSSV 的核酸为双链 DNA, 文献报道的病毒基因组大小不一致。

Wang 等^[11]通过酶切方法推算出 WSSV 基因组大小约 146 kb, 与 Wongteerasupaya 等^[3]推算出的约 138 kb 相似, 这一结果也与已知杆状病毒科的病毒基因组大小相近。但 Yang 等^[12]推算出的 WSSV 基因组大小为约 290 kb。

据报道, 中国国家海洋局第三海洋研究所徐洵院士领导的课题组于 1999 年完成了 WSSV 基因组全序列测定, 根据他们的结果, WSSV 的基因组为 300 kb 左右。

3 WSSV 对环境因子的抵抗力

国内外有关此方面的报道不多。根据目前的研究结果, 游离 WSSV 对环境的抵抗力不强, 在组织中的 WSSV 则有相对较强的生存力^[13]。

游离的 WSSV 对高温较为敏感。WSSV 在 70 °C 下 5 min 或 60 °C 下 10 min 时, 病毒失去感染力^[14,15]。当环境 pH 值为 5 以下或 12.6 以上时, 病毒感染活性丧失^[15]。用脂溶性试剂如氯仿、乙醚或去污剂 NP-40、Triton X-100 等处理 WSSV, 病毒亦会丧失感染活性^[14,15]。此外, $w = 20 \times 10^{-6}$ 的 ClO_2 及 $w = 100 \times 10^{-6}$ 的甲醛均能灭活 WSSV^[15]。值得注意的是 WSSV 在纯水中能保持感染活性, 但在高盐溶液 (如 3 mol/L NaCl) 中易失去感染力^[14,15]。

何建国等^[13]发现死亡的白斑症对虾在海水中浸泡 50 h 以后, 组织中的 WSSV 失去感染活性; 另外在空气中干燥 57 h 则是死虾组织中 WSSV 保持感染力的临界时间。

4 WSSV 的致病性

一般认为 WSSV 是一种致病力很强的病毒。人工投喂感染的对虾在 2~10 d 内, 死亡率可达 100%^[1~5]。

未发现任何对虾对 WSSV 有抗性。亚洲及世界各地的主要养殖对虾, 如: 斑节对虾、南美白对虾、中国对虾、日本对虾、墨吉对虾、长毛对虾、印度对虾、刀额新对虾及短沟对虾等, 均对其敏感^[5]。

何建国等^[13]对不同体长的斑节对虾进行人工感染, 结果发现 WSSV 的致病性与对虾大小无关, 无论仔虾、幼虾或成虾, 均对 WSSV 敏感。

5 组织病理

国内外有关白斑症病理学方面的报道甚多, 研究结果也比较一致^[1~5]。

WSSV 的靶组织十分广泛, 几乎包括所有外胚层和中胚层形成的组织, 如: 真皮、前后肠上皮、造血组织、结缔组织、鳃、触角腺、血细胞、神经和横纹肌等。WSSV 不感染内胚层形成的组织, 即肝胰腺及中肠上皮^[1~5]。而其他几种已知的对虾杆状病毒, 如: BP、MBV、BMNV 等均只感染肝胰腺或中肠上皮细胞^[5]。

感染 WSSV 的宿主细胞, 在早期表现为细胞核略肿大, 染色质边移; 核内形成的病理性包涵体 (inclusion body) 小, 位于细胞核中央, 与边移的核染色质有空隙, HE 染色呈红色 (嗜酸性)。感染后期, 细胞核肿大, 染色质和核仁消失, 包涵体充满整个细胞核, HE

染色呈紫红色(嗜碱性);细胞质空泡变性,细胞形态模糊不清,呈现大片坏死状态^[1~5]。

电镜下在病虾组织细胞的细胞质中常可观察到处于不同发育阶段的 WSSV,此特点与
原裸杆状病毒亚科的代表种椰子犀金龟病毒(*Oryctes rhinoceros virus*, OrV)相似。

6 各地区间白斑症病原的关系及其分类地位

目前尚没有确切证据肯定不同地区所分离的白斑症病原是一种病毒,或是一种病毒的不同株型。Takahashi 等^[16]根据 RV-PJ 部分核酸片段的序列,设计一对 PCR 引物,对 SEM-BV DNA 能扩增出与 RV-PJ 相同的 PCR 产物。夏春等^[17]用类似的 PCR 方法比较了 RV-PJ 与 HHNBV 一段 975 bp 的序列,发现它们的同源性高达 97.5%。Wongteerasupaya 等^[20]用 SEM-BV 的核酸探针,检测 1993~1995 年间来自中国、印尼、泰国和印度的发病斑节对虾、中国对虾、墨吉对虾、印度对虾、日本对虾和南美白对虾,结果显示探针与病虾组织均有强烈的阳性杂交反应。可见亚洲各地区间对虾白斑症病原关系密切。

根据目前研究结果,WSSV 在形态结构、核酸类型、理化特性、组织病理等方面与杆状病毒科的病毒相近。WSSV 不形成包涵体(occlusion body),病毒粒子较粗短、有“尾”,病毒在细胞质中常有分布,这几个特点与椰子犀金龟病毒更为接近。1995 年 ICTV 第六次报告中杆状病毒科取消了亚科,只设二个属,核型多角体病毒属和颗粒体病毒属,从而取消了裸杆状病毒亚科这一分类阶元;同时没有建立新的分类阶元,将原裸杆状病毒亚科的病毒收录。由于 WSSV 不形成多角体或颗粒体类包涵体,因此 WSSV 不属于杆状病毒,其分类地位待定。

综上所述,对虾白斑症已成为国内外水产病害的研究热点,在病原生物学方面取得重大成绩,特别是 WSSV 基因组全序列的测定,不仅在对虾病毒学领域具有划时代意义,而且也控制了控制对虾白斑症奠定了良好基础。

参考文献:

- [1] 黄捷,宋晓玲,于佳,等.杆状病毒性的皮下及造血组织坏死—对虾爆发性流行病的病原和病理学[J]. 海洋水产研究,1995,16(1):1~10.
- [2] TAKAHASHI Y, ITAMI T, MAEDA M, et al. Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*)[J]. Fish Pathology, 1994,29:135~139.
- [3] WONGTEERASUPAYA G, VICKERS J E. A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 1995, 21:69~77.
- [4] CHOU H Y, HUANG C Y, LO C F, et al. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 1995, 23:165~173.
- [5] LIGHTNER D V. A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp[M]. Baton Rouge, Louisiana, USA: World Aquaculture Society, 1996.
- [6] 黄捷,于佳,宋晓玲,等.对虾皮下及造血组织坏死杆状病毒的精细结构、核酸、多肽及血清学研究[J]. 海洋水产研究,1995,16(1):11~23.
- [7] 徐洪涛,朴春爱,王雷,等.1996 年中国对虾暴发性流行病病毒病原研究[J]. 病毒学报,1999,15(2):158~163.
- [8] 谢数涛,何建国,闫庆生,等.对虾白斑症病毒的分离纯化及形态结构观察[J]. 中山大学学报(自然

科学版)2000,39(4):90~93.

- [9] 彭宝珍,任家鸣,沈菊英,等. 急性致死性对虾病的杆状病毒病原研究[J]. 病毒学报,1995,11(2):151~157.
- [10] 陈细法,陈平,吴定虎,等. 养殖对虾一种新杆状病毒的研究[J]. 中国科学(C辑),1997,3:415~420.
- [11] WANG C H, LO C F, LEU J H, et al. Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*[J]. Diseases of Aquatic Organism, 1997, 23:239~242.
- [12] YANG F, WANG W, CHEN W Z, et al. A simple and efficient method for purification of prawn baculovirus DNA[J]. Journal of Virological Methods, 1997, 67:1~4.
- [13] MAEDA M, KASORNCHANDRA J, ITAMI T, et al. Effect of Various Treatments on White Spot Syndrome Virus (WSSV) from *Penaeus japonicus* (Japan) and *P. Monodon* (Thailand)[J]. Fish Pathology, 1998, 33(4):381~387.
- [14] 何建国,周化民,江静波. 白斑综合症杆状病毒致病性特征[J]. 热带海洋,1999,18(1):59~67.
- [15] 谢数涛,邱德全,何建国,等. 几种理化因子对斑节对虾白斑杆状病毒(WSBV)感染力的影响[J]. 海洋科学,2000,3:52~55
- [16] TAKAHASHI Y, ITAMI T. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of bacilliform virus (RV-PJ) in *Penaeus japonicus* Bate and systemic ectodermal and mesodermal baculovirus (SEMBV) DNA in *Penaeus monodon* Fabricius[J]. Journal of Fish Diseases, 1996, 19:399~403.
- [17] 夏春,刘津.PCR检测中国对虾暴发性流行病毒靶基因的克隆和序列分析[J]. 病毒学报,1999,15(4):364~367.
- [18] WONGTEERASUPAYA C, WONGWISANSRI S. DNA fragment of *Penaeus monodon* baculovirus PmNOB II gives positive in situ hybridization with white - spot viral infections in six penaeid shrimp species[J]. Aquaculture, 1996, 143:23~32.

Penaeid Shrimp White Spot Syndrome I: Biology of Pathogen

XIE Shu-tao^{*}, REN Tao, XIN Chao-an

Abstract: White spot syndrome of penaeid shrimp caused high mortalities of shrimp cultures in Asia. Many scholars paid their attention to this viral diseases. The recent progress in biology of the pathogen was described.

Keywords: white spot syndrome; white spot syndrome virus; penaeid shrimp

^{*} Department of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China